

(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2000-344679

(P2000-344679A)

(43) 公開日 平成12年12月12日 (2000. 12. 12)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード*(参考)
A 6 1 K 35/80		A 6 1 K 35/80	Z 4 B 0 1 9
A 2 3 L 3/3472		A 2 3 L 3/3472	4 B 0 2 1
A 6 1 K 31/00	6 3 1	A 6 1 K 31/00	6 3 1 C 4 C 0 8 8
// A 0 1 N 65/00		A 0 1 N 65/00	E 4 H 0 1 1
A 2 3 L 1/337		A 2 3 L 1/337	Z
審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 6 頁)			

(21) 出願番号 特願平11-158578

(22) 出願日 平成11年6月4日 (1999. 6. 4)

(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 川本 仁志

鳥取県米子市大篠津町385-35

(74) 代理人 100075775

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】 もずく類の熱水抽出物を有効成分として含有すること、を特徴とする大腸菌に対する抗菌組成物。

【効果】 O - 1 5 7 其他の大腸菌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、飲食品や医薬品タイプにして、O - 1 5 7 に対する予防及び又は治療に使用することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 もずくの熱水抽出物及び/又はその処理物を含有してなること、を特徴とする大腸菌に対する抗菌組成物。

【請求項2】 大腸菌が病原性大腸菌O-157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】 もずくの熱水抽出物が、もずくと水の混合物を加熱した後、これを濾過し、得られた濾液を電気透析して脱塩した液体であること、を特徴とする請求項1又は2に記載の抗菌組成物。

【請求項4】 もずくが、糸もずく、太もずく、沖縄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1～3のいずれか1項に記載の抗菌組成物。

【請求項5】 該処理物が、濃縮物、ペースト化物、乾燥物、乳化物、希釈物の少なくともひとつであること、を特徴とする請求項1～4のいずれか1項に記載の抗菌組成物。

【請求項6】 該抗菌組成物が医薬品タイプ又は飲食品タイプであること、を特徴とする請求項1～5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、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。

【0004】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。

【0005】このような中、O-157等を保有する八工類が確認されたことから八工類によるO-157の感染・伝播の可能性も考えられた。これらのことからさらにO-157による食中毒の予防や治療に対し関心が高まり、食品などにも使用できるO-157に対して有効かつ安全な抗菌性物質の開発が望まれている。

【0006】

【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し、食品にも使用できる抗菌組成物を開発する目的でなされたものである。

【0007】

【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O-157その他の病原性大腸菌及び非病原性大腸菌を含む各種大腸菌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。

【0008】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い、もずくに着目してその熱水抽出物を調製し、O-157に対する抗菌性を検討したところ、O-157に対してすぐれた抗菌性を有するというきわめて有用な新知見を得た。

【0009】更にまた、このもずくの熱水抽出物は、液状を呈しているうえ、必要あればペースト、乾燥粉末等の処理物にすることも可能であって、各種剤型の医薬品や飲食品にも使用することも併せて確認し、これらの新知見に基づき、更に研究の結果、本発明の完成に至ったものである。以下、本発明について詳述する。

【0010】本発明においては、もずくを使用するが、本発明に用いられるもずくとしては、糸もずく (細もずく) (モズク科モズク: *Nemacystus decipiens*)、沖縄もずく (ナガマツモ科オキナワモズク: *Cladosiphon okamuranus*)、太もずく (*Tinocladia crassa*) 等が例示されるが、以下、糸もずくを代表例にとり、これを単にもずくと称して、本発明を詳述する。

【0011】もずくから本発明の抽出物を抽出するには、60 以上、好ましくは80 以上の熱水を用いて、30分～3時間もずく (切断、ペースト化、乾燥、冷凍したものでよい) を抽出した後 (例えば、オートクレーブで100、45分～1時間30分程度処理した後)、得られた抽出液を電気透析により脱塩する。本発明の熱水抽出物には、上記のようにもずくを単に熱水で抽出して得た抽出液、その濾液、これ (ら) を更に脱塩してなる抽出液が包含されるほか、アルコール沈澱、イオン交換樹脂クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィーによって精製した精製物も包含される。

