

다이옥신 숙련도 시험용 시료의 제조

문동호 · 이상원 · 임창인 · 황태웅 · 황용렬 · 주창한 · 김종상* · 우진춘†**

환경관리공단 중앙검사소, *한국건설자재시험연구원, **한국표준과학연구원

Preparation of Fly Ash for Proficiency Testing of Dioxin Analysis

Dongho Moon, Sangwon Lee, Changin Ihm, Taewoong Hwang, Yongyoul Hwang,
Jongsang Kim*, and Jinchun Woo†**

Environmental Management Co. Kyungseo-dong, Seo-gu, Incheon, 404-708, Korea

*Korea Institute of Construction Materials, Seoul 137-707, Korea

**Korea Research Institute of Standards and Science, Daejeon 305-600, Korea

Fly ash sample collected from municipal waste incinerator was prepared for proficiency testing of dioxin analysis. The collected sample was carried out several steps for homogenizing and then analyzed for evaluating homogeneity and stability. One way ANOVA was used for the evaluation. The uncertainty of each target isomer from whole dioxin analysis procedure was also evaluated and combined. Next, the uncertainties from repeating analysis and analytical procedure were combined. Finally, the assigned value of the proficiency testing sample was suggested.

Key words : Dioxin, Proficiency testing, Uncertainty

1. 서 론

다이옥신류에 대한 환경문제는 큰 사회적 문제로 크게 대두되며 각종의 범규제가 진행되고 있다. 그러므로, 다이옥신 분석은 분석결과의 신뢰도를 높이기 위해 분석기술의 발달뿐만 아니라 정도 관리에 대한 중요성이 강조되고 있다. 분석결과의 신뢰성을 확보하기 위해서는 분석기술자의 높은 기술력을 필요로 하지만 이외에도 객관적인 평가가 필수적이다¹⁾. 객관적인 실험실의 신뢰성 확보를 위하여 최근 ISO/IEC 17025에 의한 시험소인정제도에서 포함하고 있는 숙련도 시험에 관한 관심이 증가하고 있다. 그러나 숙련도 시험을 위한 시료의 개발은 균질성 및 안정성의 평가가 수행되어야 하며²⁾ 불확도 요인을 포함한 특성 값을 함께 나타내어야 하므로 매우 어려운 작업이라 할 수 있다.

본 연구에서는 소각시설의 비산재를 이용하여 다이옥신의 숙련도 시험용 시료를 제조하였다. 균질도 및 안정성을 평가하고^{3,4)} EURACHEM과 CITAC으로부터

발행된 Guide⁵⁾를 이용하여 불확도를 평가하였다⁶⁾.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료

숙련도 시험용 시료의 제조를 위해 소각시설의 비산재를 이용하였다. 시료채취방법은 비산재 호퍼의 하부에서 배출되는 비산재가 이동하는 screw conveyor에서 스테인레스스틸 재질의 도구를 이용하여 등시간 간격으로 수집한 후 원추시분법으로 분류하여 10 kg정도를 채취하였다.

2.2. 분석방법

분석은 EPA 1613(USEPA, 1994)의 방법과 “내분비계장애물질 측정분석 방법”(국립환경과학원, 2002)에 의해 전처리하고 SP-2331컬럼을 장착한 HRGC/HRMS(VG Ultima, micromass, UK)로 분석하였다. 표준물질로는 Wellington사의 제품을 사용하였으며, 결과의 통계

†To whom correspondence should be addressed.

처리를 위하여 공개용 통계프로그램인 Kess를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 숙련도 시험용 시료의 제조

3.1.1. 균질화

시료의 균질성을 확보하기 위해 체거름 방법을 수행하였다. 먼저 육안으로 조대입자를 제거한 후 회전판을 가진 혼합기로 4시간 혼합한 후 200 mesh(75 um)의 체를 이용하여 체거름을 실시하였다. 이 과정을 2번 반복한 후에 입도분석을 실시하였다.

3.1.2. 입도분석

균질화시 200 mesh를 이용하여 체거름을 실시하였으므로, 200 mesh 이상의 입자는 거의 없을 것으로 가정하고, 시료의 입도 균질성 평가에 초점을 맞추기 위해 200 mesh 이하의 입도분포를 평가하였다. 입자 크기는 200 mesh 보다 큰 100 mesh 및 200 mesh 보다 작은 230 mesh, 325 mesh를 선정하였다. 균질화된 시료 중 3개를 선정하여 입도분포 평가를 위한 시료로 하였다. 시료는 각 병에서 일정량을 취하여 정확히 칭량한 다음, 체크기가 작은 순서대로 4단계의 체를 체크기가 작은 순서대로 쌓았다. 100 mesh의 체위에 칭량된 시료를 비산하지 않도록 옮겨놓고 체거름을 실시하였다. 체거름 시간은 30분으로 균일하게 적용하였고, 체거름이 종료된 시료는 각 망별로 무게를 칭량하였다. 입도분석 결과, 3시료 모두 200 mesh 이하가 거의 대부분을 차지하는 것으로 나타났으며, 200 mesh 미만의 입경을 가진 입자가 약 89%정도로 파악되었

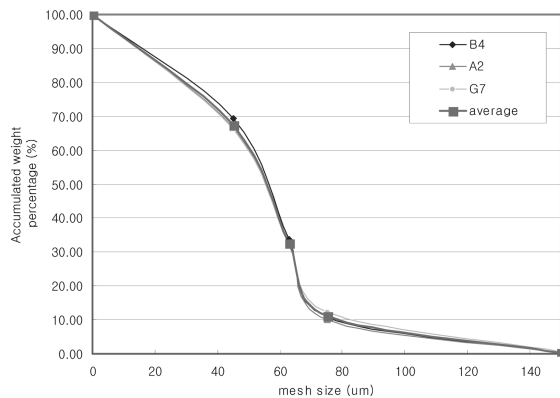


Fig. 1. The result of particle size analysis

다. 이는 균질화시에 이미 200 mesh로 체거름을 실시한 시료이기 때문에 판단되었다. 그 결과를 Fig. 1에 도식적으로 나타내었다. 체거름을 통해 선별된 비산재는 스테인레스제의 접시에 넓게 편 후 등 간격으로 matrix 구간을 주어 균질하다고 판단되어지는 시료 90병을 제조하였다.

