

ムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* の付着挙動とポリL-乳酸の効果

古川泰地・西田治男*

九州工業大学大学院生命体工学研究科 〒808-0196 福岡県北九州市若松区ひびきの2-4

Adhesion behavior of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* and effects of poly(L-lactic acid)

Taichi Furukawa and Haruo Nishida*

Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology, 2-4 Hibikino, Wakamatsu-ku, Kitakyushu, Fukuoka 808-0196, Japan

* Corresponding author: Haruo Nishida E-mail: nishida@lsse.kyutech.ac.jp

(Received August 25, 2015; Accepted September 16, 2015; Published Online January 7, 2016)

Abstract

Effects of poly(L-lactic acid) (PLLA), as a purportedly environmentally benign antifoulant, on the adhesion behavior of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* were studied. PLLA-casting sheet samples having different molecular weights, which were prepared by treatment with super-heated steam, were subjected to a mussel adhesion test. The numbers of attached mussels and byssus threads produced by them on the sheet decreased with a decrease in the molecular weight of PLLA, while no vital effect was observed on the mussels. These results indicate that the lower the molecular weight of PLLA, the more significant the effect on mussel adhesion behavior, without any toxic effect.

Keywords: Marine mussel, Poly(L-lactic acid), Adhesion behavior, Byssus thread

緒言

水棲付着生物の船舶や構造物への付着による汚損は深刻な問題である。船舶の生物汚損は海水との摩擦増加により燃費上昇を引き起こす (Schultz, 2011)。そのための対策として防汚塗料が用いられてきた。防汚塗料として、長年、トリブチルスズ (TBT) を含む環境毒性の強いものが用いられてきたが、TBTは、たとえばイボニシやヨーロッパチジミボラなどの巻貝に対して雌雄同体を引き起こす内分泌攪乱物質であることが分かり、2003年以降の有機スズ防汚塗料塗布禁止と2008年1月以降船舶表面に存在することを禁止し、2008年9月に発効した (沖野, 2008)。

現在、これまでの環境負荷の大きい防汚技術から、より環境負荷が小さい技術への移行が進んでいる。数多くの天然成分が抽出され、それらの防汚活性が確認されており (Qian *et al.*, 2010)、また、生物の体表面を模倣した構造の特性が研究されている (Scardino and Nys, 2011)。例えば、天然物質であるテルペン類 (Piazza *et al.*, 2010) やタラタンニンの亜鉛化合物 (Bellotti *et al.*, 2012)、付着生物に対応した特異なトポグラフィー (Schumacher *et al.*, 2007)、イルカの体表面の自己クリーニング機能の模倣 (Baum *et al.*, 2001)、構造物表面の微細構造による防汚表面技術 (Berntsson *et al.*, 2000) などが報告されてい

る。また、導電性コーティングにより海水を電気分解して発生する塩素を利用する方法 (Huang *et al.*, 2010) なども考案されている。より安全な防汚塗料に関する研究としては、パーフルオロポリエーテルとポリ (エチレングリコール) セグメントから成る両親媒性ネットワーク (Wang *et al.*, 2011) や、ポリシロキサン-ウレタン-尿素共重合体 (Rahman *et al.*, 2011) などが研究され海洋での実証試験が行われている。さらに、塗料のマトリックスポリマーとして、生分解性ポリマーであるポリカプロラクトンやポリ (L-乳酸) (PLLA) をマトリックスポリマーにして防汚剤をブレンドし、海水中でマトリックスポリマーが加水分解するとともに防汚剤としての尿素系除草剤ジウロンや酸化第一銅が放出される防汚システムがFayらによって活発に研究されてきた (Fay *et al.*, 2006)。

本研究は、生分解性ポリマーであるPLLAをマトリックスポリマーとしてではなく、PLLAから加水分解によって徐放される乳酸の海洋付着生物の付着抑制効果について検討するものである。既に、PLLAから放出される乳酸はフジツボのキプリス幼生に対して付着抑制効果があり、一方で、フジツボの生存に対する影響が少ないこと、海洋環境への影響が著しく少ないことが報告されている (Ishimaru *et al.*, 2012)。本研究では、フジツボ同様に代表的な海洋付着生物であるムラサキイガイの成

