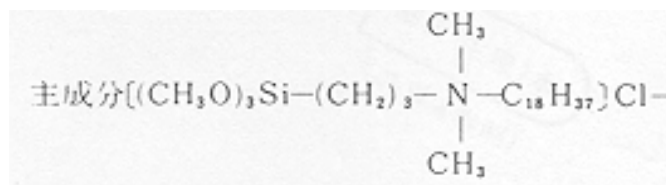
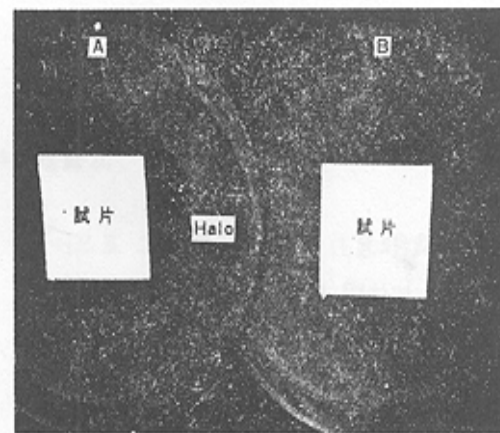


섬유제품 위생가공의 효과평가

1. 서 언

항균항미 처리된 섬유제품의 평가방법으로 이미 본지(Vol.12, NO.3, p40~53)에서 설명한 바 있다. 그 요지만을 다시 간추려 보면, 배지표면에 지정된 공시균주를 접종하고, 그 위에 항균제로 처리된 가공시험포 놓고 일정온도조건 하에서 배양(약균은 18~24시간, 곰팡이는 24시간×14일 : 이것을 conditioning이라고 말한다) 하고나면 시험포의 주위에는 미생물이 생육되지 않은 부분, 바꿔 말해서 항균제로 인하여 번식이 저지되고 있는 지대(inhibited zone) 무리(暈 : Halo)가 생기게 된다. 이 Halo의 폭에 따라 항균효과를 지적으로 판정하는 Halotest방법이 있다. 그런데 많은 항균제들은 일반적으로 내세탁성이 적다. 항균제와 섬유와의 분자적 결합상태가 약하기 때문이다. 이를 개질하기 위해 많은 연구개발이 이루어지고 있다. 그 중에서도 제4급 암모늄 염은 미생물의 생육을 억제하는 것으로 종래부터 알려져 있었다. 그러나 이 화합물들은 활성이 약하기 때문에 섬유에 처리해도 세탁 또는 수세에 의해서 용출되므로 항균 효과를 지속시킬 수가 없다. 그런데 유기실리콘은 복수의 관능기를 가지고 있으며 이 관능기의 일부가 제2의 물질과 결합하고(실란 Shin H_{2n+1} 화합물이)다시 나머지의 관능기가 제3의 물질과 결합함으로써 제2 오 제3의 물질을 가교결합시키는 결과가 된다. 따라서 유기실리콘은 제4급 암모늄염과 섬유를 결합시키는 가교제가 되고 있다. 다음은 모사 제품 유기실리콘 제4급 암모늄염계의 항균제 구조식을 예시한 것이다.





< 그림 1 >

A : 용출 type의 항균제가 시료편에 처리된 것으로 조지대(Halo)가 나타나고 있다.

B : 침출되지 않는 type의 항균제(예로 유기실리콘 제4 암모늄 염)를 처리한 시험편은
접종번식한 배지상에 Halo가 나타나지 않는다.

미생물이 이 제4급 암모늄 염과 접촉하면 미생물의 세포벽이 파괴되며 그 성육이 저지되는 것이다. 그런데 이 종류의 항균제로 처리된 시험포는 공시균을 접종 번식시킨 배지면에서 시험포의 주위에 Halo가 나타나지 않는다. 이 현상은 항균성 약제가 처리된 섬유로부터 침출되지 않기 때문이다. 이 특성은 세탁내구성과 안전성에 크게 기여하고 있지만 "배양 test"에서 Halo를 볼 수 없는 것은 잠깐 보았을 때 불리한 현상을 보여주게 되어 잘못된 판정을 내리기 쉽다. 그러므로 유기실리콘 제4급 암모늄 염이나 양이온 활성을 가진 유기실란화합물에서는 효과판정에는 아래에서 설명하려는 "균수감소율(Percent reduction of bacteria)"을 정량하는 방법을 흔히 채택하고 있다. ⁽¹⁾

그러나 Halotest 가 질적인 판정방식과는 달리 구체적으로 숫자(%)로 나타나는 방식이다.

