

## 혈당 측정용 스트립 개발에 관한 연구

한국 과학기술연구원 생명공학 연구소, 대전 가톨릭 성모병원\*,  
한국 과학기술원 농업신소재 연구센터\*\*

송은영 · 김경아 · 이홍수 · 권두한 · 남효진 · 김희정\* · 변시명\*\* · 정태화†

국문초록: 과산화 효소와 포도당 산화효소의 효소반응을 이용하여 혈액 중 당을 측정하는 혈당 측정용 스트립을 개발하였다. 멤브레인에 포도당 산화효소와 과산화 효소, 색원체를 건조 처리하면 혈당이 멤브레인에 처리된 포도당 산화효소와 즉각 반응하여 과산화 수소를 발생하고 발생한 과산화 수소가 과산화 효소와 반응하여 착색물을 형성한다. 제조된 스트립은 혈액과 접촉하면 반응시간 2~3분 이내에 0~800 mg/dl의 혈당에 대하여 농도에 따라 연 녹, 청 녹, 짙은 청색을 나타내며 이때 민감도는 40 mg/dl이었다. 육안용 혈당 스트립을 이용하여 정상을 포함한 당뇨 환자의 혈당 농도를 측정된 결과 Ames사와 BM사에서 시판하고 있는 제품과 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 본 연구에서 개발된 스트립이 자동 분석기기의 재료로 활용될 수 있는지 여부를 알아보기 위하여 분광 비색 계로 발색 반응의 최적 파장을 분석하고 최적 파장에서 각 혈당 농도별 반사 밀도를 측정하여 검정 선을 얻었다. 이 검정선에 의해 임상 혈청시료의 혈당 농도를 측정된 결과 일본의 Kyoto Daiichi사의 혈액 분석시스템과 유사한 결과를 얻었다. 이로서 본 연구에서 개발한 혈당 스트립을 이용하여 혈액 중 혈당량을 육안으로 측정할 수 있음은 물론 자동 분석기기의 기본 시료로 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

### 서 론

인체 체액의 생화학적 성분변화 검사는 각종 질병을 진단하고 치료, 예방하는데 사용된다. 이 중에서도 당은 생체의 에너지원 및 그 저장물질로서 생체의 구성과 기능에 중요한 역할을 하고 있다. 정상인 혈청 중에는 포도당 외에 극히 소량이지만 과당, 젖당, 만노우즈, 기타 5탄당 등이 존재한다. 이들 당 중 체내 당질 대사이상 또는 이와 관련된 질환 발생시 가장 많이 측정되는 것은 혈중 포도당이다<sup>1,4,9)</sup>.

정상인의 경우 아침 공복시 혈당 농도는 60~100 mg/dl이며 혈당의 농도는 장관에서 당의 흡수, 간에서의 당의 신생과 글리코겐의 합성 또는 분해, 말초조직의 당 이용, 신장으로부터의 배설 등의 인자에 의해 좌우되며 이 모든 기능의 조절

에는 자율신경과 각종 호르몬이 밀접하게 관계된다. 혈당 저하 작용에는 인슐린이, 혈당 상승에는 에피네프린, 글리코젠, 성장 호르몬 등이 관계되어 이들의 길항 및 협조 작용에 의해 혈당치가 미묘하게 조절된다<sup>1,4,9)</sup>.

혈당은 환원법, 측정법, 효소법에 의하여 측정하고 있으며 이들 여러 방법 중 효소법이 가장 널리 사용되고 있다<sup>1,4)</sup>. 각종 질병을 진단하는 방법으로는 개인이 스트립을 이용하여 질병을 진단하거나 자동 분석기기를 이용하여 대량의 시료에 대하여 다양한 항목의 생화학적 물질을 한꺼번에 분석하여 질병을 진단하고 있다. 이들 방법들은 기존의 복잡한 분석과정 없이도 짧은 시간 내에 많은 시료를 분석할 수 있어 그 이용도가 급속히 증가하고 있다. 특히 스트립의 경우 자동 분석기기의 주요 재료로 사용될 뿐 아니라, 최근에는 육안으로 분석 가능하도록 제조되어 일반인이 평소 자신의 건강을 진단할 수 있다. 혈당 측정의 경우에도 육안용, 혹은 자동 분석기용 스트립이 여러 회사에서 시판되고 있으며 포켓용 간이진단 기기

