

高松塚古墳の劣化や汚染に関与した微生物について（中間的な報告）

東京文化財研究所 木川りか

1. 近年、高松塚古墳石室や取合部から主に分離された微生物について

高松塚古墳壁画劣化原因調査検討会（第4回）において、杉山委員から報告したように、平成16年以降、石室内、取合部、石室目地などから分離された微生物について詳細な同定作業を進めている。

＜参考資料1：高松塚古墳壁画の生物劣化にかかわる微生物（抜粋）P.5～8＞

○今後行う調査

- ・墳丘土壌試料の解析
- ・試料の解析結果を整理し、詳細な全体像を作成
- ・主要な微生物の分布状況プロットの作成

2. 過去に行った処置との関係

（1）使用された履歴のある樹脂などの材料とカビの生育

| 使 用 さ れ た 履 歴 | 使用した材料等 |
|--------------------|------------|
| 石室内で昭和50年代に剥落止めに使用 | パラロイドB72など |
| 平成13年取合部の崩落止め工事に使用 | アラルダイトなど |
| 石室解体時の養生作業に使用 | HPCなど |
| 一般的には日本画の剥落止めに | 膠、ふのりなど |

＜参考資料2：樹脂などのかび抵抗性試験（平成20年）P.9～19＞

（2）殺菌処置に使用された薬剤の検討

極彩色の壁画にできる限り影響の少ない方法であることを前提に実施した。

| 時 期 | 使用された薬剤 |
|-----------|---|
| 昭和50年代 | ホルマリン：エタノール 1：9、TBZ、トリクレンなど |
| 昭和56年以降 | パラホルムアルデヒド燻蒸 |
| 平成13年以降 | パラホルムアルデヒド燻蒸、エタノール |
| 平成17年9月以降 | イソプロパノール |
| 平成18年7月以降 | イソプロパノール（ゲル）、 状況に応じて、エタノール（カビ）、3%ホルマリン（カビ） |

①殺菌濃度での効果の検討

殺菌に適した濃度で使用されたときの効果の検討

＜参考資料 3：高松塚古墳分離カビ等に対する消毒薬試験結果（平成 16 年）
P. 20～23＞

○今後行う調査

- ・菌株の殺菌剤等への馴化（抵抗性の獲得）についての試験

②濃度が薄くなった場合の検討

微生物の栄養源として使用された可能性の検討

＜参考資料 4：低濃度のエタノールおよびイソプロパノール資化性試験結果
（平成 20 年）P. 24～26＞

3. 主要な微生物の漆喰へ与える影響の検討

炭酸カルシウム（漆喰の成分）を含む平板培地（GYC 培地）に主要な微生物を接種した結果

＜参考資料 5：GYC 寒天平板での炭酸カルシウム溶解性試験結果（平成 20 年）
P. 27～45＞

○今後行う調査

- ・酢酸、蟻酸などの有機酸生成量の詳細整理

4. 今後の調査予定

上記の項目 1－3 のほかに、

- ・微生物の暗色化の機構
 - ・光と暗色系カビの生育との関係
 - ・低温が微生物相へ与えた影響
 - ・漆喰への影響
 - ・バクテリア、酵母などについての樹脂等に対する資化性試験
- を行い、平成 21 年度中旬頃までに、高松塚古墳壁画劣化原因調査検討会で報告する予定。

高松塚古墳の生物調査の概要と今後の方向性について

独立行政法人国立文化財機構
東京文化財研究所
木川 りか

高松塚古墳壁画の劣化にはカビやバクテリアなどの微生物が深く関わっているが、どのような微生物がどのような理由により汚染に関与したか、を調査する必要がある。そのため、以下の検討項目が考えられる。

(1) 過去の記録の精査による壁画の生物劣化の経過と要因についての総合的調査

高松塚古墳壁画については、1972 年の発見以来、属レベルでの同定を含む、カビなどの微生物調査が行われてきた。

過去に起きた微生物などによる生物被害については、その被害の状況についての記録とともに、関与したカビなどの属レベルでの学名のみの同定結果の記載が残っている。したがって、そのような記録と状況証拠などから、生物劣化の経過やきっかけとなった要因についていくつかの作業仮説をたてることは可能である。

しかし、一方で、当時発生したカビの分離株は残っていないため、過去の劣化原因となった微生物を再び調べたり、現在の分離株と比較したりするといった実験的な検証はできない。

(2) 最近の壁画の微生物汚染の原因となった微生物の詳細な調査

1972 年の発見以来、石室内の微生物調査においては、属レベルでの大まかな同定により微生物調査が行われてきた。2001 年石室壁面に再びカビが大発生し、特にその被害が拡大していった 2004 年以降は、遺伝子解析も含む詳細な微生物調査が始められた。

このような詳細調査の意義として、以下のようなことが挙げられる。

2-1. 種レベルでカビやバクテリアなどの汚染微生物を調査することによって、過去の文献をもとにその種がどのような基質（土壌、植物、農作物、空中、食品、人の皮膚など）に生息するグループのカビやバクテリアなのか、など、その微生物種のより詳しい生物学的情報が得られ、その微生物の由来についての推測が可能になる。

2-2. 同様に、種レベルでの同定により、その微生物種がどのような生理的性質（例えば、エタノールを分解する場合がある、薬剤耐性をもちやすい、低温に強い、など。）を持つものかについて、文献などを利用して広く情報が得られる。

2-3. 同じ種であったとしても、遺伝子レベルではさらに多様性がみられ、複数の系統群または系統的グループに分かれる場合がある。その生息場所で広くみられたカビが

たとえ1種であったとしても、このように種内で遺伝的多様性があるということが分かれば、実はその汚染は、「単一の汚染カビ」の侵入に由来するのではなく、汚染ルートが複数あって他のカビも侵入の機会は十分にあるなかで、たまたまその微生物種の特定の系統にとってその環境が非常に適合していた、ということを示唆する場合がある。(例、ラスコー洞窟の *Fusarium solani* species complex で検出されたハプロタイプ[半数体の遺伝子型]の場合)

(3) 2007年の発掘・石室解体作業の段階の石室とその周辺部の汚染の全体像把握

発掘・石室解体の時点での石室の汚染状況の把握は、微生物汚染がどのように進んだかを調査する上でもきわめて重要である。

発掘・石室解体作業の過程で、はじめて調査が可能となった石材小口や、石材の亀裂、墳丘の亀裂、また侵入していた植物の根や、ムカデ、昆虫など土壌小動物の分布についての情報も、きわめて貴重である。

現在、2007年の発掘・解体作業の段階でサンプリングした試料についても詳しい調査を進めており、発掘調査の過程による詳細な汚染状況の記録とあわせると、汚染の全体状況について正確な把握が可能と考えている。また、2004年以降、石室などから分離された純粋培養株との比較を行い、過去数年間の微生物相の動態を調べる必要がある。

(4) 壁画の汚染に関わった微生物の由来についての検討

壁画の汚染に関わった微生物の由来について、(1)から(3)の情報をもとに検討を行う。

(5) 微生物の生理的性質などを含む生物学的特徴 (Bio-profile) の調査

壁画の汚染に関わった主要な微生物について、その生理的性質(劣化の要因となる有機酸や色素などの産生能、温度条件による生理的変化、光の条件による生理的変化、殺菌剤として使用した薬剤・ホルマリン、エタノール、プロパノールなどへの抵抗性や資化性、石室内外に使用された履歴のある樹脂などの資化性、主要なカビなどの分離株の色調変化、生理活性など)を調査することにより、壁画の汚染や劣化との関連を考察する。

生理的性質については、上記のように、種レベルの同定を基礎にして、文献的に得られる各種情報もあるが、特殊な環境での事例については文献には十分情報が反映されていない場合もあるため、分離株を使って実験的に検討することが必要となる場合もある。

以上のような調査については、項目も多岐にわたり、また、時間を要する項目もあるため、段階的に進める必要がある。

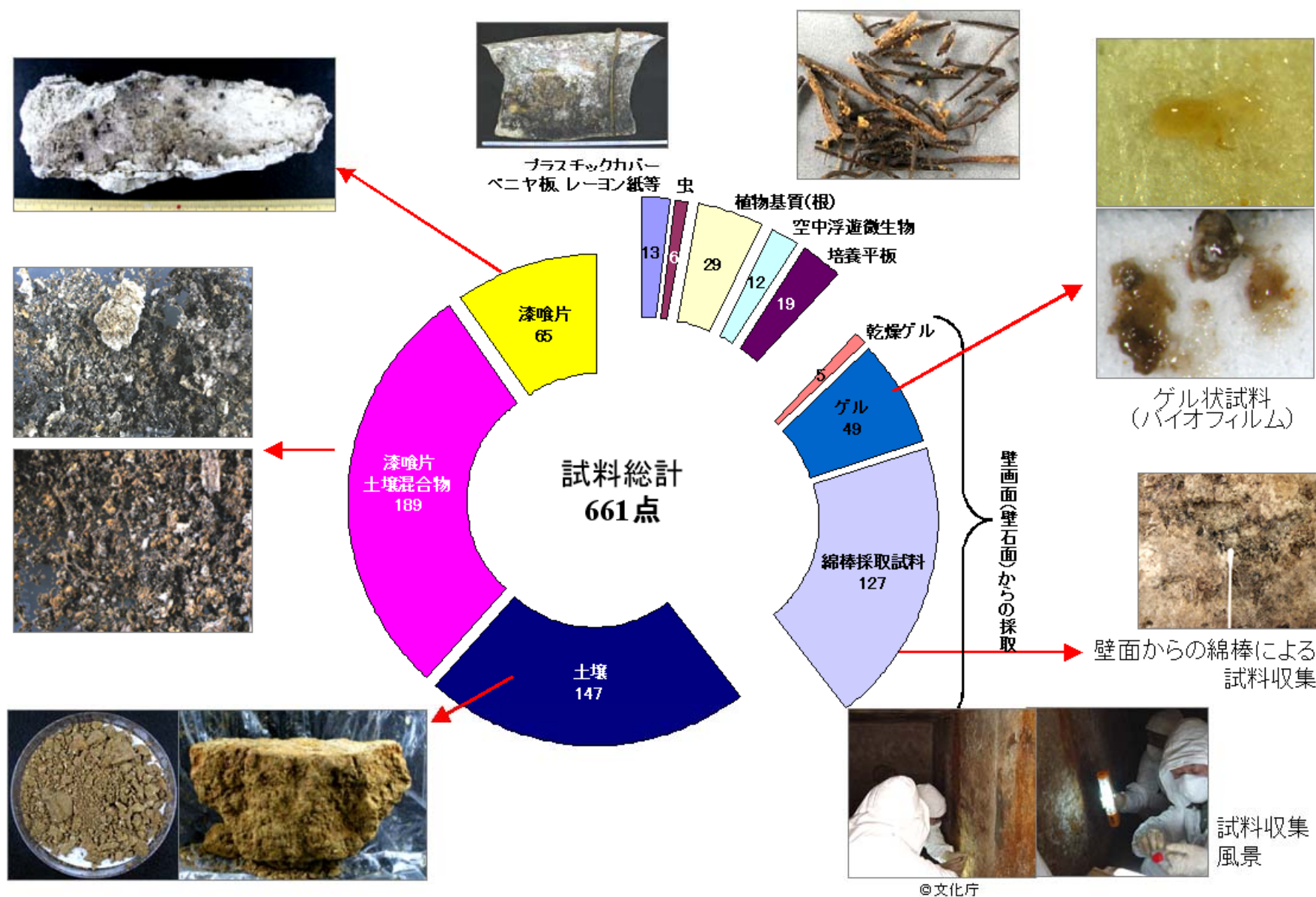
概要については、平成21年度中旬を目途として比較的短期間で結果をとりまとめ、学術的により詳細な検討を要する部分については、より長期的に検討を行うことが必要と考えている。

高松塚古墳壁画劣化原因調査検討会(第4回)－2008年10月20日

高松塚古墳壁画の生物劣化にかかわる微生物 (抜粋)

杉山純多（東京大学名誉教授，テクノスルガ・ラボ）
木川りか・佐野千絵（東京文化財研究所）

3-1. 高松塚古墳石室内外から収集したサンプルの概要 (2004/5~2007/8)



石室取り出しに関わるサンプル数: 527点 (2006/11~2007/8)

5. 主要な菌類の正体(アイデンティティ)

5-1. フザリウム属(*Fusarium*)

EF-1 α

388 塩基

NJ / Bayes

T 高松塚古墳分離株

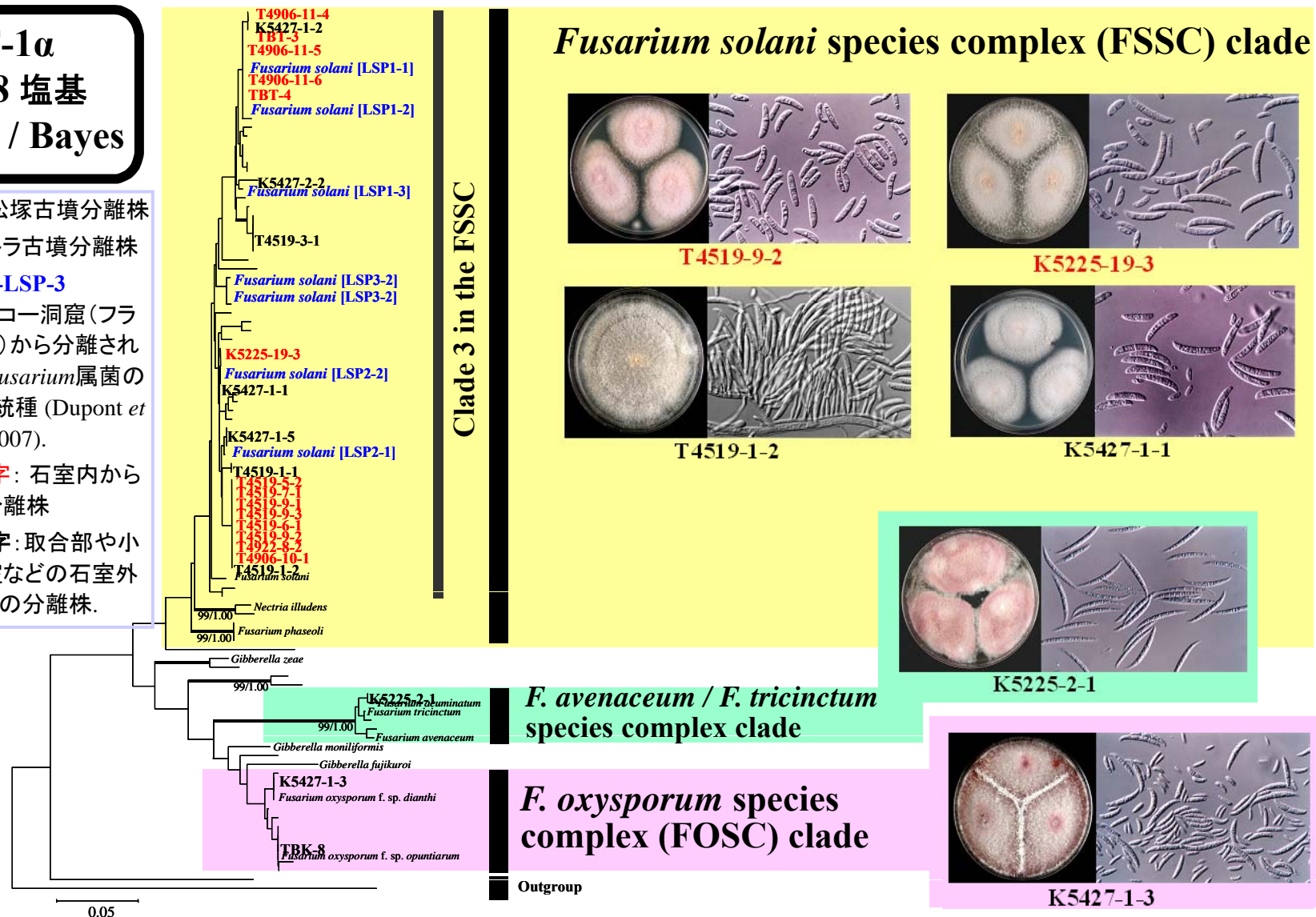
K キトラ古墳分離株

LSP1-LSP-3

ラスコー洞窟(フランス)から分離された *Fusarium* 属菌の3系統種 (Dupont *et al.* 2007).

