

壁画のクリーニングにおける酵素の適用についての検討

1. 目的

高松塚古墳壁画ではカビやバクテリア、その代謝物などによる微生物由来の汚れの除去が課題となっている。現在までは、次亜塩素酸ナトリウムや紫外線の照射による除去を行っているが、これらは顔料の使われていない無地の部分のみに用いられるにとどまっている。

今後、顔料部分のクリーニングが開始されることを踏まえ、安全なクリーニング方法として酵素の利用を検討したのでここに報告する。

2. 酵素について

酵素はタンパク質の一種であり、特定の化学反応に関与する。生物が栄養源を摂取したり生命活動を営むために産生する物質であり、生物由来ではあるが酵素自体は生物ではない。酵素の種類によって関与する反応は異なるため、酵素の種類と使用条件を正確に選択することで周囲への影響が少なく、かつ必要な反応だけを利用することが可能となる。

文化財への適用事例としては、海外ではデンプン糊の除去における α アミラーゼの使用などが1980年代から報告されているほか、現在でも各種酵素を用いたクリーニングの検討が行われ、多数の報告がある。

3. 検討対象とした酵素

高松塚古墳壁画の汚れの原因は、カビ・酵母・バクテリアの菌体とそれらが産生する多糖類などの混合物質（いわゆるバイオフィルム）が挙げられる。

これらを除去するため、カビ・酵母・バクテリアといった菌体の分解、それら微生物の代謝物の分解、という二つの目的に合わせて複数の酵素を検討した。これらの酵素を実際に修復に使用する前に、顔料や修復材料に及ぼす影響を確認したので、下記に報告する。検討した酵素の種類を下記に示す。

微生物代謝物質の分解酵素

Proteinase K （プロテナーゼ K） Sigma-Aldrich 製

Lysozyme （リゾチーム） Sigma-Aldrich 製

Achromopeptidase （アクロモペプチダーゼ） Wako 製

菌体分解酵素

Lysing Enzymes （ライシングエンザイム） （Sigma-Aldrich 製）

Zymolyase® （ザイモリエース） (Nakarai-tesque 製)

Yatalase™ （ヤタラーゼ） (TAKARA BIO 製)

以上の酵素の詳細を表 1 に示す。

4. 酵素の顔料への影響

高松塚に使用されていると考えられている顔料を念頭に下記の 14 種類の顔料を酵素液に浸漬し、色の変化を目視で観察した。顔料の種類は、群青（10 番）、白群、緑青（10 番）、白緑、黄土、岱赭、辰砂（10 番）、辰砂（白）、ベンガラ、金箔、銀箔、油煙、胡粉、鉛白である。

浸漬 3 日後、目視で確認したところ、顔料に変化は見られなかった（写真 1）。

5. 酵素の修理材料への影響

現在、高松塚古墳では精製したフノリによる漆喰層の強化を行っている。また、石室解体の際に、剥離が懸念される部分にはメチルセルロースを使用した。

以上の点から、フノリとメチルセルロースへの各酵素の影響を確認した。フノリは室温で抽出し活性炭で精製、メチルセルロースは Sigma-Aldrich 製の 2% 水溶液の粘度 400cps の試料と 4000cps の試料を使用した。

（1）酵素液と混合した場合の水溶液の変化

フノリとメチルセルロースの水溶液に、酵素液を滴下し、水溶液の変化を目視で観察した。

フノリと混合した場合は、写真 2 に示すように、水溶液の白濁や溶質の凝集を生じる酵素が多かった。これらの酵素はフノリに何らかの影響を与えると考えられる。フノリの凝集が見られなかった酵素は Achromopeptidase のみであった。

メチルセルロースと混合した場合は、Proteinase K、Lysozyme と Achromopeptidase では白濁などは見られなかった。ただ、Proteinase K では数日後に強い臭気を確認された。

(2) 分子量変化

酵素と混合したフノリとメチルセルロースの水溶液の透明部分をゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) を用いて測定した。

