

水損紙資料に発生する糸状菌に対する l-Menthol を用いた発育阻止研究

Research on Mold Growth Inhibition in Flood-damaged Paper Using l-Menthol

岸 創哉
KISHI Souya

1. はじめに

近年、台風や豪雨などの自然災害が頻発し被災し文化財の救出、応急処置法に注目が集まっている。特に水損紙資料は糸状菌の被害を防ぐため迅速な冷凍や乾燥、脱酸素、ガス燻蒸を必要とするが、設備や予算の問題で処理までに時間がかかる。また災害時のライフライン復旧や人命救助などが優先され、資料を保存するための十分な時間が与えられる間もなく糸状菌が繁殖してしまうことがある。日本画や浮世絵など顔料を使用した資料については冷凍が困難であり、脱酸素剤を用いることで変色する恐れもある。本研究では安価で簡便、被災後速やかに実施可能で、糸状菌の発育を阻止することを目的に l-Menthol 結晶(以下メントール)を利用した発育阻止法について検討している。本研究では水損紙資料で検出歴のある糸状菌 6 種に対して、密閉容器内で昇華したメントールの糸状菌に対する発育阻止効果について検証し、処置に必要なメントールの封入量を明らかにした。発育阻止を行う空間の体積に対するメントール封入量の指標を作成した。また水損紙資料を構成する紙 2 種および顔料 3 種に対するメントールの影響について暴露試験を通して調査した。

2. 材料と方法

(1) 材料

供試菌株は水損紙資料に検出歴のある 6 種を選択した。好湿性菌 3 種(*Trichoderma viride*, *Stachybotrys chartarum*, *Chaetomium globosum*)、耐乾性菌 1 種(*Penicillium steckii*)、好乾性菌 2 種(*Eurotium chevalieri*, *Aspergillus restrictus*)とした。以下、属名は頭文字に省略する。l-メントールは実用化を考慮し試薬品ではなく 100g あたり 1200 円程度の市販品(記載純度 98.0%)を使用した。実験前に熱脱着ガスクロマトグラフィー質量分析法により夾雑物の定性分析を実施したところ、l-メントールの他に d-メントールが微量検出された。対照となる試薬品の l-メントールからは d-メントールの他にイソプレゴールやメントンが検出された。これらが文化財材料へ与える影響は不明である。メントールの昇華速度を一定にするため、結晶はあらかじめすり鉢で細かい粉末状にして表面積を可能な限り揃えた。暴露試験では、洋紙を想定し、セルロース純度の高い定性ろ紙、古文書などに使用される和紙の内代表的な繊維種であ

る楮を用いた楮紙を暴露試験の対象とした。顔料については反応性が高く、(公財)文化財虫菌害研究所の定める認定薬剤の試験法に則った塩基性炭酸鉛($\text{CuCo}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$)、一酸化鉛(PbO)、四酸化三鉛(Pb_3O_4)を対象とした。顔料試料はガラススライドに塗抹した媒材なし試料と 10%膠水溶液に分散させ塗布した媒材あり試料を調製した。

(2) 方法

実験は同一容器内にメントールと各菌株試料を封入し、1 週間培養した後の発育阻止効果を菌糸体の発育面積(mm^2)と孢子形成の有無で評価した(図 1)。供試菌株を PDA 培地と M40Y 培地で前培養した。その後孢子を回収し 0.05% Tween80 水溶液 10ml の中に懸濁させ孢子液を調製した。孢子液の濃度は 10^6 個/ml に調製した。PDA・M40Y の両培地(56.4 mm ϕ , 高さ 10 mm)の中心に円形ろ紙(8 mm ϕ)を置き、各菌株の孢子液を 0.1ml 滴下したものを菌株試料とした。プラスチック容器(内寸: 275×200×46.5 mm)に各菌株試料入り培地 6 枚と湿度制御用の硝酸カリウム飽和水溶液、3 段階の封入量(g)のメントールを入れた設置した。メントールの封入量は理想気体の状態方程式に基づいて決定した。メントール気体の体積が容器の体積と等しくなる場合を推定の空間濃度 100%と考え、全量昇華した際の質量(g)を 100%封入量(g)とした。実験では推定空間濃度 100%, 75%, 50%の 3 濃度の容器に加えて、コントロールとしてメントールを入れない容器を用意した。プラスチック容器はシーリングテープで密閉し、低温インキュベーター(FMU-133i)において 25°C 設定で 168 時間培養した。なおすべての試料は各濃度につき 2 つ作製した。培養中は経時的に菌糸体の長径 a(mm)と短径 b(mm)をデジタルノギスを用いてケースの裏側から測定し、発育面積 $A(\text{mm}^2) = [(a/2) \times (b/2) \times \pi]$ を算出した。同時に写真も撮影し孢子形成を目視で確認した。暴露試験については、紙 2 種、媒材なし顔料 3 種類、媒材あり顔料 3 種類と 10g のメントール結晶、精製水を上述したプラスチックケースに封入し、紙については 696 時間、顔料については 2064 時間 25°C に設定したインキュベーター内でメントールに暴露させた。暴露前後の色の変化は分光測色計(コニカミノルタ製 cm2600-d, MAV, SCI, 10° 視野)を用いて計測し CIE1976 に基づく色差 (ΔE^*ab) を算出した。

