

戦略的国際共同研究プログラム(SICORP)

日本－英国共同研究

終了報告書 概要

1. 研究課題名：「ホログラフィックカメラとラマン分光分析を統合利用した、深海粒子の長期化学計測カメラ「RamaCam」の開発」
2. 研究期間：平成30年4月～令和4年3月
3. 主な参加研究者名：

日本側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	Dhugal John Lindsay	主任研究員	国立研究開発法人 海洋研究開発機構	研究統括、データ解釈
研究参加者	高橋朋子	Young Research Fellow	国立研究開発法人 海洋研究開発機構	ラマン分光、手法統合、データ解析
研究参加者	Mehul Sangekar Naresh	臨時研究補助員	国立研究開発法人 海洋研究開発機構	手法統合
主たる共同研究者	Zonghua Liu	特任研究員	東京大学生産技術研究所	ホログラフィ、手法統合、データ解析
研究期間中の全参加研究者数			4名	

英国側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	Blair Thornton	Professor	University of Southampton	研究統括、データ解析
主たる共同研究者	Thanga Thevar	Senior lecturer	University of Aberdeen	ホログラフィ
研究参加者	John Watson	Emeritus Professor	University of Aberdeen	ホログラフィ
研究参加者	Nick Burns	Post-doc fellow	University of Aberdeen	ホログラフィ、手法統合
研究期間中の全参加研究者数			4名	

4. 国際共同研究の概要

本研究は、ホログラフィックカメラとラマン分光を統合した小型粒子化学計測センサーの開発を目的とした。ホログラフィックカメラによりプランクトンなど海中浮遊粒子の形状を計測すると同時に、ラマン分光分析により分子構造情報を測定し統合解析することで、詳細な深海粒子分布の広範囲にわたる長期観測を目指した。日本側チームはラマン分光分析の小型化とホログラフィックカメラとの統合化、計測実験と妥当性・実用性の検証を行い、英国側チームはホログラフィックカメラ部分の開発を主として行った。イギリスと日本の技術を複合した粒子化学センサーの開発を実現し、今後協働関係を継続することで、深海環境影響評価の革新的なツールとして実用的に貢献することが期待できる。

5. 国際共同研究の成果

5-1 国際共同研究の学術成果および実施内容

本研究では、国際共著論文 3 報・国際ビデオコンペティションでの受賞を始めとする、多くの国際的な学術成果を収めた。研究は4つのワークパッケージ（WP）に分けて下記の

ように実施した。

WP1：小型ホログラフィックカメラの開発

通常ホログラフィックカメラではパルスレーザーを用いることでブレのない画像を得ることができるが、本研究では低消費電力・小型の連続光レーザーを用い、高速な小型カメラを使うことで高速かつ鮮明に画像を取得できることを実証した。WP3 で開発した実験室用プロトタイプを用い、プランクトンの3次元的な遊泳行動の解析ができることを示し、論文発表した。また、将来的に小型システムの長期海中運用を目指し、保存あるいは転送する画像データサイズの縮小や選別のため、通常ホログラフィ画像解析に必要な再構築のプロセスを行う前の、生のホログラフィ画像から、機械学習を用いて直接形状分類を行う手法を考案し、論文発表した。

WP2：小型ラマン分光分析開発

レーザー波長 785 nm と 532 nm の比較検討を行い、532 nm の方が粒子とビームサイズの関係が寛容であるとわかった。また、532 nm の波長で懸念していた蛍光影響について、有機物と無機物で違うパターンの蛍光を出し、蛍光も粒子の分類に有益な情報となることを確認し、532 nm の方が優位であることがわかった。

WP3：統合システム開発

両国チームでホログラフィックカメラとラマンの統合システムの設計案を検討し、妥当性や必要な光学機器等について詳細に議論した。まず粒子の自然な動きを妨げない工夫を凝らした実験室用プロトタイプを開発した。また、最終年度では計測の半自動化アルゴリズムを搭載した深海用プロトタイプを製作・実海域運用に成功した。

WP4：計量計測試験・解析

代表的な海中浮遊粒子として、数 mm 以下のサイズの有機粒子、無機粒子、数種類のプラスチックペレットを用いて実験を行い、ホログラフィ画像とラマン信号両方取得して粒子の種類を識別できることを示した。コリメートレーザービームを用いた、ホログラフィとラマンの同時取得は世界で初めての成果であり、論文発表した。

