

## 분석표준화와 검량선 작성의 국제적 동향

권진욱\* · 이규승<sup>1</sup>

국립수의과학검역원, 충남대학교 농업생명과학대학 농화학과<sup>1</sup>

(2003년 4월 28일 접수, 2003년 6월 10일 수리)

국가간 혹은 기관간의 통합되고, 상호 인정할 수 있는 분석법의 기본 지침이 확립되면, 서로 다른 실험 여건이라 할 지라도 공통된 실험 지침에 따라 수행된 연구 및 조사 결과를 생산할 수 있고, 결과를 비교 분석할 때 오류를 줄임으로써 국가 정책 수립을 위한 과학적이고 정확한 자료제공을 할 수 있다. 현재, 우리나라는 분석과 관련한 통합된 우수실험실규범(Good Laboratory Practice) 운용체계나, 정부기관에서 발행된 각종 공정 시험법 내 기초적인 기준(criteria)이 미흡하며, 용어나 그 용어의 정의에 대한 통일성을 찾기가 쉽지 않다. 따라서, 신뢰성 있는 분석결과와 상호인정을 위해서 전문가들로 구성된 통합 지침의 확립이 절실히 요구된다. 이런 이유로 본 총설에서는 정량분석의 기초인 검량선 작성법에 대해 ISO, ACS, ASTM, AOAC, CODEX 및 관련 서적과 연구 논문을 통해 지침과 실행 등을 살펴보고 일상적인 분석업무 중 발생하는 오류 등에 대하여 설명하였다.

**Key words:** 검량선, 회귀식, 직선성, 불확도, 참값, 표준화

### 서 론

동일물질에 대해 서로 다른 실험 방법으로 측정된 물리화학적 상수나 독성 시험값들은 연구목적에 있어 나름대로의 가치를 가지지만, 이러한 물질들을 이용한 제품의 생산, 국가간의 무역 등에 있어서는 국제적으로 통합되거나 표준화된 방법에 의한 측정이 상호 인정 시스템의 기본이라 할 수 있다. 따라서, 측정방법의 표준화는 연구, 조사, 생산 등 다양한 분야에서 반드시 이루어져야만 하는 분야라 할 수 있다. 특히, 화학물질의 함량조사, 잔류량 조사는 제품의 생산, 식품이나 환경 중 설정된 잔류물질 허용기준 등에 근거한 검사나 조사 등 많은 분야에 적용되는 분석화학을 바탕으로 한 정량분석 과정이다. 정량분석의 경우 일반적으로 정성분석이 선행되거나 병행되어 이루어지며 그 중요한 핵심은 정확도(accuracy) 및 정밀도(precision)에 있다. 정성 및 정량 분석의 시작은 항상 검량 및 표준화에서 출발하는데 예로, 분석기기를 이용한 정성 분석을 위해서도 반드시 필요한 것이 기기에 대한 검량 내지 검정이며, 이러한 과정이 수반되지 않은 정성분석 또한 잘못된 분석 결과를 초래할 수 있다. 특히, 정량 분석의 경우 일반적으로 분석기기 자체에 대한 검량 및 검정은 분석 전 실시하지 않는 경우가 많고, 분석과정의 개시단계에서 분석코자 하는 대상물질(target analyte)을 중심으로 기기를 이용한 검량선(calibration curve) 혹은 표준곡선(standard calibration)을 작성함으로써 시작된다. 본 총설은 분석의 첫 단계인 검량선 작성에 있어 관련 연구자들이 과학적으로 인정할 만한 표준화된 방법으로 서로의 분석 결과를 공유할 수 있으면 하는 취지에서 작성된 것이다. 총설에 인용된 자료는 국내의 관련 화학전문서적, 논문 그리고

ISO 간행물 및 보고서로써, 원문의 용어를 옮기는 과정에서 발생할 수 있는 오류를 줄이기 위해 달리 표현한 용어는 병기하거나 원어를 그대로 표기하였다.

### 본 론

ISO(International Organization for Standardization: 국제표준화기구)는 상품 및 서비스의 국제적 교환을 촉진하고, 지적·과학적·기술적·경제적 분야에서의 협력 증진을 위해 세계 공통의 표준 개발을 목적으로 1947년에 설립된 기구이다. 현재 세계 140여 개국이 회원으로 가입하여 약 13,500여 종의 표준을 보유하고 있다. ISO 내 일련의 국제표준 설정작업들은 ISO 기술위원회(technical committee)를 통하여 이루어지며, ISO council의 승인을 위해 국제표준에 대한 초안이 기술위원회에 의해 작성되면 정회원(일반적으로 회원국의 국가표준기관)에게 배부되고, 회원국투표의 최소 75%의 승인 과정 후 국제표준화가 되는 것이다. 우리나라는 (前)공업진흥청 표준국이 KBS(Korean Bureau of Standards) 라는 명칭으로 우리나라를 대표하여 1963년 ISO에 Member body로 최초 가입하였으며, 정부조직개편에 따라 1997년 국립기술품질원(KNITQ: Korean National Institute of Technology and Quality)으로 회원기관 명칭 변경 신청을 하였고, 1999년 이후로는 기술표준원(KATS: Korean Agency for Technology and Standards)이 정회원으로 활동하고 있다. ISO의 업무 수행 내용은 표준 및 관련 활동의 세계적인 조화를 촉진시키기 위한 조치를 취하며, 국제규격을 개발·발간하고 이 규격들이 세계적으로 사용되도록 조치를 취한다. 한편, 회원기관 및 기술위원회의 작업에 관한 정보교환 주선, 관련 문제에 관심을 갖는 다른 국제기구와 협력, 특히 이들이 요청하는 경우, 표준화 사업에 관한 연구를 통하여 타 국제기구와 협력한다. 따라서 ISO의 목적과 업무내용 그리고 최근 IUPAC/ISO/AOAC International/EURACHEM 과의 통합 지

\*연락처

Phone: 82-31-467-1982; Fax: 82-31-467-1897

E-mail: jinwook@nvrqs.go.kr

침서 발간 등의 국제적 조류를 고려할 때, 우선적인 국제표준으로서 ISO를 준수하는 것은 매우 중요하다 할 수 있다.

검량선의 작성과 관련하여 ISO에서 발간된 ISO 8466 Water quality-calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics<sup>1)</sup>에서는 모두 4 부분으로 검량선의 작성과 이와 관련한 검출한계(limit of detection), 정량한계(limit of determination)등에 관해 아래의 제목으로 기술하고 있다.

-Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function

-Part 2: Calibration strategy for non-linear calibration functions

-Part 3: Method of standard addition

-Part 4: Estimation of limit of detection and limit of determination of an analytical basis method

검량선의 작성은 다양한 매체 내 대상물질을 분석할 때 검출농도를 계산케 하는 단순한 계산식에 머무는 것이 아니라, 분석의 정확도, 정밀도 그리고, 분석 가능한 범위를 제시해 주는 매우 중요한 역할을 하는 것이다. ISO 8466의 각 제목에서 알 수 있듯이 검량선의 작성은 수학적, 통계학적 지식에 근거하는 것으로 실제로는 일반적인 대학 교과 과정 중에 배우게 되는 내용과 차이가 있으며, 검량선 작성을 위한 고려사항을 아래와 같이 요약하였다.

