

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25289122

研究課題名(和文) 浮遊バイオエアロゾル挙動の遠隔計測が可能な車載型蛍光分光ライダー装置

研究課題名(英文) Development of a mobile laser-induced fluorescence for remote sensing of air-borne bio-aerosols

研究代表者

齊藤 保典 (SAITO, Yasunori)

信州大学・学術研究院工学系・教授

研究者番号：40135166

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：大気中に浮遊している生物起源のエアロゾル(バイオエアロゾル)の検出が可能な蛍光ライダー装置の開発を行った。

本装置の特徴は、UVレーザー照射時に発生する蛍光を日中においても検出できることである。そのため、検出時間を蛍光発光時間に同期する同期検出法を提案しその有効性を実験的に実証した。さらに、バイオエアロゾルの種類を判別するための蛍光データベースの作成を行った。

屋外実証実験として、植物葉内に含まれる微量成分のクロロフィル分子および光合成二次代謝分子の蛍光スペクトルの遠隔検出を行った。結果は、前者では650nm-750nm付近、後者では400-650nm付近の蛍光スペクトル検出に成功した。

研究成果の概要(英文)：We developed a laser-induced fluorescence spectrum (LIFS) lidar which is for remote detection of bio-related aerosols and molecules floating in the atmosphere. The LIFS lidar is characterized in detection of weak fluorescence emitted from aerosols even in daytime by combination of a UV short pulse laser for excitation of aerosols with a short time synchronous detection of fluorescence using a gated-CCD detector. To judge the species of aerosols, we made a database of aerosol fluorescence spectrum.

Feasibility experiments of the LIFS lidar performance were made in field in daytime. Targets were chlorophyll molecules and secondary metabolites inside living plant leaves growing in fields. Results clearly showed the differences of their fluorescence spectra that the former had red-far fluorescence spectrum around 650-750 nm and the latter one was around 400-650 nm. This confirms that the developed LIFS lidar will be a powerful apparatus for monitoring bio-related aerosols/molecules.

研究分野：環境情報センシング

キーワード：ライダー エアロゾル レーザー誘起蛍光 環境情報

1. 研究開始当初の背景

生活空間中の浮遊エアロゾルは、咽喉・呼吸系に直接的な影響を与えることが知られており、工場煤煙や車排気物質等には、国家基準が設けられ対策も施されてきた。一方、生物由来のバイオエアロゾルについては、健康影響が強いとされながらも対応が遅れている。高病原性鳥インフルエンザ、宮崎口蹄疫感染は記憶に新しい。花粉症患者は 2000 万人以上とも言われている。対策不備の主たる原因は、「動的実態が把握されていないこと」に尽きる。バイオエアロゾルは微小軽量のため空中を拡散移動するものが殆どで、その空間分布や動的情報の取得が非常に困難という現実がある。広域公衆衛生における生活空間の安全保障という観点から、その動的情報を迅速に実時間で提供可能な計測装置の開発が求められている。

2. 研究の目的

研究の最終目標を「生活空間内に浮遊する多種エアロゾル挙動情報の実時間計測と情報配信技術の確立」に置き、本研究期間内では「バイオエアロゾルの遠隔実時間計測が可能な車載型蛍光分光ライダー装置の開発」を行う。バイオエアロゾルの動的挙動の把握のために、レーザー遠隔計測手法の一方であるライダー技術に蛍光分光技術を取り入れた装置を提案し新規に開発する。車載型とすることで、発生源や発生時間が不確定なバイオエアロゾルの観測に臨機応変な対処が可能な計測機器とする。健康に影響が大きな、花粉、胞子・菌類、バイオマス燃焼煤などのバイオエアロゾルを対象としたフィールド観測実験により、開発装置の有用性・実用性を実証する。「生活空間環境の安全とその保障の仕組み作りへの貢献」が可能な計測技術・計測機器を目指す。

