ナノの揺らぎを観てフェムトニュートンの力を測る

光システム計測研究分野 笹木 敬司

本研究分野では、光の粒子性、波動性、量子性を極限まで活用し、既存の光計測、光情報通信処理 の限界を超える、新しい光科学技術の研究を進めている。ここでは、マイクロ・ナノメートルサイズ の微粒子一個をレーザートラッピングしながら、熱による位置揺らぎを光ナノ計測することにより、 微粒子に作用するフェムトニュートンオーダーの力を解析するシステムを紹介する。また、本システ ムを用いてエバネッセント場が発生する放射圧や、静電場中の帯電した高分子微粒子に作用する極微 弱な力を解析した実験について述べる。

1 はじめに

ベル研究所の Ashkin 博士と一昨年ノーベル物理 学賞を受賞した Chu 博士らが, 集光レーザービーム による微粒子のトラッピング法を提案してからもう 15年になる[1]. この間, 生物学の分野では, バク テリアやウイルス,染色体,精子,DNA分子などの 操作法として利用され、細胞融合、細胞内小器官の 輸送、バクテリアのべん毛や筋肉内分子の相互作用 の観察などに成果を挙げている。我々も、光物理・ 光化学への応用として,単一微粒子を捕捉しながら 光反応を誘起し分光計測や微細加工を行うシステム を開発してきた[2].レーザー走査マニピュレーショ ン技術を用いれば、微粒子を任意のパターンに並べ、 時間的に配列を変化させたりパターンに沿って任意 の速度で輸送することができる。また、ナノメート ルサイズの分子集合体や高分子一本ずつに放射圧を 作用し集合構造や会合状態を変化させて反応や相転 移を制御することも実現している [3].

では、レーザー光によって微粒子や分子、分子集 合体にどのくらいの大きさの力が働くのだろうか. 放射圧による分子集合構造変化のメカニズムを解明 するためには、作用する放射圧を定量的に解析する 必要がある。幾何光学、波動光学に基づけば微粒子 に働く放射圧を計算できるが、レーザー光を導入す る光学系の僅かな変化によって放射圧は理論値から 大幅にずれる。また、分子や分子集合体の場合、溶 媒中における集合構造や会合状態によって変化する 放射圧の大きさを定量的に予測することは困難であ る。実験的に放射圧を測定する手法としては、粘性 抵抗を微粒子に作用させて放射圧とのバランスから 力の大きさを求める方法が開発されている.しかし, 放射圧はピコ〜フェムトニュートンと極めて小さい ため,溶媒中における熱運動のランダムな力により バランスが乱され測定誤差が非常に大きくなる.原 子間力顕微鏡 (AFM)を利用しカンチレバーの探針 先端部に微粒子を取り付けて力を測定することも可 能であるが,ピコニュートン以下の力は測定が困難 であり,また探針が微粒子や溶液と相互作用して系 の物理・化学的状態が乱されてしまうため in situ 測 定は実現できない.

ここでは、本研究分野で新たに開発した放射圧ポ テンシャル測定法を紹介する.本手法は、熱による ナノメートルオーダーの位置揺らぎを直接観測して 単一微粒子に作用する放射圧をフェムトニュートン の感度で計測するものである.また "放射圧"を光 バネとして利用しポテンシャル測定を行うことによ り、溶液中や固体表面近傍において微粒子に作用す るファン・デル・ワールス力、電気二重層相互作用, 溶媒和力、水素結合力等の極微弱な力を非接触・非 破壊的に直接測定することも可能である.本稿では、 その中から静電力測定によって単一微粒子の表面電 荷密度を解析した例についても紹介する.

