



# 검출한계 및 정량한계

2016 한국환경분석학회 춘계 학술 대회

2016. 5. 26

경주 현대호텔 컨벤션홀

이 석기 PhD.



**우석대학교**  
WOOSUK UNIVERSITY



# 검출한계(LOD)의 개념

## (1) 용어

- ◆ 검출한계라는 용어는 흔히 Detection Limit을 말한다.
- ◆ 검출한계에 대한 용어는 DL(Detection Limit, Roy L, 1991; FDA, 1999; David et al, 1997; WCAS), LOD(Limit of Detection, J Mocak et al, 1997; Jordi et al, 1999; NIOSH, 1991; Jerome et al, 1999), MDL(Method Detection Limit, Standard Method) 등의 용어로 혼용되어 쓰여지고 있고, 정의도 약간씩 다르다.
- ◆ 일반적으로 LOD라는 용어를 많이 사용한다. 그리고 이런 용어에 대한 정의는 IUPAC와 ACS의 정의에서 유래하는 것이 보통이다.
- ◆ IUPAC에서는 용어의 통일을 기하고자 ISO와 함께 Minimum Detection( $L_D$ ) 또는 Detection Limit를 사용하도록 규정하고 있다.



# 검출한계(LOD)의 개념(계속)

## (2) LOD 도입배경

1) LOD에 어떻게 해서  $3S_b$ (공시료 분석시그널의 표준편차의 3배) 도입되었는가?

❖ 다음과 같은 두 가지 설명이 가능하다.

### ① Keiser에 의한 개념의 도입

- ◆ H. Keiser는 분광화학적 분석에서 통계학적인 개념이 아니고 단순히 검출 능력의 측정수단으로서  $3S_b$ 를 도입하였던 것 같다.
- ◆ 배경 노이즈와 구별하기 위한 시그널의 변화를 구분하는 결정수단(decision criterion)으로  $3S_b$ 를 사용하였고, 이 개념에 대하여 그 이후에 여러 학자들이 통계학적 의미를 부여하였다(urrie : 1995, Mocak :1997, J. Trallero : 1999).



# 기관별 LOD의 정의

- 1) IUPAC(International Union of Pure and Applied Chemistr, 국제순수.응용 화학연합)
  - ❖ 어느 주어진 분석 절차에 따라 합리적인 확실성을 가지고 검출할 수 있는 가장 적은 농도나 양
  
- 2) ACS(American Chemical Society, 미국화학학회)
  - ❖ 어느 정해진 분석절차로 신뢰성 있게 분석할 수 있는 분석물질의 가장 낮은 농도
  
- 3) Standard Method(1992)
  - ❖ 주어진 신뢰수준에서 noise이상으로 검출할 수 있는 가장 최소의 양
  
- 4) 분석화학(1998), FDA(1999), Jerome 등(1999), David 등(1997)
  - ❖ 주어진 신뢰수준에서 시료에 존재하는 분석대상물질의 가장 최소의 양 또는 농도
  - ❖ 시료와 동밀한 matrix에서의 측정이란 점을 명시



# 기관별 LOD의 정의(계속)

5) EPA(Environmental Protection Agency, 미국 환경보호청, 1991)

- ❖ 0(ZERO)과 신뢰성 있게 구별될 수 있지만, 적절한 정밀성으로 정량 할 수는 없는 가장 낮은 농도

6) NIOSH(National Institute of Occupational Safety and health, 미국 국립산업안전보건연구원)

- ❖ 평균 blank signal 이상에서 평균 signal이  $3\sigma_b$ 를 나타내는 농도
- ❖  $\sigma_b$ 는 blank signal의 표준편차

7) Talyor(1998)

- ❖ LOD란 어떤 측정값이 그 측정값과 관련한 어떤 불확실성보다 클 때 신뢰할 수 있다는 것을 의미



# LOD 정의 Harris 분석화학 제5판

1. 경험으로 검출 한계를 추정한 후, 농도가 검출 한계의 약 1~5배 범위에 있는 하나의 시료 준비.

1. 그 시료  $n$ 개의 신호를 측정한다( $n \geq 7$ ).

2.  $n$ 회 측정의 표준 편차( $s$ )를 계산한다.

3.  $n$ 개 바탕의 신호를 측정하여 평균,  $y_{\text{바탕}}$ 을 구한다.

4. 최소 검출가능 신호,  $y_{\text{dl}}$ 은 다음과 같이 정의한다.

$$\text{신호 검출 한계} : y_{\text{dl}} = y_{\text{바탕}} + 3s$$

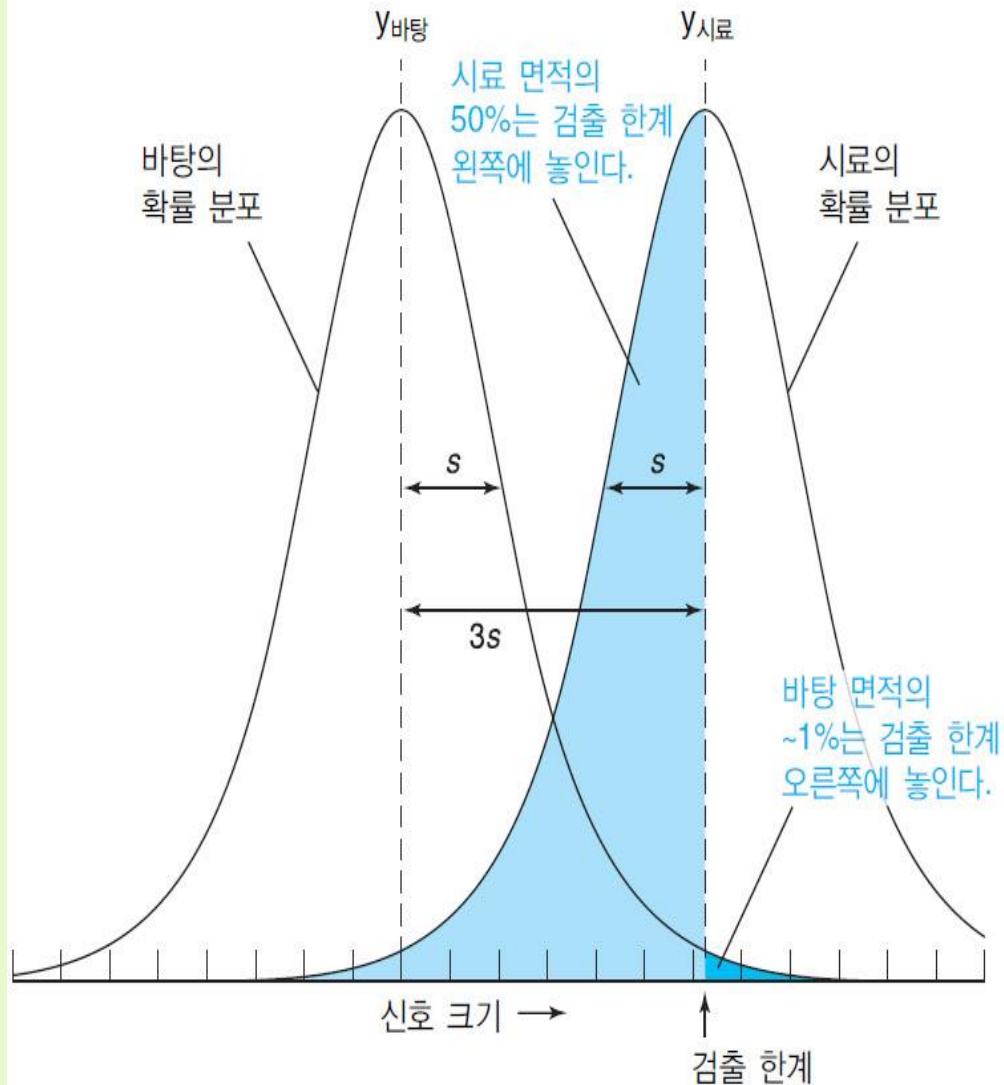
6. 보정 신호,  $y_{\text{시료}} - y_{\text{바탕}}$  은 시료 농도에 비례한다.

