

明 細 書

発明の名称：

組成物、経口組成物の微生物増殖抑制方法及びケルセチン又はその配糖体の微生物増殖抑制作用増強剤

技術分野

[0001] 本発明は、Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、ケルセチン又はその配糖体とを含有する組成物に関する。また、本発明は、経口組成物の微生物増殖抑制方法に関する。本発明はさらに、ケルセチン又はその配糖体の微生物増殖抑制作用増強剤等に関する。

背景技術

[0002] 市販の飲食品及び医薬品等の経口組成物において、微生物の増殖を抑制し、保存性を高めることは重要である。このため、微生物増殖抑制に有効であり、安全性が高い天然由来の成分は有用である。

[0003] ケルセチンは、フラボノイドの一種であり、そのまま、又は、配糖体として玉ねぎなどの植物に含まれている。非特許文献１には、ケルセチンが大腸菌及び黄色ブドウ球菌の増殖を抑制したことが記載されている。

[0004] エルゴチオネインは、含硫アミノ酸の一種であり、天然にはＬ体が存在する。Ｌ－エルゴチオネインは、抗酸化作用等の有用な生理活性を有することが知られている。例えば特許文献１には、タモギタケ由来のエルゴチオネインを、ヒト不死化ケラチノサイト細胞（Ｈ a C a T細胞）に作用させると、ヒトβ－ディフェンシン－１（h B D－１）及びヒトβ－ディフェンシン－３（h B D－３）のm R N Aの発現量が増加したことが記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献１：特開２０１２－５６９１４号公報

非特許文献

[0006] 非特許文献１：J o u r n a l o f C h e m i c a l a n d P h a r

m a c e u t i c a l R e s e a r c h , 2 0 1 5 , 7 (1 2) : 8
3 4 - 8 4 1

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、経口組成物等において微生物の増殖を効果的に抑制す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] 本発明者らは、上記課題を解決するべく鋭意検討した結果、Ｌ－エルゴチオネインが、ケルセチン又はその配糖体の微生物増殖抑制作用を増強することを見出した。Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、ケルセチン又はその配糖体とを併用することで、微生物の増殖を効果的に抑制することが可能となる。

[0009] すなわち、以下に限定されるものではないが、本発明は、以下の組成物、経口組成物の微生物増殖抑制方法及びケルセチン又はその配糖体の微生物増殖抑制作用増強剤等に関する。

〔１〕（Ａ）Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、（Ｂ）ケルセチン又はその配糖体とを含有する組成物。

〔２〕（Ｂ）ケルセチン又はその配糖体が、イソクエルシトリン、ルチン、酵素処理ルチン及びクエルシトリンからなる群より選択される少なくとも１種である、上記〔１〕に記載の組成物。

〔３〕（Ｂ）ケルセチン又はその配糖体の含有量（イソクエルシトリン換算）に対する、（Ａ）Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩の含有量（Ｌ－エルゴチオネイン換算）の重量比（Ｌ－エルゴチオネイン換算の（Ａ）／イソクエルシトリン換算の（Ｂ））が０．０１～１．２である、上記〔１〕又は〔２〕に記載の組成物。

〔４〕微生物増殖抑制用組成物である、上記〔１〕～〔３〕のいずれかに記載の組成物。

〔５〕経口組成物の微生物増殖抑制用組成物である、上記〔４〕に記載の組

成物。

〔6〕微生物が、大腸菌である、上記〔4〕又は〔5〕に記載の組成物。

〔7〕（A）Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、（B）ケルセチン又はその配糖体とを経口組成物に添加する、経口組成物の微生物増殖抑制方法。

〔8〕（B）ケルセチン又はその配糖体が、イソクエルシトリン、ルチン、酵素処理ルチン及びクエルシトリンからなる群より選択される少なくとも１種である、上記〔7〕に記載の方法。

〔9〕経口組成物中の（B）ケルセチン又はその配糖体の含有量（イソクエルシトリン換算）に対する、（A）Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩の含有量（Ｌ－エルゴチオネイン換算）の重量比（Ｌ－エルゴチオネイン換算の（A）／イソクエルシトリン換算の（B））が0.01～1.2となるように、（A）Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、（B）ケルセチン又はその配糖体とを経口組成物に添加する、上記〔7〕又は〔8〕に記載の方法。

