

대전 대덕구 출토 복식 유물에 부착된 세균의 종류 및 섬유소분해효소 활성

이상준¹⁾ · 차미선¹⁾ · 조현욱²⁾ · 백영미³⁾ · 권영숙³⁾

- 1) 부산대학교 미생물학과
- 2) 부산대학교 섬유공학과
- 3) 부산대학교 의류학과

Bacterial Strains and Their Cellulase Activity from the Excavated Clothes at Daedeok-gu, Daejeon

Sang-Joon Lee¹⁾, Mi-Sun Cha¹⁾, Hyun-Hok Cho²⁾, Young-Mee Back³⁾ and Young-Suk Kwon³⁾

- 1) Dept. of Microbiology, Pusan National University, Busan, Korea
- 2) Dept. of Textile Engineering, Pusan National University, Busan, Korea
- 3) Dept. of Clothing & Textiles, Pusan National University, Busan, Korea

Abstract : This study was aimed to isolation and identification of attached bacteria on the clothes excavated from Daejeon area dating on the 16th century. From the observation with colony shape, 17 bacterial strains were isolated, and then 7 bacterial strains were identified with morphological and biochemical characteristics. *Streptococcus* sp., *Alcaligenes faecalis*, *Gemella* sp., *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas vesicularis*, *Aeromonas saina salmonicida*, *Moraxella* spp. In observation of the bacterial strains by the sort of textile, more bacterial strains were found in silk, cotton, and cotton batt than in ramie and hemp. It is suggest that hemp has antibacterial characteristics due to the presence of lignin. In the comparison washed samples with unwashed ones, there were more kinds of bacterial strains in washed samples. In the cellulase activity tests, all isolated bacteria had low level cellulase activity.

Key words : bacteria, excavated clothes, damage of textile, antibacterial characteristics, cellulase

1. 서 론

우리민족은 비교적 일찍부터 문화가 발달하여 지난날의 문화적, 정서적, 지적활동의 자취를 엿볼 수 있는 많은 문화재를 가지고 있다. 그중 섬유질의 문화재는 다른 것과는 달리 유기질이라는 재질상의 취약점 때문에 오랜 세월이 경과되어 대부분 자체 재질이 약화되어 있는 실정이다(민휴홍, 1968; 이태녕, 1972).

문화재는 위치하고 있거나 설치되어 있는 장소의 환경에 밀접한 영향을 받게 되므로 보존 및 관리적인 면에서 설치환경은 무엇보다도 고려해야 할 과제이다. 유물의 보존환경에 따른 훼손은 유물 수장고 내에 서식하는 세균과 곰팡이 등의 미생물이나 충해에 의한 훼손과 각종 전사환경이나 보관방법 등의 소홀함에 기인된 훼손이 있다. 이 중 곤충에 의한 피해는 잠식되어 소실되므로 그 피해정도가 다양하고 극심하며(현재석·우건석, 1984), 가해와 동시에 세균의 증식이 부가되는 것이 일반적이

다(Borr De Long · Trephehorn, 1981).

섬유류 유물은 대부분이 견직물, 면직물, 마직물 등의 천연 소재로 되어 있다. 이들 중 식물성 섬유는 cellulose와 lignin 등의 유기물로 구성되어 있으며, 이들에 기생하는 세균의 영양원이 된다(민강희·안희균, 1981; 안희균, 1983). 특히 cellulose는 곤충에 의해 잠식되거나 곰팡이 등의 미생물이 분비하는 cellulase에 의하여 쉽게 분해되기 때문에 손상이 발생하는 것으로 알려졌다(함옥상·김효은, 1979).

따라서 복식유물의 보존환경은 미생물이나 충해로부터 손상을 받지 않는 환경여건을 만들어 주는 것이 가장 중요하며, 이들 유물에 서식하는 세균의 증식을 억제시킴으로써 유물의 피해를 최소화하는 방안이 필요하다.

