

비색법과 HPLC 법에 의한 요중 δ -Aminolevulinic acid의 측정치 비교

순천향대학교 의과대학 예방의학교실
순천향대학교 산업의학연구소

안 규 동, 연 유 용, 이 병 국

— Abstract —

Measurement of δ -Aminolevulinic Acid in Urine by Fluorometric HPLC and Colorimetric Methods

Kyu-Dong Ahn, You-Yong Yeon and Byung-Kook Lee

*Department of Preventive Medicine, Medical College, Soonchunhyang University
Institution of Industrial Medicine, Soonchunhyang University*

The urinary excretion of δ -aminolevulinic acid has been widely used as a measure of the biological effect of lead in lead exposed workers. It is usually measured by colorimetric method based on the color reaction of ALA-pyrrole with Ehrlich's reagent. But the results of δ -ALA in urine by this method are somewhat artificially higher than expected due to the urinary ALA-like compound such as aminoacetone. On the other hand, the recently developed fluorometric HPLC method is very sensitive and specific for the measuring urinary ALA. In order to compare the data obtained by two methods and to investigate the interrelation between two methods, 117 lead workers with different lead exposure were checked urinary δ -ALA, blood lead and other lead exposure related indices. The results obtained are as follows:

1. Urinary excretion of δ -ALA by colorimetric method is 2.15 times higher than HPLC method in overall, revealing 2.47 times in workers of blood lead less than 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 2.53 times in workers of blood lead 21-40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ and 1.86 times in workers of blood lead over 41 $\mu\text{g}/\text{dl}$, respectively.
2. While the correlation coefficients of δ -ALA measured by colorimetric method with blood lead and blood ZPP was 0.571 and 0.629, those of δ -ALA measured by HPLC with blood lead and blood ZPP were 0.610 and 0.637. All the correlation coefficients were statistically significant, but there was no statistical difference of correlation coefficients between two methods.

3. The correlation coefficient of urinary excretion of δ -ALA between two method was 0.838 without any correction, but it was 0.852 with the correction of specific gravity 1.024.
4. Simple linear regression of δ -ALA measured by HPLC method on δ -ALA measured by colorimetric method was $(\text{ALA-UPH}) = -0.245 + 0.536 (\text{ALA-UCO})$ without any correction and it was $(\text{SP ALA}) = -0.525 + 0.598 (\text{SP ALA-UCO})$ with the correction of specific gravity 1.024.

With above results, it is recommended that the diagnostic criteria of δ -ALA for lead poisoning needed to be revised if δ -ALA is measured by HPLC rather than colorimetric method.

Key Words: δ -aminolevulinic acid(δ -ALA) in urine, fluorometric HPLC, colorimetric method.

서 론

직업적으로 연에 폭로되는 근로자들의 연에 의한 생물학적 영향을 확인하는 생물학적 지표중 요중 δ -aminolevulinic acid(δ -ALA) 배설량이 많이 측정되고 있다. 우리나라는 정규철(1968, 1972)이 연흡수의 판정기준과 연에 의한 건강장해도 평가를 위한 지표를 마련하면서 요중의 δ -ALA 배설량 측정이 '70년대 초 부터 연중독 확인에 혈중연(PbB) 측정과 더불어 필수적인 검사 방법으로 등장하였으며, 산업안전보건법 시행규칙에 연중독 진단 검사항목으로 채택되어 있다(노동부, 1989). 그러나 우리나라에서 요중 δ -ALA 측정은 불과 몇개의 대학기관과 특수건강진단기관에서만 측정이 가능하였으며, 분석방법은 비색법으로 일본의 Wada(1969), Tomokuni(1972)등의 방법을 주로 이용하여 왔다. 그러나 이들 방법들은 요중 방해물질을 제거하는데 다소간 문제가 있으며 특히 Ehrlich 시약에 의하여 증색되는 물질의 제거가 어려워 이론상으로는 제한적인 방법으로 알려져 있다(原田 章, 1991). 따라서 음이온 및 양이온 수지로 요의 방해물질들을 분리 제거한 후 분석하는 Mauzerall-Granick 법(1956), Urata-Granick 법(1969), 木村ら 법(1978) 등의 방법이 추천되었으나 우리나라에서는 이러한 방법이 비용등의 문제로 시도된 적이 없었던 것으로 생각된다. 그러나 이 방법들도 ALA를