その結果、真菌細胞壁溶解酵素の Lysing Enzymes、Zymolyase®、Yatalase™ 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ことが確認される一方、タンパク質分解酵素である Proteinase K、細菌細胞壁分解酵素の Lysozyme、Achromopeptidase においてはフノリの分子量は若干低分子化する程度であった。

メチルセルロースへの影響としては、Achromopeptidase と Lysing Enzymes では低分子量化していたが、他の酵素では影響は確認されなかった。

(3) 強度への影響

漆喰を模した炭酸カルシウム基材に酵素を滴下乾燥し、その後にフノリを滴下した場合に、強度にどの程度影響が出るかを貫入抵抗の変化で確認した。

Proteinase K、Lysozyme、Achromopeptidase を滴下した試料では、貫入抵抗が強くなる一方、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、貫入抵抗が小さくなり、浸透深さは深くなることが示された。また、Zymolyase® を用いた試料では、貫入抵抗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。

6. まとめ

以上の結果を表 2 にまとめた。この結果から、壁画のクリーニングにおいては、使用する修理材料によって異なる酵素を選択することが望ましいと考えられる。フノリに影響が少ないと考えられる酵素は、Achromopeptidase、メチルセルロースに影響が少ないと考えられる酵素は Lysozyme であり、この組み合わせを念頭に、今後、当該壁画（余白部分）への適用を検討、実施する予定である。

表 1 実験に供した酵素

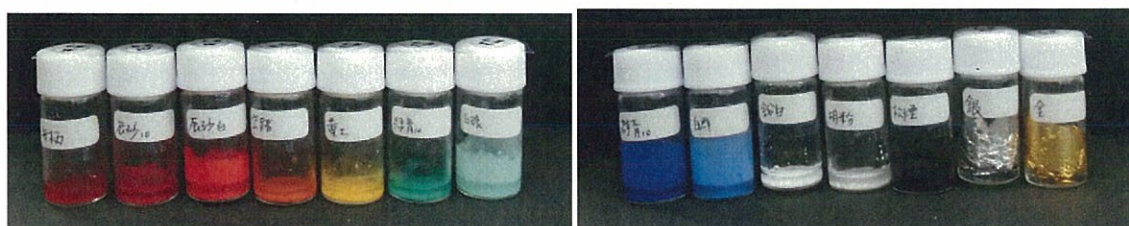
商品名	製造元	由来	用途	酵素活性
Proteinase K	Sigma-Aldrich	真菌	タンパク質分解	プロテアーゼ
Lysozyme	Sigma-Aldrich	卵白	細菌細胞壁溶解	N-アセチルムラミダーゼ、キチナーゼ、
Achromopeptidase	Wako	細菌	細菌細胞壁溶解	記載なし
Lysing enzymes	Sigma-Aldrich	真菌	真菌細胞壁溶解	β -1, 3-グルカナーゼ、セルラーゼ、プロテアーゼ、キチナーゼ
Zymolyase®	Nacalai-tesque	細菌	真菌細胞壁溶解	β -1, 3-グルカナーゼ、プロテアーゼ、マンナーゼ
Yatalase™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

写真1 酵素液に浸漬した顔料

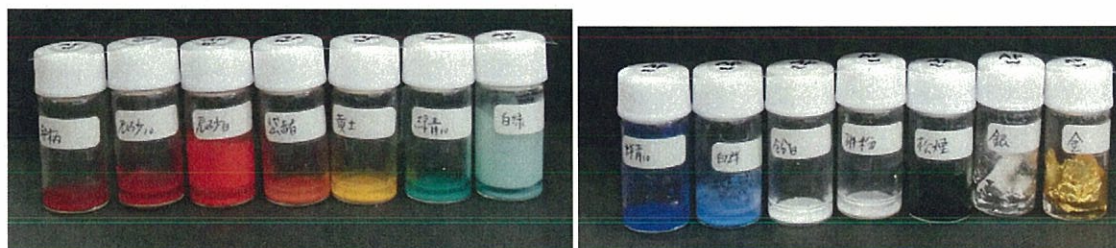
Proteinase K (プロテナーゼ K)



Lysozyme (リゾチーム)



