

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6775242号
(P6775242)

(45) 発行日 令和2年10月28日(2020.10.28)

(24) 登録日 令和2年10月8日(2020.10.8)

(51) Int. Cl.	F I
AO1G 22/15 (2018.01)	AO1G 22/15
AO1G 7/00 (2006.01)	AO1G 7/00 601C
AO1G 31/00 (2018.01)	AO1G 31/00 612
AO1H 3/02 (2006.01)	AO1H 3/02
AO1H 5/00 (2018.01)	AO1H 5/00 Z

請求項の数 2 (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2016-175465 (P2016-175465)
 (22) 出願日 平成28年9月8日(2016.9.8)
 (65) 公開番号 特開2018-38331 (P2018-38331A)
 (43) 公開日 平成30年3月15日(2018.3.15)
 審査請求日 令和1年7月11日(2019.7.11)

(73) 特許権者 504171134
 国立大学法人 筑波大学
 茨城県つくば市天王台一丁目1番1
 (74) 代理人 100106909
 弁理士 棚井 澄雄
 (74) 代理人 100188558
 弁理士 飯田 雅人
 (74) 代理人 100169764
 弁理士 清水 雄一郎
 (72) 発明者 福田 直也
 茨城県つくば市天王台一丁目1番1 国立
 大学法人筑波大学内
 (72) 発明者 吉田 英生
 茨城県つくば市天王台一丁目1番1 国立
 大学法人筑波大学内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 レタスのクロロゲン酸含有量を増加させる方法及びレタス

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

レタスの幼植物体に、波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度100～300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ で1日あたり16時間以上照射する工程を備え、前記工程を2日間以上、CO₂濃度1000～2000ppm、根域制限下で行う、前記レタスのクロロゲン酸含有量を100mg/100g新鮮重量以上に増加させる方法。

【請求項2】

クロロゲン酸含有量が100mg/100g新鮮重量以上である、レタス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、キク科植物のクロロゲン酸含有量を増加させる方法及びキク科植物に関する。

【背景技術】

【0002】

生体内において、呼吸や脂質の過酸化等によって生じた過剰な活性酸素やフリーラジカルが、染色体や細胞の損傷を引き起こし、発癌や老化の原因になることが知られている。また、抗酸化物質には、活性酸素やラジカルを捕捉・除去する働きがあり、その機能が健康維持への貢献につながることが期待されている。

【0003】

抗酸化物質の1つであるクロロゲン酸(以下、「CGA」という場合がある。)は、コーヒー等に多く含まれるポリフェノールの一種である。CGAは、動脈硬化性疾患、糖尿病の予防等に効果があるとされており、また高い抗酸化能を持つことが知られている。

【0004】

1日に約50mgのCGAを摂取するとその効果が得られるとされている。しかしながら、そのためには毎日約3~4杯のコーヒーを飲む必要があり、特に子供や妊婦は継続的な摂取が困難であると考えられる。また、CGAは熱に弱く、すぐにキナ酸とコーヒー酸に分解してしまう。このため、抽出の過程で必ず熱を加える必要があるコーヒーの摂取により、安定してCGAを摂取することは困難である。

【0005】

CGAは、キク科植物に多く蓄積することが報告されている。発明者らは、以前に、暗期中の連続補光処理や二酸化炭素処理によって、キク科植物であるレタスのCGA含有量が増加することを明らかにした(例えば、非特許文献1を参照。)

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Yoshida, H. et al., Increase in Chlorogenic Acid Concentration in Lettuce by Overnight Supplemental Lighting and CO₂ Enrichment. Acta Horticulturae, 1134, 293-300, 2016

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

しかしながら、非特許文献1に記載した方法では、キク科植物に蓄積できるCGA含有量は最大でも60mg/100g新鮮重量程度にとどまっており、更なるCGA含有量の増加が望まれていた。そこで、本発明は、キク科植物のCGA含有量を増加させる技術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】

【0008】

本発明は以下の態様を含む。

[1] キク科植物の幼植物体に、波長400~500nmの光を光合成有効光量子束密度100~300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ で1日あたり16時間以上照射する工程を備える、前記キク科植物のCGA含有量を増加させる方法。

[2] 前記工程を2日間以上行う、[1]に記載の方法。

[3] 前記工程をCO₂濃度1000~2000ppmで行う、[1]又は[2]に記載の方法。

[4] 前記工程を根域制限下で行う、[1]~[3]のいずれかに記載の方法。

[5] 前記キク科植物がレタスである、[1]~[4]のいずれかに記載の方法。

[6] CGA含有量が100mg/100g新鮮重量以上である、キク科植物。

[7] レタスである、[6]に記載のキク科植物。

【発明の効果】

【0009】

本発明によれば、キク科植物のCGA含有量を増加させる方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】 実験例2におけるレタスのCGA含有量の測定結果を示すグラフである。

