

カンキツにおけるすす様汚染果の電子顕微鏡観察

誌名	山口県農業試験場研究報告 = Bulletin of the Yamaguchi Agricultural Experiment Station
ISSN	03889327
巻/号	48
掲載ページ	p. 63-68
発行年月	1997年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



カンキツにおけるすす様汚染果の電子顕微鏡観察

村本和之・中村光夫

The Observation of Sooty Fruits in Citrus by Electrom Microscope

Kazuyuki MURAMOTO and Mitsuo NAKAMURA

Abstract. During observation of the form of particles of sooty substances with a transmission electrom microscope, smooth-surfaced spherical particles, $0.02\mu\text{m}$ in diameter. Further, in observation the sticking condition of soot in fruit surfaces with a scanning electron microscope, spherical particles, $0.2\text{-}1.0\mu\text{m}$ in diameter, were seen here and there in the cuticle. The sticking surface of the particles was partly buried in the cuticle. Therefore, sooty substances were not just sticking to the fruit skin, but some of them were part of the cuticle, and it seemed to us that this was one of the reason why sooty substances could not be easily removed with water and detergent.

As a result of the survey measuring the amount of sooty substances sticking to fruit surface in November, the degree of the appearance of grime is greater than on Satsuma mandarin than on Miyauchi Iyo. However, at picking time, it was less on Satsuma mandarin than on Miyauchi Iyo and Kiyomi tangor. Accordingly, it seemed to us that the length of exposure time to rainwater, which is controlled by how early or late the oranges are harvested sometime in autumn or winter had greater influence on the degree of the appearance of grime than the physical characterstic differences between the different varieties of oranges.

緒 言

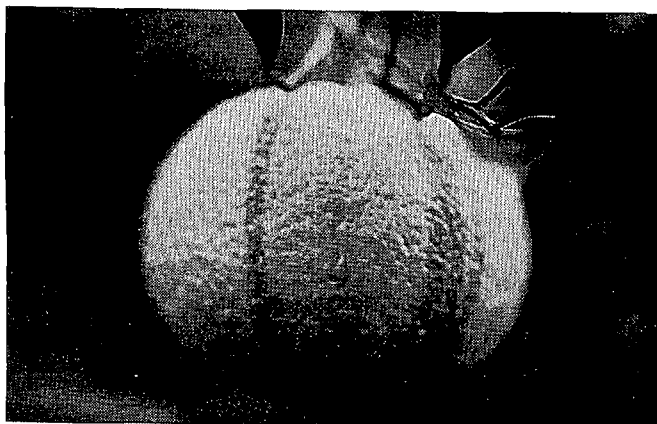
カンキツの果実表面に「すす様汚染」と呼ばれる涙状または被膜状の汚れが生じ、販売上問題となっている(第1~2図)。

すす様汚染果は、「宮内伊予柑」や「清見」など収穫期がおそい品種に発生が多いことが認められている¹⁾。また、年によって発生の程度に差が認められている¹⁾。この要因のひとつとして、降雨が関係しており、雨水に含まれた「すす様物質」が果面に付着したものと考えられている²⁾。

果面に付着した「すす様物質」は、水、台所用洗剤、酸及びアルカリ液では除去できないが、カンキツの果皮

から抽出した精油や酢酸エチルでは容易に除去できる¹⁾。このことから、「すす様物質」が果皮のクチクラに強く付着または埋没していることが考えられる。

すす様汚染果の発生実態については不明な点が多い。著者らは走査型及び透過型電子顕微鏡を用いて、果皮に付着した「すす様物質」並びに果皮から分離した「すす様物質」を観察した。また、葉及び果実における「すす様物質」の付着量、雨水に含まれる「すす様物質」の量についても時期別に検討した。その結果、「すす様物質」の果皮への付着状況や形態など、若干の知見が得られたので報告する。



第1図 すず様汚染果
(品種：川野なつだいたい)



第2図 すず様汚染果
(品種：ウンシュウミカン)

材料及び方法

1. 透過型及び走査型電子顕微鏡による「すず様物質」及び果皮の汚染部位の観察

「すず様物質」の形態観察には、透過型電子顕微鏡（日本電子JEM 1200EX II型）を用いた。1995年12月に山口県大島柑きつ試験場内の圃場で採取した「宮内伊予柑」の果実から分離した「すず様物質」を供試した。試料の調整は次の方法で行った。すなわち、エタノールを含ませた脱脂綿を用いて、果実に付着した「すず様物質」を拭き取り、エタノールに懸濁した。室温でエタノールを蒸発させ、少量の蒸留水を加えて、「すず様物質」の懸濁液を得た。支持膜を張ったグリッドの表面を懸濁液に接触させ、ろ紙で余分な液を除き、風乾後、観察に供した。

