



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104918494 A

(43) 申请公布日 2015. 09. 16

(21) 申请号 201380058961. 1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 11. 08

A01N 63/02(2006. 01)

(30) 优先权数据

A01N 65/34(2006. 01)

2012-249988 2012. 11. 14 JP

A61K 8/64(2006. 01)

A61K 8/97(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61Q 11/00(2006. 01)

2015. 05. 12

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2013/080192 2013. 11. 08

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/077188 JA 2014. 05. 22

(71) 申请人 生态友好研究所株式会社

地址 日本福冈县

申请人 特拉伊夫株式会社

(72) 发明人 永利浩平

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 卢曼 刘力

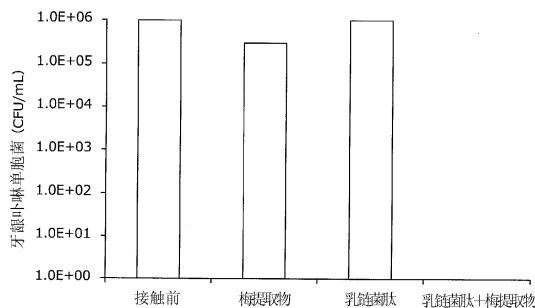
权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54) 发明名称

抗菌用组合物

(57) 摘要

本发明提供一种对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌这两者具有抗菌活性,安全性高,而且不损害风味的抗菌用组合物。本发明的抗菌用组合物含有:乳链菌肽;以及选自一种或多种蔷薇科植物的榨汁、提取物和蒸馏物、及它们的混合物中的来自植物的成分。上述蔷薇科植物优选为属于李属的植物,上述属于李属的植物进而优选为梅,上述来自植物的成分特别优选为梅果实榨汁。本发明的抗菌用组合物作为口腔用组合物特别有用。



1. 抗菌用组合物,其特征在于,含有:
乳链菌肽;以及
选自一种或多种蔷薇科植物的榨汁、提取物和蒸馏物、及它们的混合物中的来自植物的成分。
2. 权利要求 1 所述的抗菌用组合物,其特征在于,上述蔷薇科植物是属于李属的植物。
3. 权利要求 2 所述的抗菌用组合物,其特征在于,上述属于李属的植物是梅。
4. 权利要求 3 所述的抗菌用组合物,其特征在于,上述来自植物的成分是梅果实榨汁。
5. 权利要求 4 所述的抗菌用组合物,其特征在于,上述抗菌用组合物中的乳链菌肽的含量为 $0.1 \mu\text{g/mL} \sim 10\text{mg/mL}$,上述抗菌用组合物中的梅果实榨汁的含量为 $1 \sim 200\text{mg/mL}$ 。
6. 权利要求 1~3 中任一项所述的抗菌用组合物,其特征在于,上述抗菌用组合物中的乳链菌肽的含量为 $0.1 \mu\text{g/mL} \sim 10\text{mg/mL}$,上述抗菌用组合物中的来自植物的成分的含量为 $1 \sim 200\text{mg/mL}$ 。
7. 权利要求 1~6 中任一项所述的抗菌用组合物,其是口腔用组合物。

抗菌用组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及一种抗菌用组合物,其含有乳链菌肽作为杀菌成分,而且对于革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌这两者有效。

背景技术

[0002] 乳链菌肽(nisin)是细菌素的一种,是由乳酪(cheese)分离的乳酸乳球菌(Lactococcus lactis)产生的、由34个氨基酸残基组成的多环式抗菌性肽。乳链菌肽是水溶性多肽,即使为1ppb左右的低浓度,也具有针对以醋酸菌为代表的革兰氏阳性菌的生长抑制效果,与仅对相近种类(近縁種)具有抗菌活性的其它细菌素不同,具有较广抗菌谱。乳链菌肽,在包含日本在内的多数国家中作为食品添加剂被认可,应用于食品保存料或各种抗菌剂等。

[0003] 乳链菌肽对革兰氏阳性菌具有抗菌活性,因此可期待对作为龋齿病原菌的变异链球菌(*Streptococcus mutans*)的除菌有效。因此,期待着乳链菌肽在安全性更高的洗口液等中的应用,来替代含有被指出具有毒性的月桂基硫酸钠、丙二醇等的以往的洗口液(漱口液)。但是,乳链菌肽单独对革兰氏阴性菌不具有抗菌活性,因此对于作为革兰氏阴性菌的牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)等牙周病病原菌的除菌没有效果。已知通过将EDTA等螯合剂与乳链菌肽组合,可以得到对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌这两者都具有抗菌活性的抗菌性组合物(例如,参照专利文献1、非专利文献1、2)。此外,提出了一种抗菌剂,其是一种杀菌剂,其包含:对革兰氏阴性菌具有杀菌作用的富马酸、对革兰氏阳性菌具有杀菌作用的乳链菌肽、乳酸(例如0.8%(w/v))、以及磷酸和柠檬酸中的两者或任一者,其中,将富马酸的浓度设定为0.03%~0.1%(w/v)、将乳链菌肽的浓度设定为1ppm~100ppm(参照专利文献2)。