이 방법은 시험방법이 간단하지 않으며 시험에 소요되는 시간이 길어 생산관리

에 문제점도 있지만 이 계의 항균제의 장점 때문에 섬유위생가공처리에 많이 사용되고 있으며, 따라서 불가피하게 균수감소율 산출방식으로 효과평가를 행하고 있다.

2. 공시균

예로 *Klebsilla pneumoniae* ATCC 4352

Staphylococcus aureus ATCC 6538

Bacillus subtilis ATCC 6460

Escherichiacoli 0-16 ATCC 8739

Proteus vulgaris OX-19

Chatomium globosum ATCC 6205

3. 사용하는 배지 및 약제

■Nutrient broth (Difco #0003)

Beef extract 3g

Peptone 5g

정제수(광물질을 함유하지 않은 증류수) 1,000ml

■T. G. E. Agar

Tryptone extract agar (Difco #0002)

Beef extract 3g

Tryptone 5g

Glucose 1g

Agar	15g
정제수	1,000ml

●PO₄ Buffer phosphate buffer(USP××P874)

phosphate buffer solution 조제방법

1) 저장용액(stock solution)

- ① 제1인산칼륨(KH₂PO₄) 34g을 증류수 500ml 에 녹인다.
- ② 수산화나트륨(NaOH) 7g을 증류수 175ml에 녹인다.
- ③ ①과 ②의 용액을 혼합 pH 7.2±0.1 이 되도록 한다.
- ④ 전체액량이 1,000ml가 되게 희석한다.
- ⑤ 냉장고에 보관한다.

2) 사용용액(working solution)

- ① stock solution 1ml를 증류수 800ml 에 희석한다.
- ② 위의 ①을 필요량만큼 각 시험관에 분주한다.
- ③ 분주액을 15psi(pound square inch 2.1kg/cm²) 121°C에서 15분간 멸균한다.
- ④ 냉장고에 보관하며 사용시는 실온이 되게 한 후 사용한다.

4. 시험준비

가. 살균방법

1) 건열살균 : 시험관, 삼각플라스크, 피펫, petri dish 등의 유리 기구등은 건열살균기(정온조, oven)의 내부공기온도 160°C~170°C에서 1~2시간 상법에 따라 살균한다.

2) 증열살균 : 용액과 고체의 배지 및 Buffer solution 등은 15psi, 121°C에서 상법에 따라 살균한다.

나. 배지작성 : 균의 보존, 조제, 사용등은 미생물학적의 상법에 준한다.
(AATCC 100참조)⁽³⁾

5. 시험절차개요(flow chart 참조)

가. 증식(균주)

나. 희석

다. 시험

- 1) 준비
- 2) 초기치, 설정시험
- 3) Shake test (균감소 시험)
- 4) 컨디셔닝(평판상에 집락 발생을 위한 배양)
- 5) 집락의 계산(counting)

라. 결과의 산출

6. 시험방법의 상세

가. 증식(culture) 시험균주를 액제매양에 배양 번식 시킨다.

- 1) 사용배지 : Nutrient broth (Difco #0003)
- 2) 증식조건 : Nutrient broth 배지 10ml를 시험관A에 채취하고 공시균을 1백금이

(loop)분 채취하여 A관에 투입한다. 다음 37°C×18hr 의 조건으로 조용히 진탕 (70~100회/분)하면서 증식한다(정온용 water bath 에 shaker가 장치된 것을 사용한다)

※병원균은 일반적으로 인체의 체온에서 번식하게 된다.

나. 희석(dilution)

1) 배양 증식한 균을 시험관 A로부터 피펫(pipet) 으로 정확히 1ml를 채취한 다음 시험관 B 에 투입한다. 단 시험관 B는 미리 Nutrient broth를 넣고 고압솥(auto claves)중에서 살균한 것이다.

