

Original Article

## 동결건조표준액의 안정성에 관한 보고

가톨릭대학교 여의도성모병원 핵의학과  
박준모 · 유혜정 · 김한철 · 한걸순

### Report on the Stability of Freeze-dried Standard Solution

Jun Mo Park, Hye Jung Yoo, Han Chul Kim and Geul Soon Han

Department of Nuclear Medicine, Yeouido ST.Mary's Hospital Catholic University, Seoul, Korea

**Purpose :** Since standard solution is the one that knows its exact concentration, the curve of the dissolution has been determined according to the amount of the solution, compared to the amount of the unknown sample. Therefore, the antigen that makes up standard materials should be made in a pure form. The configuration of the standard substance solution in the kit we use is a freeze-dried material, or made and comes as a liquid. Lyophilized reference material is used after dissolving in usually D.W. (Distilled Water), and if the antigen to use is too sensitive, reagents should be freeze-dried. Furthermore, when freeze-dried reference has to be frozen again after being dissolved, it should be kept under  $-20^{\circ}\text{C}$  until the expiration date according to the reports. Since it is not expressed in the experiment if it is safe or stable to reuse the solution which was dissolved a few times, thus, this time it is tested and evaluated that the changes of the standard solution by freezing and melting several times, and its results and the effectiveness of it were compared to the solution which was kept in a fridge. **Materials and Methods :** Among Vitro diagnostic kits on the market made by radioimmunoassay, parathyroid hormone (PTH), adrenocorticotrophic hormone (ACTH), luteinizing hormone (LH) are made of freeze-dried standard solution and all composed of the same Lot.NO. These hormones melted in D.W. and were separated into three groups. In the first group, melting and freezing were repeated, and in the second group, The solution only for one time use was put into a test tube after melting and freeze it. The third group was kept in the refrigerator. This experiment has been conducted from January to February in 2012. January to 2012. PH test was employed because pH is prone to changing depending on the change of protein. Each group of the standard solution, cpm (counter per minute), and the patient relative concentration values were compared by date, and Through the correlation coefficient and Paired *t*-test, the significant level of each group was analyzed. **Results :** ACTH, PTH, LH pH values were too subtle denaturation rather than numerical changes in the protein. In addition, when the standard solution of ACTH, PTH, LH was refrigerated, after 3 days and 7 days, there was a significant difference observed between the solution being kept in a refrigerator and a freezer within a significance level. **Conclusion :** Standard solution should be kept in a freezer, and being kept in a fridge, it is recommended to use the solution as soon as possible. (Korean J Nucl Med Technol 2012;16(2):139-148)

**Key Words :** ACTH, PTH, LH, pH, Freeze-dried standard solution

## 서 론

표준액은 정확한 농도를 알고 있는 용액으로서 미지농도의 검체의 양을 비교하여 그 양에 대한 용해물의 곡선을 정한 것이다. 그래서 표준물질들을 구성하는 항원은 순수한 형태

로 만들어져야 한다. 표준액에는 1차 표준액(primary standards), 2차 표준액(secondary standards), 기준표준액(reference standard)등이 있다. 1차 표준물질(액)은 그 물질을 정확히 평량하고 주의깊게 희석함으로써 목적으로 하는 농도의 용액을 만드는데 사용되고 2차 표준액은 그 정확한 농도를 결정하는데 1차 표준물질(액)로 적정된 것을 말한다 우리가 사용하는 kit내 구성물질 중 표준물질용액은 동결건조, 또는 액체 상태로 만들어져서 온다. 동결건조된 표준물질은 보통 D.W (Distilled Water)로 용해를 한 후 사용하는데 이는 사용하는 항원이 너무 예민한 경우에 시약을 동결 건조해야 한다고 알

• Received: June 15, 2012. Accepted: September 12, 2012.  
• Corresponding author : Jun Mo Park  
Department of Nuclear Medicine, Yeouido ST.Mary's Hospital Catholic University, #62 Yeouido-dong, Yeongdeungpo-gu, Seoul 150-713, Korea  
Tel: +82-2-3779-1009, Fax: +82-2-784-6869  
E-mail: riapark@cahtolic.ac.kr

려져 있다. 동결 건조한 표준물질은 용해한 후 다시 동결을 할 경우 보통 -20℃ 이하에서 유효기간까지 보관하라는 식으로만 표현되어져 있고, 이는 몇 번을 녹인 후 재 사용해도 안정한가에 대해서는 표현된 바가 없기에 이번 실험은 동결 건조한 표준용액을 녹임과 동결을 여러 번 반복하였을 때와 냉장보관을 하였을 시에 표준용액의 변화도와 이것이 결과에 미치는 영향을 비교 평가하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 검사항목

시판되고 있는 방사면역측정법을 이용한 체외진단키트 중 동결건조표준용액으로 되어진 부갑상선호르몬(PTH), 부신 피질자극호르몬(ACTH), 황체형성호르몬(LH) kit를 같은

**Table 1.** pH-Test results

	0일차	2일차	7일차	9일차	14일차	16일차	0일차	2일차	7일차	9일차	14일차	16일차
	PTH (pH) 냉동보관						PTH (pH) 냉장보관					
STD.1	7.32	7.35	7.41	7.41	7.34	7.32	7.32	7.37	7.31	7.39	7.36	7.31
STD.2	7.6	7.65	7.73	7.77	7.71	7.68	7.6	7.72	7.66	7.7	7.66	7.63
STD.3	7.66	7.62	7.74	7.78	7.73	7.7	7.66	7.68	7.63	7.7	7.66	7.61
STD.4	7.64	7.64	7.76	7.79	7.71	7.68	7.64	7.66	7.67	7.68	7.66	7.63
STD.5	7.63	7.6	7.75	7.76	7.7	7.67	7.63	7.65	7.66	7.73	7.67	7.62
STD.6	7.59	7.63	7.79	7.77	7.72	7.67	7.59	7.63	7.66	7.7	7.65	7.63
Con.1	7.65	7.63	7.75	7.77	7.71	7.65	7.65	7.61	7.67	7.69	7.64	7.61
	0일차	3일차	7일차	10일차	14일차	17일차	0일차	3일차	5일차	10일차	14일차	17일차
	ACTH (pH) 냉동보관						ACTH (pH) 냉장보관					
STD.1	11	11.13	10.83	10.79	10.55	10.51	11	10.65	10.46	10.15	9.76	9.68
STD.2	7.76	7.86	7.82	7.91	7.82	7.81	7.76	7.92	7.89	7.99	7.86	7.84
STD.3	7.71	7.85	7.76	7.88	7.8	7.79	7.71	7.83	7.82	7.91	7.84	7.77
STD.4	7.71	7.86	7.8	7.91	7.84	7.85	7.71	7.89	7.84	8.01	7.87	7.85
STD.5	7.7	7.84	7.8	7.93	7.82	7.81	7.7	7.88	7.87	7.97	7.84	7.84
STD.6	7.65	7.84	7.78	7.88	7.82	7.77	7.65	7.8	7.79	7.94	7.8	7.81
Con.1	7.66	7.79	7.73	7.88	7.79	7.76	7.66	7.85	7.78	7.93	7.82	7.79

