

〔報告〕 国宝高松塚古墳壁画仮設修理施設における 微生物環境管理指針の検討

岡部 迪子・高鳥 浩介*・佐藤 嘉則

1. はじめに

国宝高松塚古墳壁画は、2007年に石室解体・墳丘からの取り出しが行われ、墳丘の近くに建てられた国宝高松塚古墳壁画仮設修理施設に搬送された。その後、仮設修理施設内の修理作業室において、壁画が現地保存されていた間に発生した微生物汚損のクリーニングや漆喰面の剥落止めなどの修理作業が行われ、2020年に作業が完了している。修理作業が進められている間の2012年度から修理後の保存の在り方について議論が重ねられてきた。その結果、壁画・石室は、墳丘に戻すことが望ましいが、現在の科学的・技術的水準の下では壁画・石室に安全な環境をつくって墳丘に戻すことは困難であるとされた。したがって、壁画を将来に伝えるためにも修理終了後、当分の間は墳丘に戻さず、引き続き保存と公開を行うことが妥当との判断がなされた¹⁾。そして、環境を制御しながら安全に壁画・石室の保存管理・公開を行うために、新たな保存公開施設において活用が図られる予定である。

修理作業室では、修理中の壁画を適切に保存管理するため、様々な保存環境調査が行われてきた。その中でも2012年からは環境カビ調査が実施されており、約10年間分（2012～2021年）の環境カビ調査結果が蓄積されている。なお、これまで壁画や修理作業室内にカビの発生は確認されておらず良好な保存環境が維持されてきたことから、今後も良好な環境で壁画を保存活用する際のひとつの目安になると考えられる。そこで本研究では、これまでのデータの集約・分析を行うことにより、新たな保存公開施設が運用された際の保存環境維持管理指針を提案することを目的とした。また、今後の微生物モニタリング調査の簡易化・迅速化を視野に入れて、2020年度の環境調査より ATP（アデノシン三リン酸）測定法も併せて実施し、微生物汚染度評価と基準の提案を行うことを試みたので、その結果も併せて報告する。

