

薄層クロマトグラフィー法による油彩画のメディウム分析の可能性

高木秀明・大石弓香

1. はじめに

文化財保存修復活動において文化財（作品）の素材についての情報を得ることは、保存（保管）および修復の方針を決定していく上で大変重要なことである。素材の情報を得るには、それらに含まれる成分を明らかにする、つまり物質を同定していくことが必要になる。そして、成分を化学的に考察することではじめて素材の情報としての価値がうまれてくる。

一般的に試料中に含まれる物質の同定には、分析化学的手段を用いられるが、試料の採取（サンプリング）方法により、二つの方法が選択される。一つ目は、試料の採取あるいは亡失のない非破壊分析法、二つ目は、採取あるいは亡失のある破壊分析法である。一つ目の方法では、試料に損傷を与えないという点で理想的であるが、定性の正確さや定量分析の困難さが伴う。二つ目は、許されるならば適用できる分析方法ではあるが、正確さおよび定量性という点では、大変有効な方法である^{註1}。

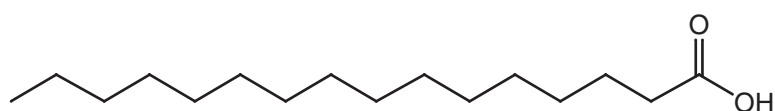
本論文のタイトルにもある油彩画メディウムのような分析には、非破壊分析の適用の難しさから、報告例はほとんどなく、破壊分析で行なわれるのが一般的である。ただし、この場合、直接作品の表面をかき取るのではなく、修復時に発生する廃棄される部位を使用する。

現在まで行なわれている分析事例は、油彩画メディウムの乾性油成分を知ることで、多くは、熱分解ガスクロマトグラフィー法が用いられる¹。しかしながら、熱分解クロマトグラフィー^{註2}は、ガスボンベをはじめとし、排ガス施設など大がかりな設備となるため、スペース及び設置・維持費用の捻出に余裕のある研究機関等においては、設置可能なものの、修復工房や博物館・美術館等の収蔵機関の現場に赴いて分析することは困難である。また、サンプリングをし、依頼分析サービスを利用するにも、依頼者が、すべての分析プロセスに精通していなければならない。結果の考察までに費用はもちろん、時間と試料量を費やすことになる。そこで、小規模かつ迅速に分析できる方法がないかを探索した。そこで高校生物の発展的学習にも活用されるようなクロマトグラフィー法^{註3}、ペーパークロマトグラフィーや薄層クロマトグラフィーに注目し、その可能性について検討した。

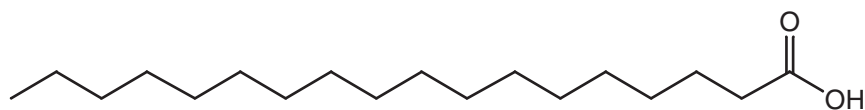
2. 油彩画メディウムの化学的性質

メディウムの主成分であるアマニ油やオリーブ油等の乾性油は、化学的には、脂肪酸とグリセリンのエステル^{註4}である。ここで言う脂肪酸は、炭素-炭素二重結合（不飽和結合）をもつ直鎖形カルボン酸であり、不飽和結合の数や直鎖部分の炭素数により、様々な脂肪酸がある。ここでは、メディウムに使用される乾性油であるアマニ油やオリーブ油をとりあげ説明する。主要な脂肪酸は、パルミチン酸（ $C_{15}H_{31}COOH$ ）、ステアリン酸（ $C_{17}H_{35}COOH$ ）、オレイン酸（ $C_{17}H_{33}COOH$ ）、リノール酸（ $C_{17}H_{31}COOH$ ）、リノレン酸（ $C_{17}H_{29}COOH$ ）である。パルミチン酸はカルボキシル基部分を除いたアルキル基部分の炭素数が15であり他の脂肪酸の17と比較