**Table 2.** Freezing-Cold storage comparison of the PTH standard solution

	0일차	2일차	7일차	9일차	14일차	16일차	0일차	2일차	7일차	9일차	14일차	16일차	0일차	2일차	7일차	9일차	14일차	16일차
	PTH (cpm) 냉동보관						PTH (cpm) 냉장보관						PTH (cpm) 냉동분배보관					
STD.1	315	332	291	250	279	247	315	308	331	233	231	181	315	332	281	249	288	212
STD.1	326	310	290	250	275	230	326	319	336	227	236	214	326	310	299	241	348	215
AVR.	320.5	321	290.5	250	277	238.5	320.5	313.5	333.5	230	233.5	197.5	320.5	321	290	245	318	213.5
STD.2	1735	1490	1705	1486	1446	1335	1735	1696	1594	1421	1187	1155	1735	1490	1555	1398	1300	1195
STD.2	1741	1505	1682	1545	1363	1331	1741	1562	1532	1461	1181	1221	1741	1505	1572	1326	1435	1201
AVR.	1738	1498	1694	1516	1405	1333	1738	1629	1563	1441	1184	1188	1738	1498	1564	1362	1368	1198
STD.3	4676	4266	4370	4156	3788	3633	4676	4720	4301	4046	3248	3379	4676	4266	4300	3914	3613	3675
STD.3	4782	4433	4403	4299	3771	3484	4782	4744	4358	4074	3273	3359	4782	4433	4371	3703	3651	3612
AVR.	4729	4350	4387	4228	3780	3559	4729	4732	4330	4060	3261	3369	4729	4350	4336	3809	3632	3644
STD.4	13547	12092	10996	11496	10564	10057	13547	12572	11330	10572	10047	9052	13547	12092	11278	11308	10679	9455
STD.4	13578	12075	11194	11510	10848	9812	13578	12533	11141	10504	9737	9032	13578	12075	11336	11640	11398	9562
AVR.	13563	12084	11095	11503	10706	9935	13563	12553	11236	10538	9892	9042	13563	12084	11307	11474	11039	9509
STD.5	34882	32664	30734	30996	26953	27958	34882	33649	31019	30505	26171	25445	34882	32664	31091	29678	26358	25322
STD.5	34824	32229	30707	30645	27292	28047	34824	33841	30866	30569	26623	25287	34824	32229	31448	30054	26419	25395
AVR.	34853	32447	30721	30821	27123	28003	34853	33745	30943	30537	26397	25366	34853	32447	31270	29866	26389	25359
STD.6	71180	70133	66643	65066	58127	57254	71180	70491	66459	62542	54505	53389	71180	70133	66462	63915	55567	53858
STD.6	71348	69758	66540	64998	57281	56952	71348	70455	66623	62610	54934	53406	71348	69758	66254	63279	55304	53654
AVR.	71264	69946	66592	65032	57704	57103	71264	70473	66541	62576	54720	53398	71264	69946	66358	63597	55436	53756
Con.1	3931	3604	3712	3575	3171	2948	3931	3798	3636	3531	2919	2827	3931	3604	3349	3390	2989	3021
Con.1	3969	3643	3653	3588	3158	2990	3969	3782	3762	3582	2798	2841	3969	3643	3514	3423	3132	3022
AVR.	3950	3624	3683	3582	3165	2969	3950	3790	3699	3557	2859	2834	3950	3624	3432	3407	3061	3022

Lot.NO. 로 구성하였다. 이를 D.W.(Distilled Water)로 각 용량에 맞게 용해하였다.

## 2. 대상 시약

ACTH와 PTH는 CIS사의 ELSA-ACTH와 ELSA-PTH kit를 사용하였고, LH는 IMMUNOTECH사의 LH IRMA kit를 사용하였다.

## 3. 대조군 방법

3개의 대조군으로 분리하였다. 제1대조군은 녹임, 동결을 반복하는 방법으로 하였고 제2대조군은 용해한 후 Test tube에 1회 사용할 만큼 분주하여 동결을 하였고 제3대조군은 냉

장보관으로 하였다.

## 4. 비교방법

단백질의 변성에 따라 pH가 변하는 특징을 지니고 있기 때문에 PTH와 ACTH를 pH Test를 하였고 날짜별로 수치를 기록하였으며, 각 대조군의 표준액 cpm (counter per minute)과 환자 농도 값을 대조군별로 나누어서 2일차부터 17일차까지 서로 비교하였다.

## 5.결과 분석

각 날짜별로 상관계수, 단순회귀분석 및 EXCEL Paired t-test를 통하여 유의수준 관계를 분석하였다.

