

# 貝殻焼成カルシウムを用いた微生物制御技術

澤 井 淳

神奈川工科大学 応用バイオ科学部 栄養生命科学科

## 1. はじめに [1,2]

我が国における毎年の貝類の水揚げ量は約 80 万 t であり、その約 9 割をホタテとカキが占めている。とくに約 6 割を占めるのがホタテであり、貝の可食部分、いわゆる“身”の重量は約 2 割程度である。残りの“貝殻”の大部分（約 30 万 t）は、産業廃棄物として扱われている。最大の産地である北海道では、山積みになった貝殻からの悪臭の発生、また内臓に含まれる重金属（特にカドミウム）が溶け出すことにより土壌・地下水汚染を引き起こし、生産地では環境保全上の大きな問題になっている。他の貝殻についても同様に高温で焼成することにより、主成分の  $\text{CaCO}_3$  が  $\text{CaO}$  となり、抗菌活性を発現する。著者らの実験においては、貝殻の種類による抗菌活性の差異は殆ど認められていない。

貝殻焼成カルシウムは食品添加物の既存添加物として認可されている。その抗微生物特性は、細菌 [3]、真菌 [4]、高い抵抗性を有する細菌芽胞 [5]、およびウイルス [6] に対しても活性を示し、幅広い抗菌スペクトルを有している。近年、焼成カルシウムによる野菜や果実、食肉等の除菌・保存に関する研究報告が非常に多くなっており、次亜塩素酸ナトリウムの代替品としての期待も高まっている [7]。ここでは、貝殻焼成カルシウムによる微生物制御における最近得られた我々の知見を中心に紹介する。

## 2. 貝殻焼成カルシウム粉末のバイオフィーム制御 [8]

焼成ホタテ貝殻粉末（HSSP: heated scallop-shell powder）のサルモネラ属菌のバイオフィーム（BF）に対する除菌効果について検討した [8]。 *Salmonella*

*enterica* subsp. *enterica* NBRC 13276 の BF をスライドガラスプレート上に作製した。HSSP はホタテ貝殻を  $1000^\circ\text{C}$  で 1 時間焼成した。HSSP スラリーにサルモネラ属菌 BF プレートを浸漬処理し、HSSP 処理のサルモネラ属菌 BF に対する除菌効果をコンダクタンス法により非破壊的に定量的に測定した。HSSP の処理濃度および処理時間の増加に伴い、BF に対する作用は増大した。10 mg/ml で 60 分間の HSSP 処理では  $10^8$  CFU/plate の BF の生物活性をほぼ完全に低減させた (Table 1)。HSSP (10 mg/ml, 60 分) および次亜塩素酸ナトリウム処理 (200 ppm, 60 分) 後に残存した BF には生細胞は認められなかった。以上の結果より HSSP 処理はサルモネラ属菌 BF に対して高い殺菌および除菌効果を示した。この BF に対する HSSP 処理の作用は、黄色ブドウ球菌 [9]、大腸菌 [10]、リステリア菌 [11] についても同様な結果が得られており、食中毒起因菌の BF 制御に有効であることが示唆された。

## 3. ナノ粒子化 [12]

これまでの焼成カルシウム粉末の報告は、マイクロ粒子を用いたものであり、我々のグループでは、東京ナノバイオテクノロジー(株)が開発した焼成ホタテ貝殻ナノ粒子（主成分は  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ）を使用し、細菌の栄養細胞および枯草菌芽胞に対する殺菌特性の検討およびマイクロ粒子との比較を行った。ナノ粒子の粒径は 20–50 nm に分布し、マイクロ粒子は平均径  $30 \mu\text{m}$  であった。抗菌活性を調べた結果、細菌の栄養細胞および芽胞に対してマイクロ粒子よりナノ粒子の方が高い結果が得られた。Fig. 1 に枯草菌芽胞に対する結果を示す。マイクロ粒子とナノ粒子を比較すると、常温 ( $25^\circ\text{C}$  および  $37^\circ\text{C}$ ) では、1 オーダー近くナノ粒子の殺菌効果がマイクロ粒子より高かった。また、温度を上げて  $60^\circ\text{C}$  とすると、殺菌効果の差は 2 オーダー以上に広がった。以上の結果より、焼成ホタテ貝殻ナノ粒子はマイクロ粒子より非常に高い殺菌効果を有していることがわかった。現在、このような焼成ホタテ貝殻ナノ粒子も食品や環境分野での応用研究が進められている。

