

혈당측정을 위한 폴리아크릴로니트릴 진단막의 제조(2) : 혈액속의 성분들이 글루코우즈의 농도 측정에 미치는 영향

권석기[†]·최미옥

홍익대학교 과학기술대학 화학시스템공학과

(2008년 11월 11일 접수, 2008년 12월 19일 수정, 2008년 12월 19일 채택)

The Preparation of Polyacrylonitrile Diagnostic Membranes for Blood Glucose Measurements (2) : Effects of Blood Constituents on the Measurements of Glucose Concentration

Suk-Ky Kwon[†] and Mi-Ok Choi

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

(Received November 11, 2008, Revised December 19, 2008, Accepted December 19, 2008)

요약: 혈액 속에 있는 글루코우즈의 농도를 측정하기 위해 폴리아크릴로니트릴로 만들어진 진단막을 제조하였다. 혈액 속의 글루코우즈의 농도를 변화시켜 가며 폴리아크릴로니트릴 진단막을 가지고 680 nm에서의 최종흡광도를 측정하였다. 시간에 따른 흡광도 변화량(K/S)의 최종결과치가 글루코우즈의 농도가 증가함에 따라 직선적으로 증가함을 알 수 있었다. 혈액 속에 존재할 가능성이 있는 화합물들이 글루코우즈의 농도측정에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 대부분의 화합물들이 글루코우즈의 농도측정에 큰 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있었다.

Abstract: Diagnostics membranes which were made of polyacrylonitrile were prepared for the measurements of blood glucose concentration. Final absorbances at 680nm through polyacrylonitrile diagnostic membranes were measured at various concentration of glucose in blood. It was found that the end-point results of varying absorbance values as time (K/S) had a linear relationship toward the blood glucose concentration. The effects of possible constituents in human blood on the glucose concentration measurements were examined. As a result, most of the chemicals did not affect seriously on the blood glucose measurements.

Keywords: polyacrylonitrile, membranes, blood, glucose, blood constituents

1. 서론

당뇨병은 췌장에서 생산되는 인슐린의 분비가 정상적이지 못하거나, 분비된 인슐린이 제 역할을 못하거나, 또는 비정상적인 인슐린이 생산됨에 따라 발생하는 질병이다[1]. 오래전부터 당뇨병은 인류에게 심각한 만성 질병중의 하나로 여겨졌으나 그 생성 요인에 대해서는 아직 확실하게 밝혀져 있지 않고 있다[2,3]. 당뇨병이 발생하는 원인으로서는 주로 유전적 요인과 환경적 요인이 크게 작용하는 것으로 추정되고 있다[4].

당뇨병은 크게 인슐린 의존형[제1형]과 인슐린 비의존형[제2형]으로 나누어지는데 인슐린 의존형은 주로 20세 이전에 발병하며 전체 당뇨병 환자의 5~10% 정도이다[1,5]. 인슐린 비의존형 당뇨병은 인슐린이 분비되기는 하지만 그것이 체내에서 효과적으로 작용하기 어려워서 발병하는 형태로 전체 당뇨병 환자의 약 90%가 이에 해당한다고 보여진다[2,6]. 서양의 당뇨병 환자들은 위의 두 가지 형태로 쉽게 구분될 수 있으나 우리나라에는 특이하게도 제1형이나 제2형으로 분류할 수 없는 제1.5형 당뇨병을 가진 이들이 다소 있는 편이다[3]. 제1.5형 당뇨병은 1형보다는 인슐린 분비가 잘 되나 2형보다는 잘 되지 않는 상태로 우리나라 당뇨병 환

[†]주저자(e-mail : smchurch@hongik.ac.kr)

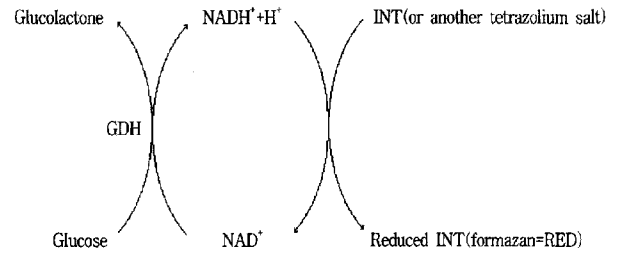
자 중 약 15%가 여기에 포함된다[3,7].