$$\text{교정선} : y_{\text{시료}} - y_{\text{바탕}} = m \times \text{시료 농도}$$

여기서  $y_{\text{시료}}$ 는 시료의 신호,  $m$ 은 선형 교정 곡선의 기울기이다. 검출한계,

최소 검출가능 농도는 신호 검출 한계 농도는 신호 검출 한계는 식  $y_{\text{dl}}$ 을 교정선에 대입하여 얻는다.

$$\text{검출 한계} : \text{최소 검출가능 농도} \equiv \frac{3s}{m}$$



**그림 5-2** 검출 한계. 바탕과 농도가 검출 한계인 시료에 대해 예상되는 측정의 분포를 보여 준다. 어느 구간의 면적은 그 구간의 측정 횟수와 비례한다. 바탕 측정의 ~1%만이 검출 한계를 넘을 것으로 기대된다. 그러나 분석물질이 검출 한계만큼 들어 있는 시료에 대한 측정의 50%는 검출 한계보다 낮을 것이다. 바탕이 검출 한계 이상의 분석물질을 가진다고 결론지을 확률은 1%이다. 시료에 분석물질이 검출 한계만큼 들어 있다면, 분석물질이 **없다**고 결론지을 확률은 50%인데, 이는 그 신호가 검출 한계 아래에 있기 때문이다. 그림의 곡선은 Gauss 분포보다 더 넓은 Student의  $t$  분포들이다.



# Student의 t값

**Table 4-4** Values of Student's  $t$

Degrees of freedom	Confidence level (%)						
	50	90	95	98	99	99.5	99.9
1	1.000	6.314	12.706	31.821	63.656	127.321	636.578
2	0.816	2.920	4.303	6.965	9.925	14.089	31.598
3	0.765	2.353	3.182	4.541	5.841	7.453	12.924
4	0.741	2.132	2.776	3.747	4.604	5.598	8.610
5	0.727	2.015	2.571	3.365	4.032	4.773	6.869
6	0.718	1.943	2.447	3.143	3.707	4.317	5.959
7	0.711	1.895	2.365	2.998	3.500	4.029	5.408
8	0.706	1.860	2.306	2.896	3.355	3.832	5.041
9	0.703	1.833	2.262	2.821	3.250	3.690	4.781
10	0.700	1.812	2.228	2.764	3.169	3.581	4.587
15	0.691	1.753	2.131	2.602	2.947	3.252	4.073
20	0.687	1.725	2.086	2.528	2.845	3.153	3.850
25	0.684	1.708	2.060	2.485	2.787	3.078	3.725
30	0.683	1.697	2.042	2.457	2.750	3.030	3.646
40	0.681	1.684	2.021	2.423	2.704	2.971	3.551
60	0.679	1.671	2.000	2.390	2.660	2.915	3.460
120	0.677	1.658	1.980	2.358	2.617	2.860	3.373
$\infty$	0.674	1.645	1.960	2.326	2.576	2.807	3.291

**Table 4.4**  
*Exploring Chemical Analysis, Fifth Edition*  
 © 2013 W.H. Freeman and Company



# 환경오염공정시험기준(국립환경과학원)

## 2.3.1 기기검출한계

기기검출한계(IDL, instrument detection limit)란 시험분석 대상물질을 기기가 검출할 수 있는 최소한의 농도 또는 양으로서, 일반적으로 S/N 비의 2 ~ 5배 농도 또는 바탕시료를 반복 측정 분석한 결과의 표준편차에 3배 한 값 등을 말한다.



# 환경오염공정시험기준(국립환경과학원)

## 2.3.2 방법검출한계

**방법검출한계(MDL, method detection limit)**란 시료와 비슷한 매질 중에서 시험 분석 대상을 검출할 수 있는 최소한의 농도로서, 제시된 정량한계 부근의 농도를 포함하도록 준비한  $n$ 개의 시료를 반복 측정하여 얻은 결과의 표준편차( $s$ )에 99 % 신뢰도에서의  $t$ -분포값을 곱한 것이다.

$$\text{방법검출한계} = t(n-1, \alpha=0.01) \times s$$

여기서  $t(n-1, \alpha=0.01)$ 는 아래의 표에서 구한다.

자유도( $n - 1$ )	2	3	4	5	6	7	8	9
$t$ -분포값	6.96	4.54	3.75	3.36	3.14	3.00	2.90	2.82



# 환경오염공정시험기준(국립환경과학원)

## 2.3.3 정량한계

정량한계(LOQ, limit of quantification)란 시험분석 대상을 정량화할 수 있는 측정값으로서, 제시된 정량한계 부근의 농도를 포함하도록 시료를 준비하고 이를 반복 측정하여 얻은 결과의 표준편차(s)에 10배한 값을 사용한다.

$$\text{정량한계} = 10 \times s$$



# 산업안전보건법 별표2

산업안전보건법 제39조의2(유해인자 허용기준의 준수)에 따라 허용기준 대상 유해인자의 노출 농도 측정

- ◆ 검출한계:  $3.143 \times$  표준편차
- ◆ 정량한계: 검출한계  $\times 4$



## 정량한계 (Limits of quantitation)

○ Standard Deviation of the response and the slope

□ Quantitation limit (QL) =  $10\sigma/S$

$\sigma$  : 표준편차, s : calibration curve의 기울기 s의 측정방법

▶ 적절한 수의 맹 검을 분석하고 이에 대한 표준편차를 구해 분석적 background 측정정량한계 범위를 포함하는 분석물질의 calibration curve를 구하고 회기선 (regression line)의 residual  $\sigma$  나 Y-절편의  $\sigma$  를 표준편차로 이용



<http://blog.naver.com/kimutr/20114708171>

## 검출한계 (Limits of detection) (1)

- Visual evaluation
- Non-instrumental methods에 적용
- Signal-to-Noise
- Baseline noise를 보일 수 있는 분석방법에만 적용
- 검출할 수 있는 최소농도의 시그널: Blank의 시그널
- 일반적인 Signal-to-noise ration ; 3~2:1



## 검출한계 (Limits of detection) (2)

- Standard Deviation of the response and the slope

- **Detection limit (DL) =  $3.3\sigma/S$**

$\sigma$  : 표준편차, s : calibration curve의 기울기 s의 측정방법

- ▶ 적절한 수의 맹검을 분석하고 이에 대한 표준편차를 구해 분석적 background 측정

- ▶ 검출한계 범위를 포함하는 분석물질의 calibration curve를 구하고 회기선 (regression line) 의 residual  $\sigma$  나 Y-절편의  $\sigma$  를 표준편차로 이용