1. 검량선 작성을 위한 최저 농도와 최고 농도의 설정
2. 검량선 작성에 이용된 농도의 구배 조건 및 농도수(예: 1, 3, 5, 7, 9 ppm, 최소 5 point calibration)
3. 농도 별 반복수와 편차(예: 1 ppm 3회 측정, Standard deviation, mean 등)
4. 선형회귀(Linear regression)에 있어 신뢰구간 적용( $r$ ,  $r^2$ , adjusted  $r$ )

1의 경우 검량선 작성을 위한 최저농도는 기기상의 검출한계(Instrumental detection limit: IDL)와 관련한 것으로 이는 실제 시료 분석에 있어 최저 정량한계를 설정하기 위한 계산에 이용된다. 아울러 최고 농도가 설정되면 실제 분석에 있어서의 작업범위(working range)를 설정할 수 있는데 ISO는 작업범위(working range of an analytical method)는 최저량(혹은 농도)과 최고량 사이에서 실험적, 통계적으로 입증된 구간이며, 작업범위 내 가능한 최저 농도가 분석방법의 검출한계(the limit of detection of an analytical method)라고 정의하고 있다. 따라서 작업범위의 설정은 검량선의 이용 목적(the practice-related objective of the calibration), 기술적 현실성이 있는 타당성(feasibilities of technical realizability) 등에 달려있다. 검량선의 작성시 아래의 사항을 제시하고 있다.

- ① 실제 분석시료 중 가장 검출빈도가 높게 나올 것으로 예상되는 측정값의 농도가 작업범위의 중앙에 있어야 하며,
- ② 측정값은 농도와 선형관계(linearly correlation)에 있을 것
- ③ 작업범위의 낮은 한계치 근처에서 측정된 값은 분석의 공시험(blank of method) 과 구분되어야 하고,
- ④ 따라서, 작업범위의 낮은 한계치(the lower limit of the working range)는 분석 법의 검출한계(the limit of

detection of the method)와 같거나 훨씬 커야되며, 회석이나 농축 단계가 분석 중 치우치는 위험요소(risk of bias)를 없앨 수 있다

- ⑤ 반면, 측정값의 분산(variance)은 농도와 독립적이어야 하며, 선형에 대한 통계적 검정을 통해 입증되어야 한다.

2와 관련하여 예비 작업 범위 설정 후, ① 최소한 5 표준시료를 측정(권고는 10 시료,  $N=10$ )하고 ② 이들 각 표준시료의 농도는 작업 범위 내에서 등거리로 분포해야만 한다고 기술하고 있다.

3과 관련하여 ① 분산의 균질성을 조사하기 위해서 작업범위에서 최저와 최고 농도에 대해 각각 10 반복 정량하고, 각 농도별 10개의 결과가 도출되어야 한다. ② 검량선을 작성하기 위해 분산의 균질성 검정, 직선성 검정의 수순을 거친 후 회귀식을 구하고, 분석방법의 표준편차(standard deviation; SD)와 변이계수(coefficient of variation, coefficient of variability; CV)를 구함으로써 분석법의 특징을 통계적으로 나타낼 수 있다고 기술하고 있다.

이상의 언급내용을 Table 1에 나타낸 Nitrite( $\text{NO}_2$ )의 분광분석법에 의한 정량의 예로 풀어보자.

$i$ 는 10개 농도 수준으로 농도수( $N$ )=10이다.

각  $i$  번째 농도를  $x_i(\text{mg/l})$ 라 하고 이때 측정된 각 농도의 측정값을  $Y_i$ 라 할 때 최저와 최고 농도는 각 10회씩 측정하므로 이때의 측정값들은  $Y_{i,1}, Y_{i,2}, \dots, Y_{i,10}$ 이 된다.

**등분산성 검정(Test for homogeneity of the variances).** 먼저 등분산성 검정을 위해 최저와 최고 농도의 10회 측정값에 대한 분산( $S_i^2$ )을 계산한다. 계산된 최저농도의 분산은  $4.6 \times 10^{-6}$ , 최고농도는  $13.56 \times 10^{-6}$ 으로 이들 분산값에 대한 작업영역 한계내에서 통계적 유의성은 F-distribution(Fisher-Snedecor)를 통해 다시 검정한다.

이때의 검정값을 PG라 하며, 아래의 식에 따라 계산한다.

$$PG = \frac{S_{10}^2}{S_1^2} \quad \text{for } S_{10}^2 > S_1^2 \quad (1)$$

$$PG = \frac{S_1^2}{S_{10}^2} \quad \text{for } S_1^2 > S_{10}^2 \quad (2)$$

위의 경우  $S_{10}^2 > S_1^2$ 이므로  $PG = 13.56 \times 10^{-6} / 4.67 \times 10^{-6} = 2.9$ 가 된다. F-distribution를 통한 유의성검정은 분산  $S_1^2$ 과  $S_{10}^2$ 의 자유도  $F(f_1, f_2, 1-\alpha)$ 로  $f_1 = f_2 = n-1 = 9$ 로써  $F(9,9;0.99)$ 는 F 분포표의 1% 점(F table for  $\alpha=0.01$ )인 값 5.35가 된다.

결론적으로  $PG = 2.9, F(9, 9; 0.99) = 5.35$ 로써 이때  $PG < F(f_1, f_2, 0.99)$  이면 각 분산  $S_1^2$ 과  $S_2^2$  사이의 차이는 유의성이 없으며, 반대이면 유의성이 있는 것이다. 만약 분산간의 차가 유의성이 있다면 분산간의 차이가 무작위(random)가 될 때까지 예비로 작업 범위를 더 작게 만들어야만 된다. 위의 표에서 얻어진 PG는  $F(f_1, f_2, 0.99)$ 보다 작은 즉, 유의성이 없는 것이며 이는 등분산성이 있으며, 등분산성이 있어야 만이 단순한 회귀(regression)가 이루어질 수 있다.

**직선성 검정(Testing linearity).** Table 1의 data로부터 비선

Table 1. Data sheet for the calibration and analysis of variance

<i>i</i>	$x_i$ (mg/l)	$Y_{i,1}$	$Y_{i,2}$	$Y_{i,3}$	$Y_{i,4}$	$Y_{i,5}$	$Y_{i,6}$	$Y_{i,7}$	$Y_{i,8}$	$Y_{i,9}$	$Y_{i,10}$
1	0.05	0.140	0.143	0.143	0.146	0.144	0.145	0.144	0.146	0.145	0.148
2	0.10	0.281									
3	0.15	0.405									
4	0.20	0.535									
5	0.25	0.662									
6	0.30	0.789									
7	0.35	0.961									
8	0.40	1.058									
9	0.45	1.173									
10=N	0.50	1.303	1.302	1.300	1.304	1.300	1.296	1.295	1.301	1.296	1.306
Mean	0.275	0.726									

