HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	海の生き物に学ぶ低環境負荷型抗付着材料の創製 ： フジツボに対するハイドロゲルの抗付着効果
Author(s)	黒川, 孝幸; 龔, 剣萍; 室﨑, 喬之 他
Citation	PEN, 3(11), 3-8
Issue Date	2013-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/54084
Type	journal article
File Information	130205_PEN_manuscript.pdf, 本文

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

海の生き物に学ぶ低環境負荷型抗付着材料の創製
―フジツボに対するハイドロゲルの抗付着効果―

北海道大学　先端生命科学研究院　黒川 孝幸、龔 剣萍
東北大学　WPI-AIMR　室﨑 喬之
（財）電力中央研究所　野方 靖行

1, はじめに

海辺を散歩するとフジツボ類や貝類、藻類等の岩場にへばりついて生きている生物をよく見ることができる。これら海洋付着生物は海洋資源として有用な反面、汚損生物として負の側面も持ち合わせている。例を挙げると、船底に付着する事で水の抵抗が増し船の燃費を増大させる、養殖漁網の網の目を詰まらせる事で養殖魚を窒息死させる、取水口を詰まらせる事で臨海発電所の冷却機能を低下させる等があり、海洋付着生物は世界中のあらゆる海に関わる産業に大きな経済的損失を与えている。

これら海洋付着生物からの汚損を防ぐ為、これまで有機スズ系化合物（TBT、TBTO）が多く用いられてきた。 有機スズ系化合物は海洋生物に対して非常に高い抗付着効果を示し広く用いられたが、一方で発がん性や内分泌かく乱作用を有する事が明らかとなり国際海事機関（IMO）によって船底塗料としての使用禁止条約が採択された[1]。よって海洋汚染を引き起こさない次世代の抗付着材料の開発が急務となっている。低環境負荷型の抗付着材料としてこれまでに天然由来の抗付着物質[2]やシリコーンゴム[3]などが研究開発されてきた。しかしそれらの物質はコストや効果等の面においていくつかの課題がある。

ところで、付着生物はどのような所に付着しているのであろうか。魚屋の店先を覗いた際、硬い貝の表面にフジツボ等が見られる事があるが、 魚や海藻の表面が付着生物に覆われている事はない。実際、海洋付着生物が主に付着しているのは岩場や、船底（鉄鋼）、漁網（プラスチック）、コンクリート面などの硬い固体表面に限られる。 魚類や藻類等、海の生き物の表面は全てソフトかつウェットなゲル状態にある。

筆者らはこの現象からゲル状態の物質には海洋付着生物が付着しない、あるいは付着しづらいのではないかという仮説を立てた。

本稿では、モデル付着生物としてタテジマフジツボ（*Balanus amphitrite*）を用い、室内・フィールド両実験系におけるゲルの抗付着効果について紹介する。

2, ハイドロゲルとは

高分子ハイドロゲル（図１）は少量の高分子と多量の水から構成されており、高分子の網目が水を閉じ込め、外部へ流れ出るのを防いでいるような構造となっている。金属やプラスチックなどの固体と異なるゲルの大きな特徴は、１）多量の水を含んでいる事（体積の 60～99%が水分）、２）非常に柔らかい事（弾性率が固体の 1/100～1/10,000）である。

3 次元的に架橋された高分子ゲルの弾性はゴムと同じく、エントロピー弾性である。エントロピー弾性は単位体積中の高分子部分鎖の密度に比例するので、大量に水を含んでいるゲルの弾性率は、その含水率に強く依存する。ゲルの含水率は一般的に膨潤度 q（水を吸って膨らんだ状態と乾燥状態のゲルの体積比）で記述される。水中で平衡膨潤した中性ゲルの弾性率 E は、

$$E \propto q^{-3}$$

の関係にあるため、ゲルの膨潤度 q の増加によって著しく下がる[4]。即ち、ゲルのソフトとウェットな性質は表裏一体の関係にあり、独立に変化させることができない。

ゼリーや寒天などの食品に代表されるように、ゲルは我々の身の回りにあふれている。我々人間の身体も一部（歯・骨）を除いてゲルで構成されているといって過言ではない。当然海藻やクラゲ、魚など多くの海の生き物もゲル状態であると言える。

