

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 8 月 7 日現在

機関番号：74417

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24710015

研究課題名(和文)パルスレーザーを利用したラマン分光法による、氷床コアに含まれる微粒子解析の研究

研究課題名(英文) Investigations of Impurities containing in polar ice cores using laser based advanced spectroscopic techniques

研究代表者

櫻井 俊光 (Sakurai, Toshimitsu)

公益財団法人レーザー技術総合研究所・レーザープロセス研究チーム・研究員

研究者番号：00581810

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：レーザーの特徴を活かした極地氷床コアに含まれる物質の計測や、氷コアの局所的な物質の抽出方法を検討した。

1) パルスレーザーによるEERSとLIBSを利用して、ラマンスペクトルから水溶液中に含まれる水分子の配向と、輝線スペクトルからイオンの元素組成が計測されることがわかった。これらは氷コア内に含まれる微粒子の組成解析に役立つ可能性がある。2) 深紫外レーザー誘起蛍光分光法を利用した微生物の非染色計測では微生物や有機物の蛍光スペクトルが得られ、氷内部に点在する微生物の分布が解る可能性を示した。3) 赤外レーザーによる局所的な氷の融解方法について検討し、レーザードリルやコアの局所分析等への有用性を示した。

研究成果の概要(英文)：This project aimed to investigate impurities containing in polar ice cores using laser based advanced spectroscopic techniques.

(1) The orientation of water molecules and ion emission line spectra in solutions were measured using EERS and LIBS, respectively. Such studies are useful for detecting chemical elements and investigate chemical compositions of particles in ice. (2) LIFS using deep UV laser source was applied to identify microbes and organic matter from their fluorescence spectra without prior labeling. We could measure fluorescence spectra by the laser excitation and confirmed that un-labeled microbes and organic matter naturally existing in ice cores can be spectroscopically identified. (3) We have studied the melting properties of ice using IR laser sources. In IR wavelength region ice strongly absorbs and a hole is drilled along the path of the laser irradiation. This technique could be very useful for ice drilling and contamination free investigations of ice cores.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：氷コア レーザー分光 不純物 イオン 水溶液 微生物 融冰雪

## 1. 研究開始当初の背景

氷床表面に堆積した物質は、長い時間をかけて氷コアに保存される。氷床コア研究では、計測された物質から過去数十万年間の地球環境を復元し、将来の気候変動を予測することが求められている。氷床コアに保存された微粒子の化学組成を解析することは、すなわち過去のエアロゾル組成を明らかにすることである。過去のエアロゾル組成から大気の放射収支あるいは海氷や陸域の露出面積を明らかにすることが可能になる。また、氷床コア中に存在する微生物や有機物の情報から過去の植生に関する情報あるいは氷床最深部のような極限的環境下における微生物の生息に関する情報が得られることが期待される。

エアロゾルに着目した氷床コアの不純物解析では、顕微ラマン分光法(MRS)を利用して化学組成解析を行ってきた。しかし、ラマン散乱強度が低いことなどが原因で、微粒子の化学組成を網羅的に分析することができなかった。そこで、これまで氷床コア解析に利用されてこなかったレーザーおよびレーザー分光法等を利用することで微粒子を主軸とした氷床コア解析に新しい風を吹き込むことを目標として研究を進めることが、研究開始当初の出立点である。

## 2. 研究の目的

本研究では、レーザーを利用した氷コア中に含まれる不純物の分析方法に関する検討を進めた。ここでは大きく分けて3つについて報告する。

### 1) 短パルスレーザーを利用したレーザー誘起ブレイクダウン分光法(LIBS)と電子増強ラマン散乱(EERS)による水溶液の分析

これまでのMRS解析では、明らかにされていないラマンスペクトルや、散乱強度が低いためにラマンスペクトルが得られない微粒子が氷床コア中に存在していることが解っている。一方、SEM-EDSでは微粒子の元素組成解析が進められているが、化学組成を推測するだけに留まっていることが問題点として挙げられる。そこで、LIBS - EERSにおける分光計測では元素組成と化学組成を一度に計測することが目的である。

