

急性毒物質検知を目的とする魚類行動 画像監視システム — 神経系毒性物質の検知 —

矢萩捷夫*，馬場研二*，依田幹雄**，原直樹**，小坂浩史**

* (株)日立製作所日立研究所
茨城県日立市久慈町4026番地

** (株)日立製作所大みか工場
茨城県日立市大みか町5丁目2-1

概 要

浄水場において微量の異常成分を化学的に分析するには高精度の分析計器が開発されているが、これら水質分析を補完し水の安全性を総合的に判定するために、水棲生物を用いた水質監視（バイオアッセイ）が行われている。

著者らは、上記水質監視を支援するために、画像認識技術を応用した魚類行動の自動監視システムを開発している。すでに、急性毒性物質として、呼吸系障害物質であるシアン化カリウム（ $CN^- \geq 0.05$ mg/l）を検知可能なことを明らかにしている。本報では神経系障害物質である農薬の有機リン系殺虫剤のフェニトロチオン（5~10 mg/l）、有機塩素系殺虫剤のDDT（0.25 mg/l）を供試した場合の急性毒物検知特性について検討した。その結果、神経系障害物質の場合も呼吸系障害物質と同様な挙動を示し、先に著者らが提案している「鼻上げ行動指標」を基本とした、魚類各固体の水深分布と魚群重心の水深分布さらに、新たに提案した魚類の分散度分布により急性毒物混入水質を10~20分で検知できることを明らかにした。

キーワード

浄水場，急性毒物，神経系毒物，呼吸系毒物，魚類，バイオアッセイ，画像認識

1. 結 言

浄水場では水の安全性確保のため、原水を導いた水槽で魚類を飼育しその行動を目視により監視している¹⁾。この、監視法は目視観察に依存しているため連続性と定量的の両面で改良の余地があった。監視自動化する試みとして、光電管を用いて異常行動を検出する方式²⁾や、呼吸頻度など魚類の生理的な活動状態から異常を検出する方式³⁾などが知られているが、信頼性の向上が望まれる。

著者らは、魚類の行動をあるがままの状態で連続的かつ定量的に監視可能な方法として、画像処理技術の適用を試みている。従来の実験では^{4)~6)}、水質異常の原因となる有害モデル物質としてシアン化合物（呼吸毒）を使用していた。原水への急性毒物の混入例として、この他に農薬（神経毒）が考えられるため、本報では、該農薬混入を検知することを目的とした。

2. 画像解析方法

既実験の画像計測^{4)~6)}では、急性毒物混入に伴う魚類の位置分布の変化に着目し、水面下の特定

水深までの魚の滞留頻度の比率を鼻上げ行動指標と定義し¹⁾、行動パターンを解析してきた。本実験ではシステムの信頼性向上をめざし、鼻上げ行動指標に加えて、魚群重心の水深分布（鼻上げ行動指標と同等の指標）及び魚群の分散度分布について解析した。これら、魚群重心の水深分布及びの分散度の評価指標の説明を Fig 1 に示す。

(1) 魚群重心の水深分布

Fig 1 (a)において、認識した魚類の各固体の2値画像の代表点座標 $(x_1, y_1) \sim (x_n, y_n)$ を求め、それらから中心C (X, Y) （各座標の平均を求める。このYは魚群の水深方向の中心位置を表わす。

(2) 魚群の分散度分布

Fig 1 (b)において、魚群の中心座標C (X, Y) から固体の座標までの距離 e_i ($i = 1 \sim 5$) を求め、各 e_i の2乗和を魚群の分散度Eとし、(1)式で定義した。

$$E = \sum e^2 = \sum ((X_i - X)^2 + (Y_i - Y)^2) \dots (1)$$

ここでE = 分散度

なお、本実験で用いた水質の評価指標をまとめて次に記す。

R_w : 魚群各固体の水深分布¹⁾ (魚群個々の重心が、特定水面以上の割合)

C_w : 魚群重心の水深分布 (魚群の中心Cが、特定水面以上の割合)

E_n : 魚群の分散度分布 (魚群の中心座標から個々の魚への距離の2乗和Eが特定値以上であった割合)