[0004] 现有技术文献

专利文献

专利文献1:日本特表平3-500051号公报

专利文献2:日本专利第4309822号公报。

[0005] 非专利文献

非专利文献1: *Applied and Environmental Microbiology*, 58(5), p. 1786-88, 1992

非专利文献2: *International Journal of Food Microbiology*, 21, p. 305-314, 1994。

发明内容

[0006] 发明要解决的课题

然而,EDTA对人体具有毒性,因此从安全性的观点考虑,不优选将其用作口腔摄护(口腔ケア)等人体中所使用的抗菌用组合物的原料。此外,专利文献2记载的抗菌剂,除了富马酸以外进而含有乳酸等有机酸,因此损害香味、味道等风味,在适用于应用到口腔摄护等

人体中所使用的抗菌用组合物时存在问题。

[0007] 本发明是鉴于上述事实而完成的,其目的是提供一种抗菌用组合物,其对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌这两者具有抗菌活性,安全性高,而且不损害风味。

[0008] 解决课题用的手段

按照上述目的的本发明,通过提供抗菌用组合物来解决上述课题,

所述抗菌用组合物的特征在于,含有:

乳链菌肽;以及

选自一种或多种蔷薇科植物的榨汁、提取物和蒸馏物、及它们的混合物中的来自植物的成分。

[0009] 本发明的抗菌用组合物中,上述蔷薇科植物优选为属于李属的植物,上述属于李属的植物进而优选为梅,上述来自植物的成分特别优选为梅果实榨汁。

[0010] 本发明的抗菌用组合物中,优选的是,上述抗菌用组合物中的乳链菌肽的含量为 $0.1 \mu\text{g/mL} \sim 10\text{mg/mL}$,上述抗菌用组合物中的来自植物的成分(梅果实榨汁)的含量为 $1 \sim 200\text{mg/mL}$ 。本发明的抗菌用组合物优选为口腔用组合物。

[0011] 发明效果

根据本发明,通过将乳链菌肽和来源于蔷薇科植物的来自植物的成分混合使用,可以提供对革兰氏阳性菌具有抗菌活性,而且对乳链菌肽单独时不具有抗菌活性的革兰氏阴性菌也具有抗菌活性的抗菌用组合物。此外,本发明的抗菌用组合物中,螯合剂、月桂基硫酸钠等若大量使用则可能对人体有害的化合物不是必须成分,因此安全性也优异。

附图说明

[0012] [图1]是表示实施例1中的梅提取物、乳链菌肽、乳链菌肽+梅提取物对牙龈卟啉单胞菌的抗菌效果的图;

[图2]是表示实施例2中的梅提取物、乳链菌肽、乳链菌肽+梅提取物对牙龈卟啉单胞菌的抗菌效果的图;

[图3]是表示实施例3中的乳链菌肽对大肠杆菌的抗菌效果的图;

[图4]是表示实施例3中的梅提取物、乳链菌肽+梅提取物对大肠杆菌的抗菌效果的图;

[图5]是表示实施例4中的梅提取物、乳链菌肽、乳链菌肽+梅提取物对大肠杆菌的抗菌效果的图。

具体实施方式

[0013] 接着,对于将本发明具体化的实施方式进行说明,供于理解本发明。本发明的一个实施方式的抗菌用组合物(以下有时简称为“抗菌用组合物”或“组合物”。)含有:乳链菌肽;以及选自一种或多种蔷薇科植物的榨汁、提取物和蒸馏物、及它们的混合物中的来自植物的成分。本发明的抗菌用组合物作为口腔用组合物特别有用。

[0014] (1) 乳链菌肽

乳链菌肽是细菌素的一种,是含有作为非天然氨基酸的羊毛硫氨酸的由34个氨基酸残基构成的低分子蛋白质。抗菌用组合物的制造中可用的乳链菌肽的种类没有特别的限

制,例如可列举乳链菌肽 A 和乳链菌肽 Z。乳链菌肽 A 和乳链菌肽 Z 的结构类似。仅在下述方面不同:乳链菌肽 A 中,从其多肽链的 N 末端起第 27 位的氨基酸是组氨酸,相对而言,乳链菌肽 Z 中是天冬酰胺。