5-2 国際共同研究による相乗効果

本研究は、海中粒子の知見に詳しい海洋研究開発機構、オプティクスを利用した海中機器・装置を開発している英国サウサンプトン大学、レーザー分光分析の海中応用をリードする東京大学、ホログラフィックカメラの海中応用をリードするアバディーン大学が、それぞれ知見を持ち合った。定期的な打合せや研究者派遣により実験室検討やディスカッションを重ね、詳細な最適実験・システム条件の検討を行って開発を進めたことで、ホログラフィックカメラとラマン分光分析を統合した実験室用プロトタイプ（技術成熟度レベル4）および深海用プロトタイプ（技術成熟度レベル5）の開発・運用を達成した。また、国際共著論文3報という成果も収めた。

5-3 国際共同研究成果の波及効果と今後の展望

本研究で開発した手法により、現状サンプリングによる以外では得ることが難しかった海中粒子の分布を広範囲・長期に、今までよりはるかに高い空間・時間分解能で調査できるようになる。日本国内で関連した研究費をすでに獲得していて、今後も国際共同研究関係を継続し、実際にフロートなど長期運用型プラットフォームに搭載することを目指す。浮遊粒子の長期的な動的・経時的変化を調査できれば、海洋化学における物質循環や、マイクロプラスチックなどの海洋汚染状況の解明につながり、学術的にも社会的にも貢献することが期待できる。

Strategic International Collaborative Research Program (SICORP)
 Japan – UK Joint Research Program
 Executive Summary of Final Report

1. Project title : 「RamaCam - In situ holography and spectroscopy for scalable analysis of deep-sea marine particles in deep-sea environments」
2. Research period : April 2018 ~ March 2022
3. Main participants :

Japan-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the research project
PI	Dhugal J Lindsay	Senior Staff Scientist	JAMSTEC	Management & integration, Data interpretation
Collaborator	Tomoko Takahashi	Young Research Fellow	JAMSTEC	Raman spectroscopy; system integration, data analysis
Collaborator	Mehul N Sangekar	Research Assistant	JAMSTEC	System integration
Co-PI	Zonghua Liu	Project researcher	University of Tokyo	Holography, system integration, data analysis
Total number of participants throughout the research period:				4

(JAMSTEC = Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology)

UK-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the research project
PI	Blair Thornton	Professor	University of Southampton	Project management and integration, data analysis
Co-PI	Thanga Thevar	Senior lecturer	University of Aberdeen	Holography
Collaborator	John Watson	Emeritus Professor	University of Aberdeen	Holography
Collaborator	Nick Burns	Post-doc fellow	University of Aberdeen	Holography, system integration
Total number of participants throughout the research period:				4

4. Summary of the international joint research

The project aimed at developing a compact, quantitative particle morphometrics and chemistry-measuring sensor, integrating holography and Raman spectroscopy. Holography measures the 3D morphometrics of plankton and other suspended particles in the ocean, while Raman spectroscopy analyses the molecular composition. The Japanese team miniaturised the Raman spectrometry components, integrated them with a holographic camera, conducted experiments and verified its validity and practicality, while the UK team developed the holographic camera part. The development of a particle chemistry sensor combining British and Japanese technologies has been successful and should advance deep-sea ecological environment assessments in the future.

The major focus was developing technology to perform measurements with large volumetric throughputs to enable meaningful studies of deep-sea environments beyond the euphotic zone. The developed sensor promises a next-generation dramatic change in our ability to perform in-situ observations of deep-sea particles by enabling simultaneous micrometer-resolution imaging and label-free chemical analysis. The integrated analytical capabilities were proven to be at TRL 4 “technology validated in laboratory” and were furthermore tested in situ, far surpassing the original goals of the project. Further work on developing an even more compact and low power setup should enable development of a commercial sensor.

