

당뇨병 진단을 위한 폴리우레탄 진단막에 관한 연구(2): 요당 측정을 위한 막 형성에 사용되는 첨가제의 영향

권 석 기

홍익대학교 과학기술대학 공업화학과

(1994년 9월 12일 접수)

Studies on the Polyurethane Diagnostic Membrane for Diabetes(2): Effects of Additives in Membrane Formulations for the Measurement of Urine Glucose

Suk Ky Kwon

Dept. of Ind. Chem., Hongik Univ., Seoul 121-791, Korea

(Received September 12, 1994)

요 약: 당뇨병 진단을 위한 폴리우레탄 진단막을 만들었다. 소변속의 글루코우즈를 측정하기 위한 진단막은 혼합된 고분자용액을 코팅하여 분리막을 만들고, 그 분리막을 효소와 염료를 사용해 활성화시키는 과정을 통해 형성되었다. 이러한 진단막은 요당의 정량적인 분석에 사용될 수 있을 만큼 좋은 물리적, 화학적 물성을 갖고 있었다. 배경색을 없애고, 색 안정도를 높이기 위해 첨가된 세제들, 수용성고분자들 및, 또한 여러가지 완충용액들로부터 오는 영향들에 대하여 조사하였다.

Abstract: Polyurethane diagnostic membranes were prepared for diabetic control. The diagnostic membranes for the measurement of urine glucose were formed by mixing polymer solutions, coating polymers, coagulating coated films, and finally impregnating membranes with enzymes and dyes. These membranes were formed to have good physical and chemical properties for the quantitative analysis of urine glucose. Several effects from added various types of water-soluble polymers, and different buffer solutions were also studied to remove background color and retain good color stability.

Keywords: polyurethane, diagnostics, membrane, diabetes, additives.

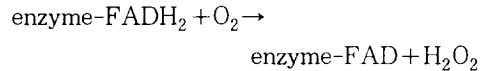
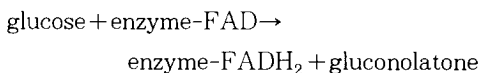
서 론

세계적으로 오랫동안 당뇨병은 심각한 만성병으로 여겨지고 있으므로 그에 대한 진단 및 치료에 관한 연구가 활발히 전개되어 왔다.^{1~2} 당뇨병은 의학적으로 췌장이 인슐린을 충분히 만들지 못하거나 또는 충분한 양을 만들어도 그것을 통해 혈액속의 글루코우즈가 세포속으로 이동하지 못하는 상태를 말한다. 인슐린이 제 작용을 하지 못하기 때문에

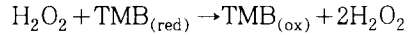
혈액속의 당의 농도가 정상인보다 매우 높은 상태를 가지게 된다.³ 이러한 만성적인 과다의 혈당은 여러가지 합병증을 유발시키며, 특히 심장병, 신장병, 시력감퇴, 신경조직 파괴에 따른 손과 발의 마비현상 등 심각한 상태에 이르게 한다.⁴ 만일 당뇨병이 초기에 발견되어 인슐린을 사용하는 방법들을 통해 혈당의 정도를 조절하면 위험한 합병증을 막을 수 있을 뿐만 아니라 건강한 신체를 유지할 수가 있다.⁴ 그러므로 당뇨병의 초기진단은 의료인

