

キハダ材の微生物抵抗性

清川陽子、酒井温子、岩本頼子、都築正男*

キハダ材に適した用途を見出すために、奈良県内で生育したキハダについて、かび抵抗性、耐朽性および抗菌性を調査した。

5種類のかびを用いた抵抗性試験の結果、ペニシリウムはキハダ心材試験体の側面にしか発育できなかったが、オーレオバシディウムは上面の一部を、またアスペルギルス、リゾープスおよびトリコデルマは上面全面を菌糸が被覆した。このように、かびの種類によって発育程度に差が見られたが、総合的に判断して、キハダ心材のかび抵抗性は高いとは言えなかった。

また、耐朽性試験の結果、キハダ材は辺材心材とも、オオウズラタケおよびカワラタケによる重量減少率は20%以上と高く、耐朽性は低かった。

一方、抗菌性試験の結果、黄色ぶどう球菌に対する抗菌活性値は、キハダ辺材で3.2、キハダ心材で2.2であり、キハダ材には黄色ぶどう球菌の増殖抑制効果が認められた。しかし、大腸菌に対する抗菌活性値はキハダ辺材、心材ともに低く、今回の検討では抗菌性が確認できなかった。

1. はじめに

キハダ (*Phellodendron amurense* Ruprecht) はミカン科の広葉樹で、古来より内樹皮は生薬オウバク¹⁾として利用されてきた。しかし、現在、奈良県内に点在して生育しているキハダは、生産者の高齢化等によりその多くは放置状態にあり、伐採や内樹皮を剥ぐ収穫作業も困難となっている。また、内樹皮以外の実、葉や木部等については、ほとんど利用されず破棄されている。今後、奈良県内でキハダの栽培を促進させ、オウバクの収穫量を増加させるには、オウバク以外の部分も有効に活用し、副産物による新たな収入源の確保も望まれる。

オウバクにはベルベリン等の抗菌成分が含まれており、高い抗菌性を有している。このため木部にも抗菌成分が含まれている可能性があるが、木部の抗菌性に関する既存の実験結果はほとんど見当たらない。また耐朽性については「中」との記載があるが、詳細は不明である²⁾。

そこで、キハダ材の材質に応じた用途を提案するために、奈良県内で生育したキハダを対象に各試験規格を参考にしながら、かび抵抗性、耐朽性および抗菌性を調査したので報告する。

なお、本検討は、奈良県研究分野統合本部（事務局：産業政策課）における研究テーマ「県産キハダ（オウバク）の栽培促進と有効利用に関する研究」の一環として実施した。

2. 材料と方法

2.1 材料

2.1.1 木材試験体

2019年に奈良県内で伐採された表1に示すキハダを使用した。キハダ丸太は帯鋸で厚さ約30mmの板目板に製材されて当センターに持ち込まれた。栈積みをして約1年間自然に乾燥させた後、各試験に供した。試験体の

表1 各試験に供したキハダ材

材料	伐採日	生育場所	樹高(m)	樹齢(年)	胸高直径(cm)	部位	かび抵抗性試験	耐朽性試験	抗菌性試験
A	2019年6月23日	山添村広代	18.8	32	33.5	辺材		○	
						心材	○	○	
B	2019年6月27日	天川村栃尾	20	63	61	心材	○	○	
C	2019年7月9日	奈良市都祁友田	10	28	31.5	辺材		○	
						心材	○	○	
D	2019年8月8日	山添村片平	11.5	25	26.5	辺材		○	○
						心材	○	○	○

* 奈良県産業振興総合センター

作成にあたっては、木口面においては端部から約50mm、その他の面では表面から厚さ約5mmを除去して、内部を利用することとし、図1に示すように、辺材と心材最外部から試験体を採取した。

