



# 受託研究報告書

炭プラスラボ株式会社 様

還元発酵乳酸菌エキスによる新型コロナウイルスに対する  
不活化効果の評価



2020年12月1日

公立大学法人

奈良県立医科大学医学部

微生物感染症学講座



この度、御社の受託研究における標記の件につきまして、ご報告申し上げます。

## 記

### 1. 研究目的

抗菌ペプチドやポリフェノールを含む還元発酵乳酸菌エキスによって、新型コロナウイルスの不活化効果があるか明らかにすること。

### 2. 試験品

還元発酵乳酸菌エキス

### 3. 試験微生物：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）

新型コロナウイルスを VeroE6/TMPRSS2 細胞に感染させ、細胞変性効果が確認されたものを回収し、-80°Cのフリーザーに凍結保存した。凍結融解を2回繰り返したものを遠心分離し、上清を限外濾過膜で濃縮・精製した。これを試験ウイルス液とし、試験まで-80°Cのフリーザーに凍結保存した。

なお、SARS-CoV-2 は国立感染症研究所より、VeroE6/TMPRSS2 細胞は国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 JCRB 細胞バンクよりそれぞれ入手した。

### 4. 試験内容

- ウイルス 1 に対して試験品 9 の割合で接種し、表 1 の作用時間で静置した。
- 反応温度（室温）は 20～25°C に設定した。
- 反応時間後に BSA 含有 DMEM 培地で希釈し、反応を停止させた。
- 回収液を用いてウイルス感染価をプラーク法にて測定した。

不活化効果は以下のように算出した。

$$\text{不活化効果 (Mv)} = \log(Ct/C_0) - \log(Nt/N_0)$$

$$= \log Ct/Nt$$

Ct: コントロール t 時間後の感染価

C<sub>0</sub>: コントロール 0 時間後の感染価

Nt: 試験品 t 時間後の感染価

N<sub>0</sub>: 試験品 0 時間後の感染価

減少率は対数減少値より次の通り算出した。

$$\text{減少率} = (1 - 1/10^{\text{対数減少値}}) \times 100\%$$

なお全試験は、本学内のバイオセーフティレベル3 (BSL3)の実験施設において、適切な病原体封じ込め措置のもとに行なった。

表 1. 試験品とウイルスの作用時間

試験品	作用時間		
	0分	1分	10分
コントロール (PBS)	○	○	○
還元発酵乳酸菌エキス		○	○

○：測定5ポイント x 実施2回

## 5. 結果

結果を表2～3と図1～2に示した。

新型コロナウイルスに対して、還元発酵乳酸菌エキスは  $8.25 \times 10^6$  PFU/ml から1分後で  $< 1.50 \times 10^3$  PFU/ml (減少率  $> 99.981\%$ ) と検出限界まで感染価が減少した。

表 2. 試験品によるウイルス感染価の推移

	0分	1分	10分
コントロール (PBS)	8.25E+06	7.90E+06	7.50E+06
還元発酵乳酸菌エキス	8.25E+06	$< 1.5E+03$	$< 1.5E+03$