3.1.3. 병간(between-bottle) 균질성 평가

제조된 숙련도 시험용 시료 90병중 5병을 선정하여 분석함으로써 비산재 숙련도시료의 균질성을 평가하였다. 병간 균질성 평가결과를 Table 1에 나타내었다. 병간균질성 평가결과 표준물질은 95% 신뢰구간에서 30.357±4.280 ng-TEQ/g의 범위에서 균질한 것으로 평가되었다.

3.1.4. 병내(within-bottle) 균질성 평가

제조된 숙련도 시험용 시료 90병중 2병을 선택하여 각 시료당 3개의 샘플을 채취, 총 6개의 시료분석을 통하여 비시료의 균질성을 평가하였다. 기술 통계자료를 이용하여 신뢰구간을 평가하였다. 병내 균질성 평가결과를 Table 2에 나타내었다. 병내 균질성 평가결과 표준물질은 95%신뢰구간에서 30.744 ± 3.033 ng-TEQ/g

Table 1. Homogeneity between-bottle

(unit : ng-TEQ/g)

	C3-BB	C6-BB	F3-BB	F6-BB	J4-BB
2,3,7,8-TCDF	0.156	0.192	0.157	0.181	0.139
1,2,3,7,8-PeCDF	0.185	0.204	0.160	0.185	0.155
2,3,4,7,8-PeCDF	2.771	3.115	2.591	2.990	2.432
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.731	0.758	0.607	0.665	0.610
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.716	1.812	1.559	1.592	1.443
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.630	2.737	2.200	2.413	2.002
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.151	0.183	0.132	0.158	0.132
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.069	1.118	0.903	1.000	0.844
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.253	0.245	0.211	0.206	0.184
OCDF	0.195	0.188	0.144	0.165	0.144
2,3,7,8-TCDD	3.348	3.929	3.046	3.882	2.975
1,2,3,7,8-PeCDD	6.318	6.831	5.294	6.083	5.052
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.664	1.728	1.369	1.545	1.319
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.433	2.605	2.105	2.269	2.049
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2.494	2.620	2.021	2.272	1.986
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	4.824	4.923	3.915	4.195	3.806
OCDD	1.456	1.432	1.066	1.197	1.019
PCDFs	9.857	10.552	8.664	9.555	8.085
PCDDs	22.537	24.068	18.816	21.443	18.206
(PCDDs+PCDFs)	32.394	34.620	27.480	30.998	26.291

Table 2. Homogeneity Within-bottle (unit : ng-TEQ/g)

	I3-1-WB	I3-2-WB	I3-3-WB	I6-1-WB	I6-2-WB	I6-3-WB
2,3,7,8-TCDF	0.154	0.163	0.183	0.126	0.166	0.161
1,2,3,7,8-PeCDF	0.162	0.178	0.198	0.148	0.167	0.179
2,3,4,7,8-PeCDF	2.523	2.769	3.082	2.485	2.770	2.823
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.610	0.694	0.772	0.637	0.672	0.730
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.455	1.699	1.781	1.495	1.485	1.752
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.126	2.440	2.590	2.205	2.269	2.500
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.132	0.155	0.144	0.110	0.143	0.168
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.865	1.026	1.137	0.916	0.893	1.118
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.195	0.234	0.246	0.214	0.210	0.226
OCDF	0.134	0.177	0.179	0.155	0.156	0.170
2,3,7,8-TCDD	3.232	3.626	3.853	2.715	3.520	3.430
1,2,3,7,8-PeCDD	5.443	6.003	6.717	5.342	5.739	6.704
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.377	1.779	1.785	1.470	1.527	1.734
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.107	2.539	2.523	2.212	2.186	2.569
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2.093	2.649	2.691	2.158	2.137	2.564
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	3.875	4.780	4.947	4.224	4.169	4.904
OCDD	1.025	1.385	1.445	1.174	1.208	1.441
PCDFs	8.356	9.535	10.312	8.491	8.931	9.827
PCDDs	19.152	22.761	23.961	19.295	20.486	23.346
(PCDDs+PCDFs)	27.508	32.296	34.273	27.786	29.417	33.173

의 범위에서 균질한 것으로 평가되었다.

균질한 것으로 평가되었다. 각 이성체별 신뢰구간에 대한 자료를 Table 3에 나타내었다.

3.1.5. 분산분석(analysis of variance)

최종적인 균질도의 확인을 위하여는 임의로 선정된 두 집단의 결과범위가 동일함이 증명되어야 하며 이때 일원배치 일변량 분산분석(one way ANOVA)을 이용하였다. 병내시료와 병간시료의 두 집단을 분산 분석한 결과 p값이 0.8448로 동일한 시료임이 입증되었으며 그 결과를 Fig. 2에 도시하였다.

병간시료 및 병내시료가 동일한 시료집단임이 증명되었으므로 전체 측정값의 집단으로써 반복측정에 의한 각 이성체별 신뢰구간을 구하였다. 그 결과 시료는 95%신뢰구간에서 30.567±2.012 ng-TEQ/g의 범위에서

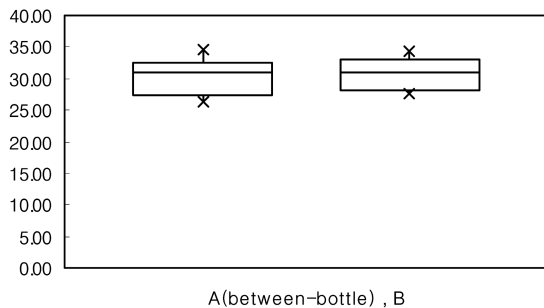


Fig. 2. The result of variance analysis.

