

生体センシング実現に向けた
ピコリットル容積の局在型表面プラズモン共鳴
ファイバセンサに関する研究

2018年3月

白石 正彦

目次

第1章 序論	1
1.1 研究背景	2
1.1.1 金ナノ粒子を用いた光センシング・光ファイバセンシング	2
1.1.2 フェムト秒レーザーによる透明材料への改質・除去加工	7
1.2 研究の目的	12
1.3 本論文の構成	12
参考文献	14
第2章 近紫外フェムト秒レーザーによる 光ファイバ型ピコリットル分光セルの構築	17
2.1 緒言	18
2.2 レーザー加工システム・観察系の概要	18
2.3 石英ガラス薄板へのアブレーション加工による加工効率の検討	22
2.4 アブレーション加工時の内部表面粗さについて	26
2.5 近紫外フェムト秒レーザーによる石英系光ファイバへの穿孔加工	31
2.6 石英系光ファイバ内部の集光位置の変化と加工形状について	41
2.7 繰返しパルス光照射による熔融石英への蓄熱効果について	46
2.8 光ファイバ型ピコリットル分光セルの構築	50
2.9 結言	53
参考文献	54
第3章 光ファイバ型ピコリットル分光セルを用いた 局在型表面プラズモン共鳴光吸収スペクトルの取得	56
3.1 緒言	57
3.2 分光計測システムの概要	57
3.3 LSPR 光吸収スペクトルの取得	63
3.4 数値計算による吸光係数の算出	67
3.5 結言	71
参考文献	72

第4章 光ファイバ型ピコリットル分光セルによる 微小量分光計測の応用	73
4.1 緒言	74
4.2 アミノ酸添加による金ナノ粒子の凝集	74
4.3 金ナノ粒子凝集による LSPR 光吸収スペクトルシフトの追跡	79
4.4 結言	83
参考文献	84
第5章 結論	85
謝辞	89
研究成果	90

第 1 章

序論

1.1 研究背景

1.1.1 金ナノ粒子を用いた光センシング・光ファイバセンシング

分光計測の分野は、計測を実現する構成要素である光源・導波路・試料セル・分光器・検出器のそれぞれが技術の進歩に伴い発展を遂げ、工業・医療・環境領域内において様々な測定対象を捉える手法として展開されている。特に、臨床医学の分野では分光計測を利用して生体分子の定量を行う技術が多種多様な計測構成で実現されている。特定のセンシング対象である生体分子を分光計測で選択的に捉えるには、対象を捉えやすくする工夫が必要であり、主に蛍光色素を標識に使う例が多い。近年、分光計測におけるセンシング対象を捉える新しい材料として金属ナノ粒子が注目され、金属ナノ粒子を応用した生体分子検出手法の事例が数多く報告されている[1-3]。ナノスケールの金属粒子に光が照射されると、入射光電場によって金属粒子内の自由電子集団に分極が生じる。金属ナノ粒子内の分極は入射光によって振動し、金属の特性に依存して入射光の一部と共鳴現象が生じる。この共鳴現象を局在型表面プラズモン共鳴 (Localized surface plasmon resonance; LSPR) と呼び、共鳴現象による熱エネルギー変換によって入射光の特定波長は減光する。また、分極の振動によって散乱光も生じるが、減光される光強度と比較すると微弱である[4]。光センシングに多用される金ナノ粒子は、LSPRによる光吸収波長帯を可視領域にもち、その利便性から生体分子検出手法にも多用されている。形状が球であり、直径が5–10 nmの金ナノ粒子が溶液内に単分散しているとき、最も吸収される光波長は515–520 nmである。そして、金ナノ粒子近傍にセンシング対象が固定されることによる光学特性の変化はLSPRによる光吸収スペクトルの変化として現れ、結果としてセンシング対象は認識されることになる。光センシングのための金ナノ粒子の扱い方には大きく二つある。ひとつは、透明基板表面に自己組織化単分子膜 (Self-assembled monolayer; SAM) を形成し、金ナノ粒子を固定化する手法である[5-6]。固定化された金ナノ粒子表面にセンシング対象を捕捉する生体分子を修飾し、センシング対象の吸着に

伴うナノ粒子近傍の屈折率変化によって検出する手法である。N. Nath らは、タンパク質の一種であるストレプトアビジンを金ナノ粒子が固定化された基板と UV-Vis 分光計測を用いて検出した[7]。ガラス基板の表面にシランカップリング剤のひとつである γ -(aminopropyl)triethoxysilane (γ -APTES) を用いて先端にアミノ基を有する SAM を形成した。SAM により固定化された金ナノ粒子表面にさらに, mercaptopropionic acid (MPA) により表面を修飾し, ビオチンを固定化した。上記の構成でストレプトアビジンの検出限界 $1 \mu\text{g/mL}$ 以下を達成している。金ナノ粒子を透明基板に修飾し分光計測を用いてセンシング対象を検出する手法は, 光ファイバセンサにも応用されている[8-10]。S.K. Srivastava らは, 光ファイバでセンシング構造を形成し, 金ナノ粒子を用いて血糖計測を実現させた[11]。彼らは, コア径 $600 \mu\text{m}$ のプラスチッククラッド-石英コア光ファイバのクラッド層が除去された範囲を熱処理によって U 字型に変形しセンサ部を構築した。センサ部はクラッド層が除去され, U 字型に光ファイバが変形されていることから, 光ファイバ内部を伝搬する光から効率的にエバネッセント光が染み出している。エバネッセント光は光ファイバ外部周辺と相互作用させることができ, ファイバ外部の屈折率変化を伝搬光変化として捉えることができる。SAM が形成されたセンサ部表面に金ナノ粒子を固定化し, その表面にさらにブドウ糖酸化酵素を化学的修飾することによって, センサ部表面にて血糖を捉えることができる。血糖がセンサ部表面に吸着したことによる局所的な屈折率変化が光ファイバ伝搬光を変化させ, 金ナノ粒子による光吸収スペクトルに変化をもたらす。波長 540 nm をピークに持つ光吸収スペクトルは血糖の濃度上昇($0\text{--}250 \text{ mg/dL}$)に伴ってそのピーク値が減少した。U 字型光ファイバ LSPR センサの提案によってセンサ部の小型化が実現し, 計測に用いる試料は $150 \mu\text{L}$ 以下で十分であることが示された。H.H. Jeong らは, 光ファイバの端面をセンサ構造に採用し, 抗原抗体反応による生体分子の検出に成功している[12]。センサ部表面に金ナノ粒子を固定化することで, 光ファイバ伝搬光が光ファイバ端面を反射した際に金ナノ粒子と相互作用さ

せることが可能となる。金ナノ粒子表面に interferon-gamma 抗体を修飾することで抗原を検出することができ、検出限界は 2 pg/mL であった。光センシングのための金ナノ粒子の扱い方のもう一つは、溶液中に分散している金ナノ粒子とセンシング対象の結合によって生じる凝集を追跡する手法である[1-3]。生体分子の添加によって金ナノ粒子に凝集が生じると光特性が変化するため、それに応じて変化する光吸収スペクトルを捉えることで生体分子をセンシングすることが可能となる。K. Ai らは、溶媒に分散している金ナノ粒子の表面にシアヌル酸を修飾し、メラミンの検出に成功している[1]。シアヌル酸が表面修飾された金ナノ粒子にメラミンが添加されることで、各種官能基が結合し金ナノ粒子に凝集が生じる。Fig. 1-1 に示すように、金ナノ粒子の凝集によって分散溶液の色は赤色から青紫に変色し、変色の度合いを分光計測することでメラミンの含有量を検出した。モル濃度 20 nM の低濃度のメラミンによる金ナノ粒子分散溶液の変色を確認し、高いセンシング感度を示している。金ナノ粒子の凝集過程を利用し、特定の DNA 検出[2]、がん細胞の検出[3]なども実現されている。金ナノ粒子周囲にセンシング対象が付着した際に生じる微小な凝集現象は光吸収スペクトルの変化として検出できるため、その変化を捉えるためのセンシング対象は微量でも計測できると考えられる。前述した光ファイバセンシングと金ナノ粒子を組み合わせた計測手法が実現できていることを考慮すれば実現できる可能性があるといえる。したがって、分光計測に必要なセンシング対象を保持する容器（キュベットなど）の容積は微小でよいといえる。細径な光ファイバ導波路途中に穴あけ構造（穿孔構造）を構築し、微小な分光セルとして応用することで金ナノ粒子分散溶液を直接光ファイバ伝搬光と相互作用させることができる。被膜を除去した直径百数十マイクロメートルの石英系光ファイバを破断させることなく直径数マイクロメートル程度の穿孔構造を構築できれば、容積数ピコリットル程度の分光セルを形成できたことになる。上記の構造を光ファイバ型ピコリットル分光セルとみなし、金ナノ粒子分散溶液を利用した生体センシングが実現できれば、現在市販され

ている微量分光計測器の最小ボリュームであるサブマイクロリットルを下まわる分光計測構成を提供することができる。細径な光ファイバに再現性よく穿孔構造を構築するためには、ナノメートルからマイクロメートルスケールの非接触加工に有力な技術として認知されている超短パルスレーザーによる穴あけ加工（穿孔加工）を利用することで実現可能である。

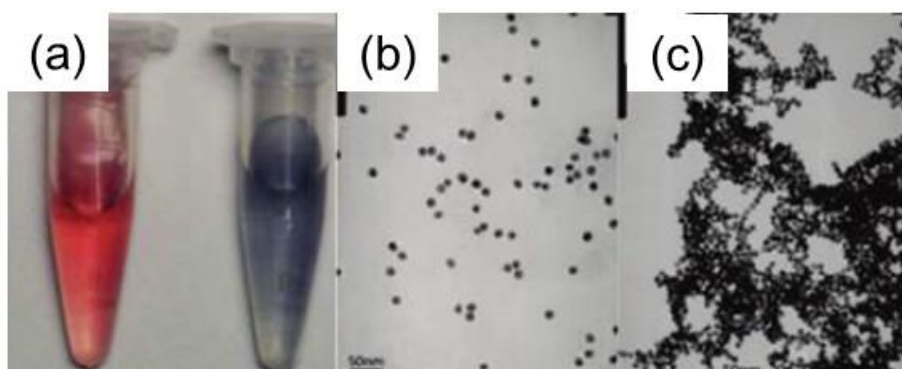


Fig. 1-1 (a) Visual color change of the chemical-stabilized gold nanoparticles upon addition of melamine (from left to right: 0, 1.5 μM) [1]. (b and c) The corresponding TEM images (0 and 1.5 μM , respectively).

1.1.2 フェムト秒レーザーによる透明材料への改質・除去加工

超短パルス光を発振するフェムト秒レーザーによる材料への加工技術は、微小三次元光造形、表面微細周期構造形成、ナノ粒子精製や微小領域材料改質・除去などを可能にし、その応用例は多岐にわたる[13-17]。特に、材料改質・材料除去（アブレーション）加工に関しては、様々な材料でフェムト秒パルス光を利用することにより実現可能である[18-22]。フェムト秒レーザーによるアブレーション加工の大きな特長として、極めて短いパルス幅のレーザー光照射による非熱的加工の実現が挙げられる。1996年に B.N. Chichkov らは、レーザーのパルス幅の違いによる加工痕の熱影響について報告している[23]。パルス光照射による材料内部の電子温度と格子温度の熱均衡現象をフェムト秒領域からナノ秒領域に分けて考察し、加工痕にどのような影響が現れるか理論的に説明している。フェムト秒領域では、照射時間内でパルス光エネルギーの注入により材料内部の電子のみが温度上昇する。そして、電子温度のエネルギーが格子温度の上昇に寄与する前にレーザーの照射が終了する。結果として、レーザー照射後に上昇した電子温度のエネルギーが直接格子に与えられ、材料を蒸散させることができる（または、プラズマを発生させることができる）。パルス幅をフェムト秒からナノ秒へと変化させ、厚さ 100 μm のスチール箔にアブレーション加工した Fig. 1-2 の結果にて上記についての検証も報告内に含まれている。2001年に C.B. Schaffer らは透明材料に対するフェムト秒レーザー加工について詳細に説明している[24]。熔融石英などの誘電体は、レーザーの電場によって定常状態の電子が導電帯に遷移されることで材料の改質・除去が可能となる。可視領域帯周辺の波長をもつレーザーでは、透明材料に対して電子を導電帯に遷移させることは難しい。しかし、フェムト秒パルス光のように高いピーク強度が材料に照射された場合は、トンネルイオン化や多光子吸収などの非線形光学現象によって電子を導電帯に遷移させることができる。Keldysh のパラメータから[25]、材料が熔融石英（バンドギャップ: 7.5 eV）の場合、レーザー波長 400 nm のフェムト秒パルス光ではトンネル

イオン化よりも多光子吸収過程が支配的であり，加工閾値はレーザー強度 2.9×10^{13} W/cm² と算出されている．同時期に C.B. Schaffer らは，パルスエネルギー 5 nJ のフェムト秒パルス光を開口数 1.4 の油浸集光レンズでボロシリケートガラス基板 (Corning 0211) に照射し，波長 633 nm の光がシングルモード伝搬可能な光導波路を構築した[26]．Fig. 1-3 に示す光導波路は，繰返し周波数 25 MHz のパルス列をレーザー走査速度 20 mm/s の加工条件で構築されたものである．パルス列の高い繰返し周波数による材料の蓄熱の影響で加工部周辺に屈折率分布が生じていることも加工結果の観察から示されている．熔融石英についてのアブレーション原理については，様々な手法を用いて調べられている[27-30]．その中で，2013 年に N. Varkentina らは，波長 1025 nm，パルス幅 500 fs のフェムト秒パルス光を用いてレーザーフルエンスと材料がアブレーションされる加工効率の関係について明らかにしている[31]．パルス光を熔融石英に照射した際の，レーザー光の反射率と透過率から材料へのパルスエネルギーの吸収率を算出した．アブレーション閾値近傍のレーザーフルエンスによる照射では，パルスエネルギーの 25% が熔融石英に吸収されることがわかった．レーザーフルエンスをアブレーション閾値より十分に上げると吸収率は上昇し，材料に対する吸収率は 70% で飽和することも示された．また，アブレーション閾値の 2 倍のレーザーフルエンスが最もアブレーションされる量が多いことが分かり $0.65 \mu\text{m}^3/\mu\text{J}$ に到達することを明らかにした．上記の熔融石英に対するフェムト秒レーザーによる材料改質・材料除去加工の利点から，2015 年に J.R. Grenier らは石英系シングルモード光ファイバのクラッド層にフェムト秒レーザーによる材料内部改質加工によってコア内部を伝搬する光をクラッド層へ取り出す光導波路の構築に成功している[32]．波長 522 nm，パルス幅 200 fs のフェムト秒パルス光を開口数 1.25 の油浸レンズを用いて光ファイバコア部から 6–13.5 μm 離れた距離に光導波路を構築した．本研究室では，近紫外フェムト秒レーザーによる石英系光ファイバへのアブレーション加工により，容積数ピコリットル単位の微小な穴である穿孔構造の構築に成功して

いる[33]. 微小穿孔構造は光ファイバ型ピコリットル分光セルとみなすことができ、セル内部へ浸入する液体試料の屈折率変化は光ファイバ伝搬光を利用して測定することができる。セル内部に注入する液体試料の屈折率増加に伴い、分光セルを透過する伝搬光強度は増加することが明らかとなっている。また、蛍光色素であるローダミン 6G をセル内部に注入し、可視光領域の光を透過させると蛍光色素固有の吸収波長 530 nm で透過光は減衰し、注入する蛍光色素の濃度が増加するにつれて減衰量も増加する傾向を取得した。構築された分光セルの容積はおよそ 20 pL と見積もられ、微量の容積による分光計測の有用性を示している。そして、前述した金ナノ粒子凝集過程を光ファイバセンシングに応用した例は提案されておらず、光ファイバ型ピコリットル分光セルを用いて金ナノ粒子分散溶液による光吸収スペクトルを取得できれば、新たな光学計測手法を提供することができる。

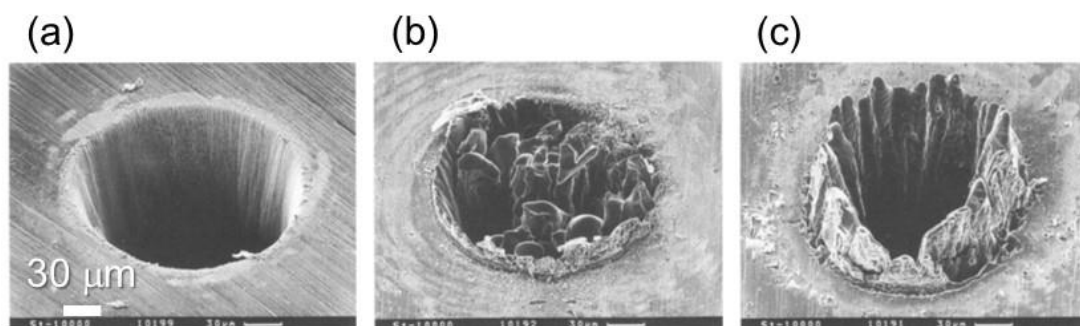


Fig. 1-2 SEM photographs of microholes drilled in a 100 μm thick steel foil fabricated by different pulse durations [23]. (a): 200 fs, (b): 80 ps, (c): 3.3 ns.

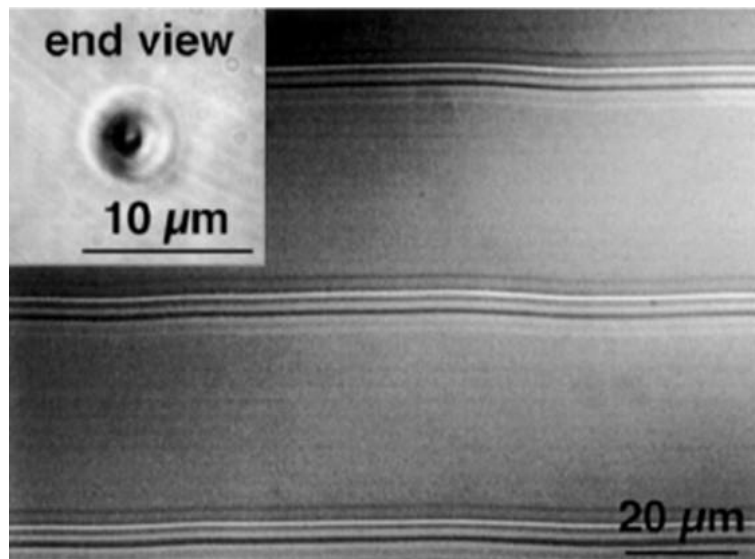


Fig. 1-3 Optical microscope image of waveguides written inside bulk glass by femtosecond pulses focused by a 1.4 NA microscope objective [26]. The sample was translated at 20 mm/s perpendicularly to the incident direction of the laser beam. The inset shows one end face of a waveguide.

