

혈액 내 장애성분이 새로운 형태의 포스파젠 진단막을 이용한 혈당 측정에 미치는 영향

권 석 기[†]

홍익대학교 과학기술대학 바이오화학공학과
(2015년 5월 22일 접수, 2015년 6월 10일 수정, 2015년 6월 10일 채택)

Effects of Interferents in Blood on the Blood Glucose Measurements by Using the New Type of Phosphazene Diagnostic Membranes

Suk-Ky Kwon[†]

Department of Biological and Chemical Engineering, Hongik University, Seoul 121-791, Korea
(Received May 22, 2015, Revised June 10, 2015, Accepted June 10, 2015)

요약: 새로운 형태의 포스파젠 진단막을 제조해 혈액 속의 글루코오스의 농도를 측정하였다. 혈액 속에 존재할 가능성이 높은 장애성분들을 4가지 그룹으로 분류하여 혈당 측정에 미치는 영향을 조사하였다. 가장 낮은 농도를 나타내는 시리즈 I의 경우, 대부분의 첨가물들이 혈당 측정에 큰 영향을 미치지 않았으나, 오직 ascorbic acid (AA)만이 기준 용액보다 5~8% 정도 높은 K/S 결과치를 나타내었다. 시리즈 II의 경우, 네 가지 첨가물 모두 기준 용액의 K/S 결과치보다 3~4% 다소 낮은 값을 보였으나 농도에 따른 일정한 값을 보여 주었다. 시리즈 III의 경우, 세 가지 첨가물 모두 기준 용액에서 얻어지는 K/S 결과치와 큰 차이를 보이지 않았다. 가장 높은 농도를 나타내는 시리즈 IV의 경우, 두 가지 물질 모두가 기준 값보다 11~15% 정도 낮은 수치를 나타내었으나 혈당 측정에 크게 영향을 주지는 않았다.

Abstract: The new types of phosphazene diagnostic membranes have been prepared for blood glucose measurements. The possible interferents in human blood were sorted into 4 different series and their effects on the glucose measurements were examined. In case of series I which indicates the lowest concentration, most of them did not show any serious effects on the blood glucose measurements, but only ascorbic acid (AA) showed 5~8% higher values compared to K/S values of the standard solution. In case of series II, all of four interferents showed 3~4% lower K/S values than those of plasma, but they showed consistent values by concentration variation. In case of series III, all of three interferents did not show any big differences compared to the standard solution. In case of series IV which indicates the highest concentration, two interferents showed 11~15% lower K/S values than the standard values, however they did not any serious effect on the blood glucose measurements.

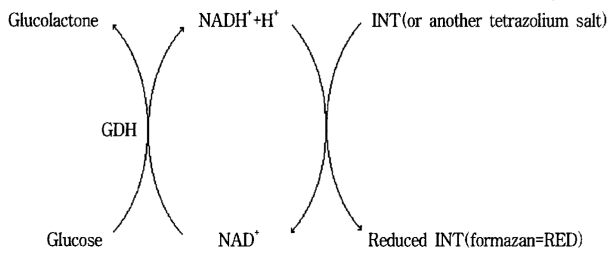
Keywords: phosphazene, membranes, diabetes, glucose, measurements, interferents

1. 서론

현대인들은 운동량이 부족하고, 기름진 음식을 즐기며, 많은 스트레스를 받고 있기에 그들이 여러 가지 질병을 보유하는 비율이 점점 증가하는 추세이다[1]. 그중에 가장 건강을 위협하는 만성질환 중에 하나는 바로 당뇨병인데 그것은 당뇨병이 오랫동안 성인의 생명에

매우 치명적인 영향을 주었기 때문이다[2]. 당뇨병은 혈액 속에 글루코오스의 농도가 높아져서 발생하는 질병으로 그 원인은 아직 정확하게 밝혀져 있지 않으나 주로 유전적인 요소가 가장 크다고 알려져 있고 그 다음은 환경적인 요소, 그리고 미생물에 의한 체장의 감염 등이 그 원인으로 알려져 있다[3]. 당뇨병은 글루코오스를 혈액에서 세포로 이동시켜주는 효소인 인슐린이 제

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



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

Fig. 1. Analytical method of reductive enzymes.

