

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

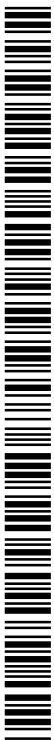
(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2013年8月15日(15.08.2013)



(10) 国際公開番号
WO 2013/118760 A1

- (51) 国際特許分類:
A01G 7/00 (2006.01) A01G 31/00 (2006.01)
A01G 1/00 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/052702
- (22) 国際出願日: 2013年2月6日(06.02.2013)
- (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 2012-023050 2012年2月6日(06.02.2012) JP
- (71) 出願人: ツジコー株式会社(TSUJIKO CO., LTD)
[JP/JP]; 〒5280057 滋賀県甲賀市水口町北脇1750番地1 Shiga (JP).
- (72) 発明者: 蔡 晃植(CHE, Fang-sik); 〒5260829 滋賀県長浜市田村町1266番地 学校法人関西文理総合学園長浜バイオ大学内 Shiga (JP). 辻 昭久(TSUJI, Akihisa); 〒5280027 滋賀県甲賀市水口町城内1-1 ツジコー株式会社内 Shiga (JP).
- (74) 代理人: 鮫島 睦, 外(SAMEJIMA, Mutsumi et al.); 〒5400001 大阪府大阪府中央区城見1丁目3番7号 IMPビル青山特許事務所 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, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第21条(3))



WO 2013/118760 A1

(54) Title: TECHNIQUE AND METHOD FOR PRODUCING FUNCTIONAL MATERIAL ORIGINATED FROM ICE PLANT, AND FUNCTIONAL COMPONENT

(54) 発明の名称: アイスプラント由来の機能性素材の製法技術と機能性成分

(57) Abstract: The present invention provides: a method for producing an ice plant having increased contents of pinitol, β -carotene, vitamin K and proline, said method being characterized by adding a stress to an ice plant during the cultivation of the ice plant; a method for increasing the contents of pinitol, β -carotene, vitamin K and proline, which are functional components contained in an ice plant, said method being characterized by adding a stress to the ice plant during the cultivation of the ice plant; and others.

(57) 要約: 本発明は、ピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含量が増加したアイスプラントの生産方法であって、栽培においてアイスプラントにストレスを与えることを特徴とする方法、アイスプラント中の機能性成分であるピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含量を増加させる方法であって、アイスプラント栽培においてアイスプラントにストレスを与えることを特徴とする方法等を提供する。

明 細 書

発明の名称：

アイスプラント由来の機能性素材の製法技術と機能性成分

技術分野

[0001] 本発明は、アイスプラント由来の機能性素材の製法およびかかる機能性素材に関する。特に、本発明は、アイスプラント中の機能性成分を増加させる方法および機能性成分が増加したアイスプラントに関する。

背景技術

[0002] アイスプラント（学名：Mesembryanthemum crystallinum；英名：common ice plant）は、ツルナ科（Aizoaceae）マツバギク属に属する一年草本で、南アフリカのナミブ砂漠を原産とする塩性植物である。アイスプラントは、葉および側枝先端部が生食用または調理用食材として利用されており、独特の歯ごたえと塩味のある野菜である。現在、「ツブリナ」、「バラフ」、「プッチーナ」などの商品名で販売されている。

[0003] アイスプラントは、一定レベル以上の塩分や乾燥ストレスを受けると、その体質をC3型光合成からCAM型〔Crassulacean acid metabolism（ベンケイソウ型有機酸合成）〕へ切り替えて（以下、「CAM化」ともいう）光合成を行うことにより、生育障害を伴うことなく生育し続けることができる（例えば、非特許文献1および非特許文献2参照）。そのため、アイスプラントは、一般的な植物が行うC3型光合成と乾燥地の植物が行うCAM型光合成を切り替えることができるC3/CAM変換ストレス誘導制御型植物としても注目されている。

[0004] CAM型光合成は、砂漠などに生息する多肉植物や同様に水分ストレスの大きな環境に生息する着生植物に多く見られる光合成の一形態であり、夜間に二酸化炭素を取り込み、昼間に還元することを特徴とする。このような植物を「CAM植物」と称する。CAM植物は、涼しい夜間に気孔を開けて二酸化炭素の取り込みを行い、昼間には気孔を閉じることで蒸散による水分損

失を最小限に抑えることができる。アイスプラントは、CAM型光合成に切り替わることにより、乾燥による体内の水分減少を防ぎ、また、吸収した塩分を、茎や葉表面に形成された「ブラッター細胞」と呼ばれる袋状の透明な細胞中に排出して、悪条件に耐えることができる。この「ブラッター細胞」の存在により、アイスプラントは独特の食感・風味を有している。

[0005] アイスプラントには、ミネラル類（ナトリウム、カリウム、カルシウム、マンガン、マグネシウム、亜鉛など）、 β -カロテンおよびレチノールなどのビタミンA類、ビタミンK、パントテン酸、イノシトール類（オノニトール、ミオイノシトール、ピニトール等）、有機酸類（リンゴ酸、クエン酸等）などの様々な機能性成分が豊富に含まれ、生活習慣病予防、血糖値低下作用、抗酸化作用、抗老化作用等が期待される（例えば、非特許文献3参照）。アイスプラント中のこれらの機能性成分は、塩分ストレスや乾燥ストレスに応答して蓄積することが分かっているが（例えば、非特許文献4参照）、どの成分がどのような条件下で増産されるか等について詳細には分かっていない。

[0006] 一方、食生活の欧米化に伴い、栄養補助食品、健康補助食品といったサプリメント類の需要が世界的に延びており、新たなサプリメント素材が求められている。特に、消費者のニーズからは、合成素材ではなく天然由来の機能性素材が望まれ、植物由来の機能性成分（ファイトケミカル）が注目されている。

先行技術文献

非特許文献

- [0007] 非特許文献1: Bohnert et al., J Plant Growth Regul, 2000, 19: 334-346
非特許文献2: 現代農業2009. 2、第77~79頁、農文協
非特許文献3: 農業技術体系 野菜編、第11巻、追録第34号、2009年、特産野菜 4の4~4の7、農文協
非特許文献4: Agarie et al., Plant Prod. Sci. 12(1): 37-46 (2009), pp. 37-46

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明は、アイスプラントに含まれる機能性成分に着目し、アイスプラント由来の機能性素材を製造することを目的とした。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、鋭意研究の結果、驚くべきことに、アイスプラント栽培時にストレスを与えることによって、アイスプラント中の機能性成分であるピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含量を増加させることができることを見出し、本発明を完成させた。

[0010] すなわち、本発明は、

[1] ピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含量が増加したアイスプラントの生産方法であって、栽培においてアイスプラントにストレスを与えることを特徴とする方法、

[2] 栽培が水耕栽培である、上記[1]記載の方法、

[3] ストレスが下記(1)～(8)から選択される1以上である、上記[1]または[2]記載の方法：

(1) pHの変動、

(2) 温度の上昇、

(3) 湿度の低下、

(4) 紫外線照射、

(5) 光量の増加、

(6) 溶存酸素の低下、

(7) 根の切断、

(8) カリウム濃度の増加、

[4] さらに硝酸態窒素含量が低減したアイスプラントが得られる、上記[1]～[3]のいずれか1つに記載の方法、

[5] 得られるアイスプラントが植物体の生重量100gあたり、30mg以上のピニトール、1000 μ g以上の β -カロテン、40 μ g以上のビタ

ミンK、7 mg 以上のプロリンを含有する、上記 [1] ~ [4] のいずれか 1 つに記載の方法、

[6] 得られるアイスプラント中のピニトール、 β -カロテン、ビタミンK およびプロリンの含有比率が 1 : 0.01 ~ 0.05 : 0.001 ~ 0.005 : 0.2 ~ 1.2 である、上記 [1] ~ [5] のいずれか 1 つに記載の方法、

