

〔報告〕 文化財修復に使用されるフノリの精製効果に関する評価

早川 典子・金 旻貞*・柏谷 明美**

1. はじめに

フノリは日本における文化財修復や伝統工法で用いられる材料であり、延喜式など平安期にも糊料として記録が残っており、古くから使用されていることがうかがわれる。紅藻類のフノリ属の海藻類を漂白しつつ乾燥させたものが「フノリ」として総称され、流通して各現場で用いられている。このフノリは「板フノリ」とも称され、文化財修復の現場ではこれに水を加えて抽出された成分を濾過して用いる。この抽出は、古くから加熱して行われてきたが、近年、非加熱のまま室温で抽出したものも使用されるようになってきている¹⁾。

用途は主に2種類であり、1つは表面保護（養生）の際の可逆性接着剤、もう1つはデンプン糊や膠に混合する増粘剤としての用途である。フノリの抽出方法と、粘度や分子量は相関があることが確認されており¹⁾²⁾、適切な抽出方法を選択することで、求める粘度の抽出液を得ることができる。また、フノリ抽出液は水の硬度によってもその物性が変化し、特にカルシウムイオンが存在するとゲル化しやすくなることも確認されている²⁾³⁾。このため、伝統的な使用方法を踏襲する場合、抽出にはイオン交換水や純水などのイオンの少ない水を用いることが推奨される。

このように、フノリ抽出液の調製にあたっては、その物性の制御方法が近年検討されているが、実際の修復現場における課題としては材料としての物性改善のみでなく、微生物被害が生じやすいことからこの制御についても要望されてきた。フノリを加熱して抽出する際には細胞壁が崩壊するため、細胞間物質のみならず、細胞内物質や細胞壁構成物質も溶出しており、これらの混合物がフノリの抽出液として使用されていることになる。フノリ抽出液の主成分はアガロイド鎖を持つ硫酸多糖とカラギーナン鎖を持つフノランと言われる硫酸多糖であることが明らかになっており、これら多糖類は原料のフノリの種類によって含有比や硫酸基導入率などが異なる化学組成を持つ⁴⁾⁵⁾⁶⁾。また、抽出液には主成分以外にも、タンパク質なども含まれていることが明らかになっている¹⁾。主成分のフノランを構成するアガロイド成分もカラギーナン成分もガラクトンが主成分であり、ガラクトンはグルカンなど他の多糖類に比して微生物分解性が高くない。一方で、フノリ抽出物にはタンパク質など他の成分が含まれていることが確認されている。¹⁾タンパク質はガラクトンよりも一般的に資化性が高いことからフノリ抽出物を精製してタンパク質などの不純物を除去することで微生物の発生が抑制されると予想された。本研究では複数の精製方法を経たフノリ抽出物のカビ抵抗性試験と分子量測定および赤外分光分析を行い、その精製の効果を評価した。

2. フノリ抽出物の試料

2-1. 試料A：活性炭精製フノリ

板フノリ（(株)大脇萬蔵商店製、天菊久平H30年生産（原料：マフノリ）10 gに超純水

*株式会社 修美, **日本美術院

を290 g 加え、20℃で一晩静置し、その後ガーゼ2枚にて濾過し、得られた濾液をフノリの抽出液とした。抽出液に活性炭(和光純薬工業株式会社, 中性粉末)を得られた抽出液の3重量% 加え、濾紙(5C, 桐山製作所製)と桐山ロートで吸引濾過を行った。その後、濾液に過剰量のアセトンを加え、生じた沈殿を乳鉢に入れ、アセトンを加えつつ細かく粉碎した。得られた固形分は0.50 gである。この方法は、特開2012-012541の精製方法をもとに固体粉末を得る手法である。

2-2. 試料B：再沈殿精製フノリ

試料Aと同じ原料を用い、同様の方法で抽出を行なった。得られた抽出液にアセトンを過剰量加え、生じた沈殿をガラスフィルター(No.4: 細孔径10-16 μm)を用いて吸引濾過し、脱水後の固形分を得た。得られた固形分を純水にて再溶解し、過剰量のアセトンにて再沈殿・脱水した後、吸引濾過・乾燥する工程を3回繰り返した。最後に得られた乾燥固形分を乳鉢にて粉碎した。