저자들은(이상준 외, 2003) 섬유류 유물의 생물학적 피해를 최소화 할 수 있는 보존환경에 관한 기초자료를 제공할 목적으로 대전시 대덕구에서 출토된 복식유물 총 45점을 대상으로 이들 유물에 서식하는 곰팡이에 관한 연구를 수행한 바 있으며, 본 연구에서는 이들 유물에 서식하는 세균의 종류와 cellulase 활성 및 세척이 미치는 영향을 검토하였다.

Corresponding author; Sang-Joon Lee
Tel. +82-51-510-2268, Fax. +82-51-514-1778
E-mail: sangjoon@pusan.ac.kr

2. 연구방법

2.1. 시료

대전시 대덕구 용호동에서 출토된 진주강씨 강절(1542-미상)의 부인인 한산 이씨와 충주박씨의 복식 유물 32점과 대덕구 송촌동에서 출토된 송문창(1544-1693)의 복식유물 파편 13점을 재료로 사용하였다.

2.2. 세척

Table 1과 같이 솜으로 된 은진 송씨의 유물 4점을 제외한 모든 시료(총 41점)를 1998년 3월 28일 - 4월 15일 사이에 계면활성제를 사용하여 1차 세척을 행한 후, 자연습도와 실온 상태에서 고찰한 뒤 1998년 5월 1일에 미생물 실험을 위한 시료를 채취하였다. 세척하지 않은 시료로는 세척이 불가능한 유물을 따로 밀봉하여 보관한 것 중 솜으로 된 은진송씨 유물 4점을 대상으로 채취하였다.

2.3. 균주 분리 및 동정

멸균한 면봉으로 부식이나, 부패된 부위에 5~6회 접촉시켜 시료를 채취한 뒤 nutrient agar 배지에 도말하여, 30°C의 배양기에서 1~2일간 배양하였다. 특징적인 colony를 분리한 후 각각 nutrient agar 배지에 3-4회 반복 배양하여 재확인한 후 최종적으로 17개의 균주를 분리하였다.

분리균의 형태는 Gram 염색 후 광학 현미경으로 관찰 하였으며, Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria (Jean F, MacFaddin, 1980)와 Manual of Methods for General Bacteriology(Gerhardt *et al*, 1981)에 준하여 catalase 와 cytochrome oxidase 활성을 조사하고 O/F test를 행하였다.

2.4. 섬유소 분해능 측정

조효소액 조제 : Cellulose 생성용 액체배지 100 ml에 균주 현탁액 0.5 ml을 접종하고 25°C에서 8일간 120rpm으로 진탕배양한 후 원심분리(5000rpm×20 min, 4°C)하여 균체를 제거한 상등액을 조효소액으로 하였다. Cellulose 생성용 배지의 조성은 Table 2와 같다.

Filter paper (F. P.)의 분해 활성 측정 : Mandels *et al.* (1976)의 방법에 따라 filter paper strip (Whatman No.1 filter paper, 1×6 cm) 50 mg에 0.05M Na-citrate buffer(pH 4.8) 1 ml와 조효소액 0.5 ml을 넣고 10초 동안 흔든 다음 50°C에서 1시간 반응시켰다. 여기에 dinitrosalicylic acid (DNS) 시약을 3 ml를 가하고 100°C에서 5분간 처리하여 반응을 정지시켰다. 냉각 후 증류수 20 ml를 가하고 540 nm에서 유리 환원당을 정량하였다.

Carboxymethyl cellulose (CMC)의 분해활성 측정 : Wood (1968)의 방법에 따라 0.05M Na-citrate buffer(pH 4.8)에 녹인 2% CMC 용액 0.5 ml에 조효소액 0.5 ml을 가하고 50°C

