

生物膜の挙動に及ぼす膜表面凹凸の影響

大久保 孝樹¹・芦立 徳厚²・野池 達也³

¹正会員 工修 函館高専助教授 環境都市工学科 (〒042-8501 函館市戸倉町14-1)

²正会員 工修 函館高専教授 環境都市工学科 (同上)

³フェロー 工博 東北大学教授 工学部土木工学科 (〒980-8579 仙台市青葉区荒巻青葉06)

生物膜の挙動, 特に基質除去フラックス, 濃度プロファイルに及ぼす膜表面凹凸の影響を実験的かつ理論的に調べることを目的としている. 膜表面凹凸の縦断プロファイルの測定結果を用いた2次元生物膜モデルをシミュレートすることにより, 凹凸と仮想的な拡散層の影響を考察した. また, 膜表面凹凸をパワースペクトルで定量化し, その平均パワースペクトルより凹凸を発生させるとともに, Low pass filterをほどこした発生凹凸の挙動についても調べ, 凹凸の大小の影響について考察を加えた. その結果, 基質除去フラックスに対し, 大きな凹凸と拡散層の影響が強いこと, 小さな凹凸は無視できることを定量的に示した. なお, ここで用いた生物膜は好酸性の鉄酸化バクテリア (*Thiobacillus ferrooxidans*) によって形成されたものである.

Key Words : two-dimensional biofilm model, rough surface, diffusion layer, power spectrum, low pass filter, substrate removal flux, concentration profile, acidophilic iron-oxidizing bacteria

1. はじめに

水環境中に存在するバクテリアのほとんどは, 生物集塊を形成している. 生物集塊, 特に生物膜は, いろいろな障害・問題を起こしているとともに, 一方で廃水処理等にも利用されている. 障害・問題を起こしている例としては, 排水管壁面に付着した生物膜による摩擦損失の増大, 冷却管に形成された生物膜による熱伝導の低下, 上水道配水管等に付着する生物膜, 鉱山廃水生成に関与するバクテリアの鉱石への付着, 特殊な例としては, 人体の膀胱内に付着するバクテリア, 歯垢等が挙げられる^{1), 2)}. 利用されている例としては, 廃水処理施設, 特に浸漬ろ床法, 回転円板法, 付着担体を用いた流動床等の生物膜, 河川の礫間浄化で発生する生物膜, 鉱業に用いられるバクテリアリーチングでの付着バクテリア等が挙げられる.

このような生物膜は, 種々なバクテリアによって構成され, その構造や表面形態は複雑な様相を呈している. 現在, 生物膜に関する研究は多義にわたり, これらを列挙すると以下ようになる.

①生物膜中の微生物分布の構造解明(種及び生物密度の分布)^{3)~9)}

②生物膜の増殖および形成機構の解明^{3), 4), 10)}

③生物膜の組成(細胞外ポリマー, 無機沈着物質, 有機および無機の捕捉物質, 微生物)およびその影響¹¹⁾

④生物膜の成長(増殖)とバクテリアの脱着および剥離との関係(剥離に関しては生物膜の力学的特性も含まれる)^{4), 10), 12), 13), 14)}

⑤生物膜の形態学的構造の解明(生物膜中のミクロポアの分布および表面形態)^{15), 16), 17), 18), 6), 7)}

⑥生物膜中の濃度分布, 基質除去フラックスの定量的解明(実験的, 理論的)^{19), 20), 21), 22), 23), 24), 25), 5)}

⑦流体力学的影響^{19), 26), 27), 28), 13), 29), 30), 31)}

⑧生物膜中の移流の影響^{29), 30), 31), 32), 33)}

(特に生物膜のSurface filmでは拡散のみではなく移流の影響がある)

⑨生物膜における微生物の競合現象^{10), 11), 12), 34), 36)}

⑩生物膜における原生動物の役割³⁵⁾

上記の研究は, 独立してあるいは①~⑩の2~3項目を関連させ, 実験的または理論的になされているのが現状である. これらの課題は相互に関連しており, どれ一つとっても重要なものであるが, これらを一つにまとめて初めて生物膜の全体的挙動を把握しようものと思われる. 本論文では, これらの研究の中の⑤⑥にあたる題目について焦点を当てている.

生物膜は, 構造的にBase filmとSurface filmに分けられるのが一般的である. Surface filmの形態

に関する初歩的な論文は色々あるが、Siegristら³⁷⁾が、生物膜表面の凹凸について、流体力学的影響による乱流拡散によって膜表面で物質移動が強まることを述べ、凹凸を含めた表層を定義したことが始まりであると思われる。その後、生物膜の構造と機能に関するダーレムワークショップ³⁸⁾において、生物膜の専門家たちは、凹凸の部分をSurface filmという領域に含め、この領域について考察をしている。これらより先に、山本³⁹⁾は、回転円板の実験によって回転数が増えると膜の剥離によって表面の凹凸が激しくなり、凹凸の有効面積の増大によって基質除去フラックスが増大するであろうことを推察している。形態の影響の一つとして考えられる生物膜厚の分布を考慮したモデル⁴⁰⁾もあり、その一つとしてJihら⁴¹⁾が膜厚の分布を考慮した基質阻害動力学的生物膜モデルによって、フェノール基質の嫌気性ろ床の処理性能の実験結果をうまく説明している。最近では、凹凸を持った生物膜表面上の流速によって生物膜表面内外のDO濃度プロファイルがどのように変化するかを、微小センサーを用い実験的に測定している例があり、岡部ら⁴²⁾やBeerら¹⁹⁾は濃度プロファイル分布に凹凸が影響していることを指摘している。

著者らは、従来より、生物膜の基質除去フラックスに及ぼす生物膜表面形態の影響について研究をし、生物膜表面の凹凸の影響が無視し得ない事を明らかにしてきた^{18), 43)}。従来の著者らの研究、特に2次元生物膜モデルを有限要素法で定式化した研究では、生物膜表面を単純化し、連続する円弧の凹凸として取り扱い、生物膜の挙動に及ぼす表面凹凸の影響を定性的な結果として論じていた。本論文では、実際に測定された生物膜表面凹凸の縦断プロファイルを基にモデル化し⁴⁴⁾、2次元生物膜モデルをシミュレートすることによって、凹凸と仮想的な拡散層の影響を定性的かつ定量的に考察するとともに、実験との整合性についても確認を試みた。また、以前の論文で発表した膜表面凹凸のパワースペクトルによる定量化について、データを増やすことによって、より正確な傾向を捉えることを目指した。パワースペクトルを用いさらに考察を加え、平均パワースペクトルにより凹凸を発生させるとともに、Low pass filterをほどこした発生凹凸の挙動についても調べ、凹凸の大小の影響について論じた。ここで凹凸の解析に用いたパワースペクトルの手法は、道路工学の路面凹凸の解析のアナロジーを利用したものであり、他に金属工学の金属表面の解析にも用いられている。

なお、ここで対象としている生物膜は、好酸性の鉄酸化バクテリア(*Thiobacillus Ferrooxidans*)によって形成されたものであるが、揺らぎのない表面が凹凸を呈している場合にのみ、他の微生物によって形成された生物膜にも本論文で用いられている手法は応用可能であると考えられる。

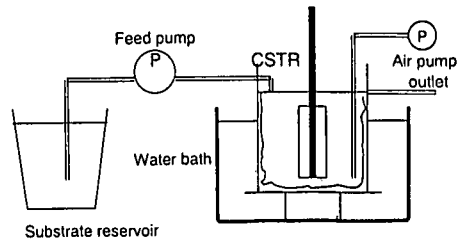


Fig.1 Schematic layout of experimental apparatus.

Table 1 Chemical composition of the feed solution.

Energy source		
FeSO ₄ ·7H ₂ O	3480 mg/l	(700 mg/l as Fe ²⁺)
Mineral solution	1.56 ml/l	
Mineral solution		pH of the feed solution was adjusted to about 2.7 by 10N-H ₂ SO ₄ .
(NH ₄) ₂ SO ₄	150000 mg/l	
MgSO ₄ ·7H ₂ O	25000 mg/l	
KCl	5000 mg/l	
K ₂ HPO ₄	25000 mg/l	
Ca(NO ₃) ₂	500 mg/l	
10N-H ₂ SO ₄	50 ml/l	

2. 実験装置および実験方法¹⁸⁾

(1) 実験装置

実験装置の概略をFig. 1に示す。反応槽は、透明塩ビ板製で直径18cm、高さ30cmの円筒形である。容積は4.072 l、水深は16cmである。攪拌装置はFig. 1に示すように、4枚羽根を取り付けた攪拌棒を用いている。攪拌装置の回転数は、124rpmで混合特性は完全混合である。攪拌装置だけでは、水表面からの酸素供給が少ないので、Fig. 1に示すようにガラスパイプで曝気してある。生物膜表面凹凸の写真撮影のための試料は、両面テープを用い反応槽に付着させた2.5×3.0cmのプラスチックパッチから採取した。

(2) 実験条件

流入基質をTable 1に示す。連続状態で実験を行なう前に、反応槽の壁面に鉄酸化バクテリアを付着させる目的で、回分状態で約5日間反応を進ませた。回分状態の初期条件は、9K培地を2倍に希釈した基質に、100mlの種菌溶液を接種した。反応槽内の水温が20℃となるように恒温槽を調節した。

連続実験は3系列行い、同一流量(約0.96~1.0 l/hr)で、さらに同一の環境条件(水温、酸素供給等)で行った。各系列は、それぞれ7日(Run. 1)、20日(Run. 2)、54日目(Run. 3)に終了させ、これらの反応槽を用いた回分実験を行い、生物膜の試料を反応槽の上層、中層、下層から各4個ずつ計12個取り出し、空气中で膜表面の写真を撮った。

実験で用いた好酸性鉄酸化バクテリアは、北海道胆振管内に所在する伊達鉱山(廃止鉱山)から流出する鉱山廃水から分離したものである。連続実験の種菌として用いた鉄酸化バクテリアは、9K培地で



Run.1 Run.2 Run.3

Fig.3 Macrophotographs of biofilm surface.

