

各種市販および自家製木酢液・竹酢液の 主要成分と抗菌活性

駒形 修・本山直樹

千葉大学園芸学部

(受領: 2004年 3月18日; 受理: 2004年 3月29日)

I S S N 0915-4698

環 動 昆

Jpn. J. Environ.
Entomol. Zool.

環動昆 Vol. 15 No. 2 (2004) 別刷

JAPANESE SOCIETY OF ENVIRONMENTAL ENTOMOLOGY AND ZOOLOGY

Seiyu Bldg., Nishi-Honmachi 1-12-19, Nishi-ku, Osaka 550, JAPAN.

各種市販および自家製木酢液・竹酢液の 主要成分と抗菌活性

駒形 修・本山直樹

千葉大学園芸学部

(受領: 2004年3月18日; 受理: 2004年3月29日)

Major Components and Fungicidal Activity of Various Commercial and Home-made Pyroligneous Acid Products. Osamu Komagata and Naoki Motoyama (Faculty of Horticulture, Chiba University, 648 Matsudo, Matsudo, Chiba 271-8510, Japan). *Jpn. J. Environ. Entomol. Zool.* **15** : 83-94 (2004).

The major components and fungicidal activities of commercial pyroligneous acids, bamboo vinegar, and home-made crude pyroligneous acids collected from a charcoal production facility were determined. Large variations in concentrations of the major components were found among the commercial products. In case of home-made crude pyroligneous acids, the quality changed depending upon temperatures at which the acids were collected, being especially remarkable at high temperatures. Toxic substances such as methanol, formaldehyde, and phenols were also detected along with acetic acid. Variations in concentrations of toxic components made it difficult to do risk assessment of pyroligneous acids as a whole. Although some anti-microbial activity was observed against Downy mildew on a culturing medium, little effect was demonstrated on actual plants in controlling against three plant pathogens; downy mildew, botrytis rot, and mildew.

Key words: Pyroligneous acid, Downy mildew, Botrytis rot, Mildew, Major components, Fungicidal activity.

市販されている木酢液、竹酢液および木炭生産現場より採取した自家製粗木酢液について、主要成分の分析と植物病原菌に対する抗菌活性の検定を行った。含有成分とそれらの濃度は、市販品では製品によって大きな違いが見られた。また自家製粗木酢液の品質は採取温度によって異なり、特に煙の採取温度が高いものについては大きな違いが見られた。供試した木酢液からは、酢酸の他に、メタノールやホル

ムアルデヒド、およびフェノール類等の毒性物質も検出された。木酢液一般としての安全性の評価は、資材によって品質に差があるために困難であると判断された。培地上の灰色かび病については室内試験で抗菌活性を示すものも見られたが、いずれの資材についても実際の植物体上では、灰色かび病、べと病、うどんこ病に対する防除活性はほとんど認められなかった。

はじめに

生産性を重視する近代農業において病害虫・雑草の発生は不可避であり、農薬はそれらの防除を通して、食料の安定生産に大きく貢献している。特に化学農薬については、元々自然界には存在しない合成化学物質であるということから、農薬取締法によって薬効だけでなく安全性を確保するために多くの試験が要求されている（梅津，2003）。

それにもかかわらず、一部マスコミとそれに影響された消費者の化学農薬に対する不信感は根強く、無農薬・減農薬栽培農産物の差別化（高価格商品化）をもたらしてきた。そのような背景から、化学合成農薬の代替資材として、いわゆる天然植物抽出液と称する資材が登場した。しかし、実際には、これらの資材には化学農薬が混入されていたことが明らかにされ、登録外資材についても何らかの規制が必要であることが提唱された。（本山ら，1996；駒形・本山，1998；駒形・本山，1999）。2003年に農薬取締法が改正され、農薬取締法の「農薬」の定義に当てはまる全ての資材について登録が必要となった。ただし例外として、安全性が認められ、その資材が「特定農薬」に指定されれば登録の必要なく自由に使用することができるということになった。

多くの資材が「特定農薬」の候補として挙げられたが、2003年の第6回農業資材審議会農薬分科会において、食酢、重曹、使用場所の付近で採取された天敵の3種類のみが指定され、他の資材は情報不足であるとして判定が保留された。

