

〔報文〕 壁画修復に用いる接着材料の分子量および強度の変化に及ぼす酵素の影響

貴田 啓子・早川 典子・佐藤 嘉則・大河原 典子・和田 朋子・
五十嵐 圭日子*・木川 りか・川野邊 渉

1. はじめに

高松塚古墳壁画、キトラ古墳壁画において、漆喰壁画の剥落止めや強化処置にハイドロキシプロピルセルロース (HPC) やメチルセルロース (MC)、天然高分子材料のフノリ抽出物が使用されている^{1,2)}。また、これらの材料を適用するにあたっては、物性評価がなされている³⁻⁵⁾。一方、漆喰壁画のクリーニングにおいては、カビの菌糸やバイオフィルムを除去することが大きな課題である。通常用いられるカビの菌糸やバイオフィルムの除去には、物理的および化学的な方法がある。物理的な方法では、ふき取り、高圧噴射、スクラブ洗浄⁶⁾、電磁波照射(レーザー⁷⁾、紫外線)などが挙げられる。化学的な方法では、種々の界面活性剤⁸⁾やオゾン⁹⁾などの殺菌剤による処理がある。しかしながら、漆喰壁画は、物理的に脆弱な状態にあるものがほとんどであり、バイオフィルムの除去に用いられるこれらの処置を施すことは、きわめて危険性が高い。これまでに使用されている方法は、紫外線照射¹⁰⁾や次亜塩素酸ナトリウム塗布^{11,12)}による着色物質の漂白であるが、彩色材料が存在する箇所には使用することができない。

そこで、食品分野などで使用されており、温和な条件で使用が可能である酵素を用いたバイオフィルムの除去法に着目した。酵素は、その触媒作用と基質特異性が大きな特徴として挙げられる。つまり、酵素はある特定の化学反応に対してのみ触媒として機能する。従って、本法は、バイオフィルムに対してのみ分解作用を持ち、バイオフィルムが付着している物質への影響が少ないという点が大きな長所である。

酵素反応を文化財の修復工程に応用することは、紙の修復分野においては、おもに糊を除去する目的で使用されている^{11,12)}。近年では、障壁画等の修復に用いた合成樹脂の分解除去の効果が報告されている¹³⁾。また、油画に付着したカビの菌体を除去する試みも成されている¹⁴⁾。現在、漆喰壁画の修復現場において、洗浄工程に酵素を用いてカビの菌体やバイオフィルムを分解除去する目的で予備試験が行われている。漆喰の目地部分の汚れを用いた試験では、除去が容易になることが確認されており、また漆喰に用いられている顔料に対しても酵素の影響はみられないことが確認されている¹⁰⁾。酵素を用いる洗浄工程では、漆喰の汚れ部分に酵素液を滴下することで、カビの菌体やバイオフィルムを分解し、壁画面への付着を緩める。その後、水で拭き取り除去し、壁画を安定化させるため剥落止めや強化処置を行う、という手順が想定されているが、酵素液を使用した場合、酵素の除去が困難であり、失活しないで壁画面に残存することが考えられる。酵素が失活しないで残存すると、剥落止めや強化処置に用いる接着材料に作用する可能性があり、どのような酵素が接着材料にどのような影響を及ぼすかを評価する必要がある。

壁画のクリーニングの目的で使用が検討されている酵素は、一般的にバイオフィルム分解酵

*東京大学大学院農学生命科学研究科

素として知られている¹⁵⁾タンパク質分解酵素の Proteinase K, 細菌の細胞壁溶解酵素である Achromopeptidase, Lysozyme に加え, カビや酵母などの真菌細胞壁溶解酵素である Lysing enzymes, Zymolyase[®], Yatalase[™]の6種類である。本研究では, 接着材料にこれらの酵素を直接反応させ, 接着材料に及ぼす酵素の影響を確認した。

2. 実験

2-1. 試料

接着材料として, 精製フノリ (商品名: 久平, 大脇萬蔵商店, 平成23年度製) および重合度の異なる MC (400cps), MC (4000cps) (いずれも Sigma-Aldrich 製) を用いた。精製フノリの調製方法¹⁶⁾を以下に記す。板状フノリに超純水を加え, 25°C にて一晚膨潤させたのち, ガーゼで濾過した。濾液に活性炭を加え攪拌した後, 減圧濾過した。濾液にアセトンを加えて再沈殿させ, ガラスフィルターにて濾過した。これを乳鉢にて粉碎しながらアセトンを加え, ガラスフィルターで濾過して3回洗浄した後, 再度ジエチルエーテルを加えて粉碎乾燥を行った。この粉末を「精製フノリ」と記載する。実験に供した酵素を, 表1に示す。

表1 実験に供した酵素

商品名	販売元	由来	用途	酵素活性
Proteinase K	Sigma-Aldrich	真菌	タンパク質分解	プロテアーゼ
Lysozyme	Sigma-Aldrich	卵白	細菌細胞壁溶解	N-アセチルムラミダーゼ, キチナーゼ
Achromopeptidase	Wako	細菌	細菌細胞壁溶解	記載なし
Lysing enzymes	Sigma-Aldrich	真菌	真菌細胞壁溶解	β -1, 3-グルカナーゼ, セルラーゼ, プロテアーゼ, キチナーゼ
Zymolyase [®]	Nacarai-tesque	細菌	真菌細胞壁溶解	β -1, 3-グルカナーゼ, プロテアーゼ, マンナーゼ
Yatalase [™]	TAKARA BIO	細菌	真菌細胞壁溶解	β -1, 3-グルカナーゼ, プロテアーゼ, キチナーゼ, キトビアーゼ, キトサナーゼ

2-2. 試料の調製

本実験に供した酵素と接着材料の組み合わせを表2に示す。試料名は「接着材料-酵素名省略形」で統一した。接着材料は, 各々超純水に溶解させ, 1.5%水溶液を調製した。また, 各種酵素は, 超純水を滅菌した滅菌水により0.1%Proteinase K, 0.5%Lysozyme, 0.1% Achromopeptidase, 1.0%Lysing Enzymes, 1.0%Zymolyase[®], 2.0%Yatalase[™]の各酵素液を調製した。接着材料に対する各酵素の影響は, (1)酵素液, および(2)溶解後に乾燥処理した酵素, の2条件で確認した。尚, (2)は, 壁面に残留した酵素液の状態を想定している。

(1)の反応条件

接着材料溶液 3 mL に各種酵素液0.5mLを滴下し, 試験管ミキサーで20秒攪拌後, 25°C で静置した。対照として, 同量の接着材料溶液に超純水0.5mLを滴下した試料を調製した。

