2 光路 3 信号方式粒子計数機の開発と緑藻栽培への応用

Development of a triple signal dual light path particle counter and its application to algae cultivation

堀田 昌直[1]　石原 賢一[1]　佐藤 里恵[1]　井上 元[2]　村越 英樹[1*]
Masanao Hotta[1]　Kenichi Ishihara[1]　Rie Sato[1]　Gen Inoue[2]　Hideki Murakoshi[1*]

[1] 東京都立産業技術大学院大学　Advanced Institute of Industrial Technology
[2] 株式会社イービス藻類産業研究所　EBIS Algae Research Institute, Inc.
*Corresponding author: Hideki Murakoshi, hm@aiit.ac.jp

Abstract　In the cultivation of green algae, it is essential to monitor the temperature, water composition and light levels in the culture pond to ensure optimum growth. Early detection of abnormal particles is also important from a quality control perspective. Transmitted light shadow particle counters are compact and portable, but are not suitable for in-situ observation due to the disadvantage of simultaneous passage loss. To overcome this limitation, we have developed a two-photon, three- signal particle counter and evaluated its performance by simulation and experiment. The method allows in-situ correction of losses based on measurements, and the results were valid. We also confirmed that the method can be used for on-line operation.

Keywords　green algae; two-photon; three-signal; particle counter; simultaneous passage loss

1　はじめに

緑藻栽培においては様々な生育条件の最適化が重要であるが，緑藻の品質確保の観点からは栽培溶液中の粒状異物の早期発見も重要項目の一つである．本開発ではそのような要請にこたえるべく粒状異物を常時監視[1]する目的で透過光陰影式液中粒子計数機を開発した．

2　粒子計数機の開発

透過光陰影方式の粒子計数機においては，粒子の作る陰影による光量減少を粒子通過信号としてとらえて計数を行う．しかしながら，測定空間内で距離が離れていても通過時間が近接している 2 個の粒子の陰影は重なり合うため電気信号では 1 個の粒子と認識される．これは同時通過損失と呼ばれる誤差要因であり，避けることはできない物理現象である．同時通過損失[2,3]は式

$$L= [1-\exp(-q\times t\times C)] \quad \text{……..（1）}$$

で表される．ただし

L：　損失比率
q：　流量（l/sec）
t：　測定空間通過時間(sec)
C：　粒子個数濃度(count/l)

である．この誤差は粒子個数の増大にしたがって増大するが，測定における損失誤差は 10%以下を要求されており自ずと測定上限が決められてしまう．

緑藻内の粒状異物の直径を 30～100μm とし，その粒子による光量変動を信号としてとらえることを前提とした場合は粒子の投影面積の 100 倍程度の光路断面積が適当であり，光路の寸法としては幅 1mm，高さ 0.1mm が考えられる．被測定液流量は壁面の汚れを防ぐ意味である程度の流速を確保する必要があり 54mm/sec とすると q ＝0.27ml/sec，t=1.85msec で qt=0.0005 となる．この場合は図 1 に示すように，250 個/ml が上限となり測定可能範囲は決して広いとは言えない．現在は補正式の助けを借りて測定領域の上限を広げている状況であるが，常に補正式の校正を行っておく必要がある．今回の開発では光路を 2 本設け，同時通過損失分を補正して測定上限をさらに上方に拡大することを試みた．

2 本の光路を A，B とし，それぞれの信号を信号 A，信号 B とする．信号 A，信号 B は粒子の通過を検知したパルス列からなるが，上述したように同時刻に通過した 2 個の粒子は 1 個に数えられ信号からは 1 個分が消滅している．含まれる粒子個数が増大するとこの消滅現象は増えることになる．ここで信号 A と信号 B の積（AND）をとって信号 C とすると，信号 C では同時刻に通過した粒子のみが計数される．物理的な同時刻の現象は信号からは消滅するが，電気信号においては同時刻に発生した現象のみを拾い出せることになる．統計的には両者の特性は同等であり，信号 A，信号 B，信号 C を知ることにより同時通過損失分を補填することが可能と考えた．