判定が保留された資材の中で、特に注目を集めたものに木酢液がある。木酢液は木炭生産時の副

産物で年間6～7000klが生産されており、殺虫、消臭、抗菌作用、植物成長促進作用等多様な用途をもつと言われている（農山漁村文化協会，2003）。木酢液は林業用の苗木に対する土壌殺菌剤として1973年に登録された（農薬登録番号第12850号）が、1979年に失効している。現在では、無農薬・減農薬栽培や有機栽培において化学農薬の代替資材、あるいは化学農薬の共力資材として用いられている。

木酢液を「特定農薬」に指定することに関しては、(1)木酢液には原料・製法が多く存在するが一括して効力や安全性を評価できるのか、(2)どのように使用すれば何に対してどの程度の効果があるのか、(3)長期的曝露あるいは摂取を考えた場合その使用は安全といえるか、といったことを明らかにしなければならないと思われる。

木酢液の効力に関しては、これまでも試験が行われてきているが、使用した木酢液の品質（含有成分とその濃度）が不明である場合がほとんどである。木酢液の含有成分とその濃度について調査した報告はいくつかあるが（木材工業ハンドブック編集委員会，1982；農山漁村文化協会，1991；大幸TEC，未発表）、品質と効力の関係を明らかにした研究は十分とは云えない。

本報は、木酢液市販品12種類、および炭焼き窯から直接採取した粗木酢液7種類に含まれる主要成分を分析し品質を比較すると共に、数種植物病原菌に対する抗菌活性を室内試験で検定し、木酢液の防除資材としての可能性について検討した。

材料および方法

1. 供試木酢液

実験に供した市販品12種類、自家製7種類の木酢液、竹酢液は表1にまとめて示した。市販品はホームセンター、農業資材店などで購入したものであり、自家製は千葉県大多喜町の林業者に依頼して採取したものである。炭窯は黒炭土窯で炭化室の容積は約7m³であった。木酢液採取の際の炭の原料は、カシ(50%)、タケ(10%)、シイ・サクラ等(40%)であった(体積比)。炭焼き開始5日目から11日目までの7日間、連日1Lずつ粗木酢液を採取した。また採取時には煙の温度を水銀温度計で測定した。

供試した資材の中には木酢液以外に竹酢液等も含まれているが、本論文では便宜上、木酢液と総称することにする。

2. 試薬類

ホルムアルデヒドの定量キットであるホルムアルデヒド-テストワコー、およびフェノール類の

定量キットであるフェノール-テストワコーは和光純薬工業株式会社から購入した。

また生物検定の対照農薬としてダコニール1000フロアブル製剤(有効成分:TPN40.0%,武田薬品工業株式会社)およびロブラール水和剤(有効成分:イプロジオン50.0%,日産化学工業株式会社)を用いた。

その他の試薬は市販の特級品を使用した。

3. 供試菌類

検定に供した3種の植物病原菌は圃場から採集され単離された系統を三井化学株式会社ライフサイエンス研究所より譲渡されたものである。インゲン灰色カビ病の病原菌(*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.)は、直径9cmのシャーレのジャガイモ・ショ糖煎汁寒天(PSA)培地(pH7.0)上において23℃で培養し、10℃で保存したものをを用いた。キュウリうどんこ病菌(*Sphaerotheca fuliginea* (Schltld.) Pollacci)は、20℃に保たれた室内でキュウリ *Cucumis sativus* (Linn.) (品種 相模半白)本葉上において継代培養しているものをを用いた。

表1 供試木酢液

分類	名称	記号	製造/販売元又は採取温度
市販木酢液	蒸留木酢液	A	株式会社ケイヨー(マレーシア産)
	蒸留・精製備長炭木酢液	B	株式会社アプロット
	蒸留竹酢原液	C	KAMIMURA SEITOHJO CO,LTD(中国産)
	特撰竹酢液	D	株式会社アプロット
	木酢原液	E	ヨーキ産業株式会社
	四国こんぴら様麓産竹酢液	F	有限会社 四国テクノ
	純生木酢液	G	和光木材株式会社
	木竹酢液	H	昭平庵(千葉県大多喜町)
市販木酢液 (希釈液)	よもぎ酢液	I	アイリスオーヤマ株式会社
	300倍液木酢液	J	タクトCO.,LTD.
	植物木酢いきいきスプレー	K	シマダ商事株式会社
	植物竹酢いきいきスプレー	L	シマダ商事株式会社
自家製粗木酢液 (大多喜)		M1	採取温度 84℃
		M2	82℃
		M3	86℃
		M4	97℃
		M5	122℃
		M6	186℃
		M7	200℃

べと病菌 (*Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curtis)) は、うどんこ病と同様にキュウリの本葉上だが、高湿度を保つため苗をビニール袋内に入れた状態で、継代培養しているものを用いた。

