(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年6月23日(23.06.2022)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2022/130975 A1

(51) 国際特許分類:
A01P 21/00 (2006.01) *A01C 1/00* (2006.01)
A01N 25/02 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2021/044039

(22) 国際出願日： 2021年12月1日(01.12.2021)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2020-210528 2020年12月18日(18.12.2020) JP

(71) 出願人: 兵庫県公立大学法人(**UNIVERSITY OF HYOGO**) [JP/JP]; 〒6512197 兵庫県神戸市西区学園西町８－２－１ Hyogo (JP). 株式会社大日製作所(**KABUSHIKI KAISHA DAINICHI SEISAKUSHO**) [JP/JP]; 〒6760815 兵庫県高砂市阿弥陀１丁目１３番１２号 Hyogo (JP).

(72) 発明者: 岡 好浩 (**OKA Yoshihiro**); 〒6512197 兵庫県神戸市西区学園西町８－２－１ 兵庫県立大学内 Hyogo (JP). 橋本 智裕 (**HASHIMOTO Tomohiro**); 〒6760815 兵庫県高砂市阿弥陀１丁目１３番１２号 株式会社大日製作所内 Hyogo (JP).

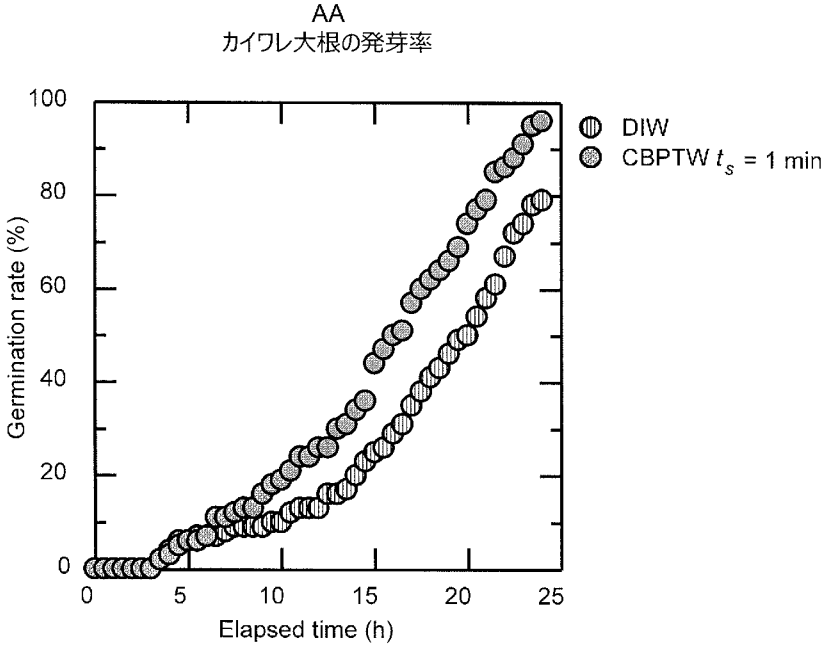
(74) 代理人: 沖中 仁, 外 (**OKINAKA Jin** et al.); 〒5500001 大阪府大阪市西区土佐堀１丁目５番１１号ＫＤＸ土佐堀ビル１０階 Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,

(54) **Title:** LIQUID FOR PROMOTING SEED GERMINATION AND METHOD FOR PROMOTING SEED GERMINATION USING SAME

(54) 発明の名称： 種子の発芽促進用液体及びそれを用いた種子の発芽促進方法

［図6］



AA... GERMINATION RATE OF RADISH SPROUTS

(57) **Abstract:** The purpose of the present invention is to provide a liquid for promoting seed germination, said liquid being widely usable for promoting seed germination without any restrictions on application methods or application targets, and a method for promoting seed germination using the liquid. For this purpose, seeds are moistened in a static state using water that contains active oxygen species and a nanoparticle catalyst.

(57) 要約：適用方法や適用対象に制約がなく、種子の発芽促進の用途に広く利用できる種子の発芽促進用液体及びそれを用いた種子の発芽促進方法を提供するため、静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水を用いて、種子を湿潤させるようにする。

［続葉有］

WO 2022/130975 A1

CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一　国際調査報告（条約第21条(3)）

明　細　書

発明の名称 ：

種子の発芽促進用液体及びそれを用いた種子の発芽促進方法

技術分野

[0001]　本発明は、種子の発芽促進用液体及びそれを用いた種子の発芽促進方法に関するものである。

背景技術

[0002]　従来、種子の発芽を促進するために、各種薬剤を用いて種子を処理したり、種子に物理的処理を施したりすることが提案されている（例えば、特許文献１－２参照。）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特表２０２０－５０６９５２号公報

特許文献2：特開２０１２－１３５２２６号公報

特許文献3：特開２０１１－４１９１４号公報

特許文献4：特開２０１５－３２９７号公報

特許文献5：特開２０１７－１７６２０１号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004]　ところで、上記特許文献１に記載の発芽促進剤は、特定の化合物を使用するものであり、また、特許文献２に記載の発芽促進方法は、種子の表面を研削するものであることから、適用方法や適用対象に制約があるという問題があった。

[0005]　本発明は、上記従来の種子の発芽を促進するための発芽促進剤や発芽促進方法が有する問題点に鑑み、適用方法や適用対象に制約がなく、種子の発芽促進の用途に広く利用できる種子の発芽促進用液体及びそれを用いた種子の発芽促進方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] 上記目的を達成するため、本発明の種子の発芽促進用液体は、静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒（ナノ粒子が凝集して２次粒子になっているものを含む。以下、本明細書において同じ。）を含有する水からなることを特徴とする。

[0007] また、上記種子の発芽促進用液体を用いる本発明の種子の発芽促進方法は、静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水を用いて、種子を湿潤させることを特徴とする。

ここで、種子を湿潤させる方法としては、静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水に、種子を浸す方法や、静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水を、種子に噴霧したり、散布したりする方法を含む。

[0008] この場合、前記静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水を、有機物（ただし、種子を除く。）に触れない環境下で使用することが好ましい。

このため、具体的には、以下の事項が推奨される。

・静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水を生成するための原料となる水として、イオン交換水等の精製水を用いる。

・静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水を、生成したり、貯蔵したりするために使用する器機や器具、栽培過程で使用する器機や器具には、ガラス製や金属製等の有機物でないものを、例えば、中性洗剤で洗浄後イオン交換水で複数回濯ぐ、次亜塩素酸ナトリウム水溶液で洗浄後イオン交換水で複数回濯ぐ等の方法で洗浄することによって有機物が残存しない状態で使用する。

これにより、有機物によって、活性酸素種の消滅を抑制し、種子の発芽促進効果が失われることを防止することができる。

発明の効果

[0009] 本発明の種子の発芽促進用液体及びそれを用いた種子の発芽促進方法によ

れば、発芽促進用液体に含有される種子の発芽促進作用を発揮すると考えられる成分である活性酸素種が、原料の水を処理することで生成することができ、その後、最終的に水に戻ることから、安心、安全なものであり、適用方法や適用対象に制約がなく、種子の発芽促進の用途に広く利用することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]本発明の種子の発芽促進用液体の生成に適用する発芽促進用液体の生成装置の一例を示す概念図である。

[図2]活性酸素種を含む各種物質の酸化電位及び結合エネルギを示す図である。

[図3]電極の材質ごとの処理時間とｐＨ、導電率、過酸化水素の濃度及び電極消耗量との関係を示す図である。

[図4]種子の発芽試験及び成長試験の手順を示すフロー図である。

[図5]過酸化水素の濃度の変化（ＣＢＰ処理水生成後の経過時間と過酸化水素の濃度との関係）を示す図である。

[図6]発芽率（経過時間と発芽率との関係）を示す図である。

[図7]発芽率（経過時間と発芽率との関係）を示す図である。

[図8]発芽率（経過時間と発芽率との関係）を示す図である。

[図9]発芽率（経過時間と発芽率との関係）を示す図である。

[図10]苗の成長度合い（経過時間と茎の長さ及び太さとの関係）を示す図である。

[図11]苗の成長度合い（葉の面積と乾燥重量）を示す図である。

[図12]苗の成長度合い（根の長さと乾燥重量）を示す図である。

[図13]発芽率（経過時間と発芽率との関係）を示す図である。

[図14]発芽率（処理時間と発芽率との関係）を示す図である。

[図15]発芽率（処理時間と発芽率との関係）を示す図である。

[図16]発芽率（処理時間と発芽率との関係）を示す図である。

[図17]苗の成長度合い（処理時間と葉の面積との関係）を示す図である。

発明を実施するための形態

[0011] 以下、本発明の種子の発芽促進用液体及びそれを用いた種子の発芽促進方法の実施の形態を説明する。

[0012] 本発明の種子の発芽促進用液体は、静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水からなるものであり、この種子の発芽促進用液体は、導電率が２０００μＳ／ｃｍ以下の水を流動させながら、水にキャビテーションを起こさせ、それによって発生する水蒸気を主成分とする気泡を含む水中で、電極間にパルス電圧を印加するようにしたプラズマ発生機構によりプラズマを発生させることによって生成することができる。

[0013] 種子の発芽促進用液体の生成装置としては、従来公知の装置、すなわち、水にキャビテーションを起こさせ、それによって発生する水蒸気を主成分とする気泡を含む水中で、電極間にパルス電圧を印加するようにしたプラズマ発生機構によりプラズマを発生させる機構、より具体的には、先行技術文献の欄に記載した特許文献３－４に記載された、ノズル、障害物等によって流路断面積を変化させて水にキャビテーションを起こさせるキャビテーション発生機構とプラズマ発生機構とを組み合わせた装置、同特許文献５に記載された、回転翼を回転させることによって水にキャビテーションを起こさせるキャビテーション発生機構とプラズマ発生機構とを組み合わせた装置等を用いることができる。

[0014] ここでは、種子の発芽促進用液体の生成装置として、回転翼を回転させることによって水にキャビテーションを起こさせるキャビテーション発生機構とプラズマ発生機構とを組み合わせた装置を用いた例について、以下説明する。

[0015] この種子の発芽促進用液体の生成装置は、図１に示すように、水を貯留するタンク１と、キャビテーション発生機構としてのタンク１から供給された水を撹拌する撹拌装置２と、撹拌装置２によってキャビテーションを起こさせ、それによって発生する水蒸気を主成分とする気泡（キャビテーション気泡）を含む水中で、プラズマを発生させるプラズマ発生機構３と、これらの

機構を接続して水を循環させる管路４とを備えて構成されている。

ここで、水を循環させることは必須ではなく、例えば、プラズマ発生機構を複数設けたり、電極対を複数組設置したりすることによって、より処理効率を高めることができれば、１パス処理でもよい。

[0016] ここで、撹拌装置２は、ケーシング２１の内部に同心状で回転可能に設けられたロータ２２と、ロータ２２を回転駆動するモータ２３等を備えて構成されている。

[0017] また、プラズマ発生機構３は、導体からなる電極３１と、電極３１間に、例えば、放電開始電圧以上の電圧、パルス幅１．５μｓ以下、繰り返し周波数１００ｋＨｚ以上のパルス電圧を印加するパルス電源３２等を備えて構成され、絶縁性の気泡領域で、パルス電圧による高電圧絶縁破壊放電により気化物が電離（プラズマ化）して液中プラズマ（キャビテーションプラズマ。本明細書において、「ＣＢＰ（Cavitation bubble plasma）」という場合がある。）を発生させるものである。