体の付着挙動へのPLLAの付着抑制効果について検討を行った。

材料と方法

1. ムラサキイガイの採取と飼育

実験に用いたムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* は、山口県下関市永田本町の防波堤で採取した729個体(殻長 21.1 ± 2.0 mm、殻高 44.1 ± 5.6 mm、殻幅 18.2 ± 2.1 mm、体重 10.7 ± 2.5 mg)を用いた。飼育は、水槽(60×30×36 cm³、容量57 L)中、人工海水(大阪薬研株式会社製、マリンアートSF-1、塩分濃度30‰、pH 7.8~8.1)を用いて、25°C、十分なエアレーション下で行なった。餌は、Walne's Medium (Walne, 1970)を用いて、十分なエアレーション下で培養した *Nannochloropsis* を用いた。給餌は *Nannochloropsis* を24時間おきに10 mLずつ飼育水槽に添加した。

2. ポリ(L-乳酸)の分子量の調整

実験に用いたさまざまな分子量を有するポリ(L-乳酸)(PLLA)は、高分子量PLLA(トヨタ製U'zS-09、重量平均分子量(M_w)106,000、数平均分子量(M_n)66,000)を、Nishidaら(2000)やMohd-Admanら(2008)の方法に従い、過熱水蒸気処理装置(直本工業製QF-5200C)中、130°Cの過熱水蒸気を用いて処理を行い、分子量を調整した。水蒸気処理後のPLLAの分子量は、サイズ排除クロマトグラフ(SEC、東ソー製PLC-8320GPC)を用いて測定し、 M_w 、 M_n および多分散度(PDI)の値はEq. 1を用いて算出した。カラムは、TSKgel Super HM-M(東ソー製リニアタイプカラム、直線範囲 $1 \times 10^3 \sim 8 \times 10^6$ 、排除限界分子量 4×10^8)を用い、温度40°C、移動相CHCl₃、流速0.6 mL/minで行った。分子量測定サンプルはCHCl₃(2 mL)にPLLAサンプル10 mgを溶解して用いた。分子量は、汎用校正曲線法(Yasuda *et al.*, 2010)により絶対分子量を決定した。

$$M_n = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} n_i m_i}{\sum_{i=1}^{\infty} n_i}, \quad M_w = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} n_i m_i^2}{\sum_{i=1}^{\infty} n_i m_i}, \quad PDI = \frac{M_w}{M_n} \quad (1)$$

ここで、 n_i と m_i は、 i 量体の数と分子量を表す。

3. 付着実験

ムラサキイガイの付着実験は、フェライト系ステンレスSUS430板(株式会社光製、200×150 mm²、厚さ0.5 mm)上にキャストしたPLLA膜上で行った。過熱水蒸気処理後のPLLAサンプル約0.8 gをステンレス板上に置き、ホットプレス(井元製作所製IMC-180C)を用いて、溶融3 min/190°C、成型1 min/190°Cの条件で、50 mmφ以上のキャスト膜を形成した。その上に、中心を50 mmφの円形に切り抜いたもう一つのフェライト系ステンレスSUS430板(150 mm×150 mm厚さ0.5 mm)を重ね、切り抜いた円形部の外周部4か所にムラサキイガイの成体を塩化ビニール樹脂+ウレタン樹脂系接着剤

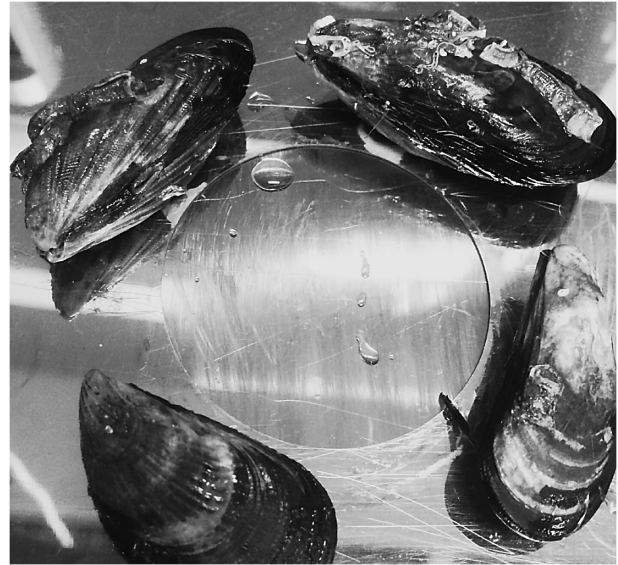


Fig. 1. ムラサキイガイの付着実験。ムラサキイガイは、PLLAがキャストされた円形部周囲のステンレス枠上に塩化ビニール樹脂+ウレタン樹脂系接着剤で固定。

(住友スリーエム株式会社製、Scotch強力接着剤・多用途)で固定し付着実験を行った(Fig. 1)。また参照サンプルとして、セメント板の上に50 mmφの円形孔を持ったステンレス板を重ねて同様に付着実験を行った。

