

리사이클 고무 매트와 N-(fluorodichlomethylthio) Phthalimide-Ag Complex에 관한 항미생물 활성 연구

김기준 · 이주엽 · 박태술[†]

대진대학교 이공대학 화학공학과
[†]대진대학교 이공대학 환경공학과
(2011년 11월 23일 접수 ; 2011년 12월 10일 채택)

A Study on Antimicrobial Activity of N-(fluorodichlomethylthio) Phthalimide-Ag Complex of Reclaimed Rubber Mat

Ki-Jun, Kim · Joo-Youb, Lee · Tae-sul, Park[†]

Department of Chemical Engineering, Daejin University,
[†]Department of Environmental Engineering, Daejin University
Pochun-Si 487-711, Korea
(Received November 23, 2011 ; Accepted December 10, 2011)

Abstract : N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-silver complexes were prepared and investigated the antimicrobial activity on rubber mat manufactured with waste rubber. We are exposed to harmful bacteria and fungi all the time. We manufactured antimicrobial mat to be imposed to mats that it can prevent generation of bacteria and microorganisms, and restrict their reproduction. Infection of medical devices causes significant morbidity and mortality. For aim of this study, we measured the antimicrobial mat manufactured with N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex by CCD, FT-IR and NMR. The effect of mole ratio of N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex on antibacterial activity to bacteria and fungi is investigated. Reduction rate is evaluated using the Quinn method. Escherichia Coli is effectively inhibited than Staphylococcus aureus by antimicrobial mat.

Keywords : N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex, antimicrobial activity, microorganism

1. 서론

위생에 밀접한 산업용 및 가정용 생활용품의 표면에 서식, 기생하는 각종 세균류 및 곰팡이

의 서식을 방지하여 악취나 인체에 유해한 질병유발 등을 방지할 수 있도록 페타이어를 활용한 항균성 자동차 고무 매트의 개발이 매우 시급한 상황이다. 각종 합성수지를 고온으로 용융하여 일정한 금형 내에서 압출하거나 사출하여 제조하는 플라스틱, 고무 등의 고분자 수지는 냉장고, 에어컨, 전화기, 자동판매기, 가습기,

[†]주저자 ((E-mail : kjkim@daejin.ac.kr)

catheter 등의 각종 의료 장비 등에 많이 사용되고 있다. 그러나 이러한 고분자 제품에 각종 세균류 및 곰팡이 등이 서식하기 쉬워 악취 및, 변색을 일으키며, 인체에 치명적인 각종 질병을 유발한다.

본 연구의 주목적은 자동차용 바닥매트의 압출 성형 시에 항균제를 투입하여 제조함으로써 과다 부스러기와 흙먼지, 수분 등의 유입으로 바닥매트에 세균이나 곰팡이가 서식 번식하여 자동차 내부의 악취, 매트 취화 및 세균에 의한 감염을 방지하는 것이다.

자동차 실내에 서식하여 알레르기 반응을 일으키는 진드기는 인설을 먹이로 하고 있는 먼지 진드기, 저장식품 또는 부패물을 먹이로 하거나 동식물에 기생하는 진드기 등으로 총 12과 26종에 이른다[1,2]. 기관지에 알레르기성 염증반응이 나타나고, 계속 염증발생이 심해지면 보상 역치(compensatory threshold)를 초월하여 기관지 과민성이 발생한다[3]. 이때부터 천식 증상이 나타나고 자연 회복 불능상태에서 계속적인 노출로 알레르기 반응은 기관지 과민성이 점점 악화되어 천식 증상이 심해지게 된다. 또한, Baveja 등은 catheter 의료장비 등에 대한 세균의 감염은 병원성 미생물로 인한 질병유발과 부패의 불가분 요소로서, 건강장해의 원인이 되기 때문에 의료시설만이 아니라 식품산업 및 주택 등에서도 방미 처리가 중요함을 보고하였다[4,5].

본 연구에서 자동차용 항균매트의 성형방법은 히터에 의해 가열되는 하판과 고무패드의 슬립방지용 돌기를 형성하는 다이, 패드의 모양을 성형하는 모양판, 냉각관을 통해 냉각되는 상판으로 장치가 구성되며, 항균고무를 성형하여 제조하였다. 플라스틱용 곰팡이 방지제인 N-(fluorodichloromethylthio) phthalimide는 곰팡이 및 세균에 대해 폭넓은 항균 스펙트럼을 갖고 열안정성도 150~180 °C로 매우 양호하여 AgNO₃와 착물을 만들어 고무 수지의 원료와 혼합 압출하여 항균매트를 성형 제조하였다. 무기계 항균제(Ag-complex)는 유기계 항균제보다 내열성과 휘발, 분해성이 높아 안전성이 우수하다. 또한 지속성이 길고 내성균을 만들지 않는 무기계 항균제의 항균 효능은 항균성활성이 있는 금속성분이 균체의 세포막(단백질)에 흡착하여 세포구성 성분 등의 라디칼을 파괴함과 동시에 신진대사 및 에너지대사를 저해한다

[6,7].

