

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：11501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23658022

研究課題名(和文) 銀ナノ微粒子を利用した切り花・花木の新たなポストハーベスト技術の確立

研究課題名(英文) Studies on vase life of cut flowers and woody ornamental cherry using flower vessels coated with silver nanoparticles

研究代表者

村山 秀樹 (MURAYAMA, Hideki)

山形大学・農学部・教授

研究者番号：40230015

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円、(間接経費) 750,000円

研究成果の概要(和文)：銀ナノ微粒子をコーティングした容器に、切り花(オーニソガラム, デルフィニウム)または切り枝(ケイオウザクラ)を生け、銀ナノ微粒子の抗菌効果を調査するとともに、その鮮度保持効果を調べた。その結果、銀ナノ微粒子をコーティングした容器を用いると、生け水中に細菌の増殖がまったく認められず、銀ナノ微粒子が高い抗菌効果をもつことが判明した。また、銀ナノ微粒子の抗菌効果により切り花の吸水が、とりわけスクロースを併用することによって維持され、新鮮重が実験期間中、終始高い値で推移した。

研究成果の概要(英文)：We investigated the antibacterial characteristics of flower vessels coated with silver nanoparticles and their effect on vase life of cut flowers (*Ornithogalum thyrsoides* and *Delphinium sinensis*) and woody ornamental cherry (*Prunus x subhirtella* cv. *Keiou-zakua*). In all cut stems, no bacterial proliferation was observed in vase solutions of vessels coated with silver nanoparticles throughout the experimental period, while numbers of bacteria in vase solutions increased in non-coated vessels. The amount of water uptake by stems in vessels coated with silver nanoparticles was greater than that of the flowers in non-coated vessels. Relative fresh weight of cut stems in vessels coated with silver nanoparticles was higher than that of the flowers in non-coated vessels. These results show that vessels coated with silver nanoparticles have antibacterial characteristics and suppress the decrease of water uptake and fresh weight of cut stems in cut flowers and woody ornamental cherry.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学

キーワード：銀ナノ微粒子 抗菌性 切り花 鮮度保持 吸水

## 1. 研究開始当初の背景

切り花の品質が低下する要因はいくつかあり、エチレン、吸水不良、糖の不足などがあげられる。吸水不良は、切り花の導管の閉塞により引き起こされることが知られており、細菌の増殖や、切り口の気泡などが原因とされている。細菌と導管閉塞による切り花の萎凋との関係についての研究は古くから行われている。生け水および導管において、細菌の増殖に伴い導管閉塞が進行すること、細菌を生け水中に添加すると導管閉塞が促進されること、さらに、抗菌剤を処理することによって細菌濃度を低下させるとともに、導管閉塞を抑制するという研究結果は、生け水中の細菌が導管を閉塞させる原因であることを強く支持している(市村, 2000)。Macnish ら(2008)は、抗菌剤を用いることによって、花持ちが延長することを報告している。しかし、抗菌剤として用いられている薬剤の中には、生け水中に添加するものが多く、濃度の調整が必要であったり、安全上の問題があるものも存在する。近年、銀ナノ微粒子の抗菌性が注目されており、切り花への応用が検討されている。

## 2. 研究の目的

切り花の鮮度保持剤(延命剤)の大半は、生け水中に加えるものであり、使用後は回収されずに、破棄されているのが現状である。鮮度保持剤の中には重金属の銀イオンを含むものも多く、その環境への影響が懸念されている。そこで本研究では、切り花の鮮度保持剤に関する従来の考え方を転換し、鮮度保持剤を切り花ではなく、花器に処理する方法について検討を行う。具体的には、研究協力者が大量合成に成功した銀ナノ微粒子をコーティングした花器に切り花・花木を生け、その鮮度保持効果を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 銀ナノ微粒子をコーティングした花器がオーニソガラム切り花の鮮度保持におよぼす影響