赤文字: 石室内からの分離株

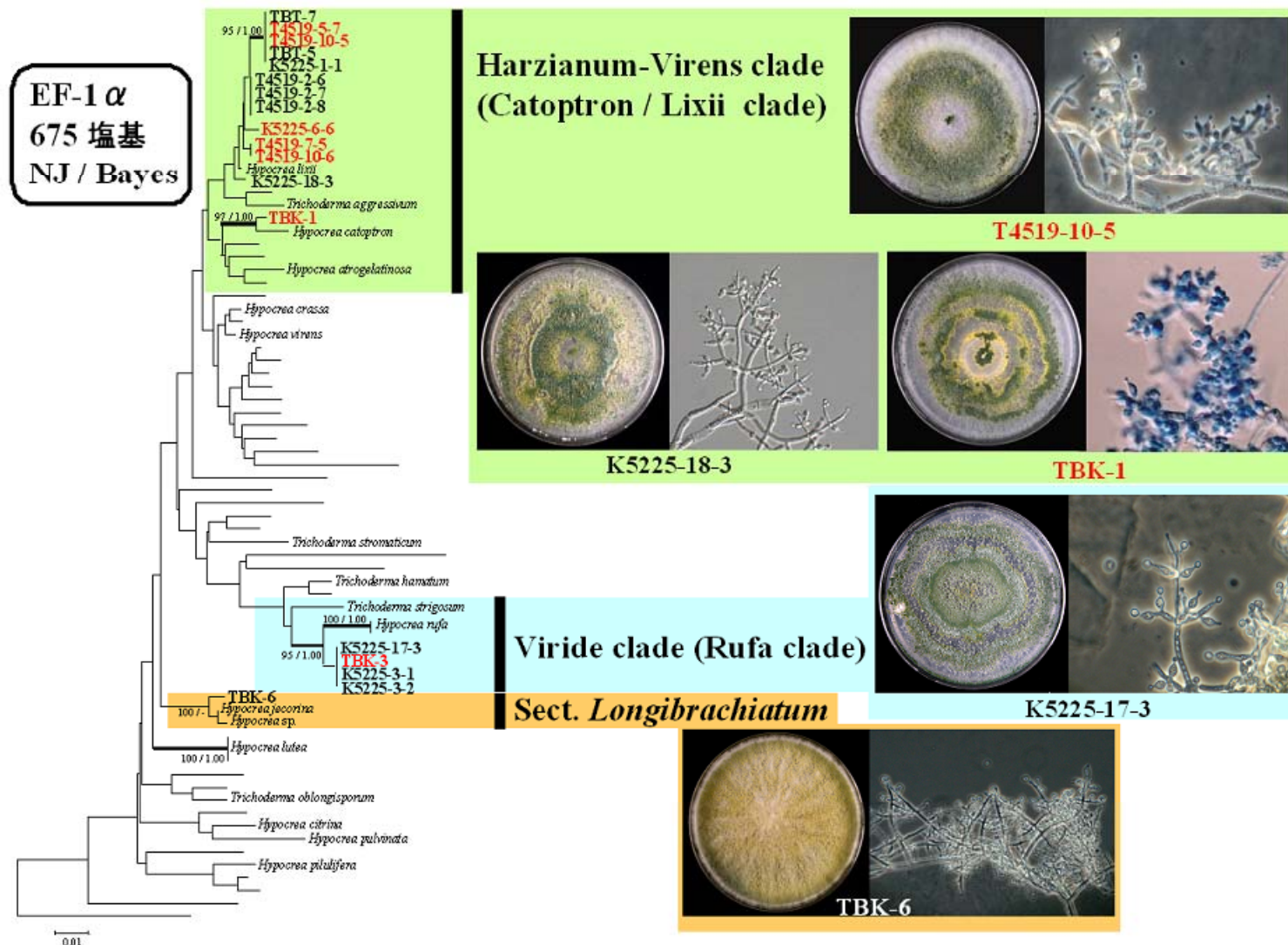
黒文字: 取合部や小前室などの石室外からの分離株.



高松塚・キトラ両古墳の石室内外から分離されたフザリウム属(*Fusarium*)24株のEF-1 α 遺伝子を用いた分子系統樹 (Kiyuna *et al.* (2008) Mycoscience 49: 298-311を一部改変)

5. 主要な菌類の正体(アイデンティティ)

5-2. トリコデルマ属 (*Trichoderma*)

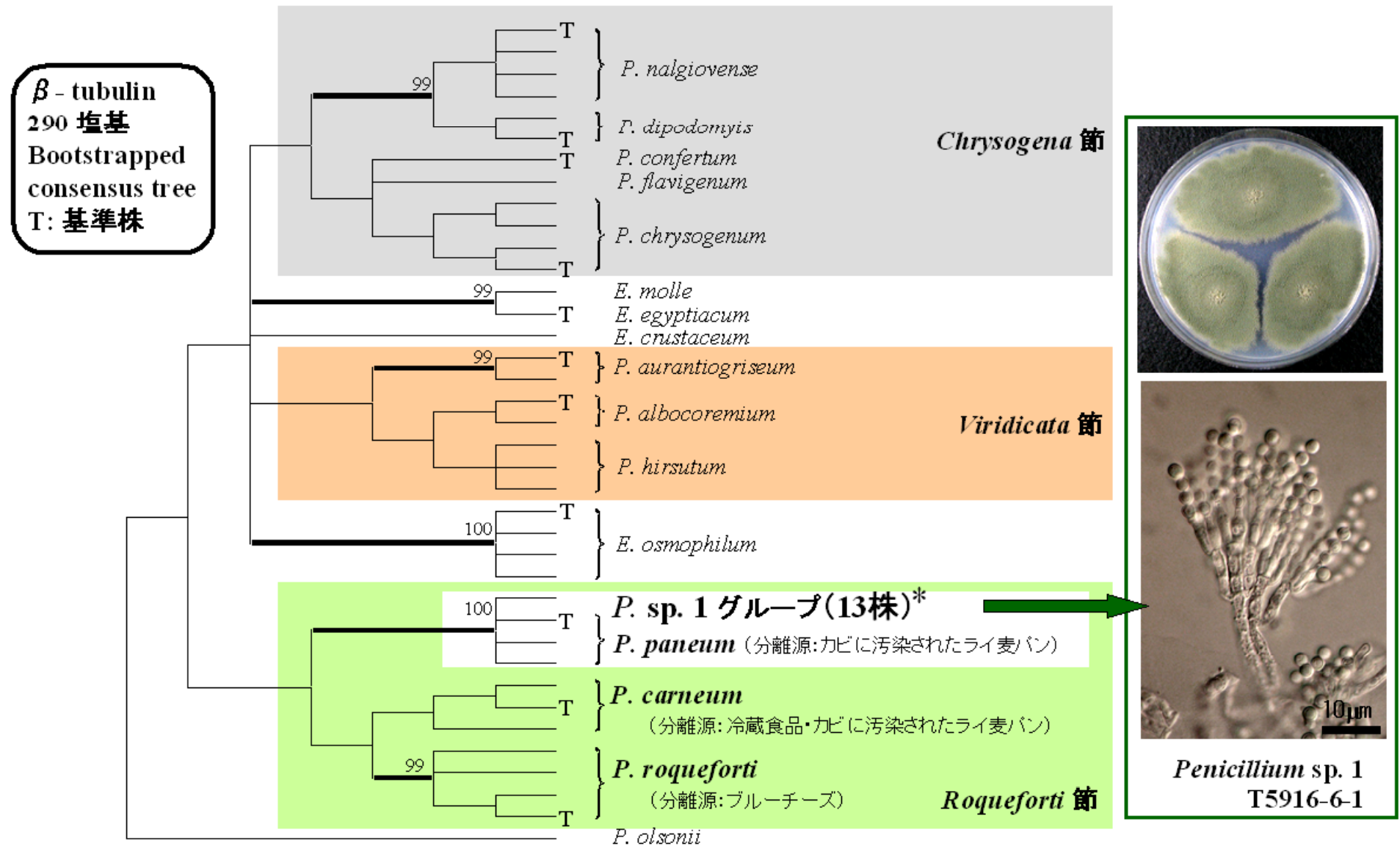


高松塚・キトラ両古墳の石室内外から分離されたトリコデルマ属(*Trichoderma*)18株*のEF-1 α 遺伝子を用いた分子系統樹(Kiyuna *et al.*(2008) *Mycoscience* 49: 298-311を一部改変)

*分子系統解析に用いた分離株18株: 高松塚: 9株(2003.9~2004.5)、キトラ: 9株(2003.9~2005.2)

5. 主要な菌類の正体(アイデンティティ)

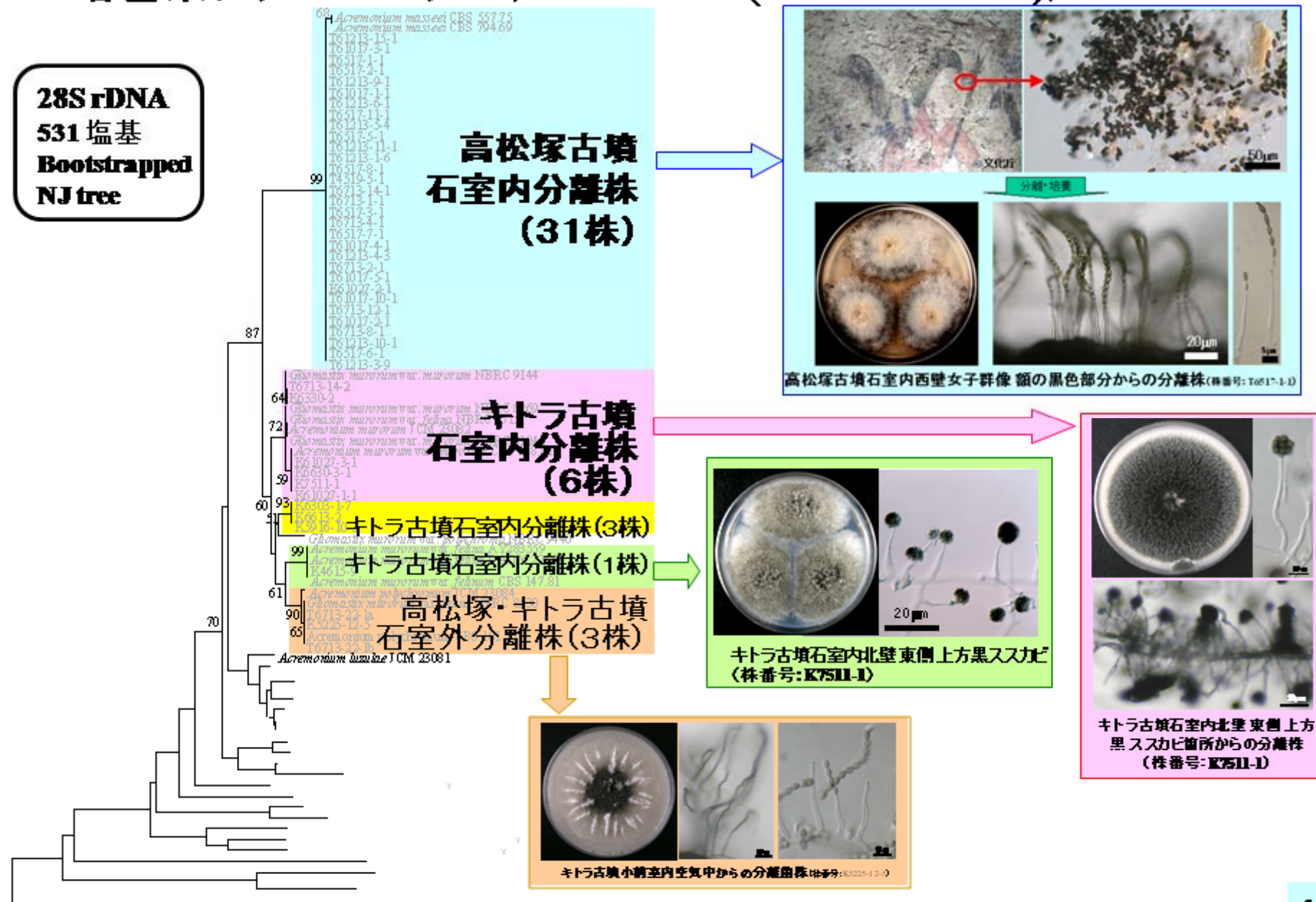
5-3. アオカビ属(*Penicillium*)



*分子系統解析に用いた分離株13株: 高松塚: 7株(2004.5~2006.5)、キトラ: 6株(2005.9~2006.2)

5. 主要な菌類の正体(アイデンティティ)

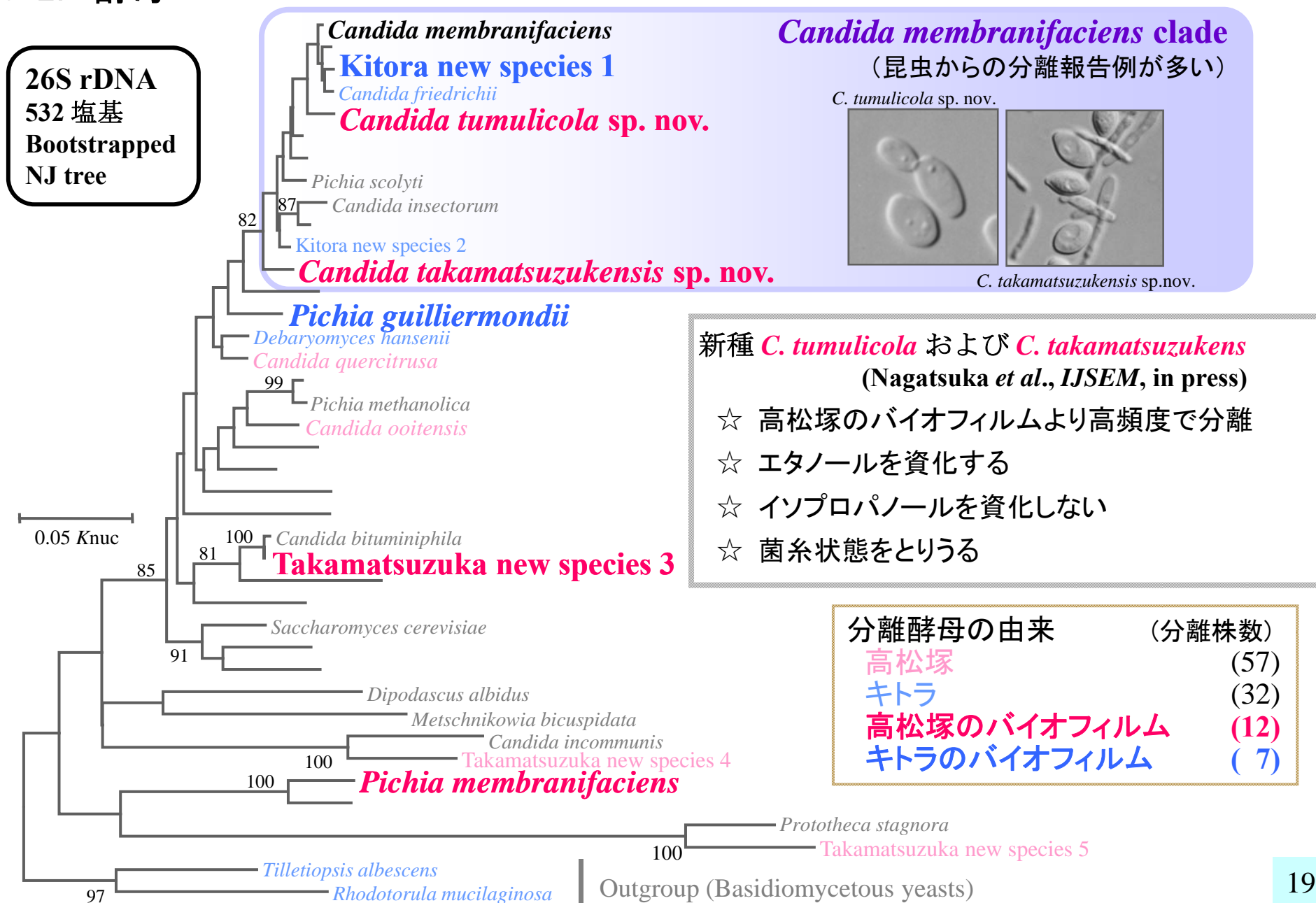
5-4. 暗色系アクレモニウム (*Acremonium* (sect. *Gliomastix*))



*分子系統解析に用いた分離株42株: 高松塚: 31株 (2004.5~2007.5)、キトラ: 11株 (2004.6~2007.5)

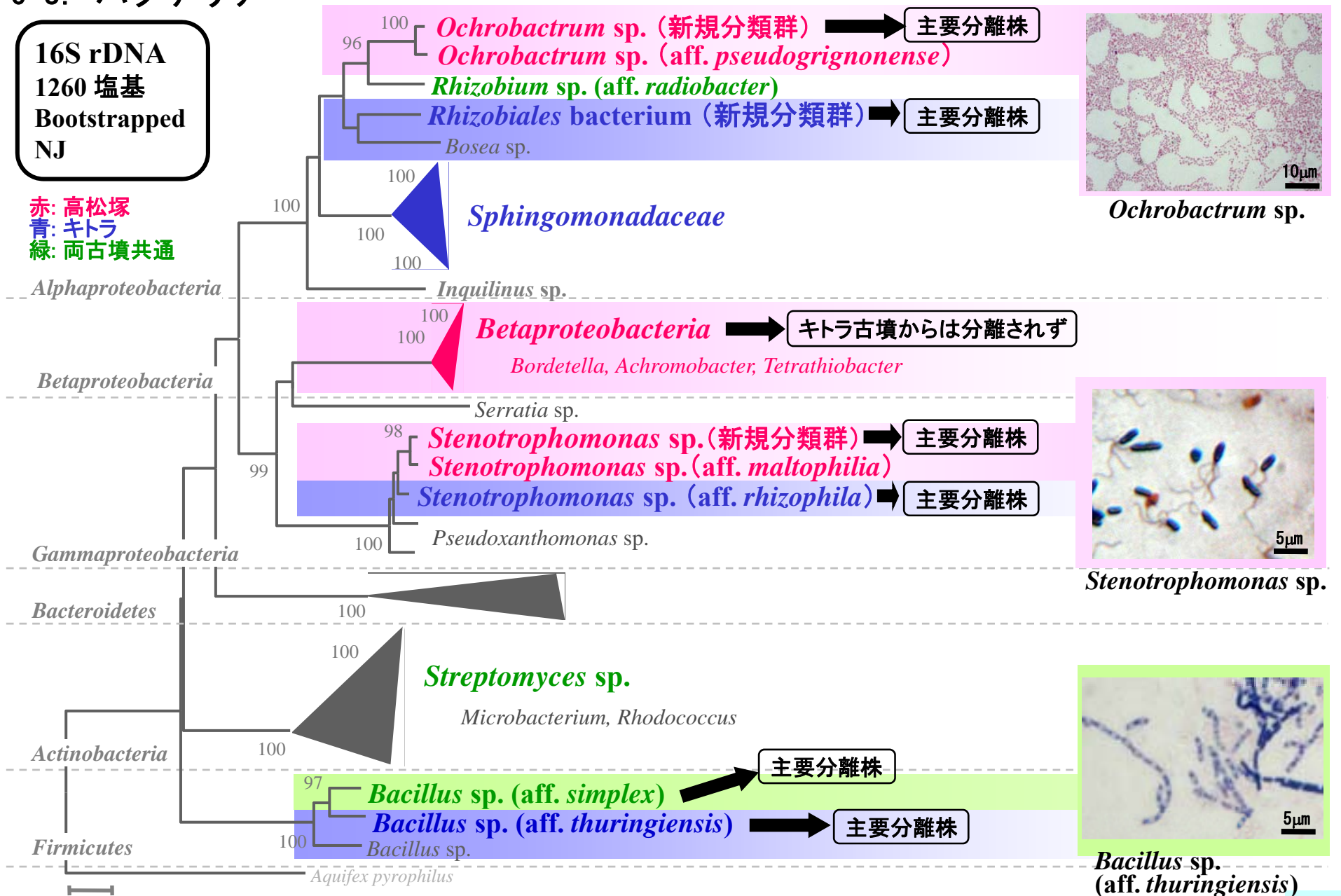
6. 高松塚・キトラ両古墳石室内壁のバイオフィルムのマイクロビータの比較

6-2. 酵母



6. 高松塚・キトラ両古墳石室内壁のバイオフィルムのマイクロビータの比較

6-3. バクテリア



高松塚古墳石室内、および取合部で使用された樹脂などのかび抵抗性試験

木川りか、佐野千絵
高鳥浩介、杉山純多
川野辺渉、石崎武志

<目的と方法>

高松塚古墳の石室や取合部などで 1972 年以降に使用された樹脂などの材料のかび抵抗性試験を行う。樹脂などの試料は、東京文化財研究所で作成し、かび抵抗性試験は J I S の試験方法に準じた仕様で、(財) 日本食品分析センターに依頼して実施した。

