

서고 내 미생물에 대한 천연항균제의 항균성 효과

김기현, 신종순*, 윤대현**, 최영신**

주)바이옴리스트 테크놀로지, *중부대학교 기술공학부, **행정자치부 정부기록보존소
(2001년 1월 20일 접수, 2001년 2월 27일 최종 수정본 접수)

Antimicrobial Activity of the Natural Essential Oil Against microorganisms isolated from archives stack rooms.

Kee-Hyun Kim, Jong-Sun Shin, Young-Sin Choi and Dai-Hyun Yoon***

Biomist Technology CO., LTD. 912-4 Shinjeong-5Dong, Yangchun-ku, Seoul, 158-857, Korea.

* Division of Technological Engineering, Joongbu University, Chung Nam, 312-940, Korea.

**Government Archives and Records Service, Preservation Division, 920 Dunsan-Dong, Seo-Ku, Taejon, 302-701, Korea.

(Received 20 January 2001, in final form 27 February 2001)

Abstract

The microbiodeterioration of paper material like books, archival material, manuscripts both illustrated and written, decorative wall papers, etc. is a serious problem throughout the world in museums, libraries, archives, etc. where these materials are placed. The major ecological fungi from record materials of library with ancient archives were isolated and identified as *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Neurospora sitophila*, *Mucor mucedo*, *Mucor rouxii*, *Penicillium notatum*, *Rhizopus delemia*, *Rhizopus nigricans*, *Thamnidium elegans*, *Trichoderma viridae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Enterobacter aerogenes*, and *Staphylococcus aureus*. This study was carried out to investigate the antifungal activities of essential oils. The

essential oils from herb were obtained by vapor distillation method, and the antimicrobial activities were examined with ten fungi & four bacteria. It was found to have activity against microorganisms isolated from a achieves stack rooms.

I. 서론

서고 및 기록매체에 큰 피해를 주는 생물학적 열화는 일반적으로 미생물과 해충으로 알려져 있지만 그 중에서 미생물은 성장과정 중에 독특한 냄새를 발생시키고 각종 휘발성 유기산을 분비하며 공기, 토양, 인체, 식품 등 거의 모든 곳에 서식할 수 있다. 특히 기록물의 보관에도 문제를 일으키는데, 문서류의 경우 종이의 주성분인 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌 등의 물질을 분해하고 종이 표면에 색소를 침착시키며 악취를 발생시킨다.

뿐만 아니라 곰팡이는 약산성의 환경에서도 왕성하게 성장하므로 산성용지를 사용하는 여러 기록물들이나 자기기록매체의 경우에는 더욱 심각한 문제가 발생한다. 이중 자기기록매체는 75μ두께의 자성층으로 구성되어 있으며, 자성층은 통상적으로 산화철(iron oxide)과 폴리우레탄(polyurethan), 가소제, 윤활제 및 분산제 등의 첨가제로 구성되어 있어 이러한 자성층 구성성분을 영양원으로 성장하는 곰팡이가 존재할 경우 디스크 드라이브의 헤드를 오염시켜 전기전도도를 변화시킴으로서 기록매체로서의 기능 상실도 일으킨다. 이런 미생물은 일반 생물체가 서식할 수 없는 플라스틱, 도료, 목재, 종이 등에 착상하여 Lipase, Ligninase, Cellulase, Amylase, Protease 등의 효소물질을 분비하며 그 재질을 약하게 하거나 변색을 유발시킨다. 그 중에서 종이는 주성분인 셀룰로오스를 분해하고, 종이 표면에 색소를 침착시키고 악취를 발생시켜 기록물의 보존에 커다란 문제점을 유발시킨다. 이런 종류의 미생물로는 *Cellulomonas*속^{1 9)}, *Pseudomonas*속^{10 12)}, *Clostridium*속^{13 16)}, *Cellovibrio*속^{17,18)}, *Acetivibrio*속^{19,20)}, *Cytophaga*속²¹⁾ 등이 보고되고 있다. 이에 대한 대책으로 국내에서는 기록물 및 문화재 등의 생물학적 피해를 막기 위한 방법으로 Methyl bromide(MB)와 Ethylene oxide(EO)의 혼합가스를 이용한 훈증소독을 하고 있다. 이 혼합가스는 인체에 대한 강한 독성과 환경규제물질로 분류되어 현재에는 거의 사용하지 않거나 매우 제한적으로 일부 사용하고 있는 실정이다. 특히 강한 독성과 발암물질이라는 사실이 알려져 소독 후의 작업자의 위험성 때문에 대체물질에 대한 많은 연구가 지속적으로 이루어지고 있다. 이와 같은 문제를 해결하기 위하여 미생물의 생성을 방지하거나 번식을 억제하는 항균물질에 대한 연구가 활발히 이루어지고, 또한 녹차를 비롯하여 식품 중에 함유된

