

資 料

酸化エチレンのナタネ菌核病菌に対する 殺菌効果と実用化の検討

福島 満・俣木 利昭・大久保邦彦・宮田 茂
伊藤 登*・吉田 隆**・楠田 義彦***
門司植物防疫所国際課

I ま え が き

酸化エチレンガス(以下EOガスと略記)は、殺菌くん蒸剤として数々の特性が知られているが、空気との混合によって広範囲な爆発域を有することが最大の欠点とされてきた。

しかし近年は、炭酸ガスや臭化メチル、フロンガス等不活性ガスと混用することによって爆発域を狭げ、安全使用が可能となり、わが国においても1962年頃から医療関係、食品製造関係の消毒分野で応用されている。また、動物検疫の分野でも1970年以来、牛疫、口蹄疫等の病原菌を対象とした輸入生骨粉の検疫くん蒸に実用化されている。

一方、植物検疫分野におけるくん蒸剤としての検討は、1966年に森が酸化エチレン、炭酸ガスの混合ガスを用いて、ダイズ菌核病菌に対する殺菌効果と、その実用化の可能性について検討し、詳細な報告を行っている。

筆者らは、酸化エチレンとフロン-12の混合ガス(以下混合ガスと略記)が、全く爆発域を有しないこと、及び炭酸ガスとの混用した場合に比較してガス圧が極めて低いこと等に着目し、当該ガスを用いてナタネ菌核病菌に対する殺菌効果並びにナタネ種子に対する収着、浸透性等くん蒸要因について調査し、植物検疫くん蒸面での実用化について検討を行った。

II E.O ガスのナタネ菌核病菌に対する 殺菌効果

材料及び方法

材料: 供試菌核はナタネ種子に混入していた菌核から

* 現在 門司植物防疫所下関出張所
** 同 福岡支所
*** 同 鹿児島支所

分離した菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* を、PDA培地上で培養し、形成された菌核のうち中型(直径約3mm程度)のものをペトリ皿に採取し、室温で40日以上保管したものを使用した。

供試ガスは、エボン-12(成分 CCl_2F_2 88wt%・ $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ 12wt%: 福岡酸素KK社製)を使用した。

方法: 試験管に供試菌核を入れ、綿栓を施した後23lのガラス製くん蒸容器内に收容し、第1図のとおり水マノメーターを用いて容器内を投薬量に相当する水柱圧まで減圧し、容器内の圧力が0になるまでガスの導入を行い、約10分間攪拌した後北川式検知管でガス濃度の測定を行った。試験は15°Cで行った。

殺菌効果の判定は、くん蒸後3日間ガス抜きを行った後、アンチホルミン20倍液と70%アルコールの等量混合溶に5分間浸漬して表面殺菌を行い、2個に切断して断面を下向きにしてPDA培養基上で7日間培養し、菌糸または菌叢の形成の有無を観察し、殺菌効果を致死率で示した。

結 果

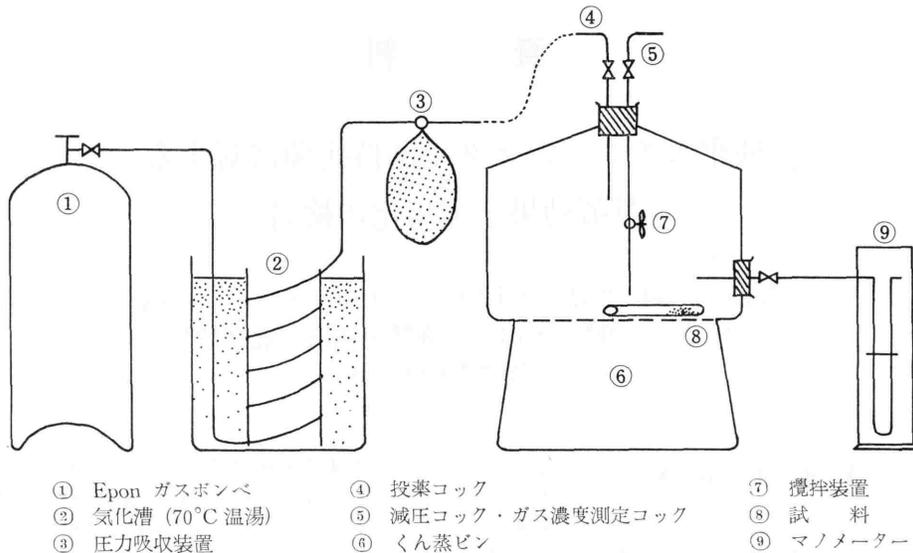
各処理区の致死率は、第1表に示したとおりであり、15°Cにおける完全致死濃度(EOガス濃度)は72時間くん蒸で14g/m³、48時間くん蒸で20g/m³であった。

