簡単な操作で作製された焼成ホタテガイ貝殻－ガラス複合成形体の抗菌・抗カビ効果

三原義広・高田知哉・宇野直嗣・富樫 巖・杉本敬祐

旭川工業高等専門学校, 071-8142 旭川市春光台2-2-1-6

Antibacterial and antifungal effects of fired scallop shell – glass composites fabricated by a simple process

Yoshihiro MIHARA, Tomoya TAKADA,[†] Naotsugu UNO, Iwao TOGASHI and Keisuke SUGIMOTO

Asahikawa National College of Technology, 2-2-1-6, Syunkodai, Asahikawa 071-8142

Antibacterial and antifungal effects of fired scallop shell – glass composites have been examined. The composites were fabricated by the following simple process: (1) mixing the powder mixture of fired shell, raw shell and glass with aqueous NaOH solution, (2) first drying, (3) steam treatment, and (4) second drying. In this study, the powder mixtures with the shell (fired shell + raw shell) : glass weight ratios of 1 : 1 have been employed as raw materials. It has been found that the composites are successfully hardened when the fired shell contents in the original powder mixture is less than 35 mass%. Antibacterial and antifungal effects of the composites were tested for *Escherichia coli* and *Cladosporium sp.*. It has been found that the composites with relatively high content of fired shell (≥ 20 mass% for *Escherichia coli* and ≥ 25 mass% for *Cladosporium sp.*) show significant antibacterial and antifungal effects.

©2008 The Ceramic Society of Japan. All rights reserved.

Key-words : Scallop shell, Glass, Composite, *Escherichia coli*, *Cladosporium sp.*, Antibacterial effect, Antifungal effect

[Received April 2, 2008; Accepted June 19, 2008]

1. 緒 言

日本におけるホタテガイの主な産地は北海道・東北地域であり、これらの地域ではホタテガイは重要な水産資源である。しかし、加工業者がホタテガイを加工したあとに残る貝殻は非常に大量であり、多くの自治体等から有効な利用が求められているものである。例えば北海道では、年間およそ 20 万トン程度のホタテガイ貝殻（以下、貝殻と表記する）が排出されており、その一部は浄水材、暗渠疎水材、養鶏飼料等として利用されるものの、半分以上は利用されずに産業廃棄物となる。

貝殻の保管方法は、多くの場合は屋外にて堆積させた状態での保管である。しかし、この方法には、特有の悪臭の発生、有機組織の腐敗で生じる液状成分による土壌汚染、保管用地の確保といった問題がある。

これらのことを解決するため、貝殻の再利用・製品化のための研究開発が盛んに行われてきた。その一つとして、焼成した貝殻の抗菌性に関する研究がある。吉田らによれば、焼成した貝殻を含む水溶液は大腸菌、黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌、白癬菌、ミュータンス菌、メシチリン耐性黄色ブドウ球菌に対する抗菌効果を示すことがわかっている¹⁾。しかし、他の成分を含む固体材料に取り込まれた条件での焼成貝

殻の抗菌性については、詳しい研究例はない。

固体材料では焼成貝殻が他の成分に取り囲まれた状態となるため、焼成貝殻本来の抗菌効果が現れないことが考えられる。しかし、焼成貝殻を含む固体材料が水溶液と同様な抗菌性を示すことが証明できれば、抗菌性材料としての貝殻の再利用につながる。さらに、特殊な薬剤、過酷な条件、複雑な操作などを含まない簡単な材料製造法を確立できれば、低コストでの事業化が可能となるため、貝殻の処理に迫られる地域での新産業の創出に貢献できる。

本研究では、焼成貝殻と廃ガラスの粉体混合物を原料とした複合成形体の作製法を確立し、その抗菌・抗カビ効果を評価することを目的とした。家屋や自動車の解体で生じる廃ガラスも、貝殻同様に再利用が望まれる廃棄物の一つである。本研究では、粉体混合物を水酸化ナトリウムと混合してガラスを溶解させ、乾燥・固化させたのち水蒸気処理にて硬化させる方法で、ガラスをバインダーとして焼成貝殻を固定化した複合成形体の作製を試みた。この方法によれば、任意の形状の材料を得ることが可能であり、抗菌・抗カビ効果を維持したまま成形体を作製することができれば、抗菌性材料として広範な用途に用いることができる。本研究では、原料粉体の重量比を様々に変化させて成形体を作製し、それらの抗菌・抗カビ効果を比較した。対象とした菌・カビは、大腸菌 (*Escherichia coli*) とクロカビ (*Cladosporium sp.*) である。