- Visual evaluation

- Non-instrumental methods에 적용

- Signal-to-Noise

- 알고 있는 소량의 분석물질에 대한 시그널 : 맹검의 시그널

- 분석물질이 신뢰성 있게 정량 될 수 있는 최소한의 농도를 확립

- 일반적인 Signal-to-noise ratio ; 10 : 1

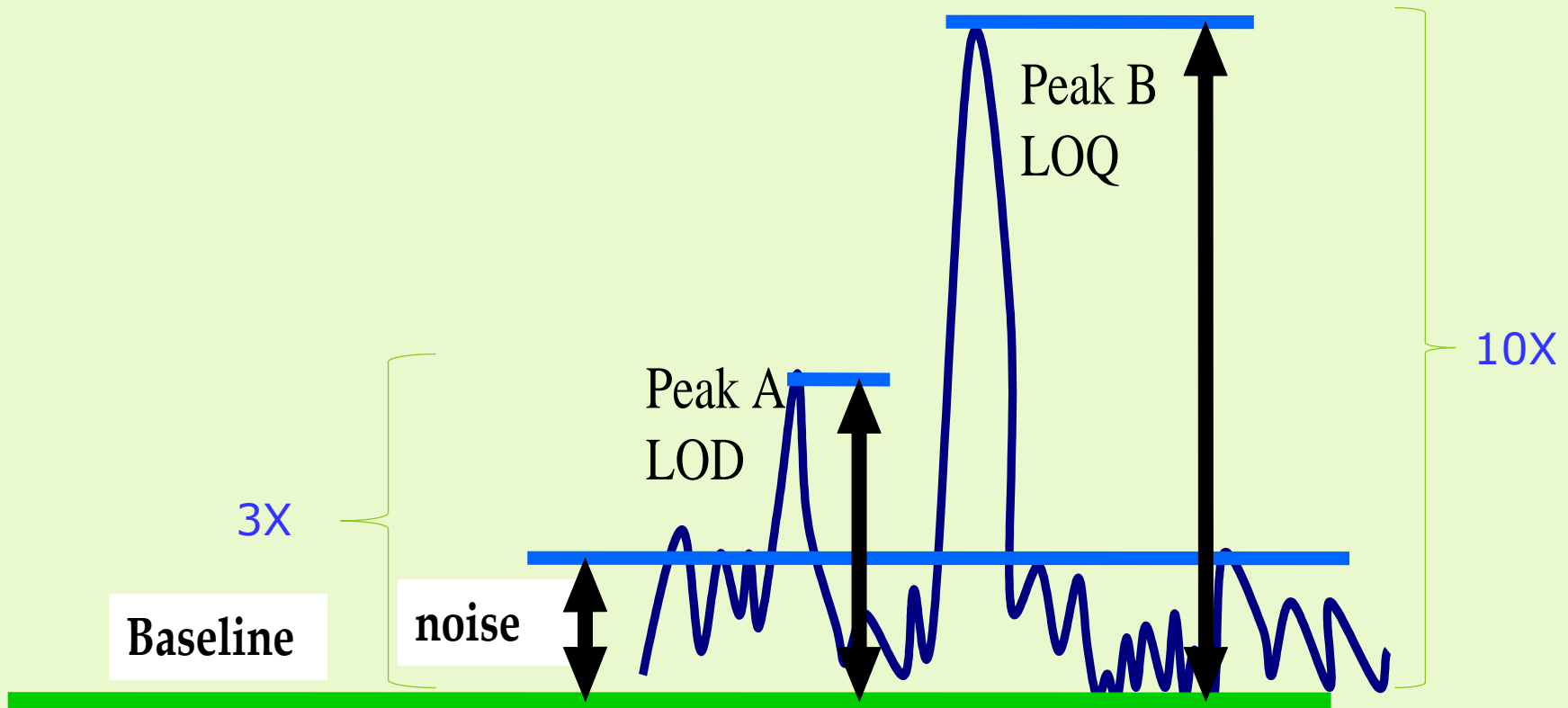
# 00대학교 공동실험실습관 질량분석실

## 방법검출한계(MDL, method detection limit)

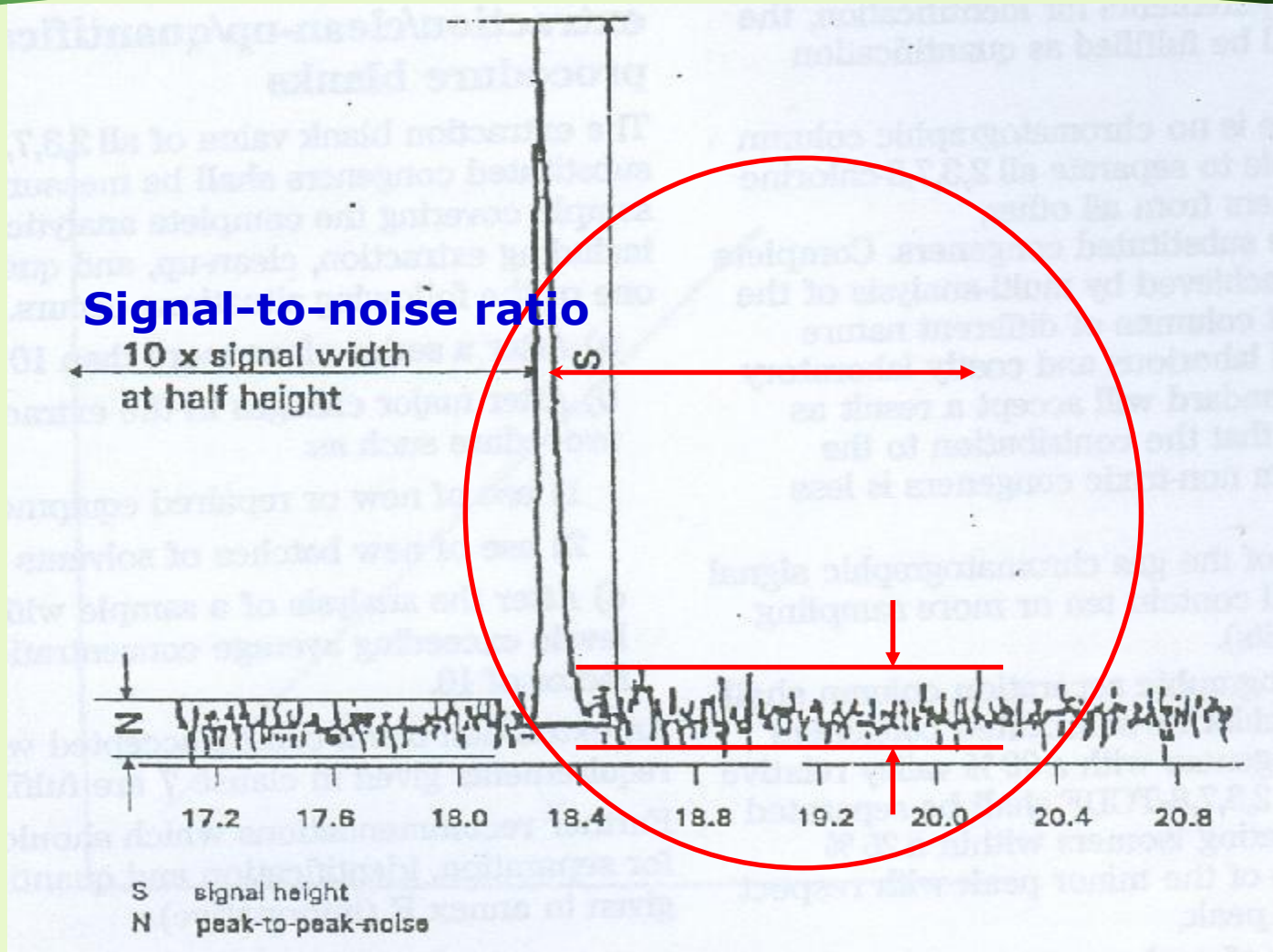
방법검출한계(MDL)란 시료와 비슷한 매질 중에서 시험분석 대상을 검출할 수 있는 최소한의 농도로서, 제시된 정량한계 부근의 농도를 포함하도록 준비한  $n$ 개의 시료를 반복 측정하여 얻은 결과의 표준편차( $s$ )에 99% 신뢰도에서의  $t$ 분포 값을 곱한 것이다. 산출된 방법검출한계는 제시한 정량한계 값 이하여야 한다.

