

## SPring-8 戦略活用プログラム課題利用報告書

実施課題番号：2005B0974

実施課題名：シンクロトン放射光 X 線屈折コントラスト法によるスジコナマダラメイガ卵の非破壊内部観察

使用ビームライン：BL19B2

実験期間：2005 年 12 月 7 日（02：00～10：00） 1 シフト（8 時間）

実験責任者所属機関および氏名：中尾敏彦（0017973） 株式会社 向井珍味堂

共同実験者：寺西正幸（00017931） 株式会社 向井珍味堂

### 1 緒言

穀物や野菜、果物、花卉類、さらには、加工された食用素材には種々の害虫が産卵し、繁殖することが知られている。この対策として、害虫を駆除するための防虫・くん蒸処理が行われている。

防虫・くん蒸処理の方法としては、化学薬品の利用、電磁波の利用、放射線の利用、温度制御による方法などに分類することができる(1)。

防虫・くん蒸処理に利用される化学薬品としては、臭化メチル、シアン化水素、リン化アルミニウム剤などがよく知られているが、最近、臭化メチルの代替としてホスフィンが重要視されている。また、木材害虫の防除に使用されてきたフッ化スルフリル(SOF<sub>2</sub>)が穀物害虫に応用され始めており、カルボニルスルフィド(COS)のコクゾウムシへの殺虫効果の検討がおこなわれ、新しい殺虫技術として二酸化炭素の応用も検討されているが、これらの化学薬品は人体に有害なものが多い。また、臭化メチルは、環境への悪影響も指摘されている。

電磁波の利用としては、マイクロ波や、高周波、赤外線などの応用が検討され、放射線としては、ガンマ線や電子線、エックス線などが検討されている。

化学薬品を使用する方法では、人体に有害なガスやオゾン層を破壊するガスなどが使用され、大掛かりな施設が必要であり、電磁波や放射線を利用する方法も大掛かりな設備や特殊な施設を必要とする。

一方、温度制御をする方法は、地球環境にやさしい方法であり、低温処理法や蒸熱処理、温湯処理などの方法が知られている。

たとえば、低温による害虫の制御法として、10℃にすることで、コクゾウムシやココクゾウムシの次世代の発生をおさえることが報告され、また、オーストラリアへのリンゴの輸出には、果実を最低 40 日間、1℃以下で低温処理を行い、つづいて臭化メチル処理も行われる(2)。また、タロッコ種スイートオレンジの生果実にチチュウカイミバエが寄生することが知られているが、このチチュウカイミバエを低温処理することで完全に殺虫する方法をイタリアが開発し実施していることが報告されている(2)。

弊社は、黄な粉、青海苔、唐辛子、ゴマなどの乾燥した食用素材を製造販売しているが、同時に、これらの食用素材へ付着する可能性のある害虫卵の孵化防止技術の研究開発を

行っている。試行錯誤の後、食品害虫であるスジコナマダラメイガの卵をある低温条件に保持することで、孵化防止できる技術を開発し、特許を取得している(3)。

この研究開発過程において、スジコナマダラメイガの卵が、低温処理条件下でどのような内部変化をしているかを、非破壊的に観察できれば、更なる効果的な害虫卵の孵化防止技術開発のための新たな知見が得られる可能性があり、本研究の課題申請を行った。

## 2 実験と結果

### (1) スジコナマダラメイガタマゴの低温保持

スジコナマダラメイガの卵群(およそ 30~50 個)(試料 A とする)を直径 9cm、深さ 1.5cm の透明プラスチックシャーレにいれ、 $-30^{\circ}\text{C}$  近傍に長時間(24 時間~144 時間)保持した。低温保持装置としては、市販の ON-OFF サーモスタット温度調整器を用い、上限マイナス  $30^{\circ}\text{C}$  で冷却器 ON、下限マイナス  $40^{\circ}\text{C}$  で OFF の設定とした。

この装置の温度管理プログラムは、図1に示すように制御されており、赤い線は装置内部温度を、緑の線はシャーレの内部温度を示している。図1に示されているように、プラスチックシャーレ内の温度はおよそ $-31^{\circ}\text{C}$ から $-36^{\circ}\text{C}$ の範囲に保持されている。