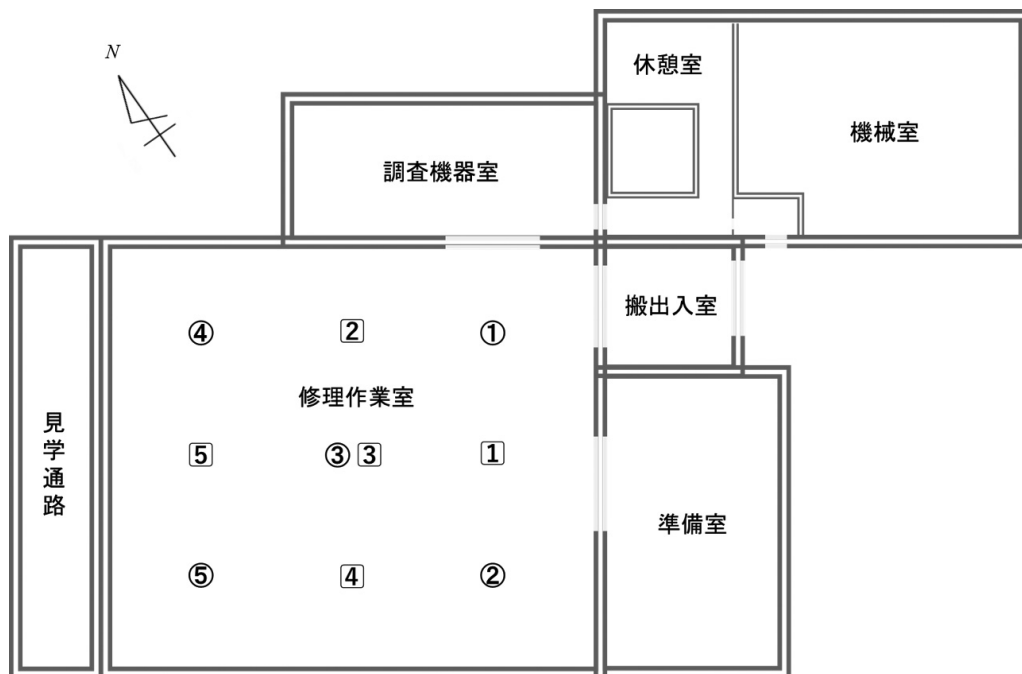
2. 調査方法

2-1. 修理作業室について

国宝高松塚古墳壁画仮設修理施設は、建物面積が約490 m²であり、修理作業室を含め7室から構成される（図1）。修理作業室とその前室となる調査機器室、および準備室は高度空調エリアとして二重壁構造となっており、二重壁内部も空調管理がなされている²⁾。

修理作業室は年間を通して概ね温度21℃、相対湿度55±5%の管理目標値が維持され、HEPA（High Efficiency Particulate Air）フィルターを介した清浄な空気が内部循環しており、保存環境の清浄化がなされている。また、作業者が修理作業室に入室する際、調査機器室の前でエタノール消毒をしてスリッパに履き替え、外部からの汚れの持ち込みを少なくするように維持管理が行われている。

*NPO 法人 カビ相談センター



①～⑤…落下カビ ①～⑤…浮遊カビ

図1 国宝高松塚古墳壁画仮設修理施設の平面図と環境カビ調査地点

2-2. 環境カビ（落下カビ・浮遊カビ・付着カビ）調査

環境カビ調査は、2012年8月～2021年2月の期間で夏季・冬季の年2回実施し、通算で18回の計測を行った。調査内容は、落下カビ数、浮遊カビ数および付着カビ数の測定であり、それぞれ落下法、エアースンプラー法、ドレッシングテープ法による計数を行った。いずれの調査も培地は、一般的な湿性カビおよび耐乾性カビ用のポテトデキストロース寒天（PDA）培地を用いていたが、2015年1月調査以降はPDA培地に加えて好乾性カビ用のM40Y寒天培地（20 gL⁻¹、麦芽エキス：400 gL⁻¹、スクロース：5 gL⁻¹、酵母エキス：20 gL⁻¹、寒天）を追加した。各調査は以下の条件で行った。

1) 落下法（落下カビ）

落下法は、寒天平板培地の蓋を一定時間開けたまま床に静置し、培地の表面に落下したカビを捕集して一定期間培養を行った後、出現したコロニー（colony）を計数し、空気中から一定時間内に落下するカビを計数する方法である。落下カビは1回の調査につき5地点で測定した（図1）。本調査では、1地点につき寒天平板培地は5枚用い30分間開放して落下カビを捕集する条件とし、5枚分のコロニー数を平均して1地点の落下カビ数 [cfu (colony forming unit) /30 min/plate] とした。

2) エアースンプラー法（浮遊カビ）

エアースンプラー法は、一定量の空気を吸引してその空気中に存在するカビを寒天平板培地に捕集して一定期間培養を行った後、出現したコロニーを計数し、空間に浮遊していたカビの密度を算出する方法である。浮遊カビは1回の調査につき5地点で行った（図1）。本調査では、1地点につきエアースンプラー（MAS100ECO、メルク社）で500 mLの空気を2回採取し、出

現したコロニー数から1 m³当たりの浮遊カビ数 (cfu/m³) を算出した。なお、一般的にエアースンプラー法の測定高は床上75-150 cmで行われるが、壁画周辺での転倒等のリスクを避けるため、床置きで測定を行った。

3) ドレッシングテープ法 (付着カビ)

ドレッシングテープ法は、棚板や床・壁面などの表面に存在するカビを滅菌した粘着テープで取り、接着面を寒天平板培地に接触させて3日後にテープを剥がして以後一定期間培養し、出現したコロニー数から測定面に存在していたカビの数を算出する方法で行った。本調査では、医療用の滅菌済サージカルテープ (Tegaderm 1624W1, 3M Health Care) を用いて、修理作業室内の床、石材固定用のステンレス製フレームの上面 (以下、台座と表記する)、壁を対象として21~31か所を採取した (図2)。採取後、出現したコロニー数を計数し有効接着面積 (約23.97 cm²) をもとに25 cm²あたりに換算して付着カビ数 (cfu/25 cm²) を算出した。

