

# 天然藍を原料とした染料の製造方法

## Method for producing dye from natural indigo

福島技術支援センター 繊維・材料科 中島孝明 伊藤哲司

季節に依存せず入手可能な乾燥藍葉から色素を抽出する方法として、酵素分解及び塩基処理を試し、乾燥藍葉中の不純物の減量率と染料中のインジゴ濃度の測定を行った。セルラーゼ等の酵素処理では 30[%]以上の減量率を、水酸化ナトリウム水溶液による処理では 40[%]以上の減量率を達成することができた。ジメチルスルホキシドにインジゴを溶解させて分光光度計で測定したところ、インジゴ濃度は塩基処理をすることでスクモ以上になることが分かった。今後は、スクモと併用した使い方について藍建てを行い検証していく。

**Key words:** タデ藍、セルラーゼ、インジゴ、ジメチルスルホキシド、分光光度計

## 1. 緒言

近年、合成染料に比べて人体や環境への負荷が低いといった利点から、天然物由来の染色材から抽出した染料や染色された製品が注目されている。当所では、本藍染め製品の量産化に向けた課題解決に取り組んでおり、藍染めにおける微生物発酵条件の確立や染色工程の管理を行ってきた。

安定して藍染め製品を生産するためには、染料を十分に確保する必要がある。伝統的な藍染めに使用される染料は、刈り取り直後の生葉を原料とするため限られた時期にしか製造できず、100日以上発酵させて作られ、手間がかかるため高価であり、量産化の課題になっている。

藍の葉は乾燥して保存でき、乾燥葉を染料として使うこともできる。しかし、葉の収穫時期や染色量毎に染色性が異なり、茎や葉脈などの不純物が多く出て染色物が汚染されるため、そのまま染料として利用するには不向きである。そこで、通年入手が可能な藍の乾燥葉を原料とし、短時間で染料化するための技術開発に取り組んだ。

今年度は、乾燥葉中の不純物を減量する方法として、葉のセルロースを分解酵素によって除去する方法と、葉を塩基で煮沸し不純物を溶解する方法を検証した。

## 2. 実験

### 2. 1. 乾燥葉の減量法

#### 2. 1. 1. タデ藍の水分率

実験で使用した藍は、露地で栽培したタデ藍（福島県伊達郡産）を用いた。刈り取り直後の質量と乾燥後の質量を測定し、水分量を算出した。タデ藍は頂芽から 50[cm]程のところを刈り取り、室温（30[°C]程）で 3日間乾燥を行った。

#### 2. 1. 2. 酵素による減量処理

セルラーゼ分解酵素による減量処理は、洛東化工工

業株式会社製のエンチロンの中から表 1 の 3種の酵素を使用した。

試料の作製方法を以下に示す。①乾燥葉 1.0[g]と蒸留水 50[mL]を 100mL 三角フラスコに加え、アルミ箔で蓋をして 250[°C]に設定したホットプレート上で加熱した。②沸騰後 5分間煮沸したのち、机上で室温になるまで放冷した。③pH 緩衝剤（洛東化工工業株式会社 ブライト BAF CONC）で pH4 程度に調整後、各酵素を 1.0[g]添加した。④三角フラスコを恒温水槽振とう器に取り付け、水温 55[°C]、振動数 160[rpm]に設定し 6時間酵素反応させた。⑤反応後は、ホットプレート上で 1分間煮沸し、酵素の失活を行った。⑥三角フラスコ内からガラス棒で葉のみを取り出し、残渣物を含む水溶液を No. 5C のろ紙でろ過した。⑦ろ紙と、葉はそれぞれ秤量したシャーレに移し、105[°C]に設定した乾燥機で乾燥後、秤量した。

表 1 使用した酵素の概要

| 商品名   | 至適 pH   | 至適温度[°C] | 摘要                 |
|-------|---------|----------|--------------------|
| CM40L | 4.0~5.0 | 50~60    | セルロース繊維用原料加工（改質）酵素 |
| HPY   | 3.3~5.5 | 25~55    | 複合酵素剤              |
| MIT   | 4.0~5.0 | 55~65    | 毛羽除去酵素             |

### 2. 1. 3. 塩基による減量処理

試料の作製方法を以下に示す。①乾燥葉 2.0[g]と表 2 の塩基水溶液を 300[mL]三角フラスコに加え、アルミ箔で蓋をして 250[°C]に設定したホットプレート上で加熱した。②沸騰開始後 5分間煮沸した後、机上で室温になるまで放冷した。③塩酸 0.25[%]水溶液を加え、pH 試験紙で中和を確認した。④ろ紙 No. 5C でろ過を行い、残渣を 105[°C]の乾燥機で乾燥後、秤量した。