Table 1. List of the washed sample and non-washed samples

Textile	Washed samples (41 pieces)			Unwashed samples (4 pieces)
	Lee	Park	Song	Song
Silk	Quilted Juhgori(F)		Fragment textile(S) Fragment textile(F)	
Cotton	Juhgori(S) Juhgori(F) Cotton wool Baji(F) Cotton wool Janguui(F) (3 pieces) Buhsuhn Jiyo(bedding)	Inter Juhgori(F) Suk-ot (2 pieces) Cotton wool Baji(F) Cotton wool Chima(F) Juhgori(fragment) Cotton wool Toshi Cotton wool Buhsuhn Daerungum (comporter)	Quilted fragment textile Cotton wool fragment textile	
Ramie	Mosi Juhgori(S) Mosi Chima(S) (2 pieces)		Fragment textile	
Hemp	Sambae Juhgori(S) Sambae Baji(S) Sambae Chima(S)			
Flax	Janguui(F)		Danreung	
Cotton batt	Quilted Juhgori(F) Cotton wool Chima(F) Sorumgum(comporter)	Cotton wool Juhgori(F) Cotton wool Juhgori(F) Sorumgum(comporter)	Cotton wool fragment textile (3 pieces)	Cotton wool Fragment textile (4 pieces)
Sedge	Mat			
Total	20 pieces	12 pieces	9 pieces	4 pieces

*S, single; F, folded.

에서 30분간 반응시켰다. 이 후 filter paper와 같은 방법으로 환원당을 정량하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 출토 복식 서식균의 분리 및 동정

유물 시료로부터 nutrient agar plate 상에서 상이한 집락형태를 나타낸 17개 균주의 형태 및 성상을 조사한 결과 Table 3과 같이 *Streptococcus*, *Alcaligenes*, *Gemella* (2균주), *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Moraxella* (3균주) 등의 genus 들로 판정되었으며, 7개 균주는 genus가 불분명하였다. 분리균 중 *Alcaligenes*는 *A. faecalis*, *Pseudomonas*는 *P. vesicularis*, *Aeromonas*는 *A. salmonicida*로 추정되었다.

Table 2. Composition of medium for cellulase production

Ingredient	Concentration
KH ₂ PO ₄	0.2 %
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.14 %
Urea	0.03 %
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.03 %
CaCl ₂	0.03 %
FeSO ₄ ·7H ₂ O	5.0 ppm
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1.4 ppm
MnSO ₄ ·H ₂ O	1.56 ppm
CoCl ₂	2.0 ppm
Cellulose	1.0 %
Proteose peptone	0.75 %
Initial pH	7.0

Table 3. Morphological and biochemical characteristics of isolated bacterial strains

No.	Gram stain	Cell share	Cell size	O/F Test	Catalase test	Cytochrome oxidase test	Identification
1	- ¹⁾	cocci, diplococci	0.3~0.5×0.3 μm	F ³⁾	+++	+	<i>Streptococcus</i> sp.
2	+ ²⁾	diplococci	1.0×1.1~1.2 μm	O ⁴⁾	++	+	N.D ⁷⁾
3	-	cocci, diplococci tetracocci	1.3×1.3 μm	F	++	+	<i>Alcaligenes faecalis</i>
4	-	coccobacilli, diplococci	1.2×1.3 μm	F	-	+	<i>Gemella</i> sp.
5	-	coccobacilli diplococci	0.3~0.5×0.5 μm	N ⁵⁾	-	+	<i>Gemella</i> sp.
6	-	cocci	1.5×1.5 μm	F	+++	-	N.D
7	-	coccobacilli diplococci tetracocci	0.5×0.6 μm	N	-	+	N.D
8	-	cocci, diplococci	1.5×1.5 μm	N	++	-	<i>Acinetobacter</i> sp.
9	-	coccobacilli diplococci	0.7×0.8 μm	O	-	+	<i>Pseudomonas vesicularis</i>
10	-	cocci	1.5×1.5 μm	O	++	+	<i>Aeromonas</i> sain. <i>salmonicida</i>
11	-	diplococci tetracocci coccobacilli	1.3×1.4 μm	N	+	+	N.D
12	-	diplococci coccobacilli		F ^{w6)}	+	+	N.D
13	-	coccobacilli diplobacilli		O	-	+	N.D
14	-	bacilli	0.7~1×2.5 μm	N	-	+	N.D
15	-	coccobacilli	1~1.5×2.5 μm	N	+	+	<i>Moraxella</i> spp.
16	-	cocci	1.5~2 μm	N	++	+	<i>Moraxella</i> spp.
17	-	cocci, diplococci	1.5~2 μm	N	+	+	<i>Moraxella</i> spp.

