

## 혈당측정을 위한 폴리아크릴로니트릴 진단막의 제조에 관한 연구(1) : 온도와 습도가 글루코우즈의 농도 측정에 미치는 영향

권 석 기<sup>†</sup> · 박 인 희 · 윤 도 영

홍익대학교 과학기술대학 화학시스템공학과  
(2007년 10월 15일 접수, 2007년 12월 27일 채택)

### The Preparation of Polyacrylonitrile Diagnostic Membranes for Blood Glucose Measurements (1) : Effects of Temperature and Humidity on the Measurements of Glucose Concentration

Suk-Ky Kwon<sup>†</sup>, In-Hee Park, and Do-Young Yoon

Dept. of Chemical System Engineering, Hongik University, Seoul 121-791, Korea

(Received October 15, 2007, Accepted December 27, 2007)

**요 약:** 당뇨병 환자의 혈당치 측정을 위하여 폴리아크릴로니트릴로 만들어진 진단막을 제조하였다. 플라즈마속의 글루코우즈의 농도를 변화시켜 가며 활성화된 폴리아크릴로니트릴 진단막을 가지고 680 nm에서의 최종흡광도를 측정하였다. 흡광도로부터 얻어진 최종 K/S 결과치가 글루코우즈의 농도와 직선적으로 비례하였다. 온도가 글루코우즈 농도 측정에 미치는 영향을 조사하였다. 폴리아크릴로니트릴 진단막의 안정성을 상대습도 80%에서 측정하였다.

**Abstract:** Polyacrylonitrile diagnostic membranes were prepared to measure blood glucose level of diabetics. Final absorbances at 680 nm through activated polyacrylonitrile membranes were measured at various concentration of glucose in plasma. The end-point results of K/S values obtained from the absorbances had a linear relationship toward the glucose concentration. The effect of temperature on the measurements of glucose concentration was studied. The stability of polyacrylonitrile diagnostic membranes was examined at RH 80%.

**Keywords:** polyacrylonitrile, membranes, diabetics, glucose concentration

#### 1. 서 론

여러 가지 심각한 만성병 중의 하나인 당뇨병은 그 치료가 어렵고 여러 가지 합병증으로 인한 치사율이 높아 전 세계적으로 이 병의 진단 및 치료에 관한 연구가 아주 활발히 전개되어 왔다[1]. 당뇨병은 혈액 속의 당의 농도가 정상인 수치보다 높은 상태를 가지는 병을 말한다[2]. 이렇게 지속적으로 높은 혈당치를 나타내면 심장병, 신장병, 시력 감퇴, 신경조직 파괴에 따른 손과 발의 마비 현상과 같은 심각한 상태에 이르게 된다[3].

오랫동안 당뇨병의 원인이 정확하게 밝혀지지 않았으나 인체 내의 인슐린이 매우 부족하거나 또는 정상적인 작용을 하지 못하는 것이 당뇨병의 주된 원인으로 나타났다[4]. 이와 같은 인슐린의 부족 현상에 대한 원인도 아직도 정확히 알려져 있지 않으나 유전적인 요소와 환경적인 요소들이 영향을 준다고 보고되고 있다[5].

당뇨병은 그 자체가 위험한 것보다는 오랜 기간 동안 높은 혈당으로 인한 합병증이 심각하게 생명을 위협하는 것으로 나타났다[6]. 그러므로 초기에 당뇨병을 발견하면 정확한 진단과 꾸준한 조절을 통해 정상적으로 유지시켜 위험한 합병증을 막을 수 있을 뿐 아니라 건강한 몸의 상태를 유지할 수 있다[7].

<sup>†</sup>주저자(e-mail : smchurch@hongik.ac.kr)

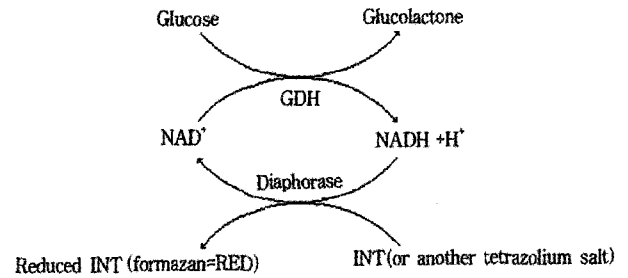
당뇨병은 인슐린의 의존도에 따라 Type I 과 Type II 로 분류된다[8]. Type I 은 주로 유아나 청소년에게 나타나는 형태로 인슐린이 아주 없거나 아주 적어서 외부에서 적당한 인슐린을 꾸준히 공급해 주어야 한다. Type II 는 30대 이상 성인들에게 나타나는 형태로 어느 정도의 정상적인 인슐린을 가지고 있기 때문에 식사 조절과 적당한 운동 등에 의해 혈당을 정상적으로 유지할 수 있다[9]. 그러므로 당뇨병을 초기에 진단하기 위해서나 또는 혈당치를 일정하게 유지하기 위해서는 혈중 글루코오스의 농도를 정확하게 알아야 한다.

