

## 요당 시험을 위한 폴리우레탄 진단막의 제조에 관한 연구

권 석 기

홍익대학교 과학기술대학 공업화학과  
(1994년 6월 17일 접수, 1994년 10월 10일 채택)

### A Study on the Preparation of Polyurethane Diagnostic Membrane for Urine Glucose Test

Suk-Ky Kwon

Dept. of Ind. Chem., Hongik Univ., Seoul 121-791, Korea  
(Received June 17, 1994, Accepted October 10, 1994)

**요 약 :** 소변 속에 함유되어 있는 글루코오스의 농도를 측정하기 위한 폴리우레탄 진단막의 제조과정과 조성조건들에 대해 조사하였다. 요당과 반응한 후 진단막에 나타난 색의 민감도와 안정성도를 증가시키기 위해서는 막 제조과정의 교반조건 및 교반용기, 그리고 사용되어지는 용매의 혼합비율이 아주 중요한 요소들로 작용됨을 알 수 있었다. 실질적으로 이러한 폴리우레탄을 이용해 얻어진 소변용 진단스트립을 사용하면 글루코오스 농도가 30mg/dL에서 500mg/dL까지에서 색의 분리가 잘 이루어지므로, 이러한 농도 사이에서 요당의 정량적인 측정이 가능하여졌다.

**Abstract:** The preparation procedure and optimal composition of polyurethane diagnostic membranes were described to measure the glucose concentration in a urine. Vessel size, blade size, and the ratio of solvent mixtures were found to be critical factors to get the better sensitivity and the stability of the color which appeared on polyurethane membranes after the reaction with the urine glucose. These urine strips made of polyurethane membranes made it possible to measure the urine glucose quantitatively because they showed a good color separation at glucose concentration from 30mg/dL to 500mg/dL.

#### 1. 서 론

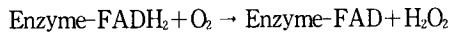
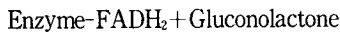
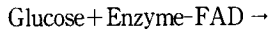
당뇨병이란 사람의 피 속에 글루코오스의 농도가 정상인보다 계속적으로 높은 상태를 말하며, 이 당뇨병이 생기는 원인에 대해서는 아직도 확실하게 밝혀 지지는 않았으나 일반적으로 유전적인 요인과 식사 및 운동에 영향을 미치는 환경적인 요인 등에 의해 많은 영향을 받는 것으로 알려져 있다[1].

인슐린이 발견된 1921년 이전에는 많은 사람이 당뇨병으로 인해 죽어갔다[2]. 책장에서 생산되는 인슐

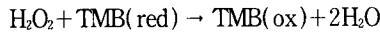
린은 피 속에 있는 글루코오스를 세포 속으로 이동시킬 수 있는 열쇠를 가진 유일한 호르몬이다[3]. 당뇨병은 이러한 인슐린의 의존도에 따라 Type I 과 Type II로 분류된다[4]. Type I 당뇨병 환자는 인슐린이 전혀 생산되지 않거나 또는 아주 잘못된 인슐린을 생산하기 때문에 인슐린을 외부로부터 정기적으로 투여 받아야 한다. 그러나 Type II 당뇨병 환자는 정상적인 인슐린을 상당히 가지고 있기 때문에 운동과 적당한 식사 등에 의해 혈당량을 조절시키며 건강한 몸을 유지할 수가 있다[4]. 이러한 이유에서 당

노병은 가능한대로 빨리 발견되어야 할 필요성을 가지고 있다. 물론 당뇨병의 진단은 혈당치의 값에 의해서만 결정되어진다[6]. 그러나 당뇨병 환자의 소변 속에서는 일반적으로 신장에 의해 미처 걸러지지 못한 글루코우즈가 다량 존재하기 때문에 대체로 이러한 일차적 요당시험은 병원의 초기 진단용으로 사용되어지고 있다[7]. 가장 많이 사용되어지는 요당 스트립의 재료로는 보통 종이가 많이 사용되어지지만 최근에는 합성 고분자를 이용한 진단막의 제조가 매우 활발하게 진행되고 있다[8-10]. 일반적으로 소변 속의 글루코우즈 농도는 glucose oxidase(GOD), peroxidase(POD)와 그리고 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB)을 함유한 스트립을 소변 속에 담근 후 색이 변하는 정도에 따라 구한다. 다음의 식은 효소를 이용한 기본원리를 나타내고 있다[11].