【図2】 実験例3におけるCGA含有量の測定結果を示すグラフである。

【図3】 実験例3における地上部乾物率の測定結果を示すグラフである。

【図4】 実験例3におけるレタスの乾燥重量あたりのCGA含有量の測定結果を示すグラフである。

10

20

30

40

50

【発明を実施するための形態】**【0011】**

[キク科植物のCGA含有量を増加させる方法]

1実施形態において、本発明は、キク科植物の幼植物体に、波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度 $100 \sim 300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり20時間以上照射する工程(以下、「光照射工程」という場合がある。)を備える、前記キク科植物のCGA含有量を増加させる方法を提供する。

【0012】

本実施形態の方法によりCGA含有量を増加させることができるキク科植物としては、レタス、シュンギク、ゴボウ等が挙げられる。例えば、キク科植物がレタスである場合、その品種は特に制限されず、例えばグリーンウェーブ、レッドファルダ、ノーチップ等が挙げられる。

10

【0013】

本実施形態の方法は、例えば、植物工場等でキク科植物を栽培する場合に実施することができる。

【0014】

キク科植物の幼植物体としては、例えば、本葉が数枚出た状態の植物体が挙げられる。ここで、数枚としては、例えば2～10枚が挙げられる。

【0015】

本実施形態の方法は、キク科植物が幼植物体に成長した段階から実施してもよいし、キク科植物の種を播種した段階から実施してもよい。

20

【0016】

本実施形態の方法の実施期間は、栽培するキク科植物によって適宜調整すればよいが、例えばキク科植物の幼植物体が出荷可能な大きさになるまでの期間実施すればよく、キク科植物の幼植物体に対して、例えば2日間以上、例えば4日間以上、例えば7日間以上、例えば10日間以上、例えば15日間以上、例えば20日間以上実施すればよい。本実施形態の方法は、キク科植物の育成期間の一部で実施してもよい。実施例において後述するように、キク科植物の幼植物体に対して、本実施形態の方法の実施を開始してから1週間以内において、キク科植物のCGA含有量の増加が特に顕著である傾向にある。

【0017】

本実施形態の方法において、光合成有効光量子束密度とは、光合成に必要とされる400～700nmの波長に含まれる単位時間、単位面積あたりの光子数のことである。光合成有効光量子束密度は光量子計等を用いて測定することができる。

30

【0018】

実施例において後述するように、波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度 $100 \sim 300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり16時間以上照射することにより、キク科植物のCGA含有量を、例えば100mg/100g新鮮重量以上に増加させることができる。なお、発明者らは、本実施形態の方法において、波長405nm、450nm及び470nmの光を用いることにより、キク科植物のCGA含有量を増加させることができることを確認した。

40

【0019】

キク科植物のCGA含有量が100mg/100g新鮮重量以上であれば、例えばサラダで一般的に食べられる量である50gを摂取することにより、動脈硬化性疾患、糖尿病の予防等に効果があるとされる50mgのCGAを摂取することができる。

【0020】

なお、発明者らは、波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度 $100 \sim 300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で連続照射する場合に、1日あたり10時間の暗期を設けると、キク科植物のCGA含有量の増加効果が見られなくなることを確認した。すなわち、1日あたり14時間の光照射条件ではCGA含有量の増加効果が得られない場合がある。

50

【0021】

1日あたりの光照射時間は、16時間以上であり、20時間以上が好ましく、22時間以上がより好ましく、24時間であること、すなわち、暗期を設けないことが特に好ましい。

【0022】

波長400～500nmの光は青色の光である。波長400～500nmの光としては、光合成有効光量子束密度 $100 \sim 300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で照射することができる限り特に制限されず、例えば、波長470nm付近に分光放射照度のピークを有する青色LEDの光を用いることができる。

【0023】

本実施形態の方法は、波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度 $100 \sim 300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で照射することができる限り、その他の波長の光を含有していてもよい。

【0024】

光照射工程において、 CO_2 濃度を1000～2000ppmに調整することが好ましい。実施例において後述するように、光照射工程において、 CO_2 濃度を上記の範囲にすることにより、キク科植物のCGA含有量を特に増加させることができる。

【0025】

光照射工程において、キク科植物の根域制限を行うことが好ましい。根域制限とは、容量が制限された培地で植物を栽培することにより、根の発達を制限する栽培方法である。根域制限することにより、養水分吸収を適正範囲に制御することができる。

