

文學碩士 學位論文

IV, 50

1-51

철 부식에서 곰팡이 분리와
접종 실험을 통한 부식생성 기초연구

慶州大學校 大學院

文化財學科

강 현 미

2008年 12月

철 부식에서 곰팡이 분리와
접종 실험을 통한 부식생성 기초연구

指導教授 안 병 찬

이) 論文을 碩士學位 論文으로 提出함

2008年 12月

慶州大學校 大學院

文化財 學科

강현미

강현미의 碩士學位論文을 認准함

審查委員長 조진영



審查委員 이상진



審查委員 안병찬



慶州大學校 大學院

2008年 12月

목 차

목차	i
표차례	iii
그림차례	iv
I. 서론		1
II. 대상문화재		4
1) 보림사 철조비로자나불좌상(寶林寺鐵造毘盧舍那佛坐像)	4
2) 경의선장단역증기기관차(京義線長湍驛蒸氣機關車)	7
III. 연구방법		9
1) 시료채취	9
(1) 보림사 철조비로자나불좌상	9
(2) 경의선장단역증기기관차	10
2) 미생물 분리배지 제조	12
3) 시료의 접종과 배양	14
4) 곰팡이의 순수분리와 특성조사	16
(1) 곰팡이의 순수분리	16
(2) 곰팡이의 동정	16
(3) 곰팡이의 생장특성 조사	17
(4) 곰팡이의 대사산물 조사	17
5) 곰팡이에 의한 철제시편의 부식	18
(1) 철제시편의 제작	18
(2) 곰팡이의 접종과 배양	19
(3) 곰팡이에 의한 철제시편의 부식관찰	21
① 중량 변화 측정	21
② 표면 변화 관찰	21

IV. 연구결과 및 고찰	22
1) 시료로부터 미생물의 분리	22
2) 순수분리된 곰팡이의 동정과 특성조사	27
(1) 곰팡이의 동정	27
(2) 곰팡이의 생장특성 조사	30
(3) 곰팡이의 대사산물 조사	33
3) 곰팡이에 의한 철제시편의 <u>부식</u>	35
(1) 중량 변화 측정	35
(2) 표면 변화 관찰	35
IV. 결론	41
V. 참고문헌	43
<Abstract>	49

<표 차례>

표 1) 대상별 시료채취 부위와 시료 수	9
표 2) 온·습도에 의한 인공풍화 운용프로그램	20
표 3) 시료로부터 순수분리된 곰팡이의 생장특징	26
표 4) 고체평판배지 상에서의 곰팡이의 생장과 현미경 관찰 1.2.3.	27, 28, 29
표 5) 배지 조성에 따른 곰팡이의 생장 변화 양상 1.2.	31,32
표 6) 곰팡이의 생장에 따른 철제시편의 표면변화 1.2.3.	37,38,39

<그림 차례>

<그림 1> 국보 제117호 보림사철조비로자나불좌상	4
<그림 2> 경의선장단역증기기관차	7
<그림 3> 보림사철조비로자나불좌상 내부 시료채취 부위	10
<그림 4> 경의선장단역증기기관차의 시료 채취 부위	11
<그림 5> 혼합된 시료액	15
<그림 6> 시료의 접종	15
<그림 7> pH미터	17
<그림 8> 절단 전의 철판	18
<그림 9> 준비된 철제시편	18
<그림 10> F17의 BF, BM, CzD 배양액	20
<그림 11> 보림사철조비로자나불좌상 시료에서 분리된 미생물	23
<그림 12> 경의선장단역증기기관차 시료에서 분리된 미생물	23
<그림 13> 보림사철조비로자나불좌상에서 순수분리된 곰팡이	24
<그림 14> 경의선장단역증기기관차서 순수분리된 곰팡이	25
<그림 15> 곰팡이에 의한 배양액의 pH변화	34
<그림 16> 곰팡이에 의한 배양액의 유기산 생성 측정	34
<그림 17> F11을 접종한 철제시편에 생성된 부식물	40
<그림 18> F24를 접종한 철제시편에 생성된 부식물	40

I. 서론

철제문화재의 부식1)2)3)은 화학적(전기화학적), 물리적, 생물학적인 원인에 의하여 나타나는데 일반적으로 철제문화재가 이온화 경향이 활성적이기 때문에 전기 화학적으로 쉽게 부식된다.

철 이온들이 녹이라 불리는 철산화물을 만들기 위해서 수산이온들과 결합함으로써 수산화제 II 철의 부식화합물이 형성된다. 적갈색, 황색을 띠며 모래와 흙 등으로 혼합되어 유물표면에 Goethite층을 형성한다. 또 철은 산소와 반응하고 적갈색과 검은색의 산화물 즉 산화제 II 철과 산화제 III 철을 형성한다. 그리고 한정된 산소 조건하에서 β -FeOOH, γ -FeOOH는 Fe^{2+} 와의 반응으로 금속표면과 부식물사이에 밀집된 검은 Magnetite층을 형성한다.

철은 토양 속에 염화물과 반응하여 염화제 II 철을 형성한다. 염화제 II 철은 물과 반응하여 수산화제 II 철과 염산으로 되고, 이 반응에서 생성된 염산은 다시 부식을 촉진시킨다. 염화제 II 철은 수용성이며 부식된 철기유물 표면에 방울모양으로 나타나며 강 산화제 역할을 한다. 보통 판상으로 떨어진 철제유물의 내부에서 노란분말로 나타난다. 그리고 유물표면에 칼색 물방울이 맷힘으로써 부식을 촉진하게 된다.⁴⁾

생물학적인 원인 미생물부식(MIC: Microbiologically Influenced Corrosion)은 부식 환경에 노출된 금속재료가 환경 중에 서식하는 미생물에 의한 신진대사 활동의 직접·간접적인 영향으로 부식이 가속화되는 현상을 말한다. 미생물에 의한 부식은 혐기성 환경에서 서식하는 황산염환원세균에 의한 부식은 잘 알려있다. 또한 산소가 풍부한 호기성환경에서도 미생물부식은 발생가능하다. 호기성환경에서 미생물부식은 미생물의 활동으로

-
- 1) 민심근, 이재형, 이재봉, 안병찬, 「침염시킨 철기 유물 표면 위에 형성된 부식 생성물과 틀염처리에 대한 연구」, 『한국표면공학회지』 Vol.40 No.1, pp44~56, 2007.
 - 2) 경주대학교 산업협력단, 『복원기술 및 재료 안정성 평가』, 문화재연구소, 2006.
 - 3) 정영동, 「古代 金屬遺物의 科學的 保存處理 및 製作技法 考察」, 『금구논총』 제9집, 2002.
 - 4) 정광용, 「금속 문화재의 보존관리」, 『문화재보존과학 연수 교재』, 문화재연구소, 2004.

인해 생성된 부식성이 강한 신진대사생성물(Metabolite, 예를 들어 산생성)에 의해 유발되거나, 철산화세균과 같은 철을 철산화물/철수산화물로 산화시키는 작용 또는 Biofilm의 형성에 의한 통기차전지 형성의 결과 등에 의해서 발생한다. 따라서 미생물은 전기화학반응에 영향을 미치고 부식 환경을 제공하는 역할을 한다.⁵⁾

미생물부식(MIC)와 연관된 미생물의 일반적인 특성⁶⁾은

- ㄱ. 크기가 수 μm 단위로 매우 작다.
- ㄴ. 대부분의 환경에 존재한다.
- ㄷ. 환경조건에 따라서 금속표면에 흡착할 수 있다.
- ㄹ. 넓은 범위의 온도, pH, 산소 농도 하에서 서식이 가능하다.
- ㅁ. mixed colony의 형태로 서식한다. 따라서 혼자서는 생장할 수 없는 많은 미생물의 성장에 적합한 환경을 제공하는 microbial consortium을 형성한다.
- ㅂ. 증식속도가 매우 빠르다.
- ㅅ. 많은 화학약품에 대한 내성을 가진다.
- ㅇ. 여러 종류의 유기산 및 무기산을 생성할 수 있다.
- ㅈ. 세포외부에 점성이 강한 extracellular polymer(EPS, 또는, exopolymer)라고 부르는 막을 형성하여 영양분을 포집하며, 틈부식, 통기차전지 부식을 유발시킨다.
- ㅊ. 금속 또는 금속이온을 산화/환원시킬 수 있다.

미생물부식에 대한 연구는 현재 지하매설구조물 상하수도관, 정유화학업체, 지중매설 구조물 등에서 진행되고 있으나 이 연구 역시 많이 진행이 되지 않았다.⁷⁾

미생물에 의한 금속문화재의 부식에 관한 연구는 현재까지 많이 진행되지는 않았으나, 일본 문화재총해연구소에서 1987년에 발간한 文化財の忠菌害と保存對策⁸⁾에 따르면 곰팡이가 일본칼을 부식시킨다는 것을 밝

-
- 5) 이선엽, 전경수, 고영태, 「지하매설 구조물의 부식과 방식-II, 미생물에 의한 부식-」, 『한국부식학회지』 Vol. 26, 1997.
 - 6) S.W. Borenstein, ed, 『Microbiologically Influenced Corrosion Handbook』, Industrial Press Inc., NY, USA, 1994.
 - 7) 이선엽, 전경수, 고영태, 「지하매설 구조물의 부식과 방식-II, 미생물에 의한 부식-」, 『한국부식학회지』 Vol. 26, 1997.
 - 8) 文化財虫害研究所, 『文化財の忠菌害と保存對策』, 1987.

혀내었으며, 일본칼의 녹에서 곰팡이를 분리해내었고, 현미경 관찰을 통해 곰팡이가 어느 정도까지 영향을 주고 있는지 조사하였다. 또한 곰팡이가 분비한 유기산과 녹 화합물이 일본칼에 유해하다고 보고하였다.

우리나라의 경우에는 최근 몇 논문에서 미생물이 금속을 부식시키는 원인 중 하나라는 인식을 하고 있으며,⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾ 그리고 세균, 효모, 곰팡이, 조류, 원생동물들이 철의 부식 속도를 증가시킨다는 연구결과도 보고되었다.¹²⁾ 그러나 이 분야에 대한 연구는 아직 미비한 실정이고 단지 미생물이 철제문화재의 부식원인 중 하나가 될 수 있다는 것을 언급하고 있는 정도일 뿐이며 다른 문화재와는 다르게 철제문화재에서 미생물을 분리한 사례는 없었다.

따라서 본 논문에서는 철제문화재의 부식층과 녹 등 부식이 진행된 부분에서 시료를 채취하여 미생물을 분리하였으며, 분리된 미생물 중에서 곰팡이를 중심으로 어떤 생장특성이 철제문화재의 부식에 영향을 주는지 살펴보고자 하였다.

9) 주2), 같은 논문.

10) 한성희 외, 「絲狀菌에 의한 紙類, 纖維質 遺物의 色變化」, 『보존과학 연구』 제 17집, 문화재연구소, 1996.

11) 이오희, 『문화재 보존과학』, 서울 : 주류성, 2008.

12) 민경희, 「미생물이 문화재에 미치는 영향」, 『문화재보존과학 연수 교재』, 문화재연구소, pp. 249-262, 1993.

II. 대상문화재

1) 보림사 철조비로자나불좌상(寶林寺鐵造毘盧舍那佛坐像)



<그림 1> 국보 제117호 보림사 철조비로자나불좌상

국보 제117호 보림사 철조비로자나불좌상<그림 113>은 1963년 2월 21일 국보로 지정되었으며, 전라남도 장흥군 유치면 보림사의 대적광전에 모셔진 철로 만든 불상이다. 우리나라에 전해 내려오는 철조불상 50여 구 가운데 조상기가 새겨진 철불 중에서 가장 먼저 조성된 것으로 알려져 있다. 불상의 왼쪽 팔 뒤에 불상을 만든 내력을 적은 글이 양각으로 새겨져

13) 전남장흥군, 한국종합방제주식회사, 『寶林寺鐵造毘盧舍那佛坐像 보수공사보고서』, p.111, 2007.

있는 데 신라 현안왕 2년(858) 무주장사(지금의 광주와 장흥)의 부관이었던 김수종이 시주하여 불상을 만들었다는 내용의 글이 적혀 있어서 정확한 조성연대를 알 수 있다.