【0012】また、本発明においては、もずくの熱水抽出物の処理物も使用可能である。該処理物としては、濃縮物、ペースト化物、乾燥物（噴霧乾燥物、凍結乾燥物、真空乾燥物、ドラム乾燥物等）、乳化物、液状物、希釈物等が挙げられる。

【0013】本発明に係る抗菌組成物は、もずくの熱水抽出物及び/又はその処理物を有効成分として含有するものであって、後記するところからも明らかなように、O-157等の病原性大腸菌その他各種の大腸菌に対してすぐれた抗菌性を示すだけでなく、各種の剤型、形態に製剤、加工することが可能であって、飲食品タイプ及び医薬品タイプのいずれのタイプの組成物としても自由に使用できるものである。

【0014】有効成分の配合量は、任意でよいが、使用目的（予防、保健、又は治療）、患者の年齢、投与方法、剤形等に応じて適宜定めればよく、通常、もずくの熱水抽出物に換算して、1mg～5g（乾物）/日を経口投与するようにするのが適当である。しかしながら、長期間に亘って保健上ないし健康維持の目的で摂取する場合には、上記範囲よりも少量であってもよいし、また本有効成分は、安全性について問題がないので、上記範囲よりも多量に使用しても一向にさしつかえない。現にマウスを用いた10日間の急性毒性試験の結果、100mg/kgの経口投与でも死亡例は認められなかった。

【0015】飲食品タイプの組成物として使用する場合には、本有効成分をそのまま、使用したり、他の食品ないし食品成分と併用したりして適宜常法にしたがって使用できる。本有効成分を用いる本発明に係る組成物は、固体状（粉末、顆粒状その他）、ペースト状、液状ないし懸濁状のいずれでもよいが、甘味料、酸味料、ビタミン剤その他ドリンク剤製造に常用される各種成分を用いて、健康ドリンクに製剤化すると好適である。

【0016】すなわち、本発明に係る飲食品としての抗菌組成物には、そのまま直ちに喫食できるもの、調理等を行って喫食するもの、食品製造用のプレミックスされた材料などのいずれもが含まれる。固体状のものとしては、粉末状、顆粒状、固形状のいずれのものでもよく、例えばビスケット、クッキー、ケーキ、スナック、せんべいなどの各種菓子類、パン、粉末飲料（粉末コーヒー、ココアなど）が含まれる。また液状、乳化状、ペースト状物の例としては、ジュース、炭酸飲料、乳酸菌飲料などの各種飲料が含まれる。これらのうち、本発明においては、上記したように、特に飲料が好ましい。

【0017】医薬品タイプの組成物として使用する場合は、本有効成分は、種々の形態で投与される。その投与形態としては例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤等による経口投与をあげることができる。これらの各種製剤は、常法に従って主薬に賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味矯臭剤、溶解補助剤、懸濁剤、コーティング剤などの医薬の製剤技術分野において

通常使用しうる既知の補助剤を用いて製剤化することができる。

【0018】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なように、O-157及びその他の大腸菌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、医薬品として使用できるほか、食品自体又は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及びその他の大腸菌に対しても抗菌作用を示し、すぐれた抗菌効果が奏され、病原性大腸菌及びその他の大腸菌に対して広く抗菌作用を示す。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、安全にしてみ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。

【0019】

【実施例1】（1）もずく熱水抽出物の製造方法
表面に付着した異物を除去した湿潤状態のもずく（モズク科モズク；*Nemacystus decipiens*）100gを蒸留水100mlとよく攪拌した。これをオートクレーブを使用し、100℃で1時間加熱した。その後ろ過により残さを除き、この抽出液を電気透析により脱塩を行った。得られた熱水抽出液をそのまま使用することも可能だが、必要に応じて凍結乾燥法により粉末にした。得られた熱水抽出液を容器側面に広がるよう凍結させ、室温（約20℃）で減圧し一日間水分を除去し、もずく熱水抽出物を1.5g得た。つまり、この方法で、もずく100g当たり約1.5gのもずく熱水抽出物（茶色粉末）を得ることができた。