通常，式（1）で述べた q，t は測定液の粘度に依存し，流路の吸水圧や吐水圧の差にも依存するので，厳密には測定条件ごとに校正が必要であるが，本方法では測定時に q，t の値を実測値として求めることになる．

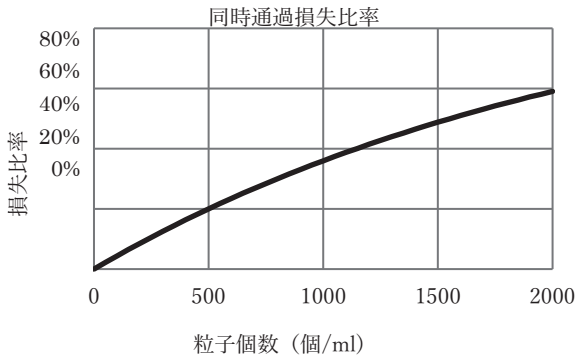

図 1　同時通過損失比率．今回，計画している物理寸法での損失比率予測値を示す．

3　仮想実験

上記着想が有意義かどうかを調べる仮想実験を試みる．仮想測定粒子は 90～106μm 前後に分布し，それ以外に光路の端をかすめるように通過する粒子は小径粒子として分布（図 2-a）しているものとする．条件は設計構想と同じ幅 1mm，高さ 0.1mm，長さ 5mm の 2 本の光路 A，B が中央で交差するように配置した場合を想定した．この光路 A を 400 個/ml の粒子が乱雑に通過するとして，粒子が作り出す陰影の光量変化を受光素子で検出し時系列の電気信号とする（図 2 -b）．この信号の移動

Received: 2024-10-30; Published online: 2025-02-28

平均も同時に作り出し，上記時系列信号と移動平均を比較（図 2-d）し，移動平均より大きいパルスのみを 1 とし，それ以外を 0 としてデジタル信号 A を作り出し（図 2-e）粒子の有無のみを表現する信号とする．同じ操作を別の仮想光路 B でも行い，アナログ信号 B（図 2-c），デジタル信号 B（図 2-f）を得る．デジタル信号 A とデジタル信号 B を比較し，両方とも 1 の時には 1，それ以外は 0 としてデジタル信号 C を作る（図 2-g）．

信号 C は，光路 A と光路 B を同時に通過する粒子があるときのみ 1 となる．すなわち同時通過粒子検出信号であり，統計的には同時通過損失と等価である．従ってこの 3 信号は同時通過損失の式がそのまま適用でき，

$$(A+B)\times(1-\exp(-qt(A+B))=C \quad \cdots(2)$$

と表せる．式（2）から損失係数 qt が求められる．式（2）は 2 光路 3 信号方式を象徴する式と言える．一方で，未知濃度 P と A，B の関係は

$$P\times\exp(-qtP)=(A+B) \quad \cdots(3)$$

と表せ，qt と(A+B)を知ることで P を算出できる．今回の計算では，式（2）で示されているように，(A＋B)が C に減衰するという電気信号での関係を物理量の変化に当てはめているので解釈が紛らわしいが，流量に関係する q の値は 2 光路分の値と考えられる．式（2）を使って得られた qt の値で P を求めるには式（3）に示すように 2 光路を一体として使うのが適当と考え，P から(A+B)を算出するという方法で計算した．

さらに，開発予定の装置では光路の高さ寸法を揃え易くするため 2 光路が中央で交差しているが，検証のため本仮想実験でも同じ構造を再現しているので(A+B)とした場合は中央部だけが二重に集計されることになるので，(A+B)から二重の部分，すなわち，(A+B)の 1/10 を差し引く必要がある．さらに，交差部を通過する粒子は，1 粒子が通過しているのに A，B 両方に検知され，”同時通過の 2 粒子”ではないので，交差部通過粒子は信号 C より排除する必要がある．計算では(A+B)の 1/10 を C から差し引くことで近似できる．以上の修正を加えて測定数値をもとに計算し，最後に ml 当たりの個数に変換する．今回の仮想実験では分析波高粒径 50 μm 相当の場合に信号 A=184 個/ml，信号 B＝174 個/ml，信号 C＝56 個/ml であり，式（2）を用いると qt＝0.00059 が得られる．この値は予測した値 0.0005 に近い．上記 A，B の値から式（3）を使って P 値を求めると P＝412 個となり想定粒子密度 400 個/ml にきわめて近い数値が得られた．