역할을 다하지 못하게 됨으로써 심각한 상황을 만들게 된다[4]. 그러므로 당뇨병은 인슐린의 정도에 따라 크게 세 가지 형태로 구분된다[5]. 제1형으로 알려져 있는 인슐린 의존형의 경우, 주로 어린 나이에 발생하는데 췌장이 그 기능을 완전히 못하게 되어 인슐린이 아예 생산되지 않거나 또는 완전히 변형된 인슐린이 만들어져서 글루코오스를 전혀 세포로 이동시키지 못하므로 인슐린의 투여가 필수적이다[6]. 제2형으로 알려진 인슐린 비의존형의 경우, 주로 중년 시기에 발병하는데 일반적으로 인슐린이 생성되나 그 수가 다소 작거나 또는 약간 변형되어 운동과 식습관 조절 등으로 혈당 조절이 가능하다[7]. 하지만 최근에는 인슐린 요구형으로 알려진 당뇨병도 매우 급격히 증가하고 있는데 이러한 경우 운동과 식습관 조절, 그리고 인슐린 투여를 적절히 조절해야 하므로 제1.5형으로도 불린다[6-7].

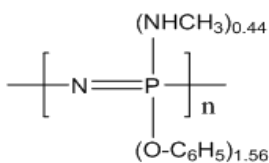
당뇨병은 만성적인 질병으로 단기간 건강이 악화되기보다 장기간 높은 혈당을 조절하지 않고 방치할 경우 그 합병증에 의해 시력을 잃거나 신장과 심장들이 크게 상하게 되는 등 심각한 문제를 일으킨다[8]. 그러나 초기에 발견하여 식습관 조절과 운동으로 1차 혈당을 관리하고, 심각한 경우는 인슐린을 투여하거나 또는 경구 혈당 강하제들을 이용해 혈당을 조절하면 큰 부작용을 얻지 않고 건강을 유지할 수 있다[9].

당뇨병은 예방이 가장 중요하고, 그 다음은 초기 진단, 그리고 장기적인 혈당 조절이 매우 중요한데 어떠한 경우도 정기적인 혈당 측정이 필수적이다[10]. 당뇨병을 진단하는 방법으로는 초기 소변 검사, 자가 진단

기구를 이용한 단기간 혈당검사, HbA_{1c}나 글루코알부민을 이용하여 병원에서 행해지는 장기 진단 등이 있다[11-12]. 정상인의 혈당은 공복 시 혈당이 100 mg/dL 미만이고, 당 부하 2시간 후 혈당이 140 mg/dL 미만이지만, 공복 혈당이 100~125 mg/dL인 경우 당뇨병 보유 가능한 사람이고, 공복 혈당이 126 mg/dL 이상이면 당뇨병 환자로 간주한다[12].

혈당을 측정하는 자가 혈당측정기에 사용되는 방법으로는 혈액 속의 글루코오스와 효소들을 반응시켜 지시제의 색이 변하는 정도를 이용해 측정한다[13]. 이러한 방법에는 산화효소를 이용하는 방법과 환원효소를 사용하는 방법으로 크게 나눌 수 있는데 환원효소의 경우 외부의 산소량에 의존하지 않고 일정한 결과를 나타내기 때문에 최근에 많이 사용되어진다[14]. Fig. 1은 환원효소를 glucose dehydrogenase (GDH)와 diaphorase를 이용한 환원효소법에 대한 개요를 나타내고 있다[15]. 혈액이 진단막 위에 투여하면 글루코오스와 효소가 반응하여 진단막 속에 들어 있는 지시제들의 색이 변하게 되고 색의 변화에 따른 특정 파장에서의 흡광도의 차이를 측정해 혈당의 농도를 구한다[16]. 그러므로 이때 사용되는 진단막의 역할은 매우 중요하여 오랫동안 그 재질에 대해 연구되어 왔다[17-18]. 초기의 진단막 재질로는 천연고분자가 많이 사용되었으나, 최근에는 여러 가지 합성 고분자가 자가 혈당 측정용 진단막의 재질로 더욱 많이 사용되어진다[19-20]. 폴리우레탄과 폴리아크릴로니트릴과 같이 소수성이 강하고, 필름형성 능력이 탁월하고, 강도가 우수한 재질들이 진단막의 재질로 많이 사용되어지고 있다[21-22]. 그중 당뇨병 진단막으로 가장 많이 사용되어지던 우레탄 진단막의 경우 너무 소수성이 뛰어나 글루코오스의 침투속도가 느리다는 단점을 가지고 있다[23].

