

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7608333号
(P7608333)

(45)発行日 令和7年1月7日(2025.1.7)

(24)登録日 令和6年12月20日(2024.12.20)

(51)国際特許分類		F I	
A 0 1 N	25/04 (2006.01)	A 0 1 N	25/04 1 0 1
A 0 1 N	65/00 (2009.01)	A 0 1 N	65/00 A
A 0 1 N	65/22 (2009.01)	A 0 1 N	65/22
A 0 1 P	3/00 (2006.01)	A 0 1 P	3/00
A 0 1 P	7/02 (2006.01)	A 0 1 P	7/02
請求項の数 33 (全49頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-524214(P2021-524214)	(73)特許権者	514247344 ラボラトワール・エム2 LABORATOIRE M2 カナダ国、ケベック ジ1エル 1ドゥブ ルヴェ9, シェルブルク, リュ ドゥ ラ ガルロック, 4 0 0 5 -ア- 110001999
(86)(22)出願日	令和2年3月26日(2020.3.26)	(74)代理人	弁理士法人はなぶさ特許商標事務所
(65)公表番号	特表2022-524676(P2022-524676 A)	(72)発明者	ルースタエ, アリレザ カナダ国、ケベック ジェ-1ジェ- 1 ディー5, シェルブルク, ポートランド 1 8 7 4
(43)公表日	令和4年5月10日(2022.5.10)	(72)発明者	ビカードージャン, フレデリック カナダ国、ケベック ジェ-1ジ- 0ピ -4, シェルブルク, ケミン ブランテ 最終頁に続く
(86)国際出願番号	PCT/CA2020/050397		
(87)国際公開番号	WO2020/198853		
(87)国際公開日	令和2年10月8日(2020.10.8)		
審査請求日	令和5年3月27日(2023.3.27)		
(31)優先権主張番号	62/825,927		
(32)優先日	平成31年3月29日(2019.3.29)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		

(54)【発明の名称】 抗菌性ナノエマルジョン

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

水性ナノエマルジョン製剤であって：

a) 0.05質量%乃至55質量%の精油、又はその有効成分であって、該精油がタイム油またはローズマリー油であり、タイム油の前記有効成分がチモール、カルバクロールまたはそれらの組み合わせであり、ローズマリー油の前記有効成分がパラシメンである、精油またはその有効成分；

b) 0.04質量%乃至65質量%の溶媒（ただし、該溶媒が水の場合は除く）；

c) 0.01%乃至25%のソルビン酸塩；

d) 0.00025質量%乃至0.37質量%のサポニン；

e) 100質量%となる十分な水、を含む水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項2】

0.0002質量%乃至0.3質量%のpH調整剤をさらに含む、請求項1に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項3】

前記溶媒が、1,2-ジクロロエタン、2-ブタノン、アセトン、アセトニトリル、ベンゼン、四塩化炭素、クロロホルム、シクロヘキサン、ヘキサン、ペンタン、テトラヒドロフラン、1,1-ジクロロエタン、1,2-ジクロロエタン、1-ブタノール、1-ヘプタノール、1-ヘキサノール、1-オクタノール、1-ペンタノール、1-プロパノール、2-アミノエタノール、2-ブタノール、2-ブタノン、2-ペンタノール、2-ペ

ンタノン、２－プロパノール、３－ペンタノール、３－ペンタノン、酢酸、アセトン、アセトニトリル、アセチルアセトン、アニリン、アニソール、ベンゼン、ベンゾニトリル、ベンジルアルコール、酢酸ブチル、乳酸ブチル、二硫化炭素、四塩化炭素、クロロベンゼン、クロロホルム、シクロヘキサン、シクロヘキサノール、シクロヘキサノン、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、ジエチルアミン、ジエチレングリコール、ジグリム、ジイソプロピルエーテル、ジメトキシエタン、ジメチルホルムアミド、フタル酸ジメチル、ジメチルスルホキシド、フタル酸ジ－*n*－ブチル、ジオキサン、エタノール、エーテル、酢酸エチル、アセト酢酸エチル、エチルベンゾエート、エチレングリコール、グリセロール、ヘプタン、ヘキサン、*i*－ブタノール、イソプロパノール、メタノール、酢酸メチル、メチル－*t*－ブチルエーテル、塩化メチレン、メチル－*t*－ブチルエーテル、*N*，*N*－ジメチルアニリン、ペンタン、*p*－キシレン、ピリジン、*t*－ブチルアルコール、テトラヒドロフラン、トルエン、トリクロロエチレン、重水、及びキシレンのうちの少なくとも１種である、請求項１又は請求項２に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項４】

前記溶媒が、少なくとも２種の溶媒である、請求項１乃至請求項３のいずれか１項に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項５】

前記溶媒がイソプロパノール、グリセロール、及び乳酸ブチルからなる、請求項４に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項６】

前記ソルビン酸塩が、ソルビン酸カリウム、ソルビン酸ナトリウム、ソルビン酸カルシウム、ソルビン酸、又はそれらの組み合わせである、請求項１乃至請求項５のいずれか１項に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項７】

前記ソルビン酸塩がソルビン酸カリウムである、請求項６の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項８】

前記サポニンが植物抽出物によって提供される、請求項１乃至請求項７のいずれか１項に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項９】

前記植物抽出物が、キラヤサボナリア抽出物、ユッカシディゲラ抽出物、トチノキ抽出物、茶種子抽出物、ダイズ抽出物、及びそれらの組み合わせである、請求項８の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項１０】

前記植物抽出物が、キラヤサボナリア抽出物である、請求項８の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項１１】

前記水性ナノエマルジョン製剤が、０．００４乃至０．５質量％までの前記キラヤサボナリア抽出物を含む、請求項１０の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項１２】

前記ｐＨ調整剤が、クエン酸、乳酸、塩酸、ホウ酸、酢酸、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、硫酸、炭酸カルシウム（ CaCO_3 ）、炭酸アンモニウム、重炭酸アンモニウム、クエン酸アンモニウム、クエン酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、炭酸ナトリウム、リン酸一ナトリウム、リン酸二ナトリウム及び／又はリン酸三ナトリウム、リン酸一カリウム、リン酸二カリウム及び／又はリン酸三カリウム、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（ TRIS ）、アミノ酸、及び両性イオン、グリシン、２－アミノ－２－メチル－１，３－プロパンジオール（ AMPD ）、*N*－（１，１－ジメチル－２－ヒドロキシエチル）－３－アミノ－２－ヒドロキシプロパンスルホン酸（ AMP SO ）、*N*－グリシルグリシン（ Gly-Gly ）、４－（２－ヒドロキシエチル）ピペラジン－１－プロパンスルホン酸（ EPPS 又は HEPPS ）、３－（シクロヘキシルアミノ）－１－プロパンスルホン酸（ CAPS ）、３－（シクロヘキシルアミノ）－２－ヒドロキシ－１－プロパ

10

20

30

40

50

ンスルホン酸（CAPSO）、2-（シクロヘキシルアミノ）エタンスルホン酸（CHES）、N，N-ビス〔2-ヒドロキシエチル〕-2-アミノエタンスルホン酸（BES）、（2-〔2-ヒドロキシ-1，1-ビス（ヒドロキシメチル）エチルアミノ〕エタンスルホン酸（TES）、2-（N-モルホリノ）エタンスルホン酸（MES）、N-〔トリス（ヒドロキシメチル）メチル〕グリシン（トリシン）；N-トリス（ヒドロキシメチル）メチル-3-アミノプロパンスルホン酸（TAPS）及び3-N-モルホリノプロパンスルホン酸（MOPS）、ピペラジーンN，N'-ビス〔2-ヒドロキシプロパンスルホン酸（POPSO）、並びにそれらの組み合わせのうちの少なくとも1種である、請求項2に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項13】

前記pH調整剤が、少なくともクエン酸である、請求項2に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項14】

さらにビタミンCを含む、請求項1乃至請求項13のいずれか1項に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項15】

前記水性ナノエマルジョン製剤が、0.002乃至5質量%の前記ビタミンCを含む、請求項14に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項16】

請求項1乃至請求項13のいずれか1項に記載の水性ナノエマルジョン製剤であって：

- a) 0.05質量%乃至55質量%の前記精油、又はその有効成分；
- b) 0.005質量%乃至7.5質量%のイソプロパノール；
- c) 0.02質量%乃至30質量%のグリセロール；
- d) 0.02質量%乃至27質量%の乳酸ブチル；
- e) 0.01%乃至25%までのソルビン酸カリウム。
- f) 0.0004質量%乃至0.5質量%のキラヤサポナリア抽出物；
- g) 0.0002質量%乃至0.3質量%のクエン酸；
- h) 100質量%となる十分な水を含む、水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項17】

前記水性ナノエマルジョン製剤が、追加の界面活性剤を含まない、請求項1乃至請求項16のいずれか1項に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項18】

さらに界面活性剤又はさらなる乳化剤を含む、請求項1乃至請求項16のいずれか1項に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項19】

前記水性ナノエマルジョン製剤が、追加の殺菌剤、有害生物防除剤又は消毒剤を含まない、請求項1乃至請求項16のいずれか1項に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項20】

殺菌剤製剤として使用するための、請求項1乃至請求項19のいずれか1項に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項21】

有害生物又は他の生物防除の有害生物防除剤として使用するための、請求項1乃至請求項19のいずれか1項に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項22】

種子又は植物の成長を調整するために使用する、請求項1乃至請求項19のいずれか1項に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項23】

さらなる有害生物防除剤、肥料、消泡剤、植物成長調整剤、又はそれらの組み合わせをさらに含む、請求項16に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項24】

前記さらなる有害生物防除剤が、殺藻剤、防汚剤、殺菌剤（*disinfectant*）、殺真菌剤、燻蒸剤、除草剤、軟体動物駆除剤、殺卵剤、殺鼠剤、昆虫成長調整剤、殺菌剤（*bactericide*）、殺ウイルス剤、防虫剤、節足動物忌避剤、殺線虫剤、殺虫剤、殺ダニ剤、除草剤、及び植物成長調整剤から選択される、請求項 23 に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項 25】

前記肥料が、無機肥料、窒素肥料、カリウム肥料、リン酸肥料、有機肥料、ふん尿肥料、堆肥、リン酸石、骨粉、アルファルファ、ウッドチップ、ラングバイナイト、カバークロップ、硫酸カリウム、岩石粉、灰、血粉、魚粉、魚エマルジョン、藻類、キトサン及びモラッセの肥料群から選ばれる、請求項 23 に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

10

【請求項 26】

前記消泡剤が、鉱物油、植物油、パラフィンワックス、エステルワックス、シリカ、脂肪アルコール、シリコーン、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、共重合体、及びアルキルポリアクリレートから選択される、請求項 23 に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項 27】

前記植物成長調整剤が、カルバメート、塩素化炭化水素、シクロヘキサジオン、有機酸、アンシミドール、エテフォン、ジベレリン酸、ジベレリン及びベナズラデニン、マレイン酸ヒドラジド、ナフタレン酢酸（NAA）、ナフタレンアセトアミド、パクロブトラゾール、N-アセチルアスパラギン酸から選ばれる、請求項 23 のいずれか 1 項に記載の組成物。

20

【請求項 28】

前記水性ナノエマルジョン製剤を水で希釈するステップを含む、請求項 1 乃至請求項 24 のいずれか 1 項に記載の水性ナノエマルジョン製剤を使用する方法。

【請求項 29】

前記有害生物又は他の生物が、昆虫、線虫、真菌、細菌、幼虫、植物、動物、ウイルス、寄生虫、腹足類、節足動物、カタツムリ、ナメクジ、藻類、又はそれらの組み合わせから選択される、請求項 21 に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項 30】

前記有害生物又は他の生物が、火傷病（菌）、うどんこ病菌、セプトリア及びボトリチスである、請求項 21 に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

30

【請求項 31】

前記植物が雑草であり、前記節足動物がダニであり、又は前記昆虫が蛾である、請求項 29 に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項 32】

成長の調整が、前記植物の果実、野菜、球根又は塊茎の数の増加、前記植物の果実、野菜、球根又は塊茎のサイズの増加及び健康な植物の数の増加のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 22 に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

【請求項 33】

前記植物が、バナナ（植物）、リンゴの木、洋ナシの木、ジャガイモ（植物）、米（植物）、コーヒー（植物）、柑橘類の木、タマネギ、朝鮮人参、大豆、雑草、トマト（植物）から選択される、請求項 22 に記載の水性ナノエマルジョン製剤。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

【関連出願の相互参照】

本出願は、2019年3月29日に出願された米国仮特許出願第62/825,927号の優先権を主張するものであり、その明細書はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

【背景】

50

(a) 分野

開示されている主題は、一般に、天然の抗菌及び抗真菌ナノエマルジョン製剤、及びその使用に関するものである。より具体的には、開示された主題は、タイム油、溶媒、ソルビン酸塩、サポニン、及び水を含む殺菌剤及び有害生物防除剤の製剤に関する。

【背景技術】

【0003】

(b) 関連する先行技術

植物の殺菌剤や有害生物防除剤の多くは、人間や動物、植物にとって有害又は毒性の可能性がある。現代の殺菌剤、有害生物防除剤又は抗菌剤は、多くの場合、有機フェノール化合物を殺菌の有効成分として含んでいる。その他の成分としては、通常、高濃度の溶剤及び界面活性剤が含まれている。高濃度で使用した場合、特定の溶媒及び界面活性剤の存在は、界面活性剤の負の副作用を相乗的に増大させ、結果的に消毒剤自体の負の副作用や潜在的な毒性を増大させる可能性がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明は、タイム油を使用することにより、植物殺菌剤、有害生物防除剤又は抗菌剤の人及び植物に対する毒性リスクを最小化し、農産物で使用されている高度に合成された毒性のある抗菌性の及び抗真菌の製剤の最適な代替品を提供するものである。従来の薬剤は、例えば作業者の保護が必要であったり、使用量や効果に制限があったり、同様に環境を汚染して修復に多額の費用や問題が発生する欠点があった。特定の合成界面活性剤はこのような問題の一因となっている。そのため、天然油や精油のナノエマルジョンシステムにおいて、他の天然成分の性質や利点も否定しないような代替乳化剤が必要である。

【0005】

本発明は、現在利用可能な代替品と比較して、いくつかの他の利点も提供する。

【0006】

精油（EO）を抗菌／真菌剤として使用することはよく知られているが、産業農業で使用するためのEOのコストはコスト高になる。本発明は、比較的安価であり、ナノエマルジョン中のより小さなミセルを形成しチモールの抗菌特性の有効性を増幅することにより、一般に安全と認められている（GRAS）成分であるソルビン酸塩を使用することにより、EOの本質的に高いコストに対する自然で費用効果の高い解決策を提供する。その正味の効果は比較的少量のEOに頼ることができる非常に強力な抗菌剤である。

【0007】

本発明では、重力沈降やクリーミングの影響を比較的受けにくいサイズのナノエマルジョンが得られる。これは、希釈後であっても、本発明の現場での混合、攪拌又は取り扱いが必要ないことを意味する。

【0008】

最後に、病気による損失は、農業の生産性を最も大きく損なうものである。病害コントロールによって作物の損失を減らす効果は、産業農業にとって必須である。ソルビン酸カリウムなどのソルビン酸塩をシステム内で使用することで、抗菌性の効果の面で相乗効果が得られる。ソルビン酸カリウムは、それ自体が有効な抗菌剤であることが知られている。病原体の細胞膜を弱める働きがあることから、その作用メカニズムと信じられている細胞膜遮断器と呼ばれることもある。同様に、チモールは、細胞膜に作用する同じメカニズムを持つ抗菌性を有している。ソルビン酸カリウムが細胞膜を弱め、チモールの細胞膜の脂質成分を分離する能力を高め、より迅速に細胞質の漏出を起こし、病原性細胞を死滅させる。これにより、より高い確率で病原菌を死滅させることができ、次に、病気を減らし、作物の収穫量を増やす。

【課題を解決するための手段】

【0009】

【概要】

一実施形態によれば、以下を含む水性ナノエマルジョン製剤が提供される：

- a) 約0.05質量%乃至約55質量%の油；
- b) 約0.04質量%乃至約65質量%の溶媒；
- c) 約0.01%乃至約25%のソルビン酸塩；
- d) 水中で前記油のナノエマルジョンを形成するのに十分な量の約0.00025質量%乃至約0.37質量%のサポニン；
- e) 100質量%となる十分な水。

【0010】

油が精油、又はその有効成分であってもよい。

【0011】

精油が、抗菌性精油、抗細菌性精油、殺菌性精油、有害生物防除性精油、又はそれらの組み合わせであってもよい。

【0012】

精油が、アニス油、レモン油、オレンジ油、オレガノ油、ローズマリー油、ウィンターグリーン油、タイム油、ラベンダー油、クローブ油、ホップ油、ティーツリー油、シトロネラ油、小麦油、大麦油、レモングラス油、スギ葉油、スギ材油、シナモン油、フリーグラス油、ゼラニウム油、サンダルウッド油、スミレ油、クランベリー油、ユーカリ油、バーベナ油、ペパーミント油、バジル油、フェネル油、モミ油、バルサム油、オクメアオリガナム油、ヒダスティス・カラデンシス油、メギ科油 (Berberidaceae oil)、ラタンヒアエ油、クルクマロングア油、ゴマ油、マカダミアナッツ油、月見草油、コリアンダー油、ピメントベリー油、ローズ油、ベルガモット油、ローズウッド油、カモミール油、セージ油、クラーリーセージ油、サイプレス油、シーフェネル油、乳香油、ジンジャー油、グレープフルーツ油、ジャスミン油、ジュニパー油、ライム油、マンダリン油、マジョラム油、ミルラ油、ネロリ油、パチョリ油、コショウ油、黒コショウ油、プチグレイ油、パイン油、ローズオットー油、スペアミント油、スパイクナード油、ベチベル油、針葉樹精油、イランイラン又はそれらの組み合わせのいずれか1種であってもよい。