上述した移動平均と比較する際に，移動平均値を直流的にシフトすることで選別する粒子の直径を自由に選ぶことができるが，この機能を利用して粒径 10 μm から 250 μm の範囲での波高分析を行い，同時通過損失を補正した結果を図 3 に示す．補正後の値を青線で示すが，結果は良好と判断できる．

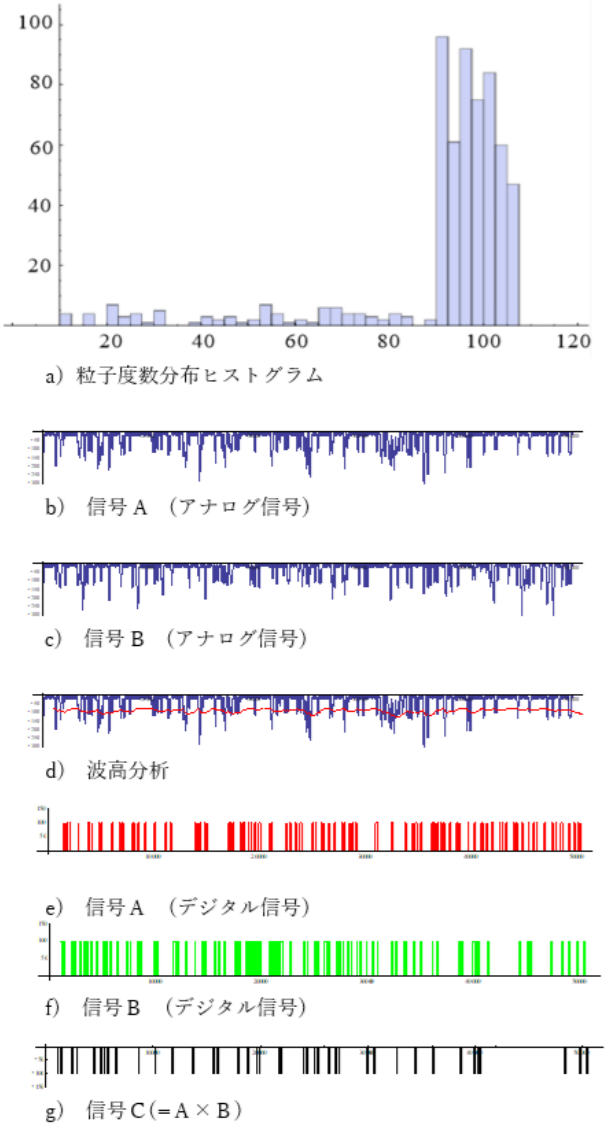

図 2　仮想実験における信号の種類

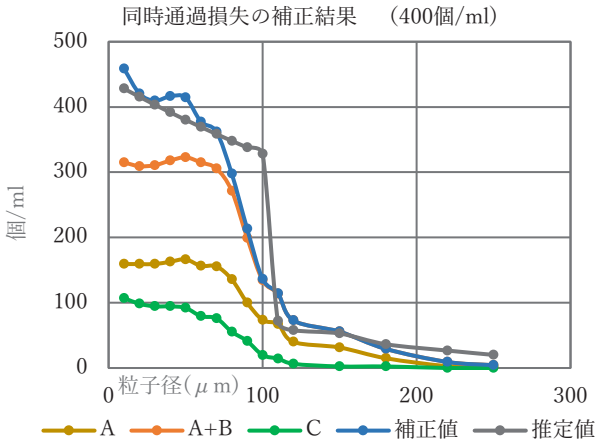

図 3　A, B, C 3 信号による測定値補正仮想実験. 橙線は信号 A，茶線は A＋B，緑線は信号 C を示し，青線が補正した結果である．黒線は予想曲線を示す．