表2 調製した試料

Enzyme	Consolidant		funori	MC (400cps)	MC (4000cps)
	—	Dried			
Proteinase K	—		funori-P	MC400-P	MC4000-P
	Dried		funoriD-P	MC400D-P	MC4000D-P
Lysozyme	—		funori-L	MC400-L	MC4000-L
	Dried		funoriD-L	MC400D-L	MC4000D-L
Achromopeptidase	—		funori-A	MC400-A	MC4000-A
	Dried		funoriD-A	MC400D-A	MC4000D-A
Lysing enzymes	—		funori-LE	MC400-LE	MC4000-LE
	Dried		funoriD-LE	MC400D-LE	MC4000D-LE
Zymolyase [®]	—		funori-Z	MC400-Z	MC4000-Z
	Dried		funoriD-Z	MC400D-Z	MC4000D-Z
Yatalase [™]	—		funori-Y	MC400-Y	MC4000-Y
	Dried		funoriD-Y	MC400D-Y	MC4000D-Y
Milli-Q water	—		funori-Q	MC400-Q	MC4000-Q
	Dried		funoriD-Q	MC400D-Q	MC4000D-Q

*enzyme solutions dried for a week after vacuuming for 2 hours

(2)の反応条件

各種酵素液0.5mLをバイアルに滴下し、真空ポンプで2時間減圧乾燥した。酵素液が乾燥した事を目視により確認し、その後、1週間、ドラフト内で静置した。この試料に、接着材料溶液3mLを滴下し、上記(1)と同様に反応させた。

上記(1)、(2)について、反応時間は、6時間、24時間、5日、7日である。これらの試料を目視観察、及びゲルろ過クロマトグラフィー (GPC) 測定に供した。

2-3. 状態観察

表2の試料について、一定時間反応後の試料溶液を、目視による観察、および臭気により確認した。

2-4. 貫入試験

酵素が、壁画の下地に処置した接着材料の強度に及ぼす影響を、貫入試験法³⁾にて確認した。貫入試験法では、壁画修復現場での酵素の使用方法を想定し、炭酸カルシウムを基材とした下地を用いて、精製フノリの硬化に及ぼす各種酵素の影響を、針の貫入抵抗値を用いて確認した。

2-4-1. 測定試料

既報³⁾に従い、プラスチック容器(直径5cm)に炭酸カルシウム(和光純薬製特級)と超純水を混合した溶液を入れ、乾燥させたものを下地とした。下地に、各種酵素液をそれぞれ1.0mL滴下し、1週間風乾させた。その後、精製フノリ液(1.0%)2gを均一に滴下して浸透させ、さらに1週間乾燥後、測定試料とした。

2-4-2. 測定条件

貫入抵抗値の測定条件を以下に記す。

測定機器：オートグラフ AGS-G (株島津製作所)

針：直径0.66mm

針の貫入速度：10mm/min.

温湿度：25℃, 50%RH

試料は同一サンプルにつき、3点の下地を作製し、下地1点につき3ヶ所の測定を行った。最大値と最小値を除いた7点の平均値を算出した。

2-5. 接着材料の分子量分布測定

接着材料に各種酵素を反応させ、GPCにより、これらの分子量分布を測定し、その変化を確認した。

2-5-1. 測定試料

表2の試料を、後述の濃度に希釈し、GPC測定に供した。

2-5-2. 測定条件

GPCの測定条件を以下に記す。

測定機器：HLC-8220 GPC (東ソー)

検出器：示差屈折計 RI-8022

カラム：TSKgel GMPW-xL 2本

移動相：NaNO₃水溶液, 0.05M

カラム温度：40℃

流量：1.0mL/min.

濃度：移動相により希釈 (MC:0.5%, 精製フノリ:1.0%)

注入量：20μL

スタンダード：プルラン

分析時間：25分

3. 結果および考察

3-1. 状態観察

表2の試料のうち、接着材料と酵素液を反応させた試料の所定時間経過後の様子を表3に示す。

funori-Lでは、酵素を滴下した直後から大量の白い固形物が観察され、フノリ成分が凝集している様子がみられた。24時間反応後の様子を図1に示す。funori-A(図1(c))では変化がみられなかったが、その他の酵素の試料で白い凝集物が観察された。5日後、7日後では、浮遊していた凝集物も、バイアル底面に沈殿していた。また、5日後から、funori-Pおよびfunori-Aにおいて、タンパク質の腐敗臭と思われる刺激臭を確認した。Lysing Enzymes, Zymolyase[®], Yatalase[™]を作用させた試料では、糖の腐敗臭と思われる臭気を確認した。精製フノリの構造の詳細は明らかでないため、各酵素との反応機構については不明である。しかし、Lysozymeは、精製フノリの成分に大きく作用し、またAchromopeptidaseをのぞく酵素においても、24時間後には精製フノリに影響を及ぼすことが、目視で明らかとなった。

MCでは、反応時間6時間および24時間において、色および臭気の変化はみられないが、MC400-LEおよびMC4000-LEでは、試料溶液の粘度が低下している様子がみられた。5日後

表3 酵素作用後の試料における目視と臭いによる観察結果

試料名	反応時間											
	6時間		24時間		5日間		7日間					
	目視	臭気	目視	臭気	目視	臭気	目視	臭気	目視	臭気	目視	臭気
funori-P	-	-	液中全体に微白色凝集物	-	白色沈殿	++	白色沈殿	++	白色沈殿	++	白色沈殿	++
funori-L	底面に大量の白色凝集物	-	底面に大量の白色凝集物	-	白色沈殿	-	白色沈殿	-	白色沈殿	-	白色沈殿	-
funori-A	-	-	-	-	-	++	-	++	-	++	-	++
funori-LE	-	-	白色凝集物が浮遊	-	微量の白色沈殿, 白濁	+	微量の白色沈殿, 白濁	+	白色沈殿, 白濁, カビ	+	白色沈殿, 白濁, カビ	+
funori-Z	-	-	白色凝集物が浮遊	-	微量の白色沈殿, 白濁	+	微量の白色沈殿, 白濁	+	白色沈殿, 白濁	+	白色沈殿, 白濁	+
funori-Y	-	-	白色凝集物が浮遊	-	微量の白色沈殿, 白濁	+	微量の白色沈殿, 白濁	+	白色沈殿, 白濁	+	白色沈殿, 白濁	+
funori-Q	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+
MC400-P	-	-	-	-	-	++	-	++	-	++	-	++
MC400-L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MC400-A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MC400-LE	-	-	- ※	-	若干の白濁※	-	若干の白濁※	-	白濁※	-	白濁※	-
MC400-Z	-	-	-	-	若干の白濁	-	若干の白濁	-	白濁	-	白濁	-
MC400-Y	-	-	-	-	若干の白濁	+	若干の白濁	+	白濁, カビ	+	白濁, カビ	+
MC400-Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MC4000-P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MC4000-L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MC4000-A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MC4000-LE	-	-	- ※	-	若干の白濁※	-	若干の白濁※	-	白濁※	-	白濁※	-
MC4000-Z	-	-	-	-	若干の白濁	-	若干の白濁	-	白濁	-	白濁	-
MC4000-Y	-	-	-	-	若干の白濁, カビ	-	若干の白濁, カビ	-	白濁, カビ	-	白濁, カビ	-
MC4000-Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : 変化なし