\* 논문접수 : 1998년 11월 2일

수정재접수 : 1998년 12월 21일

† 별책요청 저자

도 개발되어 어느 곳에서나 수시로 자신의 혈당치를 측정할 수 있게 되었다. 그러나 우리 나라는 진단 스트립과 자동 분석기기 개발에 관한 기술이 미진한 상태여서 모두 외국에서 수입하여 사용하여야만 하는 현실에 있다. 이에 본 연구에서는 혈당을 육안과 간이 자동기기로 간편하게 측정할 수 있는 혈당 분석용 스트립을 개발하였다. 효과적인 혈당 분석을 위하여 멤브레인의 혈액 흡수도, 적혈구 분리도, 시약과의 반응도를 조사하여 최적의 멤브레인을 선택하여 혈당 분석용 스트립의 기본 소재로 사용하였다. 혈당 분석을 위한 실험방법들은 이미 많이 알려져 있으나 그 중에서도 과산화 효소와 포도당 산화효소에 의한 효소법을 이용하여 스트립을 제조하였으며 스트립 자체의 안정성을 높이기 위해 여러 종류의 폴리머들을 첨가하였고 발색 반응의 촉진을 위해 촉진제를 첨가하였다. 제조된 스트립은 멤브레인에 혈액을 접촉시키고 2~3분 후 혈당의 농도에 따라 발색되며 이를 육안으로 확인하거나 자동 분석기기를 이용하여 농도를 측정할 수 있다. 본 연구에서 개발한 혈당 측정 스트립은 혈액 분석용 스트립의 가장 기본이 되는 스트립으로 이 기술을 바탕으로 다른 혈액 성분 분석을 위한 항목의 혈액 분석용 스트립을 제조할 수 있을 것이며 현재 수입에 의존하고 있는 진단제의 국내 개발에 공헌할 수 있을 것으로 기대된다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료 및 기기

혈당 측정용 스트립을 제조하기 위해 구연산염, 구연산, EDTA, SDS, polyvinylpyrrolidone (PVP), Tween 20, tartrazine, 포도당 산화효소, 과산화 효소, 포도당, gantrez, dextran 등을 Sigma사 (U.S.A)에서 구입하였다. 발색제인 tetramethylbenzidine (TMB)은 Sigma사 (U.S.A)에서 구입하였고 N-(3-Sulfopropyl)-3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine (TMBZ)은 San-Ai Sangyo LTD. (Japan)에서 구입하였다. 혈당 측정용 스트립에 사용한 멤브레인은 Pall Biosupport (U.S.A)의 hemadyne, Gelman (U.S.A)과 Whatman (U.K.)에서 취급하고 있는 여러 종류의 멤브레인을 구입하여 사용하였다. 원심분리기는 Beckman CPR centrifuge (U.S.A)을 분광 비색계 (spectrocolorimeter)는 Hunter Lab.의 UltraScan (U.S.A)을 사용하였으며 자동 혈액 분석기로 KYOTO DAI-

ICHI (Japan)의 SPOTCHEM™ Auto Dry Chemistry Analyzer를 구입하여 사용하였다.

그외 혈당 측정용 스트립의 비교제품으로 Medisense의 Esac Tech® (USA), BM의 Accutrend® (Germany), Johnson & Johnson의 LIFESCAN (USA), BM의 Glucose Accutrend® (Germany), AMES의 Glucostix (USA), BM의 CHEMSTRIP bG (USA), KYOTO DAIICHI(Japan)의 SPOTCHEM™ strip을 사용하였고 표준 용액으로 AMES의 Dextro-chek® (USA), Sigma사의 Accutrol, LIN-Trol, Enzyme Control (U.S.A.)를 사용하였다. 표준 색표를 만들기 위해 Panton Inc. (U.S.A)의 Panton® color selector 1000을 사용하였다.

임상 혈액 시료는 대전 성모병원의 임상 병리실에서 얻었다.

### 2. 실험방법

#### 1) 혈당 측정용 스트립 제조

혈당 측정용 스트립을 제조하기 위하여 구연산염 3.2 g, 구연산 4.15 g, EDTA 10 g, SDS 0.5 g, PVP 1.5 g, dimethylsulfone 10 g, 10% Tween 20 0.9 ml, tartrazine (0.1 g/dl) 7.5 ml, 10% gantrez solution 12 ml, dextrane 15 g, K<sub>3</sub> [Fe(CN)<sub>6</sub>] 0.015 g, sodium dextrane 0.15 g, 포도당 산화효소 9,270 unit, 과산화 효소 114,750 unit, N-(3-sulfopropyl)-3,3', 5,5', tetramethylbenzidine 0.75 g을 증류수와 아세톤의 1:1 혼합액 150 ml에 녹인 후 멤브레인에 처리, 40℃ 열풍 건조기에서 약 10분간 건조시켰다. 시약이 처리되어 건조된 멤브레인은 양면 테이프를 사용하여 플라스틱 판에 부착시켰다.

#### 2) 육안을 통한 혈당 농도 측정

당의 농도가 0, 40, 110, 200, 400, 800 mg/dl 인 표준용액을 1항에서 제작된 멤브레인에 소량 떨어뜨리고 2분 후 발색된 색을 정도를 관찰, Panton® Inc. (U.S.A)의 Panton® color selector 1000에서 제시된 색상 중 가장 유사한 색상을 선택하여 표준 색표를 만들었다. 실제 혈액내의 혈당 농도를 육안을 통해 알아보기 위하여 혈액 시료를 동일한 방법으로 멤브레인에 적용시키고 2분 후 발색양상을 표준 색표와 비교하여 혈당 농도를 결정하였다.