Symbols : ¹⁾negative, ²⁾positive, ³⁾fermentation, ⁴⁾oxidation, ⁵⁾no oxidase and no fermentation, ⁶⁾weak fermentation, ⁷⁾not identified

Table 4. Existence of bacteria for each textile

Bacterial strain	Textile										
	Silk		Cotton			Ramie		Hemp	Cotton batt		
	Lee	Song	Lee	Park	Song	Lee	Song	Lee	Lee	Park	Song
<i>Alcaligenes faecalis</i>	-	-	○	○	-	-	-	-	-	○	○
<i>Aeromonas sain. salmonicida</i>	-	-	-	-	-	-	-	○	-	-	-
<i>Gemella</i> sp.	○	-	○	○	-	-	-	-	-	○	-
<i>Streptococcus</i> sp.	-	-	-	○	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas vesicularis</i>	-	○	-	-	○	-	-	-	-	-	-
<i>Moraxella</i> spp.	○	○	-	-	-	-	○	-	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> sp.	-	-	-	-	○	-	-	-	-	-	○
*ND	○	○	-	○	○	○	○	-	○	-	○

*Not Identified

분리균의 대부분이 인체에 병원성 또는 기회성 감염을 나타내는 균으로 특히 *Gemella* 속의 경우 포유류에 기생하여 종종 심각한 전신성 질병을 유발하며, *Moraxella* 속은 자연계에 널리 분포하면서 결막염, 안질 또는 상기도 감염을 일으키기도 한다. 따라서 출토된 부식유물은 가능한 빠른 시일 내에 훈증소독을 행하며, 보존처리과정도 짧게 하는 것이 바람직하다고 본다.

3.2. 재질별 세균의 분리

유물의 재질에 따른 부착균의 종류는 Table 4와 같이 한산이씨 유물의 경우 견에서 3종, 무명에서 2종의 세균이 검출되었고, 모시, 삼베, 솜에서 각각 1종씩이 검출되었다. 또 은진송씨의 경우 견, 무명, 솜에서 각각 3종의 세균이 검출되었으며, 모시에서는 2종이 검출되었다. 전체적으로 볼 때 세균의 종류가 가장 많이 검출된 것은 견직물과 면직물이며, 삼베, 모시 등에서는 비교적 적게 검출되었다.

한편 균주별로는 *Alcaligenes* sp.와 *Gemella* sp.가 각 유물별로 가장 널리 존재하고 있었으며, *Aeromonas*는 한산이씨의 삼베 유물에서만 검출되었고, 모시에서는 *Moraxella*만이 검출되었다. 그 외에 *Streptococcus*, *Pseudomonas* 등도 검출되었는데 그 빈도는 매우 낮았다.

Table 5. Comparison of bacteria for washed and unwashed cotton batt of Eun-Jin Song's remain

Bacterial strains	Washing	
	Washed (3 pieces)	Unwashed (4 pieces)
<i>Alcaligenes faecalis</i>	○	-
<i>Aeromonas sain. salmonicida</i>	-	○
<i>Gemella</i> sp.	-	-
<i>Streptococcus</i> sp.	-	-
<i>Pseudomonas vesicularis</i>	○	-
<i>Moraxella</i> spp.	○	-
<i>Acinetobacter</i> sp.	○	○
*ND	○	-

*Not Identified

같은 cellulose 섬유 중에서도 무명이나 솜에 비하여 모시나 삼베에 부착된 세균의 종류가 단순하였던 것은 모시나 삼베가 섬유의 결정화도가 높았기 때문으로 추정된다. 섬유의 결정화도 및 흡수율은 세균의 생육 및 활성화에 깊은 영향을 미치는 것으로 보고 되었으며(홍정민, 1993), 특히 삼베는 섬유분자사에 존재하는 리그닌이 항균작용을 하여 그 자체의 성질이 균이 침투하기 어려운 보호막의 역할을 하기도 하지만, 리그닌 생성의 기저가 되는 페놀성 물질이 섬유소 분해효소의 활성을 저해하여 세균증식을 억제하는 것으로 보고되었다.(배상경, 1984; 염색가공사전, 1999)

