아세트산처리 황다랑어(*Thunnus albacares*) 껍질 유래 젤라틴으로 제조한 바이오필름의 생체 접착 특성

김주연 · 김도형 · 문창권¹ · 김선봉*

부경대학교 식품공학과/식품연구소, ¹부경대학교 재료공학부

Bioadhesive Characteristics of Biofilm Manufactured from Gelatin Derived from Acetic Acid-treated Skin of the Yellowfin Tuna *Thunnus albacares*

Ju-Yeon Kim, Do-Hyeong Kim, Chang-Kwon Moon¹ and Seon-Bong Kim*

Department of Food Science and Technology/Institute of Food Science, Pukyong National
University, Busan 608-737, Korea

¹Division of Materials Science and Engineering, Pukyong National University,
Busan 608-739, Korea

This study aimed to demonstrate the bioadhesive characteristics of gelatin biofilm to rat skin. The biofilm was manufactured from gelatin extracted from the acetic acid treated-skin of the yellowfin tuna *Thunnus albacares*. The bioadhesive strength of tuna gelatin biofilm was compared to that of porcine gelatin biofilm. The tuna gelatin biofilm exhibited a higher bioadhesive strength than the porcine gelatin biofilm. Gelatin biofilm was subjected to glutaraldehyde treatment at different concentrations, temperatures and pH in order to improve its bioadhesive strength. Glutaraldehyde treatment improved the bioadhesive strength of gelatin biofilm up to three-fold. The bioadhesive strength of glutaraldehyde treated-biofilm was significantly decreased by application of sodium borohydride.

Key words: Yellowfin tuna, Biofilm, Glutaraldehyde, Gelatin, Bioadhesion

서 론

젤라틴은 동물의 피부, 결합조직, 뼈, 연골 등에 풍부한 콜라겐의 분해로 얻어지는 고분자물질로 식품뿐만 아니라 의료적인 목적으로 마이크로캡슐 재료, 인공혈관, 상처치료용 흡착패드 등에 널리 이용되고 있다(Schrieber and Gareis, 2007).

젤라틴의 수요는 전세계적으로 계속 증가하고 있고, 연간 세계 소비량은 326,000 M/T에 이르며, 재료별로는 돼지 껍질(46%)이 가장 많고, 소 가죽(29.4%), 소 뼈(23.1%), 기타(1.5%) 순으로 알려져 있다(GME, 2008). 젤라틴은 제조 과정의 전처리 방법에 따라 type A 와 type B 젤라틴으로 나누어진다. Type A 젤라틴은 콜라겐을 산 처리한 것이고, type B 젤라틴은 콜라겐을 알칼리 처리하여 생산한 것을 일컫는다(Stainsby, 1987). 젤라틴 제조 시 알칼리 처리는 소가죽과 같은 복잡한 콜라겐에 적합하고, 산 처리는 어류나 돼지와 같은 공유결합이 적은 콜라겐에 적합한 것으로 보인다(Montero et al., 1990; Stainsby, 1987).

젤라틴은 다양한 이용이 가능하지만 종교적인 문제로 소와

돼지 관련 제품 섭취를 금하는 힌두교와 이슬람교 및 채식주의자에 의해 사용에 제약을 받기도 한다(Asher, 1999). 육상동물 유래 젤라틴은 광우병에 관한 병원성 매개체를 전이 시키는 가능성에 대한 논란이 제기되고 있다(Wilesmith et al., 1991; Schrieber and Gareis, 2007).

젤라틴의 안전성 측면에서 육상동물 자원을 대체하기 위하여 어류로부터 젤라틴을 제조하려는 많은 연구가 이루어지고 있다. 즉, 명태(Kim et al., 1994), 성대류(Osborne et al., 1990), 틸라피아(Gudmundsson, 2002; Jamilah and Harvinder, 2002), 봉장어와 오징어(Kim and Cho, 1996), 대구, 메를루사, 혀넵치(Gudmundsson, 2002; Gómez-Guillén et al., 2002), 상어연골(Cho et al., 2004), 황다랑어(Gudmundsson, 2002; Cho et al., 2005; Yoon et al., 2008) 등을 이용한 젤라틴의 추출에 관한 연구가 이루어지고 있다. 어류를 이용한 젤라틴 생산량은 여전히 초기단계로 연간 세계 젤라틴 생산량의 약 1%에 지나지 않고 있다(Arnesen and Gildberg, 2006). 어류의 껍질, 뼈, 지느러미 등의 부산물량이 연간 730만 M/T에 이르고 있어(Kelleher, 2005), 어류 부산물의 활용을 위한 연구가 계속되고 있다(Holzer, 1996; Nagai and Suzuki, 2000; Wasswa et al., 2007).