성분을 분리하여 항균, 항암 및 각종 생리기능 효과에 대해서도 많은 연구가 수행된 바 있다^{22,23)}. 항균제는 미생물의 생성을 방지하거나 번식을 억제시키는 물질로써 천연제, 무기제와 유기제 대별되는데, 현재 개발되고 있는 공업용 항균제는 약 130여종에 이르지만 안전성 측면을 고려한다면 자연의 생물로부터 추출하여 얻은 천연항균제가 인체 안전성이 높아 효율적으로 기록매체를 소독하는 약제로 적용한다면 큰 효율을 얻을 수 있을 것이다.

본 연구에서는 각종 기록물 및 문화재의 소독용으로 사용되어지고 있는 유독성 훈증가스인 MB와 EO의 대체물질인 허브에서 추출한 천연항균제 (BM-Solution)을 이용하여 가해미생물의 생육을 억제하는 항균력을 보고 하고자 한다.

II. 실험

2-1. 실험 재료

인체에 유익한 천연 에센스 오일인 허브 추출 천연항균제를 이용하여 서고 및 기록매체에서 분리한 유해미생물의 항균활성을 PDA(Potatoes, Infusion from : 200g, dextrose : 20g, agar : 15g /l pH 4.5), LBA(Tryptone : 10g, Yeast Extract 5g, Sodium chlorid : 10g, agar 15g /l pH 7.0) 배지를 이용하여 비교 분석하였다.

2-2. 서고 및 기록매체의 미생물 분리

서고내 미생물의 분포상은 주로 공중부유균을 중심으로 포자낙하법으로 실시하였고, 미리 준비한 선택배지에 PDA, LBA를 넣은 플레이트를 채취하고자 하는 위치에서 20분간 개방하여 서고 내 공중부유균을 채취하였다. 그리고 일부 기록매체의 표면에 존재하는 균을 분리하기 위하여 기록매체 부착균을 멸균된 면봉으로 채취하였다.

2-3. 분리된 미생물의 동정

서고에서 서식하는 공기부유균 및 매체부착균을 PDA, LBA배지에 채취, 배양하여 집락이 형성된 균주를 순수 분리하였다. 선별된 세균 및 곰팡이는 각각 37℃/24hrs, 30℃/72hrs 동안 배양하여 Ainsworth등의 “균주²⁴⁾” 기재를 기준으로 형태학적, 생화학적 특성을 조사하여 동정하였다.

2-4. 세균에 대한 항균력 측정

세균에 대한 항균활성 검정방법은 우선 LB즙 배지를 만들어 멸균하여 각 균주를 37℃ 진동 배양기에서 48시간 배양하여 준비하였다. 상기와 같은 LB즙 배지에 agar 1.5%를 넣은 다음배양 접시에 부어 기층배지를 만들어 준비하고 LB즙 배지에 agar 0.75%를 넣은 배지가 45-50℃가 되었을 때 배양된 균주를 넣어 잘 혼합하여 기층배지 위에 부어 증층배지를 만들었다. 종이 디스크(Ø6mm, Advantec Co.)에 시료를 일정량씩 점적하여 증층배지 위에 올려놓고 37℃ 배양기에서 48hrs 배양한다. 균주가 다 자란 후 나타난 Clear zone의 직경을 측정하였다.

2-5. 곰팡이에 대한 항균력 측정

곰팡이에 대한 항균활성 검정방법은 PDA배지를 멸균하여 배양 접시에 부어 기층배지를 만들고 기층배지에 각각의 곰팡이를 접종하여 30℃ 배양기에서 72hrs 배양하여 준비를 하였다. 0.01% Tween 80을 멸균하여 Falcon tube에 일정량을 넣고 각각의 곰팡이를 현탁시켜서 준비를 하였다. PDA배지에 agar 1.5%를 넣어 멸균하고 배지가 45℃가 되었을 때 10% 탈타르산 1.9ml/100ml를 첨가하고 준비된 곰팡이 현탁액을 1ml/15ml의 비율로 첨가하여 배지를 분주하였다. 종이 디스크에 시료를 일정량씩 점적하여 배지 위에 올려놓고 30℃ 배양기에서 37hrs 배양하여 균주가 다 자란 후 나타난 Clear zone의 직경을 측정하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

3-1. 서고 및 오염된 기록물에서의 미생물 형태

서고에 서식하는 미생물을 선택배지를 사용하여 포자낙하법으로 분리한 결과 Figure 1에 보는 바와 같이 세균보다는 곰팡이가 많은 것으로 확인할 수 있었다. 그리고 기록물



Fig. 1. Records of contaminated by microbe.