【0013】

精油がタイム油であってもよい。

【0014】

精油がローズマリー油であってもよい。

【0015】

有効成分がチモール、カルバクロール、シンナムアルデヒド、シトラール、メントール、ゲラニオール、カプサイシン、パラシメン又はそれらの組み合わせであってもよい。

【0016】

油がニーム油、綿実油、及びそれらの組み合わせであってもよい。

【0017】

水性ナノエマルジョン製剤は、約0.0002質量%乃至約0.3質量%のpH調整剤をさらに含んでもよい。

【0018】

タイム油が天然由来、合成由来、又はそれらの組み合わせでもよい。

【0019】

ローズマリー油が天然由来、合成由来、又はそれらの組み合わせでもよい。

【0020】

溶媒が、1,2-ジクロロエタン、2-ブタノン、アセトン、アセトニトリル、ベンゼン、四塩化炭素、クロロホルム、シクロヘキサン、ヘキサン、ペンタン、テトラヒドロフラン、1,1-ジクロロエタン、1,2-ジクロロエタン、1-ブタノール、1-ヘプタノール、1-ヘキサノール、1-オクタノール、1-ペンタノール、1-プロパノール、2-アミノエタノール、2-ブタノール、2-ブタノン、2-ペンタノール、2-ペンタノン、2-プロパノール、3-ペンタノール、3-ペンタノン、酢酸、アセトン、アセト

10

20

30

40

50

ニトリル、アセチルアセトン、アニリン、アニソール、ベンゼン、ベンゾニトリル、ベンジルアルコール、酢酸ブチル、乳酸ブチル、二硫化炭素、四塩化炭素、クロロベンゼン、クロロホルム、シクロヘキサン、シクロヘキサノール、シクロヘキサノン、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、ジエチルアミン、ジエチレングリコール、ジグリム、ジイソプロピルエーテル、ジメトキシエタン、ジメチルホルムアミド、フタル酸ジメチル、ジメチルスルホキシド、フタル酸ジ-*n*-ブチル、ジオキサン、エタノール、エーテル、酢酸エチル、アセト酢酸エチル、エチルベンゾエート、エチレングリコール、グリセロール、ヘプタン、ヘキサン、*i*-ブタノール、イソプロパノール、メタノール、酢酸メチル、メチル-*t*-ブチルエーテル、塩化メチレン、メチル-*t*-ブチルエーテル、*N*, *N*-ジメチルアニリン、ペンタン、*p*-キシレン、ピリジン、*t*-ブチルアルコール、テトラヒドロフラン、トルエン、トリクロロエチレン、水、重水、及びキシレンのうちの少なくとも1種であってもよい。

10

【0021】

少なくとも1種の溶媒が、少なくとも2種の溶媒、少なくとも3種の溶媒、少なくとも4種の溶媒、又は少なくとも5種の溶媒であってもよい。

【0022】

少なくとも1種の溶媒が、少なくとも3種の溶媒であってもよい。

【0023】

少なくとも3種の溶媒がイソプロパノール、グリセロール、及び乳酸ブチルからなるものであってもよい。

20

【0024】

ソルビン酸塩が、ソルビン酸カリウム、ソルビン酸ナトリウム、ソルビン酸カルシウム、ソルビン酸、又はそれらの組み合わせであってもよい。

【0025】

ソルビン酸塩がソルビン酸カリウムであってもよい。

【0026】

サポニンが植物抽出物によって提供されてもよい。

【0027】

植物抽出物が、キラヤサポナリア抽出物 (*a Quillaja saponaria extract*)、ユッカシディゲラ抽出物 (*a Yucca schidigera extract*)、トチノキ抽出物、茶種子抽出物、ダイズ抽出物、及びそれらの組み合わせであってもよい。

30

【0028】

植物抽出物が、キラヤサポナリア抽出物であってもよい。

【0029】

水性ナノエマルジョン製剤が、約0.004乃至約0.5質量%までのキラヤサポナリア抽出物を含む。

【0030】

pH調整剤が、クエン酸、乳酸、塩酸、ホウ酸、酢酸、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、硫酸、炭酸カルシウム (CaCO_3)、炭酸アンモニウム、重炭酸アンモニウム、クエン酸アンモニウム、クエン酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、炭酸ナトリウム、リン酸一ナトリウム、リン酸二ナトリウム及び／又はリン酸三ナトリウム、リン酸一カリウム、リン酸二カリウム及び／又はリン酸三カリウム、トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン (TRIS)、アミノ酸、及び両性イオン、例えばグリシン、2-アミノ-2-メチル-1, 3-プロパンジオール (AMPD)、*N*-(1, 1-ジメチル-2-ヒドロキシエチル)-3-アミノ-2-ヒドロキシプロパンスルホン酸 (AMPSO)、*N*-グリシルグリシン (Gly-Gly)、4-(2-ヒドロキシエチル) ピペラジン-1-プロパンスルホン酸 (EPPS又はHEPPS)、3-(シクロヘキシルアミノ)-1-プロパンスルホン酸 (CAPS)、3-(シクロヘキシルアミノ)-2-ヒドロキシ-1-プロパンスルホン酸 (CAPSO)、2-(シクロヘキシルアミノ) エタンスルホン酸 (CHES)、*N*, *N*-ビス [2-ヒドロキシエチル] -2-アミノエタンスルホン酸 (BES

40

50

）、（２－〔２－ヒドロキシ－１，１－ビス（ヒドロキシメチル）エチルアミノ〕エタンスルホン酸（ＴＥＳ）、２－（Ｎ－モルホリノ）エタンスルホン酸（ＭＥＳ）、Ｎ－〔トリス（ヒドロキシメチル）メチル〕グリシン（トリシン）；Ｎ－トリス（ヒドロキシメチル）メチル－３－アミノプロパンスルホン酸（ＴＡＰＳ）及び３－Ｎ－モルホリノプロパンスルホン酸（ＭＯＰＳ）、ピペラジーン－Ｎ，Ｎ’－ビス〔２－ヒドロキシプロパンスルホン〕酸（ＰＯＰＳＯ）、並びにそれらの組み合わせのうちの少なくとも１種でもよい。

【００３１】

pH調整剤が、少なくともクエン酸であってもよい。

【００３２】

水性ナノエマルジョン製剤が、さらにビタミンＣを含んでもよい。

10

【００３３】

水性ナノエマルジョン製剤が、約０．００２乃至約５質量％のビタミンＣを含んでもよい。

【００３４】

水性ナノエマルジョン製剤は以下のものを含んでもよい：

- a) 約０．０５質量％乃至約５５質量％の油；
- b) 約０．００５質量％乃至約７．５質量％のイソプロパノール；
- c) 約０．０２質量％乃至約３０質量％のグリセロール；
- d) 約０．０２質量％乃至約２７質量％の乳酸ブチル；
- e) 約０．０１％乃至約２５％までのソルビン酸カリウム；
- f) 水中で油のナノエマルジョンを形成するのに十分な量の約０．０００４質量％乃至約０．５質量％のキラヤサポナリア抽出物；
- g) 約０．０００２質量％乃至約０．３質量％のクエン酸；
- h) １００質量％となる十分な水。

20

【００３５】

別の実施形態によれば、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、追加の界面活性剤を含まない。

【００３６】

pHは約６乃至約９の範囲であってもよい。

【００３７】

別の実施形態によれば、水性ナノエマルジョン製剤は、さらに界面活性剤又はさらなる乳化剤を含んでもよい。

30

【００３８】

別の実施形態によれば、水性ナノエマルジョン製剤は、追加の殺菌剤、有害生物防除剤又は消毒剤を含まない。

【００３９】

一実施形態によれば、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、殺菌剤製剤として使用するためのものである。

【００４０】

一実施形態によれば、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、有害生物の防除の有害生物防除剤として使用するためのものである。

40

【００４１】

【００４１】

【００４２】

一実施形態によれば、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、種子又は植物の成長を調整に使用するためのものである。

【００４３】

水性ナノエマルジョン製剤は、さらなる有害生物防除剤、肥料、消泡剤、植物成長調整剤、又はそれらの組み合わせをさらに含んでもよい。

【００４４】

50

さらなる有害生物防除剤が、殺藻剤、防汚剤、殺菌剤、殺真菌剤（殺菌剤）、燻蒸剤、除草剤、軟体動物駆除剤、殺卵剤、殺鼠剤、昆虫成長殺菌剤、殺ウイルス剤、防虫剤、節足動物忌避剤、殺線虫剤、殺虫剤、殺ダニ剤、除草剤、及び植物成長調整剤から選択されてもよい。

【0045】

肥料が、無機肥料、窒素肥料、カリウム肥料、リン酸肥料、有機肥料、ふん尿肥料、堆肥、リン酸石、骨粉、アルファルファ、ウッドチップ、ラングバイナイト、カバークロップ、硫酸カリウム、岩石粉、灰、血粉、魚粉、魚エマルジョン、藻類、キトサン及びモラッセの肥料群から選ばれてもよい。

【0046】

消泡剤が、鉱物油、植物油、パラフィンワックス、エステルワックス、シリカ、脂肪アルコール、シリコン、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、共重合体、及びアルキルポリアクリレートから選ばれてもよい。

【0047】

植物成長調整剤が、カルバメート、塩素化炭化水素、シクロヘキサジオン、有機酸、アンシミドール、エテフォン、ジベレリン酸、ジベレリン及びベナズラデニン、マレイン酸ヒドラジド、NAA、ナフタレンアセトアミド、パクロブトラゾール、N-アセチルアスパラギン酸から選ばれてもよい。

【0048】

別の実施形態によれば、水性ナノエマルジョン製剤を水で希釈する工程を含む、本発明の水性ナノエマルジョン製剤を使用する方法が提供される。

【0049】

別の実施形態によれば、本発明の水性ナノエマルジョン製剤を殺菌が必要な表面に塗布することを含む、表面を殺菌する方法が提供される。

【0050】

別の実施形態によれば、種子又は植物に本発明の水性エマルジョンの有害生物防除剤量を接触させる方法を含む、土壌、種子又は植物の有害生物を防除する方法が提供される。

【0051】

本発明の水性ナノエマルジョン製剤又は本発明の方法において、有害生物が、昆虫、線虫、真菌、細菌、幼虫、植物、動物、ウイルス、寄生虫、腹足類、節足動物、カタツムリ、ナメクジ、藻類、又はそれらの組み合わせから選ばれてもよい。

【0052】

本発明の水性ナノエマルジョン製剤又は本発明の方法において、有害生物が、火傷病、うどんこ病、セプトリア及びボトリチスであってもよい。

【0053】

植物が雑草であってもよい。

【0054】

節足動物がダニであってもよい。

【0055】

昆虫が蛾であってもよい。

【0056】

別の実施形態によれば、本発明の水性殺菌剤製剤の成長を調整する量を種子又は植物に接触させる方法を含む、種子又は植物の成長を調整する方法が提供される。

【0057】

成長の調整は、植物の果実、野菜、球根又は塊茎の数の増加を含んでもよい。

【0058】

成長の調整は、植物の果実、野菜、球根又は塊茎のサイズの増加を含んでもよい。

【0059】

成長の調整は、健康な植物の数の増加を含んでもよい。

【0060】

植物が、バナナ（植物）、リンゴの木、洋ナシの木、ジャガイモ（植物）、米（植物）、コーヒー（植物）、柑橘類の木、タマネギ、朝鮮人参、大豆、雑草、トマト（植物）から選ばれてもよい。

【0061】

以下の用語を以下に定義する。

【0062】

特許請求の範囲及び／又は明細書において、用語「含む、から成る（comprising）」と組み合わせて使用される単語「a」又は「an」の使用は、「1種」を意味する場合があるが、「1種又はそれ以上」、「少なくとも1種」、及び「1種又は1種以上」の意味としてもよい。同様に、「別の」という単語は、少なくとも2種又はそれ以上を意味していてもよい。

10

【0063】

本明細書及び請求項で使用される単語「含む、から成る等（comprising）」（例えば「comprise」及び「comprises」などのcomprisingの任意の形式）、「持つ、存在する、ある等（having）」（例えば「have」及び「has」などのhavingの任意の形式）、「含む、などの等（including）」（例えば「include」及び「includes」などのincludeの任意の形式）又は「含む、含有の等（containing）」（例えば「contain」及び「contains」などのcontainingの任意の形式）は、包括的又は変更可能（自由形式）であり、追加、記載されていない要素又は工程のステップを除外するものではない。

【0064】

「約」という用語は、ある値が、その値を決定するために採用されている装置又は方法に固有の誤差の変動を含むことを示すために使用される。

20

【0065】

「好ましくは」、「一般的には」及び「典型的には」などの用語は、請求項に係る発明の範囲を限定するため、又は特定の特徴が請求項に係る発明の構造又は機能にとって重要、本質的、又はさらに重要であることを暗示するために本明細書で使用されないことに注意されたい。むしろ、これらの用語は、本発明の特定の実施形態で利用できる、又は利用できない代替又は追加の特徴を強調することを単に意図している。

【0066】

本発明を説明及び定義する目的で、「実質的に」という用語は、任意の定量的比較、値、測定、又は他の表現に帰することができる固有の不確実性の程度を表すために本明細書で使用されることに注意されたい。「実質的に」という用語はまた、問題の主題の基本的な機能に変化をもたらすことなく、定量的表現が記載された参照から変化し得る程度を表すために本明細書で使用される。

30

【0067】

本明細書で使用される「製剤」という用語は、特定の成分を特定の量で含む製品、ならびに特定の成分を特定の量で組み合わせることから直接的又は間接的に生じる任意の製品を包含することを意図している。さらに、製剤とは、混合物中の物質が互いに反応せず、混合物として望ましい特性を持つ混合物を指す。医薬組成物に関連するこのような用語は、本発明の製剤と薬学的に許容される担体とを混合して作られるあらゆる組成物を包含することを意図している。「薬学的に許容できる」又は「許容できる」とは、担体、希釈剤又は賦形剤が製剤の他の成分と適合し、その受領者に有害でないものでなければならないことを意味する。

40

【0068】

質量パーセント、質量のパーセント、質量の%、wt%などは、その物質の質量をその組成物の質量で割って100倍したもののようなある物質の濃度と同義語である。

【0069】

本明細書で使用される「殺菌剤」という用語は、適用（塗布、散布）時にそれが適用（塗布、散布）される物体の表面に住む微生物の成長を破壊又は低減する抗菌性物質を指す。

【0070】

50

本明細書で使用される「抗菌剤」とは、微生物を死滅させたり、その成長を止めたりする物質のことを指す。

【0071】

本明細書で使用される用語「有害生物防除剤」とは、雑草を含む有害生物を防除することを意味する物質を指す。有害生物防除剤という用語には、除草剤、有害生物防除剤（昆虫成長調整剤、シロアリ駆除剤などを含んでもよい）、殺線虫剤、軟体動物駆除剤、殺魚剤、殺鳥剤、殺鼠剤、殺菌剤（bactericide）、防虫剤、動物忌避剤、抗菌剤、殺真菌剤及び殺菌剤（disinfectant）（抗菌性剤）のすべてが含まれる。その中でも最も一般的なのは除草剤で、全有害生物防除剤の使用量の約80%を占めている。ほとんどの有害生物防除剤は、植物保護剤（作物保護剤とも呼ばれる）としての役割を果たすことを意図しており、一般的には植物を雑草、真菌又は昆虫などから保護する。

10

【0072】

本明細書で使用される用語「有害生物防除剤」とは、「生物学的有害生物防除剤」を縮めたもので、動物、植物、バクテリア、特定の鉱物などの天然素材に由来するある種の有害生物防除剤のことを指す。

【0073】

本明細書で使用される「防腐剤」とは、感染症、敗血症、腐敗などの微生物汚染の可能性を低減するために、床、壁、天井などのあらゆる表面や生体組織に塗布される抗菌物質を指す。

【0074】

本明細書で使用する「天然由来」という用語は、自然界に存在する、又は自然界で生成されるフェノール化合物及びサポニンを指す。そのようなフェノール化合物及びサポニンは、任意の適切な手段によってその自然環境から抽出又は分離することができる。もちろん、そのようなフェノール化合物やサポニンは、人の手によって合成されることもある。そのような合成された同等物は、「天然由来」の定義の範囲内である。

20

【0075】

本明細書で使用する「ミセル」という用語は、水溶液に懸濁したときに両親媒性分子により形成される凝集体を指す。洗剤の非極性尾部の長さ、洗剤の極性又はイオン性頭部の性質と大きさ、サポニンの量と種類、溶液の酸性度、温度、及び添加塩の存在は、得られるミセルの形状と大きさを決定する最も重要な要因である。ミセルは、極性物質を水性媒体に溶解及び運ぶ能力を持つため、産業や生物分野で広く利用されている。ミセルの運ぶ能力は、そのサイズ及び形状に大きく依存する。

30

【0076】

本明細書で使用される「ナノエマルジョン」という用語は、約10乃至約1000 nm、又は約20乃至約1000 nm、又は約30乃至約1000 nm、又は約40乃至約1000 nm、又は約50乃至約1000 nmの範囲の平均液滴径を有する水中油型（o/w）エマルジョンを指し、さらに多くの場合約10乃至約500 nm、又は約20乃至約500 nm、又は約30乃至約500 nm、又は約40乃至約500 nm、又は約50乃至約500 nm、又は約100乃至約500 nm、又は約70乃至約300 nm、又は約50乃至約300 nm、又は約10乃至約200 nm、又は約20乃至約200 nm、又は約30乃至約200 nm、又は約40乃至約200 nm、又は約50乃至約200 nm、又は約60乃至約200 nm、又は約70乃至約200 nm、又は約80乃至約200 nm、又は約90乃至約200 nm、又は約100乃至約200 nm、又は約125乃至約200 nm、又は約150乃至約200 nm、又は約175乃至約200 nm、又は約10乃至約175 nm、又は約20乃至約175 nm、又は約30乃至約175 nm、又は約40乃至約175 nm、又は約50乃至約175 nm、又は約60乃至約175 nm、又は約70乃至約175 nm、又は約80乃至約175 nm、又は約90乃至約175 nm、又は約100乃至約175 nm、又は約125乃至約175 nm、又は約150乃至約175 nm、又は約10乃至約150 nm、又は約20乃至約150 nm、又は約30乃至約150 nm、又は約40乃至約150 nm、又は約50乃至約150 nm、又は

