

<研究論文(學術)>

## N,N,N-Trimethylchitosan Ammonium Chloride의 항미생물성과 이용(I) - MRSA에 대한 항균성 -

박찬현\* · 이양현 · 도성국 · 조경자

동아대학교 의상섬유학부  
(2000년 1월 6일 접수)

## Antimicrobial Activity and Application of N,N,N-Trimethylchitosan Ammonium Chloride (I) - Antimicrobial Activity against MRSA -

Chan Hun Park\*, Yang Hun Lee, Seong Kook Dho, and Kyeong Ja Cho

*Division of Fashion and Textiles, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea*  
(Received January 6, 2000)

**Abstract**—Various kinds of water soluble N,N,N-trimethylchitosan ammonium chloride(TMC) with different molecular weights were synthesized to examine the antimicrobial activity against Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus(MSSA) and Methicillin Resistant Staphylococcus aureus(MRSA), which causes serious hospital infection, and to apply them to antimicrobial finishing agents for textiles.

Chitosan samples were highly deacetylated with sodium hydroxide solution and degraded with hydrogen peroxide to control the molecular weight. TMC has the antimicrobial activities against MRSA and MSSA. TMC showed an excellent antimicrobial activity below the molecular weight of 70,000, especially at 40,000. The minimum inhibitory concentration (MIC) of TMC with optimum molecular weight against MRSA and MSSA was 250ppm. Because MRSA did not resist TMC in the subculture test of bouillon medium, it was expected that the successive use of TMC against MRSA was possible.

### 1. 서 론

키토산은 고분자쇄 중에 반응성이 큰 수산기와 아미노기를 가지고 있어, 다른 화합물과의 반응으로 키토산 유도체를 합성하여 키토산 천연물의 장점을 살린 새로운 기능성 고분자 신소재를 개발할

수 있어 많은 분야에서 이용이 기대된다. 실제로 키토산은 생체 고분자로 생체 적합성과 효소에 의한 생분해성이 좋아 인공피부를 비롯한 의료용 고분자<sup>1)</sup>, 폴리카티온을 이용한 응집제<sup>2)</sup>, 보습효과를 이용한 화장품 첨가제<sup>3)</sup>, 항균성을 이용한 식품 보존제<sup>4)</sup>, 식품포장 필름, 섬유의 제조원료<sup>5)</sup>, 섬유의

항균 가공제<sup>6)</sup> 등으로 널리 이용되고 있다.

키토산의 항균 메커니즘은 키틴의 탈아세틸화에 의해 생성된 아미노기에 기인하는 것으로 알려져 있다<sup>7)</sup>. 많은 항미생물 가공제들이 4차암모늄염 구조를 가지는 것을 생각하면 키토산의 아미노기를 메틸화시켜 4차암모늄염 유도체로 만들면 더욱 효능이 좋은 항미생물 가공제로 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

한편, 메티실린 내성 황색포도상 구균은 Methicillin Resistant Staphylococcus aureus(MRSA)라 하여  $\beta$ -lactam계 항생물질인 메티실린에 대하여 내성을 갖는 황색포도상 구균을 말하며, 메티실린에 대한 감수성균은 Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus(MSSA)라 하여 항생물질이 효과가 있는 황색포도상 구균을 말한다.

메티실린의 살균작용 기구는 세균의 세포벽 구성물질인 peptidoglycan을 생합성하는 transpeptidase와 메티실린이 결합하여 peptidoglycan생합성을 저해하므로 정상적인 세포벽을 갖지 못하거나 세포벽이 없는 세포가 되어 침투압에 대한 저항성이 약해 세포구조가 파괴되어 사멸된다<sup>8)</sup>. 그러나 항생물질인 메티실린이 transpeptidase를 저해하기 전에 MRSA는 메티실린의  $\beta$ -lactam 구조를 파괴하는  $\beta$ -lactamase를 생산하여 메티실린 분자를 분해시켜 살균이 불가능하게 하는 변이 황색포도상 구균으로, 제2, 제3세대의 Cephem계 항생물질과 그 외 여러 가지 항생물질에 대하여 내성을 나타낸다<sup>9)</sup>. 최근 병원내 감염 세균으로 MRSA가 관심을 모으고 있으며, 우리 나라에서도 1980년대 종합병원 환자에서 문제의 세균이 검출되기 시작하였으며, 외국의 경우 검출된 황색포도상구균 중 MRSA가 차지하는 비율이 50~90%에 달하여 심각성을 더해주고 있다<sup>10,11)</sup>.

