

出土木材 PEG 含浸槽における PEG 分解菌

木川りか¹⁾・横田 明²⁾・西尾太加二³⁾

1. はじめに

PEG (ポリエチレングリコール) 含浸法は、出土木材の保存処理法のひとつとして広く採用されている方法である (Christensen: 1970, 沢田: 1972, Hoffmann: 1984, 1986, Dean et al.: 1996)。しかし、一部では処理の過程で PEG が低分子化することや酸化分解物が生成することも指摘されており (Padfield et al.: 1990, Bilz et al.: 1993, 増澤ら: 1995, Glastrup: 1996), これらの分解物のなかには含浸槽や遺物に悪影響を与えるものもある。PEG の分解過程については、熱による酸化分解などが一般的な要因として考えられている (Bilz et al.: 1993, Glastrup: 1996)。しかし、処理条件によっては PEG 溶液がバクテリア・カビ等により腐敗を被ることもあり、(木川: 1994, Björdal and Nilsson: 2001) このような微生物がなんらかの影響を及ぼしている可能性もある。筆者らは、PEG 溶液の腐敗例をいくつか調べた結果、中には PEG を分解するバクテリアが増殖している例があることがわかった。このことから、PEG 溶液の劣化には、化学的分解のみならず生物的分解も関与していることが明らかになってきた。

なお、本報の一部は、第17回古文化財科学研究会大会 (現文化財保存修復学会) (1995年神奈川) および IIC Congress, Archaeological Conservation and Its Consequences (1996年Copenhagen) で発表した。

2. 調査の経緯

静岡県埋蔵文化財調査研究所において、巴川出土丸木舟を 5% の PEG400 溶液に常温で含浸した際、顕著に溶液の腐敗が起こった例が報告されている (木川: 1994)。このときの溶液の腐敗は、PEG400 の投入後、1 週間という短期間に起こっており、あたかも PEG400 の添加によって触発されたかのようなようであった。すなわち、PEG400 を投入する以前の期間における 3 カ月の水中保

¹⁾ 独立行政法人文化財研究所 東京文化財研究所: 〒110-8713 東京都台東区上野公園13-43

²⁾ 東京大学 分子細胞生物学研究所: 〒113-0032 東京都文京区弥生1-1-1

³⁾ (財) 静岡県埋蔵文化財調査研究所: 〒424-0044 清水市江尻台町18-5

キーワード: 出土木材 (waterlogged wood), PEG (PEG, polyethylene glycol), 生物劣化 (biodegradation),
バクテリア (bacteria)

存、2カ月の1.5%EDTA処理が行われている間は腐敗の兆候はみられなかったにもかかわらず、溶液の腐敗はPEG含浸処理開始後1週間という短期間に起こっている（木川：1994）。

急激なPEG溶液の腐敗の原因として、ひとつはPEGを添加することによって処理木材からの栄養物質が浸出し、一般的な微生物が増殖した可能性、またもうひとつはPEGを栄養源として分解できる細菌が増殖した可能性、が考えられる。以前の調査では、前者の可能性は支持されたが（木川：1994）、後者の可能性については未解決であった。そこで、今回、PEG含浸溶液の腐敗に、PEGを分解できる微生物が関与している例があるかどうかを調べた。

3. 溶液試料およびPEG分解菌の分離

調査したPEG溶液試料は表1のとおりである。いずれも、静岡県埋蔵文化財調査研究所で処理を行っていたものである。今回は、常温処理槽を主体に調査した。当時、ここでは20%のPEG4000溶液、または40%のPEG4000溶液において、出土木材片が非常に系統的に処理されていた（西尾・青木：1997）（図1）。問題のない処理槽も多かったが、いくつかの処理槽においては、微生物によるものと思われる溶液の濁りが観察された（図2）ため、それらの溶液を調査した。また、巴川出土丸木舟については、調査当時はすでに50℃で含浸処理されているため特に問題はなかったが、念のために再調査を行った。

