

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-539141

(P2010-539141A)

(43) 公表日 平成22年12月16日(2010.12.16)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>A01N 37/02</b> (2006.01)	A01N 37/02	2B150
<b>A23L 3/34</b> (2006.01)	A23L 3/34	4B021
<b>A23K 1/16</b> (2006.01)	A23K 1/16	301H
<b>C09D 5/14</b> (2006.01)	A23K 1/16	303F
<b>C09D 177/10</b> (2006.01)	C09D 5/14	4J038

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 22 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2010-524526 (P2010-524526)	(71) 出願人	306003419 ピュラック バイオケム ピー. ブイ. オランダ国, 4206 エーシー ゴリン ケム, アルケルセディーク 46
(86) (22) 出願日	平成20年9月17日 (2008.9.17)	(74) 代理人	100085545 弁理士 松井 光夫
(85) 翻訳文提出日	平成22年5月10日 (2010.5.10)	(72) 発明者	クレマー, ディデリク レインダー オランダ国, 9722 ダブリュジー グ ロニンゲン, ルデマボルグ 17
(86) 國際出願番号	PCT/EP2008/062342	(72) 発明者	ラミレツ, アルダナ マリエル オランダ国, 6702 エーシー ワゲニ ンゲン, トロエルストラウェヒ 65
(87) 國際公開番号	W02009/037270	(72) 発明者	オットー, ロエル オランダ国, 4201 ピーシー ゴリン ケム, カルハヘン 62
(87) 國際公開日	平成21年3月26日 (2009.3.26)		
(31) 優先権主張番号	07116555.9		
(32) 優先日	平成19年9月17日 (2007.9.17)		
(33) 優先権主張国	歐州特許庁 (EP)		

最終頁に続く

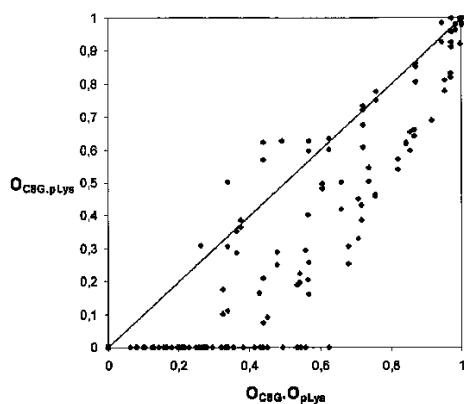
(54) 【発明の名称】グラム陰性菌に対してポリリジンと一緒にグリセロールの脂肪酸エステルを使用する方法

## (57) 【要約】

本発明は、グリセロールに基づく脂肪酸エステルとポリリジン及び/又はポリリジンの塩とを含む組成物の施与を含む、グラム陰性菌の存在、増殖及び/又は活動の防止及び/又は減少の為の方法に関し、ここで該グリセロールに基づく脂肪酸エステルは抗菌剤として用いられる。本発明はさらに、該組成物を、抗菌剤として、工業製品及びパーソナルケア製品から動物及びヒトの消費の為の食品製品及び飲料製品に及ぶ種々の製品及び用途において使用する方法に関する。

【選択図】図1

Figure 1



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

製品中又は表面上のグラム陰性菌の活動、増殖又は存在の減少又は防止の為の方法であつて、該製品又は表面と、

a. グリセロールと脂肪酸のエステル  
と

b. ポリリジン又はポリリジンの塩又はこれらの混合物

との組み合わせを含む組成物とを接触させることを含み、ここで該グリセロールと脂肪酸のエステルは抗菌剤として用いられる、前記方法。

**【請求項 2】**

該グリセロールの脂肪酸エステルが、グリセロールのモノ-若しくはジ-エステル又はこれらの混合物である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

該脂肪酸が、ヘキサン酸、オクタン酸、デカン酸、ドデカン酸、テトラデカン酸、及びこれらの混合物から選ばれる、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

ポリリジンが - ポリリジンである、請求項 1、2 又は 3 に記載の方法。

**【請求項 5】**

該組成物がさらに、1 以上の有機酸又はこの塩若しくはエステル又はこれらの混合物を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 6】**

該組成物がさらに、1 以上の金属キレート剤を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 7】**

該組成物がさらに、1 以上のラクチレートを含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 8】**

該組成物が液体又は固体の形にあり、且つ、該組成物が 0.0001 ~ 45 重量 % のグリセロールと脂肪酸の該エステル、0.0001 ~ 40 重量 % のポリリジン又はこの塩又はこれらの混合物、0 ~ 45 重量 % のラクチレート、0 ~ 45 重量 % の有機酸又はこの塩若しくはエステル又はこれらの混合物、0 ~ 98 重量 % のキャリア、及び 0 ~ 20 重量 % の乳化剤を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 9】**

該組成物が、Escherichia coli、Salmonella、Campylobacter 又は Pseudomonas のファミリーからのバクテリアと接触される、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 10】**

該製品が、該製品の製造、取扱い、貯蔵又は調製の 1 以上の段階の間に該組成物と接触される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 11】**

該製品が、ヒトの消費の為の食品製品又は飲料製品、動物の消費の為の飼料製品又は食品製品、洗浄製品、洗剤、化粧料製品又はパーソナルケア製品である、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 12】**

グリセロールと脂肪酸のエステルを、グラム陰性菌に対する、ポリリジン又はポリリジンの塩又はこれらの混合物を含む組成物中における抗菌剤として、製品又は表面の中又は上のグラム陰性菌の活動、増殖又は存在の減少又は防止の為に、使用する方法。

**【請求項 13】**

Escherichia coli、Salmonella、Campylobacter 又は Pseudomonas のファミリーのグラム陰性菌に対する、請求項 12 に記載

10

20

30

40

50

のグリセロール脂肪酸エステルの使用方法。

【請求項 1 4】

該製品が、動物又はヒトの消費の為の食品製品若しくは飲料製品、又は洗浄製品若しくは洗剤、又は化粧料製品若しくはパーソナルケア製品である、請求項 1 2 又は 1 3 に記載のグリセロール脂肪酸エステルの使用方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、グリセロールの脂肪酸エステルに基づく組成物を使用することによる、製品中の又は製品上のグラム陰性菌の活動の減少及び／又は防止の為の方法に関する。本発明はさらに、この方法を用いることからもたらされる製品に向けられる。

10

【背景技術】

【0 0 0 2】

グリセロールの脂肪酸モノエステルは、酵母、真菌及び食品損傷細菌に対するそれらの抗菌活性について知られている。それらは、グラム陽性の或る食品病原性バクテリア、例えば *L i s t e r i a* 及び *C l o s t r i d i u m* など、に対する抗菌活性も有する。しかしながらそれらは、それら自身ではグラム陰性菌に対して有効で無いか又はほとんど有効で無い。

