

## 어류 부산물을 이용한 흡수성 연조직 접착제 개발

김진<sup>#</sup> · 임태준<sup>\*#</sup> · 김수관<sup>†</sup> · 이기영<sup>\*\*†</sup>

조선대학교 치과대학 구강악안면외과학교실 & 조선대학교 치의학연구소,  
\*전남대학교 신화학소재공학과, \*\*전남대학교 화학공학부  
(2019년 1월 7일 접수, 2019년 2월 11일 수정, 2019년 2월 20일 채택)

## Development of Fish Byproduct Extract Based Absorbable Soft Tissue Bioadhesive

Jin Kim<sup>#</sup>, Tae Joon Im<sup>\*#</sup>, Su-Gwan Kim<sup>†</sup>, and Ki-Young Lee<sup>\*\*†</sup>

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Chosun University & Institute of Dental Science, Chosun University, Gwangju 61452, Korea

\*Department of Advanced Chemicals and Engineering, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

\*\*School of Chemical Engineering, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

(Received January 7, 2019; Revised February 11, 2019; Accepted February 20, 2019)

**초록:** 어류 부산물을 활용하여 생체 내 사용 가능한 연조직 접착제를 제조하였다. 민어부레와 황다랑어 껍질 추출물에서 80% 이상 천연아미노산 성분을 GCMS 분석을 통해 확인하였고 HPLC(high pressure liquid chromatography)와 FTIR(Fourier transform infrared spectroscopy), EDX(energy-dispersive X-ray spectroscopy) 분석결과 콘드로이친 설페이트가 함유된 것을 확인하였다. 접착강도를 측정된 결과 민어부레 추출물은 12.3±0.45 kPa 황다랑어 껍질 추출물에서는 27.85±0.45 kPa로 황다랑어의 구성 아미노산 함량이 2배 높은 만큼 접착력도 2배 높은 것을 관찰하였다. 랫의 피하에 주사하여 생분해성이 가능한 소재임을 평가하였고 세포독성이 없으며 연조직 접착제로 활용 가능성을 조직학적 평가를 통해 확인하였다.

**Abstract:** In this study, we present the preparation of the glue from fish by-products extract and evaluation of its use as a absorbable soft-tissue adhesive. The contents of natural amino acids over 80% were confirmed in the fish by-product extracts. In addition, chondroitin sulfate was identified by HPLC (high pressure liquid chromatography), FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) and EDX (energy-dispersive X-ray spectroscopy). The adhesive strength analysis showed that the higher the amino acid content, the higher the strength. The fish by-product extracts were confirmed to be biodegradable. Histological evaluation confirmed that it was not cytotoxic and could be used as a soft tissue adhesive.

**Keywords:** fish byproduct, absorbable, soft tissue, bioadhesive.

## 서론

생체접착(bioadhesion)은 필요로 하는 생체의 부분에 천연 및 합성 고분자를 연결하는 과정으로 점액접착, 수소결합(hydrogen bonding), 염분결합(salt bridging), 이온결합(ionic bonding) 등 다양한 요인들에 의해 형성된다.<sup>1</sup> 접착제의 재료에 따라 천연 접착제(natural adhesive), 합성 접착제(synthetic adhesive), 반합성 접착제(semi-synthetic adhesive) 세 가지 종류로 구분한다. 합성 고분자 접착제는 poly(acrylates), poly

(acrylic acid), polycarbophil와 cyanoacrylate derivatives의 carbomer이다. 천연 고분자 접착제는 일반적으로 polysaccharides, cellulose derivatives, hyaluronic acid, chitosan, gelatin 등이 알려져 있다.<sup>2</sup> 생체 접착제의 가장 중요한 요소는 목적하는 조직에 저자극과 저독성, 적절한 유동성 및 생분해성이 요구된다.<sup>3,4</sup>

콜라겐(collagen)에서 가수분해하여 얻은 젤라틴은 생분해성, 생체 적합성, 수분 보유력, 결합력, 유화력, 응집력 및 점도의 특성을 가지고 있어 식품, 의약품, 화장품 등 다양한 산업군에 사용되고 있다. 최근 어류 콜라겐에 대한 관심이 커짐에 따라 어류가 식품으로 활용될 때 생기는 부산물(뼈, 껍질 등)의 연구가 활발해지고 있다. 동물성 단백질에 속하는 어류 부산물은 접착제 원료로 이용할 경우 원료 확보가 용이하고 대량생산이 가능하다. 또한 단백질은 친수성 및 소수성

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

sgckim@chosun.ac.kr, ORCID<sup>®</sup> 0000-0002-0424-9984

kilee@chonnam.ac.kr, ORCID<sup>®</sup> 0000-0002-0891-4195

©2019 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

을 보유하고 있어 강도 및 내수성 향상 가능성을 보유하고 있다. 피브린 글루와 혼합하면 접착강도가 우수해져 의료용 접착제로도 활용 가능하다.<sup>5</sup> 천연 고분자 소재 경우 자연에서 얻을 수 있기 때문에 비교적 안전성이 보장되거나 선택의 종류가 많지 않고 물리적인 성질이 제한적이다.<sup>6,7</sup>

