

표준 요 시료 중 Oxalate의 측정을 위한 FT-NIR 분광기의 유용성 검증

김영은, 홍수형¹⁾, 김정완¹⁾, 이종영

경북대학교 의학전문대학원 예방의학교실, 치의학전문대학원 구강미생물학교실¹⁾

Evaluation of Fourier Transform Near-infrared Spectrometer for Determination of Oxalate in Standard Urinary Solution

Yeong Eun Kim, Su Hyung Hong¹⁾, Jung Wan Kim¹⁾, Jong Young Lee

Department of Preventive Medicine, School of Medicine; Department of Dental Microbiology, School of Dentistry¹⁾,
Kyungpook National University

Objectives : The determination of oxalate in urine is required for the diagnosis and treatment of primary hyperoxaluria, idiopathic stone disease and various intestinal diseases. We examined the possibility of using Fourier transform near-infrared (FT-NIR) spectroscopy analysis to quantitate urinary oxalate. The practical advantages of this method include ease of the sample preparation and operation technique, the absence of sample pre-treatments, rapid determination and non-invasiveness.

Methods : The range of oxalate concentration in standard urine solutions was 0-221 mg/ℓ. These 80 different samples were scanned in the region of 780-1,300 nm with a 0.5 nm data interval by a Spectrum One NTS FT-NIR spectrometer. PCR, PLSR and MLR regression models were used to calculate and evaluate the calibration equation.

Results : The PCR and PLSR calibration models were

obtained from the spectral data and they are exactly same. The standard error of estimation (SEE) and the % variance were 10.34 mg/ℓ and 97.86%, respectively. After full cross validation of this model, the standard error of estimation was 5.278 mg/ℓ, which was much smaller than that of the pre-validation. Furthermore, the MCC (multiple correlation coefficient) was 0.998, which was compatible with the 0.923 or 0.999 obtained from the previous enzymatic methods.

Conclusions : These results showed that FT-NIR spectroscopy can be used for rapid determination of the concentration of oxalate in human urine samples.

J Prev Med Public Health 2006;39(2):165-170

Key words : Urine, Oxalate, NIR spectroscopy, Regression analysis

서론

요로결석증은 최근 우리나라에서도 급격하게 증가하여 비뇨기과 수련병원 입원 환자 중 25%를 차지하는데 [1], 이는 식생활의 서구화로 인해 칼슘이 많은 유제품과 요산의 함량이 높은 육류의 섭취가 늘어났기 때문으로 알려져 있다 [2]. 요로결석의 발생빈도와 종류는 여러 가지 요인에 따라 다르며, 특히 오랫동안 앉아있는 직업 또는, 높은 온도의 환경에서 일하는 직업에서 발생률이 높은 것으로 추정되고 있다 [3]. 요로결석은 체내의 칼슘, oxalate

등의 농도가 높아져서 소변에 더 이상 녹지 못하여 결정이 형성되어 만들어 지는 것으로 알려져 있다 [4]. 특히 요 중 oxalate는 과수산노증, 만성 신부전증 및 여러 내과 질환과도 중요한 연관이 것으로 보고되었다 [5]. 따라서 소변 내 oxalate의 농도를 쉽고 정확하게 예측할 수 있다면 이러한 질병의 조기진단 뿐 만 아니라 예방에도 많은 도움이 될 것으로 기대된다. 현재까지는 보리로부터 추출한 oxalate oxidase를 이용한 효소 비색계 방법으로 oxalate 농도를 측정하는데, 그 원리는 oxalate를 기질로 하여 oxalate oxidase의 작용에 의해 생성

된 H₂O₂에 3-Methyl-2-Benzothiazolinone Hydrazone과 N,N-Dimethylaniline을 첨가하였을 때 나타나는 Indamine Dye (Purple Color)를 600 nm의 파장에서 흡광도를 조사하여 oxalate 농도를 추정하는 것이다 [6]. 그러나 이 방법은 요 중에 보편적으로 존재하는 염소가 oxalate oxidase 효소의 활성에 영향을 미치는 간섭현상에 의해 오차가 큰 것으로 알려져 있다 [7]. 또한 시료의 전처리 과정에서 여러 번의 pH 조절, ascorbate로 인한 간섭현상을 없애기 위한 화학약품 처리, 그리고 효소반응을 위한 완충용액의 준비 등 번거로운 단계가 많은 단점도 배제할 수 없다 [6]. 그러나 무엇보다도 다수의 임상시료를 분석하기 위해

