

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-306035

(43) 公開日 平成10年(1998)11月17日

|                           |       |                       |
|---------------------------|-------|-----------------------|
| (51) Int.Cl. <sup>6</sup> | 識別記号  | F I                   |
| A 6 1 K 35/80             | A D X | A 6 1 K 35/80 A D X Z |
| // A 2 3 L 3/3472         |       | A 2 3 L 3/3472        |

審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平9-131629

(22) 出願日 平成9年(1997)5月7日

特許法第30条第1項適用申請有り

(71) 出願人 390016953

株式会社海産物のきむらや  
鳥取県境港市渡町3307番地

(72) 発明者 木村 隆行

鳥取県境港市渡町3307 株式会社海産物の  
きむらや内

(72) 発明者 三木 康成

鳥取県境港市渡町3307 株式会社海産物の  
きむらや内

(72) 発明者 矢倉 美代

鳥取県米子市大崎630-3

(74) 代理人 弁理士 戸田 親男

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗菌組成物

(57) 【要約】

【解決手段】 もずく類、わかめ類、こ(れら)の処理物の少なくともひとつを有効成分として含有すること、を特徴とする病原性大腸菌に対する抗菌組成物。

【効果】 O-157に対するすぐれた抗菌性が得られ、その効果も長期間に亘って持続し、食酢を併用すると更に効果が高まる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 もずく類、わかめ類、こ(れら)の処理物の少なくともひとつを有効成分として含有すること、を特徴とする病原性大腸菌に対する抗菌組成物。

【請求項2】 もずく類が、もずく、沖縄もずく、糸もずくの少なくともひとつであること、を特徴とする請求項1に記載の抗菌組成物。

【請求項3】 わかめ類がめかぶであること、を特徴とする請求項1に記載の抗菌組成物。

【請求項4】 更に、食酢及び/又は食酢含有物を含有してなること、を特徴とする請求項1～3のいずれか1項に記載の抗菌組成物。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、抗菌組成物に関するものであり、更に詳細には、病原性大腸菌に対する天然系抗菌組成物に関するものである。

【0002】

【従来の技術】大腸菌(Escherichia coli)の中で、病原性大腸菌O-157(以下O-157と略す)は、腸管出血性大腸菌(ベロ毒素産生性大腸菌)に属し、O-157感染はO-157に汚染された飲食物を摂取するか、患者の糞便を何らかの理由で直接口にすることで起こる。O-157に感染した場合、無症状から死亡するケースまで様々であるが、多くの場合、O-157の産生するベロ毒素により、出血性大腸炎を起こす。中には溶血性尿毒症(HUS)や脳症などの重症合併症になる患者もあり、最悪の場合死亡する。O-157は細胞表面の血清型により、多くの種類に分類されているが、食中毒件数が多く、毒性の強いものはO-157:H7である。1982年(昭和57年)にアメリカのオレゴン州で発生した集団食中毒の際に初めて報告されて以来、現在までにアメリカおよびカナダで20件以上の集団発生を起こしている。

【0003】わが国においても、昨年(1996年)には各所においてO-157による集団食中毒の大発生がみられ、死亡例も認められるという大きな被害をこうむっている。原因食材の追及も行われているが、O-157は、潜伏期間が長いだけでなく、ごく少数の菌でも感染、発病するためにその特定には至っておらず、O-157に対する抗菌システムの開発が緊急テーマとして当業界において強く要望されている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、上記した業界の要望に応えるためになされたものであって、毒性が非常に強いO-157:H7にも有効で強力な抗菌力を有する抗菌組成物を開発する目的でなされたものである。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記した目

的、すなわち病原性大腸菌O-157に対して有効な抗菌組成物を開発する目的でなされたものである。

【0006】本発明者らは、そのために各方面から検討の結果、O-157の感染者は児童等比較的若年層に多いところから、抗菌性のみでなく安全性も重要である点に着目し、食用としても使用しうる物質について広くスクリーニングを行ったところ、もずく、わかめといった海藻類がO-157に対して高い抗菌性を示すという有用な新知見を得た。そして更にその抗菌性を高めるために研究した結果、海藻類は食酢と併用することによって抗菌性が更に上昇するという有用新知見を得た。

