

チタニストラボラトリーズ株式会社 殿

試験報告書

光触媒加工品における抗ウイルス性試験

(JIS R 1706 参考)

北環発 2022_0483 号

2023 年 3 月 1 日

神奈川県相模原市南区北里 1 丁目 15 番 1 号
一般財団法人北里環境科学センター
理事長 山田 陽城



試験内容を公表する際は、結果の表記等について専門的な立場から確認させていただいております。なお、確認目的と申込様式は、ホームページに掲載しております。

(https://www.kitasato-e.or.jp/?page_id=87)

1. 表題

光触媒加工品における抗ウイルス性試験 (JIS R 1706 参考)

2. 報告書番号

北環発 2022_0483 号

3. 目的

「JIS R 1706:2020 ファインセラミックス-光触媒材料の抗ウイルス性試験方法 -バクテリオファージ Q6 を用いる方法」を参考に、試験品の抗ウイルス性能を評価することを目的とした。なお、試験ウイルスとして、ネコカリシウイルスを用いた。

4. 依頼者

チタニストラボラトリーズ株式会社

〒101-0047 東京都千代田区内神田 1-14-8 KANDA SQUARE GATE 3F

5. 試験機関

一般財団法人北里環境科学センター 微生物部ウイルス課

〒252-0329 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1

6. 試験期間

1) 試験ウイルス培養期間 (試験日 ~ 最終判定日)

2023年1月17日~2023年1月23日

2) 試験日

2023年1月17日

7. 試験品

1) 加工試験品 1 種

TITANIST (タイル、45 × 45 mm)

2) 無加工試験品 1 種

無加工タイル (対照、45 × 45 mm)

3) 受領日

2023年1月12日

8. 試験条件

1) 試験ウイルス

ネコカリシウイルス (Feline calicivirus, F-9, ATCC VR-782)

2) 感染価測定用細胞

ネコ腎臓由来細胞株 (CRFK: Crandell Rees Feline Kidney)

細胞株は、5% FBS 加 DMEM で継代培養を行った。

3) 照射条件

(1) 照度: 0.20 mW/cm²

(2) 作用時間: 8 時間

4) 評価面積

1,600 mm²

9. 試験方法

「JIR 1706:2020 ファインセラミックス-光触媒材料の抗ウイルス性試験方法 -バクテリオファージQ8を用いる方法」を参考に実施した。詳細を以下に示した。

1) 試験品の前処理

試験品は、ブラックライトを約 1 mW/cm² で約 24 時間照射して有機物を除去した。その後、試験品評価面より約 30 cm の距離から、UV ランプ (AIRTECH、A15436) を 30 分間照射して清浄化し、試験に用いた。

2) 試験ウイルス液の調製

ウイルスを CRFK 細胞に感染させた後、CO₂ インキュベータで培養し、細胞培養面積の約 90% 以上が細胞変性効果 (CPE: cytopathic effect) を示したとき -30℃ の冷凍庫に凍結保存した。その後、凍結融解操作を行い、3,000 × g で 10 分間遠心した上澄みを採取し、ポリエチレングリコール沈殿法で濃縮したウイルスを保存ウイルス液とし、-80℃ で保存した。試験には、PBS で 100 倍に希釈したウイルス液を用いた。

3) ウイルス液の接種

保湿されたシャーレ内に試験品を設置し、ウイルス液 0.15 mL を滴下した後、40 × 40 mm のポリプロピレン製フィルムを載せた。シャーレに 100 × 100 mm の保湿ガラスを載せ、試験品表面での照度が 0.20 mW/cm² となるよう調整した暗幕内にシャーレを設置した。暗幕内の温度は 25 ± 3℃ となるように調整し、照射時間は 8 時間とした。暗所条件は遮光した容器にシャーレを入れ、25℃ に設定した恒温槽で所定の時間静置した。試験品の設置および光照射試験の様子を図 1 に示した。