서는 많은 양의 효소가 필요하므로 비용이 비싼데, 이 문제를 해결하기 위하여 2001년에는 보리로부터 추출한 효소를 glutaraldehyde를 이용하여 alkylamine glass bead에 고정화하여 반복적으로 이용하는 방법이 고안되었다 [8]. 이러한 고정화 방법은 비용감감 측면에서는 어느 정도 효과적이었으며, 또한 염소에 의한 간섭현상도 57%에서 18%로 줄었으나 효소를 고정화하는 과정에서 glass bead의 불균일화로 인해 재현성이 떨어지는 새로운 문제가 야기되었다. 그러나 가장 큰 단점은 여전히 다수의 시료를 처리하는 과정에서의 번거로움일 것이다.

본 연구진은 이러한 문제를 해결하기 위하여 여러 가지 분석방법을 고려하던 중 FT-NIR 분광법 (Fourier Transform Near-IR spectrometry, 푸리에 변환 근적외선 분광법)을 선택하였는데 그 이유는 FT-NIR 분광기를 이용하여 요 시료의 침전물 성분을 분석한 실험에서 oxalate에 대한 특이한 흡수 peak를 확인할 수 있었으며 [9], 또한 소변의 혈당 및 알부민을 손쉽게 측정하기 위해서 이 방법을 도입한 결과도 효과적인 것으로 확인되었기 때문이다 [10].

그리고 요 시료의 특징 중 하나는 수분의 함량이 높다는 점인데 FT-NIR 분광법은 수분에 의한 차폐효과가 나타나지 않는 파장이 있다는 점을 고려할 때 임상시료의 분석에 효과적인 방법으로 판단되었다 [11].

NIR 분광법은 가시광선 (VIS)과 중적외선 (MIR) 사이에 존재하는 780-2,500 nm의 파장영역에서 주로 C-H, N-H, O-H, 그리고 S-H 등의 작용기를 가지는 물질의 측정 및 정량분석에 널리 사용되어 왔다 [12]. 이 방법은 재현성, 정밀성, 그리고 정확성이 뛰어나 현재에는 농업뿐만 아니라 식품, 정유, 화학, 생물학, 제약 등을 포함한 다양한 산업분야에 응용되고 있다 [13-15]. 이 방법의 장점은 먼저, 근적외선의 흡광도가 낮고 에너지가 높기 때문에 투과도가 높아 시료의 두께에 큰 영향 없이 스펙트럼 측정이 가능하여 시료의 전처리가 전혀 필요 없거나 매우 간단하다 [16]. 또한 FT-NIR 분광기 내부의 구성요소가 안정한

관계로 반복 및 재현성이 매우 우수하며 [12], 비침습적인 방법에 의한 측정이므로 시료의 보존이 가능하다 [17].

이러한 이유로 FT-NIR 분광법은 임상적으로도 많이 응용되고 있다. 먼저 혈청의 성분[18] 및 분비물의 지방함량 분석 [19] 뿐 만 아니라 fiberoptics을 이용하면 비침습적으로 헤모글로빈 포화도 [20], cytochrome oxidase의 산화상태 [21], 또는 몸의 구성분 [22] 등의 분석이 *in vivo* 상태에서 가능하다. 이러한 FT-NIR 분광법의 원리를 이용하여 혈당을 측정하는 sensor를 개발하는 작업도 진행되고 있다 [23]. 그 외에도 FT-NIR 분광기를 이용한 생체시료의 분석과 관련된 여러 연구 예가 Workman에 의해 정리되었다 [24]. 국내에서도 이와 관련된 연구가 진행되고 있는데, 혈중 알코올농도 [25] 및 혈당 [26], 그리고 헤모글로빈 [27] 등의 비침습적인 측정 예를 들 수 있다.

