

試験結果報告書

株式会社SBM plus 様

ウイルスを用いた抗ウイルス性能評価試験

地方独立行政法人

神奈川県立産業技術総合研究所 溝の口支所

〒213-0012

神奈川県川崎市高津区坂戸三丁目2番1号 KSP西棟6階



試験所：

地方独立行政法人

神奈川県立産業技術総合研究所 殿町支所

研究開発部 実用化実証事業 光触媒グループ

抗菌・抗ウイルス研究グループ 抗菌試験室

〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町三丁目25番13号

承認署名者

研究員

石黒 斉



※本報告書の全部又は一部の無断転載・転用は固くお断りします。また、当該報告書を基に広告、カタログやインターネット等に、当財団の名義を使用する事を希望する場合には、使用内容ごとに書面にて事前に相談してください。

※本報告書に記載の試験結果は、提供された試料に対するものであり、ロット全体の性能を代表するものではありません。

※公印のない報告書は正式なものではありません。

試験結果

- ・試験名： ウイルスを用いた抗ウイルス性能評価試験
- ・ウイルス接種日： 平成30年1月17日
- ・試験品の種類： 液体
- ・試験方法： 別紙2を参考
- ・無加工品名： PBS(コントロール)
- ・試験品名： XXXXXXXXXX ECO PURE
- ・n数： n = 1
- ・試験ウイルス： Influenza A virus (H1N1) A/PR/8/34株
(A型インフルエンザウイルス、ATCC VR-1469)
宿主細胞：MDCK細胞 (ATCC CCL-34)
- ・予備照射条件： 無し
- ・試験品の無菌化： 無し
- ・光源の種類： 白色蛍光灯 FL20SSW/18
- ・照射条件： 照度 500lx
照射時間 4時間
シャープカットフィルター：Type B (N169、380nm以下の波長をカット)
- ・照度計： 株式会社トプコン IM-600M
- ・保湿用ガラス： 硼珪酸ガラス
- ・ウイルス感染価の測定方法：Viral ToxGlo Assay™ キット (プロメガ社)を用いたTCID₅₀測定法

[試験の結果]

試験結果

インフルエンザ ウイルス	4時間 500 lx
	ウイルス濃度 (TCID ₅₀ /ml)*
PBS	1.7E+05 (B _{B-500})
ecolala CLEAN ECO PURE	2.2E+03 (C _{B-500})

* "E+05"とは" $\times 10^5$ "を表す。

・ V_{B-500}:抗ウイルス活性値 (明所) = 1.9

[V_L=Log (B_{F-L})-Log (C_{F-L})]

B:無加工品、C:加工品

F: シャープカットフィルターの種類

L:可視光照度

・試験開始時のウイルス濃度：7.8E+05 TCID₅₀/ml

・検出限界：2.0E+03 TCID₅₀/ml

(サンプルの細胞毒性を考慮して設定した)

・サンプルとウイルス液を5ml:0.15mlの割合で混合し、φ6cmのシャーレに入れ、光照射を行った。この混合液1ml当たりのウイルス濃度を結果として示している。

抗ウイルス性能評価試験の方法* (インフルエンザウイルス)

*本試験法は、ISO18184、JIS R 1706、JIS R 1756を参考に当試験室で作成したものです。

①ウイルスの調製 (図1)

インフルエンザウイルス (*Influenza A virus (H1N1)* A/PR/8/34株)を宿主細胞であるMDCK (Madin-Darby canine kidney cell) 細胞に感染させます(a)。培養後、90%以上の細胞変性効果 (cytopathic effect : CPE) が見られた時点で、培養上清を回収(b)し、フィルター及び遠心分離により精製したものを、保存ウイルス液とします。

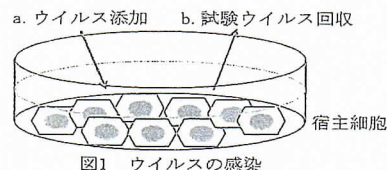


図1 ウイルスの感染

②毒性試験

試験中及び回収作業中に、試験サンプルに含まれる成分も同時に溶出されますので、それが宿主細胞を障害もしくは感染を阻害するおそれがあります。もし、このような細胞毒性があるサンプルの場合、正確に抗ウイルス活性を評価することができません。そのため、本試験の前に、試験サンプル自体の毒性を確認するために、毒性試験を推奨しています。

毒性がない場合は、本試験を行います。一方、毒性が認められる場合は、毒性の強さを考慮し、本試験の可否を判断します。

③試験方法 (図2, 3)