表2 塩基水溶液の概要

| 使用試薬                            | 等級       | 濃度[%] | 添加量[mL] |
|---------------------------------|----------|-------|---------|
| NaOH                            | 富士フィルム和  | 2.5   | 50      |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 光純薬(株)特級 | 5.0   | 100     |

## 2. 2. インジゴ濃度の測定

試料中のインジゴ濃度は、インジゴの溶媒であるジメチルスルホキシド（以下 DMSO）に試料を浸漬・攪拌させてインジゴの抽出を行い、得られた抽出液の吸光度から求めた。

はじめに、既知濃度のインジゴ溶液から検量線を以下の手順で作成した。インジゴ（富士フィルム和光純薬(株)特級）を 5.0[mg] 量り取り、DMSO（富士フィルム和光純薬(株)特級）100[mL] に溶解させた。調製したインジゴ溶液を 20mL メスフラスコに 2, 4, 6, 8[mL] 量り取ったのち DMSO を標線まで加え、標準溶液を作製した。調整した 5 つの濃度の溶液を 10mm 石英セルに入れ、分光光度計（島津製作所製 UV-2500CP）で吸光度を測定し、インジゴ濃度を算出する検量線を作成した。

次に、2. 1. 2. と 2. 1. 3. で作製した試料からインジゴ抽出液を作製し、インジゴ濃度の定量を行った。試料を乳鉢で 30 分以上粉砕し、粉体にした。試験管に粉体試料を量り取り、DMSO を 10[mL] 程加えよく攪拌した。3 分ほど静置し上澄みをビーカー等に移した。再び、DMSO を 10[mL] 程加えよく攪拌し静置、上澄みをビーカーに移す作業を複数回繰り返し、残渣から色素が滲出しにくくなるまで繰り返した。抽出後はビーカーの質量から溶媒の質量を算出した。抽出液は No. 5C のろ紙でろ過し、ろ液を分光光度計で測定を行った。

## 3. 結果

### 3. 1. 乾燥葉の減量法

#### 3. 1. 1. タデ藍の水分率

刈り取ったタデ藍の水分率を表 3 に示す。

表3 タデ藍の水分率

| サンプル名 | 刈り取り後のタデ藍質量[g] | 乾燥後の質量[g] | 水分率[%] |
|-------|----------------|-----------|--------|
| A     | 48.3           | 9.70      | 79.9   |
| B     | 15.3           | 2.24      | 85.4   |
| C     | 22.2           | 5.10      | 77.0   |
| D     | 23.5           | 5.97      | 74.6   |
| E     | 29.1           | 4.73      | 83.7   |
| F     | 7.60           | 1.64      | 78.4   |
| G     | 6.71           | 1.36      | 79.7   |
| 平均    |                |           | 79.8   |

### 3. 1. 2. 酵素による減量処理

乾燥葉を酵素で減量処理をした結果を表 4 に示す。使用した酵素では、CM40L が最も減量率が高くなった。

表4 酵素処理による減量率

| 酵素名   | pH 緩衝剤 [g] | 残留葉量 [g] | 微粉を含む総量 [g] | 減量率 [%] |
|-------|------------|----------|-------------|---------|
| HPY   | 0.10       | 0.50     | 0.70        | 30.0    |
| MIT   | 0.10       | 0.59     | 0.75        | 25.0    |
| CM40L | 0.10       | 0.45     | 0.68        | 32.0    |
| なし    | 0.10       | 0.74     | 0.77        | 23.0    |

### 3. 1. 3. 塩基による減量率の測定

乾燥葉を塩基水溶液で減量処理した結果を表 5 に示す。また、図 1 に各減量率を示す。

表5 塩基処理による減量率

| 使用塩基                            | 乾燥葉 [g] | 濃度 [%] | 塩基量 [mL] | 残留葉量 [g] | 減量率 [%] |
|---------------------------------|---------|--------|----------|----------|---------|
| NaOH                            | 2.05    | 2.5    | 50       | 1.21     | 41.0    |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 2.00    | 5.0    | 100      | 1.31     | 34.5    |