3. 研究の方法

蛍光分光型ライダー装置を完成させ、観測車による長野市内でフィールド観測実験を行い、本計測技術の優位性と開発した装置の有効性・実用性・機動性を実証する。

(1) バイオエアロゾルの蛍光スペクトル特性の把握

長野市内でみられるバイオエアロゾルの原因物質の一例を図 1 に示す。このような生活環境中に日常的に存在しているバイオエアロゾルを観測対象とし、その EEM (Excitation-Emission-Matrix) 特性を把握する。その結果を、製作するライダー装置のハードウェア・ソフトウェアの設計指針、最終年度で予定しているフィールド観測結果

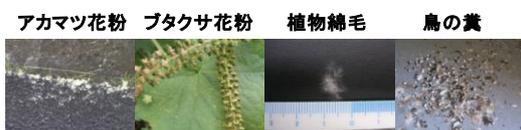


図1 長野市内で見受けられるバイオエアロゾル原因物質の例

の解析に必要なデータベースを作成する。

(2) 車載型蛍光分光型ライダー装置の完成 EEM 特性を踏まえた基本仕様の決定後、製作を開始する。特に、太陽背景光が多い日中でも微弱な蛍光検出が可能な手法「同期検出法」の適応を試みる。同期検出法の概念を図 2 に示す。短パルスレーザーの照射により放出される蛍光の、検出器への到達に合わせ検出器ゲートを短時間(蛍光寿命時間)のみ開放して信号を得るといったものである。

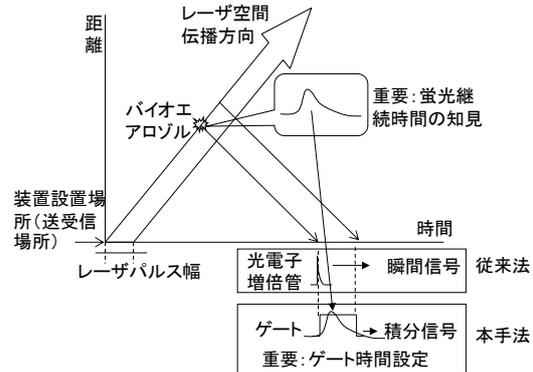


図2 同期検出法の動作原理

従来の車載型ライダー装置では、大型観測専用車を利用していた。本装置は、普通免許での運転が可能なワンボックスミニバン車両に搭載可能なものとする。これにより、ライダー計測にはありがちな、観測場所や準備時間の制限によらない、Just-in-time 型の計測装置とする。

(3) フィールド観測での実践的技術評価試験

装置実用性評価試験を、フィールドで実施する。装置の有用性・実用性・機動性の評価を行い「生活空間内に浮遊するバイオエアロゾル挙動情報の実時間計測・配信技術の確立」の最終目標を実現するための要素技術を確認する。

4. 研究成果

(1) バイオエアロゾルの蛍光スペクトル特性と蛍光データベース作成

①EEM 特性 花粉症の代表花粉であるスギ花粉の EEM 特性を図 3 に示す。入手したスギ花粉(ヤミゾ花粉研究会)を 390 μL のセルに封入し、分光蛍光光度計(日立ハイテクノロジー F-2500)を用いて、励起波長 220 nm ~ 500 nm を 10 nm 間隔で変化させ励起した時の蛍光波長 220 nm ~ 800 nm を 10 nm 間隔で取得した。本結果より、蛍光は励起波長によりその強度と形状が変化するが、500 nm 付近にピーク値を有することが分かった。またその時の励起波長の最適値は 450 nm 付近であることがわかった。スギ花粉以外にも同様の EEM 特性を調べた結果、花粉の種類によりス

