

学位論文題名

Study on antifouling properties of
hydrogels against barnacles

(フジツボに対するゲルの付着阻害性に関する研究)

学位論文内容の要旨

今日、世界中において海洋付着生物の汚損被害が漁業、発電施設、船舶等の海に関わる全ての分野において大変な問題となっている。漁業では養殖における生け簀の網に藻類や貝類が付着し網の目が詰まることによる養殖魚の窒息死が大きな問題となっている。また漁網の使用限界が約3ヶ月程度でありクリーニングや網の取り替えには莫大なコストが発生する。発電施設の場合には、冷却水用取水路内部にフジツボ類や貝類が付着することで取水効率の低下による冷却効率の低下が起こり、特に原発においては安全面の観点から大変な問題となる。またそれら付着生物を除去する費用が1回につき数億円かかることや、除去作業中は発電施設の運転を行うことが出来ずその分多くの発電施設を作る必要があることなど経済的、エネルギー的、環境的な問題も生じている。船舶においては航海中に多くの海洋付着生物が船底に付着し、船体が水より受ける抵抗が徐々に高くなっていく。その為航海の復路にかかる燃料費が往路に比べ大きくなる。

これまで海洋付着生物の付着防止の為に有機スズ系塗料 Tributyltin(TBT)が広く用いられてきたが、海洋付着生物に対する殺傷能の他にも内分泌攪乱作用を有することから国際条約により2008年までに使用が全世界で禁止された。その為TBTに換わる付着阻害物質の開発が世界的に急務となっている。環境負荷の少ない付着阻害方法として、海洋生物由来の天然付着阻害物質を用いる方法(Fusetani et al. 1996)や表面エネルギーの小さいPDMSを用いる方法(Brady et al. 1987)が報告されている。しかし既存の付着阻害技術は固体表面にて行われており、ハイドロゲルのようなソフト&ウェットマターはあまり注目されてこなかった。近年、藻類に対するゲルの付着阻害性(Cowling et al. 2000, Katsuyama et al. 2002)やフジツボに対するゲルの付着阻害性(Rasmussen et al. 2002)が報告されている。しかし僅かの種類のゲルしか実験室にて調べられておらず、またフィールドにおけるゲルを用いた長期の付着阻害性試験も行われた事がない。

本学位論文では、フジツボをモデル海洋付着生物として用い、室内実験 (*in vitro test*)、フィールド実験 (*in vivo test*)より種々のゲルの付着阻害性を評価した。

In vitro test ではフジツボ付着期幼生(キブリス幼生)の着生挙動を化学種や弾性率の異なる高分子ゲル(中性合成高分子ゲル: PAAm, PDMAAm, PHEMA, PHEA, PVA、カチオン性合成高分子ゲル: PDMApAA-Q, PDMAEA-Q、アニオン性合成高分子ゲル: PNaSS, PAMPS, PNaAMPS、ダブルネットワーク(DN)ゲル: PAMPS/PAAm DN, PAAc/PAAm DN)の表面にて観察した。実験には底面にゲルを敷いたポリスチレン(PS)製のマルチディッシュを用い、ウェル内部にオートクレーブ殺菌した海水とキブリス幼生を入れ、1-5日後にウェル内部

を実体顕微鏡にて観察し、底面に着生した個体、側面の PS に着生した個体、死亡した個体をカウントした。その結果、半数以上のキプリス幼生が PS 表面に着生したのに対してゲル表面では着生がほとんど観察されなかった。さらにキプリス幼生の死亡率は全てのウェルにおいて大変低い値 (1-10%) であったことからゲルはキプリス幼生に対して毒性を示さない。またフジツボの着生はゲルの電荷 (中性、カチオン性、アニオン性) に影響されないことも明らかになった。着生実験の結果より、ゲルの化学種は着生の弾性率依存性によって 2 グループに分類できることが明らかとなった。グループ 1 のゲル (PHEMA, PHEA, PNaAMPS, PAMPS, PNaSS, PDMAEA-Q, PVA, PAAc/PAAm DN) 上では幅広い弾性率の範囲においてほとんど着生がみられなかったのに対して、グループ 2 のゲル (PAAm, PDMAAm, PDMAAA-Q, PAMPS/PAAm DN) では弾性率が増加するに従って着生が増加する傾向がみられた。また水を全く含まないシリコーンゲル (PDMS) を用いた実験の場合、PDMS の弾性率が増加するに従って着生が増加したことより、ゲルの膨潤度よりはむしろ弾性率の方が着生に大きく関わっていると考えている。