1.2 研究の目的

本論文では、近紫外フェムト秒レーザーによる加工で構築された光ファイバ型ピコリットル分光セルと金ナノ粒子分散溶液を用いて新たな光センシング手法を提案する。

1.1 節で述べたように、提案する光ファイバによるセンシング構造と金ナノ粒子を用いた新たな分光計測手法は提案されていない。はじめに、光ファイバ内を伝搬する光と相互作用する容積が微小な分光セルを構築するために、フェムト秒レーザーによるアブレーション加工の効率の良い照射パラメータを明らかにする。その後、液体試料を導入させやすい分光セルとするために、光ファイバを貫通する分光セルを構築するための加工条件を確立する。また、加工条件を明らかにする中で、石英系光ファイバに構築される穿孔構造の深さ、形状、内部表面の形成原理について考察する。次に、構築した光ファイバ型ピコリットル分光セル内部に金ナノ粒子分散溶液を注入し、LSPRによる光吸収スペクトルの取得条件を明らかにする。分光セルの構造、金ナノ粒子の濃度・粒子数を基に数値計算によるLSPR光吸収スペクトルを算出し、実験により取得されるLSPRによる光吸収スペクトルとの整合性を検証する。その後、LSPRによる光吸収スペクトルを利用した、生体分子添加による光吸収スペクトルの変化を追跡し、提案する分光計測システムにおける生体分子検出手法の有用性を示す。

1.3 本論文の構成

本論文では、1.2節で述べた研究目的に対する成果について全5章で構成されている。第1章は序論とし、本論文に関する研究の背景、および研究における意義について述べた。第2章では、光ファイバ型ピコリットル分光セル構築のためのフェムト秒レーザーによる最適な加工条件を明らかにし、その加工原理について考察を含めて明示する。第3章では、構築した光ファイバ型ピコリットル分光セルを用いて、微量の金ナノ粒子分散溶液を用いて金ナノ粒子固有の光吸収スペクトルの取得方法について述べる。また、

数値解析を用いて光ファイバ型ピコリットル分光セルによる光吸収スペクトルの取得原理について考察を述べる。第4章では、金ナノ粒子分散溶液による光吸収スペクトルを用いた微小容積における生体分子検出手法について提案する。構築した光ファイバ型ピコリットル分光セルを用いた生体分子検出手法の有用性を検証する。第5章は、本論文の結論とし、研究成果を総括し今後の展望について述べる。

参考文献

- [1] Kelong Ai, Yanlan Liu, and Lehui Lu, "Hydrogen-bonding recognition-induced color change of gold nanoparticles for visual detection of melamine in raw milk and infant formula," *Journal of the American Chemical Society* 131, 9496-9497 (2009).
- [2] Kae Sato, Kazuo Hosokawa, and Mizuo Maeda, "Rapid aggregation of gold nanoparticles induced by non-cross-linking DNA hybridization," *Journal of the American Chemical Society* 125, 8102-8103 (2003).
- [3] Colin D. Medley, Joshua E. Smith, Zhiwen Tang, Yanrong Wu, Suwussa Bamrungsap, and Weihong Tan, "Gold nanoparticle-based colorimetric assay for the direct detection of cancerous cells," *Analytical Chemistry* 80(4), 1067-1072 (2008).
- [4] Kathryn M. Mayer and Jason H. Hafner, "Localized surface plasmon resonance sensors," *Chemical Reviews* 111, 3828-3857 (2011).
- [5] Caixin Guo, Paul Boullanger, Long Jiang, and Tao Liu, "Highly sensitive gold nanoparticles biosensor chips modified with a self-assembled bilayer for detection of Con A," *Biosensors and Bioelectronics* 22, 1830-1834 (2007).
- [6] Rongjing Cui, Haiping Huang, Zhengzhi Yin, Di Gao, and Jun-Jie Zhu, "Horseradish peroxidase-functionalized gold nanoparticle label for amplified immunoanalysis based on gold nanoparticles/carbon nanotubes hybrids modified biosensor," *Biosensors and Bioelectronics* 23, 1666-1673 (2008).
- [7] Nidhi Nath and Ashutosh Chilkoti, "A colorimetric gold nanoparticle sensor to interrogate biomolecular interactions in real time on a surface," *Analytical Chemistry* 74(3), 504-509 (2002).
- [8] Jitendra Satija, Nirmal Suresh Punjabi, V.V.R. Sai, and Soumyo Mukherji, "Optimal design for U-bent fiber-optic LSPR sensor probes," *Plasmonics* 9, 251-260 (2014).
- [9] Reshma Bharadwaj, Suparna Mukherji, and Soumyo Mukherji, "Probing the localized surface plasmon field of a gold nanoparticle-based fibre optic biosensor," *Plasmonics* 11, 753-761 (2016).
- [10] Alexandre R. Camara, Paula M.P. Gouvêa, Ana Carolina M.S. Dias, Arthur M.B. Braga, Rosa F. Dutra, Renato E. de Araujo, and Isabel C.S. Carvalho, "Dengue immunoassay with an LSPR fiber optic sensor," *Optics Express* 21(22), 27023-27031 (2013).
- [11] Sachin K. Srivastava, Vikas Arora, Sameer Sapra, and Banshi D. Gupta, "Localized surface plasmon resonance-based fiber optic U-shaped biosensor for the detection of blood glucose," *Plasmonics* 7, 261-268 (2012).
- [12] Hyeon-Ho Jeong, Norov Erdene, Jae-Hyoung Park, Dae-Hong Jeong, Ho-Young Lee, and Seung-Ki Lee, "Real-time label-free immunoassay of interferon-gamma and

- prostate-specific antigen using a fiber optic localized surface plasmon resonance sensor,” *Biosensors and Bioelectronics* 39, 346-351 (2013).
- [13] Dong Wu, Jian Xu, Li-Gang Niu, Si-Zhu Wu, Katsumi Midorikawa, and Koji Sugioka, “In-channel integration of designable microoptical devices using flat scaffold-supported femtosecond-laser microfabrication for coupling-free optofluidic cell counting,” *Light: Science & Applications* 4, e228-1-8 (2015).
- [14] S. Höhm, A. Rosenfeld, J. Krüger, and J. Bonse, “Femtosecond laser-induced periodic surface structures on silica,” *Journal of Applied Physics* 112, 014901-1-9 (2012).
- [15] Yuliati Herbani, Takahiro Nakamura, and Shunichi Sato, “Synthesis of near-monodispersed Au-Ag nanoalloys by high intensity laser irradiation of metal ions in hexane,” *The Journal of Physical Chemistry C* 115, 21592-21598 (2011).
- [16] Shane M. Eaton, Haibin Zhang, Peter R. Herman, Fumiyo Yoshino, Lawrence Shah, James Bovatsek, and Alan Y. Arai, “Heat accumulation effects in femtosecond laser-written waveguides with variable repetition rate,” *Optics Express* 13(12), 4708-4716 (2005).
- [17] J.R. Vázquez de Aldana, C. Méndez, and L. Roso, “Saturation of ablation channels micro-machined in fused silica with many femtosecond laser pulses,” *Optics Express* 14(3), 1329-1338 (2006).
- [18] Chris B. Schaffer, Alan O. Jamison, and Eric Mazur, “Morphology of femtosecond laser-induced structural changes in bulk transparent materials,” *Applied Physics Letters* 84(9), 1441-1443 (2004).
- [19] Lakshmi Narayana Deepak Kallepalli, Venugopal Rao Soma, and Narayana Rao Desai, “Femtosecond-laser direct writing in polymers and potential applications in microfluidics and memory devices,” *Optical Engineering* 51(7), 073402-1-6 (2012).
- [20] A. Weck, T.H.R. Crawford, D.S. Wilkinson, H.K. Haugen, and J.S. Preston, “Ripple formation during deep hole drilling in copper with ultrashort laser pulses,” *Applied Physics A* 89, 1001-1003 (2007).
- [21] W.W. Gong, Z.H. Zheng, J.J. Zheng, H.F. Zhao, X.G. Ren, and S.Z. Lu, “Femtosecond laser induced submicrometer structures on the ablation crater walls of II–VI semiconductors in water,” *Applied Surface Science* 255, 4351-4354 (2009).
- [22] R. Vilar, S.P. Sharma, A. Almeida, L.T. Canguero, and V. Oliveira, “Surface morphology and phase transformations of femtosecond laser-processed sapphire,” *Applied Surface Science* 288, 313-323 (2014).
- [23] B.N. Chichkov, C. Momma, S. Nolte, F. von Alvensleben, and A. Tünnermann, “Femtosecond, picosecond and nanosecond laser ablation of solids,” *Applied Physics A* 63, 109-115 (1996).

- [24] Chris B. Schaffer, André Brodeur, and Eric Mazur, "Laser-induced breakdown and damage in bulk transparent materials induced by tightly focused femtosecond laser pulses," *Measurement Science and Technology* 12, 1784-1749 (2001).
- [25] L.V. Keldysh, "Ionization in the field of a strong electromagnetic wave," *Soviet Physics - Journal of Experimental and Theoretical Physics* 20(5), 1307-1314 (1965).
- [26] Chris B. Schaffer, André Brodeur, José F. García, and Eric Mazur, "Micromachining bulk glass by use of femtosecond laser pulses with nanojoule energy," *Optics Letters* 26(2), 93-95 (2001).
- [27] E.G. Gamaly, A.V. Rode, B. Luther-Davies, and V.T. Tikhonchuk, "Ablation of solids by femtosecond lasers: Ablation mechanism and ablation thresholds for metals and dielectrics," *Physics of Plasmas* 9(3), 949-957 (2002).
- [28] Takayuki Kumada, Hiroshi Akagi, Ryuji Itakura, Tomohito Otobe, and Atsushi Yokoyama, "Femtosecond laser ablation dynamics of fused silica extracted from oscillation of time-resolved reflectivity," *Journal of Applied Physics* 115, 103504-1-9 (2014).
- [29] M. Lebugle, N. Sanner, N. Varkentina, M. Sentis, and O. Utéza, "Dynamics of femtosecond laser absorption of fused silica in the ablation regime," *Journal of Applied Physics* 116, 063105-1-8 (2014).
- [30] Shi-zhen Xu, Cai-zhen Yao, Wei Liao, Xiao-dong Yuan, Tao Wang, and Xiao-tao Zu, "Experimental study on 800 nm femtosecond laser ablation of fused silica in air and vacuum," *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 385, 46-50 (2016).
- [31] N. Varkentina, N. Sanner, M. Lebugle, M. Sentis, and O. Utéza, "Absorption of a single 500 fs laser pulse at the surface of fused silica: Energy balance and ablation efficiency," *Journal of Applied Physics* 114, 173105-1-7 (2013).
- [32] Jason R. Grenier, Luís A. Fernandes, and Peter R. Herman, "Femtosecond laser inscription of asymmetric directional couplers for in-fiber optical taps and fiber cladding photonics," *Optics Express* 23(13), 16760-16771 (2015).
- [33] Kenji Goya, Toshiaki Itoh, Atsushi Seki, and Kazuhiro Watanabe, "Efficient deep-hole drilling by a femtosecond, 400 nm second harmonic Ti:Sapphire laser for a fiber optic in-line/pico-liter spectrometer," *Sensors and Actuators B* 210, 685-691 (2015).

第2章

近紫外フェムト秒レーザーによる 光ファイバ型ピコリットル分光セルの構築

2.1 緒言

本章では、近紫外フェムト秒レーザーを用いた石英ガラス薄板・石英系光ファイバへのアブレーション加工時の各種レーザーパラメータと加工痕の特性について述べる。はじめに、石英ガラス薄板にフェムト秒パルス光を照射し、アブレーションの加工効率について検討する。主に、二種類の対物レンズによる材料への集光度の違いに対するアブレーションされる体積量について比較する。また、パルス照射数を変化させ、加工痕の形状、内部表面粗さについても検討する。上記結果から石英系光ファイバへの穿孔加工条件を選定し、加工結果に対しての考察について述べる。結果と考察から得られた加工特性を基に、液体試料の導入が比較的容易となる光ファイバを貫通する分光セルを構築する加工条件を明らかにする。貫通する穿孔構造を光ファイバ型ピコリットル分光セルと呼び、第3章と第4章での金ナノ粒子分散溶液を用いた分光計測へ応用する。

2.2 レーザー加工システム・観察系の概要

Fig. 2-1 に、材料への穴あけ・穿孔加工のためのフェムト秒レーザーシステム・光学系の概要図を示す[1, 2]。Ti:Sapphire レーザー（IFRIT, Cyber Laser Inc.）から発振された波長 800 nm のフェムト秒パルス光を誘多膜ミラーにてセカンドハーモニックゲート（SHG）まで導光した。SHG から出射した波長 400 nm のフェムト秒レーザー第二高調波を平行光学系を用いて対物レンズに入射できる程度にビーム径を絞った。平行光学系には、レーザー発振装置側に焦点距離 150 mm の凸レンズ、加工材料側に焦点距離 70 mm の凹レンズを用意し、ビーム径を対物レンズに導光できる 3.0 mm 以下に絞った。光学実験台の面積や基本波 800 nm のレーザー加工の利用を考慮し、SHG と平行光学系の上にレーザー光を取り回すためのミラーが余分に設置されている。材料の集光位置は、2 台の CCD カメラと 3 軸稼働ステージを用いて調整した。また、石英系光ファイバへの加工は、光ファイバを固定するクランプにステッピングモーターによる回転機構

が備え付けられており、光ファイバの側面に対して任意の方向からパルス光を照射できるようにした。Table 2-1 に本研究で使用したレーザーシステムの仕様について示す。

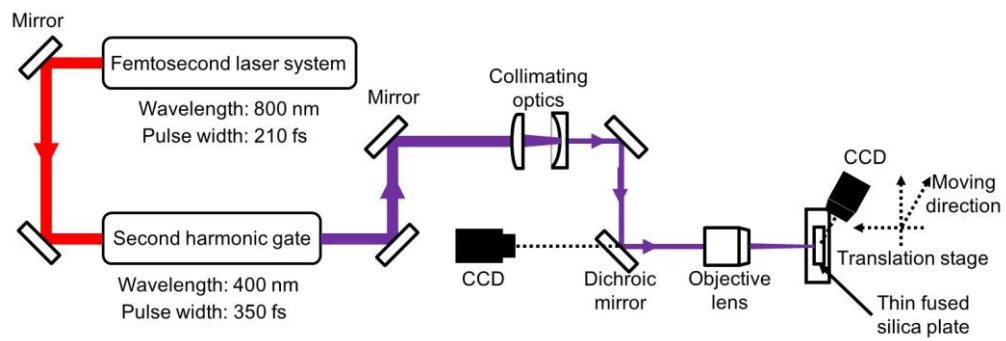


Fig. 2-1 Schematic diagram of the experimental setup for fabrication of microholes using femtosecond laser pulses.

Table 2-1 Specification of laser system (IFRIT, Cyber Laser Inc.).

Specification of laser system		
Fundamental wavelength	800 nm	-
Wavelength of second harmonic	-	400 nm
Average power	1.0 W	100 mW
Repetition rate		$\cong 1$ kHz
Pulse duration	210 fs	350 fs
Pulse energy	1 mJ	240 μ J
Beam diameter	6 mm	-
Spatial beam quality	$M^2 < 1.5$	-
Divergence	≤ 1 mrad	-
Propagation medium		Air
Laser polarization		Linear polarization
Number of pulse shots		Optional
Pulse to pulse stability	1.5% rms	-
Output energy stability	2.0% rms for 50 hours	-
Class of laser product		Class 4

2.3 石英ガラス薄板へのアブレーション加工による加工効率の検討

石英ガラス薄板に波長 400 nm, パルス幅 350 fs のフェムト秒パルス光を照射し材料表面にアブレーション加工を施した。パルスエネルギー, 繰返し周波数は, それぞれ 20 μ J, 1 kHz とした。二種類の対物レンズ (NA: 0.28, 0.65) を用いて集光点を材料表面に固定して加工痕を取得した。照射パルス数を 10 から 1,000 shots まで変化させ, 加工痕の形状, 内部表面粗さについて走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscopy; SEM, FE-SEM JSM-7500F, JEOL Ltd.) を用いて観察した。Fig. 2-2 に石英ガラス薄板の表面にフェムト秒パルス光によるアブレーション加工を施した結果を示す。加工結果は走査型電子顕微鏡による SEM 写真であり, 開口数 0.28 の対物レンズを用いた場合である。各写真の右上に照射パルス数を示す。8 つの SEM 写真の上段, 下段はそれぞれ同じ倍率の写真であり, 下段の写真は上段に示す加工痕の内壁の表面拡大写真である。レーザー光の偏光方向は, すべての写真に対して水平方向である。照射パルス数 10 shots では, 深さのある加工痕を得られなかった。照射パルス数 50 shots 以上で深さのある加工痕が得られ, 材料深部になるにつれて加工径が小さくなる形状が構築されていることがわかった。また, 内部表面には粗さがあり, 照射パルス数が増加するにつれて様相も変化していることがわかる。Fig. 2-3 に対物レンズの開口数を 0.65 に変更し, 同様の条件におけるアブレーション加工結果を示す。開口数 0.28 の場合と同様, 照射パルス数 10 shots では深さのある加工痕を得られなかった。照射パルス数 50 shots で比較的滑らかな内部表面が形成された[3]。照射パルス数 50 shots 以上で深さのある加工痕が生じ, 照射パルス数の増加に伴いアブレーションされた体積も増加することが明らかとなった。照射パルス数 100 shots 以上では, 開口数 0.28 より 0.65 を採用した場合の方がアブレーションされる体積が大きくなることがわかった。照射パルス数 100 shots のときは, 加工痕入り口の長軸は 15.7 μ m, 短軸は 8.7 μ m であった。加工部形状を楕円錐としたとき, アブレーションされた体積はおよそ 358 μ m³ であり, マイクロジュール当たりのアブレーション

オン量は $0.18 \mu\text{m}^3/\mu\text{J}$ であることがわかった。加工痕底部の面積を加工痕入り口の面積と同程度と仮定したとき、アブレーションされた体積はおよそ $1073 \mu\text{m}^3$ であり、アブレーション量は $0.54 \mu\text{m}^3/\mu\text{J}$ であることがわかった。よって、SEM による観察で開口数 0.65 の対物レンズを用いた場合のアブレーション量は、 $0.18\text{--}0.54 \mu\text{m}^3/\mu\text{J}$ の範囲に収まることが示された。また、形成される加工痕の大きさは分光セルを構築する石英系光ファイバの標準的なクラッド径 $125 \mu\text{m}$ に収まるため、開口数は 0.65 を採用する方が高い加工効率であることが明らかとなった。

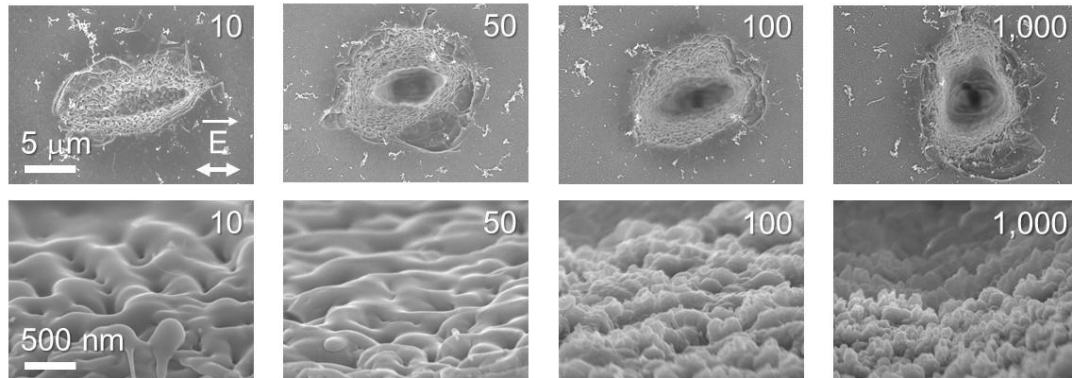


Fig. 2-2 Scanning electron microscope photographs of a microhole fabricated on a bulk fused silica and the inner surface of the microhole. The focal point was set on the surface of fused silica by use of the objective lens with 0.28 NA. The laser pulse energy was 20 μ J. The number of pulse shots is indicated in the upper right corner of each image. Magnifications in the upper and bottom photographs are 5,000 and 20,000, respectively.

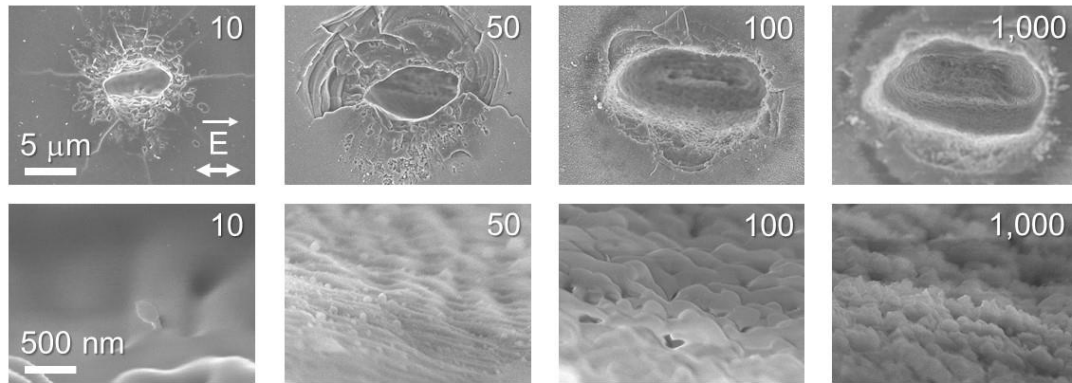


Fig. 2-3 Scanning electron microscope photographs of a microhole fabricated on a bulk fused silica and the inner surface of the microhole. The focal point was set on the surface of fused silica by use of the objective lens with 0.65 NA. The laser pulse energy was 20 μ J. The number of pulse shots is indicated in the upper right corner of each image. Magnifications in the upper and bottom photographs are 5,000 and 20,000, respectively.

2.4 アブレーション加工時の内部表面粗さについて

材料に対してレーザーによるアブレーション加工を施し、形成された加工部の内部表面を観察・報告した例はいくつか存在する。フェムト秒レーザーでアブレーション加工した加工部に対して、内部表面を観察した報告例もいくつか存在する[4-7]。A. Weckらは、厚さ 100 μm の銅薄膜にフェムト秒レーザーで貫通孔を構築し、内部に形成される周期構造とレーザーの偏光の関係性を示した[8]。その周期構造の間隔 Λ は、レーザー波長 λ とレーザーの集光角 θ を用いて以下のように表される。

$$\Lambda = \frac{\lambda}{1 \pm \sin(\theta)} \quad (2-1)$$

Fig. 2-4 に銅に加工された貫通孔の内部表面粗さについての SEM 写真を示す。偏光方向に依存した方向に周期構造が形成され、レーザー波長 800 nm で間隔 300 nm 以下、波長 400 nm で間隔 160 nm 以下の周期構造が形成されていることが確認されている。レーザーの入射角 90° の場合を想定すると上記の式と実験結果の整合性があることがわかった。

Y. Liu らは、厚さ 2 mm の熔融石英基板に波長 800 nm のフェムト秒レーザーを照射し、内部表面の周期構造についての SEM による観察結果を報告している[9]。熔融石英に対する加工部内部表面の周期構造は、熔融石英に照射されるレーザー光と加工によってできた内部表面でのレーザー反射光の干渉によって形成される。上記二つのレーザー光による干渉の空間内における周期 Λ_1 は、

$$\Lambda_1 = \frac{\lambda}{(2 \sin(\theta/2))} \quad (2-2)$$

と表すことができ、 λ はレーザー波長、 θ は集光角である。報告では、集光角と形成される加工部の最深部のなす角 ϕ は同等と見積もっている。レーザーの干渉が内部表面に投影される周期 Λ_2 は、

$$\Lambda_2 = \frac{\Lambda_1}{\sin((\theta + \phi)/2)} \quad (2-3)$$

と表される. Fig. 2-5 に示すように照射パルス数 100 shots でレーザー照射方向からみて環状の周期構造が形成され, その周期間隔は 600-700 nm と上記の式(2-3)から逸脱しない結果となっている.

