

B-32 生物膜表面上の流体挙動計測と 挙動表示に関する基礎的研究

○須川 香苗¹・大久保 孝樹^{2*}・西野 耕一³

¹函館工業高等専門学校 環境システム工学専攻

²函館工業高等専門学校 環境都市工学科

³横浜国大大学院 システムの創生部門

*E-mail: ohkubo@hakodate-ct.ac.jp

1. はじめに

本研究では、平成 16 年の実験データを元に、PTV 法による流速データ(散布データ)を格子状データに変換するため、計算サブルーチンである DSURF を用いて激しい凹凸を呈した生物膜表面上の微小領域の流体挙動を把握することを目的としている。

2. 流体挙動計測実験装置の構成

生物膜をセットできる長さ 25cm、高さ 15cm の流体計測用チャンバーの設計図面を図 1 に示す。計測装置は、実体顕微鏡、紫色レーザー、CCD カメラ 2 台、カットオフフィルターから成り、PTV 法による流体計測を行うための蛍光パーティクル(径約 25 μm (A 領域: 約 1.0 $\times$ 1.0cm 領域)、径約 4 μm (B 領域: 約 3.0 $\times$ 3.0mm 領域):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。

3. 2 次元流体挙動のベクトル化

流体パーティクルが写ったフィールド画像を画像処理することによって、2 値化された 2 枚の粒子画像となり、PTV 法による同一点認識の計算に用いられる。一連の処理はバッチ処理(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。

このバッチ処理を用いれば、従来の処理を短時間で行うことができ、まとまっているので非常に有効である。また、求めた流速ベクトルデータは図化ソフト(活図)を使用して表示することができる。

4. PTV 法

PTV(Particle Tracking Velocimetry)は、フレーム画像内の生物膜粒子のうち近傍粒子数個をグルーピングし、数時刻間に存在するそのグループに相似なグループとのマッチング度を計算することにより同一点を見つける方法である。今回の研究ではこれを 2 時刻間(0sec, 1/60sec)で行う「2 時刻パターンマッチング法」を用いる。

マッチング度の計算では、0sec のフレーム画像から着目粒子を選定し、着目粒子の近傍の粒子とをグループにする。そして 1/60sec のフレーム画像の候補粒子とその近傍の粒子とのグループを照合し、よりマッチング度の高いものを着目粒子と候補粒子の同一点と見なすことができる。

5. DSURF

生物膜表面の 2 次元座標データは、画像データ表示の画面を用い、目測でとったものである。

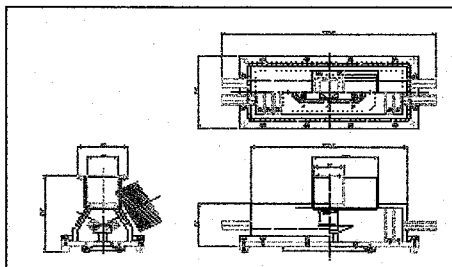


図 1 流体計測用チャンバー

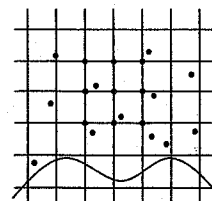


図 2 格子状データ

この座標データを線形補間し、生物膜の位置とした。

計測したままのデータには多数のエラー値が存在する。このままでは計測データで補間するとエラー値も補間してしまうので本来の流速データを得ることはできない。データを修正するために、活図(市販の図化ソフト)を開き、周りの流速のスカラ値と角度を比較して大きく外れている値を除いていく。

本研究では補間に計算サブルーチンであるDSURF(IMSLの2次元表面補間ソフト)を使用した。DSURFは5次元多項式を用いて2変量の滑らかな曲線に補間するソフトである。

生物膜表面より下方の計測データを0とし、生物膜表面より下方には流速ベクトルを発生させないようにする。

図2のようにエラー値を取り除いた不規則に存在する計測データは、DSURFを用いて補間し、直交格子データが得られ、流速の推移を容易に観察できるほか、流速分布図表示し生物膜近傍の流体の動きも観察することができる。

6. 流速ベクトルと流速分布図

図3、図5、図7の左図はシャッター速度1/500で23日馴致した生物膜の表面上の流体挙動をPTV法により測定し、補間して流体をベクトル化した図の中で特徴的な画像である。図4、図6、図8の左図は図3の生物膜近傍領域(微小領域:y軸方向3.5mm)の速度を4倍のベクトル表示したものである。また各右図は左図の流速ベクトル表示を流速分布表示したものである。

