

韓國에서의 皮革防黴에 關한 研究 (第 2 報) Aspergillus 屬皮革菌의 藥物抵抗性에 對하여

金鍾協 · 張建型 · 崔春彥
(陸軍技術研究所 微生物研究室)

Studies on the Antifungal Action of Leather in Korea (Part.2) On the Drug-Resistance of Fungi (*Aspergilli*) in Korean Leather.

Kim, Jong Hyup, Chang, Kun Hyung, and Choi, Chun Eun.
(Section of Microbiology, Army Research and Testing Laboratory, Seoul, Korea.)

Abstract

It seems like that the characteristics and drug-resistances of fungi are respectively different in various circumstances.

Scores of chemicals were applicated to the leather-fungi in this study. M-dinitrobenzene, 2,4-dinitrochlorobenzene and phenyl mercuric acetate inhibited the growth of *Aspergilli* which were isolated from Korean-leather.

The minimum fungicidal limits of *p*-nitrophenol, 8-hydroxyquinoline and sodium—pentachlorophenolate against the Korean-originated strains are different from that of other country.

In the mass-screening of fungicides, artificial "Leather—extracts media" have been designed and used, and the media contributed to screening-tests.

Fat and oils which are the materials of fat-liquoring in leather manufacture affects the drug-resistance of the leather-fungi.

It is found that the accelerating-method on malt-agar plate is effective to determinate the fungicidal action of chemicals in short time.

緒 論

皮革製品에 對한 微生物의 汚染은 皮革의 實用價値를 低下한다. 即 皮革은 固有의 耐張力과 美觀을 損傷 當하는 것이다.

故로 皮革의 防黴에 對한 研究가 많이 이루어졌으며 大部分의 文獻에 依하면 모두 殺菌性 藥品의 添加를 勸奨하고 있다. (Abrams, E. 1948, Orlita, A. 1962, Seligsberger. L. 1958)

現在까지의 研究業績을 要約하면 S. Dahl (1956) Loller(1956), Nakazawa(1934) 등은 *p*-nitrophenol 이 優秀하다고 報告하고 있으며, Rodleben(1938)은 quaternary ammonium 化合物을, Krassnow(1937)은 *p*-dichlorobenzene 을, 英國特許(1935~1943)에는 diphenyl 또는 diaryl mercury compound, trith-

iocarbamate 의 phenol 化合物 및 8-hydroxyquinoline 등을 皮革防黴劑로서 報告하고 있다. 또 Abrams (1952)는 그의 綜說的 紹介에서 pentachlorophenol 을 추천 하고 있다. 其外에도 無數한 藥品이 報告되고 있으나 完璧을 期하지는 못하고 있다.

本研究에서는 韓國產 皮革製品에 對한 韓國起源의 皮革菌에 對한 防黴研究를 試圖하였다. 菌은 分布에 따라서 藥劑耐性이 다를 뿐만 아니라 韓國의 國內實情으로 於서 入手容易한 藥品中에서 防黴劑를 選擇하여야 할 客觀的 情勢의 要請에 依해서 本研究가 必要하였는 것이다.

Screening-test 는 第 1 次로 試驗管内 培地에 依한 檢索과 第 2 次로 直接 皮革에 處理하여 檢索하는 藥劑의 抗黴力檢査와 第 3 次로 促成檢索法을 使用하는 檢査를 三重으로 實施하여 嚴格性과 迅速性을

維持하였다.

主要한 實驗目的은 上述한 外에도 皮革菌의 藥劑에 對한 抵抗性 發現狀況과 새로운 強力 防黴劑의 追求에 있었다.

本研究 遂行에 있어서 많이 도와주신 高麗皮革會社의 金旭鎭技師와 韓國農藥會社의 崔相珍技師에게 深甚한 謝意를 表한다.

材料 및 方法

材料: 高麗皮革株式會社에서 chrometanning 한 黃牛의 甲皮와 vegetable-tanning 을 한 黃牛底皮를 材料로 使用하였다.

