# 壁面養生についての微生物学的見地からの意見

2005年10月

# 国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部長 高鳥 浩介

(独)文化財研究所東京文化財研究所からの研究協力依頼で平成17年9月16日高松塚古墳石室(奈良県明日香村)の微生物調査を行った結果をふまえ、壁画の解体修理に際しての所見を述べる。

今回の調査で明らかに細菌の発生がカビとともに確認されたことから微生物にとって非常に生えやすい都合の良い壁面環境になっているものといえる。細菌が石室の壁面に生えるまでに至っていることは、非常に深刻な状況にあるといえ解体が予定されているまでの維持管理がきわめて重要である。

そのための対策として常に指摘してきたように温度管理とそれにあわせてさらに高湿にしないことであり、そのための環境管理が重要である。また、短期的な管理として薬剤の応用も考慮しなくてはならない。解体に先立ち、壁面の養生に膠着剤等を用いる場合は、あまりその状況でおく期間が長くなると、微生物の再発生がおきる危険性もある。養生に、膠着剤等を使用してのちしばらく時間がかかるようであれば、石室内の養生した表面をむしろ乾燥させる方向にもっていくか、あるいは、膠着剤になんらかの抗菌剤を入れるなどの処置が必要であろう。

# 東京大学名誉教授、(株)テクノスルガ(旧 NCIMB Japan) 学術顧問 杉山 純多

石室を解体するに先立ち、壁面保護のために養生を行う場合、なんらかの膠着剤等を用いる場合は、長期間にわたると、その部分にカビやバクテリアなどが増殖や繁殖する危険がある。

養生した後、その環境の下に置いておける期間については、湿度が100%RHに近い環境と過程するならばこれまでの経過を考慮すると、(温度条件にもよるが) 冬期でせいぜい 6~8週間程度であろう。それ以上の期間をおくと、なんらかの微生物が増殖や繁殖すると思われる。

それ以上、膠着剤等を使用してのち置いておかざるを得ない場合は、石室内の養生した壁画表面にむしろ外気をあてて速やかに乾燥させる方向にもっていくか、あるいは、膠着剤になんらかの抗菌剤を入れるなどの処置が必要である。

# サラヤ株式会社 商品開発本部 研究開発担当取締役、日本防菌防黴学会 理事 古田太郎

解体に先立ち、壁面の養生に膠着剤等を用いる場合は、その状況で維持する期間が長くなると、 微生物が繁殖する危険がある。養生に膠着剤等を使用する場合は、養生後、石室内の養生表面を 乾かすか、あるいは、なんらかの抗菌剤を加えるなどの処置が必要と考えられる。

# 壁面養生についての微生物学的見地からの意見

2005 年 11 月 30 日 環境生物学研究所 阿部恵子

# 壁面養生に伴う微生物汚染

壁面養生開始から解体までの期間に生物的な被害がどの程度見込まれるかについては、今までにこのような環境での微生物調査が無く、参照すべきデータも無いため、予想がつきません。また、養生終了後からどれくらいの期間であれば生物被害が顕在化しないかについても、予測できません。従って、養生を終了した状態で放置することはできるだけ避けるほうが良いと思われます。ただし、養生を終了した状態で乾燥がかかるのであれば、養生を終了した段階での放置は問題ないと思われます。

#### 養生開始の時期

養生開始から最初の1ヶ月は墳丘が冷却された状態で、後の2ヶ月間は上部冷却管が撤去され 外気温度の影響を受けるとのことですので、温度の影響を考えると、外気温度が低い時期に養生 期間を持ってくるほうが良いと思われます。さらに、養生を開始すれば人の出入りに伴って外部 空気が流れ込み、空気中の水蒸気も侵入しますので、外気の絶対湿度が低下している時期に開始 するほうが良いと思われます。

# 養生に用いる材料

養生のために用いるレーヨン紙については、抗菌性を持たせる必要があるかどうか、わかりません。養生開始までまだ時間がありますので、現在の石室の状態で、壁画とは無関係な壁面のごく一部分に養生を施し、抗菌性なしでも3ヶ月間程度はカビ汚染が進行しないのか確認しておくほうが良いと思われます。養生の期間中と現在では石室内部環境が違いますので、必ずしも当てはまるわけではありませんが、現在の低温の状態でも著しく汚染が進行するようであれば、レーヨン紙その他に抗菌性を持たせることを検討する必要があります。