※目視でわかる程度に粘度が低下

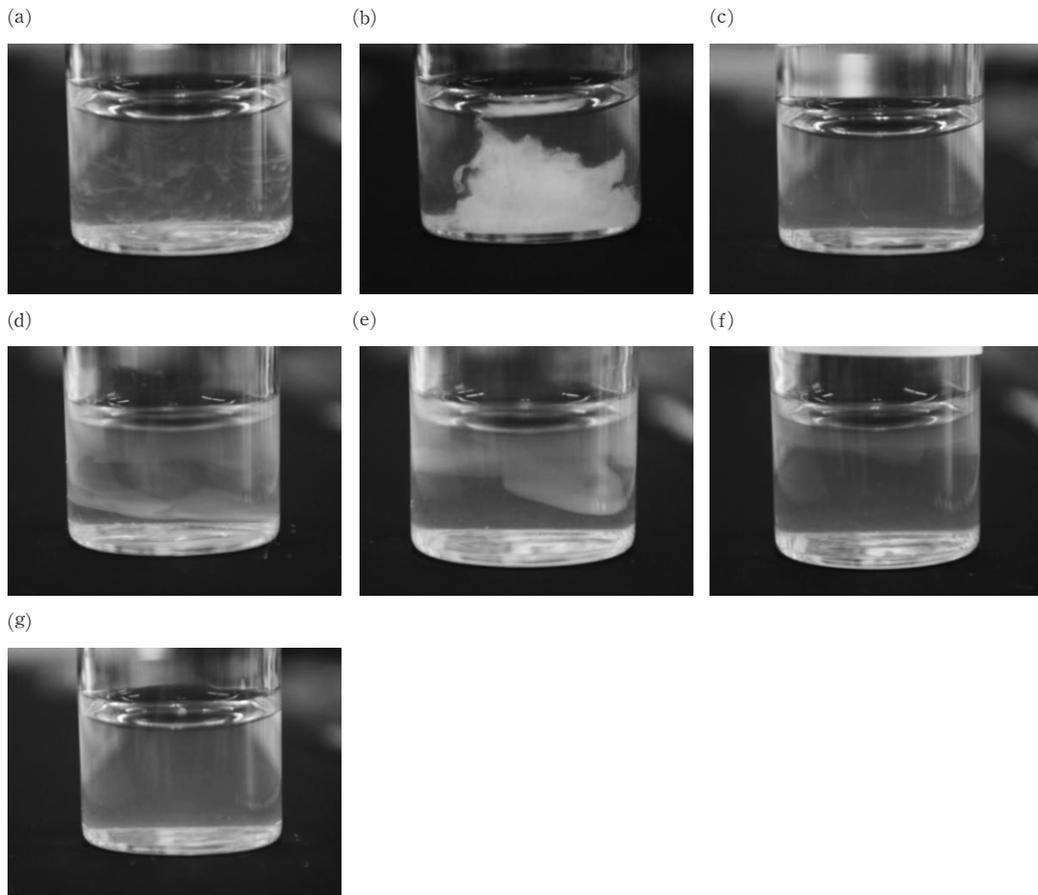


図1 各種酵素液と反応後の精製フノリ（反応時間：24時間）（口絵参照）
 (a) Proteinase K, (b) Lysozyme, (c) Achromopeptidase, (d) Lysing Enzymes,
 (e) Zymolyase[®], (f) Yatalase[™], (g) Milli-Q (control)

において、Lysing Enzymes, Zymolyase[®], Yatalase[™]を作用させた試料溶液は、若干白濁し、7日後において、さらに白濁が進行した。MC400-Y および MC4000-Y でコロニー直径約 2 mm のカビが発生した。また、5日後から、MC400-P において、タンパク質の腐敗臭と思われる刺激臭を確認し、MC400-Y では、糖の腐敗臭と思われる臭気を確認した。

一方、乾燥処理をした酵素と反応させた試料における24時間反応後の様子を図2に示す。funoriD-L において、反応後数分で白い固形物が観察され、その他の精製フノリ試料においても、乾燥していない酵素液の結果とほぼ同様であり、Achromopeptidase 以外の酵素で、24時間後には溶液の白濁がみられた。今回の乾燥処理条件では、依然、酵素の活性が残っていることが明らかとなった。

3-2. 貫入試験

各種酵素液を滴下後、精製フノリ溶液を滴下した炭酸カルシウム試料において、貫入試験を行った結果を図3に示す。得られた貫入強度値および貫入深さの値について、対照との差を各々 Δ Strength, Δ Depth として評価した。Proteinase K, Lysozyme, Achromopeptidase を用い

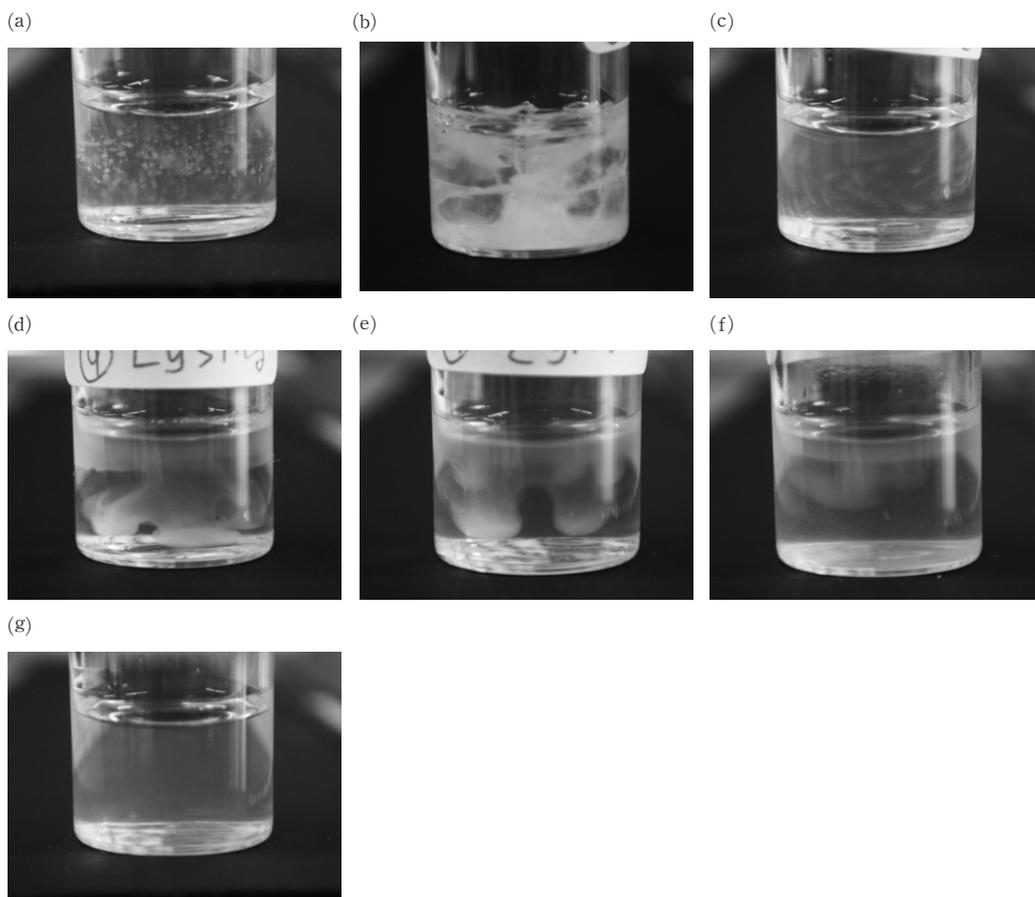


図2 各種乾燥処理した酵素液と反応後の精製フノリ（反応時間：24時間）（口絵参照）
 (a) Proteinase K, (b) Lysozyme, (c) Achromopeptidase, (d) Lysing Enzymes,
 (e) Zymolyase[®], (f) Yatalase[™], (g) Milli-Q (control)