[7] ストレスが (1)、(6) および (7) から選択される 1 以上である、上記 [3] ~ [6] のいずれか 1 つに記載の方法、

[8] アイスプラントの栽培において下記 (1) ~ (8) から選択される 1 以上のストレスを与えることを特徴とする、アイスプラント中のピニトール、 β -カロテン、ビタミンK およびプロリンの含量を増加させる方法：

- (1) pH の変動、
- (2) 温度の上昇、
- (3) 湿度の低下、
- (4) 紫外線照射、
- (5) 光量の増加、
- (6) 溶存酸素の低下、
- (7) 根の切断、
- (8) カリウム濃度の増加、

[9] さらにアイスプラント中の硝酸態窒素が低減される、上記 [8] 記載の方法、

[10] 上記 [1] ~ [9] のいずれか 1 つに記載の方法によって得られたアイスプラント、

[11] 植物体の生重量 100 g あたり、30 mg 以上のピニトール、1000 μ g 以上の β -カロテン、40 μ g 以上のビタミンK、7 mg 以上のプロリンを含有するアイスプラント、

[12] 植物中のピニトール、 β -カロテン、ビタミンK およびプロリンの含有比率が 1 : 0.01 ~ 0.05 : 0.001 ~ 0.005 : 0.2 ~ 1

、 2である、上記 [11] 記載のアイスプラント、
[13] 上記 [10] ~ [12] のいずれか 1 項記載のアイスプラントから
得られる天然機能性素材、および
[14] 粉末化物である、上記 [13] 記載の天然機能性素材、
[15] 上記 [13] または [14] 記載の天然機能性素材を含むサプリメント、および
[16] 粉末または錠剤である、上記 [15] 記載のサプリメント
を提供する。

発明の効果

[0011] 本発明によれば、アイスプラントの栽培時にストレスを負荷することにより、アイスプラント中の機能性成分ピニトール、 β -カロテン、ビタミンK およびプロリンの含量を増加させることができ、このような機能性成分を豊富に含有するアイスプラントを効率良く得ることができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]変移株中に含まれるピニトールと他の機能性成分および抗酸化能との相関関係を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0013] 本発明の方法において、アイスプラントは、いずれの系統のものを用いてもよい。

[0014] 本発明の方法において、アイスプラントの栽培は、水耕栽培、土壌栽培、または培地栽培のいずれで行ってもよい。

[0015] 本発明の方法において、水耕栽培は、特に限定されず、一般的な水耕栽培方法に従えばよい。例えば、アイスプラントの種子をウレタンマットなどの保水性のある資材に播き、2 から 4 葉齢期まで育苗箱などで育成する。その後、水耕装置に定植し、育成する。栽培に用いられる播種資材、育苗箱、水耕装置などは、一般的な水耕栽培用のものを用いればよい。

[0016] 通常、アイスプラントの水耕栽培は、4 ~ 5 葉齢期頃まで、塩化ナトリウムを含まない水耕液で行われ、6 ~ 7 葉齢期頃に 50 mM 程度の塩化ナトリ

ウムを添加する。水耕液に添加される塩化ナトリウムの濃度は、得られる植物体が所望の塩味を呈するように適宜調整される。水耕液もまた、通常の植物栽培用のものを使用でき、例えば、大塚ハウス肥料A処方やその2分の1濃度水耕液などが挙げられる。本発明においても、常法に従って水耕栽培を行えばよい。当然のことながら、水耕液の組成、塩化ナトリウムの添加濃度および添加時期、栽培期間等は、適宜変更してもよい。本発明においては、必ずしも塩化ナトリウムを添加する必要はない。

[0017] 本発明の方法において、土壌栽培は、ハウス栽培での一般的なポット栽培や方法に従えばよい。例えば、アイスプラントの種子をポットや培地の中に播種し、ハイポネックス（登録商標）（ハイポネックス社製）などの液体肥料を1000倍程度に薄めた養液を与えて栽培する。栽培に用いられる播種資材、育苗箱などは、一般的な土壌栽培用のものを用いればよい。

[0018] 培地栽培とは、もみがらくん炭、ヤシガラ、ピートモス、バーミキュライトなどの人工的に調製された土壌を用いる栽培方法であり、土壌栽培と同様に、適宜、液体肥料等を与えて栽培する。本発明の方法において、培地栽培は、上記のような人工調製土壌を用いて常法に従って行えばよい。

[0019] 本発明の方法では、ストレス負荷条件のコントロールが容易である点から、好ましくは水耕栽培が用いられる。

[0020] 本発明の方法において、アイスプラントの栽培は、ハウスまたは太陽光併用型植物工場で行う。好ましくは、本発明におけるアイスプラントの栽培は、室内などの閉鎖型環境下、例えば、完全制御型の植物工場内で行われる。水耕、土壌、培地栽培を問わず、植物工場内でのアイスプラント栽培は、天候に左右されない一年を通じた安定生産、農薬を使わない安全安心生産、空き倉庫やコンテナを用いた空き地、農地などでの生産が可能となる長所がある。

[0021] 本明細書において、「ストレス」とは、アイスプラントの生育にとって不利な条件をいう。

[0022] 本発明の方法において、アイスプラントに負荷するストレスは、アイスプ

ラントを変移させるものであればいずれのストレスであってもよいが、好ましくは、塩分ストレス以外のストレスである。さらに好ましくは、下記（１）～（８）から選択される１以上のストレスである：

- （１）pHの変動、
- （２）温度の上昇、
- （３）湿度の低下、
- （４）紫外線照射、
- （５）光量の増加、
- （６）溶存酸素の低下、
- （７）根の切断、
- （８）カリウム濃度の増加。

[0023] またさらに好ましくは、上記（１）pHの変動、（６）溶存酸素の低下、および（７）根の切断から選択される１以上のストレスが負荷される。これらのストレス負荷は、アイスプラント中のピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含有量を著しく増加させる。また、これらのストレス負荷は、水耕栽培においてコントロールが特に容易である点からも好ましい。

[0024] 本発明の方法において、ストレスを負荷することにより、アイスプラントを故意に変移させることができる。本明細書において、「変移」とは、アイスプラントがCAM化した場合と同様の特徴を示すことをいう。例えば、本発明により「変移」したアイスプラントは、植物体内の有機酸（リンゴ酸、クエン酸など）含量の増加またはクロロフィル色素の濃緑化を示す。

[0025] アイスプラントは、好適条件下ではC3型光合成を行うが、塩分もしくは乾燥ストレスを受けると、またはある段階まで生長すると、C3型光合成からCAM型光合成に移行することが知られている。CAM型光合成は、夜間に気孔を開けて二酸化炭素を取り込み、リンゴ酸に変換して蓄積し、昼間に気孔を閉じて、夜間に蓄積したリンゴ酸を利用して二酸化炭素を発生させ代謝を行うことを特徴とする。ここで、アイスプラントがCAM型光合成を行

うのに必要な酵素群を発現誘導し、代謝経路（CAM経路）を持つようになることを「CAM化」という。アイスプラントは、CAM化すると、植物体内の有機酸（リンゴ酸、クエン酸など）含量が増加し、生長が遅くなるという特徴を示す。また、CAM化したアイスプラントは、クロロフィル色素が濃緑化するという特徴も示す。

[0026] 本明細書において、「変移したアイスプラント」または「変移株」とは、CAM化して実際にCAM型光合成を行っているもの、CAM化しているがCAM型光合成をしていないものを含め、CAM化したアイスプラントと同様の特徴を示すものを意味する。したがって、「変移したアイスプラント」または「変移株」には、CAM化したアイスプラントと同様の特徴を示すが、実際にはCAM化していないアイスプラントも含まれる。

