

# 유물의 보존환경에 대한 생물학적 조사 연구

이명혜, 이규식, 한성희, 안희균

## Biological Investigation on Conservational Environment of Collections

Lee, Myung Hye, Kyu Shik Lee, Sung Hee Han and Hee Kyun Ahn

**ABSTRACT** : We made biological investigation on the conservational environment of collections in the Ho Am museum. Annual average temperature and relative humidity outside the museum were 11.0~11.7°C and 64.8~74.4% respectively. On the other hand, average annual temperature and relative humidity inside the main storage were 19.1~20.1°C and 53.0~63.4%. We isolated fungi and classified into 8 genus 13 species fungi and selected four fungi having high cellulotic activity such as *Alternaria brassicae* KCPRI 9202, *Aspergillus niger* KCPRI 9205, *Aspergillus versicolor* KCPRI 9206, *Penicillium adametzi* KCPRI 9208. These fungi were examined on the possibility of collections being damaged under current conservational environment in the museum. KCPRI 9208 was non-tonophilic fungus and other were facultative tonophilic fungi. These showed maximal cellulotic activity of enzyme shaking culture at pH 5.0~5.5 for 4 and 5 days. In proportion to the period damaged, cellulase activity for paper damaged artificially with growing worse of material. As a result cellulotic activity by fungi increased.

---

所屬：文化財研究所 保存科學研究室

Laboratory of Conservation Science, National Research Institute of Cultural Properties of Korea

## I. 서 론

우리나라는 경도 124~132°, 위도 33~43°에 위치하고 있으며 지리적으로는 대륙과 해양사이의 육교적 역할을 하고 있다. 이러한 지리적인 영향으로 인하여 우리 기후의 특성으로는 첫째, 온대의 대륙성 기후로 연중 계절의 변화에 따라 여름은 덥고 겨울은 추운 편이고, 둘째, 계절풍의 영향으로 우기와 건기의 구별이 뚜렷하고 겨울에는 삼한사온의 현상이 나타나며, 셋째, 강우량이 많은 여름철의 습윤기후를 들 수 있다(1). 이러한 기후조건에서 문화재는 온습도 변화 등에 의한 물리적 요인, 재질의 함수율변화 등에 의한 화학적 요인 그리고 여름이 고온 다습함에 따라 충균의 대량번식에 의한 생물학적 요인으로 문화재는 계속 손상되고 있다. 특히 생물학적 요인에 의한 문화재의 손상은 가해생물에 의한 재질의 잠식이나 분해작용으로 인하여 그 피해가 가속화 된다. 그리고 문화재의 생물학적 손상은 목재류, 지류, 섬유류 등 유기질 문화재 뿐만 아니라 금속(12), 석재류(4, 13)에 있어서도 발생되고 있다. 이 중 지류·섬유질 문화재는 섬유소를 주성분으로 하며 이것은 수천개의 glucose가 연결된 고분자 물질로서 수소결합에 의해 형태를 유지하고 있다. 습도가 높아 물분자가 섬유소 사이로 침투하여 고분자 사이에 수소 결합을 해리시키면 종이가 경화되게 되고 사상균이 발아하여 섬유소를 분해한다. 이 때 미생물은 cellulase라는 효소를 분비하게 되며 이 효소는 미생물에 따라 분비정도가 다르고 효소에 따라 다른 생리적 특성을 갖는다. Cellulose는 단일 효소가 아닌 서로 다른 몇 개의 component의 작용으로 섬유소 분해 기능을 가진 복합효소라 할 수 있다. 대부분의 섬유소 분해균에 있어서 이들은 몇 개의 cellulase components를 함께 가지고 있어 이 cellulase components가 cellulase system을 형성하여 섬유소 물질을 환원당으로 변형시킴으로써 결국 문화재의 재질을 분해하게 되어 치명적인 손상을 주게 된다. 또한 유물이 보관되고 있는 수장고의 보존환경은 유물의 수명과 밀접한 관계를 갖고 있으므로 적절한 환경설정이 안되면 유물의 열화·손실 등을 가져오게 되며, 문화재의 보존환경은 가해생물의 생태와도 밀접한 관계를 갖고 있다. 따라서 문화재의 생물학적 보존연구는 생물피해의 실태조사, 피해 발생요인과 메카니즘의 구명과 더불어 생물학적 관점에서 보존환경을 설정하고 가해생물의 방제 방법 개발을 연구 목표로 하고 있다.

본고에서는 소장 유물의 보존대책을 강구하기 위하여 호암미술관 수장고를 중심으로 하여 인근 지역의 기후변화와 수장고내의 온습도 변화를 조사하였으며, 수장고내에 분포하는 가해 미생물을 분리·동정하고 각 균주의 생리적 수분활성을 측정하여 보존환경 내에서 균주들이 발아하여 문화재 재질에 손상을 가져올 수 있는 생육범위(온도, 습도)를 측정함으로써 유물수장고의 생물학적 보존환경을 설정하고 미생물에 의한 섬유소분해능을 측정하여 재질 손상에 미치는 영향을 조사하고 그 결과를 보고하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 외기 및 수장고내의 온습도

호암미술관 외부의 온습도 변화는 용인군지(2)의 용인지역 온습도와 한국기후표(3) 수원지역의 온습도를 참고로 하였으며 수장고내 온습도 변화는 호암미술관 자체의 조사 자료를 근거로 하여 登石(16)의 climograph를 작성하여 온습도 변화를 조사하였다.

### 2. 가해미생물의 분포상

#### (1) 미생물의 채집

수장고내 미생물의 분포상을 조사하기 위한 공중부유균의 채취는 PDA plate 배지에 포자낙하법으로 행하였으며 유물부착균은 cap tube의 멸균된 면봉으로 유물표면에서 채취하였다.

#### (2) 배지

가. 균 채취용 배지 : PDA(potato dextrose agar, Difco)를 사용하였다.

나. 균의 동정용 배지 : CA(czapek's agar), MA(malt extract agar), PDA를 사용하였다(7).

### 3. 섬유소분해능 측정

#### (1) 섬유소 분해효소 생산용 배지

섬유소 분해능을 가진 균주를 선별하기 위해서는 Kim 등(8)이 사용한 Knopp's 배지와 Chung(6)이 사용한 A3 기본한천배지를 사용하였으며 섬유소분해 효소생산을 위해서는 A3 액체배지를 사용하였다.

