임상검사기기학 및 기초통계

중원대학교 임상병리학과

홍석현

Lecture 1.
농도 계산과 pH meter

- 검사기구 - 원심분리기

1. 원심분리기(Centrifuge)

➢ 원심분리(centrifugation)

- 원심력을 이용하여 밀도가 다른 물질을 분리하는 기법
- 두 가지 이상의 상을 분리하는데 사용

➢ 검사실에서 이용되는 경우

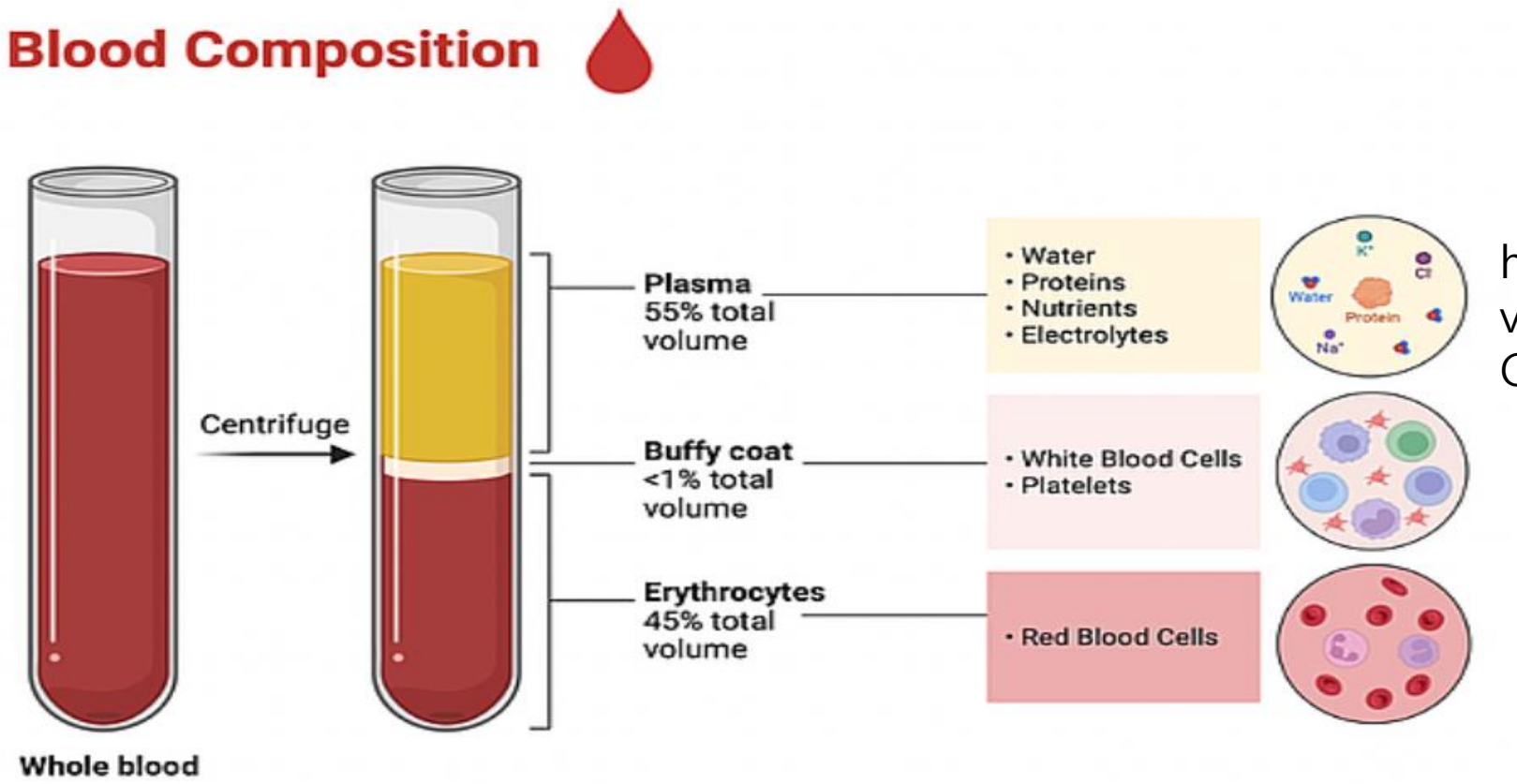
a. 혈액의 세포 성분과 혈청 또는 혈장 분리
b. 소변 및 체액의 침사에 대한 현미경 검사
c. 검체에서의 단백질 제거
d. 유기용매에 의한 체액 중의 물질 추출
e. 혈장이나 혈청의 지질단백질 분리

* 검체 – 임상화학 검체

➢ 임상화학 검사의 시료

체 액	혈액(혈청, 혈장, 전혈), 뇌척수액
배 설 물	요, 분변
분 비 물	타액, 위액, 췌장액, 담즙, 땀
천 자 액	복수, 흉수, 관절강액
결 석	담석, 요로결석
조 직 편	생검(biopsy) 재료

* 검체 – 혈액의 구성성분



hormone, lipid, vitamin, antibody, Coagulation facts

- 혈액은 모든 조직을 순환하면서 영양 공급, 대사산물을 수집
- 생체의 내부환경으로서 조직, 세포의 생존유지를 담당
- 체액의 화학조성은 정상시에는 일정 / **질병시 변동이 일어남**
- 전혈적으로 항상성이 유지되는 항목: 혈청의 전해질, 삼투압, pH
- 항상성 예외: Cortisol(일내 변동이 5배), Aldosterone(체위 차에 따라 10배)

* 검체 - 혈액

- 혈액 : 혈구성분(적혈구, 백혈구, 혈소판)과 혈장으로 구성
- 혈장(plasma) vs 혈청(Serum)

- 체내에 존재하는 혈장의 채취는 불가능(항응고제 필요)
- 항응고제 첨가한 혈장에서 일어나는 변화

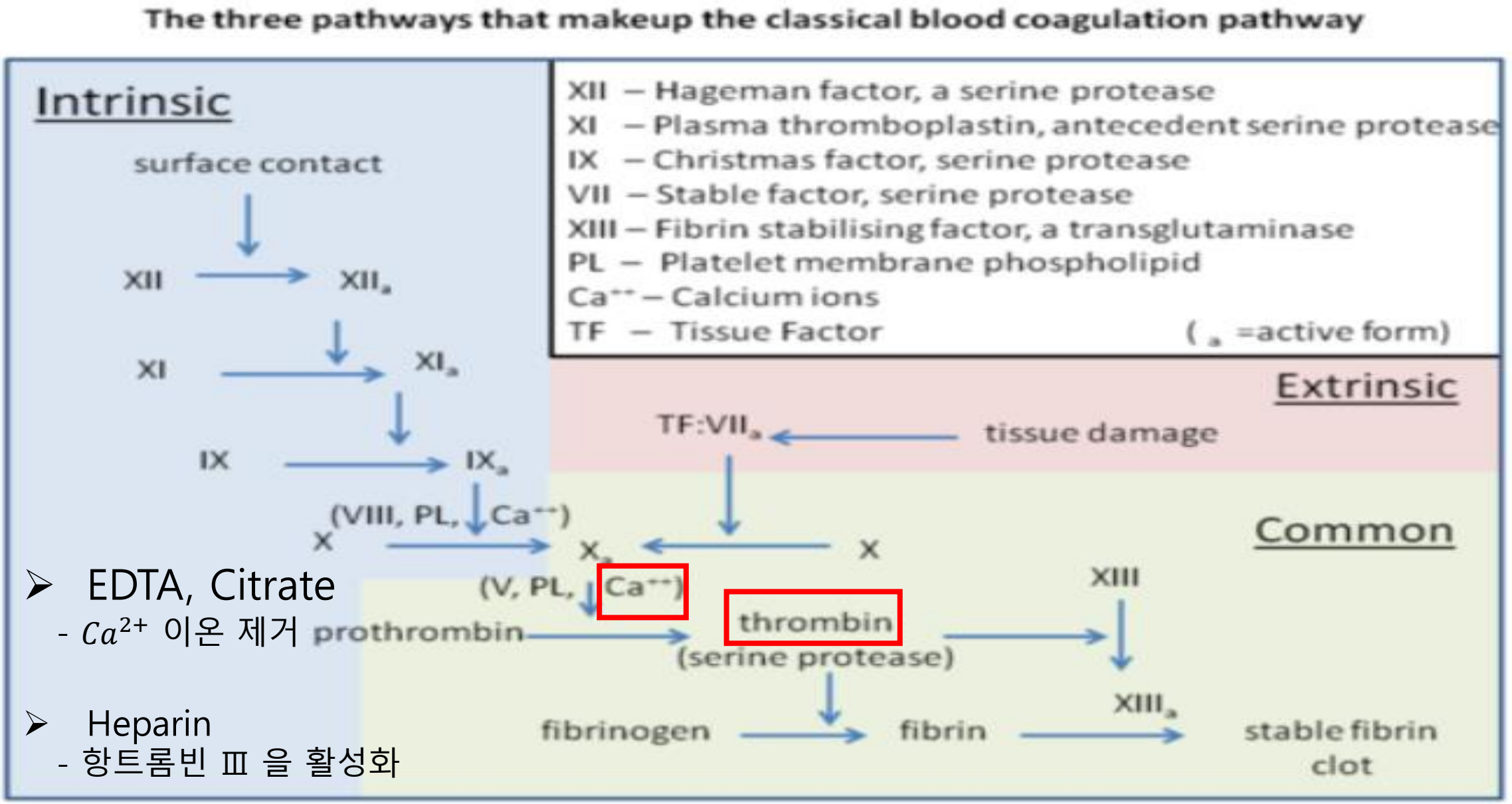
1) Ca^{2+}, 항응고제 성분 (Na, K, Ammonium 염) 등
2) 혈장 pH 변화
3) 혈구 내 수분의 유출로 인해 혈장 희석