【0026】

例えば、キク科植物1株あたりの根域を 25cm^3 以内に制限することが好ましく、 16cm^3 以内に制限することがより好ましい。上記の範囲に根域制限することにより、キク科植物のCGA含有量を増加させるとともに、乾物率を更に上昇させ、結果として新鮮重量あたりのCGA含有量を飛躍的に向上させることができる。

【0027】

[キク科植物]

1実施形態において、本発明は、CGA含有量が $100 \text{mg} / 100 \text{g}$ 新鮮重量以上である、キク科植物を提供する。キク科植物のCGA含有量は、 $150 \text{mg} / 100 \text{g}$ 新鮮重量以上であることがより好ましく、 $150 \text{mg} / 100 \text{g}$ 新鮮重量以上であることが更に好ましく、 $200 \text{mg} / 100 \text{g}$ 新鮮重量以上であることが特に好ましい。

【0028】

キク科植物のCGA含有量が $100 \text{mg} / 100 \text{g}$ 新鮮重量以上であれば、例えばサラダで一般的に食べられる量である50gを摂取することにより、動脈硬化性疾患、糖尿病の予防等に効果があるとされる50mgのCGAを摂取することができる。

【0029】

本実施形態のキク科植物は、例えば、上述した方法により得ることができる。キク科植物としては、上述したものが挙げられる。

【実施例】

【0030】

次に実験例を示して本発明を更に詳細に説明するが、本発明は以下の実験例に限定されるものではない。

【0031】

[実験例1]

異なる照明条件下でレタスを水耕栽培し、CGA蓄積量を検討した。まず、ウレタン培地(縦23mm、横23mm、高さ30mm)にレタス(品種名:グリーンウェーブ)の種を播種し、液体肥料を用いて水耕栽培した。ここで、ウレタン培地を1つずつ別々のシャーレに乗せ、根域を制限した。播種したレタスに、蛍光灯の光を光合成有効光量子束密度 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり12時間照射し、明期及び暗期を各12

10

20

30

40

50

時間とした。その結果、播種から2週間後に本葉が数枚出た状態になった。その後、レタスを、対照区、赤色LED区、青色LED区及び白色LED区に分け、更に1週間栽培した。

【0032】

対照区では、蛍光灯の光を光合成有効光量子束密度 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり12時間照射し、明期及び暗期を各12時間とした ($n = 6$)。なお、本実験例で使用した蛍光灯の光には、波長 $400 \sim 500 \text{ nm}$ の光が約34%含まれていた。したがって、対照区では波長 $400 \sim 500 \text{ nm}$ の光を光合成有効光量子束密度約 $34 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で照射したことになる。

【0033】

赤色LED区 (R) では、赤色LEDの光 (分光放射照度のピークを波長約 660 nm に有する光) を光合成有効光量子束密度 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり24時間連続照射した ($n = 6$)。

【0034】

青色LED区 (B) では、青色LEDの光 (分光放射照度のピークを波長約 470 nm に有する光) を光合成有効光量子束密度 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり24時間連続照射した ($n = 6$)。

【0035】

白色LED区 (W) では、白色LEDの光を光合成有効光量子束密度 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり24時間連続照射した ($n = 6$)。なお、本実験例で使用した白色LEDの光には、波長 $400 \sim 500 \text{ nm}$ の光が約30%含まれていた。したがって、白色LED区では波長 $400 \sim 500 \text{ nm}$ の光を光合成有効光量子束密度約 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で照射したことになる。

【0036】

続いて、各レタスのCGA含有量を高速液体クロマトグラフィーにより定量した。表1に結果を示す。表1中、「R」は赤色LED区の結果を示し、「B」は青色LED区の結果を示し、「W」は白色LED区の結果を示す。また、同じ列のアルファベットの異符号間にはTukey-Kramer testにより危険率5%未満で有意差があることを示す。

【0037】

【表1】

	地上部生体重 (g/株)	CGA含有量 (mg/100g新鮮重量)
対照区	1.4 a	7.0 a
R	0.8 b	16.1 a
B	1.1 ab	114.7 c
W	1.1 ab	72.7 b

【0038】

その結果、根域制限条件下において青色LEDの光による連続照明を行った群において、CGA含有量が有意に高くなり、対照区の16倍以上である $114.7 \text{ mg} / 100 \text{ g}$ 新鮮重量に達したことが明らかとなった。

【0039】

[実験例2]

