

Press Release

報道関係者各位

2020年12月15日
株式会社資源開発研究所

オゾン配合の新成分の除菌水の新型コロナウイルスの不活性化を確認 ～資源開発研究所の依頼で宮崎大学が新成分「オゾラル」による殺菌試験実施～

マイクロバブルを活用した技術開発を行なう株式会社資源開発研究所(横浜市:代表取締役社長 高橋 常二郎)は宮崎大学(宮崎県宮崎市)に、新型コロナウイルスの不活性化試験を依頼した結果、新成分「オゾラル」配合の除菌消臭水が新型コロナウイルスの不活性化することを確認しました。資源開発研究所が開発した新成分「オゾラル」は、オゾンマイクロバブルと海洋深層水ミネラルを原料とした特許製法(第 6783141 号等)により作られた、新しい除菌消臭水です。

精製水で希釈したオゾラルで試験を行なったところ、不活性化が確認されました。また、量産が容易なオゾラルは、今回の結果を受け、新型コロナウイルスの最も簡易かつ有効な対策手段の一つとしての製品化に道が開けたこととなります。

■検証に至った背景

いわゆるコロナ禍において、除菌に注目が集まっています。以前より、資源開発研究所は、オゾラルについての研究をしてきました。オゾラルには、大腸菌やサルモネラ菌などやウイルスの不活性化に加え、8ヶ月もの持続効果があることが確認されていました。このような背景から、オゾラルは、新型コロナウイルス に対しても同様の結果を見込める可能性があると考え、新型コロナウイルスの不活性化の検証に踏み切りました。

■新型コロナウイルスに対する有効性評価

【評価ウイルス】

・新型コロナウイルス(SARS-CoV-2 ウイルス)

【試験品】

・オゾラル 20・50・100倍希釈

【試験方法】

1) ウイルス液の調整

-80℃で保存したウイルス液を解凍後、25℃の滅菌リン酸緩衝液(PBS)で10倍希釈した(ウイルス力価は 1.0×10^5 plaque-forming units (PFU)/ml)。

2) オゾラルの調整

オゾラル(原液)を25℃の滅菌蒸留水(超純水)で20倍、50倍および100倍希釈したものを使用。

3) 培養細胞の調整

不活化試験の24時間前に、12ウェルマイクロプレートの各ウェル内にVero細胞浮遊液を500μlずつ接種し、炭酸ガスインキュベーター内で培養し、細胞シートを作製。

4) ウイルス不活化試験

ウイルス液30μlと希釈したオゾナル270μlをマイクロチューブ内で混合し(ウイルス液は10倍希釈)、室温で30秒間静置した後、オゾナルの活性を停止させるため、有機物である2%牛胎児血清を添加したEMEM培地900μlを添加しました(この時点でウイルス液は40倍希釈)。対照として、ウイルス液30μlと蒸留水270μl、ウイルス液30μlとオゾンの代わりに酸素を海洋深層水ニガリ液にマイクロバブルで注入したもの(酸素MB・ニガリ水)270μl(20倍希釈で使用)の混合液を用いています。対照も混合液を作製して30秒後に2%牛胎児血清を添加したEMEM培地900μlを添加しました。それぞれVero細胞シートの各ウェル内の培養液を吸引除去した後、プラーク数を数えられるようウイルス混合液(40倍)をさらに10倍(400倍)、100倍希釈(4000倍)し、各試験液を500μl接種しました。続いて、プラークを形成させるため、1.5%カルボキシメチルセルロースおよび3%牛胎児血清を添加したEMEM液を重層し、炭酸ガスインキュベーター内で3日間培養した。プラークの検出は、培養液と重層液を除去後、10%ホルマリン液でVero細胞を固定し、0.2%クリスタルバイオレット液で染色して、プラーク数を計測しました。1試験液につき3回試験を行いました。

オゾナルの新型コロナウイルスに対する不活化効果は、ウイルス液と蒸留水を混合したものをVero細胞に接種した際に認められたプラーク数の平均値を100%として、被検液を用いた際の平均プラーク数の減少率で評価しました。