検出限界値： $< 1.50E+03$

表 3. 試験品によるウイルスの不活化効果と減少率

還元発酵乳酸菌エキス	0分	1分	10分
不活化効果 (Mv)	-	3.72	3.70
減少率 (%)	-	$> 99.981\%$	$> 99.980\%$

減少率(%)は小数点第4位以下切り捨て

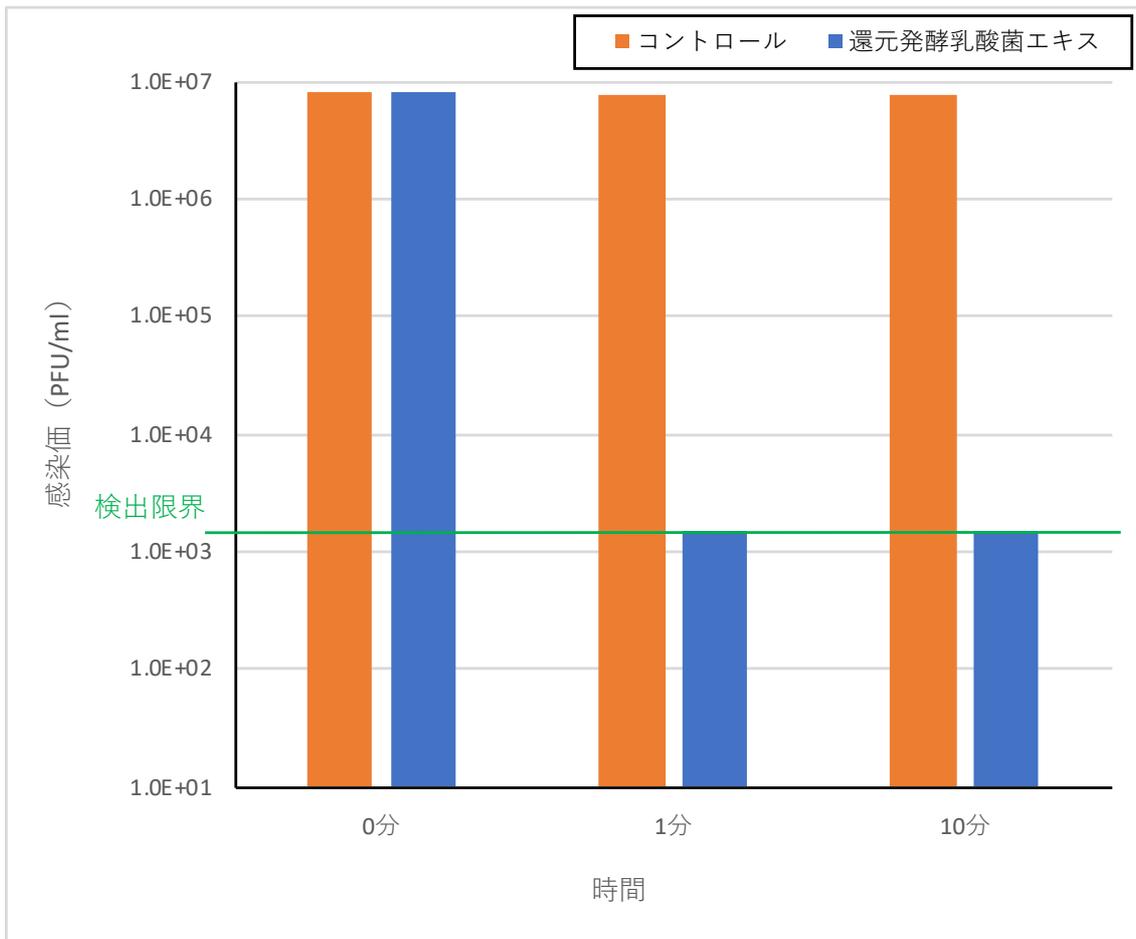


図1. 試験品によるウイルス感染価の推移

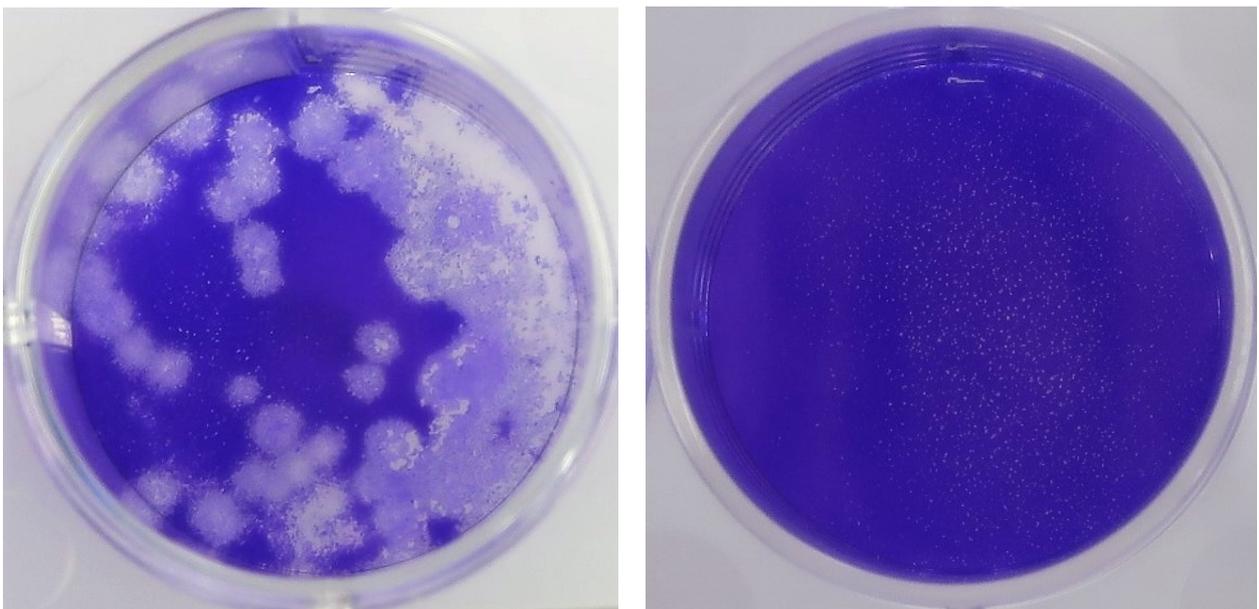


図2. プラーク測定例 (右：コントロール1分後、左：試験品1分後)

## 6. まとめ

本試験で使用した還元発酵乳酸菌エキスは新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) を速やかに不活化することが判明した。