본 연구에서는 키토산의 아미노기를 4차암모늄염으로 만들어 MRSA에 대한 항균성을 분자량별로 검토하고자 한다. 먼저 반응성을 높이기 위하여 키토산을 탈아세틸화시키고 저분자화시켰다. 키토산의 양이온성을 증가시키기 위하여 분자량별로 키토산 아미노기의 수소를 메틸기로 치환시켜 N,N,N-trimethylchitosan ammonium iodide(TMI)를 합성한 후 요오드를 염소로 치환한 N,N,N-

trimethylchitosan ammonium chloride(TMC)를 만들었다. MRSA에 대한 TMC의 항균성을 검토하기 위하여, 분자량별로 농도를 달리한 TMC를 첨가한 배지에 MRSA를 배양하여 최소증식 저지농도(MIC)를 조사하였다. 아울러 황색포도상 구균 전반에 대한 TMC의 항균성을 알아보기 위하여 MSSA에 대한 TMC의 MIC를 구하였다. 항균제인 TMC에 대하여 MRSA가 내성을 나타내는지 알아보기 위하여 TMC를 첨가한 배지에서 MRSA를 계대배양하였다.

## 2. 실험

### 2.1 시료 및 시약

키토산은 Sigma사 제품(med. molecular, 200~800cps)을 그대로 사용하였다. Methyl iodide는 특급시약(Junsei)을, 과산화수소와 수소화붕소나트륨( $\text{NaBH}_4$ )은 일급시약(藥理化學)을 그대로 사용하였다. 에테르, 아세톤, 에탄올, 아세트산은 일급시약을 사용하였다.

항미생물 시험시약인 Bacto Peptone, Beef Extract는 DIFCO Laboratories제를, 한천과 염화나트륨은 특급시약(藥理化學)을 사용하였다.

### 2.2 키토산 시료의 제조

#### 2.2.1 키토산의 탈아세틸화 및 탈아세틸화도 측정

출발물질인 키토산의 탈아세틸화도를 측정할 결과 86%이기 때문에 반응성을 높이기 위하여 탈아세틸화 반응을 시도하였다. 탈아세틸화도가 95% 이상 되는 탈아세틸화 반응<sup>12)</sup>을 실시하였다. 즉 출발물질인 키토산을 110°C, 질소기류하에서 1시간 동안 47% NaOH 수용액으로 처리하였다. 알칼리 처리한 키토산을 80°C정도의 물로 씻어낸 다음, 위의 조건으로 반복 처리하였다. 다시 키토산을 2% 아세트산 수용액에 녹여 1.8%(w/w)농도로 한 후 과량의 1N-NaOH 수용액에 부어 얻은 침상의 키토산을 건조시켜 시료로 사용하였다.

탈아세틸화도는 pH 미터(Metrohm 744, Switzerland)를 이용하여 적정법<sup>12)</sup>으로 구하였다.

#### 2.2.2 키토산의 저분자화 및 분자량 측정

1% 아세트산 수용액에 탈아세틸화시킨 키토산

을 녹인 후 1N-NaOH 수용액으로 중화시키면서 pH11 정도로 조정하고 액량비를 1:100으로 조절하였다. 분자량별로 저분자화시키기 위하여, 키토산 1g에 대하여 과산화수소를 각각 0.1, 0.5, 1.0, 1.5ml로 간헐적으로 적하하면서 70°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응종료 후 냉각시킨 다음 NaBH<sub>4</sub>를 소량 첨가하여 환원 처리하였다.

저분자화된 키토산 시료를 증류수, 메탄올, 에테르 순으로 세정한 후 공기 중에서 건조시켰다.

분자량별로 얻어진 키토산 시료는 GPC/SEC Light scattering System(Viscotek, Model T-60A, USA)를 이용하여 분자량을 측정하였다. 먼저 분자량을 알고 있는 표준물질인 PEG로 분자량별로 검량선을 만든 후, 0.3M 아세트산, 0.2M 아질산 나트륨 수용액에 0.3% 키토산 용액을 만들어 분자량을 측정하였다.

