

## 분광학적 방법을 이용한 전혈내의 총 혈색소량 결정

김연주, 윤길원, 김원기, 김종원<sup>1</sup>

삼성생명과학연구소 임상의공학센타

삼성의료원 임상병리과<sup>1</sup>

## Determination of Total Hemoglobin in Whole Blood by Spectroscopy

Y.J. Kim, G. Yoon, W.K. Kim, J.W. Kim<sup>1</sup>

Biomedical Engineering Research Center, Samsung Biomedical Research Institute

Department of Clinical Pathology, Samsung Medical Center<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Noninvasive monitoring of total Hemoglobin value is feasible with the use of spectroscopic measurements. As a step toward the final goal of the development of a noninvasive monitor, the spectra(400~800 nm)of EDTA whole blood were obtained along with reference total Hemoglobin values. Under the same condition water spectrum was generated. It was subtracted from each blood sample, and then the first derivative of each subtracted data was taken by 'approximated first derivative algorithm' with gap (1,6,10,20nm). The correlation was obtained between total Hemoglobin and first valley wavelength of first derivative spectrum (sample number : 93).

### 서론

혈액의 화학적 조성에 대한 정보는 어떤 개인의 건강의 척도로써 널리 이용되어지고 있다. 다양한 혈액 내 성분의 정상치와의 비교는 어떤 형태의 질병의 직접적인 신호를 제공한다. 일반적으로 사용하는 혈액분석법은 채혈용 바늘이나 주사기를 이용하여 혈액검체를 얻어낸 다음 혈액분석기를 통하여 혈중성분의 양을 결정한다. 이러한 혈액검체 획득방법은 환자에게 혈액채취에 대한 거부감을 불러 일으키며 AIDS를 포함한 각종 전염병에 대한 감염문제를 일으키고 연속적으로 어떤 성분을 모니터링하는 데 어려움을 가져온다. 이를 극복하기 위해 혈액을 직접 채취하지 않고 혈중성분의 농도를 측정하는 비침습적인 무혈진단 기술의 개

발이 요구되어진다. 분광학을 이용하여 혈중성분의 농도를 비침습적으로 알아내는 방법이 있는데 이는 혈액내 어떤 성분과 관련이 있는 파장에서의 흡수도나 반사도등의 변화를 통계적 처리를 통해 농도를 알아낸다.

### 본론

헤모글로빈은 여러 혈중성분중 혈액 속에 12~17g/dl의 양을 지니고 있어 타 성분보다 양이 많아 측정이 용이하다. 분광학을 이용한 가정용 빈 혈진단기의 개발(총 혈모글로빈 양 측정)은 비침습적이며 사용이 간편하여 전문의나 간호사의 도움없이 간단히 빈혈의 자가진단을 가능하게 해줄 것이다. 총 혈색소량을 측정하기 위해서는 In vivo 실험에 앞서 In vitro 실험을 통해 혈모글로빈 감음파장대를 알아내고 혈모글로빈 양과 흡수도사이의 상관관계식을 얻어내야 한다. 여기서 얻어진 알고리듬은 가정용 빈혈진단기의 개발에 응용되어질 수 있다.

본 연구에서는 전혈의 스펙트럼 분석을 통해 혈모글로빈 감음파장대를 알아내고 농도와 상관관계를 나타내는 식을 얻어내고자 한다.

Step1. 혈액스펙트럼의 측정 : 환자로부터 얻은 혈액검체를 가지고 혈액분석기를 통해 총 혈색소량을 측정한 다음, 혈액검체의 일부를 가지고 400~800nm에 해당하는 영역에서 1nm의 resolution으로 혈액 스펙트럼을 측정하였다. 가시광선대역에서 흡수도가 큰 혈액의 측정을 위해 pathlength가 0.5mm에 해당하는 slide방식의 cell을 이용하였다. 항응고제로 EDTA를 포함하는 당일 채혈한 93개 혈액에 대해 스펙트럼을 측정하였다. 스펙트럼은 Cary5E(Varian,Australia)분광계로부터 얻어진다. 혈액 스펙트럼 측정과 동일한 조건에서 물

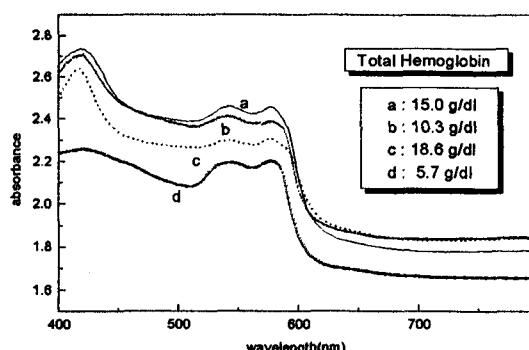


Fig.1. Water-subtracted blood spectra : 각각 다른 양의 total Hemoglobin을 지니는 4개 혈액표본에 대한 water-subtracted spectra

