

装潢技術における酵素利用の可能性について

(受託研究報告 第68号)

竹上 幸宏*・君嶋 隆幸*・岡 岩太郎*・木川 りか・川野邊 渉

1. はじめに

装潢技術の中で裏打紙を打ち替えることは、きわめて重要な行程である。裏打紙は、本紙を維持し、保護するために大きな役割を担っている。

裏打紙を取り替えるには、料紙料絹と裏打紙を接着している小麦粉澱粉糊を膨潤させて緩めるために、水の使用が不可欠である。通常、料紙料絹は裏打紙よりも弱いことが多く、その全体の強度は用いられている糊の濃さによっても左右される。また、絵具が膠などの水溶性の媒体により定着されている場合、水の使用によって剥離・剥落する可能性がある。従来の装潢技術においては、各作品ごとの微妙な状況の違いを把握することによって、裏打紙の打ち換えを行ってきたのである。しかし、水の使用は、大画面の作品で作業に要する時間がより多く必要となる場合や、水溶性の高い画材が用いられている場合などでどうしても危険性が大きくなることは否めない事実である。

このように作品にとって危険性の高い水の使用を極力短時間にすること、できれば使用しないことが検討されてきた。その中で、裏打紙の剥離時間を短縮する試みとして糊の酵素分解について研究を行ったので報告する。

澱粉糊の酵素分解を文化財の修復に応用することは、欧米のペーパーコンサベーションの世界でもままた試みられていることであり、我が国においても過去に画せん紙や竹紙のような剥離しにくい料紙や高濃度の糊が用いられている作品などについて使用例がある。しかしながら、これらの酵素は比較的純度のものを高濃度で使用したものが多く、しばしば酵素の残留や酵素の不純物による弊害が報告されている。

本研究においては、きわめて高純度の基質特異性の高い酵素を極めて低濃度で使用することによって、穏和な条件下に於いて、より少量の水分による裏打紙の打ち換えの可能性を探った。

2. 材料と実験

2-1. 酵素使用量の検討

実験には、本紙として炭酸カルシウムを塗布した絵絹を楮紙で裏打ちしたものを用いた。実験に用いた酵素は、細菌性結晶 α -アミラーゼ(150×10⁴DUN/g^{#1})、ナガセ生化学工業製)である。

実験に用いた試料における酵素濃度は、実際の打ち替え作業と同様の条件で種々の酵素濃度を検討し、水分塗布後、5分ではほぼ抵抗なく裏打紙を剥離できる条件を探った。その結果、酵素濃度0.02% (300 DUN / ml) で高濃度の糊であっても剥離することが可能であり、ほとんどの作品に見られる糊濃度では、0.004% (60 DUN / ml) で打ち換えが可能であることが明らかになった。

* (株)岡墨光堂

2-2. 本紙の試料

絵絹に膠を用いてチョーク（炭酸カルシウム）を塗り、小麦粉澱粉を用いて楮紙で裏打ちをした。肌裏紙の除去に酵素を使用した後、新たな肌裏紙を打ち、本紙の試料とした。作製した試料は表1の通りである^{#2)}。

表1. 本紙試料

試料名称	作製法
酸素不使用（対照）	湿りを与え、15分間伏せ、肌裏紙を除去。自然乾燥。その後、美濃紙にて肌裏打ち。
0.02%	湿りを与え、裏面より0.02%の酵素水溶液を塗布。15分間伏せ、肌裏紙を除去。自然乾燥。その後、美濃紙にて肌裏打ち。
0.02%、水洗い ^{#2)}	湿りを与え、裏面より0.02%の酵素水溶液を塗布。15分間伏せ、肌裏紙を除去。レーヨン紙に挟み、吸い取り紙10枚の上に置きスプレーにて水洗いを2回行う。自然乾燥。その後、美濃紙にて肌裏打ち。
0.004%	湿りを与え、裏面より0.004%の酵素水溶液を塗布。15分間伏せ、肌裏紙を除去。自然乾燥。その後、美濃紙にて肌裏打ち。
0.004%、水洗い	湿りを与え、裏面より0.004%の酵素水溶液を塗布。15分間伏せ、肌裏紙を除去。レーヨン紙に挟み、吸い取り紙10枚の上に置きスプレーにて水洗いを2回行う。自然乾燥。その後、美濃紙にて肌裏打ち。