#### 3) 분광 비색계를 이용한 혈당 농도 측정

1항에서 제조된 혈당 스트립을 표준 용액들과 반응시키고, 2분 후 발색된 스트립을 Hunter Lab.의 UltraScan으로 D65의 광에서 2도 시야로 small

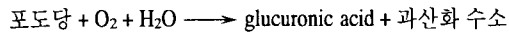
area view lens를 통하여 400~750 nm사이의 파장에서 반사율을 측정, 최적 파장을 결정하였다. 선택된 최적 파장 (550 nm)에서 각 표준 용액의 농도별 반사 밀도 (K/S)값을 구하고 반사 밀도 값과 농도와의 검정선을 얻었다. 이 검정선을 기반으로 혈당 농도를 측정하였다.

## 결 과

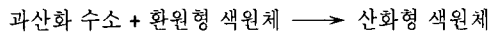
### 1. 혈당 측정용 스트립제조

본 연구에 사용한 혈당 측정용 스트립은 포도당 산화효소 (GOD)와 과산화 효소 (POD)를 이용한 효소법을 기초로 하여 제조하였으며 그 원리는 다음과 같다.

#### 포도당 산화효소



#### 과산화 효소



혈당 측정용 스트립을 제작하기 위하여 외국에서 수입되고 있는 혈당 측정용 스트립의 제품별 특성들을 조사한 결과 대부분의 제품이 GOD-POD 효소법에 의존하였으며 색원체로는 TMB, o-toluidin, 4-aminoantipyrine, 3-amino-9 (aminopropyl)

carbazole을 사용하고 있다.

#### 1) 적혈구 분리용 멤브레인의 선택

개인의 건강 진단을 위한 포켓용 간이진단 기기에 사용되어 지는 스트립이나 일반 육안용 혈당 측정용 스트립의 경우 전혈을 사용해야 한다. 이때 전혈 중 적혈구는 그 색깔이 혈당과 스트립의 발색 결과에 영향을 주므로 적혈구를 분리하여 혈청내 혈당과 반응을 나타내는 멤브레인의 선택이 중요하다. 일반적으로 혈액 분석용 멤브레인으로는 Gelman, Pall BioSupport, Whatman사에서 주로 취급하고 있으며 이들 멤브레인들의 특징을 Table 1에 정리하였다. 이들 멤브레인의 pore size는 0.45~12 µm이었으며 주로 acrycopolymer, nylon membrane, nitrocellulose 등 이었다. Table 1에 열거한 멤브레인을 중심으로 혈액과 접촉하였을 때 혈액의 흡수 정도와 적혈구의 분리 정도, 혈당과의 반응 정도를 조사하였다. 멤브레인이 혈액을 흡수하는 정도를 알아보기 위하여 혈액을 멤브레인에 접촉시킨 후, 1분내 멤브레인에 혈액이 흡수되는 정도와 적혈구의 분리되는 상태를 관찰하여 비교하였다. 그 결과 Pall BioSupport의 Hemadyne 제품, Whatman사의 nitrocellulose (5 µm), Primecare의 제품이 혈액을 잘 흡수하는 것으로 나타났다. 또한 측정하려는 물질과 발색제와의 반응 속도와 발색 양상을 비교하기 위하여 과산

Table 1. The properties of membrane and absorption of blood

Company	Product name	Membrane	Pore size	Degree of absorption	Developed color
	V-5000	acrycopolymer	5 µm	moderate	blue
	V-3000		3 µm	moderate	blue
	V-1200		1.2 µm	moderate	blue
	V-800		0.8 µm	poor	green
Gelman	CytoSep 1660	synthetic fiber	0.33 mm (thickness)	moderate	blue
	CytoSep 1661		0.18 mm (thickness)	moderate	blue
	CytoSep 1662		0.64 mm (thickness)	moderate	-
	CytoSep 1663		0.92 mm (thickness)	moderate	-
	TR-450	polysulfon	0.45 µm	poor	light green
	Nylaflo	nylon membrane	0.45 µm	poor	-
	Ultrabind	covalent binding	0.45 µm	poor	-
Pall BioSupport	Hemadyne	-	-	good	blue
Whatman	nitrocellulose	nitrocellulose	12.0 µm	good	blue

화 수소와 과산화 효소와의 발색 반응을 이용하여 각각의 멤브레인에 구연산 완충액 (pH 6.0), 유기 과산화 수소, 과산화 효소, TMB를 처리하였다. 이때 유기 과산화 수소는 과산화 효소에 의하여 발색제인 TMB를 청 녹색으로 변화시켰다 (Table 2). 13종의 멤브레인 중 발색 반응은 Gelman의 V-5000, V-3000, V-1200, CytoSep 1661, Pall BioSupport의 Hemadyne, Whatman의 nitrocellulose (5 µm)를 사용할 때 가장 잘 발색 반응을 일으키는 것으로 나타났다. 발색 정도와 혈액의 흡수성을 고려할 때 Pall BioSupport에서 시판하는 Hemadyne과 Whatman사에서 시판하고 있는 nitrocellulose (5 µm)가 혈액과의 흡수력이 좋으면서 효소 반응이 가장 잘 일어났으며, 본 스트립 제조에 가장 적합한 것으로 판단되었다.