40

50

約60乃至約150nm、又は約70乃至約150nm、又は約80乃至約150nm、又は約90乃至約150nm、又は約100乃至約150nm、又は約125乃至約150nm、又は約10乃至約125nm、又は約20乃至約125nm、又は約30乃至約125nm、又は約40乃至約125nm、又は約50乃至約125nm、又は約60乃至約125nm、又は約70乃至約125nm、又は約80乃至約125nm、又は約90乃至約125nm、又は約100乃至約125nm、又は約10乃至約100nm、又は約20乃至約100nm、又は約30乃至約100nm。又は約40乃至約100nm、又は約50乃至約100nm、又は約60乃至約100nm、又は約70乃至約100nm、又は約80乃至約100nm、又は約90乃至約100nm、又は約10乃至約90nm、又は約20乃至約90nm、又は約30乃至約90nm、又は約40乃至約90nm、又は約50乃至約90nm、又は約60乃至約90nm、又は約70乃至約90nm、又は約80乃至約90nm、又は約10乃至約80nm、又は約20乃至約80nm、又は約30乃至約80nm、又は約40乃至約80nm、又は約50乃至約80nm、又は約60乃至約80nm、又は約70乃至約80nm、又は約10乃至約70nm、又は約20乃至約70nm、又は約30乃至約70nm、又は約40乃至約70nm、又は約50乃至約70nm、又は約60乃至約70nm、又は約10乃至約60nm、又は約20乃至約60nm、又は約30乃至約60nm、又は約40乃至約60nm、又は約50乃至約60nm、又は約10乃至約50nm、又は約20乃至約50nm、又は約30乃至約50nm、又は約40乃至約50nm、又は約10乃至約40nm、又は約20乃至約40nm、又は約30乃至約40nm、又は約10乃至約30nm、又は約20乃至約30nm、又は約10乃至約20nmの間の平均液滴径を有するものである。

【0077】

「病原体」という用語は、病気を引き起こす可能性のある原因物質を意味することを意図する。病原体は、感染性の物質、又は単に細菌と呼ばれることもある。通常、この用語は、ウイルス、細菌、原生動物、プリオン、ウイロイド、又は真菌、腹足類、節足動物、カタツムリ、ナメクジ、藻類などの感染性微生物又は病原体を説明するために使用される。特定の種類の虫(worms)や昆虫の幼虫、脊椎動物(哺乳類や鳥)などの小動物も病気を引き起こす可能性がある。しかし、これらの動物は、一般的には病原体ではなく、寄生虫と呼ばれている。

【0078】

「植物の成長を調整する」及び「成長調整量」という用語は、本発明の方法及び組成物が、植物の成長の少なくとも1種の側面を調整することを意味することを意図している。成長の調整は、植物の成長のすべての側面である必要はない。例えば、本発明の組成物は、植物の他の部分とは独立して、植物の葉(foliage)、葉(leaves)、花、茎、枝、果実、野菜、球根、塊茎、又は他の部分のいずれか1種の成長を調整してもよい。本明細書で使用する場合、用語「成長調整量」は、植物の成長の側面の少なくとも1種を上記で定義したように調整させる本発明の組成物の量を意味することを意図する。植物の成長の調整は、植物の成長に関する全体的な増加を含んでもよい。植物の成長の調整は、複数の個体からなる植物の培養物における健全な植物の数の増加として示されてもよい。植物の成長を調整することは、果実の成熟を促すことを含んでもよい。植物の成長の調整には、植物の成長や新芽の成長の抑制が含まれていてもよい。植物の成長の調整には、開花の増加が含まれていてもよい。植物の成長の調整には、葉や果実の老化の調整が含まれていてもよい。成長調整量は、効果が観察され得る濃度範囲に及んでもよく、各成長調整効果は、植物の他の部分の成長を害しても観察され得る。好ましくは、植物の残りの部分に植物毒性の影響を与えることなく、成長調整効果が得られてもよいが、いくつかの実施形態ではこれが可能でない場合もある。

【0079】

用語「有害生物防除剤量」とは、所定の有害生物を防除するのに十分な本発明の組成物の量を意味する。この量は対象となる有害生物に応じて変化する可能性があり、ある有害生物を防除するためには低濃度で十分であり、別の有害生物を防除するためには高濃度が

必要であることを意味する。

【0080】

「果物」及び「野菜」という用語は、通常、リンゴ、バナナ、ブドウ、レモン、オレンジ、イチゴなど、甘み又は酸味があり、生の状態で食べられる植物の肉質の種子関連構造物を意味する、「果物」及び「野菜」の一般的な言語使用を意図している。また、それは、豆のさや、トウモロコシの穀粒、トマト、小麦の粒など、一般的に「果物」や「野菜」とは呼ばれない多くの構造物が含まれ、「果物」及び「野菜」の植物学上の用法も含まれる。

【0081】

「塊茎」という用語は、栄養分の貯蔵器官として使用されるいくつかの植物種の肥大した構造体を意味することを意図している。それらは、植物の永続性（冬又は乾燥した月の生存）、次の成長期の再生のためのエネルギーと栄養の供給、及び無性生殖の手段として使用される。茎の塊茎は、太くなった根茎（地下茎）やストロン（生物間の水平なつながり）から形成される。茎の塊茎を持つ一般的な植物種には、ジャガイモやヤマイモがある。一部の資料では、修正された側根（根塊）もこの定義で扱っており；これはサツマイモ、キャッサバ、ダリアに見られる。

【0082】

本発明の主題の特徴及び利点は、添付の図に示されているように、選択された実施形態の以下の詳細な説明に照らして、より明らかになるであろう。理解されるように、開示及び請求された主題は、特許請求の範囲を逸脱することなく、様々な点で変更することが可能である。したがって、図面及び説明は、本質的に例示的であると見なされるべきであり、限定的であると見なされるべきではなく、主題の全範囲が特許請求の範囲に記載されている。

【図面の簡単な説明】

【0083】

本開示のさらなる特徴及び利点は、添付の図面と組み合わせた以下の詳細な説明から明らかになる：

【0084】

【図1】図1の図1Aは、本発明の水性殺菌剤製剤中のミセルの大きさを、従来技術と比較して示す。

【0085】

図1の図1Bは、本発明の水性殺菌剤製剤中のミセルの大きさを、従来技術と比較して示す。

【0086】

【図2】図2は、天然タイム油及び合成チモール結晶で作製された本発明の水性殺菌剤製剤の抗細菌効果を示す。

【0087】

【図3】図3は、異なる組成を有する水性殺菌剤製剤の抗細菌効力を示す。

【0088】

【図4】図4は、天然と同一の合成タイム油に基づいた水性殺菌剤製剤の抗細菌効果を示す。

【0089】

【図5】図5は、オレガノ精油に基づく水性殺菌剤製剤の抗細菌効果を示す。

【0090】

【図6】図6は、オレガノ精油に基づく水性殺菌剤製剤の抗細菌効果を示す。

【0091】

【図7】図7は、ローズマリー精油に基づく水性殺菌剤製剤の抗細菌効果を示す。

【0092】

【図8】図8は、本発明の実施形態による、天然と同一の合成タイム油に基づく水性殺菌剤製剤の抗細菌効果を示す。

10

20

30

40

50

【0093】

【図9】図9は、濃縮物として使用される、本発明の実施形態による天然と同一の合成タイム油に基づく水性殺菌剤製剤の抗細菌効果を示す。

【0094】

【図10】図10は、本発明の実施形態による天然同一の合成タイム油に基づく水性殺菌剤製剤を1／256希釈で使用した場合の抗細菌効果を示したものである。

【0095】

【図11】図11は、本発明の実施形態による天然同一の合成タイム油に基づく水性殺菌剤製剤を1／512希釈で使用した場合の抗細菌効果を示したものである。

【0096】

【図12】図12は、ストレプトマイシン耐性菌に対するタイモックス（Thymox、登録商標）コントロール処理の抗細菌効果を示す。

【0097】

【図13】図13は、セプトリア及びうどんこ病に感染した植物におけるタイモックス（登録商標）コントロール処理の病害抑制特性を示す。

【0098】

【図14】図14は、ステビアに対するタイモックス（登録商標）コントロール処理のボトリチス抑制特性を示す。

【0099】

【図15】図15は、アルテミシアシルバーマウンドに対するタイモックス（登録商標）コントロール処理で植物毒性がないことを示す。

【0100】

【図16】図16は、アルテミシア「ポウイスキャッスル」に対するタイモックス（登録商標）コントロール処理で植物毒性がないことを示す。

【0101】

【図17】図17は、ビタミンCを含む本発明の製剤の抗細菌活性を示す。

【発明を実施するための形態】

【0102】

〔発明の詳細な説明〕

実施形態では、タイム油、溶媒、ソルビン酸塩、サポニン、及び水を含む水性ナノエマルジョン製剤が開示される。実施形態によれば、水性ナノエマルジョン製剤は、以下のものであってもよい：

- a) 約0.05%乃至約55質量%の油；
- b) 約0.04%乃至約65質量%の溶剤；
- c) 約0.01%乃至約25%のソルビン酸塩；
- d) 水中で油のナノエマルジョンを形成するのに十分な量の約0.00025%乃至約0.37質量%のサポニン；及び
- e) 100質量%にするのに十分な水。

【0103】

本発明は、特定の用途のために希釈された製剤だけでなく、濃縮製剤として調製することができる。

〔油〕

【0104】

実施形態では、油という用語は、周囲の温度で粘性のある液体であり、疎水性と親油性の両方を持つ任意の非極性化学物質を意味することを意図している。油は、高い炭素原子及び水素原子の含有量を有することがあり、通常、可燃性であり、表面活性を有する。本明細書では、油は有機油及び鉱物油の両方を含む。

【0105】

一実施形態によれば、油は、精油、又は精油からの有効成分であって、実質的に分離されたときに油性を有するものである。本明細書で使用される精油は、植物からの揮発性（

10

20

30

40

50

常温で容易に蒸発する) 化学化合物を含む濃縮された疎水性液体である。精油は、揮発性油、エーテル油、エーセロレア、又は単にクロブの油のように、抽出された植物の油としても知られている。精油は、植物の香りの「エッセンス オブ」つまりそれが由来する植物の特徴的な香りを含んでいるという意味で「エッセンシャル」である。精油は、一般的には多くの場合水蒸気を用いた蒸留によって抽出される。その他の工程には、圧搾、溶媒抽出、スフマトウラ、絶対油抽出、樹脂タッピング、ワックス埋め込み、コールドプレスが含まれる。それらは、香水、化粧品、石鹸及び他の製品、飲食物の風味付け、お香や家庭用洗剤の香り付けなどに使用される。

【0106】

精油に関して、いくつかの精油は、抗菌精油、抗細菌精油、殺菌剤精油、及び／又は有害生物防除剤精油、あるいはそれらの組み合わせであることが知られている。もちろん、そのような油は、構成する精油のそのような特性を保存及び活用する水性ナノエマルジョンを調製するために使用することができる。

10

【0107】

精油は、アニス油、レモン油、オレンジ油、オレガノ油、ローズマリー油（スペイン産ローズマリー油を含む）、ウィンターグリーン油、タイム油、ラベンダー油、クロブ油、ホップ油、ティーツリー油、シトロネラ油、小麦油、大麦油、レモングラス油、スギ葉油、スギ材油、シナモン油、フリーグラス油、ゼラニウム油、サンダルウッド油、スミレ油、クランベリー油、ユーカリ油、バーベナ油、ペパーミント油、バジル油、フェネル油、モミ油、バルサム油、オクメアオリガナム油、ヒダステイス・カラデンシス油、メギ科油 (Berberidaceae daceae oil)、ラタンヒア油、クルクマロンガ油、ゴマ油、マカダミアナッツ油、月見草油、コリアンダー油、ピメントベリー油、ローズ油、ベルガモット油、ローズウッド油、カモミール油、セージ油（スペイン産セージ油を含む）、クラリーセージ油、サイプレス油、シーフェネル油、乳香油、ジンジャー油、グレープフルーツ油、ジャスミン油、ジュニパー油、ライム油、マンダリン油、マジョラム油、ミルラ油、ネロリ油、パチュリー油、コショウ油、黒コショウ油、プチグレイン油、パイン油、ローズオットー油、スペアミント油、スパイクナード油、ベチベル油、針葉樹精油、イランイランのいずれか1種であってもよく、又はこれらの組み合わせでもよい。

20

【0108】

実施形態では、針葉樹精油は、任意の適切な針葉樹、例えば、スギ、ダグラスファー、イトスギ、モミ、ジュニパー、カウリ、ラーチ、松、ヘムロック、レッドウッド、トウヒ、及びイチイからのものであってもよい。トウヒの例は、ブリュワートウヒ (*Picea breweriana*)、シトカトウヒ (*Picea sitchensis*)、エンゲルマントウヒ (*Picea engelmannii*)、カナダトウヒ (*Picea glauca*)、サージャントウヒ (*Picea brachytyla*)、チワワトウヒ (*Picea chihuahuana*)、ビルマトウヒ (*Picea farreri*)、リキアントウヒ (*Picea likiangensis*)、マルチネストウヒ (*Picea martinezii*)、ヒメバラモミ (*Picea maximowiczii*)、ニイタカトウヒ (*Picea morrissonicola*)、ベイッチトウヒ (*Picea neveitchii*)、コーカサストウヒ (*Picea orientalis*)、ムラサキトウヒ (*Picea purpurea*)、スチエレンストウヒ (*Picea schrenkiana*)、モリンドトウヒ (*Picea smithiana*)、シッキムトウヒ (*Picea spinulosa*)、バラモミ (*Picea torano*)、ウィルソントウヒ (*Picea wilsonii*)、オウシュウトウヒ (*Picea*

30

40

abies)、マツハダ (*Picea alcoquiana*)、アルプストウヒ (*Picea alpestris*)、ドラゴントウヒ (*Picea asperata*)、青海トウヒ (*Picea crassifolia*)、アカエゾマツ (*Picea glehnii*)、エゾマツ (*Picea jezoensis*)、チョウセンハリモミ (*Picea koraiensis*)、ヤツガタクトウヒ (*Picea koyamae*)、クロトウヒ (*Picea mariana*)、マイヤートウヒ (*Picea meyeri*)、シベリアトウヒ (*Picea obovate*)、オモリカトウヒ (*Picea omorika*)、コロラドトウヒ (*Picea*

pungens)、ピセアレトロフレクサ (*Picea retroflexa*)、及びアカトウヒ (*Picea rubens*) からなる群から選択することができる。

【0109】

50

他の実施形態によれば、油は、ニーム油、綿実油、又はそれらの組み合わせでもよい。

〔タイム油〕

【0110】

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョンの有効殺菌剤成分は、タイム油である。チモールは、タイム油に含まれるシメン ($C_{10}H_{14}O$) の天然モノテルペノイドフェノール誘導体で、カルバクロールと異性体であり、タイムの油に含まれ、コモンタイム (*Thymus vulgaris*) 及びその他のさまざまな植物から抽出される。本発明で使用する天然由来のフェノール化合物は、公知の方法で合成してもよいし、植物油の抽出物から得てもよい。

【0111】

本発明の一実施形態では、天然由来のフェノール化合物は、植物抽出物から得られる。さらなる一実施形態において、天然由来のフェノール化合物は市販されている。さらに別の実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、天然由来のタイム油、合成由来、又はそれらの組み合わせを含む。本発明の水性ナノエマルジョン製剤を作製するために使用することができるタイム油の例を表1に示す。

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1 タイム油の例

タイム油		
VDH オルガニッククス 1	タイム油 (合成)	VDH/TO/451109/18-19
VDH オルガニッククス 2	タイム油 (合成)	VDH/TO/444519/18-19
カティアニ輸出	タイム油 "KE" (天然)	K-5655-KE-2017
カティアニ輸出	タイム油 60% (天然)	K-1548-KE-2018
ラケシュ・サンダル インダストリーズ	タイム油 "RS" (Comp)	R000X3V14
HBNO	タイム油(天然)	HBNO - 4255
HBNO	タイムジージスヨーロッパ(天然)	1007182
HBNO	タイムヴァガリスインディア (天然)	3600
ブラス・ロレンテ	チモール,タイム油 100% 天然	n/d
ブラス・ロレンテ	ホワイトタイム油N.I. (天然)	n/d
カルボネル	タイムブランシュ (合成)	65059
カルボネル	タイムブランシュ (合成)	00420
カルボネル	タイム油(天然)	00806
クッシュアロマ輸出	100% 純粋タイム精油	KUSH/EO-100-003474/18-19
ネイチャーズ ナチュ ラル インディア	タイム油(天然)	NNITHEO/234/1218
ネイチャーズ ナチュ ラル インディア	タイム油(合成)	NNITSEO/433/1218
AG インダストリー ズ	タイム油 純粋(天然)	FM/TMOLN/1901001
AG インダストリー ズ	タイム油 合成	FM/TMOLN/19010021
シュリーバンキー	タイム油 純粋	SBBLBM/THYM/001/2017-18

【0112】

一実施形態によれば、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、カルバクロール、チモール、パラシメン及びテルピネンなどのフェノール化合物を可変の割合で含むタイム油からなる。本発明の水性ナノエマルジョン製剤に使用する天然 (Nat) 又は合成天然-同一 (Syn) のタイム油の組成を表 2 に示す。タイム油は、製剤の約 0.05% 乃至約 55 質量% で存在することができる。

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2 本発明の水性ナノエマルジョン製剤に使用される天然又は合成天然—同一のタイム油

天然又は天然同一（合成）油	合成／天然	チモール %	カルバクロール %	パラシメン %	テルピネン %
VDH オルガニックス 1	合成	44.4	19.2	11.4	19.9
VDH オルガニックス 2	合成	45	9.3	14.2	25.1
ネイチャーズ ナチュラル インディア	合成	45.4	2.82	27.35	12.69
ネイチャーズ ナチュラル インディア	天然	45.83	3.03	27.39	12.78
AG インダストリーズ	合成	44.5	3.73	28.42	1.71
AG インダストリーズ	天然	27.03	3.66	24.54	0.61
カティア二輸出	天然	50	3.97	20.13	8.15
ラケシュ・サンダルインダストリーズ	天然	52.65	6.3	14.23	10.5

【ローズマリー油】

【0113】

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤中の油成分はローズマリー油である。α-ピネン、樟腦、1, 8-シネオール、カンフェン、リモネン、及びリナロールがこの油の成分である。ローズマリー油は、天然由来、合成由来、又はそれらの組み合わせでもよい。

【精油の有効成分】

【0114】

本発明のナノエマルジョンで使用される油はまた、精油からの活性な単離された成分であり得、これはまた、実質的に単離されたときに油性の性質を有する。そのような成分は、例えばチモール、カルバクロール、シンナムアルデヒド、シトラール、メントール、ゲラニオール、カプサイシン、パラシメン又はそれらの組み合わせでもよい。