〔10〕微生物が、大腸菌である、上記〔7〕～〔9〕のいずれかに記載の方法。

〔11〕Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩を含む、ケルセチン又はその配糖体の微生物増殖抑制作用増強剤。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、経口組成物等において微生物の増殖を効果的に抑制する技術を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]図1は、Ｌ－エルゴチオネイン（試験試料1）、イソクエルシトリン（試験試料2）、Ｌ－エルゴチオネインとイソクエルシトリンの組合せ（試験試料3～4）の除菌効果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0012] （組成物）

本発明の組成物は、（A）Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、（B）ケルセチン又はその配糖体とを含有する。

ケルセチン又はその配糖体は、微生物増殖抑制作用（抗菌作用）を有する。Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、ケルセチン又はその配糖体とを組み合わせると、ケルセチン又はその配糖体の微生物増殖抑制作用を増強することができる。このため、Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、ケルセチン又はその配糖体とを組み合わせることで、微生物の増殖を効果的に抑制することが可能となる。

- [0013] Ｌ－エルゴチオネインは、アミノ酸の一種である。Ｌ－エルゴチオネインの塩としては、薬理学的に許容される塩又は飲食品に許容される塩であれば特に限定されず、酸性塩及び塩基性塩のいずれであってもよい。酸性塩として、例えば、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；酢酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、リンゴ酸塩、シュウ酸塩、乳酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、プロピオン酸塩等の有機酸塩等が挙げられる。塩基性塩として、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩等が挙げられる。
- Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩として、好ましくは、Ｌ－エルゴチオネインを使用する。

- [0014] Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩は、化学合成品を使用してもよく、天然物から抽出及び精製したものを使用してもよい。Ｌ－エルゴチオネインは、ヒラタケ科ヒラタケ属のキノコであるタモギタケ（Golden/Yellow Oyster Mushroom）（学名：Pleurotus cornucopiae var. citrinopileatus）に多く含有される。Ｌ－エルゴチオネインは、ホワイトボタンマッシュルーム、クリミニマッシュルーム、ポータベラ（Portabellia）マッシュルーム等のツクリタケ（学名：Agaricus bisporus）、ヒラタケ（Grey Oyster Mushroom）（学名：Pleurotus ostreatus）、シイタケ（学名：Lentinula edodes）、マイタケ（学名：Grifola frondosa）、レイシ（学名：Ganoderma lucidum）、ヤマブシタケ（学名：

Hericium erinaceus)、ヤナギマツタケ(学名:*Agrocybe aegerita*)、アンズタケ(学名:*Cantharellus cibarius*)、ポルチーニ(学名:*Boletus edulis*)、アミガサダケ(学名:*Morchella esculenta*)等のキノコにも含まれる。天然物から L -エルゴチオネインを得る場合は、タモギタケから抽出等することが好ましい。 L -エルゴチオネイン又はその塩は、微生物発酵で製造することもできる。微生物発酵で作られる L -エルゴチオネイン又はその塩を含むエキス又はこれから精製したものを使用してもよい。天然物などからの抽出及び精製は、公知の方法によって実施することができる。 L -エルゴチオネイン又はその塩は、単離されたものであってもよい。

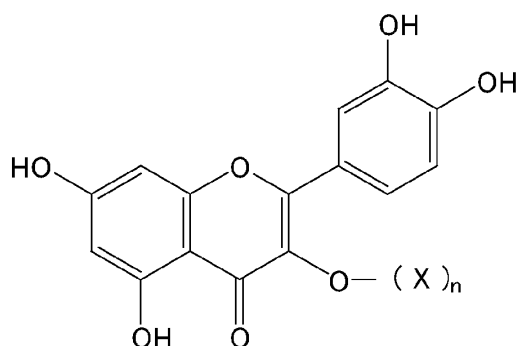
[0015] 組成物中の L -エルゴチオネイン又はその塩の含有量は特に限定されないが、例えば、 L -エルゴチオネイン換算で、好ましくは 0.00001 重量%以上、より好ましくは 0.0001 重量%以上であり、また、 50 重量%以下であってよく、 10 重量%以下であってよく、好ましくは 0.1 重量%以下、より好ましくは 0.01 重量%以下である。一態様において、組成物中の L -エルゴチオネイン又はその塩の含有量は、 L -エルゴチオネイン換算で、 $0.00001 \sim 50$ 重量%であってよく、 $0.00001 \sim 10$ 重量%であってよく、好ましくは $0.00001 \sim 0.1$ 重量%、より好ましくは $0.0001 \sim 0.01$ 重量%である。 L -エルゴチオネイン又はその塩の含有量は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法により測定することができる。