なお、浮遊するウイルス、人体への影響については検証を行っていない。

本試験結果は本報告書の通りであることを証明いたします。

公立大学法人  
奈良県立医科大学医学部  
微生物感染症学講座

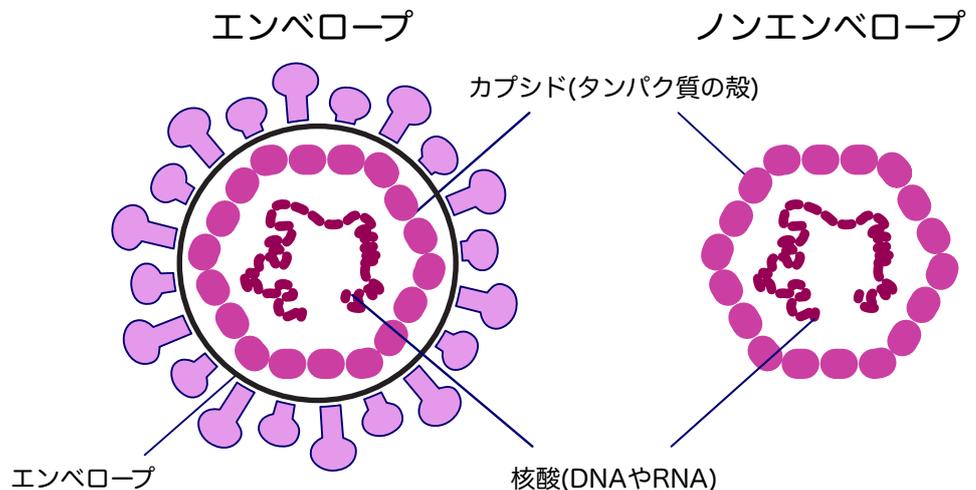




還元発酵乳酸菌™は、乳酸菌発酵エキス・梅エキス・水素・海洋深層水の4つを組み合わせ熟成発酵されて作られました。水素により特殊な製法で発酵させられ、乳酸菌1000億個/g以上（ヨーグルト100個分）が含まれています。善玉菌増殖作用を持つ乳酸菌や乳酸菌発酵エキスに抗菌ペプチドを含有しており、抗糖化・抗酸化作用に加えて、ウィルス不活性化、腸内や口腔内の悪玉菌を消去してくれるという豊かで多彩な能力があります。