【溶媒】

【0115】

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、タイム油及び製剤の他の成分にフェノール化合物を可溶化することができる少なくとも1種の極性又は非極性溶媒をさらに含む。溶媒の非限定的な例には、1, 2-ジクロロエタン、2-ブタノン、アセトン、アセトニトリル、ベンゼン、四塩化炭素、クロロホルム、シクロヘキサン、ヘキサン、ペンタン、テトラヒドロフラン、1, 1-ジクロロエタン、1, 2-ジクロロエタン、1-ブタノール、1-ヘプタノール、1-ヘキサノール、1-オクタノール、1-ペンタノール、1-プロパノール、2-アミノエタノール、2-ブタノール、2-ブタノン、2-ペンタノール、2-ペンタノン、2-プロパノール、3-ペンタノール、3-ペンタノン、酢酸、アセトン、アセトニトリル、アセチルアセトン、アニリン、アニソール、ベンゼン、ベンゾニトリル、ベンジルアルコール、酢酸ブチル、乳酸ブチル、二硫化炭素、四塩化炭素、クロロベンゼン、クロロホルム、シクロヘキサン、シクロヘキサノール、シクロヘキサノン、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、ジエチルアミン、ジエチレングリコール、ジグリム、ジイソプロピルエーテル、ジメトキシエタン、ジメチルホルムアミド、フタル酸ジメチル、ジメチルスルホキシド、フタル酸ジ-n-ブチル、ジオキサン、エタノール、エーテル、酢酸エチル、アセト酢酸エチル、エチルベンゾエート、エチレングリコ

ール、グリセロール、ヘプタン、ヘキサン、1-ブタノール、イソプロパノール、メタノール、酢酸メチル、メチル-tert-ブチルエーテル、塩化メチレン、メチル-tert-ブチルエーテル、N,N-ジメチルアニリン、ペンタン、p-キシレン、ピリジン、tert-ブチルアルコール、テトラヒドロフラン、トルエン、トリクロロエチレン、水、重水、及びキシレンが含まれる。一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、少なくとも2種の溶媒、又は少なくとも3種の溶媒、又は少なくとも4種の溶媒、又は少なくとも5種の溶媒をさらに含む。本発明の水性ナノエマルジョン製剤の好ましい一実施形態によれば、少なくとも3種の溶媒を含む。本発明の水性ナノエマルジョン製剤の好ましい一実施形態での少なくとも3種の溶媒は、イソプロパノール、グリセロール、及び乳酸ブチルを含む。本発明の製剤は、溶媒を約0.04%乃至約65%、又は約0.4%乃至約65%、又は約1%乃至約65%、又は約10%乃至約65%、又は約20%乃至約65%、又は約30%乃至約65%、又は約40%乃至約65%、又は約50%乃至約65%、又は約60%乃至約65%、又は約0.4%乃至約60%、又は約1%乃至約60%、又は約10%乃至約60%、又は約20%乃至約60%、又は約30%乃至約60%、又は約40%乃至約60%、又は約50%乃至約60%、又は約0.4%乃至約50%、又は約1%乃至約50%、又は約10%乃至約50%、又は約20%乃至約50%、又は約30%乃至約50%、又は約40%乃至約50%、又は約0.4%乃至約40%、又は約1%乃至約40%、又は約10%乃至約40%、又は約20%乃至約40%、又は約30%乃至約40%、又は約0.4%乃至約30%、又は約1%乃至約30%、又は約10%乃至約30%、又は約20%乃至約30%、又は約0.4%乃至約20%、又は約1%乃至約20%、又は約10%乃至約20%、約0.4%乃至溶媒の約10%、又は約1%乃至約10%、又は約0.4%乃至約1質量%を含んでもよい。

〔ソルビン酸塩〕

〔0116〕

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、ソルビン酸塩を含む。ソルビン酸塩は、主に食品業界で防腐剤として使用されている。しかしながら、前述のように、本発明のソルビン酸塩は、ナノエマルジョン中のミセルの数を増加させるための共界面活性剤としてさらに作用し、水性ナノエマルジョン製剤の抗菌効果を増幅する。ソルビン酸塩は、ソルビン酸カリウム、ソルビン酸ナトリウム、ソルビン酸カルシウム、ソルビン酸、又はそれらの組み合わせでもよい。

〔0117〕

好ましい一実施形態では、ソルビン酸塩はソルビン酸カリウムである。ソルビン酸カリウムは、食品を保存するためのGRAS（一般に安全と認められたもの）であり、何十年にもわたって効果的に使用されてきた食品防腐剤としても使用されている。ボディケア製品と同様のカリウム濃度を使用した研究では、ソルビン酸カリウムは実質的に刺激性及び感作性がないことがわかっている[ソルビン酸及びソルビン酸カリウムの安全性評価に関する最終報告書 UITO International Journal of Toxicology, 7(6)、837-880(1988)]。実際、ソルビン酸カリウムの毒性は食塩の毒性に近い。ソルビン酸カリウムは、天然物協会(Natural Products Association)によって承認されたグリーンケミカルハンドブック(Handbook of Green Chemicals)にも含まれており、ホールフーズプレミアムボディケア(Whole Foods Premium BodyCare)によっても承認されている。

〔0118〕

最近の知見では、人の近くで使用された場合や、消費された場合にソルビン酸カリウムの安全性を検証し続けている。欧州食品安全機関(EFSA)は、1日で体重1kgあたり3mgの一日摂取許容量を設定した。ラットには1日あたり300mgを与えたが、有害な影響は観察されなかった。米国の人の一日摂取許容量の最大値は、1日で体重1キログラムあたり25ミリグラム(mg/kg)である。150ポンドの成人の場合、これは1日あたり1,750mgになる。

〔0119〕

さらに、ソルビン酸カリウムは「防カビ剤」として農業用に使用しても安全であるとい

う特徴があり、ソルビン酸をはじめとする不飽和脂肪酸モノカルボン酸とその塩は、農業における微生物の増殖を抑制する効果があることが知られている。

【0120】

本発明において、ソルビン酸カリウムは、直径200nm未満のナノエマルション液滴又はミセルの形成及び安定性に寄与する。ミセルのサイズが小さいことは、エマルション製剤を重力沈降又はクリーミングに対して比較的影響を受けにくくする状態に有利であると考えられている。最も重要なことは、次に製剤の安定性がその有効性に直接関係していることである。(タイム油の)単位体積あたりのナノエマルションの液滴が小さいほど、ミセルの数が多くなり、次に抗菌性製剤と標的微生物との接触の発生が高くなる。小さなナノエマルションの決定的な利点は、濃縮製剤の安定性と溶解性が高いことである。その結果、洗浄又は殺菌の目的で使用される最終希釈製品は、より均質で熱力学的に安定している。本発明の製剤は、約0.01%乃至約25%、又は約0.1%乃至約25%、又は約1%乃至約25%、又は約10%乃至約25%、又は約15%乃至約25%、又は約20%乃至約25%、又は約0.01%乃至約20%、又は約0.1%乃至約20%、又は約1%乃至約20%、又は約10%乃至約20%、又は約15%乃至約20%、又は約0.01%乃至約15%、又は約0.1%乃至約15%、又は約1%乃至約15%、又は約10%乃至約15%、又は約0.01%乃至約10%、又は約0.1%乃至約10%、又は約1%乃至約10%、又は約0.01%乃至約1%、又は約0.1%乃至約1%、又は約0.01%乃至約0.1質量%のソルビン酸塩を含み得る。

10

【サポニン】

20

【0121】

実施形態では、本発明の水性ナノエマルション製剤は、サポニンを含む。

【0122】

サポニンは、様々な植物種に特に多く含まれる化合物の一種である。より具体的には、水溶液中で振ったときに生じる石鹸状の泡によって現象的にグループ化された両親媒性の配糖体であって、また構造的には1種又はそれ以上の親水性の配糖体部分と親油性のトリテルペン又はステロイド誘導体が結合したものである。サポニンは、食品、化粧品、農業及び薬剤のさまざまな業界で、天然の非イオン性界面活性剤、乳化剤、発泡剤、及び洗剤として一般的に使用されている。本発明の製剤は、約0.00025%乃至約0.37%、又は約0.0025%乃至約0.37%、又は約0.025%乃至約0.37%、又は約0.25%乃至約0.37%、又は約0.00025%乃至約0.35%、又は約0.0025%乃至約0.35%、又は約0.025%乃至約0.35%、又は約0.25%乃至約0.35%、又は約0.00025%乃至約0.30%、又は約0.0025%乃至約0.30%、又は約0.025%乃至約0.30%、又は約0.25%乃至約0.30%、又は約0.00025%乃至約0.25%、又は約0.0025%乃至約0.25%、又は約0.025%乃至約0.25%、又は約0.00025%乃至約0.20%、又は約0.0025%乃至約0.20%、又は約0.025%乃至約0.20%、又は約0.00025%乃至約0.15%、又は約0.0025%乃至約0.15%、又は約0.025%乃至約0.15%、又は0.00025%乃至0.10%、又は0.0025%乃至0.10%、又は0.025%乃至0.10%、又は0.00025%乃至0.05%、又は0.0025%乃至0.05%、又は0.025%乃至0.05質量%のサポニンを含み得る。

30

40

【0123】

実施形態では、サポニンは、植物抽出物、例えば、キラヤサポナリア抽出物、ユッカシディゲラ抽出物、トチノキ抽出物、茶種抽出物、大豆抽出物、及びこれらの組み合わせによって提供されてもよい。本発明の水性ナノエマルション製剤の好ましい一実施形態では、植物抽出物は、キラヤサポナリア抽出物であり、約0.004乃至約0.5%、又は約0.04乃至約0.5%、又は約0.04乃至約0.5%、又は約0.4乃至約0.5%、又は約0.004乃至約0.4%、又は約0.04乃至約0.4%、又は約0.04乃至約0.4%、又は約0.004乃至約0.3%、又は約0.04乃至約0.3%、又は約0

50

． 0.4 乃至約 0.3 %、約 0.004 乃至約 0.2 %、又は約 0.04 乃至約 0.2 %、又は約 0.04 乃至約 0.2 %、約 0.004 乃至約 0.1 %、又は約 0.04 乃至約 0.1 %、又は約 0.04 乃至約 0.1 質量%のキラヤサポナリア抽出物を含む。

【0124】

キラヤ抽出物は、サポニンの親水性が高く、安定した水中油型(O/W)エマルションを形成することができる食品に使っても安全な化合物である。また、形成されたエマルションは、酸性条件下や塩類の存在下でも安定している。本発明では、キラヤ抽出物に見られるようなサポニンの界面活性剤的な特性は、効果の高いエマルションに基づいた殺菌剤を製造するために利用される。

【0125】

本発明では、天然のバイオ界面活性剤であるキラヤとソルビン酸カリウムを使用することで、全体的な安全性と利便性、ナノエマルションのミセルのサイズがより小さいこと、及び後述するように効果的な抗細菌性・抗菌性の特性に関していくつかの利点が得られる。本研究では、キラヤサポニンの混合食品安全界面活性剤システムの界面活性剤特性及びソルビン酸カリウムなどの食品グレードの共界面活性剤を使用する。本発明を実用化することで、現在使用されているより毒性が強く煩雑な抗菌剤に代わる必要なものが得られる。キラヤ及び他の小さな極性溶媒、ソルビン酸塩と組み合わせは、他の一般的な市販の界面活性剤及び他の洗剤に基づいた界面活性剤と比較して、より小さなミセルを提供する。

【pH調整剤】

【0126】

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルション製剤は、さらに約 0.0002 %乃至約 0.3 質量%の pH調整剤を含む。本発明の一実施形態では、pH調整剤は製剤のイオンバランスを維持するために使用される。本発明の一実施形態による pH調整剤の非限定的な例としては、クエン酸、乳酸、塩酸、ホウ酸、酢酸、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、硫酸、炭酸カルシウム (CaCO_3)、炭酸アンモニウム、重炭酸アンモニウム、クエン酸アンモニウム、クエン酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、炭酸ナトリウム、リン酸一ナトリウム、リン酸二ナトリウム及び／又はリン酸三ナトリウム、リン酸一カリウム、リン酸二カリウム及び／又はリン酸三カリウム、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン (TRIS)、アミノ酸及び両性イオン、例えばグリシン、2-アミノ-2-メチル-1,3-プロパンジオール (AMPD)、N-(1,1-ジメチル-2-ヒドロキシエチル)-3-アミノ-2-ヒドロキシプロパンスルホン酸 (AMPSO)、N-グリシルグリシン (Gly-Gly)、4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-プロパンスルホン酸 (EPPS又はHEPPS)、3-(シクロヘキシルアミノ)-1-プロパンスルホン酸 (CAPS)、3-(シクロヘキシルアミノ)-2-ヒドロキシ-1-プロパンスルホン酸 (CAPSO)、2-(シクロヘキシルアミノ)エタンスルホン酸 (CHES)、N,N-ビス[2-ヒドロキシエチル]-2-アミノエタンスルホン酸 (BES)、(2-[2-ヒドロキシ-1,1-ビス(ヒドロキシメチル)エチルアミノ]エタンスルホン酸) (TES)、2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸 (MES)、N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]グリシン(トリシン)、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-3-アミノプロパンスルホン酸 (TAPS) 及び3-N-モルホリノプロパンスルホン酸 (MOPS)、ピペラジン-N,N'-ビス[2-ヒドロキシプロパンスルホン]酸 (POPSO)、及びこれらの組み合わせの少なくとも1種を含む。本発明の水性ナノエマルション製剤のさらなる一実施形態では、pH調整剤は、少なくとも1種のクエン酸である。

【0127】

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルション製剤は、約6乃至約9の範囲のpHを含む。

【0128】

本発明の製剤は、約 0.0002 %乃至約 0.3 %、又は約 0.002 %乃至約 0.3 %、又は約 0.02 %乃至約 0.3 %、又は約 0.2 %乃至約 0.3 %、又は約 0.00

10

20

30

40

50

0.2%乃至約0.2%、又は約0.002%乃至約0.2%、又は約0.02%乃至約0.2%、又は約0.0002%乃至約0.1%、又は約0.002%乃至約0.1%、又は約0.02%乃至約0.1%、又は約0.0002%乃至約0.05%、又は約0.002%乃至約0.05%、又は約0.0002%乃至約0.005%、又は約0.002%乃至約0.005%、又は約0.0002%乃至約0.0005質量%のpH調整剤を含んでもよい。

〔ビタミンC〕

【0129】

実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、アスコルビン酸及びアスコルビン酸塩としても知られるビタミンCを含んでもよい。水性ナノエマルジョン製剤は、約0.002乃至約10%、又は約0.02%乃至約10%、又は約0.2%乃至約10%、又は約1%乃至約10%、又は約2%乃至約10%、又は約3%乃至約10%、又は約4%乃至約10%、又は約5%乃至約10%、又は約6%乃至約10%、又は約7%乃至約10%、又は約8%乃至約10%、又は約9%乃至約10%、又は約0.002乃至約9%、又は約0.02%乃至約9%、又は約0.2%乃至約9%、又は約1%乃至約9%、又は約2%乃至約9%、又は約3%乃至約9%、又は約4%乃至約9%、又は約5%乃至約9%、又は約6%乃至約9%、又は約7%乃至約9%、又は約8%乃至約9%、又は約0.002乃至約8%、又は約0.02%乃至約8%、又は約0.2%乃至約8%、又は約1%乃至約8%、又は約2%乃至約8%、又は約3%乃至約8%、又は約4%乃至約8%、又は約5%乃至約8%、又は約6%乃至約8%、又は約7%乃至約8%、又は約0.002乃至約7%、又は約0.02%乃至約7%、又は約0.2%乃至約7%、又は約1%乃至約7%、又は約2%乃至約7%、又は約3%乃至約7%、又は約4%乃至約7%、又は約5%乃至約7%、又は約6%乃至約7%、又は約0.002乃至約6%、又は約0.02%乃至約6%、又は約0.2%乃至約6%、又は約1%乃至約6%、又は約2%乃至約6%、又は約3%乃至約6%、又は約4%乃至約6%、又は約5%乃至約6%、又は約0.002乃至約5%、又は約0.02%乃至約5%、又は約0.2%乃至約5%、又は約1%乃至約5%、又は約2%乃至約5%、又は約3%乃至約5%、又は約4%乃至約5%、又は約0.002乃至約4%、又は約0.02%乃至約4%、又は約0.2%乃至約4%、又は約1%乃至約4%、又は約2%乃至約4%、又は約3%乃至約4%、又は約0.002乃至約3%、又は約0.02%乃至約3%、又は約0.2%乃至約3%、又は約1%乃至約3%、又は約2%乃至約3%、又は約0.002乃至約2%、又は約0.02%乃至約2%、又は約0.2%乃至約2%、又は約1%乃至約2%、又は約0.002乃至約1%、又は約0.02%乃至約1%、又は約0.2%乃至約1%、又は約0.002乃至約0.2%、又は約0.02%乃至約0.2%、又は約0.002乃至約0.02質量%のビタミンCを含む。

【0130】

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は以下を含む；

- a) 約0.05%乃至約55質量%の油；
- b) 約0.005%乃至約7.5質量%のイソプロパノール；
- c) 約0.02%乃至約30質量%のグリセロール；
- d) 約0.02%乃至約27質量%の乳酸ブチル；
- e) 約0.01%乃至約25%のソルビン酸カリウム；
- f) 水中で油のナノエマルジョンを形成するのに十分な量；の約0.0004%乃至約0.5質量%のキラヤサボナリア抽出物；
- g) 約0.0002%乃至約0.3%（質量%）のクエン酸；及び
- h) 100質量%にするのに十分な水。

【0131】

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、追加の界面活性剤を含まない。水性ナノエマルジョン製剤は、例えば、作物又は種子に有害と考えられる非天然の界面活性剤を含まないものでもよい。

【0132】

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、追加の殺菌剤、有害生物防除剤又は消毒剤を含まない。水性ナノエマルジョン製剤には、タイム油及びそのような活性を有する本明細書に開示されている成分以上の追加的な殺菌剤、有害生物防除剤又は除菌剤の活性を有する追加の成分が含まれていなくてもよい。

【0133】

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、約6乃至約9の範囲のpHを含む。

【界面活性剤】

【0134】

別の実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、界面活性剤をさらに含み得る。本明細書で使用される場合、「界面活性剤」という用語は、疎水性基（しばしば「尾」と呼ばれる）及び親水性基（しばしば「頭」と呼ばれる）を有する両親媒性化合物を意味することを意図する。それらは洗剤とも呼ばれ、上記のサポニンとは異なる。界面活性剤（表面活性剤）は、一般に、水又は他の水システムに溶解したときに、それ及び別の物質又は材料との間の表面又は界面張力を低下させる物質を指すことを意図している。

【0135】

本発明の一実施形態では、界面活性剤は、水性担体内の精油の分散又は乳化を助ける。本発明のさらなる一実施形態において、界面活性剤は、ナノエマルジョン中のミセルの数を増加させ、水性ナノエマルジョン製剤の抗菌性効果を増幅する。