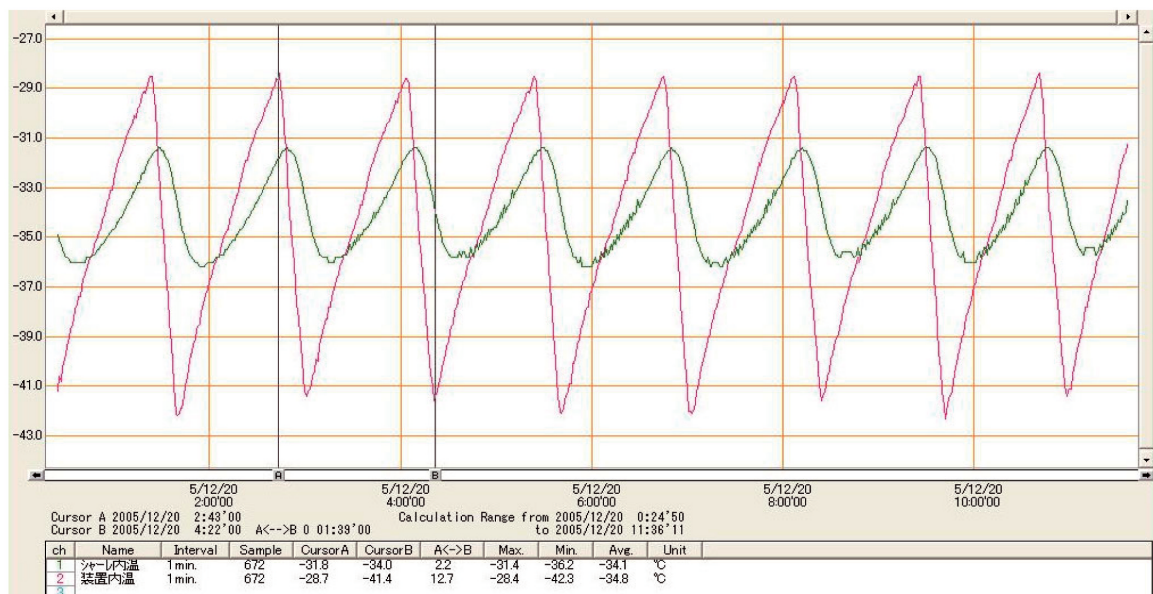


図1 サーモスタット温度調整器内の温度分布  
赤線：装置内温度、緑線：シャーレ内温度

また、同様に、スジコナマダラメイガの卵群(およそ 30~50 個)を透明プラスチックシャーレにいれ、室温に保持した対照試料を試料 B とした。

### (2) 実体顕微鏡観察

ニコン製実体顕微鏡 SMZ-U 型を用いて外観観察を行った。

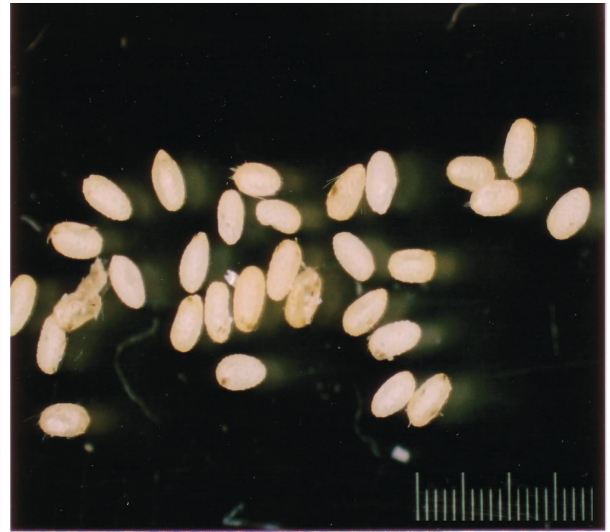
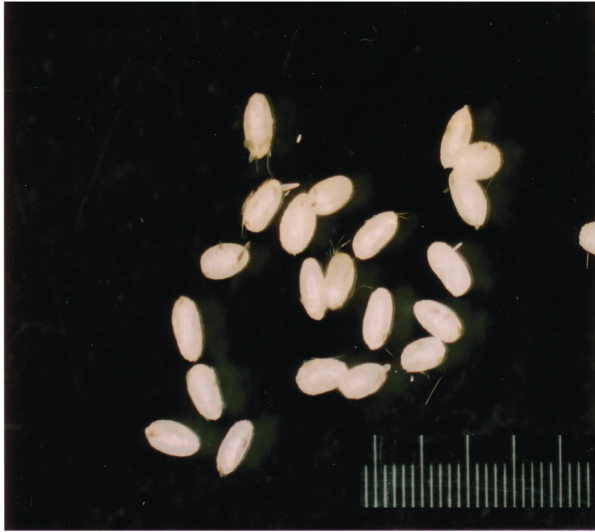