GOD 촉매화 반응



POD 촉매화 반응



특별히 우레탄 고분자는 진단막의 좋은 재질중의 하나로 잘 알려져 있다[12-13]. 본 논문에서 사용되어지는 우레탄 고분자는 두 가지의 다른 형태를 사용하였다. 첫번째 폴리우레탄은 KPK로 표시되어지며 이것은 수산기를 가진 가지형 에스테르 고분자인 Desmudure CT-Stable을 반응시켜 얻은 highly flexible한 폴리우레탄을 몰과 dimethylformamide(DMF)를 부피비율 5:5로 만든 용매에 분산시켜 얻은 분산형 고분자이다. 두번째 폴리 우레탄은 KBH로 표시되어지는 물질로서 폴리이소시아네이트 일종인 Desmudure N과 폴리올인 Desmophen을 반응시켜 얻은 용해도가 높은 우레탄 고분자이다.

이 논문에서는 위의 두 가지 다른 형태의 우레탄 고분자를 이용해 진단막을 형성하는 데에 있어 가장 최적의 조성과 제조 공정을 나타내려고 한다. 첫번째로는 진단막 제조에 미치는 용기의 크기, 용액의 점도, 첨가제의 분산도, 교반 속도 및 블레이드 크기의 영향들에 대하여 중점적으로 조사하였다. 두번째로는 형성된 진단막을 일차적으로 효소를 포함한 수용액을 통해 활성화시키고, 다시 염료를 함유한 유기용액에 이차 활성화시키는 두 단계 impregnation공정을 통해 활성화시켰다. 마지막으로 활성화된 진단 스트립

을 소변에 담갔다가 꺼낸 뒤 색의 변화를 spectrophotometer를 통해 분석하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 장치

고분자 용액에 첨가제를 분산시키기 위해서는 Gefabgeometric로부터 구입한 Dispermat분산기를 사용하였다. 발열반응으로 생기는 열을 제거하기 위해 모든 스텐레스스틸 용기(250ml, 500ml)에는 냉각장치를 부착하였고, 32mm, 42mm, 그리고 60mm의 세 가지 다른 크기를 가진 크롬 블레이드를 교반용으로 사용했다. 균일한 코팅을 얻기 위해 150 $\mu$ m 코팅날을 가진 K-coater를 사용했다. 고분자 용액은 Tekmar RW 20기계로 교반되었고, 점도는 Brookfield 점도계로 측정하였다. 글루코우즈의 농도에 따른 요당 스트립의 색변화는 MacBeth에서 제조한 Color I 3000 spectrophotometer를 통해 분석하였다.

### 2.2. 시약

Poly(vinyl acetate)(Mowilith)는 Hoechst로부터, poly(acrylonitrile)(Dralon-T)는 Bayer로부터 구입해 정제없이 사용하였다. KPK와 KBH는 Mobay로부터 구입하여 사용하였다. GOD, POD, phosphate buffer, tris[hydroxymethyl]methane(TRIS), malonic acid, 및 N-tris[hydroxymethyl]-methyl-2-aminoethane sulfonic acid(TEES)는 모두 Sigma제품이며, DMF, TMB, Poly(vinyl pyrrolidone)(PVP), sodium borohydride, sodium dodecylbenzene sulfonate(DBS), hydrous magnesium silicate(talkum), ethyl acetate(EA), 2-methyl-1-propanol(MOP) 등은 Aldrich로부터 구입해 정제없이 사용하였다. Triton-X-100는 poly(oxyethylene ether)의 형태를 가진 세제로서 Union Carbide로부터 구입하였다.

### 2.3. 폴리우레탄 진단막의 제조

DMF를 용매로 하여 얻은 60g의 KBH 20% 용액과 80g의 Mowilith 25% 용액을 500ml 용기에 담고 2500RPM에서 3분간 교반한다. 30g의 DBS(4%)를 DMF에 녹인 용액을 교반용기에 첨가시킨 후 바로 4g의 KPK 28% 분산용액을 천천히 첨가한다.