2-3. 試料C：市販品 JunFunori

JunFunori[®] (Lascaux 社製)。製法については Studies in Conservation にて発表されている⁷⁾。フクロフノリ50 gを1 Lの脱イオン水で強く攪拌する洗浄を2回繰り返す。その後、葉状体部分を刃物で切り取り、細かく切断した上で脱イオン水6 Lにて強く攪拌しつつ40℃で3時間半洗浄する。この抽出液に木炭(chacoal) 100 gを加え、40℃で30分攪拌する。その後、遠心分離(5000 rpm)を30分行い、1 μm 以下のガラスフィルターで減圧濾過を行い、得られた抽出物を60℃の減圧濃縮を2日間行い、薄膜を得るとしている。

2-4. 試料D：市販品 TRI-Funori

TRI-Funori[™] (TRI-Funori 社製)。ホームページ⁸⁾上で発表された情報によると、マフノリとフクロフノリの原藻を原料とし、日光による漂白と機械的操作のみで抽出物を得ると記載されている。(2021年現在、生産停止中。)

2-5. 試料E：未精製フノリ

精製フノリの対照試料として作製した。試料Aと同じ原料を用い、同様の方法で抽出を行なった。得られた抽出液を室温にて減圧下で乾燥させて試料とした。

3. 評価方法

3-1. カビ抵抗性試験

滅菌された6穴の微生物培養プレートの3穴に2重量%に調製した各種試料を1.9 g ずつまんべんなく滴下し、室温にて十分に乾燥させた。乾燥後の各プレートを次の3条件で試験し、保存開始後2, 4, 6および8週間後の試料表面のカビ発育状態を肉眼および顕微鏡下で観察した。観察にあたっては、菌糸の確認できた範囲をカビの発生として評価対象とした。

条件1) プレートに蓋をして実験室内(室温, 22.5℃)で保存した。

条件2) プレートの試料滴下しなかった穴に精製水を入れた後、プレートに蓋をして22.5℃で保存した。このプレート内部の湿度については正確な測定は困難であったが、試験と同条件のプレートを用意し、その開封直後の湿度をHOBO UX100-011Aにて3回測定したところ、80 \pm 2% RHであったため、内部の湿度は最低でも80% RHであったと推定される。

条件3) カビの混合孢子懸濁液を試料に接種し、プレートの試料滴下しなかった穴に精製水を入れた後、蓋をして22.5℃で保存した。使用したカビの種類はJIS Z 2911かび抵抗性試験方法に記載されているプラスチック製品の試験に用いられる下記5種類のものであり、この5種類の単一孢子懸濁液を等量ずつ混合したものを混合孢子懸濁液として試料に接種した。

Aspergillus niger NBRC 105649, *Penicillium pinophilum* NBRC 33285,

Paecilomyces variotii NBRC 33284, *Toricoderma virens* NBRC 6355, *Chaetomium globosum* NBRC 6347

3-2. 分子量測定 (ゲル濾過クロマトグラフィー (GFC))

測定機器：GPC-8220 ((株) 東ソー製)、カラム：TSK gel GMPWxL×2, 溶媒：0.2 M/NaNO₃水溶液, 測定温度：40℃, 流速：1.0 mL/min, 検出器：RI-8022, 標準試料：プルラン (Shodex 製, ピークトップ分子量： 0.61×10^4 , 0.96×10^4 , 2.11×10^4 , 4.70×10^4 , 10.7×10^4 , 19.4×10^4 , 33.7×10^4 , 70.8×10^4 , 235×10^4)

測定試料は各試料を測定溶媒にて1重量%に希釈して用いた。ただし、JunFunoriは粘度が高く、試料挿入時の吸引不足が懸念されたため、吸引可能な濃度(1/4程度)まで希釈した。測定は同一試料につき2回行なった。

