

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3810793号
(P3810793)

(45) 発行日 平成18年8月16日(2006.8.16)

(24) 登録日 平成18年6月2日(2006.6.2)

(51) Int. Cl. F I
AO 1 N 59/24 (2006.01) AO 1 N 59/24
AO 1 N 25/18 (2006.01) AO 1 N 25/18 1 O 3 C

請求項の数 13 (全 71 頁)

(21) 出願番号	特願平8-503581	(73) 特許権者	コモンウェルス サイエнтиフィック アンド インダストリアル リサーチ オーガニゼーション
(86) (22) 出願日	平成7年7月5日(1995.7.5)		オーストラリア国、オーストラリアン キャピタル テリトリー 2612, キャン ベル, ライムストーン アベニュー
(65) 公表番号	特表平10-502357	(74) 代理人	弁理士 石田 敬
(43) 公表日	平成10年3月3日(1998.3.3)		
(86) 国際出願番号	PCT/AU1995/000409	(74) 代理人	弁理士 中村 和広
(87) 国際公開番号	W01996/001051	(74) 代理人	弁理士 西山 雅也
(87) 国際公開日	平成8年1月18日(1996.1.18)		
審査請求日	平成14年7月4日(2002.7.4)		
(31) 優先権主張番号	PM6669		
(32) 優先日	平成6年7月5日(1994.7.5)		
(33) 優先権主張国	オーストラリア(AU)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シアン燻蒸剤及びシアンを用いた燻蒸方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

溶液中に又はキャリアガスとともに、シアン化水素その他のシアン系化合物を本質的に含有しないシアン (C_2N_2) を含む燻蒸剤であって、上記シアンの濃度が0.01mg/l～160mg/lの範囲内にある前記燻蒸剤。

【請求項2】

前記キャリアガスが不活性ガスである、請求項1記載の燻蒸剤。

【請求項3】

前記キャリアガスが低酸素濃度を有する、請求項1記載の燻蒸剤。

【請求項4】

前記キャリアガスが二酸化炭素を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の燻蒸剤。

【請求項5】

前記燻蒸剤が溶液中に存在する、請求項1記載の燻蒸剤。

【請求項6】

前記溶液が水性溶液である、請求項1記載の燻蒸剤。

【請求項7】

その濃度が0.01mg/l～160mg/lの範囲内にある気体形態の、シアン化水素その他のシアン系化合物を本質的に含有しないシアン (C_2N_2) を商品及び／又は構造物に適用すること、あるいは閉鎖容器及び／又は構造物の容積に関して平均した場合、その濃度が0.01mg/l～160mg/lの範囲となるように水性溶液中のシアンを商品及び／又は構造物に適用するこ

とを含む燻蒸方法。

【請求項 8】

前記商品が穀粒、種子、食肉、果物、野菜、木材、植物、切り花、及び土壌を含む、請求項 7 に記載の燻蒸方法。

【請求項 9】

前記構造物がサイロ、大量の穀粒を収容する構造物、あるいは歯科、医科、科学用又は獣医科用の部屋、家屋又は器具である、請求項 7 に記載の燻蒸方法。

【請求項 10】

前記燻蒸剤がウイルス、昆虫、クモ、線虫、ダニ、細菌、かび、真菌及びそれらの孢子、並びに齧歯類を含む広範な生物相の内の 1 以上を防除し得る、請求項 7～9 のいずれか 1 項に記載の燻蒸方法。 10

【請求項 11】

前記燻蒸剤が二酸化炭素 (CO_2) を含有する環境に包含されるか及び／又は適用される、請求項 7～10 のいずれか 1 項に記載の燻蒸方法。

【請求項 12】

前記燻蒸剤が適用される、環境内の湿度及び／又は圧力が前記燻蒸剤の特徴（例えば毒性増大及び／又は相乗作用）を制御するよう調整される、請求項 7～11 のいずれか 1 項に記載の燻蒸方法。

【請求項 13】

前記燻蒸が低流量気体燻蒸、低圧気体燻蒸、高圧気体燻蒸、液体燻蒸剤の噴霧、及び／又は液体燻蒸剤中への商品の浸漬を含む、請求項 7～12 のいずれか 1 項に記載の燻蒸方法。 20

【発明の詳細な説明】

産業上の利用分野

本発明は燻蒸剤に関する。さらに本発明は、シアン (C_2N_2) を含む気体としての又は溶液中の燻蒸剤に、並びにこのような気体又は溶解燻蒸剤を用いた燻蒸方法に関する。

発明の背景

燻蒸剤は、粒状商品（例えば穀物）、並びにその他の貯蔵商品（耐久性及び生鮮食品を含む）、多孔質塊状物質（例えば土壌又は木材）及び空間（典型的には、空の建築物）を保護するのに通常必要とされる駆除及び侵入に対する防御のために広く用いられる。理想的燻蒸剤は、昆虫、ダニ、線虫、細菌、真菌及びそれらの孢子、ウイルス及び糸状菌、並びにその他の害虫生物相に対して有毒であるべきである。それは低濃度で有効である必要がある。それは、理想的には、燻蒸化領域内の物質による吸収率が低い。それは、哺乳類に対して低慢性毒性を示し、全く残留しないかもしくは不活性な残留物を残すべきである。さらに、理想的燻蒸剤は安全な取扱に関する限りは難しくあるべきでなく、そして燻蒸される商品又は空間に悪影響を及ぼすべきでない。 30

これらの「理想的」判定基準のすべてを満たす燻蒸剤はない。穀粒、その他の粒状物質、果物及び木材の燻蒸に最も普通に用いられる 2 つの燻蒸剤はホスフィンと臭化メチルであるが、これらの燻蒸剤の代替物としてカルボニルスルフィドが近年提唱されている（WIPO 公告第 93/13659 号である国際特許 PCT/AU93/00018 の明細書を参照）。 40

ホスフィンは、穀物害虫に有効で且つ残留物（本質的に無害なリン酸塩である）を殆ど残さないため、穀物貯蔵品等のために選択される燻蒸剤である。しかしながら、ホスフィンは、その濃度が相対的に低い値を超える場合は自然発火性であり、許容可能濃度で用いた場合は短期間で昆虫の全段階を屠殺できない。

臭化メチルは短期間の燻蒸に用いた場合は穀物害虫に対してはホスフィンより毒性が高いが、しかし長期燻蒸を実施した場合にはホスフィンのほうが穀物害虫に対して有害である。臭化メチルはホスフィンより易燃性が低い、しかし臭化メチルがオゾン層を減損させることが最近の研究から示された。したがって、燻蒸剤としての臭化メチルの使用は、モントリオールプロトコールにしたがって現在は漸次廃止されつつある。

カルボニルスルフィドは、現在、広範な試験を受けつつあり、臭化メチル及びホスフィン 50

の両者を上回るいくつかの明らかな利点はあるが、燻蒸剤として用いるには至っていない。穀物害虫に対して用いられているその他の燻蒸剤としては、アクリロニトリル、二硫化炭素、四塩化炭素、クロロピクリン、二臭化エチレン、二塩化エチレン、酸化エチレン、シアン化水素及びフッ化スルフルルが挙げられる。ハロゲンが、どれも「理想的」燻蒸剤特性を有していないこれらの「慣用的」燻蒸剤の多数中に存在することは注目すべきである。

長年、新しい燻蒸剤が絶えることなく探し求められてきたが、燻蒸剤の改良のための探究は恐らく続くであろう。

発明の要約

本発明は、特に昆虫、ダニ、線虫、真菌及びそれらの孢子、細菌、ウイルス、糸状菌、並びにその他の害虫生物相の制御において慣用的燻蒸剤の実行可能な代替物となり得る特性を有する新規の燻蒸剤を提供しようとする。 10

ある広範な形態で、本発明は、溶液中に又はキャリアガスに関連して、シアン (C_2N_2) (本明細書中に定義) を包含し、シアンの濃度が 0.01mg/l ~ 約 160mg/l の範囲である燻蒸剤を提供する。

好ましくは、キャリアガスは不活性ガスであり、好ましくはキャリアガスは酸素濃度が低い。

本発明の好ましい実施態様では、キャリアガスは二酸化炭素を含む。

本発明の別の実施態様によれば、燻蒸剤は溶液中、好ましくは水性溶液中に存在する。

さらに広範な形態において、本発明は、濃度が 0.01mg/l ~ 約 160mg/l の範囲である気体形態のシアン (C_2N_2 - 本明細書中に定義) を商品又は構造物に適用すること、あるいは閉鎖容器及び／又は構造物の容積の上で均一にされる場合には、濃度が 0.01mg/l ~ 約 160mg/l の範囲であるように水性溶液中のシアンを商品及び／又は構造物に適用することを包含する燻蒸方法を提供する。 20

好ましい形態では、上記の商品は穀物、種子、食肉、果物、野菜、木材、苗木、切り花及び土壌を含む。

好ましくは、上記の商品としては、多量の穀物 (例えばコムギ) を含有するサイロ又は同様の構造物、並びに歯科、医科及び／又は獣医科用の部屋、家屋、器具等を含む。

好ましい実施態様では、上記の燻蒸剤は、ウイルス、昆虫、クモ、ダニ、線虫、細菌、糸状菌、真菌及びそれらの孢子、並びに齧歯類を含めた 1 つ又はそれ以上の一連の生物相を制御し得る。 30

本発明の別の実施態様では、上記の燻蒸剤は二酸化炭素 (CO_2) を包含し、及び／又は二酸化炭素を含有する環境に適用される。

好ましくは、上記の燻蒸剤が適用される環境内の湿度及び／又は圧力を調整して、上記の燻蒸剤の特性を制御する (例えば毒性及び／又は相乗作用増大)。

種々の好ましい形態において、上記の燻蒸は低流量ガス燻蒸、低圧ガス燻蒸、高圧ガス燻蒸、ガスとして又は溶液中の燻蒸剤の噴霧を包含する。

【図面の簡単な説明】

本発明は、添付の図面と関連させて、本発明人による実験手順を略記した種々の実施例と関連させた後述の好ましい実施態様についての以下の詳細な説明によりさらに十分に理解されるようになるが、本発明はこれらに限定されない。 40

図 1 及び 2 は、気相及び液体中の C_2N_2 の分析結果を示すグラフである。

図 3 ~ 7 は、ガス流から C_2N_2 の除去に関する種々の手順の結果を示すグラフである。

図 8 及び 9 は、ガス抜き又は除去以外の方法による空気又は液体から C_2N_2 を除去するための手順の結果を示す。

図 10 (a) 及び (b) は、コムギ上の C_2N_2 収着を説明する。

図 11、12 及び 13 (a) ~ (d) は、 C_2N_2 で処理したコムギの効果を示す。

図 14 (a) ~ (c) は、コムギ穀粒中に存在する糸状菌に対する C_2N_2 の毒性を示す。

図 15 ~ 17 は、水を通した C_2N_2 の移動を示す。

図 18 ~ 23 は、コムギ中の C_2N_2 の収着率を示す。 50

図 2 4 は、水中の C_2N_2 の測定濃度をグラフで示す。

図 2 5 及び 2 6 は、液体として及び気体として付加した場合の、抽出直前に燻蒸剤が付加されたコムギ中の C_2N_2 の残留量を示す。

図 2 7 は、コムギのカラムを通した C_2N_2 及びその他の気体の動きを示す。

図 2 8 ～ 3 0 は、Coleoptera の 2 つの種に対する C_2N_2 の毒性結果を示す。

図 3 1 ～ 3 6 は、種々の溶媒中の C_2N_2 の安定性及び相平衡を示す。

図 3 7 ～ 4 1 は、Me Br の収着と比較した場合の木材による C_2N_2 の収着を示す。

図 4 2 ～ 4 4 は、乾燥木材の 3 つの種に対する C_2N_2 の毒性を示す。

図 4 5 は、切り花による C_2N_2 の収着を示す。

図 4 6 は、昆虫における C_2N_2 の毒性に及ぼす高圧及び低圧の作用を測定するのに用いられる燻蒸装置を示す。 10

好ましい実施態様の詳細な説明

本明細書及び請求の範囲においては、本発明に言及するとき、「シアン」という用語は、シアン化水素及びその他のシアン系化合物（即ち、シアン化水素を生じる化合物）を本質的に含有しないシアン（ C_2N_2 ）の気体（STP下にあるとき）又は溶液と定義される。したがって、本発明のシアンは、評価可能量の他の化学物質、例えば塩化シアン又はシアン化水素が存在しない商業的に調製されるか又は販売されるようなシアンである。

しかしながら、燻蒸用に、シアンの代わりに又はシアンとともに、シアンを遊離し得る他の化学物質種を用いることもできる。

燻蒸剤としてジシアン及びオキサロニトリルとも呼ばれているシアンは、 $(CN)_2$ 、 C_2N_2 又は $NC-CN$ と表される。シアンは大気中に自然に生じ、植物により及び稲光の作用により生成される。それは他の銀河系にも存在し、そのスペクトル線は銀河系の相対速度を概算するためにレッドシフト測定に用いられる。 20

従来技術を再検討した場合に、本発明人は古い科学論文及び特許明細書に用いられた用語の問題に気づいた。この問題とは、古い科学文献においては、シアン化水素を生成し得るあらゆる化合物（非シアン系物質と反応してシアン化水素を生成する物質を含む）が「シアン」と呼ばれているが、一方、今日シアンと呼ばれる化合物は、「ジシアン dicyanogen」又は「ジシアン dicyan」と命名去れていた。この分野の従来技術のあらゆる再検討して、古い用語のこの多義性を知る必要がある。

シアンはヒト及びその他の温血動物に対しては実質的急性毒性を示すが、その慢性毒性は微々たるものである（即ち、ある期間に亘って摂取される小用量は累積的でない）。"The synthesis and chemistry of cyanogen" (Chemical Review, Volume 59, pages 841-883, 1959 に発表) という表題の論文において、T. K. Brotherton と J. W. Lynn (A. B. Elkins による初期の研究を参照) は、以下のように述べている： 30

「シアンは非常に有毒で、シアン化水素に匹敵する毒性を有する。最大許容蒸気濃度は 10 ppm である」。

1913 年頃に、シアンの毒性を報告している J. L. Burckhardt は、(i) 空気 1 l 当たり $(CN)_2$ 0.1mg 未満の用量のみがネコには無害であると考えられる；(ii) $(CN)_2$

0.2mg/l はネコに対して 2 ～ 3 時間で致死性である；がしかし (iii) ウサギは 0.4mg/l を十分耐容し、その致死用量は 0.6 ～ 0.8mg/l であると推論した。 40

1921 年 12 月 13 日付けの米国特許第 1,399,829 号の明細書中で、J. W. Van Meter は、シアン、塩素及び砒素ガスは「皆、燻蒸剤、殺菌剤、消毒剤、防臭剤として並びに昆虫及び動物の駆除用に別々に用いられて多少の成功をおさめている」と述べている。しかしながら、Van Meter はこの陳述に対する支持をなんら提供しなかったし、本発明人は Van Meter の陳述の真実性を示す過去の参考文献（又はもっと最近の参考文献）を突き止めていない。Van Meter は米国特許第 1,399,829 号の明細書中で、「シアンガスはアリマキ及び柑橘類及びその他の果樹に好んで住む幼虫にとって致命的に有毒である。・・・それは葉全体に有毒というわけではない」と述べている。彼の発明は、実際には、「上記のガスの組合せ又は混合物」であった。

Van Meter は「シアンを遊離させるために」鉄を含有するシアン化カリウム溶液に限定量 50

の塩素を通すことができると主張したが、しかしこのガスが「空気より軽い」ことを彼は観察しており、このことは、シアンは空気より密度が高いため、実際には彼はシアン化水素を豊富に含むガスを生成していたことを示している。

1924年4月24日付けの英国特許第237,344号は、「シアン燻蒸剤」という表題である。その特許明細書は、シアン化物の分解を防止するために付加される硫酸又はシュウ酸とともに珪藻土又は他の多孔性担体上に分布するシアン化水素 (HCN) 及びその他のシアン誘導体の使用を記載する。しかしながら、シアンそれ自体は、英国特許第237,344号の明細書に列挙された「シアン燻蒸剤」に含まれない。

T. K. Brotherton及びJ. W. Lynnの上記の論文には、シアンに関する燻蒸剤の可能性についての言及がないことも注目される。

10

従来技術の広範な調査にもかかわらず、本発明人は燻蒸剤としてのシアンの使用の前例を見出せなかった。シアンの特性は、安定性 (C_2N_2 は水の存在下で容易に分解すると言われている) 及び毒性に関しては、シアンが元々燻蒸剤としての使用に適していないという確信に至らしめたと考えられる。

本発明人は、この確信が根拠のないものであり、シアンは、十分注意して取り扱われるならば、気体及び溶液で用いて一般に選択される燻蒸剤を上回る有意の利点を有する燻蒸剤を提供し得る、ということを確認した。特に、

(a) シアンは気体燻蒸剤用に他の気体と混合し得るし、燻蒸剤担体が空気又は別の酸素を多く含む気体である場合は、 C_2N_2 の濃度が6.6パーセント未満であれば爆発の危険はなく、6.6パーセント以上の濃度であっても、酸素/シアン混合物を発火させるには火花又は炎が必要である。

20

(b) シアンは水 (及びその他の溶液) に可溶性で、商品又は構造物に噴霧するか又は単にそれらの上の溶液中に注ぐことにより、低水性濃度で商品又は構造物に適用し得る。

(c) シアンは穀粒、その他の粒子又は貯蔵食品中に極めて容易に吸収される一方、理想的には、担体としての有意レベルの CO_2 (吸収を低減させる) とともにガスとしてのシアンの使用により、又は急速流量で穀粒に噴霧するか穀粒を通過させる高濃度の燻蒸剤の使用により、多量の穀粒等の迅速な燻蒸に用い得る。

(d) 燻蒸に有効な濃度のシアンを用いたコムギ及びその他の種子の燻蒸は、コムギ又はその他の種子の発芽に影響を及ぼさないということが示された (しかし、シアンの濃度が180mg/l又はそれ以上である場合には、燻蒸剤含有ガスはいくつかの種子の発芽を阻害し得る除草剤として作用するということに留意すべきである)。

30

(e) シアンは主経路でないシアン化物への変換により迅速に分解されるので商品上に極低度の残留物を残すが、これに對比してシアン化水素を含有する燻蒸剤を用いると有意の残留物が残る。

(f) シアンは、粒状商品に空気流を通すことにより、燻蒸期間終了時に粒状商品から洗い流される。

(g) シアンは、単にシアンの液化点以下の温度に空気流を冷却することにより空気流から除去される。

(h) シアンは、昆虫、ダニ、真菌及びそれらの孢子、細菌、ウイルス並びに齧歯類を含めた広範な生物相を制御し得る。

40

(i) シアン含有燻蒸剤による燻蒸は、腐敗させずに高湿穀粒の長期貯蔵を可能にする。

(j) シアンは植物においては全身性で、したがって昆虫及び植物疾患を制御するのに全身的に用い得る。

(k) シアンは水溶液中で及び気体としてともに活性であり、水を介して移動し得るので、医科、歯科、科学用及び獣医科用建物、並びにこれらの使用に際して用いられる装置に見出されるような広範な状況で、細菌、真菌及びウイルスを制御し得る。

(l) シアンは食肉、並びに果物及び野菜の保存に有用である。

本発明人はさらに、シアンと二酸化炭素の混合物がシアンの毒性を増強することを見出した。シアンと二酸化炭素との混合のこの観察された相乗作用に対する説明は現在はない。

しかしながら、本発明人は、二酸化炭素が昆虫及び他の生物相の呼吸数を増大し、これが

50

シアンの害虫呼吸系侵入率を増大すると仮定した。しかしながら、これは確証されていない仮定に過ぎず、観察された相乗作用に関与するかもしれないし、しないかもしれない。したがって、本発明によれば、シアン及びキャリアガスを包含する燻蒸剤が提供され、シアンの濃度は一般的に0.01mg/l～160mg/lの範囲である。

キャリアガスは不活性ガスである。キャリアガスは低濃度の酸素を含有するのが便利である（例えばバーナーガス）。好ましくは、キャリアガスは二酸化炭素を含有する。さらに本発明によれば、水（又はその他の液体）溶液中にシアンを包含する燻蒸液が提供される。

本発明はさらに、本発明の気体燻蒸剤又は溶液に溶解した燻蒸剤を必要な燻蒸期間中商品に適用することから成る燻蒸方法を包含する。

本発明の燻蒸方法としては、低流量気体燻蒸、低圧気体燻蒸、高圧気体燻蒸、溶液に溶解した燻蒸剤の噴霧、並びに溶液に溶解した燻蒸剤中に商品を浸漬することなどが挙げられる。これらは全てを網羅しているわけではない。

低流量燻蒸を用いた場合、予定濃度のシアンを含有する空気又は別のキャリアガスを、国際特許出願PCT/AU90/00268及びPCT/AU94/00324の明細書に記載されているホスフィン燻蒸法と同様の方法で、粒状商品にゆっくり通す。燻蒸剤含有ガス中のシアンの濃度は収着及び曝露時間に依っているが、好ましくは約0.01mg/l～約5mg/lの範囲である。上記のように、シアンと二酸化炭素の組合せの毒性増強が燻蒸効能を犠牲にすることなく使用されるシアンの濃度をより低くさせるため、好ましいキャリアガスは二酸化炭素を含有する。

貯蔵商品の低圧燻蒸は、本質的に気密室中に商品を貯蔵する場合には、気体シアン燻蒸剤を用いて実施し得る。小室を排気し、又は実質的に排気状態にし、次いでシアン含有ガスを小室全体に分布させて、貯蔵商品を入れるための予定の燻蒸レジメン（毒物学的考察に基づいて）を確立する。低圧燻蒸では、燻蒸剤はSTP（曝露時間は変える必要があるが）で認められたと同一の毒性終点を達成し、したがって毒性作用を達成するのに必要な燻蒸剤の量を最小にすることを、本発明人は確定した。

本質的に気密な小室に商品を貯蔵する場合には、貯蔵商品の高圧燻蒸も考えられる。小室排気の任意の工程後に、小室中のガス圧が予定ガス圧を超えるまで、シアン含有ガス（好ましくは二酸化炭素を含む）を小室中に導入する。次いで小室を密閉し、小室を開け、シアン含有ガスを小室から洗い流すまで、商品の燻蒸を保持する。

貯蔵商品中の昆虫害虫は、低圧ガス燻蒸を用いた場合より降圧燻蒸を用いた場合のほうがより迅速に屠殺される。高圧燻蒸を確立するのに必要な付加的装置によりこの方法の実施はよりコスト高になるため、それは主に高価な商品の迅速な消毒に用いられる。

上記の各々の気体燻蒸法において、燻蒸された商品を貯蔵する容器又は小室に残る燻蒸剤含有ガスを冷却することにより、又はシアンの化学的分解又は吸収（化学物質、例えばアミン又は吸収剤にシアン含有ガスを通すことを含む）により、燻蒸にもちいられたシアンを捕捉し得る。

水中のシアンの溶解度及び他の液体の選択は、Brotherton及びLynnによる上記の論文の表2に示されている。上記のように商品の液体燻蒸は、予定低濃度（毒物学的考察にしたがって選択される）でシアン含有液体（通常は水）を商品に噴霧することにより実施する。あるいは、シアン含有液体を商品上に注いでそれを覆うか又はそれにより商品に滴らせる。液体燻蒸剤との接触は、商品への液体燻蒸剤の不断の又は断続的（しかし周期的な）適用により保持され、したがってあらゆる必要期間中の商品の燻蒸を保持する。燻蒸期間終了時に、（a）水で洗浄し、その後（必要な場合には）清浄空気で乾燥させることにより、又は（b）清浄空気で商品を洗い流すことにより（これにより液体燻蒸剤のキャリア液とシアンの両方を捕捉する）、シアン含有液は商品から除去される。

シアンは圧縮 C_2N_2 のシリンダーに入れて市販されている。シアンのこのようなシリンダーは本発明の又は本発明に用いられる気体及び液体燻蒸剤用のシアンの供給源として用い得る。しかしながら、シアンの供給源としてガスの市販のシリンダーの代わりにシアンの現場発生器を用いてもよい。現場発生器の例としては、（i）窒素と二酸化炭素との混合

10

20

30

40

50

物を炭素に曝露して、排出し、任意に未反応 N_2 及び CO_2 を再循環させるもの；並びに（*i i*）窒素雰囲気中で炭素フィラメントを約 $2,200^{\circ}C$ に加熱するものが挙げられる。シアンのその他の代替的供給源としては、シアンと二酸化炭素及び／又は低酸素大気の圧縮混合物、並びに必要な場合に放出されるシアンを含有する溶媒物質を含入するガスシリンダーが挙げられる。

実施例

本発明の発明人は、燻蒸剤としてのシアン（ C_2N_2 ）の効能を立証するために多数の実験を実施した。多数のこれらの実験を以下の実施例に詳述する。

実施例 1

気相中及び液体中の C_2N_2 の分析

10

目的：目的は空気中の C_2N_2 濃度を測定することであった。

材料と方法

窒素及びリンに関して選択する熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフで気体－液体クロマトグラフィーにより C_2N_2 を測定した。使用したカラムは、内径 $0.53mm$ のmegaboreカラム、即ち $60^{\circ}C$ の恒温のDBwax（J & W 127-7012）又は $110^{\circ}C$ の恒温のBP624（SGE, 50QC5/BP624）であった。

空気中の標本のための方法

Gow-Macガス密度平衡から確定されるガスの標準物を、Mininert弁を装備し、2個のガラスビーズを含入した $120ml$ フラスコ中に公知の容量を注入することにより希釈した。フラスコを振盪させて混合し、1時間放置後、アリコート（ $20\mu l$ ）をガスクロマトグラフ中に注入した。反応を記録し、適用濃度に対してプロットした。

20

水及びその他の溶媒中の標本のための方法

水（ $10ml$ ）を、Mininert弁を装備した公知の容量（典型的には $11.5ml$ ）のエrlenmeyerフラスコ中にピペットで入れた。公知量のガスを気密注射器で水中に注入した。フラスコを $25^{\circ}C$ で1時間放置した。液体（ $1\mu l$ ）及びヘッドスペースガス（ $20\mu l$ ）のアリコートでガスクロマトグラフに注入した。反応を記録し、付加濃度に対してプロットした。

結果

ピーク領域（任意の単位）対 C_2N_2 濃度のプロットを、 $30\mu l$ 注入及びDBwaxカラムの場合に関して、図1に示す。曲線は $0\sim 35mg/l$ の範囲では線状であったが、高濃度に対する曲線を推定すると反応は低く見積もられた。 $20\mu g/L$ （約 $10ppm$, V/V ）での信号対ノイズ比は240であった。したがって、本方法は $10ppm$, V/V の TLV 値以下を検出するのに十分な感度を有する（Sax and Lewis, 1989）。

30

C_2N_2 の水溶液は、試験領域で線状反応を生じ、DBwax上に $1\mu l$ 注入した場合は $0\sim 8mg/l$ であった（図2）。この場合、水は燻蒸剤の後にクロマトグラフィー処理した。

要約

水又は空気中の C_2N_2 の測定は特別難しくはなく、 TLV 値以下を十分測定し得た。

実施例 2

空気と二酸化炭素の混合物中の C_2N_2 の効能

目的： C_2N_2 が二酸化炭素を含有する混合物中で有効であるか否か、及び二酸化炭素が C_2N_2 を増強するか否かを調べること。

40

材料及び方法

二酸化炭素（ $40\%V/V$ ）と空気の混合物をテドラーTedlerバッグ中で作り、水（ $10\mu l$ ）を付加して、二酸化炭素供給源の乾燥状態を補償した。Dreschel瓶中で昆虫をこの供給源に接続させ、フロースルー法の項で考察されるように燻蒸を実施した。

他の実験においては、 $270ml$ エrlenmeyerフラスコを空気中の 40% 二酸化炭素で溢れさせた。装置は、二酸化炭素空気混合物のためのタップ入口及びガラス出口とのクイックフィット接続から成っていた。フラッシング後、タップを閉め、燻蒸剤 C_2N_2 の注入のために、及び燻蒸剤の分析用のサンプリングのためにガス出口を隔壁に取り付けた。湿った濾紙をフラスコの外側に付加した。二酸化炭素を付加せずに、空気を満たしたフラスコ中で

50

検定をさらに実施した。投与の全生物検定手順、温度並びに投与と死亡率の査定との間の間隔は同一であったが、唯一の差異は燻蒸小室の大気中の二酸化炭素の割合であった。被験昆虫は成虫 *Rhyzopertha dominica* (F.) C R D 2 系統であった。燻蒸剤濃度は、内径0.53mmのDBwaxカラム上での分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフで測定した。

結果

フロースルー実験では、0.83mg/lで C_2N_2 に1時間曝露すると、曝露終了時と1週間の回復期間後とに査定して、死亡率は100%に達した。しかしながら、低用量では、見かけの急性死亡率は1週間後より低かった。45分間の曝露では、死亡率は5.4%であった。

静止実験では、0.125mg/lに23時間曝露後、48時間の滞留時間を置くと、死亡率は CO_2 の場合には97%であったが、これに対して空気の場合には1%であった。0.5mg/lに2時間曝露した場合、死亡率は CO_2 で80%、空気の場合は2.5%であった。全ての場合に、昆虫は、48時間の回復期間後、害を受け、2週間後の死亡率は高くなると思われた。

考察

C_2N_2 は、フロースルー法で又は静止条件下で CO_2 中に用い得る。 CO_2 との相乗作用が立証された。 CO_2 との同時使用は、例えばシリンダー中での貯蔵方法に、サイロ中での混合を助けるのに、火災の危険を低減するのに、そして細菌又は糸状菌が水中に存在し得る条件での水のpHの制御に用い得る。

増圧下での CO_2 による相乗作用は、実施例45に示す。

実施例3

粉碎穀粒上のヘッドスペースのサンプリングによる C_2N_2 の残留物の分析

目的：標準手法による燻蒸化コムギ中の C_2N_2 の残留物を測定し、コムギの粉碎中に放出されたとされる燻蒸剤の量を確認すること。

材料及び方法

Mininertバルブで密封した120ml容器中でコムギ25gに燻蒸剤5mlを付加して、オーストラリア標準白色コムギを高用量の燻蒸剤で慎重に燻蒸した。初期算出ヘッドスペース濃度は4%V/V (40,000ppm, V/V) で、420g/g (420ppm, W/W) の率で燻蒸剤を適用した。密封容器中に30°Cで10日間貯蔵後、コムギ (20g) を直ちに密封ブレンダーに移し、20秒間粉碎した。ヘッドスペースガス (50 μ l) を熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフに注入し、内径0.53mmのDBwaxカラム上で分離した。反応をシアン化水素及び C_2N_2 の場合と比較した。

結果

燻蒸化及び対照コムギからのヘッドスペースのクロマトグラフで2つのピークが観察されたが、いずれも C_2N_2 ではなかった。検出限界は、コムギ中の残留物が穀粒に 6×10^{-11} g/g未満というものであった。

ピークの1つをシアン化水素と同時クロマトグラフィー処理した。レベルは、対照コムギでは平均 5×10^{-8} g/g及び燻蒸化コムギでは 5.6×10^{-8} g/gに相当した。これら2つの値の差は有意ではなかった。

C_2N_2 前にクロマトグラフィー処理されたピークは、それがホスフィンより短い保持時間を有することを立証するための他方のピークと同一であると確認されなかった。経験を踏まえた推測は、このピークがシアン酸であるというものである。そうであるならば、そしてシアン化水素と同一の検出器に対する反応を仮定すると、対照及び燻蒸化コムギの両方の残留物は 2×10^{-8} g/g $\sim$ 3×10^{-8} g/gであった。

考察

燻蒸剤の残留物に関して穀粒を試験するのに用いた方法は、広く用いられている。結果は、実施例26で報告されたものに相当する。即ち、 C_2N_2 は密封容器内のコムギ上で急速に分解される。420g/gの適用による 6×10^{-11} g/g未満という残留物は莫大な損失を示し、損失のこの値は穀粒に適用されたいかなる殺虫剤に関してもこれまで立証されたことはなかった。

粉碎穀粒上の密封容器中の C_2N_2 及びシアン化水素の両方の濃度は、非常に多量の C_2N_2

10

20

30

40

50

を適用したにもかかわらず、各々の場合、10ppm,V/VのTLV値よりかなり低かった。したがって、 C_2N_2 で予め燻蒸したコムギの製粉中は小麦製粉業者が不法レベルの燻蒸剤に曝露されることはない（取締り当局が確定する差し控え期間に服する）。

実施例 4

糸状菌制御における C_2N_2 の効能

目的：糸状菌に対する C_2N_2 の効能を測定すること。

材料及び方法

湿コムギ

コムギを水分含量30%, W/Wという条件にして、フラスコ当たりコムギ30gで270mlフラスコ中に入れた。隔壁入口を装備したフラスコを30℃で貯蔵した。 C_2N_2 を0、20、40及び80mg/lの用量でフラスコに入れた。24時間後、コムギをフラスコから取り出して滅菌壺に入れ、これを濾紙で覆った。各実験を4回繰り返した。

コムギ中に存在する糸状菌を、Food Science and TechnologyのCSIRO部門のAlisa Hocking博士が同定した。穀粒の感染%は*Alternaria infectoria* 78%、*Alternaria alternata* 17%、*Epicoecum nigrum* 4%、*Dreschlera* sp.、*Fusarium* sp.及び*Penicillium* sp.は各々1%であった。

乾コムギ

水分含量11.6%のコムギを前項に記載されているように燻蒸した。24時間燻蒸後、コムギを寒天培地上に置き、25℃で7日間インキュベートした。

結果

湿コムギ

制御壺内のコムギは急速にかびが生えた状態になり、個々の穀粒は堅い塊に癒合した。可視的糸状菌はいかなる燻蒸化商品でも検出されなかった。燻蒸化穀粒を30℃で4週間保持したが、いかなる糸状菌も出現しなかった。

乾コムギ

コムギにはかびが生えなかった。寒天培地上に平板化した場合、対照コムギはかびが生えたが、20、40及び80mg/lの用量では糸状菌は観察されなかった。10mg/l投与からは増殖した糸状菌が観察されたが、しかし対照よりは少なかった。対照コムギで観察された糸状菌は*Alternaria* sp.及び*Penicillium* sp.で、これは燻蒸前に認められ、したがって操作の人工物ではなかった。

