

Preparation of Shark Byproduct Extract and Gellan Gum based Antibacterial Film Containing Green Tea Extract

Jing-Gi Bak^{1,2,*}, Jin Kim^{3,†,**} and Seung-Ho Ohk^{4,†,**}

¹Moneykey Co., Ltd. Gwangju, 62399, Korea

²Department of Biomedical Engineering, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

³Dental Healthcare & Clinical Trial Center, College of Dentistry, Chosun University, Gwangju 61452, Korea

⁴Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

In this study, we tried to examine the possibility of developing a dental product such as tooth decay prevention and oral hygiene by manufacturing a natural polymer film for oral use. Natural polymer films were prepared from shark byproduct extract (SBE) and gellan gum (GG). As an antibacterial substance, the antibacterial activity of green tea extract against tooth decay-causing bacteria was measured. An film was prepared by adding green tea extract to the composition of SBE and GG. The mechanical, solubility, moisture content and antibacterial function of the prepared film were investigated in detail. Also, the incorporation of GTE into the SBE/GG film improved the physical performance of the film. Increasing the content of GTE improved the antioxidant and antibacterial properties of the film. Formulation of antimicrobial SBE/GG film containing green tea extract was established and these results evidently showed potential for cavity prevention products application.

Key Words: Green tea extract, Shark byproduct, Antimicrobial property, Antioxidant film

서 론

코로나 19시대에 마스크 착용은 의무사항이 된지 오래다. 마스크 착용이 일상이 되면서 구강관리에 큰 관심이 많아지고 있다. 특히, 구취로 인한 불쾌감을 경험하는 사례가 늘고 있으며, 마스크 상시 착용으로 구강 내 환경 개선에 대한 관심사가 높아지고 있다(Seo et al., 2021). 구취의 원인으로 혀 바닥의 백태, 구강 건조증, 청결하지 않은 구강 위생, 구강질환 등이 발생하게 된다. 마스크 속 구강 건강을 위한 제품 개발이 다양해지고 있다. 구강청

결제로 알려진 리스테린의 경우 살리실산메틸, 멘톨, 티몰, 유칼립투스 등 에센셜오일이 주성분으로 제조되며 가글린, 테라브레스 등 세틸피리디늄염화물, 염화세틸피리디늄을 조성으로 한 구강청결제가 일반적으로 알려져 있다(Lee, 2017).

하지만, 이러한 성분들은 장기간 사용시 부작용을 일으켜 횡수나 사용자에게 대한 제한이 따른다(Giannelli et al., 2008). 화학물질의 안전성에 대한 관심이 증가되면서 생체 내 저독성이며, 천연소재 기반의 제품을 선호하고 있다. 천연 항균 및 항산화제로 알려진 녹차(green tea)의 폴리페놀 성분은 항균, 바이러스 감염 억제 및 당뇨예방 효

Received: October 14, 2021 / Revised: February 8, 2022 / Accepted: February 18, 2022

*Graduate student, **Professor.

†Corresponding author: Jin Kim. Dental Healthcare & Clinical Trial Center, College of Dentistry, Chosun University, Gwangju 61452, Korea.
Tel: +82-62-230-6883, Fax: +82-62-608-5407, e-mail: cream4251@chosun.ac.kr

†Corresponding author: Seung-Ho Ohk. Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea.
Tel: +82-62-530-4852, Fax: +82-62-530-4855, e-mail: shohk@chonnam.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

과 등의 다양한 생리활성을 나타낸다. 특히, 녹차추출물의 카테킨 성분은 충치균(*Streptococcus mutans*)에 α -amylase 억제 활성으로 충치 균주에 대한 성장 억제능이 보고되었다(Lim et al., 2003). 구강 환경 개선에 적용 가능한 천연 고분자 필름에 대한 연구가 다양화되고 있다. 특히, 수산물 관련 해조류, 갑각류, 그리고 어류부산물(껍질, 뼈 등)에서 추출된 단백질을 이용한 필름 연구는 예전부터 다양하게 수행되어 왔다(Yu and Cho, 1997; Lee et al., 2001). 연골어류에 속하는 상어(selachimorpha)는 전세계의 열대에서 한대까지의 해양에서 널리 분포하며 단백질, 다당 및 다양한 미네랄과 불포화지방산 등의 유효 성분으로 이뤄져 있다. 살과 지느러미가 식용으로 쓰이며, 그 밖의 껍질, 뼈, 꼬리 등은 대부분 가공부산물로 산업적 가치가 높지만 활용되지 못하고 있다(Kim et al., 2019).