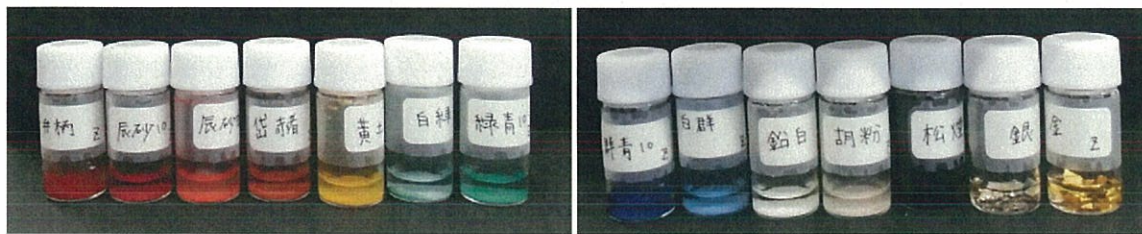
アクロモペプチダーゼ



Lysing Enzymes (ライシングエンザイム)



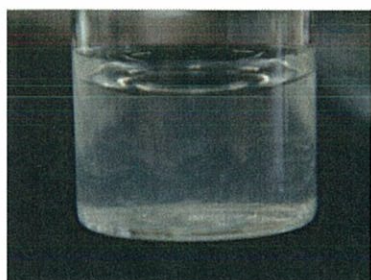
Zymolyase® (ザイモリエース)



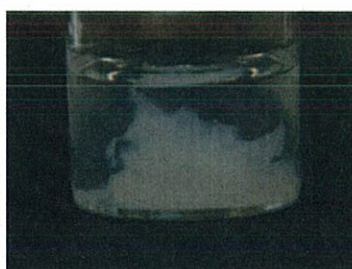
Yatalase™ (ヤタラーゼ)



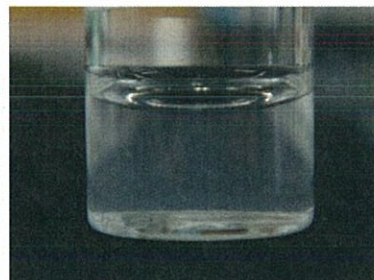
写真2 酵素液と混合したフノリ水溶液の変化



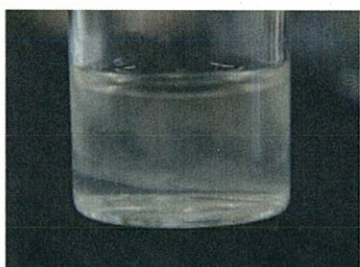
(a) Proteinase K,



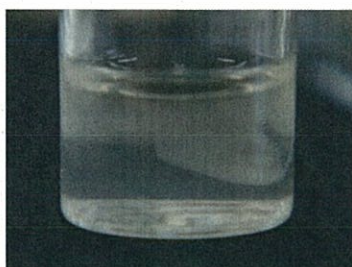
(b) Lysozyme



(c) Achromopeptidase



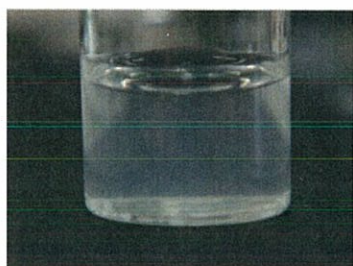
(d) Lysing Enzymes



(e) Zymolyase



(f) Yatalase



(g) milli-Q(control)

表 2 各酵素の評価

		Lysing Enzymes ライシングエンザイム	Zymolyase ザイモリエース	Yatalase ^T M ヤタラーゼ	Proteinase K プロテナーゼ K	Lysozyme リゾチーム	Achromopeptidase アクロモペプチダーゼ
顔料への影響		○	○	○	○	○	○
修理材料との混 合（外観、臭気）	フノリ	×	×	×	×	×	○
	メチルセルロース	×	×	×	×	○	○
修理材料の分 子量変化	フノリ	×	×	×	△	△	△
	メチルセルロース	×	○	○	○	○	×

○：影響は確認されなかった

△：わずかな影響は確認されるが、現場での使用条件を十分に検討することで対応は可能である

×：大きな影響が確認される