Bioluminescenceによる振動流せん断乱流計測

Bioluminescence Imaging Measurements of oscillatory shear flows

渡部靖憲¹·坂井 純²

Yasunori WATANABE and Jun SAKAI

In this paper, flashing responses of bioluminescent dinoflagellates in oscillatory turbulent boundary layer flows over rippled bed are studied with the aim with future development of imaging technique to aquire planar distributions of turbulence in a shear layer. Foundamental statistical properties of the bioluminescence involved in strong turbulence caused by separation of the boundary layer from the ripple crest are discussed, and it is found that there is a correlation of time variation of the mean flash intensity with the turbulent energy.

1. はじめに

沿岸域では気体,固体を含む多様な混相乱流が形成さ れる.海底近傍で発達する乱流境界層内では底質の浮遊 を伴い,また砕波帯では気泡の混入に加え多量の浮遊砂 を含む極めて複雑な乱流となり,こうした領域ではこれ ら混合物が障害となり既存の接触型あるいはLDV等の計 測機器による流速あるいは乱流量の取得は困難となる. 一方,海洋に生息する一部の植物プランクトンには力学 的刺激に応答して発光する渦鞭毛藻が存在し,海洋学者 を中心に調べられてきた(Stokes et al, 2004).こうした 微生物のBioluminescence(生物発光)と刺激の関係が明 らかになれば,発光分布を画像計測することにより局所 的な応力分布を面的に取得可能となり,計測が困難であ った混相乱流中でのせん断力,乱流強度等の基本物理量 を非接触で視覚的に見積もることが可能となる.

著者ら(2008, 2009)は、発光渦鞭毛藻*Pyrocystis lunura*の発光輝度と衝撃動水圧との関係を調べ、微生物が受ける 衝撃動圧力が十分に大きい場合、発光輝度と圧力が高い相 関関係をもつことを明らかにしている.この微生物は、低 圧力下においても攪拌等によるせん断力の刺激の刺激に対 しても発光するため、その応答の詳細を調査し新たな流体 力計測法としての可能性を議論する必要がある.

本研究は、Bioluminescenceを利用した乱流強度,せん 断力の分布を非接触で取得する新たな面的計測システム の開発を目指し、砂蓮上に発達する振動流乱流境界層内 に混入したプランクトンの発光と流況,そして乱流統計 量との関係を明らかにしようとするものである.

2. Bioluminescenceの生理的変化

本研究で使用した渦鞭毛藻類のPyrocystis lunuraは、体

```
1 正会員
博(工)
北海道大学准教授大学院工学研究院

2 学生会員
北海道大学大学院工学院
```



図-1 Pyrocystis lunuraの顕微鏡写真

長約30~40μmの微生物であり(図-1参照),国立環境研 究所微生物系統保存施設から分譲された株(NIES-609)を 白色照明による12時間のライトフェーズと12時間のダー クフェーズの光環境の下,f/2培地にて培養する.*P. lunura* の生物発光は,酸素存在下におけるルシフェリン-ルシ フェラーゼ反応であり,外的刺激が加わると反応が進行 し酸化型ルシフェリンが生じるときに青色光(ピーク波 長474nm)が放出される(Shimomura,2006).この外的 刺激には,化学的生息環境の変化と力学的変化が報告さ れており,化学的変化のない液体内において,発生する 生物発光の輝度を画像計測することで結果として力学的 変化を取得することが可能となる.

著者ら(2009)は、衝撃載荷に対する*P. lunura*の発光 応答の時刻変化により慨日性バイオリズムの影響を調 べ、ダークフェーズの2時間から9時間経過後までは同 一圧力に対してほぼ同一の発光が得られることを明らか にしている.本研究では、ダークフェーズの7時間経過 後の微生物を使用した.

3. 実験方法

力学的刺激の下に青色に発光する渦鞭毛藻*P. lunulaを* 計測メディアとし(図-1),海水を充填した50×50mmの 水路断面をもつ小型U字型振動流装置水路内(高さ50cm, 水平部の長さ60cm) に一定の個体密度(20,000 個体//) で混入する(図-2参照).水路水平部下面に砂蓮形状モデ ル底面を固定し,電動アクチュエータに接続したエアシ リンダーによる空圧変動によりU字管内に正弦振動流を 発生させる.砂蓮底面形状は次の式により与えた(図-3 参照).

$x = \xi - a \sin 2\pi\xi / L$	(1)
$z = a \cos 2\pi \xi / L \cdots$	

ここでaは砂蓮振幅 (5mm), Lは砂蓮波長 (48mm) で ある.底面上砂蓮一波長に渡る50×50mmの領域内で振 動流に輸送されながら発光する P.lunulaの分布を高感度 12bitカメラ (解像度1392×1040 画素,撮影周波数40Hz) で撮影する (図-4参照).画像上の発光輝度は,予め生 物発光と同等の波長をもつ青色発光ダイオードによる起 電力をフォトダイオードによって計測し,その較正値を もとに起電力として正規化される.

