

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22300305

研究課題名(和文)生物が着生した炭酸カルシウム系材料の劣化特性とその診断手法の開発

研究課題名(英文)The degradation properties of calcium carbonate-based materials in which organisms get epiphytic and the development of the diagnostic procedures

研究代表者

松井 敏也 (MATSUI, Toshiya)

筑波大学・芸術系・准教授

研究者番号：60306074

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円、(間接経費) 3,840,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は炭酸カルシウム系材料が用いられた文化財に着生した生物による影響について、微生物に焦点を当てて、国内外で調査を実施した。調査方法は現地での観察のほか、基物材料への生物の穿入深さや密集度の調査と、反応生成物やDNA解析も行った。

その結果、漆喰における着生生物の穿入深さを明らかにした。さらに地衣類の穿入密度が高い部分では漆喰の状態が変化している可能性が示唆された。化学的劣化による生成物を確認した。微生物の付着過程を曝露試験より評価した。この結果、微生物が漆喰中の有機質繊維を伝って漆喰内部に侵入する様子が観察された。微生物の侵入を防ぐ薬剤処理の有効性を確認した。

研究成果の概要(英文)：In this study, focusing on microorganisms at home and abroad, we conducted a survey regarding the impact of epiphytic organisms adhering to cultural assets where calcium carbonate-based materials were used. In addition to on-site observations, we also investigated the density and penetrating depth of organisms that adhered to the substrata materials, along with analysis of reaction products and DNA.

Hence, we clarified the penetrating depth of the epiphytic organisms in the plaster. In addition, it was suggested that, in areas with a high density of lichen, there is a possibility the state of the plaster might have been changed. Chemically degraded product materials were confirmed. We assessed the adhesion process of microorganisms based on an exposure test. As a result, it was observed that microorganisms have entered inside of the plaster along organic fibers in the plaster. We confirmed the effectiveness of chemical treatment to prevent microbial invasion.

研究分野：保存科学

科研費の分科・細目：文化財科学・文化財科学

キーワード：炭酸カルシウム 微生物 漆喰 歴史遺産 地衣類 微細構造

## 1. 研究開始当初の背景

炭酸カルシウムは文化遺産に多様な用途で使われる素材である。とりわけ建築材料として用いられる場合は、建築物の表面化粧材料や目地などに多用される。屋外に曝されるこれらの炭酸カルシウム系材料は生物的劣化作用を受け、美観だけではなくその文化財的価値を著しく損なっている。世界的に炭酸カルシウムは文化遺産に多用され、その多くは炭酸カルシウムを加工した状態（焼成や消化）で建築物の目地や壁体、アドベレンガそして表面装飾などに使われる。これらは屋外に曝され常に生物的劣化が引き起こされる環境にある。漆喰は化学的に酸に弱いことや劣化により脆く粉状化することが多いことなどの理由から、その保存対策と修復処置は薬剤を使用したクリーニングに留まっており、着生メカニズムの研究はなされていない、生物による劣化の特性も石造物と異なり把握されていない。加えて世界的に温暖化が進んでおり、日本はもとよりアンコール遺跡など世界各国で緩慢ながらも確実に進行する生物による劣化が脅威となっている。目地や接合、壁材に使用される漆喰は構成要素の一部ではあるものの遺産を構成する主体ではないため取り除かれ、新しい漆喰をあてがわれる傾向にある。表面装飾があるものも現在にその技術が残っていれば同様な処置がとられる有様である。クリーニングも他の材料で培われた技術を用いているに過ぎない。そのような現状の中、世界的に保存修復の分野でオーセンティシティや必要最小限の関与（*Minimal Intervention*）が提唱されており、国際的な修復倫理を考慮した漆喰の保存修復方法の開発が求められている。

## 2. 研究の目的

漆喰は粉体を焼結することなく自然現象を利用して硬化させたものであり、このような反応系物質の保存修復は何もしないか新規なものに取り換えるといった手法が多かった。これに対し本研究は、文化遺産を構成するすべての要素を保存する立場に立ち、「漆喰の保存修復研究の新たな領域」を開拓する。折しも高松塚古墳壁画は生物被害を受け保存修復施設内での治療が進められるが、本研究は「移設不可能な文化遺産を対象としている点」も大きな特色とする。そのようなことから本研究は排除が難しい生物的脅威をうまくコントロールする「モニタリングシステムの構築」と「予防的保存方法」とを新たに提案するための基礎データの収集を目指している。

