

敦煌壁画色变中微生物因素的研究*

III. 枝孢霉在石窟壁画铅丹变色中的作用

冯清平 张晓君 马晓军 杨玲

(兰州大学生物系 兰州 730000)

摘要 从敦煌莫高窟分离的枝孢霉在模拟壁画表面萌发的条件为: 20℃, RH60% 或 30℃, RH50%。部分石窟在特定时间内可满足这一条件。骨胶对铅丹起到保护作用, 而枝孢霉可以分解骨胶, 并利用其生长和形成草酸等代谢产物。这些作用使铅丹处于一个特殊的化学环境, 造成稳定性下降, 并促进了铅丹向铅白的转变。

关键词 枝孢霉, 铅丹, 铅白, 骨胶

分类号 Q939.9

敦煌壁画所用的颜料主要为矿物颜料, 其中铅丹(Pb_3O_4)是使用较多的一种红色颜料, 其本人为鲜艳的桔红色, 但是由于年代久远, 加上各种人为与自然因素的影响, 大部分铅丹现都已变色, 呈暗红色或黑色^[1]。国内外对铅丹的变色做了大量研究。李最雄等人认为, 光照和湿度是铅丹变色的主要原因, 但是铅丹经光照 260 天后也仅转变为铅白 [$Pb_3(OH)_2(CO_3)_2$] 而无二氧化铅形成^[2]。到目前为止, 虽然可以从壁画表面发现大量的二氧化铅存在, 但是却无法了解铅丹是如何转变为二氧化铅的。我们认为, 微生物在铅丹的变色中可能起到一定的作用, 因此对其进行了深入研究, 以便揭示铅丹变色的作用机理。本文报道从敦煌壁画上分离的枝孢霉对铅丹稳定性的影响。

1 材料和方法

1.1 菌株

枝孢霉 (*Cladosporium* sp.), 分离自敦煌壁画。

1.2 扫描电镜分析

将模拟色板切成小块, 喷金后, 用 JEM-1200EX / S 型分析电镜进行观察照相, 并用 EDS 分析各元素成分含量。

1.3 红外光谱分析

用 Nicolet FT-5DX 型红外分光光度计进行测定。

1.4 X-射线衍射分析

用 D / max-2400 型 X 射线衍射仪分析。

* 国家自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1997-04-07

1.5 铅含量的测定

用 WF-XID型原子吸收分光光度计测定。

1.6 色度的测定

用 Minolta CR-121色度计测定色板的 1, a, b 值, 并以色差 ΔE 来表示色度的变化, 色差 ΔE 以下式计算: $\Delta E = \sqrt{\Delta l^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$

2 结果

2.1 壁画表面枝孢霉孢子萌发的环境条件

在模拟敦煌壁画环境条件下, 研究了温湿度与枝孢霉孢子萌发的关系。表 1 结果表

表 1 温湿度对枝孢霉孢子萌发的影响
Table 1 Effects of temperature and humidity on the germination of *Cladosporium* sp.

温度(°C)	20	20	20	20	30	30	30	30
Temperature								
湿度RH(%)	30	50	60	80	30	50	60	80
Humidity								
萌发情况	-	-	(+)	++	-	(+)	+	++
Germination								

注: - 不萌发; (+) 部分萌发; + 萌发; ++ 萌发且生长好。

明: 20°C RH60% 和 30°C RH50% 的条件下, 孢子均可萌发, 温度升高时, 萌发对湿度的要求略有降低。

在敦煌石窟内采样的过程中发现, 在下层较潮湿的石窟及部分上层石窟壁画表面, 有枝孢霉形成的黑色菌落, 它们对壁画的外观造成很大损害。据当地气象资料和实地测量、考察发现, 敦煌地区降雨量小, 空气湿度低, 一般窟内相对湿度在 40% 左右, 4~10 月份窟内温度在 20~30°C。在此条件下, 枝孢霉孢子不易萌发, 但遇到降雨天气, 窟内湿度可达 50% (RH) 以上, 此时孢子可以萌发。在这样一个适宜与不适宜条件交替出现的漫长历史过程中, 枝孢霉孢子可利用壁画颜料中的有机成分, 逐渐萌发、生长而形成较大的黑色菌落, 对画面构成了很大的危害。