이러한 필요에 따라 인체 내 혈당치를 측정하기 위한 자가진단기구와 그에 관련된 연구가 아주 활발하게 진행되어 왔다[10]. 오래전부터 당뇨병을 초기진단하기 위해 소변 속의 당을 발견하는 방법을 사용하여 왔으나 그 방법은 정확도가 떨어져 정확한 혈당치를 알기 위해서는 혈액을 흡수하거나 또는 혈액을 통과시키면서 혈당치를 측정할 수 있는 진단방법이 사용되고 있다[11]. 특별히 이러한 혈당 측정용 자가 진단 기구에는 글루코오스의 농도를 측정할 수 있는 진단막의 사용이 필수적인데 이 진단막 내부에는 글루코오스와 반응해 색이 변함에 따라 농도를 측정할 수 있는 효소와 염료들이 들어 있다[12].

글루코오스의 양을 측정하는 시스템은 어떠한 화학적 메커니즘을 이용하느냐에 따라 구분되어지는데 크게는 glucose oxidase (GOD)와 peroxidase (POD)를 이용한 산화효소법과 glucose dehydrogenase (GDH)와 diaphorase를 이용한 환원 효소법으로 나눌 수 있다[13]. 산화 효소법은 외부의 산소공급이 달라짐에 따라 혈당치가 달라질 수 있기 때문에 환경에 따라 측정치가 쉽게 변하는 단점을 갖고 있다[14].

최근에 들어서는 환경에 영향을 덜 받는 환원 효소를 이용한 분석법이 더 많이 사용되고 있는 편이다[15]. Scheme 1에서는 GDH와 diaphorase를 이용한 분석법에 대한 방법을 나타내고 있다[16].

혈당을 측정하는데 또 하나의 중요한 재료는 진단막이라고 볼 수 있다[17]. 진단막의 재료는 얼마 전까지만 해도 종이와 젤라틴과 같은 천연재료들이 많이 사용되어 왔다[18]. 최근 들어서는 여러 가지 장점을 가지고 있는 합성 고분자를 이용한 진단막에 관한 연구가 활발하게 전개되어 왔다[19]. 특별히 폴리우레탄을 이용한 진단막의 경우 표면처리가 용이하고 미세기공의 조절



GDH = glucose dehydrogenase  
 NAD<sup>+</sup> = nicotinamide adenine dinucleotide  
 NADH = reduced NAD<sup>+</sup>  
 INT = 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl tetrazolium (chloride)  
 Reduced INT = INT formazan

Scheme 1. Analysis method of reductive enzymes.

이 가능하고 대량생산이 가능하다는 다양한 장점을 지니고 있어 진단막으로서 매우 활발하게 활용하고 있다 [20]. 다만 대부분의 합성 고분자들의 경우 소수성이 강해 혈당을 측정할 경우 혈액 속의 적혈구 또는 피가 응고하는 경우가 있기에 측정할 때 주의해야 한다는 단점을 지닌 것으로 나타났다[21].

폴리우레탄을 이용한 진단막의 경우 소수성이 너무 높아 혈액 속의 혈장이 진단시약까지 침투하는 데 다소의 문제를 가지고 있다는 단점이 있다. 그래서 폴리우레탄과 다른 형태의 고분자 재료를 이용한 진단막을 제조하고자 시도하였다. 특별히 본 연구에서는 진단막 재료로 많이 사용되는 폴리아크릴로니트릴 분리막을 이용해 혈당을 측정할 수 있는 진단막을 제조하고자 한다 [22]. 폴리아크릴로니트릴 분리막을 실제로 진단막으로 사용하기 위해서는 여러 가지 과정을 거쳐야 한다. 그 처음 단계로는 색의 투명성을 얻기 위해 색 차단제를 함유한 TiO<sub>2</sub> 용액으로 처리하는 과정이고, 두 번째 단계로는 글루코오스의 농도에 따라 색이 바뀌는 정도를 나타낼 수 있는 지시약 용액으로 활성화시키는 과정이고, 세 번째 단계로는 글루코오스의 다른 물질과의 반응을 촉진시키는 효소용액으로 활성화시키는 과정이고 [23], 네 번째 단계로는 얻어진 색이 균일하게 나타내기 위한 고분자 용액으로 처리하는 과정이며, 마지막 단계로는 첨가된 시약들이 잘 내재될 수 있도록 경화제 용액으로 처리하는 과정으로 나눌 수 있다[24].