pyrrole화 하는 과정에서 생성되는 Aminoacetone(AA)은 Ehrlich 시약에 증색되어 특히 δ -ALA가 저농도인 요에서 과도한 평가를 하게 된다. 한편 최근에는 고속 액체크로마토 그래프(HPLC)가 화학물질의 생화학적 대사산물 분석에 보편적으로 사용되면서 요나 혈청중 δ -ALA를 아주 높은 감도와 정밀성으로 측정하는 분석법들이 개발되었다(Tabuchi et al, 1989; Hudak et al, 1991; Tomokuni et al, 1992).

그러나 HPLC에 의한 요중 δ -ALA 분석은 여러가지 문제가 있다. 한 두 사람의 피검자를 상대로 고가의 장비를 δ -ALA만을 분석하기 위하여 항상 조정하여 놓을 수 없는 형편이며, 전처리와 회수율 등에서도 문제가 있으며, 분석자의 숙련이 무엇보다 필요하다. 그러나 장점으로 산업보건업무에서 대량의 시료를 처리하는데 편리하며, 특히 혈청이나 혈장처럼 많은 시료를 얻지 못하는 검체의 분석이 가능하여 많은 전문가들이 이 방법을 추천하고 있으며, 비색법에서의 시약에 의한 불쾌취의 감소, 다른 화학물질의 대사산물 분석등, 앞의 문제점들에도 불구하고 산업보건에서의 대사산물 분석은 정밀도가 높은 분석법을 요구하고 있어 이의 보급은 필수적일 것이다.

따라서 본 연구는 과거 20여년간 우리나라에서 사용되어 온 비색법과 고속 액체크로마토그래피를 이용하여 요중 δ -ALA를 분석하여 결과를 비교함으로써 현재 시행되고 있는 특수건강 진단의 정확도를 높이며 아울러 '92년 부터 시행한 특수

건강진단 정도관리에도 도움이 되는 자료를 얻고자 시도하였다.

재료 및 방법

1. 대상자 선정 : 직업적으로 연에 폭로되는 정도를 고려하여 직업적 폭로가 없었던 대조군과 허용기준 0.05 mg/m³ 1/2 미만 농도, 0.05-0.1 mg/m³ 정도, 0.1 mg/m³ 초과 사업장 별로 근로자 총 117명을 대상으로 하였다.

2. 시료채취 : 작업중 또는 종료시에 근로자의 일시요를 약 20ml 채취하여 냉동 저장하였다가 분석시 냉장실에서 해동하여 상온에서 요비중을 측정 후 δ-ALA 분석에 사용하였다.

3. 요중 δ-ALA 분석방법 :

1. 비색법 : Tomokuni & Ogata(1972)법을 이용하였다.

2. 고속 액체크로마토그래피(HPLC) 법 : 사용된 모든 시약은 HPLC용 특급을 사용하였다.

1) Acetylacetone 용액 : 15 ml acetylacetone, 10 ml ethanol, 75 ml 증류수로 혼합하여 조제하였다.

2) 10%-Formalin 용액 : 37%-formalin을 증류수로 3.7배 희석하여 갈색병에 보관하였다.

3) 시료의 전처리 : 3.5 ml의 acetylacetone 용액을 10 ml 시험관에 넣고 요 0.05 ml와 10%-formalin 용액 0.45 ml를 가한다음 약 3초간 vortex mixer에서 진탕한 다음 100°C의 water bath에서 10분간 pyrrole화 한다음 10 ul를 HPLC column에 자동 시료채취기로 주입하였다.

4) HPLC의 조건 : LC-10A HPLC (Shimadzu, Japan)에 column은 CLC-0DS, 150×6.0mm를 장착하였으며, 검출기는 fluorometer FR-10A로, excitation/emission 파장은 370/460 nm를 사용하였다. 이 동상은 500/500/10의 비율로 methanol/water/acetic acid를 혼합하여 사용하였으며 유속은 분당 0.7 ml로 하였다.

4. 혈중연(PbB) 및 ZPP(zinc protoporphyrin)의 측정 : 정맥혈을 heparin vacutainer에 채취하여 혈중연은 비불꽃 원자흡광광도계(polarized Zeeman AAS, Japan) 법(Fernandez, 1982)을, 혈중 ZPP는 potable hematofluorometer(AVIV-206, USA)를 이용하였다.

