

尿의 生化學的 檢査法

鄭 淳 東

尿의 生化學的 檢査法을 다른 外國 文獻은 해 아릴 수 없이 많으나 값싸게 그리고 손쉽게 入手하기 힘든 형편이며 한편으로는 우리 말로 다루어진 例가 거의 없으므로 큰 施設이나 高價한 精密器械를 使用하지 않고 번잡하지 않은 方法으로 어느 程度의 誠意만 있으면 간단히 檢査할 수 있고 또 臨床的 意義가 있는 것을 擇하여 그 試驗方法을 몇 가지씩 소개하는 바입니다.

生化學的 檢査가 診斷에 別로 도움이 되지 않는 것 같아도 判斷의 範圍를 좁힐 수 있고 檢査 成績이 애매하지 않으므로 最少限 尿에 대한 Routine test는 必要할 것이라 생각하고 敢히 권하는 바이며 未備한 點은 下諒하여 주시기 敬望하는 바입니다.

(A) 蛋白試驗法

1) Sulfosalicylic acid test

ㄱ) 被檢尿 5~10ml 에 20% (또는 飽和) Sulfosalicylic acid 溶液 數滴을 加한다. 白色의 濁濁이 일어나면 陽性이다. 被檢尿가 Alkali 性일 때에는 미리 醋酸 數滴을 加하여 弱酸性으로 한다. 그러던 尿酸, 尿酸鹽, 粘素는 沈澱하지 않는다. Albumose, Pepton 도 이 方法에 依해서 沈澱하지만 加溫하면 溶解하고 冷却하면 다시 沈澱한다. 被檢尿中에 蛋白質이 0.005~0.01% 以上에서 陽性이다. 그러나 蛋白質 以外의 鹽類에 依해서 濁濁이 생기는 수가 있어 判定을 그르치는 일이 있기 때문에 20%의 Sulfosalicylic acid를 使用할 경우에는 被檢尿 2.5ml 蒸溜水 6ml 20% Sulfosalicylic acid 溶液 1.5 ml 를 加하는 것이 좋다고 한다. 粉末 試藥을 使用할 때에는 被檢尿 2.5ml 에 蒸溜水 7.5ml. Sulfosalicylic acid 粉末 約 0.2gm 을 加하면 된다.

ㄴ) 被檢尿 2.5ml 에 3% Sulfosalicylic acid

溶液을 加하여 全量을 10ml 로 하여 잘 混合한다. 0.01% 以上の 蛋白質이 있으면 白色의 濁濁이 생긴다. 蛋白質이 微量일 경우에는 被檢尿 2.5ml 에 蒸溜水를 加하여 全量을 10ml 로 한것과 比較하면 識別이 容易하다. 多量의 蛋白質이 含有되었을 때에는 白色의 沈澱이 생긴다. 加溫했을때 溶解하면 Albumose 나 Pepton 이다. 이 方法을 半定量的으로 實施하려면 10分間 放置한 後에 標準液과 比較하면 된다. 被檢尿에 0.1% 以上の 蛋白質이 含有되었을 때에는 稀釋해서 測定하고 그 測定值에 稀釋한 倍數를 곱해서 計算한다.

標準液을 만드는 方法

血清을 2% 食鹽水로 稀釋하여 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.075, 0.1%의 蛋白質 溶液을 만들어 尿와 同一하게 處理한다. 比較의 長時間이 經過하면 濁濁度가 多少 增加하지만 新鮮한 標準液과 比較하면서 3% Sulfosalicylic acid 溶液으로 補定하면 長期間 使用할 수 있게 된다. 動物의 種類에 따라서 또 種類는 같아도 個體에 따라서 無視 못할 程度로 血清의 蛋白質 含有量에 差가 있으므로 간단히 文獻에 나타난 血清의 蛋白質 含有量을 基準으로 삼지 말고 黃酸銅法 또는 다른 方法으로 使用하고자 하는 血清의 蛋白質 含有量을 測定하는 것이 妥當하다고 생각된다.

2) Boiling test (煮沸試驗)

이 試驗은 Sulfosalicylic acid test가 陽性일 때도 省略하지 않는다. 被檢尿에 0.01% 以上の 蛋白質이 含有되어 있으면 陽性으로 反應한다.

試驗管의 높이 約 3/4 까지 透明한 被檢尿를 取하고 (必要時엔 濾過한다) 適當히 기우려 上部를 작은 불꽃으로 加熱한다(끓인다). 濁濁이

일어나면蛋白質이나無機磷酸鹽이含有되어 있다는 증거다. 1滴의濃醋酸을加하고 다시加熱해도濁濁이 남아있으면蛋白質이含有되어 있다는 증거다. 蛋白質과 함께沈澱한磷酸鹽은醋酸이나稀窒酸 1-2ml를加하면溶解하고蛋白質은濁濁도가 더욱 뚜렷해진다. 蛋白質은一定한酸度에서가장沈澱하기쉬우므로2%의醋酸少量을미리被檢尿에加해서弱酸性으로한다음에加熱하기도한다.

3) Test for Bence-Jones' Protein.

被檢尿數 ml를試驗管에取하고被檢尿와같은量의濃鹽酸을Pipette에取하여管底에徐徐히注入하여濃鹽酸上層에被檢尿가중첩하도록한다.被檢尿 속에Bence-Jones' Protein이있으면이두液體의境界面에塊狀沈澱이생긴다.萬一이試驗의結果가陰性이면이보다더檢査할必要가없으나그러나陽性인 때에는다음과같은試驗을實施하여야한다.被檢尿가litmus에대해서Alkali性인 때에는33% Acetic acid로中和하여約5ml를試驗管에取한다.이試驗管과測度計를Beaker에담긴水中에넣고間間히攪亂하면서徐徐히加熱하여沈澱이나타날때의水温을檢査한다.被檢尿에Bence-Jones' Protein이있으면40~60°C사이에서갑자기濁濁한다.그러나끓이면濁濁의一部또는全部가消滅한다.다른普通蛋白質은70~80°C에서凝固한다.