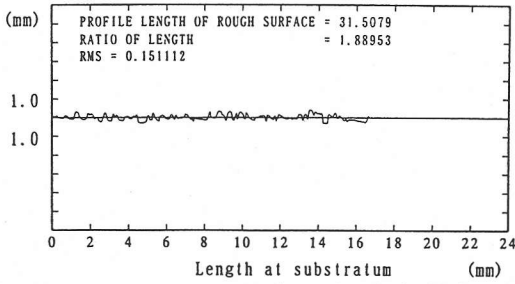


Fig.5 Configuration profile of biofilm surface in the X-direction at middle part of reactor. (Run.1)

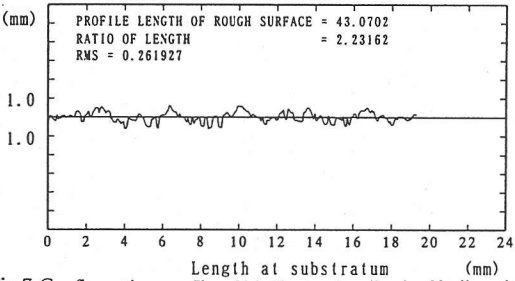


Fig.7 Configuration profile of biofilm surface in the X-direction at upper part of reactor. (Run.2)

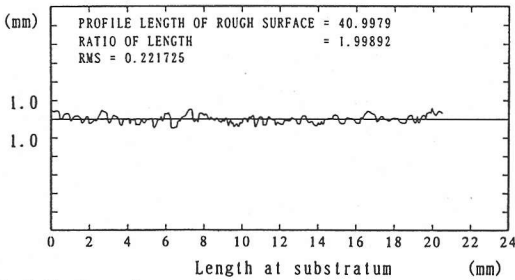


Fig.9 Configuration profile of biofilm surface in the X-direction at lower part of reactor. (Run.2)

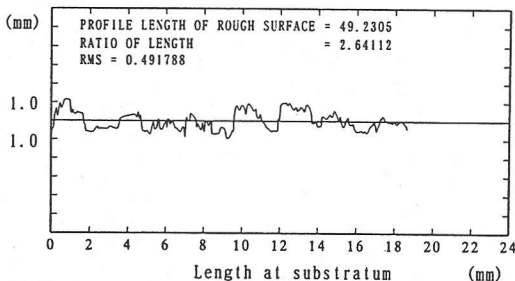


Fig.11 Configuration profile of biofilm surface in the X-direction at middle part of reactor. (Run.3)

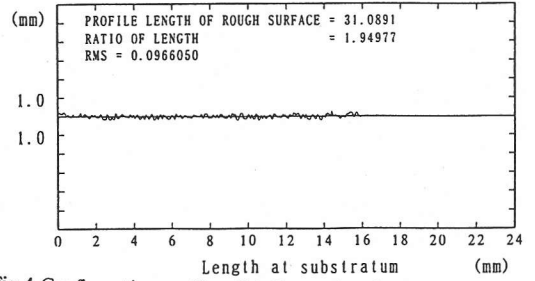


Fig.4 Configuration profile of biofilm surface in the X-direction at upper part of reactor. (Run.1)

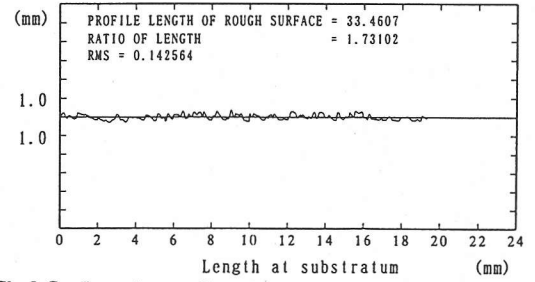


Fig.6 Configuration profile of biofilm surface in the X-direction at lower part of reactor. (Run.1)

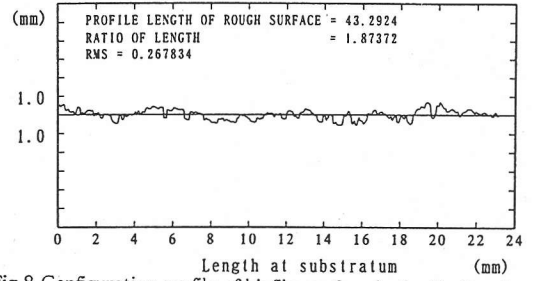


Fig.8 Configuration profile of biofilm surface in the X-direction at middle part of reactor. (Run.2)

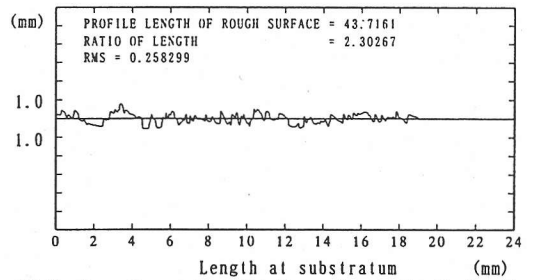


Fig.10 Configuration profile of biofilm surface in the X-direction at upper part of reactor. (Run.3)

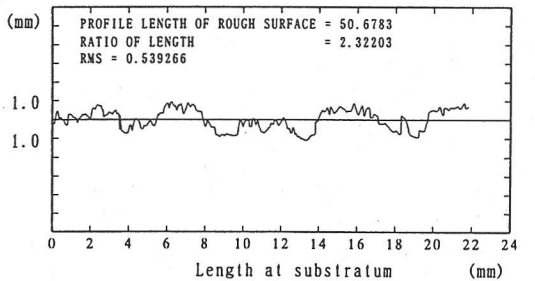


Fig.12 Configuration profile of biofilm surface in the X-direction at lower part of reactor. (Run.3)



Fig.2 Example of rough surface.

1ヶ月以上継代培養したものである。培養は水温30°Cで空気曝気の状態で行った。

3. 生物膜表面の凹凸の測定と定量化¹⁸⁾

(1) 写真測量

生物膜表面の凹凸を写真測量で実体視するため、接写カメラでオーバーラップ率60%程度になるように試料を正確に移動させ1つの試料について2枚の写真(ポジフィルム)を撮った。生物膜表面の撮影は空気中で行ったが、本実験で形成された生物膜の性状はバクテリアと鉄沈殿物によって構成され、一般の生物膜に比べ形が崩れにくい性質を持っており、水中と空気中ではほとんど形態が変化しないことが観察されている。このポジフィルムをアダム図化機(MPS-2 MICRO PHOTOGRAMMETRIC SYSTEM)に装着し、実体視して写真測量を行った。測定は、反応槽円周方向(X方向)と反応槽鉛直方向(Y方向)の2方向を行い、200~400の非等間隔の高さのデータ(凹凸の地形変換点で測定)を得た。

(2) 定量化の手法

写真測量で得たデータについては、スペクトルの計算に用いるため、凹凸の急激な変化によって振動が生じないAKIMAらが開発したスプライン補間によって、等間隔(0.005mm)の約3300~4600個のデータを新たに計算した。AKIMAによるスプライン補間は、IMSL社が作成した数学応用の各種サブルーチンソフトであるデータ補間ソフトの一種である⁴⁹⁾。このデータから縦断曲線長と後述するrmsを計算するとともに、MEM(最大エントロピー法)でスペクトルを計算した⁴⁶⁾。また、平均パワースペクトルとして、各データのパワースペクトルの計算結果データ間隔の違いをAKIMAによるスプライン補間によって同じ間隔のデータとして平均化したものを用いた。なお、rmsとスペクトルの計算ではリニアトレンドを除去している。rmsとは、root mean squareの略で、凹凸の平均高さからの縦距の2乗を合計し、その平方根を計算したものであり、凹凸の大きさの指標の一つと考えられる。計算式を示すと以下になる。

$$rms = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (Y_i - Y_m)^2}{N}}$$

Y_i は凹凸の高さ、 Y_m は凹凸の平均高さ、 N はデータ数である。Fig.2よりわかるように、凹凸が大きくなれば(振幅が大きくなれば)、rmsも大きくなる。

4. 凹凸測定結果とパワースペクトル

本論文で用いたデータは、以前に発表した論文¹⁸⁾の実験において撮影した写真を用い、データ数を増やしたものである。

Fig.3は、連続実験で7日目(Run.1)、20日目(Run.2)、54日目(Run.3)に得られた生物膜表面の接写写真である。Fig.4~Fig.12は、写真測量によって得られた生物膜表面の凹凸の縦断曲線を示している。Fig.3~Fig.6は、それぞれRun.1の反応槽における上層、中層、下層の槽内円周方向(X方向)の凹凸を示している。同様に、Fig.7~Fig.9は、Run.2の反応槽における上層、中層、下層の凹凸を示している。Fig.10~Fig.12は、Run.3の反応槽における上層、中層、下層の凹凸を示している。これらの図を見ると、各Runの上層、中層、下層で、凹凸の大きさが多少異なっている。この原因は、おそらく反応槽内の流体力学的な影響が均一でないために生じたものと思われる。Run.1、Run.2、Run.3の凹凸からわかるように、連続実験を初めて7日目ですでに凹凸が現れ、20日目、54日目とだんだん凹凸が発達していく様子が示されている。凹凸の形態的傾向として、X方向(円周方向)、Y方向(鉛直方向)について考察すると、Fig.3の微生物膜のマクロ写真から伺えるように、Y方向に尾根を持った凹凸がRun.1、Run.2、Run.3に見られ、特に、Run.2、Run.3で大きな凹凸成分の凹凸がY方向に伸びている。CSTRの中の流れが複雑なので、はっきりしたことは言えないが、河床の砂漣と同様の傾向を示しているように見られる。