KPK를 첨가한 후 69g의 talkum을 고분자 용액에 서서히 첨가시킨다. 교반속도 7000RPM에서 10분간

저어준다. 125g의 DMF와 12g의 KPK 분산용액을 다시 넣어준 뒤 5000~6000RPM으로 15분 정도 교반시킨다. 교반 후 100mbar에서 적어도 2시간 가량 degassing시킨 후 용액의 점도를 측정한다. 용액의 점도가 2000cp에서 5000cp 사이에 들어야 한다. 미리 찢어 말린 poly(ethylene terephthalate)(PET) 필름(7"×13")에 미리 만든 고분자 용액을 150μm blade를 사용해 코팅한다. 코팅 후 바로 필름을 물속에 침전시켜 진단막을 형성시킨 후 약 45°C로 조절된 건조기에서 15분 가량 말린다.

2.4. 진단막 활성화 과정

먼저 200mM의 TRIS, 200mM의 malonic acid, 그리고 300mM의 TES를 deionized시킨 물에 잘 녹이고 완충용액의 pH를 6.2로 맞춘다. 0.2%의 Triton-X-100를 용액에 가한 뒤 1000U/ml의 GOD와 1000U/ml의 POD를 가하여 잘 용해시킨다. 응고된 진단막을 이 수용액에 impregnation시킨 후 60°C의 건조기에서 건조시킨다. 유기염료 용액은 100mM의 TMB와 0.3%의 Triton-X-100를 EA와 MOP의 85:15의 비율로 만든 용매에 녹여 만든다. 만들어진 유기용액으로 이미 한 번 처리된 진단막을 impregnation시킨 후 60°C 건조기에서 15분간 말린다 [14].

2.5. 요당 측정

폴리우레탄 진단막을 1cm의 폭으로 자른 후 양면 접착 테이프를 사용해 polycarbonate 스트립 홀더의 끝에 부착시킨다. 다시 이 판을 1cm의 폭으로 잘라서 최종 폴리우레탄 요당 스트립을 완성시킨다. 이 스트립을 일곱 가지 농도가 다른 글루코오스 용액(0, 30, 100, 250, 500, 그리고 2000mg/dL)에 담갔다가 꺼내 색의 변화를 Color I 3000 spectrophotometer에 의해 조사해 농도에 따른 표준치를 얻는다. 이제 미지의 소변속에 담갔던 폴리우레탄 스트립의 색 변화를 표준치와 비교해 소변 속의 글루코오스의 농도를 정량적으로 얻어낸다.

3. 결과와 고찰

3.1. 진단막의 제조

세 가지의 다른 사이즈(250ml, 500ml, 그리고 1000ml)의 스테인레스틸 용기를 사용하였는데, 분산

시 500ml와 1000ml의 용기에서 용액이 보다 쉽게 움직일 수 있는 부피를 제공할 수 있기 때문에 분산 과정이 보다 잘 이루어질 수 있음을 알 수 있었다. 용기의 크기를 선택하는데 가장 중요한 요소는 최종 용액의 부피가 적어도 용기부피의 2/3 이상까지 채울 수 있어야 한다는 것이다[15].

블레이드 사이즈 역시 고분자를 잘 섞어주는데 아주 중요한 역할을 담당한다[16]. Fig. 1은 용기 크기에 따른 교반 블레이드의 적절한 크기에 대해 나타내고 있다. 일반적으로 블레이드의 길이는 용기지름의 1/3보다 크고 지름의 2/3보다 크지 않은 것이 좋다. Table 1은 세 가지 다른 크기의 용기에 있어서의 블레이드에 대한 추천할 수 있는 크기에 대해 표시하고 있다.

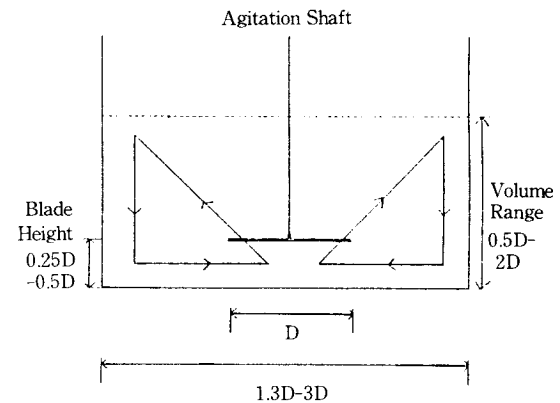


Fig. 1. Range of ideal size for mixing blade in one vessel size.