표 1은 연폭로 수준을 고려하여 대상자들을 117명 선정하여, 이에 따른 폭로정도를 나타낸 것이다. 여기서 저농도 폭로군은 여자 21명과 남자 21명으로 구성되었으며 나머지 군들은 모두 남자들로 구성되었다.

표 2는 대상자들의 혈중연을 20 µg/dl 이하,

Table 1. General characteristic in subjects by exposure levels

| Variables | Control n=29 | Low n=42 | moderate n=29 | High n=17 |
|-----------|-----------------|---------------|------------------|----------------|
| AGE | 38.9 ± 6.6 | 25.9 ± 5.3 | 31.5 ± 6.4 | 43.8 ± 9.0 |
| PbB | 10.66 ± 4.68 | 16.29 ± 8.97 | 41.53 ± 10.44 | 60.97 ± 9.14 |
| ZPP | 17.00 ± 11.05 | 52.66 ± 24.17 | 74.03 ± 34.87 | 168.52 ± 55.05 |

Table 2. Mean values of ZPP and δ-ALA between colorimetric and HPLC methods by PbB levels

| Variables | Pb concentration of whole blood | | | Total(n=117) |
|------------|---------------------------------|----------------|-----------------|---------------|
| | -20 µg/dl(n=58) | 21-41 µg(n=25) | 41- µg/dl(n=34) | |
| ZPP | 34.53 ± 27.38 | 53.04 ± 15.69 | 129.05 ± 60.83 | 65.95 ± 56.29 |
| ALA-UCO | 2.42 ± 1.14 | 3.09 ± 1.14 | 5.36 ± 3.01 | 3.42 ± 2.26 |
| ALA-UHP | 0.98 ± 0.54 | 1.22 ± 0.67 | 2.89 ± 1.96 | 1.59 ± 1.43 |
| SP ALA-UCO | 2.69 ± 0.54 | 3.28 ± 0.86 | 6.18 ± 2.91 | 3.83 ± 2.27 |
| SP ALA-UHP | 1.05 ± 0.39 | 1.25 ± 0.52 | 3.38 ± 2.18 | 1.77 ± 1.60 |

ALA-UCO: means of δ-ALA without any correction by colorimetric(CO) method

ALA-UHP: means of δ-ALA without any correction by HPLC method

SP ALA-UCO: means of δ-ALA with specific gravity correction by CO method

SP ALA-UHP: means of δ-ALA with specific gravity correction by HPLC method

Table 3. Correlation of PbB, ZPP, ALA-UCO, ALA-UHP, SP ALA-UCO, and SP ALA-UHP in total subjects

| Variables | PbB | ZPP | ALA-UCO | ALA-UHP | SP ALA-UCO |
|------------|---------|---------|---------|---------|------------|
| ZPP | 0.757** | | | | |
| ALA-UCO | 0.571** | 0.629** | | | |
| ALA-UHP | 0.610** | 0.637** | 0.848** | | |
| SP ALA-UCO | 0.690** | 0.741** | 0.863** | 0.801** | |
| SP ALA-UHP | 0.672** | 0.693** | 0.728** | 0.933** | 0.852** |

** : p<0.01

Table 4. Correlation of δ -ALA between colorimetric and HPLC methods by below 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ PbB levels

| Variables | ALA-UCO | ALA-UHP | SP ALA-UCO |
|------------|---------|---------|------------|
| ALA-UHP | 0.730** | | |
| SP ALA-UCO | 0.614** | 0.223 | |
| SP ALA-UHP | 0.435** | 0.825** | 0.278* |

** : p<0.01 * : p<0.05

Table 5. Correlation of δ -ALA between colorimetric and HPLC methods by 21-40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ PbB levels

| Variables | ALA-UCO | ALA-UHP | SP ALA-UCO |
|------------|---------|---------|------------|
| ALA-UHP | 0.857** | | |
| SP ALA-UCO | 0.725** | 0.548 | |
| SP ALA-UHP | 0.764** | 0.959** | 0.589** |

** : p<0.01

21-40 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 41 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이상으로 구분하였을 때 혈중 ZPP 농도는 혈중연 증가에 따라서 증가하였으며(p<0.01) 비색법 및 HPLC 법에 의한 요중 δ -ALA 농도 역시 혈중연 농도가 증가함에 따라서 높아지는 것으로 나타났다(p<0.001). 또한 요비중으로 보정한 요중 δ -ALA 농도 역시 혈중연 농도의 증가에 따라서 일률적으로 증가하였다(p<0.001). 그러나 HPLC 법의 결과는 비색법의 결과에 약 1/2 또는 그이하의 수준인 것으로 나타났으며 혈중연의 증가에 따라 결과의 차가 감소하는 경향이 있었다.