注) 水洗いは本紙表面を傷つけないよう次の方法で行った。本紙をレーヨン紙に挟み、吸い取り紙（パルプ100%、大きさ1 m×1 m）を10枚重ねた上に置き、スプレーで精製水を細かい霧状にして落下させ、下の吸い取り紙に吸い取らせた。これを2回行った。使用水量は1試料につき、約2.3 lであり、所要時間は約20分である。

2-3. カビの発生試験

(1) カビの自然発生試験

本紙の試料（10 mm×100 mm）各5本ずつを、蒸留水を底面に入れたデシケータ中に入れ、100%RH、20~24℃にて16日間置いたのち、かびの発生度を観察した。

(2) 胞子液噴霧によるカビの発生試験

本紙の試料を約3 cmに切り、径9 cmのシャーレの中に置いた。*Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Eurotium tonophilum* (IFO 6529), *Aspergillus penicilloides* (IFO 8155)の5種類の菌それぞれについて、斜面培養基および平板培養基から白金耳により胞子を一定量採取して、滅菌したスルホコハク酸ジオクチルナトリウムの50 ppm水溶液に懸濁させ、胞子懸濁液を調製した。5種類の胞子懸濁液を合わせて、混合胞子懸濁液を調製した。この液を試料に一定量噴霧し、28℃、相対湿度84%にて35日間、または28℃、相対湿度96%にて28日間置き、経過を観察した。

2-4. 残留酵素活性の測定

(1) ブルーでんぶんプレートによる酵素残留活性の定量

α -アミラーゼによってブルーでんぶんが分解されると、青い寒天プレート上に透明な領域(ハロー)ができる(写真1)。ハローの直径を測り、既知の酵素量で生じるハローの直径と比較すれば、試料に残留した α -アミラーゼの活性を見積ることができる。この方法を使って、酵素処理した絵絹に残留する α -アミラーゼ活性の見積った。

0.1 M トリス塩酸バッファー(pH 7.5)に0.2%のレマゾールプリリアントブルーでんぶん(α -アミラーゼ測定用)(ナカライテスク株式会社製)を分散し、2%寒天末とともに110°C、15分間高圧滅菌器にかけ、9 cm 直径の滅菌済みプラスチックシャーレに20 ml ずつ分注し、ブルーでんぶんプレートを調製した。

所定の酵素濃度にて処理を行った絵絹の試料を一定面積(8 mm 角)切り取り、ブルーでんぶんプレート上の3箇所においた。50°Cで1晩置き、残留した酵素でブルーでんぶんが分解されて透明になった部分(ハロー)の直径を測った。同時に既知の濃度の α -アミラーゼ希釈溶液を何種類か用意し、等量ずつ8 mm 角の絵絹に染み込ませて同様の処理を行い、ハローの直径と酵素量の検量線を作成した。

(2) 抽出による残留酵素活性の定量

本紙の試料に残留する α -アミラーゼ活性は、水で本紙に残留する酵素を抽出して定量した。

本紙の試料(10 mm×100 mm)をそれぞれ10 mlの滅菌水に浸して3時間振とうし、本紙から酵素を溶出させた。この溶液を一定量用い、体液中 α -アミラーゼ測定用試薬、ネオ・アミラーゼテスト「第一」(第一化学薬品株式会社製)により溶液中の α -アミラーゼの活性を測定した。

2-5. 剝離強度の測定

剝離強度の測定は、オートグラフ(島津製作所製 AGS-G 50 型)で行った。試料は、幅10 mm、長さ100 mmのものを使用し、剝離速度は50 mm/minで行った。試料に水分を塗布後、ビニールシート間に5分間放置したのち、20°C、60%RH 下で測定を行った。表中の剝離強度は、測定値が一定になったときの値を示した。