Table 3. Confidence interval (unit:ng-TEQ/g)

	mean	SD	interval	confidence interval
2,3,7,8-TCDF	0.162	0.019	0.013	0.162±0.013
1,2,3,7,8-PeCDF	0.175	0.018	0.012	0.175±0.012
2,3,4,7,8-PeCDF	2.759	0.236	0.158	2.759±0.158
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.681	0.061	0.041	0.681±0.041
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.617	0.139	0.093	1.617±0.093
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.374	0.231	0.155	2.374±0.155
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.146	0.020	0.013	0.146±0.013
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.990	0.110	0.074	0.990±0.074
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.220	0.022	0.015	0.220±0.015
OCDF	0.164	0.020	0.013	0.164±0.013
2,3,7,8-TCDD	3.414	0.398	0.268	3.414±0.268
1,2,3,7,8-PeCDD	5.957	0.632	0.425	5.957±0.425
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.572	0.174	0.117	1.572±0.117
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.327	0.210	0.141	2.327±0.141
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2.335	0.272	0.182	2.335±0.182
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	4.415	0.462	0.311	4.415±0.311
OCDD	1.259	0.178	0.119	1.259±0.119
PCDFs	9.288	0.828	0.556	9.288±0.556
PCDDs	21.279	2.183	1.466	21.279±1.466
(PCDDs+PCDFs)	30.567	2.995	2.012	30.567±2.012

Table 3의 결과는 동일 시료를 반복 실험한 경우의 신뢰구간이므로 정확한 신뢰구간을 불확도의 표현으로 나타내려면 측정중의 각 불확도 인자를 파악하고 단일 시험 중의 측정불확도를 합성하여 표현하여야 한다.

3.2. 불확도 평가

불확도의 구체적 평가순서는 GUM(Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement)⁷⁾을 기본으로 해서 EURACHEM과 CITAC으로부터 발행된 Guide에 명시되어 있다. 이를 살펴보면 첫째, 측정대상, 측정순서 등을 명확히 한다. 둘째, 불확도와 관련된 각종 변수에 대해 가능한 요인을 선별한다. 셋째, 불확도성분을 정량화한다. 넷째, 합성불확도와 확장불확도를 계산한다. 즉, 측정순서에 대해 파악을 하고 해당 성분의 분석에 대한 모델식을 세워, 이에 따른 불확도 요인을 선정하고 통계적인 방법으로 표준불확도를 구한 뒤 각 불확도 요인의 단계별 합성불확도를 구하고 이 모든 합성불확도를 고려한 확장불확도를 계산하면 불확도를 산출할 수 있게 된다.

3.2.1. 시료의 준비 및 분석방법

비산재 시료 약 3 g을 취하여 적당량을 취하여 속실렛 추출한 후 시료의 검출농도가 적당하도록 분취한 후 정제용 표준물을 첨가한 후 전처리 및 농축을 하여

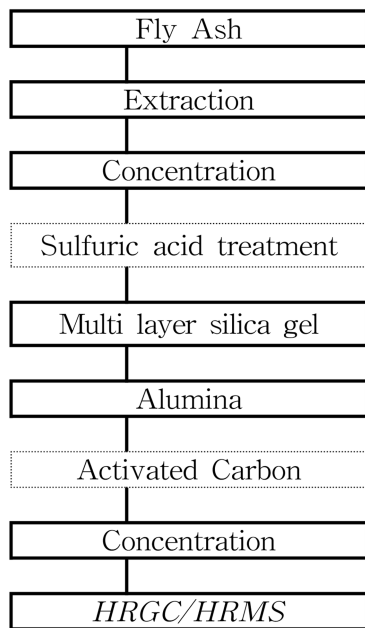


Fig. 3. Flow chart for dioxin analysis.

HRGC/HRMS로 분석하였다. 단계별 시험방법을 간단히 살펴보면 다음과 같다.

비산재 시료 약 3 g을 칭량 후 시료채취용 표준물 8 ng을 주입하고 염산처리를 한다. 처리된 시료는 풍건 후 톨루엔으로 속실렛 추출하고 액상은 액-액 추출하여 두 추출액을 합친 후 농축 등을 통해 적당한 양을 분취한다. 분취된 시료에 정제용 표준물질 1 ng을 주입하고 황산처리, 실리카겔 컬럼, 알루미늄 컬럼, 활성탄 컬럼 등의 정제과정을 거친 후 최종농축 후 회수율 측정용 표준물을 주입하고 최종시료 20 µl로 농축하여 시료를 고분해능 질량분석기에 주입하여 정량한다. 이에 대한 분석흐름을 Fig. 3에 나타내었다.

3.2.2. 분석 모델식 설정

농도계산은 아래의 수식으로 나타낼 수 있으며 각 단계에서 나타날 수 있는 불확도 요인을 표에 요약하였다.

$$C = \sum_{i=1}^{17} C_{di} f_{TEQ_i}$$

C_{di} : 각 이성체의 건상태 다이옥신 검출량(ng/g)

C : 건시료중 다이옥신 검출량(ng-TEQ/g)

f_{TEQ_i} : 각 이성체의 TEF factor

$$C_{di} = d \times \frac{C_{wi}}{M} \times \frac{1}{f}$$

d : 시료희석배수

M : 분석에 사용된 시료량(g)

f : 습시료중의 건시료 비율

C_w : 습시료중 다이옥신 검출량(ng)

C_{di} : 건시료중 다이옥신 환산농도(ng/g)

$$C_{wi} = \frac{A_{xi}}{A_{li}} \times \frac{C_{li}}{RRF_i}$$

A_{xi} : 시료에 함유된 이성체 선택이온의 피이크 면적

A_{li} : 시료에 첨가된 내부표준물질 선택이온의 피이크 면적

C_{li} : 시료에 첨가된 내부표준물질의 양(ng)

RRF_i : 상대반응계수

C_{wi} : 각 이성체의 다이옥신 검출량(ng)

$$C_{li} = V_{mp} \times C_{IS_i}$$

V_{mp} : 정제용 내부표준물질 주입에 사용된 micro

pipette 용량(μl)

C_{IS_i} : 정제용 내부표준물질 주입량(ng/ml)

위의 식을 정리해보면 다음과 같다.

$$C = \frac{d \times V_{mp}}{E \times M \times f} \sum_{i=1}^{17} (\chi_i \times C_{IS_i} \times f_{TEQ_i})$$

여기서 $\chi_i = \frac{A_{x_i}}{A_i RRF_i}$

다이옥신 분석은 17개의 이성체를 각각 분석하고 최종적으로 독성등가 값으로 변환된 각각의 이성체 값을 합산하는 방법으로 이루어지므로 개별 이성체에 대한 식은 다음과 같이 표현된다.

$$C = \frac{d \times V_{mp}}{M \times f} \left(\frac{A_x}{A_i RRF} \times C_{IS} \times f_{TEQ} \right)$$

위의 식에 의하면 다음의 실험값들을 이용하여 농도 값을 계산할 수 있다.