[0015] 乳链菌肽可以通过将乳酸菌用公知方法培养、纯化而得到。例如,将乳酸菌在 MRS 培养基 (Oxoid 公司制) 中培养后,将培养上清液用 Amberlite XAD-16 (シグマ社制) 等合成吸附剂进行处理而将乳链菌肽吸附,将 Amberlite 用蒸馏水和 40% 乙醇洗净后,用含有 0.1% 的三氟乙酸的 70% 异丙醇将乳链菌肽洗脱,将洗脱级分供于阳离子交换柱 (例如, SP-Sepharose FF、GE ヘルスケアバイオサイエンス株式会社制),从而可得到乳链菌肽的纯化品。在需要的情况下,通过供于反相色谱,可以进一步提高纯化度 (例如,参照 Biosci. Biotechnol. Biochem., 67(7), p1616-1619, 2003)。此外,还可以使用市售品 (例如, ナイサプリン (Nisaplin、商标、ダニスコ株式会社制))。ナイサプリン是来自乳酸乳球菌乳亚种 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) 的乳链菌肽和氯化钠的混合物,含有脱脂乳或来自糖培养基的成分。在需要的情况下,利用上述纯化方法除去来自培养基的成分等,可提高纯度。

[0016] 抗菌用组合物中的乳链菌肽的含量,只要显示所需的抗菌活性则没有特别的限定,优选为 $0.1 \mu\text{g/mL} \sim 10\text{mg/mL}$,更优选为 $0.5 \mu\text{g/mL} \sim 1\text{mg/mL}$,进一步优选为 $1 \mu\text{g/mL} \sim 250 \mu\text{g/mL}$ 。

[0017] (2) 来自植物的成分

蔷薇科植物是双子叶植物,乔木、灌木、多年生草本、进而一年生草本,其生活型为各种各样,分布在除南极以外的全部大陆,特别地在北半球的暖带至温带较多。其花序为多样,花大多为两性,辐射对称。

[0018] 抗菌用组合物的制造中使用的蔷薇科植物没有特别地限定,例如可列举:龙牙草属 (*Agrimonia*)、火棘属 (*Pyracantha*)、绣线菊属 (*Spiraea*)、委陵菜属 (*Potentilla*)、草莓属 (*Fragaria*)、水杨梅属 (*Geum*)、蛇莓属 (*Duchesnea*)、悬钩子属 (*Rubus*)、地榆属 (*Sanguisorba*)、蔷薇属 (*Rosa*)、李属 (*Prunus*)、山楂属 (*Crataegus*)、枇杷属 (*Eriobotrya*)、木瓜属 (*Chaenomeles*) 和苹果属 (*Malus*)。优选的是,蔷薇科植物为李属,作为其具体例,可列举:扁桃 (*Prunus dulcis*)、桃 (*Prunus persica*)、欧洲李 (*Prunus domestica*)、梅 (*Prunus mume*)、李 (*Prunus salicina*)、黑刺李 (*Prunus spinosa*)、杏 (*apricot*) (*Prunus vulgaris*)、甜樱桃 (*Prunus avium*)、钟花樱桃 (*Prunus campanulata*)、酸樱桃 (*Prunus cerasus*)、山樱 (*Prunus jamasakura*)、山樱桃 (*Prunus leveilleana*)、枝垂樱 (*Edohigan*) (*Prunus pendula*)、樱桃 (*Prunus pseudocerasus*)、大岛樱 (*Prunus speciosa*)、山樱桃 (*Prunus verecunda*)、望月樱 (*Prunus* × *mochizukiana*)、东京樱花 (*Prunus* × *yedoensis*)、毛樱桃 (*Prunus tomentosa*)、稠李 (*Prunus avium* Mill)、灰叶稠李 (*Prunus grayana*)、檮木 (*Prunus buergeriana*)、桂樱 (*Prunus lauro-cerasus*)、刺叶桂樱 (*Prunus spinulosa*)、大叶桂樱 (*Prunus zippeliana*)。

[0019] 作为来自植物的成分,使用蔷薇科植物的榨汁、提取物和蒸馏物。作为蔷薇科植物的植物体的部位是,例如,包括花部 (花整体或花瓣、花萼、雌蕊、雄蕊等花的一部分)、茎部 (茎部整体或树皮等茎部的一部分)、叶部、种子、果实 (包含种子的果实整体或果皮、果肉等果实的一部分) 等的地上部以及根、地下茎、鳞茎等地下部。其中,可以适当组合任意多

