

第3章 電波影響解析における情報科学解析 ～沈殿現象の顕微鏡画像を題材に～ (梅谷智弘)

3-1. はじめに

近年、電磁波による生体や生命現象への影響を詳細に解析する研究が行われている。その研究の一つとしてバイオミネラリゼーションという化学反応において生成物の形状や沈殿量などをナノレベルで制御を試みる研究が行われている。ペプチドを用いた炭酸カルシウムのミネラリゼーションは加熱することにより炭酸カルシウムを沈殿させる化学反応である。この反応において、加熱条件により炭酸カルシウム沈殿物の形状が異なることが生成物の電子顕微鏡画像より読み取れる。

通常加熱では粒子状の沈殿物が見られ、電磁波照射による加熱では網目状の形状が見られる。さらに二方向からの電磁波照射による加熱においても他の条件と形状が異なっている。ところで、この判断は顕微鏡画像を扱う研究者の視覚による主観的判断であり、加熱条件による沈殿の形状の違いを客観的に示す方法は確立できていない。詳細解析を行うにあたり客観的に加熱条件による分類を行うことが必要であり課題として挙げられている。一方ナノ材料分野において、電子顕微鏡画像の定量解析の手法として画像の周波数解析や特徴抽出があり^[2]、また、ウェーブレット解析などの信号処理や統計解析による手法が行われている^[3]。

本章では、顕微鏡画像に対する2次元フーリエ変換を用いて得られたパワースペクトルの特定の角度・特定の周期パワーに着目し、周期パワーの散布図により加熱条件の分類を客観的に行う方法を検討する。本稿での検討では同じ条件でも形状にはばらつきがあるため解析対象は目視による判断で典型例と思われる顕微鏡画像に限定する。パワースペクトルの組み合わせにより反応条件からの生成物の違いを識別できる可能性を実験により示す。

3-2. 方法

本章では、化学反応として、炭酸カルシウムのミネラリゼーション反応をとりあげ、各条件下における透過型電子顕微鏡 (TEM) 画像を解析する。

3-2-1. 顕微鏡画像と反応条件

顕微鏡画像の条件を以下に示す。スケールは 1302.34 nm × 1302.34 nm、2048 × 2048 ピクセル、分解能は約 0.636 nm である。データ形式は 32 bit グレイスケール画像でファイル形式は電子顕微鏡画像のフォーマットである DM3 形式である。

反応条件を表 3.1 に示す。通常加熱は容器の表面を外部から加熱し熱伝導で内部を加熱する方法であり、電磁波照射による加熱は電磁波が容器を透過し物質の内部へ浸透・吸収され加熱する方法である^[4]。電磁波照射による加熱においては電界強度と電磁波照射装置の出力の間に線形性があるため^[1]、10 W、30 W、200 W を採用する。基準として室温で反応させた場合を用い、通常加熱による反応、電磁波照射による反応条件での生成物の電子顕微鏡画像を用いて分類する。なお、電磁波照射による反応時の温度変化は 10 W の電磁波照射時で 30°C、200W の電磁波照射時で 60°C まで上昇する。対照群として、30°C、60°C の通常加熱、さらに、極端な温度変化の例として 90°C で加熱反応させた条件を採用する。

表 3.1 : 反応生成物の加熱条件

反応条件	条件
室温	r. t. (room temperature)
通常加熱	30°C、60°C、90°C
電磁波照射 (1 方向)	10 W、30W、200W
電磁波照射 (2 方向)	200 × 200 W

3-2-2. 顕微鏡画像の周波数解析

分類の方法を図 3.1 に示す。顕微鏡画像に 2 次元フーリエ変換を求め、各角度 (0 deg, 15 deg, 30 deg, ..., 90 deg) の低周波領域の周期パワーを求め、生成物の性質を調べるために角度ごとの周期パワーを比較する。この方法をもとに分類を行う。