<試料>

- ・ 昭和 50 年代の修理において石室内の絵画の剥落止めに使用
→ パラロイド B72
- ・ 2001 年 2 月取合部の崩落止め工事の際、取合部で使用
→ OH100
→ アラルダイト A E R-2400・ハードナー H Y-837 5 : 2 (エポキシ樹脂)
- ・ 2001 年 7 月 取合部の防カビ処理の際、防カビ剤を擬土などに処理する際に使用
→ パラロイド B72
- ・ 2001 年以降、石室内壁画部の殺菌のためにエタノールを噴霧
→ パラロイド B72 に 90%容量エタノール : 10%容量水を噴霧
- ・ 2003 年 取合部で使用
→ ビフォロン
- ・ 2007 年の解体作業に伴い、絵画の表うちなどに使用
→ H P C、M C
- ・ 一般に日本画の剥落止め、表うちなどに使用される材料、
(石室では使用されていない)
→ 膠、ふのり

* なお、昭和 50 年代に石室で使用されたプライマル A C 55、プライマル A C 55 エマルジョン、および 2001 年の取合部工事で使用されたサイト S X-R・サイト S X-B 3:1 溶液 (シリケート) については、現在入手できなかったため、試験を行っていない。

* 今回は、樹脂を乾熱滅菌したガラスシャーレ (φ 約 60mm) に滴下し、乾燥、固化させたものを試料として使用した。したがって、現場で使用されたときの状況を必ずしも再現したものではないため、場合によっては現場の状況と近い条件で検討すべきものもあることに留意する必要がある (生乾きの状態の影響、固化する前に熱を発生する場合、周りの水分と相互作用する場合、周りの材質と相互作用する場合など)。

かび抵抗性試験

1 依頼者

独立行政法人 国立文化財機構 東京文化財研究所

2 検体

- 1) パラロイドB72/キシレン
- 2) パラロイドB72/キシレン/乾燥後エタノールを噴霧し乾燥させた物
- 3) OH100
- 4) アラルダイトAER2400
- 5) ビフォロン
- 6) HPC100万/水
- 7) MC400cps/水
- 8) 膠
- 9) ふのり

なお、依頼者から試験に用いるかび(8菌株)及びデシケーターが提供された。

3 試験目的

検体のかび抵抗性試験を行う。

4 試験概要

検体を試料とした。かびの混合孢子懸濁液又は単一孢子懸濁液を試料にまきかけ、ふたをして、精製水を入れたデシケーターに入れ、20～25℃で保存し、保存14、24、42及び56日後の試料表面のかび発育状態を肉眼及び顕微鏡下で観察した。また、試料をそのまま保存したもの及び精製水を入れたデシケーターに入れ保存したものについても同様に観察した。

5 試験結果

結果を表-1に、結果の表示方法を表-2に示した。また、保存56日後の試料の一例を写真-1～99に示した。

表-1-1 試験結果

| 検体 | 試験菌 | 試料表面のかび発育状態 | | | |
|--|--|-------------|------|--------|--------|
| | | 14日後 | 24日後 | 42日後 | 56日後 |
| 1) パラロイド B72 /キシレン | 混合孢子懸濁液* | －～＋ | －～＋ | ＋ | ＋ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | ＋ | ＋ | ＋ | ＋ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-3) | ＋ | ＋ | ＋ | ＋ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-154) | － | － | － | －～＋ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-6) | ±～＋ | ±～＋ | ±～＋ | ＋ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-5) | － | － | － | － |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-16) | － | － | － | － |
| | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. (株番号：TBT-105) | ＋ | ＋ | ＋ | ＋ |
| | <i>Cylindrocarpon</i> sp. (株番号：TBT-1) | － | － | － | － |
| 2) パラロイド B72 /キシレン /乾燥後 エタノール を噴霧し乾 燥させた物 | 混合孢子懸濁液* | ＋ | ＋ | ＋ | ＋ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | ＋ | ＋ | ＋＋～＋＋＋ | ＋＋～＋＋＋ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-3) | ＋ | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-154) | － | － | － | － |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-6) | －～＋ | －～＋ | －～＋ | －～＋ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-5) | －～＋ | ±～＋ | ＋ | ＋ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-16) | ＋ | ＋ | ＋ | ＋ |
| | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. (株番号：TBT-105) | ＋ | ＋ | ＋＋ | ＋＋ |
| | <i>Cylindrocarpon</i> sp. (株番号：TBT-1) | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ |

* *Aspergillus niger* NBRC 6341, *Penicillium pinophilum* IAM 7013,
Paecilomyces variotii IAM 5001, *Trichoderma virens* NBRC 6355,
Chaetomium globosum NBRC 6347 の単一孢子懸濁液を等量混合したもの

表-1-2 試験結果

| 検体 | 試験菌 | 試料表面のかび発育状態 | | | |
|-------------------------|--|-------------|------|------|------|
| | | 14日後 | 24日後 | 42日後 | 56日後 |
| 3) OH100 | 混合孢子懸濁液* | — | — | — | — |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | — | — | — | — |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-3) | — | — | — | — |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-154) | — | — | — | — |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-6) | — | — | — | — |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-5) | — | — | — | — |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-16) | — | — | — | — |
| | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. (株番号：TBT-105) | — | — | — | — |
| | <i>Cylindrocarpon</i> sp. (株番号：TBT-1) | — | — | — | — |
| | 混合孢子懸濁液* | + | + | + | + |
| 4) アラルダイト AER2400 | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | + | + | ＋～＋＋ | ＋～＋＋ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-3) | + | + | ＋ | ＋ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-154) | — | — | — | — |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-6) | + | + | ＋ | ＋ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-5) | ±～＋ | ±～＋ | ＋ | ＋ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-16) | －～＋ | －～＋ | －～＋ | －～＋ |
| | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. (株番号：TBT-105) | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ |
| | <i>Cylindrocarpon</i> sp. (株番号：TBT-1) | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ |
| | 混合孢子懸濁液* | ＋ | ＋ | ＋ | ＋ |

* *Aspergillus niger* NBRC 6341, *Penicillium pinophilum* IAM 7013,
Paecilomyces variotii IAM 5001, *Trichoderma virens* NBRC 6355,
Chaetomium globosum NBRC 6347 の単一孢子懸濁液を等量混合したもの

表-1-3 試験結果

| 検体 | 試験菌 | 試料表面のかび発育状態 | | | |
|---------------------|--|-------------|-------|-------|-------|
| | | 14日後 | 24日後 | 42日後 | 56日後 |
| 5) ビフォロン | 混合孢子懸濁液* | － ～ 土 | － ～ 土 | － ～ 土 | － ～ 土 |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | － | － | － | － |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-3) | ＋ | ＋ | ＋ | ＋ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-154) | － | － | － | － |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-6) | － | － | － | － |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-5) | － | － | － | － |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-16) | － | － | － | － |
| | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. (株番号：TBT-105) | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ | ＋＋ |
| | <i>Cylindrocarpon</i> sp. (株番号：TBT-1) | － | － | － | － |
| | 混合孢子懸濁液* | － | － | － | － |
| 6) HPC100万 /水 | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | － | － | － | － |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-3) | － | － | － | － |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-154) | － | － | － | － |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-6) | － | － | － | － |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-5) | － | － | － | － |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-16) | － | － | － | － |
| | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. (株番号：TBT-105) | － | － | － | － |
| | <i>Cylindrocarpon</i> sp. (株番号：TBT-1) | － | － | － | － |
| | 混合孢子懸濁液* | － | － | － | － |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | － | － | － | － |

* *Aspergillus niger* NBRC 6341, *Penicillium pinophilum* IAM 7013,
Paecilomyces variotii IAM 5001, *Trichoderma virens* NBRC 6355,
Chaetomium globosum NBRC 6347 の単一孢子懸濁液を等量混合したもの

表-1-4 試験結果

| 検体 | 試験菌 | 試料表面のかび発育状態 | | | |
|----------------------|--|-------------|--------|--------|------|
| | | 14日後 | 24日後 | 42日後 | 56日後 |
| 7) MC400cps /水 | 混合孢子懸濁液* | ++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | ++ | ++~+++ | +++ | +++ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-3) | ++ | ++ | +++ | +++ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-154) | ++ | ++ | +++ | +++ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-6) | ++ | ++ | +++ | +++ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-5) | ++ | ++ | +++ | +++ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-16) | ++ | ++ | ++~+++ | +++ |
| | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. (株番号：TBT-105) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Cylindrocarpon</i> sp. (株番号：TBT-1) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | 混合孢子懸濁液* | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 8) 膠 | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-3) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-154) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-6) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-5) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-16) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. (株番号：TBT-105) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Cylindrocarpon</i> sp. (株番号：TBT-1) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | 混合孢子懸濁液* | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | +++ | +++ | +++ | +++ |

* *Aspergillus niger* NBRC 6341, *Penicillium pinophilum* IAM 7013,
Paecilomyces variotii IAM 5001, *Trichoderma virens* NBRC 6355,
Chaetomium globosum NBRC 6347 の単一孢子懸濁液を等量混合したもの

表-1-5 試験結果

| 検体 | 試験菌 | 試料表面のかび発育状態 | | | |
|-----------|--|-------------|------|------|------|
| | | 14日後 | 24日後 | 42日後 | 56日後 |
| 9) ふのり | 混合孢子懸濁液* | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-4) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Fusarium</i> sp. (株番号：TBT-3) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-154) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Penicillium</i> sp. (株番号：TBT-6) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-5) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Trichoderma</i> sp. (株番号：TBT-16) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. (株番号：TBT-105) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | <i>Cylindrocarpon</i> sp. (株番号：TBT-1) | +++ | +++ | +++ | +++ |

* *Aspergillus niger* NBRC 6341, *Penicillium pinophilum* IAM 7013,
Paecilomyces variotii IAM 5001, *Trichoderma virens* NBRC 6355,
Chaetomium globosum NBRC 6347 の単一孢子懸濁液を等量混合したもの

表-1-6 試験結果

| 区分 | 検体 | 試料表面のかび発育状態 | | | |
|---------------------------|----------------------------|-------------|-------|-------|-------|
| | | 14日後 | 24日後 | 42日後 | 56日後 |
| そのまま保存 | 1) パラロイドB72 /キシレン | — | — | — | — |
| | パラロイドB72 /キシレン | | | | |
| | 2) /乾燥後エタノールを 噴霧し乾燥させた物 | — | — | — | — |
| | 3) OH100 | — | — | — | — |
| | 4) アラルダイトAER2400 | — | — | — | — |
| | 5) ビフォロン | — | — | — | — |
| | 6) HPC100万/水 | — | — | — | — |
| | 7) MC400cps/水 | — | — | — | — |
| | 8) 膠 | — | — | — | — |
| | 9) ふのり | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 精製水を入れた デシケーター内 で保存 | 1) パラロイドB72 /キシレン | — | — | — | — |
| | パラロイドB72 /キシレン | | | | |
| | 2) /乾燥後エタノールを 噴霧し乾燥させた物 | — | — | — | — |
| | 3) OH100 | — | — | — | — |
| | 4) アラルダイトAER2400 | — | — | — | — |
| | 5) ビフォロン | — | — | — | — |
| | 6) HPC100万/水 | — | — | — | — |
| | 7) MC400cps/水 | — | — | — | — |
| | 8) 膠 | —～++ | —～+++ | +～+++ | +～+++ |
| | 9) ふのり | +++ | +++ | +++ | +++ |

表-2 試験結果の表示方法

| 菌糸の発育 | 結果の表示 |
|--|-------|
| 肉眼及び顕微鏡下でかびの発生は認められない。 | — |
| 肉眼ではかびの発生が認められないが、顕微鏡下では確認する。 | ± |
| かびの発生が肉眼で認められ、発生部分の面積は検体表面積の10 %未満。 | + |
| かびの発生が肉眼で認められ、発生部分の面積は検体表面積の10 %以上、30 %未満。 | ++ |
| かびの発生が肉眼で認められ、発生部分の面積は検体表面積の30 %以上。 | +++ |

6 試験方法

1) 試験菌

a) 混合孢子懸濁液

JIS Z 2911:2000「かび抵抗性試験方法」附属書1(規定)プラスチック製品の試験, 方法Aに規定されている以下の5菌株を試験に供した。

Aspergillus niger NBRC 6341

Penicillium pinophilum IAM 7013(*Penicillium funiculosum*)

Paecilomyces variotii IAM 5001

Trichoderma virens NBRC 6355(*Gliocladium virens*)

Chaetomium globosum NBRC 6347

b) 依頼者提供菌株

Fusarium sp. (株番号: TBT-4)

Fusarium sp. (株番号: TBT-3)

Penicillium sp. (株番号: TBT-154)

Penicillium sp. (株番号: TBT-6)

Trichoderma sp. (株番号: TBT-5)

Trichoderma sp. (株番号: TBT-16)

Acremonium (sect. *Gliomastix*) sp. (株番号: TBT-105)

Cylindrocarpon sp. (株番号: TBT-1)

2) 混合孢子懸濁液及び単一孢子懸濁液の調製

試験菌をPotato Dextrose Agar(Difco)で25℃±2℃, 14日間培養した。培養後, 得られた孢子を0.005 %スルホコハク酸ジオクチルナトリウム溶液に懸濁させ, 滅菌したガーゼでろ過した。この懸濁液を血球計算盤を用いて, 1 ml当たりの孢子数が約 10^6 となるように調製し, 単一孢子懸濁液とした。

また, 試験菌a)は各単一孢子懸濁液を等量混合し, 混合孢子懸濁液とした。

3) 試験操作

検体を試料とした。試料に混合孢子懸濁液又は単一孢子懸濁液0.1 mlを均等にまきかけ, ふたをして, 精製水を入れたデシケーターに入れ, 20~25℃で保存し, 保存14, 24, 42及び56日後の試料表面のかび発育状態を肉眼及び顕微鏡下で観察した。また, 試料をそのまま保存したもの及び精製水を入れたデシケーターに入れ保存したものについても同様に観察した。

Table 2 Result of the mold susceptibility tests

| | | 14 days | 28 days | 42 days | 56 days |
|------------------------|--------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| group 0 | (a) <i>funori</i> | — | +~++ | +~++ | ++ |
| 室温 | (b) glue (pellet) | ++~++++ | ++~++++ | ++~++++ | ++~++++ |
| (room temperature) | (c) <i>sanzenbon</i> glue | — | — | — | — |
| | (d) paraloid B 72/xylene | — | — | — | — |
| | (e) paraloid B 72/ethylacetate | — | — | — | — |
| | (f) AC 3444 | — | — | — | — |
| | (g) HPC Mw: 100,000/ethanol | — | — | — | — |
| | (h) HPC Mw: 100,000/water | — | —~++ | ++ | ++ |
| | (i) HPC Mw: 1,000,000/ethanol | — | — | — | — |
| | (j) HPC Mw: 1,000,000/water | — | — | — | — |
| | (k) MC 400 cps | — | — | — | — |
| | (l) MC 4,000 cps | — | — | — | — |
| | (m) EC 4 cps | — | — | — | — |
| group 1 | (a) <i>funori</i> | ++ | ++~++++ | ++~++++ | ++~++++ |
| 混合孢子溶液 A | (b) glue (pellet) | ++ | ++~++++ | +++ | +++ |
| 29°C, 100%RH | (c) <i>sanzenbon</i> glue | +++ | +++ | +++ | +++ |
| mixed spore solution A | (d) paraloid B 72/xylene | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | (e) paraloid B 72/ethylacetate | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | (f) AC 3444 | — | — | — | — |
| | (g) HPC Mw: 100,000/ethanol | — | — | — | — |
| | (h) HPC Mw: 100,000/water | —~++ | —~++ | —~++ | —~++ |
| | (i) HPC Mw: 1,000,000/ethanol | — | — | — | — |
| | (j) HPC Mw: 1,000,000/water | — | — | — | — |
| | (k) MC 400 cps | — | —~++ | —~++ | —~++ |
| | (l) MC 4,000 cps | — | — | — | — |
| | (m) EC 4 cps | — | —~+ | —~++ | —~++ |
| group 2 | (a) <i>funori</i> | —~++ | —~++ | ++ | ++ |
| 混合孢子溶液 B | (b) glue (pellet) | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 29°C, 100%RH | (c) <i>sanzenbon</i> glue | +++ | +++ | +++ | +++ |
| mixed spore solution B | (d) paraloid B 72/xylene | ++~++++ | ++~++++ | ++~++++ | ++~++++ |
| | (e) paraloid B 72/ethylacetate | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | (f) AC 3444 | — | — | — | — |
| | (g) HPC Mw: 100,000/ethanol | — | — | — | — |
| | (h) HPC Mw: 100,000/water | ++~++ | ++~++ | ++~++ | ++ |
| | (i) HPC Mw: 1,000,000/ethanol | — | — | — | — |
| | (j) HPC Mw: 1,000,000/water | — | — | — | — |
| | (k) MC 400 cps | — | — | — | —~++ |
| | (l) MC 4,000 cps | — | — | — | — |
| | (m) EC 4 cps | — | — | — | — |
| group N | (a) <i>funori</i> | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 29°C, 100%RH | (b) glue (pellet) | ++~++++ | ++~++++ | ++~++++ | ++~++++ |
| | (c) <i>sanzenbon</i> glue | ++ | ++ | ++~++++ | ++~++++ |
| | (d) paraloid B 72/xylene | — | — | — | — |
| | (e) paraloid B 72/ethylacetate | — | — | — | — |
| | (f) AC 3444 | —~+ | —~+ | —~+ | —~++ |
| | (g) HPC Mw: 100,000/ethanol | — | —~++ | —~++ | —~++ |
| | (h) HPC Mw: 100,000/water | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | (i) HPC Mw: 1,000,000/ethanol | — | —~++ | —~++ | —~++ |
| | (j) HPC Mw: 1,000,000/water | — | — | — | — |
| | (k) MC 400 cps | — | — | — | — |
| | (l) MC 4,000 cps | — | — | — | — |
| | (m) EC 4 cps | — | — | — | — |

— : 肉眼および顕微鏡下でカビの発育は認められない。No mold growth was observed.