에 생물학적 피해를 주는 곰팡이는 색소를 형성하는 곰팡이가 주류를 이루고 있음을 Figure 2에서 볼 수 있다. 한편 곰팡이에 의해 오염된 종이기록물은 지류 섬유에 곰팡이가 기생하고 있음과 곰팡이에 의해 오염된 종이기록물의 내부구조는 Figure 3의 현미경 사진에서 볼 수 있다.



Fig. 2. Noxious microbe inhabited in book wearhouse and records.

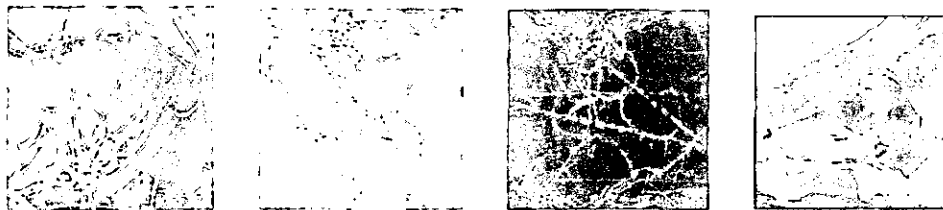


Fig. 3. Internal structure of documented records contaminated by fungi.

3-2. 곰팡이의 분리와 동정

서고 및 오염된 기록물에서 선택배지(PDA, LBA)를 이용하여 세균은 37℃/24hrs, 곰팡이는 30℃/72hrs동안 배양하면서 순수분리하였다. 분리된 미생물을 배양학적 및 형태학적 특성에 따라 동정한 결과 세균은 *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus auerus*의 4종이였고, 곰팡이는 *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Neurospora sitophile*, *Mucor mucedo*, *Mucor rouxii*, *Penicillium notatum*, *Rhizopus delema*, *Rhizopus nigricans*, *Thamnidium elegans*, and *Trichoderma viridae*의 10종으로 동정하였다.

3-3. 분리미생물의 항(진)균력 효과

Table 1과 Figure 4는 각종 고서가 보존되어 있는 기록물보존소 및 오염된 기록물 등

으로부터 선택적으로 분리된 유해미생물에 대하여 BM-solution으로 항균 및 항진균제의 항균활성을 비교해 본 자료이다. 이들 자료에 의하면 세균에 대해서는 clear zone이 *Bacillus megaterium*, *Enterrobacter aerogenes*에서 항균 작용이 우수한 것으로 나타났고, 곰팡이에 대해서는 *Neurospora sitophile* 42mm, 그리고 *Aspergillus oryzae*, *Mucor rouxii*, 및 *Rhizopus delema*에서 동일하게 40mm로 우수한 항균활성을 나타냈다.

Table 1. Antimicrobial activity of strain isolated from achives stack rooms

Species	Inhibition zone diameter(□)*	Species	Inhibition zone diameter(□)*
<i>Aspergillus niger</i>	38	<i>Rhizopus nigricans</i>	30
<i>Aspergillus oryzae</i>	40	<i>Thamnidium elegans</i>	35
<i>Mucor mucedo</i>	19	<i>Trichoderma viridae</i>	36
<i>Mucor rouxii</i>	40	<i>Bacillus cereus</i>	34
<i>Neurospora sitophile</i>	42	<i>Bacillus megaterium</i>	41
<i>Penicillium notatum</i>	30	<i>Enterrobacter aerogenes</i>	39
<i>Rhizopus delema</i>	40	<i>Staphylococcus auerus</i>	38

*Antimicrobial activity was measured by paper disk method using 10ul of each materials..

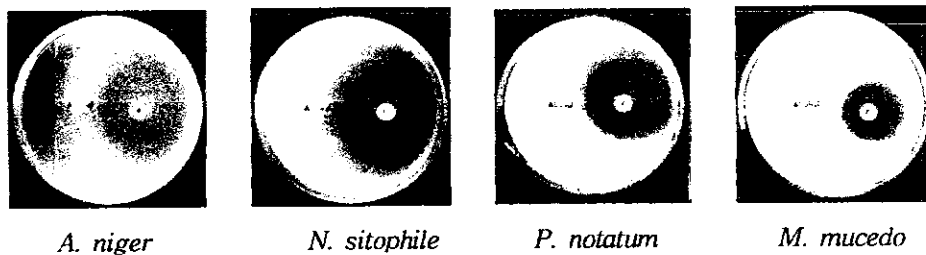


Fig. 4. Antimicrobials activities of isolated microorganisms.

