

博物館館藏麻織品上褐斑真菌研究

吳興煥¹ 王嬾婷² 汪碧涵^{3*}

¹ 東吳大學微生物學系
² 振興復健醫學中心教學研究部
³ 東海大學生命科學系

（接受刊載日期：中華民國九十五年六月二十二日）

博物館收藏的衣物布料上，常因真菌生長而造成褐斑 (foxing)，影響文物之外觀及典藏價值甚巨。本研究由國立自然科學博物館的館藏麻織品上，分離出 4 株造成真菌性褐斑的真菌，包括 *Aspergillus ostianus*、*Penicillium glabrum* 和二株未鑑定出的 *Penicillium* sp. 和 *Aspergillus* sp.。將這些菌株接種於麻布，在 15%、60% 及飽和溼度下室溫培養，受試菌株在 15% 和 60% 下都不生長，只有在飽和溼度下能夠生長，並且形成不同褐化程度的褐斑，證實這些菌株確實能在此類基質上生長。另以不同水勢能的培養基進行培養，觀察菌株在 -1 到 -90 bar 的水勢能下生長的情形，發現即使在 -90 bar 的低水勢能下，菌株仍可生長，為耐旱菌 (xerotolerant)，其中最耐旱的是分離自貴州苗族上衣樣本的 *Aspergillus ostianus* 919-2。掃描式電子顯微鏡觀察到接種菌絲纏繞在麻布料的纖維上生長與產孢的狀況。另採 DNS 法測試還原糖和測定纖維分解酵素 (cellulose)，估算各菌株產生纖維素分解酵素 (cellulase) 的能力，發現受試菌株均有產生纖維分解酵素將纖維素分解為還原糖的能力。

關鍵詞： 褐斑，*Aspergillus*，*Penicillium*，耐旱菌，纖維素分解酵素。

Study of the Foxing-causing Fungi on Linen Textiles from Museum Collections

Hsin-Huan Wu¹, Yen-Ting Wang² and Pi-Han Wang^{3*}

¹ Department of Microbiology, Soochow University, Taipei, Taiwan

² Department of Medicine Research and Education, Cheng Hsin Rehabilitation Medical Center, Taipei, Taiwan

³ Department of Life Science, Tunghai University, Taichung, Taiwan

(Accepted for publication: June 22, 2006)

The preservation of museum collections poses a serious problem for the foxing caused by fungi. Four foxing fungi were isolated from the linen fabrics collections of National Museum of Natural Science, including *Aspergillus ostianus*, *Penicillium glabrum*, and two unidentified *Penicillium* sp. and *Aspergillus* sp.. These fungi were cultured on the linen textiles and incubated at room temperature and 15%, 60%, 100% relative humidity, respectively. The tested fungi were grown at saturated humidity and formed different levels foxbrown but not at 15% and 60% relative humidity. This is the evidence that these fungi can grow on this kind of matrix. These isolated were capable of growing on low water potential medium from -1 to -90 bar, suggested that they were xerotolerant fungi and the most xerotolerant one is *Aspergillus ostianus* 919-2 from the cloth of Miaos, Guizhou, China. The mycelia colonized and sporulated on linen fibers were observed by Scanning Electron Microscope. To evaluate the ability of cellulase production, reducing sugars and cellulase were tested by the DNS method. It showed that all tested fungi have the cellulase production ability to hydrolyze cellulose to reducing sugars.

Key words: Foxing, *Aspergillus*, *Penicillium*, Xerotolerant, Cellulase.

前 言

許多紙張、書畫、衣物布料、甚至岩洞壁畫，都屬於需要妥善保存的文化財產，但

是各類文物久經存放，極易產生褐色斑點，因其狐毛般的棕褐色，在學術上被稱之為狐斑 (foxing) 或褐斑 (foxbrown)^(1,2)。褐斑為材質劣化的一種，肉眼可見呈於材質表面的色斑

* Corresponding author. E-mail: phwang@thu.edu.tw

呈黃、橘或棕色，此劣化現象不僅影響其物品視覺上的美觀，更嚴重降低了博物館中珍貴文物的典藏價值，影響文化保存甚巨，是值得正視的問題^(1,2)。

Cain 和 Miller⁽³⁾ 將褐斑的成因分為生物因子與非生物因子所造成。非生物因子主要是由於金屬離子在基質表面沈積後，因氧化作用而產生深色的氧化物或氫氧化物而形成褐斑⁽³⁻⁵⁾。

影響褐斑產生的生物因子主要則由真菌造成。某些特定菌種伺機落於文物表面時，若所處環境溫度、濕度適當，即可產生代謝作用，使材質發黴、變色而產生褐斑。伊藤等人⁽⁶⁾ 研究指出，由紙質材料分離出來的真菌類已知者約有 100 多種，分屬於 *Aspergillus* 等九屬。

