

페녹시-메틸아미노 포스파젠 당뇨병 진단막의 글루코우즈 농도 측정에 미치는 온도와 습도의 영향

권 석 기[†]

홍익대학교 과학기술대학 바이오화학공학과
(2016년 5월 12일 접수, 2016년 5월 24일 수정, 2016년 5월 26일 채택)

Effects of Temperature and Humidity on the Glucose Measurements with Phenoxy-Methylamino Phosphazene Diagnostic Membranes

Suk-Ky Kwon[†]

Department of Biological and Chemical Engineering, Hongik University, Seoul 04066, Korea
(Received May 12, 2016, Revised May 24, 2016, Accepted May 26, 2016)

요 약: 당뇨병 환자의 혈당을 측정하기 위해 새로운 형태의 페녹시-메틸아미노 포스파젠 진단막을 제조하였다. 먼저 측정 환경이 혈당 측정에 미치는 영향을 조사하였다. 활성화된 진단막을 가지고 5, 15, 25, 35, 45°C 그리고 상대습도 20%에서 80%까지 변화시키면서 시간에 따른 680 nm에서의 흡광도 변화량(K/S)을 측정하였다. 높은 측정온도와 습도에서도 K/S와 글루코우즈 농도와의 기울기 값(Dose-Response Slope : DRS)은 크게 영향을 받지 않았다. 두 번째로, 제조된 진단막을 여러 환경에서 보관한 후, 보관 환경이 글루코우즈의 농도 측정에 미치는 영향을 조사하였다. 새로운 포스파젠 진단막을 50°C에서 8주 보관한 후 측정한 결과, 보관시간과 온도가 크게 영향을 주지 않았다. 또 상대습도 80%에서도 새로운 포스파젠 진단막의 안정성이 확인되었다.

Abstract: The new types of phenoxy-methylamino phosphazene diagnostic membranes were prepared to measure blood glucose level of diabetics. Firstly, effects of measuring environments on the glucose measurements were examined. With activated phosphazene membranes, the end-point results of varying absorbance values according to time (K/S) were measured at 5, 15, 25, 35, 50°C and also at 20% to 80% of relative humidities (RH). The slope values of K/S and glucose concentration(DRS) were not seriously affected at high measuring temperatures and humidities. Secondly, after prepared membranes were stored at various environments, the effects of storage temperatures and humidities on the glucose measurements were examined. After 8 weeks at 50°C, the storage time and temperatures did not affect on the glucose measurements with the new phosphazene membranes. The stabilities of new phosphazene diagnostic membranes were confirmed even at RH 80%.

Keywords: temperature, humidity, phosphazene, membranes, glucose, measurements

1. 서 론

현대 문명이 발달함에 따라 사람들의 생활이 매우 편리해져서 현대인들의 운동량이 부족해지고, 식자재가 풍요해짐에 따라 식생활이 변하며, 또한 복잡해진 업무에 대한 스트레스가 높아짐에 따라 많은 사람들이 만성

적인 질병 중에 하나인 당뇨병을 보유하는 비율이 증가하는 상황이다[1]. 당뇨병은 혈액 내 글루코우즈의 농도가 높아 생기는 심각한 질병으로 주로 췌장에서 나오는 인슐린이라는 호르몬이 거의 분비되지 않거나, 또는 분비된다고 하여도 분비된 인슐린이 제 기능을 다하지 못해 생긴다고 알려져 있다[2,3]. 특히 당뇨병은 그 자체

[†]Corresponding author(e-mail: smchurch@hongik.ac.kr, <http://orcid.org/0000-0003-3884-5431>)

도 위험하지만 당뇨병으로 인해 심각한 합병증을 유발시키는 경향이 큰 질병이다[4]. 그러므로 규칙적으로 혈당을 관리하지 않거나, 운동을 소홀히 하거나, 또 자기의 잘못된 식습관을 고치지 않는다면 생명을 위협받을 수 있는 치명적인 질병이다[5].

당뇨병은 인슐린의 의존 정도에 따라 인슐린 의존형(제1형), 인슐린 요구형(제1.5형), 그리고 인슐린비의존형(제2형)으로 나누어진다[6]. 인슐린 의존형 당뇨병은 소아용 당뇨병이라고도 불리는데 주로 청소년에게 나타나며 췌장이 그 기능을 전혀 하지 못해 생기는 병으로 필요한 양 만큼의 인슐린을 제 때에 주입해 주어야 한다[7]. 인슐린 비의존형 당뇨병은 성인용 당뇨병이라고도 불리며 주로 나이가 많은 사람들에게 나타나며 운동과 식생활 조절로 어느 정도 혈당을 유지할 수 있는 형태이다[8]. 인슐린 요구형 당뇨병은 제1형과 제2형의 중간 정도의 형태로 인슐린 주입과 식생활 조절을 병행하며 혈당을 조절해야 하는 질병이다[9].