Y. Huang らは, チタンに波長 800 nm, 繰返し周波数 1 kHz のパルス光を照射し, 材料加工痕の内部表面にレーザーの光軸方向と放射方向に沿った周期構造が形成されることを発見した[10]. 内部表面の周期構造はレーザーの入射光とレーザーによって誘起される表面プラズモンとの干渉によって形成されると示している. レーザー光に対する放射方向の周期構造の間隔 d_1 は以下のように表される.

$$d_1 = \frac{\lambda}{(\eta \pm \sin\theta)} \quad \text{with } \mathbf{g}_1 \parallel \mathbf{E} \quad (2-4)$$

η は空気と金属の有効屈折率である. 周期構造が形成される方向 \mathbf{g}_1 はレーザーの電場と平行なときに形成される. また, レーザー光に対する光軸方向の周期構造の間隔 d_2 は,

$$d_2 = \frac{\lambda}{(\eta^2 - \sin^2\theta)^{1/2}} \quad \text{with } \mathbf{g}_2 \perp \mathbf{E} \quad (2-5)$$

と表すことができ, 周期構造が形成される方向 \mathbf{g}_2 はレーザーの電場と直交している.

Fig. 2-6 に示すように, チタンに対して 10,000 パルス照射で, 放射方向の周期間隔 0.4 μm , 光軸方向の周期間隔 1.5 μm を得た.

フェムト秒レーザーによるアブレーション加工によって形成される穴あけ構造の内部表面の構造形成原理は, 上記で述べたようにレーザー照射条件や材料によって様々な現象に基づいている. 内部表面の形成原理を表す式において, レーザーの入射角が影響をもたらすことがいずれの現象でも含まれる. 入射角が増加するに伴い, 周期間隔が減少する傾向が上記報告からわかる. 2.3 節で示した実験結果でも, 開口数 0.65 を採用したフェムト秒レーザーによるアブレーション加工の方が, 開口数 0.28 の場合と比較して内部表面粗さを抑えることができた. 上記で紹介した報告は, 2.3 節の実験に関連していると推測できる.

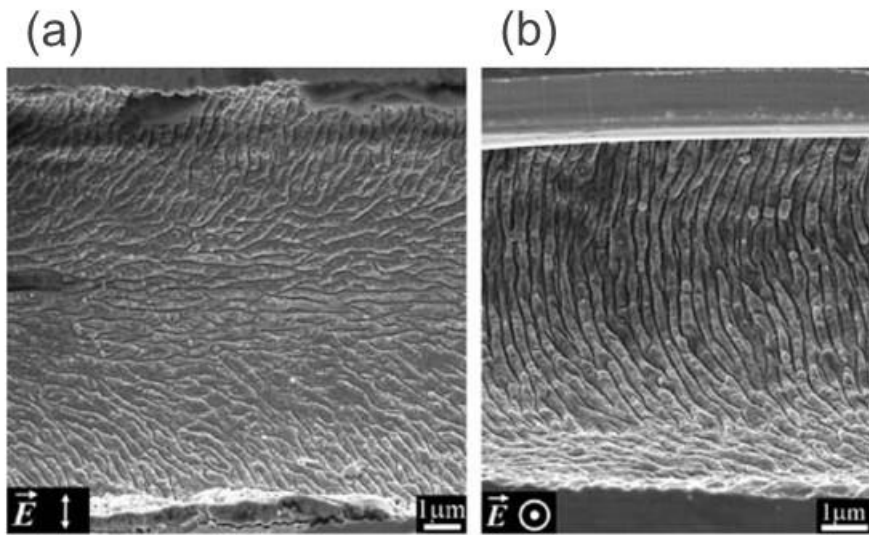


Fig. 2-4 SEM photographs of the inside walls of a laser hole drilled [8]. (a) A vertical polarization on the figure. (b) A polarization out of the page.

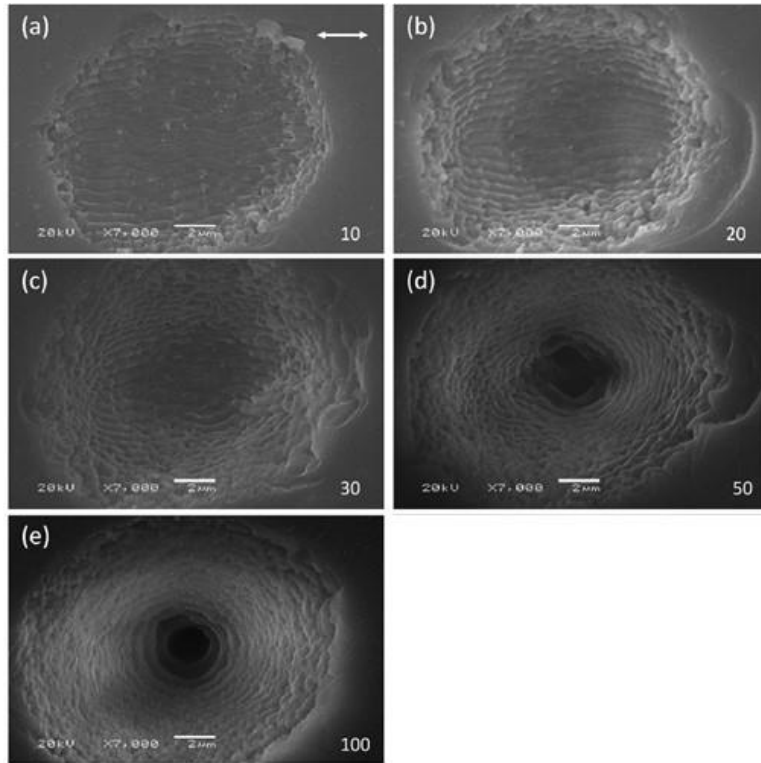


Fig. 2-5 Formation of laser-induced periodic annular surface structures (LIPASS) as a function of the laser shots number [9]. The focal lens was $f = 75$ mm and the laser fluence of $F = 9.8$ J/cm². The numbers on each photograph indicate the laser shots numbers. The arrow represents the direction of laser polarization in (a).

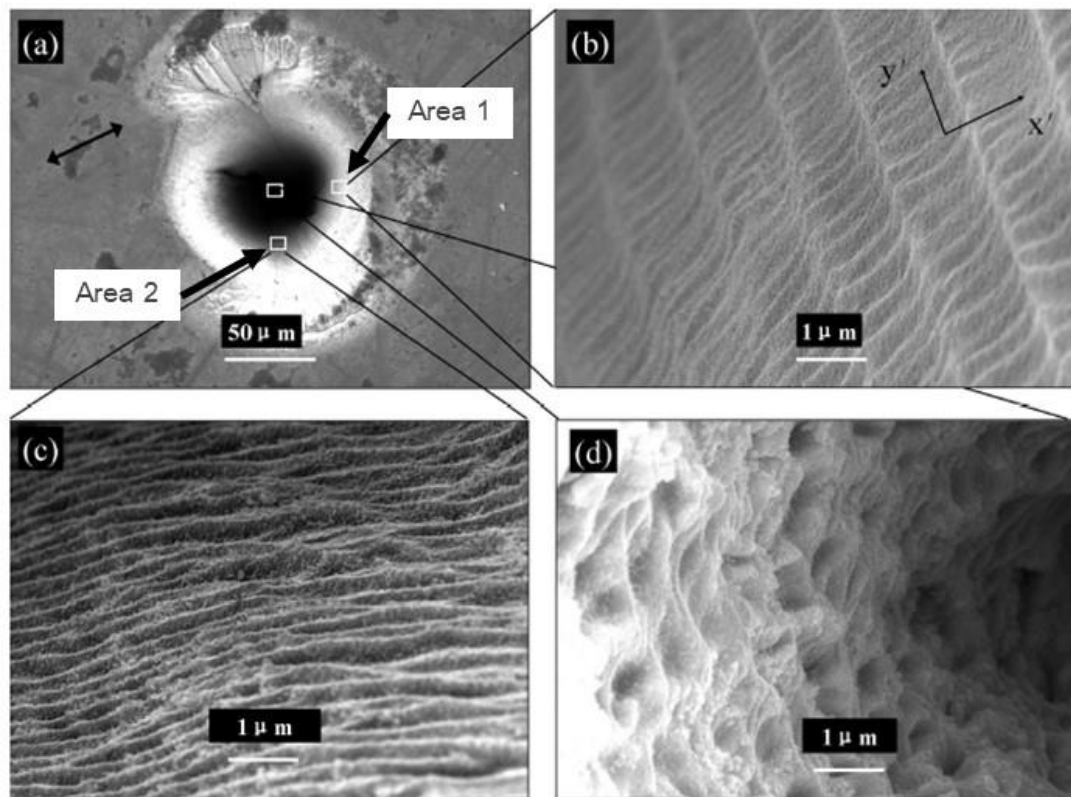


Fig. 2-6 SEM photographs of a microhole on the titanium by use of 800 nm femtosecond laser [10]. (a) The microhole formation after 10,000 pulse shots. The arrow indicates the incident laser polarization direction. (b) Two dimensional ripple structure on the central zone of the area 1. (c) One dimensional ripple structure on the central zone of the area 2. (d) Cone structure on a small microhole wall at the bottom.

2.5 近紫外フェムト秒レーザーによる石英系光ファイバへの穿孔加工

本節では、石英系光ファイバに近紫外フェムト秒レーザーを用いて、材料中央部まで到達する深さを有する穴あけ加工（穿孔加工）を実現する。開口数は 0.65 の比較的高いものを採用し、加工効率のよい穿孔加工の照射条件を明らかにする。波長 400 nm, パルス幅 350 fs のパルス光を石英系光ファイバに照射し、比較的アスペクト比の高い穿孔構造を構築した。材料は Multi-mode graded index (MMGI) 型石英系光ファイバ (Fujikura Inc.) を採用した。光ファイバのコア径, クラッド径はそれぞれ, 62.5 μm , 125 μm のものを選定した。比較的大きなコア径としたのは, 分光セルを構築した後にセル内に注入する試料と光ファイバ伝搬光との相互作用する容積を可能な限り大きくするためである。Fig. 2-7 に光ファイバへのフェムト秒レーザーによる穿孔加工の概要図を示す。繰返し周波数は 1 kHz に固定した。パルスエネルギーは 20 μJ と 30 μJ の二種類に限定した。照射パルス数は, 100 shots と 1,000 shots の二通りとした。集光位置は, Fig. 2-7 差込図のように材料表面から 50 μm の位置に設定した。材料表面に集光点を設定した場合, 加工痕の深さは十数 μm 程度となることが予備実験で明らかとなっている。照射パルス数 100 shots, 1,000 shots 程度で深さを有する穿孔構造を構築するために集光位置は材料の深部に固定した。穿孔構造構築後, 光ファイバの加工部が含まれる箇所を破断し, その端面を SEM を用いて観察した。Fig. 2-8 に照射パルス数 100 shots, パルスエネルギー 20 μJ とした場合の加工結果に対する SEM 写真を示す。すべての倍率の写真で, フェムト秒パルス光は写真から見て左から右に集光している。Fig. 2-8 (a) の写真の白い点線の円は, 光ファイバのコア層とクラッド層の境界を示しており, 構築された穿孔構造はコア層にまで到達していることがわかる。Fig. 2-8 (b) から, 穿孔構造の深さは 60 μm であり, 材料深部は 35 μm の長さで直径 3 μm 程度の細長い穿孔構造が構築された[11]。また, Fig. 2-8 (c)-(e) からわかるように, 材料浅部 (Fig. 2-8 (c)) は内部表面に粗さが生じていることがわかるが, 材料深部の細長い穿孔構造の内部表面は比較的滑らかな表面

が形成されていることがわかった。Fig. 2-8 (d), (e)から、フェムト秒レーザーによるアブレーション加工時に飛散し内部表面に付着した熔融石英の微粒子を確認した。次に、照射パルス数を 1,000 shots に変化させた結果を Fig. 2-9 に示す。Fig. 2-9 (a)からみてわかるように、100 shots の場合と同様、コア層まで到達する穿孔構造が形成された。Fig. 2-9 (b)から、穿孔構造の深さはおよそ 80 μm であることが確認でき、照射パルス数の増加に伴って加工される深さが増加することがわかった。Fig. 2-9 (c)-(e)をみてわかるように、構築された穿孔構造の内部表面は全体的に粗さが形成された。穿孔構造の形状が細長いものとなる位置は、照射パルス数 100 shots の場合と同様に材料表面からおよそ 23 μm の地点であることが確認された。照射パルス数 1,000 shots のときに形成された穿孔構造深部の内部表面の粗さは、100 shots のときに確認された比較的滑らかな表面とはならなかった。照射パルス数の増加に伴う内部表面粗さの形成は、余剰パルスの蓄熱効果による内部表面の改質と現在は推測している。次に、パルスエネルギーを 30 μJ と増加させ、照射パルス数 100 shots としたときの穿孔加工結果を Fig. 2-10 に示す。パルスエネルギーが 20 μJ のときと同様に、光ファイバのコア層まで到達する穿孔構造が構築されていることが Fig. 2-10 (a)から確認できる。Fig. 2-10 (b)から、穿孔構造の深さはおよそ 60 μm であることがわかり、パルスエネルギーを増加させても穿孔構造が深くならないことがわかった。穿孔構造深部の直径が 4.6 μm とパルスエネルギーが 20 μJ の場合と比較して、1.6 μm 増加したことがわかる。今回のレーザー照射条件の場合、パルスエネルギーを増加させると穿孔構造の径が太くなることが明らかとなった。Fig. 2-10 (d), (e)からわかるように、材料がアブレーションされる量の増加に伴い、穿孔構造内部に付着する熔融石英微粒子の付着量が増加していることがわかり、Fig. 2-10 (c)で示す、光ファイバの浅部にまで付着するようになった。

上記の実験にて、照射パルス数とパルスエネルギーの二つの照射パラメータから、穿孔構造の深さ、形状、内部表面の形成についての傾向性を確認することができた。次に、

繰返し周波数に注目し、加工結果にどのような違いが現れるか検討した。パルスエネルギーを $30 \mu\text{J}$ に固定し、繰返し周波数を 10 Hz から $1,000 \text{ Hz}$ に変化させ穿孔構造の深さ、形状、内部表面の粗さについて SEM 観察により考察した。集光位置は前述の実験同様に、石英系光ファイバ表面から $50 \mu\text{m}$ の位置とした。Fig. 2-11 に繰返し周波数を変化させた際の穿孔構造の変化についての SEM 観察結果を示す。穿孔構造は照射パルス数 100 shots とした場合の結果である。Fig. 2-11 (a), (c) の繰返し周波数 10 Hz , 100 Hz では、それぞれ $17 \mu\text{m}$, $25 \mu\text{m}$ と深さのある穿孔構造を得ることはできなかった。Fig. 2-11 (b), (d) を確認すると、繰返し周波数 100 Hz 以下では内部表面は溶融したような表面となり、 10 Hz と 100 Hz では様相に違いが生じた。Fig. 2-11 (e), (f) は Fig. 2-10 と同じサンプルの SEM 観察結果である。繰返し周波数が $1,000 \text{ Hz}$ のときおよそ $60 \mu\text{m}$ と 100 Hz のときに形成された深さの倍以上の穿孔構造が形成された。さらに、材料表面から $25 \mu\text{m}$ よりも深部では、滑らかな内部表面であることがわかる。 $25 \mu\text{m}$ よりも浅い範囲の内部表面は、繰返し周波数が 100 Hz のときと同じような様相が形成された。最後に、照射パルス数を $1,000 \text{ shots}$ とし、繰返し周波数を変化させて穿孔構造を形成した加工結果を Fig. 2-12 に示す。Fig. 2-12 (a), (c), (e) をみて明らかなように、繰返し周波数が 10 Hz から $1,000 \text{ Hz}$ と増加するについて穿孔構造の深さは、 $52 \mu\text{m}$, $75 \mu\text{m}$, $93 \mu\text{m}$ と増加することがわかった。周波数が増加するについて穿孔構造の深さが増加することは、レーザー光の照射による材料への蓄熱効果が発生していると確認できるが、フェムト秒レーザーによる材料への照射の場合、 0.2 MHz 程度の照射から発生することが知られている [12]。Fig. 2-12 (b), (d), (f) からみてわかるとおり、照射パルス数が $1,000 \text{ shots}$ のときは、繰返し周波数を変化させても内部表面は粗さのあるものが形成された。

本節では、波長 400 nm 、パルス幅 350 fs のフェムト秒パルス光のパルスエネルギー、照射パルス数、繰返し周波数を変化させて構築した穿孔構造の深さ、形状、内部表面の粗さについて傾向性を調べた。深さ $52 \mu\text{m}$ 以上の穿孔構造が形成された場合、材料表面

より 23 μm から 25 μm を境に穿孔構造の形状に違いが生じた。材料の浅部では表面からの深さの増加に伴い内部の穿孔構造の径が小さくなる傾向が生じた。材料の深部では、穿孔構造の径が一定となるような形状を得た。

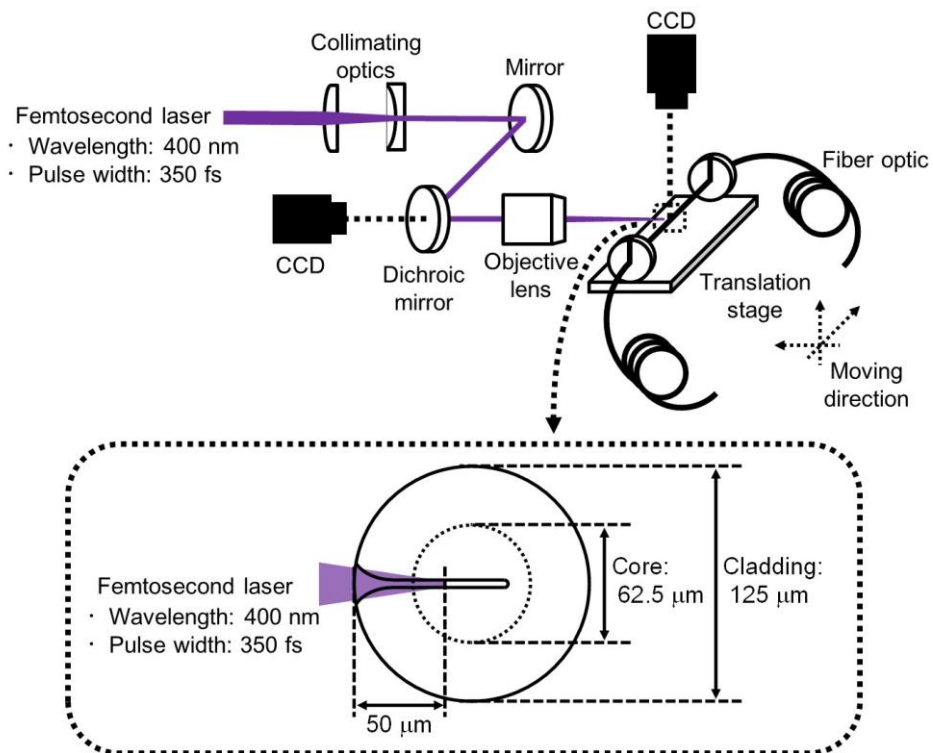


Fig. 2-7 The experimental apparatus of the laser system to fabricate microroles into the glass optical fiber. Inset represents the details of a focal position.

