

직업병 검진을 위한
검사방법의
실제(1)

요중 코프로포피린 측정법

특수건강진단의 직업병 검사효율을 증가시키기 위한
대책의 일환으로 '직업병 검진수기(- 시진에 의한 해설,
興生社出版部, 日本)'를 발췌하여 시리즈로 게재하는 것이다

< 김형아 >

I. 반 정 량 법

A. 피셔·부루구조·土屋法

1. 원 리

요중에 배설된 코프로포피린체를 요소로 코프로포피린으로 변화시켜 에테르로 추출하여 이것을 다시 염산으로 추출한 후 자외선에 의해 생긴 붉은 형광을 어두운 곳에서 육안으로 판정한다.

2. 기구·시약

○ 기구

요 채취병, 시험관(가능하면 유리관으로 준비), 시험관대, 피펫, 자외선 발생장치(400m μ 필터 있는 것), 암실(완전한 암실이 아니어도 됨)

○ 시약

빙초산, 에틸에테르(과산화물 없는 것으로 사용), 5% 염산, 0.005% 요오드용액

① 에틸에테르의 과산화물 확인 방법

시험관에 사용할 에테르 10 ml를 넣고 10% KI 수용액 2 ml를 가하여 충분히 혼든 후 방치한다. 대조로서 다른 시험관에 에테르 10 ml, 증류수 2 ml를 가하여 같은 방법으로 한다. 두 시험관을 비교하여 전자의 시험관중의 KI 층과 에테르층에 과산화물이 있으면 엷은 황색 내지 황색을 띠고, 과산화물이 없으면 무색투명하다. 과산화물은 냉암소에 에테르를 보관해도 수 개월 있으면 생성되므로 새것을 쓰도록 한다.

② 0.005% 요오드용액은 요오드의 1% 에틸알코올용액을 갈색병에 저장하여 사용할 때 마다 증류수로 200 배 희석하여 사용한다.

3. 방법

1) 요 5 ml를 시험관에 취한다.

2) 빙초산 1 ml, 요오드용액 1~2 ml를 가한다.

3) 에테르 10 ml를 가하여 충분히 혼든 후 수 분간 방치한다.

4) 물층과 에테르층을 분리한다.

5) 에테르층에 염산 3 ml를 넣어 흔든 후 다시 방치한다.

6) 염산층을 자외선에 비추어 형광색을 조사한다.

4. 판정

1) 코프로포피린양에 따라 붉은 형광이 나타난다.

(-) ... 무색, 연한 청색, 연한 보라색 내지 연한 노랑색

(+) ... 약간 붉은 색이 있지만 명확하게 판정하기는 어렵다.

(++) ... 뚜렷한 붉은 색

(+++) ... 강한 붉은 색

(++++) ... 매우 강한 붉은 색

2) (+) 이상을 양성으로 판정한다.

3) 이 방법에 의한 판정결과와 정량법 A에 의한 정량치와의 대응은 다음 표와 같다.

(1) 土屋健三郎

반정량 결과	예 수	최 소	최 대
-	149	10	~ 120 $\mu\text{g}/\ell$
±	21	40	~ 150
+	41	90	~ 450
++	20	250	~ 1,100
+++	22	1,000 이상	

(2) 鈴木繼美 등 (미발표 자료, 1965)

반정량 결과	예 수	정 량 결 과			
		평균치	표 준 편 차 치	범 위	변 이 계 수
- , ±	19	$\mu\text{g}/\ell$ 117.7	$\mu\text{g}/\ell$ 55.4	$\mu\text{g}/\ell$ 10 ~ 202	47.0
+	27	385.3	173.8	143 ~ 825	45.1
++	23	821.2	464.5	250 ~ 2,300	56.6
+++	20	1,345.1	687.8	350 ~ 2,920	51.1

5. 주의사항

실온에서는 채뇨후 3시간 이내, 또는 냉장고 (0 ~ 4 °C)에서는 4일이내에 분석하여야 한다.

B. 德永 佐野法

1. 원리

요중 코프로포피린을 코프로헴으로 변화시켜 이것을 요잠혈용시험지의 색으로 판정한다.

2. 기구·시약

○ 기구

채뇨병, 시험관, 비이커, 시험관대, 가스버너, 요잠혈검출용시험지 (예, Ames 사 제품)

○ 시약

빙초산, 황산제일철암모늄, 황산제일철암모늄 : 빙초산 : 물 = 0.1 g : 1 ml : 9 ml의 혼합액

3. 방법

1) 피검요 8 ml를 비이커에 취해 빙초산 2 ml를 첨가한다.

2) 가열하여 끓기 시작하면 혼합액 7 ml를 가한다.

3) 다시 3분간 가열한 후 식힌다.

4) 눈금이 있는 시험관에 옮기고 물을 가해 70 ml가 되게 한다.

5) 요잠혈검출용시험지를 요에 담구었다 꺼내어, 30초 후에 판정한다.

4. 판정

시험지에 부착된 비색표에 의한다. 비색법에 의한 (++) 이상을 양성으로 한다.

코프로헴농도 100 $\mu\text{g}/\ell$ 이하 (정상요)의 경우는 (-)내지 (+), 150 ~ 300 $\mu\text{g}/\ell$ 의 경우 (++) , 500 $\mu\text{g}/\ell$ 이상의 경우 (+++) 으로 나타난다.

5. 주의사항

1) 채뇨된지 얼마되지 않은 요는 코프로포 피리노젠이 많고 철과 결합하지 않는다.