Arai^(7,8) 發現典藏於 Byodoin 廟宇中的 60 件 1955 年完成的畫作，其麻質紙張全都產生褐斑劣化的現象。將其中一件已有褐斑的麻質紙張分別在水活性 0.94、25℃ 的環境下培養四至七天，以及在水活性 0.84、25℃ 的環境下培養二十五—三十天，以掃描式電子顯微鏡觀察後發現，在紙質的褐化區域可以看到真菌的菌絲和分生孢子纏繞在紙張的纖維上，紙張的其他部分則未發現真菌；另以能量分散光譜儀(energy dispersive X-ray spectrometry, EDS)分析麻質紙張褐斑區域的金屬離子，結果發現並無鐵、鋅或銅等金屬元素的存在^(9,10)，因此，作者認為分析的麻質紙張上的褐斑是由真菌造成的，與金屬無關。Arai⁽¹¹⁾ 共分離得到 25 株真菌，經生理測試與外觀形態的鑑定後，將其區分為絕對嗜旱菌(xerophilic fungi)和兼性嗜旱菌(facultative xerophilic fungi)兩類，絕對嗜旱菌主要為 *Aspergillus penicilloides* 和 *Eurotium herbariorum*。

褐斑的成分經過分析後發現為有機酸、多醣體和胺基酸^(10,12,13)。Arai⁽¹⁴⁾ 認為，絕對耐旱真菌和兼性耐旱真菌的孢子在麻質紙張上萌芽生長，經過生長代謝後會產生一些有機酸(主要為蘋果酸 malic acid)，並產生纖維分解酵素(cellulase)將紙質中的纖維素(cellulose)分解為纖維寡醣(cello-oligosaccharides)。纖維寡醣與真菌代謝產生的胺基酸(如 *r*-aminobutyric acid)作用，產生梅納反應(maillard reaction)，生成褐色物質 melanoidines，形成紙張上的褐斑⁽¹⁴⁾。由於 Arai 亦曾在埃及圖坦卡蒙陵墓(Tomb of Tutankha-

men)的樣本中發現 *Aspergillus penicilloides* 菌株存在，因此他認為只要條件許可，真菌在其他材質上也能經此方式產生褐斑⁽¹⁴⁾。

Carter⁽¹⁵⁾ 認為褐斑的產生係由生物因子與非生物因子結合而成，由於真菌代謝產生有顏色的醌類(quinone)代謝物，經由鐵為媒染劑，可在紙張或其他材質上著色。Press⁽⁵⁾ 分析了由 1700 年至 1970 年的 91 件不同年代、不同來源的紙張上褐斑的鐵離子濃度，他認為褐斑的形成起始於微生物的生長，並與低濃度的鐵離子相關。

國外雖對不同材質上的褐斑都有研究，但國內研究卻極少，並偏向於紙類。夏及張⁽²⁾ 曾以掃描式電子顯微鏡觀察紙張上的褐斑，發現除了銹斑紙外，其他各類紙樣上皆可發現真菌菌絲及孢子的存在。汪及洪⁽¹⁶⁾ 則調查中央研究院民族學研究所博物館所收藏的國畫上的褐斑，發現造成真菌性褐斑的菌株主要為 17 種青黴菌和麴菌，佔分離所得 34 株菌種總數的 50%。觀察兩屬真菌菌株在 -1 到 -90 bar 水勢能的培養基上生長的情形，知其為耐旱菌，且其中 15 種的菌株具有很強的纖維素分解能力。

本研究針對形成博物館館藏織品上的褐斑真菌進行調查，由於織品材質主要的組成成分為纖維素，與紙張類似，但鮮有織品褐斑的調查研究與文獻報導。藉由本篇研究對織品褐斑有初步的觀察與分析，希望對於織品文物的維護有更進一步的瞭解。

材 料 與 方 法

一、菌株的分離與保存

由國立自然科學博物館蒐藏研究組館藏室的衣物，調查館藏人類學標本上的真菌性褐斑。館藏室內相對濕度約為 60%，溫度控制在 20 ± 3℃。先以肉眼檢視衣物表面的褐斑，再以解剖顯微鏡檢察褐斑區的真菌孢子或菌絲，以無菌的棉花棒與膠帶沾壓後，塗抹於馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基(potato dextrose agar, PDA)平板與 2%水瓊脂培養基(water agar, Nacalai, Japan)平板上，於室溫下培養三至七天，待菌絲長出，切取單一菌絲尖端，移入 PDA 平板培養。純化後之菌株培養在 PDA 斜面，以滅過菌的甘油覆蓋後，置於室溫下保存。

二、菌株觀察與鑑定

分離得到的純菌接種於PDA上，室溫下培養七天，以肉眼及解剖顯微鏡(Nikon SMZ-10A, Japan)直接觀察菌落外觀。細微的構造則於接種後五至七天內在光學顯微鏡(Nikon Eclipse E800, Japan)下觀察其產孢構造。

將分離純化後的菌株以Biolog MicroLog™ System 鑑定。在24、48、72與96小時培養後以Biolog MicroLog™ 3.4.20軟體中的絲狀真菌(FF)資料庫讀取鑑定。根據Biolog對絲狀真菌之標準，在24小時培養時間相似度超過0.9、48小時超過0.7、72小時超過0.65、96小時超過0.6時，即定義為同種。