### 略歴

1996 年 3 月、東京農工大学大学院工学研究科博士後期課程修了（博士（工学））。

1996 年 4 月に神奈川工科大学応用化学科助手、2008 年に同応用バイオ科学部応用バイオ科学科准教授、

2011 年に応用バイオ科学部栄養生命科学科教授（現在に至る）。

〒243-0292 神奈川県厚木市下荻野1030

Fax: 046-291-3193, E-mail: sawai@bio.kanagawa-it.ac.jp

Table 1 Estimated viable counts in *Salmonella* biofilm exposed to HSSP and other treatments.

Treatment	Concentration, pH	Treatment time[min]	TTD[h]	Viable counts (CFU plate <sup>-1</sup> )
Cont.	0	0	3.8	1.3×10 <sup>8</sup>
HSSP	10.0 mg/ml (pH 12.5)	20	12.9	3.5×10 <sup>3</sup>
		40	15.8	1.3×10 <sup>2</sup>
		60	19.7	1.4×10 <sup>0</sup>
NaOH	pH 12.5	20	9.8	1.3×10 <sup>5</sup>
		40	11.7	1.4×10 <sup>4</sup>
		60	15.3	2.2×10 <sup>2</sup>
Sodium hypochlorite	200 mg/l (200ppm)	20	12.6	5.0×10 <sup>3</sup>
		40	18.3	7.1×10 <sup>0</sup>
		60	20.5	0.0×10 <sup>0</sup>

N.D. : no detect of TTD

- : Viable counts can not be estimated

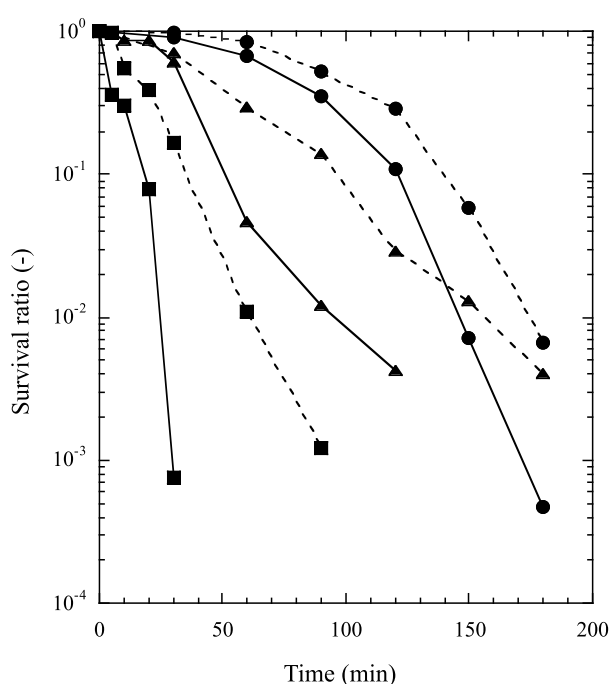


Fig. 1 Sporicidal activity of heated scallop shell powder slurry (5 mg/mL). ●: 25°C, ▲: 37°C, ■: 60°C, — nano-particle, ---- micro-particle.