4) Hellers ring test (Nitric acid test)

이試驗에서는口徑이작은試驗管을使用하는것이좋다.큰試驗管을使用할 때에는그만큼많은量의試藥과被檢尿가必要하게된다.0.01%以上에서陽性이다.被檢尿2~3ml를試驗管에取하고Pipette로같은量의稀窒酸을管底에注入하면被檢尿가窒酸위에중첩한다.蛋白質이있으면이兩液의境界面에白輪이나타난다.또한稀窒酸2~3ml가들어있는試驗管을多少기우리고Pipette로서被檢尿를窒酸위에중첩시켜도좋다.濃厚한被檢尿를使用하면尿酸, 尿素(窒酸尿素)가析出하여偽性白輪을形成하는때가있다.그러나白輪의幅이넓

고두液의接觸面보다上部에나타나고加하면溶解한다.被檢尿를2~3倍로稀釋하여와같은偽性白輪을發生하지않는다. Albumose도白輪을形成하지만이偽性白輪도加하면없어진다.粘素, 核蛋白質도濁濁을일키지만白輪이兩液의境界面에形成되는것이아니고尿層內에發生하며가볍게振盪하면없어진다.樹脂酸등에依해서도偽性白輪이發生하지만白輪은明瞭하지않고Ethylether를力하면없어진다.肉食動物의生理的尿는窒酸尿酸의濁濁層을形成하지만兩液의接觸面보다조금위에나타나며加溫하면없어진다.馬尿는兩液의境界面보다뒷쪽에限해서不明한濁濁을일으킨다.

5) 醋酸·黃血鹽試驗(Potassium ferrocyanide test)

試驗管에適當한量의被檢尿를取하고取한被檢尿의1/3容量의約30%醋酸(局方醋酸은29~31%임)을加하고여기에10%黃血鹽溶液을2~3滴加하여加溫하면蛋白質은沈澱한다.0.02%以上에서陽性이다.醋酸만을力했을때沈澱하는것은粘素, 尿酸, 尿酸鹽, 核蛋白質 등이므로濾過하고그濾液에黃血鹽溶液을加하고加熱한다. Albumose, Bence-Jones' Protein도陽性으로나타나지만加溫하면消滅한다.被檢尿의濃도가높으면2-3倍로稀釋하여야한다.그理由는이方法에依해서생긴沈澱物은濃도가높은鹽溶液에溶解하기때문이다.

6) Spiegler's test

被檢尿에醋酸을加하여強酸性으로하고다음과같은試藥과중첩시킨다.蛋白質이있으면白輪을形成한다.

昇 汞	8.0gm.
酒 石 酸	4.0gm.
glycerine	20.0gm.
蒸 溜 水	300.0ml.

이 방법은相當히銳敏하지만 Pepton, Albumose 등에도反應하기 때문에數分이經過한 다음에생긴白輪은 반드시蛋白質 때문이라고 할

수 없다.

7) trichloroacetic acid test.

被檢尿 3~5.0ml에 30% trichloroacetic acid 溶液을 增加한다. 蛋白質이 있으면 濁濁한다.

8) 食塩·醋酸 試驗

被檢尿에 被檢尿의 1/3~1/6 容量의 飽和 食鹽水를 混合하고 여기에 數滴의 醋酸을 加하여 끓이면 蛋白質은 沈澱한다. 이 方法은 主로 糖尿의 蛋白質을 除去하는데 應用된다. 即 위와 같이 處理하여 冷却시킨 다음에 濾過하여 그 濾液을 炭酸소다로 中和하고 糖反應에 使用한다.

9) Osgood Hasking test.

試驗管에 5ml의 被檢尿를 取하고 50%의 醋酸 1ml와 飽和 食鹽水 3ml를 加한다. 잘 混合한 다음에 徐徐히 加熱하여 끓인다. 醋酸만을 加했을 때에 나타나는 沈澱은 膽汁酸鹽, 尿酸鹽, 樹脂酸이다. 그리고 飽和 食鹽水 까지 加한 다음에 나타나는 沈澱은 Bence-Jones' Protein 이거나 globulin 이 0.38gm./l. 以上の 濃度임을 意味한다. 그러나 加熱을 계속함에 따라서 Bence-Jones' Protein 에 依해서 形成된 沈澱은(萬若에 있었다면) 그 溶液에 다시 녹아 들어 가고 蛋白質이 含有되어 있으면 沈澱을 形成한다. 때문에 이 方法은 蛋白質과 Bence-Jones' Protein 을 同時에 檢査할 수 있는 利點이 있다.

10) Robert's test

이 試驗에서 使用되는 試藥은 다음과 같이 만든다. Magnesium sulfate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)의 飽和 溶液 50ml 에 10ml의 濃窒酸을 混合한다. 試驗管에 數 ml의 試藥을 取하여 若干 기우리고 Pipette 를 使用하여 被檢尿를 중첩시킨다. 이때 被檢尿는 徐徐히 管壁을 따라 흘러내리게 함으로서 試藥과 섞이지 않고 그 위에 중첩시킬 수 있다. 蛋白質이 있으면 境界面에 白輪을 形成한다.