2) 따라서 피검요는 배뇨 후 3~5일 냉암소에 보관하는 것이 좋다. 이 방법은 잠혈양성요에는 사용할 수 없다.

II. 정 량 법

A. Askevold 변법

1. 원리

요중 코프로포피린체를 에테르로 추출한 후, 요오드로 코프로포피린으로 변화시켜 염산으로 추출하고 특유한 흡광파장에서 흡광도를 측정하여 정량한다.

2. 기구·시약

○ 기구

채뇨병, 시험관, funnel, separate funnel, 피펫, 메스실린더, 자외선분광광도계, 시험관대

○ 시약

에틸에테르, 빙초산, 0.1 N 염산, 0.005 % 요오드용액 (반정량법 A 항 참조)

3. 방법

○ 추출

1) 요 15 ml를 취해 separate funnel에 넣는다.

2) 빙초산 1 ml를 가한다.

3) 에테르 약 40 ml를 가한 후 100회 이상 세게 흔든다.

4) 수분 방치 후, 아래의 물층을 버린다.

5) 요오드액 3 ml를 가해 흔들어 정지시킨 후 하층을 버린다.

6) 증류수 2~3 ml를 가하고 흔든다. 정치 후 하층을 버린다. 2~3회 반복한 후 15분간 정치한 후 물층을 버린다.

7) 묽은 염산 2 ml를 가하여 100회 이상 흔든 후 염산층을 취하고 한번 더 추출한다.

8) 염산층을 여과한다.

9) 전체를 5 ml로 만들어 비색한다.

○ 비색

400 μ 근처에서 최대흡광이 되는지를 확인하여 (최대흡광파장은 기계마다 다르다), 401, 380, 430 μ 에서 흡광도를 측정한다.

계산

$$\mu\text{g}/\text{ml} = \frac{\{2 \times \text{OD}_{401} - (\text{OD}_{380} + \text{OD}_{430})\}}{1.833 \times 0.65} \times \frac{v}{V}$$

v : 추출염산량

V : 사용한 요량

이 경우 v와 V는 각각 5 및 15 ml 이므로 $\mu\text{g}/\ell$ 로 식을 간단히 하면,

$280 \times \{2 \times \text{OD}_{401} - (\text{OD}_{380} + \text{OD}_{430})\}$ 이 된다.

(계수는 기계의 분광능력에 따라 다를 수 있으며, 정확하게 하기 위해서는 코프로포피린 표준 물질을 용액으로 만들어 흡광도를 잰 후 검량곡선을 그려야 한다)

4. 판정

150 $\mu\text{g}/\ell$ 가 기준치이다.

5. 주의사항

에테르를 첨가했을 때 emulsion이 생기면 에테르를 추가한다.

B. 레밍톤·佐野法

1. 원리

요중 코프로포피린체를 에테르로 추출한 후 물

로 씻고 요오드로 산화시켜 염산으로 추출하고, 이것을 pH 3.5로 맞추어 에테르로 다시 추출한 후 염산으로 추출물의 흡광도를 측정하여 정량한다.

2. 기구·시약

○ 기구

채뇨병, 시험관, separate funnel, 삼각플라스크, 피펫, 메스실린더, 자외선분광광전광도계

○ 시약

에틸에테르(반정량법 A항 참조), 빙초산, 1.5 및 1 N 염산, 0.005% 요오드용액, 초산나트륨, 에틸알코올

3. 조작

○ 추출

- 1) 요 25 ml를 취해 separate funnel에 넣는다.
- 2) 빙초산 2.5 ml를 가해 혼합한다.
- 3) 에테르 50 ml를 가하고 30 초간 잘 흔든 후 방치한다.
- 4) 물층을 한번 더 separate funnel에 넣고 에테르 25 ml로 재추출한다.
- 5) 3)과 4)의 에테르를 모아 물 또는 3% 초산나트륨 10 ml로 2~3회 가볍게 에테르층을 씻는다.
- 6) 에테르층에 0.005% 요오드용액 5~10 ml를 가해 흔든 후 방치한다.
- 7) 코프로포피린을 1.5 N 염산용액 5 ml씩 3회 추출하여 삼각플라스크에 넣는다.
- 8) 이것을 초산나트륨 용액으로 pH 3.5에 맞추어 다시 50 ml 에테르로 코프로포피린을 이동시켜 증류수로 씻는다.
- 9) 마지막으로 1 N 염산으로 15, 2, 2 ml씩 3회 추출하여 알코올을 가해 전체가 10 ml 되게 한다.

○ 비색·계산

380, 401, 430 mμ에서 흡광도를 잰다.

$$\{ 2 \times OD_{401} - (OD_{430} + OD_{380}) \} \times 837 \times \frac{v}{V}$$

(μg/ℓ 요)

v : 추출염산량

V : 사용한 요량

이 경우는 각각 10 및 25 ml가 된다.

4. 판정

정량법 A에 준한다.

5. 주의사항

- 1) 에테르를 첨가했을 때 emulsion이 생기면 에테르를 추가한다.
- 2) 중화할 때 0.4% 브롬페닐블루알코올 용액을 지시약으로 1~5 방울 사용해도 좋다.
- 3) 이 방법과 정량법 A와의 비교
이 방법의 최종추출물은 350~450 mμ 파장에서 흡광도의 curve를 그리고, 400 mμ 근처에서 p-peak가 보다 급격하기 때문에 코프로포피린이 정제되었는지를 알 수 있다. 각각 5개의 요를 두 방법을 사용하여 측정한 결과를 비교하면 그 비가 0.72, 1.18, 0.91, 0.94 및 0.84 (평균 0.92)였다.