### 2) 短パルス深紫外レーザーを利用したレーザー誘起蛍光分光法(DeepUV-LIFS)による微生物計測

氷床深部は太陽光が届かず栄養も乏しいため、生命にとっては極限的環境である。極限的環境に生息する生命を明らかにすることは、現世のみならず過去の地球史イベントや地球外生命の存在を理解する上で重

要な知見になる。温度が極度に低い世界の氷床中においても、生命活動の可能性を示唆する結果が得られ(Price and Sowers, 2004)、その生息環境についても議論されている。具体的には、微生物は氷の結晶粒界(三叉粒界)に生息し、氷の中に分布するイオンなどがその栄養源と言われている(Price, 2000)。しかし、氷床内に存在する微生物を直接計測した事例はない。そこで本研究では計算により微生物が生息できる状態について検証し、氷を融かさずに直接微生物を計測することを目的として、培養された微生物のDeepUV-LIFSを行った。

### 3) 赤外レーザーを利用した氷の融解実験

氷床コア解析では、氷コアをセラミックナイフなどで切削して分析する方法が一般的であるが、コンタミネーションを常に懸念する必要がある。そこで、本研究では非接触で切削・掘削できる赤外レーザーを利用し、氷の融解に関する情報を得ることが目的である。

## 3. 研究の方法

レーザー技術総合研究所では様々なレーザーを所有しており、波長、パルス幅、出力など目的に合わせて利用することが可能で、波長に依存した氷の吸収係数を考慮してレーザー装置を選択した。

### 1) LIBS - EERSによる水溶液の分析

利用したサンプルは、純水、氷、NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub>の水溶液で、実験条件は常温・常圧である。利用したレーザーはNd:YAG(2 $\omega$ )励起波長532nm、パルス幅10ns、最大エネルギー100mJである。実験構成は、レーザー光源からレンズまで伝搬させてf100mmレンズで集光し、集光点にサンプルを置いた。レイリー長は計算上60 $\mu$ m、集光径は21.2 $\mu$ mである。検出には光軸から5°程度ずらした角度から前方散乱を分光器に接続されたファイバで観察した。分光器はSpectra-Pro-2358-NA(波長分解能0.2nm)、検出器はSpec-10:400B/LN-NA(液体窒素冷却型CCD)である。回折格子は600、1200、1800G/mmで、それぞれ目的に合わせて利用された。

### 2) DeepUV-LIFSによる微生物計測

微生物が結晶粒界に生息する可能性について検証する方法として、微生物の栄養源となる氷床コア中の不純物(液体)の存在状態について明らかにすることが肝要である。結晶粒界エネルギーと固液界面エネルギーのつり合いから、隣り合う結晶軸方位角の関数として、液体の分布について計算した。

Bahrtia et al. (2010)は、DeepUV-LIFSを利用して、ラベルフリーで細胞を識別する方法を構築した。氷コアにDeepUV-LIFSを適用する事前研究として、本研究は波長 248nm の KrF レーザー (0.3mJ, 10Hz, 5mm) を利用して微生物培養株や有機物 (チロシンなどのアミノ酸) 鉱物などの計測を行った。

### 3) 赤外レーザーを利用した氷の融解実験

氷が良く吸収する赤外域の連続波 (CW) CO<sub>2</sub> レーザー (波長 10.6μm) を用いて模擬氷雪塊へのレーザー照射実験を行った。家庭用製氷機で作製された氷には、気泡が含まれている場合が多く、再現性良く計測できないことや融解状況が確認できないなどの問題点がある。そこで、市販されている無気泡の板氷を利用することにした。市販の板氷は空気を送って気泡を逃がしながらゆっくりと凍結する手法 (エアレーション) で作製されているため、ほぼ無気泡の氷である。これを利用して氷が融解される速度を計測した。また、雪に関して降雪時に採取された雪サンプラーを利用してレーザーが透過するまでの時間を計測した。

