

혈당측정을 위한 폴리아크릴로니트릴 진단막의 제조(3) : 보관 환경이 글루코우즈의 농도 측정에 미치는 영향

권 석 기[†] · 유 재 우

홍익대학교 과학기술대학 화학시스템공학과
(2009년 7월 6일 접수, 2009년 7월 13일 수정, 2009년 9월 15일 채택)

The Preparation of Polyacrylonitrile Diagnostic Membranes for Blood Glucose Measurements (3) : Effects of Storage Environments on the Measurements of Glucose Concentration

Suk-Ky Kwon[†] and Jae-Woo Yu

Department of Chemical System Engineering, Hongik University, Seoul 121-791, Korea
(Received July 6, 2009, Revised July 13, 2009, Accepted September 15, 2009)

요 약: 당뇨병 환자의 자가 혈당 측정 장치에 사용할 수 있는 폴리아크릴로니트릴 진단막을 제조하였다. 제조된 폴리아크릴로니트릴 진단막을 여러 가지 환경에서 보관한 후 혈액 속의 글루코우즈의 농도를 변화시켜가며 680 nm에서의 최종 흡광도를 측정하였다. 측정된 혈당치가 보관 온도의 변화에 따라서는 크게 차이를 보이지 않았다. 다만 여러 가지 습도에서 보관한 후 측정된 결과 높은 습도에서 장기간 보관한 후의 혈당치가 기준 값보다 다소 감소하는 것을 알 수 있었다.

Abstract: Polyacrylonitrile diagnostic membranes were prepared to make blood-glucose self-checking system for diabetics. After the prepared polyacrylonitrile membranes were stored at several different environments, final absorbances at 680 nm were measured at various concentration in blood. The measured blood-glucose level did not show the big differences at the various storage temperatures. It was found that the blood-glucose level decreased a little bit compared to the standard value after 10~30 hours at high humidities.

Keywords: polyacrylonitrile, membranes, storage temperatures, humidities, diabetics

1. 서 론

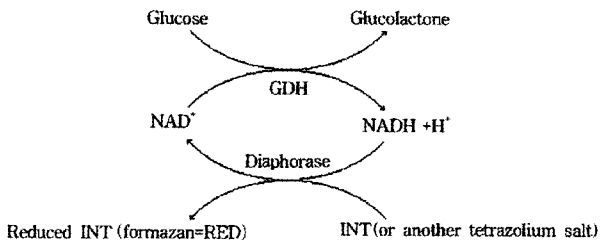
당뇨병은 췌장에서 나오는 인슐린이라는 호르몬이 거의 분비되지 않거나, 분비된다고 하여도 인슐린이 제 기능을 다하지 못해 혈액 내 혈당치가 높아서 발생하는 만성질환 중의 하나이다[1,2]. 당뇨병은 심각한 합병증을 유발시키는 질병이지만 꾸준히 혈당을 관리하고 자기의 잘못된 생활습관을 고쳐나간다면 건강을 유지할 수 있는 질병이다[3].

일반적으로 당뇨병이 생기는 원인은 두 가지로 들고 있는데 하나는 유전적인 원인이고 또 다른 하나는 환경적인 원인이라고 들 수 있다[4]. 환경적인 요소 중에 가

장 크게 영향을 미치는 것이 바로 식생활이라고 볼 수 있다. 폭음과 폭식, 고지방 음식, 지나친 스트레스, 흡연 등이 모두 당뇨병이 생기는 원인에 크게 영향을 주는 것으로 알려져 있다[3].

당뇨병은 제 1형, 제 2형, 제 1.5형의 세가지 형태로 나누어진다[2-4]. 제 1형 당뇨병은 과거에는 인슐린 의존형 또는 소아형으로 불리워졌는데 췌장의 베타세포의 파괴나 자가면역 등으로 인슐린 분비가 안되거나 또는 거의 되지 않아 식사요법과 운동요법 외에 인슐린 주사가 필수적인 형태이다. 제 2형 당뇨병은 인슐린 비 의존형 또는 성인형으로 불리워 왔고 주로 중년기 이후에 서서히 발생하며 인슐린 분비는 잘 되나 인슐린 작용이 제대로 안되는 경우이다[5,6]. 그러나 이 경우는

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



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 enzymes.

