

# 밀랍지 내에서의 *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum*의 생장 특성 연구

박지희<sup>†</sup> · 최경화 · 서진호  
(2010년 2월 1일 접수: 2010년 6월 15일 채택)

## A Study on Growth of *Aspergillus versicolor* and *Penicillium polonicum* within the beeswax treated paper

Ji Hee Park<sup>†</sup>, Kyoung-Hwa Choi, Jin Ho Seo  
(Received Feb. 1, 2010; Accepted June 15, 2010)

### ABSTRACT

Paper composed mainly of organic materials and they can be used as nutrient by microorganisms. Therefore microorganisms are damaging the important documents and works of art irreversibly. Previous research reported that mycelium or spores of the fungi were observed on the wax of the volumes of King Sejong especially were heavily deteriorated by fungi. Fungal strains isolated from the annals of Joseon dynasty were identified as *Biscogniauxia atropunctata*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium polonicum*, *Ceriporia lacerata*, *Irpex lacteus*. Especially *Aspergillus* and *Penicillium* are able to grow on the substrates having a 7-8% moisture content, which is much lower than the general storage condition (RH 55-60%) of the paper cultural properties. Moreover, they are known as fungi cause paper deterioration and discoloration.

In this study, we selected *Aspergillus versicolor* and *Penicillium polonicum* among five strains, then biological aging has been executed for 30 days. The growth of *Aspergillus versicolor* and *Penicillium polonicum* in wax was lower than wax treated paper and Hanji. The growth of them in beeswax treated paper and Hanji both were excellent.

*keywords* : beeswax treated paper, Biodegradation, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium polonicum*, Hanji

---

• 국립문화재연구소 복원기술연구실(Research Division of Restoration Technology, National Research Institute of Cultural Heritage)

† 교신저자(corresponding author): E-mail: siesta44@ocp.go.kr

## 1. 서론

지류문화재는 대부분 유기질로 이루어져 있다. 유기질은 미생물에 의해 영양원으로 활용될 수 있기 때문에 균류에 의해 쉽게 열화되어 중요한 문서나 예술작품이 돌이킬 수 없을 정도로 손상시킨다<sup>1)</sup>.

미생물의 생육조건은 양분, 온도, 수분이 있다. 지류문화재가 영양원으로 주어진 상태에서 온습도까지 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.

미생물에 의해 열화된 종이는 셀룰로오스가 분해되어 지질이 약화되며 미생물의 분비물에 의해 변색이 일어나기도 한다.

앞서 연구 조사된 결과에 따르면 열화 관련 균류의 균사, 포자 구조체들이 『조선왕조실록』 중 특히 훼손이 심한 「세종실록」 밀랍본에서 관찰되었다. 이를 채취하여 배양한 결과 *Biscogniauxia atropunctata*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium polonicum*, *Cerpooria lacerata*, *Irpex lateus* 등 5종의 균주가 동정되었으며, 이들 균주는 일반적으로 목재부후균이나 부

생균으로 목재 또는 공기 및 토양 등에 존재하는 것으로 알려져 있다<sup>2)</sup>. 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 있다<sup>3)</sup>.

따라서 본 연구는 밀랍본에서 분리된 5균주 중에서 *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum* 균 2종을 밀랍, 밀랍지 및 한지에 접종하여 생물열화를 실시하였으며, 밀랍, 밀랍지 및 한지에서의 생육상태, 변색 유무 등 생장 및 열화 특성에 대하여 검토하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재료

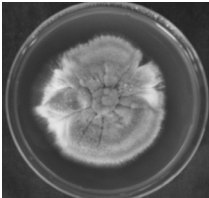
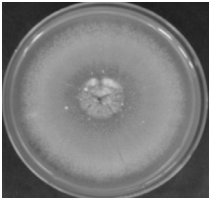
#### 2.1.1. 균 접종시료(한지, 밀랍지, 밀랍)

한지는 조선왕조실록 원지의 제조방법에 준하여 국내에서 분양받은 전통이합도침지를 사용하였으며, 밀랍은 국내산 밀랍을 분양받아 사용하였다. 밀랍지는 Table 1과 같은 조건으로 조선왕조실록 밀랍본 연구결과와 유사하게 제작된 밀랍지를 사용하였다<sup>4)</sup>.