젤란검(gellan gum)은 *Pseudomonas elodea*를 사용하여 순수배양 발효시켜서 얻은 미생물 유래 천연 다당류로 pH나 이온 첨가 등을 통해 젤의 물성을 조절할 수 있어 뛰어난 코팅 및 필름 형성능으로 약물 담체 및 조직 재생 소재로 다양하게 활용되며 의약품, 식품 등에 자유롭게 사용되고 있다(Khang et al., 2015; Park et al., 2015). 따라서, 본 연구에서는 상어부산물 추출물과 젤란검 조성 필름에 항균 기능을 가진 녹차추출물을 담지시켜 물성을 확인하였다. 상어부산물 추출물인 단백질과 젤란검의 최적 농도를 선정하고 녹차추출물이 담지된 필름의 물성을 평가하고 항균 및 항산화능을 평가하여 구강 내 사용 가능한 필름 소재로서의 활용 가능성을 확인하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 상어부산물(shark byproduct, SBE)은 영천돔배기에서 구입하여 이물질 제거를 위해 3~4차례 세척한 후 물기를 최소한으로 하여 냉동실(-40℃)에 보관하고 실험재료로 사용하였다. 젤란검(Gellan gum, GG, Mw = 1,000 KDa), 수산화나트륨(NaOH), 아세트산(acetic acid), pepsin 등 Sigma-Aldrich Chemical Co. (USA) 제품을 사용하였다. 녹차잎(green tea extract, GTE)은 (주)대한다업에서 구입하여 추출한 후 사용하였다. 그 밖의 시약은 정제 과정 없이 사용하였다.

상어부산물 추출물 제조

상어부산물 유래 추출물은 어류 콜라겐 추출 시 사용

되는 Kim 등 (2010)의 방법에 따라 수행하였다. 상어부산물을 수세하여 이물질을 제거하고 비콜라겐성 단백질 제거를 위해 알칼리 처리 공정을 진행하고, 효소가수분해를 통해 알칼리를 처리한 원료에서 콜라겐 추출을 진행하였다. 즉, 상어부산물에 알칼리 처리는 시료 200 g에 0.2 N NaOH 용액을 시료 대비 5배(v/w) 가한 다음 4℃에서 24시간 동안 비 콜라겐성 물질을 제거하고 2~3차례 수세하였다. 효소가수분해 공정은 수세한 시료에 10배량의 0.1%(w/v) pepsin을 함유하는 0.1 M acetic acid을 가하여 24시간 동안 37℃에서 교반하여 분해하였다. 분해된 용액을 여과한 후 85℃에서 20분 동안 가열하여 효소를 불활성화 시킨 다음 동결건조 하여 필름을 제조하는 시료로 사용하였다.

SDS-PAGE를 통한 단백질 subunit 확인

SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)를 이용하여 상어부산물 추출물의 단백질 subunit의 조성을 관찰하였다(Laemmli, 1970). 7.5% polyacrylamide gels (running gel)을 slab 겔용 유리판에 충전하고, 그 상부에 5% polyacrylamide gels (stacking gel)을 충전하였다. 상온에서 2시간 동안 방치하여 고분자를 중합시킨 후, tracking dye와 동량의 시료를 혼합하였다. 100℃에서 5분간 반응시킨 다음 단백질량이 50 μ g 되도록 조제한 시료를 겔 상부에 충전시키고 200 V, 80 mA의 조건에서 전기영동을 진행하였다. 전기영동이 끝난 후 Coomassie Blue R 250 용액으로 염색한 다음 탈색, 건조하여 단백질 밴드를 확인하였다.

녹차추출물 제조 및 성분 분석

녹차잎 30 g을 70% 에탄올 100 mL에 침지시켜 초음파 처리를 30분간 40 kHz로 진행하였다. 초음파 처리된 추출물은 여과하여 감압 농축하였다. 농축된 추출물은 동결건조 후 분말형태로 보관하여 실험에 사용하였다. 녹차추출물(GTE)의 성분 분석은 GC-MASS (GC-2010, Shimadzu Co., Japan)를 활용하였다. 추출물을 DMSO에 충분히 용해시킨 후, 원심분리기를 이용하여 부유물을 제거하고 상층액을 실린지 필터로 여과하여 시료를 준비하였다. 컬럼은 BD-5 (60 mm×0.25 mm×0.25 mm)를 사용하였고, 이동 가스 비율은 1 mL/min, 주입구 온도는 250℃, split ratio 10:1, 온도는 50~300℃/3℃ 승온으로 주입량은 1 μ L 조건으로 분석을 하였다.