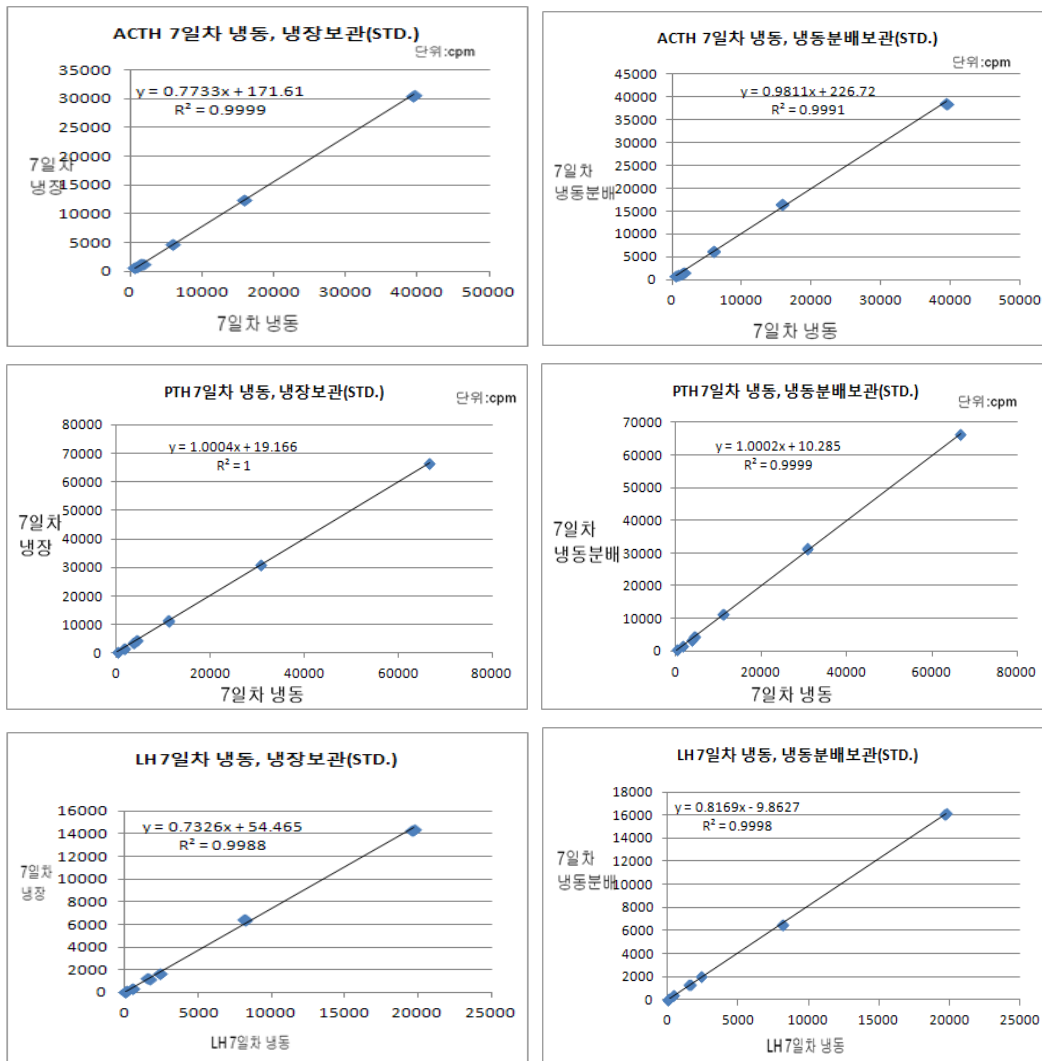


Fig. 1. Correlation between refrigerated storage and cold storage.

## 결 과

### 1. pH Test

pH test는 물질은 여러 번 녹임과, 동결을 자주하다 보면

단백질에 변성이 일어날 수도 있을 것이란 생각에 실험을 실시하였다. 순수한 물도 대기에 노출되면 이산화탄소를 받아 들어 탄산을 형성하고, 이 때문에 H<sup>+</sup>가 형성되어 pH값이 산성화 된다고 한다. 날짜별로 pH test를 하였지만은 산성화나 알칼리화 되는 현상은 나타나지 않았다.(Table 1. 참조) 완충

**Table 3.** Freezing-Cold storage comparison of the ACTH standard solution

	0일차				3일차				7일차				10일차				14일차				17일차			
	ACTH (cpm) 냉동보관		ACTH (cpm) 냉장보관		ACTH (cpm) 냉동보관		ACTH (cpm) 냉장보관		ACTH (cpm) 냉동보관		ACTH (cpm) 냉장보관		ACTH (cpm) 냉동보관		ACTH (cpm) 냉장보관		ACTH (cpm) 냉동보관		ACTH (cpm) 냉장보관					
STD.1	567	687	621	985	483	580	567	541	705	1038	807	515	567	687	834	523	415	681						
STD.1	610	699	603	948	490	540	610	500	724	1116	724	507	610	699	851	521	383	666						
AVR.	588.5	693	612	966.5	486.5	560	588.5	520.5	714.5	1077	765.5	511	588.5	693	842.5	522	399	673.5						
STD.2	1096	1155	1026	1236	934	1144	1096	783	836	1498	999	789	1096	1155	1099	972	1049	1001						
STD.2	1021	1132	933	1277	900	1112	1021	817	847	1502	965	777	1021	1132	981	982	1065	1021						
AVR.	1058.5	1143.5	979.5	1256.5	917	1128	1058.5	800	841.5	1500	982	783	1058.5	1143.5	1040	977	1057	1011						
STD.3	1464	1307	1707	1877	1504	1534	1464	1213	1337	1416	1156	1168	1464	1307	1536	1728	1664	1607						
STD.3	1452	1262	1742	1802	1554	1537	1452	1234	1315	1381	1191	1106	1452	1262	1552	1696	1629	1528						
AVR.	1458	1284.5	1724.5	1839.5	1529	1535.5	1458	1223.5	1326	1398.5	1173.5	1137	1458	1284.5	1544	1712	1646.5	1567.5						
STD.4	4242	4202	5966	5578	5708	6580	4242	3534	4777	4213	4217	3750	4242	4202	6197	5340	5899	5940						
STD.4	4363	4145	5944	5849	5986	6734	4363	3646	4869	4324	4166	3686	4363	4145	6336	5403	6054	5923						
AVR.	4302.5	4173.5	5955	5713.5	5847	6657	4302.5	3590	4823	4268.5	4191.5	3718	4302.5	4173.5	6266.5	5371.5	5976.5	5931.5						
STD.5	11629	10464	15874	15890	15022	15143	11629	9424	12432	11248	10440	9590	11629	10464	16738	15533	15016	15612						
STD.5	11404	10599	15833	15948	15068	14973	11404	9385	12569	11229	10590	9758	11404	10599	16504	15742	14994	15370						
AVR.	1151.	1053.	15853	15919	15045	15058	11516	9404.5	12500	11238.	10515	9674	11516	10531	16621	15637	15005	15491						
STD.6	26595	25395	39348	35340	35479	35730	26595	20722	30566	26537	24474	23018	26595	25395	38661	36378	36702	36434						
STD.6	27023	25320	39520	35556	35427	35965	27023	20863	30705	26290	24426	22967	27023	25320	38492	36774	36897	36192						
AVR.	26809	25357	39434	35448	35453	35847	26809	20792	30635	26413.	24450	22992	26809	25357	38576	36576	36799	36313						
Con.1	1641	1299	1428	1895	1215	1604	1641	1126	1376	1969	1290	1129	1641	1299	1417	1642	1479	1680						
Con.1	1599	1323	1391	2057	1235	1700	1599	1177	1369	2103	1320	1137	1599	1323	1424	1619	1535	1687						
AVR.	1620	1311	1409.5	1976	1225	1652	1620	1151.5	1372.5	2036	1305	1133	1620	1311	1420.5	1630.5	1507	1683.5						