**Table 1. The condition of making beeswax treated paper.**

Coating side	Coating amount(g/m <sup>2</sup> )	Thickness(mm)	Coating bar	Basis weight(g/m <sup>2</sup> )
Both coating	87.247	0.180	No. 4	157.326

**Table 2. 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	<i>Pinus densiflora</i>
Media	PDA(Potato Dextrose Agar)	PDA(Potato Dextrose Agar)
Temperature	28℃	28℃
Image		

### 2.1.2. 공시균

본 실험에서 사용된 *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum* 균은 농업유전자원센터(KACC)에서 분양받아 PDA(Potato Dextrose Agar) 배지에 접종하여 28°C의 인큐베이터에서 Table 2의 조건에 의해 2주간 배양하였다.

## 2.2. 실험방법

### 2.2.1. 생물열화

밀랍은 플라스크에 녹여 가압멸균장치(autoclave)에서 120°C로 멸균한 후, 무균상자(clean bench) 내에서 petri dish(φ90 mm)에 약 5 mm 두께로 부어서 굳혔다. 밀랍지와 한지는 6×6 cm로 잘랐으며 한지의 경우 가압멸균장치에서 120°C로 멸균한 후 무균상자 내에서 petri dish(φ90 mm)에 한 장씩 넣었다.

균의 접종은 cork borer(3호, φ6 mm)를 사용하여 밀랍, 밀랍지 및 한지의 중앙에 접종하였다. 접종된 시료가 담긴 petri dish(φ90 mm)는 뚜껑을 덮지 않은 채 지름 150 mm의 petri dish에 넣었으며, 균의 생장에 필요한 수분을 제공하기 위해 균에 직접 닿지 않도록 바깥쪽의 petri dish(φ150 mm)에 20 mL의 멸균수를 넣고, para film으로 감아 밀봉하였다.

각 시료의 생물열화는 30°C 인큐베이터에서 30일간 실행하였다.

### 2.2.2. 형태학적 특성 분석

생물열화 시 균 성장률 및 변색 유무를 육안 관찰할 경우 관찰자에 따라 주관적일 수 있다. 그러므로 본 연구에서는 정확한 비교 분석을 위해 iCamscope MVS-24(Mobile VideoScope)를 이용하여 열화된 시료 표면의 미세영상 확대 분석을 실시하였으며, 또한 육안관찰을 위해 사진촬영을 실시하였다. 또한 생물열화 시료 내 균사의 분포 상태를 분석하기 위하여 공시 시료의 표면을 절취하여 gold coating한 후 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope, Jeol, JSM-5910LV, Japan)을 이용하여 각 시료의 표면을 분석하였다.

### 2.2.3. 광학적 특성 분석

생물열화 시 균에 의한 변색 유무를 확인하기 위하여 Elrepho 070 model을 사용하여 색도(KS M ISO 5631)

및 백색도(KS M ISO 2470)를 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum* 균의 성장 특성

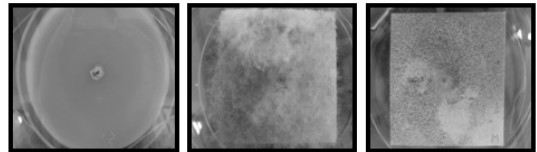
밀랍, 밀랍지 및 한지 시료에 *Aspergillus versicolor* 균을 접종시켜 균이 성장된 결과는 Fig. 1과 같다.

