

〔報告〕 現地保存される古墳・遺構等における土壌及び石材に対する殺菌消毒剤の効果について

間 渕 創・佐野 千絵

1. 目的

現地保存される古墳や遺構などが保存・露出展示される施設において、その構成素材である土壌や石材の表面に真菌が発生することがある。これらの材質は一般的に博物館や美術館に収蔵されている文化財と比較すると、真菌等の微生物が多く付着或いは内在していると考えられ、また施設構造の面からガス燻蒸などによる完全な滅菌・殺菌処置を行うことが困難な場合が多い。

古墳や遺構を構成する土壌に関しては、剥落止め・強化のために従来、パラロイド B-72 などの樹脂が修復現場でよく使用されてきたが、使用後に多湿な場所に置かれた場合に真菌の発生が報告されている事例もある^{1, 2)}。親水基を有するシラン系ポリマー^{3, 4)}や、それを架橋させたものは真菌などの微生物が生育しにくいことが示されており⁵⁻⁷⁾、また樹脂に防黴剤を添加するなどの処置も行われている。しかしこれらも恒久的な防黴効果はなく、また殺菌消毒剤の処置と比較して、樹脂施工やメンテナンスを頻繁に行うことは、費用・労力・時間などの面において現実的には難しい。

特に装飾古墳の保存施設では、非公開・密閉式による現地保存の基本方針がとられていることが多く、土壌のほかに石材などが高湿度環境中で保存されている。このような保存施設では乾燥を避けるために 100% RH に近い保存環境が設定・容認されていることが多い。真菌の発生自体は保存環境の温湿度や水分を適性に管理しなければ根本的な解決にはならないことはよく知られているが、高湿度を前提にしなければならない環境では、薬剤による殺菌消毒処置は被害の拡散防止や沈静化に対して有効な手段であると考えられる。通常土壌・石材上に真菌が確認された場合、そのつど薬剤による殺菌消毒が行われる。一般的に使用される薬剤にはエタノール⁸⁻¹⁷⁾、ホルマリン（パラホルムアルデヒド）^{8-10, 12, 14-20)}などがある。薬剤の殺菌消毒効果については生物化学的に研究・評価され、薬剤の作用機構や有効濃度などが明らかにされており²¹⁾、また文化財保存分野でも個別の保存施設において採取された真菌に対しての薬剤や有効濃度について研究がなされることがある²²⁾。

しかし古墳や遺構などが露出展示・保存される施設において、殺菌消毒剤を選択し、有効とされる濃度によって殺菌消毒処置を行ったにもかかわらず、同じ箇所でも繰り返し真菌が発生し問題となることがある。キトラ古墳仮設保護覆屋内の取合部では、版築や盛土、石槨露出部分に真菌が発生した場合、消毒用エタノール、無水エタノール、次亜塩素酸ナトリウム、ホルマリン、塩化ベンザルコニウム、ケーソン CG などの薬剤が検討され噴霧・湿布処置が行われてきた。しかしいずれの薬剤を用いた場合でも根絶できず、数日から 2 週間程度で処置部分や近傍において、菌糸の発達や孢子生成による着色が目視で観察された。

現地保存される古墳や遺構における適切な殺菌消毒処置や微生物管理方針をデザインするために、本研究では古墳・遺構等の構成材質である土壌・石材上での真菌発生後に殺菌消毒処置を行った場合の薬剤の殺菌効果の比較を行った。また殺菌消毒処置後も引き続き高湿度条件下で土壌・石材試験体を保管し生存真菌数を測定することで、繰り返し真菌が発生する問題に対

する適切な殺菌消毒処置について考察を行った。

2. 実験

本研究では殺菌消毒処置を行ったにも係わらず、同じ箇所でも繰り返し真菌が発生することのあるキトラ古墳取合部を特定化したモデルとして殺菌消毒剤、試験体、試供菌を選択した。

また本研究は、菌種による薬剤耐性の違いについての評価を目的としないため、試供菌はキトラ古墳においての主な汚染真菌であり、土壌・石材上で繰り返し発生・発達することが確認されている *Penicillium* sp. の単一胞子懸濁液を用いた。

2-1. 殺菌消毒剤

本実験では、一般的に古墳・遺構等で使用されてきたエタノール、ホルマリンのほか、キトラ古墳取合部において土壌・石材の殺菌消毒処置に使用された薬剤を選択した。

エタノール

・消毒用エタノール

和光純薬工業 日本薬局方 消毒用エタノール、76.9～81.4vol%エタノール水溶液。

・無水エタノール

和光純薬工業 試薬特級 エタノール (99.5), min.99.5vol%エタノール。

ホルマリン

和光純薬工業 試薬特級 ホルムアルデヒド液 (ホルマリン), ホルムアルデヒド37%・メタノール8%含有水溶液。

塩化ベンザルコニウム

日本薬局方 塩化ベンザルコニウム液 オスバン10%消毒剤, 塩化ベンザルコニウム10w/v%含有水溶液。

ケーソン CG (KathonTM CG)

大和化学工業 アモルデン FS-14D (KathonTM CG 相当), 5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン1.0～1.3%・2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン 0.3～0.42%含有水溶液。

上記薬剤を用いて濃度調整を行った ([] 内は本実験での略号)。実験に使用する各薬剤の希釈濃度は、殺菌消毒剤としての一般的な推奨濃度や古墳・遺構等での過去の使用例、噴霧や湿布など使用方法と作業環境の実態などを総合的に考慮した結果、ホルマリンはキトラ古墳やこれまで一般的に古墳・遺構で使用されてきた濃度¹⁶⁾、塩化ベンザルコニウムは1%以上の水溶液で粘膜を腐食することから²³⁾ 噴霧処置に使用できる最大濃度 (物品等の殺菌消毒には通常0.2%程度が使用される。), ケーソン CG はキトラ古墳石室内の主要汚染真菌である *Penicillium* (菌株名 K5916-7-1m) に対して高い抗菌性が認められた濃度²⁴⁾ を参照した。

- ①消毒用エタノール [Steri. EtOH]
- ②無水エタノール [Anhyd. EtOH]
- ③10%ホルマリン水溶液 (3.7%ホルムアルデヒド含有) [Form./water]
- ④10%ホルマリン / 無水エタノール溶液 (3.7%ホルムアルデヒド含有) [Form./EtOH]
- ⑤1%塩化ベンザルコニウム水溶液 [Benz./water]
- ⑥1%塩化ベンザルコニウム / 無水エタノール溶液 [Benz./EtOH]
- ⑦1%ケーソン CG 水溶液 [Kathon/water]
- ⑧1%ケーソン CG / 無水エタノール溶液 [Kathon/EtOH]

⑨標準試料（滅菌水）[Control]

2-2. 試験体

2-2-1. 土壌

キトラ古墳取合部の盛土崩落土を土壌試料とした。盛土崩落土から樹脂処置された表面部分を取り除き、篩別により粒径1mm以下とし、120℃で15分間湿熱滅菌した。土壌400mgをφ12mmの容器を用い上面から圧縮し、版築を模した密度の高い土壌試料ピースを作成した。これらの土壌試験体は実験開始まで27℃、約100% RHのデシケータ内で保管した。