불상의 자세는 결가부좌인데 길상좌에 해당한다. 머리카락은 나발이며 눈은 반쯤 뜬 눈인데 눈 끝이 약간 올라가 다소 날카롭게 보인다. 백호는 얼굴에 비해 이마의 윗부분에 아주 작게 표현했다. 입은 두툼하고 윤곽이 뚜렷하며 양 입가는 눌려 얼굴 전체의 인상을 엄숙하게 표현하였으며 턱 밑은 한 줄기 음각선을 넣어 턱의 양감을 돌보이게 했다. 목에는 삼도가 굴곡으로 표현되었다. 수인은 지권인을 결하고 있는데 신체에 비해 아주 작게 표현되었으며 법의는 통견으로 사실적으로 표현되었다. 만든 연대가 확실하여 당시 유사한 비로자나불상의 계보를 확인하는데 중요한 자료가 되며, 철로 만든 불상의 첫 번째 예라는 점에서 그 가치가 크다.¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾

보림사 철불은 한국전쟁 중에 대적광전이 소실되면서 한때 노천에 방치되어 있다가 대적광전 신축 후 철불을 다시 봉안하고 개금하여 1998년 보수 시까지 유지되고 있었다. 1998년 보수 전까지 철불의 상호는 여러 차례 화재를 당하였으나 큰 손상을 입지 않아 원래의 모습을 잃지 않았다. 그러나 나발은 파손이 심해 흙으로 보수한 부분이 많았으며, 머리와 육계 사이에 있던 계주도 후대에 흙으로 제작 복원한 것으로 확인되었다. 귓불 역사 청동으로 만들어 후대에 복원한 것으로 드러났다. 철불 머리 뒷부분은 원형의 큰 구멍이 나 있었는데 아래쪽에 있는 사각형 구멍 2개와 같이 광배를 부착하기 위한 것으로 추정되며, 배면 등에는 커다란 타원형의 구멍이 나있다. 개금은 오랜 시간이 흘러 많이 손상되고 색상이 흉하게 되어 있으며 철불 아랫부분도 부분적으로 파손되어 수평이 맞지 않은 상태인 것으로 조사되었다.¹⁷⁾ 1998년 여주 천종사에 의해 보수공사가 이루어졌다. 나발 및 귀는 찰흙으로 형틀을 만든 후 불상의 무쇠 성분을 분석하여 같은 재질의 주물을 형틀에 부어 만들었고 심봉을 삽입한 후 접착하였다. 등에 생긴 구멍을 보수 하였고 철불의 표면은 블라스팅법으

14) 위의 책, pp34~39.

16) 순천대학교박물관, 가지산보림사, 『가지산 보림사-정밀지표조사-』, pp33~40, 1995.

16) 최인선, 김희태, 양기수, 『보림사』, 학연문화사, pp52~60, 2002.

17) 주14) 같은 책, p36.

로 철녹을 제거한 후 506 액상형 수지에 인공산화철을 섞어 에어콤프레샤로 도포하여 색맞춤을 하여 초콜릿색을 띄었다.¹⁸⁾

2007년 한국종합방제주식회사에 의해 보존처리가 이루어졌다. 표면을 덮었던 초콜릿 도료층과 알루미늄퍼티층, 철불 내부에 주조 할 때 사용된 주조토와 녹을 제거하였다. 안정화처리와 강화처리를 해주었고 주조결 함부에는 수지를 총전해주었다. 컷불이 너무 크고 불상과 어울리지 않아 에폭시수지로 복원해주었다.¹⁹⁾

현재 대좌(臺座)와 광배(光背)를 잊고 불신(佛身)만 남아 있는 상태이다.

18) 주12) 같은 책, pp70~71.

19) 주12) 같은 책, pp47~59.

2) 경의선장단역증기기관차(京義線長湍驛蒸氣機關車)



<그림 2> 경의선장단역증기기관차

경의선장단역증기기관차는 6·25전쟁 때 신의주로 향하던 도중 폭탄을 맞아 그 자리에 멈춰 선 증기기관차의 화통이다. 연합군 군수 물자를 실어 나르기 위해 개성역에서 한포역까지 올라갔던 열차가 중공군에 밀려 장단역까지 내려왔다. 그러나 결국 후퇴하던 연합군이 북한군에 이용될 것을 우려하여 1950년 12월 31일 열차를 폭파하면서 화통만 남게 되었다.²⁰⁾ 그동안 민간인의 출입이 통제되는 비무장지대 안 옛 장단역 남쪽 50여m 지점 철로 옆에 붉게 녹슨 채 방치되어 있었다. 이후 2000년에 개최된 남북정상회담과 6·15 남북공동선언에 입각한 제1차 남북장관급 회담(2000.7.30~8.1)에서 경의선을 복원하기로 합의하면서 주목받게 되었다. 그 결과 6·25 전쟁, 남북분단의 비극과 평화의 소중함을 일깨우는 상징물로 인정되었고, 우리나라 근대화의 상징이었던 철도유산이자 전쟁유산으로 2004년 2월 6일 등록문화재²¹⁾²²⁾ 제78호로 지정되었다.

20) 문화재청, 「(근대문화재유산보존을 위한) 등록문화재 제도」, 2005.

21) http://www.cha.go.kr/korea/heritage/knowledge/kind_01.jsp?mc=KS_01_01_02

22) 등록문화재: 지정문화재가 아닌 근·현대시기에 형성된 건조물 또는 기념이 될 만

경의선장단역증기기관차는 「마터223)」 형의 기관차로 정식 명칭은 「마운테인(MOUNTAIN)형 증기기관차이며 길이 15m, 폭 3.5m, 높이 4m²⁴⁾이다.

2006년 3월 15일과 2006년 4월 14일, 2차의 기관차의 상태를 조사한 결과 후미의 운전실과 탄수차가 결실된 상태이며 외부 철판의 일부가 떨어져 나갔다. 굴뚝, 연실의 문과 상부의 모래 상자를 비롯하여 외부의 파이프와 내부기관을 구성하는 부품들도 손상되거나 결실되었다. 또한 바퀴들이 부분적으로 파손, 분실되고 정렬상태도 어긋나 있었다.²⁵⁾

기관차의 원위치는 경기도 파주시 장단면 동장리 198로 비무장지대이다. 이러한 이유로 2007년 11월 경기도 파주시 문산읍 마정리 임진각으로 옮겨졌으며, 현재 경주대학교 안병찬 교수팀에 의하여 보존처리가 진행되고 있다²⁶⁾²⁷⁾.

그림 2는 비무장지대에서 옮기기 전 크레인으로 들어 올리려고 준비 중인 광경이다.²⁸⁾

한 시설물 형태의 문화재 중에서 보존가치가 큰 것을 말한다.

근대문화유산의 개념과 범위: '개화기'를 기점으로 하여 '해방 전·후'까지의 기간에 축조된 건조물 및 시설물 형태의 문화재가 중심이 되며, 그 이후 형성된 것일지라도 멸실 위험이 크고 보존할 가치가 있을 경우 포함될 수 있다.

23) 마터2형은 장거리 화물용 및 구배선 여객용으로 최대의 고속 중량 기관차로서 수종 증강의 역할을 한 전시 설계형 기관차였다.

24) 문화재청, 『한국의 근대문화유산, 가려뽑은 등록문화재 30선』, 문화재청 근대문화재과, PP128~131, 2004.

25) (재)포항산업과학연구원, 「장단역 증기기관차 회통 보존처리(1/2)」, 2007.

26) 河銀河, 「近代文化遺產 京義線長湍驛蒸氣機關車의 保存에 관한 研究-文化遺產의 價值와 保存 方針을 中心으로」, 京畿大學校 傳統工藝大學院 碩士學位論文, pp.1~2, 2007.

27) http://www.cha.go.kr/korea/heritage/search/RegCulresult_Db_View.jsp?mc=KS_01_02_03&VdkVgwKey=194&queryText=V_GCODE=AD

28) <http://blog.daum.net/munhwajaechong/8478315>

III. 연구방법

1) 시료채취

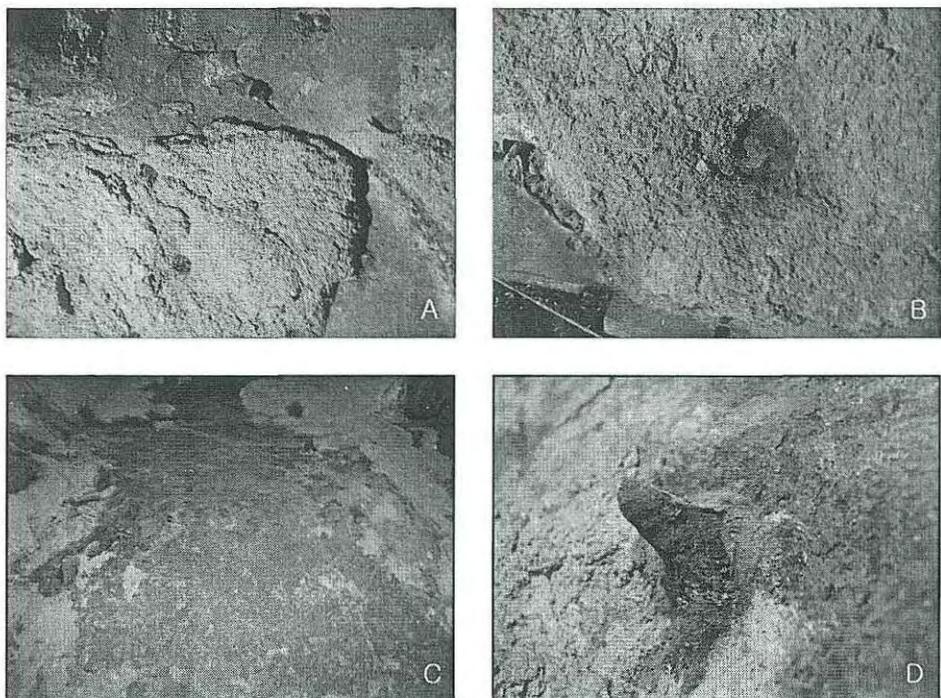
표면이 박락되거나 들떠있는 부분과 부식층이 노출되어 가루형태가 떨어지는 부분을 선택하여 소량의 시료를 채취하였다. 시료채취 시에는 오염을 방지하기 위하여 멀균된 펀셋과 용기를 이용하였다. 표 1)에 시료채취 대상 철제유물과 시료채취 부위를 나타내었다.

표 1) 대상별 시료채취 부위와 시료 수

시료채취 대상	시료채취 부위	채취시료수
보림사철조비로자나불좌상	내부 박락층, 부식층	5
경의선장단역증기기관차	동면	21
	서면	15
	남면	1
	북면	2

(1) 보림사철조비로자나불좌상

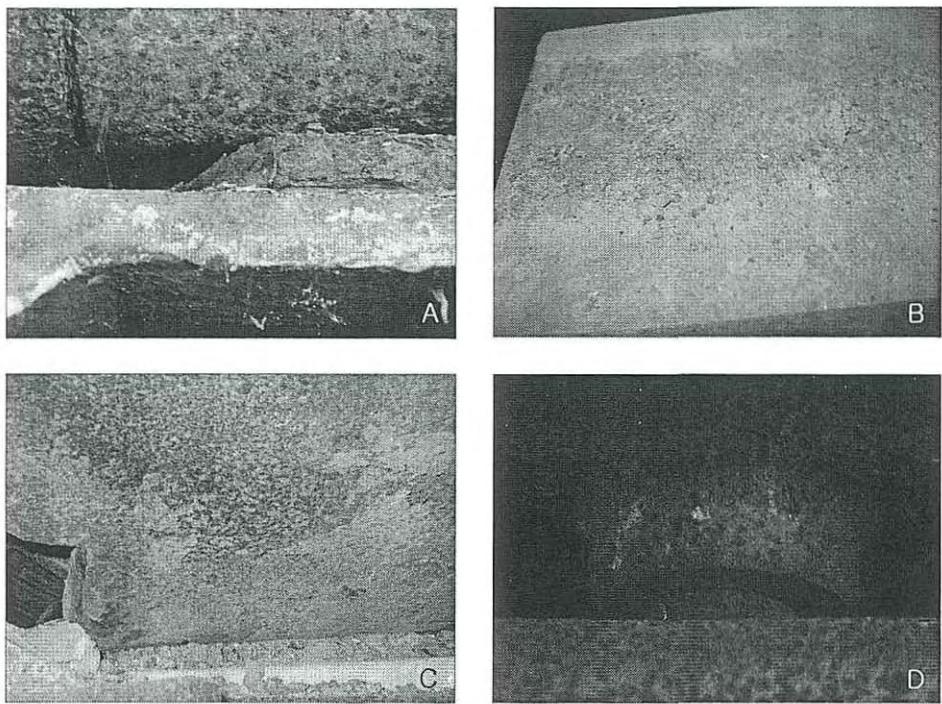
보림사철조비로자나불좌상은 2007년 5월 시료 채취 당시 표면 박리가 진행되고 있었으며, 박락된 편과 박리된 부분에는 부식층이 형성되어 있었다. 시료는 철불 내부 주조토 주변에 형성된 붉은색의 부식층<그림 3>과 검은 부식층에서 0.1g 이하 소량의 시료를 채취하였다.



<그림 3> 보림사철조비로자나불좌상 내부 시료채취 부위. A: 붉은색 부식층 B: 검은색 부식층, C: 붉은색 부식층, D: 붉은색과 주황색 부식층

(2) 경의선장단역증기기관차

2008년 3월에 경의선장단역증기기관차의 4면에서 총 39개의 시료를 채취하였는데, 부식이 진행되어 표면이 박락되거나 부식층이 형성되어 있는 부분을 선택하였다. 측면인 동면은 서면보다 이끼, 식물 등 다양한 생물이 생존했던 흔적이 확인되었고 부식도 많이 진행되어 박락편의 두께가 다양하게 나타났다. 남면과 북면은 기차의 앞과 뒷면으로 동면과 서면보다 면적이 작을 뿐 아니라 중복되어 보이는 부식층이 존재했기 때문에 각각 1개와 2개의 시료를 채취하였다. <그림 4>에서 경의선장단역증기기관차의 시료채취 부위를 확인할 수 있다.