<i>i</i>	$x_i$ (mg/l)	$Y_{i,1}$	$Y_{i,2}$	$Y_{i,3}$	$Y_{i,4}$	$Y_{i,5}$	$Y_{i,6}$	$Y_{i,7}$	$Y_{i,8}$	$Y_{i,9}$	$Y_{i,10}$	$S_i^2$ (mg <sup>2</sup> /l <sup>2</sup> )
1	0.05	0.140	0.143	0.143	0.146	0.144	0.145	0.144	0.146	0.145	0.148	$4.67 \cdot 10^{-6}$
10	0.50	1.303	1.302	1.300	1.304	1.300	1.296	1.295	1.301	1.296	1.306	$13.56 \cdot 10^{-6}$

회귀식을 이용  $y = 0.0135 + 2.62x - 0.0818x^2$ 의 2차식을 구하고, 선형회귀식에 의해  $y = 0.018 + 2.5752x$ 의 1차 식이 구해졌을 때 비선형과 선형의 residual standard deviation이 같으면 분산차(difference of variance;  $DS^2$ )를 구할 필요가 없다. 이는 비선형함수가 적합하지 않다는 결론이며, 이로써 직선성이 검증되는 것이다. 이때, 비선형과 선형 함수에서 구해진 각각의 residual의 표준편차는 비선형( $S_{y_2}$ )=0.0052(0.00523) mg/l, 선형( $S_{y_1}$ )=0.0052(0.00517) mg/l이다. residual의 표준편차( $S_y = \sqrt{(\sum(y_i - \hat{y}_i)^2 / N - 2)}$ ;  $\hat{y}_i$ : 회귀식을 통해 x 농도일 때 구해진 y값)는 예상값의 정밀도를 나타내는 것으로 측정값들의 분산도에 대한 척도가 된다. 검량선 작성을 위한 회귀식은 반드시 작업범위( $x_1 \sim x_{10}$ )내 측정값으로부터 산출하며, 보정하지 않는다. 즉, 일반적으로 공시험값(blank value, concentration  $x = 0$ )은 검량실험 및 최소자승법(least-square fit)에 포함시키지 않는다.

**분석법의 검량과 특성(Calibration and characteristics of the method).** 직선성 검증의 과정으로 Table 1에 대한 검량은  $y = 0.018 + 2.5752x$ 의 직선식이 산출되었다.

$$y = a + bx \tag{3}$$

(3)의 1차 회귀식에서 y는 엄밀하게 분석시료의 측정값(measured value)라기 보다는 계산값(information value)이며, 세로 절편인 a는 계산된 공시험값(calculated blank), 기울기 b는 회귀상수로써 분석법의 민감도(sensitivity)를 의미한다. 분석법의 또 다른 통계적 유의성 검정을 위해 분석법에 대한 표준편차( $S_{x_0}$ )를 회귀식과 residual의 표준편차를 이용하여 (4)의 식으로 계산할 수 있다.

분석법의 표준편차( $S_{x_0}$ ) = residual 표준편차( $S_y$ )/회귀식의 기울기 (b) (4)

즉,  $S_{x_0} = 0.0052 / 2.5752 = 0.00207$ 가 되고, 백분율로 표현되

는 분석법의 변이계수(coefficient of variation of the method;  $V_{x_0}$ ) 또한 (4)에서 구해진  $S_{x_0}$ 와  $X_i$ 의 평균을 이용하여 (5)의 식으로 구할 수 있다.

$$V_{x_0} = S_{x_0} / \text{mean of } X_i \times 100 \tag{5}$$

즉,  $V_{x_0}$ 는  $0.00207 \times 100 / 0.275 = 0.73\%$ 로 분석을 위한 작업범위설정 및 측정값 등을 통해 매우 안정적이고 유의성 있는 분석법임이 확인되는 것이다.

**값 구하기(Evaluation)**

**단일정량.** Table 1을 토대로 작성된 검량선을 이용하여 동일표준물질과 분석방법으로 얻은 미지 시료의 y 값(information value)이 0.641이라 할 때, 농도 x값은 분석오차(측정값 정량오차의 불확도와 회귀상수 예측의 불확도의 조합)를 고려해야 한다. 즉, 참값 y에 대한 신뢰구간과 각 x값은 검량선을 묶는 두 개의 쌍곡선 위에 있다 할 수 있다(Fig. 1). 검량선의 회귀식에 의해 계산된 분석결과의 신뢰구간은 Fig. 1에 나타난 것처럼 각 쌍곡선의 교차로부터 구할 수 있는데, 이때의 신뢰구간은 (6)의 식에 의해 구할 수 있으며, 유의성의 수준은 95%로써 Student's t-factor ( $\alpha(f; N-2)$ , confidence level =  $1 - \alpha$ )에 의해 구한다. 따라서 95%,  $t(8; 0.95) = 2.31$ 이다.

$$x = \frac{y - a}{b} \pm S_{x_0} \times t \left[ \frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(y - \text{mean of } y)^2}{b^2 \times \sum_{i=1}^N (x_i - \text{mean of } x)^2} \right] \tag{6}$$

n의 경우 단일정량이므로 반복수가 없어 1이 되며, 농도구간이 10이므로 N=10이다. (6)의 식을 말로 표현하면,

$$\text{농도 } x = \frac{\text{information value } y - \text{회귀식의 절편 } a}{\text{회귀식의 기울기 } b} \pm$$

(6)

$$\left( \text{분석법의 표준편차 } S_m \times \text{Student's } t \text{ factor}(95\%, t(8;0.95)) \sqrt{\frac{1}{\text{농도수 } N} + \frac{1}{\text{분석시료수 } n} + \frac{(\text{information value } y - \text{전체 } y_i \text{ 값의 평균})^2}{\text{회귀식의 기울기 } b^2 \times \sum_{i=1}^n (x_i - \text{의 평균})^2}} \right)$$

$$= \frac{0.641 - 0.018}{2.575} \pm \left( 0.002 \ 0 \times 2.31 \sqrt{\frac{1}{10} + \frac{1}{1} + \frac{(0.641 - 0.726 \ 2)^2}{2.575^2 \times 0.206 \ 25}} \right)$$

즉, 0.242±0.005 mg/l가 되며, 0.95의 신뢰수준을 갖는 실제 농도는 0.237 < x < 0.247 mg/l인 것이다.

**반복분석.** 만약 3반복(three replication) 정량을 실시하여 각 information 값이 0.641, 0.631, 0.633이면, (6)식의 information value y는 3반복의 평균인 0.635, 그리고 n=3으로 설정하여 계산하고, 역시 0.95의 신뢰수준 내에서 농도의 참값은 0.240 0.003 mg/l 즉, 0.237 < x < 0.243 mg/l이다.

ISO에서 규정하는 1차 선형회귀식 검량선의 작성은 일반적인 선형회귀의 신뢰구간적용인 r, r<sup>2</sup> 또는 adjusted r을 이용하지 않으며, 95%의 신뢰구간을 적용하는 것을 기본 원칙으로 한다.

한편, 1996년 공업진흥청(2003년 현재 산업자원부) 당시 본 ISO 자료를 번역하여 한국산업규격 수질-분석방법의 검정 및 평가와 성능 특성에 대한 평가(1차 검정 함수의 통계적 평가)란 제목으로 KSM 9122<sup>2)</sup>로 제정하였다. 비록, KSM 9122이 번역과정 중의 용어선택과 정의 등의 개선점이 있지만 이 또한 우리 나라 표준 규격임에는 명백하다.