**Table 4.** Freezing-Cold storage comparison of the LH standard solution

	3일차				7일차				10일차				14일차			
	LH (CPM) 냉동보관		LH (CPM) 냉장보관		LH (CPM) 냉동보관		LH (CPM) 냉장보관		LH (CPM) 냉동보관		LH (CPM) 냉장보관		LH (CPM) 냉동보관			
STD.1	49	39	41	58	58	42	42	31	15	27	74	53				
STD.1	39	40	32	49	41	43	25	56	23	36	67	63				
AVR.	44	39.5	36.5	53.5	49.5	42.5	33.5	43.5	19	31.5	70.5	58				
STD.2	143	119	125	107	135	152	142	81	134	98	243	112				
STD.2	127	119	132	124	131	116	132	102	104	133	262	135				
AVR.	135	119	128.5	115.5	133	134	137	91.5	119	115.5	252.5	123.5				
STD.3	397	469	395	394	560	335	421	176	367	362	537	421				
STD.3	412	461	426	382	537	331	377	183	400	368	574	413				
AVR.	404.5	465	410.5	388	548.5	333	399	179.5	383.5	365	555.5	417				
STD.4	2141	2420	2280	2260	1815	1653	2092	1984	2067	1990	2817	2233				
STD.4	2127	2379	2232	2256	1787	1699	2162	1856	2051	2071	2806	2309				
AVR.	2134	2399.5	2256	2258	1801	1676	2127	1920	2059	2030.5	2811.5	2271				
STD.5	7569	8147	8376	8059	7325	6455	7536	7451	7311	6532	10257	8076				
STD.5	7411	8202	8496	8152	7251	6386	7428	7351	7470	6508	9975	8187				
AVR.	7490	8174.5	8436	8105.5	7288	6420.5	7482	7401	7390.5	6520	10116	8131.5				
STD.6	17871	19752	19185	18478	17249	14410	17345	16308	18247	16153	24156	19160				
STD.6	17760	19602	19169	18799	17289	14250	17377	16554	18435	16080	23875	19397				
AVR.	17816	19677	19177	18639	17269	14330	17361	16431	18341	16117	24016	19279				
Con.1	1066	1530	1718	1513	1504	1282	1542	1432	1439	1281	2012	1542				
Con.1	1166	1684	1678	1553	1443	1198	1607	1456	1456	1288	2095	1571				
AVR.	1116	1607	1698	1533	1473.5	1240	1574.5	1444	1447.5	1284.5	2053.5	1556.5				

액(buffer)은 약산과 약산의 염으로 되어있거나 약염기에 그 약염기의 염을 가한 용액은 pH변화가 없다고 한다. 이것을 완충용액이라고 하는데, 실험한 표준액에는 완충용액이 혼합되어 pH변화가 없었던 것으로 보여 진다. 이는 좀 더 연구가 필요하지만 대부분 표준원액을 희석하여 표준액을 제조하는데, 희석액에는 1% BSA (Bovine Serum Albumin) in PBS(Phosphate Buffer Saline) buffer를 넣어서 사용한다고 알려져 있다. 결과적으로 ACTH와 PTH 냉동보관과 냉장보관

표준액의 pH 값의 변성은 없었다.

## 2. 날짜별 표준액 비교

PTH 표준액의 7일차냉동-냉장보관은  $y = 1.0004x + 19.166$ ,  $R^2 = 1$ ,  $p > 0.05$ , 7일차 냉동-냉동분배보관  $y = 1.0002x + 10.285$ ,  $p > 0.05$ 를 보여 유의한 차이가 없음을 보였으나, 9일차 냉동-냉장보관은  $y = 0.9664x - 9.5396$ ,  $R^2 = 0.9997$ ,  $p < 0.05$ 의 관계를 보

**Table 5.** Freezing-Cold storage comparison of the PTH concentration of patients

0일차	2일차	7일차	9일차	14일차	16일차	0일차	2일차	7일차	9일차	14일차	16일차	0	1(2일)	1(7일)	1(9일)	1(14일)	1(16일)
PTH (Conc.) 냉동보관 기준						PTH (Conc.) 냉장보관 기준						PTH (Conc.) 냉동분배보관 기준					
40.4	33.7	40.8	39.3	39.3	39.3	40.5	35.9	42.5	42.2	38.6	38.6	40.4	33.9	44.6	41.1	41.1	41.2
6.55	24.6	36.1	186.5	5.86	5.86	5.49	26.5	37.2	201.5	6.64	6.64	6.55	28	39.9	165.8	6.08	6.08
15.7	5.77	42.2	63.1	18	18	15.3	6.61	43.3	74.1	18.5	18.5	15.7	6.51	46	64.1	17.7	17.7
28.8	288	100.3	7.14	45.8	45.8	26.6	286.8	113	9.35	48.4	48.4	28.8	285.3	105.7	5.69	47	47
21.2	6.97	14.7	190	14.7	14.7	20.8	7.65	17.1	210.8	16.7	16.7	21.2	8.31	18.9	172.5	16.6	16.6
20.7	8.94	18	33	22.6	22.6	19.3	10.4	21	40.8	25.3	25.3	20.7	11.3	21.8	35	25.9	25.9
24.6	20.3	9.32	8.23	42.1	42.1	23.4	22.4	10.1	10.5	43.7	43.7	24.6	23.2	10.3	7.74	43.6	43.6
25.2	98.5	62.7	18.3	11.5	11.5	22.7	102.4	66.7	21.4	13.5	13.5	25.2	99.3	70.1	16	13.1	13.1
23	3	32	10.9	1.19	1.19	21.9	3	32	14.2	1.41	1.41	23	3	35	9.77	1.64	1.64
46.7	43	25.6	33	13.5	13.5	44.6	41.7	28	39.9	17.5	17.5	46.7	42.6	30	34.7	15.2	15.2
26.8	10.3	34.8	77	18.3	18.3	24.3	11.7	35.6	89.9	19.9	19.9	26.8	11.6	39.6	77.5	20	20
27.9	14.6	32.2	15.3	67.6	67.6	25.8	18	34.1	20.5	75	75	27.9	18.1	37.1	17	69.2	69.2
23.7	9.62	31.1	43.4	30.3	30.3	21.7	11.1	33	50.2	31.7	31.7	23.7	12.1	36.1	43.2	30.8	30.8
22.2	38	32.6	40.5	34.1	34.1	20.3	38.1	33.7	47.4	35.6	35.6	22.2	39.1	36.9	42	33.6	33.6
144.1	130.5	35.1	14.9	18.2	18.2	139.5	131.7	36.3	20.3	21.2	21.2	144.1	129.3	39.3	15.1	20.6	20.6
26.6	21.2	18.6	32.5	17.5	17.5	23.5	22.3	21.7	38.3	21	21	26.6	23	23.4	31	21.1	21.1
96.4	29.6	25	210.4	32.8	32.8	95.7	31.5	26.3	225.6	34.5	34.5	96.4	31.9	28.3	188	33.7	33.7
	209.6	12.3	8.83	29.2	29.2		210	13.3	11.6	29.9	29.9		209.1	14.3	7.88	29.4	29.4
	31.5	11	60.2	41.5	41.5		31.4	12.2	73	41.9	41.9		33.1	13.3	62.8	41.1	41.1
	148	8.06	25.2	26.4	26.4		149.2	8.81	30.1	26.9	26.9		147.5	9.94	23.7	27.9	27.9
	26.3	26.4	65.6	18.8	18.8		28.9	27.9	75.3	22.4	22.4		28.8	31.6	67.8	21.3	21.3
	146.3	86.8	12.5	15.4	15.4		146.5	92.6	17	18.8	18.8		147.8	89.5	13.3	17.5	17.5
	32.4	12.5	21.7	24.2	24.2		31.9	13.8	27.6	27.5	27.5		32.6	16	20.7	26.2	26.2
	91	3.69	27.2	22.6	22.6		90.7	4.39	34.8	25.3	25.3		88.3	4.44	30.5	24.9	24.9
	31.4	13.1	14.9	20.3	20.3		32	16.8	19.4	23	23		33.2	18	14.2	21.5	21.5
	11.7		11.8				13.9		13.4				15.1		10.8		
			41.2						50.7						43.8		
			23.2						28.1						23.2		
			16.3						21.6						16.5		
			59.2						74						62.4		
			29						35.1						30.4		
			20.5						23.5						18.6		
			8.23						11.7						7.78		
			36						44.7						38.4		
			134						149.9						126.3		
			13.4						18.1						13.8		
			22.6						26						22.1		
			39.2						46.6						42.3		
			13.9						20						13.3		
			12.4						16.3						12.7		