図2 低温保持した試料 A の外観                      図3 室温保持した試料 B の外観  
(各図のスケールは、1目盛 100 ミクロンである。)

スジコナマダラメイガ卵の代表的な状態を図 2(低温保持したもの)および図 3(室温保持したもの)に示す。上記図から明らかなように、スジコナマダラメイガの卵は、およそ 500 ミクロンから 600 ミクロンの大きさのラグビーボール状である。

さらに、倍率を上げて観察した状態を図 4 および図 5 に示す。

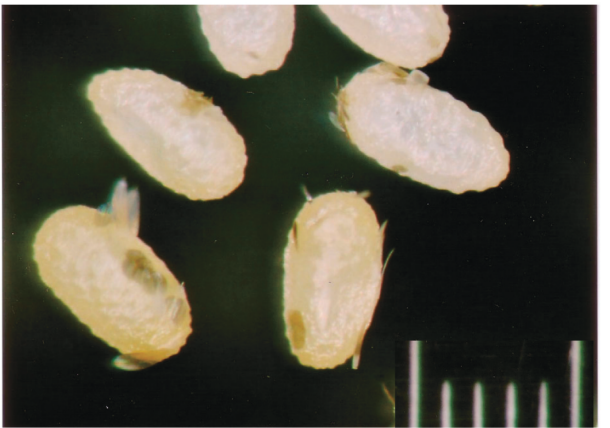
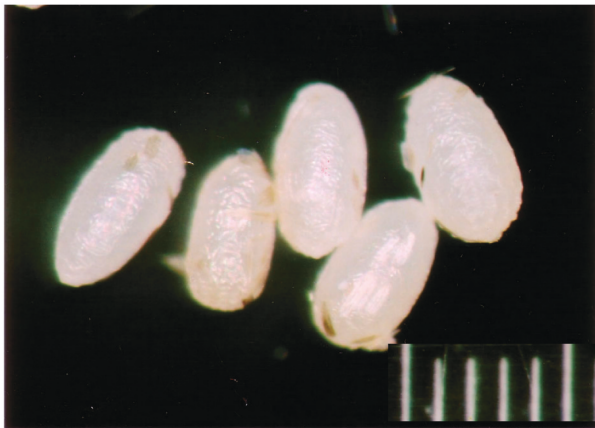


図4 低温保持した試料 A の拡大外観                      図5 室温保持した試料 B の拡大外観  
(各図のスケールは、1目盛 100 ミクロンである。)

上記の実体顕微鏡観察の結果、低温保持した卵と室温保持した卵について、外観的には顕著な違いは認められなかった。なお、卵の表面に共通して、模様らしい組織が認められた。