Table 1. Recommendable Size of Mixing Blades for Various Vessel Size

Volume of vessel	250ml	500ml	1000ml
Vessel Inside Diameter	60mm	80mm	100mm
Blade Diameter	32mm	42mm	55mm, 60mm (a)
Blade Material	Hard Chrome Plate	Hard Chrome Plate	Hard Chrome Plate
Thickness of Blade plate	1mm	1mm	1mm
Teeth Height of Blade	5mm	5mm	5mm

(a): If the volume of solution is larger than 850ml, 60mm size blade should be used.

또한 사용된 고분자의 양 또한 좋은 formulation을 얻기 위해서는 미리 잘 정해져야 한다. Table 2는 사용된 각각의 원료들의 양을 표시하였다.

고분자 용액의 점도는 첨가제의 적절한 분산을 위해서 무척 중요하다. 특별히 talkum이 고르게 용액 내에 분산시키기 위해서는 용액의 점도가 2000cp에서 5000cp 사이에 있어야 한다.

3.2. 진단막 활성화 과정

만들어진 폴리우레탄 막은 우선 먼저 효소 수용액에 dipping시킨 후 말리고 다시 두번째 유기염료용액에 담갔다가 건조시켜 활성화시킨다. 만일 두번째 과정에서 사용된 유기용매의 친수성도가 증가해 미리 막속에 impregnation 되어 있는 효소들과 유기용매 속에 녹아 있는 염료들 사이에 화학반응이 일어나게 되면 배경색이 나타나게 된다. 그러므로 이때에 사용되는 유기용매의 친수성도는 이러한 배경색에 민감한 영향을 미치게 된다. Fig. 2는 EA와 MOP를 각각 다른 비율로 섞어 만든 용매들로 두번째 염료용액을 만들어 impregnation시켜 얻은 진단용 스트립을 글루코우즈가 없는 소변에 담갔을 때 얻어지는 배경색을 나타내고 있다. Fig. 2에서 볼 수 있는 것처럼 용매중 EA의 비율이 증가함에 따라 배경색이 줄어드는 것을 알 수 있다. 이것은 용매의 친수성도가 증가할수록 TMB로 하여금 효소와 반응하여 더 진한 배경색을 나타내는 것으로 설명되어질 수 있다.

Fig. 3에서 각각의 다른 용매시스템에서의 50mg/

Table 2. Composition of Polymeric Membrane Material( for 250ml Vessel)

Chemicals	Weight of Stock Solution	Weight of Solute Material	Final Concentration (wt %)
17% Dralon-T	10g	1.7g	0.85%
20% KBH	30g	6.0g	3.0%
25% Mowilith	40g	10.0g	5.0%
4% DBS	15g	0.6g	0.3%
28% KPK	2g	-	1%(a)
Talkum	-	34.5g	17.25%
DMF	-	62.5g	31.25%
28% KPK	6g	-	3%(a)
DMF from Stock	-	76.7g	38.35%
Total Amount	-	200.0g	-

(a) : This concentration is based on the total amount of KPK dispersion including solvent.

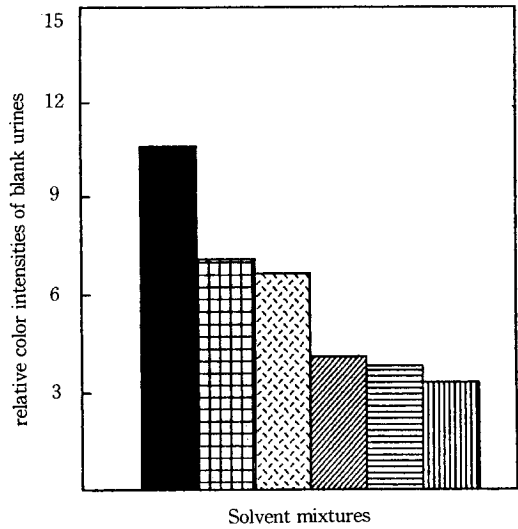


Fig. 2. Bank color intensities at a 10 second read time in differnt solvent mixtures(■ : EA/MAP=50/50, ▣ : EA/MDO=75/25, ▤ : EA/MOP=85/15, ▥ : EA/MOP=90/10, ▦ : EA/MOP=95/5, ▧ : EA/MOP=100/0, WT. %).