최근 들어 활발히 연구되고 있는 포스파젠 고분자의 경우, 열적 화학적 내구성이 뛰어나고, 물리적, 기계적 강도가 뛰어나고, 필름이 잘 형성되며, 또한 생체적합성이 우수하여 생체 고분자의 재료로서 많이 사용되고 있다[24-26]. 특히 포스파젠 고분자의 경우 인에 붙어 있는 치환체에 따라 그 화학적 물리적 성질을 쉽게 변화시킬 수 있다는 매우 큰 장점을 가지고 있어 치환체에 따라 다양한 물성을 갖는 재료로 만들 수 있기 때문에 진단막으로서의 효용성이 더욱 뛰어나다고 볼 수 있다[27-28]. 그러므로 지난 몇 년간 포스파젠 고분자를 이용한 자가 진단용 혈당 측정 진단막에 대한 연구가 활



Polyphosphazene(4)

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

발히 전개되어져 왔다[29-30].

앞선 연구에서는 필름형성이 용이하고 소수성이 강한 폐녹시기를 기본적으로 치환시킨 후 친수성이 뛰어난 메틸아미노기를 함께 치환시켜 친수성과 소수성을 함께 가지고도 물리적 강도가 뛰어난 새로운 형태의 혈당 측정용 포스파젠 진단막을 제조하였다[31]. Fig. 2에서는 본 연구에 사용된 메틸아미노기와 폐녹시기가 함께 치환된 포스파젠 고분자(4)의 화학식을 보여주고 있다.

본 연구에서는 먼저 소수성과 친수성을 필요한 만큼 함유한 포스파젠 고분자를 합성하고, 만들어진 포스파젠 고분자를 적당한 두께의 필름으로 만들고, 얻어진 필름을 효소와 지지체 등으로 활성화시킨 후, 글루코우즈의 농도를 측정하기 위한 진단막으로 제조하였다 [31]. 그 다음 다양한 농도의 글루코우즈를 함유한 혈장과 반응시켜 혈당 측정용 진단막으로서의 가능성을 조사하였다. 실제적으로 진단막을 가지고 혈당을 측정할 경우 혈액 속에 존재할 가능성이 높은 여러 가지 첨가물들이 혈당 측정에 어떠한 장애 요인으로 작용하는지가 매우 중요하다[30]. 그러한 첨가물들이 혈당 측정 과정에 어떠한 영향이라도 미치면 정확한 혈당을 측정하는데 문제를 일으킬 수 있으므로 그러한 영향에 대한 조사는 필수적이다. 그러므로 본 연구에서는 혈액 속에 다양한 농도로 존재할 가능성이 높은 물질들을 그 농도 별로 분류하여 각각의 첨가물들이 글루코우즈의 농도 측정에 어떠한 영향을 주는지를 조사하였다.

2. 실험

2.1. 시약

포스파젠과 관련된 합성은 모두 질소 분위기 하에서 이루어졌다. 용매로 사용되어진 tetrahydrofuran (THF) 은 나트륨과 벤조페논을 넣어 흑청색으로 바뀐 후 증류

하여 사용하였다. Hexachlorocyclo- triphosphazene (1) (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 고리 개환 중합시켜서 얻었다[32]. 메틸아민은 Matheson으로부터 구입하였으며 금속 소독을 이용해 수분을 제거한 후 사용하였다.

Creatinine, bilirubin, UA, ibuprofen, potassium, ephedrine, TA, pentoxifylline, cholesterol, triglycerides, AA, SA, 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. Phenol, sodium spheres, sodium hydride, hydrochloric acid, benzophenone, hexane, TiO₂ (325 mesh size, anatase) 등은 Aldrich에서 구입해 정제 없이 사용하였다. Poly(ethyl terephthalate) (PET)는 Bayer에서 구입하였고 플라즈마에 의해 표면처리한 후 사용하였다.

2.2. 장치

고분자 중합과 분석을 위해서는 250°C로 조절되는 오븐 속에서 기계적 장치를 통해 계속적으로 고리형 삼량체를 함유한 파이렉스튜브를 흔들어주는 중합시스템을 사용하였다. 유리 속에서 중합된 고분자는 질소기류 하의 glove box에서 꺼내 승화기에 넣고 미반응 고리형 염화 삼량체를 제거한 후 필요한 양만큼 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 이때의 인의 화학적 이동은 85% H₃PO₄ 수용액에서 얻어지는 인을 기준값으로 해서 측정하였다. 적외선 분광 스펙트럼은 Bio-Rad FTS-165 적외선 분광기를 사용하였고, 원소 분석은 Carlo Erba EA1108 원소분석기를 사용하였다. 분자량은 polystyrene gel column을 이용한 Spectra-physics