	혈 장 (Plasma)	혈 청 (Serum)
항 응 고 제	첨 가	없 다
Fibrinogen	함 유	없 다
Fibrin	없 다	함 유
비 고	생체정보가 가장 정확한 이상적인 검체 -> 실질적으로는 불가능	실제 일반적인 임상화학의 검체로 활용

* 검체 – 채혈튜브 종류와 사용법

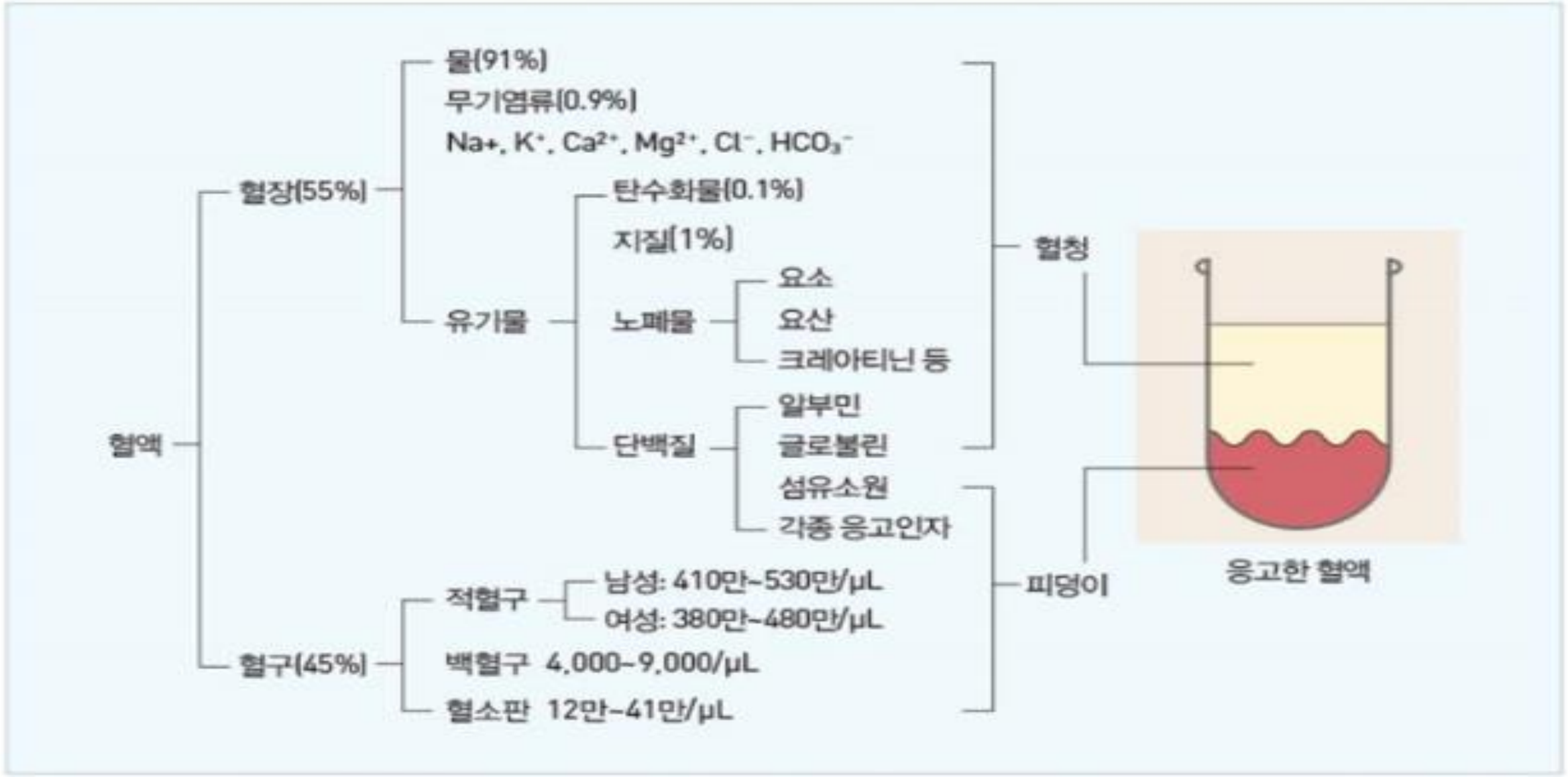
Type	color	원리	검사	사진
Citrate	Blue	Ca 이온 제거 **(Ca 측정 금지)**	혈액 응고인자 검사 ESR	
Plain	Red	Clot activator 응고 촉진	Serum 검사(전해질 검사)	
SST (Serum separate)	Yellow	Silica particle 응고 촉진(Gel)	Serum 검사(일반 화학 검사)	
PST (Plasma separate)	light Green	Heparin 함유 (Gel)	Plasma 검사(Blood gas, pH) 응급화학검사	
Heparin	green	Anti-thrombin	Plasma 검사(Blood gas, pH)	
EDTA	violet Lavender	Ca 이온 제거 **(Ca 측정 금지)**	모든혈액 검사, CBC, 세포면역검사	
Fluoride	Gray	해당계 효소 억제 **(효소 측정 금지)**	Glucose 검사, Lactic 검사	

* 검체 – 항응고제 작용



- EDTA, Citrate
  - Ca^{2+} 이온 제거
- Heparin
  - 항트롬빈 Ⅲ 을 활성화

* 검체 –혈장(plasma) vs 혈청(Serum)



* 검체 – 소변(Urine)



- Water (~ 95%)
- Urea (9.3 g/L)
- Chloride (1.87 g/L)
- Sodium (1.17 g/L)
- Potassium (0.75 g/L)
- Peptides, proteins, other inorganic components…

Centrifuge

상층액	수분과 용해된 성분 O	전해질, 요소, 크레아티닌, 포도당, 단백질 소량 등
침전물 (pellet)	수분과 용해된 성분 X (과다한 성분)	1. 세포성 성분: 적혈구, 백혈구, 상피세포 2. 주형(cast): 적혈구 주형, 백혈구 주형 등 → 신장 질환 진단에 중요 3. 결정(Crystals): 요산, 수산칼슘 등 → 요로 결석 관련 4. 세균, 진균, 기생충 → 요로감염, 캔디다 감염

- 검사기구 - 원심분리기

1. 원심분리기(Centrifuge)

➢ 원심분리(centrifugation)

- 원심력을 이용하여 밀도가 다른 물질을 분리하는 기법
- 두 가지 이상의 상을 분리하는데 사용

➢ 검사실에서 이용되는 경우

- 혈액의 세포 성분과 혈청 또는 혈장 분리
- 소변 및 체액의 침사에 대한 현미경 검사
- 검체에서의 단백질 제거
- 유기용매에 의한 체액 중의 물질 추출
- 혈장이나 혈청의 지질단백질 분리

• 검사기구 - 원심분리기

➢ **상대적 원심력(Relative centrifugal force, RCF)**

- 단위: xg
- g(gravity): 중력
- x: 배수 ex) 500 xg: '500배의 중력 가속도'를 의미

➢ RCF = $1.12 \times 10 \times r^{-5} \times RPM^2$

각속도 상수 회전반지름 (mm) 1분당 회전수

※ 왜 RCF가 원심분리의 단위 기준일까?