식사요법과 운동요법으로 조절이 가능한 형태이다. 제 1.5형은 최근 들어 많아진 형태로서 인슐린 요구형이라 불리고 인슐린분비는 제 1형과 제 2형의 중간이며 적절한 식사요법과 운동요법이 필요하고 때로는 경구혈당 강하제 또는 인슐린주사가 필요한 형태이다[5,7].

당뇨병에는 여러 자각 증상이 있지만 증상을 느끼지 못하는 경우도 많다. 그러므로 자각 증상만 믿고 있다는 병을 치료할 수 있는 시기를 놓칠 수도 있다. 당뇨병을 진단하는 방법으로는 크게 초기 요당검사, 기본 혈당 검사, 그리고 장기적 혈액 검사로 나누어 볼 수 있다[8]. 정기검진 등에서 행해지는 요당검사는 그 정확도가 높지 않으므로 그 결과를 크게 믿을 수는 없는 편이다. 자가진단기구를 이용하는 혈당검사는 상당히 정확하게 혈당치를 나타내지만 혈당값이 항상 변할 수 있기 때문에 순간적인 수치를 검사하는 것만으로 당뇨병의 상태를 정확히 알 수 없다[2,4]. 그러나 장기간 혈당을 검사하는 HbA_{1c}검사나 글리코알부민검사 그리고 1.5AG검사는 그 정확도가 매우 높다고 볼 수 있다[4].

당뇨병은 예방이나 진단도 중요하지만 관리가 매우 중요한 질병이다. 그러므로 당뇨병 환자나 또는 잠재적 환자의 경우 규칙적으로 혈당을 측정하기 위해 자가진단 기구의 사용이 필수적이다[9,10]. 자가진단기구에 사용되는 혈중 글루코우즈 측정방법으로는 크게 산화효소법과 환원효소법으로 나누어진다. 과거에는 산화효소법이 많이 사용되어 왔으나 산화효소법이 외부의 환경에 덜 영향을 받는 것으로 알려져 있어 점차 환원효소법을 더 많이 사용되어 진다[11]. Scheme 1에서는 glucose dehydrogenase (GDH)와 diaphorase를 이용한 환원효소법에 대한 개요를 나타내고 있다[12].

이미 앞에서 발표한 논문들에서 언급한 것과 같이 혈당 측정용 자가진단기구에 진단막이 차지하는 비중이 매우 높다고 볼 수 있다[13]. 과거에 많이 사용되어 왔던 천연 고분자 재료의 경우 환경친화적 장점은 있지만 재질의 기능을 특성화하는 데에는 다소 어려움을 갖고 있다. 합성 고분자의 경우 여러 가지 변형이 가능하고 필요에 따라 기능을 조절할 수 있다는 장점이 많아 점차 많이 사용되어 지고 있다[17-19]. 특히 폴리우레탄과 폴리아크릴로니트릴을 이용한 진단막의 장점과 단점들을 이미 발표한 논문들에 수록하였다[20,21].

혈당 측정을 위한 자가진단기구에 사용되는 진단막은 여러 가지 활성화 과정을 거쳐서 사용되어지는데 이러한 과정들은 이미 발표된 논문들에 자세하게 나타내었다[9,22]. 특히 활성화 과정에서 중요한 부분은 효소들을 진단막에 정착시키는 것이다. 그래서 자가진단기구에 사용되는 진단막의 경우 보관하는 환경에 영향을 크게 받을 수 있다[22]. 이러한 진단스트립의 경우 장기간 여러 가지 환경에서 보관되어지기 때문에 보관환경에 따른 영향들이 매우 중요하다. 본 연구에서는 제조된 진단막을 여러 가지 온도와 습도에서 장기간 보관한 후 보관환경에 따라 진단막을 통해 얻어진 혈당치에 어떠한 영향을 주는지에 대해서 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 10G, poly(vinyl alcohol), plasma (혈장), 1-ethyl-3-(3-di-methylaminopropyl)-carodiimide (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(ethylterephthalate) (PET)는 Bayer에서 구입하였고, 특별히 PET는 플라즈마에 의해 표면처리한 후 사용하였다.