따라서 본 연구에서는 FT-NIR 분광법을 임상분석의 한 분야인 oxalate 측정에 응용하기 위한 가능성을 제시하기 위하여 다음 실험을 행하였다. 먼저 표준 요 시료에 oxalate를 다양한 농도로 녹여 NIR 분광스펙트럼을 얻은 후 여러 가지 회귀모델에 의해 검량식을 작성, 그 유효성을 검증하였다. 이러한 회귀분석법은 스펙트럼 데이터들과 검량식에 사용된 시료의 분석을 통해 얻어진 농도 사이에서 통계적인 상호관계를 찾는 것인데, 만일 이들 사이에 체계적인 상호관계가 성립한다면 미지 시료의 정성, 및 정량분석에도 응용할 수 있다. 이상의 연구에서 충분히 유효성이 검증된다면 실제로 환자의 요 시료로부터 NIR 분광법으로 oxalate 농도를 측정하여 검량식의 유효성을 검증, 보완하여 임상적으로 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

1. 시약 및 용액

Oxalate는 Sigma (St. Louis, USA)에서, 그리고 standard human urine은 MAS (Camarillo, USA)사로부터 구입하였다. Oxalate 표준원액은 10 mg의 oxalate를 10 ml의 standard human urine에 녹여 준비하

였다. 그 후 이 원액을 다양한 농도로 standard human urine에 희석하여 oxalate 표준용액 80개를 준비하였으며, 이때 oxalate 농도 범위는 0-221 mg/l 이었다.

2. 장비

Spectrum One NTS (FT-NIR spectrometer, Perkin-Elmer, USA)를 이용하여 oxalate가 포함된 요 시료의 NIR 분광스펙트럼을 측정하였다. FT-NIR 분광기는 scanning type으로, 광원은 tungsten lamp, 그리고 검출기는 NIR indium gallium arsenide (InGaAs)로 구성되어 있다.

산성을 띠는 oxalate 시료는 직경 20 mm의 광학 석영큐벳에 담은 후 검은 색 holder (Apollo Scientific Ltd., United Kingdom)에 고정시켜 측정하였다. 본 연구에서는 NIR 영역 중에서도 수분 band는 포함하지 않으면서 생체시료에 대한 많은 정보를 나타내는 780~2,500 nm 사이의 파장, 즉 short-wavelength NIR (SW-NIR) 영역을 대상으로 하였는데 [11], Spectrum 3.02 version software (Perkin-Elmer, USA)를 사용하여 파장 간격을 0.5 nm씩 증가시키면서 스펙트럼을 측정하였다.

3. 스펙트럼의 다변량 해석

측정된 NIR 분광스펙트럼 분석은 다변량 해석을 필수로 한다. NIR 분광법의 전체적인 검량절차는 크게 3단계로 나눌 수 있는데, NIR 분광스펙트럼을 얻은 후 수학적으로 전처리하는 과정이 첫 번째 과정이다. 두 번째는 가장 중요한 과정으로 실제적인 검량식을 만들기 위하여 여러 가지 검량기법을 사용하는 단계이며, 마지막으로는 개발한 검량식을 검증 (validation)하는 과정이다 [16].

먼저 시료의 흡수스펙트럼을 얻기 위하여 oxalate 농도범위가 0-221 mg/l 인 80개의 표준 요 시료를 각각 780~1,300 nm 사이의 파장에서 0.5 nm씩 증가시키며 측정하였는데 그 결과 전체 data point 1,042개를 확보하였다.

다변량 해석을 위한 검량식의 작성 및 검정을 위해서 다양한 통계적 방법이 있으나, 본 연구에서는 정량분석법을 응용하

였다. 이를 위하여 주성분 회귀분석 (principal component regression, PCR), 부분 최소자승 회귀분석 (partial least squares regression, PLSR), 그리고 중회귀분석 (multiple linear regression, MLR)을 Quant+ 4.51 software (Perkin-Elmer, USA)에 의하여 시행하였다. 이러한 분석을 위해서 먼저 스펙트럼 분석결과 각 시료에서 흡광도에 차이를 보이는 여러 파장들 중 유효한 차이를 보이는 파장 몇 개를 하나의 set으로 결정하여 다차원에서 한 점으로 나타낸 후 여러 농도를 포함하는 시료들 간의 상관관계가 유효하게 나타나는지를 결정하기 위한 주성분 분석 (principal component analysis, PCA)을 행하였다 [26]. 주성분 회귀분석에서는 주성분 분석 결과 얻어진 주성분 점수를 구하고, 농도와 구한 주성분 점수 사이를 회귀분석 하여 회귀모델을 구한다.