【0 0 0 3】

米国特許出願第 2 0 0 5 / 0 0 8 4 4 7 1 号明細書は、グリセロールモノエステルをグラム陰性菌、たとえば *E s c h e r i c h i a c o l i* など、に対して活性にする為のエンハンサーの使用を記載する。該特許出願は、全ての可能性のあるエンハンサーの広範なリストを提供する。該エンハンサーは、 - ヒドロキシ酸、 - ヒドロキシ酸、他のカルボン酸、カルボン酸以外のキレート剤、フェノール化合物（例えば或る抗酸化剤及びパラベン）又は C 1 - C 1 0 - モノヒドロキシアルコールでありうる。さらに、適当なエンハンサーは、第一鉄イオン及び／又は第二鉄イオンに結合することにとて非常に特異的な化合物、例えばシデロフォア（例えばエンテロバクチン、ピオケリン（pyochelin））及び鉄結合性タンパク質（例えばラクトフェリン、トランスフェリン）など、である。キレーター、例えばバクテリオシン、抗菌性酵素、糖、糖アルコール及びそれらの組み合わせなど、も包含される。上記言及されたキレート剤は、溶液中における金属イオンとの複数の配位部位の能力がある有機化合物であると記載されている。典型的には、これらのキレート剤はポリアニオン性化合物であり、そして、多価金属イオンと最もよく配位する。例は、エチレンジアミン四酢酸（E D T A）及びその塩、種々のホスフェートに基づく化合物及び／又はホスホン酸に基づく化合物、アジピン酸、コハク酸、ジエチレントリアミン五酢酸、1 - ヒドロキシエチレン及び或るカルボン酸、例えば - 及び - ヒドロキシ酸、リンゴ酸及び酒石酸などである。

20

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0 0 0 4】

本発明は、グラム陰性菌に対するグリセロールの脂肪酸エステルの抗菌活性を増大する為の全く異なる手段を提供する。本発明は、グラム陰性菌に対する非常に有効な手段を結果し、これは工業的な製品及び適用から消費及び／又はパーソナルケアの為の製品に及ぶ広くさまざまな製品及び適用において適用されうる。

40

【課題を解決するための手段】

【0 0 0 5】

ここに、本発明は、製品中又は表面上のグラム陰性菌の活動、増殖及び／又は存在の減少及び／又は防止の為の方法であって、該製品又は表面と、a ) グリセロールの脂肪酸エステル並びに b ) ポリリジン及び／またはポリリジンの塩の組み合わせを含む組成物とを接触させることを含む上記方法に向けられ、ここで該グリセロールの脂肪酸エステルは、抗菌剤又は抗微生物剤として適用され、乳化剤として適用されない。

50

## 【図面の簡単な説明】

## 【0006】

【図1】C8-グリセリド及びポリリジンの混合物の存在下におけるSalmonella enterphimuriumの実験的に観察された相対的増殖速度( $O_{C8G \cdot pLyS}$ )対C8-グリセリド及びポリリジンの混合物の存在下における予測された相対的増殖速度( $O_{C8G \cdot O_{pLyS}}$ )のプロットを表すグラフである。

【図2】C8-グリセリド及びポリリジンの混合物の存在下におけるSalmonella enteriridisの実験的に観察された相対的増殖速度( $O_{C8G \cdot pLyS}$ )対C8-グリセリド及びポリリジンの混合物の存在下における予測された相対的増殖速度( $O_{C8G \cdot O_{pLyS}}$ )のプロットを表すグラフである。

【図3】C10-グリセリド及びポリリジンの混合物の存在下におけるSalmonella enterphimuriumの実験的に観察された相対的増殖速度( $O_{C10G \cdot pLyS}$ )対C10-グリセリド及びポリリジンの混合物の存在下における予測された相対的増殖速度( $O_{C10G \cdot O_{pLyS}}$ )のプロットを表すグラフである。

【図4】C10-グリセリド及びポリリジンの混合物の存在下におけるSalmonella enteriridisの実験的に観察された相対的増殖速度( $O_{C10G \cdot pLyS}$ )対C10-グリセリド及びポリリジンの混合物の存在下における予測された相対的増殖速度( $O_{C10G \cdot O_{pLyS}}$ )のプロットを表すグラフである。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0007】

グリセロールの脂肪酸エステルは通常、乳化剤として適用されるが、驚くべきことに、ポリリジン及び/又はこの塩を含む組成物中でそれらを用いることにより、それらは、なおそのうえ、特にグラム陰性菌に対する抗菌剤として適用されうることが今発見された。

## 【0008】

ポリリジン及び/又は塩とグリセロールの脂肪酸エステルとの組み合わせは、両方の成分の活性を単に増大する（該増大効果は該ポリリジン及び該グリセロール脂肪酸エステルの個々の活性の合計である）ことができるだけでなく、それは、両方の成分が、該組成物の個々の成分の活性の合計よりも有意に高い抗菌活性を結果する相乗作用において働くので、該抗菌活性についての相乗効果を予想外に実証する。

## 【0009】

上記の先行文献において言及されたエンハンサー多くが、この相乗作用を示さず、そして、本発明に従うグリセロールの脂肪酸エステルとポリリジン及び/又はこの塩との組み合わせにおけるものと比べて、グリセロール脂肪酸モノエステルとの組み合わせにおいて、相乗的に有効でない。

## 【0010】

さらに、該エンハンサーの多くは、それ自体、グラム陰性菌に対して非常に有効でなく、そしてすなわち、何らかの増大する抗菌効果を示すために高い量で適用される必要がある。この抗菌効果を達成する為に必要とされる該量において、該エンハンサーは、それらが適用される食品製品の品質に、味、色、臭い及び/又はテクスチャーの点で悪影響を及ぼす。

## 【0011】

有機酸は例えば、グラム陰性菌に対してそれ自体あまり有効なものでなく、そして、増大効果を有する為に、該有機酸の相当な量が必要とされる。しかしながら、該酸は何らかの抗菌効果を有する為に必要とされる量において該食品製品のpHを低めるので、それらは多くの製品の味、テクスチャー及び他の特性に悪影響を及ぼす。酸は例えば、それらが例えばタンパク質の変性をもたらすので、タンパク質に富む製品（例えば食肉製品）のテクスチャーに悪影響を及ぼすと知られている。

## 【0012】

他の例は、先行文献において言及されたタンパク質、シデロフォア及びバクテリオシンであり、それらは食品製品におけるpH変化に非常に感受性であるので又はそれらは食品製

10

20

30

40

50

品の味及びテクスチャーに対する望ましくない効果を有するので、それらの使用において限定される。

【0013】

これは、先行文献において言及されたような C 1 - C 10 - モノヒドロキシアルコールの多くについても当てはまり、これらは、それらを食品製品及び飲料製品における多くの適用にとって適さないものとする強力且つ望ましくない臭気特性をそれらが有するという不利点を有する。

【0014】

本発明に従う方法において用いられるグリセロールの脂肪酸エステルも、グラム陰性菌に対してそれら自身では非常に有効でないが、ポリリジン及び / 又はこの塩との組み合わせにおいて、相乗的に増加した抗菌活性が、多くの食品製品及び飲料製品において許容できる該グリセロール脂肪酸エステルの濃度で得られる。

10

【0015】

ポリリジンは、グラム陰性菌に対して抗菌活性を発揮すると知られている。Shimura (Nov. 1984) により記載されるとおり、 - ポリリジン及び - ポリリジンの両方が、抗菌活性を有するが、後者が有意により大きな程度で抗菌活性を有する。該文献において記載されるとおり、 - ポリリジンは、1ml当たり約 1 ~ 8 μg の濃度で、グラム陽性菌及びグラム陰性菌に対して有効に用いられる。

【0016】

Hirakira (2000) は、 - ポリリジンが、抗菌剤、例えばグリシン、酢酸（酢の形にある）、エタノール又はチアミンラウリルホネートなど、と一緒に用いられる場合に、その抗菌能力が大きく増大されることを記載する。しかしながら、グラム陰性菌に対する抗菌活性を達成する為に、グリセロールの脂肪酸エステルが - ポリリジンと組み合わされるところの方法は、おそらくこのタイプのグラム陰性菌に対するグリセロール脂肪酸エステルの非常に既知の乏しい活性の故に、言及されていない。