皮革菌: 1963 年에 著者들에 依하여 國內에서 分離된 同定된 *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, 및 *Aspergillus glaucus* 를 試驗菌株로 使用하였다.

防黴劑의 處理方法: 第1次의 試驗管内檢索에 있어서는 皮革成分培地에 防黴藥品을 %別(培地重量當)로 添加하고 여기에 皮革菌의 混濁液을 接種하였다. 第2次의 皮革製品에 對한 檢索에 있어서는 tanning 完了後 加脂前段階의 皮革에다가 防黴藥品과 油脂와의 emulsion 液을 dipping-method로써 fat-liquoring 하였다. 이 過程이 끝난 것은 工場에서 다시 retanning 하고, resin 을 coating 하여 完製品을 만들었다. 皮革完製品(20×10cm 切片으로 小切한것)위에 前記皮革菌의 三菌株의 混濁液을 接種하였다.

Screening-test: 試驗管内에서의 檢索에 있어서는 斜面培地上的 發育狀況을 보아서 抗黴力을 檢討하였으며 菌은 30°C에서 incubation 되었다. 皮革製品에 直接菌을 接種한 檢索에 있어서는 皮革을 ammonium-phosphate 飽和溶液이 들은 decicator 內에서 30±3°C, R.H. 75~95%로 維持하면서 皮革片上에서 皮革菌이 發生하는 狀況을 觀察하면서 藥品의 抗黴力을 檢討하였다. 3次로 petri-dish 內에 malt-agar 培地를 얇게 깔고 그위에 皮革切片을 얹은 다음 試驗菌株을 接種하여 防黴效果를 檢査하였다. (寫眞參照). 難水溶性인 藥品은 alcohol 또는 benzene 에 溶解시킨 다음에 油脂와의 乳濁液(界面活性劑添加)을 만들어서 處理하였다. Table I 은 著者들이 考案한 皮革抽出成分과 油脂와의 合成寒天培地の 組成이다. 이 培地는 皮革과 近似한 條件을 갖춘, 皮革菌을 위한 것이다. 皮革成分의 抽出方法은 未加脂된 tanned leather 를 蒸溜水中에서 boiling 하여 5% 抽出液을 filtration 하여 얻었다.

防黴效果의 判定: 皮革菌이 全然 發育을 하지 못하였을때는 (-)記號, 菌絲는 뻗었으나 胞子形成이 되지 못하고 若干의 白色斑點이 보일때는 (±)의 記號를, 菌이 胞子形成을 하였으나 廣範하게 生長하지 못하였을 때는 (+)記號를, 菌이 廣範하게 잘 生長하였을때는 (++)記號로서 表示하고 (-)記號의 實驗區만을 防黴力이 있다고 判定하였다.

Table I. The constitution of leather-extract media. (pH. 5.0, total volume: 1,000 C.)

Leather extracts (50%)	800 C.C.
Whale oil	100 C.C.
Turkey red oil (vegetable)	25 C.C.
Aerosol OT	0.1 C.C.
Agar	25 g.
Distilled water	q.s.

結果 및 考察

藥品을 添加한 皮革成分의 抽出培地內에서의 皮革菌—*Asp. niger*, *Asp. oryzae* 및 *Asp. glaucus*의 發育狀況은 Table II 와 같다. 이 實驗에서 第一次로 screen-up 된 藥品은 8-hydroxyquinoline, sodium-pentachlorophenolate, *p*-chlorophenol, phenol, cupper-sulphate, *m*-dinitrobenzene, 2,4-dinitrochlorobenzene, *p*-nitrophenol, 8-hydroxyquinoline-sulphate, benzoic acid, salicylic acid, capronic acid, caprylic acid, α -dinitrophenol, *o*-dinitrophenol, *o*-nitrophenol, thymol, β -naphtol, cupric sulphate-ammoniated, 및 phenyl-mercuric acetate 등이었다. 그러나 皮革工業上 難水溶性인 藥品은 價値가 激減하므로 benzoic acid, salicylic acid, thymol, capronic acid, caprylic acid, β -naphtol 등은 除外될 可能性이 많다.