パルス電圧によって生起される放電形態は、グロー放電であることが好ましく、電極３１の消耗成分に起因する金属や金属酸化物、液中プラズマによって生成される水に含まれる不純物に起因する硫化物、塩化物等の無機化合物等からなる、結晶、準結晶、アモルファス等の形態のナノ粒子触媒の合成を、低温で、かつ、エネルギ効率よく行うことができる。すなわち、ナノ粒子触媒は、電極３１の成分のナノ粒子であり、電極が金属の場合、ナノ粒子ができた瞬間は金属ナノ粒子となり、金属の種類によって、そのナノ粒子が酸化されたり、水に塩素や硫黄が含まれているとナノ粒子が塩化されたり硫化されたりする（不純物に含まれる物質によってその物質との化合物になる場合がある。）。

ここで、プラズマ発生機構３内の電極３１付近の水の流速は約１０ｍ／ｓであり、５ｍ／ｓ以上が望ましい。

電極３１は、水の流れに対して垂直方向に、対向させて配置することが好ましいが、プラズマが生成できる限りにおいて、ハの字等の配置形態を採用

することができる。

電極３１の材料には、タングステン、銅、鉄、銀、金、白金のほか、アルミニウム、スカンジウム、チタン、バナジウム、クロム、マンガン、コバルト、ニッケル、亜鉛、ガリウム、ゲルマニウム、イットリウム、ジルコニウム、モリブデン、テクネチウム、ルテニウム、ロジウム、パラジウム、カドミウム、インジウム、錫、アンチモン、ランタノイド、ハフニウム、タンタル、レニウム、オスミウム、イリジウム、タリウム、ビスマス、ボロニウム等の金属、カーボン、導電性ダイヤモンド、それらの合金や複合材料（メッキやドライコーティング等の手法で薄膜で被覆したものを含む。）や酸化物（電極３１の表面が水と反応したものを含む。）等の導体材料を、用途に応じて、任意に選択することができる。対向させて配置する電極３１で、金と銀など、用いる材料や電極サイズを異ならせることもできる。

電極３１の形状は、円柱のほか、角柱、楕円柱、円錐、角錘であってもよい。電極３１は、１対あれば問題ないが、より処理効率を上げるために２対以上設置してもよい。また、プラズマ発生機構は１セットあれば問題ないが、より処理効率を上げるために２セット以上設置してもよい。

電極３１の片側は接地してもよいし、接地しなくてもよい。接地しない方が放電路は電極間に限定されるため、安全である。

また、必要に応じて、種子の発芽促進用液体の生成装置に設けた冷却手段、例えば、撹拌装置２に設けたジャケット冷却手段（図示省略）を稼働することによって、水を５０℃以下で処理するようにすることができる。

[0018] そして、このようにして液中プラズマによって生成された水には、ナノ粒子触媒に加えて、活性酸素種としての過酸化水素等が、種子の発芽促進用液体の生成装置の稼働を停止した静置状態でも安定して存在することで、その作用により、種子の発芽促進用液体として利用することができる。

そして、この種子の発芽促進用液体は、種子の発芽促進用液体中に存在する長寿命の活性酸素種（スーパーオキシドアニオンラジカル（・O_2^-）、ヒドロペルオキシラジカル（ＨＯＯ・）、過酸化水素（H_2O_2））による殺菌

作用に加えて、発芽促進用液体中に存在する過酸化水素（H_2O_2）が、発芽促進用液体中に存在するナノ粒子触媒の触媒作用によって、活性酸素種の中で最も酸化力の高いヒドロキシルラジカル（・ＯＨ）等の活性酸素種を持続的に生成させることにより、より増強され、種子の発芽促進効果が長期間持続するものとなる。

このため、種子の発芽促進用液体は、種子の発芽促進用液体中に存在する過酸化水素及びナノ粒子触媒の量が重要であり、本発明によって、原料は水だけで簡単、高速、かつ、大量に同時に生成することができる。

[0019] 図２に、活性酸素種を含む各種物質の酸化電位及び結合エネルギを示す。

図２からも明らかなように、ヒドロキシルラジカル（・ＯＨ）等の活性酸素種は、種子の発芽促進効果に加えて、有機物（微生物（ウイルス、細菌、真菌、原虫）等を含む。）の大きな分解（殺菌）作用を有するため、併せて、種子の消毒効果も期待できる。

実施例

[0020] 次に、種子の発芽促進用液体の生成装置（具体的には、日本スピンドル製造社製「キャビテーションプラズマ装置」。）を使用して行った試験について説明する。

[0021] ［種子の発芽促進用液体の生成装置の処理条件について］

表１に、種子の発芽促進用液体の生成装置の処理条件（好ましい範囲）を、図３に、電極の材質ごとの処理時間とｐＨ、導電率、過酸化水素の濃度及び電極消耗量との関係を、それぞれ示す。

[0022]

[表1]

CBP処理条件の好ましい範囲

溶液	種類	イオン交換水
	質量	250 g
	初期pH(中性がよい)	5-9
	初期導電率(低い方がよい)	0.01-2000 μS/cm
	初期水温	15-30 ℃
	初期COD(低い方がよい)	0.01-2000 ppm
撹拌装置	回転数(高い方がよい)	2400-10800 rpm
電源	印加電圧(10kV程度がよい)	± 1-20 kV
	パルス幅(1.0μs程度がよい)	0.5-2.0 μs
	繰り返し周波数(高い方がよい)	0.1-500 kHz
電極	材質(水中で安定な導電体)	W、Ag、Cu、Fe、合金‥
	直径(2mm程度がよい)	0.2-10 mm
	ギャップ長(1-2mmがよい)	0.2-10 mm
処理時間t_p(5minがよい)		0.1-60 min

[0023] ここで、表１及び図３において、以下のことがいえる。

・初期（「プラズマ処理前」を意味する。他の項目も同じ。）の導電率は低い方がプラズマ生成率（印加したパルス数に対するプラズマが生成したパルス数の割合。）が高くなり、効率よく種子の発芽促進用液体を生成することができる。

・初期ＣＯＤが高いと、生成される活性酸素種が消費されてしまい好ましくない。

・初期導電率、初期ｐＨ、初期ＣＯＤが好ましい範囲内であれば、他の混雑物は影響しない。このため、処理原料となる水としては、イオン交換水（本明細書において、「ＤＩＷ」という場合がある。）等の精製水を用いることが好ましいが、これに限定されるものではない。

・撹拌装置の回転数は高い方がキャビテーション気泡が増えるので、プラズマ生成率が高くなり、効率よく種子の発芽促進用液体を生成することができ

る。

・印加電圧は低すぎるとプラズマが点灯せず、高くなるとプラズマ生成率が高くなるが、高すぎると好ましいグロー放電からアーク放電に移行してしまい好ましくない。

・パルス幅は短すぎるとプラズマが点灯せず、長くなるとプラズマ生成率が高くなるが、長すぎるとアーク放電に移行してしまい好ましくない。

・繰り返し周波数は高いほどプラズマ生成率が高くなり、安定してプラズマが生成できる。

・パルス電圧の極性は、両極性でも正極性でも負極性でもよい。

・電極材質は、水中で安定な導体であればよい。金属でも合金でもカーボンでもよい。

・種子の発芽促進用液体に不純物として電極成分等のナノ粒子触媒が混入するため、使用方法によって材料を選ぶ必要が生じる場合がある。

・電極直径は細すぎると電界が集中してプラズマが点灯しやすいが、アーク放電に移行しやすくなり、太すぎるとプラズマが点灯しにくくなる。

・電極のギャップ長は短すぎるとアーク放電に移行しやすくなる、長すぎるとプラズマが点灯しにくくなる。

・処理時間は短すぎると生成される活性酸素種及びナノ粒子触媒が少なくなり、長すぎると生成される活性酸素種及びナノ粒子触媒によって導電率が高くなり、プラズマ生成率が低下する。処理時間は、通常は、２－１０分程度、好ましくは、３－８分程度、より好ましくは、５分程度である。ここで、種子の発芽促進用液体の生成装置は、撹拌装置の回転数が７２００ｒｐｍの場合、１秒間に２５０ｍＬの水が装置内を１回循環するようにされている。

[0024] ［種子の発芽試験（１）］（表２－表４及び図４－図５参照。）

次に、以下の試験方法で、モデルとしてカイワレ大根の種子を用いた発芽試験を行った。

（１）種子及び前処理（後述の種子の発芽試験（２）及び（３）も同じ。）

カイワレ大根の種子を使用し、種子が細菌に汚染されている場合、種子の

発芽や成長に影響を与える可能性があるため、種子を殺菌した。種子の殺菌は独立行政法人林木育種センターのマニュアルに従った。供試植物としてカイワレ大根の種子（中原採種場、発芽率８５％）を使用した。種子１００個を１．０％の次亜塩素酸ナトリウム水溶液１００ｍＬで５分間浸透滅菌し、イオン交換水で５回洗浄した。その後、乾燥室（ＤＫＭ３００、Ｙａｍａｔｏ）内にて４０℃で１７時間乾燥させた。実験で使用するビーカーやシャーレ等は、有機物が残存しない状態にして使用するために、水道水で洗浄し次亜塩素酸ナトリウム水溶液２００ｐｐｍに１５分間浸漬させた。その後、水道水に２分間浸漬させ、チオ硫酸ナトリウム水溶液２０ｐｐｍに２分間浸漬し、乾燥室（ＤＫＭ３００、Ｙａｍａｔｏ）にて４０℃で乾燥させた。また、殺菌試験後にパックテスト（ＷＡＫ－ＣｌＯ・ＤＰ、ｋｙｏｒｉｔｓｕ Ｃｈｅｍｉｃａ－Ｃｈｅａｋ　Ｌａｂ）を用いて種子や器具の残留塩素が０．１ｐｐｍ未満となることを確認した。

（２）発芽条件

種子を発芽用液体（水）に、種子が空気に触れるよう約半分ほど１日間浸漬した後、その時点の発芽率を測定した。

（３）種子の発芽促進用液体の生成装置の操作

種子の発芽促進用液体の生成装置に精製水（イオン交換水）２６０ｍＬを投入し、表３に示す処理条件で種子の発芽促進用液体の生成装置を作動時間t_p＝５分間作動させたものを試料水とした。試料水を滅菌合成樹脂製容器に採水し、所定時間t_S放置した。所定時間放置後（種子を浸漬させるまでの経過時間t_S＝１ｍｉｎ－４ｗｅｅｋｓ）の試料水４ｍＬをガラス製のビーカー（φ４２ｍｍ、高さ５０ｍｍ）に採取し、その中に種子を浸漬した。

なお、対照として精製水（イオン交換水）４ｍＬをガラス製のビーカーに採取し、その中に種子を浸漬した。

[0025]

[表2]

発芽条件

苗床	容器	ビーカー	
	サイズ	φ42 mm×50 mm	
	材質	ガラス	
環境	温度	25±2 °C	
	湿度	30±5 %	
給水方法	種類	脱イオン水 (DIW)	CBP処理水 (CBPTW)
	保管時間 t_s	—	1 min
	量	4 mL	
試料	個数	20個×5回（100個）	

[0026]

[表3]

CBP処理水作製条件

溶液	種類	脱イオン水
	質量	260 g
	初期pH	6
	初期導電率	2 μS/cm以下
	初期水温	30 °C
分散装置	回転数	7200 rpm
電源	印加電圧	10 kV
	パルス幅	1.0 μs
	繰り返し周波数	200 kHz
	極性	両極性
電極	材質	W
	直径	φ2.0 mm
	ギャップ長	1.0 mm
処理時間 t_p		5 min

[0027] [表4]