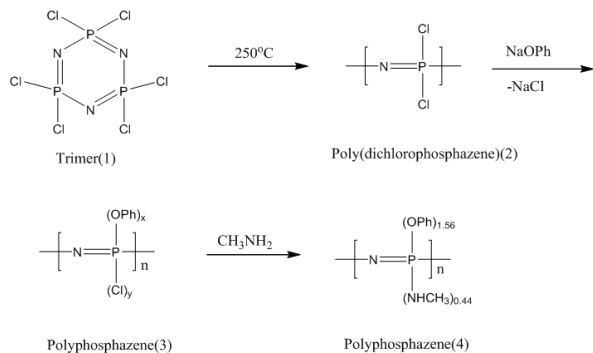


Fig. 3. The reaction sequences for the synthesis of phenoxymethylamino cosubstituted polyphosphazenes.

P1000 PL을 사용하여 측정하였다.

Enzyme, TiO_2 , 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) (2)의 제조

미리 정제된 고리형 염화 삼량체(1)을 파이렉스 튜브에 넣고 진공상태에서 불꽃을 이용해 밀봉하였다. 밀봉되어진 튜브에 철사 망을 입힌 후 중합 오븐에 넣고 250°C 에서 기계적 장치를 통해 흔들며 서서히 중합반응을 시켰다. 중합에서 얻어진 큰 분자량의 고분자(2)를 질소 기류 하에서 유리튜브로부터 분리하고 승화장치를 이용해 50°C 에서 미반응된 고리형 염화 삼량체를 제거하여 정제하였다[32].

2.4. $[\text{NP}(\text{OC}_6\text{H}_5)_{1.56}(\text{NHCH}_3)_{0.44}]_n$ (4)의 합성

이 합성의 개요는 Fig. 3에 자세히 나타내었다. Phenol (6.02 g, 0.064 mL)을 100 mL의 THF 속에 용해시킨 다음 과량의 sodium hydride를 첨가한다. 25°C 에서 5시간 후 질소 하에서 용액을 거른 다음 걸러진 맑은 용액을 200 mL의 THF에 녹아있는 poly(dichlorophosphazene) (2) (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 첨가

한다. 5시간 후 반응액이 25°C 가 되도록 하여 이 반응 메틸아민 가스가 실리콘 oil bubbler를 통과해 빠져 나가도록 한다. 반응 액은 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 침전시키는 과정을 5번 반복하고, 그리고 고분자를 THF에 녹여 hexan에 침전시키는 과정을 3번 반복한다[27].

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[30].

글루코우즈 농도를 측정하기 위한 샘플은 포스파젠 분리막을 활성화시킨 후 $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ 크기로 잘라 이미 발표된 논문에서 수록된 방법대로 제조하였다[31]. 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 글루코우즈를 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 글루코우즈의 농도를 나타내었다. 최종적으로 그래프 상의 여러 가지 농도에서의 기울기를 통해 글루코우즈와 K/S와의 관계를 얻어 내었다[31].

또한 글루코우즈의 농도의 변화에 따라 얻어지는 기울기의 값이 이상적인 값을 갖게 되어 포스파젠 진단막을 이용한 혈당 측정이 보다 정확하게 이루어질 수 있다는 것을 보여주었다.

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

| Series No. | Concentration (mg/dL) | Kinds of Interferents |
|------------|------------------------|-------------------------------------|
| I | 5, 10, 15, 20 | Creatinine, Bilirubin, UA, AA |
| II | 10, 20, 30, 40, 50 | Ibuprofen, Potassium, Ephedrine, TA |
| III | 20, 40, 60, 80 | Cholesterol, Pentoxifylline, SA |
| IV | 1000, 2500, 5000, 7500 | Triglycerides, BSA |

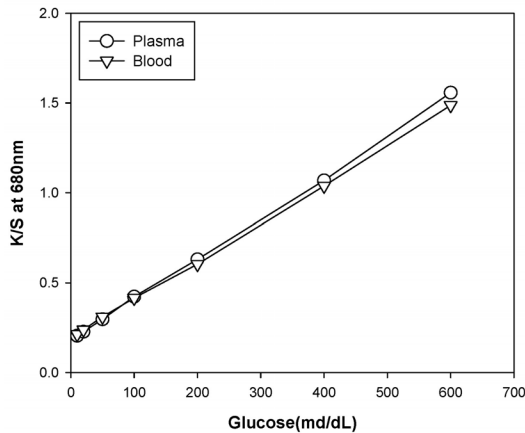


Fig. 4. Relationship between K/S values and plasma or blood glucose concentration.