第二次의 檢索인 皮革에 直接 藥品을 加脂時에 處理한 實驗區에 있어서 그 防黴效果는 Table III 과 같다.

二次檢索에서 防黴力을 나타낸 藥品은 *p*-nitrophenol, 8-hydroxyquinoline, sodium-pentachlorophenolate, *m*-dinitrobenzene, 2,4-dinitrochlorobenzene, nitrobenzene, *p*-chlorophenol, phenol, cupper-sulphate 및 phenyl-mercuric acetate 등이었다. 이 가운데에서 *p*-chlorophenol 와 phenol 은 日光에 依한 變色分解가 있으며, cupper-sulphate 는 濃度가 커야 하며, nitrobenzene 은 藥臭가 强하여서 4種의 藥品은 不適當하다고 判斷되었다.

Table II. The screening-tests for fungicides through the test-tube culture of leather-extracts media.

Name of chemicals (treated)	Concentrations(%)	Growth of molds			
		1.5	3.0	5.0	8.0(days)
Controlled	0.0 "	+	++	+++	+++
8-Hydroxyquinoline	0.1 "	±	+	++	++
"	0.5 "	--	--	--	--
Sodium-pentachlorophenolate	0.1 "	--	--	--	--
Para-chlorophenol	0.3 "	--	--	--	--
Phenol plus sodiumchloride	0.3+0.5 "	--	--	--	--
Copper sulphate	0.5 "	--	--	--	--
Benzene-hexachloride	1.0 "	--	+	+	+
Zinc sulphate	4.0 "	±	+	+	+
<i>m</i> -Dinitrobenzene	0.2 "	--	--	--	--
2,4-dinitrochlorobenzene	2.0 "	--	--	--	--
Para-nitrophenol	0.1 "	--	--	--	--
Ethyl alcohol	8.0 "	±	+	+	+
Benzene	8.0 "	+	++	++	+++
Aerosol OT	3.0 "	±	+	+	+
8-Hydroxyquinoline-sulphate	0.3 "	--	--	--	--
Sodium benzoate	0.5 "	+	+	+	+
Benzoic acid	0.3 "	--	--	--	--
Sodium salicylate	0.5 "	+	++	++	++
Salicylic acid	0.3 "	--	--	--	--
Sod. salicylate plus phenol	0.1+0.1 "	--	--	--	--
Sodium propionate	0.5 "	+	++	++	++
Propionic acid	0.1 "	--	±	+	++
Gallic acid	0.3 "	±	+	++	++
Capronic acid	0.3 "	--	--	--	--
Undecylenic acid	0.5 "	--	±	+	++
Caprylic acid	0.1 "	--	--	--	--
Boric acid	0.5 "	+	++	++	++
α -Dinitrophenol	0.1 "	--	--	--	--
<i>o</i> -Dinitrophenol	0.1 "	--	--	--	--
<i>o</i> -Nitrophenol	0.1 "	--	--	--	--
Para-dichlorobenzene	0.5 "	--	±	+	++
Thymol	0.1 "	--	--	--	--
β -Naphtol	0.1 "	--	--	--	--
Phenyl-mercuric acetate	0.1 "	--	--	--	--
Cupric carbonate	0.5 "	--	+	+	+
Copper acetate	0.2 "	±	+	+	++
Cupric sulphate-ammoniated	0.5 "	--	--	--	--
Malonic acid	0.2 "	+	+	+	++

Notes; Media contains 10% whale oil, +grown, ++....well grown, ±.....under grown,
 -- :barren.

Table III. The influences of fungicides on the growth of leather-mildew in upper and sole-leather.