였으며, 9일차 냉동-냉동분배보관은  $y=0.9785x-94.504$ ,  $R^2=0.9999$ ,  $p<0.05$ 의 값을 보였다. 9일차부터 그 이후 17일차 까지 각각의 대조군에서는 유의한 차이가 있음을 나타내고 있다. ACTH표준액 7일차냉동-냉장보관은  $y=0.7733x+171.61$ ,  $R^2=0.9999$ ,  $p<0.05$ 의 결과로 유의한 차이를 보였으며, 7일차 냉동-냉동분배보관  $y=0.9811x+226.72$ ,  $R^2=0.9991$ ,  $p>0.05$ 의 결과를 보여 유의한 차이가 없음을 보여주었다. 10일차 냉동-냉장보관에서는  $y=0.7291x+273.21$ ,  $R^2=0.9984$ ,  $p<0.05$ 로 유의한 차이가 있음을 나타냈으며, 10일차 냉동-냉동분배보관  $y=1.0387x-448.21$ ,  $R^2=0.9997$ ,  $p>0.05$ 의 값을 보여 유의한 차이가 없음을 나타내었다. 그 이후 결과에서는 각각의 대조군에서는 유의한 차이가 있음을 나타내었다. 다만, 10일차 냉동보관 표준액 1,2,3번에서 error가 발생하였는데, 이는 실험적 random error가 발생하여 비교대상에서 제외를 시켰다. LH의 3일차냉동-냉장보관은  $y=0.9647x+64.532$ ,  $R^2=0.999$ ,  $p>0.05$ 의 값을 나타내었으며, 3일차 냉동-냉동분배보관은  $y=1.0241x-11.59$ ,  $R^2=0.9991$ ,  $p>0.05$ 의 값을 나타내어 유의수준내 유의한 차이가 없음을 나타냈으나, 그 이후인 7일차 냉동-냉장보관은  $y=0.7326x+54.465$ ,  $R^2=0.9988$ ,  $p<0.05$ 의 값을, 7일차 냉동-냉동분배에서는  $y=0.8169x-9.8627$ ,  $R^2=0.9998$ ,  $p<0.05$ 로 유의수준내 유의한 차이가 있음을 나타내었다. 그 이후 결과에서도 각각의 대조군에서 유의한 차이가 있음을 나타내었다.(Table 2, 3, 4, 8. Fig. 1. 참조)

### 3. 날짜별 환자 농도 비교

PTH 환자농도값의 7일차냉동-냉장보관은  $y=0.9941x+1.3998$ ,  $R^2=0.9997$ ,  $p<0.05$ , 7일차 냉동-냉동분배보관에서는  $y=0.9842x+1.9672$ ,  $R^2=0.9997$ ,  $p<0.05$ 를 보여 유의한 차이가 있음을 보였고, 9일차 냉동-냉장보관은  $y=1.0821x-0.2544$ ,  $R^2=0.9997$ ,  $p<0.05$ 의 값을 보였으며 9일차 냉동-냉동분배보관은  $y=1.0294x+2.9051$ ,  $R^2=0.997$ ,  $p<0.05$ 의 값을 보여서 유의수준내 유의한 차이가 있음을 나타내었다. 9일차부터 그 이후 17일차까지에서 14일차 냉동-냉동분배보관에서만 유의한 차이가 없음을 나타내었으나, 나머지 각각의 대조군에서는 유의한 차이가 있음을 나타내고 있다. ACTH 환자농도값의 7일차냉동-냉장보관은  $y=1.2386x+7.6175$ ,  $R^2=0.9979$ ,  $p<0.05$ 의 결과로 유의수준내 유의한 차이를 보였으며, 7일차 냉동-냉동분배보관에서는  $y=0.9243x+2.3407$ ,  $R^2=0.9992$ ,  $p>0.05$ 의 결과를 보여 유의한 차이가 없음을 보여주었다. 14일차 냉동-냉장보관에서는  $y=1.9731x-11.036$ ,  $R^2=0.9722$ ,  $p<0.05$ 유의한 차이가 있음을, 14일차 냉동-냉동분배보관  $y=0.8279x+0.5146$ ,  $R^2=0.9633$ ,  $p<0.05$ 의 값을 보여서 유의수준내 유의한 차이가 있음을 나타내었다. LH의 3일차냉동-냉장보관은  $y=1.0476x+0.733164.532$ ,  $R^2=0.9954$ ,  $p<0.05$ 의 값을, 3일차 냉동-냉동분배보관은  $y=1.0112x+0.4798$ ,  $R^2=0.9978$ ,  $p<0.05$ 의 값을 나타내어 유의수준내 유의한 차이가 있음을

**Table 6.** Freezing-Cold storage comparison of the ACTH concentration of patients

0일차	3일차	7일차	10일차	14일차	17일차	0일차	3일차	7일차	10일차	14일차	17일차	0일	1(3일)	1(7일)	1(10일)	1(14일)	1(17일)
ACTH (Conc.) 냉동보관 기준						ACTH (Conc.) 냉장보관 기준						ACTH (Conc.)냉동분배보관 기준					
31.8	27.7	45.5	28.7	39.8		35.9	44.5	90	61	45.4			34.3	38.9	31	47	
14.3	10.1	27.2	17.7	7.95		33	10.4	12.5	28.9	21.7			1.4	36.6	14.5	9.14	
35.6	27.2	31.1	57.5	7.08		47	49.1	33.1	99.5	12.7			35	40.1	46.6	5.29	
8.49	17.2	2	13.5	4		20.1	26.7	2	16.9	8.51			13.7	8.71	11.9	2.75	
17.3	617.1	2	43	22.5		34.7	770.1	2	71.3	60.9			570.9	11.1	34.2	31.4	
10.3	8.33	2	15.2	20.9		29.7	11.2	2	17.2	54.8			2	7.76	13	28.9	
11.8	39.9	26	22.6	9.43		29.1	57.3	23.8	28.7	16.2			39.6	32.7	15.8	8.63	
58.5	24.3	2	10.8	5.89		66.7	41.3	2	12.3	10.2			31	5.7	11	8.61	
42.1	17.8	15.9	42	28.1		52.6	30.1	2	74.1	68.5			18.5	24.1	30.4	31.4	
15.1	29.3	21.8	12.8	47.3		39.1	48.2	16.4	12.4	116.8			32.5	35	11.8	58.1	
40.4	514.5	14.4	16.5	27.4		55.4	646.5	2	10.9	66.3			479.4	26.2	10.9	32.4	
7.6		18.1	30.5	8.61		23		2	59.5	17.2				27.4	28.7	9.2	
9.83		7	72.6	8.63		25		2	128.6	19.3				19.5	63.8	7.5	
20.3		2	18.6	18.3		40.3		2	21.9	52.4				10	12.9	22.3	
3.9		2	10.5	6.9		13		2	8.76	10.9				6.3	11.6	6.98	
65.8			8.14	11.4		80.8			1.42	32.4					8.39	20.1	
12.7				15		32.4				50.5							22.2
3.1						10											
4.54						17.8											
9.39						25.1											
7.22						23											