2 微粒子に作用するポテンシャル 測定法

レイリー散乱の理論によると,波長より十分小さ い微粒子は1個の電気双極子として近似することが でき,この双極子が光の電磁場から受ける力として 放射圧を解析することができる.放射圧には2つの 成分があり,一つは不均一分布をした電場の中に双 極子が置かれたとき発生する静電応力(勾配力)で ある.この力は,電磁理論により

$$F_{grad} = \frac{1}{2} \alpha \nabla E^2 \tag{1}$$

と与えられる.ただし,Eは光の電場, α は微粒子の分極率で、微粒子の半径rと屈折率 n_1 および媒質の屈折率 n_2 と誘電率 ϵ_2 を用いて

$$\alpha = 4\pi\epsilon_2 r^3 \frac{n_1^2 - n_2^2}{n_1^2 + 2n_2^2} \tag{2}$$

と表される.放射圧の第2成分は光エネルギーの進行方向が時間的に変化することによって生じる力(散乱力)であり,光の波長 λ に依存して

$$F_{scat} = \frac{4\pi^3 n_2^5}{3\lambda^4 \varepsilon_2} \alpha^2 E^2 \tag{3}$$

と与えられる。

集光レーザービームを透明な誘電体微粒子に照射 した場合,一般に勾配力が散乱力に比べて十分大き く,電場勾配の方向すなわちレーザー光の焦点位置 の方向に放射圧が働く.その結果,微粒子は焦点位 置近傍に引き寄せられ重力と釣り合う位置で3次元 的に捕捉される.一方,屈折率の異なる2つの誘電 体界面でレーザー光を全反射させたときに発生する エバネッセント場を微粒子に照射した場合,界面に 垂直方向には指数関数的に変化する勾配力が,界面 に平行な面内ではレーザー光の入射方向に散乱力が 作用すると考えられる.

全反射顕微鏡法を3次元空間に拡張して微粒子に 作用する放射圧ポテンシャルを高速・高精度に計測 する手法の原理を説明する [4].まず,熱運動する 微粒子の位置の時間的揺らぎを,後述する手法を用 いてナノメートルオーダーの精度で観測する.この 揺らぎを位置に対する頻度としてヒストグラムに変 換すると,これは微粒子の存在する空間分布であり, 規格化すると微粒子を位置*x*に見出す確率密度関 数p(x)が得られる.このランダム過程は熱エネル ギーによるものなので,ボルツマン分布

$$p(x) = \exp\left(\frac{-V(x)}{kT}\right) \tag{4}$$

を適用すると, 確率密度関数 p(x)から kT(k: ボルツマン定数, T: 温度) を単位としたポテンシャルエネルギー<math>V(x) が求められる.

図1に微粒子の3次元位置検出の原理を示す.ガ ラスと試料溶液の界面で位置測定用のレーザー光 (He-Ne レーザー)を全反射させて溶液側の界面近



図1 3次元ポジションセンシングの原理.

傍にエバネッセント場を生成する.この状態では溶 液側の顕微鏡対物レンズに光は入らないが,エバ ネッセント場を微粒子に照射すると場が乱されて散 乱光が発生する.この散乱スポットを対物レンズで 4分割フォトダイオード(QPD)検出器上に結像す ると,QPDの2つの差動出力から微粒子のx,y方 向の変位が得られ,エバネッセント場が界面から指 数関数的に減衰することからQPDの総和出力 I(z)により微粒子のz変位が

$$I(z) = I_0 \exp\left(\frac{-z}{d_p}\right) \tag{5}$$

によって与えられる.ただし, d_p はエバネッセント 場の滲み込み深さ, L₀ は微粒子がガラスに接触した ときの散乱光強度で,実験ではトラッピングにより 微粒子をガラス表面に押しつけたときの強度を用い ている.この手法により 10 nm 以下の位置測定精度 を容易に得ることができる [4].

