

# 水害被災した紙文化財の塩水を用いた緊急保存法の開発

(東大院農) ○東嶋 健太、江前 敏晴、五十嵐 圭日子、堀 千明、磯貝 明  
(駿河台大学) 坂本 勇

## First-Aid for Flood-Damaged Paper Cultural Properties by Using Salt Water

○Kenta Higashijima, Toshiharu Enomae, Kiyohiko Igarashi, Chiaki Hori, Akira Isogai  
Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo  
Isamu Sakamoto  
Surugadai University

### Abstract

We are developing a new method for rescuing flood-damaged papers by using salt water. Immersing papers in salt water is expected to have an effect of preventing fungal growth and even paper cohesion. In this presentation, we focus on the salt water effect on preventing flood-damaged papers from fungal growth and possible adverse effects by residual salts in paper. At over 3.5 mass% salt concentrations of artificial seawater, fungal growth on cellulose materials such as copy paper, microcrystalline cellulose, and cellulose sponge were successfully inhibited. The salt water effect of on fungal growth inhibition was also confirmed with other salts such as NaCl. Although this effect is basically because water is pulled out of cells by osmotic pressure of high salt concentrations, a physiological effect depending on the kind of salts was suggested. Residual salts in paper decreased the tensile index of unsized laboratory handsheet by about 18% from that of unsized laboratory handsheet immersed in distilled water. This salt water method was found to be promising for effective conservation of flood-damaged papers and some cellulosic materials. Further research of residual salts in paper, paper cohesion, desalination procedures, and drying methods are needed in order to establish a practical first-aid for rescuing flood-damaged papers by using salt water.

*Keywords: Flood-damaged paper, Salt water, inhibiting fungal growth, Residual salts in paper*

### 1. 緒言

地球温暖化による気象変動の影響を受け、梅雨時の集中豪雨や津波による水害が近年多発している<sup>1,2)</sup>。水害被災した紙の重大な問題は、カビの繁殖と紙どうしの固着であり、現在ではこれを防ぐために真空凍結乾燥法で対処している。しかし、真空凍結乾燥法は大規模な冷凍装置、長期にわたる冷凍保管、および高価な装置が必要となるため、被災時には現実的な方法ではない。これに代わる方法として、水害被災した紙を海水に漬けるという簡便な処置で、カビの繁殖と紙の固着を一時的に防ぐ新しい保存法を確立し、世界に向けて提案することを目指している。

2004年12月にインドネシアのスマトラ島沖地震による大津波で、アチェ地区の土地台帳16トンが水没

した。住民の土地所有権を保証する重要な被災文書は、大半が濡れたまま熱帯で2ヶ月以上放置されたにもかかわらず、カビがほとんど繁殖せず、洗浄・冷凍の処置と最後の乾燥処理だけで、その97%が変形や固着もなく復元された<sup>3)</sup>。この現象は「アラーの奇跡」と地元で報道されたが、この奇跡的な復元の理由として、海水が微生物繁殖を抑えられる塩濃度であったこと、土地台帳が非塗工紙であったため固着しなかったこと、および塩が紙に含まれる糊状水溶性成分の溶解を防ぐ効用があったことが予測される。この事実がきっかけとなり、海水などの塩水によって、水害被災した紙文化財を緊急保存する方法が開発できるのではないかと考え、研究を始めた。

今回は、塩水によるカビ繁殖抑制効果と、塩が残存した紙の物性について報告する。

## 2. 実験

### 2.1 塩濃度の測定

2010 年 9 月に採取したインドネシア・スマトラ島沖アチェ地区の海水と、規定された標準濃度に調製した人工海水 (Daigo SP, 和光純薬工業、Table 1) の塩濃度を屈折率計 (MASTER-S/MillM, (株) アタゴ) および自動温度補正付き電導度計 (YK-31SA, Lutron Electronic Enterprise Co., Ltd.) で測定した。標準濃度の人工海水は、表 1 の約 36g の塩を 1000 ml の蒸留水に溶かして調製した。海水の塩濃度は結晶水を含まない塩の質量についての濃度を意味する。