Fig.13は、経過日数と線長比(支持体の単位長さ当りの縦断曲線長で面積増分比と関係がある)の関係を示したものであり、経過日数と線長比の間にはバラツキはあるが、正の相関の関係が示されている。この結果は、以前に発表した論文³⁷⁾と異なる結果となっているが、以前の論文ではデータ数が少なかったため全体的な傾向が見られなかったためと思われる。また、経過日数とrmsとの関係を表わしたFig.14でも、経過日数とともにrmsが増加しているのが示されている。この結果は以前の論文と同様の結果となっている。Fig.15は、線長比とrmsの関係を図示したものであるが、特にlower(O)の凹凸に関して見ると相関関係は見られず、線長比とrmsの間にはほとんど関係がないことを示している。本来、経過日数の因子を除けば、理論的に線長比とrmsの間には何ら相関関係はなく、本実験でも同一

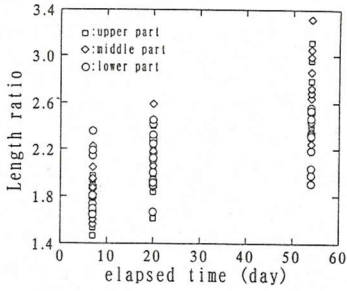


Fig.13 Change in length ratio.

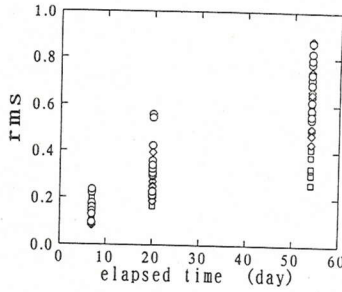


Fig.14 Change in rms.

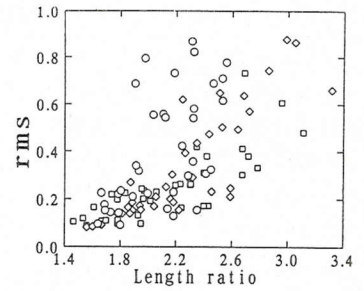
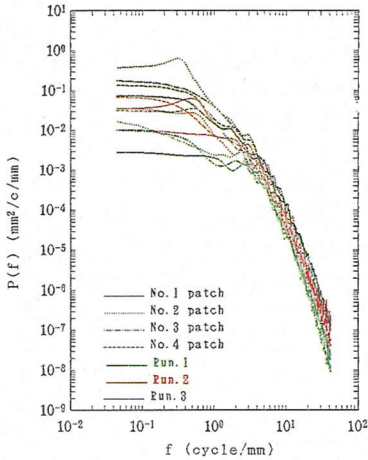
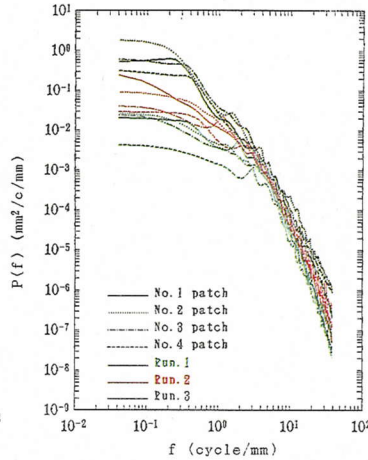


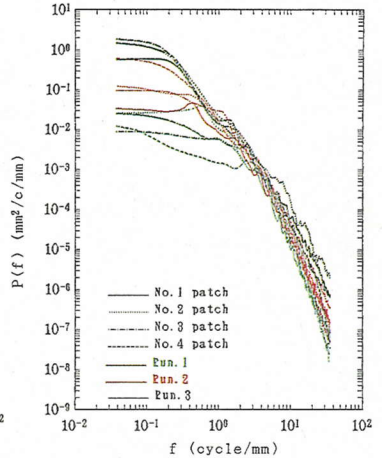
Fig.15 Relation between length ratio and rms



(a) at upper part of reactor.



(b) at middle part of reactor.



(c) at lower part of reactor.

Fig.16 Change in average power spectrum by difference in elapsed time.
(Comparison among the three runs)

経過日における線長比とrmsの間には相関がないことが示されている。

なお、好酸性鉄酸化細菌によって形成された生物膜では、凹凸はsloughingなしに発達していくのが観察されている。

凹凸の測定結果をパワースペクトルによって解析すると、以下のようになる。

各Runの上層、中層、下層部に着目して、各層4個のPatch中のX方向3つの縦断プロファイルデータのパワースペクトルを平均したものを各Runで色分けして比較したものが、Fig. 16 (a) (b) (c) (上層、中層、下層)である。これらの図を見るとわかるように、低周波(凹凸成分の低い周波数の凹凸)の部分で違いが現れており、凹凸の大きさが7日目 (Run. 1), 20日目 (Run. 2), 54日目 (Run. 3) と大きくなっていく様子が分かる。高周波の部分でも、生物膜の馴養期間が長くなるにつれ、パワースペクトルの値が少々大きくなっており、凹凸の振幅が増加していることを示している。各Runの各Patchで低周波および高周波の部分でパワースペクトルの形状にバラツキが

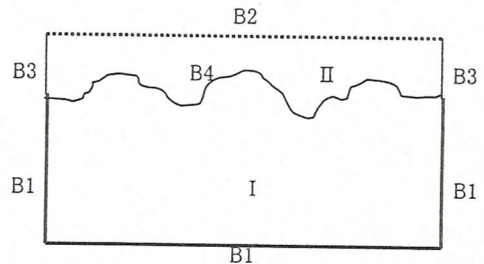


Fig.17 Finite domain of biofilm with rough surface.

あるが、これは、実験の反応槽中の複雑な流体力学的な不均一さによって形成された凹凸のバラツキが原因で生じたものと考えられる。

凹凸のもう一つの指標である r m s は、凹凸の縦距のみの量を扱っているので詳細な凹凸の性質を表わしていないが、パワースペクトルは凹凸の性質を十分表わしているものと言える。しかし、スペクトルには3次相関のフーリエ変換をとったバイスペクトル¹¹⁾もあり、より正確に凹凸の性質を見るためには、このような指標も検討する必要がある。

5. 凹凸を考慮した2次元生物膜モデル⁴³⁾

Fig. 17のような、一般の凹凸をもった生物膜の有限要素領域を考える。領域Ⅰは、生物膜の領域で、領域Ⅱは拡散層（濃度境界層）の領域である。

領域Ⅰで、次式が成り立つ。

$$\frac{\partial}{\partial X} \left(D_{XSF} \frac{\partial S}{\partial X} \right) + \frac{\partial}{\partial Y} \left(D_{YSF} \frac{\partial S}{\partial Y} \right) = \gamma_s(S, C) X_f$$

$$\frac{\partial}{\partial X} \left(D_{XCF} \frac{\partial C}{\partial X} \right) + \frac{\partial}{\partial Y} \left(D_{YCF} \frac{\partial C}{\partial Y} \right) = \gamma_c(S, C) X_f$$

領域Ⅱでは、次式が成り立つ。

$$\frac{\partial}{\partial X} \left(D_{XS} \frac{\partial S}{\partial X} \right) + \frac{\partial}{\partial Y} \left(D_{YS} \frac{\partial S}{\partial Y} \right) = 0$$

$$\frac{\partial}{\partial X} \left(D_{XC} \frac{\partial C}{\partial X} \right) + \frac{\partial}{\partial Y} \left(D_{YC} \frac{\partial C}{\partial Y} \right) = 0$$

ここで、 D_{XSF} 、 D_{YSF} は生物膜内での Fe^{2+} の拡散係数、 D_{XCF} 、 D_{YCF} は生物膜内での溶存酸素の拡散係数、 S 、 C はそれぞれ Fe^{2+} および溶存酸素の濃度、 γ_s 、 γ_c はそれぞれ生物膜内での局所的な Fe^{2+} の酸化速度および酸素消費速度で、 X_f は微生物密度である。

境界条件は、

B1上で

$$D_{XSF} \frac{\partial S}{\partial X} l + D_{YSF} \frac{\partial S}{\partial Y} m = 0$$

B3上で

$$D_{XS} \frac{\partial S}{\partial X} l + D_{YS} \frac{\partial S}{\partial Y} m = 0$$

$$D_{XCF} \frac{\partial C}{\partial X} l + D_{YCF} \frac{\partial C}{\partial Y} m = 0$$

$$D_{XC} \frac{\partial C}{\partial X} l + D_{YC} \frac{\partial C}{\partial Y} m = 0$$

B2上で

$$S = S^*, C = C^*$$

B4上で

$$q_s = D_{XS} \frac{\partial S}{\partial X} l + D_{YS} \frac{\partial S}{\partial Y} m = D_{XSF} \frac{\partial S}{\partial X} l + D_{YSF} \frac{\partial S}{\partial Y} m$$

$$q_c = D_{XC} \frac{\partial C}{\partial X} l + D_{YC} \frac{\partial C}{\partial Y} m = D_{XCF} \frac{\partial C}{\partial X} l + D_{YCF} \frac{\partial C}{\partial Y} m$$