예전부터 알려진 해양소재 중 하나로 민어부레는 어교로 불리우며 활이나 가구, 피혁 등 공예품을 제작하는데 접착제로 사용해 왔다. 특히, 민어부레에는 다량의 젤라틴이 함유되어 있으며 추출 온도에 따라 아미노산 함량이 달라지며 아미노산의 함량이 높을수록 접착력이 향상된다는 보고가 있다. 하지만, 민어부레는 값이 비싸고 어획량이 적어 어교로 활용하기에는 문제점을 가지고 있다.<sup>7,8</sup>

황다랑어(yellowfin tuna) 경우 어획량이 꾸준히 증가하고 있으며 참치 통조림가공 중 뼈나 껍질 등과 같은 부산물이 다량 발생한다.<sup>9</sup> 껍질에는 단백질이 풍부하게 있고 뼈등에서는 뮤코다당류인 콘드로이친설페이트(chondroitin sulfate)와 히알루론산(hyaluronic acid)이 포함되어 있다. 콘드로이친설페이트 성분을 활용한 바이오 접착연구에서는 콘드로이친설페이트 함량 증가에 따라 접착강도가 향상된 연구결과가 보고되었다.<sup>10</sup>

본 연구에서는 황다랑어 부산물에서 추출되는 천연아미노산과 콘드로이친설페이트 성분이 함유된 추출물을 생체친화적 접착제로서의 활용 가능성을 동물실험을 통해 평가하였다.

## 실 험

**시약 및 재료.** 민어부레(croaker swim bladder, CSB)와 황다랑어 껍질(tuna skin, TS)은 남광주시장 남부수산에서 구입하였다. 양성 대조군으로 생체접착제로 사용되는 2-octyl cyanoacrylate 조성의 Dermabond(Ethicon Inc, Somerville, NJ)를 사용하였다. 이외에 모든 시약은 정제과정 없이 사용되었으며, 물은 3차 증류수와 생리식염수를 사용하였다.

**어류 추출물 제조.** 시장에서 구입한 CSB를 열풍건조기에서 10일 건조시켰다. 건조된 CSB를 하루 정도 물에 담귀 불순물을 제거하였다. 무게를 잰 뒤, 10배량의 0.2 N 아세트산(acetic acid)에 담귀 냉장실에서(4~8 °C) 6시간 동안 담가 놓았다. 용액에 팽윤된 CSB를 꺼내 흐르는 물로 12시간 동안 중화시켰다. 중화시킨 CSB에 4배의 물을 첨가한 뒤 60~70 °C에서 3~4시간 중탕하였다. 중탕 후, 용액 내에 포함된 불순물 제거를 위해 여과지(filter paper)를 사용하여 여과를 진행하였다. 여과한 용액을 다시 60~70 °C에서 가열시켜 최종적으로 손질한 초기 무게로 농축시켰다. 농축 후 컷오프(cutoff) 사이즈 12~14 kDa 멤브레인 튜브(membrane tube)를 이용하여 4 °C에서 증류수(1L, 2회, ~10시간/회)로 투석을 진행하였다. 단백질의 불순물이 제거된 추출물을 동결건조하여 분말 형태로 보관하였다. TS도 위와 같은 방법으로 추출물을 얻어

실험에 사용하였다. 두 가지의 해양 소재를 건조시켜 추출하여 동결건조 후 얻은 분말의 수득률은 민어부레의 경우 약 35%였으며, 황다랑어 껍질의 수득률은 50% 이상으로 데시케이터에 보관하여 실험에 사용하였다.

**GC-MS 성분 분석.** 어류 추출물의 성분 분석을 위하여 gas chromatography/mass spectroscopy(GC-2010, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) 기기를 통해 관찰하였다. 각 추출물을 에탄올에 용해시킨 후, 원심분리기를 이용하여 부유물을 제거하고 미세 필터(0.45 μm)로 여과하여 준비하였다. 성분 분석은 다음과 같은 조건으로 진행하였다. 컬럼은 BD-5(60 mm×0.25 mm×0.25 mm), carrier gas로는 He(1 mL/min), injection 온도는 250 °C, oven 온도는 50~300 °C, 3 °C/분 승온, injection volume은 1 μL, injection mode는 split ratio 10:1 조건에서 성분 분석을 하였으며, MSD(mass selective detector)에서 mass range 28~550, acquisition mode는 scan mode 조건으로 정량하였다. 화합물 규명은 Wiley library의 매칭을 통해 정리하였다.