### 2.3 TMC의 합성

합성은 馬場 등<sup>13)</sup>의 방법에 의하였으며, 증류수 600ml과 메탄올 400ml의 혼합액에, 탈아세틸화시키고 분자량별로 저분자화시킨 키토산 10g을 가하고 실온에서 16시간 분산시킨 후, 메탄올에 녹인 methyl iodide 40ml을 적하하면서 50°C에서 질소 기류하에서 48시간 반응시켰다.

반응물을 아세톤에 침전시킨 후 여과하고, 아세톤으로 3회 세정한 후 여과하여 미반응 methyl iodide을 제거하였다. 여과하여 얻은 TMI를 물에 용해시킨 후 메탄올에 염산을 첨가한 용액에 서서히 적하하여 목적인 염화물인 TMC로 전환시킨 후<sup>6)</sup> 여과하였다. 여과물을 증류수와 메탄올에 용해, 침전, 세정을 3회 반복하여 미반응 키토산을 제거하고 여과하였다. 여과물을 메탄올로서 24시간 속스레 추출하여 불순물을 제거하고 진공건조한 것을 시료로 사용하였다. TMC의 불용 부분은 TMC를 증류수에 용해, 여과한 다음, 110°C에서 1시간 건조시켜 건조 전후의 무게를 측정하여 계산하였다.

### 2.4 IR 분석

시료를 KBr 펠렛으로 만들어 FT-IR Spectrometer(MIDAC, USA)를 사용하여 측정하였다.

## 2.5 항미생물성 시험

### 2.5.1 MRSA에 대한 TMC의 최소증식 저지농도 측정

최소증식 저지농도(MIC, minimum inhibitory concentration)는 한천배지 희석법으로<sup>14)</sup> 측정하였다. 브리온 배지를 이용하여 10,000ppm의 TMC 수용액을 두배로 단계적으로 희석하여 10개의 TMC 수용액을 만든 후 페트리디쉬에 희석한 각각의 TMC 수용액 1ml과 멸균처리된 45°C의 한천배지 9ml을 분주하고 잘 혼합하여 고형화시켰다. 여기에 MRSA균을 약 10<sup>5</sup>/ml가 되도록 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 colony의 생성 여부에 따라 MIC를 구하였다.

시험균인 MRSA는 동아대학교 미생물학 교실에서 oxacillin에 의해 분리 동정한 균주를 사용하였다.

### 2.5.2 MSSA에 대한 TMC의 MIC 측정

TMC의 황색포도상 구균 전반에 대한 항균성을 알아보기 위하여 MSSA에 대하여 2.5.1과 같은 방법으로 TMC의 MIC를 구하였다.

### 2.5.3 MRSA의 TMC에 대한 내성 유무 시험

액체배지 희석법<sup>15)</sup>으로 MIC를 구하고, MIC에서 자란 MRSA균을 9회에 걸쳐 계대배양하여, 매번 배양시마다 MIC값을 구하여 내성 유무를 판정하였다. MIC값은 브리온 배지를 이용하여 10,000ppm의 약제 수용액을 두배로 단계적으로 희석하여 사용하였으며 2.5.1과 같이 배양후 혼탁도로 판정하였으며 시험관의 배지가 투명할 때의 농도를 MIC값으로 하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 키토산의 탈아세틸화, 저분자화 및 분자량

키토산 아미노기의 4차아모늄화 반응을 높이기 위하여 탈아세틸화 반응을 시도하였다.

본 실험에서는 선행연구<sup>12)</sup>에서 96% 이상의 탈아세틸화도를 달성하였던 방법을 실시하였으며 적정법을 이용하여 측정된 결과를 Table 1에 나타내었다. 출발 물질인 키토산의 탈아세틸화도가 86%였으며 탈아세틸화 반응후의 탈아세틸화도는 97%

로서 고도의 탈아세틸화가 이루어졌다고 볼수 있다.