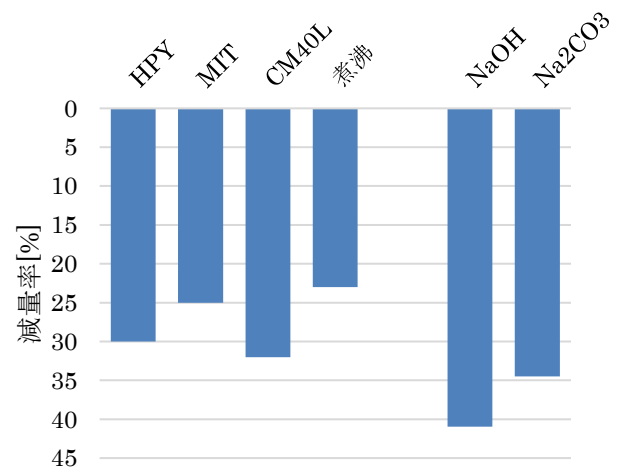


図1 減量率の一覧

### 3. 2. インジゴ濃度の測定

#### 3. 2. 1. 測定法

図 2 に 2. 2. の方法で作成した検量線を示す。相関係数の二乗値が限りなく 1 に近い値となり、相関性の高い検量線を得ることができた。

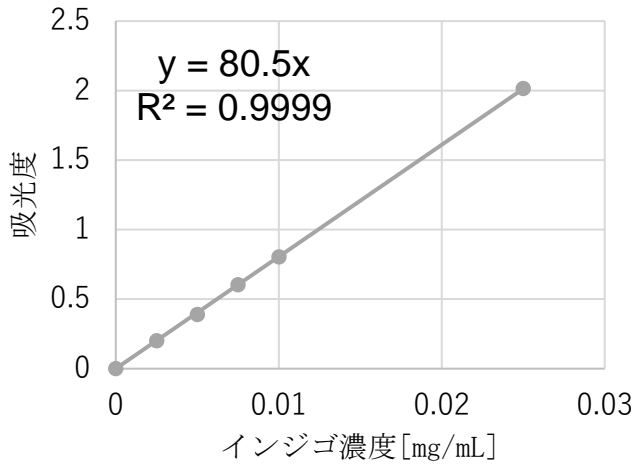


図2 DMSO中のインジゴの検量線(波長618[nm])

### 3. 2. 2. 酵素処理によるインジゴ濃度の変化

酵素による減量方法において、最も減量率が高いCM40Lで処理をした葉と、同処理により生じた残渣のインジゴ濃度を、図2の検量線を用いて求めた。結果を表6に示す。

表6 酵素処理後のインジゴ濃度

| サンプル名 | サンプル量 [mg] | DMSO量 [mL] | DMSO中のインジゴ濃度 [mg/mL] | インジゴ/乾燥葉 [%] |
|-------|------------|------------|----------------------|--------------|
| 酵素葉   | 10.4       | 10.8       | 0.0158               | 1.64         |
| 酵素葉残渣 | 10.2       | 14.3       | 0.0062               | 0.86         |

### 3. 2. 3. 塩基処理によるインジゴ濃度の変化

塩基性水溶液による減量方法において、水酸化ナトリウム水溶液、炭酸ナトリウム水溶液で5分間煮沸した試料のインジゴ濃度を表7に示す。

対照試料として、乾燥葉、蒸留水で5分間煮沸した試料、乾燥葉を水で洗浄した試料、粉碎粒度の異なるスクモのインジゴ濃度を表8に示す。図3は表6と表7、表8のインジゴ濃度を示す。

表7 塩基処理後のインジゴ濃度

| サンプル名                           | サンプル量 [mg] | DMSO量 [mL] | DMSO中のインジゴ濃度 [mg/mL] | インジゴ/乾燥葉 [%] |
|---------------------------------|------------|------------|----------------------|--------------|
| NaOH                            | 13.2       | 20.2       | 0.0128               | 1.96         |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 15.5       | 17.1       | 0.0110               | 1.21         |

表8 対照試料のインジゴ濃度

| サンプル名 | サンプル量 [mg] | DMSO量 [mL] | DMSO中のインジゴ濃度 [mg/mL] | インジゴ/乾燥葉 [%] |
|-------|------------|------------|----------------------|--------------|
| 乾燥葉   | 177.5      | 44.5       | 0.0289               | 0.72         |
| 水洗い   | 9.3        | 14.1       | 0.0062               | 0.93         |
| 煮沸    | 9.6        | 11.2       | 0.0096               | 1.12         |
| スクモ   | 19.3       | 22.5       | 0.0130               | 1.16         |
| スクモ微粉 | 10.3       | 14.4       | 0.0082               | 1.52         |