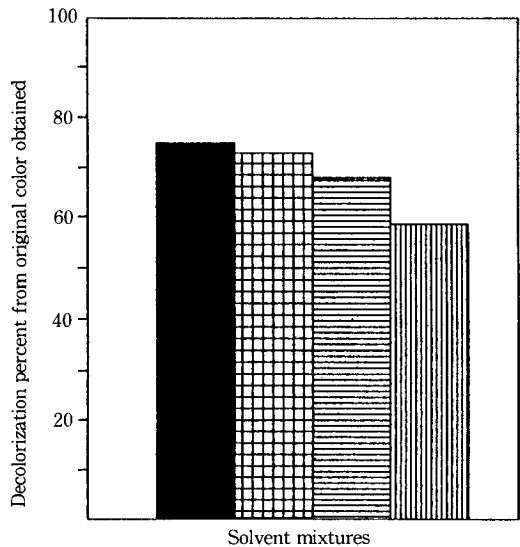


Fig. 3. Color stability of urine sample containing 50mg/dL glucose in four different solvent mixtures(■ : EA/MOP=75/25, ▣ : EA/MOP=05/15, ▤ : EA/MOP=90/10, ▥ : EA/MOP=95/5, WT. %).

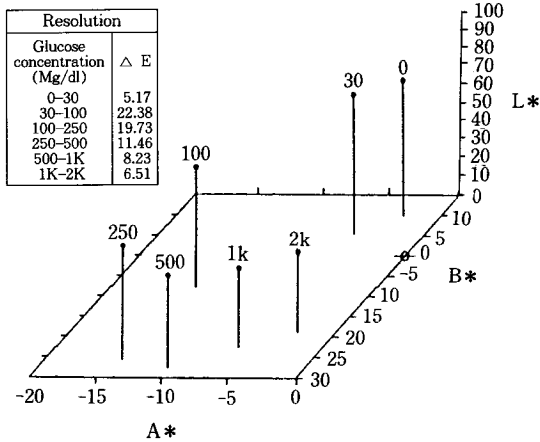


Fig. 4. A L\*A\*B\* plot from Color I 3000 spectrophotometer ( $\Delta E$ : Measure of color difference, L\*: Degree of lightness, A\*: Perceptible degree of color change from red to green, B\*: Perceptible degree of color change from yellow to blue).

dL의 글루코오즈 농도에서 얻어진 색의 안정도를 나타내고 있다. Fig. 2의 결과와는 반대로, 처음 얻어진 색으로부터 퇴색되는 비율이 MOP의 양이 증가할수록 감소함을 Fig. 3의 결과를 통해 알 수 있었다. 그러므로 배경색과 색의 안정도를 모두 고려해 본 결과 85%의 EA와 15%의 MOP의 용매시스템이 두번째 유기용액의 용매로서 적합함을 알 수 있었다.

### 3.3. 요당 시험

얻어진 폴리우레탄 진단막을 이용해 글루코오즈 농도에 따른 발색도를 측정하였다. 시도된 글루코오즈의 농도범위는 0mg/dL에서 2000mg/dL이었다. Fig. 4는 각각 다른 글루코오즈 농도를 가진 소변에 폴리우레탄 진단 스트립을 담갔다가 꺼내 Color I 3000 spectrophotometer에 의해 얻어진 색도표를 나타내고 있다. Fig. 4에 나타난 L\*은 lightness의 정도를 나타내는 지수로서 위로 올라갈수록 밝은색을 나타내며, A\*와 B\*는 L\*에 수직으로 나타난 지수로서 A\*는 일반적으로 적색에서 녹색으로, B\*는 황색에서 청색으로 변화되어가는 색의 상태를 나타낸다. 또한 색차를 나타내는  $\Delta E$ 의 값은 L\*A\*B\* 공간에서 표시되는 점들의 직선거리를 표시하는 값으로 일반적으로  $\Delta E$ 가 크게 되면 색차가 크다고 알려져 있다[17].