切り花の吸水不良は、品質低下要因の1つであり、生け水中で繁殖した細菌などにより導管が詰まること(導管閉塞)が原因であるとされている。そこで本研究では、銀の抗菌性に注目し、銀ナノ微粒子をコーティングした容器の抗菌効果とオーニソガラム切り花の品質保持への影響について検討した。

実験には、秋田県立大学生物資源科学部附属フィールド教育研究センターで育成したオーニソガラム・シルソイデスを供試した。花器として銀ナノ微粒子をコーティングした200ml容プラスチック製容器を用い(nano silver coating; NSC)、非コーティングのものを対照とした。また、それぞれの処理区にスクロースを添加した区(スクロース濃度; 3%)も設けた。

収穫したオーニソガラムは切り花長を約50cmに調整し、穂長を測定した後、温度20℃、相対湿度30~40%、12時間日長の条件下においた。調査は、経時的に、切り花の新鮮重、

吸水量、開花率、穂長、到花率および花持ち日数について行った。また、生け水中の生菌数は収穫後7, 14, 21, 28日に測定した。

### (2) 銀ナノ微粒子をコーティングした花器がケイオウザクラ切り枝の鮮度保持におよぼす影響 鑑賞花木として人気のあるケイオウザクラを供試し、銀ナノ微粒子の抗菌効果を調べた。

実験には、山形大学農学部附属やまがたフィールド科学センター植栽のケイオウザクラを供試した。試験区として、NSC区と対照区を設けた。また、それぞれの区にスクロースを添加した区も設けた。収穫した切り枝は、温度20℃、相対湿度30~40%、12時間日長の条件下においた。調査は、経時的に、新鮮重量、吸水量、到花率、生菌数および花持ち日数について行った。

### (3) 銀ナノ微粒子をコーティングした花器がエチレン感受性の高いデルフィニウム切り花の鮮度保持におよぼす影響

デルフィニウム切り花を供試して、銀ナノ微粒子がエチレンに対する感受性の高い切り花の品質におよぼす影響を調査した。

デルフィニウムは、商業的な収穫段階よりも早い状態、すなわち全小花が蕾の状態で収穫した。収穫後、切り花は10本ずつ蒸留水、STS溶液、スクロース添加STS溶液で前処理を行った。前処理後、切り花長を30cmに調整し、銀ナノ微粒子をコーティングした200ml容のプラスチック製容器または無処理のプラスチック製容器に切り花を生けた。すべての試験区で、生け水には2%スクロース溶液を用いた。実験には、人工気象器(LPH-220SP、日本医化器械製作所)を使用し、環境条件は、温度20℃、相対湿度60%、12時間日長とした。

経時的に新鮮重、吸水量、生菌数、到花率、がく片長、花色、花持ち日数について調査した。また、採花9日目にエチレン測定を行った。

### (4) 銀ナノ微粒子をコーティングした花器に溶出した銀濃度の測定

銀ナノ微粒子を塗布した200mlポリ容器3本に、蒸留水200mlを入れた。水面からの蒸発を避けるために、ラップで覆い20℃恒温室内に静置した。実験開始から1, 7, 14日目にそれぞれの容器から、5mlずつ採取し、原子吸光光度計により銀濃度を測定した。1週間後に再度、同様の実験を行った。

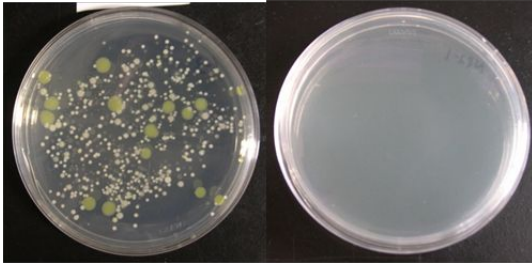
## 4. 研究成果

### (1) 銀ナノ微粒子をコーティングした花器が切り花オーニソガラムの鮮度保持におよぼす影響

生け水中の生菌数は、対照区で $10^5 \sim 10^6$  CFU/mlまで増加したのに対して、NSC区およびNSCのスクロース処理区(NSC+Suc区)では、実験期間中、菌の増殖は認められなかった(第1表, 第1図)。このことは、銀ナノ微粒子が高い抗菌性を示すことを示している。