2-2-2. 石材

古墳時代から奈良時代まで古墳石室の構築部材や化粧石など建築部材石材として使用され、キトラ古墳石室の構築部材に近い、いわゆる流紋岩質凝灰角礫岩を用い、約1.5cm×1.5cm×厚さ1cmの凝灰角礫岩ピースを作成、120℃で15分間湿熱滅菌した。これらの石材試料は実験開始まで27℃、約100% RHのデシケータ内で保管した。

2-3. 孢子懸濁液

キトラ古墳石室内落下真菌測定にて採取・分離した*Penicillium* sp. を50ppm スルホコハク酸ジオクチルナトリウム水溶液へ分散させ孢子懸濁液とした。

2-4. 実験手順

2-4-1. 真菌への殺菌消毒効果

特定濃度の薬剤を真菌に直接接触させた場合の殺菌消毒効果を評価するために、真菌を接種したメンブレンフィルタ（メンブレンフィルタ法）を殺菌消毒処置し生存菌数を測定した。

- i) 吸引ろ過装置に取り付けた0.45μmメンブレンフィルタ（Millipore社製 DURAPORE Membrane Filters）で孢子懸濁液100μLを吸引ろ過する。孔径0.45μmにおいて真菌胞子はメンブレンフィルタ上に捕捉される。（真菌の接種）
- ii) 吸引ろ過装置に殺菌消毒剤5mLを注入し、メンブレンフィルタ上に捕捉された真菌と殺菌消毒剤を接触させる。このとき吸引はせず、メンブレンフィルタは殺菌消毒剤中に完全に沈浸した状態とした。（殺菌消毒処置）
- iii) 滅菌水によって洗浄ろ過し、吸引ろ過装置に取り付けたメンブレンフィルタ上の殺菌消毒剤をろ液として洗い流した。（殺菌消毒剤の除去）
- iv) メンブレンフィルタを吸引ろ過装置から取り外し、ビーカーに移しメンブレンフィルタに捕捉された真菌を5分間の超音波分散処理により、100mL滅菌水中に分散させた。（真菌の滅菌水への分散）
- v) 真菌を分散させた水液から100μLをMA培地に接種、27℃で5日間培養しCFU（Colony Forming Unit）を計数した。（生存真菌数の計数）

それぞれの殺菌消毒剤（2-1①～⑨）について、殺菌消毒剤を洗い流すまでの時間（接触時間）を5、10、30、60秒とし殺菌消毒効果を比較した。接触時間0秒（ii）の殺菌消毒処置を行わない）の生存真菌数は100μLあたり 101 ± 2 CFU（n=3）となり、これを初期真菌数とした。生存率：Survival Rate（%）＝生存真菌数（CFU）／初期真菌数（CFU）×100とした。

長時間の超音波分散処理により水中に分散した真菌は徐々に死滅するとされているが、予

備実験によりメンブレンフィルタに捕捉された真菌は5秒～1分で徐々に水中に分散し、2～45分以内で一定となり、60分以上で減少することを確認した。5分間の超音波分散処理によりメンブレンフィルタからの真菌分散は十分に行われていると考えられる。

2-4-2. 土壌及び石材試験体への殺菌消毒効果

土壌・石材上で育成した真菌への殺菌消毒効果を評価するために、土壌・石材試験体上で真菌を培養させた後に殺菌消毒剤処置し、1時間後から14日後の生存真菌数を測定した。

- i) 土壌・石材の各試験体表面（上面：土壌φ12mm，石材1.5cm×1.5cm）へ2～3孢子懸濁液200μLを滴下し、27℃，約100% RHのデシケータ内で7日間，無栄養的に培養した。石材試験体に関して，古墳や古墳において石材は地盤や墳丘土・覆土などと接触し，水分供給を受けことを考慮し，相対湿度100% RH デシケータ内で，さらに湿らせたろ紙を敷いた上に試験体を設置し培養を行った。（真菌の接種と培養）
- ii) 各試験体表面へ薬剤200μLを滴下し殺菌消毒処置を行い，27℃，約100% RH デシケータ内に保管した。石材試験体は湿らせたろ紙上に設置し保管した。（殺菌消毒処置）
- iii) デシケータ内の殺菌消毒処置した各試験体を経過時間ごと（土壌：1時間後，3日後，7日後，14日後，石材：1時間後，3日後，7日後，11日後）に一つずつ取り出してビーカーに移し，5分間の超音波分散処理により各試験体の真菌を土壌：50mL，石材：250mL 滅菌水へ分散させた。（真菌の滅菌水への分散）
- iv) 真菌を分散させた水液から20μLをMA培地に接種，27℃で5日間培養しCFUを計数した。（生存菌数の計数）

孢子懸濁液接種7日後の土壌・石材試験体の体積含水率 θ (%) = 水分体積 (cm³) / 試験体全体積 (cm³) × 100はそれぞれ土壌：約40%，石材：約20%程度であった。土壌試験体の体積含水率はキトラ古墳取合部の土壌水分計による体積含水率(約43～38%)と近いものであった²⁵⁾。また石材試験体の体積含水率は同種の凝灰角礫岩である高松塚古墳の石室解体時の体積含水率(約20%)と近いものであった²⁶⁾。このことから本実験の試験体の含有水分量は実際に現地保存されている古墳・遺構の土壌，石材に近い条件であると考えられる。

土壌・石材試験体ともに表面には菌糸体が目視で確認できたが，孢子形成や着色は見られない状態であった。

殺菌消毒剤の投薬量について，土壌試験体ではφ12mmの容器内の土壌が薬剤によって完全に浸漬する状態，石材試験体では液膜が石材上面を完全に覆い，数分後に石材試験体中に完全に浸透する状態であった。目視による目安ではあるが，モデルとしたキトラ古墳取合部での噴霧処置と同等かそれ以上の投薬量（濡れ程度）であった。

- ii) の殺菌消毒処置を行わない各試験体の生存真菌数は100μLあたり土壌：170 ± 2 CFU (n = 3)，石材：269 ± 2 CFU (n = 3) となり，これを初期真菌数とした。生存率：Survival Rate (%) = 生存真菌数 (CFU) / 初期真菌数 (CFU) × 100とした。

なお予備実験により超音波分散処理により真菌は土壌・石材試験体ともに5秒～30秒で徐々に水中に分散し，1～30分以内で一定となり，45分以上で減少することを確認した。このとき土壌は微細化し滅菌水中に分散することから，土壌試験体表面及び内部の真菌も滅菌水中に分散することになる。5分間の超音波分散処理により土壌・石材試験体からの真菌分散は十分に行われていると考えられる。

3. 結果と考察

3-1. 真菌への殺菌消毒効果

①消毒用エタノール [Steri. EtOH], ②無水エタノール [Anhyd. EtOH], ③10%ホルマリン水溶液 [Form./water], ⑤1%塩化ベンザルコニウム水溶液 [Benz./water], ⑦1%ケーソン CG 水溶液 [Kathon/water], ⑨標準試料 (滅菌水) [Control] をメンブレンフィルタ上の真菌に直接接触させた場合の殺菌消毒効果について図1に示す。縦軸を生存率: Survival Rate (%), 横軸を接触時間: Time (sec) とした。生存率の測定は $n = 3$ で行い, 測定誤差は約3% (max. 7%) 程度であった。

1%ケーソン CG 水溶液以外の殺菌消毒剤は接触時間60秒ではほぼ生存率が0%となり, 短時間での強い殺菌効果がみられた。後述するが, ケーソン CG は他の殺菌消毒剤の様な蛋白質の変性による作用機構ではないため, 瞬間的な殺菌効果は高くない。