2.2. 장치

효소, TiO₂, INT, 고분자 용액 등을 교반하는 데는

Talboys에서 제작한 T-Line mechanical stirrer를 사용하였다. 얻어진 용액의 점도는 Brookfield점도계로 측정하였다. 글루코오스의 농도에 따라 INT의 색 변환 정도는 Shimadzu사의 UV-2101PC 자외선/가시광선 흡광 분석기를 사용하여 분석하였다. 온도를 일정하게 유지하는 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[21]. TiO_2 용액, 지시약 용액, 효소 용액, 고분자 용액, 그리고 경화 용액들의 조성들은 이미 발표된 논문에 수록된 방법대로 진행하였다[22].

2.3.2. 진단막의 제조 및 측정시험

Dralon HIE 분리막을 활성화시킨 후 측정용 샘플을 위해 제조시키는 방법은 이미 발표된 논문에 수록된 방법대로 진행하였다[22]. 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. Formazan의 농도는 처음 10초간 급격히 증가하다가 40초 이후에 최대치를 형성한 후 최종 평형 값을 갖는 것으로 나타났다. 그래서 안정적으로 60초에서의 흡광도를 통해 형성된 formazan의 농도를 시간으로 나눈 값을 K/S로 정의하고 이 값을 통해 각각의 글루코오스의 농도를 표시하였다. 최종적으로 여러 가지 농도에서의 그래프를 그려 기울기를 통해 글루코오스와 K/S와의 관계를 얻어내었다[21].

2.4. 보관환경에 따른 진단막의 안정성 실험

2.4.1. 온도 변화에 따른 안정성 실험

활성화된 폴리아크릴로니트릴 진단막을 온도가 조절되는 환경시험실에서 보관하였다. 보관하는 온도는 5°C, 15°C, 25°C, 50°C, 70°C이며 각각의 온도에서 3일간 보관한 후 글루코오스 기준용액을 가지고 흡광도를 측정하여 K/S값을 각각 얻었다. 각각의 농도에서의 K/S값을 가지고 농도와 K/S 간의 기울기 값(Dose-Response Slope : DRS)을 구했다. 또한 50°C에서 2주, 4주, 8주씩 보관한 후 같은 방법으로 흡광도를 측정하여 최종 K/S값을 얻었다. 얻어진 각각의 K/S값을 통해 여러 보

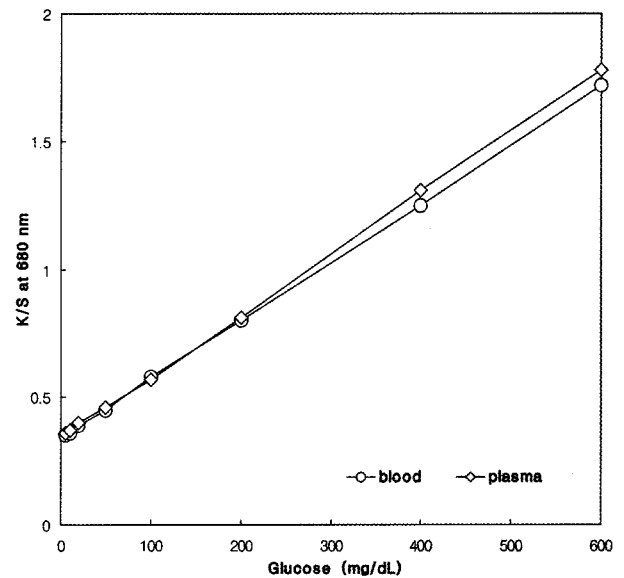


Fig. 1. Relationship between K/S values and plasma or blood glucose concentration.