당뇨병을 진단하는 방법으로는 요당측정, 혈당측정 및 당부하 시험으로 나뉘어진다[2]. 상당히 정확하고 또한 가장 많이 사용되어 지는 혈당 측정법을 통해 공복 시 혈당을 측정해 126 mg/dL 이상이거나 식후 2시간 후 200 mg/dL 이상이면 당뇨병으로 간주한다[1]. 당뇨병은 병 그 자체보다 합병증이 무섭기 때문에 조기에 발견해 잘 관리하는 것이 매우 중요하다[8]. 그러므로 당뇨병 환자나 또는 당뇨병의 가능성이 있는 사람들은 규칙적으로 혈당을 측정해야 하고 이에 따라 혈당을 측정할 수 있는 자가진단 기구들에 대한 연구가 활발히 전개되어 왔다[4].

혈액속의 글루코오스의 양을 측정하는 데는 크게 산화효소법과 환원효소법으로 나누어지는데, 외부의 산소 공급에 따르는 영향을 덜 받는 것으로 알려진 환원효소법이 주로 사용되어 진다[9]. Scheme 1에서는 glucose dehydrogenase (GDH)와 diaphorase와 같은 환원효소를 이용한 측정방법에 대한 개요를 나타내고 있다[10]. 이 방법은 외부 환경에 대한 영향이 적게 나타나는 장점이 있다[11].

혈당 측정용 자가진단 기구에서 가장 중요한 부분중의 하나는 혈액중 글루코오스가 침투 또는 확산되어 반응할 수 있는 진단막의 부분이다. 이러한 진단막의 재료로는 젤라틴과 같은 천연 고분자나 폴리우레탄 등과 같은 합성 고분자가 많이 사용되어지고 있다[12-15]. 전에 발표된 논문들에서는 폴리우레탄 진단막을 이용해 여러 가지 측정들을 수행해 왔다[16,17]. 폴리우레탄 진단막의 장점과 단점들은 이미 발표된 논문들에 수록하였다[18,19].

본 연구에서 사용된 폴리아크릴로니트릴 진단막의 특성 및 제조과정 그리고 활성화 과정 등은 직전에 발표된 논문에 자세하게 나타내었다[4]. 특히 혈당을 정확히 측정하기 위해서는 혈액 속에 들어 있는 creatinine, ibuprofen, cholesterol 및 triglycerides 등과 같은 화학 물질들이 어떻게 효소반응에 영향을 주는지 조사하는 것이 매우 필요하다[20,21]. 그래서 본 연구에서는 활성화된 폴리아크릴로니트릴 진단막을 여러 가지 첨가물과 글루코오스가 들어있는 용액과 반응시켜 혈액 속에 있는 각종 성분들이 혈당측정에 어떠한 영향을 줄 수 있는지에 대해 조사하였다.



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

Scheme 1. Analytical method of reductive enzyme chemistry

2. 실험

2.1. 시약

Creatinine, bilirubin, uric acid (UA), ibuprofen, potassium, ephedrine, tolbutamide (TA), pentoxifylline, cholesterol, triglycerides, 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 10G, poly(vinyl alcohol), plasma (혈장), 1-ethyl-3-(3-di-methylaminopropyl)-carbodiimide (EDAC) 등은 Sigma로부터 구입해 정제 없이 사용하였다. TiO₂ (325 mesh size, anatase), ascorbic acid (AA), sodium acetylsalicylate (SA) 등은 Aldrich에서 구입해 정제없이 사용하였다. 폴리아크릴로니트릴 Dralon 분리막(HIE)과 poly(ethyltere phthalate) (PET)는 Bayer에서 구입하였고, 특별히 PET는 플라즈마에 의해 표면처리한 후 사용하였다.

2.2. 장치

효소, TiO₂, INT, 고분자용액 등을 교반하는 데는 Talboys에서 제작한 T-Line mechanical stirrer를 사용하였다. 얻어진 용액의 점도는 Brookfield 점도계(Brookfield RVDVE-6504768)로 측정하였다. 글루코오스의 농도에 따라 INT의 색 변환 정도는 자외선/가시광선 흡광 분석기(Shimadzu UV-2101PC)를 사용하여 분석하였다. 항온조는 온도조절이 가능한 모델(Johnson JS-

Table 1. Various Concentrations of Chemicals in Plasma for Blood Glucose Tests

Concentration (mg/dL)	Kinds of Chemicals
5, 10, 15, 20	Creatinine, Bilirubin, UA, AA
10, 20, 30, 40, 50	Ibuprofen, Potassium, Ephedrine, TA
20, 40, 60, 80	Cholesterol, Pentoxifylline, SA
1000, 2500, 5000, 7500	Triglycerides, BSA

WBP-170P)을 사용하였다.

