

藍生葉染色の酵素反応条件に関する研究(20年度版)

～蓼藍代替植物のインジカン分解酵素による染色～

バイオサイエンス科 課題研究 (バイオ生産専攻 A)

荒木麗夢 荻野碧仁 小西一輔 酒井彩那 塚田麗 大益美優 須藤 暁 富田悠稀 長田壮平

はじめに

私達は今年度6月から、課題研究(バイオ生産山下班)において工芸教育のプロである桑田芳治先生(前神戸芸術工科大学特任教授・元本校校長)に藍生葉染色に関する実験の指導を受けてきた。そのテーマは絹ストール・綿Tシャツなどの生葉染、蓼藍の紫染め、繭セリシンの絹代替効果、インジカン分解酵素探索、藍エキスの機能性など多岐に渡っている。今発表はインジカン分解酵素探索に関する研究について報告する。



4. 酵素液作成

使用する葉の重さ(生葉区分の多い - 0.3~0.6 g、少ない - 0.06~0.3 g、枯葉区分の多い - 0.06~0.1 g、少ない - 0.01~0.05 g)を計量した(図4)。生葉はハサミで葉を小さく切り、乳鉢に入れ、枯葉は乳鉢の中で細かく砕き少量の蒸留水を加え、よくすり潰し酵素液とした(図5)。



図4 使用葉の計量

図5 粉碎工程

5. 染色工程

インジカン液入試験管に酵素液入れよく攪拌し、布片を入れて染色を開始した(図6)。染色時間(10分、20分、30分以上)が経過した試験管から布片を取り出し、水洗、脱水した。



図6 染色反応

インジカン分解酵素探索(経緯)

藍生葉染色は細胞質含有のインジカン(青色素基質)と葉緑体含有酵素(β -グルコシダーゼ)の反応によりインジゴ(青色素)前駆体であるインドキシルの生成からスタートする。インジカンは比較的長く保存できるが酵素は時間とともに活性がなくなる。酵素があれば年中生葉染めができることから、先輩達は蓼藍以外の常緑植物酵素で代替できないか試行錯誤を繰り返した。2018年に39種類、2019年には45種類の常緑樹葉を試験したところ、染色濃度がやや劣るものの2019年試験からエビネランに発色がみられた(図1)。

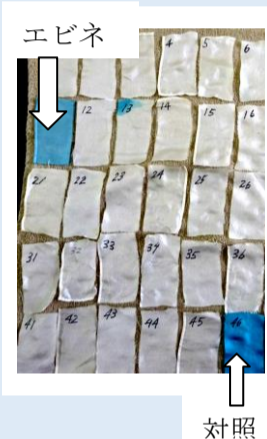
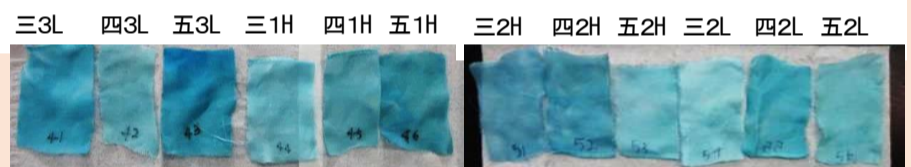


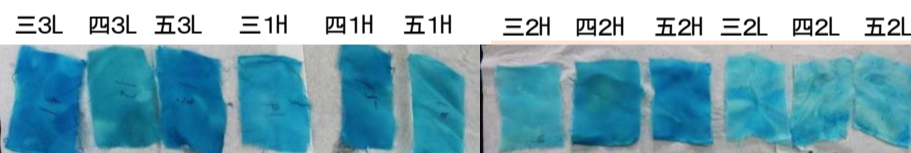
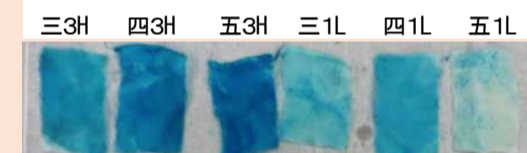
図1 藍代替酵素の絹片染色

結果: 条件区分の湯煎温度(30、40、50℃)を三、四、五、染色時間(30、20、10分)を3、2、1又、酵素液濃度(高い、低い)をH、Lとして区別した。

酵素液(エビネ生葉)
担当-B班
酒井、塚田、大益



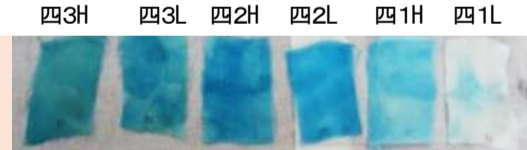
酵素液(琉球藍生葉)
担当-A班
荒木、荻野、小西



酵素液(エビネ枯葉) 担当-C班 富田、長田



酵素液(琉球藍枯葉)
C班
担当-須藤



(実験) 蓼藍代替植物のインジカン分解酵素による染色条件の適正化

目的: エビネラン(生葉、枯葉)を使用した藍染色条件の最適化を検討する。条件として染色液温度3区分(30℃、40℃、50℃)、染色時間3区分(30分、20分、10分)、酵素液濃度2区分(高い、低い)を設定した。又、春から栽培された琉球藍(生葉、枯葉)も比較対照として供試した。



エビネラン

準備: (材料) インジカン液 2ℓ、エビネ(生葉、枯葉) 琉球藍(生葉、枯葉)、絹布片 60枚
(実験器具) ステンレスボウル、IHコンロ 3台、培養試験管 60本、2ℓ湯沸かしケトル 1、1ℓ容計量カップ 3、試験管立て 1、湯煎用試験管立て 3、攪拌用棒 60、乳鉢・乳棒 9セット、棒温度計 3、ハサミ 3、タオル、保温箱 3



琉球藍(栽培中)

実験手順:

- 3班(A、B、C)に分かれ担当する区分を確認した。A班は琉球藍生葉(B班-エビネ生葉、C班-琉球藍・エビネ枯葉)を使用、一人6本の試験管と絹布片に整理番号を記載した(図2)。
- 湯煎の準備
A班は湯煎温度を50℃(B班40℃、C班30℃)を担当しステンレスボウルに5cmほど水を入れIHコンロ上に置き、湯煎温度まで加熱した(図3)。
- 染色液の準備
発泡スチロール保温箱中のインジカン溶液(1ℓ・加熱済)30mlを試験管に分注し指定の湯煎用ボウルに立てた。

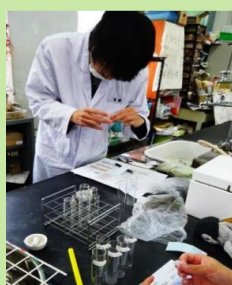


図2 試験管と布片準備



図3 染色温度管理

まとめ:

- エビネ酵素液による染色から染色温度50℃、染色時間30分、高い酵素濃度が最適な結果であった。染色温度は高く、染色時間が長く、酵素濃度が高い方が良好といえる。
- 比較対照に試験した琉球藍酵素液による染色からはエビネと同様の傾向がみられた。
- エビネ枯葉酵素液による染色からは染色温度40℃、染色時間10分、高い酵素濃度の条件時にきれいに染まったが、他条件と整合性がとれないので再染色実験の必要を感じた。
- 琉球藍枯葉酵素液による染色では染色時間20分が鮮やかな青を呈し、30分ではややくすんだ色調となった。エビネ酵素にくらべ活性が高いといえる。

謝辞: 本研究を行うにあたって、桑田芳治先生から材料の提供、実験の進め方などにご指導・ご助言をいただき、厚く感謝申し上げます。