



KOLAS-G-009 : 2024

화학적 시험방법의 유효성 확인을 위한 지침

한국인정기구

Korea Laboratory Accreditation Scheme

Korean Agency for Technology and Standards, MOTIE, Korea

화학적 시험방법의 유효성 확인을 위한 지침

제1조(목적) 이 지침은 KOLAS 공인기관의 인정시 요구되는 화학적 시험방법에 대한 유효성 확인을 위해 고려하여야 할 사항에 대해 규정하는 것을 목적으로 한다.

제2조(유효성확인) 화학적 시험방법의 유효성 확인을 위해 고려하여야 할 사항은 별표 1과 같다.

제3조(재검토 기한) 「훈령·예규 등의 발령 및 관리에 관한 규정」에 따라 이 요령 시행일부터 매 3년이 되는 시점까지 법령이나 현실 여건의 변화 등을 검토하여 이 요령의 유지 또는 개정 등의 조치를 하여야 한다.

부 칙

제1조(시행일) 이 고시는 공포한 날부터 시행한다.

제2조(일반적 경과조치) 이 기준의 시행과 동시에 종전의 「화학적 시험방법의 유효성 확인을 위한 지침」(국가기술표준원 고시 제 2021-0091호, 2021.4.8.)의 규정 중 그에 해당하는 규정이 이 요령에 있는 경우, 종전 고시에 따른 행위는 이 요령에 의하여 행한 것으로 본다.

[참고문헌]

- 1) AS 2850:1996 Chemical Analysis – Interlaboratory Test Programs for Determining Precision of Analytical Method(s) – Guide to the Planning and Conduct.
- 2) Eurachem/CITAC (2000) Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement Eurachem/CITAC Guide CG4, 2nd Edition, 2000, ISBN 0-948926-15-5, www.eurachem.ul.pt.
- 3) Eurachem/CITAC (2003) Traceability in Chemical Measurement Eurachem/CITAC Guide, 2003, www.eurachem.ul.pt
- 4) Hibbert (2004) Method Validation, in Encyclopedia of Analytical Science, 2nd Edition, Quality Assurance, Elsevier Ltd. 2004 (in print)
- 5) ILAC (2002) Introducing the Concept of Uncertainty of Measurement in Testing in Association with the Application of the Standard ISO/IEC 17025, ILAC G17, 2002, www.ilac.org.
- 6) ISO (1993) International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology, 2nd Edition, ISO, Geneva, 1993, ISBN 92-67-01075-1.
- 7) ISO (1995) Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, 1st Edition, ISO, Geneva, 1995, ISBN 92-67-10188-9.
- 8) ISO/TS 2004 Guidance for the Use of Repeatability, Reproducibility and Trueness Estimates in Measurement Uncertainty Estimation ISO/TS 21748:2004
- 9) LGC (2003) In-House Method Validation – A Guide for Chemical Laboratories, Laboratory of the Government Chemist (LGC), UK, 2003.
- 10) B. Magnusson, T. Naykki, H. Hovind and M. Krysell, Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories, NORDTEST Report TR537, 2003
- 11) J. C. Miller and J. N. Miller, Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry 4th Edition, Prentice Hall, 2000, ISBN 0-13-022888-5, and/or

-
- VAMSTAT II Statistics Training for Valid Analytical Measurements
CD-ROM, www.vam.org.uk.
- 12) M. I. Mulholland and D. B. Hibbert, Linearity and the Limitation of Least Squares Calibration, *J. Chromatography A*, 76273-82, 1997
 - 13) Taylor, J.K., *Quality Assurance of Chemical Measurements*, sixth edition, Lewis Publishers, ISBN 0-87371-097-5, 1989, page 79.
 - 14) Thompson M., Ellison S.L.R. and Wood R., Harmonised Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, 74(5), 835-855, 2002.
 - 15) UKAS (2000) *The Expression of Uncertainty in Testing*, UKAS LAB12, 1st Edition, October 2000, www.ukas.com.
 - 16) W. J. Youden and E. H. Steiner, *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists*, AOAC, 1975, ISBN 0-935584-15-3
 - 17) NATA Technical Note 17 - April 2009 Guideline for the validation and verification of chemical test methods

■ 화학적 시험방법의 유효성 확인을 위한 지침 [별표 1]

화학적 시험방법의 유효성 확인에 대한 고려사항

1. 개요(Introduction)

시험기관에서 시험방법을 적용하기에 앞서, 시험 목적에 적합한지의 여부를 먼저 검증하여, 고객이 이 방법을 통해 얻은 결과를 확신을 가지고 활용할 수 있도록 해야 한다. 시험방법의 유효성 확인(Method Validation)은 구체적인 용도에 따른 특정 요구사항의 만족에 대한 객관적인 증거를 제공한다.

시험방법 유효성 확인은 KS Q ISO/IEC 17025에 대한 시험기관 인정의 기본적인 요구사항이다. 그러므로 이 규격에 따라 인정을 받은 시험기관은 자체 개발하거나 표준 시험방법에서 수정한 모든 방법을 유효화하고 표준 시험방법을 검증하여 그들이 사용하는 모든 방법의 유효성을 입증해야 한다.