Table 4. The Example of calculating dioxin concentration

	value	unit	calculation
d	100	-	$C = \frac{d \times V_{mp}}{M \times f} \left(\frac{A_x}{A_i RRF} \times C_{IS} \times f_{TEQ} \right)$
V_{mp}	10	μl	
M	3.1461	g	$= \frac{100 \times 10}{3.1461 \times 0.9981}$
f	0.9981	-	
A_x	6.9×10^5	-	$\left(\frac{6.9 \times 10^5}{1.6 \times 10^7 \times 0.9826} \times 100 \times 0.1 \right)$
A_i	1.6×10^7	-	
RRF	0.9826	-	$= 139.7674 \text{ pg/g}$
C_{IS}	100	pg/μl	$= 0.140 \text{ ng/g}$
f_{TEQ}	0.1	-	

3.2.2. 불확도 인자의 결정

이 분석에 의해 발생하는 불확도 요인을 Fig. 2에 도시하였다. 본 연구의 불확도 산출에서는 각종 불확도 요인 중 분석 방법의 특성 및 영향이 대단히 적은 인자를 고려하여 다음과 같이 단순화 하였다.

1) 실험실의 환경조건은 20°C 상온상태로 가정하여 온도에 의한 부피팽창 등의 요인은 불확도 산정에서 제외한다. 정제용 표준물질로 첨가한 내부표준물질 외에는 시료의 농도산정에 관련이 없으므로 불확도 요인에서 고려하지 않는다.

2) 정제용 표준물질을 첨가한 이후의 과정에서는 정제용 내부표준물질과 측정대상성분이 동일한 거동을 나타내므로 부피 및 질량에 대한 불확도 요인은 고려하지 않는다.

3) GC/MS 측정조각에 있어서 주입량의 변동 및 감도변동은 정제용 내부표준물질과 측정대상성분이 동일한 거동을 나타내므로 불확도를 고려하지 않는다.

4) 다이옥신 분석에서는 검량선을 RRF가 대신하므로 불확도는 표준물질 RRF값의 불확도로 한다.

5) 저울은 측정불확도가 1 mg 미만인 화학천칭을 사용하는 것으로 하여 무게칭량에 기인한 측정불확도는 무시한다.

최종적으로 고려하여야 할 불확도 요인을 Table 5에 나타내었다.

3.2.3. 불확도 성분 정량화에 대한 고찰

3.2.3.1. 시료 분취에 의한 불확도[u(d)]

시료를 희석하기 위해 사용된 volumetric flask와

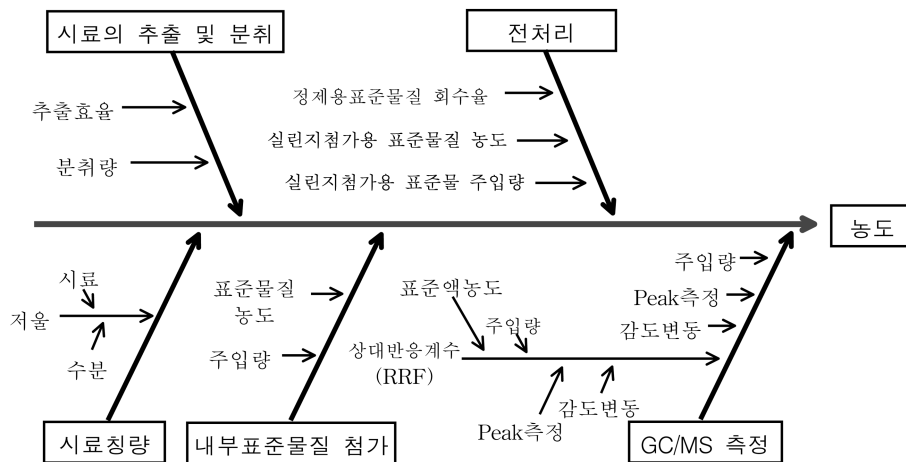


Fig. 4. Fishbone diagram of the uncertainty factors in dioxin analysis.

Table 5. Uncertainty factors in dioxin analysis

step	uncertainty factor	evaluation method	type
sample divide $u(d)$	volumetric flask $u(f)$	calibration certificate	B
	pipet $u(p)$	calibration certificate	B
Standard spike $u(C_l)$	concentration of standard solution $u(C_{IS})$	certificate from maker	B
	disposable micropipet $u(V_{mp})$	calibration certificate	B
	ability of analyst $u(w)$	repetition	A
mean RRF $u(GC)$	Calibration standard $u(C_{VS})$	certificate from maker	B
	mean rrf $u(RRF)$	SD of RRF	A

volumetric pipette에 대한 불확도를 시료희석배수 d 를 고려하여 교정성적서에 의한 B Type 합성표준불확도를 산출하였다. 예를 들어 사용된 플라스크와 피펫을 f_1, p_1, f_2, p_2 라 하면 시료분취에 의한 상대표준 불확도는 다음과 같이 구할 수 있다.

$$\frac{u(d)}{d} = \sqrt{\left[\frac{u(p_1)}{p_1}\right]^2 + \left[\frac{u(f_1)}{f_1}\right]^2 + \left[\frac{u(p_2)}{p_2}\right]^2 + \left[\frac{u(f_2)}{f_2}\right]^2}$$

이 과정에서의 유효자유도는 Welch-Satterthwaite 식으로 구하였다.