【0136】

本発明の一実施形態による界面活性剤の非限定的な例には、以下が含まれる：

1. アニオン性 アルファスルホメチルナトリウムメチル2-スルホラウレート 149458-07-1
2. アニオン性 ジフェニルオキシドナトリウムドデシルジフェニル 119345-04-9
3. アニオン性 ジフェニルオキシドナトリウムデシルジフェニルオキシド 36445-71-3
4. アニオン性 ドデシルベンゼンナトリウム 68081-81-2
5. アニオン性 ドデシルベンゼンドデシルベンゼンスルホン酸 68584-22-5
6. アニオン性 エーテルカルボキシレートカプリレス-9カルボン酸 53563-70-5 及びヘキセス-4カルボン酸 105391-15-9
7. アニオン性 エーテルカルボキシレートグリコール酸エトキシレートラウリル 27306-90-7
8. アニオン性 イセチオネートナトリウムココイルイセチオネート 61789-32-0
9. アニオン性 ラウリルエーテル硫酸塩 ラウリルエーテル硫酸ナトリウム 9004-82-4
10. アニオン性 ラウリル硫酸塩 ラウリル硫酸ナトリウム 151-21-3
11. アニオン性 ラウリル硫酸塩 トリエタノールアミンラウリル 90583-18-9
12. アニオン性 ラウリル硫酸塩 ラウリル硫酸マグネシウム 3097-08-3
13. アニオン性 リン酸塩エステルノノキシノール-10リン酸塩 51609-41-7
14. アニオン性 リン酸塩エステルデセス4リン酸塩 68921-24-4
15. アニオン性 ホスファネートアミノトリスメチレンホスホン酸 20592-85-2
16. アニオン性 ホスファネート1-ヒドロキシエチリデン-1,1,-ジホスホン酸 2809-21-4
17. アニオン性 サルコシネートナトリウムラウロイルサルコシネート 137-16-6

10

20

30

40

50

18. アニオン性 スルホ酸塩 ラウレスニナトリウム 68815-56-5
19. アニオン性 キシレンスルホン酸塩 キシレンスルホン酸ナトリウム 1300-72-7
20. カチオン性 アミノキシドラウラミンオキシド 1643-20-5
21. カチオン性 アミノキシドコカミドプロピルアミノキシド 68155-09-9
22. カチオン性 アミノキシドラウリル／ミリスチルアミドプロピル 61792-31-2 及びアミノキシド 67806-10-4
23. カチオン性 アミノキシドタロウアミン+2 EO 61791-46-6
24. カチオン性 アミノキシドミリスチアミンオキシド 3332-27-2
25. カチオン性 オニウム化合物ソイエチルモルホリニウム 61791-34-2 エトスルフェート
26. カチオン性 四級化ジオレイロイルエチル 94095-35-9
27. カチオン性 四級化クオタニウム 18 (ジステアリル 61789-80-8)
28. カチオン性 四級化アルキルジメチルベンジル 68424-85-1
29. カチオン性 四級化クオタニウム 12 (ジデシル 7173-51-5)
30. カチオン性 四級化ジアルキルジメチルアンモニウム 68424-95-3
31. 両性 ベタインコカミドプロピルベタイン 61789-40-0
32. 両性 ベタインセチルベタイン 693-33-4 及び 0683-10-3
33. 両性 ベタインラウラミドプロピルベタイン 4292-10-8
34. 両性 イミダゾリウムニナトリウム 68604-71-7 化合物ココアンホジプロピオネート
35. 両性 イミダゾリウムニナトリウム 68650-39-5 化合物ココアンホジアセテート
36. 両性 イミダゾリウムナトリウムココアンホアセテート 68608-65-1 化合物
37. 両性 スルタインラウリルヒドロキシスルタイン 13197-76-7
38. 非イオン性 アルコールエトキシレート線状アルコール (C1 1) 34398-01-1 エトキシレート、POE-7
39. 非イオン性 アルコールエトキシレート線状アルコール (C9-1 1) 68439-46-3 エトキシレート、POE-2.5
40. 非イオン性 アルコールエトキシレートラウリルアルコールエトキシレート、9002-92-0
41. 非イオン性 アルコールエトキシレート 二級アルコール 84133-50-7
42. 非イオン性 アルカノールアミドトリデセス-2 カルボキサミド 107628-04-6
43. 非イオン性 アルカノールアミドPEG-4 ラペシードアミド 85536-23-8
44. 非イオン性 アルカノールアミドPEG5 コカミド 68425-44-5
45. 非イオン性 アルカノールアミドコカミドDEA 68603-42-9
46. 非イオン性 アルカノールアミドラウラミドMEA 142-78-9
47. 非イオン性 アルカノールアミドコカミドMEA 68140-00-1
48. 非イオン性 アルカノールアミドラウラミドDEA 120-40-1
49. 非イオン性 アルカノールアミドオレアミドDEA 93-83-4
50. 非イオン性 アルキルポリグリコシドカプリリル／ミリスチルグルコシド 68515-73-1 及び 1 10615-47-9
51. 非イオン性 アルキルポリグリコシドラウリル／ミリスチルグルコシド 110615-47-9
52. 非イオン性 アルキルポリグリコシドカプリリル／デシルグルコシド 68515-73-1

10

20

30

40

50

53. 非イオン性 アミドN、N-ジメチルデカナミド14433-76-2
54. 非イオン性 バイオサーファクタントソホロリピド-非イオン性 エステルミリスチン酸イソプロピル110-27-0
55. 非イオン性 エステルパルミチン酸イソプロピル142-91-6
56. 非イオン性 脂肪酸、天然グリセレス-17ココエート68201-46-7由来
57. 非イオン性 脂肪酸、天然グリセレス-6ココエート68201-46-7由来
58. 非イオン性 脂肪酸、天然PEG/PPG-6/2グリセリル72245-1-1-5ココエート由来
59. 非イオン性 脂肪アルコールセトステアリアルアルコール67762-27-0
60. 非イオン性 脂肪アミンPEG2コカミン61791-14-8
61. 非イオン性 脂肪アミンPEG2タロウアミン61791-26-2
62. 非イオン性 グリセロールエステルグリセレス-7 36145938-3
63. 非イオン性 グリセロールエステルカプリル酸/カプリン酸トリグリセリド73398-61-5
64. 非イオン性 グリセロールエステルオレイン酸グリセリル37220-82-9
65. 非イオン性 グリセロールエステルステアリン酸グリセリル123-94-4
66. 非イオン性 乳酸ラウリル 乳酸ラクチル910661-93-7
67. 非イオン性 ソルビタンエステルポリソルベート80 9005-65-6
68. レシチン8002-43-5
69. ポリオキシエチレン(20)オレイルエーテル9004-98-2
70. ポリエチレングリコールヘキサデシルエーテルポリオキシエチレン(20)セチルエーテル2724259
71. ポリエチレングリコールオレイルエーテルポリオキシエチレン(2)オレイルエーテル9004-98-2
72. ポリエチレングリコールヘキサデシルエーテルポリオキシエチレン(10)セチルエーテル9004-95-9
73. ポリエチレングリコールドデシルエーテルポリオキシエチレン(4)ラウリルエーテル9002-92-0
74. ポリオキシエチレン(100)ステアリアルエーテル9005-00-9;
75. ポリエチレングリコールオクタデシルエーテルポリオキシエチレン(10)ステアリアルエーテル9005-00-9
76. テトロニック 90R4 26316-40-5
77. テトロニック 701 26316-40-5
78. ポリオキシエチレン(12)イソオクチルフェニルエーテルポリオキシエチレン(12)オクチルフェニルエーテル、分岐9002-93-1
79. ポリオキシエチレン(12)トリデシルエーテル78330-21-9
80. PEG-PPG-PEGプルロニック(登録商標)L-64

[その他の乳化剤]

[0137]

別の実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、さらに他の乳化剤；すなわち、上述の界面活性剤とは異なる薬剤であり得る。このような乳化剤には、これらに限定されないが、卵黄レシチン、大豆レシチン、マスタード、リン酸ナトリウム、モノグリセリド及びジグリセリド、ステアロイル乳酸ナトリウム、モノグリセリドのジアセチル酒石酸エステル、セルロース、オレイン酸（オレイン酸塩）が含まれる。好ましい一実施形態によれば、追加の乳化剤はオレイン酸である。ナトリウム塩としてのオレイン酸は、乳化剤として石鹼の主成分である。それは、皮膚軟化剤としても使用される。

[水]

[0138]

一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、水を含む濃縮物である。濃縮物の製剤中の水は、製剤の極性と溶解性を維持し、総量を100%にするために低い割合で

使用される。

〔香料〕

〔0139〕

フェノール化合物は、通常、適用を著しく妨げる刺激臭を伴う。一実施形態では、本発明の有害生物防除剤組成物は、組成物の殺菌剤特性をさらに増強すると同時に、より心地よい臭いを与えるという二重の機能を有する1種又はそれ以上の薬剤をさらに含み得る。本発明のさらに別の一実施形態では、本発明の有害生物防除剤組成物は、それに心地よい臭いを与える1種又はそれ以上の薬剤（香料）をさらに含み得る。心地よい臭いを与える及び／又は殺菌剤の特性を増強する薬剤の非限定的な例には、カルバクロール、シメン、シネオール、オイゲノール、チモール、メントール、シトラール及びリモネンが含まれる。そのような薬剤のさらに適切な例は、熟練した技術者の能力の範囲内である。

10

〔0140〕

本発明の有害生物防除剤組成物は、単独で、又は農業環境で使用される1種又はそれ以上の物質と組み合わせて使用することができる。つまり、サプリメントの一部として。物質の例には、例えば殺菌剤（disinfectants）、殺真菌剤、殺菌剤（bactericide）、殺ウイルス剤、防虫剤、節足動物忌避剤、殺線虫剤、殺虫剤（insecticide）、殺ダニ剤、除草剤及び植物成長調整剤などの有害生物防除剤（pesticides）が含まれるが、これらに限定されない。物質には、例えば無機肥料、窒素肥料、カリウム肥料、リン酸肥料、有機肥料、ふん尿肥料、堆肥、リン酸岩、骨粉、アルファルファ、ウッドチップ、ラングバイナイト、カバークロップ、硫酸カリウム、岩石粉、灰、血粉、魚粉、魚エマルジョン、藻類、

20

〔有害生物防除剤〕

〔0141〕

ほとんどの防除手段は、病原体の接種物に対して向けられており、排除及び回避、根絶、保護、宿主の抵抗及び選択、並びに治療の原則を含む。防除対策には、病原体の媒介生物（例えば昆虫や線虫）の防除と化学的防除（有害生物防除剤）が含まれる。様々な化学薬品は、植物の病気を防除するために、病気の原因となる病原体の成長を抑制（例えば、病原体の不活性化や失活）したり、死滅させたりするように設計され利用できる。バクテリア（殺菌剤）、真菌（殺真菌剤）、線虫（殺線虫剤）を防除するために使用される化学物質は、種子、葉、花、果物、又は土壤に適用できる。土壤処理は、土壤に生息する線虫、真菌、及び細菌を殺すように設計されている。この根絶は、蒸気又は化学燻蒸剤を使用して行うことができる。土壤中に生息する線虫は、粒状又は液状の殺線虫剤を適用することで殺すことができる。ほとんどの土壤は植える前によく処理される；ただし、特定の殺真菌剤は、植え付け時に土壤と混合することができる。種子、球根、球茎、塊茎は、病原菌、真菌、線虫を駆除及び土壤中の生物（主に真菌）による腐敗や立ち枯れから種子を守るために、頻繁に化学薬品で処理される。種子は多くの場合、浸透性の殺真菌剤で処理され、それが吸収されて成長する苗を保護する。作物や観賞用の葉や果実に適用される保護スプレーやほこりには、感染を防ぐために設計された広い範囲の有機化学物質が含まれている。保護剤は植物に吸収されず、また植物内を移動しないため、病原菌の侵入前に処理された植物の部分のみを保護することができる。化学薬品は風雨や灌漑によって除去されたり、日光によって分解されたりするため、2回目の散布が必要になることが多い。また、処理されていない新芽は感染しやすい。新しい薬剤は常に開発されている。

30

40

〔0142〕

上記の生物によって引き起こされる植物病を除いて、げっ歯類及び鳥のような動物は、重要な収穫前の損傷の原因である。世界規模で、げっ歯類による収穫前後の損失を減らすことにもっと注意を払えば、2億8000万人近くの栄養不足の人々がさらに恩恵を受けることができると最近推定された。げっ歯類は、環境から病原体を増幅し、（人獣共通）疾患

50

の貯蔵庫を形成する可能性があるため、危険である。適切なげっ歯類防除方法を適用することにより、人間、食用動物、及びげっ歯類が互いに近くに住んでいる地域でのげっ歯類媒介性疾患の危険性を減らすことが可能である。これらの防除対策には、動物や鳥の忌避剤、及びそれらによって導入された病原体を防除するための抗菌剤が含まれる。

【0143】

作物を損傷するか、又は土地の肥沃度を低下させる任意の生物は、有害生物として定義することができる。これらには、真菌、細菌、ウイルス、昆虫、線虫、寄生虫、腹足類、節足動物、カタツムリ、ナメクジ、脊椎動物（哺乳類及び鳥類）、藻類などが含まれる。有害生物を殺したり撃退したりするために使用される化学物質は、有害生物防除剤と呼ばれる。EPAによって報告されたように、ここに有害生物防除剤の例のリストがある：

10

【表3】

表3 有害生物防除剤の例

有害生物防除剤	対象生物 (<u>有害生物</u>)
殺藻剤	湖、運河、水泳プール、水タンク、その他の場所で藻類を防除する。
防汚剤	ボートの底など、水中の表面に付着している生物を殺す又は忌避させる。
抗菌剤	微生物（バクテリアやウイルスなど）を殺す。
誘引物質	<u>有害生物</u> を引き付ける（たとえば、昆虫やげっ歯類を罠に誘い込むため）。(ただし、誘引剤として使用する場合、食品は有害生物防除剤とは見なさない。)
殺生物剤	微生物を殺す。
有害生物防除剤	有害生物防除剤は、動物、植物、バクテリア、特定のミネラルなどの天然素材に由来する特定の種類の有害生物防除剤。
殺菌剤及び消毒剤	無生物の病気を引き起こす微生物を殺すか、不活化する。
殺真菌剤	真菌を死滅させる（胴枯れ病、うどんこ病、カビ、さび病を含む）
燻蒸剤	建物や土壌の <u>有害生物</u> を破壊することを目的としたガス又は蒸気を生成する。
除草剤	不要な場所で育つ雑草やその他の植物を殺す。
殺虫剤(Insecticides)	昆虫やその他の節足動物を殺す。
殺ダニ剤（ダニ駆除剤とも呼ばれる）	植物や動物を餌にするダニを殺す。
微生物の有害生物防除剤	昆虫や他の微生物などの <u>有害生物</u> を殺したり、抑制したり、競争に勝ったりする微生物のこと。
軟体動物駆除剤	カタツムリとナメクジを殺す。
殺線虫剤	線虫（植物の根を食べる微細な虫のような生物）を殺す。
殺卵剤	虫やダニの卵を殺す。
フェロモン	昆虫の交尾行動を妨害するために使用される生化学物質。
忌避剤	昆虫（蚊など）や鳥などの <u>有害生物</u> を撃退する。
殺鼠剤	マウスなどのげっ歯類を制御する。
枯葉剤	通常は収穫を容易にするために、葉や他の葉を植物から落とす。
乾燥剤	不要になった植物の頂部など、生体組織の乾燥を促進する。
昆虫成長調整剤	脱皮、蛹期から成虫までの成熟、又は昆虫の他の生命過程を混乱させる。
植物成長調整剤	植物の予想される成長、開花、又は繁殖率を変える物質（肥料又は他の植物栄養素を除く）。

20

30

40

【0144】

50

有害生物防除剤は、通常、特定の有害生物を標的とする多種多様な物質を含む。有害生物防除剤に代表される主要な化学基を表3に示す：

【表4 a】

表4 有害生物防除剤の主な化学基

化学基	有害生物防除剤の種類	
アセトアミド	除草剤	
アシルアラニン+カルボキサミド+ジチオカルバメート+ネオニコチノイド（カルバメート）	殺真菌剤/殺虫剤	
アシルアラニン+トリアゾール	殺真菌剤	10
アシルアラニン	殺真菌剤	
アシルアラニン+クロロニトリル	殺真菌剤	
アミド	除草剤	
アミド/アニリン	殺虫剤	
アニリド	殺真菌剤	
アニリノピリミジン	殺真菌剤	
抗生物質	殺真菌剤	
プロピオン酸アリルオキシフェノキシ	除草剤	
アリルオキシフェノキシ酸類	除草剤	
アベルメクチン、アルコール	殺ダニ剤	
ベンズアミド	除草剤	
ベンズアミド+ジチオカルバメート	殺真菌剤	20
ベンゼンアミン	殺鼠剤	
ベンゾイミダゾール	殺真菌剤	
ベンゾイミダゾール+有機リン酸+フタル酸	殺虫剤/殺真菌剤	
安息香酸	除草剤	
ベンゾチアジアゾール	除草剤	
ビピリジリウム	除草剤	
カルバメート（例：アルジカルブ、カルボフラン、カルバリル、エチエノカルブ、フェノブカルブ、オキサミル、メトミル	殺真菌剤/成長調整剤/殺虫剤/殺ダニ剤/殺線虫剤	
カルバメート+クロロニトリル	殺真菌剤	
カルボキサミド	殺真菌剤	30
カルボキサミド+ジチオカルバメート+ネオニコチノイド	殺真菌剤/殺虫剤	
カルボキシル酸	除草剤	
塩素化炭化水素	植物成長調整剤	
クロロアセトアミド	除草剤	
クロロニコチニル	殺虫剤	
クロロニトリル	殺真菌剤	
クロロフェノール	殺真菌剤	
クロロフェニル	殺真菌剤	
クマリン	殺鼠剤	
シアノアセトアミド	殺真菌剤	40
シクロヘキサンジオン	除草剤/植物成長調整剤	
シクロヘキサントリオン	成長調整剤	