### 2.2 塩濃度を変化させた液体培地中での *Trichoderma reesei* 繁殖試験

1.6g の炭素源である微結晶セルロース (フナコシ)、人工海水塩の添加量を変えて塩濃度を調整した 80ml の Wood 培地<sup>4)</sup> (液体の合成培地) に、強力なセルロース分解菌である *Trichoderma reesei* (*T. reesei*) の孢子を培地 1 L あたり  $1.0 \times 10^9$  個接種し、37°C、回転数  $150 \text{ min}^{-1}$  で 9 日間振とう培養した。*T. reesei* が代謝時に分泌する黄色のペプチド系抗生物質による培地の色の变化から、吸光度測定により菌の成長量を調べた。このとき純水を対照とした。また、人工海水塩の代わりに NaCl、KCl、MgCl<sub>2</sub> または CaCl<sub>2</sub> を添加して塩濃度を変化させた培地でも、同様の試験を行った。本試験では試料および培地は滅菌処理した。

### 2.3 紙を基質とした菌繁殖試験

人工海水塩の添加量で塩濃度を変化させた 30ml の Wood 培地をシャーレ内に調製し、一般的な市販のコピー用紙 (Fine PPC paper、北越紀州製紙) を  $4 \times 4 \text{ cm}^2$  の大きさに採取した紙試料を入れた。*T. reesei*、紙の代表的な腐朽菌である *Aspergillus terreus* (*A. terreus*)<sup>5)</sup>、または塩耐性菌である *Aureobasidium pullulans* (*A. pullulans*) の孢子を培地 1 L あたり  $1.0 \times 10^9$  個接種し、25 °C の恒温槽に 7 日間入れた。培養後の外観の写真を撮影し、紙試料を取り出して自然乾燥させ、紙表面の SEM 観察を行った。本試験では試料および培地は滅菌処理した。

### 2.4 空気中の多様な菌での繁殖試験

乾燥状態のセルローススポンジ (CA107-4W、東レ) を切り取った  $4 \times 4 \text{ cm}^2$  試料 (約 2.5 g) をシャーレに入れ、人工海水塩による塩濃度が 0, 2, 3, 3.5, 4, 5% の 65 ml の Wood 培地をそれぞれ上から注ぎ 24 日間、23 °C、50 % RH に保持した。本試験で用いたセルローススポンジはパルプ、亜麻、綿などの天然

Table 1 Components of artificial seawater per 1 L.

Kind of salts	Amount (mg)
NaCl	20747
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	9474
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1326
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3505
KCl	597
NaHCO <sub>3</sub>	171
KBr	85
Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> ·10H <sub>2</sub> O	34
SrCl <sub>2</sub>	12
NaF	3
LiCl	1
Others	0.1042
Total	35955

繊維から製造され、防カビ剤の含まれていない乾燥プレス品である。1 日ごとに約 10 ml 蒸発したので、毎日脱イオン水を蒸発分だけ足した。本試験では試料と培地の滅菌処理はしなかった。

### 2.5 塩が残存する手すき紙の強度試験

広葉樹クラフトパルプから調製した添加剤なしの試験用手すき紙を、標準濃度の人工海水または蒸留水に浸漬した。一定期間浸漬した後に、穴の開いたプラスチックフィルム上に試料を乗せて水中から取り出し、その上からろ紙を置いて 10 秒間放置し吸水した。この処理を 0~2 回行った。その後乾燥プレートに張りつけて、23 °C, 50% RH でリング乾燥（緊張乾燥）させた。浸漬時間 1 日とし、ろ紙での吸水回数を変える（0、1、2 回）ことによって紙に残存する塩の量を変えた試料と、ろ紙での吸水回数を 1 回とし、浸漬時間を変えた（1 時間、1、7、30 日）試料の強度試験を行った。

## 3. 結果と考察

### 3.1 アチェ地区の海水と標準人工海水の塩濃度

標準人工海水の塩濃度は、屈折率計で 2.9~3.0%、電導度計で 3.03% であった。人工海水塩の組成から、結晶水を除いて計算した標準人工海水の塩濃度は、3.0% であり、正しく測定された。