ペクトルの形状が異なることも明らかになった。

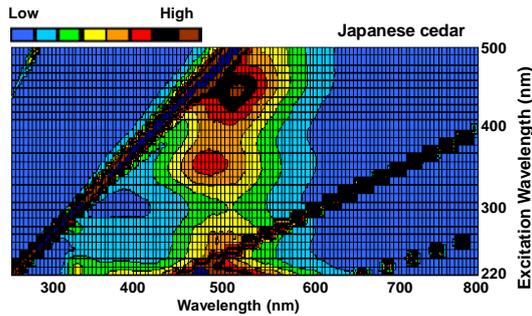


図3 スギ花粉EMM特性

②バイオエアロゾル蛍光データベース作成

①の結果を踏まえてライダー装置の蛍光励起源としてのレーザー波長を、YAGレーザーの第3高調波である355 nmとした。蛍光強度が最も大きかった励起波長(最適値)の450 nmを得るには、ArレーザーやOPOレーザーを用いれば良いが、前者はCWレーザーであり、距離分解能を得ることができない。また後者は装置が複雑で大型化することから、野外観測を最終目的とする本研究には向いていない。一方YAGレーザーは安定性・操作性・堅固性に優れており、現段階では本研究には最適なレーザーであると判定した。このことにより、蛍光データベース作成においては、355 nm励起での蛍光スペクトルを用いることにした。

生活環境に見受けられるバイオエアロゾル蛍光の原因物質を種々採集し、冷凍粉碎機(日本分析工業株式会社 JFC300)で粉末化(疑似バイオエアロゾル)し、分光蛍光光度計(日立テクノロジー F-7000)にて蛍光スペクトルを収集した。図4に19種類の物質の蛍光スペクトルを比較して示す。物質の

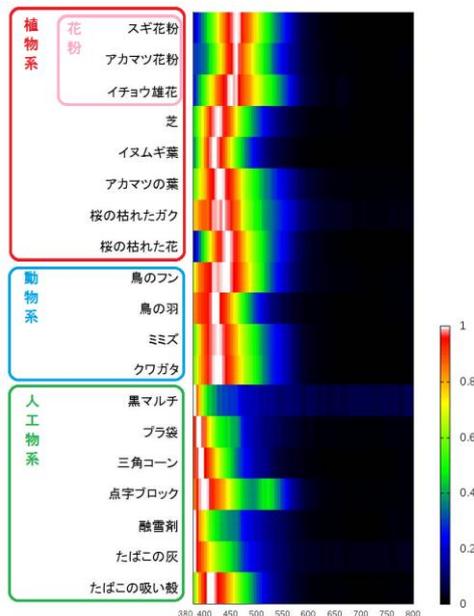


図4 バイオエアロゾル原因物質の蛍光スペクトルデータベース

種類は植物系、動物系、人工物系に大別された。特徴を抽出すると、a)花粉系は450 nm近辺に集中する、b)葉・花系は種類による分布が大きい、c)動物系は430 nm付近に幅の広い形状を持つ、d)人工系は400 nm以下の短波長にピークを有する(吸殻以外)、等が読み取れる。

(2) 車載型蛍光分光型ライダー装置の開発

(1)の結果を踏まえて、ライダーの基本構成を、レーザー(Qunatel Ultra 100; 355 nm、エネルギー12 mJ、パルス幅6 ns、繰り返し10 Hz)、蛍光集光望遠鏡(MEADE LX200-ACF; シュミットカセグレン式、有効径254 mm、F値10)、ゲート型分光CCD検出器(浜松ホトニクス PMA12; 波長感度200 nm~860 nm、ゲート時間 $\geq 10$  ns)とした。フィールド観測での移動のために、ライダー装置全体がストレッチャー上に配置する構成とした。ストレッチャー自体は車輪で移動できる。さらに、装置全体が軽ワゴン車に搭載可能なコンパクトな容積内(1280 mm x 830 mm x 890 mm)に収める工夫を行った。小型発電機(ヤマハ G900is; 900VI)での動作が可能であった。以上の構成により、インフラ設備が不要で観測場所を制限せず、緊急な観測にも迅速に対応可能なライダー装置(図5)が完成した。