<그림 4> 경의선장단역증기기관차의 시료 채취 부위. A: 노란색의 부식층(동3), B: 부식이 되어 표면이 박락되고 있는 부분(동14), C: 황갈색 부식층 부분(서11), D: 붉은색 부식층(남1)

2) 미생물 분리배지 제조

먼저 시료로부터 미생물을 분리하기 위하여 배지를 제조하였는데 증식배지로²⁹⁾는 Czapek-Dox(이하 CzD)³⁰⁾ 고체평판배지³¹⁾와 Bunt&Rovaria(이하 BRII)³²⁾를 사용하였으며, 선택배지³³⁾로는 기본배지로 Bromfield 배지³⁴⁾를 사용하였다.

특별히 철제유물에서 미생물을 분리하기 위해서는 배지에 금속성분이 함유되어 있어야 하므로 철(Fe) 혹은 망간(Mn)을 첨가하여 Bromfield 배지를 준비하였다(이하 철이 함유된 배지는 BF로, 망간이 함유된 경우 BM으로 칭한다). 종류수에 일정량의 시약을 넣고 잘 녹인 후, 고압증기멸균기(Autooclave)에서 멸균을 하였고, 멸균된 페트리접시에 부었다.

각각의 배지 조성은 아래와 같다.

29) 미생물학실험교재 편찬위원회, 『미생물학실험』, P22, 월드 사이언스, 2000.

보통배지에서는 생육이 잘 안 되는 미생물이나, 생육이 나쁜 미생물의 생장, 증식을 촉진시키는 것을 목적으로 하는 배지이다.

30) Petersen, K., Y. K. Yun, and W. E. Krumbein, 「On the occurrence of alkalitoleant and alkaiphilic microorganism on wall paintings and their interaction in restoration/consolidation」, 『Biodeterioration of Cultural Property 3』, 1996.

31) 주17), 위의 책, 같은 페이지.

액체배지에 한천 혹은 젤라틴 등을 첨가하여 굳힌 것이 고체배지이다. 액체배지는 미생물의 생리·화학적 연구 혹은 미생물의 대량 배양에 사용되며, 고체배지는 미생물의 보존배양, 순수 분리 등에 사용된다.

32) 주18), 같은 논문.

33) 주17), 위의 책, 같은 페이지.

목적하는 미생물의 생육을 증진시키고 다른 미생물의 생육이 억제되도록 만들어진 배지를 말한다.

34) 주18), 같은 논문.

① Bromfield 배지

KH_2PO_4	0.05g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.10g
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	0.10g
Yeast extract	0.05g
증류수	1ℓ
Agar	15.00g
$\text{FeSO}_4(\text{BF})$ 혹은 $\text{MnSO}_4(\text{BM})$	0.05g

② BR II 배지

$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0.40g
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0.50g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.10g
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.01g
CaCl_2	0.10g
Petone	1.00g
Yeast extract	1.00g
synthetic stone extract	25mℓ
Glucose	5.00g
Na_2CO_3	0.50g
Agar	15.00g
증류수	965mℓ
Cycloheximide	10mℓ

③ CzD 배지

NaNO ₃	3.00g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.50g
KCl	0.50g
K ₂ HPO ₄	1.00g
Glucose	30.00g
FeSO ₄	0.01g
Agar	15.00g
증류수	990mℓ
streptomycin	10mℓ

그리고 각각 분리된 미생물을 보관하기 위해 사면(Slant)배지³⁵⁾를 만들었다.

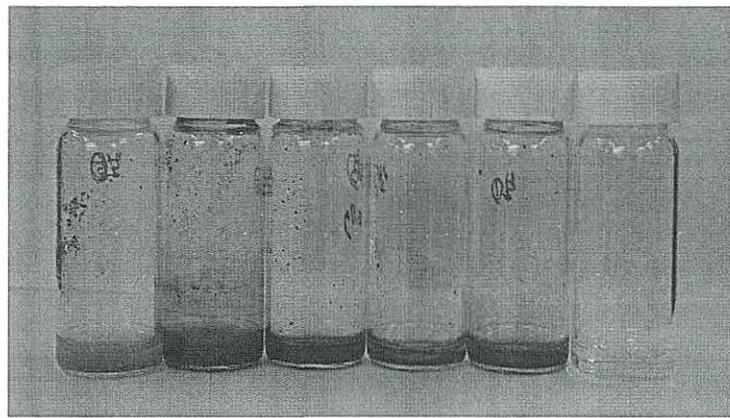
3) 시료의 접종과 배양

채취한 시료는 막자사발을 이용하여 가루로 준비하였으며, 일정량의 멀균한 생리식염수(NaCl 0.9%)에 넣고, 진탕배양기(Shaking incubator: SI-300RF, 한국, Kastech)에서 1시간 정도 시료를 섞어 주었다. <그림 5>에서 혼합된 시료액과 시료에 따른 색의 차이를 확인할 수 있다. 준비된 배지에 시료 혼합액 50μl씩을 넣고 곤라디봉(유리봉)을 이용하여 분산 평판법(Spread plate)³⁶⁾으로 접종하였고 <그림 6>, 실험의 정확성을 기하기 위하여 동일한 배지 3개씩을 이용하였다. 접종한 배지는 최소 2주 동안 상온에서 배양하였고, 미생물 군집의 숫자, 형태, 색변화 등을 관찰하여 미생물을 분리하였다.

35) 주30), 위의 논문, p22.

사면배지 : 균주의 보존, 배양, 이동을 목적으로 제조한 배지.

36) 페트리접시에 미리 만들어놓은 고체배지에 균주를 한방울 떨어뜨린 다음 유리봉으로 배지위에 골고루 도말(smearing)해주는 방법.



<그림 5> 혼합된 시료액



<그림 6> 시료의 접종

4) 곰팡이의 순수 분리와 특성조사

(1) 곰팡이의 순수 분리

분리된 미생물로부터 본 실험을 위하여 Bromfield 배지에서 생장하는 곰팡이만을 선택하여 순수분리하였다. 순수분리는 다양한 미생물이 시료를 배양한 페트리접시에 섞여있기 때문에 실험대상 미생물만을 분리하기 위한 것이다.³⁷⁾ 분리된 곰팡이를 여러 차례 새로운 배지에 이식하여 다른 균이 완전히 배제된 순수한 균만을 선별하는 과정으로 모든 단계의 실험을 진행하기 전에 시행되어야 하는 중요한 과정이다. 본 실험에서는 곰팡이를 순수분리하기 위하여 앞에서 이용된 BF와 BM 고체평판배지를 사용하였고, 순수분리가 끝난 곰팡이는 사면배지에 이식하여 보관하였다.

(2) 곰팡이의 동정

순수 분리된 곰팡이의 형태와 특징을 알아보기 위해 프레파라트를 만든다. 슬라이드글라스 위에 파란색을 띠는 Lactophenol cotton blue solution³⁸⁾ 용액을 떨어뜨리고 그 위에 곰팡이를 일부 핀이나 핀셋으로 떼어 놓은 다음 엉켜있는 균사를 잘 풀어준 후 커버글라스를 덮어준다. 곰팡이를 염색한 프레파라트는 광학현미경(Leica DFC 280, 독일, Leica,)으로 관찰하였다. 현미경으로 관찰한 곰팡이는 문헌³⁹⁾⁴⁰⁾과 비교해가면서 동정하였다.

37) 주17), 위의 책.

38) Lactophenol cotton blue solution:

Phenol crystal 20g, lactic acid 20g, glycerol 40g, aniline blue 0.05g, H₂O 20mℓ

39) ROBERT A. SAMSON 외, 『INTRODUCTION TO FOOD-BORNE FUNGI』, Tientraalbureau voor Schimmelcultures, The Netherlands, 1981.

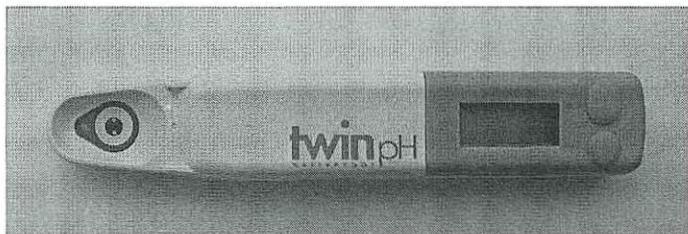
40) 정가진, 『미생물도감』, 서울대학교 미생물연구소, 2005.

(3) 곰팡이의 생장특성조사

순수분리된 곰팡이의 생장특성을 조사하기 위하여 BRII, CzD, BF, BM 네 가지 고체평판배지에 곰팡이를 접종하고, 배양하면서 각각의 배지 상에 나타나는 곰팡이의 형태와 색, 콜로니의 크기, 생장속도 등을 비교하였다. 이를 통하여 배지 조성에 따른 곰팡이의 생장 특성을 살펴보고자 하였다.

(4) 곰팡이의 대사산물 조사

분리된 곰팡이가 철제유물 부식의 원인이 되는 산을 분비하는지 알아보기 하였다. 먼저 CzD 액체배지가 들어 있는 시험관에 일정량의 곰팡이 배양액을 접종하였고, 27°C의 진탕배양기에서 100rpm(rates per minutes)의 속도로 배양하면서 pH를 측정하였다. 이 과정을 통하여 곰팡이가 산을 분비하는지, 혹은 염기성 물질을 분비하는지 살펴보고, pH의 변화 정도를 확인하고자 하였다. pH의 측정은 <그림 7>의 휴대용 pH 미터(Twin pH B-212, 일본, Horiba)를 사용하였다.



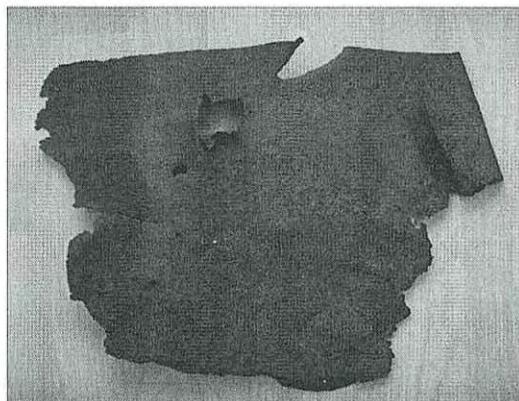
<그림 7> pH 미터

5) 곰팡이에 의한 철제시편의 부식

(1) 철제시편의 제작

분리된 곰팡이가 철제유물을 부식시킬 수 있는지 확인하기 위하여 두께 0.2cm 정도인 <그림 8>의 철판을 금속절단기를 이용하여 3cm×3cm의 크기로 준비하였다<그림 9>.

이후 철제시편은 표면의 이물질을 정밀가공분사기(Air Brasive)를 이용해서 제거하고 알코올과 아세톤⁴¹⁾으로 세척을 해주었다. 세척하는 작업은 표면에 남아있는 유리가루를 제거하는 것과 동시에 멸균을 하는 작업이다. 철제시편에 곰팡이를 접종하는 작업에서 가장 중요한 것이 멸균하는 것으로 시편에 다른 미생물이 살고 있을 가능성이 있기 때문에 균을 없애는 작업을 해야 한다. 멸균된 철제시편은 열풍건조기에서 1시간 동안 건조하였다.



<그림 8> 절단 전의 철판



<그림 9> 준비된 철제시편

41) 鄭歡敎 외, 「조선용 C-Mn 강의 제조방법에 따른 미생물 부식 특성 연구」, 『대한금속·재료학회지』 Vol.40, No.6, 2002.

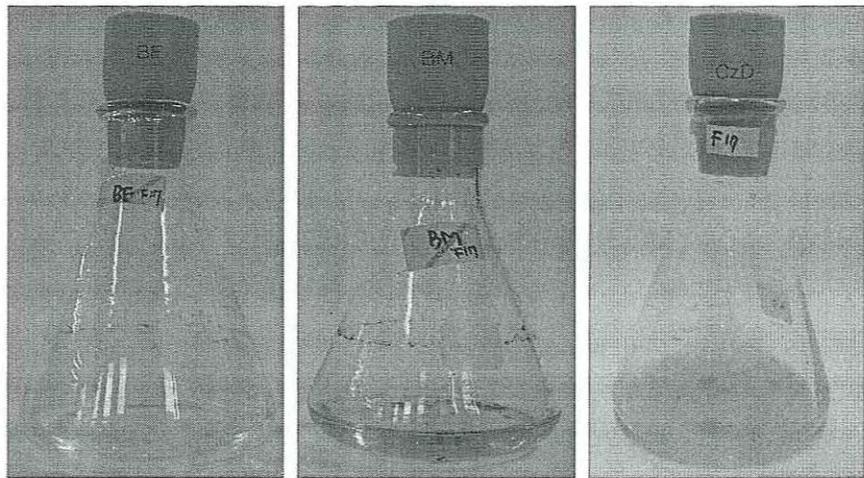
(2) 곰팡이의 접종과 배양

순수분리된 곰팡이 종에서 각 시료마다 자주 출현한 12종을 선별하여 BF, BM, CzD 액체배지에 접종하고 27°C의 진탕배양기에서 100rpm의 속도로 2주간 배양하였다. <그림 10>의 배양액을 앞에서 준비한 철판 위에 접종하고, 인공풍화기(Temp & Humidity Chamber TH-100, 한국, 한영과학 社)에서 배양하였다.