Name of chemicals (treated)	Concentra- tions (%)	Stored days (upper-leather)(sole-leather)								Fat-liquoring (source)	(%)
		25	50	90	120	25	50	90	120		
Controlled	0	++	++	++	++++	+	++	++	+++	Wale oil	10.0%
<i>p</i> -Nitrophenol	0.3	—	±	±	±	—	±	±	±	Tallow fat	10.0%
"	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	"	"
"	0.5	—	±	±	±	—	±	±	±	"	15.0%
"	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	Whale oil	10.0%
"	0.8	—	—	—	—	—	—	—	—	"	15.0%
8-Hydroxyquinoline	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	Tallow fat	10.0%
"	0.5	—	+	+	+	—	+	+	+	Whale oil	"
"	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	"	"
Sodium pentachlorophenolate	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	"	"
<i>m</i> -Dinitrobenzene	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	"	"
2,4-Dinitrochlorobenzene	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	"	"
Nitrobenzene	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	"	"
<i>p</i> -Chlorophenol	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	"	"
Phenol plus sodium chloride	3.0+3.0	—	—	—	—	—	—	—	—	"	"
Benzene hexachloride	3.0	+	+	+	+	+	+	+	+	"	"
Mercuric chloride	2.0	+	+	+	+	+	+	+	+	"	"
Copper sulphate	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	"	"
<i>o</i> -Nitrophenol	0.3	+	+	+	+	+	+	+	+	"	"
Phenyl-mercuric acetate	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	"	"
8-Hydroxyquinoline sulphate	0.3	+	+	+	+	+	+	+	+	"	"
Capronic acid	0.3	+	+	+	+	+	+	+	+	"	"
Caprylic acid	0.3	+	+	+	+	+	+	+	+	"	"
α -Dinitrophenol	0.3	±	+	+	+	±	+	+	+	"	"
Thymol	0.3	+	+	+	+	+	+	+	+	"	"
Berberine-hydrochloride	0.5	±	+	+	+	±	+	+	+	"	"
β -Naphthol	0.4	±	+	+	+	±	+	+	+	"	"

Notes; +grown, ++well grown, ±under grown, —barren.

Table IV. The mold-proofing tests of the finished leather through accereration culture.

Name	Chemicals treated Conc. (%)	Growth of molds on leather					
		2	4	6	11	16	20(days)
Controlled	0	±	±	++	++	++	++
○ <i>p</i> -Nitrophenol	0.3	—	—	—	—	—	—
Sod. pentachlorophenolate	0.3	—	—	±	+	+	+
<i>p</i> -Chlorophenol	0.2	—	—	±	±	+	+
○ <i>m</i> -Dinitrobenzene.	0.3	—	—	—	—	—	—
α -Naphthol	0.2	±	±	++	++	++	++
○2,4-Dinitrochlorobenzene	0.2	—	—	—	—	—	—
Mercuric chloride	2.0	±	±	+	+	+	+
<i>o</i> -Nitrophenol	0.3	±	±	+	+	+	+
○Phenyl-mercuric acetate	0.1	—	—	—	—	—	—
8-Hydroxyquinoline sulphate	0.3	±	±	+	+	+	+
Capronic acid	0.3	±	±	+	+	+	+
Caprylic acid	0.3	±	±	±	±	±	+
α -Dinitrophenol	0.3	±	±	±	±	±	+
Thymol	0.3	+	+	+	+	+	+
Berberine-hydrochloride	0.5	±	±	±	+	+	+
β -Naphthol	0.4	±	±	±	±	+	+

二次檢索의 方法은 前述한 바와 같이 decicator 內에서 長期間(4個月乃至12個月) 溫度 및 濕度를 調節하여야 하므로 時間과 裝備가 莫大하게 必要하다 따라서 이 點을 改善하기 위하여 第三次의 促成檢索法을 導入하였다. 卽 이 方法은 petri-dish 에 麥芽寒天培地를 얹게 깔고 그 위에 皮革試料片을 가볍게 얹어서 皮革菌을 接種하는 것이다. (寫眞参照) 이 實驗의 結果는 Table IV 와 같다. 強力한 防黴力을 나타낸 藥品名과 發育阻止濃度는, *p*-nitrophenol

