

水質危機管理のための高感度バイオアッセイシステムの研究

宮代明*, 馬場研二*, 圓佛伊智朗*, 原直樹**, 早稲田邦夫***, 矢萩捷夫*,

- * (株) 日立製作所日立研究所
日立市大みか町 7-1-1
- ** (株) 日立製作所大みか工場
日立市大みか町 1-55-2
- *** (株) 日立製作所機電事業部
千代田区神田駿河台 4-6

概要

バイオアッセイによる毒物流入画像監視システムの高感度化を目的に、従来の魚から新たにヌカエビを導入したシステムの検知感度の評価を中心に報告する。代表的な毒物である農薬 (MEP), シアンについて毒物注入実験を実施し、画像処理により検知可能な感度を確認した。

その結果、1) 異常行動を速度で判別することとし、判別しきい値を 50cm/sec に設定することで、毒物流入時の生物の異常行動を 84% の識別率で判定可能とし、2) 0.2mg/L の農薬, シアンを各々 48分, 30分で検知可能とした。これより、農薬については従来比で 25倍高感度化できる目処を得た。

キーワード

バイオアッセイシステム, 毒物流入監視, 画像処理, ヌカエビ, 水源水質リスク

1 はじめに

農薬や工場の廃液が毒物として湖沼や河川などの水源へ流入する事故が頻発しており、水源水質リスクへの関心が高まっている。厚生省と(社)日本水道協会は、こうした突発的水質事故の調査委員会を発足し、流入毒物の有無を監視するシステムを導入していく方針である。厚生省は、具体的な施策として平成5年度に水質基準を改訂し、測定項目を従来の26項目から85項目へと大幅に増加させた。

本研究の目的は、システム小型化・高感度化のための供試生物を選定し、さらに、毒物流入時の生物の異常行動を画像処理により識別することで、毒物の検知限界値を見きわめることである。

2 バイオアッセイシステム

2.1 システムの背景

本研究で対象とするバイオアッセイ (bioassay) システムは、生物行動を用いて環境を監視するシステムのことである。特に、本論文では、水棲生物の行動を監視することにより、水中に流入した毒物の有無を判定するシステムを指すものとする。従来は、魚類を飼育し行動異常の目視観察により毒物流入を監視するか、液体クロマトグラフィやGC/MSなどの分析装置により流入毒物を測定していた。しかし、目視観察による方法では、24時間監視は困難であり、また分析装置に頼る方法では、特定の毒物しか検知できず、多種、未知の毒物への対応が難しい。このため、自動的に連続検知可能なバイオアッセイシステムの開発が望まれている。

毒物混入を監視することを目的としたバイオアッセイシステムの基礎研究は、国内では国立環境研や(社)日本水道協会などで進められている。既開発のシステムとしては、魚の画像処理方式¹⁾、硝化菌の呼吸活性計測方式²⁾、魚の活動電位計測方式³⁾などがある。代表的な農薬種MEP(demethyl 4-nitro-m-tolyl phosphorothionate)の検知感度は、1)のシステムで5.0mg/L(16min) (ラボ実験評価値)であり、CN⁻の検知感度は、2), 3)のシステムで各々0.05mg/L(20min), 0.73mg/L(60min)との報告がある。本研究では、特に、毒物の検知感度向上と装置小型化を目標に、1) 供試生物を選定し、2) 選定した供試生物の毒物に対する異常行動を画像処理で解析した。

2. 2 供試生物の選定

高感度かつ小型装置のシステム開発にあたり、供試生物として、ヌカエビ、ミジンコ、ヒメダカを候補に挙げた。これらの生物は、これまでに国立環境研⁴⁾や(社)日本水道協会⁵⁾が、半数致死濃度(48時間で生物の半数が死亡する濃度)を実験的に調べている。大きさを比較すると、ミジンコは体長0.1~0.3 cmと最も小さく、ヌカエビは2~3 cmである。生物の感度を半数致死濃度と比較すると、ヌカエビが0.0011 mg/L(国立環境研)と最も高感度である。さらに、飼育の容易さ、および画像処理の容易さを勘案してヌカエビを選定した(図1参照)。