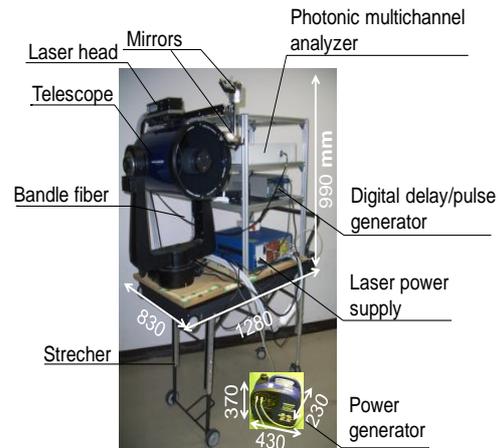


図5 開発した車載型蛍光分光型ライダー装置

ゲート型分光CCD検出器を用いて、同期検出法での太陽背景光(ノイズ)の抑制確認実験を行った。検出器付属の光ファイバ(1 mm径)を45度の角度で晴天大気中に向け、CCDゲート時間を変化させた時の太陽背景光スペクトル強度を計測した。ゲート時間はデジタル遅延パルス発生器(SRS DG535; 時間分解能5 ps)を用いて正確に制御された。結果を図6に示す。計測された太陽背景光が、ゲート時間(積算時間)に依存している。レーザーのパルス時間幅6 nsで励起された時の蛍光時間幅(蛍光寿命)は長くても7 ns以下と見積もられることから、10 ns程度でのゲート動作による同期検出法により、ライダー計測時の信号対雑音比の向上が期待できた。

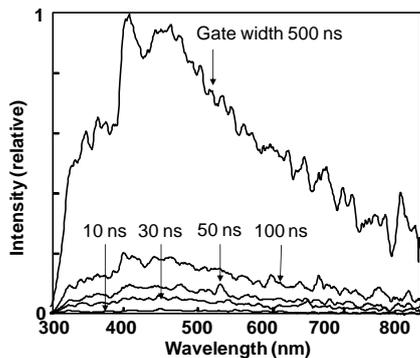


図6 太陽背景光スペクトル強度のCCDゲート時間依存性

(3) フィールド観測による実践的技術評価試験

①疑似バイオエアロゾルスペクトル検出実験 ライダー装置を実験室内から屋外に移動し、粉末化されたバイオエアロゾル原因物質（アメリカシロヒトリの糞および道路標識赤色三角コーン）を観測対象物として実験を行った。粉末を石英板で挟み込むことで0.1 mm以下の厚さで空間に保持された。ライダー装置と対象物までの距離は20 mであった。

結果を図7に示す。これを図4の結果と比較すると、アメリカシロヒトリの糞は、葉（450 nm付近）とクロロフィル分子（650 nm以上）の蛍光成分を含み、三角コーンの場合には、人工物の特徴である400 nmに赤色素分子と思われる520 nm～600 nmの蛍光成分を含んでいることが分かる。どちらも非常に鮮明かつ形状の違いが明確な蛍光スペクトルの検出に成功した。

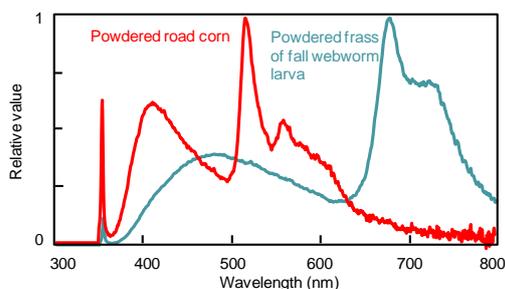


図7 疑似エアロゾル蛍光のライダー計測例

②植物生体成分の蛍光検出実験 ライダー装置を軽ワゴン車に搭載し、信州大学長野（工学）キャンパスから約1.5 km離れた犀川河川敷でフィールド観測を行った。図8に実験風景を示す。計測対象は、野外生育の植物生葉内に含まれる微量生体分子とした。これはフィールドにおける微量成分としてのバイオエアロゾル原因物質検出のシミュレーション実験である。本実験では、特に蛍光画像の3次元化に焦点を当てて実験を行った。3次元化はライダー装置を掃引型へと改良することにより行われた。レーザーは空間中を