분광광도계(Spectrophotometer)를 이용하여 B관중의 Nutrient broth용액의 반사율(투과율)을 미리 측정하여 균수를 확인한다.(균수의 기준범위를 정하기 위해)파장이 475nm에서는 반사율(투과율)이 약 52%T이면 균수는 $1.5\sim3.0\times10^8/\text{ml}$ 이며, 그렇기 때문에 대체로 이런 수준으로 유지되고 있는가를 체크한다.

2) 시험관B액의 2ml를 , 미리 PO_4 Buffer 9ml를 채취하여 준비한 시험관C에 투입하고, 로 희석한다.

3) 같은 방법으로 시험관C의 액 1ml를 시험관D에 투입하여 로 희석한다.

4) 다시 시험관 D의 액 5ml를, 미리 PO_4 Buffer 45ml을 채취하여 준비한 삼각플라스크 E 에 투입하여 로 희석한다.

5) 같은 방법으로 삼각플라스크 E 로부터 5ml를 채취하여 삼각플라스크 F 의 액을 희석한다.

다. 시험

1) 준비

미리 T.G.E.Agar의 필요량을 채취하여 시험관K에 18ml분주후 고압솥에서 증열 살균하고 45~50°C의 항온에서 응고하지 않도록 준비한다.

2) 「초기치」 설정시험

희석이 종료된 삼각플라스크 F액 1ml를, 미리 PO_4 Buffer 9ml를 채취하여 준비한 시험관G에 투입하여 로 희석한다. 위와 마찬가지로 되풀이하여 시험관H에 시험관G로부터 1g을 투입하고 로 희석한다. 이 시험관H의 액1ml를 패트리접시(petri dish) 1에 붓고 위에서 말한 1)의 준비항의 T.G.E.Agar 18ml로 희석하여 H의 액을 부산시킨다. J의 뚜껑을 덮고 잡균이 들어가지 않도록 주의하며 그대로 내버려두어 응고시킨다. (L).L을 37°C에서 18~24시간세균배양기(incubator)에서 배양한 후 L의 평판배지위에 발생한 집락(코로니)를 계수하여 초기치의 시료T로 한다(conditioning).

3) Shake test(균감소테스트)

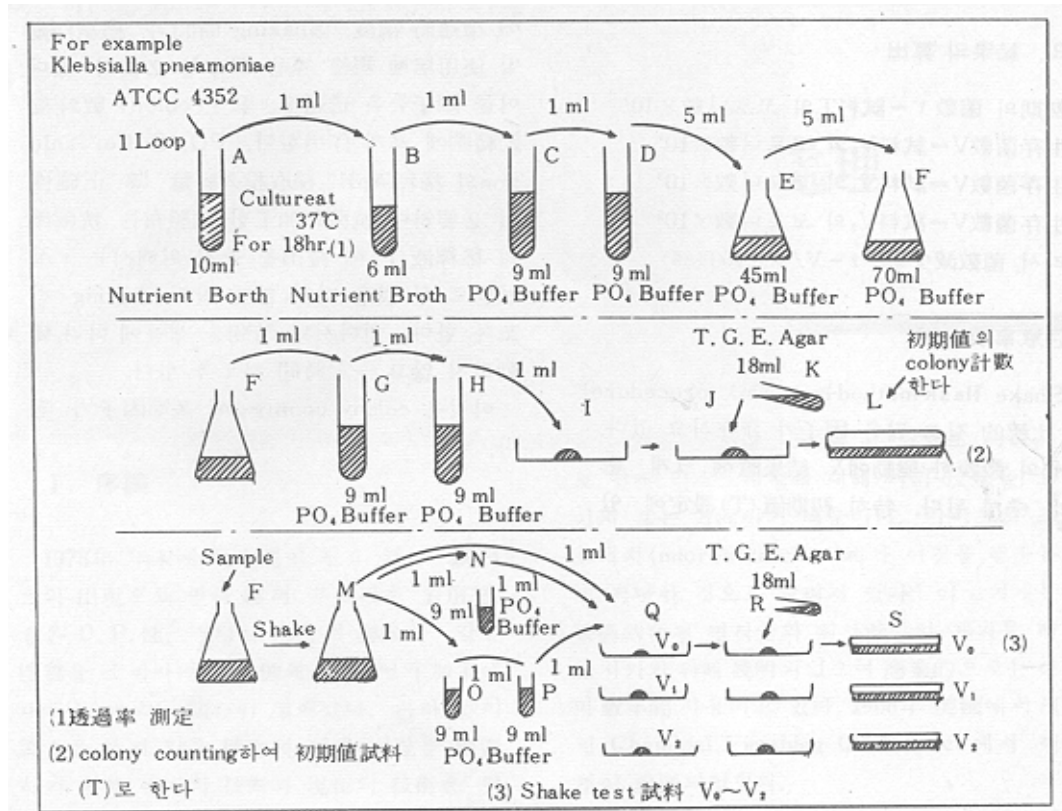
삼각플라스크 F에 시험포를 일정량(1g) 투입 (경·위사를 풀어 사설상태로 만들어가지고) 하고 플라스크 F를 1~2시간 진탕정온조 (shaking water bath) 에서 70~100분정도 흔들어 준다.

