

パルス大強度相対論的電子ビーム照射による 動物プランクトンの活性度解析の検討

EXAMINATION OF ACTIVITY ANALYSIS OF ZOOPLANKTON BY PULSED INTENSE RELATIVISTIC ELECTRON BEAM

佐々木千尋^{#, A)}, 菊池崇志^{A)}, 佐々木徹^{A)}, 高橋一匡^{A)}, 本田匠^{B)}, 今田剛^{C), D)}

Sasaki Chihiro^{#, A)}, Kikuchi Takashi^{A)}, Sasaki Toru^{A)}, Takahashi Kazumasa^{A)}, Honda Takumi^{B)}, Imada Go^{C), D)}

^{A)} Nagaoka University of Technology

^{B)} Central Research Institute of Electric Power Industry

^{C)} Niigata Institute of Technology

^{D)} Extreme Energy-Density Research Institute, Nagaoka University of Technology

Abstract

In recent years, microbes in ballast water destroy the ecosystem and cause damage to the economy. Currently, a plankton treatment using chemicals have been carried out. However, a problem with this method is secondary contamination by chemicals. We have investigated the method using pulsed intensity relativistic electron beam (PIREB). Previous studies indicated that PIREB treats zooplanktons (Artemia). The used method for confirming only survival has not been able to sufficiently evaluate the degree of inactivation of Artemia. We study to examine the degree of inactivation by comparing Artemia irradiated with PIREB with those of unirradiated Artemia. As a method of evaluating the activity, we photographed Artemia motions, and analyzed the video. For the evaluation of activity, the motion amount was calculated by dividing the image taken by the smartphone camera into a grid and comparing the positions of Artemia for each frame. A method examined to compare the degree of inactivation of irradiated and non-irradiated Artemia. It is the method of comparing the grids with increased and decreased numbers of Artemia. Finally, we were able to visualize the movement of Artemia by using a video analysis program to observe the degree.

1. 序論

近年、バラスト水に含まれるプランクトンなどの外来種による生態系への影響が問題となっている[1]. 貨物船などは積荷の積み下ろし時に船体が軽くなることで不安定になってしまう。そのため、積み降ろし時に海水を船内に取り込むことで船体の重さを維持している。この船内に取り込む海水をバラスト水と呼ぶ。バラスト水は船に取り込まれたまま移動し、積荷の積み込み時に海へと排水される。この時、海水に含まれる海洋生物が外来種として問題となっている。

バラスト水の処理は濾過や加熱、薬物による方法などで研究や実用化が行われているが、濾過は微生物には効果が薄く、加熱は卵や一部生物には効果が薄く、薬品を使う場合は有害な副生成物が発生するなどそれぞれに課題が存在する[2]. 一方、電子ビームを用いる方法では生物の種類によって影響されにくく、二次汚染もないため、有益な方法であると考えられる。

先行研究[3][4][5]にて、パルス大強度相対論的電子ビーム(PIREB: Pulsed Intense Relativistic Electron Beam)を用いることで動物プランクトン(アルテミア)を処理できることが確認されており、特にアルテミアの卵は孵化率が約 0%になる照射線量もわかってきている。しかし、幼体や成体への影響を調べるために必要となる評価方法は検討が不十分であった。幼体や成体の場合は死んでいなくても生態系に影響がでなければよいことから、移動が少ない場合を区別するために不活性という状態につい

て検討を進めている。本研究では、この“不活性化状態”を区別するために、アルテミアの移動について着目した。本研究ではアルテミアがどれだけ移動したかを観測することで活性度を評価する方法を検討することを目的とした。

2. パルス大強度相対論的電子ビーム照射

2.1 使用設備

本研究では、高エネルギーの電子ビームを照射する必要がある。そのため実験を行うにあたり、長岡技術科学大学の極限エネルギー密度工学研究センターにある極限エネルギー密度発生・応用装置 ETIGO-III を用いた。ETIGO-III は誘導型パルス電子ビーム加速器である。26kV まで充電を行い、パルストランスにて 670kV まで昇圧し、パルス整形線路を通り 12 個の磁性体コア(3 個/cell, 4 cell)を通じて 8MV の出力電圧を得ることができる[6].

Figure 1 に ETIGO-III の外観写真を、Table 1 に ETIGO-III の設計値を示す。



Figure 1: Appearance of ETIGO-III.