なお、この3法の培養条件はいずれも25℃で7日間とした。

2-3. ATP 測定法 (A3法)

ATP 測定法とは、微生物を含むあらゆる生物が細胞内に有しているエネルギー代謝で働く物質の ATP を測定する方法であり、対象物表面において微生物を含む生物由来の汚染度を評価することができる方法である³⁾。原理としては、酵素ルシフェラーゼが基質であるルシフェ

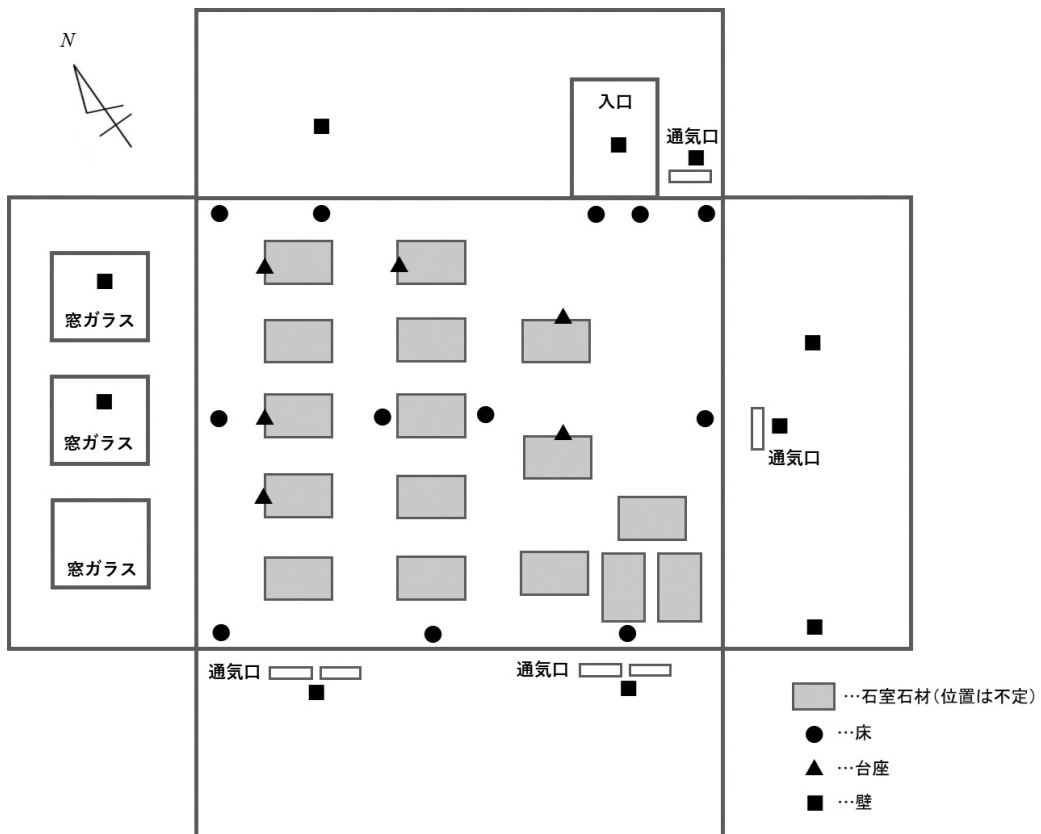


図2 修理作業室の付着カビ調査および ATP 測定法 (A3法) の測定箇所 (展開図)

リンを酸化する反応で起こる発光量（Relative Light Unit：RLU）を計測するものであり、この反応がATP量に依存するため、発光量からATP量を数値化できるものである。一定面積から採取することで半定量的な測定も可能で、特別な培地や培養機器が不要であり、現場で簡易・迅速に情報を得られるという利点がある。本法は、医療・食品衛生分野などの現場において微生物汚染度評価・清浄度評価への具体的な取り組みに関する報告があり^{4,5)}、文化財分野での応用も試みられている^{6,7,8)}。