表1 PEG4000溶液試料
Table1. PEG4000 Solutions for Investigation

No.	Treatment tank	Treatment temperature	Concentration of PEG 4000 (%)	Date of preparing PEG solution
1	Tank E (丸木舟本体)	50.0℃	24.4	05/12/94
2	Tank B (丸木舟崩壊部)	50.0℃	22.2	04/28/94
3	BA-07	Room temperature	15.2	06/14/93
4	CA-10	Room temperature	14.3	01/17/94
5	CC-04	Room temperature	42.1	09/01/93
6	CC-05	Room temperature	39.2	05/23/94

溶液の採取は、いずれも1994年10月に行われ、PEG分解菌の分離は、緒方らの方法（Ogata et al.: 1975）を参考に行った。すなわち、各試料各0.05mlを1%PEG400あるいは0.5%PEG4000を炭素源とする液体培地5mlに加え、28℃で6日間震盪培養した。その結果、明らかに細菌等の微生物による濁りがみられたものを、 10^2 倍から 10^5 倍までの4段階に希釈し、1%PEG400あるいは0.5%PEG4000を炭素源とする寒天培地に拡げた。

使用した液体培地、および寒天培地の組成は以下の通りである。

液体培地 (liquid medium)

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.3%
K_2HPO_4	0.2%
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1%
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05%
Yeast extract (Wako)	0.05%
PEG400 (Nakarai)	1.0%
or PEG4000 (Nakarai)	0.5%
adjusted to pH7.2	

寒天培地 (Agar medium)

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.3%
K_2HPO_4	0.2%
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1%
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05%
Yeast extract (Wako)	0.03%
PEG400 (Nakarai)	1.0%
or PEG4000 (Nakarai)	0.5%
or no PEG	
agar	1.5%
adjusted to pH7.2	

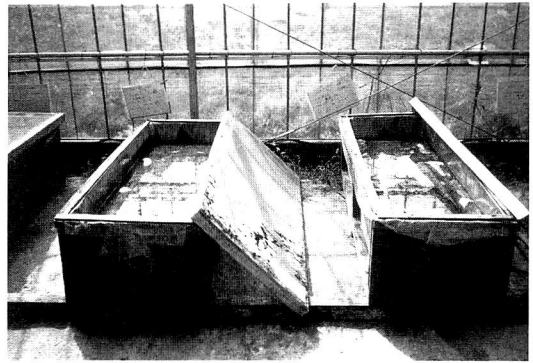
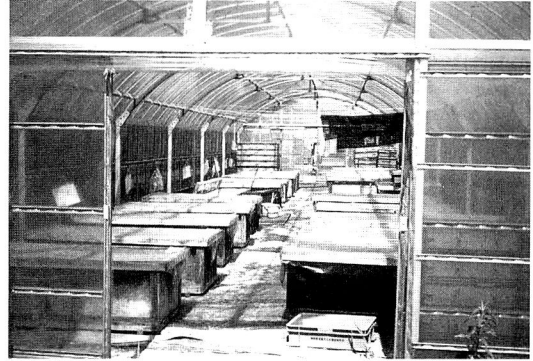
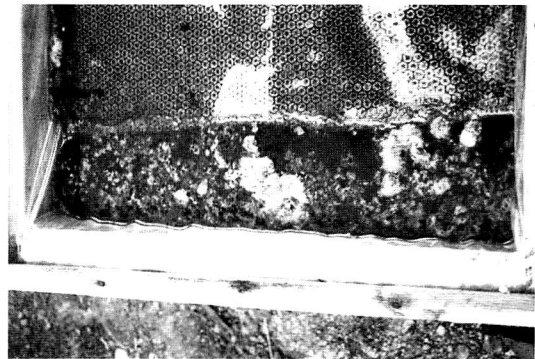


図1 出土木材の常温におけるPEG4000含浸処理の様子。20%のPEG4000溶液、または40%のPEG4000溶液において、出土木材片の系統的な処理が行われていた。各処理槽でおよそ100片の出土木材片の処理が行われていた。

Fig.1 PEG4000 Treatment Tanks for Excavated Wood (Room temperature)
Polyethylene glycol treatments were carried out systematically in ca. 20% and 40% PEG 4000 solutions at room temperature at Shizuoka Research Institute of Buried Cultural Properties. Approximately 100 pieces of waterlogged wood were treated at the same time in each treatment tank.