→ RPM: 원심분리기의 크기에 따라 원심력이 다르게 표기(로터 반경에 따라 다름)

실험의 메뉴얼에서는 RPM으로 표기하지 않고 RCF(xg)로 표기 ex) RNA 상업용 KIT

• 검사기구 – 메뉴얼: RNeasy lipid tissue kit(Qiagen)



✓ 24/7 automatic processing of online orders
✓ Knowledgeable and professional Product & Technical Support
✓ Fast and reliable (re)-ordering

February 2019

Quick-Start Protocol

RNeasy® Lipid Tissue Mini Kit

The RNeasy Lipid Tissue Mini Kit (cat. no. 74804) can be stored at room temperature (15–25°C) for at least 9 months if not otherwise stated on label. QIAzol® Lysis Reagent can be stored at room temperature or at 2–8°C.

Further information

- *RNeasy Lipid Tissue Mini Handbook*: **www.qiagen.com/HB-0144**
- Safety Data Sheets: **www.qiagen.com/safety**
- Technical assistance: **support.qiagen.com**

Notes before starting

- Add 4 volumes of ethanol (96–100%) to Buffer RPE for a working solution.

1. Disrupt and homogenize ≤100 mg fatty tissue (≤50 mg other tissue) in 1 ml QIAzol Lysis Reagent using the TissueRuptor®, TissueLyser LT or TissueLyser II.
2. Incubate the homogenate at room temperature for 5 min.
3. Add 200 µl chloroform, and shake vigorously for 15 s.
4. Incubate sample at room temperature for 2–3 min.
5. Centrifuge at 12,000 x *g* for 15 min at 4°C.
6. Transfer upper, aqueous phase to a new tube. Be careful to avoid the interphase. Add 1 volume of 70% ethanol, and vortex. Do not centrifuge. Proceed at once to step 7.

Sample to Insight

QIAGEN

• 검사기구: 원심분리기

※ 왜 RCF가 원심분리의 단위 기준일까?
→ 원심분리기의 크기에 따라 원심력이 다르기 때문

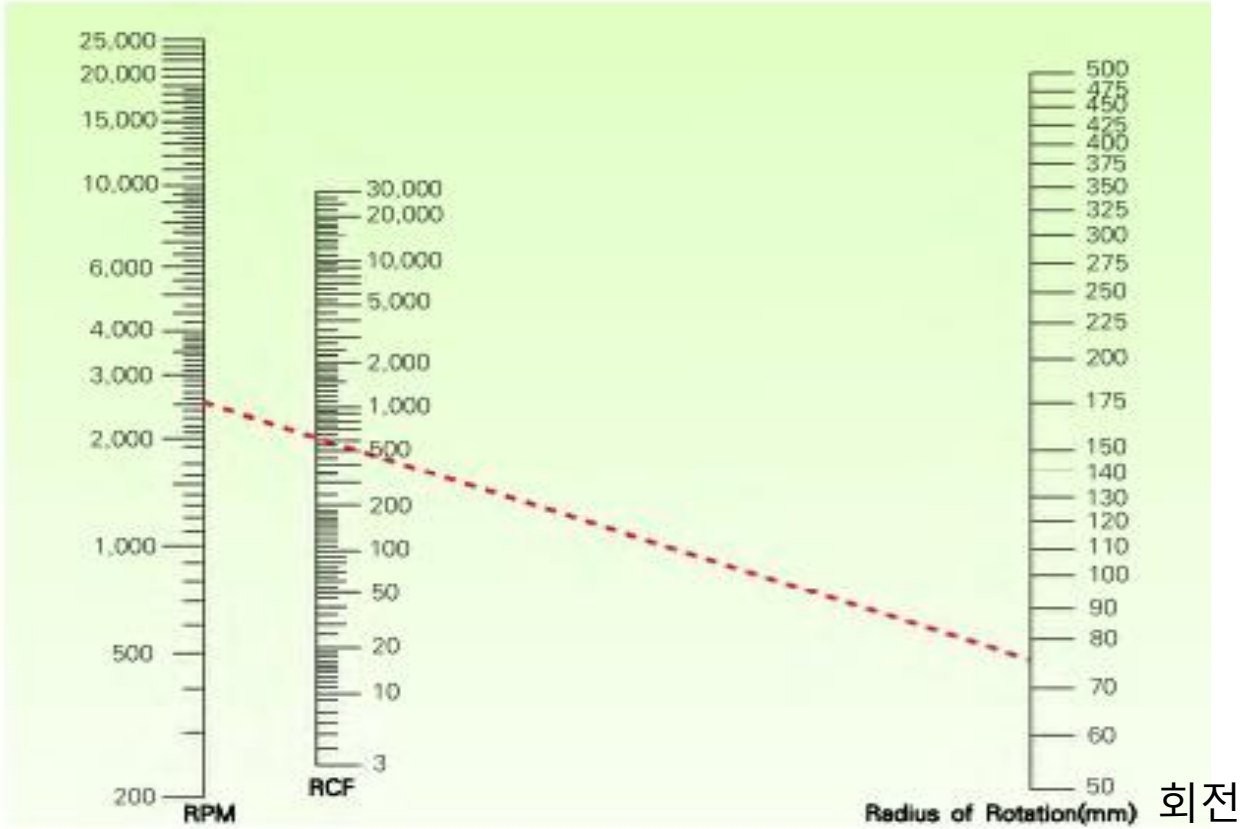
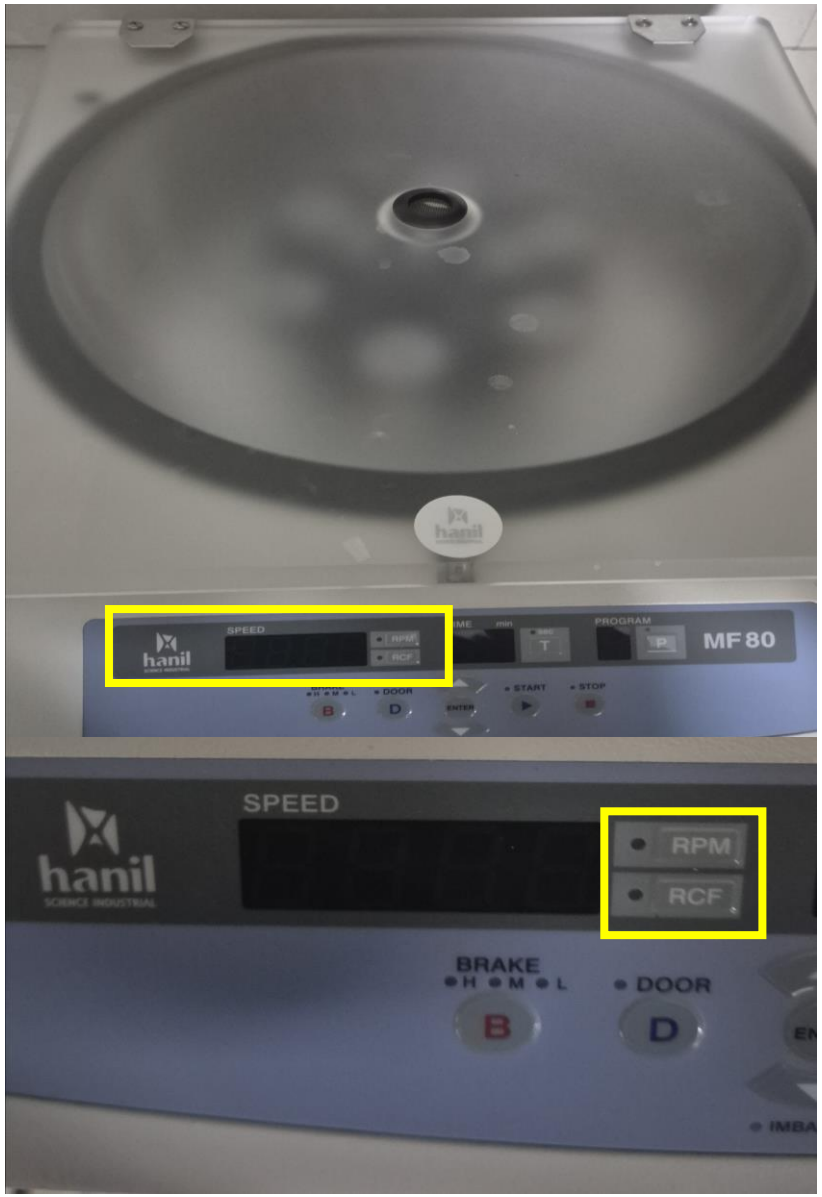


그림 1-15 원심분리기에서 RCF(×g)를 구하는 데 사용하는 노모그램
rpm과 로터 헤드의 반경으로부터 RCF(×g)를 구한다.