### 2) 완충액의 종류 및 pH에 따른 영향

GOD-POD의 효소반응에 의한 혈당의 발색 강도를 높이기 위하여 완충액의 종류 및 pH에 따른 영향을 조사하였다. 화학반응을 관찰하기 위해 실험 방법 1항에서 제시된 시약처리 멤브레인 (reagent membrane)을 아래면에 깔고 그 위에 각종 완충 용액으로 처리된 멤브레인을 겹쳐 혈당 농

도에 따른 발색 정도를 살폈다. 혈당 표준액으로 Ames에서 시판하고 있는 정상, 저 혈당, 고 혈당 표준액을 멤브레인에 접촉시키고 2분 후 발색 정도를 비교하였다 (Table 2). 효소의 발색 반응은 구연산 완충액 (pH 6)을 사용한 경우가 가장 잘 일어났고 구연산 완충액의 pH가 높을수록 저 농도와 고 농도의 혈당의 발색 구별이 더 확실했다. 그러므로 효소 반응을 저해시키지 않는 한도에서 구연산 완충액의 pH를 높여 제조하였다.

### 3) 색원체의 선택

GOD-POD 효소법을 기초로 다양한 종류의 색원체를 사용하여 1~2분 사이에 혈당과의 반응 상태를 비교하였다. 동일한 양의 GOD, POD 효소에 색원체로 TMB, TMBZ, o-toluidine, TMB와 o-toluidine 혼합물, 4-aminoantipyrin와 4,5-dihydroxy-1,3-benzene disulfonic acid 혼합액, 3-methyl-2-benzthiazolinone hydrazone와 4,5-dihydroxy-1,3-benzene disulfonic acid 혼합액을 각각 처리하여 발색을 살펴본 결과 대부분의 색원체가 혈당 농도 20 mg/dl 이상에서 농도별로 발색되었으며 TMB와 o-toluidine은 청 녹색으로 4-aminoantipyrin와 4,5-dihydroxy-1,3-benzene disulfonic acid 혼합, 3-methyl-2-

Table 2. The effects of buffer for the various concentration of glucose

Buffer	pH	Concentration of glucose (mg/dl)		
		80	110	250
Citrate	6	green	deep green	bluish green
PBS	7	green	deep green	bluish green
Tris	8	green	green	bluish green
Borate	10	light green	green	bluish green

Table 3. The effects of chromogen for the various concentration of glucose

Chromogen	Concentration of glucose (mg/dl)			
	20	110	250	400
o-toluidine	yellow	green	deep blue	deep blue
4-aminoantipyrin & 4,5-dihydroxy-1,3-benzene disulfonic acid	white	pale pink	pink	red
3-methyl-2-benzthiazolinone hydrazone & 4,5-dihydroxy-1,3-benzene disulfonic acid	white	pale pink	pink	red
3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine (TMB)	yellow	green	blue	deep blue
N-(3-Sulfopropyl)-3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine (TMBZ)	light green	bluish green	blue	deep blue

benzthiazolinone hydrazone와 4,5-dihydroxy-1,3-benzene disulfonic acid 혼합액은 적색으로 발색되었다 (Table 3). 이들 중 적혈구 자체의 색과 혈당과 효소에 의한 반응 색이 서로 유사하여 발색 반응의 정확도에 영향을 미치는 색원체는 제외시키고 TMB, TMBZ를 선택하여 반응성과 안정성을 발색의 강도와 스트립의 지속기간을 관찰하여 비교하였다. TMBZ은 TMB에 sulfopropyl이 치환된 유도체이다. 실험결과 TMBZ을 사용할 경우 TMB보다 농도별 발색 양상의 차이가 크음을 알 수 있었고 TMBZ의 적정 농도는 5 mg/dl임을 알 수 있었다 (Table 4).

#### 4) Strip assembly

한 겹의 멤브레인으로는 적혈구를 효과적으로 분리시킬 수 없어 효과적인 적혈구 분리를 위한 다양한 스트립 구성을 고안하였다. 두 장의 멤브레인을 사용하여 윗 층은 적혈구가 잘 분리되도록 시약을 처리하고 아래층은 적혈구가 분리된 혈청 중 당이 반응하여 발색 반응을 일으키도록 배치하여 전 혈을 통과시켰다. 혈당과 반응하는 시약 처리된 멤브레인 한 겹만 사용하여 혈액을 통과 시켰을 경우 적혈구 분리가 잘 되지 않은 반면, 윗 층에 적혈구의 분리를 유도하기 위한 멤브레인을 설치하고 (separated membrane) 그 아래에 당과 반응하는 시약을 처리한 멤브레인을 배치하

**Table 4.** The optimum concentration of N-(3-Sulfopropyl)-3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine (TMBZ)

TMBZ (mg/ml)	Concentration of glucose (mg/dl)		
	110	250	800
2	green	green	blue
5	green	bluish green	blue
20	bluish green	bluish green	bluish green

는 것이 혈당 분석에 효과적이었으며 윗 층에 사용한 멤브레인의 선택이 중요하였다. 다양한 멤브레인 선택과 시약 처리를 실시한 결과 Hymadyne 멤브레인에 혈당 반응에 필요한 시약을 처리한 멤브레인을 두 장 겹쳤을 때 가장 진한 발색을 보였다 (Table 5).