또는 內徑이 約 5mm 程度의 유리管을 使用하는 方法이 있다. 우선 試驗管에 數 ml의 試藥을 取하고 上記한 유리管에 約 1cm 높이 까지 被檢尿를 取하여 上端을 手脂로 탄탄히 막는

다. 유리管의 下端이 試驗管內의 試藥을 適해서 管底에 密着하도록 한 다음에 上端을 막고 있던 手脂를 조용히, 徐徐히 닦추어 주면 試驗管內의 試藥이 유리管 안을 올라 오면서 尿層과 明確한 境界面을 이룬다. 이 境界面에 白輪이 形成되면 蛋白質이 있음을 意味한다.

Roberts' test 는 窒酸만을 使用하는 Hellers' test 에서와 같은 尿色素의 酸化, Indican, Iodides, 膽汁色素, 其他 物質 等에 依한 反應이 없는 것이 長點이라고 말할 수 있다.

11) Esbach's test (定量法)

被檢尿를 Esbach 蛋白尿計의 "U" 線 까지 取하고 "R" 線 까지 Esbach 試藥을 加한다. 고무 마개를 하고 5~6回 程度 조용하게 轉到시켜 두 液體를 充分히 混合시킨 다음에 室溫에서 18~24 時間 放置한다. 沈澱한 蛋白質의 높이를 읽는다. 이 尺度는 被檢尿 1,000ml 中の 蛋白質量을 gm으로 表示한다. Esbach 試藥은 다음과 같이 만든다. Picric acid 10.0gm 을 約 800ml의 蒸溜水(溫湯)에 녹히고 冷却한다. Citric acid 20.0gm 을 蒸溜水 約 100ml 에 溶解시켜 이것을 앞에 만든 Picric acid 溶液과 잘 混合하고 蒸溜水를 加하여 全量을 1,000ml 로 한다. 被檢尿가 Alkali 性일 때에는 醋酸을 加하여 酸性으로 하여야 한다. 尺度가 7까지 이므로 蛋白質이 以上일 때에는 (또는 被檢尿의 比重이 1.010 以上일 때에는) 被檢尿를 適當히 稀釋하고 그 測定值에 稀釋 倍수를 곱해서 計算한다. 이 試驗에 가장 適合한 被檢尿의 比重은 1.006~1.008 이라고 한다. 檢査室의 室溫은 18°C 以下로 내며가지 않는 便이 좋다고도 한다.

12) 末吉定量法

末吉 蛋白計는 內徑이 9mm 길이 25cm의 유리管이며 "U" 線과 "R" 線 그리고 1/2에서 부터 9까지 눈금이 있다. 試藥의 調製 方法은 다음과 같다. 昇汞 20gm 을 局方 鹽酸(比重 1.5) 10ml 에 溶解하고 別途로 Potassium fromide 5gm 을 蒸溜水 70ml 에 溶解한다. 이 두 液을 混合하고 여기에 局方 酒精 (85.80~87.35% 또는 90.09~91.29 v/v%)을 加하여 全量을 100ml

로 한 無色の 透明液이며 着色병에 貯藏한다. 被檢尿를 蛋白計의 “U” 線 까지 取하고 “R” 線 까지 試藥을 加한 다음 조용히 이 두 液을 混合하고 24時間 室溫에 放置한다. 沈澱의 높이로 蛋白量을 알 수 있다. 이 天度는 被檢尿 1,000 ml 中の 蛋白質量을 gm 으로 表示한다(gm/l). 蛋白質이 9 gm 以上이면 被檢尿를 2~3 倍로 稀釋하고 그 測定値에 稀釋한 倍數를 곱하여 計算한다. 이 方法은 尿의 反應이나 比重을 고려할 必要가 없으며 外溫의 影響도 받지 않는다고 한다.

13) Aufrecht's test(定量法)

Aufrecht 蛋白計의 “U” 線 까지 被檢尿를 取하고 “R” 線 까지 試藥을 加하여 조용히 混合한다 4分間 遠心沈澱시켜 沈澱의 높이를 읽는다. 이 方法에서 使用되는 試藥은 Picric acid 12.0 gm. Citric acid 30.0gm 을 蒸溜水에 녹여 全量을 1,000ml 로 한다. 눈금은 1.7%까지 表示되어 있으며, 被檢尿의 比重 또는 蛋白量에 따라서 稀釋하고 그 測定値에 稀釋한 倍數를 곱하여 計算한다. 被檢尿의 反應은 酸性이어야 하므로 Alkali 性인 때에는 醋酸을 加하여 酸性으로 한다.

註 1. 尿에 나타나는 蛋白質은 主로 Albumin 과 globulin 이며 量的으로 볼때 大部分이 Albumin 이다. 때문에 Proteinurea (蛋白質尿)라기 보다는 Albuminurea 라는 말이 더욱 正確하다고 생각된다. 이와 같이 尿에 나타나는 蛋白質이 主로 Albumin 이기 때문에 위의 試驗 方法에서 蛋白質이라고 한것은 이 Albumin 을 意味한것이고 Albumin 이나 globulin 을 除外한 其他 蛋白質은 그때 마다 蛋白質의 名칭을 使用하였다.

註 2. 試驗 結果의 記錄 方法.

定性 試驗의 結果를 記錄하는 方法이 各試驗室에 따라서 또 各個人에 따라서 크게 다르기 때문에 統一된 記錄 方法의 必要性을 느끼게 된다. 이러한 觀點에서 Approved laboratory technic by kolmer, Spaulding, and Robinson. 5th ed. Appleton Century Crofts. 1951, P. 139.에서 추천하고 있는 記錄 方法을 다음에

소개한다.