및 일반인들이 많은 관심을 갖고 있는 분야이다. 일반적으로 당뇨병의 유무는 혈액속에 들어있는 글루코오스의 양을 여러가지의 형태로 측정하여 결정한다.⁵ 당뇨병환자의 경우 혈액속의 당이 과다하게 많아지면 신장에서 미처 당을 거르지 못해 소변을 통해 당을 방출하게 된다.^{6~7} 그러므로 종합진단 등 기초 신체검사에서는 요당시험을 통해 일차적으로 당뇨병 유무를 스크린한다. 요당시험을 하는 스트립에 붙어있는 진단막은 주로 종이 등을 이용해 만들어져 왔으나, 최근에는 합성고분자를 이용한 진단막에 대한 개발이 활발히 전개되어 왔다.^{8~11} 특히 우레탄 고분자를 이용하여 진단막을 제조할 경우 제조방법이 간단하며 또한 제조하여 얻은 분리막은 표면이 고르기 때문에 정량적인 검출이 가능하여져서 여러가지 용도에 쓰여져 왔다.^{12~13} 최근에는 우레탄을 이용한 진단막중 pore size가 적은 membrane(0.3~0.5 μ m)을 통해 피속의 글루코오스의 농도를 측정하는데 사용되고 있다. 혈장속의 글루코오스의 농도를 정확히 측정하기 위해서는 방해요인으로 작용하는 적혈구를 혈장으로부터 분리해야 하는데 이를 위해서는 그러한 microporous polyurethane membrane이 아주 적당한 것으로 알려져 있다.^{14~15} 그러나 만일 pore size를 100 내지 300 μ m로 크게한 macroporous한 폴리우레탄 분리막을 사용하면 소변속에 글루코오스의 양을 측정하는 것이 가능하여 진다. 이러한 우레탄 분리막에 글루코오스를 정량분석할 수 있는 효소와 염료를 사용해 활성화시켜 요당 측정용 진단막을 만들고자 한다. 일반적으로 글루코오스의 농도를 측정하기 위해서는 보통 glucose oxidase (GOD)와 peroxidase (POD)의 두가지 효소들과 그 효소들로부터 생기는 과산화수소와 반응해 색을 나타낼 수 있는 염료인 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB)를 사용한다.^{16~17}

1. Glucose Oxidase Catalyzed Reaction



2. Peroxidase Catalyzed Reaction



앞서 발표된 논문에는 주로 진단막 형성을 위한 formulation과 impregnation에 대한 과정들에 대해 서술하였다.¹⁸

형성된 진단막을 활성화하는 과정은 두단계로 나누어져 있다. 첫번째 단계가 효소를 포함한 수용성 용액의 첨가이며, 두번째 단계는 TMB를 함유한 유기용액의 첨가 과정이다. 이러한 두단계를 거치면서 진단막에 생길 수 있는 배경색의 가능성을 없애고 요당과 반응해 형성된 TMB의 색을 안정화시키기 위해 여러가지 첨가제들이 사용되어진다. 특별히 세제의 역할은 TMB색을 안정화시키는데 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 왔으므로 이에 대한 조사가 필요했다. 그러므로 여러가지 세제들을 두번째 유기용액에 첨가시키므로써 배경색을 줄이고 TMB색을 안정화 시키려고 시도하였다. 특히 본 연구에서는 요당측정을 위한 우레탄 진단막을 만드는 과정에서 사용될 수 있는 다음의 세가지 중요한 첨가제들에 대한 영향들을 중점 조사하였다.

- 1) 우레탄 진단막의 형성시 첨가되는 세제로부터의 영향.
- 2) 첨가되는 수용성 고분자의 영향.
- 3) 효소용액에 사용되는 완충용액의 효과.

실 험

실험장치. 고분자의 용해시에는 Tekwar RW20 mechemical 교반기를 사용하였고, 점도는 25℃에서 Brookfield 점도계를 사용해 측정하였다. 고분자와 첨가제들의 분산을 위해서는 독일제 Lab-dissolver인 Dispermat Mod. 1825를 사용하였다. 진단막을 코팅하는 데는 소규모시에는 K-coater와 150 μ m blade를 사용하였지만 대규모시에는 Fig. 1에 나타난 시스템을 이용하였다. 제조된 진

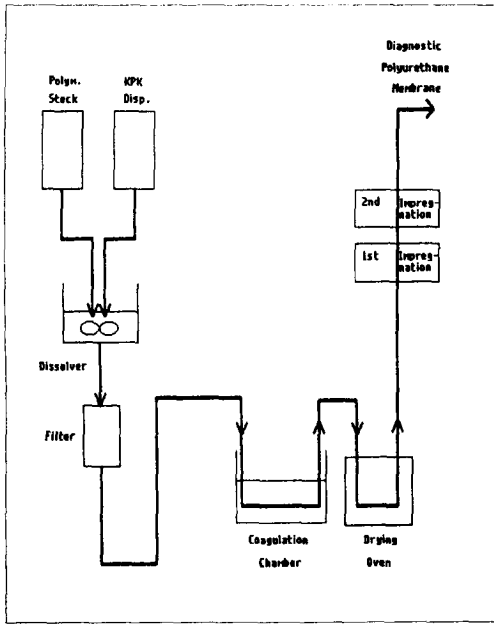


Fig. 1. A schematic diagram of membrane formation system.