水質調査結果

	DIW	CBPTW
pH	5.6	4.0
導電率(μS/cm)	1.9	91
過酸化水素濃度(ppm)	< 1	1455

[0028] 図６及び図７に示す、種子の発芽試験の試験結果（ＣＢＰ処理水及びＣＢＰ処理後の経過時間と発芽率との関係）から、以下のことが分かった。

・精製水（イオン交換水）（ＤＩＷ）と比較して、ＣＢＰ処理水（ＣＢＰＴＷ）は、発芽率（発芽促進率）が最大２０％向上する。

・使用するＣＢＰ処理水の放置時間t_s（ＣＢＰ処理水を生成してからの経過時間）が長くなる程、発芽率（発芽促進率）が低下し、ＣＢＰ処理水の効果が失われていく。図７に示す試験結果では、４週間で効果がほぼ失われるため、それより早く（できるだけ早く）使用することが望ましいことが分かる。

このことから、水に含まれる活性酸素種の量が発芽率（発芽促進率）に影響している（ＣＢＰ処理水の放置時間が長くなる程、活性酸素種の量が減少する。）と推定できる。

なお、このことは、図８に示す、種子を浸漬する発芽用液体（水）として、精製水（イオン交換水）のほか、過酸化水素水を用いた比較試験の結果からも推認できる。

[0029] さらに、種子の発芽促進用液体の生成装置に使用する電極の材質を変えた試験から、表５及び図９に示すように、種子の発芽促進用液体の生成装置に使用する電極の材質が、発芽率（発芽促進率）に若干影響することが分かった。

[0030] [表5]

水質調査結果

電極の材質	W	Cu
pH	4.0	5.7
導電率 (μS/cm)	91	8.3
過酸化水素濃度(ppm)	1455	1560

[0031] ［成長試験］（表６参照。）

次に、以下の手順で、成長試験を行った。

種子の発芽試験で発芽した苗を、培地に定植し、その間の茎の長さ及び太さを測定し、３日後に採取し、根の長さ及び葉の面積を測定し、乾燥し、７日後に乾燥重量を測定した。

ここで、培地は、ロックウール（ＪＡＮ１３００３１、大和プラスチック）（３０ｍｍ×３０ｍｍ×３０ｍｍ）に電動ドリルで径３ｍｍ、深さ５ｍｍで対角線を四等分し等間隔に５つの穴をあけた。その後、穴をあけたロックウール４つをガラスシャーレに設置したものを培地とした。そして、発芽率を２４時間測定した後、シャーレに置いた４つのロックウールのそれぞれの穴に１粒ずつ種子を定植した。定植後、イオン交換水１００ｍＬをシャーレに入れロックウールに十分給水させた後、シャーレの底から高さ１０ｍｍになるまでイオン交換水を入れ、暗室に放置した。そして１日間隔で成長の様子を撮影し、イオン交換水をシャーレの底から高さ１０ｍｍに調整した。また、カイワレ大根同士が接触すると成長の妨げとなるため３日目からはＬＥＤプランター（ｇｒｅｅｎｔｅｒｉａ、Ｄｅａｇｏｓｔｉｎｉ）でカイワレ大根にＬＥＤ光を１２時間当て茎を垂直に伸ばすようにした。

[0032]

[表6]

成長条件

容器	種類	シャーレ
	サイズ	Φ90 mm×20 mm
	材質	ガラス
苗床	種類	ロックウール
	サイズ	3 cm×3 cm×3 cm
環境	温度	25±2 ℃
	湿度	35±5 %
給水方法	種類	脱イオン水(DIW)
	量	65 mL
	間隔	24 h
試行回数		20個×5回(100個)

[0033] 図１０－図１２に示す、成長試験の試験結果から、以下のことが分かった。

・精製水（イオン交換水）と比較して、ＣＢＰ処理水は、成長試験においても、発芽率（発芽促進率）の良好な結果を引き継いで、苗が良好に成長することを確認した。

[0034] ［種子の発芽試験（２）］（表２－表４及び図４参照。）

次に、以下の試験方法で、異なる発芽環境下での発芽試験を行った。

具体的には、（１）種子に溶液を噴霧させる方法と、（２）種子を溶液に浸漬させる方法の２通りの方法で発芽試験を行った。

[0035] （１）種子に溶液を噴霧させる方法（表７参照。）

キッチンペーパー（スーパーグリッドエンボス、エリエール）（２２ｃｍ×２２．５ｃｍ）を二つ折りにし、四隅を４ｃｍ山折りにしてキッチンペーパーの厚さを均一にし、ガラスシャーレ（φ９０ｍｍ、高さ２０ｍｍ）の中

に入れたものを苗床とした。

苗床に縦５個、横４個で等間隔に２０個の種子を並べた。

イオン交換水及び表３の条件で処理したＣＢＰ処理水（経過時間t_s＝１ｍｉｎ）を霧吹きで６ｍＬ種子に噴霧しシャーレに蓋をした。なお、ＣＢＰ処理水は、作製後、装置からビーカーに移し、その後霧吹きに入れた。カイワレ大根の種子は暗発芽種子であるため苗床は２５（±２）℃、湿度３０（±５）％の暗室に１日間設置し、各条件下における発芽率を３０分間隔でインターバル撮影のアプリ（ＨＤ　Ｃａｍｅｒａ　Ｌｉｔｅ）を用いて測定した。試料の個数は１つの苗床に種子２０個とし、苗床を５個用意することで計１００個とした。

[0036] [表7]

発芽条件

苗床	容器	シャーレ	
	サイズ	Φ90 mm×20 mm	
	材質	ガラス	
環境	温度	25±2 °C	
	湿度	-	
給水方法	種類	脱イオン水 (DIW)	CBP処理水 (CBPTW)
	保管時間 t_s	—	1 min
	量	6 mL	
試料	個数	20個×5回（100個）	

[0037] （２）種子を溶液に浸漬させる方法（種子の発芽試験（１）と同じ）

ガラスビーカー（φ４２ｍｍ、高さ５０ｍｍ）に種子２０個入れイオン交

換水、表３の条件で処理したＣＢＰ処理水（種子を浸漬させるまでの経過時間t_S＝１ｍｉｎ－４ｗｅｅｋｓ）を４ｍＬ霧吹きで種子に振りかけ、種子が空気に触れるよう約半分ほど浸漬させた状態で同様に発芽率を測定した。

[0038] 図１３（（１）種子に溶液を噴霧させる方法）と、図６及び図７（（２）種子を溶液に浸漬させる方法と同じ）に示す、種子の発芽試験の試験結果（ＣＢＰ処理水と発芽率との関係）から、以下のことが分かった。

・（２）種子を溶液に浸漬させる方法と異なり、（１）のシャーレにキッチンペーパーを敷き、種子に溶液を噴霧させる方法では、ＣＢＰ処理水は、精製水（イオン交換水）と有意差がなく、種子の発芽促進効果がないことを確認した。これは、キッチンペーパーには有機物（材質そのもの＋結着剤）が含まれており、その有機物によってＣＢＰ処理水が有する種子の発芽促進効果が早期に失われたものと考えられる。また、このことから、ＣＢＰ処理水が有する種子の発芽促進効果を発揮させるためには、有機物がない環境で使用することが重要であり、具体的には、ＣＢＰ処理水が接触する、ＣＢＰ処理水の生成過程や貯蔵過程で使用する器機や器具、栽培過程で使用する器機や器具には、ガラス製や金属製等の有機物でないものを、次亜塩素酸ナトリウム水溶液等の洗浄液を用いて洗浄することによって有機物が残存しない状態で使用することが重要であることが分かる。

[0039] ［種子の発芽試験（３）］（表８－表９及び図１４－図１７参照。）

次に、以下の試験方法で、モデルとしてカイワレ大根の種子を用いた発芽試験を行った。

（１）発芽条件

種子を発芽用液体（水）に、種子が空気に触れるよう約半分ほど１日間浸漬した後、その時点の発芽率を測定した。

（２）種子の発芽促進用液体の生成装置の操作

種子の発芽促進用液体の生成装置に精製水（イオン交換水）２６０ｍＬを投入し、表９に示す処理条件で種子の発芽促進用液体の生成装置を作動時間t_p＝１－３０分間作動させたものを試料水とした。試料水を滅菌合成樹脂製

容器に採水し、所定時間ｔ$_S$放置した。所定時間放置後（種子を浸漬させるまでの経過時間ｔ$_S$＝１ｍｉｎ）の試料水１５ｍＬをガラス製のシャーレ（φ９２ｍｍ、高さ１５ｍｍ）に採取し、その中に種子を浸漬した。

[0040] [表8]

CBPTW作製条件

溶媒	種類	イオン交換水
	質量	260 g
	初期pH	6
	初期導電率	1 μS/cm
	初期水温	30 °C
分散装置	回転数	7200 rpm
電源	電圧波高値	10 kV
	パルス幅	1.0 μs
	繰り返し周波数	200 kHz
	極性	両極性
電極	材質	W
	直径	2.0 mm
	ギャップ長	1.0 mm
処理時間 t_p		1 - 30 min

[0041]

[表9]

発芽条件

容器	種類	シャーレ	
	寸法	φ 92 mm × 高さ15 mm	
	材質	並ガラス	
環境	温度	25 ± 2 ℃	
	湿度	30 ± 20 %	
給水	種類	イオン交換水(DIW)	CBPTW
	処理時間	−	1 - 30 min
	保管時間	−	1 min
	量	15 mL	
種子	個数	100 個	

[0042] 図１４－図１７に示す、種子の発芽試験の試験結果（種子の発芽促進用液体の生成装置の作動時間（処理時間t_p）と発芽率及び苗の成長度合い（葉の面積）（成長試験は、表６に示す方法に準じて行った。）との関係）から、以下のことが分かった。

・精製水（イオン交換水）（ＤＩＷ）と比較して、ＣＢＰ処理水（ＣＢＰＴＷ）は、発芽率（発芽促進率）が向上するが、２４ｈ後の発芽率の結果から、特に、処理時間t_p＝５ｍｉｎ付近で発芽率（発芽促進率）のピークが出現する。このことから、処理時間t_pは、５ｍｉｎを中心に、３～１０ｍｉｎ程度が好ましいといえる。

・苗の成長度合い（葉の面積）の試験結果も、同様の傾向（種子の発芽が促進されることによって、苗の成長度合いも速くなる。）を示し、処理時間t_pは、５ｍｉｎを中心に、３～１０ｍｉｎ程度が好ましいといえる。

[0043] 以上、本発明の種子の発芽促進用液体及びそれを用いた種子の発芽促進方法について、その実施の形態に基づいて説明したが、本発明はこれに限定されるものではなく、その趣旨を逸脱しない範囲において適宜その構成を変更することができるものである。

産業上の利用可能性

[0044] 本発明の種子の発芽促進用液体及びそれを用いた種子の発芽促進方法は、発芽促進用液体に含有される種子の発芽促進作用を発揮すると考えられる成分である活性酸素種が、原料の水を処理することで生成することができ、その後、最終的に水に戻ることから、安心、安全なものであり、適用方法や適用対象に制約がなく、例えば、ブロッコリー、マスタード、クレス、レッドキャベツ、緑豆、ブラックマッペ、大豆、アルファルファ、豆苗等のスプラウト類、ミズナ、エンダイブ、グリーンマスタード、ターサイ、ビートルビークイーン、グリーンロメイン、レッドロメイン、トレビス、レッドオーク、レッドサラダ、ロロロッサ、レッドマスタード、スピナッチ、アイスバーグレタス、レッドケール、ロログリーン、ルッコラロケット、ピノグリーン等のベビーリーフ類等の種々の種子の発芽促進の用途に広く利用することができる。