표 3은 전체 대상자들의 혈중연, 혈중 ZPP, 그리고 비색법과 HPLC 법에 의한 요중 δ -ALA와의 상관계수를 나타낸 것으로 비색법과 HPLC 법에 의한 δ -ALA 농도의 상관은 0.848(p<0.01)이었으며 이들을 요비중 1.024로 보정하였을 때 상관은 0.852(p<0.01)이었다. 비색법에 의한 δ -ALA와 혈중연, 혈중 ZPP와의 상관은 HPLC 법에 의한 것보다는 약간 적은 것으로 나타났다.

표 4는 혈중연 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이하의 집단에서 비색법과 HPLC 법에 의한 요중 δ -ALA 농도 간의 상관을 나타낸 것으로 전체 대상자 117명에 대한 상관에 비하여 다소 낮은 r=0.730(p<0.01)의 값을 보였으며 요비중으로 보정하였을 때는 전체의 상관에 비하여 훨씬 낮은 r=0.278(p<0.05)이었다.

표 5는 혈중연 21-40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 의 집단에서 δ -ALA를 두방법 간의 상관을 나타낸 것으로 혈중연 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이하의 집단에서 보다 두방법간의 상관이 훨씬 높아진 것을 볼 수 있다.

표 6은 혈중연 41 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이상인 집단에서의 비색법과 HPLC 법 간의 δ -ALA 상관을 나타낸 것으로 요비중으로 보정한 δ -ALA 농도는 앞의 두 집단에서의 상관성 보다 높은 값을 나타내었다.

Table 6. Correlation of δ -ALA between colorimetric and HPLC methods by Above 41 μ g/dl PbB levels

| Variables | ALA-UCO | ALA-UHP | SP ALA-UCO |
|------------|---------|---------|------------|
| ALA-UHP | 0.783** | | |
| SP ALA-UCO | 0.838** | 0.745 | |
| SP ALA-UHP | 0.609** | 0.908** | 0.791** |

** : p<0.01

Table 7. Regression equation of δ -ALA without any correction between colorimetric and HPLC methods by PbB levels

| PbB(μ g/dl) | Regression equation | F | p-value |
|------------------|-------------------------------|--------|---------|
| -20 | ALA-UHP= 0.146+0.347 ALA-UCO | 63.80 | 0.0001 |
| 21-40 | ALA-UHP= -0.349+0.507 ALA-UCO | 63.54 | 0.0001 |
| 41- | ALA-UHP= 0.156+0.511 ALA-UCO | 50.71 | 0.0001 |
| Total | ALA-UHP= -0.245+0.536 ALA-UCO | 295.24 | 0.0001 |

Table 8. Regression equation of δ -ALA with specific gravity correction between colorimetric and HPLC methods by PbB levels

| PbB(μ g/dl) | Regression equation | F | p-value |
|------------------|-------------------------------------|--------|---------|
| -20 | SP ALA-UHP= 0.665+0.144 SP ALA-UCO | 4.71 | 0.0343 |
| 21-40 | SP ALA-UHP= 0.071+0.360 SP ALA-UCO | 12.20 | 0.0001 |
| 41- | SP ALA-UHP= 0.282+0.593 SP ALA-UCO | 53.39 | 0.0001 |
| Total | SP ALA-UHP= -0.525+0.599 SP ALA-UCO | 304.32 | 0.0001 |

표 7과 8은 비색법과 HPLC 법에 의한 요중 δ -ALA 배설량을 혈중연 농도 별로 요비중 1.024로 보정한 것과 보정하지 않은 것에서 비색법을 독립변수로, HPLC법을 종속변수로 하여 회기식을 구한 것이다. 요비중으로 보정을 하였을 때와 하지 않았을 때 회기식에 큰 변화는 없었으며 혈중연 농도에 따른 각 회기식은 통계적으로 유의하였다.