分類の方法の流れを図 3.2 に示す。顕微鏡画像全体の輝度の平均値を求め減算し、輝度の平均値がゼロの画像を作成する。その画像に対して 2 次元フーリ

エ変換を行い、パワースペクトルを求める。パワースペクトルから特定の角度の長周期・中周期・短周期のパワーに着目しその散布図を求める。

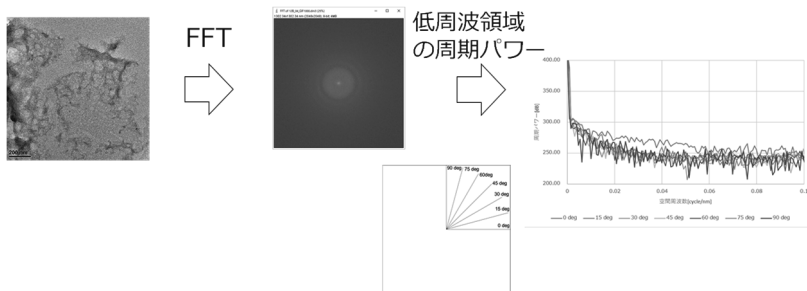


図 3.1 周波数解析の概略

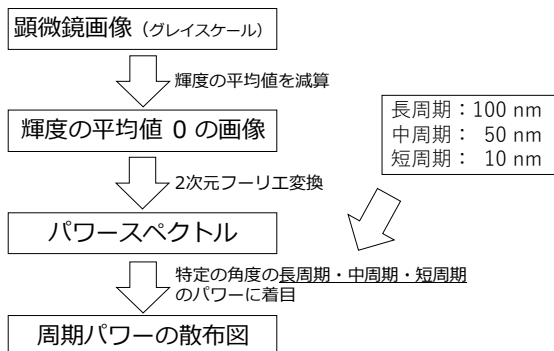


図 3.2 分類方法の概略

まず、前処理としてノイズの除去を行うため顕微鏡画像全体の輝度の平均値を求め、各輝度の値から求めた平均値を減算し輝度の平均値 0 の画像を取得する。作成した画像に対して 2 次元フーリエ変換を行い、対象画像の 2 次元パワースペクトルを得る。

次に、角度ごと (0 deg, 15 deg, 30 deg, ..., 90 deg) の周期 100 nm、50 nm、10 nm の周期パワーに着目し散布図を求める。周期パワーについては、各反応条件における各々の角度におけるパワースペクトルを求め比較し、特徴的であった目視可能な 100 nm、50 nm 成分 (以下、長周期、中周期)、目視が困難である 10

nm のパワー成分（短周期）を選択した。反応条件による弁別の特徴的な周期の自動検出は今後の課題である。また、1 条件のサンプルで 7 点得られることに注意する。顕微鏡画像によっては網目状の生成物が生じたり、生成物が等方ではなかったりするため角度ごとの周波数成分は異なる。また、同じ条件でも形状にばらつきがあり、反応生成物を捉えられていない場合もあるため、各条件における顕微鏡画像は事前に研究者によって典型例であると判断した画像を解析対象とし、通常加熱（60°C）は 1 枚、他の条件はそれぞれ 3 枚使用する。

3-3. 実験の結果

本節では解析実験の結果を説明する。全加熱条件を散布図で解釈するのは困難なため、全加熱条件での解釈も行うが通常加熱、電磁波照射による加熱、同じ温度変化での加熱といったようにわけて解釈も行う。

3-3-1. 全加熱条件

長周期と中周期のパワーの散布図（全加熱条件）を図 3.3 に示す。室温条件を挟んで電磁波照射（10 W）、電磁波照射（200 W）の分布が両側に広がっている。90°Cには極端に高いパワーが存在する。

