

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月25日現在

機関番号：82620

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26282071

研究課題名(和文) 酵素を利用した文化財の新規クリーニング方法の開発 -旧修理材料や微生物痕の除去-

研究課題名(英文) Development of Cultural Property Cleaning Methods using Enzymes: Removal of Restoration Material and Microbial Dirt

研究代表者

早川 典子 (Hayakawa, Noriko)

独立行政法人国立文化財機構東京文化財研究所・保存科学研究センター・室長

研究者番号：20311160

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、三つの調査研究から構成された。一つは材料化学的な調査で、除去すべき汚れの化学構造を把握することで酵素探索の方向性を明確にし、酵素による文化財材料への影響を評価した。探索した酵素が、文化財の構成材料および修理材料に与える影響も分析した。二つ目は微生物酵素学的調査であり、材料調査の結果を基に汚れの主成分を分解する酵素を探索した。使用した酵素が文化財上で機能を十分発現する条件についての検討も行った。以上を踏まえ、三つ目の調査研究である文化財修復現場での適用を検討した。安全性の確認や、より効果的な適用方法について、十分に協議検討し適切な酵素によるクリーニング方法を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

文化財修復の現場では、作品に影響なく除去したい汚れのみを効果的に洗浄する方法が常に求められてきた。本研究では、限られた化学結合にのみ選択的に反応するという酵素の特質を活かし、安全で適切なクリーニング方法の開発を行った。

特に従来の手法では除去が不可能であった劣化したポリビニルアルコールや、微生物により生成されたバイオフィルムの除去を安全かつ効果的に行うことが可能となり、実際に文化財修復の現場において活用されることに成功した。このことは学会発表・論文等を通じて発表され、特許も取得できており、学術的にも社会的にも意義のある成果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this research project, we studied three different approaches.

The first approach was research from the point of view of the materials science. We analyzed the chemical structure of the dirt on cultural property (artifacts and architectures), and assessed the effect of enzymes which were screened by the following microbiological approach, on restoration materials. The second approach was research from the point of view of the applied microbiology using enzymes. We screened the enzymes that degrade materials, and assessed their activity on cultural property. Based on these results, we used these enzymes on-site and found that the enzymes had satisfactory cleaning effects.

研究分野：保存科学、文化財修復、高分子

キーワード：文化財修復 酵素 ポリビニルアルコール バイオフィルム クリーニング

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

1. 研究開始当初の背景

(1) 文化財修復におけるクリーニング

文化財上の汚れは、経年により作品が劣化して生じた物質と、作品制作後に付着した物質とに大きく二分され、基本的には、その汚れが作品上に存在することにより、作品の損傷が進行すると判断された場合は除去の必要がある。カビ痕など微生物の侵食によるものや、過去に使用され劣化した修理材料など、作品制作後に付着した物質は除去が必要とされる。文化財修復における汚れの除去(クリーニング)は、作品本体への影響が極力少ないことが条件とされるため現在は限定的な効果しか得られない方法での対応が多く、安全で効果的なクリーニング手法の開発が切望されている。

文化財のクリーニングは、現在は水を用いて汚れを溶解させることが多い。水によるクリーニングは、作業者が扱い慣れている、健康への悪影響がない、等の利点がある。その一方で、水だけでは除去できない汚れも多く、また扱い慣れているという安心感から、染料や接着剤の溶出などの事故が起きることもある。

水で対応できない場合(主に作品制作後に付着した汚れ)は、有機溶媒による溶解や、漂白剤を用いた化学分解などが部分的に行われている。しかし、溶解を利用する場合は汚れのみでなく文化財本体の染料や接着剤なども溶かしてしまう危険がある。また、化学分解を利用する場合は、汚れの周辺の作品構成材料に対しても非選択的に化学分解を引き起こして損傷させる危険が伴う。文化財修復の現場では、作品に影響なく除去したい汚れのみを効果的に洗浄する方法が常に求められてきた。本研究では、限られた化学結合にのみ選択的に反応するという酵素の特質を活かし、安全で適切なクリーニング方法の開発を行った。

(2) 酵素と文化財に使用される材料について

酵素は生物由来のタンパク質であり、特定の化学結合のみ変化させるため、非常に選択性の高い化学反応を示す。従って、除去したい汚れを分解する酵素を適切に選べば、周辺の材料には影響を及ぼさず、安全にクリーニングを行えると予想される。また、触媒の一種であり繰り返し同じ反応を行うため使用量はきわめて少量であり、作品への負担は少ないと考えられた。