현재 당뇨병은 췌장이식을 통한 방법 외에는 완치가 어렵다고 알려져 있으므로 당뇨병을 예방하는 것이 가장 좋고 그렇지 못하다면 초기에 당뇨병을 진단하고 또 관리하는 것이 매우 중요하다[10]. 그러나 당뇨병은 초기에 자각하기가 어려워 혈당을 검사하는 것 외에는 정확한 진단을 할 수가 없다[11]. 당뇨병을 찾아내는 방법으로는 건강검진에서 이루어지는 기초 요당검사, 자가진단 기구를 이용한 혈당검사, 그리고 병원에서 이루어지는 장기간 혈액 검사로 나누어 볼 수 있다[12]. 소변을 이용한 요당검사는 그 정확도가 높지 않으므로 그 검사를 통해서만 정확한 진단을 할 수 없다[13]. 자가진단 기구를 이용하는 혈당검사에는 공복 시 행하는 공복 혈당검사와 일정량의 당을 섭취한 후 일정 시간 후에 검사하는 방법이 있는데 좋은 자가진단 기구를 이용하면 상당히 정확한 혈당치를 얻을 수 있다[13]. 다만 자가진단 기구에 의한 검사는 환자의 상황과 환경에 따라 다소 변할 수 있기 때문에 순간적인 수치를 검사하는 것만으로 당뇨병의 상태를 정확히 알 수 없다[14]. 병원에서 이루어지는 검사로는 장기간 혈당을 검사하는 HbA_{1c} 검사나 클리코알부민검사 그리고 1.5 AG 검사 등이 있는데 정확도가 매우 높고 또 혈당의 장기간 상황을 알 수 있어 당뇨병 환자나 의사 당뇨병 환자에게는 꼭 필요한 검사라고 할 수 있다[15].

혈당을 측정하는 기구에는 주로 진단막을 사용하여 이루어지는데 진단막 속에 들어있는 효소들이 혈액 속의

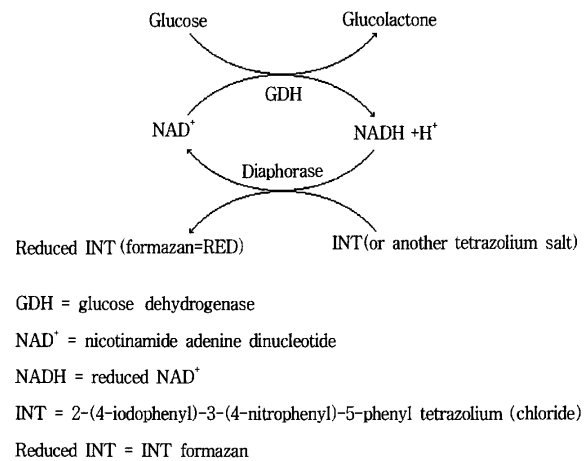


Fig. 1. Analytical method of reductive enzyme chemistry.

글루코오스와 반응하여 색을 나타내고 그 정도에 따라 글루코오스의 농도가 얻어진다[16]. 이 경우 사용되어지는 효소에 따라 측정방법이 크게 산화효소법과 환원효소법으로 나누어진다[17]. 예전에는 산화효소를 이용한 방법이 많이 사용되어 왔으나 산화효소가 외부의 환경에 영향을 많이 받는 단점이 있어 외부의 산소량이 영향을 주지 않는 환원효소법이 더 많이 사용되어 진다[18]. Fig. 1에서는 glucose dehydrogenase (GDH)와 diaphorase를 이용한 환원효소법에 대한 개요를 나타내고 있다[19].

진단막에서 가장 중요한 부분 중 하나는 진단막의 소재이다[20]. 초기에는 천연고분자가 많이 사용되어 왔으나 최근에는 다양한 합성고분자가 진단막의 재료로 많이 사용되고 있다[21]. 특히 물에 녹지 않고 내구적 강도가 뛰어나며 필름 형성이 쉬운 폴리우레탄과 폴리 아크릴로니트릴과 같은 고분자를 당뇨병 진단막으로 사용하는 연구가 활발히 이루어져 왔다[22,23]. 그러나 우레탄과 아크릴로니트릴 고분자의 경우 소수성이 너무 높고 다양한 치환체를 붙이기에 어려움이 많아 조금 더 물성의 변형이 용이한 재질에 대한 연구가 활발히 전개되고 있다[24].

포스파젠 고분자는 주사슬에 인과 질소가 교대로 구성되어 있고 인의 경우 두 개의 치환체를 가지고 있는데 그 치환체의 종류에 따라 화학적 물리적 성질이 손쉽게 바뀌는 큰 장점을 가지고 있다[25]. 또한 유기 포스파젠 고분자는 화학적 내구성이 크고, 물리적 기계적 강도가 높으며, 필름 형성이 용이하고, 생체적합성이 뛰어나 생체고분자로서 많이 사용되어진다[26,27]. 최근 들어 포스파젠 고분자를 이용한 당뇨병 진단막에 관한

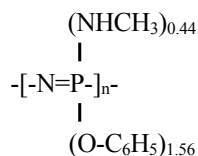


Fig. 2. The chemical structure of phenoxy(78%)-methylamino(22%) cosubstituted polyphosphazenes(2).