단막을 효소와 염료들을 가지고 활성화 시키기 위해서는 금속봉을 사용한 후 오븐에서 건조시켰다. 요당의 측정을 위해서는 MacBeth Color I 3000 spectrophotometer를 통해 색의 변화를 측정하였다. 진단pad의 표면 pH는 표면측정 probe를 장치한 Hanna pH Meter Model B521을 사용해 측정하였다.

시 약. 진단막제조에 기본재료로 사용되어지는 우레탄계열은 두가지의 다른 형태를 사용했다. 첫 번째 폴리 우레탄은 수산기를 가진 가지형 에스테르 고분자와 폴리이소시아네이트인 Desmodure CT-stable을 반응시켜 얻은 매우 유연한 경화 우레탄을 물과 N,N-dimethylformamide (DMF)의 혼합용매 (5:5)에 분산시켜 얻은 고분자이다. 두 번째는 다른 형태의 폴리이소시아네이트인 Desmodure N과 폴리올인 Desmophen을 반응시켜 얻은 용해도가 높은 우레탄 고분자이다. 위의 두가지 우레탄 계열의 고분자와 아크릴로 니트릴계열의 Dralon-T는 Baeyer에서 직접 구입해 사용하였

다.¹⁸ 비닐아세테이트계열인 Mowilith 고분자는 독일 Hoechst로 부터 구입해 사용하였다. GOD와 POD와 같은 효소는 Sigma사로 부터 구입해 사용하였다. 사용되어진 고분자인 Methocell, gelatin, hydrolyzed gelatin, carboxymethylcellulose (CMC), Klucell, poly(vinyl pyrrolidone) (PVP), poly(acrylic acid) (PAA), poly(vinyl alcohol) (PVA) 등은 제조회사로 부터 직접 구입해 사용하였다. 세제로 사용되어지는 Aerosol 세제, Triton-X-100 등도 제조회사에서 직접 구입해 사용하였다. 완충용액제로 사용되어지는 tris (hydroxy-methyl)aminomethane (Tris), N-tris (hydroxymethyl)methyl-2-aminoethanesulfonic acid (TES), 3-(N-morpholino)-2-hydroxypropanesulfonic acid (MOPSO), 3-(N-morpholino)-propanesulfonic acid (MOPS), 그리고 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES) 등은 Sigma로부터 구입해 정제없이 사용하였다. Glucose 및, TMB, barium sulfate (BS), hydrous magnesium silicate (Talkum), DMF, sodium dodecylbenzene-sulfonate (DBS)등은 Aldrich로 부터 구입해 정제없이 사용하였다.

고분자용액 혼합공정. 20g의 Dralon-T 17% 용액을 용기내에 가한 다음, 60g의 KBH 20% 용액, 50g의 Mowilith 25% 용액을 역시 가한다. 이 용액을 3~5시간 동안 2000~3000 RPM에서 교반시켜 준다. 30g의 DBS 4% 용액을 교반용기내에 가한 다음 바로 4g의 KPK 28% 분산용액을 가해준다. 그런 다음 69g의 Talkum을 서서히 고분자 용액을 가해준다. 이때 발열반응으로 인해 생긴 열을 냉각시켜주므로써 반응을 진행시킨다. 그 후 한 10~30분 가량 더 교반시킨다. 고점도 용액을 125g의 DMF로 희석시킨 후 12g의 KPK 분산용액을 다시 천천히 가해준다. 용액은 10~20분 가량 4000~6000 RPM의 교반속도로 교반 시켜 준다.¹⁸

진단용 필름 제조공정. Poly(ethylene terephthalate) (PET)필름 (6"×12")을 미리 잘 세척

한뒤 건조시킨후 7×13" stainless steel 판에 잘 고정시킨다. 고분자 혼합용액을 필름위에 가한후 K-coater와 150 μm blade를 3.5의 coating speed로 코팅 시킨다. 코팅된 후 PET 필름이 부착된 채로 45℃로 미리 조절된 water-coagulation chamber에 넣어준다. 고분자 필름이 응고하자마자 45℃로 고정된 건조기에서 15분 정도 건조 시킨다.

진단막 Impregnation 공정. 글루코우즈의 농도를 측정하기 위한 요당용 진단막 제조를 위해서는 다음의 두가지 용액을 미리 제조하여야 한다.