本実験における、 R_w 、 C_w 及び E_n の1回の監視周期を5分として、これを繰り返して画像計測した。

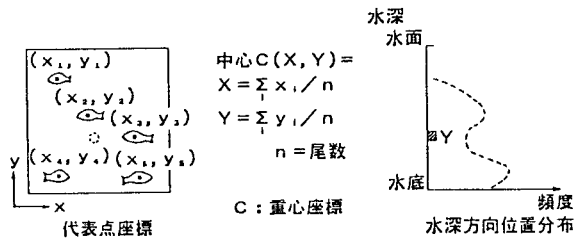
3. 実験装置及び方法

3.1 実験装置

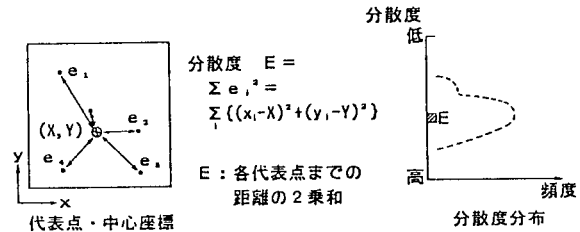
実験装置の全体構成を Fig 2 (a)に示す。水槽には水を循環してフィルタで濾過する浄化装置と、酸素供給のエアレーション装置を設置した。照明法は、魚の後方から照射する透過証明法とし、工業用テレビカメラで撮像した映像信号を画像処理装置に伝送して画像処理した。

3.2 実験方法

(1) 供試魚類：従来の実験¹⁾でコイ、フナ、タナゴ及びウグイを用いた結果、検知感度と飼育性の

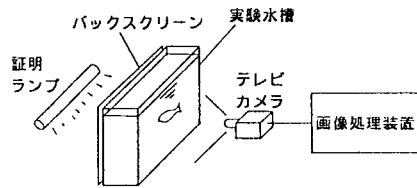


(a) 魚群重心の水深

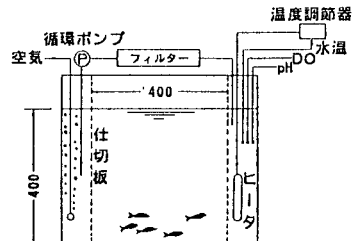


(b) 魚群の分散度

Fig. 1 評価指標の説明図



(a) 画像解析システム



(b) 実験水槽の概要

Fig. 2 実験装置の構成

Table 1 実験条件 (魚の大きさは5尾の平均値)

項目		case	1	2	3	4
供試魚	体長(mm)	タナゴ(5尾)	6.5	6.8	7.0	7.3
	体重(g)		5.1	5.4	5.6	5.7
供試水	水温(°C)		1.6	2.4	2.3	2.0
	水道水 = PH(-)		6.8	6.7	6.7	6.8
脱塩素剤添加)	DO(ppm)		7.7	7.4	7.5	7.6
毒物	呼吸	シアン化 CN ⁻		-	-	-
	毒	カリウム 0.1mg/l		-	-	-
	神	フェニトロ		5mg/l	-	-
	種	チオン		-	10mg/l	-
毒		DDT		-	-	0.25mg/l

面でタナゴが適していたので、本研究でもタナゴを用いた。

(2) 供試水：被検水には水道水にチオ硫酸ナトリウムを適量注入して予め塩素を除去した水を用いた。

(3) 使用薬剤：神経系毒物として農薬のフェニトロチオン及びD D Tを用いた。また、神経系毒物との比較のため、呼吸系毒物としてシアン化カリウムについても実験した。

(4) 実験方法：水中に急性毒物が溶解していない正常状態と、急性毒物を微量溶解させた異常状態とにおいて、魚類の行動を計測した。実験条件を表1に示す。

4. 実験結果と考察

4.1 各指標の経時変化

Fig 3に農薬注入における実験例として、フェニトロチオン注入濃度10mg/lの場合での各指標の経時変化を示した。実験は、まず、急性毒物がない状態で魚類行動を約60時間計測し、その後にフェニトロチオン濃度10mg/lを注入した。各指標の判定しきい値の設定は、全計測時間内で魚類行動状況を調べ、急性毒物注入前後の差が明確にわかるものとして、 R_w で10(水深<100mm)、 C_w で14(水深<140mm)、 E_h で27(拡がり面積<5000 cm^2)とした。この結果、急性毒物注入前は各指標とも、各判定値の0.2を越えることはなく、フェニトロチオン注入後に各指標は次節でのべる判定基準値を越えた。