2.3. 폴리아크릴로니트릴 진단막의 제조

2.3.1. 활성화 용액의 제조

폴리아크릴로니트릴 진단막을 활성화시키기 위해서는 5가지 용액들이 필요하다[1]. TiO_2 Dip, Indicator Dip, Enzyme Dip, Polymer Dip, 그리고 Crosslinking Dip 용액들의 조성들은 이미 발표된 논문에서 수록된 방법대로 진행하였다[19].

2.3.2. 진단막의 제조 및 측정시험

Dralon HIE 분리막을 활성화시킨 후 측정용 샘플을 위해 제조시키는 방법은 이미 발표된 논문에서 수록된 방법대로 진행하였다[4]. 플라즈마 또는 혈액 100 mL에 각 10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg의 글루코오스를 넣어 잘 교반시켰다. 그리고 얻어진 측정용 샘플에 각각의 용액 한 방울씩 떨어뜨려 반응시켜 매순간 생성하는 formazan의 농도 변화를 680 nm에서의 흡광도를 통해 얻어내었다[13]. 실험결과를 통해 글루코오스와 K/S와의 관계를 얻어내는 방법은 이미 발표된 논문에서 수록된 방법대로 진행하였다[4].

2.4. 혈액 속의 여러 가지 화합물에 의한 장애시험

폴리아크릴로니트릴 진단막에 글루코오스 100 mg을 플라즈마 100 mL에 녹여 만든 기준용액(control)과 반응시켜 얻어진 흡광도를 통해 각각의 K/S를 구하였다. 그런 다음 Table 1에 나타난 농도에 따라 각종 화합물을 플라즈마에 녹여 시험용 용액들을 각각 만들었다. 만들어진 여러 가지 화합물을 농도를 변화시켜가며 폴리아크릴로니트릴 진단막과 반응시켜 각각의 K/S를 구하였다.

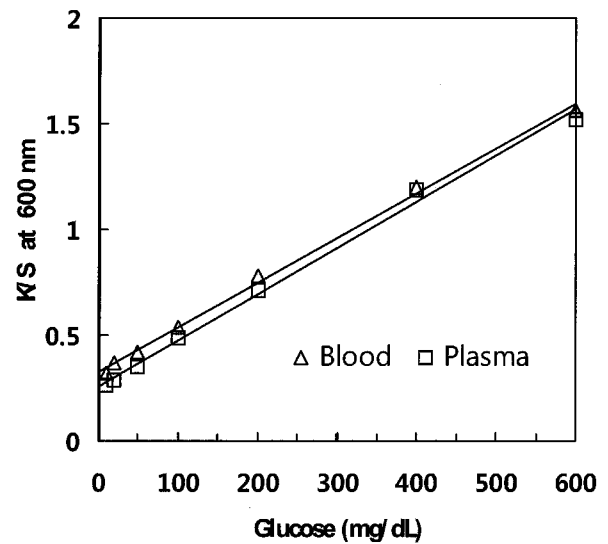


Fig. 1. Relationship between K/S values and plasma or blood glucose concentration.

3. 결과 및 고찰

3.1. K/S에 미치는 글루코오스 농도의 영향

플라즈마에 녹아 있는 글루코오스의 양을 10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg/dL으로 변화시키면서 얻어진 K/S (680 nm)의 측정치와 각각의 농도에 대한 관계를 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1에서 볼 수 있는 것 같이 K/S의 값과 농도의 관계가 직선식으로 나타나는 것을 볼 수 있었다.

또한 혈액에 녹아있는 글루코오스의 농도(mg/dL)의 변화에 따른 K/S 측정치와 농도와의 관계식도 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1은 혈액 속의 글루코오스의 농도와 K/S값도 직선식으로 나타남을 잘 보여 주고 있다. Fig. 1에서의 각각의 결과를 비교해 보면 플라즈마와 혈액에서의 기울기값(Dose-Response Slope : DRS)은 큰 차이가 없고 다만 혈액에서의 DRS가 플라즈마에서 얻은 DRS보다 다소 완만함을 관찰 할 수 있었다. 그것은 혈액 내의 적혈구들이 글루코오스가 진단막으로 스며드는 데에 다소 장애를 주기 때문이라고 보여진다.

