

ホタテ貝殻の機能性に関する研究

吉田 朋央

要 旨

本研究では、ホタテ貝殻粉末およびホタテ貝殻セラミックスの有する機能を応用し実用化するため、ホタテ貝殻粉末およびホタテ貝殻セラミックスの機能を定性的かつ定量的に明らかにすることが目的である。

本研究で用いたホタテ貝 (*Patinopecten yessoensis*) は東北・北海道地域で産出され、これに伴い年間約 21 万トンもの貝殻が廃棄されている。青森県においても年間約 5 万トンもの貝殻が排出されており、その大部分は野積みの状態で廃棄されていることから塩害や悪臭、害虫の発生といった周辺環境の悪化を引き起こす原因ともなっている。このことから、ホタテ貝の生産地域では貝殻の廃棄物処理問題が生じている。これまでも貝殻を有効利用する試みはされていたが、そのほとんどは石灰石との差別化が図れず採算的にも厳しいうえに高い付加価値を持たせることができなかった為、本格的な事業として成立するケースは少なかった。

そこで、これらの問題を解決することを目的に 2000 年 4 月から株式会社チャフローズコーポレーションとの産学共同研究をスタートさせた。本研究では、貝殻のバイオミネラルに着目し石灰石とは異なる付加価値の高い製品の開発を目的とした。研究の結果、ホタテ貝殻を 1,050°C で 3 時間焼成した粉末 (以下、ホタテ貝殻セラミックスとする) には化学物質軽減機能や抗菌機能など多機能性を有することを発見した。

本研究では、ホタテ貝殻セラミックスによる化学物質軽減機能の一つとして、シックハウス症候群の原因物質の一つとされているホルムアルデヒドについて軽減試験を行った。まず初めに、ホタテ貝殻粉末およびホタテ貝殻セラミックスによるホルムアルデヒドの軽減特性を明らかにするため、種々の温度で焼成した貝殻焼成体を用いた。また、ホタテ貝殻に含まれている有機物の影響を明らかにするため、ホタテ貝殻粉末から有機物を抽出して実験に用いた。

種々の温度で焼成した供試材を用いて実験を行った結果、ホタテ貝殻粉末は焼成温度によりホルムアルデヒドの軽減効果が異なることがわかった。ホタテ貝殻粉末の主成分は Calcite-CaCO₃ である。化成品の Calcite-CaCO₃ の場合、焼成温度が 500°C まではホルムアルデヒドの軽減効果はほとんど認められず、600°C 以上から軽減効果が得られた。これは、CaCO₃ 焼成体に含まれる CaO の影響であると考えられた。一方、ホタテ貝殻粉末の場合では全ての焼成温度においてホルムアルデヒドの軽減効果が得られ、その効果は焼成温度に依存していた。

ホタテ貝殻には少量のタンパク質や糖などの有機物が含まれている。そこで、ホタテ貝殻粉末から抽出した有機物を用いて同様の実験を行った。実験の結果、抽出した有機物によりホルムアルデヒドの軽減効果が得られ、さらに、化成品の CaCO₃ による軽減効果と有機物による軽減効果の和がホタテ貝殻粉末によるホルムアルデヒドの軽減効果とほぼ一致した。このことから、ホタテ貝殻粉

学位記番号と学位：第 31 号，博士 (工学)

授与年月日：平成 18 年 3 月 18 日

授与時の所属：大学院工学研究科機械システム専攻博士後期課程

末によるホルムアルデヒドの軽減効果は貝殻に含まれている有機物の影響であることが明らかとなった。

次に、ホタテ貝殻セラミックスによる雰囲気中のホルムアルデヒド軽減メカニズムとして、吸着と分解の二つの可能性が考えられた。そこで、ホルムアルデヒドの化学的分解について複数の反応経路を推定し実験を行った。その結果、推定反応生成物の一つである H₂ を検出することができた。そこで、ホタテ貝殻セラミックスの ESR 分析を行ったところ、ホタテ貝殻セラミックスから OH ラジカルが生成されていることを明らかにした。これらのことから、ホタテ貝殻セラミックスによるホルムアルデヒドの軽減メカニズムは吸着と分解によるものと結論し、ホタテ貝殻セラミックスから生成された OH ラジカルにより少なくともホルムアルデヒドの一部が H₂ に分解されていることが強く示唆された。