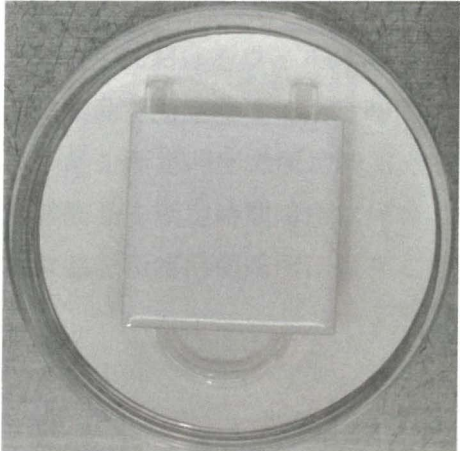
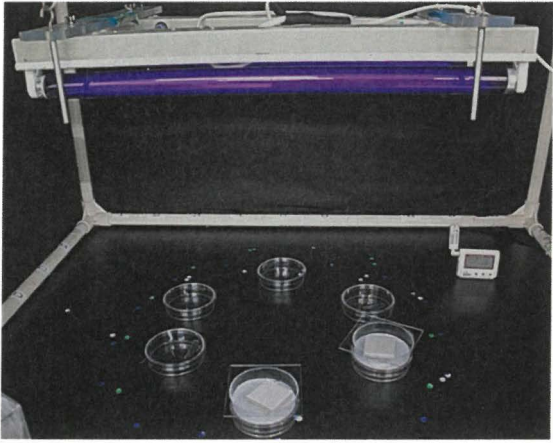
照度 (mW/cm ²)	試験品の設置	光照射試験
0.20		

図1 試験品の設置および光照射試験の様子

4) ウイルスの回収

所定の時間後の試験品評価面に、SCDLP 10 mL をかけ流し、試験品と密着フィルムから試験ウイルスを洗い出した。この液をウイルス感染価測定用の試料原液として用いた。

5) TCID₅₀法による感染価の測定

ウイルス感染価測定用の CRFK 細胞をあらかじめ 96 ウエルプレートに播種して CO₂ インキュベータで 4 日間培養した。ウイルスを接種する前に、培養上清を除き新しい培地に交換した。次いで、ウイルス感染価測定用試料の原液を PBS で 10 倍段階希釈した。培養液を除いたウエルに、感染価測定用試料の原液または PBS で 10 倍段階希釈した試料 25 μ L を接種し、37°C で 1 時間、ウイルスを細胞に感染させた。1 時間後、接種したウイルス液を除去し、DME を各ウエルあたり 0.1 mL 加え、CO₂ インキュベータで 4 日間培養した。培養後、ウイルスの増殖により生じた CPE を顕微鏡で観察し、Reed-Muench 法によりウイルス感染価 (TCID₅₀) を求め、洗い出し液量 (10 mL) から試験品当たりのウイルス感染価 (TCID₅₀/試験品) に換算して記載した (検出限界値: 1.3×10^2 TCID₅₀/試験品)。

6) 試験品の抗ウイルス活性値

求めたウイルス感染価から、無加工試験品を対照として、抗ウイルス活性値 ($V_{0.20}$)、光照射による効果 (ΔV) および暗所における効果 (V_D) は、試験結果を基に以下の計算式により求めた。抗ウイルス活性値は小数点以下 2 桁目を四捨五入し、小数点以下 1 桁で表示した。

抗ウイルス活性値; $V_{0.20}$	$V_{0.20} = [\log(B_{0.20}/A) \cdot \log(C_{0.20}/A)] = \log[B_{0.20}/C_{0.20}]$
光照射による効果; ΔV	$\Delta V = \log[B_{0.20}/C_{0.20}] - [\log(B_D/A) \cdot \log(C_D/A)] = \log[B_{0.20}/C_{0.20}] - \log[B_D/C_D]$
暗所における 抗ウイルス活性値; V_D	$V_D = \log[B_D/C_D]$

- A : 無加工試験品におけるウイルス液接種直後のウイルス感染価
 $B_{0.20}$: 無加工試験品を所定照度で所定時間光照射した後のウイルス感染価
 $C_{0.20}$: 加工試験品を所定照度で所定時間光照射した後のウイルス感染価
 B_D : 無加工試験品を所定時間暗所に保存した後のウイルス感染価
 C_D : 加工試験品を所定時間暗所に保存した後のウイルス感染価

10. 試験結果

試験の結果を表 1 に示し、試験条件の詳細を表 2 に示した。

初期感染価は、 1.5×10^7 TCID₅₀/試験品であった。TITANIST を作用して 8 時間後の抗ウイルス活性値 ($V_{0.20}$) は > 2.7 、光照射による抗ウイルス活性値 (ΔV) は > 2.2 、暗所における効果 (V_D) は 0.4 であった。

