



(51) МПК
A61K 36/03 (2006.01)
A61K 38/44 (2006.01)
A61K 31/7004 (2006.01)
A23L 1/03 (2006.01)
A23L 2/38 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012140504/15, 23.02.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
23.02.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
24.02.2010 JP 2010-039218

(45) Опубликовано: 10.12.2013 Бюл. № 34

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: WO 0069267 A1, 23.11.2000. JP 2001-240604
A, 04.09.2001. WO 1997026908 A1, 31.07.1997.
JP 11-180813 A, 06.07.1999.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 24.09.2012(86) Заявка РСТ:
JP 2011/053996 (23.02.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/105431 (01.09.2011)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городиский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

**СИН Коуитироу (JP),
ЯМАУТИ Кодзи (JP)**

(73) Патентообладатель(и):

**МОРИНАГА МИЛК ИНДАСТРИ КО.,
ЛТД. (JP)****(54) АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ АГЕНТ, СОДЕРЖАЩИЙ ЭКСТРАКТ КОМБУ В КАЧЕСТВЕ АКТИВНОГО ИНГРЕДИЕНТА, АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ КОМПОЗИЦИЯ И ПИЩЕВОЙ ПРОДУКТ ИЛИ НАПИТОК**

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к агенту для повышения антибактериального действия, содержащему в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстарктов комбу (водоросль). Раскрывается способ применения комбинации агента для

повышения антибактериального действия, лактопероксидазы, глюкозооксидазы и глюкозы в качестве антибактериальной композиции, имеющей сильное антибактериальное действие, и пищевой продукт или напиток, содержащий антибактериальную композицию. 5 н. и 5 з.п. 7 пр., 4 табл.



(51) Int. Cl.
A61K 36/03 (2006.01)
A61K 38/44 (2006.01)
A61K 31/7004 (2006.01)
A23L 1/03 (2006.01)
A23L 2/38 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION(21)(22) Application: **2012140504/15, 23.02.2011**(24) Effective date for property rights:
23.02.2011

Priority:

(30) Convention priority:
24.02.2010 JP 2010-039218(45) Date of publication: **10.12.2013 Bull. 34**(85) Commencement of national phase: **24.09.2012**(86) PCT application:
JP 2011/053996 (23.02.2011)(87) PCT publication:
WO 2011/105431 (01.09.2011)

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**SIN Kouitirou (JP),
JaMAUTI Kodzi (JP)**

(73) Proprietor(s):

MORINAGA MILK INDASTRI KO., LTD. (JP)**(54) ANTIBACTERIAL PHARMACEUTICAL AIDS CONTAINING KOMBU EXTRACT AS ACTIVE INGREDIENT, ANTIBACTERIAL COMPOSITION AND FOOD PRODUCT OR BEVERAGE**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceutics.

SUBSTANCE: present invention refers to an agent for improving antibacterial action, containing an active ingredient in the form of a fraction of molecular weight 5000 or less, prepared of kombu (seaweed) extract.

EFFECT: what is disclosed is a method of using a combination of the agent for improving antibacterial action, lactoperoxidase, glucose oxidase and glucose as an antibacterial composition, having strong antibacterial action, and a food product or beverage containing the antibacterial composition.

10 cl, 7 ex, 4 tbl

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к антибактериальной добавке, содержащей в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта(ов) комбу (водоросль).

Также, настоящее изобретение относится к антибактериальной композиции, содержащей указанную антибактериальную добавку, лактопероксидазу, глюкозооксидазу и глюкозу.

Также, настоящее изобретение относится к пищевому продукту и напитку, содержащему указанную антибактериальную композицию.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Комбу является неизменным ингредиентом в японской привычной пище и употребляется традиционно длительное время как пищевой продукт, богатый питательными веществами, такими как минералы.

В общем случае, комбу - это общее название морских растений Phaeophyceae, Laminariaceae laminaria и родственного рода. Известны съедобный комбу, макомбу (makombu) (классификация: Laminaria japonica), раусукомбу (rausukombu) (классификация: Laminaria diabolica), риширикомбу (rishirikombu) (классификация: Laminaria ochotensis), хидакакомбу (hidakakombu) (классификация: Laminaria angustata) и тому подобные.

Суповой продукт комбу, который является горячим водным экстрактом комбу, включает ароматизирующий субстрат, состоящий в основном из глутамина, и пищевые волокна, состоящие в основном из альгиновой кислоты, и в дополнение к ним обилие минералов, таких как калий, натрий, кальций, магний, железо и тому подобные.

Были описаны способы получения экстракта комбу, в которых содержание конкретного ингредиента из тех, что описаны выше, увеличивали или уменьшали (например, патентный документ 1 и патентный документ 2). До настоящего времени преимущественно использовались свойства ароматизирующего субстрата (вкусового компонента) и питательная ценность пищевых волокон и минералов. Кроме того, были описаны некоторые физиологические эффекты экстрактов комбу, такие как противораковое действие (например, непатентный документ 1), антиоксидантный эффект (например, непатентный документ 2), антимуtagenное действие (например, непатентный документ 3) и тому подобные.

Также, описан антибактериальный агент, содержащий остаток от экстракции золы морских водорослей в качестве активного ингредиента (например, патентный документ 3). Также, антибактериальная композиция от *E. coli*, которая характеризуется, в том числе, включением горячего водного экстракта морских водорослей семейства Spermatochnaseae, считается деликатесом, когда она приправлена уксусом и/или обработана (например, патентный документ 4).

Кроме того, оральная композиция, содержащая экстракт морских водорослей в качестве активного ингредиента (например, патентный документ 5). Также, получали композицию для полости рта для профилактики и лечения периодонтальных заболеваний, используя частично гидролизованный полисахарид, экстрагированный из морских водорослей (например, патентный документ 6).

Тем не менее, патентный документ 3 касается остатка от экстракции сырьевого материала морских водорослей. В патентном документе 4 не раскрывается комбу и не раскрываются какие-либо микроорганизмы, кроме патогенного *E. coli* O-157.

В патентном документе 5 не раскрываются ингредиенты экстракта морских

водорослей, и целевой микроорганизм, против которого проявляется антибактериальный эффект, определен как *Porphyromonas gingivalis*.

В патентном документе 6 описывается, что для получения полисахарида необходимо экстрагировать и частично гидролизовать морские водоросли. Также, в патентных документах 5 и 6 описывается, что предпочтительно использовать в качестве экстракционного растворителя смешанный растворитель хлороформ-метанол, который не подходит для продуктов питания.

С другой стороны, лактопероксидаза - один из молочных белков - представляет собой оксидоредуктазу, содержащуюся в секреторной жидкости, такой как молоко, слюна, слезная жидкость, слизь дыхательных путей и т.п. млекопитающих, которая может быть очищена в промышленности из коровьего молока в больших масштабах.

Описано, что лактопероксидаза повышает жизнеспособность *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* (например, патентный документ 7). Также, известно, что система, в которой лактопероксидаза катализирует получение гипотиоцианата в присутствии перекиси водорода и тиоцианата, проявляет сильное антибактериальное действие. Она известна как лактопероксидазная система.

В такой комбинации тиоцианат не утвержден в качестве пищевой добавки и, следовательно, не может напрямую использоваться в продукте питания и напитке.