図2 濁りのみられるPEG4000溶液表面の例。いくつかの処理槽で微生物によると思われる濁りがみられた。

Fig.2 An Example of Turbid PEG4000 Solution
In several cases, PEG4000 solutions became turbid, which suggested the growth of microorganisms.



4. 結果と考察

4-1. PEG分解活性をもつバクテリアの検出

濁りのみられた常温処理槽の試料をPEGを炭素源として含む液体培地に加え、培養した結果、いくつかの試料のうち、表1の試料No.3において、PEG400を炭素源とする培地で、明らかにバクテリアの増殖によると考えられる溶液の顕著な濁りがみられた(図3)。さらにこの濁りのみられた溶液を、PEGを炭素源として含む寒天に拡げたところ、PEG400を含む培地でPEGを分解すると思われるバクテリアの大きなコロニーが見い出された(図4, 下段, 右)。この系では、PEG分解活性をもつバクテリアのみが、PEGを炭素源として加えた培地で大きなコロニーを形成することができる。これらのバクテリアは、PEGを加えていない培地では、大きなコロニーを形成す

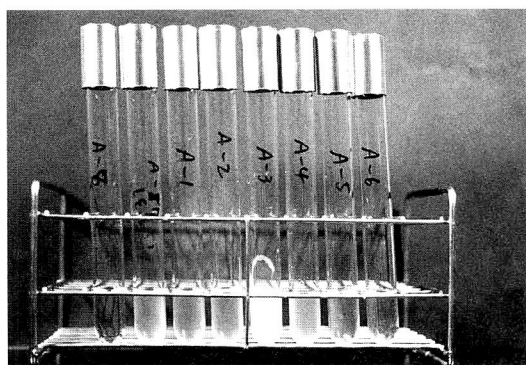


図3 PEG分解菌の検出
少量のPEG溶液試料を1%PEG400あるいは0.5%PEG4000を炭素源とする液体培地5mlに加え、28℃で震盪培養した。その結果、No.3の試料で明らかにバクテリア等の微生物による濁りがみられた。

Fig.3 Detection of PEG-degrading Bacteria
Small volume of the PEG solutions was cultured in liquid media containing 1% PEG 400 or 0.5% PEG 4000. Sample No.3 showed significant turbidity in the media containing 1% PEG 400, and it was very likely to contain PEG-degrading bacteria.

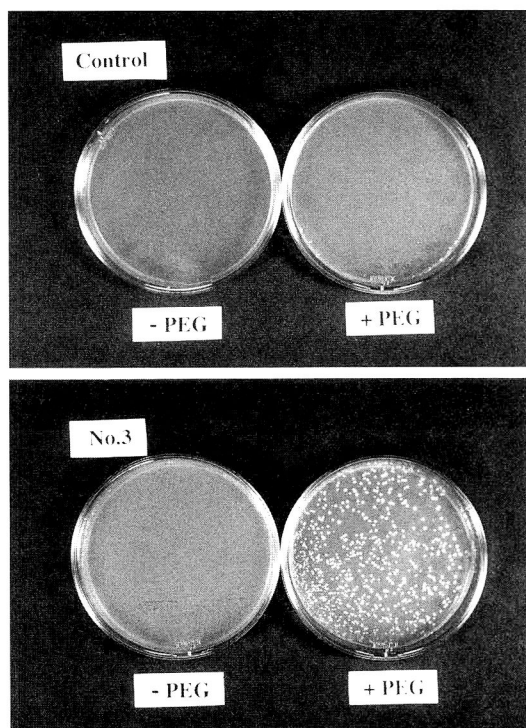


図4 PEG400分解菌のコロニー(写真下)および対照のコロニー(写真上)
PEG分解菌が増殖したと考えられるNo.3の試料の液体培地を希釈して、寒天培地に拡げた結果、PEG400を炭素源として含む寒天培地でのみPEG分解菌による大きなコロニーがみられた。対照の大腸菌MV1190ではこのようなコロニーはみられなかった。

Fig.4 Colonies of PEG400-degrading Bacteria (bottom) and of a Negative Control Bacterial Strain (top)
The culture, which showed significant growth of bacteria, was diluted and spread onto agar plates containing PEG. Large colonies of bacteria appeared in the case of sample No.3, only on the agar media containing PEG 400, but not on the agar depleted of PEG (bottom). A negative control strain, *Escherichia coli* (MV1190), showed no large colonies (top).