この結果から薬剤を真菌に直接接触させた場合, エタノール (消毒用・無水), ホルマリン, 塩化ベンザルコニウムの各濃度は, 真菌の殺菌消毒に十分であることが確認された。本実験で用いた薬剤濃度は, 古墳や遺構等での殺菌消毒処置において一般的なものであることから (塩化ベンザルコニウムはやや高濃度), 処置後に真菌が繰り返し発生する問題は, 薬剤が本来持つ殺菌効果や有効濃度といった要因よりも, 処置対象である基質中の真菌に殺菌消毒剤が十分接触していない, 或いは接触するまでに薬剤濃度が低下することに原因があると考えられる。

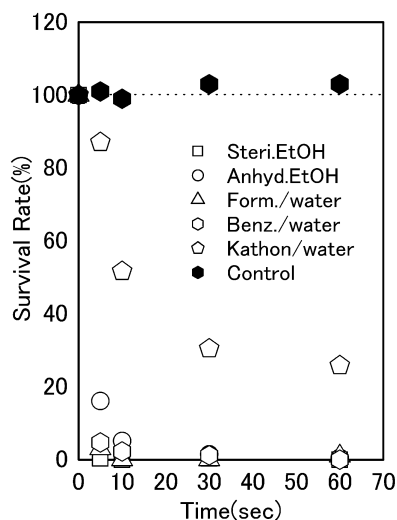


図1 各薬剤の真菌への殺菌消毒効果

3-2. 土壌及び石材試験体への殺菌消毒効果

図2～9について, 縦軸を生存率: Survival Rate (%), 横軸を時間: Time (days) とした。また生存率の測定は $n = 3$ で行い, 土壌試験体での測定誤差は約1% (max. 6%) 程度, 石材試験体では約3% (max. 14%) 程度であった。

3-2-1. エタノール

[土壌試験体]

①消毒用エタノール [Steri. EtOH] 及び②無水エタノール [Anhyd. EtOH] による土壌試験体への殺菌効果について図2に示す。

⑨標準試料 (滅菌水) [Control] で処置した土壌試験体の生存率は7日後までに徐々に増加し, 7日後から14日後までの間に急激に増加した。14日後の試験体表面には菌糸体の発達とともに大量の孢子形成による緑色の着色が見られた。

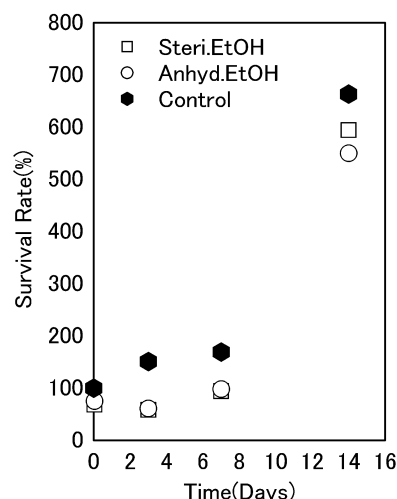


図2 エタノールによる土壌試験体への殺菌効果

消毒用エタノール [Steri. EtOH] と無水エタノール [Anhyd. EtOH] で大きな差異が見られず、ともに3日後まで生存率50%程度の殺菌効果が見られたが、3日後以降に増殖を始め、14日後には標準試料と同等の生存率となり試験体表面には菌糸体の発達とともに大量の孢子形成による緑色の着色が見られた。

通常、微生物の増殖過程は、増殖に必要な細胞の修復、酵素体制の整備などを行う誘導期、指数関数的な増殖をはじめる対数増殖期、増殖速度が低下して死滅速度と平衡になる定常期、生菌数が減少し分裂が停止する死滅期に分けられる。消毒用 [Steri. EtOH]・無水エタノール [Anhyd. EtOH] の生存率が14日後に標準試料と同等になったことについて、土壌試験体表面の大部分に真菌が育成・発達していたことなどから、増殖過程として7～14日後までのいずれかの時点で定常期に移行したものと考えられ、土壌試験体における発達限界であったと考えられる。

エタノールの作用機構は細胞膜を溶解・変性、脱水による細胞内外の蛋白質凝固などで、約70% w/v で細胞壁の透過度が最大となる²¹⁾ が、含有水分量の異なる消毒用エタノール [Steri. EtOH] と無水エタノール [Anhyd. EtOH] による土壌試験体への殺菌消毒効果の違いは表れなかった。土壌試験体の体積含水率は40%程度と高く、土壌団粒間の真菌と接触するまでの間に濃度低下が起こるものと考えられる。エタノールの殺菌力上の最適濃度は大体50～80%の間が適当とされており、また真菌に対しては細菌よりも長時間の接触時間が必要であるとされている²⁷⁾。目安として、土壌試験体の水分量と処置エタノール量から実効濃度 (v/v%) を概算した結果、消毒用エタノールで47%、無水エタノールで59%であった。土壌内部へ浸透するまでの間に消毒用・無水エタノールともに十分な殺菌効果を発揮する濃度よりも下がったことにより、両者に大きな違いが見られなかったものと考えられる。

消毒用エタノールと無水エタノールで処置後の長期的な殺菌効果に違いが見られないが、現地保存される古墳・遺構等でのエタノールによる殺菌消毒処置を行う場合、消毒用エタノールは保存環境中に水分を供給することになり、湿度管理に問題を与える可能性があることから、大量に処置する場合や小さな空間で使用する場合などは無水エタノールの使用が適切であると考えられる。

本実験条件ではエタノール殺菌消毒処置後7～14日後までの間に孢子の形成と着色が見られたが、処置3日後以降には土壌中の生菌数が増加に転じる。対数増殖期には短期間に大量の孢子を形成し真菌被害の拡散につながることから、殺菌消毒処置が不十分であった場合を考慮し、増加傾向へ転じる処置3～7日後に処置箇所の菌糸体の成長の有無などの点検を行う必要があると考えられる。大量の孢子を形成する以前の再処置が、被害の拡大や繰り返し真菌が発生することを防ぐ有効な手立てであると考えられる。

[石材試験体]

①消毒用エタノール [Steri. EtOH] 及び②無水エタノール [Anhyd. EtOH] による石材試験体への殺菌効果について図3に示す。

⑨標準試料 (滅菌水) [Control] で処置した石材試験体の生存率は11日後までに徐々に増加した。11日後の試験体表面には菌糸体の発達とともに大量の孢子形成による緑色の着色が見られた。

消毒用エタノール [Steri. EtOH] と無水エタノール [Anhyd. EtOH] で殺菌効果に差異が見られた。無水エタノール [Anhyd. EtOH] は1時間後までに生存率が約1%程度の殺菌効果を示し、3日後以降に生存率が増加した。これに対して消毒用エタノール [Steri. EtOH] は

1 時間後までに生存率30%程度までの殺菌効果を示し、3日後までに生存率が増加した。消毒用 [Steri. EtOH]・無水エタノール [Anhyd. EtOH] は11日後には近い値を示し、白色の菌糸体の成長が確認された（目視で孢子形成による緑色の着色は見られなかった。）ことから、11日後以降は同様の挙動を示し、生菌数が増加するものと推測される。