付着実験は、人工海水30 Lを入れた水槽(97×62×22 cm³)を用いて、水温を25°Cに設定し、十分なエアレーション下で行った。ここで、PLLAサンプルに対する人工海水の量は、体積にして約4300倍であり、PLLAの加水分解に伴う人工海水全体のpH変化は全く検知できなかった。付着実験中は、インターバルカメラ(株式会社キングジム製、レコロIR-7)を用いてムラサキイガイの付着挙動観察を行った。実験開始から6時間後に付着結果を確認し、足を殻外に出した個体は付着のための挙動(action)をとったとみなし、足糸を形成したものを付着(adhesion)とみなした。何ら行動を起こさなかった個体は、付着実験サンプル数に含まないこととした。一つのPLLAサンプルに対し、100個体以上の付着挙動をとったムラサキイガイから、付着に関する定量評価を行った。

4. 表面形状観察

PLLAサンプルの付着実験に伴う表面の形状変化は、レーザーデジタル顕微鏡(KEYENCE製、3D Laser Scanning Confocal Microscope Model VK-X110)を用いて観察した。

5. 人工海水のpH変化

PLLAの加水分解に伴う乳酸溶出挙動は、人工海水のpH変化により確認した。5 mL容量のサンプル管に、PLLAサンプルペレット(直径2 mm、長さ4 mm)(16 mg)を取り、その5および1000倍量(v/w)の人工海水を加え、密封後、25°Cの恒温水槽中に保持し、1時間おきに人工海水のpHを計測した。また参照サンプルとして、高密度ポリエチレン(HDPE、日本ポリエチレン(株)製ノバ

テックHD HY540) のペレットを用いて、同様に実施した。

結果と考察

1. 異なる分子量のPLLAの調製

PLLAの加水分解に伴う分子量の低減は、分子末端のカルボキシル基の作用による自己触媒的加水分解機構で進行する (Nishida *et al.*, 2000; Mohd-Adman *et al.*, 2008)。そこで、異なる分子量のPLLAサンプル調製は、高分子量のPLLA-1 (M_w 106,000) (Table 1) を基にして、130°Cの過熱水蒸気による加水分解反応の制御によって行った。過熱水蒸気処理時間を長くするに伴い、低分子量側に移行 (Table 1) し、さらに、その分子量分布は単峰性から多峰性へと変化した (Fig. 2)。PLLA-1と調製した6種のPLLA-2~PLLA-7のサンプルの分子量範囲は、 M_w 106,000~3,400および M_n 66,000~2,500であった。

2. 乳酸溶出に伴う海水のpHの変化

PLLAの加水分解に伴う人工海水のpH変化をFig. 3に示す。PLLAサンプル重量に対して人工海水を5倍量 (v/w) 用いた場合、 $M_w=13,000$ (PLLA-3) より低分子量のサンプルで明確なpH低下が観察された。人工海水が1000倍量 (v/w) の条件では、pHの低下は殆ど観測されず、用いたPLLAサンプルの中で最も分子量の低い $M_w=4,300$ (PLLA-6) を入れた場合だけがpH 6.6付近まで低下した。以上の結果から、明らかに低分子量のPLLAほど、加水分解に伴いより多くの酸成分を人工海水中に溶出することが確認された。

3. ムラサキイガイの付着挙動

異なる分子量のPLLAサンプルをキャストしたステンレス板と参照サンプルとしてのセメント板上でのムラサキイガイの付着挙動を観察した。1回の実験でムラサキイガイ4個体を使用し、各PLLAサンプルに対して、27回以上の実験を繰り返して行った。結果をTable 2およびFig. 4に示す。付着挙動を取った (acted) 個体の総数に対するセメント板状に付着した (adhered) ムラサキイガイ個体の総数の割合、すなわち付着率 (adhesion ratio) が29%であったのに対し、PLLA-1 (M_w : 106,000) への付着率は18%であった。さらに、PLLAの分子量が低下するに伴い付着率も低下し、PLLA-7 (M_w : 3,400) では7%まで低下して、Mann-WhitneyのU-test (大川, 2002) から明確な差異が認められた。足糸形成数を比較すると、セメント板に対して形成された足糸の数は付着個体あたり6.3本であるのに対し、PLLA-1 (M_w : 106,000) では、1個体あたり8.7本と増大した (Fig. 5A)。しかし、PLLAの分子量が減少するにつれて足糸形成数も減少し、PLLA-3~7 (M_w : 7,900~3,400) では3.7~3.4本まで減少した (Fig. 5B)。足糸形成数に関してもMann-WhitneyのU-testから、セメント板に対するPLLA-1の足糸形成数は有意水準5%で、PLLA-1に対するPLLA-3は有意水準5%、PLLA-4~7は有意水準1%で明確な差異が認められた。これらの結果から、PLLAの分子量の低下、す