3-3. 赤外分光分析

測定機器：FT-IR8700 ((株) 島津製作所製)

ダイヤモンド ATR (SENS. IR TECHNOLOGIES 社製 Dura sample IR) を用いて乾燥した試料を直接測定した。

4. 結果と考察

4-1. カビ抵抗性試験

得られた結果を表1と図1に示す。

最も結果に差異が生じたのは22.5℃で水とともに保存した条件2)の試料群である。再沈殿精製したフノリ(試料B)において最も早く多くカビの発生が生じた。再沈殿の手法では、カビの原因となる物質を十分には除去できなかったと考えられる。一方で、市販品であるJunfunori(試料C)とTRI-Funori(試料D)では、試験期間を通じてカビの発生が見られなかった。これは精製に効果があり、カビに資化される成分がほぼ除去されていることを意味する。活性炭で精製したフノリ(試料A)については、試験結果のばらつきが大きいですが、それでも未精製のフノリよりはカビの発生が抑制されており、ある程度は資化される成分が除去できていることが確認された。80% RHを越えると推定されるこの条件2)の湿度条件は、外気との流通のあるような文化財修復の現場では梅雨時などに実際に生じ得る環境であり、このような場合、一旦は乾燥しても未精製のフノリにはカビが発生しやすいことが客観的に確認されたことになる。これに対して、実験室内で保存していた条件1)のように湿度が低く安定している場合には、未精製のフノリでもカビは発生していないことから、フノリを使用する際には環境条件を適切に整えることで、カビの発生を抑制することが可能であることも明らかになった。

最も苛酷な条件であるカビ懸濁液を噴霧した場合(条件3)は、精製したフノリも含めてすべてカビが発生しているが、その中でもTRI-Funori(試料D)はカビの発生がかなり抑制されており、カビが発生しにくい商品であったことが明らかになった。

先行研究において、煮出しフノリは条件1)の室温保管においても28日後にはカビが発生し

表1 カビ抵抗性試験結果

試験条件	試料	14日後	28日後	42日後	56日後
条件 1) 実験室内にて保存	A. 活性炭精製フノリ	—	—	—	—
	B. 再沈殿精製フノリ	—	—	—	—
	C. Junfunori	—	—	—	—
	D. TRI-Funori	—	—	—	—
	E. 未精製フノリ20°C抽出	—	—	—	—
条件 2) 水と共に保存	A. 活性炭精製フノリ	—～+	—～++	—～+++	—～+++
	B. 再沈殿精製フノリ	+++	+++	+++	+++
	C. Junfunori	—	—	—	—
	D. TRI-Funori	—	—	—	—
	E. 未精製フノリ20°C抽出	—～++	+～+++	++～+++	++～+++
条件 3) カビ懸濁液接種、 水と共に保存	A. 活性炭精製フノリ	+++	+++	+++	+++
	B. 再沈殿精製フノリ	+++	+++	+++	+++
	C. Junfunori	+++	+++	+++	+++
	D. TRI-Funori	—	—～+	—～+	+
	E. 未精製フノリ20°C抽出	+++	+++	+++	+++

—：肉眼および顕微鏡下でカビの発育は認められない。

±：肉眼ではカビの発育は認められないが、顕微鏡下では明らかに確認できる。

＋：肉眼でかびの発育が認められ、発育部分の面積は試料の全面積の10%未満。

++：肉眼でかびの発育が認められ、発育部分の面積は試料の全面積の10%以上～30%未満。

+++：肉眼でかびの発育が認められ、発育部分の面積は試料の全面積の30%以上。

ており、56日後の結果は「++」であった⁹⁾ことを考え併せると今回の精製試料は全て一般的な煮出して作製するフノリよりカビの発生が抑制されており、どの試料においても精製の効果が、ある程度は得られたと評価できる。未精製のフノリ（試料E）においても煮出しフノリよりカビが抑制されていたのは、赤外分光分析の結果考察（4-3）に後述するように、タンパク質成分が多く確認される不溶沈殿部分が、20°C抽出のフノリでは少ないことが関連していると考えられる。