### (3) コンフォーカル顕微鏡観察

実体顕微鏡観察の結果、スジコナマダラメイガの卵の表面に、模様らしい組織の存在が認められたのでコンフォーカル顕微鏡によって拡大観察を行った。

使用したコンフォーカル顕微鏡は、レーザーテック社製オプテリクス C130 型である。



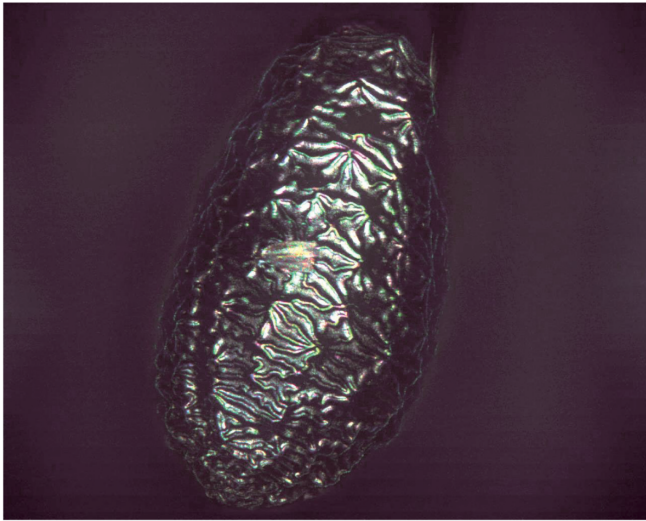


図 6 低温保持した試料 A-1 の  
コンフォーカル顕微鏡外観

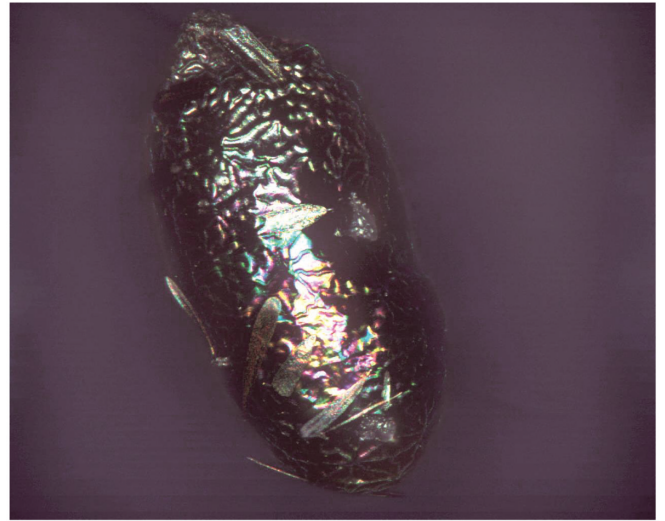


図 7 室温保持した試料 B-1 の  
コンフォーカル顕微鏡外観

さらに、図 7 の試料 B-1 の外観を拡大観察した結果を図 8 に示す。

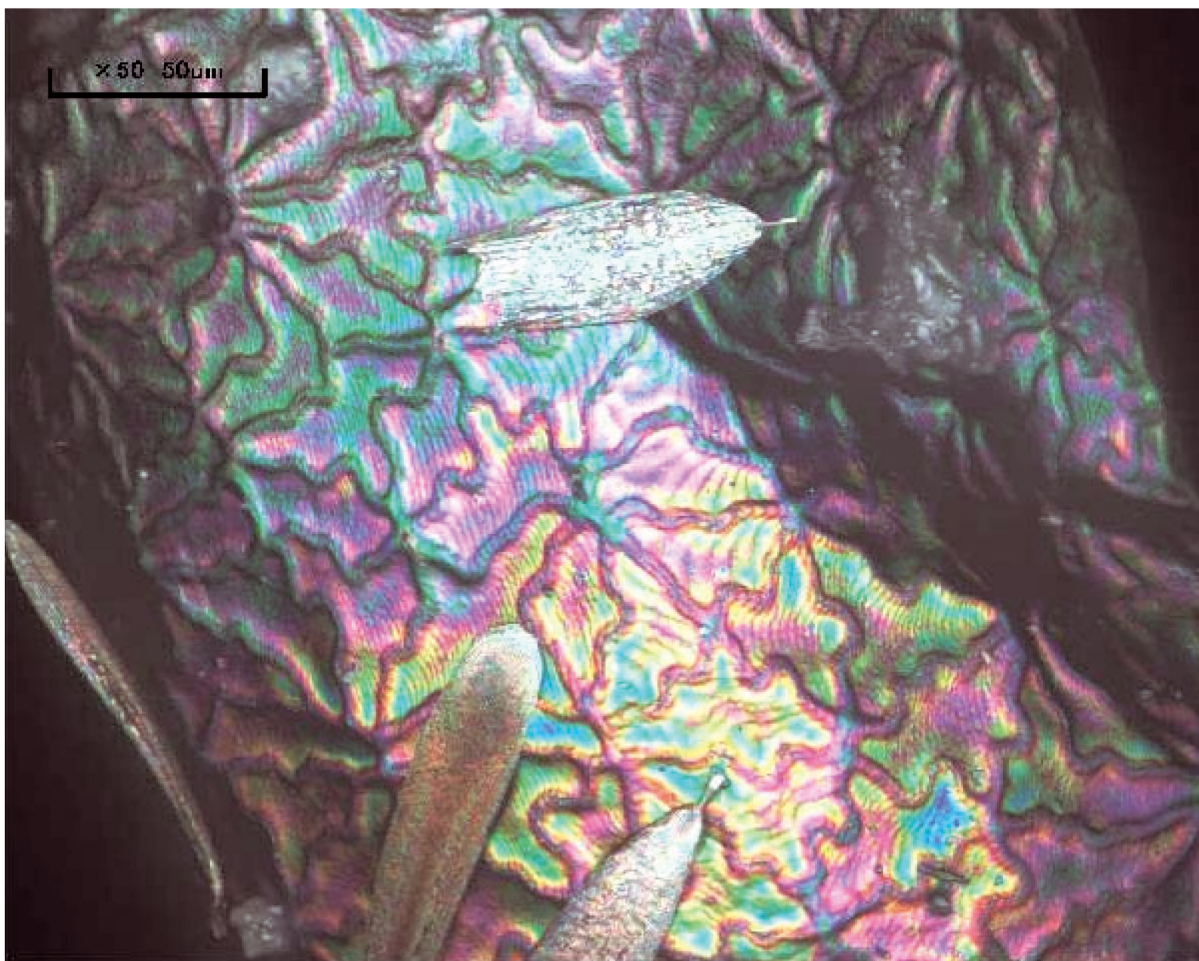


図 8 室温保持した試料 B-1 のコンフォーカル顕微鏡外観(図 7 の部分拡大)



上記図 8 に示されているように、コンフォーカル顕微鏡観察によって、スジコナマダラメイガ卵の表面に明瞭に、“うね”状の模様組織(高さおよそ5ミクロン)が認められた。なお、低温保持した場合と室温保持した場合で、この表面状態に顕著な違いは認められなかった。

#### (4) シンクロトロン放射光X線屈折コントラスト画像観察

使用ビームライン:BL19B2

X線エネルギー:10~15keV

試料:スジコナマダラメイガの卵

試料保持:スジコナマダラメイガの卵(低温保持したもの、および室温保持したもの)を、室温状態でマイラーX-ray film (No.100:厚さ2.5ミクロン)2枚を袋状にしたものに入れ、プラスチック枠に固定し、測定試料とした。