た試料では、酵素反応後、貫入強度が強くなり、浸透深さが浅くなる傾向を示した。

一方、Lysing Enzymes および Yatalase[™]を用いた試料では、精製フノリの貫入強度が小さくなり、精製フノリの浸透深さは深いことが示された。また、Zymolyase[®]を用いた試料では、酵素反応後、貫入強度が強くなるにも関わらず、浸透深さは深くなる傾向を示した。

3-3. 分子量分布測定

表2に示す試料について、接着材料の分子量分布をGPCにより測定した。一般に、高分子の分子量分布は、微分分子量分布曲線で表す。これは、横軸が分子量(対数目盛り)、縦軸が単位 $\log M$ 当たりの重量分率 ($dW/d \log M$) で表されたものである¹⁷⁾。本研究の分子量分布図においても、これらの値を用いて表す。

本実験で用いた精製フノリのフノリ成分は、重量平均分子量= $10^{6.7}$ 程度であり、分子量= $10^{6.4}$ 付近にピークトップ、および分子量= 10^3 付近に小さいピークをもつ2山形の分子量分布を示した。

精製フノリと各種酵素液を反応させ24時間後の分子量分布を図4に示す。同図では、比較試

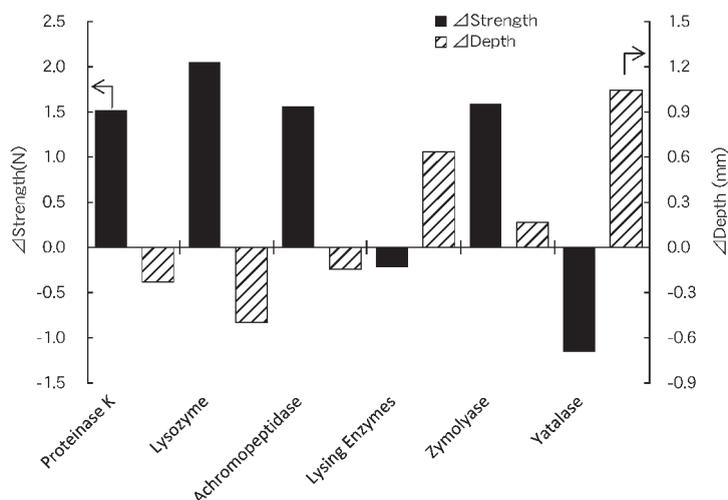


図3 フノリ添加試料における各種酵素による貫入強度および貫入深さの変化

料として、各酵素液および対照試料の分子量分布も示す。funori-P (図4(a)), funori-L (図4(b)), funori-A (図4(c))では、ピークトップが若干低分子側に移動し、分子量 $=10^3$ 付近のピークはほとんど変化していない。目視観察において、特に funori-L では反応直後に精製フノリ成分の大きな凝集を確認している。しかしながら、分子量分布では大きな変化を確認できなかった。これは、GPC 分析のサンプリングに起因する可能性がある。GPC 分析では、酵素と反応して生成したと考えられる固形物は分析できないため、固形物以外の液相を測定した。従って、測定試料は未反応部分であったことが考えられる。今後、酵素作用で精製フノリが凝集する反応を評価するには、固形物を定量し、さらに成分分析する必要がある。

funori-LE (図4(d))では、ピークトップが若干低分子側に移動するとともに、分子量 $=10^{1.6}$ に新たなピークが出現している。このピークは、Lysing Enzymes のピーク位置と完全には一致していないため、酵素由来、または精製フノリ成分の分解物由来のいずれかの可能性がある。funori-Z (図4(e)), および funori-Y (図4(f))では、ピークトップが若干低分子化している。また、funori-Zでは分子量 $=10^{1.6}$ に大きなピークが出現し、分子量 $=10^{3.5}$ 付近のピークが大きくなっているが、いずれも、Zymolyase[®]の成分にみられるピーク位置と一致しているため、酵素由来のものと考えられる。funori-Yでは、分子量 $=10^{2.1}$ に大きなピーク、および分子量 $=10^{4.4}$ 付近に新たなショルダーピークが現れているが、これらは Yatalase[™]の成分にみられるピークと一致しているため、酵素由来のものと考えられる。

反応5日後、7日後の各試料の分子量分布では、特に funori-LE, funori-Y でピークトップがさらに低分子側に移動した。反応7日後の分子量分布を図5に示す。ピークトップの低分子側への移動量は、funori-Y > funori-LE > funori-Z > funori-P = funori-L = funori-A であった。

以上の結果から、Yatalase[™], Lysing Enzymes, Zymolyase[®]は、反応7日後までに、精製フノリの分子量を低分子化させる影響があり、精製フノリ成分の分解が起きていることが考えられる。その他の試料の分子量分布では、ピークトップの若干の移動があり、精製フノリ成分の分解が考えられるが、明らかでない。