三、不同濕度對菌株在麻布上生長之影響

以接種環沾取孢子或菌絲後，接種於7×7公分大小的麻布上，分別於15%、60%的相對濕度與飽和濕度與室溫下培養三個星期至二個月，觀察菌株的生長及麻布染色情形。15%與60%相對濕度均置於防潮箱內控制濕度，飽和濕度則是在玻璃培養皿內加入無菌水，以三角架將麻布墊高使其不接觸水面。

四、掃描式電子顯微鏡觀察

參考Ohtsuki等人⁽¹⁷⁾的方法，取在飽和濕度下培養的麻布樣本，進行掃描式電子顯微鏡(SEM)的觀察。取七個麻布樣本，將布料上菌絲或孢子較多的區域裁成5 mm×5 mm的小塊，以前固定液(glutaldehyde, 2.5%; para-formaldehyde, 4.0%)固定後，以1 M磷酸鹽緩衝液(1 M K₂HPO₄, 94 mL; 0.1 M KH₂PO₄, 6.0 mL)沖洗三次，每次15分鐘，再以四氧化銻(osmium tetroxide, OsO₄)作用四小時，之後再以0.1 M磷酸鹽緩衝液(phosphate buffer)沖洗三次，每次15分鐘。固定完成之樣本浸泡於一系列濃度(30%、50%、70%、85%、95%、100%)的丙酮中各10-15分鐘進行脫水，完成前處理。之後送交國立台灣大學貴重儀器中心農學院農業化學系電子顯微鏡館，完成後續之臨界點乾燥(critical point drying)及金屬覆膜處理後，以掃描式電子顯微鏡(JEOL JSM-6300)觀察並照相。

五、水勢能對菌絲生長的影響

參考Robinson和Stokes⁽¹⁸⁾的方法，在基

礎培養基(basal medium: Na₂HPO₄, 0.75 g; KH₂PO₄, 0.75 g; NaCl, 0.12 g; NH₄NO₃, 0.40 g; glucose, 1.80 g; yeast extract, 1.00 g; agar, 15.00 g; distilled water, 1 L)中，加入濃度分別為0.2、0.8、1.2、1.6、2.0 M的氯化鉀(KCl)，配成不同水勢能(-1.0, -9.012, -35.417, -53.221, -71.404, -90.064 bar)的培養基。將受試菌株接種於PDA上，培養一週後，用解剖針在解剖顯微鏡下沾取單一孢子，再接種於不同水勢能的培養基上之中心點，於室溫下培養七天，量取菌絲的生長半徑。

六、菌株對纖維素分解能力的測定

採用Ilmén等人⁽¹⁹⁾的方法，在培養液中提供α-cellulose為唯一碳源，在真菌生長後，測定培養液中殘糖量。將受試菌株接種於PDA上培養一週後，刮下孢子加入無菌水中，以血球計數器(haemocytometer, Eram)調整孢子濃度至每毫升10⁶個，取1 mL孢子懸浮液加入含有80 mL內加α-cellulose為碳源之培養液(minimal medium: KH₂PO₄, 15 g; (NH₄)₂SO₄, 5 g; MgSO₄, 0.6 g; CaCl₂, 0.6 g; FeSO₄·7H₂O, 0.005 g; MnSO₄·H₂O, 0.0016 g; ZnSO₄·7H₂O, 0.0014 g; CoCl₂·6H₂O, 0.0037 g; Tween 80, 2 mL; peptone, 2 g; α-cellulose, 10 g; distilled water, 1 L)之250 mL錐形瓶中。以150 rpm在30℃下震盪培養4天後，以Whatman 1號濾紙過濾菌液，去除菌絲和孢子後，利用3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)法⁽²⁰⁾進行還原糖的測定，取1 mL濾液加入3 mL DNS試劑，混合均勻，沸水浴加熱3分鐘，以光電比色計(spectrophotometer) (Shimadzu UV-1201, Japan)測540 nm下之吸光值。

DNS試劑的配製：先將sodium potassium tartrate 300 g溶於500 mL的蒸餾水中，再取3,5-dinitrosalicylic acid 10 g溶於200 mL 2 M的NaOH溶液中。最後將鹼性之3,5-dinitrosalicylic acid溶液慢慢加入sodium potassium tartrate溶液中，加蒸餾水至1,000 mL。此藥劑必須新鮮配製。

七、菌株產生纖維分解酵素(cellulase)的活性測定

參考Criquest⁽²¹⁾的方法，Cellulose-Azure的配製：取0.28 g cellulose - Azure (Sigma, USA)溶於50 mL 50 mM的NaHCO₃·3H₂O中，攪

拌十分鐘，分裝成小瓶以超音波震盪機(Branson 3510, USA)震盪，在 25 °C 下震 30 分鐘(將不溶物震碎)，靜置一小時，使顆粒沈澱，使用時取上清液的部分。

將上述以 α -cellulose 為唯一碳源的培養液中培養四天之菌液，以 Whatman 1 號濾紙過濾菌液後，取 1 mL 濾液至 eppendorf 中，室溫下以桌上型超高速微量離心機(Centrifuge 5415c, Eppendorf, Germany) 14,000 rpm 離心三分鐘，取 0.2 mL 上清液至 2 mL eppendorf 中，加入 0.2 mL cellulose-Azure，混合均勻，37 °C 水浴 40 分鐘，再加入 0.8 mL 95% 乙醇終止反應，置於 4 °C 下 1 小時，之後以 12,000 rpm 離心 5 分鐘，以光電比色計測 569 nm 下之吸光值。