회전반지름



• 검사기구: 원심분리기



(A)



(B)



(C)



그림 1-16 고정형 원심분리기(A)와 수평형 원심분리기(B, C)

*원심분리 주로 하는 tube

- Conical tube
- 채혈 tube
- 1.5ml tube
- 0.2ml microtube

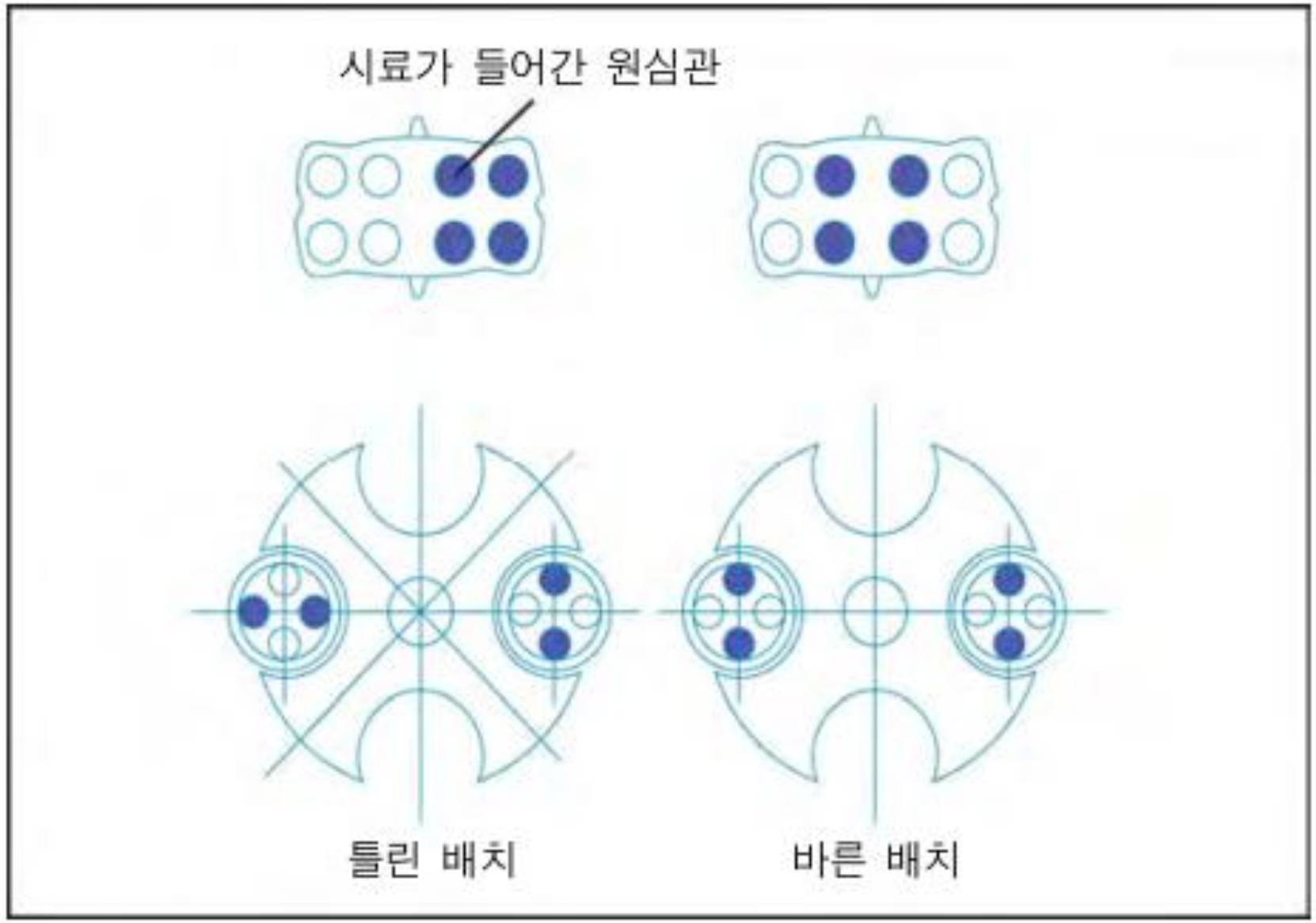


그림 1-17 원심분리기의 균형 맞추기

- 검사기구: 저울

2. 저울

a. 이중 접시 저울



b. 단일 접시 저울: 전자저울



그림 1-18 전자분석 저울

- 검사기구: 전자저울

➢ 전자저울

a. 사용 약 10분전에 전원 on
b. 접시 위에 빈 용기를 올려놓음
c. 영점 설정
d. 시약 측정
e. 정리



그림 1-18 전자분석 저울



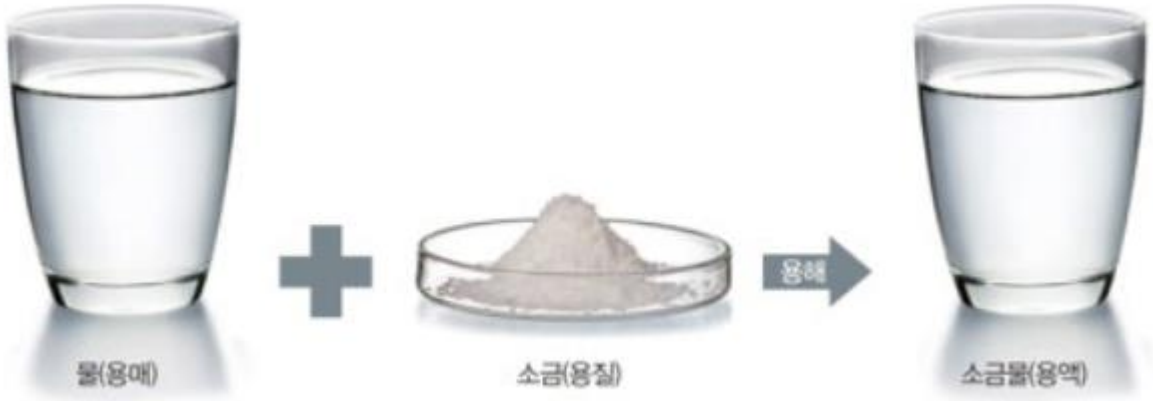
★ 수평계(수평기)