長周期と短周期のパワーの散布図（全加熱条件）を図 3.4 に示す。室温条件

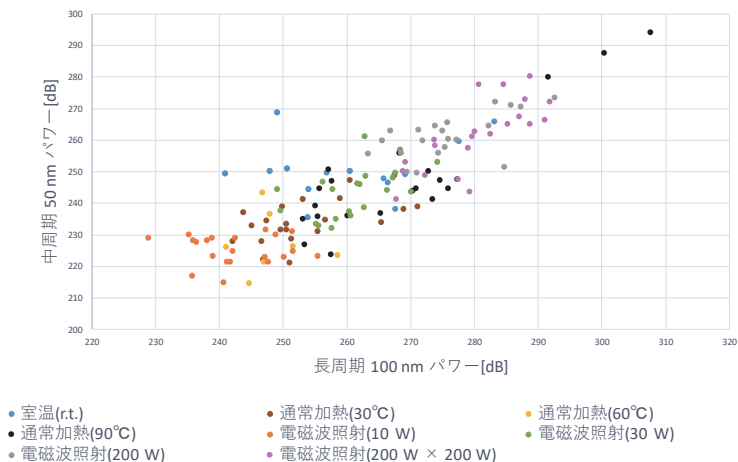


図 3.3 長周期と中周期のパワーの散布図（全加熱条件）

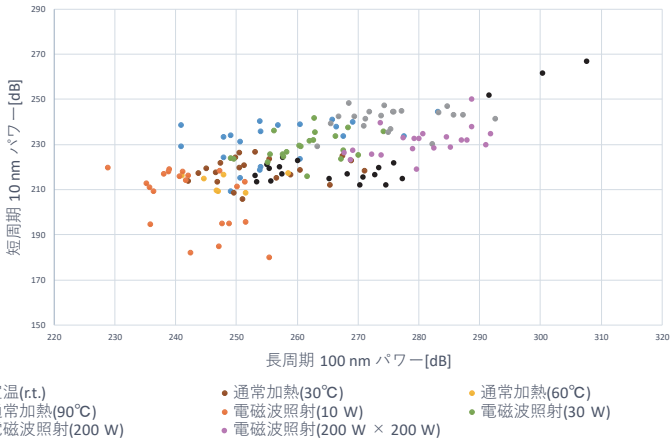


図 3.4 長周期と短周期のパワーの散布図（全加熱条件）

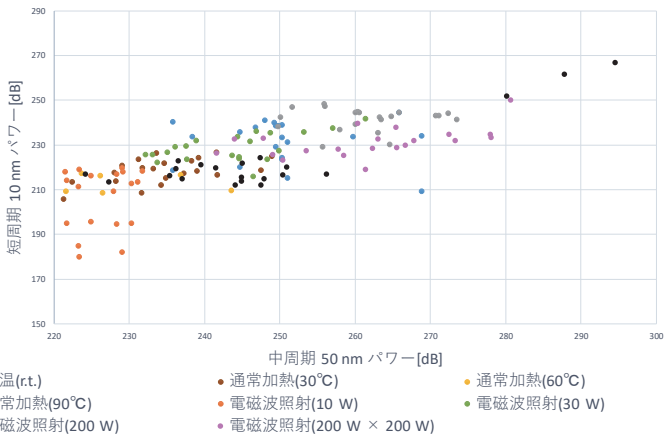


図 3.5 中周期と短周期のパワーの散布図（全加熱条件）

を電磁波照射（10 W）と電磁波照射（200 W）が挟むような分布となっている。室温はほぼ同じパワーで電磁波照射については中周期のパワーのほうが大きい。90°C加熱では極端の高いパワーが存在する。

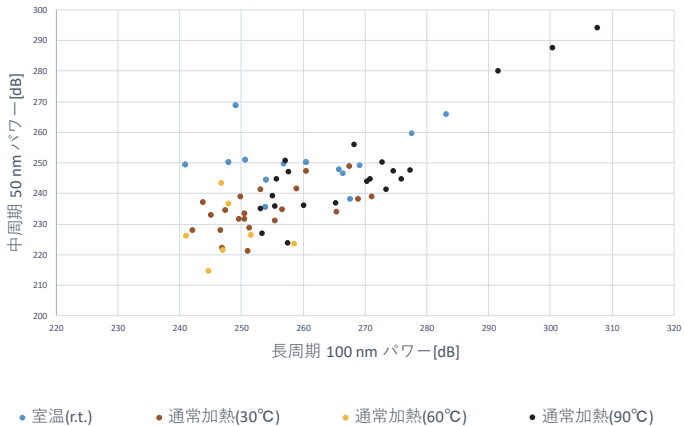


図 3.6 長周期と中周期のパワーの散布図（通常加熱）

中周期と短周期のパワーの散布図（全加熱条件）を図 3.5 に示す。室温条件を電磁波照射（10 W）と電磁波照射（200 W）が挟むような分布を示している。90°C加熱では極端に高いパワーが存在する。

3-3-2. 通常加熱の場合

長周期と中周期のパワーの散布図（通常加熱）を図 3.6 に示す。通常加熱（90°C）には極端に高い周期パワーが存在する。特定の領域に全条件ほとんどの周期パワーが分布しており、重なりがみられる。

長周期と短周期のパワーの散布図（通常加熱）を図 3.7 に示す。通常加熱（90°C）には極端に高い周期パワーが存在する。それらの周期パワーを除くと室温条件の短周期パワーは他の条件より大きいことがわかる。