樹脂については、抗菌剤が残留した場合に問題があるかもしれませんので、後から簡単に除去できないのであれば、抗菌性を持たせないほうが良いかも知れません。

また、養生で用いる樹脂、レーヨン紙、楮紙は、できれば滅菌済みのものを使用するほうが良いでしょう。使用する前にこれらの材料が微生物汚染を受けることが無いように、保管場所にも注意を払う必要があります。

# 高松塚古墳から採取されたカビと酵母の発育湿度調査

2005 年 6 月 22 日 環境生物学研究所 阿部恵子

#### 1. 目的、意図

古墳内部でのカビ繁殖を抑えるための基礎データをとることを目的とし、最近、高松塚古墳から分離された主要なカビと酵母について、発育と温湿度の関係を調査した。今回は、相対湿度が発育に与える影響についての調査を主な目的とした。

# 2. 方法

使用菌株: 前回の調査と同じで、カビ 15 株(参照菌 3 株、および高松塚古墳から採取された菌 12 株)および酵母2株(参照菌 1 株、および高松塚古墳から採取された菌 1 株)を使用した。

前培養:各菌株をPDA(ポテトデキストロース寒天)平板に画線し、25℃で培養した。

試験片: 寒天平板上に発育したカビの胞子または酵母細胞をグルコース 0.5%およびゼラチン 0.5%を含む液に懸濁した。カビの場合は胞子濃度を約  $1\times10^6$ 個/mLに調節、酵母の場合は細胞濃度を $1\times10^5$ 個/mLおよび $1\times10^4$ 個/mLの2段階に調節した。濃度を調節した懸濁液  $3\,\mu$  Lを  $40\text{mm}\times13\text{mm}$ のプラスチック板にスポット状に接種し、風乾させたものを試験片とした。

試験片の培養:温度および相対湿度を調節した湿室内に試験片を入れて培養した。

カビは、温度  $10^{\circ}$ C、 $15^{\circ}$ C、 $20^{\circ}$ Cの3段階と相対湿度 80%、90%の2段階を組み合わせた環境下で、酵母は、温度  $10^{\circ}$ C、 $15^{\circ}$ C、 $20^{\circ}$ Cの3段階と相対湿度 80%、90%、100%の3段階を組み合わせた環境下で培養した。培養期間は 24 時間および 8 日間の2期間とした。

<u>発育の観察</u>:培養後に、試験片を湿室から取り出して乾燥させた。乾燥により発育は停止する。 発育状態を顕微鏡下で観察し写真撮影した。発育状態は、以下のとおりに表示した。

カビは、胞子発芽が認められない場合は-、発芽が認められるが菌糸長が  $200\,\mu$  m未満の場合は+、菌糸長が  $200\,\mu$  m以上で  $2000\,\mu$  m未満の場合は++、菌糸長が  $2000\,\mu$  mを超えている場合は+++で表示した。

酵母は、発育が認められない場合は-、発育が認められた場合は+で表示した。

#### 3. 結果

表1および2に、相対湿度80%および90%の湿室内での培養期間24時間および8日間の発育状態を示す。古墳から採取されたカビ(T-1 $\sim$ T-14)は、相対湿度80%および90%で発育が認められなかった。参照のカビ(R-1 $\sim$ R-3)は、相対湿度80%では発育が認められなかったが、相対湿度90%では、15Cと20Cで発育が認められた。

表3に、前回の相対湿度 100%での調査結果の一部を抜粋する。相対湿度 100%では、古墳から採取されたカビはすべて8日間培養で発育しており、古墳内部を汚染しているカビは全て好湿性カビであることがわかる。

表4~6に、酵母の発育状態を示す。相対湿度 80%および 90%では何れの酵母にも発育が認められなかった。相対湿度 100%では、古墳から採取された酵母(T-10)は何れの温度でも発育が認められたが、参照の酵母(R-4)は 10℃で発育が認められなかった。古墳から採取された酵母はカビと同様に好湿性で、低温に適応した菌株と思われる。