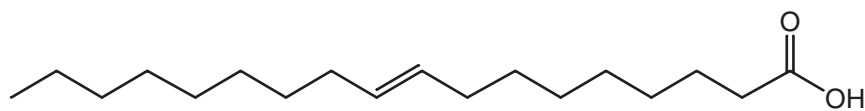
すると幾分少ない。また、パルミチン酸とステアリン酸は、飽和脂肪酸であり、オレイン酸は、不飽和結合を1個、リノール酸は2個、リノレン酸は3個もつ。一般的に飽和結合も持つ飽和脂肪酸で構成される油脂は固化しない。また、不飽和結合を1個もつオレイン酸も固化しない。固化のメカニズムは、二重結合の部分が、乾性油の乾燥過程で、空気中の酸素と結合して、隣接した脂肪酸エステル同士が架橋し、二次元あるいは三次元に高分子化し、丈夫な膜を形成すると考えられている²。しかしながら、具体的な組成および構造は明らかにされていないのと、再現性のある膜が形成するかは明確ではない。



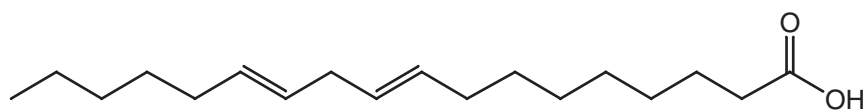
パルミチン酸



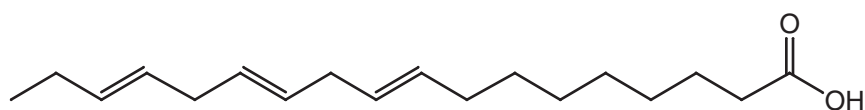
ステアリン酸



オレイン酸



リノール酸



リノレン酸

表1 乾性油の脂肪酸の組成比*

	パルミチン酸	ステアリン酸	オレイン酸	リノール酸	リノレン酸
アマニ油	6.1	3.2	16.6	14.2	59.8
ケシ油	11.2	4.2	11.4	73.3	—
クルミ油	8.0	3.0	15.0	61.0	12.0
ヒマワリ油	7.0	4.4	26.0	62.3	—
サフラワー油	6.0	3.4	12.2	77.0	0.2

*文献2より抜粋

このようにして固化した膜を熱分解クロマトグラフィーで分析する前に、酸の部分は、試薬を用いて、エステル化して、クロマトグラフィー分析が行なわれている。そして、検出された脂肪酸の組成比から、乾燥前の乾性油を推定されている（表1）。このような情報は、作品の履歴や制作された時代背景等を考察するのに役立つと考えられる。

3. クロマトグラフィー法

クロマトグラフィーは、移動相と固定相間でのある化学種の相互作用の様式（分離メカニズム）により分類され、分離そのものは、相互作用の大きさの違いにより行なわれている。また、熱分解ガスクロマトグラフィーのガスクロマトグラフィーは、移動相（試料）が気体状態で移動するが、試料はカラムと呼ばれる気体の流路の内壁にある物質と相互作用しながら通過していく。このとき、試料に含まれる各化学種の通過速度は、内壁の物質との相互作用の大小により異なってくる。つまりこのことが試料を分離することができることになる。

ガスクロマトグラフィーにおいて試料が流路を移動するためには、気体状態でなければならないが、物質（フラグメントと呼ばれる不安定な化学種も含む）の大きさ（質量）がある程度小さくなくてはならない^{注5}。

ポリマーや樹脂のような高分子の場合、ここでは固化した塗膜を細かくする前処理を熱分解によって行っている。熱分解クロマトグラフィーは、メディウムのような有機化合物の分析に向いているといえる。しかしながら、装置の大きさという点では、小規模現場分析には適していないことと、装置の操作にも習熟を要する。

4. 薄層クロマトグラフィー法とペーパークロマトグラフィー法

薄層クロマトグラフィーとペーパークロマトグラフィー、この二つの方法は、先のガスクロマトグラフィー法と大きく違い、分離する過程でカラムという円筒状の試料流路の代わりに、シリカゲルなどの吸着剤の薄層をガラスやアルミニウム板に塗布乾燥したものや紙を用いる。幅1～5 cm、長さ5 cm程度の薄板状の器具を用いるので非常にコンパクトである。また、移動相にガスを利用せず、紙あるいは薄層の毛細管現象を利用して、溶媒を移動させる（展開）。この移動時に、試料と移動相との間で、分配や吸脱着を繰り返すが、この速度の違いにより分離されることになる。化学種をいかに分離するかは、吸着剤の選択と展開溶媒（この場合、二種類以上の溶媒を適切な比に混合して用いることも一般的に行われている）を変化させて最適な分離を試みることである。溶媒の種類や溶媒の混合比を変えることで、溶媒極性が変化し、それに応じて分離の仕方が変わってくる。