符号の説明

[0045] １　タンク
２　撹拌装置
２１　ケーシング
２２　ロータ
２３　モータ
３　プラズマ発生機構
３１　電極
３２　パルス電源
４　管路

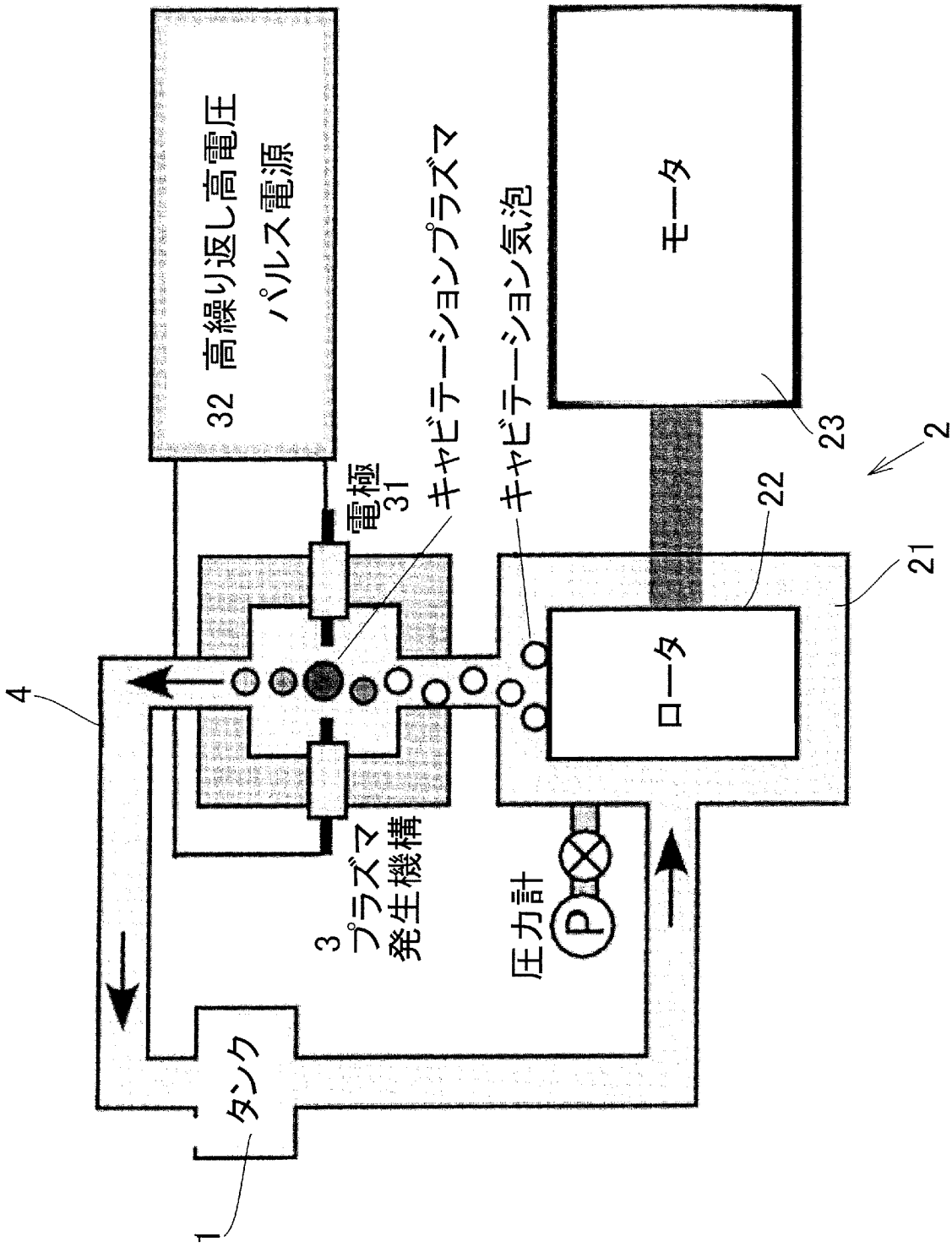
請求の範囲

[請求項1] 静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水からなることを特徴とする種子の発芽促進用液体。

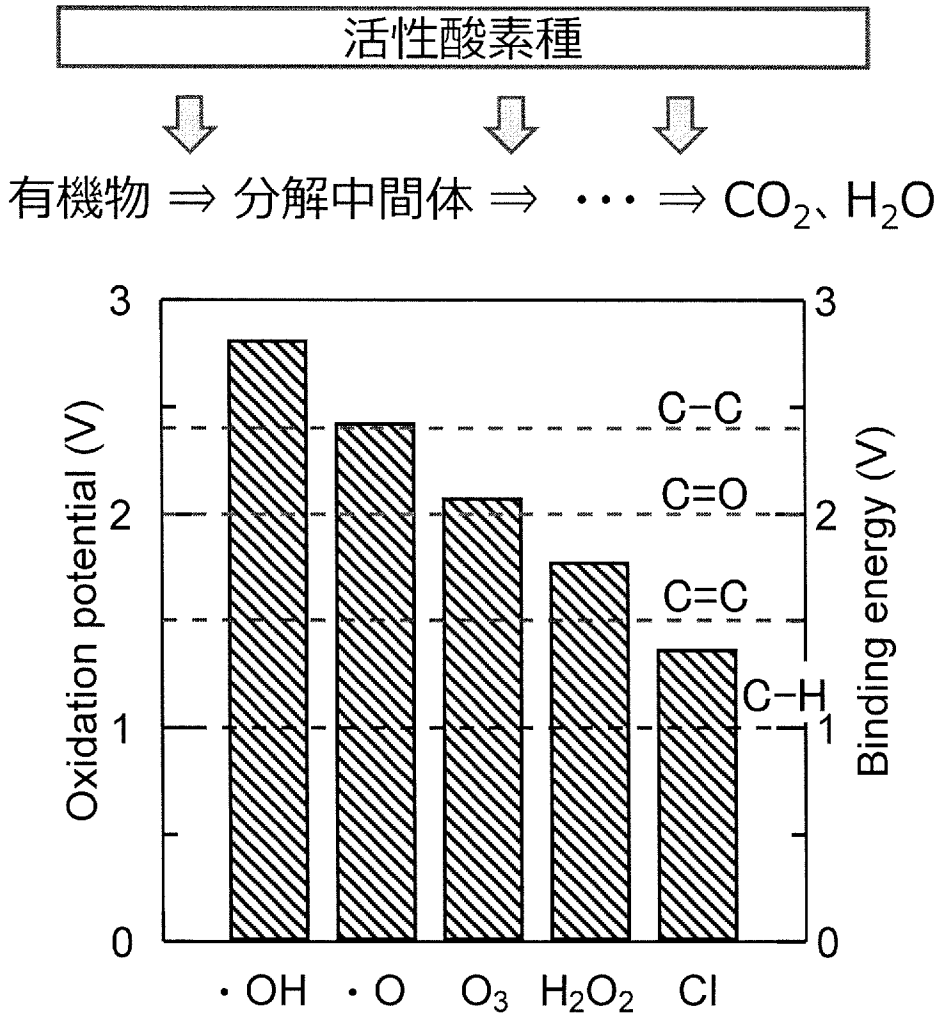
[請求項2] 静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水を用いて、種子を湿潤させることを特徴とする種子の発芽促進方法。

[請求項3] 前記静置状態で活性酸素種及びナノ粒子触媒を含有する水を、有機物に触れない環境下で使用することを特徴とする請求項２に記載の種子の発芽促進方法。

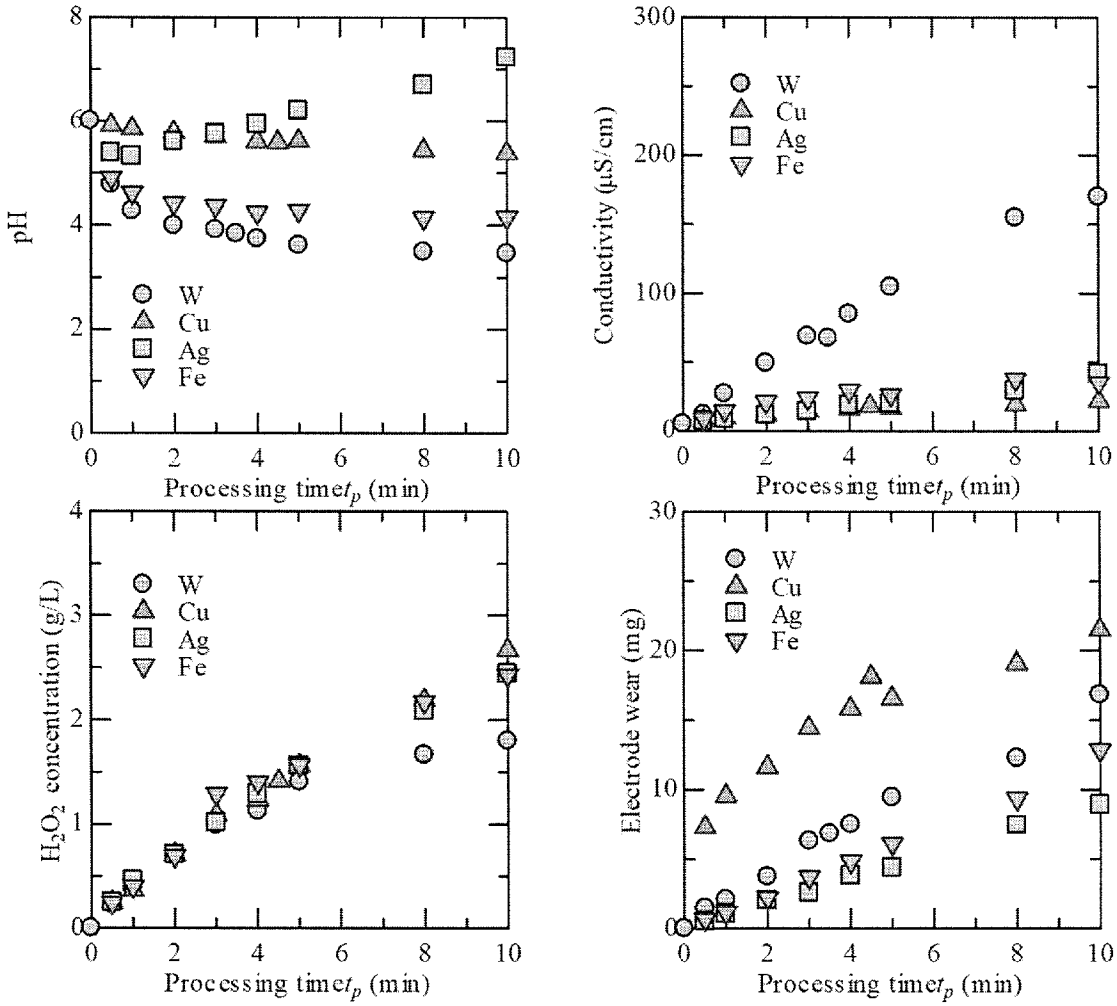
[図1]


32 高繰り返し高電圧
パルス電源
モータ
23
2
電極
31
キャビテーションプラズマ
キャビテーション気泡
22
21
4
ロータ
3
プラズマ
発生機構
圧力計
P
タンク
1