N-(fluorodichloromethylthio) phthalimide-Ag complex를 내침하는 혼련법(mixing)과 성형 후에 표면 가공하는 후처리 법이 있으나, 본 연구에서 혼련법으로 제조하여 연구하였다[8]. 위에서 언급한 N-(fluorodichloromethylthio) phthalimide-Ag complex에 관한 연구는 매우 중요하고 필요하지만, 이를 이용한 antimicrobial activities에 관한 연구 등이 초보적인 단계로서 개발현황이 미미한 실정이다.

본 연구는 N-(fluorodichloromethylthio) phthalimide-Ag complex가 함유 제조된 자동차 매트에 대한 antimicrobial activity를 체계적으로 박테리아 및 곰팡이 균사에 대해 연구하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기기

본 합성에 사용된 시약은 스테아린산, 가황촉진제인 dimethylbenzothiazyl sulfide, 탄산칼슘, 산화아연은 Aldrich 사의 특급시약을 사용하였으며, 천연고무(ribbed smoked sheet, RSS #1)와 특급시약 송진(rosin)을 Kanto Chem.사에서 구입하였고 배지는 beef extract 3 g과 pepton 5 g, CaCl₂ 8 g에 증류수 1,000 mL로 만드는데 액체배지의 시약은 Acros 사의 특급시약을 정제하지 않고 사용하였다. 또한, pH 조정과 미생물 시험에는 인산과 Nutrient agar medium(한천영양배지), potato-dextrose agar를 각각 Sigma Chem.사에서 구입하여 사용하였다. N-(fluorodichloromethylthio) phthalimide과 AgNO₃은 Jusei Chem.사의 특급시약을 구입하였으며, 고무분말은 40mesh로서 재생공사 제품을 사용하였다. 실험기기로는 Rotary evaporator R-114와 Circulating aspirator A-3S(Fluka사), FT-IR spectrophotometer (JASCO, IR-100)를 사용하였으며, 1H-NMR (Perkin Elmer 사)와 electron micrometer (U-LH 100-3, Olympus Optical사), Shaking Incubator와 Colony Counter, Autoclave는 국산 이화학기기를 각각 사용하여 실험하였다. 항균매트의 제조를 위한 장치는 국내 의뢰 제작하였으며, 상판에 냉각파이프를 내장하였고, 중간에 엠버싱을 성형할 수 있는 관통 공으로 급형

하였으며 하판을 히터로 공기가 가황되도록 가열하였다. 검출기로 UV scintillator(lumagen)으로 코팅된 thermoelectrically cooled CCD (TE/CCD)는 frame transfer chip이 1552*1242 이고, CCD의 controller(ST-133), CCDadapter, (F-mount adipten)와 영상 출력의 소프트웨어인 data acquisition board를 미국 Princeton Instruments사에서 구입하여 computer interface system을 구성하였다. Single line mode의 continuons wave (CW) 아르곤 이온 레이저는 광원으로 미국 Coherent사의 모델 innova 70을 사용했고, monochromator(Acton Research사)는 넓이를 조절할 수 있는 micrometeor가 2개 설치되어 정확성이 우수하다. Grating은 300, 1200, 2400 groove/min 이 3개가 내장되어 있어 imaging monochromator와 spectrograph에 사용된다.

2.2. 실험방법

폐고무분말을 이용한 항균 매트 제조는 고무분말에 송진과 스테아린산을 첨가하고 고속 교반기에서 100 °C에서 1시간 20분 동안 150 rpm/min으로 교반하여 고무분말을 활성화하였다. 항균매트 고무패드 합성은 RSS #1, 황성고무분말, N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag complex, 유허, 가황촉진제 등을 배합하여 150 °C로 가열하여 120 kg/cm²으로 가압하여 성형하였다.

N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag complex은 N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide 1몰과 AgNO₃ 1몰을 메탄올을 용매로 반응기에서 3시간동안 200 rpm/min으로 교반하여 합성하였다. 이를 이용하여 박테리아와 곰팡이 균주에 대해 antimicrobial activity을 실험하였다.