[#] s183132@stn.nagaokaut.ac.jp

Table 1: Design Values of ETIGO-III (1cell)

Input current	15 kA
Input voltage	670 kV
Output current	5 kA
Output voltage	2 MV
Pulse width	50 ns (FWHM)

2.2 照射対象

本実験の照射対象としてアルテミア(*Artemia*)の幼体を採用した。アルテミアは甲殻類に属する節足動物であり、卵の状態では直径約200 μm [7], 幼体では体長約500 μm [8]になる。アルテミアは実際のバラスト水処理試験でも使用されている [9] ため本研究の照射対象とした。また、アルテミアは乾燥卵の状態での保存ができることや海水に投入した後約24時間で孵化すること、孵化適正温度が28 $^{\circ}\text{C}$ であり孵化後活動温度が0 $^{\circ}\text{C}$ ~38 $^{\circ}\text{C}$ であるため一年を通して飼育が可能なることから実験に使用しやすいこともアルテミアを照射対象とした理由である。

2.3 照射実験方法

まず、ディスポカップに塩分濃度2%の人工海水を1L作製し、約120個のアルテミアの乾燥卵を投入した。その後、室温28 $^{\circ}\text{C}$ で28時間以上経過させ、孵化させた。この実験対象を同時期、同環境に2つ用意し、片方のみPIREBの照射を行った。照射を行うアルテミアの幼体はFig. 2に示す照射容器の内部に封入し照射を行った。Table 2に照射を行った際のETIGO-IIIの照射条件を示す。



Figure 2: Irradiation container.

Table 2: Irradiation Condition

Charge set voltage	26 kV
Gap switch pressure	1.2 kg/cm ²
Main switch pressure	0.3 kg/cm ²
Pre-pulse switch pressure	0.1 kg/cm ²
Trigger Pulsar	6 kV
Capacitor charging voltage for guide magnetic field	600 V
Accumulated output voltage	4 MV (cell2 段構成)

2.4 動画撮影

照射したアルテミアの幼体と照射していないアルテミアの幼体をそれぞれシャーレ上に移し、動画撮影を行った。この際、撮影は真上からズームを行わない距離(画質保持のため)で iPhone 8 の内蔵カメラを用いて行った。カメラの設定は4K/60fpsとした。動画撮影後には2160pixel \times 2160pixelの正方形にトリミングを行った。撮影した動画から切り出した画像をFig. 3に示す。赤丸で示した個所がアルテミアであり、そのほかの白い点は人工海水から析出した塩などである。

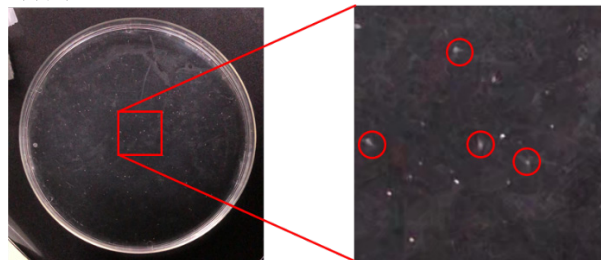


Figure 3: Clipped image of the captured video (right is enlarged image).

3. 活性度解析方法の検討

3.1 評価方法の検討

本研究では、アルテミアの移動を、ある区画のアルテミアの数を一定時間ごとに比較することで、確認する方法を検討した。まず、動画を任意の大きさの格子状に分割する。次に、参照するコマの各格子内のアルテミアやアルテミアが増減した格子の数をカウントし、その一定時間後のコマの各格子内のアルテミアやアルテミアが増減した格子の数をカウントし、比較することでアルテミアの移動の評価を検討した。

評価はアルテミアが増加した格子と減少した格子の数を比較する方法を検討した。この方法ではアルテミアが増加した格子の数とアルテミアが減少した格子の数の差分を取ることで一匹が多く移動しても全体の活性度が高いと評価されてしまうことを防ぐことができる。

3.2 動画解析時の類似度と検出頻度

撮影した動画の解析はプログラムを用いて行った。動画解析をする際にシャーレ中のターゲット(アルテミア)とノイズ(塩など)の識別が問題となった。類似度によるターゲットとノイズの検出頻度の変化をFig. 4に示す。

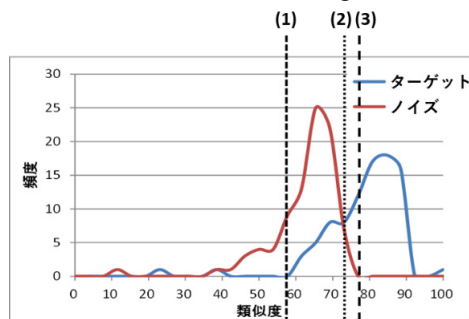


Figure 4: Changes in the detection frequency by the similarity.