**Table 1. Degree of deacetylation of chitosan treated with 47% NaOH solution**

|          | Degree of deacetylation(%) |
|----------|----------------------------|
| original | 86                         |
| treated  | 97                         |

키토산의 저분자화는 염산, 아질산, 과산화수소, 과요드산 등을 이용한 화학적 방법이나, 키티나제, 키토사나제, 셀룰라제<sup>16)</sup> 등의 효소를 이용하는 방법 등이 있다. 본 실험에서는 반응속도의 조절이 용이하고 온화한 조건에서 저분자화할 수 있는 과산화수소를 사용하였다. 과산화수소의 농도를 변화시켜 가면서 70℃에서 1시간 반응시켜 저분자화시킨 키토산의 평균분자량을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 출발물질인 키토산의 평균 분자량은 255,000 이었으며, 과산화수소의 양이 증가할수록 평균 분자량은 저하하고 있다.

**Table 2. Average molecular weight of chitosans depolymerized by hydrogen peroxide at 70℃ for 1 hour**

| Sample code | Amount of hydrogen peroxide(ml) | Molecular weight( $M_w$ ) |
|-------------|---------------------------------|---------------------------|
| Original    | —                               | 255,000                   |
| CS I        | 0.1                             | 220,000                   |
| CS II       | 0.5                             | 105,000                   |
| CS III      | 1.0                             | 66,000                    |
| CS IV       | 1.5                             | 40,000                    |

### 3.2 TMC의 합성

탈아세틸화시키고 분자량별로 저분자화시킨 키토산을  $CH_3I$ 와 반응시켜 TMI를 합성하였다. 4차암모늄염은 새로운 수용성 유도체일 뿐만 아니라 섬유에 대하여 항미생물 가공제로 사용될 수 있을 것으로 기대된다. 다만 TMI는 대이온이 요오드이기 때문에 햇빛이나 열에 대하여 불안정하기 때문

에 요오드를 다른 할로젠 원소로 대체할 필요가 있다. 염소염 형태인 TMC로 전환하기 위하여 에탄올에 염산을 첨가한 용액에 증류수에 녹인 TMI를 적하하였다. TMI를 TMC로 전환시킬 때 이온교환수지를 이용한 방법<sup>17)</sup>이 있으나 본 실험에서는 에탄올에 염산을 첨가하여 TMC로 전환시켰다. 한편 TMC의 물에 대한 불용 부분의 비율은 Table 3과 같다. 키토산 아미노기의 수소가 완전히 트리메틸화되어 4차암모늄염으로 변했다면 수용성이 되겠지만 아미노기가 4차암모늄염으로 치환되지 않은 부분이 남아 있어 불용 부분으로 나타난 것으로 생각된다.

**Table 3. Water insoluble parts of TMC**

| Sample code | Insoluble parts(%) |
|-------------|--------------------|
| TMC I       | 0.83               |
| TMC II      | 0.96               |
| TMC III     | 1.66               |
| TMC IV      | 1.96               |

### 3.3. IR 분석

Fig. 1은 본 실험을 위하여 사용한 원시료 키토산(a), 탈아세틸화시킨 키토산(b), TMC(c)의 IR 스펙트럼을 나타낸 것이다. 원시료 키토산에서 아세틸아미노기인 아미드 I의 흡수밴드가  $1670cm^{-1}$  근처에서 나타났으며, 아미노기의 변각진동 흡수밴드가  $1586cm^{-1}$ 에서 확인되고 두 피크의 강도가 비슷하게 나타났다. 그러나 탈아세틸화시킨 키토산에서 아세틸아미노기의 흡수밴드인  $1670cm^{-1}$  근처의 피크가 크게 약화되고 아미노기의 흡수밴드인  $1586cm^{-1}$ 의 피크가 예리하게 나타난 것으로 보아 아세틸아미노기가 아미노기로 변환되었음을 알 수 있다. TMC에서 보면 아미노기의 흡수밴드인  $1586cm^{-1}$ 에서의 피크가 탈아세틸화 키토산보다 약화되고, 메틸기의 가로진동의 흡수밴드가  $842cm^{-1}$ 에서 나타나고<sup>18)</sup>, 또 4차암모늄염의 메틸기의 변각진동 흡수밴드가  $1470cm^{-1}$ 에서 강하게 나타나며  $1375cm^{-1}$ 에서 메틸기에 의한 흡수피크가 강하게 나타난 것으로 보아 4차암모늄염이 생성되었음을 확인할 수 있다.