11. コメント

光触媒工業会では光触媒製品認証で必要とされる性能の判定基準¹⁾として、製品の使用状況に応じて照度 0.001 ~ 0.25 mW/cm² で 2~4 時間照射した際の抗ウイルス活性値 (V_L) が > 2.0 、光照射による抗ウイルス活性値 (ΔV) が > 0.3 の値が規定されている。

本試験では、照度 0.20 mW/cm² で 8 時間照射した際の TITANIST によるネコカリシウイルスに対する抗ウイルス活性値は > 2.7 、光照射による抗ウイルス活性値は > 2.2 、抗ウイルス活性値 (ΔV) は 0.4 であった。本試験は、規格に規定されているウイルスと異なるため、また照射時間は 8 時間であることからあくまで抗ウイルス性能の有無は参考となるが、抗ウイルス性能があると考えられた。

12. 引用資料

- 1) 光触媒製品性能判定基準

https://www.piaj.gr.jp/~/media/0101/01010101/performance_criteria/

accessed February 13, 2023.

以上

表 1 TITANIST のネコカリシウイルスに対する抗ウイルス性能

試験条件	試験品	感染価		抗ウイルス 活性値 $V_{0.20}$	光照射による 抗ウイルス 活性値 ΔR	暗所における 抗ウイルス 活性値 V_D
		0 時間 (初期)	8 時間			
ブラックライト (BLB 20W) 2本 0.2 mW/cm ²	無加工 タイル	1.5×10^7 _A	5.9×10^4 _{B_{0.2}}	—	—	—
	TITANIST	—	$< 1.3 \times 10^2$ _{C_{0.2}}	> 2.7	> 2.2	—
暗所	無加工 タイル	—	2.1×10^6 _{B_D}	—	—	—
	TITANIST	—	7.7×10^5 _{C_D}	—	—	0.4

試験ウイルス: ネコカリシウイルス (Feline calicivirus, F-9, ATCC VR-782)

感染価単位: TCID₅₀/試験品

検出限界値: 1.3×10^2 TCID₅₀/試験品

表2 試験条件詳細

項目 No.	試験条件	記録および結果
1	光触媒加工した試験品の種類	TITANIST (試験品の大きさ: 45 × 45 mm)
2	光触媒無加工品の種類	無加工タイル (試験品の大きさ: 45 × 45 mm)
3	光源の種類	ブラックライト、2本点灯 (SANKYO DENKI、FL20SBLB 20W)
4	予備照射条件	BLB 1.0 mW/cm ² で 24時間予備照射
5	照度計	紫外線強度計 (MINOLTA、本体: UM-10、受光部: UM-360)
6	密着フィルムの種類	手書き用 OHP フィルム (KOKUYO、VF-10、PP、40 × 40 mm)
7	保湿ガラスの種類	ホウケイ酸ガラス (TEMPAX / SCHOTT、100 × 100 mm)
8	光照射条件	0.20 mW/cm ² 、8時間
9	ウイルス液の接種量	0.15 mL
10	試験に用いたウイルス種	ネコカリシウイルス (Feline calicivirus, F-9, ATCC VR-782)
11	感染価測定用細胞	CRFK細胞
12	接種ウイルス液の感染価 (TCID ₅₀ /mL)	1.1 × 10 ⁸
13	A: 無加工試験品にウイルス液を接種し、直後に洗いだした感染価 (TCID ₅₀ /試験品)	1.5 × 10 ⁷
14	B _{0.20} : 無加工試験品にウイルス液接種後、所定時間光照射した後の感染価 (TCID ₅₀ /試験品)	5.9 × 10 ⁴
15	C _{0.20} : 加工試験品にウイルス液接種後、所定時間光照射した後の感染価 (TCID ₅₀ /試験品)	< 1.3 × 10 ²
16	V _{0.20} : 0.20 mW/cm ² 、所定時間光照射後の加工試験品の抗ウイルス活性値	> 2.7
17	B _D : 無加工試験品にウイルス液接種後、所定時間暗所に静置した後の感染価 (TCID ₅₀ /試験品)	2.1 × 10 ⁶
18	C _D : 加工試験品にウイルス液接種後、所定時間暗所に静置した後の感染価 (TCID ₅₀ /試験品)	7.7 × 10 ⁵
19	ΔV: 加工試験品の光照射による効果	> 2.2
20	V _D : 暗所における効果	0.4