最近では、ATPに加えてその分解産物であるAMP（アデノシン一リン酸）、ADP（アデノシン二リン酸）も含めた総アデニレートと同時に測定するATP測定法（A3法）⁹⁾も市販され、収蔵施設内でのカビ発生の潜在的なリスク評価に用いる試みが始まっている。本調査では、修理作業室の汚染度評価として、付着カビ調査との比較をA3法で行うこととした。A3拭き取り検査キット（ルシパック A3 Surface, キッコーマンバイオケミファ社）とポータブルルミノメーター（ルミテスター Smart, キッコーマンバイオケミファ社）を用いて乾式で拭き取りを行い（測定面積は50 cm²）、付着カビ調査と同じ修理作業室内の床、台座、壁から28～29か所を測定点とした（図2）。調査は2020年8月、2021年2月、8月の計3回実施した。

3. 結果

3-1. 落下カビ数

落下カビ数について、PDA培地での測定数は90（18回測定、5地点を5データ要素として通算）であり、そのすべてが1 cfu/30 min/plate 未満の結果となり、それ以上の落下カビ数が計測されたことはなかった。M40Y寒天培地での測定数は65（13回測定、5地点を5データ要素として通算）であり、PDA培地の結果と同様にそのすべてが1 cfu/30 min/plate 未満となり、それ以上の落下カビ数が計測されたことはなかった。

3-2. 浮遊カビ数

浮遊カビ数について、PDA培地での測定数は90（18回測定、5地点を5データ要素として通算）であり、その約84%が0 cfu/m³以上5 cfu/m³未満、約10%が5 cfu/m³以上10 cfu/m³未満、約4%が30 cfu/m³以上35 cfu/m³未満、約1%がそれぞれ10 cfu/m³以上15 cfu/m³未満、35 cfu/m³以上40 cfu/m³未満であった（図3）。M40Y寒天培地での測定数は65（13回測定、5地点を5データ要素として通算）であり、その約88%が0 cfu/m³以上5 cfu/m³、約8%が5 cfu/m³以上10 cfu/m³未満、約2%がそれぞれ15 cfu/m³以上20 cfu/m³未満、30 cfu/m³以上35 cfu/m³未満であった。

3-3. 付着カビ数

付着カビ数について、PDA培地での測定数は520（18回測定、1回で21～31か所測定）であり、その約97%が0 cfu/25 cm²以上5 cfu/25 cm²未満、約2%が5 cfu/25 cm²以上10 cfu/25 cm²未満、約1%が10 cfu/25 cm²以上15 cfu/25 cm²未満、1%未満が20 cfu/25 cm²以上25 cfu/25 cm²未満であった（図4）。M40Y寒天培地での測定数は371（13回測定、1回で21～31か所測定）であり、その約99%が0 cfu/25 cm²以上5 cfu/25 cm²未満、約1%が5 cfu/25 cm²以上10 cfu/25 cm²未満であった。