## 4. 研究成果

### 1) LIBS - EERS による水溶液の分析

図1に水の EER スペクトルと自発ラマンスペクトル、氷の自発ラマンスペクトルを示す。水の EER スペクトルは水の自発ラマンスペクトルとは形状が異なる。照射された微小領域の温度を明らかにすることを目的として、1パルスにおける Stokes と Anti-stokes スペクトル比を利用して温度に換算した (図2)。温度は 1000K ~ 3000K の範囲にあることが解る。したがって、図1で得られたスペクトル (赤線) は 1000K 以上であることから相状態が気体であると考えれば、水のラマンスペクトルよりも高波数側にシフトしており且つ

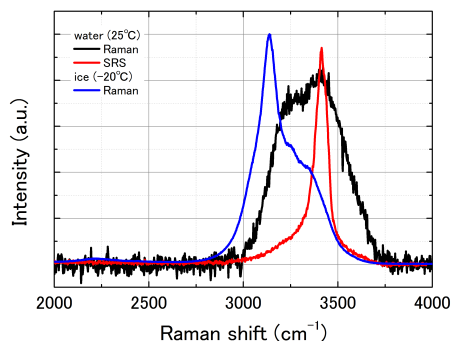


図1 . 水の EER スペクトルと自発ラマンスペクトルおよび氷 (-20) の自発ラマンスペクトル .

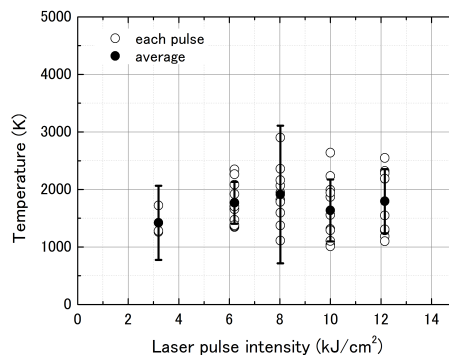


図2 . EER スペクトルから得た焦点での温度 .

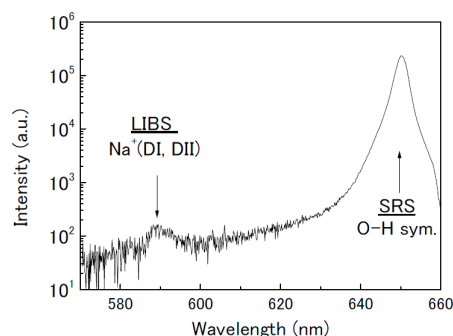


図3 . NaCl (1wt%) の EERS - LIBS スペクトル .

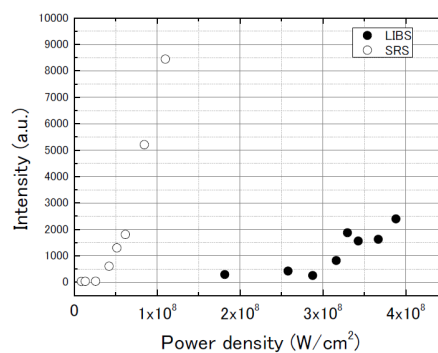


図4 . 励起密度変化に伴う NaCl 水溶液の EERS - LIBS スペクトル強度変化 .

形状がよりシャープである点について合致する。

次に励起強度を高くした場合の NaCl 水溶液 1wt% のスペクトルを図3に示す。ナトリウムの D 線 (589nm) と、O-H ラマン散乱 (650nm) スペクトルを観測することが可能であることが解った。次に励起密度を変化させた時に得られたスペクトル強度変化を図4に示す。励起密度を高くすると EER スペクトルは 2 次関数的に高く

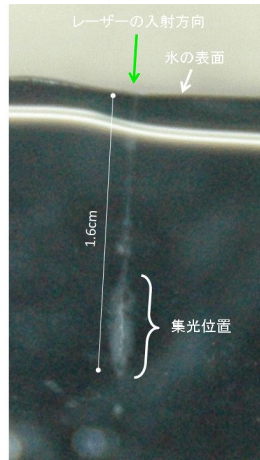


図5 .氷にパルスレーザーを集光した時の写真 .