アチェ地区の海水の塩濃度は、屈折率計で 3.2~3.3%、電導度計で 3.32% であった。アチェ地区の海水の塩濃度は、標準人工海水の塩濃度よりも高いことが分かった。海水の塩濃度は採取地点により様ではなく、3.1% から 3.8% とばらつきがあるが、塩分の構成成分についてはほぼ一定である<sup>6)</sup>。したがって、異なる地点の海水でも、塩濃度を調整すれば、同様のカビ繁殖抑制効果が得られる。

### 3.2 *Trichoderma reesei* が繁殖限界となる塩濃度

*T. reesei* は成長すると白いコロニー（菌糸の集まり）が観察され、その後培地は黄変した。培養 9 日後の写真を図 1 に示す。液体培地の上澄み液の吸光度スペクトルを図 2 に示す。黄色の濃度は菌の成長量に対応すると考え、372 nm 付近に吸光度のピークが見られた。各塩濃度に対する 372 nm における吸光度の変化を、図 3 に示す。*T. reesei* は人工海水の塩濃度 3.0% 以下で繁殖したが、塩濃度 3.2% 以上で繁殖しなかった。

人工海水塩の代わりに NaCl、KCl、MgCl<sub>2</sub> または CaCl<sub>2</sub> を添加して塩濃度を变化させた培地で試験した結果も図 3 に示す。これらの塩においても人工海水塩と同様の菌繁殖抑制効果が確かめられた。この結果より、海水の代わりとして NaCl、KCl、MgCl<sub>2</sub> または CaCl<sub>2</sub> の塩水を用いても、水害被災した紙を救出する保存塩水とし

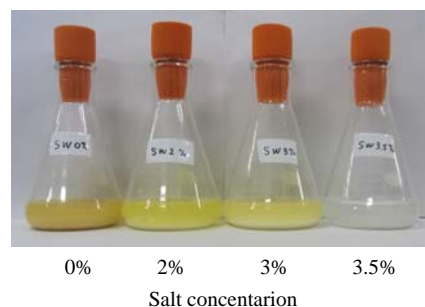


Fig. 1 Photographs of the *T. reesei* culture in media including artificial seawater at indicated concentrations after 9 days.

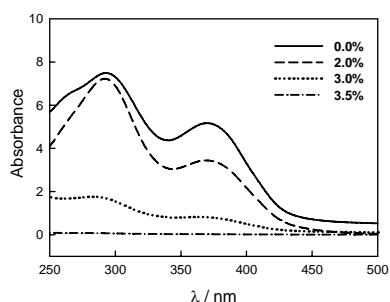


Fig. 2 Absorbance spectra of supernatants of *T. reesei* culture media.

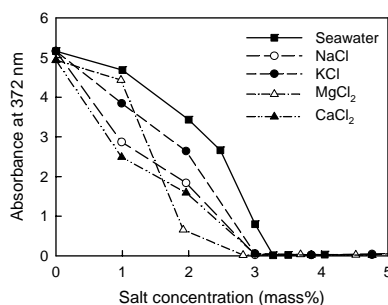


Fig. 3 Fungus growth amount at different salt concentrations (mass %) of various salts.

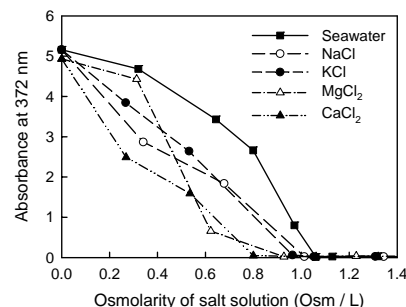


Fig. 4 Fungus growth amount at osmolarities (Osm / L) of various salt solutions.