3-4. ATP測定法（A3法）

ATP測定法（A3法）は、2020年8月、2021年2月、8月の3回調査した結果をまとめて、床（測

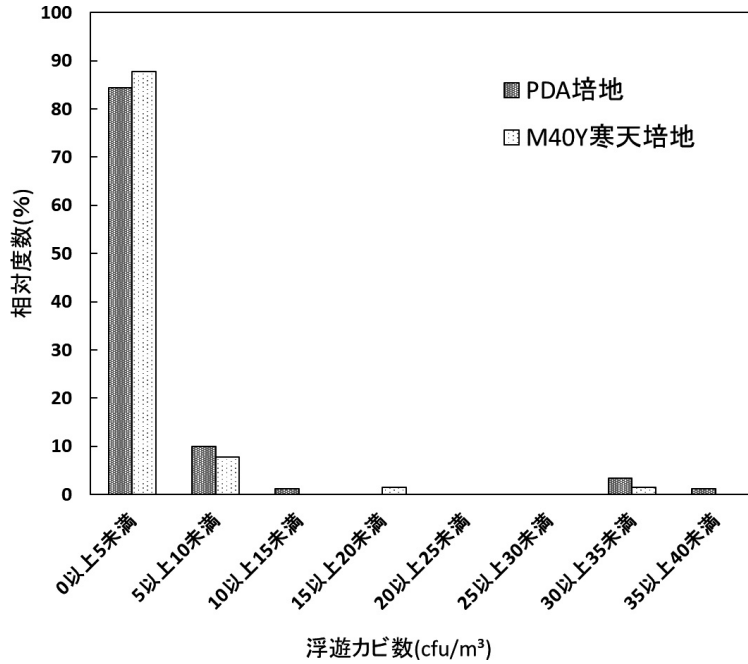


図3 修理作業室における PDA 培地と M40Y 寒天培地での浮遊カビ数の度数分布

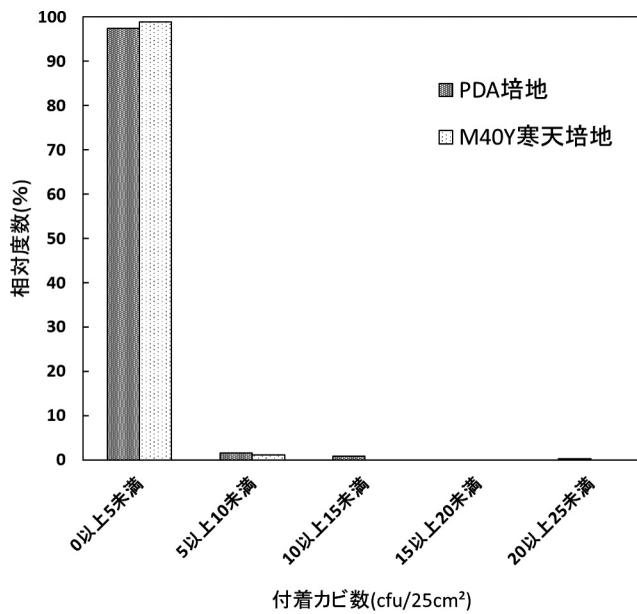


図4 修理作業室における PDA 培地と M40Y 寒天培地での付着カビ数の度数分布

定数36), 台座 (16), 壁 (30) の3項目に分類したRLU値を箱ひげ図で示す(図5)。結果は, 床, 台座, 壁の中央値はそれぞれ135 RLU, 695 RLU, 468 RLU, 第1四分位数 (25%タイル) はそれぞれ74 RLU, 241 RLU, 186 RLU, 第3四分位数 (75%タイル) はそれぞれ278 RLU, 1,276 RLU, 901 RLUであった。3項目の中で台座が最もRLU値が大きく, 台座に次いで壁, そして床が最もRLU値が小さい結果となった。

4. 考察

国宝高松塚古墳壁画仮設修理施設内の修理作業室で行った環境カビ調査 (2012年8月~2021年2月) の調査結果を集約し, 落下カビ数, 浮遊カビ数, 付着カビ数の度数分布を求めたところ, それぞれ1 cfu/30 min/plate未満, 0 cfu/m³以上5 cfu/m³未満, 0 cfu/25 cm²以上5 cfu/25 cm²未満で測定結果の多くが分布していることが分かった。これまで定期的な調査は行ってきたが, その測定値の度数分布については評価が行なわれたことがなく, 本研究によって壁画の修理中の保存環境がどのような状態であったかを改めて評価することができた。文化財収蔵施設における環境カビの管理指針には, 2009年にカビ対策専門家会合委員会によってまとめられた報告書「カビ発生予防と早期の発見のために」¹⁰⁾の中に「施設環境管理指針 (試案)」がある(表1)。当指針案は施設内を3つの区域に分けて基準値が提案され, これに照らし合わせて施設内の保存環境を評価できる。なお, 当指針案の位置づけは「一般的なガイドラインの試案」とされており, 各々の施設の周囲環境, 設備状況, 収蔵品の性格・特性等に応じた基準を検討して自主管理体制を確立していくことを求めており, 各施設の保存環境に応じて適切な基準値を設けることを許容している。施設環境管理指針では, 「清潔区域」での落下カビ数および浮遊カビ数の基準値をそれぞれ10 cfu/20 min/plate以下, 50 cfu/m³以下と提案している。付着カビ数には「清浄区域」の基準値は設定されていないが, 「準清潔区域」では10 cfu/25 cm²を提案している。これらの数値と比較すると, 修理作業室の2012~2021年間の環境カビ数は非常に低く, 高い清浄度が維持されていたことが分かった。これまでの保存環境においては