3.2. 혈액속의 화합물이 글루코오스 농도에 따른 K/S의 측정치에 미치는 영향

3.2.1. 화합물 시리즈 I

혈액 속에 가능한 농도가 5 mg/dL에서 25 mg/dL인 creatinine, bilirubin, UA, AA 등이 글루코오스의 K/S 측정치에 미치는 영향을 조사하였다. Fig. 2는 위의 네

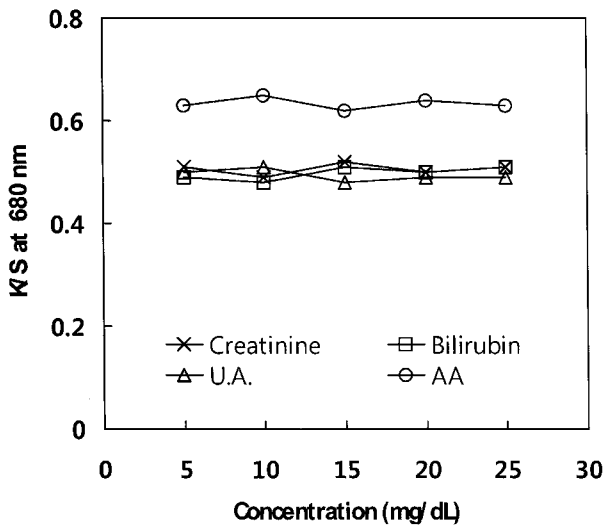


Fig. 2. Relationship between K/S values of glucose and chemicals series I.

가지 화합물의 농도에서의 결과를 보여주고 있다. Fig. 2에서 볼 수 있는 것처럼 AA에서 얻은 측정치가 기준 용액에 비해 다소 높은 값을 보여주고 있으나 다른 세 가지 화합물은 K/S 측정치에 큰 영향을 주고 있지 않음을 알 수 있었다.

이러한 결과에 대한 정확한 원인이 밝혀지고 있지 않지만 AA만이 글루코우즈와 환원효소와의 반응 속도를 다소 증가시키지만 기타 다른 화합물들은 INT의 반응 속도에 큰 영향을 주지 못하는 것으로 나타났다.

3.2.2. 화합물 시리즈 II

화합물 시리즈 II에서는 혈액속의 농도가 10 mg/dL에서 50 mg/dL까지 존재할 가능성 있는 네 가지 화합물을 가지고 그 화합물들이 각각 글루코우즈 농도와 K/S 측정값에 미치는 영향을 조사하였다.

Fig. 3에서는 각각의 화합물의 농도를 10 mg/dL에서 50 mg/dL까지 변화시켜 가면서 얻어지는 글루코우즈 농도(100 mg/dL)에서의 K/S 측정치를 각각 표시하였다. Fig. 3에서 보여지는 것처럼 ibuprofen, potassium, ephedrine의 경우 K/S 측정치에 거의 영향을 주지 못하고 있음을 알 수 있었다. 다만 TA의 경우 다른 화합물에 비해 다소 낮은 K/S 측정치를 갖는 것으로 나타났다. 그러나 TA의 농도가 증가함에 따라서는 K/S 측정치가 거의 변화가 없어 실질적으로 혈당 측정을 함에 있어서는 TA가 큰 장애를 줄 수 없음을 알 수 있었다.

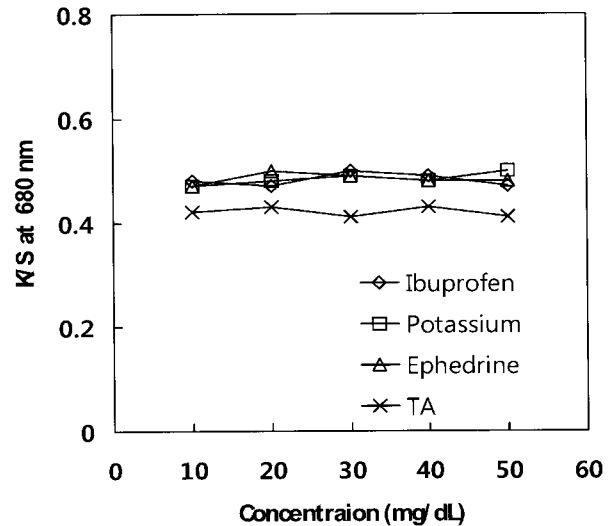


Fig. 3. Relationship between K/S values of glucose and chemicals series II.

