

# 糸状性微生物長の画像処理による計測技術の開発に関する研究

京都大学工学部 平岡 正勝 ○津村 和志

## 1. はじめに

活性汚泥の顕微鏡画像の中には、活性汚泥法の制御に役立つ情報が豊富に含まれている。ただ惜しむらくは、この情報を読みとれるオペレータの数の少ないこと、また生物に詳しいオペレータがいても観察に時間を要するため頻繁には観測できないのが現状である。このような豊富な情報の1つに、単位体積中に含まれるフロック外糸状性微生物の長さがある。本論文では、マイクロコンピュータを用いて、顕微鏡拡大像の画像処理を行い、糸状性微生物の長さを計測する画像処理システムとそのアルゴリズムの開発を行ったのでこれを報告する<sup>1, 2)</sup>。

## 2. 糸状性微生物の長さを計測することの意義

最近、活性汚泥の沈降特性とばう気槽内容酸素濃度(DO)との関係に対してSezginら<sup>3, 4)</sup>が興味ある仮説を提案した。活性汚泥には2つのタイプの微生物が存在する。1つはゾーグレアタイプの微生物で、鉄筋コンクリートのセメント部分に対応するような凝集性のある微生物、もう1つは鉄筋部分にあたる糸状性の微生物である。Sezginは、DOが低いときには低DOに強い糸状性微生物が増加しすぎて、コンクリートから鉄筋がはみだしたようなフロックが形成される。このようなフロックは、バルキング状態であり、沈降特性が悪化する。(図1のa)逆にDOが高くなりすぎると糸状性微生物が存在しなくなり、いわばセメントだけのフロックができる。このフロックは壊れやすくまた径が小さいため処理水中に流出し、その結果処理水質を悪化させる。DOが適当であると、セメント部分と鉄筋部分のバランスがよく、強度のある大きいフロックが形成されると考えた。彼等の仮説は、これまでのSphaerotilusバルキングの経験的事実と矛盾しない妥当なものであり、またDO制御の自動化は可能であるが、DOの設定をいかにすべきかが問題となっている現状であるから、仮説提出の時期も当を得たものである。しかし

彼等の方法は、顕微鏡をのぞきながら糸状性微生物の長さを測るため時間がかかりすぎる。本研究はこれを計算機の画像処理でおこない、測定のためのオペレータの作業時間を短縮し、最終的には、糸状性微生物の長さにもとずいてDO設定値を調整するオンラインのフィードバック制御系の確立を目指すものである。またこの計測技術の確立は、塩素等の投薬によって糸状性微生物を除去しようとする制御方法をとる場合にも、適度な投薬量を維持する指標となるであろう。

なお日本におけるバルキングの原因微生物は、O21N(Eikelboomの分類法)がもっとも多いといわれている<sup>5)</sup>。O21Nによるバルキングに対する制御方策は確立していな

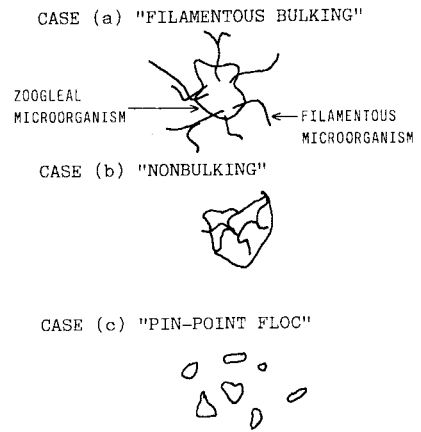


Fig. 1. Structure of the Activated sludge floc

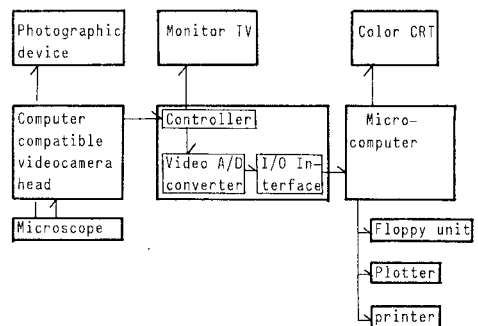


Fig. 2. Picture processing system

いが、本研究の成果はこの問題の解決に役立つものと期待している。

### 3. 画像処理システムの装置構成

装置構成を図2にまとめる。顕微鏡で拡大された画像は、ビジコンカメラで、輝度情報に変換される。カメラユニット部では、これを8ビットのデジタル量に変換し、計算機の求めに応じて情報を送る。計算機では、送られてきた情報を処理し、糸状性微生物部分の長さを測り結果を出力する。写真撮影装置は原画像を保存するために使われた。