【0007】本発明は、これらの有用新知見に基づき、更に検討の結果完成されたものであって、もずく類、わかめ類を有効成分として含有する、安全性にすぐれた抗菌組成物を基本的技術思想とするものである。以下、本発明について詳述する。

【0008】

【発明の実施の形態】本発明に係る抗菌組成物は、海藻類、特にもずく類、わかめ類を有効成分として含有するものである。もずく類としては、もずく、沖縄もずく(ナガマツモ科オキナワモズク)、糸もずく(モズク科モズク)等各種のもずくが広く使用できる。わかめ類としては、例えば、めかぶ(わかめの孢子葉を千切りにしたものであり、孢子葉はわかめの根元の方に存在する)が使用できる。

【0009】こ(れら)の海藻類は、そのまま使用できるほか、処理物としてもよい。処理物としては、海藻類を切断、細断、粉碎、磨砕、ペースト化、乾燥、凍結乾燥、粉末化等各種処理したものをすべて包含するものである。

【0010】本発明に係る抗菌組成物は、海藻類を有効成分として含有するものであればよく、海藻類は、1%以上、好ましくは10%以上、更に好ましくは30%以上含有されていればよく(100%、すなわち海藻類のみでももちろん良い)、他の成分としては、水、生理食塩水、食酢、調味液等が挙げられる。

【0011】本発明においては、海藻類は食酢及び/又は食酢含有物と併用すると、更に抗菌力が上昇し、酸度2%以下で十分な抗菌性が得られ、酸度0.9%以下でも十分な抗菌性が得られる。食酢としては、粕酢、米酢その他の穀物酢、酒精酢、ワインビネガー、各種醸造酢、各種有機酸(酢酸、リンゴ酸、乳酸その他)の少なくともひとつが適宜使用できる。

【0012】また、従来より、もずく類、めかぶ類は、二杯酢、三杯酢で調味して食用に供することが行われているが、これらの食品も本発明の抗菌組成物として十分に使用することができる。具体的には、もずく類、めかぶ類300gに対して、例えば二杯酢の場合、食酢45ml、食塩10gを添加混合したもの、及び、三杯酢の場合、食酢45ml、醤油20ml、砂糖20gを添加

混合したものの等も、本発明に係る病原性大腸菌に対する抗菌組成物として使用することができる。

【0013】また、もずく類、めかぶ類に、上記した二杯酢や三杯酢のほか、各種の食酢含有物（調味液）を添加処理して得た味付もずく類、味付めかぶ類も、本発明に係る抗菌組成物として使用することができる。

【0014】調味液としては、食酢類のほか、甘味料（砂糖、単糖、液糖、ステビア等）、みりん、酒類、醤油、食塩、だし、化学調味料等の原料を配合して常法にしたがって製造したものがすべて使用可能である。具体的には、例えば、味付沖縄もずく用、味付糸もずく用、味付めかぶ用の調味液としては、三杯酢の配合を基本として、それぞれ、次の原材料を配合、調製すればよい。

【0015】味付沖縄もずく用調味液：醤油、砂糖、米酢、カツオエキス、みりん、昆布エキス、水。

味付糸もずく用調味液：醸造酢、醤油、砂糖、カツオエキス、みりん、昆布エキス、水。

味付めかぶ用調味液：醤油、砂糖、米酢、カツオエキス、みりん、昆布エキス、水。

【0016】本発明に係る抗菌組成物は、後記する実施例からも明らかのように、O-157に対する抗菌活性が非常に高く、しかもその効果は長期間に亘って持続するので、他の食品と併用することによって、他の食品に由来するO-157に対しても抗菌作用を示し、すぐれ\*

表1 各試料培地のpH

| 試料培地名          | pH   | 温度(°C) | 酸度(%) |
|----------------|------|--------|-------|
| 生理食塩水          | 5.58 | 21.2   | 0     |
| M9最少培地         | 7.44 | 20.9   | 0     |
| 味付沖縄もずく用調味液 a) | 4.36 | 15.6   | 0.73  |
| 味付沖縄もずく        | 4.38 | 9.3    | 0.73  |
| 味付糸もずく         | 4.00 | 9.0    | 0.70  |
| 味付めかぶ          | 4.26 | 10.5   | 0.86  |

a) 味付沖縄もずくと同濃度に希釈

### 【0021】

【実施例2】上記した各試料のO-157に対する抗菌性を次のようにして測定し、特に、「味付沖縄もずく」、「味付糸もずく」、「味付めかぶ」（株式会社海産物のきむらや製品）のすぐれた抗菌性を確認した。