試料とX線ズーム管(高圧電圧:950V)との距離:40cm~230cm

露光時間:10秒~80秒

測定に使用した光学系を図9に示す。また、試料の保持状況を図10に示す。

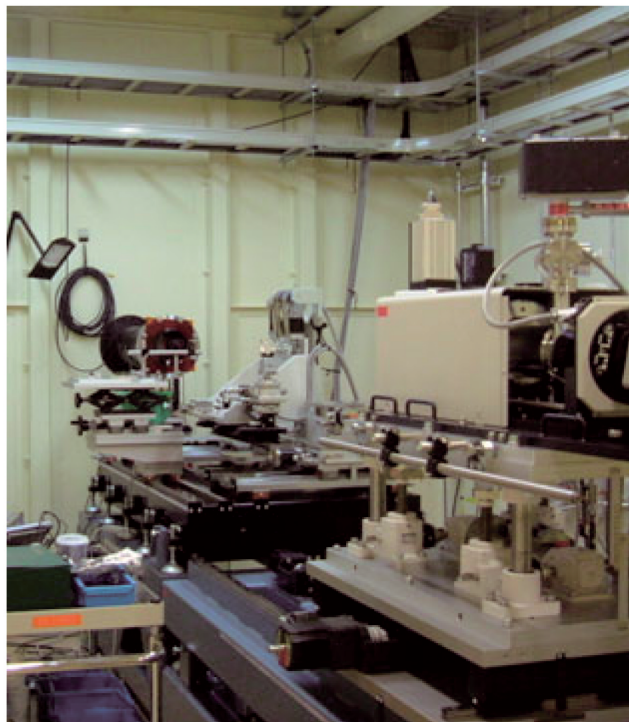


図9 測定に使用した光学系

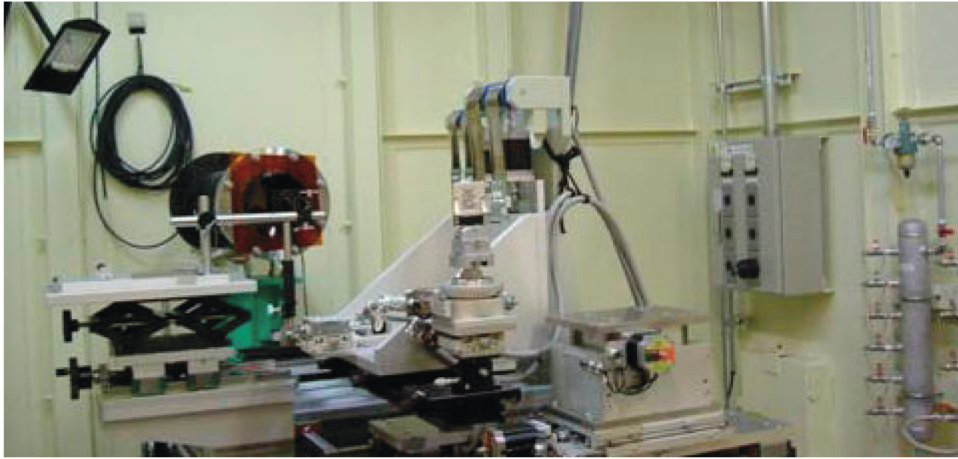


図 10 試料の保持状況

種々の測定条件でスジコナマダラメイガの卵のX線屈折コントラスト画像観察を検討した。その結果、比較的明瞭な画像が得られたものを以下の図 11 および図 12 に示す。

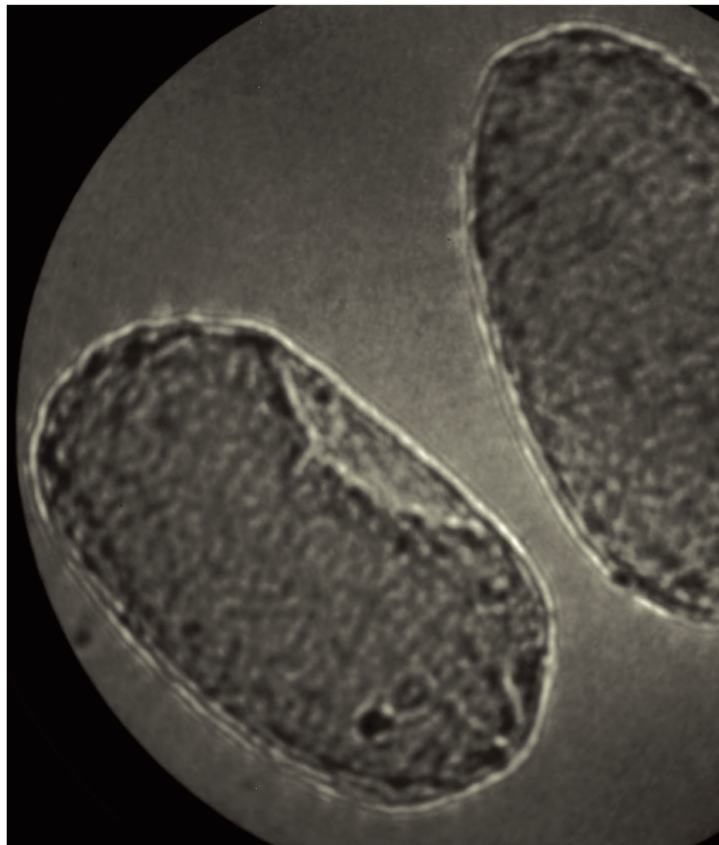


図 11 低温保持(-30℃~-36℃で 24 時間保持)した試料 A-2 のX線屈折コントラスト画像(測定条件:12keV、試料とズーム管距離 130cm、露光 80 秒、ズーム管倍率 30 倍)