+ : 肉眼ではカビの発育は認められないが、顕微鏡下で確認する。Mold growth was not visible by eyes, but detected under amicroscope.

++ : 菌糸の発育が肉眼で認められるが、発育部分の面積は試料の全面積の25%を超えない。Mold growth was visible, but the area of the growth was less than 25% of the total area.

+++ : 菌糸の発育が肉眼で認められる。発育部分の面積は試料の全面積の25%を超える。Mold growth was significant. The area of the mold growth was over 25% of the total area.

平成18年7月18日

高松塚古墳石室の微生物（カビ）対策に対する所見

高鳥浩介

国立医薬品食品衛生研究所

高松塚古墳石室のカビ被害現状

平成16年10月高松塚古墳石室を調査してからまもなく2年になる。調査の目的は、石室内のカビ被害の実状を確認することおよび被害防止対策のためである。カビ発生はマクロ・ミクロ的にも収まる傾向がみられず、石室内の気温17—20℃にあることがカビ発生の一因と考えられ、その緊急対策として昨年9月以降低温処置が進められ、現在10℃程度で維持管理している。

高松塚古墳石室のカビ被害対策調査を通して感じることはカビによる被害が著しく進んでおり、おそらく長年にわたってカビとの戦いが続いてきたものと思う。今では、石室内壁面から常にカビが検出されるように石室内で常在化している。その主は特定のペニシリウム(*Penicillium*)種であり、そのほか数種のカビが見いだされている。このような状況から、現状ではカビを完全に制御することは極めて困難であり、少しでも制御するための緊急対策や体制が必要となる。

カビの発生

石室内にみる主要なカビは、長年にわたりペニシリウムである。ペニシリウムは、普遍的な分布をとることからこのような環境に発生しても異常ではない。その後カビ発生として、クラドスポリウム、ドラトマイセス、フザリウムなど検出されているが、単発的のようである。すなわちペニシリウムだけが発見当初から継続して検出されてきたカビである。

なぜ石室にペニシリウムが多いのか。個人的な考察であるが、①多量の孢子産生 ②温度適性 ③薬剤抵抗性 ④孢子の長期活性 ⑤飛散性・伝播性 ⑥分布による活性の強さ ⑦他菌種に対する拮抗性など挙げることができる。

石室内の壁面からのふき取りで常にペニシリウム孢子が確認できるように、おそらく石室壁面等はペニシリウムの孢子で覆われていると思われる。このようなカビが優占的に常在している場合に起きる現象として、カビ発生が起ると主要なカビ（例：高松塚ではペニシリウム）が発生する。しかし、環境や基質などの条件では他のカビが発生する（例：ドラトマイセス、暗色系アクレモニウムなど）こともある。またカビの発生は同一箇所では僅か1、2種のカ

びだけが生えるだけであり、決して多種類のカビによることはない。いままでの石室内でのカビ発生事例をみても理解できるかと思う。

発生を防ぐには—高松塚石室の現状を考慮して緊急対策

高松塚石室でのカビ調査を通して感じることは、カビはもはや常在化しており、しかも特殊な環境であるためにカビ除去は困難を極めることである。すなわち、高湿かつ狭隘な環境であり、カビ除去作業を実施するにしても長期作業が困難でカビ処理効率が極めて低く、さらに使用する薬剤等による健康被害の問題といった高松塚古墳石室の特殊性がある。

今までの検討会での議論から緊急対策は低温化してカビの発生を制御しながら恒久対策へと進めていくことであるが、現在その緊急対策として石室内は10℃に維持されている。その結果、カビによるシミ状を呈す現象が起きたり、暗色系アクレモニウムが確認されてはいるが、従来のように目視によるカビの大発生は減少しつつあるといえる。すなわち、石室内を低温にしたことにより、少なくともカビの発生は少なくなっている。

今後も維持管理を続けていくために重要なことは、文化庁および関係者による一定期間毎の点検を実施することと、カビの発生が確認された場合は速やかな薬剤対応をすることである。

石室内で使用できる薬剤は制限される。使用可能とする薬剤は気化性の強いアルコール系、アルデヒド系および4級アンモニウム塩であり、これらはいずれも即効性があり、強い殺カビ性が確認されていることから、有効濃度範囲で十分効果が得られる。

除湿によるカビ制御の可能性について述べる。相対湿度 95%以上になるとカビの発生を制御できないが、80%台にするとかなりカビの制御が可能となる。除湿により好乾性カビの発生を危惧する向きもあるが、高松塚古墳石室の環境・基質・期間の関係などから個人的には問題にしなくても良いと思う。

緊急対策である現在の対応は低温維持管理であり、カビ発生した場合は速やかな薬剤による対処とする。低温維持管理は一時的には優れたカビ制御ではあるが、あくまでも“緊急的な対応”であり、長期的な安定が期待できず、かつ完全なカビ対策にはならない対症療法としての感が強いことを是非理解していただきたい。

高松塚古墳分離カビ等に対する消毒薬試験結果

2006年7月11日

国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部長

高鳥 浩介

高松塚古墳の石室等を汚染する主要カビについて、3種消毒薬による殺カビ試験を検討した。

使用菌株：

高松塚古墳石室等由来カビ

Penicillium spp. (ペニシリウム) 4株

暗色系 *Acremonium* sp. (アクレモニウム) 1株

Trichoderma sp. (トリコデルマ) 1株

キトラ取合部由来カビ

Paecilomyces lilacinus (ペシロミセス) 1株

生活環境由来

Penicillium spp. (ペニシリウム) 2株

消毒薬：

- | | |
|----------------|------------|
| 1) 消毒用エタノール | : 70% |
| 2) イソプロピルアルコール | : 70% |
| 3) ホルマリン | : 1, 3, 5% |

試験方法：

各カビを1週間前培養して増殖期にあるカビの胞子液を調整した。

上記濃度とした消毒薬に胞子を接種し、浸漬処理した。

所定時間浸漬後、速やかに消毒薬の胞子を取り出し、後培養を行った。

培養により発育の有無を確認判定した。

表中の判定表示

＋：カビの発育を認める（生残）

－：カビの発育を認めない（死滅）

結果：

- 1) 高松塚由来カビに対して、3種の消毒薬ともに効果が確認された。
- 2) アルコール系での消毒効果はエタノールがより有効であった。
- 3) ホルマリンでは3%以上で有効であった。
- 4) アルコール系の消毒効果を比較をすると石室に多い *Penicillium* (ペニシリウム) に対してエタノールがイソプロピルアルコールより優れていた。
- 5) ホルマリンは一般使用濃度域の高濃度で有効であった。
- 6) 暗色系 *Acremonium* sp. に対して消毒薬はいずれも有効であった。
- 7) 作業時での安全性等を考慮した場合、エタノールが最も有効な消毒薬といえた。

所見：

今回使用した3種の消毒薬は石室壁面等で使用可能とする気化性の強い消毒薬である。その場合カビに対する有効性はもちろん望まれるものであるが、さらにいくつか考慮すべき注意点がある。例えば、

- (1) 作業環境が狭隘であることから薬剤の安全性が高い
- (2) 有機物等の残留性がない
- (3) 短時間で有効であるためには気化性が強くかつ消毒効果が優れている
- (4) 壁画等への影響がない
- (5) *Penicillium* を含めた広範囲なカビに有効である

このような状況から高松塚古墳石室壁画等でのカビを制御する薬剤には制約がある。重要な点は安全かつ消毒効果が期待されることであり、気化性の強い薬剤の場合、少なくとも短時間で殺カビ性を有すことである。高松塚古墳石室には、長年にわたって *Penicillium* が広範囲に生息していることから、現状では完全に除去できる方法は望めないであろう。そのため、ここに示したエタノール及びホルマリンが有効とされることから、消毒作業を必要に応じてする必要がある。その消毒作業に関して、考慮しておかなければならないことは、石室内は高湿であり壁面の湿気が強いことから薬剤濃度を高めにして処理することも重要である。

高松塚古墳分離株等 消毒薬の効果試験結果

高松塚8 (*Penicillium* sp.)

| 消毒薬\時間 | 30秒 | 60秒 | 90秒 | 2分 | 5分 | 10分 | 20分 | 30分 |
|-------------|-----|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|
| 70%エタノール | + | — | — | — | / | / | / | / |
| 70%イソプロパノール | + | + | + | + | | | | |

高松塚13 (*Penicillium* sp.)

| 消毒薬\時間 | 30秒 | 60秒 | 90秒 | 2分 | 5分 | 10分 | 20分 | 30分 |
|-------------|-----|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|
| 70%エタノール | + | — | — | — | / | / | / | / |
| 70%イソプロパノール | + | + | + | + | | | | |

高松塚9 (*Penicillium* sp.)

| 消毒薬\時間 | 30秒 | 60秒 | 90秒 | 2分 | 5分 | 10分 | 20分 | 30分 | 60分 |
|-------------|-----|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|-----|
| 70%エタノール | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 70%イソプロパノール | + | + | + | + | + | — | — | — | — |

東壁の石の上 (*Penicillium* sp.)

| 消毒薬\時間 | 30秒 | 60秒 | 90秒 | 2分 | 5分 | 10分 | 20分 | 30分 | 60分 |
|-------------|-----|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|-----|
| 70%エタノール | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| 70%イソプロパノール | + | + | + | + | + | + | — | — | — |

暗色系 *Acremonium* sp.

| 消毒薬\時間 | 30秒 | 60秒 | 90秒 | 2分 | 3分 |
|-------------|-----|-----|-----|----|----|
| 70%エタノール | — | — | — | — | — |
| 70%イソプロパノール | — | — | — | — | — |
| 1%ホルマリン水 | — | — | — | — | — |

Trichoderma sp. (取り合い部)

| 消毒薬\時間 | 30秒 | 60秒 | 90秒 | 2分 | 3分 |
|------------------------|-----|-----|-----|----|----|
| 70%エタノール | — | — | — | — | — |
| 70%イソプロパノール | — | — | — | — | — |
| 1%ホルマリン水 ^{※1} | + | + | + | + | + |
| 3%ホルマリン水 ^{※2} | — | — | — | — | — |
| 5%ホルマリン水 ^{※3} | — | — | — | — | — |

陽性コントロール(+)

陰性コントロール(—)

未実施 (/)

※1 ホルマリン(ホルムアルデヒド36～38%含有)を35倍希釈したもの

※2 ホルマリン(ホルムアルデヒド36～38%含有)を10倍希釈したもの

※3 ホルマリン(ホルムアルデヒド36～38%含有)を7倍希釈したもの

<参考試料>

生活環境由来 *Penicillium* 属の耐アルコール試験結果

Penicillium sp. 空中真菌

| 消毒薬\時間 | 30秒 | 60秒 | 90秒 | 2分 | 5分 |
|-------------|-----|-----|-----|----|----|
| 70%エタノール | - | - | - | - | - |
| 70%イソプロパノール | - | - | - | - | - |

Penicillium sp. ダスト

| 消毒薬\時間 | 30秒 | 60秒 | 90秒 | 2分 | 5分 |
|-------------|-----|-----|-----|----|----|
| 70%エタノール | - | - | - | - | - |
| 70%イソプロパノール | - | - | - | - | - |

キトラ古墳由来 *Paecilomyces lilacinus*

| 消毒薬\時間 | 30秒 | 60秒 | 90秒 | 2分 | 5分 | 10分 | 20分 | 30分 | 60分 |
|-------------|-----|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|-----|
| 70%エタノール | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 70%イソプロパノール | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

陽性コントロール(+)

陰性コントロール(-)

未実施 (/)

高松塚古墳分離株等 消毒薬の効果試験結果

70%エタノール

| 供試菌 | 時間（分） | | | | | | | | |
|-------------------------------|-------|---|-----|---|---|----|----|----|----|
| | 0.5 | 1 | 1.5 | 2 | 5 | 10 | 20 | 30 | 60 |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚8 | + | — | — | — | — | / | / | / | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚13 | + | — | — | — | — | / | / | / | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 東壁の石の上 | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| <i>Acremonium</i> sp. | — | — | — | — | / | / | / | / | / |
| <i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部 | — | — | — | — | / | / | / | / | / |

70%イソプロパノール

| 供試菌 | 時間（分） | | | | | | | | |
|-------------------------------|-------|---|-----|---|---|----|----|----|----|
| | 0.5 | 1 | 1.5 | 2 | 5 | 10 | 20 | 30 | 60 |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚8 | + | + | + | — | — | — | — | / | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚9 | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚13 | + | + | — | — | — | — | — | / | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 東壁の石の上 | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| <i>Acremonium</i> sp. | — | — | — | — | / | / | / | / | / |
| <i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部 | — | — | — | — | / | / | / | / | / |

1%ホルマリン水^{※1}

| 供試菌 | 時間（分） | | | | |
|------------------------------|-------|---|-----|---|---|
| | 0.5 | 1 | 1.5 | 2 | 3 |
| <i>Acremonium</i> sp. | — | — | — | — | — |
| <i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部 | + | + | + | + | + |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚8 | + | + | + | + | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚13 | + | + | + | + | / |

3%ホルマリン水^{※2}

| 供試菌 | 時間（分） | | | | |
|------------------------------|-------|---|-----|---|---|
| | 0.5 | 1 | 1.5 | 2 | 3 |
| <i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部 | — | — | — | — | — |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚8 | — | — | — | — | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚13 | — | — | — | — | / |

5%ホルマリン水^{※3}

| 供試菌 | 時間（分） | | | | |
|------------------------------|-------|---|-----|---|---|
| | 0.5 | 1 | 1.5 | 2 | 3 |
| <i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部 | — | — | — | — | — |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚8 | — | — | — | — | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚13 | — | — | — | — | / |

＋：発育を認める（生残）

—：発育を認めない（死滅）

/：未実施

※1 ホルマリン（ホルムアルデヒド36～38%含有）を35倍希釈したもの

※2 ホルマリン（ホルムアルデヒド36～38%含有）を10倍希釈したもの

※3 ホルマリン（ホルムアルデヒド36～38%含有）を7倍希釈したもの

＜参考試料＞

70%エタノール

[illegible]

70%イソプロパノール

[illegible]

高松塚古墳分離株等 消毒薬の効果試験結果

70%エタノール

| 供試菌 | 時間（分） | | | | | | | | |
|-------------------------------|-------|---|-----|---|---|----|----|----|----|
| | 0.5 | 1 | 1.5 | 2 | 5 | 10 | 20 | 30 | 60 |
| <i>Penicillium</i> sp. (高松塚8) | + | — | — | — | / | / | / | / | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚13 | + | — | — | — | / | / | / | / | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 東壁の石の上 | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| <i>Acremonium</i> sp. | — | — | — | — | / | / | / | / | / |
| <i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部 | — | — | — | — | / | / | / | / | / |

70%イソプロパノール

| 供試菌 | 時間（分） | | | | | | | | |
|-------------------------------|-------|---|-----|---|---|----|----|----|----|
| | 0.5 | 1 | 1.5 | 2 | 5 | 10 | 20 | 30 | 60 |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚8 | + | + | + | + | / | / | / | / | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚9 | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| <i>Penicillium</i> sp. 高松塚13 | + | + | + | + | / | / | / | / | / |
| <i>Penicillium</i> sp. 東壁の石の上 | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| <i>Acremonium</i> sp. | — | — | — | — | / | / | / | / | / |
| <i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部 | — | — | — | — | / | / | / | / | / |

1%ホルマリン水※¹

| 供試菌 | 時間（分） | | | | |
|------------------------------|-------|---|-----|---|---|
| | 0.5 | 1 | 1.5 | 2 | 3 |
| <i>Acremonium</i> sp. | — | — | — | — | — |
| <i>Trichoderma</i> sp. 取り合い部 | + | + | + | + | + |

Trichoderma sp. 取り合い部

| 消毒薬 | 時間（分） | | | | |
|------------------------|-------|---|-----|---|---|
| | 0.5 | 1 | 1.5 | 2 | 3 |
| 1%ホルマリン水※ ¹ | + | + | + | + | + |
| 3%ホルマリン水※ ² | — | — | — | — | — |
| 5%ホルマリン水※ ³ | — | — | — | — | — |

+：発育を認める（生残）
 —：発育を認めない（死滅）
 /：未実施

※¹ ホルマリン（ホルムアルデヒド36～38%含有）を35倍希釈したもの

※² ホルマリン（ホルムアルデヒド36～38%含有）を10倍希釈したもの

※³ ホルマリン（ホルムアルデヒド36～38%含有）を7倍希釈したもの

＜参考試料＞

70%エタノール

[illegible]

