

無極性ガスを利用したカーネーション
切り花の保存に関する研究

松 嶋 卯 月

目 次

第1章 緒論	1
1. 1 本研究の背景	1
1. 2 カーネーション切り花の保存に関する研究の概略	1
1. 3 無極性ガスによる保存処理に関する研究の概略	3
1. 4 本研究の目的および論文の構成	6
第2章 切り花からの無極性ガスの脱離速度	8
2. 1 緒言	8
2. 2 供試ガスと実験方法	8
2. 2. 1 供試ガス	9
2. 2. 2 脱離速度の解析方法	11
2. 2. 3 実験方法	13
2. 3 実験結果および考察	16
2. 3. 1 実験結果と解析結果の比較	16
2. 3. 2 脱離過程と脱離表面との関係	17
2. 4 摘要	19
第3章 切り花内部における水の動的状態	21
3. 1 緒言	21
3. 2 実験方法	21
3. 2. 1 供試材料と保存処理方法	21
3. 2. 2 $^1\text{H-NMR}$ による縦緩和時間 T_1 の測定	22
3. 3 実験結果および考察	24
3. 3. 1 解析方法の検討	24
3. 3. 2 縦緩和時間 T_1	25
3. 3. 3 水の動的状態への影響	31
3. 4 摘要	33
第4章 無極性ガスによる水ストレス抑制効果	35
4. 1 緒言	35
4. 2 中性子イメージングによる水分分布の測定	36
4. 2. 1 原理	36
4. 2. 2 実験方法	37
4. 3 実験結果および考察	39
4. 4 摘要	44

第5章 無極性ガスによる処理を行った切り花の生理的応答	46
5. 1 緒言	46
5. 2 供試材料および実験方法	46
5. 2. 1 供試材料およびキセノン処理方法	46
5. 2. 2 キセノン処理条件および実験手順	46
5. 3 呼吸速度および水収支計測システム	47
5. 3. 1 呼吸速度および水収支の計測	48
5. 3. 2 チャンバ内の換気および湿度調整	50
5. 4 呼吸速度の変化	52
5. 5 水収支の変化	55
5. 5. 1 老化の過程と水収支	55
5. 5. 2 無極性ガスによる水収支の変化	58
5. 6 本保存法の市場への適用性	59
5. 7 摘要	60
第6章 結論	62
6. 1 本研究で得られた結果	62
6. 1. 1 切り花からの無極性ガスの脱離速度(第2章要約)	62
6. 1. 2 切り花内部における水の動的状態(第3章要約)	63
6. 1. 3 無極性ガスによる水ストレスの抑制効果(第4章要約)	64
6. 1. 4 無極性ガスによる処理を行った切り花の 生理的応答(第5章要約)	64
6. 2 結論および今後に残された課題	65
記号表	68
参考文献	69
謝辞	75

第1章 緒論

1. 1 本研究の背景

切り花の老化過程は萎凋、器官離脱、退色等様々な現象が関係した複雑なものである。また開花した花は代謝が活発な器官であり、そのため生産、流通過程での取り扱いが困難な農産物の一つであると考えられる。また、収穫後の切り花の寿命は一般に短く、販売後に鮮度が維持される期間は通常3日から5日といわれている。よって、その期間の延長は、小売店での販売上有利に働く。その切り花の中でも、特にカーネーションは、平成9年度においては、キクに次いで花卉中で第2位の生産量を占めている人気花卉であり¹⁾、かつ、市場における需要の季節変動が激しいため、小売店での店持ちの延長が望まれている。またカーネーション切り花はエチレン感受性花卉であり、その萎凋のメカニズムにはACC合成酵素など数種の酵素が働くことが知られている²⁾。現在、エチレンによる萎凋作用の阻害物質であるSTS（チオ硫酸銀アニオン複合体）は、品質保持剤として広く用いられている。しかし、その主成分である銀イオンが、生活環境に悪影響を及ぼす可能性がある³⁾。また、STS剤はエチレン発生の抑制にはなるが、鮮度を保持する効果はない⁴⁾。よって、より安全で、鮮度保持に有効な代替保存法の確立が望まれている。

1. 2 カーネーション切り花の保存に関する研究の概略

カーネーション(*Dianthus caryophyllus* L.)は、ナデシコ属(*Dianthus*)の一種で多くの園芸品種が作出されている。原種は草丈で40cmから50cmになり、葉は対生



図 1-1 カーネーション(品種：フランセスコ)

し、上部で分枝して数個の花を付け、その下に2対の苞葉がある。花は5片の萼片が癒合した筒状の萼と、5個の花弁、5個の雄しべ、2分岐する花柱を持つ。しかし、現在のカーネーションのほとんどが重弁花である⁵⁾。図1-1に本研究で使
したカーネーション（品種：フランセスコ）を示す。

カーネーション切り花の保存に関しては、これまでに様々な研究がなされ、多くのデータが蓄積されている。カーネーションはエチレン感受性の花卉であることから、早くから貯蔵条件とエチレン発生に関する研究が行われた。Nichols⁶⁾、およびMaxieら⁷⁾が、カーネーション切り花保存中の種々の温度環境における呼吸代謝およびエチレン発生の関係を明らかにした。さらに、カーネーション切り花におけるエチレン発生のメカニズムを明らかにする研究が行われた。Mayakら⁸⁾がエチレン発生の増加が液胞膜透過性の上昇を伴い、それによって萎凋が引き起こされるという結果を示し、エチレン発生と切り花の萎凋について

のメカニズムの一端を明らかにした。カーネーションとエチレンに関する研究は、その後も数多く行われ、数種類の化学物質がエチレンの生合成を抑制することが明らかになった^{9),10)}。さらに、近年エチレンの発生を遺伝子のレベルで抑制する試みがなされている¹¹⁾。

切り花の鮮度は、その水収支および水分状態によっても大きく左右される。それに関して、導管閉塞による水揚げの悪化については、Mayakら¹²⁾が、カーネーションの保存において、硝酸銀水溶液による処理はバクテリアの増殖を防ぐために効果的であると述べた。続いて、Jonesら¹³⁾らは、カーネーションはバラよりも、バクテリアによる導管閉塞に対する耐性が強いことを明らかにした。また、導管閉塞による水揚げの悪化、あるいは乾式輸送などによって発生する水ストレスに関しては、Borochovら¹⁴⁾が水ストレスによってACCが増加し、エチレンによる萎凋の原因となることを示した。

現在までのカーネーション保存に関する研究では、エチレンの発生をいかに抑えるかに重点が置かれてきた。また、保存法の多くは化学的手法に頼っており、近年では遺伝子組み替えも試みられている。しかし、環境保全の重要性や遺伝子組み替えの安全性に対する社会的不安を考慮に入れると、現行の保存法には限度があると思われる。今後は、何らかの安全な手法を用いた保存法の確立が必要であると考えられる。

1. 3 無極性ガスによる保存処理に関する研究の概略

近年、新しい保存法として無極性ガスの利用が検討されている。無極性ガスによる保存は、疎水性水和を利用したものである。疎水性水和によるクラスレート水和物の研究は、19世紀初頭に始まり、現れる結晶は、水分子が作るホス

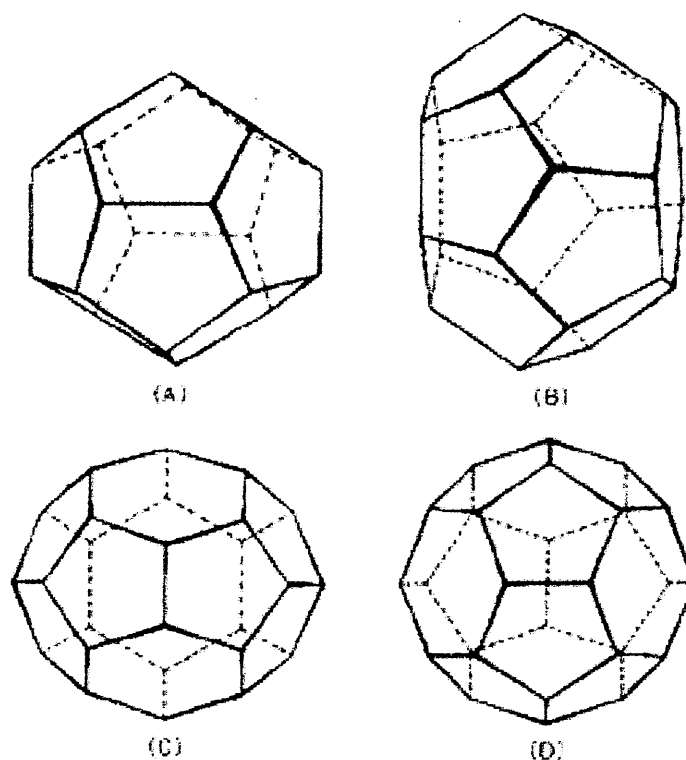


図 1-2 クラスレートを構成する水の多面体構造¹⁵⁾

(A)12 面体 5^{12} (B)14 面体 $5^{12}, 6^2$ (C)15 面体 $5^{12}, 6^3$ (D)16 面体 $5^{12}, 6^4$

ト格子に疎水性の分子、すなわち無極性分子がゲストとして包接されたクラスレートであること、ゲスト分子が適切な大きさであれば構造が安定化すること等が明らかにされた¹⁵⁾。図 1-2 にクラスレートを構成する水の多面体形状を示す。これらクラスレートは結晶状であるが、クラスレートを形成しない溶解度にあっても、その周りの水分子は動きにくくなり、構造化の程度が増す¹⁶⁾。図 1-3 は、 $(C_4H_9)_4NOH \cdot 32H_2O$ というクラスレート化合物を形成する *t*-ブタノール水溶液中の各成分の自己拡散係数を示す¹⁷⁾。上平¹⁷⁾は、水の自己拡散係数は *t*-ブタノールのモル分率 χ_s が 0.3 以下の領域で急激に減少したのは、ブタノールの 3 つのメチル基の周りでクラスレート型の水和圈が形成され、水分子の熱運動が遅くなるためであると述べた。このような構造化した水では熱運動が束縛され、

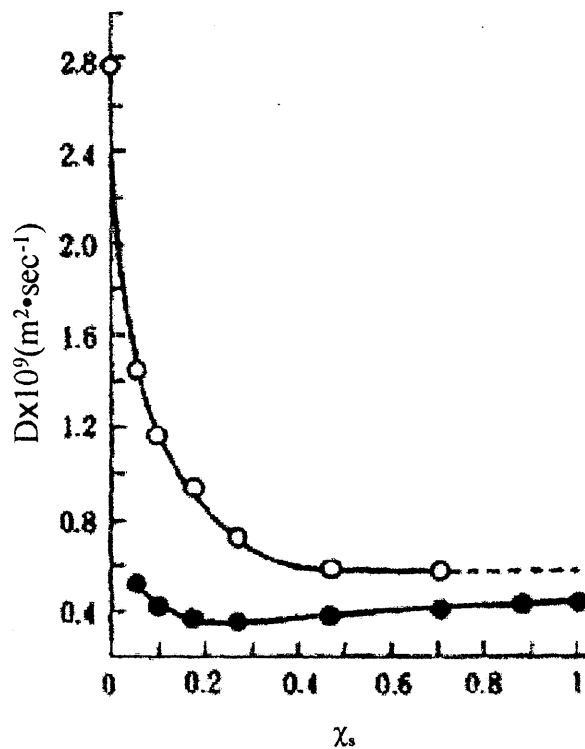


図 1-3 32°C における *t*-ブタノール水溶液中の各成分の自己拡散係数¹⁶⁾

○：水の自己拡散係数，●：*t*-ブタノールの自己拡散係数

水の生体反応に何らかの影響を及ぼすと考えられている。それに関して、Pauling¹⁸⁾は疎水性気体による麻酔作用はその溶解によって引き起こされると考えた。また、Schreiner らは、ヒラ細胞に数種類の無極性ガスを加圧して溶かすと、細胞の増殖が阻害されることを明らかにした¹⁹⁾。大下ら²⁰⁾は、無極性ガスのキセノンをおオムギ子葉鞘細胞に加圧して溶解させ、その原形質流動を観察した。その結果、ガスの溶解によって原形質流動速度が低減し、ガス分圧の増加によって構造化の程度が増すと、原形質流動速度の低減が顕著になることを示した。さらに、その効果をブロッコリの貯蔵に応用したところ、酵素反応によって起こるブロッコリ試料の切断面の褐変が防止されたことを認め、その作用を水の構造化による酵素活性の抑制であるとした²¹⁾。続いて、橋本ら²²⁾は、キセノンガスを加圧して溶解させたモヤシにおいて、その変色および付着

細菌の増殖が抑制される結果を得た。また、オレンジキャンドル種のカーネーション切り花に24時間キセノンガスを加圧して溶解させた処理を行った例では、カーネーション切り花の萎凋時に見られるクライマクテリック上昇が確認されず無処理の試料と比較して花持ちが延長した²³⁾。

以上の研究成果より、無極性ガスによる水の構造化は、カーネーション切り花も含めた青果物の生理的活性を抑える働きを持つと考えられる。

1. 4 本研究の目的および論文の構成

先に、無極性ガスによる水の構造化は水の分子運動を遅くすることを述べた。農産物の鮮度保持効果は、水の分子運動の遅れが生体反応に影響を与えて起こると考えられている。しかし、水の分子運動の遅れは農産物内の水移動の変化をも伴うと思われる。さて、切り花の鮮度がその水分状態によって影響を及ぼされることを考慮すると、水の構造化による水の分子運動の抑制によって、先に述べた生物の生理的活性を抑える効果が現れると考えられる。そこで、本論では主として、切り花内の水移動の変化という観点から、無極性ガスによる水の構造化の鮮度保持効果を解明することを目的とする。

また、無極性ガスは化学的に不活性であるため、STSをはじめとする切り花に使用されている化学物質等と比較して環境への影響が少ないという利点もある。その、無極性ガスによる鮮度保持効果を検討するためには、次の点を解明する必要があると考えられる。切り花は、小売店での保存後に消費者によって直ちに消費される生鮮食料品とは異なり、保存後の効果の持続時間が長い程良いとされる。そのため無極性ガスによる保存では、切り花体内に無極性ガスが留まる時間および効果の持続時間を明らかにする必要がある。また、切り花は内部

での水移動が盛んであるが、水の構造化が内部の水移動に与える影響は鮮度保持効果を検討する上で重要である。更に、構造化による水移動の変化が切り花の水収支に与える影響および呼吸代謝の変化、切り花の花持ちを求めることで無極性ガスによる処理の市場への適用性が明らかになると考えられる。

そこで、本研究では次の3つを目的とした。

1. 無極性ガスによる処理後のガスの滞留時間を明らかにするために、カーネーション切り花内部における無極性ガスの存在状態を把握する。
2. カーネーション切り花内部の水の状態に対して働く無極性ガスの影響を明らかにする。
3. 無極性ガスによる水の状態変化が、カーネーション切り花の水収支および呼吸代謝に与える影響を明らかにする。

本文は全6章で構成されており、各内容を以下に示す。第2章の目的は、切り花内部における無極性ガスの存在状態を把握することとした。第3章は、無極性ガスによる処理と切り花内部の水の動的状態との関係を明らかにするために、 $^1\text{H-NMR}$ による縦緩和時間の測定を行った結果を示した。第4章では、実用上の問題である水ストレスを与えられた切り花に対する効果について検討した。第5章では、切り花に本保存法を適用するために、試料の生理的状态に与える影響を明らかにすることを目的とし、本保存法を行った試料の呼吸速度と水収支の計測を行った結果を示した。第6章では、本論で得られた結果と今後に残された課題について言及した。

第2章 切り花からの無極性ガスの脱離速度

2. 1 緒言

無極性ガスによる処理をおこなったカーネーション切り花については、処理後にクライマクテリック上昇が現れず、花持ちが延長したという研究報告がある¹⁾。このような水の構造化による切り花の鮮度保持効果を得るためには、一定量の無極性ガスを切り花内部に溶解させる必要がある。保存処理が終了した後、切り花は常圧に置かれるが、高い無極性ガス分圧から通常の大気下に移されるため、溶けきれなくなった無極性ガスは切り花から脱離する。切り花内の水への無極性ガスの溶解度が低いと、水の構造化の度合いが減るため、無極性ガスが切り花から脱離することによって鮮度保持効果が弱まると考えられる。すなわち、脱離過程が鮮度保持に影響を与えることが推察されるため、ここでは、試料からの無極性ガスの脱離速度を明らかにすることを目的とした。

2. 2 供試ガスと実験方法

無極性ガスの脱離過程は、その溶解の状態、あるいは、切り花の形状および表面積、含水率等によって変化することが考えられる。本実験では、モデルとして水を用い、その水面の面積を変えて脱離速度を求め、カーネーション切り花の脱離過程の比較を行った。脱離速度は無極性ガスによる処理後に各試料から脱離する無極性ガスの濃度を測定することで求めた。

表 2-1 無極性ガスの溶解度

Gas		$10^5 \chi_1$
Helium	He	0.704
Neon	Ne	0.840
Argon	Ar	2.748
Krypton	Kr	5.041
Xenon	Xe	9.051
Oxygen	O ₂	2.756
Nitrogen	N ₂	1.274
Methane	CH ₄	2.806
Ethane	C ₂ H ₆	3.907
Propane	C ₃ H ₈	3.200
Butane	C ₄ H ₁₀	2.687

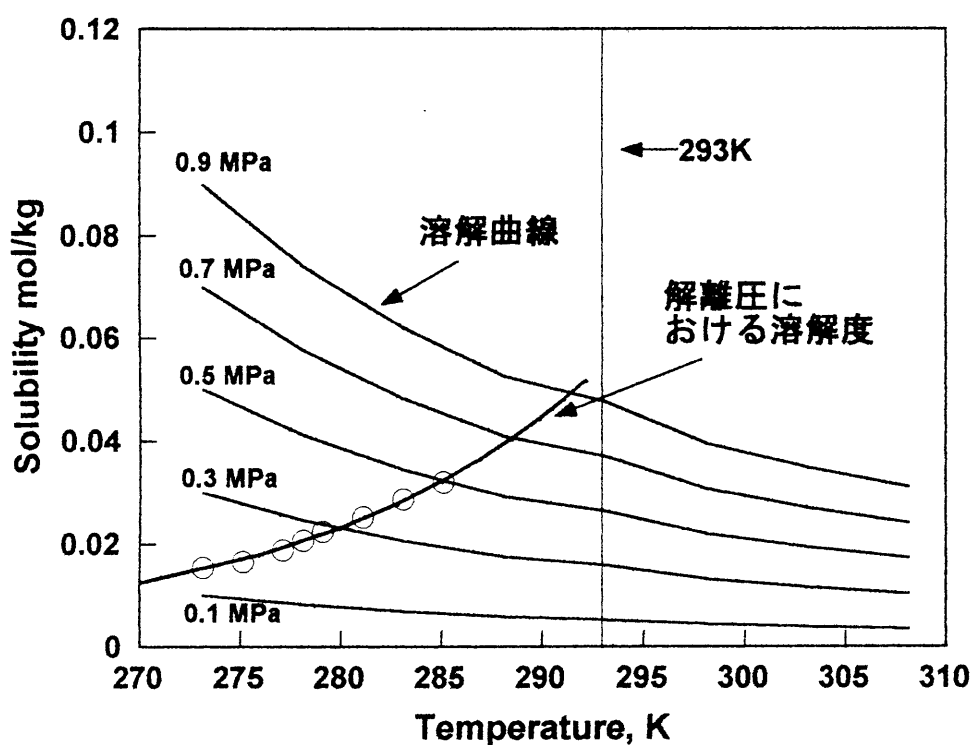
T=293.15K

Partial Pressure of the gas = 101.325 kPa (one atmosphere)

2. 2. 1 供試ガス

無極性ガスは、極性を持つ水に対して溶解しにくい性質を持つ。そのため常圧における水への溶解度は低く、疎水性水和によるクラスレートを形成させるときには無極性ガス分圧を高くする必要がある。表 2-1 に疎水性水和によるクラスレートを形成する代表的な無極性ガスの溶解度を示す¹⁾²⁾。無極性ガス処理を行う際、水に対する溶解度が比較的高い無極性ガスは、供給するガス分圧が低くなるため、より水に溶解しにくい気体と較べて取り扱いが容易である。また、二酸化炭素あるいはメタンなどは無極性ガスであるが、その溶解によって化学反応が起こり、生体に悪影響を及ぼす可能性がある。その影響を回避するために、鮮度保持には科学的活性の低い不活性ガスが適していると考えられる。そこで本研究では、表 2-1 に示されるように不活性ガスでもっとも溶解度が高い気体であるキセノンを供試ガスとして使用した。以下、無極性ガス処理をキセノン処理とする。

水に対するキセノンの溶解度は、キセノンガス分圧と温度に依存するため、水の構造化の程度もそれによって変化する。クラスレートは氷状の結晶である



○ Data of Ewing et al.