부분최소자승 회귀분석에서는 주성분을 추출하여 회귀분석을 수행하는 것은 앞의 분석법과 동일하지만, 농도와 스펙트럼 자료에 대하여 동시에 주성분 분석을 행하여 농도의 주성분 점수와 스펙트럼 자료의 주성분 점수 사이를 회귀분석하여 회귀모델을 구하는 방법이다. 주성분 회귀분석이나 부분최소자승 회귀분석은 흡수대들의 중첩으로 스펙트럼이 복잡하고 분석이 어려운 경우 많이 사용된다. 중회귀분석은 시료의 조성이 단순하면서 측정성분이 독특한 흡수봉우리가 있을 때 유용하게 사용하는 방법으로, data points 중 물리화학적 성분과의 상관관계가 있는 유용한 파장의 흡광도 값을 이용하여 검량식을 작성하는 방법이다. 그 후 교차검정 (cross validation)을 수행하여 최적 회귀모델을 구하였는데, 본 연구에서는 이 과정에 중회귀분석 모델을 이용하여 회귀모델을 검증하였다. 먼저 전체 data set (n=143)을 검량 및 추정을 위한 두 그룹으로 나눈 후 검량그룹으로부터 얻어진 검량식의 유효성을 추정그룹의 값들을 대입하여 확인하였다.

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (d_i - \hat{d})^2}{n}}$$

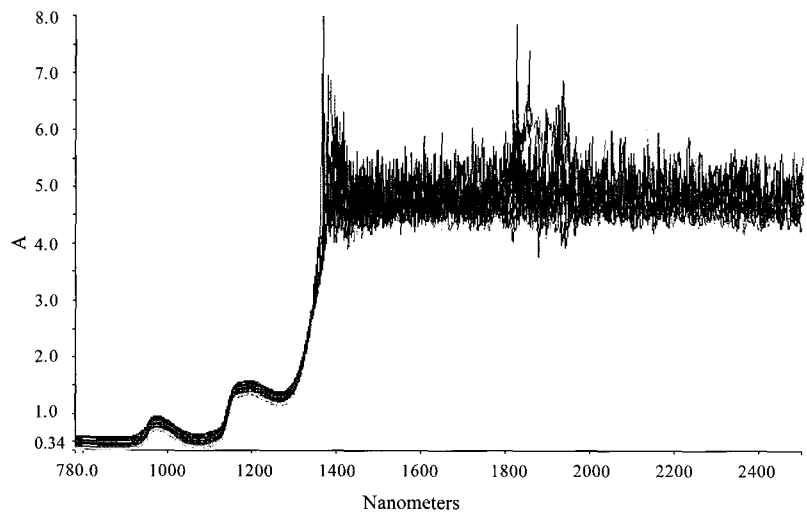


Figure 1. Absorbance spectra of urinary oxalate including two water band regions in the full-wavelength NIR region (780~2,500 nm). A, Absorbance

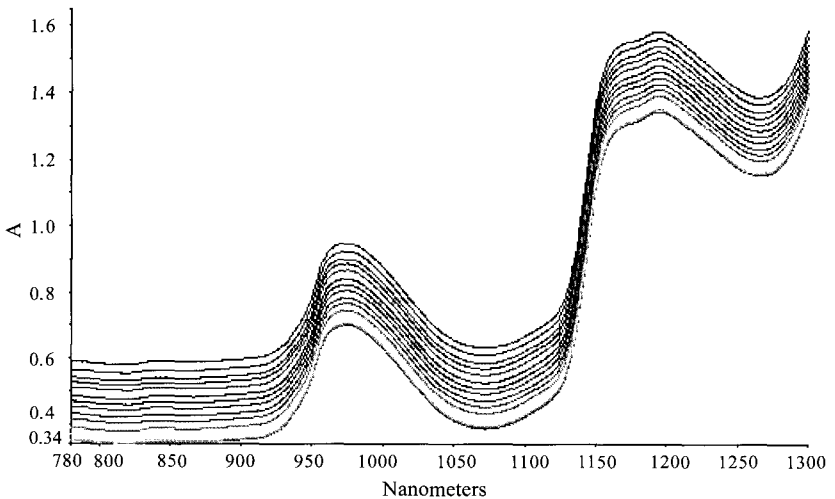


Figure 2. Absorbance spectra of urinary oxalate in the short-wavelength NIR region (780~1,300 nm). A, Absorbance

SEP (standard error of prediction)는 검량식으로부터 얻은 값들의 표준오차를 말하는데, 여기서 \hat{d} 는 NIR 분광법에서 구해진 예측값, d 는 분석값, n 은 시료의 수를 나타낸다.