#### 4. スケール抑制への試み [13]

焼成カルシウムを実際に使用する場合、CaCO<sub>3</sub>のスケールが生成するという欠点が指摘されている。これまでのセメントの凝固に関する研究において、糖類の添加により石灰類の凝固速度の制御が可能であることが報告されている [14]。そこで各種糖類のスケール生成への影響を調べた。その結果、Sorbitolの添加がHSSPのスケール生成を抑制し、かつ抗菌活性を低下させないことがわかった。そして、Sorbitol添加のタイミングは、Sorbitolを先に水に溶解させなければ、スケール生成の抑制効果を十分に発揮しないこともわかった。そこで予めHSSPをSorbitolでコーティングした

SorbitolコーティングHSSP(以下SC-HSSP)を作成し、食品への応用を検討した (Fig. 2)。

スケール生成抑制実験では、5%以上のSC-HSSPスラリー濃度でスケールの生成抑制が認められた。SorbitolをコーティングすることによるHSSPの抗菌活性の低下は全く認められなかった。水道水で処理したレタスでは保存期間中(7日間)に生菌数が増加したが、SC-HSSP(5%)処理を施したレタスでは増加は認められなかった。これは、一般に食品の除菌・洗浄に用いられている次亜塩素酸Na処理(200ppm)と同等以上の除菌・洗浄・保存効果であった。以上の結果よりSC-HSSPは、スケール生成の抑制および食品への応用が可能であることが示唆された。現在、スケール生成の抑制機構の検討を行っている。

#### 5. 終わりに

そもそも貝殻は、海の成分が濃縮したものである。可食部ではない貝殻の大部分は産業廃棄物として扱われるが、これらを焼成することで、抗菌活性を有する焼成カルシウムとなる。これらを食品をはじめ環境な

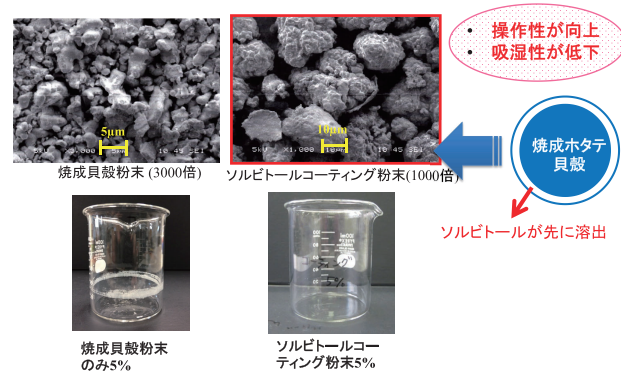


Fig. 2 Inhibition of calcium carbonate scale formation for sugar-coating heated scallop-shell powder slurry.

どの分野で利用するわけであるが、焼成カルシウムの成分であるCaOは、環境中に排出されると空気中のCO<sub>2</sub>を吸収し、もとの抗菌活性のないCaCO<sub>3</sub>に戻る。海の成分からできたものを、食品や環境に使用し、河川等を通して最終的に再び海に戻すのである (Fig. 3)。いわゆる「循環型」の抗菌剤である。また、微生物制御以外にも、脱臭 [15] やアレルゲンの低減作用 [16] も報告されている。

焼成カルシウムの課題としては、やはり「アルカリ」という特性である。「アルカリ」という特性は、利点にもなるが、一方で扱いにくく対象を限定することにもなる。しかし殺菌・抗菌技術にオールマイティーはなく、これらの自然の循環に即した材料・抗菌剤を他の技術と組合せて課題を克服し、微生物制御を達成してゆく必要がある。

### 引用文献

- 1) J. Sawai; "Chemical preservation techniques of foods (15), Chapter 4: Others; (4) Calcined calcium" (in Japanese). Bokin Bobai, **38**, 53-60 (2010).
- 2) J. Sawai; Antimicrobial characteristics of heated scallop shell powder and its application. Biocont. Sci., **16**, 95-102 (2011).
- 3) J. Sawai, H. Shiga, H. Kojima; Kinetic analysis of the bactericidal action of heated scallop-shell powder. Int. J. Food Microbiol., **71**, 211-218 (2001).
- 4) Y. Ohshima, D. Takada, S. Namai, J. Sawai, M. Kikuchi, M. Hotta; Antimicrobial characteristics of heated eggshell powder. Biocont. Sci., **20**, 239-246 (2015).
- 5) J. Sawai, H. Miyoshi, H. Kojima; Sporocidal kinetics of *Bacillus subtilis* spores by heated scallop shell powder. J.