ることはできない (図4, 下段, 左)。一方, 対照として大腸菌 *Escherichia coli* (MV1190) (Sambrook et al.: 1989) のようにPEG分解活性をもたない通常のバクテリアをこれらの培地に同様の菌濃度で接種しても, PEG分解菌の場合のような顕著なコロニーを形成することはなかった (図4, 上段)。

さらに詳しく調べると, ここでは2種類のグラム陰性のバクテリアがPEG400の分解に関与していることがわかった。ここでは, そのコロニーの色から, それらをW株とY株と表すことにする。これらは, 単独ではそれほど強いPEG400分解能力を示さないが, 2種が共存すると顕著なPEG400分解能力を示す (図5.6)。このように, 2種類のバクテリアが共存することによって, 顕著なPEG分解活性を示す例は, 以前にも報告がある (Takeuchi et al.: 1993)。また, 今回検出された2種類のPEG分解菌は, PEG400を顕著に分解・資化するものであり, PEG4000については顕著に分解する能力はなかった (図6)。これらのPEG400分解菌が検出されたPEG4000溶液は, 調製後, 1年以上を経過したものであったので, これらのバクテリアはおそらく化学的分解などにより低分子化したPEGを資化していたのではないと思われる。

丸木舟処理槽については, およそ半年間50℃で浸漬処理されていたこともあり, PEG分解菌は検出されなかった。

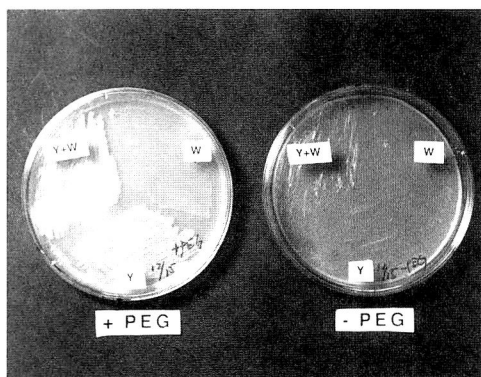


図5 PEG400の分解に関与していた2種類のバクテリア

今回の例では, 2種類のバクテリア (W株, Y株) がPEG400の分解に関与しており, 2種類を混合したときに, PEG分解能が増大することがわかった。

Fig.5 Two Kinds Bacterial Strains Were Involved in PEG400-degradation

In this case, two kinds of bacteria (designated W- and Y- strain, respectively) were involved in PEG degradation. PEG400-degrading ability was evidently amplified when the two kinds of bacteria were mixed.

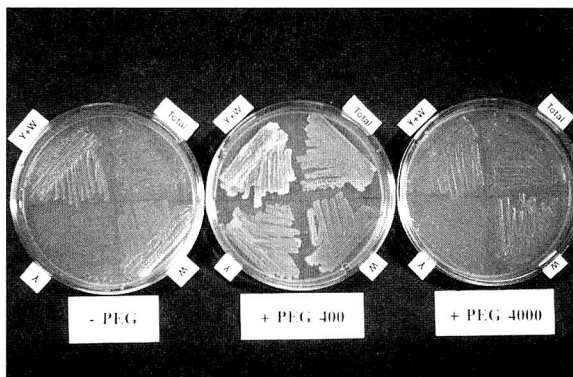


図6 PEG400の分解活性とPEG4000の分解活性の比較

今回検出された2種類のPEG分解菌は, PEG400を顕著に分解・資化するものであり, PEG4000は顕著に分解する能力はなかった。

Fig.6 These Bacteria Degraded PEG 400, But Did Not degrade PEG 4000

The isolated bacteria were not capable of degrading PEG 4000, although they preferentially degraded PEG 400. It suggested that these bacteria utilized lower-molecular-weight PEG, which had been generated from PEG 4000 as a result of chemical fragmentation during the treatment.