①の保存ウイルス液をりん酸緩衝液 (PBS) で、適当な濃度に希釈し (10倍以上)、これを試験ウイルス液とします。この試験ウイルス液150 μ l (必要に応じて、75~400 μ lまで変更可) を無加工品及び加工品に滴下し、密着フィルムを載せます (図2)。これらを、保湿環境下25℃ $\pm$ 3℃で、仕様書の通り暗所静置及び光照射を行います (紫外光もしくは可視光、必要に応じてシャープカットフィルター使用、図3)。照射時間は、4時間を標準としています。所定時間静置後、試験ウイルス液を5mlのPBSにより回収します。0時間とは、ウイルスを接種後すぐに回収することを意味しています。

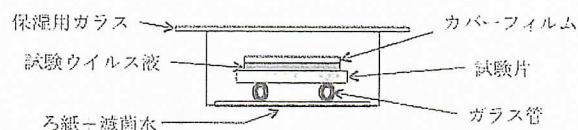


図2 試験サンプルの構成

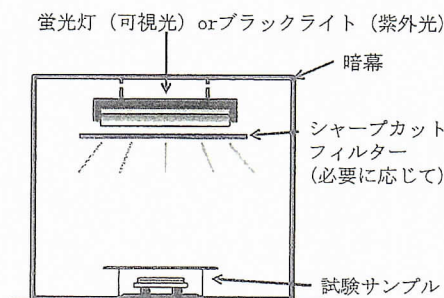


図3 光照射装置

④ウイルスの定量 (図4)

③で回収したウイルス液をPBSを用いて10倍の希釈系列を作成し、予め96穴プレートに培養しておいた感染価測定用のMDCK細胞に、50 μ lのウイルス希釈液を加えます。34℃、5%CO₂条件下で4~5日間培養を行います。培養後、Viral ToxGlo Assay™ キット (プロメガ社)を用いた発光法により、それぞれのTCID₅₀ (50% Tissue Culture Infectious Dose : 宿主細胞のうち半分がウイルスに感染した時のウイルスの濃度) を測定します。

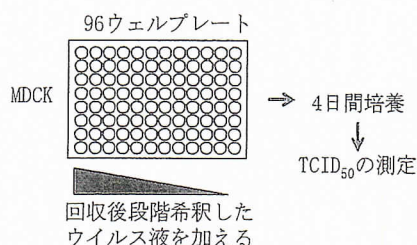


図4 ウイルスの定量

⑤抗ウイルス活性値の計算 (図5)

各水準で得られたTCID₅₀の値から下記の式により、抗ウイルス活性値 (V) を求めます。

明所でのウイルス活性値 (V_L) = $\log(B_L) - \log(C_L)$

暗所でのウイルス活性値 (V_D) = $\log(B_D) - \log(C_D)$

光照射による効果 (ΔV) = $V_L - V_D$

A : 0時間については、試験サンプルに吸着せず回収できているかの確認となります。

試験結果 (TCID₅₀/sample)

	0時間	Δ 時間	
		暗所	明所
無加工品	A	B _D	B _L
加工品		C _D	C _L

図5 典型的な試験結果の例 (n=1の場合)

試験結果報告書

株式会社SBM plus 様

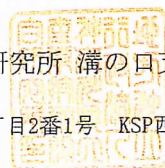
細菌を用いた抗菌性能評価試験

地方独立行政法人

神奈川県立産業技術総合研究所 溝の口支所

〒213-0012

神奈川県川崎市高津区坂戸三丁目2番1号 KSP西棟6階



試験所：

地方独立行政法人

神奈川県立産業技術総合研究所 殿町支所

研究開発部 実用化実証事業 光触媒グループ

抗菌・抗ウイルス研究グループ 抗菌試験室

〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町三丁目25番13号

承認署名者

研究員

石黒 斉



*本報告書の全部又は一部の無断転載・転用は固くお断りします。また、当該報告書を基に広告、カタログやインターネット等に、当財団の名義を使用する事を希望する場合には、使用内容ごとに書面にて事前に相談してください。

