

アミノ酸混和コンクリート表面上での付着微細藻類の生長特性に関する研究

PERIPHYTON GROWTH ON CONCRETE
CONTAINING AMINO ACID IN SOUTHERNER OSAKA BAY

上月康則¹・中西敬²・佐藤和博³・多良千鶴³・

西村博一⁴・山口奈津美⁵・岩城嘉宏⁶・山中亮一⁷

Yasunori KOZUKI, Takashi NAKANISHI, Kazuhiro SATO, Tara CHIZURU,
Hirokazu Nishimura, Natsumi YAMAGUCHI, Yoshihiro IWAKI and Ryoichi YAMANAKA

¹正会員 博(工) 徳島大学教授 ソシオテクノサイエンス研究部 (〒770-8506 徳島市南常三島町2-1)

²正会員 博(工) 日建工学株式会社 顧問 (〒160-0023 東京都新宿区西新宿6-10-1)

³味の素株式会社 バイオ工業化センター (〒104-8315 東京都中央区京橋一丁目15-1)

⁴日建工学株式会社 環境共生調査室 (〒160-0023 東京都新宿区西新宿6-10-1)

⁵学生会員 徳島大学大学院先端技術科学教育部 (〒770-8506 徳島市南常三島町2-1)

⁶学生会員 (〒770-0861 徳島市住吉4丁目2-16)

⁷正会員 博(工) 徳島大学講師 ソシオテクノサイエンス研究部 (〒770-8506 徳島市南常三島町2-1)

Amino acids are known as the building blocks of protein and are essential to human metabolism. Concrete containing Arginine, one of Amino Acid (AC) had been setting on the sea floor for 7months in southerner Osaka bay. Chlorophyll.a that was quantitative index of biomass of adheres algae on AC was more than that on a ordinary concrete(OC). In a marine laboratory, the environmental function of AC was examined in detail. Periphyton on AC had grown up and growth rate was 6 times faster than that on OC because of an arginine elution and a suppressing high pH by AC

Key Words : Amino acid ,Arginine, Concrete, Periphyton, Growth rate

1. 緒論

港湾行政のグリーン化を目的に, 全国で環境共生型護岸の実証実験が実施されている。著者らはそれに先駆け, 2007年に愛媛県三島川之江港では生物の生息空間を内部に持つエコシステム式防波堤を設置した。その壁面には, ポーラスコンクリートパネル用い, 多様な付着生物の生息を促すことに成功している¹⁾。このように構造物の形状に工夫を施し, 一時は劣化, 消滅した地域固有の生態系を修復・復元しようとする試みは数多くあり, その因果関係も整理されている。その一方で, 構造物の材料自体に環境機能を持たせようとする研究開発もある。例えば, 鉄鋼スラグ水和固化体は, 海中でのアルカリ成分の溶出が小さいことや, 鉄, 珪素などの元素を多く含むため, 海洋環境下における付着生物の種類数, 付着生物量が多くなると報告されている²⁾。また焼

酎粕を混和させたコンクリートを海底に沈め, トコブシ魚礁を創出しようとする研究³⁾もある。しかし, このような構造物材料の化学的特性ならびに生物, 生態系に及ぼす作用に着目した研究事例は未だ数少なく, 高い環境機能を有する海岸構造物の開発に向けた材料研究が, さらに望まれている。

そこで本研究では, コンクリートに高い環境機能性を付加させることを目的に, 生理機能を有するアミノ酸を混和させたコンクリートを新しく製作し, 調査研究を行った。なお, ここでの環境機能性とは, コンクリート表面上での微細藻類の生長促進効果を指す。

2. 研究方法

(1) 研究の概要

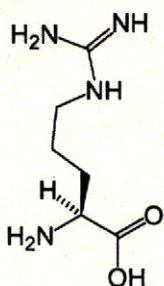
環境機能に関する研究アプローチは、次の2つに分けることができる。個々の要素について室内実験などで検討しつつ、最後に現地実験を行う方法と、現地実験を先行し、そこでの反応をモニタリングしつつ、特徴が認められた現象を室内実験で詳細に検討するという方法である。前者をボトムアップ方式、後者をトップダウン方式とすると、ボトムアップ方式には現象を一つずつ確かめながら実用化を目指すものの、実用化には時間を要することや現地実験の段階で想定しなかった作用が働き、期待する効果が得られない場合もある。その一方で、トップダウン方式の場合には、実環境中での環境機能性を評価することができるものの、現象の説明が困難となる場合もあることや様々な環境での現地実験が必要となるなど、いずれの方法にも長所短所がある。