4-2. PEG分解活性をもつバクテリアの性質と同定

これら2種類のバクテリアについて, その性状や細胞の構成成分を生化学的に調べることにより,

同定を行った（表2）。いずれもグラム陰性の細菌であり，W株は *Acinetobacter* 属のバクテリア，Y株は *Agrobacterium* 属のバクテリアであると考えられた。

表2 PEG400分解菌の生化学的および性状による同定
 生化学的諸性質および性状を調べた結果，W株は *Acinetobacter* sp.と同定され，Y株は *Agrobacterium* sp.と推定された。

Table 2 Taxonomic Characteristics of the PEG400-assimilating Bacterial Strains
 The PEG-degrading bacteria isolated were identified by analyzing morphological, physiological and chemotaxonomic characteristics. W strain was identified as *Acinetobacter* sp., and Y strain was tentatively identified as *Agrobacterium* sp. These were common bacteria found in soils.

Characteristic	White (W) strain	Yellow (Y) strain
Nitrate reduction	-	-
Indole production	-	-
Acid from glucose	+	-
Arginine dihydrolase	-	-
Urease production	-	+
Hydrolysis of :		
esculin	-	+
gelatin	-	-
Beta-galactosidase	-	+
Assimilation of :		
D-glucose	+	+
L-arabinose	+	+
D-mannitol	-	+
N-acetyl-		
D-glucosamine	-	+
maltose	-	+
D-gluconate	-	+
n-capronic acid	+	-
adipic acid	+	-
DL-malate	+	+
Na-citrate	+	-
phenyl acetate	+	-
Oxidase test	-	+
Catalase test	+	+

G+C content (mol%)	39	61

Isoprenoid quinone	Q-8	Q-10

Cellular fatty acid:		
Non-polar	16:1, 16:0, 18:1	16:1, 16:0, 18:1
2-hydroxy	12:0	-
3-hydroxy	12:0, 14:0, 16:0, 18:0	14:0, 16:0, 18:0

Gram stain	negative	negative

Cell morphology	short-rod or sphere	rod

Color of colony	white	yellow

Aerobicity	facultative anaerobic	aerobic

Identification	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Agrobacterium</i> sp.(tentative)

ただし、後者については決め手に欠けたため、同定をさらに確実なものとするために16S rRNA (16S リボソームRNA) 遺伝子DNAの塩基配列から種の同定を試みた。決定した遺伝子塩基配列をデータベースで検索した結果、調べた約400塩基対の範囲で既存の *Agrobacterium* 属の16S rRNA 遺伝子DNAの塩基配列と100%一致し、同定結果はほぼまちがいないことが確認された (Fig.7)。なお、これらのバクテリアの株は、東京大学分子細胞生物学研究所のIAM Culture Collectionに菌株として登録し、*Acinetobacter* 属のW株の登録番号は、IAM14466、*Agrobacterium* 属のY株の登録番号は、IAM14465である (The Microbiology Research Foundation: 1998)。これら2種の属のバクテリアは、いずれも土壤中に広く分布するものである。

PEGを分解するバクテリアは、PEGの分解産物としてアルデヒドやカルボン酸を生成することが、それらのバクテリアの酵素の研究から報告されている (Kawai: 2002)。このことから、これらのバクテリアが繁殖した場合には、PEGの低分子化のみならず、アルデヒドやカルボン酸などによる遺物やステンレス処理槽などへの影響も懸念される。

```

Agrobacter.  AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAA
Y-1          AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAA
(identity)  *****

Agrobacter.  GGGGACTGCCGGTGATAAGCCGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCT
Y-1          GGGGACTGCCGGTGATAAGCCGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCT
*****

Agrobacter.  TACGGGCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTGGTGACAGTGGGCAGCGAGACAGCGATG
Y-1          TACGGGCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTGGTGACAGTGGGCAGCGAGACAGCGATG
*****

Agrobacter.  TCGAGCTAATCTCCAAAAGCCATCTCAGTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCATGA
Y-1          TCGAGCTAATCTCCAAAAGCCATCTCAGTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCATGA
*****

Agrobacter.  AGTTGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
Y-1          AGTTGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
*****