3, フジツボとは

フジツボは最もポピュラーな海洋付着生物であり、世界中の海洋に広く分布している。またその接着力が強く除去が困難なことからフジツボの付着は非常に問題視されている。フジツボは一見すると貝のように見えるがカニ・エビと同じ甲殻類の仲間である。（余談であるが食すると両者の中間の味がして大変美味である。）

フジツボのライフサイクルは４つのステージに大別できる(図 2)。フジツボには遊泳生活を送る幼生期が 2 期あり、最初のノウプリウス幼生期に成長・脱皮を繰り返

す。そして数日経つとソラ豆のような形状のキプリス幼生に変態する。このキプリス幼生は、先端部が感覚器官となっている前脚（第一触角）を有しており、着生の前段階に基板が付着に適しているかどうかを判別する為の「探索行動」を行う。着生する事を決めた場合、キプリス幼生は接着タンパク質を分泌し基板にしっかりと固着し、成体とほぼ見た目が同じである幼稚体へと変態する。幼稚体以降、フジツボは成長と同時にセメントタンパク質を底面に分泌しその付着範囲を広げていく[5]。

このようなフジツボの生態を考慮すると、1)キプリス幼生の付着基板選定の過程、2)成体フジツボの成長過程、いずれの過程も視野に入れて抗付着戦略を立てる必要がある。

4. キプリス幼生に対するゲルの抗付着効果

まず初めに我々はゲルの化学的性質とキプリス幼生に対する抗付着効果について調べた[6]。図 3 はゲルを構成する高分子側鎖の官能基と実験開始後 5 日目における着生数（ポリスチレン（PS)に対する着生数で規格化したもの）との関係を示したものである。図より、固体である PS に比べてゲルや poly(dimethylsiloxane)（PDMS)に対するキプリス幼生の着生は低いことがわかる。合成高分子ゲルの官能基がヒドロキシル基・スルホ基の場合、極めて高いキプリス幼生に対する抗付着効果が見られる。一方、官能基がアミノ基の場合、ゲルにしては比較的着生率が高い結果となった。また天然高分子の場合、ヒドロキシル基を有するアガロースゲルに対してキプリス幼生の着生が全く見られなかったのに対して、ヒドロキシル基とスルホ基を有するκ-カラギーナンゲルに対してはゲルの中で最も高い着生が見られた。なぜκ-カラギーナンゲルの場合に他のヒドロキシル基・スルホ基ゲルと異なった傾向を示すのか、原因はよくわかっていない。また、ゲル存在下でもキプリス幼生の死亡率は 10%以下であり PS のみの場合と比較しても違いはなく、ゲルはキプリス幼生に対して毒性を示さない事がわかった。このことから既存の薬剤除法型殺生剤とは異なるメカニズムでキプリス幼生の付着を防いでいることが推測される。

図 4 は規格化したキプリス幼生の着生数とゲルの弾性率の関係を示したグラフである。PS に比べ遥かにゲルの弾性率は低く、着生数は少ない。ゲルの弾性率域に着目した場合、ゲルを弾性率の依存関係によって大まかに２グループに分類できる。即ち、官能基がヒドロキシル基とスルホ基のグループは着生数が弾性率（含水率）に依存せ

ず、ほぼゼロである。一方官能基がアミノ基のグループは弾性率の増加に伴って着生数が増えている。なぜ官能基によって弾性率に対するキプリス幼生の着生数の依存関係が変わるのかは未だわかっていない。

以上の室内での実験結果よりキプリス幼生はその探索行動を通して、ゲルの化学構造・弾性率（含水率）を認識しており、低弾性（高含水）な物性が抗付着に有効であることがわかった。これは今後抗付着ゲルを設計する上で重要な知見である。