ここで、 l 、 m は境界Bに立てた単位法線の方向余弦、 q_s 、 q_c は境界B4を通る Fe^{2+} および酸素のフラックスである。

境界B1、B3では、境界に垂直方向の拡散が生じず、境界に沿った方向の拡散は存在していることを意味している。この条件は、B1の縦の部分とB3で拡散層と生物膜内部に壁を設けた概略の境界条件を仮定している。この概略の境界条件が満たされるように、境界B1の縦の部分では、凹凸のなるべく頂点およびへこみの部分を境界とした。この境界条件は厳密でないが、計算された濃度プロファイルを見る限り(Fig. 20~Fig. 25, Fig. 26~Fig. 37)、ごく端だけの影響で内部のほとんどの領域には影響がないものと思われる。しかし、厳密的には、今後、境界条件が数値シミュレーションに及ぼす影響を定量的に把握し、その誤差について考察すべきと考える。

拡散方程式では、X方向、Y方向の拡散係数を別々にしているが、ここでは等方性と考え、X方向、Y方向の拡散係数は等しいとする。一般的には、生物膜には密度分布があり表層で小さくなっているのが普通であり、これらによって場所により拡散係数が異なるものと考えられるが、ここでは簡単のため生物膜密度も拡散係数も一定と考える。

局所的微生物反応速度は、鉄酸化バクテリアの場合、次式に示すようにダブルモノタイプで表現されることが知られている。

$$\gamma_s(S, C) = \frac{v_{SMAX} S}{K_s + S} \frac{C}{K_c + C}$$

$$\gamma_c(S, C) = \alpha \gamma(S, C)$$

ここで、 v_{SMAX} は最大比鉄酸化速度、 K_s 、 K_c はそれぞれ Fe^{2+} および溶存酸素に関する飽和定数で、 α はバクテリアによる Fe^{2+} と酸素の反応における化学量論比である。

Fig. 18に、拡散層を考慮しない場合と考慮した場合の有限要素分割の例を示す。Fig. 18の(a1)は、拡散層のない場合の約1cm幅の生物膜の広い領域で50000~90000要素という分割をしているため、分割の白い線で塗りつぶされている。(b1)は、拡散層を考慮した場合である。(a2)(b2)はそれぞれ拡散層を考慮しない場合と考慮した場合のある一部を拡大したものである。この有限要素分割例は、連続実験20日目(Run. 2)の生物膜凹凸のLower部分No. 1パッチのX方向の凹凸をモデル化したものである。シミュレーションは、各RunのLower部分のNo. 1のパッチのX方向の凹凸について行った。計算上の平均生物膜厚は、Run. 1(7日目)で800 μm 、Run. 2(20日目)で1200 μm 、Run. 3(54日目)で1500 μm としている。この平均生物膜厚にした理由は、実験的に得られた生物膜厚が、その膜厚以上になっていることが概略的に確認されており、その膜厚では拡散律速(deep biofilm)になり、膜厚の影響がほとんどはいつてこない状態になることが実験的にも計算的にも確認されているからである。拡散層がある場合は、平均生物膜厚上に0 μm 、50 μm 、100 μm の厚さを設定し、凹凸の凹部の部分に拡散層が分布している状態を仮定した。この仮定は、正確には正しくないものであり、粘性底層が凹凸を覆った場合でも、拡散層の部分では流動が存在し、移流の影響が出てくるものとする。ここで設定した仮定は、D. d. Beerらの文献⁹⁾の図Fig. 19に示すように、ある流速条件の下において凹部で拡散層(濃度境界層)が存在し、流速が増すにつれ凸部の拡散層が小さくなることがD0のマイクロセンサーの実測で明らかになっていたため、これを基に概略的になされたものである。なお、本実験と同様の条件下での生物膜上1cmでの流速は、電磁流速計で測定した結果、反応槽の場所によって異なるが、平均8~12 $\text{cm} \cdot \text{sec}^{-1}$ の範囲にあった。この

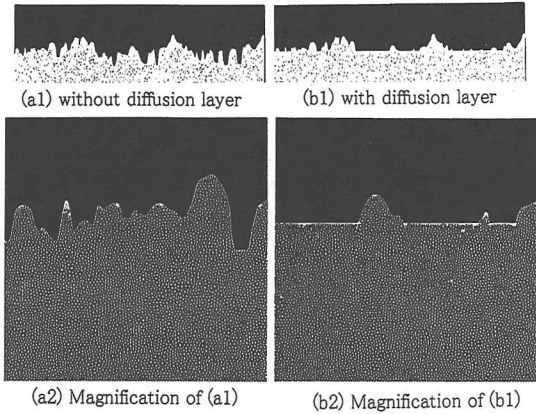


Fig.18 Example of finite element mesh of biofilm model with and without diffusion layer

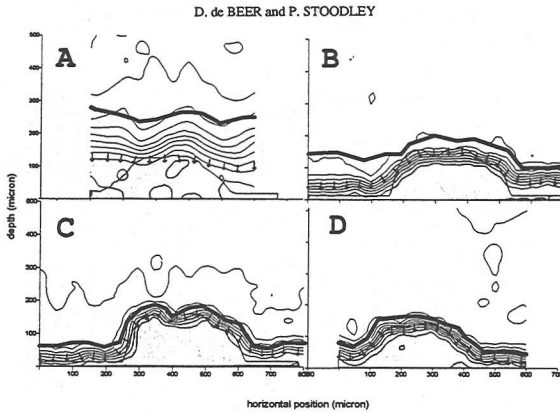


Fig.19 Oxygen contour plots, measured at flow velocity of 0.0078m/s(A), 0.0174m/s(B), 0.064m/s(C), 0.115m/s(D). The outline of the solid biofilm parts are indicated as shaded area. The thin lines represent the oxygen contours, drawn at equal intervals of oxygen concentration. D.d Beer et al¹⁹⁾

Table 2 Parameter and kinetic constant

Diffusivity of Fe ²⁺ in water	D _s	0.0307 cm ² .h ⁻¹
Diffusivity of DO in water	D _c	0.1060 cm ² .h ⁻¹
Diffusivity of Fe ²⁺ within a biofilm	D _{sf}	0.0246 cm ² .h ⁻¹
Diffusivity of DO within a biofilm	D _{cf}	0.0850 cm ² .h ⁻¹
Maximum specific iron oxidizing rate	V _{SMAX}	3.14 × 10 ⁻⁹ mg Fe ²⁺ .cell ⁻¹ .h ⁻¹
Maximum specific oxygen consumption rate	V _{CMAX}	4.49 × 10 ⁻¹⁰ mg O ₂ .cell ⁻¹ .h ⁻¹
Stoichiometrical ratio of Fe ²⁺ and O ₂	α	0.143 mg O ₂ .mg ⁻¹ Fe ²⁺
Saturation constant for Fe ²⁺	K _s	13.10 mg.l ⁻¹
Saturation constant for O ₂	K _c	0.052 mg.l ⁻¹
Microbial density of biofilm	X _f	1.4 × 10 ¹³ cells.l ⁻¹

条件は, D. d Beer等の実験条件(c)(d)に当たる。(Fig. 19)

ここでは, あくまでも拡散が卓越する拡散層を考え, 生物膜表面に沿って流れる移流の影響を無視できるものと考え, 仮想的に考察することを試みた。

6. 有限要素法による解析方法の概略

ここで対象としている2次元生物膜モデルは, 広領域にわたるものであり, 有限要素分割には, 岡山大の谷口⁴⁵⁾のデローニ自動要素分割のプログラムを用いた。このプログラムを使用するに当り, 自動的に境界を生成させるプログラムを自作した。ここで対象とした2次元生物膜モデルの分割例では, 節点数30000~50000点, 要素数50000~90000要素となり大容量の計算を行わなければならない。本数値解析では, 非線形の計算に直接反復法を用い, 連立方程式の数値解法にskyline法⁴⁸⁾を用いた。Skyline法を効率よく用いるためには, 節点の並び方が重要であり, ここでは, 節点のある方向から並び換える自作のプログラムにより節点を再構成させた。このことにより, 記憶容量を少なくし, 効率よく連立方程式を解くことが可能となった。

以下に, 2次元生物膜モデルの数値解析の概略をフローチャートで示す。

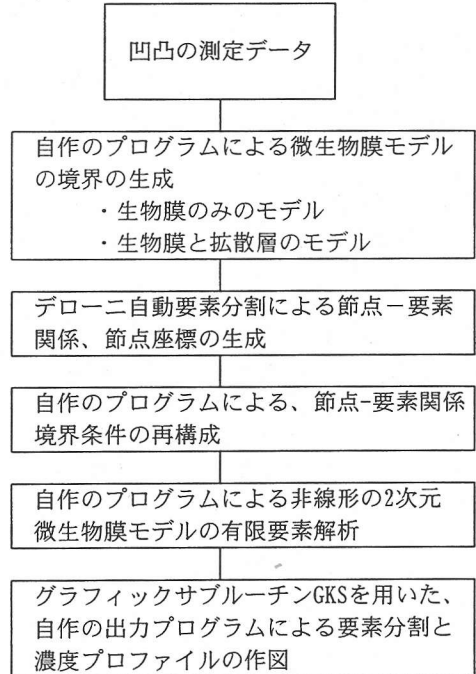


Table 2に, シミュレーションの計算に用いた動力学定数およびパラメータを示す。

7. 凹凸と拡散層の影響に関する有限要素シミュレーション結果

(1) 凹凸の影響

Fig. 20は、Run. 1(7日目)の2次元生物膜モデルの Fe^{2+} の濃度プロファイルを示したものであるが、領域が広いので濃度プロファイルの曲線が密になり塗りつぶされている。Fig. 21は、Fig. 20の一部を拡大したものである。濃度プロファイルの曲線は Fe^{2+} の方が最小5mg/l、最大100mg/lでプロファイル間隔は5mg/lとなっており、計算上の最小値はほとんどゼロであり、最大値は膜表面上の100mg/lである。図には示していないが、D0のプロファイル曲線は Fe^{2+} とほぼ同じであり、最小1mg/l、最大5mg/lで、計算上の最小値は約0.3mg/l程度で、最大値は膜表面上の5mg/lである。なお、以下の図の濃度プロファイル曲線は、上記の値で示されている。Fig. 20では Fe^{2+} の浸透深さがほぼ表わされている。この濃度プロファイルを見るとわかるように、低周波成分を持つ凹凸では凹凸形態に沿って浸透深さが変化しているが、高周波成分を持つ凹凸では形態に沿って浸透深さは変化せず形態の影響がほとんど出ていない。