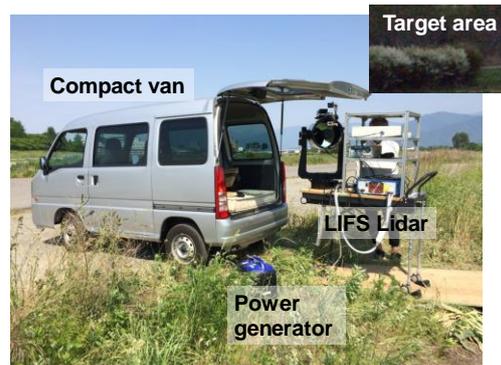


図8 フィールド観測実験風景

伝搬するため、伝搬を完全に遮断する物体がない場合には、空間中に分布するエアロゾルからの（蛍光）信号を連続的に得ることができる。さらに装置全体を水平方向と上下方向に掃引し、掃引毎の伝搬方向画像を合成すると3次元画像になる。

結果を図9に示す。蛍光スペクトルには図4のアカマツの葉や図7のアメリカシロヒトリの糞に見られる440 nm付近の幅広いスペクトル成分と、クロロフィル分子からの685 nmと740 nmのスペクトル成分（アメリカシロヒトリの糞にも見られる）の特徴が見られたため、各スペクトル成分に分けて画像化を行った。樹木の位置（中央やや右から左側のやや下部、図8内Target area参照）の22.5 m～25.5 mの距離で各信号成分が強い。植え込み樹木の無い箇所（右側）の信号は地面の草の蛍光信号である。また、440-450 nmの28.5 mの画像の左側最上部分に見られる信号成分は、樹木の無い箇所であることから、ノイズと考えられた。本ライダー装置の検出限界を表したものと考えている。

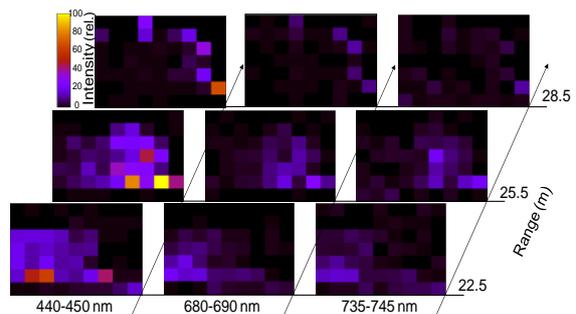


図9 植物生体分子蛍光の三次元分布

(4) まとめと今後の展望

バイオエアロゾルを定義しその蛍光から空間分布を計測する車載型蛍光分光ライダー装置を開発した。

身近な生活環境中に潜むバイオエアロゾル原因物質を探索し、微粉末化し蛍光スペクトルデータベースを作成した。初の試みと思われる。

太陽背景光の低減化・抑制技術としての同期検出法を提案し、10 ns程度のレーザーパルス励起と検出器ゲートを組み合わせること

で、実用上、太陽背景光を無視して観測できることを実証した。

ライダーフィールド観測では、日中においても疑似エアロゾルのスペクトル検出が可能であることを示した。またデータベースと比較することで、その成分同定の可能性が見出された。同様にフィールド実験として、自生樹木生葉に含まれる微量生体分子蛍光のライダー検出実験を行い、距離 25 m 程度までの蛍光スペクトル三次元画像計測に成功した。いずれも国内外では例をみない。