無水エタノール [Anhyd. EtOH] 処置後1時間後の生存率は約1%程度と強い殺菌効果を示したにもかかわらず、3日後以降に生存率が増加することに関して、本実験での生存率0%はMA培地に接種した水液20μL 当り生菌数1CFU 以下（試験体から滅菌水への真菌の分散が100%行われたとして、石材試験体上の生菌数 1.25×10^4 CFU 以下、土壌試験体では 2.5×10^3 CFU 以下）であることを示すものであり、完全な滅菌を示すものではない。従って見かけ上生存率が0%であってもその後に生菌数が増加する可能性がある。

消毒用エタノール [Steri. EtOH] よりも無水エタノール [Anhyd. EtOH] が強い殺菌効果を示したことに関して、石材試験体の凝灰角礫岩に含まれる多孔質のパミス（軽石）において保水性が高く、このためエタノールの濃度低下が起こったものと考えられる。エタノールは約70% w/v において最も高い殺菌力があるとされているが、石材の含有水分による濃度低下を考えた場合、76.9～81.4vol%の消毒用エタノールよりも無水エタノールが有利であると考えられる。

現地保存される古墳・遺構等において、石材に対するエタノールによる殺菌消毒処置は、無水エタノールで行うことが適切であると考えられる。しかし処置後3日後以降には増殖傾向、11日後までには菌糸の発達が見られ、完全な殺菌処置ではないことから、処置7～11日後までには処置箇所の菌糸体の成長の有無などの点検や再処置が必要であると考えられる。

3-2-2. ホルマリン

[土壌試験体]

③10%ホルマリン水溶液（3.7%ホルムアルデヒド含有）[Form./water]、④10%ホルマリン/無水エタノール溶液（3.7%ホルムアルデヒド含有）[Form./EtOH] による土壌試験体への殺菌効果について図4に示す。

水溶液 [Form./water] および無水エタノール溶液 [Form./EtOH] とともに1時間後から3日後までに生存率約20%程度の殺菌効果が見られたが、3日後以降に増殖を始め、14日後には標準試料と同等の生存率となり試験体表面には菌糸体の発達とともに大量の孢子形成による緑色の着色が見られた。エタノールによる

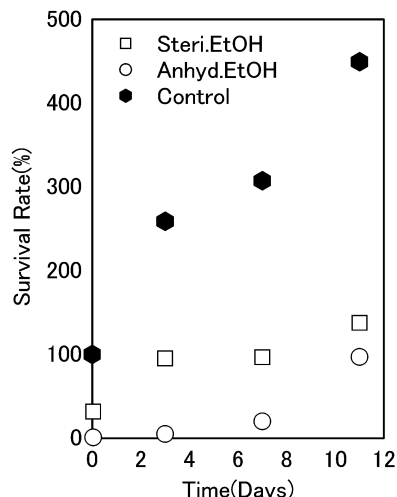


図3 エタノールによる石材試験体への殺菌効果

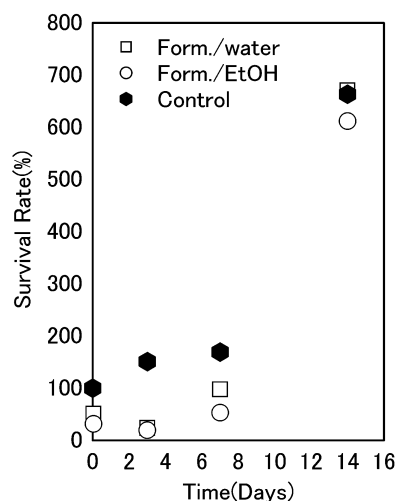


図4 ホルマリンによる土壌試験体への殺菌効果

殺菌消毒処置と同様、真菌の増殖過程は7～14日後までのいずれかの時点で定常期に移行したものと考えられ、土壌試験体においての発達限界まで真菌が育成したものと考えられる。

無水エタノール溶液 [Form./EtOH] では、7～14日後で水溶液 [Form./water] よりも若干増殖を抑えていることから、ホルマリンとエタノールには相乗効果があると考えられ、無水エタノールによる希釈が優位であると考えられる。

ホルマリンの溶液濃度はキトラ古墳やこれまで一般的に古墳・遺構で使用されてきた濃度を参考とし、3-1 真菌への殺菌消毒効果の結果から、10%ホルマリンには真菌への十分な殺菌効果があることが示されている。土壌試験体への処置3日後以降に生菌数が増加傾向に転じることは、エタノール同様、土壌団粒中の真菌と十分接触していないか、含有水分による濃度低下が原因であると考えられる。ホルマリン溶液の高濃度化は、土壌含有水による実効濃度低下の問題については改善される可能性があるが、真菌への不十分な接触に対しては必ずしも有効であると判断は出来ず、また後述する人体への毒性からも推奨されるものではないと考えられる。

現地保存される古墳や遺構等の土壌に対する殺菌消毒剤として、ホルマリンはエタノールとともに頻繁に使用される薬剤である。ホルマリン（ホルムアルデヒド）の作用機構は、蛋白質のアミノ基やメルカプト基、プリン塩基の環状窒素原子のアルキル化により不可逆的にそのコロイド状態を変えることによる微生物の不活化であり²⁸⁾、短時間での殺菌効果が望める薬剤の一つである。10%ホルマリンは高湿度環境下における高含水量の土壌に対してエタノールよりも殺菌効果が高く、また3日後までの期間において良い殺菌効果が見られたことから、菌糸体の発達や大量の孢子形成などの被害が見られた場合の緊急的な処置には有効であると考えられる。しかしエタノール同様、殺菌消毒処置が不十分であった場合を考慮し、増加傾向へ転じる処置3～7日後に処置箇所の詳細な点検や再処置を行う必要があると考えられる。

またホルマリン（ホルムアルデヒド）は、粘膜・呼吸器系・目などへの刺激性や急性毒性があり、作業環境における気中濃度は日本産業衛生学会からOELs（Occupational exposure limits）：0.1ppm（2007）と設定されている。筆などによる部分的な塗布は有効な手段であると考えられるが、噴霧による大量また頻繁な使用には十分な防毒対策が必要であり推奨できない。

なお平成19年の労働安全衛生法施行令及び特定化学物質障害予防規則等の一部改正に伴い、ホルムアルデヒドが第3類物質から第2類物質に変更された（平成20年3月1日から施行・適用）。これによって、現在ホルムアルデヒドに関して事業者が義務づけている作業主任者の選任や漏洩防止措置などに加えて、設備の密閉化、局所排気装置やプッシュプル型換気装置の設置、作業環境測定の実施が義務付けられる。

[石材試験体]

③10%ホルマリン水溶液（3.7%ホルムアルデヒド含有）[Form./water]、④10%ホルマリン/無水エタノール溶液（3.7%ホルムアルデヒド含有）[Form./EtOH] による石材試験体への殺菌効果について図5に示す。

水溶液 [Form./water]、無水エタノール溶液 [Form./EtOH] とともに強い殺菌効果が見られ、特に無水エタノール溶液 [Form./EtOH] では処置後1時間後までの短時間で生存率5%程度となった。処置7日後以降は生存率1%未満となり、測定期間中に生菌数が増加に転じることがなかった。処置11日後にも目視による菌糸の成長や孢子形成は確認できなかった。

エタノール処置と比較して、処置3日後以降も生存率が増加傾向を示さないことから、エタ

ノール処置よりも殺菌効果が高いものと考えられる。ただ処置 7, 11 日後の生存率は水溶液 [Form./water] で約 0.6%, 無水エタノール溶液 [Form./EtOH] で約 0.2% の値で横ばいとなっており, 試験体上には真菌が生存していることから 11 日後以降には生菌数が増加に転じる可能性もある。