【0022】(1)上記した各試料を滅菌してこれをO-157用培地とし、これにO-157を実験的に大量に混入し、10で保存して、抗菌性の実験を行った。本実験で用いたO-157は、島根県衛生公害研究所より分譲して頂いたEscherichia coli O-157:H7である。また、O-157は指定伝染病であるため、実験を行うには特定の設備が必要であり、そこで島根大学生物資源科学部（松田研究室）の御厚意により、同学部のクリーンルームを使わせて頂いた。

【0023】(2)上記分譲を受けたEscherichia coli O-157:H7をLB培地（Luria-Bertani's Broth、大腸菌の培養に使用する培地、1リットルの組成：ポリペプト

\*た抗菌効果が奏される。そのうえ、本発明に係る抗菌組成物は、それ自体が食品であるため、安全性についても全く問題はなく、安全にできわめて有効な天然系抗菌組成物である。以下、本発明の実施例について述べる。

### 【0017】

【実施例1】味付沖縄もずく、味付糸もずく、味付めかぶを、それぞれ、以下のようにして調製し、製品とした（株式会社海産物のきむらや製品）。

(1)もずく類は、もずく原藻を十分に水洗した後、約5cmの長さにカットした。また、めかぶは、わかめの根元付近に存在する孢子葉を千切りにしたものを用意した。

【0018】(2)上記(1)で調製した海藻類100gに、先に述べた調味液60gを加え、十分に混合して、それぞれ、味付沖縄もずく、味付糸もずく、味付めかぶの各製品を得た。（なお、海藻類と調味液とは別々のパックに包装しておき、使用時に両者を混合するようにした製品も製造した。）

【0019】(3)これらの各製品、生理食塩水、M9最少培地（後述）、味付沖縄もずく用調味液について、それらの酸度、pHを測定し、下記表1の結果を得た。

### 【0020】

#### 【表1】

ン10g、イーストエクストラクト5g、NaCl 10g；pH7.0）で一晩培養したものを、生理食塩水で100倍に希釈し、「味付沖縄もずく」等の各試料（培地）90gに対して10ml加えた。菌の測定は、食品衛生検査で一般的に行われている方法（食品衛生検査指針微生物偏（1990）厚生省生活衛生局監修（社）日本食品衛生協会）に準ずる方法で行った。

【0024】0時間、24時間、48時間、72時間、96時間、120時間、144時間、168時間、192時間、および216時間後、調味液を1ml抜き取り、滅菌した生理食塩水9mlに加え、希釈した。希釈した液より1mlとり、さらに生理食塩水9mlに加えて希釈する方法で適当な倍率（寒天培地で培養したとき、コロニーが30~300個出る倍率）まで希釈し、LB寒天培地（組成は液体と同じで、Agarを15g添加）で培養した。一晩培養した後、コロニー数を計測した。コントロール（対照区）として、生理食塩水およ

びM9最少培地(1リットルの組成:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6 g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 g、 $\text{NaCl}$  0.5 g、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  1 g、0.4%グルコース、0.1mM  $\text{CaCl}_2$ 、2mM  $\text{MgSO}_4$ 、1mMチアミン; pH7.4)を用いて、同様の実験を行った。また、37での培養も行った。「味付沖縄もずく」等と同濃度に希釈した味付沖縄もずく用調味液のみでも同様の実験を行い、もずく類に含まれる生理活性物質について検討した。

【0025】(3)各試料培地にO-157を一定数混入させて37で培養した場合、M9最少培地では1日\*

\*で約 $1 \times 10^9$ 個/gまで増殖し、3日目頃から減少し始めた(図1)。37の場合、「味付沖縄もずく」、「味付糸もずく」、「味付めかぶ」および調味液のいずれの場合も1日後には検出されなくなった(表2および図1参照)。また、10で保存した場合、M9最少培地および生理食塩水では菌数が増加するが、その他の培地では減少した(表3および図2、図3)。