4-2. 分子量測定（ゲル濾過クロマトグラフィー（GFC））

図2に各試料の微分分子量分布曲線、図3に主成分の重量平均分子量を示す。未精製のフノリ（試料E）が265万であることに比べると、再沈殿精製フノリ（試料B）は386万と突出して分子量が大きく、活性炭精製フノリ（試料A）が206万、JunFunori（試料C）が248万、TRI-Funori（試料D）は187万と、カビ抵抗性試験の結果が比較的良好な3試料は相対的に小さめの分子量であることが明らかとなった。一般的に、微生物に資化されやすいのは分子量の小さいものの方と考えられるが、今回はその相関は得られなかった。ただし、この三点の試料については精製過程に多くの濾過作業が含まれるため、十分な精製作業を経た試料においては、その作業により高分子量成分が除去され、分子量が相対的に小さくなった可能性が考えられる。

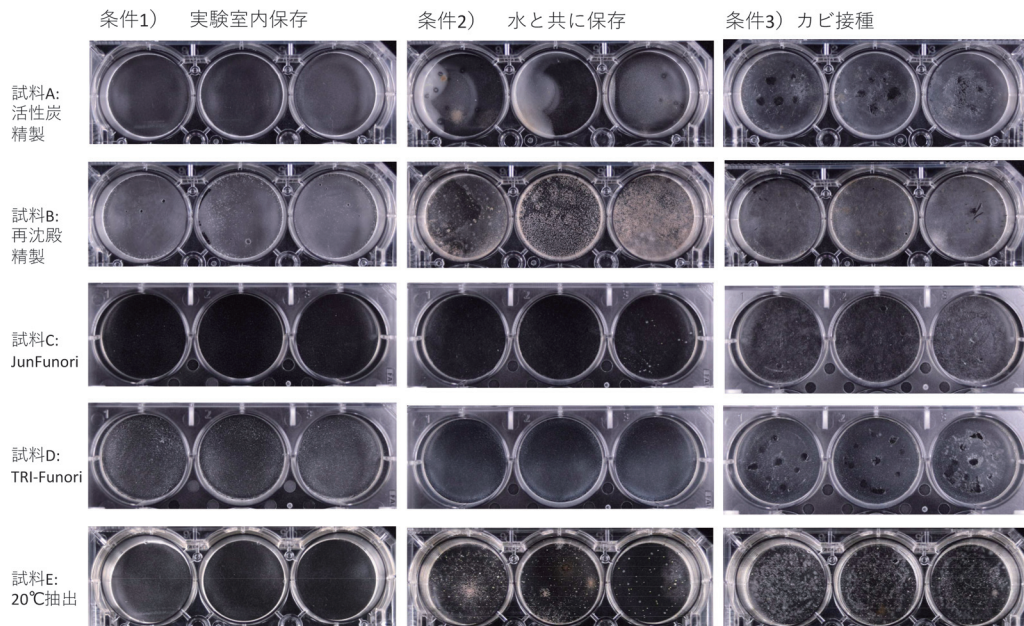


図1 カビ抵抗性試験56日後各試料画像

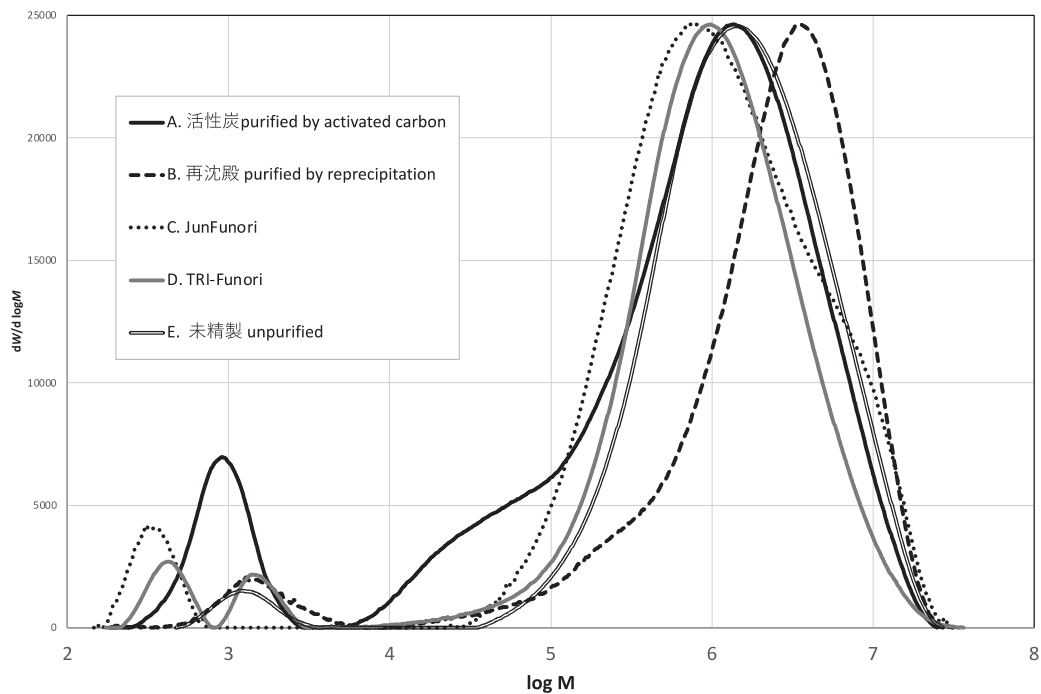


図2 各試料の微分分子量分布曲線

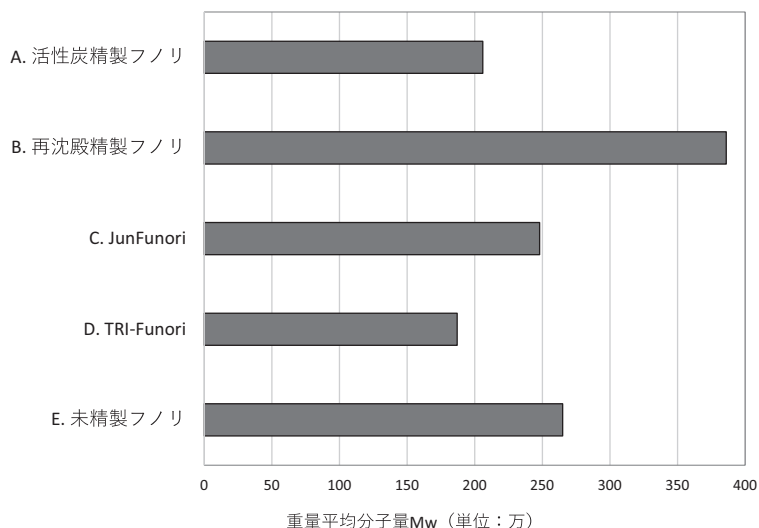


図3 各試料の主成分 (Mw: 1万以上) の重量平均分子量

なお、活性炭精製フノリ (試料A) については、下記に示すように低分子側に副成分 (シオルダー) が存在するため、その影響で主成分の分子量が小さく算出されていると推察される。一方、相対的に分子量の大きかった再沈殿精製フノリ (試料B) に関しては、この試料は3回精製を行なっているが、1回目の精製後には主成分の重量平均分子量は310万、2回精製後には312万であり、再沈殿を繰り返すと分子量は上昇する傾向があった。これについては、二つの可能性が考えられる。精製の再沈殿作業において、低分子量の成分が再沈殿できず流出する傾向があり、結果として高分子量成分だけが残存し相対的には分子量が上昇して見える可能性が一点、再沈殿の過程で分子同士の相互関与が強まった結果、分析溶液中で高高く高分子量体として振舞うようになった可能性が一点である。

この再沈殿精製フノリ (試料B) と活性炭精製フノリ (試料A) に共通しているのは主成分の大きなピークに1万~10万程度の分子量の副成分 (シオルダー) が見られることであるが、これらが原料に由来するものなのか、あるいは他の要因で生じたのかは、今回の結果からは推論は難しい。

