

表2 *umu* 試験で検定した各種木酢液の S-9 Mix 処理および非処理下における変異原性

Product Code	Concentration Tested	Mutagenicity (A ₆₃₀)					
		without S-9 Mix			With S-9 Mix		
		Rep. 1	2	X	Rep. 1	2	X
A	Original Solution	-0.376	-0.364	-0.370	-0.392	-0.410	-0.401
B	ibid.	-0.372	0.326	-0.023	-0.471	-0.503	-0.487
C	ibid.	N.D.	N.D.	N.D.	-0.442	-0.493	-0.468
D	ibid.	-0.381	-0.381	-0.381	-0.441	-0.453	-0.447
E	ibid.	-0.358	-0.373	-0.366	-0.436	-0.478	-0.457
F	ibid.	-0.353	-0.364	-0.359	-0.502	-0.506	-0.504
G	ibid.	-0.385	-0.385	-0.385	-0.476	-0.486	-0.481
H	ibid.	-0.369	-0.379	-0.374	-0.474	-0.499	-0.487
I	ibid.	0.039	0.045	0.042	0.110	0.096	0.103
J	ibid.	0.080	0.085	0.083	0.221	0.098	0.160
K	ibid.	0.030	0.073	0.052	-0.433	-0.478	-0.456
L	ibid.	0.016	0.077	0.047	-0.452	-0.471	-0.462
M1	ibid.	-0.377	-0.372	-0.375	-0.512	-0.514	-0.513
M2	ibid.	-0.437	-0.437	-0.437	-0.493	-0.493	-0.493
M3	ibid.	-0.390	-0.386	-0.388	-0.522	-0.517	-0.520
M4	ibid.	-0.375	-0.379	-0.377	-0.480	-0.485	-0.483
M5	ibid.	-0.387	-0.379	-0.383	-0.496	-0.488	-0.492
M6	ibid.	-0.378	-0.384	-0.381	-0.471	-0.492	-0.482
M7	ibid.	-0.391	-0.395	-0.393	-0.517	-0.512	-0.515

N. D.: No data due to experimental error

酢液Cについては操作上のミスにより信頼できるデータが得られなかったが、後述する実験（実験2, 図2）において木酢液CはS-9 Mix非処理下では菌の生育阻害を示すことが確認されている。

実験2：希釈液に対する試験

総合的に成分濃度が濃いと思われる（駒形・本山, 2004a）木酢液3種類すなわちC, G, Hについて、検定菌に対する抗菌作用の影響を減ずるために希釈液を作成しS-9 Mix処理および非処理下で検定を行った。S-9 Mix非処理下では、いずれの木酢液でも最高濃度である 10^5 ppm（すなわち原液の10倍希釈液）では、検定菌に対する生育阻害が見られた（図2）。しかし、S-9 Mix処理下では生育阻害が見られないことから、生育阻害にはS-9 Mixに含まれる酵素系によって分解される基質が関与するものと推察される。しかし、得ら

れた発色程度（A₆₃₀値）は陽性対象の検量線の値と比較して著しく低く、変異原性陽性であると判断するのは困難であった。

実験3：部分精製した木酢液に対する試験

前報（駒形・本山, 2004a）で報告したごとく、今回供試した木酢液から検出された成分の中には、明らかに変異原性を示すと思われる成分が含まれている。しかし、実験1, 実験2において結果が陰性となった理由は2つ推察される。一つは変異原性を示す物質の濃度が低いため、もう一つは木酢液に抗菌活性があるためである。

*umu*試験では、変異原性の検定菌に*S. typhimurium*を用いるために、抗菌作用の高い化学物質では陰性になりやすい。通常、変異原性の試験では、水溶解度等の物理化学的条件が許す限り、最高濃度で試験を行うことになっている。しかし、濃度