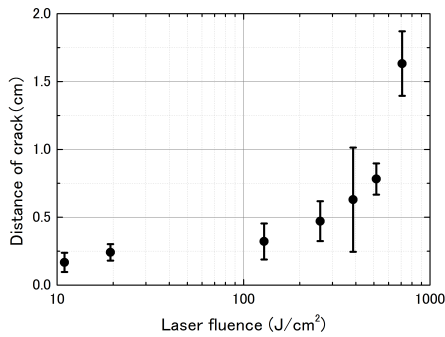


図6 .フルエンスと氷のクラック長さ .

なり、LIBS で得られたナトリウム D 線は線形に上昇していることが解る。これは EERS が非線形現象であることに由来する。図4のように、励起密度を高くすれば EERS - LIBS が同時に計測されることが解った。ただし、 $4 \times 10^8 \text{ W/cm}^2$  以上になるとバイアル瓶表面に穴が開くことが確認された。励起密度が非常に高い結果と考えられる。バイアル瓶に穴が開くほどのレーザーフルエンスであることから、氷に1ショットのパルスレーザーを照射したときの氷内の状態を確認した(図5)。集光位置では比較的太いクラックが発生しており、入射位置から集光位置にかけて細長いクラックも発生していた。フルエンスを変化させた時のクラック長さを図6に示す。化学組成と元素組成を同時に計測できる可能性を示した一方で、クラックが発生することから氷コア解析では破壊計測として位置付けられる。1パルスで確かに元素組成、化学組成の情報が得られるための構成に工夫が今後必要となる。

水溶液の場合、純水に比べて水の O-H 伸縮振動のスペクトルが高波数側にシフ

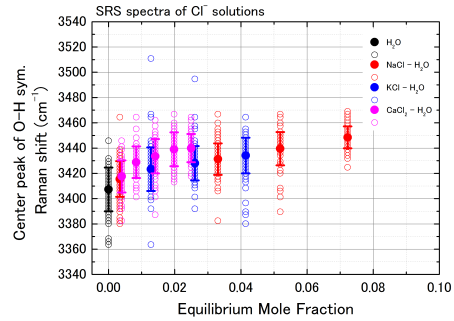


図7 .水溶液の塩濃度変化に伴う O-H 伸縮振動のピーク位置の変化 .

トする現象が確認されたため、水溶液の塩濃度を変化させて O-H スペクトルのピーク的位置をプロットした(図7)。すると、濃度変化に伴い高波数側に徐々にシフトしており、一価と二価のイオンでそのスペクトルシフト量が異なることが解った。高波数にシフトすることは、すなわち水素結合の破壊を意味しており、高濃度・価数が大きいイオンであるほどその影響が大きい。パルスレーザーが集光された微小領域では水溶液は気体であることが EER スペクトルで解っているため、気体中の水の状態が液体 (Terpesta et al., 1990) と同様の挙動、すなわちイオンが気体中に存在しているときでも水素結合の破壊が引き起こされているのかもしれない。

EER スペクトルが得られるしきい値のエネルギーを投入した時のスペクトルを図8に示す。図1の EER スペクトルとは異なり、いくつかのスパイクが観測されていることが解る。先行研究では複数のスパイクのラマンスペクトルから液滴の粒径を計算している (Pinnick et al., 1988)。本研究が得た情報は気体、すなわち気泡と

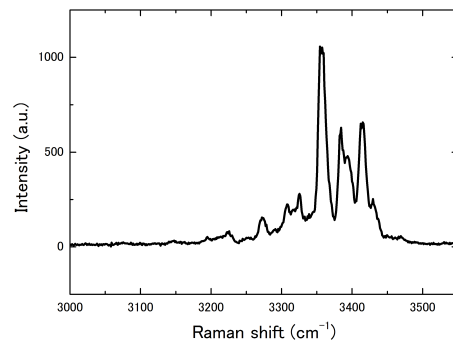


図8 .1パルスで得られた水の EER スペクトル .

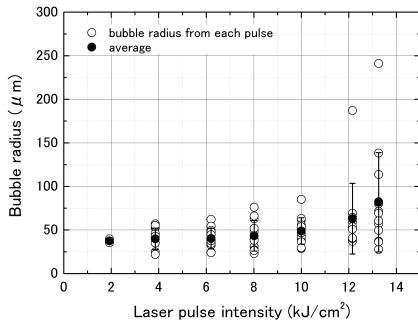


図9 .フルエンスとスペクトルピーク幅から計算された気泡径 .