また、対照として、奈良県産のスギ辺材を使用した。スギ辺材はかび抵抗性や耐朽性が低いことが知られており、供試菌の活性確認にも利用することができる。

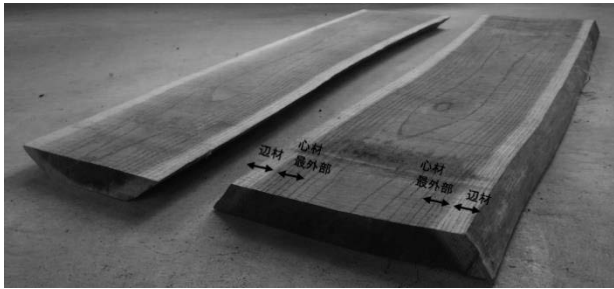


図1 キハダ板材からの試験体の採取位置

2.1.2 供試菌

(1) かび抵抗性試験

(公社)日本木材保存協会規格 JWPAS-MW (2018)「木材用防かび剤の性能基準及びその試験方法」に準拠し、供試するかびは、表2に示す5種類の菌とした。

各菌を、グルコース1%、ペプトン0.3%、麦芽エキス2%を含む培養液で、27℃下で4日間振とう培養し菌懸濁液を得た。

表2 かび抵抗性試験に用いたかびの種類

記号	菌種 (本報における呼称)
As	<i>Aspergillus niger</i> NBRC 105649 (アスペルギルス)
Pe	<i>Penicillium funiculosum</i> NBRC 6345 (ペニシリウム)
Rh	<i>Rhizopus oryzae</i> NBRC 31005 (リゾープス)
Au	<i>Aureobasidium pullulans</i> NBRC 6353 (オーレオバシディウム)
Tr	<i>Trichoderma virens</i> NBRC 6355 (トリコデルマ)

(公社)日本木材保存協会規格 JWPAS-MW (2018)「木材用防かび剤の性能基準及びその試験方法」に準拠

(2) 耐朽性試験

JIS Z 2101 : 2009「木材の試験方法」に準拠し、供試する木材腐朽菌は、オオウズラタケ *Fomitopsis palustris* (Berk. Et Curt.)Gilbn.& Ryv.FFPRI 0507 とカワラタケ *Trametes Versicolor* (L.:Fr.)Pilat FFPRI 1030 とした。

各菌を、グルコース1%、ペプトン0.3%、麦芽エキス2%を含む培養液で、27℃下でオオウズラタケについては6日間、カワラタケについては10日間振とう培養し、

菌懸濁液を得た。

(3) 抗菌性試験

JISL 1902:2015「繊維製品の抗菌性試験方法及び抗菌効果」に準拠し、供試する細菌は、黄色ぶどう球菌 *Staphylococcus aureus* NBRC 12732 と、大腸菌 *Escherichia coli* NBRC 3972 とした。

各菌を、まず脱水酵母エキス0.25%、カゼイン製トリプトン0.5%、グルコース0.1%、寒天1.2%を含む混積平板培養法用寒天培地上に筋状に塗りつけ、35℃で24時間培養する前培養Aを行った。次に、20mLの肉エキス0.3%、ペプトン0.5%を含むニュートリエント培地に、前培養Aの平板のコロニーを接種し、35℃で24時間振とう培養する前培養Bを行った。そして、20mLのニュートリエント培地に、前培養Bの培養液から0.4mL加え、35℃で4時間振とう培養する前培養Cを行った。前培養Cの培養後の菌濃度を、オートクレーブによる滅菌脱イオン水によって20倍希釈した、ニュートリエント培地を用いて、1×10⁵CFU/mL~3×10⁵CFU/mL (1mL当たりのコロニー形成単位)に調製した。

2.2 方法

2.2.1 かび抵抗性試験

キハダ試験体として、表1に示す4個体A、B、CおよびDの心材、および対照試験体として無処理のスギ辺材を用いた。試験体の大きさは、繊維方向40mm、半径方向20mm、接線方向4mmとした。試験体の表面は、かんなをかけずに、鋭利な丸鋸で切削したままの状態試験に供した。試験体の数は、各菌あたり6体とした。

試験体は、エチレンオキサイドガスで滅菌した後、(公社)日本木材保存協会規格 JWPAS-MW (2018)「木材用防かび剤の性能基準及びその試験方法」を参考に、以下の抗かび操作に供した。

すなわち、殺菌した直径約90mmの蓋つきのガラスシャーレに、2%寒天水溶液を約15mL注ぎ、固化させた後、2.1.2(1)で調製した菌懸濁液を約2mL入れ、その上にプラスチック製の網を置き、さらにその上に滅菌済みの試験体を各3体設置し、ふたを閉めた。