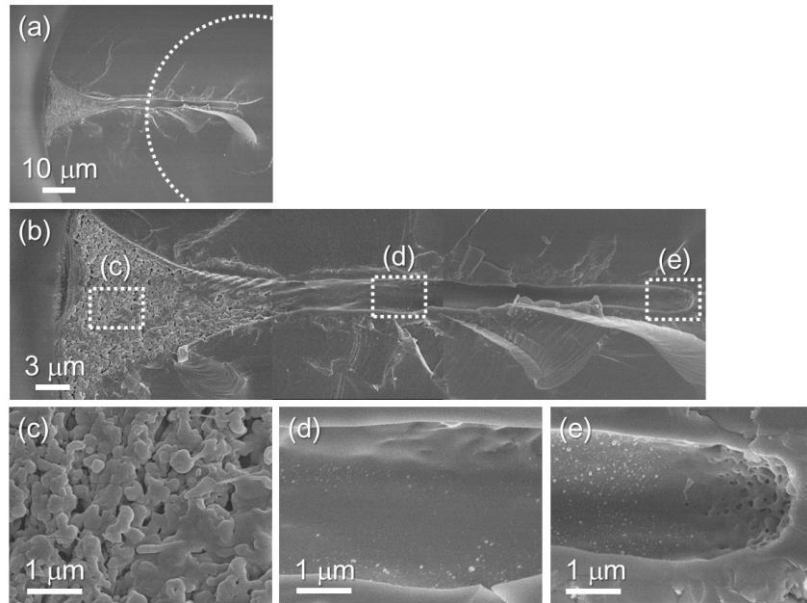


Fig. 2-8 Observation of a microhole with a ‘hundred’ femtosecond laser pulse irradiation with different magnifications. The pulse energy was ‘20 μJ ’. (a) Whole cross-sectional view of a processed fiber. The dotted circle indicates the boundary of core and cladding. (b) Magnified cross-sectional view of a processed fiber with three different positions. (c-e) Three different positions of a microhole inside a fiber are further magnified as (c-e) in (b).

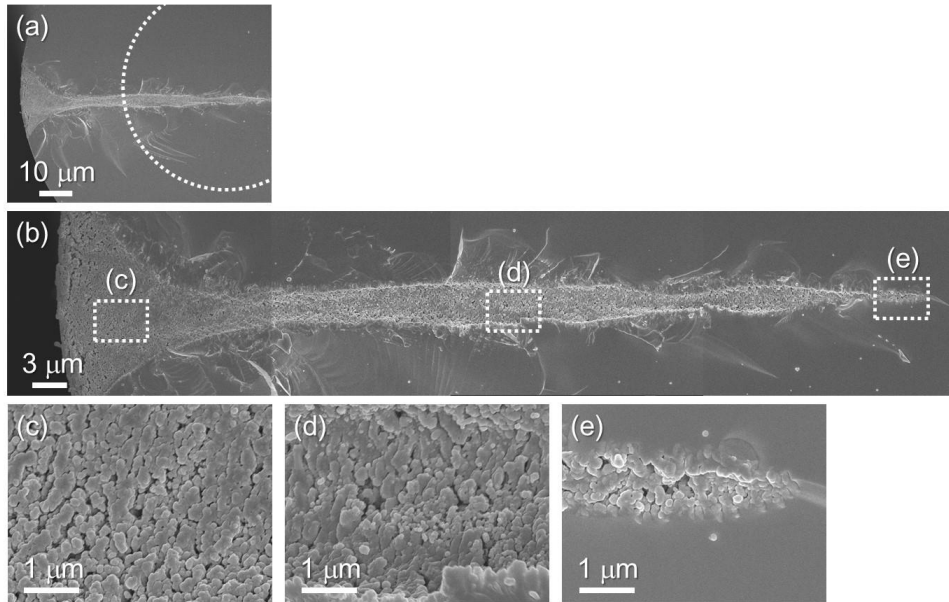


Fig. 2-9 Observation of a microhole with a ‘thousand’ femtosecond laser pulse irradiation with different magnifications. The pulse energy was ‘20 μJ ’. (a) Whole cross-sectional view of a processed fiber. The dotted circle indicates the boundary of core and cladding. (b) Magnified cross-sectional view of a processed fiber with three different positions. (c-e) Three different positions of a microhole inside a fiber are further magnified as (c-e) in (b).

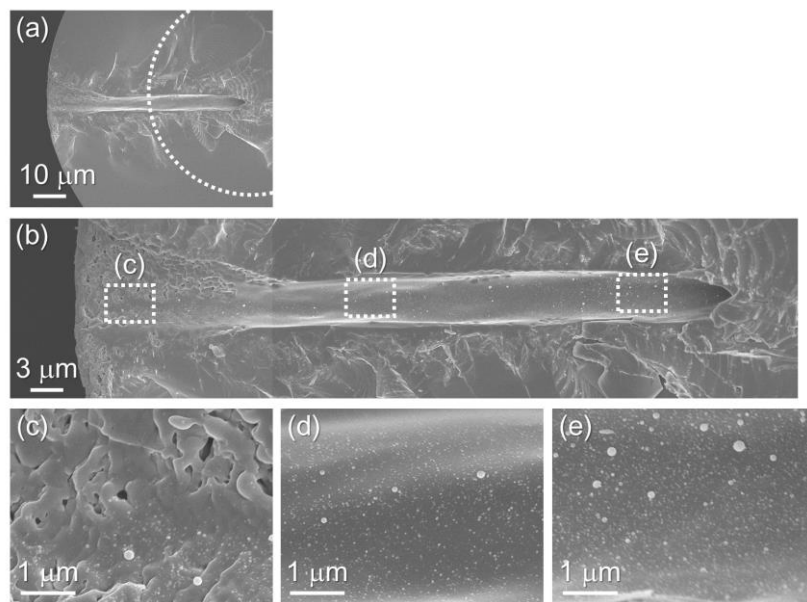


Fig. 2-10 Observation of a microhole with a ‘hundred’ femtosecond laser pulse irradiation with different magnifications. The pulse energy was ‘30 μJ’. (a) Whole cross-sectional view of a processed fiber. The dotted circle indicates the boundary of core and cladding. (b) Magnified cross-sectional view of a processed fiber with three different positions. (c-e) Three different positions of a microhole inside a fiber are further magnified as (c-e) in (b).

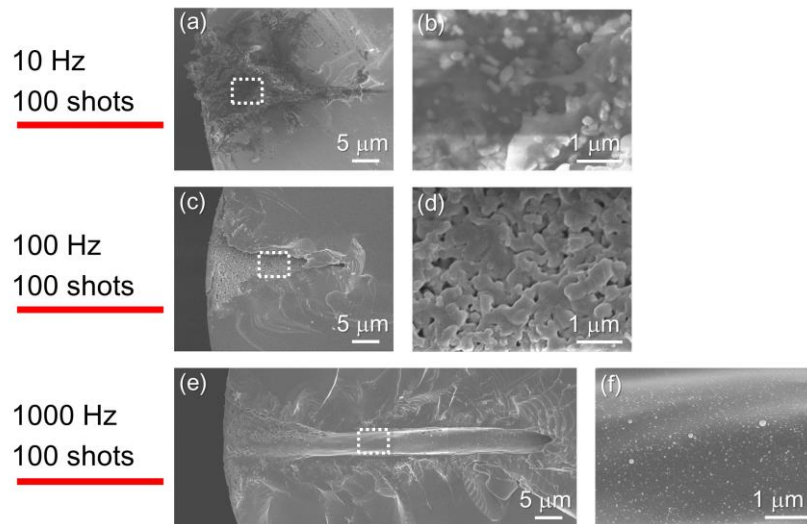


Fig. 2-11 Observation of the shapes of the microholes with varying the repetition rate from 10 to 1,000 Hz ((a), (c), (e)). The inner surface roughness was also observed ((b), (d), (f)). The near UV femtosecond pulses with '30 μJ' irradiated into the glass fiber optic. The number of pulse shots was '100 shots'.

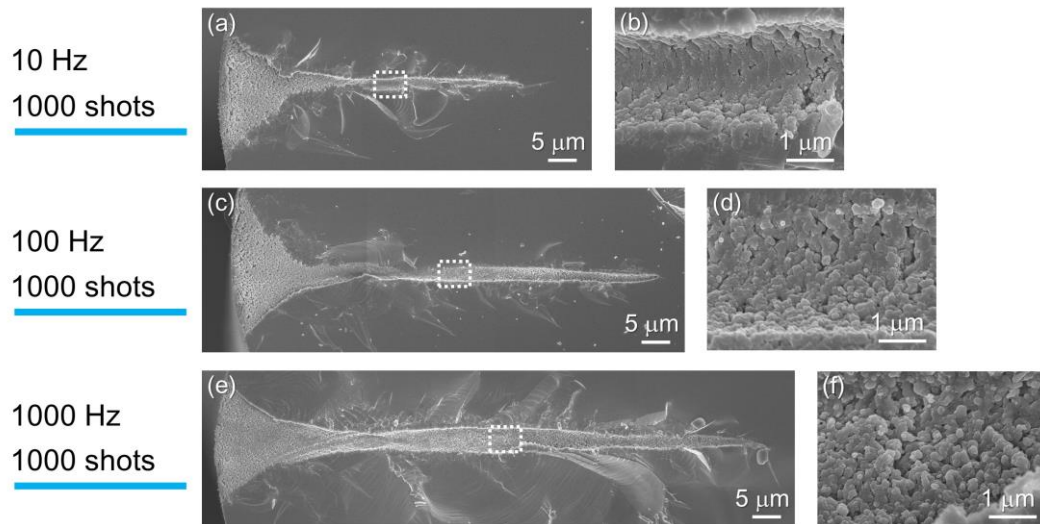


Fig. 2-12 Observation of the shapes of the microholes with varying the repetition rate from 10 to 1,000 Hz ((a), (c), (e)). The inner surface roughness was also observed ((b), (d), (f)). The NUV femtosecond pulses with '30 μJ ' irradiated into the glass fiber optic. The number of pulse shots was '1,000 shots'.

2.6 石英系光ファイバ内部の集光位置の変化と加工形状について

2.5 節の加工実験によって、穿孔構造の形状が材料表面から 23 μm から 25 μm の位置で形状に違いが発生することが明らかとなった。これは、材料内部の実際の集光点と関係する。フェムト秒レーザーによる加工の際、集光位置は材料表面から 50 μm の位置に設定した。実際の集光点は光ファイバの形状によるシリンドリカルレンズ効果と、フェムト秒レーザーの高いピーク強度によるカーレンズ効果によって移動したと考えられる。カーレンズ効果による焦点距離の変化は光カー効果から導出される。光カー効果を考慮した、媒質中の屈折率 n は以下で表される。

$$n(I) = n_0 + n_2 I(r) \quad (2-6)$$

右辺 n_0 は媒質中の線形屈折率であり、 n_2 は非線形屈折率である。光強度はレーザー光が伝搬する光軸方向に対する、放射方向距離 r の関数であり、 n は光強度 I の関数として表現できる。また、光カー効果による自己位相変調は以下で表される。

$$\Delta\varphi = \frac{2\pi l}{\lambda} n(I) - \frac{2\pi l}{\lambda} n_0 = \frac{2\pi l}{\lambda} n_2 I(r) \quad (2-7)$$

λ は波長、 l はビーム光の伝搬距離である。ガウシアンビームと見なすことで式(2-7)は以下に展開できる。

$$\Delta\varphi = \frac{2\pi l}{\lambda} n_2 I(r) = \frac{2\pi l}{\lambda} n_2 I_p \exp^{-2\left(\frac{r}{w}\right)^2} \quad (2-8)$$

I_p はビーム光の光軸上のピーク強度である。光軸上についての自己位相変調を考えると、 $r \cong 0$ のとき、

$$\exp^{-2\left(\frac{r}{w}\right)^2} \cong 1 - 2\left(\frac{r}{w}\right)^2 \quad (2-9)$$

と近似できるため、最終的に式(2-8)は、

$$\Delta\varphi = \frac{2\pi l}{\lambda} n_2 I_p \quad (2-10)$$

となる。ガウシアンビームの電場に関する複素振幅は以下である。

$$\begin{aligned}
E(r, \theta, z) = E_0 & \left[\frac{w_0}{w(z)} \exp\left(-\frac{r^2}{w^2(z)}\right) \right] \\
& \times \exp\left[-i\left(kz - \tan^{-1}\left(\frac{z}{z_0}\right)\right)\right] \\
& \times \exp\left[-i\frac{kr^2}{2R(z)}\right]
\end{aligned} \tag{2-11}$$

ガウシアンビーム光軸方向に対する放射方向の曲率半径を表す上記式(2-11)の最終項と式(2-10)の位相を関連付けて、

$$\exp^{-i\frac{kr^2}{2R}} \equiv \exp^{-i\Delta\phi} \tag{2-12}$$

となる。式(2-12)の指数についての等式を考えて以下となる。

$$\frac{kw^2}{2R} = \frac{2\pi l}{\lambda} n_2 I_p = k l n_2 I_p \tag{2-13}$$

近軸光学における焦点距離 f_{Kerr} と曲率半径 R の関係は $f_{Kerr} = R/2$ より、

$$\frac{1}{f_{Kerr}} = \frac{4l n_2 I_p}{w^2} = \frac{4l n_2 P}{w^4} \tag{2-14}$$

であり、最終的にカーレンズ効果による材料内部の焦点距離は、

$$f_{Kerr} = \frac{w^4}{4l n_2 P} \tag{2-15}$$

と表すことができる。

光ファイバのシリンドリカルレンズ効果 ($R = 125 \mu\text{m}$) と上記の導出結果によるカーレンズ効果を考慮して、フェムト秒レーザー集光時の実際の集光点について算出した。光ファイバ到達時のビーム径 w はおよそ $15 \mu\text{m}$ 、伝搬距離 l は $125 \mu\text{m}$ 、ピークパワー P はパルスエネルギー $20 \mu\text{J}$ からおよそ 57MW と見積もった。レーザー波長 400nm に対する熔融石英の非線形屈折率 n_2 は、 $(3.42 \pm 0.37) \times 10^{-16} \text{cm}^2/\text{W}$ である[13]。したがって、カーレンズ効果による焦点距離 f_{Kerr} は、 $53.8 \mu\text{m}$ と計算できる。上記、二つの現象を考慮すると Fig. 2-13 に表したように、材料表面から $50 \mu\text{m}$ の位置に設定した焦点は、材料表面から $23 \mu\text{m}$ に移動したと考えられる。Fig. 2-14 に取得した SEM 画像と数値計算によって得た集光点が移動したレーザー集光図の組み合わせを示す。SEM 写真の穿孔構

造は、パルスエネルギー $20\ \mu\text{J}$ 、パルス照射数 100 shots、繰返し周波数 1,000 Hz の照射条件の加工痕の結果である。Fig. 2-14 をみてわかるように、実際の集光点より深い範囲では、穿孔構造の形状が細長い穿孔径が広がらない形状となっていることがわかる。これは、材料内部で集光したあとは、フェムト秒パルス光によるプラズマが発生していると考えられ、プラズマ発生に伴う遮蔽効果によるレーザー光の Defocusing 効果が生じたと考えられる。Defocusing 現象が生じたとしても、レーザー光の強度は強いままであるため Self-focusing 現象と Defocusing 現象が繰り返されるプラズマチャネリング効果が発生したと考えられる[14-17]。パルスエネルギーを $30\ \mu\text{J}$ とした場合は、実際の集光点は材料表面からおよそ $20\ \mu\text{m}$ と $20\ \mu\text{J}$ のときと比較してわずかに材料の浅部に移動する。よって、パルスエネルギー $20\text{--}30\ \mu\text{J}$ のとき、穿孔構造の形状は、材料表面から $20\text{--}23\ \mu\text{m}$ の地点を境に違う形状になることがわかった。

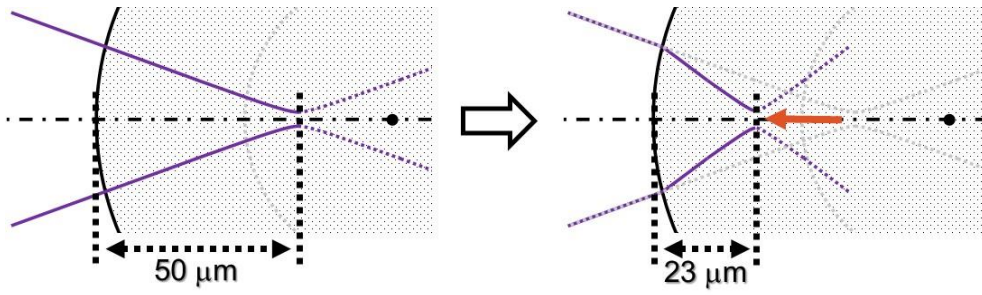


Fig. 2-13 An illustration of actual focal point shift due to cylindrical lens effect and Kerr lens effect.

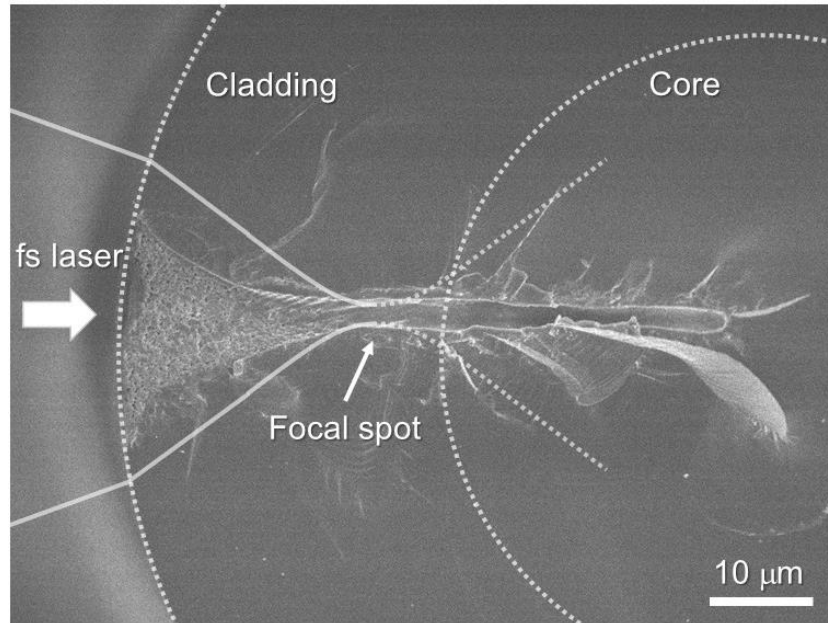


Fig. 2-14 Calculated ray trace of the focused femtosecond laser beam overlapped with an experimentally observed microhole shape. A Kerr lens as a result of self-focusing is also considered.

2.7 繰返しパルス光照射による熔融石英への蓄熱効果について

本節では、近紫外フェムト秒レーザーによる石英系光ファイバへの穿孔加工時の繰返し周波数に依存した蓄熱効果について考察する。フェムト秒レーザーによる材料への加工は、蓄熱による加工痕への影響を可能な限り抑制できるが、材料へ投入されるパルス光の一部は熱へと変換される。D.V. Tran らは、波長 775 nm, 繰返し周波数 1,000 Hz, パルス幅 240 fs のフェムト秒パルス光をシリコン薄板に照射し、試料への蓄熱について赤外サーモグラフィを用いて観察した[18]。パルスエネルギー300 μ J, スポット径 0.6 mm のフェムト秒パルス光をシリコン薄板表面に照射し、照射時間 30 秒後で材料表面から 4.05 mm の深さ地点でおよそ 60°C の温度上昇を観測した。このとき、投入されたパルスエネルギーの 68.3% が熱流に変換されたと数値計算より算出された。パルス幅がフェムト秒程度であり、繰返し周波数が 1,000 Hz の場合でも蓄熱の効果が生じることを示したが、温度上昇量は比較的小さかった。S.M. Eaton らは、ボロシリケートガラス内部に波長 1045 nm, パルス幅 375 fs のフェムト秒パルス光を照射し、材料内部での蓄熱効果による加工サイズの増加について観察をした[12]。パルスエネルギー450 nJ, スポット径 2 μ m, 照射パルス数 4,000 shots 以上のフェムト秒パルス光を照射した場合、繰返し周波数 200 kHz 以上で蓄熱効果による材料改質が現れることを加工痕の光学顕微鏡観察から明らかにした。

2.5 節で示したように、近紫外フェムト秒レーザーによる石英系光ファイバへの穿孔加工においても蓄熱の効果が発生しているような加工結果を得た。パルス幅とパルスエネルギーは、350 fs, 30 μ J とし、繰返し周波数を 10–1,000 Hz, 照射パルス数を 100–1,000 shots と変化させた合計 6 通りの場合を用いて穿孔結果を取得した。2.5 節の Fig. 2-11 から、100 shots 後は、10, 100 Hz の条件下では深さを有する穿孔構造が構築されなかった。繰返し周波数を 1,000 Hz としたとき、深さ 60 μ m の穿孔構造が構築され、内表面の粗さも低減されていることがわかった。また、Fig. 2-12 から照射パルス数 1,000 shots

のとき、繰返し周波数 10, 100, 1000 Hz で、それぞれ、52, 75, 93 μm の深さを得た。繰返し周波数の増加による穿孔深さの増加は、パルス光照射による材料への蓄熱効果が発生していると考えられる。フェムト秒レーザーが加工材料に照射されたことによるプラズマ発生時間は、レーザー照射開始から長くてもマイクロ秒に到達する程度である[19]。2.5 節で示された実験のフェムト秒パルス光照射の繰返し周波数は 10–1,000 Hz の範囲のため、パルス光が照射し次のパルス光が材料に照射される時にはプラズマは存在しない。よって、照射されたフェムト秒パルス光のエネルギーの一部は材料内部に蓄熱として残存していると考えられる。パルス光が材料に照射された際の蓄熱効果は、R. Weber らの解析的な導出から以下のように定義でき、時間 t に関する温度上昇 ΔT と表すことができる[20]。

$$\Delta T(t) = \frac{Q_{nD}}{\rho \cdot c_p \cdot \sqrt{(4 \cdot \pi \cdot \kappa)^{nD}}} \sum_{N=1}^{N_p} \frac{\theta\left(t - \frac{N-1}{f_L}\right)}{\sqrt{\left(t - \frac{N-1}{f_L}\right)^{nD}}} e^{-\frac{1}{\left(t - \frac{N-1}{f_L}\right)^{4 \cdot \kappa}} \frac{r_{nD}^2}{4 \cdot \kappa}} \quad (2-16)$$