2.4. 혈액 속의 장애 성분 영향 조사 시험

포스파젠 고분자 진단막에 글루코우즈 100 mg을 혈장 100 mL에 녹여 만든 기준용액과 반응시켜 얻어진 흡광도를 통해 각각의 K/S를 구하였다[31]. 그런 다음 Table 1에 나타난 농도에 따라 각종 화합물을 혈장에 녹여 시험용 용액들을 각각 만들었다. Table 1에 나타난 Series의 분류는 각각의 화합물들이 혈액 속에 어느 정도 존재할 가능성이 있는지에 따라 이루어졌다. 먼저 Series I은 주로 인체 내에서 생성되어지는 물질들로서 그 혈중 농도가 5 mg/dL에서 25 mg/dL로 알려져 있다 [30]. Series II는 주로 기관지 치료 또는 소염 진통을 위해 투여되는 치료제들로 혈액 속에 10 mg/dL에서 50 mg/dL 정도 존재하는 것으로 알려져 있다[30]. Series III은 혈액 속에 20 mg/dL에서 100 mg/dL 정도 존재할 가능성이 있는 화합물들로 cholesterol과 알리지성 접착성 피부부에 쓰이는 pentoxifylline과 해열진통제인 아스피린을 포함시켰다[30]. Series IV는 가장 혈액 속에 많이 존재할 가능성이 있는 지방 성분과 단백질 성분들을 포함시켰다[30]. 원하는 농도에 따라 만들어진 여러 가지 화합물을 농도를 변화시켜가며 포스파젠 고분자 진단막과 반응시켜 각각의 K/S를 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 글루코우즈 농도와 K/S와의 관계 실험 결과

새로운 형태의 페녹시-메틸아미노기가 함께 치환된 포스파젠 고분자를 가지고 제조된 혈당 측정용 진단막을 이용해 글루코우즈 농도와 K/S와의 관계를 조사하였다. 글루코우즈를 100 mL의 혈장에 10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg씩 각각 녹여 기준용액을 만들고 그 용액들을 가지고 새로운 형태의 포스파젠 고분자 진단막에서 얻어진 680 nm에서의 흡광도를 통해 K/S와 각각의 농도와의 관계를 얻어 Fig. 4에 나타내었다. K/S의 결과치와 글루코우즈 농도와의 관계가 직선적으로 나타나는 것을 Fig. 4를 통해 알 수 있었다.

또한 혈액 100 mL에 똑같은 양의 글루코우즈를 각각 녹여 위의 실험과 같은 과정을 거쳐 얻어진 결과도 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서 볼 수 있는 것처럼 혈액속의 글루코우즈의 농도도 K/S 결과치와 직선적인 관계를 나타내었다.

Fig. 4에 나타난 혈장과 혈액 속에서 얻어진 기울기 값(Dose-Response Slope : DRS)이 거의 비슷한 값을 보여 새로운 형태의 포스파젠 고분자 진단막을 통한 글루코우즈 농도 측정이 효과적으로 이루어질 수 있음을 알 수 있었다.

3.2. 혈액 속의 첨가물이 여러 가지 글루코우즈 농도에서의 K/S의 측정치에 미치는 영향

3.2.1. 첨가물 시리즈 I

혈액 속에 존재할 가능성이 가장 적은 화합물 중 그 농도가 5 mg/dL에서 25 mg/dL인 creatine, bilirubin, UA, AA 등을 Series I으로 분리하고 그 각각의 네 가지 첨가물들이 여러 가지 글루코우즈 농도에서 얻어지는 K/S 측정치에 미치는 영향을 조사하였다. Fig. 5는 시리즈 I의 네 가지 화합물의 농도에서 얻어진 K/S의 결과치를 보여주고 있다. Fig. 5에서 볼 수 있는 것처럼 네 가지 첨가물 모두 거의 비슷한 경향의 결과를 나타

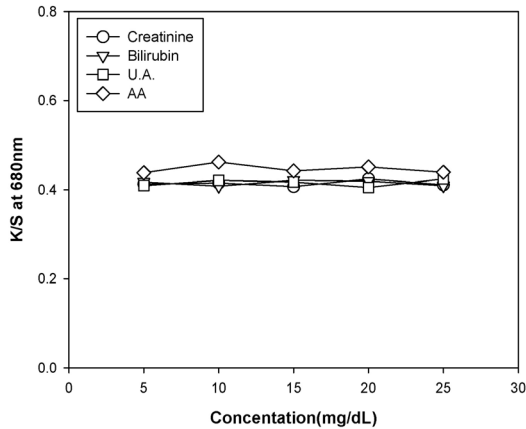


Fig. 5. Relationship between K/S values and glucose and interferences series I.