エタノールによる処置同様, 石材試験体の基質やパミスの保水性によりホルマリンの濃度低下は起こったものと考えられるが, 真菌が存在する石材試験体表面近傍の含水量に対して 10% ホルマリンの濃度・投薬量が十分高かったものと考えられる。

現地保存される古墳・遺構等でのホルマリンによる石材に対する殺菌消毒処置は, 土壌同様に短時間での殺菌効果が期待でき, 孢子形成による着色などが見られた場合の緊急的な処置には有効であると考えられる。ホルマリンから揮発するホルムアルデヒドは毒性が高いことから, 大量・大面積への噴霧処置は適切ではないと考えられるが, 前述の労働安全衛生法施行令を順守した上で, 筆などによる部分的な塗布使用としては殺菌効果の高い処置であると考えられる。

装飾古墳のように石材には色材が使用されていることもある。ホルマリン (ホルムアルデヒド) による鉛系顔料の変色が知られており²⁹⁾, 処置にあたっては装飾の有無や色材の痕跡について石材面の事前確認が必要とされ使用は限定される。

本実験の処置後 11 日後までの測定で, ホルマリンによる処置で生存した真菌が増加に転じる時期は明らかにならなかったが, 3-2-1 において無水エタノール処置 [Anhyd. EtOH] による石材試験体の生存率が処置後 1 時間で約 1% 程度まで殺菌された後であっても, 3~7 日後には増殖傾向, 11 日後までには菌糸の発達が確認されている。ホルマリン処置に関しても増加傾向に転じる可能性が考えられることから, 殺菌消毒処置後の処置箇所の点検が必要であると考えられる。

3-2-3. 塩化ベンザルコニウム [土壌試験体]

⑤ 1% 塩化ベンザルコニウム水溶液 [Benz./water], ⑥ 1% 塩化ベンザルコニウム/無水エタノール溶液 [Benz./EtOH] による土壌試験体への殺菌効果について図 6 に示す。

1% 塩化ベンザルコニウム水溶液 [Benz./water] は標準試料の生存率との差異が見られなかった。また同一濃度の無水エタノール溶液 [Benz./EtOH] は, 3-2-1 における無水エタノール単体 [Anhyd. EtOH] での殺菌効果と同程度であった。1% 塩化ベンザルコニウムには土壌への殺菌効果は期待できないと考えられる。

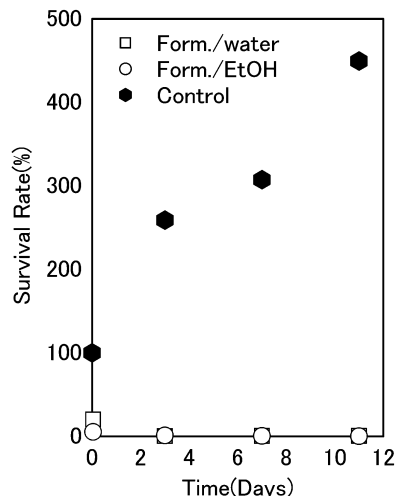


図5 ホルマリンによる石材試験体への殺菌効果

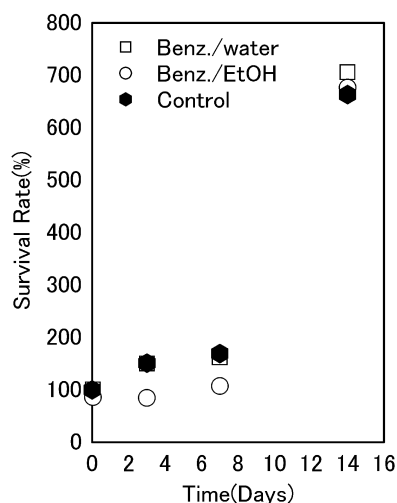


図6 塩化ベンザルコニウムによる土壌試験体への殺菌効果

塩化ベンザルコニウムの作用機構は蛋白質の変性および酵素の切断、膜透過性障害による溶菌、リンおよびカリウムの漏出などで²³⁾、医療機関などで低水準消毒薬として、壁面・床・家具等、手指、粘膜、機器消毒の用途に使用されている。3-1真菌への殺菌消毒効果の実験結果や、通常医療施設等で手術室・病室・家具・器具・物品には0.05~0.2%, 人体や皮膚には0.05~0.1%塩化ベンザルコニウム水溶液が用いられていることから²³⁾、本実験で使用した1%塩化ベンザルコニウムは本来真菌に対して十分な殺菌効果を持つと考えられる。しかし土壌試験体の含有水分による濃度低下に加えて、塩化ベンザルコニウムはセルロース材質への吸着や、負電荷を帯びた有機物存在下では殺菌効果が低下することが知られており³⁰⁾、土壌に含まれる有機性物質の存在などにより、真菌へ接触する実効濃度が低下したものと考えられる。また塩化ベンザルコニウムの高濃度化に関して、1%以上の水溶液で粘膜、5%以上は正常皮膚を腐食することから²³⁾、古墳・遺構等で最も一般的な処置方法で、広範囲への処置に適している噴霧処置には十分な防毒対策が必要であり、また湿布法や筆による塗布も吸着による濃度低下が起ると考えられることから、古墳・遺構等の土壌の殺菌消毒処置に適していないと考えられる。

[石材試験体]

⑤ 1%塩化ベンザルコニウム水溶液 [Benz./water], ⑥ 1%塩化ベンザルコニウム/無水エタノール溶液 [Benz./EtOH] による石材試験体への殺菌効果について図7に示す。

水溶液 [Benz./water] による処置は標準試料と比較して、若干低い生存率を示したが、11日後には試験体表面に菌糸の成長と孢子形成が見られた。無水エタノール溶液 [Benz./EtOH] では処置7日後までは約40%の生存率を示したが、11日後には生菌数が増加に転じ、試験体表面に菌糸体が確認された。

1%塩化ベンザルコニウムの無水エタノール溶液 [Benz./EtOH] (エタノール濃度約90vol%) の生存率挙動は、3-2-1における消毒用エタノール [Steri. EtOH] (76.9~81.4vol%) と無水エタノール [Anhyd. EtOH] (99.5vol%) の中間的な生存率を示していることから、主に希釈溶媒のエタノールによる殺菌効果であると推定される。

1%塩化ベンザルコニウムは土壌試験体では殺菌効果が見られなかったが、石材試験体では若干の効果が見られた。塩化ベンザルコニウムを吸着する有機物質等が少ない基質に対しては殺菌消毒効果が見られるものと考えられる。ただ実際の現地保存される古墳や遺構において、石材表面には土壌や有機物質が付着・堆積していることが想定されることがや金属腐食性から使用箇所が限定されることなど、土壌と同様に古墳・遺構等の石材の殺菌消毒処置に適していないと考えられる。

3-2-4. ケーソン CG

[土壌試験体]