【0020】（2）もずく熱水抽出物のO-157に対する抗菌性試験

本試験を行うに当り、O-157は指定伝染病であるため、各種の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）との共同研究により、島根大学遺伝子実験施設のP3レベル実験室を使用した。

【0021】もずく熱水抽出物のO-157に対する抗菌性を確認するため、以下の試験を行って、もずく熱水抽出物水溶液ともずくと菌体数の変化を比較した。なお、もずく熱水抽出物水溶液は、上記によって得たもずく熱水抽出物をそれぞれの濃度となるよう加水して調製した水溶液である。

【0022】まず、もずくともずく熱水抽出物水溶液を培地として使用し、もずく熱水抽出物水溶液の濃度は実験①、②でそれぞれ調製し、もずくは、もずくと蒸留水を2：1の割合で混合した。各培地のpHを測定したところ、もずくがpH6.5、もずく熱水抽出物水溶液（1.5%）がpH6.6、もずく熱水抽出物水溶液（3.0%）がpH6.7であった。その後、O-157を実験的に大量に混入させ（約 1.0×10^6 個/gになるよう混入）、37℃で保存した。LB培地（Luri

a-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O-157を各培地99gに対し1ml加え、各試料培地とした。本実験で用いたO-157は島根県衛生公害研究所よりEscherichia coli O-157；H7を頂いた。菌体数の測定は植菌後0、3、6、8、10、12、14、16、24時間後に、実験①では22時間後にも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 微生物編（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（平板培養法）で行った。

【0023】時間ごとに各試料培地から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取り、さらに生理食塩水9mlに加え*

（表1）大腸菌O-157に対するもずく熱水抽出物等の増殖抑制効果（37）

時 間	もずく	もずく熱水抽出物 水溶液（1.5%）
0	1.6×10^6	1.0×10^6
3	7.9×10^5	7.3×10^5
6	2.1×10^6	3.6×10^5
8	4.3×10^6	1.3×10^5
10	7.8×10^6	4.2×10^4
12	6.1×10^7	1.0×10^4
14	6.6×10^7	7.6×10^3
16	7.0×10^7	4.7×10^3
22	6.9×10^7	21
24	7.2×10^7	0

（個/g）

【0026】

（表2）大腸菌O-157に対するもずく熱水抽出物等の増殖抑制効果（37）

時 間	もずく	もずく熱水抽出物 水溶液（3.0%）
0	1.6×10^6	8.9×10^5
3	8.3×10^5	4.8×10^5
6	9.4×10^5	9.3×10^4
8	2.5×10^6	3.1×10^4
10	7.2×10^6	2.7×10^3
12	1.0×10^7	2.6×10^2
14	1.4×10^7	0
16	7.0×10^7	0
24	6.7×10^7	0

（個/g）

【0027】上記結果から明らかなように、実験①（図 50 1）（表1）では、もずくでは植菌後、時間の経過ごと

*で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（組成は液体のLB培地と同じで、Agarを15g添加）で培養後、コロニー数を計測した。

【0024】実験①（図1）では、もずく100g当たり約1.5gのもずく熱水抽出物を得たことから、もずく熱水抽出物水溶液の濃度を1.5%、実験②（図2）では実験①の2倍の濃度の3.0%に調製し実験を行った。得られた結果を図1及び下記表1、そして図2及び下記表2にそれぞれ示す。なお、各培地のpHは次のとおりである。もずく：pH6.5、もずく熱水抽出物水溶液（1.5%）：pH6.6、同（3.0%）：pH6.7。

【0025】

に菌が増殖し、24時間後には 7.2×10^7 個/gまで増殖した。もずく熱水抽出物水溶液(1.5%)では徐々に菌が減少し24時間後に菌が死滅した。実験②(図2)(表2)でも、もずくでは植菌後、時間の経過ごとに菌が増殖し、24時間後には 6.7×10^7 個/gまで増殖した。そしてもずく熱水抽出物水溶液(3.0%)では菌が減少していき14時間後には菌が死滅した。