#### (2) 섬유소 분해균주의 선별

실험균주를 A3 기본한천배지의 중앙에 1백금니 접종하여 28℃에서 5~6일간 배양한 뒤 Teather와 Wood(15)의 방법에 의해 Congo-red 염색액을 농도별(0.1%, 0.3%, 0.5%, 1.0%, w/v)로 처리하였다. 이것을 각각 30분간 방치한 후 Congo-red 염색액을 따라내고 1M NaCl로 15분간 세척하여 균체둘레에 나타난 투명환의 크기로 선별하여 섬유소 분해효소 활성 측정용 실험균주로 사용하였다.

#### (3) 섬유소 분해효소(Extracellulase)의 활성도 측정

가. 시험편제작 : 지질의 자연적인 손상은 주로 온도, 습도의 영향에 의해 발생하는 것으로 알려져 있으므로 온도에 의한 손상은 80℃ 건조기에서, 습도에 의한 손상은 100%포화시킨 데시케이터에서 기간(1주~4주)에 따라 지질(한지)을 인위적으로 손상시켜 시험편으로 사용하여 섬유소 분해활성을 측정하였다.

나. 효소활성측정 : A3 액체 배지에  $1 \times 10^6$ /ml를 접종한 뒤 28°C에서 5일간 진탕배양(150rpm)하여 얻은 배양액을 원심분리( $10,000 \times g/25\text{min}$ )하고 그 상등액을 효소 용액으로 사용하였다. 손상된 지질의 분해능 측정시는 탄소원인 Avicel을 인위적으로 손상시킨 한지로 대체하여 측정하였다.

① Avicelase활성도 측정

Microcrystalline cellulose에 대한 cellulose활성도는 0.05M sodium acetate buffer(pH 5.0)에 용해한 0.5%(w/v) Avicel 0.8ml와 효소용액 0.2ml의 혼합액을 50°C로 60분간 incubation하였다. 그리고 섬유기질의 가수분해로 생성된 환원당량은 Somogyi-Nelson 법(11, 14)으로 660nm에서 측정하였다. 효소활성단위는 일정조건하에서 1분간 반응용액 1ml당 1 $\mu$ g의 환원당을 방출하는데 필요한 효소의 양을 1unit로 표시하였다.

② CM-Cellulose활성도 측정

CM-cellulose(Carboxymethyl-cellulose)에 대한 cellulose 활성도는 0.05M sodium acetate buffer(pH 5.0)에 용해한 0.5%(w/v) CM-cellulose 0.8ml와 효소용액 0.2ml의 혼합액을 50°C로 30분간 incubation하였다. 그리고 생성된 환원당은 Somogyi-Nelson 법(11, 14)으로 660nm에서 측정하였다. 효소활성단위는 일정조건하에서 1분간 반응용액 1ml당 1 $\mu$ g의 환원당을 방출하는데 필요한 효소의 양을 1unit로 표시하였다.

③  $\beta$ -Glucosidase 활성도 측정

$\beta$ -Glucosidase 활성도는  $p$ -nitrophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside(PNPG, sigma)로 부터 방출되는  $p$ -nitrophenol(PNP, sigma)의 양을 측정하였다. 0.05M sodium acetate buffer(pH 5.0)에 용해한 1mM PNPG 0.8ml와 효소용액 0.2ml를 40°C에서 30분간 incubation하였다. Incubation후 assay mixture에 1M sodium carbonate solution 2.0ml를 가하고 증류수를 10ml로 채운 뒤 420nm에서 방출된  $p$ -nitrophenol 양을 측정하였다. 효소활성단위는 일정 조건하에서 1분간 반응용액 1ml당  $p$ -nitrophenol 1 $\mu$ mol을 방출하는데 필요한 효소의 양을 1unit로 표시하였다(10).

#### 4. 균주의 생육범위 측정

실험균주의 생육범위를 조사하기 위한 수분활성측정은 Arai(5)의 방법에 의하였다. 이 방법은 증류수, 초산칼륨(KNO<sub>3</sub>), 염화칼륨(KCl), 염화나트륨(NaCl), 염화스트론튬(SrCl), 초산암모니움(NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>), 초산마그네슘(Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O)의 포화수용액으로 Aw 1.00, 0.94, 0.84, 0.75, 0.63, 0.55로 조절하였다. 이 포화용액 1ml와 결정을 유리제병(내경 11mm, 외경 15mm, 높이 20mm)에 넣고 멸균한 cover glass No.2로 뚜껑을 한 뒤 병의 입구와 cover glass는 진공용 grease로 밀봉하였다. 다음에 cover glass내측에 멸균한 10% gelatin(Difco Bacto-gelatin)을 1방울 도포하여 12

시간 15℃, 25℃, 35℃의 항온기에 넣어두어 gelatin막의 수분을 Aw병중의 수분활성과 평형상태가 되도록하고 gelatin막에 실험균주의 분생자나 자낭포자를 접종하여 각 온도의 항온기에서 30일간 배양하였다. 이때 주기적으로 분생자의 발아 유무, 생육상태를 현미경으로 관찰하여 각 균주의 생육범위를 정하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 외부 기후와 수장고내의 온습도 변화

##### (1) 외부의 온습도

호암미술관의 외부 온습도 변화는 용인군지(2)에서 보고한 1985년도의 온습도와 한국기후표(3)의 수원지역의 온습도 변화를 참고로 하였다.

Table 1에서 보는 바와 같이 용인지역의 연평균 온습도는 온도 11.7℃, 상대습도 64.8%이었고 수원지역은 온도 11.0℃, 상대습도 77.4%이다. 따라서 호암미술관 외부의 온도는 11.0~11.7℃, 상대습도 64.8~74.4%이다. 따라서 이러한 자연기후에서 문화재를 가해하는 충균의 발생시기는 주로 5월~9월인 것을 알 수 있다.