この状態で、27℃で4週間培養した後、ふたを開けて試験体へのかびの発育状況を目視および実体顕微鏡で観察し、表3により試験体ごとに0~3の4段階で評価した。各かびについて、試験体6体の評価値を平均し、平均評価値とした。さらに次式より、かび発育の抵抗値を算出した。

$$\text{抵抗値 (E)} = \frac{S_0 - S_1}{S_0} \times 100 (\%)$$

ここで、 S_0 はスギ辺材試験体において5種類のかびによる平均評価値の合計

S_1 はキハダ心材試験体において5種類のかびによる平均評価値の合計

2.2.2 耐朽性試験

JIS Z 2101 : 2009「木材の試験方法」、26 耐朽性試験に準じて試験を行った。

キハダの試験体として、表 1 に示す 4 個体 A、B、C および D の辺材および心材を用いた。試験体の大きさは、原則として一辺が 20mm の立方体としたが、キハダの辺材幅は狭いため、個体 B については、辺材試験体が採取できなかった。またその他の個体においても、辺材試験体の一部で半径方向の寸法は 15~20mm となった。試験体数は各 24 体とし、オオウズラタケおよびカワラタケに対して 12 体ずつ使用した。

対照のスギ辺材試験体は、すべて一辺が 20mm の立方体とし両菌に対して 12 体ずつ使用した。

2.1.2(2)で調製した菌懸濁液をあらかじめ培養瓶(容積 900mL、ガラス製広口瓶)内で培養し、菌叢が十分に広がった時に、60℃恒量を測定し、エチレンオキサイドガスで滅菌処理をした試験体を、木口面を上下方向として培養瓶内に 3 体ずつ設置した。培養瓶は、温度 27℃、相対湿度約 70%の培養室内に静置した。

60 日経過後、試験体を培養瓶から取り出し、表面に付着した菌糸を取り除いてから、再び 60℃恒量を測定した。以上の抗菌操作に伴う重量減少率は、次式により算出した。

$$\text{重量減少率 (\%)} = \frac{\text{抗菌操作前の 60℃恒量} - \text{抗菌操作後の 60℃恒量}}{\text{抗菌操作前の 60℃恒量}} \times 100$$

2.2.3 抗菌性試験

JIS L 1902 : 2015「繊維製品の抗菌性試験方法及び抗菌効果」、8.1 菌液吸収法に準じて試験を行った。この試験方法は、もともと繊維製品を対象にしているが、木材を対象とした抗細菌に対する試験規格がないことから、今回はこの方法を準用した。

試験には、表 1 のキハダ個体 D の辺材と心材およびスギ辺材を、ウイレー式粉碎機でそれぞれ粉碎し木粉にして使用した。使用する木粉の大きさは、直径 2 mm の孔

を通過したものとした。木粉は気乾状態で 0.4g ずつ量り取り試料とした。試料数は各 12 体とし、黄色ぶどう球菌および大腸菌に対して 6 体ずつ使用した。対照試料は綿白布(川本産業製のガーゼ、綿 100%)とし、1 cm 角に裁断し同じく 0.4g を量り取って使用した。対照試料数も 12 体とし、黄色ぶどう球菌および大腸菌に対して 6 体ずつ使用した。

試料はバイアル瓶に入れ、エチレンオキサイドガスで滅菌処理をした。そこに、2.1.2(3)で調製された試験接種液を 0.2mL ずつ試料上に接種した。6 体のうち 3 体は接種直後に、残りの 3 体は 35℃の培養器内で 18 時間培養した後に、生理食塩水を用いて洗い出しを行った。各菌それぞれの洗い出し液を 1 mL ずつ採取し、混積平板培養法による定量法により菌濃度を求めた。このときのシャーレの繰り返しの数は 2 とし、培養は 35℃で 24 時間とした。

菌濃度は次式により算出した。

$$\text{菌濃度 (C}_B\text{)} = Z \times R \quad (\text{CFU/mL})$$

ここで、Z は 2 つのシャーレのコロニーの平均値、R は希釈倍率。

そして、次式により生菌数を算出した。

$$\text{生菌数 (M)} = C_B \times 20$$

ここで、 C_B は菌濃度、20 は洗い出し液量さらに次式により、抗菌活性値を算出し、表 4 により評価した。

$$\text{抗菌活性値 (A)} = F - G$$

ここで、F は対照試料の増殖値 ($\log C_t - \log C_0$)

$\log C_t$: 18 時間培養後の対照試料 3 検体の生菌数の算術平均の常用対数

$\log C_0$: 接種直後の対照試料 3 検体の生菌数の算術平均の常用対数

G は対照試料の増殖値 ($\log T_t - \log T_0$)