[0027] 本発明において、「変移したアイスプラント」または「変移株」は、例えば、植物体の外観（作物色相）の濃緑化に基づき目視によって選択することができる。あるいは、クロロフィル色素含量を葉緑素計（SPAD計）により計測し、ストレスを与えていない株よりも測定値の高い株を変移株として選択することができる。また、植物体の有機酸含量（リンゴ酸またはクエン酸含量）を測定して選択してもよい。

[0028] 本発明の方法において、ストレス負荷は、アイスプラント栽培期間のどの段階で与えてもよい。例えば、播種の約35～45日後、約55～60日後、または約65～90日後にストレスを与える。ストレスの種類および条件にもよるが、アイスプラントは、ストレス負荷後約5～15日程度で変移する。

[0029] 本発明においてストレスを与える方法は、特に限定されず、目的のストレス負荷を達成できるいずれの方法を用いてもよい。ストレスは、段階的または断続的または連続的に与えてもよく、または一度に与えてもよい。ストレスの種類にもよるが、好ましくは、一度にストレスを与えると効果的である。また、2以上の異なる種類のストレスを与える場合には、同時に与えてもよく、または順次与えてもよい。

- [0030] 上記(1)の「pHの変動」ストレスの場合、例えば、水耕液のpHをpH調整液などを用いて低下または上昇させることによってストレス負荷を行う。水耕栽培においてpH管理は非常に重要であり、通常、水と肥料を混ぜて水耕液を調製したとき、pH値が約5.5～6.5になるように管理される。本発明の方法において(1)のストレスを負荷する場合、例えば、水耕液のpH値を約3上下に変動させる。例えば、水耕液のpH値を約3.5～4.5、好ましくは約3.0～4.0、さらに好ましくは約2.5～3.5になるように低下させる。水耕液のpHをpH3程度の強酸性に低下させた場合、ストレス負荷後10日程度でアイスプラントが変移する。または、例えば、水耕液のpH値を約7.5～8.5、好ましくは約8.0～9.0、さらに好ましくは約8.5～9.5になるように上昇させる。pH調整剤としては、通常pH調整に使用される酸性物質、例えば、リン酸、硫酸、硝酸、クエン酸等、通常pH調整に使用されるアルカリ性物質、例えば、水酸化ナトリウム、炭酸水素カリウム、水酸化カリウム、主成分が炭酸カルシウムであるサンゴ等を用いてもよく、または市販のpH調整剤、例えば、pHダウン(大塚化学社製)、pHアップ(大塚化学社製)等を用いてもよい。
- [0031] 上記(2)の「温度の上昇」ストレスの場合、例えば、水耕液の温度(室内の温度)を約20～23℃から約25～28℃、好ましくは約27℃～30℃、さらに好ましくは約28℃～32℃に上昇させることによってストレス負荷を行う。
- [0032] 上記(3)の「湿度の低下」ストレスの場合、閉鎖型環境下において、例えば、室内の湿度を約50～40%RH、好ましくは約45～35%RH、さらに好ましくは約40～30%RHに低下させることによってストレス負荷を行う。本発明において、アイスプラントは、特に、湿度40%RH以下になると変移しやすいことが分かった。
- [0033] 上記(4)の「紫外線照射」ストレスの場合、例えば、波長360～390nm、紫外線強度150～1000uW/cm²程度の紫外線を照射することによってストレス負荷を行う。

[0034] 上記（５）の「光量の増加」ストレスの場合、例えば、約150～180、好ましくは約170～200、さらに好ましくは約200～250 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{秒}$ の強い光量を約5～10日間、好ましくは約7～12日間、さらに好ましくは約9～15日間照射することによってストレス負荷を行う。

[0035] 上記（６）の「溶存酸素の低下」ストレスの場合、例えば、水耕液の循環を停止することによってストレス負荷を行う。水耕液の循環を停止すると、水耕液中の溶存酸素が減少し、植物が酸欠状態になる。水耕液の循環停止は、例えば、断続的に行う。例えば、水耕液の循環ポンプを約0時間～23時間、好ましくは約0～16時間、さらに好ましくは約0時間～8時間稼働した後、約1時間～24時間、好ましくは約1時間～16時間、さらに好ましくは約1時間～8時間ポンプを停止するサイクルを約1日～40日、好ましくは約1日～30日、さらに好ましくは約1日～20日繰り返す。通常、水耕液中の溶存酸素濃度の最低管理値は、約5.5 mg/L である。本発明の方法においては、水耕液中の溶存酸素濃度を例えば約5 mg/L 以下、好ましくは約4 mg/L 以下、さらに好ましくは約3 mg/L 以下、よりさらに好ましくは約2 mg/L 以下となるようにストレスを与える。本発明において、アイズプラントは、特に、水耕液中の溶存酸素濃度が4.0 mg/L 以下になると変移しやすいことが分かった。また、植物を過繁茂状態にすることにより局所的な養液滞留を導くことによっても、水耕液中の溶存酸素を低下させることができる。

[0036] 上記（７）の「根の切断」ストレスの場合、例えば、播種から約35～50日後、好ましくは約50～60日後、さらに好ましくは約50～55日後に、アイズプラントの根を切断することによってストレス負荷を行う。

[0037] 上記（８）の「カリウム濃度の増加」ストレスの場合、例えば、40～250 mM 、好ましくは40～170 mM 、さらに好ましくは90～170 mM 濃度の硫酸カリウムを水耕液に添加することによってストレス負荷を行う。水耕液に添加する塩化ナトリウムを代替してカリウムを添加してもよい。水耕液に添加するカリウム源としては、硫酸カリウムの他に、例えば、大塚

10号（大塚化学社製）等も利用できる。

[0038] アイスプラントは、ナトリウムによる浸透圧効果によって機能性成分を蓄積することが分かっているが、高塩分ストレス下で栽培した場合、アイスプラント中に吸収される塩分濃度が上がり、味が非常に塩辛くなるほか、減塩という健康志向からも好ましくない。したがって、塩化ナトリウムを用いずに、カリウムにより浸透圧効果を生じることが非常に有用である。さらに、本発明において、カリウムを用いると、ナトリウムよりも強いストレスが負荷されることが分かった。

[0039] 本発明の方法によってアイスプラントが変移すると、アイスプラント中の機能性成分であるピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含有量が増加する。

[0040] 本発明の方法によれば、ストレスを与えない通常栽培の場合と比べて、アイスプラント中のピニトールの含量が例えば、少なくとも約1.5倍、好ましくは少なくとも約2.0倍、さらに好ましくは少なくとも約2.5倍、より好ましくは少なくとも約3.0倍増加し、 β -カロテンの含量が少なくとも約1.2倍、例えば少なくとも約1.5倍、好ましくは少なくとも約1.8倍、さらに好ましくは少なくとも約2.0倍、より好ましくは少なくとも約2.5倍増加し、ビタミンKの含量が少なくとも約1.2倍、例えば少なくとも約1.5倍、好ましくは少なくとも約2.0倍、さらに好ましくは少なくとも約2.5倍、より好ましくは少なくとも約3.0倍増加し、およびプロリンの含有量が少なくとも約3.0倍、好ましくは少なくとも約5.0倍、さらに好ましくは少なくとも約7.0倍、より好ましくは少なくとも約9.0倍増加する。本明細書において、「ストレスを与えない通常栽培」とは、上記した本発明の方法におけるストレスを与えないこと以外は同じ方法での栽培をいう。