種々の焼成温度による貝殻焼成体の中では、600°C で焼成したホタテ貝殻粉末が最も高いホルムアルデヒドの軽減効果を示した。そこで、600°C で焼成したホタテ貝殻粉末の ESR 分析を行ったところ、カーボンラジカルのスペクトルを得られた。このことより、ホタテ貝殻粉末に含まれている炭素がホルムアルデヒドの軽減効果を高めていることが明らかとなった。

ホタテ貝殻セラミックスは抗菌機能も有している。そこで、本研究では主に *Escherichia coli* を用いて実験を行い、ホタテ貝殻セラミックス溶液が細菌に及ぼす影響を調べるとともに抗菌メカニズムの解明を目的として実験を行った。*E. coli* の他にも、*Pseudomonas aeruginosa* や MRSA など5種7株の菌株を用いて実験を行い実用化への検討も行った。特に MRSA は薬剤耐性菌であり、近年、病院内で大きな問題となっていることから院内感染において最も気を付けなければならない細菌の一つである。

実験の結果、ホタテ貝殻セラミックス溶液は *E. coli*, *P. aeruginosa*, MRSA など、種々のグラム陰性菌およびグラム陽性菌に対して抗菌効果があることが明らかになった。また、*E. coli* の細胞内 ATP を測定した結果、細胞内 ATP の減少が認められた。このことから、ホタテ貝殻セラミックス溶液により *E. coli* が死滅していることが明らかとなった。さらに、細胞内物質の漏出量を測定したところ、種々の細菌において核酸画分やタンパク質画分が漏出することもわかった。このことから、ホタテ貝殻セラミックス溶液が種々の細菌を死滅させていることが明らかとなった。

ホタテ貝殻セラミックス溶液の主成分は Ca(OH)₂ である。ホタテ貝殻セラミックス溶液と同じ pH の NaOH 溶液や KOH 溶液では細菌が溶菌するのに対し、ホタテ貝殻セラミックス溶液では凝集反応が起こることがわかった。また、Ca(OH)₂ 溶液では凝集反応が起こる一方 CaCl₂ 溶液では凝集反応が起こらないこともわかった。そこで、凝集した細胞に EGTA を作用させた結果、細胞の凝集が解けタンパク質画分の漏出量が増加した。このことから、ホタテ貝殻セラミックス溶液に含まれる Ca²⁺ が細胞のタンパク質画分に結合していることが明らかとなった。さらに、Ca²⁺ が細胞に結合した状態では NaOH 溶液による溶菌反応が起こらなかったことから、Ca²⁺ は細胞の溶解を保護している役割があると推定した。

次に、ホタテ貝殻セラミックス溶液の抗菌効果を更に高めるため、ホタテ貝殻セラミックス溶液にエタノールを混合することを考案した。実験の結果、エタノール混合ホタテ貝殻セラミックス溶液には、エタノールとホタテ貝殻セラミックス溶液との相乗効果が現れることが明らかとなった。本溶液は非常に即効性の高い溶液であり、薬剤耐性菌である MRSA に対しても15秒以内に生菌率を10-20%以下にまで死滅させることに成功した。

本研究は、これらの研究成果をもとに実用化が図られ、製品の機能評価とともに数件の国内外の

ホタテ貝殻の機能性に関する研究（吉田）

特許申請にも至ったうえ、数種類の商品開発も行うことができた。これらの研究は、産業廃棄物であったホタテ貝殻を資源として有効利用するばかりでなく、シックハウス対策としての製品や、即効性かつ確実な抗菌効果を持ちながら人体に安全性を求められる医療現場などでの使用など、社会に幅広く貢献できる研究であると考えられる。

主指導教員 齋藤正博

A Study on the Functions of Scallop Shells

Tomoo YOSIDA

Abstract

The purposes of this study are to qualitatively and quantitatively elucidate functions mainly of scallop shell ceramics as described below, and to manufacture products applied their functions.

Scallops (*Patinopecten yessoensis*) used in this study are harvested in Tohoku and Hokkaido area of Japan, and about 210,000 tons of scallop shells are scrapped each year. Mutsu Bay in Aomori Prefecture, Japan is a major location of the scallop aquaculture, where 50,000 tons of scallop shells are scrapped by piling them in fields. Year by year, the amount of shells scrapped increases, and there are waste problems. In order to use these shells as valuable resources, we investigated the application of scallop shells, and found that shells burned (Scallop shell ceramics) at 1,050°C for 3 hours were multifunctional. Here we will present the conversion of shells discarded as a waste to multifunctional resources.

