

令和元年6月24日現在

機関番号：82622

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01187

研究課題名（和文）美術作品や歴史資料における彩色の膠着材の同定 複数の分析法からのアプローチ

研究課題名（英文）Identification of binding media in artworks and historical materials: An approach of using multiple analyses

研究代表者

高嶋 美穂 (Takashima, Miho)

独立行政法人国立美術館国立西洋美術館・学芸課・特定研究員

研究者番号：80443159

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：美術作品や歴史資料に使用されている膠着剤（展色材、接着剤）を同定することを目的として、ELISA（酵素結合免疫吸着法）、LC-MS（高速液体クロマトグラフ/質量分析法）、GC/MS（ガスクロマトグラフ/質量分析法）を併用した同定法を検討した。この方法では、膠とその由来動物種・鶏卵・植物ガム・油・樹脂・蜜蝋の同定が可能であり、数々の実サンプルの分析に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

美術作品や歴史資料中の膠着材を同定することは、材料・技法の理解や、適切な展示・保存・修復方法を決定するために必要であるが、採取できるサンプル量が極端に少ないことや膠着剤の経年変化などから分析が難しい。本研究はELISA（酵素結合免疫吸着法）、LC-MS（高速液体クロマトグラフ質量分析法）、GC/MS（ガスクロマトグラフ質量分析法）の併用による膠着材の同定法の検討と実践を目的として行い、実際に多くの実資料において膠着剤の同定に成功した。

研究成果の概要（英文）：The method for identifying materials in binding media and adhesives in artworks and archaeological resources which simultaneously applies the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Liquid Chromatography-Mass spectrometry (LC-MS) and Gas Chromatography-Mass spectrometry (GC/MS) was investigated. This method is able to identify animal glues and its origin (animal species), egg, milk casein, plant gums, oils, resins and waxes. This method was successfully applied to samples from many art and historical materials allowing the identification of various proteinaceous materials and lipids.

研究分野：保存科学、文化財科学、材料・技法研究

キーワード：文化財 膠着剤 蛋白質 コラーゲン ELISA GC/MS LC-MS 材料・技法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

美術作品や歴史資料に使用されている顔料や染料、膠着材(展色材、接着剤)を知ることは、作品や資料の制作技術の理解のためや真贋問題、適切な展示・保存・修復方法を決定するための手助けとなるのだが、無機物である顔料の分析に比べて有機物である染料や膠着材の分析例は非常に少ない。このような現状を打破するために、申請者らは膠着材の分析に力を入れてきており、膠着材のうち蛋白質(動物および魚膠、鶏卵、カゼイン)と植物ガムを同定する方法として、免疫反応を使った方法である ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay ; 酵素結合免疫吸着法)を用いることで一定の成果をあげてきた。そこで本研究では、ELISA での同定の精度を上げるとともに、LC-MS (高速液体クロマトグラフ/質量分析法)を導入して膠の場合には由来動物種まで同定すること、さらに GC/MS (ガスクロマトグラフ/質量分析法)による油脂類の同定法の検討をし、同定できる膠着剤の種類を増やそうと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、膠着材を同定する方法を確立することを目指し、ELISA、LC-MS、GC/MS を併用した同定法について検討することを目的とした。また、その同定法を使用して国立西洋美術館所蔵の美術作品や、筑波大学所蔵の豊富な西アジア考古資料の分析を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

ELISA (動物および魚膠・鶏卵・植物ガムの同定)、LC-MS (膠の同定とその由来動物種の同定)、GC/MS (油・樹脂・蜜蝋の同定)を併用して美術作品や歴史資料に使用されている膠着材を同定するために、各分析法の検討や標準データの収集を行った。その後、実試料において膠着材の同定を試みた。

4. 研究成果

(1) ELISA 法の改善、顔料や経年による影響: ELISA 法においてプレティングバッファの組成を変更する(溶出液に対する炭酸水素ナトリウム溶液の割合を上げる)ことで、抗植物ガム抗体による検出感度が上がることがわかったので変更した(他の抗体については大きな変化は認められなかった)。牛膠にアズライト(塩基性炭酸銅)、マラカイト(塩基性炭酸銅)、ヴァーミリオン(硫化水素)、鉛白(塩基性炭酸鉛)を添加したレプリカサンプル、あるいは卵黄を膠着材としたレプリカサンプルでは数年の経年により ELISA での検出感度が低下することがわかった。

(2) LC-MS による膠の動物種の同定法の確立: コラーゲンに由来する 12 種のマーカーペプチドを決定し、その検出パターンを比較することにより、8 種類(哺乳類 7 種と魚類 1 種)の由来動物種の判定が可能となった。この方法では、複数の動物種を原材料とする膠でも各動物種の判別が可能である。市販の 20 種ほどの膠製品を分析したところ全ての製品において膠の動物種を同定することができ、また、表記と異なる動物種を原材料とする製品があることがわかった。この結果については、文化財保存修復に携わっている多くの研究者の注目を集めた。動物種の同定のために必要なサンプル量は膠の状態では 50 μ g、絵具片(顔料+膠)では 500 μ g ~ 1 mg である(サンプルに含まれる膠着剤量に左右される)。