70%イソプロパノール

[illegible]

低濃度のエタノールおよびイソプロパノール資化性試験結果

東京大学名誉教授、テクノスルガ・ラボ 杉山純多
東京文化財研究所 佐野千絵・木川りか

高松塚古墳およびキトラ古墳の分離株（カビ 15 株、酵母 5 株、細菌 10 株）が、両古墳において使用されてきた薬剤（エタノール、イソプロパノール）が低濃度になった場合、資化（栄養源として利用し、生育）するかについて試験した。その結果をカテゴリー別で以下に示す。

1. カビ（15 株）

栄養源として、各基質を 0.5 および 1.0%相当添加した液体培地に供試菌株を植菌し、生育の有無を確認した。

その結果、エタノールは全ての分離株で資化され、T4519-9-7 株（*Trichoderma* sp. 1-b）など一部の分離株ではグルコース 0.5%相当を加えた対照よりも良好な生育性を示す分離株が認められた（表 1 中のピンク部）。一方、イソプロパノールは *Acremonium* (sect. *Gliomastix*)、*Penicillium* および *Fusarium*、3 属の分離株で資化される傾向が認められたが、*Acremonium* (sect. *Gliomastix*) 以外は資化能が低かった。また、*Trichoderma* など、その他の分離株では殆ど資化しないことが明らかになった（表 1）。

表 1. カビ分離株の資化性試験結果

| 分離株番号 | 微生物名（仮） | エタノール(%) | | イソプロパノール(%) | | 対照 | |
|------------|--|----------|-----|-------------|-----|-----|----------|
| | | 0.5 | 1.0 | 0.5 | 1.0 | 無栄養 | Glc:0.5% |
| T4519-5-1 | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. | + | + | +w | + | — | + |
| T6517-1-1 | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. | + | + | + | + | — | + |
| K7511-1 | <i>Acremonium</i> (sect. <i>Gliomastix</i>) sp. | + | + | + | +w | — | + |
| T5916-6-1 | <i>Penicillium</i> sp. 1 (<i>P. paneum</i>) | + | + | +w | +w | — | + |
| T6517-1-2 | <i>Penicillium</i> sp. 1 (<i>P. paneum</i>) | + | + | +w | +w | — | + |
| K5916-7-1 | <i>Penicillium</i> sp. 1 (<i>P. paneum</i>) | + | + | +w | +w | — | + |
| T4519-9-3 | <i>Fusarium</i> sp. (<i>F. solani</i> species complex) | + | + | +w | +w | — | + |
| T4716-1 | <i>Fusarium</i> sp. (cf. <i>F. solani</i> species complex) | + | + | +w | +w | — | + |
| K5225-19-3 | <i>Fusarium</i> sp. (<i>F. solani</i> species complex) | + | + | +w | +w | — | + |
| T4519-9-7 | <i>Trichoderma</i> sp. 1-b | + | + | — | — | — | + |
| K5916-7-3 | <i>Trichoderma</i> sp. 1-b | + | + | — | — | — | + |
| TBT-1 | <i>Cylindrocarpon</i> sp. | + | + | +w | — | — | + |
| TBK-22 | <i>Cylindrocarpon</i> sp. | + | +w | — | — | — | + |
| K7316-1-1 | <i>Burgoa</i> sp. | +w | +w | — | — | — | + |
| K5906-1-1 | <i>Phialocephala phycomyces</i> | + | + | — | — | — | + |

【凡例】+；生育陽性、+w；弱い生育陽性、—；生育陰性

2. 酵母（5 株）

栄養源として、各基質を 0.5 および 1.0%相当添加した液体培地に供試菌株を植菌し、生育の有無を確認した。

その結果、低濃度のエタノールは全ての分離株で資化されたが、T4922-1-1^T 株（新種 *Candida takamatsuzukensis* 基準株）では 2 週間程度生育が遅れる傾向が見られた（表 2）。一方、イソプロパノールは全ての分離株において資化されないことが明らかになった（表 2）。

表 2. 酵母分離株の資化性試験結果

| 分離株番号 | 微生物名（仮） | エタノール(%) | | イソプロパノール(%) | | 対照 | |
|------------------------|--|----------------|----------------|-------------|-----|-----|----------|
| | | 0.5 | 1.0 | 0.5 | 1.0 | 無栄養 | Glc:0.5% |
| T4716-3 | <i>Pichia membranifaciens</i> | + | + | — | — | — | + |
| K5916-7-4 | <i>Candida</i> sp. (新種) | + | + | — | — | — | + |
| T4922-1-1 ^T | <i>Candida takamatsuzukensis</i> （基準株） | + _s | + _s | — | — | — | + |
| T6517-9-5 ^T | <i>Candida tumulicola</i> （基準株） | + | + | — | — | — | + |
| T6517-3-4 | <i>Pichia guilliermondii</i> | + | + | — | — | — | + |

【凡例】+；生育陽性、+_s；試験開始後 2 週間以降に生育陽性、—；生育陰性

3. 細菌（10 株）

栄養源として、各基質を 0.1, 0.5 および 1.0%添加した寒天培地に供試菌株を植菌し、生育の有無を確認した。

その結果、T6220-7-3b 株（*Microbacterium* sp.）を除く全ての細菌分離株において、低濃度のエタノールおよびイソプロパノールが資化されることが明らかになった（表 3）。

表 3. 細菌分離株の資化性試験結果

| 分離株番号 | 微生物名（仮） | エタノール(%) | | | イソプロパノール(%) | | | 対照 | |
|-------------|--|----------|-----|-----|-------------|-----|-----|-----|----------|
| | | 0.1 | 0.5 | 1.0 | 0.1 | 0.5 | 1.0 | 無栄養 | Glc:0.1% |
| K5929-2-1b | <i>Gluconacetobacter</i> sp. | + | + | + | + | + | + | — | + |
| K5902-3-1b | <i>Rhizobium radiobacter</i> | + | + | + | + | + | + | — | + |
| K5916-3-1b | <i>Stenotrophomonas</i> sp. (<i>S. rhizophila</i> 近縁) | + | + | + | + | + | + | — | + |
| K6203-10-3b | <i>Bacillus simplex</i> | + | + | + | + | + | + | — | + |
| T6220-2-3b | <i>Ochrobactrum</i> sp. (<i>O. grignonense</i> 近縁) | + | + | + | + | + | + | — | + |
| T6220-6-3b | <i>Tetrathibacter kashmirensis</i> | + | + | + | + | + | + | — | + |
| T5916-2-1b | <i>Stenotrophomonas</i> sp. (新種) | + | + | + | + | + | + | — | + |
| T6220-7-3b | <i>Microbacterium</i> sp. (<i>M. phyllosphaerae</i> 近縁) | — | — | — | — | — | — | — | + |
| T6220-7-2b | <i>Sphingobacterium</i> sp. (<i>S. thalpophilum</i> 近縁) | + | + | + | + | + | + | — | + |
| T5916-8-1b | <i>Bacillus thuringiensis</i> | + | + | + | + | + | + | — | + |

【凡例】+；生育陽性、—；生育陰性

GYC 寒天平板での炭酸カルシウム溶解性試験結果

東京大学名誉教授、テクノスルガ・ラボ 杉山純多

東京文化財研究所

佐野千絵・木川りか

<目的>

古墳壁画の生物的な劣化要因のひとつとして、微生物が生成した酸による pH の低下などの影響が考えられる。そこで、pH の低下により漆喰の主成分でもある炭酸カルシウムの溶解（劣化）を調査する手法のひとつとして、乳酸菌あるいは酢酸菌などの有機酸生成細菌の培養で一般的に用いられている炭酸カルシウム入りの培地を用いることにした。高松塚古墳およびキトラ古墳の石室内から分離された細菌、酵母、カビについて、炭酸カルシウムの溶解性を調査するために、主要な分類群と推定される菌株を選択し、GYC 寒天平板を用いて試験を行った。

<方法>

GYC 寒天平板培地（組成：グルコース 100 g、酵母エキス 10 g、炭酸カルシウム 20 g、寒天 15 g、蒸留水 1000ml、pH6.8）に各菌株を接種して、25℃で培養し、炭酸カルシウムの溶解性を観察した。

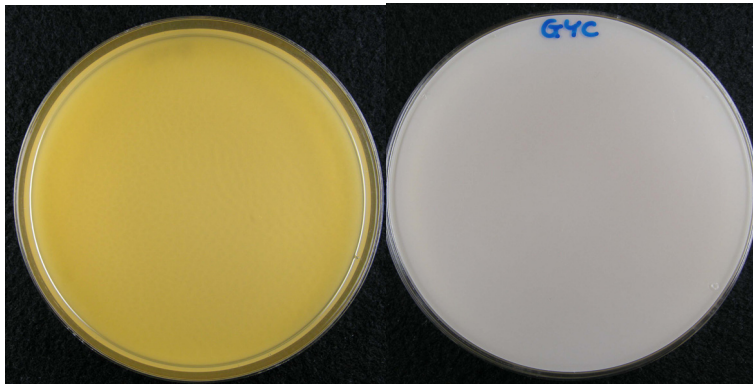
細菌、酵母は画線で、カビは平板中央に接種した。

<結果>

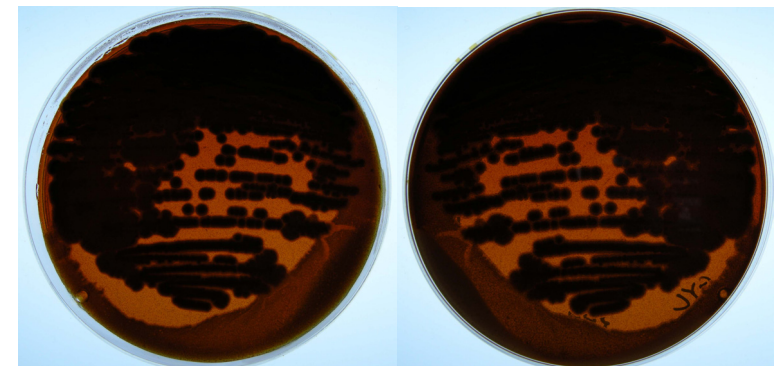
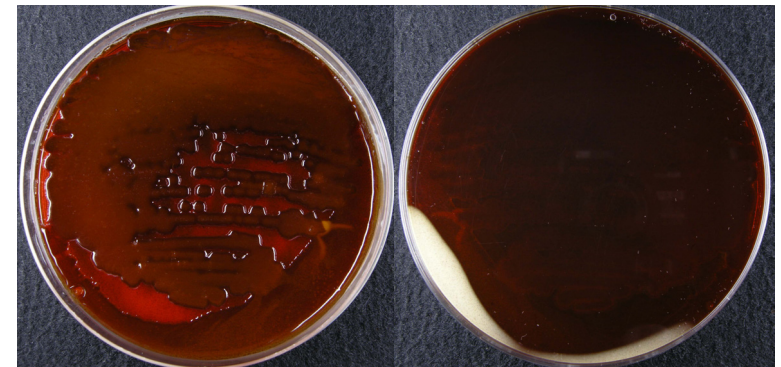
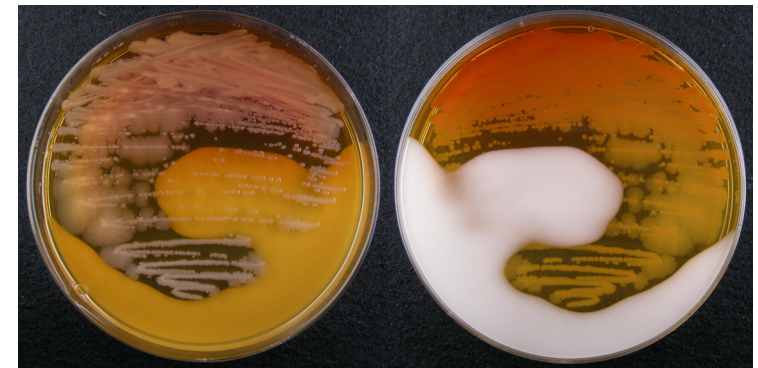
高松塚古墳からの分離株では、酵母では、*Candida takamatsuzukensis* や *Pichia guilliermondii* で炭酸カルシウム溶解性がみられた。また、カビでは、*Fusarium* など若干炭酸カルシウム溶解性がみられるものがあった。

一方、キトラ古墳からの分離株では、細菌では、酢酸菌（*Gluconacetobacter* spp.）が顕著な炭酸カルシウム溶解性を示した。また、酵母で若干の炭酸カルシウム溶解性を示すものが、カビでは *Phialocephala phycomyces* で特に顕著に炭酸カルシウム溶解性がみられ、*Cylindrocarpon* や *Fusarium* では若干の炭酸カルシウム溶解性がみられた。

結果（細菌）

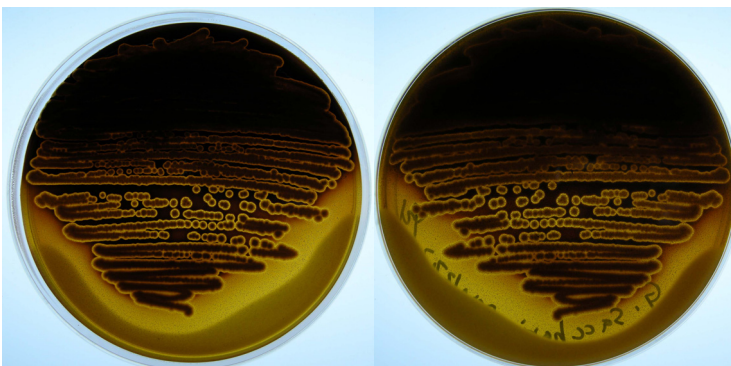
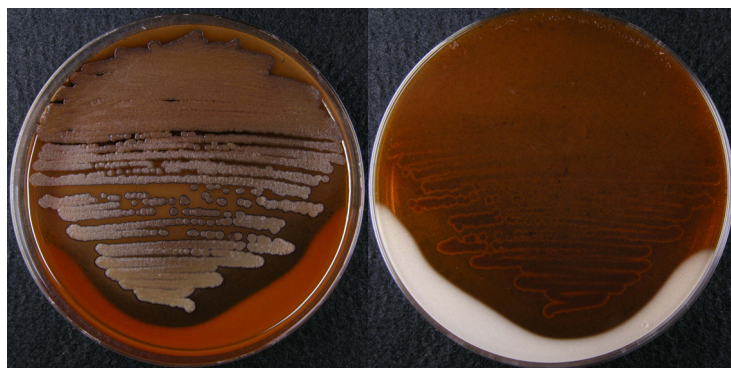
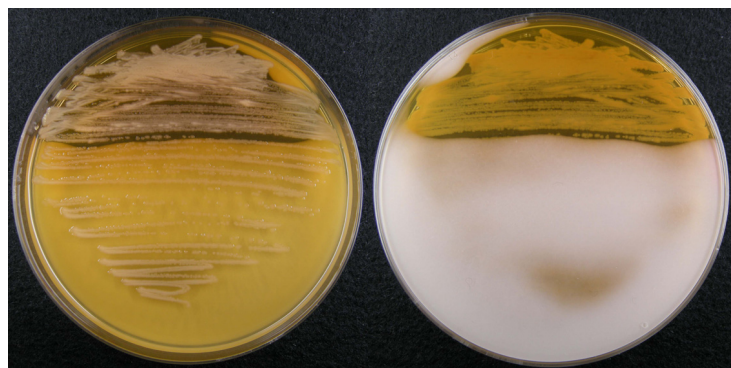


対照 (未接種) GYC agar plate Control 左: 表 右: 裏



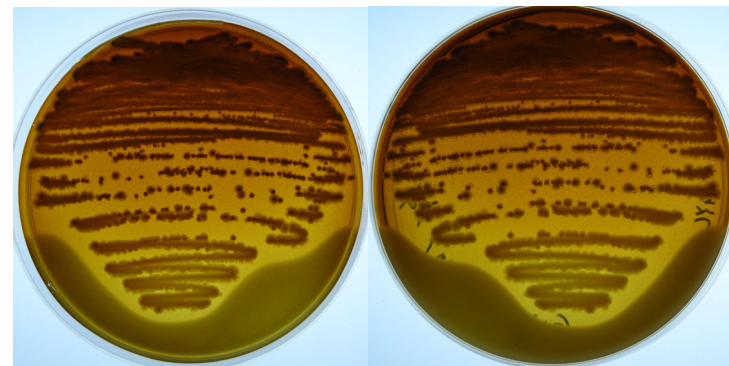
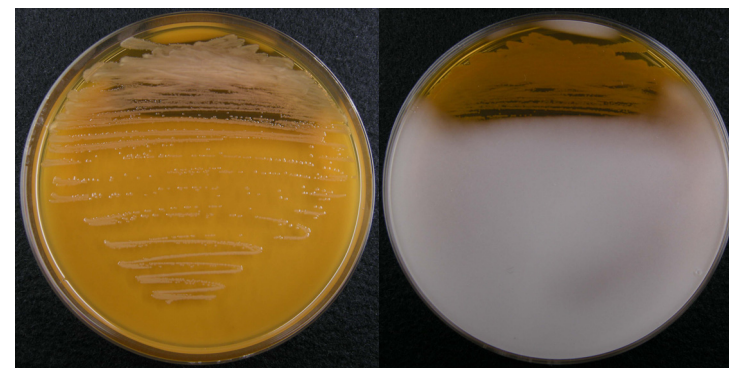
キトラ古墳分離株 *Gluconacetobacter* sp. K5929-2-1b

