

B-6 生物膜表面上の微小領域における流体挙動計測に関する研究

函館高専環境都市工学科 ○大久保孝樹
 函館高専環境システム工学専攻 浅野 良介
 横浜国大大学院システムの創生部門 西野 耕一

1. はじめに

水環境中に存在する微生物のほとんどは、フロックを形成したり担体に付着して微生物集合体を形成している。微生物集合体である生物膜は近年、廃水処理(浸漬ろ床法・接触酸化法・回転円板法・流動床・散水ろ床法)に利用されているなど、我々に有益な面を与えている反面、様々な障害・問題点も抱えている。障害や問題を起こしている例として、biofouling(バイオフィアウリング)として知られている熱交換器中のパイプ内での生物膜による熱伝導の低下、圧力損失、機器及び金属パイプ内の腐食問題、上水道配水管などに付着する生物膜の増殖集積による細菌汚染、膜分離活性汚泥法のメンブレン上の生物膜による過抵抗の増加などが挙げられ、その他にも人体の医学的な知見が知られている。このような生物膜表面上の流体挙動を本質的に把握することは、廃水処理性能の効率化、自然水系の浄化機構の解明、biofouling の軽減等に大きく役立つものと思われる。上記のような現象を解析するためには、ある形態を持った生物膜表面上の流体挙動計測をするとともに、これらのデータを踏まえ生物膜表面をモデル化し、その表面上内外の浸透流も含めた流体挙動をシミュレートする必要性がある。

本研究では、凹凸を呈した生物膜表面上の微小領域の2次元的な流体挙動を捉えるための計測手法を確立した。この流体計測手法を確立することにより、生物膜の基質除去に及ぼす影響や、生物膜表面上の拡散、移流などの流体挙動を解明することが可能となる。

2. 実験装置および計測手法の概要

2.1 生物膜馴致のための連続実験

本実験で馴致した生物膜は、好酸性鉄酸化バクテリアによって形成された生物膜である。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。

生物膜を馴致するための実験装置は、流入ポンプ・攪拌装置・反応槽・恒温槽から構成されている。生物膜表面凹凸の計測のための試料は、両面テープを用い反応槽の壁面に粘着させた2.5×3.0cmのプラスチックパッチから採取した。流入基質は Fe^{2+} 700mg/l と栄養塩溶液を添加し、恒温槽で 20℃を保ち連続条件下で生物膜を馴致した。

2.2 流体挙動計測

(1) 流体計測用チャンバー

生物膜をセットできる流体計測用チャンバーの設計図面を図-1に示す。長さ25cmの台形型チャンバーで、斜め両側面のどちらからでも実体顕微鏡と CCD カメラで生物膜表面と表面上の微小領域における流体挙動の画像を取得できるように、硬質のガラス板の窓を装着している。生物膜固定台の上面は、圧力の水位を調整できるように開放し、紫色レーザーの照射を行えるよう、ボックスとガラス窓を装備している。

(2) 実験計測装置の構成

計測装置は、実体顕微鏡(オリンパス)、紫色レーザー(ネオアーク㈱)、CCD カメラ2台(テクノポート㈱)、カットオフフィルター(誠工特殊硝子㈱)からなっており、PTV法による流体計測を行うための蛍光パーティ