ISO/IEC 규격은 유효성 확인이 항상 비용, 위험성 및 기술적 가능성(7.2.2.2 ~ 7.2.2.3) 간의 균형을 고려하여 이루어짐을 인정하고 있다. 요구되는 유효성 확인의 수준은 고려대상인 시험방법의 현황과 그 방법의 의도된 목적에 따라 달라진다. 새로 개발된 자체적인 방법(In-house Method)은 일반적으로 엄격한 유효성 확인 수준을 필요로 하지만, 시험기관에서 이미 유효성이 확인된 시험 절차에서의 간단한 수정은 의도한 범위에서 적용 전과 단지 비교 편倚(bias)에 대한 점검만이 요구된다.

만약 시험기관이 공동연구(collaborative studies)에 의해 포괄적으로 유효성이 확인된 표준시험방법(KS, ASTM 등)을 적용한다면, 요구되는 검증(Method Verification)의 정도에 대한 검토가 필요하다. 이때의 시험방법 검증 연구는 일반적으로 시험방법의 유효성 확인보다 그 범위가 좁은 경우가 많다. 이와 관계없이, 시험기관은 그들 자신이 보유한 시험조건 하에서 표준시험방법에 규정된 성능 특성들을 충족할 수 있음을 입증해야 한다. AOAC 기술문서(AOAC, 2007)가 시험방법의 검증에 유용한 지침을 제공한다.

본 기술문서에는 시험방법의 유효성 확인이나 시험방법 검증을 수행할 때 고려해야 하는 여러 관점과 이들을 조사 및 평가하는 방법에 대한 지침이 제시되어 있다. 본 문서는 화학 분석방법을 활용하는 모든 시험 분야에 적

용할 수 있도록 작성되었다. 본 문서에 제시된 정보 및 지침의 주요 출처는 IUPAC 기술 보고서, 영국의 국립화학연구소(LGC, 2003) 및 B. Hibbert (Hibbert, 2004)의 최근 간행물이다.

2. 유효성 수행인자 (Validation parameter)

측정 및 시험방법의 유효성 확인의 첫 번째 단계는 무엇을 측정하고자 하는지를 정의하는 것이다. 이는 측정할 대상에 대해 정성적인 기술 및 양(量)을 뜻한다. 그 후에 이러한 정의 및 고객의 요구사항에 대하여 시험방법을 유효화한다.

유효성 확인의 두 번째 단계는 성능 변수(performance parameters)라고도 불리는 성능 특성(performance characteristics)을 결정하는 것이다. 이러한 성능 특성에는 다음과 같은 것들이 있다.

2.1 선택성(Selectivity)

시험방법의 선택성은 간섭물질이 존재할 때의 측정의 정확성을 뜻한다. 크로마토그래피/질량분석과 같이 매우 명확하고 결정적인 절차에 의한 방법은 선택성이 매우 높아질 수 있다. 하지만, 비색 측정을 기반으로 하는 방법은 분석하고자 하는 물질과 화학적 특성이 유사한 다색 시료의 공동추출물이나 화합물의 존재로 인한 영향을 받을 수도 있다. 잠재적인 모든 간섭물질을 고려하는 것은 현실적이지 못하지만, 분석자가 자신의 경험 및 지식을 활용하여 발생 가능한 최악의 상황을 고려해야 한다.

잠재적인 간섭물질의 영향은 의심되는 간섭물질을 사전에 알려진 농도만큼 첨가한 시료를 분석함으로써 확인할 수 있다. 이러한 분석은 실제 분석에서 예상되는 농도 범위 이상으로 분석물질(analyte)이 포함된 시료를 대상으로 해야 한다.

기본적으로 시험방법은 현저한 간섭들이 없이 선택성의 수준이 제공되도록 개발되어야 한다.

2.2 직선성(Linearity)

측정모델이 장비 감응값(instrumental responds)과 농도 간의 관계로 정의되는 측정방법에 대해서는 이러한 측정모델로 적용 가능한 범위가 수립되어야 한다.

많은 분석법에서 농도의 장비 응답값에 대한 함수는 지정된 범위 내에서 직선적이며 이것은 보통 그래프법을 통해 증명할 수 있다.

시험방법의 유효성 확인 과정의 일부로서 검정 모델(calibration model)의 유효성을 수립할 때는 다음의 규칙을 활용할 것이 권장된다.

- 검정 표준은 5개 이상이어야 한다.
- 검정 표준은 측정하고자 하는 농도 범위에 고르게 분포하고 독립적으로 제조되어야 한다.
- 범위에는 발생 가능한 농도의 0 ~ 150% 또는 50 ~150% 중 더 적절한 범위가 포함되어야 한다.
- 검정 표준은 최소 2회 이상, 가급적이면 3회 또는 그 이상 무작위로 시행한다.

