光圧による単一微粒子のマニピュレーションと創製

堀田 純一, 笹木 敬司, 増原 宏

大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻 (〒565 大阪府吹田市山田丘2-1)

Laser Manipulation and Fabrication of a Single Microparticle by Photon Pressure

Jun-ichi HOTTA, Keiji SASAKI, and Hiroshi MASUHARA

Department of Applied Physics, Osaka University, 2-1 Yamada-oka, Suita Osaka 565

(Received October 15, 1997)

Laser manipulation of a single microparticle in solution by photon pressure and its application for molecular assembling was reviewed. By focusing a cw-Nd:YAG laser under a microscope, invisible microparticles, swelled micelles, polymer chains were trapped leading to formation of a micrometer-sized particle. The characteristic of the formed particle was analyzed by fluorescence microspectroscopy. In the formed polymer particle, condensation of π -electronic chromophore was confirmed by dimer formation. Fusion of swelled micelles was proved by observing Förster type intermolecular energy transfer. Photothermal effect upon particle formation process in water was also investigated for temperature-sensitive intelligent polymers. Photon pressure provides novel micromanipulation and microfabrication tools and will open the new stage of chemistry.

Key Words: Photon pressure, Microchemistry, Single particle formation, Laser manipulation, Fluorescence microspectroscopy

1. はじめに

光の放射圧すなわち光圧は17世紀にNewtonに予見され、19世紀にMaxwellにより定式化されたといわれている。実験的には前世紀末にロシアのLevedevらによって確認された¹⁾。蛇足だが光圧の存在はいち早く夏目漱石の知るところとなり1908年に発表された「三四郎」に光線の圧力としてふれられている。その後光圧に関する研究が圧倒的な注目を受けたのは、レーザーの登場以後である。1960年にレーザーが発明されたが、1970年にAshkinが複数のレーザービームを用いてその光圧により μm オーダーの微粒子を捕捉するのに成功した²⁾。1986年には1本のレーザービームを顕微鏡下集光することにより光圧で微粒子を捕捉することができるようになった³⁾。

我々は1988年頃からこのレーザー捕捉技術と顕微分光法、マイクロ電気化学的手法を組み合わせ、単一微粒子、単一液滴の時間分解空間分解測定手法を発展させてきた⁴⁾。この手法により微小空間内でおこる化学過程の知見を得ることができる。また、帯電量の絶対値を見積もることも行われている。微粒子の屈折率が媒質のそれより高いとき微粒子は球形微小共振器となり特有のレーザー発振を行う⁵⁾。これを自由に操作してチップとして用いる近接場光学顕微鏡も考案されている⁶⁾。

この微粒子が受ける光圧は、水中マイクロメートル微粒

子($10\mu\text{m}$)を1064nm, 1mWレーザー光で捕捉するとき $\sim 10^{-11}\text{N}$ となる。 $1\mu\text{m}^3$ の水滴の重力は $5 \times 10^{-15}\text{N}$, $1\mu\text{m}$ の直径の球を $1\mu\text{m}/\text{s}$ で水中を走らせる時に受ける粘性力は 10^{-14}N であるので、光圧がブラウン運動を抑え三次元的に任意に操作し、ある位置に固定するのに十分強いことがわかる。

一方波長より小さいレーザ粒子(10nm)の場合にはその力を見積もると5Wレーザー光の時 $\sim 10^{-14}\text{N}$ となる。微粒子は小さいのでその重力は当然小さく $\sim 6 \times 10^{-22}\text{N}$ であるが、一方熱運動は激しく $\sim 10^{-14}\text{N}$ と見積もられる。従って、熱ブラウン運動を抑えられれば、微粒子を焦点位置に集めて捕捉することが可能となる。

2. 単一微粒子のマニピュレーションと化学

上述の見積のように顕微鏡下マイクロメートル微粒子は容易に光圧により固定できる。その原理と事例については既に多くの文献で述べたのでそれを参照していただく⁷⁾。ここではさらにマニピュレーション法⁷⁾と第二、第三のレーザー光を用いた分光法、光化学的手法を結び合わせて発展させてきた我々のアプローチについてまとめて紹介する。