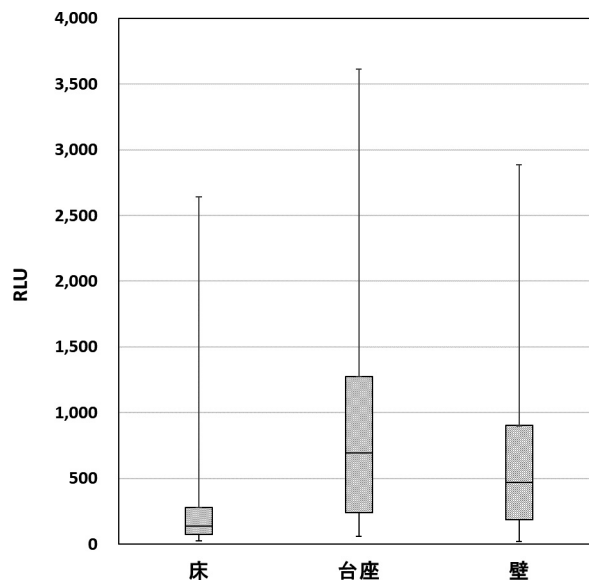


図5 ATP測定法(A3法)結果の箱ひげ図

表1 「施設環境管理指針（試案）」および高松塚古墳壁画の保存環境維持管理目標値（案）

指針	区域	落下カビ数 (cfu/20 min/plate)	浮遊カビ数 (cfu/m ³)	付着カビ数 (cfu/25 cm ²)
施設環境管理指針(試案)	清浄区域 (収蔵庫など)	≤10	≤50	—
	準清浄区域 (一時保管庫など)	≤30	—	≤10
	汚染区域 (資料受入れ場など)	—	—	≤30
国宝高松塚古墳壁画仮設修理施設 保存環境維持管理目標値(案)	修理作業室	<5 (cfu/30 min/plate)	<25	<5

カビの発生は確認されておらず、まずはこの清浄度を維持することを目標として定めることができる。そして、新たに建設される予定の保存公開施設においては、落下カビ数、浮遊カビ数および付着カビ数の維持管理目標値をそれぞれ5 cfu/30 min/plate 未満、25 cfu/m³未満、5 cfu/25 cm²未満とすることを提案する(表1)。これらの目標値は先述の施設環境管理指針の清浄区域のおよそ半分の値であるが、修理作業室で行われてきた日常の清掃によって実現可能な数値目標であり、壁画は上部に覆いなどは無い状態で置かれていることから妥当な値ではないかと考える。そして、壁画を保存する空間に隣接する空間(仮設修理施設の場合は機器調整室が該当)は、本研究では環境カビ調査の対象にしていなかったが、前室としての緩衝機能を考えると施設環境管理指針の清浄区域と同等の維持管理目標値を設定することが望ましいと考える。