연구 또한 활발히 전개되고 있다[28,29].

본 연구에서는 소수성을 지니고 강도가 뛰어나며 필름이 잘 만들어지는 폐녹시기를 기본적으로 치환시키고, 친수성이 뛰어나고 필름 형성이 용이한 메틸아미노기를 다음에 치환시켜 Fig. 2에서 보여 지는 폐녹시기와 메틸아미노기를 동시에 보유한 포스파젠 고분자를 이용해 당뇨병 진단막을 제조하고자 하였다. 특히 당뇨병 진단막을 제조한 후 여러 환경의 사람들이 일반적으로 사용하기 위해서는 혈당을 측정할 때의 측정온도와 습도, 그리고 진단막을 장기간 보관할 때의 보관온도와 습도에 의한 영향이 매우 중요하다[30]. 그래서 본 연구에서는 폴리포스파젠 진단막을 이용해 다양한 온도와 습도에서 혈당을 측정하고 측정온도와 습도가 글루코우즈 측정에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하였다. 또한 당뇨병 진단막을 여러 환경에서 장기간 보관한 후 보관온도 및 습도가 혈당 측정에 미치는 영향을 조사하였다.

2. 실 험

2.1. 시약

Tetrahydrofuran (THF)은 나트륨 또는 sodium hydride와 벤조페논을 넣어 흑청색으로 바꾼 후 증류하여 사용하였다. 포스파젠과 관련된 합성은 모두 질소 분위기 하에서 이루어졌다. Hexachlorocyclo-triphosphazene (HCP)(Aldrich, m.p. 110°C-112°C)은 삼량체-사량체 혼합물을 헥산에서 분별 결정시킨 후 60°C (0.5 Torr)에서 진공 분별 승화시키고, 이것을 두 번 반복한 후 정제된 상태로 사용했다. Poly-(dichlorophosphazene)(2)은 고리형 염화 삼량체(1)를 250°C에서 열에 의한 고리개환 중합시켜서 얻었다[32]. 메틸아민은 Matheson으로부터 구입하였으며 금속 소듐을 이용해 수분을 제거한 후 사용하였다. 2-(p-Iodophenyl)-3-nitrophenyl-5-phenyl tetrazolium chloride (INT), polyethylene imine (PEI), sodium phosphate, diaphorase, glucose dehydrogenase (GDH), PIPES (Na salt), NAD (Sigma Type V-C), Triton

X-100, 1-ethyl-3-(3-di-methylaminopropyl)-carbodiimide (EDAC), plasma (혈장), Olin 10G, poly(vinyl alcohol) 등은 Sigma로부터 구입해 정제 없이 사용하였다. TiO₂ (325 mesh size, anatase), phenol, methanol, sodium, sodium hydride 등은 Aldrich에서 구입해 정제 없이 사용하였다. Poly(ethylene terephthalate)(PET)는 Bayer에서 구입하였고, 특별히 PET는 플라즈마를 사용해 표면처리한 후 사용하였다.

2.2. 장치

고분자 중합과 분석을 위해서는 250°C로 조절되는 오븐 속에서 기계적 장치를 통해 계속적으로 고리형 삼량체를 함유한 파이렉스튜브를 흔들어 주는 중합시스템을 사용하였다. 유리 속에서 중합된 고분자는 질소기류 하의 glove box에서 꺼내 승화기에 넣고 미 반응 고리형 염화 삼량체를 제거한 후 필요한 양 만큼 플라스크에 들어 있는 용매에 녹여 치환반응에 사용하였다. 또한 고분자 치환 반응 시 교반을 위해서는 교반속도 변환이 가능한 Talboys T-102 교반기를 사용하였다. Varian Gemini-2000 핵자기 공명 분광기를 이용한 ³¹P-NMR 스펙트럼에 나타나는 형태에 따라 포스파젠의 치환정도를 얻어 낼 수 있었으며 이때 인의 화학적 이동은 85% H₃PO₄ 수용액에서 얻어지는 인을 기준 값으로 해서 측정하였다. 적외선 분광 스펙트럼은 Bio-Rad FTS-165 적외선 분광기를 사용하였고, 원소분석은 Carlo Erba EA1108 원소분석기를 사용하였다. 분자량은 polystyrene gel column을 이용한 Spectra-physics P1000 PL를 사용하여 측정하였다.

Enzyme, TiO₂, INT, polymer solution 등을 교반하는 데는 Talboys에서 제작한 T-Line mechanical stirrer를 사용하였다. 얻어진 용액의 점도는 Brookfield 점도계로 측정하였다. 글루코우즈의 농도에 따른 INT의 색 변화는 Shimadzu사의 UV-2101PC 자외선/가시광선 흡광 분석기를 사용하여 분석하였다. 항온조는 Johnson JS-WBP-170P 모델을 사용하였다.