⑦ 1%ケーソン CG 水溶液 [Kathon/water], ⑧ 1%ケーソン CG/無水エタノール溶液

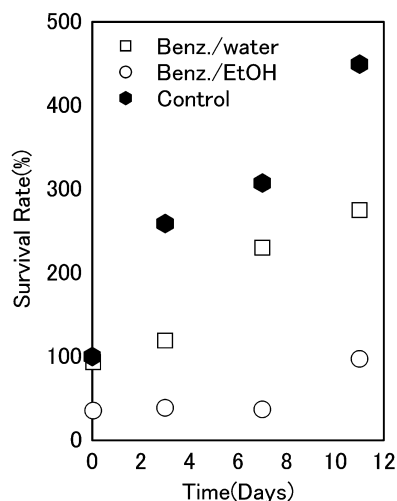


図7 塩化ベンザルコニウムによる石材試験体への殺菌効果

〔Kathon/EtOH〕による土壌試験体への殺菌効果について図8に示す。

ケーソンCG水溶液〔Kathon/water〕及び無水エタノール溶液〔Kathon/EtOH〕の処置1時間後の生存率は50～85%と比較的高いものの、処置3～7日後までに1%未満の殺菌効果を示した。水溶液〔Kathon/water〕・無水エタノール溶液〔Kathon/EtOH〕ともに処置7～14日後の期間で生存率が増加に転じるが、14日後において目視で土壌試験体表面に菌糸体の発達は確認できなかった。

無水エタノール溶液〔Kathon/EtOH〕の処置1時間後の生存率は、3-2-1における無水エタノール単体〔Anhyd. EtOH〕での処置と同等であったことから、希釈溶媒であるエタノールの殺菌効果であると考えられる。ケーソンCGの作用機構は代謝回路（クレブス回路）の酵素阻害により、エネルギー生産を低下させ最終的に細胞を死滅させる³¹⁾ことであり、細胞壁の変性や破壊による殺菌機構と異なり短時間での殺菌消毒効果を示さない。これは3-1の結果と一致するものであり、薬理特性が表れているものと考えられる。したがって短時間での殺菌消毒効果のある無水エタノールによる希釈が有効であると考えられる。

処置14日後に生存率が増加していることに関して、ケーソンCGの有効成分（5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン、2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン）は不揮発性であることから、ある程度の残留性・残効性を示すと考えられるが、7～14日後の期間には土壌中で分解・無効化しているものと推定される。14日後以降には対数増殖期・定常期に移行し、最終的には標準試料同様の生菌数まで増殖していくものと考えられる。

土壌試験体の含有水分による実効濃度低下に関して、ケーソンCGはホルマリン（ホルムアルデヒド）と比較して毒性が低いことから、噴霧処置においても1%以上の高濃度化は可能であると考えられるが、ケーソンCGの原液は粘性を持つため、濃度を上げることは土壌団粒間への浸透に対して不利に働く可能性がある。

現地保存される古墳・遺構等の土壌への殺菌消毒剤として、ケーソンCGは非常に有効であると考えられるが、水溶液は短時間での殺菌作用が弱いことから、処置作業による他区画への真菌汚染の拡散や拡大に対しては注意が必要であると考えられる。生存真菌が増殖に転じるまでの期間が本実験で選択した他の薬剤と比較して長い、最終的には生菌数が増加傾向に転じるため、エタノールやホルマリン同様、殺菌消毒処置が不十分であった場合を考慮し、増加傾向へ転じる処置7～14日後に処置箇所の点検が必要であると考えられる。

〔石材試験体〕

⑦ 1%ケーソンCG水溶液〔Kathon/water〕、⑧ 1%ケーソンCG/無水エタノール溶液〔Kathon/EtOH〕による石材試験体への殺菌効果について図9に示す。

水溶液〔Kathon/water〕、無水エタノール溶液〔Kathon/EtOH〕ともに強い殺菌効果が見られ、特に無水エタノール溶液〔Kathon/EtOH〕では処置後1時間後までの短時間で生存率7%程度となった。水溶液〔Kathon/water〕・エタノール溶液〔Kathon/EtOH〕ともに処置3

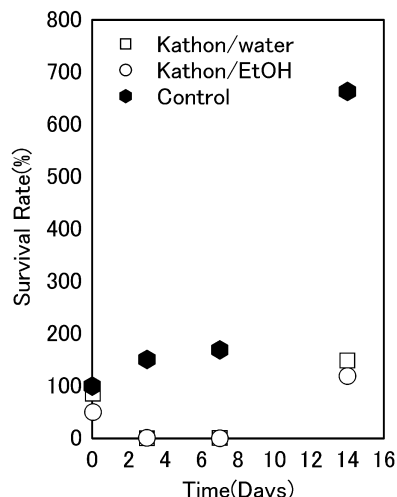


図8 ケーソンCGによる土壌試験体への殺菌効果

日後以降は生存率1%未満となり、測定期間中に生菌数が増加に転じることがなかった。処置11日後は生存率0%となり、また目視による菌糸の成長や胞子形成は確認できなかった。

処置11日後にも生菌数が検出されないことから、エタノール、ホルマリン処置よりも殺菌効果が高いものと考えられる。ただ本実験の生存率0%は石材試験体上の生菌数 1.25×10^4 CFU以下を示すものであり、試験体上に真菌が生存している可能性は否定できない。

他の薬剤処置同様、石材試験体の基質やパミスの保水性によりケーソンCGの実効濃度低下は起こったものと考えられるが、真菌が存在する石材試験体表面近傍の含水量に対して1%ケーソンCGの濃度・投薬量が十分高かったものと考えられる。

水溶液 [Kathon/water] での使用は短時間での殺菌作用が弱いことから、処置作業による他区画への真菌汚染の拡散や拡大に対しては注意が必要であり、短時間での殺菌効果の強い無水エタノールを溶媒として使用することが有効であると考えられる。ただケーソンCGには金属腐食性があるため、石材に色材が存在する場合や、石材自体に金属性物質が多量に含まれている場合には注意が必要である。処置にあたっては装飾の有無や色材の痕跡について石材面の事前確認が必要とされ使用は限定される。

現地保存される古墳・遺構等における石材に対するケーソンCGによる処置は非常に有効であると考えられ、一度の処置によりホルマリンよりも高い殺菌効果が期待できる。またホルマリンと比較して毒性が低いことから噴霧処置にも使用できると考えられる。しかし完全な滅菌である保証はないため、ホルマリン同様処置後の点検は必要であると考えられる。

3-3. 土壌の殺菌消毒処置について

本実験の殺菌消毒処置7~14日後に菌糸や胞子形成が確認できる現象は、モデルとしたキトラ古墳取合部と同様（処置後3~14日程度）であり、土壌の粒径・密度、含水量、有機物量、pHなどの諸条件によって生存率が増加に転じるまでの期間に若干違いが現れると考えられるが、総じて各地に現地保存されている古墳・遺構等の現場の状況を再現したものであると考えられる。

3-1より真菌に直接接触した場合の各薬剤の希釈濃度は十分であると考えられるが、3-2における土壌試験体への処置ではいずれの薬剤も数日で生菌数が増加した。原因として土壌の含有水分による実効濃度の低下と土壌団粒間への不十分な浸透が考えられる。

土壌の含有水分に関して、本実験で用いた土壌試験体の体積含水率は約40%と非常に湿ったものであるが、現地保存される古墳・遺構等の保存施設においては、墳丘からの雨水の浸透や施設壁面における結露水などにより、箇所によってはさらに含水率の高い状態になることも想定される。殺菌消毒剤の希釈は水分を含まない無水エタノールで行うことが適切であると考えられる。また薬剤の実効濃度の低下に対して薬剤の高濃度化は一つの解決手段であると考えられる。しかし一般的に現地保存されている古墳・遺構等の保存施設は狭い空間であることが多く、また広範囲の真菌被害に対しては噴霧機を用いて薬剤散布されることが多い。使用量・使

