ヒトデ類焼成物の食中毒菌発育阻止効果と キャラクターゼーション

高間浩蔵*・鈴木鐵也*・加賀 壽**・高村 巧**
田谷嘉浩**・下野 功**・渡辺定嗣*

Inhibition of the Growth of Foodborne Disease Causing Bacteria by Starfish Calcined Powders and Their Characterizations

TAKAMA Kozo*, SUZUKI Tetsuya*, KAGA Hisashi**, TAKAMURA Takumi**
TAYA Yoshihiro**, SHIMONO Isao** and WATANABE Sadatsugu*

*Hokkaido University, Faculty of fisheries,
3-1-1 Minato-cho, Hakodate 041-8611

**Hokkaido Industrial Technology Center,
379 Kikyo-cho, Hakodate 041-0801

Delipidated and dehydrated starfish, *Astropecten scoparius*, *Asterias amurensis*, *Asterina pectinifera* and *Distolasterias nippon* were calcined and powdered to test their bactericidal effects for foodborne disease causing bacteria. The powders calcined at 550°C showed merely inhibition for the growth of *Escherichia coli* O-157 : H7, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis*. However, the powders calcined at 700°C completely inhibited the bacterial growth at over 0.4% (minimal concentration tested). CaCO_3 , a major chemical constituent of the starfish, changed to CaO by calcination at 700°C or higher. The *Asterias amurensis* and *Distolasterias nippon* powders calcined at 900°C for 10 hrs consisted of Ca, Mg, Na and Cl, of 72~77, 11~15, 5.4~6.4 and 2.9~4.3%, respectively, as the major minerals. Even in 0.02% aqueous solution of the powders procured by calcination at 800°C, the pH values indicated were around 11.5, and 0.2% solution had about 12.5 of high alkalinities. From the results, it seems that the bactericidal effect of calcined powder of starfish could be attributed to the multiple effects of high alkalinity and other trace elements.

(Received Jul. 10 1998)

北海道沿岸域にはホタテ貝やホッキ貝などの二枚貝漁場が広く展開している。このような漁場では、ヒトデが二枚貝の天敵生物であることから、漁業者は多大な駆除努力を余儀なくされている。駆除作業によって陸揚げされたヒトデ類の多くは土中に埋められるか、あるいは他の加工廃棄物とともに焼却処分されている。すなわち、

効果的な利用法がないままに、場合によっては環境汚染の原因ともなりかねない状況にある。

本研究では、これらのヒトデ類の有効利用の一策として、 CaCO_3 に富むヒトデ類外殻組織に注目し、焼成物として食中毒菌発育阻止剤としての利用性を検討した。また、焼成物の性状についても併せて検討した。

* 北海道大学水産学部 (041-8611 函館市港町3-1-1)

** 北海道立工業技術センター (041-0801 函館市桔梗町379)

実験方法

1. 材 料

北海道余市町のホッキ貝漁場で捕獲されたモミジガイ (*Asteropecten scoparius*), および北海道常呂町のホタテ貝漁場で陸揚げされたヒトデ (*Asterias amurensis*), イトマキヒトデ (*Asterina pectinifera*) およびニッポンヒトデ (*Distolasterias nippon*) を入手し、実験に供するまで -20°C に保管した。

2. 焼成物の調製

材料を解凍、細砕後、クロロホルム-メタノール (2 : 1) 混液 (モミジガイの場合のみ) またはアセトンで脱脂した。脱脂物から気流中で溶剤除去し、 550°C または 700°C (モミジガイでは約 700°C で焼成) に温度設定した電気マッフル炉でそれぞれ恒量化した。生成物を粉碎して焼成粉末とし、以後の実験に供した。

3. 供試菌株と処理方法

本研究では、代表的な食中毒菌として、*Escherichia coli* O-157 : H7 (北海道渡島保健所より分与), *Staphylococcus aureus* IFO-15035, および *Salmonella enteritidis* IFO-3313 を供試した。基本的な処理方法は以下のようである。すなわち、4.5mlの蒸留水に所定量の焼成粉末を懸濁させ、 121°C に設定のオートクレープで15分間滅菌した。室温まで放冷後、予め用意しておいた約 10^4cfu/ml の菌液を0.5ml加えた。所定時間の接触の後、その0.1mlを規定の平板培地 (*E. coli* および *S. aureus* では普通寒天培地, *S. enteritidis* ではMLCB培地) に塗抹し、 37°C , 24時間培養してコロニー数を測定した。