2.3 Poly(dichlorophosphazene)(1)의 제조

미리 정제된 고리형 염화 삼량체(HCP)를 파이렉스 튜브에 넣고 진공상태에서 불꽃을 이용해 밀봉하였다. 밀봉되어진 튜브에 철사 망을 입힌 후 중합 오븐에 넣고 250°C에서 기계적 장치를 통해 흔들어 주면서 서서히 중합반응을 시켰다. 튜브 속의 HCP의 점도가 매우

높아졌을 때 오븐에서 꺼내 중합에서 얻어진 큰 분자량의 포스파젠 고분자(1)를 질소 기류 하에서 유리튜브로부터 분리하고 승화장치를 이용해 50°C에서 미 반응된 고리형 염화 삼량체(HCP)를 제거하여 정제하였다[31].

2.4. $[NP(OC_6H_5)_{1.56}(NHCH_3)_{0.44}]_n$ (2)의 합성

Phenol (6.02 g, 0.064 mL)을 100 mL의 THF 속에 용해시킨 다음 과량의 sodium hydride를 첨가한다. 25°C에서 5시간 후 질소 하에서 용액을 거른 다음 걸러진 맑은 용액을 200 mL의 THF에 녹아있는 poly(dichlorophosphazene) (5 g, 0.04 mol)에 첨가한다. 24시간 동안 반응이 진행되도록 계속해서 저어 준다. 300 mL의 메틸아민 가스를 반응용기에 응축시키고 dry ice condenser에 2시간 동안 유지한다. 밀크색의 고분자를 ice bath에서 미리 냉각시킨 후 액체 메틸아민을 질소 하에서 서서히 첨가한다. 5시간 후 반응액이 25°C가 되도록 하여 미 반응 메틸아민 가스가 실리콘 oil bubbler를 통과해 빠져 나가도록 한다. 반응액은 72시간 동안 계속해서 저어준다. Rotary 증류기에서 용매를 제거하고 액체 메틸아민 200 mL를 잔류물에 첨가한다. 200 mL의 triethylamine을 HCl acceptor로서 첨가하고 다시 rotary 증류기에서 메틸아민을 제거한다. 고분자 물질을 수집해 THF에 녹인다. 녹인 용액은 물에 침전시켜 흰색 고분자생성물을 얻는다. 얻어진 고분자를 다시 THF에 녹여 물에 침전시키기를 5번 반복하고, 그리고 고분자를 THF에 녹여 헥산에 침전시키기를 3번 반복한다[31].

2.5. 포스파젠 고분자 진단막의 제조 및 측정 시험

포스파젠 진단막을 활성화시키기 위해서는 TiO_2 dip, indicator dip, enzyme dip, polymer dip, 그리고 cross-linking dip 용액과 같은 5가지 용액들이 필요하며 이 용액들의 조성은 이미 발표된 논문에서 수록된 방법대로 진행하였다[32].

글루코오스 농도를 측정하기 위한 샘플은 포스파젠 분리막을 활성화시킨 후 1 cm × 1 cm 크기로 잘라 이미 발표된 논문에서 수록된 방법대로 제조하였다[33]. 혈액 중 침전물을 제거한 플라즈마는 기본적인 측정을 위해 사용되나 오차를 유발할 수 있으므로 실제 혈당을 측정할 때는 혈액을 사용해야 하므로 플라즈마와 혈액 모두를 사용하였다. 플라즈마와 혈액 100 mL에 각 10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg의 글루코오스를 넣어 잘 교반시켰다. 그리고 얻어진 각각의 용액 한 방울씩

떨어뜨려 반응시켜 매 순간 생성하는 formazan의 농도 변화를 680 nm에서의 흡광도를 통해 얻어내었다.

Formazan의 농도는 처음 10초간 급격히 증가하다가 40초 이후에 최대치를 형성한 후 최종 평형 값을 갖는 것으로 나타났다. 안정적으로 60초에서의 흡광도를 통해 형성된 formazan의 농도를 시간으로 나눈 값을 K/S로 정의하고 이 값과 대응하는 각각의 글루코오스의 농도를 나타내었다. 최종적으로 그래프 상의 여러 가지 글루코오스의 농도와 K/S와의 기울기 값을 얻어 내었는데 이 값을 Dose-Response Slope (DRS)라고 정의하였다[33]. 제조된 진단막을 가지고 글루코오스의 농도를 측정하려고 할 때 그때의 온도와 습도를 측정온도 그리고 측정습도라고 규정하였다. 또한 당뇨병 진단막의 경우, 진단막의 장기간 보관이 필수적인데 이때 보관되어지는 온도와 습도를 보관온도 그리고 보관습도로 규정하였다.

2.6. 측정온도에 따른 포스파젠 진단막의 반응시험

활성화된 새로운 포스파젠 진단막으로부터 얻어진 측정용 샘플을 여러 가지 다른 농도(10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg/dL)의 글루코오스 용액과 5, 15, 25, 35, 45°C 등의 여러 측정온도에서 반응시켰다. 이때 얻어진 680 nm에서의 흡광도를 가지고 K/S치를 얻어내고 각각의 온도에서 얻은 K/S와 농도와의 관계를 통해 각각의 DRS를 얻어내었다.