관 기간에 따른 기울기값(DRS)을 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 글루코오스 농도에 따른 K/S의 영향

글루코오스의 농도를 10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg/dL로 변화시키면서 얻어진 플라즈마 용액으로 얻어진 K/S (680 nm)의 측정치와 각각의 농도에 대한 관계를 Fig. 1에서 나타내었다. K/S의 값과 농도의 관계가 직선적으로 나타나는 것을 Fig. 1에서 볼 수 있다.

또한 글루코오스의 농도를 똑같이 변화시키면서 얻어진 혈액 용액에 따라 얻어진 K/S 측정치와 농도와의 관계로 Fig. 1에서 나타내었다. Fig. 1에서 볼 수 있는 것처럼 K/S 측정치와 글루코오스의 농도가 직선적으로 나타내었다. Fig. 1에서 플라즈마 액에서 각각의 DRS는 큰 차이가 없으나 다만 플라즈마에서 얻은 DRS가 혈액에서의 DRS보다 다소 가파른 것을 관찰할 수 있었다.

3.2. 온도변화에 따른 안정성 결과

폴리아크릴로니트릴로 제조된 진단막을 각각 다른 온도(5°C, 15°C, 25°C, 50°C, 70°C)에서 3일간 보관한 후 글루코오스 기준 용액과 반응시킨 후 얻어진 결과를 Fig. 2에서 나타내었다. Fig. 2에서 볼 수 있는 것처럼 DRS값이 온도의 변화에 따라 큰 차이가 나타나지 않았

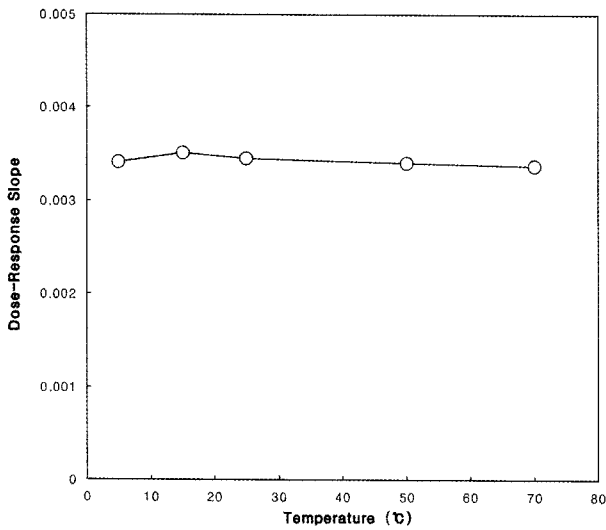


Fig. 2. Dose-response slope for 3 days at various temperatures.

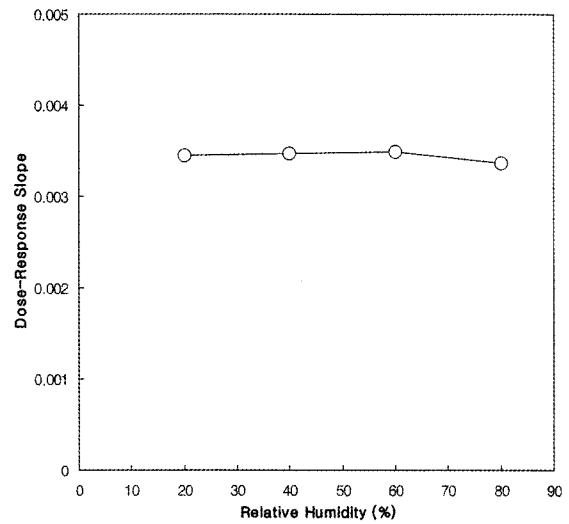


Fig. 4. Dose-response slope for 5 hrs at various relative humidities.

