# Bioluminescenceを用いた振動せん断乱流解析

Bioluminescence Imaging Measurements of oscillatory shear flows

北海道大学大学院工学院 ○学生員 坂井純 (Jun Sakai) 北海道大学大学院工学研究院准教授 正 員 渡部靖憲 (Yasunori Watanabe)

# 1. はじめに

本研究は、力学的な変動に対して発光応答する微生物を乱流 振動流下に混入し、微生物の発光と流れ場における流況、乱流 統計量との関係について議論するものである.本研究は生物発 光(Bioluminescence)を利用した、せん断力の空間分布を非接 触で取得する新たな面的計測システムの開発を目指している.

自然界には多様な発光生物が存在することが知られている. その中でも一部の海洋性植物プランクトンは力学的な刺激に応答して発光することが報告されている.このような発光微生物のBioluminescenceと力学的変動による刺激との関係を特徴化し得るとすれば,流体内に混入した微生物の発光分布を画像計測することで,流れ場の局所的な応力分布を面的に取得可能となる.

実海域では砕波や浮遊砂など気体、固体を含む複雑な混相乱 流が形成される.このような混合物が障害となり得る領域では、 既存の接触型一点計測やLDV等の計測機器による物理量の取得 は困難となる.本計測法の利点は、流れ場に微生物を混入する ことで、非接触かつ視覚的に物理量を見積もることができるこ とにある.

著者ら(2009)は、過去の研究において発光渦鞭毛藻 Pyrocystis lunura(図-1参照)の発光輝度と衝撃動水圧との 関係について調査しており、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撹拌などによるせん断力の 刺激に応答する.

Stokes ら(2004)は P. fusiformis を混入した造波水槽におい て砕波によるせん断力によって発光する微生物の画像計測を試 みている.しかし砕波などの複雑な流れ場においては、圧力変 動や気泡の影響など生物発光を誘発すると思われる多くの要因 が存在する.

本研究はせん断や乱れの影響に着目し、砂蓮上に発達する振動流乱流境界層内に混入した微生物の発光と流況、そして乱流統計量との関係について議論するものである.

## 2. Bioluminescence の生理的変化

本研究の実験試料である渦鞭毛藻類 Pyrocystis lunura は, 体長約 30~40 $\mu$ m の微生物である.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 luciferinluciferase 反応である.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のみを抽出することができる.

概日リズム (Circadian rhythm, 図-2 参照) とは,約24時 間周期で変動する生理現象であり,動物,植物,菌類,藻類な どほとんどの生物に存在している.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この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.本研究では最も発光が顕著となるダークフェーズ切り替え7時間経過後の微生物を使用し実験を行う.



図-1 Pyrocystis lunura の顕微鏡写真



図-2 慨日リズム

# 3. 実験概要

#### 3.1 実験装置

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/1)で微生物を混入する(図-3 参照).装置柱端部 の一方には、エアシリンダーと電動アクチュエーターから成る 空圧発生装置を接続しており、空圧を U 字管内に与えることで 流体に正弦振動流を発生させる.水路水平部下面には次式によ り与えた砂蓮底面形状を与えている(図-4 参照).

 $x = \xi - a \sin 2\pi\xi / L, z = a \cos 2\pi\xi / L \quad (1)$ 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 50×79.5mm の領域内で,振動流 (周期1.08秒,振幅20.0 cm,水温20℃) 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.

生物発光分布の各位相における流況を把握するために相互相 関法による PIV(Particle Image Velocimetry)によって流速分 布を計測した.

## 3.2 発光強度 I の算出

微生物は力学的刺激に応じて発光する.振動流下においては 常に輸送されながら発光している状態にあり、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.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、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-6 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 均強度が画像上に撮影されることになる.これを式に示すと次 式のようになる.

$$I' = I / \max(1, |u| dt / dx / C) \quad (2)$$

ここに、C は微生物の発光領域の代表径である. 画像上の発光 強度 I' に max(1, |u|dt/dx/C)を乗じることで、画像から瞬時の 発光強度 I を求めている.



図-4 砂蓮形状底面

3.3 乱流統計量

PIV によって得られた流速分布から乱流統計量を算出する. 乱れエネルギー(k)は plane wake との相似性を仮定して

$$k = \frac{1.33}{2} (\overline{u'^2} + \overline{w'^2}) \quad {}_{(3)}$$

と定義する. ここで、変動流速 u',w'、瞬時流速 u,w、アンサ ンブル平均流速 $\overline{u}$ , $\overline{w}$ から $u' = u - \overline{u}$ , $w' = w - \overline{w}$ と与 えられる.

渦度及びせん断力については竹原ら(2009)によって提案された MLS(Moving Least Square)を導入した推定法を用いて求められた. PIV により得られた格子点上の流速は個々の粒子速度に対して誤差を含み、さらにそこから渦度やせん断力等の微分値を求めると誤差が増幅する. 竹原らは PTV(Particle Tracking Velocimetry)で得られるランダム点上の流速データ

にMLS を適用し,得られた流速の多項式から格子点上の流速分 布に変換することなく,直接渦度を求める方法を提案している. 渦度とせん断力は流速の多項式から下に示す式で算出した.

$$\omega = \frac{\partial v}{\partial x} - \frac{\partial u}{\partial y}, \quad \tau_{xy} = \frac{\partial v}{\partial x} + \frac{\partial u}{\partial y} \quad (4)$$

### 4. 結果

図-5 は、撮影領域内で空間平均したアンサンブル平均流速 の時系列を示している.境界層剥離の影響から正弦的な振動流 とはなっていない.