방법검출한계는 어떠한 매질 종류에 측정항목이 포함된 시료를 시험방법에 의해 시험·검사한 결과가 99% 신뢰 수준에서 0보다 분명히 큰 최소 농도로 정의할 수 있다. 방법검출한계 계산은 분석 장비, 분석자, 시험방법에 따라 달라질 수 있다. 대부분의 시험방법은 모든 시험항목에 대해 초기능력검증(또는 시험방법에 대한 검증)으로 방법검출한계를 계산해야 한다.

# Concept of LOD



# Determination of the signal-to-noise ratio [EN 1948-3.]





# Limit of Detection(LD); IUPAC

**Smallest concentration** where the analyte can be **identified**.

Commonly defined as the minimum concentration of analyte in the test sample that can be measured with a stated probability that the analyte is present at a concentration above that in the blank sample.

**IUPAC and ISO** have recommended the abbreviation **LD**

**CODEX Procedural Manual** : The **detection limit** is conventionally defined as **field blank +  $3\sigma$** , where  **$\sigma$**  is the **standard deviation of field blank value signal(IUPAC definition).....**



I U P A C

International Union of Pure and Applied  
Chemistry

codex alimentarius commission



FOOD AND AGRICULTURE  
ORGANIZATION  
OF THE UNITED NATIONS

WORLD  
HEALTH  
ORGANIZATION





# Limit of Quantitation (LOQ); IUPAC

**Smallest concentration** of the analyte that can be **quantified**. Commonly defined as the minimum concentration of analyte in the test sample that can be determined **with acceptable precision (repeatability) and accuracy under the stated conditions** of the test.

## CODEX Procedural Manual

**Determination limit** : As for detection limit except that  **$6\sigma$  or  $10\sigma$  is required rather than  $3\sigma$** .....

**Determination limit = limit of determination  
= quantitation limit = limit of quantitation ?**



# LOD or LOQ

The terms limit of detection (LD), limit of determination (LOD) and limit of quantification (LOQ) are **often used as synonyms, and there has been very little agreement** in their calculation in the practice of residue analysts. Therefore the analysts should always report how the various quoted parameters were determined or calculated. Though they may be the subject of justified criticism, and more precise procedures are available and used in other areas of chemometrics<sup>12,13</sup> the procedures described hereunder may be used for estimation of approximate LD and LOD. These values provide an appropriate starting point for the experimental confirmation of the LOQ. **It is emphasised that the reported LOQ must always be supported with mean recovery and its relative standard deviation obtained with spiking of samples at the reported LOQ.**

**Guidelines for Single-Laboratory Validation of Analytical Methods for trace-Level Concentrations of Organic Chemicals (AOAC/FAO/IAEA/IUPAC, 1999)**

*L. A. Currie, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1997, 37, 151. :*

... .. pitfalls in terminology, understanding, and formulation, that have led to several decades of miscommunication among scientists and between scientists and public... ..



# CODEX ALIMENTARIUS REGULATION

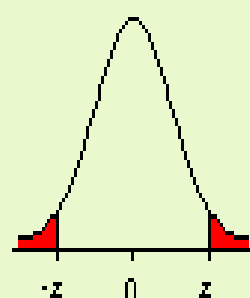
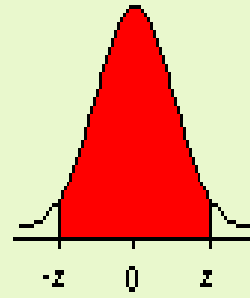
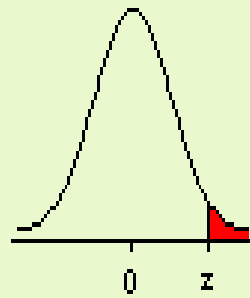
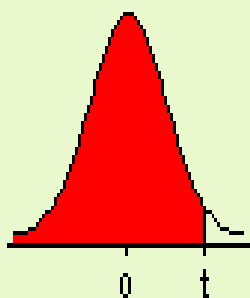
## Lowest Calibrated Level(LCL)

**LCL: Lowest concentration of analyte detected and measured in calibration of detection system. It may be expressed as a solution concentration in the test sample or as a mass and must not include the contribution from the blank**

MRL (mg/kg)	LCL (mg/kg)
5 or greater	0.5
0.5 up to 5	0.1 increasing to 0.5 for higher MRLs
0.05 up to 0.5	0.02 increasing to 0.1 for MRLs
Less than 0.05	0.5 x MRL

**When the MRL is set at the limit of determination of analytical Method, LCL will also be at this level**

- **Minimum Level (ML;** equivalent to the concentration of the lowest calibration standard, assuming that all method-specific sample masses, volumes and clean-up procedures have been used)
- **MDL (Method Detection Limit)**





## e.g. 1) US EPA 40 CFR Part 136 App. B

**The Method detection limit (MDL)** is defined as the minimum concentration of a substance that can be measured and reported with **99% confidence** that the analyte concentration is greater than zero and is determined from analysis of a sample in given matrix containing the analyte

$$\text{MDL} = t(n-1, 1-\alpha=0.99) \cdot (s)$$

$$99\% \text{ } t\text{-distribution } (n-1), \mathbf{n=7, 3.143}$$

$$\text{LCL}=0.64 \text{ MDL, } \text{UCL}=2.20 \text{ MDL}$$

- The MDL concentration does not imply accuracy or precision of the quantitative measurement.
- The USEPA MDL is designed to control against false positives at the 99-percent confidence level in an ideal matrix.



## e.g. 2) 2004년도 내분비계장애물질 측정분석방법에 대한 워크숍(국립환경연구원)

검출한계(MDL) : 분석대상 표준물질의 기기검출한계 기준으로 수질시는 2~5배, 토양시료는 20~50배 정도의 농도로 조제하여 크로마토그램의 신호대 잡음비가 2.5가 되는 검출량을 최소검출량으로 한다.

$$\text{검출한계} = \frac{\text{최소검출량}}{\text{시료주입량}} \times \frac{\text{최종농축량}}{\text{시료량}}$$



# IDL/MDL/PQL

DL의 종류를 다음과 같이 나누기도 하나 일반적이지는 않다.

- ❖ IDL : 기기가 검출할 수 있는 가장 작은 농도. 이는 시료전처리 과정을 전혀 거치지 않은 분석물질로 측정하는 것이다.
  - ❖ MDL : IDL과 비슷하나 분석전 모든 전처리 과정을 거친 시료를 이용한 검출한계
  - ❖ PQL(Practical Quantitation Limit) : MDL의 3에서 10배 사이로 단순히 검출되는 것 이상으로 정확히 측정될 수 있는 것이다.
- 이런 DL은 아주 낮은 농도의 시료나 공시료를 반복하여 측정할 수 있다.