また、1万以下の低分子量成分については、未精製のフノリの場合、2つのピークが現れることが多い¹⁾が、TRI-Funoriを除いて1成分しか確認されなかった。これらからは精製作業によって、低分子量の成分がある程度除去された可能性が考えられるが、これは漂白していない原藻を原料としてしていることから原料の差異を反映した可能性も残る。

4-3. 赤外分光分析

得られたスペクトルを図4に示す。どのスペクトルからも1000~1060 cm^{-1} 付近の多糖類に特徴的な吸収と3360 cm^{-1} に水酸基由来の大きな吸収が確認された。1220 cm^{-1} と1375 cm^{-1} 吸収は硫酸基に起因¹⁰⁾する。今回着目すべきは1540 cm^{-1} の吸収で、これはアミドIIに由来する。この吸収は未精製のフノリ (試料E) と再沈殿精製フノリ (試料B) にわずかに見られるが、他の精製試料では存在を確認できない。筆者らは、以前の研究においてフノリの抽出物、特に水への不溶成分 (遠心分離沈殿部分) 中にビウレット反応でタンパク質の存在を確認している¹⁾が、1540 cm^{-1} の吸収の確認できない試料3点においてはこの成分が除去されていると考え

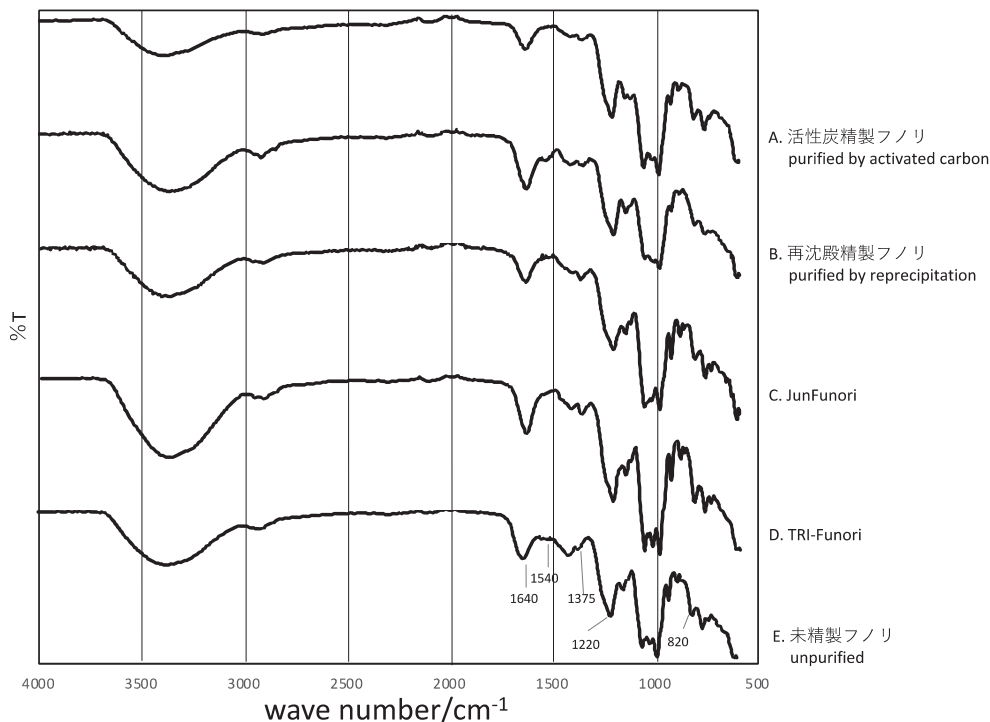


図4 各試料の赤外分光スペクトル

るのが妥当であろう。これらの試料は、カビ抵抗性試験の結果でも相対的に良好な成績であったこととも照応する。

タンパク質の特徴的な吸収位置としては他に 1640 cm^{-1} 付近のアミド I に起因する吸収があり、この位置の吸収も全試料から確認された。しかし、吸着水の H-O-H の変角振動に由来する吸収もこの位置に存在する¹¹⁾こと、そして、今回の試料中、最終工程で脱水性のあるアセトンを用いている活性炭精製フノリと再沈殿精製フノリにおいては、この吸収が相対的に小さいことを考え併せると、今回確認された 1640 cm^{-1} 付近の吸収は吸着水由来と考えられ、タンパク質の指標としては 1540 cm^{-1} を考察することが妥当であろう。