粒子個数 100，200，400，800，1200 個/ml の 5 種類の濃度で仮想実験を行い，表 1 にまとめた．800 個/ml 以下では計数率 50%でも，97%まで補正されている．ただし，(A＋B)のカウント数が 700 個を超えると近似計算の集束が急速に悪くなり，そ

れ以上では発散する．この領域では二重，三重の同時通過損失が発生し始めているものと推測できる．表 1 をグラフにしたのが図 4 である．

仮想実験の結果からは，2 光路 3 信号方式による同時通過損失を補正するために想定したアルゴリズムは，800 個/ml 以下の同時通過損失が 30%以下の領域における測定範囲の上限拡大に多大な効果があることが確かめられた．損失係数とも呼ぶべき qt の値は常に一定であるとは限らず，測定値からその場で qt が得られるのは，装置の経時変化の影響を受けずに測定できるという利点もある．

表 1　　5 種類の濃度での仮想実験値の補正

含有粒子数	実験測定値 (A+B)	補正値
100	105	106
200	147	193
400	313	402
800	384	778
1200	560	855

(個/ml)

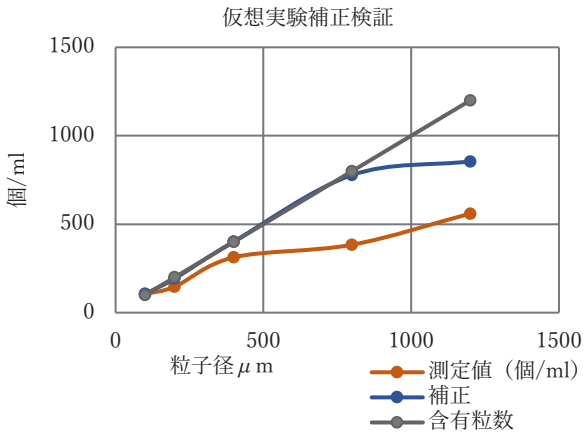

図 4　　測定値の損失補正と含有粒子数の関係

4　試作機製作

被測定液流路を内部寸法 5mm×5mm に整形し，それを横切るように，光路幅 1mm，光路高さ 0.1mm，光路長 5mm の A，B 二つの光路を中央で交差させて配置した．測定光路の概要を図 5 に示す．A，B の光路は中央で交差させているが，これは両者の光路の高さをミクロンレベルで一致させて誤差を少なくする工夫でもある．装置は上述した測定ユニット部を中心に発光素子，受光素子，それらの制御素子，信号処理回路，MPU モジュール，ゲートウエイユニット，それに測定液を循環させるためのポンプよりなる．外観を図 6 に示す．発光源からの光は，光路を通過して受光部で電気信号となるが，清浄水が通過する場合の信号レベルを 2.5V～3V とし，MPU モジュールとして採用した mbed LPC1768 で扱える電圧範囲とした．

実測定では測定液の濁度が信号の直流レベルの低下として現れ，粒子陰影は粒子径に相当する減光パルス状波形として現れる．パルス波高は直径 100μm の粒子で 100mV となるように増幅率を調整する．各光路のアナログ信号は 2 系統に分離し，一系統は時定数 70msec の積分回路を用いて移動平均信号を作り出し，移動平均信号の 90~99%の信号レベルを比較回路の基準信号として利用する．後続の比較回路では，先述のアナログ信号の残りの 1 系統とすぐ上で述べた移動平均信号を比較し，粒子陰影部のパルスのみがデジタルの 0-1 信号に変換される．このデジタル信号はそれに続く計数回路で数値化されて MPU モジュールに読み込まれる．こうして 2 光路からの信号をそれぞれ取り込むと同時に，信号 A と信号 B の AND をとって信号 C を作り，同じように計数回路を通して MPU モジュールに送り込む．一定時間測定したあとに得られるパルス総数は，基準粒径以上の投影面積を有する粒子の個数といえる．比較回路の基準粒径信号のレベルを変えれば[4,5]，任意の大きさの粒子を計測できることになる．