**구성아미노산 함량 측정.** 시료 분말 0.5 g을 18 mL 시험관에 칭량하여 6 N HCl 3 mL를 가한 다음 진공펌프를 이용하여 시험관을 밀폐하였다. 밀폐한 시험관은 121 °C로 heating block에서 24시간 가수분해시킨 후, 50 °C, 40 psi의 rotary evaporator로 산을 제거한 후 sodium loading buffer로 10 mL 정량한 다음, 이 중 1 mL를 취하여 membrane filter(0.2 μL)로 여과하여 아미노산분석기(S433-H, SYKAM, Germany)로 정량 분석하였다. 컬럼은 cation separation column(LCA K06/Na)을 사용하였고, 컬럼 크기는 4.6×150 mm, 컬럼 온도는 57~74 °C, flow rate에서 buffer는 0.45 mL/min, reagent는 0.25 mL/min이었으며, wavelength는 각각 440 nm과 570 nm이었다.

**콘드로이친설페이트 함량 측정.** Chondroitinase ABC는 Sigma 사(독일)에서 구입하였으며 HPLC 분석을 위한 장치는 Waters사의 515pump, controller, 486 UV detector 및 column은 Phenomenex Luna C18을 사용하여 분석하였다. HPLC로 TS 및 CSB 추출물을 분석하여 함량 측정 및 농도에 따른 추이를 그래프로 정리하여 보았다. 이동상으로는 MeOH:KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>=1:4 v/v를 사용하였으며, 시료 및 표준물질은 HPLC용 물에 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 wt%를 녹여 분석에 이용하였다. 농도에 따른 면적 값을 산출하였다.

**FTIR 구조분석.** 추출물의 화학 구조를 관찰하기 위해 적외선분광광도계(FTIR spectroscopy, Shimadzu-IR Prestige-21, Japan)를 이용하여 분석하였다. KBr pellet을 만들어 시편을 제조하였으며, 시료와 KBr을 무게비 1:100으로 잘 혼합하여 pellet을 제조하고 60 °C에서 12시간 동안 감압 건조를 이용하여 수분을 제거한 후 4000~500 cm<sup>-1</sup> 영역에서 측정하였다.

**접촉각 측정.** 접촉각은 액체와 고체 사이의 표면장력(surface tension)에 영향을 받으며 고체 표면의 젖음성(wettability)을 나타내는 척도로 사용된다. 즉, 접촉각이 낮을수록 친수성

(hydrophilicity)이 크고, 접촉각이 높을수록 소수성(hydrophobicity)이 큰 것으로 볼 수 있다. 해양 유래 어류 단백질의 친수성, 소수성 성질을 알기 위해 각 추출물 5%를 증류수에 용해하여 petri dish(150 mm)에 부어 50 °C에서 4시간 건조 후 얻어진 막 형태에 일정량의 물방울을 떨어뜨려 3분 후 물방울과 해양 유래 어류 단백질 조성막의 접촉각을 측정하였다. 접촉각 측정기기(Phoenix-Smart(A), Surface Electro Optics, Korea)를 사용하여 각 5번씩 측정하여 평균값을 구하였다.

**접착강도 측정.** 각 단백질 추출물을 10배 농축시켜 UTM 장비를 활용하여 접착강도를 측정하였다.<sup>11</sup> 각 단백질 추출물의 접착강도 평가를 위해 도축장에서 돼지 귀를 구입하여 실험에 사용하였다. 멸균된 증류수로 세척 후 호일로 싸서 -20 °C에서 4주 안에 사용하였다. 실험에 사용할 때 0.9%(W/V) NaCl을 함유하는 생리식염수용액에 25±0.5 °C에서 30분간 처리하고 시편 폭 25 mm, 길이 70 mm 및 겹침 길이 25 mm로 ASTM D5868-01의 규격을 참고하여 성능평가를 진행하였다.

**세포독성.** 어류 단백질 조성 접착제의 안정성 평가를 위해 ISO 10993-5에 제시된 방법에 따라 평가를 진행하였다. 한국 세포주은행(Korean cell line bank:KCLB)에서 구입한 섬유아 세포 L-929는 10% FBS와 1% penicilin이 함유된 DMEM 배지에서 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 조건하에서 배양하였다. 고농도로 배지에 용출시킨 단백질 조성 접착제를 24시간 동안 5×10<sup>4</sup> cells/well 배양된 plate에 처리하여 MTT assay를 실시하였다. ELISA reader(Biotex, USA)를 이용하여 570 nm 조건에서 흡광도를 측정된 뒤 세포생존율을 계산하였다. 각 실험은 모두 세 번씩 수행하였다.

**생분해성 평가.** 국제표준화기구 기준(ISO 10993-6)에 제시된 시험방법으로 평가하였다. Sprague-dawley rat(Orient bio, Kyeonggi, Korea)(7주령, 220 g)의 backside의 피하조직(subcutaneous tissue)에 졸 상태의 용액을 23G 주사기 바늘로 주입하였다. 피하에 주입 후 이식물의 캡슐화 정도와 염증의 정도를 평가하고 대식세포의 뭉침 유무도 확인하였다.