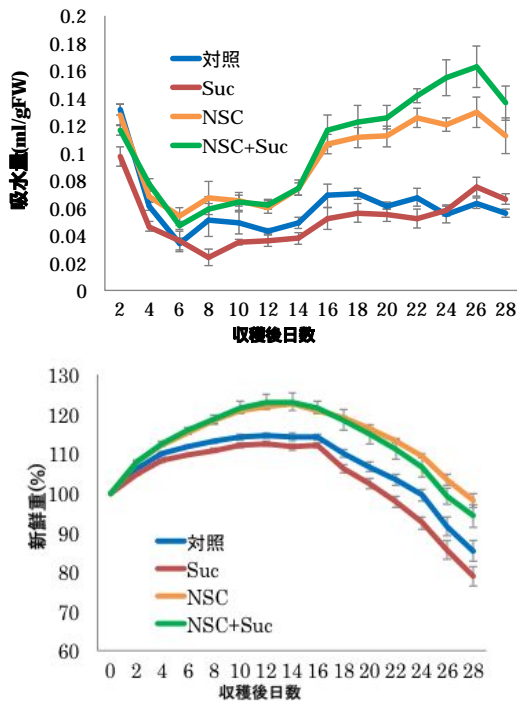
第1表 生け水中の生菌数

処理区	生菌数 (CFU/ml)			
	7	14	21	28
対照	$8.9 \times 10^6$	$2.3 \times 10^6$	$2.3 \times 10^6$	$2.5 \times 10^6$
Suc	-	-	-	$5.5 \times 10^6$
NSC	0	0	0	0
NSC+Suc	0	0	0	0



第1図 オーニソガラムノ生菌数測定用シャーレ．対照区（左），NSC区（右）

新鮮重は、NSC区とNSC+Suc区で実験期間中高い値を示し、収穫後10日の時点で120%に達し、その後も高い値を維持した(第2図)。吸水量は、新鮮重と同様に、NSCおよびNSC+Suc区で高い値を示した。とりわけ収穫後16日以降、吸水量は著しく上昇した(第2図)。一方、対照区とスクロース区では、吸水量に大きな変化は認められなかった。



第2図 NSCがオーニソガラムの新鮮重と吸水量に与える影響

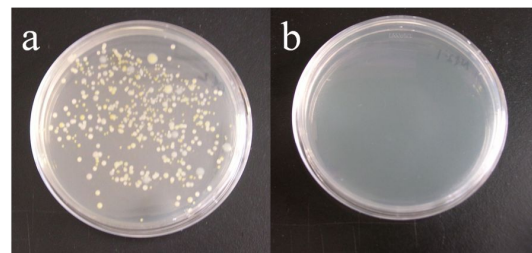
全小花のうち各測定日に開花している花の割合で表した開花率は、すべての処理区で収穫後6日から16日にかけて急激に上昇した。特に、NSC+Suc区は、他の処理区と比較して実験期間中、終始高い値を維持した。穂長ならびに開花に到った小花の数から算出した到花率は、

開花率と同様に NSC+Suc 区で最も高く、対照区と比較してそれぞれ 6.1%、12.4%高い値を示した。花持ち日数は、対照区と比較して、NSC 区と NSC+Suc 区でそれぞれ 1.2 日と 2 日延長した。