4.2 各指標の頻度分布

次に、Fig 3に示した各指標(R_w 、 C_w 、 E_h)の頻度分布をFig 4に示す。図中、白ヌキの分布は急性毒物注入前、斜線の分布は注入後のものである。Fig 4から頻度分布は指数分布で近似でき、その近似式は(2)~(4)式となる。

$$\text{魚群各固体の水深分布 } F_s = (-41.0) R_w \dots\dots\dots (2)$$

$$\text{魚群重心の水深分布 } F_s = (-48.5) C_w \dots\dots\dots (3)$$

$$\text{分散度分布 } F_s = (-63.5) E_h \dots\dots\dots (4)$$

ただし、 $F_s = \ln(1/n)$ (相対頻度)

上記(2)~(4)式から、 n 回監視した時に1回起こり得る R_w 、 C_w 及び E_h 値を求めると(5)~(7)式が得られる。

$$R_w = \{ \ln(1/n) \} / (-41.0) \dots\dots\dots (5)$$

$$C_w = \{ \ln(1/n) \} / (-48.5) \dots\dots\dots (6)$$

$$E_h = \{ \ln(1/n) \} / (-63.5) \dots\dots\dots (7)$$

ここで、1ヶ月に1回の確率でしか起こらない R_w 、 C_w 及び E_h を異常とみなし、該異常の判定基準値を R_w^* 、 C_w^* 及び E_h^* と記し、(5)~(7)式を計算した。この結果、 $R_w^* = 0.22$ 、 $C_w^* = 0.19$ 、 $E_h^* = 0.14$ が得られた。この

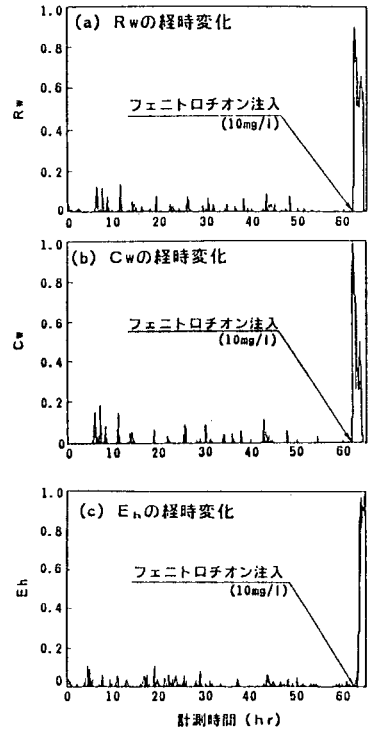


Fig. 3 各指標の経時変化

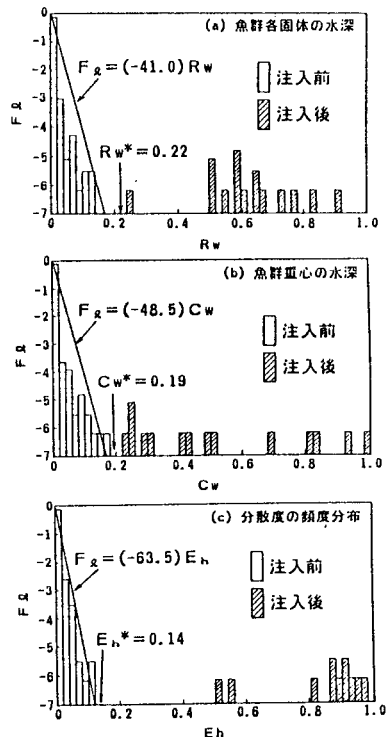


Fig. 4 各指標の頻度分布(フェニトロチオン=10mg/l)