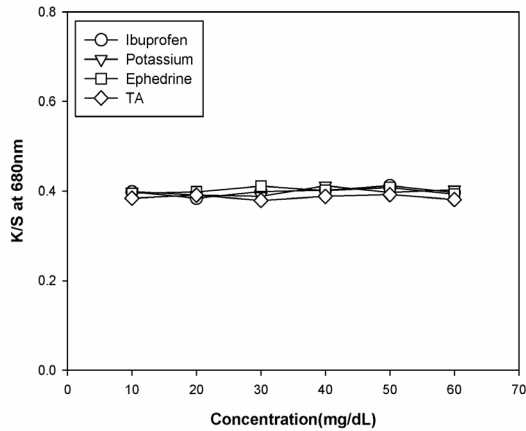


Fig. 6. Relationship between K/S values and glucose and interferences series II.

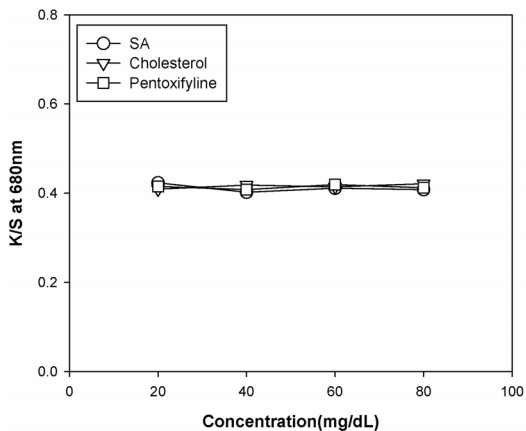


Fig. 7. Relationship between K/S values and glucose and interferences series III.

내었다. AA의 경우 앞에서 얻어진 논문들의 결과와 다소 비슷하게 다른 세 가지 첨가물의 K/S보다 농도에 따라 5%~8% 정도 높게 나타났는데 이에 대한 정확한 원인은 알려져 있지 않으나 AA가 글루코우즈와 환원요소를 통한 INT의 반응속도에 영향을 주어 다소 증가시키는 것으로 추정된다.

3.2.2. 첨가물 시리즈 II

혈액 속에서의 농도가 10 mg/dL에서 50 mg/dL로 가능한 ibuprofen, potassium, ephedrine, TA의 경우 시리즈 II 분류하였고 각각의 첨가물의 농도를 10 mg/dL에서 50 mg/dL로 변화시켜 가면서 글루코우즈 농도(100 mg/dL)와 K/S 결과치와의 관계를 Fig. 6에 나타내었다.

Fig. 6에서 볼 수 있는 것처럼 시리즈 II의 ibuprofen, potassium, ephedrine의 경우 모두 기준 용액의 K/S 결과치보다 3%~4% 다소 낮은 값을 보였으나 농도의 변화에 따른 값이 일정한 관계를 보여 주고 있어 글루코우즈의 농도를 측정하는데 시리즈 II의 세 가지 화합물 중 어떤 것도 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

3.2.3. 첨가물 시리즈 III

첨가물 시리즈 III로는 cholesterol, pentoxifylline, BSA 등이 분류되어 있는데 이 화합물들은 혈액 속의 농도가 50 mg/dL에서 100 mg/dL일 것으로 추정되는 첨가물이다. 앞선 실험과 같은 방법으로 이 세 가지 화합물이 여러 가지 글루코우즈의 농도에서 글루코우즈의 농도 측정에 미치는 영향을 조사하였다. 실질적으로 세 가지 화합물의 농도를 20 mg/dL에서 100 mg/d로 변화시켜가며 포스파젠 고분자 진단막을 통해 얻어진 K/S 결과치를 얻어 내어 Fig. 7에 나타내었다. Fig. 7에서 보여진 것처럼 세 가지 첨가물 모두 기준 용액에서 얻어지는 K/S 결과치와 거의 같은 수치를 보여주므로 시리즈 III의 화합물들은 글루코우즈의 농도 측정에 거의 영향을 주지 못한다는 것을 알 수 있었다.