本研究では、全く新しい材料を提案すること、環境中での現象の予測が難しいこと、時間的効率性に配慮し、まずは材料を製作し、3つの異なる海域で現地実験を行うトップダウン方式を採用することとした。材料設置後はそれぞれの海域でモニタリングを行い、環境機能と判断される現象の抽出後には、室内実験でその詳細について検討することとした。

(2) 現地実験方法

a) アミノ酸混和コンクリートの製作方法

アミノ酸はタンパク質を作っている最小の成分で、様々な生理機能がある。本研究で用いたアルギニンは、天然に存在するアミノ酸の一種である。非必須アミノ酸ではあるが成長期には摂取が必要で、血管などの機能を正常に保つ、カラダの余分なアンモニアを除去する、免疫能を高めることなどの働きがある。



分子式: $C_6H_{14}N_4O_2$
分子量 (g/mol): 174.20

示性式: $(H_2NC(=NH)NHCH_2CH_2CH_2CH(COOH)NH_2)$

図-1 アルギニンの構造

アミノ酸混和コンクリートは、アルギニンをセメント重量比3.0%混和させて製作した。配合の設計条件は、18-8-40-BB、単位セメント量 $C=227\text{kg/m}^3$ 、水セメント比 $W/C=64.5(\%)$ とした。製作方法はアルギニンを加える他は一般のコンクリートと全く同じである。なお、このアミノ酸混和コンクリートの強度特性は表-1に示す通りで、28日圧縮強度が 27.7N/mm^2 であることから、本コンクリートは構造物材料としても十分に使用できる強度を有すること

がわかる。

表-1 アミノ酸3%混和コンクリートの強度特性

	材齢 日	圧縮強度 N/mm^2	スランプ cm	空気量 %
普通コンクリート (OC)	7	16.9	6	4.3
	28	29.4		
アミノ酸混和コン クリート(AC)	7	14.4	8.5	5.5
	28	27.7		

b) 現地実験場所

環境特性の異なる兵庫県尼崎港、徳島県小松島港、大阪府小島漁港の3つの港でコンクリートを沈設し、環境モニタリングを行った。なお、それぞれの実験場所の環境の特徴は次のとおりである。尼崎港は過栄養で貧酸素化が半年も継続する環境である。小松島港は夏場に一時的に貧酸素化するものの、周辺には海藻が見られるなど富栄養化した環境と言える。小島漁港は大阪湾の出入り口に位置し、藻場が広がる貧栄養な環境である。

本論文では、コンクリート表面の微細藻類に特徴的現象が認められた小島漁港(図-2)での結果について述べる。小島漁港の港内には、2009年6月にアミノ酸混和コンクリート(AC)と普通コンクリート(OC)の供試体($45 \times 18 \times 18\text{cm}$)を、海底(DL-3.5m)に沈設した。以後、毎月1回、水質調査と付着藻類量などを測定した。特に付着藻類量はコンクリート表面の $5\text{cm} \times 5\text{cm}$ 枠内の付着物をはぎ取り、アセトン抽出法でクロロフィルa、フェオフィチンを測定し、評価した。他に、強熱減量、有機炭素窒素量を測定した。



図-2 3ヶ所の現地実験、室内実験場の位置

(3) 環境機能性に関する検証実験

a) 水槽実験方法

徳島県小松島港臨海実験場の水槽内に、現地実験で用いたものと同じコンクリート供試体を1個ずつ独立して沈設し、モニタリングを行った。水槽内には、砂ろ過によって懸濁物質が除かれた海水が掛け

流しされる。海水温は調節せず、照明は12時間毎にライトをオンオフさせた。定期的な付着藻類量の測定その他、藻類の種組成、藻類中のアミノ酸濃度の測定を行った。また同試料を用いてコンクリートからのアミノ酸溶出についての実験も行った。なお、試料中のアミノ酸はアミノ酸分析計L-8800（日立）を用いて定量した。