考察

実施例 2 1 を参照する。本実施例及び実施例 2 1 は本質的には異なる科学者による複製である。実施例 2 1 からの完全に無関係な結果と結びつけて考えたこれらの結果は、 C_2N_2 が糸状菌の制御に非常に有効であることを示す。この燻蒸剤により生じた長期防御は、それが胞子を殺し、単に制真菌性であるだけではないことを示す。

糸状菌制御のための C_2N_2 の使用の可能性を考慮に入れるべきである。例えば、それを代替物として用いて穀粒が湿った場合に乾燥させ得るし、又はそれを用いてある期間穀粒を保持し、乾燥剤の有用期間を延ばすことができる。糸状菌制御のための C_2N_2 の使用は発芽を低減するため、すべてに推奨されるわけではない。しかしながら、一般的に動物飼料用の穀粒上の糸状菌を制御するために制真菌性プロピオン酸が広く用いられている。 C_2N_2 は、このような場合に使用の可能性を有する。

溶液並びに気体として適用される C_2N_2 の能力は、糸状菌制御に、例えば食品用建物内の機械類を消毒するために、そして実際には建物それ自体の消毒に際して、糸状菌制御に適用する多数の可能性を有する。

糸状菌は、乾燥及び湿潤コムギの両方で制御された。普通は、乾燥穀粒上のある種の糸状菌に対する乾燥状態に期待する、がしかしいくつかの状況では、予防手段としてサイロの上部のような湿度が移動する傾向がある領域を燻蒸して糸状菌胞子を殺す。高及び低湿度の両方で糸状菌胞子を殺す能力は、建物、機械類等における糸状菌の消毒に有用である。制御される糸状菌としては、例えばアルテルナリア属*Alternaria*、フザリウム属*Fusarium*、ペニシリウム属*Penicillium*、*Dreshslera*及び*Coelomycete*等の主な属が挙げられる。

10

20

30

40

50

機械類及び建物における糸状菌の消毒のために、蒸気及び液相で作用する、そして水を浸透する C_2N_2 の能力は、細菌及び昆虫ヲ制御する能力と同様、非常に有用である。したがって、それは一般殺菌剤である。これに対比して、酸化エチレンは低水溶性であり、ホルムアルデヒドは蒸気圧が低い。さらに、酸化エチレン及びホルムアルデヒドは各々、発癌性が疑われる（Sax and Lewis, 1989）。酸化エチレンのTLV値は0.1ppmであり、ホルムアルデヒドは「1ppm：発癌物質の疑いあり」（ACGIH）である。 C_2N_2 のTLV値は10ppmである。

実施例 5

食肉品質の保存における C_2N_2 の効能

目的：食肉の保存における C_2N_2 の効能を調べること。

10

材料及び方法

新鮮な（未凍結）食肉を地方のスーパーマーケットで購入し、スライスした。例えば約20gの仔ヒツジ肝臓のスライスを、隔壁蓋を装備した750ml壺に入れた。 C_2N_2 を入れて濃度を0、20、40及び80mg/lとした。壺を37℃で48時間、30℃でそれ以上の期間貯蔵した。

結果

対照肝臓は急速に褪色し、しばらくすると腐敗し、悪臭を放つようになった。48時間の期間中には、いかなる燻蒸化肝臓においても可視的影響は観察されなかった。色の変化は、20mg/l燻蒸に関しては2日目に、80mg/l燻蒸に関しては3日目に始まった。最高試験用量での燻蒸後8日目には影響は全く観察されなかった。

考察

20

高湿度で細菌、糸状菌及び昆虫を制御し、そして急速に衰退させる C_2N_2 の能力は、食肉保存にとって望ましい属性である。食肉保存の潜在能力は考慮に入れるべきである。例えば、プラスチック袋、ガラス容器又はさらに大きな容器内で食肉を滅菌し得るし、細菌汚染を駆除し得る。卸売及び小売り食肉用建物に、並びに冷蔵を利用出来ない場合の使用（例えば軍隊、キャンプ用）に用途が見出される。

引照

実施例 4、21、19、28、16及び6と引照し得る。

実施例 6

果物品質の保存における C_2N_2 の効能

目的：果物及び野菜の保存における C_2N_2 の効能を調べること。

30

材料及び方法

キーウイフルーツ、マンダリン及びマッシュルームを試験した。各商品のうち2つを、隔壁蓋と各商品用の別々の壺を装備した750mlガラス容器に入れた。燻蒸剤を各容器に注入して濃度を0、10、20、40及び80mg/lとした。商品を37℃で8日間保持した。商品を取り出し、開封時及びさらに2日間25℃で貯蔵後に目で点検して品質を査定した。各処理を二重に実施した。

結果

未処理（対照）キーウイフルーツは柔らかくなった。8及び10日目に、色が緑色と黄色を混ぜた色に変色し、果物は非常に柔らかくなり、遊離した水分が果物内部からこぼれ出た。10及び20mg/lで燻蒸した果物はこれらの変化のいくつかを示したが、その程度は低かった。40mg/lで燻蒸した果物はその本来の色及び堅さを保持した。しかしながら、最高用量で燻蒸した果物は褐変のいくつかの徴候を示した。

40

各用量での処理果物は堅いままであった。品質に及ぼすその他の影響は観察されなかった。

未燻蒸マンダリンはカビが生えてきた。8及び10日後、マンダリン果肉は非常に柔らかくなり、果皮と袋を又は袋同志を分離しにくくなった。2つの最高用量で燻蒸したマンダリンには糸状菌は観察されず、2つの低用量で燻蒸したマンダリンの品質は対照より良かった。しかしながら、果皮の色は全処理で変色したが、果肉の色は影響を受けなかった。40mg/lの用量での果皮の変色に及ぼされた影響は最小度であった。

未燻蒸マッシュルームもカビが生えてきた。8及び10日後、暗色残存物をマッシュルー

50

ムであったとは認識し難かった。10mg/lで燻蒸したマッシュルームは、8日後、対照に類似していた。20mg/lで燻蒸したものはその元の形状を保持したが、遊離水がマッシュルームから失われた。2つの高用量のいずれかで燻蒸したものは、マッシュルーム頂上部の白色を含めてその形状及び色を保持した。40又は80mg/lで燻蒸後の処理マッシュルームには可視的糸状菌は観察されなかったが、マッシュルームは多少の遊離水を失った。

考察

果物及び野菜の品質は、糸状菌及び細菌により、並びに昆虫の侵襲により悪変し得る。他の実施例では、 C_2N_2 が糸状菌、細菌及び昆虫に対して有効であり、果物及び野菜の貯蔵で見出される高湿度で有効であり得ることが示されている。さらに、 C_2N_2 の主な代謝物質はシュウ酸であり、これは植物界に広く存在する。

10

結果は、果物及び野菜の保存に際しての C_2N_2 の潜在能力を示す。

果物及び野菜を保存するための C_2N_2 の使用には、用量を適切に制御する必要があり、低用量及び過剰用量ともに害を生じる。

潜在能力はすこぶる大きく、小売り及び卸売用建物における果物包装、出荷前の果物の燻蒸、並びに冷蔵を利用出来ない場合の包装（例えばキャンプ用、軍隊用等）に用途が見出される。

引照

実施例 19、4、21、28、33及び15と引照し得る。

実施例 7

土壤中のゾウムシに対する C_2N_2 の毒性及び土壤中の収着

20

目的：土壤燻蒸剤としての C_2N_2 の効能を調べること、土壤中のその収着を測定すること、及びガスとして及び水溶液で適用した場合にそれが有効であるか否かを試験すること。

材料及び方法

試験した種はゾウムシ *Graphognathus leucoloma* (Boheman) であったが、これは牧草の又はジャガイモのような作物の重篤な土壤害虫である。試験した土壤は、*G. leucoloma*が主要害虫である西オーストラリアからのものであった。土壤標本及び昆虫は、Entomology of CSIRO部門の John Mathiesson氏に提供して頂いた。

土壤を用いない試験

昆虫に対する試験のために、1齢幼虫50匹を、隔壁入口を備えたエーレンマイヤーフラスコ（容量138.5ml）に入れた。燻蒸剤はガスとして適用し、フラスコを20°Cで24時間保持した。次いでフラスコの口を開け、一夜放置後に死亡率を検定した。手順は、臭化メチル及び二硫化炭素を含めた他の燻蒸剤を査定するのに用いたものと同じであった (Mathiesson, Desmarchelier, Vu and Shackleton. 未発表結果)。

30

C_2N_2 濃度は、内径0.53mmのDBwaxカラム上での分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフで測定した。注入1時間後、及び栓を取り外す1時間前に濃度を測定し、平均濃度を表に記録した。平均して、濃度は約22時間の測定期間中、12%だけ低減した。

土壤中での試験

土壤での試験では、1齢幼虫50匹を土壤に加え、これを密封フラスコに入れた。燻蒸剤をガスとして、又は水溶液で適用した。24時間の曝露期間（この間、燻蒸剤を測定した）後、フラスコを一夜空気に曝した。水中に幼虫を浮遊させた後に、顕微鏡下で生存及び死亡幼虫の数を計数し、燻蒸化土壤における死亡率を対照と比較した。動ける昆虫を生存と分類した。

40

a. 水中に適用した燻蒸剤

土壤中の昆虫に対する試験のために、容量138.5mlのフラスコの約半分まで土壤（30g）を入れた。1齢幼虫（50匹）を各壺に加えた。燻蒸剤を水溶液（2ml又は4ml）で適用した。

b. ガスとして適用した燻蒸剤

燻蒸剤をガスとして、水中に適用した燻蒸剤で用いたのと同じ充填比でフラスコに入れた。フラスコの容量は29.5mlで、Mininert弁を備えていた。3種類の土壤（6.4g）、即ちPemberton loam、Sadie peat及びMyaluys sandを用いた。

50

結果

土壌を含有しない小室における毒性

土壌を含有しないエーレンマイヤーフラスコ中で昆虫にガスとして適用した燻蒸剤の毒性を、表1に要約する。完全(100%)死亡率は、平均濃度15.mg/l以上で得られた。そのレベル以下では、死亡率は低減した。平均濃度0.59mg/lでは、死亡率は56%であった。幼虫の95%を殺すための時間生成物による濃度は、約26mg/lで、これは匹敵する試験において記録された臭化メチルに関する数値よりわずかに低い(Mathiesson, Desmarchelier, Vu and Shackleton.未発表結果)。C₂N₂はG. leucolomaに対して、これも土壌燻蒸に広範に用いられる燻蒸剤である二硫化炭素よりかなり毒性が高かった。

水中で適用される燻蒸剤に関する土壌中の毒性

土壌中でのC₂N₂による燻蒸後の1齢幼虫の死亡率を、適用量及び燻蒸剤付加後約23時間目のヘッドスペースにおけるC₂N₂の濃度とともに、表2に示す。完全死亡率を得た。

ガスとして付加した燻蒸剤に関する土壌中の毒性

ガスで付加した燻蒸剤に関する毒性を表3に示す。Pemberton loamに関しては、死亡率は100%で、適用23時間後のC₂N₂のヘッドスペース濃度は平均1.11mg/lであった。Myalufs sandに関しては、死亡率は99%で、適用23時間後のC₂N₂のヘッドスペース濃度は平均0.89mg/lであった。死亡率はピート土壌では0で、燻蒸剤は適用23時間後には検出されなかった。

考察

燻蒸剤C₂N₂は土壌中の主要害虫に対して有効であることを立証した。ガスとして用いても水溶液で用いても、それは土壌中で有効であった。

臭化メチルを含む土壌燻蒸が大気中へのこのガスの放出の主要原因であるため、土壌中にC₂N₂を適用できることは重要である。

表1. 20℃での24時間曝露に関するG. leucolamaに対するC₂N₂

2の毒性

平均濃度 (mg. L ⁻¹)	死亡率
5.1	50 / 50 : 50 / 50
2.3	50 / 50 : 50 / 50
1.5	50 / 50 : 50 / 50
1.27	49 / 49 : 48 / 49
0.99	40 / 50 : 39 / 49
0.59	31 / 50 : 25 / 51
0	0 / 50 : 0 / 50

表 2. 20℃での密封フラスコ (138.5 ml) 中の土壌 (30g) 中での *G. leucolama* に対する C_2N_2 の毒性。Pemberton loam 土壌中の昆虫に対して水に溶解して燻蒸剤を適用した。

適用量 (mg)	23時間目の空気中 の濃度 (mg. L ⁻¹)	適用方法	回収数	
			生存	死亡
0	0	wet	38	0
1.85	0.93	wet	0	44
1.85	0.85	wet	0	46
3.7	3.49	wet	0	32
3.7	3.08	wet	0	48

表 3. 20℃でのMininert弁を備えたマイクロフラスコ (29.5 ml) 中の土壌 (6.4g) 中での *G. leucolama* に対する C_2N_2 の毒性。Sadie peat (S)、Pemberton loam (P) 及びMyaluys sand (M) 土壌中の昆虫に対してガスとして燻蒸剤を適用した。

土壌	適用量 (mg)	23時間目の空気中 濃度 (mgL ⁻¹)	適用方法	回収数	
				生存	死亡
M	0	0	dry	47	4
	0.34	0.085	dry	1	46
	0.34	0.09	dry	0	51
P	0	0	dry	44	6
	0.34	1.05	dry	0	50
	0.34	1.17	dry	0	50
S	0	0	dry	43	2
	0.34	0	dry	47	0
	0.34	0	dry	48	0

実施例 8

フロースルー法を用いた C_2N_2 の適用

目的：昆虫に対する空気中の C_2N_2 の連続流の毒性を測定すること。

材料及び方法

4つに分かれた装置を一系列につないだ。

その4つとは：

- 1 - 容量100LのTedlarガス袋
- 2 - 水槽ポンプ

3 - ガスメーター／ロタメーター

4 - Dreschelヘッド及びポリエチレン管を介して相互に連結する試験管（昆虫小室）のバンクである。

Tedlar袋を通して、次いで昆虫小室を通る空気の流量は、50ml／分であった。

試験した昆虫種は、*Rhyzopertha dominica* (F) CRD 2 系統、*Oryzaephilus surinamensis* (L.) NOS 405 系統及び *Tribolium castaneum* (Herbst) CTC 4 系統であった。

Tedlar袋に空気を充填し、 C_2N_2 を隔壁を介して袋中に注入して空気中の C_2N_2 濃度を一定にした（Tedlar袋はちょうど1回充填量／空いた入口及び隔壁シールを有する）。

ガス袋からの管をポンプの入口に繋いだ。ポンプ出口をロタメーター入口と繋いだ。ロタメーター出口を管のバンクに繋いだ。最後の管を外部にガス抜きした。

室温22～25℃で実験を実施した。曝露期間終了時に、昆虫小室を分断し、直ちに死亡率を査定して「急性」死亡率を出し、さらに30℃で1週間のコムギ上での保持期間後に査定した。

燻蒸剤濃度は、内径0.53mmのDBwaxカラム上での分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフでのガスクロマトグラフィーにより測定した。

用量算出に用いた濃度は測定濃度であった。

結果

結果を表4に要約する。燻蒸剤は、燻蒸剤を空気流中に適用し、これを大気中にガス抜きするフロースルー法を用いた場合の昆虫殺害に有効であった。

考察

大気にガス抜きされる空気流中の有毒ガスを適用する技法を用いてアンモニア及びホスフィンを穀粒に適用する。この低流量法は C_2N_2 に関しても用い得る。

表4．空気流中の C_2N_2 の昆虫に対する毒性

昆虫種	適用量 (mgL^{-1})	曝露時間 (Hrs)	(CxT)生成物 ($mg\ hr\ L^{-1}$)	死亡率 (%)	
				acute	1 week
CRD2	0.04	22	0.88	13	
	0.2	12	2.4	99	100
NOS405	0.07	24	1.68	0.6	20
	1.5	2	3	30	61
TC4	1.0	14	14	100	100
TC4	1.0	5.4	5.4	96	100

実施例9

チャタテムシ (Psocoptera) に対する C_2N_2 の効能

目的：チャタテムシに対する C_2N_2 の毒性を査定すること。

材料及び方法

2種のチャタテムシを試験した。これらは、*Liposcelis bostrichophila* (Badonnel) 及び *Liposcelis entomophila* (Enderlein) であった。一番目の種は単為生殖性で、キャンベラの家の中に侵入したものを捕らえた。*L. entomophila*は有性生殖性で、西オーストラリアで商業用コムギ倉庫に侵入したものを捕らえた。

チャタテムシをガラス小皿に濾紙から払い落としした。それらを傾けて試験小室に払い落として、チャタテムシを計数した。この試験小室とは、ガス注入及びサンプリング用のMini

nerf弁を備えたエーレンマイヤーフラスコ（容量11.5ml）であった。

他の実験では、チャタテムシを紙と一緒に小室に入れ、小室を燻蒸した。チャタテムシは穀粒倉庫及び家屋の害虫であるだけでなく、「本ジラミ」というその一般名が立証するように、図書館、美術館等の害虫でもある。

昆虫の付加及び密封前に、2～3滴の水をフラスコの上部内面に付加した。

結果

L. Bostrichophilaの死亡率を表5に示す。この種の昆虫は迅速に殺害され、0.25mg時/lの時間生成物により非常に低濃度で100%死亡率を得た。

0.25mg/lのC₂N₂を1時間曝露すると、成虫L. bostrichophilaの95%が死亡し、0.5mg/lの濃度で1時間曝露すると100%が死亡した。0.5mg/lを2時間曝露した紙上のL. bostrichophilaを制御すると、成虫死亡率は曝露期間終了時及び1日後の最終査定時には100%であった。

0.5、1.0及び1.5mg/lの各々に1時間曝露した場合、曝露期間終了時に査定して、成虫L. entomophilaの死亡率は100%であった。

考察

燻蒸剤C₂N₂は、室小室及び紙を入れた小室といった種々の状況でのチャタテムシの殺害に有効である。したがって、C₂N₂は公共の建物、図書館、美術館、植物標本館等において、並びに耐久商品又は生鮮商品を蓄えておく状況で有効である。チャタテムシは高湿度を好み、このような状況で作用するC₂N₂の能力は有用である。

表5. L. bostrichophilaに対するC₂N₂の効能

適用量 (mg. L ⁻¹)	曝露時間 (Hrs)	(CxT)生成物 (mg hr L ⁻¹)	死亡率 (%)	
			曝露後	1 日
0.5	1	0.5	100	100
0.25	1	0.25	100	100
対照	1	0	12	12

実施例10

再循環系におけるC₂N₂の適用及び昆虫に及ぼす作用

目的：C₂N₂を再循環系に適用し得るか否か、及び連続ガス流中に適用したC₂N₂が静止条件下で適用した場合より高い毒性を有するか否かを調べること。

材料及び方法

ポンプ、ガス溜め（20Lガラス瓶。磁気攪拌器で攪拌）、燻蒸剤の注入のための及びガス濃度サンプリングのための隔壁、並びに各々容量20mlの6本のDreschel試験管から成る再循環系を確立した。昆虫、典型的には成虫20匹を各試験管に入れた。ポンプを動かしながら、燻蒸剤を系に注入した。再循環により濃度が系全体に均一になった後、6つの昆虫小室のうち3つを分断して、直ちに密封した。残りの3小室は再循環中のままであった。分断小室を静止状態に保持し、再循環ガス濃度にした小室を全実験で等期間、同一温度（22～24℃）で投薬した。

被験昆虫はRhyzopertha dominica (F) C R D 2系統及びTribolium castaneum (Herbst) C T C 4系統であった。

曝露期間終了時に死亡率を査定して「急性」死亡率を出し、さらに30℃、相対湿度55%でコムギ上での2週間の保持期間後に査定して「最終」死亡率とした。あらゆる記載項目についてなんの動きも示さない場合には、昆虫は死亡と分類された。

結果及び考察

結果を表6に示す。死亡率は、各々の種に関して流動状態で投与した小室中の方が高かつ

た。しかしながら、再循環及び静止曝露からの結果の間の差は大きくはなかった。

考察

燻蒸剤 C_2N_2 は、再循環しながら用い得る。結果は、燻蒸剤が空気流中に分布し、強制再循環を停止してもしなくても有毒であることを立証した。したがって、継続でも分断でも、再循環は昆虫及びその他の害虫の制御のために選択できるものを増大する。*R. dominica* に対する22時間曝露に関する毒性濃度は、低い 0.04mg/l (約 20ppm , V/V) であった。これは働きバチに関する TL_{50} の2倍に過ぎない。したがって、昆虫に対する毒性用量対 TL_{50} の比は予想外に低い。

表 6. 静止及び流動状態下の C_2N_2 濃度に曝露された *R. dominica* 及び *T. castaneum* の死亡率

昆虫種	適用量 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	曝露時間 (Hrs)	(CxT)生成物 ($\text{mg} \cdot \text{hr} \cdot \text{L}^{-1}$)	死亡率 (%)	
				急性	最終
RD2	f-0.04	22	0.88	13	29
RD2	s-0.04	22	0.88	6	14
TC4	f-1.0	5.4	5.4	95.6	77
TC4	s-1.0	5.4	5.4	89.3	70

f = 実験期間中の連続ガス流量 ($50\text{ml}/\text{分}$)

s = 静止無ガス流 (ガス流確立後に停止)

実施例 1 1

昆虫に対する C_2N_2 の毒性に及ぼす湿度の作用

目的:

1. 昆虫に対する C_2N_2 の毒性に及ぼす相対湿度の作用を調べること。
2. C_2N_2 が水溶液で、並びにガス形態で有毒であるか否かをみること。

材料及び方法

方法 1

昆虫付加前に 275ml フラスコ中に種々の湿度を発生させた。次いで、フラスコを隔壁入口で密封し、同一量の C_2N_2 を投与した。保持期間、湿度等について同一条件下で毒性を測定した結果、唯一の変数はフラスコ内の相対湿度であった。

3種類の湿度を発生させた。第一の方法では、フラスコを湿度30%で室温で放置し、第二の方法では、フラスコを湿度60%で室温で放置した。第三の方法では、濾紙 (Whatman No. 1) の湿片をフラスコの側面に張りつけて、実験中に可視的水分は観察できるが昆虫は水と接触しないようにした。

方法 2

この方法では、予め室温空気に対して開けたままにしておいたエーレンマイヤーフラスコ (270ml) 中のコムギ (20g) 上の昆虫に、2つの方法で C_2N_2 を付加した。一方法では、燻蒸剤をガスとして付加し、第二の方法では、水 (0.1ml) の溶液で付加した。全生物検定条件は、適用方法を除いては同一であった。

内径 0.53mm の DBwax カラム上での分離後、熱電子特殊検出器を装備した Varian 3300 ガスクロマトグラフを用いたガスクロマトグラフィーにより、適用した燻蒸剤の量を測定した。被験昆虫は *Rhyzopertha dominica* C R D 2 系統であった。方法 1 の場合には 30°C で穀粉上で2週間の保持期間後に、方法 2 の場合には1週間の保持期間後に、死亡率を査定した

。
結果

方法 1

成虫 *R. dominica* に対する C_2N_2 の毒性に及ぼす相対湿度の作用を表 7 に示す。燻蒸剤の毒性は高湿度で増大した。この作用は、広範囲の濃度で、そして広範囲の曝露期間に亘って観察された。

方法 2

適用方法の影響を表 8 に示す。燻蒸剤は、ガスとして適用したか溶液で適用したかにかかわらず、有毒であった。

考察

高湿度での燻蒸剤の活性の増強は、特に作用の大きさに関しては、予想外の作用である。高相対湿度は燻蒸剤に相乗作用を及ぼし、水は相乗剤であるとみなされる。

ガスとして並びに水溶液として燻蒸剤を適用できることは、新規のことである。それは、部分的には水中の燻蒸剤の溶解度に依っている。この溶解度は高く、Merck Index は、1 容量の水は約 4 容量の気体を溶解すると述べている。これは、水 1 ml 当たり C_2N_2 約 8mg の水性濃度を生じる。飽和溶液は約 0.15M である。水に適用された C_2N_2 の毒性も部分的には、ガスが高湿度で毒性を示すという事実 に依っている。これは、水中適用が一般的に相対湿度を上げる作用を有するためである。

したがって、2 つの例外的作用、即ち水による活性増強及び水中に燻蒸剤を適用できることが認められる。

第一の作用は、多数の領域で、特に相対湿度が高い場合、例えば温室、野菜及び切り花を入れる密閉領域、熱帯気候並びにその他の高湿度の領域で有用である。

水溶液として燻蒸剤を適用できることは、多数の領域で有用である。例えば、耐久又は非耐久商品、植物、滅菌小室及び空小室に燻蒸剤を噴霧し得る。大規模適用にポンプを介して、小規模適用には注射器で適用し得るし、そして、より複雑な手法であるガス容量の測定から明らかなように、他の方法によって液体の容量を測定し得る。

水中の C_2N_2 の高溶解度はさらに、ガスクロマトグラフのような高価な機械類を必要としない化学的手法により、定量を容易にする。

表 7. *R. dominica* に対する C_2N_2 の毒性に及ぼす燻蒸小室中の相対湿度の作用

適用量 (mgL^{-1})	曝露時間 (Hrs)	相対湿度	(CxT)生成物 ($mg\ hr\ L^{-1}$)	(%) 死亡率 2 週間
0.375	17	wet	6.6	100
0.375	17	60%	6.3	100
0.375	17	dry	6.3	94
0.375	2	wet	0.75	35
0.375	2	60%	0.75	20
0.3752	2	dry	0.75	1
1.25	0.4	wet	0.52	100
1.25	0.4	60%	0.52	92
1.25	0.4	dry	0.52	8

表 8. ガスとして又は水溶液で適用した C_2N_2 の毒性

適用量 (mgL^{-1})	曝露時間 (Hrs)	適用法	(CxT)生成物 ($mg\ hr\ L^{-1}$)	死亡率 (%)
				1 week
0.8	2.16	wet	1.7	100
0.8	2.16	dry	1.7	100
0	2.16	control	0	5
1.25	0.4	wet	0.5	2
1.25	0.4	dry	0.5	4
0	0.4	control	0	2

10

実施例 1 2

Bactocera (以前はDacus) tryoni(Froggart)に対する C_2N_2 の毒性

目的: Bactocera tryoni(Froggart) (クイーンズランドミバエ) に関する C_2N_2 の致死用量を測定すること。

20

方法及び材料

初期幼虫 (20匹) をPerspexのストリップで支持された濾紙の湿ストリップ上に置いた。このストリップをすりガラス隔壁シール上蓋で密封するエーレンマイヤーフラスコ内に入れた。 C_2N_2 ガスを隔壁シールを介してフラスコ内に注入した。曝露後、上蓋を取って、フラスコを空気流で30秒間洗い流し、次いで30分間空気に曝した後、紙で密封した。

結果

結果を表 9 に示す。

1.5mg/lで2時間投与して、完全制御を達成した。時間による濃度 (C x T) 生成物は低い3mg時/lであった。

30

考察

クイーンズランドミバエは果物の重要な害虫であり、オーストラリアの一部並びに多数の輸入国における検疫制限の対象である。それは双翅目の代表例でもある。結果は、高湿度の環境における C_2N_2 の効力を立証した。

さらに別のデータ及び液体としての C_2N_2 の適用によるデータを略記した実施例 1 1 に参照し得る。

表 9. 種々の濃度の C_2N_2 に曝露した *B. tyroni* の死亡率

適用量 (mgL^{-1})	曝露時間 (Hrs)	CxT 生成物 ($mg\ hr\ L^{-1}$)	死亡率 % 曝露終了後 48 時間目
0.05	2	0.1	0
0.05	24	1.2	2.5
0.2	2	0.4	0
0.75	2	1.5	40
0.8	2	1.6	62.5
1.5	2	3	100
3	2	6	100

実施例 1 3

ガス流からの C_2N_2 の除去

目的：ガス流から C_2N_2 を除去するための手順を調べること。

材料と方法

三つ首フラスコ（容量 500ml）で一つの首は燻蒸剤の注入のための隔壁を備え、一つはガス（例えば窒素）の供給のために結合された。燻蒸剤の排出のための第三の首は、トラップの前のサンプリング隔壁（入口隔壁）、トラップ、及びトラップの後の第二サンプリング隔壁（出口隔壁）を有する内径 6mm のガラス管に結合された。

試験したトラップは、内径 6mm のガラス管内の粗砕化木炭で、粗砕化木炭の長さは 157mm 及び 530mm、水に溶解したエタノールアミンの 5% 溶液、ドライアイス及びドライアイスで取り囲まれた化学的トラップを伴わない小（55mm）木炭トラップであった。ドライアイストラップの場合、流出ガスを Dreschel 瓶中に通し、ドライアイスに包み、サンプリング隔壁を Dreschel 管の入口及び出口に置いた。

少量の燻蒸剤（典型的には 0.5ml、約 1mg）を三つ首フラスコに入れた。ガスの標本（50 μ l）を入口隔壁から採取して、ガスクロマトグラフ中に注入し、出口隔壁での標本に関しても同様の手法を用いた。内径 0.53mm の BP624 又は DBwax カラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備した Varian 3300 ガスクロマトグラフで燻蒸剤濃度を測定した。

結果

長さ 157mm の木炭トラップ（図 3－粗砕化木炭を含有する短ガラスカラム中でトラップされた C_2N_2 －参照）を用いて、少量の燻蒸剤を出口サンプリング点で検出した。長い方のトラップ（530mm）は全燻蒸剤を吸収した（図 4－粗砕化木炭を含有する長ガラスカラム中でトラップされた C_2N_2 －参照）。水に溶解したエタノールアミンの溶液も十分に有効であった（図 5－水に溶解したエタノールアミンの 5% v/v 溶液でトラップされた C_2N_2 －参照）。このトラップを用いた場合、長木炭トラップを用いた場合のように、燻蒸剤は長期パージで検出されなかった。ドライアイストラップは、ドライアイスが存在する間（150 分）は、十分有効であった。ドライアイス除去すると、系は燻蒸剤をトラップしなかった（図 6－いかなる化学的トラップも用いずにドライアイスでトラップされた C_2N_2 －参照）。ドライアイスを用いた小木炭トラップは、ドライアイス除去後も十分有効であった（図 7－ドライアイスで囲まれた小木炭カラム中でトラップされた C_2N_2 －参照）。しかしながら、ドライアイス及び入口系除去後、いくつかの燻蒸剤はトラップから入口サンプリング点に移動したが、出口サンプリング点へは移動しなかった。

考察

これらのトラッピング結果は予想外ではなく、公知の特性と十分一致した。したがって、

ガスは、回収可能な方法で、その沸点以下でトラップされると予測され、化学物質が急速に破壊されるような方法で、 C_2N_2 がアミン（この場合はエタノールアミン）と迅速に反応することは公知である。木炭でのトラッピングも一般的手法であり、常に収着に関する場合であるので、溶媒の量のような条件は流量、燻蒸剤の量等により状態設定に調整されねばならない。

しかしながら、ガス流中で燻蒸剤をトラップできることは、そして燻蒸剤を破壊するか又は選択により回収され得る方法でそれをトラップできることは有用である。

トラップの一覧表はすべてを網羅するわけではなく、トラッピング法それ自体に関して目新しいことは特許請求されていない。トラップできるのはパッケージの一部である。

実施例 14

10

空気又は水の除去に関連した方法を除く、燻蒸後の空气中又は水溶液及びその他の溶液中の C_2N_2 の除去方法

目的：ガス抜き又は除去以外の方法による空気又は液体から C_2N_2 を除去するための安全性及び迅速な方法を提供すること。

材料及び方法

燻蒸剤を、Mininert弁を取り付けたフラスコ又は隔壁入口を取り付けたエーレンマイヤーフラスコのような密封フラスコに入れた。これらのフラスコにアンモニア溶液又はエタノールあるいは漂白剤（過酸化水素）のような一般家庭用試薬を付加した。燻蒸剤の減衰を終わりまで測定した。

別の実験では、水（20ml）に溶解したアミンの溶液を隔壁入口を取り付けた270mlフラスコに入れて、磁気攪拌器で攪拌した。燻蒸剤を隔壁を通して注入し、その減衰をモニタリングした。内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフで全測定を実施した。

20

結果

ヘッドスペースからの燻蒸剤の消失を、投与後の時間に対する燻蒸剤の濃度をプロットした図8で説明する。図9では、この損失を一次減衰（等式1）に関するプロットにしたがってプロットする。垂直尺度は、初期濃度に対する t 時点での濃度の比の対数を記録する。枯渇は e^{-7} （約1000）の範囲を包含する。

11.6mg/lの濃度で C_2N_2 に0.5mlの水性アンモニア（31%，w/w）を付加すると、燻蒸剤の急速な損失が生じた。適用濃度 C^* の割合としての濃度 C は、等式1にしたがって時間 t （分）とともに指数関数的に減少し、 r^2 値は0.9966であった。半減期、即ち濃度が半減するのに要する時間は、59秒であった。 C_2N_2 の濃度は、11分後に10ppmの T L V 値以下に落ちた。

30

$$\ln(C/C_0) = 4.4 - 0.699t \quad \text{等式 1}$$

メタノール中の0.42Mベンジルアミン25mlを含有する120mlフラスコに C_2N_2 ガス（5ml）を付加すると、燻蒸剤の非常に急速な損失が生じて、測定が可能であった時点以前（15秒前）の燻蒸剤損失値の99%以上となった。ガス濃度は8分で約40,000ppm, v/v（理論適用量）から10ppm未満の T L V 値に低減した。0.2M炭酸ナトリウム（洗濯ソーダ）に関する濃度は26分で同様の量だけ低減した。

ヘッドスペースにおける濃度が T L V 濃度未満に低減していた場合には、液体中の濃度を測定し、検出できなかった。したがって、ヘッドスペースからの急速な消失は分解によるもので、単に吸収に依るものではない。

40

水に溶解した過酸化水素（3%，v/v）5mlを2960ppmシアン化水素（v/v）を含有する270mlフラスコに付加すると、ヘッドスペース内のシアン化水素の急速な損失が生じた。減衰はほぼ指数関数的で、半減期は1.8分であった。14.2分後に、濃度は10ppm, v/vの T L V 値より低くなった。 C_2N_2 の濃度は過酸化水素に関しては相対的に安定していた。

考察

C_2N_2 のアミンとの反応は、生成される生成物の観点から十分研究されている（Brotherton and Lyn, 1959）。そうであっても、反応速度は意外であった。手法の目新しさは、全手順の一部としてそれを用いることにあった。即ち、燻蒸剤を密閉小室に導入し、保持し