#### 5) 표준 색표 제작

본 연구에서 개발한 혈당용 스트립의 농도별 발색 양상은 Table 6과 같다. 혈당 농도가 정상인 경우 녹색을 보이며 저 혈당인 경우 연 녹색을, 고 혈당인 경우에는 진한 녹색 또는 청색을 나타냈다. 이를 보다 객관화하기 위하여 표준 혈당용액의 색표를 만들었다. 색표를 만들기 위해 Pantone color selector 1000 (Pantone® Inc.)을 사용하였으며 혈당 표준용액을 준비한 후 제작된 멤브레인에 떨어뜨리고 2분 후 발색된 색의 정도를 관찰하여 표준 색표를 만들었다 (Table 6).

#### 6) 육안용 혈당 스트립의 제품 비교

본 연구에서 개발한 스트립을 타 회사의 제품과 비교하기 위하여 정상인과 당뇨 환자의 혈액을 시료로 사용하여 본 혈당 측정용 스트립과 미국의 Ames사, 독일의 BM사 제품의 스트립을 각

**Table 6.** Standard color chart

Concentration of blood glucose (mg/dl)	Color
0	yellow
40	light green
110	green
200	deep green
400	bluish green
800	blue

**Table 5.** The effect of membrane assembly

Membrane	Treatment of membrane		Degree of separation of red blood cells	Developed color
	Separated membrane	Reagent membrane		
Hemadyne	-	reagent	poor	light green
	reagent	reagent	good	blue
Versapore V-5000	-	reagent	poor	redish green
	reagent	reagent	poor	redish blue

**Table 7.** Comparison test with other products (for visual)

Blood donor status	Our strip	Glucostix (Ames)	CHEMSTRIP bG (BM)
Normal	110	110	120
	110	110	120
	110	110	120
	110	110	120
	110	110	120
	110	110	120
	110	110	120
	110	110	120
	110	110	120
Diabetic patients	110~200	110~140	120~180
	110~200	110~140	120~180
	200	140~180	240
	200	140~180	180
	200	140~180	180
	200~400	250~400	240
	200~400	250~400	400
	200~400	250	240

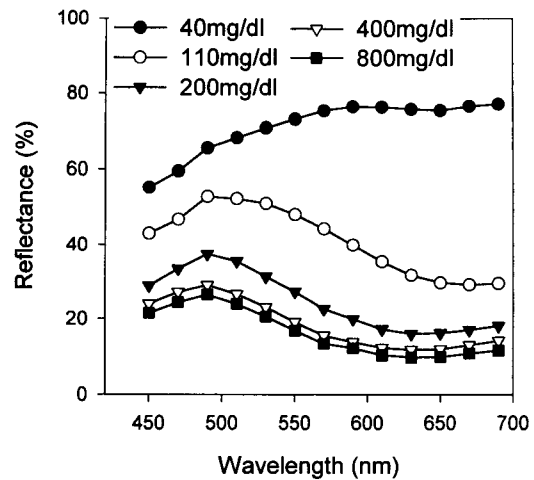
각 이용하여 혈액 중 혈당 농도를 측정하였다. 이때 혈당 분석 방법은 각 회사에서 제시된 방법을 따랐으며 각 회사 고유의 혈당 농도별 색표에 의해 혈액시료 중 혈당 농도를 측정하였다. 18개 혈액 시료의 혈당 농도를 측정한 결과 제품마다 발색에 의한 농도 차이가 다소 있었으나 정상인파 당뇨 환자의 혈액과는 구별이 되었다 (Table 7).

## 2. 분광 비색계를 이용한 혈당 분석 시스템

### 1) 최적 파장 분석 및 반사 밀도 측정

본 연구에서 개발된 스트립이 자동 분석기기 개발에 활용될 수 있는지 여부를 분광 비색계를 통하여 알아보았다. 우선 각 항목의 스트립의 최적 분석 파장을 선택하기 위하여 400~700 nm 파장을 분광 비색계로 20 nm 간격으로 계측하여 그 그래프화 하였다. 이때 D65의 광으로 2도 시야에서 small area view lens를 사용하였다.