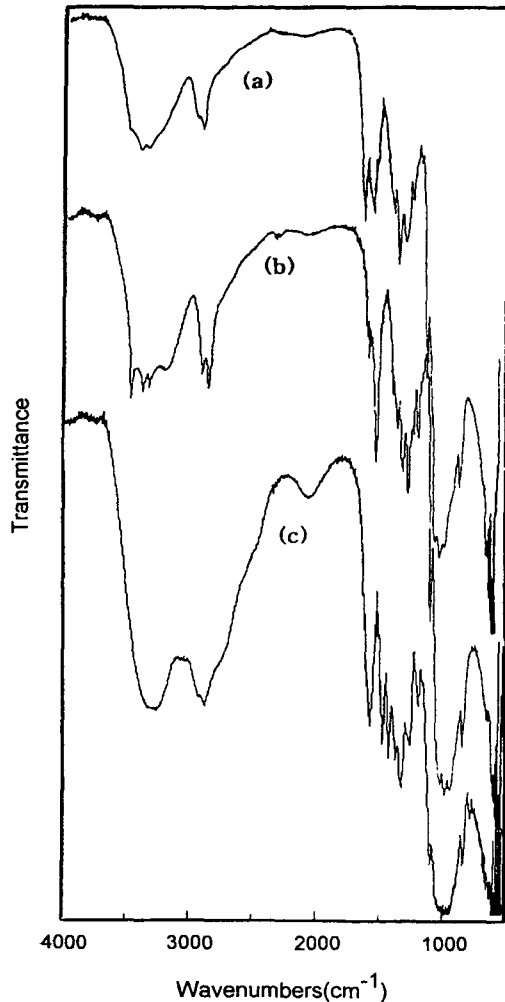


Fig. 1. IR spectra of (a) chitosan, (b) deacetylated chitosan, and (c) TMC.

### 3.4 MRSA에 대한 TMC의 항미생물성

항미생물성 물질의 작용 메커니즘은 세포벽 합성억제, 세포막의 기능억제, 단백질 합성억제, 핵산 합성억제 등의 작용에 의해 나타난다. 그중 양이온 항미생물성 물질의 항균 메커니즘은 항미생물성 물질의 양전하와 세균의 세포벽 안에 있는 세포질 막의 음전하 사이의 정전기적 인력 때문이라고 보고<sup>6)</sup>되고 있다. TMC의 경우도 양이온성 고분자로서 세균의 세포질 막의 음전하와 쉽게 결합할 것으로 여겨진다. 즉, MRSA가 음이온이기 때문에 양이온의 항균제가 MRSA를 포착하여, 항균제가

세균의 세포벽을 통하여 내부로 확산되어 음이온의 세포질 막과 정전기적 인력에 의하여 결합하여 세포질 막이 함몰되어 파괴되고 세포질 구성물질이 방출되어 세포가 사멸되는 것으로 생각된다.

### 3.4.1 TMC의 MRSA 및 MSSA에 대한 항균성 검토

Fig. 2는 키토산 분자량별로 만든 TMC의 MRSA에 대한 MIC를 알아 보기 위하여 한천배지 희석법으로 배양한 결과를 나타낸 것이다. 배양 결과중 MIC를 판별할 수 있는 농도(500, 250, 125 ppm)에 대한 것들만 사진으로 나타낸 것이다. Figure 2에서 보면, 키토산 평균분자량 7만 이상으로 만든 TMC의 경우, 즉 분자량 220,000 및 105,000으로 만든 TMC의 MIC는 500ppm으로 나타났고, 평균분자량 7만 이하로 만든 TMC의 경우, 즉 분자량 66,000 및 40,000으로 만든 TMC의 MIC는 250ppm으로 나타났으며 특히 분자량 40,000으로 만든 TMC의 배양상태가 콜로니의 수가 아주 적어 항균효과가 우수함을 알 수 있다. Figure 3은 TMC의 MRSA뿐만 아니라 황색포도상 구균 전반에 대한 항균성을 알아보기 위하여 MSSA에 대한 TMC의 MIC를 한천 배지 희석법으로 배양한 결과를 나타낸 것이다. 여기서 TMC의 항균성은 MRSA에 대한 항균 시험결과와 유사하게 나타나서 TMC는 MRSA 뿐만 아니라 MSSA에 대하여도 항균성이 크다는 것을 알 수 있다. 따라서 TMC가 황색포도상구균 전반에 대하여 항균성이 있다는 것을 의미하며, 병원에서의 환자복, 시트, 가운, 커튼 뿐만 아니라 일상 생활에서의 의복, 양말, 인테리어 용품 등에도 다양하게 사용될 수 있으며, 약취의 원인인 황색포도상 구균을 제거하여 쾌적한 생활환경 뿐만 아니라 인간 건강에도 크게 기여할 것으로 기대된다.