しかしその一方で、反応の選択性が高いため、除去する汚れの化学組成を正確に把握した上で適切な酵素を選択する必要がある。劣化した修理材料や微生物被害痕の汚れの種類は多岐に渡るため、材料の劣化状況の分析をより広範囲に詳細に進めるとともに、それぞれに対応する適切な酵素の探索、そしてそれらの文化財構成材料への影響の確認を行なっていく必要がある。本研究では、酵素を利用した文化財上の汚れの除去に関して材料化学と微生物酵素学の観点から包括的に検討し、文化財の保存修復に適用することを目的とした。

2. 研究の目的

本研究では、以上の背景を踏まえ以下の目的を設定した。

(1) 文化財上の汚れについての化学分析

汚れには、前述したように作品の構成材料が劣化した分解物と、後世に付着した汚損物質とがある。クリーニングが困難な場合は主に後者であり、これらの物質のうち、修理現場で大きな問題になっている微生物由来の付着物質と、劣化した修理材料についての化学分析を進めた。具体的には、分子構造や分子量についての解析を行った。

(2) 分解酵素の探索及びその評価

(1)による化学分析を踏まえ、汚れに対する効果的な分解酵素の探索を行った。

また、文化財上に適用した場合に、十分な機能の発現の可否を確認するため、文化財構

成材料による酵素の活性変化についても評価した。さらに、文化財構成材料が酵素により損傷するリスクについても、確認をした。

(3) 作品への適用

(1) (2) の検討を経た後に安全に適用可能と評価された酵素について、作品（時代や適用状況の近い試料を含む）への適用を試みた。

3. 研究の方法

本研究は、三つの調査研究から構成された。

一つは材料化学的な調査であり、これは研究代表者らが行なってきた劣化した過去の修理材料の分析の上に遂行された。除去すべき汚れの化学構造を把握することで、酵素探索の方向性を明確にし、さらに微生物酵素学的調査班が後述の方法で酵素を探索した後は、酵素による文化財材料への影響を評価した。探索した酵素が、文化財の構成材料および修理材料に与える影響を分析し、安全な使用条件の確認を行った。

二つ目は微生物酵素学的調査であり、材料調査の結果を基に汚れの主成分を分解する酵素を探索した。酵素は使用する際の温度や汚れ中の夾雑物などの影響を受けてその活性が低下するため、使用した酵素が文化財上で機能を十分発現する条件についての検討も行った。

以上の二点で効果と安全性の確認された酵素について、三つ目の調査研究である文化財修復現場での適用を検討した。安全性の確認や、より効果的な適用方法について、十分に協議検討し、個々の汚れの状態に適切な酵素によるクリーニング方法を開発した。

本研究でとりあげる除去対象の汚れとしては、現在、文化財修復において大きな問題点になっている微生物による被害（特にカビ痕）と、劣化した修理材料とをとりあげ、これらを中心に酵素による除去方法の開発を行った。この二つの汚れは、鑑賞性を著しく阻害するのみならず、分解生成物が作品を汚損する事例が数多く確認されている。カビ痕については、カビの菌糸による作品の物理的破壊や、代謝物の酸性物質による作品の構成材料の分解などが生じること、劣化した修理材料については、硬化した接着剤により彩色の剥離や白濁などを生じることなどが確認されている。さらに水のみによる従来のクリーニングでは洗浄効果が小さく、除去が困難である汚れであることも共通する。そのため従来方法では十分に除去できずに修復作業が終了することが多いのが現状であり、その除去方法が文化財修復の上では重要な課題となってきた。この二種類の汚れの除去が可能になることにより、文化財修復の幅は大きく広がると予想された。

4. 研究成果

(1) 材料化学的調査

・ポリビニルアルコールについて

ポリビニルアルコールの劣化とそれと併用されたアクリル樹脂の劣化について化学分析を行った。過去および現在に使用されているアクリル樹脂の組成解析と強制劣化を使用した劣化サンプルの化学構造解析をした。

・アクリル樹脂について

ParaloidB-72

文化財修復に多く使用されるアクリル樹脂、ParaloidB-72について、溶媒吸着に着目し、使用する有機溶媒が異なる場合、膜の物性も異なることをNMRとDSC、クラークこわさ試験等で評価した。ParaloidB-72について強制劣化試験を行い、得られた試料をGC-MS等の分析手法を用いて分析した。