4. 焼成粉末の性状

脱脂細砕材料を 500°C から 900°C までの 100°C 間隔でそれぞれ10時間加熱処理した。それらを乾式ボールミル (10mmφアルミナボール) で24時間粉碎処理した。粉末の平均粒度は、エチレングリコールを分散媒としてレーザ回折式粒度分布測定装置 (Malvern社製 Master Sizer MS20型) によって測定した。また、焼成粉末の構成成分は粉末X線回折装置 (日本電子製JDX-8020型) を用い、X線管にCuターゲット、管電圧40kV、管電流25mAの条件で分析した。ミネラル成分は蛍光X線分析装置 (島津製作所製 XRF-1700型) を用いて分析した。すなわち、焼成粉末を $\phi 35\text{mm} \times 4\text{mm}$ の円盤状とし、X線管にRhターゲットを用いて管電圧40kV、管電流70mAの条件で測定した。

結果および考察

1. ヒトデ類焼成粉末の食中毒菌発育阻止効果

モミジガイ脱脂細砕物を、約 700°C で焼成した粉末の水懸濁液の食中毒菌の発育に及ぼす影響について検討した結果、菌処理液中に2.0%までの粉末添加、30分間の接触試験において、0.16%以上の添加で、いずれの試験菌に対してもほぼ完全に発育を阻止した (データは示さない)。

また、菌体との接触時間は、1.2%懸濁液を用い *E. coli* に対して検討したところ、5分間で高い細菌発育阻止効果が認められた (Fig. 1)。そこで、以後の実験においては菌体との接触時間を5分間とし、粉末添加濃度は0.4%から2.0%の範囲で行った。

Table 1 に、 550°C , および 700°C で焼成したヒトデ類粉末懸濁液の *E. coli* の発育に及ぼす影響について示してある。 550°C 焼成物では、0.8%以上の添加で明らかな菌の発育阻止効果が見られたが、2.0%添加でも完全には阻止できなかった。しかし、 700°C 焼成物では試験した最少量の0.4%でもほぼ完全に菌の発育を抑制した。

2. 焼成粉末の性状

ヒトデ脱脂細砕物の焼成に際し、細菌発育阻止効果を示すためには、その効果を高める条件として焼成温度が大きく影響していることが予想された。そこで、 500°C から 100°C ずつの間隔で 900°C までの異なる温度でそれ

Fig. 1 Effect of contact period of aqueous solution of calcined powder on survival of bacteria

Tested materials: 1.2% solution of *Asteropecten scoparius* (Momijigai) powder *Escherichia coli* : ca. 10^4cfu/ml

Table 1. Effect of the calcined powder prepared from starfish on the growth of *Escherichia coli*

Concentration of calcined powder (%)	Colony count* / plate					
	Calcined temperature					
	550°C			700°C		
	Hitode ¹⁾	Itomaki ²⁾	Nippon ³⁾	Hitode ¹⁾	Itomaki ²⁾	Nippon ³⁾
2.0	395	385	440	ND	ND	ND
1.6	425	570	455	ND	ND	ND
1.2	495	585	445	0	0	0
0.8	485	610	500	0	0	0
0.4	585	745	715	0	0	0
Control	745	760	780	860	860	860

1) Hitode (*Asterias amurens*), 2) Itomaki hitode (*Asterina pectinifera*), 3) Nippon hitode (*Distolasterias nippon*)

ND : not determined, *mean value of duplicate measurements

Fig. 2 Product in starfish powder depending on the calcination temperatureA: Hitode (*Asterias amurens*), B: Nippon hitode (*Distolasterias nippon*), Calcination period: 10 hrs at each indicated temperature

ぞれ10時間焼成処理して調製したヒトデおよびニッポンヒトデ粉末(平均粒度: 3 ~ 6 μm)を用い, 粉末構成成分と焼成温度の関係を検討した。結果をFig. 2に示す。