Table 1. 水蒸気処理による異なる分子量のPLLAシートサンプルの調製。

Sample	M_n^a	M_w^a
PLLA-1	66,000	106,000
PLLA-2	9,900	19,000
PLLA-3	7,000	13,000
PLLA-4	4,900	7,900
PLLA-5	3,400	5,000
PLLA-6	3,100	4,300
PLLA-7	2,500	3,400

^a SEC分析：汎用較正曲線法

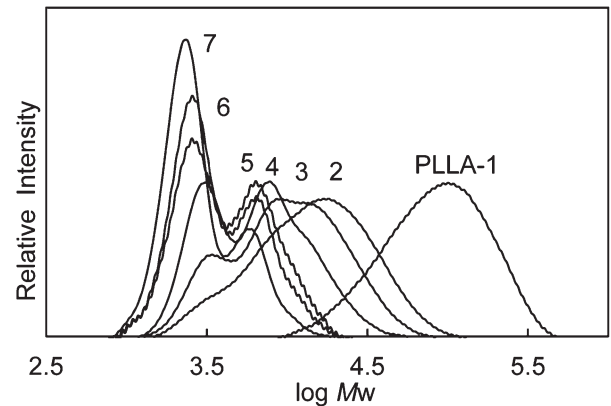


Fig. 2. PLLAサンプル1~7のSECクロマトグラムによる分子量分布. SEC測定条件：溶離液クロロホルム；流量0.6 mL/min；カラムTSKgel Super HM-M.

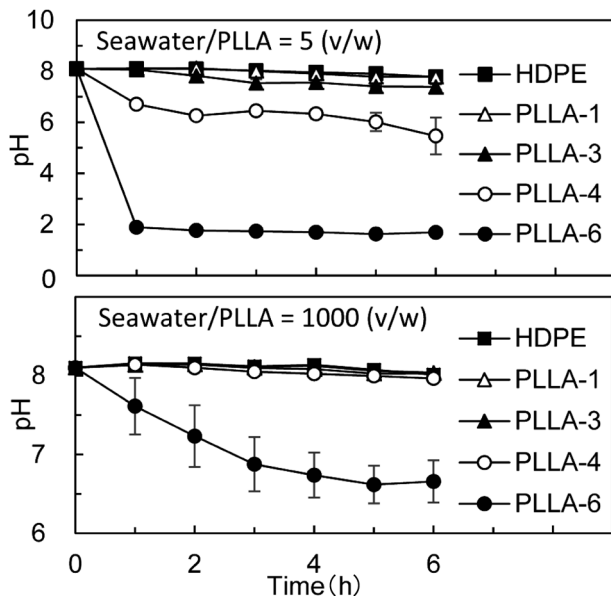


Fig. 3. PLLAの25°C人工海水中での加水分解に伴う人工海水のpH変化. A) 人工海水/PLLA=5 (v/w); B) 人工海水/PLLA=1000 (v/w); サンプル：HDPE (参照)；PLLA-1 (M_w : 106,000)；PLLA-3 (M_w : 13,000)；PLLA-4 (M_w : 7,900)；PLLA-6 (M_w : 4,300)。

なわち、末端COOH基の濃度上昇、および乳酸溶出量の増大が、ムラサキイガイの付着率および足糸形成数を低減し、付着挙動を抑制することが確認された。

ムラサキイガイの接着機構は、足糸のブランク表面の

Table 2. ムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* の付着試験結果.