式内の ρ , c_p , κ は、それぞれ熔融石英の密度、熱容量、熱拡散率とし、2.2 g/cm³, 0.749 J/gK, 0.0083 cm²/s と見積もった。 N , N_p , f_L は照射パルス数、全照射パルス数、繰返し周波数であり、ヘビサイド関数 $\theta(t - (N-1)/f_L)$ によりパルス光が材料に照射したときに熱エネルギーとして与えられる。底 e の指数関数部は熱源からの距離について表している。式 2-16 は、熱源から蓄熱効果が拡散する次元を 1 次元から 3 次元まで表現することができる。近紫外フェムト秒パルス光が石英系光ファイバに照射した際の蓄熱の拡散方向が、レーザー照射方向の 1 次元のみと仮定すると、式 2-16 は以下のように変形できる。

$$\Delta T(t) = \frac{2Q_{1D}}{\rho \cdot c_p \cdot \sqrt{(4 \cdot \pi \cdot \kappa)}} \sum_{N=1}^{N_p} \frac{\theta\left(t - \frac{N-1}{f_L}\right)}{\sqrt{\left(t - \frac{N-1}{f_L}\right)}} e^{-\frac{1}{\left(t - \frac{N-1}{f_L}\right)^{4 \cdot \kappa}} \frac{r_{1D}^2}{4 \cdot \kappa}} \quad (2-17)$$

Q_{1D} はレーザーフルエンス (J/cm²) を表し、係数に 2 が含まれるのは蓄熱の効果が材料表面から材料内部への 1 方向のみを考慮している。 r_{1D} は熱源からの距離とし、今回は

石英系光ファイバ表面のレーザー照射位置 ($r_{ID}=0$) と仮定した。Fig. 2-15 にフルエンス 1.0 J/cm^2 、全照射パルス数を 1,000 shots としたときのパルス光照射による蓄熱効果について示す。Fig. 2-15 (a)は照射時間 0–0.1 秒における温度上昇であり、繰返し周波数 f_L を 100, 1,000 Hz と変化させると明らかな温度上昇の違いが生じた。Fig. 2-15 (b)は照射時間を 0–120 秒まで引き伸ばしたものであり、繰返し周波数 10, 100, 1000 Hz のパルス光照射終了時の温度上昇は、それぞれおよそ 700, 2300, 7300 K であった。投入するパルス光の合計エネルギーは同じであるが、蓄熱効果による温度上昇には明らかな違いが現れた。また、繰返し周波数 10 Hz の場合でも、温度上昇が 700 K と比較的高い温度の上昇を数値計算から確認した。検討した蓄熱効果に関する数値計算で、繰返し周波数の違いによるパルス照射終了時の熔融石英の温度上昇値に明らかな違いが生じた。今回の数値計算による解析が、実際のフェムト秒レーザーによる穿孔加工に反映されていると考えられる。

以上の結果と考察を基に、穿孔加工の特性は各種レーザーパラメータの変化に依存して定性的に以下のようにまとめられる。ただし、パルスエネルギーは 20–30 μJ 、照射パルス数は 100–1,000 shots、繰返し周波数は 10–1,000 Hz の限られた考察であるため、上記の値から大きく離れた照射パラメータに関しては加工特性に変化が生じる可能性がある。パルスエネルギーについては、エネルギーの増加に伴い、主に穿孔構造の直径・太さが増加する。照射パルス数については、照射パルス数増加に伴い、主に穿孔構造の深さが増加する。ただし、今回の実験範囲 (20–30 μJ) では照射パルス数 200 shots 以上は深さが増加しない。フェムト秒パルス光の繰返し周波数については、繰返し周波数の増加に伴い穿孔構造の深さが増加した。照射時間がフェムト秒領域のパルス光による加工は、熱の影響を可能な限り抑えることができるが、熔融石英へのパルス光エネルギー投入に伴う蓄熱は少なからず生じていると 2.5 節の実験と本節の考察で明らかとなった。

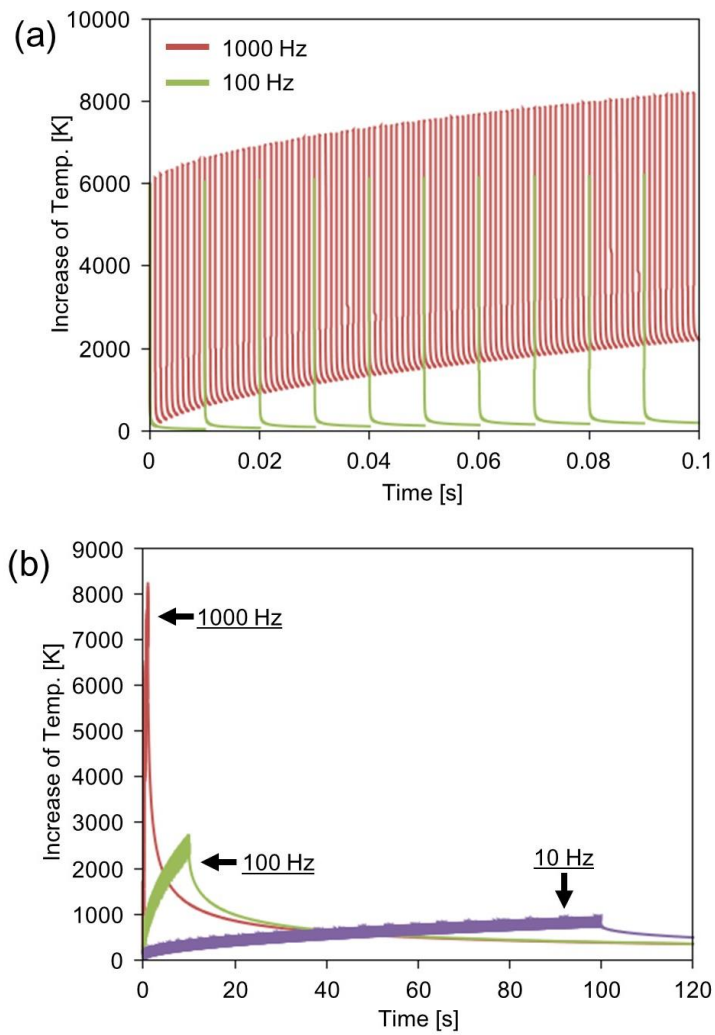


Fig. 2-15 Temporal changes of the temperature increase on the surface of the fused silica optical fiber with two different time scales which are (a): 0-0.1 s and (b): 0-120 s, respectively.

2.8 光ファイバ型ピコリットル分光セルの構築

2.5 節から 2.7 節まで、石英系光ファイバへのフェムト秒レーザー照射条件の変化による穿孔構造が形成される特性について検討した。前述した照射条件では、光ファイバを貫通する穿孔構造を得ることができない。液体試料を導入させる分光セルとしての使用を考えると、貫通する穿孔構造を構築する必要がある。Fig. 2-16 に、貫通する穿孔構造を構築する照射方法について示す[1, 2, 21]。石英系光ファイバはステッピングモーターによる回転式クランプに固定されており、フェムト秒パルス光照射後に光ファイバを回転させることができる。照射パルス数 150 shots 照射後に光ファイバを 180° 回転させ、同様のパルス数を 1 回目照射の反対方向から照射することで貫通する穿孔構造である光ファイバ型ピコリットル分光セルを構築した。パルスエネルギーは 30 μJ 、繰返し周波数は 1,000 Hz とした。Fig. 2-17 に構築した光ファイバ型ピコリットル分光セルを含む光ファイバ端面の SEM 写真を示す。Fig. 2-17 (a)は、光ファイバ端面全体を撮影した SEM 写真であり、白い点線の円は光ファイバコア層とクラッド層の境界を示している。穿孔構造が光ファイバを貫通しており、液体を導入しやすい光ファイバ型分光セルを構築できていることがわかる。Fig. 2-17 (b)から分光セルは複雑な形状をしていることがわかるが、コア部の分光セルの直径を 3 μm としたとき、伝搬光と相互作用する容積はおよそ 0.4 pL と見積もることができる。Fig. 2-17 (c)-(e)は分光セル内部表面を映した拡大 SEM 写真であり、分光セルの材料浅部、深部両方で内部表面に粗さが形成されていることが確認できる。

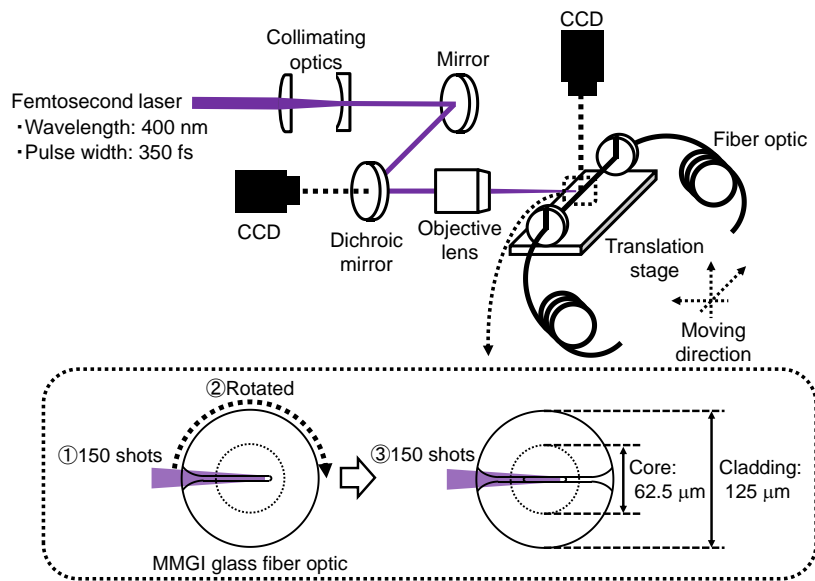


Fig. 2-16 The experimental apparatus of the laser system to fabricate an inline/picoliter spectrometer cell. Inset represents a schematic diagram of two-directional irradiation to make a through-hole for the spectrometer cell.

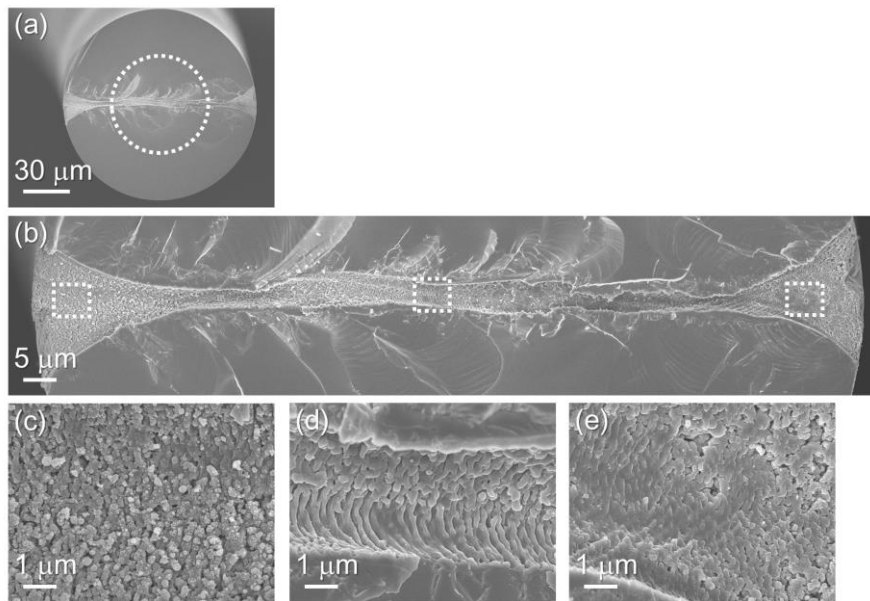


Fig. 2-17 Cross sectional SEM photographs of the inline/picoliter spectrometer cell with two different magnifications. (a) Whole view of the spectrometer cell inside an optical fiber that produces a through-hole. (b) Magnified view of the spectrometer cell. (c-e) Three different positions of the spectrometer cell inside a fiber are further magnified as (c-e) in (b).

2.9 結言

本章では、近紫外フェムト秒レーザーによる穿孔加工を用いて、貫通する分光セルを石英系光ファイバ導波路に構築した。はじめに、石英ガラス薄板を用いて対物レンズの開口数の違いによるアブレーション加工の加工効率について明らかにした。開口数 0.28 と 0.65 の対物レンズを用いてアブレーション加工を実施した結果、開口数が高いほうが加工効率が良いことが加工痕の SEM 観察によって明らかとなった。次に、開口数 0.65 の対物レンズを採用し、石英系光ファイバに穿孔加工を実施した。パルスエネルギー、繰返し周波数、照射パルス数の範囲をそれぞれ 20–30 μJ 、10–1,000 Hz、100–1,000 shots の範囲に限定し、穿孔構造の深さ、形状、内部表面の粗さについて SEM 観察にて傾向性を検証した。その結果、繰返し周波数を 1,000 Hz、照射パルス数 100 shots の場合、パルスエネルギー 20–30 μJ の範囲で光ファイバの中央付近まで到達する穿孔構造が構築できることがわかった。また、光ファイバへ照射するパルス光の集光位置は、光ファイバの形状によるシリンダリカルレンズ効果と、レーザー光の高いピーク強度によるカーレンズ効果によって材料の浅部に移動することがわかった。実際の集光位置を境に穿孔構造の形状が変化することが明らかとなった。さらに、フェムト秒パルス光による石英系光ファイバの穿孔加工において、繰返し照射による材料への蓄熱効果が生じているような結果を取得した。R. Weber らのモデルを参考に、パルス光照射による蓄熱効果の数値解析より、繰返し周波数 10–1,000 Hz という比較的低い周波数帯域の繰返し照射でも蓄熱効果が生じている可能性を示唆した。最終的に、光ファイバ型ピコリットル分光セルは、波長 400 nm、パルス幅 350 fs、パルスエネルギー 30 μJ 、繰返し周波数 1 kHz で構築できることがわかった。照射パルス数は 150 shots を互い合う照射方向から 2 回照射することで貫通する分光セルを構築できることがわかった。光ファイバ伝搬光と相互作用する容積は 1 pL 以下と微小な容積であることがわかった。

参考文献

- [1] Kenji Goya, Toshiaki Itoh, Atsushi Seki, and Kazuhiro Watanabe, "A through-hole array on optical fibers fabricated by 1-kHz/400-nm femtosecond laser pulses for an in-line/pico-liter spectrometer design," *Procedia Engineering* 87, 919-922 (2014).
- [2] Kenji Goya, Toshiaki Itoh, Atsushi Seki, and Kazuhiro Watanabe, "Efficient deep-hole drilling by a femtosecond, 400 nm second harmonic Ti:Sapphire laser for a fiber optic in-line/pico-liter spectrometer," *Sensors and Actuators B* 210, 685-691 (2015).
- [3] Masahiko Shiraishi, Kazuhiro Watanabe, and Shoichi Kubodera, "Observation of inner surface roughness in fused silica microholes with varying the number of femtosecond laser pulses," *The 21st International Symposium on High Power Laser Systems and Applications, Proceeding of SPIE* 10254, 1025419-1-4 (2016).
- [4] T.Q. Jia, H.X. Chen, M. Huang, F.L. Zhao, J.R. Qiu, R.X. Li, Z.Z. Xu, X.K. He, J. Zhang, and H. Kuroda, "Formation of nanogratings on the surface of a ZnSe crystal irradiated by femtosecond laser pulses," *Physical Review B* 72, 125429-1-4 (2005).
- [5] W.W. Gong, Z.H. Zheng, J.J. Zheng, H.F. Zhao, X.G. Ren, and S.Z. Lu, "Femtosecond laser induced submicrometer structures on the ablation crater walls of II-VI semiconductors in water," *Applied Surface Science* 255, 4351-4354 (2009).
- [6] Tao Chen, An Pan, Cunxia Li, Jinhai Si, and Xun Hou, "Study on morphology of high-aspect-ratio grooves fabricated by using femtosecond laser irradiation and wet etching," *Applied Surface Science* 325, 145-150 (2015).
- [7] Vanthanh Khuat, Tao Chen, Bo Gao, Jinhai Si, Yuncan Ma, and Xun Hou, "Uniform nano-ripples on the sidewall of silicon carbide micro-hole fabricated by femtosecond laser irradiation and acid etching," *Applied Physics Letters* 104, 241907-1-5 (2014).
- [8] A. Weck, T.H.R. Crawford, D.S. Wilkinson, H.K. Haugen, and J.S. Preston, "Ripple formation during deep hole drilling in copper with ultrashort laser pulses," *Applied Physics A* 89, 1001-1003 (2007).
- [9] Yi Liu, Yohann Brelet, Zhanbing He, Linwei Yu, Benjamin Forestier, Yongkai Deng, Hongbing Jiang, and Aurélien Houard, "Laser-induced periodic annular surface structures on fused silica surface," *Applied Physics Letters* 102, 251103-1-4 (2013).
- [10] Yongguang Huang, Shibing Liu, Wei Li, Yuanxing Liu, and Wei Yang, "Two-dimensional periodic structure induced by single-beam femtosecond laser pulses irradiating titanium," *Optics Express* 17(23), 20756-20761 (2009).
- [11] Masahiko Shiraishi, Kenji Goya, Michiko Nishiyama, Shoichi Kubodera, and Kazuhiro Watanabe, "Femtosecond laser microhole drilling inside a fused silica optical fiber with optical inner surface quality," *Applied Physics A* 122(9), 825-1-4 (2016).

- [12] Shane M. Eaton, Haibin Zhang, Peter R. Herman, Fumiyo Yoshino, Lawrence Shah, James Bovatsek, and Alan Y. Arai, "Heat accumulation effects in femtosecond laser-written waveguides with variable repetition rate," *Optics Express* 13(12), 4708-4716 (2005).
- [13] David Milam, "Review and assessment of measured values of the nonlinear refractive-index coefficient of fused silica," *Applied Optics* 37(3), 546-550 (1998).
- [14] Chris B. Schaffer, André Brodeur, and Eric Mazur, "Laser-induced breakdown and damage in bulk transparent materials induced by tightly focused femtosecond laser pulses," *Measurement Science and Technology* 12, 1784-1749 (2001).
- [15] L. Sudrie, A. Couairon, M. Franco, B. Lamouroux, B. Prade, S. Tzortzakis, and A. Mysyrowicz, "Femtosecond laser-induced damage and filamentary propagation in fused silica," *Physical Review Letters* 89(18), 186601-1-4 (2002).
- [16] A. Saliminia, N.T. Nguyen, S.L. Chin, and R. Vallée, "The influence of self-focusing and filamentation on refractive index modifications in fused silica using intense femtosecond pulses," *Optics Communications* 241, 529-538 (2004).
- [17] J.H. Marburger, "Self-focusing: Theory," *Progress in Quantum Electronics* 4(1), 35-110 (1975).
- [18] D.V. Tran, Y.C. Lam, B.S. Wong, H.Y. Zheng, and D.E. Hardt, "Quantification of thermal energy deposited in silicon by multiple femtosecond laser pulses," *Optics Express* 14(20), 9261-9268 (2006).
- [19] Adela Ben-Yakar, Anthony Harkin, Jacqueline Ashmore, Robert L. Byer, and Howard A. Stone, "Thermal and fluid processes of a thin melt zone during femtosecond laser ablation of glass: the formation of rims by single laser pulses," *Journal of Physics D: Applied Physics* 40(5), 1447-1459 (2007).
- [20] Rudolf Weber, Thomas Graf, Peter Berger, Volkher Onuseit, Margit Wiedenmann, Christian Freitag, and Anne Feuer, "Heat accumulation during pulsed laser materials processing," *Optics Express* 22(9), 11312-11324 (2014).
- [21] Masahiko Shiraishi, Michiko Nishiyama, Kazuhiro Watanabe, and Shoichi Kubodera, "Absorption spectra of localized surface plasmon resonance observed in an inline/picoliter spectrometer cell fabricated by a near ultraviolet femtosecond laser," *Optics Communications* 410, 8-12 (2018).