의 스펙트럼을 측정하였다. 혈액구성성분중 대부분을 차지하는 물의 혈액 스펙트럼에 미치는 영향을 제거하기 위해 각 혈액 스펙트럼에서 물의 스펙트럼을 빼주었다. (Fig.1)

**Step2. Correlation plot of water-subtracted blood data :** 이렇게 얻어진 subtracted spectrum과 총 혈색소량 사이의 상관관계를 구해보았다. 먼저 total Hemoglobin 양과 높은 상관관계의 optical density를 갖는 최적파장을 찾아보고자 각 파장에 대한 correlation plot을 구해보았다. 각파장의 optical density와 총 혈색소량 사이의 일차함수의 regression coefficient를 파장에 대하여 나타내어 correlation plot을 구하였다. (Fig.2) 상관계수는 (-1)부터 (+1)사이의 값을 가지며 절대값이 1에 가까울 수록 두 값 사이의 상관관계가 높다.

**Step3. 일차미분 스펙트럼 변화도 :** 항응고제로 EDTA를 포함하는 전혈의 경우에는 해모글로빈이 외에도 다양한 혈중성분들이 뒤섞여 있으므로 총 혈색소량에 잘 대응하는 best wavelength를 찾기가 쉽지 않았다. 이런 이유로 subtracted spectrum의 일차미분 값을 얻어 기울기 변화도로부터 어떤 상관관계식을 얻어보았다. 일차미분 스펙트럼의 첫 번째 골에 해당하는 파장의 값이 총

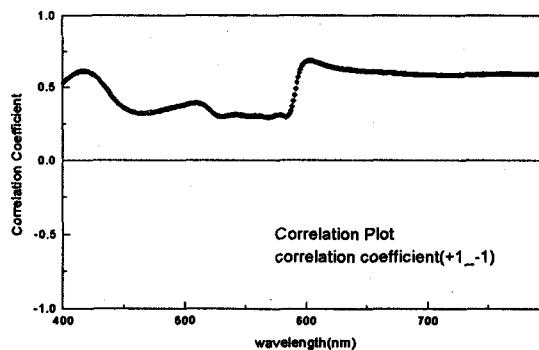


Fig.2. Correlation plot of water-subtracted blood data : 93개 혈액검체의 각 파장에서의 optical density vs. total Hemoglobin 양 사이의 상관계수

혈색소량이 증가함에 따라 점점 더 긴 파장으로 이동하는 양상을 보였다. (Fig.3) 이런 사실을 토대로 총 혈색소량과 일차미분 스펙트럼의 첫 번째 골의 파장 값 사이의 일차관계식을 구해보았다. (Fig.4)

**Step4. Approximated 일차미분 스펙트럼 :** 일반적인 일차미분의 경우에는 Fig.3에서 보는 바와 같이 스펙트럼의 noise로 인해 smooth한 그래프를 얻기가 쉽지 않으며 일차미분 값의 골에 해당하는 정확한 파장을 구하기가 어렵다. 그러한 이유로 ‘approximated first derivative algorithm’을 이용하여 일차미분을 구해보았다. 이 방법은 일반적인 일차미분을 구할 때 바로 이웃한 두 파장사이의 기울기를 구하는 것과 달리 일정한 간격-Gap-만큼 떨어져 있는 두 파장사이의 기울기를 구한다. 일차미분 값은 기울기를 얻는데 사용한 두 파장 중 더 짧은 파장에 대해 나타내었다. 여기서는 간격(1, 6, 10, 20nm)을 달리하면서 일차미분 값을 얻은 다음 위와 같은 방법으로 total 해모글로빈과 approximated 일차미분 스펙트럼의 첫 번째 골에 해당하는 파장 값 사이의 상관관계를 구해보았다. (Table 1) 간격이 10nm에 해당하는 경우가 가장 높은 상관관계를 나타내었다. 총 혈색소량이 증가함에 따라 첫 번째 골에 해당하는 파장도 커지는 (+1)에 가까운 regression coefficient를 갖는 양상을 보였다.

Table1 일차미분값의 상관계수

$$Y = A + B * X$$

Y:total Hemoglobin (g/dl)  
x:first derivative Valley wavelength (nm)  
A:y-intercept      B:slope  
G:first derivative gap  
R:regression coefficient    P:P-value

G	1nm	6nm	10nm	20nm
R	0.9122	0.9406	0.9472	0.8620
P	5.005E-37	1.853E-44	9.807E-47	1.369E-28

## 결론

본 연구는 분광학을 이용한 전혈의 스펙트럼을 측정하여 총 혈색소량과의 관계를 알아내고자 했다. 해모글로빈은 가시광선 대역에 감응파장대를 지니므로 400~800nm에 해당하는 영역의 스펙트럼을 측정하였다. 그러나 전혈은 혈색소 이외에도 다양한 성분들이 섞여 있으므로 여기서 총 혈색소량에 비례하는 흡수도를 갖는 최적의 단일

