

「養蚕用除菌洗浄剤」の開発とその応用性

— 次亜塩素酸ナトリウムの短所を補う新たな使い方 —

一般財団法人大日本蚕糸会 蚕業技術研究所 ^の野 ^{ざわ}澤 ^{みつ}瑞 ^{よし}佳

はじめに

養蚕分野では、長年、ホルムアルデヒドを用いた飼育施設の消毒が行われてきた。しかし、約 10 年前に、世界保健機関 (WHO) の下部研究組織である国際がん研究機関 (IARC) がホルムアルデヒドのヒトに対する発がんリスクを、従来のグループ 2A (発がんの疑いあり) からグループ 1 (発がん性あり) に変更したことにより (IARC, 2006)、我が国では、作業環境中の残留ホルムアルデヒド濃度を 0.1 ppm 以下とすることが法的に義務付けられた (松岡, 2009)。このため、国内養蚕現場では、ホルムアルデヒドに依存しない新たな防疫手段の開発が求められていた。

ホルムアルデヒドに替わる蚕病防除剤として、これまでにジクロール酢酸とその類縁化合物を主成分とする消毒剤 (池上・蛭原, 1977) や、4 種類の界面活性剤とグルタルアルデヒドを含有する消毒剤 (森田・国見, 1979) が開発されてきた。しかし、これらの消毒剤は、各種金属 (鉄や銅等) に対する腐食性の問題 (ジクロール酢酸系) や、ホルムアルデヒドと混合して主要病原全般に消毒効果を得るタイプのものであるため (森田・国見, 1980)、現状の必要性を満たしている消毒剤とは言い難いものであった。

今日の養蚕現場で求められている蚕病防除剤の必須要件は、「作業員への安全性」、「対象病原への消毒効果」および「防錆作用」の 3 点であり、この 3 要件を満たしたうえで、現在、繭の生産で深刻な被害をもたらしているカイコ核多角体病ウイルス (*Bombyx mori nucleopolyhedrovirus*, BmNPV) にも十分な防除効果を示す必要がある。これらの要件を満たす新たな蚕病防除剤を開発するために、次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) の短所である金属への腐食性の問題を、炭酸ナトリウム (Na_2CO_3) とテトラポリリン酸ナトリウム ($\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$) の添加によって解決し、BmNPV にも防除効果が認められる「養蚕

用除菌洗浄剤」を開発した (野澤・代田, 2012 b)。本稿では、本剤の開発経緯とその特長を紹介し、「植物保護分野」への応用性についても触れてみたい。

I 次亜塩素酸ナトリウムの長所と短所

次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) は、水酸化ナトリウム溶液に塩素ガスを反応させて得られる緑黄色の液体で、食品添加物に認定されている比較的安全性が高い薬品である。我が国では水道水の殺菌にも用いられ (金子, 1996)、安価で入手が容易である。NaClO の長所は「広い抗菌スペクトルと速効性」、「適度な安定性と効果の持続性」、「塩素イオン (無毒) に還元可能」、「洗浄・漂白・脱臭作用」等が知られている。また NaClO を洗浄剤として用いる場合、他のアルカリ剤や界面活性剤、イオン封鎖剤等の洗浄力要素と相性がよく、汎用しやすい一面がある。一方、短所は、「金属への腐食性」、「紫外線、熱および pH の影響による有効塩素の自己分解」、「トリハロメタンの生成」および「有機物存在下での効果の低下」等である (福崎, 2012)。NaClO を用いる場合には、短所を補い、長所を活かす工夫が必要である。

II 「養蚕用除菌洗浄剤」の開発とその特長

従来、蚕病防除で用いられてきたホルムアルデヒド水溶液の散布量は 1 m^2 当たり 1 l が基準であり、NaClO を含む水溶液で蚕病防除を行う場合もこの散布量を踏襲する必要がある。蚕病防除の基本として、飼育関連施設内 (蚕室・貯桑場・上簇室等) を消毒しながら洗浄するため、腐食性のある NaClO 水溶液の大量散布は、各種金属の腐食を伴うことになる。また、NaClO のみからなる低濃度の水溶液では、BmNPV が形成する多角体 (ウイルスが形成する包埋体) を溶解しないため、養蚕現場で問題となる BmNPV の防除が困難である。この二つの問題を解決するために、NaClO に炭酸ナトリウム (Na_2CO_3) を加えて多角体の溶解と BmNPV の不活化を促進し (野澤ら, 2011)、さらにテトラポリリン酸ナトリウム ($\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$) を加えることで各種金属への防錆効果を増強した。食品添加物にも認定されている NaClO、 Na_2CO_3 および $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ から構成される蚕病防除剤を「養蚕用除菌洗浄剤」と命名し (野澤・代田, 2012 b)、