个部位来使用。

[0020] 作为优选的来自植物的成分,可列举梅、李、杏等的果实榨汁,其中,特别优选属于李属的植物即梅果实榨汁。从果实或其它部位的榨汁的采取,没有特别的限制,可以使用任意的的方法。采取榨汁时,可以整个使用包括果皮和种子的果实,也可以使用将果皮和种子除去后的果实,根据需要,还可以使用实施了细切、粉碎等前处理的果实。在残渣与榨汁分离时,可以使用布、滤纸、超滤膜、玻璃滤器等,还可以使用离心分离、倾析等分离法。所得榨汁可以使用任意的手段和方法浓缩成适当的比例,作为浓缩液或固体使用。

[0021] 在提取或蒸馏时,可以直接使用蔷薇科植物的植物体或其一部分,也可以使用经干燥、细切、粉碎等加工后的加工物。作为获得提取物时所使用的溶剂,极性溶剂可示例水、低碳醇、高碳醇、酮等有机溶剂、或它们中的任意 2 种以上的混合溶剂。此外,作为非极性溶剂,可示例石油醚、或者碳数 4~8 的脂肪族烃、碳数 1~2 的脂肪族烃的卤化物、碳数 6~7 的芳香族烃等。此外,提取方法没有特别的限制,可以使用索氏提取法等固-液提取法、液-液提取法、采用了超临界流体的提取法等任一种方法。

[0022] 对于用来获得蒸馏物的蒸馏方法没有特别限制,可以适当使用常压蒸馏法、减压蒸馏法、水蒸汽蒸馏法等任意的的方法。

[0023] 如上述那样得到的榨汁、提取物或蒸馏物可以直接使用,也可以使用根据需要进而进行了纯化(可使用精密蒸馏、柱色谱、重结晶等任意的的方法。)的纯化品、进而也可以使用它们的浓缩物。此外,可以将任意 2 种以上组合使用。

[0024] 对于抗菌用组合物中的来自植物的成分的含量,只要能够赋予对革兰氏阴性菌的抗菌活性则没有特别的限制,优选为 1~200mg/mL,更优选为 1.5~150mg/mL,进一步优选为 2~100mg/mL,特别优选为 2.5~50mg/mL。应予说明,作为来自植物的成分使用榨汁、提取物或蒸馏物的浓缩物时,优选换算成浓缩前的含量的值在上述范围内。

[0025] 抗菌用组合物对于成为产生如下的口腔内所不希望的疾病或状态的原因的口腔内微生物(包含革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌这两者。)具有抗菌效果,所述疾病或状态是龋齿或牙周病等牙齿和牙龈的疾病、它们的相关症状或前驱症状即口腔的恶臭、牙菌斑形成等。抗菌用组合物可以采取例如选自洗口液(漱口液)、洗口喷剂(口腔喷剂)、牙膏、牙粉、刷牙霜(歯磨きクリーム)、凝胶剂、口香糖、液体夹心口香糖(liquid center filled gums)、薄荷剂、糖锭、口腔用膜等的形态。

[0026] 抗菌用组合物,除了用于如上述的口腔摄护用途以外,还可以用于因细菌导致的感染症、以杀害病原菌为目的的制品,例如,可用于下列制品等:用于粉刺护理等的面部护理制品、身体(脚、腋窝)的除臭剂、用于儿童的传染性脓疱病预防等的身体护理制品、洗眼剂、隐形眼镜清洗液(コンタクト洗浄液)等眼睛护理制品等。

[0027] 抗菌用组合物,根据其形态,当然可以含有所期望形态的抗菌用组合物中通常使用的任意的其它基剂或添加物。例如,为牙膏时,可以含有下列成分作为添加剂:磷酸氢钙、碳酸钙、氢氧化铝等研磨剂、十二烷基肌氨酸钠、月桂基硫酸钠、蔗糖脂肪酸酯等发泡剂、山梨糖醇、甘油、丙二醇等保湿剂、黄原胶、海藻酸钠、羧甲基纤维素等粘合剂、木糖醇等甜味剂、薄荷醇等香料、乳酸钙等矫味剂、乙醇等助剂、氟化物、葡聚糖酶、葡萄糖氧化酶、洗必泰、氯化溶菌酶等药效成分。