3 エバネッセント場の放射圧測定

図 2 (a)は Nd: YAG レーザー(1064 nm, 7 mW) の集光ビームにより常温,水中で捕捉したポリスチ レン微粒子(粒径 4.5 μ m)について光軸方向にガラ ス界面からの距離の関数としてポテンシャルを測定 した結果である [5]. 微粒子の熱運動のカットオフ





周波数から QPD のサンプリング時間は2.5 μs に 設定している.界面から100 nm 以下の領域で電気 二重層斥力によるポテンシャルの急激な変化が観ら れている.300-400 nm 付近のくぼみがレーザー焦 光点付近のトッラピングポテンシャルであり,いく つかの小さいくぼみは反射光の干渉によるものと考 えられる.図2(b)は,集光ビームに加えて Nd: YAG レーザーの平行ビーム (パワー50 mW)を位置検出 用の He-Ne レーザーと同軸で界面の下側から全反 射角で照射し,エバネッセント場を発生させたとき のポテンシャルの測定結果である.微粒子にエバ ネッセント場による放射圧が加えられることによっ て,ポテンシャルディップが界面側にシフトしてい る.図2(a)と図2(b)の差を求めることにより,Nd:



図 3 エバネッセント場放射圧の界面垂直方向のポテン シャル(ポリスチレン微粒子).(a)図 2 の差ポテンシャ ル (レーザーパワー50 mW),(b) 80 mW,(c) 150 mW.

YAG レーザーのエバネッセント場により生じたポ テンシャルを与ることができる(図3(a)).エバネッ セント場の強度分布に対応して界面から指数関数的 にポテンシャルが増加するのが観測されており,勾 配力が支配的であることが分かる.エバネッセント 場のパワーを上げると(図3(b)80 mW,図3(c)150 mW),ポテンシャルの傾きが大きくなり放射圧の増 加が確認できる.これらのポテンシャルの微分波形 からエバネッセント場の放射圧の空間分布が求めら れ,その力の大きさは数十フェムトニュートンオー ダーである.

図4(a)は水中に分散した粒径250 nm の金微粒子 にNd: YAG レーザーを集光したとき発生する放射 圧ポテンシャルを,光軸と垂直方向に測定した結果 である[6].ポテンシャル曲線は放物線でフィッティ ングすることができ,調和振動子を仮定してトラッ



図4 (a)金微粒子 (粒径 250 nm) に作用する界面水平方向の トラッピングポテンシャル,(b)エバネッセント場を印 加したときの相互作用ポテンシャル.



図5 エバネッセント場放射圧の界面水平方向のポテン シャル(金微粒子,図4の差ポテンシャル).

ピングのバネ定数を計算すると10⁻⁶N/m オーダー である.これは AFM のカンチレバーのバネ定数よ り数桁小さい値である.先の実験と同様にエバネッ セント場を付加して測定したポテンシャル(図4(b)) との差を求めると,図5の直線的なポテンシャルが 得られる.これは,界面と水平方向にはエバネッセ ント場の強度が一定であり,位置に依存しない散乱 力が金微粒子に作用していることを示している.力 の大きさは傾きから1.7 pN と得られる.

4 単一微粒子の表面電荷密度測定

微粒子表面の解離基が電離したり溶液中のイオン が表面に吸着して発生する表面電荷を定量的に測定 する手法としては電気泳動法が広く用いられてき た.しかし,この手法は電場を印加したときの微粒 子の流れから電荷を解析するため,測定条件のばら つきやブラウン運動の影響を受け易く,高い精度を 得ることが難しい.また,静電力と粘性抵抗の釣り 合いに基づく流体力学的解析も複雑であるという問 題点がある.そこで我々は,帯電した単一微粒子を レーザー捕捉しながらマイクロ電極で電場を印加 し,静電力によるポテンシャル曲線の変化を観測し て表面電荷密度を高精度に解析する手法を開発した [7].