結果與討論

一、菌種分離與鑑定

在國立自然科學博物館蒐藏研究組館藏室內，經過解剖顯微鏡鏡檢觀察確認有真菌

造成褐斑的衣物有三件，目視皆為白色略帶褐色的斑塊，顯微鏡下可見細微菌絲，分離純化後獲得四株真菌 526-2P3、526-2w4、7216-1T3 和 919-2 (圖一，表一)。

純化後的菌株依菌落形態外觀及分生孢子等構造進行初步鑑定，屬於 *Aspergillus* 與 *Penicillium* (表一)，以 Biolog Microlog™ System 鑑定，結果由漢族道袍上分離的 526-2w4 為 *Penicillium glabrum* (Prob = 91%)，由苗族上衣上分離的 919-2 為 *Aspergillus ostianu* (Prob = 97%)，其餘二株菌 526-2P3 和 7216-1T3 則未鑑定出(表一)。

二、不同濕度對菌株生長之影響

將供試菌株接種於麻布上，在室溫下以 15% 與 60% 的相對濕度培養後，在兩個月的觀察期間，其孢子並未萌發生長；但在飽和溼度的環境下，孢子則能夠萌發並生長良好。飽和濕度下培養三個星期後，四株菌株皆生長良好並產孢，其中 *Aspergillus* sp. 526-2P-3 的菌絲和孢子佈滿麻布表面，麻布顏色加深，



圖一 本研究採樣的衣物樣本及其褐斑。A，漢族道袍；B，貴州丹寨雅灰的苗族青布圍腰；C，貴州台江革東的苗族上衣。D，E，F 分別為其褐斑處之解剖顯微鏡放大圖(bar = 10 mm)

Fig. 1. The collections and the foxing stain in this study. A, cloth of the Hans; B, cloth of the Miaos, Guizhou; C, cloth of the Miaos, Guizhou. D, E, F, the foxing stain by dissecting microscope (bar = 10 mm).

表一 本研究所用菌株及其鑑定結果

Table 1. Fungal strains and identification results in this study

No.	Identification results		Source	Sites in NMNS ¹
	Light microscope	Biolog MicroLog™ System		
526-2P3	<i>Aspergillus</i> sp.	-	cloth of the Hans, unknown (漢族道袍, 不明地點)	C 5-2-6
526-2W4	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Penicillium glabrum</i>	cloth of the Hans (漢族道袍, 不明地點)	C 5-2-6
7216-1T3	<i>Aspergillus</i> sp.	-	cloth of the Miaos, Guizhou, China (苗族青布圍腰, 貴州丹寨雅灰)	C 07-02-16
919-2	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus ostianus</i>	cloth of the Miaos, Guizhou, China (苗族上衣, 貴州台江革東)	C 9-1-9

1 NMNS: National Museum of Natural Science, Taichung, Taiwan.

表二 飽和濕度下菌株在麻布上之生長、產孢與造成麻布染色之情形

Table 2. The growth, sporulation and foxing stain of tested strains at saturated humidity

No.	growth	sporulation	foxing stain
<i>Aspergillus</i> sp. 526-2P3	+	+	++++
<i>Penicillium glabrum</i> 526-2W4	+	+	++
<i>Penicillium</i> sp. 7216-1T3	+	+	+
<i>Aspergillus ostianus</i> 919-2	+	+	-

在解剖顯微鏡下觀察也發現細部麻布纖維已經變色。*P. glabrum* 526-2W-4 染色情形次之，再其次為 *Penicillium* 7216-1T-3，長有 *A. ostianus* 919-2 的麻布則未被染色。不同菌株其產孢狀況與變色程度均有不同(表二，圖二)。

三、掃描式電子顯微鏡觀察

在掃描式電子顯微鏡下觀察發現經處理後的麻布纖維變得不甚平整，但仍可明顯觀察到菌絲在麻布間的生長情形與產孢。菌株 *Aspergillus* sp. 526-2P3 有很多菌絲直接纏繞在麻布纖維上生長(圖二 B, C)，*Penicillium* sp. 7216-1T3 在麻布纖維上纏繞並形成許多關節孢子(圖二 E, F)，*A. ostianus* 919-2 (圖二 H, I) 則形成產孢構造開始產孢。