第3章

光ファイバ型ピコリットル分光セルを用いた
局在型表面プラズモン共鳴
光吸収スペクトルの取得

3.1 緒言

本章では、第2章で構築した光ファイバ型ピコリットル分光セルを用いて、金ナノ粒子の局在型表面プラズモン共鳴（LSPR）現象により生じる光吸収スペクトルを取得する。はじめに、光ファイバ型ピコリットル分光セルを用いた分光計測システムの概要を説明し、金ナノ粒子分散溶液を用いたLSPRによる光吸収スペクトルの取得原理について示す。純水を分光セルに導入し基準となる光強度スペクトルを取得し、金ナノ粒子分散溶液を分光セルに注入し得られる光強度スペクトルからLSPRによる光吸収スペクトルを算出する。金ナノ粒子分散溶液の濃度や分光器の設定から、提案する分光計測システムで光吸収スペクトルを取得する条件を明らかにする。金ナノ粒子の吸収断面積についての理論式を用いた数値計算から、実験で得られた光吸収スペクトルについての整合性を検討する。

3.2 分光計測システムの概要

光ファイバ型ピコリットル分光セルは、石英系光ファイバの導波路の途中に数ピコリットル程度の容積をもつ貫通孔のことである。分光セルは石英系光ファイバを貫通しているため、液体試料を比較的スムーズに導入させることができる。分光セル内部に導入された液体試料は、光ファイバ内を伝搬する光と相互作用させることができる。ピコリットル分光セルに金ナノ粒子分散溶液を注入し、光吸収スペクトルを取得する手法についての概要を Fig. 3-1 に示す。ピコリットル分光セルを含む光ファイバ導波路は、片端にハロゲン白色光源、もう一方の片端に分光器が接続されている。白色光源から光ファイバに入射した伝搬光は、ピコリットル分光セルを透過し、透過後の伝搬光強度は分光器にて計測される。分光器にて計測された波長に対する光強度のデータは分光器から吐き出され、主にPCにテキストデータとして保存される。提案する分光計測システムを用いてピコリットル分光セル内の変化を捉えるためには、基準となるリファレンス光強

度スペクトルを取得し、実験によって得られる光強度スペクトルとの変化量を算出する必要がある。リファレンス光強度スペクトルは、ピコリットル分光セル内部が空気の状態（セル内部に何も試料が存在しない状態）やセル内部に純水が注入されている状態など、測定対象・実験条件に応じて選定する必要がある。Fig. 3-2 に、実際に構築した光ファイバ型ピコリットル分光セルを用いた分光計測システムの写真を示す。今回は、ハロゲン光源（HL-2000, Ocean Optics, Inc.）と分光器（CCS200/M, Thorlabs, Inc.）はともに小型のものを選定した。Fig. 3-2 (a)をみて分かるように、測定データ取得用のノート PC と組み合わせてもテーブルに収まる程度の分光計測システムであることがわかる。Fig. 3-2 (b)は、構築した光ファイバ型ピコリットル分光セルのセルを含む拡大写真である。分光セルは、3D プリンタで構築した固定治具に取り付けられており、分光セル前後の導波路は計測中に外部による曲率が付与されることを防ぐように固定されている。Fig. 3-3 に液体試料を用いた光強度伝搬特性を示す。分光セル内部に液体試料を注入しない状態で取得した光強度スペクトルを基準としている。液体試料を注入したことにより、液体試料を注入する前と比較して、波長 400–800 nm の範囲で一様に光強度が増加したことがわかる。液体試料は純水、質量濃度 10 wt% のグリセリン水溶液、エタノールを用い、屈折率はそれぞれ 1.333, 1.345, 1.361 である。光強度伝搬特性からみてわかるように、分光セル内部に注入する液体試料の屈折率が増加するにつれて、分光セルを透過する光強度が波長に対して一様に増加した。これは、分光セルの領域が光ファイバのコア層の屈折率に近づいたため、分光セルを透過する伝搬光が分光器側へ多く伝搬したためと考えられる[1]。光強度伝搬特性を得るために使用した、光ファイバ型ピコリットル分光セルの容積は第 2 章で示した条件で構築されたものであり、1 pL 以下である。ピコリットル単位の液体試料の注入によって、波長 400–800 nm の範囲でおよそ 8% 以上の光強度の増加が計測された。透明な液体試料によるピコリットル分光セルの分光計測では、セル内部に液体試料を注入しない状態を基準とすると光強度が増加する特性

を取得することができる。光強度の増加量と屈折率を対応づけることによって、ピコリットル容積で計測可能な屈折率計としての応用が期待できる。また、ローダミン 6G などの特定波長を吸収する液体試料を使用すると、試料固有の波長での光吸収を観測できることが分かっている[1]。金ナノ粒子分散溶液も同様に分光セルに注入することによって、ナノ粒子固有の光吸収スペクトルが取得できると予想できる。

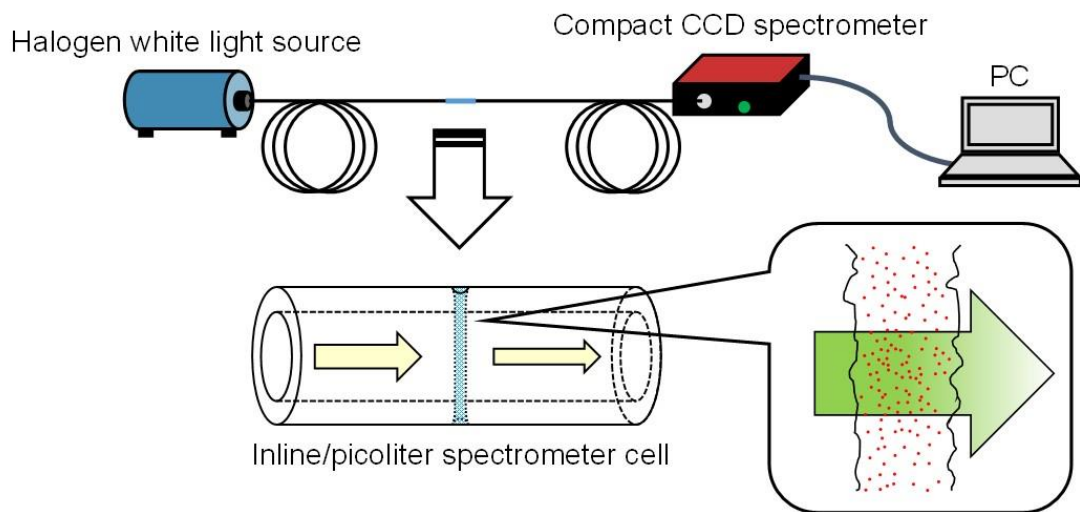


Fig. 3-1 Schematic of the absorption measurement by use of the inline/picoliter spectrometer cell.

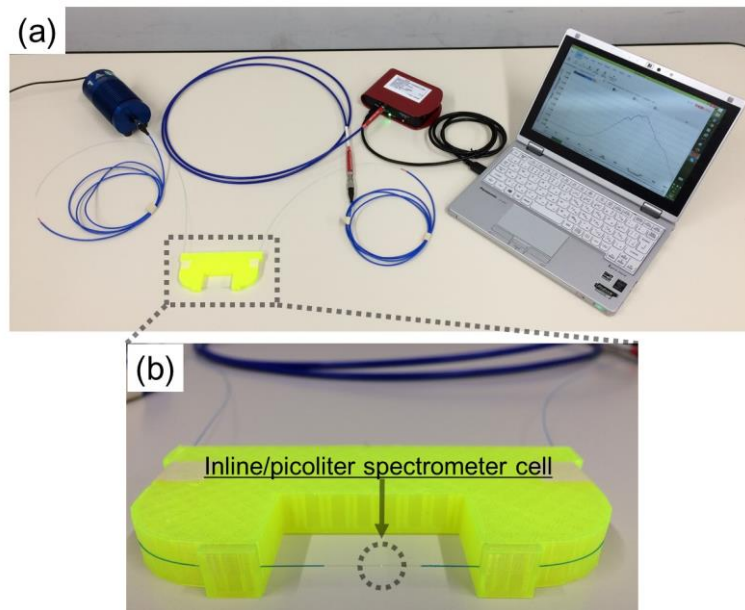


Fig. 3-2 (a) Overview photograph of the measurement system for obtaining absorption spectra based on LSPR induced by the solution of GNPs. (b) Magnified photograph of the inline/picoliter spectrometer cell fabricated by a near UV femtosecond laser.

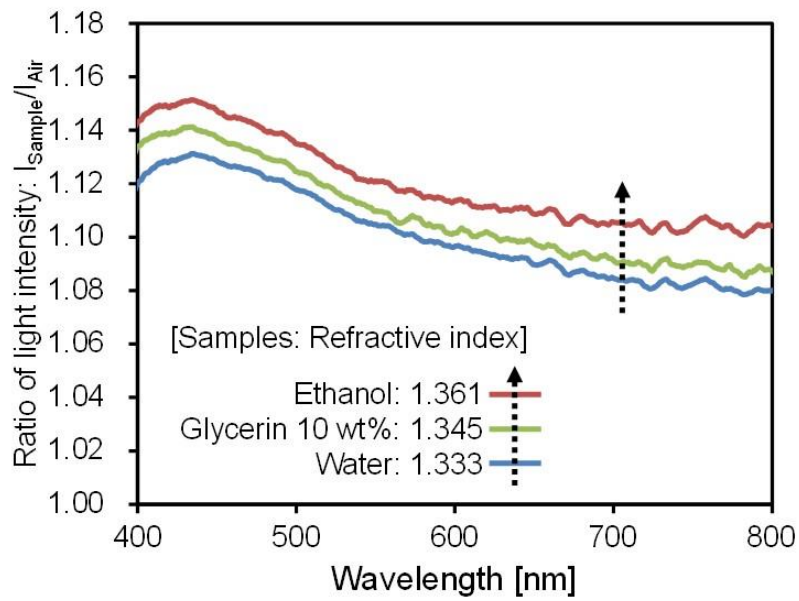


Fig. 3-3 Characteristic of refractive indices with changing liquid samples. As the refractive index of the liquid sample increased, the light intensity spectrum uniformly increased with respect to the wavelength.

3.3 LSPR 光吸収スペクトルの取得

3.2 節で提案したように、構築したピコリットル分光セルの光ファイバ導波路片端にハロゲン光源 (HL-2000, Ocean Optics, Inc.) を接続した。別の片端に、PC 制御にて光強度スペクトルを取得できる小型分光器 (CCS200/M, Thorlabs, Inc.) を接続し、分光セルを透過する光強度スペクトルを取得した。小型分光器の設定は、集積時間を 3 ms, 平均化回数を 200 回とした。金ナノ粒子を含まない純水を分光セルに注入し、分光セルを透過した光強度スペクトルを I_0 として取得した。次に、金ナノ粒子分散溶液を注入し、光強度スペクトルを I_1 として取得した。取得した光強度スペクトルの比から、金ナノ粒子分散溶液を注入したことによる光吸収スペクトルを算出した。金ナノ粒子分散溶液の金の濃度は 0.1 wt% から 4.0 wt% に変化させた。

金ナノ粒子分散溶液をピコリットル分光セル内に注入した際の光吸収スペクトルを Fig. 3-4 に示す。濃度 1.0 wt% 注入時に、波長 518 nm 付近を中心として光の吸収を得た。また、濃度の増加に伴い吸収ピークは増加し、4.0 wt% では 5.5% の吸収ピークが現れた [2]。また、用いた試料濃度が高い場合、650 nm 近傍よりも長波長側で光吸収スペクトルが 1.0 より大きな値となった。金ナノ粒子分散溶液には純水に金ナノ粒子と Polyvinylpyrrolidone (PVP) が含まれている。PVP は金ナノ粒子の凝集を防ぐ保護材の役割を担っている。金ナノ粒子分散溶液は、水よりもわずかに実効屈折率が高くなっていると予想できる。それにより、水の場合と比較してセル内部の実効屈折率が伝送路の屈折率に近づき、分光セルを通過する伝搬光が水の場合より強くなる。よって、光強度比の値が 1.0 よりも大きくなったと考えられる。得られた光吸収スペクトルが計測機器に依存して変化しないことを確認するために、白色光源と分光器を変更して同様の実験を行った。実験に用いる光ファイバ型ピコリットル分光セルはそのままに、計測器を小型分光器からスペクトラムアナライザ (AQ-6315A Optical spectrum analyzer, Ando Electric Co., Ltd.) に変更して分光セルを透過した光強度スペクトルを取得した。白色光

源はスペクトラムアナライザに対応したもの（AQ4305 White light source, Yokogawa Electric Co.）を選定した。スペクトラムアナライザの光強度スペクトルの取得条件は、波長分解能を 2 nm とし、平均化回数は 200 回とした。分光セル内部を純水で満たした際の光強度スペクトルを I_0 とし、基準となる光強度スペクトルを取得した。金ナノ粒子分散溶液をピコリットル分光セル内部に注入した際に取得した光強度スペクトルを I_1 とし、基準となる I_0 から光吸収スペクトルを算出した。用いた金ナノ粒子分散溶液の濃度は小型分光器を採用したときと同様に 0.1 wt% から 4.0 wt% とした。計測機器を変更した後に取得した金ナノ粒子分散溶液注入による光吸収スペクトルを Fig. 3-5 に示す。ピーク波長 518 nm での光吸収量は Fig. 3-4 に示す値と近い数値となり、金ナノ粒子の濃度の増加に伴う光吸収量の増加は同様の傾向を得た。上記の実験により、波長 518 nm をピークとする光吸収スペクトルの取得は金ナノ粒子分散溶液をピコリットル分光セルへ注入したことによると検証できた。

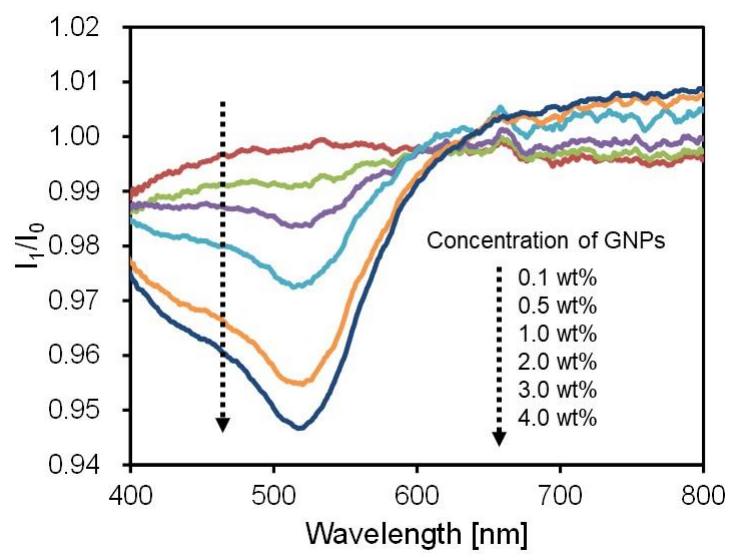


Fig. 3-4 Absorption spectra with different concentrations of GNPs. The absorption peak at the wavelength of 518 nm was observed.

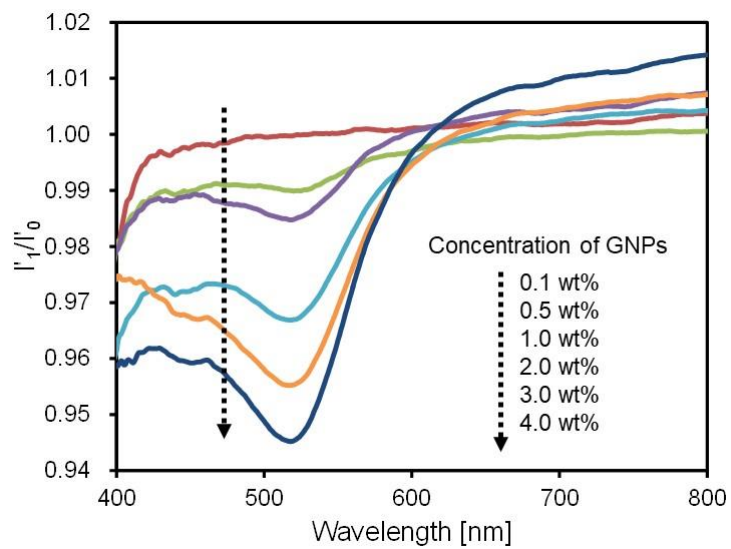


Fig. 3-5 Using another optical equipment that consists of a different halogen light source and an optical spectrum analyzer, absorption spectra were also obtained.

3.4 数値計算による吸光係数の算出

金ナノ粒子に入射した際に生じる局在型表面プラズモン共鳴 (LSPR) 現象に基づく光吸収スペクトルについては理論による数値計算によって求めることができる。LSPR による入射光に対しての吸収断面積や吸光係数は、金ナノ粒子のサイズ、形状、ナノ粒子周囲の状況に依存して変化するため、様々な条件を考慮して計算されている[3-8]。形状が球である金ナノ粒子に光が入射した際の吸収断面積は、以下のように表される[9]。

$$\sigma_{ext} = \frac{18\pi\epsilon_m^{3/2}V}{\lambda} \frac{\epsilon_2(\lambda)}{[\epsilon_1(\lambda) + 2\epsilon_m]^2 + \epsilon_2(\lambda)^2} \quad (3-1)$$

$$\sigma_{sca} = \frac{32\pi^4\epsilon_m^2V^2}{\lambda^4} \frac{(\epsilon_1 - \epsilon_m)^2 + (\epsilon_2)^2}{(\epsilon_1 + 2\epsilon_m)^2 + (\epsilon_2)^2} \quad (3-2)$$

$$\sigma_{abs} = \sigma_{ext} - \sigma_{sca} \quad (3-3)$$

σ_{ext} は減光断面積、 σ_{sca} は散乱断面積を表している。 ϵ_m はナノ粒子近傍の誘電率を示し、 $1.333^2 (=n^2)$ と表される。 V は粒子の体積を表している。 ϵ_1 と ϵ_2 は金の誘電率の実部と虚部を表し、以下のように近似的に表現できる[10]。

$$\begin{aligned} \epsilon_{Au}(\lambda) &= \epsilon_\infty - \frac{1}{\lambda_p^2(1/\lambda^2 + i/\gamma_p\lambda)} \\ &+ \sum_{i=1,2} \frac{A_i}{\lambda_i} \left[\frac{e^{i\phi_i}}{(1/\lambda_i - 1/\lambda - i/\gamma_i)} + \frac{e^{-i\phi_i}}{(1/\lambda_i + 1/\lambda + i/\gamma_i)} \right] \\ &= \epsilon_1 + i\epsilon_2 \end{aligned} \quad (3-4)$$

ϵ_∞ は金の高周波上限誘電率、 λ_p はプラズマ波長、 γ_p は減衰係数を表している。総和項内の A_i は無次元量の臨界振幅、 λ_i はバンド間遷移波長、 γ_i は遷移幅を示している。 ϕ_i は位相値であり、単純化して $-\pi/4$ としている。上記(3-1)から(3-4)式を用いて算出した入射光波長に対する吸収断面積を Fig. 3-6 (a)に示す。金ナノ粒子の粒径は 10 nm、分光セルの光路長は 3 μm と想定して算出した。算出結果から、波長 518 nm 付近にピークが生じ、吸収断面積は $4.4 \times 10^{-13} \text{ cm}^2$ であった。以上の吸収断面積の算出結果とランベルト・ベールの法則を用いた金ナノ粒子分散溶液による光吸収スペクトルの算出結果を Fig. 3-6 (b)に示す。分光セル内に入り込む単位 mL あたりの金ナノ粒子数が増加するにつれて、

波長 518 nm 付近の吸収ピークを中心に，光強度減衰が大きくなる傾向を得た． Fig. 3-6 (b)に示された数値計算では，質量濃度 4.0 wt% のとき，溶液中の金ナノ粒子数は 4.0×10^{14} 個/mL と見積もることができた．金の質量濃度 4.0 wt% の金ナノ粒子分散溶液は，金ナノ粒子の粒径を 5-10 nm としたとき， 4.0×10^{15} から 3.6×10^{16} 個/mL の粒子数が溶液中に存在する．数値計算による粒子数は，実験で使用した金ナノ粒子数よりも低い数値であることが明らかとなった．光ファイバ型ピコリットル分光セル内に注入した際の光ファイバ伝搬光と相互作用する金ナノ粒子の粒子数の定量的な決定手法の確立が今後の課題として残る． Fig. 3-4 で得られた波長 518 nm における金ナノ粒子分散溶液をピコリットル分光セルに注入したことによる光吸収量と Fig. 3-6 (b)の数値計算で得られた分光セル内部に存在する単位ミリリットル当たりの金ナノ粒子数の関係について Fig. 3-7 に示す．上記二つの関係から，吸光係数を算出することが可能であり， Fig. 3-7 の近似直線の傾きは金ナノ粒子の吸収断面積である．上記算出法で得られた吸収断面積は $5.0 \times 10^{-13} \text{ cm}^2$ であり，数値計算のみで算出された吸収断面積の値 $4.4 \times 10^{-13} \text{ cm}^2$ に近い値が算出された．

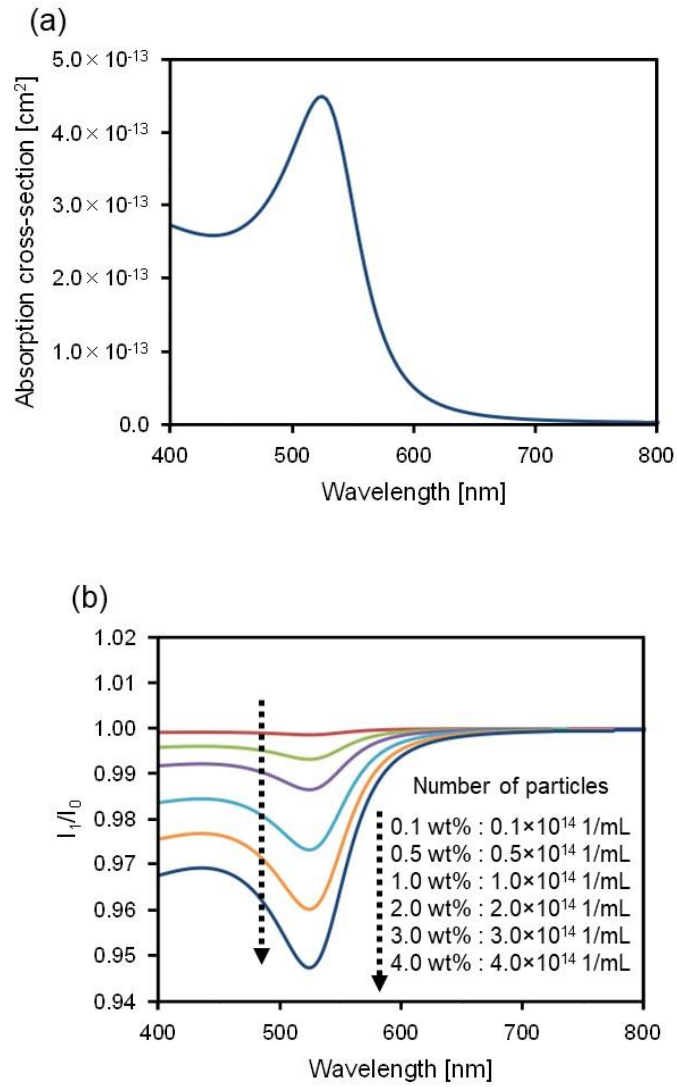


Fig. 3-6 (a) Numerically calculated absorption cross-section of GNPs with a diameter of 10 nm.
 (b) Calculated absorption spectra based on Lambert-Beer law.