本明細書中、 L -エルゴチオネイン又はその塩について、 L -エルゴチオネイン換算の量又はこれに類する表現は、 L -エルゴチオネイン又はその塩の L -エルゴチオネインとしての量を意味する。具体的には、 L -エルゴチオネインの場合はその量を意味し、 L -エルゴチオネインの塩の場合は、当該塩のモル数に、 L -エルゴチオネインの分子量を乗じて得られる値を意味する。

[0016] 本明細書において、ケルセチンとは、ポリフェノールの一種であるフラボノールに属する化合物であるケルセチンを意味する。本発明において、ケルセチン配糖体とは、上記ケルセチンの配糖体を意味し、具体的にはケルセチンの3位の水酸基及び／又は4'位の水酸基に1以上の糖がグリコシド結合した一連の化合物の総称である。ケルセチン配糖体は、1種の化合物であってもよく、2種以上の化合物であってもよい。ケルセチンに結合している糖（単糖）として、グルコース、ラムノース、ガラクトース、グルクロン酸等が挙げられ、好ましくはグルコース、ラムノースである。ケルセチンに結合している糖は、修飾（例えば、マロニル化）されていてもよい。

[0017] 一態様において、ケルセチン配糖体として、ケルセチンの3位の水酸基に1以上の糖がグリコシド結合した化合物が好ましい。ケルセチンの3位の水酸基に1以上の糖がグリコシド結合したケルセチン配糖体は、下記一般式で示される化合物である。下記一般式中の(X)_nは、糖鎖を表す。Xは糖（単糖）を表し、nは1以上の整数である。

[0018] [化1]



[0019] ケルセチンにグリコシド結合するXで表される糖鎖を構成する糖は、例えば、グルコース、ラムノース、ガラクトース、グルクロン酸等であり、好ましくはグルコース、ラムノースである。また、nは1以上であれば、特に制限されないが、好ましくは1～16、より好ましくは1～8である。nが2以上であるとき、X部分は1種類の糖からなってもよく、複数種の糖からなってもよい。換言すると、nが2以上であるとき、(X)_nは、1種

類の糖からなる糖鎖であってもよく、複数種の糖からなる糖鎖であってもよい。

[0020] 本発明におけるケルセチン配糖体は、既存のケルセチン配糖体を、酵素などで処理して糖転移させたものも含む。本発明でいうケルセチン配糖体は、具体的には、ルチン（ケルセチン 3-ルチノシド）、酵素処理ルチン（ルチンの酵素処理物）、クエルシトリン（ケルセチン-3-O-ラムノシド）、イソクエルシトリン（ケルセチン 3-グルコシド）、ケルセチン 3, 4'-ジグルコシド、ケルセチン 4'-グルコシド、ケルセチン 3-（6-マロニルグルコシド）、ヒペロシド（ケルセチン 3-ガラクトシド）、ケルセチン-3-O-グルクロニドなどを含む。酵素処理ルチンは、イソクエルシトリンのグルコシド部分にさらに糖鎖が結合しているケルセチン配糖体である。酵素処理ルチンの好ましい例として、ルチンを酵素処理してラムノース糖鎖部分を除去したイソクエルシトリンを糖転移酵素で処理して得られる、イソクエルシトリンにグルコース 1～7 個からなる糖鎖が結合したもの、及びその混合物を主成分とするものが挙げられる。一態様において、ケルセチン又はその配糖体として、ケルセチン配糖体が好ましく、ケルセチンの 3 位の水酸基に 1 以上の糖がグリコシド結合したケルセチン配糖体がより好ましく、イソクエルシトリン、ルチン、酵素処理ルチン及びクエルシトリンからなる群より選択される少なくとも 1 種が更に好ましく、イソクエルシトリン、酵素処理ルチンが更により好ましい。ケルセチン配糖体として、ケルセチンの 3 位の水酸基に 1～8 個のグルコースがグリコシド結合した化合物（例えば、イソクエルシトリン、イソクエルシトリンに 1～7 個のグルコースが結合した配糖体）が特に好ましく、イソクエルシトリンが最も好ましい。