図 2-1 水に対するキセノンの溶解曲線と解離圧における溶解度

ため、植物体内にクラスレートが形成された場合は生体組織の凍結による傷害同様の悪影響が予想される。しかし、溶解度が低い場合には、植物体内における水の構造化の程度が弱まり、鮮度保持効果が発揮されない可能性がある。図 2-1 に水に対するキセノンの溶解曲線と解離圧における溶解度を示す。任意の温度における溶解度は、式(2-1)および温度 $T=298\text{K}$ における溶解度 x_2 より求めた³⁾。

$$\ln x_2 = 0.788 - \frac{74.7398}{(T/100)} + 105.210 \cdot \ln\left(\frac{T}{100}\right) \quad (2-1)$$

なお、式(2-1)における温度 T の適用範囲は 273K から 350K である。また、任意の圧力における溶解度は、ヘンリーの法則より求めた。ヘンリーの法則では、溶解度が小さく溶媒と反応しない気体の場合、圧力のあまり高くない範囲では一定温度での溶解度は分圧に比例する。図 2-1 は、ある温度および圧力の溶解度

表 2-2 Ewing ら⁴⁾によるキセノンの解離圧

Dissociation Pressure of Xenon-Water Clathrate

Temperature, K	Pressure $\times 10^{-1}$ MPa
273.15	1.54 \pm 0.00
275.15	1.79 \pm 0.00
277.15	2.20 \pm 0.01
278.15	2.51 \pm 0.01
279.15	2.83 \pm 0.00
281.15	3.42 \pm 0.01
283.15	4.17 \pm 0.01
285.15	4.96 \pm 0.00

が、解離圧における溶解度を表す曲線を超えて大である場合、クラスレートが形成されていることを示す。解離圧における溶解度は、Ewing ら⁴⁾の温度と解離圧の関係のデータ（表 2-2）から計算して求めた。図上の○は、Ewing ら⁴⁾のデータによる値を示す。本研究でのキセノン処理は、室内での花持ちを考慮に入れ常温の 293K すなわち 20°C で行った。図 2-1 より、キセノンは 293K で水に溶解するとき、ガス分圧が約 1MPa 程度で解離圧となり、それ以下のガス分圧ではクラスレートが形成されないと推察される。そこで、本研究ではクラスレートが形成されないと考えられる 0.7MPa 以下のキセノンガス分圧を用いて実験を行った。

2. 2. 2 脱離速度の解析方法

閉じた系内に置かれた試料からキセノンガスが放出されるとき、系内の空気が常に攪拌されるならば、試料周囲にキセノンガスの濃度勾配は生じない。そのとき、溶解したキセノンガスの移動が速やかに行われ、常に、試料中に一様に分布していると仮定すれば、脱離過程は、試料表面におけるガスの脱離速度が律速因子になると考えられる。そこで、脱離の結果として放出されるキセノンを化学反応によって消費された原系物質とみたて、その速度定数を求め、脱

離過程の指標とした⁵⁾。

ある反応



がおこるとき、ある瞬間に原系物質の濃度が $[A]$ であるとするとき、消費速度は反応速度を v として、

$$v = -\frac{d[A]}{dt} \quad (2-3)$$

で表せる。 v は速度定数 k をもちいて一般に次の式となる。本論では k を脱離速度とする。

$$v = k[A]^n \quad (2-4)$$

濃度に付いたべき乗は、実験的に得られる反応次数であり、整数のみならずどのような値も取りうる。

生成物とみなす試料から周囲に放出されたキセノンの濃度を C 、平衡濃度を C_e 、時間を t とすると、原系物質とみなすキセノン濃度の変化速度は

$$\frac{d(C_e - C)}{dt} = -k(C_e - C)^n \quad (2-5)$$

となる。ただし、初期条件 $t=0$ のとき $C=0$ である。ここで、先に述べたようにべき乗 n は、系の様々な要素を含んだ実験的に得られる値であるが、拡散が律速である場合、1次あるいは2次となることが知られている。本実験系において、律速は拡散であると考えられた。そこで、 $n=1$ である1次反応と $n=2$ である2次反応の解を求めた。

$n=1$ のとき

$$C = C_e \{1 - \exp(-kt)\} \quad (2-6)$$

$n=2$ のとき

$$C = C_e \left(1 - \frac{1}{C_e kt + 1}\right) \quad (2-7)$$

この両式を実験結果に対する非線形回帰式として用い、誤差の少ない反応次数を試行錯誤的に求めた。

2. 2. 3 実験方法

(1) キセノン処理方法

キセノン処理用の耐圧容器は、内容積 2.1l、耐圧 2MPa のステンレス製である。耐圧容器に試料を入れて密閉した後、キセノンガスボンベを接続し、容器付属のニードル弁を開いてキセノンを圧入した。その結果、容器内のガス圧は、大気圧と圧入したキセノンガスの和となった。耐圧容器内のガス圧は、すべてプレッシャーモニタ(PM222, GL サイエンス)で測定した。図 2-2 に耐圧容器とプレッシャーモニタを示す。一定時間所定のキセノンガス分圧下でキセノン処理を行った後、大気圧に復圧した。復圧は耐圧容器に付属したニードルバルブを開き約 2 分間でおこなった。

(2) カーネーション切り花の調製

供試材料として、市販のカーネーション切り花（品種：フランセスコ）を使用した。切り花の花柄を約 55cm 残して水切りし、温度設定 20℃の恒温室内において植物育成灯下で 24 時間水揚げを行った。水揚げ後に開花状態を観察し、



図 2-2 耐圧容器とプレッシャーモニタ

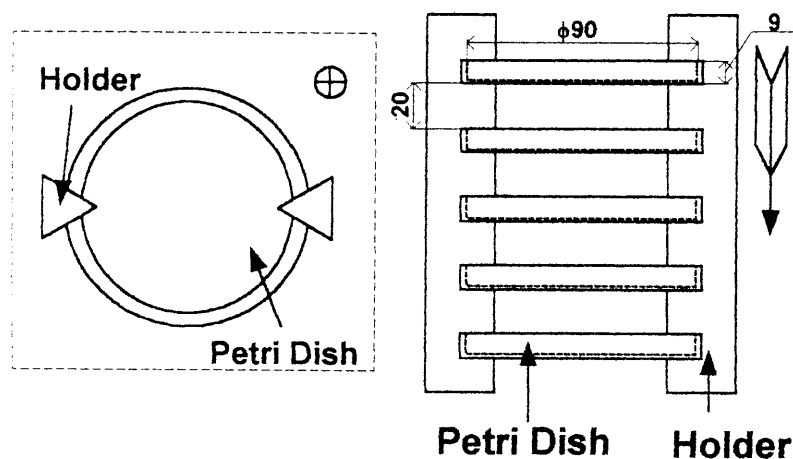


図 2-3 シャーレおよび支持台

花卉が開き雄蕊が外部から見える前段階にあり、同じ生育ステージであると思われる個体を供試した。また、無極性ガスによる処理の直前に花柄を約 10cm に切りそろえた。

(3) 実験区およびキセノン処理条件

式(2-6)あるいは式(2-7)を脱離の速度式として速度式の次数を検討するために、容量 100ml のビーカー中の蒸留水 50ml を供試材料としてキセノン脱離過程を得る実験を行った。キセノン処理条件はキセノンガス分圧 0.7MPa、温度 20°C、処理時間 24 時間である。復圧中に進むキセノン脱離の影響をなるべく少なくするには短時間で復圧する必要があるため、約 2 分間で復圧を行った。

続いて、脱離の表面積とキセノン脱離過程の関係を明らかにするため、2 つの異なる脱離の表面積における水からのキセノン脱離過程を得る実験を行った。水面の表面積を変えるために、50ml の蒸留水を 2 枚および 5 枚のプラスチック製シャーレの中に等分配した。蒸留水を入れる容器は直径 90mm 高さ 9mm のシャーレ 5 個を垂直方向に 20mm 間隔で重ね、それぞれ支持部で左右から支持した。その結果、水面の表面積は 127cm² と 318cm² となった。測定に使用したシャ

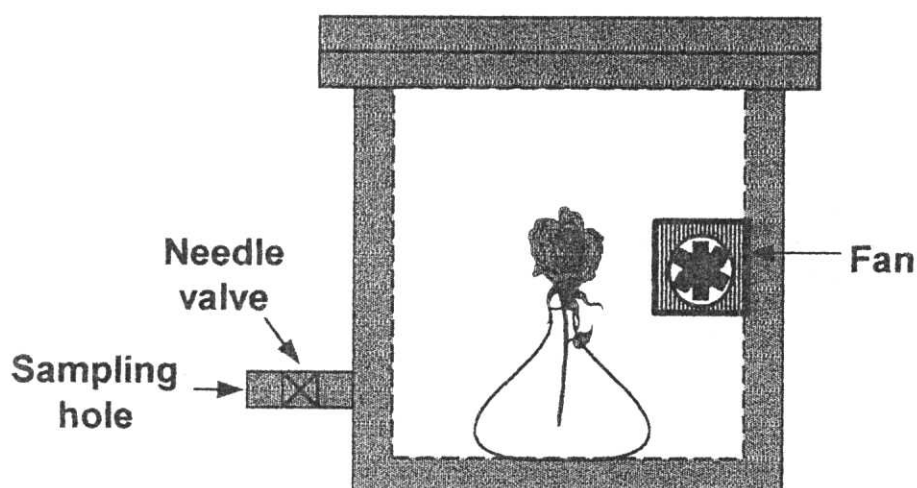


図 2-4 キセノン濃度測定用容器

ーレと支持台を図 2-3 に示す。キセノン処理条件は、キセノンガス分圧 0.2MPa、温度 20°C、処理時間 24 時間、また復圧時間は約 2 分間である。

カーネーション切り花からのキセノン脱離過程を得る実験では、1 回の実験に使用する試料を 3 個体とし、三角フラスコ内に蒸留水を入れ、茎の基部から 3cm 程度浸漬するよう挿入した。キセノン処理条件は 2 種類の表面積における水からの脱離過程の実験と同様とし、復圧も約 2 分間で行った。復圧時間に関しては、予備実験を行い 2 分間という短時間で復圧を行っても植物細胞に影響を及ぼさないことを確認した。

(3) キセノン濃度測定

各実験のキセノン処理は、前述の手順にしたがって行った。復圧後、試料から脱離したキセノンガス濃度を測定するため、試料を図 2-4 に示した測定用容器内に移した。容器の諸元は、内容積 2.1l、内径 130mm、深さ 160mm である。容器内ガスの濃度勾配をなくすため、容器の底から 80mm の場所にファンを設置した。シリンジで採取したキセノンガスの濃度をガスクロマトグラフィ (GC-14B, 島津製作所) を用いて測定した。カラムにはガスクロパック 54 (GL サイエンス)

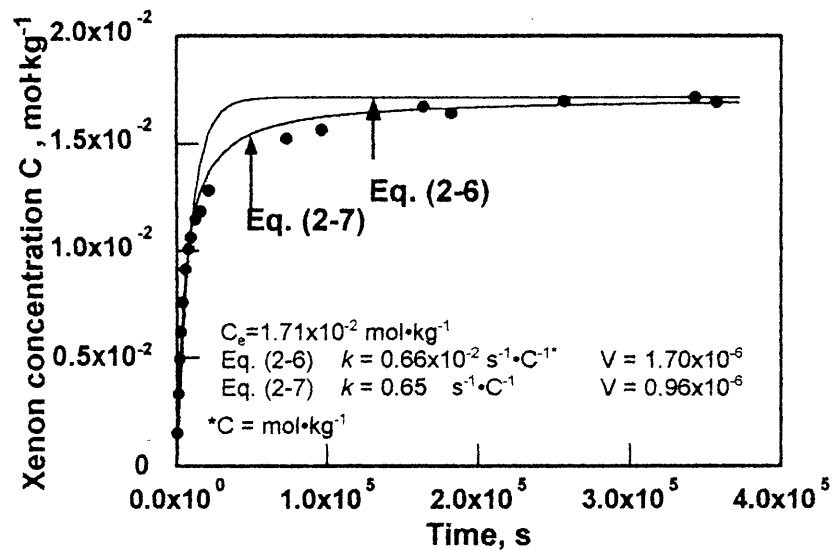


図 2-5 水からの脱離過程

を用いた。脱離過程の測定終了後、カーネーション切り花の含水率は炉乾法 (105°C, 24 時間) で、表面積は、花卉、葉、萼片毎に画像処理システム(PIAS LA-500, ピアス)を用いて測定した。本画像処理システムは、試料と背景の白黒画像から得られる濃淡を二値化し試料面積を求めるものである。

2. 3 実験結果および考察

2. 3. 1 実験結果と解析結果の比較

はじめに、式(2-6)あるいは式(2-7)が脱離の速度式として妥当であるかを検討した。図 2-5 は、ビーカー中の蒸留水 50ml を供試材料としてキセノン脱離過程を得た実験結果である。●は累積キセノン放出量の経時変化を示し、実線が式(2-6)と式(2-7)を用い最小二乗法により求めた非線形回帰の結果である。また、図中に脱離速度 k および分散 V を示す。回帰値に対する実測値の分散を比較すると式(2-7)が式(2-6)よりも実測値とよく一致するため、反応次数は 2 次が適すると

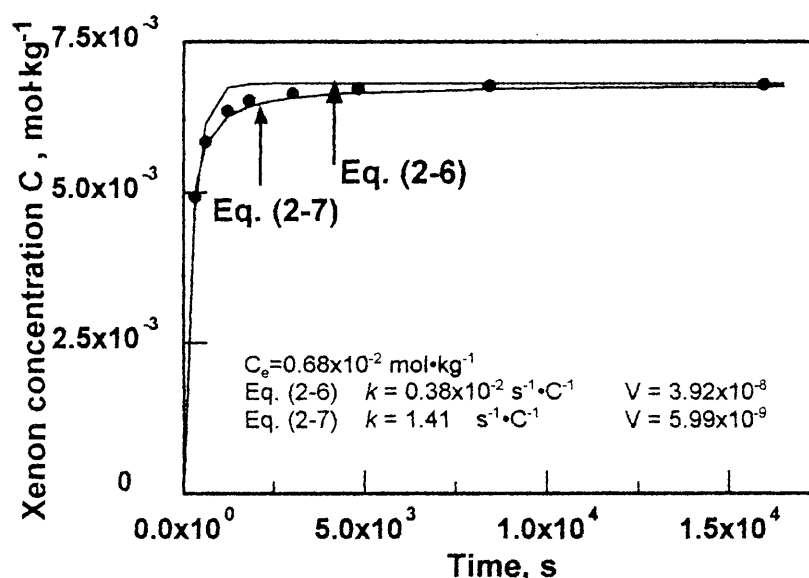


図 2-6 カーネーションからの脱離過程

判断された。

カーネーション切り花からのキセノン脱離過程を得る実験は計 4 回行った。図 2-6 に代表的な結果を示す。水からの脱離過程と同様、式(2-6)と比較して式(2-7)でより良く近似され、反応次数は 2 次が適するという結果を得た。反応次数の一致が必ずしも反応過程の物理現象の一致とはいえないが、ここではカーネーションからの脱離過程は、水と同様に単純な界面からの脱離過程であると仮定し、水およびカーネーションの脱離速度と表面積の関係について比較検討を行った。

2. 3. 2 脱離過程と脱離表面との関係

表 2-3 に、カーネーションおよび水における脱離過程の指標を示す。ここで脱離表面積とは、単位水分量当たりのカーネーション切り花の表面積および水面の面積とする。脱離過程がほぼ終了したと思われる測定容器内の濃度が平衡濃度の 98%に達するまでの時間は長くても 2 時間から 3 時間の間であった。図 2-

表 2-3 カーネーションおよび水における脱離過程の指標

	Surface area for desorption*	rate constant	Desorption time**
	$\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$	$\text{s}^{-1} \cdot \text{C}^{-1}$	h
carnations			
Nov.	76.15	1.41	0.98
Dec.	84.31	1.46	1.42
Feb.-1	77.19	0.51	2.27
Feb.-2	78.12	0.55	2.15
Distilled	2.5	0.05	--
Water	6.4	0.12	--

* Surface par unit volume of water

** Desorption time was defined as xenon concentration in the container reached 98% of final concentration.

7に、脱離表面積と脱離速度の関係を示す。水からのキセノン脱離速度は脱離表面積に比例して増える傾向が見られた。また、11月、12月収穫の試料のキセノン脱離速度は、水からのキセノン脱離速度に対する脱離表面積とほぼ同じ比例関係にあった。しかし、2月収穫の2例は1/3程度の低い値を示した。すなわち11月、12月収穫の試料では水と同傾向を示すのに対し、2月収穫のカーネーションでは脱離の過程で何らかの抵抗が働いたことを示唆する。これは、キセノンの脱離がカーネーションの表面積にのみ依存するのではなく、気孔開度や細

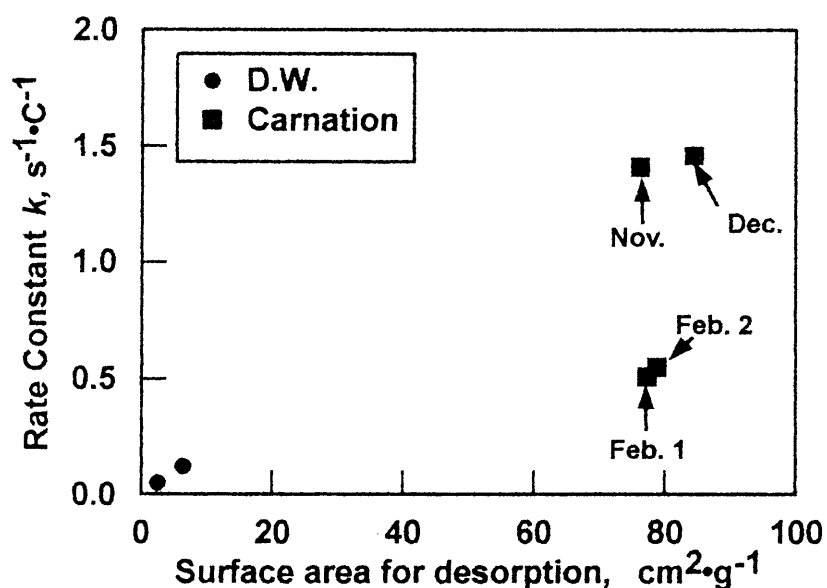


図 2-7 脱離表面積と脱離速度の関係

胞膜の透過性などの生理的状态にも関係があることを示すと考えられる。すなわち、測定で得られた切り花の表面積は、見かけの脱離表面積であり、実際には生理的状态を要素として含んだ真の脱離表面積があると推察される。12 月から 2 月の間は、カーネーションの端境期であった。11 月、12 月収穫の試料は、茎が細いため花持ちが悪く、キセノン濃度の測定中に萎凋した。逆に 2 月収穫の試料は花持ちがよかった。このことより、2 月収穫の試料は、花持ちが良く細胞膜の機能が長く維持されたため真の脱離表面積は小さくなり、11 月および 12 月収穫の試料は、花が劣化し細胞膜の機能が低下した結果、真の脱離表面積が大きくなったと思われる。

以上のように、カーネーション切り花からのキセノン脱離過程はその生理的状态によって変化しうることが明らかになったが、脱離に要する時間は長くても 3 時間程度であった。よって、キセノン脱離過程の終了後は、大気圧下において、水に飽和して溶解しているキセノン、および、生体高分子の疎水基近傍で会合しているキセノンが試料内に残留すると考えられた。