```

図7 16S rRNA 遺伝子配列の一部の決定によるバクテリアの同定結果
Y株の16S rRNA 遺伝子配列の一部 (塩基番号 No.1092-1392)を決定した結果、*Agrobacterium tumefaciens*の対応する塩基配列と100%一致することがわかり、Y株が*Agrobacterium*属のバクテリアであることが確かめられた。

Fig.7 DNA Sequence Alignment of Partial 16S rRNA Gene between *Agrobacterium* sp. and Y Strain
Phylogenetic analysis of partial 16S rRNA gene sequencing (nucleotide No. 1092-1392) confirmed the identification of Y strain. DNA sequences of the partial 16S rRNA gene were 100% identical between the Y strain and *Agrobacterium tumefaciens*.

5. まとめ

PEG溶液の腐敗例を調べた結果、中にPEG400を分解するバクテリアが関与している例があることがわかった。今回検出されたのは、いずれも土壤中に広く分布する2種のバクテリアであり、2種が共存するときに強いPEG400分解能力を示す。また今回見いだされたのは、いずれもPEG400を効率よく分解するバクテリアであり、PEG4000など高分子のPEGを分解するものでは

なかった。緒方らの調査においても、低分子のPEG (PEG 400-2000) を分解するバクテリアのほうが、高分子のPEG を分解するバクテリアより高頻度に見い出されたことが報告されている (Ogata et al.: 1975)。しかしながら、そのほかにもPEG 分解菌は近年かなりの例が報告されており (Fincher and Payne: 1962, Haines and Alexander: 1975, Kawai et al.: 1977, Hosoya et al.: 1978, Grant and Payne: 1983, Schink and Stieb: 1983, Dwyer and Tiedje: 1986, Yamanaka and Kawai: 1989, Dean et al.: 1990, Obradors and Aguilar: 1991, Schmid et al.: 1991, Schramm and Schink: 1991, Takeuchi et al.: 1993, Kawai and Takeuchi: 1996, Kohlweyer et al.: 2000), PEG4000 や PEG6000, PEG14,000 から 20,000 といった、高分子量側のPEG を分解するバクテリアも河川の水や土壌などに存在することが報告されているので (Haines and Alexander: 1975, Ogata et al.: 1975, Kawai et al.: 1977, Schink and Stieb: 1983, Obradors and Aguilar: 1991), 常温での含浸処理が行われた場合には、将来別のPEG 分解菌が分離されてくる可能性も考えられる。しかし、これまでに報告された多くのPEG 分解菌は、ごく一部の例外を除いてそのほとんどがグラム陰性細菌であるので、一般的なPEG4000 含浸処理にみられる60℃の含浸処理では、通常は顕著に増殖することはないと考えられる。

本報告は、出土木材のPEG 処理槽から実際にPEG 分解菌が分離されたおそらく最初の報告例であり、その実例が今後の参考になれば幸いである。

(2002.5.20 受理)

参考文献

- 木川りか (1994) 出土木材PEG 処理液の腐敗原因と防除対策, 保存科学 33 : 47-54
- 沢田正昭 (1972) 考古資料保存の科学的研究 (I) - 木簡をはじめとする木製遺物の保存法について -, 研究論集I, 奈良国立文化財研究所学報 : 1-38
- 西尾太加二, 青木修 (1997) PEG 常温含浸法による出土木製品の保存処理, 日本文化財科学会第14回大会研究発表要旨集 : 148-149
- 増澤文武, 北野信彦, 菅井裕子, 井上美知子, 植田直見 (1995) PEG 含浸槽内のPEG 水溶液の劣化, 保存科学研究集会95要旨集, 奈良国立文化財研究所考古科学研究会編
- Bilz, M., Dean, L., Grattan D. W., MacCawley, J. C. and McMillen, L. (1993) A Study of the Thermal Breakdown of Polyethylene Glycol, Proceedings of the 5th ICOM Group on Wet Organic Archaeological Materials Conference, Portland: 167-197.
- Björkdal, C. G. and Nilsson T. (2001) Observation on Microbial Growth During Conservation Treatment of Waterlogged Archaeological Wood. Studies in Conservation 46: 211-220.
- Christensen, B. B. (1970) The Conservation of Water-logged Wood in the National Museum of Denmark, National Museum of Denmark, Copenhagen.