て利用できる可能性があることが分かった。これは家庭にある食塩が有効に使用できることを意味する。

塩には防腐効果があり、長年食料の保存に用いられてきた。その防腐効果は浸透圧によって、細菌の細胞内の水分が取られ成長が阻害されるためとされる。浸透圧は溶質の種類によらず溶液のモル濃度によって決まる。Fig. 3 の横軸の塩濃度を、塩水のモル浸透圧濃度 (Osm / L) に置き換えてグラフ化したのが、Fig. 4 である。人工海水塩、NaCl、KCl、MgCl<sub>2</sub> または CaCl<sub>2</sub> はすべて液体培地中で溶解したので、塩はすべてイオン化されたとしてモル浸透圧濃度を計算した。372 nm における吸光度がほぼ 0 となるモル浸透圧濃度は、塩の種類によって 0.8-1.03 (Osm / L) と多少ばらついたため、塩による *T. reesei* の繁殖抑制効果は浸透圧効果以外の要因の存在が示唆された。その要因の 1 つとしては各塩による菌の細胞膜での生理作用の違いが挙げられる。

### 3.3 紙上でのカビ繁殖抑制効果の目視と SEM 観察

コピー用紙を基質として用いた培養 7 日後の試料写真を Fig. 5 に示す。塩濃度が高くなると、菌の繁殖が抑制される傾向が見られた。塩濃度 0% の培地に、*T. reesei*、*A. terreus* または *A. pullulans* を接種した紙は、菌の繁殖によって黒や黄色に変化した。一方、塩濃度 3.5% の培地に、*T. reesei* および *A. terreus* を接種した紙は目視では菌の繁殖が観察されず、塩耐性の菌である *A. pullulans* を接種した紙だけは少し表面が黒くなっているのが観察された。