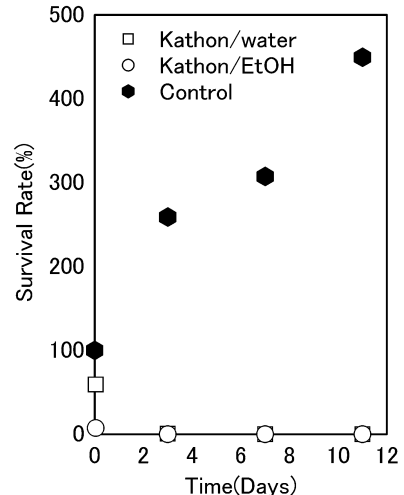


図9 ケーソンCGによる石材試験体への殺菌効果

用面積・使用方法・気中濃度・人体への影響と負担・法令等考慮すべき課題が多いことから、薬剤の極端な高濃度化は必ずしも推奨されるものではない。

土壌の団粒構造に関して、糸状菌は $10\mu\text{m}$ 以上のマイクロ団粒外部およびマクロ団粒内外に繁殖するとされており³²⁾、この間隙への毛管現象による薬剤の浸透により真菌と接触することになる。この土壌団粒間の真菌へ薬剤が接触しない、或いは接触するまでの間に含有水分と薬剤の揮発により実効濃度が低下することで十分な殺菌消毒効果が得られなかったものと考えられる。薬剤の高濃度化も一つの選択肢ではあるが、処置面積に対する投薬量を増やすことで含有水分による濃度低下の影響を相対的に少なくすることや、処置範囲にもよるが湿布法や部分的なシーリングなど土壌からの揮発を防ぎ、初期濃度を保ったまま浸透・接触時間を長くすることが有効な手段であると考えられる。

現地保存される古墳・遺構等の土壌への殺菌消毒剤の選択として、無水エタノール、10%ホルマリン/無水エタノール溶液(3.7%ホルムアルデヒド含有)、1%ケーソンCG/無水エタノール溶液での処置が適切であると判断した。ただ数日後には生存した真菌が増殖をはじめするため、無水エタノールや10%ホルマリン/無水エタノール溶液での処置は処置3~4日後、1%ケーソンCG/無水エタノール溶液では処置7~14日後を目安に処置箇所の点検を行い、大量の孢子形成前に再処置を行うことが望ましいと考えられる。

3-4. 石材の殺菌消毒処置について

本実験で使用した凝灰角礫岩は、基質の火山ガラスと各種の礫で構成されている。主な礫は黒色の火山礫(溶結)凝灰岩の角礫と白色のパミス(軽石)である。パミスや基質は軟弱で密度が低く、特にパミスは多孔質であるため高湿度環境下で保湿・保水し易いと考えられ、また礫による凹凸や水分量の不均衡によって特に真菌の発生しやすい石材であると考えられる。ただキトラ古墳取合部石槨における実際の殺菌消毒処置と比較して、本実験での各薬剤の殺菌効果はやや高く表れているように感じられた。現地保存される古墳・遺構等における実際の石材は、長期間土中に埋設されていたことにより表面が風化しており、また土壌や有機物質が付着・堆積していると考えられる。これらは処置薬剤の濃度低下や真菌への不十分な接触への影響を大きくする要因となることから、本実験結果よりも殺菌効果が低下するものと考えられる。

土壌団粒間に真菌が存在する土壌と比較して、石材は表面及びクラックや細孔といった比較的表面層にのみ真菌が存在すると考えられるため、投薬量に対する石材含水量による濃度低下の影響が少なくなるとは考えられるが、水分を含まない無水エタノールによる希釈が適切であると考えられる。また土壌と同様、揮発を防ぎ、初期濃度を保ったまま浸透・接触時間を長くすることが、実効濃度の低下に対して有効な手段であると考えられる。また石材の種類によっては含水量が少なかったり、薬剤が浸透しにくいものもあると考えられ、この場合各薬剤の殺菌消毒効果は真菌に直接薬剤を処置した3-1の結果に近づき、本実験結果よりもさらに強い殺菌消毒効果が得られるものと考えられる。

本実験結果から石材試験体に対する殺菌消毒処置として、無水エタノールにおいてよい殺菌効果が認められ、10%ホルマリン/無水エタノール溶液(3.7%ホルムアルデヒド含有)、1%ケーソンCG/無水エタノール溶液において強い殺菌効果が認められた。しかし、土壌と異なり石材には色材による装飾やその痕跡が残っている可能性があり、ホルマリン(ホルムアルデヒド)・塩化ベンザルコニウム・ケーソンCGは特定の金属に対して変色などの影響を与える可能性もあることから、石材処置面或使用色材の事前の確認が必要であり、使用箇所が限定さ

れることになる。また前述した石材の風化や土壌の付着による殺菌効果の低下が予想されることから、ホルマリン・ケーソン CG による処置であっても処置後の点検が必要と考えられる。無水エタノール処置でも十分な殺菌消毒効果が認められると判断でき、薬剤の毒性、腐食性、取り扱いや法的な規制等を総合的に考慮すると、現地保存される古墳や遺構で石材に対して殺菌消毒処置を行うには無水エタノールを用い、処置 7～11 日後を目安に処置箇所の点検を行い、大量の孢子形成前に再処置を行うことが望ましいと考えられる。

4. まとめ

現地保存される古墳や遺構における適切な殺菌消毒処置や微生物管理方針をデザインするために、土壌・石材上での真菌発生後に行われる殺菌消毒処置における薬剤の殺菌効果の比較を行った。また繰り返し真菌が発生する問題に対する適切な殺菌消毒処置について考察を行った。

土壌に関しては無水エタノール、10%ホルマリン / 無水エタノール溶液 (3.7%ホルムアルデヒド含有)、1%ケーソン CG / 無水エタノール溶液での処置が適切であると考えられる。しかしいずれの薬剤でも数日後には生存した真菌が増殖をはじめするため、無水エタノール、10%ホルマリン / 無水エタノール溶液での処置は処置 3～4 日後、1%ケーソン CG / 無水エタノール溶液では処置 7～14 日後を目安に処置箇所の点検を行い、大量の孢子形成前に再処置を行うことが望ましいと考えられる。

石材に関しては薬剤の毒性、金属腐食性、取り扱いや法的な規制等を総合的に考慮した結果、無水エタノールによる処置が適切であると考えられるが、数日後には生存した真菌が増殖をはじめするため、処置 7～11 日後を目安に処置箇所の点検を行い、大量の孢子形成前に再処置を行うことが望ましいと考えられる。