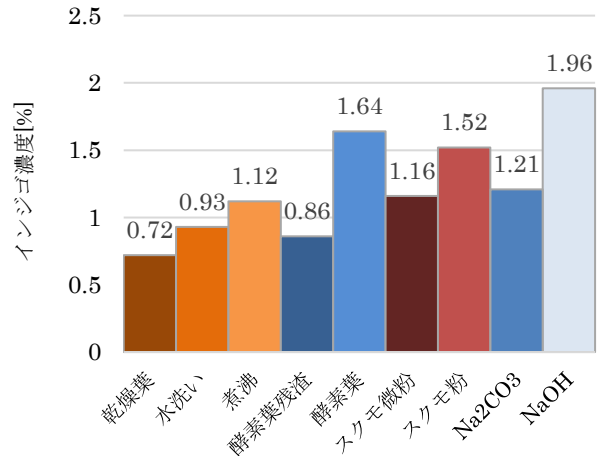


図3 各粉試料のインジゴ濃度

## 4. 考察

### 4. 1. 乾燥葉からの染料抽出法

実験に用いたタデ藍の水分量は、刈り取り直後に80[%]程あることが分かった。また、乾燥葉を蒸留水で煮沸するだけでも20[%]程の減量効果があることが確認できた。これは、乾燥葉に含まれるペクチンやヘミセルロースの一部が、煮沸により溶解したためと考えられる。CM40Lは、セルラーゼのほかにペクチナーゼ、ヘミセルラーゼ活性を持つ酵素剤であることから、セルロース、ペクチン、ヘミセルロースと幅広い成分を分解でき、煮沸のみや他の酵素より減量率が高くなったと考えられる。

塩基処理では、共に30[%]以上の減量率となり、水酸化ナトリウムを使用した場合は、減量率が4割を超えた。また、処理後の塩基水溶液は濃い緑色であり、底部には青い粉体が見られた。水酸化ナトリウムは、炭酸ナトリウムに比べ強い塩基であることから、塩基溶液に溶解しやすいペクチンやヘミセルロースをより溶解したと考えられる。したがって、処理した葉は形が残っているものの、指でほぐれるほどに軟化し、一部のインジゴは溶液中に沈殿したと考えられる。

#### 4. 2. インジゴ濃度の測定

乾燥葉中のインジゴ濃度が 0.72[%]であったのに対し、酵素処理をすることで 1.64[%]、水酸化ナトリウムによる処理では 1.96[%]と濃度を高めることができた。また、スクモのインジゴ濃度 1.52[%]と比較しても、同等以上の濃度であることが分かった。酵素処理及び塩基処理は、セルロースやヘミセルロースの分解作用によりインジゴ以外の成分を溶解または微細化し、インジゴ濃度の上昇に起因したと考えられる。また、細胞壁といった組織の破壊により、潜在化していたインジゴが溶媒に接しやすくなり抽出しやすくなったことも考えられる。

乾燥葉を酵素処理すると、大部分の葉は形が残ったが、一部は微粉化し残渣として沈殿した。沈殿した残渣のインジゴ濃度は、表 6 から低いことが分かる。CM40L には、セルロース繊維の非還元末端からセルビオース単位に加水分解するセルラーゼが含まれているため、インジゴを含まない葉の最表面などの末端部分から分解され、残渣として沈殿したと考えられる。

タデ藍を 100[kg]収穫すると、乾燥後は 20[kg]になり、乾燥葉のインジゴ含有量を 0.7[%]とすると、正味インジゴは 140[g]含まれていることになる。現在は 4 割程度の減量率が最も高い値となっているが、さらに不純物を溶解し、インジゴ濃度を上げていきたい。

### 5. 結言

#### 5. 1. 乾燥葉からの染料製造方法

- ・繊維加工用の酵素を用いて乾燥葉を減量すると、乾燥葉を煮沸する場合と比較し、1 割程減量率を上げることができた。
- ・乾燥葉を水酸化ナトリウム水溶液で処理することで、4 割程減量でき、処理前と比較してインジゴ濃度を 2 倍程にすることができた。
- ・塩基処理や酵素処理によりリグニン、ヘミセルロース、セルロースを総合的に分解、除去することで減量率を高めることができた。

#### 5. 2. 今後の展開

- ・微細化した染料を液中からどのように回収するかが収量向上に不可欠な課題であるため、セルロースナノファイバーの製造技術を取り入れるなどを行い、染料の簡易な回収、濃縮方法を試験する。
- ・乾燥葉から製造した染料の特性について、藍建てを行い染色性や堅牢度を試験する。

#### 謝辞

実験に用いたタデ藍を提供してくださったアイ・ネット福島の石塚代表様、福島県織物同業会の藤原事務局長様に厚く御礼申し上げます。

#### 参考文献

- 1) 谷田治. 酵素によるセルロース繊維の改質. 繊維と工業. 1994, Vol.50, No.2, p.75-79.
- 2) 川人美洋子, 安川涼子. 天然藍で染めた色と合成藍で染めた色の比較. 繊維と工業. 2007, Vol.63, No.2, p.48-53.