육안 관찰 결과, 밀랍에서의 균의 생장은 한지나 밀랍지에 비해 거의 일어나지 않았으나 점종한 균 디스크 위로 흰색의 균사가 덮여있는 것을 Fig. 1의 a에서와 같이 관찰할 수 있었다. 밀랍지를 배지로 이용한 경우 균의 생장이 많이 일어나 균사가 시료 전체에 퍼져있었으며, 흰색의 균사와 함께 짙은 황색을 띠고 있는 것이 Fig. 1의 b에서와 같이 관찰되었다. 이는 균이 성장하면서 밀랍을 양분으로 사용하여 밀랍의 색인 황색을 띠는 것으로 생각되는데, Hopkins 등은 파라핀에서 배양된 *Aspergillus* 균이 황색 또는 적색의 색소를 분비했으며<sup>5)</sup>, Tiano는 균이 분비하는 색소의 색은 균이 자라는 환경이나 종이의 특성에 따라 달라질 수 있다고 하였다<sup>3)</sup>. 한지에서도 균의 생장이 매우 좋았으며 균사가 한지 시료 전체를 뒤덮고 있는 것을 Fig. 1의 c에서 볼 수 있었다.

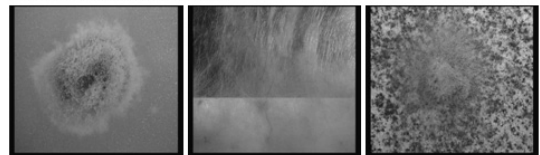
밀랍, 밀랍지 및 한지 시료에 *Penicillium polonicum* 균을 접종시켜 균이 성장된 결과는 Fig. 2와 같다.

육안 관찰 결과, 밀랍에서의 균의 생장은 한지나 밀

Digital Camera Image



Mobile VideoScope Image

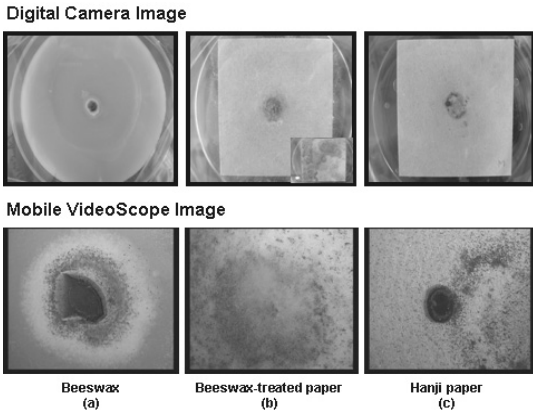


Beeswax  
(a)

Beeswax-treated paper  
(b)

Hanji paper  
(c)

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).**

랍지에 비해 저조하였으나, 접종한 균 디스크 주변의 밀랍이 부분적으로 분해된 것으로 Fig. 2의 a에서 관찰되었으며, 분해 유무를 확인하기 위한 추가적인 분석이 필요하다고 사료된다. 밀랍지에서의 균의 생장은 매우 양호하였다. 밀랍지 전체에 균사가 뒤덮여있는 것을 관찰할 수 있었으며, 부분적으로 도포된 밀랍 아래의 한지가 드러날 정도로 밀랍이 분해된 것을 Fig. 2의 b에서 확인할 수 있었다. 한지에 접종한 *Penicillium polonicum*

균의 성장 상태는 밀랍을 배지로 이용한 경우보다 우수하였으나, *Aspergillus versicolor* 균에 의한 성장상태보다 저조함을 Fig. 2의 c에서 확인할 수 있었다.

### 3.2. *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum* 균에 의해 열화된 시료 SEM 분석

*Aspergillus versicolor* 균에 의해 생물열화된 밀랍지와 한지 시료 표면의 SEM 분석 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 밀랍지 및 한지 시료 모두 표면에 균사가 넓게 분포되어 육안관찰 결과와 마찬가지로 *Penicillium polonicum* 균에 비해 균 생장률이 우수하게 나타났다.

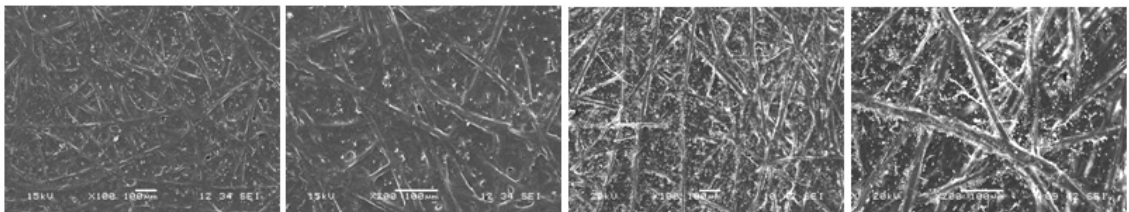
*Penicillium polonicum* 균에 의해 생물열화된 밀랍지와 한지 시료 표면의 SEM 분석 결과, 육안관찰 결과와 마찬가지로 한지보다 밀랍지에서의 균의 생장이 매우 양호하였으며 밀랍지 전체에 균사가 뒤덮여있는 것을 Fig. 4에서 관찰할 수 있었다.