[0028] 此外,为洗口液时,作为基剂可以使用纯化水等水,可以使用甘油、山梨糖醇等

润湿剂、氢化淀粉、木糖醇等甜味剂、聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物（泊洛沙姆等）等增溶剂、羟乙基纤维素等粘合剂、薄荷、芦荟液汁等香料、百里香酚、薄荷醇、水杨酸甲酯（冬青油）、桉油精、香荆芥酚、樟脑、茴香脑、香芹酮、丁香酚、异丁香酚、柠檬烯、罗勒烯（osimen）、正癸醇、香茅油精（citronel）、 α -salpineol、乙酸甲酯、乙酸香茅酯、甲基丁香酚、桉油酚、里哪醇、乙基里哪醇（ethyl linalaol）、黄樟油精（safrola vanillin）、留兰香油、薄荷油、柠檬油、橙油、鼠尾草油、迷迭香油、肉桂油、多香果油、月桂油（laurel oil）、雪松叶油、gerianol、马鞭草烯酮、茴香油、月桂叶油、苯甲醛、香柠檬油、苦杏仁、氯代百里香酚、肉桂醛、香茅油、丁子香油、煤焦油、桉树油、愈创木酚、薰衣草油、芥子油、苯酚、水杨酸苯酯、松树油、松针油、黄樟油、阔叶薰衣草（spike lavender）油、苏合香脂、百里香油、吐鲁香脂、松节油、丁香油等精油、乙醇、氯化溶菌酶、乳铁蛋白、葡萄糖氧化酶、葡萄糖氧化酶等助剂、乳酸钙等矫味剂。

[0029] 作为由抗菌用组合物带来抗菌作用的对象微生物，可列举：具核梭杆菌（*Fusobacterium nucleatum*）、中间普雷沃氏菌（*Prevotella intermedia*）、粘放线菌（*Actinomyces viscosus*）、直肠弯曲杆菌（*Campylobacter rectus*）、牙龈卟啉单胞菌（*Porphyromonas gingivalis*）、血链球菌（*Streptococcus sanguis*）、变异链球菌（*Streptococcus mutans*）、放线杆菌（*Actinobacillus*）、拟杆菌（*Bacteroides*）、二氧化碳嗜纤维菌（*Capnocytophaga*）、艾肯氏菌（*Eikenella*）、丙酸杆菌（*Propionibacterium*）、和白色念珠菌（*Candida albicans*）等，但不限于于这些。

实施例

[0030] 接着，对于为了确认本发明的作用效果而进行的实施例进行说明。以下的实施例中，作为乳链菌肽使用乳链菌肽A、作为来自植物的成分使用梅果汁的5倍浓缩物（BX82、酸度51%。以下称为“梅提取物”。）。

[0031] 实施例1：对牙龈卟啉单胞菌的抗菌活性（1）

将牙周病病原菌即牙龈卟啉单胞菌 ATCC33277 株在富集胰蛋白酶大豆肉汤（Enriched Tryptic Soy Broth）（e-TSB）中进行培养至对数生长期。用加入了0.8% NaCl 的柠檬酸缓冲液（pH4.5）稀释培养液，调节菌数（ 10^6 CFU/mL）。试验液使用灭菌纯化水进行稀释，调节为5倍浓缩梅提取物（3mg/mL、以浓缩前换算计15mg/mL）、乳链菌肽（150 μ g/mL）、乳链菌肽（150 μ g/mL）+ 5倍浓缩梅提取物（3mg/mL、以浓缩前换算计15mg/mL）。将该稀释后的培养液（100 μ L）添加到试验液（5mL）中。在室温下接触1分钟后，将该液体（100 μ L）添加混合到 e-TSB 培养基（5mL）中，立即将该混合液（100 μ L）平板接种至经厌氧化的血琼脂培养基上，进行5天厌氧培养后，测定在平板上形成的菌落数。结果如下述的表1和图1所示。应予说明，表1中“CFU”表示菌落形成单位（Colony forming unit）（以下相同）。

[0032] [表1]

试样	菌数(CFU/mL)	
	接触前	接触后
梅提取物(3mg/mL)	1.0×10^6	3.0×10^5
乳链菌肽(150 μ g/mL)	1.0×10^6	1.0×10^6
乳链菌肽(150 μ g/mL)+ 梅提取物(3mg/mL)	1.0×10^6	0

[0033] 由表 1 和图 1 的结果可确认,乳链菌肽单独时,对于革兰氏阴性菌即牙龈卟啉单胞菌,完全没有显现抗菌活性;梅提取物单独时也没有表现出充分的抗菌活性;相对而言,通过并用两者,显示出非常高的抗菌活性。

[0034] 实施例 2:对牙龈卟啉单胞菌的抗菌活性 (2)