顕微鏡分光法は共焦点顕微鏡を使えばサブミクロン波長オーダーの空間分解能、ピコ秒の時間分解能、1nmのス

ペクトル分解能を合わせて得ることができる。従ってレーザー捕捉した一粒に適用すれば、蛍光色素の分布、分布が一様ならばその濃度を求めることができる。液滴の場合にはその中で起こる溶媒の配向緩和、拡散律速反応速度定数を求めることができる。過渡吸収分光により励起状態や中間体の帰属も可能で、光イオン化、光重合などの反応を誘起することも容易である。励起レーザーパルスの強度を上げれば捕捉した微粒子を壊したり蒸発させたり融合させたり、さらには微粒子に紫外光を集光することにより光化学的に加工したりすることができる。レーザー捕捉法をマイクロ電気化学的手法と組み合わせることにより、液滴界面を寄切る電子、物質移動を直接的に測定でき、また電極からの空間固定位置を変えることにより電気化学的反応を制御することができる。Table Iにまとめたように分光測定や電気化学、光化学実験をバルクの溶液中と同様に行うことが可能となった⁴⁾。

3. 単一有機微粒子の創製

10nmオーダーの微粒子も光圧により焦点に引き寄せられるが、レーザー光の焦点の集光スポット径は波長オーダーの $1\mu\text{m}$ なので、非常に多数の微粒子が集まってくる。溶液中熱力学的ポテンシャルが、光圧により集光スポットのところだけ低くなっているとみることができる。スポット位置では局所的に濃度が高くなるため微粒子同士は会合し微小な粒子として析出する。これは光圧による単一微粒子の創製と見ることができる。波長より小さくて目で確認できない微粒子を検出しなければならないが、我々は光散乱法と蛍光分光法を採用している。そのブロックダイアグラムをFig.1に示す。捕捉用レーザー光に加え顕微鏡に複数のレーザー光を同軸状に導入し、焦点位置のみを選択的に観測および計測する。捕捉用レーザーとして1064nmのCW-Nd³⁺:YAGレーザー、光散乱測定用レーザーとして632.8nmのHe-Neレーザー、蛍光測定の励起光源としてモード同期Ti:Sapphireレーザー($3\omega = 300\text{nm}$,

Fig. 1 A schematic diagram of a laser manipulation and fabrication system. A cw-Nd³⁺:YAG laser beam, a He-Ne laser beam, and a third harmonics of a Ti:sapphire laser ($\lambda = 300\text{nm}$, 0.4kHz - 82MHz , 2ps) were coaxially focused onto a sample solution. Optical transmission and back-scattering images of the He-Ne laser were monitored with a CCD camera. Fluorescence spectra as well as decay curves were measured by a single photon counting system.

$82\text{MHz} \sim 0.4\text{kHz}$, 2ps)または水銀ランプを用いている。Figure 2に模式的に示すように多数の分子が集合すると、目に見えない大きさの場合でもHe-Neレーザー光の後方散乱光の強度が増す。分子が蛍光性の時には、高感度の測定により集合してくるプロセスを観測するとともに、その蛍光挙動の解析からマイクロ粘性、マイクロ極性、分子配向などの情報を求め、集合構造のキャラクタリゼーションを行うことが可能である。これまで研究してきた化合物の一覧をFig.3に示す。

3.1 高分子を集めて単一微粒子を作る

シクロヘキサノン、*N,N*-ジメチルホルムアミドにポリ(*N*-ビニルカルバゾール)を溶かし、1064nmレーザービームの光圧により微粒子を形成させた⁸⁾。Figure 4にポリビニルカルバゾールを3.5wt%含む*N,N*-ジメチルホルムアミド溶液中の微粒子生成を示す。Figure 4(a)~(e)はHe-Neレーザーの散乱像であり、(f)~(j)は光学顕微鏡の透過像である。捕捉用のレーザー光を照射すると2~5分程度でHe-Neレーザーの後方散乱光が確認できた。20~25分くらい経つと光学顕微鏡の透過像として微粒子の存在を確認できるようになり、25~30分で定常状態になった。溶媒としてシクロヘキサノンを用いた方が*N,N*-ジメチルホルムアミドを用いた場合よりも、微粒子の生成に長時間の捕捉用レーザー光の照射が必要であった。生成した微粒子の直径はシクロヘキサノン中では $1\mu\text{m}$ 以下であり、*N,N*-ジメチルホルムアミド中では $0.9 \sim 2.0\mu\text{m}$ であった。捕捉用レーザー光の強度と生成微粒子の大きさを調べたのがFig.5である。微粒子の直径は光学顕微鏡像から求めた。Figure 5からわかるように、同じレーザー光強度では*N,N*-ジメチルホルムアミド中の方が、シクロヘキサノン中よりも大きな微粒子が生成した。He-Neレーザーの散乱光が観測され、微粒子が生成し始めるしきい値は*N,N*-ジメチルホルムアミドでは 100mW であり、シクロヘキサノンでは 80mW であった。光学顕微鏡で観測可能な大きさの微粒子が生成するために必要なレーザー光の強度は前者と後者の溶媒についてそれぞれ 170mW , 110mW であった。