*Corresponding author: owlkim@pknu.ac.kr

젤라틴은 생체재료(biomaterial)로서의 이용성에 있어서 생체친화성이 큰 이점이 있지만 물리적 특성과 수분안정성이 다른 유기복합재료보다 낮은 문제점이 있다(Yasuda et al., 2005; Lee et al., 2004). 이를 극복하기 위하여 화학적 가교결합이 많이 이용되고 있다.

젤라틴의 화학적 가교제로 glyoxal (Carvalho et al., 2006), epoxides (Sung et al., 1996; Sung et al., 1999), isocyanates (Bertoldo et al., 2007), carbodiimides (Sung et al., 1996; Liang et al., 2004), formaldehyde (Carvalho et al., 2006; Sung et al., 1996) 및 glutaraldehyde (Khor, 1997; Zhang et al., 2006) 등이 사용되고 있다. 그 중 glutaraldehyde가 젤라틴 구조의 강도와 수분안정성을 강화하는 데 효과적인 것으로 알려져 있다(Liu et al., 2007).

생체접착을 목적으로 사용되는 물질들은 대개 분자 내 carboxyl group 과 같은 이온화 가능한 그룹을 많이 가짐으로써 접착물질 중의 carboxyl group 과 점질 분자 사이의 amino 또는 hydroxyl group 간의 가교결합을 형성하여 접착을 용이하게 한다(Matsuda et al., 1999). 젤라틴은 분자 내 가교결합의 형성 시 현재 의료용 접착제로 널리 사용되어지고 있는 fibrin glue 보다 높은 접착 특성을 보이는 물질로 알려져 있다(Otani et al., 1996).

본 연구에서는 동물유래 젤라틴의 대체와 가교결합을 통한 생체접착제 개발을 목적으로 황다랑어 껍질로부터 추출한 젤라틴으로 바이오 필름을 제조하여 glutaraldehyde 와의 가교결합을 통한 쥐 껍질과의 생체접착력 변화를 돼지젤라틴으로 제조한 바이오 필름과 비교하였다.

재료 및 방법

재 료

접착 시험편으로는 5주령 된 Sprague-Dawley계 수컷 흰 쥐의 껍질을 사용하였다. 생체조직으로서 쥐 껍질 시험편은 $10 \times 30 \times 1$ mm 크기로 제작하여 바로 사용하였다.

또한 측정할 접착력을 비교해보기 위하여 Sigma Chemical Co.로부터 구입한 육상 동물 유래인 Gelatin (EC No 232-554-6, Type A :From Porcine Skin, Sigma, USA)을 사용하였다.

시약으로는 glutaraldehyde 25% solution, 2-mercaptethylamine hydrochloride, 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB), sodium borohydride, sodium bicarbonate 를 Sigma Chemical Co.로부터 구입하여 사용하였다. 본 연구에 사용된 모든 시약은 analytical grade 이다.

실험방법

젤라틴의 제조

실험에 사용된 젤라틴은 Cho et al. (2005)의 방법을 약간 변형하여 제조하였다. 육을 제거한 황다랑어(*Thunnus albacares*)

껍질을 10×30 mm 크기로 자른 다음, 10배량의 0.2 N acetic acid(Junsei Chemical Co., Japan)를 가한 후 $10 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 6 시간 동안 shaking incubator(NB-205V, N-Biotec, INC., Korea)를 이용하여 교반하였다. 그 후, 12시간 동안 흐르는 물을 이용하여 중화과정을 거친 후 3 N NaOH(SK chemicals Co., Korea)를 이용하여 pH 7로 조정한 다음 60°C water bath(HB-205W-S4, Hanbaek Scientific Co., Korea)에서 6시간 동안 가열하여 젤라틴을 추출하였다. 불순물을 제거하기 위해 5 A 110 mm Filter paper(Advantec, Japan)를 이용하여 여과 한 뒤 여과된 액을 $40 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 농축하였다. 농축된 용액을 $70 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 건조(WFO-700, EYELA, Japan)시킨 뒤 100 mesh로 분쇄하여 분말 상태로 제조하였다.