3.3. 세탁여부에 따른 세균의 분리

은진송씨 유물 중 솜으로된 직물편을 대상으로 세척한 것과 미세척한 것 간의 세균상을 비교한 결과 Table 5와 같이 세척된 유물에서 훨씬 많은 세균이 존재하고 있었다. 미세척 유물의 경우 *Aeromonas sain. salmonicida*와 *Acinetobacter* sp. 두 종만이 존재하였는데 비해, 세척 유물의 경우 *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas vesicularis*, *Moraxella* spp., *Acinetobacter* sp. 및 다수의 미동정균들이 존재하였다. 이러한 결과는 이전의 곰팡이에 대한 조사에서와 일치한다(이상준 외, 2003). 물론 금번의 연구가 솜조각 3-4 편을 대상으로 한 국부적인 연구결과이므로 향후 다양한 재질의 유물을 대상으로 세척 조건에 따른 연구가 계속되어야 할 것으로 사료되어진다.

Table 6. Cellulase activities of isolated strains

Strains	F.P. cellulase (glucose μ l/ml/hr)	C.M.C cellulase (glucose μ l/ml/30min)
<i>Streptococcus</i> sp.	40 \pm 5.0	21 \pm 6.0
<i>Alcaligenes faecalis</i>	52 \pm 4.0	18 \pm 3.1
<i>Gemella</i> sp.	74 \pm 6.2	47 \pm 7.0
<i>Acinetobacter</i> sp.	32 \pm 2.3	20 \pm 4.1
<i>Pseudomonas. vesicularis</i>	44 \pm 6.0	18 \pm 2.3
<i>Aeromonas sain. salmonicida</i>	40 \pm 4.2	18 \pm 1.1
<i>Moraxella</i> spp.	56 \pm 1.0	22 \pm 0.5

3.4. 분리 세균의 섬유소 분해 활성

분리균의 cellulase 활성을 측정한 결과 Table 6과 같이 각 세균들의 cellulase 활성은 F.P. cellulase와 CMC cellulase 활성치가 모두 매우 낮았다. 이는 출토복식 및 고유물의 손상을 초래하는 미생물 및 cellulose 분해능을 가진 미생물들이 대체로 곰팡이류로서 곰팡이에 의한 섬유소 분해능을 조사한 문헌(함옥상·김효은, 1979; 민경희, 1984)에 의하면 *Aspergillus*가 16종, *Arthrotrrys*가 1종, *Botrytis*가 1종, *Cadosporium*이 2종, *Fusarium*이 12종, *Penicillium*이 15종, *Trichoderma*가 3종 등 도합 75종에 이른다고 한다. 또한 본 연구에 앞서 행한 곰팡이에 관한 연구(이상준 외, 2003)에서는 *Penicillium*, *Cladosporium*, *Trichoderma* 등이 섬유소 분해능이 우수한 것으로 나타났다. 특히 이제까지 알려진바 없는 *Acremonium killiense*도 섬유소 분해능이 우수한 것으로 밝힌 바 있다. 그러나 이제까지 잘 연구된바가 없는 세균에 대한 cellulase 생산능에 대한 연구결과 대체로 섬유류 유물 특히 셀룰로오스 성분 직물의 손상에는 세균의 영향이 그다지 미치지 않을 것으로 사료된다.

4. 결 론

16세기 후반의 것으로 추정되는 조선시대 복식으로 대전 대덕구 용호동에서 진주강씨 강절의 부인인 한산이씨, 충주박씨의 복식유물과 대전 대덕구 송촌동에서 출토된 은진송씨 복식유물을 대상으로 출토복식에 서식하는 세균에 대해 조사한 결과 1차로 집락의 형태적 특성에 따라 17종이 분리되었고, 형태학적, 생화학적 특성에 따라 이들을 동정한 결과 최종적으로 *Streptococcus* sp., *Alcaligenes faecalis*, *Gemella* sp., *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas vesicularis*, *Aeromonas sain. salmonicida*, *Moraxella* spp.의 7종으로 확인되었다. 그 중 *Alcaligenes faecalis*와 *Gemella* sp.의 검출이 가장 많이 되었고, *Streptococcus* sp.와 *Acinetobacter* sp.의 검출율은 매우 낮았다.