$$r = \sqrt{1 - \frac{SEE^2(n-k-1)}{SD_{prop}(n-1)}}$$

또한 검정 후 위의 식에 의하여 얻어지는 r (Multiple correlation coefficient, MCC)값은 스펙트럼 데이터를 이용하여 실제 분석데이터를 가장 잘 예측하게 하는 값으로, 모델에서의 중상관계수를 의미한다. r 값을 얻기 위해서는 SEE (standard error of estimation), 즉 회귀분석에서 검량식에 의한 모집단으로부터의 추정치의 표준오차

가 필요한데, 이 값은 회귀모델의 유효성을 결정하는데 중요한 역할을 한다. 그 외에도 n 은 검량그룹의 스펙트럼 수, k 는 선택된 파장 또는 인자의 수, SD_{prop} 는 성분 분석 데이터의 표준편차를 나타낸다.

결과

1. NIR 분광스펙트럼 양상

Figure 1은 oxalate를 포함하는 표준 요 시료의 NIR 분광스펙트럼이다. 대부분의 생체시료에는 수분의 함량이 높아 NIR 분광 분석을 행할 때 수분으로 인한 심각한 잡음이 나타난다. 본 실험에서는 7,400-7,000 cm^{-1} (1,351-1,429 nm), 그리고 5,400-5,000 cm^{-1} (1,852-2,000 nm) 부분에 수분 band가

나타나 기준에 알려진 1,450 nm 및 1,930 nm와 일치하였다 [25]. 본 연구에서는 수분에 의한 차폐효과가 나타나지 않는 780-1,300 nm 사이의 SW-NIR 영역에서 oxalate 표준 요 시료 스펙트럼을 측정하였으며 그 양상을 Figure 2에 나타내었다. 20 mm의 비교적 긴 optical path-length를 사용한 결과 최

대 흡광도가 8 이상의 매우 높은 값을 나타내었다.

2. Oxalate 스펙트럼의 다변량 분석 및 검증

본 연구에서는 주성분 회귀분석 및 부분 최소자승 회귀분석 두 방법으로 각각 스펙트럼을 분석한 결과가 동일하게 나타나 여기서는 주성분 회귀분석 결과를 위주로 설명하였다. 먼저 주성분 분석을 통하여 그 수에 따른 SEP를 구하였는데, 결과는 Figure 3과 같이 나타났다. 즉, 주성분의 수가 증가할수록 SEP는 감소하는 추세를 보였으며, 6 이상에서는 서서히 증가하였는데, 주성분의 수가 3일 때 회귀모델에 의해

SEE 값이 10.34 mg/l 로 최소인 것을 알 수 있었으며, 그때의 변이%는 97.86으로 나타났다 (Table 1).

위에서의 분석결과를 교차검정에 의해 유효성을 확인하였다. 그 결과는 Table 2와 같이 정리될 수 있는데, 주성분의 수가 20일 때 SEE 값이 5.278 mg/l 로 검증하기 전의 10.34 mg/l 와 비교했을 때 훨씬 감소했음을 알 수 있으며, 이때의 상관계수는 0.9978로 매우 정확하였다. 검증 후의 추정치 및 측정치 간의 상관관계를 Figure 4에 나타내었다.

Table 1. Regression summary of PCR calibration method for urinary oxalate

No. of PCs*	% Variance [†]	SEE [‡] (mg/l)	SEP [§] (mg/l)	Mean value
3	97.86	10.34	10.72	79.46

*No. of PCs, Number of principal components (PCR factors) used in calibration

[†]% Variance, cumulative amount of spectral variance, as a percentage of the total, versus the PCs

[‡]SEE, Standard error of estimation

[§]SEP, Standard error of prediction

Table 2. Regression summary after validation performed on the full model for urinary oxalate

No. of PCs*	% Variance [†]	MCC [‡]	SEE [§] (mg/l)	SEP [¶] (mg/l)	Mean value
20	99.57	0.9978	5.278	10.19	79.46

*No. of PCs, Number of principal components (PCR factors) used in calibration

[†]% Variance, cumulative amount of spectral variance, as a percentage of the total, versus the PCs