[0021] 本発明において、ケルセチン又はその配糖体を得るための由来、製法については特に制限はない。例えば、ケルセチン又はその配糖体を多く含む植物として、ソバ、エンジュ、ケッパー、リンゴ、茶、タマネギ、ブドウ、ブロッコリー、モロヘイヤ、ラズベリー、コケモモ、クランベリー、オープンティア、葉菜類、柑橘類などが知られており、これらの植物からケルセチン又はそ

の配糖体を得ることができる。

本発明に用いられるケルセチン又はその配糖体には、本発明の効果を奏することになる限り、上記の植物等の天然物由来の抽出物を、濃縮、精製等の操作によってケルセチン又はその配糖体の含量を高めたもの、例えば、ケルセチン又はその配糖体を含有する抽出物の、濃縮物又は精製物を用いることができる。濃縮方法又は精製方法は、既知の方法を採用することができる。本発明においては、精製又は単離されたケルセチン又はその配糖体を使用してもよい。ケルセチン又はその配糖体は、化学合成品を使用することもできる。

[0022] 組成物中のケルセチン又はその配糖体の含有量は、例えば、イソクエルシトリン換算で、好ましくは0.0001重量%以上、より好ましくは0.001重量%以上であり、また、50重量%以下であってよく、10重量%以下であってよく、好ましくは1重量%以下、より好ましくは0.1重量%以下である。一態様において、組成物中のケルセチン又はその配糖体の含有量は、イソクエルシトリン換算で、0.0001～50重量%であってよく、0.0001～10重量%であってよく、好ましくは0.0001～1重量%、より好ましくは0.001～0.1重量%である。

ケルセチン又はその配糖体の含有量は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法により測定することができる。

本明細書中、ケルセチン又はその配糖体について、イソクエルシトリン換算の量又はこれに類する表現は、ケルセチン又はその配糖体のイソクエルシトリンとしての量を意味する。具体的には、化合物がイソクエルシトリンの場合はその量を意味し、化合物がケルセチン又はイソクエルシトリン以外のケルセチン配糖体の場合は、当該化合物のモル数に、イソクエルシトリンの分子量を乗じて得られる値を意味する。

[0023] 本発明において、（B）ケルセチン又はその配糖体の含有量（イソクエルシトリン換算）に対する、（A）レーエルゴチオネイン又はその塩の含有量（レーエルゴチオネイン換算）の重量比（レーエルゴチオネイン換算の（A）

／イソクエルシトリン換算の（Ｂ））は、好ましくは０．０１以上、より好ましくは０．０２以上、更に好ましくは０．０２５以上であり、また、好ましくは１．２以下、より好ましくは１．１以下、更に好ましくは１以下である。（Ｂ）ケルセチン又はその配糖体のイソクエルシトリン換算の含有量に対する、（Ａ）Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩のＬ－エルゴチオネイン換算の含有量の重量比（Ｌ－エルゴチオネイン換算の（Ａ）／イソクエルシトリン換算の（Ｂ））が上記の範囲であると、ケルセチン又はその配糖体の微生物の増殖抑制作用が効果的に増強される。一態様において、上記の重量比（Ｌ－エルゴチオネイン換算の（Ａ）／イソクエルシトリン換算の（Ｂ））は、好ましくは０．０１～１．２、より好ましくは０．０２～１．２、更に好ましくは０．０２５～１．２、更により好ましくは０．０２５～１．１、特に好ましくは０．０２５～１である。本発明の組成物は、（Ａ）Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と（Ｂ）ケルセチン又はその配糖体とを、上記の重量比で含むことが好ましい。

[0024] 本発明の組成物は、（Ａ）Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、（Ｂ）ケルセチン又はその配糖体とを含むため、微生物の増殖が抑制されている。本発明の組成物は、微生物の増殖が抑制された組成物（好ましくは経口組成物）として有用である。

[0025] 学術的な定義として、微生物には細菌（バクテリア）のみならず、菌類（キノコ、カビ、酵母菌等）、ウイルス、微細藻類等が含まれるが、本明細書において、微生物とは、細菌（バクテリア）を指すものである。

本発明において、微生物として、大腸菌が好ましい。Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、ケルセチン又はその配糖体とを組み合わせることで、大腸菌に対して優れた増殖抑制効果を発揮することができる。