3. 結果

図1 aに168時間培養後の発育面積比 [Ir]の平均値を示した。発育面積比は各濃度の $A(\text{mm}^2)$ /対照区の $A(\text{mm}^2)$ から算出した。好湿性菌の *S.chartarum*, *C.globosum*, 好乾性菌の *E.chevalieri*, *A.restrictus* はメントール空間濃度 100%において Ir 0.1 以下で対照と比べて発育面積を 90%以上抑制した。*T.viride* はすべての濃度において発育阻止率は 0%であった。メントール空間濃度と発育阻止効果に相関があることが示された。空間濃度 100%のケースから、昇華せず残ったメントールを秤量し、密閉容器内の推定空間濃度を算出した。*T.viride* の経時的な発育面積と密閉容器内のメントールの推定空間濃度の変化を図1 bに示した。*T.viride* の発育速度は他のカビより速く対照区では 50h 後にはシャーレの直径まで発育しているが、空間濃度 100%では 127h 後に達しており、メントールには *T.viride* の発育にかかる時間を約 1/3 まで抑制する効果があると考えられる。空間濃度 100%の封入量において、推定空間濃度は 1h あたり約 0.5% ずつ上昇しており、168h で約 91% に達していることが明らかとなった。昇華を速くすることで、*T.viride* に対する発育阻止効果を大きくすることができると考える。暴露試験では、メントールを封入した試験区と封入していない対照区の暴露前後の ΔE^*ab の差が、CIE 2004 が定める“知覚できる変退色”($\Delta E^*ab=1.6$) 以下であったものを、メントールによる影響ありと判断した。影響があったと判断されたのは一酸化鉛の媒材なし(試験区:15.4, 対照区:8.49), 媒材あり(試験区:7.88, 対照区:5.8)の試料であった。試験区の方が、変色を抑える結果となったが、機構は未解明である。

4. 考察

メントールは好湿性 2 種, 好乾性 2 種に対して Ir 0.1 以下と高い発育阻止効果を発揮した。相対湿度 60-80%(好乾性菌の発生の恐れ)の容器または空間では空間濃度 75%(封入量 19g/m^3), 相対湿度 80-100%(*T.viride* などの好湿性菌の発生の恐れ)の容器や空間では空間濃度 100%(封入量 25g/m^3)を推奨空間濃度として設定した。使用する容器. 空間の体積に対するメントール封入量の指標を作成した(図 2)。今後は手に入りやすい容器での発育阻止効果や他の応急

処置法との併用も加味しさらなる実地応用を進めていきたい。またメントールの変色抑制効果についても追及していきたいと考えている。

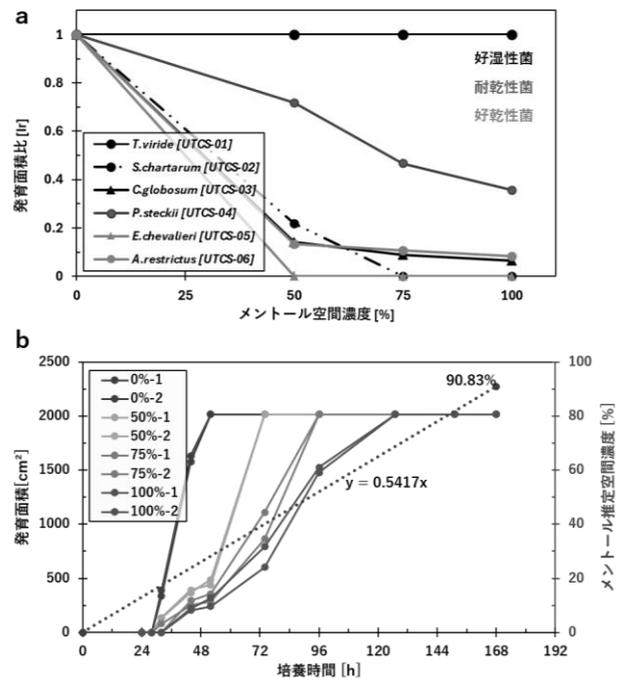


図 1 a: 各空間濃度における供試菌株の発育面積比
b: *T.viride* の経時的な発育面積変化(左軸)およびメントールの推定空間濃度(右軸)

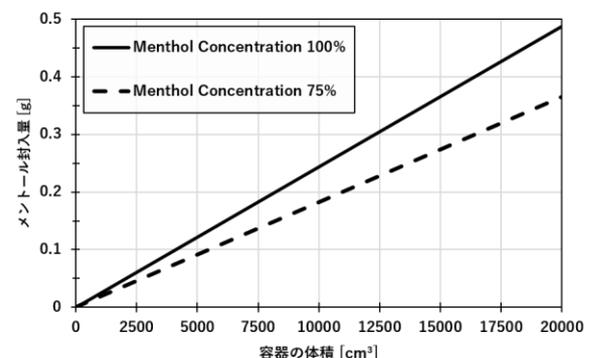


図 2 容器の体積(cm³)に対するメントール封入量を示した指標
実線が空間濃度 100%, 破線が空間濃度 75%

Abstract

This research is investigating a growth inhibition method using l-Menthol crystals (hereinafter referred to as “menthol”), which is inexpensive, simple, and can be performed immediately after a disaster, with the aim of inhibiting the growth of filamentous fungi. In this study, we examined the growth-inhibitory effect of menthol sublimated in a sealed container on six species of filamentous fungi that have been detected in water-damaged paper materials, and clarified the amount of menthol required for the treatment. An index of the amount of menthol contained in relation to the volume of space in which growth inhibition is performed was created.