[‡] Multiple correlation coefficient

[§]SEE, Standard error of estimation

[¶]SEP, Standard error of prediction

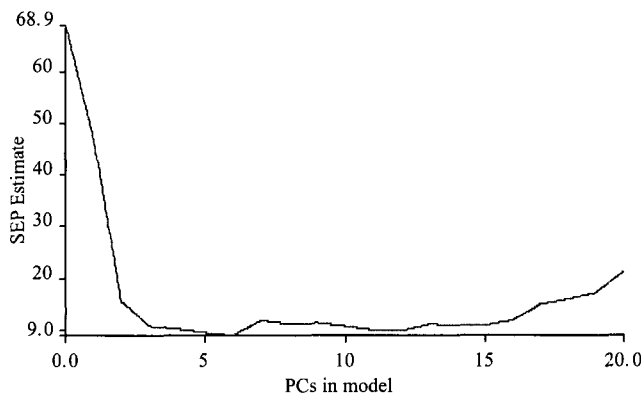


Figure 3. The effect of number of principal components (PCs) on stand errors of prediction (SEP) for urinary oxalate in the 780~1,300 nm range.

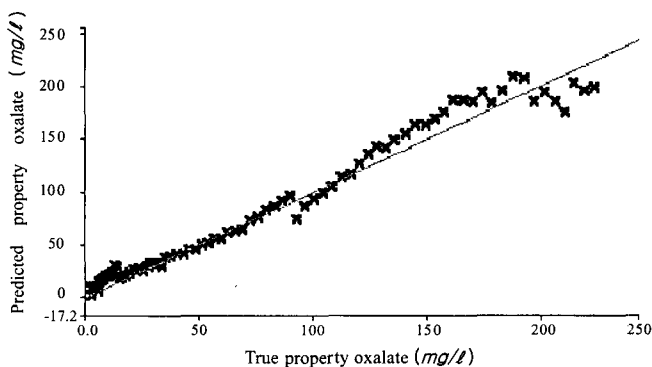


Figure 4. Validated plot for true vs. predicted concentration of oxalate in standard urine sample.

고찰

요 중 oxalate의 농도 측정은 여러 질환의 진단, 치료에 있어서 매우 중요하다[5]. 지금까지는 요 중 oxalate를 측정하기 위해서 보리에서 정제한 oxalate oxidase를 유리에 고정화시킨 효소 비색방법 [6,28]이 이용되어 왔는데, 요 중에 보편적으로 존재하는 염소가 효소의 활성화에 심각한 영향을 미칠 뿐 만 아니라, 추출한 효소의 가격이 매우 비싼 단점이 있다. 본 연구에서는 FT-NIR 분광법을 임상분석의 한 부분인 oxalate 측정에 응용하기 위하여 여러 가지 회귀모델을 이용하여 검량식을 작성, 그 유용성을 검증하였다. 기준에 알려진 요 중 oxalate 농도는 건강한 사람의 경우 12.6-40.5 mg/l, 그리고 초기 과수산뇨증 환자의 경우 대략 100 mg/l 인점을 고려하여 [6,28,29] 본 연구에서는 oxalate 농도 범위를 0-221 mg/l 로 정하였다.

주성분 수(PC)에 따른 SEP의 변화에서는 PC가 증가함에 따라 전형적인 SEP의 변화 양상을 나타내었다. 초기의 증가에서는 SEP가 급격히 떨어지며 그 후 완만하게 떨어지는 이유는 PC의 증가에 따라 농도와 관계된 정보가 검량식에 계속 반영되기 때문이며, PC 15 이상에서 다시 증가하는 이유는 잡음이나 또는 농도와 상관 없는 정보가 검량식에 반영되기 때문에 나타나는 현상으로 추정된다 [16,30].

회귀분석모델에 의하여 얻어진 검량식을 중회귀분석 방법에 의해 교차검정 한 결과 SEE는 5.278 mg/l, 그리고 이때의 중

상관계수는 0.998로 매우 정확성을 보였다. 이는 즉, 이 검량식을 사용하여 시료 내의 oxalate 농도를 추정할 때 추정정도가 대단히 높아 거의 정확한 계산이 가능함을 의미한다. 따라서 앞으로는 과다한 oxalate에 의해 초래되는 질병을 가진 다양한 환자 및 건강한 사람으로부터 채취한 요 시료를 직접 이 방법에 의해 분석한 후 그 유효성을 다시 검증하는 작업이 수행되어야 할 것으로 사료된다. 그러나 NIR 분광법은 재현성이 뛰어난 장치로 알려져 있어 [12] 실제 시료를 사용하더라도 실험상의 오차는 크지 않을 것으로 기대된다. NIR 분광법에 의해 물질의 정확한 정량을 위해서는 본 연구에서 제시한 바와 같이 회귀분석에 의한 검량식의 작성이 필수적이지만 그 물질의 농도에 특이적인 파장을 찾을 수 있다면 훨씬 간단한 방법으로 정량이 가능할 것이다. 따라서 oxalate 농도에 특이적인 파장을 찾기 위하여 농도별로 각 파장의 양상을 분석하는 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