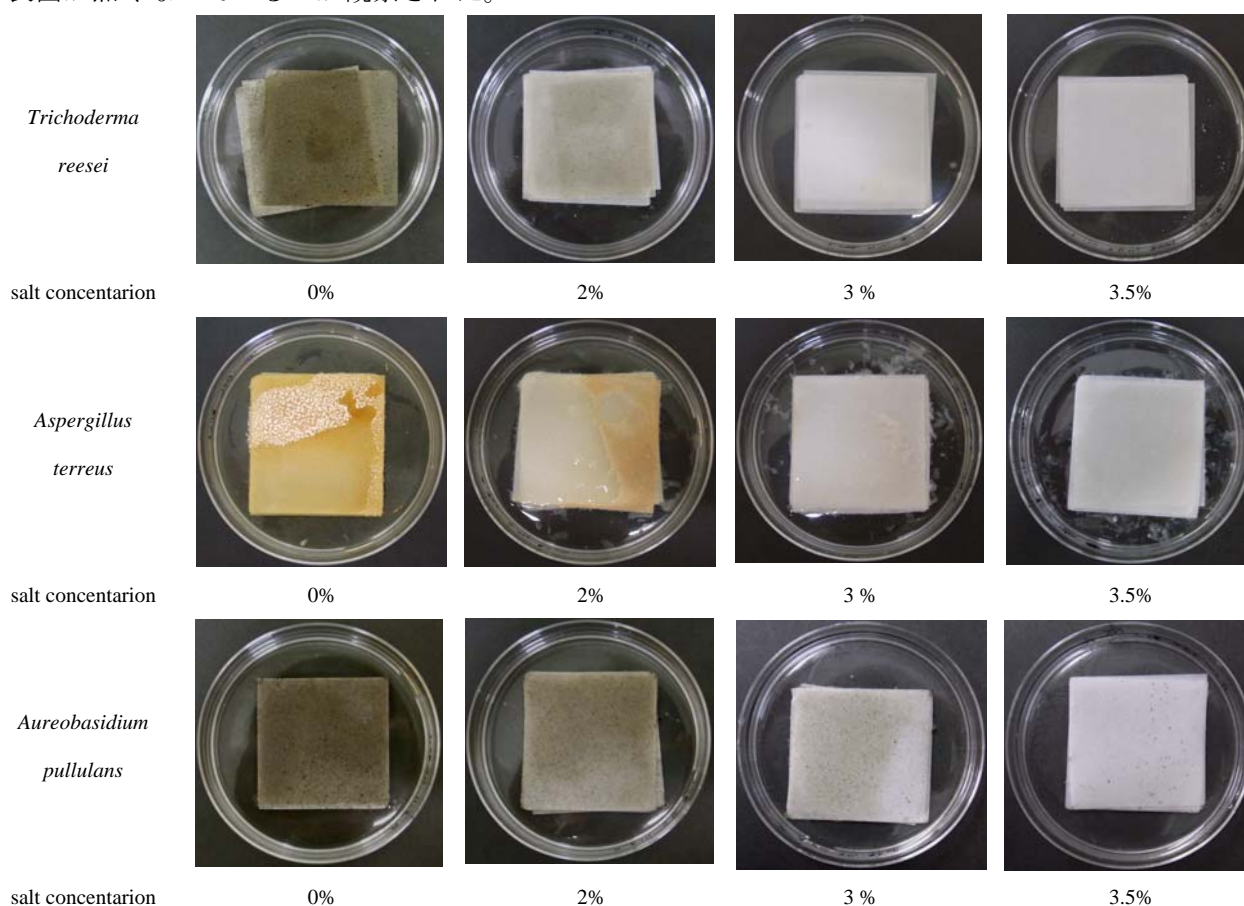


Fig. 5 Photographs of copy paper samples in petri dishes at varied salt concentrations in 7 days after inoculation of fungi.

未処理の紙試料と塩濃度 0 および 3.5% の培地に各菌種を接種した紙試料の SEM 画像を Fig. 6 に示す。

*T. reesei* において、塩濃度 0% の試料では糸状の菌糸が繊維の上にあるのが観察されたが、塩濃度 3.5% の試料では菌糸が観察されず胞子のみ観察された。

*A. terreus* において、塩濃度 0 および 3.5% の試料ではともに菌糸と孢子嚢が観察された。塩濃度 3.5%



の紙試料では、目視でカビが確認できなかったが (Fig. 5)、SEM 画像によりマイクロレベルでカビの菌糸が存在することが分かった。しかし塩濃度 3.5% の試料で観察された菌糸と孢子嚢は塩濃度 0% の試料で観察されたものよりそれぞれ細く、小さくなっているのが分かった。これは *A. terreus* の成長が阻害されたものと考えられる。

*A. pullulans* において、塩濃度 0 および 3.5% の試料ではともに菌が観察された。しかし塩濃度 3.5% の試料で観察された菌は細胞分裂ができていないものが多く、数が少なかった。これは塩耐性の *A. pullulans* の成長が阻害されたものと考えられる。

本試験から、塩濃度の増加に伴って *T. reesei*、*A. terreus* および *A. pullulans* の繁殖抑制効果が確認された。本試験で使用した培地の栄養成分は菌には非常に好適なもので、接種したカビの孢子の濃度は自然界の条件と比べるとかなり高いため、実際に水害被災した紙に 3.5% 濃度の塩水をかけると、カビの繁殖抑制には高い効果があるものと考えられる。