Fig. 22, Fig. 23は、Run. 2(20日目)の2次元生物膜モデルの Fe^{2+} 濃度プロファイルを示したものである。低周波成分の凹凸と高周波成分の凹凸によって生物膜の表面形態は形成されているが、Run. 2では、低周波成分でしかもrmsにあたる振幅の大きな凹凸が存在し、その凹凸の形態に沿って Fe^{2+} の浸透深さは変化している。Fig. 24, Fig. 25のRun. 3(54日目)では、より低い低周波の成分を持ちかつより大きな振幅の凹凸が多く存在し、 Fe^{2+} の浸透深さは、その形態に沿って変化している。しかし、高周波成分の凹凸では、 Fe^{2+} の浸透深さは形態にほとんど影響されないことがわかる。

これらの濃度プロファイルの浸透深さの形態と凹凸の形態を考察することにより、低周波成分で振幅が大きな成分を持つ凹凸ほど生物膜表面形態の基質除去フラックス増大への影響が強く出ることが推察される。但し、糸状菌のように振幅が大きく揺らぎのあるような生物膜には、この事は当てはまらない。

Table 3は、拡散層を考慮しない場合の線長比、rmsとフラックス増分比の関係を示したものである。フラックス増分比は、凹凸を持った2次元生物膜モデルのシミュレーションより計算された基質除去フラックスを平面の生物膜の基質除去フラックスで除して表示したものである。フラックス増分比が1.0のとき、平面の生物膜の基質除去フラックスと同等であることを意味する。この表は、各Runの反応槽の上層、中層、下層の生物膜をモデル化したものの値である。Run. 1, Run. 2, Run. 3と凹凸が大きく



Fig.20 Fe^{2+} concentration profile of two-dimensional biofilm Model. (at lower part of reactor. Run.1)

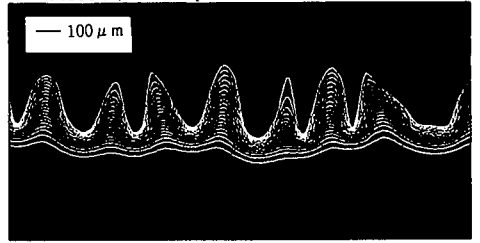


Fig.21 Magnification of Fig.20.

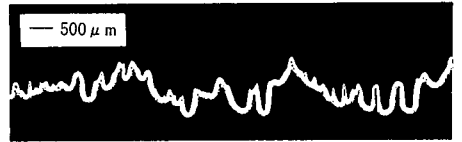


Fig.22 Fe^{2+} concentration profile of two-dimensional biofilm Model. (at lower part of reactor. Run.2)

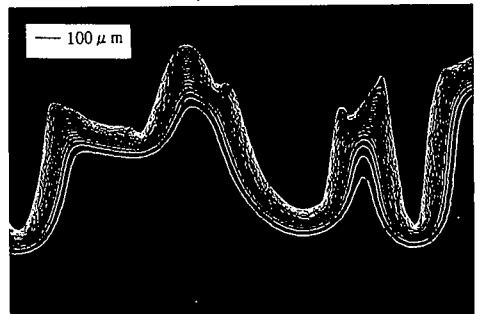


Fig.23 Magnification of Fig.22.

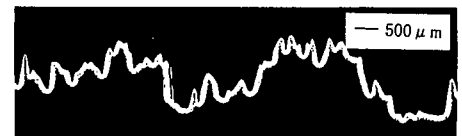


Fig.24 Fe^{2+} concentration profile of two-dimensional biofilm Model. (at lower part of reactor. Run.3)

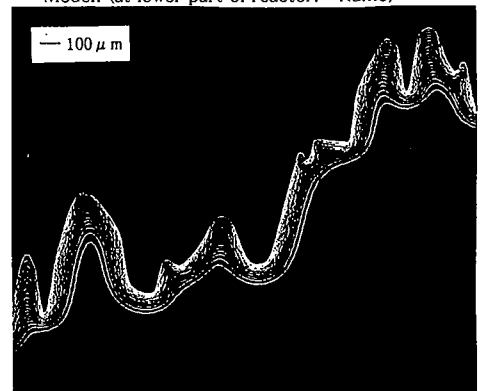


Fig.25 Magnification of Fig.24.



Fig.26 Fe^{2+} concentration profile of two-dimensional biofilm model with diffusion layer of $0 \mu m$ depth. (Run.1)

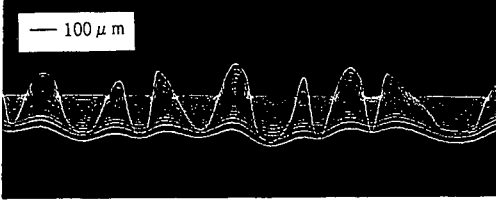


Fig.27 Magnification of Fig.26.

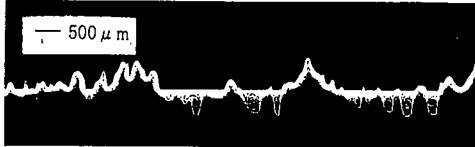


Fig.30 Fe^{2+} concentration profile of two-dimensional biofilm model with diffusion layer of $0 \mu m$ depth. (Run.2)

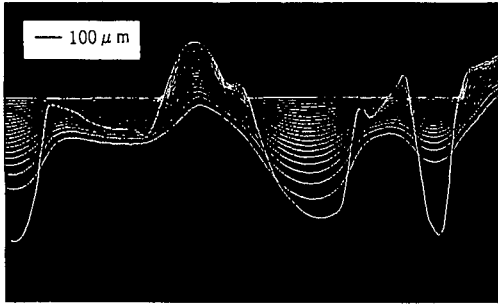


Fig.31 Magnification of Fig.30.



Fig.34 Fe^{2+} concentration profile of two-dimensional biofilm model with diffusion layer of $0 \mu m$ depth. (Run.3)

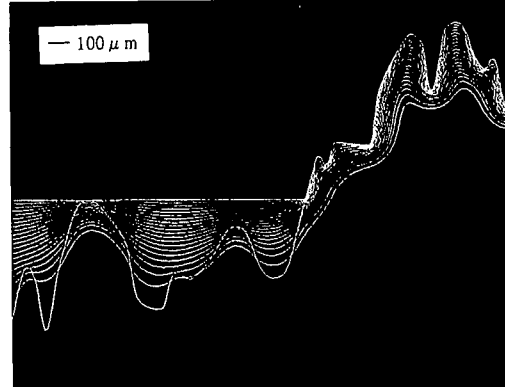


Fig.35 Magnification of Fig.34.



Fig.28 Fe^{2+} concentration profile of two-dimensional biofilm model with diffusion layer of $100 \mu m$ depth. (Run.1)

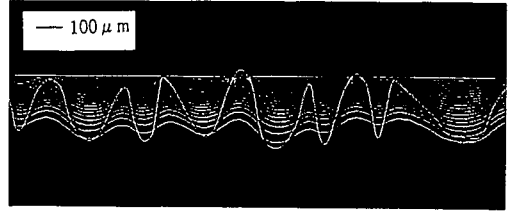


Fig.29 Magnification of Fig.28.



Fig.32 Fe^{2+} concentration profile of two-dimensional biofilm model with diffusion layer of $100 \mu m$ depth. (Run.2)

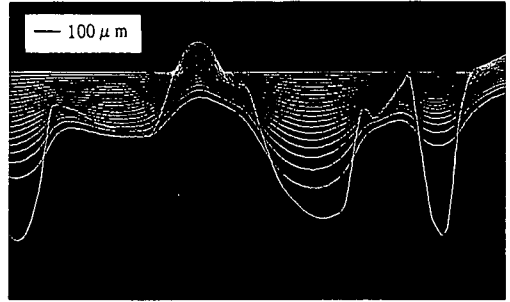


Fig.33 Magnification of Fig.32.

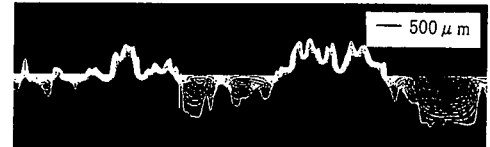


Fig.36 Fe^{2+} concentration profile of two-dimensional biofilm model with diffusion layer of $100 \mu m$ depth. (Run.3)

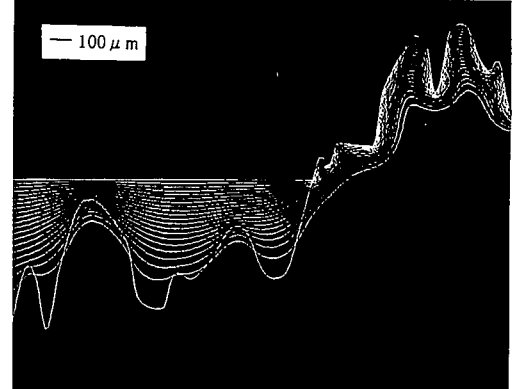


Fig.37 Magnification of Fig.36.