[0026] 本発明の組成物は、例えば、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等の形態とすることができる。本発明の組成物は、それ自体が飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等であってもよく、これらに配合して使用される素材又は製剤等であってもよい。一態様において、本発明の組成物を、飲食品、医薬品、医

薬部外品、飼料等とする場合は、組成物中のＬ－エルゴチオネイン又はその塩の含有量は、Ｌ－エルゴチオネイン換算で、好ましくは０．０００１～０．１重量％、より好ましくは０．００１～０．０１重量％である。組成物中のケルセチン又はその配糖体の含有量は、イソクエルシトリン換算で、好ましくは０．００１～１重量％、より好ましくは０．０１～０．１重量％である。

[0027] 一態様において、本発明の組成物は、経口組成物であることが好ましい。経口組成物として、飲食品、経口用の医薬品、医薬部外品、飼料等が挙げられ、好ましくは飲食品又は経口用医薬品であり、より好ましくは飲食品である。

一態様において、本発明の組成物は、微生物の増殖が抑制された経口組成物、好ましくは大腸菌の増殖が抑制された経口組成物として有用である。一態様において、本発明の組成物は、例えば、微生物の増殖が抑制された飲食品、経口医薬品、経口医薬部外品、飼料等として有用である。

[0028] 本発明の組成物は、本発明の効果を損なわない限り、Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩と、ケルセチン又はその配糖体とに加えて、任意の添加剤、任意の成分を含有することができる。これらの添加剤及び成分は、組成物の形態等に応じて選択することができ、一般的に飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等に使用可能なものが使用できる。本発明の組成物を飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等とする場合、その製造方法は特に限定されず、一般的な方法により製造することができる。

本発明の組成物の形態は特に限定されず、固体状（粉末状、顆粒状、タブレット状等）、液状、ペースト状等であってよい。

[0029] 例えば本発明の組成物を飲食品とする場合、Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩及びケルセチン又はその配糖体に、飲食品に使用可能な成分（例えば、食品素材、必要に応じて使用される食品添加物等）を配合して、種々の飲食品とすることができる。飲食品は特に限定されず、例えば、一般的な飲食品、健康食品、健康飲料、機能性表示食品、特定保健用食品、健康補助食品、病

者用飲食品等が挙げられる。上記健康食品、機能性表示食品、特定保健用食品、健康補助食品等は、例えば、細粒剤、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、チュアブル剤、シロップ剤、液剤、流動食等の各種製剤形態とすることができる。

[0030] 本発明の組成物を医薬品又は医薬部外品とする場合、例えば、Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩及びケルセチン又はその配糖体に、薬理学的に許容される担体、必要に応じて添加される添加剤等を配合して、各種剤形の医薬品又は医薬部外品とすることができる。そのような担体、添加剤等は、医薬品又は医薬部外品に使用可能な、薬理学的に許容されるものであればよく、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、抗酸化剤、着色剤等の１又は２以上が挙げられる。医薬品又は医薬部外品の投与形態としては、経口又は非経口投与の形態が挙げられるが、経口投与の形態が好ましい。本発明の組成物を医薬品又は医薬部外品とする場合、経口医薬品又は医薬部外品とすることが好ましい。経口投与のための剤形としては、液剤、錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、糖衣錠、カプセル剤、懸濁液、乳剤、チュアブル剤等が挙げられる。非経口投与のための剤形としては、注射剤、点滴剤等が挙げられる。

[0031] 本発明の組成物を飼料とする場合には、Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩及びケルセチン又はその配糖体を飼料に配合すればよい。飼料には飼料添加剤も含まれる。飼料としては、例えば、牛、豚、鶏、羊、馬等に用いる家畜用飼料；ウサギ、ラット、マウス等に用いる小動物用飼料；犬、猫、小鳥等に用いるペットフードなどが挙げられる。

[0032] 本発明の組成物を経口組成物とする場合、本発明の組成物を摂取させる又は投与する対象（投与対象ということもできる）は、特に限定されない。好ましくはヒト又は非ヒト哺乳動物であり、より好ましくはヒトである。

[0033] 本発明の組成物を経口組成物とする場合、本発明の組成物の摂取量（投与量）は特に限定されないが、例えば、ヒト（成人）であれば、１日当たり、Ｌ－エルゴチオネイン換算の摂取量で、好ましくは２～５０ｍｇ、より好ましくは５～２５ｍｇ、さらに好ましくは５～２０ｍｇ、特に好ましくは１０～