【表 4 b】

ジカルボキシイミド	殺真菌剤	
ジニトロアニリン	除草剤	
ジフェニルエーテル	除草剤	
ジチオカルバメート	燻蒸剤, 殺線虫剤, 殺真菌剤, 殺鼠剤, 殺虫剤	
脂肪酸	殺虫剤/ 除草剤	
グリシン	除草剤	
グアニジン	殺真菌剤	
ハロゲン化炭化水素	燻蒸剤	10
ヒドロキシアニリド	殺真菌剤	
ヒドロキシクマリン	殺鼠剤	
イミダゾリノン	除草剤	
インダンジオン	殺鼠剤 & 鹿忌避剤	
無機物	殺真菌剤, 殺藻剤, 殺虫剤, 殺鼠剤	
微生物	殺菌剤, 殺虫剤,	
モルホリン	殺真菌剤	
ネオニコチノイド+トリアゾール+アシルアラニン+フェニルピロール	殺虫剤/殺真菌剤	
ニコチン	殺虫剤	20
ニトリル	除草剤	
ニトロ誘導体	殺真菌剤	
ニトログアニジン	殺虫剤	
有機酸	除草剤, 植物成長調整剤	
有機塩素	殺虫剤, 殺ダニ剤	
有機金属	殺真菌剤, 殺ダニ剤	
有機リン酸塩	殺虫剤/殺ダニ剤/殺線虫剤	
有機リン酸塩+フタル酸	殺虫剤/殺真菌剤	
オキサジアゾール	除草剤	
フェノキシ	除草剤	30
フェニル-カルバメート+フェニル-カルバメート	除草剤	
フェニルピロール+トリアゾール+ネオニコチノイド+アシルアラニン	殺真菌剤/殺虫剤	
フタラメート	除草剤	
フタル酸+有機リン酸塩+ベンズイミダゾール	殺虫剤/殺真菌剤	
フタルイミド	殺真菌剤	
ピペラジン	殺真菌剤	
ピレトリン	殺虫剤	
ピレスロイド	殺虫剤	
ピリダジノン	殺虫剤/ 殺ダニ剤	40

【表 4 c】

第四級アンモニウム	殺藻剤, 殺菌剤, 除草剤	
キノリン酸	除草剤	
ストロビルリン	殺真菌剤	
置換ベンゾイル尿素	殺虫剤	
スルホニル尿素	除草剤	
合成ピレスロイド	殺虫剤	
テトラジン	殺ダニ剤	
チアジアゾール	殺真菌剤	
チオカルバメート	除草剤	10
トリアザペンタジエン	殺虫剤	
トリアジン	殺真菌剤	
トリアゾール	殺真菌剤	
ウラシル	除草剤	
尿素	除草剤	
ジクロロプロペン	燻蒸剤	
ジクロロプロペン+クロルピクリン	燻蒸剤	
メタムナトリウム	燻蒸剤, 殺線虫剤	
安息香酸オキシシ	殺真菌剤	20
ホルムアルデヒド	殺真菌剤, 燻蒸剤	
ストッダード溶剤	除草剤	
メタアルデヒド	軟体動物駆除剤	
アンシミドール	植物成長調整剤	
エテフォン	植物成長調整剤	
ジベレリン酸	植物成長調整剤	
ジベレリン+ベナズラデニン	植物成長調整剤	
マレイン酸ヒドラジド	植物成長調整剤	
NAA	植物成長調整剤	
ナフタレンアセトアミド	植物成長調整剤	30
バクロブトラゾール	植物成長調整剤	
腐敗した全卵固形物	忌避剤	
ストリキニーネ	殺鼠剤	
リン化亜鉛	殺鼠剤	

【0145】

所望の有害生物防除剤効果を得るために、所与の有害生物防除剤のどれだけを本発明の組成物に添加できるかを決定することは、当業者の技術の範囲内である。

〔肥料並びに有害生物防除剤及び肥料の併用〕

【0146】

肥料は、植物の成長に不可欠な1種又はそれ以上の植物栄養素を供給するために土壤に添加される天然又は合成由来の任意の材料として定義される。肥料にはさまざまな形がある。最も典型的な形態は、粒状又は粉末形態の固形肥料である。次に一般的な形態は液体肥料である。肥料は通常、さまざまな比率で次のものを提供する：6種の主要栄養素（窒素（N）、リン（P）、カリウム（K）、カルシウム（Ca）、マグネシウム（Mg）、及び硫黄（S））。8種の微量栄養素（ホウ素（B）、塩素（Cl）、銅（Cu）、鉄（Fe）、マンガン（Mn）、モリブデン（Mo）、亜鉛（Zn）、及びニッケル（Ni））。肥料は大きく分けて有機肥料（有機植物や動物からなる）、又は無機肥料又は市販肥料に分けられる。無機肥料には：硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、チオ硫酸アンモニウム、硝酸カルシウムアンモニウム、硝酸カルシウム、リン酸二アンモニウム、リン酸

10

20

30

40

50

一カルシウム、塩化カリウム、硝酸カリウム、硫酸カリウム及びサーモポタッシュが含まれる。有機肥料には：アゾマイト、バイオエフェクター、バイオ肥料、堆肥、綿実ミール、排水拡散、フェザーミール、魚エマルジョン、魚加水分解物、魚粉、ふん尿肥料、マキシクロップ、オリーブミルボマース、リバーム、ロックダスト、海藻肥料及びスラリーピットが含まれる。

【0147】

一実施形態によれば、農業において、有害生物防除剤は、有害生物によって引き起こされる損傷を制限し、成長を刺激するために使用され、肥料と組み合わせて使用することができる。

【0148】

所望の施肥効果を得るために、任意の所与の肥料のどれだけを本発明の組成物に添加することができるかを決定することは、当業者の技術の範囲内である。

〔製剤の使用方法及び使用〕

【0149】

さらなる一実施形態において、水性ナノエマルジョン製剤を水でさらに希釈するステップを含む方法が開示される。殺菌剤のナノエマルジョン製剤は、通常、濃縮溶液中の成分の混合物から現場で調製されるため、水は必要に応じてさらに希釈されるために使用される。

【0150】

別の実施形態では、本発明の殺菌剤ナノエマルジョン製剤は、表面を本発明の水性ナノエマルジョン製剤のある量と接触させることにより、表面の洗浄に使用することができる。

【0151】

本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、様々なスプレー技術の方法により、殺菌を必要とする表面上に塗布（散布）することができる。一実施形態では、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、ディフューザー又はミストブローを用いて塗布される。あるいは、本発明のナノエマルジョン製剤は、エアゾール製剤に配合することもできる。本発明のナノエマルジョン溶液を塗布するさらなる方法は、熟練した技術者の能力の範囲内である。本発明のナノエマルジョン製剤は、直接塗布することも、塗布前に希釈することもできる。本発明のナノエマルジョン製剤は実質的に非腐食性であるため、製剤は既存の物理的構造（すなわち表面）に過度のダメージを与えることなく、容易に塗布することができる。

【0152】

一実施形態では、種子又は植物の有害生物を防除するための方法が開示され、この方法は、本発明の水性ナノエマルジョン製剤の有害生物防除剤量と種子又は植物を接触させることを含む。本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、土壌殺菌（殺真菌剤、殺菌剤、殺ウイルス剤）のほか、野菜、植物、植物性物質の殺菌に使用することができ、これらには非限定的な例として、種子、穀物、植物、木、茂み、根、葉、雑草、果実、花、作物、接ぎ木などが含まれる。また、本発明の水性ナノエマルジョン製剤は、防虫剤、節足動物忌避剤、有害生物防除剤（pesticides）、殺虫剤（insecticides）、殺線虫剤、殺ダニ剤、殺卵剤、幼虫駆除剤及び成虫駆除剤としても使用することができる。

【0153】

本発明の組成物を使用することができる作物には、例えば、バナナ、リンゴ、洋ナシ、ジャガイモ、米、コーヒー、柑橘類、タマネギ、朝鮮人参、大豆、雑草、及びトマトが含まれるが、これらに限定されない。

【0154】

別の実施形態によれば、種子又は植物の成長を調整するための方法が開示され、この方法は、本発明の水性ナノエマルジョン製剤の成長調整量と種子又は植物を接触させることを含む。さらに別の実施形態によれば、植物の成長を調整するための方法が開示されており、この方法は、土壌、種子、植物、又はそれらの組み合わせを、本発明の水性ナノエマルジョン製剤の成長調整量と接触させることを含む。

【0155】

10

20

30

40

50

一実施形態によると、成長を調整することは、植物からの果実野菜、球根又は塊茎の数の増加を含む。別の実施形態によれば、成長を調整することは、植物からの果実、野菜、球根、又は塊茎のサイズの増加を含む。別の実施形態によれば、成長を調整することは、健康な植物の数を増やすことを含む。別の実施形態では、成長を調整することは、レタスなど、葉が食用になる植物の他の品種のように、その葉が特に関心のある植物にとって特に重要である場合がある。別の実施形態によれば、成長を調整することは、果実の成熟を刺激することを含む。別の実施形態によれば、成長を調整することは、植物及びシュートの成長を阻害することを含む。別の実施形態によると、成長を調整することは、開花の増加である。別の実施形態によると、成長を調整することは、葉及び果実の老化を調整することを含む。

10

【実施例】

【0156】

本発明は、その範囲を限定するのではなく、本発明を説明するために与えられた以下の実施例を参照することによって、より容易に理解されるであろう。

【実施例1】

共界面活性剤としてキラヤ及びソルビン酸カリウムを使用した抗菌性ナノエマルションのミセルサイズの評価

【0157】

この実施例の目的は、本発明の水性ナノエマルション製剤のミセルのサイズを、従来の技術を使用して作製されたナノエマルションと比較して評価することである。

20

【0158】

本発明の抗菌性ナノエマルションは、最初に溶媒、キラヤ及びソルビン酸カリウムを平衡に達するまで混合することによって得られた。タイム油は、持続的かつ継続的な溶解性を維持するためにゆっくりと連続して加えた。次に、小さなナノエマルションの形成を表す透明なホモジネート溶液が得られるまで、最終製剤を攪拌した。得られた製剤は顕微鏡下で40倍の倍率で分析され、ラウリル硫酸ナトリウム（SLS）で作られたナノエマルションの画像と比較された。

【0159】

図1A又はBは、本発明の製剤で生成されたナノエマルションが、約10nm乃至約30nmの直径範囲を有する非常に小さなミセルの形成をもたらすことを示している（右の画像は左と同じ画像だが、スケールバーが追加されている）。特に、図1Aは、本発明による製剤であるタイモックス（登録商標）コントロール [RTU (Ready to Use) ; 希釈率1/200] の電子顕微鏡写真であり、60,000xの倍率で、例えば、約29乃至約33nmの範囲のナノエマルションサイズを示している。図1Bは、本発明による製剤であるタイモックス（登録商標）コントロール (RTU ; 希釈率1/200) の電子顕微鏡写真であり、1,000,000xの倍率で、10nmという小さなナノエマルションサイズを示している（右の画像は、左と同じ画像であるが、スケールバーが追加されている）。

30

【実施例2】

本発明によるタイム油を含む抗菌性ナノエマルションの抗菌効果

40

【0160】

様々な製剤は濃度と同様に組成物中の成分を変化させることにより調製した。調製及び試験された様々な水性ナノエマルション製剤の組成を表5に示す。

50

【表 5】

表 5 調製及び試験された水性製剤

	w/w%に基づく製剤の組成																				
成分	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15	F16	F17	F18	F19	F20	F25
タイム油	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	25	40	40	40	40	27
イソプロ パノール	14	14	14			14	14	14	14	14	14	14	14	14	7.5	15	7.5		3.5	3.5	4.3
乳酸N-ブ チル	43	28							5			51.6	7.5		14	28	14	12	13.5	13	15.8
オレイン 酸塩	20	20				30		40	48		20	10	40.5			12			33		0
ラウリル 硫酸ナト リウム																					0
クエン酸			1				3					1.4		1.4							0
ソルビン 酸カリウ ム							10										10	20		15	18.3
PGME				36																	0
グルコボ ン420UP					41																0
グリセロ ール						15		10							5	10	18.5	19	5	18.5	22.5
3%キラ ヤ+1%ク エン酸+9 6% H_2O															5	10	10	9	5		12.1
レシチン										48	35										0
H_2O		15	14			18	0	13	10	15	8		15	13.6	45.5					10	0
合計	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

【0161】

本発明の水性ナノエマルジョン製剤の抗菌性の有効性は、米国環境保護庁（EPA）の基準に従ってインビトロで試験された。細菌（黄色ブドウ球菌）は、37°Cで24時間培養した後、各製剤に30秒間曝露された。翌日、コロニーを数え、その結果を殺菌効果が既知の陽性対照と比較したコロニー数の減少として対数スケールで表した。

【0162】

図2を参照し、天然由来のタイム油を含むナノエマルジョン製剤（すなわち、F15（1/256）及びF15（1/300）製剤）の抗菌効果は最初にテストされ、陽性対照として合成チモール結晶で作られた同様の製剤（すなわち、23%w/wチモール結晶、14%w/wイソプロパノール、48%w/w SLS、1.4%w/wクエン酸、及び13.6%w/w H_2O を含むD25b130製剤）と比較された。見られるように、天然タイム油を含むF15（1/256）及びF15（1/300）製剤は両方とも、合成チモール結晶を含むD25b130製剤陽性対照と比較して、より優れた抗細菌性効果を示した。

【0163】

図3を参照し、表5に記載されているように、様々な抗菌性ナノエマルジョン製剤の抗

細菌性効力も試験された。見られるように、共界面活性剤としてキラヤとソルビン酸カリウムの両方を含む F 1 7 (1 / 2 5 6) と F 1 8 (1 / 2 5 6) の製剤は、テストした他の製剤と比較して最大の抗細菌性効果を示した。

【 0 1 6 4 】

図 4 を参照し、天然同一の合成タイム油 V D H - 1 及び V D H - 2 を含む F 2 5 製剤に基づく水性ナノエマルジョン製剤の抗細菌性効力も試験された。V D H 油は天然同一精油であり、代替の天然源から分離された同一の成分を使用する真の精油の複製である。それらは合成油であり、植物からのものと同じ化学物質の蓄積を持っている。見られるように、F 2 5 (V D H 1 (1 / 2 0 0)) 及び F 2 5 (V D H 2 (1 / 2 0 0)) 製剤は両方とも、合成チモール結晶を含む D 2 5 b 1 3 0 製剤陽性対照と比較して、より優れた抗細菌性効果を示した。

【実施例 3】

本発明によるオレガノ油を含む抗菌性ナノエマルジョンの抗菌効果

【 0 1 6 5 】

本発明のナノエマルジョンの多様性を様々な抗菌性精油で実証するために、上記の表 5 の F 2 5 処方に基づいて 3 種のナノエマルジョンを調製したが、活性成分として下記の表 6 に記載された 2 種のオレガノ油の一方又は両方を使用した。特に、K E M 1 ナノエマルジョンは最終濃度 2 7 % のオレガノハイカルバクロール精油で調製され、K E M 2 ナノエマルジョンは最終濃度 2 7 % のオレガノハイチモール精油で調製され、K E M 3 ナノエマルジョンはオレガノハイカルバクロール精油を最終濃度 1 3 . 5 % 及びオレガノハイチモール精油を最終濃度 1 3 . 5 % で調製した（全オレガノ精油 2 7 % の最終濃度になる）。すべての製剤を室温で 5 時間混合した。安定性に達した後、室温又は 5 4 ° C で 3 種のナノエマルジョンのそれぞれの 2 種のサンプルを培養することにより、適切な安定性特性が確認された。次に、抗菌活性試験（以下に説明）を試験するための作業溶液は、各濃縮製剤から 1 m L を 1 9 9 m L の水で希釈して、最終希釈を 1 / 2 0 0 (v / v) にすることによって調製された。

【表 6】

表 6 本発明による抗菌性ナノエマルジョンの調製に使用されるオレガノ精油

オレガノ精油	有害生物防除剤の特性
オレガノハイカルバクロール（カルバクロール含有量 8 4 % ; K E M I N から）	殺菌剤、殺真菌剤
オレガノハイチモール（チモール含有量 8 6 % ; K E M I N から）	殺菌剤、殺真菌剤

【 E P A スプレーテスト試験アッセイ】

【 0 1 6 6 】

抗細菌性活性を評価するために、K E M 1、K E M 2、及び K E M 3 ナノエマルジョンは、米国環境保護庁（E P A）基準に従ってスプレー試験にかけられた。このテストでは、K E M 1、K E M 2、及び K E M 3 ナノエマルジョンを、黄色ブドウ球菌をあらかじめ付着させたカバースリップにスプレーし、カバースリップを培養液の入ったチューブ内で培養される。2 日間の培養後、黄色ブドウ球菌の増殖がないチューブの数は、K E M 1、K E M 2、及び K E M 3 製剤の抗細菌性効果を表すパーセンテージとして表示される。陽性対照条件は、0 . 2 0 7 % の最終チモール濃度を有する市販の C O - L C L（タイモックス（登録商標）- C O）を使用した。C O - L C L は、チモール結晶（すなわち、油性ではない）、溶媒 [プロピレングリコールメチルエーテル (P G M E)]、及び界面活性剤 [ラウリル硫酸ナトリウム (S L S)] で作られた対照製品である。

【 0 1 6 7 】

図 5 に示されるように、3 種すべての K E M 1、K E M 2、及び K E M 3 ナノエマルジョンは、スプレー試験アッセイ中に非常に高い抗細菌の効力を示し、一般に陽性対照と同

等であった。

〔ペトリカウント乾式抗菌試験（PAMB）〕

【0168】

抗細菌性活性をさらに評価するために KEM1、KEM2、KEM3 の各ナノエマルションは、細菌のコロニー形成を防ぐ能力に基づいてナノエマルションの有効性を比較する、いわゆるペトリカウント乾式抗菌試験（PAMB）という定量的な試験にかけられた。簡単にすると、KEM1、KEM2、KEM3 の各ナノエマルションを、 10^6 個の黄色ブドウ球菌を接種したペトリ皿に加え、24 時間培養後にコロニー数の対数減少をカウントした（対数減少が大きいほど抗細菌活性が高いことを示す）。陽性対照には、再び市販の C O - L C L を使用し、最終チモール濃度は 0.207 % であった。

10

【0169】

図 6 に示すように、C O - L C L 陽性対照は 2.85 の対数減少のスコアを誘発し、3 種の KEM1、KEM2、及び KEM3 製剤はすべて、ほぼ 5.50 の対数減少のスコアで有意に高い抗細菌効果を誘発し、C O - L C L 陽性対照よりも KEM1、KEM2、KEM3 ナノエマルションの優れた抗菌活性が明らかになった。