### 3.3. 광학적 특성

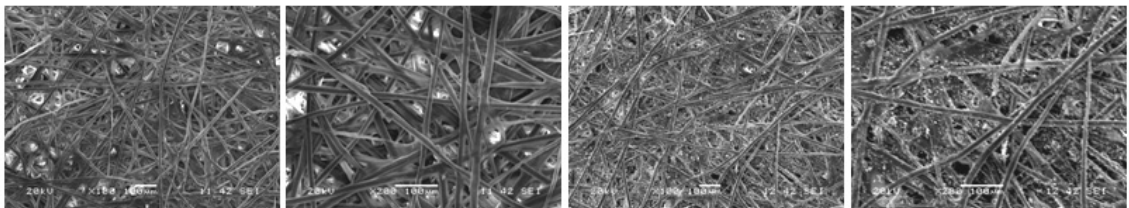
*Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum* 균에 의해 생물열화된 밀랍지와 한지 시료의 L\*과 백색도 변화값을 측정된 결과는 Fig. 5와 같다.

*Aspergillus versicolor* 균에 의해 생물열화된 밀랍

#### Beeswax-treated paper



#### Hanji



X100

X200

X100

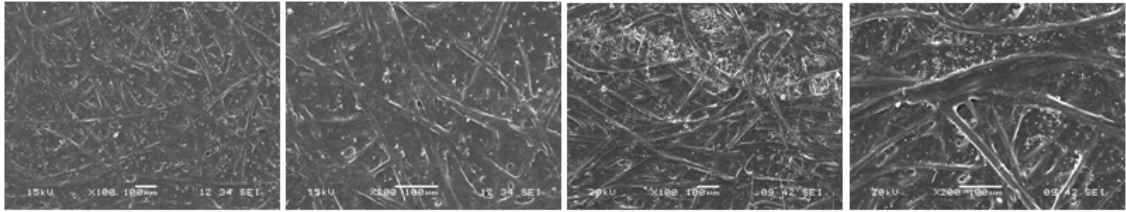
X200

Control

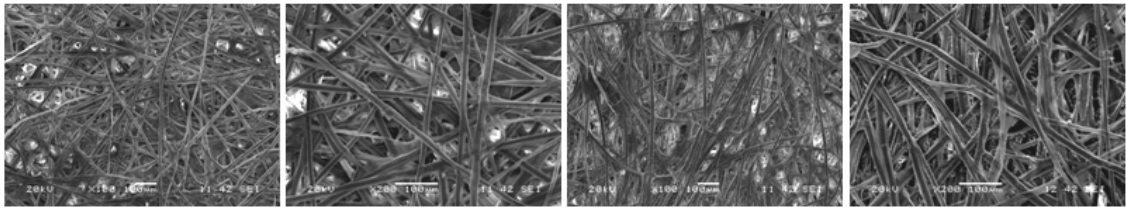
Biological aging

**Fig. 3. The SEM image of the beeswax-treated paper and Hanji deteriorated by *Aspergillus versicolor*.**

Beeswax-treated paper



Hanji



X100

X200

X100

X200

Control

Biological aging

Fig. 4. The SEM image of the beeswax-treated paper and Hanji deteriorated by *Penicillium polonicum*.