Development of Disinfectant Cleaner for Sericulture and its Application. By Mitsuyoshi NOZAWA

(キーワード: 養蚕新技術, 蚕病防除, 脱ホルマリン, 次亜塩素酸ナトリウム, 防錆手法)

その特長を以下に述べてみたい。

1 防錆特性

(1) 防錆効果の発見経緯

NaClO と Na_2CO_3 の相乗効果により、低濃度の NaClO で多角体に包埋された BmNPV の不活化を達成した (野澤ら, 2011)。この方法により、NaClO の有効遊離塩素濃度 (free available chlorine, FAC) を下げることができるため、防錆効果を補う薬品を加えることで金属の腐食が抑制できるのではないかと考えた。その候補

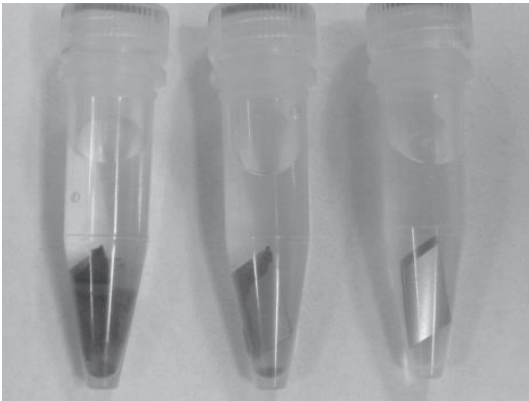


図-1 防錆効果を検証するための簡易検定法
野澤・代田 (2012 a)
25℃で24時間浸漬した場合の供試金属片の様子。
左から NaClO (FAC 286 ppm) 水溶液、脱イオン水
および「養蚕用除菌洗浄剤」水溶液処理。

となりえる薬品を食品添加物から検索したところ、 $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ が鉄と銅に対して防錆効果を示すことがわかった (DESAI et al., 1971)。この薬品を NaClO (FAC250 ppm) + 0.3% (w/v) Na_2CO_3 混合液に 0.5% (w/v) で添加してカッターナイフの刃を丸ごと一晚浸漬したところ、刃の腐食が完全に抑制された。この知見は応用性があると判断し、以下の試験を行った。

(2) 簡易検定法の考案と $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ の防錆特性

「養蚕用除菌洗浄剤」の組成を検討するために防錆効果を調べるための簡易検定法 (図-1) を考案し、身近にある金属物質から「錆びやすい」材料としてカッターナイフの刃 (鉄 97%, 炭素 1.3%, その他 1.7%, オルファ社, 私信) を選定し、 $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ の防錆特性を検証した。 $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ は、NaClO 水溶液中で防錆効果を発揮する一風変わった特長を備えており、NaClO の FAC 濃度が 337.2 ppm の条件下では、1.2% (w/v) の添加で供試金属片の腐食が抑制された (表-1)。

(3) Na_2CO_3 と $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ の添加による防錆効果の増強

次に、NaClO (FAC337.2 ppm) 水溶液に Na_2CO_3 と $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ を各種濃度で加えた結果、防錆効果の増強作用が認められ、鉄の腐食を抑制する両者の至適濃度はいずれも 0.2% であることがわかった (表-2)。

(4) 実用濃度による鉄、銅および真鍮に対する防錆効果の検証

多角体に包埋された BmNPV を 5 分程度で不活化す

表-1 NaClO 水溶液に添加した $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ の防錆特性

Na ₆ P ₄ O ₁₃ (%) (w/v)	n ^{a)}	腐食した供試金属片数 ^{b)}					
		NaClO ^{c)}			脱イオン水		
		I	II	III	I	II	III
1.2	10	0	0	0	10	10	10
1.1	10	0	1	1	10	10	10
1.0	10	0	1	1	10	10	10
0.8	10	5	4	5	10	10	10
0.6	10	10	9	8	10	10	10
0.4	10	9	10	10	10	10	10
0.3	10	10	10	10	10	10	10
0	10	10	10	10	10	10	10

a) カッターナイフの刃を使用。

b) 簡易検定法 (図-1) により、25℃の条件下で 24 時間浸漬。

c) FAC 337.2 ppm.