20

【0017】

特開 2000-270821 号公報、特開平 07-135943 号公報、特開平 04-8273 号公報、特開平 2001-587465 号公報、特公 2001-094794 号公報、特公 1999-321013 号公報、特開平 11-113779 号公報、特公 1994-298780 号公報、特開平 2001-384674 号公報は、モノ - 及びジ - グリセロールエステル及び他の抗菌性成分、例えばプロタミン、エタノール、グリシン、リゾチームなど、との組み合わせにおいて - ポリリジンを含む組成物を記載する。上記言及された組成物は、胞子形成菌および乳酸生成菌に対して、腐敗性菌、例えば *Leuconostoc* (グラム陽性) など、に対して、並びに、酵母及び真菌、例えば *Candida* など、に対して有効であると記載されている。

30

【0018】

上記言及された特許文献を含む先行文献は、ポリリジン及び / 又はこの塩と一緒にされたグリセロールの脂肪酸エステルが、グラム陰性菌に対して、及び特には、 *Escherichia coli*、*Salmonella*、*Campylobacter* 及び *Pseudomonas* に対して、非常に有効に適用されうることを記載しない。

40

【0019】

さらに、先行文献は、抗菌剤、例えばポリリジン及びその他など、を含みうる混合物において、例えば特公平 2002-274742 号公報におけるように、グリセロールの脂肪酸エステルの乳化剤として又は界面活性剤としての使用方法に向けられる。グリセロールの脂肪酸エステルが、ポリリジン及び / 又はこの塩を含む組成物中において、グラム陰性菌に対する抗菌剤として用いられたことを記載する先行文献は発見されていない。

【0020】

本発明はすなわち、グラム陰性菌の存在、増殖及び / 又は活動の減少又は防止の為の方法であって、該菌と、 a ) 脂肪酸とグリセロールの脂肪酸エステル及び b ) ポリリジン及び / 又はこの塩の組み合わせを含む組成物とを接触させることを含む前記方法を含み、ここ

50

で該脂肪酸とグリセロールの脂肪酸エステルは抗菌剤として用いられる。

【0021】

ポリリジンは、 $\alpha$ -ポリリジンとして、 $\beta$ -ポリリジンとして又はこれらの混合物として存在しうる。 $\beta$ -ポリリジンは、それが、他の形のポリリジンと比較してグラム陰性菌に対しより高い抗菌活性を有するので、すなわち、この抗菌剤のより少ない量が適用におけるグラム陰性菌に対する抗菌活性における満足できる相乗作用を達成するのに必要とされるので、好ましい。さらに、 $\beta$ -ポリリジンは好ましくは、遊離カルボキシル基と $\epsilon$ -アミノ基との間に、ペプチド結合により連結された30~50のL-リジンモノマーを含む。本発明の脂肪酸エステルは、ポリリジンの1以上の塩とも一緒にされうる。

【0022】

本発明のグリセロール脂肪酸エステル(グリセリド又はグリセロール又はグリセロールに基づく脂肪酸エステルとも言われる)は、グリセロールのモノエステル、ジエステル若しくはトリエステル又はこれらの混合物を含みうる。これらのエステルが製造される方法はしばしば、一般に知られるとおり、種々のモノ-、ジ-又はトリ-エステルの混合物を可能にもたらす。該エステルは、これらの混合物から、当技術分野の当業者により既知の種々の技術により分離されうる。すなわち、モノ-エステルに言及する場合、これらのグリセロールのモノ-エステルは、純粋な成分ならびに、主にモノエステルを含むが該混合物のさらなる成分としてジ-及びトリ-エステルも含む混合物を含む。

【0023】

非常に良い結果が、菌又は該菌を含む製品及び表面が、ポリリジンとグリセロールのモノ-及びジ-エステルとの組み合わせを含む組成物と接触されたときに得られた。高い抗菌活性をもたらす高い相乗作用が、グリセロールと脂肪酸との脂肪酸エステルと組み合わせられたポリリジン及び/又はこの塩を含む組成物により観察され、ここで該脂肪酸は、飽和脂肪酸、例えばヘキサン(C6)酸、オクタン(C8)酸、デカン(C10)酸、ドデカン(C12)酸、テトラデカン(C14)酸、ヘキサデカン(C16)酸、オクタデカン(C18)酸、及びこれらの混合物などであるがこれらに限定されない、を含む。この出願において、例えばC8-グリセリド又はC10-グリセリドが言及される場合、グリセロールとそれぞれオクタン酸及びデカン酸との脂肪酸エステルが意味される。

【0024】

本発明に従う方法は、もし該菌又は該菌を含む該製品若しくは表面が、グリセロール脂肪酸エステル、ポリリジン及び/又はその塩、並びにさらに1以上の(1又は1より多い)ラクチレートを含む組成物と接触されるならば、さらにより有効であると分かった。ラクチレートは、乳酸(及び/又は乳酸の塩)の脂肪酸エステルであり、当技術分野の当業者によく知られている。これらの成分は、それらの乳化効果について知られており、そして、従って、乳化剤として用いられる。モノラクチレート及びジラクチレートの両方が適当であり、これらの混合物も同様に適当である。該ラクチレート成分はしばしば、混合物として、例えば主としてモノラクチレートと、さらにそれらが調製される方法に起因してジラクチレートをさらに含む混合物として得られる。より高く重合されたラクチレートが該混合物中に存在することも、非常によくありうる。該ラクチレートは、例えばクロマトグラフィー分離により又は当技術分野の当業者に既知の任意の他の方法により、それらの純粋な形(例えばモノ-形だけ)で得られうる。

【0025】

本発明に従う方法において用いられる抗菌性組成物はさらに、1以上の有機酸及び/又はそれらの塩若しくはエステルを含みうる。なぜなら、これらの成分はさらに抗菌活性を増大するからである。好ましくは、乳酸、酢酸、クエン酸、リンゴ酸、フマル酸、酒石酸、グルコン酸、プロピオン酸及びカプロン酸から選ばれる1以上の有機酸及び/又はそれらの塩若しくはエステルが用いられる。なぜなら、これらの酸は、例えば該製品の味、臭い及び色に関する該製品品質に対して悪影響を有さないからである。

【0026】

任意的に、本発明に従う方法において用いられる抗菌性組成物はさらに、1以上の金属キ

10

20

30

40

50

レート剤を含む。該キレート剤は例えば、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）及びその塩、ジエチレントリアミン五酢酸及びその塩、種々のホスフェートに基づく化合物、例えばヘキサメタホスフェートナトリウム、酸性ピロホスフェートナトリウム（sodium acid pyrophosphate）、及びピロリン酸、オルガノホスフェートキレーティング化合物、例えばフィチン酸、1,1-ジホスホン酸、シデロフォア及び鉄結合性タンパク質、例えばエンテロバクテリン及びラクトフェリン、及びカルボン酸及びヒドロキシカルボン酸及び／又はそれらの塩、例えばコハク酸、アスコルビン酸、グリコール酸、安息香酸、オクタン酸及びアジピン酸など、から選ばれうる。

## 【0027】

本発明に従う方法は、Escherichia（例えばEscherichia coli）、Salmonella（例えばSalmonella種）、Campylobacter（例えばCampylobacter種）及びPseudomonas（例えばPseudomonas種）のファミリーのグラム陰性菌に対して非常に有効であると分かった。なぜなら、該組成物中のポリリジン成分及びグリセリド成分はこれらの特定の標的生物に対して相乗的に作用し、それによりこれらのグラム陰性菌の存在、増殖及び／又は活性を防ぎ及び／又は減少するのに十分な抗菌活性が達成されるからである。

