

ヤマトヌマエビの個体差に着目した毒性物質検知感度評価

宮代明*, 渡辺昭二*, 矢萩捷夫*, 相馬憲一*, 原直樹**

* (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

概要

本発表では、バイオアッセイによる毒性物質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ヤマトヌマエビを導入したシステムの検知感度を、エビの個体差に着目して評価した結果を中心に報告する。シアン、農薬 (MEP) について毒性物質注入実験をし、画像処理により検知可能な感度を評価した。

その結果、7匹のヤマトヌマエビを用いることで、シアン0.1mg/Lを11分、農薬MEP0.2mg/Lを6分で検知できる。これにより、ヤマトヌマエビは魚の代替供試生物になり得る。

キーワード

ヤマトヌマエビ、画像処理、毒性物質、検知感度、個体差

1 緒言

産業排水や油などによる突発水質事故が頻発している。また、ゴルフ場に散布した農薬の流出が問題になっており、水源への混入の恐れが指摘されている。厚生省と(社)日本水道協会は、こうした水質汚濁危機を背景に、水質事故の調査委員会を発足させ、流入毒性物質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。

本研究では、バイオアッセイによる毒性物質流入画像監視システムに関し、供試生物を従来の魚からヤマトヌマエビに換え、エビの個体差も含めて画像処理による毒性物質の検知感度を評価する。魚と同等以上の検知感度を得ることが目標である。

2 既開発システムと課題

既開発の毒性物質流入監視システムの一つに、魚の動きを画像処理により監視するものがある¹⁾。動作原理としては、魚を入れた水槽の背面から光を照射し、前面から魚の動きを撮像する。映像を画像処理し、魚の位置、速度などを計測し、魚の毒性物質反応を識別する。供試生物としてタナゴを用いており、毒性物質の検知感度は、シアン0.1mg/L、10分、代表的な農薬種MEP (dimethyl 4-nitro-m-tolyl phosphorothioate) 5.0mg/L、16分である。著者らは、既開発システムの検知感度の向上を目指し、供試生物として淡水エビの一種であるヌカエビを用いて毒性物質注入実験をした。その結果、シアン0.2mg/Lを30分、MEP0.2mg/Lを48分で検知できることが分かった²⁾。MEPについては従来よりも高感度化を達成できたが、シアンについて

は達成できなかった。また、装置の製品化を想定した場合、ヌカエビは入手が困難である課題が残った。

本研究では、特にエビの行動の再現性を評価することに重点をおいた。このため、エビの個体差を考慮した検知感度の評価を目標とした。供試生物としては、入手の容易なエビを調べた結果、ヤマトヌマエビ (*Caridina japonica*) を選定した。

3 実験内容

3.1 装置構成

実験装置の構成を図1に示す。水槽内は、しきり板により4つの区画に分けた。各区画の容積は0.3Lである。水槽の構成を図2に示す。エビの撮像方式は2章で述べた既開発システムの場合と同様である。