なお、一部の試料については酢酸エチルで「すず様物質」を拭き取り、風乾した後に蒸留水に懸濁して同様に観察した。

また、場内圃場のグレープフルーツの果実を1997年2

月に採取し、同一果実の黒く涙状に汚染した部分と汚染が認められない部分について、「すず様物質」の付着量の比較を行った。すなわち、それぞれの部位から8cm²の果皮を切り取り、前述の方法により0.06mlの「すず様物質」の懸濁液を調整した後、透過型電子顕微鏡で観察して、グリッドの穴の部分に見える球形粒子の数を求めた。

「すず様物質」の果実への付着状況の観察は、走査型電子顕微鏡（日本電子JSM 5200型）により行った。黒く涙状に汚染した「宮内伊予柑」及びウンシュウミカンを1995年12月、1996年12月、1997年2月に採取し、その果皮を供試した。試料の表面をカミソリで薄く切り取り、グルタルアルデヒド及びオスmium酸の二重固定を行った後、臨界点乾燥法により乾燥して金蒸着を行い、ただちに観察した。

2. 葉及び果実に付着した「すず様物質」の定量

山口県大島郡久賀町のカンキツ園（ウンシュウミカン5園、宮内伊予柑5園）の葉及び果実に付着した「すず様物質」を定量した。すなわち、1995年11月5日に各園から葉5枚及び果実3個を採取し、0.01gの脱脂綿に酢酸エチルを含ませて、それぞれの表面を拭き、酢酸エチルに懸濁した。酢酸エチルの蒸発後、残渣の乾物重を測定し、その値を葉または果実当たりの「すず様物質」付着量とした。同時に肉眼観察でも、-~+++++の6段階に分けて付着量の調査を行った。

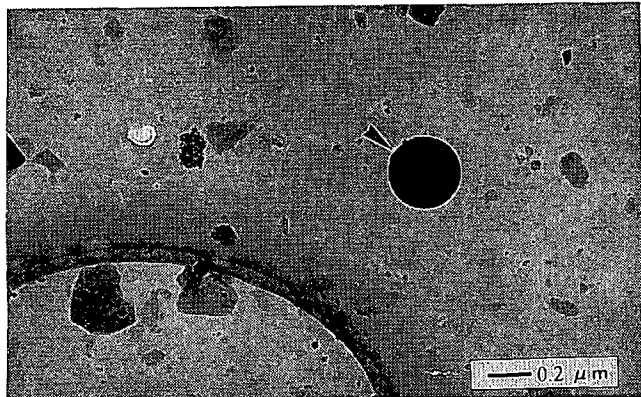
3. 雨水中の「すず様物質」の定量

大島郡久賀町の5か所のカンキツ園に直径20cmの漏斗を設置し、2lガラス瓶で雨水を採取した。採取は時期を分けて行い、それぞれの期間中の降水量及び雨水に含まれる物質の乾物重を求めた。

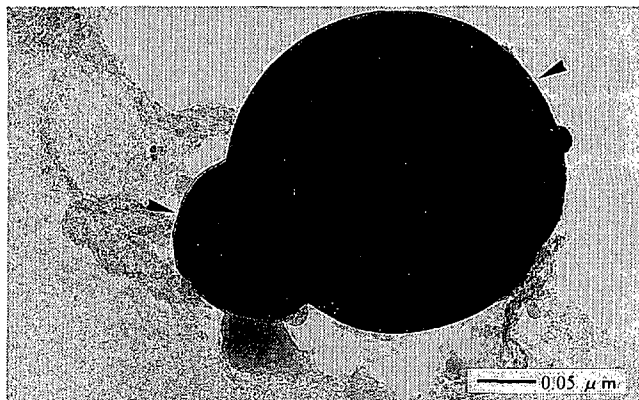
結 果

1. 透過型及び走査型電子顕微鏡による「すず様物質」及び果皮の汚染部位の観察

果皮に付着した「すず様物質」はエタノールにより除去することができた。エタノールで拭き取った「すず様物質」を含む液は、黒く濁って見えた。透過型電子顕微鏡により、2万~10万倍で観察した結果、表面が滑らかな球形の粒子が多く認められた（第3~5図）。粒子の直径は、0.02~1.1μmの範囲であったが、大部分は0.2μm以下であった。球形の粒子とともに、表皮の一部あるいは「すず様物質」以外の付着物と思われる物質が観察された。