本研究では、付着カビ調査の新たな方法としてA3法による拭き取り検査での汚染度評価を試みた。付着カビ調査では生きているカビ数が評価対象であったが、A3法ではカビ発生の潜在的な要因である生物由来の「汚れ」を評価するという点で大きく異なる。保存環境における「汚れ」は、衣類繊維、土壌粒子、ふけ、垢、皮脂、毛、花粉、ダニなどの微小動物やその脱皮殻・排泄物、カビの微細菌糸や孢子などであるが、カビの潜在的な生育要因となる「汚れ」をA3法では数値化することができるため、モニタリング調査に有効である。特に専門業者でなくとも誰でも簡易・迅速にモニタリング調査ができるという利点がある。今回の結果では、床、台座、壁の3項目の中で床のRLU値の中央値が最も小さい結果となった。この理由として、修理作業室の入室時に外部からの汚れの持ち込みが少なくなるような日常的な取り組みがなされている点、また修理作業室の床には掃除ロボットが設置され、日常的に床の清掃が行われている点も寄与していると推察される。しかし、床の測定値にはばらつきが大きかったため、作業員の動線や掃除ロボットの可動範囲の内外と測定値の相関について今後検討する必要がある。

A3法による基準値策定には、メーカーが推奨する基準値を参照する場合や、現状に即した基準値を設定する場合などいくつかの基準値設定の考え方が提案されている¹¹⁾。前者は、例えば食品衛生分野において、平滑な表面で200 RLU/100 cm²、凹凸な表面で500 RLU/100 cm²、手指で2,000 RLUとされている。後者の場合は、現状の測定を行い、得られた数値の度数分布から80%タイルで基準値を設定するというものである。修理作業室の場合では、床、台座、壁の75%タイルは、それぞれ278 RLU、1,276 RLU、901 RLUであった。ここから導

き出される基準値としては、それぞれ500 RLU/50 cm²、1,500 RLU/50 cm²、1,000 RLU/50 cm²が目安となるだろう。しかし、台座や壁については清掃がしにくいことが要因となって測定値が大きくなる傾向にあることが想定され、現状をもとに基準値を設定するよりは、日常的に清掃を行っている床と同等（500 RLU/50 cm²）を目標として設定の方が適切ではないかと考える。現状において、500 RLU/50 cm²より大きな値は認められているが、カビの発生が確認されていない保存環境を保つことができている。しかしながら、見えない汚れ、つまり潜在的な汚染のリスクを「見える化」できるというA3法の利点を清掃の取り組みに繋げることができるという意味で、清掃が行き届いている床と同等の数値を目標に定めることができるであろう。なお、これらの数値については新たな施設の実態や運用に即して見直す必要がある。A3法と従来の付着カビ調査との結果を比較すると、従来法において付着カビ数が少ない測定点においても、A3法では汚染度が大きいという結果を得ることがあった。A3法では生菌以外の潜在的な「汚れ」も検出可能な点から、付着カビ数が小さい値を維持できていても、実際にはカビの発生源となりうる潜在的な汚染部位を見出せたことは大きな利点である。

5. まとめ

国宝高松塚古墳壁画仮設修理施設内の修理作業室で環境カビ調査を約10年間実施したデータを分析したところ、総じて「施設環境管理指針（試案）」よりも清浄度の高い保存環境を維持できていたことが分かった。この間、壁画が良好な状態で保存されていたことから、新たな保存公開施設が運用された際の保存環境維持管理目標値を度数分布に基づいて検討し、落下カビ数、浮遊カビ数および付着カビ数の維持管理目標値をそれぞれ5 cfu/30 min/plate 未満、25 cfu/m³未満、5 cfu/25 cm²未満に設定することを提案する。

また、新たにA3法による拭き取り検査を取り入れて床、台座、壁の表面の清浄度を評価すると、従来の付着カビ数では見出されなかった生菌以外の潜在的な汚れが検出可能な測定点があった。汚れの存在は、カビや細菌の潜在的な発生源となるため、数値が大きな場合は清掃作業を行うことによって微生物被害を予防することができる。A3法では日常的な清掃を実施している床の500 RLU/50 cm²を目標値として、台座、壁についても同じ数値を目標にすることを提案する。これらの微生物環境管理指針にて提案した目標値は、今後運用する中で実現の可能性についても考慮しながら再設定していく必要がある。