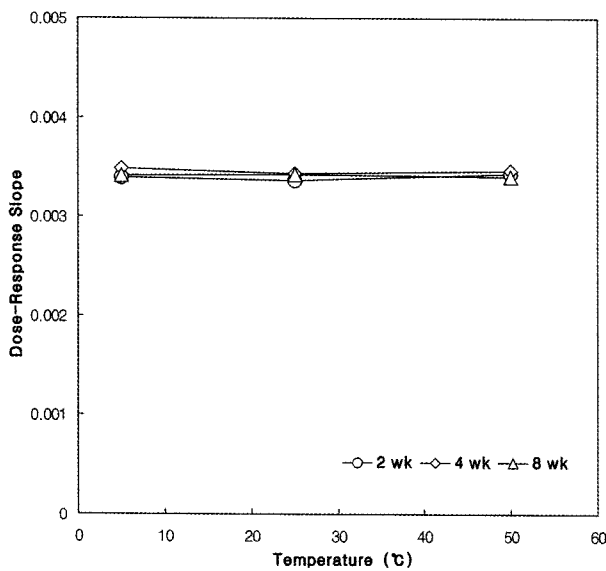


Fig. 3. Values of dose-response slope at various temperatures for 2 wks, 4 wks, and 8 wks.

다. 온도가 증가함에 따라 약간 큰 DRS의 값을 나타내고 있지만 충분히 오차 범위내에 있어 3일간 보관하는 경우 온도의 영향을 거의 받지 않는 것을 알 수 있었다.

장기간 보관했을 때 온도가 미치는 영향을 알아보기 위해 폴리아크릴로니트릴 진단막을 15°C, 25°C, 50°C에서 2주, 4주, 8주씩 보관한 후 측정된 결과를 Fig. 3에서 나타내었다. Fig. 3에서 볼 수 있는 것처럼 15°C, 25°C, 50°C에서 장기간 보관하여도 DRS 측정치가 큰 차이를 나타내지 않았다. 2주에서 8주 같이 여러 기간

동안 다양한 온도에서 폴리아크릴로니트릴 진단막이 매우 안정하게 보관될 수 있음을 알 수 있었다.

3.3. 습도 변화에 따른 안정성 결과

제조된 폴리아크릴로니트릴 진단막을 상대습도 20%, 40%, 60%, 80%로 고정된 환경실에서 5시간 보관한 후 얻은 각각의 DRS와 습도와의 관계를 Fig. 4에서 나타내었다. Fig. 4에서 볼 수 있는 것처럼 다양한 상대습도에서 5시간 보관한 결과 DRS가 거의 큰 차이를 나타내지 않았다.

또한, 상대습도 40%, 60%에서 8시간, 16시간, 24시간, 48시간 보관한 후 나타난 결과를 Fig. 5에서 나타내었다. 두 가지 상대습도에서 장시간 보관하여도 폴리아크릴로니트릴 진단막으로부터 얻은 DRS 값이 크게 변하지는 않지만 높은 습도에서 24시간 이상 보관한 경우 DRS 값이 다소 감소하는 것을 Fig. 5를 통해 알 수 있었다. 일반적으로 보관습도가 효소의 작용에 영향을 보이는 것으로 알려져 있으나 본 실험에서는 보관습도가 글루코우즈 농도 측정에 큰 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

4. 결 론

폴리아크릴로니트릴 진단막을 이용한 글루코오즈의 농도를 여러 가지 환경 변화에 따라 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

