



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Bacterial profile of different indigo fluids and the effect of the addition of Indigofera tinctoria leaf powder on sukumo preparations [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Silva lopes, Helena de Fatima
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14657号
Issue Date	2021-09-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/83197
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	helena_de_fatima_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（農学）氏 名	Helena de Fátima Silva Lopes
審査担当者	主 査 客員教授	湯本 勲
	副 査 教 授	横田 篤
	副 査 客員准教授	菊池 義智
	副 査 客員准教授	加藤 創一郎

学位論文題名

Bacterial profile of different indigo fluids and the effect of the addition of *Indigofera tinctoria* leaf powder on *sukumo* preparations

（原料の異なる藍染め発酵液の微生物叢の解析およびスクモを用いた藍染め発酵液へのインド藍粉の効果）

本論文は英文 82 頁、図 23、表 4、2 章からなり、参考論文 1 編が付されている。

現在多くの場合、藍染めは人工的に生産されたインジゴをハイドロサルファイドの様な還元剤を用いて行われている。しかし、人工的なインジゴの生産工程で、環境にとって負荷となる数多くの薬品を使用し、還元剤も頻繁に添加されることから、色素の合成および染色液の廃棄による環境負荷は高い。本研究は植物が生産した色素を原料とし、従来、職人の勘と経験によって維持管理していた藍染めの発酵液の還元状態が長期間維持されていることの機構解明および発酵によるインジゴ還元開始の機構を明らかにし、仕込みから発酵初期の期間により確実にインジゴを還元させる方法論の確立し、化学薬品に依存しない確実な発酵法の発信を目的としている。本研究の第 1 章では、インジゴの還元を維持するエコシステムである藍染めの発酵液の細菌叢の取り得る可能性を探るために、スクモ（堆肥化した藍の葉）とこれまで微生物叢が解析されてこなかった抽出藍（琉球藍およびインド藍）を原料としてそれぞれの試料において異なる発酵期間の発酵液を解析した。藍の発酵液は自然発酵により行われており、場合によっては仕込みからインジゴの還元開始までに約 2 週間も要する場合がある。そこで第 2 章では、インジゴ還元の促進剤としてインド藍 (*Indigofera tinctoria*) 葉粉のインジゴ還元の促進剤の効果を細菌叢の変化を解析することによって確認するとともにインジゴ還元が起こる機構について考察した。

1) スクモ（堆肥化した藍の葉）と抽出藍（琉球藍およびインド藍）を利用したインジゴ発酵液の細菌叢の解析

本研究ではインジゴ還元のための発酵の種菌と微生物の基質を含むスクモを原料とした場合と、もともと種菌と微生物の基質を含まない抽出藍に種菌と基質を外部から添加した藍の発酵液を比較した。抽出藍として琉球藍（炭酸カルシウムを含み、ペースト状）とインド藍（炭酸カルシウムを含まない、固形物を粉に砕いて添加）にそれぞれ琉球藍ペーストの浸出液およびヨーロッパで使用されているコーチ

ドウオードの発酵液を発酵のベースとすることを微生物源とした。微生物叢を解析した結果、絶対嫌気性細菌が主体(17~46%)で、インジゴ還元能を持つと考えられる通性嫌気性および酸素耐性嫌気性微生物群を含んでいた。また、抽出藍を用いた発酵液は、同じ色素源の微生物叢はタマリンドの実を別途添加した場合を除いて類似した微生物叢を示した。スクモを用いた場合は、発酵時間や使用したスクモの種類によって異なる細菌叢を示した。琉球藍を用いた発酵液はスクモを使用した場合より単純な微生物叢を示した。このことはスクモを用いた場合、原料に多様な微生物と基質を含み、発酵液にスクモ自体の沈殿物が存在し、微生物にバイオフィルムを形成させるきっかけを与えることによるものと考えられた。逆に琉球藍を用いた場合は、仕込み時の細菌叢と基質の多様性が低く、発酵系外からの微生物は直接高度のアルカリ性の嫌気環境にさらされることにより排除され、フスマ、乳酸、死滅菌体を基質として循環する長期間安定したエコシステムが確立されていることが示唆された。

2) スクモを用いた藍染め発酵液へのインド藍 (*I. tinctoria*) 葉粉の効果の解析

インド藍 (*I. tinctoria*) 葉粉(LP)の藍染め発酵液インジゴ還元促進効果を検討した。その結果 LP の脱酸素化能により発酵初期の発酵液内の酸化還元電位を低下させ、より迅速なインジゴの還元を誘発した。一方、LP を添加しなくとも、適正な微生物叢の変遷を示す場合においては、LP の顕著な効果は見られなかった。以上のことから、発酵初期のインジゴの還元を促進するために適正な細菌叢の変遷を引き起こし、発酵の仕込みからインジゴの還元状態へ迅速に導く効果が示された。本効果は、LP の添加により元来インジゴの還元が起こりにくいスクモを用いる場合や、仕込み直後の pH 管理が適正に行われなかったことによるインジゴの還元の遅延を是正する効果があるものと考えられた。今回の微生物叢の解析により、発酵初期により適正にインジゴの還元を誘発するには、スクモの中の基質と発酵液系内の酸素を *Bacillaceae* が主として消費し、*Bacillaceae* が容易に利用出来る基質と酸化還元電位(ORP)の減少により、絶対嫌気性の *Proteinivoraceae* や *Tisserellaceae* が優先する微生物叢に遷移するプロセスが重要であることを示唆していた。

以上の研究において様々なインジゴ源を用いた発酵液を解析した結果、いずれの発酵液も、低 ORP、高アルカリ環境に適応したインジゴ還元系を維持する機能分担構成が藍発酵液の共通原理で、それぞれの細菌叢の特徴は、最初に投入した種微生物と基質の多様性に依存することを示した。また、LP の添加効果の解析結果は、藍の発酵液が還元を開始するために具備すべき微生物叢のあるべき変化に関する知見をもたらした。以上の成果は、インジゴを還元するための発酵のために、スクモという発酵によって作られた藍発酵液の原料の持つ意味に新たな解釈をもたらすものである。

以上の成果により、審査員一同は Helena de Fátima Silva Lopes 氏が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。