10

## 【0028】

さらに、本発明に従う方法は、例えば低い及び高いpH値の製品、非常に濃厚にされた製品及び非常に希釈された製品、工業分野において（例えば産業用途又は家事用途の為の洗剤において）、医薬分野において（例えば装置の洗浄／殺菌の為、又は医薬組成物の調製又はそれらのパッケージングにおいて）、パーソナルケアにおいて（例えば化粧料、シャンプー、クリーム及びローションの製造において）、飼料産業において（例えば装置の洗浄の為に、動物の飼料製品及び飲料製品の製造、貯蔵、取扱い及び調製において）及び食品産業及び飲料産業において使用可能な製品に及ぶ、非常にさまざまな製品及び用途において適用可能である。

20

## 【0029】

それ故に、本発明は、洗剤、化粧料製品及びパーソナルケア製品の製造、取扱い、貯蔵及び調製において、グラム陰性菌及び特には前に言及された菌の存在、増殖又は活動の減少及び／又は防止の為に、グラム陰性菌に対する、ポリリジン及び／又はこの塩を含む組成物中における抗菌剤としてグリセロール脂肪酸エステルを使用する方法に関する。

30

## 【0030】

ここに、洗剤製品、化粧料製品及びパーソナルケア製品におけるグラム陰性菌の存在、増殖又は活動の減少又は防止の為の本発明に従う方法は、該製品を、本発明の種々の実施態様に従う、グリセロール脂肪酸エステルとポリリジン及び／又はこの塩とを含む組成物に、該製品の製造、取扱い、貯蔵又は調製の1以上の工程の間に接触させることを含み、ここで該グリセロール脂肪酸エステルは抗菌剤として用いられる。

40

## 【0031】

グリセロール脂肪酸エステルとポリリジン及び／又はこの塩とを含む組成物は、表面を洗浄することにとって非常に便利であるとさらに分かる。それ故に、本発明に従う方法は、表面上のグラム陰性菌、特には前に言及された菌、の存在、増殖又は活動の減少又は防止に向けられ、該表面を、グリセロール脂肪酸エステルとポリリジン及び／又はこの塩とを含む抗菌性組成物に接触させることを含み、ここで該グリセロール脂肪酸エステルは抗菌剤として用いられる。

## 【0032】

本発明はさらに、飼料産業の為の食品製品及び飲料製品並びにヒトの消費の為の食品製品及び飲料製品の製造、取扱い、貯蔵及び調製において、グリセロール脂肪酸エステルを、グラム陰性菌に対する、ポリリジン及び／又はこの塩を含む組成物中における抗菌剤として使用する方法に向けられる。

## 【0033】

ここに、動物又はヒトの消費の為の食品製品及び飲料製品におけるグラム陰性菌の存在、

50

増殖又は活動の減少又は防止の為の本発明に従う方法は、該製品を、該食品処理プロセスの1以上の段階、例えば該製品の製造、取扱い、貯蔵又は調製など、の間に、グリセロール脂肪酸エステルとポリリジン及び／又はこの塩とを含む組成物と接触させることを含み、ここで該グリセロール脂肪酸エステルは抗菌剤として適用されている。

## 【0034】

食品製品及び飲料製品の例は、飲料、例えば炭酸飲料及び非炭酸飲料並びに果実若しくは野菜に基づくジュースなど、タンパク質に富む製品、例えば種々の食肉製品及び魚製品など、ドレッシング、ソース及びトッピング、すぐに食べられる(ready-to-eat)製品及びすぐに飲むことができる(ready-to-drink)製品、冷凍された製品及び高温処理された製品などである。これらの製品は、本発明に従う方法により非常によく製造され又は処理されうる。得られた製品は、例えば味、テクスチャー及び色の点で感覚受容的性質において悪影響を及ぼされず、一方で該製品は、グラム陰性菌の存在及び活動による食品損傷及び／又は食品中毒に対して守られている。

10

## 【0035】

グリセロール脂肪酸エステルは通常は、食品製品又は飲料製品中に、該製品の最大で5重量%の量、好ましくは0.0001重量%～5重量%、好ましくは0.0001重量%～2重量%、好ましくは0.0001重量%～1重量%の量で存在するであろう。

## 【0036】

ポリリジンは通常は、食品製品又は飲料製品中に、該製品の最大で1重量%の量、好ましくは0.0001重量%～1重量%、好ましくは0.0001重量%～0.1重量%、好ましくは0.0001重量%～0.01重量%、好ましくは0.0001重量%～0.01重量%の量で存在するであろう。

20

## 【0037】

EDTA、オルガノホスフェート及びポリホスフェートは通常は、食品製品又は飲料製品中に、該製品の最大で1重量%の量で、好ましくは0.0001重量%～1重量%の量で存在するであろう。

30

## 【0038】

ラクチレートは通常は、食品製品又は飲料製品中に、該製品の最大で1重量%の量で、好ましくは0.0001重量%～1重量%、又は0.0001重量%～0.1重量%さえ、そして最も好ましくは0.0001重量%～0.01重量%の量で存在するであろう。

## 【0039】

有機酸、例えば乳酸、フマル酸、コハク酸、酒石酸、アスコルビン酸、グリコール酸、安息香酸、酢酸、プロピオン酸、オクタン酸、リンゴ酸及びアジピン酸など、は食品製品又は飲料製品中に、該製品の最大で10重量%の量で、好ましくは0.0001重量%～10重量%、好ましくは0.0001重量%～5重量%の量で存在しうる。

40

## 【0040】

本発明に従う方法において、上記言及された食品製品及び飲料製品は、グリセロール脂肪酸エステルとポリリジン及び／又はこの塩とを含む本発明に従う組成物と接触される。本発明に従う方法の好ましい実施態様において、該食品製品及び飲料製品は、上記言及された組成物を注入される。次に、該組成物は、内部部分に存在し又は該製品の内側に存在する。

## 【0041】

本発明の他の好ましい実施態様において、該方法は、グリセロール脂肪酸エステルとポリリジン及び／又はこの塩とを含む該組成物により該製品を表面処理することを含む。これは、最後の製品段階においてだけでなく、例えば食肉製品の製造における枝肉の殺菌の間若しくは当該殺菌において又は果実及び野菜について適用される洗浄工程においても行われうる。該抗菌性組成物は、種々の手段により、例えばスプレー、リンス若しくは洗浄溶液のような又は種々の食品製品が浸される溶液のような種々の手段により、処理されるべき製品との接触に付されてよく又は当該製品中に導入されてよい。

## 【0042】

50

適用の種類により及び本発明の組成物が最終製品中の活性成分として用いられるか又は例えば洗浄溶液又は洗浄スプレーの成分として用いられるかにより、該組成物の成分は、当技術分野の当業者に明白であろう濃度及び内部比で変わるであろう。

【0043】

グリセロール脂肪酸とポリリジン及び／又はこの塩とを含む該組成物は、固体又は液体の形で適用されうる。もし該組成物が液体の形にあるならば、それは一般に水性組成物の形にあり、これは溶液又は分散物でありうる。そのような水性組成物は一般に、該溶液の合計重量に基づき、0.0001重量%から最大で40重量%、より好ましくは0.1重量%～35重量%、及び最も好ましくは1～25重量%のポリリジン、及び、0.0001重量%から最大で45重量%、より好ましくは1～40重量%、及び最も好ましくは5～35重量%のグリセロール脂肪酸エステルを、本発明に従い含む。該組成物はさらに、0～45重量%、及びより好ましくは5～35重量%の量でラクチレートを、そしてさらに、0～45重量%、及びより好ましくは0～30重量%の範囲で有機酸を含みうる。