[0041] 本発明の方法によって変移したアイスプラントは、植物体の生重量100gあたり、約30mg以上、例えば約60mg以上、好ましくは約100mg以上、さらに好ましくは約120mg以上、より好ましくは約150mg

以上のピニトール、約1000 μ g以上、例えば約1400 μ g以上、好ましくは約2500 μ g以上、さらに好ましくは約3500 μ g以上、より好ましくは約4000 μ g以上の β -カロテン、約40 μ g以上、例えば約120 μ g以上、好ましくは約200 μ g以上、さらに好ましくは約250 μ g以上、より好ましくは約300 μ g以上のビタミンK、および約7mg以上、例えば約40mg以上、好ましくは約60mg以上、さらに好ましくは約80mg以上、より好ましくは約100mg以上のプロリンを含有する。変移したアイスプラント中のピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの重量に基づく含有比率は、好ましくは1:0.01~0.05:0.001~0.005:0.2~1.2、より好ましくは1:0.01~0.04:0.001~0.003:0.4~1.1、さらに好ましくは1:0.02~0.04:0.001~0.003:0.5~1.1である。

[0042] さらに、本発明において、アイスプラントは、変移すると、該植物中の硝酸態窒素が低減されることが分かった。窒素は、植物体には欠かせないタンパク質および光合成に必要な葉緑素の構成成分として重要であり、また、養分吸収、同化作用、葉茎・根の伸長に寄与する。植物には、硝酸態窒素が好んで利用されるが、植物に吸収された硝酸態窒素は、植物体内で同化され、この同化過程が円滑に進まない場合、植物体内に硝酸塩が多く蓄積することとなる。硝酸態窒素は、血液中のヘモグロビンを酸化してメトヘモグロビンとするため、特に乳幼児においてメトヘモグロビン血症を引き起こすことや、体内でのビタミンA利用性の低下、肝機能や甲状腺機能低下をもたらすなどの影響が報告されている。したがって、植物体中の硝酸塩を低減することが望ましい。

[0043] 本発明の方法によれば、ストレスを与えない通常栽培の場合と比べて、アイスプラント中の硝酸態窒素が硝酸イオン濃度として、少なくとも約30%低下し、例えば少なくとも約40%低下し、好ましくは少なくとも約50%低下し、さらに好ましくは少なくとも約60%低下し、より好ましくは少なくとも約70%低下する。本発明の方法によって変移したアイスプラントは

、硝酸イオン濃度として約5000ppm以下、好ましくは約4000ppm以下、さらに好ましくは約3000ppm以下、より好ましくは約2000ppm以下の硝酸態窒素を含有する。

[0044] 本発明の方法によって、通常のアイスプラントよりも高い含量でピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンを含むアイスプラントが得られる。本発明の方法によれば、さらに、通常のアイスプラントよりも高い含量でピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンを含み、かつ、通常のアイスプラントよりも硝酸態窒素含量が低減したアイスプラントが得られる。

[0045] さらに、本発明の別の態様として、通常のアイスプラントよりも高い含量でピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンを含むアイスプラントが提供される。本発明において、「通常のアイスプラント」とは、上記した本発明の方法におけるストレスを与えることなく栽培されたアイスプラントを意味する。

[0046] 本発明のアイスプラントは、通常のアイスプラントよりも、ピニトールを少なくとも約1.5倍、好ましくは少なくとも約2倍、さらに好ましくは少なくとも約2.5倍、より好ましくは少なくとも約3倍、 β -カロテンを少なくとも約1.2倍、例えば少なくとも約1.5倍、好ましくは少なくとも約1.8倍、さらに好ましくは少なくとも約2.0倍、より好ましくは少なくとも約2.5倍、ビタミンKを少なくとも約1.2倍、例えば少なくとも約1.5倍、好ましくは少なくとも約2.0倍、さらに好ましくは少なくとも約2.5倍、より好ましくは少なくとも約3.0倍、およびプロリンを少なくとも約3倍、好ましくは少なくとも約5倍、さらに好ましくは少なくとも約7倍、より好ましくは少なくとも約9倍高い含量で含む。

[0047] 本発明のアイスプラントは、植物体の生重量100gあたり、約30mg以上、例えば約60mg以上、好ましくは約100mg以上、さらに好ましくは約120mg以上、より好ましくは約150mg以上のピニトール、約1000 μ g以上、例えば約1400 μ g以上、好ましくは約2500 μ g

以上、さらに好ましくは約3500 μ g以上、より好ましくは約4000 μ g以上の β -カロテン、約40 μ g以上、例えば約120 μ g以上、好ましくは約200 μ g以上、さらに好ましくは約250 μ g以上、より好ましくは約300 μ g以上のビタミンK、および約7mg以上、例えば約40mg以上、好ましくは約60mg以上、さらに好ましくは約80mg以上、より好ましくは約100mg以上のプロリンを含有する。本発明のアイスプラント中のピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの重量に基づく含有比率は、好ましくは1:0.01~0.05:0.001~0.005:0.2~1.2、より好ましくは1:0.01~0.04:0.001~0.003:0.4~1.1、さらに好ましくは1:0.02~0.04:0.001~0.003:0.5~1.1である。

[0048] さらに、本発明は、通常のアイスプラントよりも高い含量でピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンを含み、かつ、通常のアイスプラントよりも硝酸態窒素含量が低減したアイスプラントを提供する。本発明のアイスプラントは、通常のアイスプラントよりも、アイスプラント中の硝酸態窒素含量が硝酸イオン濃度として、少なくとも約30%低下し、例えば少なくとも約40%低下し、好ましくは少なくとも約50%低下し、さらに好ましくは少なくとも約60%低下し、より好ましくは少なくとも約70%低下している。本発明のアイスプラントは、硝酸イオン濃度として約5000ppm以下、好ましくは約4000ppm以下、さらに好ましくは約3000ppm以下、より好ましくは約2000ppm以下の硝酸態窒素を含有する。

[0049] ピニトールは、キローイノシトールのメトキシ誘導体であり、インスリン様の血糖降下作用を持つことが知られている。ピニトールは、インスリンの作用に対して体細胞をより感受性にし得るので、インスリンの分泌時に、血流から細胞内へのグルコースの取り込みをより容易にする。ピニトールについての研究は進行中であるが、ピニトールの定期的な投与がII型糖尿病患者に有益であったことが示されている。ピニトールは、血中グルコースレベ

ルの安定化に役立つと考えられる。 β -カロテンは、酸素ラジカルを消去する抗酸化活性物質であり、また、抗癌作用を有することも知られている。ビタミンKは、血液を正常に凝固させるための必須物質であり、骨へのカルシウム定着にも必要とされる。プロリンは、20種ある重要アミノ酸の一つであり、保水作用を有することが知られており、また、コラーゲン生成にも必要とされる。

[0050] 本発明のアイスプラントは、上記のごとく有用な作用を有する機能性成分ピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンを高含量で含むので、機能性食品として有用である。また、本発明のアイスプラントは、抽出物または粉末または、エキス等に加工することにより、天然由来の機能性素材として利用できる。

[0051] 本発明のアイスプラントのエキス抽出方法および粉末化方法は常法に従えばよい。例えば、水、アルコール、超臨界高圧技術により抽出することができる。例えば、真空凍結乾燥、遠赤外線乾燥、温風乾燥方法により乾燥し、粉末化することができる。粉末化のために使用する装置の例としては、真空凍結乾燥機〔(FD-15-FL)日本テクノサービス株式会社製〕、遠赤外線食品乾燥機〔(V7513-S)株式会社ヴィアノーベ製〕、定温恒温乾燥器〔(NDO-410)東京理化工機株式会社製〕、粉碎機〔(WM-10)三庄インダストリー株式会社製〕などが挙げられる。