2.2 枝孢霉对骨胶的分解作用

在 2%、5%、10% 和 15% 的骨胶中, 接种枝孢霉并培养, 2% 骨胶 3 天发生明显液化, 而 5%、10% 和

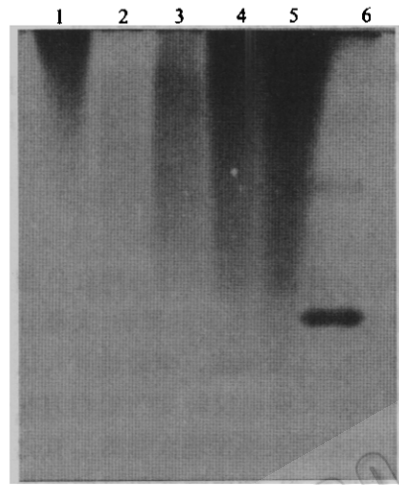


图 1 枝孢霉对骨胶分解作用电泳结果电泳泳道从左到右依次为: 1. CK(2% 骨胶液, 未接种); 2. 2% 骨胶(接种枝孢霉); 3. 5% 骨胶(接种枝孢霉); 4. 10% 骨胶(接种枝孢霉); 5. 15% 骨胶(接种枝孢霉); 6. 分子量标记(从上到下为: 牛血清白蛋白和溶菌酶)。

培养条件: 28°C 静置培养 3d。

Fig. 1 PAGE of bone glue degradating by *Cladosporium* sp.

1. CK(2% bone glue); 2. 2% bone glue with *Cladosporium* sp.; 3. 5% bone glue with *Cladosporium* sp.; 4. 10% bone glue with *Cladosporium* sp.; 5. 15% bone glue with *Cladosporium* sp.; 6. Protein marker (Bovine serum albumin, lysozyme);

Culture condition: 28°C incubated for 3d.

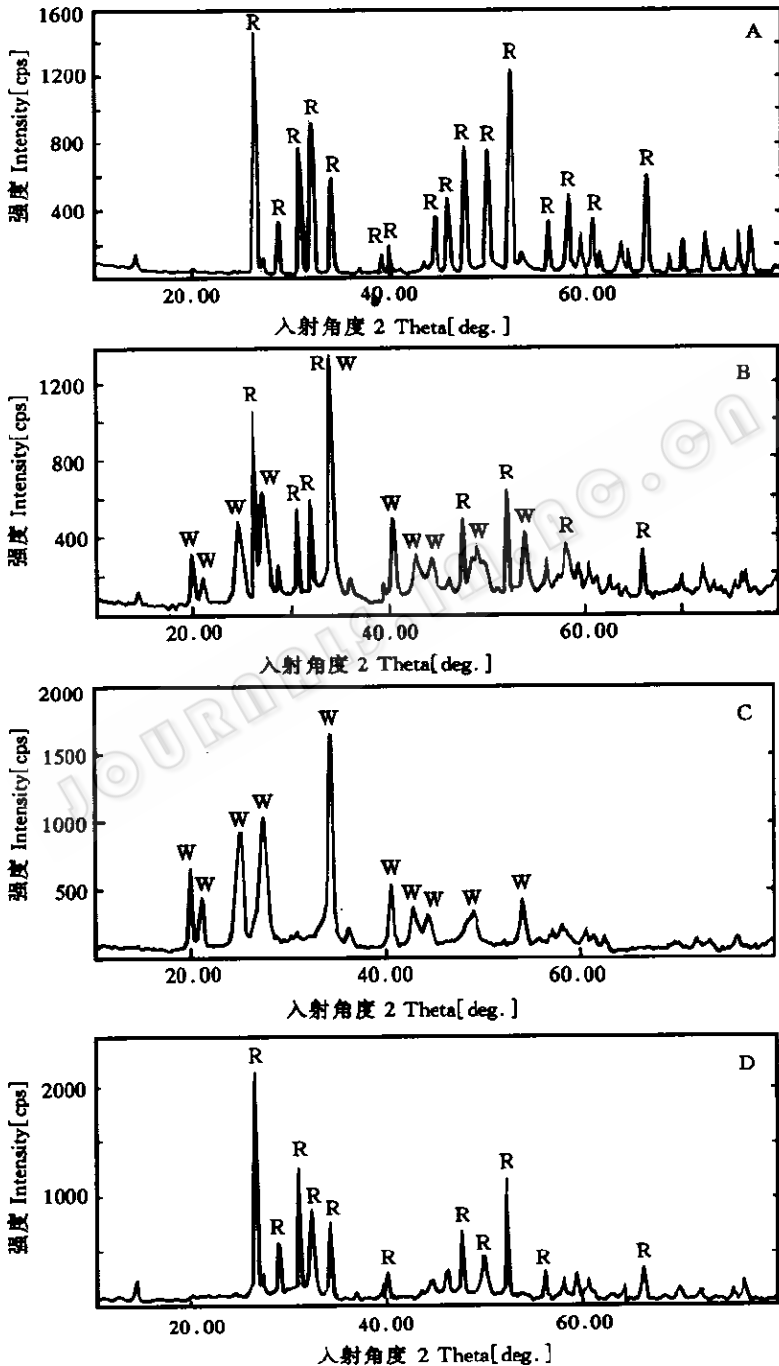
15% 骨胶液化速度依次减慢, 将液化的骨胶液经电泳分析, 骨胶蛋白发生不同程度的分解, 如图 1, 其中 2% 骨胶 3 天后即完全分解为小分子肽和氨基酸。