철제시편은 곰팡이를 접종하기 전·후의 무게를 측정하였고 곰팡이가 생장할 수 있는 환경을 조성하기 위하여 인공풍화기 내에서 배양하였다. 인공풍화 내 배양 실험은 실제 자연환경에서의 매우 느린 속도와 복합적인 요인에 의해 발생하는 부식현상을 연구하기 위해 인위적으로 온·습도를 변경하여 진행하는 실험으로 강우를 대신하기 위하여 증류수를 분무하였다. 이것은 자연환경보다 더 강한 손상조건을 설정하여 손상시간을 단축시켜 배양하는 실험방법이다.

표 2)에 나타낸 바와 같이 인공풍화 프로그램의 1주기는 24시간이며, 8 구간으로 구분되어 상승·유지·하강 구간이 반복된다. 상승구간과 하강구간은 현재 온도에서 입력된 온도에 도달할 때까지 온도가 상승 또는 하강하는 구간이며, 유지구간은 도달한 온도를 유지시키는 구간이다.⁴²⁾⁴³⁾

-
- 42) 공주대학교, 『석조문화재 손상 메커니즘 및 평가기술 개발』 연구보고서, pp300~301, 2007.
 - 43) 김다람, 「탈크 함량에 따른 석조문화재 보존처리용 에폭시수지(L-30)의 내구성 연구」, 경주대학교 대학원 석사학위논문, 2008.
 - : 자연환경과 비슷한 조건을 갖추기 위하여 2006년 포항지역 기상관측 자료를 기준으로 편성된 인공풍화 프로그램을 응용하였다.



<그림 10> F17의 BF, BM, CzD 배양액

표 2) 온·습도에 의한 인공풍화 운용프로그램

	Seg 1	Seg 2	Seg 3	Seg 4	Seg 5	Seg 6	Seg 7	Seg 8
구간특성	상승	유지	상승	유지	하강	유지	하강	유지
온도(°C)	25	25	30	30	25	25	-3	-3
습도(%)	70	70	90	90	70	70	0	0
동작시간	2	4	2	4	2	4	2	4
시작시점	22:00	0:00	4:00	6:00	10:00	12:00	16:00	18:00
강우시점				9:30			17:30	

(3) 곰팡이에 의한 철제시편의 부식 관찰

철제시편에 곰팡이를 접종 한 후 배양하면서 2주마다 5회 철제시편의 중량변화를 측정하였고, 실체현미경을 이용하여 철제시편 표면에 나타나고 있는 변화를 관찰하였다.

① 중량 변화 측정

접종 후 2주마다 곰팡이의 생장에 따른 철제시편의 중량변화는 전자저울(max: 250g; PW 254, aeADAM, UK)을 이용하여 측정하였다. 중량의 증감을 통하여 곰팡이에 의한 부식량을 측정⁴⁴⁾⁴⁵⁾할 수 있다.

② 표면 변화 관찰

육안관찰 즉 육안으로 보이는 부분은 사진촬영을 하고, 실체현미경(Dino-lite Digital Microscope pro, Taiwan, RoHS)을 이용하여 철제시편의 표면에 나타난 곰팡이의 생장 변화는 배율을 조절하여 2주마다 관찰하였다. 철제시편에서의 곰팡이 생장 정도와 부식의 형태 등을 알기 위하여 금속현미경(Leica DM2500M, 독일, Leica,)을 이용하여 철제시편의 표면을 관찰하였다.⁴⁶⁾⁴⁷⁾

44) 임우조 외, 『부식과 방식』, 원창출판사, p420, 2000.

45) http://www.paints.or.kr/menu05_4/view.php?no=11&cate=&keyword=&page=3.

46) 이선엽, 전경수, 고영태, 「지하매설 구조물의 부식과 방식-Ⅱ, 미생물에 의한 부식-」, 『한국부식학회지』 Vol. 26, 1997.

47) 文化財虫害研究所, 『文化財の 忠菌害と 保存對策』, pp.74~75, 1987.

IV. 연구결과 및 고찰

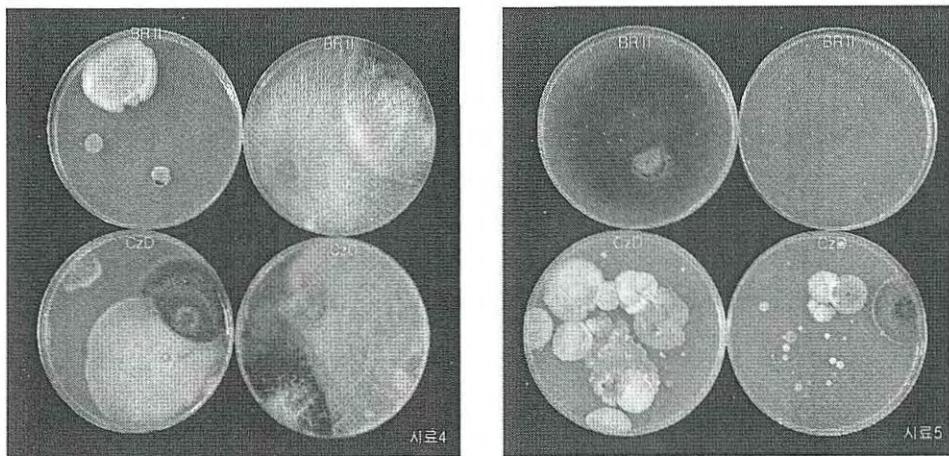
1) 시료로부터 미생물의 분리

약 2주간의 배양 후에 보림사철조비로자나불좌상의 시료에서 세균은 6주, 곰팡이는 3주가 분리되었다. <그림 11>에서 시료에 따른 미생물의 분리결과를 확인할 수 있다. 경의선장단역증기기관차의 시료에서는 접종 2주일 후 세균이 7주, 곰팡이 17주가 분리되었으나, 생장이 더딘 균의 분리를 위하여 1주일 더 배양하였고 그 결과 세균은 10주, 곰팡이는 34주가 분리되었다<그림 12>. 보림사비로자나불좌상의 채취한 시료량이 0.1g 이하로 미생물의 종류가 많이 분리되지 않았다. 그래서 경의선장단역증기 기관차 시료의 경우 양이 적을 경우 0.1~0.5g까지 넣어서 접종을 하였다. 시료량과 상관없이 일괄적으로 군집의 양이 너무 많거나 경계가 뚜렷하지 않아서 콜로니 수를 세는 것은 불가능하였고, 미생물의 순수분리도 불가능하였다. 따라서 동일 시료를 10배로 희석하고 동일한 배양방법으로 2차 배양을 실시하였다. 2차 배양 후에 10배로 희석했음에도 불구하고 콜로니 숫자를 세는 것은 불가능하였다. 콜로니 수는 사진을 참고하여 육안으로 대략적인 수를 확인 할 수 있다. 이것으로 보아 시료의 양과 미생물이 분리되는 수는 비례하지 않음을 알 수 있다.

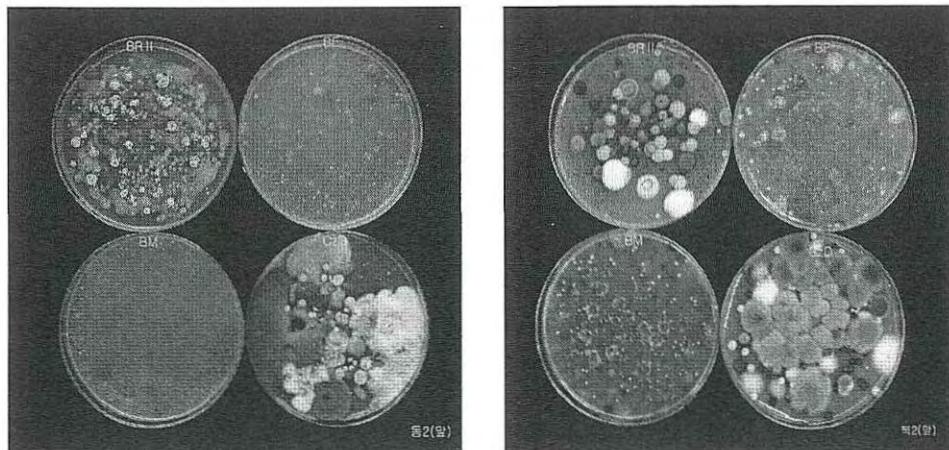
분리된 곰팡이는 BF, BM 고체평판배지에 균을 이식하여 순수 분리하였다. 순수 분리과정은 8~10주일 이상 소요되었으며, 수시로 균을 확인하여 새 배지로 이식하여야만 했다. 그 과정 중에서 배양조건이 맞지 않아서인지 순수분리에 실패한 곰팡이도 몇 종 있었다.

최종적으로 철제유물의 부식 가능성이 있는 곰팡이는 보림사철조비로자나불좌상 시료에서 3주<그림 13>, 경의선장단역증기기관차 시료에서는 14주<그림 14>가 순수분리 되었다.

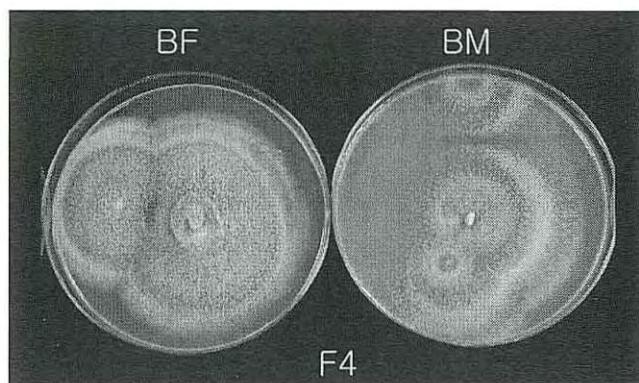
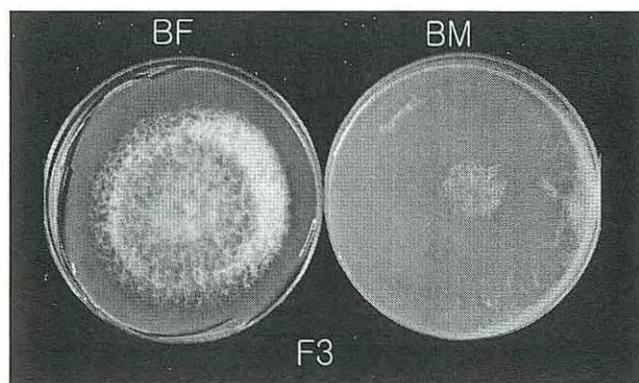
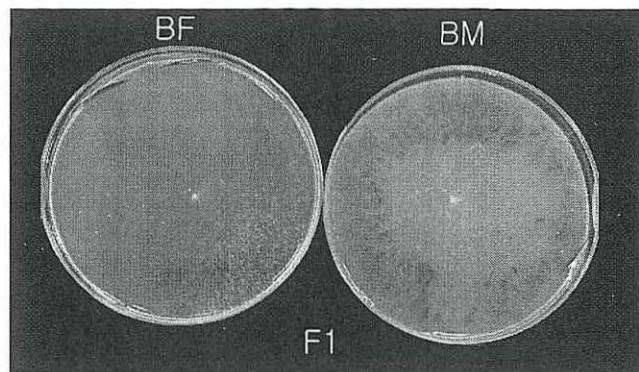
표 3)에 본 실험을 위하여 최종적으로 순수분리 된 곰팡이를 나타내었다. 배지 상에서의 생장형태와 콜로니 색의 관찰을 통하여 보림사철조비로자나불좌상 시료에서 분리된 곰팡이 3주 모두가 경의선장단역증기기관차에서 분리된 곰팡이 중 3주와 동일하다는 추측을 하게 되었다.