[0052] 本発明のアイスプラントから得られた機能性素材は、栄養補助食品、健康補助食品などのサプリメント類、ドリンク剤、医薬品、化粧品などの様々な製品の材料として利用できる。上記製品は、適宜、当該分野で周知の賦形剤等を用いて、常法により、錠剤、粉末、液剤、カプセル剤、クリーム剤、ゲル剤、エアゾール剤、軟膏剤、パップ剤等の所望の形態で得ることができる。例えば、本発明の機能性素材を結晶性セルロース、脂肪酸エステル、微粒二酸化ケイ素等の賦形剤、および所望により可溶性食物繊維、イナゴマメ抽出物、食用酵母、各種ビタミン類等の他の有効成分と共に、造粒および混合し、打錠することができる。本発明のアイスプラントは、上記のように有用

な機能性成分を高含量で有するので、本発明のアイスプラントから得られた機能性素材を用いた製品は、例えば、糖尿病をはじめとする生活習慣病の予防や抗老化作用、美容、保湿効果、多嚢胞性卵巣症候群改善、不定愁訴軽減、疲労回復、免疫力向上、肝機能向上等に有効である。

[0053] 以下、実施例を示して本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

実施例 1

[0054] 植物栽培方法および変移確認方法

全実施例において、下記の方法を用いてアイスプラントを栽培した。

アイスプラントの種子を水耕栽培用のサラダウレタン（商品名、株式会社M式水耕研究所製）に播種し、育苗トレイで発芽させ、2～4葉期まで育成した。その後、閉鎖式植物工場内でのNFT循環栽培（薄膜循環水耕栽培）に付した。水耕液には、大塚処方（窒素、リン酸、カリ、石灰、マグネシウム、マンガン、ホウ素、鉄、銅、亜鉛、モリブデンなどを含む）を用いた。各ストレスを負荷するまで、pH 5.5～6.5、日照時間24時間、栽培密度40.7株/m²、EC（電気伝導度）0.23～0.27、室温22℃の条件下で栽培し、播種後15日目に100mM濃度の塩化ナトリウムを水耕液に添加した。ただし、本発明において、塩化ナトリウムは必ずしも添加しなくともよい。

アイスプラントの変移は、茎葉のクロロフィル色素の濃緑化を目視によって確認した。このクロロフィル色素含量を葉緑素計（SPAD計）で計測したところ、変移していない健全株では35～45SPAD前後であったのに対して、変移株では50SPAD以上となった。

実施例 2

[0055] pHの変動によるストレス試験

アイスプラントを実施例1に記載のとおり栽培し、播種後50日目に水耕液にpHダウン液、もしくはpHアップ液を150ml/1000L添加し、水耕液のpHをpH3.0程度上下に変動させた。ストレス負荷後10日

目にアイスプラントが変移した。

実施例 3

[0056] 温度の上昇によるストレス試験

アイスプラントを実施例 1 に記載のとおり栽培し、播種後 5 5 日目に室内温度を約 4 0 時間かけ 2 2 °C から 3 0 °C まで上昇させた。なお液温も同温度とした。その後 3 時間で室内温度を 2 2 °C に戻した。ストレス負荷後 5 日目にアイスプラントが変移した。

実施例 4

[0057] 湿度の低下によるストレス試験

アイスプラントを実施例 1 に記載のとおり栽培し、播種後 5 5 日目に栽培ベッド内の養液を全て排水し、根が空気に触れる乾燥状態にした。その結果、ストレス負荷後 5 日目にアイスプラントが変移した。

実施例 5

[0058] 紫外線照射によるストレス試験

アイスプラントを実施例 1 に記載のとおり栽培し、播種後 5 5 日目に紫外線照射 (1 5 0 ~ 1 0 0 0 uW / c m²) を開始した。その結果、ストレス負荷後 1 0 日目にアイスプラントが変移した。

実施例 6

[0059] 光量の増加によるストレス試験

アイスプラントを実施例 1 に記載のとおり発芽、育成し、定植と同時に 1 9 0 μ m o l / m² / s の強光を照射した。その結果、定植後 1 0 日目に定植を行った全植物が変移した。

実施例 7

[0060] 溶存酸素の低下によるストレス試験

アイスプラントを実施例 1 に記載のとおり栽培し、播種後 5 4 日目から、養液供給を「1 時間ポンプ稼働した後、3 時間ポンプ停止」のサイクルで行った。このときの溶液中の溶存酸素濃度は、約 2 m g / L ~ 4 m g / L であ

った。ストレス負荷後9日目に全植物体が変移した。

実施例 8

[0061] 根の切断によるストレス試験

アイスプラントを実施例1に記載のとおり栽培し、播種後50、55、56または60日目に根を切断した。その結果、アイスプラントは、ストレス負荷後10～15日で完全に変移した。播種後50および55日目に根を切断した試験群では、100%の植物体の変移した。播種後56日目に根を切断した試験群では、89%の植物体の変移した。一方、播種後60日目に根を切断した試験群では、100%の植物体の変移しなかった。

実施例 9

[0062] カリウム濃度の増加によるストレス試験

水耕液に添加する塩化ナトリウム濃度以外は実施例1に記載の方法にしたがって、アイスプラントを栽培した。水耕液には、塩化ナトリウムの代わりに等モルの硫酸カリウムを添加した。対照として、塩化ナトリウムも硫酸カリウムも添加しない群、等モルの塩化ナトリウムを添加しない群において実験を行った。1群につき6株のアイスプラントを用い、播種後40日後に、塩化ナトリウム86mM(0.5%)、171mM(1%)、342mM(2%)、513mM(3%)または硫酸カリウム43mM、85.5mM、171mM、256.5mMを水耕液に添加した。

その結果、342mMの塩化ナトリウムを添加した群は、添加後15日目に40%の株が変移した。一方、171mMの硫酸カリウムを添加した群は、添加後15日目に90%の株が変移した。

実施例 10

[0063] 機能性成分分析実験1

アイスプラントを実施例1に記載のとおり栽培し、播種後55日目に根を切断した。根切断後10日に変移した植物体を採取した。これを変移株Aという。

塩化ナトリウムを水耕液に添加しなかったこと以外は実施例1に記載のと

おりにアイスプラントを栽培し、播種後55日目に根を切断した。根切断後10日に変移した植物体を採取した。これを変移株Bという。

対照として、実施例1に記載のとおり栽培したアイスプラントを播種後65日目に採取した。これを対照株という。

採取した変移株Aおよび変移株Bおよび対照株を下記の機能性成分分析に付した。

[0064] ピニトール分析

ピニトール分析は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）（島津製作所、検出器：示唆屈折検出器）を用いて行った。移動相としてアセトニトリル／水＝75／25（V／V）を流速1.0mL／min.、温度70℃でShodexDC-613（6.0mm I. D. x 150mm L）カラムに流した条件下において、試料溶液を注入し、ピニトールを検出した。分析には、変移株A、変移株Bおよび対照株各3個体を付した。具体的には、以下の手順に従った。まず、適量の植物体全体に純水を添加し、ホモジナイザーで破碎処理した。次いで、10000rpmで遠心分離し、その濾過液を定容後、0.20μmメンブレンフィルターに通し、試料溶液とした。

[0065] プロリン分析

プロリン分析は、Bates (Bates, L.S., R.P.Waldren, I.D.Teare, Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39,205-207(1973)) の方法に従った。簡単に言うと、3% (W/V) スルホサリチル酸を加え破碎、遠心分離した検体抽出液2mLに、酸ニンヒドリン溶液2mLと氷酢酸2mLを添加し、100℃で1時間反応させた後、トルエン4mLを加え、強く攪拌後、520nmの吸光度を測定した。

[0066] β-カロテン分析

β-カロテンの分析は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）（日立ハイテクノロジーズ、検出器：L-2455形ダイオードアレイ検出器）を用いて行った。移動相としてメタノール／エタノール＝5／1（V／V）を流速0.8mL／min.、温度40℃で、日立LaChromC18（4.