데이터를 간단히 그래프로 나타내면 응답값과 농도의 관계에 대한 특징을 쉽게 알아볼 수 있다. 장비의 응답값(y)과 농도(x)의 관계식을 직선 모델인 $y=a+bx$ 로 만들 때, 고전적인 최소 제곱 회귀법이 사용된다. 회귀 분석의 표준 오차($s_{y/x}$)는 직선의 정확성을 나타내는 것이다. 직선성에 대한 시험으로 회귀 분석을 통해 유도된 상관 계수를 사용하는 것은 잘못된 결과를 초래할 수 있다(Mulholland와 Hibbert, 1997). 또한 잔차(residual)는 비직선적인 양상에 대한 증거로 검토되어야 한다(Miller와 Miller, 2000). 직선성을 확인하고 이상값을 검사하기 위해 회귀 분석된 데이터와 잔차에 대한 그래프를 작성하고 조사해야 한다.

조사된 범위에서 그 관계가 직선적이지 않다면 비직선형의 원인을 밝혀내거나 시험방법에서 직선성을 나타내는 범위로 측정을 제한해야 한다. 경우에 따라서는 비직선형 함수를 사용하는 것이 적절할 수도 있다. 그러나 선정한 모델의 정확한 유효성을 확인하기 위해 주의를 기울여야 한다.

2.3 매질 효과(Matrix Effect)

일부 분석 방법에서는 물질의 주어진 양(대부분 농도로 측정됨.)에 대해 측정된 값이 분석 대상 시료의 매질에 따라 다를 수 있다. 예를 들어, 기체-액체 크로마토그래피를 이용하는 농약 잔류물 검사에서는 매질 효과가 증가하는 경우가 자주 발생한다.

매질효과가 나타나지 않는다면 검정표준을 분석대상성분의 단순용액으로 준비하는 것이 바람직하다. 매질효과가 의심되는 경우에는 전형적인 시료 추출용액에 분석대상성분의 표준물을 첨가하여 조사할 수 있다. 이때 첨가된 표준물의 농도 범위는 매질이 없는 표준물의 경우와 동일하게 하여 두 검정곡선의 기울기 간의 차이를 비교할 수 있게 한다. 기울기에 현저한 차이가 없다면 매질 효과에 대해 보정할 필요가 없다. 그러나 표준물의 첨가가 부가적인 매질효과를 보정하지 않는다는 사실에 주의해야 한다.

2.4 감도(Sensitivity)

시험방법의 감도는 분석대상성분의 농도 (또는 양)의 변화에 따른 측정신호 값의 변화에 대한 비율이다. 시험방법의 감도(검량선의 기울기)가 클수록 분석대상성분 농도의 미세한 변화를 확인하기가 더 용이해진다. 만약 기기 작동 상태에 따라 매일마다 감도가 변한다면 요구되는 농도 범위 내에서 적합하고 직선적인 신호가 규칙적으로 나오도록 시험방법의 유효성 확인을 하는 동안 감도에 대해 고려해야 한다. 감도 확인은 시험기관의 지속적인 품질보증 및 품질관리 절차의 일부로서 이루어져야 한다.

2.5 정확도(Accuracy)

정확도는 시험결과의 품질(즉, 결과가 고객에게 얼마나 유용한가)을 측정하는 것이다. 정확도에는 2가지 구성요소인 정밀도(Precision)와 진도(Trueness)로 구성된다.

정밀도는 우연오차(random error)에 대한 측정이다.

시험방법의 진도는 시험결과인 측정량이 인정받은 참조값(accepted reference value)에 대해 얼마나 근접하는가에 대한 것이다. 진도의 결여는 계통오차(systematic error)를 의미한다. 엄밀하게는 ‘장비측정결과에 원인하는 계통오

차'를 뜻하는 용어인 편의(Bias)는 현재 모든 계통적인 오차를 나타내는 데 일반적으로 사용되고 있다. 편의는 진도의 정량적인 표현이다. 편의가 감소하면 결과의 진도는 좋아진다.

분석 회수율(Analytical recovery)은 일반적으로 시료의 준비, 시료로부터 분석대상물의 추출, 정량 이전의 분석과정에 관련된 편의이다. 분석 회수율을 추정하기 가장 좋은 방법은 일정한 농도(또는 양)의 분석대상성분이 포함된 매질 인증표준물질(CRM)을 분석하는 것이다. 분석 회수율은 측정된 농도를 인증값으로 나눈 비율로 기록된다. 적절한 CRM이 없는 경우에는, 알려진 양의 분석대상성분을 첨가하기 전과 첨가한 후의 시료를 분석하여 분석 회수율을 추정할 수 있다 【일반적으로 '소량 첨가 (spiking)' 라 하는 절차】 이 경우, 회수율은 소량 첨가 전과 후로부터 얻어진 분석 결과값의 차와 추가한 양의 비율로 계산한다.

단일 시험소에서의 유효화에서 시험결과에 영향을 줄 수 있는 편의의 전체 인자 중에서 회수율을 다른 요소로부터 분리하는 것이 불가능하다. 다음 내용에 제시된 절차를 통해 전체적인 편의를 추정할 수 있다.