アクリルエマルジョン

アクリル樹脂のうちエマルジョン液で使用されるものについて紫外線を用いた強制劣化試験を行い、得られた試料をGC-MSで分析した。アクリルエマルジョンに用いられる樹脂は劣化しにくいと言われているが、文化財現場では過酷な環境で使用されることもあるため、劣化した場合の状況を想定するためのデータとした。

(2) 微生物酵素学的調査

・ポリビニルアルコール分解酵素について

金属顔料および膠着剤存在下でのポリビニルアルコール分解酵素の活性について評価を行った。フノリや膠などの修復材料とポリビニルアルコール分解酵素を併用した場合の酵素の活性の阻害について評価した。その結果、酵素の活性阻害はほとんどなく、むしろ膠を使用した場合は活性が上昇することが確認された。ポリビニルアルコール分解酵素による顔料の変色の有無、修復材料（主に接着剤）の接着力への影響評価を行った。また、劣化して不溶化したポリビニルアルコールについて、エーテル化が進行しているとの推定を元に、このような物質の分解酵素の探索を行った。さらに、大阪産業技術研究所の所有するポリビニルアルコール分解酵素に関して、より効率的な酵素産生方法についても多角的に検討を行った。

・アミラーゼについて

比較的失活しやすいと想定されるアミラーゼについて、失活する条件を探索した。澱粉糊は日本で古くから使用されている接着剤であり、文化財の修復で非常に多く使用されている。これらを安全に除去した上で、次の段階で修理する際に接着の阻害にならないような酵素の探索と各種条件下での活性評価を行った。

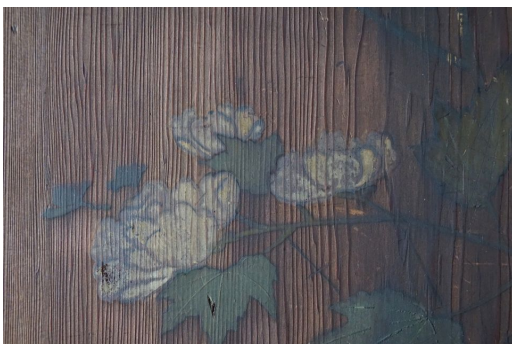
(3) 現場での適用

・ポリビニルアルコール分解酵素

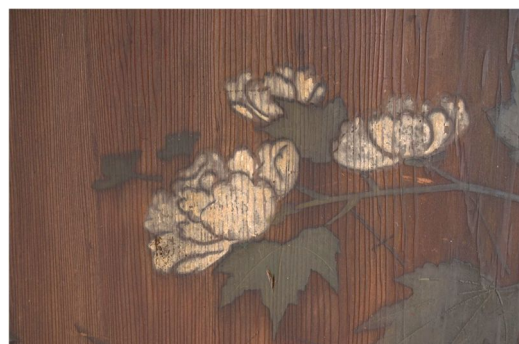
建造物彩色に使用されたポリビニルアルコールの除去に酵素を用いた。この際、同一条件下でも樹脂の劣化状態により、効果が不均一であることが明らかになり、以降の課題となった。また、この際、ポリ酢酸ビニルと併用されていたポリビニルアルコールでも、酵素が有効であることが明らかになった。ポリビニルアルコール単体を用いて処置されていた作品の場合、暗色化部分が除去され、新たに膠での処置も行うことが可能になり、酵素の有効性が現場においても確認された。

また、海外の染織品に使用されたポリビニルアルコールの除去に、ポリビニルアルコール分解酵素を適用するために、種々の条件検討を行った。さらに、絵画（屏風）、ラベルなどに使用されたポリビニルアルコールの除去にも適用し、その効果を確認した。

酵素処置前



酵素処置後



・溶菌酵素

溶菌酵素を用いた絵画修復作業を実際の作品において適用した。近代の絵画において、カビの発生による着色汚損は、文化財修復の観点からは、水による洗浄を行うほか手段がなかった。東京国立近代美術館の協力を得て、このような症例において溶菌酵素を用い、それによりカビ痕の除去が可能となった。使用された酵素については、顔料や文化財修復に用いる接着剤への影響はない酵素群を選抜して用いた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3件)

- 1 高松塚・キトラ古墳壁画上の微生物汚れの除去 酵素の選抜とその諸性質、(佐藤嘉則、木川りか、貴田啓子、川野邊渉、早川典子) 保存科学 57、11-21、2018 (査読あり)
- 2 ポリビニルアルコール分解酵素の劣化ポリビニルアルコール除去への応用 酵素と接着剤および色材間の相互作用、(酒井清文、早川典子、楠京子、山中勇人、川野邊渉)、文化財保存修復学会誌60、22-35、2017 (査読あり)
- 3 Ultraviolet degradation of poly(vinyl alcohol) used in restoration of historical and cultural properties, (Yuki Mori, Takayuki Honda, Rong Lu, Noriko Hayakawa and Tetsuo Miyakoshi), Polymer Degradation and Stability 114、30-36、2015 (査読あり)