ДОКУМЕНТЫ ИЗ УРОВНЯ ТЕХНИКИ

Патентные документы

Патентный документ 1:

Японская выложенная патентная заявка №2000-270806

Патентный документ 2:

Японская выложенная патентная заявка №Hei 05-77379

Патентный документ 3:

Японская выложенная патентная заявка №2000-344677

Патентный документ 4:

Японская выложенная патентная заявка №2000-344679

Патентный документ 5:

Японская выложенная патентная заявка № Hei 09-48715

Патентный документ 6:

Японская выложенная патентная заявка №2001-240604

Патентный документ 7:

Японская выложенная патентная заявка № Hei 05-41981

НЕПАТЕНТНЫЕ ДОКУМЕНТЫ

Непатентный документ 1:

Cancer Letters, Ireland, Vol.30, 1986, p.125-131

Непатентный документ 2:

Biological and Pharmaceutical Bulletin, Japan, Vol.27, 2004, p.1037-1040

Непатентный документ 3:

Mutation Research, Holland, Vol.303, 1993, p.63-70

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Проблема, решаемая изобретением

Авторы настоящего изобретения постоянно упорно искали новое применение комбу для того, чтобы использовать физиологическую активность комбу в соответствии с вышеизложенным УРОВНЕМ ТЕХНИКИ, и таким образом обнаружили, что из экстракта комбу (комбу-экстракта) может быть использована фракция с молекулярной массой 5000 или менее в качестве антибактериальной

добавки.

Также, было обнаружено, что указанная антибактериальная добавка проявляет активность как антибактериальная композиция, обладающая сильным антибактериальным действием, когда указанная антибактериальная добавка используется совместно с лактопероксидазой, глюкозооксидазой и глюкозой.

Также, было обнаружено, что указанная антибактериальная композиция может быть предпочтительно использована в пищевом продукте и напитке.

Средства для решения проблемы

Первое заявленное изобретение для решения указанной проблемы представляет собой антибактериальную добавку, включающую фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу (комбу-экстракта), в качестве активного ингредиента.

Первое заявленное изобретение предпочтительно используется в качестве антибактериальной добавки в антибактериальной композиции с лактопероксидазной системой.

Первое заявленное изобретение представляет собой предпочтительно изобретение, где экстракт комбу является экстрактом одного или более комбу, который выбран из группы, состоящей из makombu (*Laminaria japonica*), rausu kombu (*Laminaria diabolica*), rishiri kombu (*Laminaria ochotensis*) и hidaka kombu (*Laminaria angustata*).

Антибактериальная добавка согласно первому заявленному изобретению предпочтительно используется в качестве антибактериальной добавки, включенной в состав антибактериальной композиции от *Staphylococcus aureus*.

Также, второе заявленное изобретение представляет собой антибактериальную композицию, содержащую антибактериальную добавку и лактопероксидазу, глюкозооксидазу и глюкозу.

Третье заявленное изобретение относится к антибактериальной композиции, содержащей дополнительно ксантановую камедь. Антибактериальная композиция по третьему заявленному изобретению предпочтительно используется в качестве загустителя.

Четвертое заявленное изобретение представляет собой продукты питания и напитки, включающие антибактериальную композицию согласно настоящему изобретению.

Кроме того, настоящее изобретение также включает в себя следующие от (1) до (3).

(1)

Фармацевтическая композиция для повышения антибактериального действия, включающая в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу.

(2)

Агент для повышения антибактериального действия, включающий в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу.

(3)

Добавка для повышения антибактериального действия, включающая в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу.

Кроме того, настоящее изобретение также включает в себя следующие от (4) до (10).

(4)

Добавка для лактопероксидазной системы, включающая в качестве активного

ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу.

(5)

Способ получения добавки для лактопероксидазной системы, включающий получение экстракта комбу путем проведения экстракции из комбу растворителем (растворителями), фракционирование экстракта комбу с получением фракции с молекулярной массой 5000 или менее.

(6)

Способ по (5), в котором растворителем является вода или водный раствор.

(7)

Антибактериальная композиция, включающая в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу, лактопероксидазу, глюкозооксидазу и глюкозу.

(8)

Способ получения антибактериальной композиции, включающей в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу, лактопероксидазу, глюкозооксидазу и глюкозу, включающий получение экстракта комбу путем проведения экстракции из комбу растворителем (растворителями), фракционирование экстракта комбу с получением фракции с молекулярной массой 5000 или менее, смешивание фракционированной фракции с молекулярной массой 5000 или менее, лактопероксидазы, глюкозооксидазы и глюкозы.

(9)

Способ по (8), в котором растворителем является вода или водный раствор.

(10)

Антибактериальная композиция по (7), в которую не включены тиоцианат и его соль.

Кроме того, настоящее изобретение также включает применение фракции с молекулярной массой 5000 или менее, фракционированной из экстракта комбу (комбу-экстракта) для получения указанной антибактериальной композиции. Кроме того, настоящее изобретение также включает способ стерилизации от микроорганизмов, очистки и уничтожения бактерий путем введения указанной антибактериальной композиции. Кроме того, настоящее изобретение также включает применение указанной антибактериальной композиции для стерилизации от микроорганизмов, очистки и уничтожения бактерий. Добавка для лактопероксидазной системы может быть также названа добавкой для антибактериального средства, добавкой для антибактериальной композиции, антибактериальной добавкой, средством для повышения антибактериального действия, композицией для повышения антибактериального действия. В предпочтительном варианте антибактериальная композиция по настоящему изобретению является композицией, содержащей ксантановую камедь.

Кроме того, настоящее изобретение также включает следующие от (11) до (16).

(11)

Антибактериальная добавка, включающая в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу.

(12)

Антибактериальная добавка по (11), в которой антибактериальная добавка используется в антибактериальной композиции с лактопероксидазной системой.

(13)

Антибактериальная добавка по (11) или (12), в которой экстракт комбу представляет собой экстракт из одного или нескольких комбу, выбранных из группы, состоящей из makombu (*Laminaria japonica*), rausu kombu (*Laminaria diabolica*), rishiri kombu (*Laminaria ochotensis*) и hidaka kombu (*Laminaria angustata*).

(14)

Антибактериальная композиция, включающая антибактериальную добавку по любому из (11)-(13) и лактопероксидазу, глюкозооксидазу и глюкозу.

(15)

Антибактериальная композиция по (14), дополнительно включающая ксантановую камедь.

(16)

Пищевые продукты и напитки, содержащие антибактериальную композицию по (14)-(15).

ЭФФЕКТ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Антибактериальная добавка и антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением могут использоваться для обеспечения санитарно-гигиенических условий в организме, особенно в полости рта. Также, они безопасны и имеют малый побочный эффект, и поэтому их можно принимать вместе с продуктами питания и напитками. Антибактериальная добавка и антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением может приниматься регулярно в течение длительного срока без какого-либо беспокойства.

Также, антибактериальная добавка и антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением может распространяться в местах среды обитания, где количество бактерий может легко увеличиваться.

С антибактериальной добавкой в соответствии с настоящим изобретением можно добиться следующих эффектов.

(1) Антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением может безопасно достичь антибактериального действия при применении ее в антибактериальной композиции с лактопероксидазной системой (антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением).

(2) Антибактериальная композиция лактопероксидазной системы с использованием антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением эффективна при профилактике (предупреждения) и/или лечении заболеваний, вызванных бактериями.