**동물실험.** 30마리의 SPF/VAF male ICR mouse(8주령, 체중 30~35 g)를 1주일의 순응기간을 거친 뒤 시험에 사용하였다. 전신마취제로 Alfaxan(50 mg/kg)과 Rompun(10 mg/kg)을

혼합하여 사용하였다. 이후 등 중앙부의 털을 제거하고 20 mm를 절개하여 접착제 도포(실험군: 황다랑어 껍질 추출물 조성 접착제, 대조군: 무처리)후 관찰일자(1,3,6,9일)에 따른 실험을 실시하였다. 본 연구에서 실시한 모든 실험은 전남대학교의 동물실험 윤리위원회의 사전 승인 이후, 전남대학교 수의학대학 특정 항원제어(specific pathogen free, SPF) 실험동물실과 준 SPF 환경의 설치류 사육실에서 전남대학교의 표준 작업지침을 준수하며 진행하였다(승인번호: CNU IACUC-YB-2017-49).

**조직학적 평가.** 동물실험 후 각 군의 실험동물을 희생시켜 수술 부위를 절제하였다. 절제한 조직은 4% 포르말린 용액에 고정하고 파라핀 블록을 제조하였다. 제조된 파라핀 블록은 5 µL의 두께로 박절하여 블록당 3장의 슬라이드를 제작하였고 H&E (hematoxylin and eosin) 염색을 실시한 후 광학 현미경으로 관찰하였다.

**통계.** 각 실험의 통계학적 분석은 대조군과 실험군을 student's *t*-test를 시행하여 *p* 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 하였다.

## 결과 및 토론

**GCMS로 분석.** CSB와 TS 추출물의 성분을 측정한 결과, 두 시료에서 천연아미노산인 glycyl-L-proline(C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 성분이 85% 이상 함유된 것을 확인하였다. 그 밖의 palmitic acid, propenoic acid(unsaturated liquid carboxylic acid), cyclopentane 성분이 TS 시료군에서 검출되었다(Figure 1, Table 1).

**구성아미노산 함량.** 아미노산 함량 분석 측정 결과 분말 100 g당 CSB은 32.8 g, TS은 61.92 g의 구성 아미노산이 함유되어 있는 것을 관찰하였다. TS에서 2배가 더 많은 총 아미노산의 함량을 확인하였다. 다른 해양 소재와 비교한 결과 명태, 가다랑어 및 황다랑어 알에서 총 아미노산의 함량을 비교해본 결과 가다랑어 알은 20 g, 황다랑어 알은 20 g, 명태알은 18 g 등이 보고되었다.<sup>12</sup> 접착력과 밀접한 젤라틴은 18개의 아미노산으로 구성되어 있으며 소 막대아교의 젤라틴을 가수분해했을 때 glycine(21.4%), proline(12.4%), hydroxyproline

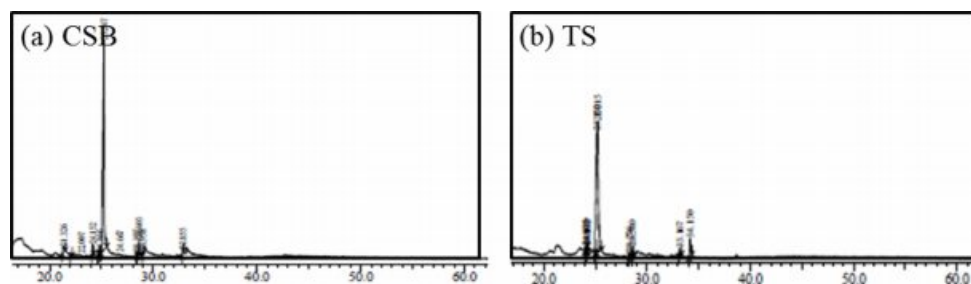


Figure 1. GC-MS chromatogram of CSB and TS extracts.

**Table 1. Components Identified by GC-MS of CSB and TS Extract**

Peak	Real time (min)	Compound	Area (%)	
			CSB	TS
1	24.15	Pyrrolidin-2-yl-propionic acid	3.59	3.65
2	25.24	Glycyl-L-proline	87.59	85.15
3	28.33	H-Purin-6-amine	3.29	3.15
4	33.33	Propenoic acid	-	1.75
5	34.35	Cyclopentane	-	5.61