Substrate	Number of acted mussels ^{a)}	Number of adhered mussels ^{a)}	Adhesion ratio ^{b)}	Number of byssus threads ^{c)}	Mean no. of byssus threads per adhered mussel
Cement	116	34	29%	214	6.3
PLLA-1	100	18	18% ^{ns}	156	8.7
PLLA-2	101	16	16% ^{ns}	113 ^{ns}	7.1
PLLA-3	102	12	12% [*]	57 [*]	4.8
PLLA-4	101	9	9% [*]	31 ^{**}	3.4
PLLA-5	101	7	7% [*]	26 ^{**}	3.7
PLLA-7	108	8	7% [*]	28 ^{**}	3.5

^{a)} This means mussels that moved and searched the substrate surfaces during the test period. Mann-Whitney's *U*-test results: "^{*}" and "^{**}", significant differences at the 0.05 and 0.01 levels, respectively; and "^{ns}", no significant difference: ^{b)} between the cement and the other substrates, and ^{c)} between PLLA-1 and the other PLLA substrates.

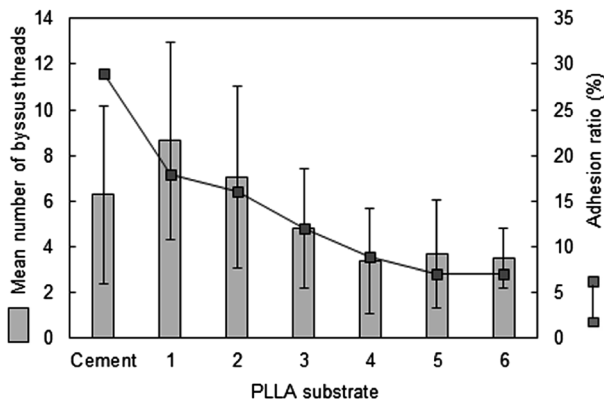


Fig. 4. PLLA分子量とムラサキイガイの付着率および足糸形成数との関係. 足糸形成数のエラーバーは標準偏差を表す(実験回数 27回以上).

接着タンパクによる接着と考えられている。とりわけ、DOPAユニットによる水素結合および酸化重合による硬化が強力な接着機構を発現すると報告されている (Lee *et al.*, 2006; Dreyer *et al.*, 2012)。また、Rodriguezら (2015) によって、ムラサキイガイが足糸を形成する際、足と接する局所界面で酸性環境が作りだされ、足糸の接着タンパク上のカテコール基による付着機能が効果的に働き、その後、pHの上昇とともに、足糸タンパクが架橋硬化することが報告されている。従って、PLLAによる付着抑制機構は、サンプル表面から徐放される乳酸が、足糸と接着表面間の局所領域の低pH環境を維持し、それによって、接着タンパクの架橋硬化反応が抑制されたことが一因と考えられる。これについては、乳酸によるDOPAの酸化重合抑制効果が予備実験的に見出されており、今後、詳細について報告する予定である。

本付着実験の間、用いたムラサキイガイ 729 個体に死亡は観察されなかった。Table 2と Fig. 4 に示したムラサキイガイの付着挙動の結果は、PLLA：人工海水=1：4,300 (w/v) で用いているため、溶出乳酸による pH 低下は、PLLA キャスト膜の表面近傍でのみ起こっており、ムラサキイガイ成体への直接的影響はほとんどなかったものと考えられる。なお、PLLA および乳酸の生物毒性は非常に低く (宮本, 2010)、L-乳酸の経口による LD50 は、3543 mg/kg (ラット) および 4875 mg/kg (マウス) と報告されており (WHO Food Additives Series No. 5)、