20mgである。

[0034] (A) L-エルゴチオネイン又はその塩と、(B) ケルセチン又はその配糖体との組合せは、微生物の増殖を抑制するための有効成分として使用することができる。一態様において、本発明の組成物は、例えば、微生物の増殖を抑制するために好適に使用することができる。一態様において、本発明の組成物は、微生物増殖抑制用組成物であってよい。

L-エルゴチオネイン又はその塩、及び、ケルセチン又はその配糖体は、天然物や飲食品に含まれ、食経験がある化合物である。本発明の組成物は、例えば、経口組成物における微生物の増殖を抑制するために好適に使用することができる。一態様において、本発明の組成物は、経口組成物の微生物増殖抑制用組成物として好適に使用することができる。微生物増殖抑制用組成物は、微生物増殖抑制剤ということもできる。一態様において、本発明の組成物は、大腸菌増殖抑制用組成物として好適に使用することができる。

[0035] 一態様において、本発明の組成物は、例えば、経口組成物に添加して使用することができる。本発明の組成物を、経口組成物における微生物の増殖を抑制するために使用する場合、本発明の組成物を経口組成物に添加すればよい。一態様において、本発明の組成物は、食品添加剤として使用することができる。本発明の組成物を添加する経口組成物は特に限定されず、飲食品、経口医薬品、経口医薬部外品、飼料等が挙げられ、好ましくは飲食品である。一態様において、本発明の組成物を、微生物増殖抑制用組成物として、飲食品等に添加して使用する場合は、組成物中の(A) L-エルゴチオネイン又はその塩及び(B) ケルセチン又はその配糖体の合計含有量は、例えば、0.01~99重量%であってよく、好ましくは0.1~90重量%である。

[0036] 本発明の組成物を、微生物増殖抑制効果を得る目的で経口組成物に添加する場合、その添加量は、経口組成物中のL-エルゴチオネイン又はその塩の含有量が、L-エルゴチオネイン換算で、好ましくは0.00001~0.1重量%、より好ましくは0.0001~0.01重量%となる量が好ましい。また、ケルセチン又はその配糖体の添加量は、経口組成物中のケルセチン

又はその配糖体の含有量が、イソクエルシトリン換算で、好ましくは0.001～1重量%、より好ましくは0.01～0.1重量%となる量が好ましい。微生物増殖抑制効果を得る観点から、L-エルゴチオネイン又はその塩及びケルセチン又はその配糖体の含有量が上記となる量の組成物を添加することが好ましい。

[0037] (微生物増殖抑制方法)

本発明は、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩と、(B) ケルセチン又はその配糖体とを経口組成物に添加する、経口組成物の微生物増殖抑制方法も包含する。

本発明の方法において、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩、及び、(B) ケルセチン又はその配糖体、これらの好ましい態様は、上述した本発明の組成物と同じである。

例えば、ケルセチン又はその配糖体は、イソクエルシトリン、ルチン、酵素処理ルチン及びクエルシトリンからなる群より選択される少なくとも1種であることが好ましい。

[0038] 本発明の方法において、微生物及びその好ましい態様は、上述したものと同じであり、好ましくは大腸菌である。本発明の方法は、好ましくは、経口組成物の大腸菌増殖抑制方法である。経口組成物は特に限定されず、上記の飲食品、経口医薬品、経口医薬部外品、飼料等が挙げられる。

[0039] 本発明の方法においては、経口組成物中の(B) ケルセチン又はその配糖体の含有量(イソクエルシトリン換算)に対する、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩の含有量(L-エルゴチオネイン換算)の重量比(L-エルゴチオネイン換算の(A)/イソクエルシトリン換算の(B))が、0.01以上となるように、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩と、(B) ケルセチン又はその配糖体とを経口組成物に添加することが好ましい。上記の重量比(L-エルゴチオネイン換算の(A)/イソクエルシトリン換算の(B))は、より好ましくは0.02以上、更に好ましくは0.025以上、また、好ましくは1.2以下、より好ましくは1.1以下、更に好ましくは1