薄層クロマトグラフィーでは、図1のように原点にスポットを毛細管を用いて打ち、展開溶媒の入った展開槽と呼ばれる展開溶媒で飽和された密閉容器内で展開される。溶媒面は、原点よりも下方であるが、フロントと呼ばれるところまで、展開させ、容器から取り出す。展開溶媒が薄層上を上昇するように移動するので、上昇法と呼ばれる。図1のように、一度展開し、分離分析を行う1次元展開と正形状の薄層板を利用し、1次元展開後、薄層板を乾燥させ、90度回転させ展開槽に入れ、展開を行う2次元展開も行われる。1次元展開は、試料中の成分が少数で互いに分離しやすいとき、試料中の目的成分が他の成分から分離されやすいときに用いられる。2次元展開は、試料中の多数の成分を、とくにその少量成分について分離同定す

るときなどに効果的である。スポットの展開速度、つまり薄層、ペーパー上を移動する速度の速い・遅いによって分離される。溶媒の進んだ距離 (a) を分母にとり測定対象種の進んだ距離 (b)^{註6}を分子にとるとその比 (b/a) が移動率、Rf値と呼ばれる、となる。同じプレートで同じ溶媒で展開した場合、同一化合物であればRf値は同じとなる。

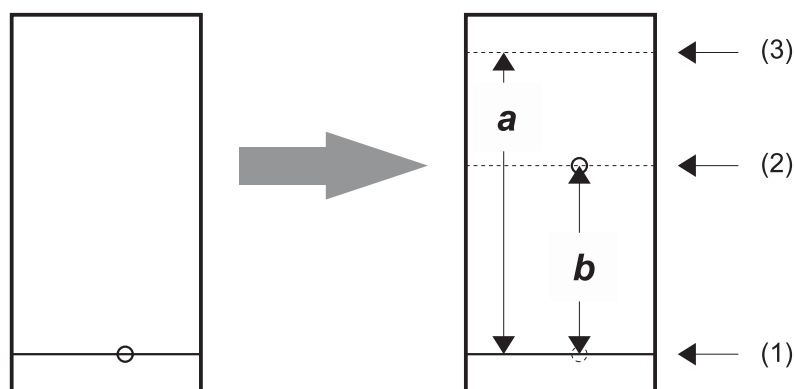


図1 薄層クロマトグラフィーにおける移動率の決定

左側が展開前、右側が展開後。a：溶媒の移動した距離、b：スポットが移動した距離、(1)：原点、(2)：試料成分のスポットの位置、(3)：フロント（展開溶媒の移動した位置）

図1では模式的に試料が移動後の位置を記載したが、実際には目視ができない場合がある。その場合、移動したスポットを検出するため、紫外線、蛍光剤、化学反応を利用した発色剤を薄層に塗布し、可視化した後、検出することがある。

ペーパークロマトグラフィーは、薄層とは異なり、溶媒とペーパーの吸着水の間での分配能の違いを利用して、脂質を相互分離し検出しようとするものである。薄層クロマトグラフィーに比べ、分離性がやや劣るが、脂質の水溶性成分の分析に適することからよく利用される。ペーパーは、試料をろ過するためのろ紙を使用する。紙でできたもの他にガラス繊維でできたろ紙もある。

ペーパーはそのままでも使用できるが、ケイ酸やイオン交換樹脂をペーパーに固定したり、炭化水素であるウンデカンやパラフィンをろ紙にしみ込ませたりして使用する。前者をケイ酸ペーパー、後者を溶媒ペーパーと呼ばれる。