値は Fig 4 中、それぞれの指標とも、急性毒物注入前のデータは R_w^* 、 C_w^* 及び E_h^* を越えることはなく、判定基準値は適正と判断された。

4. 3 急性毒物の判定値

図 3 の結果から、 $R_w > R_w^*$ 、 $C_w > C_w^*$ 、 $E_h > E_h^*$ となる時間を求めると、 R_w 及び C_w で 6 分後に急性毒物を検知できるが、 E_h では 23 分後に検知でき、上記 R_w 及び C_w に比べると、急性毒物の

判定に時間遅れが生じている。分散度 E_h による検知は、 R_w や C_w による検知に比較して早い場合もあり、優劣はつけ難いが、多面的な評価を行う上でこれらの指標は有効といえる。また E_h が E_h^* を越えたことは、神経毒の体内摂取による自律性の欠落を示唆するものと考えられる。

なお、Fig 3、Fig 4 はフェニトロチオン 10 mg/ℓ 注入を例として示したが、他の実験、フェニトロチオン注入 5 mg/ℓ 及び DDT 注入 0.25 mg/ℓ、また比較のためのシアン注入 0.1 mg/ℓ についても、上記フェニトロチオン注入 10 mg/ℓ 実験と同様な解析を行った。これらの結果から、各種毒性物質の水質の検出評価結果を、Table 2 にまとめた。各種毒性物質とも魚群各固体の水深分布及び魚群重心の水深分布の鼻上げ行動を指標する検出方法が有効であるといえる。また、水棲生物の毒性試験⁶⁾として使用されている T L m 値 (median Tolerance Limit) (コイ、24hr) はフェニトロチオン濃度 9 mg/ℓ、DDT 濃度 0.4 mg/ℓ 及びシアン濃度 0.6~0.8 mg/ℓ であるが、著者らの画像計測による方法は同等以上の検知性能である。

5. 結 言

浄水場の急性毒物混入検出の信頼性向上と早知検知を目指し、既実験のモデル有毒物質のシアン化カリウム (呼吸毒) に引続いて、今回農薬のフェニトロチオン及び DDT (神経毒) を用いて、魚類の異常行動パターンを画像計測した。その結果、神経毒検知に対して以下の結果を得た。

- (1) 鼻上げ行動指標を基本とする、魚群各固体の水深分布及び魚類重心の水深分布による検出が有効である。
- (2) 分散度分布についても、有効な検出方法として使用可能である。
- (3) 上記(1)及び(2)より、多画面的評価が可能になり検出の信頼性向上につながった。

〔参考文献〕

- 1) 大久保勉：水道事業の原水管理計器、水道協会雑誌、第523号 p 58~64
- 2) 中村文雄：魚類の行動変化に基づく水質の常時監視方法に関する基礎的研究(1)、水道協会雑誌、第604号 p 17~26
- 3) 松雄雄三：フナのえら蓋の活動電位による急性毒性の監視実験、水道協会雑誌、第613号 p 17~25
- 4) 馬場研二、矢萩捷夫：魚類行動パターンに及ぼす魚類及び環境因子の影響、水質汚濁研究、第11巻、第11号 p 715~723
- 5) 馬場研二、矢萩捷夫：魚群行動の画像解析による水質異常監視支援技術の研究、水道協会雑誌、第650号 p 7~15
- 6) 江上信雄：実験動物としての魚類—基礎実験法と毒性試験—ソフトサイエンス社 (昭56)

Table 2 各種毒性物質の検出評価

濃度	毒性物質		呼吸毒		神経毒	
	CN ⁻	フェニトロチオン	フェニトロチオン	DDT (参考)	DDT (参考)	DDT (参考)
指標	0.1mg/ℓ	5~10mg/ℓ	0.1mg/ℓ	0.25mg/ℓ	0.25mg/ℓ	0.25mg/ℓ
R _w : 魚群各固体の水深分布	◎	◎	◎	○	○	○
C _w : 魚群重心の水深分布	◎	◎	◎	◎	◎	◎
E _h : 分散度分布	◎	◎	○	○	○	×

◎: 検出良好 ○: 検出良 ×: 検出困難