1) 1st Aqueous Dip Solution : 200mM의 Tris, 200mM의 malonate, 300mM의 TES, 0.2%의 Triton-X-100, 그리고 1000U/ml의 GOD와, 1000U/ml의 POD를 혼합한 수용액.

2) 2nd Organic Dip Solution : 100mM의 TMB와 0.3%의 Aerosol-TR을 ethyl acetate에 용해시켜 두번째 유기용액을 만든다음, 처음용액으로 처리한 후 60℃ 오븐에서 건조시켜 얻은 고분자 분리막을 다시 이 두번째 용액으로 처리한 후 건조시켜 최종 당뇨용 진단막을 얻어 내었다.

글루코우즈 농도측정 실험. 글루코우즈를 6가지의 다른농도 (0, 30, 100, 250, 500, 1000, 2000mg/dl)로 용해시켜 만든 소변을 가지고 각각의 경우에 대한 측정을 행하였다. 진단막을 각각의 소변용액에 담근후 바로 꺼내 60초 동안 방치한 후 MacBeth 색분석기를 통해 색의 변화를 측정한다.¹⁸

첨가제에 따른 효과 비교실험.

세 제 : 다음의 다섯가지 Aerosol 세제를 0.3% 용액으로 만들어 각각 사용하였다. Aerosol-IB, Aerosol-MA, Aerosol-AY, Aerosol-OT와, Aerosol-TR(Table 1)은 Aerosol 세제 각각에 붙어있는 alkyl chain을 나타내고 있다. 또한 Triton X-100 0.3%와 Aerosol-TR 0.3%를 세제로 사용했을 경우에 strip에서 일어나는 색의 변화를 비교검토 하였다.^{19~20}

완충용액 : 다음의 완충용액제(Tris, Malonate, TES, MOPSO, MOPS, MES, Maleate)들을 각각 사용해 얻어진 진단막의 표면 pH를 측정하고 또한 얻어진 진단막 표면의 배경색과 열에 따른 안정성을 조사했다.^{21~22}

수용성 고분자의 비교실험 : 여러가지 형태의 수용성 고분자 (Methocell, gelatin, CMC, Klucell, PVP, PAA, PVA)들을 가하여 고분자 혼합용액을 만들어 코팅시킨 후 그에 따라 얻은 진단막의 배경색, 열 안정성 및 여러가지 글루코우즈의 농도 아래에서 색의 변화를 측정 하였다.^{23~24}

결과 및 고찰

우레탄 진단막을 이용한 요당의 농도 측정. 우레탄 계열의 혼합고분자 용액을 이용해 만들어진 당뇨진단막은 표면이 아주 고르고 배경색이 없으며 물리적이나 화학적으로 사용시에 큰 문제점이 없었다. 다음의 Fig. 2에서는 글루코우즈의 농도 0mg/

Table 1. Aerosol Detergets in the Organic Dip

Detergents	Type of Alkyl Chain	Stability of TMB in Soutlion	Color stability of 50mg/dl(3m)	Resolution	Uniformity
Aerosol-IB	diisobutyl	unstable	poor	500	poor
Aerosol-AY	diamyl	unstable	poor	500	poor
Aerosol-MA	dihexyl	unstable	poor	500	poor
Aerosol-OT	dioctyl	fairly stable	fair, increases background color	1K	good
Aerosol-TR	bistridecyl	quite stable	excellent	1K	excellent

* Aerosol-TB produced stable colors of TMB blue, even after 3 minutes. Its effectiveness was maintained even after 1 WK 60℃ stress.

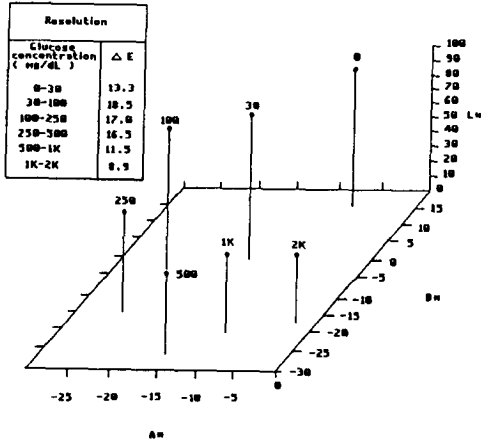


Fig. 2. A L*A*B* plot from Color I 000 spectrophotometer; ΔE : Measure of color difference, L*: Degree of lightness, A*: Perceptible degree of color change from red to green and B*: Perceptible degree of color change from yellow to blue.