謝辞

本研究を行うにあたり多大なるご協力・ご助言を賜りました文化庁文化資源活用課古墳壁画室の米村祥央氏、森井順之氏ならびに奈良文化財研究所の辻本與志一氏に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 高松塚古墳の保存管理の経緯と壁画修理後の当面の間の保存の在り方について、https://www.bunka.go.jp/seisaku/bunkazai/takamatsu_kitora/hozonnoarikata.html（2021年12月3日参照）
- 2) 国宝高松塚古墳壁画仮設修理施設の設計概要について、第6回国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策検討会、資料6-4（2006）
- 3) 本間茂：ATP測定を利用した迅速衛生検査—“ATPふき取り検査”と“ATP法による迅速微生物検査”—、防菌防黴、42、6、299-308（2014）

- 4) 柴田文洋：ATP 拭き取り検査による院内環境表面のモニタリング、環境感染誌、29、6、417-423 (2014)
- 5) 文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課：調理場における洗浄・消毒マニュアル Part II 第4章 洗浄・消毒の評価方法、文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課、37-42 (2010)
- 6) 間測創、木川りか、佐野千絵：文化財公開施設等における ATP 拭き取り検査の活用について、保存科学、49、1-11 (2010)
- 7) 内田優花、佐野千絵、赤沼英夫：津波被災資料における ATP + AMP 拭き取り検査の活用、保存科学、56、113-120 (2017)
- 8) 間測創、佐藤嘉則：博物館等における ATP 拭き取り検査によるカビ集落の活性評価について、保存科学、60、41-49 (2021)
- 9) Bakke, M., Suzuki, S.: Development of a novel hygiene monitoring system based on the detection of total adenylate (ATP + ADP + AMP). Journal of Food Protection 43, 5, 792-737 (2018)
- 10) 報告書～カビの発生予防と早期発見のために～、第12回高松塚古墳劣化原因調査検討会、資料7、17-22 (2009)
- 11) 運用マニュアル (基準値設定など)、キッコマンバイオケミファ株式会社 ATP ふき取り検査 (A3法) <https://biochemifa.kikkoman.co.jp/kit/atp/method/guide/> (2021年12月3日参照)

キーワード：高松塚古墳壁画 (Takamatsuzuka mural paintings)；維持管理目標値 (reference values)；環境カビ (environmental fungi)；ATP 拭き取り検査 (ATP swabbing test)

Consideration on the Environmental Microbes Management Guideline for the Facility for Conservation and Restoration of the Takamatsuzuka Mural Paintings

OKABE Michiko, TAKATORI Kosuke* and SATO Yoshinori

This study analyzed the results of the environmental fungi surveys conducted for about 10 years in the restoration room for the Takamatsuzuka mural paintings in order to formulate a fungi management guideline. The methods used in the surveys were the drop plate (DP) method and the air-sampling (AS) method for airborne fungi, and the adhesive tape sampling of selected surface (AT) method for attached fungi found on the floor, walls, and frames that support the stone materials. In addition, the evaluation of the ATP swabbing method was conducted to compare with the AT method.

The results of each survey were mainly distributed as follows: the DP method, less than 1 cfu/30 min/plate; the AS method, more than 0 cfu/m³ and less than 5 cfu/m³; and the AT method, more than 0 cfu/25 cm² and less than 5 cfu/25 cm². On the other hand, the existing reference values of environmental fungi management guidelines for facilities for cultural properties are as follows: the DP method, 10 cfu/20 min/plate or less; the AS method, more than 50 cfu/m³ or less; and the AT method, 10 cfu/25 cm² or less. This study suggested that the restoration room had maintained higher cleanliness than the existing reference values. Therefore, the target values of maintenance for the restoration room can be set at about half of the existing environmental management guideline's reference: the DP method, less than 5 cfu/30 min/plate; the AS method, less than 25 cfu/m³; and the AT method, less than 5 cfu/25 cm².

The result of the ATP swabbing method showed the presence of more potential stains than the AT method. The ATP swabbing method is useful as a new survey method to assess cleanliness.

*NPO Center for Fungal Consultation Japan