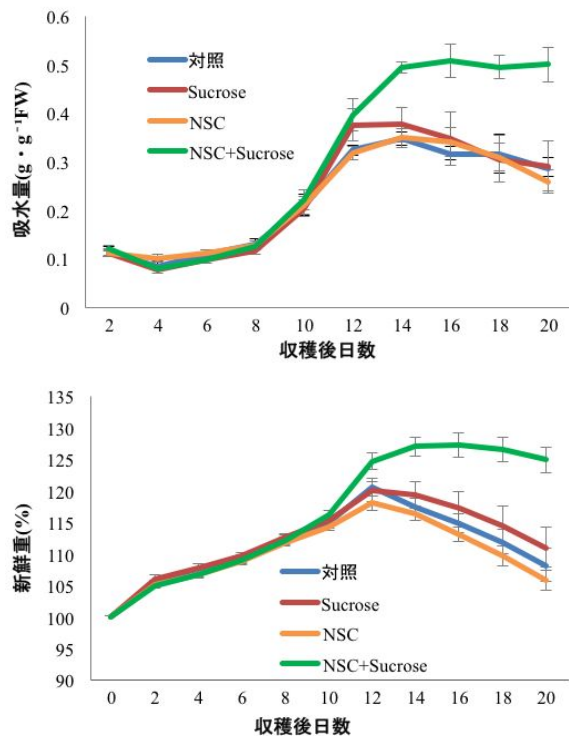
(2) 銀ナノ微粒子をコーティングした花器がケイオウザクラ切り枝の鮮度保持におよぼす影響

生け水の生菌数は、対照区で  $10^6$  CFU/ml まで増加したのに対して、NSC 処理区では菌の増殖は認められなかった(第3図)。これは、オーニソガラムの研究結果と一致しており、銀ナノ微粒子が高い抗菌性を示すことを確認した。

新鮮重と吸水量は、10日までは処理区間で差が認められなかったが、その後 NSC のスクロース処理区(NSC+Suc 区)で高い値を示した(第4図)。



第3図 ケイオウザクラの生菌数測定用シャーレ．対照区（a），NSC区（b）

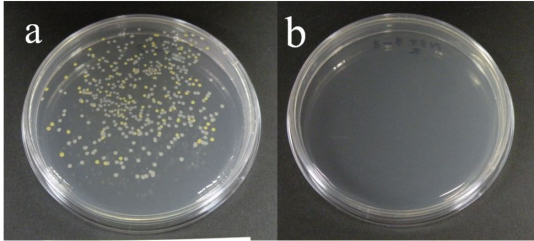


第4図 NSCがケイオウザクラ切り枝の新鮮重と吸水量に与える影響

(3) 銀ナノ微粒子をコーティングした花器がエチレン感受性の高いデルフィニウム切り枝の鮮

### 度保持におよぼす影響

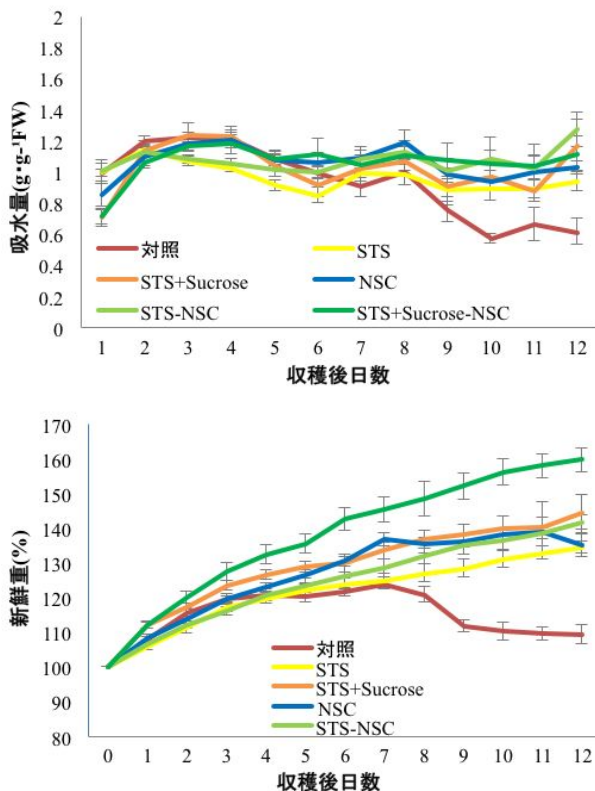
チオ硫酸銀 (STS) を処理していない対照区と銀ナノ微粒子区では、銀ナノ微粒子区で花持ち日数の延長はみられたものの、その他の品質に大きな差は認められなかった。生菌数測定の結果は、ユリ、トルコギキョウ、オーニソガラムと同様に、細菌の増殖がまったくみられず、高い抗菌性を示した(第5図)。