古墳から採取されたカビと酵母は、相対湿度90%以下では発育が阻止された。

表1 相対湿度80%でのカビ発育

		24	時間培	養	8日間培養		
	图 1	10℃	15℃	20℃	10℃	15℃	20℃
R-1	Aspergillus terreus Thom NBRC 6346	-	ı	-	ı	ı	ı
R-2	Penicillium citrinum Thom NBRC 6352	-	ı	-	ı	ı	ı
R-3	R-3 Fusarium moniliforme Sheldon NBRC 31251		ı	-	1	ı	1
T-1	T-1 <i>Acremonium</i> sp. T4519-5 より		ı	-	ı	ı	1
T-3	T-3 Fusarium sp.8 T4519-9 より		ı	-	ı	ı	1
T-4	4 Trichoderma sp. 1-b T4519-9 より		-	_	_	-	-
T-5	Gliocladium sp. 2 T4519-8 より	-	ı	_	ı	ı	1
T-6	Penicillium sp. 4 T4519-9 より	-	ı	-	ı	ı	1
T-7	Fusarium sp.2 T4906-8 より	_	-	_	-	-	1
T-8	Penicillium sp. 4 T4906-7 より	-	ı	_	ı	ı	1
T-9	Trichoderma sp. 4 T4906-8 より	_	-	_	-	-	1
T-11	Fusarium sp. (T-10 と同じ試料から分離)	_	-	_	_	-	-
T-12	Cylindrocarpon sp. TBT-1 (褐色になる)		_		-	-	_
T-13	Cylindrocarpon sp. TBT-2 (褐色になる)				_		_
T-14	Fusarium sp.4 T4519-9 より	_	_	_	_	_	_

<sup>-:</sup>発芽が認められない。

表2 相対湿度 90%でのカビ発育

	菌株	24	時間培	養	8	日間培	養
	图体	10℃	15℃	20℃	10℃	日間培 15℃ - ++ - - - - - - - -	20℃
R-1	Aspergillus terreus Thom NBRC 6346	ı	_	_	ı	ı	+
R-2	Penicillium citrinum Thom NBRC 6352	ı	-	-	ı	++	++
R-3	-3 Fusarium moniliforme Sheldon NBRC 31251		_	_	-	-	-
T-1	Acremonium sp. T4519-5 より	ı	_	_	ı	ı	-
T-3	T-3 Fusarium sp.8 T4519-9 より		_	_	-	-	-
T-4	T-4 Trichoderma sp. 1-b T4519-9 より		_	_	-	-	-
T-5	Gliocladium sp. 2 T4519-8 より	_	-	-	-	-	-
T-6	Penicillium sp. 4 T4519-9 より	_	-	-	-	-	-
T-7	Fusarium sp.2 T4906-8 より	_	-	-	-	-	-
T-8	Penicillium sp. 4 T4906-7 より	_	-	-	-	-	_
T-9	Trichoderma sp. 4 T4906-8 より	_	-	-	-	-	-
T-11	Fusarium sp. (T-10 と同じ試料から分離)	_	-	-	-	-	-
T-12	Cylindrocarpon sp. TBT-1 (褐色になる)	_	-	-	-	-	_
T-13	Cylindrocarpon sp. TBT-2 (褐色になる)	_	_	_	-	-	_
T-14	Fusarium sp.4 T4519-9 より	-	_	_	-	-	_