一方、本ライダー装置の現状での課題点は次の二点に集約される。

a) バイオエアロゾルの濃度に関する情報が得られていない、

b) 最大計測距離は 30 m 程度で、より遠距離観測が望まれる。

解決策として

a) 蛍光量子効率を求め、蛍光データベース情報を付加する。蛍光量子効率がわかれば、ライダー受信信号強度から、濃度を求めることができる。既に平成 28 年度の課題として取り組み始めている。

b) 最大の原因は、望遠鏡から光ファイバーへの入射効率が小さいことであるため、光学的結合効率を高める構造を検討する。また検出径がより大きな光電子増倍管と特徴蛍光波長に合わせたフィルターを組み合わせたモジュールを 3-4 個備えた検出系を開発して用いる。本件も先行的に実施中である。

この様な対策を実施することで、さらに実用性の高い蛍光ライダーが完成し、研究の最終目標「生活空間内に浮遊する多種エアロゾル挙動情報の実時間計測と情報配信技術の確立」の達成を目指す。そのための基本技術は本研究で確立し実証された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Yasunori Saito, Kengo Takano, Fumitoshi Kobayashi, Kazuki Kobayashi, and Ho-Dong Park, (Development of a UV laser-induced fluorescence lidar for monitoring blue-green algae in Lake Suwa), Applied Optics, Vol. 53, 7030-7036, 2014, 査読有

10.1364/AO.53.007030

② Y. Saito and K. Kobayashi, (Proposal Optical Farming: Development of several optical sensing instruments for agricultural use), Proc. of SPIE, Vol. 8881, 888109-1-6, 2013, 査読有  
DOI: 10.1117/12.2028830

[学会発表] (計 19 件)

① 富田孝幸, 塚田祥大, 菅沼田光, 斉藤保典, (LIFS-LIDAR による大気エアロゾル観

測および解析), 第 63 回応用物理学会春季学術講演会, 2016. 3. 21, 東京

② Yasunori Saito and Takayuki Tomida, (Vegetation LIFS (Laser-Induced Fluorescence Spectrum) lidar for eco-physiological information sensing), Internal Workshop on Vegetation and Application from Space, 2016. 1. 6, Kyoto

③ 富田孝幸, 西澤直人, 藤井貴大, 斉藤保典, (可搬型 LIFS ライダーを用いた物質同定および立体計測), 第 33 回レーザーセンシングシンポジウム, 2015. 9. 11, 東京

④ 久保田智貴, 菅沼田光, 塚田祥大, 富田孝幸, 斉藤保典, (LIFS ライダーによる物質同定のための蛍光スペクトル計測), 第 33 回レーザーセンシングシンポジウム, 2015. 9. 11, 東京

⑤ T. Tomida, N. Nishizawa, K. Sakurai, H. Suganumata, S. Tsukada, S. -M. Song, H. -D. park and Y. Saito, (Performance characteristics of compact mobile LIFS (Laser-induced Fluorescence Spectrum) lidar), The 27th International Laser Radar Conference, 2015. 7. 7, New York, USA

⑥ 西澤直人, 富田孝幸, 小林一樹, 斉藤保典, (可搬 LIFS ライダーを用いたエアロゾルの種類判別と立体計測), 第 62 回応用物理学会春季学術講演会 2015. 3. 11, 平塚市

⑦ 富田孝幸, 塚田祥大, 菅沼田光, 西澤直人, 斉藤保典, (エアロゾル計測のための蛍光 LIDAR システムの開発), 第 9 回大気バイオエアロゾルシンポジウム, 2015. 1. 9, 別府市

⑧ 斉藤保典, 朴 虎東, 富田孝幸, 小林一樹, (蛍光スペクトルライダーを用いた藻類モニタリング技術の開発), 第 32 回レーザーセンシングシンポジウム, 2014. 9. 4, 高山市

[その他]

ホームページ等

<http://www.cs.shinshu-u.ac.jp/~tomida/pukiwiki/>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

斉藤 保典 (SAITO, Yasunori)

信州大学・学術研究院工学系・教授

研究者番号: 4 0 1 3 5 1 6 6

(3) 連携研究者

小林 一樹 (KOBAYASHI, Kazuki)

信州大学・学術研究院工学系・准教授

研究者番号: 0 0 4 3 4 8 9 5