다음 아래의 순서에 따라서 희석한다.

- Shake test 가 끝난 플라스크(그림에서는 F와 M은 동일한 것)로부터 1ml 채취한다 (시료 V_0 가 된다).

- Shake test 가 종료된 플라스크(M)으로부터 1ml 채취하여 시험관 N에 투입하여 $\frac{1}{10}$ 로 희석하고, N에서 1ml 채취한다(시료 V_1 이 된다).

■ Shake test 가 종료된 플라스크(M)으로부터 1ml 채취하여 시험관 D에 투입하여 로 희석한 것을 동일방법으로 다시 시험관P에서 로 희석한다. P에서 1ml 채취한다(시료 V_2 가 된다).



< 그림 2 > Shake Flask Test Method C.T.M. 0923

이들 V_0, V_1, V_2 의 희석한 것들을 두벌씩 작성한다. 따라서 $3 \times 2 = 6$ 개의 petri dish 에 희석액을 투입한다. 다음 초기치설정 테스트시의 시험관 K 와 같이 T.G.E.Agar 배지로 희석, 분산시키며(R), 방치하여 응고시킨다.

이것을 Shake test 시료 $V_0 \sim V_2$ 로 한다.

다음 이들(S)는 37°C에서 일정시간(18~24시간 incubator 에 방치하고 평판표면에 집락발생을 conditioning colony counter로 계산하여 Shake test시료 $V_0 \sim V_2$ 로 한

다.

그런데 V_2 중의 코로니계산은 30~300 개 범위에서 산출용 시료로 선정한다.⁽³⁾

라. 결과의 산출

초기의 균수 $t = \text{시료 } T \text{의 코로니 수} \times 10^2$

생존균수 $V = \text{시료 } V_0 \text{의 코로니 수} \times 10^0$

생존균수 $V = \text{시료 } V_1 \text{의 코로니 수} \times 10^1$

생존균수 $V = \text{시료 } V_2 \text{의 코로니 수} \times 10^2$

따라서 균수감소율 $= t - V/T \times 100 (\%)$

주의 사항

Shake flask method 는 그 절차(procedure)가 비교적 길고 많은 인자가 개재하고 있다. 이들의 미묘한 변동에도 결과치에 크게 영향을 주게된다. 특히 초기치(T) 설정에 있어 증가시 온도, Shaking시간과 계속작동 및 사용배지 규격 등을 엄수할 필요가 있다. 이들 인자들은 투과율, 발생 colony 수의 변동범위에 크게 작용한다. PO₄ Buffer solution 희석액 pH, 채취투입용량 등 정확성이 필요하며 항균제 가공한 시험포는 항균제의 희석액(F)에 침출을 돕기 위해서는 실상태로 한 것을 다시 짧게 잘라 shaking 하도록 한다. 컨디셔닝 시간을 샘플에 따라 변동하지 않고 일정 시간 하도록 한다.

이것은 colony counting 에 기준인자가 된다.