## 분광학적 방법을 이용한 전혈내의 총 혈액소량 결정

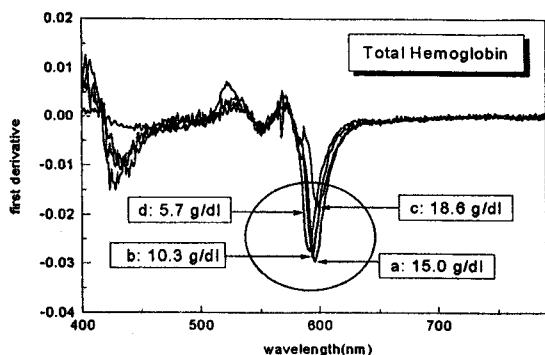


Fig.3. General first derivative of subtracted blood data: total Hemoglobin 양이 증가함에 따라 valley에 해당하는 파장의 shift

파장을 얻기는 어려웠다. 이에 전혈스펙트럼의 전체적인 경향에 주목한 바 500~600nm의 스펙트럼의 경사가 총 혈색소량에 따라 변화하는 것을 볼 수 있었다. 이것을 총 혈색소량과 관련을 찾기 위해 'approximated first derivative algorithm'을 이용해 스펙트럼의 일차미분 값을 얻은 다음 첫 번째 골에 해당하는 파장과 총 혈색소량사이의 일차관계식을 얻어 보았다. 두 파장사이의 간격이 10nm에 해당하는 일차미분을 얻은 경우 가장 좋은 상관관계를 보였다.

혈액처럼 multi-component한 물질로부터 특정한 구성성분의 정보를 얻기 위해서 최근에는 다변량 통계 분석법을 주로 이용하고 있다. 본 연구는 혈액스펙트럼 data를 얻어 reference에 해당하는 물의 스펙트럼을 빼주고 전체스펙트럼의 일부 구간의 기울기 변화에 주목하여 일차미분 값으로 변환한 다음 간단한 통계적 방법을 이용하여 총 혈색소량에 대한 정보를 구했다.

본 연구에서 수행한 방법은 최적단일 파장을 선택하여 data 분석을 하는 univariate calibration에 비해 훨씬 좋은 상관관계를 보였으며, 스펙트럼의 일차미분을 구하므로 스펙트럼 전체 변화의 경향에 주목하는 데 의의가 있다.

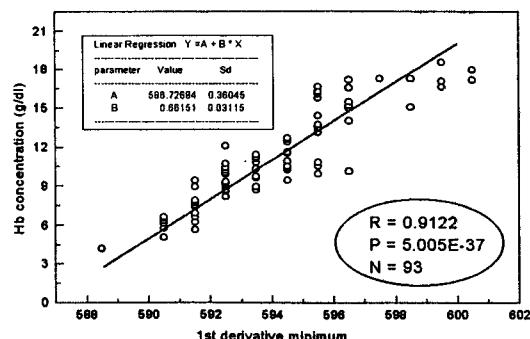


Fig.4. Linear regression graph ( $Y = A + B \cdot X$ ) :  
 $Y$  = total Hemoglobin(g/dl),  
 $X$  = first derivative minimum wavelength(nm)

4. H.M.Heise et al., "Noninvasive Blood Glucose Sensors Based on Near-Infrared Spectroscopy", Artificial Organs, Vol.18, No.6, 439-446(1994)

5. Fredric M. Ham et al., "Multivariate Determination of Glucose Using NIR Spectra of Human Blood Serum", IEEE, 818-819(1994)[  
 6. David M. Haaland et al., "Reagentless Near-Infrared Determination of Glucose in Whole Blood Using Multivariate Calibration", Applied spectroscopy, Vol.46, No.10, 1575-1578 (1992)

7. Hoeil Chung et al., "Simultaneous Measurement of Glucose and Glutamine in aqueous Solutions by Near Infrared Spectroscopy", Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol.50, 109-125(1995)

8. E. Peuchant et al., "Determination of Serum Cholesterol by Near-Infrared Reflectance Spectrometry", Anal. Chem., Vol.59, 1816-1819(1987)

Acknowledgments : 본 연구는 G7 의료공학 기술개발 사업의 지원에 의하여 수행되었음.

### 참고문헌

1. K.H.Norris, "Possible Medical Applications of NIR", in Making Light Work(Ed. by I.A. Cowe)VCH, Weinheim, pp.596-602(1992)
2. G.Domjan et al."Rapid analysis of whole blood and blood serum using near infrared spectroscopy", J.Near Infrared Spectrosc., Vol. 2, 67-78(1995)
3. Rosenthal RD., "Method for providing custom calibration for near infrared instruments for measurement of blood glucose", US Patent No.5,068,536(1991)