

*Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum*에 의한 밀랍지의 생물학적 열화 특성 연구

박지희*, 최경화, 서진호, 윤경동, 강영석, 정소영
국립문화재연구소 보존과학연구실

1. 서론

지류문화재는 대부분 유기질로 이루어져 있다. 유기질은 미생물에 의해 영양원으로 활용될 수 있기 때문에 균류에 의해 쉽게 열화되어 중요한 문서나 예술작품을 돌이킬 수 없을 정도로 손상시킨다¹⁾.

미생물이 생육할 수 있는 조건에는 양분, 온도, 수분이 있다. 그러므로 지류문화재가 영양원으로 주어진 상태에서 온·습도까지 미생물의 생육에 적합한 환경이 된다면 미생물에 의한 지류문화재의 훼손을 피할 수 없을 것이다. 또한 환경 조건에 따라서 생물학적 열화 과정과 열화 정도도 달라질 수 있다. 열화된 종이는 미생물에 의해 셀룰로오스가 분해되어 지질이 약화되며 미생물의 분비물에 의해 변색이 일어나기도 한다.

기 연구조사 결과에 따르면 『조선왕조실록』 중 특히 훼손이 심한 「세종실록」 밀랍본에서 열화 관련 균류의 균사 또는 포자 구조체들이 밀랍 표면 또는 밀랍 내에서 관찰되었다. 이를 채취하여 배양한 결과 *Biscogniauxia atropunctata*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium polonicum*, *Cerpooria lacerata*, *Irpex lateus* 등 5종의 균주가 동정되었으며, 이들 균주는 일반적으로 목재부후균이나 부생균으로 목재 또는 공기 및 토양 등에 존재하는 것으로 알려져 있다²⁾. 특히 *Aspergillus*와 *Penicillium*은 일반적인 지류문화재의 보관 환경인 RH 55-60% 보다 매우 낮은 7-8%정도의 수분을 함유한 기질에서도 생육이 가능하기 때문에 종이의 열화 및 변색을 유발하는 균으로 보고되어 있다³⁾.

따라서 본 연구에서는 이들 5종의 균주 중에서 *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum* 2종을 선택하여 밀랍, 밀랍지 및 한지에 접종하여 배양해보았다. 이를 통해 밀랍, 밀랍지 및 한지에서 *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum*의 생육상태 및 생육정도, 변색 유무 등 생물학적 열화 특성에 대해 알아보고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

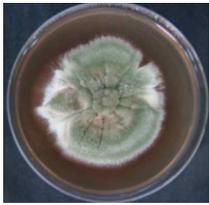
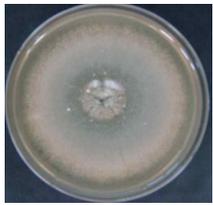
2.1.1. 균 접종시료(한지, 밀랍지, 밀랍)

한지는 기 조사된 조선왕조실록 원지의 제조방법에 준하여 국내에서 분양받은 전통 이합도침지를 사용하였으며, 밀랍은 국내산 밀랍을 분양받아 사용하였다. 밀랍지는 heating dryer와 coating bar를 이용하여 한지 양면에 밀랍을 도포하여⁴⁾ 기 연구된 조선왕조실록 밀랍본 연구결과와 유사하게 제작된 밀랍지를 사용하였다.

2.1.2. 균(fungi)

본 실험에서 사용된 *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum*은 농업유전자원센터(KACC)에서 분양받아 PDA(Potato Dextrose Agar) 배지에 접종하여 28℃의 인큐베이터에서 2주간 배양하였다(Table 1).