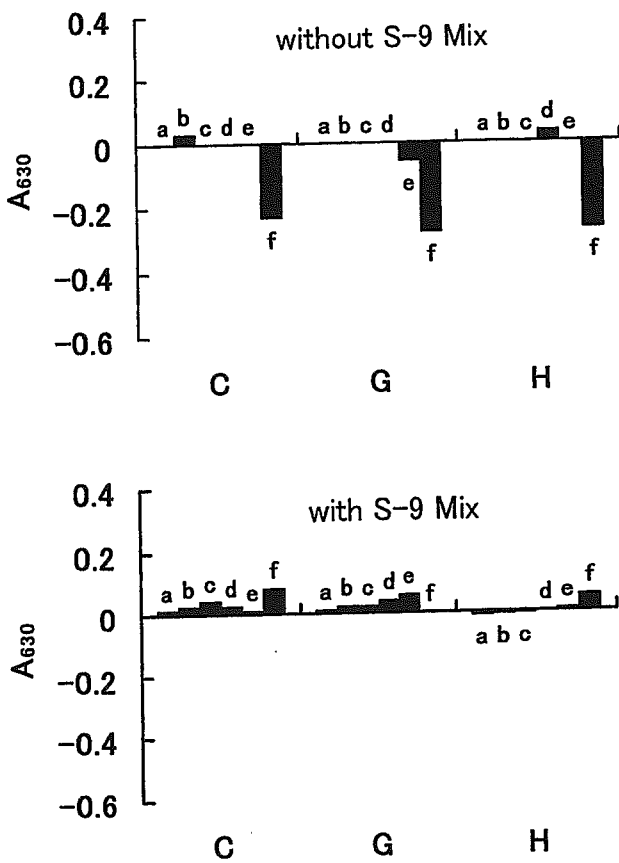


図2 S-9 Mix 処理および非処理下における木酢液C, G, H希釈液の変異原性, (供試濃度) a: 1 ppm, b: 10 ppm, c: 10^2 ppm, d: 10^3 ppm, e: 10^4 ppm, f: 10^5 ppm.

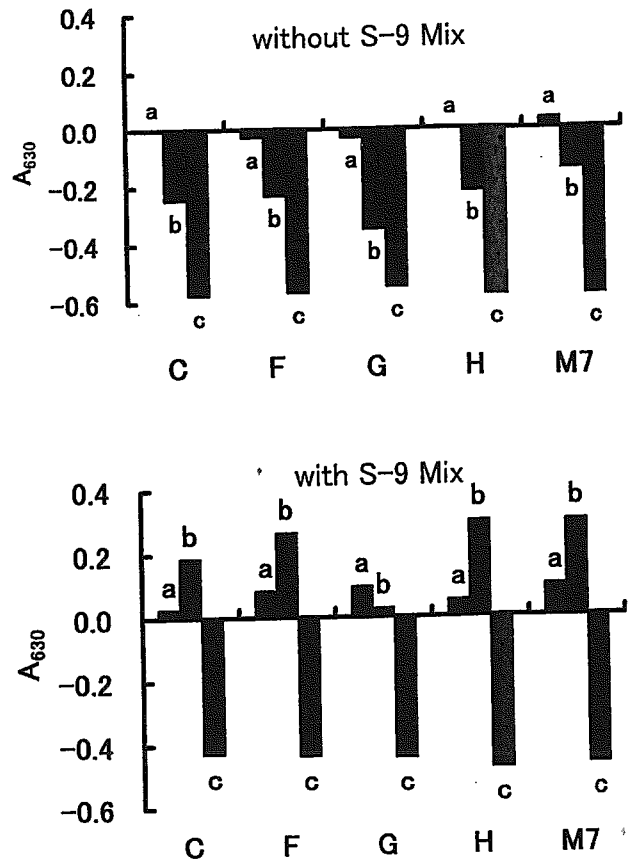


図3 部分精製した木酢液C, F, G, H, M7のS-9 Mix 処理および非処理下における変異原性 (供試濃度) a: 10倍希釈液相当, b: 原液相当, c: 10倍濃縮液相当

が高くなれば生育阻害の起こる確率も高くなる。特に木酢液の場合はすでに言及したごとく多くの成分が含まれているため(木材工業ハンドブック編集委員会, 1982), 変異原性のある物質が含まれていても, 抗菌活性のある物質が共存していれば見かけ上陰性反応を示す可能性もある。

そこで木酢液5種, すなわちC, F, G, H, M7について固相カラムを用いてカラムに吸着されない抗菌活性物質をある程度除去した試料について同様に変異原性試験を行ったところ, S-9 Mix 処理下で全ての供試木酢液は正の吸光度を示し, 陽性反応が得られた(図3)。

今回の部分精製では, 固相カラムを通すことによって木酢液に含まれていた酢酸, アルコール類等の試験系を妨害する抗菌物質は除かれているこ

とが推察されるが, 木酢液に含まれる成分は多いため個々の成分の回収率については未検討である。さらに本研究では逆相系のカラムを用いているため, 木酢液に含まれているアルコール類等の濃度によっては他の成分の回収率が変化することも推察される。このように本研究では必ずしも変異原性物質を精製する為の条件が最適化されているわけではないにも関わらず, 部分精製した木酢液は全てS-9 Mix 処理によって吸光度が正となり, 検量線と比較して, 変異原性を有することを強く示唆した。