50

得るが、しかし濃度は、アンモニアのような化学物質の付加により迅速に消えた。したがって、トラッピングにより C_2N_2 を除去し得る（実施例 13 と比較）が、しかしガス抜きの必要なく密閉空間からそれを除去する一般的化学物質の付加によっても除去し得る。

アミンの溶液との反応によるガス相での C_2N_2 の急速な分解は、ガス流からの C_2N_2 の除去の項でも立証されたが、この場合、エタノールアミンの水溶液中にガスを発泡させる簡単な手法が燻蒸剤を破壊することが示された（実施例 13 参照）。

本手法は、多数の領域に用いられる可能性がある。例えば、それは密閉室を燻蒸終了後の短時間にヒトが入っても安全であるようにするために用いるし、小規模又は大規模燻蒸小室に、温室に、あるいは C_2N_2 濃度を迅速に低減するのが望ましい他の状況に用い得る。

10

空気流中でのトラッピング以外の方法により、並びにアンモニアのような一般化学物質の付加により燻蒸剤濃度を迅速に破壊できることは新規であり、他のいかなる燻蒸剤にも適用されたことがないが、しかしこのような燻蒸剤はより複雑な手法により破壊され得る。シアン化水素は同様の手法により破壊され得るが、しかし、家庭用化学物質を用いて、臭化メチル又はホスフィンのような燻蒸剤を破壊するための簡単な方法はない。洗濯用ソーダ及びペルオキシドのような試薬の組合せを用いて、 C_2N_2 及び存在する任意のシアン化水素を除去し、破壊し得る。

実施例 15

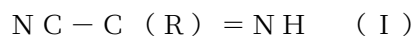
シアン及び考え得る代謝生成物の化学作用

シアンの化学作用は、Brotherton and Lyn, 1959により再検討去れている。Brotherton and Lyn, 1959が略記した多数の反応、例えば高温での反応は、穀粒における又は哺乳類系における代謝にほとんど直接関連しないものである。しかしながら、多数の反応は水中で又はエタノールのような水溶性溶媒中で室温で起きる。

20

1. 穀粒における代謝に関連すると思われる化学作用

主な初期反応は、三重結合（CN 結合）による付加である。これは生成物又は中間物質を生じる（I）。二次付加は、生成物を生じる（II）。シアンと反応する化学物質としては、 α 水素を有する第一及び第二アミン、アルコール、活性水素（例えば、カルボニル基又はエステル基に隣接するもの）及びアルデヒド、即ちエノール形態で反応し得るものが挙げられる。



30



アミン、アルコール又は活性炭素から生成される R を有する（I）及び（II）型の化合物は、さらに生物分解性であると予測される。（I）型の中間生成物は HCN 及び 1 炭素単位（「ホルメート」誘導体）に切断され、これは希釈水酸化ナトリウム中で起こる（Nauman, 1910）。（II）型の中間生成物は 2 炭素単位（「オキサレート」誘導体）に酸化される。

Matheson データシートは、水中で、シアンは、より複雑な化学物質、アズルミン酸の他に、持続的にシュウ酸アンモニウム、ギ酸アンモニウム、シアン化水素及び尿素の混合物に漸次分解する、と述べている。Merck Index (1989) は、それは水溶液中で徐々にシュウ酸及びアンモニアに加水分解される、と述べている。したがって、水中では、分解はホルメート及びオキサレート経路の両方の結果として起こり、後者が優勢である。ギ酸及びシュウ酸は天然構成成分中に広く分布する。例えば、シュウ酸は正常尿の構成成分であって、ヒトが排泄する平均量は 20~50mg/日 (Oser, 1966) であるが、しかし尿中シュウ酸はある疾患（シュウ酸塩尿）においては増大する。ギ酸も尿中に存在し (Oser, 1966)、0.1% までの量で乾燥果物及び穀粒中に存在する（我々の研究室からの未発表結果）。ギ酸はほとんどの緑色野菜、特にホウレンソウ（0.0~0.9% シュウ酸）及びダイオウの葉（1.2%）に存在する。

40

穀粒のシアンの代謝は、結局は、標識化物質を用いて試験しなければならない。しかしながら、（I）及び（II）型の化合物がそれらのさらなる分解生成物とともに生成されるものと思われる。生成されるシアン化物の量はホルメート経路による代謝の量の指標を示

50

し、標準手法を用いて測定し得る。

2. 輸送及び貯蔵中の安定性に関連した化学作用

シアンの安定性はWelcher等(1957)により研究されており、彼らはシアンが中等度の温度で急速に分解又は重合せず、安定剤の非存在下でモネルMonel又はステンレススチールシリンダー中に安全に貯蔵されると結論づけた。シアンに関するMathesonデータシートは、ステンレススチール、モネル及びインコネルinconelは65℃までであるので、シアンを運搬又は処理加工するには、ガラス内張り装置が適している。

シアンのシリンダーの輸送は、適切な標識を用いて、米国で承認されている(読者は実施例23を参照)。

シアンは、アセチレンと同一の大きさの高潜伏性エネルギーを含有し、混合した場合にフッ素のような酸化剤と爆発的に反応し得る。

空気中のシアンの易燃性は6~32%,v/v(Mathesonデータシート)又は6.6~32%, v/v (Sax and Lewis, 1989)である。

引照

実施例37ではベンジルアミン及びシアンを用いてin vitro試験を実施したが、これは、このモデルアミンがシアンを分解し、それ自体は分解されないことを示した。即ち、それは触媒として作用する。非常に高用量での穀粒上での試験は、 C_2N_2 のシアン化水素への分解が小経路であることを示した(実施例3及び38)。

実施例16

密封ガラス容器中のコムギ上の C_2N_2 の収着及び安定性 20

目的：完全密封系で測定したように、生存力に関する試験に、昆虫毒性に関するいくつかの試験に、並びに残留物の運命に関するいくつかの試験に用いた条件下で、コムギ上の C_2N_2 の収着を測定すること。

材料及び方法

含水量11.6%のオーストラリア標準白色コムギ(20g)を、隔壁を備えた270mlエーレンマイヤーフラスコに入れた。燻蒸剤をこの容器に適用し、コムギを含まない等価の容器にも入れた。この空のフラスコを用いて適用濃度 C_0 を算出した。110時間の期間中の計時間隔で、 C_2N_2 のヘッドスペース濃度を測定した。内径0.53mmのBP-624カラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフで燻蒸剤を測定した。

適用濃度を各サンプリング間隔に測定し、測定濃度を各サンプリング間隔に調製した等価標準と比較した。 30

ヘッドスペース内の濃度をサンプリング時間に対してプロットし、ヘッドスペース濃度の損失を収着として表した。

結果

ヘッドスペース内の燻蒸剤の減衰を図10aに示すが、この場合、それは適用濃度の比として表される。曲線は、ヘッドスペース濃度の急速な初期低下とその後のほぼ指数関数的な減衰の典型的パターンを示す(図10b)。この「指数関数的」減衰において、半減期、即ち濃度が半分になる時間は約43時間であった。

対照標本は、100時間を超える期間中燻蒸剤の損失を示さなかった。したがって、 C_2N_2 は密封ガラス容器内の空気中では安定である。 40

考察

収着の形態(即ち、ヘッドスペース濃度の損失)は燻蒸剤に関しては異例ではない。所望により、算出用量を修正してコムギが占める空間を説明し得る。これは、3.7%だけ C_0 が増大した影響を示し、半減期にいかなる作用も及ぼさずに一定の作用を生じた。

規定の条件下での空気中の C_2N_2 の安定性は、満足すべき結果である。それは、毒性又は残留物に関する試験の場合を含めた実験手法を確かに容易にする。密封ガラス容器内の空気中の安定性はさらに、コムギ上の収着が漏れ、ガラス上での分解等というよりむしろ商品に依るように推論の結果を正当化する。

制御条件下の燻蒸剤の安定性は、特殊燻蒸手法の適用の可能性を有する。例えば、このような場合は、長期曝露を要する滅菌である。燻蒸剤の分解が起きる状況では、長期曝露は 50

フロースルー法により、あるいは適切な又は望ましい濃度を維持するために付加される燻蒸剤を用いた再循環により達成し得る。他の状況では、空気中の燻蒸剤の安定性は燻蒸、滅菌性維持等に有用な手段である。

その他の収着試験は、コムギ（実施例 2 6）、土壌（実施例 4 2）及び木材（実施例 3 3）に関して報告される。

密封ガラス容器内の空気中の C_2N_2 の安定性は、大気、日光等の中の水を含めた他の化学物質の存在のために、大気中でのその安定性と直接関連しない。

実施例 1 7

植物上の昆虫侵襲を制御するための浸液としての水性 C_2N_2

目的：植物材料上の昆虫を殺すための浸漬液としての C_2N_2 の効能を査定すること。

10

材料及び方法

害虫昆虫の天然侵襲を有する下記の 2 種類の鉢植え植物を地方の種苗園から得た：アリマキ（Aphididae 科）及びコナカイガラムシ（Pseudococcidae）が感染したジャーマンアイビー German Ivy（Seneciomikanoides）（G I）、及びコナカイガラムシが感染した China Doll（Radermachia sinica）（C D）。各植物の短い節（約 5cm）をそれらが昆虫の代表的標本を包含するように切断した。次に、これらを水道水、水道水と C_2N_2 、水道水と一般的湿潤剤、並びに水道水、湿潤剤と C_2N_2 の溶液中に浸漬した。

2 時間後に昆虫死亡率を査定し、細いブラシを用いてコナカイガラムシを注意深く取り出して、それらの足が動いているか否かを見るために検分し、動きに関してにアリマキを簡単に検分し、動きの欠如を査定して死亡を指摘した。

20

使用した湿潤剤は、水道水 400ml に 1 ml の割合の Teric215（ICI、オーストラリア）であった。容器（約 130ml）中の水又は水／湿潤剤溶液 40ml 中に約 80% の濃度の C_2N_2 ガス 4ml を発泡させ、そして 2 分間激しく攪拌しながら、 C_2N_2 溶液を作った。

結果

植物材料は、種々の処理による病的作用を示さなかった。2 つの主要昆虫目からの昆虫を殺害した。水からの制御死亡率は、湿潤剤を用いても用いなくても、ゼロであった。

湿潤剤	NF2	植物	昆虫	死亡／生存
No	No	GI	Aphid	生存
No	No	GI	M. Bug	生存
Yes	No	GI	Aphid	生存
Yes	No	GI	M. Bug	生存
No	No	CD	M. Bug	生存
Yes	No	CD	M. Bug	生存
No	Yes	GI	Aphid	多少死亡
No	Yes	GI	M. Bug	多少死亡
Yes	Yes	GI	Aphid	死亡
Yes	Yes	GI	M. Bug	死亡
No	Yes	CD	M. Bug	多少死亡
Yes	Yes	CD	M. Bug	死亡

30

40

考察

C_2N_2 を含有する水溶液は、植物材料上の昆虫を殺害するための浸液としての可能性を有する。必要な濃度はまだ確認されておらず、必要な制御レベルにより、並びに処理される

50

昆虫害虫によって疑いなく変化する。湿潤剤の使用が殺虫剤浸液としての C_2N_2 の効力を増強するということが明らかである。他の昆虫（例えば実施例36）の制御との、及び水中に適用される燻蒸剤による制御（例えば実施例7）と引照される。本燻蒸剤は、アリマキ科Aphididae及びコナカイガラムシ科Pseudococcidaeからの昆虫を殺害した。

実施例18

コムギの発芽に及び液体組成物に及ぼす C_2N_2 の作用

目的：コムギ生存率に及びコムギの液体組成物に及ぼす C_2N_2 の作用を査定すること。

材料及び方法

使用したコムギは殺虫剤不使用オーストラリア標準白色コムギAustralian Standard White (ASW, 含水量約11.4%, w/w湿潤基準) であった。適量の水を付加後に、一部を条件調節して平衡させた。25°C±1°Cで1週間後、標本は、46.9%、69.3%及び79.6%の平衡相対湿度（e.r.h.）に対応して、11.4%、13.8%及び15.5%の含水量を有することが判明した。含水量（湿潤基準）は、130°Cで2時間のオープン乾燥により粉碎標本の塊の損失から算出した。e.r.h.は、1kgのコムギ標本を含入する閉ループに置いたMBW冷却鏡露点計で観察された測定平衡露点から算出した。

状態調節コムギ標本（30g）を、隔壁入口を備えた270mlエーレンマイヤーフラスコ（充填率約10%）の中に入れた。燻蒸剤をヘッドスペースに注入し、異なる含水量の4つのコムギ標本の各々に関して、並びに25±1°Cでの3つの異なる曝露期間（24、48及び96時間）に関して、5レベルの燻蒸剤（5、10、20、40及び80mg/l）及び対照を用いた。発芽前に、コムギをペトリ皿に移して、24時間空気に曝した。

International Seed Testing Association Methodsに記載されている原則にしたがって、発芽試験を実施した。50粒の種子に約40mlの蒸留水を含ませて、2枚の巻締縮緬濾紙（各々500x330mm）に包んだ。種子計数板を用いて、種子をシートの上半分（即ち250x330mm）に3cm離して並べ、その下半分を折り畳んでその区画を覆った。二重になったシートの各々に水を含ませて、底面に垂直に、一方の側から他方へ緩く巻いた。次いでそれを輪ゴムで保持して、20°Cで発芽キャビネットの上右部分に置いた。4日後（成長力試験）及び8日後（総発芽試験）に、発芽した種子の数を計数した。各実験を4回繰り返した。

液体組成物に及ぼす C_2N_2 の作用を測定するために、40gのオーストラリア標準白色コムギAustralian Standard White (ASW, 含水量約11.4%, w/w湿潤基準) を、隔壁を備えたネジ式上蓋付き750mlガラス壺中で100mg/lで48時間燻蒸し、石油エーテル+ブタノール（2：1 v/v）／温水飽和ブタノールで脂質を抽出した。さらに、ヘキサンを用いたSoxhlet抽出により抽出したコムギからの脂質及び市販のコムギ胚芽油を非常に高レベルで C_2N_2 で燻蒸し、次いで、270mlエーレンマイヤーフラスコ内で、00mg/lの燻蒸濃度で1gの油を20°C及び30°Cで48時間燻蒸した。紫外線分光分析及びFourier変圧赤外線分光分析により、脂質組成物を測定した。UVに関しては、340nmで吸光度を測定し、IRスペクトルは、四塩化炭素では、1000～4000波数の範囲に及び、波数1740、2850、2930及び3000で定量された。

結果

成長力に及ぼす C_2N_2 の作用を図11に要約する。5mg/lの適用濃度では、作用は認められなかった。これは、45mg/kg（コムギ）、w/w、即ちコムギ1kg当たり45mgの燻蒸剤の適用に相当する。10mg/lの高用量適用からは発芽のわずかな低減が認められたが、試験した3つの湿度のうち1つに関して作用が有意であっただけである。

発芽に及ぼす C_2N_2 の作用を図12に示す。10mg/lの適用濃度では発芽についての影響は認められなかった（図2）。これは、90mg/kg（コムギ）の適用に相当する。40mg/l又はそれ以上（180mg/kg）の濃度は、発芽をかなり損傷した。

図11及び図12の結果は、2つの異例の特徴を示す。第一に、24時間から48時間又は96時間への曝露時間の増大は、発芽にほとんど影響を及ぼさなかった。第二に、発芽の損失に及ぼす含水量の作用は予想に反しており、乾燥穀粒より湿潤穀粒に及ぼす影響の方が低かった。

UV及びFTIRで査定した場合、コムギ又は油の燻蒸から、脂質組成物に及ぼす影響は

10

20

30

40

50

観察されなかった（図13）。油の燻蒸の場合、適用量は油1kg当たり燻蒸剤27,000mgであった。さらに、モノグリセリドとして算出した場合は、脂質1モル当たり約0.1モル、あるいはトリグリセリドとして算出した脂質に関しては、モル比率の約3倍であった。

考察

これらの実験では燻蒸剤の濃度を測定しなかったが、それは同様の条件下で得られたデータから概算し得る。したがって、含水量11.4%、適用濃度10mg/lのコムギでは、濃度時間生成物はほぼ9000mg時/lである。これは、ほとんどの昆虫の種及び段階を殺害するのに必要な用量を数等級上回る量である。したがって、さらに試験したとしても、発芽に関する結果は、穀粒に影響を及ぼさずに燻蒸剤を使用できるということと一致する。

脂質に及ぼすC₂N₂の作用に関する実験を、より実行可能レベルでのコムギにおける実験が作用を示さなかった後に、非常に高レベルで実施した。非常に高レベルであっても、作用は観察されなかった。

実施例19

C₂N₂による細菌の制御

目的：細菌、特に医学的に重要な細菌に対するC₂N₂の効能を調べることで、並びにそれが水性及び非水性培地の両方に有効であったか否かを調べる。

材料及び方法

全手法が滅菌装置及び試薬を用いた。

3種類の細菌株を試験した。これらは、バチルス属のバチルス・セレウス (*Bacillus cereus*)、シュードモナス属の緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 及びブドウ球菌属の黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) であった。菌株は、キャンベラ大学のSchool of Human and Biomedical Scienceからの提供によるもので、感染におけるその重要性、他の手法による制御の難しさ、及びそれらの異なる生息環境のために選択された。

水中での細菌に対する燻蒸剤の効能を試験するために、5ml瓶内の2mlの蒸留水中に接種物を入れた。2本の瓶を、隔壁を備えたネジ式上蓋付きの700mlガラス壺内に入れた。隔壁を通して燻蒸剤を適用し、濃度を0、20、40、80、120及び160mg/lとした。壺を20時間及び40時間、35℃に保持した。次いで蓋を取り外して、容器を4時間空気に曝した後、普通ブイヨン2mlを付加した。ブイヨンを37℃で24時間インキュベート後、生存細菌を査定した。

非水性培地中のC₂N₂の効能を試験するために、普通寒天7mlを10ml瓶中に入れて、細菌の接種物を坂路表面に載せた。投与手順は、水中の細菌に関して記載された手法と同様であった。

水性培地に関して、以下の3つの方法で、制御測定 of 効能を試験した：

- 1) 普通ブイヨン付加前の水の色；
- 2) インキュベーション後の水及びブイヨンの添加物の透明度；
- 3) ペトリ皿内の寒天上での平板化前の定量的細菌計数。連続希釈を実施した。連続希釈に際しては、元の接種物を一連の希釈管中で希釈した。われわれの実験では、各々の後の希釈管は前の管中の細菌数の10%だけを含入した。即ち、20µlの標本を180µlの滅菌水を含入する試験管に移した。

非水性培地における制御に関しては、第三の手法、即ち寒天上での平板化後の定量的計数のみを用いた。

結果

水性培地

水中の細菌に関しては、緑膿菌*Pseudomonas aeruginosa*の場合は、普通ブイヨンは対照では曇ったが、全レベルの燻蒸剤に関しては透明で黄色となった。したがって、この菌株は20時間曝露に関しては、20mg/l及びそれ以上の用量で制御された、バチルス属の*Bacillus cereus*に関しては、120mg/l及びそれ以上の用量で、溶液は透明で黄色となった。

普通ブイヨン付加前の視覚的査定は、良好且つ予期せぬ制御レベル表示を提供した。細菌の死亡率が完全であった場合、水性溶液は黄色になり、一方細菌が制御されなかった場合は曇ったままで、黄色くならなかった。

10

20

30

40

50

計数後の定量的査定を表 1 1 に示す。

表 1 1 . 20時間及び40時間の曝露時間中の細菌の制御に及ぼす水性培地中の C₂ N₂ の作用

用量 (mg/L)	Bacillus cereus (%制御)		Pseudomonas aeruginosa (%制御)	
	20時間	40時間	20時間	40時間
対照	v	v	v	v
20	v	v	100%	100%
40	v	v	100%	100%
80	10%	30%	100%	100%
120	50%	100%	100%	100%
160	100%	100%	100%	100%

v 細菌増殖正常

非水性培地

定量的査定結果を表 1 2 に示す。

表 1 2 . 20時間及び40時間の曝露時間中の細菌の制御に及ぼす非水性培地中の C₂ N₂ の作用

用量 (mg/L)	Bacillus cereus (%制御)		Pseudomonas aeruginosa (%制御)		Staphylococcus aureus (%制御)	
	20時間	40時間	20時間	40時間	20時間	40時間
対照	v	v	v	v	v	v
10	v	v	v	80%	v	75%
20	v	v	100%	100%	100%	100%
40	20%	80%	100%	100%	100%	100%
80	100%	100%	100%	100%	100%	100%
120	100%	100%	100%	100%	100%	100%

v 細菌増殖正常

考察

本燻蒸剤は、水性及び非水性培地の両方で、細菌の重要菌株を制御した。これは、空気及び水中で活性である燻蒸剤の能力を反映し、水中の溶解度並びに水及び空気間の相平衡に基づいている。2つの相に作用するこの能力は、実験室、病院、歯科及び獣医科の建物、食品用建物における、並びに細菌が水性培地、非水性培地又は両方の組合せに見出される全状況における滅菌に非常に有用である。

試験した細菌としては、自動性、好気性及びグラム陰性であるシュードモナス属、並びに非自動性、嫌気性及びグラム陽性であるブドウ球菌属が含まれた (Blackston, 1979)。バチルス属の *Bacillus cereus* は「食中毒を引き起こす属」であり、好気性及びグラム陽性である (Miller and Keane, 1983)。Miller と Keane は、シュードモナス属を「グラム陰性で、全く嫌気性の細菌であり、このうちいくつかの種は植物及び脊椎動物に対して病原性である」と記載している。緑膿菌 *P. aeruginosa* は「青色膿」及び「種々のヒト疾患」を引き起こし、*P. mallei* は鼻疽を引き起こし、このウマの疾患はヒトに伝染する」 (Miller and Keane, 1983, p929)。ブドウ球菌属は、「限局性化膿性感染の最も一般的な原因」である (Miller and Keane, 1983, p1057)。Blackston (1979) によれば、黄色ブドウ球菌 *S. aureus* は「ヒト及び動物における種々の臨床的障害、例えば膿瘍、心内膜炎、肺炎、骨髄炎及び敗血症に関与し」 (p1288)、*P. aeruginosa* は「ヒトにおける種々の化膿性感染の作因である」。

10

その他の文献における他の研究から、 C_2N_2 は糸状菌及び無脊椎動物を含めた一般的消毒に用い得る。

引照：食肉の貯蔵に関しては実施例 5 と、果物の貯蔵に関しては実施例 6 との引照がなされる。水中で活性である能力は、他の実施例にも包含されており、水を介しての運動 (実施例 22) も関連がある。

実施例 20

線虫類に対する C_2N_2 の効能

目的：線虫類に対する C_2N_2 の効能を調べること。

20

材料及び方法

水 2 ml 中の線虫類を測定容量 11.5 ml のエーレンマイヤーフラスコに入れ、フラスコに Mini nert 弁を取り付けた。測定濃度の、しかし典型的にはほぼ 90%, v/v の C_2N_2 ガス及び遊離シアン化水素 (<0.5%) をフラスコに注入した。あるいは、水溶液 (0.2 ml) 中の C_2N_2 をフラスコに注入した。20°C ~ 22°C に空調した室内でフラスコを室温で保持した。試験した線虫の種は、*Steinernema carpocapsae* BW の感染性幼虫であった。

実験 1 では、BP-624 Megabore カラムで分離後、熱電子特殊検出器を用いて、水の上の空気中のガス濃度を定期的間隔で測定した。付加後の時間に対して濃度をプロットし、曲線下面積を筆算で測定して、ヘッドスペース内の (濃度 x 時間) 生成物を概算した。

22 時間曝露後、フラスコを開けてガスを空気に曝した。燻蒸剤の初期付加後 24 時間目に、顕微鏡下で死亡率を査定した。

30

結果

ガス付加後 5 分のヘッドスペース内の C_2N_2 の濃度は典型的には、水中に全く吸収されないという仮定の上で算出した公称濃度の 3 分の 1 に過ぎない。これは、水及び空気間の C_2N_2 の分配に関する他の結果と一致し、このことは水中での強力な収着を示す。例えば、3.46 mg/l の公称濃度に関しては、燻蒸剤付加後 5 分のヘッドスペース濃度は完全反復実験では 0.85 mg/l 及び 0.58 mg/l であった。濃度は、指数関数的にヘッドスペース内で急速に低減した。例えば、3.48 mg/l の公称濃度からの半減期は 0.94 時間であり、8.7 mg/l の公称適用からの半減期は 2.7 時間で、17.4 mg/l の公称適用からの半減期は 5.2 時間であった。したがって、水上のヘッドスペース濃度及び (濃度 x 時間) 生成物は、予想外の方法で変化する。これを表 13 に示す。

40

線虫類は、表 14 に示すように、 C_2N_2 曝露後、急速に死亡した。例えば、3.48 mg/l の公称適用は、*S. carpocapsae* の線虫 404 匹中 404 匹を殺害したが、これに対して対照の死亡率は 5/462 に過ぎなかった。

表 1 3 . 11.5ml エーレンマイヤーフラスコ中の 2 ml の水の系に関する C_2N_2 の適用量、ヘッドスペース内の本燻蒸剤の半減期及びヘッドスペース内の濃度 $\times$ 時間 (CT) 生成物

付加量 (mg)	半減期 (h)	(CT) 生成物 (mg. h/L)
0.40	0.94	0.72
1.0	2.7	4.0
2.0	5.3	16.8

10

表 1 4 . 線虫類に対する C_2N_2 の毒性

実験番号	種	適用量 (mg)	適用方法	急性死亡率	
				死亡	生存
1	<i>S. carpocapsae</i>	0	-	5	212
1	"	0	-	0	243
1	"	0.04	気体	200	0
1	"	0.04	"	204	0
1	"	0.1	"	153	7
1	"	0.1	"	200	0
1	"	0.2	液体	197	0
1	"	0.2	気体	218	0
2	"	0	-	0	266
2	"	0	-	0	228
2	"	0.02	"	201	0
2	"	0.02	"	266	0
2	"	0.008	"	17	245
2	"	0.008	"	1	267
2	"	0.004	"	3	282
2	"	0.004	"	5	277

20

30

40

実施例 2 1

糸状菌を制御するための C_2N_2 の適用

目的：コムギ穀粒中に存在する糸状菌に対する C_2N_2 の毒性を測定すること。

材料と方法

含水量 16% 及び 22% の未滅菌コムギ Rosella 変種。

50

上部襷付きMininert弁を有する120ml瓶にきっちり詰まったガス。

Oxoid普通寒天を含入する滅菌プラスチックペトリ皿。

大型ガラスデシケーター

各含水量に関しては、コムギ20gを計量して各120ml瓶に入れた。瓶をMininert弁で密封して、 C_2N_2 を投与し、濃度を18、35及び70mg/lとした。燻蒸剤を付加していない対照を同様に密封した。すべての瓶を6時間及び24時間の曝露時間中、25℃で貯蔵した。各処理を2回ずつ実施した。全ての操作を完全に繰り返した。

熱電子特殊検出器、内径0.53mmのDBwaxカラムを装備したVarian 3300ガスクロマトグラフを用いたガスクロマトグラフィーにより、60℃の恒温カラム温度で、燻蒸剤濃度を測定した。曝露完了時に、瓶を開けて、2〜3分間コムギを空気に曝した。次に、各瓶からの10粒の標本を無菌的に寒天平板に移した。これらを、4日間、貯水槽を有するデシケーター中で25℃で貯蔵した。4日後、平板を取り出して、増殖した糸状菌及び穀粒発芽に関して穀粒を査定した。

対照コムギ上に存在する糸状菌は、「コムギ中に存在する真菌及び汚染レベルは、優勢植物相であるアルテルナリア属の*Aiternaria infectira*（マイコトキシン産生者ではない）及び*A. alternata*（潜在的マイコトキシン産生性）を伴うオーストラリアのコムギの多数の標本に典型的である」ことが確認された。穀粒の汚染%は、*A. infectoria*に関しては78%、*A. alternata*に関しては17%、*Epicoccum nigrum*に関しては4%及び*Drechslera sp.*、*Cladosporium sp.*及び*Penicillium sp.*の各々に関しては1%であった。

結果

6時間及び24時間曝露の効果を図14（a）及び14（b）に示す。コムギ20g上の70mg/lの濃度の C_2N_2 は、穀粒中に存在する糸状菌を殺害し、さらに穀粒の発芽可能性を顕著に低減した。35mg/lの濃度の C_2N_2 は、穀粒中に存在する糸状菌の90%以上を殺害したが、しかし発芽可能性はわずかに低減しただけであった。18mg/lの濃度の C_2N_2 は存在する糸状菌の半分以上を殺害したが、穀粒の発芽可能性には作用を及ぼさなかった。16及び22%という異なる含水量は、これらの濃度の C_2N_2 毒性に明らかな作用は及ぼさなかった。6及び24時間の異なる曝露期間も何ら影響を及ぼさなかった。55mg/lの濃度に対する短時間曝露の作用を図14（c）に示す。

考察

燻蒸剤 C_2N_2 は、所望の作用により、種々の方法で糸状菌制御に用い得る。したがって、それは湿潤穀粒上の糸状菌を完全に殺害し得るが、しかし発芽低減、又は発芽低減を伴わない糸状菌の大々的抑制の犠牲を払う。ある環境下で各々選択するのが望ましい。例えば、かなりの期間保持される穀粒に関しては、完全抑制は望ましい。目的が、乾燥又は冷却前により長時間穀粒を保持し得るための短期間保存である場合には、部分的糸状菌制御が有用である。

実施例22

水中の C_2N_2 の動き

目的：例えば、水トラップの一側に燻蒸剤を適用し、他側に動く得るように C_2N_2 が水中を動くが否かを調べること。

材料及び方法

本装置は、高さ140mm、内径18mmのガラスU字管、及びU字管の各末端の標本隔壁から成る。水をU字管内に30mmの深さに入れて、水が底及び側腕の一部を覆うようにした。

等容量の空気を除去後、 C_2N_2 （1.5ml、80%）をU字管の一方の腕（A—Iと呼ぶ）に注入した。U字管の各腕（A—I及びA—I I）の上記の各標本隔壁で、定期的間隔で燻蒸剤を測定した。

水40mlを、隔壁入口を備えた270mlエーレンマイヤーフラスコに入れた。 C_2N_2 （2ml、80%）をヘッドスペースに注入した。燻蒸剤をヘッドスペース及び水の両方で、定期的間隔で測定した。90分後、2つのフラスコ水を100ml容量フラスコに移し、このうち一方を攪拌し、フラスコの底から水標本を採取して、水中の、及びヘッドスペース内の C_2N_2 濃度を測定した。

10

20

30

40

50

空調室で、約22℃の平均温度で、実験を実施した。

内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフでのガスクロマトグラフィーにより、燻蒸剤を測定した。

結果

水中の C_2N_2 の動きは迅速であった。約10時間後、系は平衡になった（図15）。各腕のヘッドスペース内の C_2N_2 の濃度は、平衡状態で27mg/lであった。図15の結果は、90時間までの曝露期間の増大が濃度に非常にわずかの影響を及ぼしたことを示した。

適用した C_2N_2 の算出量は、2.78mgであった。水中の量は90時間で1.3mgであり、腕のヘッドスペース内の量は90時間で1.1mgであった。したがって、燻蒸剤は蒸留水中では相対的に安定している。

水中の C_2N_2 の分布を図16に示す。10時間後、系は平衡になった。実験期間中、総回収率は90%より大きかった。

水中の C_2N_2 が容器に迅速に移動する実験では、それは、特に水を攪拌した場合には、水から非常に迅速に放出された（図17）。

水中の及び水の上のヘッドスペース内の C_2N_2 濃度は、0.2時間攪拌後は非常に低くなり（例えば、ヘッドスペース内、5ppm, v/v未満）、2時間空気に曝した後には、ヘッドスペース内では10ppm, v/vより低くなった。水からの燻蒸剤の放出は、定量的であった（99%以上）。

考察

水の他端の毒性濃度を確立するための水中での C_2N_2 の動きは、燻蒸剤ガスの適用の新規の方法である。それは水中での燻蒸剤の溶解度及び水中でのその相対的安定性に依っている。これらの項目は、実施例31で考察される。

適用のこの新規の方法は、査定が困難な場合、特に空気及びガスの動きに対する水遮断壁が存在する場合に重要である。この状況は、水及び下水パイプ中では正常な状況であり、これは典型的にはU字管に似た形態ではあるが、通常は腕の長さが等しくないウォータートラップを組み入れる。本方法の目新しさは、水中を移動して燻蒸剤を高濃度にすることができることである。

水中を移動するこの能力は、水及び下水系中の細菌及びウイルスの制御に、そして水遮断壁が存在する場合に特に重要である。これらは注射器及び針を包含し、これはガスの動きに対する水遮断壁、管を含有し得るが、このようなものは透析に、そしてより一般的にはカテーテルに、並びに医科、歯科、獣医科及び科学用装置の全範囲に用いられる。

開放容器内での水からの C_2N_2 の放出は、密封空間中に水中の燻蒸剤を適用するのに用いることができ、燻蒸剤がガスとして放出される。

実施例23

シアンの哺乳類毒性

シアンの毒性は、Sax and Lewis (1989) に要約されている。さらに十分なデータは、例えば (U.S.A.) National Institute for Occupational Health and Safety (NIOSH: GT 1925000) からの規準文献で入手し得る。

シアンは、米国及びドイツの両国で、10ppm (22mg/m³) の作業員安全限界 (閾値限界値) を有する。それは (米国) 輸率部門 (1026) を有し、これらは一般に世界的に認識されている。

Sax and Lewis (1989) は、毒性を以下のように要約した：「皮下及びおそらくはその他の経路による毒。吸入による中等度の毒物。ヒトの系は吸入による作用を有する：嗅覚神経に対する損傷、及び結膜の刺激」。目の刺激はシアン曝露の最初の症候であると考えられ、16ppmに6分曝露後に、最低作用が観察された。低用量でのこの目の刺激性は警告として十分に有用であるが、しかし唯一安全な方法は、作業空間の濃度がTLV以下であることである。

シアンに関するTLVはホスフィンのTLVの33倍であるが、しかし正常用量は33倍程高くなく、シアンの曝露期間はホスフィンより非常に短い。作業空間で注意深く点検したと仮定すると、ホスフィンを用いて安全に実施し得る手法は、シアンを用いても安全に実行