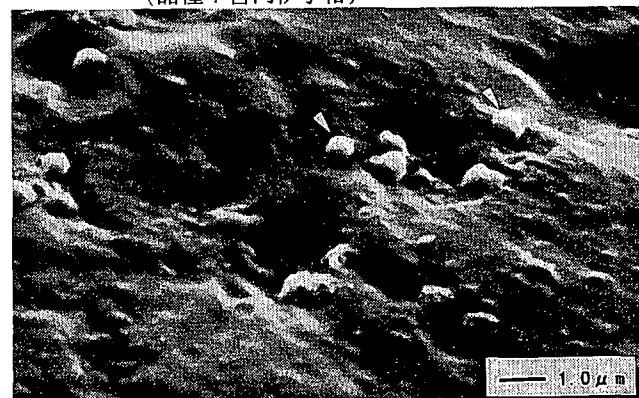
第3図 果皮から分離した「すす様物質」
(品種：宮内伊予柑)



第4図 果皮から分離した「すす様物質」
(品種：宮内伊予柑)



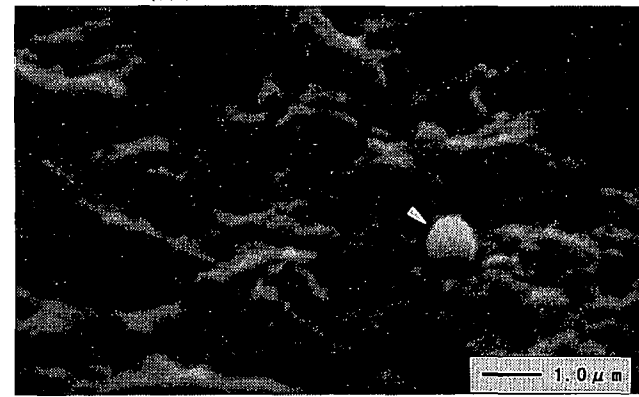
第5図 果皮から分離した「すす様物質」
(品種：宮内伊予柑、酢酸エチルで拭き取って観察)



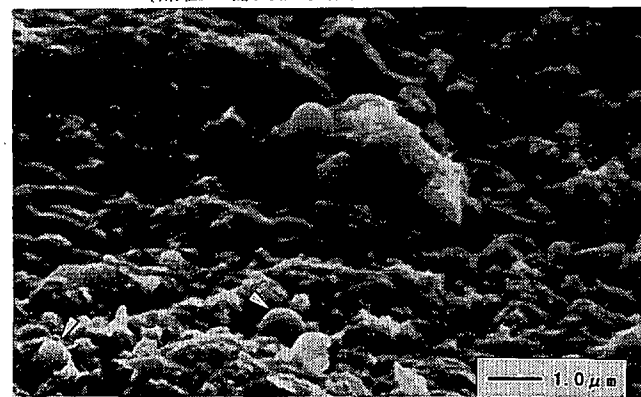
第6図 果皮に付着した「すす様物質」
(品種：宮内伊予柑)



第7図 果皮に付着した「すす様物質」
(品種：宮内伊予柑)



第8図 果皮に付着した「すす様物質」
(品種：宮内伊予柑)



第9図 果皮に付着した「すす様物質」
(品種：宮内伊予柑、クチクラに一部埋没している)

また、同一果実の黒く涙状に汚染した部分と汚染が認められない部分について、「すす様物質」の付着量の比較を行った結果、グリッドの1穴当たり、前者では16.8個、後者では2.0個の球形粒子が認められた(第1表)。

第1表 同一果実の黒く涙状に汚染した部分及び汚染が認められない部分における「すす様物質」の付着量の比較

観 察 部 分 ¹⁾	グリッドの1穴内に観察された球形粒子の数 ²⁾
涙状に黒く見える部分	16.8
その他の部分	2.0

- 1) 1997年2月に採取した場内グレープフルーツの果実を供試
 2) 果皮8cm²に付着した「すす様物質」を0.06mlの蒸留水に懸濁し、コロジオン膜を張ったグリッドの表面に接触させ、余分な液をろ紙で取り除いた後、透過型電子顕微鏡で観察。グリッドの1穴当たりに観察された球形粒子の数を調査。