젤라틴 바이오필름의 제조

쥐 껍질과의 접착력 측정을 위해 6.67% (w/v)의 젤라틴 수용액 25 mL 를 100×100 mm 의 플라스틱 틀 위에 붓고 $40 \pm 1^\circ\text{C}$, RH $50 \pm 1\%$ 의 조건에서 24시간 동안 건조시켜 0.2 mm 두께의 바이오필름을 제조하였다.

젤라틴 바이오필름의 glutaraldehyde 처리

제조된 바이오필름은 $10 \times 10 \times 0.2$ mm 크기로 자른 다음 2 M glutaraldehyde를 함유한 50 mL 의 phosphate-citrate buffer solution (pH 7) 에 침지하여 60°C 에서 2시간 동안 처리하였다. Glutaraldehyde 처리 후에 바이오필름을 증류수에 2회 반복하여 행구고 상온에서 24시간 동안 건조시켰다.

생체 접착력 측정

젤라틴 바이오필름과 쥐 껍질과의 접착력은 fibrin glue 의 접착력 측정법(Fukushima, 1986)을 부분 수정한 방법으로 측정하였다. 쥐 껍질은 메스를 사용하여 그 크기를 10×30 mm 로 잘랐고 쥐 껍질의 두께는 1 mm 로 동일하였다. 접착력 측정은 동일한 온도 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), 동일한 습도(RH $50 \pm 2\%$) 에서 행해졌고, 건조된 젤라틴 바이오필름을 크기 10×30 mm 인 쥐 껍질 한 장의 진피 끝부분 10×10 mm 에 위치시키고 다른 한 장의 쥐 껍질 끝부분 10×10 mm 로 그 위를 덮음으로서 접착면적이 10×10 mm 로 균일하도록 하였다. 접착면적에 10분간 1 kgf 의 힘을 가한 후 인장강도계(MICRO 350 Tensometer, Testometric, Uk)을 사용하여 loadcell 2 kg, 5 mm/sec의 조건에서 접착력을 측정하였다. 접착력은 접착 부위가 완전히 분리될 때의 maximum load 값으로 산출하였으며 동일 조건에서 5번 반복 측정하였다.

알데히드기의 함량 측정

5×5 mm 크기의 젤라틴 바이오필름을 1 mL의 0.1 M 2-mercaptethylamine hydrochloride 수용액상에서 37°C , 8시간 동안 침지하여 알데히드기를 thiol 그룹으로 변화시켰다. 그리고 2 mL 의 2.5 wt% sodium borohydride carbonate 완충용액(pH 10)에서 37°C , 1시간 동안 침지한 다음 37°C 의 phosphate-

citrate완충용액(pH 7)에서 2번 행군 후, 바이오필름을 5 mL 의 1 mM 의 DTNB phosphate-citrate 완충용액(pH 7)에서 질소 하에서 37°C, 15시간 동안 thiol-disulfide 교환 반응 이 일어나도록 하였다.

UV-spectrophotometer를 사용하여 412 nm 에서 유리된 thionitro benzoate anion (Ⅱ) 을 함유한 용액의 흡광도를 측정하였다. 알데히드기의 농도는 thionitro benzoate anion (Ⅱ) 의 흡수 계수 13,600을 사용하여 계산하였다(Ellman et al., 1959).

Glutaraldehyde 처리 젤라틴 바이오필름의 환원 처리

Glutaraldehyde 용액에 60°C 에서 2시간 동안 침지시켜 알데히드기를 도입시킨 젤라틴 바이오필름에 sodium borohydride 를 사용하여 알데히드기의 환원을 유도하였다. 10×10×0.01 mm 의 젤라틴 바이오필름을 0.1-2.0 M glutaraldehyde 용액 상에서 60°C 조건에서 2시간 동안 반응하여 알데히드기를 도입시킨 glutaraldehyde-젤라틴 바이오필름과 2.0 M glutaraldehyde 용액에서 pH 3, 5, 7, 9 및 11 로 조정하여 60°C 조건에서 2시간 동안 반응하여 알데히드기를 도입시킨 glutaraldehyde-젤라틴 바이오필름을 2.5% (w/v), pH 10 의 50 mL sodium borohydride 에 침지한 후 60°C 에서 15분간 반응시켰다.