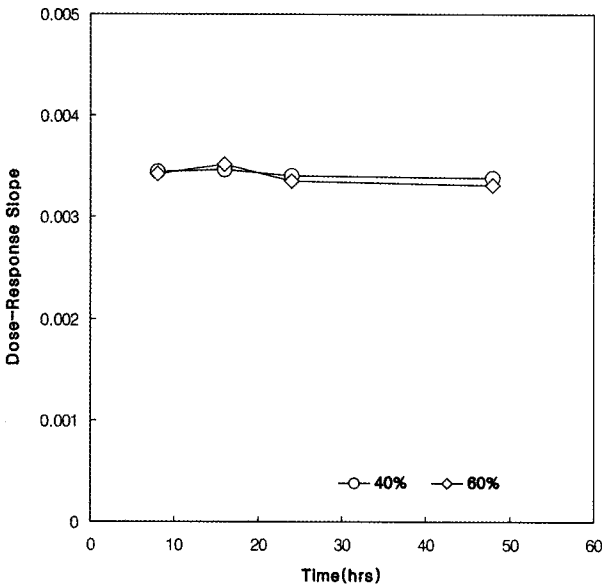


Fig. 5. Values of dose-response slope at 40%, and 60% RH for different storage durations.

1) 플라즈마와 혈액 속의 글루코오스의 농도와 680 nm에서 얻어진 K/S 측정치가 각각 직선적인 관계를 나타내었다.

2) 보관온도를 5°C, 15°C, 25°C, 50°C, 70°C로 변화시키면서 폴리아크릴로니트릴 진단막을 각각 3일, 2주, 4주, 8주간 보관한 후 K/S 측정치를 얻은 결과 DRS가 온도의 변화에 크게 차이를 나타내지 않음을 알 수 있었다.

3) 제조된 폴리아크릴로니트릴 진단막을 상대습도를 변화시키면서 장시간 보관한 결과 DRS가 시간이 증가함에 따라 다소 감소하지만 오차 범위 안에 들어 보관환경이 진단막의 글루코오스 농도 측정에 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

감 사

본 연구는 2009년도 홍익대학교 학술 연구 진흥비에 의하여 연구되었기에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 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", *Membrane Journal*, **18**, 4 (2008).
2. T. Asano and T. Norioka, "Diabetes", Nihon Bungeisha, Tokyo (2000).
3. T. Asano, "Diabetic Food and Life style", Shufu-To-Seikatsusha Co., Tokyo (2005).
4. K. Huh, "Diabetic Health", D&C, Seoul (2006).
5. S. Kim, "Life Guide for Diabetes Control", Hyoseong, Seoul (1993).
6. J. Kim, "Diabetes : Diagnostics and Control", Ohsung, Seoul (1997).
7. K. Lee, "Modern Disease Digest", Kuckminilbosa, Seoul (1992).
8. Home Health Management Research Institute, "Diabetes", Kumyong, 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, "Basic Studies on the Preparation of Diagnostic Membranes by Using Multi-Layered Gelatin Films to Measure Blood Glucose Level of Diabetics", *Membrane Journal*, **8**, 1 (1998).
13. S. Kwon and B. Lee, "Studies on the Multi-Layered Gelatin Diagnostic Membranes for Diabetes (1) : Effects of Temperature and Humidity on the Diffusion-Controlled Rates of Glucose", *Membrane Journal*, **9**, 2 (1992).
14. 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).

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. R. E. Kesting, "Synthetic Polymeric Membranes", Wiley. Interscience, New York (1985).
17. 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).
18. 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).
19. S. Kwon, "A Study on the Preparation of Polyurethane Diagnostic Membrane for Urine Glucose Test", *J. Kor. Ind. & Eng. Chem.*, **5**, 6 (1994).
20. S. Kwon, "A Study on the Preparation of Polyurethane Diagnostic Membrane for Urine Glucose Test", *J. Kor. Ind. & Eng. Chem.*, **5**, 6 (1994).
21. S. Kwon, I. Park, and D. Yoon, "The Preparation of Polyacrylonitrile Diagonostic Membranes for Blood Glucose Measurements (1): Effects of Temperature and Humidity on the Measurements of Glucose Concentration", *Membrane Journal*, **17**, 4 (2007).
22. 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).