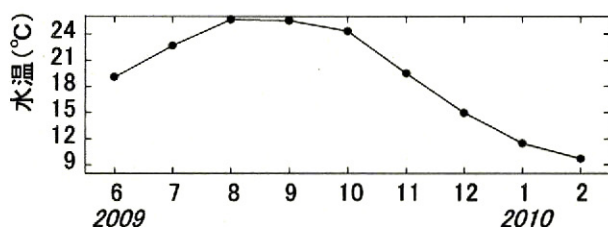
c) pH実験方法

人工海水1L中に体積120cm³のAC、OCの供試体を110日間浸漬させ、pHとCa²⁺濃度を測定した。なお、ここではOCとアルギニン濃度を1%と5%としたACを用いた。

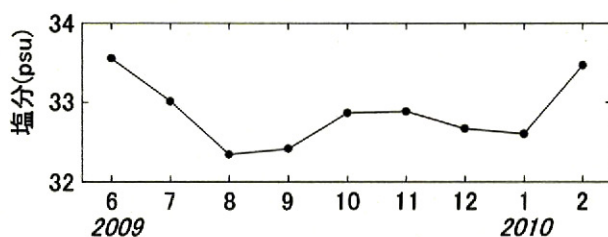
3. 現地実験結果

(1) 水質

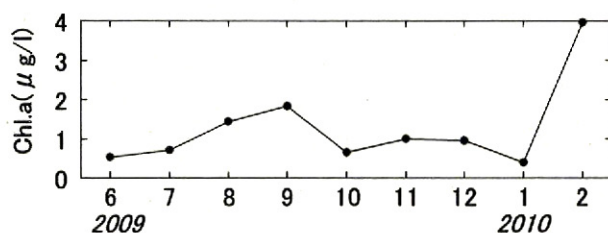
図-3にアミノ酸混和コンクリートを沈設した小島漁港の水質データをまとめて示す。水温は季節変化を示すものの、塩分は周辺に河川もないことから32~34psu程度で安定していた。特に夏期にも、Chl.aは1~2μg/Lと低い値で維持され、DOも5mg/L以上を保っていた。また、透明度も高く、常に水深3.5mの海底に設置したコンクリートが見える状態にあった。



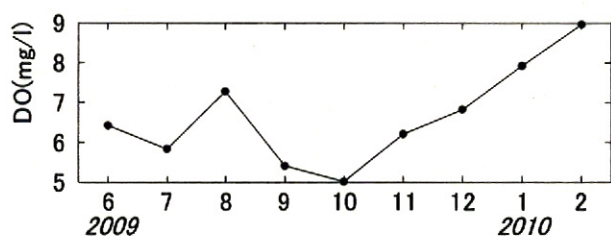
a) 水温



b) 塩分



c) Chl.a



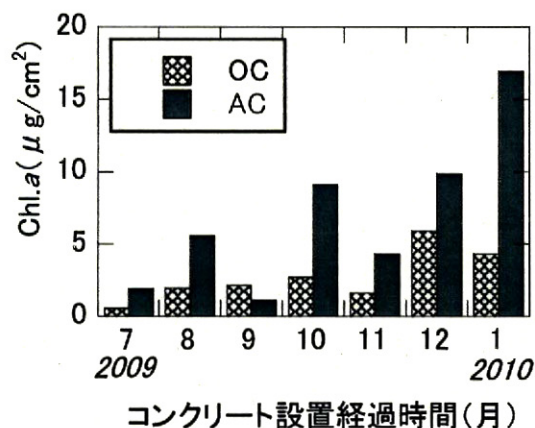
コンクリート設置経過時間(月)

d) DO

図-3 コンクリート設置場所の水質

(2) 付着藻類量

図-4に示すように、実験期間中、値は変動はしながらもAC上の付着藻類量の指標であるChl.aはOCに比較して、多い傾向にあった。コンクリート設置8ヶ月後のコンクリート表面の写真(写真-1)を一見してわかるように、ACの方がOCに比較して、藻類量は多く、一面を覆っていた。なお、写真中に四角でパッチ状に白くなったところがあるが、これは藻類を剥ぎ取った跡の地のコンクリートで、これと比較しても藻類量の多少がわかる。



コンクリート設置経過時間(月)

図-4 コンクリート表面上の付着藻類量の変化(現地)