10

【0044】

該グリセロール脂肪酸エステル及び該ポリリジン又は該その塩は、キャリアにより該液体組成物中に導入されうる。当技術分野の当業者は、いかなる種類のキャリアが用いられるかを知っている。種々のよく知られたキャリアのうち、ポリエチレングリコール及び／又はラクテートが、キャリアとして非常によく機能することが分かった。該キャリアは、約50～98重量%の濃度で存在しうる。さらに、当技術分野の当業者に既知の種々の乳化剤が添加されうる。好ましくは、乳化剤、例えばポリソルベート（例えばポリソルベート60又は80）及びレシチンが、100%の脂肪酸誘導体、例えばグリセロール脂肪酸エステル及び／又はラクチレートなど、に基づき、例えば0.1～25%、より好ましくは1～10%及び最も好ましくは2～4%の濃度で、もしも後者の成分がグリセロール脂肪酸エステル及びポリリジン又はその塩に加えて該組成物中において用いられるならば、適用される。

20

【0045】

もしグリセロール脂肪酸エステルとポリリジン又はその塩とを含む該組成物が固体の形にあるならば、それは一般に、関連のある成分の粒子を含む粉の形にあるであろう。固体の形にある該組成物は一般に、該粉の合計重量に基づき、0.0001重量%から最大で40重量%、より好ましくは0.1重量%～35重量%、及び最も好ましくは1～25重量%のポリリジンと、0.0001重量%から最大で45重量%、より好ましくは1～40重量%、及び最も好ましくは5～35重量%のグリセロール脂肪酸エステルを、本発明に従い含む。

30

【0046】

キャリアが使用されうる。非常に適したキャリアは、シリカ及び／又はマルトデキストリンであり、これは最大で50～98重量%の濃度で存在する。

30

【0047】

該組成物はさらに、0～45重量%及びより好ましくは0～35重量%の量でラクチレートを含んでよく、そしてさらに、0～45重量%及びより好ましくは0～30重量%の範囲で有機酸を含んでよい。

40

【0048】

以下の非限定的な実施例が本発明をさらに説明する。

【実施例1】

【0049】

以下の培養物が研究において用いられた：Escherichia coli (ATCC 8739)、Escherichia coli 血清型O157:H7 (ATCC 700728)、Salmonella typhimurium (ATCC 13311) 及びSalmonella enteritidis (ATCC 13076)。全ての培養物は、10mlのブレインハートインキュベーション培地を含むスクリューキャップチューブ中に一日毎に移された。培養物は、攪拌無しで30度でインキュベートされた。

50

プレインハートインフュージョン培地は、モノノジグリセリド及びポリリジンの増加する量を有して調製された。カブリリック(C8)モノノジグリセリドについての濃度範囲は、10の0.02%ステップで0~0.18%のとおりであり、カブリック(C10)モノノジグリセリドについての濃度範囲は、10の0.01%ステップで0~0.09%のとおりであり、ラウリック(C12)モノノジグリセリドについての濃度範囲は、10の0.001%ステップで0~0.009%のとおりであった。モノノジグリセリドはポリリジンと一緒にされた。該ポリリジンの濃度範囲は、10の0.0075%ステップで0~0.0675%のとおりであり、100の異なる培地を結果した。該培地のpHは、6.1~6.2へと、1NのHCl又は1NのNaOHにより調整された。培地は、10mlの量で調製され、そしてろ過により滅菌された。300μlの夫々の培地が、滅菌されたBiосcreen(商標)ハニカム100ウェルプレートのパネルに移された。ウェルプレートは、滅菌された5μlリピーティングディスペンサーを用いて、プレインハートインフュージョン培地中で一晩増殖された培養物の5μlを植菌された。増殖速度は、垂直測光(vertical photometry)により濁度の発達を動的に測定するBiосreen(商標)Cにより決定された。該プレートは、16~24時間、37でインキュベートされ、該培養物の光学密度は、ワイドバンドフィルターを用いて420~580nmで30分毎に測定された。Biосreen(商標)は、該培養物の光学密度を設定時間間隔で測定する。これらのデータから、Biосreen(商標)は、最大の比増殖速度を計算する。さらなるデータ処理の目的は、2つのアミノ酸が互いに独立して働くかどうか又はそれらがそれらの抑制作用において互いに刺激するか(相乗作用)若しくは抑制効果を互いに打ち消すか(拮抗作用)どうかを確認することである。或る化合物が生物に対して効果を有さない場合、この生物の比増殖速度(μ)は、例えばモノーの方程式により、増殖限定性基質濃度(s)の関数(f)として表される、これは  $\mu = \mu_{max} \cdot s / (K_s + s)$  と読め、ここで  $\mu_{max}$  は、最大比増殖速度を表し、sは培地中の増殖限定性基質の不变濃度(standing concentration)を表し、そして  $K_s$  は  $\mu = 0.5 \mu_{max}$  であるところの基質濃度を表す。しかしながら、インヒビターPの存在が細胞増殖に影響する場合、μについての関数fは修正されなければならない、すなわち  $\mu = f(s, p)$  、ここでpはインヒビターPの濃度を表す。バクテリアの増殖抑制速度論のたくさんの研究が、多くのインヒビターが非競合的インヒビターとして振舞うことを示している。これは、最大比増殖速度( $\mu_{max}$ )の値だけが影響され、そして、親和性( $K_s$ )は影響されないことを暗示する。それ故に、インヒビターの存在下における比増殖速度は、

$$\mu_i = \mu_{max} \cdot s / (K_s + s)$$

、ここで  $\mu_i$  はインヒビターPの存在下における最大比増殖速度である、として記載される。  $\mu_i$  と  $\mu_{max}$  との間の関係及びインヒビターPの濃度は、ロジスティック用量応答方程式を用いて記載され、これは

$$\mu_i / \mu_{max} = 1 / (1 + (p / p_{0.5})^b)$$

と読める (Jungbauer, A. (2001). The logistic dose response function: a robust fitting function for transition phenomena in life sciences. J. Clinical Ligand Assay 24: 270~274)。この方程式において、pはインヒビターPの濃度を表し、そして、 $p_{0.5}$ は、 $\mu_i = 0.5 \mu_{max}$ であるところのPの濃度を表す； $\mu_{max}$ は、インヒビターPの不在下における比増殖速度である最大比増殖速度であり、bは次元の無い量であり、これは  $\mu_i$  と p との間の関係を決定する。モノー方程式及びロジスティック用量応答方程式とを併せると、

$$\mu = \mu_{max} (s / K_s + s) / (1 + (p / p_{0.5})^b)$$

と記載されることができる。sが通常、 $K_s$ よりも何倍も大きいバッチカルチャーオンいて、この方程式は

10

20

30

40

$$\mu = \mu_{\max} / (1 + (p / p_{0.5})^b)$$

に変形される。同じ条件下で増殖された異なる生物を比較する場合、又は異なる条件下で増殖された同じ生物を比較する場合、比較の基準として絶対的増殖速度よりもむしろ、相対的増殖速度を用いることがより意味がある。相対的増殖速度( $O$ )は、最大増殖速度( $\mu_{\max}$ )に対する増殖速度( $\mu$ )の比であり、すなわち  $O = \mu / \mu_{\max}$  である。 $\mu$  及び  $\mu_{\max}$  が(時間)<sup>-1</sup>の次元を有する一方で、それらの比  $O$  は次元無し、すなわち純粹な数であると見られることができる。同様に、我々は、相対的インヒビター濃度を  $p / p_{0.5}$  として定義することができる。該変形されたモノー及びロジスティック用量応答方程式は今、

