

# 水中レーザーアブレーション法による 生体親和性ナノ粒子の創成

黒江康博<sup>1)</sup>・甲藤正人<sup>2)</sup>・窪寺昌一<sup>3)</sup>・横谷篤至<sup>3)</sup>

## Formation of Hydroxyapatite Nanoparticles by Laser Ablation in Water

Yasuhiro KUROE, Masahito KATTO, Shoichi KUBODERA and Atsushi YOKOTANI

### Abstract

Hydroxyapatite (HAp) is a bioactive and biocompatible material. Formation of HAp nanoparticles will be useful for biomedical applications. We tried to form the HAp nanoparticles by laser ablation in water using KrF excimer laser and Ti:Sapphire (Ti:S) laser. While the ablation, the density of the dispersed particles was estimated by the degradation of transmitted probe laser power through the solution. The transmitted power was degraded during the ablation, which showed the increment of the dispersed particles density. After stopping the ablation, the suspension was left for 12 hours. Then the transmitted power was smaller than 100 percent of initial value by KrF excimer laser ablation at the fluence of 11 J/cm<sup>2</sup> and Ti:S laser ablation at every fluence. It meant that the particles were still dispersed in water. After the ablation, some amount of the solution was obtained and fell in drops on the polished titanium plate. The plates were let dry naturally for a day and then examined the particles by the scanning electron microscope. The formed particles by Ti:S laser ablation had higher content percentage of particles with sub-micron size than those by KrF excimer laser ablation. We could successfully form the HAp sub-micron particles and found that Ti:S laser ablation was more suitable for formation of sub-micron particles.

### Key word:

Hydroxyapatite, Laser ablation in water, KrF excimer laser, Ti:Sapphire laser

### 1. はじめに

ハイドロキシアパタイト(Hydroxyapatite; HAp)は動物の歯や骨の主成分で<sup>1,2)</sup>、生体親和性の高い物質である。現在、人工歯根や人工骨などの生体材硬組織代替材料の材料としては、軽量で機械的強度の高いチタンが主に用いられており、チタンの表面にHAp被膜を形成することで生体親和性を向上させるべく開発が行われている。

我々は、HApのナノ粒子を作製し、高濃度で水中に分散させたHApコロイド溶液中で電気泳動法によるHAp被膜の作製を提案している。この手法で

作製したHAp被膜は表面にナノ構造を持つため、表面積が大きく、骨や歯の細胞が付着しやすいと期待している。

ナノ粒子の作製にはレーザーアブレーションが有用である。レーザーアブレーションとは、高強度レーザー光を物質に照射した際に、イオン、原子、分子、固体片等の物質が瞬時に噴出される現象である<sup>3-5)</sup>。

水中でレーザーアブレーションを起こす水中レーザーアブレーション法では、レーザーアブレーションによって噴出した原子、分子等の物質が周囲の水によって冷却されることで微粒子が生成される<sup>3-5)</sup>。また水中レーザーアブレーションを用いて作製した粒子のコロイドには、粒子と溶媒以外の物質を含まないという優れた特性がある。これは、微

1)電気電子工学専攻大学院生

2)産学連携センター准教授

3)電気電子工学科教授

粒子を様々な用途に利用する場合に有用である。

ナノ粒子は粒径が数 nm～数十 nm のサイズの粒子とされ、普通の固体に比べ反応性が高く、電気的、磁氣的、光学的、機械的なあらゆる性質や特性が大きく変化する。例えば、金の微粒子は粒子サイズによって特定波長の光吸収が起こることが知られており<sup>4)</sup>、ディスプレイ用途への応用が期待されている。HApについても、ナノ粒子化することで生体親和性に加えて、新しい機能性が発現することが期待される。

本研究においては水中レーザーアブレーション法を用いて、水中に安定して分散する HAp ナノ粒子を作製することを目的とした。HAp ナノ粒子の作製に適したアブレーション条件を調べるために、発振波長ならびにパルス幅が異なる KrF エキシマレーザーと Ti:サファイア(TiS)レーザーの2種類のレーザーを水中に設置した HAp セラミックターゲットに照射し、そのフルエンスを変化させ、得られた HAp 粒子の形状がどのように変化するかを明らかにした。

## 2. 実験装置および方法

図1に本研究で用いた水中レーザーアブレーションによる粒子作製の実験装置を示す。1100℃で焼結した HAp のセラミックスを、ターゲットとして精製水中に固定した。KrF エキシマレーザー(波長 248 nm, パルス幅 15 ns) を照射フルエンス 7,11,15,22 J/cm<sup>2</sup> とし、TiS レーザー(波長 882 nm, パルス幅 160 fs)を照射フルエンス 9,11,13,14,17 J/cm<sup>2</sup> とし、