$$v_{eff} = \frac{u_c^4(y)}{\sum_{i=1}^N \frac{[c_i u(x_i)]^4}{v_i}}$$

3.2.3.2. 내부표준물질주입에 의한 불확도 $u(C_l)$

$C_l = C_{IS} \times V_{mp}$ 이므로 각각의 불확도 요인을 구한 후 합성하였다. 내부표준물질의 농도에 의한 불확도 $[u(C_{IS})]$ 는 시판되는 표준물질을 구매하여 농도변화 없이 사용하고, 제품의 순도는 성적서에서 얻을 수 있으므로 B형의 불확도를 산출하였다. 마이크로피펫 사용에서의 불확도 $[u(V_{mp})]$ 는 피펫자체의 불확도와 사용자의 숙련도에 의한 불확도를 고려하여야 하므로 마이크로피펫의 부피에 대한 불확도는 교정성적서에 의해 주어진 값을 사용하여 B형의 상대표준불확도를 구하였다. 시험자의 숙련도에 의한 불확도 산출은 반복실험을 통한 A형 평가를 수행한다. 이상의 3가지 요인을 합성하여 합성표준불확도를 산출하였다.

$$\frac{u(C_l)}{C_l} = \sqrt{\left[\frac{u(C_{IS})}{C_{IS}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{mp})}{V_{mp}}\right]^2 + \left[\frac{u(W)}{W}\right]^2}$$

3.2.3.3. 기기분석에 대한 불확도 $u(GC)$

기기분석에서 나타나는 불확도는 검량선작성용 표준

용액에서 오는 불확도 요인과 평균 RRF를 구하는데 있어서 오는 RRF의 불확도 요인으로 나눌 수 있다. 정량용표준물의 농도에 대한 불확도 $u(C_{VS})$ 는 시판되는 표준물질을 구매하여 농도변화 없이 사용하고 제품의 순도는 성적서에서 얻을 수 있으므로 B형의 불확도를 산출하고, RRF작성에서 오는 불확도 $u(RRF)$ 는 다이옥신분석에서는 검량선의 작성 대신에 5단계로 이루어진 정량용 표준물을 이용하여 5개의 RRF를 구한 후 평균 RRF를 구하여 정량에 이용하므로 RRF의 표준편차를 이용하여 표준오차를 구한 후 이를 불확도로 하였다. 이상의 2가지요인을 합성하여 다음 식에 의해 합성 표준불확도를 산출하였다. 이때 다이옥신은 17종의 이성체에 대해서 RRF값이 각각 다르므로 이 값을 적용하여 기기분석에 대한 불확도를 각각 계산하였다.

$$\frac{u(GC)}{GC} = \sqrt{\left[\frac{u(C_{VS})}{C_{VS}}\right]^2 + \left[\frac{u(RRF)}{RRF}\right]^2}$$

3.2.3.4. 합성불확도와 확장불확도 계산

항목별로 구하여진 불확도를 합성하여 측정값의 상대 합성표준불확도를 아래 식에 의해 산출하였다.

$$\frac{u(C)}{C} = \sqrt{\left[\frac{u(d)}{d}\right]^2 + \left[\frac{u(C_l)}{C_l}\right]^2 + \left[\frac{u(GC)}{GC}\right]^2}$$

각 이성체별로 산출된 상대 합성 표준불확도에 각 이성체별 농도를 곱하여 합성표준불확도를 계산하고 여기에 포함인자를 곱하여 이성체별 최종 확장불확도를 산출하고, 아래와 같이 다이옥신류에 대한 농도와 불확도를 표시하였다.

$$C_{dioxin} = \left(\sum_{i=1}^{17} C_i \pm k \times \sqrt{\sum_{i=1}^{17} \left[\frac{u(C_i)}{C_i} \times C_i \right]^2} \right) \text{ng-TEQ/g}$$

(신뢰구간 95%, $k=2$)

3.2.4. 불확도 성분 정량화 계산

3.2.4.1. 시료 분취에 의한 불확도 $u(d)$

시료를 100배 희석하기 위해 초기 추출 농축액을 10 ml volumetric flask를 2번 이용하고 1 ml pipette을 2번 이용하여 분취 하였다 사용된 첫 번째 플라스크 및 두 번째 플라스크를 각각 f_1, f_2 라고 하고 사용된 첫 번째 및 두 번째 피펫을 각각 p_1, p_2 라고 하면 분취에 의한 시료희석배수 d 는 다음과 같다.

$$d = \frac{f_1 \times f_2}{p_1 \times p_2}$$

즉 시료분취의 불확도는 100배 희석할 때 1/10으로 두 번 반복하여 분취한다. 첫 번째 및 두 번째 사용되는 플라스크, 첫 번째 및 두 번째 사용되는 피펫의 불확도는 교정성적서에 의한 B Type 합성표준불확도를 산출하면 된다.

- 첫 번째 1 ml volumetric pipette의 불확도 $u(p_1)$

교정성적서에 의해 주어진 피펫의 규격이 10.005 ml 이다. 이 값은 신뢰도가 $k=2$ 인 경우이므로 이에 대한 상대표준불확도를 산출한다.

$$\frac{u(p_1)}{p_1} = \frac{0.005}{2} = 0.0025$$

- 최초 10ml volumetric flask의 불확도 $u(f_1)$

10 ml volumetric flask의 교정성적서에 의한 규격은 100.02 ml이고 $k=2$ 이므로, 상대표준불확도는,

$$\frac{u(f_1)}{f_1} = \frac{0.02}{10} = 0.002$$

- 두 번째 피펫의 1/10 분배 불확도 $u(p_2)$

동일 제조사, 동일규격의 피펫을 사용하므로 같은 방법으로,

$$\frac{u(p_2)}{p_2} = \frac{0.005}{2} = 0.0025$$

- 두 번째 플라스크의 불확도 $u(f_2)$

동일 제조사, 동일규격의 플라스크를 사용하므로 같은 방법으로,

$$\frac{u(f_2)}{f_2} = \frac{0.02}{10} = 0.002$$

불확도 전파에 의하여 시료분취에 의한 상대표준 불

확도는

$$\begin{aligned} \frac{u(d)}{d} &= \sqrt{\left[\frac{u(p_1)}{p_1}\right]^2 + \left[\frac{u(f_1)}{f_1}\right]^2 + \left[\frac{u(p_2)}{p_2}\right]^2 + \left[\frac{u(f_2)}{f_2}\right]^2} \\ &= \sqrt{[0.0025]^2 + [0.001]^2 + [0.0025]^2 + [0.001]^2} \\ &= 0.003808 \end{aligned}$$

이 과정에서의 유효자유도 v_{eff} 는 Welch-Satterthwaite 식으로 구할 수 있으나 여기서 B형 평가이므로 각각의 불확도요인 i 에 대해 통상적으로 그때의 자유도는 무한대이고 유효 자유도 값은 항상 충분히 큰 값을 가지게 되므로 유효자유도는 무한대로 놓을 수 있다

3.2.4.2. 내부표준물질주입에 의한 불확도 $u(CI)$

식 (5)에 의해서 $CI = C_{IS} \times V_{mp}$ 이므로 각각의 불확도 요인을 구한 후 합성한다.