# Examples – How to calculate LOD

	수식	비고		참고문헌
①	$3.3 \times (SD/S)$	SD: 표준편차 S: 검량선 기울기	SD계산 Ⓐ공시료의 표준편차 or, Ⓑ회귀선의 residual 표준편차 or, Ⓒ회귀선 y절편의 표준편차	FDA, 1997
②	$K \times (S_{bl}/m)$	K: 3 $S_{bl}$ : 공시료의 SD m: 검량선 기울기	LOD = $3.3(s/S)$ LOQ = $10(s/S_0)$	분석화학, 1998 J Tyson Analysis 1998
③	$3 \times (S_y/m)$	$S_y$ : 회귀식 표준편차 m: 검량선 기울기	Ⓐ계산된 LOD or, Ⓑ가장 낮은 표준용액 or, ⒸX절편 중에서 높은 값으로 선택	NIOSH, 1991
④	$3 \times \sigma_b$	$\sigma_b$ : 공시료의 SD		David 등, 1997
⑤	$\mu_b + K_D \sigma_b$	$\mu_b$ : 공시료의 평균 $K_D$ : 3 $\sigma_b$ : 공시료 SD		J Mocak 등, 1997
⑥	$3.14 \times SD$	SD: 낮은 농도 SD	가장 낮은 농도 7번 분석하여 SD계산, $t(6, 0.99) = 3.14$	Standard method 1992



# How to calculate LOD

## ❖ In general

- Analyze the lowest standard solution 7 times
- Calculate SD
  - $LOD = 3 \times SD$

## ❖ Weighing method

- Sensitivity instead of LOD or
  - 0.01 mg, or 0.001 mg
- LOD
  - Measure blank filter 7 times
  - Calculate SD
  - $LOD = 3 \times SD$

## ❖ Important to describe how to get LOD in your paper



# LOD and LOQ

## ❖ Limit of Detection (LOD, 검출한계)

- Definition: lowest conc. of analyte that can be successfully detected
- Determination: signal-to-noise ratio (about 3:1)

## ❖ Limit of Quantitation (LOQ, 정량한계)

- Definition: lowest conc. of analyte that can be successfully quantified (with acceptable precision and accuracy)
- Determination: signal-to-noise ratio (about 10:1)



# Determination of LOD and LOQ

- ❖ Multiple injection of samples at lowest concentration range
- ❖ The linearity results calibration curve
- ❖ Calculate SD of sample responses
- ❖ MSD: Mean of Standard Deviation
- ❖  $LOD = 3 \times MSD/slope$  (or  $LOD = SD \times 3$ )
- ❖  $LOQ = 10 \times MSD/slope$  (or  $LOQ = SD \times 10$ )
- ❖  $MSD/Slope = \text{Assay Noise}$

MSD: mean of standard deviation, SD: standard deviation



# How to handle LOD values (1) Simple method(Hornung R.W. 논문(1990))

## Estimation of Average Concentration in the Presence of Nondetectable Values

**Richard W. Hornung, and Laurence D. Reed**

National Institute for Occupational Safety and Health, Centers for Disease Control, Public Health Service,  
U.S. Department of Health and Human Services, 4676 Columbia Parkway, Cincinnati, Ohio 45226

In the attempt to estimate the average concentration of a particular contaminant during some period of time, a certain proportion of the collected samples is often reported to be below the limit of detection. The statistical terminology for these results is known as censored data, i.e., nonzero values which cannot be measured but are known to be below some threshold.

Samples taken over time are assumed to follow a lognormal distribution. Given this assumption, several techniques are presented for estimation of the average concentration from data containing nondetectable values. The techniques proposed include three methods of estimation with a left-censored lognormal

permit lower levels to be quantified. However, despite these improvements, it has been our experience that the proportion of nondetectable samples in typical industrial hygiene data sets appears to be increasing. Therefore, a method for handling nondetectable values when they comprise a sizeable proportion of a set of samples is essential in producing accurate descriptive statistics.

The most commonly used descriptors for any data set are the mean and standard deviation. When samples are collected over time, as with grab samples within a day or



# Simple method (Hornung R.W. 논문(1990))

## ❖ The simplest way

- ND 이하를 무시하는 방법 : 평균 과대 평가
- 0으로 계산하는 방법 : 평균계산시 과소 평가
- 이 두 방법은 부정확

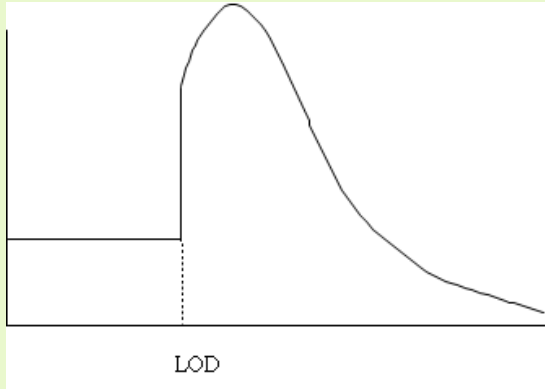
## ❖ Maximum likelihood Method => Finkelstein paper 참조

- 분포를 잘 알고 있어야 함
- 대수정규분포일 때는 censored lognormal distribution
- 방법이 복잡하고, 자료의 50 % 이상이 LOD이하일 때 사용불가
- 50 % 이상일 때
  - Cohen의 Maximum likelihood Method
  - ND이하의 값이 전체의 몇 %인지 표기하고 LOD이상의 값을 범위로 표시
  - 불가피하게 평균을 기입하여야 할 필요가 있으면  $\frac{1}{2}$  LOD 방법 사용, 표준편차는 구하지 말 것

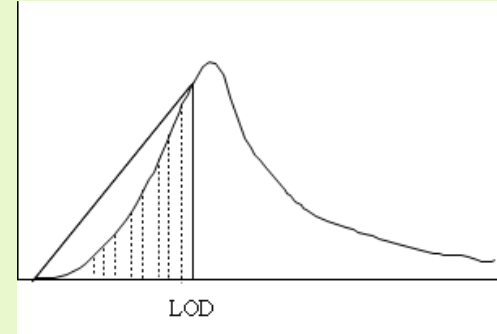
## ❖ Simple approximation Method; LOD 값을

- $\frac{1}{2}$  LOD 간주
  - 자료가 0점으로 치우치고 기하표준편차가 3이상이면 LOD 값을  $1/2$ 로 하는 것이 잘 맞음.
- $1/\sqrt{2}$  LOD
  - 자료가 많이 치우치지 않았을 때.
  - 예, 자료가 정규, 대수정규분포를 모두 만족시킬 때

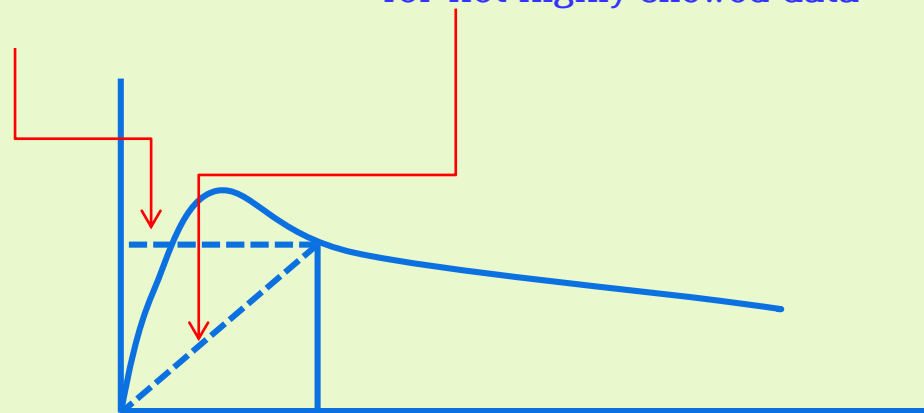
# $\frac{1}{2}$ LOD or $\frac{1}{\sqrt{2}}$ LOD



$\frac{1}{2}$  LOD approximation  
for highly skewed data



$\frac{1}{\sqrt{2}}$  LOD Approximation (Triangle)  
for not highly skewed data



Hornungm RW, Reed LD., Estimation of Average concentration in the presence of Nondetectable Values. Appl. Occup. Environ. Hyg. 1990. 5(1), 46-51



# How to handle LOD values (2)

## Exposure Estimation in the Presence of Nondetectable Values: Another Look

Murray M. Finkelstein Dave K. Verma

In 1990, Hornung and Reed compared a maximum likelihood estimation (MLE) statistical method and two methods involving the limit of detection,  $L$ . The MLE method was shown to produce unbiased estimates of both the mean and standard deviation under a variety of conditions.