<sup>-:</sup>発芽が認められない。+:発芽が認められ、菌糸長が 200  $\mu$  m 未満。

<sup>++:</sup> 菌糸長が 200  $\mu$  m 以上で 2000  $\mu$  m 未満。

表3 相対湿度 100%でのカビ発育

	菌株	24	時間培	養	8	日間培	養
	<b>固</b> 体	10℃	15℃	20℃	10℃	15℃	20℃
R-1	Aspergillus terreus Thom NBRC 6346	_	_	-	-	++	++
R-2	Penicillium citrinum Thom NBRC 6352	_	_	+	+	++	++
R-3	R-3 Fusarium moniliforme Sheldon NBRC 31251		-	-	++	++	+++
T-1	T-1 Acremonium sp. T4519-5 より		_	+	+	++	++
T-3	-3 Fusarium sp.8 T4519-9 より		_	+	++	+++	+++
T-4	-4 Trichoderma sp. 1-b T4519-9 より		-	+	+	++	+++
T-5	Gliocladium sp. 2 T4519-8 より		_	+	+	++	+++
T-6	Penicillium sp. 4 T4519-9 より	_	-	+	+	++	++
T-7	Fusarium sp.2 T4906-8 より	-	-	+	+	+++	+++
T-8	Penicillium sp. 4 T4906-7 より	-	-	+	+	++	++
T-9	Trichoderma sp. 4 T4906-8 より	_	-	-	+	++	+++
T-11	Fusarium sp. (T-10 と同じ試料から分離)	-	-	+	+	++	+++
T-12	Cylindrocarpon sp. TBT-1 (褐色になる)	-	-	-	++	+++	+++
T-13	Cylindrocarpon sp. TBT-2 (褐色になる)	_	_	-	+	++	++
T-14	Fusarium sp.4 T4519-9 より	-	-	+	+	+++	+++

<sup>-:</sup>発芽が認められない。+:発芽が認められ、菌糸長が 200 μm 未満。

表4 相対湿度80%での酵母発育

菌株		24	時間培	養	8 日間培養			
	<b>图</b> 体	10℃	15℃	20℃	10℃	15℃	20℃	
R-4	Pichia membranifaciens NBRC 10725	-	_	_	_	-	-	
T-10	T-10 Pichia membranifaciens 2004.7 月 16 日採取		_	_	_	-	-	

表5 相対湿度 90%での酵母発育

菌株		24	時間培	養	8日間培養			
		10℃	15℃	20℃	10℃	15℃	20℃	
R-4	Pichia membranifaciens NBRC 10725	_	_	-	-	-	-	
T-10	Pichia membranifaciens 2004.7 月 16 日採取	-	-	-	_	-	-	

表6 相対湿度 100%での酵母発育

菌株		24	時間培	養	8 日間培養			
	图	10℃	15℃	20℃	10℃	15℃	20℃	
R-4	Pichia membranifaciens NBRC 10725	-	-	_	-	+	+	
T-10 Pichia membranifaciens 2004.7 月 16 日採取		_	ı	+	+	+	+	

<sup>-:</sup>発育が認められない。 +:発育が認められる。

<sup>++:</sup> 菌糸長が 200 μ m 以上で 2000 μ m 未満。+++: 菌糸長が 2000 μ m以上。

# 好乾性カビの発育調査

2005年6月22日 環境生物学研究所 阿部恵子

#### 目的•意図

高町塚古墳から採取されたカビは相対湿度 90%と 80%で発育が認められず、参照として使用されたカビは相対湿度 90%では発育が認められたが 80%では発育が認められなかった。高松塚汚染カビの調査結果からは、低温で相対湿度 80%に保てばカビの発育は抑制されると考えられるが、他の種類のカビについて、特に好乾性カビについて調査の必要がある。そこで代表的な好乾性カビの発育環境について調査した。

# 使用菌株

好乾性カビ6株。Aspergillus penicilliodes K-712 と Eurotium herbariorum J-183 はカビ指数 調査に使用するセンサー菌として多数の中からスクリーニングした株で、他の好乾性カビよりも発育が速く、広範囲の温湿度環境で発育できる菌株である。

# 方法

相対湿度 70%、80%、90%、100% と温度 10%、15%、20% を組み合わせた環境で、24 時間、1 週間のおよび 7 週間の 3 期間培養した。発育状態の表示は以下とおり。

-: 発芽が認められない。 +: 発芽が認められ、菌糸長が  $200\,\mu$  m 未満。 ++: 菌糸長が  $200\,\mu$  m 以上で  $2000\,\mu$  m 未満。 +++: 菌糸長が  $2000\,\mu$  m 以上。

# 結果

表 1 に、相対湿度 70%での発育を示す。相対湿度 70%では 15  $^{\circ}$   $^{\circ}$  以下ではいずれの好乾性カビにも発育が認められなかったが、20  $^{\circ}$   $^{\circ}$  の発育が認められた。

表 2 に、相対湿度 80%での発育を示す。15℃以上では全ての好乾性カビで発育が認められた。10℃では 7 週間培養で *Aspergillus penicillioides* K-712、 *Aspergillus restrictus* IFO 7101 および *Eurotium herbariorum* J-183 の発育が認められた。