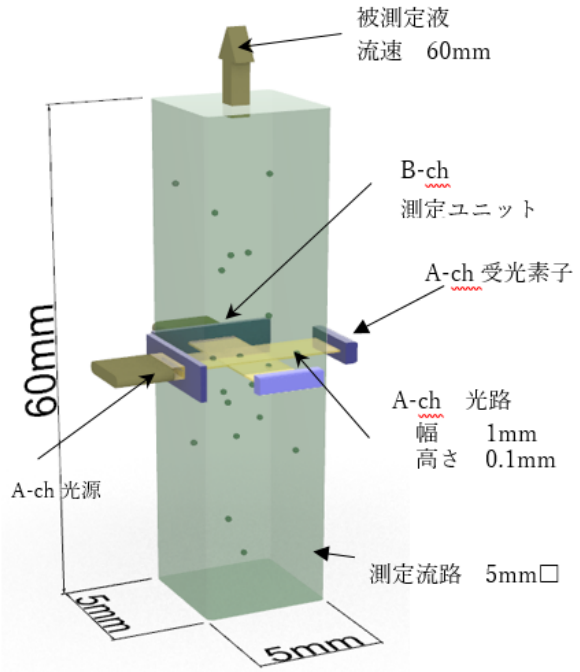

図 5　　透過光量測定部の模式図．二本の光路を設け，中央部で交差させている．

図 6　　装置外観

5　性能確認

装置性能は Cosphenic 社の白色ポリエチレン球(粒径 90~106

μm，比重 1.0）で検証した．試料球の写真を図 7 に示す．

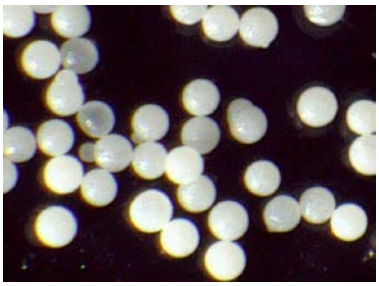

図 7　　試料球．球の直径は 90～106μm に分布している．透明度は一定ではなく，光学的には粒径のばらつきは規格値より大きくなると考えられる．

測定波形を図 8 に示す．図では一番上が A チャンネルの源信号を表し，二番目は源信号を 70msec の時定数で平滑化した波形であり比較回路の比較基準信号として使う．三番目は比較回路で作られた A 信号のパルス波形であり，カウントした結果が測定値となる．一番下は A 信号と B 信号の論理積である信号 C であり，このパルスが統計的な意味で同時通過損失の情報と等価と解釈できる．

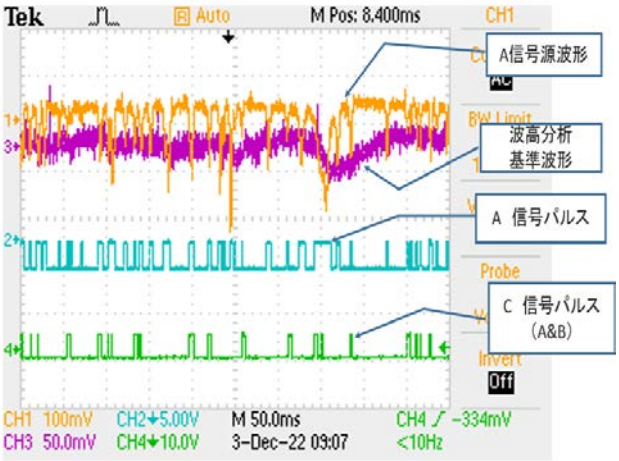

図 8　　測定波形．測定時のシンクロスコープ波形である．信号は上からアナログ信号 A，積分波形，デジタル信号 A，一番下が信号 C である．

粒子濃度 400 個/ml の試料で 16 レベルの波高分析を行い，粒径分布を測定した結果を図 9 に示す．図中の黒丸線は想定測定曲線，橙線は実測値 A＋B であり，最大でも 250 個のカウントにとどまる一方，A，B，C の 3 信号の情報を利用して補正した青線は予想曲線に近づいている．60%の計数率が 76%に上昇した．