- Dean, L. R., Jones, A. M. and Jones, E. B. G. (1996) Diffusion Rates of PEG into Wet Organic Archaeological Oak. in the 6th Group on Wet Organic Archaeological Materials Conference, York: 435-450.
- Dean, L. R., Mouzouras, R., Jones, A. M. and Jones E. B. G. (1990) Are Polyalkylene Glycols Biodegradable? in the 4th ICOM Group on Wet Organic Archaeological Materials Conference, Bremerhaven: 167-197.
- Dwyer, D. F. and Tiedje, J.M. (1986) Metabolism of Polyethylene Glycol by Two Anaerobic Bacteria, *Desulfovibrio desulfuricans* and a *Bacteroides* sp. Appl. Environ. Microbiol. 52, 852-856.
- Fincher, E. L. and Payne, W. J. (1962) Bacterial utilization of ether glycols. Appl. Microbiol. 10, 542-547.
- Glastrup, J. (1996) Degradation of PEG: A Review. in the 6th ICOM Committee for Conservation, in the 6th Group on Wet Organic Archaeological Materials Conference, York : 377-384.
- Grant, M. A. and Payne, W. J. (1983) Anaerobic growth of *Alcaligenes faecalis* var. *denitrificans* at the expense of ether glycols and nonionic detergents. Biotechnol Bioeng. 25, 627-630.
- Haines, J. A. and Alexander, M. (1975) Microbial Degradation of Polyethylene Glycols. Appl. Microbiol. 10, 542-547.
- Hoffmann, P. (1984) On the Stabilization of Water-logged Oakwood with PEG Molecular Size versus Degree of Degradation. in the 2nd ICOM Water logged Wood Working Group Conference, Grenoble: 95-116.
- Hoffmann, P. (1986) On the Stabilization of Waterlogged Oakwood with PEG. II. Designing a Two-step Treatment for Multi-quality Timbers. Studies in Conservation 31: 103-113
- Hosoya, M., Miyazaki, N., Sugisaki, Y., Takahashi, E., Tsurufuji, M., Yamasaki, M. and Tamura, G. (1978) Bacterial Degradation of Synthetic Polymers and Oligomers with the Special Reference to the Case of Polyethylene Glycol. Agric. Biol. Chem. 42, 1545-1552.
- Kawai, F., Fukaya, M., Tani, Y and Ogata, K. (1977) Identification of Polyethylene Glycol (PEG)-assimilable Bacteria and Culture Characteristics of PEG 6000. J. Ferment. Technol., 55, 429-534.
- Kawai, F. and Takeuchi, M. (1996) Taxonomical Position of Newly Isolated Polyethylene Glycol-Utilizing Bacteria. J Ferment Biotechnol. 82, 492-494.
- Kawai, F. (2002) Microbial Degradation of Polyethers. Appl Microbiol Biotechnol 58, 30-38.
- Kohlweyer, U., Thiemer, B., Schraeder, T. and Andeesen, J. R. (2000) Tetrahydrofuran Degradation by a Newly Isolated Culture of *Pseudonocardia* sp. strain K1. FEMS Micorobiol