통계분석

각각의 시료에 대해 평균 ± 표준오차로 나타내었으며, 각 군에 따른 유의차 검증은 분산분석을 한 후 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

Glutaraldehyde 농도변화에 따른 생체접착력 변화

Glutaraldehyde가 황다랑어 젤라틴 바이오필름에 화학적 가교결합의 형성으로 인한 생체접착력의 변화를 알아보기 위하여, glutaraldehyde 의 농도, 침지시간, 온도, pH에 따른 변화를 돼지 젤라틴 필름과 비교하였다. 동시에 바이오필름 내의 알데히드기 함량의 변화와 생체접착력과의 상관성을 알아보았다.

먼저 glutaraldehyde의 농도 변화에 따른 쥐 껍질과의 황다랑어 젤라틴 바이오필름의 생체접착력의 변화를 돼지 젤라틴 바이오필름과 비교하여 Fig. 1 에 나타내었다. 돼지 젤라틴 바이오필름의 경우 glutaraldehyde에 침지 하지 않은 대조군은 접착력이 3.39 kPa로 나왔고, glutaraldehyde의 농도를 0.2 M 에서 2.6 M까지 증가시키에 따라 3.85 kPa 에서 20.03 kPa까지 접착력이 증가하였으며, 18.07 kPa 의 생체접착력을 나타낸 2 M 이상의 농도에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 반면, 황다랑어 젤라틴 바이오필름의 경우, glutaraldehyde에 침지 하지 않은 대조군은 생체접착력이 6.68 kPa로 나왔고, glutaraldehyde 의 농도 0.2 M 에서 2.6 M 까지 증가함에 따라 10.84 kPa 에서 30.83 kPa까지 접착력이 증가하였으며, 29.36 kPa 의 접착력을 나타낸 1.8 M 이상의 농도에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이

Fig. 1. Comparison of bioadhesive strength between yellowfin tuna *T. albacares* gelatin and porcine gelatin biofilms treated with varying glutaraldehyde concentrations for 2 h at 60°C. Different letters (a, a', a'', etc.) indicate significant differences at the α level of 0.05.

Fig. 2. Changes in aldehyde contents and the bioadhesive strength of yellowfin tuna *T. albacares* gelatin biofilms through addition of varying glutaraldehyde concentrations for 2 h at 60°C. Different letters (a, b, c, a', b', c', etc.) indicate significant differences at the α level of 0.05.

와 같이 황다랑어 젤라틴의 접착력이 돼지 젤라틴보다 높았고, glutaraldehyde 처리시 젤라틴과의 가교결합 형성으로 접착력이 크게 향상되었다. Cho et al. (2005)은 황다랑어 껍질 젤라틴의 겔 강도 등의 물성이 돼지 젤라틴보다 높다고 보고하고 있고, Yoon et al. (2008)은 황다랑어 껍질 젤라틴의 함판에 대한 접착력이 아주 우수하고, 돼지 보다 높다고 보고하고 있는 것으로 보아 황다랑어 껍질 젤라틴의 물성이 우수하여 육상 동물 젤라틴의 대체품으로도 가능한 결과로 보여진다.

Glutaraldehyde 의 농도 증가에 따른 황다랑어 젤라틴 바이오필름 중의 알데히드기 함량은 Fig. 2에 나타내었다. 알데히드기 함량의 경우 glutaraldehyde 농도가 높아질수록 필름 중의 알데히드기의 함량 또한 증가하는 것을 확인하였다. Glutaraldehyde에 침지하지 않은 대조군의 경우 알데히드기의 함량이 1.75 mM/g 었지만, glutaraldehyde 농도가 0.2 M 일 때 2.71

Fig. 3. Comparison of bioadhesive strength between yellowfin tuna *T. albacares* gelatin and porcine gelatin biofilms treated with 2 M glutaraldehyde for different times at 60°C. Different letters (a, a', a'', etc.) indicate significant differences at the α level of 0.05.

Fig. 4. Changes in bioadhesive strength and aldehyde content of yellowfin tuna *T. albacares* gelatin biofilms treated with 2 M glutaraldehyde for different times at 60°C. Different letters (a, b, c, a', b', c', ...) indicate significant differences at an α level of 0.05.

mM/g, 2.2 M 로 증가한 경우 7.70 mM/g까지 증가하였다. 알데히드기 함량도 1.8 M glutaraldehyde 이상에서는 유의적인 차이가 보이지 않았다. 이는 glutaraldehyde 농도가 높아짐에 따라 glutaraldehyde 중에서 필름 중에 도입되는 알데히드기의 양이 증가하고 이로 인해 쥐 껍질 중의 아미노기와 결합이 증가됨으로써 접착력이 증가되는 것으로 판단된다. 하지만 일정 농도 이상에서는 도입되는 알데히드기의 양에 한계가 있는 것으로 보인다.