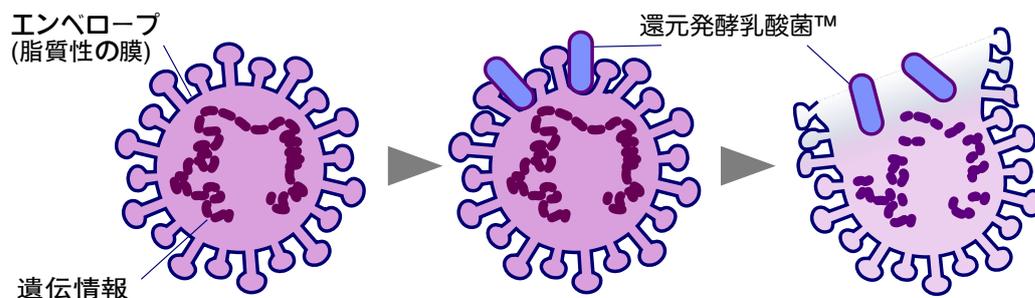
還元発酵乳酸菌™は、エンベロープのあるウィルスとないウィルスの両方に対して検出限界以下（99.999%以上減少）という最大限の結果を出しています。このことからほぼあらゆるウィルスに対して有効と考えられます。

ウィルスは2種類に分けられます。



## 豚コロナウィルス不活性化

近年はやっているコロナウィルス、インフルエンザ、ヒト免疫不全ウィルス（HIVウィルス）などは「エンベロープ」という薄い膜できております。この薄い膜が破られるとウィルスは一瞬で死滅します。



還元発酵乳酸菌エキスは炭プラスラボ株式会社と奈良医大共同研究により新型コロナウイルスを1分で99.9%以上無害化（試験管内）する効果を確認致しました。

# 豚コロナウイルス不活性化（エンベロープ型）

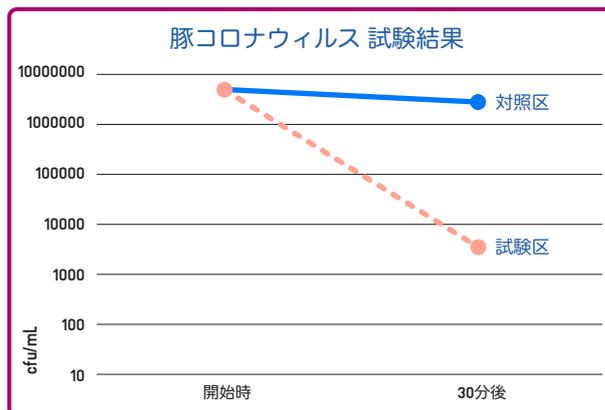
国内で新型コロナウイルスの試験が不可能なため、新型コロナウイルスに構造が最も類似している豚コロナウイルスを使用しましたが、その構造上の酷似性のため試験結果の大差はないと言われています。

豚コロナウイルス 試験結果

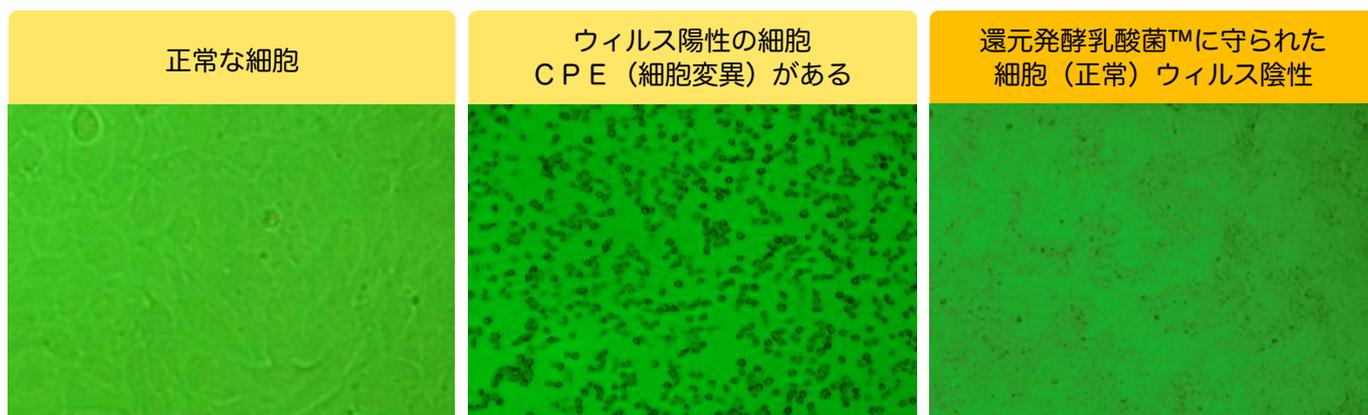
時間(分)	対照区	試験区	減少率(%)
0	$10^{6.7}$	-	-
30	$10^{6.5}$	$<10^{3.5}$	99.9*