一方、乾燥処理をした各種酵素との反応6時間後の精製フノリ成分の分子量分布を図6に示

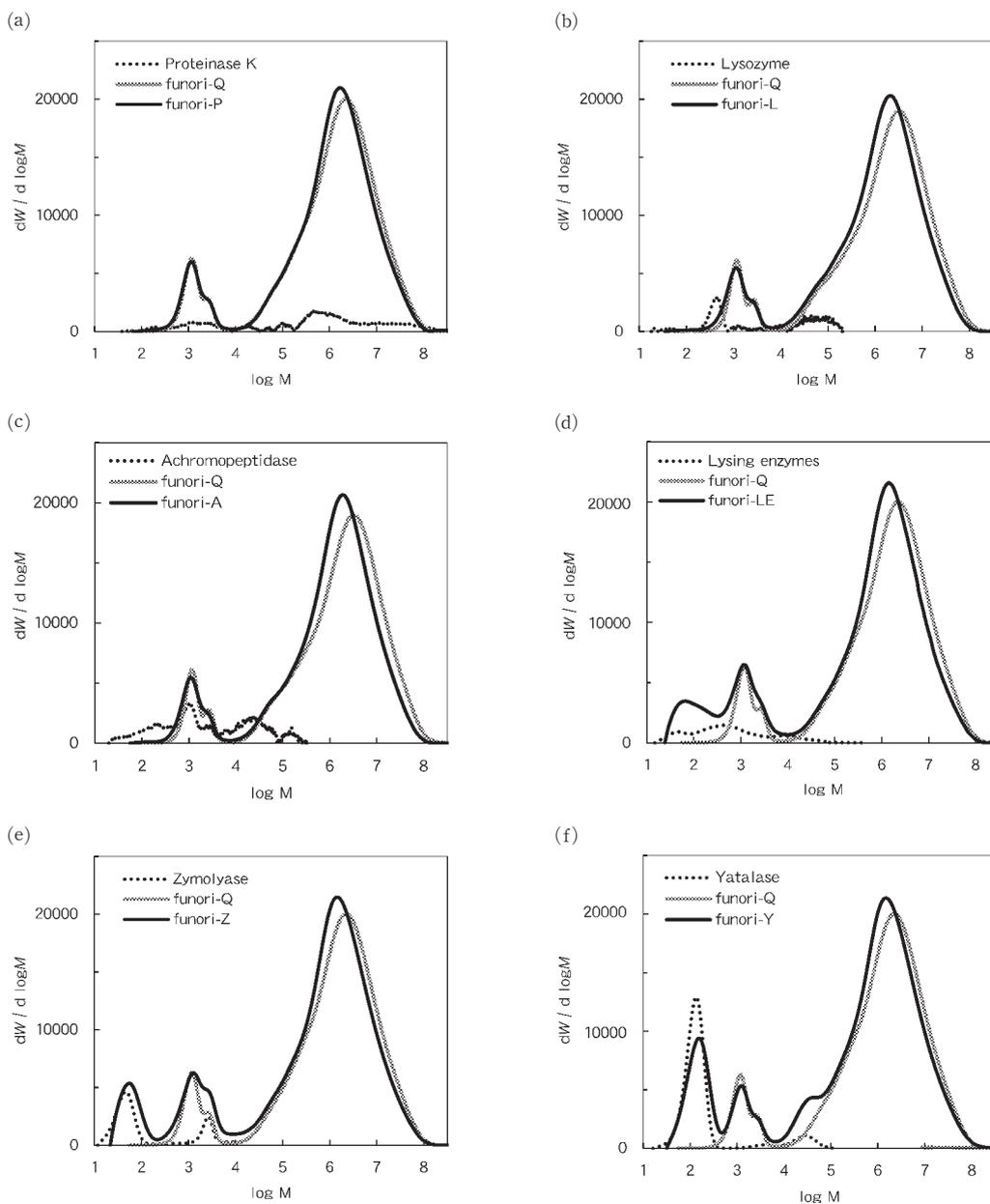


図4 各種酵素液と反応後の精製フノリの分子量分布 (反応時間: 24時間)
 (a) Proteinase K, (b) Lysozyme, (c) Achromopeptidase, (d) Lysing Enzymes,
 (e) Zymolyase[®], (f) Yatalase[™]
 (M: 分子量, W: 重量, $dW/d \log M$: 単位 $\log M$ 当たりの重量分率)

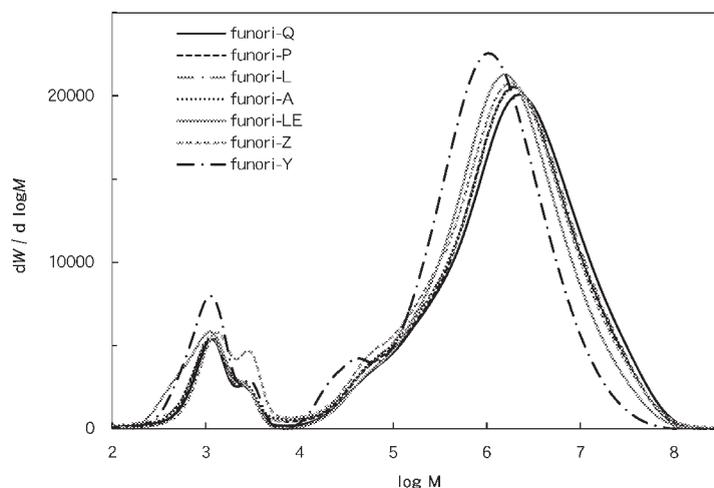


図5 各種酵素液と反応後の精製フノリの分子量分布（反応時間：7日間）
 (M：分子量，W：重量， $dW/d \log M$ ：単位 $\log M$ 当たりの重量分率)

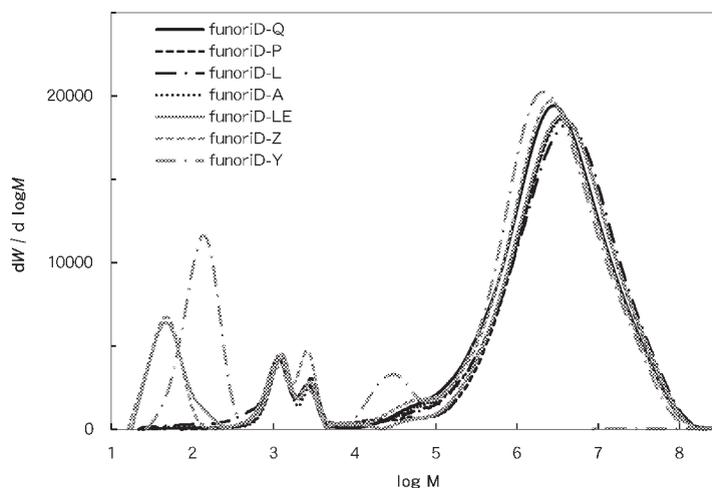


図6 乾燥処理をした各種酵素と反応後の精製フノリの分子量分布（反応時間：6時間）
 (M：分子量，W：重量， $dW/d \log M$ ：単位 $\log M$ 当たりの重量分率)

す。全ての試料で、上述の乾燥していない酵素液による精製フノリの分子量分布の変化とほぼ同様の変化がみられた。従って、目視観察の結果でも明らかのように、今回の乾燥条件では、酵素液が失活せず、精製フノリに十分に影響することが明らかとなった。

MC (400cps) は重量平均分子量 $=10^{5.7}$ ，MC (4000cps) は重量平均分子量 $=10^{6.1}$ であり、それぞれ、分子量 $=10^{5.5}$ ，分子量 $=10^{5.8}$ にピークトップを示す一山の分子量分布をもつ。

MCに各種酵素液を反応させ24時間後のMC(400cps)の分子量分布を図7に、MC(4000cps)の分子量分布を図8に示す。これらの図では、比較試料として、各酵素液および対照試料の分子量分布も示す。分子量の異なる2種のMCでは、ほぼ同様に以下の傾向を示した。Proteinase K (図7(a)，図8(a)) および Lysozyme (図7(b)，図8(b)) を作用させた試料では、分子量分布