なお24時間くん蒸については、設定薬量の範囲で完全致死に至らなかった。

III ナタネ種子のE.O ガス収着

材料及び方法

前述のくん蒸装置を用いて、カナダ産ナタネを0.15kg/l、0.30kg/l、0.45kg/lの割合で收容し、EOガス濃度40g/m³(混合ガス333.3g/m³相当)を投薬した。処理温度は20°Cとし、くん蒸容器内の空間ガス濃度



第1図 くん蒸装置

第1表 EO ガスクん蒸によるナタネ菌核病菌の致死率 (%)

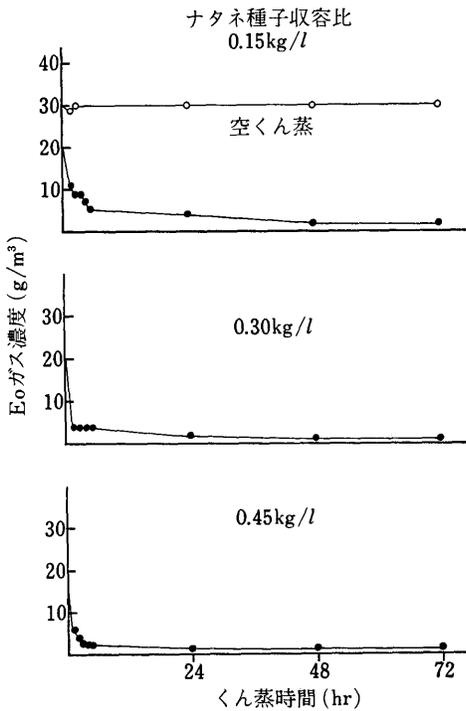
くん蒸時間 (hr)	24 時間			48 時間			72 時間		
	調査個数	致死個数	致死率	調査個数	致死個数	致死率	調査個数	致死個数	致死率
薬量 (g/m ³)									
2	30	0	0	20	0	0	59	0	0
4	30	0	0	21	0	0	57	0	0
6	29	0	0	23	0	0	59	8	13.6
8	30	0	0	26	1	3.8	56	12	21.4
10	—	—	—	—	—	—	60	43	71.7
12	30	0	0	29	12	63.7	59	50	84.8
14	—	—	—	—	—	—	60	60	100
16	30	3	0	28	27	96.4	60	60	100
20	—	—	—	28	28	100	60	60	100
無処理	95	0	0	95	0	0	102	0	0

注: 処理温度は 15°C

第2表 ナタネ種子を EO ガスクん蒸した場合の残存濃度・時間積の空くん蒸時の濃度・時間積に対する比率 (EO ガス g/m³·hr)

収容量 (kg/L)	くん蒸時間 (hr)					
	24		48		72	
	濃度・時間積	残存比率 (%)	濃度・時間積	残存比率 (%)	濃度・時間積	残存比率 (%)
0.15	127	18.1	182	12.9	226	10.7
0.30	64	9.1	93	6.6	117	5.5
0.45	46	6.5	72	5.1	91	4.3
空くん蒸	703	100	1,407	100	2,111	100

注: 1. 投薬量は EO ガス相当 40 g/m³ 2. 処理温度は 20°C



第2図 ナタネ種子のEOガス収着によるガス濃度の低下 (40 g/m³, 20°C)