5. まとめ

フノリ抽出物の使用にあたって文化財修復現場で課題とされてきたカビの発生について、精製による抑制効果を評価した。活性炭吸着と再沈殿とを使用した2種類の精製フノリを作製し、これに市販の精製フノリ2点を加えた4点を試料とした。また、未精製の 20°C 抽出した試料を比較試料として用意した。

これらの試料に対し、カビ抵抗性試験、GFC を用いた分子量測定、赤外分光分析を行った。カビ抵抗性試験では、全ての試料は、室温で密閉保管ではカビは発生せず、先行研究における煮出して作製したフノリより良好な結果が得られた。しかし、再沈殿精製フノリは、80% RH 程度の条件で保管した場合には早期に顕著にカビが発生しており、この手法では完全にはカビ発生の原因成分を除去しきれないことが明らかになった。一方、市販品の2品ではこの条件でもカビは発生せず、精製が十分であることが示唆された。活性炭精製のフノリは再沈殿精製フノリよりは良好な結果が得られたものの、試験体によって結果が異なり、場合によってはカビ

が発生することが確認された。

分子量測定では、TRI-Funoriを除いて低分子量成分のピークが1つであり、一般的なフノリは低分子量成分が2つあることから、精製作業において何らかの成分が除去されている可能性が高いことが確認された。一方で、高分子量成分では再沈殿精製フノリが顕著に大きくなっており、再沈殿により、高分子量成分の中の低分子量成分が除去されている可能性と分子間の結合が高まる可能性とが示唆された。

赤外分光分析において、再沈殿精製フノリと未精製フノリではアミドⅡに由来する吸収が確認されており、この2つの試料においてカビ抵抗性が低かった結果と対応した。

以上、先行研究と併せて考察すると、カビ抵抗性については、煮出したフノリより20℃抽出フノリの方が高いこと、再沈殿精製試料より活性炭精製試料の方が高いこと、試料として用いた2種の市販の精製フノリはとても高いこと、の3点が明らかとなった。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、一部の試料作製に奈良文化財研究所の装置や機器を使用させて頂きました。また、カビ抵抗性試験の試料作製について、東京文化財研究所佐藤嘉則生物科学研究室長にご助言とご協力、および平戸杜飛研究補佐員、中村恵里花研究補佐員にご助力頂きました。ここに記して感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 早川典子、荒木臣紀、貝沼諭、田畔徳一、川野邊渉：文化財修復材料としてのフノリ抽出物の特性、文化財保存修復学会誌、48、16-32 (2004)
- 2) 早川典子、大村卓也、原由宇稀、楠京子、貴田啓子、本多貴之：フノリ抽出物の物性に及ぼす抽出条件の影響—温度・種・水の硬度—、文化財保存修復学会第37回大会研究発表要旨集、62-63 (2015)
- 3) 原由宇稀、早川典子、本多貴之：水の硬度がフノリの固化や溶解性に与える影響の検討、文化財保存修復学会第37回大会研究発表要旨集、210-211 (2015)
- 4) Susumu Hirase, Choji Araki, and Toshiya Ito: Isolation of Agarobiose Derivative from the Mucilage of *Gloiopeltis Furucata*, Bulletin of the Chemical Society of Japan, 31(4), 428-431 (1958)
- 5) Ryo Takano, Kaeko Hayashi, Saburo Hayashi, and Susumu Hirase: Funoran from the red seaweed, *Gloiopeltis Complanata*: Polysaccharides with Sulphated Agarose Structure and their Precursor Structure, Carbohydrate Polymers, 27, 305-311, (1955)
- 6) Ryo Takano, Hiroko Iwane-Sakata, Kaeko Hayashi, Saburo Hara, and Susumu Hirase: Concurrence of Agaroid and Carrageenan Chains in Funoran from the Red Seaweed *Gloiopeltis Furcata* Post. Et Ruprecht (*Cryptonemia* Les, *Rhodophyta*), Carbohydrate Polymers, 35, 81-87 (1998)
- 7) Thomas Geiger and Françoise: Studies on the Polysaccharide JunFunori Used to Consolidate Matt Paint, Studies in Conservation, vol.50, No.3, 193-204 (2005)
- 8) <https://TRI-Funori.com/traditional-uses-of-funori/> (参照：2021年11月12日)
- 9) 早川典子、中右恵理子、木川りか、沖本明子、川野辺渉：絵画表面に用いる修復材料の基礎的研究、文化財保存修復学会誌、53、1-19 (2008)
- 10) Rando Tuvikene, Marju Robal, Daisuke Fujita, Kadri Saluri, Kalle Truus, Yuri Tashiro, Hiroo Ogawa, and Shingo Matsukawa: Funorans from *Gloiopeltis* species. Part1. Extraction and