### 3.4.2 MRSA의 TMC에 대한 내성 유무시험

MRSA가 항균제에 대하여 내성을 잘 획득하는 균주이므로, MRSA의 항균제에 대한 내성 유무 판정시험이 반드시 필요하다.

Table 4는 MRSA의 TMC에 대한 내성 유무 시험 결과를 나타내었다. 먼저 액체배지희석법으로 MRSA에 대한 TMC의 MIC를 구하고, 그 MIC에서 자란 MRSA 균주를 9회에 걸쳐 계대배양하여

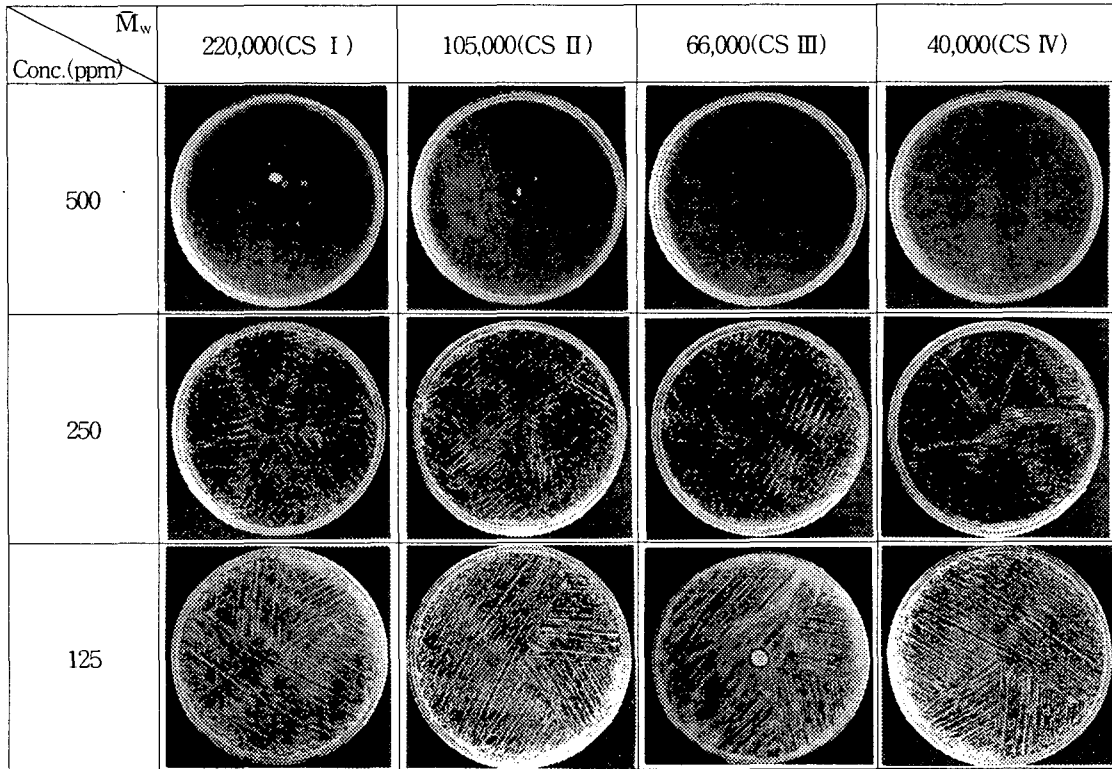


Fig. 2. Photograph of MRSA cultured in agar plate containing various TMC concentration with different molecular weight at 37°C for 24 hours.