- = 全然 反應이 없을 때.
- ± = 黑色 背景에서 濁濁이나 白輪이 겨우 보일 때. (0.01% 또는 그 以下).
- +(1) = 黑色 背景없이 濁濁이 있음을 確認할 수 있으나 粒狀이나 絮狀을 나타내고 있지 않을 때. 또는 白輪이 있음을 充分히 認識할 수 있을 때(0.01~0.05%)
- ++(2) = 濁濁은 明確하고 粒狀이지만 絮狀을 이루고 있지 않을 때 또는 確實한 白輪이 나타나지만 위에서 내려다 보아서 完全히 不透明하지 않을 때(0.05~0.2%).
- +++ (3) = 濁濁度가 진하고 絮狀일 때 또는 白輪이 뚜렷하고 위에서 내려다 보아서 完全히 不透明할 때 (때로는 엉켜 있음) (0.2~0.5%).
- ++++(4) = 塊狀의 沈澱이 생길 때 또는 白輪이 大端히 稠密하고 幅이 넓을 때(0.5% 또는 그 以上). 3%의 Albumin 은 끊이면 엉킨다.

(B) 糖試驗法

a) 葡萄糖 試驗法

1) Benedicts test (定性法·半定量法)

試藥;—結晶 黃酸銅 17.3gm 을 蒸溜水 100ml 에 加溫하면서 溶解한다. Sodium Citrate 173 gm 과 Sodium Carbonate anhydrous 100gm (結晶이면 200gm)을 700ml 의 蒸溜水에 녹히고 앞에 만든 黃酸銅 溶液과 混合한다. 蒸溜水를 加하여 全量을 1,000ml 로 한다.

이 試藥 5ml 를 試驗管 取하고 被檢尿 0.25 ml 를 加하여 심하게 3分間 끓인 다음에 冷却한다. 이때 冷水에 담근 다든지 해서 急速히 冷却시켜서는 안된다. 3分間 끓이는 대신(작은 불꽃에서) 끓는 물에 5分間 담겨두어도 좋다. (試驗

件數가 많을때 有利하다). 葡萄糖이 있으면 綠黃色, 黃色, 赤色の 沈澱이 생긴다. 變色度는 被檢尿에 含有된 葡萄糖量에 따라서 다르다. 0.25% 以上の 葡萄糖이 含有되어 있으면 速히 沈澱이 생긴다, 葡萄糖이 없으면 試藥의 色은 變換 없고 透明하지만 尿酸鹽의 沈澱 때문에 極히 若干 흐려지는 수가 있다, 尿酸이나 creatinine 等에 反應하지 않고 正常尿에 含有되어 있는 極히 微量의 糖에 依해서 還元되지 않으며 病的인 糖量에 依해서 비로서 反應하기 때문에 臨床的 意義가 크다. 그러나 被檢尿를 너무 많이 加하면 磷酸鹽이 沈澱하여 判定을 그르친다. 이 方法을 半定量的으로 實施하려면 標準色을 만들어 놓고 이것과 比較하면 된다. 即 葡萄糖이 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1% 2%가 되므로 0.5% Pepton 溶液에 녹히고 被檢尿의 경우와 同一하게 發色시켜 그 色을 옮겨 두면 (色 연필로 복사한다) 標準으로 使用할 수 있다. 被檢尿가 2% 以上の 發色을 나타낼 때에는 尿量을 半(即 0.125 ml)으로 줄이거나 2倍로 稀釋하여 標準과 比較한 數値를 2倍하면 된다. 이 試驗은 乳糖, 果糖, Pentose 도 反應한다. 試驗 結果를 記錄하는 方法은 다음과 같다.

- = 試藥의 色에 變化가 없고 沈澱도 없을 때.
- + = 끓이는 동안에는 變化가 없으나 冷却한 後에 綠色의 沈澱이 나타났을 때(若干의 糖分).
- ++ = 끓기 始作한지 約 1分만에 色 變化가 나타났을 때(1% 程度).
- +++ = 끓기 始作한지 約 10~15秒 만에 色 變化가 나타났을 때(1% 以上).
- ++++ = 끓는 試藥에 被檢尿를 加하자마자 거의 즉시 色 變化가 있을 때(2% 以上).

2) Haine's test.

試藥; 一結晶 黃酸銅 2.0gm 을 16ml 의 蒸溜水에 녹히고 16ml 의 Glycerin 과 充分히 混合한다. 이 混合液에 5%의 Potassium Hydroxide 156ml 를 加한다. 이 試藥은 貯藏할 수 있다. 着色병에 貯藏한다.

試驗管에 約 4ml 의 試藥을 取하고 끓을 때 까지 加熱한다. 이때 沈澱이 생기지 않으면 아직 試藥을 使用할 수 있다. 試藥이 식기 前에 (끓고 있으면 안된다) 6~8 滴의 被檢尿를 加한다. 黃色 乃至 赤色の 沈澱이 생기면 陽性이다. 含有된 葡萄糖의 量이 많으면 黃色 乃至 赤色の 沈澱이 생기고 적으면 黃色 乃至 黃綠色의 沈澱이 생긴다. 이 試驗에서 생긴 沈澱은 쉽게 管底에 가라 앉는다. 磷酸鹽의 絮狀 沈澱이나 單純한 退色 作用 때문에 陽性으로 誤判을 내리는 수가 있다. 0.05% 以上에서 陽性이다.