녹차추출물 담지 필름 제조

필름을 제조하기 위해 예비실험을 통해 SBE/GG 용액에 다양한 가소제(과당, 글리세롤, 자당 및 소르비톨)를 혼합하여 필름을 제조하였다. 선행연구를 통해 소르비톨을 선정하여 필름을 제조하였다. 필름형성용액은 SBE (2%)와 GG (2%)을 증류수 100 mL에서 80°C 온도에서 교반하여 용해하고 상온에서 균질화 후, 15분 동안 초음파 처리하였다. 초음파 처리(degassing)로 혼합물의 기포를 제거시킨 후, 소르비톨 10 mg과 GTE를 50 mg과 100 mg의 농도로 각각 첨가하여 30분 동안 교반하였다. 최종 용액 25 mL씩을 테프론 코팅 플레이트에 캐스팅하고 상온에서 16시간 동안 건조시켰다. 건조 후 SBE/GG-GTE50, SBE/GG-GTE100 조성 막을 dPBS로 가교 한 후, 3차 증류수로 2~3번 세척하여 필름을 제조하였다. 필름은 상온 상대습도 50% 조건의 챔버에 보관하여 실험에 사용하였다.

인장 강도 및 신장률

필름의 인장강도(tensile strength, TS)와 신장률(elongation at break, E)은 ASTM Standard Method D882-91 방법(ASM, 1993)에 따라 Instron Universal Testing Machine (Model 4484, Instron Co., USA)을 사용하여 측정하였다. 측정 전 필름은 상대습도 및 온도가 50%와 25°C로 조절되는 항온 항습기에서 48시간 저장하여 수분 함량을 조절한 다음, 2.5×7 cm의 크기로 절단하여 한 시료 당 4번 반복 측정하였다.

필름의 수분 함량 및 용해도 측정

수분함량(moisture content)의 경우 2×2 cm² 치수의 필름을 칭량하고 필름 시료를 105°C에서 24시간 건조하였다. 다음 식에 대입하여 수치화 하였다. W₀은 시료 초기 건조 질량(g)이고, W₁은 샘플의 최종 건조 질량(g)이다. 모든 실험은 세 번 이상 수행하였다.

$$MC(\%) = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100\%$$

필름 용해도(water solubility, WS)는 ASTM (1983) 방법에 따라 시료 50 mg을 30 mL 증류수가 들어있는 원심분리용 튜브에 24시간 동안 담근다. 튜브를 9,000 rpm에서 15분간 원심분리 하였다. 그 후, 105°C 오븐에서 12시간 이후 무게를 측정한다, WS는 다음 식에 대입하여 수치화 하였다. W₁은 필름의 초기 무게이며, W₂는 용해되지 않은 건조된 무게이다.

$$WS(\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

필름의 항균 평가

추출물 함유 필름의 항균활성은 Lim 등 (2009)의 방법을 변형하여 측정하였다. 황색포도상 구균(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)과 충치균(*Streptococcus mutans*, *S. mutans*) 균주는 37°C에서 24시간 동안 최종 박테리아 농도는 10⁶~10⁷ CFU/mL 농도로 LB broth (Difco Inc., USA)에서 배양하였다. 박테리아현탁액은 멸균 멸균을 이용하여 배지에 균일하게 분포시켰다. 필름형성용액(75 µL)를 멸균된 디스크에 적하시켰다. 디스크를 접종된 플레이트에 놓고 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 디스크 주변 억제 영역의 직경은 디지털 캘리퍼(Model 500-181-20, Mitutoyo Corp., Japan)를 사용하여 측정하였다.

필름의 항산화능 평가

항산화능 측정을 위해 필름추출용액을 제조하였다. 필름 30 mg을 3 mL 증류수에 완벽히 용해시켜 DPPH 저해능과 ABTS 라디칼 소거활성 실험에 사용하였다. DPPH 라디칼소거활성은 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)에 대한 전자공여 활성으로 나타내었다. 96 well plate에 각 추출물을 에탄올 70%에 희석한 용액 100 µL와 DPPH 용액 (4×10⁻⁴ M in ethanol) 100 µL를 넣고 혼합하여 실온에서 30분간 반응시킨 후 ELISA reader (EL 340 Biokinetics Reader, Bio-Tek Instrument, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 활성은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도 비(%)로 계산하였다.

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 7 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS) 용액과 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온의 암소에 16시간 보관한 후 734 nm에서 흡광도가 0.7가 되도록 증류수로 조정된 용액을 사용하였다. ABTS 용액에 동량의 시료액을 혼합하여 실온에서 1분간 반응시킨 다음 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거활성은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도 비(%)로 계산하였다.