### 4. 糸状性微生物長計測のアルゴリズム (I) - 二域値方式

図4は、図3のサンプリングライン上の輝度情報をあらわした図である。このように活性汚泥の顕微鏡画像は、その輝度情報からみると、明るい背景であるバルク部分と、暗いフロック部分、中間的な明るさの糸状性微生物の部分からなる。人間の目は10段階程度の分解能しかもたないため、明るさでこれらの部分を区別することは難しいが、計算機では256段階の分解が可能のため、明るさによる区別が可能となる。そこで糸状性微生物の検出を、図4のような上下限を決め、この間にある部分を糸状性微生物部分とする。全画面について糸状性微生物部分の画素数を求め、これより長さを算出する。

この方法での装置条件は、顕微鏡倍率4倍、走査線数256本、積算回数16回とした。倍率4倍の場合、1画面が表す範囲は $2 \times 2 \text{ mm}^2$ 、1プレパラートあたり、81画面を処理することになる。また走査線数256本の場合、走査線の間隔は $7.8 \mu\text{m}$ となる。

図5は、このように測定された糸状性微生物部分の画素数と糸状性微生物の長さの、1画面あたりの対応関係を示したものである。この図縦軸の糸状性微生物長さの測定は、顕微鏡写真上でキルビメータを用いて計測したものであり、精度の高い方法ではないが両者に対応関係のあることは明らかである。また表1は、1プレパラート全体(81画面)について計測をおこない、単位mlあたりの糸状性微生物の長さを算出したものである。

計算時間は、1画素あたり約80秒であった。これは輝度情報の準備に要した時間が大部分で、実質的な画像処理には、ほとんど時間はかかっていない。

TABLE 1. Length of Filamentous Microorganism in each preparation

Number of preparation	Number of pixels (pieces)	Length of filaments ( $10^7 \mu\text{m}/\text{ml}$ )
1	318897	3.58
2	365175	4.10
3	321705	3.61
4	316602	3.56
5	289332	3.25