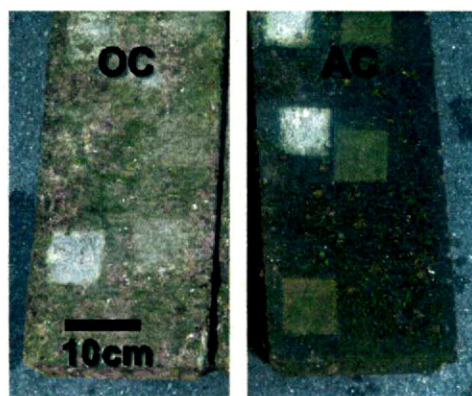


写真-1 OC, AC表面上の付着藻類(設置8ヶ月後)

(3) 付着藻類の種組成(現地)

設置して7ヶ月後のOC, AC両コンクリート表

面上の付着藻類の種組成を調べた（表-2）。その結果、いずれも3綱9種類、あるいは8種類の藻類で占められ、それらは浮遊性ではなく、付着性の藻類種であった。つまり浮遊性の藻類がコンクリート表面に沈降・堆積したのではなく、藻類はコンクリート表面上で付着、増殖したことがわかる。

表-2 付着藻類の種組成（現地）

種 名	OC(%)	AC(%)
藍藻綱		
<i>Homoeothrix</i> spp.	0.5	0.0
<i>Lyngbya</i> sp.	17.4	0.2
珪藻綱		
<i>Fragilaria</i> spp.	0.0	13.0
<i>Achnanthes</i> spp.	8.1	7.8
<i>Amphora</i> spp.	1.2	2.6
<i>Entomoneis</i> sp.	2.9	2.6
<i>Navicula</i> spp.	30.1	41.5
<i>Cylindrotheca closterium</i>	22.6	5.2
<i>Nitzschia</i> spp.	16.2	27.2
緑藻綱		
Chlorophyceae	1.2	0.0
種 数	9	8
容積 (mL)	1.0	1.8

4. 藻類の生長特性に関する検証実験と考察

(1) 藻類生長速度と種組成

a) 生長速度

図-5に示すように、室内実験でも、OCに比較してACの藻類量は多かった。実海域の環境と異なり、波浪による流出、動物による摂餌の影響が無いことから、藻類の変化量は生長、枯死の結果であることがわかる。この増加量から初期の枯死の影響を含んだ“みかけの生長速度”を4週間目までのデータから求めると、AC上の微細藻類の生長速度はOCのそれに比較して約6倍大きかった。

またその効果の継続性を確かめるために、4週間目に全ての付着藻類をはぎ取り、再び藻類量の変化を観察したところ、ACはOCに比較して生長速度は大きく、この傾向は5ヶ月経た現在も同様の傾向が見られる。

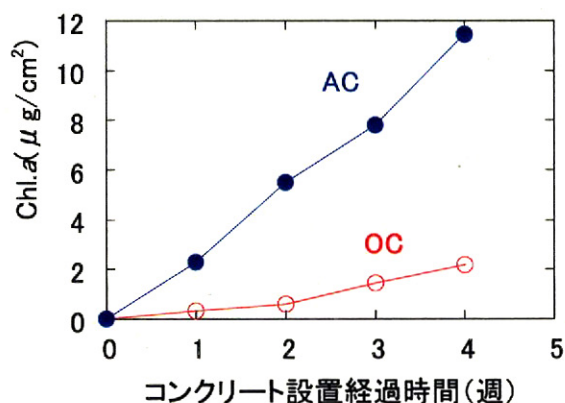


図-5 コンクリート表面上の付着藻類量の変化（室内）

b) 種組成

水槽内にコンクリート設置後40日経過した時点の付着藻類の種組成を調べた。その結果、優占する種はいずれも珪藻綱の藻類種で、大半が付着性の種であった。

このように現地実験、室内実験からもOCと比較すると、AC表面上には、藻類の生長を促進する作用があることを示す結果が得られており、次にはその要因について考察を行う。