*本報告書に記載の試験結果は、提供された試料に対するものであり、ロット全体の性能を代表するものではありません。

*公印のない報告書は正式なものではありません。

試 験 結 果

- ・試験名：細菌を用いた抗菌性能評価試験
- ・試験開始日：平成29年11月22日
- ・試験品の種類：液体
- ・試験規格：JIS R 1752：2013（可視光応答型光触媒、抗菌）を参考
EN 1040:2005 欧州試験法（消毒薬）を参考
- ・無加工品名：PBS(コントロール)
- ・試験品名：ecolala CLEAN/ECO PURE
- ・n数：n = 1
- ・試験菌：大腸菌（NBRC3972）
- ・予備照射条件：無し
- ・試験品の無菌化：無し
- ・光源の種類：白色蛍光灯 FL20SSW/18
- ・照射条件：可視光 500 lx
照射時間 0, 30, 60, 240 min
シャープカットフィルター：Type B（N169、380nm以下の波長をカット）
- ・照度計：株式会社トプコン IM-600M
- ・保湿用ガラス：硼珪酸ガラス

[試験の結果]

試験成立条件の判定： JIS規格を参考としているため適用外

測定結果

大腸菌	生菌数 (cfu/test mixture ml) *1				R _{B-500} : 抗菌活性値 (明所) *2		
	0 min	500 lx			500 lx		
		30 min	60 min	240 min	30 min	60 min	240 min
PBS (Control)	1.7E+07	1.5E+07	1.4E+07	9.7E+06	-	-	-
ecolala CLEAN/ ECO PURE/ Keep Clean Powder	-	<1.0E+01	1.0E+01	<1.0E+01	6.1	6.1	5.9

*1 “E+07”とは“ $\times 10^7$ ”を表す。

*2 JIS規格を参考としているので、参考値

接種菌液の濃度： 1.6×10^8 cfu/ml（1/500NBに懸濁）

サンプルと菌液と滅菌水を4.0ml:0.5ml:0.5mlの割合で混合し、φ6cmのシャーレに入れ、光照射した。

抗菌活性値 (明所)：[R_{F-I}=Log(U_{F-I})-Log(T_{F-I})]

F:シャープカットフィルターの種類、I:可視光照度

U:無加工品、T:加工品

JIS R 1752:2013 試験結果の計算

ファインセラミックス-可視光応答形光触媒抗菌加工製品の抗菌性試験方法・抗菌効果

R_{F-I} : 照度条件F及びIでの可視光応答形単味光触媒抗菌加工平板状製品又は可視光応答形ハイブリッド光触媒抗菌加工平板状製品の抗菌活性値

F: 試験で用いたシャープカットフィルタの種類 (A又はB)

I: 試験で用いた照度 (lx)

U_S : 可視光応答形単味光触媒抗菌加工又は可視光応答形ハイブリッド光触媒抗菌加工していない試験片 (無加工試験片) の接種直後の3試験片の生菌数の平均値 (個)

U_{F-I} : 可視光応答形単味光触媒抗菌加工又は可視光応答形ハイブリッド光触媒抗菌加工していない試験片 (無加工試験片) を照度条件F-Iで8時間光照射した後の3試験片の生菌数の平均値 (個)

T_{F-I} : 可視光応答形単味光触媒抗菌加工又は可視光応答形ハイブリッド光触媒抗菌加工した試験片を照度条件F-Iで8時間光照射した後の3試験片の生菌数の平均値 (個)

ΔR : 可視光応答形単味光触媒抗菌加工平板状製品又は可視光応答形ハイブリッド光触媒抗菌加工平板状製品の光照射による効果

U_D : 可視光応答形単味光触媒抗菌加工又は可視光応答形ハイブリッド光触媒抗菌加工していない試験片 (無加工試験片) を8時間暗所に保存した後の3試験片の生菌数の平均値 (個)

T_D : 可視光応答形単味光触媒抗菌加工又は可視光応答形ハイブリッド光触媒抗菌加工した試験片を8時間暗所に保存した後の3試験片の生菌数の平均値 (個)

$$R_{F-I} = \log[U_{F-I}/U_S] - \log[T_{F-I}/U_S] = \log[U_{F-I}/T_{F-I}]$$

$$\Delta R = \log[U_{F-I}/T_{F-I}] - [\log(U_D/U_S) - \log(T_D/U_S)] = \log[U_{F-I}/T_{F-I}] - \log[U_D/T_D]$$

依頼者 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
株式会社 S B M p l u s

検体名 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
エコピュア (ECOPURE)

一般財団法人

日本食品分析センター

東京都渋谷区元代々木四62番1号



2017年(平成29年)10月20日 当センターに提出された上記検体について分析試験した結果は次のとおりです。

分析試験結果

分 析 試 験 項 目	結 果	定量下限	注	方 法
食添許可合成カル系色素	検出せず			薄層クロマトグラフ法
食添許可外合成カル系色素	検出せず			薄層クロマトグラフ法
タノール	検出せず	20 ppm		カスクロマトグラフ法
ヒ素(Asとして)	検出せず	0.1 ppm		原子吸光光度法
重金属(Pbとして)	検出せず	5 ppm		硫化ナトリウム比色法
鉛	検出せず	0.05 ppm		原子吸光光度法
カドミウム	検出せず	0.01 ppm		原子吸光光度法
総水銀	検出せず	0.01 ppm		還元気化原子吸光光度法