2. 4 摘要

無極性ガスの脱離過程は、カーネーション切り花の鮮度保持に影響を与えることが推察される。そこで、試料からの無極性ガスの脱離速度について検討した。

カーネーション切り花および水からのキセノン脱離過程は、いずれも 2 次の反応速度式で回帰された。そのため、切り花からのキセノン脱離過程を水と同様の単純な界面からの脱離であると仮定し、両者の比較をおこなった。水からのキセノン脱離速度は、脱離表面積に比例した。一方、切り花からキセノン脱離速度は、脱離表面積に対して、水に近い比例関係にある例と、その約 1/3 程度

低い値である例が見られた。両者の差は、切り花の生理的状态によって脱離する表面の状态が変化するためと考えられた。切り花のキセノン脱離過程は 2 時間から 3 時間の間でほぼ終了した。よって、その後のキセノン処理の効果は、大気下において、水に飽和して溶解しているキセノン、および、生体高分子の疎水基近傍で会合しているキセノンによると考えられた。

第3章 切り花内部における水の動的状態

3. 1 緒言

第2章において、水の構造化の程度に関係が深いキセノンの脱離は約2時間から3時間の間でほぼ終了することが明らかになった。キセノン処理によってカーネーション切り花の花持ちが長期化した報告¹⁾を考慮すると、その後のキセノン処理の効果は、大気圧下において水に飽和して溶解しているキセノン、および生体高分子の疎水基近傍で会合しているキセノンによると考えられる。そのため、キセノン処理後に現れた保存効果と切り花内の水の構造化の程度との関係は、無極性ガスによる保存処理の持続時間やメカニズムを明らかにする上で重要である。水の構造化は、切り花内の水の動的状態に影響を及ぼすと考えられるが、近年、植物体内の水の動的状態は¹H-NMRを用いて測定されるプロトンの緩和時間 T_1 と関係深いことが明らかになってきた²⁾。すなわち、切り花内の水の縦緩和時間 T_1 を得ることで、水の構造化による影響を求めることができると思われる。そこで、本章では無極性ガスによる保存処理が切り花内の水の動的状態および生理的状态にどのような影響を与えるかを明らかにするために、キセノン処理を行った切り花と未処理の切り花の縦緩和時間 T_1 を比較した。

3. 2 実験方法

3. 2. 1 供試材料と保存処理方法

供試材料には、第2章と同一品種のカーネーション切り花を用いた。生産農家で採花された供試材料は、1日間の輸送で実験室に到着した後に第2章と同じ

調製を施された。実験には同じ生育ステージにあると思われる個体を供試した。

まず、実験区としてキセノン処理 0.5MPa 区と 0.7MPa 区および対照区を用意し、それぞれ 3 個体ずつ供試した。キセノン処理には第 2 章と同じ耐圧容器を使用した。キセノン処理は、キセノン分圧 0.5MPa および 0.7MPa、処理温度は 20℃、処理時間は 24 時間で行った。その後、復圧は耐圧容器に調圧弁 (6700A, KOFLOC) と流量計 (RK-1250, KOFLOC) を接続し、圧力、流量一定下に調整し復圧を行った。その際のガス放出量は、 $45\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ であった。

3. 2. 2 ^1H -NMR による縦緩和時間 T_1 の測定

(1) NMR 用試料

一般に、NMR による測定では、使用する装置によって試料の大きさが制限される。実験に使用した NMR 装置(JNM-MU25, 日本電気)では、使用可能な試料管の外径は 10mm であり、カーネーション切り花を完全な状態で試料管内に入れることは、不可能である。また、NMR 装置の検出器に入る信号強度は試料にあるプロトンの数に依存しており、試料には検出器の感度を満足するプロトン数を有していることが要求される。そこで、 T_1 測定を行う部位として切り花の子房を選択した。実験で用いたカーネーションの子房は直径約 8mm、高さ約 10mm で、その大きさは NMR 用試料として適している。また、エチレンはカーネーションをはじめとした花の萎凋の原因となるホルモンであるが、子房はクライマクテリック上昇以前からエチレン生合成のもととなる ACC 合成酵素 (S-アデノシルメチオニンメチルチオアデノシンリアーゼ; EC 4.4.1.14) の量が多く、クライマクテリック上昇で他の器官に比較して数倍のエチレンの前駆物質である ACC (1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸) を生成する³⁾。そのため、子房は老化の初期段階を捉えやすい部位と考えられ、その内部の水の動的状態から

は有用な情報が引き出せると考えられる。

(2) 実験手順

子房を封入した NMR 試料管の状態を図 3-1 に示す。カーネーション切り花の花弁を取り除いたのち、花柄と雌蕊を花床から切断して子房を取り出した。NMR 試料管への挿入を容易にするために、花柱の上部を切断し子房を上方にした状態で NMR 試料管内に封入した。NMR 装置は、共鳴周波数 25MHz、0.5872T、対象核はプロトンである。測定には、パルス系列が 90° - t - 90° である飽和回復法を用いた。この系列における時間 t 後の磁化 M_t は、次式で表される。

$$M_t = M_0 \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right) \right] \quad (3-1)$$

ここで、 M_0 は熱平衡における磁化、 T_1 は縦緩和時間を示す。本測定での縦緩和時間 T_1 は、式(3-1)を

$$\frac{M_0 - M_t}{M_0} = \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right) \quad (3-2)$$

式(3-2)に変形し、最小二乗法による近似式で求めた。

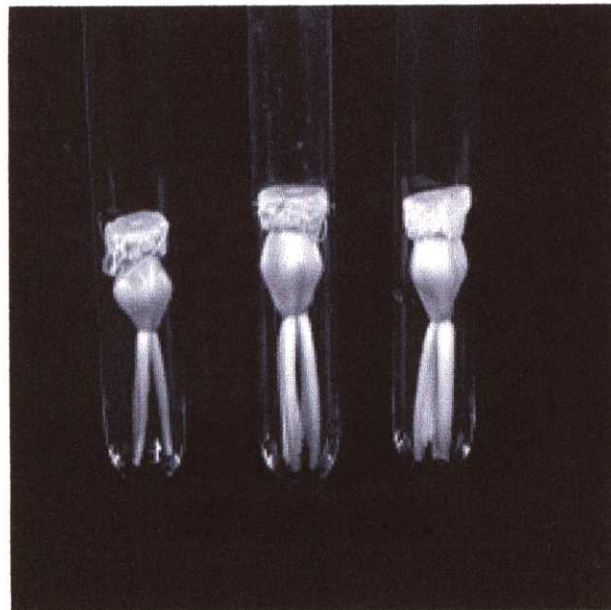


図 3-1 試料を封入した NMR 試料管

測定中の NMR プローブ温度は、装置付属の温度制御装置を使用して 25°C に設定した。測定の際には、パルスが子房の中心に照射されるように調整した。¹H-NMR による測定はキセノン処理後から約 96 時間の間に 3 回行ったが、試料は測定時を除いて 20°C に設定した恒温チャンバ内で保存した。

3. 3 実験結果および考察

3. 3. 1 解析方法の検討

図 3-2 に実験で得られた NMR の出力信号を式(3-2)を用いて近似した例を示す。生体組織内の T_1 は、水分子の動的状態の違いによって数種類の値に別れるという研究結果があり⁴⁾、その場合近似式は複数となる。本装置付属のプログラムをもちい、あらかじめ近似式の数に指定し回帰を行った結果、近似式は 1 つの場合より 2 つとした場合に分散が小となった。この結果より、カーネーション切

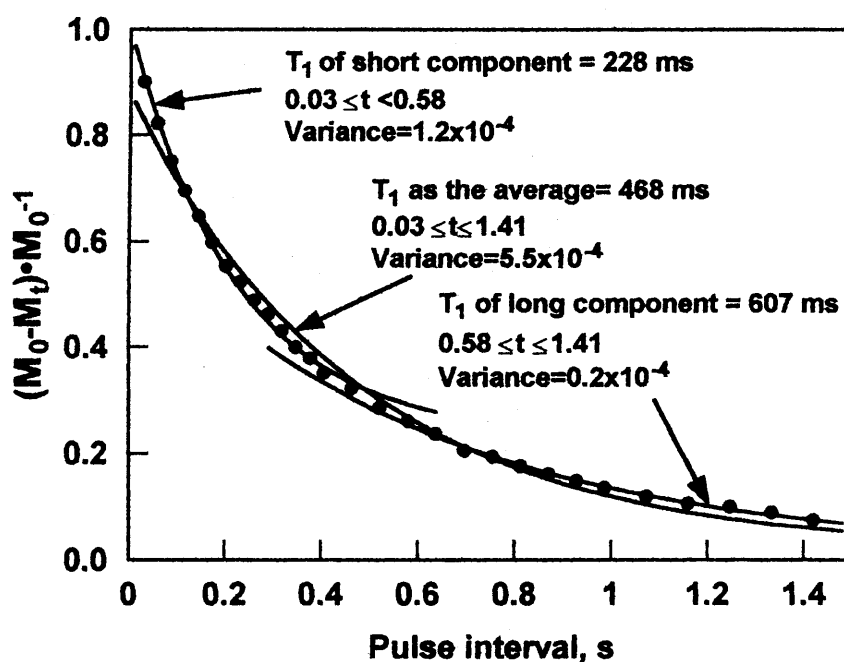


図 3-2 NMR 信号の指数関数による近似例

り花の子房からは2種の T_1 値が得られ、動的状態が異なる2種類の水の成分が存在すると考えられた。しかし、1つの近似式で近似した場合の分散が極端に大きいわけではなく、このような場合に、わずかな数学的処理の違いが物理的意味を有すると判断するのは難しいと考えられた。そこで、本論では、1つの指数近似式から得られる T_1 を平均的 T_1 の解析、2つの指数近似式から得られる T_1 を T_1 が2成分に別れるとした解析として、両面から評価することとした。

3. 3. 2 縦緩和時間 T_1

表 3-1 に本実験で得られたカーネーション子房部の平均的 T_1 の測定結果、および、比較のために既往の研究におけるケヤキ属およびクスノキ属の葉⁵⁾、スイカズラ科 *Viburnum* の葉⁶⁾、リョクトウモヤシ⁷⁾、トマトの果実⁸⁾の T_1 測定結果を示す。 T_1 の測定は試料1点につき3回行い、測定値には平均を使用した。また、表中にはキセノン処理後1日目の結果を示した。純水の T_1 は約3秒であるが²⁾、

表 3-1 カーネーション子房部の平均的 T_1 値および既往の研究によるその他の植物の T_1 値

		T_1, s		Water Content	Number of Samples
Carnation	Ovary	Xenon 0.7 MPa	0.38 ± 0.03	No data	3
		Xenon 0.5 MPa	0.42 ± 0.03		
		Control	0.51 ± 0.09		
<i>Zelkova</i>	Leaves		$4.67 \times 10^{-2} \pm 0.45 \times 10^{-2}$	147.7 ± 19.6	21
<i>Machilus</i>			$5.59 \times 10^{-2} \pm 1.70 \times 10^{-2}$	110.7 ± 8.5	22
<i>Cinnamomum</i>			$8.25 \times 10^{-2} \pm 1.31 \times 10^{-2}$	100.1 ± 16.1	26
<i>Viburnum</i>	Leaves		$0.16 - 0.34$	$1.4 - 2.7 \text{ gH}_2\text{O/g db.}$	21
mung bean	Etiolated seedling		1.03 ± 0.08	$1.77 \pm 0.9 \text{ gH}_2\text{O/g db.}$	25
Tomato (mature)	Outer wall of pericarp		1.56 ± 0.14	No data	1 (Errors came from calculation of T_1)
	Dissepiment		0.98 ± 0.17		
	Placenta		0.57 ± 0.09		
	Columella		0.64 ± 0.17		

Zelkova イラクサ目ニレ科ケヤキ属

Machilus クスノキ目クスノキ科イヌグス属

Cinnamomum クスノキ目クスノキ科クスノキ属

子房内水の平均的 T_1 は対照区で 0.51 ± 0.09 秒であった。生体組織内の水の T_1 は、多糖類および脂質などの生体高分子や溶存イオンなどに束縛されるため短くなることが知られており⁹⁾、本実験でも同様の結果が得られた。その他の影響として植物の T_1 は含水率に依存する¹⁰⁾など、その T_1 値には様々な要因が関係する。しかし、表に示したように、その大まかな分布範囲は 0.1 秒から 1.5 秒の間であると考えられる。よって、本実験で得られたカーネーション子房の平均的 T_1 値は、植物の T_1 値として妥当な値であると思われる。また、表 3-1 に示したキセノン処理区の平均的 T_1 値は、対照区より小さな値を示した。大下ら¹¹⁾は、キセノンが分圧 0.6MPa および温度 298K で溶解しているときの蒸留水の T_1 は、水の構造化によって通常の蒸留水より短くなることを明らかにした。カーネーションの子房においても、キセノンによる水の構造化が、組織内の水の束縛をより強くしたと考えられる。

キセノン処理区および対照区の平均的 T_1 の経時変化を図 3-3 に示す。各シンボルは測定した試料 3 個体の平均値、エラーバーは、最大値と最小値を表す。

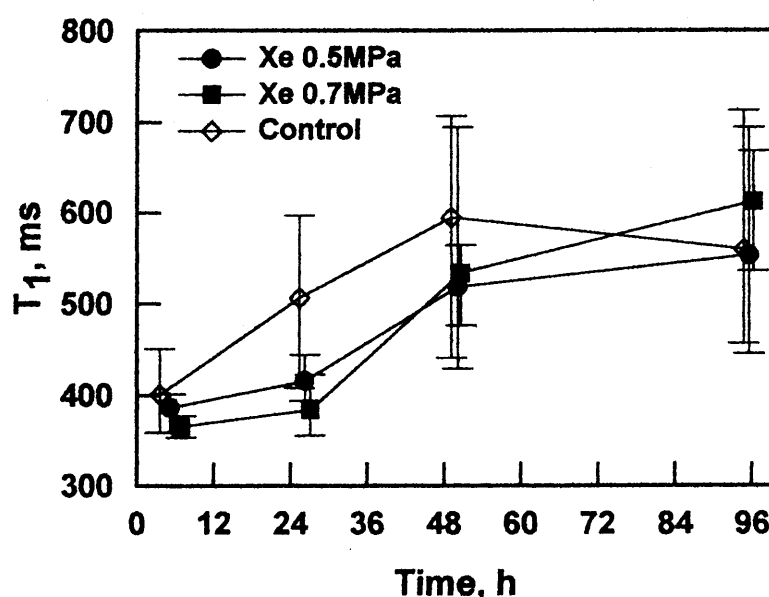


図 3-3 平均的 T_1 の経時変化

両区の平均的 T_1 は、時間の経過に伴い長くなった。しかし、キセノン処理 0.7MPa 区とキセノン処理 0.5MPa 区では、約 48 時間にわたり T_1 の平均値が対照区より低い値を示した。NMR を用いた既往の研究では、植物細胞内の水の動的状態は組織の生理的活性を調節する働きを持つと考えられており、水の動的状態が活発な場所では生理的活性も高く、動的状態が不活発な場所では生理的活性も低いといわれている⁸⁾。本実験結果では対照区の T_1 はキセノン処理区より高い値を示しているため、対照区はキセノン処理区より生理的活性が高い状態にあったと考えられる。生理的活性が高いことは保存中に劣化が早く進むことを意味する。よって、キセノン処理区で T_1 の延長が顕著に見られなかったことは劣化の抑制に繋がると考えられる。

平均的 T_1 を得た同じ NMR の出力信号に対して、3-2 式を用い 2 つの近似式で解析を行った結果、長短 2 つの T_1 値が得られた。キセノン処理後 1 日目の T_1 測定結果、および、比較のため隈元ら¹²⁾によるイチジク果実の T_1 値を表 3-2 に示す。隈元ら¹²⁾は一連の NMR の出力信号を複数の指数近似式を用いて解析した結

表 3-2 2 成分として測定されたカーネーション切り花の T_1 値および既往の研究によるイチジクの T_1 値

			T_1 s	Fraction	Number of Samples
Carnation	Ovary	Xenon 0.7 MPa	0.49±0.04	0.66±0.05	3
			0.16±0.02		
		Xenon 0.5 MPa	0.54±0.04	0.66±0.03	
			0.19±0.02		
		Control	0.62±0.04	0.71±0.10	
			0.17±0.03		
Fig Fruit (mature)	Receptacle		<0.1	8.5±1.6	6
			0.91±0.06	0.9±0.2	
			1.38±0.06	3.6±0.8	
			1.55±0.04	87.1±0.7	
	Drupelet		<0.1	6.4±0.5	
			1.03±0.09	0.9±0.3	
			1.49±0.09	3.4±0.9	
			1.66±0.08	89.3±1.6	

果、 T_1 の測定からイチジク果実には、0.1 秒より短いもの、0.6 秒から 1.0 秒のもの、1.2 秒より長いもの、と 3 つの動的状態をもつ水の部分に別れるとした。また、その動的状態は生体組織内の自由水、弱い結合水、強い結合水に由来するのではないかと述べている。本実験においても試料の T_1 が長短 2 つに別れたことから、切り花の子房内部において短い T_1 をもつ束縛の強い水成分と長い T_1 をもつ束縛の弱い水成分の 2 種類が存在すると考えられる。以下、短い T_1 をもつ水成分を I 成分、長い T_1 を持つ水成分を II 成分とする。II 成分の T_1 に関しては、キセノン処理におけるキセノンガス分圧が高くなるほど短くなる傾向を示した。しかし I 成分の T_1 は、それぞれの実験区で顕著な差が見られなかった。すなわち、キセノン処理は束縛の弱い水に影響を与え、束縛の強い水への影響は少ないと考えられる。また、 T_1 の解析を複数の指数近似式でおこなう場合、出力信号の強度から、試料中の全プロトンに対する任意の成分におけるプロトンの存在割合が得られるため、それぞれの成分の存在割合を求めることができる。表 3-2 に、I, II 成分の存在割合を示す。

図 3-4 の A に I 成分、B に II 成分の T_1 の経時変化を示す。I 成分の T_1 の長さは、各実験区においてわずかに短縮する傾向が見られたが、著しい変化はなかった。I 成分は強い束縛を受けている水であるが、キセノンによる処理や時間経過によって顕著な変化は生じなかったと思われる。一方で対照区における II 成分の T_1 は、図 3-4 の B に見られるように長くなった。また、キセノン処理区の II 成分の T_1 は約 48 時間までの平均値では対照区より短い値を示し、特にキセノン 0.7MPa 区では、約 24 時間後の II 成分の T_1 値は初期の状態を保った。この結果から II 成分の T_1 は時間の経過に伴い長くなるが、キセノン処理によって T_1 の延長が抑えられたと考えられる。

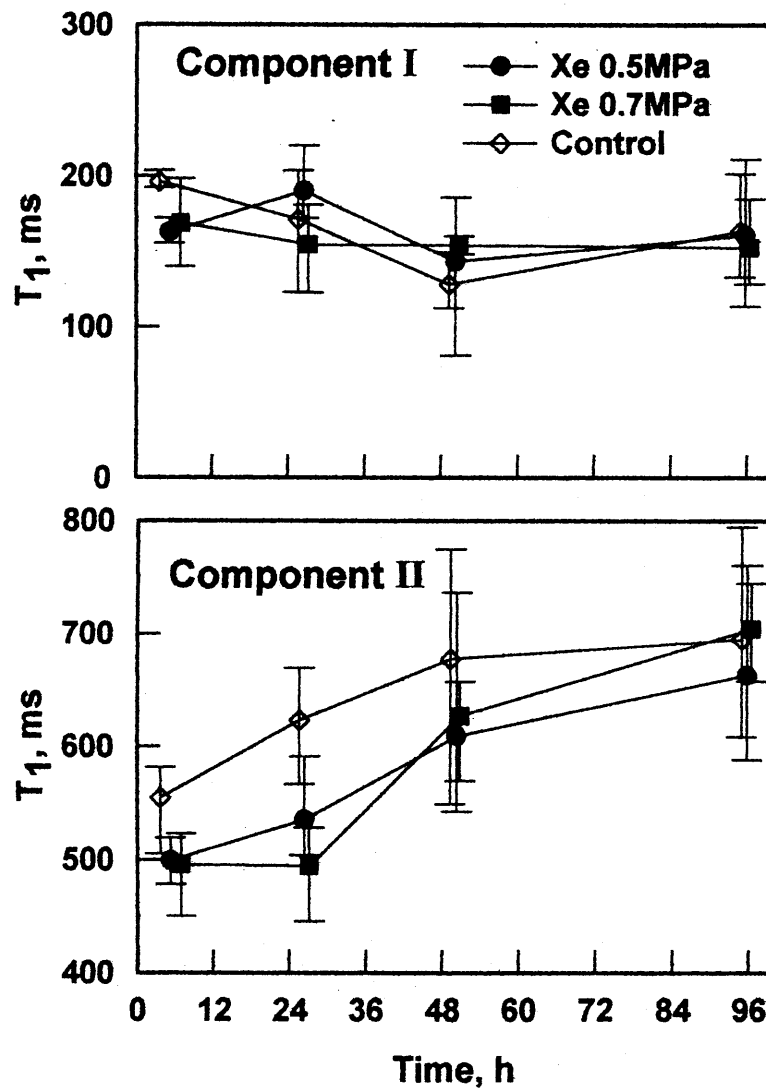


図 3-4 2 成分として解析した T_1 の経時変化

図 3-5 に、試料中の全プロトンに対する II 成分の存在割合の経時変化を百分率で示す。キセノン処理区、対照区ともに II 成分は常に 50%以上を占めた。キセノン処理 0.5MPa 区および 0.7MPa 区における II 成分の存在割合は、キセノン処理後から 96 時間にかけて緩やかに増加した。それに対して対照区の II 成分の割合は、48 時間後まで高い割合で増加し、その後 96 時間の間に減少した。このような II 成分から I 成分への水の束縛の状態変化は、細胞内水の移動を反映していると考えられる。よって、キセノン処理区の II 成分の存在割合の変化が対