上述した 5 種類の全試料液の測定結果とその補正結果を表 2 に示す．数字が示すように 100～800（個/ml）の範囲では補正値は試料濃度の 30%以内の範囲であり，規格に定められた 10%以下までには補正できてはいない．図 10 は表 2 をグラフ表示したものである．仮想実験に比較すると補正は不十分であるが，実測値に比べれば真値に近づいていることが確認できる．黒線は準備した試料濃度，橙線は測定値の信号 A と信号 B の合計値，青線は補正を行った結果を示す．

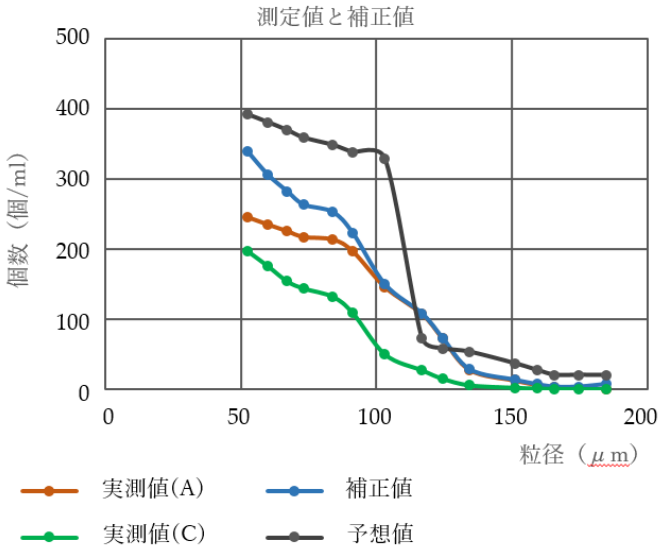

図 9　　400 個/ml の試料液の測定．黒線は計算で求めた予測値，橙線は信号 A，B から求められた測定結果，緑線は信号 C，青線が補正結果である．

表 2　　5 種類の濃度での実測定の補正

試料濃度	測定値	補正値
100	100	107
200	160	184
400	245	304
800	453	581
1200	684	858

個/ml

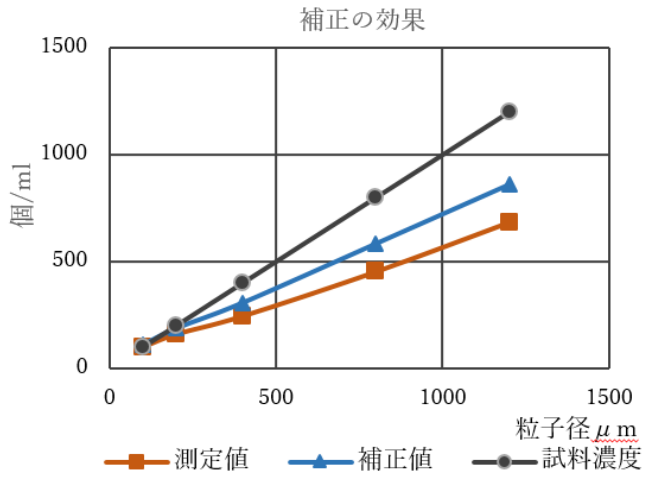

図 1 0　　100～1200(個/ml)補正の結果．5 種類の濃度での損失補正の結果である．

仮想実験との差が大きいのが問題であるが，図 11 をもとにその違いの原因と思われる点を考察する．図 11 では，粒子濃度に対する測定数値(A+B)と同時測定粒子 C の関係を示しているが，大文字は実測定，小文字は仮想実験である．仮想実験のデータのうち，茶色で表示した(a+b)は粒子数が増えるに従い含

有粒は逆に増えてきて，同時通過損失の特性をよく表している．ところが実際の測定では信号 C が非常に少なく，かつ，個数の変化に対応した変化も示していない．この点が，実測定と仮想実験の差の原因と思われる．原因はアナログ信号をデジタル信号に変える部分での回路的な問題が考えられるが，解明は今後の課題としたい．