Table 1. Monthly average temperature and relative humidity changes in Yong-In and Su-Won area

Site	Month	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Year
		Yong-In	Temp(°C)	-8.6	-2.0	3.6	13.2	18.3	23.7	25.7	27.2	21.8	17.0	5.8
	RH(%)	52.0	65.0	57.5	52.5	59.2	63.3	70.0	68.5	76.3	66.6	73.6	72.9	64.8
Su-Won	Temp(°C)	-3.6	-2.0	3.4	10.9	16.4	20.7	24.5	24.9	19.8	12.8	5.6	-1.5	11.0
	RH(%)	70	69	69	69	71	77	83	82	79	77	75	72	74.4

##### (2) 수장고내의 온습도

호암미술관의 각 수장고별 연평균 온습도 변화는 지하수장고가 연평균 온도 1.92℃ 습도 53.0%이며, 1층수장고는 연평균 온도 19.1℃, 상대습도 57.4%이었고, 2층수장고는 연평균 온도 19.6℃, 상대습도 59.5%이었으며 2층진열장은 연평균 온도 20.1℃ 상대습도 63.4%로 나타나 수장고 전체의 연평균 온도는 19.5℃, 상대습도 58.3%로 온도에서는 별차이가 없었지만 2층진열장, 2층수장고, 1층수장고 그리고 지하창고의 순으로 상대습도가 높은 것으로 나타났다(Table 2).

**Table 2. Monthly average temperature and relative humidity changes at each storages of cultural properties**

Site	Month	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Year
		UG*	Temp(°C)	18.1	18.4	18.3	17.0	17.0	20.6	20.6	20.0	20.8	19.0	20.1
	RH(%)	41.9	37.8	43.1	49.4	61.4	62.8	62.4	63.8	65.7	59.2	47.0	42.3	53.0
1st	Temp(°C)	17.1	18.1	19.5	17.9	17.8	21.9	21.8	21.7	21.7	17.5	17.4	17.6	19.1
	RH(%)	50.7	45.3	49.4	51.9	61.1	68.5	65.3	63.5	64.1	64.4	54.8	49.8	57.4
2nd	Temp(°C)	18.0	18.0	19.3	17.8	18.5	22.5	21.6	21.9	22.0	18.8	18.7	18.1	19.6
	RH(%)	55.6	50.9	51.9	56.0	61.3	66.2	62.7	59.2	62.1	63.2	63.5	61.6	59.5
DR**	Temp(°C)	17.2	16.8	17.1	18.0	19.8	23.9	23.8	24.0	23.9	20.4	18.2	18.1	20.1
	RH(%)	67.3	63.6	67.4	63.7	63.3	68.3	59.6	57.1	61.3	61.6	63.3	65.0	63.4
Mean	Temp(°C)	17.6	17.8	18.5	17.6	18.2	22.2	21.9	21.5	22.1	18.9	18.6	18.5	19.5
	RH(%)	53.8	49.4	52.9	55.2	61.7	66.4	62.5	60.5	63.3	62.1	57.1	54.6	58.3

UG\* : Underground Storage, DR\*\* : Display Room

Table 2에서 월별 온습도변화를 登石(16)의 climograph에 적용하여 층군의 발생시기는 지하수장고, 1층수장고 그리고 2층수장고가 6월~9월이며 2층전시실은 5월~10월로 추정된다. 따라서 호암미술관에 있어서 수장고 내의 기후와 온습도의 변화에 따른 층군의 발생시기를 살펴보면 대체로 5월~9월사이인 것으로 나타났다.

## 2. 수장고내 미생물의 분포상

수장고내부에서 미생물에 의한 피해는 대체로 수장고내의 온습도가 미생물의 생육에 적합해야 발생한다. 일반적으로 모든 생물은 일정한 온습도내에서 생육이 이루어지므로 미생물이 생육범위를 추정하면 수장고내에서 미생물의 발생시기를 예측할 수 있게 된다. 이를 위하여 먼저 수장고내의 미생물의 분포상을 조사하였다.

### (1)미생물의 채취 및 분리·동정

#### 가. 공중부유균

공중부유균을 포자낙하법에 의해 채취한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같이 건물외부에서는 총 88개의 균체가 발생되었고 1층로비 및 각 수장고 입구외부에서는 10~11개의 균체가 발생되었다. 그러나 온습도 조절을 행하고 있는 수장고내에서는 plate당평균 2.1개의 균체가 발생되고 전시실 진열장에는 plate당

3.5개의 균체가 발생되어 진열실에 비해 수장고의 보존환경이 양호한 것으로 나타났다. 이것은 온습도 변화를 측정한 결과와 일치한다.

**Table 3. Development number of colony at each plate**

Site	Outside	Hall	UG-Storage				1st-Storage					2nd-Storage					2nd-DR		
Plate No.	1	2	3	4	5	6*	7	8	9	10	11*	12	13	14	15	16	17*	18	19
Colony No.	88	11	4	2	1	10	nd	1	nd	5	11	nd	1	4	8	nd	10	3	4
C.N./P.N.	88	11	23		10	1.5		11		2.6		10		3		4			

\* : Outside of entrance, UG : underground, DR : display room, nd : no detected

각 plate에 발생된 균체를 순수분리하기 위해 발생하는 대로 다시 PDA사면 배지에 접종하여 배양하고 미생물을 동정하기 위해 CA배지, MA배지 그리고 PCA 배지에 각각 다시 접종하여 배양하면서 균체의 성장형태, 특성 등을 육안으로 관찰하고 lactophenol solution(phenol 20ml, lactic acid 16ml, glycine 3ml, D·W 20ml)과 lacto fuchsin solution(lactic acid 10ml, acid fuchsin 0.1g)으로 균체를 염색하여 현미경하에서 사상균의 형태적 특징을 관찰하여 동정하였다.

그 결과는 Table 4에서 보는 같이 *Aspergillus* sp., *Pithomyces* sp., *Talaromyces* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Penicillium* sp., *Gilmaniella* sp., *Drechslera* sp.의 8속 12종이 분리되었다. 이들 사상균은 대부분이 지류·섬유질 유물과 목재 유물의 재질에 부착하여 재질을 오염시키는 균이며 이중 *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. 그리고 *Alternaria* sp.은 섬유소 분해효소를 분비하는 사상균으로 알려져 있다.