1978년 American Chemical Society's Committee on Environmental Improvement(CEI)는 Subcommittee on Environmental Analytical Chemistry를 통해 환경분석의 통합적 수준향상을 위한 지침서를 만들도록 하여 1980년 CEI가 "Guidelines for Data Acquisition and Data Quality Evaluation in Environmental Chemistry"를 발표하였다. 이후 1982년 CEI는 새로이 이름이 바뀐 Subcommittee on

Environmental Monitoring and Analysis로 하여금 1980년 간행물을 재정립하도록 하였는데, Keith 등<sup>3)</sup>이 주축이 되어 1983년 "Principles of Environmental Analysis"를 발표하여, 현재에도 미국 내 많은 분석법의 인용문헌으로 이용되고 있다.

이 논문에서 검량선의 작성은 분석물질 농도의 순수한 신호에 대해 적절한 회귀분석을 수행하며, 최소한 3개의 다른 농도로 3반복(triplicate)을 하되, 3농도 이상을 권고(At least three different concentrations of calibration standards should be measured in triplicate, but more than three different concentrations are recommended)하고 있다. 그리고, 검량을 위한 표준물질의 농도는 시료 중 예상되는 분석대상의 농도를 반드시 포함해야 하며, 분석법의 검량관계에서 벗어나는 data는 기록하지 않는다는 정도로만 검량선의 작성지침을 제시할 뿐, blank의 처리, 통계처리의 기본 원칙, 앞서 언급한 검량선 작성을 위한 최저 농도와 최고 농도의 설정, 검량선 작성에 이용된 농도의 구매 조건 등 자세한 지침은 없다.

미국 표준인 ASTM의 Standard Guide for Good Laboratory Practice in Laboratories Engaged in Sampling and Analysis of Water, ASTM D3856-95<sup>4)</sup>에 수록된 검량에 관한 내용을 소개하면 다음과 같다.

각 분석대상물질에 대해 검량선은 분석법 중 작업범위가 다 포함되게 작성하고, 최소 3 point로 한 점은 상한, 한 점은 하한 근처에 있도록 하며 나머지 한 점은 합리적이고 형평이 맞게 분포(reasonably equitable distribution)시켜 구성한다. 검량선 작성에 있어 실제적인 최소 point는 분석범위와 검량선의 형태에 달려 있는데, 예로 넓은 범위 혹은 검량선이 선형이 아닐 경우 5~7 point가 요구된다. 각 표준검량의 측정값(X<sub>Obs</sub>)과 예측값(X<sub>PRED</sub>)의 차이(D; difference)는 D = 측정값(X<sub>Obs</sub>) - 예측값(X<sub>PRED</sub>)로 구한다. 이후, D의 평균 와 각 농도의 표준편차(SD)를 계산한다. 일련의 D 값이 ±3(SD)의 범위에 들지 않으면 재 검량한다. 검량선에 있는 각 검량점들의 절대편차(absolute deviation)에 대한 편차평방화(the sum-of-squares)를 최소화시켜 검량선이 만들어지면 D 값은 절대 단위(absolute unit)가 되나, 백분을 편차를 최소화시키면 D 값은 예측치의 백분을 값이 되는 것이다.

AOAC에서 간행한 Official Method of Analysis<sup>5)</sup>의 서문에는 분광분석에 의한 Table 2의 측정값을 실례를 들며, 최소자승법에 의한 검량선의 작성에 관해 언급하고 있다.

Table 2를 (3)의 식 y = a + bx로써 1차식으로 나타낸 결과 계산된 a값은 0.001, b는 0.0163이나 y = 0.00 + 0.0163x로 나타

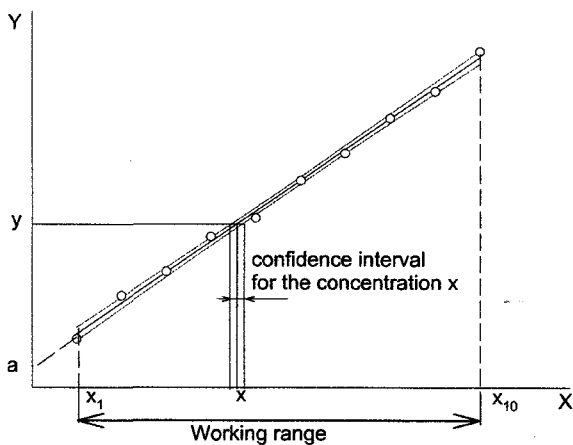


Fig. 1. Working range x<sub>1</sub> to x<sub>10</sub>, calibration line with confidence band a single analytical result with its appertaining confidence interval.

Table 2. Example of some data for calibration curve

Observation	Concn	Absorbance		
No (i)	X <sub>i</sub>	Y <sub>i</sub>	X <sub>i</sub> <sup>2</sup>	X <sub>i</sub> Y <sub>i</sub>
1	80	1.270	6400	101.6
2	60	1.000	3600	60.0
3	40	0.700	1600	28.0
4	30	0.550	900	16.5
5	20	0.250	400	5.0
6	10	0.100	100	1.0
7	0	0.050	0	0.0
Totals; n=7	ΣX <sub>i</sub> =240	ΣY <sub>i</sub> =3.92	ΣX <sub>i</sub> <sup>2</sup> =13,000	Σ(X <sub>i</sub> Y <sub>i</sub> )=212.1

Table 3. Spectrophotometer readings for protein analysis by the Lowry method

Sample (μg)	Absorbance of three independent sample			Range*	Corrected absorbance (after subtracting average blank)		
0	0.099	0.099	0.100	0.001	-0.000 <sub>3</sub>	-0.000 <sub>3</sub>	0.000 <sub>7</sub>
5	0.185	0.187	0.188	0.003	0.085 <sub>7</sub>	0.087 <sub>7</sub>	0.088 <sub>7</sub>
10	0.282	0.272	0.272	0.010	0.182 <sub>7</sub>	0.172 <sub>7</sub>	0.172 <sub>7</sub>
15	0.392	0.345	0.347	0.047	-	0.245 <sub>7</sub>	0.247 <sub>7</sub>
20	0.425	0.425	0.430	0.005	0.325 <sub>7</sub>	0.325 <sub>7</sub>	0.330 <sub>7</sub>
25	0.483	0.488	0.496	0.013	0.383 <sub>7</sub>	0.388 <sub>7</sub>	0.396 <sub>7</sub>

\*Range; Max-Min

내며 Best Equation이라 표현하고 있다.