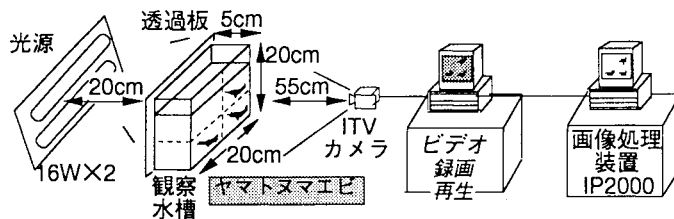


図1 実験装置の構成

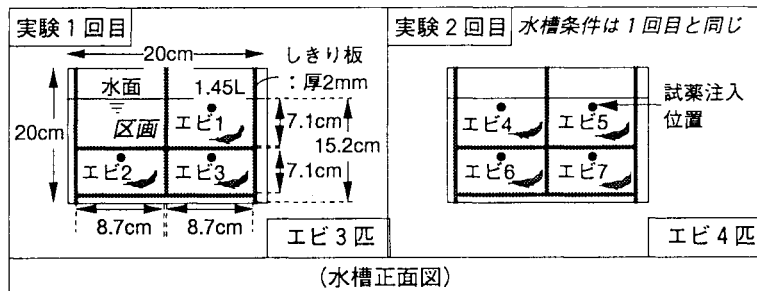


図2 水槽構成および実験条件

3.2 実験条件及び方法

図2に示した水槽の各区画に体長3.5cmのヤマトヌマエビを1匹ずつ入れた。各区画に1匹とした理由は、エビ個体の行動を個別に監視し、個体差を把握するためである。エビ移入の3時間後に所定量の毒性物質を各区画に注入した。毒性物質の条件は、(1) シアン：0.05, 0.1, 0.2, 0.4mg/L, (2) MEP：0.2, 1.0, 3.0mg/Lとした。毒物注入前1時間から注入後2時間まで撮像したエビの映像を、目視観察するとともに、画像処理装置でエビの移動速度を計測した。合計7匹のエビについて上記条件で実験をした。

ヤマトヌマエビは、ヌカエビと同様、毒性物質注入後の異常行動として跳躍をする³⁾。跳躍とは、エビが腹部を伸展、屈曲させながら、20~80cm/秒程度の速さで不特定な方向に移動する行動である。そこで、画像処理によりエビの速度を計測し、毒性物質注入前後で比較した。なお、ここでの速度とは、30秒毎の30秒間の最高速度とした。

4 実験結果及び考察

4.1 速度計測結果

シアンとMEPのすべての濃度条件での7匹すべてのエビの1) 毒性物質注入前, 2) 注入後の跳躍時の速度分布を図3に示した。図3より、注入前の速度は15cm/秒未満であることが分かる。そこで、毒物検知のための速度しきい値を15cm/秒と設定した。跳躍時の速度の83.8%が速度しきい値以上であり、この時毒物検知される。

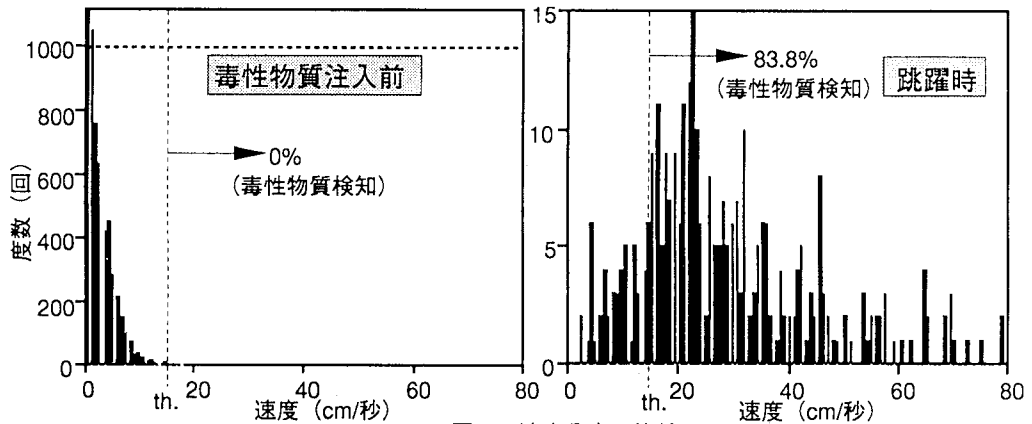


図3 速度分布の比較

4.2 供試匹数と検知感度の関係

毒性物質注入後のエビの速度がしきい値15cm/秒となるまでの時間を毒物検知時間と定義する。同一の毒性物質、濃度であっても、エビの個体差により毒物検知時間は異なる。このため、エビの個体差を考慮した検知感度(検知濃度と検知時間)を求めた。ここでは、7匹のエビから無作為にN(1 ≤ N ≤ 7)匹を供試した場合の検知感度の平均値を下記の手順に従い求めた。