走査型電子顕微鏡により「すす様物質」の果実への付着状況を観察した結果、果皮のクチクラ上に前述の透過型電子顕微鏡で観察されたものと同一と思われる0.2~1.0 μ mの球形の粒子が認められた(第6~8図)。これらの粒子が集合して付着している部分は認められず、また、一部の粒子は付着部がクチクラに埋没していた(第9図)。一方、0.2 μ m以下の粒子については、形状の識別が困難であったため、「すす様物質」かどうかの確認はできなかった。

2. 葉及び果実に付着した「すす様物質」の定量

果実に付着している「すす様物質」の量は、ウンシュウミカンでは1果当たり1.7~2.5mg、「宮内伊予柑」では1.0~1.7mgで、品種間に有意な差は認められなかった。果実表面積100cm²当たりに換算すると、それぞれの付着量は2.2~4.7mg及び0.8~1.3mgで、「宮内伊予

柑」に比べるとウンシュウミカンの方が「すす様物質」の付着量がやや多かった。これらの値の大小は肉眼観察による汚染程度の調査結果とほぼ一致していた(第2表)。

一方、葉に付着している「すす様物質」の量は、ウンシュウミカンでは1葉当たり1.6~2.5mgで、「宮内伊予柑」では1.0~1.2mgであった。

3. 雨水中の「すす様物質」の定量

雨水中に含まれる「すす様物質」の重量は、調査したいずれの園も10月よりも11月の方が明らかに多かった(第3表)。11月に採取した雨水には、微量の藻状の浮遊物が含まれていたが、結果に与える影響は小さいと思われた。

採取した雨水のpHは5.16~5.33で、園による差はほとんど認められなかった。

第2表 ウンシュウミカン及び宮内伊予柑における「すす様物質」の付着量

品 種 名	園	葉 ¹⁾			果 実 ¹⁾	
		mg/葉	mg/果	mg/100cm ²	mg/100cm ²	肉眼観察
早生ウンシュウ	1	1.6	—	—	—	++
早生ウンシュウ	2	2.1	2.5	4.7	—	++
普通ウンシュウ	3	1.3	1.7	2.2	—	+
普通ウンシュウ	4	2.5	1.7	2.9	—	+
普通ウンシュウ	5	1.6	1.8	3.9	—	+
宮内伊予柑	6	1.1	1.0	0.8	—	—
宮内伊予柑	7	1.0	1.2	0.9	—	—
宮内伊予柑	8	—	—	—	—	—
宮内伊予柑	9	—	1.6	1.2	—	+
宮内伊予柑	10	1.2	1.7	1.3	—	+

1) 試料採取場所：山口県大島郡久賀町、試料採取月日：1995年11月5日

2) —~+++++の6段階で調査

第3表 雨水中に含まれる「すす様物質」の量及びpH

調査地 ¹⁾	雨水中に含まれる「すす様物質」の量 (mg)			10/1~11/1 の降水のpH
	10/1~11/2	11/2~12/1	11/1~11/1	
白石	13.0	46.0	—	5.27
山田上	12.9	39.0	—	5.33
上田丘	12.2	43.0	—	5.16
流田	9.7	41.2	—	5.24
花田	20.4	52.3	—	5.31
期間降水量(mm)	118	42	—	—

1) 山口県大島郡久賀町

考 察

カンキツのすす様汚染果は、雨水中に含まれた「すす様物質」が果皮のクチクラに付着したものと考えられている¹⁾。果実に付着した「すす様物質」の解明については、三重県環境保全事業団が走査型電子顕微鏡とエックス線マイクロアナライザーで分析した結果から、粒径 $0.1\mu\text{m}$ 以下のきわめて微細な炭素粒子であることを報告している²⁾。しかし、果皮への付着状況の詳細な観察結果については記載がない。そこで、「すす様物質」を果皮から分離して透過型電子顕微鏡でその形状を観察するとともに、走査型電子顕微鏡で果皮への付着状況を調査した。

まず、エタノールで果面の「すす様物質」を拭き取り、透過型電子顕微鏡で粒子の形状を観察した結果、表面が滑らかな直径 $0.02\sim 1.1\mu\text{m}$ の球形粒子が多く認められた。また、同一果実の黒く涙状に汚染した部分と汚染が認められない部分について、球形粒子の付着量の比較を行った結果、汚染した部分の方が明らかに付着量が多かった。このことから、これが「すす様物質」であろうと推察した。