2.7. 측정습도에 따른 포스파젠 진단막의 반응시험

이미 제조된 포스파젠 진단막으로부터 얻어진 측정용 샘플을 가지고 환경 실험실의 상대습도를 20, 40, 60, 80%로 변화시켜가며 위에서 언급한 각각의 다른 글루코오스 농도를 가진 용액을 가지고 INT의 색변화에 따른 680 nm에서의 흡광도를 측정하여 이에 따른 K/S를 얻어내었고, 이 결과를 가지고 농도와의 기울기 값인 DRS를 얻어내었다.

2.8. 보관온도에 따른 포스파젠 진단막의 안전성 시험

포스파젠 진단막으로 통해 얻어진 측정용 샘플을 온도가 조절되는 환경 실험실에 보관하였다. 보관온도는 0, 10, 20, 30, 50°C로 조절하였으며 각각의 온도에서 3일간 보관한 후 글루코오스 기준 용액을 가지고 INT의 색 변화에 따른 680 nm에서의 흡광도를 얻고, 이에 따른 K/S결과에 따라 농도와의 기울기(DRS)를 얻어내었

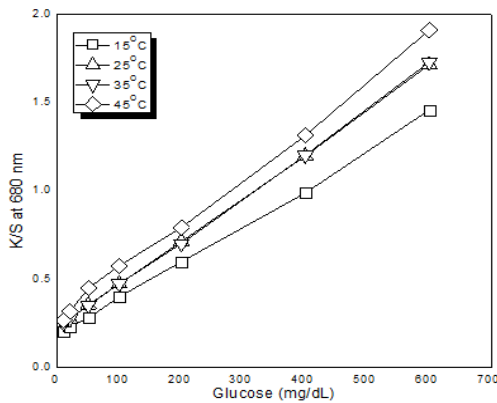


Fig. 3. Relationship between glucose concentrations and K/S values at various measuring temperatures.

다. 또한 측정용 샘플을 일정한 습도인 40%로 유지하면서 10, 30, 50°C에서 2, 4, 6주 또는 8주씩 장기간 보관한 후 위와 같은 방법으로 측정하였다.

2.9. 보관습도에 따른 포스파젠 진단막의 안정성 시험

활성화된 포스파젠 진단막을 보관온도를 30°C로 고정시키고 상대습도 20, 40, 60, 80%로 고정된 각각의 환경실에서 10시간 보관한 후 얻은 각각의 DRS와 습도와의 관계를 조사하였다. 또한, 상대습도 40, 60%에서 포스파젠 진단막을 10, 30, 50, 70시간 보관한 후 각각의 샘플에 대해 글루코우즈 기준용액을 가지고 INT의 색변화에 따른 680 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 얻어진 흡광도에 따라 K/S치를 얻어내고 습도 변화에 따른 K/S와 글루코우즈의 농도와의 기울기 값(DRS)을 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 측정온도에 따른 K/S 결과치의 영향

활성화된 포스파젠 진단막을 가지고 제조한 측정용 샘플을 측정온도 15, 25, 35, 45°C에서 여러 가지 글루코우즈 농도를 가진 용액과 반응시켜 각각의 K/S 값을 구하였다. Fig. 3는 네 가지 온도에서 각각 농도(10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg/dL)의 글루코우즈와 반응해 얻은 K/S 값을 나타내었다. Fig. 3에서 나타난 것처럼 측정온도를 15°C에서 45°C로 변화시켜 가며 글루코우즈 농도를 측정하였다. 측정온도 25°C와 35°C에서는 K/S 결과치가 큰 차이를 보이지 않았음을 알 수 있었다. 그러나 15°C에서는 다소 낮은 결과치를 나타내고,

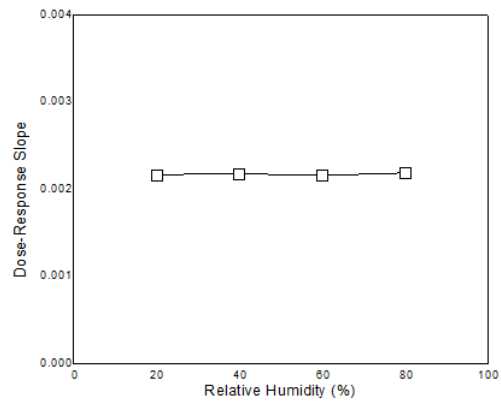


Fig. 4. Relationship between dose-response slope and measuring humidity.

45°C에서는 다소 높은 결과치를 나타내었으나 오차범위 안에 있었고 실제로 DRS는 큰 차이를 보이지 않았다. 앞서 발표된 다양한 합성 고분자 진단막의 결과와 같이, 새롭게 제조된 포스파젠 진단막을 통한 혈당측정에도 측정온도가 크게 영향을 주지 않고 있음을 알 수 있었다[30].

3.2. 측정습도에 따른 글루코우즈 농도 측정에 대한 영향

일반적으로 친수성 고분자를 이용한 진단막을 사용하였을 경우 습도가 글루코우즈의 농도측정에 상당한 영향을 주는 것으로 알려져 있으나 소수성 고분자를 이용한 진단막의 경우 습도가 혈당측정에 크게 영향을 주지 못하는 것으로 보고되었다[30].