이는 ISO 8466-1과 같은 맥락의 회귀식 계산은 취하되, 0농도를 취했으며, 농도의 구배 조건이나, 관측수에 대한 기본적인 언급은 없다. 특히, 유효숫자의 반올림(round off) 문제로 a값을 0 처리하였다 하더라도, 이 식은 좌표의 원점(origin)을 지나게 되므로, 검출한계나 정량한계의 설정에 있어 기본적인 문제가 된다 할 수 있다. 더우기 분석법의 신뢰구간에 대한 언급이 없으므로 회귀식의 정밀, 정확도에 대한 검정 또한 어려운 부분이다. 이와 유사한 예를 Daniel C. Harris<sup>6)</sup>가 1997년 발간한 Exploring Chemical Analysis에서 발췌하였는데, Harris는 Table 3의 Lowry법에 의한 단백질 정량을 예로 들었다. 시료가 0 μg일 때 분광광도계의 측정값, 즉 단백질이 없을 때(zero analyte)의 측정값은 분석시약에 의한 영향을 측정하므로 바탕값(blank, reagent blank)이라 하며, 기지량의 분석대상시료가 있는 것을 표준용액(standard solution)이라 정의하고 있다. Table 3의 자료를 이용한 검량선의 작성에 대해 Harris는 3반복의 바탕값에 대한 평균(average)을 구하여 이를 보정하고 (Table 3의 바탕값의 평균은 0.099<sub>3</sub>) 각 농도별 흡광도에 이를 빼줌으로써 역시 보정된 흡광도를 나타낸다. 그리고 각 농도별 최고치와 최저치의 범위를 조사하는데, 15 μg의 경우 그 범위차가 너무 크고, 특히 첫 번째 흡광도는 동일농도의 다른 흡광도에 비해 너무 높기 때문에 “bad data”로써 그 값은 계산에서 제외시킨다. 25 μg의 경우 대략적인 일차식의 검량선에서 다른 농도에 비해 직선 아래에 3개의 보정 흡광도가 위치하므로, 수 차례의 반복을 통해서 이 농도에서의 값(측정값 - 보정값)이 계속 직선 아래에 있다면 정량을 위한 선형범위는 0~20 μg이 된다. 이에 대한 검량선과 회귀식은 최소 자승법으로 구하며, 이때 n = 14이며, y = mx + b의 일차 회귀식에서 y = 0.016 3<sub>0</sub>x +

0.004<sub>7</sub>의 식을 갖는다. (σ<sub>m</sub> = 0.000 2<sub>2</sub>, σ<sub>b</sub> = 0.0026, σ<sub>y</sub> = 0.005<sub>9</sub>). 만약, 미지 시료의 흡광도가 0.373이라 가정할 때의 농도는 0.373의 흡광도에서 평균 바탕값을 빼준 보정 흡광도, 즉 0.373 - 0.099<sub>3</sub> = 0.273<sub>7</sub>이고, 0.273<sub>7</sub> = (0.016 3<sub>0</sub>)x + (0.004<sub>7</sub>) 즉, x = 16.50 μg이 된다.

전술한 ISO의 자료<sup>1)</sup>에서 언급한 residual standard deviation을 Harris는 Standard deviation of vertical deviation(σ<sub>y</sub> ≈ √Σ(y<sub>i</sub> - y)<sup>2</sup>/n-2)라 표현하였는데, 기울기의 표준편차 σ<sub>m</sub> = σ<sub>y</sub>√n/D, 절편의 표준편차를 σ<sub>b</sub> = σ<sub>y</sub>√Σ(x<sub>i</sub><sup>2</sup>)/D라 나타내었다. 이들 각각의 식을 이용하여 Table 3의 검량선에 대한 σ<sub>y</sub> ≈ 0.005<sub>9</sub>, σ<sub>b</sub> = 0.002<sub>6</sub>, σ<sub>m</sub> = 0.000 2<sub>2</sub>이었고, (10)의 식에 따른 x의 불확도(uncertainty)는 ± 0.38로써, 0.373의 흡광도에 대한 실질적인 단백질의 함량은 16.5(± 0.4) μg이 되는 것이다.

$$\text{Standard deviation of vertical deviation} \\ (\sigma_y \approx \sqrt{\Sigma(y_i - y)^2/n-2}) \tag{7}$$

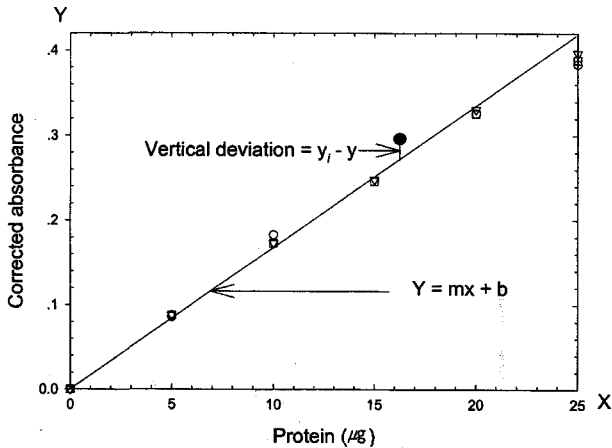
$$\text{Standard deviation of slope} \\ \sigma_m = \sigma_y \sqrt{n/D} \tag{8}$$

$$\text{Standard deviation of intercept} \\ \sigma_b = \sigma_y \sqrt{\Sigma(x_i^2)/D} \tag{9}$$

$$\text{Uncertainty in} \\ x = \sigma_y / |m| \sqrt{1 + x^2n/D + \Sigma(x_i^2)/D - 2x\Sigma x_i/D} \tag{10}$$

|m|: the absolute value of slope

그런데, 저자의 경험으로 미루어 실제로 자외선/가시광선 분광광도계를 사용할 때 겹 빔형(double-beam) 분광광도계는 두 개의 시료 용기 중 하나가 항상 바탕값을 보정하고 있고, 또 홑 빔형(single beam)의 경우에도 검량선의 작성이나 사용 전 항상 기기적으로 바탕값을 보정하므로 바탕값의 흡광도는 항상



Y-Intercept = b = crossing point on y-axis  
 Slope = m =  $\Delta y / \Delta x$  ( $\Delta y = y_2 - y_1$ ,  $\Delta x = x_2 - x_1$ )  
 Least-Squares slope  $m = \frac{n \sum(xiy_i) - \sum xi \sum yi}{D}$   
 Least-Squares Intercept =  $b = \frac{\sum(x^2) \sum y_i - \sum(xiy_i) \sum x_i / D}{D}$   
 Dominator  $D = n \sum(x_i^2) - (\sum x_i)^2$

Fig. 2. Calibration Curve of the Table 3.

zero이며, Table 3과 같은 흡광도의 보정이 불필요하다는 것이다.

아울러, AOAC<sup>9)</sup>와 Harris<sup>6)</sup>의 경우 공통되는 부분이 있다면, AOAC는 바탕값의 보정이 없지만 유효숫자를 고려하여 검량선이 좌표의 원점을 지나고, Harris의 경우는 바탕값을 보정하므로써 회귀식은 원점을 지나지 않지만 좌표 상에서는 실제로 "0"에서 출발하는 경우가 된다는 것이다. 두 경우 모두, 실질적인 분석의 문제에 있어 기기상의 검출한계나, 분석법에 있어 정량한계를 언급해주는데 또 다른 문제를 파생시킬 수 있다는 점이다.

Harris의 저서 만큼 국내에서도 대학교재로 많이 이용되는 Skoog 등<sup>7)</sup>의 Principles of Instrumental Analysis(1998년 5판)에서는 검량선 작성 때 최소자승법을 그대로 이용하는데, Harris와 같이 blank 보정에 대해 언급하고 있으나, 원점을 지나는 그래프는 보여주지 않고 있다.