して先行研究と同様の計算を行うと、EERスペクトルから気泡径が導き出された(図9)。マイクロバブルの生成と計測という観点では興味深い結果である。

## 2) DeepUV-LIFS による微生物計測

氷結晶粒界の界面エネルギーを考慮して計算を進めた結果、イオンを含む液体が結晶粒界に存在し、隣り合う結晶方位に依存して液体が紡錘状になる条件が解った(図10)。氷と水溶液の固液界面エネルギーは  $31 \sim 33 \text{ mJ/m}^2$  (Hilig, 1998、Ketcham & Hobbs, 1969) 固液界面は  $32^\circ$  程度 (Mader, 1992) と言われているため、隣り合う結晶方位角差が  $10^\circ$  以下であれば、液体は紡錘状として存在する。氷床深部では隣り合う結晶方位角差が小さくなり  $10^\circ$  以下であることがしばしば確認されている。イオン等を栄養源として生息しているのであれば、微生物も液胞内に存在する確率が高い。これまで微生物の氷内分布が議論されてきたが、液胞に微生物が生息できる一つの可能性として示した計算結果である。

次に、氷床深部における微生物の生息域に関する知見が得られてきたことを踏ま

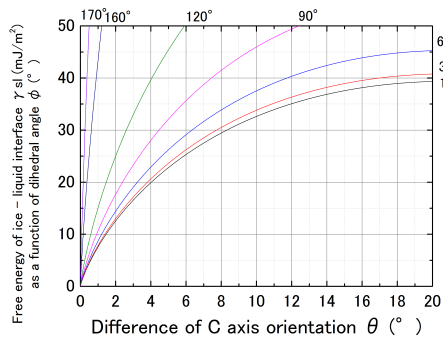


図10 .界面エネルギーと隣り合う結晶方位角の関係 . 曲線 : 固液界面エネルギー (角度) を考慮 .

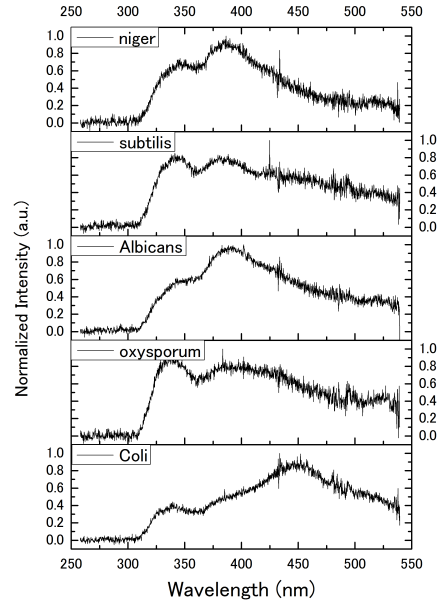


図11 . 微生物の LIF スペクトル .

えて、氷内に生息する微生物の存在を氷非破壊で明らかにすることを目的とした事前研究の位置づけとして、DeepUV-LIFSによる模擬サンプルの計測を行った。

結果、アミノ酸および微生物サンプルからは蛍光スペクトルが得られ、鉱物からの自家蛍光は得られないことが解った。共同研究者である玉川大学吉村教授から送られてきた微生物サンプルの蛍光スペクトルを図11に示す。300nm~500nmまでの広帯域で蛍光スペクトルが確認された。200nm以上の波長帯は氷を良く透過するため、DeepUV-LIFSで氷コアを計測すれば、非破壊で氷内の微生物分布が明らかになると予想される。

DeepUV-LIFSは氷床内に存在している微生物の検出方法として最適であり、今後本研究では微生物の栄養源の分布と併せて微生物の生息環境に迫る予定である。

## 3) 赤外レーザーを利用した氷の融解実験

厚さ13cm程度の氷にCO<sub>2</sub>レーザーを照射すると、4mm程度の穴が貫通して生成されることが解った(図12)。密度の異なる雪と氷に対し、融解速度とレーザー強度との関係を調べた(図13)。データにばらつきはあるものの、いずれの雪密度の場合も融解速度はレーザー強度に比例して増大していると考えてよい。また、氷に対する融解速度は再現性があり、大きな変化は見られない。CO<sub>2</sub>レーザーエネルギーが全て熱に変わったと考えた場合の氷に対する融解速度の理論値よりも実際