同一領域に中立粒子を混入しYAGレーザーシート面上 の流速分布を標準型相互相関法によるParticle Image Velocimetry (PIV) により計測した.流れの発生と共に 送信されるTTLトリガーと同期した撮影により,流速振 幅,周期の異なる3つのケースについて20回の試行計測 を行い,アンサンブル乱流統計量を算出し,同一条件, 同一位相における生物発光分布との比較を行った.実験 条件を表-1に示す.

計測画像は、ガウシアンフィルタによりノイズを低減 し、線形投影により原画像の変形を修正している.微生 物は振動流に輸送されながら力学的刺激に応じて発光す る.本来この発光を十分に短いシャッタースピードで撮 影し微生物での輝度を計測すべきであるが、撮影に使用 する高感度カメラの最小露光時間(25ms)は撮影周波数 で規定されるため1フレーム内で画像濃度が尾を引く流 跡線状の発光分布が撮影される(図-4参照).即ち、瞬 時の発光強度Iを発して速度uで移動する微生物が露光時 間dt間には、距離|u|dtの流跡上にIよりも弱い平均強度 *I'=I/max*(1,|*u*|*dt/dx/C*)が画像上に撮影されることになる. ここに、Cは微生物の発光領域の代表径である. つまり、 局所定常性を仮定し dt 間に I は変化しないとすると、画 像上の発光強度*I*'にmax(1,|*u*|*dt*/*dx*/*C*)を乗じることで, 露光時間の長い画像から瞬時の発光強度 Iを求めること ができる.こうして求めたIのアンサンブル平均I, Iの 最大値, そして流跡線の数を発光個体数としてその時間 変化と流況との関係を調べる.

なお,乱れエネルギー (k) は plane wake との相似性を 仮定して



図-3 砂蓮状底面形状

表-1 実験条件

case	振幅(cm)	周期(s)	水温(℃)
1	20.0	1.08	20
2	17.0	1.58	20
3	16.0	1.51	20

と定義する.ここで、変動流速 (u',w') は、PIVで得られる瞬時流速 (u,w) とアンサンブル平均流速 $(\overline{u},\overline{w})$ から、 $\overline{u'=u-\overline{u}}, \overline{w'=w-\overline{w}}$ と与えられる.

4. 結果

振動流境界層において生成される乱れエネルギーが強く(図-8参照),十分な生物発光強度を計測できた casel を中心に得られた結果を議論していく.

(1) 水平床上の振動流境界層

微生物のせん断流中での発光応答を確認するため砂蓮 底面を設置しない水平床上の層流振動流下での生物発光 の画像計測を予備実験として行った.図-5は, case1の振 動流せん断力の最大となる位相における,発光強度とせ ん断力の鉛直分布を表わしている.底面の極近傍におい て,相対的に強い平均発光強度が確認され,流体せん断 力の解析解の鉛直分布と概ね相関することがわかる.

(2) 微生物の挙動と応答

図-4は、周期1.081s,振幅20cm (casel)の振動流下で の一周期間の生物発光の様子を表わしている.砂蓮上に おいては、*P.lunula*は振動流に輸送されながら発光し、



図-4 一周期間の生物発光の撮影画像. 周期T=1.081s, 振幅 20.0cm, 間隔T/8



図-5 水平床上振動流境界層での発光強度(丸)とせん断力 の解析解(実線)の鉛直分布(せん断力最大位相).周 期1.578s,振幅25.0cm

底面近傍だけでなく剥離渦近傍のせん断層及びそれによ って発達する乱れに応じて複雑に生物発光が分布する. 特に最大流速位相の前後においてクレスト背後に比較的 強い発光が観察できる.

(3) 砂蓮上の乱流振動流境界層内の流況

図-6は、一砂蓮上で空間平均したアンサンブル平均流 速の時間変化を表わしている。クレストレベル以下で境 界層の剥離の影響を含む流れの変化があるため正弦的な 振動流とはなっていない.この空間平均流速変動を基に、 後に生物発光の統計量を考察する.図-7は、caselにおけ る乱れエネルギー分布の時間変化を表わしている。空間 平均流速が最大となる位相(b),(d),(h)においてク レストからトラフ部にかけて境界層の剥離にかかると強 い乱れエネルギーが生成しているのがわかる.また、流



図-6 アンサンブル平均流速の時系列. 図中の(a)~(h)は図-4 の各位相に対応している



に対応している. 単位:mm²/s²

速の減速期(f),(g)においてもクレスト近傍に渦形成 に伴う典型的な乱れ分布が存在している.瞬時の発光分 布を表わす図-4と比較すると,(a),(b),(f)位相の様 に乱れエネルギーが有意に分布する領域に相対的に発光 応答があるように見える.しかしながら,これは統計的 に評価すべきであり,この様な乱れエネルギーが急変す る流況の中(図-8参照),生物発光の応答について次に 統計的に調べていく.



図-8 アンサンブル平均した乱れエネルギーの時系列





(4) 発光強度の統計

砂蓮一波長あたりの最大発光強度並びに発光個体数共 に平均的に減少しながら,1周期間(T)の順流,逆流時 にそれぞれ2個づつピークをもつ(図-9,図-10参照). これらのピークは最大流速位相(図-6)前後でかつ乱流 エネルギーのピークが発生する位相と同一であり,クレ スト背後のせん断層から発達した乱流による混合に応答 したものと考えられる.この平均せん断流中に発生する 乱れと発光強度の位相の一致は生物発光による流況評価 の可能性を示唆する.