10

$$O = 1 / (1 + \epsilon^b)$$

として記載されうる。2つのインヒビターX及びYについて、例えばOについての以下の2つの式が定義されうる：

$$O_x = 1 / (1 + \epsilon^{b1}) \text{ 及び } O_y = 1 / (1 + \epsilon^{b2})$$

。  $O_x$  及び  $O_y$  は、標的生物の増殖速度に対するX又はYのいずれかの抑制効果を試験することにより実験的に評価されうる。 $O_x$  及び  $O_y$  についての該評価された関数を知ることにより、理論的な独立の効果が  $O_x \cdot O_y$  として定義される。該相対的増殖速度に対するX及びYの組み合わせの実験的に観察された効果は  $O_{xy}$  として定義される。X及びYが或る生物に対して互いに独立に作用するという仮説は、数学的に

20

$$O_{xy} / O_x \cdot O_y = 1$$

に言い換えられる。この仮説の棄却は、X及びYの組み合わせられた効果が、独立の効果でなく、相乗的又は拮抗的であることをほのめかす。インヒビターX及びYが該標的生物に対して相乗的に作用する場合、

$$O_{xy} / O_x \cdot O_y < 1$$

(しかし  $> 0$ ) である。インヒビターX及びYの組み合わされた効果が拮抗的である場合、

30

$$O_{xy} / O_x \cdot O_y > 1$$

である。

40

#### 【0050】

相乗作用、独立の効果、及び拮抗作用は、 $O_{xy}$  対  $O_x \cdot O_y$  のプロットにおいて可視化されうる。これは図1~4において例示され、ここで *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) 及び *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) についての  $O_{c_x G_p L_y s}$  (モノグリセリド及びポリリジンの混合物の存在下において実験的に観察された相対的増殖速度) 対  $O_{c_x G_p L_y s}$  (ラクチレート及びポリリジンの混合物の存在下において予測された相対的増殖速度) の種々のプロットが与えられ、ラクチレートとポリリジンとの間の抑制における相乗作用を示す。このグラフ中の実線は、該実験的に観察された相対的増殖速度( $O_{c_x L_p L_y s}$ )が該予測された相対的増殖速度( $O_{c_x L_p} \cdot O_{p L_y s}$ )に等しく且つ該ラクチレート及びポリリジンが独立的なインヒビターとして作用するところの線を表す。

40

#### 【0051】

図1~4は、 $O_{xy} / O_x \cdot O_y < 1$  及び  $> 0$  である(実線の下のドットにより表される)ので、試験された種々の組み合わせにおけるポリリジン及びグリセリドが、標的生物に対して相乗的に作用することを実証する。

50

#### 【0052】

相乗作用のさらなる例、例えば 0.0225% (w/w) のポリリジンと 0.12% (w

/ w ) の C 8 - グリセリドとの間、又は 0 . 0 2 2 5 % ( w / w ) のポリリジンと 0 . 0 9 % ( w / w ) C 1 0 - グリセリドとの間の相乗作用など、が表 1 に与えられる。該表において観察されるとおり、0 . 0 2 2 5 % ( w / w ) のポリリジン及び 0 . 1 2 % ( w / w ) の C 8 - グリセリド、又は 0 . 0 2 2 5 % ( w / w ) のポリリジン及び 0 . 0 9 % ( w / w ) C 1 0 - グリセリドを含む培地中における、Escherichia coli ( ATCC 8739 )、Escherichia coli 血清型 O 157 : H 7 ( ATCC 700728 )、Salmonella typhimurium ( ATCC 13311 ) 又は Salmonella enteritidis ( ATCC 13076 ) の相対的増殖速度は、ポリリジン又はグリセリドエステルの 1 つを含む培地中におけるこれらの生物の相対的増殖速度に基づき予測されうるものよりも、全ての場合において低い。

10

## 【 0 0 5 3 】

## 【 表 1 】

## 相乗作用の例

化合物 濃度 (w/w)	観察された相対的増殖速度		
	C8-グリセロールエステル 0.120%	ポリリジン 0.0225%	C8-グリセロールエステル+ポリリジン 0.12% / 0.0225%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1.0845	0.7570	0.0000
<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 700728	0.9410	0.8315	0.0000
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	0.4035	0.9653	0.0000
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	0.5220	0.9945	0.0730

20

化合物 濃度 (w/w)	観察された相対的増殖速度		
	C10-グリセロールエステル 0.090%	ポリリジン 0.0225%	C10-グリセロールエステル+ポリリジン 0.09% / 0.0225%
<i>Esherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700728	0.8685	0.5850	0.0000
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	0.4613	0.9910	0.0000
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	0.8960	0.9600	0.0000

30

## 【 実施例 2 】

## 【 0 0 5 4 】

## 汚染されたチキンフィレと乳における抗菌効果

## 【 0 0 5 5 】

## 材料及び方法

## 【 0 0 5 6 】

## 培養物及び培養条件

Salmonella Typhimurium ATCC 13311 及び Escherichia coli O 157 : H 7 ATCC 700728 が、ブレインハートインフュージョン培地を含む滅菌スクリュー・キャップチューブ中で、18 ~ 24 時間、30 度で増殖された。

40

## 【 0 0 5 7 】

## チキンフィレの調製

チキンフィレ ( 150 ~ 200 g ) が切り取られ、真空パックされ、そして 4 ~ 7 度で保藏された。フィレは次にガンマ線照射により滅菌された ( 平均放射線量 : 12 キログレイ ) 。

## 【 0 0 5 8 】

## Salmonella Typhimurium によるチキンフィレの接種

ブレインハートインフュージョン培地中の Salmonella Typhimurium の一晩培養物の 1 ml が、滅菌された 0 . 8 % ( w / v ) NaCl 及び 0 . 1 % ( w / v ) ペプトンにより 1000 倍に希釈された。この希釈された培養物の 0 . 5 ml が、該

50

フィレの一面に移された。該接種材料が、該フィレの全部の表面に穏やかにこすりつけることにより分布された。これが、該フィレの他方の面についても繰り返された。接種は6で実施された。接種されたフィレは、6で60~120分間休ませて、細胞の付着を許した。

【0059】

チキンフィレの汚染除去

チキンフィレは、適切な処方を有する1lの溶液中に手短に浸され且つ完全に沈められ、そして次に、適切な処方の5mlを含む、400mlのBag filter(商標)ラテラルフィルターバッグ(Interscience, St Nom、フランス)に移された。バッグは真空シールされ、そして、さらなる分析まで、最大で7日間、12でインキュベートされた。時間ゼロの試料が、浸漬後30分以内にプレートされた。

10

【0060】

チキンフィレの微生物分析

チキンフィレ上に生存しているSalmonella Typhimuriumが以下のとおりに計数された：封されたバッグが開けられ、そしてこれに、合計重量の2倍の滅菌された希釀流体(8.5%(w/v)NaCl及び0.1%(w/v)細菌学的ペプトン(bacteriological peptone))が添加された。同じフィレが、1分間、Bag mixer(商標)400パドルラボブレンダー(Interscience, St Nom、フランス)中で、ホモジナイズされた。50μlのホモジネート又はその希釀物が、Eddy jetタイプ1.23スパイラルブレーター(IUL Instruments、バルセロナ、スペイン)を用いて、セフスロジン、ノボビオシンの補充(SR0194)(Oxoid、Basingstoke、英国)を有する同じSalmonella発色アガーブレート(CM1007)上にプレートされた。プレートは、30で24~48時間インキュベートされ、そして次に計数された。Salmonellaの数は、1mlのホモジネート当たりのlog<sub>10</sub>コロニー形成ユニットとして表された。