一方, 木酢液の種類によって陽性反応を示した濃度が異なることは興味深い。例えば, 木酢液C, F, H, M7は原液相当濃度で最も高い陽性反応を示したが, 木酢液Gは原液の10倍希釈液相当濃度

でもっとも高い陽性反応を示した。しかし、いずれの木酢液も原液の10倍濃縮液相当濃度では、明確に検定菌に対して生育阻害を示した。従って陽性反応を示した場合も、検定菌に対する生育阻害とのバランスの値に過ぎず、実際の変異原性はもっと強い可能性も考えられる。

試験方法について

一般に、植物抽出液と呼ばれる資材は、構造不明の多くの成分を含む。そのような資材に対しては、農薬等の単成分から成る化学物質の変異原性の試験方法をそのまま適用することは、必ずしも適切ではない。含有成分ごとの変異原性を検定することが望ましいが、木酢液の場合は成分そのものが不明なことに加えて、含まれる成分の種類が著しく多いために、それらの全てについて検定するのはコスト的に困難を伴う。本研究で採用した固相カラムを用いた部分精製の方法は、抗菌物質を含む混合成分から成る資材の変異原性を検定する上で、簡便かつ有用なひとつの方法と考えられる。

また、本研究で供試した5つの木酢液全てから変異原性陽性の反応が検出されたということは、木酢液を特定農薬の候補資材として考えるにあたっては、長期的摂取に伴う安全性に関して慎重な検討が必要なことを示唆するものである。

木酢液の濃度を変えた至適検定条件下における変異原性の評価、ならびに変異原性物質の単離・同定は今後の検討課題である。なお、木酢液の変異原性については、最近中島ら(2003)がAmes試験を用いて一部の木酢液から変異原性陽性の結果が得られたことを報告している。

引用文献

千葉県衛生研究所(1997)「ヤマビル生態と防除に関する調査報告書」, pp. 31-41.
現代農業(2004)「減農薬の宝物—木酢・竹酢・モミ酢—とことん活用読本」, 2004年4月号(別冊), 農文協。

池田良雄, 大森 仁, 加藤隆一, 高仲 正(1964) 昭和39年度特別研究推進調整費「木酢液利用に関する特別研究報告書」(昭和41年3月), pp. 65-80, 科学技術庁研究調整局。
岸本定吉(監修)(2004)「木酢・炭で減農薬—使い方とつくり方」, 農文協。
駒形 修, 本山直樹(1998)有機農業用資材「ニュームシギエ」の殺虫活性と有効成分. 千葉大園学報 52:13-16。
駒形 修, 本山直樹(1999)有機農業用資材「健康源・地」の除草活性と有効成分. 千葉大園学報 53:15-18。
駒形 修, 本山直樹(2004a)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. 環動昆 15(2):83-94。
駒形 修, 本山直樹(2004b)各種市販および自家製木酢液・竹酢液の殺虫活性と水生生物に対する影響. 環動昆 15(2):95-105。
木材工業ハンドブック編集委員会(1982)「木材工業ハンドブック」. pp. 904-908, 丸善株式会社。
本山直樹, G. K. M. Mustfizur Rahman(2004)日本農薬学会第26回大会(神戸)講演要旨集, p. 90。
中島大介, 影山志保, 後藤純雄, 柴野一則, 吉澤秀治(2003)木炭抽出物及び木酢液の変異原性について. 日本環境変異原学会第32回大会プログラム/要旨集, p. 109。
日本農業新聞(2004)特定農薬を拡大, 2004年2月7日。
Rahman, G. K. M. M. and N. Motoyama(1998) A synthetic pyrethroid found as the active ingredient of “Nurse Green”, a so-called natural-plant extract-formulation used for organic agriculture. *Tech. Bull. Hort. Chiba Univ.* 52: 7-12。
竹井 誠・林 晃史(1968)ハエ並びにナメクジに対する木酢液の効果について. 衛生動物 19(4):252-257。

駒形 修 ほか

梅津憲治 (2003) 「農薬と食」, pp. 99-116, ソフトサイエンス社, 東京.

谷田貝光克 (2001) 木酢液規格作成と木酢液によ

る農業害虫等の防除. *New Food Industry* 43
(6): 4-8.