2.5.1 정밀도(Precision)

시험방법의 정밀도는 지정된 조건 하에서 시행된 각각의 반복적인 시험결과들 간의 근접성을 나타내는 것이다. 정밀도는 일반적으로 반복된 결과의 표준편차(s) 또는 상대표준편차(RSD)로 나타낸다. 일반적으로 **반복성(repeatability)**과 **재현성(reproducibility)**이 정밀도를 나타내는 2가지의 척도로 사용된다. KS A ISO 5725에는 이러한 시험방법 유효성 확인 측면에서 지침을 제공하고 있다.

2.5.1.1 반복성은 동일한 조건 하에 한 시험기관에서 한 명의 담당자가 동일한 장비를 사용하여 동일한 시험 대상을 짧은 시간 간격으로 반복 시행하는 시험을 의미한다. 반복성은 시험 방법의 효과를 나타내는 유용한 지표이지만, 일반적인 운영 조건하에서 장기간에 걸쳐 발생할 수 있는 결과의 퍼짐이 과소평가된다.

2.5.1.2 재현성은 더욱 다양한 조건 하에서 수행하는 일련의 측정, 즉 시험 대상과 방법은 동일하지만 담당자, 장비, 실험실, 시간대가 다른 경우에 관한 것이다. 따라서 재현성은 단일 시험기관에서 수행하는 시험방법의 유효성 확인 요소는 아니지만, 시험기관이 특정한 방법을 통해 얻은 결과를 연구에 참여하는 다른 시험기관의 결과와 비교하고자 하는 경우에는 매우 중요한 요소가 된다. 하나의 시험기관으로 제한된 재현성 조건에 대한 정밀도를 나타낼 때는 ‘시험기관 간 재현성(intra-laboratory reproducibility)’, ‘시험기관 내 재현성(within-laboratory reproducibility)’ 또는 ‘시험기관 간 재현성(inter-laboratory reproducibility)’, ‘중간 정밀도(intermediate precision)’ 등의 용어를 사용한다.

제시된 정밀도가 일반적인 운영 조건 하에서의 시험 방법의 효과를 실질적으로 반영하도록 하려면, 정밀도를 다음 조건 하에서 결정되어야 한다. 시험재료는 일반적으로 분석되는 전형적인 시료이어야 한다. 시료 준비는 일반적인 절차와 동일해야 하며, 시약, 시험기구, 분석자 및 장비의 변동은 일반적인 경우를 대표할 수 있어야 한다.

정밀도는 분석대상성분의 농도에 따라 다를 수 있다. 만약 분석대상성분의 농도가 평균값에 비해 50% 이상의 차이가 날 것으로 예상되는 경우에는 정밀도를 조사해야 한다. 일부 실험의 경우, 시험결과가 사용자에게 매우 중요한 의미가 있는 하나 또는 두 가지 농도에서만 정밀도를 결정함이 적절할 수 있다. (예를 들면, 제조 품질관리 규격 또는 규정 한도).

단일 시험기관의 유효화에서는 시험기관 제조시료, CRM 또는 RM으로부터 독립적으로 준비된 시험 시료들을 장기간의 일반 운영 조건 하에서 반복적으로 분석함으로써 최적의 정밀도를 얻을 수 있다. 이러한 절차에는 일반적으로 위에 언급된 시험기관 내 재현성의 결정을 포함한다.

만약 다른 시료(가능하다면 다른 시간에서)에서 수행된 정밀도 실험으로부터 데이터를 얻는 것이 가능하고 각 데이터 간에 현저한 차이가 없다면 합동 표준편차(pooled standard deviation)를 계산하기 위해 그 데이터들을 조합할 수 있다.

2.5.2 진도(Trueness)

측정 결과의 편의(Bias)는 시험방법 자체의 편의, 시험기관의 편의, 특정 분석과 관련된 편의의 조합이라고 볼 수 있다.

이미 농도를 알고 있는 분석대상성분을 포함한 표준물질을 활용하여 시험 결과의 편의를 산정할 수도 있다. 만약 각각의 시험에서 편의가 결정되지 않으면, 알려진 값으로 수일간 시행한 여러 시험의 결과를 비교하여 평균 편의를 추정하는 것이 가장 좋다. 표준물질은 매질 및 분석대상성분이 그 방법으로 분석하고자 하는 시료와 일치해야 한다.

2.5.2.1 인증표준물질(CRM)

인증표준물질에는 불확도가 명시되고 국제표준으로 소급 가능하도록 부여된 값인 측정량이 포함되어 있다. 인증표준물질을 시험기관 시료의 매질과 값에 따라 선정할 수 있다면 이것은 편의를 산정하기 위한 가장 좋은 수단이다. 이론상, 적절한 매질 및 분석대상성분의 농도로 몇 개의 CRM을 측정해야하나 대부분의 시험방법에서는 적절한 CRM이 존재하지 않기 때문에 대체수단을 활용하여 편의를 추정해야 한다.

인증표준물질은 교정에 대안을 확보하기 위해서도 사용된다.

2.5.2.2 표준물질(RM)

CRM이 없는 경우에는 시험할 시료와 매질이 일치하며 분석 대상물에 대해 적절한 특성을 가진 다른 표준물질을 활용하여 편의를 추정할 수 있다. 제한된 공동 시험(collaboratory testing)을 통해 특성을 파악한 물질이 적합할 수도 있다. 시험기관은 인증표준물질을 정기적으로 분석하는 대신 비용 상, 효율적인 대체수단으로서 인증표준물질에 의해 특성을 파악한 표준물질(RM)을 일상적인 품질관리에 활용할 수도 있다.