20

【0061】

抗微生物性処方物により処理された乳の接種

滅菌された低脂肪乳が地域のスーパー・マーケットから購入され、そして100mlの量が、一連の滅菌スクリューキャップボトルに移された。-ポリリジン、グリセリルモノノジオクタノエートのナトリウム塩(C8モノノジグリセリド)及びグリセリルモノノジデカノエートのナトリウム塩(C10モノノジグリセリド)が、表2に示されるとおりの濃度に添加された。種々の乳調製物が、Escherichia coli O157:H7の一晩培養物により接種された。出発時の細胞密度はlog<sub>10</sub>2.5~3.0であった。

30

【0062】

乳培養物の微生物分析

生存しているEscherichia coli O157:H7が以下のとおりに計数された：乳培養物又はその希釀物の同じ50μl試料が、Eddy jetタイプ1.23スパイラルブレーター(IUL Instruments、バルセロナ、スペイン)を用いて、同じViolent Red Bile Glucose(VRBG)アガーブレート(CM0485 Oxoid、Basingstoke、英国)上にプレートされた。プレートは、24~48時間、30でインキュベートされ、そして次に計数された。Escherichia coliの数は、1mlのホモジネート当たりのlog<sub>10</sub>コロニー形成ユニットとして表された。

40

【0063】

抗微生物性処方物の調製

研究された処方物の組成が表2に示される。-ポリリジン及びモノノジグリセリドが脱塩水中に溶解され、そして20分間、120で滅菌された。

【0064】

## 【表2】

## 抗微生物性処方物の組成

処方	プランク	1	2
ε-ポリリシン		0.1 % (w/v)	0.1 % (w/v)
C8-モノノジ-グリセリド		0.2 % (w/v)	
C10-モノノジ-グリセリド			0.05 % (w/v)
NaCl	0.8 % (w/v)	0.8 % (w/v)	0.8 % (w/v)

10

## 【0065】

## 化学物質

- ポリリジンは、Chisso America Inc (ニューヨーク、米国) から購入された。グリセリル モノノジ オクタノエートのナトリウム塩 (C8 モノノジ グリセリド) 及びグリセリル モノノジ デカノエートのナトリウム塩 (C10 モノノジ グリセリド) は、Caravan Ingredients (Lenexa、カンザス、USA) から購入された。

## 【0066】

## チキンフィレの汚染除去の結果

チキンフィレ上に存在するSalmonella Typhimurium ATCC 13311の、- ポリリジンとモノノジ グリセリドとの組み合わせへの曝露は、約90 %だけ、生存細胞数のほぼ即時の減少を結果した(表3)。12での1日後、数における減少は、4log<sub>10</sub>より大きい。該試験された組み合わせによる増殖抑制は永続的でない；4日後に数は増加したが、接種後7日後で該処方物と該プランクとの間の差異は2log<sub>10</sub>以上であり、そして、微生物の活動はなお存在する。

20

## 【0067】

## 表3

12でのチキンフィレ上のSalmonella Typhimuriumに対する、- ポリリジン (-PL) とモノノジ グリセリドとの組み合わせの効果；log<sub>10</sub>コロニー形成ユニット (CFU) / ml で表される

30

## 【表3】

時間 (日)	プランク	処方	
		0.1 % (w/v) ε - PL + 0.2 % (w/v) C8-モノノジ グリセリド	0.1 % (w/v) ε - PL + 0.05 % (w/v) C10-モノノジ グリセリド
0	3.74	2.68	3.02
1	5.91	0	0
4	6.01	3.82	4.17
5	6.89	5.18	4.53
6	7.36	4.5	5.23
7	7.46	4.46	5.18

40

## 【0068】

個々には、該グリセロールエステルは、- ポリリジンの不在下において、殺傷する効果又は増殖を抑制する効果を何も示さなかった(表4)。- ポリリジンそれ自体は細胞数

50

を減少するが、その効果は、脂肪酸誘導体の1つと組み合わされた場合よりも小さかった。これは特に、インキュベーションの1日後に明らかであった。該組み合わせについての数の減少は4log<sub>10</sub>から5log<sub>10</sub>に及び(表3)、単独添加としての-ポリリジンについての減少は2log<sub>10</sub>だけであった(表4)。これは、-ポリリジンと該脂肪酸誘導体との間の抑制における相乗作用の形があることを示唆する。これは、これらの組み合わせの効果が培養物中において研究されたin vitro研究により確認される(実験1)。

## 【0069】

表4

12でのチキンフィレ上のSalmonella Typhimuriumに対する、-ポリリジン及びC8及びC10モノノジグリセリドの個々の効果; log<sub>10</sub>コロニー形成ユニット(CFU)/mlで表される

## 【表4】

時間 (日)	ブランク	処方		
		0.1 % (w/v) ε-ポリリシン	0.2 % (w/v) C8-モノノジ グリセリド	0.05 % (w/v) C10-モノノジ グリセリド
0	3.8	3.04	3.82	3.72
1	4.05	2.04	3.81	3.98
2	4.82	2.15	4.03	4.32
5	7.2	4.04	6.41	6.0
6	7.6	4.26	7.48	7.62
7	7.68	5.35	7.39	7.85

## 【0070】

乳中のEscherichia coli O157:H7の抑制の結果

-ポリリジンとモノノジグリセリドとの組み合わせによる強力な増殖抑制も、無脂肪乳において増殖するEscherichia coli O157:H7について観察された(表5)。

## 【0071】

表5

12での乳中におけるEscherichia coli O157:H7に対する、-ポリリジン(-PL)とモノノジグリセリドとの組み合わせの効果; log<sub>10</sub>コロニー形成ユニット(CFU)/mlで表される(ND:データ無し)

10

20

30

【表5】

時間(日)	プランク	処方	
		0.1% (w/v) $\epsilon$ -PL + 0.2% (w/v) C8-モノノジ グリセリド	0.1% (w/v) $\epsilon$ -PL + 0.05% (w/v) C10-モノノジ グリセリド
0	2.85	2.6	2.7
1	3.48	1.3	1.85
2	6.12	1.0	2.71
3	7.42	1.0	3.8
6	ND	1.0	5.89

10

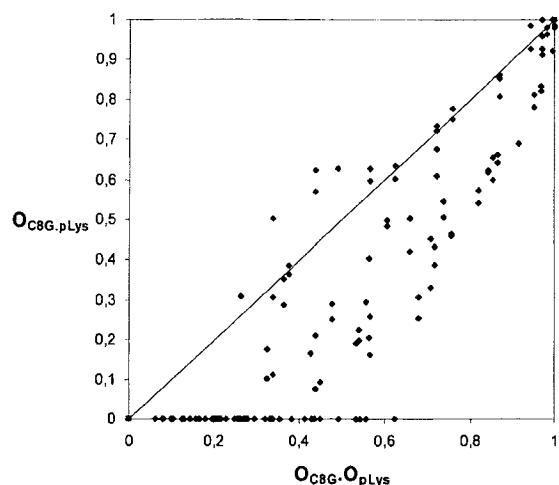
20

【0072】

チキンフィレと対照的に、最初の死滅は観察されなかった。 - ポリリジンとC8モノノジグリセリド(グリセリルモノノジオクタノエート)との組み合わせは特に有効であった。