본 연구에서는 0.2~0.4 μm 정도 되는 미세 기공을 보유한 폴리아크릴로니트릴 분리막을 각종 지시약과

효소들의 용액들을 이용해 활성화된 글루코우즈 측정용 진단막을 제조하였다. 제조된 진단막을 여러 농도의 글루코우즈를 함유한 플라즈마 용액과 반응시켜 글루코우즈 농도에 따른 기본 직선을 얻었다. 얻어진 진단막을 0~55°C 사이의 여러 가지 온도에서 측정하여 온도에 대한 영향을 조사하였다. 또한 습도와 같은 환경적 요인들이 글루코우즈 진단막의 측정에 어떠한 영향을 미치는가 알아보기 위해 상대습도 80%에서 측정하여 습도에 대한 영향을 조사하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약

2-(p-iodophenyl)-3-nitrophenyl-5-phenyl tetrazolium chloride (INT), methanol, sodium phosphate, polyethylene imine (PEI), diaphorase, glucose dehydrogenase (GDH), PIPES (Na salt), NAD (Sigma Type V-C), Triton X-100, bovine serum albumine (BSA), Olin 10 G, poly (vinyl alcohol), plasma (혈장), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide (EDAC) 등은 Sigma로부터 구입해 정제 없이 사용하였다. TiO<sub>2</sub> (325 mesh size, anatase)는 Aldrich에서 구입해 정제 없이 사용하였다. 사용된 폴리아크릴로니트릴 Dralon 분리막 HIE 시리즈는 Baeyer에서 구입해 사용하였다.

### 2.2. 장치

Enzyme, TiO<sub>2</sub>, INT, polymer solution 등을 교반하는 데는 Talboys에서 제작한 T-Line mechanical stirrer를 사용하였다. 얻어진 용액의 점도는 Brookfield 점도계로 측정하였다. 글루코우즈의 농도에 따라 INT의 색 변환 정도는 Shimadzu사의 UV-2101PC 자외선/가시광선 흡광 분석기를 사용하여 분석하였다. 항온조는 Johnson JS-WBP-170P 모델을 사용하였다.

### 2.3. 폴리아크릴로니트릴 진단막의 제조

#### 2.3.1. 활성화 용액의 제조

폴리아크릴로니트릴 진단막을 활성화시키기 위해서는 5가지 용액들이 필요하다[1]. TiO<sub>2</sub> Dip, Indicator Dip, Enzyme Dip, Polymer Dip, 그리고 Crosslinking Dip 용액들의 조성들은 이미 발표된 논문에서 수록된 방법대로 진행하였다[1].

#### 2.3.2. 진단막의 제조 및 측정시험

Dralon HIE 분리막을 우선 TiO<sub>2</sub> Dip에 담근 후 꺼내어 건조 오븐에서 건조시킨다. 그 다음 INT를 함유한 Indicator Dip에 담근 후 건조 오븐에서 건조시킨다. 같은 방법으로 아크릴로니트릴 분리막을 다섯 가지 Dip를 통해 차례차례 활성화시킨다. 활성화된 아크릴로니트릴 진단막을 1 × 1 cm 크기로 잘라 가로 직경 0.5 cm, 세로 직경 0.8 cm, 두께 0.2 cm인 타원형의 샘플 흡입용 플라스틱(PE) 2장 사이에 넣고 높은 온도에서 열처리한 후 노출된 부분을 절제하여 측정용 샘플을 제조하였다. 플라즈마 또는 혈액 100 mL에 각 5, 10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg의 글루코우즈를 넣어 잘 교반시켰다.

얻어진 측정용 샘플에 각각의 용액 한 방울씩 떨어뜨려 반응시켜 매순간 생성하는 formazan의 농도의 변화를 680 nm에서의 흡광도를 통해 얻어내었다[12].