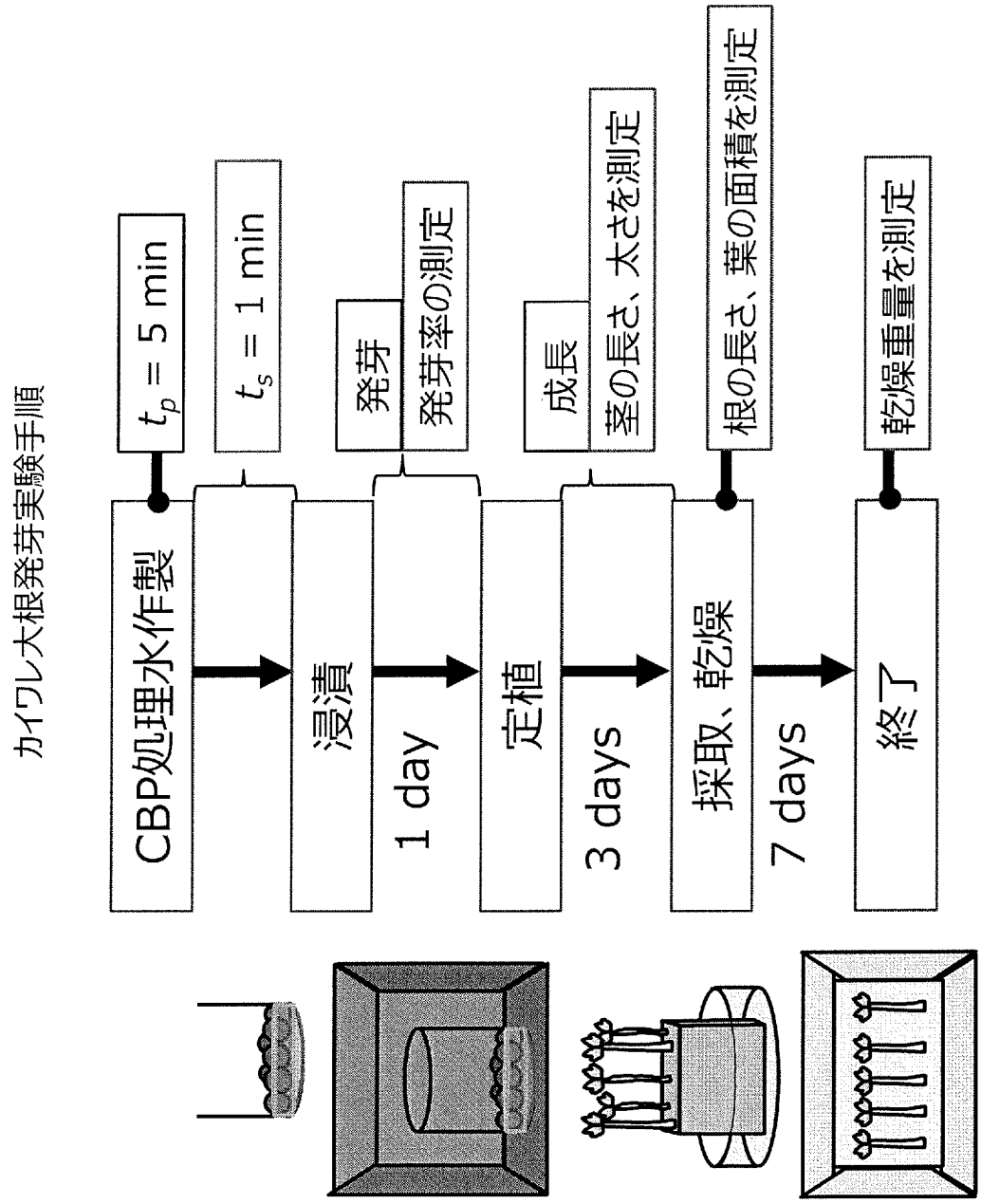
[図2]


活性酸素種
有機物 ⇒ 分解中間体 ⇒ ・・・ ⇒ CO_2、H_2O
Oxidation potential (V)
Binding energy (V)
3
2
1
0
C−C
C=O
C=C
C−H
・OH
・O
O_3
H_2O_2
Cl

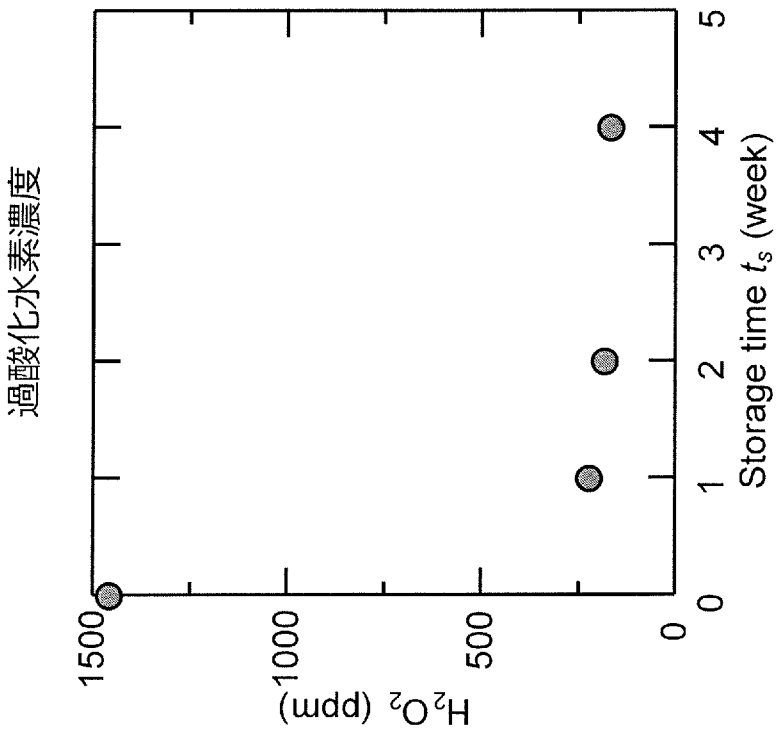
[図3]


pH
Processing time t_p (min)
W
Cu
Ag
Fe
Conductivity (μS/cm)
H_2O_2 concentration (g/L)
Electrode wear (mg)

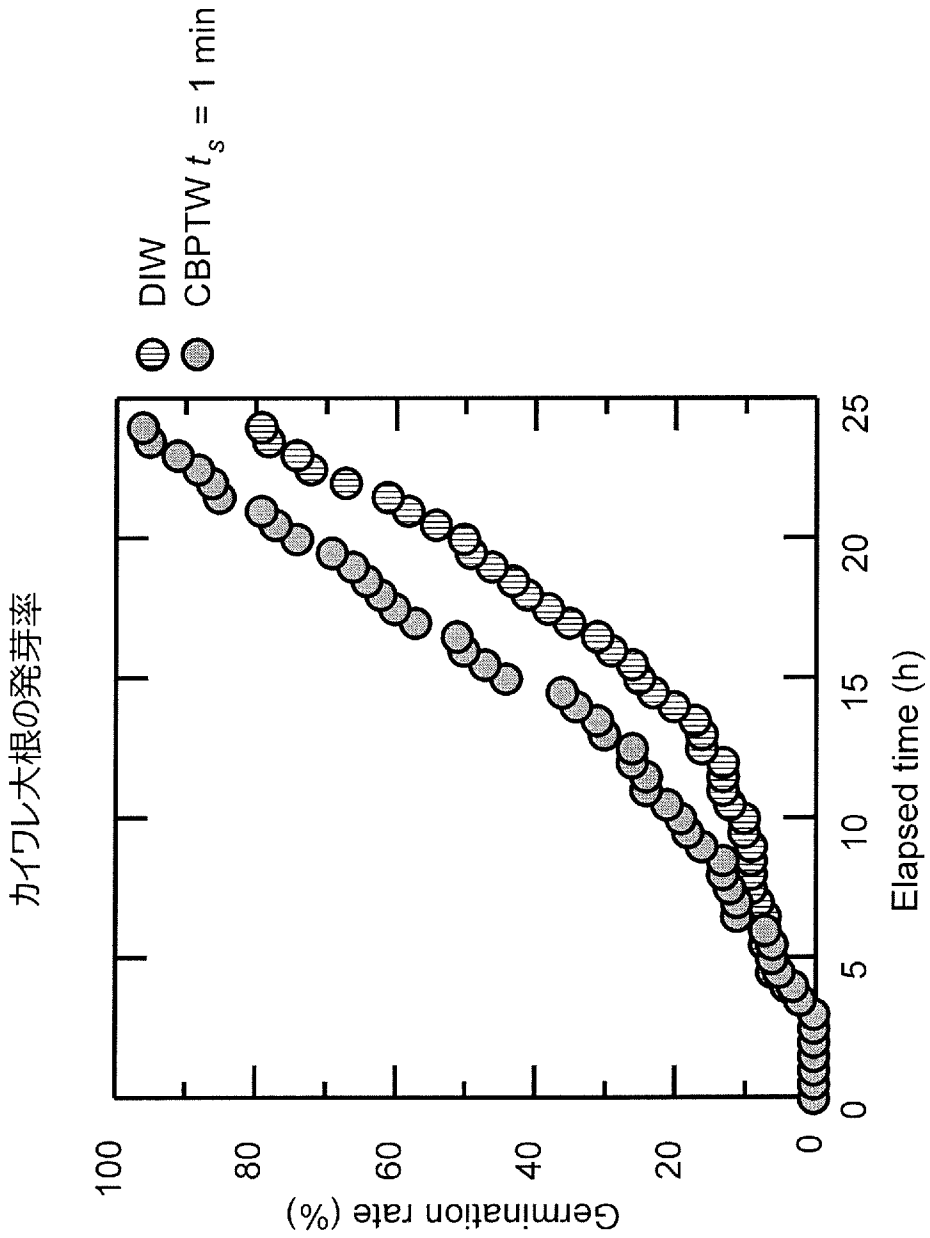
[図4]


カイワレ大根発芽実験手順
CBP処理水作製
t_p = 5 min
t_s = 1 min
浸漬
1 day
発芽
発芽率の測定
定植
3 days
成長
茎の長さ、太さを測定
採取、乾燥
7 days
根の長さ、葉の面積を測定
終了
乾燥重量を測定

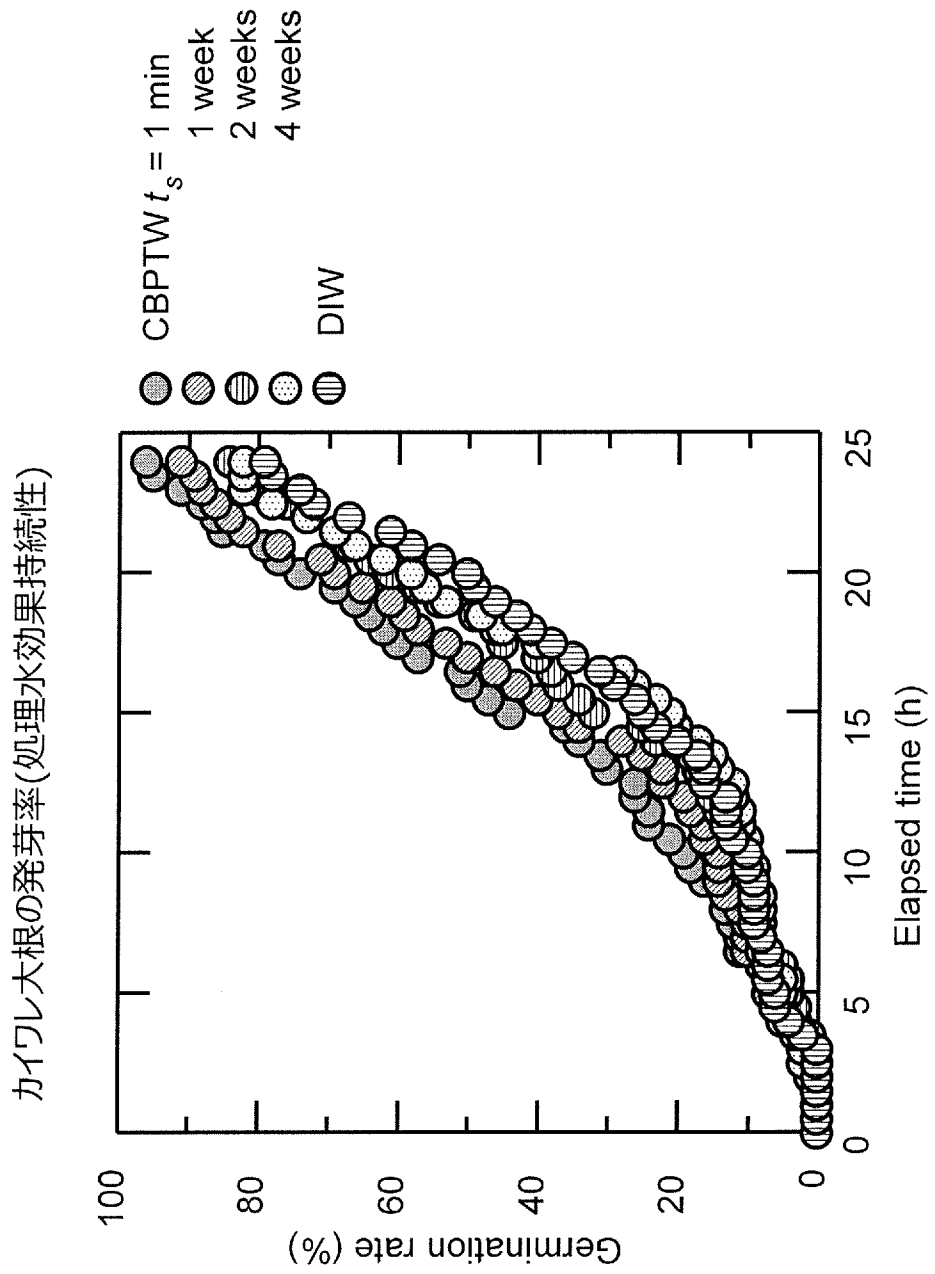
[図5]