[†] Corresponding author: T. Takada; E-mail: takada@asahikawa-nct.ac.jp

2. 実験

2.1 複合成形体の作製

貝殻は、北海道宗谷地方産のホタテガイから得られたものを右殻・左殻を区別せずに使用した。貝殻の調達に際しては、貝柱や内臓等の有機組織が除かれた状態のものを入手した。貝殻をジョークラッシャーまたはハンマーで粗く砕いたのちボールミルで粉体とし、ふるい分けにより 0.125 mm 以下の粒径のものを選別して原料とした。粉砕した貝殻を、空气中 1000°C にて 24 時間焼成し、焼成貝殻粉体を得た。

ガラスは、建築廃材から得られた透明窓ガラスを使用した（ガラスの成分の同定は行なっていない）。貝殻と同様の方法で、ガラスも粗粉碎・ボールミル粉碎を行って粉体とし、ふるい分けによって 0.125 mm 以下の粒径のものを選別して使用した。

未焼成の貝殻粉体、焼成貝殻粉体、ガラス粉体を混合し、原料粉体を調製した。貝殻粉体（未焼成貝殻＋焼成貝殻）とガラス粉体の重量比は 1:1 とし、焼成貝殻粉体の重量パーセントは原料粉体全体の 0 ~ 50 mass% とした。

原料粉体 60 g に、2 mol dm⁻³ 水酸化ナトリウム水溶液を 20 g 加えて混合し、スラリー状の混合物を調製した。この混合物を、幅 100 mm × 奥行 80 mm × 高さ 10 mm のステンレス製の型枠または 20 mm 四方 × 高さ 5 mm のプラスチックトレイに流し込み、空气中室温にて静置し乾燥・成形した。得られた成形体を常圧下にて 100°C の水蒸気に 8 時間曝すことで硬化させた。

2.2 原料および複合成形体の成分の同定

未焼成貝殻および焼成貝殻の成分を同定するため、RIGAKU RAD-B を用いて粉末 X 線回折 (XRD) 測定を行った。測定には Cu K α 線を用いた。成分の同定は、JCPDS カードに記載のデータとの比較により行った²⁾。同様の方法で、作製した成形体を粉砕したのち XRD 測定を行い、成形処理前後の成分を比較した。

2.3 複合成形体の抗菌・抗カビ効果の評価

大腸菌 (*E. coli*) に対する抗菌性は、以下の方法で評価した。*E. coli* NBRC 3972 株（以下では大腸菌と表記）を接種した PDA 寒天培地の表面中央に 20 mm 四方の底面積の成形体を載せ、30°C にて 36 時間培養した後の阻止円（成形体の周囲において菌の成長が阻止される範囲）のサイズを測定した。阻止円の定義を図 1 に示す。培地の中央に載せた成形体の各辺から阻止円の外周までの距離を、各辺 4 点ずつ計 16 点測定し、それらを平均した距離を阻止円の範囲とした。対照実験として、成形体の代わりに成形体と同じ底面積を有するガラス板を用いた測定を行った。

クロカビ (*Cladosporium sp.*) に対する抗カビ性は、以下の方法で評価した。*Cladosporium sp.* ANCT-05065 株（旭川工業高等専門学校校舎内で採取した落下菌、以下ではクロカビと表記）を接種した GP 液体培地 9 cm³ に成形体を 1 g 加え、25°C で 7 日間培養した後、生成したクロカビの菌体を汙過・乾燥し重量を測定した。対照実験として、成形体を入れていない pH7 の培地 (negative control) と、成形体を入れていない水酸化ナトリウムを用いて培地の pH を 12 に調整した培地 (positive control) を用いて、同様の培養および重量測定を行った。また、培養後には各液体培地の pH 測定を行った。

a: composite
b: halo
c: *E. coli*

Fig. 1. Definition of halo for *E. coli* antibacterial test. The symbol R represents the distance between the edges of composite and halo.