I ~ III: 反復。

野澤・代田 (2012 a) から作成。

るためには、 Na_2CO_3 濃度を0.3%以上にする必要がある(野澤ら, 2011)。また、水質の影響によるpHの低下を考慮すると、 Na_2CO_3 の添加濃度は0.3%から0.5%に変更する必要がある(野澤・代田, 2012 b)。そこで、実用に用いる「養蚕用除菌洗浄剤」(以後、実用養蚕用除菌洗浄剤)の組成を、 NaClO (FAC 272 ~ 286 ppm) + 0.5% (w/v) Na_2CO_3 + 0.2% (w/v) $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ として、先の簡易検定法(図-1)で鉄、銅および真鍮に対する防

錆効果を検証した結果、「実用養蚕用除菌洗浄剤」は、鉄だけでなく、銅および真鍮に対しても防錆効果を示した(表-3)。

2 主要病原に対する不活化・殺菌

(1) 多角体形成ウイルス

多角体(包埋体)を形成するカイコ病原性ウイルスには、バキュロウイルス科のBmNPVとレオウイルス科の細胞質多角体病ウイルス(*Bombyx mori* cytopovirus,

表-2 NaClO 水溶液中で防錆効果を得るための Na_2CO_3 と $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ の至適濃度の検討

NaClO (FAC 337.2 ppm) +			腐食した供試金属片数 ^{b)}		
Na_2CO_3 (%) (w/v)	$\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ (%) (w/v)	n ^{a)}	I	II	III
0	0	10	10	10	10
0.1	0	10	10	10	10
0.1	0.2	10	10	10	10
0.1	0.3	10	3	4	5
0.1	0.4	10	1	0	0
0.1	0.5	10	0	0	0
0.2	0	10	3	6	6
0.2	0.05	10	4	6	4
0.2	0.1	10	1	2	3
0.2	0.2	10	0	0	0
0.3	0	10	7	6	8
0.3	0.05	10	2	7	6
0.3	0.1	10	0	2	1
0.3	0.2	10	0	0	0

a) カッターナイフの刃を使用.

b) 簡易検定法(図-1)により、25℃の条件下で24時間浸漬.

I ~ III: 反復.

野澤・代田(2012 a) から作成.

表-3 鉄、銅および真鍮に対する「実用養蚕用除菌洗浄剤」の防錆効果の検証

金属の種類	n ^{a)}	腐食した供試金属数					
		除菌洗浄剤 ^{b)}			NaClO 水溶液 ^{c)}		
		I	II	III	I	II	III
鉄	10	0	0	0	10	10	10
銅	10	0	0	0	10	10	10
真鍮	10	0	0	0	10	10	10

a) 供試金属数. 鉄: カッターナイフの刃. 銅および真鍮: クギ.

b) NaClO (FAC 272 ~ 286 ppm) + 0.5% (w/v) Na_2CO_3 + 0.2% (w/v) $\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$.

c) 鉄の試験: FAC 286 ppm, 銅および真鍮の試験: FAC 272 ppm.

BmCPV)がある。前述の「実用養蚕用除菌洗浄剤」に BmNPV の多角体懸濁液 (1.03×10^9 多角体/ml) を 9:1 の割合で混合し、カイコのふ化幼虫と人工飼料を用いた常法の生物検定法によってウイルスの不活化状況を経時的に調査した。その結果、BmNPV は本剤処理から 5 ~ 10 分後にほぼ不活化し、15 分後に完全に不活化した(野澤・代田, 2012 b)。BmCPV も同様に多角体懸濁液 (1.19×10^9 多角体/ml) を本剤で処理し、常法の生物検定法によってウイルスの不活化状況を調べた結果、BmNPV の場合と同様に 15 分後には完全に不活化した(野澤・代田, 2012 b)。