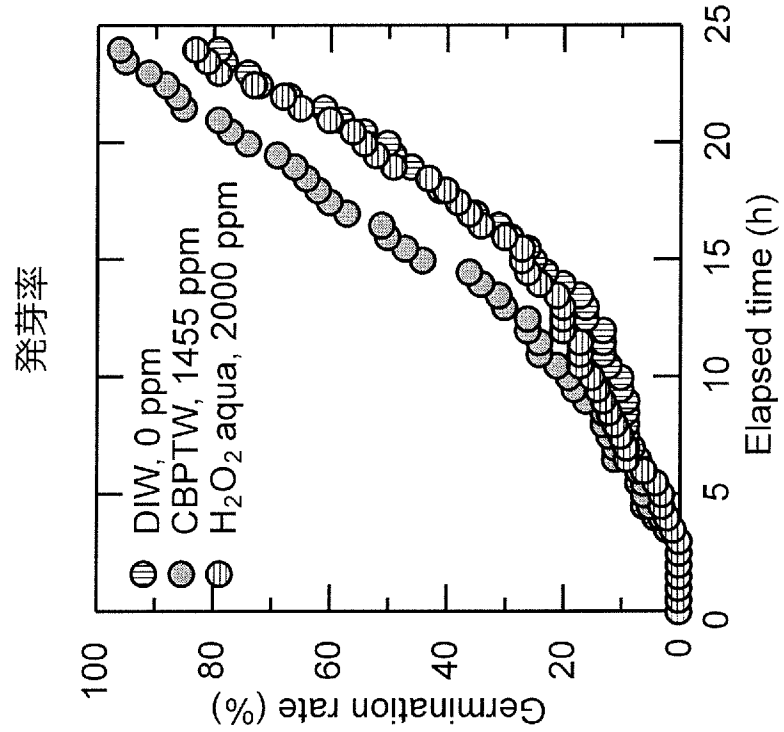
[図6]


カイワレ大根の発芽率
DIW
CBPTW t_s = 1 min
Germination rate (%)
0
20
40
60
80
100
0
5
10
15
20
25
Elapsed time (h)

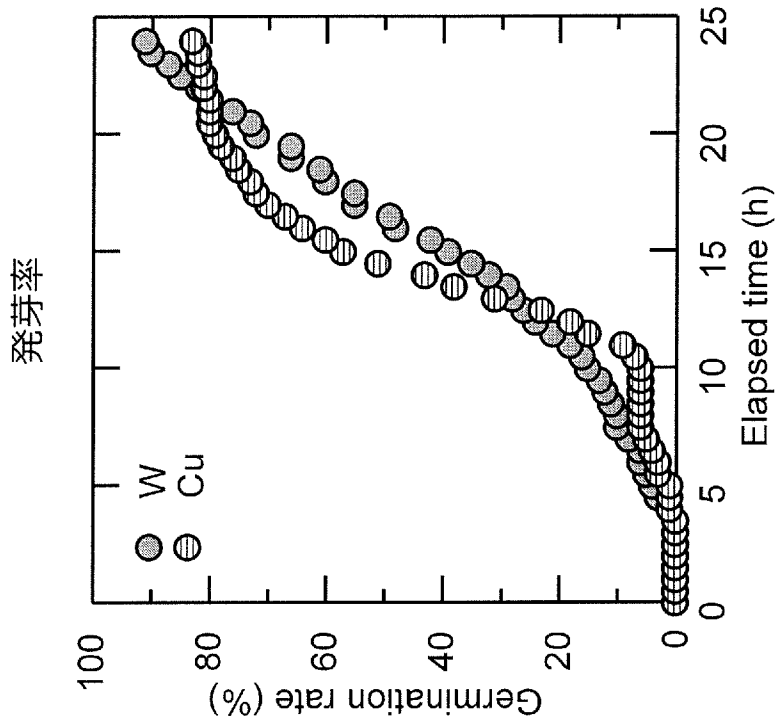
[図7]


カイワレ大根の発芽率(処理水効果持続性)
CBPTW t_s = 1 min
1 week
2 weeks
4 weeks
DIW
Germination rate (%)
0
20
40
60
80
100
0
5
10
15
20
25
Elapsed time (h)

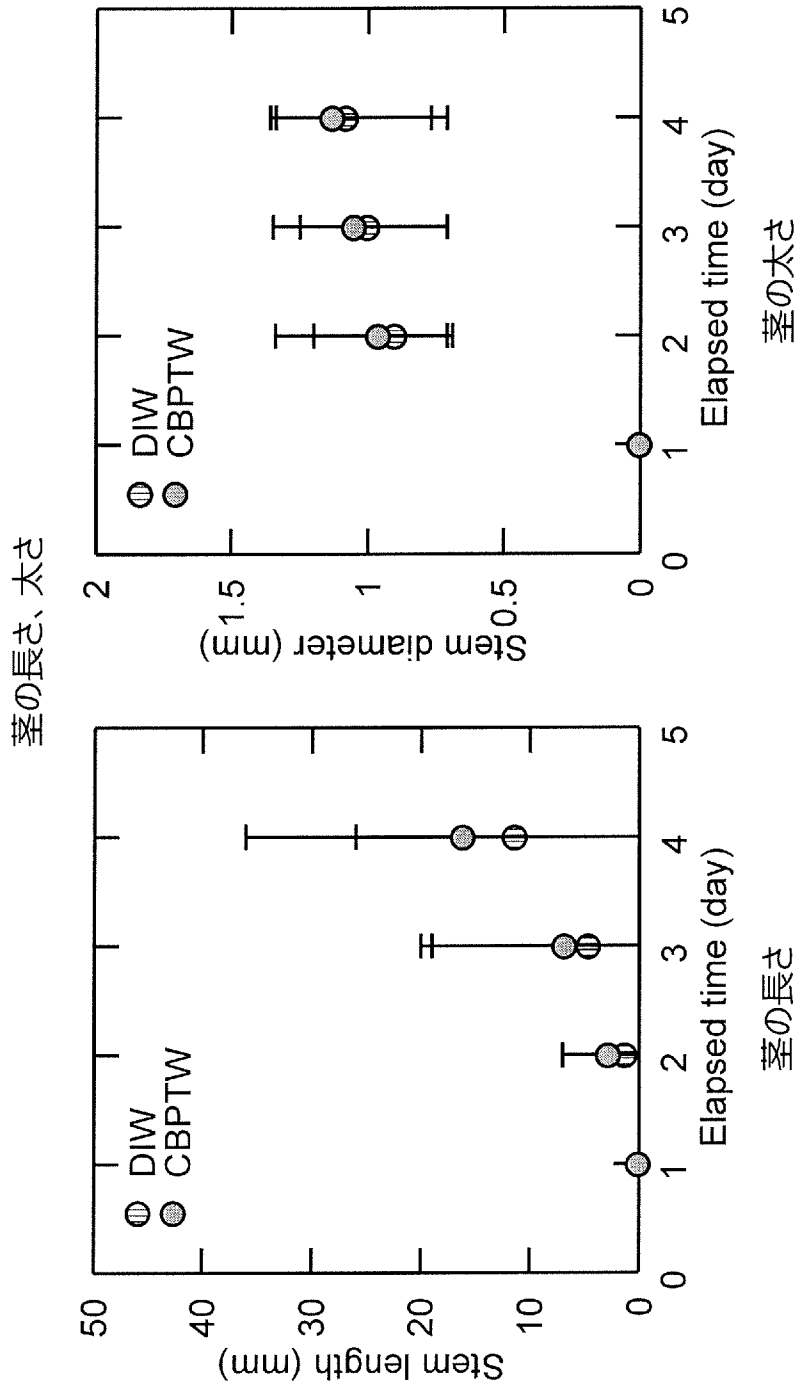
[図8]


発芽率
Germination rate (%)
Elapsed time (h)
DIW, 0 ppm
CBPTW, 1455 ppm
H_2O_2 aqua, 2000 ppm
0
20
40
60
80
100
0
5
10
15
20
25

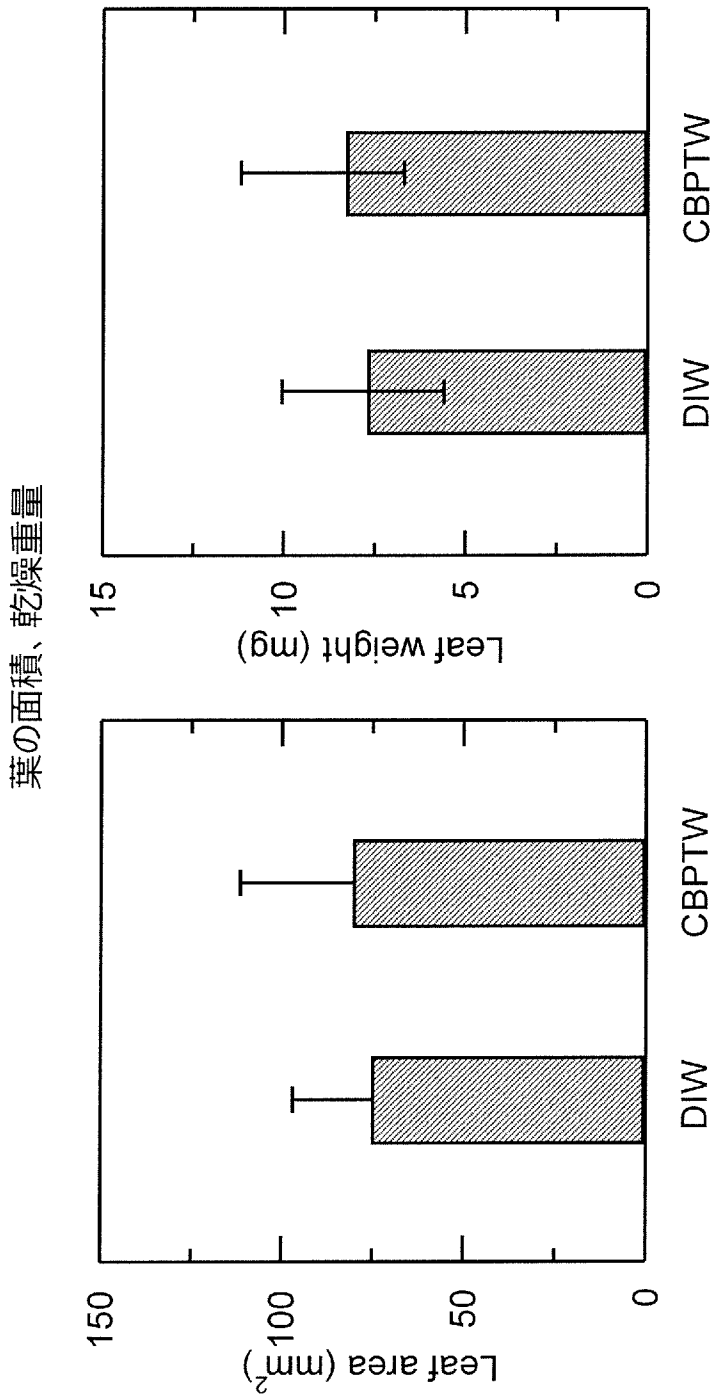
[図9]