In vivo test では、高い力学強度を有する PAMPS/PAAm DN ゲル、PVA ゲルをはじめとする様々なゲルを海洋に沈め、フジツボをはじめとする海洋付着生物に対するゲルの付着阻害性を調べた。実験は福井県敦賀湾にて行われ、海洋中でのゲルの固定方法が異なる 3 つの実験結果よりゲルの付着阻害性は評価された。固定方法は 1) フィルム上にした薄膜ゲル (PAAm, PAAc, PAMPS, PAMPS/PAAm DN, PAAc/PAAm DN) をポリエチレン (PE) 表面に固定した方法、2) 2 枚のステンレスメッシュにゲル (Agarose, κ -carrageenan, PAAm, PAMPS, PAAc, PAMPS/PAAm DN, PAAc/PAAm DN, PAMPS/PAAm/PAMPS triple network (TN), PAAc/PAAm/PAAc TN) を挟みこんで固定した方法、3) 高強度 PAMPS/PAAm DN と PVA ゲルの淵部分を直接ステンレス枠に固定した方法の 3 種である。1) の場合にはゲルの付着阻害性は認められなかった。これは実験期間中にゲルが PE 表面から剥離してしまった為と考えている。2) の場合には全てのゲルにおいて 2 ヶ月以上付着阻害性が認められた。しかしほとんどのゲルは実験中に破損・喪失し 159 日目まで存在しかつ付着阻害性を発揮したゲルは PAMPS/PAAm DN ゲルのみであった。3) の結果では、PE 表面の 90% 以上がフジツボで覆われていたのに対し、PAMPS/PAAm DN ゲルの場合には約 3%、PVA ゲルの場合には約 7% しかフジツボが着生しておらず、これらのゲルは約 1 年に渡り海洋中で破損せず、かつ非常に高い付着阻害性を示すことが明らかになった。さらにフジツボ以外の海洋付着生物 (ホヤ類、藻類など) の乾燥重量を基板別に比較した結果、フジツボの着生同様、PE に比べゲル表面には海洋付着生物の存在が少ないことが明らかとなった。着生したフジツボの接着面を観察した結果、PE 上のフジツボ接着面は平滑であるのに対し、ゲル上に着生したフジツボの接着面は周辺部から中心部へ向かって凹んでおり、また PVA ゲル表面では一部個体はゲル内部に食い込んで成長していた様子が観察された。この現象にはサンプルの弾性率が影響していると考えられる。食い込み成長は DN ゲルの場合観察されなかったことからフジツボ接着面の組織の弾性率は DN のそれ (1.25MPa) から PVA (0.09MPa) の間であると考えられる。

ゲルは、薬剤徐放型ではなく生物に対して全く毒性を示さない点において既存の付着阻害物質と異なる。更にゲルには摩擦抵抗を低減する効果がある為、船舶に用いた場合には船の燃費を抑えることができ漁業就業者の金銭的負担が軽減されるという効果も期待できる。本研究によって得られる知見は新規付着阻害材料の創成に繋がるものと期待している。

学位論文審査の要旨

主査	教授	龔	劍	萍
副査	教授	佐々木	直	樹
副査	准教授	古川	英	光
副査	助教	角五		彰

学位論文題名

Study on antifouling properties of hydrogels against barnacles

(フジツボに対するゲルの付着阻害性に関する研究)

今日、世界中において海洋付着生物の汚損被害が漁業、発電施設、船舶等の海に関わる全ての分野において大変な問題となっている。これまで海洋付着生物の付着防止の為に有機スズ系塗料 Tributyltin(TBT)が広く用いられてきたが、海洋付着生物に対する殺傷能の他にも内分泌攪乱作用を有することから国際条約により 2008 年までに使用が全世界で禁止された。その為 TBT に換わる付着阻害物質の開発が世界的に急務となっている。近年、藻類に対するゲルの付着阻害性(Cowling et al. 2000、Katsuyama et al. 2002)やフジツボに対するゲルの付着阻害性(Rasmussen et al. 2002)が報告されている。しかし僅かの種類のゲルしか実験室にて調べられておらず、またフィールドにおけるゲルを用いた長期の付着阻害性試験も行われた事がない。本学位論文では、フジツボをモデル海洋付着生物として用い、室内実験 (*in vitro test*)、フィールド実験 (*in vivo test*)より種々のゲルの付着阻害性を評価した。