2.3. 미생물 성장 실험 및 antimicrobial activity 분석

미생물이 삼각플라스크에서 배양되는데 박테리아균인 Escherichia Coli, ATCC(american type culture collection) 25922, Staphylococcus aureus ATCC 6538와 곰팡이 균은 Aspergillus niger ATCC 9642, Chaetomium globosum ATCC 6205 등이 접종된 영양한천 배지위에 고무패드와 패드와 결합된 카페트의 시편을 각각 놓고 항균성을 측정하였다. 배지에 미생물 1,000 CFUS/mL(미생물 1개 집낙:

CFUS/mL)를 기준으로 하였고 1,000개 집낙당 0.5 mL 정도의 미생물을 배지에 접종, 배양하였다. 시료의 pH는 7.0을 기준으로 하였으며 시편 표면적은 5 cm²이었다.

시편들은 박테리아, 곰팡이 균사류로 접종된 영양한천의 시료위에 놓았다. 시료주위의 억제영양의 크기를 측정하고 미생물의 수를 CCD로 측정하여 평가하였다. 곰팡이균류는 28 °C 14일간 배양 (ASTM G-21) 시료위에서 곰팡이 균류의 수를 측정하였다. 또한 박테리아는 증식된 배양액을 희석하여 세균 영양한천에 접종하여 37 °C 인큐베이터에서 2일간 배양한 후에 발생된 colony로부터 멸균 백금니로 세균들을 순수 분리하였다. 분리된 세균들에 대한 시편의 항균력을 플라스크 진탕법(flask shake method)을 이용하여 시간 경과에 대한 단위 체적당 마리수를 접종 직후와 접종후 24시간 경과 후에 각각 측정하였으며, 10 배 희석의 영양액을 사용하였고, 교반수는 150 rpm/min로 하였다.

3. 결과 및 고찰

Antimicrobial activity 실험에서 박테리아와 곰팡이 균사들의 멸균율(reduction rate)은 Quinn이 제시한 공식을 이용하여 평가하였는데, 그 식은 다음과 같다[9].

$$R(\%) = (C_0 - C / C_0) \times 100 \quad \text{-----(1)}$$

여기에서 R은 멸균율, C₀는 항균제가 함유되지 않은 매트의 박테리아 colony의 수이며, C는 항균제가 함유된 매트의 박테리아 colony의 수이다. N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide은 단백질의 유도체로서 카르복실기와 아민기를 함유한 아미노산으로서 금속이온과 complex를 잘 형성한다[10,11].

Fig. 1에서 N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide과 AgNO₃의 몰비에 의한 CCD 스펙트럼을 나타내었다. N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide은 AgNO₃과의 몰비(1:1, 1:2)에 의한 3400cm⁻¹에서 -NH₂ 그룹과 OH 그룹의 stretching vibration에 의해 나타났으며, (a)에서 몰비 1:에서 넓고 큰 피크가 나타났는데, 이는 N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide이 -NH 그룹과 -OH그룹을 함유했기 때문으로 사료된다. 따라서 AgNO₃ 함량이 많아진 (c와 d)에 따

라 피크가 점점 줄어들음을 알 수 있다. 1726cm⁻¹ 부분은 (a)에서 (d)쪽으로 이동함에 따라 피크가 점점 커짐을 나타낸 것은 AgNO₃의 몰비가 증가한 원인으로 N=O(sym), 1230cm⁻¹에서 C-N이 관측되었다고 생각된다

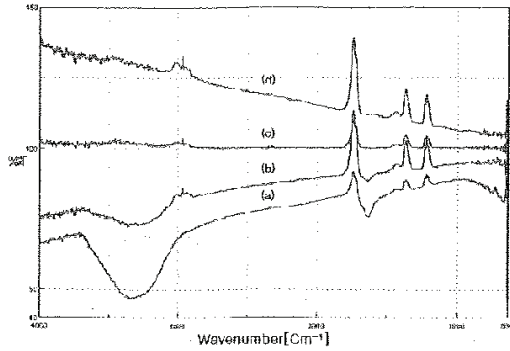


Fig. 1. CCD spectra of mole ratios of N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide and AgNO₃

- (a) N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag = 1:1,
- (b) N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag = 1:2,
- (c) N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag = 1:3,
- (d) N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag = 1:4.