5. 海洋中での長期付着実験

前述の室内系着生実験より、多くのゲルにはフジツボのキプリス幼生に対する抗付着効果があることが明らかとなった。では実際の海洋環境下においてゲルは抗付着材料になり得るのであろうか？

海洋環境下での使用で最も問題になるのが耐久性である。 実際、予備実験として前述の室内実験に用いたゲルを海洋中に浸漬した際、2 ヶ月強でそれらのゲルのほとんどは破損し失われた（しかし破損時までどのゲルにおいてもフジツボの付着は見られなかった。）。よって海洋中にて使用できる抗付着ゲルを世に送り出す為には抗付着効果の他に高強度性を兼ね備える必要がある。 近年著者らの研究グループは、これまでのゲルの常識を覆す非常に高強度なダブルネットワークゲル（DN ゲル）を開発した[7]。このゲルは重量の 8～9 割が水分であるにも関わらず 1000～3000%以上の伸び率と数十 MPa もの破断応力を示し、高強度ゴムにも匹敵する力学物性を持つ。また物理架橋の PVA ゲルは DN ゲルほどではないが、引っ張りに対し非常に丈夫なゲルであることが一般に知られている。これら DN ゲルと PVA ゲルを用いることで筆者らは海洋環境中でのゲルを用いた長期（330 日間）着生実験に初めて成功した[8]。

図 5（a）は実験開始から 330 日後に引き上げた各基板に付着していたフジツボを一個体ずつ分離し並べたものである。この結果より固体基板であるポリエチレンと比べゲル表面におけるフジツボの着生が極めて少ない事が明らかとなった。またフジツボのサイズを比較した場合、ゲル表面に着生したフジツボのサイズは固体と比べ小さい傾向が見られた。図 5（b）は各基板に付着したフジツボの面積が基板表面を占める割合を示したものである。 PE 基板上はほぼ 100%フジツボに覆われ、隙間なく密集して付着していた。一方ゲル上はフジツボで覆われている面積は 1 割にも満たなく、隣り合った固体が間隔をあけて付着している様子が見られた。 またフィールド実験より

ゲル上にはフジツボだけでなく、その他の海洋付着生物（ホヤ、海綿、海藻等）の付着も少ないこともわかった。 このことから、海洋中においてゲルはフジツボだけではなくその他の海洋付着生物に対しても抗付着効果を発揮していると考えられる。

6. ゲル上におけるフジツボの成長過程

海洋実験の結果からゲル上に付着したフジツボのサイズが固体と比べた場合小さい事が明らかとなった。これは，1）付着したフジツボがゲル上から剥離しやすい事（Easy release）、もしくは、2）ゲル上では成長し難い事、と二つの可能性が推測される。そこで実際に実験室内にて各基板上でのフジツボの成長過程を観察しフジツボ成長過程におけるゲルの抗付着効果について調べた[9]。

前述の通り一般的にハイドロゲルはキプリス幼生に対して高い抗付着効果を有する。本実験ではゲル中では比較的着生しやすく丈夫で取り扱い易い PAMPS/PAAm DN ゲルを用いた。またコントロールとしてゲルと同程度柔らかいが水を全く含まないシリコーンゴムの PDMS、固体の PS を用いた。

図 6 は着生からの経過時間と PAMPS/PAAm DN ゲル、PDMS、PS 上におけるフジツボのサイズの関係を示したものである（DN ゲル、PDMS の弾性率は 0.47MPa）。着生直後の底面直径は何れの基板上でも 500μm 程度であり、成長初期１ヶ月程度はサイズに大きな違いは見られない。しかし１ヶ月を過ぎた辺りから DN ゲル、PDMS では PS と比べフジツボの成長速度が鈍化する傾向が見られた。特に DN ゲルと PDMS を比較した場合、硬さが同じであるにも関わらずゲル上でのサイズは PDMS に比べ小さい。この事からフジツボの成長には基板の硬さだけでなく親疎水性も効いている事がわかる。