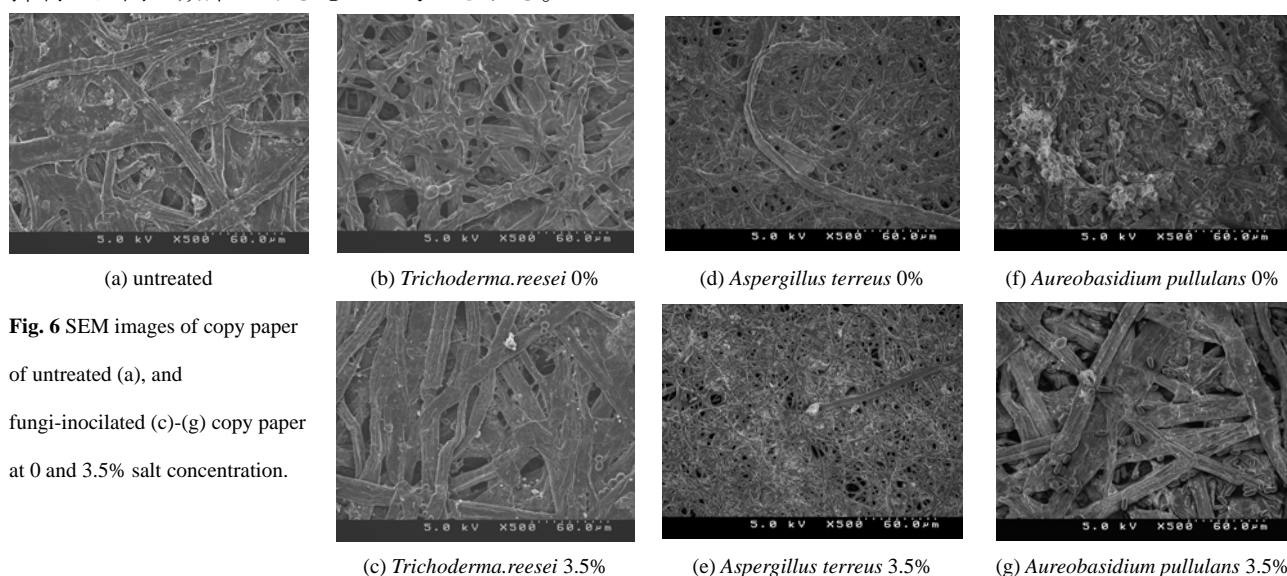


Fig. 6 SEM images of copy paper of untreated (a), and fungi-inoculated (c)-(g) copy paper at 0 and 3.5% salt concentration.

### 3.4 空気中の多様な菌での繁殖抑制効果

セルローススポンジは吸水性に優れ、人工海水塩の添加量で塩濃度を変化させた Wood 培地を試料に均一に浸み込み、膨潤した。試験開始 9 日後に、塩濃度 0% および 2% の試料において直径 1cm の黒い斑点のコロニーが観察できた。24 日後の試料の外観写真を Fig. 7 に示す。塩濃度 0% および 2% の試料には黒い斑点のコロニーが観察でき、塩濃度 3% の試料には表面に黄ばみが観察でき、どれも異臭があった。一方、塩濃度 3.5% 以上の試料ではカビの繁殖は見られなかった。このことから、塩濃度 3.5% 以上で空气中に存在する多種の菌の繁殖が抑えられることが分かった。

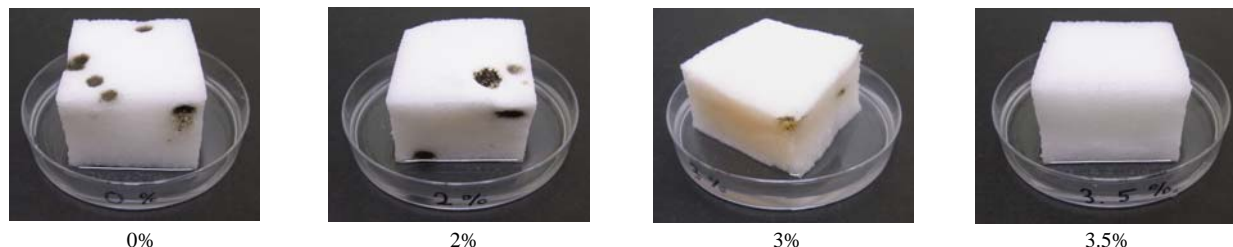


Fig. 7 The optical images of cellulose sponge samples after 24 days.

### 3.5 残存塩による手すき紙の強度変化

試験用手すき紙を人工海水または蒸留水に 1 日浸漬し、ろ紙での吸水回数を変えることによって紙に残存する塩の量を変えた試料の比引張強さを Fig. 8 に示す。蒸留水に浸してろ紙で 1 回吸水した試料で

は、未浸漬試料と比較して比引張強さが 10% 減少した。海水に浸してろ紙で吸水しなかった試料では、残存塩が約  $1.1\text{g/m}^2$  (浸漬前の試料の 14%) あり、蒸留水に浸してろ紙で 1 回吸水した試料 (洪水被害を受けて淡水に浸漬後、乾燥させた紙のモデル) と比較して、比引