2.5.2.3 소량첨가시료(Spiked samples)

적절한 CRM 및 RM이 모두가 불가능하다면 첨가시료, 즉 알려진 농도로

분석대상물질을 첨가한 시료의 분석을 통해 편의를 확인할 수 있다. 잔류 농약 분석과 같은 일부 시험의 경우, 시료에 분석대상성분의 잔류물이 검출 가능한 양만큼 포함되어 있지 않을 때, 시험기관은 시료에 분석대상성분을 소량 첨가할 수 있다. 하지만 많은 시험의 경우에는 분석대상성분이 원 상태의 농도로 포함된 시료에 첨가할 필요가 있다.

이러한 경우 첨가하기 전과 후의 시료를 분석한 결과 간의 차이로부터 편의를 추정한다. 첨가시료의 분석을 통해 편의를 산정할 때에는 첨가한 시료의 회수율이 ‘원 상태의’ 분석물이나 잔류물/오염물이 발생한 분석물에 비해 더 좋을 수 있기 때문에 주의해야 한다. 예를 들어, 먹는 물에 불소를 첨가하면 신뢰할 수 있는 회수율을 산정할 수 있지만 토양에 유기염소제를 첨가하면 그렇지 않다. 이것은 대부분 ‘첨가된’ 분석대상성분과 ‘원 상태의’ 분석대상성분에 대한 추출 효율성의 차이 때문이다. 가능하다면, 소량 첨가를 통해 얻은 회수율 자료는 본래의 시료나 잔류물/오염물이 발생한 시료를 포함한 숙련도 시험 참여를 통해 증명해야 한다.

상황에 따라 시험기관이 소량 첨가를 통해 얻은 회수율 데이터만으로 편의를 추정해야 하는 경우도 있다. 이런 경우에 100%의 회수율이 반드시 높은 진도를 의미하는 것이 아니라 비록 전체 편의를 과소평가할 수도 있지만 낮은 회수율은 명확히 편의를 의미한다는 점에 유의해야 한다.

2.5.2.4 참조 방법(Reference Method)

편의가 알려진 참조방법을 사용하여 다른 방법의 편의를 조사할 수 있다. 제안된 시험프로그램과 관련된 매질과 분석대상성분 농도 범위에 해당되는 전형적인 시료를 두 가지 방법으로 모두 분석한다. 시험방법의 편의의 유의(significance)는 얻어진 시험결과의 통계적 분석(t-시험)을 통해 추정할 수 있다.

2.6 검출 및 정량 한계

시험방법의 검출 한계(LOD)는 0과는 확실하게 구분할 수 있는 분석대상성분의 최소량 또는 최저 농도이다. 즉, LOD는 시험방법으로 측정할 수 있는 값이 시

험방법과 관련된 불확도보다 클 때 그 값들 중 가장 낮은 값이다.(Taylor, 1989) KOLAS는 미량의 유기 분석물을 적절하고 적합한 기술에 의해 확실하게 식별하도록 요구한다. 이에 관련하여 미량 유기분석에서 LOD는 0과는 확실하게 구분될 수 있고 사전에 정의된 기준이나 신뢰수준에 따라 확실하게 식별될 수 있는 최소량 또는 최저 농도이다.

시험방법의 정량 한계(LOQ)는 보통 ‘적절한 불확도 수준으로 결정 가능한 분석물의 최저 농도’로 정의되고 있다. LOQ의 추정에는 다양한 규칙이 적용되어 왔다. 가장 일반적으로 권장되는 방식은 LOQ를 LOD의 3배로 정하는 것이다.

항상 LOQ보다 매우 높은 농도의 분석대상성분을 측정해야 하는 시험방법의 경우, LOD나 LOQ를 추정할 필요는 없다. 하지만, 고려되는 농도가 LOD 또는 LOQ에 근접하는 경우가 많은 미량 및 극미량 시험방법에서는 그 추정치가 매우 중요하며 “미검출(not detected)”이라는 결과에도 불구하고 위험평거나 규제의 결정에 중요한 영향을 미칠 수 있다.

시험 방법의 LOD를 분석장비의 최소 감도와 혼동하면 안 된다. 장비에 도입된 분석표준에 대한 신호 대 잡음비(S/N비)의 활용은 장비의 성능을 나타내는 유용한 지표이지만 시험 방법의 LOD를 추정하기에는 부적합하다.

시험 방법의 LOD를 추정하려면 분석 절차의 모든 단계를 포함하여 시료에 대한 분석을 수행해야 한다. LOD는 각 3가지 농도에서 7개 복제 샘플을 분석함으로써 결정될 수 있다. 이 때 최저농도는 0에 상당히 근접한다. 표준편차 대비 농도의 플롯(Plot)를 외삽하여 농도가 0일 때의 표준편차(s_0)를 추정한다. 시험방법의 LOD는 $b + 3s_0$ 이며, b 는 평균시료 바탕값이다. LOD는 시험방법이 해당 농도의 시료에 존재하는 분석대상성분을 검출하는 것에 대해 95%신뢰수준을 갖는다.