特に地衣類はその着生メカニズムに未解明なことが多く、その予防とクリーニングなどの保存修復処置は困難であった。既往の研

究は自然界の中で発生したそれらを採取して解析することが多く、文化財では石造物に対して物理的または薬剤による除去方法が試されているに過ぎない。本研究は歴史的経年劣化を受けた粉体（漆喰）と着生する生物との界面を初めて捉え、その劣化レベルの定量化を目的とする。

事例収集とその着生状態調査により、漆喰をその構成要素に持つ遺産の立地条件と生物劣化の関係を見出すことにした。これから環境毎の生物劣化パターンの構築が期待でき、周辺環境に応じた保存修復処理方法の開発を可能とする。

本研究の劣化診断の提案により、これまで保存修復に対し躊躇せざるを得なかった漆喰の適切な劣化の把握ができ、「予防的保存対策」を講じることができる。石材などに用いられた手法を応用するのではなく、炭酸カルシウム系材料に適した保存修復方法を確立することを目標とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 調査地

カンボジア王国、ベトナム社会主義共和国、鹿児島県南九州市、長崎県長崎市および五島列島である。

カンボジア王国は熱帯モンスーン気候帯に位置し、雨季と乾季が存在する。シエム・リアップ州のアンコール遺跡群、コンポン・トム州のサンボー・プレイ・クック遺跡群の5件を対象とした。アンコール遺跡群は9世紀初めから15世紀前半にかけて栄えたクメール王国のアンコール王朝が残した遺跡群でユネスコ世界遺産に登録されている。サンボー・プレイ・クック遺跡群は7世紀前半に栄えたチェンラ王朝の都市址である。

ベトナムにおいてはフエ王宮隆徳殿の門の1件を対象とした。隆徳殿はユネスコ世界遺産「フエの建造物群」の構成資産のひとつで1804年に建造された。レンガ造で化粧材として漆喰が用いられている。

鹿児島においては、南九州市の漆喰壁土蔵9件を対象とした。一部は南九州市知覧伝統的建造物群保存地区内に位置する。長崎は長崎市および五島列島のレンガ造教会堂9件を対象とした。一部はユネスコ世界遺産暫定一覧表に記載されている「長崎の教会群とキリスト教関連遺産」の構成資産である。

### (2) 分析方法

着生生物の付着状態調査、着生生物のDNA解析、蛍光観察、基物界面の微細構造解析、漆喰の保存処置に関する検討調査を行った。

着生生物の付着状態調査は各調査地における目視およびルーペ観察により、着生生物

の大まかな分類と付着の様相を記録した。長崎県南九州市の土蔵およびベトナムの隆徳殿、カンボジア Prasat Tropeang Ropeak についてはサンプリングを行った。観察後エポキシ樹脂に包埋し、低速切断機を用いて着生生物と基物との界面の垂直断面を得た。デジタルマイクロスコープ（キーエンス社、VHX-900）を用いて観察を行った。試料の一部は漆喰およびバイオミネラルの分析のため、粉末にし、X線回折装置（Bruker AXS社、D8 ADVANCE / TSM、線源 CuK $\alpha$ ）を用いて分析を行った。ベトナムのサンプルについては断面の過ヨウ素酸シッフ染色（以下PAS染色）を行った。PAS染色は微生物の体を構成する多糖類の存在を示すことができ、赤紫色に染色することで生物と漆喰部分の識別が可能である。

着生生物のDNA解析はカンボジア、プレ・ループの漆喰着生生物を粘着フィルムで採取し行った。粘着フィルムごと縦半分に切り、切り刻んだ後、破碎装置（マルチピースショッカー、安井器械）で破碎後、DNeasy Plant Mini Kit（QIAGEN）でDNAを抽出した。Fungal rDNA（D1/D2）PCR Kit（TaKaRa）で26/28S rRNA遺伝子のD1/D2（可変領域）を増幅した。増幅産物は、精製後、秋田県立大学バイオテクノロジーセンターで塩基配列を決定した（ダイレクトシーケンシング）。