を投薬終了後から経時的に72時間まで、北川式検知管で測定した。

なお収着割合の算定は、各測定点における濃度の経時変化を図解し、その面積から濃度・時間積を求め、空く

ん蒸時の濃度・時間積に対する割合を求めた。

結 果

24時間、48時間及び72時間経過後の収着の割合を第2表に示した。また収着の傾向は第2図に示したとおり投薬後短時間のうちに、空間のガス濃度は低下し、その割合はナタネ種子の収容量に比例していた。しかし収着は投薬直後から4~8時間頃までの間に急げきに進行するがその後は緩慢な傾向をたどっている。

なお投薬量から算出した理論濃度・時間積に対する空くん蒸時の濃度・時間積の割合は、75%で約25%に相当するEOガスが、投薬直後短時間でくん蒸容器に収着された。

IV E.Oガスのナタネ種子層への浸透と殺菌効果

材料及び方法

第4図に示すとおり内容積580 lのSK式ガスくん蒸器(特許理化興業KK社製)に、麻袋入りカナダ産ナタネ87 kg(収容比0.15 kg/l)を収容してEOガス薬量191 g/m³, 131 g/m³, 94 g/m³に相当する混合ガスを前述の減圧方式で投薬し、72時間くん蒸した。容器内の中位部空間並びに麻袋の穀層中心部のガス濃度を北川式ガス濃度測定器を用いて経時的に測定した。くん蒸温度は15°Cとし、投薬終了後約10分間器内のガス攪拌を行った。一方空間部並びにナタネ種子穀層内部には、前述の培養菌核及びカナダ産ナタネから採取した自然成菌核各30粒を配置し、殺菌効果を調査した。

なお、投薬量は第1, 2表の試験結果に基づいて、

第3表 実際くん蒸を想定した補正薬量 (g/m³)

収容量 (kg/l)	48時間くん蒸		72時間くん蒸	
	酸化エチレン	酸化エチレン フ レ オ ン 混合ガス	酸化エチレン	酸化エチレン フ レ オ ン 混合ガス
0.15	155 g/m ³	1,292 g/m ³	131 g/m ³	1,090 g/m ³
0.30	303	2,525	255	2,121
0.45	392	3,268	326	2,713

注: 補正薬量の計算式

$$W = 100 \times \frac{b}{a} \quad W' = W \times \frac{1}{c}$$

W: 補正薬量 (EO g/m³)

W': 補正薬量に相当する混合ガス薬量 (g/m³)

a: 完全致死薬量 (72時間くん蒸-14 g/m³, 48時間くん蒸-20 g/m³)

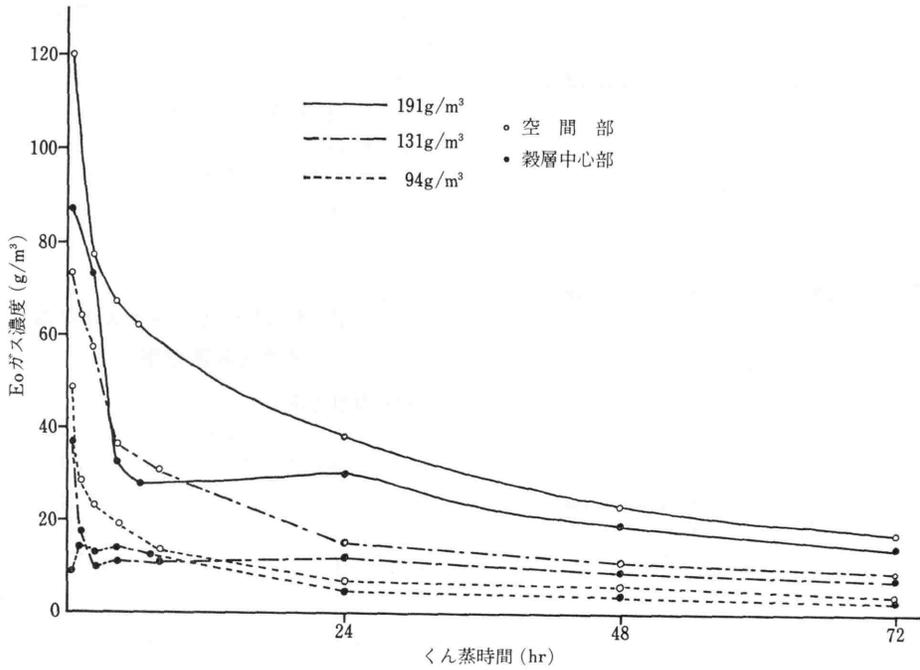
b: 残存比率 (%) 第2表による

c: 混合ガス中の重量組成 $\left(\frac{\text{EOガス}}{\text{混合ガス}} = \frac{12}{100} = 0.12 \right)$