6 mm I. D. x 150 mm L) カラムに流した条件下において、試料溶液を注入し、波長455 nmにてβ-カロテンを検出した。分析には、変移株A、変移株Bおよび対照株各3個体を付した。具体的には、以下の手順に従った。まず、適量の植物体全体に3% (W/V) ピロガロール-エタノール5 mLと60% (W/V) 水酸化カリウム0.5 mLを添加し、70°Cで30分間けん化した。その後、水冷し、1% (W/V) 塩化ナトリウム11.25 mLを加えた後、ヘキサン-酢酸エチル混液(9:1 V/V) 7.5 mLにて、振盪、遠心分離による抽出操作を3回行った。得られた抽出液を40°Cで減圧濃縮し、残留物を一定量のクロロホルムに溶解させ、0.20 μmメンブレンで濾過した濾液を試料溶液とした。

[0067] ビタミンK分析

ビタミンKの分析は、高速液体クロマトグラフィー(日立ハイテクノロジーズ、検出器:L-2455形ダイオードアレイ検出器)を用いて行った。移動相としてアセトニトリル/メタノール=60/40 (V/V)を流速1.0 mL/min、温度40°Cで、日立LaChromC18(4.6 mm I. D. x 150 mm L)カラムに流した条件下において、試料溶液を注入し、波長265 nmにてビタミンKを検出した。分析には、変移株および対照株各3個体を付した。具体的には、以下の手順に従った。まず、適量の植物体全体に1% (W/V) クエン酸溶液5 mLを添加し、60°Cで5分間処理した。次いで、アセトンにて定容し、これを10分間超音波槽に浸け、一晩静置して抽出液を得た。この得られた抽出液5 mLにエタノール5 mL、1% (W/V) クエン酸溶液5 mLを加えた後、ヘキサン-酢酸エチル混液(9:1 V/V) 7.5 mLにて、振盪、遠心分離による抽出操作を3回行った。得られた抽出液を40°Cで減圧濃縮し、残留物をヘキサン5 mLに溶解させ、シリカゲルミニ充填カラムに流し込んだ。そして、カラムに保持させたビタミンKを、ヘキサングエチルエーテル(85:15 V/V) 30 mLで溶出させ、溶出液を40°Cで減圧濃縮後、残留物を一定量のメタノールに溶解させ、0.20 μmメンブレンで濾過した濾液を試料溶液とした。

。

[0068] リンゴ酸分析

リンゴ酸の分析は、高速液体クロマトグラフィー高速液体クロマトグラフィー（日立ハイテクノロジーズ 有機酸（BTB法）分析システム、検出器：L-2420形UV-VIS検出器）を用いて行った。移動相として3 mmol/L過塩素酸を流速0.5 mL/min、温度40℃で、日立GL-C610H-S（7.8 mm I.D. x 300 mm L）カラムに流した条件下において、試料溶液を注入し、カラム分離後、BTB溶液と反応させ、波長440 nmにてリンゴ酸を検出した。分析には、変移株A、変移株Bおよび対照株各3個体を付した。具体的には、以下の手順に従った。まず、適量の植物体全体に純水を添加し、ホモジナイザーで破砕処理した。次いで、10000 rpmで遠心分離し、その濾過液を定容後、0.20 μmメンブレンフィルターに通し、試料溶液とした。

[0069] 抗酸化能分析

さらに、アイスプラントの抗酸化能を分析した。ここで、抗酸化能とは、β-カロテンを含めた抗酸化成分の機能を示す。抗酸化成分には、β-カロテンの他に、ベタシアニンやビタミンE、ビタミンC、ポリフェノールなどが含まれる。

抗酸化能の分析は、池羽ら（池羽智子、鹿島恭子「県産野菜の抗酸化性の評価と加熱調理による変化」茨城県農業総合センター園芸研究所研究報告第14号、27-33（2006））の方法に従った。簡単に言うと、80%エタノールを加え破砕した試料に、リノール酸-βカロテン溶液を添加し、50℃の恒温槽に素早く入れ、15分後と45分後の吸光度A（波長470 nm）を測定して、 $\Delta A = A_{15分} - A_{45分}$ を求めた。 ΔA の値と合成抗酸化剤であるブチルヒドロキシアニソール（以後BHAと略記）濃度のlog対数値が直線関係にあることを利用し、BHA標準液で ΔA を求めて作成した検量線から、被検液の抗酸化性をBHA濃度に換算して評価した。

[0070] 結果を表1に示す。

[表1]

	対照株	成分比	変移株 A	成分比	変移株 B	成分比
ピニトール (mg/100gFW)	32	1	117	1	196	1
プロリン (mg/100gFW)	8	0.26	68	0.57	206	1.0
β -カロテン (μ g/100gFW)	1,592	0.050	1,456	0.012	6,556	0.033
ビタミンK (μ g/100gFW)	155	0.0049	164	0.0014	411	0.0021
リンゴ酸 (mg/100gFW)	3		140		380	
BHA換算 抗酸化能 (mg/100gFW)	13		21		30	

変移株A：塩分あり＋根切断処理

変移株B：塩分なし＋根切断処理

FWは生重量 (Fresh Weight)を示す。

[0071] 塩ストレス下では、強烈なNaの毒性を排除するため、細胞内の浸透圧調整にエネルギーを割いていると思われる。従って、変移株Aでは、 β -カロテンやビタミンKなどの物質生産よりも、浸透圧調整物質であるピニトールやプロリンの生産を優先しているため、これら物質のみが増加したと考えられる。加えて、細胞内の高いNa濃度によって物質生産が妨げられていることも影響していると思われる。一方、塩ストレスが無い変移株Bでは、根切断ストレスへの対応（例えば抗酸化物質生産など）に十分エネルギーを廻すことができ、塩による酵素反応阻害も少ないため、 β -カロテンやビタミンKが増加したと考えられる。このとき、塩ストレスが無いにも関わらず、ピニトールやプロリンも増加したのは、しおれに伴う浸透圧ストレス等が関与したものと思われる。

[0072] さらに、分析検体の各機能成分含量を縦軸、ピニトール含量を横軸としてプロットし、相関係数を算定した。その結果、図1に示されるように、変移株に含まれるピニトールと各機能性成分との間に相関関係があることが分かった。

実施例 11

[0073] 硝酸態窒素の測定

アイスプラント中の硝酸態窒素の測定は、H O R I B A 製コンパクト硝酸イオンメーターB-341によって行った。簡単に言うと、アイスプラントの株全体をしぼり器でしぼり、均一化した試料を測定器センサーにたらし測定した。

[0074] 実施例10に記載のアイスプラント変移株Aおよび対照株中の硝酸態窒素を測定した結果、変移株中の硝酸態窒素含量は、硝酸イオン濃度として1,900ppmであった。一方、対照株中の硝酸態窒素含量は、硝酸イオン濃度として2,800ppmであった。したがって、変移株中の硝酸態窒素含量は、対照株と比べて約32%低下した。

実施例 12

[0075] 機能性素材の製造1

実施例10の記載にしたがって得られた変移株A、変移株Bおよび対照株アイスプラント生原材料を真空凍結乾燥機、温風乾燥機、または遠赤外線乾燥機のいずれかで乾燥し、粉砕機で粒径200 μ m以下の粉末にした。生重量から粉末への歩留まりは約3-5%であり、粉末の水分量は5%未満にした。乾燥機として、真空凍結乾燥機FD-15-FL（日本テクノサービス株式会社製）、遠赤外線食品乾燥機V7513-S（株式会社ヴィアノーベ製）、または定温恒温乾燥器NDO-410（東京理化器機株式会社製）を使用し、粉砕機として粉砕機WM-10（三庄インダストリー株式会社製）を使用した。