次に走査型電子顕微鏡で果面における付着状況を観察した結果、クチクラ上に $0.2\sim 1.0\mu\text{m}$ の球形粒子が散見された。この大きさ以下の小さな粒子については、形状の識別が困難であったため、「すす様物質」かどうかの確認はできなかった。粒子の付着面はクチクラに埋没しているように見えた。したがって、「すす様物質」は果皮に軽く付着しているのではなく、一部がクチクラに取り込まれており、これが水や洗剤によって容易に除去できない理由のひとつと考えられる。なお、著者の一人である中村は、カンキツの果皮から抽出した精油で容易に「すす様物質」が除去できることを報告し¹⁾、山口県内の一部の選果場で実用段階にある。このように「すす様物質」が除去されるのは、クチクラのクチン質が精油で溶解されることによると思われる。粒子がクチクラに取り込まれる機構については明らかではないが、雨によって果皮に付着した「すす様物質」が、日数の経過とともに果皮のクチクラに取り込まれていくものと思われる。

汚れの品種間差について、松島²⁾は三重県内における調査で、「甘夏」、ブンタン、セミノール等の品種で汚れが大きく、ウンシュウミカンではあまり汚れが観察されないとしており、その理由として、果皮の表面構造や汚れの発生時期の違いによると推察している。著者らも、収穫期においてはウンシュウミカンの汚れの程度が、

「宮内伊予柑」や「清見」などよりも少ないことを認めている。しかしながら、山口県内で同時期に調査した「宮内伊予柑」とウンシュウミカンにおける果皮 100cm^2 当たりの「すす様物質」の付着量は、ウンシュウミカンの方が逆に多かった。また、肉眼観察による結果でも、同様の結果であった。さらに、同じ時期の走査型電子顕微鏡による観察では、「すす様物質」の粒子の付着面はクチクラに埋没していた。これらのことから、両品種でクチクラの発達程度に差があり、それが「すす様物質」の付着量に関与した可能性も考えられる。

一方、「すす様物質」は10月及び11月の雨水にも含まれていたことから、その後も含まれているものと考えられる。したがって、収穫期におけるすす様汚染の程度は、果皮の表面構造や品種間の差よりも収穫期の早晚、すなわち秋から冬にかけての雨水への暴露期間の長さの影響の方が大きいものと考えられる。

「すす様物質」の付着量の品種間差については、11月上旬に1回調査しただけである。今後は「宮内伊予柑」の収穫時期である12月中旬以降にも同様の調査を行い、品種間の差を明らかにする必要がある。

摘 要

1. 果皮から分離した「すす様物質」の粒子の形状を透過型電子顕微鏡で観察した結果、表面が滑らかな直径 $0.02\sim 1.1\mu\text{m}$ の球形の粒子が多く認められた。粒子の大部分は $0.2\mu\text{m}$ 以下であった。
2. 果面における「すす様物質」の付着状況を走査型電子顕微鏡で観察した結果、クチクラ上に $0.2\sim 1.0\mu\text{m}$ の球形粒子が散見された。これ以下の小さな粒子については形状の識別が困難であったため、「すす様物質」かどうかの確認はできなかった。
3. 粒子の付着面はクチクラに一部埋没していた。したがって、「すす様物質」は果皮に軽く付着しているのではなく、一部がクチクラに取り込まれており、これが水や洗剤によって容易に除去できない理由のひとつと考えられた。
4. 「すす様物質」の果面への付着量を11月上旬に調査した結果、表面積当たりの付着量は、「宮内伊予柑」よりもウンシュウミカンの方がやや多かった。
5. しかしながら、収穫期においては、ウンシュウミカンの方が「宮内伊予柑」や「清見」などよりも汚れの程度が少ないことを認めている。したがって、果皮の表面構造などの品種間の差よりも収穫期の早晚、すなわち秋から冬にかけての雨水への暴露期間の長さ方が汚れの発

生程度に与える影響が大きいものと考えられる。

引用文献

- 1) 松島二良：果樹における最近の大気汚染問題、遺伝
38 (10), 26~31, 1984.
- 2) 三重県環境保全事業団：尾鷲地域における環境現状
調査報告書. 144-147, 1981.
- 3) 中村光夫：カンキツのすす様汚染果の発生要因とそ
の除去. 山口農試研報 47, 49~51, 1996.