(0.3%), *m*-dinitrobenzene(0.3%), 2,4-dinitrochlorobenzene(0.2%), phenyl-mercuric acetate(0.1%) 이었다, 이 三次檢索에서는 8-hydroxyquinoline 과 sodium-pentachlorophenolate 는 다른 文獻에서 많이 報告된 藥品임으로 除外하였다.

第三次 檢索法(促成法)을 考察하건데 *Aspergillus* 屬菌에 最適한 麥芽汁에 依하여 短時日內에 菌發育을 大量的으로 促成하는 條件下에서 菌에 對한 藥品의 作用을 迅速하게 觀察할수있는 便利한 方法으로

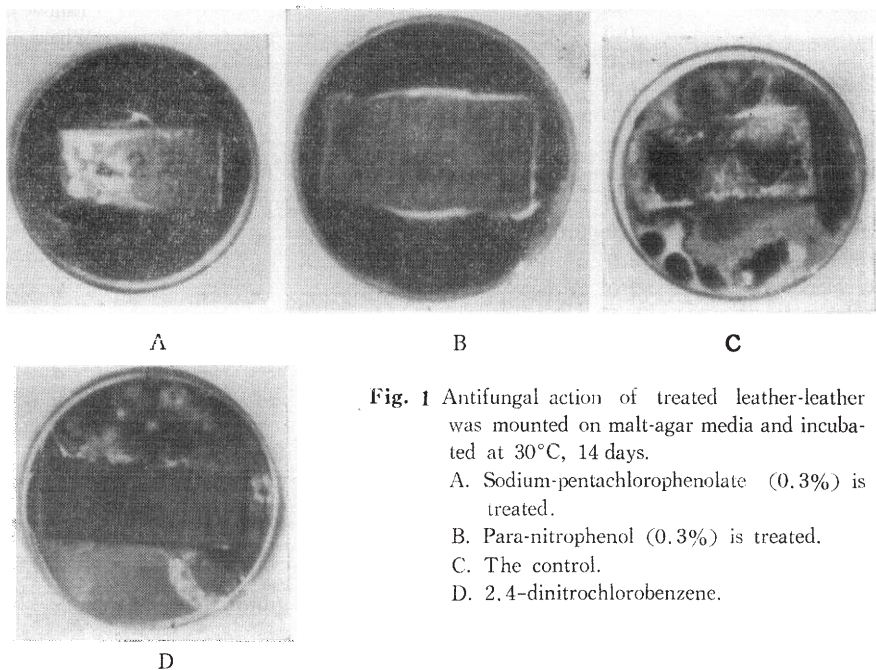


Fig. 1 Antifungal action of treated leather-leather was mounted on malt-agar media and incubated at 30°C, 14 days.

A. Sodium-pentachlorophenolate (0.3%) is treated.

B. Para-nitrophenol (0.3%) is treated.

C. The control.

D. 2,4-dinitrochlorobenzene.

로 思料된다.

보통 皮革에 直接 菌을 接種하여 其의 發育을 止할려면은 60日以上 所要된다. 그러나 麥芽寒天 위에 얹은 皮革片에 있어서는 麥芽汁上에서의 發育의 餘勢를 빌려서 10日以內에 完全히 發育을 하게 된다. 따라서 處理區와 對照區의 區別이 明確하게 되는 것이다.

Table III 의 結果를 볼때에, *p*-nitrophenol 및 8-hydroxyquinoline 處理區에 있어서 油脂含量이 10%에서 15%로 增量 되었을 때는 *p*-nitrophenol 에 對한 菌의 抵抗性이 增大하였다. 이 現象은 Loller (1954) 도 指摘하고 있다. 牛脂와 鯨油의 差에 依해서도 菌의 抵抗性은(같은 濃度の 8-hydroxyquinoline 에 對하여)달라 졌다.