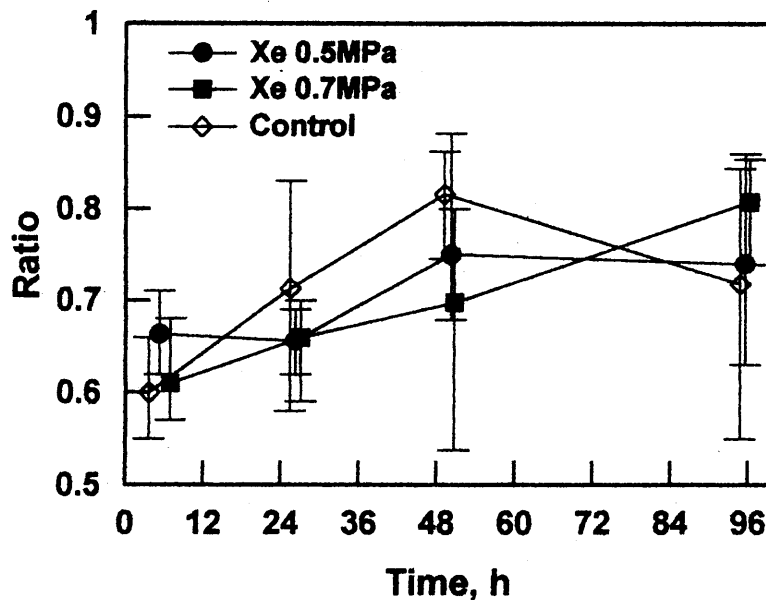


図 3-5 2 成分の比率の経時変化

照区より少ないことから、無極性ガスは T_1 の延長だけでなく、細胞内の水移動を抑える働きを持つと考えられる。

Snaar ら¹³⁾は、水のプロトンの緩和時間を変化させる働きを持つ Mg^{2+} イオンをリンゴ果肉の柔組織細胞に浸透させる実験を行い、 Mg^{2+} イオンの浸透過程から水のプロトンの緩和時間は細胞壁および原形質では短く、液胞では長いことを明らかにした。彼らの測定では、細胞の各部位に対応する 3 種類の緩和時間が得られたが、液胞に由来すると考えられる長い T_1 を持つ成分が全プロトンの約 75% を占めており、これは本実験で得られた II 成分の割合とほぼ一致した。そのため、II 成分は液胞の、I 成分は原形質と細胞壁の T_1 の平均値を示していると考えられる。本実験結果では、対照区の II 成分の T_1 値は時間の経過とともに長くなり、II 成分の存在割合も増加した。これは、子房の細胞が老化する過程での変化であると考えられる。液胞は細胞の生体反応で生じた老廃物を取り込み分解する働きを持つため¹⁴⁾、成分 II が液胞の成分であるならば、細胞の老化に伴

う成分Ⅱの存在割合の増加を説明することが可能である。隈元ら¹²⁾は、イチジクの果実が熟する過程で、長い縦緩和時間を持つ成分が増加し、短い縦緩和時間を持つ成分が減少することを明らかにした。また、試料が熟する過程で電解質の漏出が増大することから、異なる成分間の拡散は細胞の形態および生体膜の透過性に依存するとした。すなわち、各成分が含むプロトンの存在割合の変化は、細胞の老化に伴うⅠ成分とⅡ成分の間の水分移動を反映していると考えられる。すなわち、キセノン処理区において対照区よりⅡ成分の変化が少なかったのは、無極性ガスの働きによって細胞の老化および細胞膜間の水移動が抑えられたためと考えられる。なお、48時間から96時間の間にⅡ成分の存在割合が減少したのは、細胞劣化による外部へ脱水が起こったためと思われるが、今後の検討が必要である。

3. 3. 3 水の動的状態への影響

カーネーション子房部の T_1 の測定を行った結果、無極性ガスによる保存は水の束縛の状態を強くし、細胞の老化および生体膜を通過する水の移動を妨げることが明らかになった。また、本実験では、NMR 試料管中の子房の色にも変化が生じた。図3-6に実験1日目と7日目の写真を示す。目視による比較では、実験開始時は両区とも似た色であったが、7日後にキセノン処理0.7MPa区において色の明確な変化が認められなかったのに対し、対照区では茶色に変化した。これは、キセノン処理により色素の変性が妨げられたことを示すと考えられる。大下ら¹⁵⁾は同様の結果がブロッコリで得ており、その原因は水の構造化による酵素活性の抑制であるとしている。このような無極性ガスの生体への働きかけに関しては、現在2つの説が挙げられている。前者は細胞内の水が構造化し、水分子の熱運動が抑制され生体反応が起こりにくくなるという説である。また、

後者は細胞内の水の構造化を考えず、無極性ガスが生体高分子、特に生体膜の疎水基に取り込まれることによって生体膜に存在するタンパク質のコンホメーションを変化させ、その透過性に影響を与えるとする説である⁴⁾。前者をとると、キセノン処理区で細胞内の水の T_1 の変化が少なかったことは、水の構造化によって生体反応全体が抑制された結果であると考えられる。しかし、本実験でのキセノン処理効果が48時間程度であるのに対して、第2章の結果では、キセノン処理後のキセノン脱離過程は約2時間から3時間の間に終了した。脱離後のキセノン処理の効果は、大気圧下において水に飽和して存在するか、あるいは生体高分子の疎水基近傍で会合しているキセノンガスによるものと考えられるため、前者を選択するには、どの程度の水の構造化が生体活動を抑制するのかを明らかにする必要がある。一方で生体膜に存在するタンパク質のコンホメーション変化によって無極性ガスの効果を説明する後者は、無極性ガスによる処

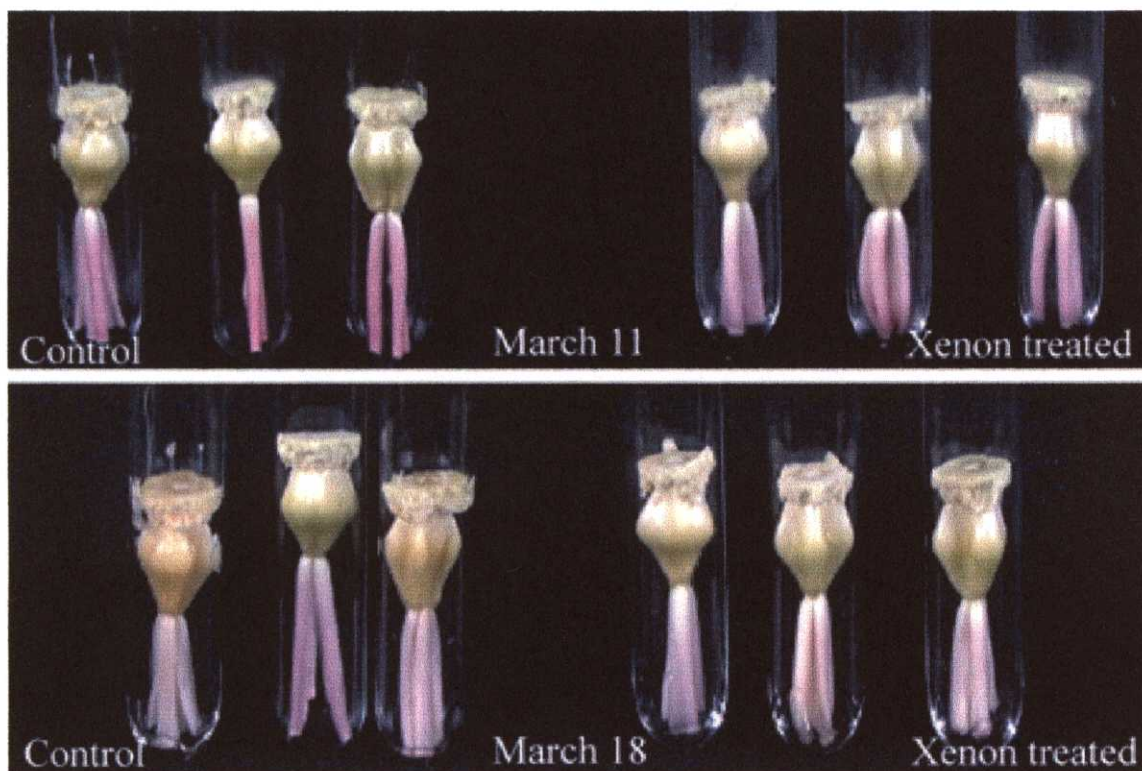


図 3-6 子房の色の变化

理が成分Ⅱから成分Ⅰへの生体膜を通過する水移動が妨げられたことを説明することが可能である。生体膜のタンパク質と水移動に関しては、最近、植物の生体膜にも水分子に特異的な水チャンネルタンパク質（アクアポリン）が存在することが明らかになり、オウシヤジクモ(*Chara corallina*)では、細胞の水透過性に対する水チャンネルの寄与率は75%あるいはそれ以上であると見積もられている¹⁶⁾。そのほかにも生体膜にはH⁺ポンプやCa²⁺ポンプなどの輸送タンパク質が含まれており、細胞の生体反応に大きく関わっている。よって、無極性ガスによって生体膜のコンホメーション変化が起こる場合、生体に大きな影響が与えられると考えられる。

いずれにせよ無極性ガスが水の動的状態を不活発にし生体反応を抑えることで鮮度保持に働くと思われるが、現時点では、無極性ガスが生体におよぼす作用を解明することは困難である。しかし、無極性ガスによる構造化が熱運動を抑制する場合、構造化が解消されれば可逆的にその影響も解消されると予想されるが、生体膜を変性させる場合、膜の構造変化が解消されず生体に悪影響を及ぼすことも考えられる。そのため、無極性ガスによる処理を切り花の保存に利用するためには、微視的な情報である組織内の水の動的状態のみならず、切り花の呼吸代謝や水収支などの巨視的な情報を総合して無極性ガスによる生体への影響を明らかにする必要がある。

3. 4 摘要

無極性ガスによる保存がカーネーション切り花の水の動的状態に与える影響を明らかにするために、¹H-NMRによる縦緩和時間T₁の測定を行った。

切り花子房部の平均的T₁は、約0.4秒から0.8秒の間にあり、時間の経過に伴い長くなった。しかし、48時間にわたってキセノン処理区のT₁は対照区より小

さな値を示し、無極性ガスによる水の構造化が、組織内の水の束縛をより強くたと考えられた。

上記の平均的 T_1 を得た同一のデータについて 2 つの指数近似式をもちい解析した結果、0.1 秒から 0.3 秒の範囲、および、0.4 秒から 0.8 秒の範囲にある 2 種類の T_1 が得られた。短い T_1 を持つ水成分、以下 I 成分、は水の束縛が強い部分、また、長い T_1 を持つ成分、以下 II 成分、は水の束縛が弱い部分の水の動的状態を示すと考えられた。対照区では II 成分の T_1 が長くなったが、キセノン処理区では顕著な変化が見られなかった。

試料中の全プロトンに対する成分 II の存在割合では、対照区において時間の経過に伴い増減が観察された。キセノン処理区では、成分 II の存在割合の変化は低く抑えられた。

以上の結果より、無極性ガスによる処理は、細胞内の水の束縛を強くし、また、細胞の老化および細胞膜間の水移動を抑える働きを持つことが明らかになった。

第4章 無極性ガスによる水ストレス抑制効果

4. 1 緒言

第3章では、切り花内部における水の構造化によって水移動の状態が変化していることが明らかになった。さて、切り花内部の水の状態はその品質と関係が深く、例えば、収穫後に給水が絶たれ脱水が起こるために水ストレスにさらされる¹⁾。その水ストレスは切り花の萎凋を早めることが知られており²⁾、水ストレスが与えられたフリージア花序からのエチレン生成量は、通常の花序より多い³⁾、同じく水ストレスを与えられたカーネーションは、通常の花より早くエチレンを発生する⁴⁾などの報告がなされている。日本におけるカーネーション切り花の輸送は多くが乾式で行われているため、水ストレスによる品質劣化が懸念される。しかし、水ストレスは植物の体内水分の欠乏によって引き起こされるため、切り花からの脱水を抑制するか、給水を促進することでその影響を回避できると考えられる。先に、無極性ガスによる水の構造化によって水の束縛が強くなることを述べたが、その働きにより水の構造化は脱水に伴う水移動を妨げると考えられる。すなわち、無極性ガスによる保存は水ストレスの軽減に効果的だと推察される。そこで、キセノン処理と無処理のカーネーション切り花に水ストレスを与え、その後の脱水の程度および吸水能力を比較することを本章の目的とした。

第3章の結果ではキセノン処理による水の動的状態の変化は僅かであった。そのため、水の構造化による脱水軽減の差を明らかにするには、測定する上で高い分解能が必要であると考えられる。そこで本章では、植物体内の水分分布を高分解能で可視化可能である中性子イメージング法を用いて実験を行った。

4. 2 中性子イメージングによる水分分布の測定

4. 2. 1 原理

本手法は、中性子線が照射された試料中にある各物質の原子核が示す透過度の違いをイメージ化するものである。試料を透過した中性子線の強度は、コンバータによって γ 線の強度に変換されX線フィルムに像を写す。このとき、中性子線の水素、ホウ素および希土類元素などに対する減衰係数は大きいため、試料がこれらの物質を含むとき、その差がX線フィルム上に黒化度の差として現れる。植物体を対象とするとき、その構成物質中で最も量が多くかつ減衰係数が大きい元素は水素である。植物細胞の80%以上は水であるので、中性子イメージングでは主に水分子中の水素の像が得られる。その像には、水素以外の軽元素や希土類元素の像も重なるが、植物体中の構成比が水素と比較してきわめて少ないため無視できる。また、切り花の保存処理に用いたキセノンによる像も水素の像と重なり区別できないが、キセノンの水への溶解度は温度293K、本実験の処理で用いた最大圧力0.7MPaにおいても $6.6 \cdot 10^{-4} \text{mol-Xe} \cdot \text{mol-H}_2\text{O}^{-1}$ とわずかであるため無視できる。同様に、生体高分子など水素を含む化合物の像も同じ画像中に現れるが、これら化合物の像も無視可能であるとされている⁹⁾。以上のように中性子イメージング法は、植物体内の水分分布を捉えるのに適している。本章では、まず水ストレスにさらされた後の試料の水分分布を撮影することで水の構造化による脱水の軽減効果を確認し、さらに試料に給水を行いその後の水分分布変化を時間を追って撮影することで試料の吸水能力について検討した。

4. 2. 2 実験方法

(1) 供試材料およびキセノン処理方法

供試材料には、第 3 章と同一のカーネーション切り花を用い、到着後の調製方法も第 3 章と同様である。また、キセノン処理も第 3 章と同様の方法で行った。

(2) 実験区および実験手順

実験区として、キセノン処理区と対照区を設けた。キセノン処理条件は、キセノン分圧 0.5MPa、0.6MPa、0.7MPa をそれぞれ 1 組ずつ、処理温度は 20℃、処理時間は 66 時間とし、復圧は容器からのガス放出量を $45\text{m}^3\cdot\text{min}^{-1}$ に制御して行った。復圧方法は第 3 章と同様である。キセノン処理の終了後、キセノン処理区および対照区への給水を停止し、水ストレスの付加を行った。24 時間の水ストレスを与えた後に、給水再開前に中性子イメージングを行った。

(3) 水分画像の取得

中性子イメージングは日本原子力研究所東海研究所内の研究炉 JRR-3M に設置された中性子ラジオグラフィ装置によって行った。透過中性子線は n/γ コンバータを用いて X 線フィルム上に透過画像として取得した。コンバータにはガドリニウムコンバータを、X 線フィルムには Kodak の SR をもちいた。コンバータと X 線フィルムを封入したアルミニウム製のカセットに試料をアルミニウムテープで固定した。その後、カセットを中性子ラジオグラフィ装置内の所定の場所に設置し照射した。まず、水ストレス下におけるカーネーション切り花の中性子イメージングを行い、その後、試料に給水を行った。給水は撮影後に茎を水切りし、水を入れた小型のプラスチック容器中に挿入し、再びアルミニウム製カセットに設置して行った。給水後は時間をおいて再び中性子イメージング

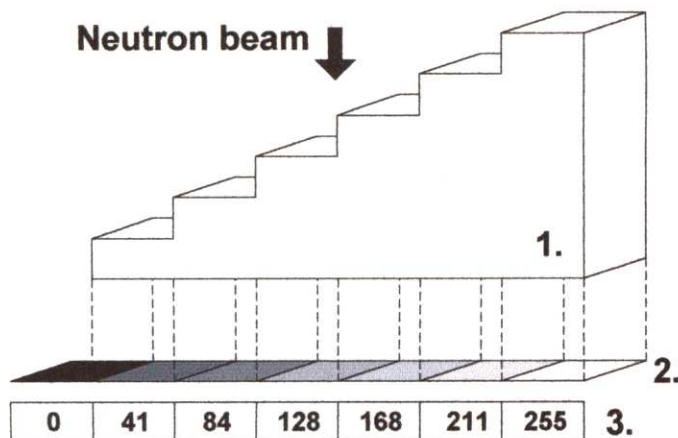


図 4-1 テフロン製リファレンスおよびその中性子線による像



図 4-2 中性子イメージングの一例

を行った。

(4) デジタル画像解析

中性子イメージングの透過画像には、中性子線の照射状態あるいは X 線フィルムの現像等により黒化度の差が生じる。画像間で比較を可能とするために、アルミニウム製カセットには試料横にテフロン製リファレンスを設置した。リファレンスは等間隔で 6 段の階段状になっており、段の高さに応じて黒化度の異なる像が得られる。図 4-1 にテフロン製リファレンスおよびその像の概略図を示す。

得られた中性子イメージングの一例を図 4-2 に示す。デジタル画像処理は、X 線フィルム上の画像を透過型スキャナ（エプソン, ES-8000）を用いて TIFF 形式およびモノクロのデジタル画像として取り込んで行った。はじめに、TIFF 形式画像をフォトタッチソフト(Adobe, Photoshop)上で BMP 形式画像に変換した。続いて、リファレンスによる階調値の補正と数値データ化を行った。数値データ化のフローチャートを図 4-3 に示す。モノクロ画像の階調は、黒 0 から白 255 までの 256 階調である。まずバックグラウンドを含めたリファレンスの各段に対