However, with advances in desktop computing in the past decade the MLE method is now easily implemented in commonly available spreadsheet software. This article demonstrates how this method may be implemented using spreadsheet software.



# Verification 실시 항목

Technique	Main 성분	Minor (불순물 / 첨가물)	정성분석
	정량	정량 Limit test	
HPLC/GC	Precision Specificity Linearity Range	Precision Specificity LOQ	Specificity LOD Specificity
Spectrophoto/ colorimetric	Precision Linearity Range	Precision LOQ	Specificity LOD Specificity
Titrimetric	Precision Linearity Range	Precision	- -
TLC	-	Specificity LOQ	Specificity LOD Specificity
Gel Electrophoresis	-	Specificity LOQ	Specificity LOD Specificity

< 파라미터를 구하기 위해 사전에 분석이 되어야 할 시료 값 >

- 1) 공(Blank) 시료 : 최소 6회 이상 반복 분석 후 response 값
- 2) 표준물질의 농도 별 시료 : Y 절편(intercept)을 보정한 교정 농도 기울기 값
- 3) 교정 농도 기울기 값을 통해 검출한계 추정 농도의 1~5배 농도의 시료 : 최소 6회 이상 반복 분석 후 response 값

❖ 예시

		농도(ppm)			반응값			
표준물질_Lv. 1		5			103.4			
표준물질_Lv. 2		10			206.9			
표준물질_Lv. 3		15			309.4			
표준물질_Lv. 4		20			415.1			
표준물질_Lv. 5		25			511.4			
표준물질_Lv. 6		30			622.4			
시료명	농도	반응값						
공시료(Blank)	—	22.0	23.1	21.5	22.4	23.4	22.4	23.2
표준물질	1~5 배	100.2	101.5	103.2	100.3	99.8	102.4	104.5

❖ 예시로부터

1) blank 의 평균치를 우선 구한다. (22.57) :  $Y_{\text{blank}}$

2) 표준물질의 농도별 교정 곡선 기울기 값을 구한다.

(추세선 기울기 : 22.726 (Y 절편 = 0)) :

3) 에 대한 표준 분산도 (편차)를 구한다. (1.76) : S(표준 분산도)

❖ 위 세 가지 값으로 부터 신호의 검출한계(LOD) 계산은

$Y_{\text{dl}} = Y_{\text{blank}} + 3s$  식을 바탕으로

$Y_{\text{blank}} + 3S = 22.57 + 3 \times 1.76 = 27.85(3S)$ 가 최저 검출한계 신호 값에 해당하며

$3S/m$  ( $m =$  교정 농도 기울기) 식을 바탕으로

$27.85/22.726 = 1.225\text{ppm}$ 이 검출한계 농도에 해당한다.



# Calculation of LOD and LOQ

이론 농도 mg/kg	Response SD	MSD	Slope
0.5	0.09 (3 x inj)		
5.0	0.05 (3 x inj)	0.073	0.729
10.0	0.08 (3 x inj)		

$$\text{LOD} = 3 \times 0.073 / 0.729 = 0.300 (\text{Response})$$

$$\text{LOQ} = 10 \times 0.073 / 0.729 = 1.001 (\text{Response})$$

$$\text{Linear Equation: } Y = 0.729x + 0.103 \quad (y = ax + b)$$

$$\text{LOD} = 0.729 \times 0.300 + 0.103 = 0.32 \text{ mg/kg}$$

$$\text{LOQ} = 0.729 \times 1.001 + 0.103 = 0.83 \text{ mg/kg}$$

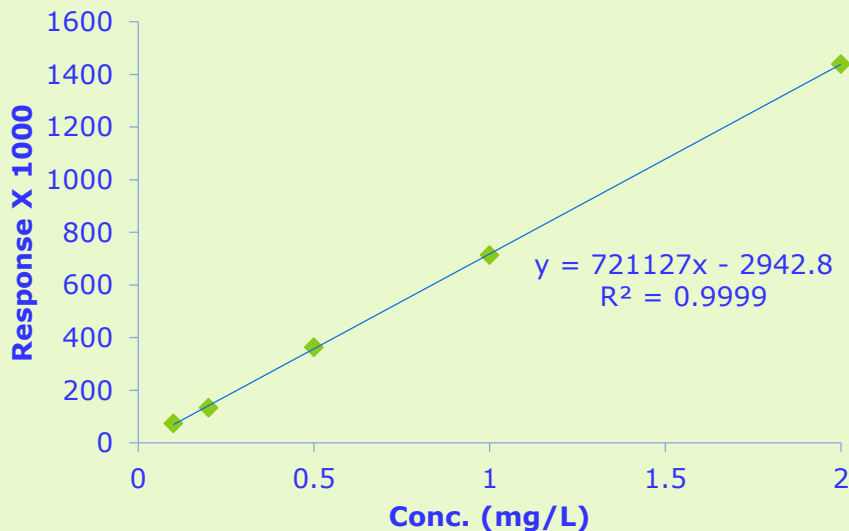


# Calculation of IDL

Lv	Amount	Response
1	0.1	73665
2	0.2	134276
3	0.5	363378
4	1.0	713618
5	2.0	1440630

a	7.21E+05
b	-2.94E+03

$$Y = aX + b$$



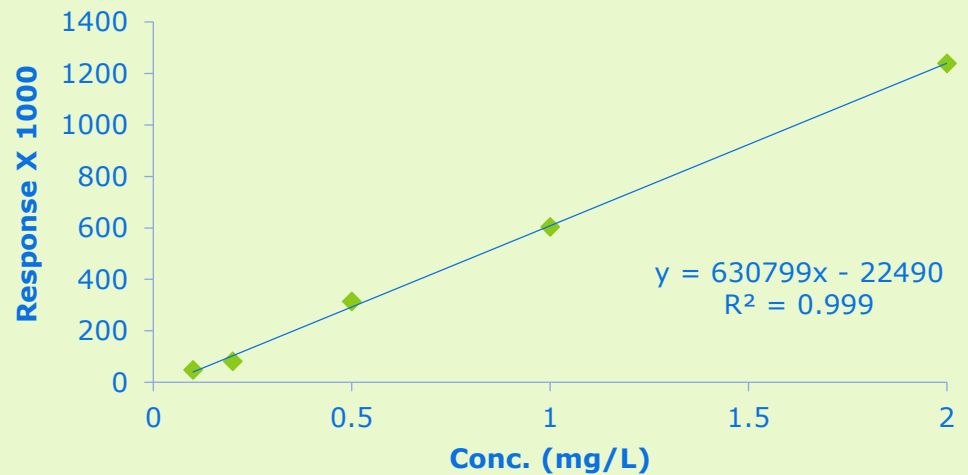
n	Response	Conc. (mg/L)	Ave. (mg/L)	STDEV	RSD (%)	IDL (mg/L)
1	75668	0.1090	0.1036	0.0038	3.64	0.0119
2	74861	0.1079				
3	74146	0.1069				
4	73349	0.1058				
5	71722	0.1035				
6	72250	0.1043				
7	69663	0.1007				
8	69148	0.1000				
9	67801	0.0981				
10	69221	0.1001				