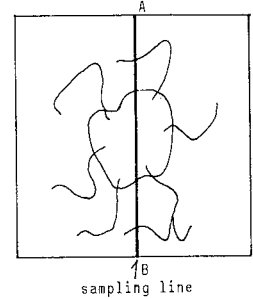


Fig. 3. A picture under the microscope

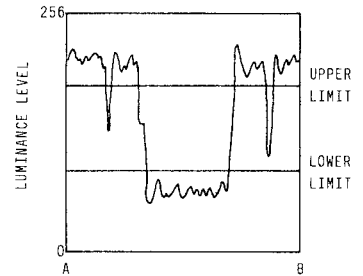


Fig. 4. Luminance level along the above sampling line

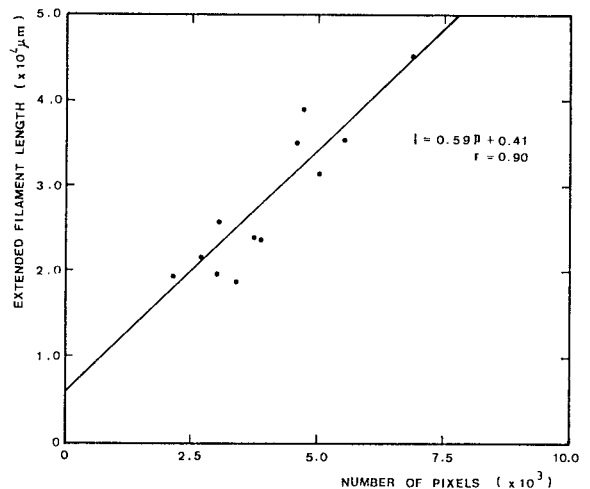


Fig. 5. Relationship between number of pixels and filament length

## 5. 糸状性微生物長計測のアルゴリズム (II) - 縮退膨張方式

さて前方式で最も注意がいるのは、域値設定の段階である。このためにはまず顕微鏡の焦点・照明・絞りを調整し、画面全体が一様な明るさを持ち、コントラストのある原画像をえるようにする。積算回数を16回としたのも安定した輝度情報を得るためである。また域値設定のときには、画面の一部を指定し、この指定画面が設定された域値にしたがって、バルク部分は黒に、糸状性微生物部分は青に、フロック部分は赤に色分けされ、CRT上に表示される。これと、モニター上の画像を比較し、域値が妥当かどうかを検討している。

次に述べるアルゴリズムは、この域値設定の手間をソフト上の工夫によって解消しようとしたものである。まず、図4において、上限の域値だけを設定する。これによって、画像をバルク部分と、それ以外の糸状性微生物・フロック部分とに分ける。バルク部分画素には「0」の値を、他には「1」の値を与える。次に縮退・膨張処理をおこない、糸状性微生物部分を消す。消えた画素数から、糸状性微生物の長さを算出する。ここでつかう縮退・膨張の原理を図6に示す。縮退とは、「1」の値が与えられた画素について、その画素の4近傍（上下左右）の画素に「0」のものが1つでもあると、値を「0」に変える操作である。また膨張とは、「0」の値が与えられた画素について、その画素の4近傍に「1」のものが1つでもあると、値を「1」に変える操作である。縮退・膨張の処理を順次行うことによって図にしめされるように糸状性微生物部分が消える。

この方法での装置条件は、顕微鏡倍率4倍、走査線数256本、積算回数2回とした。積算回数を2回としたのは域値設定が容易になると考えたためである。

図7は、このように測定された糸状性微生物部分の画素数と、糸状性微生物長さとの一画面あたりの対応関係を示したものである。一点を除いてよい対応関係がえられた。

計算時間は、一画面あたり約60秒であった。

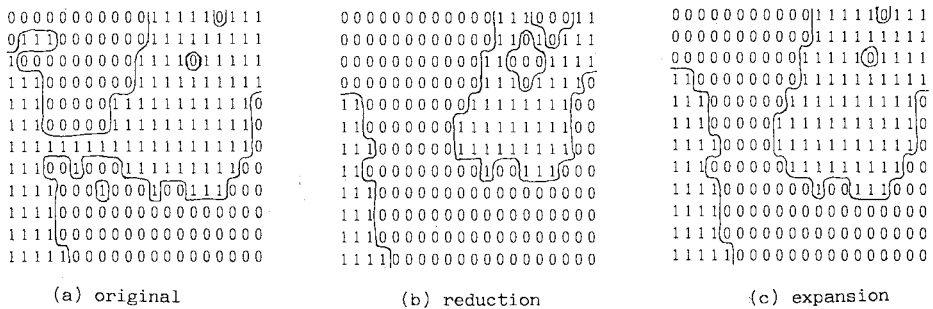


Fig. 6. Effect of reduction and expansion

## 6. 両アルゴリズムの比較

### (1) 計測時間

計測時間は、二域値方式が約80秒、縮退膨張方式が約60秒を要した。複雑な画像処理を行っている縮退膨張方式のほうが、単純な二域値方式より処理時間が短いのは、積算回数を短くしたことが影響している。しかし今回の解析の結果、縮退膨張方式でも、域値設定にはかなり神経を使う必要があることがわかった。それゆえ、これも二域値方式と同様、積算回数を16回とするほうが望ましい。積算回数を16回とすると、輝度情報準備のあき時間で画像処理が実行できるので、計測時間は両方式とも同