4. 成分分析

pHはガラス電極法で測定を行った。溶解性タール量は松永ら (1999) の方法に準じて、20mlの試料を蒸発皿に採り、120℃の電気炉で恒量になるまで乾燥後、重量を測定し、残分を溶解性タールと見なした。酢酸およびメタノール量はFID付ガスクロマトグラフ (GC14A, 株式会社島津製作所) を用いた。カラムは信和化学工業株式会社HR-20M (内径0.53mm x 30m, 膜厚3.0 μ m), カラム設定温度は50℃ \rightarrow 昇温10℃/min \rightarrow 250℃ (hold) である。キャリアガスはHe (線速度40cm/s), 注入口 (スプリットレス, ベント時間1min) および検出器温度250℃で測定した。この条件下でのメタノールの保持時間 (RT) は3.2min, 検出限界は0.01% (w/v) であり, 酢酸のRTは9.6min, 検出限界は50ng/lであった (図1)。

ホルムアルデヒドの定量は、ホルムアルデヒド-テストワコーを用いて行った。木酢液の蒸留水希釈液2.0mlにアルカリ試薬2.0ml, 発色試薬2.0mlを順に加え21℃で15min発色させた後、酸化試薬2.0mlを加え発泡が止むまで振り混ぜた後、同様

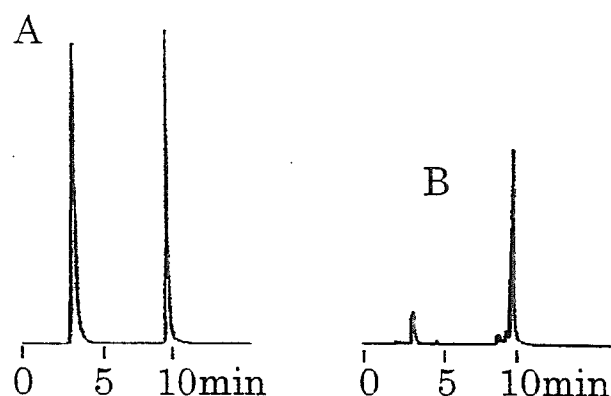


図1 酢酸及びメタノールのGC-FIDクロマトグラム。A: 酢酸5% (RT:9.6min) 及びメタノール5% (RT:3.2min) 含有標準水溶液 (1 μ l注入)。B: 木酢液C (原液を1 μ l注入)。

に処理した蒸留水を対照として分光光度計 (UV-160A, 島津製作所) で波長550nmの吸光度を測定した。ホルムアルデヒドの蒸留水希釈液を同様の方法で処理して発色させて作成した検量線を用いて、吸光度をホルムアルデヒド量に換算した。

フェノール類の定量には、フェノール-テストワコーを用いた。木酢液の蒸留水希釈液10mlにフェノール発色試薬1錠を加えて攪拌し溶解させて発色させた。同様に処理した蒸留水を対照として、分光光度計で波長460nmの吸光度を測定した。フェノールの蒸留水希釈液を同様の方法で処理して作成した検量線を用いて、フェノール濃度に換算したものをフェノール類濃度とした。

各木酢液について、ガスクロマトグラフ質量分析計 (島津GCMS-QP2000GF) を用いて分析し、フルフラール、フルフリルアルコール、フェノール、*o*-クレゾール、*p*-クレゾール、グアヤコール、*o*-メチルフェノール、*p*-メチルフェノール、メトキシフェノールについては定量を行った。測定条件は、オンカラム注入口温度250℃, カラム (Agilent DB-1) 温度50℃ (5min) \rightarrow 250℃ (Hold) (10℃/min昇温), イオン化方式: EI, インターフェイスおよびイオン源温度250℃である。木酢液は原液を、標準物質はアセトン希釈液を1 μ l注入した。

5. 抗菌活性の検定

1) インゲン灰色カビ病菌に対する活性

インゲン灰色カビ病の病原菌は、継代培養している菌を直径9cmのシャーレのPSA培地に移植してBLB (NIPPO, FL20SBLB, 20W) 照射下で、20℃で5日間培養した後、PS培地を20ml加え、筆で十分にこすることで胞子を懸濁させた液を2重のガーゼでろ過し、胞子懸濁液とした。胞子懸濁液には $1 \times 10^6 \sim 10^7$ /mlの胞子が含まれるように調整した。