蛍光観察は長崎県南九州市の土蔵の剥落片およびカンボジア Prasat Tropeang Ropeak の剥落片を用いて行った。試料を観察後エポキシ樹脂に包埋し、低速切断機を用いて着生生物と基物との界面の垂直断面を得た。光学顕微鏡（ライカマイクロシステムズ社、DM4000 M）および同社製蛍光フィルターA（励起：340nmから380nm、吸収：425nm以上）を用い、染色試薬DAPI（DNA染色試薬）を用いて観察を行った。

基物界面の微細構造解析は長崎県南九州市の土蔵の剥落片の中からシュウ酸カルシウムを生成する地衣類として *Opegrapha* sp. を、シュウ酸カルシウムを生成しない地衣類として *Bacidia* sp. を試料とした。X線分析装置付帯走査型電子顕微鏡（日立社、S-3400NX）を用いて地衣-漆喰境界面付近（約90 $\mu$ mから800 $\mu$ m）の元素分析（ラインプロファイル解析）からカルシウム元素の分布を調査した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 調査結果

カンボジアにおける漆喰上の付着微生物は黒色微生物が主に見られ、他に灰緑色レブラゴケ属地衣、緑色藻類、赤褐色微生物、緑色微生物が見られた。プレ・ループ遺跡北東の塔付近で採集した2サンプルのうち、漆喰

上の黒色微生物は、モジカビ科（Hysteriaceae）の菌類（最大配列同一性：89%）とクロレラ科（Chlorellaceae）に属する単細胞藻類（85%）からなる集合体であることが分かった。一般的にモジカビ科菌類は腐生菌として知られており、また、光学顕微鏡下では明確な地衣類構造は認められなかったが、地衣類である可能性も否定できないと考えられる。砂岩上で採取した黒色微生物は、アナイボゴケ科（Verrucariaceae）ミドリゴケ属（Endocarpon）に属する地衣類（97%）であった。図1にプレループ遺跡祠堂の写真、図2に付着微生物の写真を示す。



図1 プレループ祠堂段部分の付着微生物

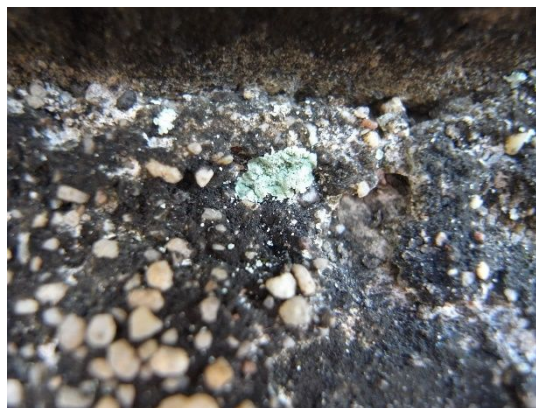


図2 黒色微生物とレブラゴケ属地衣

ベトナムの全サンプルの着生生物種は8種類観察された。内訳は痂状地衣類2種、蘚類1種、藻類2種、生物種不明3種（黒色系状、褐色系状、灰色系状）であった。漆喰に付着する生物との境界部における微細構造の観察を行い、光学顕微鏡、PAS染色による観察手法を試行した。観察手法を組み合わせることで解析を行うことによって生物劣化の可能性を確認できた。漆喰における微生物の穿入は約0.2 mmから約6.5 mmにおよび、顔料層にとどまらず基地の漆喰、さらにその下のモルタルまで穿入していた。物理的除去方法のみでは微生物を除去することはできないと考えら