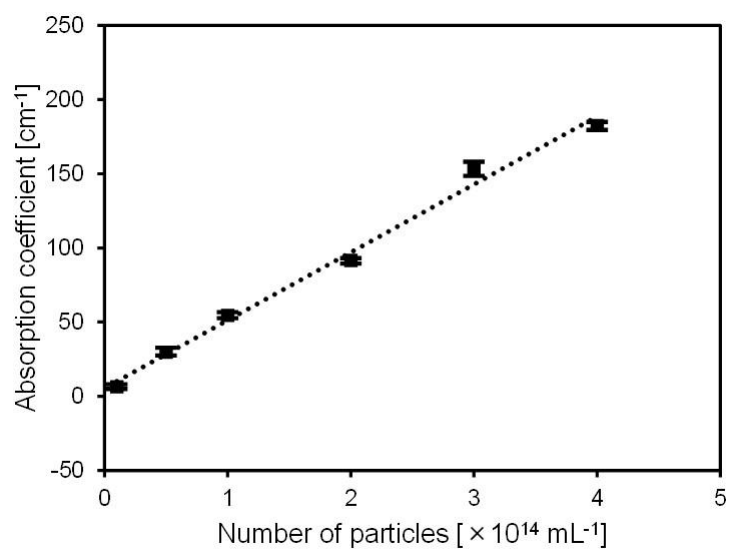


Fig. 3-7 Evaluated absorption coefficient as a function of number of nanoparticles at the peak wavelength of 518 nm. The absorption cross-section of $5.0 \times 10^{-13} \text{ cm}^2$ was derived from the slope.

3.5 結言

本章では、構築した光ファイバ型ピコリットル分光セルと小型のハロゲン白色光源・分光器を組み合わせて、金ナノ粒子による LSPR 現象に基づく光吸収スペクトルの取得の可否について検証した。簡便な計測構成で、金ナノ粒子固有の光吸収ピークを取得できることが明らかとなった。また、1 ピコリットル未満の微小容積を有する分光セルを用いて、波長 518 nm にておよそ 5.5% の光吸収量を取得できることがわかった。数値計算から取得した光吸収スペクトルも波長 518 nm にて吸収ピークを有し、吸収断面積の値も大きな差がみられないことから実験結果との整合性を検証することができた。

参考文献

- [1] Kenji Goya, Toshiaki Itoh, Atsushi Seki, and Kazuhiro Watanabe, "Efficient deep-hole drilling by a femtosecond, 400 nm second harmonic Ti:Sapphire laser for a fiber optic in-line/pico-liter spectrometer," *Sensors and Actuators B* 210, 685-691 (2015).
- [2] Masahiko Shiraishi, Michiko Nishiyama, Kazuhiro Watanabe, and Shoichi Kubodera, "Absorption spectra of localized surface plasmon resonance observed in an inline/picoliter spectrometer cell fabricated by a near ultraviolet femtosecond laser," *Optics Communications* 410, 8-12 (2018).
- [3] Stephan Link and Mostafa A. El-Sayed, "Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles," *The Journal of Physical Chemistry B* 103(21), 4212-4217 (1999).
- [4] Allen C. Templeton, Jeremy J. Pietron, Royce W. Murray, and Paul Mulvaney, "Solvent refractive index and core charge influences on the surface plasmon absorbance of alkanethiolate monolayer-protected gold clusters," *The Journal of Physical Chemistry B* 104(3), 564-570 (2000).
- [5] Mathew M. Maye, Li Han, Nancy N. Kariuki, Nam K. Ly, Wai-Ben Chan, Jin Luo, and Chuan-Jian Zhong, "Gold and alloy nanoparticles in solution and thin film assembly: Spectrophotometric determination of molar absorptivity," *Analytica Chimica Acta* 496, 17-27 (2003).
- [6] Prashant K. Jain, Kyeong Seok Lee, Ivan H. El-Sayed, and Mostafa A. El-Sayed, "Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: Applications in biological imaging and biomedicine," *The Journal of Physical Chemistry B* 110(14), 7238-7248 (2006).
- [7] Xiong Liu, Mark Atwater, Jinhai Wang, and Qun Huo, "Extinction coefficient of gold nanoparticles with different sizes and different capping ligands," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 58, 3-7 (2007).
- [8] Lindsey J.E. Anderson, Kathryn M. Mayer, Robert D. Fraleigh, Yi Yang, Seunghyun Lee, and Jason H. Hafner, "Quantitative measurements of individual gold nanoparticle scattering cross sections," *The Journal of Physical Chemistry C* 114(25), 11127-11132 (2010).
- [9] Kathryn M. Mayer and Jason H. Hafner, "Localized surface plasmon resonance sensors," *Chemical Reviews* 111, 3828-3857 (2011).
- [10] P.G. Etchegoin, E.C. Le Ru, and M. Meyer, "An analytic model for the optical properties of gold," *The Journal of Chemical Physics* 125(16), 164705-1-3 (2006), and 127(18), 189901-1 (2007).

第4章

光ファイバ型ピコリットル分光セルによる 微小量分光計測の応用

4.1 緒言

本章では、提案する光ファイバ型ピコリットル分光セルを用いた分光計測システムでアミノ酸添加による金ナノ粒子凝集過程を検出可能か検証する。第3章で、ピコリットル分光セルと簡便な光強度計測構成で金ナノ粒子の光吸収スペクトルが取得できることを示した。本章では、上記の提案手法を応用して微量な生体分子センシング手法へ分光計測システムを発展させる。

4.2 アミノ酸添加による金ナノ粒子の凝集

分散溶液内の金ナノ粒子を凝集させる生体分子はいくつか存在する[1-3]。親水性の非必須アミノ酸である L-システインも金ナノ粒子分散溶液に添加することで金ナノ粒子を凝集させることができる[4-7]。L-システインの生体内へ及ぼす影響については神経系・細胞系で様々な議論がなされており[8-11]、採取した試料内に含有する L-システインを検出する手法がいくつか提案されている[6]。Fig. 4-1 に L-システイン添加による金ナノ粒子凝集過程について示す。アミノ酸の一種である L-システインはチオール基(-SH)をもち、金ナノ粒子表面と強く結合する。金ナノ粒子と結合した L-システインは先端にアミノ基(-NH₂)やカルボキシ基(-COOH)をもち、他の L-システインの各官能基と結合する。結果として L-システイン同士の結合によって金ナノ粒子は凝集する。Fig. 4-2 に金ナノ粒子分散溶液に L-システインを添加したことによる溶液色の変化を示す。金ナノ粒子分散溶液は波長 520 nm 近傍に強い吸収を示すため赤色を呈している。本研究で使用した金ナノ粒子分散溶液では実験から 518 nm を吸収ピークに持つ。L-システイン添加による金ナノ粒子の凝集によって、金ナノ粒子のサイズ及び形状に変化が生じ、吸収ピークが減衰、または吸収波長が 520 nm 近傍から長波長側へシフトする。そのため、溶液の色は赤色から青紫へ変色する。第3章と本章で使用される金ナノ粒子分散溶液はナノ粒子同士の凝集を防ぐために Polyvinylpyrrolidone (PVP) が添加されている。PVP

による凝集を防ぐ影響よりも L-システイン添加による金ナノ粒子凝集の影響のほうが顕著に現れることが Fig. 4-2 をみてわかる。前章の結果から、容積ピコリットルの微小な分光セルを用いて、光吸収スペクトルの変化からアミノ酸を検出する手法を提案できることが予想できる。Fig. 4-3 に提案している分光計測システムによる生体分子 L-システインの検出原理を示す。金ナノ粒子が凝集することで波長 520 nm 近傍の吸収量が減少する。また、凝集によって吸収ピーク波長が長波長側にシフトする。金ナノ粒子分散溶液の金ナノ粒子の濃度（粒子数）を一定にし、L-システイン添加による光吸収スペクトルの吸収ピークの吸収量減衰・ピーク波長シフトを追跡することで、L-システイン自体の検出、または濃度を計測することが期待できる。

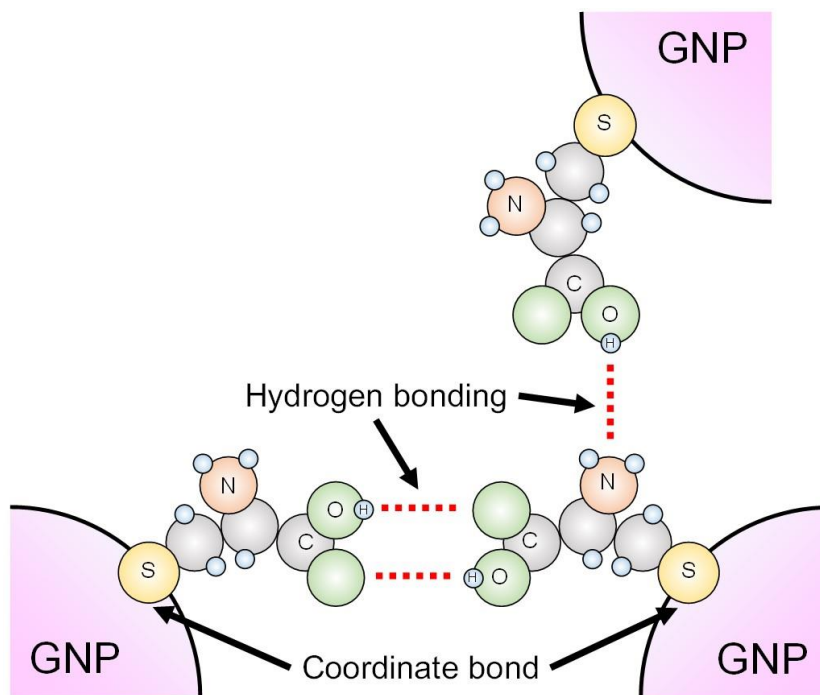


Fig. 4-1 Mechanism of aggregation of gold nanoparticles caused by addition of L-cysteine.

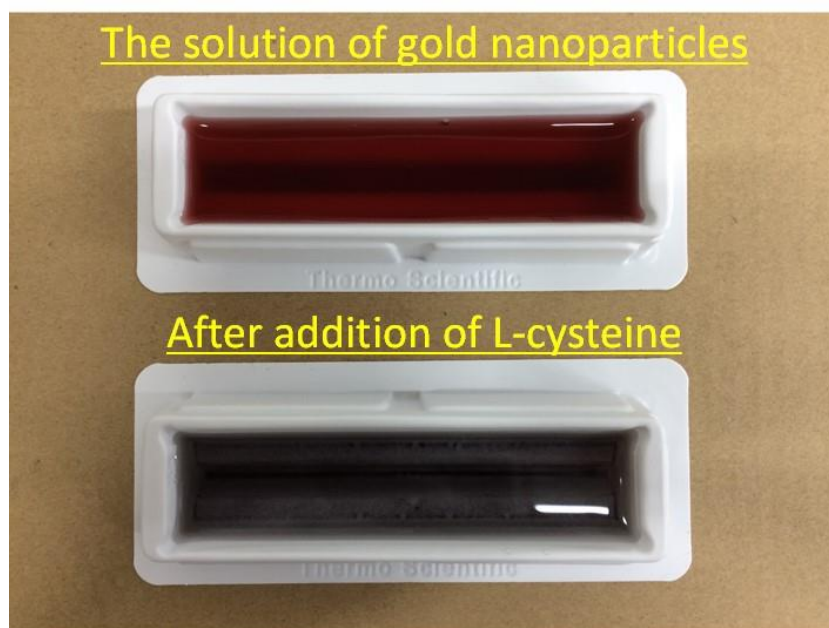


Fig. 4-2 Changes in solution color of gold nanoparticle dispersion solution by addition of cysteine.

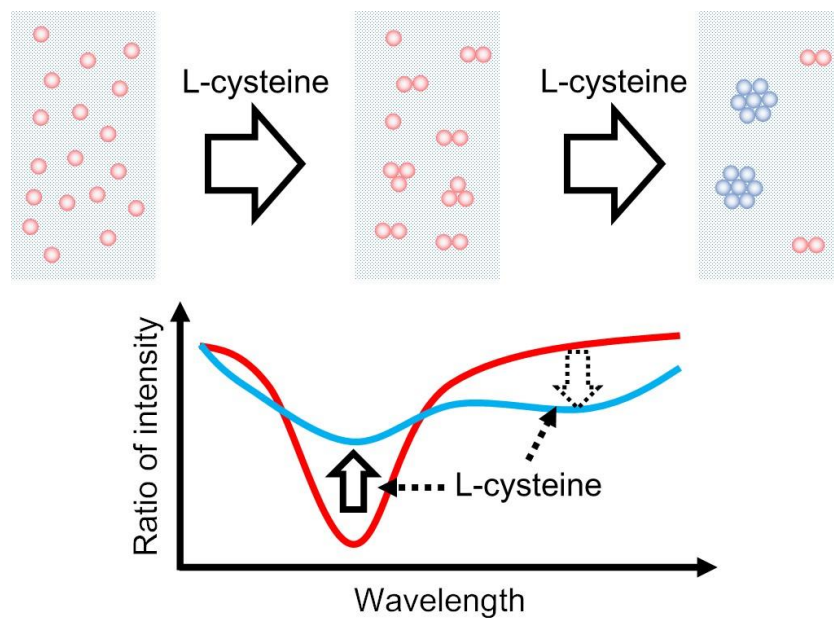


Fig. 4-3 Change of optical absorption spectra with increasing the concentration of L-cysteine because of an aggregation of gold nanoparticles.

4.3 金ナノ粒子凝集による LSPR 光吸収スペクトルシフトの追跡

第2章で構築された容積がおよそ0.4 pLの光ファイバ型ピコリットル分光セルを用いて、金ナノ粒子分散溶液に L-システインを添加したことによる光吸収スペクトルの変化を追跡した。金ナノ粒子分散溶液に添加する L-システインの濃度は0.0-7.5 mM と変化させた。光吸収スペクトルの取得の際、L-システインの濃度は変化させたが、金の質量濃度はすべての条件で3.2 wt%と一定に保った。分光セル内部を L-システインを含む金ナノ粒子分散溶液で満たした際の光強度スペクトルを I_2 とし、純水を用いた場合の光強度スペクトル I_0 を基準として光吸収スペクトルを算出した。計測構成は第3章で示したものと同一であり、ハロゲン光源 (HL-2000, Ocean Optics, Inc.) と小型分光器 (CCS200/M, Thorlabs, Inc.) を用いた。小型分光器の設定は、集積時間を3 ms、平均化回数を200回とした。

金ナノ粒子分散溶液内に L-システインを添加したことによる光吸収スペクトル特性を Fig. 4-4 に示す。結果から、L-システインの濃度2.5 mM から光吸収スペクトルの変化が生じ、7.5 mM には518 nm 近傍の吸収ピークが見られなくなった。L-システインの添加によって金ナノ粒子に凝集が生じると分散溶液中のナノ粒子の粒径は増加し、単位 mL 当たりのナノ粒子数は減少する。Fig. 4-5 に、金ナノ粒子の粒径が50 nm まで増加した場合の光吸収スペクトルの数値計算結果について示す。数値計算は、3.4 節の考察に基づいており、ナノ粒子が125個凝集したと仮定して計算しているため単位 mL 当たりの粒子数はそれに伴い減少したことが考慮されている。凝集後の金ナノ粒子分散溶液の光強度スペクトルを I'_2 とすると、凝集前の光吸収スペクトル (Fig. 3-6 (b)) の吸収ピークと比較して凝集後は小さな値となることがわかった。数値計算結果から、金ナノ粒子分散溶液中の単位 mL 当たりの粒子数減少が吸収ピークの変化に大きく影響しているといえる。しかし、3.4 節で用いた金ナノ粒子による吸収断面積は形状が球であり、粒径が波長よりも十分に小さいと仮定し導出されたものであるため、Fig. 4-5 の数値計算に

関してはより詳細な議論が必要である。また、Fig. 4-4 において L-システインの濃度 0.0 mM のとき、3.3 節で示した光吸収スペクトルの実験結果 (Fig. 3-4 及び Fig. 3-5) から予想される吸収ピークよりも小さい値となった。金の質量濃度 3.2 wt% の場合、金ナノ粒子分散溶液中の金ナノ粒子の単位 mL あたりの粒子数は 3.2×10^{15} から 2.9×10^{16} 個/mL と見積もれるが、それよりも低い粒子数が分光セル内部に存在したことになる。これは、金ナノ粒子の質量濃度調整時の作業誤差等に起因すると考えられ、金ナノ粒子分散溶液の質量濃度と吸収ピーク値の関係については繰返し計測による検証が必要である。L-システイン添加に伴う光吸収スペクトルの吸収ピークの長波長側へのシフトは確認できなかった。これは、凝集した金ナノ粒子のサイズ、形状が分散溶液中に一定にならなかったためと考えられる。金ナノ粒子と銅イオンを用いた比色法による L-システインの感度は現在 10 nM 程度まで達成されていることから、今回の計測感度はそれに到達していないことが分かる[6]。光吸収スペクトルの変化を取得するために使用された L-システインの量は最大 7.5 mM の濃度であるが、実際に光ファイバ伝搬光と相互作用した容積は 0.4 pL であるため、 3.0×10^{-15} mol (3.6×10^{-13} g) と非常に微小な量で検出できたことがわかる。本論文によって、簡便な計測構成かつセンシング対象の絶対量が非常に少ない条件で、生体分子を検出できる新しい分光計測手法が確立された。

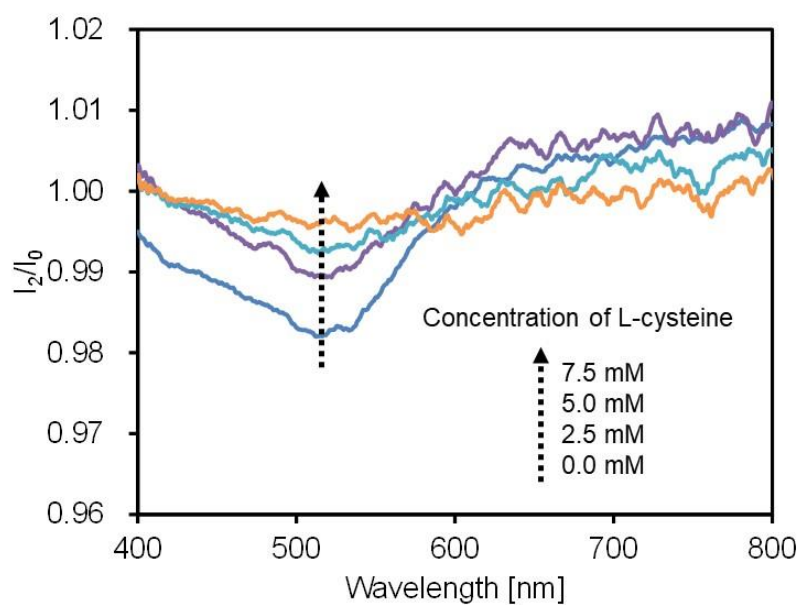


Fig. 4-4 Optical absorption spectra to recognize L-cysteine inside the spectrometer cell. The peak wavelength disappeared with increasing the concentration of L-cysteine because of an aggregation of gold nanoparticles.