Glutaraldehyde 는 한 분자내에 두개의 알데히드기를 가지고 있으며 각각의 알데히드기는 젤라틴과 같은 단백질내부의 아미노기와 amino-carbonyl 반응을 통해 강력한 Schiff base를 형성함으로써 가교결합을 형성한다고 볼 수 있다. 가교제로서 glutaraldehyde 는 두개의 알데히드기가 단백질의 아미노기와 결합

Fig. 5. Comparison of bioadhesive strength between yellowfin tuna *T. albacares* gelatin and porcine gelatin biofilms treated with 2 M glutaraldehyde of different pHs for 2 h at 60°C. Different letters (a, a', a'', etc.) indicate significant differences at the α level of 0.05.

Fig. 6. Changes in bioadhesive strength and aldehyde contents of yellowfin tuna *T. albacares* gelatin biofilms treated with 2 M glutaraldehyde of different pHs for 2 h at 60°C. Different letters (a, b, c, a', b', c', etc.) indicate significant differences at an α level of 0.05.

할 수 있기 때문에 포름알데히드와 같은 monocarbonyls보다 좋은 가교제로 알려져 있다(Monsan P et al., 1975). 가교결합반응은 glutaraldehyde의 카르복실기와 젤라틴의 아미노기 사이에서 발생하므로 젤라틴 바이오필름의 접착력은 젤라틴 중의 아미노기와 glutaraldehyde와의 반응으로 화학적 가교결합의 형성에 의하여 크게 기여한다고 하겠다.

Glutaraldehyde 처리 시간에 따른 생체접착력 변화

Glutaraldehyde의 농도가 2 M 이상이 될 경우 쥐 껍질과의 접착력이 돼지 젤라틴 바이오필름과 황다랑어 젤라틴 바이오필름 모두 큰 유의적 차이를 가지지 않았으므로 이후의 실험은 모두 농도를 2 M 로 고정하였다. 돼지 젤라틴 바이오필름과 황다랑어 젤라틴 바이오필름을 같은 농도의 2 M glutaraldehyde

Fig. 7. Comparison of bioadhesive strength between yellowfin tuna *T. albacares* gelatin and porcine gelatin biofilms treated with 2 M glutaraldehyde for 2 h at different temperatures. Different letters (a, b, c, a', b', c', etc.) indicate significant differences at the α level of 0.05.

Fig. 8. Changes in bioadhesive strength and aldehyde contents of yellowfin tuna *T. albacares* gelatin biofilms treated with 2 M glutaraldehyde for 2 h at different temperatures. Different letters (a, b, c, a', b', c', ...) indicate significant differences at the α level of 0.05.

에 침지시키는 시간에 따른 접착력의 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 황다랑어, 돼지 젤라틴 모두 glutaraldehyde 용액에 침지하기 시작한 시점부터 접착력이 크게 증가하였고, 침지시간 별 접착력의 세기는 황다랑어, 돼지 젤라틴 모두 큰 차이를 보이지 않았다. 황다랑어 젤라틴이 모든 시간대 별 구간에서 돼지 젤라틴보다 높은 접착력을 보였고, 침지 시간이 2시간을 넘으면서 돼지 젤라틴 바이오필름의 접착력은 거의 변하지 않았고, 황다랑어 젤라틴 바이오필름의 접착력은 조금씩 증가하나 그 증가 폭이 현저히 낮아서 시간에 따른 접착력의 변화는 큰 유의성을 가지지 않는 것으로 나타났다. 이러한 경향은 Fig. 4에 나타나 있는 침지 시간변화에 따른 황다랑어 젤라틴의 알데히드기 변화량에서 알 수 있듯이, 침지 2시간 이후에는 알데히드기의 함량 변화량이 접착력과 마찬가지로 유의적인 차이를 나타내지 않는 것

Fig. 9. Changes in bioadhesive strength of glutaraldehyde-treated yellowfin tuna *T. albacares* gelatin biofilms by treatment of sodium borohydride. The biofilms were subjected to glutaraldehyde treatment at 60°C for 2 h in glutaraldehyde solutions of different concentrations and then, the biofilms were treated with 2.5% NaBH₄ at pH 10 for 15 min. Different letters (a, b, c, a', b', c', etc.) indicate significant differences at the α level of 0.05.