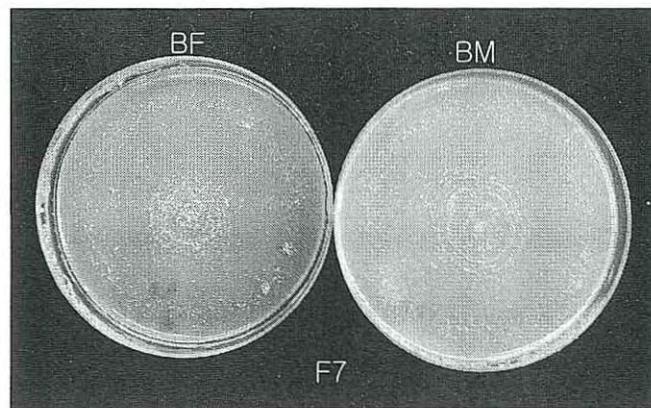
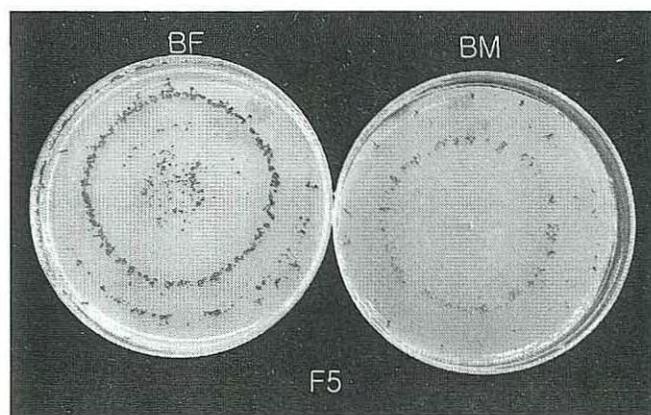
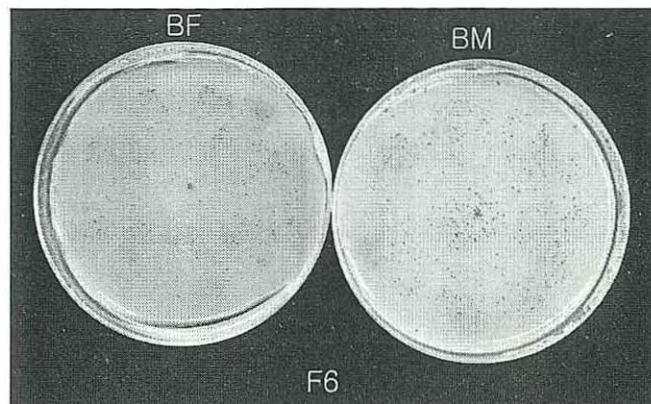
<그림11> 보림사 철조비로자나불좌상 시료에서 분리된 미생물



<그림12> 경의선장단역증기기관차 시료에서 분리된 미생물



<그림 13> 보림사철조비로자나불좌상에서 순수분리된 곰팡이



<그림 14> 경의선장단역증기기관차에서 순수분리된 곰팡이

표 3) 시료로부터 순수분리된 곰팡이의 생장특징

분리주		BF, BM배지 상에서의 생장특징	
		색깔	형태
보림사	F1	갈색	형태가 일정하지 않고 배지내부로 자람. 하얀 균사가 덮혀 있음.
	F3	보라색	배지 내부로 자람, 하얀 균사가 덮혀 있음.
	F4	옅은 풀색	원형으로 자라고, 포자가 가루형태.
장단역	F1	풀색	원형이고 배지내부로 자람.
	F2	옅은 풀색	원형으로 자라고, 포자가 가루형태.
	F4	옅은 풀색	배지 내부로 자람.
	F5	녹색	페트리접시 가장자리로 나이테처럼 자람.
	F6	짙은 녹색	직경 1mm정도의 원형이 여러 개 모여 있음.
	F7	노란색	형태가 일정하지 않고, 포자가 가루형태.
	F10	보라색	배지 내부로 자람, 하얀 균사가 덮혀 있음.
	F11	회녹색	포자가 가루형태.
	F15	옅은 갈풀색	내부로 자라고, 콜로니 가장자리로 갈풀색의 색소가 있음.
	F16	보라색	배지 내부로 자람, 하얀 균사가 덮혀 있음.
	F17	갈색	형태가 일정하지 않고 배지내부로 자람. 하얀 균사가 덮혀 있음.
	F24	하얀색	형태가 일정하지 않고 포자가 가루형태.
	F25	하얀, 검정	하얀 균사에 검정 원형이 여러 개 있음.
	F27	분홍색	형태가 일정하지 않고, 포자가 가루형태.

2) 순수분리 된 곰팡이의 동정과 특성조사

(1) 곰팡이의 동정

순수분리 된 곰팡이 17주를 aniline blue가 첨가된 Lactophenol cotton blue solution으로 염색하여 현미경으로 관찰하였다. 대부분 균사와 포자가 염색이 되어 파란색으로 보이나 균사와 포자의 색이 짙은 경우 염색이 되지 않아 파란색을 띠지 않는다. 현미경 관찰을 통하여 보림사철 조비로자나불좌상에서 분리된 곰팡이 3주는 경의선장단역증기기관차에서 분리된 F2, F16, F17과 동일한 곰팡이로 동정이 되었다.

동일한 곰팡이를 제외한 총 14주의 곰팡이는 *Cladosporium* sp. 01 3종, *Penicillium* sp. 3종, *Chaetomium* sp. 2종, *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp.으로 동정이 되었고 미동정된 곰팡이는 4종이다. 다음의 표 4)는 실험에 사용된 곰팡이가 고체평판배지에서의 생장과 현미경 ($\times 400$) 하에서의 모습을 나타내었다.

표 4) 고체평판배지 상에서의 곰팡이의 생장과 현미경 관찰 1.

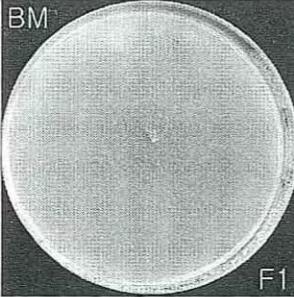
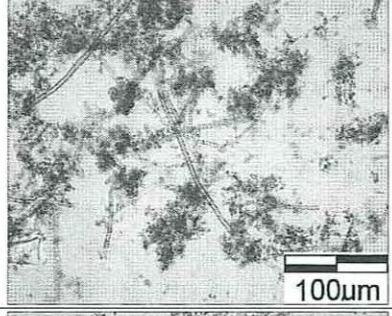
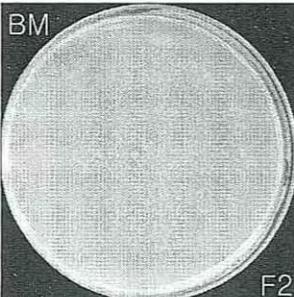
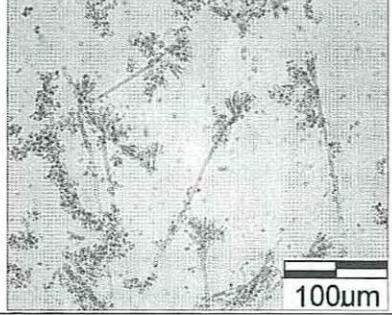
고체평판배지 상에서의 곰팡이의 생장			
F1 <i>Cladosporium</i> sp.			100um
F2 <i>Penicillium</i> sp.			100um

표 4) 고체평판배지 상에서의 곰팡이의 생장과 현미경 관찰 2.

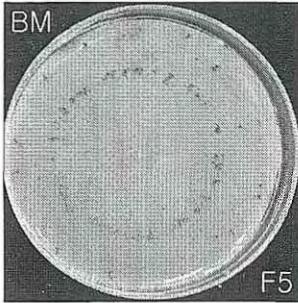
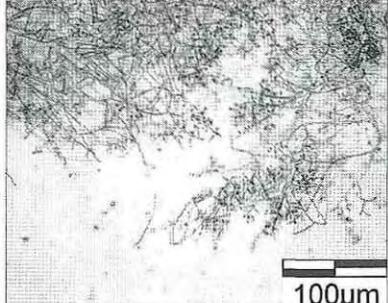
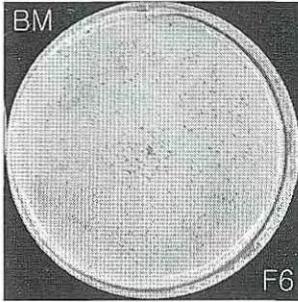
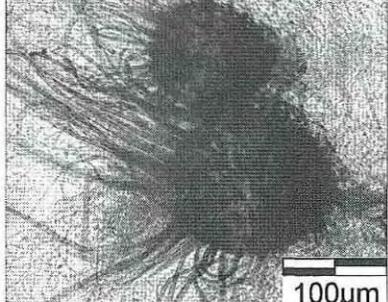
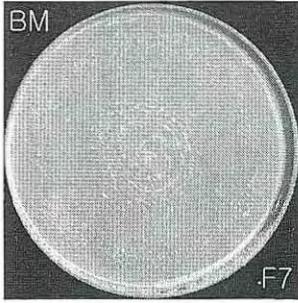
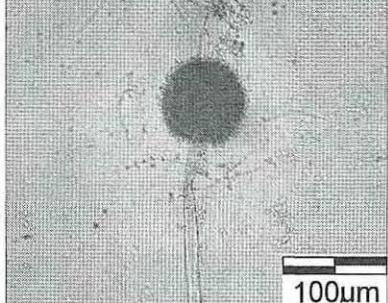
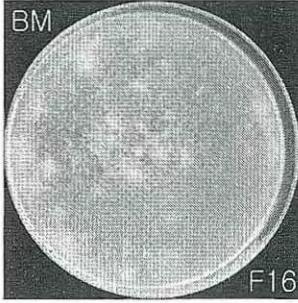
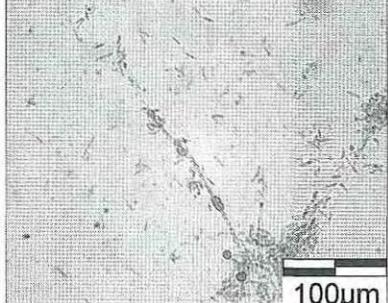
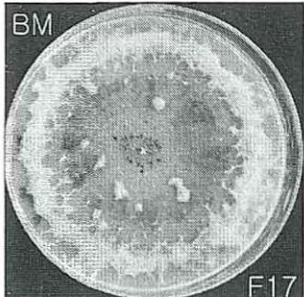
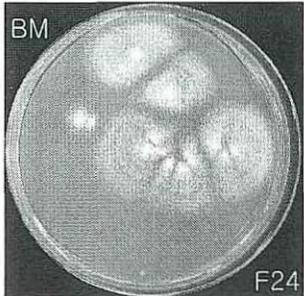
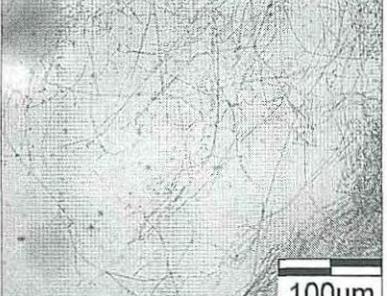
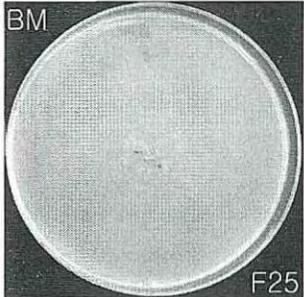
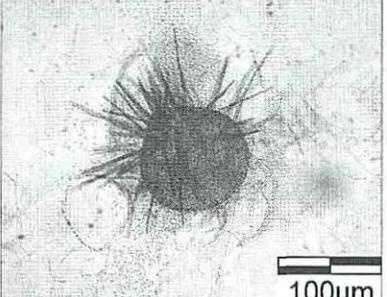
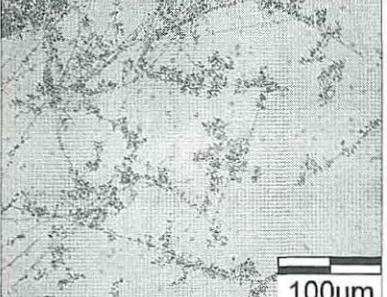
고체평판배지 상에서의 곰팡이의 생장	
F5 <i>Trichoderma</i> <i>sp.</i>	<p>BM</p>  <p>F5</p>
	 <p>100µm</p>
F6 <i>Chaetomium</i> <i>sp.</i>	<p>BM</p>  <p>F6</p>
	 <p>100µm</p>
F7 <i>Aspergillus</i> <i>sp.</i>	<p>BM</p>  <p>F7</p>
	 <p>100µm</p>
F16 미동정	<p>BM</p>  <p>F16</p>
	 <p>100µm</p>

표 4) 고체평판배지 상에서의 곰팡이의 생장과 현미경 관찰 3.

고체평판배지 상에서의 곰팡이의 생장	
F17 미동정	 
F24 미동정	 
F25 <i>Chaetomium</i> <i>sp.</i>	 
F27 미동정	 

(2) 곰팡이의 생장특성조사

실험 곰팡이 14주를 BF, BM, BR II와 CzD 고체평판배지에 접종하고 배양하면서 배지 조성에 따른 각 곰팡이 콜로니의 형태 변화와 생장특성을 살펴보았다(표 5).

그 결과 BF과 BM 배지에서는 BR II와 CzD 배지에서보다 곰팡이의 생장속도가 느렸으며 콜로니의 크기도 작았고, 각각의 배지마다 콜로니 색상의 차이를 나타냈다.

곰팡이 F17의 경우 콜로니의 형태는 원형이고 다른 3가지 배지에서는 콜로니의 색이 하얀색인 반면, 망간이 함유된 BM 배지에서는 균사는 베이지색을 띠지만 곰팡이가 생장한 부분에서만 배지의 색이 갈색으로 변색되었다. 또한 철이 포함된 BF 배지에서는 이 곰팡이의 생장은 매우 미약하며, 배지의 변색은 나타나지 않았다.

곰팡이 F24와 F5는 4가지의 배지에서 생장속도와 콜로니의 크기는 달랐으나, 배지 조성에 따른 변색은 관찰되지 않았다. *Trichoderma*로 동정된 F5는 4가지 배지 모두에서 다른 곰팡이에 비해 생장속도가 빨랐다. 반면 F6과 F25는 다른 곰팡이보다 생장하는 속도가 매우 느려서, 비슷한 생장 정도를 관찰하기 위하여 다른 곰팡이보다 2주 정도 긴 배양시간이 요구되었다. F2와 F27은 콜로니의 크기가 작으며 여러 개의 콜로니가 자란다.

표 5) 배지 조성에 따른 곰팡이의 생장 변화 양상 1.