3. 結果と考察

3-1. カビの発生度試験

カビの自然発生試験では、0.02%の酵素を用いて水洗いをしなかった試料でカビの発生が顕著であった(写真2)。一方、酵素濃度0.004%ではカビの発生はかなり少なくなり、酵素濃度0.004%で水洗いをした試料では、ほとんど酵素不使用の試料と差がなかった。

このとき、本紙に残留する酵素活性を測定した結果、残留酵素活性値が高いほどカビが発生しやすくなる傾向があることがわかった(写真2)。

孢子液噴霧によるカビの発生試験においても、絵絹の酵素残留度とカビの生えやすさに明らかな相関がみられた(表2, 表3)。ただし、表3に示すように、相対湿度が84%程度の環境では、相対湿度96%の環境に比べてかなりカビは発生しにくかった。また、通常の良い博物館環境におかれれば、酵素濃度0.02%の試料でもカビの発生はみられなかった。

表 2. 残留酵素活性とかびの発生度 (培養湿度: 96%RH)

処理	絵絹の 残留酵素活性 ^{注)} (DUN/cm ²)	かびの発生度 (14日後)	かびの発生度 (28日後)
0.02%酵素処理	1.8	+++	+++
0.02%酵素処理, 水洗い	1.3	++	+++
0.004%酵素処理	0.3	-	++
0.004%酵素処理, 水洗い	0.1	+*	++
酵素不使用 (対照)	0	-	+

培養温度 28°C

- : 試料表面にかびの発生は認められない。
 +* : 試料表面に発生したかびは表面積の1%未満であった。
 + : 試料表面に発生したかびは表面積の10%未満であった。
 ++ : 試料表面に発生したかびは表面積の10%以上~30%未満であった。
 +++ : 試料表面に発生したかびは表面積の30%以上~70%未満であった。
 ++++ : 試料表面に発生したかびは表面積の70%以上~100%であった。

注) 残留酵素活性は、肌裏紙を除去した後の絵絹の試料を一定面積切り取って、ブルーでんぷんプレートにのせ、生じたハローの直径から推定した。

表 3. 残留酵素活性とかびの発生度 (培養湿度: 84%RH)

処理	絵絹の 残留酵素活性 ^{注)} (DUN/cm ²)	かびの発生度 (14日後)	かびの発生度 (28日後)	かびの発生度 (35日後)
0.02%酵素処理	1.8	-	+*	+
0.02%酵素処理, 水洗い	1.3	-	-	-
0.004%酵素処理	0.3	-	-	-
0.004%酵素処理, 水洗い	0.1	-	-	-
酵素不使用 (対照)	0	-	-	-

培養温度 28°C

- : 試料表面にかびの発生は認められない。
 +* : 試料表面に発生したかびは表面積の1%未満であった。
 + : 試料表面に発生したかびは表面積の10%未満であった。
 ++ : 試料表面に発生したかびは表面積の10%以上~30%未満であった。
 +++ : 試料表面に発生したかびは表面積の30%以上~70%未満であった。
 ++++ : 試料表面に発生したかびは表面積の70%以上~100%であった。

注) 残留酵素活性は、肌裏紙を除去した後の絵絹の試料を一定面積切り取って、ブルーでんぷんプレートにのせ、生じたハローの直径から推定した。

3-2. 剝離強度

剝離強度は、表4中にあるように酵素濃度0.02%では、処理後の水洗いを行っても顕著な剝離強度の低下を示し、酵素が残留していることを示唆している。これに対して、酵素濃度0.004%では、明らかに酵素残留による影響が減少している。しかしながら、酵素不使用のものに比べて25%程度まで強度の減少がみられた。

試料を湿度100%RH中に72時間放置後では、いずれの試料についても裏打紙の剝離は認められなかった。

表4. 各試料のひき剥がしに要する力

処理	剝離強度 (mN)
0.02%酵素処理	5 ^{#)}
0.02%酵素処理, 水洗い	5 ^{#)}
0.004%酵素処理	39~41
0.004%酵素処理, 水洗い	48~52
酵素不使用 (対照)	183~205