[0076] 機能性成分分析

上記の方法によって得られたアイスプラント凍結乾燥粉末を実施例10に記載と同様の機能性成分分析に付した。

結果を下記の表2に示す。

[0077]

[表2]

表2 対照株の凍結乾燥粉末と変移株の凍結乾燥粉末の測定データ			
	対照株粉末	変移株A粉末	変移株B粉末
ピニトール (mg/100g DW)	862	1,462	2,590
プロリン (mg/100g DW)	361	1,377	2,900
βカロテン (μg/100g DW)	38,546	34,792	46,337
ビタミンK (μg/100g DW)	3,630	3,710	4,787
リンゴ酸 (mg/100g DW)	58	2,160	3,566
BHA換算 抗酸化能 (mg/100g DW)	415	482	521

変移株A：塩分あり+根切断処理

変移株B：塩分なし+根切断処理

DWは乾燥重量 (Dry Weight)を示す。

[0078] 硝酸態窒素測定

上記の方法によって得られた変移株Aおよび対照株のアイスプラント凍結乾燥粉末を実施例11の記載と同様の硝酸態窒素測定に付した。

変移株粉末中の硝酸態窒素含量は、硝酸イオン濃度として34,000 ppmであった。一方、対照株粉末中の硝酸態窒素含量は、硝酸イオン濃度として120,000 ppmであった。したがって、変移株中の硝酸態窒素含量は、対照株と比べて約72%低下した。

実施例 13

[0079] 機能性成分分析実験2

塩化ナトリウムを水耕液に添加しなかったこと以外は実施例1に記載のとおりアイスプラントを栽培し、播種後54日目から、養液供給を「1時間ポンプ稼働した後、3時間ポンプ停止」のサイクルで行った。このときの溶液中の溶存酸素濃度は、約2mg/L~4mg/Lであった。ストレス負荷後9日目に変移した植物体を採取した。これを変移株Cという。

塩化ナトリウムを水耕液に添加しなかったこと以外は実施例1に記載のとおりアイスプラントを栽培し、播種後50日目に水耕液にpHダウン液を

150 ml / 1000 L 添加し、水耕液の pH を 6.1 から 3.2 に変動させた。ストレス負荷後 10 日目に変移したアイスプラントを採取した。これを変移株 D という。

採取した変移株 C、および変移株 D を実施例 10 の記載と同様に機能性成分分析に付した。なお、対照株については実施例 10 と同様である。

[0080] 結果を表 3 に示す。

[表3]

	対照株	成分比	変移株C	成分比	変移株D	成分比
ピニトール (mg/100gFW)	32	1	202	1	105	1
プロリン (mg/100gFW)	8	0.26	162	0.80	47	0.45
β -カロテン (μ g/100gFW)	1,592	0.050	4,895	0.024	1,918	0.018
ビタミンK (μ g/100gFW)	155	0.0049	310	0.0015	212	0.0020
リンゴ酸 (mg/100gFW)	3		241		177	
BHA換算 抗酸化能 (mg/100gFW)	13		28		22	

変移株C：塩分なし+溶存酸素の低下処理

変移株D：塩分なし+ pHの変動処理

FWは生重量 (Fresh Weight)を示す。

実施例 14

[0081] 機能性素材の製造 2

実施例 13 の記載にしたがって得られた変移株 C および変移株 D のアイスプラント生原材料を実施例 12 の記載と同様に粉末化した。生重量から粉末への歩留まりは約 3 - 5 % であり、粉末の水分量は 5 % 未満にした。

[0082] 機能性成分分析

上記の方法によって得られたアイスプラント凍結乾燥粉末を実施例 10 に記載と同様の機能性成分分析に付した。なお、対照株については実施例 12 と同様である。

結果を下記の表 4 に示す。

[0083]

[表4]

表4 対照株の凍結乾燥粉末と変移株の凍結乾燥粉末の測定データ			
	対照株粉末	変移株C粉末	変移株D粉末
ピニトール (mg/100g DW)	862	2,916	1,450
プロリン (mg/100g DW)	361	2,265	1,543
β カロテン (μ g/100g DW)	38,546	43,499	39,097
ビタミンK (μ g/100g DW)	3,630	4,545	4,008
リンゴ酸 (mg/100g DW)	58	3,153	2,722
BHA換算 抗酸化能 (mg/100g DW)	415	533	504

変移株C：塩分なし+溶存酸素の低下処理

変移株D：塩分なし+pHの変動処理

DWは乾燥重量 (Dry Weight)を示す。

実施例 15

[0084] サプリメントの製造

実施例12または実施例14の記載にしたがって製造されたアイスプラント粉末を可溶性食物繊維、食用酵母、イナゴマメ抽出物、各種ビタミン類、結晶性セルロース、脂肪酸エステル、および微粒二酸化ケイ素と共に、常法にしたがって造粒および混合し、打錠することにより、天然由来の機能性成分を含むサプリメントを製造した。

産業上の利用可能性

[0085] 本発明によれば、アイスプラント栽培においてストレスを負荷することにより、アイスプラント中の機能性成分ピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含量を増加させることができ、このような機能性成分を豊富に含有するアイスプラントを効率良く得ることができる。このような機能性成分を豊富に含有するアイスプラントは、天然機能性素材として、食品、医薬、化粧品等の幅広い分野で利用することができる。

請求の範囲

- [請求項1] ピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含量が増加したアイスプラントの生産方法であって、栽培においてアイスプラントにストレスを与えることを特徴とする方法。
- [請求項2] 栽培が水耕栽培である、請求項1記載の方法。
- [請求項3] ストレスが下記(1)～(8)から選択される1以上である、請求項1または2記載の方法：
- (1) pHの変動、
 - (2) 温度の上昇、
 - (3) 湿度の低下、
 - (4) 紫外線照射、
 - (5) 光量の増加、
 - (6) 溶存酸素の低下、
 - (7) 根の切断、
 - (8) カリウム濃度の増加。
- [請求項4] さらに硝酸態窒素含量が低減したアイスプラントが得られる、請求項1～3のいずれか1項記載の方法。
- [請求項5] 得られるアイスプラントが植物体の生重量100gあたり、30mg以上のピニトール、1000 μ g以上の β -カロテン、40 μ g以上のビタミンK、7mg以上のプロリンを含有する、請求項1～4のいずれか1項記載の方法。
- [請求項6] 得られるアイスプラント中のピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含有比率が1：0.01～0.05：0.001～0.005：0.2～1.2である、請求項1～5のいずれか1項記載の方法。
- [請求項7] ストレスが(1)、(6)および(7)から選択される1以上である、請求項3～6のいずれか1項記載の方法。
- [請求項8] アイスプラントの栽培において下記(1)～(8)から選択される

1以上のストレスを与えることを特徴とする、アイスプラント中のピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含量を増加させる方法：

- (1) pHの変動、
- (2) 温度の上昇、
- (3) 湿度の低下、
- (4) 紫外線照射、
- (5) 光量の増加、
- (6) 溶存酸素の低下、
- (7) 根の切断、
- (8) カリウム濃度の増加。

[請求項9] さらにアイスプラント中の硝酸態窒素が低減される、請求項8記載の方法。

[請求項10] 請求項1～9のいずれか1項記載の方法によって得られたアイスプラント。

[請求項11] 植物体の生重量100gあたり、30mg以上のピニトール、1000 μ g以上の β -カロテン、40 μ g以上のビタミンK、7mg以上のプロリンを含有するアイスプラント。