**Table 4. Identification of air-borne fungi classified in each storages and display rooms**

Site	Characteristics	Colony	Identification	
1st Hall	greenish grey	2	<i>Drechslera</i> sp.	
	dark brown	4	<i>Alternaria alternata</i>	
	black	2	<i>Aspergillus niger</i>	
	white	3	unknown(bacteria)	
UG Storage	inside	finkish white	4	unknown
		black	1	<i>Aspergillus niger</i>
		dark brown	1	<i>Alternaria alternata</i>
		blue green	1	<i>Penicillium implicatum</i>
	outside	black	3	<i>Aspergillus niger</i>
		dark brown	4	<i>Alternaria alternata</i>
		white	2	unknown(bacteria)
		green	1	<i>Penicillium adametzi</i>
1st Storage	inside	grey green	3	<i>Aspergillus versicolor</i>
		blue green	2	<i>Penicillium implicatum</i>
		brown	1	<i>Pithomyces chartarum</i>
	outside	dark brown	4	<i>Alternaria alternata</i>
		greyish brown	1	<i>Gilmaniella homicolor</i>
		black	3	unknown(bacteria)
		yellowish white	3	unknown(bacteria)
2nd Storage	inside	grey green	2	<i>Aspergillus clavatus</i>
		yellowish white	5	unknown(bacteria)
		greenish brown	3	<i>Talaromyces thermophilus</i>
		grey green	3	<i>Aspergillus versicolor</i>
	outside	dark brown	4	<i>Alternaria alternata</i>
		brownish black	1	<i>Curvularia lunata</i>
		grey green	2	<i>Aspergillus versicolor</i>
			3	unknown(bacteria)
2nd DR	room 1	black	2	<i>Aspergillus niger</i>
		greenish grey	1	<i>Alternatia brassicae</i>
	room 2	yellow	2	unknown(bacteria)
		white	2	unknown(bacteria)

UG : underground, DR : display room.

나. 유물부착균

유물의 표면에 부착하고 있는 사상균은 회화(추정)의 견 배접부의와 부채에서 채취하였다. 멸균한 면봉으로 채집하여 당소에서 PDA배지에 직접 접종하여 배양



한 결과 각각 1균체씩 발생하였다 이들 균체를 동정한 결과 *Aspergillus niger*와 *Aspergillus fumigatus*로 1속 2종이었다(Table 5).

**Table 5. Identification of fungi adhere to the surface of heritage**

Site	Charateristic	Identification
Korean fan	black	<i>Aspergillus niger</i>
Silk of picture	grey green	<i>Aspergillus fumigatus</i>

### 3. 섬유소 분해 활성화도

#### (1) 사상균 및 배지의 선택

분리·동정된 13균주를 A3와 Knopp's 한천배지에서 배양한 뒤 Congo-red 염색액으로 처리한 결과 Lee 등(9)이 보고한 바와 같이 균주 주변에 투명환이 형성된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). Knopp's 배지의 경우 투명환의 선명도가 낮았지만 1M HCl을 몇방울 떨어뜨려준 결과 푸른빛을 띠는 투명환이 관찰되었다. Table 6은 plate에서 배양된 균주의 크기와 형성된 투명환의 크기를 나타낸 것으로 투명환의 크기에 따라 4개의 균주 (*Alternaria brassicae* KCPRI 9202, *Aspergillus niger* KCPRI 9205, *Aspergillus versicolor* KCPRI 9206, *Penicillium adametzi* KCPRI 9208)를 선별하였고, 대부분의 균주가 A3배지에서 좋은 성장률을 보였으므로 섬유소분해능 측정배지로 A3를 선택하였다. Table 6에서 나타난 결과는 사용한 10균주 모두 분해능의 차이는 있지만 섬유질 유물의 손상을 가져올 수 있는 것으로 나타났으며 배지에서 생육된 균주의 크기와 생성되는 투명환의 크기가 비례 관계로 나타나지는 않았다.

투명환이 선명하게 관찰되어지는 Congo-red의 농도를 알아보기 위해 0.1, 0.3, 0.5, 0.1%로 그 농도 달리하여 제조한 Congo-red 염색액을 사용하여 실험한 결과 Fig.2에서 보는 바와 같이 0.1%일 때 투명환을 가장 선명하게 관찰 할 수 있었으며 0.5% 이상일때는 균체와 투명환의 식별이 어려웠다.

1차 선별한 4개 균주로 고체배지에서 배양기간에 따른 투명환 형성을 관찰한 결과 Table 7에서 보는 바와 같이 대부분의 균주가 5~6일 배양후 최대크기의 투명환을 나타내었고 5일 이후는 균주가 성장해도 투명환의 크기가 같거나 커지는 비율이 작은 것으로 보아 효소 분비능이 감소되는 것으로 나타났다.

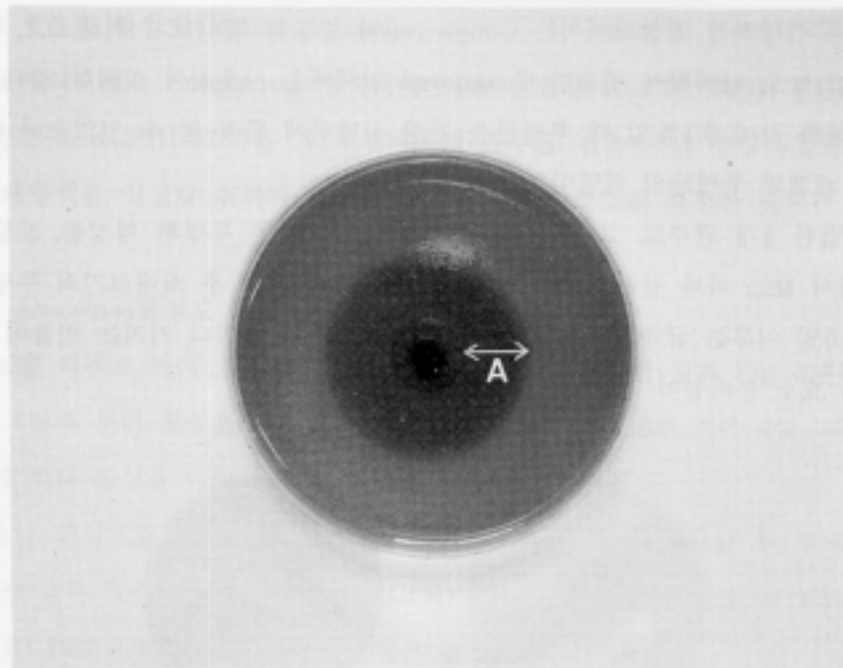


Fig. 1. Exhibition halo zone(A) around colony of cellulolytic fungi by Congo-red dye

Table 6. The mycelial growth and halo zone on A3 and Knopp's media

(units : cm)