# Calculation of MDL and MQL

Lv	Amount	Response
1	0.1	47814
2	0.2	81743
3	0.5	313869
4	1.0	602609
5	2.0	1238548

a	6.31E+05
b	-2.25E+04



$$Y = aX + b$$

n	Response	Conc. (mg/L)	Ave. (mg/L)	STDEV	RSD (%)	MDL (mg/L)	MQL (mg/L)
1	135245	0.2501	0.2443	0.0049	2.02	0.0155	0.0495
2	129130	0.2404					
3	132957	0.2464					
4	127835	0.2383					
5	133915	0.2479					
6	128146	0.2388					
7	133986	0.2481					



n	Response	Conc. (mg/L)	Ave. (mg/L)	STDEV	Precision	Accuracy	
					RSD (%)	기준값 (mg/L)	상대백분율 (%)
1	621011	1.0201	1.0322	0.0086	0.83	1.00	103.22
2	633021	1.0392					
3	625745	1.0276					
4	629180	1.0331					
5	634204	1.0411					



# recovery rate depends on the Conc. of analyte

Analyte Ingre. (%)	Analyte ratio	Unit	Mean Recovery (%)
100	1	100%	98-102
≥10	10 <sup>-1</sup>	10%	98-102
≥1	10 <sup>-2</sup>	1%	97-103
≥0.1	10 <sup>-3</sup>	0.1%	95-105
0.01	10 <sup>-4</sup>	100ppm	90-107
0.001	10 <sup>-5</sup>	10ppm	80-110
0.0001	10 <sup>-6</sup>	1ppm	80-110
0.00001	10 <sup>-7</sup>	100ppb	80-110
0.000001	10 <sup>-8</sup>	10ppb	60-115
0.0000001	10 <sup>-9</sup>	1ppb	40-120

AOAC manual for the Peer-Verified Methods program



# Analyte-concentration vs Precision

Analyte Ingre. (%)	Analyte ratio	Unit	RSD (%)
100	1	100%	1.3
≥10	$10^{-1}$	10%	2.7
≥1	$10^{-2}$	1%	2.8
≥0.1	$10^{-3}$	0.1%	3.7
0.01	$10^{-4}$	100ppm	5.3
0.001	$10^{-5}$	10ppm	7.3
0.0001	$10^{-6}$	1ppm	11
0.00001	$10^{-7}$	100ppb	15
0.000001	$10^{-8}$	10ppb	21
0.0000001	$10^{-9}$	1ppb	30

AOAC manual for the Peer-Verified Methods program



## For Codex purpose;

It is over-riding importance that all data, when reported, should (a) be clearly identified as to whether or not a recovery correction has been applied and (b) if a recovery correction has been applied, the amount of the correction and the method by which it was derived should be included with the report. This will promote direct comparability of data sets. Correction functions should be established on the basis of appropriate statistical considerations, documented, archived and available the client.

**Harmonized IUPAC guidelines for the use of recovery information in analytical measurement (CODEX CAC/GL 37-2001)**





# New Terms

**Lower bound values correspond to the sum of measured concentrations assuming values for all non-detected (ND) congeners as well as values <LOQ (smaller than limit of quantification) equal to zero. Congeners were recorded as ND when signal to noise ratio (S/N) for a given peak was lower than 3.**

**LODs were defined as this  $S/N > 3$  value plus three times the standard deviation (SD). LOQs were defined as this  $S/N > 3$  value plus 10 times the SD.**

**Middle bound values were calculated using half of LODs for ND congeners although whole LOQ values were used for upper bound calculations.**

**; JECFA - Monographs & Evaluations POLYCHLORINATED DIBENZO-DIOXINS, POLYCHLORINATED DIBENZOFURANS, AND COPLANAR POLYCHLORINATED BIPHENYLS (JECFA 48, 2002)**

**PCDD/DFs : Lower bound values , Middle bound values , Upper bound values**

$$(UB-LB) \times 100/UB = 100\%$$

$$(UB-LB) \times 100/UB = 33\% = 40\%$$

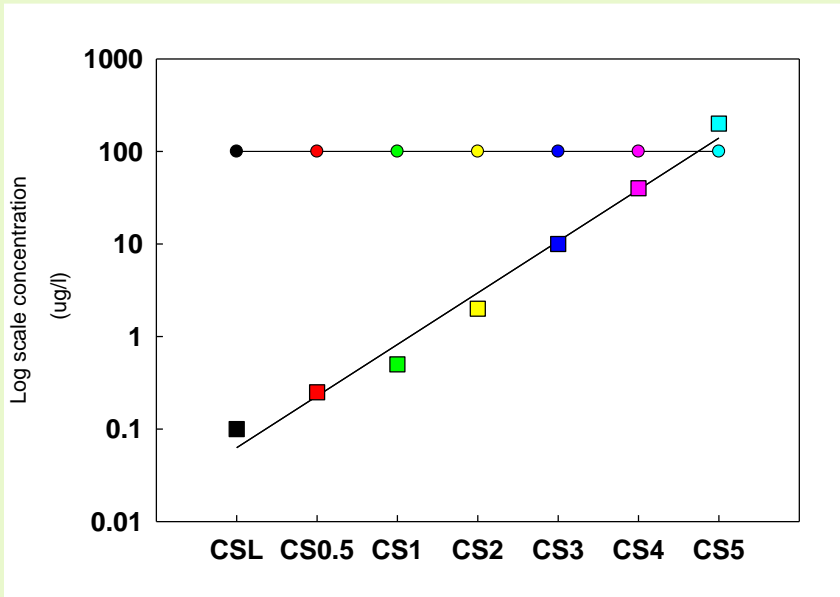
Table 1  
PCDD and PCDF concentrations (pg WHO-TEQ/g fat) in various fast food samples issued from different countries

	PCDD/F concentrations (pg WHO-TEQ/g fat)											
	McDonald's Big Mac <sup>®</sup>			McDonald's Crispy Chicken Deluxe <sup>®</sup>			McDonald's Fish Filet Deluxe <sup>®</sup>			Pizza Hut's Personal Pan Pizza Supreme <sup>®</sup>		
	Lower bound <sup>a</sup>	Middle bound	Upper bound	Lower bound <sup>a</sup>	Middle bound	Upper bound	Lower bound <sup>a</sup>	Middle bound	Upper bound	Lower bound <sup>a</sup>	Middle bound	Upper bound
Sydney (Australia)	0.00	0.40	0.79	0.00	0.40	0.79	0.11	0.46	0.82	0.00	0.40	0.79
Atlanta (USA)	0.21	0.54	0.87	-	-	-	0.00	0.40	0.79	0.03	0.42	0.81
Ithaca (USA)	0.09	0.47	0.85	0.20	0.54	0.88	0.00	0.40	0.79	1.40	1.74	2.08
Zurich (Switzerland)	0.15	0.50	0.86	0.00	0.40	0.79	0.00	0.40	0.79	1.11	1.48	1.86
Bratislava (Slovakia)	0.67	0.87	1.07	0.20	0.56	0.93	0.00	0.40	0.79	0.12	0.47	0.82
Bruges (Belgium)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.03	0.42	0.81
Waterloo (Belgium)	0.04	0.43	0.81	0.03	0.42	0.81	0.00	0.40	0.79	0.00	0.40	0.79
Liege (Belgium)	0.02	0.41	0.79	0.00	0.40	0.79	0.07	0.45	0.84	0.00	0.40	0.79