10

20

30

40

50

し得ると思われる。

シアンは高潜熱を含有し、これに関してはアセチレンに似ている。それは強力な酸化剤により爆発的に作用すると思われるので、シリンダーのガスは反応性化学物質と混合すべきでない。しかしながら、空気中のその最低爆発限界は6.6%v/v（約150g/m³）であり、これは燻蒸剤濃度をかなり上回る。

実施例 2 4

コムギ中の C₂N₂ の収着率

目的：異なる充填速度及び含水量に関して穀粒中の C₂N₂ の収着率を測定すること。

材料及び方法

含水量11.6%（湿重量基準）のオーストラリア標準軟質コムギ（Rosella）を、25%、50%及び95%充填率収着実験に用いた。このコムギを水分調整して含水量10%、12%及び14%ストックとし、これを燻蒸前に最低2週間放置して平衡させた。

C₂N₂を適用して、Mininert弁付き蓋を備えた120ml瓶中の充填率25%、50%及び95%のそれぞれに関して6.73mg/l、13.38mg/l及び12.62mg/lの濃度とした。含水量10%、12%及び14%標本に関してはそれぞれ13.94mg/l、13.46mg/l、13.96mg/lの濃度を用いた。収着標本はすべて3つずつ作り、燻蒸剤濃度を頻繁な定期的間隔で測定した。内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフに20μlのアリコート注入して、燻蒸剤濃度を検出した。

結果

収着率は、時間に対して残存する濃度%の対数として記録した。C₂N₂は、25%充填率標本では適用後24時間でも検出された（図18）が、その枯渇率は依然として線状であった。50%（図19）及び95%（図20）充填率標本におけるC₂N₂濃度も線状のC₂N₂枯渇率を示し、充填増大と一致して増大した。95%充填率標本は、燻蒸剤適用の6時間以内に検出限界以下に低下した。

C₂N₂枯渇速度は、コムギの含水量の増大と強く相関している用に思えた。含水量10%のコムギは11時間以上燻蒸後に10倍の低減を示した（図21）が、一方同様の低減は含水量12%のコムギに関しては2時間以下で達成され（図22）、含水量14%のコムギに関しては約1時間であった（図23）。収着の初期速度は全含水量標本に関して線状であったが、この直線性は含水量12%及び14%標本に関しては約2時間後に失われた。

考察

高含水量コムギ標本における急速なC₂N₂枯渇速度は、水中のC₂N₂の高溶解度と相関する。しかしながら、C₂N₂を吸着したコムギからのC₂N₂及びHCN残留物は、短い保持置換期間後でさえ非常に低いことを立証し、吸着C₂N₂が、対応する平行移動を伴うC₂N₂収着率に関与し得る急速な化学分解を受けることを意味する。

実施例 2 5

水中C₂N₂濃度の測定及び算出方法

序論及び目的

C₂N₂は4：1，v/v（Merck Index）の比率で水に溶解する。液体又は気体としてそれを適用し得るのが望ましい。本試験は、クイーンズランドミバエDacus tyroni又はその他の標的種を水に溶解したC₂N₂とともに投与し、燻蒸剤の気体及び液体濃度を測定する有効な方法を調べるために実施した。本試験はさらに、水中の燻蒸剤の濃度を測定する方法を査定した。

材料及び方法

1及び4mlの82%C₂N₂を、0.01M塩酸（HCL）10mlを含入する2本のMininertネジ蓋付き16mlバイアル中に注入した。これは、それぞれ190mg/l（標本1）及び761mg/l（標本2）に相当する。30分間待って燻蒸剤を溶液中に完全に溶解させた後、0.1mlの各C₂N₂/HCL溶液をゴム隔壁を通してネジ式円錐アダプターを装備した別々の275mlエーレンマイヤーフラスコ中に注入した。これはそれぞれ0.069mg/L（標本3）及び0.276mg/L（標本4）に相当する。0.4、0.8及び1.48mg/lの3種類の標準ガス濃度を1.2Lエーレンマイヤーフラスコ中に作って、標本濃度を測定した。

10

20

30

40

50

気体及び液体濃度は、電子捕獲検出器及びDBwax megaboreカラムを備えたVarianガスクロマトグラフで測定した。カラム温度は60℃に設定し、注入器温度は100℃、検出器は288℃に設定した。10 μ lの気体標本を100 μ l Pressure Lok[▲] ^R ▼ 注射器を用いて注入し、液体標本0.1 μ lを5 μ l S G E液体注射器で注入した。

結果

各標本及び基準に関しては、10回注射を実施して、領域を平均化した。基準を用いて、注射容量用に採取後、標本の各々における実際濃度を算出した（表15）。

表15：標本及び基準に関する平均面積

標本番号	注入容量 (μ L)	相	平均面積	算出濃度 (mgL^{-1})	実際濃度 (mgL^{-1})	損失 (%)
standard	10	気体	325535	0.4	-	-
standard	10	気体	598735	0.8	-	-
standard	10	気体	1179704	1.48	-	-
sample 1	0.1	液体	1344534	190	170	11
sample 2	0.1	液体	5302757	761	675	11
sample 3	10	気体	45936	0.069	0.059	14
sample 4	10	気体	172196	0.276	0.219	21

基準面積を濃度に対してプロットして（図24）、ガスクロマトグラフが濃度範囲の端から端まで線状様式で反応したこと点検した。回帰分析は、反応が線状であったことを示した（ $R=0.99$ ）。

表15は、気体及び液体標本における測定濃度が算出濃度より21%まで低いことを示す。両液体標本は、ヘッドスペース内に残存し、HCl溶液中に溶解しない多少の C_2N_2 によると思われる11%の損失を示した。標本3及び4における算出濃度と測定濃度との間のわずかに高い損失率は、予測液体濃度より低い誤差の和、HCl/ C_2N_2 溶液0.1mlからの C_2N_2 の不完全揮発、及びサンプリングエラーに依るものと思われる。

考察

水性相及び気相間の相平衡により、燻蒸剤を10mlの0.01M HClに溶解した場合に算出されるものより11%低い C_2N_2 濃度が認められる。気相中の総燻蒸剤の比率は、相尺度に並びに液体及び気体の容量に依る。誤差を最小にするために、HCl/ C_2N_2 溶液の標本を、D. tyroni又は他の昆虫に投薬する前にガスクロマトグラフで分析した。これにより、標的濃度をより正確に予測出来るようになる。

本方法は、液相中の C_2N_2 を測定し、用量を正確に算出するのに利用できる。

実施例26

コムギ中の C_2N_2 の残留物及び C_2N_2 に関する分析方法

目的：残留データを得るために燻蒸化コムギ中の C_2N_2 の残留物を測定すること。

C_2N_2 残留物の程度及びHCNへのそれらの変換の程度は、穀粒燻蒸剤としての C_2N_2 の使用にとって重要である。本発明人は、燻蒸剤残留物を測定するのに用いた方法の殆どについて多少疑問を持っており、したがって、多数の手法により残留物を測定した（例えば、実施例3）。

材料及び方法

含水量11.6%（湿重量基準）のオーストラリア標準白色コムギをMininert弁を備えた120ml瓶中で計量した。3種類の充填率を用いた：25%、50%及び95%：例えばフラスコをコムギ25%、空気75%で充填して、充填率25%とした。

コムギ中の C_2N_2 の分析のために、コムギ20gをMininert弁を備えた120ml瓶中に入れ、分析用等級テトラヒドロフラン20mlを付加した。溶液を一夜放置した。燻蒸剤を液相中で（2 μ lのアリコートを注入して）及び液体上のヘッドスペース内で（100 μ lのアリコートを注入して）測定した。内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフで燻蒸剤を検出した。

燻蒸剤を適用して、25%、50%及び95%充填標本のそれぞれに関して6.73mg/l、13.38mg/l及び12.62mg/lの濃度とした。これらがそれぞれ35.1、34.2及び17.3mg/kgの残留物を生じた。適用後定期的間隔で残留物を測定した。残留物測定はすべて3回ずつ実施し、分析手順に関する測定はすべて2回ずつ実施した。

結果

10

分析方法

図25においては液体として付加した C_2N_2 の量に対する、そして図26ではガスとして付加した量に対する機械の反応を記録した。機械反応は適用濃度に関して線状で、再現可能であった。シグナル対ノイズ比の2倍と定義される検出限界を、ヘッドスペース注入及び液体注入から測定した。それは、ヘッドスペース法からは、コムギ穀粒中の残留物 4.3×10^{-3} mg/kg（4.3ppb.w/w）に相当し、液体注入からは0.037mg/kg（37ppb.w/w）に相当した。検出限界のこれらの差の主な理由は、即ち C_2N_2 対応した溶媒中の反応に対する溶媒からの干渉であった。

テトラヒドロフラン中の未燻蒸コムギの抽出は、溶媒中のものからの検出限界を変えなかったが、これは未燻蒸コムギ中の C_2N_2 のレベルがせいぜい極端に低かったことを示した。しかしながら、ヘッドスペース法による検出限界は、0.036mg/kgに相当するレベルに増大した。

20

残留物

表16に残留データを略記する。完全密封系における残留物の減少は、実質的であった。それは3日後には平均98%となり、14日後には99%を十分超えた。

35.1mg/kgで投与し、25%充填率で、22°Cで14日間保持したコムギに関しては、ヘッドスペース法による残留物は平均して0.081mg/kg、s.d. 0.009mg/kgであった。液体注入法からは、コムギ中の残留物は平均0.21mg/kg、s.d. 0.083mg/kgであった。容器中に95%充填し、17.3mg/kgで投与したコムギに関しては、ヘッドスペース法によるコムギ上の残留物は、3日間の保持期間後、0.52mg/kg、s.d. 0.24mg/kgであった。この場合は、残留物は液体注入によっては測定されなかった。

30

34.2mg/kgで投与し、22°Cで14日間保持したコムギに関しては、3回のうち1回の1ヘッドスペース読取り値は対照標本の場合より低く、シグナル対ノイズ比の2倍と定義される検出限界以下であった。標本読取り値と対照との間の差は、0.003mg/kgのコムギ中残留レベルに相当した。液体注入に関しては、このレベルも、シグナル対ノイズ比の2倍と定義される検出限界以下であった。標本と対照との間の差は、0.0013mg/kg、s.d. 0.005mg/kgのレベルに相当した。したがって、残留レベルは極微量と記載するのが最もよいが、しかし定量的検出限界以下である。

考察

C_2N_2 の残留物は低レベルに下がって穀粒中で検出され、ヘッドスペースから、又は液体注入から測定し得る。残留物の低減は、非常に急速である。残留物のこの急速な低減は、実施例3及び43で報告された他の実験においても認められる。各検出方法でいくつかのシアン化水素が観察されたが、これは別の文献に網羅されている（実施例43）。

40

表 1 6 . コムギ中の C_2N_2 の残留物

充 填 率	適 用 量	投 与 後 間 隔	残 留 物 (mg/kg)		残 留 物 (mg/kg)	
(%)	(mg/kg)	(日)	ヘッドスペース 平均	s. d	液中 平均	s. d
25	35.1	14	0.056	0.021	0.21	0.08
50	34.2	14	微量?	-	微量?	-
95	17.3	3	-	-	0.52	0.24

10

実施例 2 7

Ephestia cautellaの幼虫に対する C_2N_2 の毒性

目的：鱗翅目のEphestia cautella (Walker) からの幼虫に対する C_2N_2 の毒性を評価すること。

材料及び方法

後期齢E.cautella幼虫15匹の2通りの標本及び波形段ボールの薄ストリップを、Mininert弁付き蓋を備えた120mlガラス瓶に入れた。これらを密封し、 C_2N_2 付加前に適切な容量の空気を除去した。ガスクロマトグラフ分析のためにそれらを短時間取り出した以外は、燻蒸標本を30℃に保持した。

20

内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフに標本からの20μlのアリコートを入力して、 C_2N_2 濃度を調べた。ガスクロマトグラフ記録は C_2N_2 を6時間及び24時間曝露に適用して2時間以内に取った。2組目のガスクロマトグラフ記録は24時間曝露に関して燻蒸終了の約2時間前に取った。

結果

燻蒸に関する結果を表1に要約する。

表 1 : E. cautella の幼虫に対する C_2N_2 の毒性

曝 露 時 間 (時間)	濃 度 (mgL ⁻¹)	死 亡 率 (%)
24	0	3.33
24	0.69	23.33
24	1.37	93.33
24	2.75	100
6	0	0.00
6	1.29	83.33
6	2.59	100
6	3.88	100

30

40

考察

C_2N_2 は、鱗翅目のEphestia cautellaからの幼虫に対して、2.59mg/lで6時間曝露内に100%死亡率を誘導した。本試験では、幼虫の燻蒸剤に対する曝露時間を増大しても、低容量に関しては、死亡率の実質的増大は生じなかった。

実施例 2 8

Tedler袋中のNF2の貯蔵

目的：特に小規模使用のために、燻蒸剤を貯蔵する便利な方法を提供するために、Tedler袋及び他のプラスチック容器中にNF2を貯蔵し得るか否かを調べること。

材料及び方法

50

SKC Inc., 334 Valley View Rd., 84 Pennsylvania, USAから購入した市販のTedlar袋を用いた。これらは、ガスを導入及び回収するための注入系を有するプラスチック袋である。袋は、購入時には、本質的には空気が入っていない。気密注射器を用いて、燻蒸剤NF₂を袋に注入した。Gow-Mac気体密度秤を装備したTracor MT150ガスクロマトグラフィーで、定期的間隔で、NF₂の濃度を測定した。さらに、内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフでシアン化水素を測定した。シアン化水素標準はシアン化物塩を酸と反応させて調製し、気体密度秤で濃度を測定し、密封フラスコ中で希釈した。

空気中の希釈濃度のNF₂はTedlar袋中で調製し、Varian 3300ガスクロマトグラフで、定期的間隔で濃度を測定した。

光に対する保護のための特別な予防手段を講じることなく、22℃の典型的温度で、袋を空調実験室に放置した。

結果

毎週ガス濃度を測定した4週間の間、Tedlar袋中のNF₂の濃度は常に82%~83% v/vで、見掛けの傾向は認められなかった。シアン化水素の濃度は常に0.35%~0.45%, v/vで、見掛けの傾向は認められなかった。したがって、燻蒸剤はTedlar袋中で安定である。

低濃度でも、本系では安定であった。例えば、濃度0.66mg/lは、3日間の実験期間中、実験誤差を伴わず、安定であった。

考察

ガラス内及び水中（適切なpHの）、並びに溶媒中のNF₂の安定性は、他の項で示されている（例えば、相文献。文献33；水文献。文献23）。シリンダー中の安定性は、輸率部門Department of Transport Numberにより網羅されている（安全性文献。文献24）。Tedlar袋中の安定性は、いくつかの用途に非常に便利な貯蔵及び投薬のもう一つの代替法を提供する。NF₂の蒸気密度は2.3g/lで、したがって、10L袋中に23gの物質（その量の容器の大きさに比例する）を貯蔵し得る。本貯蔵方法は、診察室、病院の各科等における場合のような、キログラムよりむしろミリグラム又はグラムで測定される量が必要な場合に便利である。必要な装置は、適切な容量の気密注射器と燻蒸剤を含入する袋だけである。有毒ガスの貯蔵方法全てに関するのと同様に、貯蔵のためには適切な安全手法が必要であり、このような手法には、保存量（容器のサイズが種々あるため）及び燻蒸剤の初期濃度が含まれる。容器のその他の変動も考えられる。

実施例29

コムギのカラムを通るC₂N₂及びその他の気体の動き

目的：C₂N₂がコムギのカラムを吹き抜け得るか否かを調べること。

材料及び方法

用いた手法は、Desmarchelier, 1994に記載されているものと全く同じであった。燻蒸剤は、総容量7.9Lのコムギの1.1mカラムを200ml/分の気流速度で吹き抜けた。カラムの底に、200mlフラスコを介してカラムに燻蒸剤を導入した。試験した燻蒸剤は、ホスフィン、臭化メチル、C₂N₂及びシアン化水素であった。一実験においては、これら4つの燻蒸剤を同時に適用した。別の実験では、他の燻蒸剤を用いずにC₂N₂を適用し、さらに別の実験ではシアン化水素だけを適用した。

Varian 3300ガスクロマトグラフで燻蒸剤を検出した。ホスフィン及びC₂N₂は内径0.53mmのBP624カラムで分離後、熱電子特殊検出器で測定した。臭化メチルは、内径0.53mmのGSQカラムで分離後、電子捕獲検出器で検出した。

結果

流出ガス中の燻蒸剤濃度を図27に示す。燻蒸剤C₂N₂を、2つの最も広く用いられる燻蒸剤であるホスフィン及び臭化メチルと同様の方法で、コムギを通り抜けて移動させた。同時に適用したこれらの燻蒸剤に関する結果は、個別に適用したこれらの燻蒸剤に関する結果（Desmarchelier, 1994）と同様であった。試験条件下では、シアン化水素はコムギを通り抜けることができず、流出物中にシアン化水素は検出されなかった。

考察

C_2N_2 は空気流中をコムギを通して移動し得るため、それはフロースルー型の適用及び再循環系に用い得る。各々の種類の状況における昆虫に対するその毒性は、実施例2、8及び10に示されている。

実施例30

鞘翅目Coleopteraの2つの種に対する C_2N_2 の毒性

目的：貯蔵物質の鞘翅目害虫2種に対する C_2N_2 の毒性を調べること及びプロビット分析により用量－反応曲線を査定すること。

材料及び方法

被験昆虫はTribolium confusum(du Val)及びRhyzopertha dominica(F)の成虫であった。

昆虫(50匹)を相対湿度55%で120mlガラス壺に入れて、25℃で保持した。壺にMininert弁を取り付けて、これを通じて燻蒸剤を注入した。昆虫を6時間曝露した後、含水量12%,w/wの小麦粉を含入する壺に移した。7及び28日の保持期間後に昆虫を計数した。各用量での6回ずつの試験からのデータを用いて、プロビット分析により死亡率を査定した。アボットAbbot式により対照死亡率に関して死亡率を訂正した。

適用量から C_2N_2 の適用濃度を算出し、内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフでの分析により立証した。

結果

初期曝露後、初期「ノックダウン」からの何らかの見掛けの回復が認められた。しかしながら、1～4週間の期間中、死亡率は増大した。これに関しては、 C_2N_2 はホスフィンと似ており、何匹かの昆虫が徐々に死亡し、燻蒸後に短い保持期間を置くと、終点死亡率が低く見積もられた。

図28で、死亡率を濃度に対してプロットした。各昆虫に関する曲線は、典型的「S字形」曲線であった。

T. confusumに関するプロビット死亡率対対数濃度のプロットを図29に示す。反応は線状で、反応がプロビット死亡率と対数濃度との間の線状相関の予測パターンにしたがうことを示す。R. dominicaに関する同様のプロットを図30に示す。

6時間曝露に関しては、T. confusum及びR. dominicaに関する LC_{50} 値は、それぞれ1.41及び0.141mg/lであった。

Monro (1969) は、21℃でのR. dominicaに対する5時間又は6時間曝露に関して、9つの燻蒸剤の $L(C \times T)_{95}$ 値、及び25℃でのT. confusumに対する10種類の燻蒸剤の $L(C \times T)_{99}$ 値を列挙している。燻蒸剤 C_2N_2 は、R. dominicaの場合には、いずれの燻蒸剤よりも有毒であり、T. confusumの場合には、シアン化水素以外のどの燻蒸剤よりも有毒であった。燻蒸剤の一覧表には、二臭化エチレン、クロロピクリン及び臭化メチルが含まれていた。ホスフィンの毒性も記録されたが、27℃で24時間曝露のみであった。

考察

C_2N_2 は試験した昆虫に対して非常に毒性が高く、臭化メチレン又は二臭化エチレンよりも有毒で、シアン化水素とほぼ等毒性である。プロビット死亡率と対数濃度との反応の線状性は、必要レベルの死亡率を達成するのに必要な濃度の算出を助ける。

実施例31

密封容器中の溶媒及び空気間の C_2N_2 の相分布並びに溶媒中の安定性。

目的：種々の溶媒中の C_2N_2 の安定性、並びに液体及び蒸気相間の分布を調べること。これは投薬のために、並びに分析のために有用な情報である。

材料及び方法

溶媒(25ml)を隔壁シールを装備した容量270mlのエーレンマイヤーフラスコに入れた。

燻蒸剤(2ml。純度80～82%,v/v)をフラスコに注入し、これを磁気攪拌器で攪拌した。定期的間隔で、蒸気相からアリコート(50 μ l)を、液相から1 μ lのアリコートを取り出した。これらを熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフ中に注入し、 C_2N_2 を内径0.53mmのDBwaxカラム上で溶媒から分離した。

試験した溶媒はすべて分析用等級であり、水は蒸留した。

毎日新しく調製した標準物を参照して、各相中の濃度を測定した。図に記録した濃度は、

10

20

30

40

50

3回ずつ測定した平均である。

結果

0.1M塩酸中の C_2N_2 の分布を図3 1に示す。投薬後8時間までに相間で安定分布が達成され、この分布は、 C_2N_2 の総量を加えて、実験期間(70時間)中、ずっと安定であった。別の実験では、 C_2N_2 は、0.01M塩酸中でも安定であることが示された。

水中(図3 2)では、 C_2N_2 は相対的に安定であった(図3 2)が、他の実験では、高pH値(例えば8.0、10.5)で非常に不安定であることが示された。しかしながら、 C_2N_2 は50%酢酸、50%水中で不安定であった(図3 3)。

ジオキサン中(図3 4)では、相間の分布及び全体的安定性は約3日間の実験期間中変わらなかった。テトラヒドロフランに関して、同様の結果が得られた。相分布及び全体的安定性は、トルエン(図3 5)及びアセトン(図3 6)でも優れていた。多残留物分析における溶媒としてアセトンが広く用いられているため、最終結果は、分析化学的見地から特に好ましい。

考察

水性及び非水性溶液中の安定性は、多数の領域で、例えば容易に測定し得る溶液中の燻蒸剤を適切な投薬小室中に提供するのに有用である。

このような安定性は、適切なpHの溶媒、例えばアセトン、トルエン又は水中の商品から燻蒸剤を抽出する分析化学にも非常に有用である。これは液相中の残留物の測定を可能にし、相平衡分布のために、ヘッドスペース内の、即ち蒸気相中の濃度の測定による分析を可能にする。全分析化学においては同様に、標準物及び強化商品の調製には、適切な注意を要する。

C_2N_2 の除去の項において、アミン又はアルコールとの反応によりそれが急速に破壊されることが示された。他の項では、それはある種のプラスチック袋中及びガラス中で安定であることが示された。したがって、又は気体としての又は液体としての燻蒸剤の安定性が、必要な場合には保持され、必要な場合には破壊されるのが便利である。

実施例 3 2

木材中の C_2N_2 の浸透及び木材による C_2N_2 の吸収

目的：木材による C_2N_2 の吸収の程度、及びそれが木材に浸透する程度を調べ、したがって木材に対する生物検定データを活用して木材燻蒸剤としてのその適性を査定すること。

材料及び方法

2種の木材から木材キューブ(100 x100mm)を調製した。これらは、軟材種(Oregon)及び熱帯硬木種(Merbein)であった。

収着を測定するために、木材キューブを、隔壁入口を備えた容量2.5Lのデシケーターに入れ、磁気攪拌器で攪拌した。燻蒸前に、木材ブロックを30℃、相対湿度55%で5カ月間放置して、適切な平衡相対湿度を得た。標準的方法(American Standard Test Method, 1983)により測定した含水量は、硬木に関しては11.2%、軟材に関しては10.6%であった。ヘッドスペース内に燻蒸剤を注入した。30mg/lの算出濃度での投与後100時間の期間中に、ヘッドスペース内の濃度を測定した。

内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフで燻蒸剤濃度を測定した。

木材中への浸透を測定するために、木理と平行な木材の側面をシリコーンシーラーで密封し、乾燥し、肉厚層を適用した。次に、キューブをアルミ箔に包んで、末端を重ねて、末端木理面を5mmだけ箔で覆い、シリコーン層で木材に締結した。次いで、ブロックを24時間風乾した。各末端にサンプリング隔壁を有する透明PVCパネル(200mm x105mm x2mm)を木材ブロックにシリコーンで締結して、各末端に小室を構築した。小室をシリコーンで密封した。燻蒸剤を木材ブロックの一側面の入口隔壁で注入し、出口隔壁でサンプリングした。

結果

軟材及び硬木上の C_2N_2 の収着を、硬木及び軟材の両方の上のヘッドスペース内の C_2N_2 濃度をプロットした図3 7に示す。燻蒸剤は、軟材より硬木により迅速に収着された(同

10

20

30

40

50

様の結果は、臭化メチレンに関しても得られた)。濃度 $\times$ 時間生成物はかなり超過し、各種類の木材に関しては、($C \times T$)生成物は3つの試験種の乾燥木材シロアリを制御するのに必要であった(実施例36参照)。

軟材中の C_2N_2 の浸透を図38に示す。20時間の曝露期間後、各小室の濃度は約10mg/lの濃度で平衡状態になった。硬木中の浸透(図39)は、あまり迅速でなく、平衡濃度は低かった(2.5mg/l)。

比較条件下で得られた臭化メチルに関するデータを図40及び41に示す。硬木及び軟材の両方に関して、燻蒸剤 C_2N_2 は臭化メチルより迅速に木材に浸透し、蒸気濃度は高かった。さらに、燻蒸剤 C_2N_2 は乾燥木材シロアリに対して臭化メチルよりも毒性が高かった(実施例36参照)。

10

実施例33

切り花の花瓶中寿命に及ぼす C_2N_2 燻蒸の作用

目的：切り花に対する燻蒸剤としての C_2N_2 の適性を査定すること。

材料及び方法

路地カーネーションField Carnation及び銀葉樹Leucadendronを地方の卸売花屋から購入した。

C_2N_2 (1.8mg/lの濃度で2時間)、臭化メチル (32mg/lで2時間—Australian Quarantine Inspection ServiceによるExport Flower Industryに推奨される用量)、及び燻蒸剤を付加しない対照を用いて、密封した63.5Lドラム中で燻蒸を実施した。

63.5Lドラムのにサンプリング口及びポンプ取付け部品を各々備えつけた。投薬後、ドラムの気体内容物をポンプで15分間循環させると、ドラム全体の燻蒸剤ガスの分布が平均化された。

20

既定量の空気をドラムから取り出して、同一量の濃縮ガスを導入することにより、燻蒸剤を適切な濃度にし得た。ガスクロマトグラフィーを用いて、標準濃度(「クイックフィット」隔壁上部を有する1Lエーレンマイヤーフラスコ中に調製)に対してドラム中の濃度を立証した。熱電子特殊検出器、DBwaxカラム(直径0.53mm)を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフで、 C_2N_2 を測定し、ガスクロマトグラフィーQカラム上の20%OV101を装備したShimadzu 6AMフレームイオン化検出器で臭化メチルを測定した。

各燻蒸剤の濃度を、最初に、1時間後及び燻蒸完了直前に調べた。

2時間後、ドラムを開けて、ヒュームフード内で空気に曝し、花をドラムから取り出して、茎を切り取って、束を水中に入れて、ヒュームフード内に放置して2時間空気に曝した後、冷室に入れた。

30

結果

達成された燻蒸剤の実際濃度は、30mg/l MeBr及び1.8mg/l NF2であった。2時間燻蒸中に、花による C_2N_2 の吸収又は分解のために C_2N_2 の濃度の33%低下が認められた(図42参照)。これに対比して、MeBrの濃度は曝露中ずっと、相対的に変わらなかった。

各々の花及び処理に関して10のうちから(10は優秀で1は売れない)1つの値を別々に示すように質問された6名の人のパネルにより、植物毒性を査定した。下記の数字は結果の平均値である。

40

処理	カーネーション	銀葉樹
対照	5	7
C_2N_2	3	5
MeBr	3	6

考察

C_2N_2 は、切り花用燻蒸剤ガスとしてMeBrに匹敵する。切り花中の昆虫源に対するその効能は、実施例46に略記されている。

実施例34

外段階の貯蔵物質鞘翅目Coleopteraに対する C_2N_2 の毒性

目的：種々の貯蔵穀粒鞘翅目害虫の外段階に対する C_2N_2 毒性を調べること。

50

材料と方法

C₂N₂の調製及び分析

C₂N₂は、ボンベに入れて運送される液化ガスとして市販されている。しかしながら、これらの予備試験のための使用の当日にストック試薬からそれを調製する方法が選ばれる。約50gのCuSO₄・5H₂O (AnalaR) を500mlの蒸留水に付加した。溶液を約90℃に加熱し、直ちにホットプレートから除去した。隔壁蓋を備えたベル型管を溶液に浸漬し、注射器により管から空気を除去した。ベル型管に約10mlの飽和KCN溶液を加えた。発生したC₂N₂を最低30分間放置した後、サンプリングした。

GOW-MACガス密度検出器（モデル40-001）でC₂N₂の純度を測定した。純度は典型的には65～85%で、CO₂が主な不純物であった。ガラス瓶中のC₂N₂濃度を、熱電子特殊検出器、内径0.53mmのDBwaxカラムを装備したVarian 3300ガスクロマトグラフを用いてモニタリングした。125℃での注入温度、80℃のカラム温度及び300℃の検出器温度を全ガラスサンプリングに用いた。

10

昆虫種

試験した昆虫種は、*Oryzaephilus surinamensis* (L) NOS405系統、*Rhyzopertha dominica* (F) Rd2系統、*Sitophilus granarius* (L) SG4系統、*Sitophilus oryzae* (L) CS0418系統、*Tribolium castaneum* (Herbst) TC4系統、及び*Tribolium confusum* (Duv.) TC037系統であった。別記しない限り、昆虫はすべて、30℃、相対湿度60%で培養した。

試験した外段階のこれらの種はすべて、全種の成虫、*T. castaneum*及び*T. confusum*の蛹、*T. castaneum*及び*T. confusum*の幼虫、並びに*R. dominica*、*T. castaneum*及び*T. confusum*の卵であった。

20

生物検定法

Mininert弁付き蓋を備えた120mlガラス瓶 (Alltech Associates) 中で、生物検定を実施した。検定は、種々の段階の15～30匹の昆虫を用いて、2回ずつ実施した。付加されるガスの容量と等しい量の空気を瓶から除去した後に、燻蒸剤を付加した。C₂N₂付加の約1時間後及びその除去の約2時間前に、生物検定瓶をサンプリングした。燻蒸後、少量の適切な培地上に昆虫を載せ、30℃で相対湿度60%で1時間放置後、評価した。

結果

外段階の鞘翅目Coleopteraに対するC₂N₂の毒性

外段階の6種の鞘翅目に対するC₂N₂の毒性を、表18に要約する。

30

示された最小致死用量は多量で、さらに生物検定実験すればあるいはもっと低い致死用量が示されるかもしれないと思われた。示された濃度x時間生成物 (CT生成物) は実質的には種々の他の燻蒸剤よりも低かった。例えば、*R. dominica*成虫は、8.82mg/l (6時間、30℃) のC₂N₂ CT生成物で制御し得るが、これに比して臭化メチレンに関しては33.0mg/lのCT生成物、二硫化炭素に関しては294.0mg/l、シアン化水素に関しては15.6mg/l、二塩化エチレンに関しては636.0mg/l (Monro, 1967) 及び硫化カルボニルに関しては68.7mg/l (Desmarchelier, 1994) であった。

4～24時間の因子により曝露時間を延長すると、約2 (例えば、*T. castaneum*の幼虫) ～6 (例えば、*T. confusum*の卵) の因子により用量を低くできる。平均因子は、成虫に関しては3.2、幼虫に関しては2.0、蛹に関しては3.0及び卵に関しては3.3であった。

40

考察

C₂N₂は、試験した鞘翅目Coleopteraの全種の全段階に対して有効であった。昆虫を殺すのに必要な量は、実施例35において広範囲の曝露時間に亘って示されたように、曝露時間に伴って変化した。

表 28. 外段階の鞘翅目に対する C_2N_2 の毒性

種	段階	曝露 (hours)	最低致死用量 Dose (mgL^{-1})※	CxT (mgL^{-1})
<i>O. surinamensis</i>	成虫	24	1.09	26.16
<i>R. dominica</i>	成虫	24	0.43	10.32
<i>S. granarius</i>	成虫	24	1.12	26.88
<i>S. oryzae</i>	成虫	24	0.61	14.64
<i>T. castaneum</i>	成虫	24	1.23	29.52
<i>T. confusum</i>	成虫	24	1.31	31.44
<i>O. surinamensis</i>	成虫	6	1.32	7.92
<i>R. dominica</i>	成虫	6	1.47	8.82
<i>S. granarius</i>	成虫	6	3.5+	21+
<i>S. oryzae</i>	成虫	6	4.5+	27+
<i>T. castaneum</i>	成虫	6	2.94	17.64
<i>O. surinamensis</i>	成虫	3	2.28	6.84
<i>R. dominica</i>	卵	24	0.69	16.56
<i>T. castaneum</i>	卵	24	2.56	61.44
<i>T. confusum</i>	卵	24	0.73	17.52
<i>R. dominica</i>	卵	6	1.38	8.28
<i>T. castaneum</i>	卵	6	4.5+	27+
<i>T. confusum</i>	卵	6	4.40	26.4
<i>T. castaneum</i>	幼虫	24	1.29	30.96
<i>T. confusum</i>	幼虫	24	1.28	30.72
<i>T. castaneum</i>	幼虫	6	2.59	15.54
<i>T. castaneum</i>	蛹	24	1.40	33.6
<i>T. confusum</i>	蛹	24	1.28	30.72
<i>T. castaneum</i>	蛹	6	4.5+	27+
<i>T. confusum</i>	蛹	6	3.68	22.08

※ 100%死亡率を生じた最小試験用量

実施例 35

短期及び上記曝露に関する C_2N_2 の毒性目的：短期曝露及び長期曝露に関する C_2N_2 の毒性を調べること。

材料及び方法

昆虫（20匹）を、隔壁入口を備えた275mlエーレンマイヤーフラスコ中で曝露した。燻蒸剤を注入し、昆虫を5分～14日間の期間、曝露した。曝露後、昆虫をコムギ20gを含入する壺に移し、30℃で相対湿度55%で2週間保持した後、死亡率を査定した。