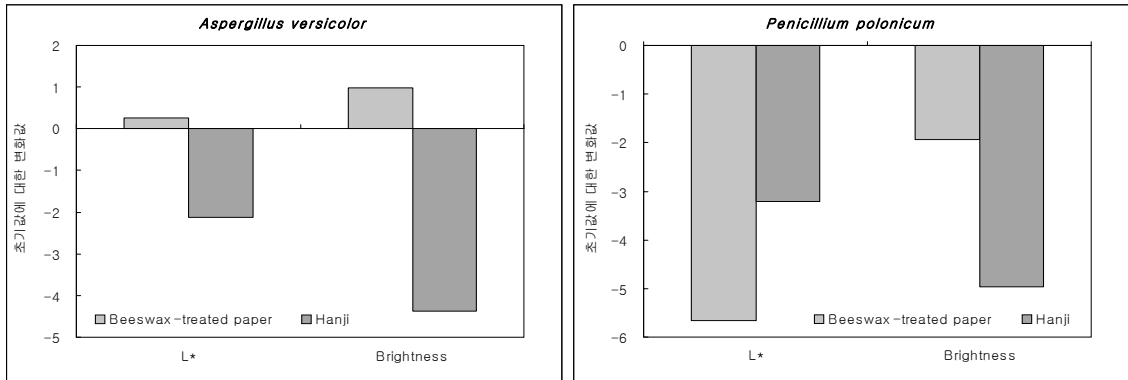


Fig. 5. The change of L\* value and brightness during biological aging by *Aspergillus versicolor* and *Penicillium polonicum*.

지 시료의 경우 L\*과 백색도 모두 증가한 반면 한지는 감소하였다. *Penicillium polonicum* 균에 의해 생물열화된 밀랍지와 한지의 경우 L\*과 백색도 모두 초기값에 비해 감소하였다. *Penicillium polonicum* 균에 의한 변화폭이 *Aspergillus versicolor* 균보다 높게 나타나 *Penicillium polonicum* 균에 의한 변화율이 더 큰 것으로 사료된다.

*Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum* 균에 의한 생물열화에 따른 밀랍지와 한지 시료의 a\*와 b\*의 값을 측정된 결과는 Fig. 6과 7과 같다.

a\*값 분석결과, 밀랍지와 한지 시료 모두 *Aspergillus versicolor* 균에 의한 생물열화 시 증가하였으며, *Penicillium polonicum* 균의 경우 밀랍지와 한지 시료 모두 증가하여 적변이 발생함을 알 수 있었다. 그러나 *Aspergillus versicolor* 균의 경우 밀랍지에 비해 한지의 변화폭이 크게 나타났으며, *Penicillium polonicum* 균은 반대의 경향을 보였다.

b\*값은 *Aspergillus versicolor* 균에 의해 생물열화된 한지 시료를 제외하고 모두 초기값에 비해 감소하였으며 한지에 비해 밀랍지의 감소폭이 크게 나타났다.

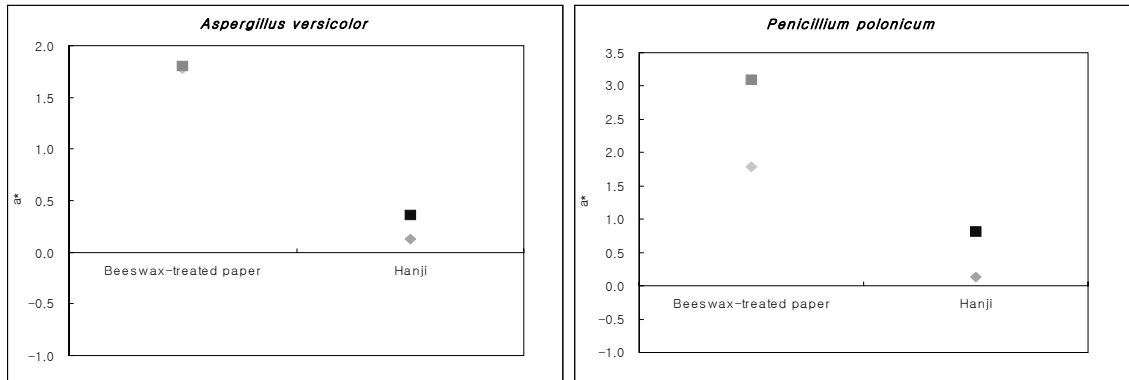


Fig. 6. The change of a\* value during biological aging by *Aspergillus versicolor* and *Penicillium polonicum* (◆ control, ■ after biological aging).