본 연구에서는 포스파젠 진단막을 가지고 상대습도 20, 40, 60, 80%로 고정된 각각의 환경에서 글루코우즈의 농도를 측정하였고 이에 따른 K/S 결과치와 글루코우즈의 농도와의 기울기인 DRS 값을 얻어 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서 볼 수 있는 것처럼 상대 습도 20%에서 80%로 변화시켰을 경우에도 DRS 결과치가 크게 변하지 않는 것으로 나타났다. 이것은 상대습도가 높거나 또는 아주 낮은 환경에서도 새롭게 제조된 포스파젠 진단막을 이용하여 글루코우즈 농도를 안정된 값으로 얻을 수 있다는 것을 의미한다.

3.3. 보관온도에 따른 포스파젠 진단막의 안정성 결과

활성화된 포스파젠 진단막을 이용해 제조된 측정용 샘플을 상대습도 40%로 고정시킨 채 각각 다른 온도(0, 10, 20, 30, 50°C)에서 3일간 보관한 후 글루코우즈 기준 용액과 반응시킨 후 얻어진 K/S 결과치와 농도와의

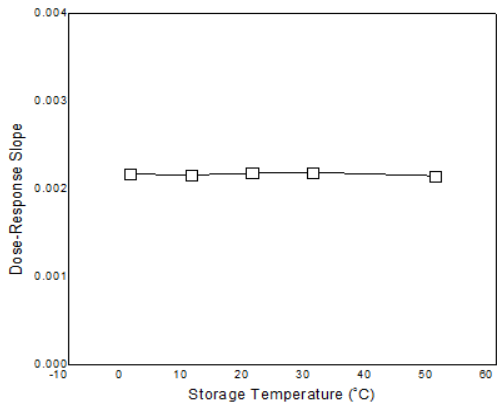


Fig. 5. Dose-response slope for 3 days at various storage temperatures.

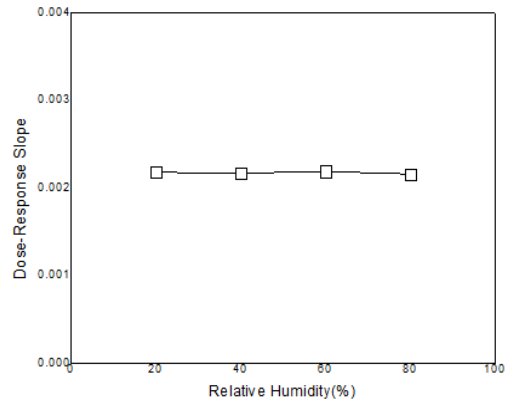


Fig. 7. Dose-response slope for 10 hrs at various storage relative humidities.

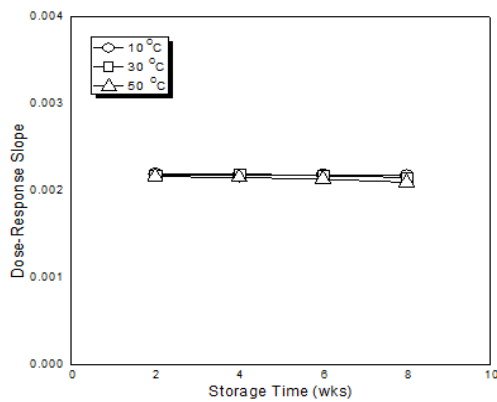


Fig. 6. Values of dose-response slope at various storage temperatures for 2, 4, 6 wks, and 8 wks.

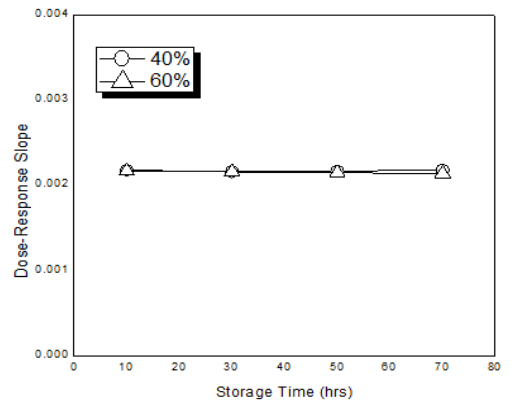


Fig. 8. Value of dose-response slope at 40% and 60% RH for different storage durations.

관계를 Fig. 5에서 나타내었다. Fig. 5에서 볼 수 있는 것처럼 보관온도가 0°C에서 50°C로 변화하여도 DRS 값이 큰 차이를 보이지 않았다. 그러므로 각종 온도에서 3일간 보관하였을 경우 보관온도는 글루코오스 농도측정에 거의 영향을 못함을 알 수 있었다.