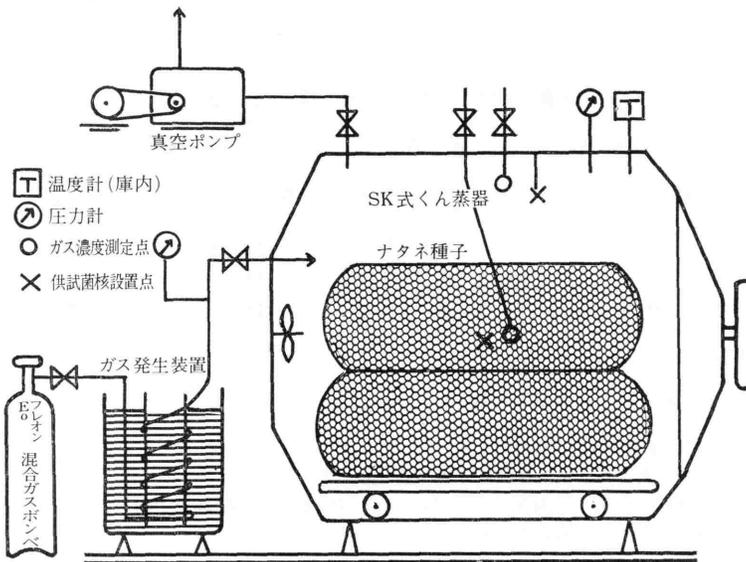
100% 殺菌薬量に相当する 補正薬量を次のとおり算出し、この補正薬量を基準に 45% 増量、30% 減量の3段階とした。

結 果

ガス濃度の傾向は第3図に示したとおり推移した。即ち EO ガスは、短時間内にナタネ種子層中に浸透する



第3図 EO ガスのナタネ種子層への浸透
くん蒸条件 (15°C), SK 式くん蒸器 580 l, ナタネ重量 78 kg, 収容比 0.15 kg/l



第4図 EO ガスのナタネ種子穀層中への浸透試験くん蒸装置

第4表 ナタネ種子に混入したナタネ菌核病菌に対するEOガスの殺菌効果

薬量 (g/m ³)	供試菌 の配置	菌核の区分	調査個数	致死個数	致死率	摘 要
EO: 191	空間部	自然形成	28	28	100	基準補正薬の45%増しで投薬
		培養	29	29	100	
EPON: 1,591	穀層部	自然形成	30	30	100	
		培養	30	30	100	
	対象	自然形成	7	0	0	
		培養	10	0	0	
EO: 131	空間部	自然形成	25	25	100	基準補正薬量で投薬
		培養	30	29	96.7	
EPON: 1,091	穀層部	自然形成	27	27	100	
		培養	30	30	100	
	対象	自然形成	※—	—	—	
		培養	10	0	0	
EO: 94	空間部	自然形成	28	12	42.9	基準補正薬量の90%減で投薬
		培養	29	7	24.1	
EPON: 779	穀層部	自然形成	30	8	26.7	
		培養	30	5	16.6	
	対象	自然形成	10	0	0	
		培養	10	0	0	

※ 腐敗のため調査を中断

が、くん蒸初期は穀層中のガス濃度は空間部のガス濃度よりかなり低く、24時間経過した時点ではほぼ接近した値を示した。

一方、各点に配置したナタネ菌核のくん蒸効果は、第4表のとおり基準の45%増薬量によるくん蒸では穀層、空間部に配置した全ての菌核が死滅し、30%減薬量によるくん蒸では大半の菌核の生存が認められた。