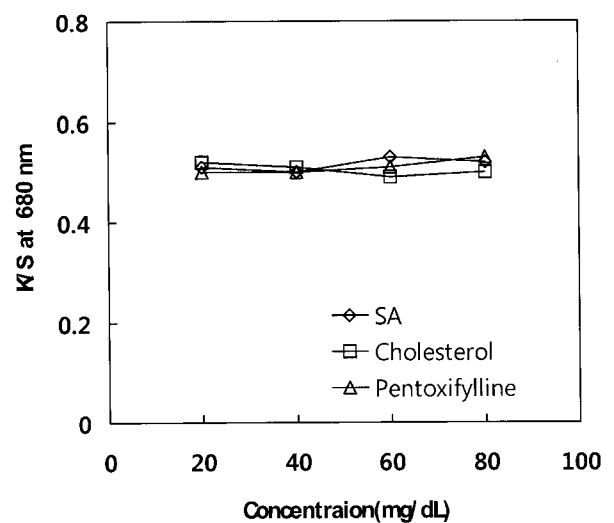


Fig. 4. Relationship between K/S values of glucose and chemicals series III.

3.2.3. 화합물 시리즈 III

혈액 속의 농도가 50 mg/dL에서 100 mg/dL일 것으로 추정되는 화합물 SA, cholesterol, pentoxifylline 등의 세 가지를 시리즈 III으로 표시하고 각각의 화합물의 농도를 변화시켜가며 글루코우즈의 농도에 따른 K/S 값을 조사하였다. Fig. 4에서 볼 수 있는 것처럼 세 가지 화합물 모두 기준용액에서 얻어지는 K/S 값과 큰 차이가 없음을 보여주고 있다.

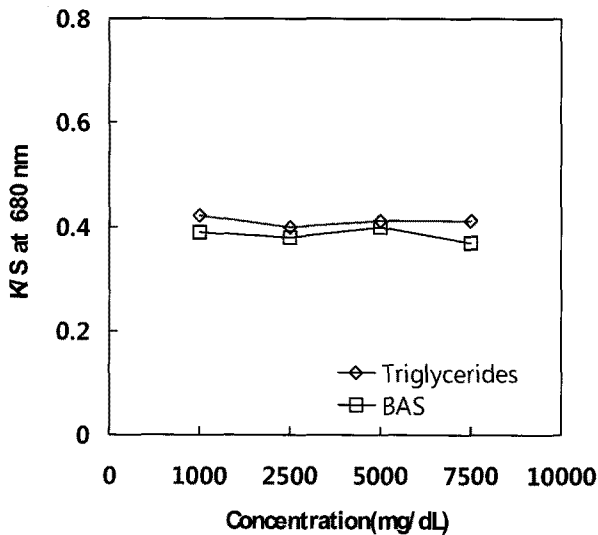


Fig. 5. Relationship between K/S values of glucose and chemicals series IV.

3.2.4. 화합물 시리즈 IV

혈액 속에서 가장 많이 존재하는 것으로 알려져 있는 화합물 triglycerides와 BSA 두 가지를 시리즈 IV로 분류하고 최소 1000 mg/dL에서 최대 7500 mg/dL까지의 농도에서 글루코오스 농도에 따른 K/S 측정치에 대한 영향을 조사하였다.

Fig. 5에서 볼 수 있는 것처럼 두 가지 화합물에서 얻어지는 K/S 측정치가 기준용액보다 다소 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 두 가지 화합물이 글루코오스와 환원효소와의 반응에 영향을 주어 INT의 생성 속도를 다소 느리게 나타내는 것으로 추측할 수 있으나 이에 대한 연구가 더욱 진행되어야 할 것으로 여겨진다.

4. 결 론

폴리아크릴로니트릴 진단막을 이용하여 혈액 속의 글루코오스의 농도를 측정하는 데에 있어 혈액 속에 존재가 가능한 여러 가지 화합물들의 농도를 변화시키며 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 플라즈마와 혈액 속에 녹아있는 글루코오스의 농도와 680 nm에서 얻어진 K/S 측정치가 각각 직선적인 관계를 갖고 있음을 알 수 있었다.