고 찰

산업장에서 여러가지 형태로 사용되는 연은 그 모든 형태의 것들이 축적독을 일으키는 것으로 알려져 있다. 연을 사용하는 사업장에서 발견되는 만성적인 연중독은 근로자의 흡입에 의한 것으로 주로 혈액학적 장애로 나타나며, 신경학적, 신장의 장애로 나타나는 경우도 있다(Stokinger, 1981). 이러한 연의 과다 폭로로 인한 장애중 혈액학적 장애를 확인하는데는 여러가지 생물학적 검사방법이 있으나 연에 의하여 heme 합성에 관여하는 효소인 δ -ALAD activity가 감소하므로

혈청중 ALA가 porphobilinogen으로 전환되지 못하여 요중에 δ -ALA가 증가되는 바 이를 확인하는 것이 연에 의한 조혈계의 영향을 확인하는 가장 손쉬운 방법으로 알려져 있다(이병국 등, 1984, 1989). 요중 δ -ALA를 처음으로 측정된 것은 1956년 Mauzerall-Granick에 의하여 시도되었으며 이때 이들은 이온교환수지(ion exchange resin)에 ALA를 흡착시켜 용출, 이것을 ALA pyrrole 형으로 변환한 후 Ehrlich 시약으로 발색시켜 요중의 배설량을 측정하였다. 그러나 이 방법은 ALA와 유사한 반응을 하는 물질인 aminoacetone(AA) 생성을 제거할 수 없어 다소간 요중 배설되는 δ -ALA량을 과대 평가하는 결점을 가지고 있다. 이를 극복하기 위하여 Urata & Granick 법(原田 章, 1991)을 사용하는 방법을 제시하였으나 이로 인해 분석과정이 복잡하고 시간 소요가 많은 결점이 지적되었다. 이런 문제점들을 해결하려는 노력으로 연중독자의 요중에서 이것을 분석할 때 이온교환수지 사용의 번거로움을 피하며 아울러 ALA를 pyrrole 화하는 과정에서 생성되는 방해물질인 AA 농도가 높지 않아 연에

의한 장애를 확인하는데 큰 문제가 없다고 하여 ethyl acetate (Tomokuni & Ogata, 1972) 또는 chloroform (Wada et al. 1964) 같은 유기용매로 δ -ALA pyrrole 화합물을 추출하는 방법이 개발되어 일본과 우리나라에서 보편적으로 사용되어왔다. 그러나 비색법으로는 방해물질로 인하여 분석감도가 낮기 때문에 정확한 요중 δ -ALA 배설량을 정량하는 것은 제한점이 있으며, 특히 소량의 혈청이나 혈장에서 δ -ALA를 분석하는 것이 불가능하여 fluorometer 검출기가 부착된 고속 액체크로마토그래피(HPLC) 법이 개발되었다 (Hudak A & Kiss G. 1991; Tomokuni, 1987; Okayama, 1989).

최근 Witting 등(1987)은 액체크로마토그래프(Liquid Chromatograph)를 이용하여 요중의 δ -ALA를 측정하는 새로운 방법을 보고하였다. 이들은 $30 \mu\text{g}/\text{dl}$ 이하의 혈중연 농도를 가진 사람들에서의 요중 δ -ALA 배설량이 비색법에 의한 δ -ALA의 결과보다 낮은 값을 나타낸다고 하였다. 한편 Tabuchi 등(1989)은 혈중연 $10 \mu\text{g}/\text{dl}$ 이하에서 $70 \mu\text{g}/\text{dl}$ 이상인 177명의 피검자들을 대상으로 비색법과 HPLC 법으로 분석한 결과에서 비색법이 HPLC 법에 비하여 $30 \mu\text{g}/\text{dl}$ 이하의 혈중연 농도에서 약 2.5-3배, $30-60 \mu\text{g}/\text{dl}$ 혈중연 농도에서 2.4배 정도로 높게 나타났으며, 그 이상의 혈중연 농도에서는 약 1.4배 정도 높게 나타난다고 보고하였다. 또한 Tomokuni 등(1992)은 혈중연이 $8-40 \mu\text{g}/\text{dl}$ ($n=46$)인 집단에서 비색법이 2.5배, $41-96 \mu\text{g}/\text{dl}$ ($n=38$)인 집단에서는 1.4배가 높게 측정되는 것으로 보고한 바 있다. 본 연구에서는 요비중 1.024로 보정을 하지 않았을 때 비색법이 HPLC 법에 비하여 $20 \mu\text{g}/\text{dl}$ 이하에서 2.5배, $21-40.0 \mu\text{g}/\text{dl}$ 에서 2.5배, $41.0 \mu\text{g}/\text{dl}$ 이상에서는 1.8배였으며, 요비중으로 보정하였을 때에도 비슷한 양상을 나타내어 앞의 연구자들과 같은 결과를 나타내었다.