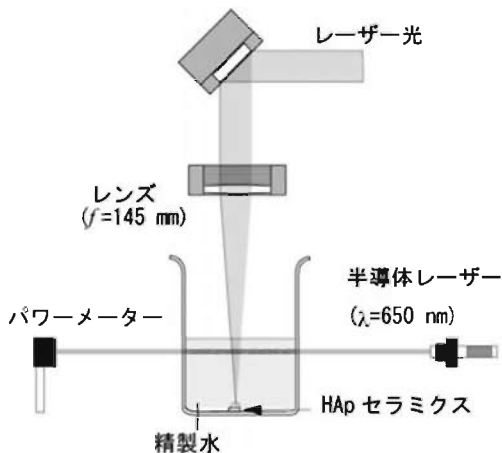


図1 実験装置図.

それぞれのレーザー光を焦点距離 145 mm のレンズで集光し、ターゲットに 6 時間照射した。この際、同時にピーカーの側面から半導体レーザー(LD;波長 650 nm)を照射し、溶液を透過する LD 光の強度をパワーメーターで測定した。この透過 LD 光強度の変化から水中に分散している粒子の量の変化を見積もった。透過 LD 光強度の測定は、アブレーションが終了した後 12 時間継続し、合計で 18 時間行った。

作製した溶液を採取して、チタン板上に滴下し、乾燥させた後で、走査型電子顕微鏡(Scanning Electron Microscope; SEM)により粒子の形状を観察することで粒子のサイズ分布を求めた。また、エネルギー分散型 X 線分光法(EDX)を用いて作製された粒子の組成を調べ HAp の組成と比較した。

## 3. 実験結果・考察

図2(a)に KrF エキシマレーザーを照射フルエンス 11,22 J/cm<sup>2</sup> としてアブレーションを行った場合の照射時間に対する透過 LD 光強度変化を、図2(b)に TiS レーザーを照射フルエンス 9,11,13,14,17 J/cm<sup>2</sup> とした場合の照射時間に対する透過 LD 光強度変化をそれぞれ示す。図2(a)(b)共に 6 時間までの結果において、全ての照射フルエンスで透過 LD 光強度がレーザー未照射時よりも低下していた。

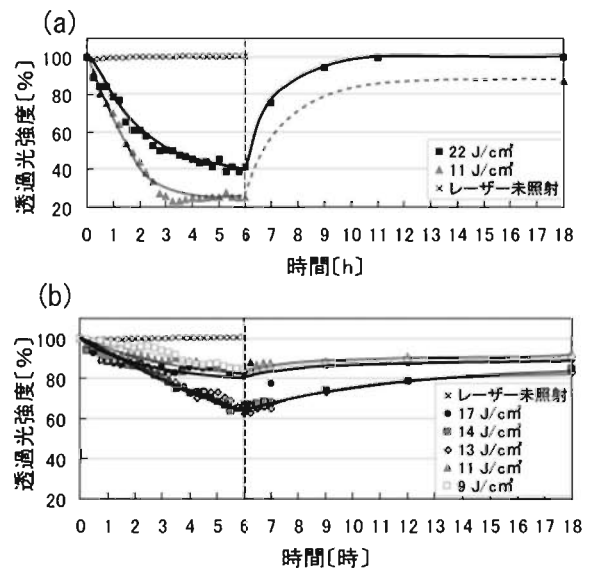


図2 (a)KrF エキシマレーザーでの粒子作製 (b)Ti レーザーでの粒子作製時の透過 LD 光強度の変化

このことから、アブレーションにより、溶液中に分散した粒子が増加することが分かった。

図 2(a)の KrF エキシマレーザーの場合、照射フルエンス  $22 \text{ J/cm}^2$  の際にはアブレーション開始から 6 時間後において、透過 LD 光強度はレーザー照射前の値の 40 % までしか低下せず、アブレーション終了から 12 時間後にはレーザー照射前の値まで戻った。

照射フルエンス  $11 \text{ J/cm}^2$  における透過 LD 光強度は、アブレーション開始 6 時間後において照射前の 20 % まで低下し、アブレーション終了から 12 時間後には、照射前の値の 85 % まで低下していた。この 2 つの結果から、KrF エキシマレーザーで照射フルエンスを  $11 \text{ J/cm}^2$  として作製した溶液中には、 $22 \text{ J/cm}^2$  の場合より分散している粒子が多くアブレーション終了 12 時間後においても粒子が分散していることが分かった。