被験昆虫は、*Rhyzopertha dominica* (F.) C R D 2系統、*Oryzaephilus surinamensis* (L.) N O S 4 0 5系統及び*Tribolium castaneum* (Herbs) C T C 4系統であった。

結果

曝露期間終了時（急性）及び2週間の保持期間後の死亡率を、表19に示す。有意の死亡率は、5分だけの保持期間後に、100%死は10分間の保持期間後に達成された。これに對比して、低濃度に対する長期曝露は、二酸化炭素濃度が増大する系で100%死を生じた。

考察

燻蒸剤 C_2N_2 は非常に迅速に殺害し得るし、長期曝露期間中、低用量で殺害し得る。したがって、それは種々の状況に用い得る。急性死亡率（又はノックダウン）と最終死亡率との間に明らかな関係が認められないことを、データは示している（実施例30参照）。

表 19. 異なる曝露期間中の C_2N_2 の毒性

曝露時間	適用燻蒸剤 (mgL^{-1})	系統	急性死亡率 (%)	2週間での 死亡率 (%)	
5 min	17	CRD2	100	20	
5 min	17	NOS405	100	50	
5 min	17	CTC4	95	0	10
10 min	30	CRD2	100	100	
10 min	17	CTC4	95	0	
10 min	17	NOS405	100	90	
10 min	17	CRD2	100	80	
20 min	30	CRD2	100	100	20
14days	0.01	CRD2	0	100	

実施例 36

臭化メチレンを参照した場合の乾燥木材シロアリに対する C_2N_2 及びホスフィン毒性の評価

目的：臭化メチルに対して考え得る代替物としての3種の乾燥木材シロアリ、即ち *Cryptotermes bervis*、*Cryptotermes cyanocephalos* 及び *Cryptotermes domesticus* に対する C_2N_2 及びホスフィン毒性を評価すること。

材料及び方法

30℃、相対湿度80%に保持した培養からシロアリを得た。シロアリを、Mininert弁付蓋を備え、プライウッドの削り屑325mgを入れた120ml瓶に移し、相対湿度80%及び30℃に保持しながら密封した。燻蒸はすべて2回ずつ実施し、*C. bervis* に関しては10～11匹、*C. cyanocephalos* に関しては25匹、*C. domesticus* に関しては22匹の標本を用いた。燻蒸剤付加前に、標本瓶から適切な容量の空気を除去した。投薬標本をガスクロマトグラフで分析して、濃度が予測通りであることを確認した。2組目のガスクロマトグラフ読取りをおこなった後、空気に曝して、燻蒸剤濃度が曝露期間中ずっと変化しなかったことを確認した。燻蒸はすべて、30℃で24時間保持したが、但しガスクロマトグラフ分析中は25℃であった。

内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフで C_2N_2 濃度を測定した。ホスフィン濃度は、炎光光度検出器を装備したShimadzu 6AMで測定した。臭化メチル濃度は、20% OV-101カラムを有するガスクロマトグラフQで分離後、フレイムイオン化検出器を装備したShimadzu 6AMで測定した。

24時間曝露後、シロアリ及び木材削り屑を、プライウッドの大きなかけら各々含入するプラスチックペトリ皿に移した。

結果

C. domesticus、*C. bervis*、*C. cyanocephalos* に関する燻蒸結果を、1週間生存を基礎にして、それぞれ図42～44に要約する。

C. domesticus に関する100%死亡率は、0.87mg/lの濃度で適用した C_2N_2 、0.22mg/lの濃度のホスフィン及び4.35mg/lの濃度の臭化メチルで24時間燻蒸後に得られた（図42）。

C. bervis に関する100%死亡率は、0.43mg/lの濃度で適用した C_2N_2 、0.43mg/lの濃度の

ホスフィン及び1.74mg/lの濃度の臭化メチルで24時間燻蒸後に得られた(図43)。

C. cyanocephalosに関する100%死亡率は、1.74mg/lの濃度で適用したC₂N₂、0.43mg/lの濃度のホスフィン及び3.47mg/lの濃度の臭化メチルで24時間燻蒸後に得られた(図44)。

考察

本試験は、燻蒸剤C₂N₂及びホスフィンが乾燥木材シロアリの少なくとも3つの種に関して臭化メチルを上回る毒性を有し、乾燥木材シロアリ制御に関して臭化メチルに代わる実際に実行可能な候補であることを立証した。

木材燻蒸のための臭化メチルに対する有力な代替物のうち、ホスフィンは鞘翅目Coleopteraの全段階を制御するには長期曝露を要するが、乾燥木材シロアリの制御には要しない。フッ化スルフルルは試験したほとんどの種の卵に対して相対的に有効でない。これに対比して、他の実施例、特に実施例34及び実施例35で示したように、C₂N₂は迅速に作用し、鞘翅目Coleoptera及びその他の目の卵及び他の全段階を殺害し得る。実施例32は、硬木又は軟材を含入する小室に適用したC₂N₂の濃度が、シロアリを制御するのに要する濃度を十分超える時間生成物による濃度に達したことを示す。

実施例37

アミンのC₂N₂との反応

目的：C₂N₂のアミンとの反応が可逆的であるか否かを調べる。即ちアミンを触媒と考えると、変化せずに回収される。本研究は、リシンのような栄養価を有するアミンの考え得る損失に関連する。

材料及び方法

リシンはUV検出器を用いたHPLCにより測定できないため、ベンジルアミンを一部モデルアミンとして用いた。

メタノール(20ml)中のベンジルアミン(0.04M)を隔壁入口を有する275mlエーレンマイヤーフラスコ中に入れた。燻蒸剤C₂N₂を注入した(0.5ml)。燻蒸剤付加後に定期的間隔で、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によりベンジルアミンを測定した。次いで、さらに燻蒸剤(5ml)を付加し、操作を繰り返した。

HPLC分析には、Alltech Ultima C18 1250x4.6mmカラム及びShimadzu SCI-61Aシステムコントローラーを用いた。分析は吸光度により、Waters 490Eプログラム作成可能多波長検出器を用いた。移動相は、1ml/分の流量で、20分間で20%アセトニトリル、80%水～100%アセトニトリルであった。

結果

0.5ml C₂N₂付加の26時間後のHPLCスペクトルは、3つの余分のピークを示した。これらは47.5時間後、さらに5.35時間後に消失した。これらの間隔の各々で、「生成物」のスペクトルはベンジルアミンのスペクトルと同一であった。これは、不安定なピークは同じであるがベンジルアミンは回収されなかった、ベンジルアミンと別の燻蒸剤二硫化炭素との反応と対照をなしている。

5mlのC₂N₂付加後、ベンジルアミンは再び定量的に回収された。

0.5mlのC₂N₂ガスは 2.2×10^{-5} の燻蒸剤を含有し、ベンジルアミンのモル数はこのレベルの36倍であった。この比率は、5mlの燻蒸剤を付加すると、3.6に低減した。2モルのアミンは1モルのベンジルアミンと反応し、使用モル比は非可逆的变化を検出するのに適したもの以上であった。

考察

アミンのC₂N₂との迅速な反応は、実施例14及び15で考察された。アミン(例えばリシン)とC₂N₂との反応の可逆的性質は、このような生物学的化学物質は破壊されず、したがって栄養的損失を引き起こすことを示す。

実施例38

切り花を用いるための燻蒸剤としてのC₂N₂及び関連用途

目的：切り花上に一般に見出される昆虫に対する燻蒸剤として作用するC₂N₂の能力を査定すること。

10

20

30

40

50

材料及び方法

昆虫を新鮮な切り花（ヤマモガシ属Protea及びThryptomene）から採集し、ガラスバイアル（容量約8ml）に入れて、隔壁を有する蓋で密封した。各昆虫属の代表的標本を入れたバイアルを対照として保持し、残りのものに92mg/lの濃度の C_2N_2 1mlを投与して、最終濃度を約11.5mg/lとした。これらのバイアルを周囲温度（約18℃）で2時間放置した。2時間経過後、生存の徴候に関して昆虫を調べ、次いで空気に曝して、さらに同定のために保存した。

結果

対照バイアルは2時間の期間中に死亡を全く示さなかったが、一方 C_2N_2 に曝露した昆虫、ダニ及びクモはすべて、2時間曝露後に死亡した。

10

昆虫

（一般名）	（属名）	（科名）	生存数	死亡数
アザミウマ	Thysanoptera	phaelothripida	0	15
ハムシ	Coleoptera	chrysomalidae	0	1
トビムシ	Clembola		0	10
ガ	Lepidoptera	geometridae	0	2
ガ（幼虫）			0	1
ダニ	Acarina		0	8
クモ	Arachnida		0	6
ハエ	Diptera	sciaridae	0	6

20

考察

これらの予備的結果は、 C_2N_2 が切り花、栽培植物及びその他の場所に普通に認められるこれらの昆虫、クモ及びダニを殺害することを示す。制御される昆虫は、総翅目Thysanoptera、鞘翅目Coleoptera、弾尾目Colembola、鱗翅目Lepidoptera及び双翅目Dipteraからであった。殺される他の主な目名は、ダニ目Aracina（ダニ）及び真正クモ目Araneida（クモ）であった。鞘翅目（例えば実施例30、実施例34）、鱗翅目（実施例27）、双翅目（実施例12）及びダニ目（実施例40）との引照が成される。

30

実施例39

異なる大気圧での昆虫に及ぼす C_2N_2 の作用

目的： C_2N_2 の毒性に及ぼす高圧及び低圧の作用を調べる。圧力を周囲圧、周囲圧より1気圧高い圧、又は周囲圧の半分の圧に保持したステンレススチール容器中で、2つの異なる貯蔵物質害虫Sitophilus oryzae及びRhyzoprtha dominicaを C_2N_2 で処理した。3つの異なる圧力で、既定量の C_2N_2 に24時間曝露後の2種に関して、終点死亡率を測定した。

40

材料及び方法

ステンレススチールシリンダー内で燻蒸を実施した。ステンレススチールシリンダー（直径約100mmx353mm）にボルトでしっかり締め付けられる端板を取り付け、ゴム製Oリングで密封した。各端板は、三方タップ又はゴム隔壁サンプリング口の接続を可能にする1/4インチ入口（出口）を有した。本装置を図46に示す。充填されたシリンダー中の水の重量から、シリンダー容量を算出した。

Sitophilus oryzae（LS2系統）及びRhyzoprtha dominica（CRD2系統）の実験室培養から、各齢混合の成虫を取り出した。これらを、細かいステンレススチール網で両端を

50

塞いだ小ガラス管（直径25mmx25mm）中に、1容器20匹入れた。各種について3つの容器（即ち、6容器、120匹）をステンレススチールシリンダー中に入れ、次いで密閉した。大気圧又はそれ以上で投薬されるシリンダーを部分的に評価し（圧力を5～10mmHgだけ低減）、次いで測定量の燻蒸剤を隔壁を通して注入により導入した。次に、圧力を大気圧と等しくした。必要な圧力になるまで空気のシリンダーに繋いで、圧力を上昇させた。低圧シリンダーを排気させて、必要な圧とし、Hgマノメーターで測定した後、燻蒸剤を注入した。急速な圧力の変化により昆虫が損傷を受けないようにするために、シリンダーに充填した場合又は充填しない場合で、全圧力変化を少なくとも1分間実行した（Ulrichs, 1994; Nakakita and Kawashima, 1994）。使用したC₂N₂の絶対量は「シリンダーリットル」当たり0.94、0.4、0.2又は0.1mgであった。各処理シリンダーに関して制御を保持した。24時間燻蒸後、ガスクロマトグラフィーによりシリンダー内の燻蒸剤濃度を調べ、昆虫を処理及び対照シリンダーから取り出して、生存者を計数した。終点死亡率が確定されるまで、昆虫を保持した。

10

結果

結果を表20に示す。R. dominicaが最もC₂N₂に感受性で、ほぼ全用量で死亡率が100%に達した。0.1mg/lでは、死亡率は63%であった。低感受性S. oryzaeに対するC₂N₂の毒性は、NTPでの用量として表される燻蒸剤の濃度に依ることが判明した。即ち、同用量（mg）／容器に関しては、毒性は高圧で低く、あるいは逆にいえば、燻蒸剤の絶対量に関しては、燻蒸剤の毒性は圧力低下に伴って増大する。他方、用量をNTPでの用量として表した場合、等用量は同一毒性を有することが分かった（表20参照）。

20

考察

表20のデータは、C₂N₂の毒性が燻蒸小室内の空気圧を下げることにより増強されることを示す。この理由は立証されていないが、しかし毒性は用いられたC₂N₂／O₂比を反映するものと思われる。用量及び圧力をNTPでの用量に修正すると（表1）、等価用量（NTPでの）はほぼ等価反応を提供するので、圧力それ自体は支配的パラメーターではない。燻蒸剤の絶対用量を一定に保持しながらの大気圧の変化は、C₂N₂／O₂比を有効に変える。即ち、同一用量に関しては、高圧での燻蒸は低圧でよりもC₂N₂／O₂比が低く、同様に高圧での死亡率は低圧の場合より低い。本結果は、増大酸素レベルへの曝露が昆虫に対するシアン化水素の毒性を増大することを示唆したBond（1962）の結果と対照をなす。

30

データは、高圧又は低圧でC₂N₂を使用することができることを説明する。

表20. Sitophilus oryzaeのC₂N₂燻蒸における死亡濃度と圧力との関係

用量／容器	死亡率（％）， NTPでの用量		
	2 atmos.	1 atmos.	0.44 atmos.
0.94 mg／L	94％	100％	
0.4 mg／L	0.47mg／L 58％	0.94mg／L 92％	100％
0.2 mg／L	0.2 mg／L 0％	0.4 mg／L 57％	0.8 mg／L 97％
0.1 mg／L	0.1 mg／L	0.2 mg／L 0％	0.4 mg／L 33％
		0.1 mg／L	0.2 mg／L

40

C_2N_2 によるダニの制御

目的：ダニに対する C_2N_2 の効能を測定すること。

材料及び方法

ダニを、相対湿度65%に条件調節した少量の食物を含入する270mlエーレンマイヤーフラスコに入れた。食物は有機米泡＋酵母菌であった。隔壁入口を通して燻蒸剤を注入した。

「ノックダウン」死を定期的間隔で観察した。即ち、不動ダニの数を査定した。曝露期間終了時に、ダニ死亡率を査定し、さらに相対湿度65%に条件調節した食物上での保持期間後にも査定した。

試験したダニの種は、無気門亜目Astigmataの、全世界に分布するデトリタス供給者であるTyrophagusputrecentiaeであった。

10

結果

結果を表21に要約する。完全ノックダウンは、時間生成物により低濃度で達成された。ダニは、1 mg/l曝露により完全に殺された。低曝露、例えば1 mg/lへの6時間曝露に関しては、死亡ダニは正常に見えたが、動かなかった。高濃度では、又は長時間曝露期間後では、ダニは縮んだように見えた。

考察

燻蒸小室内でのダニの制御は、ホスフィンが制御を達成できなかった条件下での花燻蒸中のダニの制御（実施例38参照）と相関する。ダニ及び昆虫の両者を殺す能力は、貯蔵耐久及び生鮮商品、美術館等を含めた多数の領域で重要である。

表21. C_2N_2 に曝露されたT. putrecentiaeの死亡率

20

種	濃度 (mg/L)	曝露時間 (h)	ノックダウン (%)	死亡率 (%) (24時間後検定)
	2	2	95	-
	4	18	100 *	100 *
	2	18	100 *	100 *
	1	6	50	50
	1	18	100	100 *
	1	24	100	100 *
	1	48	100 *	100 *

30

* 収縮

実施例41

40

C_2N_2 による植物疾患の制御

目的：植物疾患に対する C_2N_2 の効能を調べること。

材料及び方法

植物真菌の増殖のための標準培地、ジャガイモデキストロース寒天プレート＋グルコースを、サンプリング隔壁とのクイックフィット接続を備えた容量275mlのエーレンマイヤーフラスコ中に調製した。上蓋を含めた全装置を、130℃で予め滅菌しておいた。各プレートの中心に植物真菌を接種した。使用した真菌は、麦類立枯病真菌Gauemannomyces graminis (tritici変種) 及びRhizoctonia solaniであった。

前者の真菌はコムギの収量減損の主要原因であり、後者真菌は多数の状況における収量減損の一般的原因である。

50

燻蒸剤 C_2N_2 をサンプリング隔壁を通してフラスコに付加した。算出適用濃度は、*G. graminis* を制御するための実験では、対照と同様に、0.6、2.4、6及び15ml/lであった。フラスコを22℃で放置した。24時間後に上蓋を取り除いて、すべての残留燻蒸剤を空気に曝した後、置換した。算出適用濃度は、*R. solani* を制御するための実験では、0.78、1.56、3.1及び12.5mg/lであったが、初期測定濃度は0.50、1.0、2.15及び8.7mg/lにすぎなかった。

全実験を2回ずつ実施した。

結果

G. graminis

48時間後、対照においては真菌増殖がはっきり目に見えたが、どの処理にもそれは認められなかった。次の日3日間、対照における増殖は進行したが、いずれの燻蒸真菌においても増殖は観察されなかった。

R. solani に関しては、投薬時のコロニー直径はすべての場合に10~12mmであり、直径を記録した。投薬の1日(24時間)後、燻蒸標本におけるコロニー直径は変わりなかったが、一方対照直径は29mmに増大した。72時間後、0.8mg/lの算出濃度で燻蒸した標本に多少の増殖が認められ、平均直径は27.5mmとなったが、一方高濃度で燻蒸した標本においては増殖は認められなかった。対照標本の平均直径は61mmであった。

考察

植物病原体の制御は園芸及び農業の重要な領域であり、土壤に臭化メチルが一般に用いられていることの主な理由である。

引照

実施例7及び42は、土壤中の収着及び土壤中の効能を考察している。コムギ上の糸状菌の制御(実施例21及び41)も関連がある。燻蒸剤は気体として又は溶液で適用し得るし、各々の適用方法は土壤燻蒸のために用いる可能性を有する。

実施例42

他の燻蒸剤に関する以前の試験(Mathiesson, Desmarchelier, Shakelton and Vu, 未発表結果)から使用された、そしてゾウムシwhitefringedweevilに対する C_2N_2 の毒性の査定(実施例7参照)に用いられた土壤を用いて、土壤中の C_2N_2 の収着を調べることにした。

材料及び方法

3種類の土壤を試験した。これらはPemberton loam、Myaluys sand及びSadie peatであった。

土壤(50g)を容量138.5mlのエーレンマイヤーフラスコに入れた。フラスコを隔壁入口で密封した。燻蒸剤を2つの方法で適用した。一方法は、1ml又は0.5mlの注入によりガスとしてであった。他の方法は、25mlエーレンマイヤーフラスコフラスコ中の0.01M HCl 20mlに燻蒸剤ガス10mlを付加して得られる水溶液中の同量の燻蒸剤の適用であった。

燻蒸剤のヘッドスペース濃度は、内径0.53mmのDBwaxカラム上での分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフで測定した。

実験は2回ずつ実施し、平均結果を記録した。

結果

結果を表22に要約する。各方法の適用に関しては、ヘッドスペース内の燻蒸剤の濃度は、ピート土壤中では他の土壤よりも急速に低下した。ヘッドスペース内の燻蒸剤の初期濃度は、ガスとしての燻蒸剤の付加に関しては水溶液でよりも高かった。

考察

これらの結果は、実施例7に略記された結果とともに、ガスとして適用するか液体として適用するかにかかわらず、土壤燻蒸剤としての C_2N_2 の使用で一貫している。ガスとして、又は液体として C_2N_2 を適用できることは、この燻蒸剤の独特の特性である。

収着により測定した場合の、土壤の C_2N_2 の損失は、環境へのガスの放出低減の観点から良いことであるが、害虫制御を困難にする。

ローム及び砂上で達成されるC x T生成物は、麦類立枯病真菌を制御するのに必要な量を超える(実施例41参照)が、これは、生物検定条件の差のため、というだけである。

10

20

30

40

50

表 2 2 . 土壌による C_2N_2 の収着

土 壌	付加算出量 (mg)	適用 方法	ヘッドスペース内の C_2N_2 濃度 (mgL^{-1}) at time (h)			
			0	1.5	4	24
M	0.851	dry	5.03	0.96	0.15	0.013
P	0.851	dry	5.16	3.29	1.12	0.003
S	0.851	dry	4.69	0.005	0	0
M	1.90	dry	12.54	1.73	0.43	0.043
P	1.90	dry	11.25	7.25	4.80	0.15
S	1.90	dry	11.05	0.01	0.002	0
M	0.423	wet	2.07	0.55	0.06	0.004
P	0.423	wet	1.99	1.45	0.28	0
S	0.423	wet	1.22	0.009	0	0
M	0.964	wet	2.42	0.91	0.14	0.01
P	0.964	wet	2.81	2.08	0.81	0.002
S	0.964	wet	2.70	0.0055	0.001	0

実施例 4 3

コムギ中の C_2N_2 のシアン化水素への変換程度

目的：穀粒中で C_2N_2 がシアン化物に変換される程度を調べること。

序 論

実施例 1 5 では、文献データの再検討から、シアンが 2 つの経路により分解されることが示された。第一は、ホルメート+シアン化物へという経路で、低又は高 pH では優れており、第二の、シアン化物を伴わないオキサレートへの経路は、中性 pH で優れている。

材料及び方法

Vu 及び Desmarchelier の方法により、コムギ中のシアン化物を測定した。本方法は、標準手法 (American Association of Cereal Chemists, 1983) を用いて、水上に蒸留し、希釈アルカリ中でトラッピングして、コムギからシアン化物を除去する。それは、密封されたフラスコ内で脱着シアン化水素を捕獲し、次いで酸性化して、ヘッドスペース内のシアン化水素の測定を可能にする。この方法は、通常に実施される場合、使用条件下で分解されてシアン化物を生じ得る全化合物を測定し、シアン化水素のような化学物質を算出することに留意すべきである。

さらに、5 回繰り返した測定値の平均から、異なる穀粒及び豆類中のシアン化物レベルを同一手法により測定した。

含水量 11.6% のオーストラリア標準白色コムギを 120ml フラスコに入れてコムギ充填率を 95% とした。フラスコを Mininert 弁で密封した。燻蒸剤を注入し、異なる期間、コムギを貯蔵した。さらに、燻蒸化コムギを発芽させて、シアン化水素の残留物に及ぼす発芽の影響を査定した。

シアン化水素及び C_2N_2 をともに、60°C で DBwax カラムで等温分離後、熱電子特殊検出器を装備した Varian 3300 ガスクロマトグラフで測定した。

実験は 3 回ずつ実施し、平均結果を記録した。

結果

異なる穀粒中のシアン化物の残留物は、平均で、コムギに関しては0.046mg/kg、canolaに関しては0.11mg/kg、フィールドピーに関しては0.058mg/kg、オオムギに関しては0.125mg/kg及びモロコシに関しては1.1mg/kgであった。

C_2N_2 による燻蒸後のシアン化物の残留物を表23に示す。これらの結果は、 C_2N_2 減損の卓越した方法がシアン化物への分解によるのではなく、このような分解は起きない、ということを示す。変換パーセンテージの実験反復は良好でなく、シアン化物への変換程度はさらに研究を要する。

表23. C_2N_2 による燻蒸後のコムギ中のシアン化物の残留物

付加 C_2N_2 (mg)	付加 C_2N_2 (mg/kg)	投与後時間 (週)	コムギ 中のHCN (mg/kg)	HCN (対 C_2N_2 比) (W/W)	発芽コムギ 中のHCN (mg/kg)
3.64	40.6	2	1.46	0.031	1.86
7.67	86.2	1.5	13.2	0.13	1.5

10

考察

シアンはコムギ上でシアン化物に大規模には分解されない。したがって、その効能は、シアン化物への前駆体であるシアンに基づいていない。シアン化水素は実施例3では同定されなかった。

20

実施例44

C_2N_2 の溶液によるウイルス不活性化

目的： C_2N_2 の殺ウイルス活性を査定すること。

序論

C_2N_2 の殺ウイルス活性を査定するために、われわれは2つのウイルス宿主系を調べた。これらの最初の系は、核多角体病ウイルス群(NPV)及びその鱗翅目宿主*Helicoverpa armigera*であり、第二のものはコオロギから最初は単離された小RNA含有ウイルス(コオロギ麻痺ウイルス-CrPV)及び任意のキイロショウジョウバエ*Drosophila melanogaster*細胞株(Scotti, 1972)であった。

30

核多角体病ウイルス群(NPV)は、120~150kbpの領域に環状ゲノムを有する大型二本鎖DNAウイルスである。それらは、成熟ウイルス粒子が多角形封入体(PIB)として公知の大型擬似結晶タンパク質マトリックス中に埋め込まれていることを特徴とする3群の昆虫ウイルス(他の2つは細胞質多角体病ウイルス及び昆虫ボックスウイルスである)の1つである。PIBは一般的に直径が1ミクロン以上で、そのタンパク質マトリックス中に埋め込まれた20~数百個のウイルス粒子を含有し得る。普通は、NPVは、PIBの取込み後にその昆虫宿主中での感染を開始する。昆虫前腸のアルカリ性条件中で、PIBは溶解し、ウイルス粒子を放出して、感受性細胞(通常、中腸の先端の基底円柱細胞)における感染を確立する。初期複製後、ウイルスは昆虫宿主中の多数の組織に感染するようになり、結局4~8日(温度及び初期感染用量に依る)の間に宿主を死に至らしめる。

40

小RNA含有ウイルスコオロギ麻痺ウイルス(CrPV)は、最初はコオロギから単離されたが、実質的には広範囲の昆虫種から単離され、複製されている(Christian and Scotti, 1994)。NPVに対比して、CrPVは約8kbの一本鎖RNAゲノムを有し、4つの主要構造タンパク質及びレプリカーゼのみをコードする。CrPVは、ショウジョウバエ(キイロショウジョウバエ)*Drosophila melanogaster*から得られる細胞株中で容易に複製することが判明しており(Scotti, 1976)、この任意の細胞系は、ウイルス力価の見積もりにルーチンに用いられる。

材料

1) 4℃で保存される 1.8×10^7 個の多角形封入体(PIB)/mlの*Helicoverpa armigera*核

50

多角体病ウイルス (H a N P V) ストック懸濁液。

2) コオロギ麻痺ウイルス (C r P V_{VIC} / G m / D 2² / G m / D 2²) (Teleogryllus commodus, Victoria, Australia) (Christian and Scotti, 1994)。-20℃で保存される未滴定ストック。

3) 10%ウシ胎仔血清を補充したSchneider昆虫培地 (Schneider, 1972) 中に保持されるキイロショウジョウバエDrosophila melanogaster系統2 (D L 2) 細胞。

4) J 2ゼリートレー (Nu-trend Containers, Jacksonville, FL) 中の4mlアリコートに分取される一標準Helicoverpa読取り培地 (Shorey and Hale, 1960—ホルマリンを含有しない)。

5) 最終濃度2mg/mlの2回蒸留水中のN F 2 ストック溶液。これは、容量27.5mlガス59mgを水15mlに付加して得た。空气中及び水中の濃度を測定する。 10

6) 2回蒸留した水。

7) ネオプレンスールを有する5ml McCartney瓶。実際測定容量は6.8mlであった。

8) 標準96ウエル平底微小滴定プレート (Crown Corning, Corning, NY)。

9) ヒートシール可能なMylar^{T M} (Dupont Australia Ltd., Bayswater, Vic)

方法

ウイルス標本の処理

1) H a N P V又はC r P Vの2つの100 μ lアリコートを5ml McCartney瓶 (実際容量6.8 ml) 中に分取した。1つのアリコートに900 μ lの2回蒸留水を付加し (未処理対照)、第二のアリコートには900 μ lのC₂N₂ストック溶液を付加した (処理標本)。C₂N₂ブランク (1 mlのC₂N₂溶液) を瓶の5分の1に入れた。 20

2) すべての瓶をしっかりと密封し、4℃で一夜 (16時間) 置いた。

3) 生物検定前に、標本の上のガス相中でC₂N₂の濃度を測定した。60℃で、内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフでガスを測定した。

H a N P Vの生物検定

1) H a N P Vの標本を2回蒸留水で1:10に希釈して、最終推定濃度を1.8x10⁵ P I B / mlとした。次いで、最終推定P I B濃度7.2x10⁴、1.8x10⁴、7.2x10³、1.8x10³及び7.2x10² P I B / mlの未処理対照及び処理標本について希釈シリーズを作った。

2) 次に、100 μ lの各ウイルス希釈液を、標準Helicoverpa読取り食餌を含有する4mlのJ 2ゼリートレーの25ウエルの各々に分取し、懸濁液をガラス棒を用いて食餌表面に広げた。ガラス棒は、希釈液毎に炎焼により滅菌した。 30

3) トレーを15~30分間風乾後、個々の24時間齢 (25℃で保持—中間—初齢) Helicoverpa armigera幼虫を各ウエルに入れ、ウエルをヒートシール可能なMylar^{T M}で密封し、Mylar^{T M}に孔を開けてガスが移動できるようにし、トレーを細目金網の介在層と積み重ねた。

4) ウイルスに及ぼすC₂N₂の作用を昆虫に及ぼすその考えられる作用と分けるために、25匹の昆虫の標本を上記のように、しかしC₂N₂ストック溶液 (ブランク) の1/10希釈液を用いて食事に付加して処理した後、乾燥し、そして50匹の幼虫群は全く処理せずに保持した。

5) 昆虫を30℃ (相対湿度70%) で保持し、感染後3日目及び感染後10日目に評価した。3日目に死亡した幼虫はN P V以外の原因により死亡したとみなされ、その後の分析から排除した。 40

C r P Vの生物検定

1) 1/100の希釈でD L 2細胞の融合性単一層から細胞を継代培養した。

2) 40 μ lのこの細胞懸濁液を96ウエル微小滴定プレートの各ウエルに分取して、細胞を1時間付着させた。

3) C r P Vの標本を蒸留水で1/10に希釈し、机上型遠心分離器で14,000rpmで2時間遠心分離して、大きな細胞屑を除去した。

4) 次に、ウシ胎仔血清を補給した滅菌Schneider培地でウイルスの10倍希釈シリーズを作って、50 μ lの各希釈液を、付着D L 2細胞を含有する微小滴定プレートの8つのウエ 50

ルの各々にアリコート化した。

5) 2つのウイルス標本（未処理対照及び処理標本）の他に、 C_2N_2 ブランクも同様の方法で滴定した。

6) 細胞を27°Cで保持し、観察可能な細胞病性作用（C. P. E.）における存在に関して7日後に評価した。

結果

C_2N_2 の測定

1瓶に付加する C_2N_2 の理論量は1.8mgであった。分配係数を1.1で測定した。即ち空気中の燻蒸剤の重量（/ml）は、水中のその重量（/ml）の1.1倍であった。したがって、水中の濃度は約0.25mg/mlであった。したがって、水性相中の0.25mg/mlの理論的濃度で、試験した系では、6.8mlバイアル中の1.8mgの質量が結果として生じた。

2mg/mlでの投与前に C_2N_2 のストック溶液中の濃度を概算して、投与の2週間後に測定し、1.6mg/mlという値を得た。この目的のために供されたMcCartney瓶中の濃度も、上部を迅速に除去し、気密注射器でサンプリングし、再密封して、測定した。この分析方法により、付加された C_2N_2 の量は、H a N P Vの場合には理論量の25%、C r P Vの場合には23%に過ぎなかった。この低回収率は、おそらく低用量投与とガスの実際量を低く見積もるサンプリング手法との組合せに依るものと思われる。

H a N P Vの生物検定

1) ウイルス試験群（未処理対照及び処理標本）で10日目に記録された死亡率を表24に示す。

表24：水に溶解した C_2N_2 溶液を用いて（処理標本）又は用いずに（未処理対照）処理したH a N P Vの生物検定で記録された死亡率。死亡率はN P V関連死数／試験昆虫総数として表される。

ウイルス濃度

未処理対照／処理標本

1.8×10^5	26/280/24
7.2×10^4	28/310/26
1.8×10^4	12/261/24
7.2×10^3	8/280/25
1.8×10^3	2/270/25
7.2×10^2	2/260/25

2) 表1に示したデータを用いて、コンピュータープログラムP O L Oを用いてプロビット分析を実施した。ウイルスの濃度はP I B/mm²で表した（J 2トレイの各ウエル中の食餌の表面積は770mm²である）。未処理対照に関して、それぞれ1.094～1.571 P I B/mm²の95%以上及び以下の信頼区間で、1.960 P I B/mm²のL C₅₀概算値を得た。処理標本からはL C₅₀概算値は得られなかった。

3) 乾燥前に、0.025mg/mlの濃度の C_2N_2 で処理した食餌上に保持した昆虫と未処理で放置した場合の昆虫との間の観察可能な差は認められなかった。

C r P Vの生物検定

1) 2つのウイルス標本におけるウイルスの力価及び標準偏差を、ReedとMuenchの方法（Davis et al., 1968参照）を用いて概算した。

2) 2つの標本の力価を以下に示す：

未処理対照 1.38×10^8 IU*/ml (+/-4.36x10⁷)

処理標本 2.21×10^5 IU/ml (+/-6.98x10⁴)

*IU=感染単位

10

20

30

40

50

3) C_2N_2 ブランクの滴定からも、水中で0.4mg/mlの濃度でD L 2細胞に対して C_2N_2 が強力な毒性を有するが、この量の1/10の濃度では効力は観察されないことが明示された。

考察

溶液中の C_2N_2 によるH a N P Vの不活性化

1) データから、最終濃度0.25mg/mlの溶液中の C_2N_2 は、40℃で16時間後に少なくとも240倍までH a N P Vを不活性化する。即ち、処理標本における最高推定ウイルス濃度 (1.8×10^5 P I B / ml) は低下して、未処理対照の最低濃度 (7.2×10^2 P I B / ml) で観察された死亡率を生じた。

C r P Vの不活性化

1) 上記のデータは、0.25mg/mlの濃度の溶液中の C_2N_2 は、4℃で一夜処理後にC r P Vを640倍不活性化した。 10

考察

ウイルスを制御できるということは、医科、歯科、獣医科及び科学用建物及び装置に関連した多数の領域で大きな重要性を有する。ウイルスのこの制御は、細菌の制御（実施例19）、糸状菌の制御（実施例21）及び真菌性疾患制御（実施例41）に加えられるべきものである。水中を移動する能力（実施例22）、並びに蒸気相及び溶液中でのその活性は、ヒト及び動物の健康にとって重要なウイルス、細菌及びその他の生物の制御の重要且つ新規の局面である。