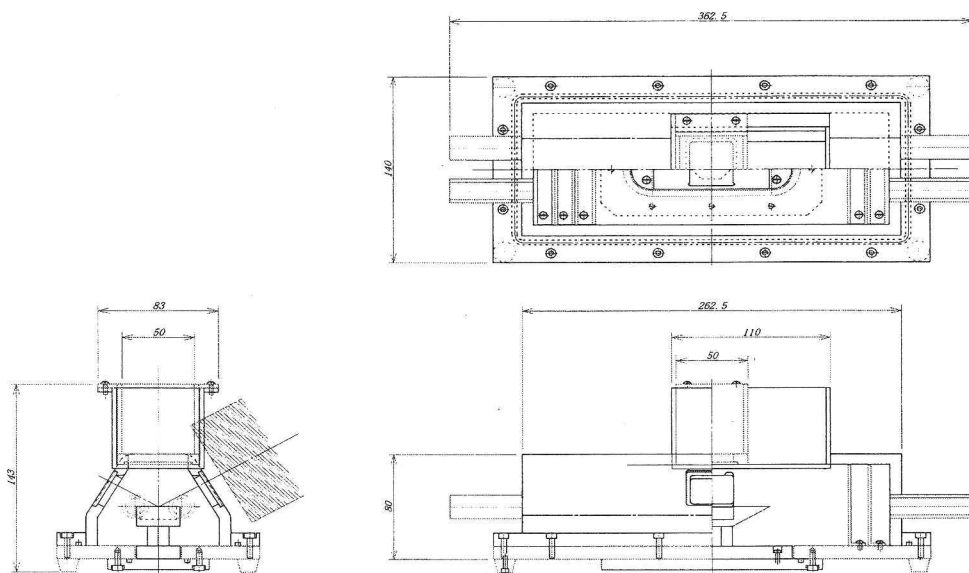


図-1 流体計測チャンバーの設計図

クル(約 $25\mu\text{m}$ (マクロ領域 cm オーダー), 約 $4\mu\text{m}$ (マイクロ領域 mm オーダー): Duke Scientific Corp.)が必要となる。カットオフフィルターは、実体顕微鏡の対物レンズに装着するものであり、蛍光波長のみを通し、生物膜表面上の紫色レーザー照射による照り返しを除去し、流体挙動を示す蛍光パーティクルの光のみを画像として捉えるためのものである。また、CCD カメラの光軸は垂直方向に 30° 、水平方向に約 10° 傾いている。(図-2)

(3) 生物膜表面上の流体計測画像の取り込み (蛍光パーティクル画像)

流体計測チャンバーに、基質として調整した溶液(栄養塩を希釈したもの)を流し、流体の循環が一定になったところであらかじめ水溶液に分散させた蛍光パーティクルを貯留槽に投入した。

暗室状態にして、CCD カメラでレーザー照射された生物膜表面凹凸付近を流れている蛍光パーティクルの画像を取り込んだ。本研究では、マクロ領域(cm オーダー)とマイクロ領域(mm オーダー)2種類の流体挙動画像を取り込み、各挙動の把握を目指している。また、シャッター速度はマクロ・マイクロ領域共に $1/500$ を1回、 $1/1000$ を2回それぞれ行い、フィールド画像を取り込んだ。フィールド画像とは、 $1/60\text{sec}$ 間隔に2画像を垂直方向に交互に取り込んだ1枚の画像で、 $1/60\text{sec}$ 前後の情報が入っている。(図-3)

(4) 生物膜表面画像の取り込み

生物膜表面の状態をデータとして取り込んでおく必要



図-2 流速チャンバー内への紫色レーザーの照射

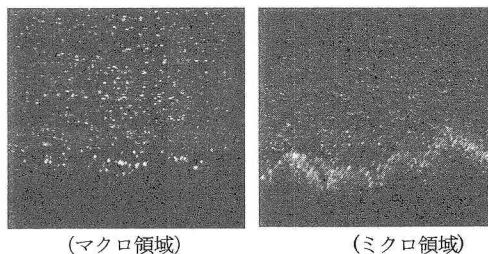


図-3 マクロ・マイクロ領域におけるフィールド画像

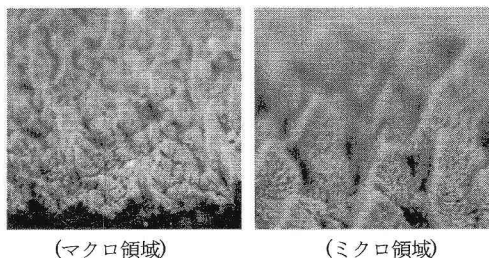


図-4 生物膜表面上の凹凸形態

がある。流体の循環と紫色レーザーを止め、実験室内の照明に切り替え、実体顕微鏡の2つのCCDカメラで、生物膜表面凹凸のマクロ領域・ミクロ領域の画像(図-4:それぞれ異なる生物膜の試料)をステレオで各5枚取り込んだ。

