

# 藍染め染色液の発酵過程における細菌相の変化

生命分子化学講座 基礎環境微生物学分野

相野 憲一

## 【背景と目的】

藍染め液の作製の際、藍色を示す色素であるインジゴの還元を行う工程がある。日本古来の方法では半閉鎖系における発酵法により行われていたが、その管理の難しさから次第に衰退していった。これまで藍染め液の発酵過程における微生物群集についての報告はなく、細菌相の詳細と染色の関係については未だ明らかにされていない。本研究では迅速かつ安定な新規の発酵法の開発を目的として、発酵過程における微生物群集構造を解析し、藍染め液の染色能と細菌相との関連性について解明を試みた。

## 【方法】

研究室内で発酵法による藍染め液の作製を行い、発酵過程における試料を解析した。対照として、北海道(伊達市)の藍工房において長期にわたり発酵された藍染め液を試料として用い解析を行った。発酵過程における各試料について染色試験および物理化学的パラメーター(pH, ORP, 温度)の測定を行った。また、試料よりDNAを抽出し、16S rRNA 遺伝子を標的としたPCR産物を得た後、クローンライブラリを構築し、各試料について約25クローンの塩基配列を決定した。また、V3領域のPCR産物をDGGE解析に供し、各バンドの塩基配列を決定した。特定の試料よりインジゴ還元能を指標とした培養を行い、分離菌株を取得した。インジゴ還元活性測定を行い、各分離菌株のインジゴ還元能を検討した。

## 【結果】

物理化学的パラメーターを測定した結果、発酵槽内は嫌氣的・高アルカリ環境であることを示した。発酵過程に進行に伴い染色強度は徐々に増加し、特に発酵3-4日目の染色強度は劇的に増加した。DGGE解析の結果、発酵過程の進行に伴う微生物群集構造の遷移が観察され、染色強度が顕著に増加した3-4日目において、*Amphibacillus* sp. や *Halomonas* sp.を近縁種とする各バンドの強度についてそれぞれ増加および低下を示した。更に、同時期の試料のクローン解析の結果、通性・絶対嫌気性細菌の増加(*Clostridium* sp., *Amphibacillus* sp.)と好気性細菌の減少(*Halomonas* sp.)を示した。培養法を用いて、発酵初期および長期発酵の試料からインジゴ還元能を有すると推察される分離菌株を取得し、実際にそれらの分離菌株がインジゴ還元能を有することを証明した。それらのインジゴ還元能は還元剤であるジチオナイトの3-5 Mに相当することが明らかとなった。

## 【考察及び結論】

本研究の成果により染色能と細菌相との関連性が明らかとなった。また、本研究において染色能に対して直接的に関与する新たなインジゴ還元菌の単離に成功した。

今回の解析結果から、藍染色液の多種多様な細菌種の存在が明らかになり、藍染色液の染色能には微生物種間の相互作用が直接的あるいは間接的に関与し、菌相の安定化が図られていることが示唆された。今後染色能に間接的に関与する微生物種を単離し、インジゴ還元菌と共培養させることにより、更に安定的かつ強力な染色能を導き出せる可能性があると考えられる。