図 2(b)の TiS レーザーの場合、照射フルエンス  $9, 11, 17 \text{ J/cm}^2$  における透過 LD 光強度は、アブレーション開始から 6 時間後においてレーザー照射前の 85 % 程度まで低下し、アブレーション終了から 12 時間後には 90 % まで戻った。

それに対して、TiS レーザーの照射フルエンス  $13, 14 \text{ J/cm}^2$  における透過 LD 光強度は、アブレーション開始から 6 時間後においてレーザー照射前の 65 % 程度まで低下し、アブレーション終了から 12 時間後には 85 % までしか戻らなかった。このことから  $9, 11, 13, 14 \text{ J/cm}^2$  と照射フルエンスの増加に伴って分散する粒子の量は増えたが  $17 \text{ J/cm}^2$  では分散する粒子の量が減少していることが分かる。

図 2(a)(b)からアブレーション終了から 12 時間において、安定に分散する粒子を作製する条件として、KrF エキシマレーザーの照射フルエンス  $11 \text{ J/cm}^2$  と TiS レーザーを使用した場合があることが分かった。

図 3 に KrF エキシマレーザーの照射フルエンス  $7, 11, 15, 22 \text{ J/cm}^2$  における生成物の SEM 像を示す。照射フルエンスが  $7, 11 \text{ J/cm}^2$  の場合では破片状の形状をした白い不定形の粒子のみが観察された。一方、照射フルエンス  $15, 22 \text{ J/cm}^2$  の場合は不定形の粒子が少ない代わりに、図中で白い円で囲んだ部分のようなスポンジ状の生成物が観察された。

図 2(a)の透過 LD 光強度変化の結果と図 3 の SEM 像の特徴から、不定形の粒子が多く観察されたとき

に透過 LD 光強度が低下していることが分かる。スポンジ状の生成物はナノ粒子であることが期待され、LD の波長  $650 \text{ nm}$  より粒径が十分小さく、レイリー散乱を起こすと予想されるが、溶液中の濃度が低く、LD の透過光強度低下への寄与が小さいと考えている。

図 4 に TiS レーザーの照射フルエンスを  $11, 13, 17 \text{ J/cm}^2$  として作製した溶液の上澄みと下層を採取して観測した SEM 像を示す。

溶液の上澄みを採取し観測した SEM 像である図 4(a)(c)(e)に注目すると、いずれの照射フルエンス

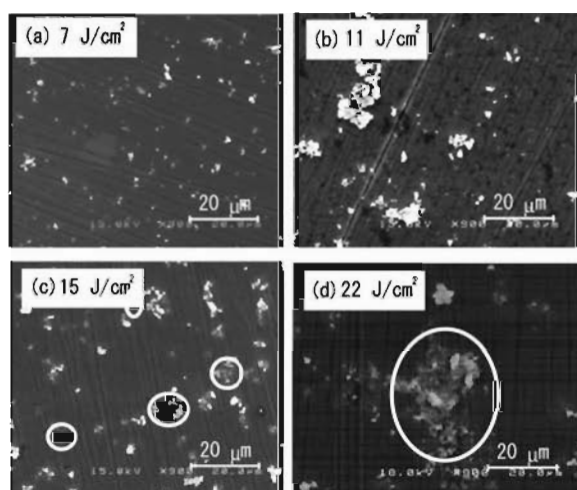


図 3 KrF エキシマレーザーでの生成物。

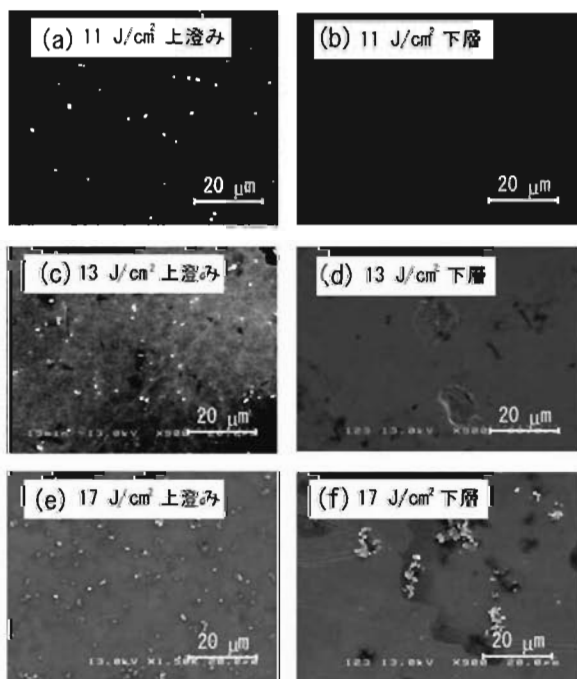


図 4 TiS レーザーでの生成物。

においても KrF エキシマレーザーの場合より不定形の粒子のサイズが揃っていることが分かる。図 2(b)と図 4(a)(c)(e)の特徴から、KrF エキシマレーザーの場合と同様に、不定形の粒子が多いとき透過 LD 光強度が大きく低下していることが分かる。