図1 ヌカエビ

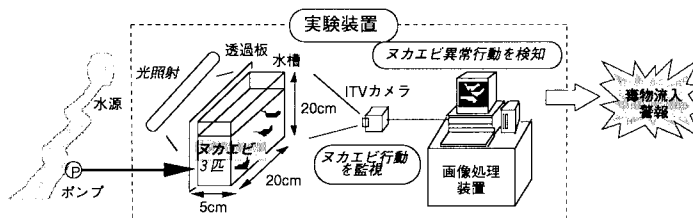


図2 ヌカエビ画像監視システムの構成

3 実験内容

3. 1 システム構成

図2に本研究で用いたヌカエビ画像監視システムの構成を示す。システムは水槽、ITVカメラ、および画像処理装置から構成される。まず、水槽(内寸:20cm(縦)×20cm(横)×5cm(奥行))に水源水をオンラインで供給し、ヌカエビを飼育する。水槽の背面から透過板を通して光を照射し、ヌカエビを前面から黒い物体として認識する。水槽の全面にITVカメラを設置し、ヌカエビの行動を撮像する。撮像した映像を画像処理装置に入力し、画像処理する。処理方法は、はじめに、ITV画像を二値化してラベリングし、つぎに、ラベリングした個々のヌカエビの座標を計算して、水深位置、拡がり度、速度を計測する。ヌカエビに異常行動が起きたとき、警報を発生する。

3. 2 実験方法

水槽には脱塩素水1.2Lと、体長2~3cmのヌカエビを3匹入れた。ヌカエビの数については、少数匹では信頼性が低く、多数匹では画像処理計測の誤差が高まるため、今回は3匹とした。水温は18度であった。ヌカエビの行動は、ITVカメラを通してビデオ録画した。

実験条件は、(1)水質正常時、(2)農薬(MEP) : 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 3.0 mg/L、シアン(CN⁻) : 0.15, 0.2, 0.4 mg/Lとした。はじめに、(1)についてヌカエビの行動を2時間録画した。つぎに、(2)の各々の濃度について毒物注入後のヌカエビの行動を2時間録画した。

4 結果と考察

4. 1 正常時と異常時の識別

正常時のヌカエビの行動を、図3に示すように「静止」、「遊泳」に類型化した。異常時のヌカエビの行動を、経時的に「痙攣」、「狂乱」、「衰弱」に類型化した。各々の行動を画像処理し、水深位置、拡がり度、速度を計測した

結果、正常時と異常時を識別する上で、速度が有効な指標であることを確認した。痙攣時に、約100cm/secの速度が目視観察されたが、画像処理では計測できなかった。このため、痙攣行動により異常時を識別することは難しいと判断した。一方、狂乱時の計測速度は、正常時の計測速度と比べて速いことが分かった。そこで、速度のしきい値を与え、計測された最高速度がしきい値以上の時、エビの行動を狂乱と判定することにした。エビの狂乱行動により、異常時（毒物流入）を検知することができる。しきい値以下の速度が計測された時、正常時と判定した。

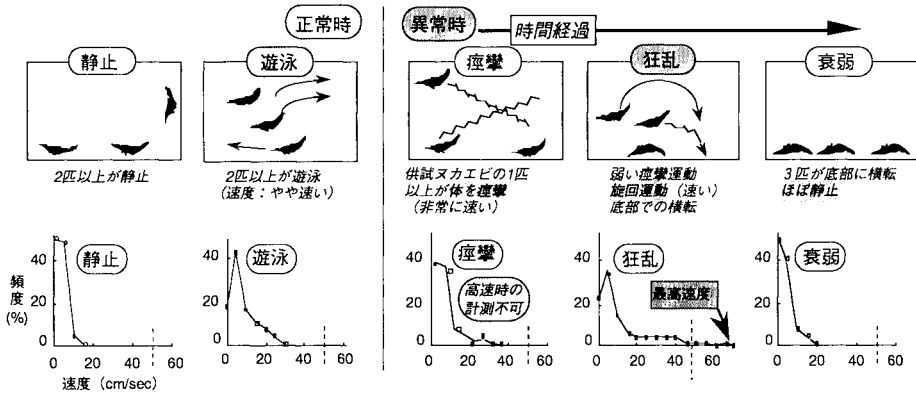


図3 ヌカエビ行動の類型化と速度分布

4. 2 識別率の評価

正常時（遊泳）と異常時（狂乱）の識別率を評価した。遊泳時の最高速度は25～50 cm/sec、平均値38 cm/sec、標準偏差7.53であった。狂乱時の最高速度は45～105 cm/sec、平均値67 (cm/sec)、標準偏差17.8であった。

遊泳時と狂乱時、各々の最高速度データの分布は、前記の平均値と標準偏差をもつ正規分布と仮定した。このときの生起確率分布を図4に示す。両者の生起確率分布には重複部があり、重複部の速度でヌカエビが行動する時には、誤識別が生ずる。そこで、定量的に識別率を評価することにした。狂乱時の確率分布において、しきい値以上の分布割合を識別率と定義した。識別率は、狂乱が目視で観察された時、画像処理により異常と判定される確率を意味する。一方、遊泳の確率分布において、しきい値以下の分布割合を誤識別率と定義した。誤識別率は、正常時の遊泳行動が、画像処理により異常と誤判定される確率を意味する