実施例45

C_2N_2 の毒性に及ぼす種々の濃度の酸素の作用及び種々の圧力での二酸化炭素の作用 20
目的： C_2N_2 の毒性に及ぼす異なる濃度の酸素及び異なる圧力の二酸化炭素の作用を調べる。

材料及び方法

実施例39に記載したようなステンレススチールシリンダー中で燻蒸を実施した。酸素レベルを60%、20%又は10%に調整したステンレススチール容器内で、 C_2N_2 を用いてSitophilus oryzaeの成虫を処理した。同様に、周囲圧より1気圧高い圧で50%及び30%二酸化炭素の存在下で、及び大気圧で30%二酸化炭素中で、 C_2N_2 を用いてSitophilus oryzaeの成虫を処理した。既定量の C_2N_2 に24時間曝露後に、終点死亡率を測定した。

Sitophilus oryzae (L S 2 系統) の実験室培養から、各齢混合の成虫を取り出して、細かいステンレススチール網で両端を塞いだ小ガラス管（直径25mmx25mm）中に、1容器20 30
匹入れた。3つの容器をステンレススチールシリンダー中に入れ、次いで密封した。酸素又は窒素のシリンダーを用いて、必要な酸素比が得られるまでステンレススチールシリンダーを加圧して、異なる酸素レベルを得た後、ガスを大気に放出して圧力を大気圧に戻した。同様の方法で、二酸化炭素レベルを得た。急速な圧力の変化により昆虫が損傷を受けないようにするために、シリンダーに充填した場合又は充填しない場合で、全圧力変化を少なくとも1分間実行した (Ulrichs, 1994; Nakakita and Kawashima, 1994)。使用した C_2N_2 の絶対量は0.94、0.4、0.2又は0.1mg/lであった。各処理シリンダーに関して制御を保持した。24時間燻蒸後、ガスクロマトグラフィーによりシリンダー内の燻蒸剤濃度を調べ、昆虫を処理及び対照シリンダーから取り出して、生存者を計数した。終点死亡率が確定されるまで、昆虫を保持した。 40

結果

結果を表25及び26に示す。酸素レベルの正常レベルを下回る低下（しかし酸素欠乏が予測される場合にはずっとそのレベルより上）は、ほとんど又は全く C_2N_2 の毒性に影響を及ぼさなかった。しかしながら、高酸素レベルが低レベルの C_2N_2 の毒性を低減することを示唆する証拠は認められなかった（表25）。

二酸化炭素レベルを増大すると、 C_2N_2 の毒性が増強されることが判明した。周囲圧より1気圧高い圧で30%二酸化炭素を用いた場合、死亡率は75%であった。これは、0.1mg/lの C_2N_2 が存在すると100%に増大した（表26）。

考察

C_2N_2 の毒性は周囲より高い酸素レベルにより低減されるが、しかし低酸素レベルは何ら 50

作用を及ぼさない（酸素レベルは酸素欠乏が生じ得るレベル以上であると仮定する）。二酸化炭素は C_2N_2 の毒性を増強し（実施例2参照）、その作用は圧力を増大することによりさらに増強される（実施例39と比較）。二酸化炭素の使用及び圧力増大は、加圧燻蒸小室内での高価商品の処理に適している。

表25. *Sitophilus oryzae*の C_2N_2 燻蒸における死亡率、濃度及び酸素レベルの関係

用量／容器	死亡率（％）		
	60％ O_2	20％ O_2	10％ O_2
0.94 mg／L	100％		
0.4 mg／L	100％	93％	100％
0.2 mg／L	3％	53％	47％
0.1 mg／L	0％		

10

表26. *Sitophilus oryzae*の C_2N_2 燻蒸における死亡率、濃度及び二酸化炭素圧の関係

20

用量／容器	死亡率（％）			
	50％ CO_2	30％ CO_2	30％ CO_2	正常
0.94 mg／L	100％			
0.4 mg／L	93％			
0.2 mg／L	100％	100％	53％	
0.1 mg／L	100％		100％	0％
0 mg／L	75％			

30

実施例46

切り花に用いるための燻蒸剤としての C_2N_2 及び関連用途

目的：切り花上に一般に見出される昆虫に対する燻蒸剤として作用する C_2N_2 の能力を査定すること。

材料及び方法

昆虫を新鮮な切り花（ヤマモガシ属*Protea*及び*Thryptomene*）から採集し、ガラスバイアル（容量約8ml）に入れて、隔壁を有する蓋で密封した。各昆虫属の代表的標本を入れたバイアルを対照として保持し、残りのものに92mg/lの濃度の C_2N_2 1mlを投与して、最終濃度を約11.5mg/lとした。これらのバイアルを周囲温度（約18℃）で2時間放置した。2時間経過後、生存の徴候に関して昆虫を調べ、次いで空気に曝して、さらに同定のために保存した。

40

結果

対照バイアルは2時間の期間中に死亡を全く示さなかったが、一方 C_2N_2 に曝露した昆虫、ダニ及びクモはすべて、2時間曝露後に死亡した。

昆虫

(一般名)	(属名)	(科名)	生存数	死亡数
アザミウマ	Thysanoptera	phaelothripida	0	15
ハムシ	Coleoptera	chrysomalidae	0	1
トビムシ	Clembola		0	10
ガ	Lepidoptera	geometridae	0	2
ガ (幼虫)			0	1
ダニ	Acarina		0	8
クモ	Arachnida		0	6
ハエ	Diptera	sciaridae	0	6

10

考察

これらの予備的結果は、 C_2N_2 が切り花、栽培植物及びその他の場所に普通に認められるこれらの昆虫、クモ及びダニを殺害することを示す。制御される昆虫は、総翅目Thysanoptera、鞘翅目Coleoptera、弾尾目Colembola、鱗翅目Lepidoptera及び双翅目Dipteraからであった。殺される他の主な目名は、ダニ目Aracina (ダニ) 及び真正クモ目Araneida (クモ) であった。鞘翅目 (例えば実施例30、実施例34)、鱗翅目 (実施例27)、双翅目 (実施例12) 及びダニ目 (実施例40) との引照が成される。

20

実施例47

C_2N_2 で処理したDacus tryoni (クイーンズランドミバエ) 卵の死亡率

目的：双翅目のDacus tryoni (クイーンズランドミバエ) 卵に対する水溶液に溶解した C_2N_2 の毒性を調べることに、及び曝露期間中のガス濃度を測定して濃度x時間の関係を明示すること。

30

材料及び方法

D. tryoni卵を、0.01M塩酸 (HCl) 溶液に溶解した7種類の異なる濃度 (フラスコ対照を含む) の C_2N_2 で2回ずつ25℃で2時間処理した。10mlの0.01M HClを、Mininert気密弁を備えた7つの16mlバイアルに入れ、0、0.45、4.5、9.0、18.0、27.0又は36.0mlの純度72%の C_2N_2 ガスを各バイアルにごくゆっくりと注入した。これは、それぞれ溶液中の0、68、684、1369、2738、4106及び5475mg/l C_2N_2 に相当した。約200 (±10) 匹の1日齢卵を、14枚の湿らせた7x1cmの濾紙ストリップ上に載せ、濾紙をテープで14個の11x1cmステンレススチールストリップに付着させた。次に、各ストリップを、すりガラス隔壁密封上蓋を備えた275mlエーレンマイヤーフラスコに入れた。0.1mlの各 C_2N_2 溶液を、Precision Sampling Corp.の液体注射器を用いて、溶液が卵に掛からないよう注意しながら、2つのフラスコに導入した。これは、フラスコ中の約0、0.025、0.25、0.5、1.0、1.5、2.0mg/Lの C_2N_2 ガスの濃度に相当した。2回ずつ実施した付加の実験室対照を、飼育培地 (乾燥ニンジン、トルラ酵母菌、Nipagin、HCl及び水) を充填したペトリ皿上の湿らせた濾紙上に保持し、25℃及び相対湿度59%で制御温度 (CT) 室中で、曝露期間中保持した。熱電子特殊検出器及びDBwax Megaboreカラムを装備したVarianガスクロマトグラフで、各フラスコのヘッドスペース内の C_2N_2 ガス濃度を測定した。カラム温度は60℃に、注入器温度は100℃、及び検出器温度は288℃に設定した。1.2Lエーレンマイヤーフラスコ中に作った0.25、0.4及び1.51mg/l C_2N_2 の3つの標準液を用いて、濃度を算出した。その結果から、各標本に関する濃度x時間 (CT) 生成物を算出した。

40

約2時間ガスに曝露後、フラスコをヒュームフード内で空気に曝し、卵を保持している濾

50

紙ストリップを、培地を含入するペトリ皿内の湿らせた直径7 cmの円形濾紙上に載せた。次いで、それらを25℃、相対湿度59%で保持した。6日間、毎日残っている卵の数を係数して、死亡率を査定した。

結果

各標本に関する濃度、測定C T生成物及び%死亡率を表27に記録する。死亡率は、標本中の未孵化卵数を対照における数と比較して算出した(表28)。フラスコ及び実験室対照は、未孵化卵200個のうち平均33個で、したがって処理卵の総数はこのために167個に低減された。標本1～4は、対照より大きい孵化率を示し(平均で、0.025mg/lに関しては183、0.25mg/lに関しては186)、このことは低C₂N₂濃度で、燻蒸剤は有益な作用を有し得ることを示す。これらの標本は、100%生存率を有すると思われる。完全死亡率は1.5mg/l以上の濃度で2時間(C T生成物2.1mg時/l)で、73%以上死亡率は1.0mg/l(C T生成物1.4mg/l)で、5%死亡率は0.5mg/l(C T生成物0.8mg時/l)で達成され、0.25mg/l以下では死亡は認められなかった(C T生成物0.38mg時/l)。さらに、1.0mg/lでは、対照及び低濃度と比較して、孵化は24時間遅れた。

表27. 2時間投与 D. tyroni卵 200個 を含有する標本のC₂

N₂ 濃度、C T生成物及び% 死亡率

試料	濃度 (mg/L)	測定生成物 (mg h L ⁻¹)	死亡率 (%)
1	0.025	0.043	0
2	0.025	0.043	0
3	0.25	0.393	0
4	0.25	0.368	0
5	0.5	0.822	4
6	0.5	0.809	5
7	1.0	1.429	91
8	1.0	1.393	73
9	1.5	2.009	100
10	1.5	2.161	100
11	2.0	2.811	100
12	2.0	2.667	100
13	フラスコ対照	-	-
14	フラスコ対照	-	-
15	実験室対照	-	-
16	実験室対照	-	-

考察

D. tyroni卵の完全死亡率は、1.5mg/l以上の燻蒸剤濃度で2時間で、又は2.1mg時/lで達成された。この結果は、この種の幼虫の制御に関して実施例12に略記されたものと類似し

ている。これらの結果から、以下のように結論づけられる：

C_2N_2 は、水溶液中に適用した場合に、有効である。相分布の関連化学知見は、実施例 2 及び実施例 3 1 で考察されている。

C_2N_2 は、卵に対して、並びに実施例 3 4 に示されているように、他の段階に対しても有効である。

表 2 8 . 6 日間の査定期間中の C_2N_2 溶液処理 *D. tyroni* の未孵化卵の計数

試料	総数 200匹からの未孵化卵の数					
	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6
1	19	19	19	19	19	19
2	17	16	15	15	15	15
3	38	23	23	23	21	21
4	31	27	27	27	27	27
5	40	40	40	40	40	40
6	49	49	48	46	42	42
7	193	188	185	185	185	185
8	195	164	155	155	155	155
9	204	204	204	204	204	204
10	207	207	207	207	207	207
11	207	207	207	207	207	207
12	204	204	204	204	204	204
13	33	33	33	33	33	33
14	27	26	26	26	26	26
5	33	33	33	33	33	33
16	39	39	39	39	39	39

実施例 4 8

全身性殺虫剤としての C_2N_2 の特性

目的：燻蒸剤の水溶液の適用により C_2N_2 を植物に全身的に適用し得るか否かを調べること。

材料及び方法

地方の苗木屋から購入したフリージア及びサイネリアの苗を経木からガラス壺（60ml）に移植して、土壤表面を溶融パラフィン蠟で密封した。植物を取り出したあとの土の付いた壺 2 個も蠟で密封した。

84% C_2N_2 10ml を水道水 60ml 中に発泡させて C_2N_2 の水溶液を作った。ガラス壺中の各植物及び土壤にこの水溶液 5ml で水遣りをした。各壺の土壤中に蠟層を通してそれを注入して水遣りをし、次いでさらに溶融蠟を付加して破れた孔を再密封した。各試験を 525ml ガ

10

20

30

40

50

ラス壺の内側に入れて、隔壁を備えたネジ式上蓋で密封した。2個の空の525壺に5mlの C_2N_2 水溶液を直接注入した。

内径0.53mmのDBwaxカラムで分離後、熱電子特殊検出器を装備したVarian 3300ガスクロマトグラフでヘッドスペース内の C_2N_2 の濃度を測定した。

各試験のヘッドスペース内の C_2N_2 濃度は、対照壺のヘッドスペース内の濃度の百分率として表された（空の壺に付加される C_2N_2 水溶液）。図47は、植物が C_2N_2 を土壤からヘッドスペースに移しつつあることを示す。土壤対照（蠟が土壤を密封した）は、蠟シールが C_2N_2 に対して相対的に不透過性で、したがってヘッドスペース内の C_2N_2 の量は植物による C_2N_2 の全身性輸送に関与し得る、ということを示す。

24時間後、葉を取り除いて計量し、次いでネジ式上蓋を備えた隔壁を有する8mlバイアルに入れた。各バイアルに2mlのテトラヒドロフランを付加して C_2N_2 の量を査定し、次にヘッドスペース内の C_2N_2 の濃度を測定した。比較のために、84% C_2N_2 5 μ lを8mlバイアル中の2mlのテトラヒドロフランに付加付加した。葉中に検出された燻蒸剤の量を以下に示す。

Test	葉の重量 (g)	総量 NF2(μ g)
フリージア 1	1.50	1.8
サイネリア 1	1.62	1.8
フリージア 2	1.38	0
サイネリア 2	1.51	1.5
フリージア対照	0.80	0
サイネリア対照	1.63	0

植物の品質に及ぼす燻蒸剤の作用は観察されなかった。

考察

ヘッドスペース中への輸送量及び葉中の化学物質の検出により示されるように、 C_2N_2 は植物においては全身性である。この全身性活性は、昆虫及び植物疾患の制御に重要である。水中の C_2N_2 の移動に関して、実施例22と引照される。

実施例49

コムギにおける C_2N_2 、ホスフィン及び臭化メチルの行動の比較

目的：コムギにおける C_2N_2 、ホスフィン及び臭化メチルの収着及び脱着を比較すること。

序論

燻蒸剤は、燻蒸工程中に燻蒸剤に吸収される。処理後、燻蒸剤は商品から脱着し得る。これは、燻蒸剤及び燻蒸化商品の処理及び安全な取扱と関連する。

材料及び方法

コムギ（25g）の標本を公知容量の250ml円錐フラスコに入れた。ゴム隔壁（注入口）を含有する気密栓でフラスコに栓をした。フラスコに C_2N_2 （10mg/l）、ホスフィン（2mg/l）又は臭化メチル（32mg/l）を投与した。24時間後、ガスクロマトグラフィーでヘッドスペース濃度を測定した。次に、各フラスコを開けて、手短かにコムギをある容器から別の容器に注ぎ入れてコムギ標本を空気に曝した後、サンプリング口を有する気密Waringブレンダーキャニスター中でコムギ標本を粉碎して残留する収着燻蒸剤を概算し、ヘッドスペース分析により放出された燻蒸剤を測定した。

結果

24時間後のヘッドスペースにおいては、初期ホスフィンの91%、臭化メチルの69%及び C_2N_2 の10%の残留が認められ、ガスクロマトグラフィーは元の C_2N_2 の3%がHCNに変換されたことを示した。コムギ標本中の回収可能な燻蒸剤の量は、最高で11.78ppm（w/w）臭

化メチル、0.48ppm(w/w) C_2N_2 及び0.05ppm (w/w) ホスフィンであることが判明した。回収された C_2N_2 に関しては、約1ppm HCNが認められた。

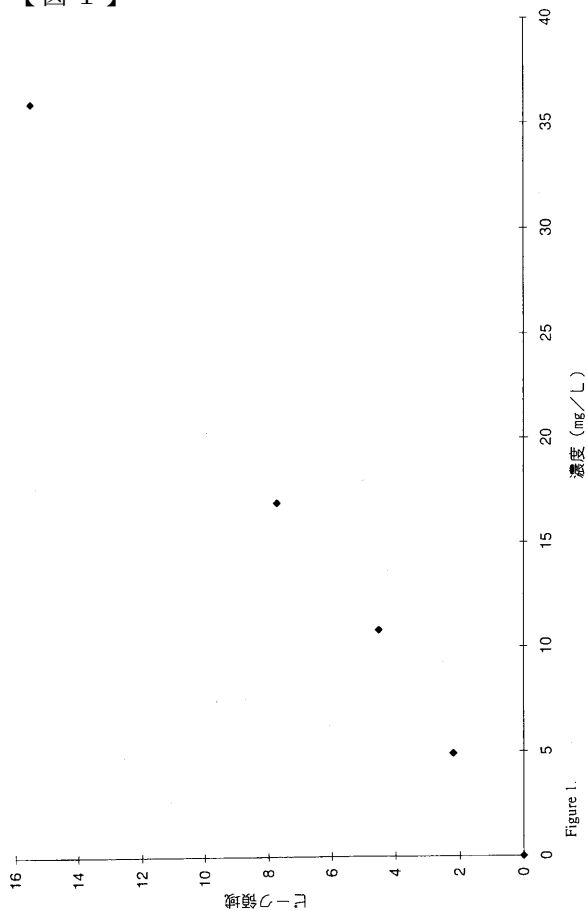
考察

使用した用量は、コムギの有効な燻蒸のための推奨量又は有効と思われる量に対応した。結果は、新たに燻蒸された穀粒標本から脱着し得る C_2N_2 の量が燻蒸化商品の安全な取扱における特別な問題を生じるとは思えない（実施例3と比較）。即ち、燻蒸の実施に伴う通常の安全な予防手段は十分である。付加された C_2N_2 の総量（2500 μg ）のうち、コムギ中の量は、 C_2N_2 10 μg 及びHCN 20 μg で、これはHCNへの変換が小代謝経路であることを示す。

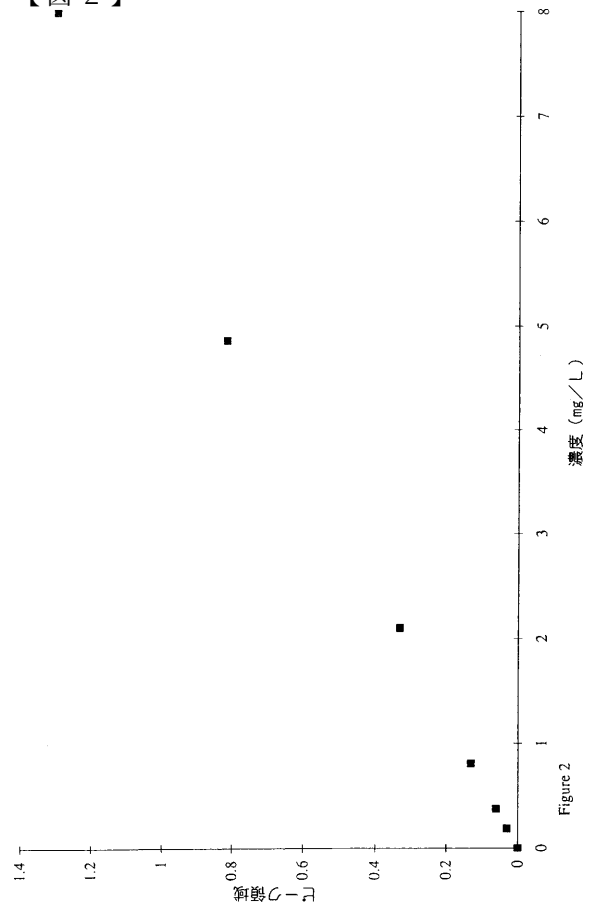
燻蒸剤の実験的研究、並びにその気体及び液体処方物は、殺虫剤、殺真菌剤、殺細菌剤、除草剤、殺線虫剤、殺ウイルス剤として、及び糸状菌阻害剤としてこれらの燻蒸剤を用い得ることを、最後に特に湿潤穀粒に対する使用を示している。滅菌剤としては、シアンは、幾つかの適用においては、病院、歯科及び獣医科の建物の滅菌に用いられる酸化エチレン及びその他の化学物質に代わる適切な置換物である。本発明の燻蒸剤はさらに、木材及び木材製品、土壌、植物及び切り花を処理するのに有用である。本発明は、貯蔵穀粒、木の実及びその他の貯蔵粒状食品、植物、果物、野菜、食肉の燻蒸に有用である。