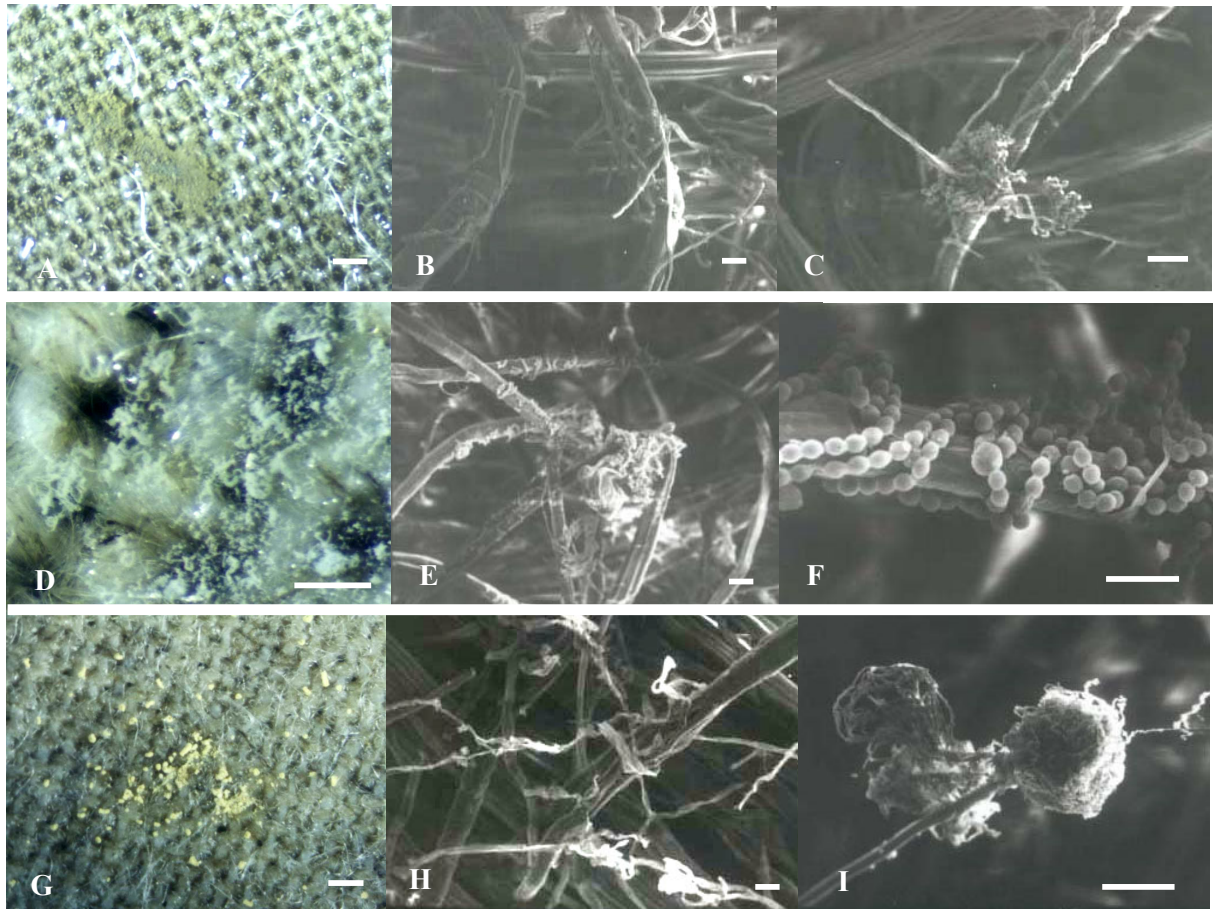
四、水勢能對菌株菌絲生長的影響

供試的四株菌株在水勢能-1 bar 到-90 bar 的培養基都可以生長。其中 *A. ostianus* 919-2 在-35.4 bar 的水勢能時最適宜生長；*Aspergillus* sp. 526-2P3 與 *Penicillium* sp. 7216-1T3 從-1 bar 到-70 bar 生長狀況沒有差別；而 *P. glabrum* 526-2W4 則在-1 bar 時生長最好，也最不耐旱，

在-90 bar 水勢能環境下生長速率為 0.11 cm/day。最耐旱的菌株為 *A. ostianus* 919-2，在-90 bar 環境下生長速率仍達到 0.31 cm/day (表三)。

若以其菌絲生長半徑相對於不同水勢能所作之曲線，大致可區分為三種模式：第一型為菌種的生長速率隨水勢能降低而降低，如 *P. glabrum* 526-2w4；第二型為生長速率在水勢能-1 到-71.4 bar 並沒有明顯差別，但在-90 bar 時明顯下降，如 *Aspergillus* sp. 526-2P3 與 *Penicillium* sp. 7216-1T3；第三型，生長速率隨水勢能的下降而形成先上升後遞減的趨勢，以-35.4 bar 生長速率最高，如 *A. ostianus* 919-2 (圖三)。汪及洪⁽¹⁶⁾ 曾分析由國畫菌斑上分離得到的十種 *Penicillium* 菌株和七種 *Aspergillus* 菌株，其在-1 bar 到-90 bar 不同水潛勢的培養基上生長的模式亦可分為同樣的這三種類型。

Griffin⁽²²⁾ 以水勢能耐受性將真菌分為五群，其最適生長水勢能與最低生長水勢能分別為：對低水勢能高度敏感的真菌為-1 bar，-20 bar；對低水勢能敏感的真菌為-10 bar，-50 bar；對低水勢能中度敏感的真菌為-10 bar，-100 bar 到-150 bar；耐旱菌為-50 bar，-200 bar 到-500 bar 之間，例如許多麴菌和青



圖二 飽和濕度下菌株在麻布上的菌落外觀，以及以掃描式電子顯微鏡觀察的結果。Aspergillus sp. 526-2P3 (A, B, C)、Penicillium sp. 7216-1T3 (D, E, F)和 Aspergillus ostianus 919-2 (G, H, I)。(A, D, G, bar = 1 mm, B, C, E, F, H, I, bar = 10 μm)