5. Outcomes of the international joint research

5-1 Scientific outputs and implemented activities of the joint research

The study produced a number of notable international academic results, including three co-authored papers in international journals and an award in an international video competition. The research was divided into four work packages (WPs) as follows

WP 1: Development of a miniature holographic camera

While pulsed lasers are usually used in holographic cameras to obtain blur-free images, this study demonstrated that a continuous light laser with low power consumption and small size can acquire images quickly and clearly using a high-speed camera. A laboratory prototype enabled analysis of the 3D swimming behaviour of plankton, and a paper was published. In order to reduce the size of the image data to be stored or transferred and to select images for long-term underwater operation of small systems in the future, a direct shape classification method using machine learning was devised from raw holography images before the reconstruction process normally required for holography image analysis, and the method was presented in a paper.

WP2: Compact Raman spectroscopy analysis development

A comparative study of laser wavelengths of 785 nm and 532 nm was carried out, finding that the relationship between particles and beam size is more optimal at 532 nm. The foreseen fluorescence signal at the 532 nm wavelength actually helped distinguish between organic and inorganic materials, indicating that 532 nm was superior.

WP3: Integrated system development

The two national teams first determined the specifications of a prototype for laboratory use and manufactured it such that the natural movement of particles was not disturbed.

In the final year, a deep-sea prototype, equipped with a semi-automated algorithm for measurement was successfully developed and tested in-situ.

WP4: Measurement testing and analytical verification

Experiments were conducted with organic, inorganic, and several types of plastic particles (size < a few mm) representative of marine particles. The simultaneous acquisition of holographic and Raman spectrum data using a collimated laser beam was the first achievement of its kind in the world and was published in an international scientific journal. Combining holographic images and Raman signals enabled identification of particle type and an improvement in the accuracy of classification was achieved by integrating and analysing both the image and Raman signal using machine learning. A paper on this topic is currently being prepared for submission.

5-2 Synergistic effects of the joint research

The study brought together the knowledge at JAMSTEC (underwater particles); the University of Southampton, UK (underwater optical instruments); the University of Tokyo (underwater laser spectroscopy); and the University of Aberdeen (underwater holography). Through regular meetings and the dispatch of researchers, laboratory studies and discussions were held, and detailed optimum experimental and system conditions were studied and developed, resulting in a laboratory prototype (technology readiness level 4) integrating a holographic camera and Raman spectrometer. A deep-sea prototype (technology readiness level 5) was also developed and tested in situ. The project also resulted in the publication of three international co-authored papers.

5-3 Scientific, industrial or societal impacts/effects of the outputs

The developed method will enable the distribution of marine particles to be investigated over a larger volume and longer period of time, with much higher spatial and temporal resolution, illuminating material flux cycles and microplastic pollution. The research has already led to a successful bid for follow-on research funding in Japan, and our international collaborative research relationship will continue, with the aim of actually installing the system on floats and other long-term operational platforms in the future.

国際共同研究における主要な研究成果リスト

1. 論文発表等

*原著論文（相手側研究チームとの共著論文）発表件数：計 3 件

・査読有り：発表件数：計 3 件

1) Liu, Z., Thevar, T., Takahashi, T., Burns, N., Yamada, T., Sangekar, M., Lindsay, D., Watson, J., & Thornton, B. Unsupervised feature learning and clustering of particles imaged in raw holograms using an autoencoder. *Journal of the Optical Society of America A*, 38(10), 1-11. doi.org/10.1364/JOSAA.424271. 2021.

2) Liu, Z., Takahashi, T., Lindsay, D., Thevar, T., Sangekar, M., Watanabe, K. H., Burns, N., Watson, J., Thornton, B., Digital in-line holography for large-volume analysis of vertical motion of micro-scale marine plankton and other particles, *IEEE Journal of Oceanic Engineering*, 46(4), 1248-1260, 2020JOE003166. Doi: 10.1109/JOE.2021.3066788. 2021.

3) Takahashi, T., Liu, Z., Thevar, T., Burns, N., Mahajan, S., Lindsay, D., Watson, J., Thornton, B.: Identification of microplastics in a large water volume by integrated holography and Raman spectroscopy, *Applied Optics* 59 (17), pp. 5073-5078, 2020, <https://doi.org/10.1364/AO.393643>.