(3) Антибактериальная композиция лактопероксидазной системы с использованием антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением, имеет высокий уровень безопасности для человека и поэтому может приниматься регулярно (ежедневно).

(4) Антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением проявляет антибактериальный эффект с помощью лактопероксидазной системы безопасно.

(5) Антибактериальная добавка эффективна при профилактике и/или лечении заболеваний, вызванных бактериями.

(6) Антибактериальная добавка имеет высокий уровень безопасности для человека и поэтому может приниматься регулярно.

(7) Пищевые продукты и напитки с антибактериальным эффектом могут легко обеспечиваться путем добавления антибактериального вспомогательного компонента к ним.

(8) Антибактериальная композиция, включающая ксантановую камедь, эффективна в качестве загустителя, и поэтому она может применяться как пищевые продукты и напитки с низким риском бактериального инфицирования для лица, испытывающего трудность при глотании (дисфагию), и для лица в возрасте как сама по себе, так и путем добавления в пищевые продукты и напитки.

Для решения настоящей задачи может быть безопасно использована антибактериальная добавка и антибактериальная композиция, содержащая экстракт комбу.

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения далее описываются детально. Однако настоящее изобретение не ограничивается следующими предпочтительными вариантами. Оно может быть модифицировано в рамках объема настоящего изобретения. В настоящем изобретении проценты выражаются по массе, если не указано иное.

Экстракт Комбу

Экстракт комбу, который используется в настоящем изобретении, может быть получен из коммерчески доступного комбу с помощью стандартных методов.

Что касается комбу, используемого в качестве исходного сырья для получения экстракта комбу (экстракта из комбу) в соответствии с настоящим изобретением, то предпочтительным является makombu (*Laminaria japonica*), gausukombu (*Laminaria diabolica*), rishirikombu (*Laminaria ochotensis*), hidakakombu (*Laminaria angustata*), nagakombu (*Laminaria longissima*), hosomekombu (*Laminaria religiosa*), gatsugarakombu (*Laminaria coriacea*), chijimikombu (*Laminaria cichorioides*), goheikombu (*Laminaria yezoensis*) и тому подобные. Особенно предпочтительны makombu, gausukombu, rishirikombu и hidakakombu. Они могут использоваться по отдельности или вместе.

Предпочтительно комбу может быть использован в форме для обычного применения в качестве пищевого продукта, такого как сырой комбу, сублимированный комбу или сушеный комбу. Предпочтительно использовать сушеный комбу.

Что касается способа получения экстракта комбу, то, например, сушеный комбу замачивают в воде, а затем экстрагируют при температуре от 80 до 100°C в течение от 5 до 60 минут, и таким образом может быть получен экстракт комбу.

В качестве растворителя для экстракции комбу помимо воды могут быть использованы органические растворители. В качестве органического растворителя могут быть использованы, например, хлороформ, метанол, этанол, пропанол, диметилсульфоксид, гексан и тому подобные.

Из растворителей для экстракции предпочтительно использовать воду, потому что она может быть использована безопасно и легко.

Что касается экстракта комбу, то также может быть использован имеющийся в продаже экстракт комбу в виде жидкости или порошка (например, продаваемые San-Ei Gen F. F. I., Inc. и тому подобные).

Антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением (добавка для лактопероксидазной системы) может быть получена способом приготовления, включающим стадию, где экстракт комбу получают экстрагированием комбу растворителем (растворителями), и стадию, где экстракт комбу фракционируют с получением фракции с молекулярной массой 5000 или менее.

Что касается растворителя, используемого для экстракции, то могут быть использованы вышеупомянутые растворители. В предпочтительном варианте

растворителем является вода или водный раствор. Что касается водного раствора, то любой водный раствор может использоваться без ограничений, если он может быть использован для экстракции таким же образом, как вода, и безопасен для человека.

5 Что касается водного раствора, то, например, растворы, содержащие хлорид натрия, хлорид калия, декстрин и тому подобные могут служить примерами. Экстракция растворителем может быть выполнена при комнатной температуре или нагревании путем замачивания в растворителе. В предпочтительном варианте экстракция растворителем может быть выполнена замачиванием в воде при комнатной

10 температуре с последующим нагреванием. Что касается нагревания, то оно может быть выполнено, как правило, путем нагревания до температуры от 50 до 100°C, предпочтительно от 60 до 100°C, более предпочтительно от 70 до 100°C, еще более предпочтительно от 80 до 100°C, еще более предпочтительно 90 до 100°C.

Продолжительность времени экстракции может быть установлено должным образом.

15 В предпочтительном варианте, как правило, экстракция может быть проведена в течение от 10 до 120 минут, предпочтительно от 20 до 100 минут, более предпочтительно от 30 до 90 минут, еще более предпочтительно от 40 до 80 минут и еще более предпочтительно от 50 до 60 минут.

20 Что касается фракционирования, то могут быть использованы любые средства, которыми фракция с молекулярной массой 5000 или менее может быть фракционирована из экстракта комбу. Что касается средств для фракционирования, то можно упомянуть фильтрацию на фильтрационной мембране, фильтрацию на фильтре, фильтрацию на полом волокне, центрифугирование, хроматографию по 25 молекулярному весу (гель-фильтрацию) и тому подобные. Также можно упомянуть такую фильтрацию, как, например, диализ, центробежную фильтрацию, фильтрование с отсасыванием, фильтрование под давлением, ультрафильтрацию и тому подобные. Специалисты в данной области техники могут фракционировать фракцию с 30 молекулярной массой 5000 или менее, или 4000 или менее, выбирая фильтр, размер пор фильтра или ускорение для центрифугирования.

Комбу используется в качестве пищевого продукта и напитка исторически. В Японии горячий водный экстракт из комбу используется как традиционная приправа под названием "комбу-даси". Вследствие этого гарантирован очень высокий уровень 35 безопасности экстракта комбу для человека.

С другой стороны, тиоцианат и его соли являются химическими соединениями, которые еще не утверждены как добавка в пищевые продукты во многих странах.

Настоящее изобретение, в котором тиоцианат и его соли не добавляются, создает 40 возможность для достижения антибактериального действия лактопероксидазной системы при использовании только ингредиента(ов), который (которые) является (являются) очень безопасным, гарантированным и надежным. Настоящее изобретение позволяет достичь широкого применения лактопероксидазной системы для человека.

45 Экстракт комбу не был известен, как имеющий возможность использования в качестве добавки (антибактериальной добавки) для лактопероксидазной системы. Как показано на рабочем примере в настоящей заявке, экстракт комбу не оказывает эффекта в качестве добавки для лактопероксидазной системы сам по себе. Однако, как показано в настоящем изобретении, авторы обнаружили, что фракция с молекулярной 50 массой 5000 или менее, фракционированная из экстракта из комбу, проявляет себя в качестве добавки в лактопероксидазную систему, хотя механизм не ясен, и тем самым достигается изобретение.

Антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением включает в

себя в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, фракционированную из экстракта комбу. Таким образом, для того чтобы использовать в качестве антибактериальной добавки, предпочтительно удалить компоненты с молекулярной массой более 5000 из экстракта комбу.