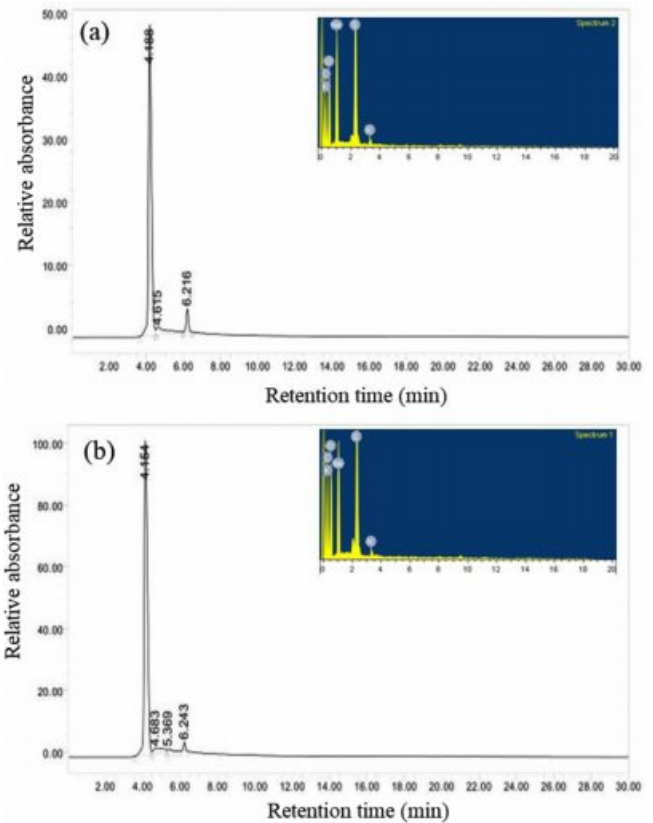
**Table 2. Amino Acid Composition of CSB and TS Extract (unit: g%)**

Sample component	CSB	TS
Aspartic acid	6.71	5.68
Threonine	3.35	5.03
Serine	2.99	3.02
Glutamic acid	11.59	6.41
Proline	14.03	8.47
Glycine	26.22	4.58
Alanine	12.2	6.1
Cystine	0.27	11.41
Valine	2.41	4.3
Methionine	2.165	7.31
Isoleucine	0.91	3.54
Leucine	2.44	4.14
Tyrosine	0.55	5.76
Phenylalanine	2.04	6.8
Histidine	0.85	2.7
Lysine	3.96	5.47
Arginine	7.31	9.3
Total	100	100

(11.9%), glutamic acid(10.0%), alanine(8.9%), arginine(7.8%), aspartic acid(6.0%), serine(3.6%) 등의 함량이 보고되었다.<sup>13</sup>

CSB는 glycine(26.22%), proline(14.03%), alanine(12.2%) 이 높은 비율로 확인되었으며, TS는 cysteine(11.41%), proline(8.47%), phenylalanine(6.8%) 순으로 아미노산을 확인하였다 (Table 2).

**HPLC분석 결과.** 다당류인 콘드로이친설페이트는 체 내에 연골, 피부, 탯줄 등 결합조직에 함유되어 있는 성분이다. 현재 생체접착 연구에서는 콘드로이친설페이트가 생체 내 접착제로 활용되는 연구 보고가 있다.<sup>14,15</sup> 콘드로이친설페이트의 함량을 평가하기 위해 콘드로이친설페이트를 농도별로 측정 한 결과 농도 의존적으로 4분대의 피크의 면적이 증가되는 것을 관찰할 수 있었다. 농도별 면적값으로 콘드로이친설페

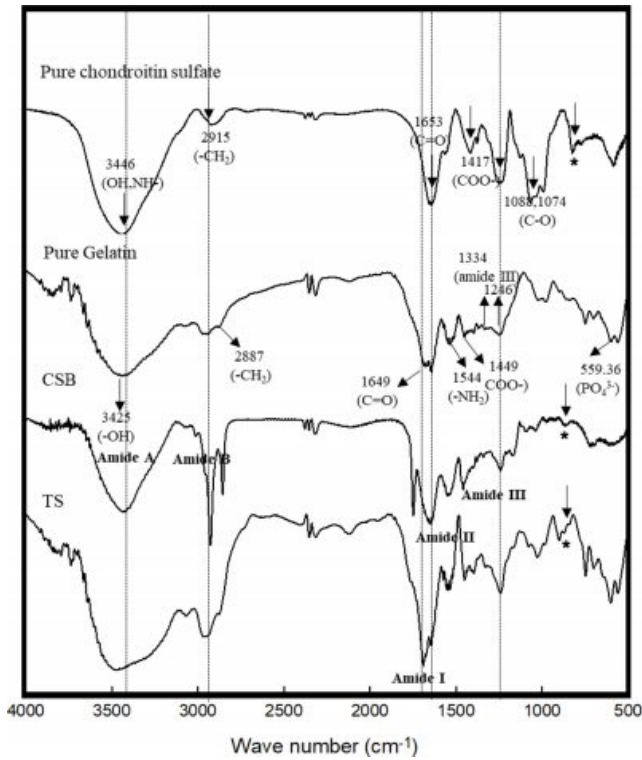


**Figure 2.** HPLC chromatograms and EDX spectra of CSB and TS extracts.

이트 함량을 산출할 수 있다. 기울기( $y=1.213,651x+237,435$ )의 값을 얻었으며 산출한 결과 CSB는 4.7%, TS는 22%의 함량을 관찰할 수 있었다. 또한 EDS 측정 결과 CSB와 TS에서 황산이온(S)이 각각 7.1%, 12.54%의 함량을 관찰하였으며 CSB와 TS에서 콘드로이친설페이트가 함유되어 있음을 확인할 수 있었다(Figure 2).