FT-NIR을 이용한 요 중 oxalate의 측정법은 기초의학분야에도 활용될 수 있는데, 과수산노증과 결석증을 비롯한 여러 신장 질환의 원인과 발병 기전을 밝히고 치료 방법을 연구하는 데 아주 유용하게 쓰일 수 있을 것이다. 이 방법은 또한 요 시료 내의 다른 성분 분석에도 응용될 수 있으므로 여러 질환의 위험요소를 손쉽게 예측할 수 있을 것으로 기대된다 [31,32]. NIR 분광법은 요 시료뿐 아니라 혈액 등의 다른 체액이나 조직 중에 존재하는 oxalate 측정에도 활용될 수 있으므로 [18] 앞으로는 환자의 피부에 근적외선을 조사하는 비파괴, 비침습적 방법에 의해 체액내의 oxalate를 정확하고 신속하게 분석할 수 있을 것으로 기대된다.

FT-NIR을 이용한 체액 중 다른 많은 성분 분석에 대한 연구 결과들이 축적되면, 근적외선 내의 단일 스펙트럼으로 다성분 (multi-component) 분석이 가능한 장점을 이용하여 한번의 근적외선 조사로 체액 내에 존재하는 여러 가지 성분의 농도를 한꺼번에 측정할 수 있게 될 것이다.

요약 및 결론

본 연구에서는 FT-NIR 분광법을 소변의 oxalate 측정에 응용할 수 있는지를 규명하기 위한 실험을 행하였다. 먼저 표준 소변 용액에 oxalate를 다양한 농도로 녹인 후 분광스펙트럼을 얻어 여러 가지 회귀모델을 이용하여 검량식을 작성, 그 유효성을 검증하였다. 그 결과 상관계수값이 0.9978로 추정정도가 매우 정확한 것으로 나타났다. 이상의 연구결과로 볼 때 이 분석방법은 충분히 유효한 것으로 사료되므로 앞으로 환자의 요 시료로부터 oxalate 농도를 측정 후 검량식의 유효성을 보완한다면 임상적으로 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

- Kim HH. Treatment and prognosis of urinary calculosis. *Med Postgrad* 2004; 32(3): 175-180 (Korean)
- Nguyen QV, Kalin A, Drouve U, Casez JP, Jaeger P. Sensitivity to meat protein intake and hyperoxaluria in idiopathic calcium stone formers. *Kidney Int* 2001 ;59(6): 2273-81
- Shekariz B, Stoller ML. Uric acid nephrolithiasis: Current concepts and controversies. *J Urol* 2002; 168(4): 1307-1314
- Finlayson B, Reid F. The expectation of free and fixed particles in urinary stone disease. *Invest Urol* 1978; 15: 442-448
- Decastro M. Determination of oxalate in urine. *J Pharm Biomed Anal* 1988; 6: 1-14
- Chandran P, Thakur M, Pundir C. Improved determination of urinary oxalate with alkylamine glass bound barley oxalate oxidase. *J Biotechnol* 2001; 85: 1-5
- Sugiura M, Yamamura H, Hirano K, Ito Y, Sasaki M, Morikawa M, Inoue M, Tsuboi M. Enzymic determination of serum oxalate. *Clin Chim Acta* 1980; 105: 393-399
- Pundir CS, Satyapal, Kuchhal NK. Immobilization of barley oxalate oxidase onto alkylamine glass for determining urinary oxalate. *Clin Chem* 1993; 39: 1750-1751
- Cytron S, Kravchick S, Sela BA, Shulzinger E, Vasserman I, Raichlin Y, Katzir A. Fiberoptic infrared spectroscopy: A novel tool for the analysis of urine and urinary salts in situ and in real time. *Urology* 2003; 1: 231-235
- Liu W, Xu K, Yu Q, Zhang S, Ran D. Determination of multiple components in urine using FT-MIR, NIR, and FT-Raman spectroscopic technique. *Proc SPIE* 2005;