Table 3 Relation between morphology and increased ratio of flux without diffusion layer.(u:upper,m:middle,l:lower)

Run	Length ratio	rms(mm)	increased ratio of flux	P(%)	
Run.1	u	1.95	0.0966	1.523	78.1
	m	1.89	0.151	1.612	85.3
	l	1.73	0.143	1.523	88.0
Run.2	u	2.23	0.262	1.980	88.8
	m	1.87	0.268	1.561	83.5
	l	2.00	0.222	1.862	93.1
Run.3	u	2.30	0.258	1.930	83.9
	m	2.64	0.492	2.302	87.2
	l	2.32	0.539	2.065	89.0

P: percent of increased ratio to length ratio

なるに従い、フラックス増分比が増大する傾向を示している。次に、rmsと線長比とフラックス増分比の関連性を見る。Run.1の上層(u)に着目してみると、線長比が1.95と大きい割には、rmsが0.0966と小さく振幅が小さいことがわかり、しかもパワースペクトルの図 (Fig.16) より低周波の成分が小さいことが示されている。Run.1・上層(u)の線長比(面積増分比にあたる)に対するフラックス増分比の割合が78.1%と他に比べ小さいことは、低周波成分が少なく振幅が小さな凹凸は、線長比(面積増分比)が大きくても、フラックス増分比は線長比に近づき得ないことを示している。この結果は、以前提出した論文⁴³⁾において単純化した凹凸で考察した結果と同様のことを表わしている。ここでは、大まかな傾向のみを捉えることができるのみであって、自然の生物膜の凹凸は、rmsやパワースペクトルでは捉えることのできない情報である凹凸の形や統計的にランダムでない凹凸を含んでおり、全てを考慮できないことに注意すべきであると思われる。

(2) 拡散層の影響

Fig.26~Fig.29は、Run.1(7日目)の拡散層を考慮したモデルのシミュレート結果である。Fig.26は、拡散層表面の位置を生物膜の平均膜厚と同一と考え、拡散層厚を0 μ mと定義した場合の拡散層の分布とFe²⁺の濃度プロファイルを示したものである。Fig.27は、Fig.26の一部を拡大したものである。これらの図より、拡散層を考慮した場合、Fe²⁺の浸透深さの形態に与える凹凸形態の影響が緩和されていることがわかる。

Fig.28は、拡散層を平均生物膜厚上に100 μ mの深さをとり、拡散層厚100 μ mと定義した拡散層の分布とFe²⁺の濃度プロファイルを示したものである。Fig.29は、Fig.28の一部を拡大したものである。これらの図を見ても、前述したことが同様にいえる。

Fig.30~Fig.33はRun.2(20日目)、Fig.34~Fig.37はRun.3(54日目)の拡散層を考慮したモデルのシミュレーション結果である。Run.2、Run.3と凹凸が大きくなるに従い、凹凸形態に沿って浸透深さ

Table 4 Relation between diffusion layer and increased ratio of flux.

Run	Length ratio	rms(mm)	increased ratio of flux	
Run.1	0um	1.73	0.143	1.004
	50um	1.73	0.143	0.8556
	100um	1.73	0.143	0.7147
Run.2	0um	2.00	0.222	1.123
	50um	2.00	0.222	0.9842
	100um	2.00	0.222	0.8601
Run.3	0um	2.32	0.539	1.174
	50um	2.32	0.539	1.110
	100um	2.32	0.539	1.050

が変化する部分が多くなっているが、拡散層に埋もれている凹凸形態の影響は、拡散層によって大きく緩和されていることがわかる。

Table 4は、Run.1、Run.2、Run.3の下層の凹凸をモデル化し、拡散層厚を各Runに対し0 μ m、50 μ m、100 μ mとした場合の線長比、rmsとフラックス増分比の関係を示したものである。ここでのフラックス増分比は、凹凸と拡散層を考慮した2次元生物膜モデルのシミュレーション結果より計算された基質除去フラックスを拡散層を考慮しない平面の生物膜の基質除去フラックスで除したものである。Table 4で、フラックス増分比が1.0以下になっている系列があるが、これは拡散層を考慮していない平面の生物膜との比をとったからである。拡散層を考慮した平面の生物膜との比も考えられるが、凹凸の生物膜の拡散領域と平面の生物膜の拡散領域(拡散層厚)との定量的関係が不明確なので、ここでは考慮しないこととした。Table 4に示されているように、Table 3の拡散層を考慮しないものに比べフラックス増分比が低くなっていることがわかる。また、Run.1、Run.2、Run.3と凹凸が大きくなるにつれフラックス増分比が増加し、拡散層が0 μ m、50 μ m、100 μ mと大きくなるにつれ増分比が小さくなることを示されている。各Runの凹凸に対する拡散層の増大の影響は、Run.3の凹凸が大きい系列で小さくなっていることが示されている。これは、大きな凹部の部分のみが拡散層の影響を受け、凸部が液本体にさらされている条件による。Table 5,6は、本実験の連続実験と回分実験の結果であるフラックス増分比についてまとめたものである。Table 5,6において生物密度1.4 $\times 10^{13}$ cells \cdot l⁻¹の場合のフラックス増分比と、凹凸モデルのシミュレーション結果であるTable 3の拡散層を考慮していない場合を比較すると、Run.3におけるフラックス増分比が同程度の値を示していることがわかる。このことは凹凸が大きくなれば、流速が8~12cm \cdot sec⁻¹(膜上1cmの所での測定値)では、拡散層が薄くなり形態に沿って濃度分布が形成され、拡散層がない場合を想定することが可能なことを示している。拡散層を考慮した場合は、Table 5,6

Table 5 Substrate removal flux and increased ratio of flux in continuous experiments and simulation.

Run.	Concentration of bulk liquid		Flux (mg/cm ² .hr)			Increased ratio of flux	
	Fe ²⁺ (mg/l)	DO (mg/l)	Experimental value	Simulation value of plane biofilm		1.0x10 ¹³ cells/l	1.4x10 ¹³ cells/l
				1.0x10 ¹³ cells/l	1.4x10 ¹³ cells/l		
1	256	5.4	0.364	0.424	0.502	-14%(0.86)	-27%(0.73)
2	169	4.7	0.451	0.385	0.456	17%(1.17)	-1%(0.99)
3	41	4.7	0.554	0.158	0.219	200%(3.00)	153%(2.53)

Table 6 Substrate removal flux and increased ratio of flux under the condition of diffusion limitation of dissolved oxygen in batch experiments.

Run.	Substrate removal flux in experiments (mg/cm ² .hr)	Increased ratio of flux	
		1.0x10 ¹³ cells/l	1.4x10 ¹³ cells/l
1	0.424	25%(1.25)	0%(1.00)
2	0.515	38%(1.38)	13%(1.13)
3	0.924	170%(2.70)	135%(2.35)

のRun. 1, Run. 2の値が, Table 4の拡散層厚0 μm, 50 μm, 100 μmの範囲で, シミュレーション結果と同程度の値を示している. このことは, 凹凸が小さい場合, 拡散層が存在していることを示している. これらのことは, D. de Beer¹⁹⁾, 岡部ら³²⁾の結果をほぼ説明していると考えられる. 以上のことは, シミュレーションにおいて2次元のモデルを考えているので, 正確には3次元に拡張してモデルを考えなければいけないことは言うまでもない.

8. 凹凸の発生シミュレーションと有限要素法による解析

平均パワースペクトルから, 統計的に同一の凹凸を発生することが可能であれば, 凹凸を統計的に扱うことが可能となる. しかし, ここで用いているパワースペクトルは, 理論的に2次の相関関係をもとにしているものであって, より多くの情報を得るためには3次の相関関係を考えたパワースペクトルの情報を取り入れなければならない. このことに関しては, 今後の研究課題であるが, 本論では, パワースペクトルを基に凹凸の発生シミュレーションを行った.

(1) 平均パワースペクトルからの凹凸発生シミュレーション⁴⁶⁾

本論では, 凹凸発生シミュレーションの方法として, フーリエ成分波の重ね合わせによる方法を用いることとした. ここでは, t を x 方向の距離, x(t)

を凹凸の高さとする. x(t) は, その複素フーリエ成分 X(ω) を用いて次式のように表わされる.

$$x(t) = \int_{-\infty}^{\infty} X(\omega) e^{i\omega t} d\omega \quad (1)$$

$$= \int_{-\infty}^{\infty} |X(\omega)| e^{i(\omega t + \theta(\omega))} d\omega$$

ここで, θ(ω) は 0 ≤ θ(ω) ≤ 2π であるような一様乱数である. 所与のスペクトル S(ω) (two-sided spectrum) とフーリエ成分 X(ω) とは, S(ω) = 2π <XX'> / T の関係にあるから, これより

$$|X(\omega)| = \sqrt{T \cdot S(\omega) / 2\pi} \quad (2)$$

と書ける. 但し, T は周期.