dl에서 2000 mg/dL 변화시켰을 경우 MacBeth 색분석기에 나타난 결과이다. Fig. 2는 MacBeth 색분석기로부터 얻어진 L*A*B* plot을 나타내고 있다. 이 그림에 나타난 L*는 밝기의 정도를 나타내는 지수로서 위로 올라갈수록 보다 밝은 색을 나타내며, A*는 적색에서 녹색으로 바뀌면서 감각되어지는 정도의 지수이고, B*는 황색에서 청색으로 변화되어가는 정도를 감지하는 지수를 나타낸다. 또한 이 그림에서 가장 중요한 지수인 ΔE 의 값은 L*A*B*공간에서 얻어진 각점들의 직선거리를 표시하며 이 ΔE 값이 10보다 크면 우리눈을 통해 아주 쉽게 분별할 수 있는 것으로 알려져 있다. Fig. 2에서 보면 1000mg/dl의 요당치까지 ΔE 의 값이 10보다 크므로 색차도를 비교하여 육안에 의한 정량적인 분리가 가능하다. 일반적으로 요당을 측정하는 경우 분석기기를 사용하기 보다는 육안에 의한 정량적 분리가 더 큰 역할을 하게 되는데 이 진단막의 경우 그러한 요구를 충족시키기 위해 충분한 ΔE 값을 가지는 것으로 나타났다.

세제에 따른 비교실험. Table 1은 각각의 Aerosol 세제를 유기용액의 dip에 넣어 주었을 때 나타난 결과를 보여주고 있다. 일반적인 Aerosol-TR

의 경우 TMB의 색이 용액내에서 매우 안정하고, 좋은 resolution을 나타내었으며 또한 아주 균일한 색으로 분포되어 나타났다. 또한 두가지 다른 세제를 사용하였을 경우 50mg/dl 글루코우스의 농도에서 변화되는 색의 정도를 Fig. 3에서 나타내었다. 그림에서 볼 수 있는 것처럼 Aerosol-TR의 경우 색의 안정성이 Triton-X-100은 사용하였을 경우보다 훨씬 뛰어남을 알 수 있었다. TMB가 색을 나타내는 구조의 형태는 이온과 라디칼이 복합체를 형성한 형태로 알려져있다. Aerosol-TR에는 긴 알킬사슬이 붙어있으므로 형성된 TMB 발색원을 안정화시키기에 아주 적당한 구조를 가지고 있음이 모형구조를 통해 확인되었다. 그러므로 형성된 TMB색이 Aerosol-TR에 의해 특히 안정화 되기 때문에 반응시킨지 3분 후 처음 얻어진 색으로부터 20~25%밖에 색의 손실이 이루어지지 않았다. 그러나 일반적인 세제인 Triton-X-100의 경우 반응시킨지 3분 후 처음색으로부터 50%이상 색의 퇴조가 이루어졌다.

첨가된 수용성 고분자에 따른 배경색의 효과.

Table 2에서는 각각의 다른 경우의 수용성고분자

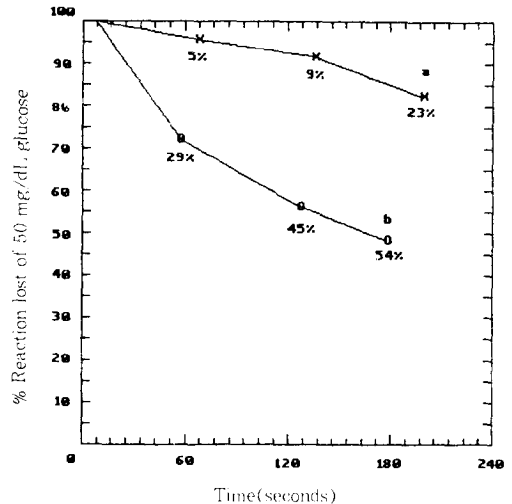


Fig. 3. Comparison of Aerosol TR-70 and Triton X-100 strips; (a) 0.3% Aerosol TR-70 and (b) 0.3% Triton X-100.