実際の手順については、薄層クロマトグラフィーとほぼ同じである。また、検出方法も対象となる試料の化学的性質にほぼ依存するので類似であるといえる。

以上のような、薄層およびペーパークロマトグラフィーの特性をいかして、文化財の化学分析に利用できるのではないかと考え、最初に、文化財保存修復の分野における化学分析において、薄層およびペーパークロマトグラフィーが過去に使用されていないかの文献調査をおこなった。代表的な著作物として、1996年にScientific Tools for Conservation³として、薄層クロマトグラフィーを用いた接着剤 (binding media) の分析についてまとめられている。しかしながら、触れられているのは、たんぱく質 (proteins)、炭水化物 (carbohydrates)、ワックス (wax)、樹脂 (resins) であり、油彩画メディウムは見当たらなかった。それゆえ薄層クロマトグラフィーでは不可能なのかを検証することにした。

5. 脂質・酸化脂質の薄層・ペーパークロマトグラフィーによる分析⁴

生物化学において生物の体内に存在する脂質を化学的に分析することは避けられないことである。さらに、医学・農学・食品学への多岐にわたる応用においても脂質を分析し、物質を同定することは必要不可欠である。筆者は、この点に注目し、自然由来の材料でもある油脂や乾性油あるいはそれらが、酸化され生成した物質の分析方法が確立されており、それを採用すればよいと考えた。

生物化学的には、脂質をそれぞれ構造や性質などの特徴から、油脂・リン脂質・糖脂質・ステロールなどの名称で呼ばれ、さらに、それらが、酸化されて生成した酸化脂質や過酸化脂質と呼ばれる。

脂質および酸化脂質の薄層クロマトグラフィーについての概略については次のとおりである。

ガラス板やアルミニウム板に塗布する吸着剤として、シリカ（ケイ酸）ゲルが脂質一般に使用される。また、シリカゲルに硫酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、硝酸銀などを加えることで、酸・塩基性のことなる試料に対応することができる。シリカゲルは極性の高い化学種に対する吸着力が高い。極性の高い試料は、極性の高い溶媒にて展開する必要がある。つまり、極性の低い化学種のスポットほど速く移動し、展開速度が速い。一方、極性の高い化学種は、原点にとどまることになる。シリカゲルは、極性物質に対して吸着性が高いが、逆にシリカ表面を疎水処理することで、極性の低い物質をより強く吸着させることもでき、これらは逆相プレートと呼ばれる。脂肪酸、脂肪酸エステル、グリセリドなどの各同族体^{注7}を相互分離するのに用いられる。

乾性油の構成成分である脂肪酸エステル、トリグリセリド、脂肪酸は、単純脂質に分類されるが、それらを薄層クロマトグラフィーで展開する場合、ヘキサン（石油エーテル^{注8}）-エーテルの混合溶媒やヘキサン-ベンゼン、ヘキサン-エーテル-酢酸混合溶媒も使用される。

乾性油と関連する脂質は、無色のものが多い。展開した後、スポットの移動距離を検出するために、蛍光剤を含んだ薄層プレートで展開し、乾燥後、プレートに紫外線を照射して検出する方法や乾燥させたプレートに試料成分と結合するような発色剤を噴霧し、検出する方法がある。後者の場合、検出方法にもよるが、プレートを加熱することもある。発色試薬は、試料成分を分解する分解性試薬と非分解性試薬に分類できる。

脂質一般に使用される分解性試薬として、硫酸、硫酸-ニクロム酸、非分解性試薬としてヨウ素、ローダミン6G、ローダミンB、ジクロロフルオレッセイン、リンモリブデン酸などがある。硫酸液、硫酸-ニクロム酸混合液とも脂質は炭化し、褐～黒色のスポットとしてあらわれる。ヨウ素を使用する場合は、密閉容器にヨウ素片を入れ、昇華したヨウ素蒸気を吸収した脂質は、黄色か褐色のスポットとしてあらわれる。ローダミン6Gで検出する場合は、エタノール溶液噴霧し、湿っている間に紫外線（366nm）下で観察すると単純脂質は、黄～オレンジ色に、過酸化脂質は青灰色の蛍光スポットとなる。プレートが乾くとほとんどのスポットは黄色となる。ジクロロフルオレッセインのエタノール溶液を乾燥プレートに噴霧し、紫外線下（366nm）で観察すると単純脂質は、紫色の背景に黄色のスポットとして現れる。