결과 및 고찰

상어부산물 추출물의 단백질 특성

상어부산물로부터 추출한 펩신 가용화 단백질의 sub-

Table 1. Chemical compositions of *green tea extract* (GTE) by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis

Peak	Compound name	Formular	Real.Time (min)	Area (%)
1	Tridecane	C ₁₃ H ₂₈	17.7	0.75
2	2-Isopropyl-5-methyl-1-heptanol	C ₁₁ H ₂₄ O	22.63	0.6
3	Phenol	C ₆ H ₆ O	30.85	0.3
4	Propanoic acid	C ₃ H ₆ O ₂	34.03	0.83
5	Caffeine	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	42.84	96.9
6	n-Decanoic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	47.14	0.62

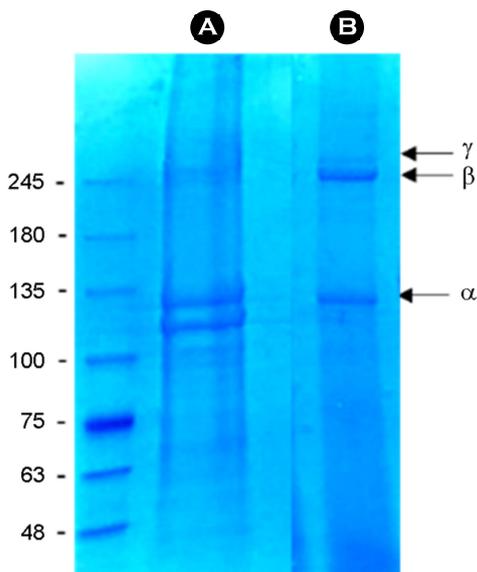


Fig. 1. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of extracted protein and molecular weight markers. Lane1, the extracted collagen of bovine achilles tendon; Lane 2, the extracted collagen of SBE.

unit의 조성과 대조군으로 육상 유래 콜라겐인 bovine achilles tendon의 단백질 subunit의 조성은 Fig. 1과 같다. 대조군 콜라겐의 패턴의 경우 $\alpha 1$, $\alpha 2$ 의 밴드를 가지는 heterotype의 tropocollagen이었으며, β 밴드의 이동도가 관찰되었다.

웹신으로 가용화 시킨 상어부산물 추출물은 세 개의 밴드가 관찰되었다. $\alpha 1$ -chain과 β -components 및 γ -components의 콜라겐 사슬이 관찰되었다. Bovine achilles tendon type I collagen의 pattern과는 다소 $\alpha 1$, $\alpha 2$ 의 이동도가 달랐으며, β -components를 가지고 있었다.

은어(*Plecoglossus altivelis*)의 뼈에서 추출한 collagen의 경우 분자 내외에 crosslinked components가 많아 각 α chain이 불명확하다고 보고하였다(Nagail and Suzuki, 2000).

또 고등어 껍질 collagen은 $\alpha 1$ chain 하나만을 가지는 homotype의 tropocollagen였다(Kimura et al., 1988).

Minke whale (*B. acutorostrata*) unesu와 Nileperch (*L. niloticus*) 껍질 collagen은 상어껍질 collagen의 경우와 같이 $\alpha 1$ 과 $\alpha 2$ 를 가지는 heterotype의 tropocollagen 밴드가 보고되었다(Muyonga et al., 2004; Nagai et al., 2008). 한편 yellowfin tuna (*T. albacares*), brownstripe red snapper (*L. vitta*), black drum (*P. cromis*)와 sheepshead seabream (*A. probatocephalus*) collagen은 $\alpha 1$ 과 $\alpha 2$ -chain과 β 와 γ -components가 확인되었다(Ogawa et al., 2003; Jongjareonrak et al., 2005).

녹차추출물의 성분

Fig. 2는 에탄올 70%로 추출한 녹차추출물의 GC-MASS로 성분 분석을 진행한 결과 카페인(caffeine) 성분이 다량 함유되어 있음을 확인하였다(Matsuzaki and Hara, 1985). 폴리페놀계에 속하는 Phenol, caffeine, decanoic acid의 성분이 확인되었다. 특히 caffeine acid 성분이 96%인 것을 확인하였다(Table 1). 커피에서 항균력을 갖는 성분에 대한 연구에서 카페인의 경우 사상균류(filamentous fungi)에 대하여 항균작용을 보이며 곰팡이가 만들어내는 아플라톡신(aflatoxin)의 생산을 억제한다(Buchanan and Fletcher, 1978). 대장균(*E. coli* O157:H7)에서 0.25~2.00% 농도의 카페인 성분이 항균작용을 나타냈다(Ibrahim et al., 2006). 커피, 녹차 홍차 등의 침출차는 시료 추출에 사용한 용매 및 혼합 비율에 따른 주요 항균력에 차이를 나타내지만, 각 침출차의 카페인 함량에 따라 각기 다른 항균 효과를 보이게 되는 것으로 생각된다.