れた。

鹿児島県南九州市の土蔵に見られた付着生物は主に黒色微生物で、他に緑色藻類、ミドリゴケ属地衣 (*Endocarpon* sp.)、黄色痂状地衣、示した灰緑色レブラゴケ属地衣と灰白色痂状地衣、蘚類 (茶色)、灰緑色痂状地衣、キゴウゴケ属地衣 (*Opegrapha* sp.)、赤褐色微生物、イボゴケ属地衣であった。基物へ穿入するタイプの地衣類による物理的劣化作用の特徴として、被覆面全面において菌糸が凝集して穿入することによって被覆面全面が劣化し、層状剥離といった現象が生じる。地衣類が基物へ穿入するタイプか否かは地衣類の生育形や形状に依存し、これらは地衣類が成熟しても変化しないことが多いため地衣類の着生初期に判断することが可能である。クリーニングなど地衣類を除去する際、物理的手法を用いる場合は菌糸が穿入した層ごと除去されることとなり、漆喰の損傷が非常に大きいことが予想される。化学的手法 (光合成阻害剤など) を用いて地衣類を枯死させた場合は漆喰の穿入部分に生じた空隙を埋める処置が必要となる。

図3に土蔵に用いられた漆喰の断面観察画像を、図4にその部位の蛍光観察画像を示す。蛍光像においては漆喰にも弱い蛍光が見られる部分とほぼ見られない部分が観察された。漆喰表面には微生物が見られ、内部には

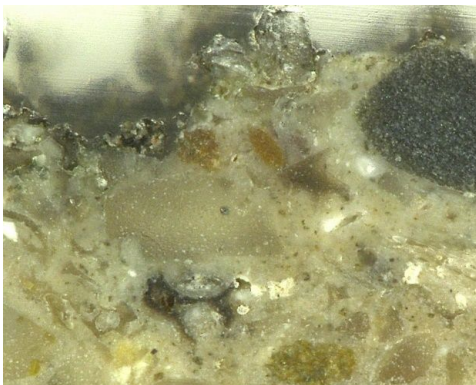


図3 漆喰光学顕微鏡明視野観察画像

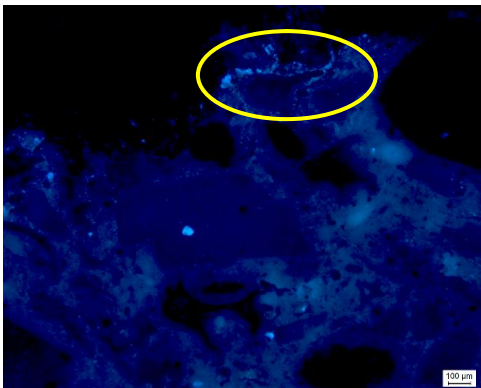


図4 同上資料蛍光観察画像 ( 図中楕円部内の輝度が微生物の漆喰基物への穿入部 )

蘚類と考えられる生物の穿入が見られた。図4の楕円で示した部分には漆喰よりも強い微生物と考えられる蛍光が観察され、表面から約150  $\mu\text{m}$ の穿入が確認された。

図5にバイオミネラルを持つ地衣類と漆喰基物との界面におけるカルシウム元素のラインプロファイルを示す。*Opegrapha* sp.-漆喰では漆喰表層から約5  $\mu\text{m}$ 付近までカルシウムのピーク強度が小さかった。一方シュウ酸カルシウムが検出されなかった。*Bacidia* sp.-漆喰では漆喰表層約15  $\mu\text{m}$ 付近まで漆喰内部に向かうにつれてゆるやかにカルシウムのピーク強度が増加していた。これらより地衣の着生によって基物である漆喰のカルシウム分が溶解した可能性が考えられ、シュウ酸カルシウムの生成の有無によって化学的劣化の状態が異なる可能性が示唆された。シュウ酸カルシウムのカルシウムの由来は基物の可能性があることがわかった。