CO_2 濃度及び光強度を変化させた条件下でレタスを水耕栽培し、CGA蓄積量を検討した。まず、実験例1と同様にして、根域制限条件下でレタス (品種名: グリーンウェーブ) を本葉が数枚出た状態にまで栽培した。その後、レタスを、異なる CO_2 濃度及び異なる光条件下で更に1週間栽培した。 CO_2 濃度は、400、1000、1500及び2000 ppmとした。光条件は、蛍光灯の光を光合成有効光量子束密度100、200及び $300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり24時間連続照射した。なお、本実験例

10

20

30

40

50

で使用した蛍光灯の光には、波長400～500nmの光が約34%含まれていた。したがって、上記の各群では、それぞれ、波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度約34、約68、約102 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で照射したことになる。

【0040】

また、対照区では、蛍光灯の光を光合成有効光量子束密度100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり12時間照射し、明期及び暗期を各12時間とした。なお、上記と同様に、対照区では波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度約34 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で照射したことになる。

【0041】

続いて、各レタスのCGA含有量を高速液体クロマトグラフィーにより定量した。図1は、CGA含有量の測定結果を示すグラフである。図中、「F100」、「F200」、「F300」は、それぞれ、蛍光灯の光を光合成有効光量子束密度100、200及び300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり24時間連続照射したことを示す。また、アルファベットの異符号間にはTukey-Kramer testにより危険率5%未満で有意差があることを示す。

10

【0042】

その結果、いずれのCO₂濃度においても、蛍光灯の光を光合成有効光量子束密度200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ （波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度約60 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）で連続照射した場合に、レタスのCGA含有量が最も高くなることが明らかとなった。

20

【0043】

また、蛍光灯の光を光合成有効光量子束密度200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ （波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度約68 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）で連続照射した場合において、CO₂濃度1000～2000ppmでレタスのCGA含有量が特に高くなり、CO₂濃度2000ppmにおいて最大215mg/100g新鮮重量のCGA含有量に達したことが明らかとなった。

【0044】

[実験例3]

CO₂濃度及び光強度を変化させた条件下でレタスを水耕栽培し、CGA蓄積量を検討した。まず、実験例1と同様にして、レタス（品種名：グリーンウェーブ）を本葉が数枚出た状態にまで栽培した。この、本葉が数枚出た時点を実験開始時とした。その後、レタスを、根域制限あり又は根域制限なしの条件下で更に約2週間栽培した。根域制限は実験例1と同様にして行った。また、根域制限なし条件とはウレタン培地を別々のシャーレに乗せずに水耕栽培することにより行った。

30

【0045】

また、CO₂濃度は、400又は1000ppmとした。また、光条件は、蛍光灯からの光を光合成有効光量子束密度200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり24時間連続照射した（連続照明条件下）。なお、本実験例で使用した蛍光灯の光には、波長400～500nmの光が約34%含まれていた。したがって、上記の条件下では、波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度約68 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で連続照射したことになる。

40

【0046】

また、対照区では、蛍光灯の光を光合成有効光量子束密度100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で1日あたり12時間照射し、明期及び暗期を各12時間とした。なお、上記と同様に、対照区では波長400～500nmの光を光合成有効光量子束密度約34 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で照射したことになる。

【0047】

実験開始後、4、7、10及び13日目に各レタスのCGA含有量を高速液体クロマトグラフィーにより定量した。また、地上部乾物率も測定した。

【0048】

50

図2は、CGA含有量の測定結果を示すグラフである。図中、「C」は対照区の結果を示し、「F」は連続照明条件下の結果を示す。また、「U」は根域制限ありの結果を示し、「H」は根域制限なしの結果を示す。

【0049】

その結果、連続照明条件下ではCGA含有量が上昇し、特に根域制限条件下では、実験開始後4日目に約200mg/100g新鮮重量に達した。一方、連続照明条件下であっても、根域制限を行わなかった場合には、実験開始後4日目に一時的にCGA含有量が増加したものの、その後CGA含有量の急速な低下が認められた。また、対照区では根域制限の有無にかかわらずCGA含有量の増加は認められなかった。

【0050】

10

図3は、地上部乾物率の測定結果を示すグラフである。図中、「C」は対照区の結果を示し、「F」は連続照明条件下の結果を示す。また、「U」は根域制限ありの結果を示し、「H」は根域制限なしの結果を示す。

【0051】

その結果、レタス植物体の乾物率は、連続照明条件下で増大することが明らかとなった。また、連続照明条件下で根域制限を行った場合には、継続的に高い乾物率が維持される傾向が認められた。

【0052】

図4は、レタスの乾燥重量あたりのCGA含有量を示すグラフである。図中、「C」は対照区の結果を示し、「F」は連続照明条件下の結果を示す。また、「U」は根域制限ありの結果を示し、「H」は根域制限なしの結果を示す。