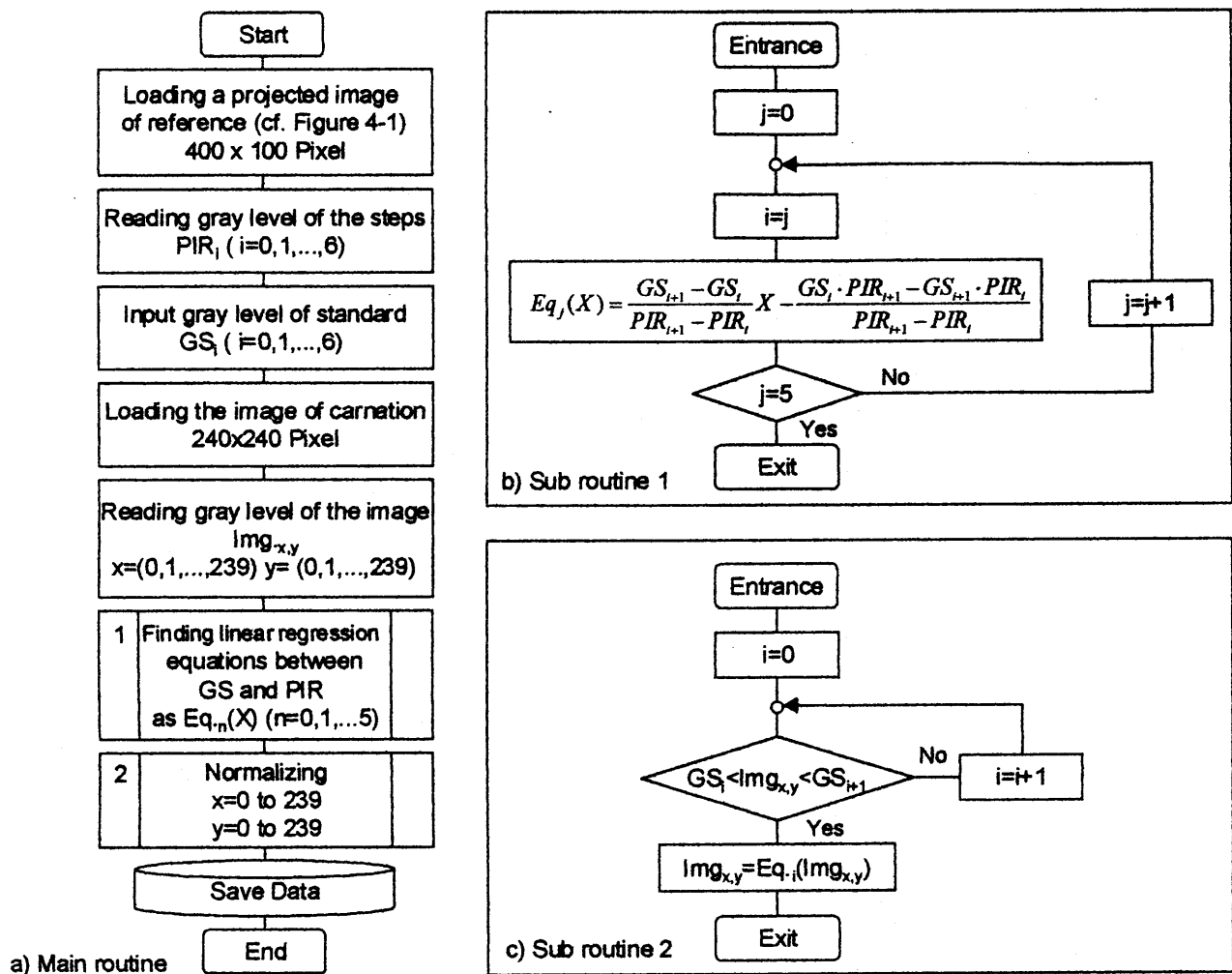
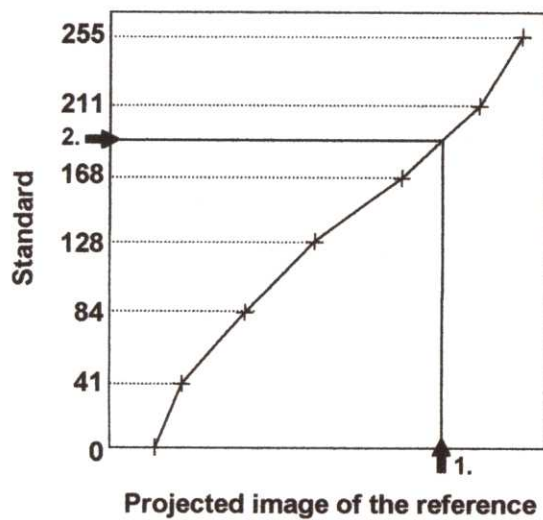


図 4-3 数値データ化のフローチャート

し、256 階調を均等に割り当てた。補正される画像のリファレンスの階調と各段に割り当てた階調との関係から、連続した 2 段の間で直線補間し、画像上の階調値を補正した。図 4-4 に直線補間の例を示す。

4. 3 実験結果および考察

中性子イメージングを行った結果、中性子の照射時間を変えることによって、子房内部の胚珠が確認可能である分解能の高い画像を得ることができた。ここ



1. The gray level of a pixel before normalization
2. The gray level of the pixel after normalization

図 4-4 直線補間の一例

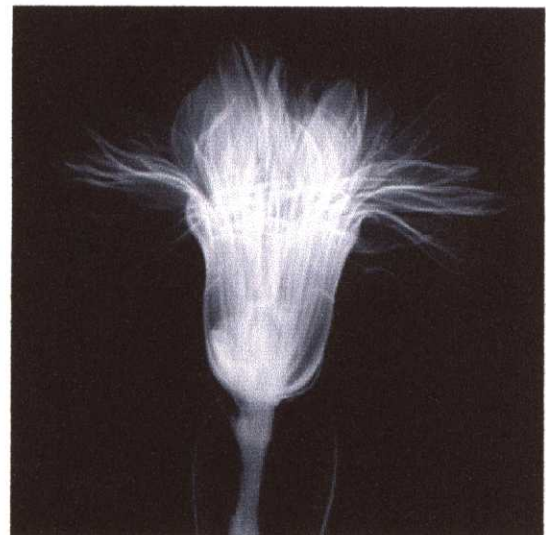


図 4-5 花冠周囲の画像

では、試行錯誤により最適な照射時間を 16 秒とした。図 4-5 のように花冠の周囲を 240 ピクセル x 240 ピクセルの正方形画像として各区の比較をおこなった。

図 4-6 は水ストレス下における 0.5、0.6、0.7MPa のキセノン処理区およびそれらに対する対照区の階調値のヒストグラムである。いずれのキセノン処理区でも、最頻値は対応する対照区より明るい階調に存在し、水ストレス後の水分量が多いことが示された。このことはキセノン処理をすることで、水ストレス下にあっても水分が保持されたことを示すと考えられる。キセノン処理分圧による差は、高いキセノン分圧の方が明るい階調が多い傾向も見られた。しかし、各対照区にもばらつきが見られるため、キセノン処理分圧による差を確認するにはデータが不十分であると考えられる。

給水後の中性子イメージングの経時変化では、キセノンガス分圧 0.5、0.6、0.7MPa のキセノン処理区と対照区の組の間にガス分圧に依存すると考えられる顕著な差は見られなかった。ここではキセノン処理による効果を示すため、最も構造化の程度が低いと考えられるキセノンガス分圧 0.5MPa 区と対照区の解析結果を示す。図 4-7 は、得られた 256 階調の水分画像を 4 段階の等高線図として

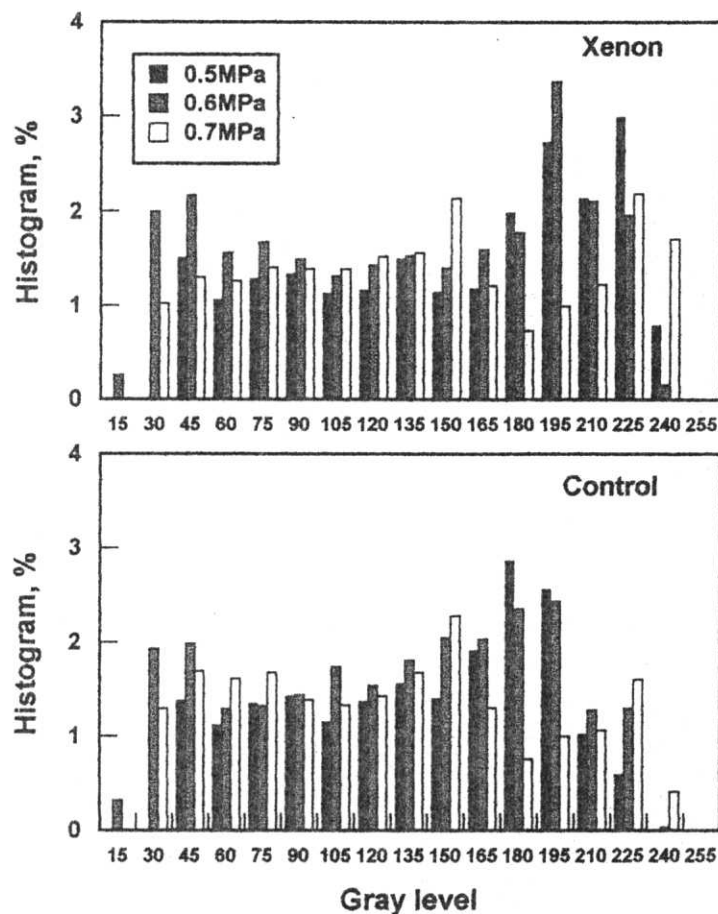


図 4-6 階調値のヒストグラム

表示したキセノン 0.5MPa 区と対照区の水分分布図である。時間の経過に伴い、階調値 63 以上の面積が増加したが、末端の花弁での吸水が起こった結果水分量が増え、その部分の階調値が大きくなったためであると考えられる。このように、切り花の吸水の状態は中性子イメージングを用いて可視化することが可能であった。また、個体が異なっているが、キセノン処理区は対照区と比較して給水前の水ストレスを与えた状態でも水分量が多い部分が対照区より大きな面積を占め、また、給水後も水分量が多い部分の面積が増加する程度は顕著であった。茎の上部から花弁に至る部分の中央部に子房が位置しているが、キセノン処理区では特に子房内部に水分が保たれていたのに対し、対照区では水分量が少ない状態下にあった。

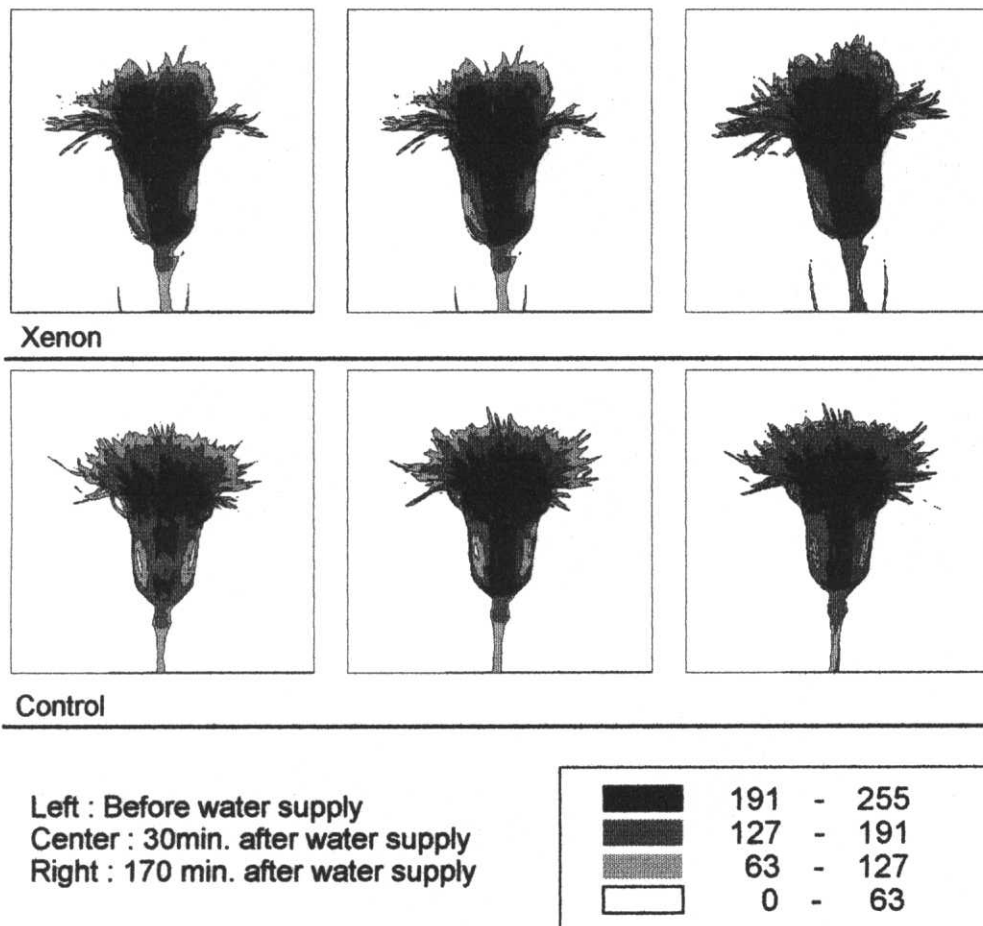


図 4-7 水分分布を示す階調値の等高線図

キセノン処理による水分分布への影響を定量的に評価するために、水分量を示す各階調値のピクセル数の経時的な増減に注目した。図 4-8 に結果を示す。階級値は、階調値 1 から 255 までを 15 階調づつ 17 階級とした。横軸は階調を示し、目盛り 0 で水分量が 0、目盛り 255 で水分量最大である。縦軸の累積相対度数の 100%は、画像の総ピクセル数とした。階級値が 0 より大であるピクセル数は、キセノン処理区では 21.9%から 27.4%へ、対照区では 19.7%から 22.8%へと増加した。これは、吸水による水分の増加によって、画像上に新たに水の像が現れた部分は、キセノン処理区の方が対照区より多かったことを示す。吸水前から給水後 30 分の間に見られる累積相対度数分布の変化に関しては、吸水前に最小の階調値は両区とも約 50 であったが、給水後 30 分のキセノン処理区では、

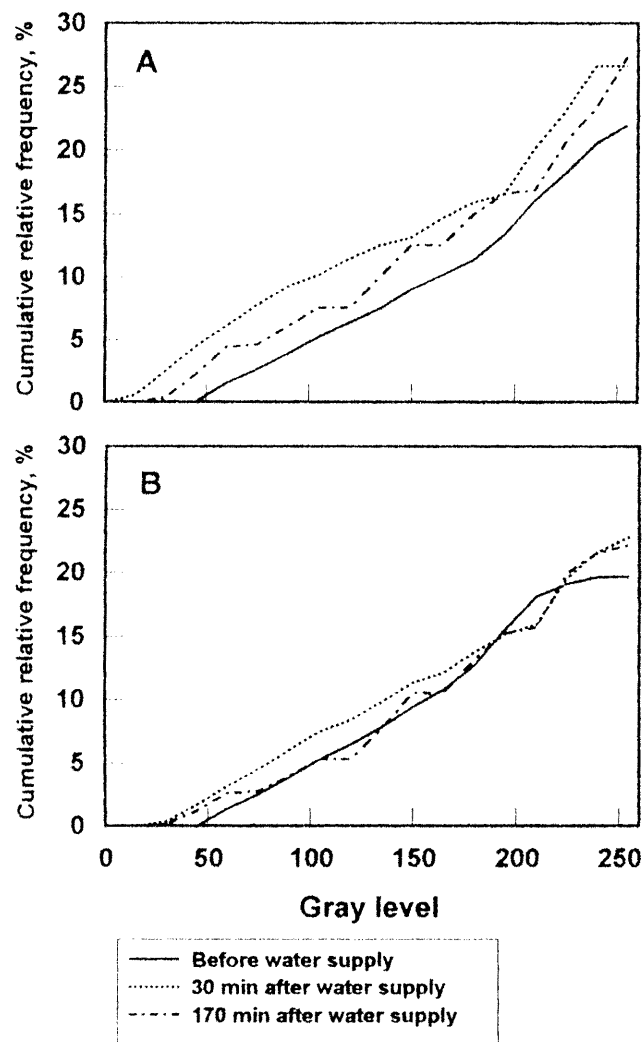


図 4-8 各階調の累積相対度数分布曲線

階調値が 0 から 50 の度数が増加した。しかし、対照区では、キセノン処理区の約 1/2 の増加にとどまった。また、キセノン処理区では階調値 190 以上の部分の度数および階調値が低い部分の度数とも一様に増加した。階調値の高い部分の増加は、図 4-7 に示された子房部での水分量の増加を反映し、階調値の低い部分の増加は花卉末端での吸水による水分量の増加を示すものと考えられた。次に、給水後 30 分から、170 分の間に見られる累積相対度数分布の変化では、キセノン処理区では、相対度数分布曲線が右方向にシフトし、全体的に階調値が大き

い部分が増加した。対照区では、中間の階調値が同様に右にシフトしたものの、キセノン処理区より変化は少なかった。すなわち、キセノン処理区が段階的に分布が広く、かつ、水分量が多くなる方向に明確な変化を示したのに対し、対照区は顕著な変化を示さなかった。このことは、カーネーション切り花にキセノン処理を施したことによって、初期の吸水能力が維持されたためと考えられる。

以上より、無極性ガスによる保存は、切り花内部の水を保持し脱水を抑える働きおよび吸水能力を維持する働きを持つことが明らかになった。すなわち、 $^1\text{H-NMR}$ による縦緩和時間 T_1 の測定で得られた構造化による水の束縛の状態変化から推察された脱水の軽減が確認された。切り花には乾式輸送時だけではなく、導管閉塞など様々な要因によって水ストレスが与えられることを考慮すると、無極性ガスによる保存法は実用上有効であると思われる。また、吸水能力の維持に関しては、第 3 章で仮定として述べた膜のタンパク質のコンフォメーション変化による説明とは矛盾が生じる結果となった。コンフォメーション変化で水チャンネルの働きが抑えられるならば、細胞の吸水は減少すると考えられるためである。しかし、ここで得られた結果のみではこの仮定を否定するために十分ではなく、今後は無極性ガスによる水の構造化のメカニズムについて研究を進める必要があると思われる。

4. 4 摘要

中性子イメージングによって、カーネーション切り花の水分分布を解析可能である良好な画像を得ることができた。その結果、水ストレス下における 0.5、0.6、0.7MPa のキセノン処理区の階調値のヒストグラムでは、最頻値は対応する

対照区より明るい階調に存在し、水ストレス後の水分量が多いことが示された。すなわち、無極性ガスによる処理によって、対照区と比較して切り花内の水が保持されることが明らかになった。特に、子房部において水が保持される傾向が顕著であった。このことは、無極性ガスによって水の束縛の状態が強くなるという結果を裏付けるものであった。

水分分布の等高線図の経時変化、および階調値の累積相対度数分布曲線の経時変化では、キセノン処理区が対照区と比較してカーネーション切り花内部の水分量が増加する顕著な変化を示した。すなわち、無極性ガスによって初期の吸水能力が維持されたと考えられた。以上の結果より、本保存法は切り花からの脱水によって引き起こされる水ストレスを軽減する働きを持つことが示唆された。

第5章 無極性ガスによる処理を行った切り花の生理的応答

5. 1 緒言

前章までに無極性ガスによる水の構造化は、カーネーション切り花内の水の束縛を強くし、その効果の一つとして切り花からの脱水抑制の働きを持つことを明らかにした。そのため、無極性ガスによる水の構造化は、水ストレスを軽減する面でもカーネーション切り花の鮮度保持に効果的であると考えられた。しかし、本法の鮮度保持法の市場への適用性を検討するためには、水の構造化が切り花の生理的状态に与える影響を明らかにする必要がある。本章では特に、水の構造化による水移動の変化と生理的状态変化との関係を明らかにするために、切り花の蒸散速度および吸水速度と、生理的状态と密接な関係にある呼吸速度を連続および非破壊で計測するシステムを構築し計測を行い、その結果から本保存法の市場への適用性について考察を行った。

5. 2 供試材料および実験方法

5. 2. 1 供試材料およびキセノン処理方法

供試材料には、第3章と同一のカーネーション切り花を用い、到着後の調製方法も第3章と同様である。また、キセノン処理も第3章と同様の方法で行った。

5. 2. 2 キセノン処理条件および実験手順

実験は、計3回を1997年4月、5月、7月に行った。実験にはキセノン処理

区と対照区を設けた。その際のキセノン処理条件は、キセノン分圧 0.5MPa、温度 20℃ とした。処理時間は、4 月および 5 月を 24 時間、7 月を 48 時間とした。キセノン処理の手順は 3 章と同様である。キセノン処理後は、容器付属のニードルバルブを開いて大気圧への復圧を行った。その後、キセノン処理区および対照区を次に述べる計測システム内に設置し実験を行った。なお、両区のシステムとして同様のものを 2 組作成し使用した。