(3) 液体クロマトグラフ/飛行時間型質量分析計(LC-TOF-MS)によるデータベースサーチの導入: (2)のマーカーペプチドの分析と同時に LC-TOF-MS によるデータベースサーチを行うことで、卵、カゼインの同定も可能になる見込みで、現在検討中である。データベースサーチではもちろん、膠(由来動物種の同定はなし)の同定も可能である。ただし、(2)(3)とも顔料など夾雑物の影響、経年の影響について今後の検討が必要である。

(4) メンブレン法による膠の動物種の同定の試み: この方法は実資料にメンブレンを張り付けることにより型コラーゲンを吸着させ、そのコラーゲンを LC-MS で分析する方法である。サンプルを採取しなくてすむ、メンブレンによって蛋白質を精製できるというメリットが見込める。トリプシンを固定化したメンブレンや C18 メンブレンを用いてレプリカサンプルで実験した結果、トリプシンを固定化したメンブレンを使用すると絵具層を傷めてしまうことがわかり、蒸留水に浸した C18 メンブレンを用いる方法を選択した。現在、レプリカを用いたテストでは動物種の同定ができている。

(5) GC/MS による油・樹脂・蜜蝋の同定: 分析法はGetty 保存研究所(GCI)(ロサンゼルス)で使われている方法を利用することにし、標準サンプルや自作の絵画レプリカサンプルでの測定をして標準となるデータを集めた。この過程で、サンプルの前処理の際に使用する PP チュー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

ブや注射器が、パルミチン酸やフタル酸などがコンタミする原因になっていることがわかり使用を中止した。前処理も GC/MS 用のガラスバイアルの中で行い、そのまま GC/MS で分析することにした。

(6) 絵画レプリカサンプルの作成：膠着剤（牛皮膠、卵黄、卵白、アラビアガム、カゼイン）と数種類の顔料の組み合わせから成る絵画レプリカサンプル（単層）を、ガラスプレートの上に作成した。また、胡粉地塗りあるいは石膏地塗り（どちらも膠着剤として三千本膠を使用）を施した板の上に、数種の膠着剤と顔料の組み合わせからなる彩色層を塗布した絵画レプリカサンプル（複層）を作成した。

(7) 実サンプルの分析：

- ・トルコ・ウズムル教会の壁画サンプル：ELISA、LC-MS とともに何の検出もなく、膠着剤を使用していないフレスコ画と考えられた。
- ・ギジル石窟群の壁画サンプル：ELISA で植物ガムを検出、LC-MS では検出なし。
- ・クフ王の第2の「太陽の船」(エジプト)から採取したモルタルと木片の試料：ELISA では検出なし。GC/MS では1サンプルで樹脂らしきものが検出できたが同定には至らなかった((7)参照)
- ・ハツダ遺跡の石仏(アフガニスタン、3~5世紀)の彩色：ELISA で膠を検出、LC-MS で牛膠を同定した。
- ・石仏(中国・隋時代?)の彩色：GC/MS で乾性油同定、LC-MS では検出なし。
- ・エジプトの壁画サンプル：ELISA で検出なし。膠着剤を使用していないフレスコ画と考えられた。
- ・パーミヤン遺跡(5~8世紀後半)の壁画サンプル：LC-MS により、1サンプルでウマ由来の膠を同定。LC-TOF-MS により型コラーゲンとカゼインを同定した。
- ・油彩作品(20世紀後半)の絵具剥落片：ELISA で植物ガムと膠と卵を同定、LC-MS では検出なし。LC-MS では膠の検出に加えて卵黄の検出も試みたが、どのサンプルにおいても膠も卵黄も検出できなかった。
- ・明治期の油彩画の地塗り：GC/MS で脂肪酸の検出なし。LC-MS では牛と羊を原材料とする膠だと考えられた。水性の地塗りであることがわかった。
- ・カミーユ・ピサロ 収穫(1882年、国立西洋美術館蔵)の地塗り：ELISA により膠を同定。LC-MS により牛と羊由来の膠を同定した。水性の地塗りであることが確認できた。
- ・戴冠の聖母子(作者不詳、15世紀イタリア、国立西洋美術館所蔵)の絵具層(地塗り層、彩色層とも含む)：GC/MS で脂肪酸が検出され、乾性油あるいは卵の使用が推定された。また、蜜蝋が混じっている可能性が高いと考えられた(蜜蝋は、後世の修復時に使用されたと考えられた)。LC-MS では地塗り層のみのサンプルを分析したが、ウマ由来の膠が同定された(チョウザメ膠も検出されたが、これは修復の際に使用したものと考えられた)。
- ・聖ヤコブ伝(作者不詳、16世紀フランドル、国立西洋美術館所蔵)の絵具層(地塗り、彩色層とも含む)：GC/MS では乾性油と樹脂、LC-MS および LC-TOF-MS でヤギ由来の膠が同定できた(チョウザメ膠も同定できたが、これは修復の際に使用したものと考えられた)。
- ・クロード・モネ 睡蓮、柳の反映(1916年、国立西洋美術館所蔵)の絵具層(地塗り、彩色層とも含む)：GC/MS にて乾性油、LC-MS にてウサギ由来の膠が同定できた(チョウザメ膠も同定できたが、これは修復の際に使用したものと考えられた)。地塗り層、彩色層とも膠着剤は乾性油なので、ウサギ膠はカンヴァスの目止めの膠として使用されていると推定できた。