: 둥근 버플형태의 기포계

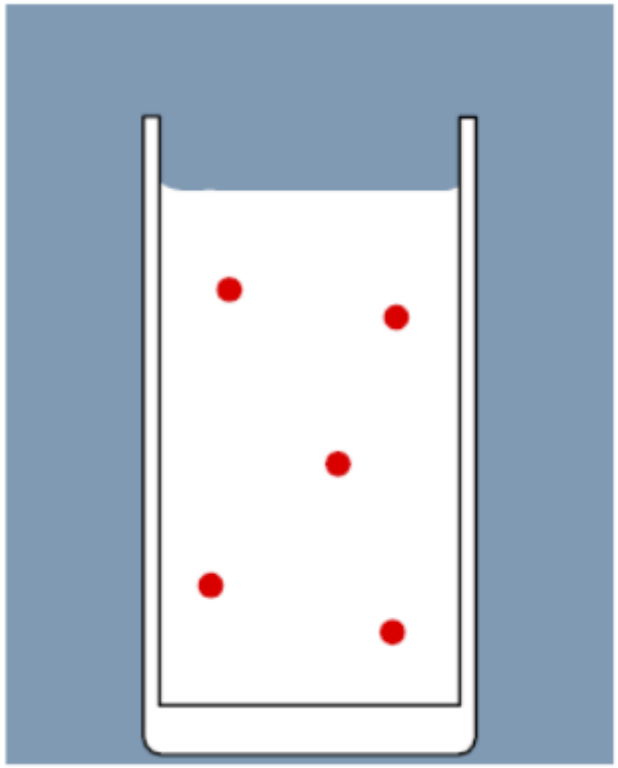
→ 전자저울의 전원 on 하기 전 '기포가 중심 원 안'에 위치

• 농도 계산

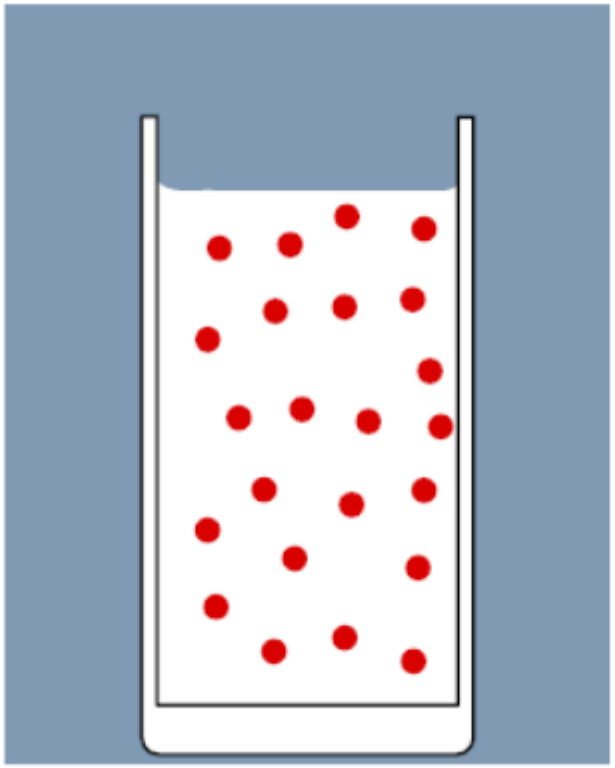
- 용매(Solvent): 용질을 녹이는 물질 ex) 증류수(액체)
- 용질(Solute): 용매에 녹아있는 물질 ex) 소금(고체), 수소(기체)
- 용액(Solution): 용질 + 용매
  - 혼합물(mixture)의 구성 성분이 **<u>균일</u>**하게 섞여 있는 형태 ex) 소금물



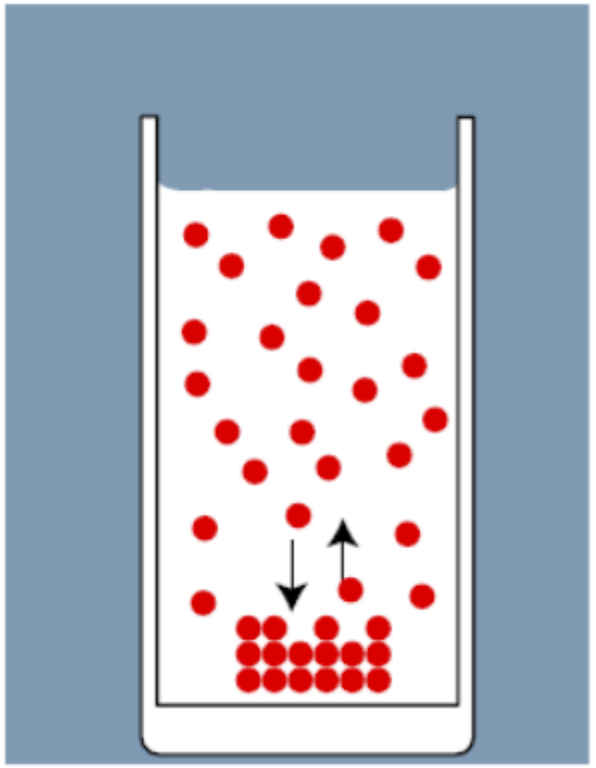
- (과)포화용액 vs 불포화용액



불포화용액



포화용액



과포화용액

*용해도: 용매 100g에 녹을 수 있는 용질의 최대 질량(g)

- 농도 계산: 몰 농도(M)

➢ 몰 농도(M) = $\frac{\text{용질의 몰수}}{\text{용액의 부피(L)}}$ = Molarity(M)

➢ 몰 농도(M) = 용액 1L 에 들어있는 용질의 몰수
(용액 1L 용질 몰수 = 몰/L)

※몰수 = $\frac{\text{질량}}{\text{분자량}}$

문제1. NaCl(MW=58.5) 87g/L 용액은 몇 몰농도인가?

87g/L : 용액 1L에 용질(NaCl) 87g

87g의 몰수: 87g/58.5 → 1.49몰 수

87g/L= 용액 1L에 용질 1.49용질의 몰수 → 1.49M

- 농도 계산: 몰 농도(M)

문제 2

2.0M glucose(MW=180) 용액 0.5L에는 glucose 몇 g이 포함되어 있는가?

- 농도 계산: 몰 농도(M) 제조

표준 용액(몰 농도) 만들기 I Real 과학 실험

• 농도 계산: 희석(Dilution)

➢ 희석(Dilution)

- 표준용액이 특정성분의 농도가 너무 높아 측정이 **부정확**할때 용매를 첨가하여 묽게 만드는 작업

➢ 원액의 농도 = 희석 후 농도 x 희석 배수

• 농도 계산: 희석(Dilution)

문제1

당뇨병 환자의 혈청 1mL에 증류수 4mL를 첨가한 후 혈당을 측정하였더니 100mg/dL가 나왔다. 원래의 혈당은?

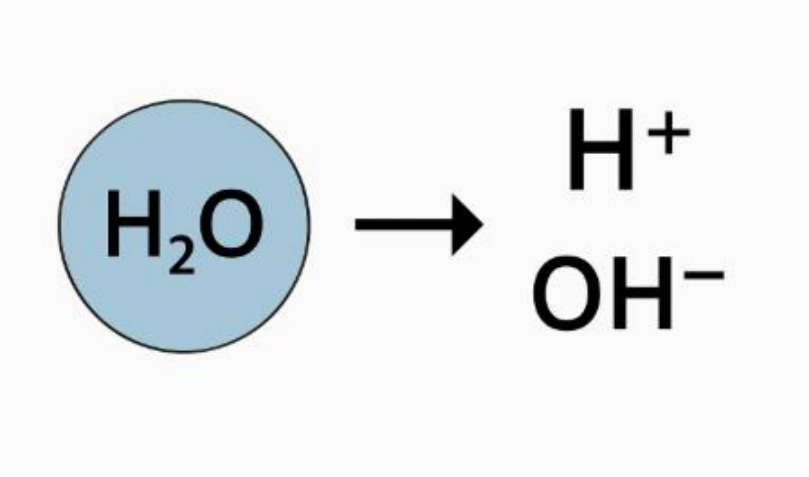
문제2

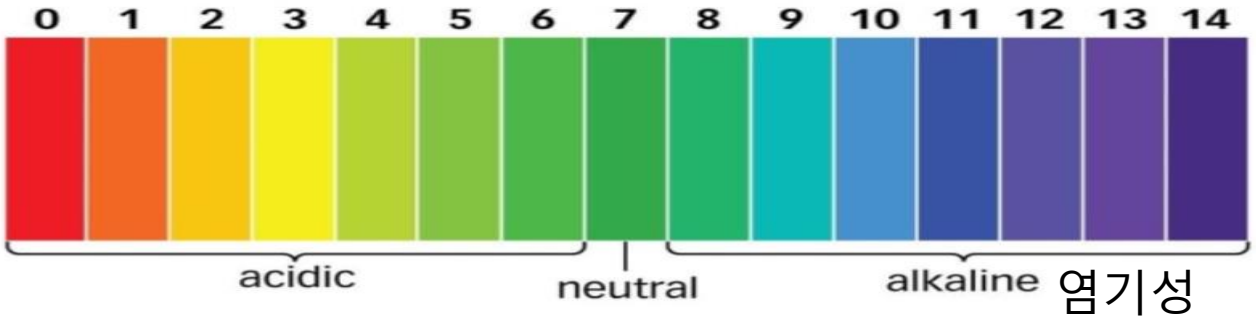
1M NaCl 용액 100mL을 0.2M NaCl 용액으로 희석하고자 한다. 이 때 용매를 증류수로 사용한다고 하면 용매를 얼마나 첨가해야 합니까?

- pH meter

➢ pH 란 무엇인가?