従来用いられてきた 2 ~ 3%ホルムアルデヒド水溶液による多角体形成ウイルスの不活化は、いずれのウイルスも 10 ~ 15 分程度で達成されるため、「実用養蚕用除菌洗浄剤」は多角体形成ウイルスに対してホルムアルデヒド水溶液とほぼ同等の防除効果が期待できる。実際に、上蔭室から採取した塵埃に BmNPV の多角体を混合し、「実用養蚕用除菌洗浄剤」で 10 分間処理した結果、3%ホルムアルデヒド水溶液と同等の不活化効果が認められている(野澤, 未発表)。

(2) 糸状菌

カイコに感染する糸状菌類には、コウジカビ病菌 (*Aspergillus flavus*) と各種硬化病菌がある。「実用養蚕用除菌洗浄剤」による殺菌効果を確認するために、代表的な糸状菌 4 種の分生子懸濁液 (*A. flavus* S-85: 1.12×10^8 分生子/ml, 白きょう病菌 *Beauveria bassiana* (MAFF 83006): 1.18×10^8 分生子/ml, 黒きょう病菌 *Metarhizium anisopliae* (MAFF 83006): 1.06×10^8 分生子/ml, 緑きょう病菌 *Nomuraea rileyi* (MAFF 830016): 1.01×10^8 分生子/ml) を円形ろ紙に $0.5 \mu\text{l}$ 吸着させ、室温下で乾燥後、本剤で所定の時間処理した結果、*A. flavus* S-85 と *N. rileyi* 分生子は各 5 分、*B. bassiana* および *M. anisopliae* 分生子は各 10 分で殺菌された(口絵①)。

(3) 細菌

カイコに病原性を示す細菌のうち、敗血症を引き起こす *Serratia marcescens* について「実用養蚕用除菌洗浄剤」の殺菌効果を調べた。*S. marcescens* (NBRC3046) の懸濁液 (1.10×10^9 CFU/ml) 0.1 ml を本剤 0.9 ml で所定の時間処理した結果、本菌は 5 分で殺菌された(口絵②)。

(4) 微粒子病原虫

養蚕分野ではカイコの卵を蚕種と呼んでいる。蚕種製造上問題となるのが経卵巣伝達によりカイコの卵に感染する微粒子病原虫 *Nosema bombycis* である。本病原虫の胞子懸濁液 (8.80×10^8 胞子/ml) を「実用養蚕用除菌洗浄剤」で所定の時間処理し、カイコのふ化幼虫と人工飼

料を用いた常法の生物検定法によって胞子の殺菌状況を調べた。その結果、*N. bombycis* は 5 分で殺菌された。

3 大量散布後の塩素ガス発生状況

30°C に加温した気密性の高い人工飼料専用蚕室内 ($4.18 \text{ m} \times 2.90 \text{ m}$, 高さ 2.45 m, 空間容積 29.7 m^3 , 総面積 58.9 m^2) に、自走式キャリア動噴 (VSC3511-130, 共立社製) を用いて「実用養蚕用除菌洗浄剤」を散布し、散布直後からの塩素ガス発生状況をガス検知管 (GV-100, ガステック社製) と気体検知管 (塩素用, No.8LL, ガステック社製) を用いて経時的に調査した。蚕室内への除菌洗浄剤散布量は、従来から行われてきたホルムアルデヒド水溶液の散布量(野口ら, 1998)に従って、 1 m^2 当たり 1 l を基準とした。塩素ガスの測定は、蚕室内の床下から 0.5 m および 2 m の 2 箇所で行った。試験の結果、塩素ガスの発生量は、測定した高さに関係なく、散布直後から 24 時間経過後も 0.025 ppm 以下であった。日本国内における塩素ガスの管理濃度および同許容濃度は 0.5 ppm 以下と定められており、本試験結果は同基準値の 20 分の 1 以下であった。