5640: 610-615

- Valyi-Nagy I, Kaffka KJ, Jako JM, Gonczol E, Domjan G. Application of near infrared spectroscopy to the determination of haemoglobin. *Clin Chim Acta* 1997; 264: 117-125
- Walder FT, Smith MJ. Quantitative aspects of near-infrared Fourier transform Raman spectroscopy. *Spectrochim Acta* 1991; 47A: 1202-1216
- Hall JW, Pollard A. Near-infrared spectrophotometry: a new dimension in clinical chemistry. *Clin Chem* 1992; 38: 1623-1631
- Kirsch JD, Drennen JK. Determination of film-coated tablet parameters by near-infrared spectroscopy. *J Pharm Biomed Anal* 1995; 13: 1273-1281
- Weyer L. Near infrared spectroscopy of organic substances. *Appl Spectrosc Rev* 1985; 21: 1-43
- Chung IL, Kim HJ. Near-infrared spectroscopy: principles. *Anal Sci Tech* 2000; 13(1): 1A-14A (Korean)
- Shaw RA, Kotowich S, Mantsch HH, Leroux M. Quantitation of protein, creatinine, and urea in urine by near-infrared spectroscopy. *Clin Biochem* 1996; 29: 11-19
- Hall JW, Pollard A. Near-infrared spectroscopic determination of serum total proteins, albumin, globulins, and urea. *Clin Biochem* 1993; 26: 483-490
- Peuchant E, Salles C, Jensen R. Value of a spectroscopic "fecalogram" in determining the etiology of steatorrhea. *Clin Chem* 1988; 34: 5-8
- Jobsis FF. Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* 1977; 198: 1264-1267
- McCormick DC, Edwards AD, Brown GC, Wyatt JS, Potter A, Cope M, Delpy DT, Reynolds EO. Effect of indomethacin on cerebral oxidized cytochrome oxidase in preterm infants. *Pediatr Res* 1993; 33: 603-608
- Elia M, Parkinson SA, Diaz E. Evaluation of near infra-red interactance as a method for predicting body composition. *Eur J Clin Nutr* 1990; 44: 113-121
- Small GW, Arnold MA, Marquardt LA. Strategies for coupling digital filtering with partial least-squares regression: application to the determination of glucose in plasma by Fourier transform near-infrared spectroscopy. *Anal Chem* 1993; 65: 3279-3289
- Workman JJ. Review of process and non-invasive Near-Infrared and Infrared spectroscopy: 1993-1999. *Appl Spectroscop Rev* 1999; 34: 1-89
- Chang SH, Cho CH, Woo YA, Kim HJ, Kim

- YM, Lee KB, Kim YW, Park SW. Fundamental investigation of non-invasive determination of alcohol in blood by near infrared spectrophotometry. *Anal Sci Tech* 1999; 12: 375-381 (Korean)
26. Kim HJ, Woo YA, Chang SH, Cho CH, Cantrell K, Piepmeier EH. Fundamental investigation of non-invasive determination of glucose by near infrared spectrophotometry. *Anal Sci Tech* 1998; 11: 47-53 (Korean)
27. Jeon KJ, Kim YJ, Kim SJ, Kim HS, Yoon GW. Selected papers from sensors conference 2000 : Spectral analysis for non - invasive total hemoglobin measurement in the region from 400 to 2500 nm. *J Kor Sensors Soc* 2001; 10: 273-278 (Korean)
28. Thakur M, Pundir CS. Determination of urinary oxalate with alkylamine glass-bound sorghum oxalate oxidase and horseradish peroxidase. *Biotechnol Tech* 1999; 13: 227-230
29. Robertson WG. Kidney models of calcium oxalate stone formation. *Nephron Physiol* 2004; 98: 21-30
30. Davies AMC, Fearn T. Back to basics: the principles of principal component analysis. *Spectroscop Eur* 2005; 17(3): 20-23
31. Kim HS, Lee GS, Lee SS, Ahn KD, Lee BK. A study on urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activities of office workers in a certain industrial complex area. *Korean J Prev Med* 1994; 27(3): 547-556 (Korean)
32. Kim JY, Shin HR, Kim JI, Kim DH, Choi SR, Seoh JI, Roberts NB. Effect on aluminum and silicon in peptic ulcer patients. *Korean J Prev Med* 1999 ; 32(2): 200-205 (Korean)