発芽率
Germination rate (%)
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
20
25
Elapsed time (h)
W
Cu

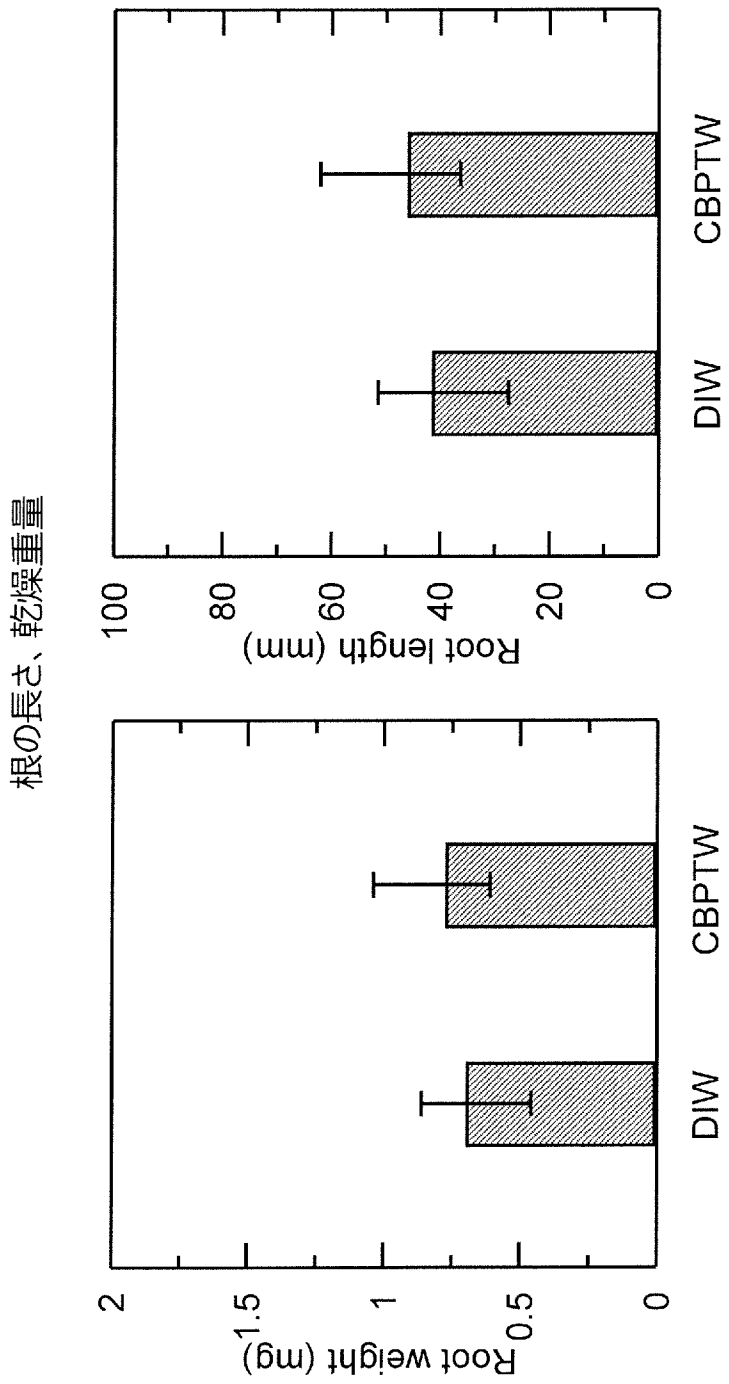
[図10]


茎の長さ、太さ
Stem length (mm)
Elapsed time (day)
茎の長さ
DIW
CBPTW
Stem diameter (mm)
Elapsed time (day)
茎の太さ
DIW
CBPTW

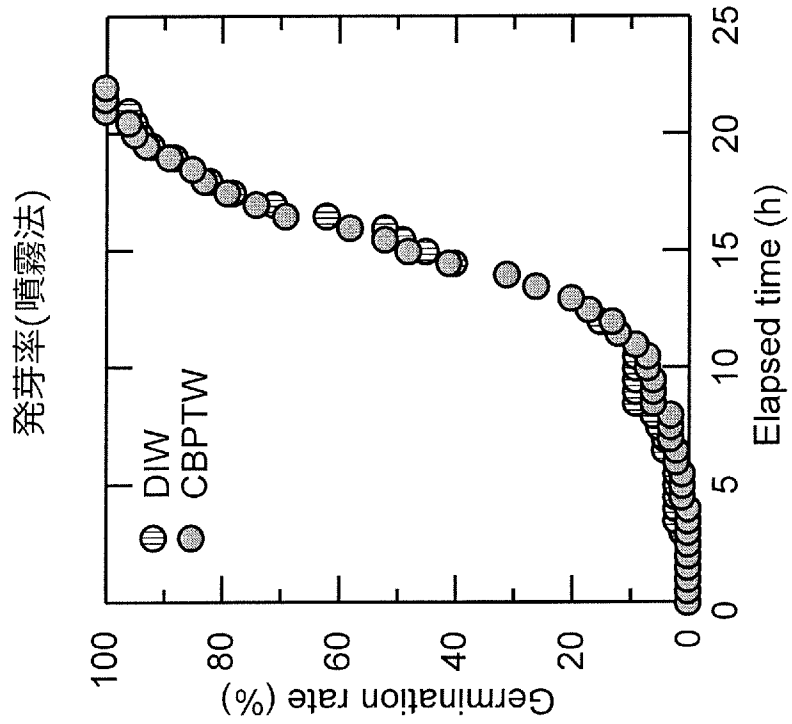
[図11]


葉の面積、乾燥重量
Leaf area (mm²)
150
100
50
0
DIW
CBPTW
Leaf weight (mg)
15
10
5
0
DIW
CBPTW

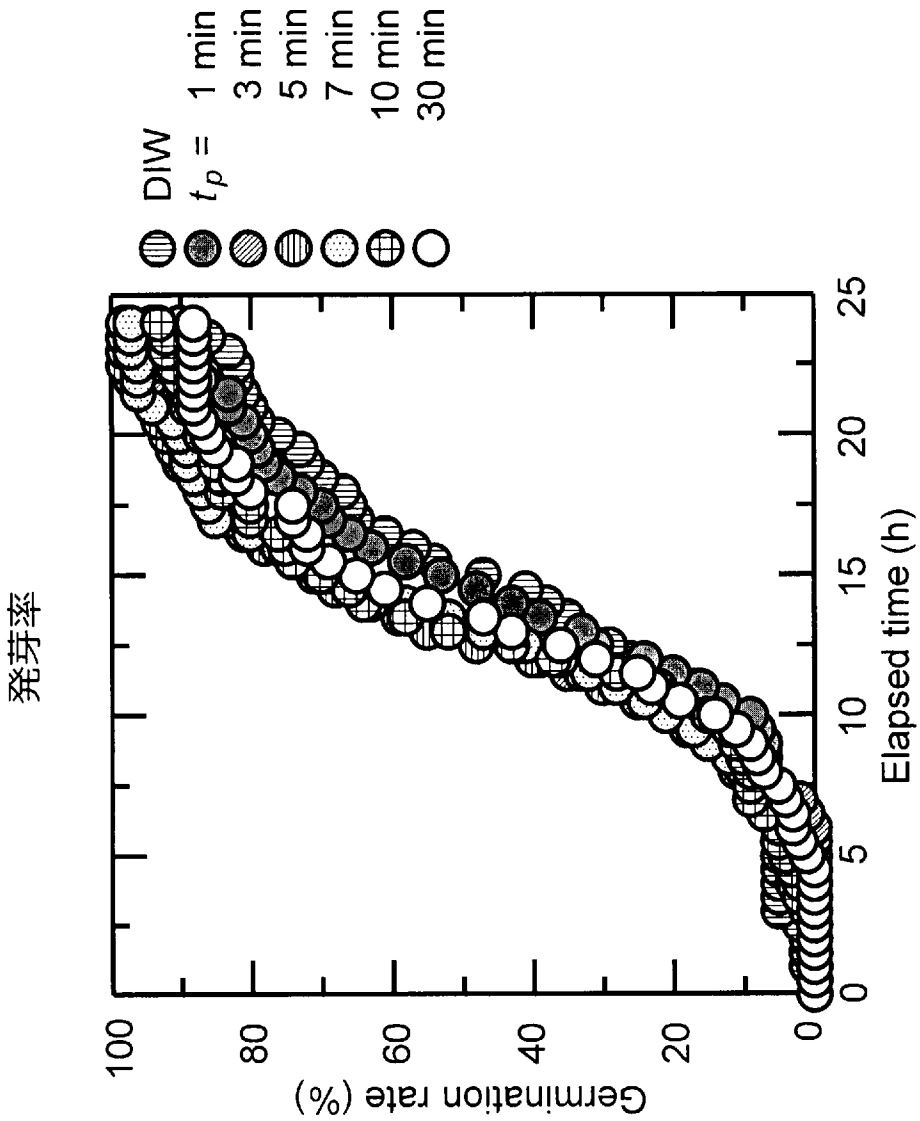
[図12]


根の長さ、乾燥重量
Root weight (mg)
0
0.5
1
1.5
2
DIW
CBPTW
Root length (mm)
0
20
40
60
80
100
DIW
CBPTW