「実用養蚕用除菌洗浄剤」から塩素の揮発が抑制される理由としては、 NaClO に由来する次亜塩素酸 (HOCl) の解離特性が深く関係していると考えられる。 HOCl の解離度は、水溶液の pH がアルカリ側に傾くと大きくなり、 OCl^- の割合が増加する。この特性のため、水溶液の pH が 10 を超えたあたりから、溶存する HOCl の存在比率は極めて小さくなる(福崎, 2012)。このため、pH 11 を示す「実用養蚕用除菌洗浄剤」では、水溶液中に溶存する HOCl がすべて解離した OCl^- となっており、塩素の揮発が強く抑制された状態にある。なお、 NaClO から塩素ガスが発生するためには、弱酸性領域 (pH 4 ~ 6) で OCl^- がプロトン化して非解離型に移行したあと、さらに塩酸などの添加により強酸性領域に移行しなければ HOCl の一部が溶存塩素 (Cl_2) とならないため(福崎, 2012)、アルカリ性で緩衝作用のある Na_2CO_3 が添加されている「養蚕用除菌洗浄剤」では、塩素ガスの発生が極めて低かったものと推察される。

III 「植物保護」分野への応用性

「養蚕用除菌洗浄剤」は、鉄、銅および真鍮に対する腐食抑制作用があり、カイコに感染する各種病原体を不活化・殺菌できるため、養蚕分野のみならず、他の分野にも応用できる可能性がある。例えば、「植物保護」分野では、害虫防除の研究材料としてチョウ目害虫を継代し、試験材料を大量に用意する必要がある。チョウ目害虫に見られる病気の大半は、カイコの病気と共通してい

るため、チョウ目害虫の飼育個体群に病原体由来の病気が発生し、従来の消毒手段（例えば塩化ベンザルコニウムやエタノール）で効果が得られない場合には、本除菌洗浄剤によって除菌できる可能性が高い。本除菌洗浄剤は、国内養蚕現場でしばしば問題となる BmNPV による核多角体病の防除を主眼に置いて開発されたため、多角体形成ウイルスには極めて効果が高い。このため、チャノコカクモンハマキやハスモンヨトウ等、多角体形成ウイルスが感染するチョウ目害虫のウイルス病対策として本除菌洗浄剤の使用は適していると考えられる。また、イモゾウムシなどの不妊虫放飼を目的とした特定害虫種の大量飼育施設では、カイコの場合と同様に、各種病原微生物への対策が不可欠である。今後、チョウ目害虫以外の昆虫飼育施設への「養蚕用除菌洗浄剤」の適用の可否についても検討する必要があるだろう。

おわりに

ホルムアルデヒドに替わる蚕病防除剤として食品添加物から構成される「養蚕用除菌洗浄剤」を開発し、次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) の短所である金属への腐食

作用を抑制する新たな手法を紹介した。NaClO 水溶液に炭酸ナトリウム (Na₂CO₃) とテトラポリリン酸ナトリウム (Na₆P₄O₁₃) を加えることにより鉄、銅および真鍮に対する防錆効果が得られ、カイコに感染する主要な病原体(ウイルス、糸状菌、細菌および原虫)も不活化・殺菌が可能である。NaClO の短所の一つを解決した本除菌洗浄剤の組成を「植物保護」分野で紹介したことで、新たな活用場面が見つかることを期待したい。

引用文献

- 1) DESAI, M. N. et al. (1971): *Anti-corros. Methods Mater.* **18** (2): 19 ~ 23.
- 2) 福崎智司 (2012): 次亜塩素酸の科学, 米田出版, 千葉, 166 pp.
- 3) IARC (2006): *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 88*, p.39 ~ 325.
- 4) 池上隆文・蛭原富男 (1977): 茨城蚕試報 **31**: 28 ~ 31.
- 5) 金子光美 (1996): 水質衛生学, 技報堂出版, 東京, p. 282 ~ 311.
- 6) 松岡 宏 (2009): アニテックス **21** (4): 5 ~ 10.
- 7) 森田芳昭・国見裕久 (1979): 東京蚕指要報 **13**: 41 ~ 55.
- 8) ———— (1980): 同上 **14**: 37 ~ 46.
- 9) 野口洋子ら (1998): 蚕病診断の手引き, 埼玉県蚕業試験場・埼玉県植物防疫協会, 62 pp.
- 10) 野澤瑞佳ら (2011): 蚕糸・昆虫バイオテック **80**: 123 ~ 128.
- 11) ————・代田丈志 (2012 a): 同上 **81**: 163 ~ 166.
- 12) ———— (2012 b): 同上 **81**: 213 ~ 220.