- **수소 이온이 얼마나 있는지** 수소 이온의 농도 지수로 나타냄
- 수소 이온 농도의 지수: $-\log[H^+]$
- pH 범위: 0~14
-





$[H^+] > [OH^-]$ = acidic

$[H^+] < [OH^-]$ = alkaline

• pH meter

➢ pH meter의 구성 요소



1) 지시 전극(Glass Electrode), 측정전극
- 수소 이온 농도를 감지하는 전극
- 얇은 유리막으로 된 **반투과성** 전극

2) 기준 전극(Reference Electrode)
- 일정한 전위를 유지하는 기준이 되는 전극
- 은/염화은(Ag/AgCl) 전극을 사용

3) 온도 센서(Temperature Sensor)
- 기기 안에 내장되어 있음
- 온도 변화는 전극의 전위차에 영향
  (보정 시 온도 수치에 참고)

→ 지시(측정)전극과 기준전극의 **전위차(전압)**를 통해 pH를 측정

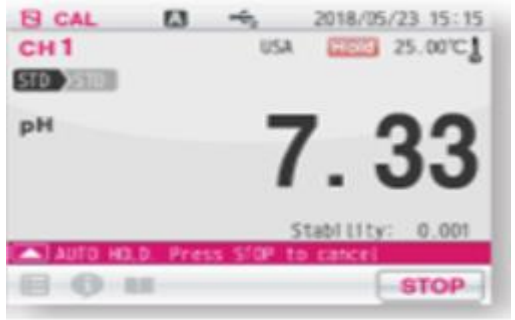
• pH meter - 온도 보정

°C	pH Buffers at 25°C						
	1.68	4.01	6.86	7.00	9.18	10.01	12.46
0	1.67	4.01	6.98	7.12	9.46	10.32	13.47
5	1.67	4.01	6.95	7.09	9.39	10.25	13.25
10	1.67	4.00	6.92	7.06	9.32	10.18	13.03
15	1.67	4.00	6.90	7.04	9.27	10.12	12.83
20	1.68	4.00	6.88	7.02	9.22	10.06	12.64
25	1.68	4.01	6.86	7.00	9.18	10.01	12.46
30	1.69	4.01	6.85	6.98	9.14	9.97	12.29
35	1.69	4.02	6.84	6.98	9.10	9.93	12.14
40	1.70	4.03	6.84	6.97	9.07	9.89	11.99
45	1.70	4.04	6.83	6.97	9.04	9.86	11.86
50	1.71	4.06	6.83	6.97	9.01	9.83	11.73
55	1.72	4.08	6.83	6.97	8.99	9.81	11.61

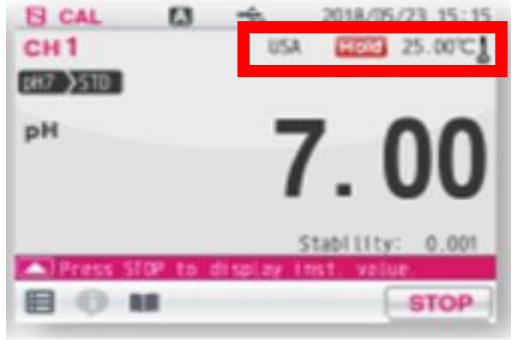
<보정 전>



<보정 진행 중>

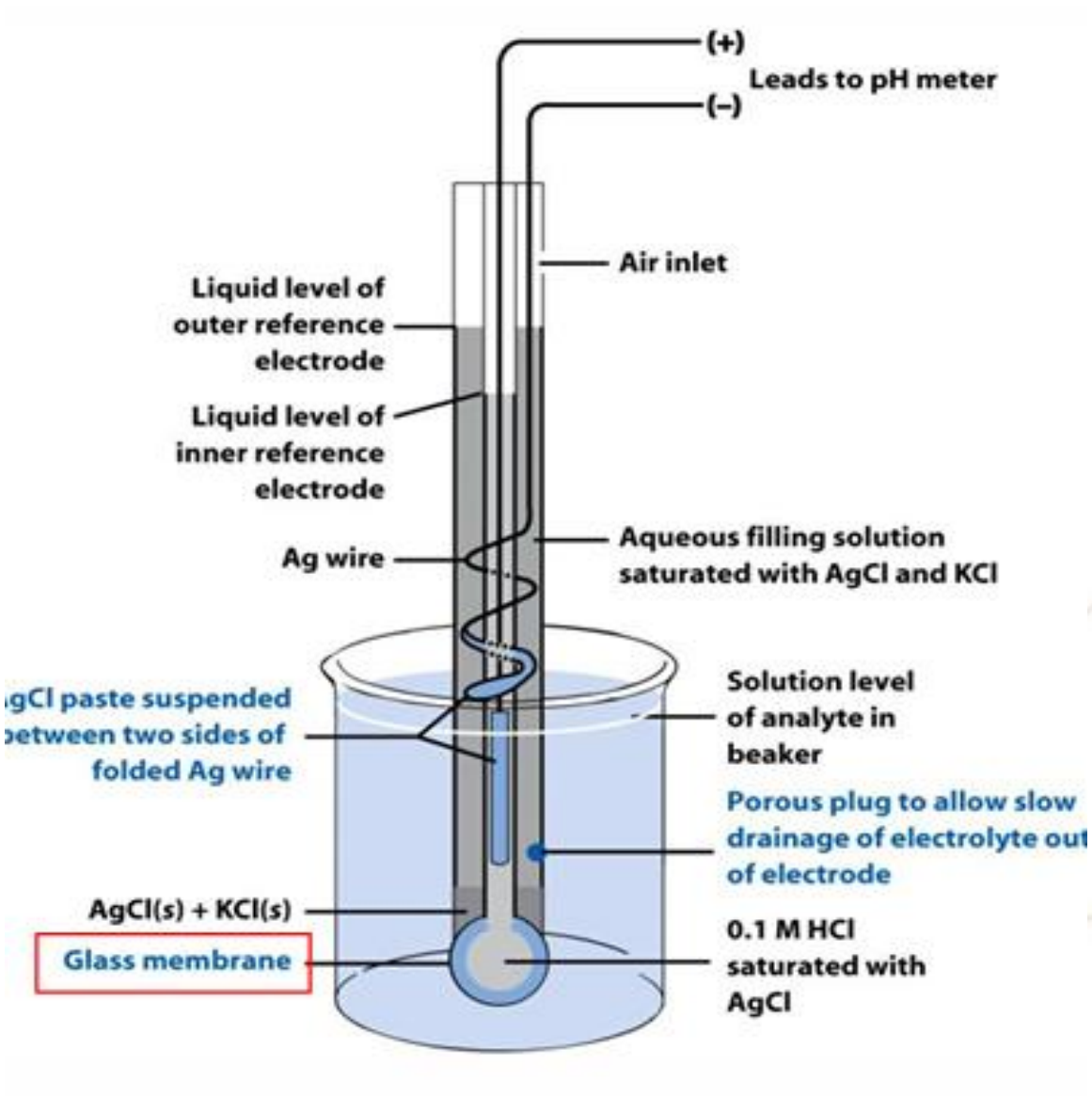


<보정 후>



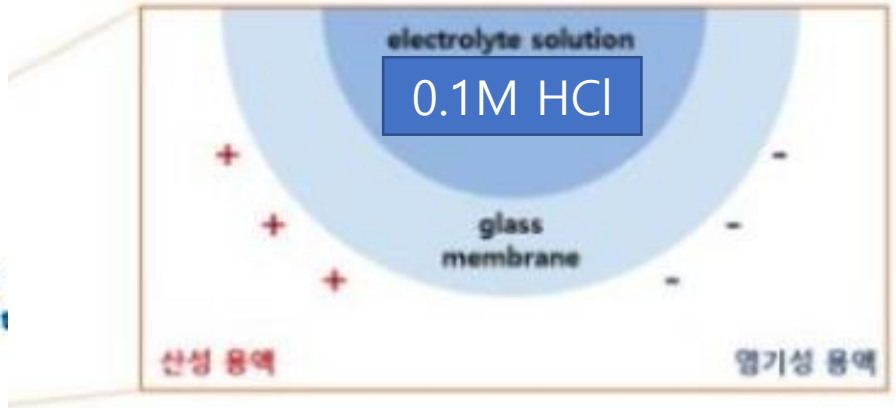
- pH 는 온도 의존성으로서 온도가 1℃ 상승
  → pH 가 약 0.015씩 감소