**FTIR 구조분 평가.** 콘드로이친설페이트 표준물의 FTIR 스펙트럼은 3446.79, 1643.35, 1251.8, 1064.71, 994.43  $cm^{-1}$ 에서 큰 피크를 보였으며 1423.52, 1148.36, 809.50 및 586.36  $cm^{-1}$ 에서는 중간 크기의 피크를 나타냈다. 특히, 850  $cm^{-1}$  (\*)부근의 피크는 glucose, galactose, mannose의 C-O-C skeletal 구조로 다당류의 특징을 나타낸다. 젤라틴 표준물 경우 3425.58, 1649.14, 1246.02, 601.36, 559.36  $cm^{-1}$ 에서 큰 피크를 보였으며, 2887, 1544, 1449  $cm^{-1}$ 에서 중간크기 피크가 확인되었다. CSB와 TS 시료에서 젤라틴의 고유 피크와 같은 위치 3468.01, 2968.45, 1689.64, 1242, 18,601.79  $cm^{-1}$ 에서 큰 피크를, 1650.32, 1120.11, 984.04, 850,750.25  $cm^{-1}$  중간 크기의 피크를 각각 나타내고 있었다(Figure 3). 특히, 1700-1500  $cm^{-1}$  부위는 주로 amide I과 II을 포함하는 아미노산 및 단백질 계열의 화합물 작용기가 확인되었다. 1652  $cm^{-1}$ 는 amide I, 1688





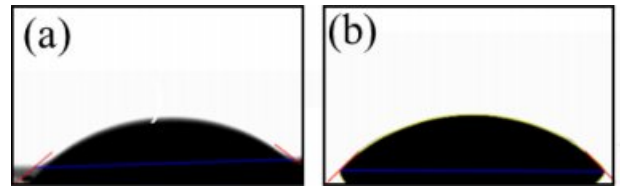
**Figure 3.** FTIR spectra of CSB and TS extracts, pure chondroitin sulfate, and gelatin.

과 1638  $\text{cm}^{-1}$ 는 대표적인 antiparallel  $\beta$ -sheet를 나타내며, 1649  $\text{cm}^{-1}$ 는 무작위 구조를 반영한다. 1663-1630  $\text{cm}^{-1}$ 의 영역은 amide I band의 특징이며, 1738  $\text{cm}^{-1}$ 은 지질, 2900  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_2$ , amide B)과 3400-3440  $\text{cm}^{-1}$ (amide A)은 각각 amide-N과 단백질-N의 지표로 사용될 수 있다. 그리고 850  $\text{cm}^{-1}$  (\*) 부근의 피크는 콘드로이친설페이트 성분을 나타내는데 CSB와 TS에서 같은 양상의 피크가 관찰되었다.

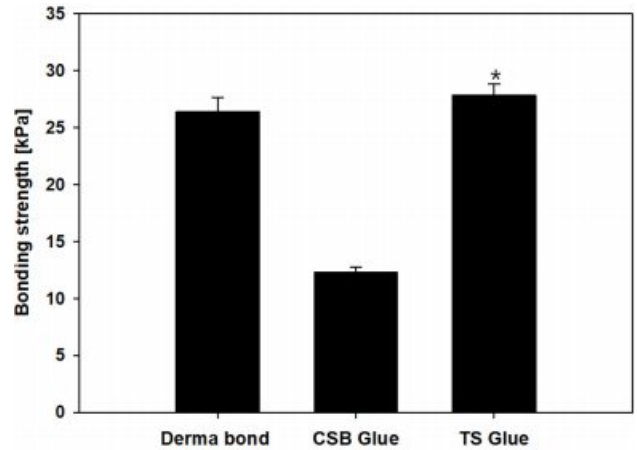
**접촉각 측정.** 접촉이 일어나기 위해서는 접착제가 피착체에 젖어야 한다. 젖음은 접착제 자체 분자간 응집력보다 접착제와 피착체 분자간의 계면에서 결합력이 클 때 일어나는 현상이다. 접촉각이 90도 이하이면 젖음성이 있다고 판단한다. CSB 조성 막은  $35 \pm 2^\circ$ , TS조성 막은  $41 \pm 3^\circ$ 으로 CSB 조성이 친수적 성질이 더 높은 것을 관찰할 수 있었다(Figure 4).