溶液の下層を採取した図 4(b)(d)(f)に注目すると、 $17 \text{ J/cm}^2$ 以外の照射フルエンスでは粒子は観察されなかった。また  $17 \text{ J/cm}^2$ の下層から採取された粒子はいくつかの不定形の粒子が集まり凝集したような状態で観察された。このため TiS レーザーにおいて、照射フルエンス  $17 \text{ J/cm}^2$ の場合で分散する粒子が少ないのは、高フルエンスでのアブレーションの結果、粒子の濃度が高くなることで、粒子同士が凝集し沈殿したことが原因と考えられる。

図 3, 図 4 の SEM 像よりスポンジ状の生成物について、個々の粒子は用いた SEM では観測できなかったが、不定形の粒子は粒子の輪郭が明確に観測できた。不定形粒子について、各作製条件における SEM 像から 200 個分の粒径を計測し、含有率を求めることで、不定形粒子のサイズ分布を求めた。図 5(a)(b)に KrF エキシマレーザーならびに TiS レーザーで生成された不定形粒子のサイズ分布を示す。

図 5(a)より、KrF エキシマレーザーでは照射フルエンスが大きくなるに従って粒径  $1 \mu\text{m}$ 以下の粒子の含有率の合計が 70%から 20%へと低くなった。

それに対して、図 5(b)より TiS レーザーにおいて、粒径  $1 \mu\text{m}$ 以下の粒子の含有率は照射フルエンス 9,11,14,17  $\text{J/cm}^2$ においては 80%以上で、照射フル

エンス 13,  $\text{J/cm}^2$ においては 50%程度だった。このとき照射フルエンスと粒径の相関は見られなかったが、粒径  $1 \mu\text{m}$ 以下の粒子の含有率はどの照射フルエンスにおいても半数を超えていた。これらの結果から TiS レーザーの方が KrF エキシマレーザーの場合より粒径  $1 \mu\text{m}$ 以下の不定形粒子の作製に適していることが分かった。

2種類のレーザーにおける粒径の違いの原因としてパルス幅の違いが考えられる。

KrF エキシマレーザーでは照射フルエンスが大きくなると、粒径が大きい粒子が増える傾向が見られた。照射フルエンスが大きい場合、高いレーザーのエネルギーが大きな熱エネルギーに換わり、ターゲット表面から大きな粒子が飛び出すのに十分な運動エネルギーが得られる。照射フルエンスが小さい場合ではターゲット表面から大きな粒子が飛び出すために十分な運動エネルギーが得られないため、小さな粒子しかターゲット表面から飛び出すことができない。

TiS レーザーはパルス幅が 160 fs であり、KrF エキシマレーザーのパルス幅 15 ns に比べ約  $10^5$ 分の 1 の短いパルス幅を持っているため、レーザーの単位面積当たりのピークパワーも  $10^5$ 倍高い。このため TiS レーザーでは KrF エキシマレーザーよりもターゲットの照射部位に極短時間で高いエネルギーを注入されることから、ターゲット表面をばらばらに粉砕し粒径  $1 \mu\text{m}$ 以下の微小な不定形の粒子が生成されたと考えられる。

作製した粒子について、EDX を用いて特性 X 線のスペクトルを測定し、含有するカルシウム(Ca)とリン(P)の特性 X 線強度から、作製された粒子における P/Ca 比の平均値を算出した。HAp の標準物質として本研究で使用した HAp の原料粉末を EDX で測定し、その結果を用いて各粒子の P/Ca 比の補正を行った。HAp の P/Ca 比と作製された粒子の P/Ca 比から差を算出し、表 1 に併せて示す。表より、KrF エキシマレーザーを照射フルエンス  $22 \text{ J/cm}^2$ とした場合は不定形の粒子もスポンジ状の生成物も HAp との P/Ca 比の差が 0.20 程度あった。それに対し、TiS レーザーでは照射フルエンス 9~17  $\text{J/cm}^2$ のどの場合も P/Ca 比の HAp との差が  $\pm 0.10$ 以内と小さく、KrF エキシマレーザーで作製された粒子は HAp との P/Ca 比の差が大きい、TiS レーザーで作製した