나타내었고, 그 이후인 7일차 냉동-냉장보관은  $y=1.4158x+0.0704$ ,  $R^2=0.9949$ ,  $p<0.05$ 의 값을 나타내었으며, 7일차 냉동-냉동분배에서는  $y=1.2811x-0.1145$ ,  $R^2=0.9973$ ,  $p<0.05$ 로 유의 수준내 유의한 차이가 있음을 나타내었다. 그 이후 결과에서도 각각의 대조군에서 유의한 차이가 있음을 나타내었다.(Table 5, 6, 7. Fig. 2 참조)

### 고찰 및 결론

표준액이 동결건조되어져서 오는 kit는 ACTH, PTH, LH

등 그 외에도 많은 kit가 있다. kit 제조사별로 약간의 차이는 있을 수 있으나 보통은 제조사가 다르더라도 공통적으로 동결건조되어져서 오는 표준액은 같은 형태의 동결건조표준액으로 온다고 볼 수 있다. 모든 동결건조표준액으로 오는 kit를 녹임과, 동결을 반복하여서 그 안정성을 실험을 하는 것이 맞는 방법이기도 하지만, 그 비용도 고려하지 않을 수가 없었다. 본 ACTH, PTH, LH 동결건조표준액 안정성 실험이 대표성을 가질 수는 없을지도 모르지만, 최소한의 안정성 검사로서 다른 동결건조표준액의 안정성에 대하여도 유추해 볼 수 있다고 생각이 드는 바이다.

**Table 7.** Freezing-Cold storage comparison of the LH concentration of patients

3일차	7일차	10일차	14일차	3일차	7일차	10일차	14일차	3일차	7일차	10일차	14일차
LH (CONC.) 냉동보관 기준				LH (CONC.) 냉장보관 기준				LH (CONC.) 분리냉동보관 기준			
6.89	8.78	29.8	1.52	10.1	9.88	33.2	3.16	9.95	9.11	24.6	1.3
3.69	10	18.6	1.67	3.32	15.8	20.4	3.93	3.56	12	14.7	1.86
45	20	26.6	0.94	47.3	29.3	29.2	2.72	46	25.6	21.4	1
29.4	3.25	16.2	1.22	32.2	4.28	17.9	2.61	30.5	4.64	12.9	0.94
30.1	4.75	42.9	1.38	32.7	7.01	47.7	3.08	30.6	6.27	34.8	1.25
4.39	11.5	5.92	0.85	4.06	16.9	6.27	2.83	4.51	14.2	4.17	1.08
5.09	5.56	42.2	8.73	4.77	8.18	46.1	11.3	5.17	7.04	35.5	8.94
2.27	4.24	20.3	0.25	1.93	5.48	21.2	0.20	2.37	4.75	15.9	0.2
60.2	0.2	33	11.1	61.5	0.2	37.5	13.4	60.3	0.28	27.6	11.3
0.2	15	2.84	10.9	0.2	20.8	2.64	13.1	0.2	18.6	1.92	11
0.45	26.3	16.5	4.77	0.67	37.1	18.1	6.98	0.59	34.5	13.4	4.41
27.9	5.07	0.25	4.16	30.5	7.48	0.2	6.50	28.2	6.27	0.2	3.98
23	13.2	0.2	3.96	26	20.7	0.2	6.35	24.7	17	0.2	3.84
0.2	27.7	1.42	3.57	0.17	37.8	1.02	5.78	0.24	34.7	0.3	3.35
16	4.64	0.2	4.31	18.8	6.9	0.2	7.09	16.9	5.8	0.2	4.51
14.4	1.16	10.8	14.9	16.3	1.36	11.7	18.0	14.6	1.25	8.25	15.9
0.2	1.01	72.6		0.2	1.05	83.4		0.2	1.02	58.1	
7.56	13.9	33.5		8.01	20.8	37.6		7.61	17.6	27.2	
7.67	23.8	9.51		8.68	33.4	10.5		7.89	31.3	7.15	
0.31	0.2	8.07		0.37	0.2	8.62		0.55	0.2	6.18	
29.9	0.2	24.8		32.3	0.2	27.3		30.2	0.2	20.5	
24.2	0.59	52.5		27.2	0.78	58.8		25	0.9	44.2	
13.6	1.5	19.4		15.8	2.26	20.9		14.1	2.05	14.8	
49	2.72	33.6		51.3	3.55	37.2		50.1	3.27	26.9	
36.7	0.49	29		39.9	0.4	32.8		37.9	0.53	24.6	
32.7	0.2	4.53		35.5	0.2	4.18		33.4	0.2	2.94	
25.1	2.29	17.2		27.3	3.68	18.8		25.7	3.07	14.2	
16.4	0.2	20.5		19.6	0.2	23.2		17.1	0.22	17	
25.3	2.22	0.76		28.8	3.2	0.56		27	3.35	0.2	
12.8	2.24	8.38		15.3	3.82	8.37		13.6	2.91	5.82	
23.9	7.13			27.4	10.8			24.5	9.52		
13.5				15.4				16.6			
2.08				1.5				2.18			
5.47				5.77				6.01			
3.58				2.96				3.66			
53.4				54.1				53			
48.6				51				50.9			
22.8				26.5				24.5			
29.5				32.5				30.5			