〔実施例 4〕

本発明による他の精油源を含む抗菌性ナノエマルションの抗菌効果

【0170】

抗菌性精油に関する本発明のナノエマルションの汎用性をさらに実証するために、他の様々なナノエマルションは表 7 の製剤に基づいて調製された。

20

〔表 7〕

表 7 タイム油及びオレガノ油以外の精油を用いて本発明のナノエマルションを製造するために使用した製剤

成分	W/V %
精油	15
グリセロール	27
イソプロパノール	4.5
乳酸ブチル	25
ソルビン酸カリウム	18.5
3%キラヤ+1%クエン酸+96% H_2O	10
合計	100

30

【0171】

表 7 のナノエマルション製剤を調製するために使用することができる精油の例示的な供給源を表 8 に示す。これらの精油は、例えばローズマリー油、シンナムアルデヒド、及び／又はシトラールであってもよく、ほとんどが殺虫剤及び殺ダニ剤の特性を有し、産業、家庭又は農業で使用されている。

40

50

【表 8】

表 8 表 7 のナノエマルジョン製剤を製造するために使用することができる例示的な精油源

精油	有害生物防除剤の特性
ローズマリー 1 (ケイミン)	殺虫剤／殺ダニ剤
ローズマリー 2 (ケイミン)	殺虫剤／殺ダニ剤
ケイミントブレンド	殺虫剤／殺ダニ剤
ローズマリー (ラケシュ)	殺虫剤／殺ダニ剤
ローズマリー (カティアニ)	殺虫剤／殺ダニ剤
ローズマリー (ネイチャー ナチュラル)	殺虫剤／殺ダニ剤
シンナムアルデヒド (シグマーアルドリッチ)	殺虫剤、殺菌剤
シトラール (シグマーアルドリッチ)	殺虫剤、殺菌剤

10

【0172】

タイム油及びオレガノ油以外の精油を用いて調製できるナノエマルジョンの例として、表 8 のローズマリー油 ローズマリー 1 又はローズマリー 2 を有効成分として、表 7 の処方に基づいて 2 種のナノエマルジョンを調製し、使用前に水でそれぞれ 0.5 % に希釈した。このようにして調製したナノエマルジョンをそれぞれの殺虫性及び殺ダニ性の特性を評価するため、殺ダニ剤バイオアッセイに供した。10 匹の 2 齢のダニ成虫をリーフディスクに置き、それぞれのナノエマルジョンで別々に処理した。陽性対照条件では、市販の競争力のある対照 (CC)、Tetracarb (登録商標) - B (TC-B) 及び Tetracarb (登録商標) - E (TC-E) (ケイミンから) を使用した。陰性対照条件は、適切な取り扱いとアリーナの設定を確認するためにスプレーしなかった。バイオアッセイは、24 時間の培養後にスコアされ、死滅したダニと生きているダニの数が死亡率及び、つまりローズマリー 1 又はローズマリー 2 で調製したナノエマルジョンの抗菌活性が決定されるために記録された。アッセイは 6 回繰り返した (N = 60)。

20

【0173】

図 7 に示すように、ローズマリー 1 及びローズマリー 2 を含有するナノエマルジョンは、2 種の斑点のあるハダニ (TSSM) 死亡率において、いずれも陰性対照条件を上回り、陽性対照条件と同等又は以上を誘発し、ローズマリー 2 を含有するナノエマルジョンが最も高い TSSM 死亡率を示した。

30

【実施例 5】

本発明による抗菌性ナノエマルジョンの相乗的な抗菌効果の評価

【0174】

抗菌性ナノエマルジョン製剤は、組成物中の成分とその濃度も変化させて調製された。準備され、テストされた様々な水性ナノエマルジョン製剤の組成は、表 9 に示されている。本発明の水性ナノエマルジョン製剤の抗細菌性効果を、米国環境保護庁 (EPA) の基準に従ってインビトロで試験した。細菌 (黄色ブドウ球菌) を 37 °C で 24 時間培養した後、各製剤に 30 秒間暴露した。翌日、コロニーはカウントされ、結果は殺菌効果が知られている陽性対照と比較したコロニー数の減少として対数スケールで表した。

40

50

【表 9】

表 9 相乗効果を評価するために本発明で調製及び試験された抗菌製剤

成分 %(w/w)	製剤					
	F(10S+0Q)	F(0S+10Q)	F(10S+10Q)	F(15S+10Q)	F(28O+10Q)	F(35O+10Q)
タイム油	40	40	40	40	40	40
グリセロール	18.5	18.5	18.5	18.5	5	5
イソプロパノール	7.5	7.5	7.5	3.5	3.5	0
乳酸ブチル	14	14	14	13	13.5	10
ソルビン酸カリウム	10	0	10	15	-	-
3%キラヤ+1%クエン酸+96% H_2O	0	10	10	10	10	10
オレイン酸	-	-	-	-	28	35
クエン酸1%	10	10	0	0	0	0
合計	100	100	100	100	100	100

10

【0175】

図 8 を参照し、ソルビン酸カリウム（S）及びキラヤ抽出物（Q）を組み合わせた場合の、試験した製剤の抗菌性効果に対する相乗効果が示されている。オレイン酸（O）は、ソルビン酸カリウムの代替対照として使用された。その結果、ソルビン酸カリウムのみ又はキラヤ抽出物 [F(10S+0Q) 及び F(0S+10Q)] のみを含む製剤、及びソルビン酸カリウムがオレイン酸に置き換えられた製剤 [すなわち、F(28O+10Q) 及び F(35O+10Q)] のどちらも、陽性対照の D25b130 製剤（すなわち、23%w/wチモール結晶、14%w/wイソプロパノール、48%w/wSLS、1.4%w/wクエン酸、13.6%w/w H_2O ）よりも性能が悪かった。驚くべきことに、キラヤ抽出物が入ったソルビン酸カリウムの濃度を上げる組み合わせは、陽性対照である D25b130 製剤と比較して約 0.5 log（約 3.2 倍）、ソルビン酸カリウム又はキラヤ抽出物を単独で配合した製剤と比較して 0.75 log（約 5.6 倍）以上の改善された抗菌効果が得られ、本発明の製剤におけるこれらの成分の組み合わせによる相乗効果が明らかになった。

20

30

【実施例 6】

本発明による抗菌性ナノエマルジョンの相乗的な抗菌効果のさらなる評価

【0176】

キラヤ抽出物とソルビン酸カリウムの併用による相乗効果をさらに明らかにするために、組成物中の成分とその濃度を変化させて抗細菌性ナノエマルジョン製剤を調製した。用意し及び試験した各種水性ナノエマルジョン製剤の組成を表 10 に示す。本発明の水性ナノエマルジョン製剤の抗細菌性効果を、米国環境保護庁（EPA）の基準に従ってインビトロで試験した。バクテリア（黄色ブドウ球菌）を 37℃で 24 時間培養した後、各製剤に 30 秒間暴露した。翌日、コロニーをカウントし、結果は殺菌効果が知られている陽性対照と比較したコロニー数の減少として対数スケールで表した。

40

50

【表 1 0】

表 1 0 相乗効果を評価するために試験した抗菌性製剤

成分	FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	FS6	FS7	FS8	FS9	FS10	FS11
タイム VDH2	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
IP	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	4	7.5	7.5	7.5
ブチル	14	14	14	14	14	14	14	13	14	14	14
キラヤ	15	5	10	5	5	5	10	15	20	20	0
グリセロール	13.5	20	8.5	18.5	15	10	3.5	3	8.5	13.5	20
クエン酸	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ソルビン酸塩	10	10	20	0	15	20	25	25	10	5	5
H ₂ O	0	3.5	0	2.5	0	0	0	0	0	0	13.5
オレイン酸	0	0	0	12.5	3.5	3.5	0	0	0	0	0
合計	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

10

【表 1 1】

表 1 1 試験した製剤の抗菌効果－濃縮液

濃縮液											
	FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	FS6	FS7	FS8	FS9	FS10	FS11
ソルビン酸塩/キラヤ	0.7	2.0	2.0	0.0	3.0	4.0	2.5	1.7	0.5	0.3	0
対数削減	3.1	3.0	2.5	1.8	2.5	2.4	2.0	2.1	2.2	2.7	1.6
FS4と比較した倍増	20	15.8	5	0	5	4	1.6	2	2.5	7.9	-
FS11と比較した倍増	32	25	8	-	8	6.3	2.5	3	8	12.6	0

20

【表 1 2】

表 1 2 試験した製剤の抗菌効果－1 / 2 5 6 の希釈液

希釈液 1 / 2 5 6											
	FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	FS6	FS7	FS8	FS9	FS10	FS11
ソルビン酸塩/キラヤ	0.7	2.0	2.0	0.0	3.0	4.0	2.5	1.7	0.5	0.3	0
対数削減	2.97	2.86	2.67	2.06	2.52	2.84	2.98	3.00	2.70	2.91	1.8
FS4と比較した倍増	8.1	6.3	4.1	0	2.9	6	8.3	8.7	4.4	7.1	-
FS11と比較した倍増	14.8	11.5	7.4	-	5.2	11	15	15.8	7.9	12.9	0

30

【表 1 3】

表 1 3 試験製剤の抗菌効果－1 / 5 1 2 希釈液

希釈液 1 / 5 1 2											
	FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	FS6	FS7	FS8	FS9	FS10	FS11
ソルビン酸塩/キラヤ	0.7	2.0	2.0	0.0	3.0	4.0	2.5	1.7	0.5	0.3	0
対数削減	1.32	1.19	1.15	1.01	1.49	1.42	1.57	1.29	1.44	1.30	0.9
FS4と比較した倍増	2	1.5	1.4	0	3	2.6	3.6	1.9	2.7	1.9	-
FS11と比較した倍増	2.6	1.9	1.8	-	3.9	3.3	4.7	2.5	3.5	2.5	0

40

50

【0177】

図9乃至図11及び表11乃至表13を参照すると、ソルビン酸カリウムとキラヤ抽出物（3%キラヤ+1%クエン酸+96% H_2O 濃縮物の割合で提供される）を異なる濃度で組み合わせることによる、試験した製剤の抗菌性効果に対する相乗効果が示されている。オレイン酸塩は、ソルビン酸カリウムの代替対照として、またFS5及びFS6製剤の安定性を向上させるための追加成分として使用された。その結果、ソルビン酸カリウムを含まない製剤（すなわちFS4製剤）又はキラヤ抽出物を含まない製剤（すなわちFS11製剤）は、他のどの製剤よりも悪い結果となり、結果を正規化するための基準データとなった。キラヤ抽出物に対するソルビン酸塩の割合の比率を表11乃至表13に示す。

【0178】

図9乃至図11は、これらの比率をグラフで示すとともに、FS4製剤と比較した各製剤の対数減少を示している。表11乃至表13では、直接試験した濃縮製剤及び1/256及び1/512希釈液のそれぞれについて、FS4及びFS11製剤と比較した削減量の増加倍数を示した。驚いたことに、すべての濃縮製剤は、1/256に希釈されたすべての製剤と同様に、ソルビン酸カリウムとキラヤ抽出物の間に強い相乗的作用を示した。また、1/512に希釈した製剤もほとんどが相乗的作用を示した。

【実施例7】

花の感染のためのデタッチドフラワーアッセイを使用したリンゴの火傷病に対する使用

【0179】

この実施例の目的は、本発明のタイム油を含む抗細菌性ナノエマルジョンの火傷病に対する可能性を試験し、得られた結果を、業界標準であるストレプトマイシンで得られた結果と比較することである。

【0180】

エルウィニア・アミロボラによって引き起こされる火傷病は、リンゴと洋ナシの両方の最も壊滅的な病気である。ほとんどの場合、花の蜜を介した開花中の感染が最大の懸念事項である。防除戦略は通常、開花中の温度と湿度の条件が感染に有利な場合に、細菌に拮抗する物質で花を保護することを目的とする。

【0181】

世界の多くの地域において、ストレプトマイシンなどの殺菌剤は、この目的のために開花中に日常的にスプレーされる。しかし、このような化合物の使用及び耐性菌の蔓延に対する懸念が高まっているため、費用対効果が高く、有機農業を含むさまざまな市場で受け入れられる代替品を探す努力がなされている。デタッチドフラワーアッセイ（ビュージー1997）は、潜在的な準備物をスクリーニングするための効率的な方法であることが示されている。ブロッサムテストは自然感染を忠実に再現しており、これまでの結果ではフィールドデータとの強い相関性が示されている（クンツ及びハウグ 2006）。

【0182】

冷蔵された休眠中の2年鉢植えのリンゴの木（植物品種ガラ）は、2019年3月下旬に室温で強制的に開花させた。新鮮な個々の花は、開花時に厳選され、10%スクロースを含む小さなバイアルに入れられ、小花柄が浸水していることを確認した。バイアルは、25°Cでの培養のために小さな気密ボックスに配置されたラックに挿入された。各ボックス内のグリセロール水溶液（33%w/w）の薄層は、一定の湿度を維持した。花は、0.1%w/wのトゥイーン20を含むPBS中のエルウィニア・アミロボラの 10^5 CFU/mL懸濁液10 μ Lを萼筒に直接個別に接種した。花の半分には、米国オレゴン州で収集されたストレプトマイシン耐性株（153sm5）を接種し、残りの半分には、局所的なストレプトマイシン感受性株（435s）を接種した。両方の菌株は、以前の試験で非常に攻撃的であることが証明された。接種から約30分後、5種のブロックに編成された各系統の無作為に選んだ10個の個別の花に、各処理液32 μ Lを浸水させた。処理は、F25 VDH2（1/200）対照処理（以下、「タイモックス（登録商標）コントロール」）又はストレプトマイシン 17（0.6g/L）標準対照のいずれかで構成した。また、水対照と非接種対照も含めた（データは示さず）。培養72時間後、真菌汚

10

20

30

40

50

染を最小限に抑えるため、すべての花をスカラの水懸濁液（ピリメタニル、40% w/w）で3 mL/L（すなわち、最終濃度0.3% v/v）の割合で処理した。接種後7日目にノンパラメトリックなスケールを病害の重症度（DS）を推定のために用いた。DSは以下のように評価した：0＝壊死がない；1＝微小な壊死；2＝子房が部分的に壊死；3＝子房が重度に壊死；及び4＝壊死が小花柄にまで及んでいる。ストレプトマイシン処理した花を除いた重症度のスコアは、ブロックをランダム効果として用いて、R（クリステンセン 2015）の「順序」パッケージの累積リンク混合モデル（cglm）で分析した。分離のため、ストレプトマイシンのデータは、平均バイアス低減を使用して、R下のパッケージ「brglm2」の「brac1」関数で分析された（コスミディス、パギ、及びサルトリ2019）。治療効果をモデル化するために、製剤、濃度、及び細菌株との相互作用を検討した。

10

【結果】

【0183】

図12は、病害の重症度を累積棒グラフで表した生データである。予想通り、ストレプトマイシンは、細菌の感受性株を接種した花の火傷病を強く抑制したが、耐性株には効果を示さなかった。接種していない対照では病害は見られなかった（図示せず）。タイモックス（登録商標）の対照処理は、ストレプトマイシンに感受性のある植物の病気の重症度を低下させ（27.5%減）、驚くべきことにストレプトマイシン耐性のある植物の病気の重症度を強く低下させた（52%減）。これらの結果は、抗生物質耐性の問題が植物を保護するための問題である場合、タイモックス（登録商標）コントロールは細菌に対する植物の抵抗を助けるために使うことができることを示している。

20

【実施例8】

タイモックス（登録商標）コントロール処理による洋ナシとリンゴの火傷病に対する保護

【0184】

本発明の組成物（タイモックス（登録商標）コントロール）を、以下の表14に示されるように、洋ナシ及びリンゴに対するフィールド試験で使用した。

30

40

50

【表 1 4】

表 1 4 試験パラメータと結果

散布	試験 A	試験 B	試験 C
作物の種類	洋ナシ（コンコルド、コーニス）	リンゴ（ピンクレディー）	洋ナシ（パートレット&アンジュー）
日付と頻度	2019年6月20日午前5時30分、散布時の気温18℃、晴天／快晴	2019年6月7日、午前6時、22℃。	2019年6月4日、午前6時30分、22乃至26℃。
希釈／形態 ULA	0.5%溶液（1エーカーあたり100ガロンの水に2クォート）をハンドガンで散布し、ドリフトを最小限に抑える	0.5% v/v/溶液を33“ファン付きのリアス・パワー・ブラストで散布。	0.5%溶液（1エーカーあたり100ガロンの水に2クォート）をベクサー、アサルトで散布。リモン、アグリメック&夏のオイルーエアーオーファンエンジン駆動エアブラストスプレー
結果	火傷病の発生なし	火傷病の発生なし	火傷病の発生なし

10

20

【実施例 9】

タイモックス（登録商標）コントロール処理は、リンゴの木を火傷病から保護する。

【0185】

本発明の組成物【タイモックス（登録商標）コントロール】は、以下の表 1 5 に示されるように、洋ナシ及びリンゴに対するフィールド試験で使用された。

30

【表 1 5】

表 1 5 テストパラメータ

散布	試験 A	試験 B
作物の種類	りんご（ピンクレディー）	リンゴ（ハニークリスプ）
頻度	4回散布し、5日ごとにプレビスト有機銅を1回散布	
フィールドの表面	1エーカー	
希釈／薬剤	タイモックス（登録商標）コントロール 0.5% 100ガロンRTU/エーカー	

40

【0186】

この散布は、火傷病の攻撃を完全に停止させたことは、ピンクレディーというリンゴの木が火傷病に最も感受性の高い品種であることから、予想外のことであった。

【実施例 10】

タイモックス（登録商標）コントロール処理は、ブドウ及びサクランボのうどんこ病から保護する

【0187】

本発明の組成物【タイモックス（登録商標）コントロール】は、以下の表 1 6 に示すよ

50

うに、サクランボの及びブドウのうどんこ病に対するフィールド試験で使用された。

【表 1 6】

表 1 6 試験パラメータと結果

散布	試験 A	試験 B
作物の種類	サクランボ	ブドウ (シャルドネ)
日付と頻度	2019年6月5日 1回散布； エアブラスト 130ガル／ エーカー	6月10日、7月10日、7月1 3日、3回散布
フィールドの表面	2エーカー	
気象条件	晴天及び乾燥	暖かい、乾燥、弱い風
希釈／製剤	タイモックス (登録商標)) コントロール 0. 5 % 溶液	タイモックス (登録商標)) コントロール 0. 5 % 溶液、硫黄とのタンク混 合

10

【 0 1 8 8 】

サクランボは、散布後、うどんこ病が発生せず、予想外に、通常さくらんぼを食べている鳥がタイモックス (登録商標) コントロールの散布により撃退された。ブドウでは、うどんこ病の発生が減少したが、除去ではなく、他の殺真菌剤を併用散布することで有害生物防除が向上する。

20

【実施例 1 1】

タイモックス (登録商標) コントロールを麻に葉面散布した場合の、真菌性植物病害に対する有効性の評価：灰色かび病 (ボトリチス s p p .) 及びうどんこ病 (レヴェイユ s p .)