Formaldehyde in the atmosphere is one of the causative agents with the sick building syndrome. First of all, effects of scallop shells on the reduction of formaldehyde in the atmosphere were investigated. For these studies, scallop shells, scallop shell ceramics burned at several temperatures and organic substances extracted from scallop shells were used.

The principal ingredient of the scallop shell powder is Calcite-CaCO₃. Effects of Calcite in a reagent grade baked up to at 500°C on the reduction of formaldehyde was hardly admitted. However, the effect of Calcite on the reduction of formaldehyde was achieved when it was baked at 600°C. On the other hand, effects of scallop shells on the reduction of formaldehyde depended on burning temperatures used for preparations of scallop shell ceramics.

A small amount of organic substances such as protein is included in the scallop shell. Then, several experiments were carried out by using the organic substances extracted from the shells. It was shown that, in the presence of calcium carbonate in a reagent grade organic substances extracted from scallop shells reduced a concentration of formaldehyde in the atmosphere in similar extents to scallop shells as described in the text. These results clarified the mechanism of the effect of scallop shells itself on the reduction of formaldehyde.

Although it was shown that formaldehyde in the atmosphere reduced in the presence of scallop shell ceramics, it is not obscure whether formaldehyde is decomposed by scallop shell ceramics or absorbed to ceramics. It was assumed that hydrogen gas should be detected, if formaldehyde was decomposed by scallop shell ceramics under one of chemical reactions speculated. In fact, we qualitatively detected hydrogen suggesting a degradation of formaldehyde by scallop shell ceramics. By ESR analyses, it was clarified that the OH radical was generated from scallop shell ceramics. Therefore we concluded that formaldehyde in theat-

mosphere was not only absorbed to scallop shell ceramics, but also decomposed by OH radical yielded from ceramics.

Scallop shell powder baked at 600°C was most effective for the reduction of formaldehyde. To study on mechanisms of the potent reduction in formaldehyde, scallop shell powder baked at 600°C were applied to ESR analyses, and it was observed the presence of carbon radical spectra. By considering the characteristics of carbon radical, it was improved that the potent reduction in formaldehyde was due to the carbon radical yielded from scallop shell powder baked at 600°C.

In this study it was also shown that scallop shell ceramics have antimicrobial functions. An aliquot dissolved scallop shell ceramics to about 0.17% was bactericidal against 5 strains of Gram negative and Gram positive bacteria such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. These antibacterial actions were extremely immediate and drastic.

Although an aliquot of scallop shell ceramics was less effective against MRSA as compared to *E. coli*, we developed dramatically effective an aliquot even against MRSA which was a mixture of 20 to 30% of ethanol and 80 to 70% of scallop shell ceramics (v/v). Effects of ethanol and the ceramics were synergic, and the viability of MRSA decreased to lower than 10-2% for within 15 seconds. This solution can be applied to prepare MRSA-free equipments and furniture such as beds and shelves in hospitals, although it has been very difficult to make a MRSA-free circumstance.

As antibacterial actions mentioned above were examined by plate counting methods, we also carried out experiments on antibacterial action of scallop shell ceramics by measuring ATP contents of tested bacterial cells. Profiles of the alteration of ATP contents were in good agreement with those measured by plate counting. Therefore antibacterial function of scallop shell ceramics was confirmed.

It was observed that a treatment *E. coli* cell suspension with a solution of scallop shell ceramics (pH 12.5) caused aggregation of cells, although sodium hydroxide solution adjusted pH to 12.5 was lytic against cells. Moreover, this solution released protein and nucleic acid fractions from *E. coli* cells, and an alteration of shapes of *E. coli* cells was observed under a scanning electron microscope. The addition of EGTA to a suspension of aggregated *E. coli* cells in the presence of scallop shell ceramics separated aggregated cells to each cell and increased in protein leakage, suggesting an involvement of calcium ion, has Ca^{2+} united with the protein of the cell.

In these studies described above, we elucidated the function decreasing in formaldehyde in the atmosphere and antibacterial function of scallop shell ceramics, and also, action mechanisms of these phenomena. The meanings of these studies carried out in the course of the graduate school were to contribute human society, contribute to maintain planet to the future, and also to convert industrial waste to valuable resources. As results of these studies, we have already applied several patents including international patents and developed several products which were commercially available.

Professor (Chairperson) Masahiro SAITOU