人工培地上での抗菌検定は、バイオオートグラフ (株式会社いわしや, 320mm x 240mm x 20mm) 上で行った。5mmの厚さのPSA培地上に、胞子懸濁液を5ml塗布した。各木酢液と、対照として蒸留水および殺菌剤ロブラール水和剤を蒸留水で

1000倍に希釈した液に、直径8mm厚さ1.5mmの抗生物質検定用ろ紙（アドバンテック東洋株式会社）をそれぞれ浸し、上記のバイオオートグラフ上に載せた。BLB照射下で、20°Cで5日間培養した後、形成された阻止円の直径を測定した。

植物体上での抗菌活性は、1株毎に直径8cmのポットを用いて、培養土（有限会社 桑谷商店）で栽培し子葉が完全に展開したインゲン *Dolichos lablab*（品種 トップクロープ菜豆）苗上で検定した。希釈品を除く各木酢液を井水で10倍希釈し、ハンドスプレーを用いて子葉1枚当たり表裏に1mlずつ計2ml散布した。対照として井水およびロブラル水和剤1000倍希釈液を同様に処理した。3h風乾の後、上記と同様の抗生物質検定用紙を孢子懸濁液に浸したものをインゲン子葉上に載せた。20°Cに保たれた実験室内の窓辺に4日間保持後、形成された病斑の直径を測定した。

2) キュウリべと病およびうどんこ病に対する活性

キュウリはインゲンの場合と同様の容器、培養土で栽培し、検定は本葉2葉目が展開を始めた植物体上で行った。木酢液および対照である蒸留水および殺菌剤ダコニール1000フロアブル製剤の1000倍希釈液はインゲンへの処理と同様の方法で処理し風乾した。べと病の接種は、継代培養している植物体の検定用本葉（接種後約10日）を蒸留水で懸濁し2重のガーゼでろ過した分生子懸濁液（分生子を約 1×10^5 /ml含む）を本葉1枚あたり1ml葉裏に散布することで行った。接種後の苗はビニール袋に入れ加湿状態を保ち20°Cで7日間栽培後、発病指数を用いて感染の程度を数値化した。うどんこ病の接種は、継代培養している植物体の本葉（接種後約7日）から振り払い法で接種し、20°Cで7日間栽培後、発病指数を用いて感染の程度を数値化した。発病指数は、べと病、うどんこ病ともに、0:発病なし、1:発病面積5%以下、2:発病面積6~25%、3:発病面積26~50%、4:発病面積50%以上、という基準である。

結果と考察

1. 主要成分濃度の比較

各種木酢液のpHと主要成分濃度を調べた結果は表2に示した。市販木酢液（A~H）のpHは2.6~3.6、希釈品（I~L）は4.4~7.6の範囲であった。希釈品のpHの上昇は基本的に希釈によるものと考えられる。市販品の木酢液10種類を林野庁が過去に調査した結果、pHは1.97~3.62であった（農山漁村文化協会, 1991）。林野庁の支援のもとに日本木酢液協会によって作成された規格では、木酢液のpHは1.5~3.7であることとされている（谷田貝, 2001）。一方、自家製粗木酢液（M1~M7）のpHは2.5~4.9の範囲であり採取した排煙温度が高くなると、pHが高くなる傾向が見られた。ただし、粗木酢液は炭化の過程で発生する煙全部から採取されるのではなく、特に有毒であるベンゾピレン等の混入を防ぐためには、採取口の温度が80~120°Cの時のみを採取するのが望ましいとされる（農山漁村文化協会, 2003）。これは表1のM1~M4に相当し、その場合のpH範囲は2.5~2.7である。従って、今回供試した粗木酢液は、pHについてはM6とM7以外は規格の範囲に収まっていると考えられる。

一方、溶解性タール量は、市販木酢液（A~H）では、ほとんどが0.1~0.5%の範囲であったがFは0.82%と若干高く、Gは1.95%と特に高かった。Gのタール濃度がまったく精製を行っていない自家製粗木酢液（M1~M7）と比べても異常に高いことの原因は不明である。希釈品（I~L）の溶解性タール量は0.02~0.11%と低く、自家製粗木酢液（M1~M7）については0.19~0.50%の範囲であったが、排煙温度が186°CのM6と200°C以上のM7ではタール量は各々0.46および0.50と比較的高かった。上記で引用した林野庁の調査では、市販10種類の木酢液の溶解タール量は、0.02~2.6%と100倍以上の濃度差を示している。ただし、タール量の高いものは実際には再精製して販売されているとのことである。