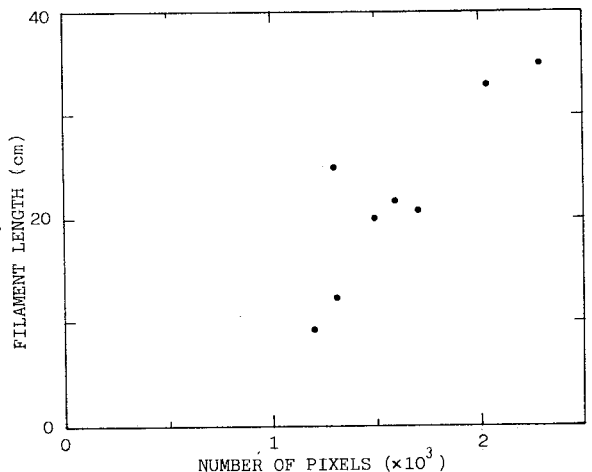


Fig. 7. Relationship between number of pixels and filament length on photograph

じとなる。なお実際の画像処理だけに要する時間は、二域値方式のほうが約1/10ですむため、計測時間に余裕があり他の作業を行う余地を持つ。

### (2) 精度

本研究ではソフト開発に重点をおいたため、精度の問題は詳しく解析していない。現在、画像処理装置は急速に進歩しており、現在の100倍以上の短時間で処理ができるようになるものと期待される。精度の詳しい検討は、その時に実施する予定であるが、これまでの研究より、次のことはいえよう。まず有効数字1桁程度の精度が要求される場合、いずれの方式によっても、あまり差はでてこないと考えられる。ただ、これ以上の精度が必要なとき、二域値方式では計測のサンプル数を増加させてゆくしかないのに対して、縮退膨張方式のほうは、前処理として染色をする、あるいはソフトをさらに改善するなどの処理によって対処することができよう。

### (3) 質的差異

両方式を比較すると、計測時間には差がなく、精度の点でも実用上それほど差はでてこないと考えられるが、何を測っているのかという点において基本的な差がある。特に、糸状性微生物にズーグレア性微生物が付着したときのあつかいが異なっている。この差は図8(a)のような、しっかりしたフロックから糸状性微生物がのびだしているときには、影響がでてこないが、図8(b)のように糸状性微生物が網目状になり、これにズーグレアが付着しているような汚泥の場合、影響が大きい。二域値方式では、糸状性微生物にズーグレアが付着した部分をフロックとみなすのに対して、縮退膨張方式の場合は15~20  $\mu\text{m}$  以上の付着がおこるまでは糸状性微生物とみなす。このような糸状性微生物部分は活性を持っていることも持っていないこともあるとのことであり、評価をどのようにすればよいのかはよくわかっていない。また、図8の両者が、同一の糸状性微生物の長さをもっていても、明らかに構造が異なっており、種々の特性も異なっていると推定される。それゆえ、単に糸状性微生物の長さだけでなく、フロックとの関係も含めて定量化し、また出来る構造が糸状性微生物の種類の違いによって影響を受けるのかどうか等も今後研究してゆく必要があろう。

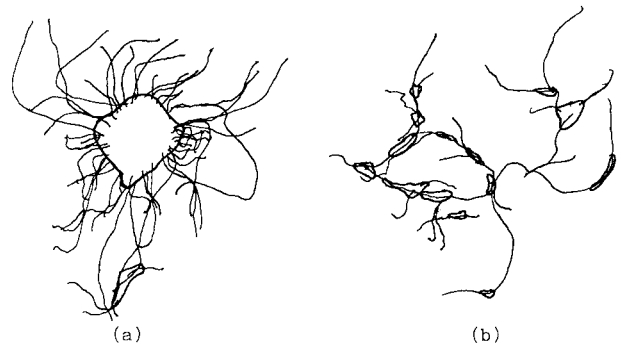


Fig. 8. Structures of flocs and filamentous microorganism

### 参考文献

- 1) 中野淳 「活性汚泥法制御のための画像処理システムの開発に関する研究」 京都大学卒業研究 (1983)
- 2) 加藤龍夫 「活性汚泥法制御のための画像処理システムの開発に関する研究」 京都大学卒業研究 (1984)
- 3) Sezgin, M., et al., "A Unified Theory of Filamentous Activated Sludge Bulking." *Journal Water Poll. Control Fed.*, 50, 362 (1978)
- 4) Palm, J. C., et al., "Relationship between Organic Loading, Dissolved Oxygen Concentration and Sludge Settleability in the Completely Mixed Activated Sludge Process." *Journal WPCF*, 52, 2484 (1980)
- 5) 堺好雄 「素顔の水処理微生物」 水、26、2、42 (1984)