2) 화합물의 농도를 5 mg/dL에서 25 mg/dL로 변화시키며 조사한 결과 creatinine, bilirubin, UA 등은 기준용액의 K/S 측정치와 거의 같은 값을 갖고 있었으나

AA만이 다소 높은 값을 나타내었다.

3) 혈액 속의 농도가 10 mg/dL에서 50 mg/dL까지의 화합물 네 가지와 680 nm에서 측정된 K/S값에 미치는 영향을 조사한 결과 오직 TA만이 다소 낮은 값을 나타내고 ibuprofen, potassium, ephedrine 등은 K/S 측정치에 거의 영향을 주지 못함을 알 수 있었다.

4) Pentoxifylline, cholesterol, SA 등은 20 mg/dL에서 80 mg/dL까지 농도를 변화시켜 가며 조사한 결과 기준용액 글루코오스 100 mg/dL에서 얻어지는 K/S 측정치와 큰 차이가 없음을 알 수 있었다.

5) 혈액 속에 가장 많이 존재할 가능성 높은 tryglycerides와 BSA는 1,000 mg/dL에서 최대 7500 mg/dL까지 농도를 변화시켜가며 조사한 결과 기준용액보다 다소 낮은 K/S 측정치를 나타내었다.

감 사

본 연구는 2008년도 홍익대학교 학술 연구 진흥비에 의하여 연구되었기에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. T. Asano and T. Norioka, "Diabetes", Nihon Bungeisha, Tokyo (2000).
2. K. Huh, "Diabetic Health", D&C, Seoul (2006).
3. T. Asano, "Diabetic Food and Life style", Shufu-To-Seikatsusha Co., Tokyo (2005).
4. S. Kwon, I. Park, and D. Yoon, "The Preparation of Polyacrylonitrile Diagnostic Membranes for Blood Glucose Measurements (1) : Effects of Temperature and Humidity on the Measurements of Glucose Concentration", *Membrane Journal*, **17**, 4 (2007).
5. J. Kim, "Diabetes : Diagnostics and Control", Ohsung, Seoul (1997).
6. S. Kim, "Life Guide for Diabetes Control", Hyoseong, Seoul (1993).
7. K. Lee, "Modern Disease Digest", Kuckminilbosa, Seoul (1992).
8. Home Health Management Research Institute, "Diabetes", Kumyoung, Seoul (1992).
9. 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).
10. 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).
 11. 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).
 12. S. Kwon, “Studies on the preparation of Diagnostic Membranes fir Blood Glucose Measurements (1) : Model Experiments by using Microporous Polyurethane Membrane”, *Hongik Insustrial Technology*, **12** (2002).
 13. S. Kwon, “Basic Studies on the Preparation of Diagnostic Membranes by Using Multi-Layered Gelatin Films to Measure Blood Glucose Level of Diabetcs”, *Membrane Journal*, **8**, 1 (1998).
 14. R. E. Kesting, “Synthetic Polymeric Membranes”, Wiley. Interscience, New York (1985).
 15. S. Kwon, “Studies on the Muti-Layered Gelatin Diagnostic Membranes for Diabetes (2): Effects of Interferents in Blood on the Diffusion-Controlled Rates of Glucose”, *Membrane Journal*, **9**, 4 (1999).
 16. S. Kwon and B. Lee, “Studies on the Multi - Layered Gelatin Diagnostic Membranes for Diabetes (1): Effects of Temperature and Humidity on the Diffusion-Constrolled Rates of Glucose”, *Membrane Journal*, **9**, 2 (1992).
 17. S. Kwon, “A Study on the Preparation of Polyurethane Diagnostic Membrane for Urine Glucose Test”, *J. Kor. Ind. & Eng. Chem.*, **5**, 6 (1994).
 18. S. Kwon, “A Study on the Preparation of Polyurethane Diagnostic Membrane for Urine Glucose Test”, *J. Kor. Ind. & Eng. Chem.*, **5**, 6 (1994).
 19. 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 Journal*, **17**, 1 (2007).
 20. 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).
 21. S. Kwon, “Studies on the Muti-Layered Gelatin Diagnostic Membranes for Diabetes (2): Effects of Interferents in Blood on the Diffusion-Controlled Rates of Glucose”, *Membrane Journal*, **9**, 4 (1999).