IV. 결 론

서고와 기록매체에 분포하는 미생물의 공중부유균 및 매체부착균을 분리하고 균주의 형태학적, 배양학적 및 생리학적 특성을 조사하였다. 분리 결과 *Aspergillus niger*

Aspergillus oryzae, *Neurospora sitophila*, *Mucor mucedo*, *Mucor rouxii*, *Penicillium notatum*, *Rhizopus delemat*, *Rhizopus nigricans*, *Thamnidium elegans*, *Trichoderma viridae* 10종류의 곰팡이와 4종류의 세균 *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*를 동정하였다.

이 결과를 바탕으로 분리된 가해미생물에 생육을 저해할 수 있는 천연항균제인 BM-Solution의 항균효과는 세균에서 clear zone이 *Bacillus megaterium*에서 41mm, *Enterobacter aerogenes*에서 순으로 나타났고, 곰팡이에서는 *Neurospora sitophila* 42mm, *Aspergillus oryzae*, *Mucor rouxii*, *Rhizopus delemat*에서 동일하게 40mm순으로 우수한 항균활성을 나타내었다.

참 고 문 헌

- (1) Nakamura, K. and K. Kitamura : *J. Ferment. Technol.*, **60**, 343 (1982).
- (2) Nakamura, K. and K. Kitamura : *J. Ferment. Technol.*, **61**, 379 (1983).
- (3) Beguin, P. and H. Eisen : *J. Gen. Microbiol.*, **101**, 191 (1977).
- (4) Beguin, P. and H. Eisen : *Eur. J. Biochem.*, **87**, 252 (1978).
- (5) Stewart, B. J. and J. M. Leatherwood : *J. Bacteriol.*, **128**, 609 (1976).
- (6) Choi, W. Y., K. D. Hagggett and N. W. Dunn : *Aust. J. Biol. Sci.*, **31**, 553 (1978).
- (7) Stoppok, W., P. Rapp and F. Wagner : *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 44 (1982).
- (8) Langsford, M. L., N. R. Gilkes, W. W. Wakarchuk, D. G. Kilburn, R. C. Miller Jr. and R. A. J. Warren : *J. Gen. Microbiol.*, **130**, 1367 (1984).
- (9) Kim, B. H. and J. W. Y. Wimpenny : *Kor. J. Microbiol.*, **23**, 25 (1985).
- (10) Yamane, K., T. Yoshikawa, H. Suzuki and K. Nisizawa : *J. Biochem.*, **69**, 771 (1971).
- (11) Yoshikawa, T., H. Suzuki and K. Nisizawa : *J. Biochem.*, **75**, 531 (1974).
- (12) Ramasamy, k. and H. Verachtert : *Verachtert : J. Gen. Microbiol.*, **117**, 181 (1980).
- (13) Ng. T. K. and J. G. Zeikus : *Biochem. J.*, **199**, 341 (1981).
- (14) Ng. T. K. and J. G. Zeikus : *J. Bacteriol.*, **50**, 1391 (1982).
- (15) Johnson, E. A., M. Sakajoh, G. Halliwell, A. Madia and A. L. Demain : *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 1125 (1982).
- (16) Lee, S. F., C. W. Forsberg and L. N. Gibbins : *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, 220 (1985).

- (17) Oberkotter, L. V. and F. A. Rosenbergh : *Appl. Environ. Microbiol.*, **36**, 205 (1978).
- (18) Berg, B., V. Hofsten and G. Pettersson : *J. Appl. Bacteriol.*, **35**, 201 (1972).
- (19) Patel, G. B. and C. R. Mackenzie : *Eur. J. Appl. Microbiol.*, **16**, 212 (1982).
- (20) Mackenzie, C. R., D. Bilous and G. B. Patel : *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, 243 (1985).
- (21) Chang, W. T. H. and D. W. Thayer : *Can. J. Microbiol.*, **23**, 509 (1977).
- (22) Senji, S., M. Kim, M. Taniguchi, and T. Yamamoto. Antibacterial substances in japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a Cariogenic Bacterium. *Agric. Biol. Chem.* 53(9):2307-2311 (1989).
- (23) Mizuno, M., M. Toda, N. Ueno, G. Danno, and K. Kanazawa. Desmutagenicity of a dibenzofuran-quinone derivative toward the mutagenicity of Trp-p-2, *Agric. Biol. Chem.* 53(4):959-964 (1989).
- (24) Ainsworth, G. C., F.K. Sparrow and A. S. Sussamar, *The fungi*, vol. IV A. B. Academic pree, New york (1973).