$\log T_t$: 18 時間培養後の試験試料 3 検体の生菌数の算術平均の常用対数

$\log T_0$: 接種直後の試験試料 3 検体の生菌数の常用対数

表3 かび抵抗性試験における評価基準

評価値	菌体の発育状態
0	試験体にかびの発育が全く認められない
1	試験体の側面にのみかびの発育が認められる
2	試験体の上面の面積の1/3以下にかびの発育が認められる
3	試験体の上面の面積の1/3以上にかびの発育が認められる

(公社)日本木材保存協会規格 JWPAS-MW (2018) 「木材用防かび剤の性能基準及びその試験方法」に準拠

表4 抗菌性試験における効果基準

抗菌活性値	抗菌効果
$2.0 \leq A < 3.0$	効果が認められる
$3.0 \leq A$	強い効果が認められる

JIS L 1902:2015 「繊維製品の抗菌性試験方法及び抗菌効果」に準拠

3. 結果と考察

3.1 かび抵抗性

図2に、アスペルギルスを接種し4週間培養後の様子を示した。スギ辺材試験体およびキハダ心材試験体の上面には、いずれも菌糸が覆い、黒色の孢子が形成されたことが、目視観察で確認できた。表3の基準に従い、いずれの試験体も評価値は3となった。

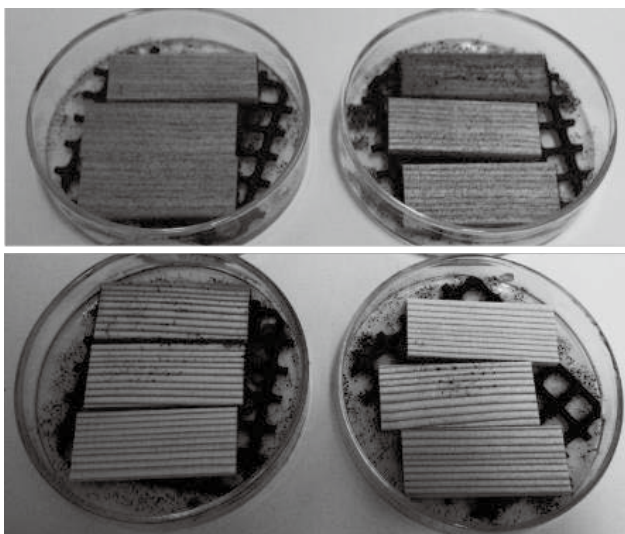


図2 かび抵抗性試験の終了時の様子

上：キハダ心材

下：スギ辺材

供試菌はいずれもアスペルギルス

一方、目視では菌糸や孢子が不明瞭な場合でも、たとえば図3示すオーレオバシディウムのように、実体顕微鏡により50倍程度の倍率で観察すると、菌糸の発育状況を正確に判定することができた。同様に他のかびについても実体顕微鏡による観察を行い、表5の結果を得た。

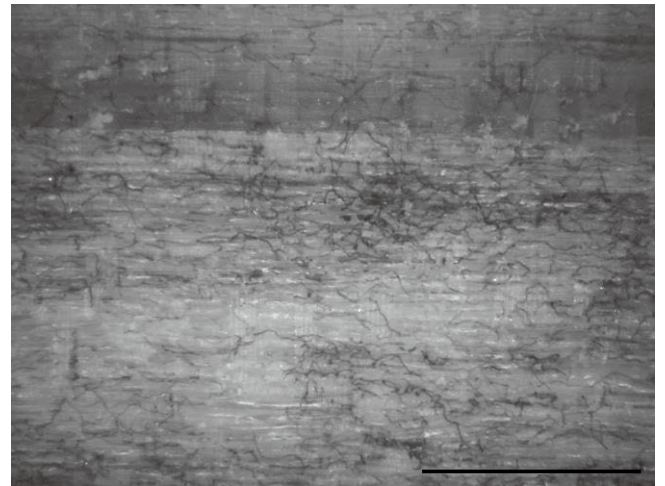


図3 スギ辺材試験体上面におけるオーレオバシディウムの菌糸(実体顕微鏡)バーは1mmを示す。

供試した5種類のかびに対する抵抗性には差があり、たとえば、ペニシリウム(Pe)ではスギ辺材試験体の平均評価値が3.0であるのに対し、キハダ心材は0.33~0.67であった。過去の同様の試験においても、キハダ心材試験体上にはペニシリウムの発育は見られず平均評価値は0であった。これらの結果から、キハダ心材はペニシリウムに対して抵抗性があるといえる。また、オーレオバシディウム(Au)については、スギ辺材試験体の平均評価値が3.0であるのに対し、キハダ心材では1.00~2.00で、かびの発育は少なかった。しかし、その他のかびでは、スギ辺材とキハダ心材には菌糸の発育状況にほとんど差は見られなかった。