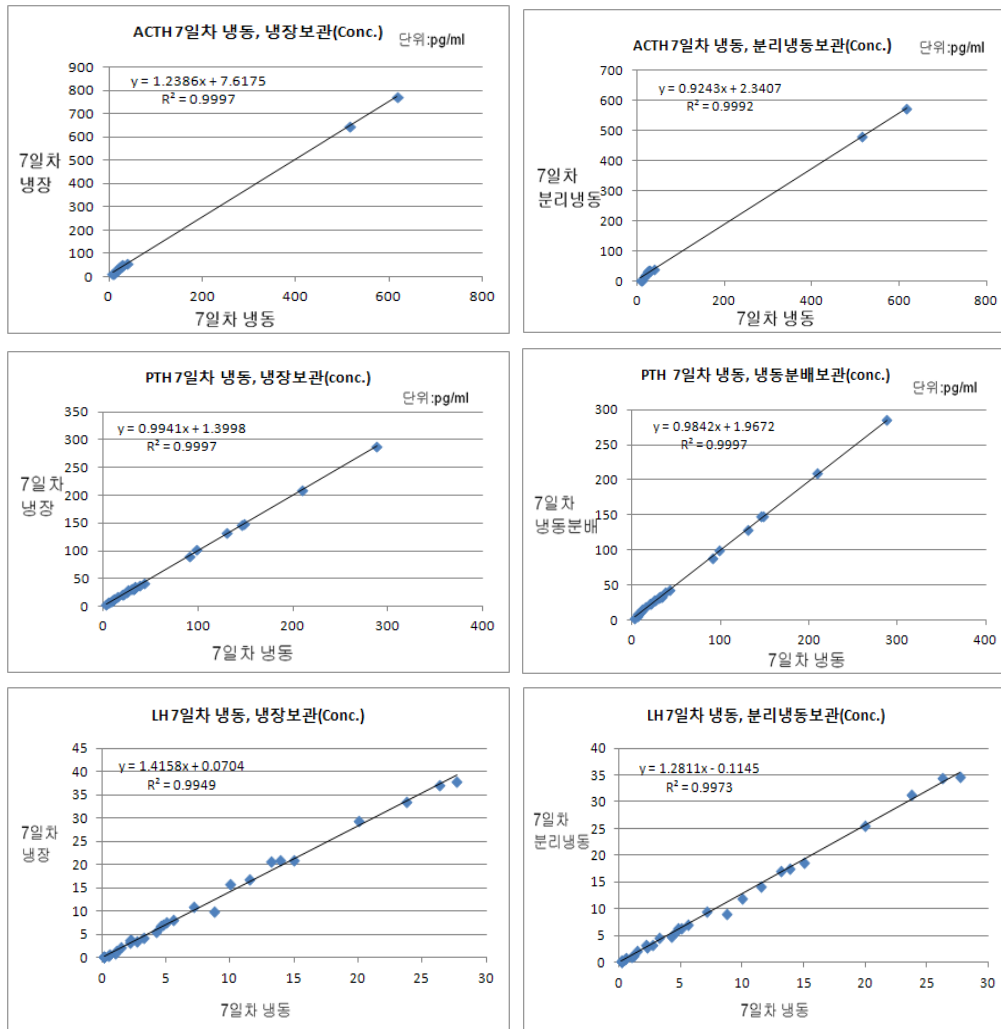


Fig. 2. Correlation between refrigerated storage and Cold storage.

Table 8. Simple regression analysis and the coefficient of determination by date of ACTH, LH standard solution

	단순회귀방정식	결정계수	p value
ACTH 3일차 냉동, 냉장보관(STD.)	$y = 0.8252x + 109.45$	$R^2 = 0.9984$	<0.05
ACTH 7일차 냉동, 냉장보관(STD.)	$y = 0.7733x + 171.61$	$R^2 = 0.9999$	<0.05
ACTH 7일차 냉동, 분리냉동보관(STD.)	$y = 0.9811x + 226.72$	$R^2 = 0.9991$	0.644
ACTH 10일차 냉동, 냉장보관(STD.)	$y = 0.7291x + 273.21$	$R^2 = 0.9984$	<0.05
ACTH 10일차 냉동, 분리냉동보관(STD.)	$y = 1.0387x - 448.21$	$R^2 = 0.9997$	0.398
ACTH 14일차 냉동, 냉장보관(STD.)	$y = 0.6794x + 329.01$	$R^2 = 0.9998$	<0.05
ACTH 14일차 냉동, 분리냉동보관(STD.)	$y = 1.0322x - 8.544$	$R^2 = 0.9996$	<0.05
ACTH 17일차 냉동, 냉장보관(STD.)	$y = 0.6393x + 4.1568$	$R^2 = 0.9991$	<0.05
ACTH 17일차 냉동, 분리냉동보관(STD.)	$y = 1.0162x - 111.34$	$R^2 = 0.9993$	0.698
LH 3일차 냉동, 냉장보관(STD.)	$y = 0.9647x + 64.532$	$R^2 = 0.999$	0.208
LH 3일차 냉동, 분배냉동보관(STD.)	$y = 1.0241x - 11.59$	$R^2 = 0.9991$	0.105
LH 7일차 냉동, 냉장보관(STD.)	$y = 0.7326x + 54.465$	$R^2 = 0.9988$	<0.05
LH 7일차 냉동, 분배냉동보관(STD.)	$y = 0.8169x - 9.8627$	$R^2 = 0.9998$	<0.05
LH 10일차 냉동, 냉장보관(STD.)	$y = 0.9016x + 19.313$	$R^2 = 0.9998$	<0.05
LH 10일차 냉동, 분배냉동보관(STD.)	$y = 1.245x - 20.397$	$R^2 = 0.9995$	<0.05
LH 14일차 냉동, 냉장보관(STD.)	$y = 0.887x - 9.7119$	$R^2 = 0.9995$	<0.05
LH 14일차 냉동, 분배냉동보관(STD.)	$y = 1.0315x - 33.714$	$R^2 = 0.9998$	<0.05



PTH 냉동-냉장보관표준액은 1주일 보관까지는 유의수준 내에서 유의한 차이가 없음을 나타내었으나, 환자 농도값에서는 유의한 차이가 있음을 나타내었다. 그러나, 단순회귀분석에서는  $y=0.9941x+1.3998$ 로서 거의 기울기가 0.99로서 냉장-냉동보관에서는 거의 일치한다고 봐도 무방 할듯하다. 그 이후 보관에서도 16일차 표준액 냉동-냉장보관에서는  $p<0.05$ 로서 유의한 차이가 있음을 나타내었고 단순회귀분석에서는  $y=0.9314x-96.319$ , 기울기가 0.93으로 냉장보관이 냉동보관에 비하여 약 93% 정도 값을 나타낸다고 해석할 수 있겠다. 저농도에서는 비슷한 값을 보였으나 중·고농도에서 확연하게 차이가 냉장보관값이 낮게 나오므로 이 점을 유의해야 할듯하다. ACTH 7일차 냉동-냉장보관표준액은  $p<0.05$ 로 유의수준내 유의한 차이를 보였으며  $y=0.7733x+171.61$ 로 기울기 0.77값으로서 대략 냉장값이 냉동값에 대하여 약 77% 정도의 값을 보였다. 여기서도 마찬가지로 저농도에서는 큰 차이의 값을 보여주지는 않았으나 중·고농도에서 냉장보관이 매우 낮은 값을 형성하였다. 그 이후 14일차 표준액 냉동-냉장보관에서는  $p<0.05$ 로 유의한 차이를 보였으며  $y=0.6794x+329.01$ 로 기울기 약 0.67로 냉동보관에 대하여 냉장보관이 67% 정도의 값 밖에 보여주질 못하고 있다. 이는 환자 농도값에서는  $y=1.9731x-11.036$ 로서 냉장값이 약 2배