図3は画像下部分の生物膜近傍から離れた上層部流れが右上がりの状態で下層部が生物膜の形態に沿って流体が流れている状態であり、図4の微小領域では上層部の流れが生物膜の固定部分や凹凸によって、右上がりに急速にゆらぎを生じていることが観察された。図6では流速ベクトル図では、図中央部の凹部分で大きな渦ができ、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。図8においては、上層部の流れが生物膜表面に沿って右下がりに急速にゆらぎを生じていることが観察された。全体として、微小領域の流速分布の方では0.01~2.0mm/secの範囲の分布を表している。

また、図3、図5、図7の流速分布図最下の赤線は流速0を示しており、生物膜に沿った形態を示した。それにより、下層部にもごく微小な流れが

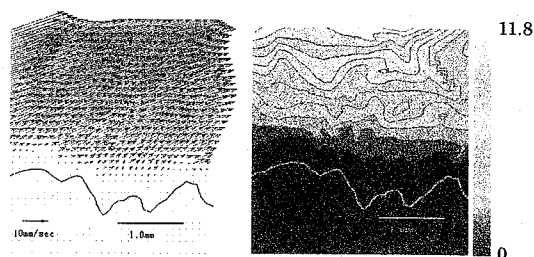


図3 生物膜上の流速ベクトル図と流速分布図
(単位: mm/s)

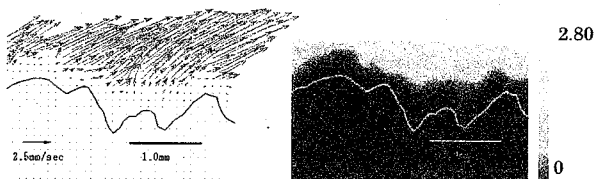


図4 図3の生物膜近傍の流速ベクトル図と流速分布図
(単位: mm/s)

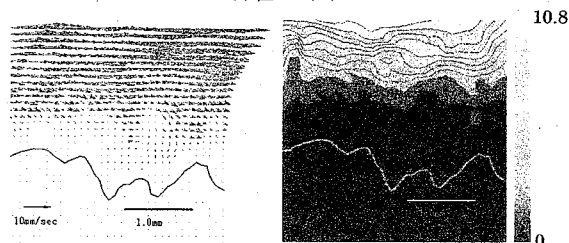


図5 生物膜上の流速ベクトル図と流速分布図
(単位: mm/s)

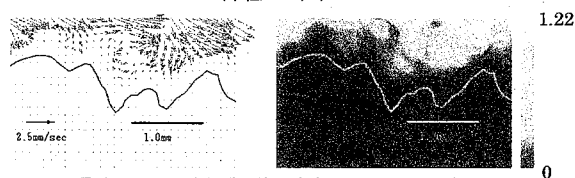


図6 図5の生物膜近傍の流速ベクトル図と流速分布図
(単位: mm/s)

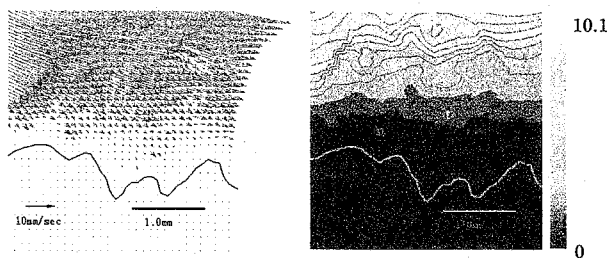


図7 生物膜上の流速ベクトル図と流速分布図
(単位: mm/s)

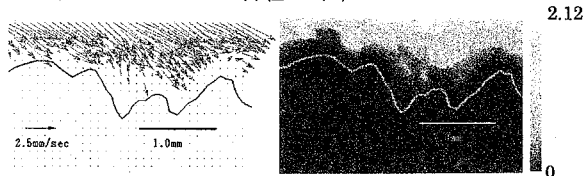


図8 図7の生物膜近傍の流速ベクトル図と流速分布図
(単位: mm/s)