【0026】

【表2】

表2 味付もずく等の病原性大腸菌O-157に対する抗菌性(37°C)

| 時間  | 生理食塩水             | M9最少培地            | 味付沖縄もずく           | 味付糸もずく            | 味付めかぶ             | 調味液               |
|-----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 0   | $4.7 \times 10^5$ | $4.2 \times 10^5$ | $1.2 \times 10^6$ | $1.1 \times 10^6$ | $9.7 \times 10^5$ | $7.3 \times 10^5$ |
| 1   | $7.1 \times 10^5$ | $5.2 \times 10^5$ | $8.7 \times 10^5$ | $8.3 \times 10^5$ | $7.7 \times 10^5$ | $6.1 \times 10^5$ |
| 2   | $6.3 \times 10^5$ | —                 | $6.7 \times 10^5$ | $3.1 \times 10^5$ | $4.0 \times 10^5$ | $3.9 \times 10^5$ |
| 3   | $6.8 \times 10^5$ | —                 | $3.5 \times 10^5$ | $1.0 \times 10^5$ | $2.0 \times 10^5$ | $1.2 \times 10^5$ |
| 4   | $1.2 \times 10^6$ | —                 | $3.5 \times 10^5$ | $2.9 \times 10^4$ | $8.5 \times 10^4$ | $3.4 \times 10^4$ |
| 5   | $1.4 \times 10^6$ | —                 | $1.8 \times 10^5$ | $2.5 \times 10^3$ | $2.4 \times 10^4$ | $3.8 \times 10^3$ |
| 6   | $1.8 \times 10^6$ | $5.0 \times 10^7$ | $1.4 \times 10^5$ | —                 | $3.4 \times 10^3$ | $3.5 \times 10^3$ |
| 24  | $4.7 \times 10^6$ | $9.1 \times 10^6$ | 0                 | 0                 | 0                 | 0                 |
| 48  | $5.2 \times 10^6$ | $1.1 \times 10^6$ | —                 | —                 | —                 | —                 |
| 72  | $4.6 \times 10^6$ | $9.4 \times 10^6$ | —                 | —                 | —                 | —                 |
| 96  | $1.4 \times 10^7$ | $3.8 \times 10^6$ | —                 | —                 | —                 | —                 |
| 120 | $4.0 \times 10^6$ | $1.8 \times 10^6$ | —                 | —                 | —                 | —                 |
| 144 | $3.2 \times 10^6$ | $9.3 \times 10^7$ | —                 | —                 | —                 | —                 |
| 168 | $2.9 \times 10^6$ | $1.8 \times 10^7$ | —                 | —                 | —                 | —                 |
| 192 | $2.6 \times 10^6$ | $7.8 \times 10^6$ | —                 | —                 | —                 | —                 |
| 216 | —                 | $3.6 \times 10^6$ | —                 | —                 | —                 | —                 |

—: データなし

(個/g)

【0027】

【表3】

7  
表3 味付もずく等の病原性大腸菌O-157に対する抗菌性(10℃)

| 時間  | 生理食塩水             | M9 最少培地           | 味付沖縄もずく           | 味付糸もずく            | 味付めかぶ             | 調味液               |
|-----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 0   | $7.4 \times 10^5$ | $4.5 \times 10^5$ | $7.9 \times 10^5$ | $7.2 \times 10^5$ | $9.3 \times 10^5$ | $5.2 \times 10^5$ |
| 24  | $5.6 \times 10^5$ | $1.0 \times 10^6$ | $2.0 \times 10^5$ | $3.4 \times 10^5$ | $3.0 \times 10^5$ | $2.4 \times 10^5$ |
| 48  | $6.0 \times 10^5$ | $2.1 \times 10^6$ | $2.4 \times 10^4$ | $3.4 \times 10^4$ | $3.1 \times 10^4$ | $7.6 \times 10^4$ |
| 72  | $8.1 \times 10^5$ | $4.0 \times 10^6$ | $1.0 \times 10^4$ | $2.0 \times 10^4$ | $2.1 \times 10^4$ | $7.7 \times 10^4$ |
| 96  | $1.1 \times 10^6$ | $1.0 \times 10^7$ | $5.9 \times 10^3$ | $4.8 \times 10^3$ | $5.9 \times 10^3$ | $3.6 \times 10^4$ |
| 120 | $1.7 \times 10^6$ | $2.1 \times 10^7$ | $1.9 \times 10^3$ | 0                 | $1.3 \times 10^2$ | $7.7 \times 10^3$ |
| 144 | $2.1 \times 10^6$ | $6.4 \times 10^7$ | $1.1 \times 10^3$ | —                 | 4                 | $1.0 \times 10^4$ |
| 168 | $3.2 \times 10^6$ | —                 | $4.6 \times 10^2$ | —                 | 10                | —                 |
| 192 | $3.2 \times 10^6$ | $2.6 \times 10^8$ | $4.0 \times 10^2$ | —                 | 0                 | $3.9 \times 10^3$ |
| 216 | $3.4 \times 10^6$ | $3.9 \times 10^8$ | 60                | —                 | —                 | $1.1 \times 10^3$ |