中周期と短周期のパワーの散布図（通常加熱）を図 3.8 に示す。通常加熱（90°C）には極端に高い周期パワーが存在する。通常加熱（90°C）の極端に高い周期パワーと室温条件以外の周期パワーが室温条件を挟む分布となっている。そのため室温条件に比べ相対的に小さな物質が析出しているといえる。

3-3-3. 電磁波照射

長周期と中周期のパワーの散布図（電磁波照射による加熱）を図 3.9 に示す。

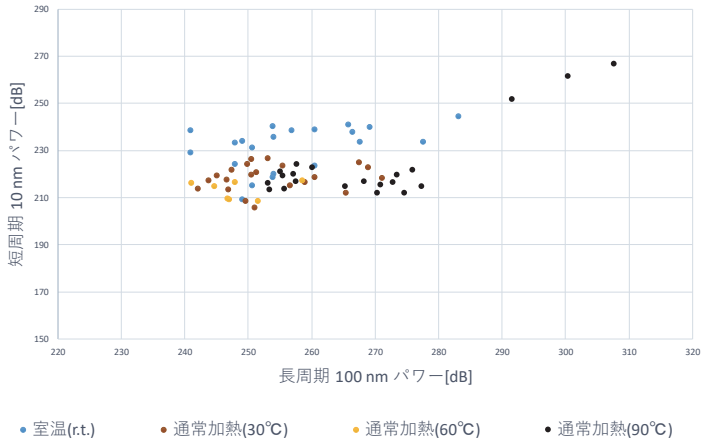


図 3.7 長周期と短周期のパワーの散布図（通常加熱）

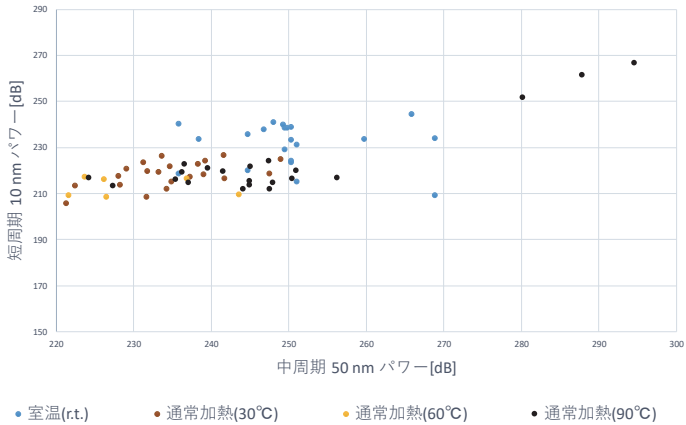


図 3.8 中周期と短周期のパワーの散布図（通常加熱）

室温条件を挟んで電磁波照射（10 W）、電磁波照射（200 W）の分布が両側に広がっている。また電磁波の出力が大きいほど周期パワーも大きくなることが読み取れる。通常加熱の場合と比べると周期パワーの分布の違いが明らかにあら