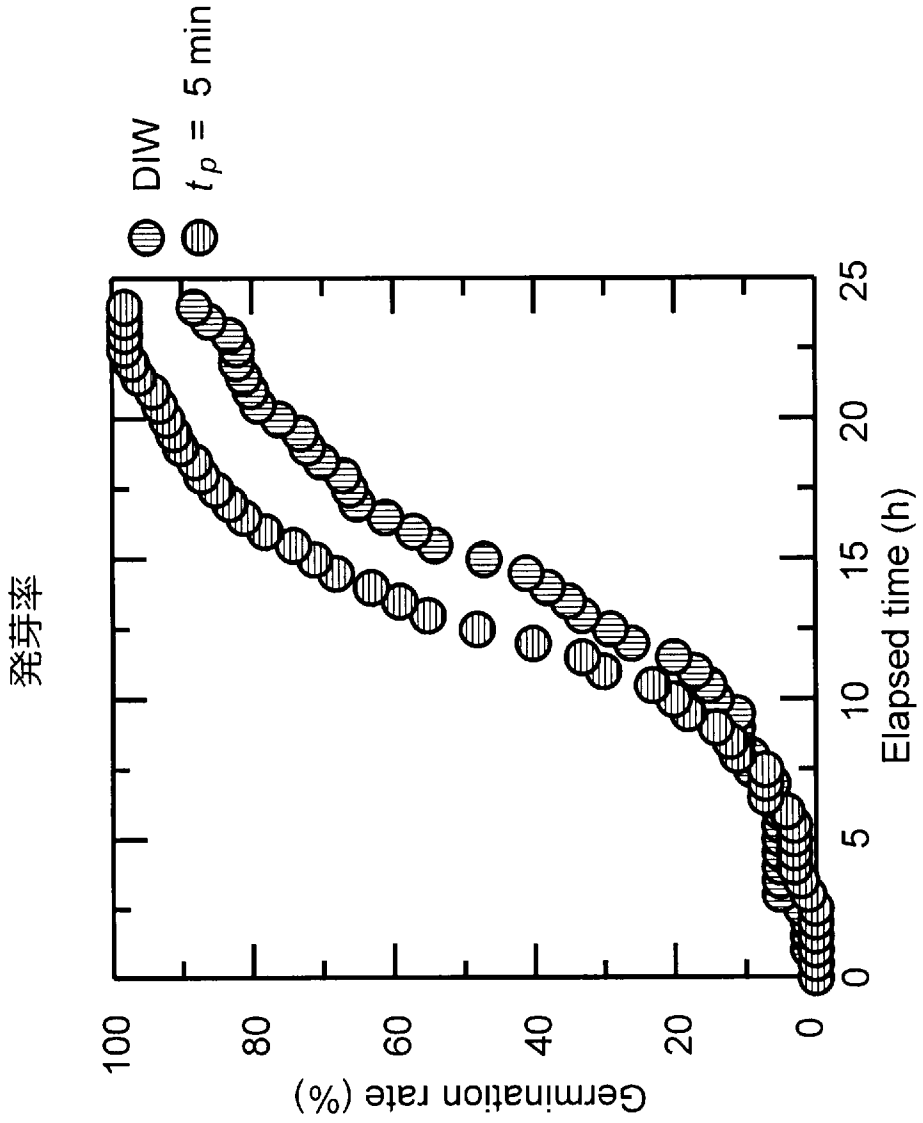
[図13]


発芽率(噴霧法)
DIW
CBPTW
Germination rate (%)
Elapsed time (h)
0
20
40
60
80
100
0
5
10
15
20
25

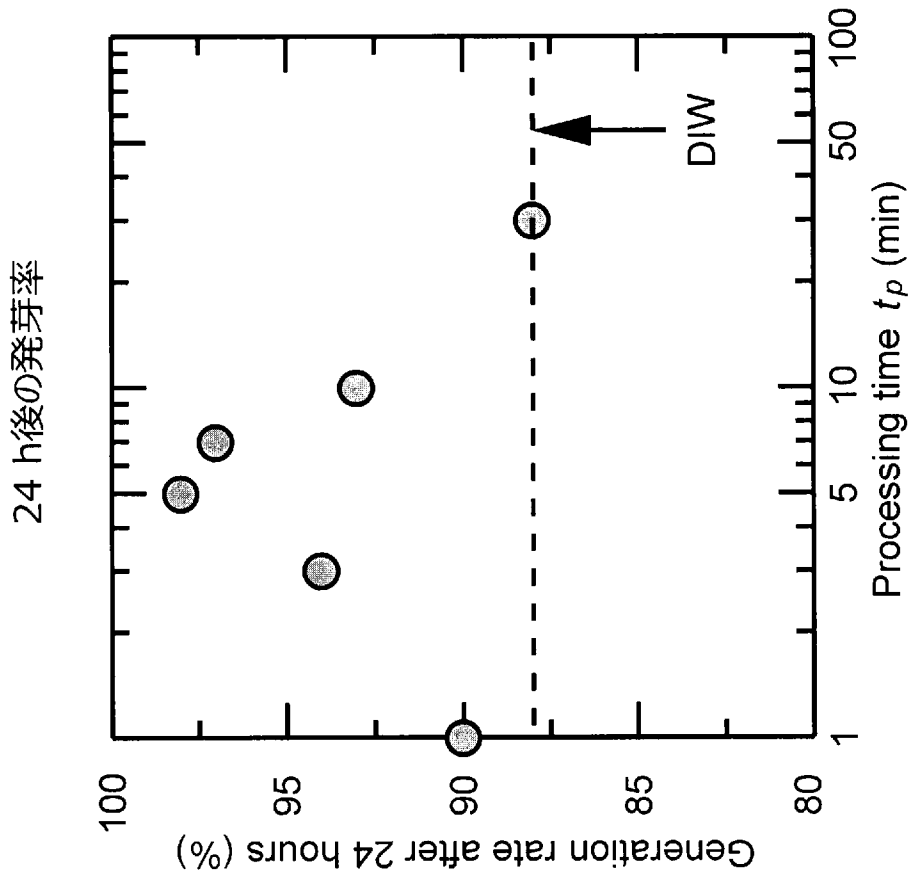
[図14]


DIW
t_p =
1 min
3 min
5 min
7 min
10 min
30 min
Germination rate (%)
0
20
40
60
80
100
Elapsed time (h)
0
5
10
15
20
25
発芽率

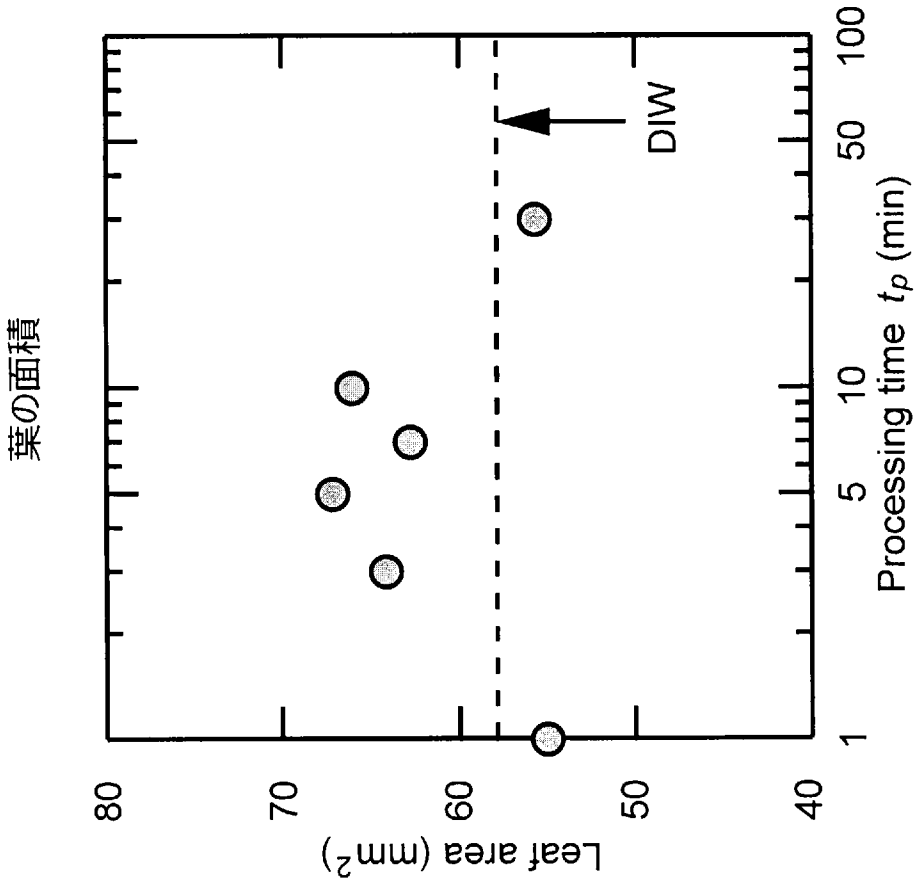
[図15]


DIW
t_p = 5 min
発芽率
Germination rate (%)
Elapsed time (h)
0
20
40
60
80
100
0
5
10
15
20
25

[図16]


24 h後の発芽率
Generation rate after 24 hours (%)
100
95
90
85
80
DIW
1
5
10
50
100
Processing time t_p (min)

[図17]


葉の面積
Leaf area (mm²)
80
70
60
50
40
DIW
1
5
10
50
100
Processing time t_p (min)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/044039

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A01P 21/00(2006.01)i; ***A01N 25/02***(2006.01)i; ***A01C 1/00***(2006.01)i
FI: A01C1/00 B; A01N25/02; A01P21/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A01C1/00; A01P21/00; A01N25/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022
Registered utility model specifications of Japan 1996-2022
Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 3-103125 A (AIN:KK) 30 April 1991 (1991-04-30) p. 3, upper right column to lower left column	1
A	p. 3, upper right column to lower left column	2-3
Y	JP 2008-120815 A (OKAYAMA PREFECTURE) 29 May 2008 (2008-05-29) paragraphs [0045], [0046]	1-3
Y	JP 2013-512870 A (BASF SE) 18 April 2013 (2013-04-18) paragraph [0069]	1-3
A	JP 2020-63382 A (TANAKA KINZOKU SEISAKUSHO:KK) 23 April 2020 (2020-04-23) paragraph [0020]	1-3

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 February 2022	**01 March 2022**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2021/044039

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 3-103125 A	30 April 1991	(Family: none)	
JP 2008-120815 A	29 May 2008	US 2003/0110527 A1 paragraphs [0074]-[0078] US 2009/0099023 A1 WO 2001/080638 A1 EP 1277404 A1 EP 2145533 A2 EP 2204087 A2 EP 2263447 A1 EP 2263457 A1 AU 4884501 A	
JP 2013-512870 A	18 April 2013	US 2012/0238448 A1 paragraph [0109] WO 2011/067186 A1 EP 2506707 A AR 80067 A CN 102638974 A MX 2012005664 A TW 201136515 A KR 10-2012-0113296 A BR 112012012339 A CL 2012001439 A	
JP 2020-63382 A	23 April 2020	(Family: none)	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2021/044039

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A01P 21/00(2006.01)i; A01N 25/02(2006.01)i; A01C 1/00(2006.01)i
FI: A01C1/00 B; A01N25/02; A01P21/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

A01C1/00; A01P21/00; A01N25/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２２年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２２年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２２年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	JP 3-103125 A（株式会社アイン）30.04.1991（1991-04-30） 第３ページ右上欄～左下欄	1
A	第３ページ右上欄～左下欄	2-3
Y	JP 2008-120815 A（岡山県）29.05.2008（2008-05-29） ［００４５］［００４６］	1-3
Y	JP 2013-512870 A（ビーエーエスエフ ソシエタス・ヨーロピア）18.04.2013（2013-04-18） ［００６９］	1-3
A	JP 2020-63382 A（株式会社田中金属製作所）23.04.2020（2020-04-23） ［００２０］	1-3

☐ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
15.02.2022	01.03.2022

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
竹中　靖典 2B 9507
電話番号 03-3581-1101 内線 3237

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2021/044039

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 3-103125 A	30.04.1991	（ファミリーなし）	
JP 2008-120815 A	29.05.2008	US 2003/0110527 A1 ［００７４］－［００７８］	
		US 2009/0099023 A1	
		WO 2001/080638 A1	
		EP 1277404 A1	
		EP 2145533 A2	
		EP 2204087 A2	
		EP 2263447 A1	
		EP 2263457 A1	
		AU 4884501 A	
JP 2013-512870 A	18.04.2013	US 2012/0238448 A1 ［０１０９］	
		WO 2011/067186 A1	
		EP 2506707 A	
		AR 80067 A	
		CN 102638974 A	
		MX 2012005664 A	
		TW 201136515 A	
		KR 10-2012-0113296 A	
		BR 112012012339 A	
		CL 2012001439 A	
JP 2020-63382 A	23.04.2020	（ファミリーなし）	