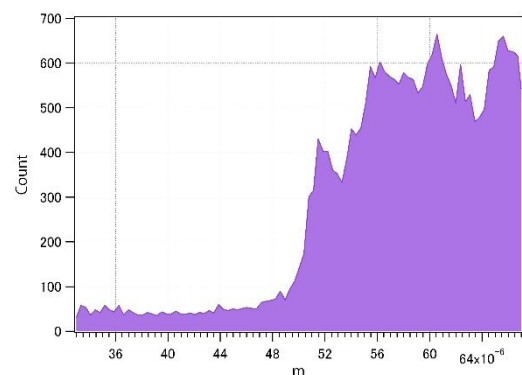


図5 *Opegrapha* sp.-漆喰 (鹿児島県、シュウ酸カルシウムあり) 界面におけるカルシウムのラインプロファイル

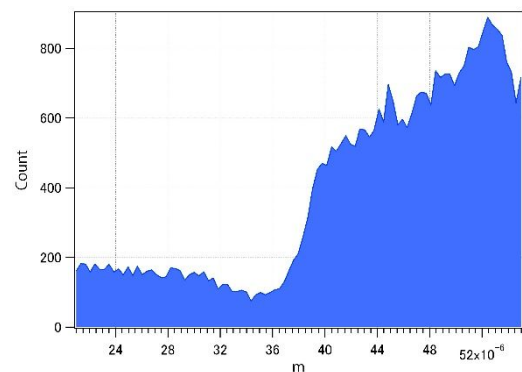


図6 *Bacidia* sp.-漆喰 (シュウ酸カルシウムなし) 界面におけるカルシウムのラインプロファイル

## (2) 暴露試験

保存処理が行われた漆喰の着生物の付着とその処理の効果を比較検討した。試験は、

合成樹脂を含まない伝統的な漆喰を作成し、各種の強化剤、撥水剤などを塗布後、曝露試験を行なった。処理剤は表 1 に示すとおりである。処理剤は OH100、OM20、バイオウォーターガードは浸漬により、ナチュラルコートと B72 は刷毛塗りで行った。

表 1 処理剤一覧

処理剤 (商品名)	主成分
OH100	エチルシリケート系
OM20	アルキルシリケート系
B72 (2%)	アクリル系
ナチュラルコート (大成化工)	エチレン酢酸ビニル系
バイオウォーターガード (信越シリコン)	シラン系

未処理 (オリジナル) の漆喰は表面の微細な空隙に汚れが沈着していた。破断面を観察したところ、漆喰に使用された繊維に沿って内部に微生物が侵入する様子が明らかとなった。処理した試供体の中ではバイオウォーターガードと OH100 の表面が最も汚れの付着は少なく、次いでオリジナルと B72 が続き、最も汚れの付着が認められたのは OM20 であった。図 7 に着生した微生物の写真を示す。X 線回折分析 (図 8) から、OM20 においてのみ水酸化カルシウムのスペクトルパターンが検出された。この処理剤はもっとも汚れが付着していたものである。表面の微細な付着物の同定は付着量が少なく未解析であるが、水酸化カルシウムの検出は漆喰表面が何らかの要因で侵され、その炭酸カルシウムが溶解した結果であると考えられる。今後、これについては処理剤による特性が、環境によるものかより詳細に検討を進めたい。

ナチュラルコートについては表面が膨張するなどの変化が見られた。これは樹脂分が降雨による膨潤と日射による加熱で変形したものであると考えられる。ナチュラルコートは屋外で使用する場合は地面と接することでその効果を発揮することから、今回の曝露試験で周囲と遮断された環境下での樹脂の特性が明らかになった。一方、OH100 試供体の破断面観察においては内部への微生物の侵入が見られなかったことから、漆喰内部の微生物の侵入を防ぐ点では薬剤処理の有効性が確認できた。

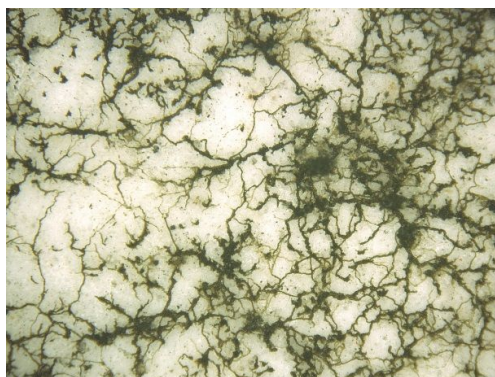


図 7 強化剤処理漆喰に着生した微生物

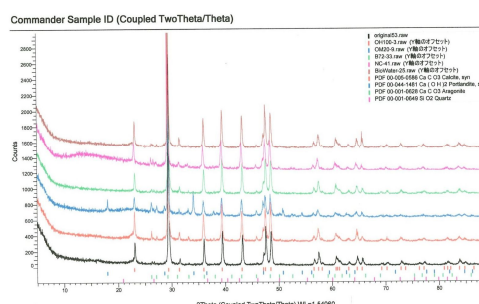


図 8 曝露漆喰の XRD パターン

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

河崎衣美、松井敏也、山本好和、原光二郎  
「石造文化遺産保存を目的とする地衣類の記録方法の確立に関する研究 カンボジア、アンコール遺跡の事例」、Lichenology Vol. 11, no. 2, pp.39-52, 2013、査読有