図-6 は、振動流下(周期 1.081s, 振幅 20cm)における一周期 間の生物発光の様子を示している. P. lunula は振動流に輸送 されながら発光し、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 強い発光が観察される.



t/T=0.000 t/T=0.500 (a) (e) t/T=0.125 t/T=0.625 (f) (b) t/T=0.250 t/T=0.750 (c) (g) t/T=0.375 t/T=0.875 (d) (h)

図-6 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

# 4.1 生物発光強度の空間分布と流況

図-7 はアンサンブル平均発光強度 *I* の空間分布を示している.加速度が大きくなる位相(a), (c), (g)において,壁面に付着したまま発光する固体が存在し,それらの固体は流れによって輸送されずに1フレーム内で発光し続けるため,相対的に高

い発光強度を示している.

図-8 は、図-7 と同一位相における乱れエネルギーの空間分 布を示している.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.また流速の減速期 (e)(f)においては、渦形成に伴う典型的な乱れ分布が砂蓮上に 形成されている.

Ⅰ (図-7 参照)は、流速が極大となる位相(b)(c)において乱 れエネルギーと類似した分布形状を持つが、同じく流速が極大 となる位相(a)(d)(h)においては分布形状を異なる。

図-9は、MLSによって推定した渦度分布ωの絶対値をとり、 アンサンブル平均したものを示している.乱れエネルギーと同様に(b)(c)の位相で発光分布と同様な傾向を示した.

図-10 は、MLS によって推定したせん断力分布のアンサンブ ル平均の空間分布を示している。各位相において $\overline{I}$ と分布形 状の明らかな相関が確認された。この分布形状の一致は生物発 光によるせん断力評価の可能性を示唆するものであると考える。

#### 4.2 統計的評価

図-11 は撮影領域内で空間平均したアンサンブル平均発光強

度 *I*の時間変化を示す.空間平均した発光強度は最大流速が 発生する位相前後でピークを持つ.

図-12 は撮影領域内で空間平均した乱れエネルギーの時間変 化を示している.空間平均した発光強度(図-11 参照)とは同 一位相において最大値を持つ傾向にあるが、形状を少し異なる.



図-7 アンサンブル平均発光強度 7の空間分布. 図上のアル ファベットは図-6の位相に対応する.単位[W]



図-8 乱れエネルギー(k)の空間分布.各位相は図-7 に対応する. 単位 [(cm/s)<sup>2</sup>]



図-9 アンサンブル平均した渦度の絶対値 |ω | の空間分布. 単位 [s<sup>-1</sup>]



図-10 せん断力 T<sub>xv</sub> の空間分布. 単位 [s<sup>-1</sup>]







図-13 は撮影領域内で空間平均したせん断力の絶対値をとったものである.図-11 と比較すると明らかに同一位相でピークをもつ同様な傾向を示すことが確認され、図-10 の結果と合わせて、せん断力が生物発光を誘発させる、支配的なパラメータの一つであることを示している.

#### 5. 結論

砂蓮を配置した振動流乱流境界層内に微生物を混入し、生物 発光の画像計測を行った.生物発光は底面近傍だけでなく、剥 離渦近傍のせん断層においても分布することが確認された.

加速度が大きくなる位相において、壁面に付着したまま発光 する固体が存在し、それらの固体は流れによって輸送されずに 1 フレーム内で発光し続けるため、相対的に高い発光強度を示 している. 生物発光分布から流況を評価するには、これらの固 体を除去する処理が必要であり、これによって誤差の少ない分 布形状を得ることができる.

ランダム点上の流速データから MLS を用いて渦度及びせん断力の推定値を算出した.

生物発光の分布と、乱れエネルギー、渦度、せん断力の空間 分布との比較を行った。特にせん断力の空間分布は、各位相に おいてアンサンブル平均発光強度の空間分布と明らかな相関を 示した。また空間平均した発光強度とせん断力の時系列を比較 し、同一位相でピーク値をもつ、同様な傾向を示したことから、 せん断力が生物発光にとって支配的なパラメータの一つである ことが明らかとなった。

本計測法の実用化に際して、生物発光と流体的変動との関係 の解明,精度の検証,生物固体差にかかわる誤差の調査など依 然として残された問題が多く,現段階では流況と生物発光の定 量的関係を説明できない.しかし適用可能となれば流体力学上 の知見の集積や獲得に寄与する部分は大きく,今回の結果は実 用化への可能性を十分に示唆するものであると考える.今後は 異なる流況下におけるパラメータスタディを行っていく.

#### 参考文献

- 渡部靖憲・田中康文・坂井純(2009) : Bioluminescence による流体衝撃圧計測法,第56回海講論文集,pp.831-835
- Shimomura. 0(2006) : Bioluminescence Chemical Principles and Methods, World Scientic, 470p.
- 竹原幸生・江藤剛治(2009): MLS を導入した PTV による 渦度推定法の提案と風波流速場への適用,土木学会論文 集 B Vol. 65 No. 3, 151-165