- 내부표준물질의 농도에 의한 불확도 $u(C_{IS})$

내부표준물질은 시판되는 표준물질을 구매하여 농도 변화 없이 사용한다. 이 표준제품의 순도는 성적서에서 얻을 수 있고 B형의 불확도를 산출한다. 제조사의 표준물질의 규격은 100 ng/ml \pm 5%이므로 직사각형분포를 가정하여

$$\frac{u(C_{IS})}{C_{IS}} = \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.028868$$

이 되고 이때 자유도는 무한대이다.

- 마이크로피펫 사용에서의 불확도 $u(V_{mp})$

피펫사용에 대한 불확도는 피펫자체의 불확도와 사용자의 숙련도에 의한 불확도를 고려한다. 마이크로피펫의 부피에 대한 불확도는 교정성적서에 의해 주어진 값을 사용하면 $10 \pm 0.3 \mu\text{l}$ 이며 $k=2$ 이므로 B형의 상대표준불확도를 구할 수 있다.

$$\frac{u(V_{mp})}{V_{mp}} = \frac{0.3}{10} = 0.03$$

이때 자유도는 무한대이다.

시험자의 숙련도에 의한 불확도 산출을 위하여 동일 용량(10 μl)을 10회 반복하여 취한 후 A형 평가를 하였다. 마이크로피펫 반복측정에 대한 값을 Table 6에 나타내었다.

그러므로 $u(w) = 0.16499$ 이고 상대표준불확도는 $u(W)/V_w$ 이므로 0.016499이다. 이상의 3가지요인을 합성하면

Table 6. The result of analyst ability

1st	9.9
2nd	10.1
3rd	10.2
4th	10.1
5th	10.0
6th	9.7
7th	9.7
8th	10.0
9th	9.9
10th	9.9
mean	9.95
SD	0.164991
standard uncertainty	0.052175
degree of freedom	9

$$\begin{aligned} \frac{u(C_I)}{C_I} &= \sqrt{\left[\frac{u(C_{IS})}{C_{IS}}\right]^2 + \left[\frac{u(V_{mp})}{V_{mp}}\right]^2 + \left[\frac{u(W)}{W}\right]^2} \\ &= \sqrt{[0.028868]^2 + [0.015]^2 + [0.016499]^2} \\ &= 0.036477 \end{aligned}$$

이 과정에서의 유효자유도 v_{eff} 는 Welch-Satterthwaite 식으로부터 계산하면 215이다

3.2.4.3. 기기분석 대한 불확도[u(GC)]

기기분석에서 나타나는 불확도는 검량선작성용 표준 용액에서 오는 불확도 요인과 평균 RRF를 구하는데 있어서 오는 RRF의 불확도 요인으로 나눌 수 있다

- 정량용 표준물의 농도에 대한 불확도 $u(C_{VS})$

정량용 표준물질은 시판되는 표준물질을 구매하여 농도변화 없이 사용한다. 이 표준제품의 순도는 성적서에서 얻을 수 있고 B형의 불확도를 산출한다. 제조사의 표준물질의 규격은 최대 불확도를 5%로 표시하고 있으므로 직사각형분포를 가정하여

$$\frac{u(C_{VS})}{C_{VS}} = \frac{0.05}{\sqrt{3}} = 0.028868$$

이 되고 이때 자유도는 무한대이다.

- RRF작성에서 오는 불확도 $u(RRF)$

다이옥신분석에서는 검량선의 작성 대신에 5단계로 이루어진 정량용 표준물을 이용하여 5개의 RRF를 구한 후 평균 RRF를 구하여 정량에 이용하므로 RRF의 표준편차를 이용하여 표준오차를 구한 후 이를 불확도로 한다.

RRF ₁	RRF ₂	RRF ₃	RRF ₄	RRF ₅
0.95	0.97	0.98	1.00	1.02

평균 RRF : 0.9826(기기에서 계산)

표준편차 : 0.024(기기에서 계산)

표준오차 : 0.0107 = $u(RRF) = \text{표준편차}/\sqrt{5}$

자유도 : 4

가 되므로 평균상대불확도 $u(RRF)/RRF = 0.010923$ 이다.

여기서 RRF는 이성체별로 다르므로 각 이성체별로 각각 계산해주어야 한다.

이상의 2가지요인을 합성하면

$$\begin{aligned} \frac{u(GC)}{GC} &= \sqrt{\left[\frac{u(C_{VS})}{C_{VS}}\right]^2 + \left[\frac{u(RRF)}{RRF}\right]^2} \\ &= \sqrt{[0.028868]^2 + [0.010923]^2} \\ &= 0.030865 \end{aligned}$$

이때 유효자유도는 Welch-Satterthwaite 식에 의하여 255가 된다.

항목별로 구하여진 불확도를 다음 Table 7에 정리하였다.