Formazan의 농도는 처음 10초간 급격히 증가하다가 40초 이후에 최대치를 형성한 후 최종 평형값을 갖는 것으로 나타났다. 그래서 안정적으로 60초에서의 흡광도를 통해 형성된 formazan의 농도를 시간으로 나눈 값을 K/S로 정의하고 이 값을 통해 각각의 글루코우즈의 농도를 표시하였다. 최종적으로 여러 가지 농도에서의 그래프를 그려 기울기를 통해 글루코우즈와 K/S와의 관계를 얻어내었다[1].

### 2.4. 측정온도에 따른 진단막의 반응시험

폴리아크릴로니트릴 진단막으로부터 얻어진 측정용 샘플(0, 10, 50, 100, 200, 400, 600 mg/dL)을 여러 가지 다른 농도의 글루코우즈 용액과 0~55°C 사이의 여러 온도에서 반응시켰다. 이때 얻어진 680 nm에서의 흡광도를 가지고 K/S치를 얻어내고 각각의 온도에서 얻은 K/S와 농도와의 관계를 얻어내었다.

### 2.5. 습도에 대한 안정성 실험

활성화된 폴리아크릴로니트릴 진단막을 상대습도 80%로 고정된 환경 실험실에서 각각의 다른 글루코우즈 농도를 가진 용액을 가지고 INT의 색변화에 따른 680 nm에서의 흡광도를 측정하고 이에 따른 K/S와 농도와의 기울기 값을 얻어내었다.

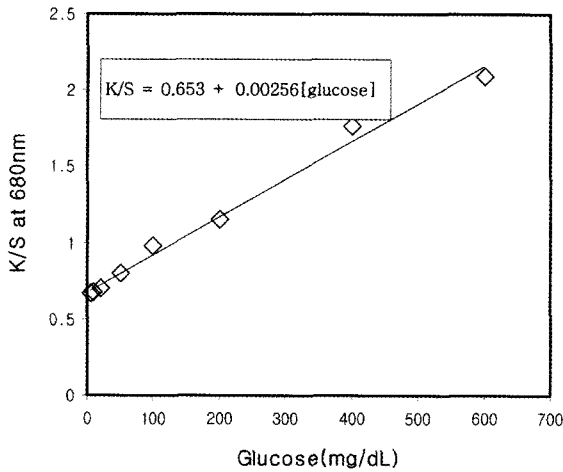


Fig. 1. Relationship between K/S values and plasma glucose concentration.

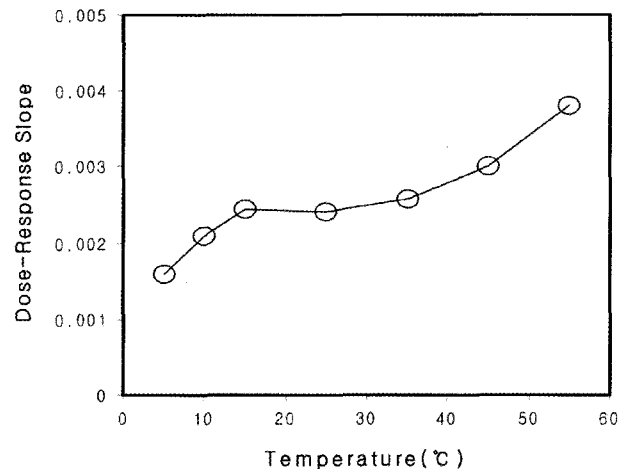


Fig. 3. Relationship between dose-response slope and testing temperatures.

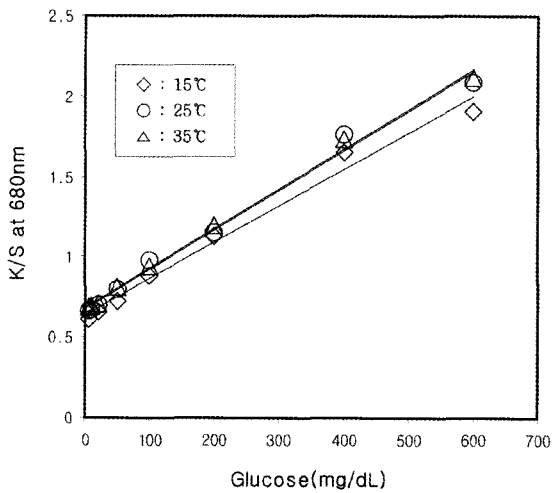


Fig. 2. Relationship between plasma glucose and K/S values at various temperatures.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 글루코우즈 농도와 K/S와의 관계