Fig. 4에서 나타난 것처럼 각각의 글루코오즈 농도에서의 색이 아주 적절하게 분리됨을 알 수 있었다. 일반적으로 10보다 큰  $\Delta E$ 의 값은 색 민감도에서 명확한 차이점을 보여준다. Fig. 4에서 보면 30mg/dL에서 500mg/dL까지의  $\Delta E$ 의 값이 10보다 크므로 특별히 이 영역에서는 명확하게 농도의 차이에 의한 색분리가 이루어졌음을 알 수 있었다.

### 4. 결 론

이 논문은 요당 시험을 위한 폴리우레탄 진단막을 제조하는 공정에 대해 서술하였다. 특별히 이 논문은 진단막 제조를 위한 최적의 조성비, 교반에 미치는 여러가지 물리적 요인들, 진단막의 활성화 공정 및 얻어진 폴리우레탄 스트립의 요당 실험들에 대해 강조되었다. 다음의 사항들이 제조공정, 활성화 공정 및 분석 실험으로부터 얻어진 최종 결론들이다.

1. 혼합용액을 교반시키는데 사용된 용기의 크기는 최종 용액의 전체부피보다 적어도 1.5배 이상 커야만 한다.
2. 교반 블레이드의 지름은 용기지름의 1/3보다 커야하고 지름의 2/3보다는 작아야 한다.
3. 이상적인 용매의 양은 전체 용액의 무게의 68~72%일 때로 나타났다.
4. 85%의 EA와 15%의 MOP의 혼합용매시스템이 배경색을 줄이고 색 안정도를 높이는 데 있어 가장 좋은 결과를 나타냈다.
5. 얻어진 폴리우레탄 진단스트립을 여러 가지 글루코오즈의 농도의 소변에 담근 후 Color I 3000 spectrophotometer를 통해 색의 변하는 정도를 측정 한 결과 글루코오즈의 농도가 30mg/dL에서 500mg/dL일 때 가장 좋은 색 분리를 보여주었다.

### 감 사

본 논문은 1994년도 홍익대학교 교내 학술연구 조성비에 수행되었으며, 연구조성비를 지급하여 주심에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. J. M. Kim, "Diabetes", Ohsung, Seoul (1993).
2. K. S. Lee, "Modern Disease Digest", Kuckmi-

- nilbosa, Seoul(1992).
3. W. S. Hong, "Oriental Treatment for Modern Disease", Hyoseone, Seoul(1993).
  4. D. W. Jung, "Health Control for Modern People", Ohchon, Seoul(1993).
  5. J. K. Park, "Human Life Science", SNU Publishes, Seoul(1993).
  6. S. W. Kim, "Life Guide for Diabetes Control", Hyoseong, Seoul(1993).
  7. B. H. Lee and S. K. Hong, "Physiology", Bajae Publishers, Seoul(1966).
  8. N. Jain and R. Wagner, "Introduction to Biological Membranes", Wiley, New York (1985).
  9. M. Gordon, "Polymer Membranes", Springer-Verlag, New York(1985).
  10. R. E. Kesting, "Synthetic Polymeric Membranes", McGraw-Hill, New York(1971).
  11. H. U. Bergmeyer, "Methods of Enzymatic Analysis", VCH, Weinheim(1981).
  12. M. Szycher, "High Performance Biomaterials", Technomic, Lancaster(1989).
  13. Proceedings of the SPI, "Polyurethanes 89", The Society of the Plastic Industry, SPI, New York(1989).
  14. R. P. Buck, "Biosensor Technology", Marcel Dekker, New York(1990).
  15. W. M. Gerhartz, Ed., "Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry", VCH, Weinheim (1988).
  16. G. G. Brown, "Unit Operation", John Wiley & Sons, New York(1950).
  17. D. B. Judd and G. Wyszeczi, "Color in Business, Science, and Industry", John Wiley & Sons, New York(1975).