이와같은 現象을 考察하건데 生體內 油脂의 代謝

場(metabolic pool)內에서, 藥劑에 對한 微生物의 抵抗性을 支配하는 metabolism 이 이루어지고 있을 것으로 思料되는 것이다. 또 한가지 興味있는 現象은 皮革에서는 微生物의 藥劑抵抗性이 試驗管內의 皮革抽出成分 및 油脂와의 合成寒天內에서 보다 2~4倍 強力하다는 點이다. 이 點을 考察할때에, 合成培地에는 없는 皮革의 非水溶性物質(casein, gelatin 蛋白같은 것 또는 未知物質)이 微生物의 藥劑抵抗性을 強化시키는 것이 아닌가 생각되며, 또는 이와는 反對로 合成寒天培地는 藥品의 ionization 을 쉽게 하기 때문에 殺菌力이 커져서 培地內의 菌의 抵抗性을 低下시키는 것이 아닌가 생각된다. 微生物의 藥劑抵抗性은 營養物質의 種類에 따라서 또는 培養條件에 따라서 變動이 있음을 알수있다. 이 問題는 더욱 깊이 追求해야 할 問題라고 思料된다.

摘 要

皮革의 防黴劑檢索에 있어서 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 새로히 皮革防黴力이 있는 것으로서 *m*-dinitrobenzene (0.3%), 2,4-dinitrochlorobenzene (0.2%), phenyl-mercuric acetate (0.1%)이 screen-up 되었다.
2. 우리나라에 分布하는 皮革汚染菌인 *Asp. oryzae*, *Asp. niger*, *Asp. glaucus*에 對하여 *p*-nitrophenol은 0.3% 以上에서, 8-hydroxyquinoline은 1.0% 以上에서, sodium-pentachlorophenolate는 0.5% 以上에서 各各 防黴效果를 發揮하였다.
3. 皮革의 水抽出成分과 油脂및 寒天과의 合成培地는 皮革菌을 大量的으로 均一條件下에서 培養할수 있는 可能性을 열어 주었으며 mass-screening의 一次實驗에 有用하였다.
4. 皮革의 加脂에서 添加되는 油脂의 量과 種類에 따라서 皮革寄生菌의 藥劑抵抗性의 強度가 變動하였다.
5. 促成檢索法은 皮革製品의 抗黴力試驗期間을 15~20日間으로 短縮하는 長點이 있었다.
6. 同一濃度の 藥品處理에 있어서도 皮革上과 試驗管內에 있어서는 抵抗度가 달랐으며 皮革上의 抵抗度가 2~4倍 强하였다.

References

1. Abrams, E. 1948. Prevention and methods of test. Microbiological determination of organic materials. U.S.D.C.
2. Brit. Patent 901, 562, 1962. Proofing against germs, fungus, weeds and insects. Jour. Am. Leather. Chem. Assoc Vol. LVII No.12.
3. Brit Patent 901,637. 1962. Proofing against organisms. Jour. Am. Leather Chem. Assoc. Vol. LVII No. 12.
4. Frear, E.H., 1955. Chapt. IV. Fungicides, Chemistry of pesticides D. Van. Nostrand Co. N.Y.
5. Grassmann, W. 1944. Konservierung und Desinfektion der Haut. Handbuch der Gerbereichemie und Lederfabrikation. 1. Teil. Wien.
6. Lilly, V.G., 1951. The Action of fungicides., The physiology of the fungi. McGraw-Hill Book Co. N. Y.
7. Orlita, A. 1962 Leather protection against molds, The Jour. Am. Leather Chem. Assoc. Vol. LVIII No. 6.
8. Seligsberger, L., 1958. The stability of tan-nage, The chemistry and technology of leather Vol. II. N.Y..