Strains	Medium	Knopp's		A3	
		Colony	Halo Zone	Colony	Halo Zone
<i>Alt. alternata</i> KCPRI 9201		3.2	0.4	3.5	0.51
<i>Alt. brassicae</i> KCPRI 9202		1.8	0.6	2.0	1.05
<i>Asp. clavatus</i> KCPRI 9203		3.2	0.3	4.0	0.32
<i>Asp. fumigatus</i> KCPRI 9204		5.2	0.2	6.4	0.72
<i>Asp. niger</i> KCPRI 9205		3.4	0.2	7.2	1.00
<i>Asp. versicolor</i> KCPRI 9206		1.2	0.3	1.8	1.35
<i>Cur. lunata</i> KCPRI 9207		2.8	0.4	4.1	0.21
<i>Pen. adamezi</i> KCPRI 9208		1.2	0.5	2.3	1.40
<i>Pen. implicatum</i> KCPRI 9209		0.9	0.1	1.4	0.23
<i>Pit. chartarum</i> KCPRI 9210		2.7	0.5	0.9	0.32

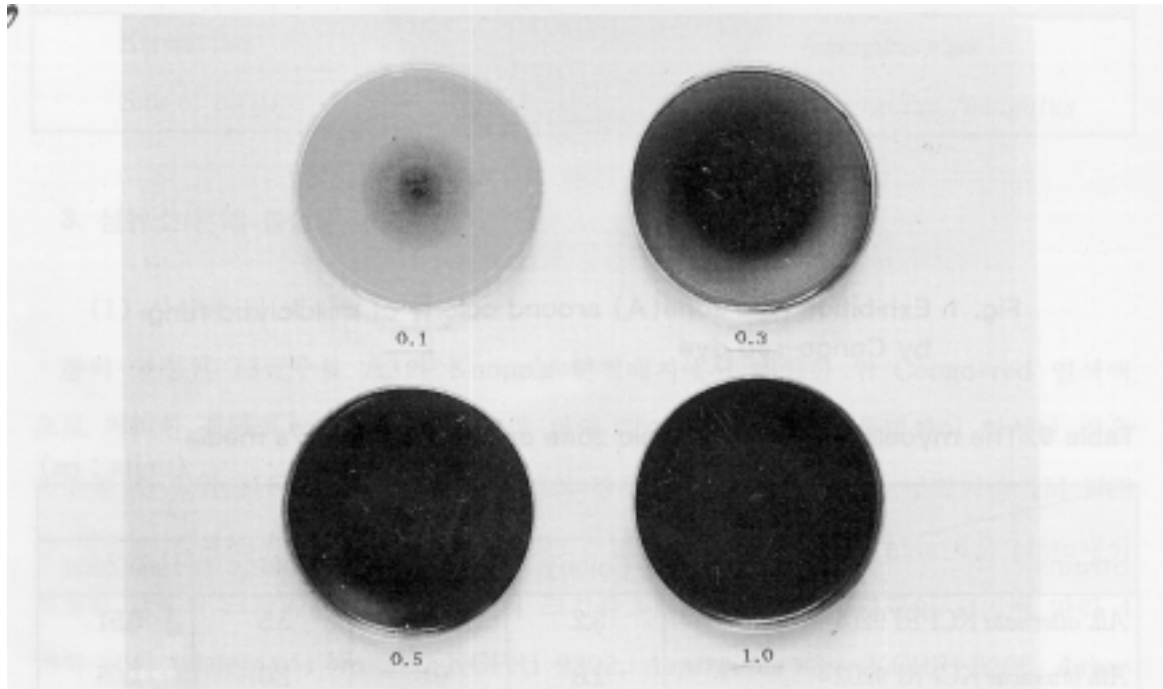


Fig. 2. Degree of definition by concentration of Congo-red dye

Table 7. Size of halo zone for culture time (units : cm)

Strains	Days	2	3	4	5	6
<i>Alt. brassicae</i> KCPRI 9202		0.56	0.80	0.85	1.05	1.05
<i>Asp. niger</i> KCPRI 9205		0.65	0.85	0.95	1.00	1.00
<i>Asp. versicolor</i> KCPRI 9206		0.80	1.20	1.25	1.35	1.38
<i>Pen. adametzi</i> KCPRI 9208		0.49	0.75	1.22	1.29	1.35

(2) 효소의 활성도(Extracellulase)

A3 고체배지에서 Congo-red 염색액에 의해 선별한 KCPRI 9202, KCPRI 9205, KCPRI 9206, KCPRI 9208을 A3액체배지에 균주를 접종한 뒤 진탕배양하면서 24 시간마다 배양액을 일정량 취하여 섬유소 분해효소의 활성도를 측정한 결과는 다음과 같다.

가. Avicelase활성도 측정

Avicel을 기질로 하여 효소액의 Avicelase활성도를 측정한 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 1일째 부터 활성을 나타내기 시작하여 KCPRI 9208의 경우 4일, 다른 균주들은 5일에 최대 활성을 나타냈고 그 이후는 급격히 감소하였다.

균주들의 활성도를 비교하여 보면 KCPRI 9208이 4일이 경과된 후 부터 진탕 배양에서 가장 높은 효소활성도를 나타내 KCPRI 9206의 최대값에 비해 약 1.5 배, KCPRI 9202와 KCPRI 9205의 1.7, 1.9배의 높은 활성도를 나타내었다.

#### 나. CM-Cellulase 활성도 측정

CMC를 기질로 하여 효소액의 CM-Cellulase 활성도를 측정한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 KCPRI 9206은 4일, 다른 균주들은 5일, 진탕배양에서 최대의 활성을 나타내고 있다. 균주들간의 활성도를 보면 KCPRI 9206과 KCPRI 9208이 높은 활성을 띠었으며 이들은 KCPRI 9202와 KCPRI 9205에 비해 약 2.5~3배 정도 높았다.

#### 다. $\beta$ -Glucosidase 활성도 측정

기질로  $p$ -nitrophenyl- $\beta$ -glucopyranoside(PNPG)를 사용하여 효소액과 반응하여 방출되는  $p$ -nitrophenol(PNP)의 양으로  $\beta$ -glucosidase 활성도를 측정하였다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 KCPRI 9206과 KCPRI 9208은 4일, KCPRI 9205는 5일, KCPRI 9202는 6일 진탕배양에서 최대의 활성을 나타내고 있다. 균주들간의 활성도를 보면 KCPRI 9206이 가장 높게 나타났고 그 다음이 KCPRI 9208이었으며 이들은 KCPRI 9202와 KCPRI 9205에 비해 약 1.3~1.7배의 활성을 띠었다.