\* 接種後 30 分の対照区と比較した際の減少率

単位:TCID<sub>50</sub>/mL



エンベロープ型のウイルスであれば、薄い膜できていることは全く変わりませんので、還元発酵乳酸菌™がその膜(エンベロープ)を破ることで死滅します。エンベロープ膜を持つ豚コロナウイルスに対し、30分以内に99.9%不活性化が認められています。豚コロナウイルスと正常細胞と還元発酵乳酸菌™を混ぜた場合にも、細胞が感染することなく99.9%守られました。



(株式会社 食環境衛生研究所 による調べ)

# インフルエンザウイルス不活性化（エンベロープ型）

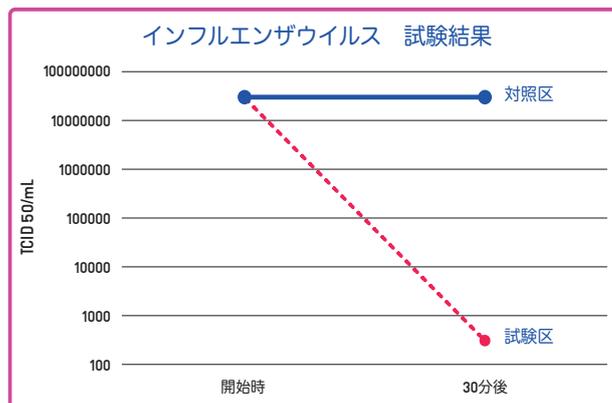
さらには、毎年やってくるインフルエンザに対しても同様の99.999%以上の不活性化効果（検出限界以下）が確認されています。

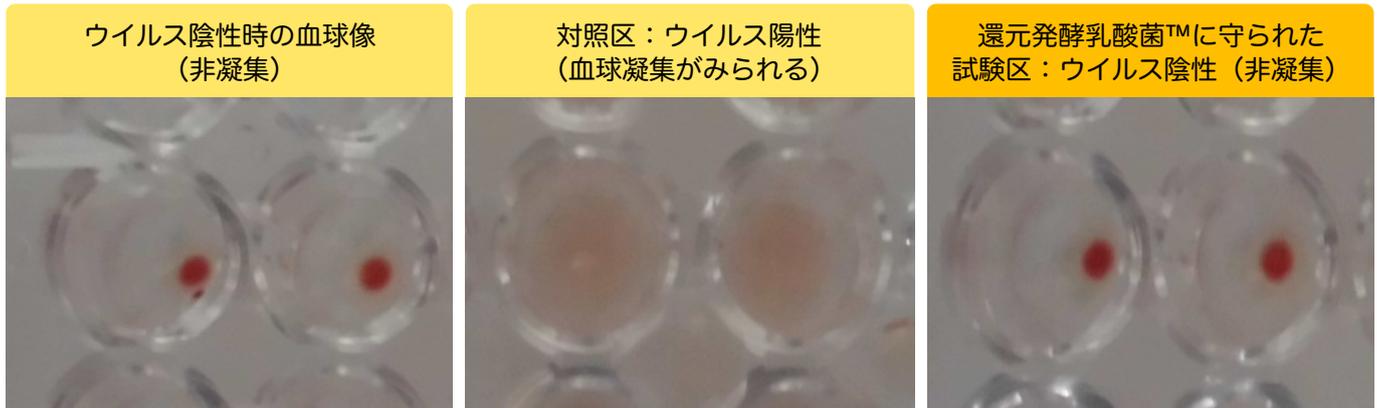
SIVインフルエンザウイルスカ価測定結果

時間(分)	対照区	試験区	減少率(%)
0	$10^{7.5}$	-	-
30	$10^{7.5}$	$<10^{2.5}$	99.999*

\* 接種後 30 分の対照区と比較した際の減少率

単位:TCID<sub>50</sub>/mL





(株式会社 食環境衛生研究所 による調べ)