表-3 付着藻類の種組成（室内）

種名	生活型	OC(%)	AC(%)
<i>Guinardia flaccida</i>	浮遊	38.0	0.1
<i>Thalassiosira</i> spp.			0.6
<i>Detonula pumila</i>			0.0
<i>Eucampia zodiacus</i>			3.9
<i>Chaetoceros debile</i>			8.4
<i>Coscinodiscus</i> spp.			0.1
<i>Melosira nummuloides</i>	付着	62.0	29.2
<i>Fragilaria</i> spp.			16.2
<i>Grammatophora marina</i>			9.7
<i>Synedra</i> sp.			0.6
<i>Achnanthes</i> spp.			0.0
<i>Cocconeis</i> sp.			0.3
<i>Amphora</i> spp.			8.4
<i>Entomoneis</i> sp.			7.1
<i>Navicula</i> spp.			11.7
<i>Pleurosigma</i> spp.			0.3
<i>Nitzschia</i> spp.			3.2
種 数		11	15
容積 (mL)		0.2	0.8

(2) 高pH化の抑制作用

水中でコンクリートからCa(OH)₂が溶出し、周辺を強アルカリ化させるため、設置後しばらくは付着生物が定着し難い環境となる。そこで、室内実験で用いたACとOCを1週間ごとに水槽から引き上げ、人工海水に24時間浸漬させ、pHを測定したところ、図-6に示すように、ACはOCに比較して設置当初からpH値は低く、その状況は7週間を経ても変わらなかった。

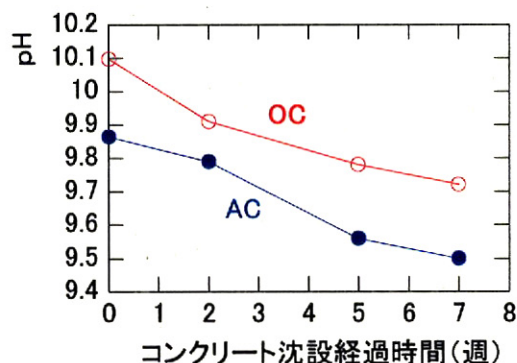


図-6 ACとOCのpHの変化

アミノ酸をコンクリートに混和させると、高 pH 化が抑制された。その原因を検討するための pH 実験では、図-7のように沈設した直後には pH 8.1より急増したものの、AC の pH は OC よりも低く、その後は、OC を沈めたものよりも概ね pH は低かった。

また AC 浸漬中の海水のカルシウム濃度（図-8）は、OC 浸漬中の濃度よりも低い傾向にあった。特に、この実験で用いた人工海水中にはあらかじめ CaCl_2 として約 400 mg/L のイオンが含まれているにも関わらず、AC 中のカルシウム濃度はその初期値を下回る濃度になっていたことは、溶液中のカルシウムがアルギニンの存在で失われていることを示している。さらに、海水中には白い沈殿が観察されたが、その物質を調べたところ、炭酸カルシウム CaCO_3 であった。

これらのことから、pH の低下は、 CaCO_3 の沈殿によって生じたもの考えることができる。つまり、アルギニンが存在することで、①炭酸カルシウムの溶解度が低下する、あるいは②炭酸カルシウムの生成速度が速くなり、カルシウムがより沈殿しやすくなると推測される。なお、図-6と図-7とで pH の変化が異なるのは、図-6は海水の掛け流し実験であったのに対し、図-7は海水交換をせずにを行い、大気中の CO_2 の影響などを強く受けたためと思われる。