乾性油に関連する脂質の薄層クロマトグラフィーで観測されるRf値は表2のとおりとなる。

表2 乾性油に関連する脂質のRf値 (ケイ酸薄層クロマトグラフィー)

	Rf値					
	a	b	c	d	e	f
脂肪酸メチルエステル	0.08	0.65	0.77	0.75		
トリグリセリド	—	0.3~0.4	0.60	0.70	0.60	0.82
遊離脂肪酸	—	0.18	0.39	0.62	0.25	0.50

展開溶媒：a, ヘプタン-ベンゼン(1:1); b, ヘキサン-エーテル-酢酸(90:10:1); c, ヘキサン-エーテル-酢酸(80:20:1); d, イソプロピルエーテル-酢酸(96:4), ついで展開溶媒bを使用; f, ヘプタン-イソプロピルエーテル-酢酸(60:40:4).

また逆相プレートSilica gel G-硝酸銀、展開溶媒ベンゼン-エーテル(8:2)、検出試薬2',7'-ジクロロフルオレッセインを使用したトリグリセリドの薄層クロマトグラフィーの場合、トリグリセリドに含まれる脂肪酸中の二重結合数が増えるとRf値は小さくなる傾向が報告されている。

過酸化脂質の場合は、Silica gel 60プレート、展開溶媒ヘキサン-ジエチルエーテル-酢酸を使用した薄層クロマトグラフィーの場合共存する未酸化脂質とともに全脂質が検出される。

脂質のペーパークロマトグラフィーは、展開溶媒の種類を除いて、薄層クロマトグラフィーの場合とほぼ同じであるが、特にケイ酸ペーパークロマトグラフィーでは、分離のパターンはケイ酸薄層クロマトグラフィーとほぼ同じである。展開溶媒は、脂質用と水溶成分用の2種類に大分類される。一般脂質用としては、ヘプタン-ジイソブチルケトン-酢酸がよいとされる。水溶成分の分別にはフェノール-水、水飽和フェノール-エタノール-酢酸が使用される。

6. まとめ

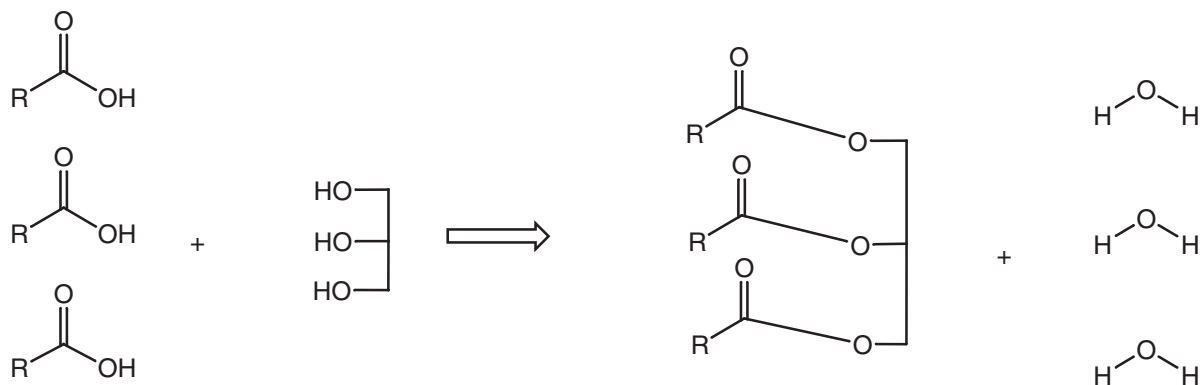
油彩画のメディウムには乾性油が含まれ、それが空気中の酸素により固化することが知られている。画材のとしての乾性油は、アマニ油やオリーブ油等の呼称で呼ばれるが、それらの乾性油中には、脂肪酸とグリセリンのエステルである油脂が数種類含まれる。呼称が変われば、その存在比も変化する。存在比を知る分析は、大変重要でもある。そこで、従来から行われているガスクロマトグラフィーに代わる迅速かつ小規模な分析方法として薄層あるいはペーパークロマトグラフィーに注目して、メディウムを化学分析し、それらに使用されている乾性油の種類などを推定できると考えた。生物化学分析では、脂質分析として一般的であったので、脂質及び酸化脂質の分析の方法について調査した。今後、実際に実験を行うことでさらにその可能性が高まると期待される。加えて、文化財を対象とした薄層およびペーパークロマトグラフィーが行われていないかを並行して文献調査する必要があると考えられる。