5. 3 呼吸速度および水収支計測システム

蒸散速度は、周囲空気の湿度に大きな影響を受けるため、植物体の生理的狀態と水収支との関係を明らかにする上では、周囲の湿度を常に一定に保つ必要がある。本システムでは、飽和塩水溶液を用いて湿度を一定に保つ方法を採用し、周囲の湿度変化による影響を受けずに水収支を評価可能な環境を作成した。図 5-1 に計測システムの概略図を示す。システムは、温度一定条件を実現するた

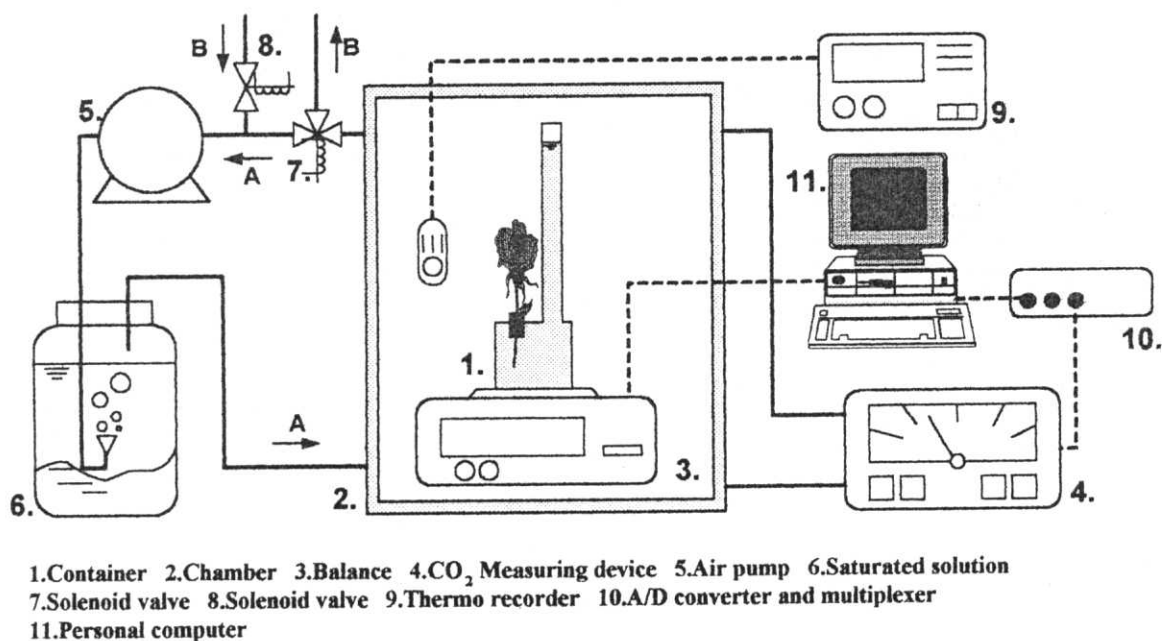


図 5-1 計測システムの概略図

め 20℃に制御された恒温室内に設置した。また切り花自身の光合成によって発生する同化産物による代謝への影響を除くため暗黒下で実験を行った。

5. 3. 1 呼吸速度および水収支の計測

(1) 吸水速度

切り花の吸水速度は、図 5-2 に示した吸水速度計測容器で測定した。容器は、水で満たされた給水部分と水位を測定する目盛り付きガラス管で構成した。吸水速度はガラス管内の水位を、1 日 1 回測定することより算出した。試料のカーネーション切り花は、容器との接合部から漏水しないようシリコン充填材で固定した。また、水面からの水分蒸発を防ぐために、ガラス管内の水面部分を流動パラフィンでシールした。

吸水速度 J_w は吸水速度測定容器の水位から容器内の水の体積を算出することで求めた。測定容器内の水の体積 V を次式で質量 W に換算した。

$$W = \rho_T V \quad (5-1)$$

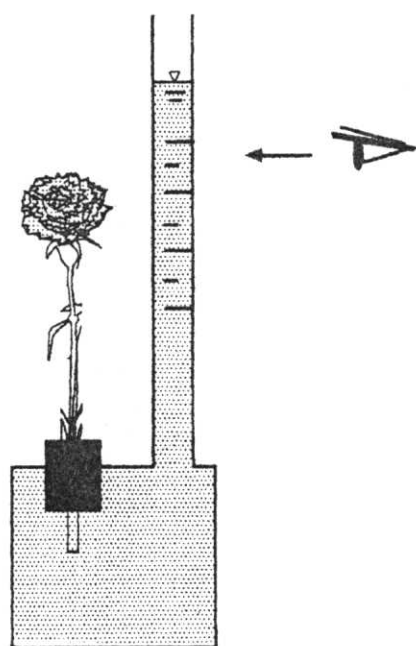


図 5-2 吸水速度計測容器

ρ_T は任意の温度 T における水の密度である。試料の吸水速度 J_{up} は、任意の時間における測定容器内の水の質量を W_{up} 、 t 時間後における測定容器内の水の質量を W_{up}' 、初期の試料質量を M とし、

$$J_{up} = \frac{W_{up} - W_{up}'}{M \cdot t} \quad (5-2)$$

で求めた。

(2) 蒸散速度

蒸散速度は、試料およびそれを設置した吸水速度計測容器の質量の減少を蒸散によって失われた水の質量として求めた。試料および吸水速度計測容器の質量は、電子上皿天秤(METTTLER PB303, SIBER HEGNER)を用いて計測した。質量データの取得は、毎時1回行った。その際5秒間隔で10回計測した値の平均値をデータとし、パーソナルコンピュータ(PC-9801VX, NEC)に出力した。

試料の蒸散速度 J_{tran} は、任意の時間における試料の質量を W_{tran} 、 t 時間後における試料の質量を W_{tran}' 、初期の試料質量を M とし、

$$J_{tran} = \frac{W_{tran} - W_{tran}'}{M \cdot t} \quad (5-3)$$

から求めた。

(3) 呼吸速度

呼吸速度は CO_2 放出速度とした。吸水速度測定容器および電子上皿天秤を内容積 9.1l の密閉チャンバ内に設置し、内部空気の CO_2 濃度を赤外線吸収フォトアコースティック法を用いた CO_2 メータ(Model 3600, MSA JAPAN)で計測することにより算出した。チャンバ内の空気は、 CO_2 メータに付属した流量約 $1\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ のサンプリングポンプによって常に循環しているため、内部の CO_2 濃度分布は均一であると考えられる。なお、 CO_2 濃度データは多チャンネル入出力変換装置(Green Kit 88, ESD)を用いてデジタル変換し、電子上皿天秤による質量計測と同

時刻に、毎時 1 回、5 秒間隔で 10 回計測した値の平均値を求めパーソナルコンピュータに出力した。

呼吸速度は以下で求めた。任意の時間における容器内の CO_2 の質量 Q は、

$$Q = \frac{440 P_{\text{chm}} V_{\text{chm}} C_{\text{chm}}}{RT} \quad (5-4)$$

で、表される。ここで、 V_{chm} は容器の容積、 C_{chm} は容器内の CO_2 濃度、 P_{chm} は容器内圧、 T は温度である。試料の呼吸速度 J_Q は、 t 時間後における容器内の CO_2 の質量を Q' とし、

$$J_Q = \frac{Q - Q'}{M \cdot t} \quad (5-5)$$

から求めた。

5. 3. 2 チャンバ内の換気および湿度調整

(1) チャンバ内換気法

チャンバ内の CO_2 濃度の増加による試料への影響を除くため、1 日 1 回換気を行った。湿度調整を行っている回路内に設置した電磁弁を開き外気を導入した。チャンバ内空気の排気は同回路内下流側に設置した 3 ポート電磁弁を切り替えて行った。換気時においてもチャンバ内湿度を一定に保つ目的で、外気は硝酸マグネシウム飽和水溶液中を経由してチャンバ内に導入した。電磁弁の開閉制御はパーソナルコンピュータと多チャンネル入出力変換装置でおこなった。以上の計測および制御のフローチャートを図 5-3 に示す。

(2) チャンバ内湿度調整

切り花の蒸散は外部の湿度に依存するが、生理的要因による蒸散の変化を明確にするために周囲空気の湿度をほぼ一定に調整した。湿度調整には硝酸マグネシウム飽和水溶液を使用した。硝酸マグネシウム飽和水溶液と共存して平衡

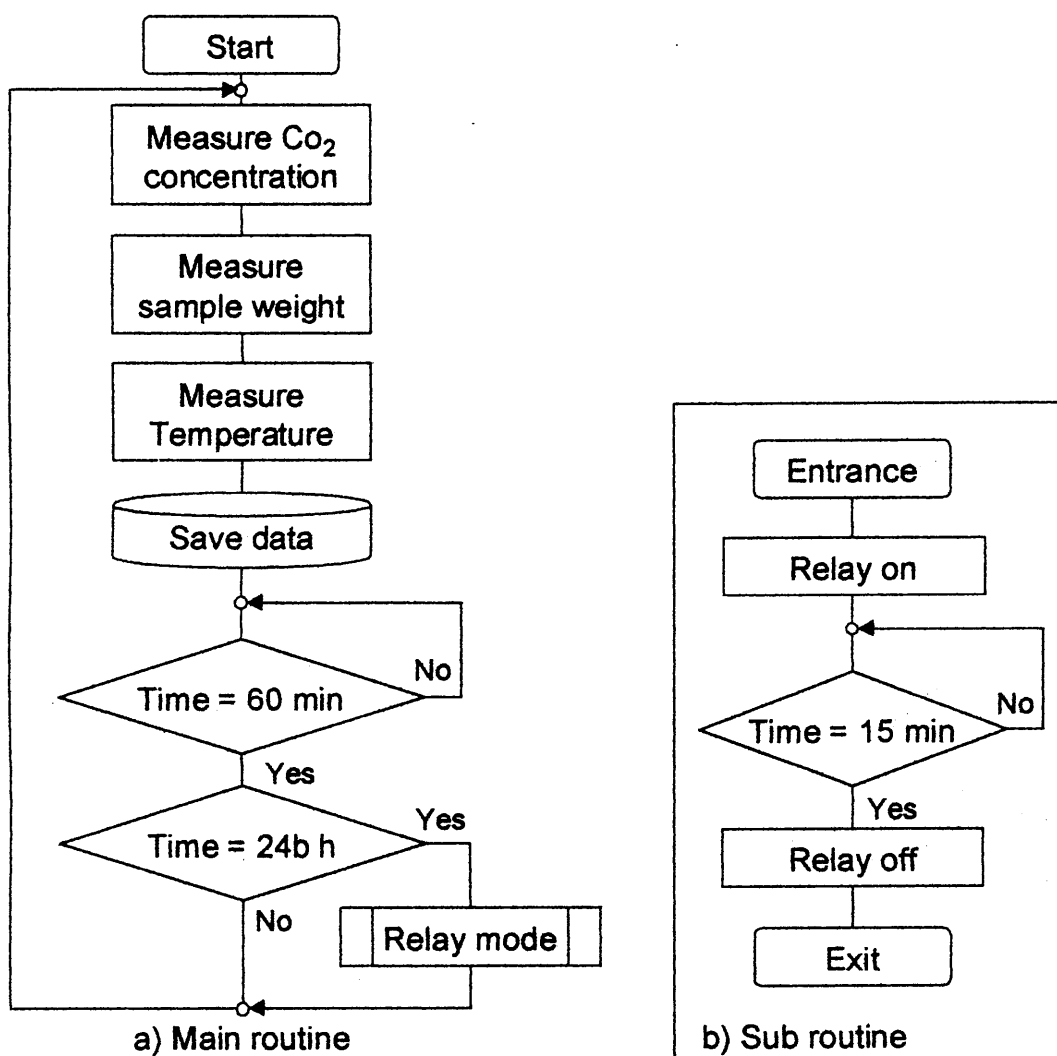


図 5-3 計測および制御のフローチャート

状態にある空気の相対湿度は、温度 20℃において 54%(RH)である¹⁾。速やかに湿度調整する目的で、チャンバ内部空気湿度を飽和水溶液内へポンプを用いて曝気した。その際のポンプ流量は $1.0 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ であった。硝酸マグネシウム飽和水溶液 150ml を容量 300ml の三角フラスコに注入し、曝気用の管および排気用の管を備えたシリコンゴム栓で密封した。気泡を細かくするため曝気管には直径 15mm の球形散気用エアストーンを設置した。なお、チャンバ内湿度および温度の計測は、温湿度計(RS-10, タバイエスベック)で行った。

(3) システムにおける湿度調整の結果

図 5-4 に本実験開始時から終了時までのチャンバ内温湿度の経時変化の一例

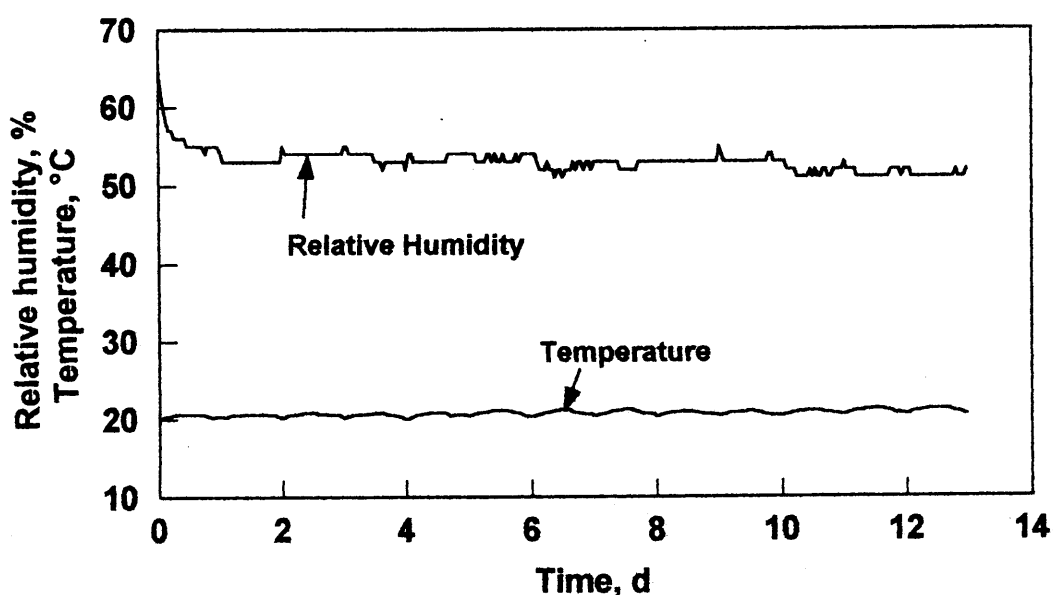


図 5-4 チャンバ内温湿度の経時変化

を示す。各種塩類の飽和水溶液と平衡にある空気の相対湿度は温度に依存するが、チャンバ内温度は、ほぼ 20℃で一定に保たれた。一方、相対湿度は、計測開始直後にはチャンバ外の高湿度空気の影響により高い値を示したが、約 6 時間で 56%(RH)まで下がり、その後硝酸マグネシウム飽和水溶液と共存して平衡にある空気の相対湿度である 54%(RH)を中心に推移した。

5. 4 呼吸速度の変化

まず、本実験で用いたフランセスコ種の一般的な呼吸速度の経時変化について述べる。図5-5に対照区における呼吸速度の経時変化を示す。計測中のチャンバ内CO₂濃度は、換気をしたことによりほぼ0.05%から0.5%の範囲内となった。よって、CO₂濃度の変化が切り花に与える影響は無視できるものと考えられる。なお、グラフ上には1日の平均値をプロットした。すべての実験で呼吸速度が急激に上昇した後、急激に減少する経時変化を示し、呼吸速度が最大に達した直

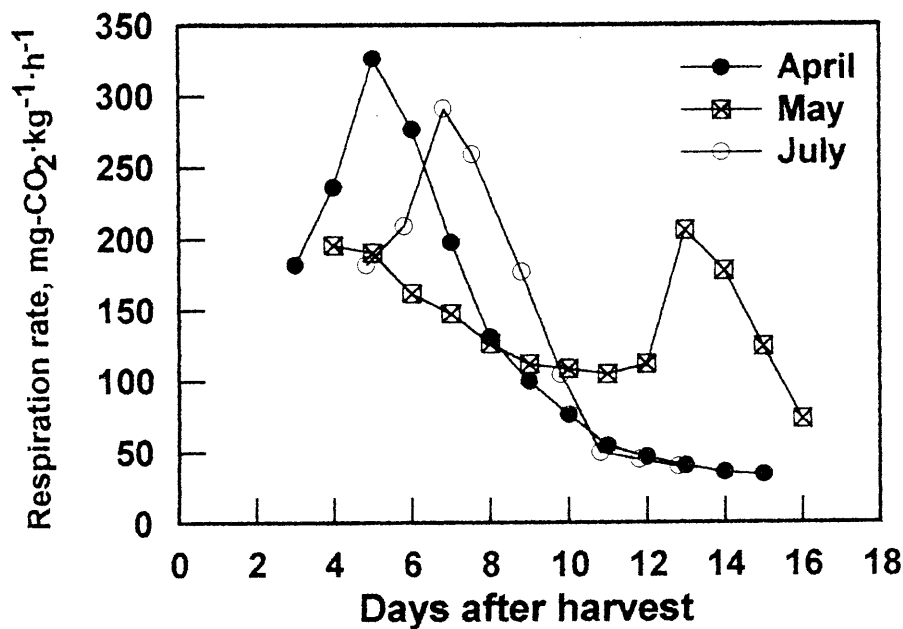


図 5-5 対照区における呼吸速度の経時変化

後に花卉が内側に湾曲する形で萎凋した。

カーネーションの萎凋型としては、Nicholsら²⁾は、呼吸速度の増加およびエチレン生成の増加を伴って生体重が急減し、花卉が内側に湾曲する形の萎凋を示したと報告している。この型はクライマクテリック上昇型である。また、Wuら³⁾は、カーネーションの品種により3種類の萎凋型、すなわちエチレン感受性の高い品種、エチレン感受性の低い品種、エチレン耐性の品種があるとし、エチレン感受性の高い品種がNicholsらの報告にあるようなクライマクテリック型の萎凋型を示したと述べている。また、一方のエチレン耐性の品種では呼吸速度が漸減し、それに伴い生体重も乾燥によると考えられる漸減を示し、その際、花卉の乾燥および褐変が報告されている。これら、3つの萎凋型と本実験結果を比較すると、フランススコの萎凋時にみられる呼吸速度の急激な増加および減少とそれに伴って起こる生体重の急激な減少は、エチレン感受性品種のカーネーションの性質と一致した。老化時の花冠の観察結果においても同様であった。