22 生体への影響解析のための電波照射装置の開発と開発研究におけるアウトリーチ活動

われている。

長周期と短周期のパワーの散布図（電磁波照射による加熱）を図 3.10 に示す。室温条件を挟んで電磁波照射（10 W）、電磁波照射（200 W）の分布が両側に広

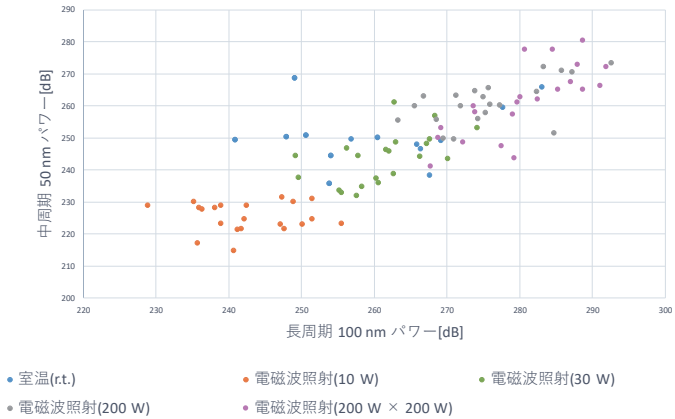


図 3.9 長周期と中周期のパワーの散布図（電磁波照射）

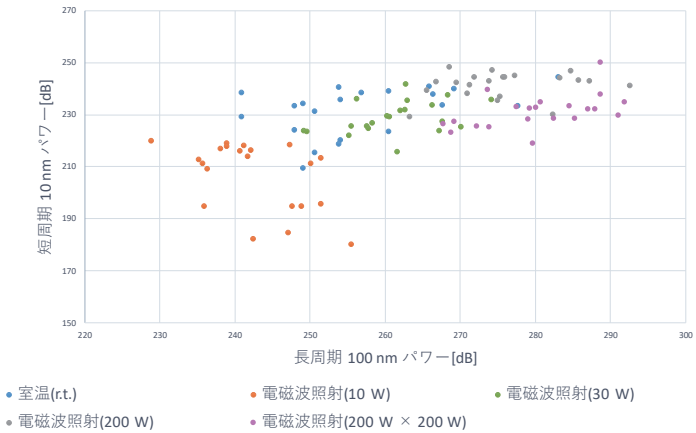


図 3.10 長周期と短周期のパワーの散布図（電磁波照射）

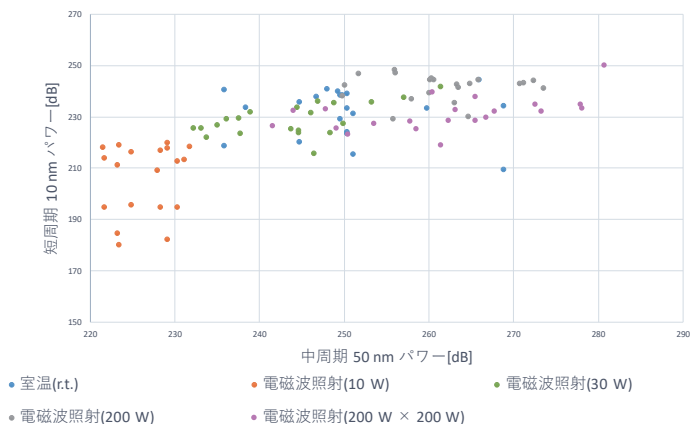


図 3.11 中周期と短周期のパワーの散布図（電磁波照射）

がっている。また電磁波の出力が大きいかほど周期パワーも大きくなることが読み取れる。通常加熱の場合と比べると周期パワーの分布の違いが明白にあらわれている。

中周期と短周期のパワーの散布図（電磁波照射による加熱）を図 3.11 に示す。室温条件を挟んで電磁波照射（10 W）、電磁波照射（200 W）の分布が両側に広がっている。また電磁波の出力が大きいかほど周期パワーも大きくなることが読み取れる。通常加熱の場合と比べると周期パワーの分布の違いが明白にあらわれている。

今後、二方向からの電磁波照射については出力を変えた条件を追加し検証することが課題である。

3-3-4. 同じ温度変化の加熱

電磁波照射による反応時の温度変化は 10 W の電磁波照射時で 30°C、200 W の電磁波照射時で 60°Cまで上昇する。対照群として、通常加熱（30°C）、通常加熱（60°C）を用いる。

長周期と中周期のパワーの散布図（温度変化 60°C）を図 3.12 に示す。通常加熱（60°C）の周期パワーより電磁波照射（200 W）の周期パワーの方が大きいこ