Figure 4 は横軸にターゲット及びノイズ間の類似度を、縦軸にターゲットとノイズそれぞれの検出頻度を示したグラフである。Figure 4 の(1)の類似度はターゲットが検出できる閾値であり、この値をターゲットとノイズの閾値とした場合、塩などのノイズを 40%程含む。次に、(2)の類似度はターゲットとノイズそれぞれの検出頻度が等しくなる値である。この値をターゲットとノイズの閾値とした場合、塩などのノイズを 5%程含む、微生物を 30%程検出できない。(3)の類似度はノイズを取らない閾値であり、この値をターゲットとノイズの閾値とした場合ノイズを一切含まないが微生物を 40%程検出できなくなる。本研究では交点である(2)の類似度を用いて以下の検討を行った。

3.3 動画解析結果

解析を行った動画から切り出した画像を Fig. 5 に示す。緑色の四角で示された箇所は、アルテミアとして認識された点である。今回の解析では、格子の大きさはシャーレの直径を 12 等分したものを用いた。解析結果を視覚化するためにターゲットの増減によって格子の色を変化させており、直前のコマと比べ格子内の識別したターゲットが増加している格子は赤く、減少した格子は青く表示している。

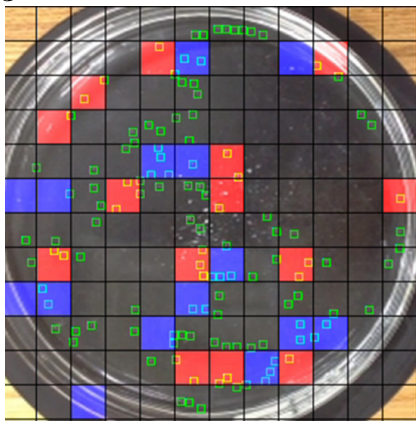


Figure 5: Typical image of video analysis result.

今回撮影した動画からアルテミアの位置の観測には iPhone の内蔵カメラで十分であることが確認できた。一方、水面の反射した位置とアルテミアが重なることで識別が難しくなったことや塩などのノイズによる誤検出などが発生したため、実験方法及び撮影方法の改善が必要であることも確認できた。

4. 結論

本論文ではアルテミアがどれだけ移動したかを観測することで不活化の程度を評価する方法を検討することを目的とした。評価方法はアルテミアが増加した格子と減少した格子の数を比較する方法を検討し、プログラムを用いて撮影した動画の解析を行った。最終的に動画の撮影及び解析からアルテミアの移動を視覚化することができた。一方、ターゲット識別の精度向上のため実験方法及び撮影方法に改善が必要なることが確認できた。

参考文献

- [1] <http://globallast.imo.org>
- [2] Yasutada SUZUKI, "バラスト水の処理及び分析方法", Bull. Soc. Sea Water Sci., Jpn., 70, 20-27(2016).
- [3] Hironobu KONDO, Hiroki TAKEHARA, Takashi KIKUCHI, Toru SASAKI, Go IMADA and Nob. HARADA, "Demonstration for Inactivation of Zooplankton by Irradiation with a Pulsed Intense Relativistic Electron Beam", Plasma Fusion Res. 5, 036 (2010).
- [4] Takahiro Kazetoh, Kazumasa Takahashi, Toru Sasaki, Takashi Kikuchi, Nob. Harada, Go Imada, "Incubation Rate of Zooplankton Egg after Irradiation of Pulsed Intense Relativistic Electron Beam", IEEE Transactions on Fundamentals and Materials, Vol.135 No.6 pp.355-356 (2015).
- [5] Kenta Shoji, Kazumasa Takahashi, Toru Sasaki, Takashi Kikuchi, Nob. Harada, and Go Imada, "Hatchability of Zooplankton Egg in Water after Irradiation with Pulsed Intense Relativistic Electron Beam", IEEE Transactions on Electrical and Electronic Engineering, Vol.12, No.S2 (2017) pp.S127-S128.
- [6] A. Tokuchi *et al.*, Proc. 12th Intl'l Conf. High Power Particle Beams, Vol.1 (1998) pp.175-178.
- [7] <http://plankton.image.coocan.jp/Crustacea1-2-011-1.html>
- [8] <http://plankton.image.coocan.jp/Crustacea1-2-011.html>
- [9] https://www.classnk.or.jp/hp/pdf/activities/statutory/ballastwater/nyo/seibutubunseki_rev2_2010.pdf