図 5-6 にキセノン処理区における呼吸速度の経時変化を示す。キセノン処理区

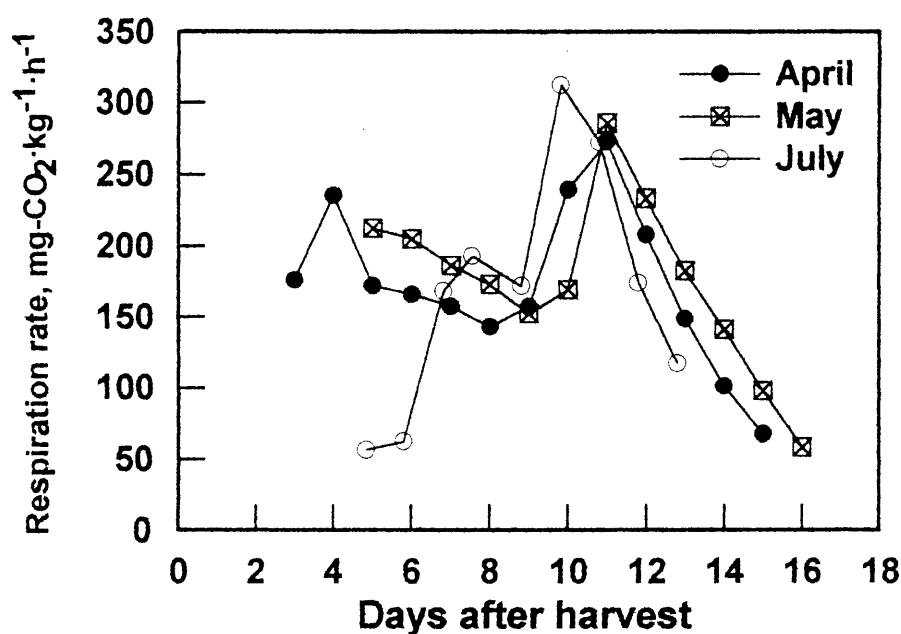


図 5-6 キセノン処理区における呼吸速度の経時変化

においても呼吸速度は、すべての試料でクライマクテリック上昇を示し、花冠はその後萎凋した。しかし、対照区においては収穫後 5 日、13 日、6 日にクライマクテリックマキシマムが現れたのに対し、キセノン処理区では 10 日から 11 日の間であった。Maxie ら⁴⁾は、温度 20℃ でのカーネーション切り花の保存では、収穫後 6 日から 9 日でほとんどの花が萎凋し、平均的な花持ちは 7 日であるという結果を得ている。4 月と 7 月の対照区の萎凋時期は、ほぼ、その結果と一致した。一方で、キセノン処理区でのクライマクテリックマキシマムは、既往の研究での平均的な花持ちの日数より 3 日から 4 日延長した。これは、無極性ガスによる水の構造化の鮮度保持効果を示すものと考えられる。なお、5 月の対照区は、平均的な花持ちより 6 日長くなったが、これは試料にはほぼ同一の開花状態のものを選択しているものの、まれに生育ステージが異なっているものがあり、5 月の対照区はその状態と思われる。

5. 5 水収支の変化

呼吸から推察される切り花の老化の過程と水収支の関係についての研究は、わずかで、多くの研究は生体重の増減と老化の関係のみに留まっている。ここでは、まずフランススコ種における老化の過程と水収支の関係について言及し、続いて、無極性ガスによる処理が老化の過程に与える影響について述べる。

5. 5. 1 老化の過程と水収支

本研究で行った3回の実験において、対照区の呼吸速度と花卉の状態から推察される老化の過程と水収支との関係はほぼ同じ傾向を示した。図5-7に例として5月の対照区における呼吸速度、蒸散速度および吸水速度の経時変化を示す。グラフ上には各速度の1日の平均値をプロットした。図5-7に示したフランススコの蒸散速度および吸水速度は、収穫後4日目から9日目まで減少傾向にあった。そ

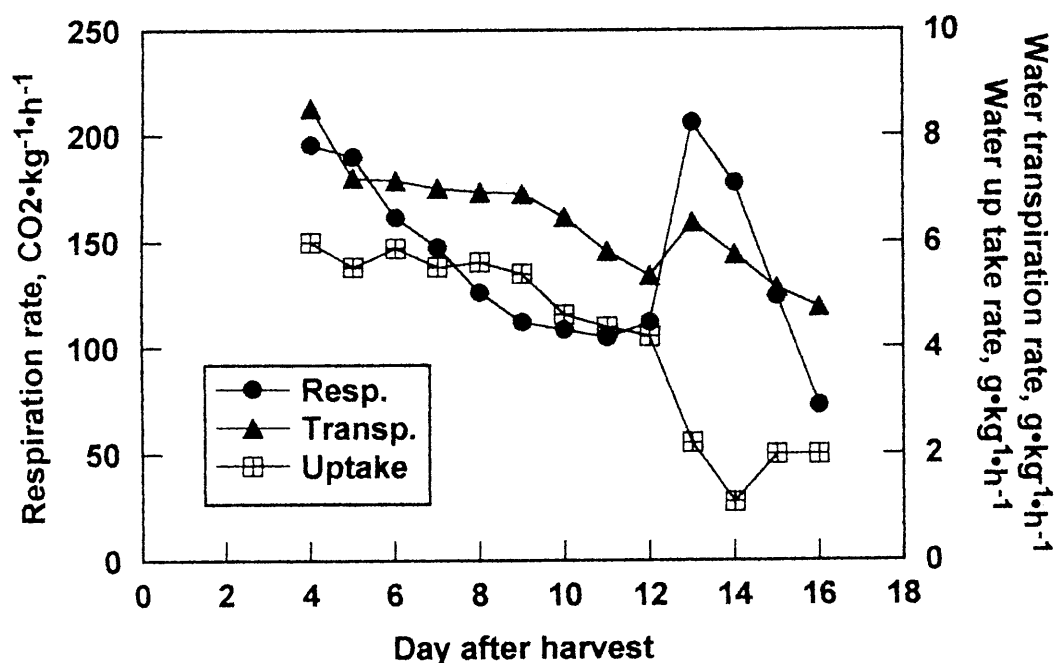


図 5-7 5月の対照区における呼吸速度、蒸散速度および吸水速度の経時変化

の後、9日目以降から12日目までの間、蒸散速度と吸水速度の減少の割合は同様に増加し、両者の差はほぼ一定で推移した。その間の呼吸速度は、収穫後4日目から9日目までは減少、9日目以降から12日目まではほぼ一定と、蒸散および吸水速度とは異なる変化を示した。その後、収穫後12日目から呼吸速度はクライマクテリック上昇を示したが、蒸散速度は収穫後12日目から収穫後13日目にかけて上昇したあと13日目に減少に転じ、その間吸水速度は急激に減少した。

クライマクテリック上昇期にみられる急激な吸水速度の低下には、花卉細胞の細胞膜の劣化による膜透過性の増大⁵⁾が原因として考えられる。すなわち、クライマクテリック期に起こるような復元性のない萎凋時には膜透過性の増大で無機イオン、糖などの流失が起こり、細胞内の浸透ポテンシャルが増大する。膜透過性の増大によって引き起こされる花卉細胞内の無機イオンなどが細胞外へ流出する割合は、萎凋中では新鮮な細胞の約5倍、萎凋後は約20倍におよぶといわれている⁶⁾。

膜透過性の増大は、蒸散速度の増大にも関係していると考えられる。図5-7より、クライマクテリック期前までの蒸散速度は、吸水速度との差がほぼ一定の状態に変化した。しかし、クライマクテリック上昇以降、呼吸速度の増加に伴って蒸散速度が上昇し、一方で吸水速度が急激に減少した結果、その後も両者の差が増大したまま推移した。これは、花卉の細胞の膜透過性が増大した結果、水分が花卉から急激に蒸散したためと考えられる。その際の蒸散の多くは、試料の葉は萼近くの2枚のみであり、カーネーションの花弁には気孔がないとされること⁷⁾から、花卉表面のクチクラ層から行われていると考えられる。このとき、花卉表面のクチクラ層の下は表皮細胞であり、萎凋中の花卉からの水分蒸発においては、細胞膜の劣化により細胞外に流出した水分が蒸発すると考えられる。従ってその際の蒸散速度の増加と同時に起こる吸水速度の減少が、クライマク

テリック型のカーネーションにみられる急激な萎凋の原因と考えられる。これまで蒸散による水分損失により花卉の萎凋が進行すると理解されていたが、本章のように、吸水速度および蒸散速度の差から定量的に示された例は見あたらない。

クライマクテリック期以前の段階においても、切り花の呼吸代謝と水収支は密接な関係を持つと考えられる。本実験において、収穫後4日目から9日目にみられる呼吸速度が減少する期間は、吸水速度および蒸散速度ともほとんど変化はみられなかった。これは、切り花体内の水ポテンシャルが一定に保たれ、かつ、細胞膜の機能が十分働いているためと考えられる。その後、収穫後9日目以降からクライマクテリック上昇の直前、呼吸速度は横這いになったが、吸水速度は蒸散速度に追従する形で減少を示した。この現象については以下の原因が考えられる。Smithら⁸⁾はカーネーション花卉内組織の電子顕微鏡写真を撮影し、クライマクテリック上昇以前にわずかながら液胞膜の崩壊が観察されたと述べている。またEzeら⁹⁾の実験結果によると、カーネーション切り花からのエチレン発生が急激に増加する以前に細胞膜の透過性が増加し始め、膨圧が減少する。これら既往の研究を考慮すると、本実験結果でみられた現象は、クライマクテリック期以前に吸水速度が減少していることから細胞膜の劣化による膨圧の減少が始まっているが、蒸散速度が増加しないことから明らかであるように膜機能の消失まではいわず、このため急激な萎凋を示さなかったと解釈される。このようなクライマクテリック以前の吸水速度の減少を示す老化過程は、既往の研究で行われている生体重変化のみから吸水速度を算出する方法では明瞭にはなっていなかった。すなわち、本法を用いて切り花の老化過程であるクライマクテリック上昇前段階での膨圧減少および膜透過性の増大による生体内部の水の動きを水収支から捉えることが可能であった。

5. 5. 2 無極性ガスによる水収支の変化

図 5-8 にキセノン処理区および対照区の蒸散速度と吸水速度の経時変化を示す。図中の実線と破線は、それぞれキセノン処理区と対照区のクライマクテリ

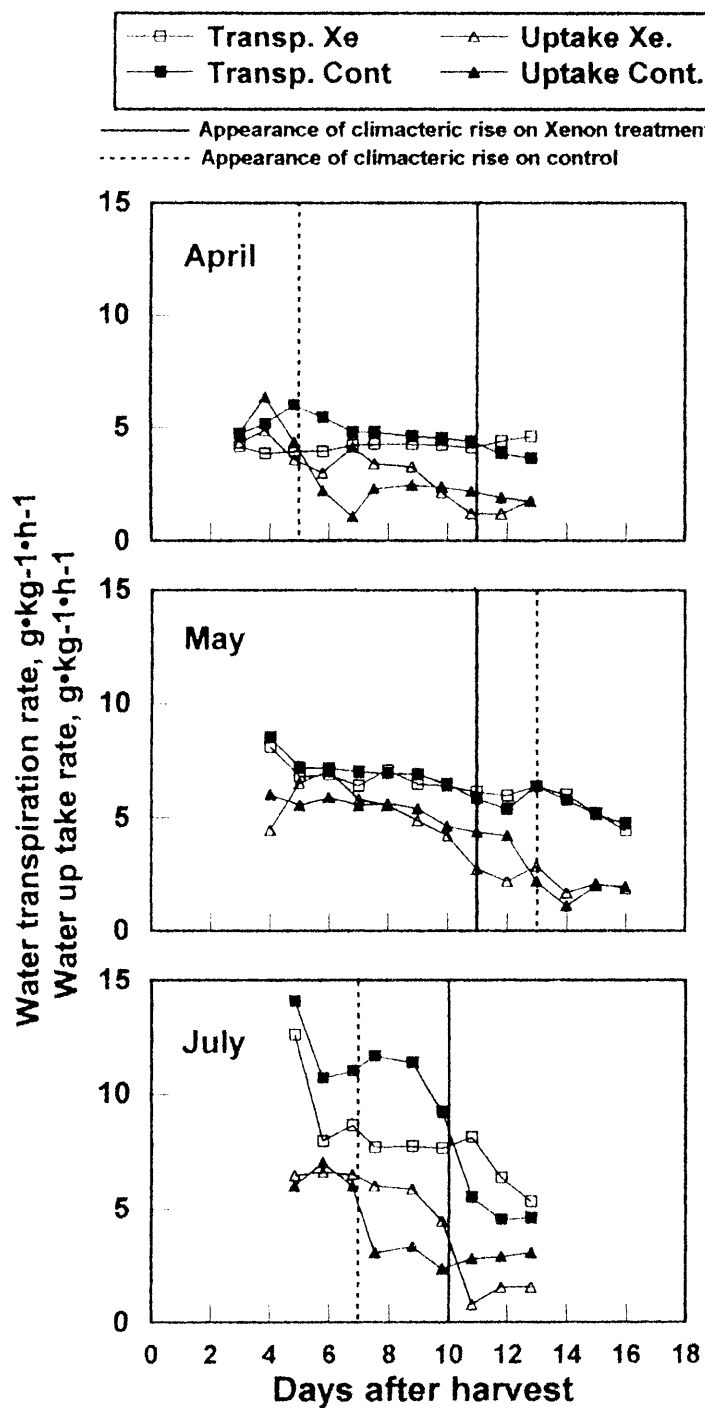


図 5-8 キセノン処理区および対照区の蒸散速度と吸水速度の経時変化

ックマクシマムを示す。本章で行った 3 回の実験では、蒸散および吸水速度とも回を追って増加した。4 月から 7 月は、気温が上昇する時期に当たる。実験中の保存温度は、常に 20℃ に保たれた。しかし、生産中および輸送中の高温により、カーネーションの生理的活性が活発になった結果、蒸散速度が増加し、それに伴い吸水速度も増加したと考えられる。しかし、その間の呼吸速度に関しては、キセノン処理区は若干増加しているが対照区では逆に減少した。この減少については今後の検討が必要であると考えられる。

4 月と 7 月の実験においてキセノン処理区の蒸散速度は、クライマクテリックマクシマムまでの期間では対照区とを比較して常に低く抑えられた。また、対照区の花持ちが 13 日間と長期であった 5 月の実験にあっても、キセノン処理区と対照区の蒸散速度の履歴は、ほぼ同一の変化を示した。この結果は、キセノン処理区は、対照区と比較して蒸散が抑えられる傾向にあることを示すと考えられる。また、常に対照区の蒸散速度が大きいにもかかわらず、キセノン処理区の吸水速度が対照区の吸水速度とほぼ同じか、大きい値を示す傾向にあった。すなわち、キセノン処理区の保水の状態は、対照区より良好であった。前章では、キセノン処理は切り花内部の水を保持し脱水を抑える働きを持つことが示唆されたが、同様のことが水収支の計測からも明らかになった。水ストレスによってエチレン生成が促進される例があることを考慮すると、キセノン処理によって内部の水分状態が良好に保たれたことが、クライマクテリックマクシマムが遅延する効果の一因であると考えられる。

5. 6 本保存法の市場への適用性

本章の結果では、カーネーション切り花の花持ちが平均より 3 日から 4 日延

長した。前章を含め得られた結果を総合すると、無極性ガスによる水の構造化が切り花の鮮度保持におよぼす効果は次の 2 点であると考えられる。まず、水の構造化によって水の束縛が強くなり生体反応が抑制される効果である。次の 1 点は、同じく水の束縛が強くなることによって切り花からの蒸散が妨げられ、切り花内の水の状態が良好に保たれる効果である。これらの相乗効果が切り花の鮮度保持として働くと思われるが、後者は切り花にかかる水ストレスの軽減に効果的だと考えられる。国内の市場においては、ほとんどのカーネーション切り花は段ボールケース横詰めの乾式輸送で流通される。また、カーネーション切り花には出荷の前処理剤として STS が広く用いられるが、STS 剤はエチレン発生の抑制にはなるが、脱水を抑える効果はない¹⁰⁾。そのため、流通過程で水ストレスにさらされる可能性があり改善が求められている。このような問題を考慮すると、無極性ガスによる水の構造化は、新しい切り花の鮮度保持法として検討するに足る適用性を持つと考えられる。

5. 7 摘要

無極性ガスによる処理を行ったカーネーション切り花の生理的応答を明らかにするために、切り花の呼吸速度、吸水速度および蒸散速度を連続および非破壊で計測するシステムを構築した。その際、計測チャンバ内の湿度変化の蒸散速度に対する影響を無視するために、チャンバ内湿度をほぼ一定に調整した。

本章で試料として使用したカーネーション切り花フランセスコ種はクライマクテリック上昇型の花弁であると確認された。また、キセノン処理を行ったカーネーション切り花のクライマクテリックマキシマムは、平均的な花持ちの 7 日より 3 日から 4 日遅延することが明らかになった。

本計測システムを用いて、呼吸代謝および水収支の計測を行った結果、クライマクテリック上昇時に吸水速度が減少し、蒸散速度が増加するという結果が得られた。これは、生理学的な現象である、クライマクテリック上昇時にみられる花卉の細胞膜の膜透過性の増大を反映したものと考えられた。すなわち、本計測システムを用いた呼吸代謝および水収支の同時かつ連続計測によって、細胞レベルの微視的な生理的状态変化を巨視的な計測を用いて非破壊で説明することが可能であった。

キセノン処理を行ったカーネーションは、対照区より蒸散速度が小さく吸水速度が大きい傾向にあった。切り花内部の水の状態が良好に保たれたことが、クライマクテリックマクシマムが遅延する効果の一因であると考えられた。以上の結果から、本保存法はカーネーション切り花の鮮度保持効果を持ち、実際の市場で十分な適用性を持つと結論された。

第6章 結論

6. 1 本研究で得られた結果

本研究は、無極性ガスを利用して切り花の鮮度保持を行うことを目的として行われた。無極性ガスは生体中に溶解すると、細胞内の水が構造化し生体反応が抑制されることで鮮度保持効果が得られると考えられ、ブロッコリ、カーネーション切り花などでその効果が確認されている。本論ではとくに、水の構造化によって水の動きが変化することに着目し、主として、切り花内の水移動の変化という観点から、無極性ガスによる水の構造化の鮮度保持効果を解明することを目的とした。以下に各章ごとの要約を述べる。

6. 1. 1 切り花からの無極性ガスの脱離速度(第2章要約)

無極性ガスを利用した保存法のカーネーション切り花に対する適用性を明らかにするために、まず、切り花体内において無極性ガスによる水の構造化がどの程度持続するかを検討する必要がある。ここでは、無極性ガスの溶解の状態をその脱離過程から明らかにすることを目的とした。実験の結果以下のことが確認された。

- 1) 切り花および水からのキセノン脱離過程は、いずれも2次の反応速度式で帰された。以下、切り花からのキセノン脱離過程を水と同様の単純な界面からの脱離であると仮定し、両者の比較をおこなった。
- 2) 水からのキセノン脱離速度は、脱離表面積に比例した。一方、切り花の脱離表面積と速度定数の比例関係は、比例定数が水とほぼ同じである例と、その約1/3程度低い値である例が見られた。両者の差は、切り花の生理的状态に

よって脱離する表面積が変化するためと考えられた。

- 3) 切り花のキセノン脱離過程は2時間から3時間の間でほぼ終了した。よって、その後のキセノン処理の効果は、大気下において、水に飽和して溶解しているキセノン、および、生体高分子の疎水基近傍で会合しているキセノンによると考えられた。

6. 1. 2 切り花内部における水の動的状態(第3章要約)

本章では、無極性ガスによる水の構造化が切り花内の水の動的状態に与える影響を明らかにするために、 $^1\text{H-NMR}$ による縦緩和時間 T_1 の測定を行った。測定の結果以下のことが明らかになった。

- 1) 切り花子房部の平均的 T_1 は、約 0.4 秒から 0.8 秒の間にあり、時間の経過に伴い長くなった。しかし、48 時間にわたってキセノン処理区の T_1 は対照区より小さな値を示し、無極性ガスによる水の構造化によって、組織内の水の束縛が強くなったと考えられた。
- 2) 上記の平均的 T_1 を得た同一のデータについて 2 つの指数近似式を用い解析した結果、0.1 秒から 0.3 秒の範囲および 0.4 秒から 0.8 秒の範囲にある 2 種類の T_1 が得られた。短い T_1 を持つ水成分(以下 I 成分と称す)は水の束縛が強い部分、また、長い T_1 を持つ成分(以下 II 成分と称す)は水の束縛が弱い部分の水の動的状態を示すと考えられた。対照区では II 成分の T_1 が長くなったが、キセノン処理区では顕著な変化が見られなかった。
- 3) 試料中の全プロトンに対する成分 II の存在割合では、対照区において時間の経過に伴い増減が観察された。キセノン処理区では、成分 II の存在割合の変化は低く抑えられた。これは、細胞の老化および細胞内の液胞と原形質間の水移動の抑制を示すと推察された。

6. 1. 3 無極性ガスによる水ストレスの抑制効果(第4章要約)

本章では、第3章の結果を受け、水の構造化によって切り花内部の水移動が低減すると仮定し、切り花の水ストレスの抑制効果として働く可能性について検討した。中性子イメージングによる結果を以下に示す。