Tomokuni 등(1992)은 비색법으로 δ -ALA $5\text{mg}/\text{L}$ 이하인 60명의 집단에서 비색법과 HPLC 법과의 상관이 0.856, $5\text{mg}/\text{L}$ 이상인 24명의 집단에서는 0.996의 상관을 나타내었다고 보고하였다. 그들은 16명의 혈중연 농도가 $62 \pm 26 \mu\text{g}/\text{dl}$ 인

연폭로자 집단에서 HPLC 법에 의한 δ -ALA 배설량 상관이 0.957이라고 하였다. 또한 Tabuchi 등(1989)은 혈중연 $15 \mu\text{g}/\text{dl}$ 이하에서 HPLC 법에 의한 요중 δ -ALA 배설량은 상관성이 없으며, $15-60 \mu\text{g}/\text{dl}$ 에서는 서서히 상관성이 높아지며, $60 \mu\text{g}/\text{dl}$ 이상에서는 급격히 상관성이 높아진다고 하였다. Witting 등(1987)은 $35 \mu\text{g}/\text{dl}$ 이하인 집단에서 아미노산 분석용 액체크로마토그래프를 이용한 δ -ALA 배설량은 혈중연과 0.306의 상관성을 나타내며, 비색법(Davis and Angelman, 1967)의 결과와는 상관성이 0.243인 것으로 보고하였다. 본 연구에서는 혈중연 농도에 대해 비색법과 HPLC 법에 의한 δ -ALA 농도간의 상관성은 약 0.67-0.68 정도로서 Tomokuni 등(1992)의 결과와는 낮은 상관성을 보였으며, Tabuchi 등(1989)의 결과와는 유사한 정도이나, 액체크로마토그래프를 이용한 Witting 등의 결과보다는 높은 상관성을 나타내었다.

Witting 등(1987)은 18명의 혈중연 $35 \mu\text{g}/\text{dl}$ 이하인 군에서 LC 법으로 δ -ALA 배설량이 모두 $2.0\text{mg}/\text{l}$ 이하였으나, 비색법으로는 $2.0-3.0\text{mg}/\text{l}$ 의 성적이 많았음을 보고하고 있다. 우리나라 사람으로 직업적으로 연에 폭로되지 않는 정상인의 요중 δ -ALA 배설량은 비색법으로 $1.80-3.0 \text{mg}/\text{L}$ 정도(김민영, 1976; 김정만, 1984; 안규동, 1993)인 것으로 알려져 왔다. 건강한 정상인의 요중 δ -ALA 배설량은 HPLC로 분석하는 경우 앞의 연구결과들보다 낮은 값을 나타낼 것으로 예상된다. 본 연구에서도 비색법으로 $3.0\text{mg}/\text{L}$ 정도인 피검자들이 HPLC 법에 의한 δ -ALA 배설량은 대부분 $2.0\text{mg}/\text{L}$ 보다 적은 수준으로 측정되었다. 이런 관점에서 현재 산업안전보건법 시행규칙의 연중독 진단을 위한 검사방법(노동부, 1989)에는 비색법으로 되어 있으며 이 검사방법의 결과로 연중독을 판정할 때 요중 δ -ALA 배설량이 $5.0\text{mg}/\text{L}$ 이하면 참고치, $5-20.0 \text{mg}/\text{L}$ 이면 주의한계, $20.0 \text{mg}/\text{L}$ 이상은 선별한계로 되어 있는 이 선별기준을 HPLC 법으로 시행하는 경우 위의 기준은 변경되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구와 동일한 분석방법을 이용한 Tomoku-

