

# セルオートマトン法を用いた流動下におけるバイオフィーム形成過程の数値解析

## Numerical analysis of biofilm growth in a flow using cellular automaton method

○ 藤原拓也, 阪大院工, 大阪府吹田市山田丘2-1, E-mail: fujiwara@rheol.mech.eng.osaka-u.ac.jp

南貴之, 阪大院工, 大阪府吹田市山田丘2-1

山本剛宏, 阪大院工, 大阪府吹田市山田丘2-1, E-mail: take@mech.eng.osaka-u.ac.jp

T. Fujiwara, Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1, Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871

T. Minami, Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1, Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871

T. Yamamoto, Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1, Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871

**ABSTRACT:** Biofilm, a polymeric film that consists of microorganisms and their products, causes a variety of problems such as the clogging of the tubes. The present study numerically simulated the growth of biofilm in flows in complex shaped channels to analyze the effect of detachment of biofilm, the attachment of microorganisms, and flow conditions on the biofilm growth. Furthermore, in the present study, we have introduced the information transmission mechanism between the microorganism called quorum sensing. Quorum sensing is a cell communication mechanism used to coordinate group behavior based on population density. By modeling quorum sensing, it is possible to reproduce a motion similar to the actual microorganisms.

### 1. 緒言

私たちの日常生活において、台所や浴槽の排水口など水回りで微生物の集合体が見られる。この微生物は細胞外多糖類 (EPS) と呼ばれる物質を排泄し、バイオフィームと呼ばれる生物膜を形成する。

本研究ではバイオフィームと周辺流体の流体運動について 3 次元的に計算し、解析を行っている。バイオフィームの成長現象の数値シミュレーションと数値流体力学を用いた周囲の流動計算をカップリングさせることにより、流動下のバイオフィームの形状変化や、成長現象の解析を行う手法の確立を目指す。

### 2. 計算手法

本研究では解析手法として有限体積法の一つであるSIMPLE法を用いている。バイオフィーム周辺の流体運動の基礎方程式は、連続の式 (1)およびナビエ・ストークス方程式 (2)で、バイオフィームを質量によって透水性が変化する多孔質体でモデル化し、式(2)の右辺第3項にバイオフィームの透水性を表す項を加えることにより表現している。また、バイオフィームの成長現象に関しては、式(3)~(5)に示すMonodのモデル<sup>(1)</sup>により微生物とEPSの質量変化を表現している。バイオフィームの成長挙動はセル・オートマトン法により表現した<sup>(2)</sup>。

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = 0 \quad (1)$$

$$\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \alpha_c (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} = -\frac{1}{\rho_g} \nabla p + \frac{\mu}{\rho_g} \nabla^2 \mathbf{v} - \frac{1}{\rho_g} (1 - \alpha_c) \frac{\mu}{k_\beta} \mathbf{v} \quad (2)$$

$$\frac{dM_{cell}}{dt} = \mu_g M_{cell} - \mu_d M_{cell} - k_d SL(\sigma; \mathbf{D})^n \quad (3)$$

$$\frac{dM_{eps}}{dt} = Y_{eps} \mu_g M_{cell} - k_d SL(\sigma; \mathbf{D})^n \quad (4)$$

$$\mu_g = \mu_{max} \frac{C_S C_O}{(K_S + C_S)(K_O + C_O)} \quad (5)$$

$k_\beta$ および $\alpha_c$ はバイオフィームの透水係数およびバイオフィーム内で0、周囲流体内で1をとる計算パラメータ、 $\rho_g$ は流体密度、 $\mu$ は粘性係数、 $\mu_g$ は成長係数、 $\mu_d$ は減衰係数、 $M_{cell}$

は微生物の質量、 $M_{eps}$ は微生物の排泄物 (EPS) の質量、 $\sigma$ はコーシーの応力テンソル、 $\mathbf{D}$ は変形速度テンソル、 $n$ はべき指数、 $S$ は周囲流体に接しているバイオフィームの表面積、 $L$ は各セルにおける固体壁までの距離である。また、バイオフィームが必要とする栄養素や酸素に関する拡散方程式を式(6)に示す。

$$\frac{\partial}{\partial t} C_i + \Delta \cdot (\mathbf{v} C_i) = \nabla \cdot (D_i \nabla C_i) + R_i \quad (6)$$