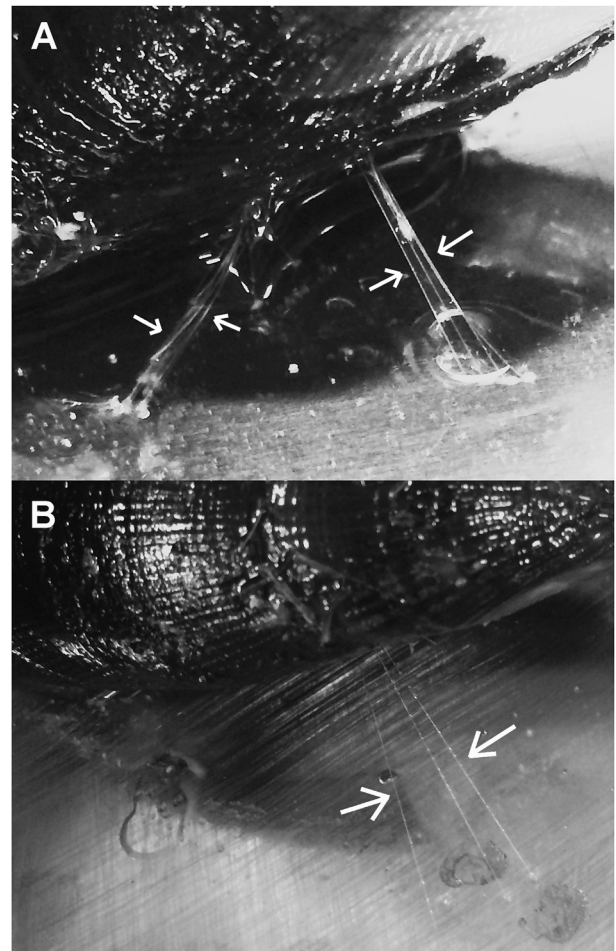


Fig. 5. PLLA サンプルに付着したムラサキイガイの足糸形成状況. 矢印は形成した足糸を示す. A) PLLA-1 (M_w 106,000) 平均足糸形成数 8.7 本, B) PLLA-5 (M_w 5,000) 平均足糸形成数 3.7 本.

海水主要成分である NaCl や食酢の主要成分である酢酸よりも低い値である。

4. 付着実験サンプルの表面形状変化

付着実験に供した PLLA サンプルの表面形状の変化を Fig. 6 に示す。より高分子量の PLLA-1 (M_w : 106,000) ~ PLLA-4 (M_w : 7,900) の範囲では、その表面に明確な変化は観察されなかった (Fig. 6A~B) が、低分子量の PLLA-5 (M_w : 5,000) では表面の一部にクラックの形成が確認された。さらに低分子量の PLLA-7 (M_w : 3,400)