2.3 枝孢霉对铅丹变色的影响

2.3.1 枝孢霉对铅丹颜料色度的影响: 在模拟壁画的铅丹色板上接种枝孢霉, 在 28°C

RH60% 条件下,经过 30 天后,测量色板的色度。结果表明,其色度变化较大,色差值 ΔE 为 19.98。而未接枝孢霉的色板,在同样条件下色差变化很小, ΔE 为 3.45。

2.3.2 壁画中粘结剂骨胶与铅丹稳定性的关系:分别将 0.2g, 0.8g, 1.5g 骨胶与 0.2g 铅丹混合涂层,接种枝孢霉,照光(4 000 lx)培养 30d,同时做对照。实验结果(图 2)可以看出,加



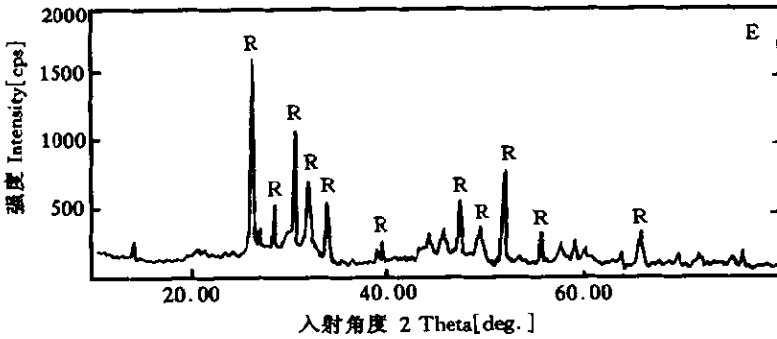


图2 骨胶与铅丹稳定性的关系(涂层的 X 射线谱图)

A. 分析纯铅丹(Pb₃O₄); B. 未接种枝孢霉的涂层; C, D, E. 分别为含 0.2g, 0.8g, 1.5g 骨胶并接种枝孢霉的涂层。

Fig. 2 Change of red lead in bone glue of different concentrations (assayed by X-ray)

A. Pb₃O₄; B. Control of Pb₃O₄ in 2% bone glue; C, D, E. Inoculated *Cladosporium* sp. on Pb₃O₄ in 2%, 8%, 15% bone glue.

入 0.2g 骨胶的涂层 X 射线衍射图谱与加入 0.8g, 1.5g 骨胶的涂层及未照光的铅丹的图谱有明显差异, 在加 0.2g 骨胶的涂层中接种枝孢霉并光照培养的只存在铅白的衍射峰(用 W 表示), 而不接种枝孢霉仅照光处理的涂层既有铅白的衍射峰, 又有铅丹的衍射峰(用 R 表示); 在加入 0.8g, 1.5g 骨胶的涂层与未照光铅丹的衍射峰相同, 只有 L 峰。以上实验表明 ①枝孢霉可促进铅丹向铅白的转化; ②骨胶对铅丹具有保护作用, 在适宜条件下它可阻止铅丹的转化作用, 它在壁画颜料中不仅作为一种粘剂, 而且对颜料也是一种保护剂。

2.3.3 枝孢霉与铅丹的变化: 在 0.2g 骨胶与 0.2g 铅丹混合的涂层表面接种枝孢霉后, 照光 (4 000 lx) 培养 30d, 然后对涂层进行 X 射线和红外光谱分析, 结果表明: 未接种的涂层只有少部分铅丹转变为铅白, 而接入枝孢霉的涂层上铅丹几乎全部转变为铅白 (图 2~3)。在加入铅丹的骨胶溶液中所做试验也表明了枝孢霉的生长促进了铅丹向铅白转化。