필름의 물성 특성

SBE/GG 조성 필름의 인장강도를 측정된 결과, GTE의 추출물이 담지되었을 때, 더 높은 인장률을 확인하였다(Fig. 4). 이런 결과는 녹차추출물 내에 탄닌산(tannic acid)

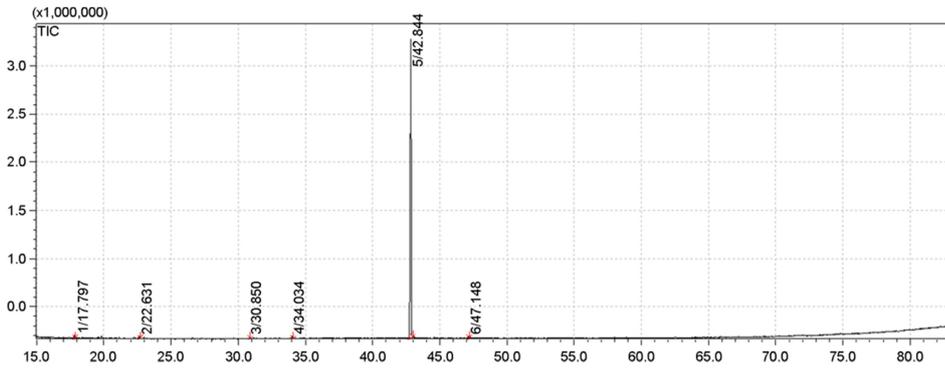


Fig. 2. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis of *green tea extract* (GTE).

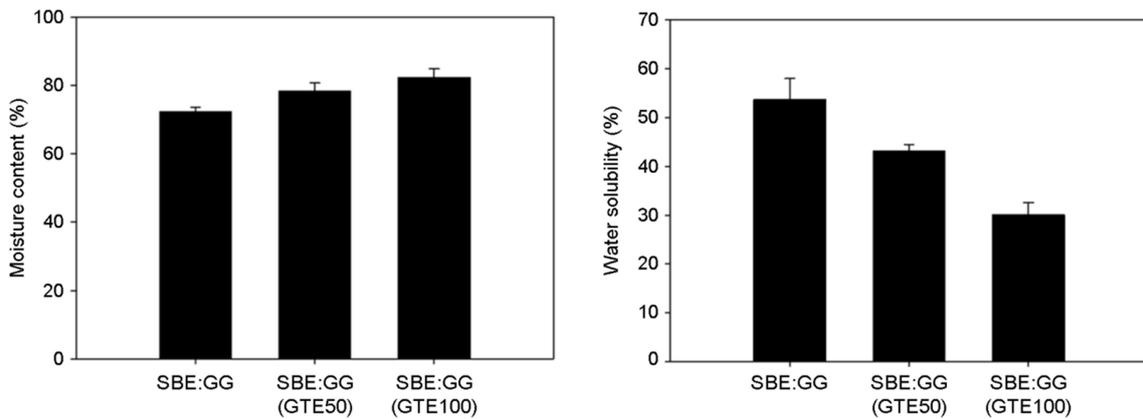


Fig. 3. Moisture sorption and water solubility analysis of shark byproduct /gellan gum (SBE/GG) composite films containing various amounts of *green tea* (GTE).

및 카페인산(caffeine acid)의 성분이 필름의 고분자 내의 화합물에 가교를 일으키는 것으로 사료된다(Natarajan et al., 2013). SBE/GG 필름은 6.01 MPa, SBE/GG-GTE 50 조성 필름은 9.029 MPa, SBE/GG-GTE 100 조성 필름은 10.569 MPa로 관찰되었다. 옥피단백질 조성의 필름에서 녹차 추출물이 0.5%일 때 9.01 MPa, 1.0%일 때 11.21 MPa, 1.5%일 때 5.15 MPa로 증가하다 감소하는 경향을 보였다. 일정 농도의 녹차추출물이 함유됨에 따라 필름의 인장강도 및 물성에 대한 변화는 본 연구와 동일한 연구 결과를 나타냈다(Yang et al., 2015).

항균 필름의 수분 함량 및 용해성 평가를 진행하였다 (Fig. 3). GTE가 함유된 필름에서 수분 함유량이 대조군 필름보다 높은 것을 확인하였다. 이는 GTE에 존재하는 폴리페놀의 수산기가 수분과 결합하여 수분량을 증가시키는 것으로 사료된다(Nouri and Mohammadi, 2014). 용해도 측정 결과 GTE가 함유된 필름에서 더 높은 용해도를 관찰하였으며, 상어부산물 추출물인 단백질의 함량이 높