Table I Various versions of laser trapping methods.

Combination	Properties/processes
Laser trapping/fluorescence spectroscopy	Concentration determination Depth profile Excimer dynamics Solvation dynamics Lasing dynamics
Laser trapping/absorption spectroscopy	T-T annihilation
Laser trapping/photochemistry	Ionization Polymerization Adhesion
Laser trapping/electrochemistry	Mass transfer Electron transfer Spatial control of chemical reactions
Laser trapping/fabrication	Cutting Ablation Gelation

Fig.2 A schematic diagram of single particle formation by photon pressure.

Figure 5に示すようにレーザー光強度があるしきい値を越えると、レーザー光強度を強くしても生成する微粒子の大きさはそれ以上大きくならなくなる。レーザー捕捉のための高光強度の場合がレーザーのスポット径に限られているから、光圧により高分子が集光位置に引き寄せられて

も、すでに濃度が高く熱力学的に入ることができない。異なる溶媒中で実験を行ったときに生成する微粒子の大きさに違いが見られる理由としては、二つの理由が考えられる。一つは溶媒の屈折率の違いである。N,N-ジメチルホルムアミドの屈折率(1.43)の方がシクロヘキサノンの屈折率(1.45)よりも小さいので、ポリ(N-ビニルカルバゾール)分子の比分散率はジメチルホルムアミド中の方が大きくなる。したがってポリ(N-ビニルカルバゾール)分子の受ける光圧の大きさはN,N-ジメチルホルムアミド溶液の方が大きくなり、結果としてより大きな微粒子を生成する。もう一つの理由は溶媒に対するポリ(N-ビニルカルバゾール)の溶解度の違いである。溶解度が異なっていると溶媒中でのポリ(N-ビニルカルバゾール)の慣性半径等が異なり、受ける光圧の大きさに差ができる。この高分子の微粒子生成は有機溶媒中高分子としては初めての例で、時間分

Fig.3 Compounds used for laser manipulation and fabrication of a single particle by photon pressure.

Fig.4 Single particle formation of 3.5wt% poly (*N*-vinylcarbazole) in *N,N*-dimethylformamide; (a)-(e) back-scattering images of the He-Ne laser beam from a created particle, (f)-(i) optical transmission images of the particle.

Fig.5 Diameter of the poly(*N*-vinylcarbazole) particles as a function of the trapping laser power; (a) concentration of 3.5wt% in cyclohexanone, (b) concentration of 3.5wt% in *N,N*-dimethylformamide. ● indicates the particle observed with the optical transmission image, while ○ shows the particles detected only with back scattering of the He-Ne laser beam.

解蛍光分光法を用い、かつ溶液の濃度等の実験条件を変えそのメカニズム、集合構造の解析を行っている⁹⁾。

3.2 単一微粒子形成と相転移

ポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド)の水溶液はpH、温度などの外部刺激により溶液中のコンホメーションを変える。それに応じて疎水性、親水性のバランスが変化し、水に溶けたり析出したりする。特に温度を上昇させた場合にはある温度(下限臨界溶液温度: lower critical solution temperature: LCST)において透明な溶液から白濁した溶液へと可逆的な相転移を示す。希薄溶液中ではこの転移はコイル構造からグロービュル構造へ変化することにより生じる。水中で光圧により微粒子を生成しようとする場合には、高強度のレーザー光($\sim \text{MW}/\text{cm}^2$)を集光している。したがって通常はほとんど無視できる1064nmにおける微弱な水のOH振動のオーバートーンバンドの吸収(1cm光路長で ~ 0.06)により、顕微鏡の焦点近傍の温度が相転移点以上に上がり、その部分に10 μm 程度のゲルが析出するのが見られる¹⁰⁻¹²⁾。レーザー光を切るとこの微粒子は直ちに