위의 3가지 효소 활성도를 측정한 결과를 종합해 보면 효소의 단위시간당 unit 생성률이  $\beta$ -glucosidase가 가장 높았으며, CM-cellulase, Avicelase 순으로 나타났다. KCPRI 9206, KCPRI 9208의 분해능이 다른 균주에 비해 높게 나타났고 최적 배양시간은 KCPRI 9208이 4일, 다른 균주들은 5일로 나타났다. 진탕배양은 정치배양에 비해 높은 활성을 나타내 Avicelase는 1.7~2.0배, CM-cellulase는 1.5~3.6배,  $\beta$ -glucosidase는 4.5~5.3배 높았다.

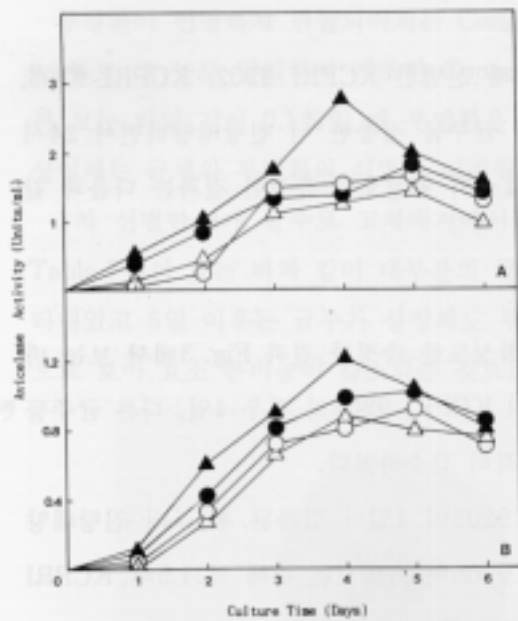


Fig. 3. Enzyme activity of Avicelase by cellulolytic fungi.  
The cell were grown in the A3 medium at 28°C  
A : Shaking culture    B : Static culture  
○-○ : KCPRI 9202,    ●-● : KCPRI 9206,  
△-△ : KCPRI 9205,    ▲-▲ : KCPRI 9208.

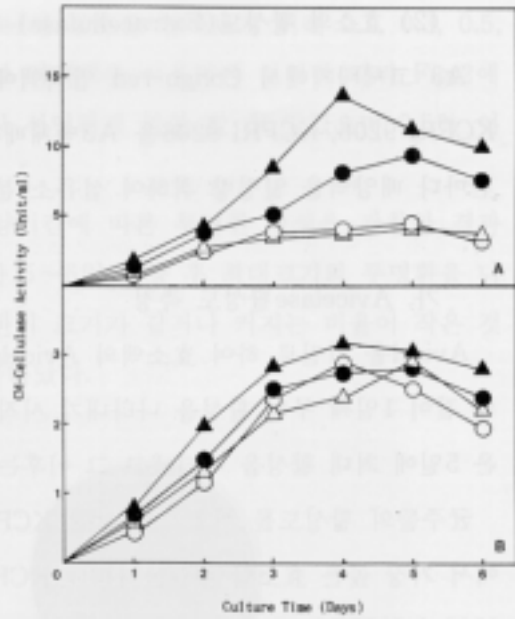


Fig. 4. Enzyme activity of CM-cellulase by cellulolytic fungi.  
The cell were grown in the A3 medium at 28°C  
A : Shaking culture    B : Static culture  
○-○ : KCPRI 9202,    ●-● : KCPRI 9206,  
△-△ : KCPRI 9205,    ▲-▲ : KCPRI 9208.

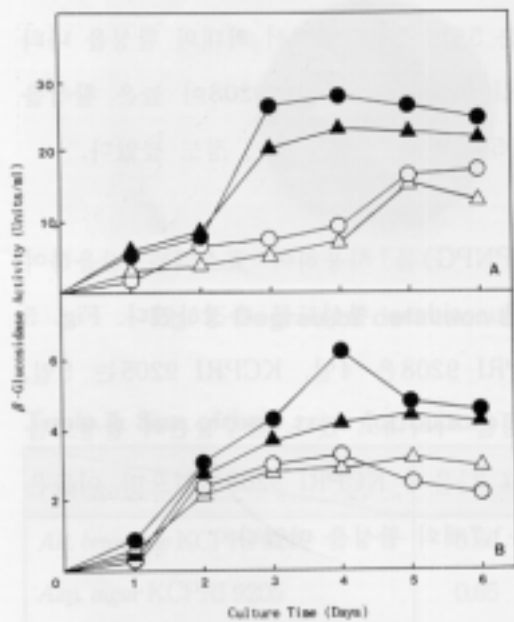


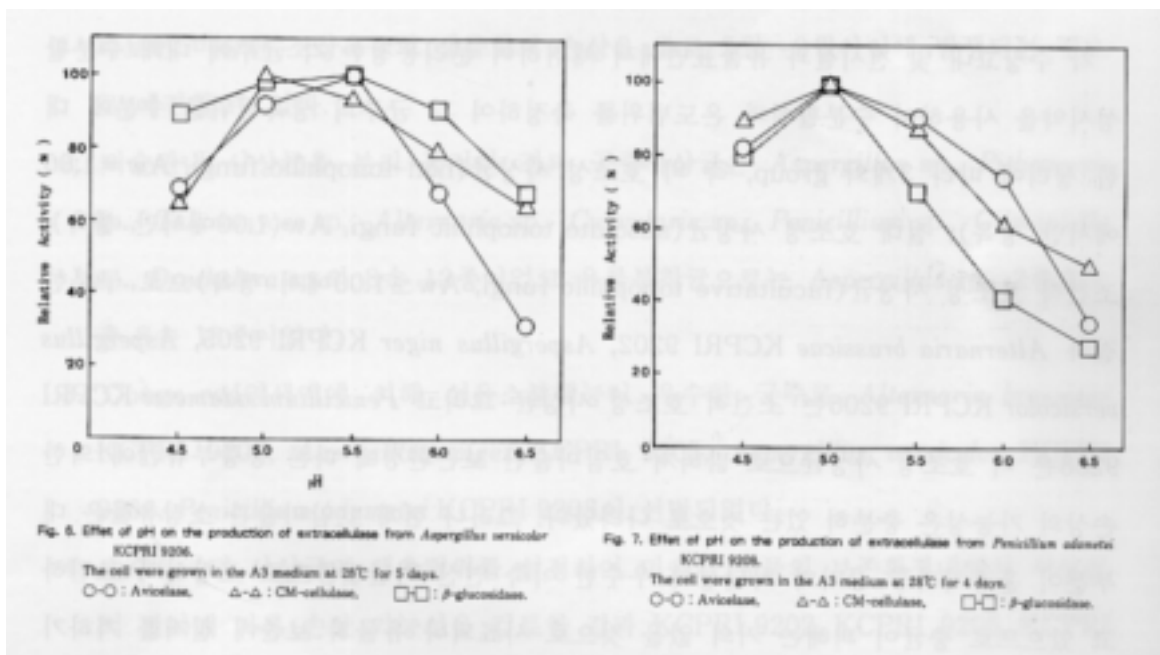
Fig. 5. Enzyme activity of  $\beta$ -glucosidase by cellulolytic fungi.  
The cell were grown in the A3 medium at 28°C  
A : Shaking culture    B : Static culture  
○-○ : KCPRI 9202,    ●-● : KCPRI 9206,  
△-△ : KCPRI 9205,    ▲-▲ : KCPRI 9208.