다른 방식으로, LOQ의 약 2배에 해당되는 한 가지 농도로 7회의 반복 분석을 수행할 수도 있다. (분석자는 충분한 정보를 바탕으로 해서 적절한 농도를 선정해야한다.) 이런 경우에는 이 반복 분석의 표준편차를 대략 s_0 로 가정할 수 있으며, 위에서 설명한대로 LOD를 산출할 수 있다.

2.7 범위(Range)

시험방법의 적용범위(Working Range)는 적절한 불확도 수준을 갖는 시험결과를 얻을 수 있는 농도 범위로 정의된다. 앞서 논의된 인자들에 의하여 이는 LOQ와 교정선의 상한값 사이의 농도 범위와 동일한 것으로 간주된다. 실제로는 이 상한값보다 큰 농도(결정된 선형 범위를 벗어난 곳)에서도 적절한 불확도가 구해진다. 하지만 유효성이 확인된 범위, 즉 LOQ 및 유효성이 확인된 최고 농도 사이의 범위를 고려하는 것이 더 바람직하다.

2.8 둔감도(Ruggedness)

시험방법의 둔감도 【견고성(robustness)의 측정】은 시험결과가 절차상에 제시된 시험 조건에 대한 작은 변화, 예를 들면 온도, pH, 시약 농도, 유속, 추출 시간, 이동상의 조성에 대한 작은 변화의 영향을 받지 않는 수준을 나타내는 것이다. 둔감도는 계획된 시험방법 조건들의 작은 변화가 결과에 미치는 영향을 측정하여 파악할 수 있다. 경우에 따라서는 자체시험방법(In-house method)의 개발로 수행한 연구에서 얻은 정보가 유용할 수 있다. 시험기관 내에서의 재현성 조사는 그 특성상, 시험 방법의 둔감도 중 일부로서 고려된다.

가장 간단한 둔감도 시험은 한 시험에 하나의 시험방법 변수만을 고려한다. Youden 및 Steiner(1975)는 8회의 분석만으로 7가지 변수를 평가하는 경제적이고 효율적인 접근법인 Plakett-Burman이 고안한 실험을 제시하였다. 이때 두 접근법 모두 영향들이 독립적이라고 전제한다.

실제로는, 숙련된 분석자는 결과에 영향을 미칠 수 있는 시험방법 변수들을 파악하고 이런 영향들을 방지할 수 있도록 제어한다.(예를 들면, 온도, 시간, pH 범위 등의 한계)

2.9 측정 불확도(Measurement Uncertainty)

측정불확도는 시험방법이 아니라 시험결과의 특성이다. 그럼에도 시험방법에 의해 발생하는 불확도는 시험방법의 효과를 나타내는 중요한 지표로 간주된다.

측정불확도(MU)는 ‘충분히 타당성 있는 이유에 의해 측정량에 영향을 미칠 수 있는 값들의 분포를 특성화한 패러미터’로 정의된다. MU에 대한 지식은 측정값 간의 효과적인 비교, 그리고 측정과 규격 한도의 비교에 필수적이다. 또한 MU는 소급성과 밀접하게 연관되어 있다. 시험결과는 일반적으로 불확도에 영향을 미치는 각 요소와 끊어지지 않는 교정의 고리를 기록하여 국가표준이나 국제표준과 같이 지정된 기준자료와 소급성을 유지해야 하고 모든 결과에는 불확도를 언급해야한다. (ISO/IEC, 2007; Eurachem/ CITAC, 2003). KS Q ISO/IEC 17025는 시험기관이 자체적인 비표준 분석방식에 대한 MU를 추정하고, 해당되는 경우, 결과와 관련된 MU를 보고하도록 정하고 있다. 따라서 MU의 산정은 시험방법의 유효성확인에서 기본적인 요건이다.

MU의 추정을 위한 여러 접근법에 대한 다양한 참조문서가 존재한다. ISO는 MU의 추정에 대한 지침을 발간했으며(KS Q ISO/IEC 21748, 2015), Eurachem/CITAC은 이러한 지침을 분석측정에 적용하는 방법에 대한 해설을 제시했다(EURACHEM / CITAC Guide CG 4 2012). 현재 이 문서들은 시험기관에게 합리적인 MU의 추정에 반영할 수 있는 더 실용적인 예시와 더 간편한 방법을 제공하기 위해 작성된 여러 문서들(ILAC, 2002; UKAS, 2000; ISO/TS, 2004; Magnusson 외, 2003; Eurolab, 2007; Nordtest, 2005)로 보완되어 있다. www.knab.go.kr 웹사이트에서도 우수한 사례를 찾아볼 수 있다.