〔学会発表〕(計 9 件)

河崎衣美、松井敏也、「着生地衣類による漆喰の劣化特性」、日本文化財科学会第 30 回大会研究発表要旨集、pp.326-327、2013 年 7 月 6 日、弘前大学 (青森県)

松井敏也、澤田正昭、井上才八、海老沢孝雄、河崎衣美、跡見洋祐、朴東熙、「アンコール遺跡パイオン寺院浮き彫りの保存材料に関する研究 (2)」、日本文化財科学会第 30 回大会研究発表要旨集、pp.102-103、2013 年 7 月 6 日、弘前大学 (青森県)

河崎衣美、松井敏也、山本好和、「着生地衣類のバイオミネラリゼーションに関する研究-バイオミネラル元素の挙動」、第 36 回文化財の保存および修復に関する国際研究集会 文化財の微生物劣化とその対策、pp.58-59、2012 年 12 月 6 日、東京国立博物館 (東京都)

KAWASAKI Emi、MATSUI Toshiya、YAMAMOTO Yoshikazu & HARA Kojiro、「The documentation method of epiphytic lichens on stoneworks」、The 36th International

Conference of the Korean Society of Conservation Science for Cultural Heritage, pp.107-110, 2012年11月3日、Pusan National University(KOREA)

河崎衣美、松井敏也、「地衣類が着生した漆喰の着生部付近におけるカルシウム元素分布」日本地衣学会第11回大会講演要旨集、p22、2012年7月15日、筑波大学(茨城県)

河崎衣美、松井敏也、山本好和、「着生地衣類の二次代謝産物とその生成物を利用した文化遺産の強化方法の研究 地衣類と石材境界部における元素分布」日本文化財科学会第29回大会研究発表要旨集、pp.148-149、2012年6月24日、京都大学(京都府)

Emi KAWASAKI、Toshiya MATSUI  
「Microstructural analysis of the interface between lichens and the substrate stoneworks - for the consolidation using lichen activity and removal of lichens」The Second Symposium of the Society for Conservation of Cultural Heritage in East Asia, pp.107-108、2011年8月17日、Inner Mongolia Museum(CHINA)

河崎衣美、松井敏也、山本好和、澤田正昭、「着生地衣類の二次代謝産物とその生成物を利用した文化遺産の強化方法の研究 石造文化遺産における着生地衣類相調査と着生部の微細構造解析」日本文化財科学会第28回大会研究発表要旨集、pp.270-271、2011年6月11日、筑波大学(茨城県)

松井敏也、河崎衣美、山本好和、「炭酸カルシウム系材料に着生する生物との境界部における微細構造解析」日本文化財科学会第28回大会研究発表要旨集、pp.296-297、2011年6月11-12日、筑波大学(茨城県)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

松井 敏也 (MATSUI, Toshiya)  
筑波大学・芸術系・准教授  
研究者番号：60306074

### (2)研究分担者

原 光二郎 (HARA, Kojiro)  
秋田県立大学・生物資源科学部・助教  
研究者番号：10325938

### (3)連携研究者

澤田 正昭 (SAWADA, Masaaki)  
国土館大学・21世紀アジア学部・教授  
研究者番号：20000490

斎藤 英俊 (SAITO, Hidetoshi)

京都女子大学・家政学部・教授  
研究者番号：30271589

山本 好和 (YAMAMOTO, Yoshikazu)  
秋田県立大学・生物資源科学部・教授  
研究者番号：10315591

二神 葉子 (FUTAGAMI, Yoko)  
独立行政法人国立文化財機構東京文化財研究所・企画情報部・室長  
研究者番号：10321556