정도 높게 나오는 결과를 초래하였다. LH 7일차 표준액 냉동-냉장보관에서는  $p<0.05$ 로 유의수준내 유의한 차이를 보였으며  $y=0.7326x+54.465$ 로 냉장보관값이 중·고농도에서 낮게 나오는 값을 보였다. 이는 환자 결과값에  $y=1.4158x+0.0704$ 로서 냉장보관에서 약 1.4배정도 높게 나오는 결과를 보였다. 이후로도 표준액 냉장-냉장보관값의 차이는 더 뚜렷하게 냉장보관값이 낮게 나오고 이는 환자값에서는 평균적으로 높은 값이 나왔다. 결론적으로 위에서 실험한 ACTH, PTH, LH의 동결건조표준액은 녹인 후 재사용 시 반드시 냉동보관을 할 것을 권고한다. 이는 다른 동결건조표준액도 같은 방법으로 보관을 해야 할 것이다. 동결건조표준액을 녹인 후 냉장보관방법은 3일차 정도까지는 대체적으로 안정성을 보였으나 그 이후에는 중·고농도부위에서 낮게 나오는 성향이 뚜렷이 관찰되어졌으므로 냉장보관방법을 선택 시에는 3일차 정도까지만 보관할 것을 권장하는 바이다. 위에서 냉동-냉동분배보관에 결과에 대하여 언급을 안 한 이유는 7일정도 보관 후에는 유의수준내 유의한 차이가 있는 것을 보여주었으나, 단순회귀분석과 각 날짜별 증감율 평균을 구한값은 실험적 오차 등 우연오차를 고려하면은 그리 큰 차이를 보여주지는 않는다고 결론을 지을 수 있겠다.(Table 9. 참조) 처음 실험을 시작 할 때에는 냉동분배가 가장 이상적인 방법이라

**Table 9.** Decreases-increases rate comparison of ACTH standards solution (example)

	7일차(ACTH STD.)				증감율(%)	
	냉동	냉장	냉동분배	냉동-냉동분배	냉동-냉장	냉장-냉동분배
1	621	705	834	-34.30	-13.53	-18.30
2	603	724	851	-41.13	-20.07	-17.54
3	612	714.5	842.5	-37.66	-16.75	-17.91
4	1026	836	1099	-7.12	18.52	-31.46
5	933	847	981	-5.14	9.22	-15.82
6	979.5	841.5	1040	-6.18	14.09	-23.59
7	1707	1337	1536	10.02	21.68	-14.88
8	1742	1315	1552	10.91	24.51	-18.02
9	1724.5	1326	1544	10.47	23.11	-16.44
10	5966	4777	6197	-3.87	19.93	-29.73
11	5944	4869	6336	-6.59	18.09	-30.13
12	5955	4823	6266.5	-5.23	19.01	-29.93
13	15874	12432	16738	-5.44	21.68	-34.64
14	15833	12569	16504	-4.24	20.62	-31.31
15	15853.5	12500.5	16621	-4.84	21.15	-32.96
16	39348	30566	38661	1.75	22.32	-26.48
17	39520	30705	38492	2.60	22.31	-25.36
18	39434	30635.5	38576.5	2.17	22.31	-25.92
19	1428	1376	1417	0.77	3.64	-2.98
20	1391	1369	1424	-2.37	1.58	-4.02
21	1409.5	1372.5	1420.5	-0.78	2.63	-3.50
증감율평균				-6.01	12.19	-21.47
증감율중앙값				-4.24	19.01	-23.59
p-value				0.644	<0.05	<0.05

고 생각을 하고 실험을 하였지만은 결론적으로는 냉동-냉동 분배보관은 어느 방법을 사용하더라도 무방할 듯하다. 다만, 냉동보관을 2주정도 후에도 동결-녹임을 반복한다면 그 안정성에 대하여서는 더 실험을 통하여 안정성을 확인해야 할 것이다.

## 요 약

이 실험은 검사를 매일 실행하고, 동결건조된 표준액을 매번 녹여서 사용하는 검사실은 그 안정성에 대하여 고민을 할 필요는 없지만, 검사를 일주일에 한번 또는 두 번 정도 실행하는 검사실에 대한 보고라고 할 수도 있다.

동결 건조한 표준물질은 용해한 후 다시 동결을 할 경우 보통 -20℃이하에서 유효기간까지 보관하라는 식으로만 표현되어져 있고, 이는 몇 번을 녹인 후 재사용해도 안정한가에 대해서는 표현된 바가 없기에 이번 실험은 동결건조한 표준용액을 녹임과 동결을 여러 번 반복하였을 때와 냉장보관을 하였을 시에 표준용액의 변화도와 이것이 결과에 미치는 영향을 비교 평가하였다.

시판되고 있는 방사면역측정법을 이용한 체외진단키트 중 동결건조표준용액으로 되어진 부갑상선호르몬(PTH), 부신 피지자극호르몬(ACTH), 황체형성호르몬(LH) kit를 같은 Lot.NO.로 구성하였다. 이를 D.W.로 각 용량에 맞게 용해한

후 3개의 대조군으로 분리하였다. 제1대조군은 녹임, 동결을 반복하는 방법으로 하였고 제2대조군은 용해한 후 Test tube 에 1회 사용할 만큼 분주하여 동결을 하였고 제3대조군은 냉장보관으로 하였다.

표준액과 환자농도값 날짜 별로 비교하였고, pH Test 를 하였으며 날짜 별 단순회귀분석 및 결정계수 산출을 하였으며 Excel Paired t-Test (*p*-value)를 하여서 유의수준관계를 분석하였다.

위에서 실험한 ACTH, PTH, LH의 동결건조 표준액은 반드시 냉동보관을 할 것을 권고한다. 이는 다른 동결건조표준액도 같은 방법으로 보관을 해야 할 것이다

## REFERENCES

1. 이창규외, 제 5판 최신 임상화학 - 이론과 실제, 도서출판 대학서림, 1994:50-53.
2. 한국임상화학연구회, 제2판 최신 임상화학, 청구문화사, 2008: 27-28.
3. 박창호, 제1판 생명공학기술, 청문각, 2001:225-228.
4. 서일택, 제4판 핵의학검사기술학, 고려의학, 2010:293,318.
5. 이창규, 제3판 임상화학, 대학서림, 1985:287-290.
6. 생물의약품 국제표준품·기준시약 등의 제조, 특성규명 및 확립 지침, WHO TRS NO. 800,1990:13-16.