Table 1. Generals of the *Aspergillus versicolor* and *Penicillium polonicum*

Scientific name	<i>Aspergillus versicolor</i> Tiraboschi	<i>Penicillium polonicum</i>
KACC No.	41873	43011
History	CBS 245.65	CNU 0600092
Location of Isolation	USA, Indiana	Daejeon, Korea
Source	Cellophane	Pinus densiflora
Media	PDA(Potato Dextrose Agar)	PDA(Potato Dextrose Agar)
Temperature	28℃	28℃
Image		

2.2. 실험방법

밀랍은 플라스크에 녹여서 가압멸균장치(autoclave)에서 120℃로 멸균한 후, 무균상자(clean bench) 내에서 petri dish(φ9mm)에 약 3mm 두께로 부어서 굳혔다. 밀랍지와 한지는 6×6cm로 잘라 가압멸균장치(autoclave)에서 120℃로 멸균한 후 무균상자(clean bench) 내에서 petri dish(φ9mm)에 한 장씩 넣었다.

균의 접종은 cork borer(φ7mm)를 사용하여 일정한 크기로 떼어 밀랍, 밀랍지 및 한지의 중앙에 접종한 후 petri dish(φ9mm)를 뚜껑을 덮지 않은 채 지름 15mm의 petri dish에 넣었다. 균의 생장에 필요한 수분을 제공하기 위해 균에 직접 담지 않도록 바깥쪽의 petri dish(φ15mm)에 20ml의 멸균수를 넣고, para film으로 감아 밀봉하였다.

각 시료의 생물학적 열화는 30℃ 인큐베이터에서 90일간 실행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. *Aspergillus versicolor*

육안 관찰 결과, 밀랍에서의 균의 생장은 한지나 밀랍지에 비해 거의 일어나지 않았으나 접종한 균 disc 위로 흰색의 균사가 덮여있는 것을 관찰할 수 있었다(fig. 1a). 밀랍지에서는 균의 생장이 많이 일어나 균사가 시료 전체에 퍼져있었으며, 흰색의 균사와 함께 짙은 황색을 띠고 있는 것이 함께 관찰되었다(fig. 1b). 이는 균이 성장하면서 밀랍을 양분으로 사용하여 밀랍의 색인 황색을 띠는 것으로 생각되는데, Hopkins⁵⁾ 등은 파라핀에서 배양된 *Aspergillus*가 황색 또는 적색의 색소를 분비했으며, Tiano³⁾는 균이 분비하는 색소의 색은 균이 자라는 환경이나 종이의 특성에 따라 달라질 수 있다고 하였다. 한지에서도 균의 생장이 매우 좋았으며 균사가 한지 시료 전체를 뒤덮고 있는 것을 볼 수 있었다(fig. 1c).

3.2. *Penicillium polonicum*

육안 관찰 결과, 밀랍에서의 균의 생장은 한지나 밀랍지에 비해 저조하였으나, 접종한 균 disc 주변의 밀랍이 부분적으로 분해된 것으로 관찰되었으며(fig. 2a), 분해 유무를 확인하기 위한 추가적인 분석이 필요하다고 사료된다. 밀랍지에서의 균의 생장은 매우 양호하였다. 밀랍지 전체에 균사가 뒤덮여있는 것을 관찰할 수 있었으며, 부분적으

로 도포된 밀랍 아래의 한지가 드러날 정도로 밀랍이 분해된 것을 확인할 수 있었다 (fig. 2b). 한지에서는 밀랍에서보다는 성장 상태가 좋았으나, 접종한 균 disc 주변에서만 약간 성장하였다(fig. 2c).

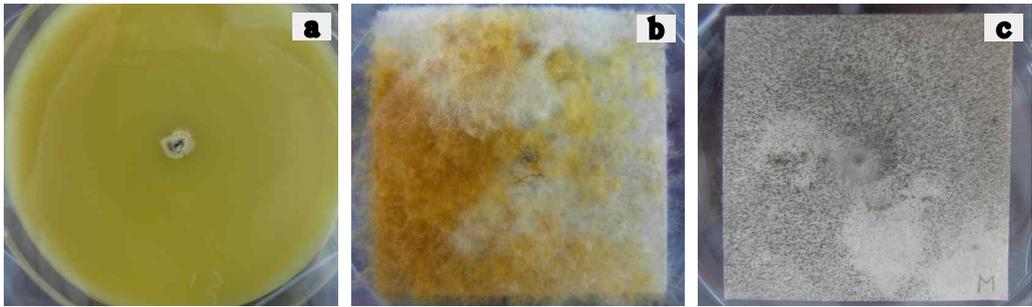


Fig. 1. Differences in the growth of *Aspergillus versicolor* in beeswax(a), beeswax-treated paper(b), Hanji(c)