【試験結果】

図1 プラークアッセイ法による新型コロナウイルス不活化試験 ※縦軸は、ウイルス液の希釈倍数を示す

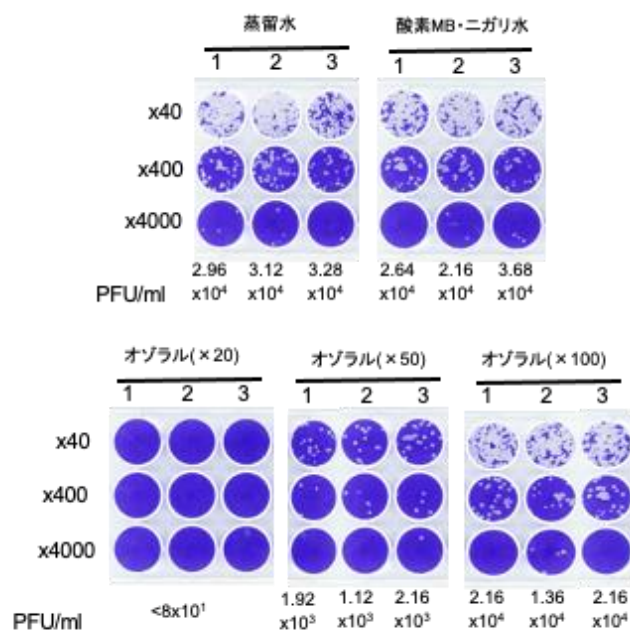


表1 オゾナルの新型コロナウイルス不活化効果

	プラーク数 (log ₁₀ PFU/ml)				
	蒸留水	酸素 MB・ニ ガリ水 (20 倍希釈)	オゾラル (20 倍希釈)	オゾラル (50 倍希釈)	オゾラル (100 倍希釈)
1 回目	4.47	4.42	<1.9*	3.28	4.33
2 回目	4.49	4.33	<1.9*	3.05	4.13
3 回目	4.52	4.57	<1.9*	3.33	4.33
平均値	4.49	4.44	<1.9*	3.22	4.27
減少率	0%	9.40%	100%(検出限 界値以下)	94.45%	39.32%

*検出限界値 = 80 (1.9 log₁₀)PFU/ml

図1に、実際に不活化試験を行ったマイクロプレートを固定後、クリスタルバイオレットで染色したものを示した。新型コロナウイルスが Vero 細胞に感染して増殖したものは、1.5% カルボキシメチルセルロースおよび 3%牛胎児血清を添加した EMEM 液を重層することで、白く抜けたプラークとして観察された。

表1および図2に新型コロナウイルスに対する不活化試験の結果を示した。約 10⁴ PFU/ml の新型コロナウイルスとオゾラル 20 倍希釈液を 30 秒間混合すると、新型コロナウイルスは検出限界値(80 PFU/ml) 以下となり、ウイルス不活化効果が確認された。また、オゾラル 50 倍希釈液では約 95%の不活化効果が、100 倍希釈では約 40%の不活化効果が認められた。一方、ウイルス液と酸素 MB・ニガリ水を混合したものでは、蒸留水と混合したものと同程度のプラーク形成が認められ、ウイルス不活化効果は認められなかった。さらに、オゾラル自体の Vero 細胞に対する細胞毒性は認められなかった。

今回供試したウイルス保存原液には 5%牛胎児血清が含まれており、10 倍希釈したウイルス液 30 μl とオゾラル 270 μl と混合した際に 0.05%の血清が含まれていた。血清のような有機物はオゾラルの殺菌活性を阻害することが確認されており、今回の試験でのウイルス不活化効果に影響を与えた可能性も考えられた。

■今後について

今回の結果から、コロナ禍の対策手段として、オゾラルを実用化、量産化を近日中に目指します。

■オゾラル

「OZORAL / オゾラル」は、特許製法により、とオゾンマイクロバブルと海洋深層水ミネラルの過酸化物を精製水で希釈した殺菌水です。人体に無害でかつ広域な殺菌スペクトルを有しています。中性 pH7-8 と 水と同等の能力を持ちます。通常オゾンは、自己分解作用・有機物の接触等により、極めて短寿命で保存性に向かないことが知られていました。しかし、資源開発研究所独自のオゾンマイクロバブル技術(特許製法)により、常温での長期保存に成功、その画期的な技術を用いて生まれたのが、オゾラルです。

■株式会社資源開発研究所概要

半導体・精密機器洗浄装置、オゾンマイクロバブル水などの研究開発を大学などの協力を得て行っております。上記技術に関連する国内外の特許を複数保有しております。

株式会社資源開発研究所 ウェブサイト:[http:// shigenkk.com](http://shigenkk.com)

■報道関係者からのお問い合わせ先

株式会社資源開発研究所

広報担当：藤田

press@t-i-c-jp.com