플라즈마에 녹아 있는 글루코우즈의 양을 5, 10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg/dL로 변화시키면서 얻어진 680 nm에서의 흡광도로부터 계산된 K/S계산치를 각각의 농도와 비교한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1로 볼 수 있는 것처럼 글루코우즈의 농도와 K/S와의 관계가 직선식으로 나타나는 것을 알 수 있었다. 또한 Fig. 1에서의 결과를 통해 플라즈마에서 글루코우즈의 농도변화와 K/S의 기울기 값(Dose-Response Slope: DRS)은 큰 차이가 없음을 알 수 있었다.

#### 3.2. 측정온도에 따른 K/S 결과치의 영향

얻어진 폴리아크릴로니트릴 진단막을 가지고 다양한 글루코우즈 농도와 15, 25, 35°C에서 반응시켜 각각의 K/S 값을 구하였다. Fig. 2는 각 온도에서 각각의 농도(5, 10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg/dL)와 반응해 얻은 K/S 값을 나타내었다. Fig. 2에서 볼 수 있는 것처럼 15~35°C 사이에서는 측정온도가 글루코우즈 농도 측정에 큰 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

이전에 진단막 재료로 이용되었던 젤라틴의 경우 젤이 팽윤하는 속도가 온도에 크게 영향을 받으므로 측정온도가 글루코우즈 확산속도에 큰 영향을 주었다[3,18]. 폴리아크릴로니트릴의 경우 측정 온도가 DRS에 미치는 영향이 거의 없었다[1,12]. Fig. 3에서는 폴리아크릴로니트릴을 이용한 진단막을 사용하여 0~55°C 사이의 여러 온도에서의 측정된 DRS의 값을 나타내었는데 15와 35°C 사이에서는 DRS가 거의 일정한 값을 갖고 있지만 0에서 15°C 사이에서는 다소 낮은 값을 갖고 있고, 35에서 55°C 사이에서는 DRS가 다소 높은 값을 갖는 것을 발견할 수 있었다. 0~15°C에서 DRS가 낮은 값을 갖는 것은 낮은 온도에서는 분리막 사이로 혈장이 확산하는 속도가 느려지고 또한 이미 확산된 글루코우즈와 효소와의 반응이 낮은 온도에서는 다소 느려지는 것으로 보여진다. 35~55°C 사이의 온도에서 높은 DRS값을 갖는 것은 낮은 온도와 같은 이유처럼 온도가 글루코우즈와 효소의 반응속도에 영향을 주는 것으로 보여진다.

### 3.3. 습도에 따른 측정값의 영향

습도가 글루코우즈의 진단시스템에 주는 영향은 재료에 따라 다르게 나타난다. 젤라틴을 진단막의 재료로 사용하였을 경우 젤라틴의 팽윤속도가 글루코우즈 측정에 상당한 영향을 미치기 때문에 습도가 증가함에 따라 DRS가 다소 감소한다고 알려졌다[18]. 폴리우레탄의 경우 진단막의 소수성이 강하기 때문에 높은 습도에서 측정하였어도 습도가 DRS에 거의 영향을 주지 못하는 것으로 나타났다[1]. 본 연구에서는 제조된 폴리아크릴로 진단막을 여러 가지 농도의 글루코우즈 용액을 가지고 상대습도 80%에서 측정한 결과 Fig. 3에서 볼 수 있는 것처럼 측정 환경 중에 하나인 습도가 농도와 K/S와의 관계에 아무런 영향을 주지 않았음을 알 수 있었다. 이것은 폴리아크릴로니트릴도 폴리우레탄과 같이 소수성이 강한 재료이기 때문에 습도에 거의 영향을 받지 않는 것으로 보인다.