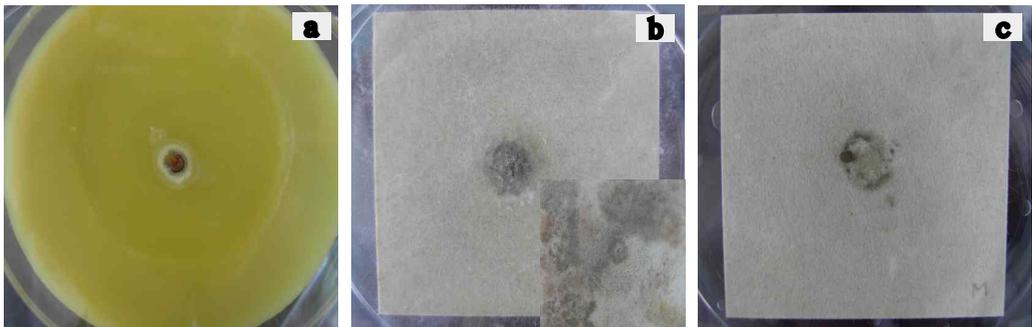


Fig. 2. Differences in the growth of *Penicillium polonicum* in beeswax(a), beeswax-treated paper(b), Hanji(c)

4. 결 론

1. *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum* 모두 밀랍에서는 한지나 밀랍지에 비해 생장이 거의 일어나지 않았으나, *Penicillium polonicum*은 균 disc 주변이 하얗게 변한 것으로 보아 밀랍 내에 존재하는 양분을 일부 흡수한 것으로 생각된다.

2. 밀랍지에서는 *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum*의 생장이 모두 왕성하였다. 특히 *Penicillium polonicum*의 경우 밀랍과 한지에 비해 밀랍지에서 생장이 양호하였으며, 부분적으로 밀랍지의 한지가 드러날 정도로 밀랍이 분해된 것이 관찰되었다.
3. 한지에서는 *Aspergillus versicolor*의 생장이 *Penicillium polonicum*에 비해 더 양호하였다.
4. 본 연구에서 밀랍, 밀랍지 및 한지에서의 *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum*의 성장 상태를 육안으로 확인하였으며, 이후 GPC, UV, FT-IR 등을 이용한 분석을 통하여 균에 의한 각 샘플의 분해, 변색 등의 유무를 확인하고자 한다.

5. 사 사

본 연구는 국립문화재연구소에서 지원한 동산문화재 복원기술개발 연구 중 「조선왕조실록 밀랍본 복원기술 연구」의 일환으로 진행되었습니다.

6. 참고문헌

1. M. Zotti, A. Ferroni, P. Calvini, Microfungal biodeterioration of historic paper: Preliminary FTIR and microbiological analyses, *International Biodeterioration & Biodegradation* 62, (2008)
2. 조성은, 김용태, 정소영, 조병목, 이종규, 종이변색균류의 배양적 특성 및 화학적 방법에 의한 변색제거, 펄프종이공학회 춘계학술발표논문집, (2009)
3. Piero Tiano, Biodegradation of Cultural Heritage: Decay mechanisms and control methods, *Proceedings of ARIADNE Workshop 9 - Historic materials and their diagnostics*, (2002)
4. Jin Ho Seo, Kyoung-Hwa Choi, Ji Hee Park, Yeong Seok Kang, Kyoung Dong Yoon, Evaluation of Characteristic of Wax-treated Paper depending on coating

methos, Journal of Korea TAPPI, vol. 41, no. 2, (2009)

5. Hopkins, S. J., A. C. Chibnall, Growth of *Aspergillus versicolor* on higher paraffins, Biochemical Journal., 26, (1931)
6. Hideo Arai, Foxing caused by Fungi: twenty-five years of study, International Biodeterioration & Biodegradation 46, (2000)