- 1) 中性子イメージングによって、カーネーション切り花の水分分布を解析可能である良好な画像を得ることができた。
- 2) 0.5、0.6、0.7MPaのキセノン処理区では、水ストレス下においても階調値の最頻値は対応する対照区より明るい階調に存在し、切り花内の水分量が多いことが示された。その結果、無極性ガスによる処理は、対照区と比較して切り花内の水が保持されることが明らかになった。特に、子房部において水が保持される傾向が顕著であった。
- 3) 水分分布の等高線図の経時変化、および階調値の累積相対度数分布曲線の経時変化では、キセノン処理区が対照区と比較してカーネーション切り花内部の水分量が増加する傾向が顕著であった。すなわち、無極性ガスによって初期の吸水能力が維持されたと考えられた。

6. 1. 4 無極性ガスによる処理を行った切り花の生理的応答(第5章要約)

本保存法の効果を総合的に判断するために、無極性ガスによる水の構造化が切り花の生理的状态に与える影響を明らかにすることを目的とした。特に、水の構造化による水移動の変化と生理的状态変化との関係を明らかにするために、切り花の蒸散速度および吸水速度と、生理的状态と密接な関係にある呼吸速度を連続および非破壊で計測するシステムを構築し計測を行った。計測の結果以下のことが明らかになった。

- 1) 本章で試料として使用したカーネーション切り花フランセスコ種はクライ

マクテリック上昇型の花弁であることが確認された。

- 2) キセノン処理を行ったカーネーション切り花のクライマクテリックマキシмумは、平均的な花持ちの7日より3日から4日遅延することが明らかになった。
 - 3) 呼吸代謝および水収支の計測を行った結果、クライマクテリック上昇時に吸水速度が減少し、蒸散速度が増加するという結果が得られた。これは、生理学的な現象である、クライマクテリック上昇時にみられる花弁の細胞膜の膜透過性の増大を反映したものと考えられた。
 - 4) キセノン処理を行ったカーネーションは、対照区より蒸散速度が小さく吸水速度が大きい傾向にあった。切り花内部の水の状態が良好に保たれたことが、クライマクテリックマキシмумが遅延する効果の一因であると考えられた。
- 以上の結果から、本保存法はカーネーション切り花の鮮度保持効果を持ち実際の市場で十分な適用性を持つと結論された。

6. 2 結論および今後に残された課題

本研究では、切り花内の水移動の変化という観点から、無極性ガスによる水の構造化による鮮度保持効果についての解明を試みた。¹H-NMRの測定では、キセノン処理を行った切り花内において水の束縛の状態が強くなったことが確認され、細胞内から細胞外への水移動の抑制が推察された。中性子イメージングによる水分分布の測定では、水ストレス後の水分量はキセノン処理を行った試料で多かった。また、キセノン処理区は対照区より、常に水収支が高い値を示した。以上を総合すると、無極性ガスによる水の構造化によって、切り花内から外部へ水が移動しにくくなったことが示された。結論としては、水の構造化

によって、切り花内部から外へ向けての水移動が抑制されることで切り花内の水分状態が良好に保たれ、結果的に萎凋の延長など鮮度保持効果の一因となると考えられた。

しかし、無極性ガスによる水の構造化が、どのように上述した水移動を抑制させたのかは明確にはならなかった。本論では、構造化によって水の束縛の状態が強くなったことが T_1 測定から示されたが、無極性ガスによる疎水性相互作用が、細胞外への水移動を防ぐ要因は他にも考えられる。例えば、生体反応自体が不活発になり生体膜の劣化が遅延すること、あるいは疎水性相互作用による生体膜のコンホメーション変化により水移動が起こりにくくなることである。このような水の構造化が生体に与える影響のメカニズムの解明は、鮮度保持に必要な無極性ガス分圧や処理温度などを検討する上で手助けになると考えられる。今後は、水の構造化が生体に与える影響についてより詳しく検討する必要があると思われる。また、希に無極性ガスによる処理で白斑が生じた。図 6-1 に白斑とその顕微鏡写真を示す。白斑が生じる原因としては、試料を高压下に置くこと、あるいはその後の復圧によるダメージなどが挙げられるが、明確な原因を明らかにすることはできなかった。このような無極性ガス処理によるダ

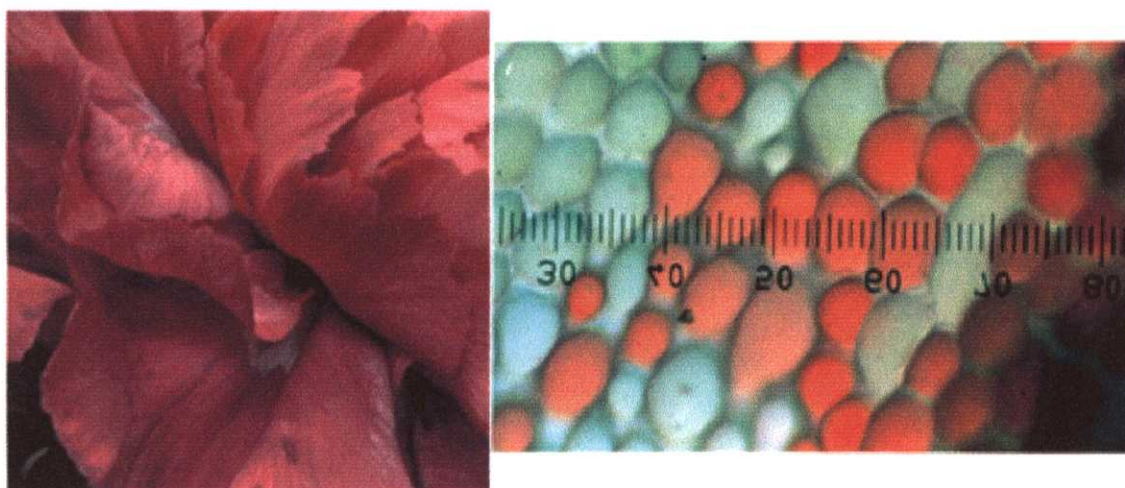


図 6-1 カーネーションに生じた白斑

メージの有無についても今後検討する必要がある。

本保存法を市場で用いる場合の問題点としては、本報において無極性ガスとして使用したキセノンガスが高価であること、および、処理に当たって高圧をかけるためそれに耐える施設を用いる必要があることが挙げられる。それらの問題について、コスト面に関しては、代替ガスや使用したガスの再利用などが考えられる。また、高圧処理に関しては、現在は確実な効果を期待するために高圧で処理を行っているが、前述した麻酔のモデルを考慮すると常圧に近いガス分圧で効果が現れ、供給圧力を低くできる可能性がある。今後は、最適な処理時のガス分圧の解明など、より実用に近い研究を進める必要がある。

記 号 表

χ_2	: キセノンの溶解度	—
C	: チャンバ内のキセノン濃度	$\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$
C_{chm}	: チャンバ内の CO_2 濃度	—
C_e	: 平衡濃度	$\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$
J_Q	: 呼吸速度	$\text{mg}\cdot\text{CO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
J_{tran}	: 蒸散速度	$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
J_{up}	: 吸水速度	$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$
k	: 速度定数	$\text{s}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{kg}$
M	: 試料の質量	kg
M_0	: 熱平衡における磁化	$\text{A}\cdot\text{m}^{-1}$
M_t	: 時間 t 後の磁化	$\text{A}\cdot\text{m}^{-1}$
P_{chm}	: チャンバ内圧力	Pa
Q	: 容器内における CO_2 の質量	mg
Q'	: t 時間後の容器内における CO_2 の量	mg
R	: 気体定数	$8.314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$
ρ_T	: 温度 T での水の密度	$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$
T	: 温度	K
t	: 時間	—
T_1	: 縦緩和時間	s
V	: 水の体積	cm^3
V_{chm}	: チャンバ容積	m^3
W	: 水の質量	g
W_{tran}	: 任意の時間における試料および吸水速度計測容器の質量	g
$W_{\text{tran}'}$: t 時間後における試料および吸水速度計測容器の質量	g
W_{up}	: 任意の時間における吸水速度計測容器内の水の質量	g
$W_{\text{up}'}$: t 時間後における吸水速度計測容器内の水の質量	g

参考文献

第1章

- 1) 農林水産省統計情報部：4次農林水産統計表-成9年-10年-, 430-433, 1999
- 2) 佐藤茂：高等植物におけるエチレン生成の生化学, 化学と生物, 31(7), 430-439, 1993
- 3) 市村一雄：切り花における収穫後の生理機構(1), 農業および園芸, 71(3), 23-26, 1996
- 4) 井上元章：切り花の鮮度保持マニュアル（日本花普及センター監修），流通システム研究センター，4-9, 1997
- 5) 相賀徹夫：園芸植物大事典 1, 初版第3刷, 483, 1988
- 6) Nicols,R.: The response of carnations (*Dianthus Caryophyllus*) to ethylene, HortScience, 43, 335-3349 1968
- 7) Maxie,E.C., Farnham,D.S., Mitchell,F.G., Sommer,N.F., Parsons,R.A., Snyder,R.G., Rae,H.L.: Temperature and Ethylene Effects on Cut Flowers of Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.), J.Amer. Soc. Hort. Sci., 98(6), 568-572, 1973
- 8) Mayak,S., Vaadia,Y., Dilley,D.R.: Regulation of Senescence in Carnation (*Dianthus caryophyllus*) by Ethylene, Plant Physiology, 59, 591-593, 1977
- 9) Borochoy,A. woodson, W.R., Physiology and Biochemistry of Flower Petal Senescence, Hort. Rev., 11, 15-43, 1989
- 10) Halevy,A.H. Mayak,S, Senescence and postharvest physiology of cut flowers, part 2, Hort. Rev., 3, 59-143, 1981
- 11) 大城閑, 細川宗孝, 矢澤進：花卉園芸で活躍するバイオテクノロジー, 生物と化学, 36(8), 512-522, 1998 162-CF

- 12) Mayak, S. Garibaldi, E.A. Kofranek, A.M.: Carnation flower longevity: Microbial Populations as related to silver nitrate stem impregnation, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 102(5), 637-639, 1977, 085-CF
- 13) Jones, R.B., Hill, M.: The Effect of Germicides on the Longevity of Cut Flowers, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 118(3), 350-354, 1993
- 14) Brochov, A. Mayak, S. Broun, R., The involvement of water stress and ethylene in senescence of cut carnation flowers, Journal of Experimental Botany, 33, 1202-1209, 1982
- 15) 荒川洋治：水の書，共立出版，初版第1刷，1998
- 16) 上平恒，逢坂昭：生体系の水，講談社サイエンティフィック，1989
- 17) 上平恒，木田惇：プロピオン酸-水および t -ブチルアルコール-水系における各成分の自己拡散係数，日本化学学会誌，539-542，1982
- 18) Pauling, L.: A Molecular Theory of General Anesthesia, Science, 134 No.3471, 15-21, 1961
- 19) Brummer, R.G., Burnett, B.B., Schreiner, H.R.: Effects of Helium Group Gases and Nitrous Oxide on HeLa Cells., J. Cell. Physiol., 67, 385-392, 1967
- 20) 大下誠一，橋本篤，瀬尾康久：水の構造化による農産物の貯蔵（第1報）-植物細胞の代謝抑制-，農業機械学会誌，58(6)，31-37，1996
- 21) 大下誠一，M.A. ラハマン，川越義則，瀬尾康久，橋本篤：水の構造化による農産物の貯蔵（第2報）-農産物の代謝抑制-，農業機械学会誌，59(1)，29-35，1997
- 22) 橋本篤，大下誠一：水の構造化を利用した野菜の貯蔵，農業機械学会誌，58(5)，35-41
- 23) Oshita, S. Seo, Y. Kawagoe, Y.: Extension of vase life of cut carnations by structured water Acta Horticulturae, 440, 657-662, 1996

第 2 章

- 1) 第 1 章の 23) に同じ
- 2) Lide,D.R. : CRC Handbook of Chemistry and Physics , CRC Press, 80th edition , 8-86-8-89, 1999
- 3) 荒川洋治 : 水の書, 共立出版, 初版第 1 刷, 1998
- 4) 日本化学学会 : 化学便覧基礎編改訂 4 版, 丸善, II 156-II 157, 1993
- 5) Ewing,G.J. Ionescu,L.G.: Dissociation Pressure and Other Thermodynamic Properties of Xenon-Water Clathrate., Journal of Chemical and Engineering Data, 19(4), 367-369, 1974
- 6) 功刀滋 : 生体物理化学, 産業図書, 1995

第 3 章

- 1) 第 1 章の 23) に同じ
- 2) 賀来章輔, 井上真理 : ¹H-NMR による植物体の水の動態研究, 植物の化学調節, 28(2), 166-173, 1993
- 3) Woodson,W.R., Park,K.Y., Larsen,P.B., Wang,H.: Expression of Ethylene Biosynthetic Pathway Transcripts in Senescing Carnation Flowers, Plant Physiology, 99, 526-532, 1991
- 4) 上平恒, 逢坂昭 : 生体系の水, 講談社サイエンティフィック, 1989
- 5) Kaku,S. Iwaya-Inoue,M.: Factors Affecting the Prolongation of NMR Relaxation Times of Water Protons in Leaves of Woody Plants Affected by Formation of Insect Galls, Plant Cell Physiology, 31(5), 627-637, 1990
- 6) 井上真理, 賀来章輔 : 植物体の環境ストレス応答の ¹H-NMR による研究, 低温生物工学会誌, 40(2), 16-24, 1994

- 7) Iwaya-Inoue,M. Yoshimura,K. Yamasaki,H. Kaku,S.: Characteristic Changes in Relaxation Times of Water Protons in *Vigna radiata* Seedlings Exposed to Temperature Stress, *Plant Cell Physiology*, 34(5), 705-711, 1993
- 8) Ishida,N. Kobayashi,T. Koizumi,M. Kano,H.: ¹H-NMR Imaging of Tomato Fruits, *Agric. Biol. Chem.*, 53(9), 2363-2367, 1989
- 9) Gadian,D.G.: NMR and its applications to living system, Oxford Science Publications, 1995
- 10) Kaku,S.: Monitoring Stress Sensitivity by Water Proton NMR Relaxation Times in Leaves of Azaleas That Originated in Different Ecological Habitats, *Plant Cell Physiology*, 34(5), 535-541, 1993
- 11) Oshita,S. Seo,Y. Kawagoe,Y.: Relaxation Time of Protons in Intracellular Water of Vegetables and Its Respiration, 13th International Congress on Agricultural Engineering, International Commission of Agricultural Engineering,6, 109-108, 1998
- 12) 隈元保子, 渡辺剛史, 井上真理: 果実の成熟に伴う結合水と自由水の変動, *低温生物工学会誌*, 44(2), 98-106, 1998
- 13) Snaar,J.E.M., Van As,H.: Probing Water Compartments and Membrane Permeability in Plant Cells by ¹H NMR Relaxation Measurements, *Biophysical Journal*, 63, 1654-1658, 1992
- 14) Mohr,H. Schopfer,P.: *Plant Physiology*, Springer, 1995
- 15) 大下誠一, M.A.ラハマン, 川越義則, 瀬尾康久, 橋本篤: 水の構造化による農産物の貯蔵 (第2報) -農産物の代謝抑制-, *農業機械学会誌*, 59(1), 29-35, 1997
- 16) 平沢正: 植物の環境応答-生存戦略とその分子機構-, 秀潤社, 50-58, 1999

第4章

- 1) Halevy, A.H., Mayak, S. (1981). Senescence and postharvest physiology of cut flowers –part 2. Hort. Rev., 3, 59-141
- 2) Mayak, S., Halevy, A.H. (1971). Water-stress as the cause of failure of flower bud opening in iris. J.Am.Soc.Hort.Sci., 96, 482-483
- 3) Spikman, G.: The effect of water stress on ethylene production and ethylene sensitivity of freesia inflorescences, Acta Horticulturae, 181, 135-140, 1986
- 4) Brochov, A. Mayak, S. Broun, R.: The involvement of water stress and ethylene in senescence of cut carnation flowers, Journal of Experimental Botany, 33, 1202-1209, 1982
- 5) 中西友子：中性子線による植物中の水のイメージング，化学と生物，36(12)，789-797，1998

第5章

- 1) 稲松照子：センサー実用事典（第一版）（大森豊明編），株式会社フジ・テクノシステム，130-131，1987
- 2) Nichols, R.: The Response of Carnations (*Dianthus Caryophyllus*) to Ethylene, Hort Science, 43, 335-349, 1968
- 3) Wu, M.J., van Doorn, W.G., Reid, M.S.: Variation in The Senescence of Carnation (*Dianthus caryophyllus*)
- 4) Maxie, E.C., Farnham, D.S., Mitchell, F.G., Sommer, N.F., Parsons, R.A., Snyder, R.G., Rae, H.L.: Temperature and Ethylene Effects on Cut Flowers of Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.), J.Amer. Soc. Hort. Sci., 98(6), 568-572, 1973

- 5) Halevy, A.H., Mayak, S.: Senescence and Postharvest Physiology of Cut Flowers-
part 2, Hort.
- 6) Borochoy, A., Woodson, W.R.: Physiology and Biochemistry of Flower Petal
Senescence, Hort. Rev., 11, 15-43, 1989
- 7) van Doorn, W.G., Water relations of cut flowers, Hort. Rev., 18, 1-85, 1997
- 8) Smith, M.T., Saks, Y., van Staden, J.: Ultrastructural Changes in the Petals of
Senescing Flowers of *Dianthus caryophyllus* L., Annals of Botany, 69, 277-285,
1992
- 9) Eze, J.M.O., Mayak, S., Thompson, J.E., Dumbroff, B.D.: Senescence in Cut
Carnation Flowers: Temporal and Physiological Relationships among Water Status,
Ethylene, Absciscic Acid and Membrane Permeability, Physiologia Plantarum, 68,
323-328, 1986
- 10) 井上元章：切り花の鮮度保持マニュアル（日本花普及センター監修），流通
システム研究センター，57，1997

謝 辞

本論をまとめるにあたりましては、東京大学大学院農学生命科学研究科生物・環境工学専攻瀬尾康久教授には終始適切な御指導また懇切なる御校閲を賜りました。ここに深く御礼申し上げます。

本研究の遂行にあたりましては、東京大学大学院農学生命科学研究科生物・環境工学専攻大下誠一助教授には終始懇切な御指導および貴重な御助言、公私にわたる御厚情を頂きました。心より感謝の意を表します。

東京大学大学院農学生命科学研究科生物・環境工学専攻助手川越義則氏には、実験の遂行、研究の全般にわたり献身の御助言、御協力を頂きました。氏の細やかな御配慮に、厚く感謝いたします。

琉球大学農学部生物生産学科生産システム工学講座秋永孝義教授、同上野正実教授、同川崎聖司助教授、同鹿内健志助教授には、研究活動を行う上で貴重な御助言、御協力、および暖かい励ましを頂きました。ここに感謝の意を表します。

東京大学大学院農学生命科学研究科中西友子助教授および日本原子力研究所東海研究所中性子科学センター松林政仁氏には、第4章における中性子水分イメージングの遂行にあたりまして、懇切なる御教授および多大な御協力を頂きました。深く御礼申し上げます。

本研究における実験装置および切り花の入手に際しては、タバイエスベック(株)中村謙治氏、第一園芸プランテック(株)是枝一春氏の多大なる御尽力を頂きました。また実験装置の作成では、東京大学大学院農学生命科学研究科技官井本博美氏に貴重な御助言、ご協力を頂きました。心より感謝申し上げます。

宇都宮大学農学部岩渕和則助教授には、学部・修士時代から今日まで、研究に対するアプローチは氏の御指導の賜であり、常に貴重な御助言を頂きました。

また、国立農業工学研究所大井節男氏には、研究活動を行う上で御助言や励ましを頂きました。両氏なくしては、現在の研究活動はあり得ないものです。ここに、深く御礼申し上げます。

元生物・環境学科事務官安富よし江氏ならびに生物プロセス研究室秘書目時美穂子氏、阪美和氏には研究活動を円滑に行う上で多大な御協力を頂きました。また、研究全般の遂行にあたりましては、東京大学大学院農学生命科学研究科生物・環境工学専攻生物プロセス工学研究室の大学院生および卒論生諸氏には多大なるご協力を頂きました。ここに、心より感謝申し上げます。

最後に私事ではありますが、本研究は、両親および兄弟の協力の上で無事遂行されました。特に妹には大学院在籍中は物心両面での協力を得ました。ここに心から感謝します。