ni 등(1992)은 HPLC 법에서 δ -ALA 회수율이 95-100% 였다고 하였으나 본 연구에서는 88.6-103.6%, 평균 회수율은 94.2%(표로 나타내지는 않았음)로 다소 낮은 회수율을 보였다. 이러한 이유는 요 시료의 ALA를 pyrrole 화하는 과정에서 소변내의 방해물질 또는 다른 물질들과 반응하여 소멸되는 것이 아닌가도 생각된다. 실제로 이런 방해물질에 의한 차이를 규명하려는 노력은 있어 왔으나 그들의 결론은 상호 모순적이었다(Chisolm et al. 1976). 그러나 이들의 확인 방법은 이온 교환수지에 의한 것이었으며, 현재 HPLC가 보편화된 시점에서 비색법과 HPLC 법에 의한 δ -ALA 배설량의 차이가 단순히 Ehrlich 시약에 발색되는 방해물질인 α -aminoketones(aminoacetone 같은 것들)만의 영향인지는 밝혀진 바없이 더 연구를 하여야 할 것이다.

요 약

연폭로자에 있어서 연에 의한 생물학적 영향을 평가하는데는 요중 δ -ALA 배설량이 아주 좋은 지표로 이용된다. 현재 이것은 Ehrlich's reagent 와 ALA-pyrrole의 증색반응으로 측정하는 비색법이 주로 사용된다. 그러나 이 방법은 aminoacetone 같은 ALA 유사물질에 의하여 요중 배설량이 과다하게 측정된다. 한편 최근 개발된 fluorometric HPLC에 의한 요중 δ -ALA 배설량의 분석은 아주 예민하고도 특이적인 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구는 혈중연과 다른 연폭로 지표를 측정하여 연폭로 수준이 다른 117명의 피검자에서 비색법과 HPLC 법에 의한 δ -ALA 배설량을 측정하여 두 방법 간의 관련성을 조사하기 위하여 시도하였으며 결과는 다음과 같다.

1. 비색법에 의한 요중의 δ -ALA 배설량은 HPLC 법에 비하여 전체적으로 2.15배, 혈중연 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이하에서 2.47배, 21-40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 에서 2.53배, 41 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 이상에서는 1.86배 높은 것으로 측정되었다.

2. 비색법에 의한 요중 δ -ALA 배설량과 혈중연 및 혈중 ZPP 농도와의 상관은 0.571, 0.629였으며, HPLC 법은 0.610, 0.637로 통계적 유의성이 있었다($p < 0.01$).

3. 비색법과 HPLC 법에 의한 요중 δ -ALA 배설량 간의 상관은 0.848 이었으며, 요비중으로 보정하였을 때는 0.852였으며 통계적으로 유의하였다($p < 0.01$).

4. HPLC 법에 의한 요중 δ -ALA 배설량을 종속변수로 하고 비색법을 독립변수로 하였을 때 회기방정식은 $(\text{ALA-UHP}) = -0.245 + 0.536 (\text{ALA-UCO})$ ($p < 0.0001$)였으며, 요비중 1.024로 보정하였을 때의 회기방정식은 $(\text{SP ALA-UHP}) = -0.525 + 0.599 (\text{SP ALA-UCO})$ ($p < 0.0001$)였다.

상기와 같은 결과에서 현행 산업안전보건법 시행규칙에서 연중독 진단을 행하는 경우 HPLC로 요중 δ -ALA 배설량을 측정한다면 연중독 진단 기준의 개정이 필요할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 김인영 : 정상 한국인의 요중 δ -Aminolevulinic Acid 와 Coproporphyrin 배설량. 카톨릭대학 의학부 논문집 1976; 29(1) : 217-222
- 김정만, 이광목 : 연폭로의 생물학적 지표로서 혈중 zinc protoporphyrin치의 의의. 카톨릭대학 의학부 논문집 1984; 37(4) : 937-951
- 노동부 : 근로자특수건강진단 방법 및 직업병관리기준, 노동부, 1989
- 대한산업보건협회 : 근로자 건강진단 검사방법, 대한산업보건협회, 1989, 351-422
- 안규동, 이성수, 이병국, 김두희 : 연폭로자에 있어서 신기능에 관련된 생물학적 지표 변화. 대한산업의학회지 1993; 5(1) : 58-75
- 이병국, 김정만, 이광목, 이은영, 조영선 : 연제련 작업자들에서의 연폭로에 관련된 생물학적 지표들의 상호관계. 한국의 산업의학 1984; 23(1) : 1-7
- 이병국, 안규동, 남택승 : 연작업자들의 보건관리시 혈중 ZPP 측정의 의의. 한국의 산업의학 1989; 28(4) : 110-115
- 이병국 : 연작업자들에서의 요중 δ -ALA 배설량. 카톨릭대학 의학부 논문집 1973; 24 : 485-492