毒性物質の種類と濃度の各条件について、各ヤマトヌマエビ(7匹)の速度を計測し、毒物検知時間を求めた。7匹のエビの毒物検知時間を t₁, t₂, ..., t₇ で表す。N匹のエビを供試した時の毒物検知時間 T(N) は、毒性物質注入後、少なくとも1匹のエビの速度がしきい値(15cm/秒)以上になるまでの時間である。すなわち、T(N)は各エビの毒物反応検知時間を t₁, t₂, ..., t_N とすると、

$$T(N) = \sum_{i=1, 2, \dots, N} \min(t_i) \dots (1)$$

で表せる。

7匹のエビから無作為にN匹を選択する組み合わせの数は、(2)式で表せる。

$$7CN = (7 \times 6 \times \dots \times (8-N)) / (N \times (N-1) \times \dots \times 1) \dots (2)$$

エビの選び方に対応し、(1)式の毒物反応検知時間は、7CN通りあり、(3)式で表せる。

$$T_1(N), T_2(N), \dots, T_{7CN}(N) \dots (3)$$

エビの選び方は無作為であることから、(3)式の時間の平均値 T_s(N) を(4)式で求めた。

$$T_s(N) = \sum_{i=1, 2, \dots, 7CN} T_i(N) / 7CN \dots (4)$$

(4)式は(1)式を用いると、式(5)で表せる。

$$T_s(N) = \sum_{\{i(1), \dots, i(N)\} \subseteq \{1, \dots, 7\}} \min(t_i(1), \dots, t_i(N)) / 7CN \dots (5)$$

ここで、{i(1), ..., i(N)} ⊆ {1, ..., 7} は、エビ7匹からN匹を無作為に抽出することを意味する。(5)式よ

り、7匹のエビから無作為に N ($1 \leq N \leq 7$) 匹を供試した場合の検知感度の平均値を求めることができる。

各毒性物質、濃度について、(5)式より、エビの供試匹数 N を変えた場合の検知感度を求めた。その結果を表1に示す。

表1 エビの匹数と毒物反応検知時間(平均値)の関係

		毒物検知時間(分)						
エビ匹数		1	2	3	4	5	6	7
シ ア ン 濃 度 (mg/L)	0.05	—	—	—	—	—	—	—
	0.1	—	—	—	—	30	19	11
	0.2	—	—	14	11	10	9	9
	0.4	—	35	28	21	15	10	5
		毒物検知時間(分)						
エビ匹数		1	2	3	4	5	6	7
M E P 濃 度 (mg/L)	0.2	—	49	33	23	16	11	6
	1.0	—	35	25	18	12	8	5
	3.0	33	25	23	22	21	21	21

※ — : 120分以内で反応しないケースを含むため平均化が不可

■ : 16分以内の検知が可能な場合

供試匹数が多いほど検知時間は短い。ここで、魚を供試した既開発システムの検知時間は、シアン、MEPに対し16分以内である。そこで、エビについても、検知時間の目標値を16分以内とした。表1より、7匹のエビを供試すれば、シアン0.1mg/Lを11分、MEP0.2mg/Lを6分で検知することができる。これを既開発システムの場合と比較すると、シアンに対し同濃度の検知が可能であり、MEPに対しては25倍高感度である。ヌカエビと比較すると、シアンに対し2倍高感度である。MEPに対しては同じ検知濃度であるが、検知時間は42分短縮した。以上より、ヤマトヌマエビはヌカエビよりも高感度であり、魚の代替供試生物となり得る。

5 結言

ヤマトヌマエビの行動を画像監視し、シアン、MEPに対する毒性物質反応の個体差を考慮した検知感度を評価した。その結果、7匹のエビを供試することで、シアン0.1mg/Lを11分、MEP0.2mg/Lを6分で検知することができることが分かった。これにより、ヤマトヌマエビは魚よりも高感度であり、魚の代替供試生物となり得る。

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, 1998
- 2) 宮代明ほか5名: 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: 環境システム計測制御学会, Vol.1, No2, 246-249, 1996
- 3) 長尾信ほか2名: 水温条件と毒性物質濃度の違いによるヌカエビの挙動監視, 第47回全国水道研究発表会, 510-511, 1996-5