〔学会発表〕(計 6件)

- 1 Application of the enzymes for removal poly vinyl alcohol (PVA) from the artworks, (Noriko Hayakawa, Kiyofumi Sakai and Wataru Kawanobe)、ICOM-CC triennial Conference 2017 (国際学会)、2017.9.5-8、Tivoli center, Denmark
- 2 ポリビニルアルコール分解酵素の彩色・絵画修復への応用、(早川典子、酒井清文、川野邊渉、山中勇人)、文化財保存修復学会39回大会、2017.7.2、金沢歌劇座
- 3 Chemical analysis of UV irradiated B-72 by Py-GC/MS and EGA-MS、(Shun Okamoto, Takayuki Honda) (国際学会)、PYR02016、2016.5.9-12、Nancy, France
- 4 文化財修復に有用な *Pseudomonas vesicularis* 由来ポリビニルアルコール分解酵素の生産性の向上に向けた検討、(山中勇人、駒大輔、森芳邦彦、酒井清文、早川典子、川野邊渉、大本貴士)、日本農芸化学会 2016 年度大会、2016.3.28、札幌コンベンションセンター
- 5 ポリビニルアルコール分解酵素におよぼす接着剤および顔料の影響、(酒井清文、楠京子、早川典子、山中勇人、川野邊渉)、文化財保存修復学会第37回大会、2015.6.28、京都工芸繊維大学
- 6 文化財修復に用いられた合成樹脂の劣化に関する研究、(森祐樹、本多貴之、早川典子)、日本文化財科学会第31回大会、2014.7.5-7.6、奈良教育大学

〔産業財産権〕

取得状況 (計 1件)

名称：文化財からポリビニルアルコールを除去する方法

発明者：酒井清文、山中勇人、川野邊渉、早川典子

権利者：地方独立行政法人大阪市立工業研究所、独立行政法人国立文化財機構

種類：特許登録

番号：5891478

取得年：2016年3月4日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

東京国立近代美術館における修理作品の展示解説（第6室）

<https://www.momat.go.jp/am/exhibition/permanent20181006/#section1-2>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：川野邊 涉

ローマ字氏名：KAWANOBE Wataru

所属研究機関名：独立行政法人国立文化財機構
東京文化財研究所

部局名：特任研究員

職名：特任研究員

研究者番号：00169749

研究分担者氏名：佐藤 嘉則

ローマ字氏名：SATO Yoshinori

所属研究機関名：独立行政法人国立文化財機構
東京文化財研究所

部局名：保存科学研究センター

職名：生物化学研究室長

研究者番号（8桁）：50466645

研究分担者氏名：酒井 清文

ローマ字氏名：SAKAI Kiyofumi

所属研究機関名：独立行政法人国立文化財機構
東京文化財研究所

部局名：保存科学研究センター

職名：客員研究員

研究者番号（8桁）：60416302

研究分担者氏名：本多 貴之

ローマ字氏名：HONDA Takayuki

所属研究機関名：独立行政法人国立文化財機構
東京文化財研究所

部局名：保存科学研究センター

職名：客員研究員

研究者番号（8桁）：40409462

研究分担者氏名：山中 勇人

ローマ字氏名：YAMANAKA Hayato

所属研究機関名：地方独立行政法人大阪府立
産業技術研究所

部局名：環境技術研究部

職名：研究主任

研究者番号（8桁）：40416368

研究分担者氏名：木川 りか

ローマ字氏名：KIGAWA Rika

所属研究機関名：独立行政法人国立文化財機構
九州国立博物館

部局名：学芸部博物館科学課

職名：課長

研究者番号（8桁）：40261119

(2)研究協力者

研究協力者氏名：長田 武

ローマ字氏名：NAGATA Takeshi

所属研究機関名：摂南大学

部局名：理工学部生命科学科

職名：講師

研究者番号（8桁）：70411709

研究協力者氏名：上垣 浩一

ローマ字氏名：UEGAKI Kouichi

所属研究機関名：近畿大学

部局名：農学部応用生命化学科

職名：教授

研究者番号（8桁）：00356544