平均発光強度が極大となる位相では,指数分布で近似 可能な発光頻度分布となる.即ち,力学的刺激に対して 指数分布に従って生物的な個体差が存在するため,発光 強度から応力推定を行う場合,この分散を考慮する必要 がある.

図-11はアンサンブル平均発光強度7の空間分布を表わ したものである.7は,特に減速期での剥離渦の生成が 活発になる乱れエネルギー(f),(g)において,乱れエ



図-11 アンサンブル平均発光強度の空間分布.図中の(a)~(h) は図-4の各位相に対応している.単位:W

ネルギーと類似した分布を持つ.しかしながら,最大乱 れエネルギーが発生する位相(b),(d),(h)でトラフ 部に集中した分布を持つ乱れエネルギーとは発光分布が 異なる.なお,乱れ並びにせん断性が減衰する位相にお いては,生物発光個体数が極端に低下するため,個体差 による誤差が相対的に増大し,さらに乱れとの相関も低 下する.

アンサンブル平均発光強度 7 の砂蓮一波長分の空間平 均の時間変化を図-12 に示す.乱れエネルギーの同様な 空間平均(図-8)と比較すると,明らかに同一位相にて 最大値をもつ同様な傾向を示すものの,定量的には一意 に決まらないことを表わしている.微生物の個体差にか かわる差異(図-13)を含めてさらに詳細な研究が必要で ある.

本研究で行った流速振幅の小さなケースでは,乱れ生 成が小さく(図-8参照),発光個体数が非常に少なく統 計評価を行えなかったため,現段階では乱れと生物発光 の定量的関係を説明はできない状況である.今後は異な る流況下でのパラメータスタディが必要である.



図-13 発光強度のヒストグラム.このように分布形状を指数 関数で近似することより,発光強度の個体差を評価で きる可能性がある.

5. 結論

予備実験として行った砂蓮底面を設置しない水平床上 の層流振動流下での生物発光の画像計測において,底面 の極近傍において,相対的に強い平均発光強度が確認さ れ,流体せん断力の解析解の鉛直分布と相関することが 明らかになった.

砂蓮上においては,底面近傍だけでなく剥離渦近傍の せん断層及びそれによって発達する乱れに応じて複雑に 生物発光が分布する.

砂蓮一波長あたりの最大発光強度並びに発光個体数共 に平均的に減少しながら、1周期間の順流、逆流時にそ れぞれ2個づつピークをもつ.これらのピークは最大流 速位相前後で乱れエネルギーが最大となる位相と同一で あり、クレスト背後から発達したせん断層で生成された 乱れによる混合に応答した発光と考えられる.この平均 せん断流中に発生する乱れと発光強度の位相の一致は生 物発光による流況評価の可能性を示唆する.平均発光強 度が極大となる位相では,指数分布で近似可能な発光頻 度分布となる.即ち,力学的刺激に対して指数分布に従 って生物的な個体差が存在するため,発光強度から応力 推定を行う場合,この分散を考慮する必要がある.

 \bar{I} は、特に剥離渦の生成が活発になりこれによる乱れ エネルギー(a)、(c) において、乱れエネルギーと類似 した分布を持つ.しかしながら、最大乱れエネルギーが 発生する位相(b)、(d)、(h) でトラフ部に集中した分 布を持つ乱れエネルギーとは発光分布を異なる.なお、 乱れ並びにせん断性が減衰する位相においては、生物発 光個体数が極端に低下するため、個体差による誤差が相 対的に増大し、さらに乱れとの相関も低下する.

本研究で行った流速振幅の小さなケースでは,発光個 体数が非常に少なく統計評価を行えなかったため,現段 階では乱れと生物発光の定量的関係を説明できない状況 である. 今後は異なる流況下でのパラメータスタディが 必要である.

本研究の乱流計測技術としての実用化を考えた場合, 精度の定量化,生物的個体差の影響,発光応答性と流体 力変動との関係の解明等,調査すべき問題が依然残され ている.しかしながら,流体中の流体力を直接計測する 方法がない現状において,これらの問題が今後の研究に より解決され,本計測法の適用が可能となった場合,新 たな知見の取得を可能とする事が期待される.

謝辞:この研究の一部は,科学研究費補助金挑戦的萌芽 研究(21656120)からのサポートにより行われた.ここ に記して謝意を表する.

参考文献

- 渡部靖憲・田中康文 (2009): Bioluminescence による流体衝撃 圧計測法, 土木学会論文集B2 (海岸工学), Vol.66, No.1, pp.831-835
- Shimomura. O(2006): Bioluminescence Chemical Principles and Methods, World Scientic, 470p.
- Stokes, M. D., G. B. Deane, M. I. Latz, J. Rohr (2004): Bioluminescence imaging of wave-induced turbulence, J. Geophys. Res. Oceans, 109, pp.1871-1879