Meier와 Zund<sup>8)</sup>는 그들의 저서인 Statistical Methods in Analytical Chemistry에서 선형회귀에 관해 설명하면서, 오랜 세월이 걸쳐 회귀곡선이 원점을 통과해야 하는지에 대한 논란이 있어 왔음을 언급하고 있는데, Table 4를 예로 들어 회귀식을 구하고 다음과 같이 설명하고 있다.

Table 4의 측정값을 1차 회귀식( $y = a + bx$ )으로 계산하면, 기울기는  $0.004144 \pm 0.000046$ (mean b,  $\pm SD S_b$ )이고, Student's t 검정에 의한 자유도는 3이므로  $p = 0.05$ , 신뢰한계(confidence limit)는 0.00400, 0.00429, 그리고, 신뢰구간(confidence interval)은 0.00029이다. 반면 상대신뢰구간(relative confidence interval;  $\pm 100 \cdot t \cdot S_b/b$ )을 고려하면  $b = 0.00414 \pm 3.5\%$ 이다. 같은 방법으로 절편 a값을 계산한다면,  $a = 0.014 \pm 111\%$ 로써, 절편값이 zero와 큰 차이가 없으므로  $a \equiv 0$ ,  $b = \bar{y}/\bar{x}$ 가 되므로, 회귀식에 따른 직선식은 원점을 강제적으로 지나게 함으로써 논쟁을 불러 일으킬 수 있다. 반면, 순수한 과학적 관점에서 볼 때, 실제 residual에 대한 편차가 늘어나기 때문에  $X(y^*)$ 나  $Y(x)$ 를 정확히 예측할 수 없게 된다.

Table 4. Calibration measurements

x=50%	y=0.220 AU
75	0.325
100	0.428
125	0.537
150	0.362

Degree of freedom: n=5, thus f=n-2=3	Critical Student's t: t(f=3, p=0.05)=3.1824
---	--

x: the calibration(or standard) sample's concentration in percent of product's nominal concentration  
 y: the measured absorbance, and AU refers to absorbance units.  
 $V_{res}$ : residual variance  
 $y^*$ : mean of several  $y^*k$ ,  $K = 1 \cdot \dots \cdot m$ ,  $y^* = (\sum y^*k)/m$   
 Y: expected signal value (at given x)  
 X: estimated concentration for mean signal  $y^*$

검량선의 원점 통과(passing through the origin)에 대해 2001년 Synek<sup>9)</sup>는 원자흡광분광광도계 실험의 예를 통계학적으로 처리하고, 여러 종류의 오차가 있어 원점 통과 검량선의 사용이 문제점이 있음을 지적하였으며, Meier와 Zund<sup>8)</sup> 또한 인용문헌을 통해 Strong(1979년) 등에 의해 오래 전부터 원점 통과는 논란의 대상이었음을 기술하고 있다. Levie 등<sup>11)</sup>은 2000년 최소 자승법에 의한 선형적용의 충설을 통해 실험적 변동이 없다면(in the absence of experimental fluctuation) 식은  $y = ax$ 가 되며, data는 원점을 통과하는 직선 위에 놓일 수 있다고 간략히 설명하여 원점통과의 긍정적 시각을 나타내었다.

아울러, 회귀식의 선형도에 대한 측도로 자주 등장하는 r(correlation coefficient)과  $r^2$ (coefficient of determination)의 선택 표기 또한 고려할 내용이다. 즉 어떤 상황에서 r 또는  $r^2$ 로 표현하는 것이 타당한지에 대한 과학적 논의도 계속되고 있다. Levie<sup>11)</sup>는 최소 자승법에서 r이 linear correlation coefficient로 종종 잘못 적용되고 있음을 지적하고 있고, Meier와 Zund<sup>8)</sup>도 r은 하나의 파라미터와 다른 것을 비교할 때 사용하는 것이며, 예로, IQ test에서 독해 기술과 수학적 소질과의 관계 같은 평행정도(degree of parallelism)를 나타낼 때, 혹은 원인과 결과간의 상관성을 확인할 때 이용하는 것이지 검량선의 작성에 있어 r은 과거의 유물로 재검토되어야만 한다고 언급하고 있다. 특히, 현대 고정밀도의 기기분석에서 r이 0.999보다 큰 값이 보통이며, 덧붙여 말하기를 컴퓨터소프트웨어를 통해 계산된  $r^2$ 의 유효숫자가 소수점 두 자리나 세 자리의 한계를 갖는 수치적 정밀도 또한 부조리가 있으며, 4자리나 5자리 수에 대한 느낌의 차이를 갖는 것도 사실상 어렵다는 것이다. 그런데, Meier와 Zund는 측정의 적합도(goodness-of-fit)의 표현에 대해 화학자들이 기기 분석과 직접 비교할 수 있고, 단위가 있는 residual standard deviation을 사용하는 것을 제안하면서도 예를 든 1차 회귀식에서 최종적으로는  $r^2$ 를 표현하였다. 2000년 Rong<sup>11)</sup>은 환경 중 검출 농도들에 대한 분석 시 통계학적 방법과 문제점들을 지적하면서 r 보다  $r^2$ 의 사용을 선형 적합도를 평가하는 지표로서 이용함이 일반적임을 언급하였다. 2002년 Loco 등<sup>12)</sup>도 실험을 통해 비록  $r > 0.997$ 을 얻었어도 표준곡선을 작성할 때 선형도의 지표로써 r을 사용하는 것은 부적합하다 하였다. 그 이유는 선형회귀모델로 회수를 시험을 계산한 결과 실험치

에서 항상 4% 이상의 값을 도출했고, Lack-of-fit이나 Mandel's fitting test에서 95%의 신뢰구간 값을 버리게 되는 결과를 낳고, 동일 data를 linear 와 quadratic으로 예측 시 확인한 값 차이가 나는것을 확인함으로써 r의 부적합에 대해 설명하였다.

국제식품규격위원회(CODEX)<sup>13)</sup>는 2002년 헝가리 부다페스트에서 개최된 회의에서 식품분석과 시료채취방법에 대한 논의 결과를 보고하였다. 다음은 논의된 내용을 토대로 분석법 인정 평가를 위해 제안한 지침서 초안의 내용 중 검량선과 관련한 내용을 발췌한 것이다.

선형도(linearity)의 정의 중, 선형의 한계(Linearity limit)는 일반적으로 1%에 상응하는 유의성을 갖는 선형검량모델(linear calibration model) 내의 실험적 한계농도이며, 농도구간의 하위 값이 검출한계(limits of detection)/정량한계(limit of quantitation)의 값이 되고, 일반적으로 선형 점검을 위해 최소 10농도 값이 요구된다. 당일 차원(day-to-day basis)의 분석법을 사용할 때는 검량의 정도가 요구되며, 작업범위와 선형범위의 평가가 검량 정도 측정을 위한 계획 수립에 유용하다. 선형 범위 내에서 작업범위의 편차를 확인하는 것은 바람직한데, 검량선의 기울기 설정을 위해 one point calibration만으로도 충분하다. 작업범위에서 벗어나면 multi-point (6+) calibration이 필요하다.