Table 2. Effects of Polymer on Background Color

Polymer	Advantages	Disadvantages
Methocell	No background color Good resolution	Non-uniform Serious fading
Hydrolyzed gelatin	Good solubility	Not effective for less background color
Carboxyethyl cellulose	Good solubility	Poor uniformity
Klucell	Increase TMB solubility	More background color Uneven color
Poly(vinyl pyrrolidone)	Increase TMB solubility	Non-uniform, fading after stress
Poly(acrylic acid)	Good stability at 50mg/dl	Not pleasant color
Poly(vinyl alcohol)	Reduce background color	Non-uniform Serious fading

* For all polymer, fading, mottling and non-uniform colors were observed after 1 WK 60°C stress.

를 첫번째 효소용액에 넣어 주었을 때 나타나는 결과들이다. Methocell의 경우 배경색이 나타나지 않고 아주 좋은 resolution을 보이는 반면 심각한 색의 퇴조를 보이고 있고, gelatin의 경우 또한 역시 색이 흐려지며, hydrolyzed gelatin의 경우 좋은 용해도를 보이지만 역시 비슷한 결과를 나타낸다. CMC의 경우 배경색은 안 나타나지만 균일성이 떨어지고, Klucell의 경우도 균일치 못한 색의 변화를 가지고 온다. PVP의 경우는 상온에서 좋은 효과를 나타내지만 열처리후 색의 비균일화가 나타나고 PAA나 PVA의 경우 또한 심각한 fading이나 비균일색이 나타난다.

완충용액의 종류 및 pH에 따른 비교 실험결과.

Table 3에서는 표면 pH에 미치는 완충용액의 효과를 나타내었다. pKa가 다른 완충용액의 경우에도 표면 pH는 거의 별 차이가 없이 나타났으며 Tris/Mal/TES의 경우 아주 좋은 색의 형태와 열

Table 3. Buffer Effects on Surface pH

	pKa's	Surface pH	Comments
Tris	=8.06	6.35	Thermally stable
Malonate	=5.68		Low pad pH
TES	=7.50		Less background color
Tris/Mal			Background color
MOPSO	=6.90	6.86	High pad pH
Tris/Mal		6.32	Background color
MOPS	=7.20		Thermal instability
Tris/Mal			Fading of 50 & 100mg/dL
MES	=6.15	6.38	Thermal instability
Maleate	=6.26	6.35	Background color
MES	=6.15	-	Fading of 50 & 100mg/dL Thermal instability

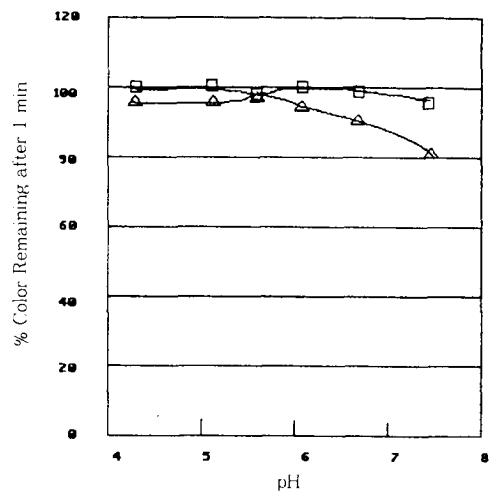


Fig. 4. pH dependence of TMB color stability for (□) 1mM TMB (△) 0.1mM TMB (5mg/ml peroxidase, 44mM and H₂O₂, 0.2M TRIS/0.2M MAL/0.3M TES).

안정도를 보이지만 기타 다른 완충용액의 경우 짙은 배경색이 나타나거나 색의 안정성이 떨어지는 것을 볼 수있다. Fig. 4에서 볼 수 있는 것처럼 pH가 낮은 부분에서는 TMB의 색이 안정도를 보

이지만 특히 0.1mM의 TMB의 경우 pH가 6 또는 그 이상으로 증가 할 때 색의 퇴조가 보이는 것을 알 수 있었다. 이와 같이 완충용액을 변화시키며 실험한 결과들로 부터 다음과 같은 결론들을 얻을 수 있었다.

1) Good's buffer의 경우 일반적으로 매우 둔탁한 색이 높은 글루코오스의 농도에서 나타났고, 또한 500과 1000mg/dl 수준에서는 정량분석이 어려우며 열처리후 심각한 색의 퇴조를 보인다.