ここで, ω の正の有義積分区間 (0, ω_N) に (N+1) 個の点を順にとる.

$$0 = \omega_0 < \omega_1 < \dots < \omega_N = \frac{2\pi}{2\Delta t} \quad (3)$$

ここに, Δω_k と ω̄_k を次のように定義する.

$$\Delta\omega_k = \omega_k - \omega_{k-1}$$

$$\bar{\omega}_k = \frac{\omega_k + \omega_{k-1}}{2} \quad (4)$$

式(4)を用いて, 式(1)の積分を有限区間で離散化すれば, ランダム波は次式で与えられる.

$$x(t) = 2 \sum_{k=1}^N \sqrt{S(\bar{\omega}_k) \Delta\omega_k} \cdot \cos(\bar{\omega}_k t + \theta_k) \quad (5)$$

角周波数 ω の代わりに周波数 f と one-side spectrum E(f) を用いれば, 上式は以下のように変形できる.

$$\omega_k = 2\pi f_k$$

$$S(\bar{\omega}_k) = \frac{E(\bar{f}_k)}{4\pi} \quad (6)$$

$$\Delta\omega_k = \omega_k - \omega_{k-1} = 2\pi(f_k - f_{k-1}) = 2\pi\Delta f_k$$

$$\bar{\omega}_k = \frac{\omega_k + \omega_{k-1}}{2} = \frac{2\pi(f_k + f_{k-1})}{2} = 2\pi\bar{f}_k$$

以上の式を(5)式に代入すると

$$\therefore x(t) = \sum_{k=1}^N \sqrt{2E(\bar{f}_k)\Delta f_k} \cdot \cos(2\pi\bar{f}_k t + \theta_k)$$

となる。

以下にプログラムを作るための計算手順について記す。

- ① (0, f_n) の区間で (N-1) 個の f_k を一様乱数で発生させる。
- ② f_k を小さい順に並べ替え Δf_k および f_k を計算する。
- ③ θ_k を $0 \leq \theta \leq \pi$ で一様乱数を発生させる。
- ④ (6) 式を用い Δf_k , f_k , θ_k , t を代入し, $x(t)$ を計算する。

(2) Low pass filterによる凹凸発生シミュレーション

凹凸を表現するのに、フーリエ級数を用いると、sin, cos波で表わすことができる。凹凸は、これらのsin, cos波の幅広い周波数領域の個々の成分波の重ね合わせによって形成される。

ここでは、凹凸の高周波領域を除去して低周波領域の成分を取り出し、どの周波数以下の凹凸が生物膜の基質除去フラックスに影響を与えるかを考察することにする。これを解析するためには、Low pass filterの手法を用いなければならない。

Filterとして以下の式を用いることにする。

$$\Delta = \frac{1}{1 + \left(\frac{f}{f_0}\right)^{2n}}$$

$$P(f) \cdot \Delta = P(f) \cdot \frac{1}{1 + \left(\frac{f}{f_0}\right)^{2n}}$$

ここで

Δ : フィルター

f : 周波数

f_0 : 遮断周波数

n : 指数 (n が大きくなるとフィルターがはつきりする)

$P(f)$: パワースペクトル

上式によってfilterを掛けたパワースペクトルより、(1)の凹凸発生シミュレーションの手法を用い、filterの掛かった凹凸を発生させることができる。



Fig.38 Fe²⁺ concentration profile of biofilm model with generated rough surface from average spectrum. (Run.3)

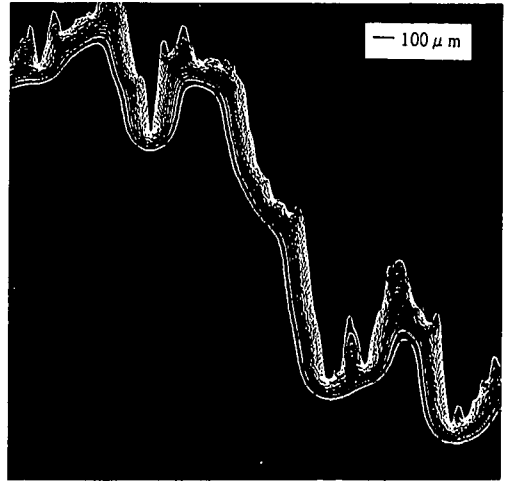


Fig.39 Magnification of Fig.38.



Fig.40 Fe²⁺ concentration profile of biofilm model with generated rough surface from filtered spectrum by low pass filter. (Cut off frequency is 6 cycle/mm)

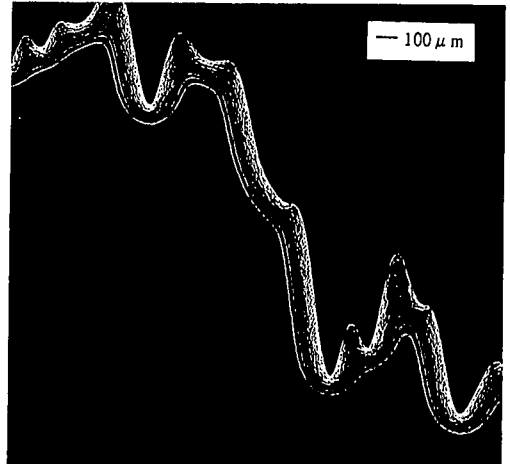


Fig.41 Magnification of Fig.40.

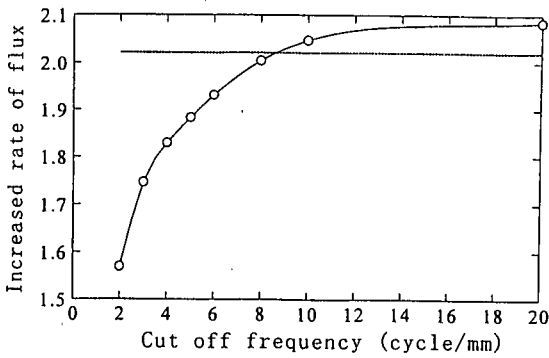


Fig.42 Effect of low pass filter on increased ratio of flux.

(3) 発生凹凸モデルの有限要素シミュレーション結果

Fig. 38, Fig. 39は, Fig. 16の(c)Run. 3下層部の平均スペクトルを用い発生させた凹凸をモデルとして濃度プロファイルを計算した結果である。この発生凹凸は, 実測凹凸に比べ細かい凹凸が付加されていることが示されている。Fig. 40, Fig. 41は, この平均スペクトルに $f_0=6\text{cycle/mm}$ のフィルターをかけた発生凹凸のモデルのシミュレーション結果である。Fig. 38に比べ小さな凹凸が除去されフィルターされていることが示されている。これらの図を見るとフィルターのかけていないモデルでは, 濃度プロファイルの浸入深さは小さな凹凸に影響されていないことが示されている。Fig. 42は, 遮断周波数 $f_0=20, 10, 8, 6, 5, 4, 3, 2\text{cycle/mm}$ として発生させた凹凸のモデルを用いて計算したフラックス増分比の値をプロットしたものである。 f_0 が小さくなるに従いフラックス増分比が減少し, 9cycle/mm 以下で急激に減少している。 $f_0=9\text{cycle/mm}$ は, フラックス増分比の90%減少値にあたり, この値が凹凸の影響の臨界点と考えられる。遮断周波数 $f_0=9\text{cycle/mm}$ は, 凹凸の大きさになおすと幅が約 $56\mu\text{m}$ の凹凸に相当することになる。この値は, 本研究で用いた好酸性鉄酸化バクテリアの生物膜についてのみ言えることであって, 他の生物膜に関しては, 動力学定数, 拡散係数等を当てはめ再計算しなければならないことは言うまでもない。

9. 結論

生物膜の挙動, 特に基質除去フラックス, 濃度プロファイルに及ぼす膜表面凹凸の影響を理論的に調べた結果以下の結論が得られた。

(1) 経過日数と線長比 (支持体の単位長さ当りの縦断曲線長で面積増分比と関係がある) および経過日数と rms (root mean square) の間に

は, 経過日数とともに線長比, rms が増加する傾向が見られた。この結果は, 以前に発表した論文にデータを更に増やしたものであり, 線長比に関しては訂正する形となった。また, 線長比と rms の間には関連性がないことが示された。

(2) パワースペクトル, rms , 線長比等の凹凸の定量的指標によって, 凹凸を持った生物膜の挙動をある程度まで把握することが可能となり, さらに2次元生物膜モデルの有限要素法による数値シミュレーションにより, 以下に示す知見が得られた。

① 低周波成分が大きく, しかも振幅が大きな凹凸が生物膜の挙動に影響を与える。但し, 糸状菌のように振幅が大きく揺らぎのあるような生物膜には, この事は当てはまらない。

② rms が小さく低周波成分が小さな凹凸の生物膜のフラックス増分比は線長比 (面積増分比に関連) に近づきえない。

③ 拡散層を仮想的に平均膜厚上に設定した場合, 凹凸を持った生物膜の挙動に対する拡散層の増大の影響は, 凹凸が大きい系列 (Run. 3) が小さくなっていることが示された。これは, 大きな凹部の部分のみが拡散層の影響を受け, 凸部が液本体にさらされている条件による。

④ D. d Beerらや岡部らの実験を下にして仮定した概略の拡散層の条件と拡散層を無視した場合の条件下のモデルシミュレーションによって, フラックス増分比に関して, ある程度実験結果を説明し得た。

(3) Low pass filterの手法を用い, 生物膜の挙動に及ぼす膜表面凹凸の大きさの影響を定量的に調べた結果, 以下の知見が得られた。

① 遮断周波数 f_0 が小さくなるに従い, フラックス増分比が減少し, 遮断周波数 f_0 が 9cycle/mm 以下で急激に減少している。

② 遮断周波数 $f_0=9\text{cycle/mm}$ は, フラックス増分比の90%減少値に当り, この値が凹凸の影響の臨界点と考えられる。遮断周波数 $f_0=9\text{cycle/mm}$ は, 凹凸の大きさになおすと巾が約 $56\mu\text{m}$ の凹凸に相当する。

なお, この知見は, 好酸性鉄酸化バクテリアの動力学定数を用いたモデルについて言えることである。他の生物膜に関しては, 動力学定数, 拡散係数等を当てはめ再計算しなければならない。

10. おわりに

本研究で用いたモデルでは、拡散層内での流体力学的挙動を考慮せず、また、岡部³²⁾らが指摘しているような生物膜内のチャンネルでの移流の影響を考慮していない。このような現象を考慮するためには、Choi⁴⁷⁾らが研究しているポーラス体内外の流れをモデル化した計算を参考にして、生物膜内外の流れをモデル化しシミュレートする必要があるだろう。