Table 7. The result of uncertainty factors for dioxin analysis

step	uncertainty factor	evaluation method	type	Relative standard uncertainty	Combinded standard uncertainty	degree of freedom
sample divide $u(d)$	volumetric flask $u(f)$	calibration certificate	B	0.001	0.003808	infinite
	pipet $u(p)$	calibration certificate	B	0.0025		
Standard spike $u(C_I)$	concentration of standard solution $u(C_{IS})$	certificate from maker	B	0.028868	0.036477	215
	disposable micro pipet $u(V_{mp})$	calibration certificate	B	0.015		
	ability of analyst $u(w)$	repetition	A	0.016499		
mean RRF $u(GC)$	Calibration standard $u(C_{VS})$	certificate from maker	B	0.028868	0.030865	255
	mean rrf $u(RRF)$	SD of RRF	A	0.010923		

Table 8. The uncertainty of instrument analysis for Dioxin

	u(d)	u(C _i)/C _i	u(GC)/GC	u(C)/C	
Furan	2,3,7,8-TCDF	0.0038	0.0365	0.0309	0.0479
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.0038	0.0365	0.0298	0.0473
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.0038	0.0365	0.0320	0.0487
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.0038	0.0365	0.0304	0.0477
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.0038	0.0365	0.0318	0.0485
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.0038	0.0365	0.0303	0.0476
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.0038	0.0365	0.0306	0.0478
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.0038	0.0365	0.0308	0.0479
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.0038	0.0365	0.0308	0.0479
	OCDF	0.0038	0.0365	0.0451	0.0581
Dioxin	2,3,7,8-TCDD	0.0038	0.0365	0.0329	0.0493
	1,2,3,7,8-PeCDD	0.0038	0.0365	0.0304	0.0476
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.0038	0.0365	0.0313	0.0482
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.0038	0.0365	0.0305	0.0477
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.0038	0.0365	0.0314	0.0483
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.0038	0.0365	0.0314	0.0483
	OCDD	0.0038	0.0365	0.0302	0.0475

3.2.4.4. 합성불확도와 확장불확도 계산

항목별로 구하여진 불확도를 합성하여 측정값의 상대 합성표준불확도를 아래 식에 의해 산출하여 Table 8에 나타내었다.

$$\frac{u(C)}{C} = \sqrt{\left[\frac{u(d)}{d}\right]^2 + \left[\frac{u(C_i)}{C_i}\right]^2 + \left[\frac{u(GC)}{GC}\right]^2}$$

각 이성체별로 산출된 상대 합성표준불확도에 각 이성체별 농도를 곱하여 합성표준불확도를 계산하고 여기에 신뢰도계수를 곱하여 이성체별 최종 확장불확도를 산출하고, 아래와 같이 다이옥신류에 대한 농도와 불확도를 표시한다

$$C_{dioxin} = \left(\sum_{i=1}^{17} C_i \pm k \times \sqrt{\sum_{i=1}^{17} \left[\frac{u(C_i)}{C_i} \times C_i \right]^2} \right) \text{ng-TEQ/g}$$

(신뢰구간 95%, k=2)

즉, 본 연구에 사용된 비산재의 최종측정값은 Table 9의 결과에 의해 다음과 같이 표시할 수 있다.

$$C = (30.567 \pm 0.958) \text{ng-TEQ/g(신뢰구간 95\%, k=2)}$$

3.3. 숙련도 시험용 시료의 최종 불확도 표현

반복실험에 의한 신뢰구간과 측정 값에 대한 불확도 요인을 합성하여 최종적인 숙련도 시험용 시료의 특성값을 구하였다.

3.4. 안정성 평가

장기간의 보관에 따른 시료의 안정성 및 상온에서의 안정성 평가를 위하여 4°C에서 7일 및 30일간 최종 시료 중 선정된 각각 2개의 시료를 보관 후 분석하였고 또한 상온에서 7일 및 30일간 최종 시료 중 선정된 각각 2개의 시료를 보관 후 시료를 분석하였다. 분석결과를 Table 11 및 12에 나타냈었다.

두 집단의 분석결과 평균값이 28.665 ng-TEQ/g, 29.079 ng-TEQ/g으로 값이 유사하여 하나의 집단으로 판단하고 기존의 병간, 병내시료의 값을 기준으로 분산 분석을 하여 시료의 안정성을 평가하였다. 분산분석결과를 Table 13에 나타내었다.

분산 분석결과 두 시료의 p값이 0.2059로 시료의 안정성이 확인되었다.

4. 결 론

본 연구에서는 다이옥신 분석을 위한 숙련도 시험용 시료를 제조하였다. 물리적인 방법으로 균질성을 확보한 후, 병간, 병내의 균질도 평가를 위해서 분석을 실시하였으며 특성값을 구하기 위해 불확도 요인을 파악하고 정량적으로 구하여 보았다.

숙련도 시험의 특성상 시료의 균질도 및 안정성에 대한 평가는 매우 중요한 것이며 본 연구는 이의 한 방법을 제시하려고 시도하였다.

Table 9. Expression of fly-ash concentrations with uncertainty

	concentration (ng-TEQ/g)	u(C)/C	standard uncertainty u(C)	expanded uncertainty k=2
Furan	2,3,7,8-TCDF	0.1616	0.0077	0.0155
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.1746	0.0083	0.0165
	2,3,4,7,8-PeCDF	2.7592	0.0487	0.2686
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.6805	0.0477	0.0649
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.6172	0.0485	0.1570
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.3738	0.0476	0.2259
	1,2,3,4,6,7,8,9-HxCDF	0.1462	0.0478	0.0140
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.9899	0.0479	0.0948
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.2204	0.0479	0.0211
	OCDF	0.1643	0.0581	0.0191
Dioxin	2,3,7,8-TCDD	3.4142	0.1683	0.3366
	1,2,3,7,8-PeCDD	5.9569	0.2837	0.5674
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.5725	0.0482	0.1516
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.3270	0.0477	0.2220
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	2.3350	0.0483	0.2254
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	4.4147	0.0483	0.4264
	OCDD	1.2589	0.0475	0.1196
PCDFs	9.2877		0.2016	0.4032
PCDDs	21.2792		0.4343	0.8686
(PCDDs+PCDFs)	30.5669		0.4788	0.9576