表 3 に、相対湿度 90%での発育を示す。相対湿度 80%よりも好乾性カビが発育しやすい環境であった。7 週間培養では  $10^{\circ}$ でも全てのカビに発育が認められた。

表4に、相対湿度 100%での発育を示す。好乾性カビは発芽しても菌糸を長く伸ばすことは無く、菌糸の発育が停止した。

好乾性カビは相対湿度90付近が発育に最も適した環境であった。

#### 考察

古墳内部のカビ発育を阻止する目的で内部の相対湿度を90%に保った場合は、現在古墳を汚染しているカビと入れかわって好乾性カビなどが発育する可能性がある。

相対湿度 80%の場合は、10℃でも発育するカビがあるので、相対湿度を 80%まで低下させてもカビ発育の可能性が残る。

相対湿度 70%の場合、温度が 15<sup>°</sup>C以下ではカビの発育が認められなかった。壁面の相対湿度を 70%に変えることが可能であれば、15<sup>°</sup>C以下でカビによる汚染は阻止されると思われる。

表 1 好乾性カビの相対湿度 70%での発育

菌株	24 時間培養			1週間培養			7週間培養		
<b>国</b> 体	10℃	15℃	20°C	10℃	15℃	20°C	10℃	15℃	20°C
Aspergillus penicillioides K-712	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Aspergillus penicillioides IFO 30615	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus restrictus IFO 7101	-	-	-	1	-	1	-	ı	-
Eurotium amsterodami IFO 6667	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Eurotium tonophilum IFO 6529	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Euroatium herbariorum J-183	-	-	-	ı	-	ı	-	ı	-

表 2 好乾性カビの相対湿度 80%での発育

菌株	24 時間培養			1 :	週間培	養	7週間培養		
<b>国体</b>	10℃	15℃	20°C	10℃	15℃	20°C	10℃	15℃	20°C
Aspergillus penicillioides K-712	-	1	1	ı	-	+	++	+++	+++
Aspergillus penicillioides IFO 30615	-	1	1	1	-	1	ı	++	+++
Aspergillus restrictus IFO 7101	-	1	1	ı	-	+	+	++	+++
Eurotium amsterodami IFO 6667	-	1	1	ı	-	+	ı	++	++
Eurotium tonophilum IFO 6529	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++
Euroatium herbariorum J-183	-	1	1	ı	+	++	++	+++	+++

表3 好乾性カビの相対湿度90%での発育

	24 時間培養			1週間培養			7週間培養		
<b>述</b> 体	10℃	15℃	20°C	10℃	15℃	20°C	10℃	15℃	20°C
Aspergillus penicillioides K-712	-	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++
Aspergillus penicillioides IFO 30615	-	-	-	-	+	++	+	+++	+++
Aspergillus restrictus IFO 7101	-	-	+	+	++	++	++	+++	+++
Eurotium amsterodami IFO 6667	-	-	-	-	++	++	++	+++	+++
Eurotium tonophilum IFO 6529	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++
Euroatium herbariorum J-183	-	-	+	++	++	+++	+++	+++	+++

表 4 好乾性カビの相対湿度 100%での発育

菌株	24 時間培養			1 :	週間培	養	7週間培養			
<b>固</b> 体	10℃	15℃	20°C	10℃	15℃	20°C	10℃	15℃	20°C	
Aspergillus penicillioides K-712	-	-	-	-	-	+	-	ı	+	
Aspergillus penicillioides IFO 30615	-	-	-	-	-	-	-	ı	-	
Aspergillus restrictus IFO 7101		-	+		++	++		++	++	
Eurotium amsterodami IFO 6667	-	-	-	-	+	++	-	+	++	
Eurotium tonophilum IFO 6529	-	-	-	-	+	++	-	++	++	
Euroatium herbariorum J-183	-	+	+	++	++	++	++	++	++	

-: 発芽が認められない。 +: 発芽が認められ、菌糸長が 200 μm 未満。

++: 菌糸長が  $200 \,\mu$  m 以上で  $2000 \,\mu$  m 未満。 +++: 菌糸長が  $2000 \,\mu$  m 以上。