仮想実験と実測定の両面から調査した結果からは，今回提示した 2 光路 3 信号方式の補正計算の方向性は正しいと考えている．前もって準備された補正式ではなく，測定によってその場で得られたデータをもとに同時通過損失を補正するので測定環境の変化に左右されず補正ができ，また測定ミスの検証も各段階を追って追試可能であり，現実的には測定上限を拡大する有効な方法であると言える．

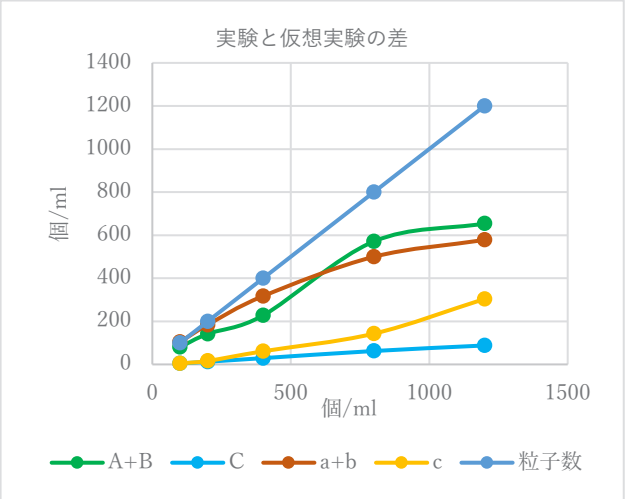

図１１　　実測定と仮想実験の違い. A+B, C が実測定の信号で, a+b, c が仮想実験の信号である.

6　緑藻栽培所での現地計測

宮城県に位置する株式会社イービス藻類産業研究所の緑藻栽培池の溶液の計測を行った．現状では緑藻中の異常粒子の監視に顕微観察という人手に頼る方法で対処しており，今回開発した粒子計数機の有効性を確認するのが目的である．現地には図 12 に示すような培養池が 7 面存在し，今回は 6 面を計測した．いずれの池も緑藻が成長終盤になっており希釈しないと粒子計測器では測定できないことが分かったので，池の栽培溶液のその場での計測は行わず，作業所建物内で栽培液を希釈して測定を行った．

図１２　　緑藻培養池．幅 3m，長さ 60～70m の池が 7 面ある．

合計 6 面の溶液を測定した結果を図 13 に示す．青線は原液を測定したものであり，同時通過損失により測定不能の状態であった．同時通過損失の影響を低下させるため，10 倍と 20 倍の 2 種類の希釈液を測定した．橙色線は 10 倍希釈，灰色線は 20 倍希釈からの結果である．両者とも測定レンジは 50～800 の範囲にあり補正可能な領域である．両者から得られた 1ml 当たりの濃度はほとんど同じ値を示し信頼できるデータとして採用した．

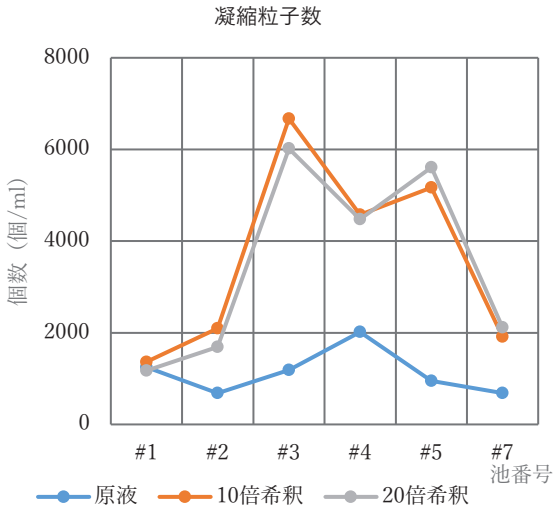

図１３　　6 面の池の緑藻溶液中の粒子測定. 縦軸目盛は最大 8000 個/ml であるが，希釈して測定しているので実際はこれより 1 桁低い濃度で測定している.