[請求項12] 植物中のピニトール、 β -カロテン、ビタミンKおよびプロリンの含有比率が1：0.01～0.05：0.001～0.005：0.2～1.2である、請求項11記載のアイスプラント。

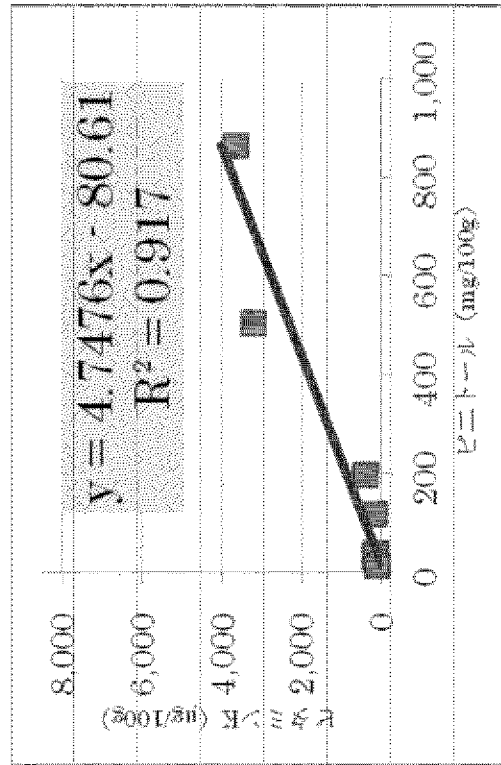
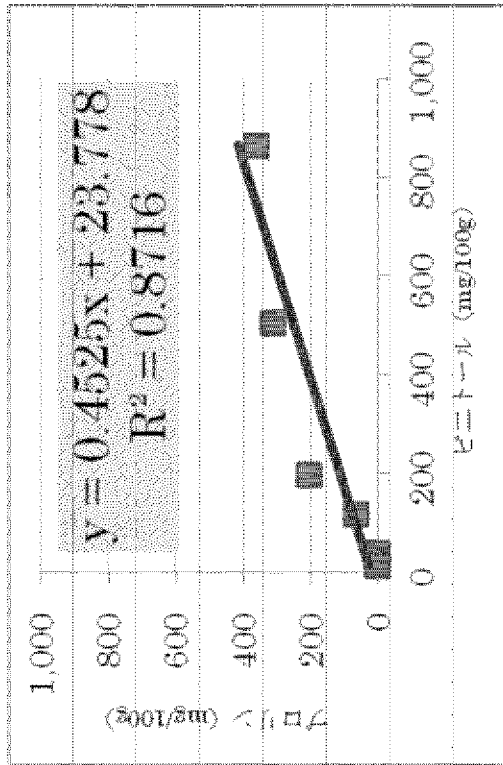
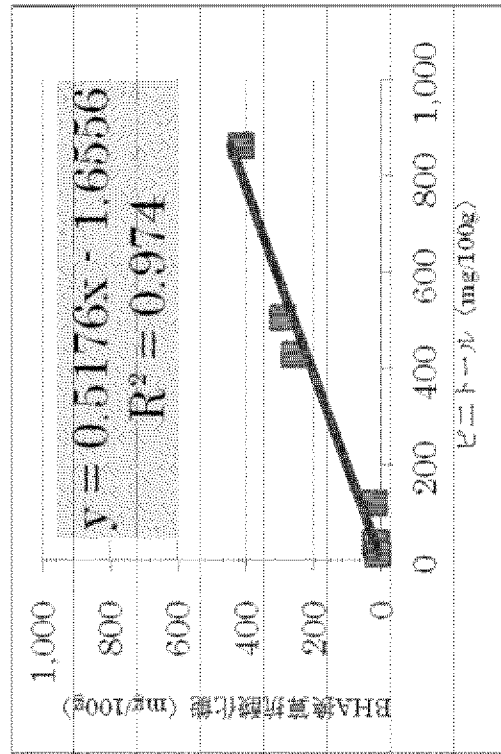
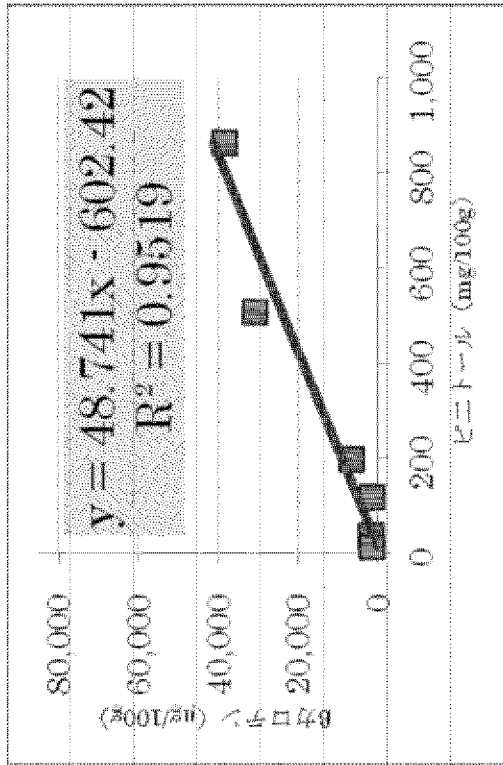
[請求項13] 請求項10～12のいずれか1項記載のアイスプラントから得られる天然機能性素材。

[請求項14] 粉末化物である、請求項13記載の天然機能性素材。

[請求項15] 請求項13または14記載の天然機能性素材を含むサプリメント。

[請求項16] 粉末または錠剤である、請求項15記載のサプリメント。

[図1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/052702

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A01G7/00(2006.01)i, A01G1/00(2006.01)i, A01G31/00(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)n

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)

A01G7/00, A01G1/00, A01G31/00, A23L1/30

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

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.
A	JP 2009-254246 A (Saga University), 05 November 2009 (05.11.2009), full specification; drawings (Family: none)	1-16
A	Eiji KUNIEDA, "Kaki no Suiko Saibai ni Okeru Baiyoekion Seigyo to Ice Plant no Seiiku", Kyushu Okinawa Nogyo Kenkyu Seika Joho, 2006, 21, 317 to 318	1-16
A	Eiji KUNIEDA, "Suiko Saibai ni Okeru Ice Plant no Saibai Jikibetsu Seiikuryo", Kyushu Okinawa Nogyo Kenkyu Seika Joho, 2006, 21, 319 to 320	1-16

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
07 May, 2013 (07.05.13)

Date of mailing of the international search report
14 May, 2013 (14.05.13)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. A01G7/00(2006.01)i, A01G1/00(2006.01)i, A01G31/00(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)n

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))
 Int.Cl. A01G7/00, A01G1/00, A01G31/00, A23L1/30

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 1971-2013年
 日本国実用新案登録公報 1996-2013年
 日本国登録実用新案公報 1994-2013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
A	JP 2009-254246 A (国立大学法人佐賀大学) 2009. 11. 05, 明細書全文、図面 (ファミリーなし)	1-16
A	國枝栄二, 夏季の水耕栽培における培養液温制御とアイスプラントの生育, 九州沖縄農業研究成果情報, 2006, 21, 317-318	1-16
A	國枝栄二, 水耕栽培におけるアイスプラントの栽培時期別生育量, 九州沖縄農業研究成果情報, 2006, 21, 319-320	1-16

☐ 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。

<p>* 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</p>	<p>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矛盾するものではなく、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</p>
---	---

国際調査を完了した日 07. 05. 2013	国際調査報告の発送日 14. 05. 2013
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 竹中 靖典 電話番号 03-3581-1101 内線 3237