引用文献

- 1) Nakamura, Y. and Tanishita, S.: Causes and Countermeasures for Fungal Growth on Wooden Sculpture Consolidated with Synthetic Resin, Biodeterioration of Cultural Property 2, Proceedings of the 2nd International Conference on Biodeterioration of Cultural Property (1992, Yokohama) pp.141-149 (1993)
- 2) 木川りか, 佐野千絵, 三浦定俊: 高松塚古墳の微生物調査の歴史と方法, 保存科学, 43, 79-86 (2003)
- 3) 特願平 3-42656 (特許登録第2017368号), 古墳・遺構の保存方法
- 4) 特願平 3-42657 (特許登録第1952994号), 古墳・遺構の整備復元・保存方法
- 5) 青木繁夫: 加曾利貝塚遺構の保存について, 『貝塚博物館紀要』, 23, 17-30 (1996)
- 6) 関矢健男: 加曾利北貝塚貝層断面観察施設の保存処理, 『貝塚博物館紀要』, 23, 14-16 (1996)
- 7) 木川りか, 早川典子, 山本記子, 川野邊渉, 佐野千絵, 青木繁夫: 古墳等で使用する樹脂の真菌への抵抗性について, 保存科学, 44, 149-156 (2005)
- 8) 青木繁夫, 樋口清治: 史跡・羽山装飾古墳天井崩落部の修復について, 保存科学, 16, 55-64 (1977)
- 9) 木川りか, 佐野千絵, 三浦定俊: 高松塚古墳の微生物調査の歴史と方法, 保存科学, 43, 79-85 (2004)
- 10) 佐野千絵, 間潤創, 三浦定俊: 国宝・高松塚古墳壁画保存のための微生物対策に係わる基礎資料—パラホルムアルデヒドの実空間濃度と浮遊菌・付着菌から見た微生物制御—, 保存科学,

- 43, 95-105 (2004)
- 11) 木川りか, 佐野千絵, 間瀬創, 三浦定俊: キトラ古墳の前室および石室における菌類調査報告, 保存科学, 44, 165-172 (2005)
 - 12) 木川りか, 佐野千絵, 石崎武志, 三浦定俊: 高松塚古墳の微生物対策の経緯と現状, 保存科学, 45, 33-58 (2006)
 - 13) 木川りか, 間瀬創, 佐野千絵, 三浦定俊: キトラ古墳における菌類等生物調査報告 (2), 保存科学, 45, 93-106 (2006)
 - 14) 佐野千絵, 石崎武志, 三浦定俊: 古墳の保存と活用のための生物等被害状況アンケート調査—九州—, 保存科学, 45, 107-120 (2006)
 - 15) 木川りか, 佐野千絵, 間瀬創, 三浦定俊: キトラ古墳における菌類等生物調査報告, 保存科学, 46, 227-233 (2007)
 - 16) 木川りか, 間瀬創, 佐野千絵, 三浦定俊: キトラ古墳の微生物等の状況報告 (2007), 保存科学, 47, 129-134 (2008)
 - 17) 佐野千絵, 犬塚将英, 間瀬創, 木川りか, 吉田直人, 森井順之, 加藤雅人, 降幡順子, 石崎武志, 三浦定俊: キトラ古墳保護覆屋内の環境について (3) —真菌点検報告記録の解析—, 保存科学, 47, 135-171 (2008)
 - 18) 江本義数, 江本義理: 装飾古墳内の微生物調査, 保存科学, 12, 95-102 (1974)
 - 19) 江本義理, 門倉武夫, 見城敏子, 新井英夫: 史跡虎塚古墳彩色壁画保存に関する調査研究, 保存科学, 22, 121-146 (1983)
 - 20) 木川りか, 新井英夫: 各種文化財等の糸状菌同定報告, 保存科学, 34, 8-12 (1995)
 - 21) 日本防菌防黴学会編: 『防菌防黴ハンドブック』, 技報堂出版 (1986)
 - 22) 木川りか, 佐野千絵, 石崎武志, 三浦定俊: 高松塚古墳における菌類等微生物調査報告 (平成18年), 保存科学, 46, 209-219 (2007)
 - 23) 小林寛伊編: 『感染制御学』, へるす出版 (1996)
 - 24) 木川りか, 佐野千絵, 立里臨, 喜友名朝彦, 小出知己, 杉山純多: キトラ古墳のバイオフィルムから分離されたバクテリア・菌類に対するケーソン CG 相当品 (抗菌剤) の効果, 保存科学, 46, 39-50 (2007)
 - 25) 佐野千絵, 犬塚将英, 間瀬創, 木川りか, 吉田直人, 森井順之, 加藤雅人, 降幡順子, 石崎武志, 三浦定俊: キトラ古墳保護覆屋内の環境について (2) —土壌水分量推移と環境管理—, 保存科学, 46, 235-242 (2007)
 - 26) Magdi KHALIL and Takeshi ISHIZAKI: Moisture Characteristic Curves of Tuff Breccia Stone, 保存科学, 47, 11-19 (2008)
 - 27) 第十五改正日本薬局方解説書, 医薬品各条 C-605, 廣川書店
 - 28) William A. Rutala: APIC Guideline for selection and use of disinfectants, American Journal of Infect Control, 24 (4), 313-342 (1996)
 - 29) 小瀬戸恵美, 佐野千絵, 三浦定俊: ホルムアルデヒドによる無機顔料の化学変化, 文化財保存修復学会誌, 43, 22-30 (1999)
 - 30) 細瀬和成, 佐藤健二: セルロース製品に対する殺菌剤の吸着, 防菌防黴, 5 (4), 163-165 (1977)
 - 31) SIGMA-ALDRICH SUPELCO 技術資料 Bulletin 902, T196902 (1969)
 - 32) 服部勉, 宮下清貴, 齋藤明広: 『土の微生物学』, 養賢堂 (2008)

キーワード: 古墳 (tumulus); 消毒 (disinfection); 土 (soil); 石 (stone)

Evaluation of Disinfection Treatment in the Case of *in Situ* Conservation of Tumuli and Historic Sites

Hajime MABUCHI and Chie SANO

In the case of *in situ* conservation of tumuli and historic sites, mold is often found growing on soil and stones because of their high humidity condition, high water content, bad ventilation, rich nutrient and difficulty of complete sterilization. When mold growths are found on such substrates, disinfection treatment are carried out. Ethanol, formalin or other fungicides are often applied as disinfection agents. But sometimes mold re-outbreaks in a few days, even though disinfection treatment was done with commonly recognized effective agents at proper concentration. We investigated suitable disinfection treatment on soil and stone for *in situ* conservation of tumuli and historic sites.

We selected ethanol, formalin, benzalconium chloride and KathonTM CG as disinfection agents with appropriate concentration, and applied each agent (200μL) on mold contaminated soil (mound covering soil taken from Kitora Tumulus; 400mg, φ12mm) and stone (tuff stone similar to that of Takamatsuzuka Tumulus stone chamber; 15*15mm, 10mm thick) samples. Disinfected samples were stored under a similar condition of *in situ* conservation of tumuli and historic sites. The disinfection effect of each agent was estimated by measuring survival spores after disinfection treatment at 1 hour, 3 days, 7 days and 14 days later.

From the experiments on mold contaminated soil samples, it was found that every agent could not achieve complete disinfection and survival spores increased in few days. However anhydrous ethanol, 10% formalin/anhydrous ethanol solution and 1% Kathon CG/anhydrous ethanol solution showed better disinfection effect. From these results, it was concluded that appropriate disinfection treatments are to apply these agents, then confirm the consequence of treatment 3-4 days (7-14 days for KathonTM CG) later and reapply the agent before mold forms significant spores.

From the experiments on mold contaminated stone samples and chemical properties of agents (metal corrosiveness, discoloration of pigment, toxicity, etc.), it was concluded that appropriate disinfection treatment is to apply anhydrous ethanol, then confirm the consequence after 7-11 days and reapply the agent before mold forms significant spores.