上段 : 1 週間後、中段 : 4 週間後、下段 : 4 週間後バックライト照射による撮影



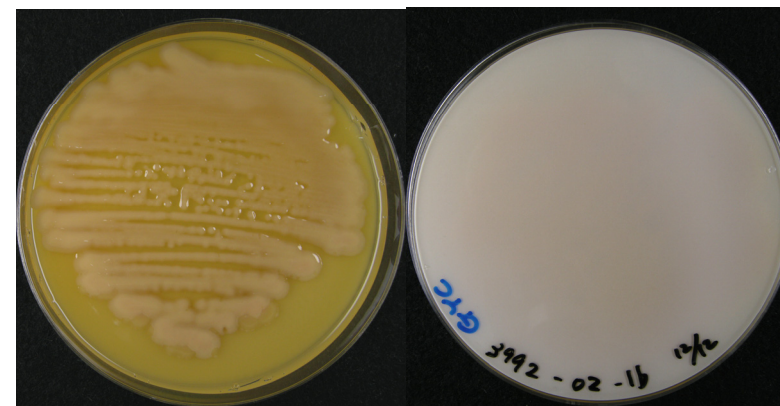
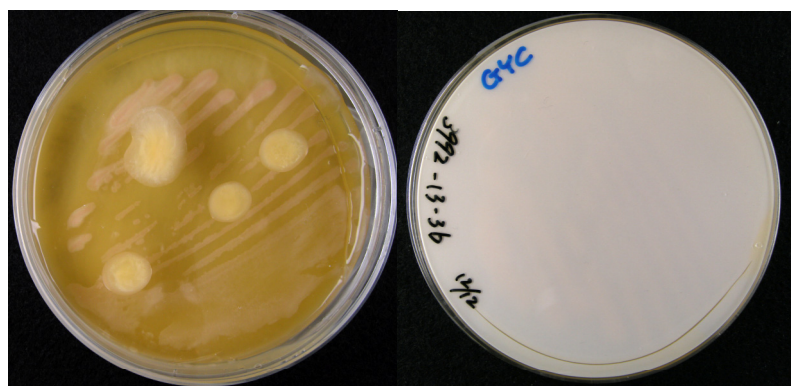
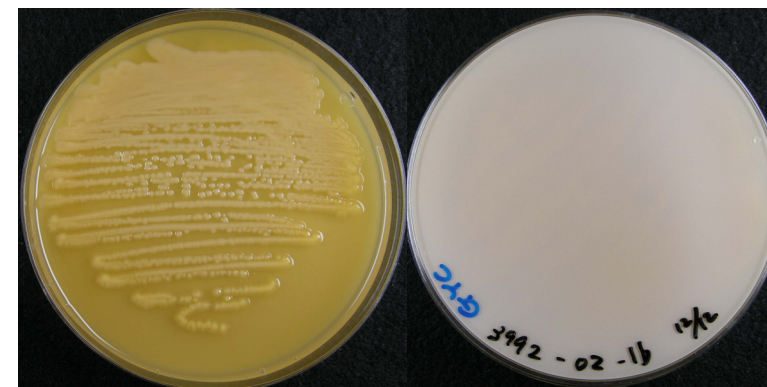
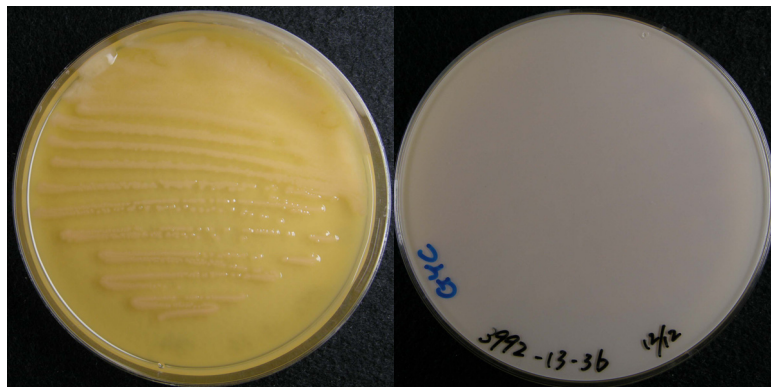
対照株 *Gluconacetobacter sacchari* DSM12717[†]

上段 : 1 週間後、中段 : 4 週間後、下段 : 4 週間後バックライト照射による撮影



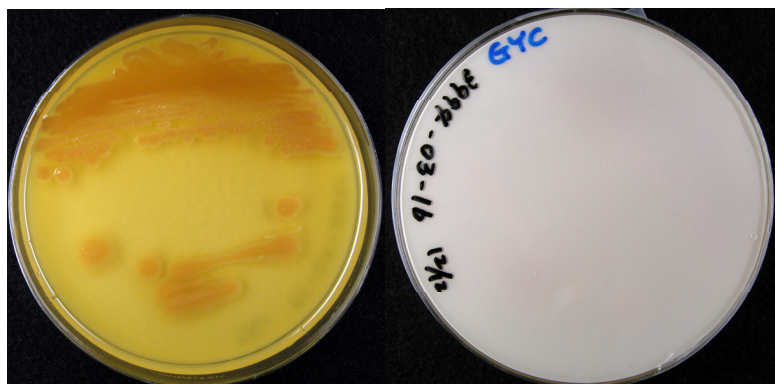
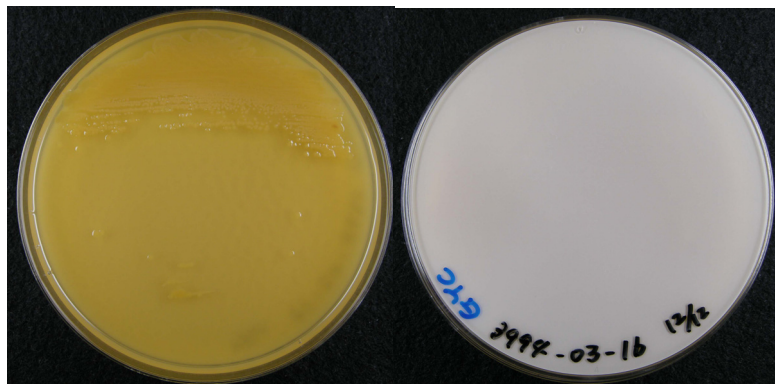
対照株 *Gluconacetobacter diazotrophicus* DSM5601[†]

上段 : 1 週間後、中段 : 4 週間後、下段 : 4 週間後バックライト照射による撮影

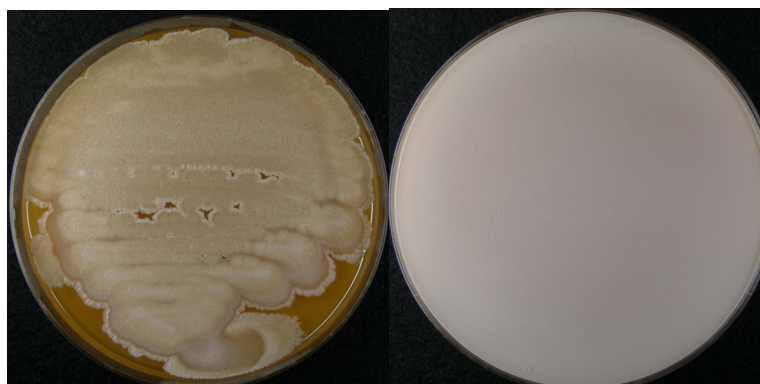


高松塚古墳分離株 *Ochrobactrum* sp. (*O. grignonense*に近縁) T6220-2-3b
上段 : 1 週間後、下段 : 4 週間後

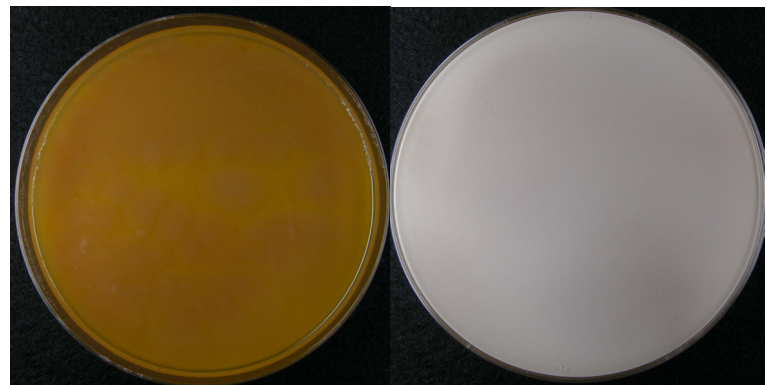
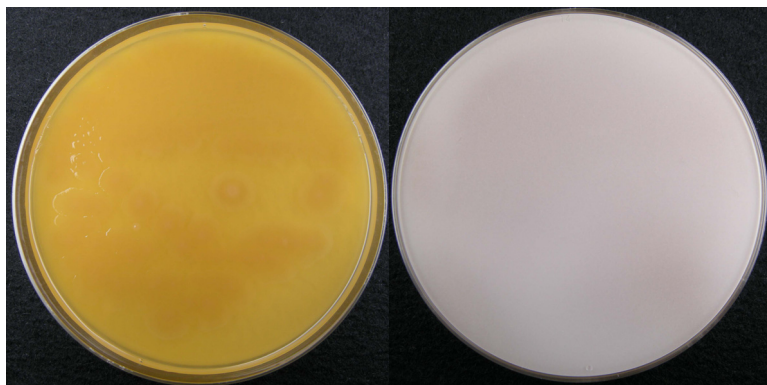
高松塚古墳分離株 *Stenotrophomonas* sp. (新種) T5916-2-1b
上段 : 1 週間後、下段 : 4 週間後



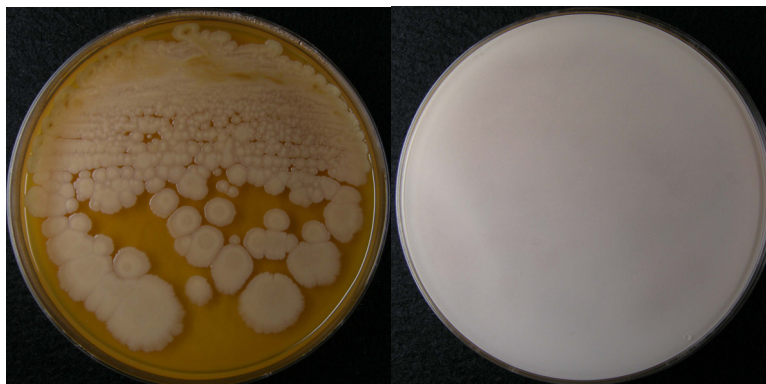
キトラ古墳分離株 *Stenotrophomonas* sp. (*S. rhizophila*に近縁) K5916-3-1b
上段 : 1 週間後、下段 : 4 週間後



高松塚古墳分離株 *Bacillus thuringiensis* T5916-8-1b
上段 : 1 週間後、下段 : 4 週間後

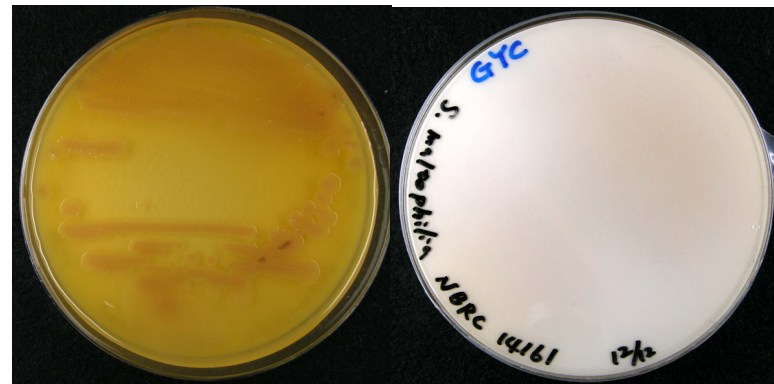
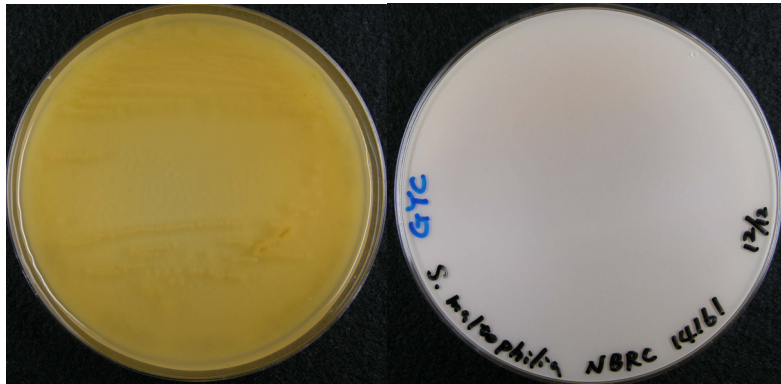


キトラ古墳分離株 *Bacillus simplex* K6203-10-3b
上段 : 1 週間後、下段 : 4 週間後



対照株 *Bacillus thuringiensis* JCM 20386^T
上段 : 1 週間後、下段 : 4 週間後

結果（酵母）



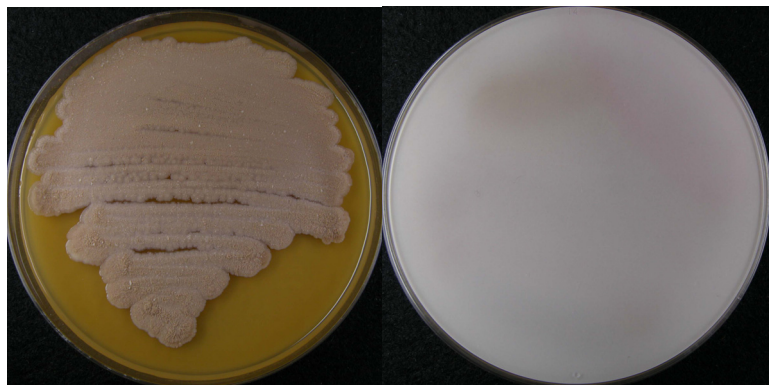
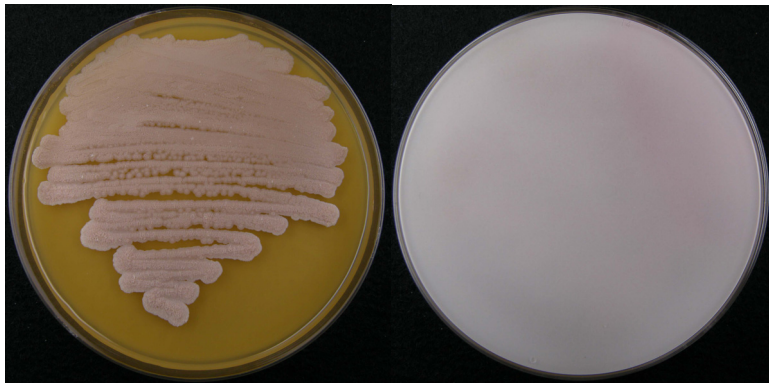
対照株 *Stenotrophomonas maltophilia* NBRC 14161^T

上段：1週間後、下段：4週間後

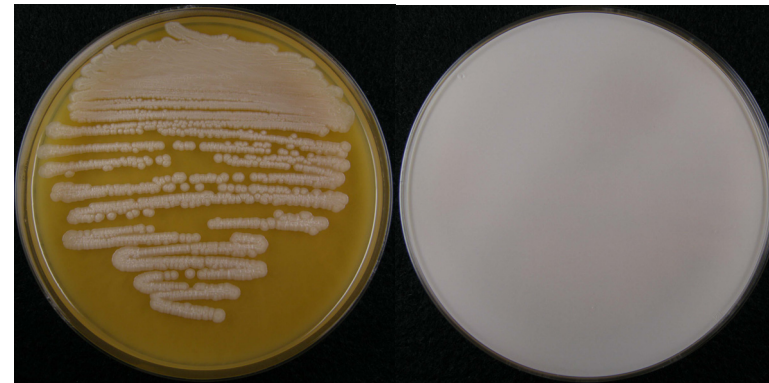


高松塚古墳分離株 *Pichia guilliermondii* T6517-3-4

上段：1週間後、下段：4週間後



高松塚古墳分離株 *Pichia membranifaciens* T4716-3s=TBT-22
上段 : 1 週間後、下段 : 4 週間後

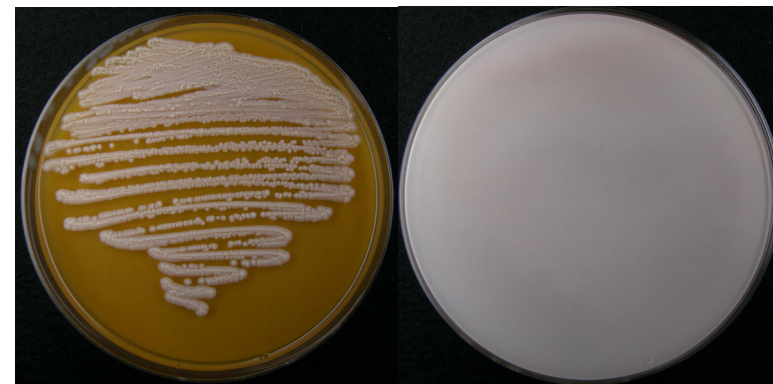


キトラ古墳分離株 *Candida* sp. (新種) K5916-7-4y
上段 : 1 週間後、下段 : 4 週間後



高松塚古墳分離株 *Candida tumulicola* T6517-9-5[†]