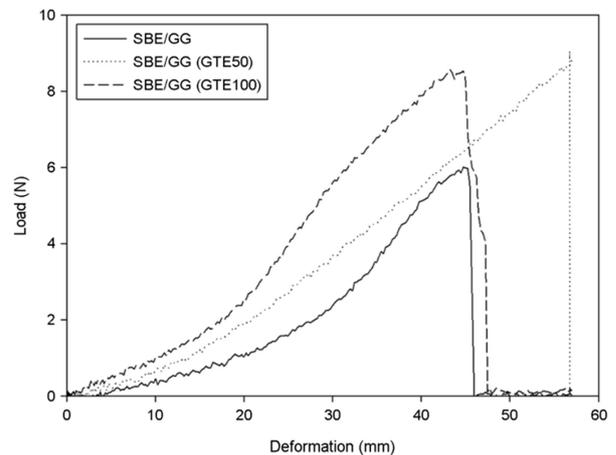
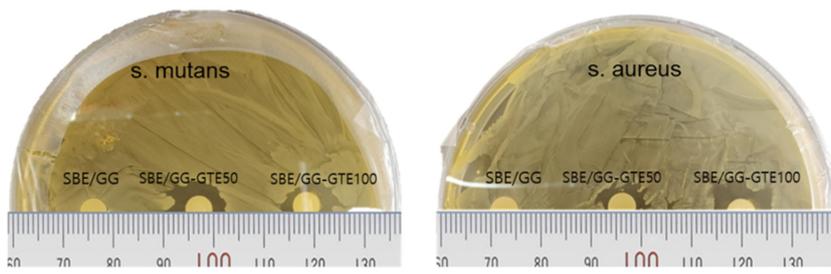


Fig. 4. Tensile strength of shark byproduct /gellan gum (SBE/GG) composite films containing various amounts of *green tea* (GTE).

을수록 용해도가 낮아지는 경향을 관찰하였다. 또한, GTE가 함유된 필름이 수상에서 용해되면서 용해도가 증가되



Green tea extract (%)	Inhibition zone (mm)	
	<i>S. mutans</i>	<i>S. aureus</i>
0		
0.5	10±0.1	10±1.2
1	12±0.12	12±1.2

Fig. 5. Antimicrobial activity of shark byproduct /gellan gum (SBE/GG) composite films containing various amounts of green tea (GTE) against *S. mutans* and *S. aureus* by disc diffusion test. Average diameter (mm) of the inhibition zones. Data are expressed as mean \pm standard error of the mean. Paper disc 6 mm.

는 것을 확인하였으며, 대조군에 비해 더 많은 수소결합을 하기 때문이라고 판단된다. 필름 조성 물질에서 상어 부산물의 단백질의 비율이 높을수록 GTE와 수소결합 및 소수성 결합이 증가함에 따라 수분이 침투할 수 있는 부분이 줄어들어 용해도가 감소하는 경향을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과와 유사하게 옥피단백질 조성에 다양한 가교제를 첨가하여 물성을 평가한 연구에서 폴리페놀 성분의 함량이 증가됨에 따라 단백질 결합에 영향을 주어 인장강도 등을 향상시킨 결과와 유사함을 나타낸다(Yang et al., 2015).

필름의 항균성

치아관련 질환을 일으키는 균 중 *S. mutans*는 치아면에 부착하여 증식 및 산 생성 과정을 거치면서 치아우식을 유발하는 균이다(Hamada et al., 1984). *S. aureus*는 건강한 사람의 비강이나 인후의 점막, 피부에 있는 정상 세균총으로 기회 감염을 통해 국소 및 전신 감염을 유발하는 균으로 화농성 감염의 80% 이상을 차지하는 감염성 질환의 주요한 원인균이다(Chung and Lee, 1993). 이러한 세균들의 비율이 증가하면서 치주염으로 진행된다(Assev et al., 1989).

GTE를 첨가한 SBE/GG 필름의 *S. mutans*, *S. aureus*에 대한 항균활성 결과, GTE 첨가 양이 증가할수록 미생물의 성장을 억제하는 능력이 비례하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

이는 GTE의 폴리페놀 성분이 미생물의 DNA, RNA 대사에 영향을 끼치며 세포분열을 방해하기 때문에 미생물의 생장이 억제된다고 판단된다(Kumudavally et al., 2008). Kim 등 (2006)의 연구에서 soy protein isolate 조성 필름에

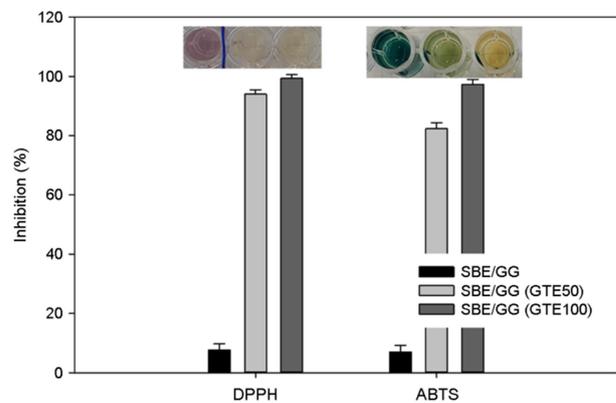


Fig. 6. Antioxidant activity of shark byproduct /gellan gum (SBE/GG) composite films containing of green tea (GTE). DPPH radical and ABTS radical assay.