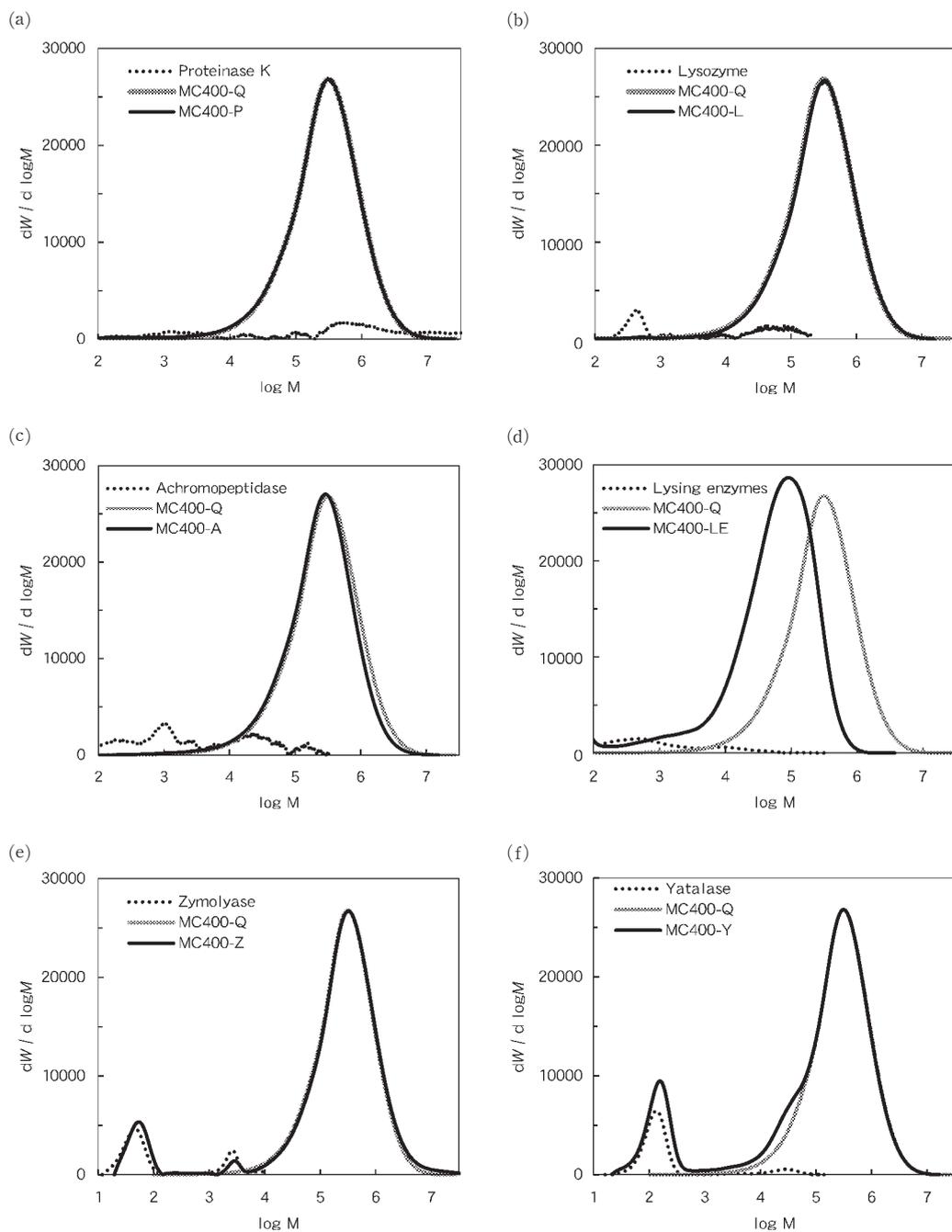


図7 各種酵素液と反応後のMC (400cps) の分子量分布 (反応時間: 24時間)

(a) Proteinase K, (b) Lysozyme, (c) Achromopeptidase, (d) Lysing Enzymes,

(e) Zymolyase®, (f) Yatalase™

(M: 分子量, W: 重量, $dW/d \log M$: 単位 $\log M$ 当たりの重量分率)

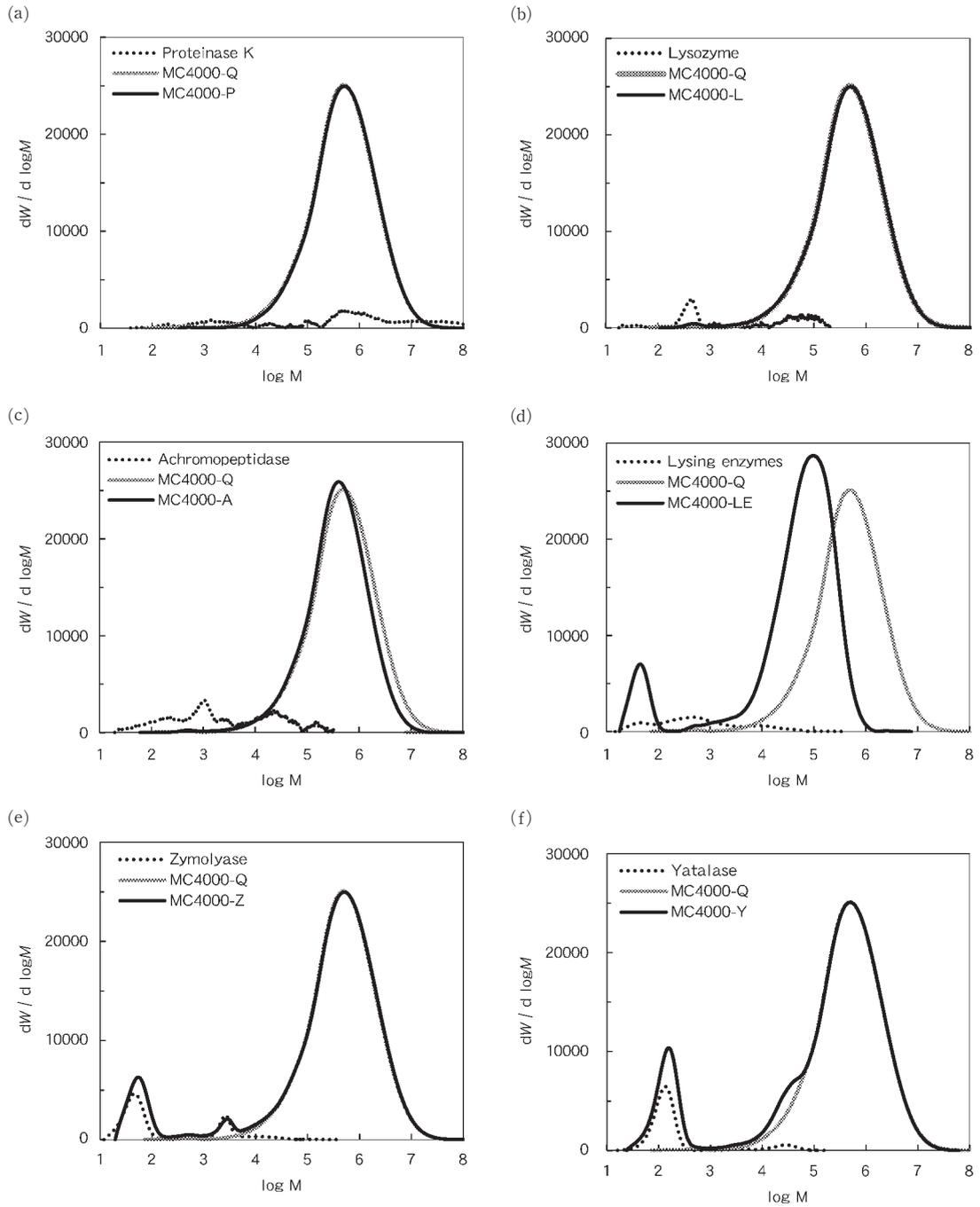


図8 各種酵素液と反応後のMC (4000cps) の分子量分布 (反応時間: 24時間)