- pH meter: 지시전극, 측정전극



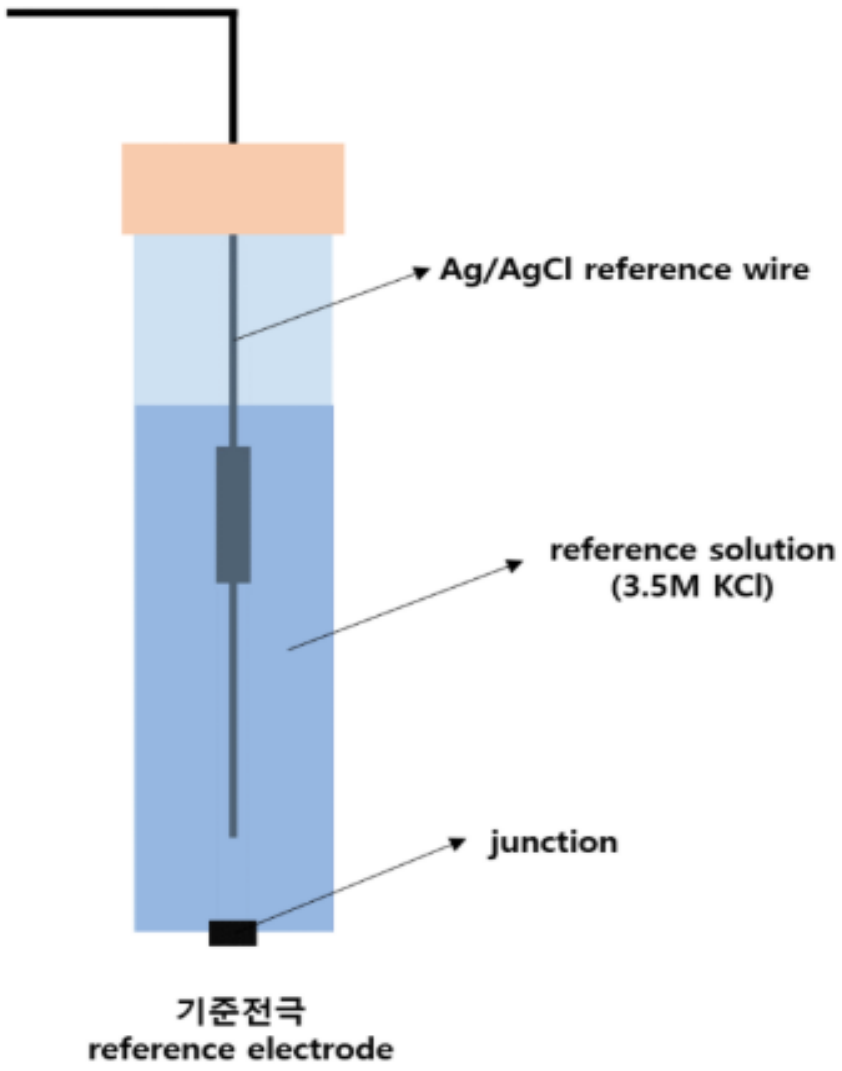
➢ 지시 전극(Glass Electrode)

- 수소 이온 농도를 감지하는 전극
- 얇은 유리막으로 된 반투과성 전극
- 0.1M HCl 사용



$[H^+] > [OH^-]$ = acidic $[H^+] < [OH^-]$ = alkaline

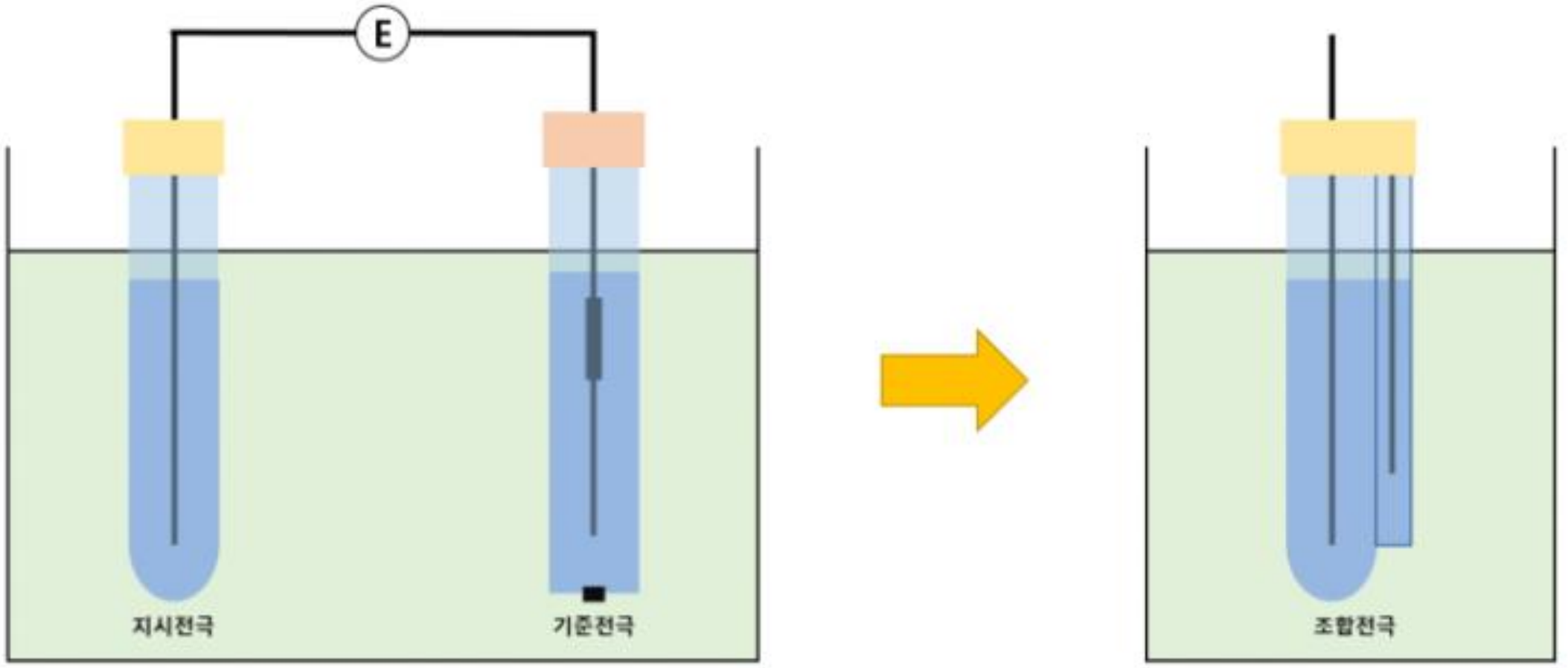
• pH meter: 기준전극



➢ 기준 전극(Reference Electrode)

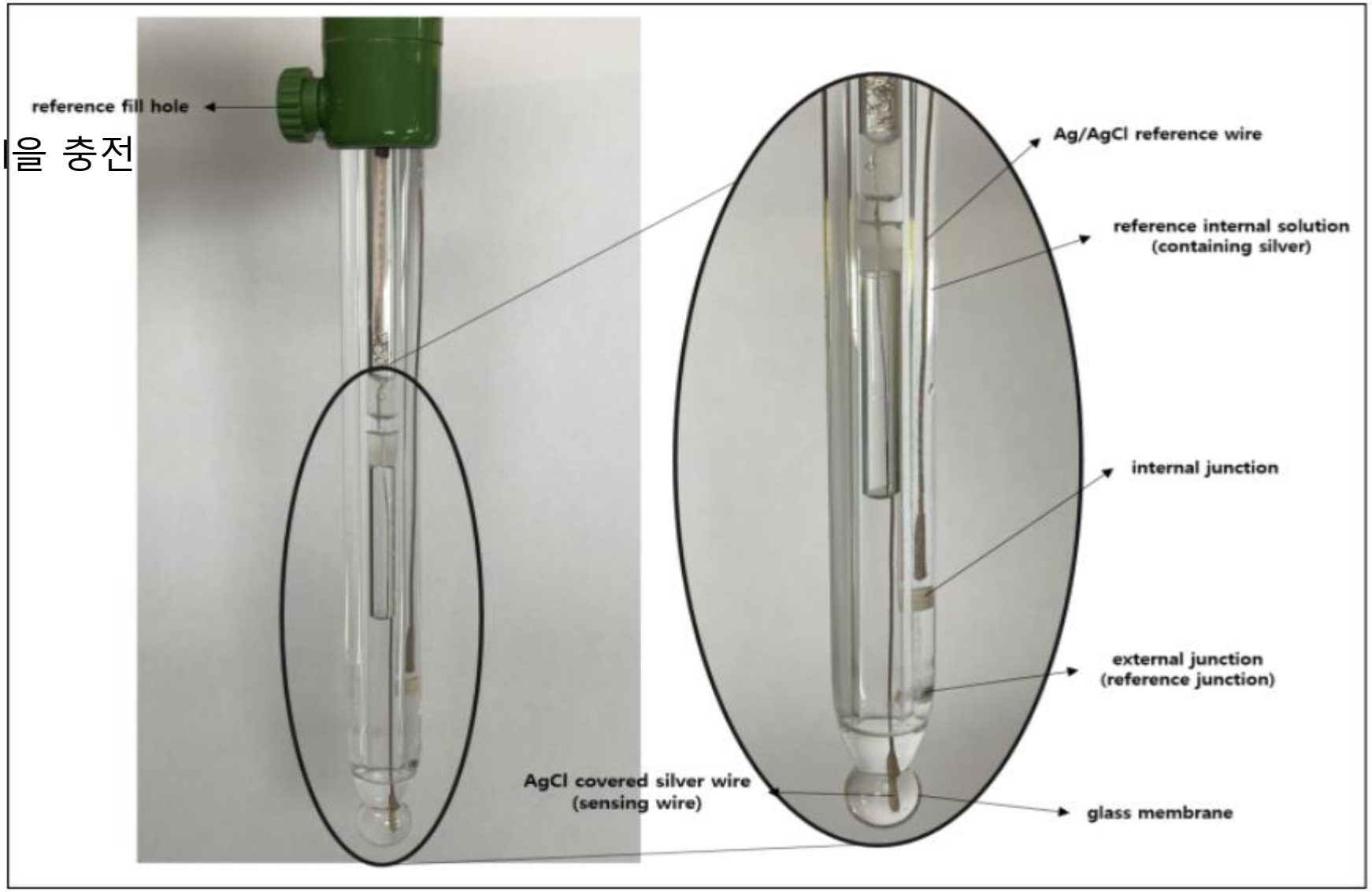
- 일정한 전위를 유지하는 기준이 되는 전극
- 은/염화은(Ag/AgCl) 전극을 사용
- KCl 사용