以下である。(B) ケルセチン又はその配糖体(イソクエルシトリン換算)に対する、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩(L-エルゴチオネイン換算)の重量比(L-エルゴチオネイン換算の(A)/イソクエルシトリン換算の(B))が上記の範囲であると、ケルセチン又はその配糖体の微生物の増殖抑制作用が効果的に増強される。一態様において、上記の重量比(L-エルゴチオネイン換算の(A)/イソクエルシトリン換算の(B))は、好ましくは0.01~1.2、より好ましくは0.02~1.2、更に好ましくは0.025~1.2、更により好ましくは0.025~1.1、特に好ましくは0.025~1である。経口組成物中の(B) ケルセチン又はその配糖体の含有量(イソクエルシトリン換算)に対する、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩の含有量(L-エルゴチオネイン換算)の重量比(L-エルゴチオネイン換算の(A)/イソクエルシトリン換算の(B))が上記の範囲となるように、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩と、(B) ケルセチン又はその配糖体とを経口組成物に添加することが好ましい。

[0040] L-エルゴチオネイン又はその塩の添加量は、経口組成物中のL-エルゴチオネイン又はその塩の含有量が、L-エルゴチオネイン換算で、好ましくは0.00001~0.1重量%、より好ましくは0.0001~0.01重量%となる量が好ましい。ケルセチン又はその配糖体の添加量は、経口組成物中のケルセチン又はその配糖体の含有量が、イソクエルシトリン換算で、好ましくは0.001~1重量%、より好ましくは0.01~0.1重量%となる量が好ましい。

[0041] 本発明の方法において、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩と、(B) ケルセチン又はその配糖体とは別々に経口組成物に添加してもよいが、これらを含む組成物を経口組成物に添加してもよい。例えば、上述した本発明の組成物を使用して(A) L-エルゴチオネイン又はその塩と、(B) ケルセチン又はその配糖体とを経口組成物に添加してもよい。

[0042] (ケルセチン又はその配糖体の微生物増殖抑制作用増強剤)

本発明は、L-エルゴチオネイン又はその塩を含む、ケルセチン又はその配

糖体の微生物増殖抑制作用増強剤も包含する。Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩は、ケルセチン又はその配糖体の微生物増殖抑制作用を増強するための有効成分として使用することができる。

Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩は、例えば、ケルセチン又はその配糖体の大腸菌増殖抑制作用を増強するために好適に使用することができる。

[0043] 本発明は、微生物増殖抑制用組成物を製造するための、（Ａ）Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩、及び、（Ｂ）ケルセチン又はその配糖体の使用、も包含する。

本発明は、ケルセチン又はその配糖体の微生物増殖抑制作用を増強するための、Ｌ－エルゴチオネイン又はその塩の使用、も包含する。

[0044] 本明細書において下限値と上限値によって表されている数値範囲、即ち「下限値～上限値」は、それら下限値及び上限値を含む。例えば、「１～２」により表される範囲は、１以上２以下を意味し、１及び２を含む。本明細書において、上限及び下限は、いずれの組み合わせによる範囲としてもよい。

実施例

[0045] 以下、本発明を実施例によりさらに詳しく説明するが、これにより本発明の範囲を限定するものではない。

[0046] ＜実施例１＞

Ｌ－エルゴチオネイン（以下、単にエルゴチオネインと記載する場合がある）及びケルセチン配糖体の除菌（微生物増殖抑制）効果を調べた。

ケルセチン配糖体には、イソクエルシトリン（ケルセチン３－グルコシド、Cayman Chemical社製）を使用した。

試験菌には、大腸菌（*Escherichia coli* NBRC 3972）を使用した。

[0047] （試験菌液の調製）

大腸菌を普通寒天培地に接種し、３０～３５℃で２４時間培養した。培養後、生理食塩水を用いて菌数が１０⁸ＣＦＵ／ｍＬとなるように調製し、試験菌液とした。

[0048] (試験試料の調製)

リン酸緩衝生理食塩水及びエルゴチオネインを混合し、試験試料1（エルゴチオネイン濃度100ppm（0.01重量%））を調製した。

リン酸緩衝生理食塩水及びイソクエルシトリンを混合し、試験試料2（イソクエルシトリン濃度100ppm（0.01重量%））を調製した。

リン酸緩衝生理食塩水、エルゴチオネイン及びイソクエルシトリンを混合し、試験試料3（エルゴチオネイン濃度2.5ppm（0.00025重量%）、イソクエルシトリン濃度100ppm（0.01重量%））を調製した。リン酸緩衝生理食塩水、エルゴチオネイン及びイソクエルシトリンを混合し、試験試料4（エルゴチオネイン濃度100ppm（0.01重量%）、イソクエルシトリン濃度100ppm（0.01重量%））を調製した。