注) 本実験の測定条件では、測定限界と思われ、実際の強度は5 mN以下の可能性もある。

4. 最後に

裏打紙の打ち替えに高純度の α -アミラーゼを低濃度で用いることによって水分量を抑え、より安全性の高い打ち替え法の可能性を見いだすことができた。しかしながら、本研究は、仮想の本紙を用いた実験であり、 α -アミラーゼを用いる作業は、酵素濃度、処理温度、処理時間など種々の条件を厳密に管理することによってのみ再現性のある効果が期待できる。また、実際の文化財に対する適用においては、処理後の水洗条件を考慮して処理条件を検討しなければならない。処置後の作品が博物館環境で保存される場合には何ら問題が見いだせなかったが、酵素が一定濃度以上残留し、結露を伴うような劣悪な環境下に保存されることがあれば、残留した酵素の活性による糊浮き、黴の発生などの問題が生じうる。

今後は、酵素を利用した場合と従来の方法との得失を実際の作品に即して検討し、酵素濃度と洗浄方法およびその影響について検討したい。

本研究は、あくまで澱粉糊を少量の水分によって効率よく分解し、作品に及ぶ水の影響を効果的に削減するための試みである。ここに示したような極めて厳密に管理された条件下でのみ予想される効果を得ることができるのであり、この結果を直ちに実際の装幀作業にそのまま適用できるものではないことは言うまでもない。安易な酵素利用は、後処理の困難さだけでなく、保管時の環境変化による糊浮き、黴の発生、再修復時の事故などを引き起こすことになるので、厳に注意していただきたい。

謝 辞

本研究を行うに当たって α -アミラーゼの種々の物性値・実験条件など多岐にわたるデータや酵素活性測定法に関するアドバイスを快くお寄せくださったナガセ生化学工業の小島岩夫氏、黴

の発生実験でご援助くださった東京都立工業技術センターの宮崎巖氏に感謝いたします。

注1) DUN (Dextrinogenic Unit of Nagase)

1%馬鈴薯澱粉糊液 10 ml (100 mg) 澱粉の Blue Value を 40°C, 1分間に1%低下させる力を DUN = 1 としてナガセ生化学工業株式会社で定義した活性単位であり, 酵素の国際単位 (I.U.) ではない。

注2) 一連の試料は, 何回かにわたって作製したので, 測定した残留酵素活性値は同じ表記の試料についても必ずしも厳密に一致しない。

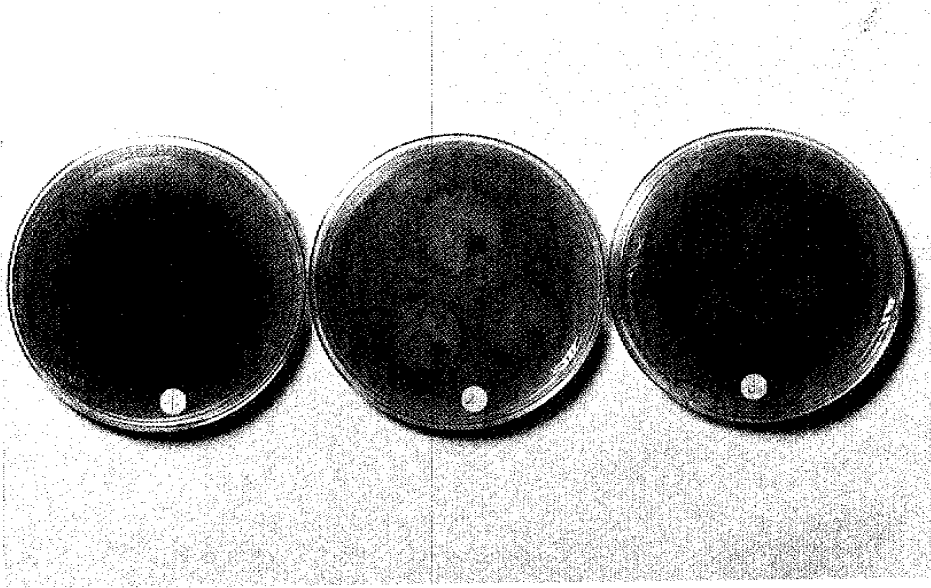
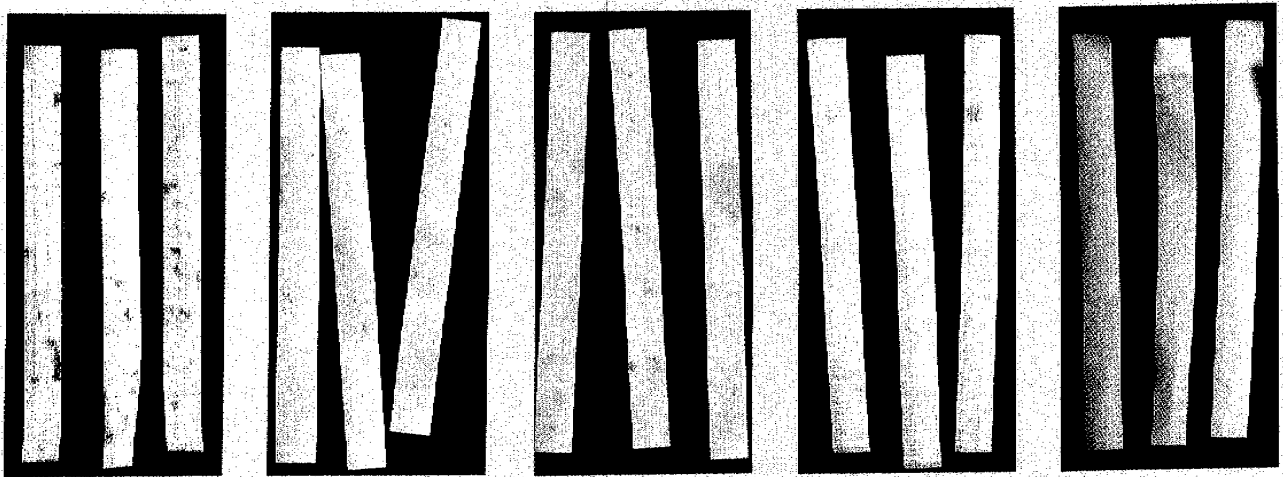