生じていることが観測された。この約 0.5mm 程度の移流の小さな領域は、生物膜表面凹凸の影響による生物膜垂直方向の移流と拡散の影響が混在した領域だと考えられる。また、ガウス分布を考慮した補間を行うと渦の様子が明確に示されるといわれているが、図 6 より DSURF でもある程度の渦を観測できることがわかる。

今回の解析では、殆どのデータにおいて妥当なデータが得られたが、中にはいくつかエラーが生じたデータがあった。図 10、図 11 はエラー図のひとつである。図 9 は図 10 の格子状補間前の流速ベクトル図である。図 9 ではエラー値が見られないが、格子状補間後の図 10 右下には、流れ方向に反した流速ベクトル(エラー値)が発生した。原因として、DSURF は 5 次元多項式を用いた 2 変量の滑らかな曲線に補間するため、データが集中している箇所またはデータが存在しない箇所でも補間し、振動してしまうためであると思われる。

7. まとめ

全体として、生物膜上 1.5mm 付近の領域の流速は 3.0mm/sec 程度であるが、下層の生物膜表面近傍 0.5mm の範囲では 1.0mm/sec 以下の流速となっている。また、流れの影響を受けて、生物膜表面にゆらぎが生じ、凹凸部分にはよどみが生じていることがわかる。また、DSURF での補間でもある程度の渦を確認することができる。

これらの図を見てわかるように、生物膜表面上に約 0.5mm 程度の移流の小さな領域が出来ている。このことから、下層部は生物膜表面凹凸の影響による生物膜垂直方向の移流と拡散の影響が混在した領域だと考えられる。

以下にこの計測データ処理方法としての問題点を挙げる。

- ・今回のデータの表示は 2 次元であるが、実際の生物膜表面形態は 3 次元である。さらに Z 軸方向(レーザースリット光)の厚さを考慮する必要がある。
- ・生物膜表面の座標データの表示画面が計測データではなくモニター画面から座標位置の点を読み取ったものであるため正しい座標でない可能性がある。

今後上記の問題を解決することにより、より正確な研究成果が期待できるようになると考えられる。

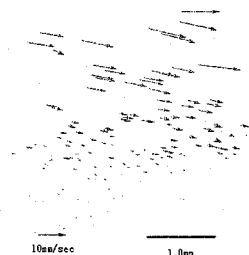


図 9 下図の格子状補間前の流速ベクトル図

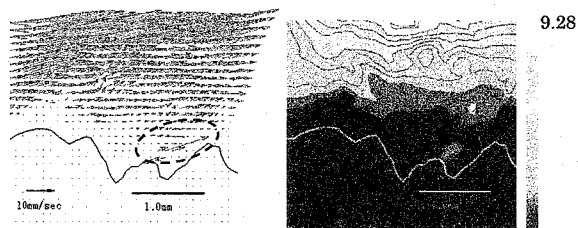


図 10 生物膜上の流速ベクトル図と流速分布図(エラー図)

(単位: mm/s)

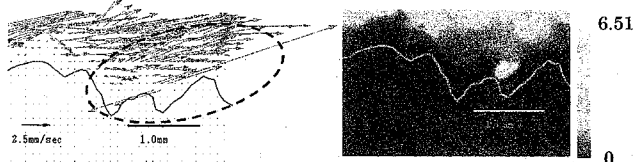


図 11 図 9 の生物膜近傍の流速ベクトル図と流速分布図(エラー図)

(単位: mm/s)

8. 今後の課題

PTV 法でエラー値を削除しても、格子状補間を行うとエラー値が発生した。今後この問題を解決するために、他の補間方法を模索する必要がある。

また、流体挙動と生物膜の凹凸の大小を見るために、流速ベクトルと生物膜の 3D 画像を組み合わせる必要がある。また、時系列的に画像データを入力し、3D 画像をアニメーション化し、ゆらぎやよどみ等による生物膜近傍の流体の動きを明確に捉えることが重要である。

参考文献

- 1) 大久保孝樹、微生物膜の基質除去に及ぼす膜表面形態の影響に関する研究、1999、東北大学学位論文
- 2) http://www.edstrom.co.jp/resources/water_biofilm.htm
エデストロムジャパン株式会社 情報コーナー
- 3) 西野耕一、マイクロ流れの速度場計測、2001
- 4) 西野耕一、2 次元 PTV における粒子追跡方法—3 次元パターンマッチング法、1992、第 10 回流体計測シンポジウム講演