いずれのヒトデ類とも600°C加熱までは CaCO_3 に帰属するピークが認められた。しかし, 700°C以上の加熱条件では CaO に基づくピークが認められ, このことが細菌発育阻止効果の発現と関連するものと判断された。なお, 900°Cで10時間, 加熱焼成した粉末をデシケータ中

Fig. 3 Changes of product in calcined powder after standing for 1 month in a desiccator at room temperatureA: Hitode (*Asterias amurens*), B: Nippon hitode (*Distolasterias nippon*), a: just after calcination at 900°C for 10 hrs, b: 1 month later

Table 2. Mineral composition of calcined powder prepared from starfish

				(mass %)			
Hitode (<i>Asterias amurensis</i>)				Nippon hitode (<i>Distolasterias nippon</i>)			
Ca	76.98	Mg	11.26	Ca	72.08	Mg	14.64
Na	5.36	Cl	2.90	Na	6.41	Cl	4.25
K	0.97	S	0.97	K	0.71	S	0.65
P	0.83	Sr	0.37	P	0.62	Sr	0.32
Fe	0.14	Si	0.10	Fe	0.14	Si	0.07
Cr	0.07	Zn	0.05	Cr	0.07	Zn	0.02
Al	0.01	Br	0.01	Al	0.01	Br	0.01

Fig. 4 Relationship between pH value and the concentration of calcined powder in an aqueous solution

で1カ月間放置すると、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ に変化していることも認められた (Fig. 3)。

蛍光X線分析法で測定した700℃、10時間焼成粉末の元素組成をTable 2に示す。ヒトデおよびニッポンヒトデともCa, Mg, Na, Clがそれぞれ72~77, 11~15, 5.4~6.4, 2.9~4.3%を占める主要元素であった。

Fig. 4に示すように、800℃焼成粉末の水溶液は0.02%濃度でもpH値は約11.5を示し、0.2%以上の添加溶液では約12.5を超える強アルカリ性であった。

このことから、本実験条件では、効果的な細菌発育阻止作用の発現には、焼成粉末水溶液のpHが約12.5以上に調整されていることが必要であるものと推察された。一色ら¹⁾は、カキ殻を研磨して得られる内部の真珠層のみを通電ジュール加熱して約320メッシュとした粉末を用い微生物制御について詳細な検討を行い、このカルシウム製剤の抗菌作用は、水酸化カルシウムと共存する微量ミネラルとの複合的效果であろうとしている。本研究におけるヒトデ焼成物の細菌発育阻止作用も基本的にはカキ殻と同様の効果に基づくものであろう。

ヒトデ類の焼成物がこれまでの焼成カルシウム²⁾としての利用に加えて、食品環境の微生物制御にも活用できる可能性を示した。これらの産業廃棄物利用のためのより効率的焼成条件などに関し、さらに検討中である。

要 約

二枚貝漁場での天敵生物であるヒトデ類を活用する目的で、焼成粉末とし、食中毒菌制御剤としての利用可能性を検討した。モミジガイ (*Astropecten scoparius*)、ヒトデ (*Asterias amurensis*)、イトマキヒトデ (*Asterina pectinifera*) およびニッポンヒトデ (*Distolasterias nippon*) のそれぞれを脱脂後、700℃前後で焼成した粉末の水溶液は *Escherichia coli* O-157: H7, *Staphylococcus aureus* および *Salmonella enteritidis* に対し、試験した最少濃度の0.4%で完全に発育を抑制した。550℃前後で得られたものでは2.0%の濃度でも完全抑制は認められなかった。ヒトデ類では、600℃焼成物は外殻組織成分の CaCO_3 が主要成分であるが、700℃以上の焼成物はCaOであった。また、Ca, Mgがそれぞれ72~77, 11~15%からなる焼成カルシウムであった。焼成粉末の水溶液は高アルカリ性を示すことから、共存する他の微量ミネラルなどの作用とともに、食中毒菌に対する発育阻止作用を示したものと推察された。

文 献

- 1) 一色賢司・栖原 浩・水内健二・徳岡敬子：日食工誌, **42**, 135 (1994)
- 2) 食品・食品添加物等規格基準 (抄), III. 食品添加物, 食衛誌, **39**, J-88 (1998)

(平成10年7月10日受付, 平成10年9月28日受理)
Received Jun. 10, 1998 ; Accepted Sep. 28, 1998