### 4. 결 론

폴리아크릴로니트릴 진단막을 이용한 글루코우즈의 농도를 측정하기 위해 기본 실험을 수행하고 또 측정온도에서의 영향을 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 폴리아크릴로니트릴 진단막을 이용해 플라즈마에 녹아 있는 여러 가지 글루코우즈와 반응시킨 결과 농도와 680 nm에서 얻어진 K/S측정치의 관계가 직선으로 비례함을 알 수 있었다.
- 2) 폴리우레탄 진단막을 0에서 55°C 사이의 여러 온도에서 다양한 글루코우즈 농도와 반응시킨 결과 15에서 35°C 사이에서 농도가 K/S와의 관계에 큰 영향을 주지 않았음을 알 수 있었다.
- 3) 측정온도가 0에서 15°C 사이인 경우 농도와 K/S와의 DRS가 다소 낮게 나타나고 35에서 55°C 사이인 경우에는 농도와 K/S와의 DRS가 다소 높게 나타남을 알 수 있었다.
- 4) 상대습도 80%에서 측정한 결과 습도는 글루코우즈 농도 측정에 영향을 주지 않았음을 알 수 있었다.

### 감 사

본 연구는 2007년도 홍익대학교 학술 연구 진흥비에 의하여 연구되었기에 이에 감사드립니다.

### 참 고 문 헌

1. S. Kwon, I. Park, and D. Yoon, "Studies on the preparation of polyurethane diagnostic membranes for blood glucose measurements (5): effects of temperature and humidity on the measurements of glucose concentration", *Membrane J.*, **17**, 1 (2007).
2. S. Kwon, "Studies on the preparation of diagnostic membranes fir blood glucose measurements (1): model experiments by using microporous polyurethane membranes", *Hongik Industrial Technology*, **12** (2002).
3. S. Kwon, "Basic studies on the preparation of diagnostic membranes by using multi-layered gelatin films to measure blood glucose level of diabetcs", *Membrane J.*, **8**, 1 (1998).
4. K. Lee, "Modern Disease Digest", Kuckminilbosa, Seoul (1992).
5. Home Health Management Research Institute, "Diabetes", Kumyoung, Seoul (1992).
6. J. Kim, "Diabetes: Diagnostics and Control", Oh-sung, Seoul (1997).
7. S. Kim, "Life Guide for Diabetes Control", Hyoseong, Seoul (1993).
8. S. Kwon, "Studies on the preparation of diagnostic membranes for blood glucose measurements (3): effects of hematocrit on the measurements of glucose concentration", *Hongik Industrial Technology*, **14** (2004).
9. D. Jung, "Health Control for Modern People", Ohchon, Seoul (1993).
10. W. Hong, "Oriental Treatment for Modern Disease", Hyoseong, Seoul (1993).
11. S. Kwon, "Studies on the polyurethane diagnostic membrane for diabetes (2): effects of additives in membrane formulations for the measurement of urine glucose", *Polymer (Korea)*, **18**, 6 (1994).
12. S. Kwon, "Studies on the preparation of diagnostic membranes for blood glucose measurements (2): effects of temperature on the measurements of glucose concentration", *Hongik Industrial Technology*, **13** (2003).

13. D. Kang, "Physiology", Shinkwang, Seoul (1988).
14. D. T. Plummer, "An Introduction to Practical Biochemistry", McGraw-Hill, London (1978).
15. S. Kwon, "Studies on the preparation of diagnostic membranes for blood glucose measurements (4): effects of additives in blood on the measurements of glucose concentration", *Hongik Industrial Technology*, 15 (2005).
16. S. Kwon, "A study on the preparation of polyurethane diagnostic membrane for urine glucose test", *J. Kor. Ind. & Eng. Chem.*, 5, 6 (1994).
17. M. Jain and R. Wagner, "Introduction to Biological Membranes", Wiley, New York (1980).
18. S. Kwon, "Studies on the multi-layered gelatin diagnostic membranes for diabetes (2): effects of interferents in blood on the diffusion-controlled rates of glucose", *Membrane J.*, 9, 4 (1999).
19. R. E. Kesting, "Synthetic Polymeric Membranes", Wiley, Interscience, New York (1985).
20. M. Gardon, "Polymer Membranes", Springer-Verlag, New York (1985).
21. R. P. Back, "Biosensor Technology", Marcel Dekker, New York (1990).
22. A. Y. Coran and R. Patel, *Rubber Chem. Technol.*, 53(4), 781 (1980).
23. H. V. Bergmeyer, "Methods of Enzymatic Analysis", VCH, Weinheim (1981).
24. S. Kwon and B. Lee, "Studies on the multi-layered gelatin diagnostic membranes for diabetes (1): effects of temperature and humidity", *Membrane J.*, 9, 2 (1992).