24 生体への影響解析のための電波照射装置の開発と開発研究におけるアウトリーチ活動

とがわかる。通常加熱（30°C）と電磁波照射（10 W）では通常加熱（30°C）の方が周期パワーは大きい。

長周期と短周期のパワーの散布図（温度変化 60°C）を図 3.13 に示す。通常加

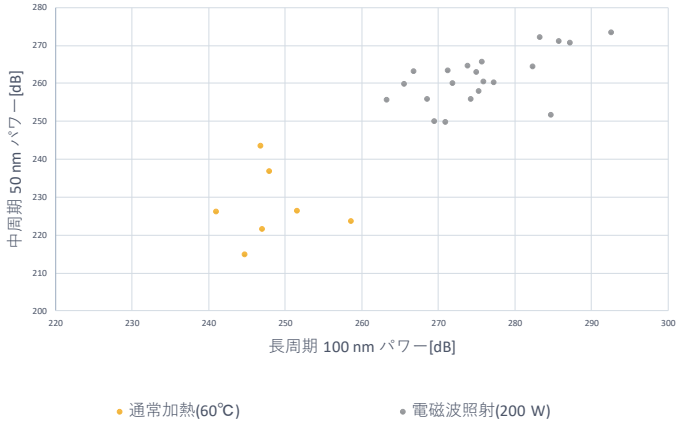


図 3.12 長周期と中周期のパワーの散布図（温度変化 60°C）

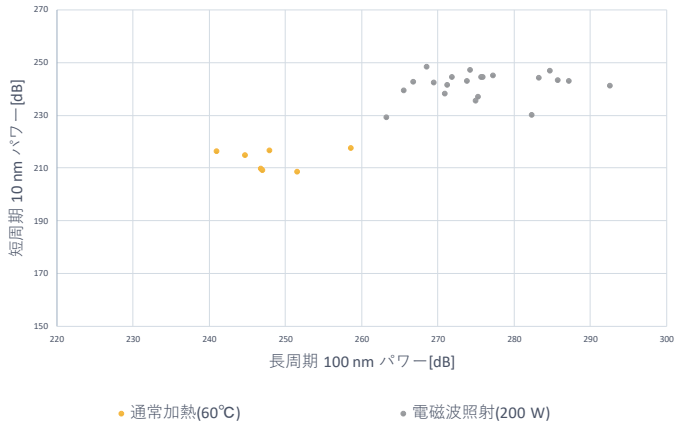


図 3.13 長周期と短周期のパワーの散布図（温度変化 60°C）

熱 (60°C) の周期パワーより電磁波照射 (200 W) の周期パワーの方が大きいことがわかる。通常加熱 (30°C) と電磁波照射 (10 W) では通常加熱 (30°C) の方が周期パワーは大きい。

中周期と短周期のパワーの散布図 (温度変化 60°C) を図 3.14 に示す。通常加

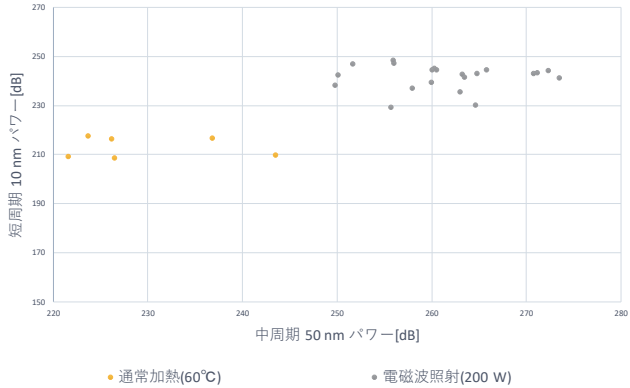


図 3.14 中周期と短周期のパワーの散布図 (温度変化 60°C)

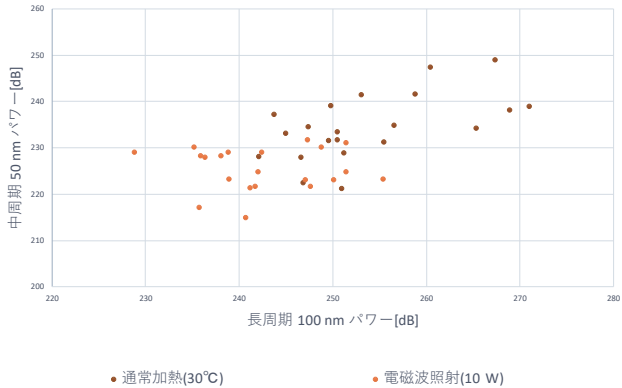


図 3.15 長周期と中周期のパワーの散布図 (温度変化 30°C)

26 生体への影響解析のための電波照射装置の開発と開発研究におけるアウトリーチ活動

熱 (60°C) の周期パワーより電磁波照射 (200 W) の周期パワーの方が大きいことがわかる。通常加熱 (30°C) と電磁波照射 (10 W) では通常加熱 (30°C) の方が周期パワーは大きい。