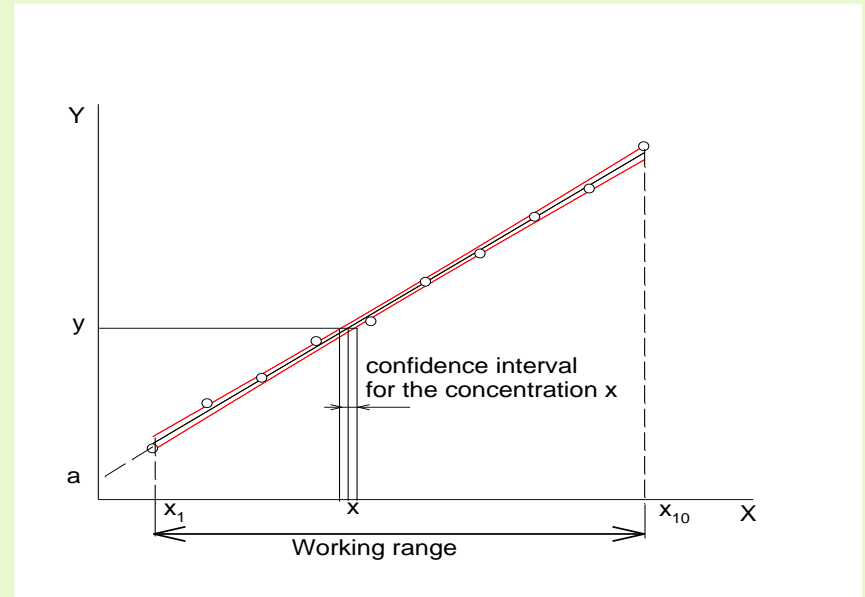
<sup>a</sup> A value of 0.00 is listed for clarity when values are <0.005 due individual congener values <LOQ or ND.

Levels of PCDDs, PCDFs and PCBs in Belgian and international fast food samples  
J.-F. Focant \*, C. Pirard, E. De Pauw, Chemosphere 54 (2004) 137-142

# Calibration



**Fig. Distribution of the concentration of Native PCDD/DFs calibration standards.**



**Fig. Working range  $x_1$  to  $x_{10}$ , calibration line with confidence band a single analytical result with its appertaining confidence interval.**



# CODEX ALIMENTARIUS REGULATION AOAC/FAO/IAEA/IUPAC, 1999

## Within Laboratory Method Validation Criteria for Analysis of Pesticide Residue and Veterinary Drugs

Concentration	Repeatability		Reproducibility		Truness
	$CV_A\%$	$CV_L\%$	$CV_A\%$	$CV_L\%$	Range of mean % recovery

✓  $CV_A$ : Coefficient of variation for analysis excluding sample processing. The parameter can be estimated from tests performed with reference materials or analytical portions spiked before extraction. A reference material prepared in the laboratory may be used in the absence of a certified reference material.

✓  $CV_L$ : Overall coefficient of variation of a laboratory result, allowing up to 10% variability of sample processing.



# CODEX ALIMENTARIUS REGULATION AOAC/FAO/IAEA/IUPAC, 1999

## Within Laboratory Method Validation Criteria for Analysis of Pesticide Residue and Veterinary Drugs

Concentration	Repeatability		Reproducibility		Truness
	CV <sub>A</sub> %	CV <sub>L</sub> %	CV <sub>A</sub> %	CV <sub>L</sub> %	
					Range of mean % recovery
≤1 ug/kg	35	36	53	54	50-120
>1 ug/kg ≤1 mg/kg	30	32	45	46	60-120
>0.01 ≤0.1 mg/kg	20	22	32	34	70-120
>0.1mg/kg ≤1 mg/kg	15	18	23	25	70-110
>1 mg/kg	10	14	16	19	70-110

# Example of LOD & LOQ

## ❖ 실제 측정 data

	N-Hexane	
	Conc. (mg/m <sup>3</sup> )	ST/IA
ST. 1	0.1690	1.0922
ST. 2	0.6758	4.3124
ST. 3	1.3517	8.6056
ST. 4	2.7034	18.0400

- ST/IA : area of standard solution/area of internal standard

# Example of LOD & LOQ

## 1. 잔차 (residual difference)를 이용하는 방법

	n-Hexane				비고
	Conc.	Y	Y <sub>cal.</sub>	잔차(Y-Y <sub>cal.</sub> )	
ST. 1	0.1690	1.0922	0.9387	0.1535	Y=6.6989x - 0.1934 R=0.9996 S=6.6989
ST. 2	0.6758	4.3124	4.3337	-0.0213	
ST. 3	1.3517	8.6056	8.8615	-0.2559	
ST. 4	2.7034	18.0400	17.916	0.124	
mean				0.000075	
SD				0.1870	

- $LOD = 3.3\sigma/S = (3.3 * 0.1870)/6.6989 = 0.0921 \text{ mg/m}^3$
- $LOQ = 10 \sigma/S = (10 * 0.1870)/6.6989 = 0.2792 \text{ mg/m}^3$

# Example of LOD & LOQ

## 2. 검량선의 절편을 이용하는 방법

	n-Hexane			비고
	Conc.	Y	b	
ST. 1	0.1690	1.0922	-0.0399	$Y=6.6989x - 0.1934$ $R=0.9996$ $S=6.6989$
ST. 2	0.6758	4.3124	-0.2147	
ST. 3	1.3517	8.6056	-0.4493	
ST. 4	2.7034	18.0400	-0.0698	
mean			-0.1934	
SD			0.1868	

- $LOD = 3.3\sigma/S = (3.3 * 0.1868)/6.6989 = 0.0920 \text{ mg/m}^3$
- $LOQ = 10 \sigma/S = (10 * 0.1868)/6.6989 = 0.2789 \text{ mg/m}^3$

# Example of LOD & LOQ

## 3. 선형화(linearization) 후 감도의 변이계수를 이용하는 방법

	n-Hexane			비고
	Conc.	ST/IA	(ST/IA)/conc. (감도)	
ST. 1	0.1690	1.0922	6.4627	Y=6.6989x - 0.1934 R=0.9996 S=6.6989
ST. 2	0.6758	4.3124	6.5558	
ST. 3	1.3517	8.6056	6.4038	
ST. 4	2.7034	18.0400	6.6371	
mean			6.5148	
SD			0.1028	
SD/mean (변이계수)			0.0158	

- LOD = 3.3 \* 변이계수 \* 최소농도 = (3.3 \* 0.0158) \* 0.1690 = 0.0088 mg/m<sup>3</sup>
- LOD = 10 \* 변이계수 \* 최소농도 = (10 \* 0.0158) \* 0.1690 = 0.0267 mg/m<sup>3</sup>



# 감사합니다



감사와 뜻을 찾아주는  
우석대학교