・査読無し：発表件数：計 0 件

該当なし

*原著論文（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの論文）：発表件数：計 3 件

・査読有り：発表件数：計 3 件

1) Giering, S.L.C., Cavan, E.L., Basedow, S.L., Briggs, N., Burd, A.B., Darroch, L., Guidi, L., Irisson, J-O., Iversen, M.H., Kiko, R., Lindsay, D.J., Marcolin, C.R., McDonnell, A.M.P., Möller, K.O., Passow, U., Trull, T. and Waite A.M. Sinking organic particles in the ocean - flux estimates from in situ optical devices. *Frontiers in Marine Science* 6: 834, 2020.

2) Cunha, M.R., Génio, L., Pradillon, F., Henry, M.C., Beaulieu, S., Birch, J., Campuzano, F.J., Carretón, M., De Leo, F., Gula, J., Laming, S., Lindsay, D., Matos, F.L., Metaxas, A., Meyer-Kaiser, K., Mills, S., Queiroga, H., Rodrigues, C.F., Sarrazin, J., Watanabe, H., Young, C.M., Young, R. Foresight Workshop on Advances in Ocean Biological Observations: a sustained system for deep-ocean meroplankton. *Research Ideas and Outcomes* 6: e54284.

3) Takahashi, T., Herdzik, K., Bourdakos, K.N., Read, J. A., Mahajan, S. Selective Imaging of Microplastic and Organic Particles in Flow by Multimodal Coherent Anti-Stokes Raman Scattering and Two-Photon Excited Autofluorescence Analysis, *Analytical Chemistry*, 93 5234-5240, 2021.

・査読無し：発表件数：計 0 件

該当なし

*その他の著作物（相手側研究チームとの共著総説、書籍など）：発表件数：計 0 件

該当なし

*その他の著作物（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの総説、書籍など）：発表件数：計 3 件

1) Furushima, Y., Yamakita, T., Miwa, T., Lindsay, D., Fukushima, T., Shirayama, Y. New Techniques for Standardization of Environmental Impact Assessment. in *Environmental Issues of Deep-Sea Mining* (ed. Sharma R), 05/2019, pages 275-313. 2019, DOI:10.1007/978-3-030-12696-4_11.

2) Lindsay, D.J. 2018. 地球環境の変化を知る—技術はどのように貢献するか— 深海生物の調査. *日本機械学会誌* 121(1199): 22-23, 2018.

3) Lindsay, D.J. 2019. ゼラチン質生物を調査する技術：3次元映像と機械学習. *海洋と生物* 240, 41(1): 10-12, 2018.

2. 学会発表

*口頭発表（相手側研究チームとの連名発表）

発表件数：計 5 件（うち招待講演：0 件）

*口頭発表（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表）

発表件数：計 6 件（うち招待講演：5 件）

*ポスター発表（相手側研究チームとの連名発表）

発表件数：計 1 件

*ポスター発表（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表）

発表件数：計 0 件

3. 主催したワークショップ・セミナー・シンポジウム等の開催

1) Joint Kick-off Workshop, Dhugal J Lindsay, Blair Thornton ほか約 10 名
UK, Southampton, National Oceanography Centre, 2018 年 7 月 10 日

4. 研究交流の実績（主要な実績）

【合同ミーティング】

・両国のチームメンバーを交えてオンラインミーティングを四半期に 1 回程度開催した。

【学生・研究者の派遣、受入】

・2018 年：日本から研究者 1 名が約 10 か月、1 名が 1 週間相手研究機関に研究滞在した。
英国から研究者 1 名が約 2 週間、日本研究機関等に研究滞在した。

・2019 年：日本から研究者 1 名が約 1 か月、1 名が 4 か月相手研究機関に研究滞在した。

5. 特許出願

研究期間累積出願件数：0 件

6. 受賞・新聞報道等

1) 【受賞】 Takahashi, T., Liu, Z., Thevar, T., Burns, N., Lindsay, D., Watson, J., Thornton, B., -RamaCam- deep-sea particle analyser by integrating holography and Raman spectroscopy", UT21 Video Competition, online, February 2020.

2) 高橋朋子が取材協力, JAMSTEC 広報誌『Blue Earth』169 号, 2022 年 3 月.

3) 高橋朋子が取材協力, BBC Science Focus Magazine "Science Focus", The technology solving the ocean's greatest mysteries, 2020/08/26,
<https://www.sciencefocus.com/planet-earth/the-technology-solving-the-oceans-greatest-mysteries/>

7. その他