5 Кроме того, антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением также включает в себя в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 4000 или менее. Поэтому для того, чтобы иметь возможность использования в качестве антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением, более
10 предпочтительно удалить компоненты с молекулярной массой более 4000 из экстракта из комбу.

Способ фракционирования экстракта комбу не является особым образом ограниченным. Тем не менее, предпочтительнее использовать ультрафильтрационную мембрану (УФ-мембрану), нанофильтрационную мембрану (НФ-мембрану), гель-
15 фильтрацию и тому подобное. Использование ультрафильтрации является более предпочтительным, потому что это легко.

Лактопероксидаза

Лактопероксидаза, используемая в настоящем изобретении, может быть получена
20 из молока млекопитающих и подобных. Она может быть получена из молока и тому подобного человека, крупного рогатого скота, лошади, овцы, козы и тому подобных. Например, согласно способу, раскрытому в японской выложенной патентной заявке № Hei 05-41981, предпочтительно получать пероксидазу промышленно в соответствии со стандартным способом (например, ионнообменной хроматографией и тому
25 подобным) из ненагретой сыворотки или обезжиренного молока, такого как молоко. Предпочтительно использовать коммерчески доступную лактопероксидазу из природных источников (например, продаваемую Biopole) или рекомбинантную лактопероксидазу [например, рекомбинантную лактопероксидазу экспрессированную
30 и очищенную способом Shin et al. (Biochemical and Biophysical Research Communications), Vol.271, 2000, p.831-836] или коммерчески доступную рекомбинантную лактопероксидазу.

Также, что касается лактопероксидазы, применяемой для настоящего изобретения, то лактопероксидаза, полученная из молока млекопитающих, является
35 предпочтительной. Лактопероксидаза, полученная из молока крупного рогатого скота, овцы, козы и тому подобных является предпочтительной, и лактопероксидаза, полученная из молока крупного рогатого скота является особенно предпочтительной, так как это сырье используется длительное время в качестве продукта питания и
40 напитка для человека, и поэтому оно имеет гарантированный очень высокий уровень безопасности для человека.

Кроме того, ненагретая сыворотка, полученная из коровьего молока, может поставляться постоянно в больших масштабах, как побочный продукт производства
45 молочных продуктов. Поэтому она особенно предпочтительна в качестве сырья для приготовления лактопероксидазы в соответствии с настоящим изобретением.

В настоящем изобретении лактопероксидаза используется как лактопероксидазная система. Что касается лактопероксидазной системы, в общем случае, то известна комбинация композиции, которая составляет систему, катализирующую получение
50 гипотиоцианата в присутствии лактопероксидазы, гидропероксидазы и тиоцианата, и обладает мощным антибактериальным действием.

В общем случае, комбинацией лактопероксидазной системы можно назвать, например, комбинацию лактопероксидазы, глюкозы, глюкозооксидазы и тиоцианата.

В настоящем изобретении в лактопероксидазной системе используется антибактериальная добавка вместо тиоцианата. А именно, в предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения лактопероксидазная система представляет собой комбинацию лактопероксидазы, глюкозы, глюкозооксидазы, и антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением. Также, композицию, включающую эту комбинацию, другими словами можно назвать антибактериальной композицией лактопероксидазной системы в соответствии с настоящим изобретением.

Глюкозооксидаза

Что касается глюкозооксидазы, применяемой для настоящего изобретения, то может быть использована, например, коммерчески доступная глюкозооксидаза (Shinnihon Chemicals Corp. и подобная), которая является ферментом, полученным с помощью микроорганизмов, таких как *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*.

Глюкоза

Что касается глюкозы, применяемой для настоящего изобретения, то может быть использована, например, коммерчески доступная глюкоза (Nihon Shokuhin Kako Co., Ltd. и подобная).

Ксантановая камедь

Что касается ксантановой камеди, применяемой для настоящего изобретения, то может быть использована, например, коммерчески доступная ксантановая камедь (San-Ei Gen F. F. I., Inc., CP Kelco и подобная).

Указанные экстракт комбу, лактопероксидаза, глюкозооксидаза, глюкоза и ксантановая камедь являются коммерчески доступными в качестве продуктов питания или пищевых добавок и, таким образом, могут быть легко получены.

Антибактериальная добавка

Антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением включает в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу.

Антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением является предпочтительно экстрактом одного или двух или более комбу, выбранных из группы, состоящей из makombu (*Laminaria japonica*), gausukombu (*Laminaria diabolica*), rishirikombu (*Laminaria ochotensis*) и hidakakombu (*Laminaria angustata*).

Наряду с тем, что антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением может быть использована в виде жидкости, она может также быть высушена и использована как порошкообразная антибактериальная добавка. Превращение антибактериальной добавки в порошок позволяет сохранить ее в течение длительного срока и делает операцию в течение фармацевтического процесса легкой.

Превращение антибактериальной добавки в порошок может быть выполнено с использованием стандартного способа. Тем не менее, желательно устранить влагу путем лиофилизации или распылительной сушки. Также, желательно смешивать соли и декстрин и тому подобное перед сушкой.

Антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением может заметно повысить антибактериальный эффект обычного антибактериального агента при добавлении первой к последнему. Также, когда обычный антибактериальный агент состоит из комбинации нескольких ингредиентов (антибактериальная система), то антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением может

оказывать антибактериальный эффект как один из ингредиентов антибактериального агента.

5 Что касается конкретно антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением, то она предпочтительно добавляется в антибактериальную композицию лактопероксидазной системы и, таким образом, она предпочтительно используется в качестве одного из компонентов антибактериальной композиции лактопероксидазной системы. Также, антибактериальная композиция лактопероксидазной системы по настоящему изобретению предпочтительно является
10 комбинацией лактопероксидазы, глюкозооксидазы, глюкозы и антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением.

Антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением может также быть использована в качестве фармацевтической композиции для повышения антибактериального действия, агента для повышения антибактериального действия, а также добавки для повышения антибактериального действия.
15

В настоящем изобретении «антибактериальный» включает в себя все понятия подавления роста микроорганизмов (антибактериальный), устранения микроорганизмов и снижения их количества в целевом объекте (обеззараживание) и уничтожения микроорганизмов (стерилизация).
20

Таким образом, антибактериальную добавку в соответствии с настоящим изобретением другими словами можно назвать добавкой для устранения микроорганизмов или добавкой для стерилизации. Точно так же, антибактериальную композицию в соответствии с настоящим изобретением можно назвать композицией для устранения микроорганизмов или композицией для стерилизации.
25

Антибактериальная композиция лактопероксидазной системы

Антибактериальная композиция лактопероксидазной системы обозначает композицию, включающую лактопероксидазу и ингредиент(ы), которая проявляется антибактериальной системой лактопероксидазной системы. Что касается антибактериальной композиции лактопероксидазной системы, то можно назвать, в общем случае, например, композицию, включающую лактопероксидазу, глюкозу, глюкозооксидазу и тиоцианат. В антибактериальной композиции лактопероксидазной системы в соответствии с настоящим изобретением, антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением может быть использована без добавления тиоцианата или его солей.
30
35

Наряду с тем, что антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением может быть использована как один из ингредиентов антибактериальной композиции лактопероксидазной системы, она также может быть использована в качестве простой антибактериальной композиции лактопероксидазной системы. Антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением может заметно повысить антибактериальный эффект антибактериальной композиции лактопероксидазной системы в обоих случаях.
40

45 Когда антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением добавлена в антибактериальную композицию, то отношение антибактериальной добавки к антибактериальной композиции лактопероксидажной системы (антибактериальная добавка исключается, когда часть антибактериальной композиции является антибактериальной добавкой), предпочтительно составляет от 30 до 3000 частей по массе антибактериальной композиции лактопероксидажной системы на 100 частей по массе антибактериальной добавки.
50

Антибактериальную композицию лактопероксидажной системы, в которую

добавлена антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением, другими словами можно назвать антибактериальным агентом в соответствии с настоящим изобретением.