## ネコカリシウイルス不活性化（ノンエンベロープ型）

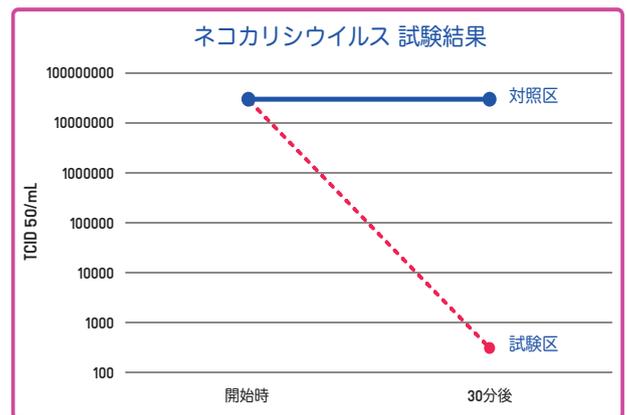
エンベロープのないウイルス(ノンエンベロープウイルス)の代表であるネコカリシウイルス(ノロウイルス代替)に対して還元発酵乳酸菌™は99.999%以上不活性化効果を発揮しています。

FCVネコカリシウイルスカ価測定結果

時間(分)	対照区	試験区	減少率(%)
0	10 <sup>7.5</sup>	-	-
30	10 <sup>7.5</sup>	<10 <sup>2.5</sup>	99.999*

\*接種後 30 分の対照区と比較した際の減少率

単位:TCID<sub>50</sub>/mL



正常な細胞とネコカリシウイルスを混ぜた場合、陽性反応(CPE＝細胞変異)がでます。しかし、ネコカリシウイルスと正常細胞と還元発酵乳酸菌™を混ぜた場合には、細胞が感染することなく99.999%還元発酵乳酸菌™により守られました。



(株式会社 食環境衛生研究所 による調べ)

# 還元発酵乳酸菌™ができるまで



乳酸菌発酵エキス  
12種乳酸菌の複合培養



水素



海洋深層水



梅エキス



還元発酵乳酸菌™  
乳酸菌1000億個/g以上  
(ヨーグルト100個分)  
(1個分を100mlとして乳等省令の発酵乳成分規格で規定された乳酸菌(数10億個)を基に算出)

## 悪玉菌クレンジング「腸内・口腔内ケア」

還元発酵乳酸菌™は、悪玉菌(大腸菌、ピロリ菌(胃がんリスク要因)、虫歯菌、歯周病菌など)に対する抗菌作用が確認されています。

何と検出されず！

ウェルシュ菌 殺菌 (大腸内2大悪玉菌の一つ)	ジンジバリス菌(歯周病菌)	ミュータンス菌(虫歯菌)	パスツレラ菌 (犬猫より感染する口腔内細菌)
ウェルシュ菌(0.01ml)	ジンジバリス菌(0.01ml)		
対照 1分後 生菌数 $1.7 \times 10^6$	対照 1分後 生菌数 $2.0 \times 10^7$	対照 5分後 生菌数 $7.2 \times 10^5$	対照 1分後 生菌数 $10 \times 10^7$
検体 1分後 生菌数 $<10^*$ *検出せず	検体 1分後 生菌数 $<100^*$ *検出せず	検体 5分後 生菌数 $<10^*$ *検出せず	検体 1分後 生菌数 $<100^*$ *検出せず

ピロリ菌(胃がんリスク要因)	黄色ブドウ球菌 (大腸2大悪玉菌の一つ)
対照 5分後 生菌数 $2.9 \times 10^6$	対照 5分後 生菌数 $6.3 \times 10^5$
検体 5分後 生菌数 $<1000^*$ *検出せず	検体 5分後 生菌数 $<10^*$ *検出せず

### 還元発酵乳酸菌™の特徴

乳酸菌の作用で善玉菌増加  
抗菌ペプチドP+  
の作用で悪玉菌ケア

善玉菌を増殖

悪玉菌を抑制

還元発酵乳酸菌™の働きで、全てにおいて「検出されず」を達成!

(試験機関: 衛生微生物研究センター と 一般社団法人日本食品分析センター による調べ)



Prev Page