- 정규철 : 한국에서의 연흡수 판정기준에 관한 연구. *최신의학* 1968;12(2) : 137-150
- 정규철 : 한국인의 연흡수에 의한 건강장해도의 판정기준에 관한 연구보고서, 노동청, 1972
- 原田 章, 緒方正名, 井上商英, 河野慶三 : 鉛 健康診断のすすの方, 全國労働衛生團體聯合會, 1991, 65-79
- 木村秀子, 近藤雅雄, 小林克己, 福山富太郎 : 簡易法による尿中テルタミノレフリン酸測定値についての疑義 *臨床病理* 1978;26(補冊) : 45
- American Conference Governmental Industrial Hygienists: *Threshold Limit Values for chemical substances and physical agents and Biological Exposure indices for 1990-1991, Cincinnati, OH, ACGIH, 1990, 53-66*
- Blumberg WE, Eisinger J, Lamola AA and Zuckerman DM : *Zinc protoporphyrin level in blood determination by a portable hematofluorometer: A screening device for lead poisoning. J Lab Clin Med* 1977;89:712-723
- Chisolm JJ, Mellitts ED, Barrett MB: *Interrelationship among blood lead concentration, quantitative daily ALA-U and urinary lead output following calcium EDT-A. In: Norberg GF(ed) Effects and dose-response relationships of toxic metals, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 416-433*
- Davis IR, Andelman SI : *Urinary δ -aminolevulinic acid(ALA) levels in lead poisoning. I. A modified method for the rapid determination of urinary δ -aminolevulinic acid using disposable ion-exchange chromatography columns. Arch Environ Health* 1967;15:53-59
- Fernandez FJ: *Micromethod for lead determination in whole blood by atomic absorption with use of graphite furnace. Clin Chem* 1975;21:555-561
- Granick S, Sassa S, Granick JL, Levere RD & Kappas A: *Assays of porphyrins, δ -ALA dehydratase and porphyrinogen synthetase in microliter samples of whole blood; Applications to metabolic defects involving the heme pathway. Pro Nat Acad Sci* 1972;69:2381-2385
- Hudak A, Kiss G: *Improved method for the adjustment of urinary δ -aminolevulinic acid concentration, Am J Ind Med* 1991;19:59-65
- Stockinger HE: *The metals. In: Clayton GD, Clayton F-E(eds) Patty's industrial hygiene and toxicology, vol 1A. John & Willey Sons. Inc, New York, 1981, 1493-2060*
- Tabuchi T, Okayama A, Ogawa Y, Miyajima K, Hirata M, Yoshida T, Sugimoto K, Morimoto K: *A new HPLC fluorometric method to monitor urinary δ -aminolevulinic acid(ALA), levels in workers exposed to lead. Int Arch Occup Environ Health* 1989;61:297-302
- Tomokuni K, Ichiba M, Fujishiro K: *Interrelation between urinary δ -aminolevulinic acid(ALA), serum ALA, and blood lead in workers exposed to lead. Industrial Health* 1993; 31(2):51-57
- Tomokuni K, Ichiba M, Hirai Y: *Measurement of urinary δ -aminolevulinic acid(ALA) by fluorometric HPLC and colorimetric methods. Industrial Health* 1992;30(3, 4):119-128
- Tomokuni K, Ogata M: *Simple method for determination of urinary δ -aminolevulinic acid as an index of lead exposure. Clin Chem* 1972;18:1534-1536
- Wada O, Totokawa K, Urata G, Yano Y, Nakao K: *A simple method for the quantitative analysis of urinary δ -aminolevulinic acid to evaluate lead absorption. Br J Ind Med* 1969;26:240-243
- Witting U, Binding N, Muller G: *Evaluation of a new specific analysis of urinary δ -aminolevulinic acid in man. 1987;59:375-383*