在含铅丹的 2% 骨胶液中接入枝孢霉, 一组暗处培养 30 天后, 上清液中铅含量为 28.6mg / L, 另一组照光培养 30 天后, 上清液铅含量为 31.7mg / L, 而未接菌的对照同样照

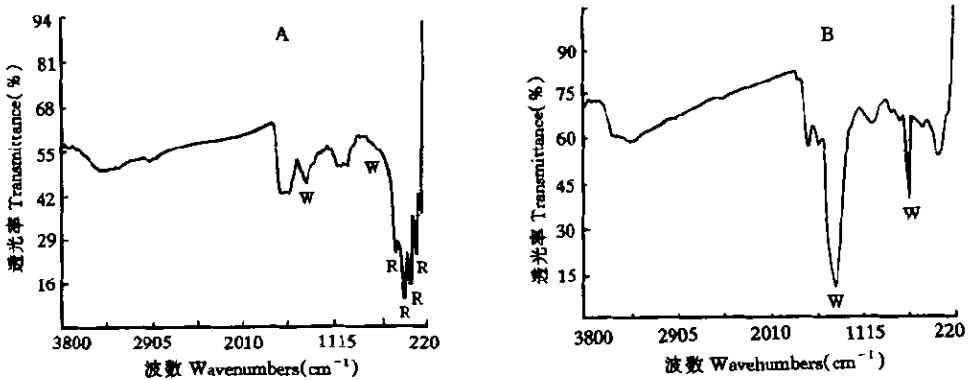


图3 枝孢霉与铅丹的变化(涂层的红外光谱图)

A. 未接种枝孢霉对照; B. 接种枝孢霉的涂层。(W 示铅白的峰)

Fig.3 Change of red lead on layer of bone glue assayed by IR

A. Control: without *Cladosporium* sp.; B. Inoculated *Cladosporium* sp.

光 30 天后,上清液铅含量为 22.9mg / L。可以看出枝孢霉的生长明显提高了可溶性铅的含量,接入枝孢霉的照光和未照光组略有差异,但它们都比未接菌的对照组高。

在模拟壁画色板上接种枝孢霉暗处培养 30 天后,电镜观察铅丹颗粒的外观变化(图

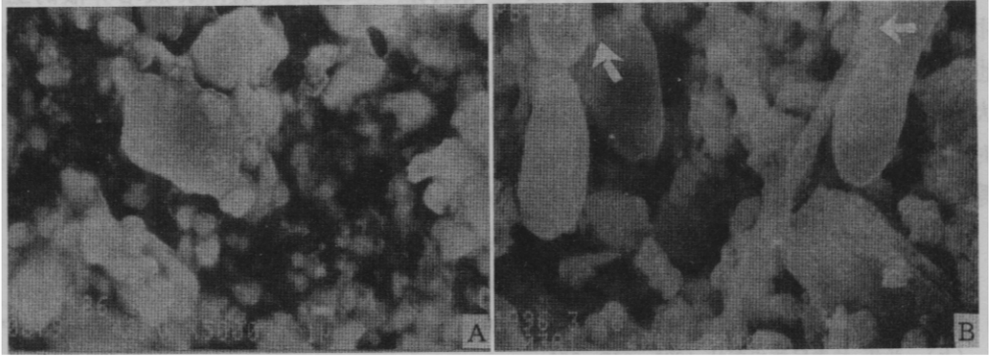


图 4 枝孢霉的生长对铅丹晶体的影响(扫描电镜, 5 000 ×)

A. 未接枝孢霉的色板; B. 接种枝孢霉的色板(箭头处小颗粒的钙含量很高)。

Fig.4 Change of red lead (photographed under electron microscope)

A. Control without *Cladosporium* sp.; B. Inoculated *Cladosporium* sp. (High concentration of calcium indicated by the arrow).

4), 可以看出枝孢霉生长后,其晶体边缘的整齐度降低,晶形变差,电镜 EDS 能谱分析结果表明,颜料成分中钙含量明显提高,伴随有细小的钙盐颗粒出现(图 4 箭头处)。模拟色板的红外光谱测定表明,在色板表面有较多的草酸盐形成(见草酸盐的特征峰 $625, 132, 779\text{cm}^{-1}$, 图中以 0 代表)(图 5)。