Fig. 2는 N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide과 AgNO₃의 몰비(5:1, 4:1, 3:1, 2:1)에 의한 CCD 스펙트럼들로서 3400cm⁻¹에서 (a)의 피크가 가장 크게 나타났는데, 이는 N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide이 많아짐에 따라 -NH₂ 그룹과 -OH 그룹의 stretching vibration에 의해 넓게 나타나고 점점 피크가 증가하였다고 본다.

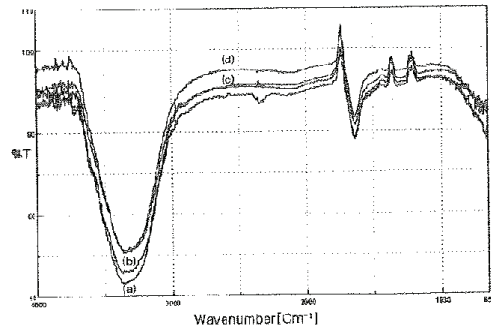


Fig. 2. CCD spectra of mole ratios of N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide and AgNO₃

- (a) N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag = 5:1,
- (b) N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag = 4:1,
- (c) N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag = 3:1,
- (d) N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag = 2:1.

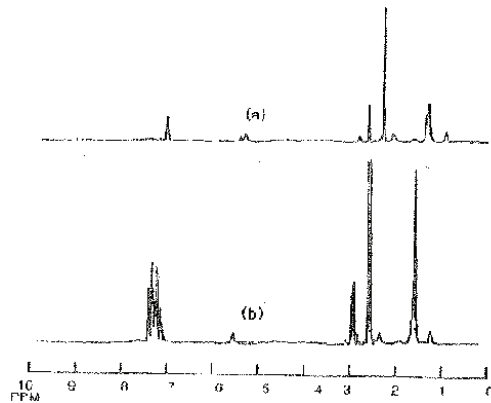


Fig. 3. 1H-NMR spectra of (a) N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide and AgNO₃, (b) rubber mat bound with N-(fluorodichlormethylthio) phthalimide-Ag complex.

N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide 함량이 많아짐에 따라 3400cm^{-1} 에서 넓은 피크가 점점 커진 반면에 $1760, 1350, 1230\text{cm}^{-1}$ 의 피크가 작아짐을 보여 주었다. 이는 AgNO_3 의 몰비가 증가함에 따라 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide의 농도가 감소한 원인으로 추측된다. $^1\text{H-NMR}$ 에 의해 (a)N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex와 (b)고무 성형 가공중에 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex이 내침되어 성형된 고무매트의 스펙트럼들을 도시하였다(Fig. 3). 이는 (b)에서 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex가 고무 수지에 배합 합성된 고무패드의 스펙트럼을 도시한 것이 (a)보다 더욱 spin-spin splitting이 많이 이루어짐을 알 수 있었다. *Escherichia coli*균과 *Staphylococcus aureus* 균사는 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex가 함유되고 카페트가 함유되지 않은 고무패드만의 실험으로 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide : Ag complex의 몰비가 1:4에서 미생물의 성장에 대한 효과적인 억제현상을 가장 크게 보여주었다(Fig. 4). 위 그림에서 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide은 황, 산소, 질소이온을 통해 금속이온과 결합을 형성한 후에 potential donor atom을 만들어 biological activity의 능력, 내균성과 지속성이 우수함을 보고하였다[12].

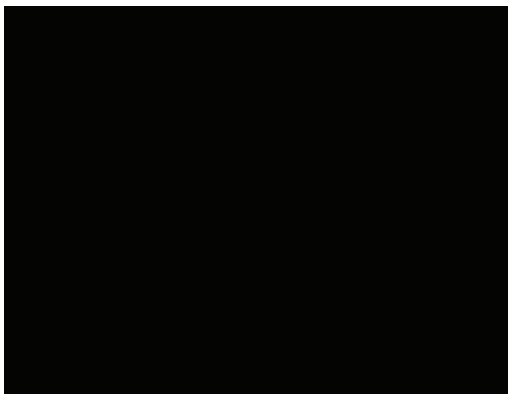


Fig. 4. Change of antimicrobial activity by mole ratios of N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complexes in rubber pad.