**접착강도 측정.** 시중에 판매되는 생체접착제 derma bond는  $26.41 \pm 1.27$  kPa, CSB 경우  $12.3 \pm 0.45$  kPa, TS는  $27.85 \pm 0.45$  kPa의 접착력을 나타냈다. N-vinylcaprolactam과 2-hydroxyethyl methacrylate에 천연 폴리페놀 catechol을 결합한 고분자에 hydrocaffeic acid을 결합시킨 접착제는 접착강도가  $24.3 \pm 4$  kPa의 값을 나타냈으며 TS 시험군과 근접한 값을 확인할 수 있었다(Figure 5).<sup>16</sup>

**세포독성.** 의약품 소재로 인증을 받기 위한 세포독성 안정 인증 ISO 10993-5 방법을 적용하여 해양 어류 단백질 및 접



**Figure 4.** Water contact angle of CSB and TS extracts.

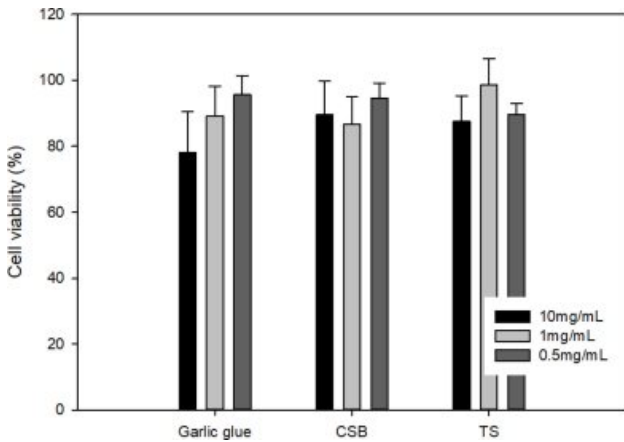


**Figure 5.** Comparison of bonding strength of derma bond, CSB and TS glue.

착제의 세포독성을 평가하였다. 각 조성에서 80% 이상의 생존율을 관찰하였다. 대조군으로 선정한 마늘추출물 조성 접착제의 경우, 10 mg/mL에서  $78.2 \pm 12.23\%$ 의 세포생존율을 관찰하였고, 그 밖의 농도에서는 80% 이상의 생존율을 확인하였다. 의약품 화학 접착제의 대표적인 소재로 시안화 아크릴레이트는 희석되지 않은 상태에서 세포독성이 있지만, 세포배양액을 10배로 희석 시 세포독성은 70% 이상의 생존 능력 (viability)이 보고되었다(Figure 6).<sup>17</sup>

**생분해성 평가.** 5%의 TS가 담지된 주사기를 백서의 backside 피하에 주사하였다. 주사 30분 후에 백서를 희생시켜 피하 표면을 관찰하였다. 28일 후 관찰한 피하표면은 접착제가 생분해된 것을 확인하였다. 조직학적 관찰 또한 0 day 부터 일주일 간격으로 조직을 채취하여 관찰한 결과 접착제 성분이 조직 내에 서서히 흡수되어 분해되는 것을 확인하였다. 특히, 초기에 염증세포는 시간이 지남에 따라 감소되는 것을 확인하였다. 해양소재 유래 어류 단백질 조성의 접착제는 생체 적합성이 좋으며 생분해가 가능한 소재임을 확인하였다(Figure 7).

**조직학적 평가.** 백서의 피부 절개창 모델을 이용하여 TS의 접착능을 평가하였다. 대조군으로 절개창을 만들고 아무 것도 처리하지 않는 군과 TS를 처리한 군으로 육안적 관찰과 조직학적 관찰을 진행하였다. 육안적 관찰 결과, 무처리군에서 9일이 지나면서 절개창이 봉합되었으나 2/3 정도는 완



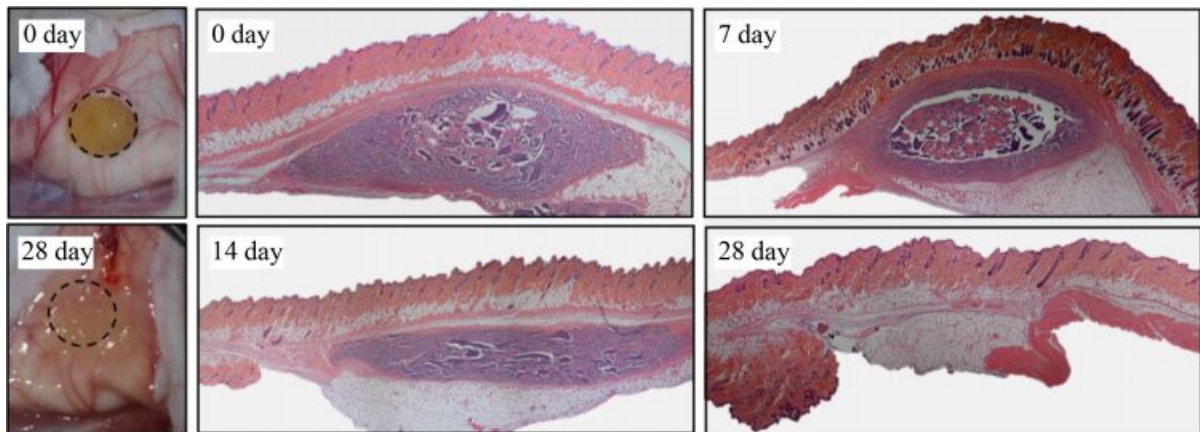
**Figure 6.** Evaluation of cell viability of garlic glue, CSB and TS extract on L-929 cell line.