本手法は、まず対物レンズで溶液中に集光した レーザービームによって微粒子を3次元的に捕捉 し、前述の手順で光軸に垂直方向のポテンシャルを 測定する.この微粒子にマイクロ電極を使って電場 を印加すると、微粒子表面の電荷により静電力が発 生し、たとえば負の電荷を帯びていると微粒子は陽 極方向に引っ張られる。そのため、微粒子に作用す るポテンシャル曲線は静電力の方向にシフトする。 静電力は場所に依存しないため、電場を印加したと きとしないときのポテンシャルの差、すなわち静電 力によるポテンシャルは直線になり、その傾きから 静電力を求めることができる。得られた静電力と電 場強度、粒径から微粒子の表面電荷密度を計算する ことができる。

単一微粒子の表面電荷密度測定システムを用いて 塩化ナトリウム水溶液中のポリスチレン微粒子(粒 径 4.5 µm)の帯電量を測定した結果を図 6 に示す。 使用したポリスチレン微粒子は作製時に使用した重 合開始剤のスルホン酸基が表面に残っているために 溶液中で負の電荷を持つと考えられる。試料セルと しては, 顕微鏡スライドガラスの上に約600 µmの 間隔で2本の金電極(厚さ50 µm,長さ15 mm)を 張り付け、カバーガラスを被せたものを作製し、こ れに微粒子を分散した溶液試料を入れる. 電極には 定電圧源で2V印加したときと印加しないときの 差のポテンシャル(図6)が静電力による成分であ り、予測通り直線的なポテンシャルとなっている。 この傾きから求めた静電力は 450 fN であり,表面電 荷密度は3.1 µC/m²と得られた.ナトリウムイオン の濃度を増加させるとポリスチレン微粒子表面のス ルホン酸基の解離度が減少し微粒子の表面電荷密度 が小さくなる現象も観測されている(図7). このよ うに本システムはポテンシャル測定法により高い精



図 6 塩化ナトリウム水溶液中のポリスチレン微粒子(粒径 4.5 μm)に作用する静電力のポテンシャル.



度で表面電荷密度が解析できるだけでなく,不均一 な媒質や時間的に変化する試料にも適用できるとい う特徴があり,分光測定と組み合わせて単一微粒子 表面の吸着分子や解離基の定性・定量的物質解析が 可能である.

5 おわりに

有機ナノクリスタル,半導体超微粒子,高分子凝 集体,ミセル,色素分子会合体など,原子・分子の 微小集合体は,マクロスコピックな材料と異なる集 合構造を形成したり,微小空間への閉じ込めによる 量子サイズ効果や表面・界面に特徴的な物理・化学 現象によってバルクの状態では観られない物性が発 現することから,最近盛んに研究がなされている. これらの微粒子は、集合体を構成するための原子・ 分子間力や表面力だけでなく、種々の外力が作用し て系の平衡状態が保たれている。微粒子に作用する 種々の力はコロイド科学や界面科学の分野で古くか ら研究がなされており、理論面では DLVO 理論が 完成している。しかし、発生する力は前述のように 極めて微弱であるため、熱エネルギーによりランダ ム運動する条件下で直接的に測定することは困難で あり、実験的研究は立ち遅れていた。本稿で紹介し た光の放射圧を高感度・高精度な光バネとして利用 した3次元ポテンシャルの非接触・非破壊計測法は、 原子・分子レベルでの吸着・付着の観察や分子集合 体の凝集・会合の解析に新しい展開をもたらすこと が期待できる [8].

[参考文献]

- [1] A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm, and S. Chu, Opt. Lett., **11**, 288 (1986).
- [2] 笹木敬司, 增原宏, O plus E, 20, 36 (1998).
- [3] 笹木敬司, 堀田純一, 増原 宏, 化学と工業, 49, 1045 (1996).
- [4] K. Sasaki, M. Tsukima, and H. Masuhara, Appl. Phys. Lett., 71, 37 (1997).
- [5] K. Wada, K. Sasaki, and H. Masuhara, Appl.

Phys. Lett., 76, 2815 (2000).

- [6] K. Sasaki, J. Hotta, K. Wada, and H. Masuhara, Opt. Lett., 25, 1385 (2000).
- [7] K. Wada, K. Sasaki, and H. Masuhara, Appl. Phys. Lett. submitted.
- [8] K. Sasaki, K. Horio, and H. Masuhara, Jpn. J. Appl. Phys., 36, L721 (1997).