また、温度変化が 30°C となる長周期と中周期のパワーの散布図を図 3.15、長

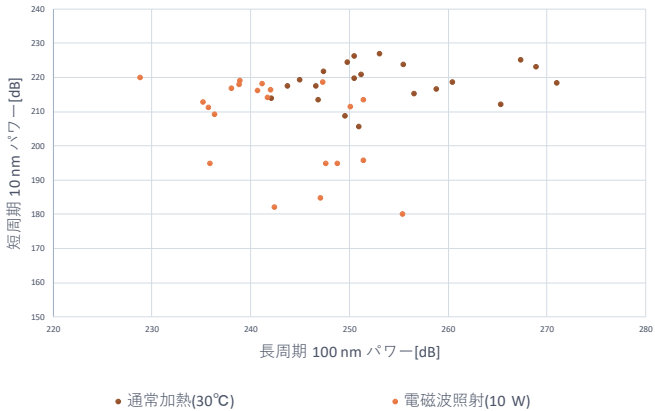


図 3.16 長周期と短周期のパワーの散布図 (温度変化 30°C)

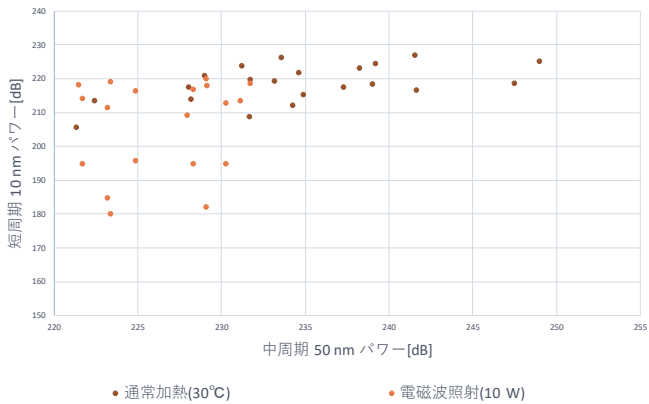


図 3.17 中周期と短周期のパワーの散布図 (温度変化 30°C)

周期と短周期のパワーの散布図を図 3.16、中周期と短周期のパワーの散布図を図 3.17 にそれぞれ示す。いずれの場合でも、電磁波照射（10 W）より通常加熱（30°C）の方が周期パワーは大きくなっていることが図より読み取れる。

3-4 実験の考察

今回の実験では、目視による分類の判断と各条件の散布図の分布の違いが一致することから定量的な分類が行えており、目視での定評評価と類似の議論ができる可能性が示された。また、パワーの分布は妥当であると考えられる。

通常加熱についてはほぼ変化しないものの、散布図内で片方の軸は変化せず、もう片方の軸が変化する動きがある。電磁波照射による加熱では電磁波の強さに応じて画像のパワーが変化しており画像においても各成分での大きい物質が析出している可能性が示された電磁波の強度で生成の制御が行える可能性が示唆された。

以上より、各々の成分の比較や周期成分の比などを指標に分類できると思われる。たとえば、図 3.5 の中周期と短周期のパワーの比較において、室温条件と他の条件の分布を比較すると、中周期のパワーが短周期のパワーより大きく異なっていることから他の条件のほうが相対的に大きな物質が析出しているといえる。

今後は分類が困難なものについては着目する周期を変えて分類できるかどうかを検証する。また、別の周波数解析による分類方法の検討や機械学習の導入、顕微鏡画像のサンプル数の増加による本手法の有効性の検証、他の反応系での手法の適応などが課題である。

3-5. 結論

本章では、電子顕微鏡画像に対する 2 次元フーリエ変換を用いて得られたパワースペクトルの特定の角度・特定の周期パワーに着目した散布図により加熱条件の分類を客観的に行う方法について検討した。全加熱条件、通常加熱、電磁波照射による加熱、同じ温度変化での加熱の分類実験により、目視による観察と同様の検討が行える可能性を示した。

今後は分類が困難なものについて、着目する周期を変えて分類できるかどうかを検証する。別の周波数解析による分類方法の検討、機械学習の適応、顕微

鏡画像のサンプル数を増やすことなどにより本手法の有効性を検証することなどが課題である。さらに別の反応系での電子顕微鏡画像に適応し本分類手法の可能性を検証する。

3-6. 謝辞

本研究全般の遂行は、本学学生の中田圭祐氏が主に行った。ここに感謝の意を表明する。

3-7. 参考文献

- [1] 日本電磁波エネルギー応用学会論文誌, **1**, 17-24 (2017).
- [2] 顕微鏡, **44**, 47-51 (2009).
- [3] 顕微鏡, **46**, 24-29 (2011).
- [4] マイクロ波の化学プロセスへの応用, シーエムシー出版 (2011).