In vitro test ではフジツボ付着期幼生 (キプリス幼生) の着生挙動を化学種や弾性率の異なる高分子ゲル (中性合成高分子ゲル: PAAm, PDMAAm, PHEMA, PHEA, PVA、カチオン性合成高分子ゲル: PDMAPAA-Q, PDMAEA-Q、アニオン性合成高分子ゲル: PNaSS, PAMPS, PNaAMPS、ダブルネットワーク(DN)ゲル: PAMPS/PAAm DN, PAAc/PAAm DN) の表面にて観察した。実験には底面にゲルを敷いたポリスチレン (PS) 製のマルチディッシュを用い、ウェル内部にオートクレーブ殺菌した海水とキプリス幼生を入れ、1-5 日後にウェル内部を実体顕微鏡にて観察し、底面に着生した個体、側面の PS に着生した個体、死亡した個体をカウントした。その結果、半数以上のキプリス幼生が PS 表面に着生したのに対してゲル表面では着生がほとんど観察されなかった。さらにキプリス幼生の死亡率は全てのウェルにおいて大変低い値 (1-10%) であったことからゲルはキプリス幼生に対して毒性を示さないことが明らかとなった。これより固体とゲルを比較した場合、ゲルの化学的性質 (化学種・電荷) に関係なく、キプリス幼生はゲルに着生しづらい事が明らかになった。キプリス幼生の着生数をゲル間において比較した場合、ゲルの化学種は着生の弾性率依存性によって 2 グループに分類できることが明らかとなった。グループ 1 のゲル (PHEMA, PHEA, PNaAMPS, PAMPS, PNaSS, PDMAEA-Q, PVA, PAAc/PAAm

DN) では幅広い膨潤度の範囲においてほとんど着生がみられなかったのに対して、グループ 2 のゲル (PAAm, PDMAAm, PDMApAA-Q, PAMPS/PAAm DN) では膨潤度が増加するに従って着生が減少する傾向がみられた。

In vivo test では、高い力学強度を有する PAMPS/PAAm DN ゲル、PVA ゲルを海洋に沈め、フジツボをはじめとする海洋付着生物に対するゲルの付着阻害性を調べた。実験は福井県敦賀湾にて 330 日間にわたり行ない、この間 PAMPS/PAAm DN, PVA ゲルは破損しなかった。実験開始 330 日後、PE 表面のほぼ 100% がフジツボで覆われていたのに対し、PAMPS/PAAm DN ゲルの場合には約 3%、PVA ゲルの場合には約 7% しかフジツボの付着が見られなかった。また固体とゲル表面に付着したフジツボのサイズを比べた場合、ゲルに付着したフジツボのサイズは小さいことも明らかになった。また付着したフジツボの接着面を観察した結果、PE 上のフジツボ接着面は平滑であるのに対し、ゲル上に着生したフジツボの接着面は周辺部から中心部へ向かって凹んでいる様子が観察された。また PVA ゲル表面ではフジツボがゲル内部に食い込んで成長していた様子が観察された。海洋での実験結果から、本学位論文は、以下に示すようなゲル上でのフジツボ剥離モデルを提案された。固体基板上において、フジツボは底殻と周殻を繋ぐ筋肉を収縮させ周殻を基板表面に押し当てながら底殻より基板表面にセメントタンパク質を放出することが知られている。ゲルの場合には、1) 表面の高分子鎖が水和していることによってセメントが高分子鎖に吸着できず固体表面と比べ弱い接着層を形成している。2) ゲルが柔らかい為、周殻をゲルに押し当てた際にゲルが変形し、底殻周辺部より剥離する。以上の理由によりゲル基板上からフジツボは剥離し易いものと考えられる。ゲル上でのフジツボ接着強度は弱いと考えられるが、ゲルの弾性率が筋肉の収縮応力より小さい場合にはフジツボはゲルに食い込み剥離しづらくなるものと考えられる。

以上の結果から、本研究では次のような知見が得られた。

- 1) ゲル上ではフジツボは固体に比べ遙かに付着しづらい
- 2) ゲルの付着阻害効果の原因はその Soft & Wet 状態にある

これらの知見は、ゲルを用いた新規付着阻害材料の創成に繋がるものと期待している。ゲルは、従来の薬剤徐放型防汚剤と異なり生物に対して全く毒性を示さない。またゲルの材料となる合成高分子は工業的に安価である。更にゲルには摩擦抵抗を低減する効果がある為、船舶に用いた場合には船の燃費を抑えることができ漁業就業者の金銭的負担が軽減されるという効果も期待される。

よって著者は、北海道大学博士 (理学) の学位を授与される資格があるものと認める。