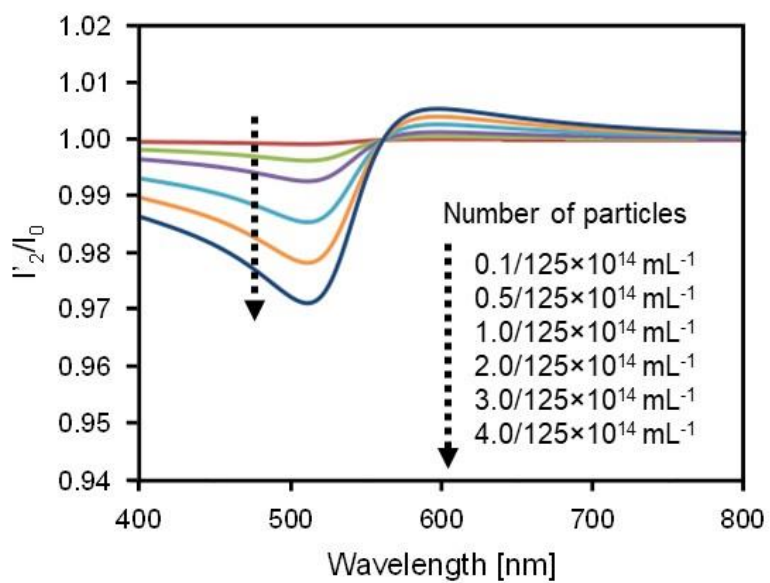


Fig. 4-5 Calculated absorption spectra of GNPs with a diameter of 50 nm based on Lambert-Beer law. Because of aggregation of GNPs, the number of particles was divided by 125 compared with Fig.3-6 (b).

4.4 結言

本章では, 光ファイバ型ピコリットル分光セルと金ナノ粒子分散溶液を組み合わせた分光計測手法で, アミノ酸の一種である L-システインの検出について検証した. 金ナノ粒子分散溶液に L-システインが添加されると金ナノ粒子に凝集が生じることがわかっている. 容積 0.4 pL の分光セルを用いても金ナノ粒子が凝集したことによる LSPR に基づく光吸収スペクトルの変化を取得できることが明らかとなった. L-システインの検出濃度は mM 程度であったが, 光ファイバ伝搬光と相互作用した生体分子の総量は 10^{-15} mol (10^{-13} g) 程度と微量であることがわかった.

参考文献

- [1] Kelong Ai, Yanlan Liu, and Lehui Lu, "Hydrogen-bonding recognition-induced color change of gold nanoparticles for visual detection of melamine in raw milk and infant formula," *Journal of the American Chemical Society* 131, 9496-9497 (2009).
- [2] Kae Sato, Kazuo Hosokawa, and Mizuo Maeda, "Rapid aggregation of gold nanoparticles induced by non-cross-linking DNA hybridization," *Journal of the American Chemical Society* 125, 8102-8103 (2003).
- [3] Colin D. Medley, Joshua E. Smith, Zhiwen Tang, Yanrong Wu, Suwussa Bamrungsap, and Weihong Tan, "Gold nanoparticle-based colorimetric assay for the direct detection of cancerous cells," *Analytical Chemistry* 80(4), 1067-1072 (2008).
- [4] Li Shang, Chuanjiang Qin, Tie Wang, Ming Wang, Lixiang Wang, and Shaojun Dong, "Fluorescent conjugated polymer-stabilized gold nanoparticles for sensitive and selective detection of cysteine," *The Journal of Physical Chemistry C* 111(36), 13414-13417 (2007).
- [5] Aurora Mocanu, Ileana Cernica, Gheorghe Tomoaia, Liviu-Dorel Bobos, Ossi Horovitz, and Maria Tomoaia-Cotisel, "Self-assembly characteristics of gold nanoparticles in the presence of cysteine," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 338, 93-101 (2009).
- [6] Li Li and Baoxin Li, "Sensitive and selective detection of cysteine using gold nanoparticles as colorimetric probes," *Analyst* 134, 1361-1365 (2009).
- [7] Fang Chai, Chungang Wang, Tingting Wang, Zhanfang Ma, and Zhongmin Su, "L-cysteine functionalized gold nanoparticles for the colorimetric detection of Hg²⁺ induced by ultraviolet light," *Nanotechnology* 21, 025501-1-6 (2010).
- [8] Wulf Dröge and Eggert Holm, "Role of cysteine and glutathione in HIV infection and other diseases associated with muscle wasting and immunological dysfunction," *The Federation of American Societies for Experimental Biology* 11(13), 1077-1089 (1997).
- [9] Xue Feng Wang and Max S. Cynader, "Pyruvate released by astrocytes protects neurons from copper-catalyzed cysteine neurotoxicity," *The Journal of Neuroscience* 21(10), 3322-3331 (2001).
- [10] V. Gazit, R. Ben-Abraham, R. Coleman, A. Weizman, and Y. Katz, "Cysteine-induced hypoglycemic brain damage: An alternative mechanism to excitotoxicity," *Amino Acids* 26, 163-168 (2004).
- [11] Paula I. Moreira, Peggy L.R. Harris, Xiongwei Zhu, Maria S. Santos, Catarina R. Oliveira, Mark A. Smith, and George Perry, "Lipoic acid and N-acetyl cysteine decrease mitochondrial-related oxidative stress in alzheimer disease patient fibroblasts," *Journal of Alzheimer's Disease* 12, 195-206 (2007).

第 5 章

結論

本論文では、フェムト秒レーザーによるアブレーション加工の利点をもとに、石英系光ファイバへの穿孔加工から微小容積による分光計測への応用について新たな知見を得た。

第1章では、金ナノ粒子を用いた生体分子のセンシング手法について述べ、生体分子センシングにおいて金ナノ粒子を用いることの優位性を示した。また、フェムト秒レーザーの材料改質・材料除去（アブレーション）加工の熔融石英への適用について、そしてその利点から得られる機能的構造物の構築についての周辺研究を列挙した。フェムト秒レーザーを用いた加工は石英系光ファイバにも適用され、光ファイバの内部に機能的構造物を付与できるまでに至っている。そして、フェムト秒レーザーによるアブレーション加工を光ファイバに適用し構築された穿孔構造と金ナノ粒子を組み合わせた生体分子センシング手法については報告がなく、本論文で提案する研究の新規性について示した。

第2章では、近紫外フェムト秒レーザーによるアブレーション加工を用いて、石英系光ファイバに貫通するピコリットル分光セルを構築した。光ファイバにフェムト秒レーザーアブレーション加工を適用する前に、石英ガラス薄板を用いてレーザー集光度とアブレーションの加工効率について明らかにした。結果として開口数 0.65 の高開口数の対物レンズを用いるとマイクロジュール当たりのアブレーション量が $0.18\text{--}0.54 \mu\text{m}^3/\mu\text{J}$ の範囲に収まることがわかった。また、アブレーション加工後の加工痕のサイズも光ファイバを破断させない程度の大きさであることがわかり、石英系光ファイバにフェムト秒レーザーによるアブレーション加工を適用した。主に、パルスエネルギー、繰返し周波数、照射パルス数を変化させ、光ファイバを貫通する光ファイバ型ピコリットル分光セルを構築させるための照射条件を明らかにした。さらに、各種照射パラメータを変化させたことによる加工痕のサイズ、形状についての傾向性についても明らかにした。また、フェムト秒レーザーによる穿孔加工は加工部周辺の熱影響を可能な限り抑えること

ができるが、少なからず蓄熱効果が生じている加工結果を得た。パルス光の繰返し照射による石英系光ファイバへの蓄熱効果の発生原理を数値解析により示唆した。パルス光照射による熔融石英への蓄熱効果の解析的な式から、石英系光ファイバの照射スポットにおける温度上昇について考察した。本論文におけるレーザーの照射条件では、石英系光ファイバ内部の集光点が光ファイバ形状によるシリンドリカルレンズ効果とパルス光の高いピーク強度によるカーレンズ効果に伴い、材料の浅部に移動することがわかった。また、材料内部集光点以降はプラズマチャネリングが発生していると推測した。プラズマチャネリングの発生により穿孔構造深部の穿孔径は細くなり、結果として光ファイバ伝搬光と相互作用させる分光セルの容積を数ピコリットル程度に抑えることができた。

第3章では、金ナノ粒子分散溶液を構築した光ファイバ型ピコリットル分光セルに注入することによって、金ナノ粒子固有の光吸収スペクトルを取得することに成功した。光吸収スペクトルを取得するための分光計測システムは、小型の白色光源、分光器、データ保存用のPCのみの非常に簡便な構成で実現することができた。ランベルト・ベールの法則に基づいた数値計算で、単位ミリリットルあたりの金ナノ粒子数が増加するにつれて吸収ピークが増加することを明らかにした。

第4章では、金ナノ粒子分散溶液に生体分子であるL-システインを添加することで、金ナノ粒子が凝集し、それによる光学特性の変化を光吸収スペクトルの変化として取得できることを明らかにした。検出濃度限界については高い感度を有することはなかったが、検出に必要な生体分子の絶対量は 10^{-15} mol (10^{-13} g)程度でよいことが示された。本論文によって、微小体積で検出可能な分光計測手法が実現され、生体分子を捉える新たな光学センシング手法が提案された。本論文で提案した分光計測システムで金ナノ粒子による光吸収スペクトルを取得するためには、 10^{15} 個/mL程度の粒子数が必要となる。金ナノ粒子を凝集させるためには、センシング対象である生体分子も同程度の分子数が

必要となり、生体センシングにおける重要な指標である生体分子検出限界濃度が上昇することにつながる。今後は、金ナノ粒子表面への化学的修飾手法を発展させ、凝集に必要な分子量を抑える手法を確立する必要がある。また、特定の生体分子を選択的に検出する金ナノ粒子の表面修飾手法の発展も今後必要となる。以上の課題を克服することで、現在市販されている微量分光計測器の最小サンプルボリュームであるサブマイクロリットルを下まわる極微量のサンプルボリュームでの生体分子分光計測システムを提供することが期待できる。

謝辞

本研究を行うにあたり多大なるご指導、ご鞭撻を賜りました創価大学理工学部窪寺昌一教授に心から感謝申し上げます。2016年度の着任開始から間もない状況で自身を受け入れていただき、研究に関して、また、取り組む姿勢などについて様々な面でご指導いただきました。誠に有難うございます。副査をご担当いただきました、創価大学理工学部渡辺一弘教授、西山道子講師には、研究を進めるにあたり様々なアドバイス・ご支援をいただきました。また、社会人を経たからの博士課程進学の相談・受入れにもご尽力いただき、研究への道筋を開いていただきましたことに深く感謝申し上げます。共同研究グループでお世話になりました、崔龍雲教授、関篤志教授、伊与田健敏准教授、石井良夫准教授、小山勇也助教、細木藍助教からは日々の研究活動にて様々なご支援をいただきました。誠にありがとうございます。現大阪大学の合谷賢治博士からは、研究室内各種設備・機器の取り扱いについて、また、研究内容の引継ぎをいただき、現在の研究の基礎を支えていただきました。深く感謝申し上げます。2015年度から新たに研究をスタートし、ともに研究を進めてきました研究グループのメンバーにも支えられました。2015年度学士号を取得された竹森伸一氏、金子光弘氏。2016年度修士号を取得された知念直樹氏、学士号を取得された嶋田栄一氏、奥田翔太郎氏。そして本年度ともに研究活動に勤しんだ修士生の大野秀信氏、天野広輝氏、藤枝大樹氏、学部生の矢野大輔氏、本間勇人氏、松田空氏に感謝申し上げます。ともに研究し、新たな知見を切り開くことができました。最後に、創価大学大学院への進学を快諾していただきご支援いただいた家族と、日々あたたかな激励をくださいました創立者池田大作先生に深く感謝申し上げます。

2018年3月

本研究は、JSPS 科研費 JP15K04735 の助成を受けたものである。

研究成果

【主論文を構成する学術論文】

- [1]. Masahiko SHIRAIISHI, Kenji GOYA, Michiko NISHIYAMA, Shoichi KUBODERA, and Kazuhiro WATANABE. Femtosecond laser microhole drilling inside a fused silica optical fiber with optical inner surface quality. *Applied Physics A*. Vol. 122, No. 9: pp. 825-1-4, 2016.
- [2]. Masahiko SHIRAIISHI, Michiko NISHIYAMA, Kazuhiro WATANABE, and Shoichi KUBODERA. Absorption spectra of localized surface plasmon resonance observed in an inline/picoliter spectrometer cell fabricated by a near ultraviolet femtosecond laser. *Optics Communications*. Vol. 410: 8-12, 2018.

【会議報告（国内・国外）】

- [3]. 知念直樹、白石正彦、合谷賢治、渡辺一弘. 光ファイバの局所センサ化のためのフェムト秒短パルスレーザー内部加工による光散乱体の埋め込み. 電子情報通信学会 2015 年ソサイエティ大会. 2015 年 9 月. 仙台. 同学会講演論文集. B-13-6 : p. 284.
- [4]. 白石正彦、合谷賢治、関篤志、渡辺一弘. 穿孔加工を施した光ファイバへの金ナノ粒子修飾手法の検討. 電子情報通信学会 2015 年ソサイエティ大会. 2015 年 9 月. 仙台. 同学会講演論文集. B-13-7 : p. 285.
- [5]. Kenji GOYA, Naoki CHINEN, Masahiko SHIRAIISHI, and Kazuhiro WATANABE. Femtosecond laser fabrication of sensing structures for Lab-on-Fiber technology. 2015 International Symposium on Smart Sensing and Actuator System (ISSS' 2015). 2015 年 8 月. Hakone (Japan). Proceedings of ISSS' 15: pp. 48-51.
- [6]. Masahiko SHIRAIISHI, Kenji GOYA, Atsushi SEKI, and Kazuhiro WATANABE. Immobilization of gold nanoparticles into micro-holes fabricated by femtosecond laser for fiber optic sensor based on LSPR. The 2015 International Symposium on Advanced Engineering (ISAE 2015). 2015 年 10 月. Busan (South Korea). Proceedings of ISAE 2015: pp.109-112.
- [7]. 金子光弘、白石正彦、合谷賢治、渡辺一弘. フェムト秒レーザー加工による光ファイバ導波路への穿孔構造の複数配置に伴う光伝搬特性. 第 7 回大学コンソーシアム八王子学生発表会. 2015 年 12 月. 八王子. 同発表会要旨集 : pp. 112-113.

- [8]. 竹森伸一、白石正彦、合谷賢治、渡辺一弘. フェムト秒短パルスレーザーによる光ファイバ内部加工の理論的検討. 第7回大学コンソーシアム八王子学生発表会. 2015年12月. 八王子. 同発表会要旨集 : pp. 124-125.
- [9]. 白石正彦、合谷賢治、渡辺一弘. (教育講演) 光の粒が創る超短パルスレーザー技術 -光ファイバセンシングへの応用-. 第7回大学コンソーシアム八王子学生発表会. 2015年12月. 八王子. 要旨別途配布.
- [10]. Naoki CHINEN, Masahiko SHIRAISHI, Kenji GOYA, Atsushi SEKI, and Kazuhiro WATANABE. Fabrication of scattering source for an optical fiber sensor using femtosecond laser internal processing. SPIE Photonics West OPTO 2016. 2016年2月. California (United States). Proceedings of SPIE 9750, Integrated Optics: Devices, Materials, and Technologies XX: pp. 97501E-1-9.
- [11]. Masahiko SHIRAISHI, Kenji GOYA, Atsushi SEKI, and Kazuhiro WATANABE. An LSPR fiber optic sensor based on in-line micro-holes fabricated by a second harmonic 400-nm femtosecond laser. SPIE Photonics West OPTO 2016. 2016年2月. California (United States). Proceedings of SPIE 9750, Integrated Optics: Devices, Materials, and Technologies XX: pp. 97501L-1-6.
- [12]. Masahiko SHIRAISHI, Kazuhiro WATANABE, and Shoichi KUBODERA. Observation of inner surface roughness in fused silica microholes with varying the number of femtosecond laser pulses. The 21st International Symposium on High Power Laser Systems and Applications. 2016年9月. Gmunden (Austria). Proceeding of SPIE 10254: pp. 1025419-1-4.
- [13]. 白石正彦、合谷賢治、窪寺昌一、渡辺一弘. 近紫外フェムト秒レーザーによる熔融石英穿孔構造の内表面粗さ評価. 第77回応用物理学会秋季学術講演会. 2016年9月. 新潟. 同講演会予稿集. 13a-C31-3 : p. 03-016.
- [14]. 知念直樹、白石正彦、合谷賢治、関篤志、窪寺昌一、渡辺一弘. 光ファイバセンサ化のためのフェムト秒レーザー内部加工による光導波干渉現象の誘起. 第77回応用物理学会秋季学術講演会. 2016年9月. 新潟. 同講演会予稿集. 13a-C31-4 : p. 03-017.

- [15]. 大野秀信、白石正彦、西山道子、窪寺昌一、渡辺一弘. 光ファイバ内に構築した分光セルによる LSPR 吸収スペクトルの取得. 第 8 回大学コンソーシアム八王子学生発表会. 2016 年 12 月. 八王子. 同発表会要旨集 : pp. 160-161.
- [16]. Naoki CHINEN, Masahiko SHIRAISHI, Kenji GOYA, Atsushi SEKI, Shoichi KUBODERA, and Kazuhiro WATANABE. Femtosecond laser internal processing for an optical fiber sensor inducing interference of optical waveguide. The International Conference on Advanced Engineering - Theory and Applications 2016 (AETA 2016). 2016 年 12 月. Busan (South Korea). Proceeding of AETA 2016: pp. 737-744.
- [17]. 知念直樹、白石正彦、合谷賢治、関篤志、窪寺昌一、渡辺一弘. フェムト秒レーザー内部加工による光ファイバ内の光導波干渉現象誘起構造の作製. レーザー学会学術講演会第 37 回年次大会. 2017 年 1 月. 徳島. 同講演会予稿集 : p. F408p II 04.
- [18]. Masahiko SHIRAISHI, Shoichi KUBODERA, Kazuhiro WATANABE. Evaluating inner surface roughness of inline/picoliter fiber optic spectrometer fabricated by an NUV femtosecond laser drilling. SPIE Optics + Optoelectronics 2017. 2017 年 4 月. Prague (Czech). Proceedings of SPIE 10231, Optical Sensors 2017: pp. 102311H-1-6.
- [19]. 天野広輝, 白石正彦, 西山道子, 渡辺一弘, 窪寺昌一. フェムト秒レーザーにより作製された微少空洞化領域を有するシングルモード光ファイバを用いた水素検知センサの開発. 電子情報通信学会 光ファイバ応用技術研究会(OFT). 2017 年 9 月. 北海道. 同研究会予稿集 : 信学技報, vol. 117, no. 197, OFT2017-28, pp. 17-20.
- [20]. 大野秀信, 白石正彦, 西山道子, 渡辺一弘, 窪寺昌一. 光ファイバ分光セルを用いた金ナノ粒子凝集過程の観測. 電子情報通信学会 光ファイバ応用技術研究会 (OFT). 2017 年 9 月. 北海道. 同研究会予稿集:信学技報, vol. 117, no. 197, OFT2017-31, pp. 29-32.
- [21]. 白石正彦, 渡辺一弘, 窪寺昌一. 近紫外フェムト秒レーザーによる石英系光ファイバ穿孔加工の繰返し周波数・照射パルス数特性. 第 78 回応用物理学会秋季学術講演会. 2017 年 9 月. 福岡. 同講演会予稿集. 7p-S45-10 : p. 03-479.

[22]. Shoichi KUBODERA, Masahiko SHIRAISHI, and Kazuhiro WATANABE. A method for fabricating a through-microhole by using a near ultra violet femtosecond laser. The great scientific exchange 2017 (SCIX 2017). 2017 年 10 月. Nevada (United States). Paper ID: 9433, Poster number: 310.

[23]. Masahiko SHIRAISHI, Kazuhiro WATANABE, and Shoichi KUBODERA. A deep through-microhole fabricated inside a glass optical fiber by use of a near ultraviolet femtosecond laser. The 4th international conference on Advanced Engineering - Theory and Applications 2017 (AETA 2017). 2017 年 12 月. Ho Chi Minh (Vietnam). Proceeding of AETA 2017: pp. 185-189.

【著書への掲載】

[24]. Kenji GOYA, Masahiko SHIRAISHI, Yusuke FUCHIWAKI, Kazuhiro WATANABE, and Toshihiko OOIE. Femtosecond laser-induced surface modification and its application. Applications of Laser Ablation - Thin Film Deposition, Nanomaterial Synthesis and Surface Modification Edited by Dongfang Yang, chapter 14: pp. 313-334, 12/2016.

【特許出願】

[25]. 渡辺一弘, 西山道子, 細木藍, 窪寺昌一, 白石正彦. 光ファイバ水素センサ及びその製造方法. 2017 年 8 月. 特願 : 2017-153126.