Table 4. MIC of TMC against MRSA in subculture test to examine successive use of TMC against MRSA.

| No. of subculture | TMC I | TMC II | TMC III | TMC IV |
|-------------------|-------|--------|---------|--------|
| 1                 | 250.0 | 250.0  | 125.0   | 62.50  |
| 2                 | 125.0 | 125.0  | 125.0   | 31.25  |
| 3                 | 250.0 | 250.0  | 125.0   | 31.25  |
| 4                 | 250.0 | 250.0  | 125.0   | 31.25  |
| 5                 | 250.0 | 250.0  | 65.5    | 62.50  |
| 6                 | 250.0 | 250.0  | 125.0   | 62.50  |
| 7                 | 125.0 | 250.0  | 125.0   | 62.50  |
| 8                 | 125.0 | 125.0  | 125.0   | 62.50  |
| 9                 | 125.0 | 125.0  | 125.0   | 62.50  |
| 10                | 250.0 | 125.0  | 125.0   | 62.50  |

매번 배양할 때마다 MIC를 구한 결과이다.

MRSA가 TMC에 대하여 내성을 나타내지 않는 것으로 확인되어 우수한 항균제로 판명되었다.

평균분자량 66,000 및 40,000의 키토산으로 만든 TMC의 MIC가 전반적으로 평균분자량 220,000 및 105,000의 키토산으로 만든 TMC의 MIC보다

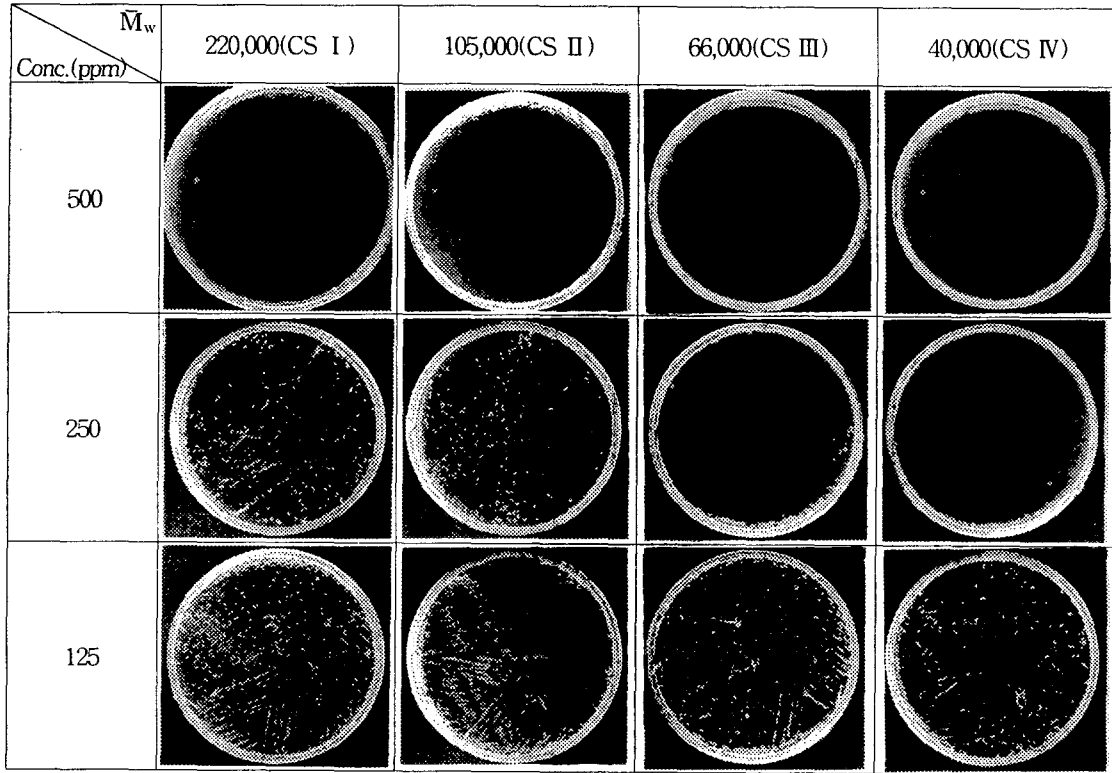


Fig. 3. Photograph of MSSA cultured in agar plate containing various TMC concentration with different molecular weight at 37°C for 24 hours.