10

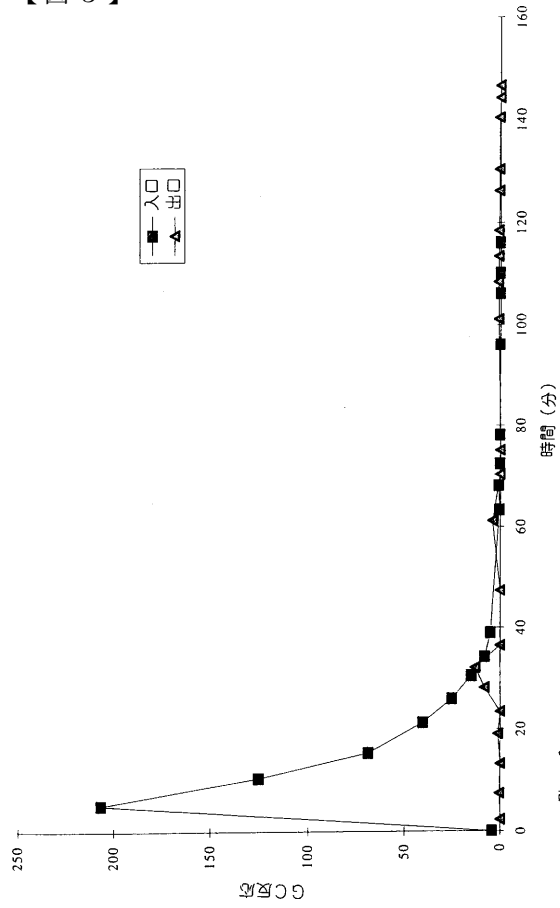
【図1】



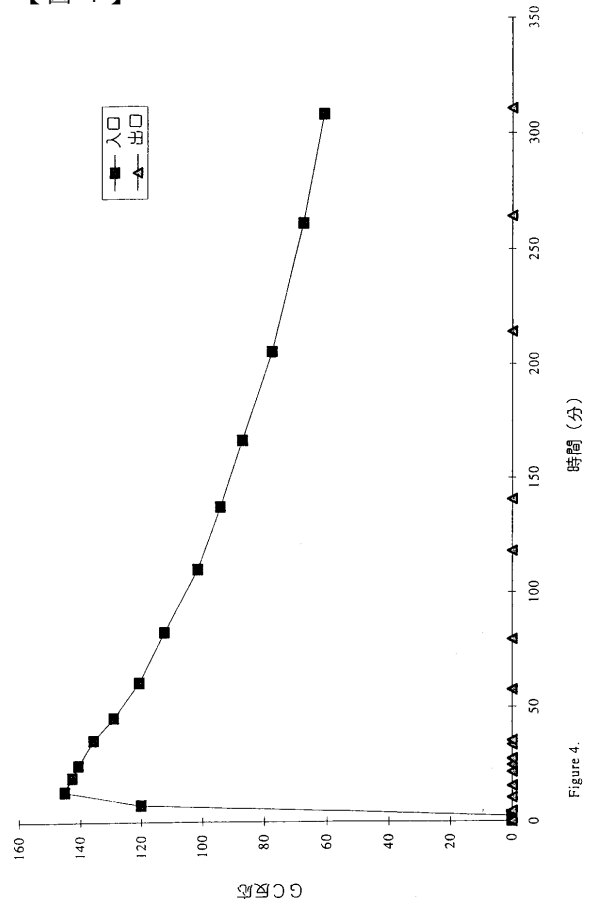
【図2】



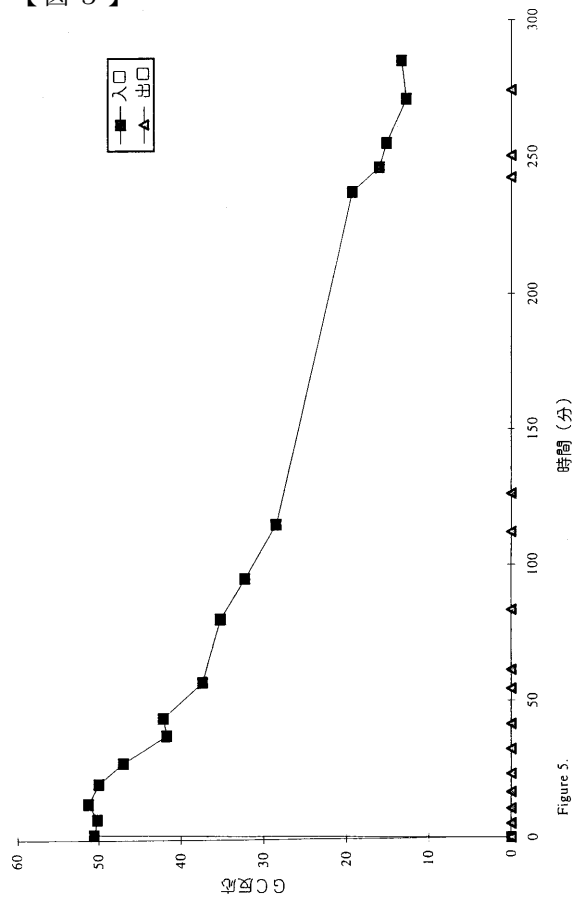
【図 3】



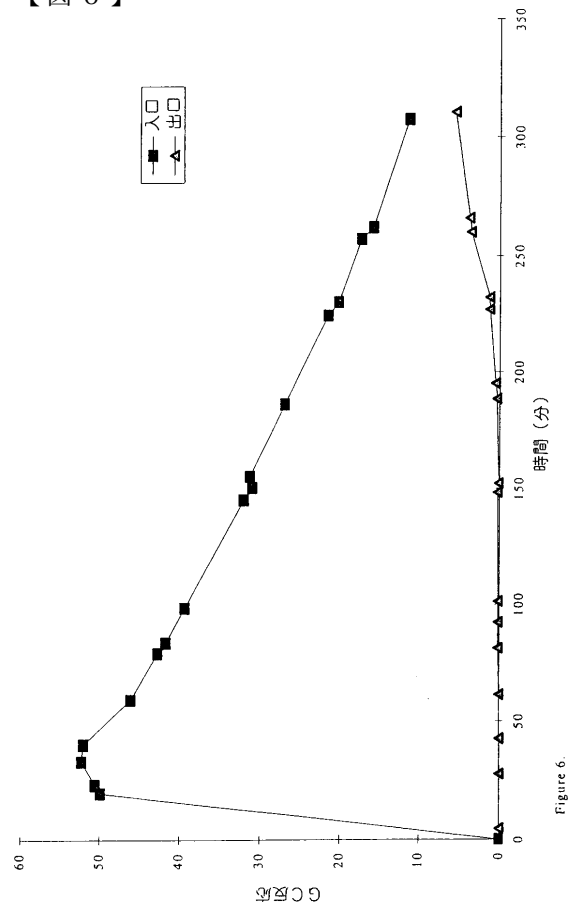
【図 4】



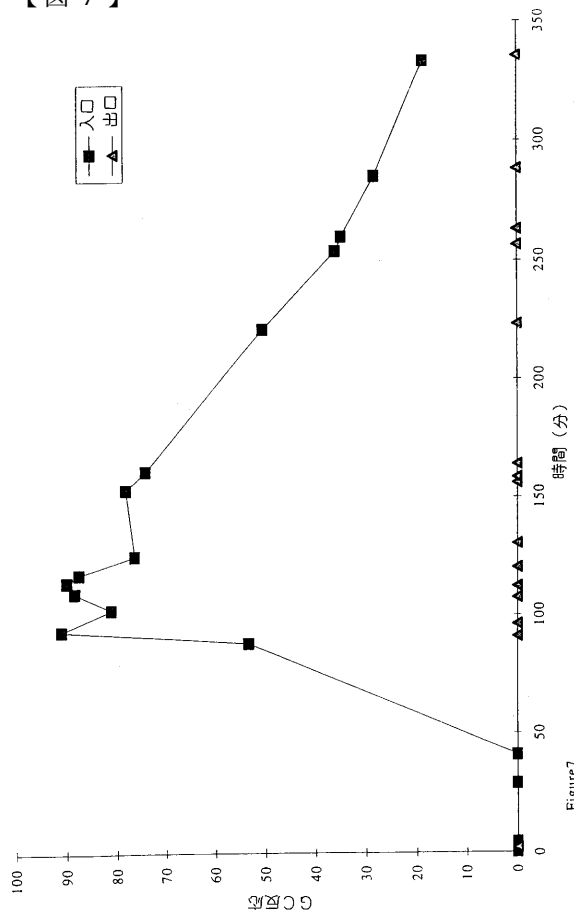
【図 5】



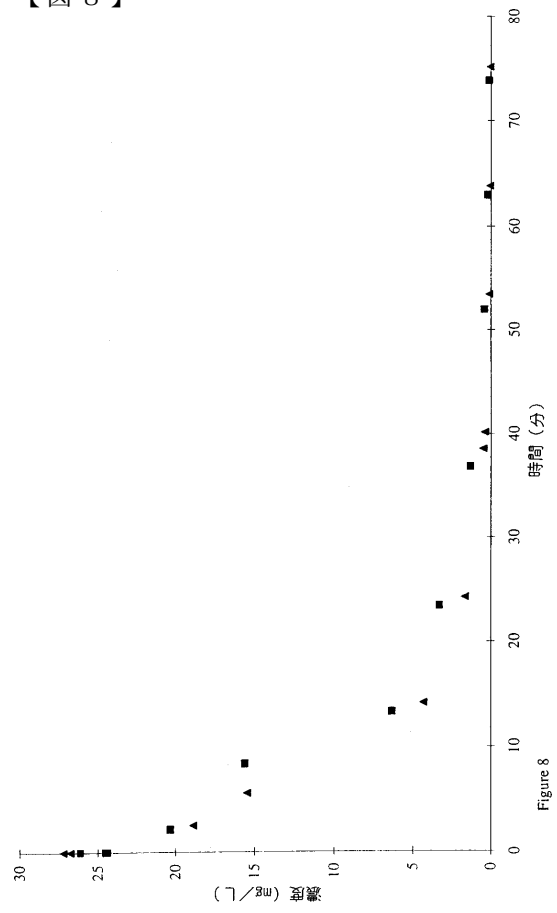
【図 6】



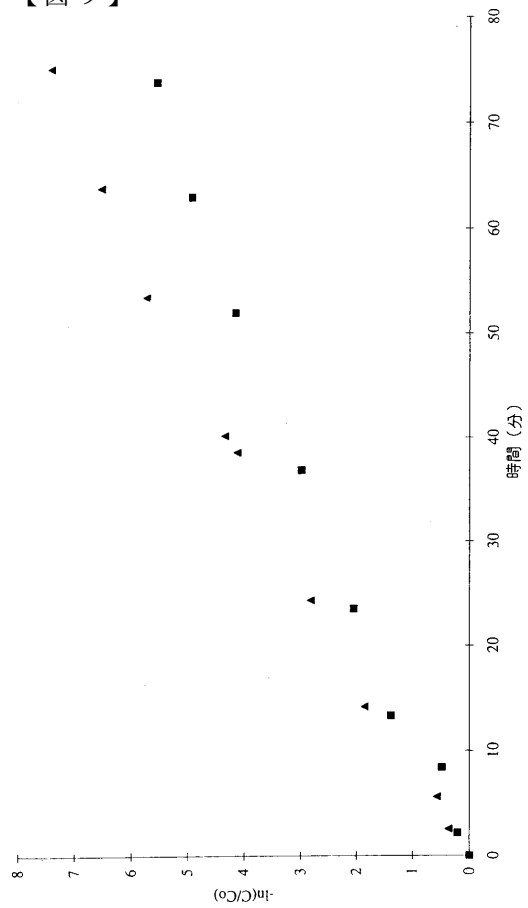
【図 7】



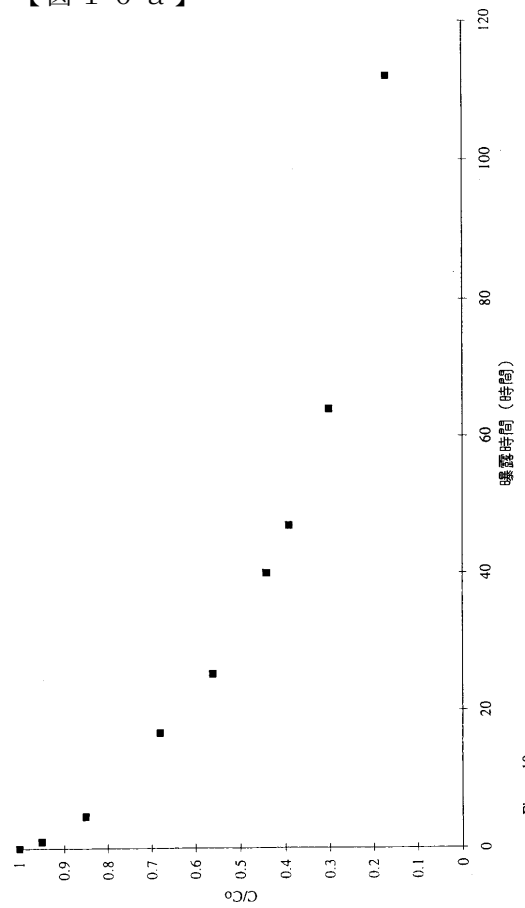
【図 8】



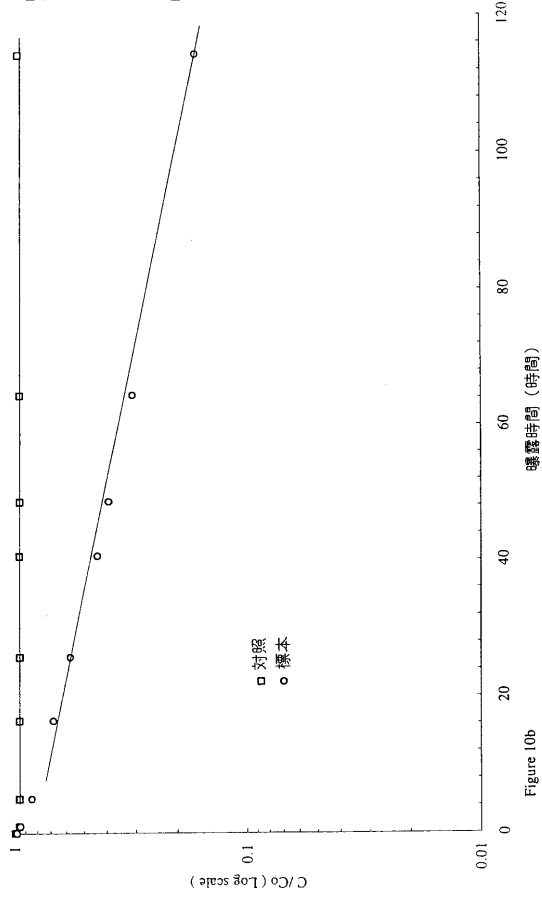
【図 9】



【図 10 a】



【図 10 b】



【図 11】

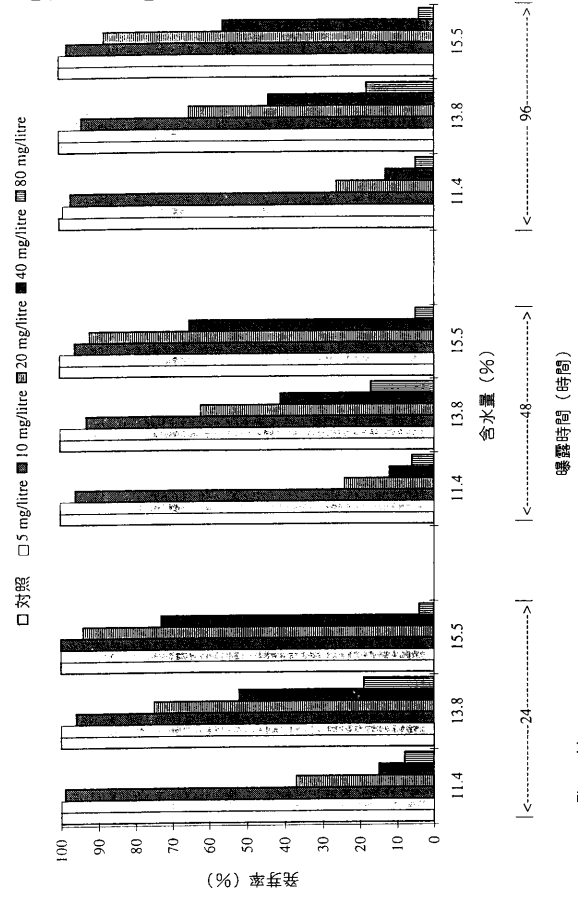


Figure 11

【図 12】

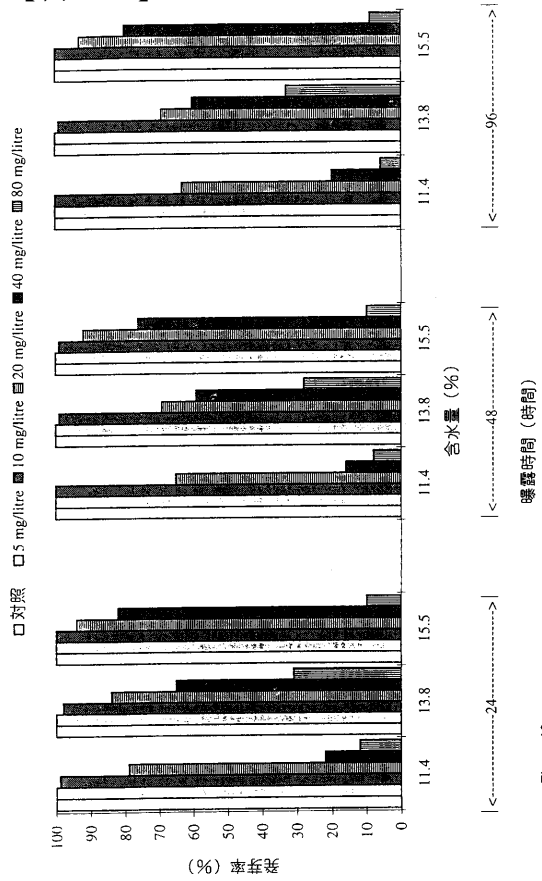


Figure 12

【図 13 a】

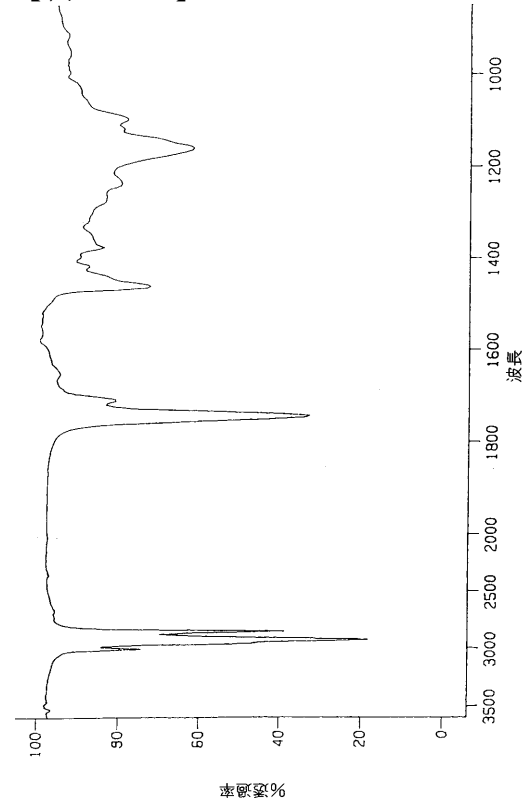


Figure 13a

【図 1 3 b】

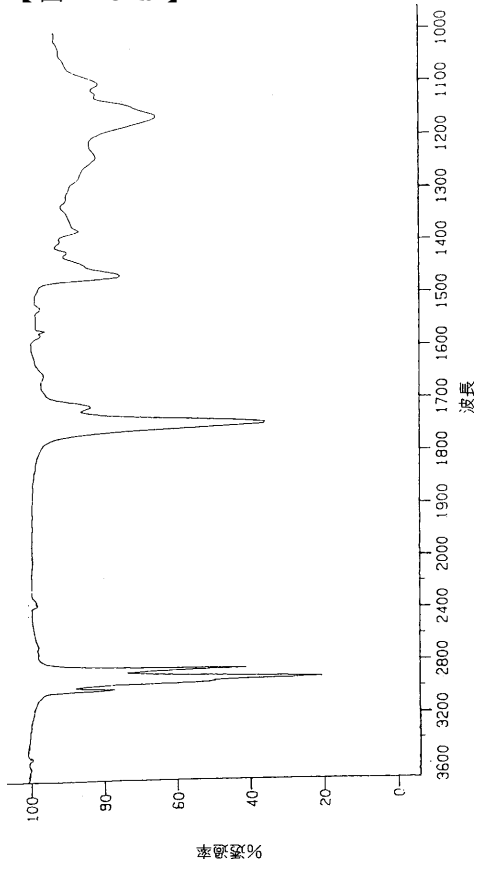


Figure 13b

【図 1 3 c】

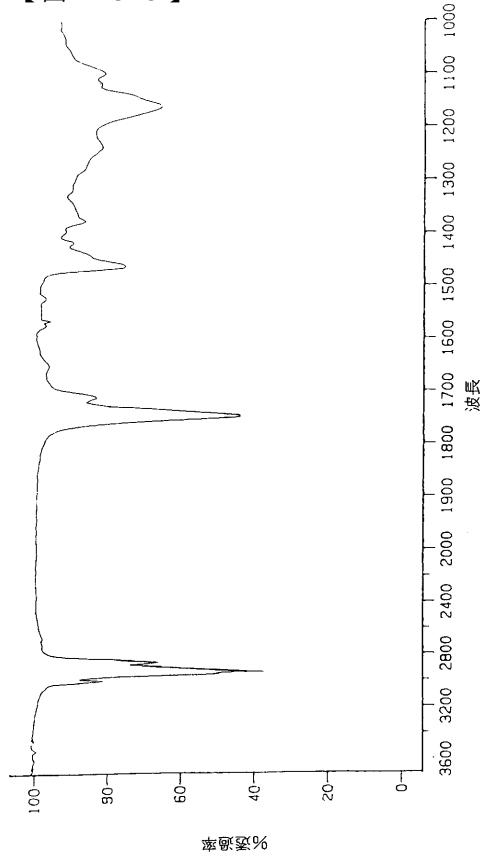


Figure 13c

【図 1 3 d】

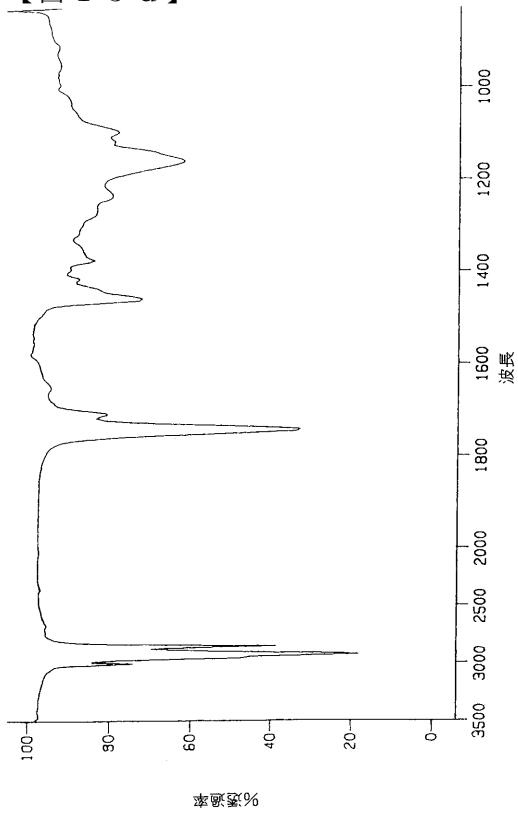


Figure 13d

【図 1 4 a】

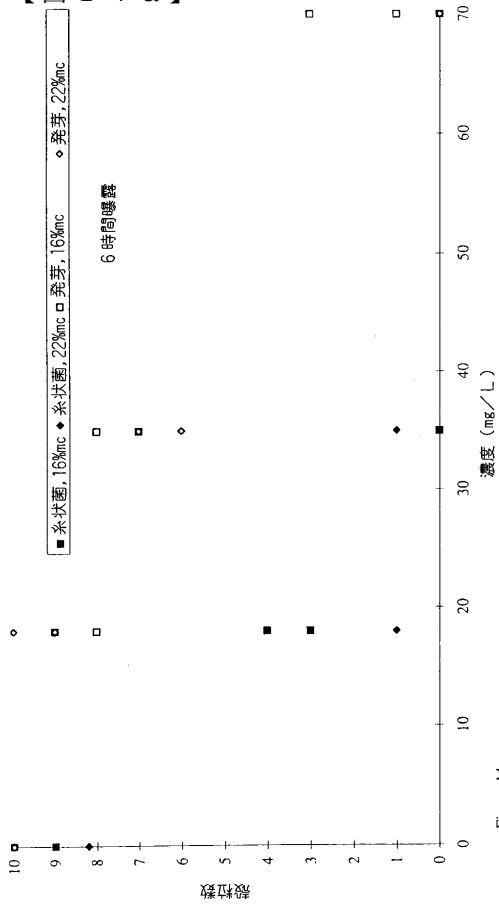
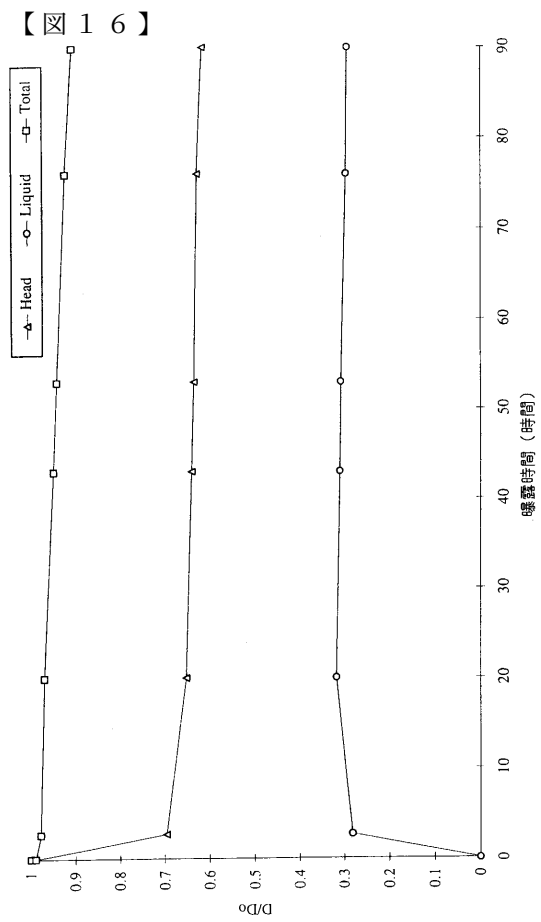
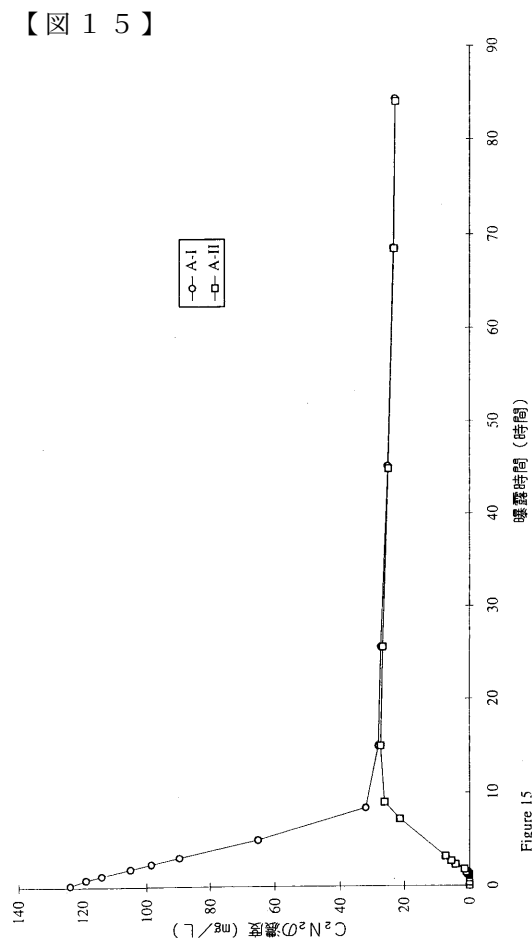
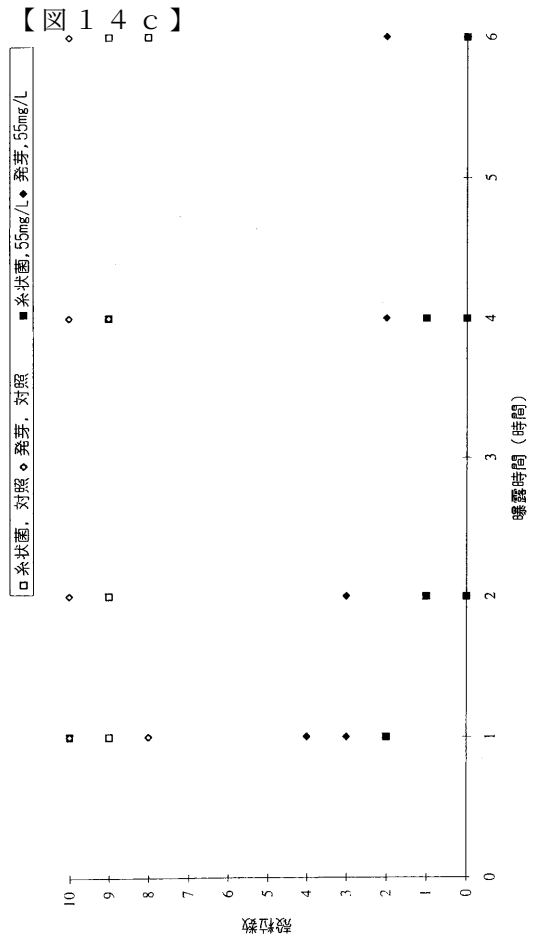
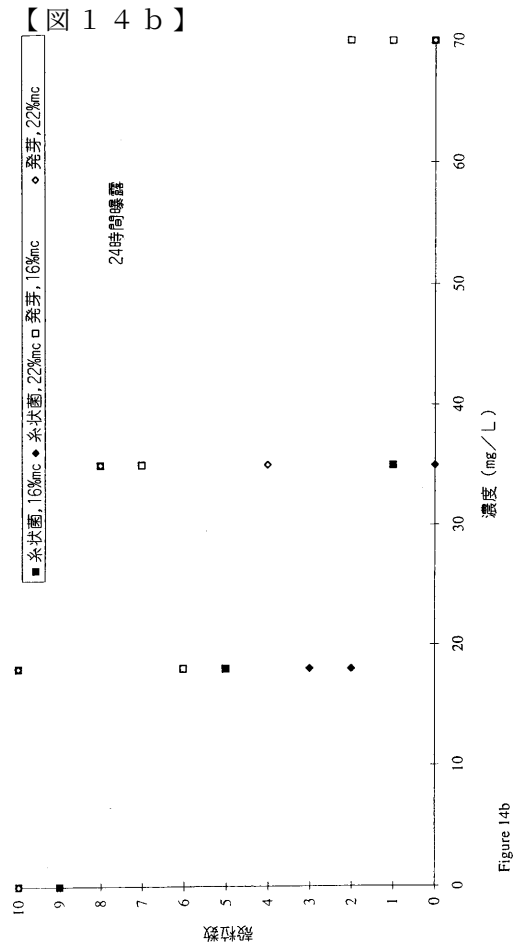
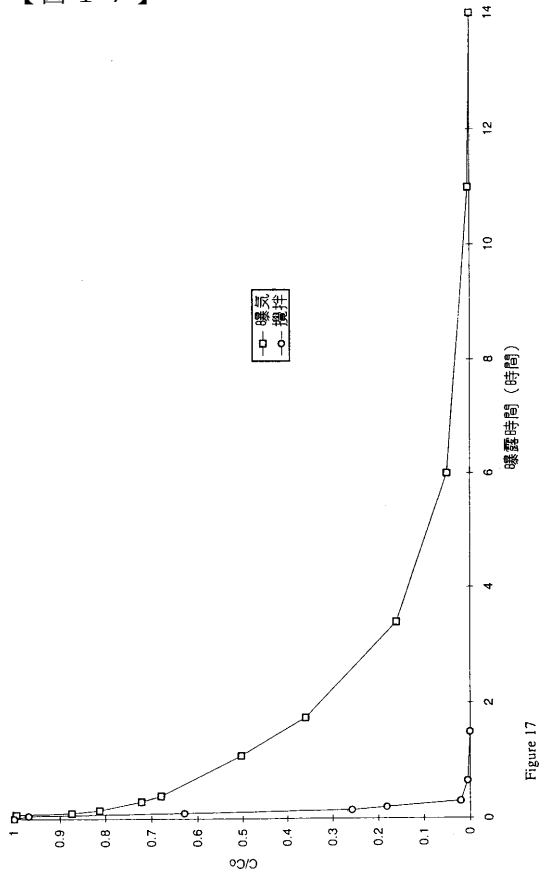