Антибактериальная композиция

5 Антибактериальная композиция по второму заявленному изобретению включает антибактериальную добавку в соответствии с настоящим изобретением, лактопероксидазу, глюкооксидазу и глюкозу.

Антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением
10 эффективна против *Staphylococcus aureus*, и, следовательно, она может быть использована для распыления на место, которое может вызвать пищевой отравление, такое как мойка на кухне, умывальник, ванна и пол ванной комнаты, пол или стул в туалете, веранда и подобное, где бактерии легко размножаются.

Антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением, имеет
15 высокий уровень безопасности, потому что все активные ингредиенты могут приниматься в качестве продуктов питания, и, следовательно, может быть использована без ограничений.

Антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением имеет
20 высокий уровень безопасности для человека, потому что ее активный ингредиент(ы), является ингредиентом, используемым в пищевых материалах, таких как экстракт комбу, молочный белок, фермент и сахара и пищевой добавке, и, таким образом, он имеет такую особенность, что антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением имеет антибактериальный эффект против вредных бактерий,
25 таких как *Staphylococcus aureus*, при принятии его перорально и регулярно.

Антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением может
30 быть смесью антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением, лактопероксидазы, глюкозооксидазы и глюкозы, или она может также содержать другой ингредиент(ы).

Например, антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением может также содержать лактоферрин, лизоцим, иммуноглобулин, казеин, α -лактальбумин, β -лактоглобулин и тому подобные, которые являются
35 полезными белками, присутствующими в молоке, и молочнокислые бактерии и подобные, которые выступают в качестве пробиотиков.

Также, в антибактериальной композиции в соответствии с настоящим изобретением
любой ингредиент отличный от антибактериальной добавки, лактопероксидазы, глюкооксидазы и глюкозы, может быть опционально выбран в зависимости от формы
40 использования. Например, они могут опционально использоваться для перорального введения, и их также возможно изготавливать в виде таблетки, капсулы, пастилки, сиропа, гранулы, порошка и тому подобного с помощью известных способов. Также, в дополнение к приему человеком и животными, антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением может быть передана в виде спрея или
45 жидкости к месту, где бактерии легко размножаются, и к месту, санитарное состояние которого должно быть обеспечено, или может быть нанесена на горизонтальную плоскость или наружную поверхность стены как твердый антибактериальный агент.

Антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением может
50 быть получена, например, приготовлением в качестве активного ингредиента антибактериальной добавки, лактопероксидазы, глюкооксидазы и глюкозы с опциональной добавкой(ами), такой как фармацевтически приемлемый наполнитель. При осуществлении изготовления препарата содержание активного вещества в

препарате составляет обычно от 0,005 до 20% по массе, предпочтительно от 0,05 до 12,5% по массе. При осуществлении изготовления препарата может быть использована добавка(и), такая как эксципиент, носитель, связующее, дезинтегратор, лубрикант, стабилизатор, ароматизатор, разбавитель, растворитель для инъекций.

5 В качестве наполнителя можно назвать, например, производные сахара, такие как лактоза, белый сахар, глюкоза, маннит, сорбит; производные крахмала, такие как кукурузный крахмал, картофельный крахмал, α -крахмал, декстрин, карбоксиметилкрахмал; производные целлюлозы, такие как кристаллическая
10 целлюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, кальцийкарбоксиметилцеллюлоза; гуммиарабик; декстран, пуллулан; силикатные производные, такие как легкая безводная кремниевая кислота, синтетические алюмосиликаты, алюминиометасиликат магния; фосфатные производные, такие как фосфат кальция; карбонатные производные, такие как
15 карбонат кальция; сульфатные производные, такие как сульфат кальция. В качестве связующего можно назвать, в дополнение к вышеназванному эксципиенту, например, желатин; поливинилпирролидон; макрогол и тому подобные. В качестве дезинтегратора можно назвать, например, в дополнение к указанному эксципиенту
20 химически модифицированный крахмал или производные целлюлозы, такие как кроскармеллоза натрия, карбоксиметилкрахмал натрия, поперечно сшитый поливинилпирролидон. В качестве лубриканта можно назвать, например, тальк; стеариновую кислоту; соли металлов стеариновой кислоты, такие как стеарат кальция, стеарат магния; коллоидный диоксид кремния; воски, такие как Вигум, спермацет;
25 борная кислота; гликоль; карбоновые кислоты, такие как фумаровая кислота, адипиновая кислота, карбоксилат натрия, такой как бензоат натрия; сульфат, такой как сульфат натрия; лейцин; лаурилсульфат, такой как лаурилсульфат натрия, лаурилсульфат магния; силикаты, такие как ангидрид кремниевой кислоты, гидрат
30 силиката; производные крахмала. В качестве стабилизатора можно назвать, например, эфиры парагидроксибензоата, такие как метилпарабен, пропилпарабен; спирты, такие как хлорбутанол, бензиловый спирт, фенилэтиловый спирт; бензалконий хлорид; ацетангидрид; сорбиновая кислота и тому подобные. В качестве ароматизатора можно назвать, например, подсластитель, подкислитель, специя(и) и
35 тому подобные. В качестве растворителя для инъекции можно назвать, например, воду, этанол, глицерин и тому подобные.

Кроме того, антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением также может быть введена после того, как она включена в состав
40 продукта питания и напитка. Наряду с тем, что дозировка и частота приема могут быть изменены в соответствии с конечным эффектом, способом введения, длительностью лечения, возрастом, массой тела и подобным, дозировка для взрослых может дополнительно быть выбрана, обычно, из диапазона от 10 мг до 10 г, и могут быть дополнительно установлены частота приема и длительность лечения.

45 Антибактериальная композиция, содержащая ксантановую камедь

Антибактериальная композиция по третьему настоящему изобретению представляет собой антибактериальную композицию, содержащую антибактериальную композицию в соответствии со вторым изобретением и
50 ксантановую камедь. Антибактериальная композиция по третьему настоящему изобретению содержит антибактериальную добавку в соответствии с настоящим изобретением, лактопероксидазу, глюкозооксидазу, глюкозу и ксантановую камедь.

Антибактериальная композиция может обеспечивать загущение в качестве агента

для обеспечения загущения (загустителя) при добавлении в жидкую пищу, жидкий медикамент и жидкий корм для скота, так как указанная композиция обладает загущающими свойствами при включении ксантановой камеди.

Например, когда антибактериальную композицию, содержащую ксантановую камедь, добавляют в жидкую пищу, то физическое свойство жидкой пищи становится подобно слабому свойству геля, способствуя тому, что человек со сложностью глотания (дисфагией) и пожилой человек могут глотать с легкостью.