5種類の菌の平均評価値の合計は、スギ辺材が15.0に対して、キハダ心材は10~11であり、スギ辺材よりもかび抵抗性がやや高い、すなわちキハダ心材の方がかびがやや生えにくいことがわかる。

しかし、一般に木材用の防かび剤の性能を判定する場合、かび発育の抑制値は目安として70%以上が必要である。今回は薬剤の性能試験ではなく、キハダ心材がもともと持つ成分がかびの発育を抑制する性能を持つかどうかを確認しているが、キハダ心材の抑制値(抵抗値)は、今回の試験の範囲では26~36%であり、十分なかび抵抗性があるとはいえなかった。

表5 かび抵抗性

材料	菌種ごとの平均評価値					S (A1~A5の合計)	E (抵抗値)(%)
	A1(As)	A2(Pe)	A3(Rh)	A4(Au)	A5(Tr)		
キハダA心材	3.00	0.67	3.00	1.33	3.00	11.00	26.7
キハダB心材	3.00	0.33	3.00	1.33	2.67	10.33	31.1
キハダC心材	3.00	0.33	3.00	1.00	2.33	9.66	35.6
キハダD心材	3.00	0.50	3.00	2.00	2.67	11.17	25.5
スギ辺材	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	15.00	—

3.2 耐朽性

図4および5に木材腐朽菌による抗菌操作終了時点の様子を示す。どの試験体もオオウズラタケあるいはカワラタケの菌糸によって厚く覆われている。表6にオオウズラタケおよびカワラタケによる抗菌操作で生じた木材試験体の重量減少率について、試験体12体の平均値および標準偏差を示した。

オオウズラタケによる重量減少率は、対照材であるスギ辺材は41.0%であるが、キハダ心材では23.5%~

42.2%、辺材では47.4%~56.0%となった。辺材に比べ心材の方が重量減少率がやや低いことから、キハダの心材成分にはオオウズラタケに抵抗力のある成分が含まれると考えられるが、腐朽を完全に阻止できるほどの効力は有していない。

一方、カワラタケによる重量減少率は、対照材で21.8%であるが、キハダ心材では23.3~27.9%で、辺材では28.8~32%あった。キハダの心材と辺材は、ともに対照材のスギ辺材よりも大きな重量減少となった。



図4 オオウズラタケによる腐朽操作終了時の様子
上：キハダC辺材
下：キハダC心材



図5 カワラタケによる腐朽操作終了時の様子
上：キハダC辺材
下：キハダC心材

表6 腐朽による重量減少

試験体	腐朽による重量減少率(%)*	
	オオウズラタケ	カワラタケ
キハダA辺材	47.4 (18.0)	30.3 (3.5)
キハダC辺材	56.0 (4.7)	32.0 (3.1)
キハダD辺材	51.1 (6.0)	28.8 (4.6)
キハダA心材	28.5 (11.0)	24.3 (4.1)
キハダB心材	42.2 (8.3)	27.9 (3.7)
キハダC心材	23.5 (5.8)	26.0 (3.6)
キハダD心材	33.1 (8.7)	23.3 (3.5)
スギ辺材	41.0 (6.5)	21.8 (4.1)

* : 12 試験体の平均値、() 内は標準偏差

既往研究によると³⁾、同様の実験を行った場合、オオウズラタケおよびカワラタケによる重量減少率は、たとえば、ヒノキ心材では2.4%と1.6%で耐朽性が「大」、スギ心材では、7.8%と6.4%で「中」と判定されているが、キハダ辺材および心材では両菌による重量減少率は