진단용 샘플을 장기간 보관했을 때 보관온도가 혈당 측정에 미치는 영향을 알아보기 위해 포스파젠 진단막을 10, 30, 50°C에서 2, 4, 8주씩 보관한 후 그 포스파젠 진단막을 이용해 측정된 결과를 Fig. 6에 나타내었다. Fig. 6에서 볼 수 있는 것처럼 10, 30, 50°C에서 2주에서 6주간까지 장기간 보관하여도 DRS 결과치가 큰 차이를 나타내지 않았다. 다만 50°C에서 8주간 보관한 경우 다소 낮은 DRS 결과치를 나타냈으나 오차범위 내에 있으므로 제조된 측정용 포스파젠 진단막을 여러 온도에서 장기간 보관한 후에도 혈당측정에 사용할 수 있다는 것을 의미한다.

3.4. 보관습도에 따른 포스파젠 진단막의 안정성 결과

활성화된 포스파젠 진단막을 이용해 제조된 측정용 샘플을 보관온도를 30°C로 유지하며 상대습도 20, 40, 60, 80%로 고정된 각각의 환경 실험실에서 10시간 보관한 후 얻은 각각의 DRS와 습도와와의 관계를 Fig. 7에 나타내었다. Fig. 7에서 볼 수 있는 것처럼 포스파젠 진단막을 다양한 상대습도에서 10시간 보관한 후 K/S를 측정하여 얻은 DRS가 거의 차이를 보이지 않았다.

그리고 상대습도 40%와 60%에서 10, 30, 50, 70시간 동안 포스파젠 진단막을 보관한 후 얻어진 DRS 값을 Fig. 8에 나타내었다. Fig. 8에서 볼 수 있는 것처럼 상대습도 40%와 60%에서 30시간 내에 보관했을 경우 DRS 값이 크게 변하지 않았지만 50시간 이상 높은 습도에서 장기간 보관하였을 경우 DRS 값이 다소 감소함을 알 수 있었다.

일반적으로 습도는 효소의 작용에 영향을 줄 수 있다고 알려져 있으나 본 연구에 사용된 포스파젠 진단막의

경우 보관습도가 거의 영향을 주지 못함을 알았다. 그러므로 제조된 혈당측정용 포스파젠 진단 스트립은 높거나 아주 낮은 습도에서 장기간 보관한 후에도 사용할 수 있다는 것을 의미한다.

3.5. 포스파젠 고분자를 측정용 진단막의 재질로서의 사용 가능성에 대한 고찰

앞의 실험들로부터 얻어진 결과들을 토대로 검토하여 보면 포스파젠 분리막은 혈액 속의 글루코오스의 농도를 측정하는 진단막으로서 사용이 가능하며 또한 혈당 측정용 진단막의 재질로 적합한 것으로 나타났다. 그러나 포스파젠 고분자는 폴리우레탄이나 폴리아크릴로니트릴과 같은 일반 다른 고분자에 비해 고가이므로 단순한 일회용 혈당측정용 진단막으로 사용하기에는 다소 무리가 있는 것이 사실이다.

그러나 본 연구에서 포스파젠 고분자를 진단막의 재질로서 검토한 이유는 앞으로 고기능성 측정 진단막으로서의 가능성을 알아보기 위해서였다. 특별히 생체 내부에 삽입되는 형태의 진단막 또는 패치형 진단막을 사용하는 진단 시스템의 경우 생체 및 혈액 적합성이 뛰어나고 기능성이 다양한 재질을 사용해야 하는데 포스파젠 고분자가 이런 고기능성 진단막으로서 사용할 수 있는 가능성이 매우 크다고 보여진다.

4. 결 론

당뇨병 환자의 혈당치 측정을 위하여 제조된 포스파젠 진단막을 이용해 측정온도와 측정습도, 그리고 보관온도와 보관습도를 변화시켜가며 글루코오스 농도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 새로운 형태의 포스파젠 진단막을 가지고 10°C에서 40°C 사이의 온도에서 글루코오스의 농도를 측정할 결과 측정온도가 농도와 K/S와의 관계에 영향을 주지 않았다.

2) 새로운 포스파젠 진단막으로 제조된 측정용 샘플을 가지고 상대습도 20%에서 상대습도 80%로 변화시켜가며 글루코오스의 농도를 측정한 결과 측정습도가 DRS 측정치에 영향을 주지 않았음을 알 수 있었다.

3) 포스파젠 진단용 샘플을 0, 10, 20, 30, 50°C의 다양한 온도에서 3일, 1, 3, 5주간 보관한 후 K/S를 측정할 결과 얻어진 DRS 값이 보관온도 10°C에서 50°C까지는 크게 변하지 않지만 보관온도 50°C에서는 DRS

값이 다소 낮아짐을 보였으나 오차 범위 내에 있었다.

4) 포스파젠 진단용 샘플을 상대습도 20, 40, 60, 80%에서 10, 30, 50, 70시간 보관한 후 글루코오스의 농도를 측정하여 얻어진 K/S와 농도와의 기울기인 DRS를 얻은 결과 모든 상대습도에서 DRS가 크게 변하지 않았다. 다만 상대습도 60%에서 50시간 이상 보관하였을 경우 DRS가 다소 감소하였으나, 오차 범위에 있어 보관습도가 새로운 포스파젠 진단막을 이용한 글루코오스의 농도 측정에 큰 영향을 주지는 못함을 알 수 있었다.