3.2.4. 첨가물 시리즈 IV

혈액 속에 가장 많이 존재할 가능성이 있는 triglycerides와 BSA를 시리즈 IV로 분류하였고 이 두 가지 화합물을 가지고 혈당 측정에 미치는 K/S 결과치에 대한 영향을 조사하기 위해 그 최대 농도를 최소 1000 mg/dL에서 7500 mg/dL까지 변화 시켜가며 실험하였다. 이러한 실험을 통해 얻은 결과들을 Fig. 8에 나타내

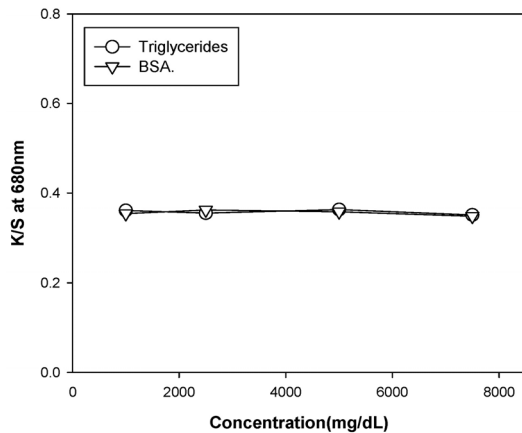


Fig. 8. Relationship between K/S values and glucose and interferences series IV.

었다.

Fig. 8에서 볼 수 있는 것처럼 시리즈 IV의 첨가물 두 개에서 얻어진 K/S 결과치가 다른 첨가물에서 얻어진 K/S 결과치보다 11%~15% 정도 다소 낮게 나타났다. 용액 속에 녹아 있는 두 가지 첨가물의 농도가 매우 높아 다른 첨가물 보다 글루코우즈 농도 측정에 영향을 줄 수 있고 또한 이러한 원인 때문에 글루코우즈와 환원효소의 반응으로 얻어지는 INT의 생성속도를 다소 늦어지게 하는 것으로 추측해 볼 수 있다. 이러한 결과는 앞선 논문에서 나타난 경향과 거의 같았다[30].

3.3. 포스파젠 진단막과 상용 진단막과의 비교 검토

현재 당뇨병 진단막으로서 많이 사용되는 재질로는 젤라틴과 같은 천연 고분자와 우레탄과 같은 합성 고분자가 있다. 각자의 고분자 진단막은 장점과 단점들을 가지고 있는데 가장 중요한 것은 혈장이나 혈액 속에 녹아 있는 글루코우즈의 농도를 얼마나 일정하게 나타내느냐에 달려 있다. 본 실험에 사용한 포스파젠 진단막의 경우 기존 사용되는 상용 진단막에 비해 아주 좋은 반복성과 정확성을 나타내었다. 특히 상용 진단막의 경우 680 nm에서의 K/S 결과치가 각종 첨가물에 따라 0.49에서 0.9까지의 넓은 범위를 갖는 것으로 나타났으나, 본 연구에서 사용한 포스파젠 진단막의 경우 K/S가 0.39에서 0.45의 좁은 범위로 나타나 그 영향이 더 적다고 볼 수 있었다. 또한 글루코우즈의 농도에 따라 얻어지는 DRS의 값도 아주 일정한 값으로 나타났다.

4. 결 론

혈액 속에 다양한 농도로 존재하는 여러 가지 화합물들이 포스파젠 고분자 진단막을 이용하여 글루코우즈의 농도를 측정할 때에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각각의 첨가물들의 농도를 변화시키며 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈장과 혈액 속에 녹아있는 글루코우즈의 농도와 680 nm에서 얻어진 K/S 결과치가 각각 직선적인 관계를 갖고 있음을 알 수 있었다.

2. Series I에 속한 첨가물의 농도를 5 mg/dL에서 25 mg/dL로 변화시키며 조사한 결과 creatinine, bilirubin, UA등은 기준용액의 K/S 결과치와 거의 같은 값을 갖고 있었고 다만 AA만이 5%~8% 정도 높은 값을 나타내었지만 큰 영향을 주는 정도는 아니었다.