以 上

2017 年(平成 29 年)11 月 23 日

試験報告書 副

依頼者

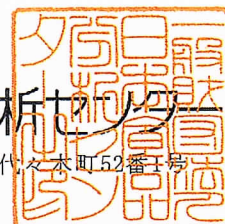
[Redacted]

株式会社 SBMplus

一般財団法人

日本食品分析センター

東京都渋谷区元代々木町52番1号



検 体

[Redacted]

エコピュア (ECOPURE)

表 題

雌マウスを用いる急性経口毒性試験

2017 年(平成 29 年)10 月 05 日当センターに提出された上記検体について試験した結果をご報告いたします。

雌マウスを用いる急性経口毒性試験

要 約

検体について、雌マウスを用いる急性経口毒性試験(限度試験)を行った。

5000 mg/kgの用量の検体を雌マウスに単回経口投与し、14日間観察を行った。その結果、観察期間中に死亡例は認められなかった。

以上のことから、マウスを用いる単回経口投与において、検体のLD50値は、雌では5000 mg/kgを超えるものと評価された。

1 依頼者

グローバル・エコロジー株式会社
株式会社 S B M p l u s

2 検 体

エコラクラリーン(ecolala CLEAN)
エコピュア (ECOPURE)

3 試験実施施設

一般財団法人日本食品分析センター 多摩研究所
東京都多摩市永山6丁目11番10号

4 試験期間

2017年10月05日～2017年11月23日

5 試験目的

検体について、OECD Guideline for Testing of Chemicals 420(2001)に準拠し、雌マウスにおける急性経口毒性を調べる。

6 試験液の調製

検体を注射用水で希釈し、250 mg/mLの試験液を調製した。

7 試験動物

5週齢のICR系雌マウスを日本エスエルシー株式会社から購入し、約1週間の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、試験に使用した。試験動物はポリカーボネート製ケージに各5匹収容し、室温23℃±3℃、照明時間12時間/日とした飼育室において飼育した。飼料[マウス、ラット用固型飼料；ラボMRストック、日本農産工業株式会社]及び飲料水(水道水)は自由摂取させた。

8 試験方法

検体投与用量として5000 mg/kgを投与する試験群及び溶媒対照として注射用水を投与する対照群を設定し、各群につきそれぞれ5匹を用いた。

投与前に約4時間試験動物を絶食させた。体重を測定した後、試験群には試験液、対照群には注射用水をそれぞれ20 mL/kgの投与容量で胃ゾンデを用いて強制単回経口投与した。

観察期間は14日間とし、投与日は頻回、翌日から1日1回の観察を行った。投与後7及び14日に体重を測定し、Leveneの検定を行った。分散に差が認められなかったため、Studentのt-検定により群間の比較を行った。有意水準は5 %とした。観察期間終了時に動物すべてを剖検した。

9 試験結果

1) 死亡例

いずれの投与群においても、観察期間中に死亡例は認められなかった。

2) 一般状態

いずれの投与群においても、観察期間中に異常は見られなかった。

3) 体重変化(表-1)

投与後14日の体重測定において、試験群の1例で体重減少が認められた。また、投与後7日の体重測定において、試験群は対照群と比べ体重値に差は見られなかったが、14日の体重測定においては試験群の体重値が対照群より有意に低かった($p < 0.05$)。

4) 剖検所見

観察期間終了時の剖検では、すべての試験動物に異常は見られなかった。

10 結 論

検体について、雌マウスを用いる急性経口毒性試験(限度試験)を実施した。

その結果、観察期間中に死亡例は認められなかった。

以上のことから、マウスを用いる単回経口投与において、検体のLD50値は、雌では5000 mg/kgを超えるものと評価された。

表-1 体重変化

投与群	投与前	投与後(日)	
		7	14
試験群	28.4±1.1 (5)	30.3±1.8 (5)	31.0±1.7* (5)
対照群	28.5±1.2 (5)	31.7±1.2 (5)	34.0±0.7 (5)

体重は平均値±標準偏差で表した(単位：g)。

括弧内に動物数を示した。

* 対照群との間に有意差あり (p<0.05)。

以 上