KOLAS-G-004 (시험분야 측정불확도 추정에 관한 지침)을 KOLAS 웹사이트 (www.knab.go.kr)에서 열람이 가능하다. 또한 이 웹사이트는 예제를 제공할 뿐만 아니라 다른 정보를 제공해 줄 수 있는 다른 웹사이트와도 연결되어 있다. 앞 내용에 언급된 시험방법의 유효성 확인 절차로부터 얻은 여러 정보를 활용한다면 합리적인 MU를 충분히 산정할 수 있다. 이 자료는 시험 방법을 도입한 후의 정기적인 품질관리를 통해 얻은 데이터와 숙련도시험에 참여해서 얻은 데이터로 보완할 수 있다. 출판된 자료 및 전문가의 판단을 근거로 전체 또는 부분적으로 추정할 수 있다. 시험방법의 유효성 확인의 다른 모든 측면과 같이 측정 불확도의 추정도 역시 시험 목적에 적합하도록 이루어져야 한다. 추정의 엄격도는 시험의 목적에 따라 달라지지만, 추정치가 시험 목적에 적합해야 한다는 것을 기본 원칙으로 해야 한다. 장기적인 정

밀도 (시험소내 재현성) 및 편의를 통해 합리적인 MU를 산정할 수 있다. 경우에 따라서는 이 인자들에 의해 다루어지지 않을 수 있지만 MU에 큰 영향을 주는 것들 (예를 들면, 표준물질의 순도)이 추정에 포함될 필요가 있다. 시험 결과 및 결과에 대한 MU는 동일한 단위로 표현할 것을 권장한다. (Eurachem/CITAC, 2000). 시험방법을 통해 얻은 결과가 사용자에게 가장 중요한 수치, 예를 들면 품질관리기준이나 규제 한계와 같은 특정한 농도들에서 MU를 추정하는 것이 바람직하다.

KOLAS의 MU에 대한 현재 방침은 시험기관이 문서화된 절차를 통한 MU 추정의 예를 제시하도록 정하고 있다. 이러한 절차는 참조문헌을 인용할 수 있으며 대체적인 방법이 포함될 수 있다. 검토를 위해 제출하는 MU 추정의 예시는 다음 사항을 포함해야 한다.

- 결과 산출에 사용된 수식을 포함한, 시험방법에 대한 간략한 설명
- MU를 추정하는 데 사용된 접근방법에 대한 고려
- MU의 주요 요인에 대한 고려 【 ‘특성요인도’(fishbone diagram)가 효과적】
- 선정된 접근법에 따라 MU의 각 요인을 추정하기 위한 단계별 계산
- 이전에 MU에 대한 잠재적인 요인으로 확인된 시험인자와 관련된 불확도의 무시에 대한 의견
- 표준불확도의 합성에 사용되는 공식
- 확장불확도의 계산
- 결과를 보고하는 방식을 제시하는 예제
- 진실성 확인, 즉 시험기관의 경험이나 기타 관련 정보를 감안할 때 추정치가 적절한가의 여부에 대한 확인

예시는 독립적인 재검토자가 쉽게 절차를 따를 수 있도록 자세한 설명이 포함되어야 한다. 스프레드시트로 계산한 값에는 이들을 도출한 방법에 대한 설명이 첨부되어야 한다. 일반적으로 스프레드시트만 제시하는 것은 충분하지 못하다.

경험을 근거로 한 모든 결론은 간략하게 정당성이 증명되어야 한다. 정밀도만을 근거로 한 추정치는 이러한 정밀도가 MU의 유일한 주요 요소이며 특히 편의, 그리고 편이의 추정과 관련된 불확도가 결과의 불확도에 대한 주

요 요인이 아님을 입증하는 증거로 보완해야한다.

3. 이전에 확인된 방식의 검증

정부기관 또는 표준관련 협회, 단체 등 및 국제기구(KSA, ASTM, USEPA, APHA, IP 등)와 같은 기구에 의해 발행된 시험방법은 이미 시험소간 분석에 의해 그 유효성이 확인되었고 시험방법에서 정의된 적용범위 및 목적에 적합한 것으로 밝혀졌다. 따라서 시험기관에서 이런 시험방법을 도입하기 위해 요구되는 사항은 자체 개발한 방법을 유효성 확인할 때처럼 엄격하게 수행할 필요는 없다. 시험기관은 주어진 환경조건 하에서 자체 장비를 사용하는 직원들이 이러한 시험방법을 적절하게 적용할 수 있다는 사실만 검증하면 된다. 시험 기관이 표준방법을 대폭 수정해야 하는 경우, 예를 들면 다른 추출용제를 사용하거나 정량을 위해 GLC 대신 HPLC를 사용하는 경우에는 전체적인 유효성 확인이 요구된다.

표준 방법에 대한 유효화 데이터가 시험기관에 적용 불가능하거나 시험기관이 유효성이 확인된 표준방법보다 더 엄격한 내용을 적용해야 하는 경우에는 추가적인 유효성 확인을 고려해야 한다. 이전에 유효성 확인을 한 자체적인 시험 방법에 대해 작은 변경을 한 경우, 예를 들면 동일한 유형의 크로마토그래피 컬럼이지만 다른 제조업체에 의한 것의 사용, 또한 검증이 이루어져야 한다.