직물별 분리된 세균을 비교하면 견직물과 면직물에서 가장 많은 세균이 검출되었으며, 삼베, 모시 등에서는 비교적 적게 검출되었다. 한편 *Alcaligenes faecalis*와 *Gemella* sp.가 각 유물 별로 가장 널리 존재하고 있었으며, *Aeromonas sain. salmonicida*는 한산이씨의 삼베 유물에서만 검출되었고, 모시에서는 *Moraxella* spp. 만이 검출되었다. 그 외에 *Streptococcus* sp., *Pseudomonas vesicularis* 등도 검출되었는데 그 빈도는 매우 낮게 나타났다.

세척한 시료와 미세척한 시료에 서식하는 세균 종을 비교한 결과 세척한 시료에서 미세척 시료에 비해 많은 종의 세균이 나타났다.

각 세균들의 cellulase 활성은 F.P. cellulase, CMC cellulase

모두 매우 낮게 나타났다. 이는 출토복식 및 고유물의 손상을 초래하는 미생물 및 cellulose 분해능을 가진 미생물들이 대체로 곰팡이류라는 다른 문헌들을 참조할 때, 이해할 수 있는 부분이다.

지금까지 섬유류 문화재에 주로 서식하면서 피해를 주는 미생물에 대한 연구는 대체로 곰팡이류에 대해서 이루어졌으며, 세균류에 대한 연구는 거의 이루어지고 있지 않은 상태이다. 따라서 본 연구를 통해 섬유류 유물에 서식하는 세균류의 종류에 대해 파악하는 계기가 될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글 : 본 연구는 한국과학재단 특정기초연구 (R01-2003-000-10276-0) 지원으로 수행되었음.

참고문헌

민강희·안희균 (1981) 지류 및 섬유질 문화재의 미생물에 관한 연구. *문화재관리국 문화재*, 14, 32-43.
 민경희 (1984) 섬유질 문화재의 미생물에 의한 훼손. *보존과학연구*, 5, 32-43.
 민휴홍 (1968) “문화재의 과학적 보존관리에 관한 조사연구”. 과기처, p.5.
 배상경 (1984) 대마직물의 방매성에 관한 연구. *대한가정학회지*, 22(1), 79-86.
 안희균 (1983) 지류 섬유질유물의 과학적 보존. *고문화*, 22, 89-97.
 염색가공사진 (1999) “일본학술진흥회 섬유고분자기능가공 120 위원회 편”. 조창서점, 서울, p.6.
 이상준·백영미·이건·차미선·권영숙 (2003) 대전 대덕구 출토 16세기 출토복식유물에 서식하는 곰팡이에 관한 연구. *한국복식학회지*, 53(5), 23-31.
 이태녕 (1972) “문화재의 과학적 보존에 관한 연구(1)”. 과기처, p.37.
 함옥상·김효은 (1979) 사상균에 의한 식물성섬유의 손상도에 관한 연구. *대한가정학회지*, 17(1), 1-9.
 현재석·우건석 (1984) “곤충학”. 집현사, 서울.
 홍정민 (1993) 견섬유에 번식하는 *Aspergillus fumigatus*와 *Penicillium citrinum*에 대한 방미제의 항균효과. *대한가정학회지*, 31(2), 213-219.
 Borr De Long and Trephehorn (1981) “An Introduction to the Study of Insect(5th edition)”. Sanders College Publishing, pp.21-23.
 Gerhardt M., Costilow N., Wood K. and Phillips (1981) “Manual of Methods for General Bacteriology.” American Society for Microbiology, Washington D.C.
 Mandels M., Andreotti R. and Roche C. (1976) “Measurement of Ssccharifying Cellulase: Biotechnol. Bioeng. Symp. 6”. pp.21-33.
 Jean F. MacFaddin (1980) “Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria”. American Society for Microbiology, Washington D.C.
 Wood T.M. and Biochem J. (1968) Cellulolytic enzyme system of trichoderma koningil: Separation of components attacking native cotton. *J. Biochem*, 109(2), 217-227.

(2004년 9월 2일 접수)