Антибактериальную композицию, содержащую ксантановую камедь, возможно использовать предпочтительно для, в частности, человека со сложностью глотания (дисфагией) и пожилого человека, у которых имеется риск заражения бактериальной инфекцией из пищи.

Когда жидкую пищу с добавленной антибактериальной композицией, содержащей ксантановую камедь, принимают, то загущенная жидкость достигает каждой части в полости рта и, таким образом, она легко проникает между твердой тканью зубов и тканью десен. Также, время пребывания в полости рта увеличивается, и, таким образом, имеется эффект для поддержания и укрепления гигиены полости рта.

Поэтому, когда антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением применяется в полость рта, особенно предпочтительно, чтобы антибактериальная композиция содержала ксантановую камедь.

В антибактериальной композиции, содержащей ксантановую камедь, отношение антибактериальной композиции без ксантановой камеди к ксантановой камеди составляет предпочтительно от 30 до 3000 частей по массе ксантановой камеди на 100 частей по массе антибактериальной композиции без ксантановой камеди.

Также, когда антибактериальную композицию, содержащую ксантановую камедь в соответствии с настоящим изобретением, смешивают с жидкой пищей, предпочтительно, чтобы антибактериальная композиция содержала от 1,5 до 3,0 частей ксантановой камеди по массе на 100 частей по массе жидкой пищи.

Пищевые продукты и напитки

Четвертое заявленное изобретение представляет собой пищевые продукты и напитки, содержащие антибактериальную композицию по второму заявленному изобретению. Четвертое заявленное изобретение представляет собой также пищевые продукты и напитки, содержащие антибактериальную композицию по третьему заявленному изобретению.

Что касается вида пищевых продуктов и напитков, содержащих антибактериальную композицию в соответствии с настоящим изобретением, то можно упомянуть, например, прохладительные напитки, молочные напитки и подобные, или концентрированные растворы и быстрорастворимые порошки этих напитков; молочные продукты, такие как продукты переработки молока, кисломолочные; энтеральные питательные продукты и их быстрорастворимые порошки; напитки для похудения, продукты питания для похудения; функциональные продукты и подобные.

Кроме того, напитки, такие как газированные напитки, энергетические напитки, фруктовые напитки и подобные (в том числе концентраты и быстрорастворимые порошки этих напитков); замороженный десерт, такой как мороженое, шербет, ледяная стружка и подобные; лапша, такая как соба, японская пшеничная лапша, полоски из бобового желе, покрытие Gyoza, покрытие парового мяса в китайском стиле, китайская лапша, лапша быстрого приготовления (китайская); кондитерские изделия, такие как конфеты, жевательная резинка, шоколад, кондитерские изделия в виде таблетки, сладкие закуски, печенье, желе, варенье, сливки, выпечка;

5 обработанные морские и животноводческие продукты, такие как вареная паста из рыбы, ветчина, колбаса и подобные; масла и жиры и продукты их переработки, такие как его салатное масло, масло темпура, маргарин, майонез, шортенинг, взбитые сливки, соус; приправы, такие как соус, подливка; суп, рагу, салат, ежедневные блюда, соления, хлеб и подобные могут быть упомянуты. Такие продукты питания и напитки могут быть получены путем смешивания сахаров, таких как декстрин, крахмал; белков, таких как желатин, соевый белок, кукурузный белок; аминокислот, таких как аланин, глютамин, изолейцин; полисахаридов, таких как целлюлоза, гуммиарабик; масел и жиров, таких как соевое масло, среднецепочечные триглицериды и подобных, в гермицид для полости рта или пищевую добавку (в том числе в виде порошка или их водного раствора (сиропа)) в соответствии с настоящим изобретением.

Настоящее изобретение будет пояснено следующими рабочими примерами.

Настоящее изобретение не ограничивается нижеследующими рабочими примерами.

15 Пример 1

Получение антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением

(1) Получение экстракта комбу

20 4 г коммерчески доступного сухого макомбу (Eight Co-operative Buying Co., Ltd.) добавляли в стакан с 400 мл очищенной воды и замачивали в воде на 2 часа при комнатной температуре. Впоследствии, стакан с макомбу нагревали при температуре около 95°C в течение 30 минут. Затем, после того как стакан охлаждали, из его содержимого удаляли ферменты на фильтре с размером пор 0,45 мкм (Advantech Co, Ltd) и таким образом получали 350 мл экстракта комбу.

25 В этом примере экстракт комбу получали путем добавления 4 г образца комбу в 400 мл очищенной воды, концентрация которого отличалась в 2 раза по сравнению с приготавливаемым бульоном для приготовления пищи.

(2) Фракционирование экстракта комбу

30 Разделяли 12 мл экстракта комбу и фракцию с молекулярной массой более 5000 удаляли центрифугированием с использованием ультрафильтрационного мембранного картриджа (Millipore) на 5000 по молекулярной массе в условиях 2000 оборотов в минуту (960xg) и 20 минут; и таким образом получали пермеат (профильтрованная жидкость), содержащий фракцию с молекулярной массой 5000 или менее (соответствующая антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением).

35 Пример 2

40 1 кг коммерчески доступного макомбу (Naiya Shouten) добавляли в контейнер из нержавеющей стали с 20 л очищенной воды и замачивали в воде на 2 часа при комнатной температуре, и затем нагревали при температуре около 95°C в течение 30 минут, и таким образом получали 15 л экстракта комбу. Затем экстракт комбу обрабатывали на модуле ультрафильтрационной мембраны (Asahi Kasei Corporation) с удалением 4000 по молекулярной массе, и таким образом получали 13 л пермеата, содержащего фракцию с молекулярной массой 4000 или менее. К этому пермеату добавляли 450 г декстрина (Toakasei Co. Ltd.) в качестве эксципиента и растворяли, а затем лиофилизировали и, таким образом, получали 500 г порошкообразной антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением.

50 В этом примере было получено 50 г (сухая масса) активного ингредиента по настоящему изобретению из 1 кг сухого макомбу. Так как 50 г (сухая масса) активного ингредиента содержится в 500 г (сухая масса) порошкообразной антибактериальной добавки в соответствии с настоящим примером, то концентрация

действующего вещества в указанной порошкообразной антибактериальной добавке составляет 10 процентов по массе.

Пример 3

117,6 г порошкообразной антибактериальной композиции получали путем смешивания порошков сырьевого материала антибактериальной композиции, имеющей следующий состав. 0,375 г указанной порошкообразной антибактериальной композиции взвешивали и добавляли в 250-мл пластиковый контейнер, и таким образом приготавливали 300 порошкообразных антибактериальных композиций.

Эта антибактериальная композиция, содержащаяся в контейнере, может быть принята как жидкая антибактериальная композиция, когда она используется, при добавлении 250 мл воды к порошку для того, чтобы он растворился.

Порошкообразная антибактериальная добавка, полученная в примере 2	100 г
Лактопероксидаза (Biopole)	0,6 г
Глюкозооксидаза (Shinnihon Chemicals Corp.)	8,0 г
Глюкоза (Nihon Shokuhin Kako Co. Ltd.)	9,0 г

Действие антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением подробно объяснено в следующих тестовых примерах.

Тестовый пример 1

В этом тесте было подтверждено, что антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением эффективна как антибактериальная добавка в антибактериальной композиции лактопероксидазной системы.