- Lett.186, 301-306.
- Obradors, U. and Aguilar, J. (1991) Efficient Biodegradation of High-molecular-weight Polyethylene Glycols by Pure Cultures of *Pseudomonas stutzeri*. Appl. Environ. Microbiol. 57, 2383-2388.
- Ogata, K., Kawai, F., Fukaya, M. and Tani, Y. (1975) Isolation of Polyethylene Glycols-assimilable Bacteria. J. Ferment. Technol., 53, 757-761.
- Padfield, T., Winslow, J., Pedersen W. B. and Glastrup, J. (1990) Decomposition of Polyethylene Glycol (PEG) on Heating. ICOM Committee for Conservation, the 9th Triennial Meeting, Dresden: 243-245.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. (1989) Molecular Cloning, 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schink, B. and Stieb, M. (1983) Fermentive Degradation of Polyethylene Glycol by a Strictly Anaerobic, Gram-negative, Nonsporeforming Bacterium, *Pelobacter venetianus* sp. nov. Appl. Environ. Microbiol. 45, 1905-191.
- Schmid, A., Benz, R., Schink, B. (1991) Identification of Two Porins in *Pelobacter venetianus* fermenting high-molecular-mass polyethylene glycols. J. Bact. 173,4909-4913.
- Schramm, E. and Schink, B. (1991) Ether-cleaving Enzyme and Diol Dehydratase Involved in Anaerobic Polyethylene Glycol Degradation by a New *Acetobacterium* sp. Biodeterioration 2, 71-79 .
- Takeuchi, M., Kawai, F., Shimada, Y. and Yokota, A. (1993) Taxonomic Study of Polyethylene Glycol-utilizing Bacteria: Emended Description of the Genus Sphingomonas and new descriptions of *Sphingomonas macrogoltabidus* sp. nov. *Sphingomonas sanguis* sp. nov. and *Sphingomonas terrae* sp. nov. Syst Appl Microbiol 16, 227-238.
- The Microbiology Research Foundation (1998) IAM Catalogue of Strains, 2nd edition, (ed.) Center for Cellular and Molecular Research, Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo.
- Yamanaka, K. and Kawai, F. (1989) Purification and Characterization of Constitutive Polyethylene Glycol (PEG) Dehydrogenase of PEG 4,000-utilizing *Flavobacterium* sp. No.203. J. Ferment. Technol. 67, 324-330.

Polyethylene Glycol (PEG)-Degrading Bacteria Found in the PEG Treatment Solution of Excavated Waterlogged Wood

Rika KIGAWA ¹⁾, Akira YOKOTA ²⁾ and Takaji NISHIO ³⁾

¹⁾ IAI National Research Institute for Cultural Properties, Tokyo, 13-43 Ueno-park, Taito-ku, Tokyo 110-8713, Japan

²⁾ Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan

³⁾ Shizuoka Research Institute of Buried Cultural Properties, 18-5, Ejiridai-machi, Shimizu-shi 424-0044, Japan

Consolidation treatment by impregnation with polyethylene glycol (PEG) is a common method for the conservation of excavated wood. However, degradation of PEG in treatments is often troublesome. We report here an example where special kinds of PEG-degrading bacteria were found in a PEG treatment solution for excavated wood.

Polyethylene glycol treatments were carried out systematically in 20% and 40% solutions of PEG 4000 at room temperature at Shizuoka Research Institute of Buried Cultural Properties, Japan. Approximately 100 pieces of waterlogged wood were treated in each tank. The PEG solutions had been used for two or three cycles of treatments. In several cases, PEG solutions developed turbidity, which suggested growth of microorganisms.

These PEG solutions were examined, and PEG-degrading bacteria were found in a treatment solution. Two kinds of bacteria were involved in PEG degradation in the case. The PEG-degrading bacteria isolated were identified as *Agrobacterium* sp, and *Acinetobacter* sp. These were common bacteria found in soils. PEG-degrading ability is evidently amplified when the two kinds of bacteria are mixed. The isolated bacteria could not efficiently degrade PEG 4000 itself, but preferentially degraded PEG with average molecular weight around 400. As the PEG 4000 solution had been prepared more than one year before, chemical degradation of PEG 4000 might have occurred, and the bacteria might have utilized PEG of lower molecular weights.

In the studies to date, many kinds of PEG-degrading bacteria have been reported. Some are reported to degrade even PEG 20,000 as well as PEG 4000. Therefore it could be possible that

bacteria that can degrade PEG 4000 will be found in the treatments of excavated wood. However, most of the ever known PEG-degrading bacteria would be well controlled by altering the treatment temperature to approximately 60 °C.