GTE를 첨가하여 항균성을 평가한 결과, GTE 함량이 증가할수록 *S. mutans*와 *S. aureus*의 성장 억제능이 향상되었으며, 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

항균 필름의 항산화능

녹차에는 카페인 외에 카테킨, 탄닌, 크로로필, 비타민 C 등 다양한 유효 성분이 많이 함유되어 있으며, 카테킨류 중 에피갈로카테킨 갈레이트의 함량이 높아 항산화력이 높다고 알려져 있다(Qusti et al., 2010). GTE를 첨가한 SBE/GG 조성 필름의 DPPH radical 소거능 결과, GTE가 50 mg 및 100 mg이 첨가된 필름 용액에서 각각 94±1.41, 98±1.24%의 항산화능을 관찰하였다. GTE 첨가 양이 증가할수록 DPPH radical 소거능도 증가하였다(Fig. 6). 이는

GTE에 존재하는 폴리페놀의 수산기가 DPPH radical과 반응되어 항산화능을 나타냈다(Choi et al., 2003).

또한, ABTS 양이온 소거 측정방법은 지용성 환원물질 종류의 항산화제와 수소 공여 항산화제 모두를 측정할 수 있다. SBE/GG 조성 GTE가 50 mg 및 100 mg이 첨가된 필름 용액에서 각각 82.3 ± 2.05 , $97.3 \pm 1.69\%$ 의 항산화능을 관찰하였다. 친수성과 소수성 모두에 적용이 가능하기 때문에 DPPH 방법보다 더 민감하게 항산화 능력을 알아볼 수 있는 방법으로 알려져 있다.

Wang 등 (2013)의 연구에서도 키토산 조성 필름에 녹차추출물을 첨가하였을 때 이와 유사한 결과를 보였다. 이러한 결과는 식품 포장에 적용하였을 때 지방산화를 저해하여 저장성을 높일 수 있을 것으로 사료된다. Lee 등 (2015)의 연구에서도 카테킨(catechin)과 ECGC가 주요 성분인 녹차의 ABTS radical 소거능을 측정한 결과, 10 ppm의 경우 소거능이 약 80% 이상으로 항산화능이 있음을 보고한 바 있다. 비타민 E와 비교한 녹차추출물 IC₅₀의 결과 녹차추출물은 29.3 µg/mL, 비타민E는 234.4 µg/mL로 비교적 높은 항산화능을 확인할 수 있었다(Yun et al., 2001).

따라서 본 연구 결과, GTE를 첨가한 SBE/GG 필름의 모든 물성과 항산화, 항균활성을 고려했을 때 GTE 100 mg를 첨가 시 구강 내 항균 기능을 향상시킬 수 있는 필름 조건으로 판단된다. 이러한 필름은 식품, 의약품, 미용 산업에 활용 가능한 기능성 필름으로 다양한 산업화를 기대할 수 있다.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education (Grant number: 2020R111A3072936).

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

REFERENCES

- Assev S, Scheie AA, Rolla G. Potential of xylitol, mannitol, and sorbose to inhibit metabolism in *Streptococcus sobrinus* OMZ 176. *J Dent Res*. 1989. 68: 1729-1731.
- ASTM. Standard test method for water vapor transmission of material. 1983. E 96-80, Annual Book of ASTM Standard, USA.
- ASTM. Standard test method for tensile properties of plastics. 1993. D638M, Annual Book of ASTM Standard, USA.
- Buchanan RL, Fletcher AM. Methylxanthine inhibition of aflatoxin production. *J Food Sci*. 1978. 43: 654-655.
- Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Kor Soc Nutr*. 2003. 32: 723-727.
- Chung KS, Lee HJ. Studies of nasal carriage and antimicrobial susceptibility test of *Staphylococcus aureus* in college students and general hospital personnel in Incheon city. *J Environ Health Sci*. 1993. 19: 71-76.
- Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation. *Toxicol In Vitro*. 2008. 22: 308-317.
- Hamada S, Koga T, Ooshima T. Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention. *J Dent Res*. 1984. 63: 407-411.
- Ibrahim SA, Salameh MM, Phetsomphou S, Yang H, Seo CW. Application of caffeine, 1,3,7-trimethylxanthine to control *Escherichia coli* O157:H7. *Food Chem*. 2006. 99: 654-650.
- Jongjareonrak A, Benjakul S, Visessanguan W, Nagai T, Tanaka M. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilised collagens from the skin of brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). *Food Chem*. 2005. 93: 475-484.
- Khang G, Lee SK, Kim HN, Silva-Correira J, Gomes ME, Viegas CAA, Dias IR, Oliveira JM, Reis RL. Biological evaluation of intervertebral disc cells in different formulations of gellan gum-based hydrogels. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015. 9: 265-275.
- Kim J, Lee CM, Lee SY. Preparation and evaluation of shark byproduct-based tissue adhesive containing chitosan. *J Chitin Chitosan*. 2019. 24: 173-178.
- Kim JW, Kim DK, Kim MJ, Kim SD. Extraction and bleaching of acid- and pepsin-soluble collagens from shark skin and muscle. *J Korean Soc Food Preserv*. 2010. 17: 91-99.
- Kim KM, Lee BY, Kim YT, Choi SG, Lee J, Cho SY. Development of antimicrobial edible film incorporated with green tea extract. *Food Sci Biotechnol*. 2006. 15: 478-481.
- Kumudavally KV, Phanindrakumar HS, Tabassum A, Radhakrishna K, Bawa AS. Green tea—a potential preservative for extending