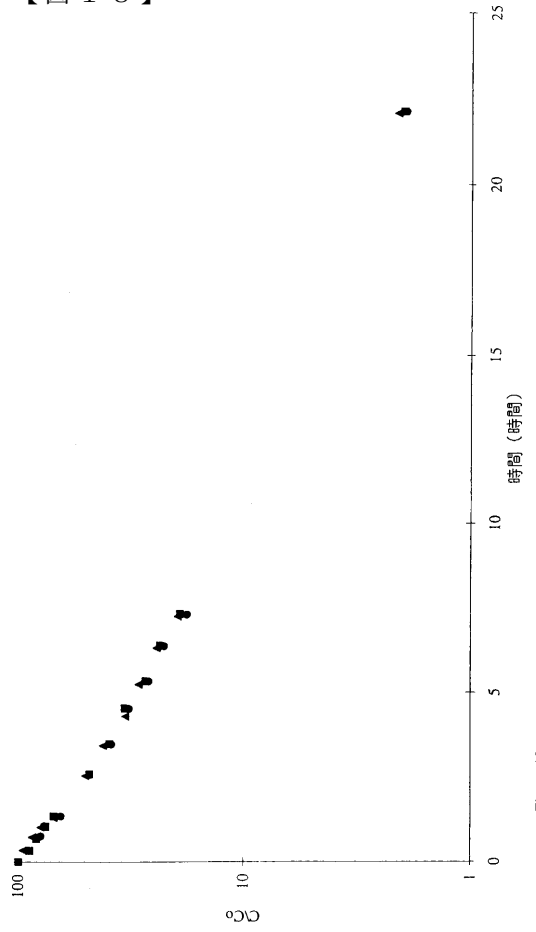
Figure 14a



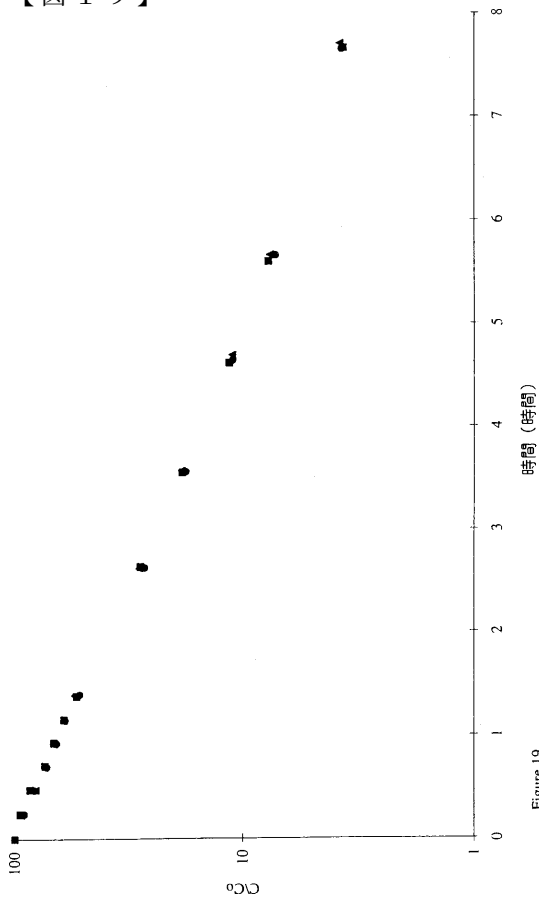
【図 17】



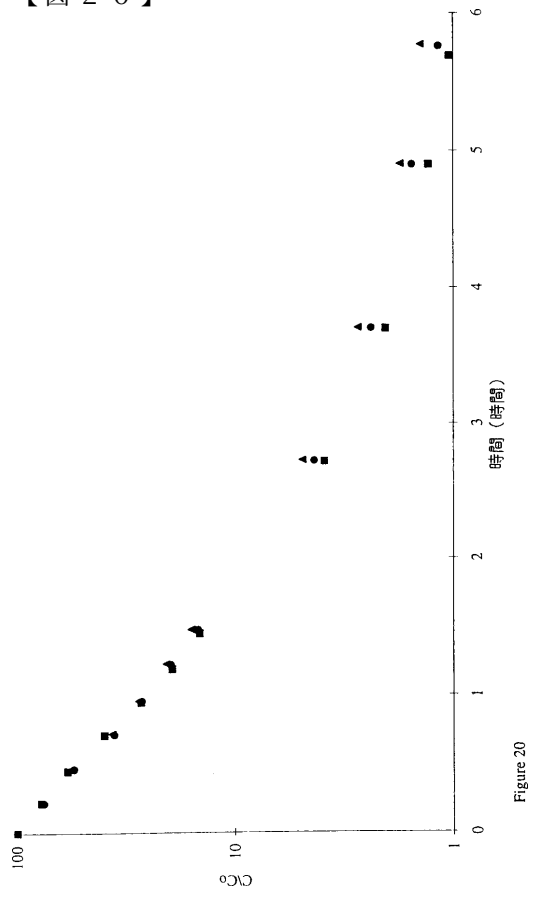
【図 18】



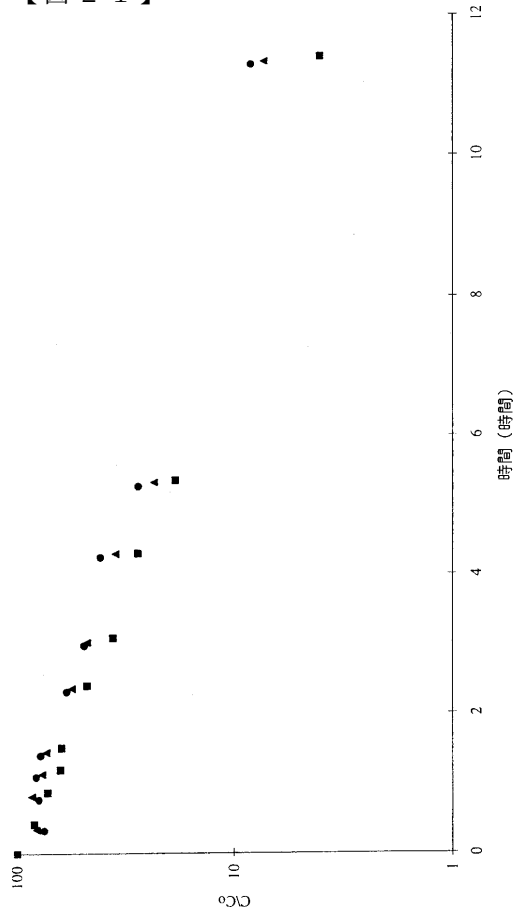
【図 19】



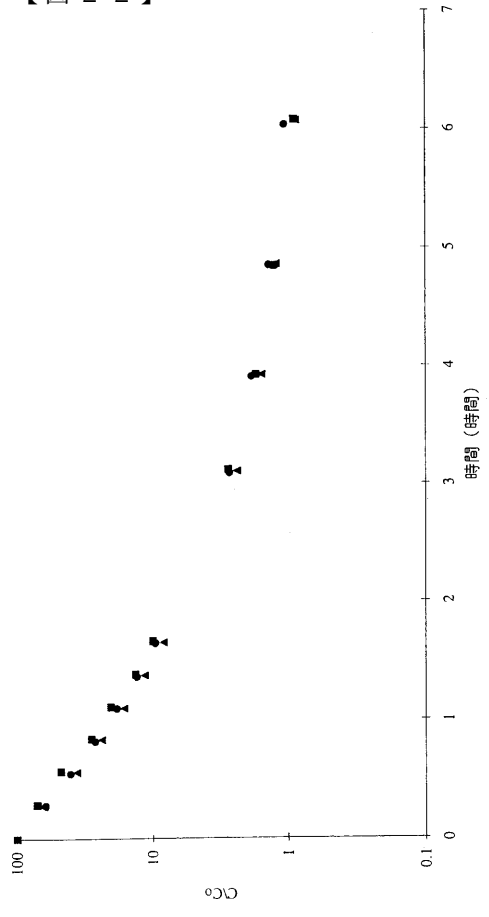
【図 20】



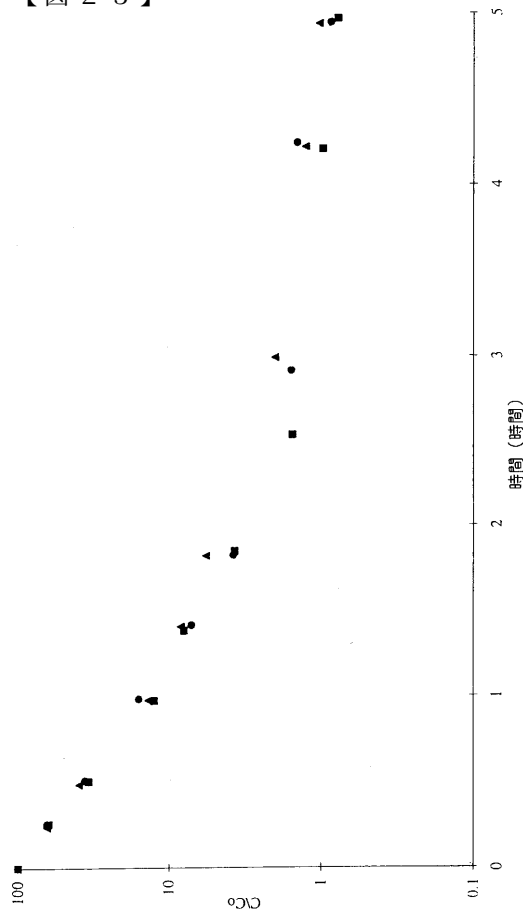
【図 2 1】



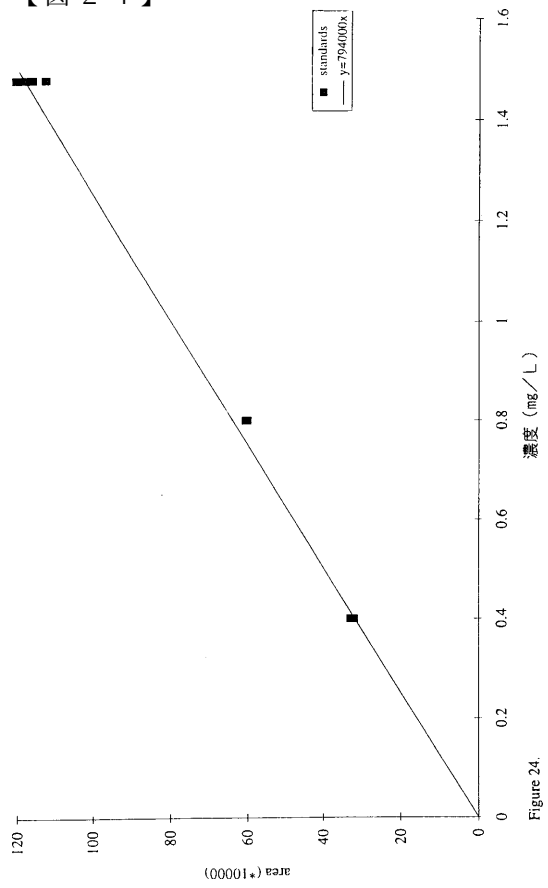
【図 2 2】



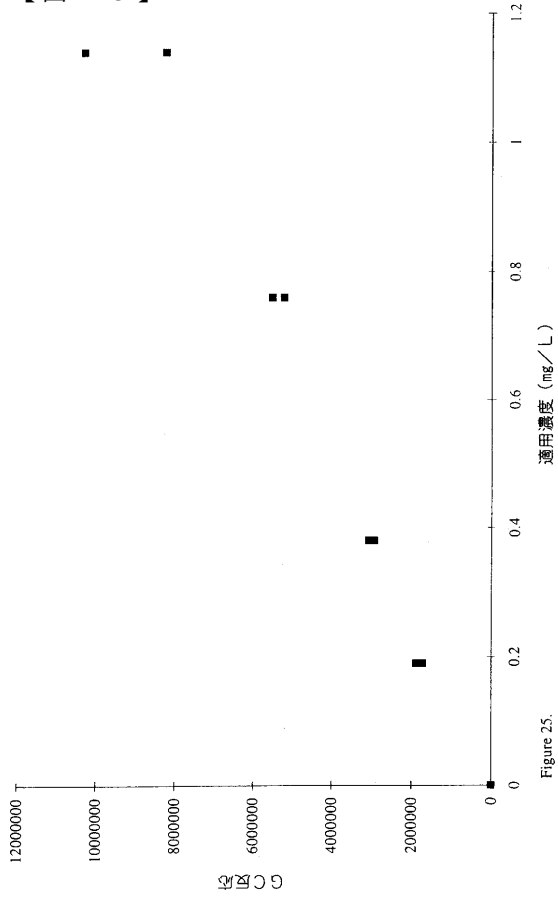
【図 2 3】



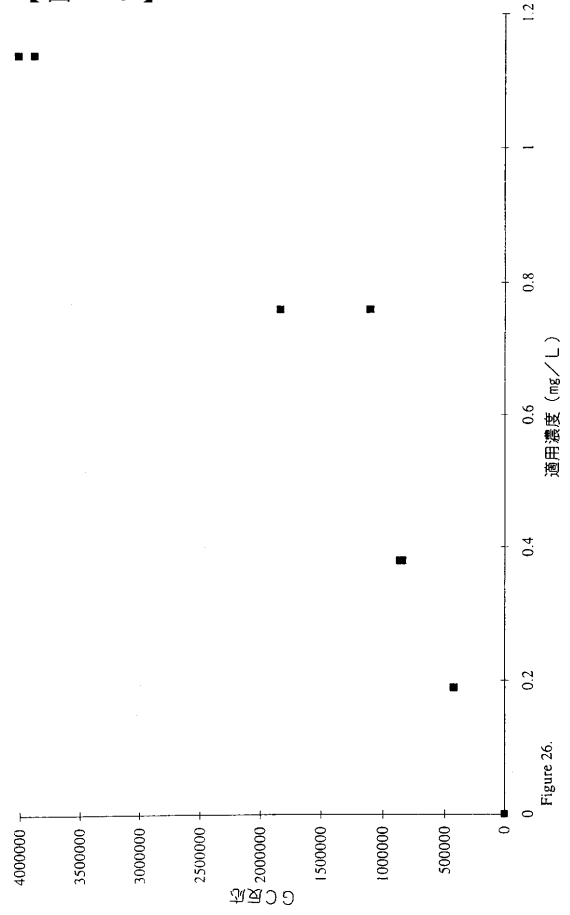
【図 2 4】



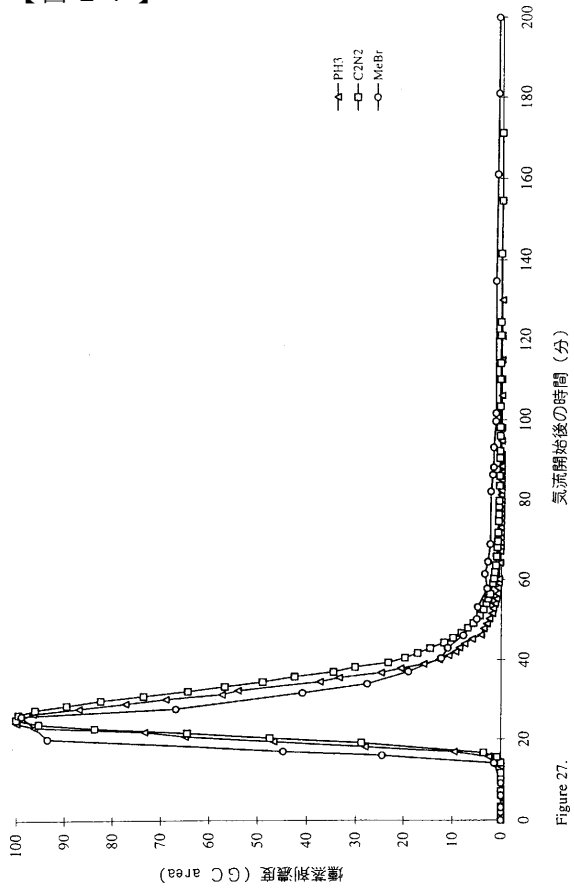
【図 25】



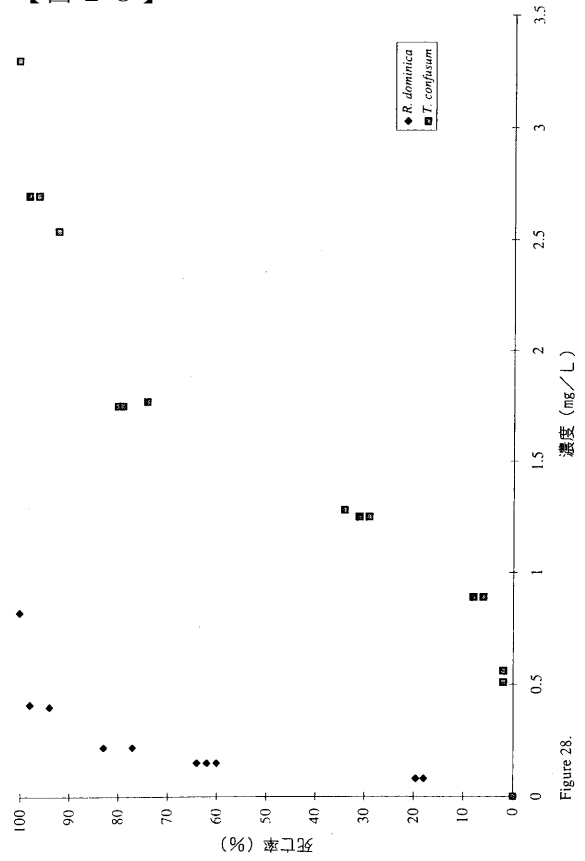
【図 26】



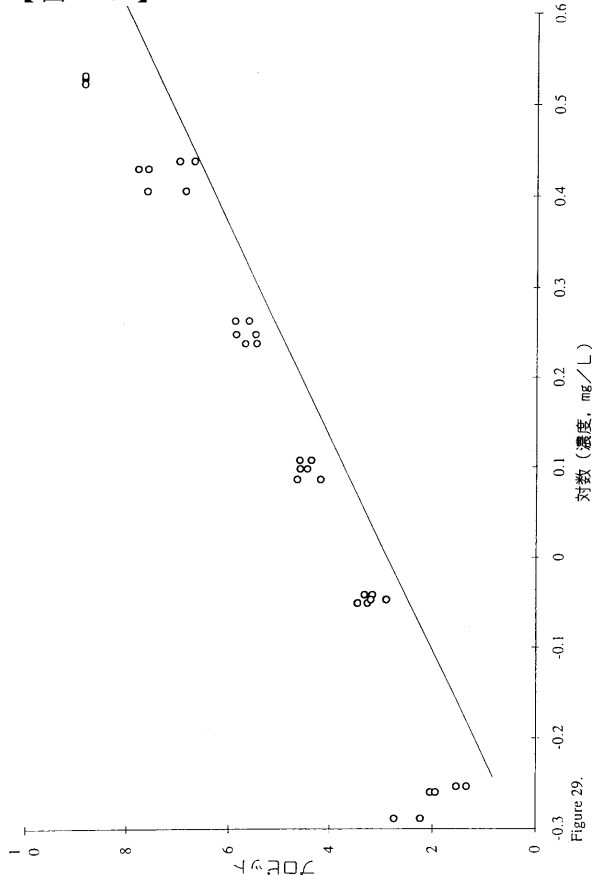
【図 27】



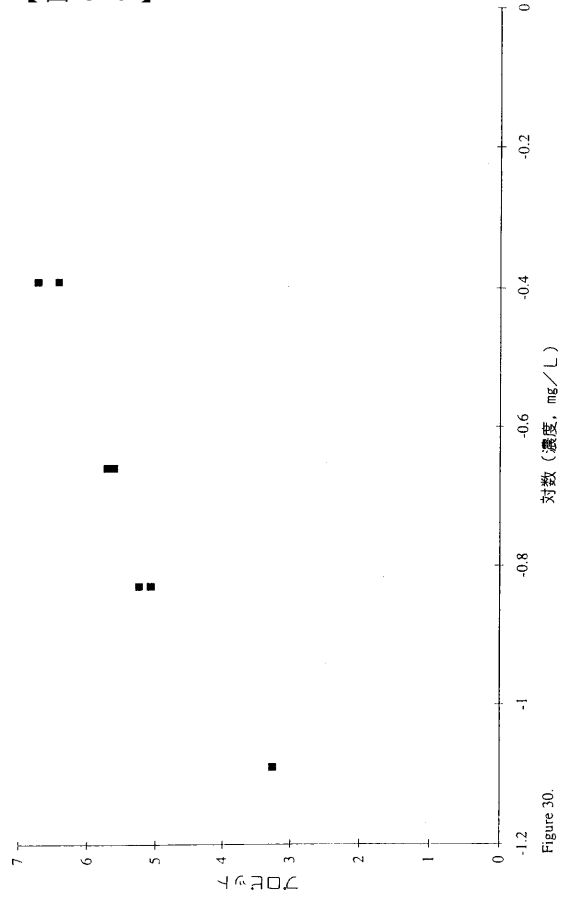
【図 28】



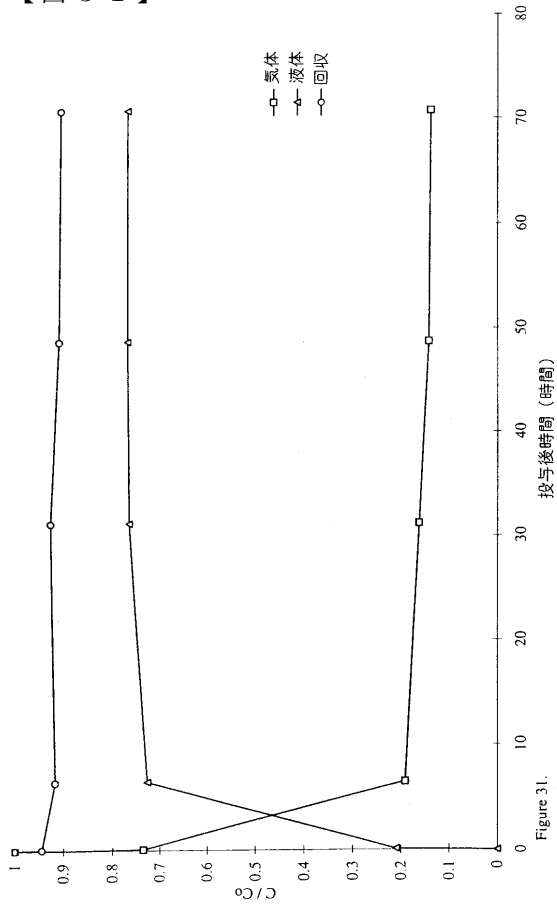
【図 29】



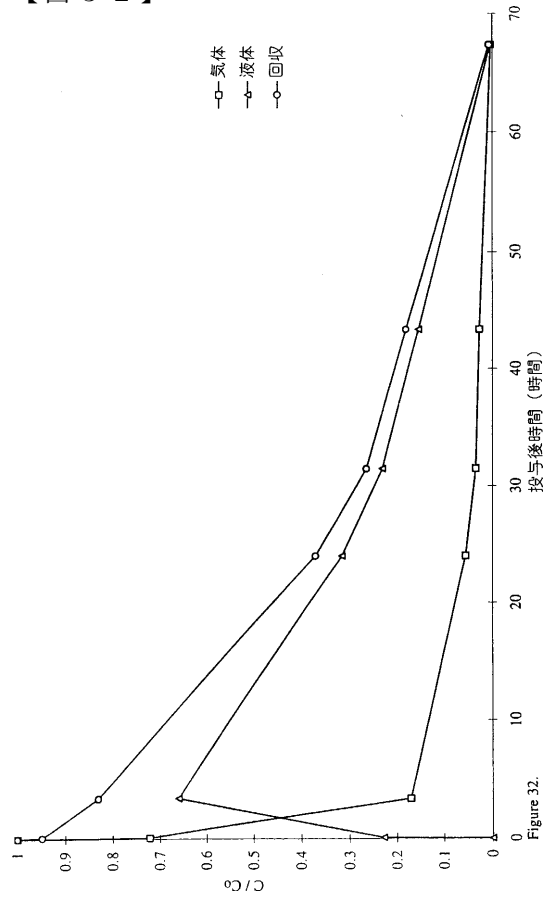
【図 30】



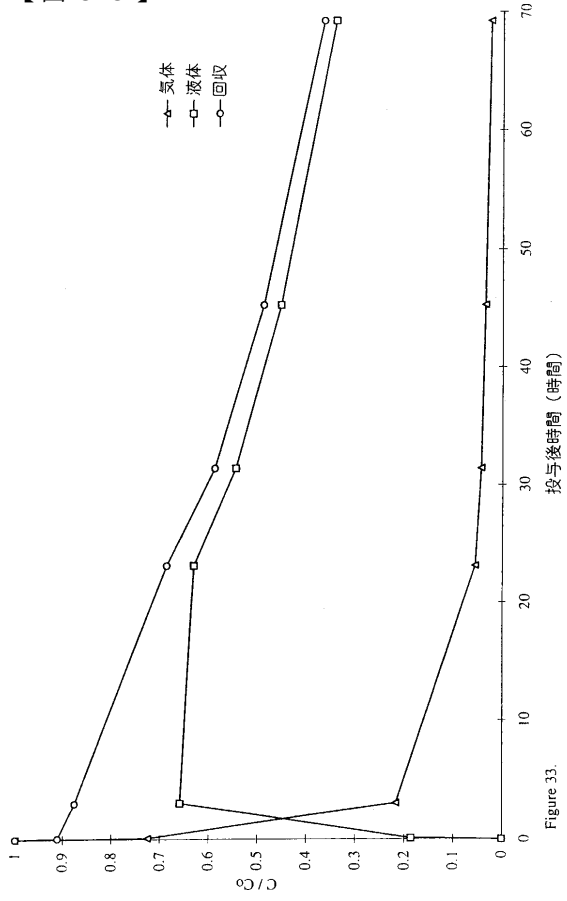
【図 31】



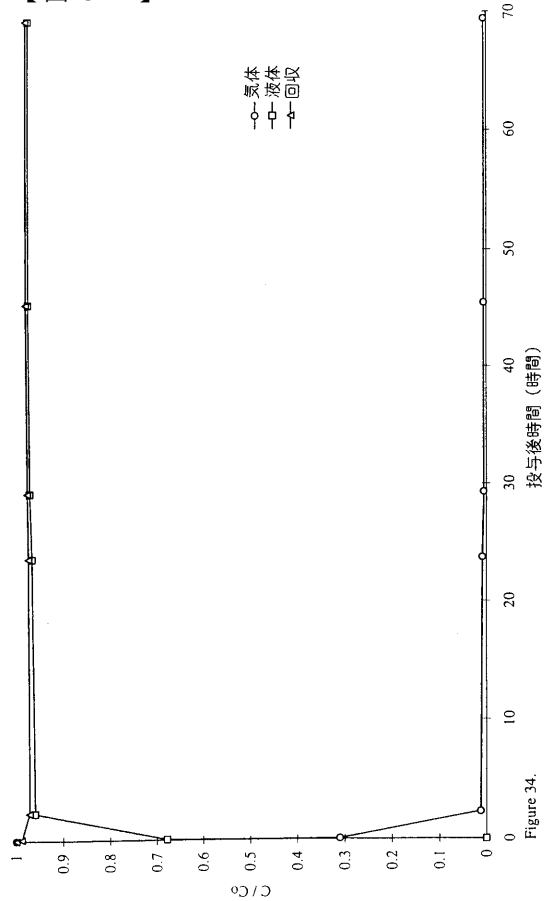
【図 32】



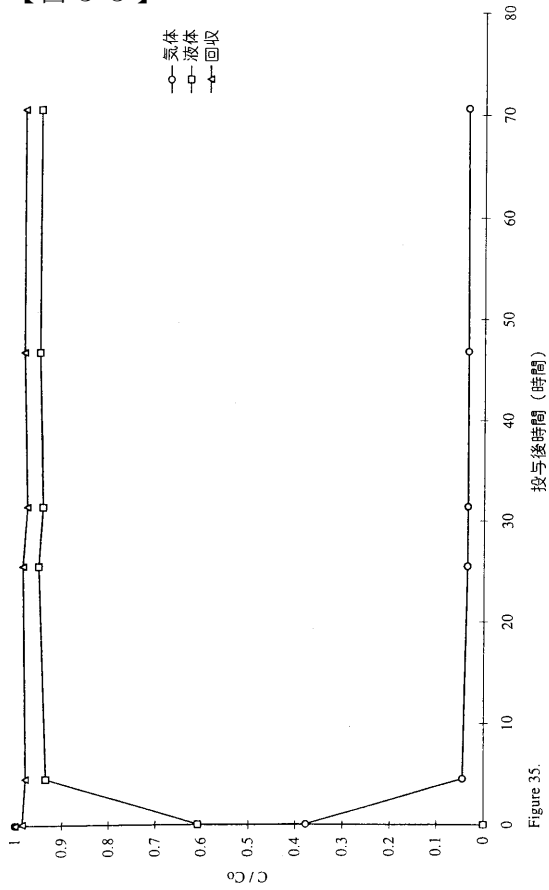
【図 3 3】



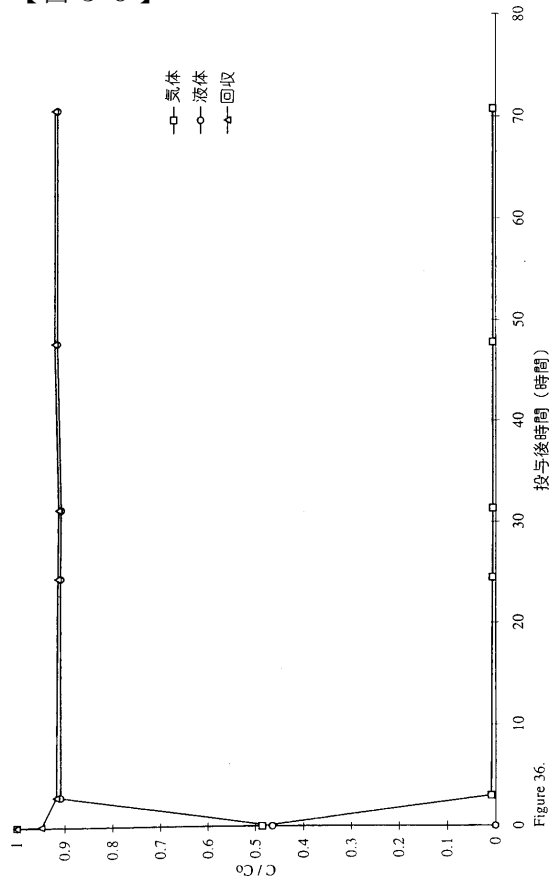
【図 3 4】



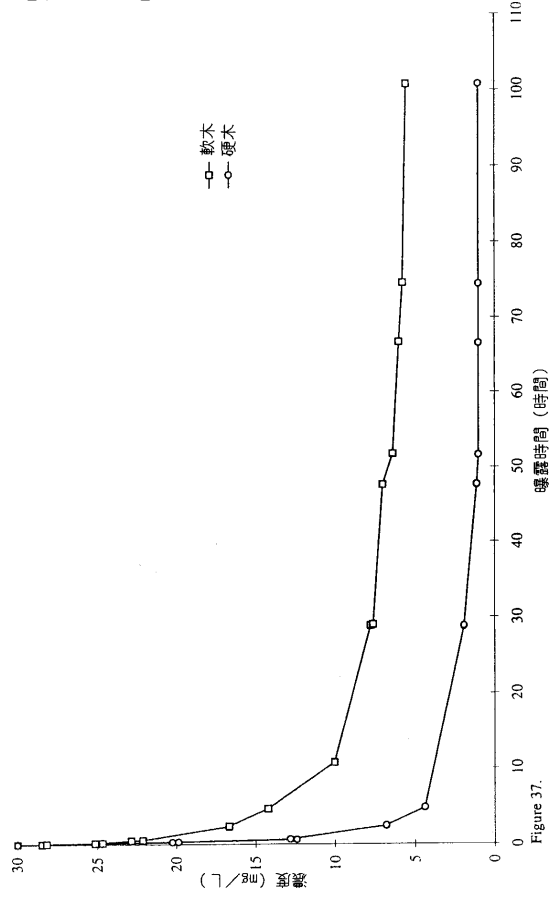
【図 3 5】



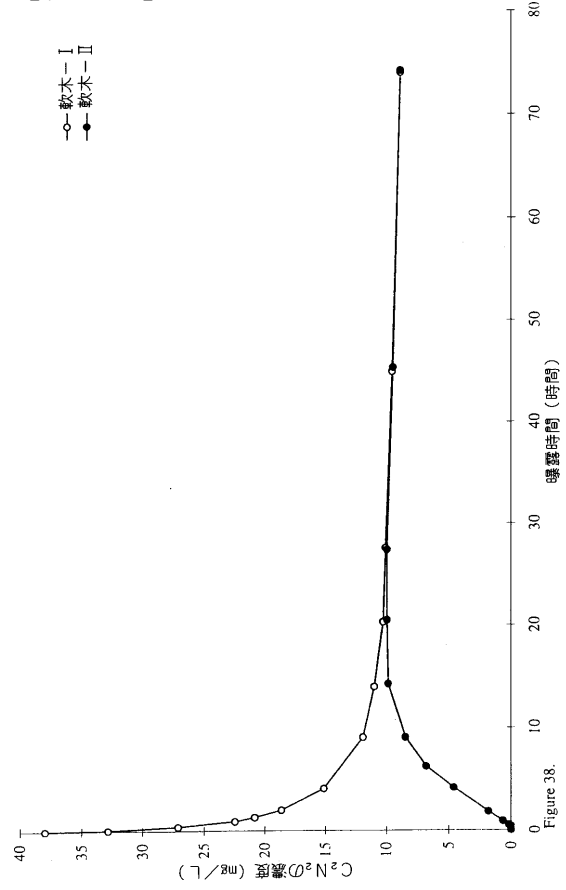
【図 3 6】



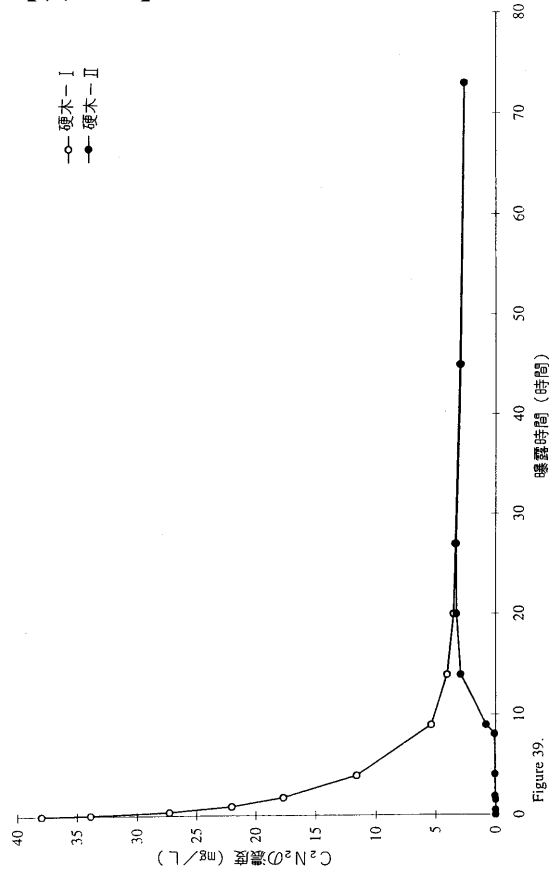
【図 37】



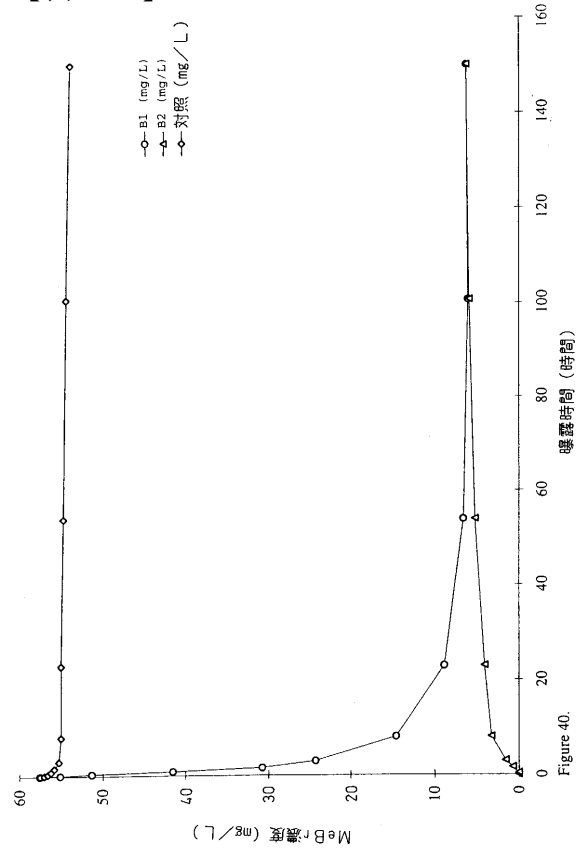
【図 38】



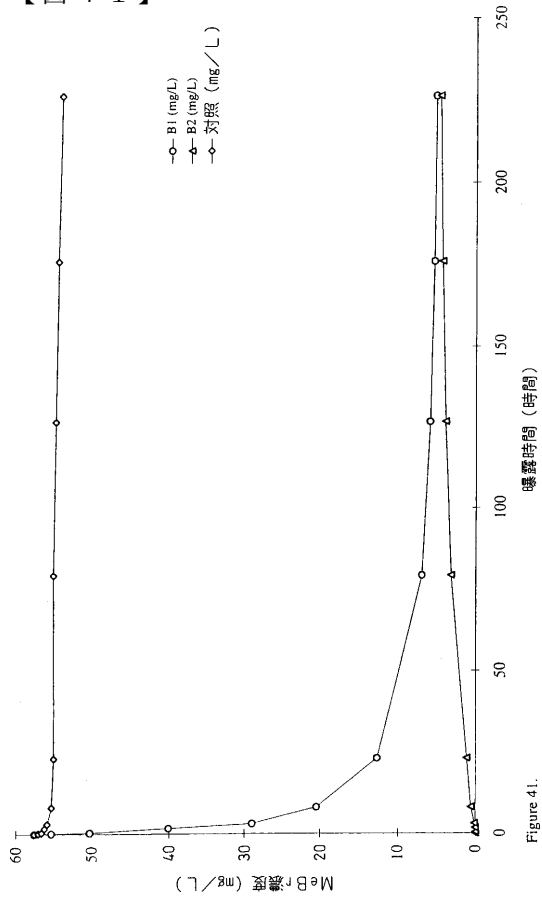
【図 39】



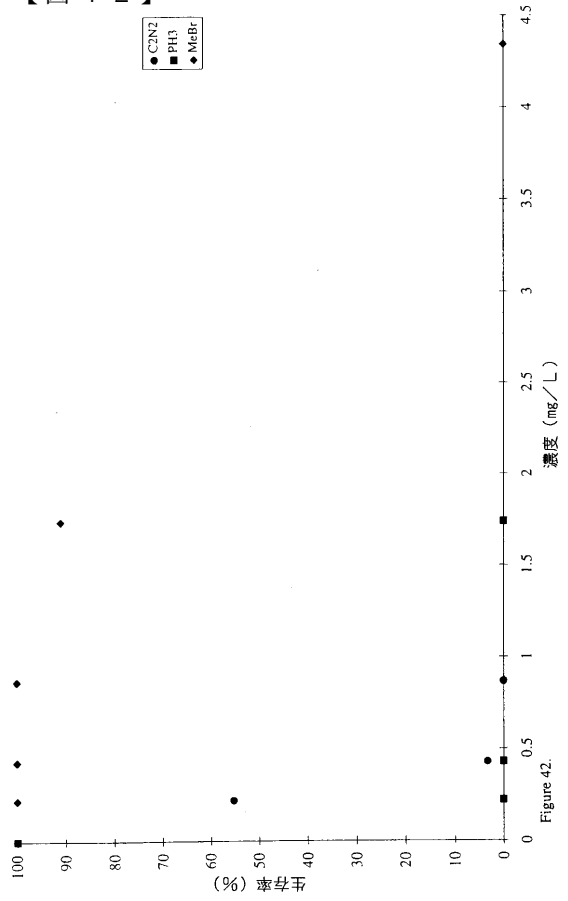
【図 40】



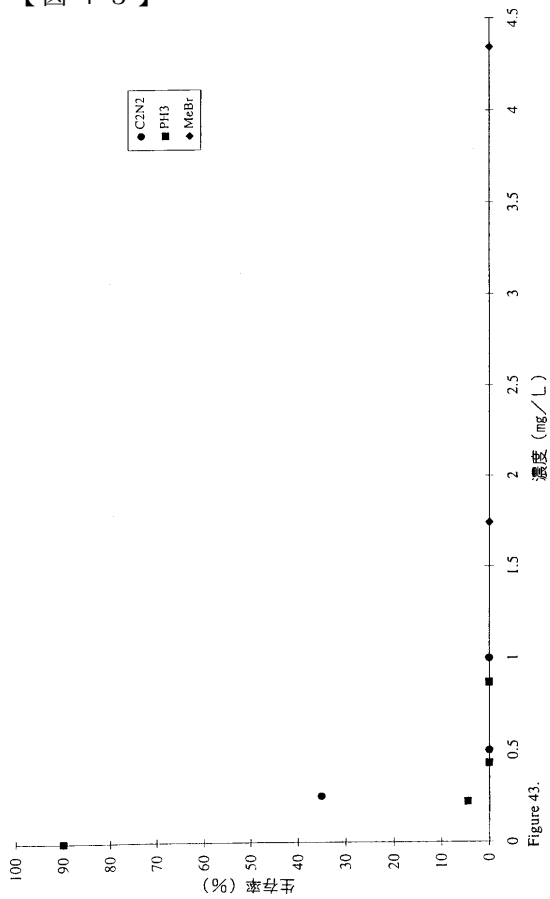
【図 4 1】



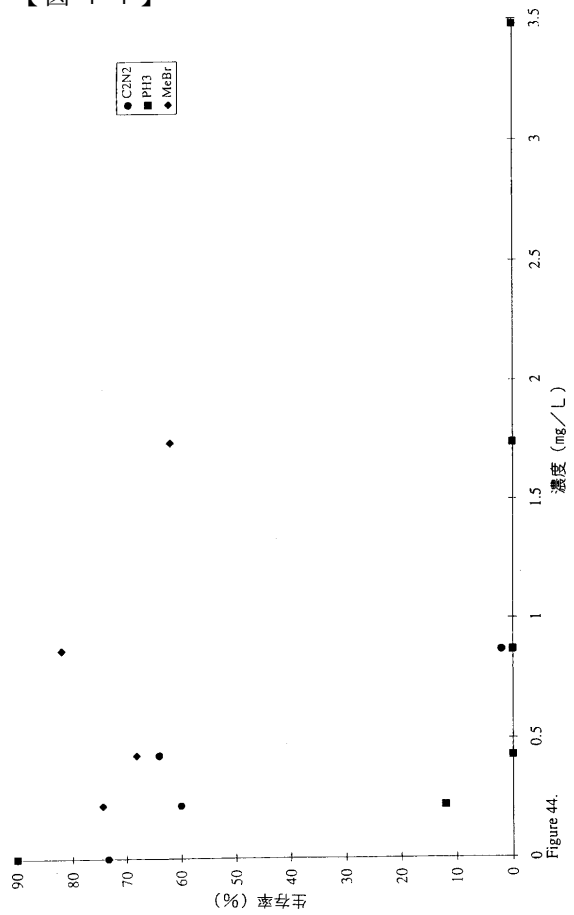
【図 4 2】



【図 4 3】



【図 4 4】



【図 4 5】

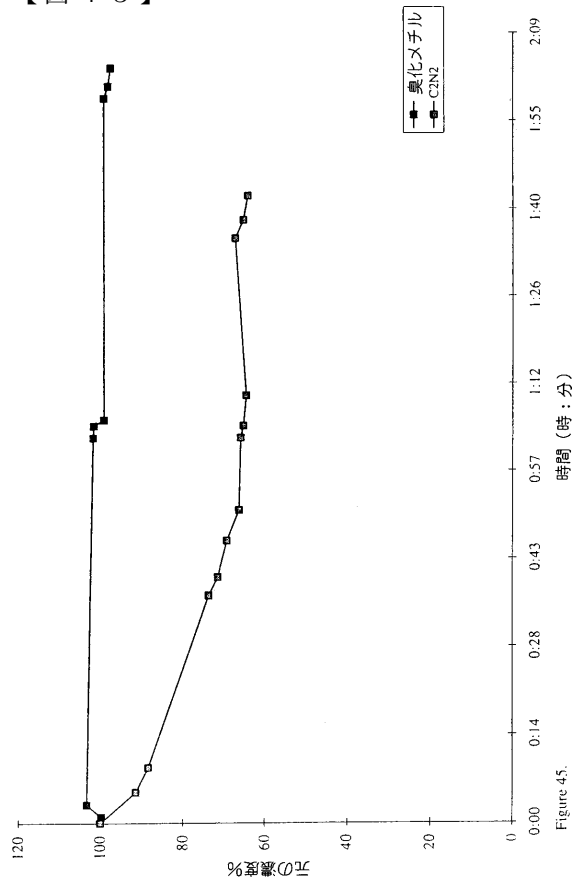


Figure 45.

【図 4 6】

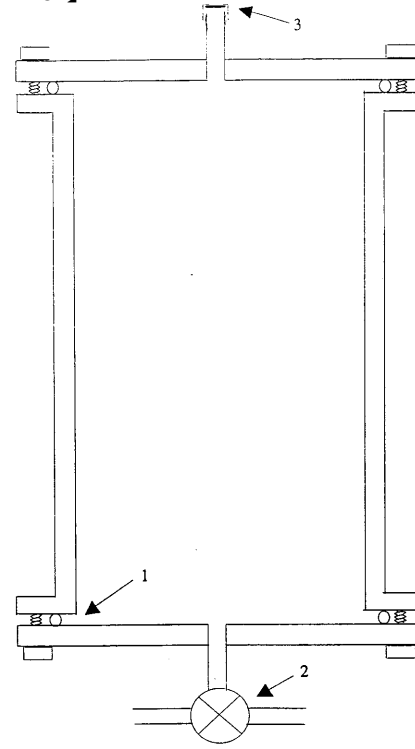


Figure 46.

【図 4 7】

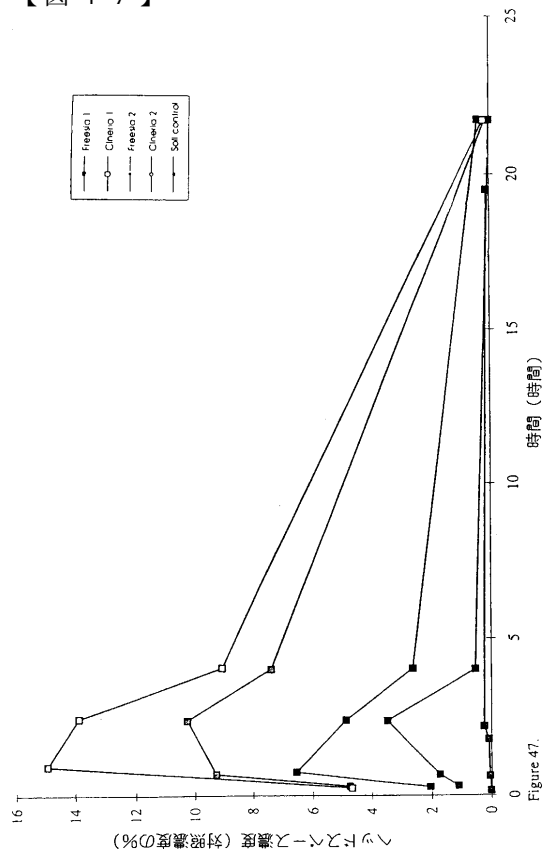


Figure 47.

フロントページの続き

- (72)発明者 デスマーチェリヤー, フランシス ジェームズ マイケル
オーストラリア国, ニューサウスウェールズ 2620, クアンベヤン, キャメロン ロード 5
5
- (72)発明者 ヨングリン, レン
オーストラリア国, オーストラリアン キャピタル テリトリー 2602, ラインハム, マック
ニル ストリート 5/27
- (72)発明者 オブライエン, イアン ジー.
オーストラリア国, オーストラリアン キャピタル テリトリー 2614, ホーカー, アンバリ
ンダム ストリート 4

審査官 松本 直子

- (56)参考文献 米国特許第1399829 (US, A)
英国特許出願公開第237344 (GB, A)
特開平2-268106 (JP, A)
特開平4-54102 (JP, A)
特開平4-82810 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A01N 59/24
A01N 25/18
CA(STN)
JSTPlus(JDream2)