【0028】以上の結果より、もずくのみではO-157に対する抗菌性が見られなかったが、もずく熱水抽出物で処理することによりO-157に対する抗菌性が現れることが分かった。また、もずく熱水抽出物の濃度が上がるにしたがって抗菌性が高まることが分かった。これらのことより、もずく中に含まれる多糖類などの成分が加熱されることにより物理的な変化もしくは化学的な変化などの何らかの変化をしたものがO-157に対して抗菌性を示すようになったと考えられる。

【0029】

【実施例2】上記によって得たもずくの熱水抽出物が大腸菌に対して抗菌性を示すことを以下により確認した。

【0030】実験方法としてはM9最少培地、調味液、味付糸もずく、糸もずく熱水抽出物水溶液の4種類の培地に前培養をした大腸菌W3110を各培地100mlに対し1ml加え、37℃で培養した。その後、各時間ごとに平板培養法で1ml(1g)当たりの菌数を測定した。調味液は味付糸もずくと同濃度になるよう希釈し、糸もずく熱水抽出物水溶液は糸もずくと同濃度(1.5%)になるよう蒸留水で希釈し、培地として使用した。

【0031】なお、M9最少培地は、その1Lの組成が、 Na_2HPO_4 6g、 KH_2PO_4 3g、 NaCl 0.5g、 NH_4Cl 1g、0.4% グルコース、0.1mM CaCl_2 、2mM MgSO_4 、1mM チアミン、pH7.4である培地である。また、味付糸もずくは、醸造酢、醤油、砂糖、カツオエキス、みりん、昆布エキス、水からなる調味液を用いて調製したもずく製品(株式会社海産物のきむらや製品)である。

【0032】得られた結果を図3に示す。その結果から明らかのように、これまでの調味液、味付糸もずくの抗菌性は酢に依存していたが、糸もずく熱水抽出物は、酢のない条件で抗菌性を示した。また、糸もずくのみでは抗菌性を示さなかったが、糸もずく熱水抽出物は抗菌性を示した。

【0033】

【実施例3】もずく熱水抽出物(実施例1:乾燥粉末)70重量部、ラクトース20重量部、コーンスターチ10重量部を混合し、得られた混合物をヒドロキシプロピルメチルセルロースの5%水溶液で流動層造粒し、細粒剤を得た。

【0034】

【実施例4】もずく熱水抽出物(実施例1)100g、糖類150g、蜂蜜15g、アスコルビン酸1g、クエン酸0.5g、香料適量に水を加えて1kgとし、これを95℃で20分間殺菌し、100mlずつ無菌的にビンに充填して、飲食品タイプの健康ドリンクを製造した。

【0035】

【実施例5】もずく熱水抽出物(フリーズドライ粉末)の20%水溶液200g、酢酸トコフェロール5g、硝酸チアミン10g、ニコチン酸アミド20g、無水カフェイン50g、安息香酸塩及び香料適量に脱イオン水を加えて30Lとし、殺菌した後30mlずつ無菌的にビンに充填して、医薬品としての健康ドリンクを製造した。

【0036】

【実施例6】ショートニング8部と砂糖18部を混合し、次に薄力小麦粉42部、もずく熱水抽出物(実施例1)7.5部、ベーキングパウダー0.8部、卵16部、ブドウ糖1部及び水25部を加えて攪拌し生地を作った。この生地を5mm厚に圧延して1枚が16~17gになるよう型抜きして90℃のオーブンで32~36分焼成する。その結果、1枚約12gのビスケットを得た。12gのビスケット中に1gのモズク熱水抽出物を含有する計算となる。

【0037】

【発明の効果】本発明によって、もずくの熱水抽出物によるO-157、W3110等の、各種病原性大腸菌及び非病原性大腸菌を包含する各種大腸菌に対する抗菌効果が確認され、本組成物は、これら各種大腸菌に対して、飲食品や医薬品の形で、保健、予防及び/又は治療に使用することができる。

【0038】また、本発明において有効成分として使用するもずく熱水抽出物はO-157その他の大腸菌に対する抗菌性を有した食品や飼料への利用が可能であり、具体的にはジュース、清涼飲料水などの各種飲料、クッキーやケーキなどの菓子類など機能性食品への利用が可能である。この水溶液には粘性があるため増粘、安定、保存などの効果を有する食品への利用なども期待できる。またO-157その他の大腸菌に対する抗菌性を有した牛などの家畜の飼料として用いることも可能である。