(8) ゲッティ保存研究所(GCI)にての研修：クフ王の第2の「太陽の船」(エジプト)から採取したサンプルを持参し、TSP(サーマルセパレーションプローブ)を用いた熱分解 GC/MS の分析をしてもらうとともに、その分析法を学んだ。これらのサンプルの中には本研究での GC/MS 分析では同定できなかったサンプルも含まれていた。分析の結果、ピチューメンやヒノキ科の木材(サンダラックかセイヨウネズ)の樹脂が同定された。船の耐水性を上げるためにこれらの物質を木材に塗布していたのではないかと考えられた。

以上のように、数々の実サンプルの分析において膠着剤を同定できた。膠着剤と同時に顔料の同定も行っているため、当該作品に使用された材料や技法が次々と明らかになってきている。特に、膠の動物種の同定はこれまで分析例が少なく(技法書にはいろいろな記述があるものの)実際には歴史的にどのような膠が使用されてきたか明らかではなかったが、牛膠やウサギ膠以外に、ヒツジ、ヤギ、ウマの膠が検出された点が非常に興味深い。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計5件)

高嶋 美穂、苅野 茉央、中沢 隆、谷口 陽子、西坂 朗子、アイーサ・ジダン、クフ王第2の船出土遺物の有機物質の分析、昌平エジプト考古学会紀要第7号、11-20、2019、3月(査読有) <https://egypt-archaeology.jp/pdf/JSEAA7.pdf>

Yuki Kumazawa, Yuki Taga, Miho Takahima, Shunji Hattori, A novel LC-MS method using collagen marker peptides for species identification of glue applicable to samples with multiple animal origins, *Heritage Science* (2018) 6:43, (査読有) <https://doi.org/10.1186/s40494-018-0209-y>

高嶋 美穂、酵素結合免疫吸着法 (ELISA) による美術作品中の蛋白質および植物ガムの同定、文化財保存修復学会誌 61、12-37、2018、3月(査読有)

[学会発表](計8件)

高嶋 美穂、谷口 陽子、中川原 育子、熊澤 雄基、多賀 祐喜、服部 俊治、石造 菩薩頭部彩色の自然科学的調査、日本文化財科学会第35回大会、2018

熊澤 雄基、多賀 祐喜、高嶋 美穂、服部 俊治、高速液体クロマトグラフ質量分析装置を用いたコラーゲンマーカープепチドによる膠の由来動物種の同定、文化財保存修復学会第39回大会、2017

高嶋 美穂、多賀 裕基、熊澤 雄基、服部 俊治、坂本 雅美、渡辺 真樹子、前村 文博、塚田 全彦、齋藤富蔵作品に使用された膠着剤の同定、文化財保存修復学会第39回大会、2017

Akiko Nishisaka, Eissa Zidan, Nour Mohamed, Hassan Ali, Dina Mamdouh, Yoko Taniguchi, Miho Takashima, Takeshi Nakazawa, Mamdouh Taha,, Hiromasa Kurokochi, Sakuji Yoshimura, Ongoing research on the mortars and adhesives used in the Khufu Second Boat, *Science of Ancient Egyptian Materials and Technologies*, International Conference, Cairo, Egypt, 2017

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称: コラーゲン由来材料の動物種を判定する方法

発明者: 熊澤 雄基、多賀 裕基、高嶋 美穂、服部 俊治

権利者: 一般財団法人日本皮革研究所、株式会社ニッピ

種類: 特許

番号: 特許願 29H416

出願年: 2017年

国内外の別: 国内

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

(1)研究分担者

研究分担者氏名：谷口 陽子

ローマ字氏名：TANIGUCHI Yoko

所属研究機関名：筑波大学

部局名：人文社会系

職名：准教授

研究者番号(8桁)：40392550

(2)研究協力者

研究協力者氏名：服部 俊治

ローマ字氏名：HATTORI Shunji

研究協力者氏名：多賀 祐喜

ローマ字氏名：TAGA Yuki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。