また基準薬量によるくん蒸では、穀層で完全致死を認めたが、空間部に配置した菌核のうち、60粒中1粒の生存が認められた。また、空間と穀層部における殺菌効果の比較では、両者間に明らかな相違が認められなかった。

V 考察および結論

EOガスの菌核病菌に対する殺菌効果については、森(1966)がダイズ菌核を供試して試験を行い、殺菌効果は認めながらも、ダイズのガス収着量が非常に大きいから、これを補うため多量のEOガスが必要であること、また爆発域を調整するため炭酸ガスとの混合ガス(酸化エチレン10wt%,炭酸ガス90wt%)を投薬する場合は、使用ガス圧力が大きくなり実用化は困難であることを指摘した。しかし森は、同報告の中でガス圧の処理方法として投薬に際してくん蒸倉庫の天窓等から庫内空気を抜き、ガスと置換させる方法が可能であるかも知れない旨示唆している。

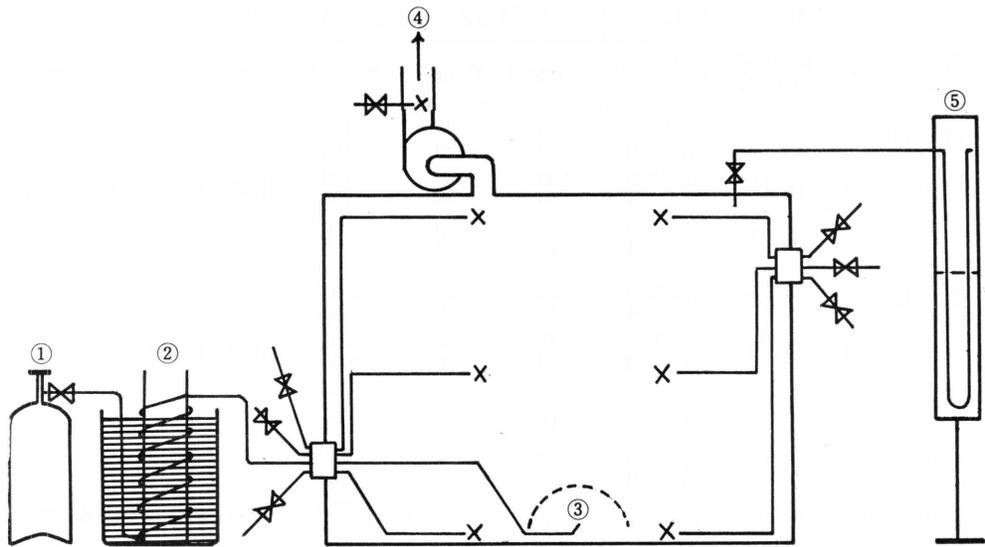
本試験の結果でもEOガスのナタネ種子に対する収着は極めて大きく、同種子の収容量に比例していることが

解った。

また、ナタネ種子層に対しEOガスは、速かに浸透するが種子層中のガス濃度は空間部のそれよりも常に低く、空間部と穀層中心部におけるガス濃度がほぼ均一の値を示したのは、24時間を経過した時点であり、収着によって浸透がかなり妨げられる傾向が認められた。しかし穀層中心部並びに空間部に配置した供試菌核に対する殺菌効果の比較では、顕著な相違が認められなかった。

一方、実用薬量として算出した補正薬量を基準値として、投薬量の増減による殺菌効果の比較検討を行った結果、基準投薬量によるくん蒸では、空間部及び穀層中心部に配置した供試菌核のうち、空間部に置いた培養菌核30粒のうち1粒の生存が認められたが、空間部に配置した自然形成菌核及び穀層中心部に置いた菌核は100%の殺菌効果が認められ、30%減量でのくん蒸では17~43%の殺菌効果にとどまり、実用薬量の概要が推察できた。しかしこの補正薬量を実用値として100%殺菌を要求される検疫くん蒸に利用することは危険であり、実際に大規模なくん蒸倉庫において殺菌効果の検討を行って実用薬量を究明する必要がある。

つぎに、本試験では投薬にあたって減圧方式を採用したため投薬にともなうガス圧の問題はなかったが、通常の倉庫くん蒸にこの方式を応用することは不可能であり、従って投薬時に予想されるガス圧の処理が実用面での大きな課題でもある。