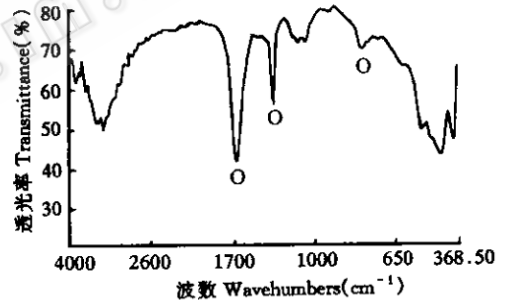


图 5 枝孢霉生长的色板上草酸的形成(红外光谱图)(O 草酸的峰)

Fig.5 The formation of oxalic acid as *Cladosporium* sp. grew, assayed by IR

3 讨论

从敦煌莫高窟壁画表面分离的枝孢霉为莫高窟内环境固有的一种微生物,通过对枝孢霉孢子萌发条件的研究,以及窟内的环境条件分析,认为在漫长的时间内,石窟内环境完全可满足孢子萌发、生长的需求,使其在壁画表面形成菌落,从而造成色度的变化。

在壁画的绘画过程中,骨胶等动植物胶被用作粘结剂,与颜料掺和后使用。我们对骨胶的实验显示它对铅丹是一种保护剂,与铅丹的稳定性有很大关系。李最雄等也有类似的结论^[3]。骨胶的保护作用可能是由于骨胶使铅丹与空气及外界其它因素相隔离,从而维持了它的相对稳定。枝孢霉可在骨胶中生长,不仅使骨胶分解为小分子肽或氨基酸并加以利用,降低了骨胶的粘结性,从而使骨胶对铅丹的保护作用降低或丧失,而且使铅丹与空气及空气中自由水分子的接触机会大大增加,因此是铅丹发生化学变化的重要原因之

一。另一方面,枝孢霉在生长过程中形成的一些代谢产物造成一个特殊的化学环境,例如形成的草酸等有机酸类物质,这些物质既可以提高壁画表面的酸性,使铅丹的晶体边缘缓慢溶解,同时草酸等又可形成一个还原性的环境,这种环境推动了铅丹分子向铅白的转化。莫高窟变色壁画表面发现的大量草酸钙^[4]的事实以及我们实验中骨胶培养液的上清液中铅含量的提高,都很好地说明了枝孢霉的代谢产物对铅丹晶体的腐蚀作用。另外,实验也表明在光照条件下,铅丹也可缓慢地转化为铅白,但是接种枝孢霉后,这一转化的速度大大提高,而且在无枝孢霉等微生物的参与情况下,铅丹向铅白的转化需要较强的光线和时间^[5],而我们认为由于莫高窟石窟的特殊构造,壁画表面的光照难以满足,因此,枝孢霉等微生物的作用可能是铅丹转化为铅白的关键因素。

参 考 文 献

- [1] 李最雄. 莫高窟壁画中的红色颜料及其变色机理探讨. 见:敦煌研究院主编. 敦煌研究文集——石窟保护篇(上). 兰州:甘肃民族出版社,1993. 337~355.
- [2] 李最雄. Stetan M. 光和湿度对土红、朱砂和铅丹变色的影响. 见:敦煌研究院主编. 敦煌研究文集——石窟保护篇(上). 兰州:甘肃民族出版社,1993. 219~235.
- [3] 李最雄. 敦煌壁画中胶结材料老化初探. 见:敦煌研究院主编. 敦煌研究文集——石窟保护篇(上). 兰州:甘肃民族出版社,1993. 236~248.
- [4] 李铁朝,向晓梅. 敦煌壁画中部分红色颜料的变色及稳定性. 见:敦煌研究院主编. 敦煌研究文集——石窟保护篇(上). 兰州:甘肃民族出版社,1993. 276~285.
- [5] 李最雄. 敦煌研究,1990,3:45~52.

STUDIES ON MICROBIAL FACTOR ON COLOR CHANGE OF DUNHUANG MURAL III. EFFECT OF *CLADOSPORIUM* SP. ON COLOR-CHANGE OF RED LEAD IN THE SURFACE OF MURAL

Feng Qingping Zhang Xiaojun Ma Xiaojun Yang Ling
(Biology Department, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

Abstract The conditions isolated *Cladosporium* sp. from Mural of Dunhuang grottoe germinated on the surface of imitated mural were as follows: 20°C RH 60% or 30°C RH 50%, which could be reached occasionally in some grottoes. Bone glue had protective function on red lead, while *Cladosporium* sp. could decompose bone glue and form some metabolite (such as oxalic acid, etc) as it grows. Then it could form a special chemical circumstance, which promoted the change from red lead to white lead.

Key words *Cladosporium* sp., Red lead, White lead, Bone glue