

光による非破壊デプスプロファイリング
分析の基礎研究

原 田 雅 章

①

光による非破壊デプスプロファイリング 分析の基礎研究

| | |
|--------------------------|----|
| 1. 序 | 1 |
| 2. 光による非破壊デプスプロファイリングの原理 | 2 |
| 3. デプスプロファイリングの応用 | 3 |
| 4. デプスプロファイリングの装置 | 4 |
| 5. デプスプロファイリングの測定 | 5 |
| 6. デプスプロファイリングの解析 | 6 |
| 7. デプスプロファイリングの応用 | 7 |
| 8. デプスプロファイリングの応用 | 8 |
| 9. デプスプロファイリングの応用 | 9 |
| 10. デプスプロファイリングの応用 | 10 |
| 11. デプスプロファイリングの応用 | 11 |
| 12. デプスプロファイリングの応用 | 12 |
| 13. デプスプロファイリングの応用 | 13 |
| 14. デプスプロファイリングの応用 | 14 |
| 15. デプスプロファイリングの応用 | 15 |
| 16. デプスプロファイリングの応用 | 16 |
| 17. デプスプロファイリングの応用 | 17 |
| 18. デプスプロファイリングの応用 | 18 |
| 19. デプスプロファイリングの応用 | 19 |
| 20. デプスプロファイリングの応用 | 20 |
| 21. デプスプロファイリングの応用 | 21 |
| 22. デプスプロファイリングの応用 | 22 |
| 23. デプスプロファイリングの応用 | 23 |
| 24. デプスプロファイリングの応用 | 24 |
| 25. デプスプロファイリングの応用 | 25 |
| 26. デプスプロファイリングの応用 | 26 |
| 27. デプスプロファイリングの応用 | 27 |
| 28. デプスプロファイリングの応用 | 28 |
| 29. デプスプロファイリングの応用 | 29 |
| 30. デプスプロファイリングの応用 | 30 |

原田 雅章

1993年 3月

目次

第1章 序論

| | | |
|---------|------------------------|----|
| § 1. 1 | 本研究の背景 | 1 |
| § 1. 2 | 赤外全反射吸収法の背景 | 11 |
| 1. 2. 1 | 赤外全反射吸収法とは | 2 |
| 1. 2. 2 | 赤外全反射吸収法によるデプスプロファイリング | 3 |
| 1. 2. 3 | 本研究のアプローチ | 4 |
| § 1. 3 | 光熱変換法の背景 | 5 |
| 1. 3. 1 | 光熱変換法とは | 6 |
| 1. 3. 2 | 光熱変換法によるデプスプロファイリング分析 | 7 |
| 1. 3. 3 | 光熱ビーム偏向法とは | 8 |
| 1. 3. 4 | 本研究のアプローチ | 10 |
| § 1. 4 | 本論文の目的 | 11 |
| § 1. 5 | 本論文の構成 | 12 |

第2章 光による非破壊デプスプロファイリング分析の理論

| | | |
|---------|-----------------|----|
| § 2. 1 | 一般原理 | 14 |
| § 2. 2 | 全反射吸収法 | 17 |
| § 2. 3 | 光熱変換法 | 19 |
| 2. 3. 1 | 光音響法 | 21 |
| 2. 3. 2 | 球状試料(粒子)の光熱変換効果 | 24 |
| § 2. 4 | その他の方法 | 31 |

第3章 フーリエ変換赤外全反射吸収法によるデプスプロファイリング分析

| | | |
|---------|----------|----|
| § 3. 1 | 緒言 | 33 |
| § 3. 2 | 実験 | 33 |
| § 3. 3 | 検証実験 | 35 |
| 3. 3. 1 | 顕微FT-IR法 | 36 |
| 3. 3. 2 | 中和滴定 | 38 |
| § 3. 4 | 結果と考察 | 39 |

第4章 粒子からの光熱ビーム偏向信号と解析モデルの妥当性の実験的検証

| | | |
|--------|----------------|----|
| § 4. 1 | 緒言 | 44 |
| § 4. 2 | 粒子からの光熱ビーム偏向信号 | 44 |
| § 4. 3 | モデルの検証実験 | 48 |
| § 4. 4 | 結果と考察 | 51 |
| § 4. 5 | 結論 | 72 |

第5章 光熱ビーム偏向法の定量分析への応用（平面）

| | | |
|---------|--------------------------|----|
| § 5. 1 | 緒言 | 73 |
| § 5. 2 | 定量分析の問題点 | 73 |
| § 5. 3 | 光熱ビーム偏向信号とビームオフセット（理論） | 74 |
| § 5. 4 | 光熱ビーム偏向信号とビームオフセット（検証実験） | 77 |
| § 5. 5 | 位相による信号強度補正法 | 80 |
| § 5. 6 | 再現性の向上 | |
| 5. 6. 1 | 方法 | 81 |
| 5. 6. 2 | 実験 | 81 |
| 5. 6. 3 | 結果と考察 | 83 |
| § 5. 7 | 定量性の向上 | |
| 5. 7. 1 | 方法 | 83 |
| 5. 7. 2 | 実験 | 85 |
| 5. 7. 3 | 結果と考察 | 85 |
| § 5. 8 | 結論 | 87 |

第6章 光熱ビーム偏向法による微粒子の分析

| | | |
|---------|---------------|----|
| § 6. 1 | 緒言 | 88 |
| § 6. 2 | 定量分析 | |
| 6. 2. 1 | 背景 | 88 |
| 6. 2. 2 | 実験 | 89 |
| 6. 2. 3 | 結果と考察 | 90 |
| § 6. 3 | デプスプロファイリング分析 | |
| 6. 3. 1 | 実験 | 96 |
| 6. 3. 2 | 結果と考察 | 96 |