Fig. 5는 공시균 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538의 antibacterial activity를 측정함으로써, (a)는 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex가 함유되지 않은 고무분말을 활용한 매트의 균성장율로서 27%로 나타났다. (b)는 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex이 함유된 매트에서 박테리아 균의 reductio rate이 81.6%임을 보이고 있다. 이것은 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex이 함유된 매트의 antibacterial activity가 탁월한 효과이다. Fig. 6은 공시균인 *Aspergillus niger*와 *Chaetomium globosum*의 antifungal activity를 ASTM G-21에 의해 측정하는 것이다. ASTM G-21에 의한 등급은 다음과 같다. 등급 0은 공시균들이 전혀 자라지 못하는 상태이고, 등급 1은 시편위에서 10 % 이하의 공시균들이 자라는 상태를 의미하며, 등급 2는 시편위에서 10 ~ 30 %이하로 공시균들이 자라며, 등급 3은 시편위에서 30 ~ 60 %이하로 공시균들이 성장하고, 등급 4는 시편위에서 60 %이상 공시균들이 성장함을 나타낸다.

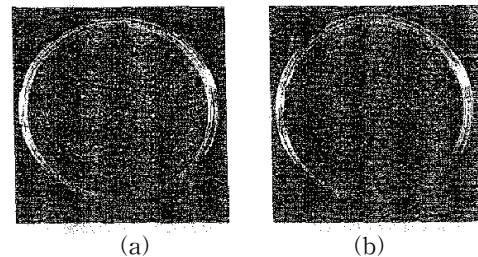


Fig. 5. Test of antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* on carpet in rubber mat.

- (a) mat carpet without N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex,
 (b) mat carpet with N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex

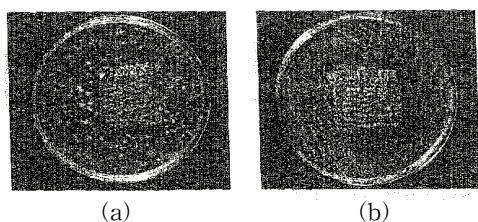


Fig. 6. Test of antifungal activity of *Aspergillus niger* and *Chaetomium globosum* on carpet in rubber mat.

- (a) mat carpet without N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex,
 (b) mat carpet with N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex

앞 그림에서 (a)는 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex가 함유되지 않은 폐 고무 분말을 활용한 매트와 균성장율의 등급이 4로 측정되었으며, (b)는 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex이 함유된 매트와 균성장율의 등급이 0으로 측정되었다.

4. 결론

항균매트는 페타이어의 고무분말을 이용하여 제조하는데 고무분말에 송진과 스테아린산을 첨가하여 분말을 활성화하였다. 항균매트의 고무패드 합성은 RSS #1, 활성고무분말, N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex, 유황, 가황촉진제 등을 배합한 후에 가압하여 성형하였다. N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex를 이용하여 박테리아 균주에 관한 antimicrobial activity를 실험하였다. 따라서 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex를 수지에 혼합하여 성형함으로써 매트의 내, 외면에 세균류 및 곰팡이가 서식하지 못하도록 함과 동시에 항균효과에 따른 많은 응용이 기대된다.

따라서 병원성 미생물을 실험한 결과로서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex이 내첨 혼련된 매트가 함유되지 않은 매트보다 antimicrobial activity가 탁월

함을 나타냈다.

2. N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide-Ag complex은 N-(fluorodichlomethylthio) phthalimide과 AgNO₃의 몰비 1:4에서 멸균율이 가장 큼을 알 수 있었다.
3. *Escherichia coli*에 관한 microbial activity이 *Staphylococcus aureus* 균에 대한 microbial activity보다 탁월함을 알 수 있었다.

참고문헌

1. C. U. Pittman, J. appl. polym. sci., 26, 2403, (1981).
2. Muzzurelli RAA, Carbohydr Polym., 29, 309, (1996).
3. Peter MG, J. macromlo sci., A32, 629, (1995).
4. J. E. Mark, B. Erman, Frederick Eirich, "Science and Technology of rubber", MRC, (2001).
5. W. C. Wake, B. K. Tido, and M. J. R. Loadman, "Analysis of rubber and rubber-like polymers," Applied science publishers, (1983).
6. D. C. Blackly, "Synthetic rubber : Their chemistry and Technology", Applied science publishers, (1969).
7. J. A. Brydson, "Rubber chemistry", Applied science publishers, (1978).
8. X. Wang, Y. Du, and H. Liu, Carbohydrate Plymers, 56, 21, (2004).
9. T. Nakashima, Y. sakagami, H. Ito, and M. Matsuo, Textile Research J., 71(8), 688, (2001).
10. D. Freifelder, "Physical Biochemistry", Freeman, (1994).
11. J. W. Warren, Inflection clinic of north America, 11, 609, (1997).
12. B. Groten : Analytical Chemisty, 36(7), 1206, (1964).