시험방법 검증 절차에서 고려할 주요 인자는 시험방법의 특징과 주로 접하게 될 시료의 매질 범위에 따라 달라진다. 편의 및 정밀도를 구하는 것이 최소한의 요건이다. 이론적으로 시험기관은 시험방법의 규정에 따른 때의 분석능력을 입증하여야 한다. 그렇게 할 수 없는 경우, 시험방법이 목적에 맞는 시험 결과를 도출할 수 있는가의 여부를 판단해야 한다.

미량 분석의 경우에는, 시험기관이 얻을 수 있는 LOD 및 LOQ가 목적에 적합한가의 여부도 확인해야 한다.

4. 요약

아래 표 1에는 시험방법의 유효성 확인과 시험방법의 검증 조사를 계획하고 시행할 때 고려해야 하는 인자들을 요약되어 있다. 이 표에는 각 성능 특성을 결정하는 방법에 대한 간략한 설명과 각각의 결정에 권장되는 반복 시험의 최소 횟수도 제시되어 있다.

모든 시험 방법에서 모든 인자를 확인해야 하는 것은 아니다. 유효성 확인은 시험 방법을 통해 얻은 시험결과가 기술적으로 완벽하며 고객의 요구를 만족시킬 수 있도록 엄격하게 이루어져야 한다. 사용하는 시험방법에 대한 요구사항을 명확히 이해해야 시험방법의 유효성 확인 연구를 올바르게 계획할 수 있다. 이러한 골격 안에서 주의 깊게 고안한 실험을 통해 표 1에 제시된 하나 이상의 인자를 만족시키는 정보를 얻을 수 있을 것이다. 예를 들면, 정밀도 및 편의에 대한 정보는 CRM의 반복 분석을 통해 얻을 수 있으며 정밀도 데이터는 LOD를 구하는 과정에서 얻을 수 있다.

시험기관은 유효성 확인에 사용된 절차 및 결과와 시험방법이 사용목적에 적합한지 판단한 내용을 포함하여 시험법의 유효성 확인에 대한 종합적인 기록을 유지하는 것이 바람직하다.

[표 1] 시험방법의 유효화에 권장되는 최소 분석 횟수

평가 특성	수행 절차	분석 횟수
직선성 (Linearity)	검량 표준의 분석	예상되는 시료의 농도 범위에 걸쳐 고르게 분포한 6 또는 그 이상의 표준에 대해 2회 반복측정
감도 (Sensitivity)	소량 첨가시료나 시료추출용액에 준비된 표준시료의 분석	응답값 대 농도 좌표(Plot)에서 만족할 만한 기울기에 대한 초기 확인 (초기 확인 후에 QC 점검을 시행하는 것이 적합함.)
선택성 (Selectivity)	잠재적인 간섭물질의 고려하여 가능한 양의 간섭물질을 첨가한 시료의 분석 (시험방법 개발은 잠재적인 문제점을 극복할 수 있다)	필요하다면 1회의 시험으로 충분하다.
진도(Trueness) 편의(Bias)	- 다음을 분석 ● CRM ● 기타 RM ● 첨가시료 - 표준 시험방법과의 비교 - 시험소간 공동연구 결과	최소 7회 이상의 반복 분석 참조시료는 분석대상시료와 매질 및 농도와 맞아야 한다.
정밀도 : 시험기관내에서 의 재현성 LOD LOQ	시료의 반복 분석 ; 가능하다면 시험 결과의 사용자에게 가장 중요한 농도의 분석대상성분이 포함되도록 선택) 분석대상성분이 미량 함유된 시료의 분석 참고 : LOD 및 LOQ의 확인은 분석대상성분의 농도가 LOD나 LOQ와 비슷할 때 요구됨.	각 매질 별로 최소 7회 이상의 반복 분석 0에 근접한 농도가 포함된 3가지의 각 농도에서 최소 7회 이상의 반복 분석 (그래픽 방식), 또는 LOQ의 2배에 해당되는 농도에서 최소 7회 이상의 반복 분석 (통계적 방식) 각 매질 별로 다른 확인 절차가 필요할 수 있다.
적용 범위 (Working Range)	편의로부터의 자료 평가, 그리고 경우에 따라서 LOQ의 확인	

둔감도 (Ruggedness)	<p>작은 변화가 발생할 경우 시험결과에 영향을 줄 수 있는 시험방법의 단계들을 고려</p> <p>필요 시, 다음을 조사</p> <p>(i) 단일 변수 시험</p> <p>(ii) 다중 변수 시험</p>	<p>주의 깊게 관리하지 않는 경우 시험결과에 영향을 미칠 수 있는 변수에 대한 적절한 제한을 제공</p> <p>하나의 변수에 작은 변경을 적용해서 시험 및 재시험</p>
측정 불확도 (Measurement Uncertainty)	<p>유효성 확인 데이터를 사용 가능한 기타 보충 자료 (예를들면 시험소간 공동연구, 숙련도시험, round robin 시험, 내부 QC 데이터)와 함께 활용한다.</p>	<p>합리적이며 목적에 적합한 MU를 산정한다.</p> <p>시험결과에의 사용자에게 가장 중요한 농도로 추정치를 조정</p>