— : データなし

(個/g)

【0028】10 で保存した場合、「味付沖縄もずく」中の植菌直後の菌数は $7.9 \times 10^5$  (79万) 個/g、「味付糸もずく」では $7.2 \times 10^5$  (72万) 個/g、「味付めかぶ」では $9.3 \times 10^5$  (93万) 個/g、調味液では $5.2 \times 10^5$  (52万) 個/gであった。「味付糸もずく」では5日後に、「味付めかぶ」では8日後には菌数が100万分の1になった。「味付沖縄もずく」では9日目で60個/gまで減少し、当初の約1万分の1になった。また、調味液では9日目で $1.1 \times 10^3$  (1,100) 個/g (当初の約1,000分の1) 存在した(表3)。

【0029】以上の結果より、37 ではどの培地でも1日後には菌が検出されず、また10 では酸度0.70%の「味付糸もずく」が5日で菌数が約100万分の1になった。したがって、本実験により、「味付糸もずく」では、酢酸酸度0.70%で酢酸濃度が低い場合でも殺菌効果があり、そのうえ、O-157の増殖が当然に予測される比較的高温において、この予測とは全く逆に殺菌効果が高まることも確認された。

【0030】また、10 の結果より、「味付糸もずく」中の菌数の方が味付沖縄もずく用調味液中の菌数に比較して、1,000分の1であるので、O-157が

20 死滅した原因は調味液中の酢酸の作用のみでなく、海藻類自体にも抗菌作用があり、海藻類には多糖類、例えばアルギン酸、フコイダン等の生理活性物質を含む抗菌性物質が存在し、殺菌効果を高めたと考えられた。

【0031】上記した結果から、「味付沖縄もずく」等のO-157に対する抗菌活性は少なくとも9日間は安定して継続することが確認されたので、他の食品と共用することによって他の食品由来のO-157に対しても十分に抗菌性を示すことができる。

【0032】

30 【発明の効果】本発明によってはじめて、もずく類、わかめ類によるO-157等の腸管出血性大腸菌に対する抗菌効果が確認され、しかもこの効果は食酢といった酸性物質との併用によって更に高められることも確認され、市販されている食酢含有味付もずくやめかぶ(わかめ)類もO-157に対するすぐれた抗菌組成物であることも併せて確認された。