将牙周病病原菌即牙龈卟啉单胞菌 W83 株在添加了氯高铁血红素 (5mg/L) 和甲萘醌 (メチジオン) (1mg/L) 的脑心浸液肉汤 (Brain heart infusion) 培养基中进行培养至对数生长期。将培养液用加入了 0.8% NaCl 的柠檬酸缓冲液进行稀释,调节菌数 (10^6 CFU/mL)。试验液用灭菌纯化水调制成 5 倍浓缩梅提取物 (10mg/mL、以浓缩前换算计 50mg/mL)、乳链菌肽 (20 μ g/mL)、5 倍浓缩梅提取物 (10mg/mL、以浓缩前换算计 50mg/mL) + 乳链菌肽 (20 μ g/mL),使用 96 孔板进行 2 倍系列稀释。向各孔 (50 μ L) 中加入添加了氯高铁血红素 (5mg/L) 和甲萘醌 (1mg/L) 的脑心浸液肉汤培养基 (140 μ L) 和菌液 (10 μ L),培养 48 小时后,以 600nm 测定菌的浊度。判定如下进行:利用 $(1 - (\text{试验液的浊度} / \text{灭菌水的浊度})) \times 100$ 的式子算出生长抑制效果%。结果示于图 2。

[0035] 由图 2 的结果可确认,乳链菌肽单独时,对革兰氏阴性菌即牙龈卟啉单胞菌的生长抑制效果非常低,浓度 1/32 (32 倍稀释) 时完全没有生长抑制效果。梅提取物单独时,浓度 1/16 (16 倍稀释) 时生长抑制效果也非常低、浓度 1/32 (32 倍稀释) 时完全没有生长抑制效果。相对而言,通过并用两者,即使是浓度 1/16 (16 倍稀释) 时也能将生长抑制效果保持在一定水平,即使是浓度 1/32 (32 倍稀释) 时也显示出生长抑制效果。

[0036] 实施例 3:对大肠杆菌的抗菌活性 (1)

将革兰氏阴性菌即大肠杆菌 (*Escherichia coli*、エッシュリヒア・コリ) NBRC3301 株在胰蛋白酶大豆肉汤 (Tryptic Soy Broth) (TSB) 中进行培养至对数生长期。将培养液用灭菌纯化水进行稀释,调节菌数 ($10^3 \sim 10^4$ CFU/mL)。试验液用灭菌纯化水进行稀释,调节为乳链菌肽 (10 μ g/mL)、5 倍浓缩梅提取物 (3mg/mL、以浓缩前换算计 15mg/mL)、乳链菌肽 (10 μ g/mL) + 5 倍浓缩梅提取物 (3mg/mL、以浓缩前换算计 15mg/mL)。将该稀释后的培养液 (10 μ L) 添加到试验液 (1mL) 中。在室温下接触后,经过特定的天数 (0 ~ 7 天) 后,将该液体 (100 μ L) 平板接种到 TSB 琼脂培养基上,培养 48 小时后,测定在平板上形成的菌落数。结果示于下述的表 2 ~ 3 和图 3 ~ 4。应予说明,表 2 ~ 3 中,“D + n”表示稀释后的培养液与试验液的接触天数 (n 天) (以下相同)。

[0037] [表 2]

试样	菌数(CFU/mL)			
	D+0	D+1	D+3	D+7
对照 (纯化水)	4720	4290	2550	2830
+10 μ g/mL 乳链菌肽	4540	1740	1430	290

[0038] [表 3]

试样	菌数(CFU/mL)		
	D+0	D+2	D+5
对照(纯化水)	6110	6610	4470
+3mg/mL 梅提取物	6080	720	81
+10 μ g/mL 乳链菌肽	4420	0	0

[0039] 由表 2 ~ 3 和图 3 ~ 4 的结果可确认,与乳链菌肽单独和梅提取物单独的情形相比,组合使用两者的情形,表现出非常高的抗菌活性。

[0040] 实施例 4 :对大肠杆菌的抗菌活性 (2)

将革兰氏阴性菌即大肠杆菌 (*Escherichia coli*)NBRC3301 株在胰蛋白酶大豆肉汤 (Tryptic Soy Broth) (TSB) 中进行培养至对数生长期。将培养液用灭菌纯化水进行稀释,调节菌数 ($10^3 \sim 10^4$ CFU/mL)。作为试验液使用的试样 (No. 1 ~ 3) 的组成如下述的表 4 所示。将该稀释后的培养液 (10 μ L) 添加到试验液 (1mL) 中。在室温下接触后,经过特定的天数 (0 ~ 5 天) 后,将该液体 (100 μ L) 平板接种至 TSB 琼脂培养基上,培养 48 小时后,测定在平板上形成的菌落数。结果示于下述的表 5 和图 5。

[0041] [表 4]

试样	No.1	No.2	No.3
纯化水	95.0	98.7	94.7
黄原胶	1.0	1.0	1.0
5 倍浓缩梅提取物		0.3 (3mg/mL)	0.3 (3mg/mL)
乳链菌肽 A	4.0 (20 μ g/mL)		4.0 (20 μ g/mL)