消滅する。

これに対して、重水中で実験を行う場合にはOD振動のオーバートーンはOH振動のそれと比べて長波長にシフトするので、捕捉用のレーザー光の波長における吸収はほとんどなく、1064nm光を集光しても温度上昇は生じない。実際、重水中での微粒子形成ではそのメカニズムに光圧のみが働くLCSTを持たないポリ(*N*-ビニルカルバゾール)/有機溶媒系と同様に、レーザーの集光スポットサイズ程度の微粒子の生成が確認された。また、重水中で光圧のみにより形成された微粒子が再び溶解するためには長時間(~ 120 秒)必要であり、熱的な相転移を伴い生じた微粒子とは異なる高分子の集合構造をとっていることが期待される¹¹⁾。

この構造的知見を求めるため蛍光特性のよくわかっていいるピレンをペンダントさせたポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド)の蛍光(Fig.6)を測定し、光圧により生成した微粒子の特性を解析した。ピレンの含有率は0.5%であり熱的な相転移により相分離を生じた場合にはほとんどダイマー蛍光が観測されないが、光圧による場合にはダイマー蛍光が観測され、 π 電子分子が濃縮された特異な集合構造を持つ微粒子が生成していることが明らかとなった¹²⁾。

3.3 ミセルを集め単一液滴を作る

ドデシル硫酸ナトリウム水溶液にキシレン、1-ペンタノールを加え調整することにより、安定な膨潤ミセルを形成することができる。その粒径は100nm以下で、目に見えず激しくブラウン運動をしている。このミセルの平均分極率は水の分極率よりも大きいので、顕微鏡下に絞り込んだ近赤外光の放射圧に引き寄せられ、凝集する。捕捉用のレーザー光を試料溶液に導入すると、He-Neレーザー光の後方散乱光の強度がFig.7のように増加した。このことはレーザーの集光位置にキシレン($n = 1.49$)を含有した屈折

Fig.6 The fluorescence spectra of Pyrene-labeled poly(*N*-isopropylacrylamide) (3.6wt% solution, 313nm excitation wavelength) in D_2O ; (a) at different irradiation times, and (b) at different initial temperatures. The spectra are normalized at the 0-2 vibrational band.

率の高い膨潤ミセルが集められたことを示している。十分長時間(100秒程度)捕捉用レーザー光を照射した後、捕捉用のレーザー光の集光位置には1 μ m程度の単一微小液滴が観測された。数百秒後、液滴の成長は止まり、その直径はレーザーのスポットサイズ程度に留まった。捕捉用のレーザー光を切ると微粒子は捕捉位置からブラウン運動で離れていき、溶液中に溶けずにそのままの大きさで視野から去っていった。もう一度捕捉用のレーザー光を照射すると、再び同じように微粒子が生成した。

凝集した膨潤ミセルが表面に存在する界面活性剤分子間の静電反発によりただ単に凝集しただけではなく、膨潤ミセル同士が融合して一つの液滴を形成しているものと考えられる。この融合現象は分子間の距離が数nmになったときにおこるフェルスター型の分子間エネルギー移動を解析して証明した。すなわち励起エネルギーの供与体と受容体の蛍光性分子(それぞれピレン、ペリレン)を含む系を用意し、光圧により集合させ蛍光スペクトルを観察したところ、Fig.8の結果を得た。集合するにつれ受容体のペリレンからの蛍光が増えているが、ピレンと共に同一の液滴に溶けていることを示しており、融合が直ちに起こっていることを意味している¹³⁾。