전히 봉합되지 않고 남아있었다(Figure 8(a)). TS 처리군에서는 6일이 경과되면서 대조군보다 더 빠른 봉합력을 관찰하였고 9일이 경과되면서 봉합된 형태를 관찰하였다. 육안적 관찰 시 백서의 창상과 봉합 상태는 주관적일 수 있어 조직학

적 평가를 진행하였다. 조직학적 평가 결과 TS 처리군에 절개창의 봉합이 매우 우수하였으며 표피와 육아조직의 회복이 진행되고 있음을 확인할 수 있었다. Lee 등의 연구에서 진행한 Dermabond®의 창상 봉합력의 조직학적 평가와 비교했을 때 비슷한 양상이 관찰되었다(Figure 8).<sup>18</sup>

### 결 론

본 연구는 해양 유래 소재인 어류부산물을 이용하여 흡수성 접착제를 제조하였다. 어류 부산물 추출물은 천연아미노산 성분으로 추출물의 물리 화학적 특성을 관찰하고 의료 소재로 사용 가능성을 평가하기 위해 동물실험을 진행하였다. 또한 HPLC, FTIR과 EDX를 통해 콘드로이친 설페이트 성분을 확인하였다. 민어부레보다 황다랑어 껍질 추출물에서 2배가 높은 아미노산의 함량이 관찰되었고 돼지기름 활용한 접착력 실험에서도 2배가 높은 접착강도가 확인되었다. 동물을 이용한 피내 독성 평가와 접착력 평가를 진행한 결과 5배 농축한 황다랑어 추출물은 연조직 접착제로 활용 가능함을 확인하였으며 의료용 접착제로 활용 가능할 것으로 기대된다.



**Figure 7.** Photos of subcutaneous injection into backside tissue of SD rats (left); H&E staining of histological evaluation at 0, 7, 14, 28 days after injection of TS extract (right).



**Figure 8.** Representative macroscopic pictures of wound from non-treatment and TS glue-treated group (a,c). H&E staining of re-epithelializing wound (b,d). The scale bars represent 1 mm. The red line indicate the wound edges.

## 참고문헌

1. K. D. Min, W. H. Park, D. I. Yoo, and S. Hudson, *Textile Sci. Eng.*, **42**, 60 (2005).
2. J. K. Oh, D. H. Lim, S. Y. Kim, and H. J. Kim, *JAIK*, **9**, 34 (2008).
3. J. Y. Kim, J. H. Yoon, D. H. Kim, and S. B. Kim, *Korean J. Chem. Eng.*, **29**, 503 (2012).
4. P. Ferreira, J. F. J. Coelho, and M. H. Gil, *Int. J. Pharm.*, **352**, 172 (2008).
5. Y. Otani, Y. Tabata, and Y. Ikada, *Biomaterials*, **17**, 1387 (1996).
6. D. M. Toriumi, K. O'Grady, D. Desai, and A. Bagal, *Plast. Reconstr. Surg.*, **102**, 2209 (1998).
7. O. Kaewdang, S. Benjakul, T. Prodpran, T. Kaewmanee, and H. Kishimura, *Ital. J. Food Sci.*, **27**, 366 (2015).
8. A. Karim and R. Bhat, *Food Hydrocoll.*, **23**, 563 (2009).
9. J. W. Woo, S. J. Yu, S. M. Cho, Y. B. Lee, and S. B. Kim, *Food Hydrocoll.*, **22**, 897 (2008).
10. J. A. Simson, I. A. Strehin, B. W. Allen, and J. H. Elisseeff, *Tissue Eng. Part A*, **19**, 1843 (2013).
11. J. Kim, J. W. Jang, C. M. Lee, and K. Y. Lee, *Polym. Korea*, **41**, 324 (2017).
12. C. Ghobril and M. W. Grinstaff, *Chem. Soc. Rev.*, **44**, 1820 (2015).
13. J. E. Eastoe, *Biochem. J.*, **61**, 589 (1995).
14. I. Strehin, Z. Nahas, K. Arora, T. Nguyen, and J. Elisseeff, *Biomaterials*, **31**, 2788 (2010).
15. I. Strehin, W. M. Ambrose, O. Schein, A. Salahuddin, and J. Elisseeff, *J. Cataract Refract. Surg.*, **35**, 567 (2009).
16. M. Puertas-Bartolomé, B. Vázquez-Lasa, and J. S. Roman, *Polymers*, **10**, 768 (2018).
17. L. Montanaro, C. R. Arciola, E. Cenni, G. Ciapetti, F. Savioli, F. Filippini, and L. A. Barsanti, *Biomater. Res.*, **22**, 59 (2001).
18. J. H. Lee, T. G. Jung, D. Y. Hwang, H. G. Kang, J. C. Park, D.W. Han, and S. H. Hyon, *Biomater. Res.*, **15**, 129 (2011).