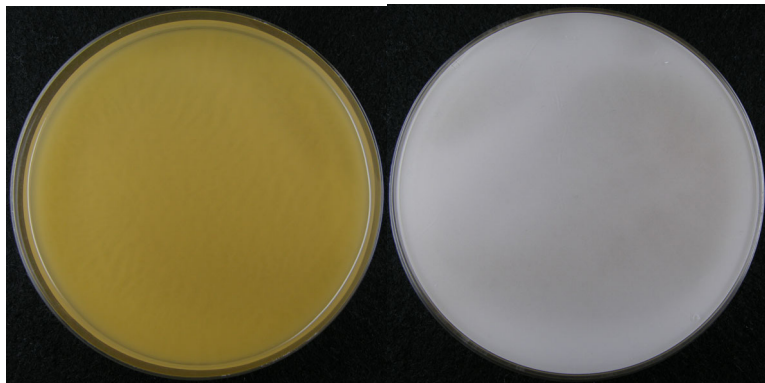
上段 : 1 週間後、下段 : 4 週間後



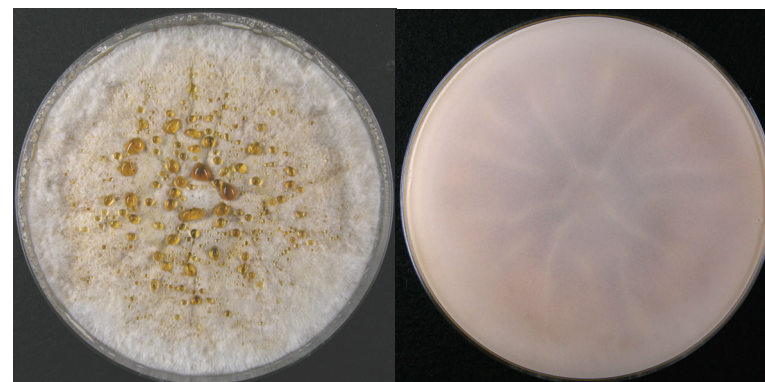
高松塚古墳分離株 *Candida takamatsuzukensis* T4922-1-1[†]

上段 : 1 週間後、下段 : 4 週間後

結果（カビ）

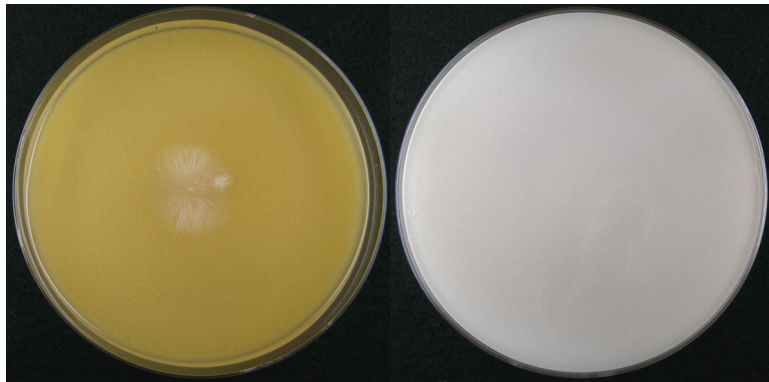


対照(未接種) GYC agar plate (コントロール：未接種) 左：表、右：裏



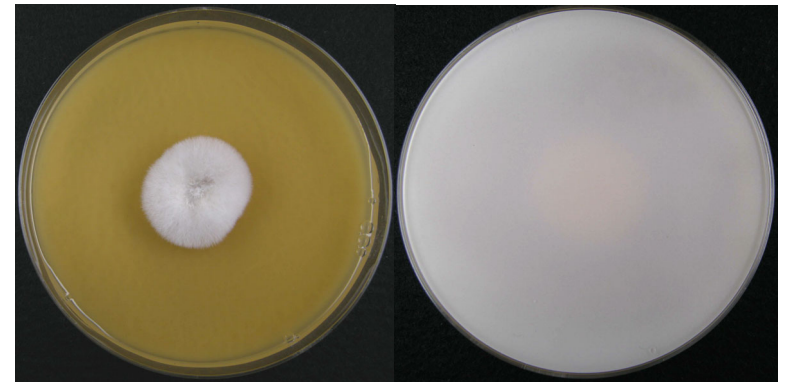
高松塚古墳分離株 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) sp. T4519-5-1

上段：1 週間後、下段：4 週間後



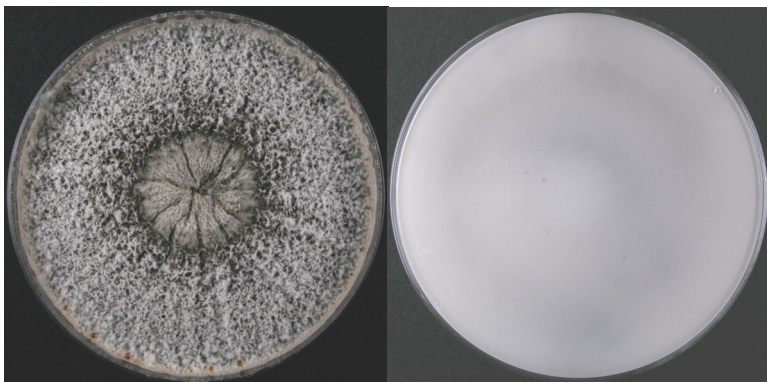
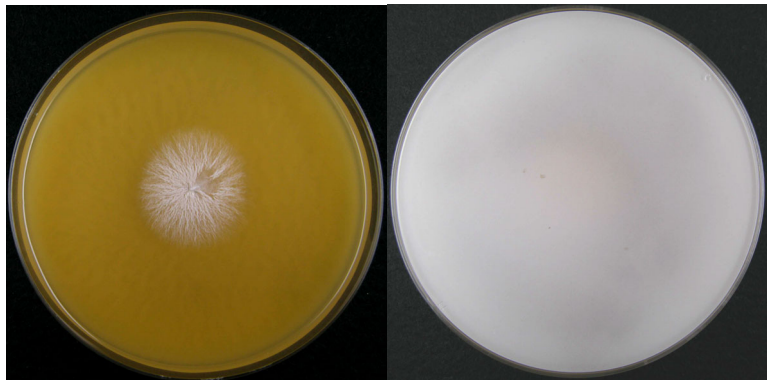
高松塚古墳分離株 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) sp. T6713-14-2

上段：1 週間後、下段：4 週間後

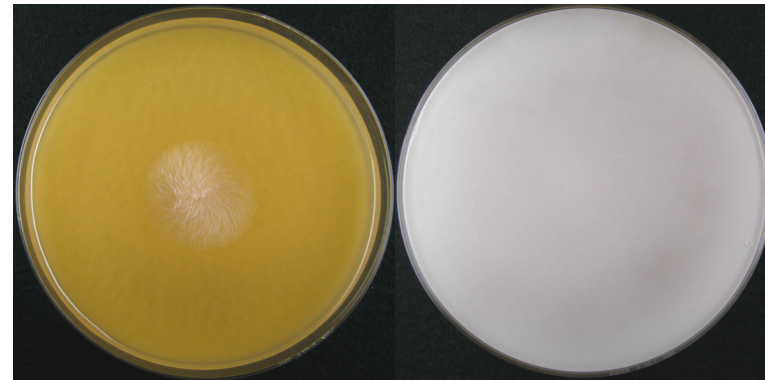


高松塚古墳分離株 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) sp. T6517-1-1

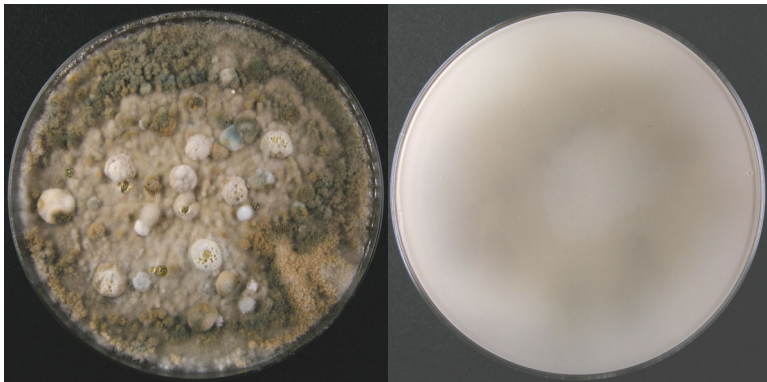
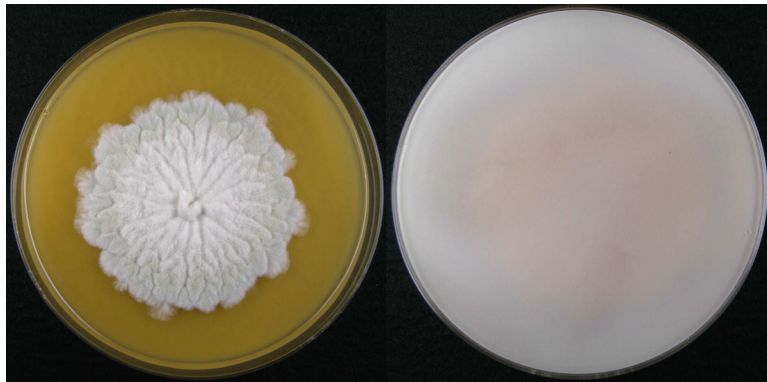
上段：1 週間後、下段：4 週間後



キトラ古墳分離株 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) sp. K7511-1
上段：1 週間後、下段：4 週間後

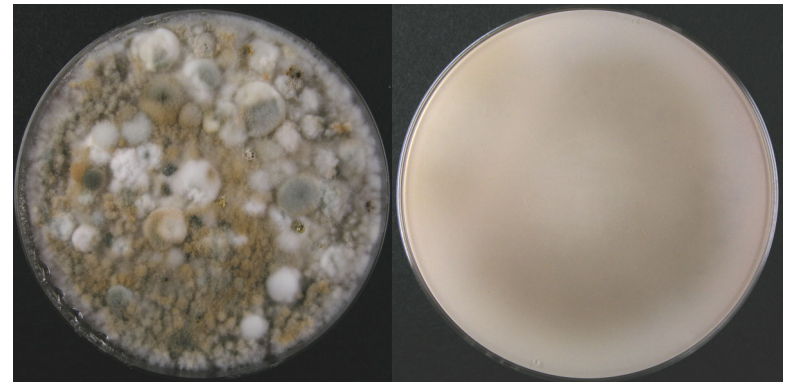
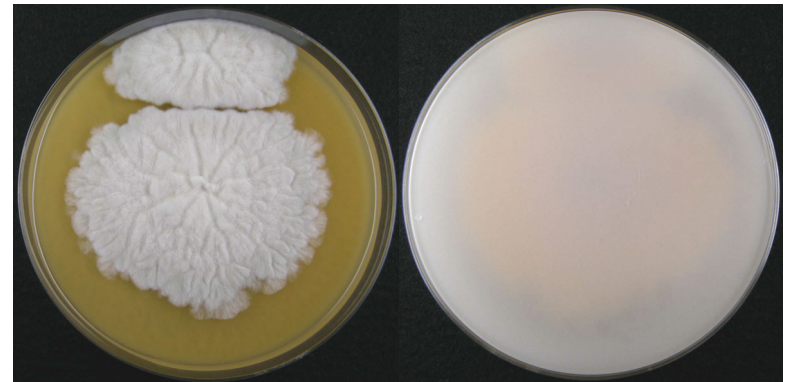


キトラ古墳分離株 *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) sp. K4615-9
上段：1 週間後、下段：4 週間後



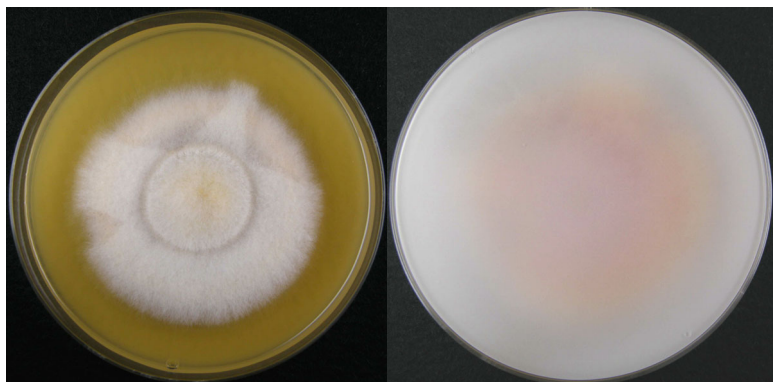
高松塚古墳分離株 *Penicillium* sp. 1 (*P. paneum*) T5916-6-1

上段：1 週間後、下段：4 週間後

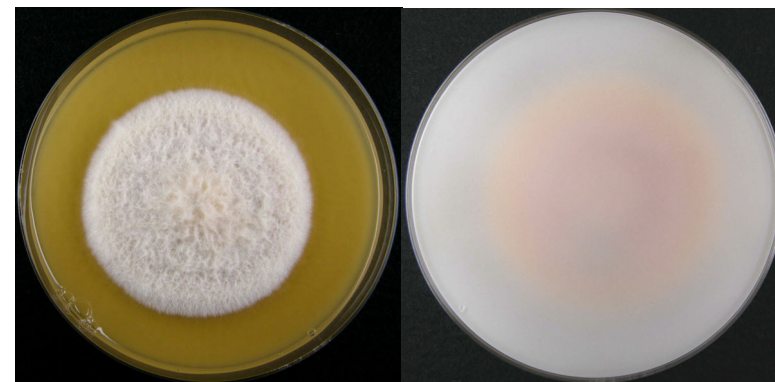


キトラ古墳分離株 *Penicillium* sp. 1 (*P. paneum*) K5916-7-1

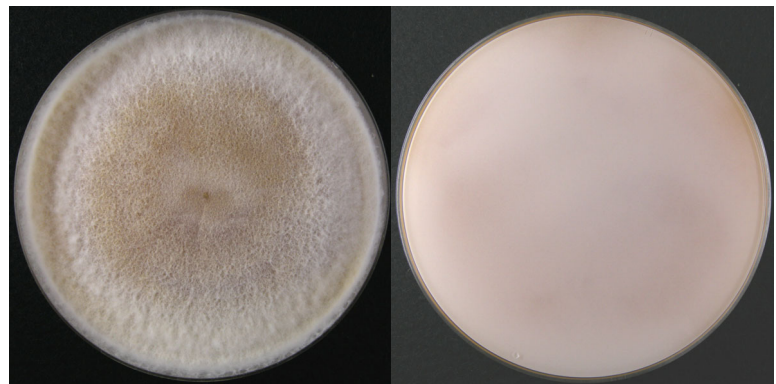
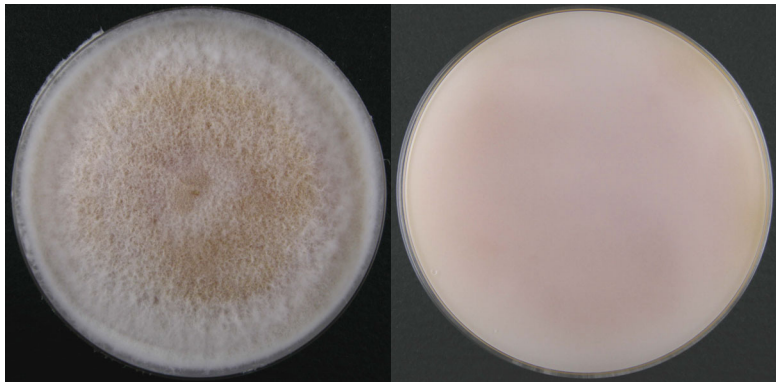
上段：1 週間後、下段：4 週間後



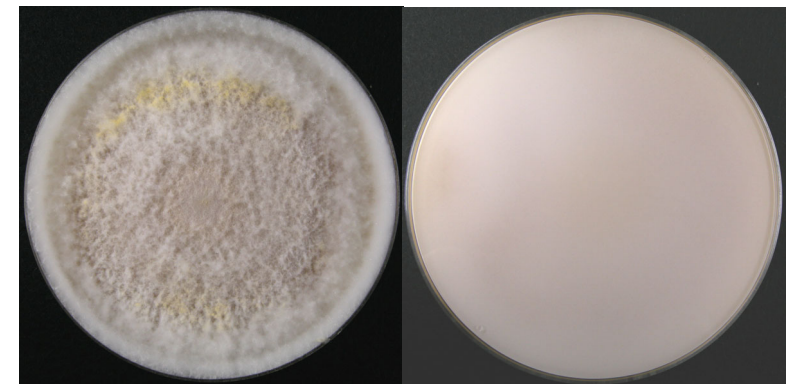
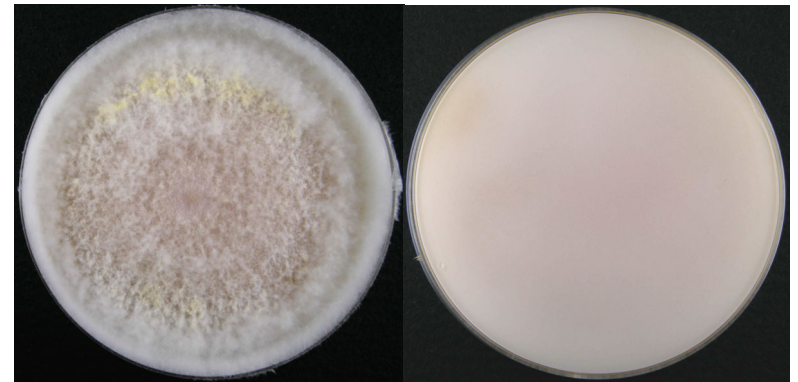
キトラ古墳分離株 *Fusarium* sp. (FSSC clade) K5225-19-3
上段：1 週間後、下段：4 週間後



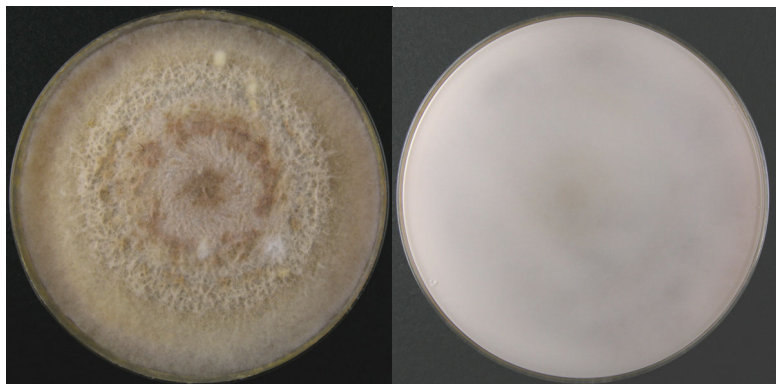
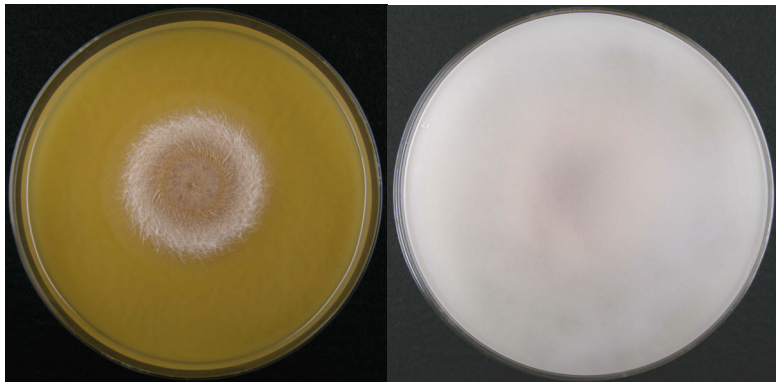
高松塚古墳分離株 *Fusarium* sp. (FSSC clade) T4716-1
上段：1 週間後、下段：4 週間後