の氷の融解速度は低い。これは熱伝導で熱が拡散された結果と考えられる。また、氷表面や雪表面でのレーザー光の反射の効果などを考慮する必要がある。

CO<sub>2</sub> レーザーによる氷の融解実験を詳細に行った研究は、これまでにないものであり、氷コア解析あるいは氷河・氷床を掘削する方法として利用価値のあるものと考えられる。今後、このような視点で研究を進めていく予定である。

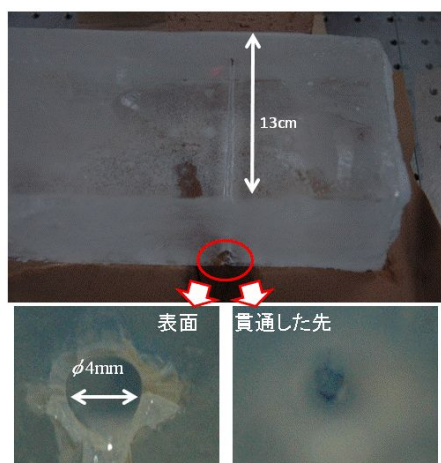


図 1 2 .CO<sub>2</sub> レーザーを照射した後の氷の様子 .

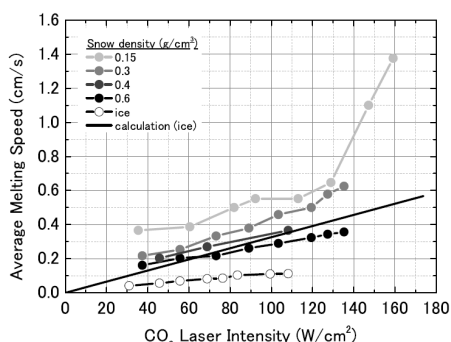


図 1 3 .CO<sub>2</sub> レーザーを照射したときの氷および雪の融解速度 .

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

T. Sakurai, et al., “Studies of melting ice using CO<sub>2</sub> laser for ice drilling: Searching for life in subglacial lakes beneath Ice Sheets”, submitted to *Ann. Glaciol.*, on March 2014.

〔学会発表〕(計 5 件)

(1) 櫻井俊光、染川智弘、藤田雅之、飯塚芳徳、大藪幾美、藤田秀二、井澤靖和、「パルスレーザーを利用した、氷床コアに含まれる不純物の化学組成解析—非線形光学を利用した分光計測を目指して—」、雪氷学会、2012年9月、福山

(2) 櫻井俊光、「SRS を利用した水溶液中の H<sub>2</sub>O 分子の挙動に関する研究」、H<sub>2</sub>O を科学する・2012、2012年12月、札幌

(3) 櫻井俊光、ハイクコスローピアン、染川智弘、藤田雅之、本山秀明、渡辺興亜、井澤靖和、「レーザーによる氷の融解に関する研究—氷床の底に生きる生命体の検出を目指して—」、雪氷学会、2013年9月、北見

(4) 櫻井俊光、谷口誠治、本越伸二、染川智弘、藤田雅之、吉村義隆、瀬川高弘、本山秀明、「紫外レーザーを用いた氷コア内微生物のラベルフリー計測」、雪氷学会、2013年9月、北見

(5) 櫻井俊光、「非線形ラマン分光を利用した水溶液中の H<sub>2</sub>O 分子の挙動に関する研究」、H<sub>2</sub>O を科学する・2013、2013年12月、札幌

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

本研究の一部は、所属研究機関の研究成果報告会および平易な解説による機関誌「レーザークロス」と所属機関ホームページ上 (<http://www.ilt.or.jp/>) で公開されている。

## 6 . 研究組織

(1) 研究代表者

櫻井俊光 (SAKURAI, Toshimitsu)

研究者番号 : 00581810