写真1 ブルーでんぷんプレートによる残留 α -アミラーゼ活性の定量
 α -アミラーゼによって、ブルーでんぷんが分解されると透明な領域(ハロー)ができることを利用し、酵素活性を定量する。



0.02%

0.02%, 水洗い

0.004%

0.004%, 水洗い

酵素不使用

写真2 カビの自然発生試験

本紙の試料(10 mm×100 mm)各5本を、蒸留水を底面に入れたデシケーター中に入れ、100%RH, 20~24℃にて16日間放置した。

これらの本紙の試料から抽出して測定した残留酵素活性(DUN/cm²)は、以下の通り。

0.02%	0.72
0.02%, 水洗い	0.20
0.004%	0.08
0.004%, 水洗い	0.01 以下
酵素不使用	0.01 以下

An Attempt at Application of Highly Purified α -amylase to Japanese *hyogu* Technique

Yukihiro TAKEGAMI*, Takayuki KIMISHIMA*, Iwataro OKA*,
Rika KIGAWA and Wataru KAWANOBE

An attempt was made employing an enzyme, bacterial crystalline α -amylase, to decompose wheat starch paste in relining, a major treatment of *hyogu* technique. The main purpose of enzymatic use is to reduce the amount of water used in relining, because in some cases water causes negative effects.

Samples were prepared by pasting Japanese paper and silk support together with wheat starch paste, which were then applied with chalk. Experiments were undertaken to determine:

1. optimal and minimum concentration of the enzyme for the treatment
2. enzymatic activity remaining on silk support after treatment
3. possible negative effects on treated materials, such as vulnerability to fungal growth or decrease in contact strength of Japanese paper and silk support.

As a result, an application of a low concentration, about 0.004%, of the enzyme by water solution, followed by rinsing with water by gentle spraying was found to be effective in diminishing water, compared to the traditional method. This condition was also effective in minimizing negative effects of applying enzyme.

The main purpose of this research is to discuss the possibilities of reducing water by introducing the enzyme in the treatment of *hyogu*, although it does not necessarily indicate a possibility of a wide range of application of the enzyme in the actual conservation treatments of cultural property.

* OKA BOKKODO, Co., Ltd.