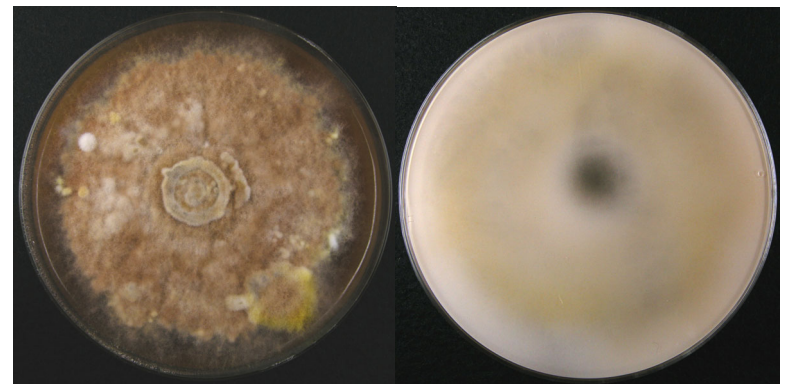
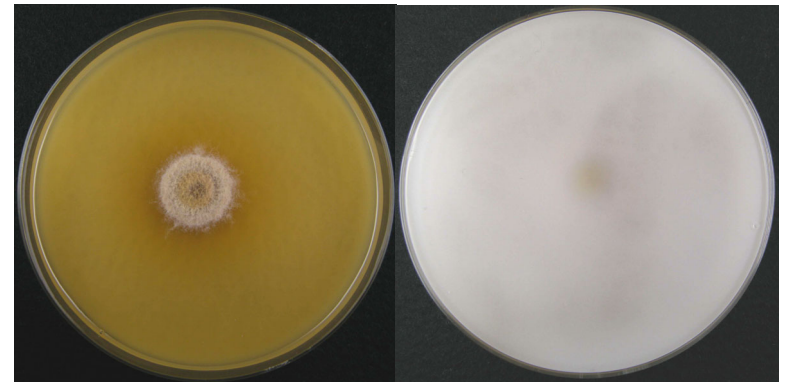
高松塚古墳分離株 *Trichoderma* sp. T4519-9-7
上段：1 週間後、下段：4 週間後



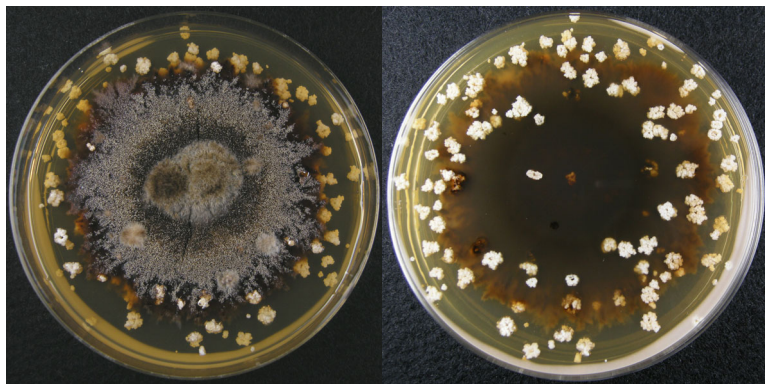
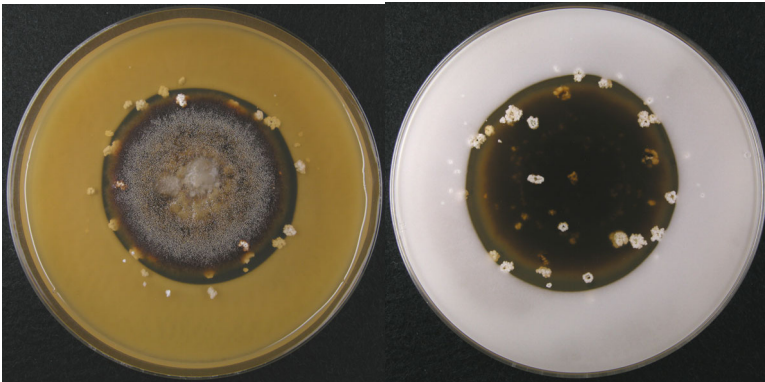
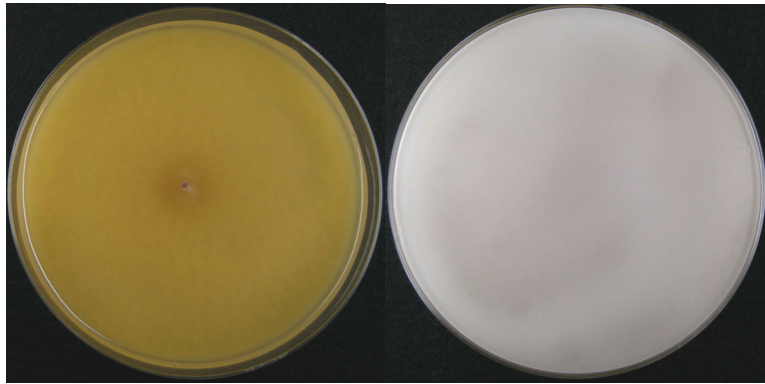
キトラ古墳分離株 *Trichoderma* sp. K5916-7-3
上段：1 週間後、下段：4 週間後



高松塚古墳分離株 *Cylindrocarpon* sp. TBT-1
上段：1 週間後、下段：4 週間後

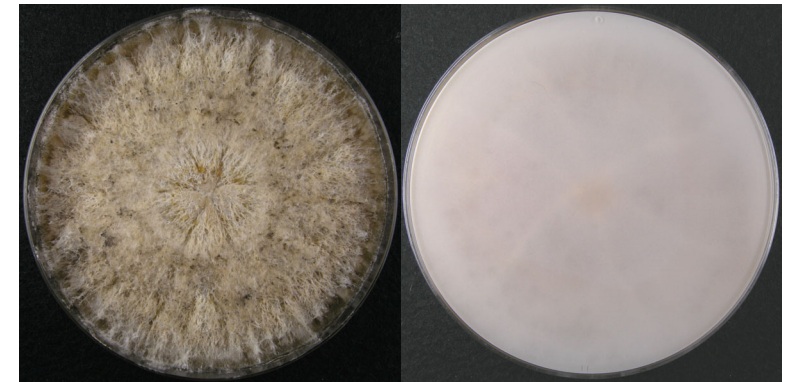
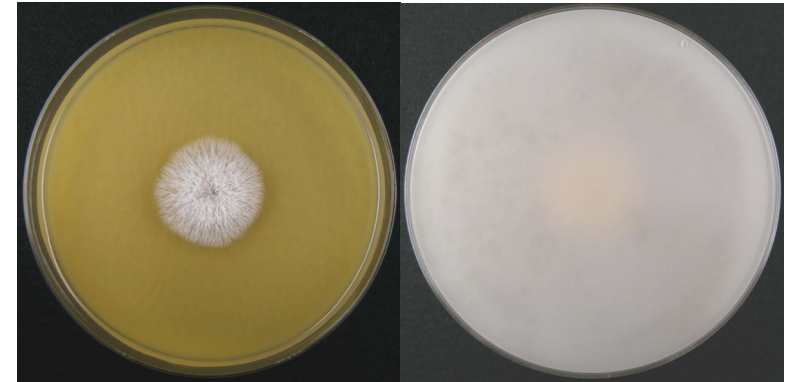


キトラ古墳分離株 *Cylindrocarpon* sp. TBK-22
上段：1 週間後、下段：4 週間後



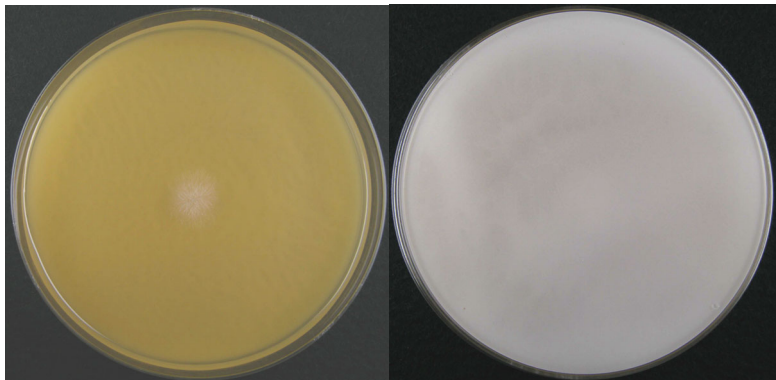
キトラ古墳分離株 *Phialocephala phycomyces* K5906-1-1

上段：1 週間後、中段：4 週間後、下段：6 週間後



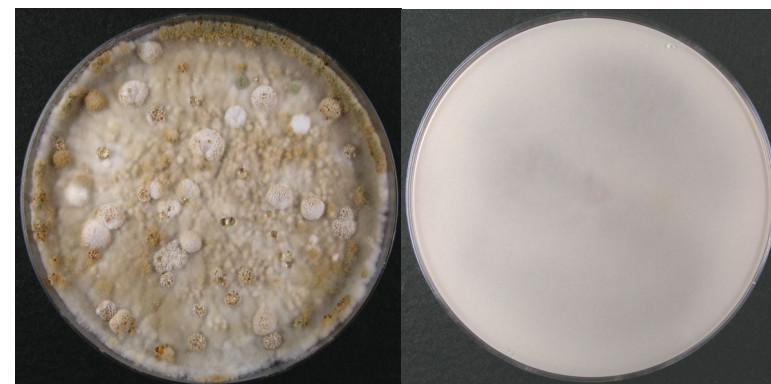
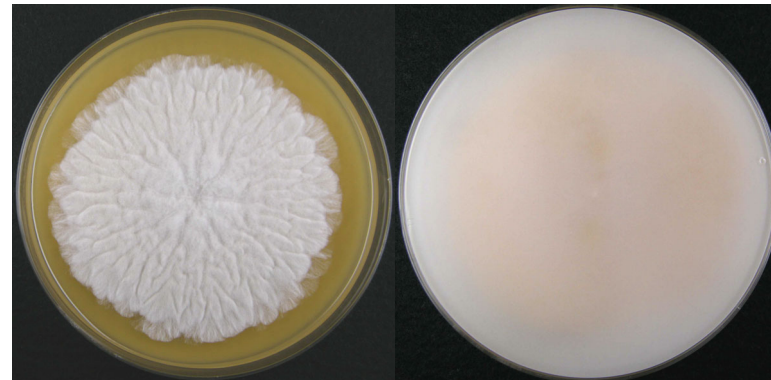
対照株 *Acremonium massei* CBS 794.69

上段：1 週間後、下段：4 週間後



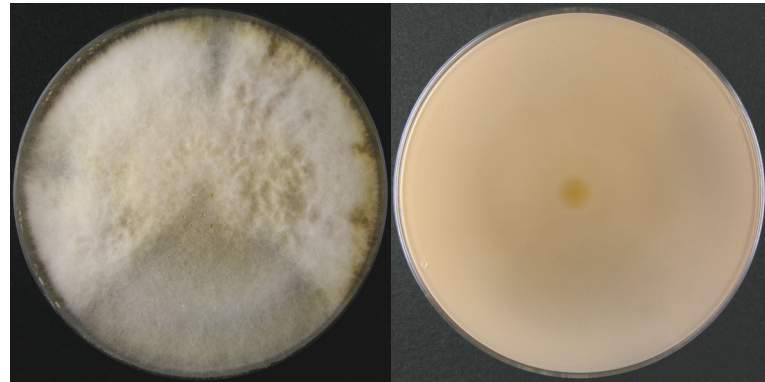
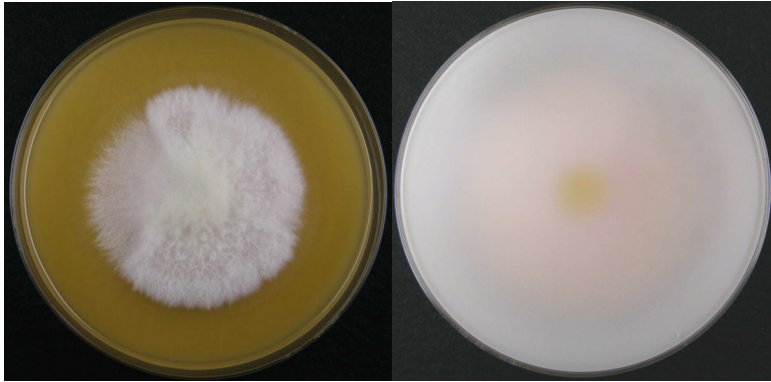
対照株 *Acremonium murorum* var. *murorum* CBS 148.81

上段：1 週間後、下段：4 週間後



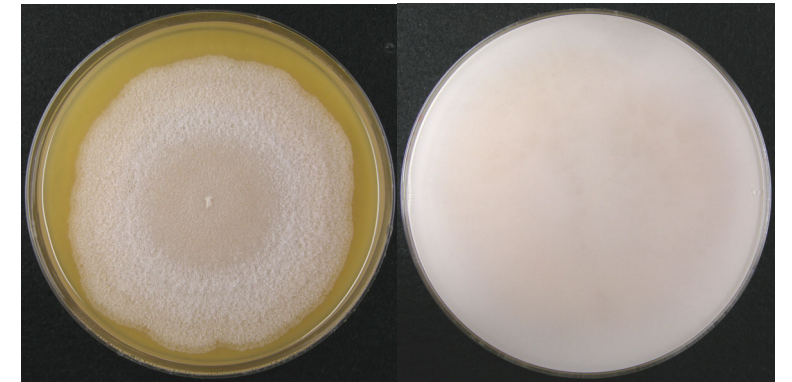
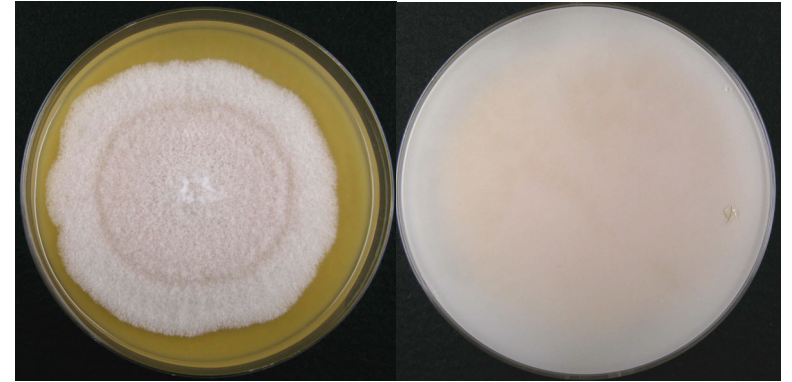
対照株 *Penicillium paneum* CBS 101032[†]

上段：1 週間後、下段：4 週間後



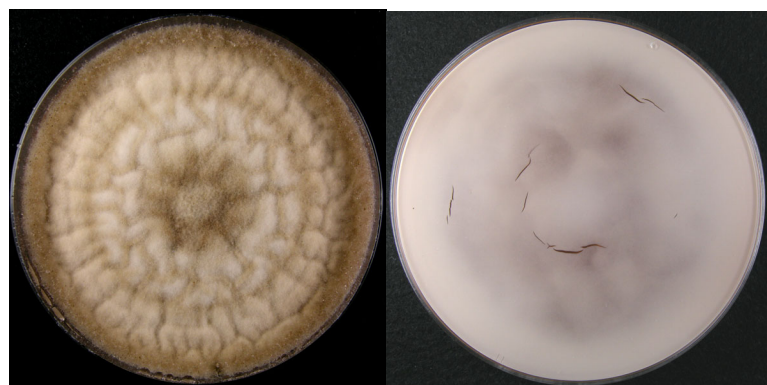
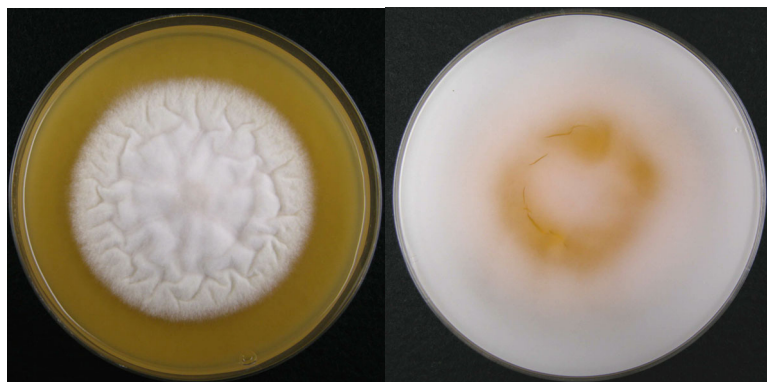
対照株 *Fusarium solani* fsp. *mori* NBRC 30964

上段：1 週間後、下段：4 週間後



対照株 *Trichoderma harzianum* NBRC 30543

上段：1 週間後、下段：4 週間後



対照株 *Aspergillus niger* JCM 22282

上段：1 週間後、下段：4 週間後



対照株 *Ustilago cynodontis* NBRC 7530

上段：1 週間後、下段：4 週間後