第5図 デルフィニウムの生菌数測定用シャーレ。対照区 (a), NSC 区 (b)

吸水量は、すべての処理区で2日目にかけて上昇した。その後、調査期間中横ばいとなり、処理区間に大きな差がみられなかったが、全体的に、STS-NSC 区, STS+Sucrose-NSC 区が高い傾向を示した(第6図)。切り花の新鮮重は、対照区では、7日目以降減少に転じ、試験区間で最も早く新鮮重の減少がみられた。その他の区では実験期間中上昇し、NSC 区のみ実験終了時にわずかに減少した。また、試験区の中でも、とりわけスクロース処理により新鮮重の増加が促進された。なかでも、STS+Sucrose-NSC 区において新鮮重の増加が著しく、実験期間中、他の試験区と比較して高い値を維持した。

STS 処理は対照区と比較して、切り花の花持ちを向上させ、デルフィニウムに特有な現象である、がく片の離脱を抑制したが、切り花の品質に



第6図 NSC がオーニソガラムの新鮮重・吸水量に与える影響

対しては銀ナノ微粒子のポジティブな効果は得られなかった。これは、デルフィニウムにおいては、抗菌剤よりも抗エチレン剤であるSTSの方が効果が高いことを示唆している。

### (4) 銀ナノ微粒子をコーティングした花器に溶出した銀濃度の測定

銀ナノ微粒子をコーティングしたポリ容器中の銀濃度を経時的に測定した。その結果、1日目から14日目にかけて時間の経過とともに銀濃度が上昇することが判明した。測定された銀濃度は  $1.15 \sim 5.94 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  の範囲であり、これは、切り花を用いたこれまでの研究で処理されている銀ナノ微粒子の量と比較すると、かなり低い濃度であった。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文) (計 0 件)

(学会発表) (計4件)

後藤賢子・栗原正人・坂本正臣・池田和生・及川 彰・村山秀樹。銀ナノ微粒子および温度条件がケイオウザクラ切り枝の花の品質におよぼす影響。園芸学会(東京)。2013年3月

後藤賢子・神田啓臣・栗原正人・坂本正臣・村山秀樹。銀ナノ微粒子の抗菌性を利用したオーニソガラム切り花の品質保持に関する研究。園芸学会東北支部会(福島)。2012年8月

後藤賢子・栗原正人・坂本正臣・村山秀樹。銀ナノ微粒子の抗菌性を利用した切り花の品質保持に関する研究。園芸学会(岡山)。2011年9月

Hideki Murayama, Takako Goto, Masato Kurihara and Masatomi Sakamoto. Studies on vase life of woody ornamental cherry (*Prunus x subhirtella* cv. Keiou-zakua) using flower vessels coated with silver nanoparticles. 第2回国際温帯木本観賞植物シンポジウム(ベルギー)。2011年7月

(図書) (計 1 件)

村山秀樹。2013. 第1章 抗菌・抗ウイルス性能の試験方法と評価技術。第29節 銀ナノ粒子の抗菌効果とその応用の可能性。p.175-179. 抗菌・抗ウイルス材料の開発・評価と加工技術。技術情報協会。東京

(産業財産権)

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

(その他)

### 6. 研究組織

(1)研究代表者

村山 秀樹(MURAYAMA Hideki)

山形大学・農学部・教授

研究者番号:40230015