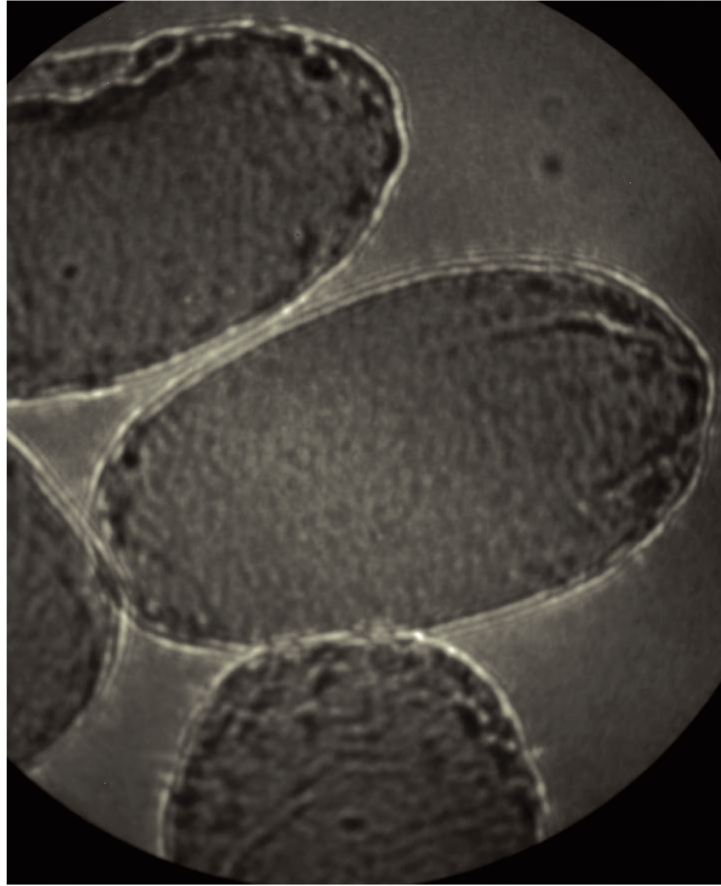


図 12 室温保持した試料 B-2 のX線屈折コントラスト画像  
(測定条件:12keV、試料とズーミング管距離 130cm、  
露光 80 秒、ズーミング管倍率 30 倍)

図 11 および図 12 を比較した結果、いずれのX線屈折コントラスト画像においても、表面の“うね”状模様によると考えられる画像以外に内部状態についての鮮明な画像が認められず、顕著な違いが認められなかった。

### 3 考察

上述の低温保持(-30℃~-36℃で 24 時間以上保持)した試料の卵は、孵化しないことを確認しており、室温保持した試料の卵は、孵化することを確認している。しかし、今回の、シンクロトン放射光X線屈折コントラスト画像観察では、両者の内部構造に関する明瞭な知見は得られなかった。そのため、両者の顕著な内部構造の違いについての考察にまで至らなかった。

参考として、低温保持した卵および室温保持した卵を、室温状態においてマイクロメスで内部を開き観察した結果、内部体液は流動状態を呈していた。

そこで、次の研究機会が与えられた場合には、低温で卵内部を固定した状態で屈折コントラスト画像を観察することで内部構造観察を試み、また、低温固定した状態でX線 CT 画像

観察を試みることを考えている。

〔謝辞〕

本研究にあたり、財団法人高輝度光科学研究センター、二宮利男氏、梶原堅太郎氏に多くの指導、助言を得たことに深く感謝します。また、コンフォーカル顕微鏡使用の便宜をはかっていただいたレーザーテック株式会社西日本営業所長井上英文氏に深謝します。

〔参考文献〕

- 1) 輸入農産物の防虫・くん蒸ハンドブック：サイエンスフォーラム、1995年9月刊
- 2) 平成16年度 農林水産物貿易円滑化推進事業 貿易情報海外調査報告書 ―オーストラリア編― 食品別輸入関連規制・流通事情（2005年3月）日本貿易振興機構
- 3) 特許第3560242号， 発明の名称：貯蔵農作物や食品材料中に混入している食品害虫の低温殺虫方法。登録日：平成16年6月4日。