- the shelf life of fresh mutton at ambient temperature ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). *Food Chem.* 2008. 107: 426-433.
- Kimura S, Zhu XP, Matsui R, Shijoh M, Takamizawa S. Characterization of fish muscle type I collagen. *J Food Sci.* 1988. 53: 1315-1318.
- Laemli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970. 227: 680-685.
- Lee BJ. Contemporary Update of Mouth Rinse. *J Korean Acad Conserv Dent.* 2017. 55: 180-188.
- Lee JH, Lee JH, Park JM. Manufacture of antimicrobial paper using food preservative. *J Korea TAPPI.* 2001. 33: 81-86.
- Lee KE, Lee ES, Kang SG. Antioxidant and tyrosinase inhibitory effects of the extract mixtures of *Perilla frutescens*, *Houttuynia cordata* and *Camellia sinensis*. *J Soc Cosmet Sci Korea.* 2015. 41: 173-180.
- Lim GO, Hong YH, Song KB. Effect of various plasticizers and ferulic acid on the physical properties of *Gelidium corneum* film. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2009. 38: 727-731.
- Lim SH, Seo JS, Yoon YJ, Kim KW, Yoo SO. Effect of leaf-extract from *Camellia sinensis* and seed extract from *Casia tora* on viability of Mutans Streptococci isolated from the interface between orthodontic brackets and tooth surfaces. *Kor J Orthod.* 2003. 33: 381-389.
- Matsuzaki T, Hara Y. Antioxidative activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaishi.* 1985. 59: 129-134.
- Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nileperch (*Lates niloticus*). *Food Chem.* 2004. 85: 81-89.
- Nagai T, Suzuki N, Nagashima T. Collagen from common minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) unesu. *Food Chem.* 2008. 111: 296-301.
- Nagai T, Suzuki N. Preparation and characterization of several fish bone collagens. *J Food Biochem.* 2000. 24: 427-436.
- Natarajan V, Krithica N, Madhan B, Sehgal PK. Preparation and properties of tannic acid cross-linked collagen scaffold and its application in wound healing. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2013. 101: 560-567.
- Nouri L, Mohammadi Nafchi A. Antibacterial, mechanical, and barrier properties of sago starch film incorporated with betel leaves extract. *Int J Biol Macromol.* 2014. 66: 254-259.
- Ogawa M, Moody MW, Portier RJ, Bell J, Schexnayder MA, Losso JN. Biochemical properties of black drum and sheepshead seabream skin collagen. *J Agric Food Chem.* 2003. 51: 8088-8092.
- Park H, Kim HY, Kwon SY, Khang G, Kim YS. Regeneration of intervertebral disc using gellan sponge loading PLGA microspheres. *Polym Korea.* 2015. 39: 144-150.
- Qusti SY, Abo-khatwa AN, Bin MA. Screening of antioxidant activity and phenolic content of selected food items cited in the holly quran. *Eur J Biol Sci.* 2010. 2: 40-51.
- Seo JC, Ko K, Bae SD, Moon SH, Kwon BA. A Study on the characteristics of bad breath in office workers according to mask melection. *J Digit Converg.* 2021. 19: 439-446.
- Wang L, Dong Y, Men H, Tong J, Zhou J. Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocoll.* 2013. 32: 35-41.
- Yang HJ, Lee JH, Lee JH, Song KB. Characterization of a corn fiber protein film containing green tea extract. *J Appl Biol Chem.* 2015. 58: 145-151.
- Yu HC, Cho YH. US food packaging system and management status. *Food Sci Ind.* 1997. 30: 164-174.
- Yun YP, Park JB, Heo MY. Protective effects of green tea catechins and (-)-epigallocatechin gallate on reactive oxygen species-induced oxidative stress. *Yakhak Hoeji.* 2001. 45: 101-107.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2022.28.1.50>

Cite this article as: Bak JG, Kim J, Ohk SH. Preparation of Shark Byproduct Extract and Gellan Gum based Antibacterial Film Containing Green Tea Extract. *Biomedical Science Letters.* 2022. 28: 50-57.