이 方法에 依해서 大略的인 含有量을 推測할 수 있다. 即

- 被檢尿 1滴을 加했을 때 뚜렷한 反應이 있으면 2% 以上.
- 被檢尿 2~3滴을 加했을 때 陽性이면 1~2%.
- 被檢尿 3~5滴을 加했을 때 陽性이면 0.5~1%.
- 被檢尿 5~15滴을 加했을 때 陽性이면 0.2~0.5%.
- 被檢尿 20滴을 加하고 數回 끓였을 때 비로소 陽性이면 0.05~0.1%.

3) Fehlings test

試藥: 一 第一液. 結晶 黃酸銅 34.64gm. 을 500ml. 의 蒸溜水에 溶解한다.
 第二液. Potassium and Sodium tartrate 173gm. 을 더운 蒸溜水 250ml. 에 녹히고 Potassium Hydroxide 100gm. 을 加하여 溶解시키면서 全量을 500ml. 로 한다.

試驗管에 第一液과 第二液을 各各 1ml. 식 取하고 6ml 의 蒸溜水로 稀釋하여 잘 混和하고 끓을 때 까지 加熱한다.

試藥이 뜨거울 때 (그러나 끓고 있으면 안된다) 被檢尿를 2~3滴 떨어 트린다. 反應이 없으면 加熱한다. (끓어서는 안된다) 漸時동안 加熱해도 反應이 없으면 다시 2~3滴의 被檢尿를 滴加하고 加熱한다 (反應이 없을 때). 이와 같이 계속 반복한다. 이때에 滴加한 被檢尿의 量이 混合 試藥의 量(8ml.) 보다 많아서는 안된다. 被檢尿에 葡萄糖이 있으면 진한 赤色 또는 黃色

의 沈澱이 나타난다.

註1. 第一液과 第二液은 區別해서 各各 다른 병에 保存하고 使用할 때 이 兩液의 同量을 混合한다. 이 混合液을 Fehling 氏液 이라고 한다.

4) Nlyander's test

試藥 : — sodium Hydroxide 10gm 을 蒸溜水 100ml.에 녹히고 Potassium and sodium tartrate 4gm. 을 加한 다음에 次窒酸蒼鉛 2gm. 을 녹인다. 濁濁이 생겼으면 靜置한 後에 上澄液을 褐色병에 貯藏한다.

被檢尿 約 5ml.를 試驗管에 取하고 0.5~1.0 ml.의 試藥을 加한다. 작은 불꽃에서 2~5分間 끓인다. 葡萄糖이 含有되어 있으면 灰褐色 乃至 黑, 色으로 變한다. 黑色 沈澱이 생기면 陽性이다. 正常尿라 할지라도 때로는 陽性 反應이 나타난다. 이것은 正常尿에 含有된 糖分의 量이 0.13% 以上인 때문이라고 생각된다.

普通 飼料를 攝取하고 2時間 程度 지난 다음 採尿하여 使用한다. 이 試驗은 0.13% 以上에서 陽性이다. 蛋白尿도 陽性 反應을 나타낸다. 때문에 미리 被檢尿 中の 蛋白質을 除去 하여야 한다. 蛋白質 含有量이 2% 以下에서는 赤褐色 多量이면 黑褐色으로 變한다. 尿素, 血色素, Urobilin, Indican 等이 多量 含有되어 있으면 陽性 反應을 나타낸다. 그러나 尿酸, Creatinine 에 對해서는 反應을 나타내지 않는다. 大黃, Camphor, Morphine, Antipyrine, Quinine, 等を 服用한 後에도 때때로 陽性 反應을 나타내므로 注意가 必要하다. 이 方法으로서 被檢尿 中の 糖量을 推定할 수 있으며 그 要領은 다음과 같다.

1. 끓기 前에 또는 끓기 시작한 다음 부터 1~2分 以內에 진한 黑色으로 變할 때. 強陽性.
2. 끓기 시작한 다음 부터 2~3分만에 비로소 棕色이 뚜렷할 때. 弱陽性.
3. 數分間 끓여도 液體가 진한 黑色으로 變하지 않고 暗褐色을 나타낼 程度이나 沈澱物은 틀림 없이 黑色일 때. 痕跡.
4. 液體는 褐色으로 變하지도 않고 沈澱도 暗褐色 또는 暗灰色일 때. 陰性.

5) Benedicts test (定量法)

試藥 : — 1,000ml.를 收容할 수 있는 Pyrex beaker를 使用하여 100gm.의 anhydrous Sodium Carbonate를 蒸溜水 800ml.에 加溫하면서 녹히고 여기에 Sodium Citrate 또는 Potassium citrate 200gm.과 potassium thiocyanate 12 5gm.을 더 녹인다. 溶解하지 않은 沈澱이나 其他 濾過할 必要가 있으면 濾過하고 1,000ml 用 Volumetric flask 에 옮겨 둔다. 別途로 結晶 黃酸銅(CuSo4·5H2O) 18gm을 正確하게 秤量하여 (Analytical balance를 使用할것) 蒸溜水 10 0ml에 녹인다. 이 黃酸銅 溶液을 Volumetric flask 에 옮겨 둔 溶液에 徐徐히 加하면서 계속 攪拌한다. 여기에 5% Potassium ferrocyanide 5ml.를 加하고 放置한다. 室溫으로 冷却된 後에 蒸溜水를 加하여 全量을 1,000ml.로 한다. 黃酸銅은 아주 精密하게 秤量하여야 한다(다음에 記載한 glucose의 定量法에서도 같은 注意가 必要하다).