リン酸緩衝生理食塩水を対照とした。

表1に、試験試料中の（A）エルゴチオネイン及び（B）イソクエルシトリンの濃度、（B）イソクエルシトリンに対する（A）エルゴチオネインの重量比（（A）／（B））を示す。

[0049] [表1]

	(A)エルゴチオネイン(ppm)	(B)イソクエルシトリン(ppm)	重量比 (A)/(B)
対照	0	0	—
試験試料1	100	0	—
試験試料2	0	100	—
試験試料3	2.5	100	0.025
試験試料4	100	100	1

[0050] (試験菌液の接種及び培養)

試験試料5mLに、試験菌液を0.05mL接種し、室温で静置した。

[0051] (生菌数測定)

接種1時間後に、試験菌液を接種した試験試料の10倍希釈液をレシチン・ポリソルベート80添加ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト液体培地で調製した。得られた大腸菌を含む希釈液を、レシチン・ポリソルベート80添加ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地に接種し、30～35℃で3～5日間培養した。培養後、形成されたコロニーをカウントし、生菌数を

算出した（ $n = 3$ ）。

生菌数（ $n = 3$ の平均値）から、下記式で除菌効果（％）を求めた。

除菌効果（％）＝ $100 - 100 \times (\text{試験試料中の生菌数}) / (\text{対照中の生菌数})$

結果を図1に示す。

[0052] 図1は、Ｌ－エルゴチオネイン（試験試料1）、イソクエルシトリン（試験試料2）、Ｌ－エルゴチオネインとイソクエルシトリンの組合せ（試験試料3～4）の除菌効果を示すグラフである。Ｌ－エルゴチオネインは、単独では大腸菌への除菌効果が認められなかった。イソクエルシトリンは、単独で使用した場合に大腸菌の増殖を抑制したが、Ｌ－エルゴチオネインとイソクエルシトリンとの組み合わせによって得られる大腸菌の増殖抑制効果は、各成分を単独で使用して得られる効果から予測される相加効果よりも顕著に優れる相乗効果であった。Ｌ－エルゴチオネインとイソクエルシトリンとを併用することで、微生物に対する優れた除菌効果、すなわち優れた微生物増殖抑制効果が得られることが分かった。

請求の範囲

- [請求項1] (A) L-エルゴチオネイン又はその塩と、(B) ケルセチン又はその配糖体とを含有する組成物。
- [請求項2] (B) ケルセチン又はその配糖体が、イソクエルシトリン、ルチン、酵素処理ルチン及びクエルシトリンからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] (B) ケルセチン又はその配糖体の含有量(イソクエルシトリン換算)に対する、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩の含有量(L-エルゴチオネイン換算)の重量比(L-エルゴチオネイン換算の(A) / イソクエルシトリン換算の(B))が0.01～1.2である、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項4] 微生物増殖抑制用組成物である、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項5] 経口組成物の微生物増殖抑制用組成物である、請求項4に記載の組成物。
- [請求項6] 微生物が、大腸菌である、請求項4に記載の組成物。
- [請求項7] (A) L-エルゴチオネイン又はその塩と、(B) ケルセチン又はその配糖体とを経口組成物に添加する、経口組成物の微生物増殖抑制方法。
- [請求項8] (B) ケルセチン又はその配糖体が、イソクエルシトリン、ルチン、酵素処理ルチン及びクエルシトリンからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項7に記載の方法。
- [請求項9] 経口組成物中の(B) ケルセチン又はその配糖体の含有量(イソクエルシトリン換算)に対する、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩の含有量(L-エルゴチオネイン換算)の重量比(L-エルゴチオネイン換算の(A) / イソクエルシトリン換算の(B))が0.01～1.2となるように、(A) L-エルゴチオネイン又はその塩と、(B) ケルセチン又はその配糖体とを経口組成物に添加する、請求項7又は8に記載の方法。

- [請求項10] 微生物が、大腸菌である、請求項7又は8に記載の方法。
- [請求項11] L-エルゴチオネイン又はその塩を含む、ケルセチン又はその配糖体の微生物増殖抑制作用増強剤。