(a) Proteinase K, (b) Lysozyme, (c) Achromopeptidase, (d) Lysing Enzymes,
(e) Zymolyase[®], (f) Yatalase[™]

(M:分子量, W:重量, $dW/d \log M$:単位 $\log M$ 当たりの重量分率)

はほぼ変化しなかった。MC400-A (図 7(c)), MC4000-A (図 8(c)) ではピークトップが若干低分子化した。MC400-LE (図 7(d)), MC4000-LE (図 8(d)) では、ピークトップが大きく低分子化し、分子量 $=10^{1.6}$ に新たなピークが出現している。また、Achromopeptidase および Lysing Enzymes が MC の分子量分布に及ぼす影響は、MC (4000cps) のほうが MC (400cps) よりも大きい傾向がみられた。MC400-Z (図 7(e)), MC4000-Z (図 8(e)) および、MC400-Y (図 7(f)), MC4000-Y (図 8(f)) では、酵素由来のピークが発現しているが、ピークトップは変化がみられなかった。

7 日間反応後、各種酵素液と反応させた MC (400cps) 試料の分子量分布を図 9 に示す。反応 24 時間後においてピークトップの低分子化がみられた、MC400-A および MC400-LE では、さらに低分子化が進行している様子が示された。その他の試料では、7 日間経過後も、酵素由来のピークが出現している他は、分子量分布に大きな変化はみられなかった。

以上の結果から、Achromopeptidase および Lysing Enzymes は、MC の分子量を低分子化させる反応がみられ、MC の分解が起きていることが考えられた。その他の酵素が MC の分子量分布に及ぼす影響はみられなかった。

一方、乾燥処理をした各種酵素との反応 24 時間後の MC の分子量分布を図 10 に示す。全ての試料で、上述の乾燥していない酵素液による MC の分子量分布の変化と同様であった。従って、精製フノリの結果と同様に、今回の乾燥条件では、酵素液が MC に十分に影響することが明らかとなった。

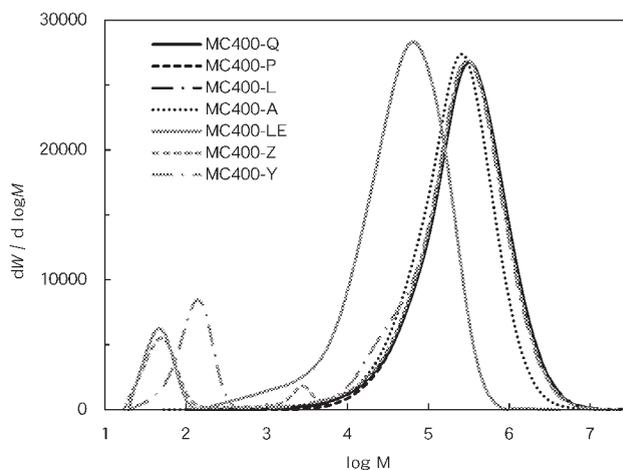


図 9 各種酵素液と反応後の MC (400cps) の分子量分布 (反応時間: 7 日間)
(M: 分子量, W: 重量, $dW/d \log M$: 単位 $\log M$ 当たりの重量分率)

4. 結論

精製フノリおよび MC は、本実験で用いた酵素のうち、いくつかの酵素により影響を受けることが明らかとなった。

精製フノリにおいて、Proteinase K, Lysozyme, Lysing Enzymes, Zymolyase[®], Yatalase[™]の各酵素と反応させると 24 時間後には、精製フノリ成分になんらかの変化が起きていることを、目視により確認した。特に Lysozyme と精製フノリの反応は、混合した直後に精

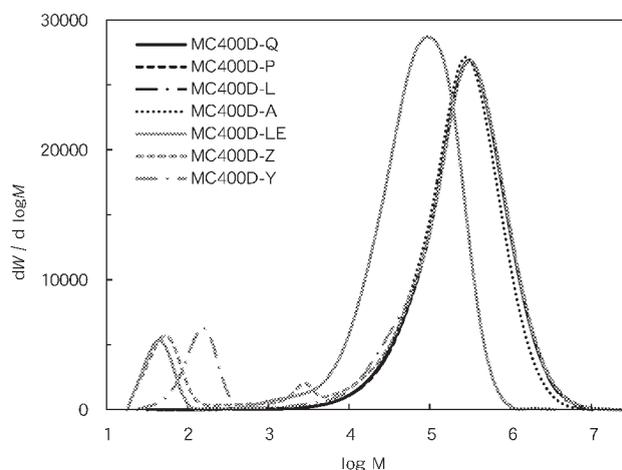


図10 乾燥処理した各種酵素液と反応後のMC (400cps) の分子量分布 (反応時間: 24時間)
(M: 分子量, W: 重量, $dW/d \log M$: 単位 $\log M$ 当たりの重量分率)

製フノリ成分の凝集がみられた。また, Zymolyase[®], Lysing Enzymes, Yatalase[™]は, 7日間反応後には, 精製フノリの分子量を低分子化させることから, 精製フノリ成分の分解が起きていることが予想される。

MCにおいて, Lysing Enzymes, Zymolyase[®], Yatalase[™]と反応させた試料では, 5日間反応後に白濁がみられ, Proteinase Kでは, タンパク質の分解に伴う強い臭いがした。これらの試料では, MCと酵素の反応により, MCに変質が起きたことが考えられた。また, 分子量分布の結果から, AchromopeptidaseおよびLysing Enzymesは, 酵素の影響によりMCを低分子化させることがわかった。

乾燥処理をした酵素においても, 「減圧乾燥2時間後, 1週間放置」の条件では, 精製フノリおよびMCに対する影響がみられた。

貫入試験では, Proteinase K, Lysozyme, Achromopeptidaseを精製フノリと反応させると, 貫入抵抗値が高くなり, また精製フノリが浸透しにくくなった。その要因のひとつには, 精製フノリと酵素の反応において, 目視で確認できた白い凝集物が, 炭酸カルシウムの内部で生成し, 針の侵入を妨げたことが考えられる。一方, Lysing Enzymes, Yatalase[™], Zymolyase[®]の酵素では, 精製フノリが浸透しやすくなっており, GPC分析で得られた分子量分布では低分子化していることから, 精製フノリの分解が示唆された。