(1) Получение образца

В качестве образца для испытания используют пермеат экстракта комбу (низкомолекулярная фракция экстракта комбу), полученный в примере 1.

С другой стороны, в качестве контрольного образца используют экстракт комбу из примера 1, который не был фракционирован.

(2) Получение эмульсии бактерий

Staphylococcus aureus JCM2151 (RIKEN, Japan) культивировали в течение ночи в 1% бактопептонной среде. 20 мл этой культуральной среды центрифугировали с помощью центрифуги (Hitachi, Ltd.) при 3000 оборотах в минуту (2150×g) в течение 10 минут при 4°C, и затем остаток суспендировали в 10 мл фосфатного буферного солевого раствора, и таким образом получали эмульсию бактерий.

(3) Метод испытаний

В 5-мл пробирку добавляли и перемешивали 1,0 мл тестового образца, 0,5 мл 3,4% водного раствора хлорида натрия (Kokusen Chemical Co. Ltd.), 20 мкл 1 мг/мл водного раствора лактопероксидазы (Biopole), 30 мкл 1% водного раствора глюкозы (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), 403,3 мкл очищенной воды и 20 мкл эмульсии бактерий, описанной в (2).

Впоследствии добавляли и перемешивали 26,7 мкл 10 мг/мл водного раствора глюкозооксидазы (Shinnihon Chemicals Corp.) и выдерживали при комнатной температуре в течение 5 минут, а затем проводили десятиразовую серию разбавлений по объему фосфатным буферным солевым раствором. Каждые 20 мкл разбавленных жидкостей наносили на стандартную агаровую пластину и затем культивировали в инкубаторе в течение ночи при 37°C, и затем подсчитывали количество колоний, сформированных на агаровой пластине. По числу обнаруженных колоний рассчитывали логарифм числа живых бактерий в 1 мл указанной тестируемой смешанной жидкости (\log_{10} cfu/мл).

Таким же образом, тест проводили с использованием 1,0 мл контрольного образца. Также, с тестовым образцом и контрольным образцом проводили такие же тесты в такой же системе, как и в описанном выше примере испытаний, за исключением того, что не добавляли глюкозооксидазу.

5 (4) Результат теста

Результат теста приведен в таблице 1.

В системе, где использовали тестовый образец (низкомолекулярную фракцию экстракта макомбу), количество живых *Staphylococcus aureus* в образце смешанной жидкости было снижено до уровня, который не может быть обнаружен. С другой стороны, в системе, где использовали контрольный образец (экстракт макомбу), количество живых *Staphylococcus aureus* в образце смешанной жидкости практически не изменилось. Также, в системе, где не была добавлена глюкозооксидаза, количество живых *Staphylococcus aureus* практически не изменилось как в тестовом образце, так и в контрольном образце.

Из этого результата было выявлено, что сочетание низкомолекулярной фракции экстракта комбу, лактопероксидазы, глюкозооксидазы и глюкозы оказывает заметный антибактериальный эффект. Также, экстракт комбу не действует как антибактериальный агент, но действует как антибактериальная добавка, которая оказывает антибактериальный эффект, когда ее добавляют к другому ингредиенту.

В комбинации с использованием настоящего тестового образца было неожиданно обнаружено, что антибактериальный эффект присутствовал несмотря на неиспользование тиоцианата, который ранее требовался в определенной концентрации или более для действия антибактериальной системы, основанной на лактопероксидазной системе.

Также, было выявлено, что низкомолекулярная фракция экстракта комбу имеет заметный эффект, а именно, она оказывает антибактериальный эффект в качестве активного ингредиента антибактериальной композиции лактопероксидазной системы.

Также, выяснилось, что наряду с тем, что высокомолекулярная фракция экстракта комбу с молекулярной массой более 5000 имеет ингибирующее вещество, указанная фракция может быть использована в антибактериальной системе лактопероксидазы, если устранить ингибирующее вещество.

35

Таблица 1		
	Количество живых <i>Staphylococcus aureus</i> (\log_{10} cfu/мл)	
	глюкозооксидаза	
	добавлена	не добавлена
40 Тестовый образец	Н.О.	5,8
Контрольный образец	5,4	6,2
Н.О.: не обнаружены (<2,70) Начальное количество микроорганизмов: около 6,0 \log_{10} cfu/мл		

45 Тестовый пример 2

В этом тесте изучали виды комбу, которые могут быть использованы в качестве сырья для антибактериальной добавки.

(1) Получение образца

Низкомолекулярные фракции были получены с использованием каждого 4 г 4 видов коммерчески доступного сухого комбу (*makombu*, *rausukombu*, *rishirikombu* и *hidakakombu*), в соответствии со способом примера 1.

Образец каждого вида комбу был приготовлен с тремя различными продуктами, полученными от трех разных компаний.

(2) Получение раствора микроорганизмов

Раствор *Staphylococcus aureus* был получен таким же образом, как в тестовом примере 1 (2).

(3) Метод испытаний

Испытание проводили так же, как и в тестовом примере 1 (3).

(4) Результат испытаний

Результат теста приведен в таблице 2. Тест проводили два раза для каждого образца.

В результате было выявлено, что исследованные низкомолекулярные фракции экстрактов комбу, приготовленные из всех рассмотренных видов комбу, сокращали количество живых *Staphylococcus aureus* до уровня, который не может быть обнаружен, и, таким образом, обладают сильным антибактериальным действием.

Из этого результата было выявлено, что в качестве сырья для антибактериальной добавки в соответствии с настоящим изобретением можно предпочтительно использовать все из makombu, rausukombu, rishirikombu, hidakakombu.

Вид комбу	Количество живых <i>Staphylococcus aureus</i> (\log_{10} cfu/мл)		
	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Makombu	Н.О.	Н.О.	Н.О.
Rausukombu	Н.О.	Н.О.	Н.О.
Rishirikombu	Н.О.	Н.О.	Н.О.
Hidakakombu	Н.О.	Н.О.	Н.О.

Н.О.: не обнаруживается (<2,70)
Начальное количество микроорганизмов: около 6,0 \log_{10} cfu/мл

Тестовый пример 3

Целью этого теста было изучить дозую зависимость антибактериальной добавки в антибактериальной композиции в соответствии с настоящим изобретением.

(1) Получение образца

Использовали образец низкомолекулярной фракции экстракта макомбу, полученный в примере 1 (здесь и далее ссылка на антибактериальную добавку в соответствии с настоящим изобретением), степень разбавления которой была определена как 1. Образец разбавляли очищенной водой до 2-кратного объема шаг за шагом, и таким образом получали серии двукратного разбавления (двукратные серийные разбавления), закончившиеся разбавлением до 128-кратного объема.

(2) Получение раствора микроорганизмов

Раствор *Staphylococcus aureus* был получен таким же образом, как в тестовом примере 1 (2).

(3) Метод испытаний

Тест проводили так же, как в тестовом примере 1, за исключением того, что антибактериальная добавка, полученная в примере 1 и серии двукратного разбавления добавляли в тестовую смесь.

(4) Результат испытаний

Результат этого теста приведен в таблице 3.

При 32-кратном разбавлении антибактериальная добавка снижает количество *Staphylococcus aureus* до уровня, который еще нельзя обнаружить, и даже при 64-кратном разбавлении количество микроорганизмов сокращалось до 1/100 или менее от начального количества.