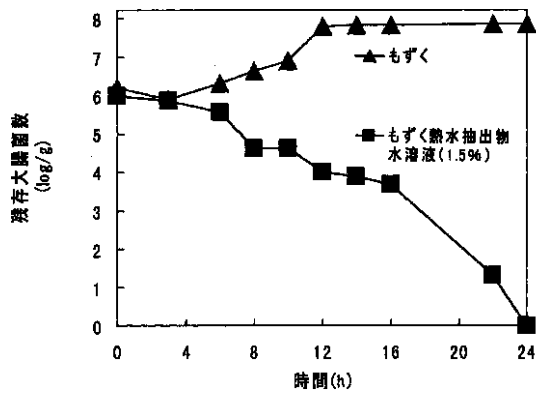
【図面の簡単な説明】

【図1】大腸菌O-157に対するもずく熱水抽出物等の増殖抑制効果(37℃)(その1)を示す。

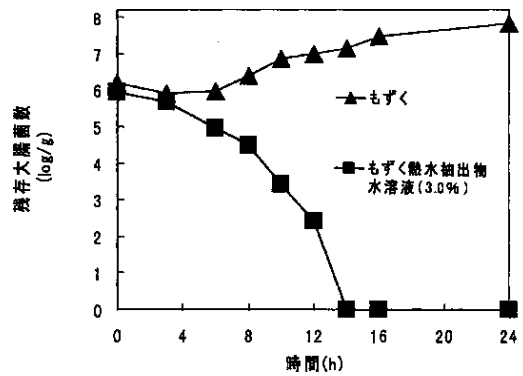
【図2】図(その2)を示す。

【図3】大腸菌W3110に対するもずく熱水抽出物水溶液等の増殖抑制効果(37℃)を示す。

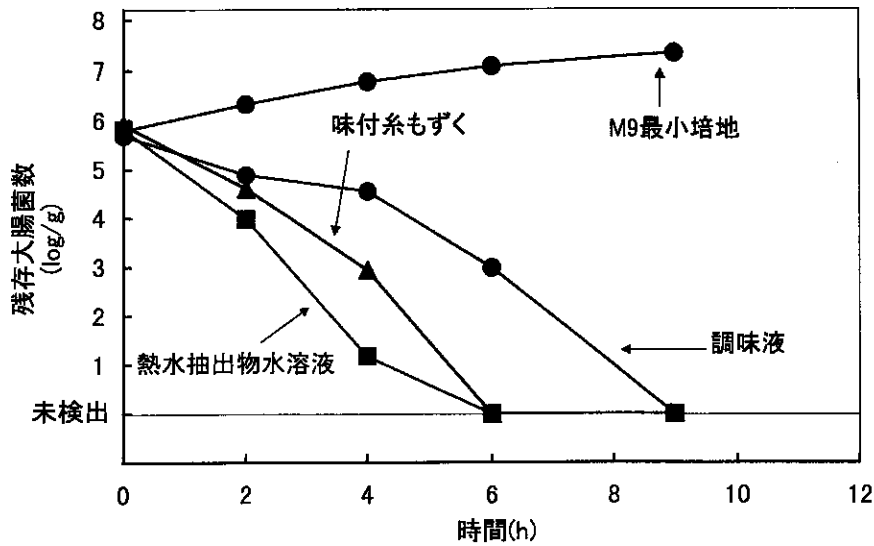
【図1】



【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 田中 克典
島根県松江市上乃木3丁目14 - 40 - 301

- Fターム(参考) 4B019 LE05 LE06 LP13
 4B021 MC01 MK05 MK28
 4C088 AA13 BA09 CA02 CA05 CA16
 CA17 CA30 MA17 MA22 MA28
 MA34 MA52 NA14 ZB35
 4H011 AA02 BA01 BB22 BC06 BC19
 DA02 DA12 DA16 DA17 DH10