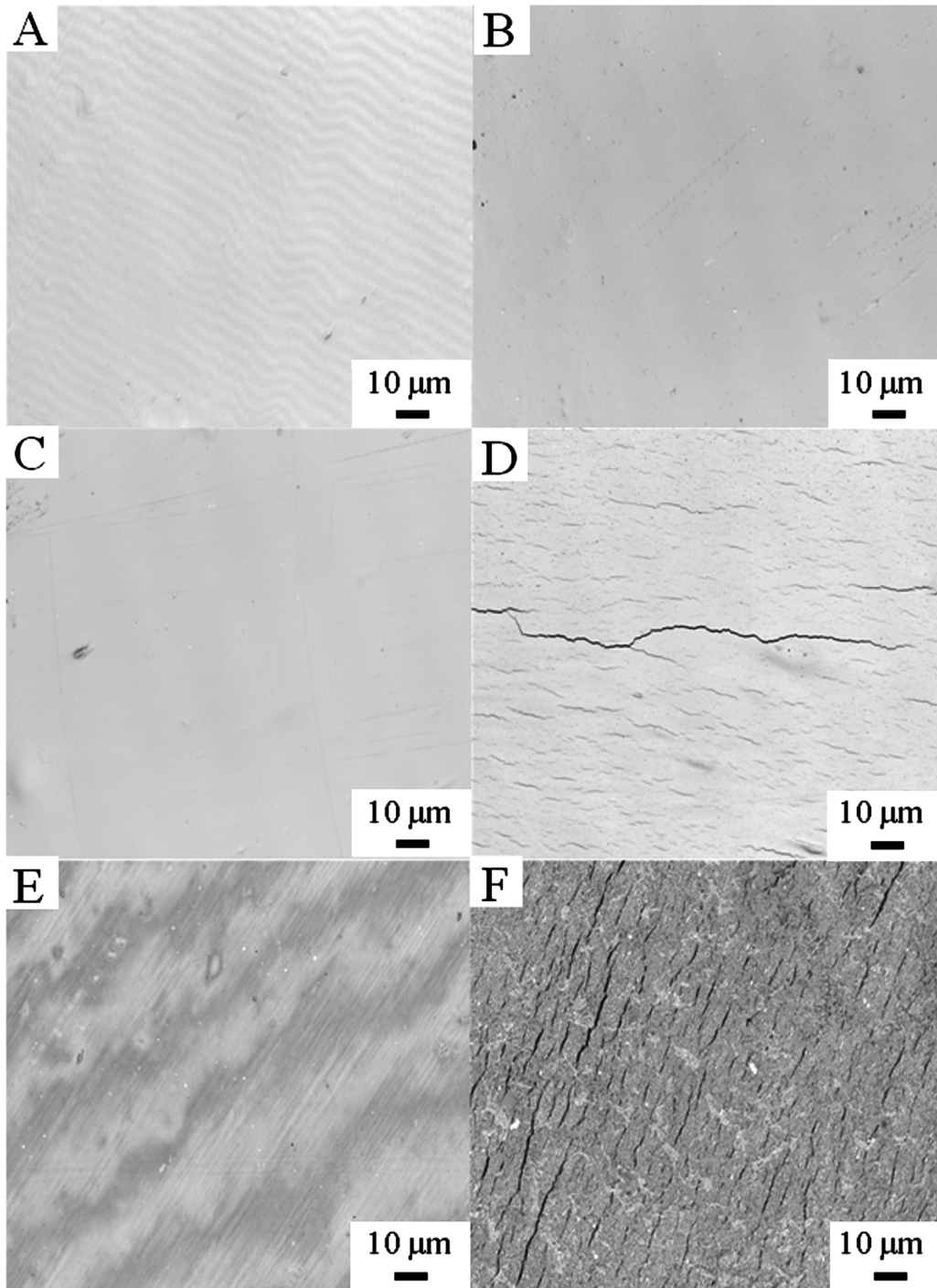


Fig. 6. 付着実験 (25°C, 6h) 前後での PLLA サンプル表面の形態変化. A) PLLA-4 (M_w : 7,900) 付着実験前, B) 後 表面に明確な変化は観察されず; C) PLLA-5 (M_w : 5,000) 付着実験前, D) 後 表面の一部にクラックの形成が確認; E) PLLA-7 (M_w : 3,400) 付着実験前, F) 後 表面全体にクラックが広がり崩壊挙動がより顕著に進行.

ではサンプル表面全体にクラックが広がり、崩壊挙動がより顕著に進行していることが認められた。これは、自己触媒的加水分解反応が結晶相間の非晶領域で優先的に起こり、非晶領域を繋ぐように崩壊が進行したためと考えられる。ただし、ムラサキイガイの足糸形成部位での明確な崩壊は確認されておらず、PLLA の表面浸食や崩落現象が足糸形成に、直接、物理的に作用したわけではなかった。

結論

ムラサキイガイの付着挙動に対する PLLA の影響は、その分子量が低くなるにつれ付着率および足糸形成数の減少という結果として認められた。これらの結果から、PLLA から溶出する乳酸による PLLA サンプル表面の極近傍における pH の低下による付着抑制効果と推測される。ただし、非常に希薄な乳酸濃度条件であるにもかかわらず、有意な付着抑制効果が発現した原因として、乳酸の接着タンパクに対する特異的な作用、例えば、カテ

コール基の酸化重合の抑制やアミノ基との塩形成なども考慮されるため、これらは今後の課題である。一方で、ムラサキイガイの生存率には明確な影響は観察されなかった。乳酸の生物毒性はNaClや酢よりも低いことが報告されており、PLLAを防汚剤として、塗料などに添加して用いる本技術は、従来の環境毒性の大きい防汚剤を用いる技術に比べて、より環境負荷が少ない防汚技術となりうると思われる。

要約

分子量が異なるPLLAキャスト膜を用いて、その表面へのムラサキイガイの付着挙動を観察した。ムラサキイガイの付着率はPLLAの分子量低下に比例して減少することが見いだされた。さらに、ムラサキイガイが形成する足糸の数も、PLLAの分子量低下に伴い明確な減少が確認され、PLLAから溶出する乳酸がムラサキイガイの付着挙動を抑制すると考えられた。一方で、PLLAによるムラサキイガイの生存率への影響は観察されず、安全な防汚剤としての可能性が示唆された。