Fig. 2. The colony morphology in the linen fabrics at saturated humidity and its observation by scanning electron microscope. Aspergillus sp. 526-2P3 (A, B, C), Penicillium sp. 7216-1T3 (D, E, F) and Aspergillus ostianus 919-2 (G, H, I). (A, D, G, bar = 1 mm, B, C, E, F, H, I, bar = 10 μm)

表三 供試菌株在不同水勢能培養基生長七天後之菌落半徑 (cm)

Table 3. The colony diameter (cm) of tested isolates grew in different water potential medium after 7 days

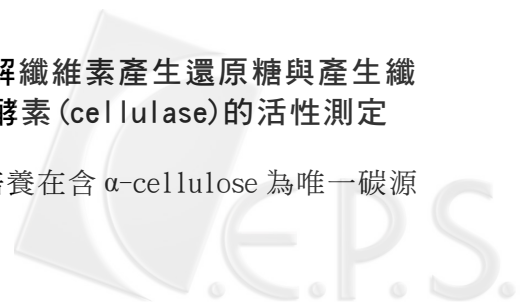
No.	Water potential (-bar)						Mean	SD
	1.0	9.012	35.417	53.221	71.404	90.064		
<i>Aspergillus</i> sp. 526-2P3	1.38	1.67	1.57	1.62	1.67	1.00	1.48	0.26
<i>Penicillium glabrum</i> 526-2W4	3.07	2.98	2.57	2.08	1.70	0.75	2.19	0.88
<i>Penicillium</i> sp. 7216-1T3	2.42	2.53	2.52	2.40	2.20	1.03	2.18	0.58
<i>Aspergillus ostianus</i> 919-2	2.68	3.43	3.72	3.48	3.10	2.15	3.09	0.59

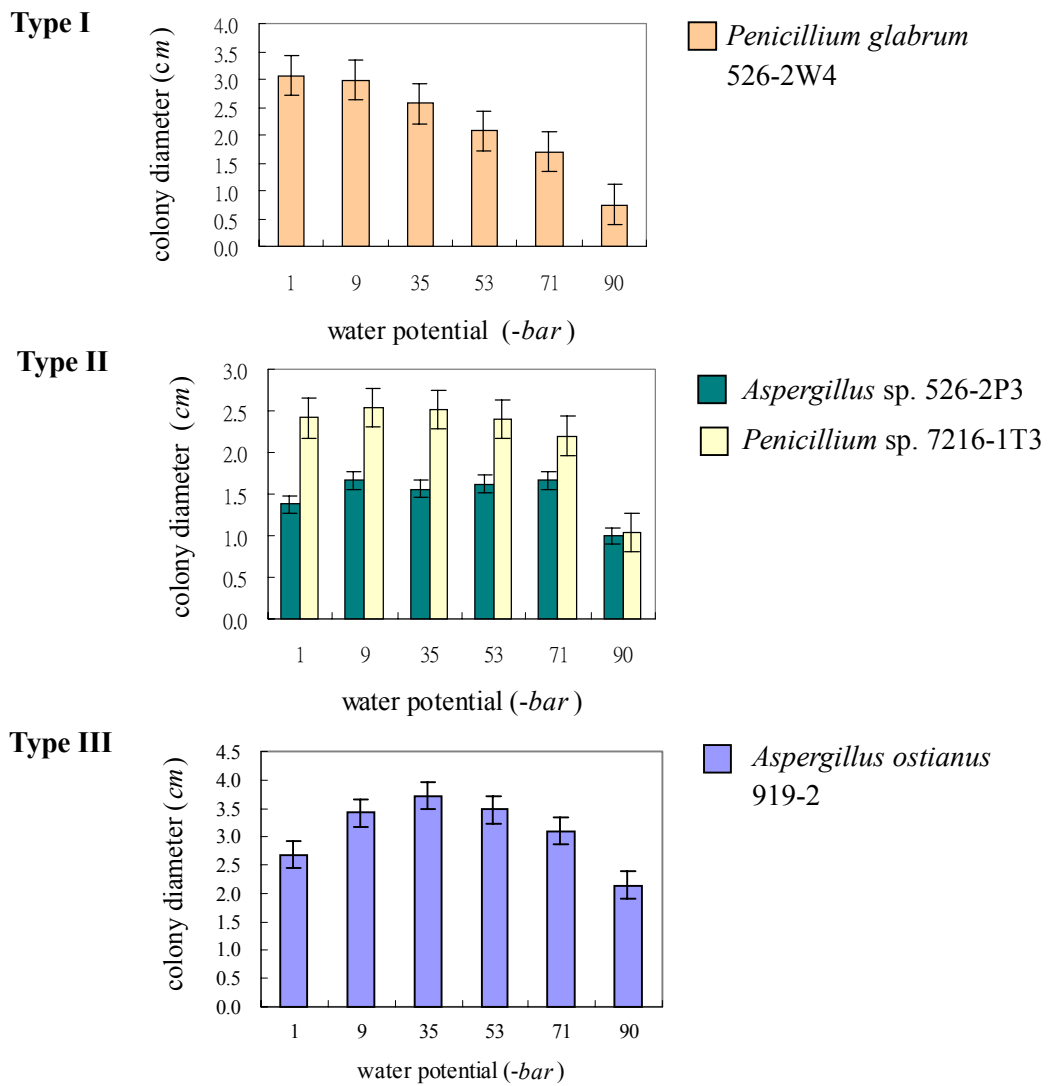
黴菌；旱生菌則只能在 -40 bar 到低於 -400 bar 的低水勢能下生長，例如麴菌中之 *A. restrictus*。因此本研究中，由博物館館藏衣物上分離出的 *P. glabrum* 526-2W4 屬於對低水勢能中度敏感的真菌，其它則都是耐旱菌，雖然耐旱真菌的最高生長速率在較高水勢能的環境，例如第三型菌種(圖三)在 -35.4 bar 生長最快，