Fig. 10. Changes in aldehyde content of glutaraldehyde-treated yellowfin tuna *T. albacares* gelatin biofilms before and after treatment of sodium borohydride. The biofilms were subjected to glutaraldehyde treatment at 60°C for 2 h in glutaraldehyde solutions of different concentrations and then, the biofilms were treated with 2.5% NaBH₄ at pH 10 for 15 min. Different letters (a, b, c, a', b', c', etc.) indicate significant differences at the α level of 0.05.

에서 알 수 있다.

이와 같이 바이오필름 내의 알데히드기 도입으로 인한 분자 내의 가교결합의 증가가 바이오필름의 생체 접착력에 커다란 영향을 미치는 것으로 생각된다.

Glutaraldehyde 처리시 pH에 따른 생체접착력 변화

Glutaraldehyde 용액에 2시간 동안 각 pH조건을 달리하여 침지시킨 돼지 젤라틴 및 황다랑어 젤라틴 바이오필름과 쥐 껍질과의 접착력 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 돼지 젤라틴 바이오

필름의 접착력은 pH 3 부근의 산성의 glutaraldehyde 용액에 침지시켰을 경우 8.98 kPa로 가장 낮게 나타났고, pH 7의 중성 부근에서 20.13 kPa로 가장 높은 접착력을 나타내었으며 염기성 부근으로 갈수록 다시 낮아져 9.46 kPa까지 낮아졌다. 황다랑어 젤라틴 바이오필름의 경우에는 pH 11 부근의 염기성 상태에 있는 glutaraldehyde 용액에 침지시켰을 경우 17.50 kPa로 가장 낮게 나타났고, pH 7의 중성 부근에서 31.17 kPa로 가장 높은 접착력을 나타내었으며 산성 부근으로 갈수록 다시 낮아져 23.57 kPa까지 낮아졌다. Matsuda et al. (1999)에 따르면 돼지와 소의 젤라틴으로 필름을 제조하여 pH별로 침지하여 접착력을 측정한 결과 pH 3에서 중성인 pH 7일 때 까지는 높아지다가 pH가 11에 가까워질수록 접착력은 다시 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 젤라틴 바이오 필름이 산성 또는 알칼리 상태의 pH에서 분해되어 젤라틴 본래의 특성을 상실하여 접착력이 감소하는 것으로 보인다.

pH 변화에 따른 glutaraldehyde 처리 황다랑어 젤라틴 바이오필름 중의 알데히드기의 양과 접착력 비교는 Fig. 6에 나타내었다. 이 또한 pH가 중성 일 때 5.57 mM/g으로 가장 높게 나타났고, 산성과 알칼리 상태의 pH 영역에서는 각각 4.34 및 5.09 mM/g으로 낮게 나타났다.

Glutaraldehyde 처리 온도에 따른 생체접착력 변화

Glutaraldehyde 처리 온도에 따른 돼지 젤라틴 및 황다랑어 젤라틴 바이오필름과 쥐 껍질과의 접착력을 측정한 결과는 Fig. 7과 같다. 돼지 젤라틴 바이오필름의 경우 5°C에서는 5.82 kPa으로 황다랑어 젤라틴 바이오필름과의 접착력과 비슷하나 온도가 올라갈수록 그 증가 폭이 작아져 60°C에서 최대인 20.93 kPa을 나타냈다. 황다랑어 젤라틴 바이오필름의 경우 5°C에서는 7.98 kPa로 돼지 젤라틴 바이오필름과 비슷한 낮은 접착력을 보이다 60°C까지 온도가 올라갈수록 접착력이 점점 증가하여 60°C에서는 30.32 kPa로 높게 나타났다. 37°C에서 60°C 구간에서 최대 접착력에 도달하였고, 60°C 이후인 80°C에서는 21.48 kPa로 다시 낮아졌다. Sung et al. (1999)에 따르면 돼지 젤라틴 필름을 formaldehyde, glutaraldehyde에 침지하여 온도 변화에 따라 접착력을 측정하였을 때 60°C까지는 접착력이 온도 상승에 따라 계속 상승하는 것으로 나타났다. 이는 반응온도의 증가가 접착제의 결합력을 증가시키는 것으로 보인다. 이러한 결과는 높은 온도에서의 활성화 에너지가 낮은 온도의 활성화 에너지보다 높으므로 반응이 쉽고 빠르게 일어나기 때문이다 (Sung et al., 1999).