引用文献

- Baum, C., W. Meyer, R. Stelzer, G. Fleischer and D. Siebers (2001). Average nanorough skin surface of the pilot whale (*Globicephala melas*, Delphinidae): considerations on the self-cleaning abilities based on nanoroughness. *Marine Biology*, 140, 653–657.
- Bellotti, N., B. del Amo and R. Romagnoli (2012). Tara tannin a natural product with antifouling coating application. *Progress in Organic Coatings*, 74, 411–417.
- Berntsson, K. M., P. R. Jonsson, M. Lejhall and P. Gatenholm (2000). Analysis of behavioural rejection of micro-textured surfaces and implications for recruitment by the barnacle *Balanus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 251, 59–83.
- Dreyer, D. R., D. J. Miller, B. D. Freeman, D. R. Paul and C. W. Bielawski (2012). Elucidating the structure of poly(dopamine). *Langmuir*, 28, 6428–6435.
- Faÿ, F., I. Linossier, V. Langlois, E. Renard and K. Vallée-Réhel (2006). Degradation and controlled release behavior of ϵ -caprolactone copolymers in biodegradable antifouling coatings. *Biomacromolecules*, 7, 851–857.
- Huang, J.-R., W.-T. Lin, R. Huang, C.-Y. Lin and J.-K. Wu (2010). Marine biofouling inhibition by polyurethane conductive coatings used for fishing net. *Journal of Coating Technology Research*, 7, 111–117.
- 伊奈和夫 (1991). 海洋付着生物の嫌いな物. 色材協会誌, 64, 464–470.
- Ishimaru, N., T. Tsukegi, M. Wakisaka, Y. Shirai and H. Nishida (2012). Effects of poly(L-lactic acid) hydrolysis on attachment of barnacle cypris larvae. *Polymer Degradation and Stability*, 97, 2170–2176.
- Lee, H., N. F. Scherer and P. B. Messersmith (2006). Single-molecule mechanics of mussel adhesion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 12999–13003.
- 宮本貴志 (2010). 生分解性コーティング. 日本接着学会誌, 46, 187–192.
- Mohd-Adman, A.-F., H. Nishida and Y. Shirai (2008). Evaluation of kinetics parameters for poly(L-lactic acid) hydrolysis under high-pressure steam. *Polymer Degradation and Stability*, 93, 1053–1058.
- Nishida, H., M. Yamashita, M. Nagashima, N. Hattori, T. Endo and Y. Tokiwa (2000). Theoretical prediction of molecular weight on auto-catalytic random hydrolysis of aliphatic polyesters. *Macromolecules*, 33, 6595–6601.
- 大川浩作 (2002). イガイ類接着物質の化学. *Sessile Organisms*, 19, 107–110.
- 沖野龍文 (2008). 船にフジツボをつけない技術. 北海道大学大学院地球環境科学研究院平成20年度公開講座ヒトと地球にやさしい化学技術. 平成20年8月19日～9月30日. 札幌市.
- Piazza, V., V. Roussis, F. Garaventa, G. Greco, V. Smyrniotopoulos, C. Vagias and M. Faimali (2010). Terpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius* inhibit the settlement of barnacles. *Marine Biotechnology*, 13, 764–772.
- Qian, P.-Y., Y. Xu and N. Fusetani (2010). Natural products as anti-fouling compounds: recent progress and future perspectives. *Biofouling*, 26, 223–234.
- Rahman, M. M., H.-H. Chun and H. Park (2011). Waterborne polysiloxane-urethane-urea for potential marine coatings. *Journal of Coating Technology Research*, 8, 389–399.
- Rodriguez, N. R. M., S. Das, Y. Kaufman, J. N. Israelachvili and J. H. Waite (2015). Interfacial pH during mussel adhesive plaque formation. *Biofouling*, 31, 221–227.
- Scardino, A. J. and R., de Nys (2011). Biomimetic models and bioinspired surfaces for fouling control. *Biofouling*, 27, 73–86.
- Schultz, M. P., J. A. Bendick, E. R. Holm and W. M. Hertel (2011). Economic impact of biofouling on a naval surface ship. *Biofouling*, 27, 87–98.
- Schumacher, J. F., N. Aldred, M. E. Callow, J. A. Finlay, J. A. Callow, A. S. Clare and A. B. Brennan (2007). Species-specific engineered antifouling topographies: correlations between the settlement of algal zoospores and barnacle cyprids. *Biofouling*, 23, 307–317.
- Wang, Y., J. A. Finlay, D. E. Betts, T. J. Merkel, J. C. Luft, M. E. Callow, J. A. Callow and J. M. DeSimone (2011). Amphiphilic co-networks with moisture-induced surface segregation for high-performance nonfouling coatings. *Langmuir*, 27, 10365–10369.
- Walne, P. R. (1970). Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria*, and *Mytilus*. *Fishery Investigations, Series 2*, 26, 1–62.
- 山本浩之・小川高弘・高野博正・浅井道樹・西山綾子 (1994). 付着性二枚貝類三種の飼育およびムラサキイガイの基盤上への付着について. *Marine Fouling*, 11, 11–14.
- Yasuda, N., Y. Wang, T. Tsukegi, Y. Shirai and H. Nishida (2010). Quantitative evaluation of photodegradation and racemization of poly(L-lactic acid) under UV-C irradiation. *Polymer Degradation and Stability*, 95, 1238–1243.