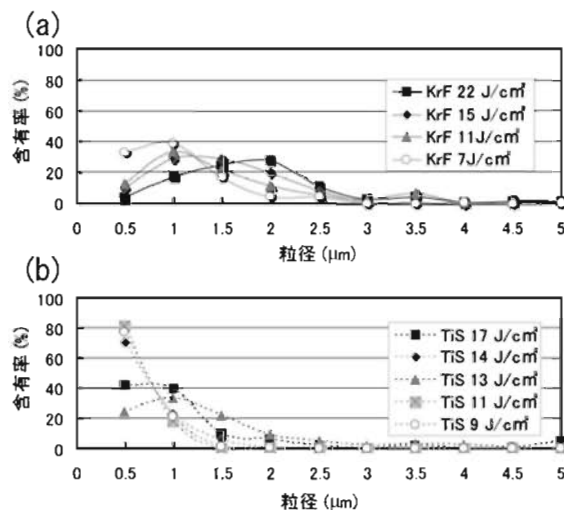


図 5 不定形粒子のサイズ分布 (a)KrF エキシマレーザーでの作製, (b)TiS レーザーでの作製。

粒子は P/Ca 比の差が小さいことが分かる。またスポンジ状の生成物は粒径が数十 nm オーダーと小さい粒子が凝集したものである可能性があるが、組成が HAp から大きく変性しており HAp ナノ粒子としては適切でないことが分かった。

2 種類のレーザーで作製された粒子の組成の違いは発振波長の違いが原因と考えた。KrF エキシマレーザーの波長は 248 nm で TiS レーザーの波長は 882 nm である。KrF エキシマレーザーの方が短波長で光子エネルギーが高く、光化学的作用が強い。このため KrF エキシマレーザーではアブレーション時に HAp の分解や変性が生じ易いが、TiS レーザーは光子エネルギーが低いため、HAp の組成比を保ったまま粒子が作製されたと考えられる。

測定した物質	P/Caの比	P/Ca比の差
HAp	0.60	0
KrF 22 J/cm <sup>2</sup> (不定形)	0.79	0.19
KrF 22 J/cm <sup>2</sup> (スポンジ)	0.82	0.22
TiS 9 J/cm <sup>2</sup> (不定形)	0.64	0.04
TiS 11 J/cm <sup>2</sup> (不定形)	0.67	0.07
TiS 13 J/cm <sup>2</sup> (不定形)	0.69	0.09
TiS 14 J/cm <sup>2</sup> (不定形)	0.69	0.09
TiS 17 J/cm <sup>2</sup> (不定形)	0.50	-0.10

表 1 各条件で生成された粒子の P/Ca 比.

#### 4. まとめ

TiS レーザーを光源として水中レーザーアブレーション法を用いた場合、粒径が 1 μm 以下の粒子を作製でき、これらの粒子は作製から 12 時間後も水中で分散を続けることができると分かった。また作製された粒子は HAp に近い組成を持っていることも明らかとなった。更に TiS レーザーにおいて、照射フルエンスを 13,14 J/cm<sup>2</sup> 付近にすることで、この微細な HAp 粒子の分散する量を多くすることができることが明らかになった。

#### 参考文献

- 1) 株式会社 研成社：発行 金澤孝文：著  
「リンーなぞの元素は機能の宝庫」
- 2) 医歯薬出版株式会社：発光 青木秀希：著  
「驚異の生体物質アパタイト Hydroxyapatite」
- 3) S.Barcikowski, A.Hahn, A.V.Kabashin, B.N.Chichov: Appl Phys. A 87, 47-55(2007) "Properties of nanoparticles generated during femtosecond laser machining in air and water"
- 4) J.-P.Sylvestere, A.V.Kabashin, E.Sacher, M.Meunier: Appl. Phys. A 80, 753-758(2005) "Femtosecond laser ablation of gold in water: influence of the laser-produced plasma on the nanoparticle size distribution"
- 5) A.Vogel, J.Nomack, K.Nahen, D.Theisen, S.Busch, U,Parlitz, D.X.Hammer, G.D.Noojin, B.A.Rockwell, R.Birmgrber:Appl.Phys.B 68, 271 (1999)"Energy balance of optical breakdown in water at nanosecond to femtosecond time scales"