3. 結果と考察

3.1 複合成形体に含まれる成分と強度

原料である未焼成貝殻と焼成貝殻の XRD パターンを図 2 に示す。既に知られている通り、未焼成貝殻は炭酸カルシウム (CaCO₃, カルサイト) が主成分であり、これに加えて少量のタンパク質などを含む。これを 1000°C にて加熱した焼成貝殻には CaCO₃ は含まれず、酸化カルシウム (CaO) と少量の水酸化カルシウム (Ca(OH)₂) が主成分となる。CaCO₃ からの脱炭酸により CaO が生じ、続いて一部の CaO と空気中の水との反応により Ca(OH)₂ が生じたことがわかる。

Fig. 2. Powder XRD patterns of raw and fired scallop shells. (a) raw shell, (b) fired shell.

予備的な強度の評価（重しを用いた 3 点法による曲げ強度試験）³⁾によれば、原料粉体全体（未焼成貝殻+焼成貝殻+ガラス）に占める焼成貝殻の重量が 0–35 mass% の場合に十分な強度を有する成形体を得られ、焼成貝殻の含有量がこの範囲を超える場合では十分な強度が得られなかった（原料粉体が凝集している状態にとどまり、脆い成形体となった）。以下、焼成貝殻含有量が x [mass%] の原料粉体から作製した成形体を $C(x)$ と表記する。厚さ 1 cm あたりの曲げ破壊荷重は、 $C(0)$ で約 200 N/cm、 $C(35)$ では約 100 N/cm であり、焼成貝殻含有量が多くなるほど破壊荷重は低下した。

成形体の XRD パターンの例として、 $C(35)$ の XRD パターンを図 3 に示す。また、XRD により確認されたすべての組成の成形体 ($C(0-50)$) の成分を表 1 に示す。 $C(\leq 20)$ では成分として CaCO_3 のみが確認された。 $C(0)$ では、未焼成貝殻の成分である CaCO_3 がそのまま成形体中に含まれ、他の成分には変化していない。 $C(5-20)$ では焼成貝殻含有量が少量であるため、XRD ではその成分が検出されなかったものと考えられる。 $C(25-40)$ では、 CaCO_3 、 CaO および Ca(OH)_2 が確認された。原料粉体に含まれる CaO が成形処理中の水と反応して Ca(OH)_2 に変化し、 CaCO_3 、 CaO および Ca(OH)_2 を含んだものとなったことがわかる。従って、この成形体は水酸化ナトリウムの作用によって溶解したガラスがバインダーとなって CaCO_3 、 CaO および Ca(OH)_2 の粒子を接合しているものと考えられる。 $C(\geq 45)$ では成分として CaO および Ca(OH)_2 が確認され

Fig. 3. Powder XRD pattern of $C(35)$.

Table 1. Components of Composites Detected by XRD Measurements

Composite	Detected component
$C(0)$	CaCO_3
$C(5)$	CaCO_3
$C(10)$	CaCO_3
$C(15)$	CaCO_3
$C(20)$	CaCO_3
$C(25)$	CaCO_3 , CaO , Ca(OH)_2
$C(30)$	CaCO_3 , CaO , Ca(OH)_2
$C(35)$	CaCO_3 , CaO , Ca(OH)_2
$C(40)$	CaCO_3 , CaO , Ca(OH)_2
$C(45)$	CaO , Ca(OH)_2
$C(50)$	CaO , Ca(OH)_2

た。 $C(45)$ では未焼成貝殻含有量が少量であるため、 CaCO_3 が検出されなかったものと考えられる。

100°C の水蒸気に曝す操作は、建材の製造における水蒸気養生に相当する。しかし、この場合の水蒸気処理は、例えば既に報告されているようなケイ酸カルシウムの生成⁴⁾を促進するわけではなく、処理の前後で成分は変化していない。この場合の水蒸気処理の効果は、成形体の空隙に水蒸気が入り込むことによって、水酸化ナトリウムによるガラスの溶解を促進し、成形体全体にガラスを行き渡らせることにより強度を向上させるものと考えられる。本研究では廃材由来のガラスを用いたため、ソーダ石灰ガラスが主成分として含まれると考えられるが、正確な同定は現時点では行っていない。ガラスの成分による硬化挙動の違いは、今後の検討課題である。

3.2 大腸菌およびクロカビに対する各成形体の抗菌・抗カビ効果

成形体の焼成貝殻含有量と、阻止円の範囲の関係を図 4 に示す。焼成貝殻の含有量の多い成形体ほど、大腸菌の生育を抑制する効果が高いことがわかった。 $C(\leq 15)$ を用いた試験では阻止円がみられず、大腸菌に対する効果が認められなかった。これに対して、 $C(\geq 20)$ では焼成貝殻含有量の増加とともに阻止円を拡張する効果が顕著となった。緒言にて述べた通り、焼成貝殻を水溶液にしたものが種々の菌に対して抗菌効果を示すことは既に知られているが¹⁾、上記の結果から、成形体に混合された状態においても焼成貝殻は抗菌効果を示すことが明らかになった。なお、対照実験では抗菌効果は認められなかった。

クロカビを接種した GP 液体培地の写真を図 5 に示す。図中で、PC と表記されている試料は positive control であり、NC

Fig. 4. Mean distance R on halo as a function of fired shell content of composites used.