ここで、 $C_i$  ( $i = S$ : Substrate or  $O$ : Oxygen)は栄養素、酸素それぞれの濃度、 $R_i$  ( $i = S$  or  $O$ )はバイオフィームの栄養素、酸素それぞれの消費率を表す。

図1に計算を行った領域の概略図を示す。幅10 mm×奥行き2 mm×高さ2 mmからなる3次元の計算領域をとる。初期配置としてバイオフィームの総質量を37.5  $\mu\text{g}$ とした。周囲流体、バイオフィームに関するパラメータを表1に示す。バイオフィームの周囲を流れる流体として水を想定し、流入速度 $U_{inlet}$ で一樣流入させる。壁は、バイオフィームを設置している下面のみ存在するものとし、その他の面は壁が無いものとして計算を行う。バイオフィームの栄養素濃度と酸素濃度は、計算領域全体に初期状態において流入条件と同じ値を与えることで、実際にバイオフィームが存在する状態と近いものにした。

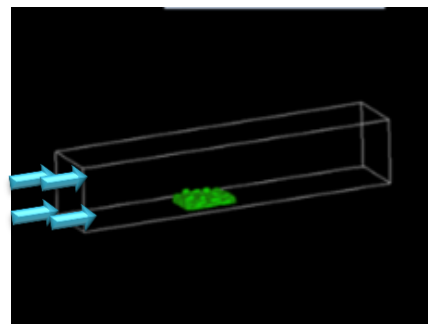


Fig. 1 Schematic diagram of calculation domain

Table 1 Calculation parameters

Water density $\rho_g$ [kg/m <sup>3</sup> ]	1000
Water viscosity $\mu$ [Pa s]	$1.0 \times 10^{-3}$
Diffusion coefficient of substrate in water $D_{S,w}$ [m <sup>2</sup> /s]	$4.0 \times 10^{-9}$
Diffusion coefficient of oxygen in water $D_{O,w}$ [m <sup>2</sup> /s]	$8.0 \times 10^{-9}$
Diffusion coefficient of substrate in biofilm $D_C$ [m <sup>2</sup> /s]	$4.0 \times 10^{-11}$
Diffusion coefficient of oxygen in biofilm $D_O$ [m <sup>2</sup> /s]	$8.0 \times 10^{-11}$
Inlet concentration of substrate $C_{S,inlet}$ [kg/m <sup>3</sup> ]	0.6
Inlet concentration of oxygen $C_{O,inlet}$ [kg/m <sup>3</sup> ]	0.004
Power index $n$	0.75
Hydraulic permeability $k$ [m <sup>2</sup> ]	$1.0 \times 10^{-9}$
Calculation domain [mm]	10×2×2
Time step $\Delta t$ [s]	50

### 3. 計算結果および考察

周囲流体の流入速度  $U_{inlet}$  を  $0, 1.0 \times 10^{-4}, 1.0 \times 10^{-3}, 3.0 \times 10^{-3}$  m/s と変化させ、順に計算条件を Case A~D とする。図2, 図3に Case B, C における17.36日後のバイオフィルムの成長結果を示す。図2, 図3より、水の流入速度が変化することによってバイオフィルムの成長形状が大きく異なっていることが分かる。図4に Case A~D のバイオフィルムの総質量の時間変化を示す。また、図5に Case A~D のバイオフィルムの総剥離量の時間変化を示す。図4から Case B, C においてバイオフィルムの質量が増加する割合が大きく、Case Dに至ってはバイオフィルムの質量が減少していることが分かる。また、図5を見ると、バイオフィルムの総剥離量は Case D が最も大きく、Case C, Case B と続いている。このことから、水の流入流速  $U_{inlet}$  が大きくなればなるほど、バイオフィルムの成長速度も大きくなるが、バイオフィルムの剥離量も同時に大きくなるため、今回の計算条件においては、Case B でバイオフィルムの質量が増加する割合が最も大きいという結果が得られたと考えられる。

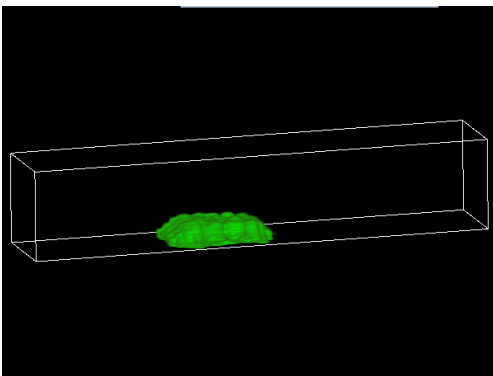


Fig. 2 Snapshot of biofilm (Case B)