### (3) 효소의 활성에 미치는 pH의 영향

효소 활성은 다른 요인에 의한 것과 마찬가지로 pH에 의해서도 큰 영향을 받게 된다. 최저 pH를 알아보기 위해 Avicel, CMC, PNPG를 기질로 하는 용액의 pH를 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5로 변화시켜 효소의 활성도를 측정하였다. KCPRI 9206의 경우 Fig. 6에서와 같이 Avicelase와  $\beta$ -glucosidase는 pH 5.5, CM-cellulase

는 pH 5.0에서 최고의 활성을 나타내었다. 그 이상 또는 그 이하의 pH에서는 활성이 감소되고 있는데  $\beta$ -glucosidase의 경우는 pH 4.5~6.0까지는 85%이상의 활성을 나타내어 비교적 pH에 대한 변화가 적었으나 Avicel의 경우는 pH에 민감한 반응을 보여 pH 6.5에서는 최적 pH 활성도의 31%까지 떨어졌다.

KCPRI 9208은 KCPRI 9206과는 달리 Avicelase, CM-cellulase,  $\beta$ -glucosidase 모두 pH 5.0에서 최고의 활성을 나타내고 있으며 pH 변화에 대한 활성도의 차이가 비교적 많이 나타나 pH 6.5에서 Avicelase는 35%, CM-cellulase는 51.5%,  $\beta$ -glucosidase는 28%의 활성을 나타내었다(Fig. 7).



#### (4) 지질의 손상에 따른 효소의 활성

온도 (80°C)와 습도(100%)에 의해 1주~4주간 인위적으로 손상시킨 지질을 이용하여 섬유소분해 우수균주인 KCPRI 9206에 의한 분해능의 차이를 비교하여 보았다(Fig. 8). 손상시킨 지질은 손상시키지 않은 지질(control)에 비해 높은 분해능을 나타내었으며 손상시킨 기간이 길어질수록 분해능이 증가함을 보여주고 있다. 또 습도에 의해 손상시킨 지질에 비해 온도에 의해 손상시킨 지질의 분해능이 대부분 높게 나타났다.

또 손상시킨 종이의 pH는 control(pH 6.87)에 비해 낮게 나타났다. 온도에 의해 손상시킨 것은 pH 5.7~6.7로 손상기간이 길어질수록 산성도가 높아졌으며 습도에 의해 손상시킨 것은 pH 6.5~6.8로 control과 비슷하게 나타났다.

이러한 결과는 종이 재질이 약화되면 산성도가 증가되고 따라서 미생물의 활성이 증가함으로서 종이의 손상은 더욱 가속화된다는 것을 재확인시켜 주는 것이었다.

### 3. 균주의 생육범위

각 수장고내 및 전시실과 유물표면에서 채취하여 분리동정한 각 균주에 대해 수분활성시약을 사용하여 수분활성과 온도범위를 측정하여 각 균주의 생육범위를 수분에 대한 생리에 따라 3개의 group, 즉 비 호조성 사상균(non-tonophilic fungi,  $A_w=1.00$ 에서만 생육), 절대 호조성 사상균(absolute tonophilic fungi,  $A_w<1.00$ 에서만 생육), 조건건축 호조성 사상균(facultative tonophilic fungi,  $A_w\leq 1.00$ 에서 생육)으로 구분한 결과 *Alternaria brassicae* KCPRI 9202, *Aspergillus niger* KCPRI 9205, *Aspergillus versicolor* KCPRI 9206는 조건적 호조성 사상균 그리고 *Penicillium adametzi* KCPRI 9208은 비 호조성 사상균으로 밝혀져 호암미술관 보존 환경에 따른 공중부유균에 의한 손상의 가능성은 충분히 있는 것으로 나타났다. 그러나 현재 호암미술관 소장유물은 대부분이 훈증처리후 공기의 차단성이 우수한 이축 연신 비닐필름으로 포장하여 보관하고 있으므로 충균이 피해를 거의 없을 것으로 사료되나 유물의 보존에 철저를 기하기 위해서는 포장내의 온습도 변화를 주기적으로 측정하여 관리하거나 필름내의 습도조절을 위한 조습제를 투여하는 것이 충균이 방제를 위해 바람직하다.

## IV. 요약

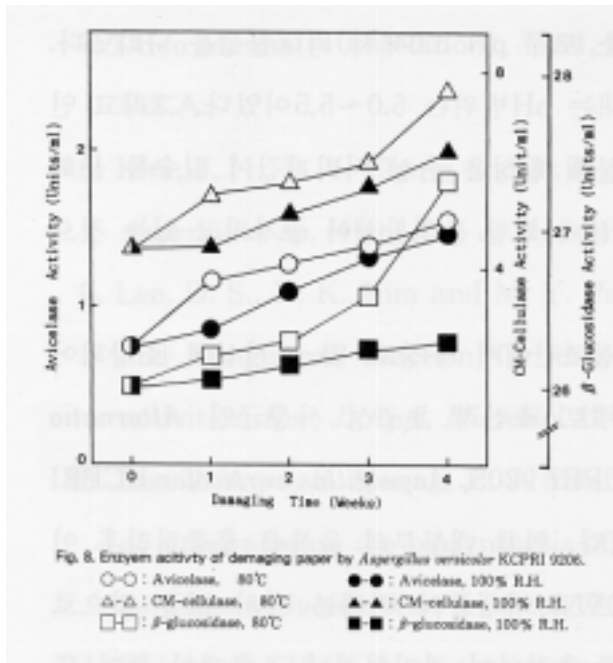


Fig. 8. Enzymen activity of damaging paper by *Aspergillus versicolor* KCPRI 9206.