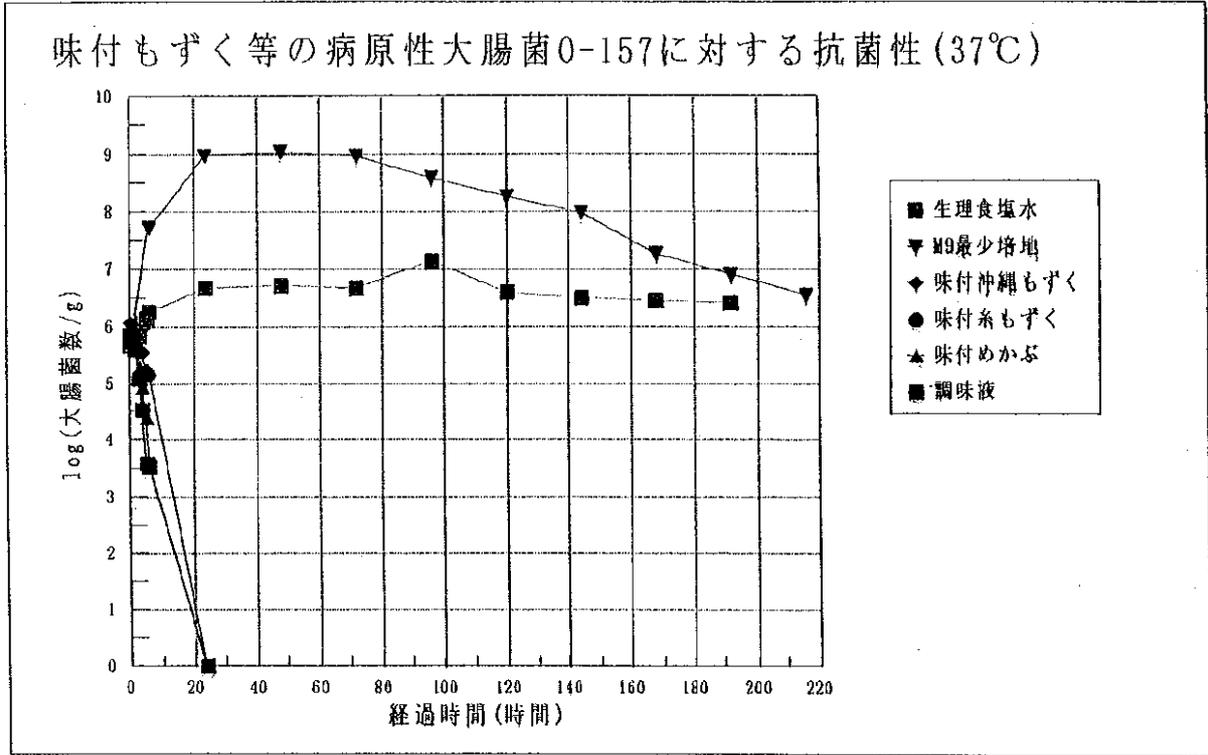
【図面の簡単な説明】

【図1】味付もずく等の病原性大腸菌O-157に対する抗菌性(37 )を示す。

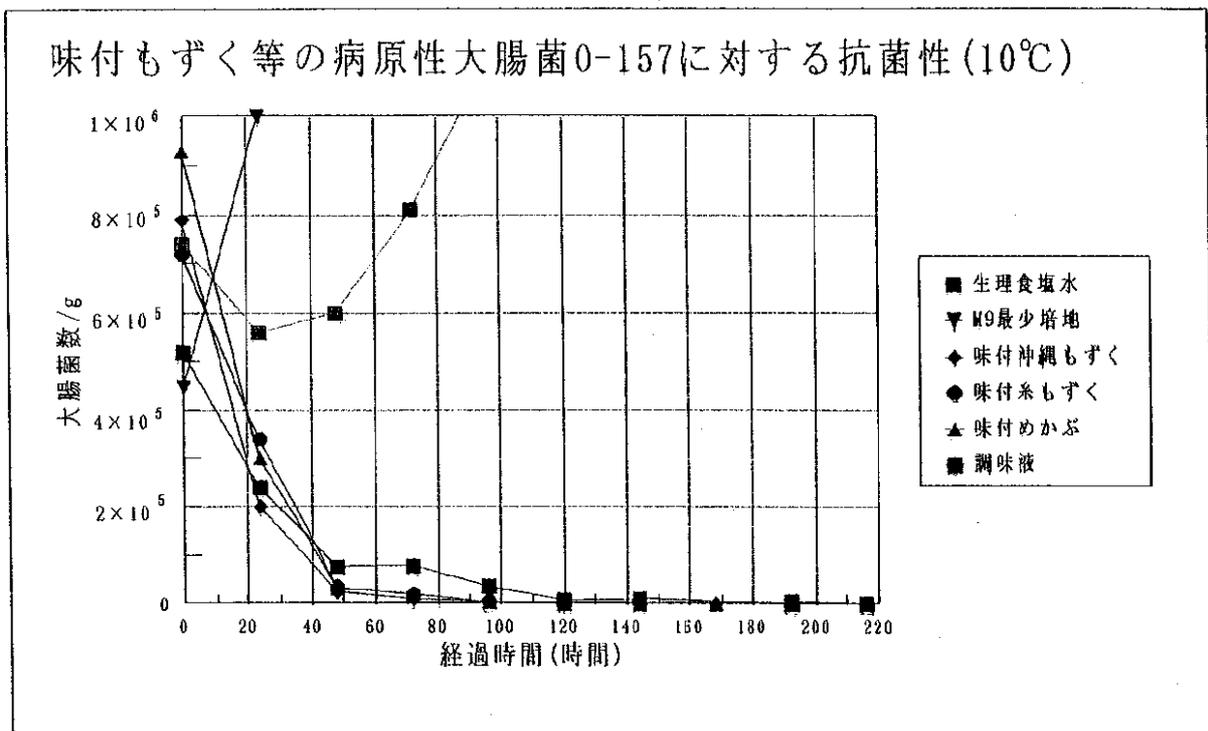
40 【図2】同上抗菌性(10 )を示す(実数目盛)。

【図3】同上抗菌性(10 )を示す。

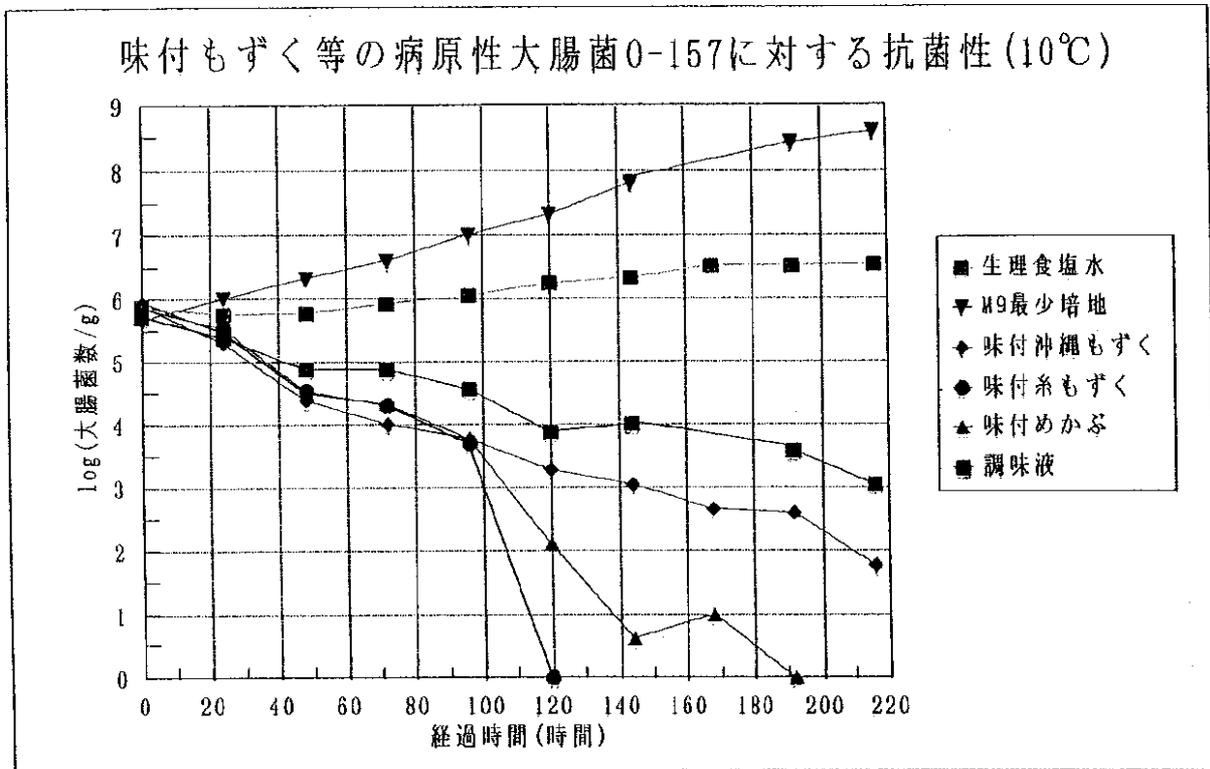
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

(72)発明者 松田 英幸  
島根県松江市西持田町362-66

(72)発明者 川向 誠  
島根県松江市西川津町694-1-2-303

(72)発明者 中川 強  
島根県松江市西川津町734-8-3-503

(72)発明者 田中 克典  
島根県松江市上乃木3丁目14-40-301