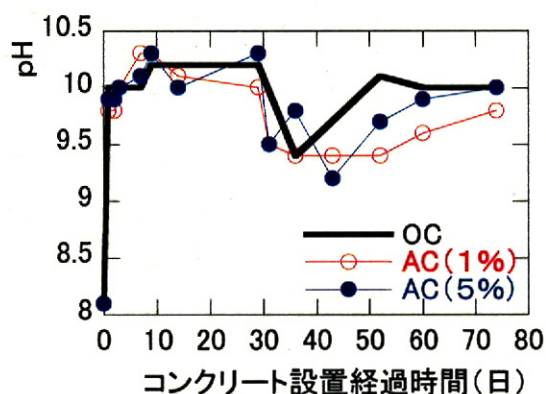


図-7 人工海中での AC と OC の pH 変化

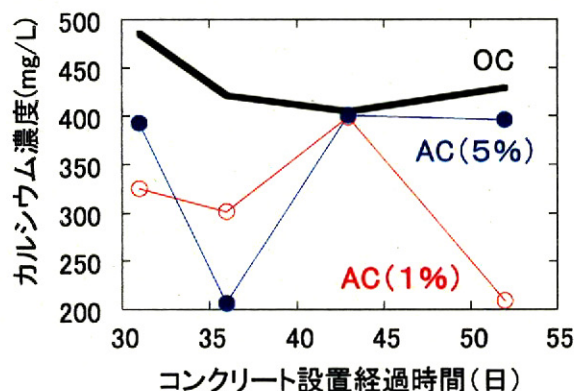


図-8 人工海中での Ca^{2+} 濃度の変化

(3) 藻類生長に及ぼすアルギニンの影響

a) AC からのアルギニンなどの溶出

水槽に沈設させていたコンクリートブロックを用いた溶出実験では、AC の実験系でのみ、海水中からアルギニンの他に、オルニチン、シトルリン、アンモニア性窒素が検出された。オルニチンはアルギニンから生成されるもので、分解の過程ではシトルリンが作られる。これら 2 つの物質はアルギニン由来の物質であるのでアルギニン量に換算して図-9にまとめる。

溶出量は初めの数週間で急減している様子がわかる。特に 5 週間を経るとアルギニンがほとんど検出されず、オルニチンが大半を占めるようになった。これはコンクリート表面から溶出したものが表面に発達した生物膜中の微生物によって、速やかに分解されていることを示唆するものである。例えば、アミノ酸の最終的な分解生成物の一つであるアンモニア性窒素は実験開始から数週間で数倍に増加していた。

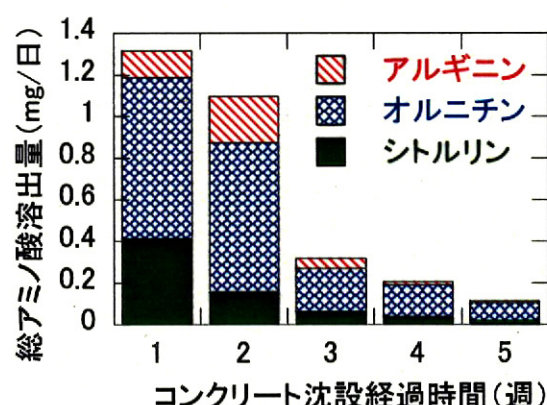


図-9 コンクリートからのアミノ酸溶出量

b) 付着藻類中のアミノ酸濃度

AC より溶出したアルギニンが藻類中で使われているかどうかを検討するために、小島漁港に 7 ヶ月間沈設しておいたコンクリート表面上の付着藻類をはぎ取り、その中に含まれるアミノ酸を定量分析した。なお、生物体内中には数多くのアミノ酸が含まれているが、ここではアルギニンに着目し、データを解析した。

図-10にアミノ酸量を藻類の乾燥重量、および面積あたりに換算し、結果を示す。この図より、7 ヶ月後の AC の付着藻類中のアルギニン濃度は、OC に比較して約 2 倍高かった。この結果と図-9で数週間内アミノ酸溶出量が減少していたことも考慮すると、細菌を含めたコンクリート表面の付着生物は AC からゆっくりと溶出されるアルギニンや分解されたオルニチンなどのアミノ酸を効率よく摂取、利用し、体内に取り込んでいる様子が伺える。またそのために水中で検出されるアミノ酸は微量で、ある程度の濃度で定量されるものはアンモニア性窒素となっていると考えることができる。