4. おわりに

光圧は単なるマニピュレーション手法の提供にとどまらず、化学に一步踏み込んで集合構造の形成をも可能にするものであることを示している。分極率の大きいクロモフォアを導入した π 電子系一般について、光圧の効果が十分強いことが示唆された。この光圧を利用した新しい手法により、分子集合構造や反応の制御、さらには新材料の創製が可能であり、今後は高分子や分子集合体、超分子、液滴、DNA、タンパク質などの数十ナノメートルから数十マイクロメートルオーダーの秩序構造形成を試みる^{14,15)}。蛍光プローブ法によれば、分子レベルの集合構造の知見も期待され、現在実験中である。さらにレーザー光反応と組み合わせたり、マイクロ電極を導入すれば、自在に化学反応、材料創製を制御することも夢でなくなってきた。究極の目標として、光で分子を並べ分子の位置ごとに光反応を制

Fig.7 He-Ne laser scattering images of aqueous swelled micellar solution at (a) 0s (before irradiation of the trapping laser), (b) 30s, (c) 90s, (d) 150s, (e) 240s, and (f) 300s after starting irradiation, respectively, which shows aggregation of swelled micelles and droplet formation in solution. He-Ne laser and trapping infrared beam were focused coaxially onto the same position.

Fig.8 Fluorescence spectral change of aqueous swelled micellar solutions containing aromatic molecules. An excitation light source was a mercury lamp ($\lambda = 313\text{nm}$) and only pyrene monomer fluorescence was observed before introducing the trapping laser. Upon prolonged irradiation, perylene fluorescence due to pyrene-perylene energy transfer became relatively intense, indicating fusion of swelled micelles.

御して、新しい分子、材料を作りだしていきたいものである。全く新しい研究領域の誕生が期待される。

謝 辞

研究の立ち上げ、装置開発、測定、解析、討論を一緒に行ってきたJ. Hofkens氏(ルーバンカトリック大学)、P. Borowicz氏(ポーランド科学アカデミー物理化学研究所)、サンプルを提供いただき共同研究を行っている岩井 薫博士(奈良女子大学)、F. C. De Schryver教授(ルーバンカトリック大学)、宮下 徳治教授(東北大学)、板谷 明教授(京都工芸繊維大学)、伊藤 恵啓博士(信州大学)、森島 洋太郎教授(大阪大学)の方々に感謝する。

参考文献

- 1) Levedev: Ann. Phys. (Leipzig) **6** (1990) 433.
- 2) A. Ashkin: Phys. Rev. Lett. **24** (1970) 156.
- 3) A. Ashkin: Opt. Lett. **11** (1986) 288.
- 4) H. Masuhara, F. C. De Schryver, N. Kitamura, and N. Tamai, ed.: *Microchemistry* (Elsevier: Amsterdam, 1994).
- 5) K. Sasaki, H. Misawa, N. Kitamura, R. Fujisawa, and H. Masuhara: Jpn. J. Appl. Phys. **32** (1993) L1144.
- 6) K. Sasaki, H. Fujiwara, and H. Masuhara: Appl. Phys. Lett. **70** (1997) 2647.
- 7) K. Sasaki, M. Koshioka, H. Misawa, N. Kitamura, and H. Masuhara: J. Appl. Phys. **30** (1991) L907.
- 8) P. Borowicz, J. Hotta, K. Sasaki, and H. Masuhara: J. Phys. Chem. **101** (1997) 5900.
- 9) P. Borowicz, J. Hotta, K. Sasaki, and H. Masuhara: J. Phys. Chem., submitted.
- 10) J. Hofkens, J. Hotta, K. Sasaki, H. Masuhara, H. Faes, and F. De Schryver: Mol. Cryst. Liq. Cryst. **283** (1996) 165.
- 11) J. Hofkens, J. Hotta, K. Sasaki, H. Masuhara, and K. Iwai: Langmuir **13** (1997) 414.
- 12) J. Hofkens, J. Hotta, K. Sasaki, H. Masuhara, T. Taniguchi, and T. Miyashita: J. Am. Chem. Soc. **119** (1997) 2741.
- 13) J. Hotta, K. Sasaki, and H. Masuhara: J. Am. Chem. Soc. **118** (1996) 11968.
- 14) J. Hotta, K. Sasaki, and H. Masuhara: Appl. Phys. Lett., in press.
- 15) T. Smith, J. Hotta, K. Sasaki, H. Masuhara, and Y. Itoh: in preparation.