しきい値を変化させたときの、識別率と誤識別率の変化を図5に示す。しきい値を低く設定すると、識別率は上がるが、同時に誤識別率も上がる。逆に高く設定すると、誤識別率は下がるものの、同時に誤識別率も下がる。両者を勘案して、本研究では、しきい値を50 cm/secに設定し、識別率84%、誤識別率7%を得た。

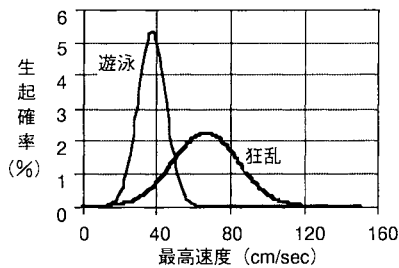


図4 正規確率分布

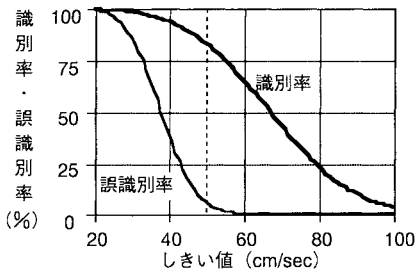


図5 識別率と誤識別率

4. 3 検知感度の評価

農薬とシアン各々の濃度を変えた場合の(1)目視観察によるヌカエビの行動パターンの遷移と、(2)画像処理により毒物注入からそれが検知されるまでの時間を測定した結果を図6に示した。図中の痙攣、狂乱、衰弱部分は目視観察によるもの、▲で示した部分は画像処理により異常と識別された時間を差す。毒物濃度が低いほど、痙攣、狂乱、衰弱各々の開始時間は遅れ、痙攣、狂乱各々の継続時間は長くなった。0.1 mg/Lの農薬、0.15 mg/Lのシアンについては、2時間の観察時間内に異常行動が観察されなかった。

ヌカエビを用いた本システムと魚を用いた従来システム¹⁾の検知感度および検知時間の比較を表に示す。MEPの検知限界濃度は、従来は5.0mg/L、16分であったが、本システムでは0.2mg/L、48分となり、感度が向上した。一方CN⁻の検知限界濃度は、従来は0.1mg/L(10分)であったが、本システムでは0.2mg/L(30分)となった。

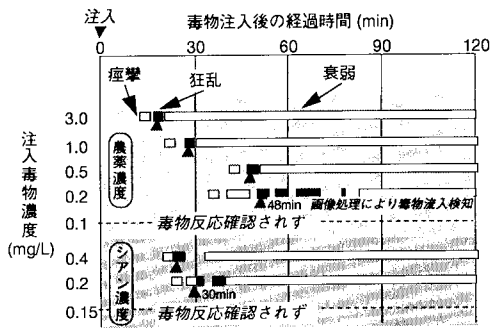


図6 行動の経時変化と検知時間

表1 本システムと従来システムの比較

	従来システム ¹⁾	本システム
供試生物	魚	ヌカエビ
設置面積 (m ²)	3.0	1.2
異常行動	暴上げ	狂乱
毒物検知方法	水深位置しきい値 上部30%領域に 匹数7割〜で警報	速度しきい値 50cm/sec〜で警報
検知限界 (濃度と検知時間)	農薬 5.0mg/L ; 16min シアン 0.1 ; 10	0.2 ; 48 0.2 ; 30

5 おわりに

本報では、ヌカエビ画像監視システムを実験により検討し、以下の結論を得た。

- (1) 水質異常時のヌカエビの行動を、痙攣、狂乱、衰弱の3種類に類型化した。
- (2) 画像処理計測によりヌカエビの移動速度を計測し、50cm/sec以上を狂乱と判断することにより、毒物混入時のヌカエビの異常行動を識別率84%で識別できた。
- (3) この速度分布計測により、0.2mg/Lの農薬、シアン濃度を検知でき、その検知時間は各々48分、30分であった。

今後、実験条件を詳細に検討し、毒物混入判定手法を改良することで、システムの毒物検知感度を向上させる予定である。

6 参考文献

- 1) 馬場研二ほか3名：魚類行動パターンの画像解析に基づく水質異常判定：水質汚濁研究, Vol.11, No.8 [1988]
- 2) 田中良春ほか2名：バイオセンサーによる水質安全性監視の基礎検討：第43回全国水道協会研究発表会 [1992]
- 3) 駒口孝広ほか2名：魚の活動電位を用いた水質連続監視装置の運転結果について：第5回環境システム自動計測制御国内ワークショップ [1994]
- 4) 畠山成久ほか2名：霞ヶ浦水系河川のヌカエビ (Paratya compressa improvisa) 生物試験による農薬毒性の季節変動：水質汚濁研究, Vol.14, No.7, 460-468 [1991]
- 5) 日本水道協会：上水試験方法 (解説編) 1993年度版, 642-658 [1993]