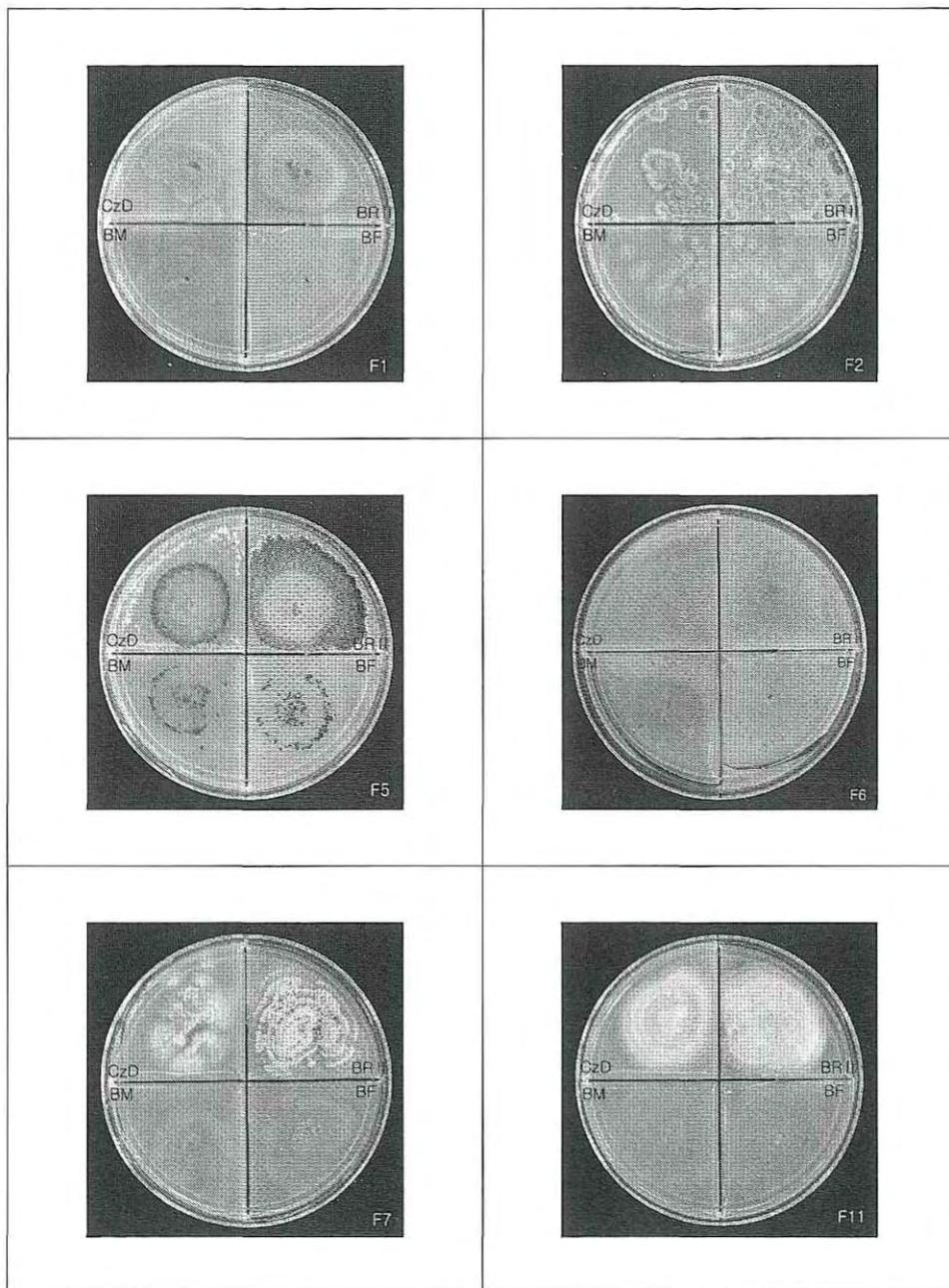
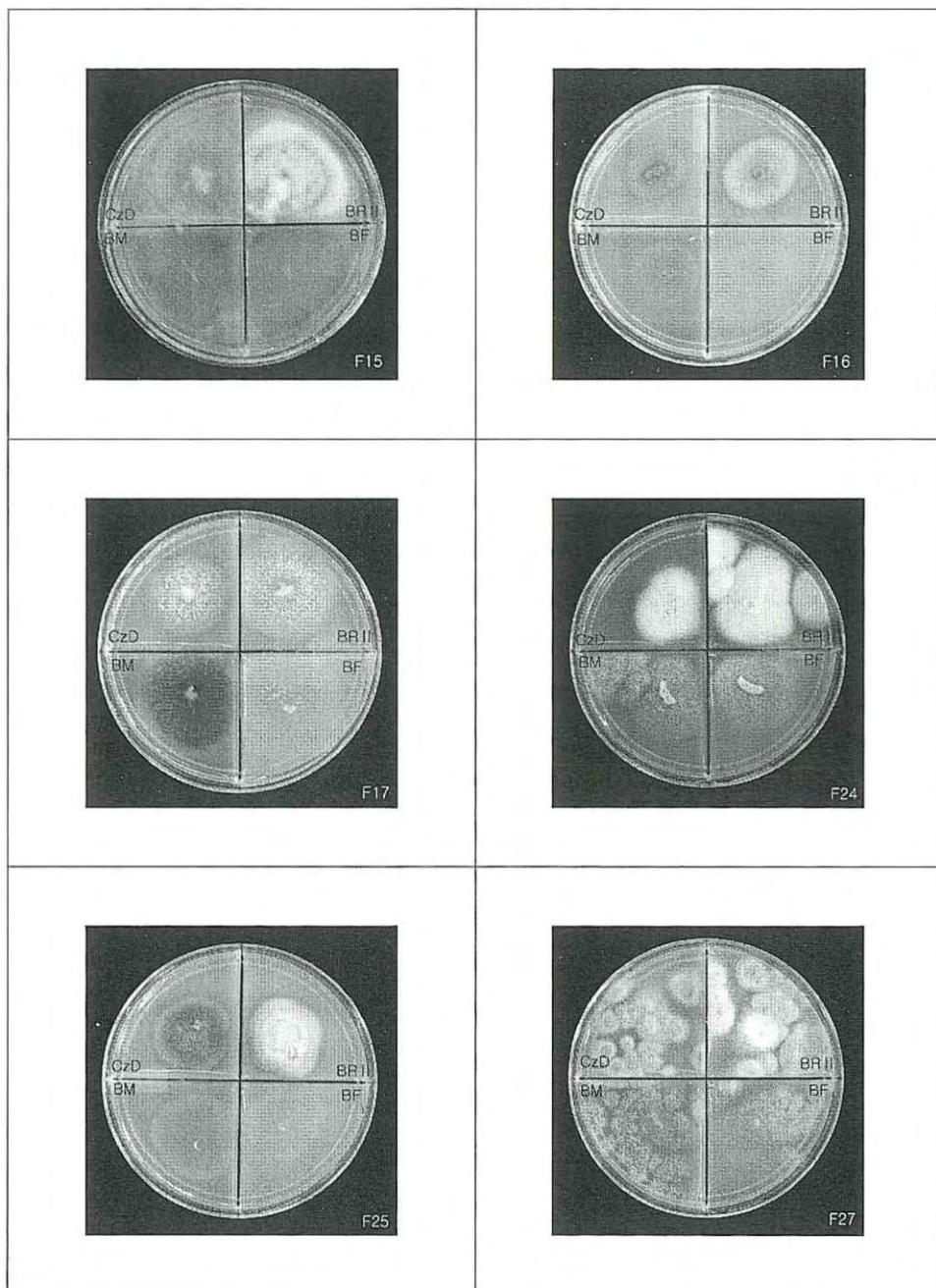


표 5) 배지 조성에 따른 곰팡이의 생장 변화 양상 2.



(3) 곰팡이의 대사산물 조사

순수분리된 곰팡이를 액체배지에 접종하고 배양하면서 생장과정 중에 산이나 염기성 물질이 분비되는지 조사하였고, 이는 배지의 pH 변화로 판단하였다.

접종하지 않은 배양액(CzD)의 pH는 6.7로 약산성을 띠었다. 총 9주를 선별해서 10일 동안 3번의 pH 변화를 관찰하였는데, 9종류 중 3종류가 pH의 변화 pH10이상이였다. <그림 15>는 곰팡이 3종류의 pH변화를 나타낸 것이다. F1의 경우 배양액과 비교를 했을 때 3일 후에는 변화가 없었고 10일 후에 pH가 떨어지긴 했지만 다른 곰팡이에 비해 거의 변화가 없었다. 그러나 F27 곰팡이는 3일 후에는 pH가 6.0로 변화가 적었으나 10일 배양 후 4.3으로 떨어졌다. 배양액과 비교를 했을 때 pH가 2.4 정도 떨어졌다. pH4.3의 범위는 약산이고 이것은 곰팡이에 의해 생성된 것으로 유기산⁴⁸⁾(有機酸: organic acid)으로 판단된다.

또한 pH가 낮은 것이 유기산인지 알아보기 위해 이온크로마토그래피 (ICS-1000:컬럼 AS14, Dionex, USA)로 분석을 하였다. pH를 측정했던 9종류의 배양액을 10배 희석하여 사용하였다.

9종류 중에 5종류에서 유기산 피크로 확인되는 F^- 과 Cl^- 피크 사이에 다른 피크가 떴다. F27의 경우 pH 변화가 컸는데 이온크로마토그래피로 분석한 자료 중에서 유기산 피크가 가장 많이 측정되었다.<그림 16> 컬럼(AS14)이 유기산을 분석하는 것이 아니라서 Cl^- 피크에 불어서 뜨고 어떤 유기산인지 알 수 없지만, 유기산인 것만은 분명한 사실이다.⁴⁹⁾

이로써 pH측정과 이온크로마토그래피 분석의 결과로 보았을 때 곰팡이는 유기산을 생성하는 것을 확인 할 수 있었다. 곰팡이에 의해 생성되는 유기산은 금속의 부식을 가속화시킨다⁵⁰⁾는 기록을 확인하였고, 오랜 기간

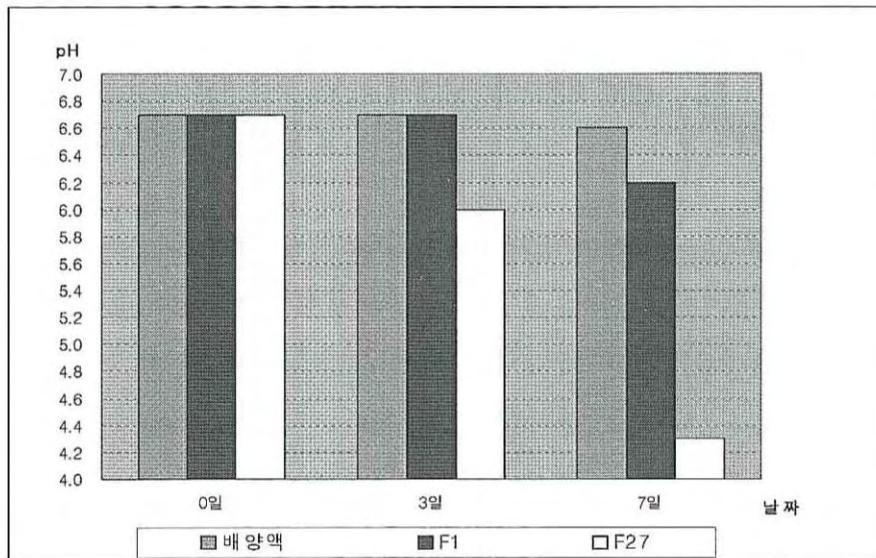
48) Jones, Denny A, 이의호, 『부식과 방식의 원리』, 서울 : 東和技術, pp. 486~487, 1999.

유기산은 수용액에서 미세한 양만 해리되어 H^+ 이온으로 용해되기 때문에 약산(弱酸)으로 분류되고 있다.

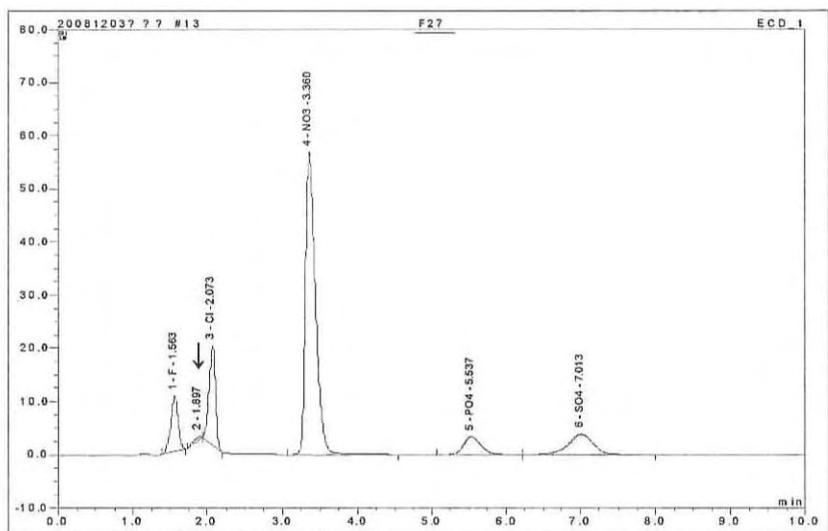
49) 다이오넥스, 『PRODUCT MANUAL: IONPAC[®] AS14 ANALYTICAL COLUMN』, 2003.