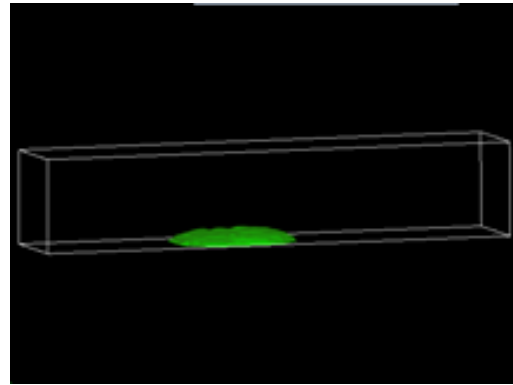


Fig. 3 Snapshot of biofilm (Case C)

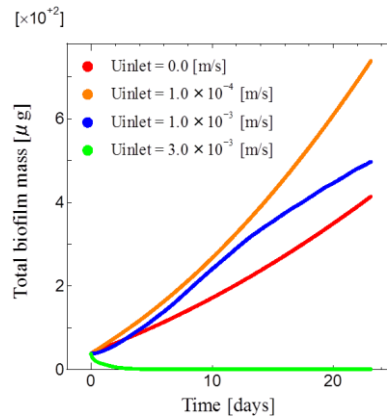


Fig. 4 Change in total biofilm mass with time

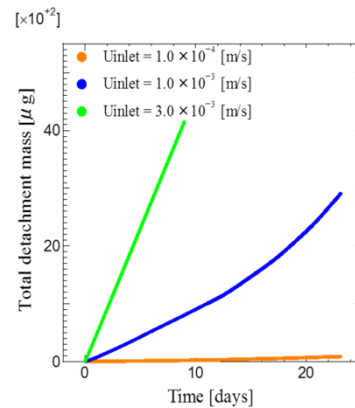


Fig. 5 Change in total detachment mass with time

### 4. 微生物間情報伝達機構「Quorum Sensing」

ここで、微生物間で情報のやりとりをする quorum sensing モデルについて説明する。このモデルは、微生物自らが生産するシグナル物質を体外に放出、検知することで、微生物の密度が大きいき (up-cell) には生産活動を高め、密度が低いとき (down-cell) には生産活動を抑えるといったものである。このモデルを用いたバイオフィルムの質量変化の式は式(7)~(9)となる<sup>(3)</sup>。

$$\frac{dM_1}{dt} = \mu_g M_1 - \mu_d M_1 + \kappa_1 C_c^n M_2 - \kappa_1 \tau^n M_1 - k_d SL(\sigma: \mathbf{D})^n \quad (7)$$

$$\frac{dM_2}{dt} = \mu_g M_2 - \mu_d M_2 - \kappa_1 C_c^n M_2 + \kappa_1 \tau^n M_1 - k_d SL(\sigma: \mathbf{D})^n \quad (8)$$

$$\frac{dM_{EPS}}{dt} = Y_1 \mu_g M_1 + Y_2 \mu_g M_2 - k_d SL(\sigma: \mathbf{D})^n \quad (9)$$

ここで、 $M_1$ はup-cellの質量、 $M_2$ はdown-cellの質量、 $\kappa_1$ はup-downの変換速度係数、 $\tau$ はシグナル物質の閾値、 $C_c$ はシグナル物質の閾値である。このモデルを用いて、平板上のバイオフィルム成長現象の計算を行った。計算結果については発表にて報告する。

## 6. 結言

SIMPLE 法とセル・オートマトン法をカップリングさせることで、流動下におけるバイオフィルムの数値解析を可能とした。また quorum sensing の効果がバイオフィルム形成過程に影響を及ぼしていることを確認することができた。

## 謝辞

本研究は、JSPS 科研費 25289032 の助成を受けた。

## 参考文献

- (1) G. E. Kappelos et al., Adv Water Resour, 30, 1648-1667 (2007)
- (2) T. Yamamoto, S. Ueda, Biorheol, 50, 203-216 (2013)
- (3) M. R. Frederick et al., Theor Biol Med Modeling, 8:8 (2011)