1. 供試ガスボンベ 2. ガス発生器 3. ガス送入口 4. 空気孔 5. 水マンメーター X ガス濃度測定点

第5図 置換法による投薬実験くん蒸装置

このガス圧の処理対策としては、空気より比重の大きい供試ガスの性質（比重1.52）を利用して、庫内の下層へ供試ガスを導入して停滞させ、上部に設けた空気孔から、供試ガスの投薬量に相当する庫内の空気を排出して置換することが考えられる。

なお、この置換法はすでに森が採用して実験を行っているが、一部業界においても置換法を応用したくん蒸施設あるいは、くん蒸方法が実用化されている。

筆者らも植物検疫面への応用の可能性を検討するため第5図に示したくん蒸箱（容積 1 m^3 ）に混合ガス $2,120\text{ g}$ （ガス 0.5 気圧）を投薬して実験を行った結果、投薬終了時直前に空気孔内約 10 cm の測定点に約 1% のEOガスが到達したが、庫内の圧力は常圧のままであった。この結果がそのまま大型の倉庫を利用している検疫くん蒸に応用できるか、実験例も少ないため評価はできないが、空気孔の構造（大きさ・長さ等）について、さらに調査を実施し安全性の検討を加えてみる余地はある。

以上の結果から、EOガスによるナタネ菌核病菌に対する殺菌条件について概要がつかめたが、検疫くん蒸面での実用化を検討するにあたっては、さらにくん蒸にもなうナタネ種子の栄養的損失の有無、並びに反応生成物の毒性（エチレングリコール・クロルヒドリン等）について安全性の検討を行う必要がある。

VI 要 約

輸入ナタネ種子に混入する菌核病菌 *Sclerotinia scl-*

rotiorum のくん蒸消毒にEOガスが利用できるか実用化の検討を行った。その結果は次のとおりである。

1. ナタネ菌核病菌は、 15°C でEOガスクん蒸した場合、 20 g/m^3 、48時間および 14 g/m^3 、72時間の処理で完全に殺菌された。

2. ナタネ種子のEOガス取着量は大きく、かつその割合は収容量に比例して増加した。しかし取着は投薬後4~8時間頃までに急激に進み、その後は緩慢な傾向をたどった。

3. EOガスのナタネ種子穀層部に対する浸透は、ナタネ種子によるEOガスの取着のためかなり阻害されたが、ナタネ菌核病菌に対するくん蒸効果には、明らかな影響は認められなかった。

4. ナタネ種子のEOガス取着量を補って、実際のくん蒸を想定した試験を行った結果、ナタネ種子に混入した菌核に対し、有効なくん蒸効果が認められ、 100% 殺菌に必要な実用薬量を設定する上で一応の目安を知ることができた。

5. 混合ガス投薬に伴うガス圧を処理するため、置換法の応用について検討を行った結果、小規模の実験例では安全使用の可能性が認められた。

6. ナタネ種子に混入したナタネ菌核病菌の殺菌条件の概略が明らかとなったので、今後置換法等による大規模倉庫での応用試験及びくん蒸に伴うナタネ種子の栄養的損失の有無、EOガスとの反応生成物の毒性等について、安全性の検討を行う必要がある。

おわりに、本試験の実施に際し、森 武雄氏（門司植物防疫所長）、日野隆之氏（同、調整指導官）から、終始適切な指導、助言をいただいた。

また、EO ガスに関する資料、資材の一部については、赤司九州男、隈本 清の両氏（福岡酸素 KK）の厚意で提供をいただいた、記して謝意を表する。

引用文献

長野整一（1971）畜産領域への EO ガス実用化と指針、

pp. 4～33, 液化炭酸株式会社, 東京.

細見祐太郎（1974）エポキシドによるガス殺菌；食品の殺菌技術, 99～140. 三秀書房；食品技術研究会, 東京.

森 武雄（1966）ダイズ菌核の殺菌くん蒸剤としての Ethylen oxide の検討；植防研報. No. 4, pp. 46～49.