单位: %

[0042] [表 5]

试样	菌数(CFU/mL)		
	D+0	D+2	D+5
No.1(乳链菌肽)	5600	2000	490
No.2(梅提取物)	5400	5290	3830
No.3(乳链菌肽+梅提取物)	5000	200	0

[0043] 由表 5 和图 5 的结果可确认,使用凝胶状的组合物的情形,也与实施例 2 同样,与乳链菌肽单独和梅提取物单独的情形相比,组合使用两者的情形表现出非常高的抗菌活性。

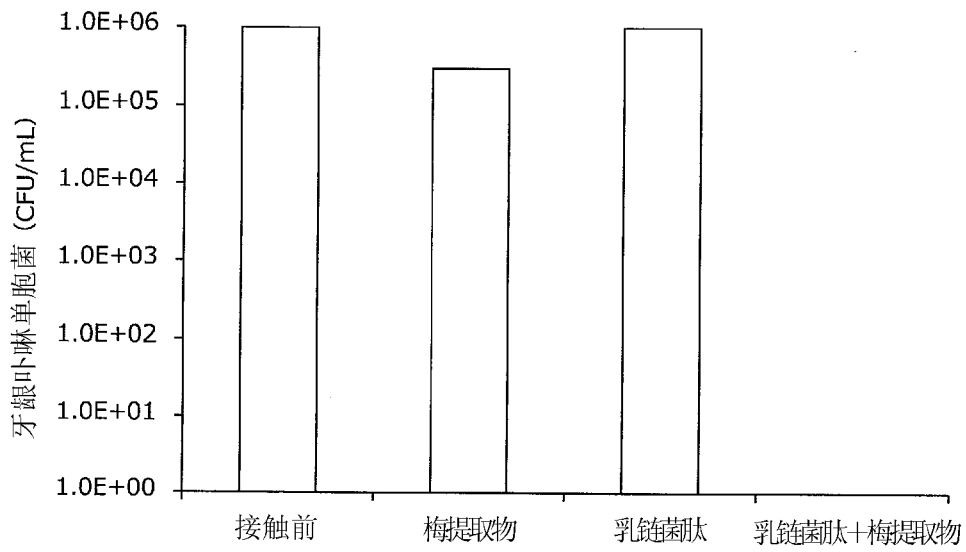


图 1

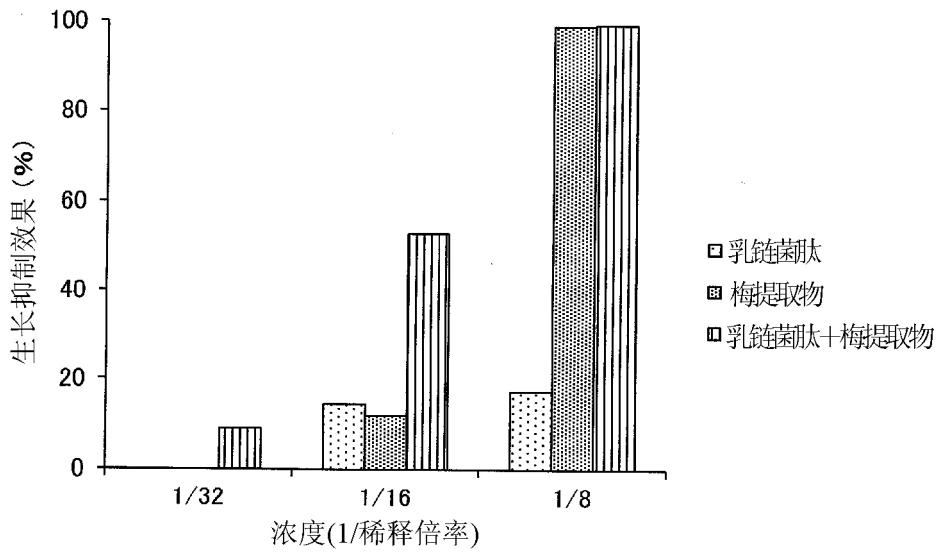


图 2

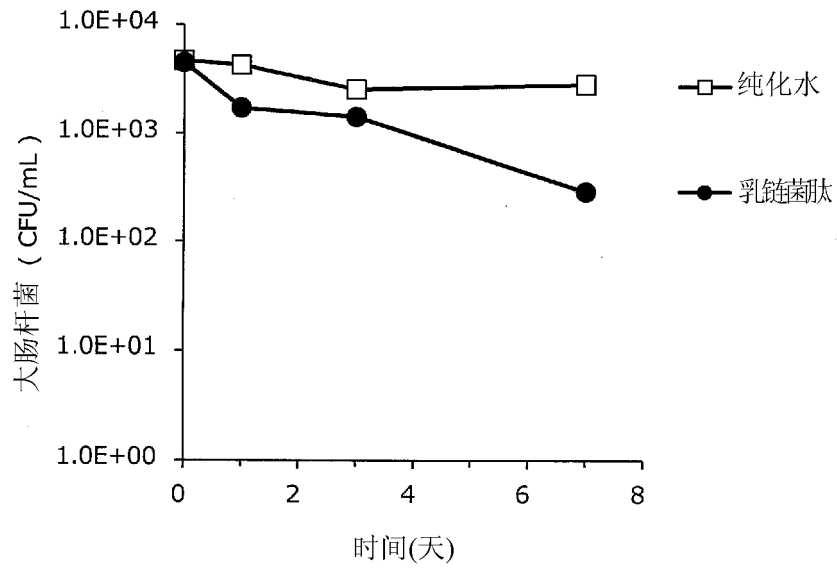


图 3

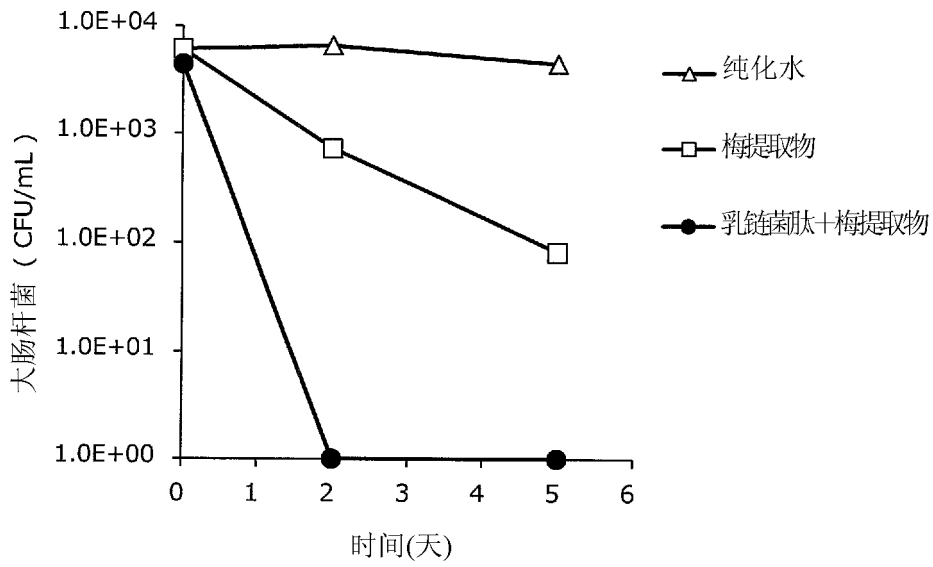


图 4

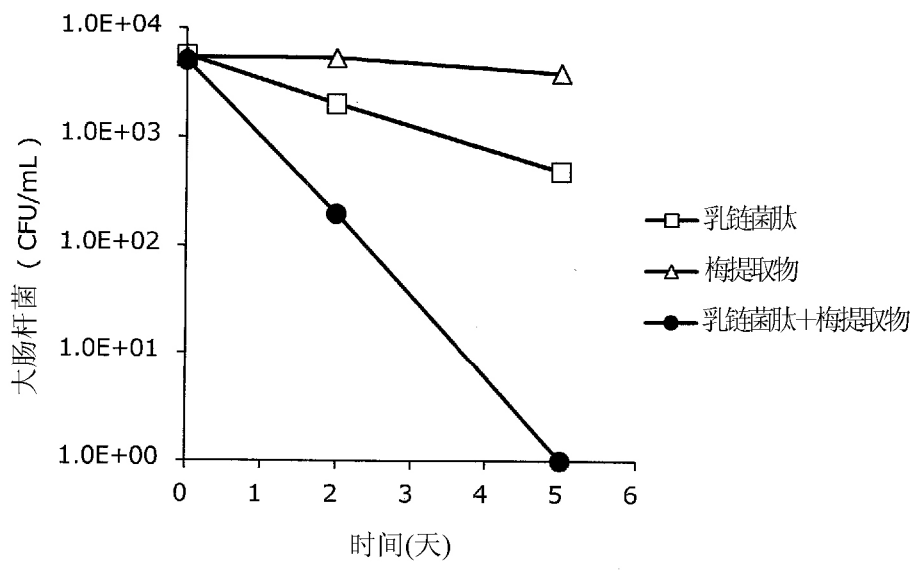


图 5