【材料と方法】

【 0 1 8 9 】

実験は、6 種の複製／複製あたり 4 種の植物を有する無作為化された完全なブロック設計として温室内で実施された。データは分散分析 (ANOVA) にかけられ、処理の平均値は 5 % の確率レベルで分離された (すなわち、 $p = 0.05$)。植物は、ボトリチス s p p . 又はレヴェイユ s p . のいずれかで接種された。処理が観察され、セプトリア (セプトリア大麻) 及びうどんこ病 (レヴェイユラタウリカ) の重症度と発生率が評価された。処理は以下の通り：1 = 無処理；2 = 標準的な市販の処理剤 (85 % の重炭酸カリウムを含むグリーンキュア (登録商標) ソリューションのグリーンキュア (登録商標))；及び (i i i) 3 回処理／30 日、4 回処理／30 日、5 回処理／30 日、及び 7 回処理／30 日に続くタイモックス (登録商標) コントロール処理である。

30

【結果】

【 0 1 9 0 】

ここで、図 1 3 を参照し、それに示すように、タイモックス (登録商標) コントロール処理は、セプトリア (左側) 及びうどんこ病 (右側) に感染した植物の発病率及び病害重症度を完全に阻害した。

40

【実施例 1 2】

タイモックス (登録商標) コントロール処理はステビアのボトリチスを有意に阻害する

【材料及び方法】：

【 0 1 9 1 】

タイモックス (登録商標) コントロール処理のボトリチス阻害特性をステビアで評価した。タイモックス (登録商標) コントロール処理は 1 / 200 に希釈され、ボトリチスで汚染された植物にスプレーされた (すなわち、0. 5 % v / v の割合)。処理の 1 日後、

50

ボトリチスに対するタイモックス（登録商標）コントロールの効果を評価した。

【結果】

【0192】

タイモックス（登録商標）コントロール処理は、ステビアのボトリチスを完全に阻害する。図14に示すように、ほとんどの葉はボトリチスに感染しているが（すなわち、図14の左側の処理前の状態）、処理後24時間で、ボトリチスに誘発された葉の損傷は完全に元に戻る（すなわち、右側の治療後の状態）。

【実施例13】

タイモックス（登録商標）コントロールは植物に対して植物毒性がない。

【0193】

タイモックス（登録商標）コントロール処理の植物毒性を評価した。精油に基づいた製剤の適用に関連する問題の1種は、植物毒性の用語から、これらの油に対する植物の感受性である。言い換えれば、植物の葉は、精油製剤の植物毒性のために焼けて黄色又はオレンジ色に変わる可能性があるが、これは生産者や農家には望まれていない。

【材料と方法】

【0194】

タイモックス（登録商標）コントロール処理物は、植物毒性を確認するために1/200に希釈され、異なる植物種にスプレー（すなわち0.5% v/vの割合で）された。

【結果】

【0195】

図15に示すように、アーティメシア・シルバーマウンドにタイモックス（登録商標）コントロール処理を施した場合（すなわち、図15の右側の処理後の状態）、処理後のアーティメシア・シルバーマウンド（すなわち、図15の左側の処理前の状態）と比較して、植物毒性は生じなかった。実際、タイモックス（登録商標）コントロール処理を施したアーティメシア・シルバーマウンドの葉は、処理前のアーティメシア・シルバーマウンドの葉と比較して、より健康的で緑が濃くなっている。

【0196】

同様に、図16に示すように、アーティメシア「ポウイスキュッスル」にタイモックス（登録商標）コントロール処理を施した場合（すなわち、図16の右側の処理後の状態）、処理後のアーティメシア「ポウイスキュッスル」（すなわち、図16の左側の処理前の状態）と比較して、植物毒性は生じなかった。実際、タイモックス（登録商標）コントロール処理を施した後のアーティメシア「ポウイスキュッスル」の葉は、処理前のアーティメシア「ポウイスキュッスル」の葉と比較して、より健康的で緑が濃くなっている。

【実施例14】

ビタミンCを含む製剤

【0197】

本発明による製剤は、ビタミンC（すなわち、アスコルビン酸又はアスコルビン酸塩）を含む製剤であってもよい。上記の表5に示す製剤F25と比較した、ビタミンCを含む製剤の例を、以下の表17に示す。

10

20

30

40

50

【表 17】

表 17 ビタミンCを含む、製剤F 25に基づく例示的な製剤。

成分	F25-VC1 (% w/w)	F25-VC2 (% w/w)	F25 (% w/w)
タイム油	25	24	27
イソプロパノール	4.5	4.5	4.3
乳酸ブチル	16	16	15.8
グリセロール	22.5	22.5	22.5
ソルビン酸カリウム	18.5	18.5	18.3
キラヤ	0.35	0.35	0.35
クエン酸	0.15	0.15	0.15
ビタミンC	2	3	0
H ₂ O	11	11	11.6
合計	100	100	100

10

【0198】

さらに、これらの製剤の抗細菌性活性を評価するために、これらを細菌のコロニー形成を防止する能力に基づいて所定のナノエマルジョンの有効性を比較する定量試験、いわゆるペトリカウント乾式抗菌試験（PAMB）に供した。手短に云えば、製剤は、 10^6 個の黄色ブドウ球菌を接種したペトリ皿に製剤を加えられ、24時間培養した後、コロニー数の対数減少をカウントされた（対数減少が大きいほど抗細菌活性が高いことを示す）。

20

【0199】

次に、図17を参照すると、これらは上記表17に詳述されたビタミンCを含む本発明の製剤の比較を示し、基本となる製剤と比較している。この結果は、精油（この場合、タイム油）をビタミンCで置換することにより、製剤の抗細菌活性が維持されることを示している。

【0200】

以上、好ましい実施形態が上記で説明され、添付の図面に図示されたが、本開示から逸脱することなく変更を加えることができることは、当業者には明らかであろう。そのような変更は、本開示の範囲内で構成される可能な変形として考慮される。

30

【参考文献】

【0201】

ピュージィ，ピー．エル．（Pusey,P.L.）1997.火傷病の生物学的防除に関する研究のモデルとしてのカニリンゴの花. 植物病理学（Phytopathology.）87:1096-1102

【0202】

クンツ，エス．，及びハウグ，ピー．（Kunz,S.,and Haug,P.）2006.有機果実栽培における火傷病制御のための戦略の開発。

40

エコフルーツ、ヴァインスベルク/ドイツ：（In Ecofruit, Weinsberg/Germany: Ford ergemeinschaft Okologischer Obstbau eV（FOKO）），p.145-150.

【0203】

クリステンセン，アール．エッチ．ビー．（Christensen, R.H.B.）2015. オーディナルーオーディナルデータの回帰モデル。

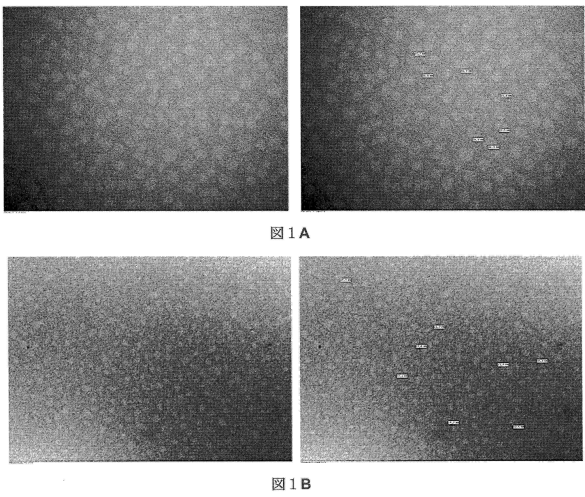
【0204】

コスミディス，アイ．，パギ，イー．シー．ケイ及びサルトリ，エヌ．（Kosmidis,I., Pagui,E.C.K.,and Sartori,N.）2019.一般化線形モデルにおける平均値と中央値のバイアス削減.arXiv e-prints.arXiv:1804.04085.

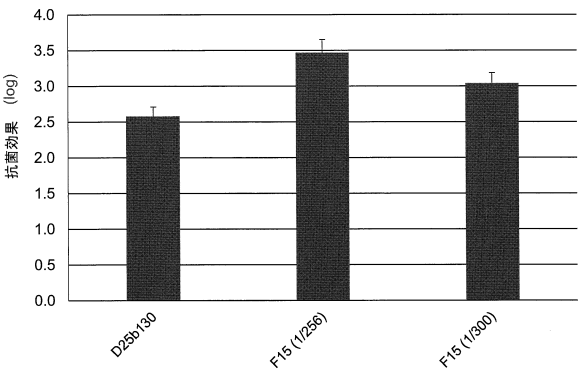
50

【図面】

【図 1】

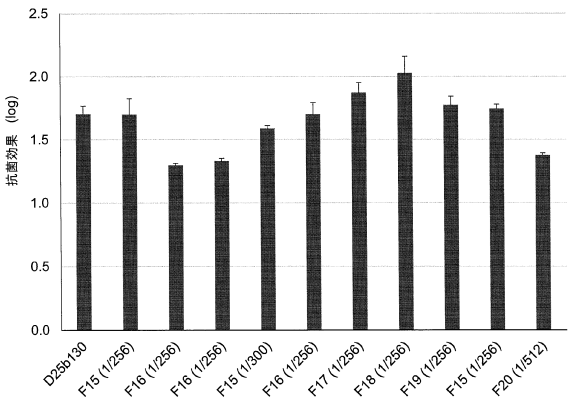


【図 2】

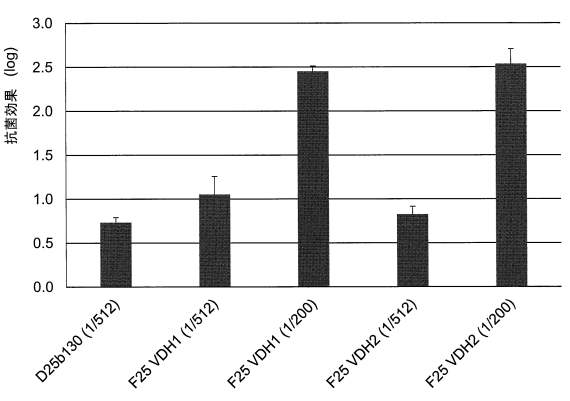


10

【図 3】



【図 4】



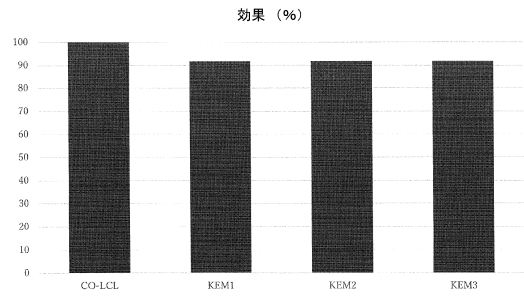
20

30

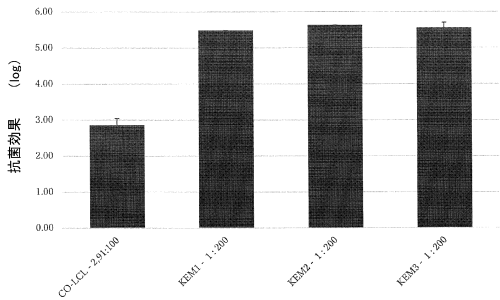
40

50

【図 5】

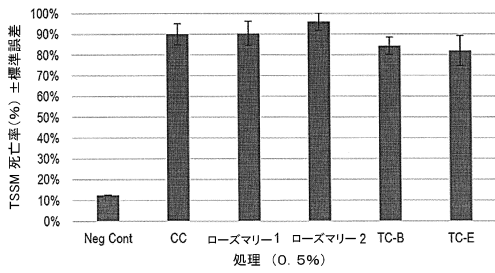


【図 6】

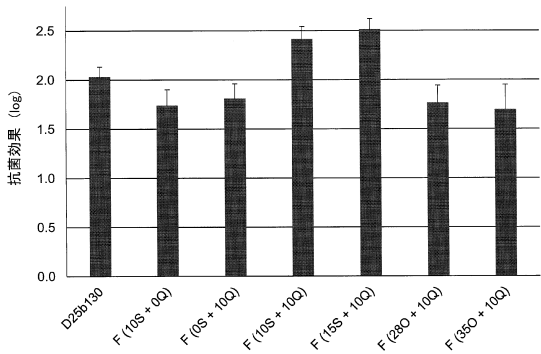


10

【図 7】

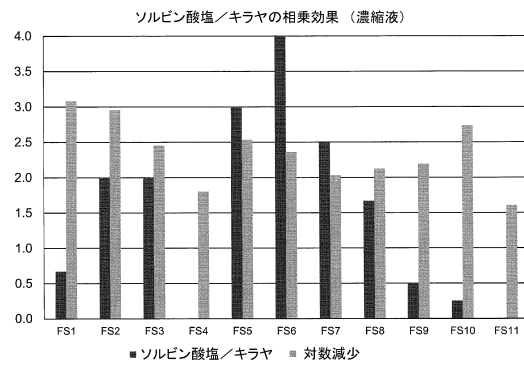


【図 8】

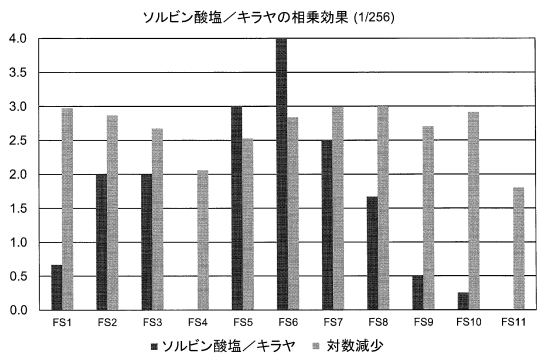


20

【図 9】



【図 10】

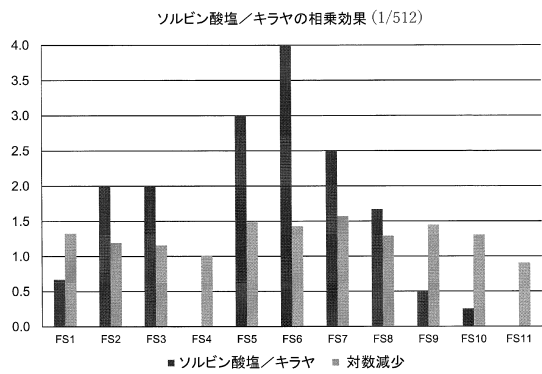


30

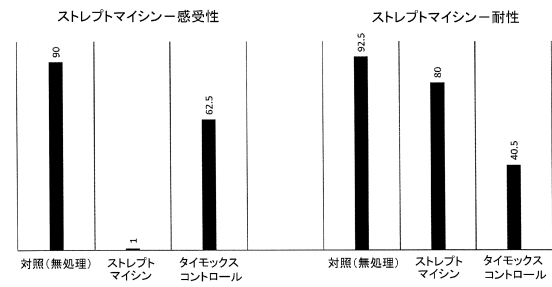
40

50

【図 1 1】

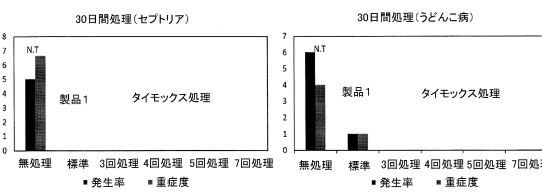


【図 1 2】

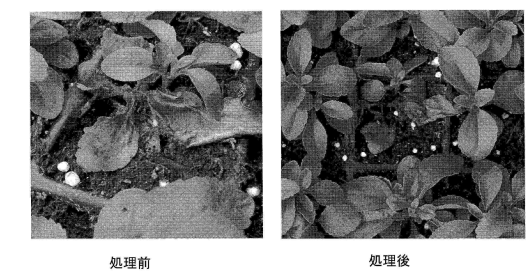


10

【図 1 3】

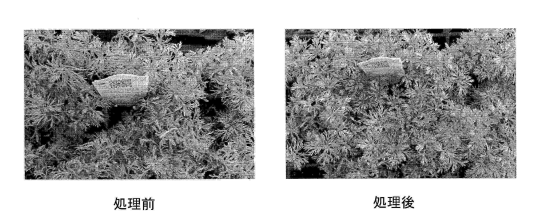


【図 1 4】

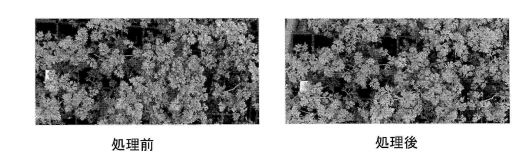


20

【図 1 5】



【図 1 6】

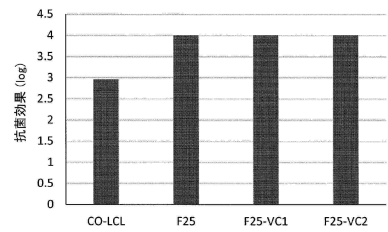


30

40

50

【図 17】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

B 0 1 J	13/00	(2006.01)	B 0 1 J	13/00	A
A 0 1 G	7/00	(2006.01)	A 0 1 G	7/00	6 0 4 Z
A 0 1 G	7/06	(2006.01)	A 0 1 G	7/06	A
A 0 1 C	1/00	(2006.01)	A 0 1 C	1/00	B
A 0 1 N	65/24	(2009.01)	A 0 1 N	65/24	
A 0 1 N	65/44	(2009.01)	A 0 1 N	65/44	

5 9 6

審査官 増永 淳司

(56)参考文献

中国特許出願公開第101926337 (CN, A)
中国特許出願公開第101720773 (CN, A)
特開2016-190859 (JP, A)
特表2010-522236 (JP, A)
特開2000-159605 (JP, A)
米国特許出願公開第2011/0177149 (US, A1)
米国特許出願公開第2013/0183392 (US, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A 0 1 N 25/04
A 0 1 N 65/00
A 0 1 N 65/22
A 0 1 P 3/00
A 0 1 P 7/02
B 0 1 J 13/00
A 0 1 G 7/00
A 0 1 G 7/06
A 0 1 C 1/00
A 0 1 N 65/24
A 0 1 N 65/44