분광 비색계를 이용하여 혈당을 측정하기 위

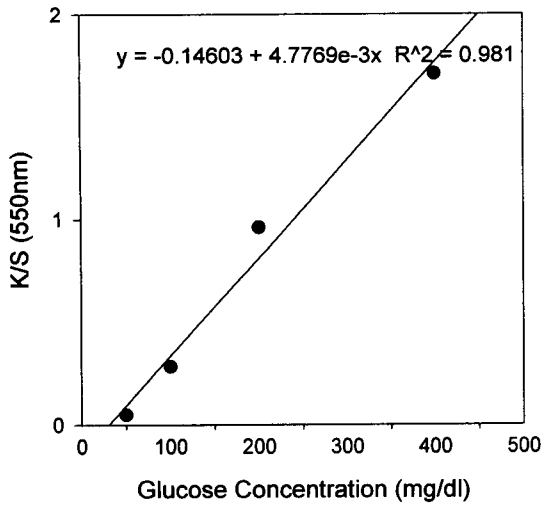


**Figure 1.** Reflectance values using the blood glucose strip with the standard glucose solution. A large drop of standard solutions (40, 110, 200, 400, 800 mg/dl) was dropped onto the reagent area of blood glucose strip and measured reflectance values of developed color with Ultrasan spectrophotometer at various wavelengths.

하여 우선 40, 110, 200, 400, 800 mg/dl의 농도를 지니는 포도당 표준 시약을 스트립에 처리한 후 분광 비색계로 각 농도에서의 반사율을 계측하였으며 550 nm 전 후의 파장에서 각 농도별 반사율이 가장 크게 구분됨을 알 수 있었다 (Figure 1). Figure 1을 근거로 550 nm 파장에서 혈당 표준 농도별 반사 밀도를 구하였다. Kubelka-munk함수에 의하면 산란계수와 흡수계수와 농도는 서로 상관 관계를 갖는다. 즉,  $(1-R_{\infty})^2/2R_{\infty} = K/S = \epsilon C/S$ 가 성립되고 이때 K는 산란계수, S는 흡수계수, C는 농도,  $\epsilon$ 는 상각 계수를 나타낸다. 이 관계식에 의하면 혈당 농도는 반사 밀도와 비례 관계를 갖게 되며, 실제 비례 관계가 성립하는지 알아본 결과, Figure 2와 같은 직선식을 얻을 수 있었다.

### 2) 분광 비색계를 이용한 혈당 분석시스템

정상인을 포함한 당뇨 환자의 혈청 20개를 모아 본 연구에서 개발된 혈당 분석용 스트립을 소재로 분광 비색계의 일종인 UltraScan을 이용하여 혈당 농도를 측정하였다. 본 연구에서 제조한 혈당 측정용 스트립에 혈청 시료를 접촉시키고 2분 후 550 nm의 파장에서 D65의 광으로 UltraScan으로 반사 밀도 값을 구하였다. Figure 2에서 얻어진 농도와 반사 밀도와의 검정선으로부터 혈당 농도를 측정하였다.

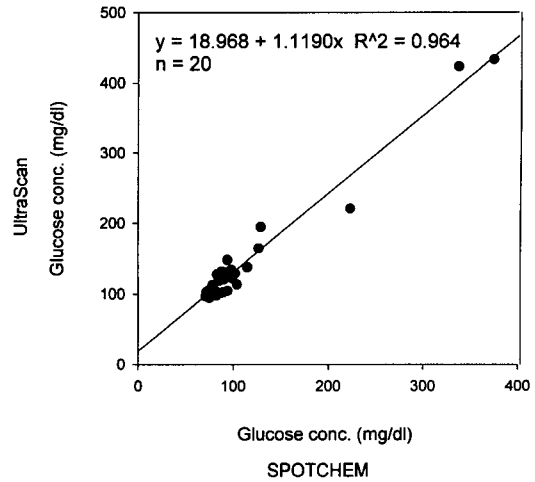


**Figure 2.** Standard curve for the blood glucose strip test. Blood glucose strips were treated with the standard solutions of glucose (40, 110, 200, 400, 800 mg/dl) and measured the K/S values at 550 nm. K/S values were plotted against concentration of blood glucose.

본 연구에서 개발한 스트립을 소재로 UltraScan 을 이용하여 혈당 농도를 분석하는 분석시스템의 결과치와 타사에서 시판하고 있는 혈액 자동 분석시스템의 결과치를 비교하였다. 즉, 일본의 Kyoto Daiichi사에서 시판하고 있는 Spotchem™ 스트립에 혈청 시료를 접촉시킨 후, Spotchem™ 혈청 자동분석기기로 혈당을 분석하여 혈당치를 얻고, 같은 혈청시료를 이용하여 본 연구에서 개발된 스트립에 혈청을 처리한 후 550 nm의 파장에서 UltraScan으로 반사 밀도 값을 측정하여 얻은 혈당치를 비교하였다. 그 결과 상관 계수가 0.96으로 측정 결과가 상호 일치함을 알 수 있었다 (Figure 3).