- Food Prot., **66**, 1482-1485 (2003. 8).
- 6) C. Thammakarn, K. Satoh, A. Suguro, H. Hakim, S. Ruenphet, K. Takehara; Inactivation of avian influenza virus, newcastle disease virus and goose parvovirus using solution of nano-sized scallop shell powder. J. Veter. Med. Sci., **76**, 1277-1280 (2014).
- 7) J. Sawai; "Nanomaterials used in the antibacterial and antifungal fields" (in Japanese). J. Antibact. Antifung. Agents, **41**, 249-254 (2013).
- 8) K. Nagasawa, M. Kikuchi, J. Sawai; "Antimicrobial effects of heated scallop-shell powder against *Salmonella* Biofilm" (in Japanese). Bokin Bobai, **39**, 587-594 (2011).
- 9) J. Sawai, K. Nagasawa, M. Kikuchi; Ability of heated scallop-shell powder to disinfect *Staphylococcus aureus* biofilm. Food Sci. Technol. Res., **19**, 561-568 (2013).
- 10) M. Kubo, Y. Ohshima, F. Irie, M. Kikuchi, J. Sawai; Disinfection treatment of heated scallop-shell powder on biofilm of *Escherichia coli* ATCC 25922 surrogated for *E. coli* O157:H7. J. Biomater. Nanobiotechnol., **4A**, 10-19 (2013).
- 11) N. Shimamura, F. Irie, T. Yamakawa, M. Kikuchi, J. Sawai; Heated scallop-shell powder treatment for killing and removal of *Listeria* sp. biofilm formed at low temperature. Biocont. Sci., **20**, 153-157 (2015)
- 12) T. Watanabe, R. Fujimoto, M. Kikuchi, J. Sawai, S. Yahata, T. Satoh; Antibacterial characteristics of heated scallop-shell nano-particles. Biocont. Sci., **19**, 93-97 (2014).
- 13) M. Ishikawa, Y. Nomoto, M. Kikuchi, J. Sawai; 41th Annual Meeting of the Society for Antibacterial and Antifungal Agents, Japan, 25Pp-22 (2014).
- 14) A. Peschard, A. Govin, J. A. E. Pourchez, E. Fredon, L. Bertrand, S. Maximilien, B. Guilhot; Effect of polysaccharides on the hydration of cement suspension. J. Eur. Ceram. Soc., **26**, 1439-1445 (2006).
- 15) M. Kishi, Y. Komatsu; "Characterization of plaster material making use of scallop shells" (in Japanese). Memoirs of the Hokkaido Institute of Technology, **34**, 97-100 (2006).
- 16) K. Terajima, J. Sawai; Abstracts of 24<sup>th</sup> Annual Meeting of MRS-Japan 2014, I-P11-038 (2014).

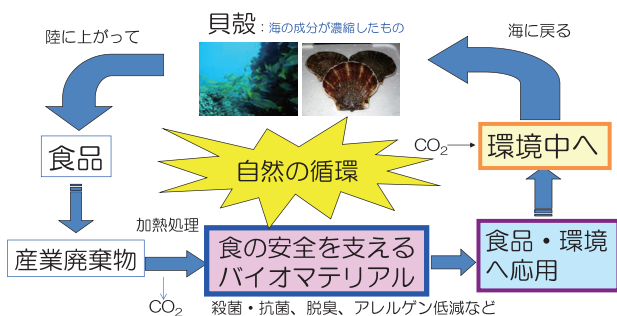


Fig. 3 Circulation of sea shells and shell materials

(本稿は化学工学会バイオ部会の許可を得て、同ニューズレター No.38 の原稿を一部改訂して転載したものである)