2) Di 또는 polycarboxylic acid buffer 의 경우는 Good's buffer 보다 밝고 선명한 색을 나타내어 정량이 보다 용이하지만 심각한 배경색으로 인해 조절이 어렵고 빛과 습도에 민감한 반응을 보인다.

결 론

본 연구에서는 당뇨병 환자의 소변속의 글루코오스의 농도를 정량적으로 측정하기 위한 우레탄 고분자를 이용한 진단막을 제조하는 과정에서 첨가되는 수용성 고분자, 세제 및 완충용액의 종류에 따라 나타나는 효과들을 비교 검토 하였다. 이에 따른 결론들은 아래와 같다.

1. POD, GOD 및 TMB 등을 통해 활성화된 폴리우레탄 당뇨용 진단막을 사용하여 글루코오스의 농도를 0mg/dl에서 2000mg/dl로 변화시키면서 측정한 결과 아주 좋은 분리가 얻어짐을 알 수 있었다.

2. 첨가되는 세제들을 여러가지로 사용해 얻은 결과로부터 여러가지 세제들중에 Aerosol-TR이 TMB 색을 가장 잘 안정시키고 색의 분배가 가장 잘 나타낼 수 있음을 알 수 있었다.

3. TMB 색의 퇴조를 막기위해 각종 수용성 고분자를 첨가시켰으나 색의 비균일화만 이루어질 뿐 별로 큰 효과를 보지 못했다.

4. 각종 완충용액을 사용한 경우 Tris/Mal/TES의 혼합완충용액이 pH 6.5에서 가장 좋은 색의 형태와 열안정도를 보였다.

감사의 글 : 본 논문은 1994년도 홍익대학교 교내 학술연구 조성비에 의해 수행되었습니다. 본 논문을 위해 결과정리 및 논문작성에 큰 협조를 아끼지 않은 남윤기 군과 박형배 군에게 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. K. S. Lee, "Modern Disease Digest", Kugminil-bosa, Seoul, 1992.
2. D. W. Jung, "Health Control for Modern People", Ohchon, Seoul, 1993.
3. W. S. Hong, "Oriental Treatment for Modern Disease", Hyoseong, Seoul, 1993.
4. S. W. Kim, "Life Guide for Diabetes Control", Hyoseong, Seoul, 1993.
5. J. M. Kim, "Diabets", Osung, Seoul, 1993.
6. J. K. Park, "Human Life Science", SNU Publishers, Seoul, 1993.
7. D. H. Kang, "Physiology", Shinkwang, Seoul, 1988.
8. R. E. Kesting, "Synthetic Polymeric Membranes", Wiley-Interscience, New York, 1985.
9. R. E. Kesting, "Synthetic Polymeric Membranes", McGraw-Hill, New York, 1971.
10. M. Gordon, "Polymer Membranes", Springer-Verlag, New York, 1985.
11. M. Jain and R. Wagner, "Introduction to Biological Membranes", Wiley, New York, 1980.
12. D. Lyman, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **146** (1), 113 (1968).
13. F. A. Quinn Ed., Proceedings of the SPI, "Polyurethanes 89", The Society of the Plastics Industry, INC, SPI, New York, 1989.
14. J. D. Andrade Ed., "Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers", Vol. 1, Plenum, New York, 1985.
15. M. Szycher Ed., "High Performance Biomaterials", Technomic, Lancaster, 1989.
16. H. U. Bergmeyer Ed., "Methodes of Enzymatic Analysis", VCH, Weinheim, 1981.
17. R. P. Buck Ed., "Biosensor Technology", Marcel Dekker, New York, 1990.
18. S. Kwon, *J. Kor. Ind. & Eng. Chem.*, **5**, 20 (1994).

19. J. Neugebauer, "A Guide to the Properties and Uses of Detergents in Biology and Biochemistry", Behring, San Diego, 1987.
20. 北原文雄, "界面活性剤の分析と試験法", 講談社, 東京, 1982.
21. D. T. Plummer, "An Introduction to Practical Biochemistry", McGraw-Hill, London, 1978.
22. G. J. Shugar and J. T. Ballinger, "Chemical Technicians' Ready Reference Handbook", McGraw-Hill, New York, 1990.
23. S. W. Shalaby, C. L. McCormick, and G. B. Butler, "Water-Soluble Polymers", ACS, Washington, 1991.
24. J. E. Glass Ed., "Water-Soluble Polymers; Beauty with Performance", ACS, Washington, 1986.