50) 이선엽, 전경수, 고영태, 「지하매설 구조물의 부식과 방식-II, 미생물에 의한 부식-」, 『한국부식학회지』 Vol. 26, 1997.

동안 약산의 상태로 곰팡이가 자라면서 철제시편의 부식에 영향을 줄 것으로 생각된다.



<그림 15> 곰팡이에 의한 배양액의 pH 변화



<그림 16> 곰팡이에 의한 배양액의 유기산 생성 측정

3) 곰팡이에 의한 철제시편의 부식

준비된 철제시편에 실험 곰팡이를 접종 한 후 인공풍화기에 넣고 배양하면서 시편 표면에 나타난 변화를 관찰하였다. 시편은 곰팡이의 생장을 확인하기 위하여 중량의 변화를 측정하였고, 실체현미경을 이용하여 표면을 관찰하였다.

(1) 중량변화 측정

곰팡이를 접종한 철제시편의 중량 변화를 2주 간격으로 5회 측정함으로써 철제시편의 부식을 확인하고자 하였다.

표 6)은 액체배지에서 배양한 곰팡이를 철제시편에 접종한 후 2주 간격으로 중량 변화를 측정한 결과이다. 대조군과 비교했을 때 2주 후에는 접종한 배양액의 증발로 인해 중량의 변화를 알 수 없다. 4주 후에는 2주 째 보다 1% 중량이 증가되었고, 6주 후에는 1~5% 정도가 증가되었다. 대조군보다 곰팡이를 접종한 시편의 중량 증가율이 크다. 6주 이후에는 중량의 변화가 거의 없었다.

(2) 표면 변화 관찰

곰팡이를 접종한 철제시편 표면에 나타난 변화를 알아보기 위하여 2주마다 5회 관찰하였다. 이를 위하여 먼저 육안으로 관찰하였고, 실체현미경을 이용하여 200배까지 확대하면서 관찰하였다. 표7)에서 곰팡이의 생장으로 인하여 철제시편 표면에 나타난 변화를 육안관찰과 실체현미경 관찰을 나타내었다.

접종 2주후 몇몇의 곰팡이의 생장이 확인되었으나, 나머지 곰팡이의 경우 대부분 건조된 상태여서 육안으로는 곰팡이의 생장 여부를 확인 할 수 없었다. 실체현미경을 통한 관찰 결과도 접종 2주후에는 큰 변화를 관찰 할 수 없었다. 단지 접종한 부분에만 색깔이 나타나고 균사가 자라고 있

었다. 실험 4주 이후에 몇 곰팡이의 경우 철제시편 표면에서 곰팡이의 색을 확인할 수 있었다. 특히 곰팡이 F7은 균사뿐만 아니라 포자도 육안으로 확인이 가능할 정도로 생장하였다. 또한 F6, F11, F24곰팡이가 생장한 부위에서는 갈색 물방울이 맺혔다. 6주에서 10주까지 살펴본 결과 철제시편에 곰팡이의 균사가 더 확대되어 자랐다.

10주에는 곰팡이의 표면을 금속현미경을 통해 관찰하였다.<그림15, 16> 관찰한 결과 대부분의 곰팡이는 실체현미경으로 관찰한 것과 같이 철제시편에서 잘 자라고 있었고 균사가 철제시편을 덮고 있는 것이 관찰되었다. 특히 철제시편에 접종시킨 곰팡이 F11과 F24는 육안 관찰을 했을 때에도 곰팡이 위에 부식생성을 확인되었다. 금속현미경으로 관찰한 결과 붉은 색의 부식생성물과 갈색물방울이 곰팡이를 뚫고 생성되었으며 부식생성물을 곰팡이의 균사가 덮고 있다. F24의 경우, 표면 관찰시 2주마다 곰팡이가 생장한 부위에서 갈색방울이 증가하는 것이 확인되었다.

곰팡이 위에 생성된 붉은 색 부식생성물과 갈색물방울이 곰팡이가 부식을 일으킨 것인지 아니면 자라고 있는 환경의 수분에 의한 것인지는 정확히 알 수 없다. 곰팡이가 생장을 할 때 수분이 필요하고 철편의 부식에 수분이 영향을 주기 때문이다.

표 6) 곰팡이의 생장에 따른 철제시편의 표면변화 1.

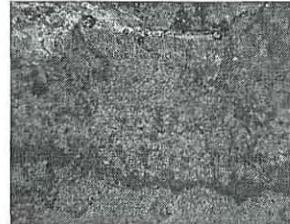
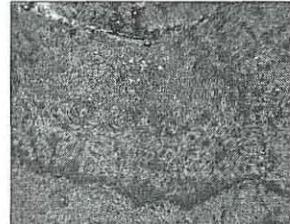
접종 균주	F1 <i>Cladosporium sp.</i>	F2 <i>Penicillium</i>
2주 후		
4주 후		
10주 후		

표 6) 콩팡이의 생장에 따른 철제시편의 표면변화 2.

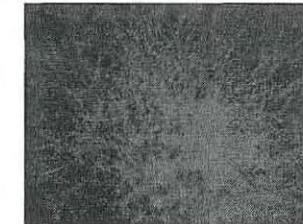
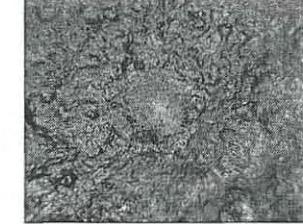
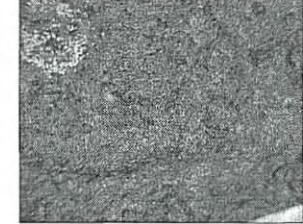
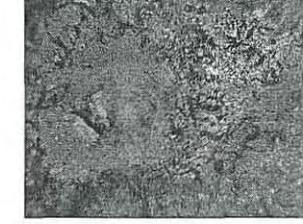
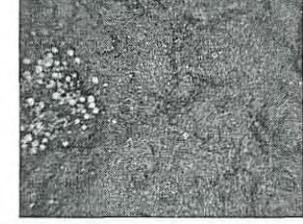
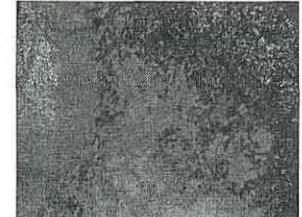
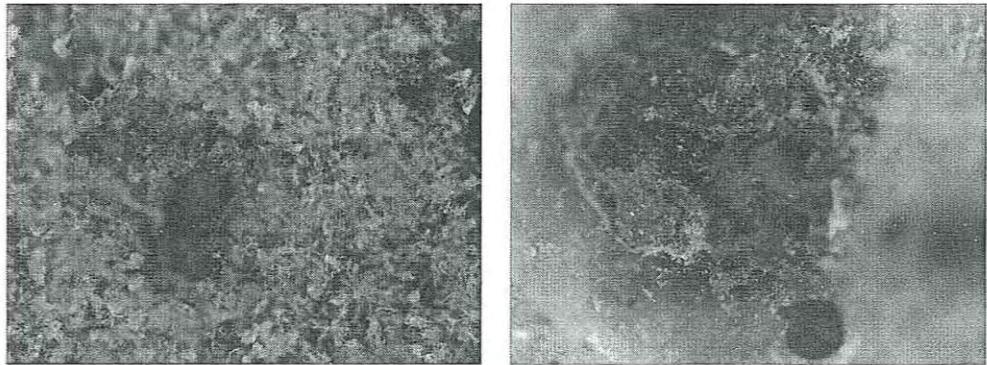
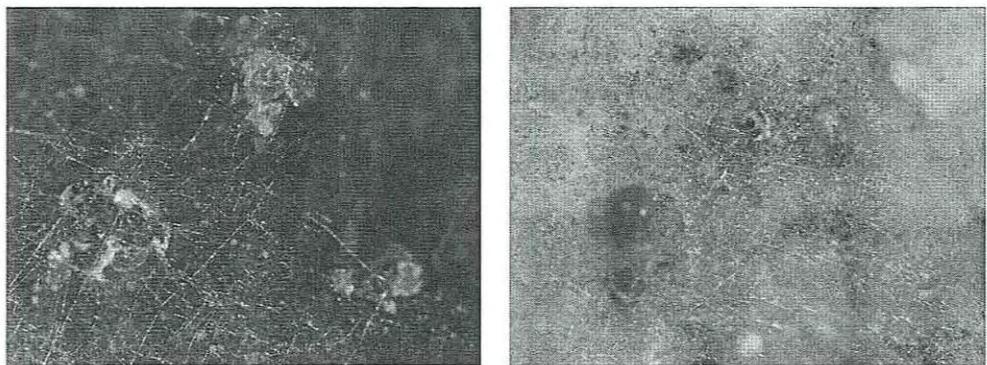
접종 균주	F5 <i>Trichoderma</i>		F7 <i>Aspergillus</i> sp.	
2주 후				
4주 후				
10주 후				

표 6) 곰팡이의 생장에 따른 철제시편의 표면변화 3.

접종 균주	F17 미동정		F24 미동정	
2주 후				
4주 후				
10주 후				



<그림17> F11을 접종한 철제시편에 생성된 부식물(A: 곰팡이 위의 붉은 부식물($\times 50$), B: 곰팡이를 들어 올린 표면의 부식층($\times 50$))



<그림18> F24를 접종한 철제시편에 생성된 부식물(A: 붉은 부식층과 갈색물방울을 덮고 있는 곰팡이 균사($\times 50$), B: 곰팡이 위의 갈색물방울과 붉은 부식물($\times 50$))

IV. 결론

본 논문에서는 곰팡이가 철제문화재의 부식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 보림사철조비로자나불좌상과 경의선장단역증기기관차의 부식층과 녹 등에서 미생물을 분리하였고, 분리된 미생물 중에서 곰팡이를 중심으로 어떤 생장특성이 철제문화재의 부식에 영향을 주는지 살펴보았다. 실험결과를 통해 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1. 보림사철조비로자나불좌상과 경의선장단역증기기관차로부터 시료를 채취하였고 총 14주의 곰팡이를 순수분리하였다. 사실 보림사철조비로자나불좌상에서 3주, 경의선장단역증기기관차에서 14주가 분리되었으나, 보림사철조비로자나불좌상에서 분리된 3주는 경의선장단역증기기관차에서 분리된 곰팡이와 동일한 균주로 확인되었다. 분리된 곰팡이는 *Cladosporium sp.* 3종, *Penicillium sp.* 3종, *Chaetomium sp.* 2종, *Trichoderma sp.* 1종, *Aspergillus sp.* 1종으로 동정이 되었고, 4종이 아직 미동정의 상태이다. 2개의 전혀 다른 시료에서 동일한 곰팡이가 분리되는 것으로 보아 보존되어 있는 환경이 다르더라도 동일한 곰팡이가 철제문화재의 부식에 영향을 준다고 판단된다.
2. 분리된 곰팡이의 생장특성이 철제문화재의 부식에 영향을 주는지 알아보기 위해 곰팡이를 액체배지에 접종하고 배양한 결과 3종이 pH의 변화가 컸다. 그중에서 F27 곰팡이는 3일 후에는 pH가 6.0로 변화가 적었으나 10일 배양 후 4.3으로 떨어졌다. 배양액과 비교했을 때 pH가 2.4 정도 떨어졌다. 이온크로마토그래피분석에서도 유기산으로 보이는 피크가 떴다. pH측정과 이온크로마토그래피 분석의 결과로 보았을 때 곰팡이는 유기산을 생성하는 것을 확인 할 수 있었다. 오랜 기간 동안 약산의 상태로 곰팡이가 자라면서 철제시편의 부식에 영향을 줄 것으로 생각된다.

3. 순수분리된 곰팡이를 철제시편에 접종한 후 중량변화율을 측정하였다. 철제시편의 중량은 4주 후에는 2주째 보다 1% 중량이 증가되었고, 6주 후에는 1~5%가 증가되었다. 6주 후에는 중량의 변화가 거의 없었다. 또한 철제시편의 표면 변화를 관찰한 결과, 접종한지 4주만에 균사와 포자가 육안으로 확인될 만큼 곰팡이가 생장하였다. F6, F11과 F24는 곰팡이 위에 붉은색의 부식물과 갈색물방울이 생성되었다. 금속현미경으로 관찰한 결과 붉은 색의 부식생성물과 갈색물방울은 곰팡이를 뚫고 생성되었으며 곰팡이의 균사가 덮고 있다. 곰팡이의 생장부위에서 부식이 진행되는 것을 확인하였다. 그러나 곰팡이 위에 생성된 붉은 색 부식생성물과 갈색물방울이 곰팡이가 부식을 일으킨 것인지 아니면 자라고 있는 환경의 수분에 의한 것인지 정확히 알 수 없다.