Table 10. The concentration of proficiency testing sample with uncertainty expression (ng-TEQ/g)

	relative standard uncertainty by repetition	relative standard uncertainty by evaluation	combined relative standard uncertainty	standard uncertainty	expression with uncertainty (k=2)
2,3,7,8-TCDF	0.03573	0.04793	0.05978	0.010	0.162 ± 0.019
1,2,3,7,8-PeCDF	0.03079	0.04457	0.05417	0.009	0.175 ± 0.019
2,3,4,7,8-PeCDF	0.02574	0.04607	0.05277	0.146	2.759 ± 0.291
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.02699	0.04499	0.05247	0.036	0.681 ± 0.071
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.02587	0.04591	0.05270	0.085	1.617 ± 0.170
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.02939	0.04492	0.05368	0.127	2.374 ± 0.255
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.04125	0.04512	0.06113	0.009	0.146 ± 0.018
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.03356	0.04525	0.05634	0.056	0.990 ± 0.112
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.03046	0.04526	0.05455	0.012	0.220 ± 0.024
OCDF	0.03584	0.05597	0.06646	0.011	0.164 ± 0.022
2,3,7,8-TCDD	0.03519	0.04672	0.05849	0.200	3.414 ± 0.399
1,2,3,7,8-PeCDD	0.03200	0.04496	0.05518	0.329	5.957 ± 0.657
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.03341	0.04558	0.05651	0.089	1.572 ± 0.178
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.02724	0.04504	0.05263	0.122	2.327 ± 0.245
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.03507	0.04564	0.05756	0.134	2.335 ± 0.269
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.03158	0.04566	0.05552	0.245	4.415 ± 0.490
OCDD	0.04255	0.04483	0.06181	0.078	1.259 ± 0.156
PCDFs				0.223	9.288 ± 0.445
PCDDs				0.505	21.279 ± 1.010
합계(PCDDs+PCDFs)				0.552	30.567 ± 1.104

Table 11. The evaluation of stability after 7 days

	B7-7 day	B2-7 day	E2-7 day	E7-7 day
2,3,7,8-TCDF	0.197	0.157	0.176	0.165
1,2,3,7,8-PeCDF	0.177	0.154	0.201	0.170
2,3,4,7,8-PeCDF	2.784	2.577	3.457	2.625
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.595	0.581	0.730	0.615
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.506	1.420	1.709	1.496
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.212	2.121	2.554	2.114
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.140	0.136	0.174	0.138
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.762	0.791	0.970	0.804
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.214	0.189	0.226	0.187
OCDF	0.134	0.135	0.160	0.158
2,3,7,8-TCDD	3.318	2.832	3.877	3.024
1,2,3,7,8-PeCDD	5.705	4.989	6.349	5.512
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.382	1.254	1.604	1.369
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.146	2.082	2.502	2.261
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2.031	1.944	2.463	2.075
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	3.992	3.774	4.409	3.877
OCDD	0.957	0.970	1.158	0.993
PCDFs	8.721	8.261	10.357	8.472
PCDDs	19.531	17.845	22.362	19.111
합계(PCDDs+PCDFs)	28.252	26.106	32.719	27.583

Table 12. The evaluation of stability after 30 days

	B7-7 day	H7-30 day	K2-30 day	K7-30 day
2,3,7,8-TCDF	0.197	0.200	0.157	0.191
1,2,3,7,8-PeCDF	0.177	0.209	0.167	0.203
2,3,4,7,8-PeCDF	2.784	3.312	2.903	3.424
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.595	0.669	0.580	0.691
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.506	1.644	1.408	1.692
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.212	2.417	2.263	2.712
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.140	0.269	0.160	0.236
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.762	0.807	0.764	0.895
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.214	0.204	0.192	0.231
OCDF	0.134	0.120	0.139	0.165
2,3,7,8-TCDD	3.318	3.739	3.237	3.835
1,2,3,7,8-PeCDD	5.705	6.081	5.048	6.299
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.382	1.459	1.299	1.566
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.146	2.278	2.038	2.455
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2.031	2.115	1.942	2.239
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	3.992	3.512	3.675	4.115
OCDD	0.957	0.780	0.948	1.097
PCDFs	8.721	9.851	8.733	10.440
PCDDs	19.531	19.964	18.187	21.606
합계(PCDDs+PCDFs)	28.252	29.815	26.920	32.046

Table 13. The result of ANOVA for stability evaluation

	n	mean	SD	SS	MS	F-value	p-value
reference	11	30.5669	2.9949	13.3052	13.3052	1.7299	0.2059
sample	8	28.8720	2.4218	130.7508	7.6912		
total				144.056			

불확도 요인을 정량화하기 위하여 여러 인자들을 단순화 시키고 생략하는 과정을 포함하였다. 불확도의 평가에는 복잡한 통계적, 수학적 지식이 요구되므로 모든 과정을 포함하는 것은 무리할 뿐만 아니라 의미없는 작업일 것이다. 그러나 불확도 요인을 판단하는 작업은 계속적인 연구가 수행되어야 할 것이다.

전체적인 평가결과 불확도는 2%(확장불확도는 4%) 정도로 평가되었다. 그러나 금번 평가시에 정량화가 어려운 관계로 제외시켰던 추출효율을 포함하면 불확도는 증가할 것으로 판단된다. 실제 추출효율을 98%로 평가한 경우 불확도는 3%로 증가하였다.

감사의 글

본 연구는 기술표준원의 연구용역사업으로 지원되어 수행되었습니다.

참고문헌

1. Yoshio Iida, Hiroyuki Ifaki, etc., *The Japan Society for Analytical Chemistry*, **2001**, 50, 571-576.
2. “숙련도시험 운영기준”, **2004**. 한국교정시험인정기구
3. Xueli Cao, Xiaobai Xu, Wenxuan Cui, Zhiqun Xi, *Fresenius J Anal Chem.*, **2001**, 370, 1035-1040.
4. R. Van Cleuvenbergen, G.N. Kramer, E.A. Maier, *Chemosphere*, **1998**, 37, 2425-2438.
5. S. L. R. Ellison, M. Roslein, A. Williams, “*Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*” 2nd ed., **2000**, EURACHEM/CITAC working group
6. Katsunori Motohashi, *環境と測定技術*, **2003**, 30, 56-67.
7. 정명세 외, “측정불확도 표현지침”, **1998**, 한국표준과 학연구원