参考文献

- 1) Characklis, W.G. and Marshall, K.C. : Biofilm, WILEY INTERSCIENCE
- 2) Costerton, J.W., Geesey, G.G. and Cheng, K.J.: How bacteria stick, Science
- 3) Okabe, S., Hirata, K. and Watanabe, Y.: Dynamic change in spatial microbial distribution in mixed-population biofilms: Experimental result and model simulation, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 67-74, 1995.
- 4) Ohashi, A., Viraj de Silva, D.G. and Rittmann, B.E.: Influence of substrate C/N ratio on the structure of multi-species biofilms consisting of nitrifiers and heterotrophs, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 75-84, 1995.
- 5) Bang, D.-Y., Watanabe, Y. and Noike, T.: An experimental study on aerobic denitrification with polyvinyl alcohol as a carbon source in biofilms, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 235-242, 1995.
- 6) Zhang, T.C. and Bishop, P.L. : Structure, Activity and Composition of biofilms, Wat.Sci.Tech., Vol.29, No.7, 335-344, 1994.
- 7) Zahid, W.M. and Ganczarzyk, J.J.: Structure of RBC biofilms, Wat.Env.Res., Vol.66, No.2, 100-106, 1994.
- 8) Gujer, W.: The significance of segregation of biomass in biofilms, Wat.Sci.Tech., Vol.19, 495-503, 1986.
- 9) 増田純雄, 渡辺義公, 石黒政儀: 回転円板付着生物膜内の細菌活性に関する研究, 土木学会第41回年次学術講演会講演概要集第2部, p811-812, 1986.
- 10) Wanner, O.: New experimental findings and biofilm modeling concepts, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 133-140, 1995.
- 11) Schmitt, J., Nivens, D., White, D.C., and Flemming, H.C. : Changes of biofilm properties in response to sorbed substances an FTIR-ATR study, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 149-155, 1995.
- 12) Rittman, B.E., and Manem, J.A. : Development and Experimental evaluation of a steady state multispecies biofilm model, Biotech.& Bioeng., Vol.39, 914-922, 1992.
- 13) Peyton, B.M. and Characklis, W.G.: A statistical analysis of the effect of substrate utilization and shear stress on the kinetics of biofilm detachment, Biotech.& Bioeng. Vol.41, 728-735, 1993.
- 14) 大橋晶良, 小山孝, 原田秀樹: 生物膜の剥離抵抗因子・付着と引張り強度の新規試験器による評価, 環境工学研究論文集, 第35巻, 1998.
- 15) Gibbs, J.T. and Bishop, P.L.: A method for describing biofilm surface roughness using geostatistical techniques, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 91-98, 1995.
- 16) Hermanowicz, S.W., Schindler, U. and Wilderer, P.: Fractal structure of biofilms: New tools for investigation of morphology, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 99-105, 1995.
- 17) Zahid, W.M. and Ganczarzyk, J.J.: Fractal properties of the RBC biofilm structure, Wat.Sci.Tech. Vol.29, No.10-11, 271-279, 1994.
- 18) 大久保 孝樹, 芦立 徳厚, 野池 達也: 生物膜表面の凹凸に関する研究—好酸性鉄酸化バクテリアによって形成された生物膜の場合—, 環境工学研究論文集, 第32巻, 99-110, 1995.
- 19) Beer, D.d. and Stoodley, P.: Relation Between the structure of an aerobic biofilm and transport phenomena, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 11-18, 1995.
- 20) Horn, H. and Hempel, D.C.: Mass transfer coefficients for an autotrophic and a heterotrophic biofilm system, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 1995-204, 1995.
- 21) Watanabe, Y., Masuda, S., Nishidome, K. and Wantawin, C. : Mathematical Model of simultaneous organic oxidation, Nitrification and denitrification in rotating Biological contactors, Wat.Sci.Tech., Vol.17, 385-397, 1995.
- 22) Watanabe, Y., Masuda, S. and Ishiguro, M.: Simultaneous nitrification and denitrification in micro-aerobic biofilms, Wat.Sci.Tech., Vol.29, No.3-4, 511-522, 1992.
- 23) Larsen, T.A. and Harremoës, P. : Combined reactor and microelectrode measurements in laboratory grown biofilms, Wat.Res., Vol.28, No.6 1435-1441, 1994.
- 24) Cunningham, A.B., Visser, E., Lewandowski, Z. and Abrahamson, M. : Evaluation of a coupled mass Transport-biofilm model using dissolved oxygen Microsensors, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 107-114, 1995.
- 25) 菊池香枝, 原田秀樹, 大橋晶良, 風間哲也: 微小電極による回転円板生物膜の酸素・基質プロファイルの測定, 第31回水環境学会年次講演集, p132, 1997.
- 26) Lou, Y.L.: Relative importance of mean velocity and bed shear on biofilm accumulation in open-channel flows, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 133-140, 1995.
- 27) Picologlou, B.F., Zilver, N. and Characklis, W.G.: Biofilm growth and hydraulic Performance, ASCE J. Hydraulics division, 733-746, 1980.
- 28) Loosdrecht, M.C.M., Eikelboom, D., Gjaltema, A., Mulder, A., Tjihuis, L. and Heijnen, J.J.: Biofilm Structure, Proceedings of IAWQ International Conference and Workshop on Biofilm Structure, 35-43, 1995.
- 29) Beer, D.d., Stoodley, P. and Lewandowski, Z.: Liquid flow in heterogeneous biofilms, Biotech.& Bioeng. Vol.44, 636-641, 1994.
- 30) Stoodley, P., Beer, D.d. and Lewandowski, Z.: Liquid flow in biofilm systems, Applied and Environmental Microbiology, Vol.60, No.8, 2771-2776, 1994.

- 31) Lewandowski, Z., Altobelli, S.A. and Fukushima, E.: NMR and microelectrode studies of hydrodynamics and kinetics in biofilms, *Biotechnol. Prog.* 9., 40-45, 1993.
- 32) 岡部聡, 渡辺義公, 川村美穂: 共焦点レーザー顕微鏡を用いた生物膜の構造解析と膜内流速分布の解析, 土木学会第53回年次学術講演会講演概要集第7部, p158-159, 1998
- 33) 後藤田和由, 古賀憲一, 荒木宏之, 西留清: 回転円板法における生物膜内酸素濃度分布のシミュレーション(II), 土木学会第52回年次学術講演会講演概要集第7部, p322-323, 1997.
- 34) Wanner, O. and Gujer, W.: Competition in biofilms, *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 17, 27-44, 1984.
- 35) Lee, N.M. and Welander, T.: Influence of predators on nitrification aerobic biofilm process, *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 29, No. 7, 355-363, 1994.
- 36) Zhang, T.C., Fu, Y.C. and Bishop, P.L.: Competition for substrate and space in biofilms, *Wat. Env. Res.*, Vol. 67, No. 6, 992-1003, 1995.
- 37) Siegrist, H. and Gujer, W.: Mass transfer mechanism in heterotrophic biofilm, *Wat. Res.*, Vol. 19, No. 11, 1369-1378, 1985.
- 38) Characklis, W.G. and Wilderer, P.A.: Structure and function of biofilms, *Dahlem Workshop of Biofilms*, Dahlem Workshop Reports, Life Science Report 46 JHON WILEY & SONS
- 39) 山本 和夫: 回転円板ろ床による下水の生物学的処に関する基礎的研究、東京大学学位論文、1983.
- 40) 井上 雄三, 神山 桂一: 廃水処理における微生物反応の速度論的考察—Michaelis Menten型モデルの評価, 第38回土木学会年講, 797-798, 1983.
- 41) Jih, C.G. and Huang, J.S.: Effect of biofilm thickness distribution on substrate-inhibited kinetics, *Wat. Res.*, Vol. 28, 967-973, 1994.
- 42) 岡部 聡: 初期生物膜形成時における流速の生物膜構造に及ぼす影響, 第52回土木学会年講, 330-331, 1997.
- 43) 大久保 孝樹, 芦立 徳厚, 野池 達也: 生物膜の挙動に与える膜表面形態の影響, *水環境学会誌*, 第19巻, 第4号, 281-293, 1996.
- 44) 大久保 孝樹, 芦立 徳厚, 野池 達也: 2次元生物膜モデルのシミュレーション —好酸性鉄酸化バクテリアによって形成された微生物膜の場合—, 第31回日本水環境学会年会講演集, 13, 1997.
- 45) 谷口 健男: FEMのための要素自動分割, 森北出版
- 46) 日野 幹雄: スペクトル解析, 朝倉書店, 1977
- 47) Choi, C.Y. and Waller, P.M.: Momentum transport mechanism for water flow over porous media *J. Env. Eng. ASCE* Vol. 123, No. 8, 792-799, 1997
- 48) G. タット, G. ヴァー共著, 福田 収一監訳: 最新有限要素法全解—例解/図解方式によるFEM入門—, ハーナルメディア(株)
- 49) FORTRAN subroutines for mathematical applications. MATH/LIBRARY. IMSL Version 2.0 September 1991. MALB-USM-PERFCT-EN9109-2.0

(1998. 6. 24 受付)

EFFECT OF ROUGH SURFACE ON BEHAVIOR OF BIOFILM Takaki OKUBO, Noriatsu ASHIDATE and Tatsuya NOIKE

The purpose of this study is to investigate the effect of rough surface on behaviors of biofilm, especially substrate removal flux and concentration profile. Effects of roughness and diffusion layer on behaviors of biofilm were discussed by simulating the diffusion process with a two-dimensional model in terms of measured rough surface profile with photogrammetry. Furthermore, we discussed the simulated rough surface from averaged power spectra of measured biofilm surface profiles and from filtered power spectra by low pass filter.

It was showed quantitatively that the roughness and diffusion layer influenced significantly on the behavior of biofilm and that small roughness on the biofilm could be neglected.