온도의 변화에 따른 바이오필름의 접착력과 알데히드기의 함량 변화는 Fig. 8에 나타내었다. 온도가 높아짐에 따라 필름 중의 알데히드기의 양은 증가하였는데, 37°C에서 5.87 kPa로 높게 나타났고, 그 이상의 온도 대에서는 큰 유의성을 나타내지 않았다. 60-80°C의 온도에서 알데히드 기의 함량의 차이는 거의 나지 않지만 접착력이 다시 낮아지는 것으로 보아 열에 약한 바이오필름이 열에 의해 변형되어 접착력이 낮게 나타난 것으로

보인다.

환원처리에 따른 glutaraldehyde 처리 바이오필름의 생체 접착력 변화

Glutaraldehyde의 처리에 따라 젤라틴 바이오필름의 접착력이 크게 향상된다는 것이 밝혀졌고, 아울러 접착력의 증가와 더불어 필름내의 알데히드기 증가가 확인되었다. 따라서 접착력의 향상에 알데히드기가 어느 정도 관여하는 가를 밝히기 위하여 glutaraldehyde 처리 바이오필름에 알데히드기와 케톤기를 환원시킬 수 있는 환원제인 sodium borohydride를 사용하여 젤라틴 필름 중의 알데히드기를 환원시킨 후 농도별로 접착력을 비교 측정하여 Fig. 9에 나타내었고 접착력과 알데히드기 함량 비교는 Fig. 10에 나타내었다. 환원제를 사용하지 않은 젤라틴 바이오필름의 경우 접착력이 증가하였으나, 환원제를 처리하여 알데히드기를 환원시킨 젤라틴 필름의 접착력은 높아지지 않고 매우 낮은 것으로 나타났다. Fig. 10에 나타난 것과 같이 sodium borohydride를 이용하여 필름을 환원시켰을 때에는 glutaraldehyde의 농도가 증가하여도 알데히드기의 함량의 변화는 거의 나지 않는 것으로 나타난다. 따라서 glutaraldehyde의 알데히드기와 젤라틴 분자의 아미노기 등과의 가교결합 형성이 접착력의 향상에 크게 기여함을 알 수 있다.

사 사

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No.2010-0010372).

참고문헌

- Arnesen JA and Gildberg A. 2006. Extraction of muscle proteins and gelatin from cod head. *Process Biochemistry* 41, 697-700.
- Asher DM. 1999. The transmissible spongiform encephalopathy agents: concerns and responses of the United States regulatory agencies in maintaining the safety of biologics. *Dev Biol Stand* 100, 103-118.
- Bertoldo M, Bronco S, Gragnoli T and Ciardelli F. 2007. Modification of gelatin by reaction with 1,6-diisocyanatohexane. *Macromol Biosci* 7, 328-338.
- Carvalho RA. Grosso CRF. 2006. Properties of chemically modified gelatin films. *Braz. J Chem Eng* 23, 45-53.
- Cho SM, Gu YS and Kim SB. 2005. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food Hydrocoll* 19, 221-229.
- Cho SM, Kwak KS, Park DC, Gu YS, Ji CI, Jang DH, Lee YB and Kim SB. 2004. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*)