本実験の結果より, 壁画のクリーニングに用いる酵素として, その後の強化処置に用いる接着材料に影響の少ないと考えられる酵素は, 精製フノリに対してはAchromopeptidase, MCに対してはLysozymeであり, これらの組み合わせでの使用が推奨される。また, 本実験の乾燥処理では酵素の失活は全くみられなかった。1週間以上の乾燥処理は壁画修復現場において現実的ではないため, 他の手法を検討する必要がある。今後, 壁画のクリーニングに酵素を使用したときの残留程度, 失活方法についても検討する予定である。

参考文献

- 1) 川野邊渉, 坪倉早智子, 早川典子, 小笠原具子, 建石徹: 国宝高松塚古墳壁画の修理について,

- 文化財保存修復学会第31回大会研究発表要旨集, pp.72-73 (2009)
- 2) 坪倉早智子, 川野邊渉, 早川典子, 小笠原具子, 建石徹: 国宝高松塚古墳壁画のクリーニングについて, 文化財保存修復学会第31回大会研究発表要旨集, pp.144-145 (2009)
 - 3) 早川典子, 中右恵理子, 木川りか, 沖本明子, 川野邊渉, 絵画表面に用いる修復材料の基礎的研究—壁画修復を中心に—, 文化財保存修復学会誌, **53**, 1-19 (2008)
 - 4) 木川りか, 佐野千絵, 高鳥浩介, 喜友名朝彦, 杉山純多, 安部倫子, 中右恵理子, 坪倉早智子, 早川典子, 川野邊渉, 石崎武志: 高松塚古墳石室内・取合部および養生等で使用された樹脂等材料のかび抵抗性試験, 保存科学, **49**, 61-71 (2010)
 - 5) 木川りか, 佐野千絵, 喜友名朝彦, 立山臨, 杉山純多, 早川典子, 川野邊渉: キトラ古墳から分離された細菌や酵母の修復用高分子材料に対する資化性試験, 保存科学, **51**, 157-166 (2012)
 - 6) 藤井哲, 川辺充志編: 『復水器—理論と実際—』, pp.257-258 (2001), 愛知出版
 - 7) K. Nandakumar et al.: *Biofouling*, **18**, 123 (2002)
 - 8) 清野和浩: “バイオサイドの規制動向とその市場への影響” 『バイオフィルムの基礎と制御 特性・解析事例から形成防止・有効利用まで』, pp.139 (2008), NTS 出版
 - 9) 小関成樹: “洗浄によるバイオフィルム除去技術” 『バイオフィルムの基礎と制御 特性・解析事例から形成防止・有効利用まで』, pp.181-184 (2008), NTS 出版
 - 10) 独立行政法人国立文化財機構 東京文化財研究所: 国宝高松塚古墳壁画恒久保存対策に関する調査等業務報告書 平成23年度 (2012)
 - 11) I. Schwartz, A. Blüher, G. Banik, E. Thobois, K.H. Maurer : The Development of a Ready-For-Use poultice For Local removal of Starch Paste by Enzymatic Action, *Restaurator*, **20**, 225-244 (1999)
 - 12) 竹上幸宏, 君嶋隆幸, 岡岩太郎, 木川りか, 川野邊渉: 装幀技術における酵素利用の可能性について, 保存科学, **37**, 76-83 (1998)
 - 13) 早川典子, 酒井清文, 貴田啓子, 坪倉早智子, 大河原典子, 岡田祐輔, 藤松仁, 川野邊渉: 文化財修復に用いられたポリビニルアルコール除去における酵素利用の検討, 文化財保存修復学会誌, **56** (印刷中)
 - 14) 和田朋子, 中右恵理子, 早川典子, 佐藤嘉則, 大河原典子, 五十嵐圭日子, 木島隆康, 木川りか: 油画に付着する糸状菌の除去を目的とした真菌細胞壁溶解酵素の適用, 第11回糸状菌分子生物カンファレンス要旨集, pp.58 (2012)
 - 15) 金子哲, 吉田誠: “分解酵素を用いたバイオフィルム除去システム” 『バイオフィルムの基礎と制御 特性・解析事例から形成防止・有効利用まで』, pp.241-251 (2008), NTS 出版
 - 16) 独立行政法人国立文化財機構, 川野邊渉, 早川典子, 坪倉早智子: フノリ抽出物の精製方法, 特開2012-12541 (2012-01-19)
 - 17) 森定雄: 『サイズ排除クロマトグラフィー 高分子の高速液体クロマトグラフィー』, pp. 49-62 (1992) (共立出版)

キーワード: 酵素 (enzyme); 壁画 (mural painting); 修復 (restoration); 接着材料 (consolidant); フノリ (*funori*)

Effect of Enzymes on the Molecular Weight or Strength of Consolidants Used in the Conservation of Mural Paintings

Keiko KIDA, Noriko HAYAKAWA, Yoshinori SATO, Noriko OKAWARA,
Tomoko WADA, Kiyohiko IGARASHI*, Rika KIGAWA
and Wataru KAWANOBE

In the treatment for the conservation of mural paintings, HPC (hydroxyl propyl cellulose), MC (methyl cellulose) and purified *funori* extracted from red algae have been used as consolidants. In this treatment the plaster wall is repeatedly cleaned and consolidated. Nowadays, some enzymes are applied in a novel cleaning method to decompose and remove fungi or stain from mural paintings. This method aims to release and break down the components of the fungi or stains. After that, the painting surface is wiped with water and consolidated for support again.

In this study, the effect of enzymes, which may remain on mural paintings even after cleaning, on consolidants was investigated. Six enzymes were chosen for cleaning: Proteinase K for decomposition of protein; Achromopeptidase and Lysozyme, which are cell wall lytic enzymes for decomposition of biofilm formed by bacteria; Lysing Enzymes, Zymolyase[®] and Yatalase[™], which are cell wall lytic enzymes for decomposition of fungi or yeast.

As a result of analysis of the changes in the characterization of purified *funori* and MC, it was found that these consolidants were affected by some of the enzymes. Purified *funori* was affected by Proteinase K, Lysozyme, Lysing Enzymes, Zymolyase[®] and Yatalase[™]. It aggregated and produced a white substance after 24 hours' reaction with each enzyme. Especially Lysozyme responded to *funori* significantly, causing high aggregation in a few seconds. Zymolyase[®], Lysing Enzymes and Yatalase[™] reduced the molecular weight of the polymer components in *funori* after 7 days. This means that polymers in *funori* were broken down to smaller sizes. Both 400cps MC and 4000cps MC, when they reacted with Lysing Enzymes, Zymolyase[®] and Yatalase[™] respectively, yielded white turbidity after 5 days. When MC was reacted with Proteinase K, a strong smell was produced. In addition, Achromopeptidase and Lysing Enzymes reduced the molecular weight of MC after 24 hours' reaction.

From these results, it is suggested that Achromopeptidase is appropriate for cleaning mural paintings when *funori* is used as a consolidant, while Lysozyme is suitable when MC is used as a consolidant.

*Graduate School of Biomaterial Sciences, The University of Tokyo