- pH meter: 조합전극



- pH meter: 조합전극

3.5M KCl을 충전



- pH meter

➢ pH meter 사용법

1. 전극 세척: 증류수 이용
2. pH 보정: pH standard solution(주로 4, 7, 10)
3. 시료 측정
4. 세척 및 보관

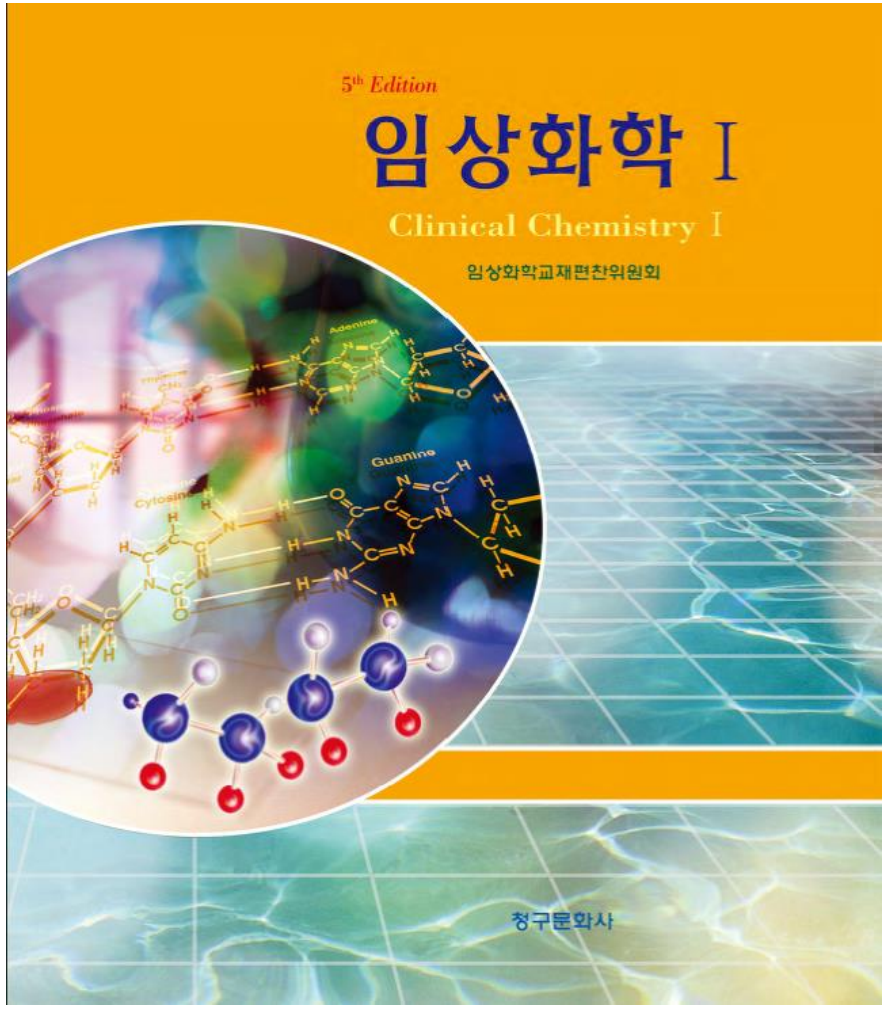
➢ pH meter 사용 시 주의사항

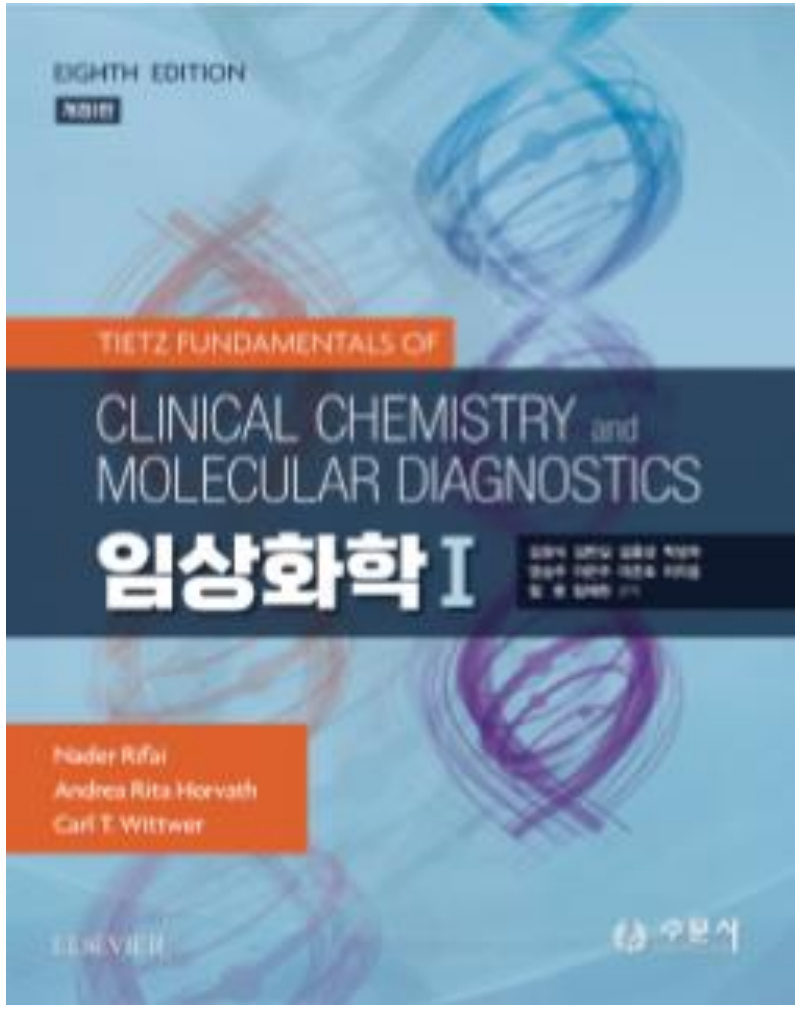
1. 전극은 깨지기 쉬움
2. 전극을 사용하지 않을 때: 3M KCl에 보관

- pH meter - 실험

SevenExcellence™I pH 센서 교정 및 검증 방법 - 10부

- 출처


5th Edition
임상화학 I
Clinical Chemistry I
임상화학교재편찬위원회
청구문화사


EIGHTH EDITION
TIETZ FUNDAMENTALS OF
CLINICAL CHEMISTRY and
MOLECULAR DIAGNOSTICS
임상화학 I
Nader Rifai
Andrea Rita Horvath
Carl T. Wittwer