但是它們仍然能夠在 -90 bar 的低水勢能的環境之下生長。

五、菌株分解纖維素產生還原糖與產生纖維分解酵素 (cellulase) 的活性測定

將菌株培養在含 α-cellulose 為唯一碳源





圖三 不同水潛勢對菌株菌絲生長的三種模型。x 軸：water potential (-bar)；y 軸：colony diameter (cm/7 days)
 Fig. 3. Three types of hyphal growth on different water potential media for tested stains. x-axis, water potential (-bar); y-axis, colony diameter (cm/7 days).

表四 菌株產生還原醣能力與產生纖維分解酵素能力之比較

Table 4. Comparison of the reducing sugar and cellulase production of test strains

No.	reducing sugar			cellulase		
	OD540	SD	p value	OD569	SD	p value
<i>Aspergillus</i> sp. 526-2P3	0.209	0.012	0.095	0.143	0.008	<0.0001
<i>Penicillium glabrum</i> 526-2W4	0.246	0.015	0.006	0.061	0.005	<0.0001
<i>Penicillium</i> sp. 7216-1T3	0.268	0.009	0.003	0.076	0.012	0.0012
<i>Aspergillus ostianus</i> 919-2	0.230	0.015	0.014	0.110	0.012	<0.001
Blank	0.188	0.008	-	0.017	0.001	-

之培養液中，四天後測定還原糖的吸光值。*Aspergillus* sp. 526-2P3、*P. glabrum* 526-2W4、*Penicillium* sp. 7216-1T3、*A. ostianus* 919-2 四株供試菌株的吸光值都在 0.2 以上，培養液中不加菌的對照組吸光值則在 0.2 以下。吸光值的

測得表示在培養液中的確有還原糖的存在，雖然各菌株培養液中還原糖的量差異並不大，但受試菌株的確有分解纖維素而產生還原糖的能力(表四)。

將菌株培養在含 α -cellulose 為唯一碳源



之培養液中，四天後測定代表纖維分解酵素的吸光值。*Aspergillus* sp. 526-2P3、*P. glabrum* 526-2w4、*Penicillium* sp. 7216-1T3、*A. ostianus* 919-2 四株供試菌株試驗的吸光值都大於 0.06，但培養液中不加菌的對照組吸光值則小於 0.02，差異顯著，表示在培養液中的確有菌株所產生的 cellulase 存在。其中 *Aspergillus* sp. 526-2P3 的吸光值達到 0.14，與對照組的差異最大，表示其纖維分解酵素的產量最高(表四)。

將菌株產生還原糖與產生纖維分解酵素的的能力與對照組分別進行 t 檢定，檢測結果發現，各菌株產生還原糖的能力與對照組相較，除 *Aspergillus* sp. 526-2P3 之外，所得 *p* 值均小於 0.05，表示其餘三株菌株產生還原糖能力與對照組比較確有顯著差異(表四)。而產生纖維分解酵素的的能力，各菌株所得 *p* 值則均在 0.001 或之下，顯示四株菌株與對照組之間有極顯著差異(表四)。

真菌在分解纖維素的過程中，分泌出纖維素分解酵素，主要的水解酵素有三類：endocellulase、exocellulase 和 β -glucosidase，endocellulase 水解纖維素的直鏈，exocellulase 由分子的外端釋出 cellobiose， β -glucosidase 繼而釋出葡萄糖，並將 cellobiose 轉換成為葡萄糖。Endoglucanase (β -glucosidase) 的活性一般都藉釋出的殘糖量來測定^(23, 24)。由科博館館藏衣物上分離出四株菌株都可以分解纖維素，不論測試其產生還原糖的能力，或是測定纖維分解酵素的活性，都可以得到證明。館藏中的衣物一旦受到這些真菌孢子污染，又在溫、濕度適當的條件下，便可以在衣物上生長而使其發霉、變色，繼而產孢、再散佈，使館藏品遭到嚴重破壞。

國立自然科學博物館館藏室內有溫度和濕度的調控，相對濕度為 60%，整棟建築 24 小時冷氣開放，濕度的控制相當良好，進入館藏室前需先經過防塵沾，內部空調亦經濾網處理以過濾空氣中的真菌孢子，保存環境極佳。比對本研究分離得到的四株產生褐斑的真菌，發現在博物館館藏濕度(60%)下皆未能生長產孢，但在飽和濕度下卻會生長產孢，由此看來，目前觀察到在館藏衣物上形成的褐斑應是在收藏前即已產生，存活於衣物上伺機生長。因此，各類文物在收藏前應謹慎處理褐斑問題，以減少感染源，避免真菌孢子在典藏處散佈，造成其他館藏品的破壞。