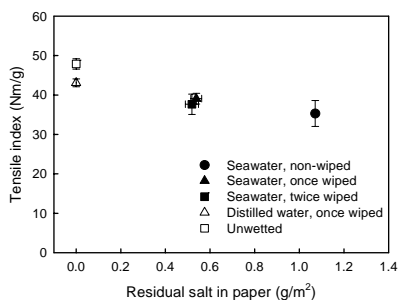


Fig. 8 Influences of residual salt amount on tensile index

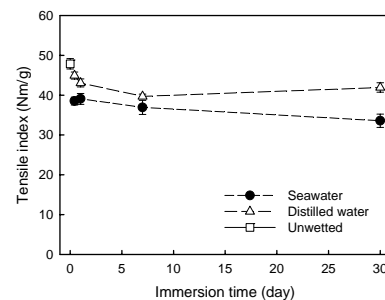


Fig. 9 Influences of immersion time on tensile index

張強さが 18% 減少した。この程度の強度低下は、紙の取り扱い方にもよるが深刻な損傷にはならないであろう。海水に浸してろ紙で 1、2 回吸水した試料では、海水に浸してろ紙で吸水しなかった試料と比較して、残存塩が半分程度以下になり、比引張強さの低下がやや抑えられた。

ろ紙での吸水回数を 1 回とし、浸漬時間を変えた試料の比引張強さを Fig. 9 に示す。海水に浸漬した試料は浸漬時間の増加によって比引張強さがやや減少した。また海水に浸漬した試料の方が、蒸留水に浸した試料よりも比引張強さが減少した。

本試験では一般の紙に添加されているサイズ剤を添加していない試験用手すき紙を使用した。サイズ性も考慮して調べる必要がある。また文化財においては長期間保存されるため、残存塩が紙の劣化に与える影響についてさらなる研究が求められる。

#### 4. 結論

*T. reesei* は塩濃度 3.2% 以上で繁殖しなかった。この塩濃度はアチェの海水の塩濃度とほぼ同じであった。また、人工海水塩ではなく NaCl、KCl、MgCl<sub>2</sub> または CaCl<sub>2</sub> を使用した塩水でも菌繁殖抑制効果が確かめられ、災害時には海水の他に家庭にある食塩も利用できることが分かった。コピー用紙を基質とした菌培養試験から、耐塩性の菌 *A. pullulans* においても塩濃度の増加によって菌の繁殖が抑制され、SEM 画像から菌糸や孢子囊の成長が阻害されていたのが確認できた。セルローススポンジを用いた試験から、塩濃度 3.5% 以上で空气中に存在する多種の菌の繁殖をほぼ抑制できることが分かった。塩が残存する無サイズの試験用手すき紙の強度はやや低下したが、紙として十分取り扱える程度の損傷と考えられる。サイズ剤を添加した紙に残存する塩の量や、それが紙の劣化に与える影響などの試験を今後予定している。水害被災した紙を塩水により早期救出する技術の確立に向けて、紙の固着、イオン交換膜などを用いた脱塩処理および効果的な乾燥方法などのさらなる研究が必要である。

**謝辞** 本研究は、公益信託 吉田学記念文化財科学研究助成基金 平成 22 年度研究助成、およびソルト・サイエンス財団 2010 年度研究助成の支援を受けた。この場をお借りして、深く感謝申し上げます。

#### 引用文献

- 1) Min, S.-K. et al., Nature 470, 378-381 (2011).
- 2) Pall, P. et al., Nature 470, 382-385 (2011).
- 3) 坂本勇, 「インドネシア・アチェ州からの報告と危機管理」、土地家屋調査誌、2010; 639(4): 5-11
- 4) Jonathan D. Wood and Paul M. Wood, Biochimica et Biophysica Acta, 1119, 90-96 (1992)
- 5) "Plant Biology for Cultural Heritage Biodeterioration and Conservation" edited by G. Caneva and et al, Los Angeles, p111 (2008)
- 6) Pidwirny, M. (2006). "Physical and Chemical Characteristics of Seawater". Fundamentals of Physical Geography, 2nd Edition. Date Viewed. <http://www.physicalgeography.net/fundamentals/8p.html>