注

- 注1) 素材の組成や化学物質の同定が主な研究のターゲットとなるため、定量性の良さが要求される。
- 注2) クロマトグラフィーは、分離分析の代名詞のようなもので、試料中に含まれる多成分の化学種を単一成分に分離し、分離された成分の量を検出することで定量的な結果が得られる。
- 注3) 高等学校で採用される生物分野の副教材として生物図録5があるが、この中に光合成色素の分離実験がある。緑葉をすりつぶし、メタノール-アセトンの混合溶媒で抽出した液をペーパークロマトグラ

フィーや薄層クロマトグラフィーで、葉緑素に含まれる複数の化学種を分離している。使用している機材は、市販の理化学用紙、薄層プレートと溶媒（エタノール+トルエン）、ガラス製の毛细管、試験管、ゴム栓である。

注4) エステルとはカルボン酸とアルコールが脱水縮合した官能基をもつ化合物群を総称したものである。3分子の脂肪酸と1分子のグリセリン（グリセロール）がエステル化すると、1分子のトリグリセリド（油脂）と3分子の水が生成する



注5) ガスクロマトグラフィーによって定量できる条件は、温度：50～300℃、化合物は揮発性があり、安定であること。具体的には次の物質に対して有効である⁶⁾。

- ・すべての気体
- ・固体、液体を問わず非イオン性有機分子で、約25の炭素数までのもの
- ・多くの有機金属化合物（金属イオンの揮発性誘導体が調製できるもの）

化合物が揮発性でないあるいは安定でない場合には、それらは、ガスクロマトグラフィーに導入できるように誘導体化される。ガスクロマトグラフィーは塩や巨大分子に使用できない。

注6) 本論文の図1では、単一成分の試料を展開した場合の模式図を掲載した。複数成分が原点のスポットに含まれる場合は、各成分のRf値の違いにより分離される。もちろん、原点から全く移動しない成分も観測される場合がある。

注7) ここでいう同族体とは、分子式の異なる化合物であるが化学的性質が似た化合物群、脂肪酸や脂肪酸エステルと呼ばれる各群の中において、分子中の鎖の長さの違い、つまり炭素と水素の(CH₂)_n整数比が異なる化合物間を同族体の関係にあるという。

注8) 石油エーテル（petroleum ether）は工業ガソリンの一種である。単一の化合物ではなく、ペンタン（C₅H₁₂）やヘキサン（C₆H₁₄）等が含まれる。化学の分野でエーテルと呼ぶとジエチルエーテル（(C₂H₅)₂O）のように酸素を含む化合物の総称あるいはジエチルエーテルの略称として呼ばれることが多い。石油エーテルを溶媒や抽出溶剤として使用されることがあるが、化学および応用化学の研究論文では、それらが使用される例は少なくなってきており、単一の化合物、例えばヘキサンを使用することが多い。

参考文献

- 1) 京都造形芸術大学 編 文化財保存のための保存科学入門 角川書店 2002年 pp.120-137.
- 2) ホルベイン工業技術部 編 絵具の科学 中央公論美術出版 1994年pp.54-62.

- 3) Mary F. Striegel, Jo Hill, "Thin-Layer Chromatography for Binding Media Analysis", The Getty Conservation Institute, 1996, pp.39-66.
- 4) 宮澤陽夫・藤野泰郎 編著 脂質・酸化脂質分析法入門 学会出版センター 2000年 pp.91-132.
- 5) 鈴木孝仁 監修 視覚でとらえるフォトサイエンス 生物図録 数研出版 2007年 p163.
- 6) 原口紘亮 監訳 原書第6版クリスチャン分析化学Ⅱ 機器分析編 丸善 2005年 p247.