이와 같이 해서 만든 試藥 即 Benedict's Quantitative reagent 25ml.는 glucose 0.05 gm에 依해서 還元된다. 이 試藥은 얼마 동안은 保存할 수 있다.

被檢尿에 含有된 glucose의 量이 낮다는 事實을 알고 있지 않을 때에는 미리 10倍로 (被檢尿 10ml.에 蒸溜水 90ml.를 加한다) 稀釋해서 使用한다. 그리고 被檢尿는 透明하여야 하며 必要하다면 濾過해서 使用하여도 無妨하다.

50ml. buret에 被檢尿 (稀釋했거나 稀釋하지 않았거나 方法은 同一함)를 채운다. 磁製 蒸發 접시에 試藥 25ml.를 正確하게 取하고 約 15gm.의 Crystalline Sodium Carbonate 또는 6gm.의 Anhydrous Sodium Carbonate를 加하고 2~3gm.의 Pumice(浮石) 또는 talc를 加한다. 불꽃 위에서 直接 加熱하여 titration (滴定)이 끝날 때 까지 계속해서 棼하게 끓인다. Sodium Carbonate가 完全히 溶解하면 그 즉시 buret에 담긴 被檢尿를 滴加하기 시작한다. 처음에는 乳白色의 沈澱이 생기고 青色의 消滅을 뚜렷하게 認知할 수 있을 때 까지 빨리 滴下하고 이 後부터는 1회에 2~3滴씩 間隔을 두고 徐徐히 滴加

한다. 最後의 1滴으로 試藥의 靑色이 完全히 사라질 때 까지 約 30秒 間隔으로 1滴씩 滴加한다. 이때 試藥의 濃度가 進해지면 蒸溜水를 適當히 加하여 稀釋해도 無妨하다. 最後의 1滴으로 溶液의 靑色이 完全히 사라졌을 때의 溶液의 色은 被檢尿의 色素 때문에 淡黃色 또는 帶黃綠色을 나타낸다. 식으면 다시 엷은 靑綠色을 띠게 되므로 試藥이 끓고 있을 때 被檢尿를 滴下하여 最後의 1滴으로 溶液의 靑色이 完全히 사라졌을 때 消費된 被檢尿의 ml數를 읽어 두어야 한다. 10倍로 稀釋한 被檢尿의 消費量이 Nml. 였다고 하면 被檢尿 中에 含有된 glucose의 含有量 g/dl)는 다음과 같이 計算한다.

$$\frac{0.05}{N} \times 100 \times 10 = \text{glucose의 含有量(g/dl)}$$

試藥 25ml. 가 0.05gm의 glucose에 依해서 還元되므로 25ml. 의 試藥을 還元하는데 消費된 被檢尿의 ml. 數(N)로 0.05gm. 을 나누면 被檢尿 1ml. 中에 含有된 glucose의 量을 알 수 있다. 따라서 g/dl로 表示하자면 被檢尿 100ml 中에 含有된 glucose의 量으로 表示하여야 하므로 100倍하고 稀釋 倍數 10을 곱하면 된다. 稀釋하지 않은 被檢尿의 消費量이 Mml. 였다고 하면 다음 式에 依하여 被檢尿에 含有된 glucose의 g/dl를 計算한다.

$$\frac{0.05}{M} \times 100 = \text{glucose의 含有量(g/dl)}$$

6) Benedicts test tube method(定量法)

Benedicts quantitative reagent(前項參照)

5ml. 를 試驗管에 取하여 1~2gm. 의 anhydrous Sodium carbonate와 同量의 Pumice (浮石)를 加하고 水浴 위에서 加熱하여 끓인다. 試藥이 끓고 있을 때 1ml. Pipet(0.1ml. 의 눈금이 있는 것을 使用할것)로 稀釋하지 않은 被檢尿를 靑色이 完全히 없어질 때까지 加하고 消費된 ml. 數를 읽어 둔다. 被檢尿는 徐徐히 注加하여야 하며 被檢尿를 加하고 있는 동안 試藥은 끓고 있어야 한다. 試藥 5ml. 는 0.01gm의 glucose에 依해서 還元되므로 設藥의 靑色이 없어질 때까지 注入된 被檢尿의 量이 Yml. 였다고 하면 Yml. 의 被檢尿는 0.01gm의 glucose를 含有하고 있는 것이다. 따라서 被檢尿에 含有된

glucose의 量을 g/dl로 表示하려면 0.01에 100/Y 을 곱하면 된다.

$$0.01 \times \frac{100}{Y} = \text{glucose의 含有量(g/dl)}$$

簡便하게 計算하기 위하여 1을 消費된 被檢尿의 ml. 數(Y로) 나누면 된다.

$$0.01 \times 100 = 1 \text{ 이므로}$$

$$\frac{1}{Y} = \text{glucose의 含有量(g/dl)}$$

7) Pavy 櫻川 須藤 法

試藥: 一試藥은 第一液 및 第二液으로 區別되며 따로 따로 保存한다.

第一液은 結晶 黃酸銅 4.278gm을 正確하게 秤量하여 蒸溜水에 녹여서 1,000ml. 로 한다. 第二液은 Potassium sodium tartrate 21gm과 Potassium Hydroxide 21gm을 局方 Ammonia Water (比重은 約 0.96, NH³는 9~10 g/dl 含有되어있음)에 녹여서 全量을 1,000ml. 로 한다 使用時 이 두 液을 20ml. 식 混合한다. 이 混合液은 glucose 0.01gm. 에 依해서 還元된다.