Structural Characteristics, Food Hydrocolloids, vol.3, 1-12 (2014)

- 11) 前川英一、北尾弘一郎：木材セルロースと関連多糖類の IR スペクトル、木材研究：京都大学木材研究所報告、43、1-8、(1968)

キーワード：フノリ (funori)；精製 (purification)；カビ抵抗性 (mold susceptibility)；GFC；FT-IR

Evaluation of the Effect of Purification on Characteristics and Mold Susceptibility of *Funori*

HAYAKAWA Noriko, KIM Minjung* and KASHIWAYA Akemi**

Funori is a traditional material used for conservation treatments and production of traditional craft objects for over a thousand years. Several kinds of red agars in Japan are classified as *funori* species and they are commercially distributed as “dried *funori*” after being harvested, dried, and bleached under sunlight with small amounts of bleaching agents. “Dried *funori*” is extracted with water and heat; after that, it is used as a facing adhesive because of its high water-solubility, and as a thickener. Current researches clarified that its viscosity changes depending on extracting condition, temperature, water hardness, species and other factors. While these facts make characteristics of extracts easy to control, molds tend to generate at areas where *funori* is used. It is an issue when Japanese conservators use *funori*.

The main components of *funori* extracts are funorans which are composed of sulphated agaroid chains and sulphated carrageenan chains. The ratio and structures of those polysaccharides are different in each species, and it is difficult for both agaroid and carrageenan to be degraded by microorganisms. On the other hand, it has been clarified that *funori* extract includes impurities, for example polypeptides which are easy to be degraded by microorganisms. Therefore, it was supposed possible to prevent from mold generation on the *funori*-applied areas by removing impurities in this research. The effects of *funori* purification were considered with two samples prepared in the laboratory by different methods and two commercial purified *funori*.

The evaluation was conducted by mold susceptibility test, gel filtration chromatography (GFC), and FT-IR. In the results of the mold susceptibility test, all samples kept under the condition without water vapors showed no mold; on the other hand, samples kept under the condition with water vapors showed various results. While two commercial products did not show any mold generation, the sample purified with reprecipitation showed mold generation significantly, and the sample purified with activated carbon showed some mold generation. In the results of GFC, the sample without TRI-*funori* showed only one peak under 10×10^3 molecular weight area. It is thought that there are two reason for this result; one is a fraction had been removed by purification, based on the fact that normal *funori* showed two peaks in the area according to previous research, and the other is that it was caused by differences in raw materials. In FT-IR results, the absorption band identified amid II was shown in only the sample purified with reprecipitation and unpurified sample. It seemed that the result was correspondent with the result of the mold susceptibility test. Based on these results, purification with reprecipitation has insufficient effects on *funori* to prevent mold generation. It was also considered that the *funori* extracted at 20°C possessed lower mold susceptibility

*Shubi Co., Ltd.

**The Japan Art Institute

than the sample extracted with heating as was mentioned in a previous paper.