Из результата этого теста было выявлено, что концентрация антибактериальной добавки коррелирует с антибактериальным вспомогательным эффектом, и

антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением поддерживает антибактериальное действие лактопероксидазной системы в режиме зависимости от дозы.

5

Таблица 3

Степень разбавления антибактериальной добавки	Количество живых <i>Staphylococcus aureus</i> (\log_{10} cfu/мл)
1	Н.О.
2	Н.О.
4	Н.О.
8	Н.О.
16	Н.О.
32	Н.О.
64	3,4
128	5,6

10

15 Н.О.: не обнаруживается (<2,70)
Начальное количество микроорганизмов: около 6,0 \log_{10} cfu/мл

Тестовый пример 4

20 Цель этого теста заключалась в том, чтобы убедиться, что антибактериальная композиция, содержащая ксантановую камедь в соответствии с настоящим изобретением, проявляет заметное антибактериальное действие несмотря на добавление ксантановой камеди.

(1) Получение образца

25 Антибактериальная композиция, имеющая следующий состав, была получена в соответствии со стандартным способом, и антибактериальная композиция, содержащая ксантановую камедь (антибактериальная композиция по третьему заявленному изобретению), была получена как продукт 1 в соответствии с настоящим изобретением.

30

Порошкообразная антибактериальная добавка, полученная в примере 2	10 (%)
Лактопероксидаза (Biopole)	0,06
Глюкозооксидаза (Shinnihon Chemicals Corp.)	0,8
Глюкоза (Nihon Shokuhin Kako Co. Ltd.)	0,9
Ксантановая камедь (Sun-Ei Gen F.F.I., Inc.)	30
35 Пентагидрат лактата кальция (Daiichi Kasei Co., Ltd.)	2,6
Тринарийцитрат (Sun-Ei Gen F.F.I., Inc.)	2,4
Декстрин (Toakasei Co., Ltd.)	53,24

40 С другой стороны, антибактериальная композиция, имеющая такой же состав с продуктом в соответствии с настоящим изобретением, за исключением того, что композиция не содержит ксантановую камедь, является продуктом 2 в соответствии с настоящим изобретением. Масса продукта 2 была скорректирована таким образом, что была бы равной массе продукта 1 за исключением ксантановой камеди. Также, в качестве контрольного продукта 1 использовали коммерчески доступную композицию загустителя (Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), добавленную к непорошкообразному антибактериальному вспомогательному компоненту (экстракту комбу) по примеру 2, лактопероксидазе, глюкозооксидазе и глюкозе.

(2) Получение раствора организмов

50 Раствор *Staphylococcus aureus* был приготовлен таким же образом, как в тестовом примере 1 (2).

(3) Метод испытаний

В 50-мл пробирку помещали 0,5 г антибактериальной композиции по настоящему

изобретению, описанную в (1) (продукт 1 в соответствии с настоящим изобретением). Таким же образом в 50-мл пробирку помещали 0,5 г контрольного продукта 1 (продукт 2 в соответствии с настоящим изобретением). Также, в другую 50-мл пробирку помещали 0,5 г коммерчески доступной композиции загустителя (контроль).

Впоследствии в эти пробирки добавляли и достаточно перемешивали смешанный раствор 0,3 мл указанного раствора микроорганизмов и 30 мл 0,85% водного раствора хлорида натрия. После выдерживания при комнатной температуре в течение 5 минут, шаг за шагом выполняли разбавления до десятикратного объема фосфатным буферным солевым раствором. Каждые 20 мкл этого разбавленного раствора наносили на стандартную агаровую пластину и культивировали в течение ночи в инкубаторе при 37°C и затем подсчитывали количество колоний, сформировавшихся на агаровой пластине. Из количества обнаруженных бактериальных колоний рассчитывали логарифм количества живых бактерий в 1 мл указанного смешанного раствора ($\log_{10} \text{cfu/мл}$).

(4) Результат испытаний

Результат этого теста приведен в таблице 4.

Из результатов с использованием продуктов 1 и 2 в соответствии с настоящим изобретением очевидно, что антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением уменьшила количество живых *Staphylococcus aureus* до уровня, который не может быть обнаружен и, таким образом, показала сильное антибактериальное действие как с ксантановой камедью, так и без нее. С другой стороны, контроль не показал эффект на количество живых *Staphylococcus aureus*.

Таким образом, было выявлено, что антибактериальная композиция, содержащая ксантановую камедь в соответствии с настоящим изобретением, имеет сильную антибактериальную активность.

Порошкообразная антибактериальная добавка, используемая в данном тесте, была получена из компонента экстракта комбу с молекулярной массой 4000 или менее. Таким образом, было установлено, что также может использоваться как антибактериальная добавка в соответствии с настоящим изобретением, так и компонент экстракта комбу с молекулярной массой 4000 или менее.

Образец	Количество живых <i>Staphylococcus aureus</i> ($\log_{10} \text{cfu/мл}$)
Продукт 1 в соответствии с настоящим изобретением	Н.О.
Продукт 2 в соответствии с настоящим изобретением	Н.О.
Контроль 1	6,2
Н.О.: не обнаруживается (<2,70) Начальное количество организмов: около 6,0 $\log_{10} \text{cfu/мл}$	

ПРОМЫШЛЕННАЯ ПРИМЕНИМОСТЬ

Антибактериальная композиция, содержащая антибактериальную добавку в соответствии с настоящим изобретением, лактопероксидазу, глюкозооксидазу и глюкозу, может быть широко использована в качестве антибактериальной композиции, имеющей высокий уровень безопасности при использовании экстракта комбу.

Также, антибактериальная композиция в соответствии с настоящим изобретением может быть широко использована как продукт питания и напиток, лекарство и корм.

Формула изобретения

1. Агент для повышения антибактериального действия, содержащий фракцию с

молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу, в качестве активного ингредиента.

2. Агент для повышения антибактериального действия по п.1, где указанный агент для повышения антибактериального действия используется в антибактериальной композиции с лактопероксидазной системой.

3. Агент для повышения антибактериального действия по п.1 или 2, где экстракт комбу представляет собой экстракт одного или нескольких комбу, выбранных из группы, состоящей из makombu (*Laminaria japonica*), rausu kombu (*Laminaria diabolica*), rishiri kombu (*Laminaria ochotensis*) и hidaka kombu (*Laminaria angustata*).

4. Антибактериальная композиция, содержащая агент для повышения антибактериального действия по любому из пп.1-3, лактопероксидазу, глюкозооксидазу и глюкозу.

5. Антибактериальная композиция по п.4, где антибактериальная композиция дополнительно содержит ксантановую камедь.

6. Пищевой продукт, содержащий антибактериальную композицию по п.4 или 5.

7. Пищевой продукт по п.6, который является напитком.

8. Способ получения добавки для лактопероксидазной системы, включающий получение экстракта комбу путем проведения экстракции из комбу растворителем (растворителями), фракционирование экстракта комбу с получением фракции с молекулярной массой 5000 или менее.

9. Способ по п.8, в котором растворитель представляет собой воду или водный раствор.

10. Добавка для лактопероксидазной системы, содержащая в качестве активного ингредиента фракцию с молекулярной массой 5000 или менее, полученную из экстракта комбу, которая получена способом по п.8 или 9.