## 고 찰

각종 질병을 진단하고, 이를 바탕으로 치료 경과를 추적, 확인하고 질병을 예방하기 위해 인체 혈액의 생화학적 성분변화 검사가 기본적으로 행해지고 있다. 건강에 대한 관심이 고조되고 있는 현실에서 많은 사람들이 자신의 건강을 직접 확인하고 미리 예방하고자 하는 욕구가 높다. 이러한 추세에 발 맞추어 질병에 대한 객관적 정보를 제공하여 질병을 진단하는 진단제와 진단기기의



**Figure 3.** Correlation of blood glucose level measured by UltraScan spectrophotometer and Spotchem™ analyzer. Clinical studies were conducted and the results were compared with those obtained by using other commercial product. Blood glucose level of sera was measured by UltraScan spectrophotometer with our developed blood glucose strip and by Spotchem™ analyzer with Spotchem strip.

개발이 급속도로 이루어져 진단과 치료에 사용되고 있다. 최근 각종 질병 진단법은 건식 스트립과 같은 간단한 도구를 이용하여 개인이 육안을 통해 현장에서 질병을 진단하거나 또는 자동 분석기기를 통해 대량의 시료에 대해 다양한 물질을 한꺼번에 분석하여 질병을 진단하고 객관적인 분석치로 평가한다. 현재 기존의 복잡한 분석 과정을 간소화하고 짧은 시간에 대량의 시료를 정량할 수 있는 검사 방법의 개발이 급속히 증가하고 있다. 혈당의 경우, 육안용 혹은 자동 분석기용 스트립이 제조되어 여러 회사에서 시판하고 있으며 포켓용 간이 진단기기도 개발되어 환자가 어느 곳에서나 수시로 자신의 혈당치를 측정할 수 있다. 그러나 우리나라는 진단 스트립과 자동 분석기기 개발에 관한 기술이 미진한 상태여서 모두 외국에서 수입하여 사용해야만 하는 현실에 있다. 본 연구에서는 혈당을 육안과 간이 자동기기로 간편하게 측정할 수 있는 혈당 분석용 스트립을 개발하였다. 효과적인 혈당 분석을 위하여 멤브레인을 구입하여 그 특성을 조사하였으며 혈액 흡수도, 적혈구 분리도, 시약과의 반응도를 조사하여 가장 적합한 멤브레인을 혈당분석용 스트립의 기본 소재로 사용하였다. 뇨 분석용

멤브레인들이 주로 cellulose계통인 것과 달리 혈액 분석용 멤브레인은 주로 acrylicopolymer, nylon membrane, nitrocellulose 등인 것이 특징이다. 혈당 분석을 위한 실험 방법들은 이미 많이 알려져 있으나 그 중에서도 과산화 효소와 포도당 산화 효소에 의한 효소법을 응용하였으며 색원체로는 안정성이 높고 발색효과가 좋은 N-(3-Sulfopropyl)-3, 3', 5,5'-tetramethylbenzidine를 사용하였다. 그 외에도 스트립 자체의 안정성을 높이기 위해 여러 종류의 폴리머들을 첨가하였으며 발색 반응의 촉진을 위해 촉진제를 사용하였다. 제조된 스트립은 멤브레인에 혈액을 접촉시키고 2~3분 후 혈당의 농도에 따라 연 녹색에서 청색으로 발색 반응을 일으키며 표준 색표에 나타난 색을 비교하여 혈당 농도를 결정하였다.

한편 본 연구에서 개발된 스트립이 자동 분석 기기를 이용한 혈당 분석에 활용될 수 있는지 여부를 분광 비색계를 통하여 알아보았다. 최적 파장에서 각 혈당 농도별 반사 밀도 측정된 결과 직선의 검정선을 얻었으며 이 검정선에 의해 정상 혈청을 포함한 당뇨 혈청시료의 혈당 농도를 측정했다. 본 연구에서 개발한 혈당 측정 스트립을 이용한 분석시스템과 일본의 Kyoto Daiichi사에서 시판하는 스트립과 자동 진단기기를 사용한 혈당 분석시스템을 비교한 결과 유사한 혈당 분석치를 얻을 수 있었다. 이로서 본 연구에서 개발한 혈당 스트립이 한번의 채혈로 혈당량을 육안으로 측정할 수 있음은 물론 자동 분석기기의 기본 시료로 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다. 혈당 측정 스트립은 혈액 분석용 스트립의 가장 기본이 되는 스트립으로 이 기술을 바탕으로 다른 혈액 성분 분석을 위한 항목의 혈액 분석스트립을 제조할 수 있을 것이며 현재 수입에 의존하고 있는 진단제의 국내 개발에 공헌할 수 있을 것으로 기대된다.