現地の作業現場の測定結果と比較した結果を図 14 に示す．グラフでは両者の数値が大きく食い違っているが．（株）イービス藻類産業研究所での測定は顕微鏡像の目視カウントで，粒子径 20μm の小さな対象もカウントしているのに対し，本研究で試作した測定器ではそのような小さな粒径に波高分析を設定するとノイズの影響で測定不能であったため，50μm 相当の波高設定で測定したことによるものであると考える．

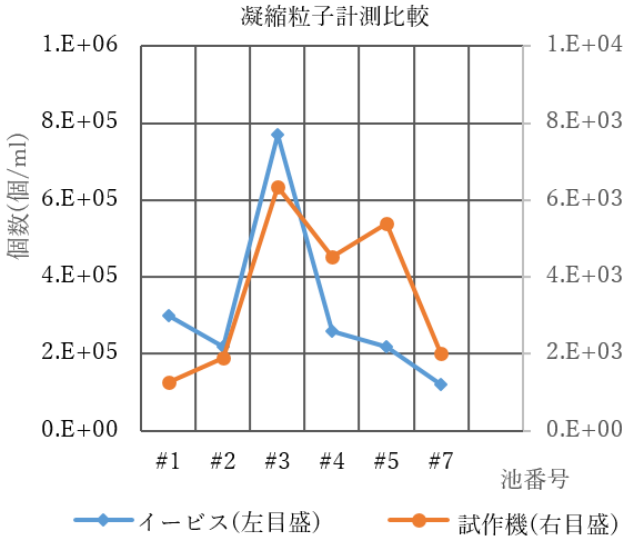

図１４　　(株)イービス藻類産業研究所の測定データと試作機での測定データの比較．青線：イービス(左目盛)，橙線：試作機(右目盛).

緑藻の生育状況を把握するには数量の多寡は判断材料の一つではあるが，特に出荷直前の検査では顕微鏡画像からの目視情報が重要な判断材料になっており，粒子計数器の測定数値だけで判断できる対象ではないと言える．緑藻栽培の規模が大きくなった場合に，精密検査の事前スクリーニングとして今回開発した装置が使用される分野となろう．

7　まとめ

透過光陰影式液中粒子計数機において，2 光路 3 信号処理という新機軸は，従来の計数器の測定上限を 3 倍以上拡大できる可能性を有しており新しい補正方法として有力な候補であることが確認できた．従来は数式で補正していた同時通過損失を，測定時に得られた値で補正できるので装置の経時変化の影響を受けないことも利点と言える．今回は光路を交差させた構造であったため計算が煩雑になったが 2 光路を独立した配置にすれば計算が明快になり，光路断面積を大小 2 種類あるいは 3 種類配置すれば計数可能範囲も広げられる．本開発装置はリアルタイムで補正できるため，オンライン計測にも適している [6,7]．すでに触れたが，本方法は一重の損失分は補正可能であるが二重，三重の損失は補正しきれないので有効範囲は限定される．

もう一つの目的であった緑藻栽培への応用という実用化の可能性に関しては，粒径 20 μm の計数を想定していなかったため信頼性ある結果は示せなかったが，将来的には今回開発した装置の実時間での計数値補正機能を利用したオンライン化の有効性が評価されることを期待したい．

参考文献

1. 車裕輝．液中粒子濃度の測定技術と標準に関する調査研究.産総研計量標準報告. 2020; Vol.10, No.2, pp.167-172.
2. 日本産業規格: 光散乱式液中粒子計数器―校正方法及び検証方法. JIS B 9925: 2010, 7. 6, p.8.
3. 金川昭，柴尾周平.光散乱粒子カウンターの同時計数誤差に関する理論的考察．化学工学論文集. 1979; Vol.5, No.2, pp.188-193.
4. 向坂保雄，粒径評価に対する二，三の留意点．粉体工学会誌. 1989; Vol.26, No.6, pp.433-438.
5. 内山英樹．懸濁粒子の粒度分布測定.水質汚濁研究. 1986; Vol.9, No.12, pp.763-766.
6. 宮南啓．粒度測定の自動化とデータ処理．粉体工学会誌. 1980; Vol.17, No.6, pp.319-324.
7. 井上外志雄．オンライン粒度測定法.粉体工学会誌. 1980; Vol.17, No.6, pp.313-319.