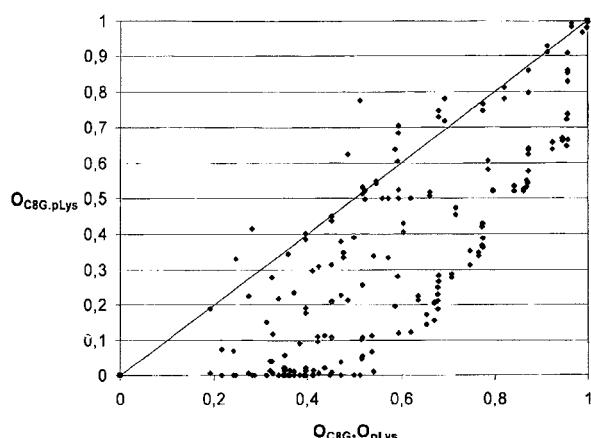
【図1】

図1



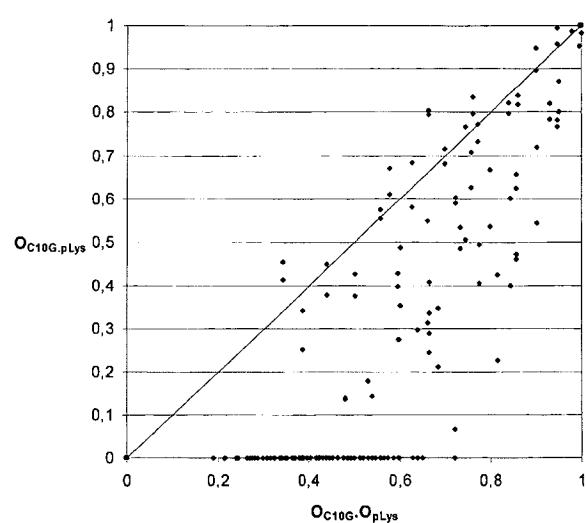
【図2】

図2



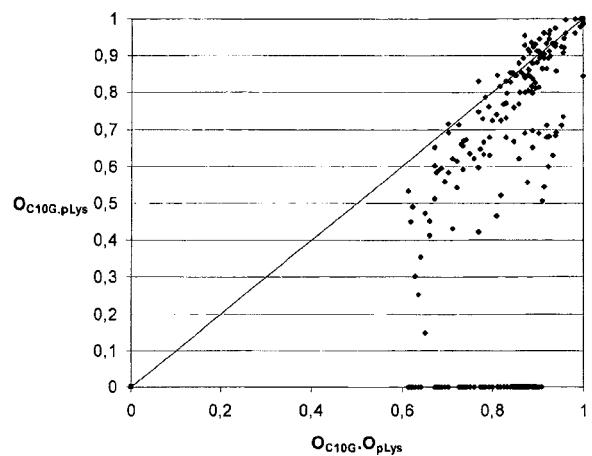
【図3】

図3



【図4】

図4



## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		
		International application No PCT/EP2008/062342
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A23L3/3517 A23L3/3526 A61L2/16 A01N37/44		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A23L A61L A01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, FSTA		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	"Composition of antibacterial agent for food and kitchenware" DERWENT, 2001, XP002366882 abstract	1-14
X	DATABASE WPI Week 200111 Thomson Scientific, London, GB; AN 2001-094794 XP002472349 & JP 2000 270821 A (CHISSO CORP) 3 October 2000 (2000-10-03) abstract	1-14
	----- -/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
<p>* Special categories of cited documents :</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
18 November 2008	08/12/2008	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Groh, Björn	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2008/062342

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE WPI Week 199927  Thomson Scientific, London, GB; AN  1999-321013  XP002472350  &amp; JP 11 113779 A (ASAHI KASEI KOGYO KK)  27 April 1999 (1999-04-27)  abstract  -&amp; DATABASE EPDOC  EUROPEAN PATENT OFFICE, THE HAGUE, NL;  1999, "sterile wet tissue"  XP002472348  [EPDOC abstract for JP11 113779 A ]  abstract</p> <p>-----</p>	1-14
A	<p>DELIHAS ET AL: "high sensitivity of  Mycobacterium species to the bactericidas  activity by polylysine".  FEMS MICROBIOLOGY LETTERS, AMSTERDAM, NL,  vol. 132, 1995, pages 233-237, XP002453102  ISSN: 0378-1097  the whole document</p> <p>-----</p>	1-14
A	<p>VAARA M: "AGENTS THAT INCREASE THE  PERMEABILITY OF THE OUTER MEMBRANE"  MICROBIOLOGICAL REVIEWS, AMERICAN SOCIETY  FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, DC, US,  vol. 56, no. 3,  1 September 1992 (1992-09-01), pages  395-411, XP000572820  ISSN: 0146-0749  pages 400-401</p> <p>-----</p>	1-17
X	<p>DATABASE WPI Week 199437  Thomson Scientific, London, GB; AN  1994-298780  XP002472351  &amp; JP 06 225740 A (TAIYO KAGAKU KK)  16 August 1994 (1994-08-16)  abstract</p> <p>-----</p>	1,2,4,5, 14
X	<p>DATABASE WPI Week 199927  Thomson Scientific, London, GB; AN  1999-321014  XP002472352  &amp; JP 11 113780 A (ASAHI KASEI KOGYO KK)  27 April 1999 (1999-04-27)  abstract</p> <p>-----</p>	1,12,14
X	<p>DATABASE WPI Week 200141  Thomson Scientific, London, GB; AN  2001-384674  XP002472353  &amp; JP 2001 112411 A (OKUNO PHARM IND KK)  24 April 2001 (2001-04-24)  abstract</p> <p>-----</p>	1-5, 11-13
		-/-

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2008/062342

## C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE WPI Week 200012 Thomson Scientific, London, GB; AN 2000-128938 XP002472354 &amp; JP 11 228308 A (MIYAO K) 24 August 1999 (1999-08-24) abstract</p> <p>-----</p>	1-3,12
X	<p>DATABASE WPI Week 200232 Thomson Scientific, London, GB; AN 2002-274742 XP002472355 &amp; JP 2001 348595 A (KAO CORP) 18 December 2001 (2001-12-18) abstract</p> <p>-----</p>	1-4,8, 10-13
A	<p>SHIMA S ET AL: "ANTIMICROBIAL ACTION OF EPSILON-POLY-L-LYSINE" JOURNAL OF ANTIBIOTICS, JAPAN ANTIBIOTICS RESEARCH ASSOCIATION, TOKYO, JP, vol. 37, no. 11, 1984, pages 1449-1455, XP009079625 ISSN: 0021-8820 cited in the application the whole document</p> <p>-----</p>	1-14

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No  
PCT/EP2008/062342

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 2000270821 A	03-10-2000	TW 568753 B	01-01-2004
JP 11113779 A	27-04-1999	NONE	
JP 6225740 A	16-08-1994	NONE	
JP 11113780 A	27-04-1999	NONE	
JP 2001112411 A	24-04-2001	NONE	
JP 11228308 A	24-08-1999	NONE	
JP 2001348595 A	18-12-2001	NONE	

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 0 9 D 7/12 (2006.01)	C 0 9 D 177/10	
C 1 1 D 3/48 (2006.01)	C 0 9 D 7/12	
A 0 1 N 61/00 (2006.01)	C 1 1 D 3/48	
A 0 1 P 3/00 (2006.01)	A 0 1 N 61/00	D
A 0 1 N 25/02 (2006.01)	A 0 1 P 3/00	
	A 0 1 N 25/02	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

F ターム(参考) 2B150 DA55 DC23  
 4B021 LW04 LW06 MC01 MK16 MP01  
 4H003 EB09 EB12 FA34  
 4H011 AA02 BA05 BA06 BB06 BB19 BC03 BC06 BC17 DA14 DC05  
 DD07 DH15  
 4J038 BA222 DH031 JA21 JA35 JA43 JA56 JA57 JC24 JC38 KA09  
 MA08 NA02 PA18 PB01 PB02