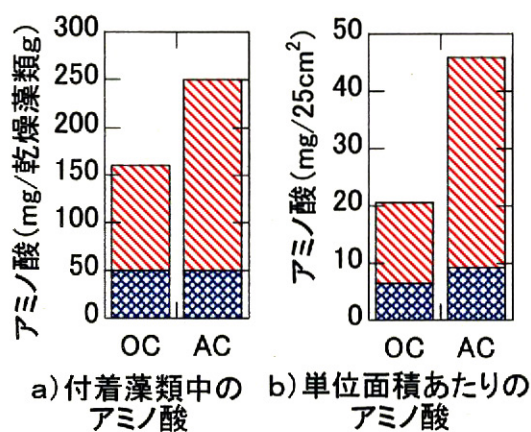


図-10 コンクリート付着藻類中のアミノ酸量

(4) アミノ酸混和コンクリートの環境機能性について

微細藻類のアミノ酸利用についての既往の研究成果は、①植物プランクトンはアミノ酸も窒素源として代謝するが、アミノ酸の代謝は無機態の窒素に比較すると吸収速度は一桁以上小さい⁴⁾、②窒素欠乏状態になった場合の代用の栄養源として利用される傾向にある⁴⁾、③アルギニンは他のアミノ酸の吸収を促進する働きや緑藻類の生長を促進する作用がある⁵⁾、他にもクロレラは、アルギニンがNO₃⁻と共にあると、分裂開始するまでの誘導期が短縮され、成長が早くなる⁶⁾、④アルギニンにはノリ葉体の生長に施肥効果が認められた⁷⁾、のように整理できた。

これらは、栄養塩濃度などの環境条件によって効果の大きさは異なるが、藻類はアルギニンを摂取し、生長を促進する効果があるという、アルギニンを溶出するAC上で微細藻類の生長速度が大きくなった結果を支持する内容である。また小島漁港に設置したAC上では、アワビやサザエが付着藻類を摂餌している姿が調査の度にみられた(写真-2)が、これはACには藻類食動物の餌環境を創出し、環境中の物質循環をさらに活性化、高次生物の生産を高める環境機能があることを示唆している。このように、アミノ酸をコンクリートに混和することで、従来のコンクリート界面に環境機能が付加されれば、人工構造物と自然との境界はより親和性の高いものになると期待できる。

ただし、その実用化にあたっては、コンクリートから供給されるアミノ酸が上記の①や②のように窒素源として利用されるだけではなく、③の「生長促進作用」が実海域で生じていることを確かめ、それが発現する環境条件を整理しておかなければならない。また藻類の生長促進作用の持続期間についての検討も必要であり、今後も継続してモニタリング、室内実験を行っていく予定である。



写真-2 AC上で付着藻類を摂餌するサザエ

5. 結論

- 1) アミノ酸の一種、アルギニンを混和させたコンクリート (AC) を港湾海底に設置したところ、7ヶ月間の実験期間中、AC表面上の付着藻類量は、普通コンクリート (OC) のものよりも終始多かった。
- 2) 室内実験でも同様の現象を確かめることができた。また種組成の調査から、コンクリート上の藻類は、付着、生長したもので、AC上の生長速度はOCのそれよりも約6倍大きかった。
- 3) AC上の藻類の生長速度が大きかった要因には、アミノ酸を添加させたことによる高pH化の抑制効果やアミノ酸が藻類の生長そのものを促進させたことなどが考えられた。

謝辞：本研究は、小島漁業協同組合代表理事組合長、山原学氏のご支援を頂き行われたものであり、ここに記して謝意を表します。

参考文献

- 1) 村上仁士, 水口裕之, 上月康則, 伊福誠, 野田敏, 岩村俊平, 山本秀一: エコシステム式海域環境保全工法を導入した直立構造物の環境配慮機能の評価, 海岸工学論文集, Vol.54, pp.1281-1285, 2007.
- 2) 松永久宏, 高木正人, 小菊史男: 鉄鋼スラグ水和固化体の基本特性と海洋環境下における生物付着性, 鉄と鋼, 89巻, pp.454-460, 2008.
- 3) 江幡恵吾, 東輝, 塩満暁洋, 税所誠一, 井手陽一, 砂坂育男: 種子島沿岸における小型魚礁ブロックを用いたトコブシ生息場の環境修復, 海洋開発論文集, Vol.25, pp.129-134, 2009.
- 4) 秋山優, 有賀祐勝, 坂本充, 横浜康継: 藻類の生態, 内田老鶴圃, 1986.
- 5) Arnow, P. Oleson, J.J. and Williams, J.: The effect of Arginine on the nutrition of *Chlorella Vulgaris*, American Journal of Botany, Vol.40, pp.10-15, 1953.
- 6) Thinh, L.V. and Griffiths, D.J.: The effect of L-Arginine on the growth of heterotrophic cultures of the emerson strain of *chlorella*. New Phytol., 73, pp.1087-1095, 1974.
- 7) 今田克, 斎藤祐一: ノリ葉体の生長に及ぼすアミノ酸等の効果, 日本生態学会誌, Vol.37, 1125-1133, 1971.