감 사

본 연구는 2016년도 홍익대학교 학술연구진흥비에 의하여 연구되었기에 감사드립니다.

Reference

1. K. Huh, "Diabetic health", D and C Media, Seoul (2006).
2. Y. Kim, "Diabetes treatment", Medbook, Seoul (2012).
3. Home Health Management Research Institute, "Diabetes", Kumyong, Seoul (1992).
4. Seoul National University Hospital, "A guide for diabetes management", Bummoon education, Seoul (2012).
5. Y. Cho, "Diabetes, as much as know that look", Miraejysik, Seoul (2006).
6. T. Asano and T. Norioka, "Diabetes", Nihon Bungeisha, Tokyo (2000).
7. J. Kim, "Diabetes: Diagnostics and control", Ohsung, Seoul (1997).
8. S. Kim, "Life guide for diabetes control", Hyoseong, Seoul (1993).
9. T. Asano, "Diabetic food and life style", Shufu-To-Seikatsusha Co., Tokyo (2005).
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, "Basic studies on the preparation of di-

- agnostic membranes by using multi-layered gelatin films to measure blood glucose level of diabetics”, *Membr. J.*, **8**, 1 (1998).
12. S. Kwon and M. Choi, “The preparation of polyacrylonitrile diagnostic membranes for blood glucose measurements (2): Effects of blood constituents on the measurements of glucose concentration”, *Membr. J.*, **18**, 4 (2008).
 13. S. Kwon, “A study on the preparation of polyurethane diagnostic membrane for urine glucose test”, *Appl. Chem. Eng.*, **5**, 6 (1994).
 14. S. Kwon, “Preparation of phenoxy-methylamino cosubstituted polyphosphazene diagnostic membranes for blood glucose measurement”, *Membr. J.*, **24**, 4 (2014).
 15. S. Kwon, “Effects of interferents in blood on the blood glucose measurements by using polyphosphazene diagnostic membranes”, *Membr. J.*, **23**, 4 (2013).
 16. 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”, *Membr. J.*, **17**, 4 (2007).
 17. 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**, 551 (2003).
 18. R. P. Back, “Biosensor technology”, Marcel Dekker, New York (1990).
 19. 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”, *Membr. J.*, **9**, 4 (1999).
 20. R. E. Kesting, “Synthetic polymeric membranes”, Wiley-Interscience, New York (1985).
 21. M. Gordon, “Polymer membranes”, Springer-Verlag, New York (1985).
 22. S. Kwon, “Preparation of polyurethane diagnostic membranes for blood glucose measurements (6): Effects of hematocrit on the measurements of glucose concentration”, *Membr. J.*, **20**, 3 (2010).
 23. S. Kwon, “Studies on the preparation of diagnostic membranes for blood glucose measurements (1): Model experiments by using microporous polyurethane membrane”, *Hongik Industrial Technology*, **12**, 717 (2002).
 24. S. Kwon and J. Yu, “The preparation of polyacrylonitrile diagnostic membranes for blood glucose measurements (3): Effects of storage environments on the measurements of glucose concentration”, *Membr. J.*, **19**, 3 (2009).
 25. S. Kwon and C. Jun, “Studies on polyphosphazenes-bound Wittig reactions”, *Appl. Chem. Eng.*, **5**, 5 (1994).
 26. H. R. Allcock, M. Gebura, S. Kwon, and T. X. Neenan, “Amphiphilic polyphosphazenes as membrane materials: Influence of side group on radiation crosslinking, semipermeability, and surface morphology”, *Biomaterials*, **9**, 500 (1988).
 27. H. R. Allcock and S. Kwon, “Hydrophilic polyphosphazenes as hydrogels: Radiation crosslinking and hydrogel characteristics of poly[bis(methoxyethoxy)phosphazene]”, *Biomaterials*, **7**, 6 (1986).
 28. S. Kwon and B. Lee, “A study on the preparation of metal-ion separation membrane with hydrophilic polyphosphazene”, *Appl. Chem. Eng.*, **10**, 3 (1999).
 29. S. Kwon and B. Lee, “A Study on the preparation of ion-exchange membranes with polyphosphazenes”, *Appl. Chem. Eng.*, **9**, 3 (1998).
 30. S. Kwon, “Effects of testing and storage environments on the blood glucose measurements by using phosphazene diagnostic membranes”, *Membr. J.*, **22**, 5 (2012).
 31. H. R. Allcock and S. Kwon, “Covalent linkages of proteins to surface-modified poly(organophosphazenes): Immobilization of glucose-6-phosphate dehydrogenase and trypsin”, *Macromolecules*, **19**, 1502 (1986).
 32. 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”, *Membr. J.*, **17**, 1 (2007).
 33. S. Kwon, “Effects of interferents in blood on the blood glucose measurements by using the new types of phosphazene diagnostic membranes” *Membr. J.*, **25**, 3 (2015).