- cartilage. *Food Hydrocoll* 18, 573-579.
- GME. 2008. Gelatin Manufacturers of Europe. Retrieved from www.gelatine.org/en/gelatine/overview/127.htm on March 15.
- Gómez-Guillén MC, Turnay J, Fernandez-Diaz MD, Ulmo N, Lizarbe MA and Montero P. 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocoll* 16, 25-34.
- Gudmundsson M. 2002. Rheological properties of fish gelatin. *J Food Sci* 67, 2172-2176.
- Holzer, D. 1996. Gelatin production. US patent 5,484-888.
- Jamilah B and Harvinder KG. 2002. Properties of gelatins from skins of fish-black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chem* 77, 81-84.
- Kelleher K. 2005. Discards in the world's marine fisheries. An update. Paper N 470, FAO Fisheries Technical Rome. 131-132.
- Khor E. 1997. Methods for the treatment of collagenous tissues for bioprostheses. *Biomaterials* 18, 95-105.
- Kim JS and Cho SY. 1996. Screening for raw material of modified gelatin in marine animal skins caught in coastal offshore water in Korea. *Agric Chem Biotechnol* 39, 134-139.
- Kim SK, Byun HG and Lee EH. 1994. Optimum extraction conditions of gelatin from fish skins and its physical properties. *J Korean Ind. Eng Chem* 5, 547-559.
- Lee KY, Shim J and Lee HG. 2004. Mechanical properties of gellan and gelatin composite films. *Carbohydr Polym* 56, 251-254.
- Liang HC, Chang WH, Liang HF, Lee MH and Sung HW. 2004. Crosslinking structures of gelatin hydrogels crosslinked with genipin or a water-soluble carbodiimide. *J Appl Polym Sci* 91, 4017-4026.
- Liu LS, Liu CK, Fishman ML and Hicks KB. 2007. Composite films from pectin and fish skin gelatin or soybean flour protein. *J. Agric Food Chem* 55, 2349-2355.
- Matsuda S, Iwata H, Se N and Ikada Y. 1999. Bioadhesion of gelatin films crosslinked with glutaraldehyde. *J Biomed Mater Res* 45, 20-27.
- Monsan P, Puzo G and Marzarguil H. 1975. Etude du mecanisme d'etablissement des liaisons glutaraldehyde-proteines. *Biochimie* 57, 1281-1292.
- Montero P, Borderias J, Turnay J and Lizarbe MA. 1990. Characterization of hake (*Merluccius merluccius* L.) and trout (*Salmo irideus* Gibb.) collagen. *J Agric Food Chem* 38, 604-609.
- Nagai T and Suzuki N. 2000. Isolation of collagen from fish waste material-skin, bone and fins. *Food Chem* 68, 277-281.
- Osborne K, Voight MN and Hall DE. 1990. Utilisation of lumpfish carcasses for production of gelatin. In: *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability*. Voight MN and Botta JK, eds. Technomic Publishing Co., Lancaster, Pa, U.S.A., 143-153.
- Otani Y, Tabata Y and Ikada Y. 1996. Rapidly curable biological gluecomposed of gelatin and poly(L-glutamic acid). *Biomaterials* 17, 1387-1391.
- Schrieber R and Gareis H. 2007. Theory and Industrial Practice. In *Gelatine Handbook*. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 163.
- Stainsby G. 1987. Collagen as food. *Advances in meat research*. In : *Gelatin gels*. vol. 4. Pearson AM, Dutson TR and Bailey AJ, Eds, Van Nostrand Reinhold Company Inc., New York, U.S.A., 209-222.
- Sung HW, Huang DM, Chang WH, Huang RN and Hsu CJ. 1999. Evaluation of gelatin hydrogel crosslinked with various crosslinking agents as bioadhesives: in vitro study. *J Biomed Mater Res Part A* 46, 520-530.
- Sung HW, Shih JS and Hsu CS. 1996. Crosslinking characteristics of porcine tendons: effects of fixation with glutaraldehyde or epoxy. *J Biomed Mater Res Part A* 30, 361-367.
- Wasswa J, Tang J and Gu X. 2007. Utilization of fish processing by-products in the gelatin industry. *Food Reviews International* 23, 159-174.
- Wilesmith JW, Ryan JB and Atkinson MJ. 1991. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. *Veterinary Record* 128, 199-203.
- Yasuda K, Gong JP, Katsuyama Y, Nakayama A, Tanabe Y, Kondo E, Ueno M and Osada Y. 2005. Biomechanical properties of high-toughness double network hydrogels. *Biomaterials* 26, 4468-4475.
- Yoon JH, Woo JW, Rho HJ, Ahn JR, Yu SJ, Lee YB, Moon CK and Kim SB. 2008. Optimization of adhesive strength to plywood of gelatin processed from dorsal skin of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Korean J Chem Eng* 25, 134-138.
- Zhang YZ, Venugopal J, Huang ZM, Lim CT and Ramakrishna S. 2006. Crosslinking of the electrospun gelatin nanofibers. *Polymer* 47, 2911-2917.

2011년 9월 7일 접수
 2011년 11월 1일 수정
 2011년 12월 7일 수리