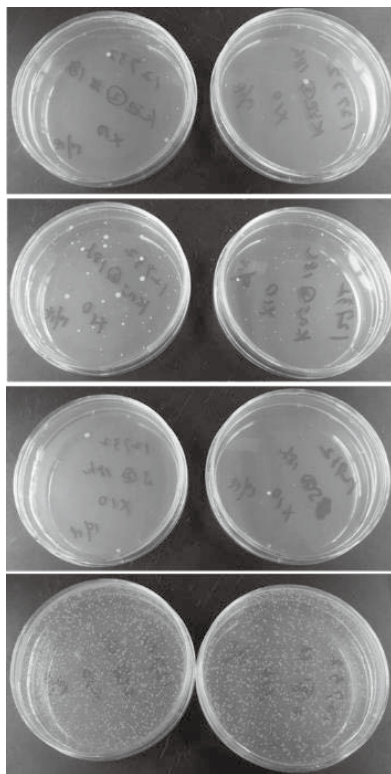


図6 黄色ぶどう球菌による抗菌試験終了時の様子

上段より、キハダD辺材、キハダD心材、スギ辺材、対照試料（綿白布）
白い粒は黄色ぶどう球菌のコロニー

20%を超えており、耐朽性は「小」と判定される。

3.3 抗菌性

図6に黄色ぶどう球菌による抗菌試験終了後の様子を、また試験結果を表7に示す。抗菌活性値はキハダ辺材で3.2、キハダ心材で2.2であった。表4のとおり、抗菌活性値が3.0以上で強い効果が認められるという基準に基づくと、キハダ辺材には強い効果が認められるといえる。キハダ心材においても、抗菌活性値が2.0以上であるため、効果が認められた。以上から、キハダ辺材心材ともに黄色ぶどう球菌に対する抗菌効果（増殖抑制効果）があるといえる。

大腸菌による試験結果を表8に示す。抗菌活性値はキハダ辺材で-0.1、キハダ心材で0.1とともに2.0より低く、抗菌効果は認められなかった。

しかし、過去の同様の試験において、キハダ心材は、今回と同じ菌株の黄色ぶどう球菌に対して抗菌活性値5.9、今回とは異なる菌株（NBRC 3301）の大腸菌に対して6.4という高い抗菌効果が認められている。大腸菌に対する抗菌効果については、菌株による影響も想定され、現段階では判定は困難である。

表7 黄色ぶどう球菌に対する抗菌活性

材料	培養時間(時間)	平均生菌数	増殖値	抗菌活性値
キハダD辺材	0	2.4×10^4	-0.9	3.2
	18	2.7×10^3		
キハダD心材	0	1.4×10^4	0.1	2.2
	18	1.8×10^4		
スギ辺材	0	2.6×10^4	-1	3.3
	18	2.6×10^3		
対照試料 (綿白布)	0	4.5×10^4	2.3	—
	18	8.7×10^6		

表8 大腸菌に対する抗菌活性

材料	培養時間(時間)	平均生菌数	増殖値	抗菌活性値
キハダD辺材	0	6.1×10^4	2.8	-0.1
	18	3.6×10^7		
キハダD心材	0	4.3×10^4	2.6	0.1
	18	1.8×10^7		
スギ辺材	0	5.5×10^4	1.7	1
	18	2.8×10^6		
対照試料 (綿白布)	0	1.2×10^5	2.7	—
	18	5.8×10^7		

4. まとめ

奈良県内で生育したキハダ材を用いて、かび抵抗性試験、耐朽性試験および抗菌性試験を行った。その結果、キハダ心材のかび抵抗性は高いとは言えず、耐朽性も低かったが、黄色ぶどう球菌に対して増殖抑制効果が認められた。

以上から、キハダ材を利用するにあたっては、かびや腐朽被害を受けないように、伐採後はすみやかに製材し乾燥させる必要がある。人工乾燥スケジュールについては、別報⁴⁾を参照されたい。また、雨や高湿度下を避けて室内で使用し、乾燥状態を保つことが推奨される。一方、黄色ぶどう球菌に対して抗菌効果が認められたことと、環孔材で木目が美しく、ちぢみ歪もしばしば出現することから、食品トレイやお盆等の日用雑貨や、家具等に使用することで、良さを活かすことができるのではないかと考えられる。

謝辞

本研究にあたり、試料を提供いただいた関係各位に感謝いたします。

引用文献

- 1) 厚生労働省 第十七改正日本薬局方：1747～1748、厚生労働省、2016
- 2) 社団法人 日本木材加工技術協会：“世界の有用木材300種”。農林省林業試験場木材部編
- 3) 奈良県森林技術センター：“Ⅶ保存 2. 木材の耐朽性 2.2 室内試験”。改訂版 木材加工技術ハンドブック。2000, 300-301.
- 4) 成瀬達哉・酒井温子：キハダ材の人工乾燥スケジュールの推定. 奈良県森林技術研報. 49, 51-55 (2020)

(2021年3月9日 受理)