## 참 고 문 헌

- 1) 金井 泉, 金井 正光 편저 (1983): 당질 측정법, pp. 420-428, "임상검사법 제요", 고문사.
- 2) Akiyuki O, Sachiko K, Manabu Y, Fuminori A, Masao K and Asaji K (1981): Plasma glucose concentrations of whole blood, as determined with a multilayer-film analytical element. *Clin Chem*, **27**(7): 1287-1290.
- 3) Bart C, Maria D, David C, Frank B, David U, Rainey TG and O'brin JT (1982): Bedside blood glucose determinations in critical care medicine: A comparative analysis of two techniques. *Critical Care Medicine*, **10**(7): 463-465.
- 4) Burtis CA and Ashwood ER (1994): Carbohydrates. pp. 947-980, In David BS, F.A.C.P.(ed.) "Tietz Textbook of Clinical Chemistry", 2nd Ed., WB. Saunders company, Philadelphia.
- 5) Clark AJL, Cudd RD, Colette Newey, Deirdre, Newall RG and Harry Keen (1983): Assessment of a new visual blood glucose strip. *Diabetes Care*, **6**(6): 540-542.
- 6) Eisele S, Ammon HPT, Kindervater R, Gröbe A and Göpel W (1994): Optimized biosensor for whole blood measurements using a new cellulose based membrane. *Biosensors & Bioelectronics*, 119-124.
- 7) Genter PM and Eli Ipp (1994): Accuracy of plasma glucose measurements in the hypoglycemic range. *Diabetes Care*, **17**(6): 595-598.
- 8) Göran B (1983): Home blood glucose monitoring the key to good control. *Acta Med Scand*, **671**: 29-35.
- 9) Henry JB, Nelson DA and Tomar RH (1991): Carbohydrates. pp. 172-188, Mitchell J(ed.) "Clinical diagnosis & Management", 18th Ed., WB. Saunders company, Philadelphia.
- 10) Marshall SM, Alberti, P (1983): Assessment of a new visual test strip for blood glucose monitoring. *Diabetes Care*, **6**(6): 543-547.
- 11) Michael B and Philip F (1984): Self-monitoring of blood glucose levels in diabetes. *Arch Intern Med*, **144**: 2029-2034.
- 12) Milton W and Bernard K (1958): Evaluation of glucose determinations in untreated serum samples. *Clin Chem*, **4**(5): 420-422.
- 13) Nathan G and Schmitz JM (1972): Application of a new peroxide indicator reaction to the specific, automated determination of glucose with glucose oxidase. *Clin Chem*, **18**(9): 943-950.
- 14) Parikh SC, Mistry KP and Acharya PT (1983): A comparison of blood glucose determination by a quick strip and glucose oxidase methods. *Indian J Pathol Microbiol*, **26**: 45-48.



- 15) Rajko R, Mihael R, Nataša A and Blanka R (1992): New chromogen for assay of glucose in serum. *Clin Chem*, **38**(4).
- 16) Sherwood MJ, Warchal ME, and Chen ST (1983): A new reagent strip (visidex™) for determination of glucose in whole blood. *Clin Chem*, **29**(3): 438-446.
- 17) Skarstedt MT and Usmani AM (1989): Polymers in dry reagent diagnostic chemistry. *Polymer News*, **14**(2): 38-40.
- 18) Sylvester ECJ, Price CP and Burrin JM (1994): Investigation of the potential for interference with whole blood glucose strips. *Ann Clin Biochem*, **31**: 94-96.
- 19) Koschinsky T, Dannehl K and Gries DVFA (1988): New approach to technical and clinical evaluation of devices for self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care*, **11**(8): 619-629.
- 20) Yee HY and Goodwin JF (1973): Evaluation of some factors influencing the o-toluidine reaction with glucose. *Analytical Chemistry*, **45**(13): 2162-2165.

**=Abstract=**

**Development of the Blood Glucose Strip for the Detection  
of Glucose in Blood**

**Eun-Young Song, Kyoung A Kim, Hong Soo Lee, Dur Han Kwon,  
Hyo Jine Nam, Hee Jung Kim\*, Si Myung Byun\*\* and Tai-Wha Chung†**

*Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, P.O. Box 115, Yusong,  
Taejon, Korea., Catholic University Daejon St. Mary's Hospital\* Taejon, Korea,  
Research Center for New-Biomaterials in Agriculture, 373-1 Kuseong Dong,  
Yuseong Gu, Taejon 305-701, Korea\*\**

We have developed a simple and accurate strip test that measures the blood glucose level semiquantitatively by visual observation, or qualitatively by using UltraScan spectrophotometer. The strip has solid phase reagents, including glucose oxidase, peroxidase, chromogen, affixed to a plastic support. The strip test is capable of measuring blood glucose level in the range of 0~800 mg/dl and generating the results within 2 to 3 minutes. Human blood specimens obtained from normal individuals and the diabetic patients were evaluated by the new blood glucose strip and by the kit supplied by other commercial products. The test results exhibit the correlation coefficient of 0.964. The new test strip is proven simple and accurate, and it offers an alternative to the commercially available glucose tests.

**Key Words:** Blood glucose, Strip, Analyzer

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 4(2): 103-112, December, 1998]

---

† Corresponding author