100ml. 用 Flask, Distilling, Round Bottom (枝付 蒸溜 Flask)에 第一液 20ml로(Pipet 로 正確하게 取할것)와 第二液 20ml. (Cylinder로 測定하여도 無妨함)를 取하여 잘 混合하고 適當히 稀釋한 被檢尿 (이 試驗에서는 被檢尿의 glucose 含有量이 0.1~0.2 g/dl일 때가 가장 適當하므로 glucose의 濃度가 進할 경우에는 미리 이 濃度로 調節할 必要가 있다)를 buret에 取하고 고무 마개를 通하여 Flask에 直結한다. flask의 가지는 고무줄로 물 100ml. 에 粗製 黃酸 50ml. 와 10%의 黃酸銅液 1ml. 를 加한 Distilling Erlenmeyer Flask (枝付 三角 flask)의 유리管에 連結한다. 이 유리管은 三角 Flask의 입을 막고 있는 고무 마개를 通하여 Flask안 에 있는 溶液 깊숙히 들어가 있어야 한다. 試驗 中에 發生한 Ammonia gas는 이 flask內의 黃酸 溶液에 吸收된다. 試藥이 들어 있는 Flask를 水浴 위에서 加熱하여 內容物을 끓임으로서 空氣를 몰아낸 다음 水浴을 작게하여 겨우 끓을 程度로 調節해 놓고 稀釋한 被檢尿(Buret에 담긴)를 처음 1分間은 100滴 다음 부터는 2~3秒만

에 1滴씩 滴下하여 極히 微微한 青色이 남게 되면 被檢尿의 滴下를 中止한다. 계속해서 30秒~1分間 끓었을 때에 試藥이 完全히 無色이 되면 buret에서 消費된 被檢尿의 ml. 數를 읽는다. 例로서 10倍로 稀釋한 被檢尿의 消費量이 Nml 라고 하면 glucose의 濃度는 다음과 같다 計算한다.

$$\frac{0.01 \times 10 \times 100}{N} = \text{glucose의 濃度(g/dl)}$$

被檢尿中の 色素는 最終 反應을 妨害하기 때문에 다음과 같은 方法으로 除去한다. 被檢尿 50ml. 에 醋酸鉛 粉末 1-5gm을 加하여 充分히 振盪한 다음 그 濾液에 Ammonium sulfate(醋酸鉛의 半量)를 加하여 數分間 放置한 後에 濾過한다.

8) 須藤 變法

試藥 第一液은 結晶 黃酸銅 4.278gm을 正確하게 秤量하여 蒸溜水에 녹혀 全量을 1,000ml. 로 한다. 第二液은 glycerine 20ml. Potassium hydroxide 21gm. 局方 Ammania Water (比重 0.96 NH3-10 g/dl含有)로 溶解하여 全量을 1,000ml로 한다. 이 兩液을 同量 混合한 試藥 10ml. 는 glucose 0.0025gm에 依해서 還元된다 使用할 때에 第一液 5ml. 와 第二液 5ml. 를 試驗管에 取하여 잘 混合하고 fluid Paraffin 1~1.5ml. 를 加하여 試藥이 空氣와 接觸함을 防止한다. 다음에 80~85°C의 더운 물에 數分間 試驗管채 담겨 두었다가 被檢尿를 少量(0.1ml.) 씩 試藥속에 注入하고 徐徐히 攪拌하여 混合한다. 最後로 被檢尿를 加한 때부터 2~3分間 加熱해서 試藥이 完全히 脫色되면 이때까지 消費된 被檢尿의 ml. 數를 測定한다.

例로서 被檢尿의 消費量의 Yml. 였다고 하면 glucose의 濃度(g/dl)는 다음과 같이 計算한다.

$$\frac{0.0025 \times 100}{Y} = \text{glucose의 濃度(g/dl)}$$

이 方法에서는 被檢尿의 glucose 含有量이 0.1~0.2 g/dl일 때에 가장 銳敏하기 때문에 被檢尿의 glucose 含有量에 따라서 10~50倍로 稀釋하고 glucose의 濃度를 計算할 때에는 前記한 計算 方法으로서 얻은 數値에 稀釋 倍數를 곱하

면 된다.

b) 乳糖 試驗法

1) Rubners test

被檢尿 10ml. 에 lead acetate 3gm. 을 加하고 充分히 振盪하여 試驗管에 濾過한다. 이 濾液을 數分間 끓이고 Concentrated ammonium hynroxide 1ml. 를 加하여 다시 끓인다. 被檢尿中에 lactase가 含有되어 있으면 溶液은 처음에 벽돌色으로 變하고 이어서 赤色 沈澱이 생긴다. 이 試驗은 그다지 銳敏하지는 않으나 그러나 0.3~0.5% 以上の latose가 含有되어 있으면 陽性을 나타낸다. glucose가 含有되어 있으면 溶液의 色은 赤色으로 變하면서 黃色 沈澱이 생긴다.

2) Malfattis test

被檢尿 10ml. 에 concentrated ammonia water 5ml. 를 加하여 約 90°C의 水中에서 5~15分 加熱한다. 이때 끓여서는 안된다. 被檢尿中에 乳糖이 있으면 漸次 赤色으로 變한다. glucose가 含有되어 있으면 黃色 乃至 褐色을 띠운다.