최근 CODEX에서는 분석법에 대한 정도관리와 Data관리, 상호 인정을 위한 기본 criteria설정 등에 있어 IUPAC에서 제시한 Harmonized Guideline을 표방하는 움직임이 빠르다. 특히, 회수율(recovery)의 경우, 분석결과 제출 때 파생되는 회수율의 보정 문제와 관련하여 IUPAC이 1999년 Technical report<sup>14)</sup>로 제시한 내용을 다수 채택하고 2001년 방침을 발표하였다. 이러한 CODEX의 움직임이 있으므로 검량선의 작성과 연관한 IUPAC의 2002년 Technical Report<sup>15)</sup>의 초고를 발췌하였다.

① 검량(calibration) 또는 표준곡선(standard curve)은 분석대상(analyte)이나 측정대상의 양에 대해 측정 신호를 그래프로 나타내 주는 것이다. 그래프의 구성은 y축에 신호(signal)를 x축은 기저 농도 또는 관련된 파라미터로 설정하여, 곡선이 선형관계이거나, 이를 대처하는 형식 예로, quadratic 또는 cubic으로 평가할 수 있게 그려야 한다. 그리고, 검량 좌표의 보정된 형식과 이를 설명할 수 있는 수학적도 확인 되어야만 한다.

② 농도에 대한 반응을 명확히 하기 위해서는 충분한 수의 표준용액이 필요하며, 이때 용액의 수는 농도 범위와 검량선의 형태에 맞게 요구된다.

③ 표준 시료(reference sample)나 바탕 시료(blank sample)에 분석대상을 첨가하여 정량해야 한다.

④ 용매나 분석대상시료(matrix)의 감응도 비교해야만 한다.

⑤ 표준물질을 용매에 조제한 경우 표준검량으로부터의 분석대상(analyte)물질의 감응과 시료추출물 중 분석대상물질이 동일일 경우에만 검량선이 유효하다.

⑥ 검량표준은 무작위순(random order)으로, 동일조건 내에서 이루어져야하고, 동일 조건은 그 후 시료분석의 경우에도 이용되어야 한다.

⑦ 검량선 작성과 연관한 random error는 검량 측정의 반복 수행을 통해 줄일 수가 있다. 농도 수준들의 간격(농도 구배)

과 반복은 정밀도를 좌우하는 것으로 전 범위에 걸친 검도가 필요하다. 종종 분산된 농도 구배가 적절한데, 시료분석을 위해서는 농도 범위가 최소한 예상분석 결과의 0~150%를 포함할 수 있어야 한다.

⑧ 검량선이 설정되면, 시험물질 중 분석대상에 대한 계산은 그래프를 통해 계산(interpolation)하며, 검량선 위나 아래 농도에 대한 외삽(extrapolation)은 표준물질 첨가법에 의한 "zero" 농도를 제외하고는 허용되지 않는다.

⑨ 선형 검량선의 작성을 위해 최소한 5 표준농도(zero는 제외)가 필요하고, 선형 범위 내에서 정밀도(precision)와 참값측정(trueness)을 고려한 필요조건으로 5 표준농도 미만(<5)도 검량 목적에 이용될 수 있다.

⑩ 만약 검량이 연구과정 중의 시간변화에도 변화가 없다면, 하나의 표준농도 또한 정량을 위한 목적으로 허용될 수 있는데, 첫째 조건은 무엇보다 감응선형도(linearity of response)의 설정이다.  $y = mx$ 의 식을 갖는 하나의 표준농도를 이용한 검량의 경우 회귀선의 신뢰구간이 분석목적에 부합되는 정밀도를 만족시킬 만 하다면 유효한 것으로 본다. 대신, 시료용액 중 예상되는 농도에 근접한 농도가 선택되어야 하는 한계성이 있다.

⑪ r(correlation coefficient) 또는  $r^2$ (coefficient of determination)는 선형모델의 적합도 결정에 이용될 수 없으나, 기술한다. r의 인용 뿐 아니라 선형 검량 함수의 기술(description)은 회귀선의 y 절편과 기울기의 신뢰구간에 대한 언급 없이는 불완전한 것이다. 회귀분석을 실시할 때 평균값(averaged data)이 아닌 모든 data 값을 이용해야 한다.

⑫ 비선형 곡선에는 보통 >5의 표준용액이 필요하며, 적절한 농도 범위 내에서 표준곡선은 비선형 감응함수를 정확히 측정할 수 있는 충분한 농도(point)위에서 작성한다.

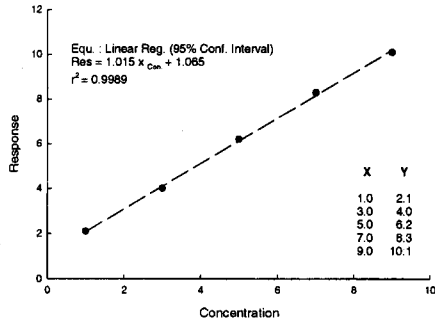
⑬ 둘 이상의 독립변수가 종속변수에 영향을 미칠 때는 다변량회귀식(multi-variate linear regression)도 이용한다.

## 결 론

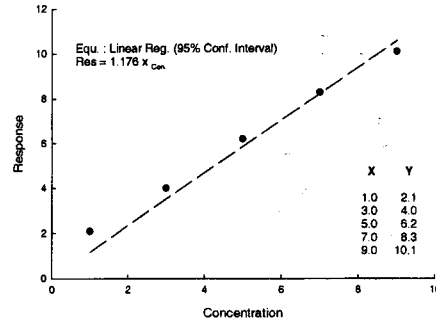
ISO, ACS, ASTM, AOAC, CODEX, IUPAC 및 관련서적과 연구논문을 통해 검량선 작성의 여러 지침과 실례 등을 살펴본다. 일반적으로 분석결과(the result)를 표현할 때 오차사다리(ladder of errors)로 표현한다. 분석결과는 결국 실험적, 통계적 처리에 의한 결과와 오차의 조합이라 할 수 있다.

<p>the result = the true value                  + the method bias                  + the laboratory bias                  + the run effect                  + the repeatability error</p>
---

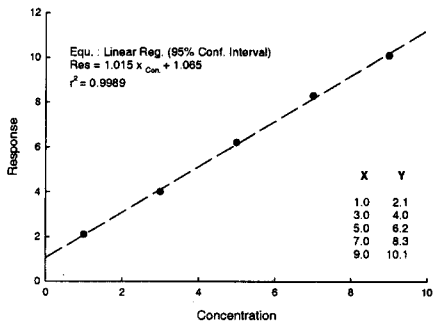
대부분의 분석화학자나 분석업무 종사자들의 경우 동일 분석대상 화합물이라 할지라도 대상시료(matrix)의 다양성으로 인해 명쾌한 분석 해결책이 항상 있는 것은 아니므로 분석을 위한 실험법(측정방법 및 전처리 등)에 많은 연구와 노력을 하고 있다. 그런데, 실험법 개발을 통한 결과물이 과학적 검증(scientific