20

【0053】

その結果、CGA含有量は、連続照明条件下で増加する傾向が認められた。特に、連続照明条件下で根域制限を行った場合にCGA含有量の増加が顕著に認められ、10mg/g乾燥重量以上に達したことが明らかとなった。

【産業上の利用可能性】

【0054】

本発明によれば、キク科植物のCGA含有量を増加させる方法を提供することができる。

。

【 図 1 】

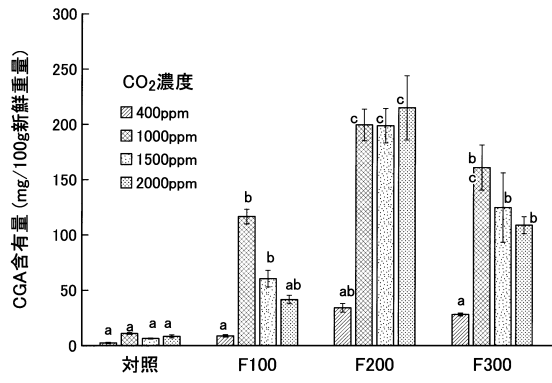


図 1

【 図 2 】

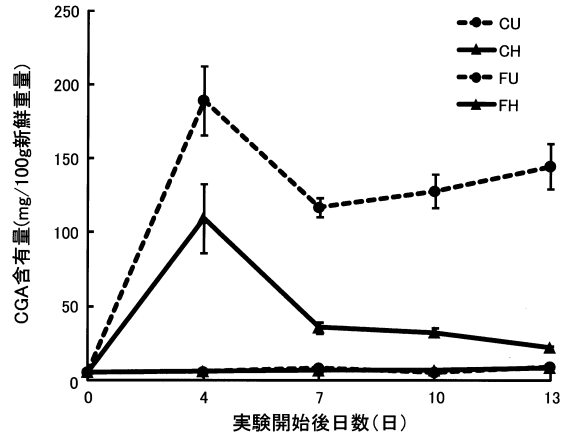


図 2

【 図 3 】

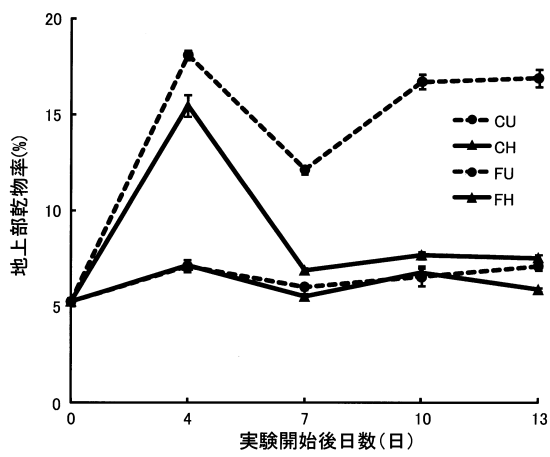


図 3

【 図 4 】

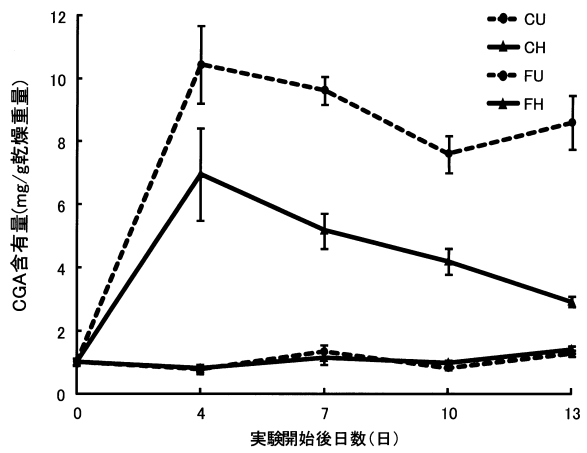


図 4

フロントページの続き

(72)発明者 下村 未知瑠

茨城県つくば市天王台一丁目1番1 国立大学法人筑波大学内

審査官 坂田 誠

(56)参考文献 特開2013-66394(JP,A)

特開2016-106621(JP,A)

特開2003-204718(JP,A)

国際公開第2010/140632(WO,A1)

Yoshida, H. et al., Increase in chlorogenic acid concentration in lettuce by overnight supplemental lighting and CO₂, Acta Horticulturae, 2016年 5月22日, 1134, p.293-300

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A01G 22/00

A01G 7/00

A01G 31/00 - 31/06