誌 謝

感謝國立自然科學博物館蒐藏研究組協助取樣。

參 考 文 獻

- (1) 岩素芬、夏滄琪：紙質文物著生褐斑現象之文獻回顧。*故宮學術季刊*, **13**(2): 143-150 (1995)。
- (2) 夏滄琪、張豐吉：紙質文物著生褐斑現象之觀察。名俗文物及古蹟生物腐蝕與防治(楊盛行編著), pp. 109-123。中華民國微生物學會出版, 台北, 台灣 (1997)。
- (3) C. E. Cain and B. A. Miller: Proposed classification of foxing. AIC 10th annual meeting, pp. 29-30 (1984)。
- (4) V. Daniels and N. Meek: An investigation into foxing phenomena with particular attention to the inorganic compounds. Proceedings of the 2nd International Conference on Biodeterioration of Cultural Properties, p. 69 (1992)。
- (5) R. E. Press: Observations on the fixing of paper. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, **48**: 94-97 (2001)。
- (6) 伊藤延男、大槻見虎男、森八郎、新井英夫：文化財菌害防除, p. 117。文化財蟲害研究所, 日本 (1987)。
- (7) H. Arai: Microbiological studies on the conservation of paper and related cultural properties: Part 1, Isolation of fungi from the foxing on paper. *Sci. Conserv.*, **23**: 33-40 (1984)。
- (8) H. Arai: On the foxing-causing fungi. Preprints of the 8th Triennial ICOM Committee for Conservation, Vol. III, pp. 1165-1167 (1987)。
- (9) T. Kenjo, H. Arai and T. Suzuki: Application of scanning electron microscope in the field of conservation science of cultural properties: on the foxing of paper. *JEOL News*, **25E**(1): 13-17 (1987)。
- (10) H. Arai: Microbiological studies on the conservation of paper and related cultural properties. (Part 5) Physiological and morphological characteristics of fungi isolated from foxing, foxing formation mechanisms and countermeasures. *Sci. Conserv.*, **26**: 43-52 (1987)。
- (11) H. Arai: Foxing caused by fungi: twenty-five years of study. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, **46**: 181-188 (2000)。
- (12) H. Arai, N. Matsui, N. Matsumura and H. Murakita: Biochemical investigations on the formation mechanisms of foxing. The conservation of far eastern art: preprints of the contributions to the Kyoto Congress, pp. 11-12 (1988)。
- (13) H. Arai, C. Nemoto, N. Matsui, N. Matsumura and H. Murakita: Microbiological studies on the conservation of paper and related cultural properties: Part 8, on the components found in foxing. *Sci. Conserv.*, **28**: 7-15 (1989)。
- (14) H. Arai: Relationship between fungi and brown spots found in various materials. Proceedings of the 2nd International Conference on Biodeterioration of Cultural Properties, pp. 320-336 (1992)。
- (15) J. M. Carter: Iron stains on textiles: a study to determine their nature and to evaluate current treatments. ICOM 7th meeting, pp. 11-14 (1984)。
- (16) 汪碧涵、洪聰永：造成國畫菌斑之麴菌屬與青黴菌屬真菌之研究。*中國農業化學會誌*, **37**: 481-488 (1999)。
- (17) T. Ohtsuki, N. Yamada, H. Kobori and M. Osumi: Identification of *Eurotium* (*Aspergillus*) *restrictus* Group Species by Comparison of Conidiospores on Foxing

- Using Scanning Electron Microscope. *J Electron Microsc.*, (Tokyo), **41**: 270-272 (1992).
- (18) R. A. Robinson and R. H. Stokes: *Electrolyte solutions*. Academic Press, New York, USA (1995).
- (19) M. Ilmén, A. Saloheimo, M. L. Onnela and M. E. Penttilä: Regulation of cellulose gene expression in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**: 1298-1306 (1997).
- (20) T. P. David: Carbohydrate. In: *An Introduction to Practical Biochemistry*, 3rd ed., pp: 168-188. TataMcGraw-Hill publish company, India (1988).
- (21) S. Criquest: Measurement and characterization of cellulose activity in sclerophyllous forest litter. *J. Microbiol. Methods*, **50**: 165-173 (2002).
- (22) D. M. Griffin: Water and microbial stress. In: *Advances in microbial physiology* (M. Alexander ed.), Vol. 5, pp. 91-136. Plenum, New York, USA (1981).
- (23) A. J. Desai and S. M. Betrabet: Cellulase activity of microorganisms isolated from cotton deteriorated during storage. *Indian J. Biochem. Biophys.*, **9**: 212-214 (1981).
- (24) K. M. Kleman-Leyer and T. K. Kirk: Three native cellulose-depolymerizing endoglucanases from solid-substrate cultures of the Brown Rot Fungus *Meruliporia (Serpula) incrassata*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**: 2839-2845 (1994).