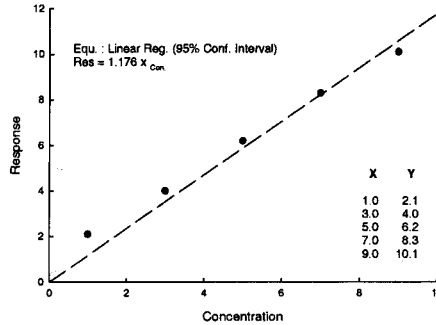
**A: Not passing through the origin**



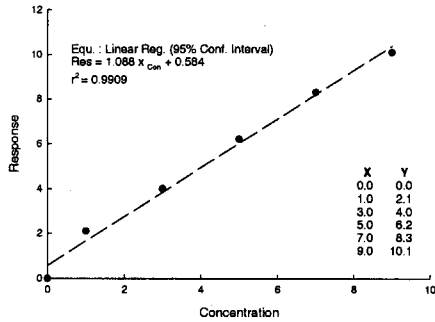
**B: Passing through the origin**



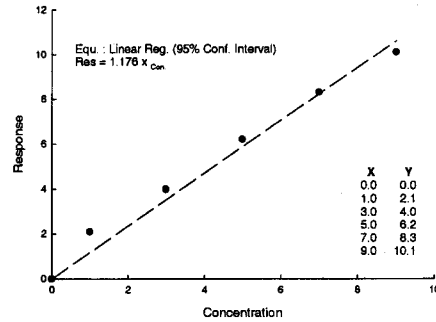
**a: Not passing through the origin, extend to axes**



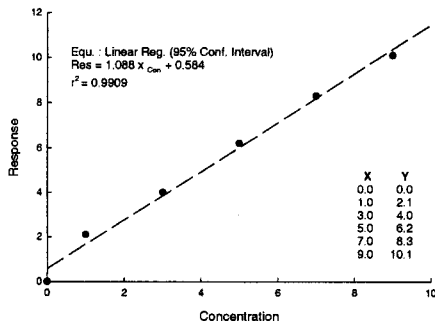
**b: Passing through the origin, extend to axes**



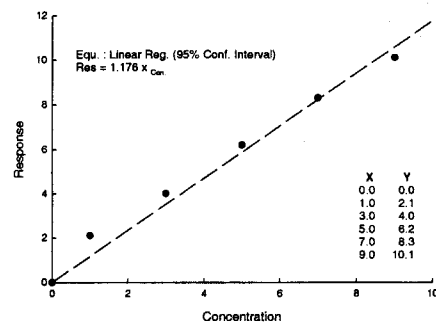
**C: Not passing through the origin**



**D: Passing through the origin**



**c: Not passing through the origin, extend to axes**



**d: Passing through the origin, extend to axes**

**Fig. 3. Pitfall of calibration curve in the same experimental data.**

validation)이 없을 경우, 공정시험법이나 인정할 만한 분석방법으로써 자리 잡지 못하게 된다. 특히, 분석법 자체에 대한 기초적인 필요조건들 applicability, selectivity, calibration and

linearity, trueness, precision, recovery, range, detection limit, limit of determination or limit of quantification, sensitivity, ruggedness, fitness for purpose, matrix variation, measurement



uncertainty 등에 대한 기본적 criteria의 인식과 통합된 자리 매김이 없는 현 상황의 연구결과물은 타 기관 또는 타 연구자가 나름대로 과학적 근거를 제시한 것이라 할지라도, 또 다른 분석자에게는 혼란을 주는 것이다. 그 예로 A라는 분석기관이 동일분석대상에 대한 결과를 제출할 때 대상 기관이 다를 경우 각기 다른 criteria를 준수하여 다른 data를 제시해 줄 수도 있다. 그리고, 동일 실험에 대해 Fig. 3과 같은 8개의 서로 다른 검량선을 제시할 수 도 있다. 따라서, 분석 결과에 따른 적부 판정과 그 분석 결과 자체에 대한 가부판정 등 분석자는 물론 분석기관의 신뢰성과 연관된 극단적인 상황이 발생할 경우 국가 내 동일목적에 위한 분석업무 수행의 기본 지침이 없는 한 이러한 논쟁은 끝임 없이 발생할 수 밖에 없으며, 나아가 국가간의 조화를 이루지 못한다면 국가간의 논쟁 또한 당연하다 할 수 있다.

### 참고문헌

1. International Organization for Standardization (1990) ISO 8466-1 Water quality-calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function. Geneva.
2. Korean Standards Association (1996) KSM 9122 UDC 543.3:53.088 Water quality-calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics: Statistical evaluation of the linear calibration function. Korea.
3. Keith, L. H., Libby, R. A., Crummett, W., Taylor, J. K., Deegan Jr., J. and Wentler, G. (1983) Principles of environmental analysis. *Anal. Chem.* **55**, 2210-2218.
4. American Society for Testing and Materials (1995) ASTM D3856-95 Standard guide for good laboratory practice in laboratories engaged in sampling and analysis of water. Philadelphia, PA.
5. Association of Official Analytical Chemists (1995) In *Official methods of analysis* vol. 1, Agricultural chemicals; contaminants; drugs; Definition of terms and explanatory notes (16th ed.) AOAC International, Arlington, Virginia.
6. Harris, D. C. (1997) In *Exploring chemical analysis: Statistics*, W.H. Freeman and Company, New York, pp. 66-68.
7. Skoog, D. A., Holler, F. J. and Nieman, T. A. (1998) In *Principles of instrumental analysis* (5th ed.) Thomson Learning, USA. pp. 15-17, 696, A-18.
8. Meier, C. P. and Zund, R. E. (2000) In *Statistical methods in analytical chemistry* (2nd ed.) John Wiley and Sons, New York.
9. Synek, V. (2001) Calibration lines passing through the origin with errors in both axes. *Accred Qual. Assur.* **6**, 360-367.
10. de Levie, R. (2000) Curve fitting with least squares. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **30**, 59-74.
11. Rong, Y. (2000) Statistical methods and pitfalls in environmental data analysis. *Environmental Forensics* **1**, 213-220.
12. Loco, J. V., Elskens, M., Croux, C. and Beernaert, H. (2002) Linearity of calibration curve: use and misuse of the correlation coefficient. *Accred Qual. Assur.* **7**, 281-285.
13. FAO/WHO Codex Alimentarius Commission (2002) In *Report of the twenty-fourth session of the codex committee on the methods of analysis and sampling: Proposed draft guidelines for evaluating acceptable methods of analysis*. Rome.
14. International Union of Pure and Applied Chemistry (1999) Harmonized guidelines for the use of recovery information in analytical measurement (IUPAC technical report). *Pure Appl. Chem.* **71**, 337-348.
15. International Union of Pure and Applied Chemistry (2002) Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis (IUPAC technical report). *Pure Appl. Chem.* **74**, 835-855.

### Calibration: Theory and Practice

Jin-Wook Kwon\* and Kyu-Seung Lee<sup>1</sup> (\*National Veterinary Research & Quarantine Service 480, Anyang 6-dong, Manau-Gu, Anyang, Kyunggi-Do 430-824, Korea; <sup>1</sup>Department of Agricultural Chemistry, Chungnam National University 220 Gung-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-764, Korea)

**Abstract:** Various definitions and terminology applied to measurement in analytical chemistry are not always consistent. But, internationally integrated terminology and interpretation of definitions play an essential role in analytical chemistry fields. The review in this paper focused on problems associated with terminology, definitions, statistical theories, and practical performance of calibration and validation.

Key words: calibration curve, regression, linearity, uncertainty, trueness, standardization

\*Corresponding author