기존에 발표된 몇 논문에서와 같이 곰팡이가 철재문화재를 부식시킨다는 것은 추론에만 불과하였는데 곰팡이의 생장 특징과 대사산물을 조사하는 기초적인 연구를 함으로써 부식생성에 영향을 줄 수 있는 가능성을 살펴볼 수 있었다. 그러나 곰팡이가 부식을 일으키는 것인지 부식의 진행에 도움을 주는 것인지에 대해서는 알 수 없다. 앞으로 곰팡이가 부식의 직접적인 원인이 되는지 부식을 촉진시키는 가에 대한 연구가 필요하다고 생각하고 철제시료에서 분리되는 세균과 방선균에 대한 연구도 필요하다.

참고문헌

국내문헌

【단행본】

- 문화재청, 『한국의 근대문화유산, 가려 뽑은 등록문화재 30선』, 문화재청 근대문화재과, 2004.
- 미생물학실험교제 편찬위원회, 『미생물학실험』, 월드 사이언스, p20, 2000.
- 오계현 외, 『미생물학 실험』, 신광문화사, 2000.
- 이도원 외, 『토양미생물학과 생화학』, 민음사, pp.365~375, 1996.
- 이만열 외, 『한국의 근대문화유산』 Vol.2, 문화재청 근대문화재과, 2007.
- 임우조 외, 『부식과 방식』, 원창출판사, 2000.
- 정가진, 『미생물도감』, 서울대학교 미생물연구소, 2005.
- 최인선, 김희태, 양기수, 『보림사』, 학연문화사, pp52~60, 2002.
- 최철호 외, 『토양미생물학』, 東和技術, 2005.
- 한국지질자원 연구원, 『난분해성금속광물의미생물침출기술개발연구』, 2001.
- 이오희, 『문화재 보존과학』, 서울 : 주류성, 2008.
- Jones, Denny A, 이의호, 『부식과 방식의 원리』, 서울 : 東和技術, 1999.

【학위 논문 및 학술지 논문】

- 기민희 외, 「철 산화 세균을 이용한 황철석의 생물학적 침출에 관한 연구」, 조선대학교: 환경공학부, 전남대학교: 생물화학공학부, 1997.
- 기민희, 「철 산화 세균을 이용한 황철석의 생물학적 침출에 관한 연구」, 조선대학교 환경보건대학원: 환경학과 환경학전공, 1997.

- 김다람, 「탈크 함량에 따른 석조문화재 보존처리용 에폭시수지(L-30)의 내구성 연구」, 경주대학교 대학원 석사학위논문, pp.32~33, 2008.
- 김명욱, 「토양에서 분리한 곰팡이에 의한 Cyclodextrin Glucanotransferase의 생산, 정제 및 활용」, 尚州大學校 產業大學院 : 食品科學 食品工學 專攻, 2000.
- 김민주, 「철산화세균 *Thiobacillus ferrooxidans*를 고정화한 생물반응기의 철 산화 및 황화수소 탈황특성연구」, 숭실대학교 대학원: 환경·화학공학과, 2001.
- 김영주, 「석조문화재 서식 곰팡이의 분리 및 특성연구」, 숙명여자대학교 교육대학원: 생물교육전공, 2003.
- 민경희, 「미생물이 문화재에 미치는 영향」, 『문화재보존과학 연수 교제』, 문화재연구소, pp. 249~262, 1993.
- 민심근, 이재형, 이재봉, 안병찬, 「침엽시킨 철기 유물 표면 위에 형성된 부식 생성물과 탈염처리에 대한 연구」, 『한국표면공학회지』 Vol.40 No.1, pp44~56, 2007.
- 朴勤賢, 「황산염 환원 박테리아에 의한 철강의 미생물 부식의 전기화학적 분석」, 한국해양대학교 대학원: 재료공학과 석사학위논문, 2002.
- 박대규, 「공장 냉각수시스템에 있어서 미생물에 의한 금속부식과 살균제 (NaOCl)의 효과」, 『RIST 研究論文』 第18 卷第4 號, 2004.
- 이선엽 외, 「지하매설 구조물의 부식과 방식-II, 미생물에 의한 부식-」, 『한국부식학회지』 Vol. 26, pp.321~333, 1997.
- 이인화 외, 「*Thiobacillus ferrooxidans*에 의한 $FeSO_4$ 산화에 관한 연구」, 『大韓 環境 工學 會誌』 Vol.20 No.6, 1998.
- 이인화 외, 「*Thiobacillus ferrooxidans*(ATCC 19859)와 분리균주 *Thiobacillus KY*에 의한 생물학적 침출에 따른 황철석의 표면 특성변화」, 『한국생물공학회지』 Vol.15 No.3, 2000.
- 이재익 외, 「미생물에 의한 금속부식」, 『한국부식학회지』 Vol.21 No. 1, pp.50~65, 1992.
- 전석준, 「형기성 미생물부식을 이용한 영양염류 제거에 관한 연구」, 연세대학교 대학원 : 토목공학과 박사학위논문, 1999.
- 전익환, 「출토 철제유물의 부식생성물 연구-포항 옥성리 고분군 출토 철

- 제유물을 중심으로-」, 용인대학교 예술대학원: 문화재보존학전공 석사학위논문, 2004.
- 정광용, 「금속 문화재의 보존관리」, 『문화재보존과학 연수 교재』, 문화재연구소, 2004.
- 정성록, 「철 산화 미생물을 이용한 $FeSO_4$ 산화에 관한 연구」, 조선대학교 대학원: 화학공학과 석사학위논문, 1998.
- 정영동, 「古代 金屬遺物의 科學的 保存處理 및 製作技法 考察」, 『금구 논총』 제9집, 2002.
- 鄭歡敎 외, 「조선용 C-Mn 강의 제조방법에 따른 미생물 부식 특성 연구」, 대한금속·재료학회지, Vol.40, No6, pp.667~677, 2002.
- 조경숙 외, 「부식된 하수관에서 분리한 곰팡이 OMSOf1의 황화수소 제거 특성」, 『한국환경생물학회』 Vol.15 No.2, 1997.
- 최문성 외, 「Bioreaching 에 사용되는 *Thiobacillus ferrooxidans* 의 철 산화 속도에 미치는 금속 이온의 영향」, 『한국생물공학회지』 Vol.16 No.1, 2001.
- 河銀河, 「近代文化遺產 京義線長湍驛蒸氣機關車의 保存에 관한 研究-文化遺產의 價值와 保存 方針을 中心으로」, 京畿大學校 傳統工藝大學院 碩士學位論文, 2007.
- 한성희 외, 「絲狀菌에 의한 紙類. 纖維質 遺物의 色變化」, 『보존과학 연구』 제17집, 문화재연구소, 1996.
- 한성희, 「문화재의 피해와 방제대책」, 『문화재보존과학 연수 교재』, 문화재연구소, pp. 171-187, 1992.
- 홍승완, 「미생물에 의한 부식」, 울산대학교 산업대학원: 환경공학전공 석사학위논문, 2007.

【보고서】

- 경주대학교 산업협력단, 『복원기술 및 재료 안정성 평가』, 문화재연구소, 2006.
- 공주대학교, 『석조문화재 손상 메커니즘 및 평가기술 개발』, 국립문화재연

- 구소, pp300~301, 2007.
- 순천대학교박물관, 가지산보림사, 『가지산 보림사-정밀지표조사-』, pp33~40, 1995.
- 전남장흥군, 한국종합방제주식회사, 『寶林寺鐵造毘盧舍那佛坐像 보수공사보고서』, 2007.
- 철원군청, (주)엔가드, 『철원 도피안사 철조비로자나불좌상 보존처리』, 2007.

국외문헌

- 文化財虫害研究所, 『文化財の 忠菌害と 保存対策』, pp.67~79, 1987.
- 文化財虫害研究所, 『文化財蟲菌害防除 : ダイジェスト』, pp.113~114, 1980.
- C. Gillan, 「Morphology of a ferric iron-encrusted biofilm forming on the shell of a burrowing bivalve」, 『AQUATIC MICROBIAL-ECOLOGY』 12, 1997.
- Dalia Peciulyte, 「Interrelations of soil fungi in heavy metal surroundings」, 2002.
- Douglas E. Rawlings, 「HEAVY METAL MINING USING MICROBES」, 『Microbiol.』 56, 2002.
- Iwona Beech, 「microbially influenced corrosion of industrial materials」, 『microbially influenced corrosion of industrial materials』, 2000.
- Iwona Beech, 「Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms metals」, 『SCIENCE DIRECT』, 2004.
- Iwona Beech, 「Sulfate-reducing bacteria in biofilms in metallic materials and corrosion」, 『MICROBIOLOGY TODAY』 Vol.30, 2003.
- Petersen, K., Y. K. Yun, and W. E. Krumbein, 「On the occurrence of alkalitoleant and alkaiphillic microorganism on wall

- paintings and their interaction in restoration/consolidation』, 『Biodeterioration of Cultural Property 3』, 1996.
- ROBERT A. SAMSON 외, 『INTRODUCTION TO FOOD-BORNE FUNGI』, Tientraalbureau voor Schimmelcultures, The Netherlands, 1981.

기타

- [한겨레] http://www.hani.co.kr/arti/society/society_general/179206.html.
- [연합뉴스] <http://news.naver.com/main/read.nhn?mode=LSD&mid=sec&sid1=100&oid=001&aid=0002189603>.
- [연합뉴스] <http://news.naver.com/main/read.nhn?mode=LSD&mid=sec&sid1=103&oid=001&aid=0001610504>.
- [부산프리즘] <http://bsprism.com/sub03.php?Category=55&NewsID=1974>.
- [동아일보] <http://www.donga.com/fbin/output?sfrm=2&f=total&&n=200708200207>.
- [문화재청] http://www.cha.go.kr/korea/heritage/knowledge/kind_01.jsp?mc=KS_01_01_02
- [문화재청] http://www.cha.go.kr/korea/heritage/search/RegCulresult_Db_View.jsp?mc=KS_01_02_03&VdkVgwKey=194&queryText=V_GCODE=AD
- [중부일보] http://www.joongboo.com/html/news_view.asp?idx=217007&articlenum=19370320061126&div=51
- <http://cafe.cha.go.kr/brd/viewClubBrdArt.vw?artNo=3376&clubId=posco&brdCatNo=2072>
- <http://blog.daum.net/munhwajaecheong/8478315>.
- http://cafe.naver.com/dlr.cafe?iframe_url=/ArticleRead.nhn%3Farticleid

=1375.

<http://blog.naver.com/pegasus1000?Redirect=Log&logNo=1300112525>
24.

<http://kr.blog.yahoo.com/lotus2688422/375.html>.

http://encyber.com/search_w/ctdetail.php?masterno=832784&contentno=832784.

http://www.paints.or.kr/menu05_4/view.php?no=11&cate=&keyword=&page=3

A Basic Study on the Creation of Corrosion through a Test of Fungi Isolation and Inoculation in Steel Corrosion

Gang, Hyun-mi

Department of Cultural Properties
The Graduate School
Gyeongju University

(Supervised by Professor An, Byong Chan)

(Abstract)

In order to discover the influence of Fungi on the corrosion of steel cultural heritages, microorganisms were isolated from the corrosion layer and rust of a steel Birojana seated and naked Buddha statue at Borim Temple and the steam locomotive in the Jangdan Station of Gyeongeui Line. Thus, the study looked into what kind of growth characteristics would affect the corrosion of steel cultural heritages, focusing on mold from among the isolated microorganisms.

The test samples were taken from a steel Birosa seated and naked Buddha statue at Borim Temple and the steam locomotive in the Jangdan Station of Gyeongeui Line, and a total of 14 types (fungi) were purely separated: 3 types of *cladosporium sp.*, 3 types of *Penicillium sp.*, 2 types of *Chaetomium sp.*, 1 type of *Trichoderma sp.*, and 1 type of *Aspergillus sp.*; and 4 types have not been identified as of yet.

In order to see if the growth characteristics of isolated Fungi affect the corrosion of steel cultural heritages, the fungi were inoculated on a liquid culture medium and cultured. As a result, 3 types showed a higher change in pH. Among others, the F27 fungus showed little change in three days,

posting a pH of 6.0, but the pH dropped to 4.3 after 10 days from culture. When compared with the cultural media, the pH dropped by 2.4. Also, in the ion chromatography analysis, there appeared a peak looking as organic acid. Given the results of the pH measurement and the ion chromatography analysis, the purely isolated Fungi were confirmed to create organic acid. As Fungi grow in the weak acid for a long period, they might affect the corrosion of steel samples.

In addition, the observation of the change in the surface after the inoculation of purely isolated fungi into steel samples found that fungi grew so much that their hyphae and spores were confirmed by the naked eye within 4 weeks from inoculation. Concerning the F6, F11, and F24, the red corrosion products and the brown water drops were created on the Fungi. Their observation with a metal microscope discovered that the red corrosion products and the brown water drops were created by piercing through the fungi and were covered with the hyphae of the fungi. It was confirmed that the corrosion proceeded around the growing area of the fungi. However, it is not clear whether the red corrosion products and the brown water drops created on the fungi were from corrosion by the molds or by moisture in the environment.

This study could see a possibility that the fungi could affect the creation of corrosion through a basic study researching the growth characteristics and metabolite of fungi isolated from the test samples of steel cultural heritages. Nevertheless, it is unclear whether the fungi caused the corrosion or helped accelerate the corrosion. In the future, it would be necessary to conduct research into whether the fungi can be a direct cause of corrosion or simply an accelerator of corrosion.