図 7 は種々の弾性率の PDMS 基板からのフジツボ剥離率、剥離時のサイズについて示したものである。このグラフからフジツボのサイズがだいたい２mm を超えた辺りから剥離が起こり始めている事がわかる。また剥離率と弾性率の間に相関性は見られなかった。同様の弾性率域において DN ゲル上においてもフジツボを飼育したが自然剥離は全く見られなかった。この事からフジツボの自然剥離は基板の硬さよりもむしろ親疎水性が重要であること、疎水基板上では剥離しやすいことが明らかとなった。以上、各基板の抗付着効果の特徴を表１にまとめる。

7. まとめ

以上の結果から、抗付着効果には１）キプリス幼生に対する付着忌避作用、2）成長阻害作用、3)自然剥離作用の３つの作用がある事がわかった。ゲルの場合には特にキプリス幼生に対する付着忌避作用が高く、室内・海洋両実験結果において固体基板と比べ、付着数が少ない主な理由であると考えられる。また付着したキプリス幼生の成長が鈍く付着物表面に広がりにくい。特にヒドロキシル基とスルホ基を有するゲルは非常に強い抗付着効果を有する。原因はよくわかっていないが、海藻やホヤなどの海洋生物の表面を構成する高分子を調べる事でヒントが得られるかもしれない。

ハイドロゲルは化学物質を徐放せず、 殆ど水なので安価かつ少ない材料で作製できる為、非常に低環境負荷型の抗付着材料になる事が期待される。しかし実用化にはまだ課題も存在する。海の生き物のような滑らかなゲル表面は、その高含水状態のために金属やプラスチックなどの異材料との接合が極めて難しいという側面を持っている。その為現在筆者らはゲルの接着研究にも取り組んでいる。ゲルによる船舶や漁網などに対する抗付着技術は海洋産業の経済的損失を防ぎ、海洋環境の保全に貢献できると期待する。

参考文献:

1. IMO [Internet]. Resolutions summaries A.895(21) (1999).
2. Fusetani N, Hirota H, Okino T, Tomono Y, Yoshimura E. “Antifouling activity of isocyanoterpenoids and related compounds isolated from a marine sponge and nudibranchs”. *J Nat Toxins* **5**. pp.249-259 (1996).
3. Brady RF, Jr, Griffith JR, Love KS, Field DE. “Nontoxic alternatives to antifouling paints”. *J Coat Technol* **59**. pp.113-119 (1987).
4. de Gennes PG. Polymer gels. “Scaling concepts in polymer physics”. Ithaca: Cornell University Press. pp.128-162 (1979).
5. 松村 清隆, “キプリス幼生の付着機構１-幼生はどのように付着場所を選択するか？-”, 日本付着生物学会 編, フジツボ類の最新学, 恒星社厚生閣, p.142 (2006).
6. Murosaki T, Noguchi T, Kakugo A, Putra A, Kurokawa T, Furukawa H, Osada Y, Gong JP, Nogata Y, Matsumura K, Yoshimura E, Fusetani N. “Antifouling activity of synthetic polymer gels against cyprids of the barnacle (Balanus amphitrite) in vitro”. *Biofouling* **25**. pp.313-320 (2009).
7. Gong JP, Katsuyama Y, Kurokawa T, Osada Y. “Double-network hydrogels with extremely high mechanical strength”. *Adv Mater* **15**. pp.1155-1158 (2003).
8. Murosaki T, Noguchi T, Hashimoto K, Kakugo A, Kurokawa T, Saito J, Chen YM, Furukawa H, Gong, JP. “Antifouling properties of tough gels against barnacles in a long-term marine environment experiment”. *Biofouling* **25**. pp.657-666 (2009).
9. Ahmed N, Murosaki T, Kakugo A, Kurokawa T, Gong JP, Nogata Y. “Long-term in situ observation of barnacle growth on soft substrates with different elasticity and wettability”. *Soft Matter* **7**. pp.7281-7290 (2011).