낮아, 평균 분자량 7만 이하의 키토산으로 만든 TMC가 7만 이상의 TMC보다 효과가 좋다는 것을 알 수 있다. 특히 TMC IV의 MIC가 가장 낮아 본 실험의 범위 내에서는 평균분자량 4만의 키토산으로 만든 TMC가 가장 효과가 좋았다.

한편, 내성 유무시험은 액체배지 회석법을 이용하였는데, 계대배양 제1회의 MIC와 한천배지 회석법으로 조사한(Fig. 3) MIC를 비교하면 액체배지 회석법의 MIC가 낮아 효과가 좋은데 이것은 한천배지의 경우 항균제 TMC가 유동하기 어려워 TMC와 MRSA가 접촉할 기회가 적으며 TMC가 효과적으로 작용하지 못하여 MIC가 큰 것으로 생각된다.

#### 4. 결 론

키토산을 탈아세틸화 및 저분자화시켜 분자량 별로 키토산의 아미노기를 메틸기로 치환하여 4차

암모늄염(TMC)을 합성하였다. 이들의 MRSA에 대한 항균성을 검토하기 위하여, 키토산 분자량별로 만든 TMC를 농도를 달리하여 배지에 첨가하고 MRSA에 대한 최소증식 저지농도(MIC)를 조사하였다. TMC의 황색포도상 구균전반에 대한 항균성을 알아보기 위하여 MSSA에 대하여도 MIC를 조사하였다. MRSA의 TMC에 대한 내성 유무를 알아보기 위하여, TMC를 첨가한 배지에서 MRSA를 계대배양하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. TMC는 MRSA뿐만 아니라 황색포도상 구균 전반에 대하여 항균성을 나타낸다.
2. 평균분자량 7만 이하의 키토산으로 만든 TMC의 항균 효과가 7만 이상으로 만든 것보다 좋았으며, 특히 분자량 4만의 키토산으로 만든 TMC의 MIC는 250ppm으로 항균 효과가 더욱 좋았다.
3. MRSA를 계대배양한 결과, MRSA는 TMC

에 대하여 내성을 나타내지 않았다.

### 참고문헌

1. R. A. A. Muzzarelli, "Natural Chelating Polymers", Pergamon Press, N. Y. p.33(1973).
2. K. Kurita, 化學の領域(日本) **35**, 927(1981).
3. キチンキトサン研究會, "キチンキトサンの應用", p.58, 技術堂出版(1990).
4. 内田 泰, 化學工業(日本), 793(1991).
5. S. Tokura and J. Noguchi, *Polym. J.*, **11**, 781(1979).
6. Y. H. Kim, J. W. Choi, and C. K. Lim, *J. Korean Fiber Soc.*, **35**, 134(1998).
7. H. Seo, K. Mitsunashi, and H. Tanibe, "Advances in Chitin and Chitosan", Elsevier Applied Sci., London and N. Y., p.30~40 (1992).
8. 高麗寬紀, "人にやさしい纖維と加工", 纖維社, p.59(1995).
9. 中島照夫, 纖維科學(日本), No.11, 15(1994).
10. 和田光一, 川島 崇, 荒川正昭, 尾崎京子, *Jap. Antibiotics*, **43**, 219(1990).
11. 萩野 純, 村上嘉彦, 山田俊彦, 感染症誌(日本), **66**, 376(1992).
12. W. H. Park and W. S. Ha, *J. Korean Fiber Soc.*, **31**, 317(1994).
13. 馬場由成, 山下 勉, 河野惠宜, 内田 泰, 日本化學會誌, No.1, 48(1996).
14. 高麗寬紀, "人にやさしい 纖維と加工", 纖維社, p.49(1995).
15. *ibid*, p.48(1995).
16. S. Aiba, *Sen-i Gakkaishi*, **46**, 558(1990).
17. K. Tsurugai and T. Hiraide, *Sen-i Gakkaishi*, **50**, 215(1994).
18. 島内武彦, "赤外線吸収スペクトル解釋法", 南江堂, p.68(1974).