○-○ : Avicelase, 80°C  
 △-△ : CM-cellulase, 80°C  
 □-□ : β-glucosidase, 80°C  
 ●-● : Avicelase, 100% R.H.  
 ▲-▲ : CM-cellulase, 100% R.H.  
 ■-■ : β-glucosidase, 100% R.H.

소장유물의 보존대책을 강구하기 위하여 호암미술관을 대상으로 유물의 보존환경에 대한 생물학적 조사연구를 실시한 결과는 다음과 같다.

1. 미술관의 외부온습도는 연평균 온도 11.0~11.7°C, 상대습도 64.8~74.7%이며 수장고내부의 온습도는 연평균온도 19.1~20.1°C, 상대습도 53.0~63.4%이었다. 이것은 2층 전시실을 제외하고 온습도 조절상태는 양호한 것으로 나타났다. 그리고 온습도 분포를 살펴보면 미술관 소장유물의 생물학적 손상은 주로 5월~9월사이에 발생하는 것으로 예견할 수 있다.
2. 미술관내 사상균을 분리·동정한 결과 공중사상균은 *Aspergillus* sp., *Pithomyces* sp., *Talaromyces* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Penicillium* sp., 2종으로 총 8속 13종이었다.
3. Congo-red염색액에 의해 섬유소분해능이 우수한 균주로 *Alternaria brassicae*

KCPRI 9202, *Aspergillus niger* KCPRI 9205, *Aspergillus versicolor* KCPRI 9206, *Penicillium adametzi* KCPRI 9208이 선별되었다.

4. 순수분리된 사상균의 생육범위를 설정하여 미술관 유물의 보존환경내에서 사상균의 발아에 따른 손상 가능성을 검토한 결과 KCPRI 9202, KCPRI 9205, KCPRI 9206는 조건적 호조성 사상균 그리고 KCPRI 9208은 비호조성 사상균이었다.
5. 섬유소 분해효소의 활성을 측정한 결과 A3 액체배지에서 28℃의 진탕배양조건에서 배양 4~5일 사이에 효소활성이 가장 높았으며 그 이후는 감소하였고 KCPRI 9206과 KCPRI 9208의 활성이 가장 우수한 것으로 나타났다. 또한 효소의 최적 pH는 KCPRI 9206에서 Avicelase와  $\beta$ -glucosidase는 pH 5.5, CMCase는 pH 5.0이었으며 KCPRI 9208에서는 각 효소 모두 pH 5.0에서 최대활성을 나타냈다. 따라서 두 균주의 최적효소활성을 나타내는 pH범위는 5.0~5.5이었다. 그리고 인위적으로 손상시킨 지류에 대한 섬유소분해 활성은 손상 처리기간이 길수록 문화재 재질의 약화와 함께 산성화되어 미생물에 의한 분해활성이 증가되고 있는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합하면 미술관내 보존환경조건에서 수장고 및 전시실에 소장되어 있는 유물은 조사시 채취한 사상균중에서 주로 조건적 호조성 사상균인 *Alternatia brassicae* KCPRI 9202, *Aspergillus niger* KCPRI 9205, *Aspergillus versicolor* KCPRI 9206이 발생할 가능성이 있는 것으로 나타났다. 현재 대부분의 유물을 훈증처리후 이축연신비닐필름으로 포장하여 보관하고 있으므로 미생물의 피해는 거의 없을 것으로 사료되나 포장내의 온·습도변화를 주기적으로 측정하여 관리하거나 조습제의 투여 또는 질소가스충진 등으로 보완하는 하는 것이 층균의 방제를 위해 바람직하다.

## V. 참고문헌

1. 건설부 국립지리원, 1980, 한국지지(총론)
2. 용인군지편찬위원회, 1990, 용인군지
3. 중앙기상대, 1982, 한국기후표, 기후예년값(1)
4. Arai. H., 1985, Biodeterioration of stone minuments and its countneasure, Tokyo National Research Institute of Cultural Properties,(石造文化財の保存と修復, 東京國立文化財研究所)
5. Arai, H., 1990, Biodeterioration of cultural properties and its control, Tokyo National Research Institute of Cultural Properties,(文化財の生物劣化とその防除に関する研究 東京國立文化財研究所)
6. Chung, K. C., 1987, Strain improvement of *Penicillium verruculosum* for high cellulase production by induced mutation, Kor. J. Appl. Microbiol, Bioeng 15 :pp.388~395



7. Difco Manual(10th edition), 1984, Difco Laboratories. Detoit Michigan 48232 U.S.A.

8. Kim, J. H., S. Y. Chang and Y. K. Choi, 1987, Cell fusion of cellulolytic fungi *Aspergillus* sp. HB1. *Kor. J. Mycol* **15**(2) : pp.80~86

9. Lee, D. S., H. K. Kim and M. Y. Park, 1987, Combination of colony formation and Congo red reaction for detecting intra and extra-cellular cellulolytic activities. *Kor, J. Appl. Microbiol* **12**(4) :pp.305~309

10.Lee, J. A., J. S. Maeng, P. J. Maeng and Y. H. Rhee, 1989, Synergistic effect of substrates on the biosynthesis of cellulase and xylanase complexes from *Aspergillus nudulans*. *Kor, J. Mycol* **17**(2) :pp.57~65

11.Nelson, N., 1944, A photomeric adaption of the Somogy method for the determination of glucose, *J. Biol. Chem* **153** :pp.375~380

12. Ohtsuki, T., 1976, Formation of the rust as a result of fungal growth on the surface of polishe iron, *Bulletin of the St, Marianna Univ., School of Medicine*

13.Pochon, J. and C. Jation, 1967, The role microbiological a Agencies in the Deterioration of stone, *Chemistry andusty* **23** :pp.1587~1589

14.Somogy, M., 1952, Notes on sugar determination, *J. Biol. Chem* **195** :pp.19~23

15.Teather, R. M. and. P. J. Wood, 1982, Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeratio and characterization of cellulolytic bacteria from the actions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the povine rumen, *Apple. Environ. Microbiol* **43**(3) :pp.777~780

16.登石建三, 1980, 文化財の保存環境 特に 節エネルギー-對應, 文化財虫菌害,保存必?, 文化財蟲菌害研究所