3. Series II에 속한 첨가물의 농도를 10 mg/dL에서 50 mg/dL로 변화시키면서 680 nm에서 측정된 K/S 값에 미치는 영향을 조사한 결과 네 가지 화합물 즉 TA, ibuprofen, potassium, ephedrine 모두 3%~4% 정도의 낮은 값을 나타내었고 글루코우즈의 농도가 변화하여도 일정한 값을 보여 글루코우즈 농도 측정을 통해 얻어진 K/S 결과치에 거의 영향을 주지 못함을 알 수 있었다.

4. Series III에 속한 화합물인 pentoxifylline, cholesterol, SA의 농도를 20 mg/dL에서 80 mg/dL로 변화시키면서 조사한 결과 글루코우즈 100 mg/dL에서 얻어지는 K/S 결과치가 기준 용액에서의 수치와 큰 차이를 보이지 않았다.

5. Series IV에는 혈액 속에 가장 많이 존재할 가능성이 높은 triglycerides와 BSA가 포함되었는데 이 두 가지 화합물의 농도를 최소 1000 mg/dL에서 최대 7500 mg/dL로 변화시키면서 글루코우즈의 농도를 측정하였다. 얻어진 K/S 결과치가 기준 용액의 수치보다 11%~15% 정도 낮은 값을 나타내었으나 혈당 측정에 크게 영향을 주지는 않았다.

감 사

본 연구는 2015년도 홍익대학교 학술연구진흥비에 의하여 연구되었기에 감사드립니다.

Reference

1. Y. Cho, "Diabetes, as much as know that look", Miraejysik, Seoul (2006).
2. Home Health Management Research Institute, "Diabetes", Kumyoung, Seoul (1992).
3. Seoul National University Hospital, "A guide for diabetes management", Bummoon education, Seoul (2012).
4. Y. Kim, "Diabetes treatment", Medbook, Seoul (2012).
5. T. Asano and T. Norioka, "Diabetes", Nihon Bungeisha, Tokyo (2000).
6. K. Huh, "Diabetic health", D and C Media, Seoul (2006).
7. S. Kim, "Life guide for diabetes control", Hyoseong, Seoul (1993).
8. T. Asano, "Diabetic food and life style", Shufu-To-Seikatsusha Co., Tokyo (2005).
9. J. Kim, "Diabetes: Diagnostics and control", Ohsung, Seoul (1997).
10. 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).
11. 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).
12. 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).
13. 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).
14. 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).
15. R. P. Back, "Biosensor technology", Marcel Dekker, New York (1990).
16. 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).
17. R. E. Kesting, "Synthetic polymeric membranes", Wiley-Interscience, New York (1985).
18. M. Gordon, "Polymer membranes", Springer-Verlag, New York (1985).
19. S. Kwon, "Basic studies on the preparation of diagnostic membranes by using multi-layered gelatin films to measure blood glucose level of diabetics", *Membr. J.*, **8**, 1 (1998).
20. 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).
21. 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).
22. S. Kwon, "A study on the preparation of polyurethane diagnostic membrane for urine glucose test", *J. Kor. Ind. & Eng. Chem.*, **5**, 6 (1994).
23. 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).
24. S. Kwon and C. Jun, "Studies on polyphosphazenes-bound Wittig reactions", *J. of Korean Ind. & Eng. Chem.*, **5**, 5 (1994).
25. 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).
26. H. R. Allcock and S. Kwon, “Hydrophilic polyphosphazenes as hydrogels: Radiation crosslinking and hydrogel characteristics of poly[bis(methoxyethoxy)phosphazene]”, *Biomaterials*, **7**, 6 (1986).
 27. S. Kwon and B. Lee, “A study on the preparation of metal-ion separation membrane with hydrophilic polyphosphazene”, *J. of Korean Ind. & Eng. Chem.*, **10**, 3 (1999).
 28. S. Kwon and B. Lee, “A Study on the preparation of ion-exchange membranes with polyphosphazenes”, *J. of Korean Ind. & Eng. Chem.*, **9**, 3 (1998).
 29. S. Kwon, “Effects of testing and storage environments on the blood glucose measurements by using phosphazene diagnostic membranes”, *Membr. J.*, **22**, 5 (2012).
 30. S. Kwon, “Effects of interferents in blood on the blood glucose measurements by using polyphosphazene diagnostic membranes” *Membr. J.*, **23**, 4 (2013).
 31. S. Kwon, “Preparation of phenoxy-methylamino cosubstituted polyphosphazene diagnostic membranes for blood glucose measurement”, *Membr.J.*, **24**, 4 (2014).
 32. 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).