3) Ormsby and Johnson test

試驗管에 5ml. 의 被檢尿를 取하고 0.2%의 methzlamine hydrochloride 1ml. 와 10%의 Sadium hydroxide 0.2ml. 를 加한다. 試驗管口를 막고 數回 轉到시키거나 가볍게 振盪하여 溶液을 混合하고 56°C 水中에 30分間 담갔다 가장 少限 1時間 동안 室溫에 放置하면 試藥의 色은 赤色으로 變한다. 그리고 1時間까지 時間이 經過에 따라서 그 色은 점점 진해진다. 被檢尿에 多量의 lactose가 含有되었으면 56°C 水中에서 끄내기 前에 이미 赤色을 띠우기 시작한다.

c) 果糖 試驗法

1) Barchardts test

試驗管에 被檢尿 5ml. 를 取하고 25%의 鹽酸 (濃鹽酸 2部에 蒸溜水 1部) 5ml. 를 加한다. 여기에 Resorcinol의 結晶을 數個 加하고 30秒間 끓인다. (끓기 시작한 때부터 30秒間, 30秒를 超

過하지 말아야 한다. Fructose가 함유되어 있으면 赤色으로 變한다. 流水中에서 冷却하고 beaker에 옮겨 sodium hydroxide나 Potassium hydroxide(水溶液이 아니고 固體를 使用한다)로서 弱 Alkali로 한다. 試驗管에 다시 옮겨서 2~3ml.의 Acetic ether(Ethyl acetate)를 加하고 振盪한다. Fructose가 함유되어 있으면 acetic ether는 黃色으로 變한다. 大黃이나 Senna를 投與했을 때에도 陽性反應이 나타난다. 被檢尿 中에 Indican이 함유되어 있으면 Ob-ermayer test(Indican 試驗法 參照)에 依해서 除去하여야 한다. 即 Chloroform이 Indican을 充分히 抽出한 다음 上層液을(chloroform은 試驗管 底部에 가라앉으니 이 部分만을 남기고) Beaker에 옮기고 이 溶液의 1/3 容量에 該當하는 蒸溜水를 加하여 酸性을 弱화시킨다. Sodium hydroxide나 Potassium hydroxide를 加하여 弱 Alkali로 한다음에 試驗管에 옮겨서 Acetic ether를 加하여 試驗하면 된다.

2) Seliwanoffs test

試藥—濃鹽酸 100ml.를 蒸溜水 200ml.에 稀釋하고 이 稀釋液에 Resorcinol 0.15gm.를 녹인다.

試驗管에 試藥 5ml.를 取하고 被檢尿 6~8滴을 滴下한다. 20~30秒間 끓인다. (끓기 시작할 때부터 30秒를 超過해서는 안된다). 溶液의 色과 沈澱의 有無를 細密히 살피는다. 赤色 沈澱이 生겼으면 上澄液만을 除去하고 남은 沈澱에 95%의 Ethyl alcohol 4~5ml.를 加하여 잘 混合하고 Alcohol의 色을 관찰해 둔다. 끓기 시작할 때부터 29~30秒 以內에 溶液은 赤色으로 變하면서 同時에 赤色 沈澱이 生기고 이 沈澱은 Ethyl alcohol에 녹여서 鮮紅色을 나타내야 陽性으로 判定한다. 2% 以上의 Glucose가 含有된 被檢尿도 陽性 反應을 나타내는 수가 있다. 鹽酸의 濃度가 진했거나 長時間 加熱하였을 때에 Glucose, maltose, mannose等도 비슷한 反應을 보일 때가 있으나 普通 色이 있는 沈澱을 形成하지는 않는다.

d. Galactose 試驗

蒸發 접시에 100ml.의 被檢尿를 取하고 20ml.의 濃窒酸을 加한다. 이 溶液이 約 20ml.로 줄 때까지 끓는 물 위에서 蒸發시킨다. 萬一 被檢尿의 比重이 1.020 以上일 경우에는 25~35ml.의 窒酸을 加하고 加한 酸의 量(25~35ml.)으로 濃縮될 때까지 끓는 물 위에서 蒸發시킨다. 被檢尿 中에 Galactose가 含有되어 있으면 mucic acid의 微細한 白色 沈澱이 生진다. 乳糖도 陽性 反應을 나타낸다. 따라서 乳糖 試驗法에 依해서 區別하지 않으면 안된다.

e) Pentose 試驗

1) Bials test

試藥—30%의 鹽酸 500ml에 10%의 Ferric chloride溶液 1ml.를 混合하고 여기에 orcinol 1.5gm을 녹인다. 被檢尿 中에 glucose가 含有되어 있으면 除去하여야 하기 때문에 먼저 Benedict's test(定性法)를 glucose의 有無를 試驗한다. glucose가 含有되어 있으면 yeast로 醱酵시키고 濾過하여 이를 除去한다. 試驗管에 試藥 5ml.를 取하고 2ml.의 被檢尿를 加하여 混合한다. 徐徐히 加熱하여 氣泡가 表面으로 올라오기 시작하려는 加熱을 中止한다. 또는 미리 試藥을 加熱하고 뜨거울 때 被檢尿를 加해도 좋다. 이 때에는 다시 加熱하지 않는다. 被檢尿에 Pentose가 含有되어 있으면 溶液은 즉시 또는 冷却하였을 때 綠色으로 變하고 同時에 絮狀의 綠色 沈澱이 生진다.

2) Taubers test

試藥—Benzidine 1gm을 glacial acetic acid 25ml.에 녹인다. 이 試藥은 4日間 保存할 수 있다. 試驗에 0.1ml.의 被檢尿를 取하고 試藥 0.5ml.를 加한다. 甚하게 끓을 때까지 加熱한 다음 冷水에 담겨서 冷却하고 蒸溜水 1ml.를 加한다. 被檢尿에 Pentose가 含有되어 있으면 즉시 분홍색 乃至 桃色으로 變한다.

<筆者 = 晉州農大 獸醫學科>