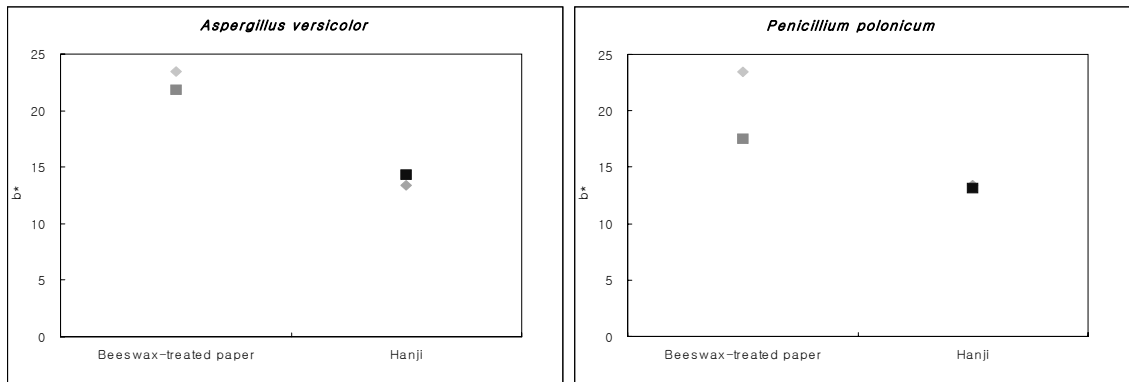


Fig. 7. The change of b\* value during biological aging by *Aspergillus versicolor* and *Penicillium polonicum* (◆ control, ■ after biological aging).

#### 4. 결론

조선왕조실록 밀랍본 분리균 5종 중에서 *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum* 등 2종의 균주를 밀랍, 밀랍지 및 한지에 접종하여 생물열화를 실시한 후 생물열화 특성을 분석한 결과는 다음과 같다.

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

2. 밀랍지에서 *Aspergillus versicolor*와 *Penicillium polonicum* 균의 생장이 모두 왕성하였다. 특히

*Penicillium polonicum* 균의 경우 밀랍과 한지에 비해 밀랍지에서 생장이 양호하였으며, 부분적으로 밀랍지의 한지가 드러날 정도로 밀랍이 분해된 것이 관찰되었다.

3. 한지에서는 *Aspergillus versicolor* 균의 생장이 *Penicillium polonicum* 균에 비해 더 양호하였다.

4. 생물열화 시 밀랍지와 한지의 광학적 특성 분석결과, *Penicillium polonicum* 균이 *Aspergillus versicolor* 균보다 밀랍지와 한지를 변색시키는 것이 관찰되었다.

추후 GPC, UV, FT-IR 등을 이용한 분석을 통해 균에 의한 각 샘플의 분해 특성을 분석할 필요가 있다고 사료된다.

## 사 사

본 연구는 국립문화재연구소에서 지원한 동산문화재 복원기술개발 연구 중 조선왕조실록 밀랍본 복원기술 연구의 일환으로 진행되었습니다.

## 참고문헌

1. M. Zotti, A. Ferroni and P. Calvini, Microfungal biodegradation of historic paper: Preliminary FTIR and microbiological analyses, *International Biodeterioration & Biodegradation* 62:186-194 (2008).
2. 조성은, 김용태, 정소영, 조병목, 이종규, 종이변색균류의 배양적 특성 및 화학적 방법에 의한 변색제거, *펄프종이공학회 춘계학술발표논문집*, 295-303 (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. 서진호, 최경화, 박지희, 강영석, 윤경동, 도포방식에 따른 밀랍지 시제품의 특성 분석, *펄프종이기술*, 41(2):64-69 (2009).
5. Hopkins, S. J. and A. C. Chibnall, Growth of *Aspergillus versicolor* on higher paraffins, *Biochemical Journal.*, 26:133-142 (1931).
6. Hideo Arai, Foxing caused by Fungi: twenty-five years of study, *International Biodeterioration & Biodegradation* 46:181-188 (2000).