Fig. 5. Photograph of the GP liquid media containing *Cladosporium* sp. (a) negative control (NC); (b)–(e) liquid media with $C(0)$, $C(25)$, $C(35)$, $C(50)$, respectively; (f) positive control (PC).

Fig. 6. Dry weight of grown *Cladosporium* sp. as a function of fired shell content of composites used.

と表記されている試料は negative control である。この試験では、焼成貝殻含有量による抗カビ性の違いを比較するため、強度の低い C(50) による試験も行った。写真は接種後7日を経た培地であり、液面にクロカビが生成していることがわかる。25°C で7日間培養した後に生成したクロカビの乾燥重量と、使用した成形体の焼成貝殻含有量の関係を図6に示す。PC および C(≥ 25) を入れた培地では、成形体の焼成貝殻含有量の増加に伴い生成するクロカビの重量が減少し、生育を抑制する効果がみられた。NC および C(≤ 20) を入れた培地では、クロカビの生育を抑制する効果がみられなかった。

PC ではクロカビの生育を抑制する効果がみられたが、水酸化ナトリウムによる菌類の生育の抑制効果は既に知られている。本研究で用いた液体培地の培養後の pH を測定すると、NC では pH5.9、抗カビ効果のみられなかった培地では最大で pH9.6 程度であった。対して、PC では pH10.5、抗カビ効果のみられた培地では pH10.7 以上であった。このことから、本研究で作製した成形体の抗カビ効果には、成形体に含まれるアルカリ成分が関与していると推測される。

以上の結果から、焼成貝殻は成形体中にてガラスと混合している状態でも抗菌・抗カビ効果を示すことが明らかとなった。本研究の条件にて作製した成形体では、焼成貝殻の成分が成形体外の培地と接触し効果を及ぼすための空孔が保持されていたと考えられる。焼成貝殻による抗菌・抗カビ効果の発現機構としては、アルカリ成分 (OH^- イオン) による細胞への栄養素取り込みの障害作用¹⁾のほか、CaO に起因する O_2^- イオンによる殺菌作用⁵⁾などが考えられるが、詳しい発現機構については更なる検討を要する。

4.まとめ

本研究では、廃棄物であるホタテガイ貝殻とガラスを再利用し、抗菌・抗カビ効果を有する複合成形体を作製した。未焼成貝殻、焼成貝殻およびガラスを混合した粉体に水酸化ナトリウムを加え、乾燥させたのち水蒸気にて硬化処理を施すことにより、大腸菌およびクロカビに対して抗菌・抗カビ効果を示す成形体を得ることができた。

この成形体の作製は、貝殻の焼成と水蒸気処理を除いて常温・大気圧のもとで行なうことができ、処理に必要な薬剤も水酸化ナトリウムのみであるため、簡単な操作であるといえる。また、スラリー状の混合物を用いて成形を行うため、形状を自由に選択できることも利点として挙げられる。今後、本研究で作製した成形体がさまざまな場面で用いられ、北海道・東北地域での新産業創出に寄与することを期待する。

なお、本研究の成果は特許出願済である⁶⁾。

References

- 1) T. Yoshida et al., *Hachinohe Kogyo Daigaku Ibunya Yugou Kagaku Kenkyujo Kiyou*, 1, 117–120 (2003) [in Japanese].
- 2) JCPDS data: 7-763 (CaCO_3), 28-775 (CaO) and 4-733 ($\text{Ca}(\text{OH})_2$).
- 3) JIS Z2204, 226.
- 4) E. Sakai et al., Japan Patent No. 2007-131488 [in Japanese].
- 5) J. Sawai et al., *Bokin Bobai*, 34, 65–71 (2006) [in Japanese].
- 6) T. Takada et al., Japan Patent Pending No. 2007-54910 [in Japanese].