(5) 2次元流体挙動のベクトル化

流速ベクトルの処理は以下に示す手順によってバッチ処理(複数のプログラムファイルを実行させる処理)されている。

- ① フィールド画像を2つのフレーム画像に分離する。
- ② パーティクル画像の輝度を調べ、正しい形状の輝度の良いパーティクルを2値化(黒白化)する。
- ③ 2つの2値化したフレーム画像のパーティクルにラベリング(番号付け)する。
- ④ PTV法によって同一点の認識をする。
(数値データ(同一点の情報)の完成)
- ⑤ カメラの位置情報が入ったカメラパラメータを用いて、データを実際の位置に変換し、流速ベクトルを計算する。

3. 計測結果

図-5は、23日間連続実験で馴致した生物膜表面上の流速ベクトルである。生物膜上1.0cm以上の領域の流速は3.0cm/sec程度であるが、下層の生物膜表面近傍2.5mmの範囲では1.0cm/sec以下の流速となっている。図-6、図-7は生物膜表面上の微小領域(ミクロ領域:約3.0mm×3.0mm)の流速であるが、生物膜表面上3.0mm以上では流速は10mm/sec程度であり、生物膜近傍1.5mmの範囲では2.0mm/sec以下の流速となっている。図-8は、図-7の生物膜近傍1.5mmの範囲(破線内)における流速ベクトルを拡大したもので、流速2.0~0.1mm/secの流速分布を示しており、流速ベクトルが生物膜表面の凹凸の影響を受け、流体が複雑に凹部に流れ込んでいる様子が観察された。

4. まとめ

PTV法による生物膜表面上の微小領域における流体計測手法を確立することが可能となった。今後、ステレオの撮影結果と生物膜表面画像の融合を考えている。

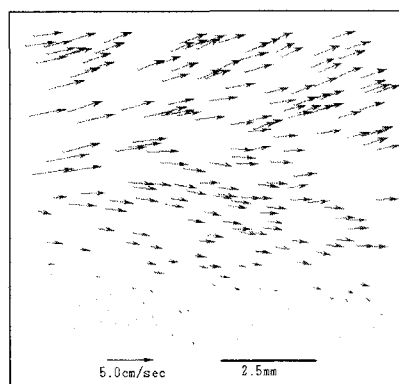


図-5 23日馴致生物膜表面上のマクロ領域(約1.5cm×1.5cm)の流速ベクトル

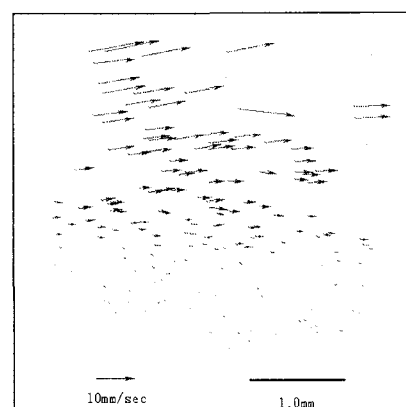


図-6 23日馴致生物膜表面上のミクロ領域(約3mm×3mm)の流速ベクトル

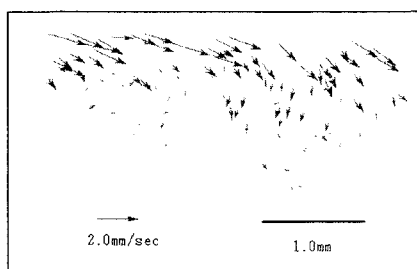


図-8 図-7の破線内の流速ベクトルを拡大した図(生物膜表面近傍の微小領域の流速ベクトル図)

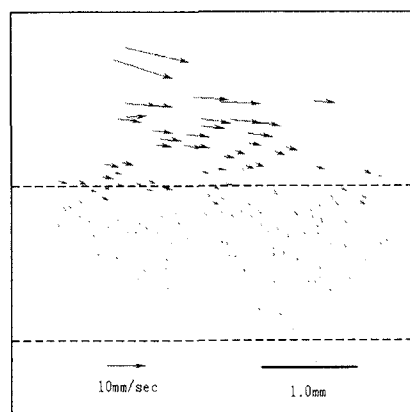


図-7 23日馴致生物膜表面上のミクロ領域(約3mm×3mm)の流速ベクトル