第7章 顕微光熱交換法

| | |
|--------------|-----|
| § 7. 1 緒言 | 99 |
| § 7. 2 原理 | |
| 7. 2. 1 透過型 | 99 |
| 7. 2. 2 散乱型 | 101 |
| § 7. 3 実験 | 101 |
| § 7. 4 結果と考察 | 104 |

第8章 総括

| | |
|--------------|-----|
| § 8. 1 結論 | 108 |
| § 8. 2 今後の展望 | 108 |

| | |
|------|-----|
| 参考文献 | 109 |
|------|-----|

| | |
|------------|-----|
| 学会発表、報文リスト | 115 |
|------------|-----|

| | |
|----|-----|
| 謝辞 | 117 |
|----|-----|

論文要旨

論文の内容の要旨

第1章 序論

§ 1. 1 本研究の背景

近年の科学技術の発展には目を見張るものがある。その傾向は今後さらに加速していくと予想され、技術開発がこれまで以上に重要視されてくるのは間違いない。機能性材料の開発を例に取ってみると、材料の機能発現は機能が高度になるにつれて材料の一次構造から更に高次の構造へ依存する傾向がある。従って高機能性材料の開発の際にその機能発現のメカニズムの解析や、製造段階での評価等に必要となる測定技術もそれに伴って高度なものが必然的に要請される。つまり、測定試料の組成や構造の定性的、定量的評価のみの従来の測定法では対応できず、多次元、局所、高分解能、極表面計測等といったより高度な技術が求められている。更に以上のような高度な情報を高感度、非破壊、非接触、高速、遠隔、大気中、*in-situ*、*in-vivo*等という制約下で測定できる付加価値の高い測定法が望まれている。

表面から数 μm という比較的厚い深さ内での化学組成や分子の存在状態等という物性は、材料の機能の発現や阻害、改質や変質、また化学反応や触媒作用等様々な分野でその重要性が認識されるようになり、その機構説明のための評価、解析技術が強く望まれている。それにも関わらず、特に固体材料の場合には有効な測定法がないのが現状である。例えばイオンや電子を利用する分析法はその測定深さが数 nm という極表面であるという点で優れた分析法であるが、逆にある程度の深さ領域を測定したいような場合には、イオンスパッタリング法等と併用するということになり必然的に破壊法とならざるを得ない。また超真空を必要とする等という技術上の要請のために、適用できない試料もある。

光を用いる測定法の最大の特徴は、その非破壊性にあるといえる。更に上記の制約の大部分を満足できる有望な方法である。光の波長を選択することにより比較的広い深さ領域での測定も可能である。分光分析法は歴史も古くその応用も多岐に渡っているが、従来の比色法に端を発する定性、定量分析だけではもはや最近の高度な計測法の要請に必ずしも十分対応しきれなくなっている。特に化学種等が空間的に不均一に分布する物質に対しては、従来の光を励起源とする分光分析法ではデプスプロファイリング分析はできなかった。従って、光による非破壊デプスプロファイリング分析が可能となれば上記の要件を満足し得る有力な方法になると思われるが、この光による非破壊三次元空間分布測定法の開発は未開拓の分野であり緊急に取り組むべき課題であると言える。

§ 1. 2 赤外全反射吸収法の背景

1. 2. 1 赤外全反射吸収法とは

赤外全反射吸収法 (Attenuated Total Reflection: ATR法) は、赤外分光法の中では一番古く、様々な状態や形状の試料を測定できる点から広く用いられてきた方法である。全反射現象は既に I. Newton [1. 1] により発見され、全反射が起こる際には界面で低屈折率媒体中に光が多少しみ込むというところまで知られていた。これを分光法に応用したのはまず可視域に於いてであった。この領域における ATR法の原理は 1930年代の A. M. Taylor [1. 2] らの研究に始まる。この原理を赤外域に応用したのは N. J. Harrick [1. 3] と J. Fahrenfort [1. 4] で、既に 1960年代にその原理が詳しく研究されている。この二人はほぼ時期を同じくして、しかし独立に論文を発表した。

N. J. Harrick は "Internal Reflection Spectroscopy" という名称を用いているが、ATR法の理論と応用を名著 "Internal Reflection Spectroscopy" の中で詳しく述べている。また、ATR法という名称は J. Fahrenfort により名づけられたもので、透過法により測定困難な物質のスペクトル測定法として注目した。これらの研究を理論と実践の面からまとめたのが W. N. Hansen [1. 5] である。ATR法はこの三人により完成されたといっても過言ではない。

ATR法が出現する以前は、吸収スペクトルの測定は専ら透過法によっていた。この方法によるには、試料を適当な吸光度にするために試料厚や濃度の調整等の前処理を必要とする。また、有機物のコーティング層や透明な薄いフィルム of スペクトル測定については別の方法として反射法があるが、不透明な多くの試料については適用が困難である。これに対して、ATR法は試料をプリズムに密着させるだけで測定ができ前処理が不要であること、水の影響を受けにくいこと等の特徴を有する。また、表面から数 $1/10 \mu\text{m}$ から数 μm までの表面分析法として高分子表面の結晶性、分子配向、結合状態、配座等に関する情報が得られる。他の表面分析法、例えば ESCA と比較しても真空を必要としない等の測定上の簡便さを有する。一方では、界面での反射ロス、光学系のロス等のために質のよいスペクトルを得るのが困難であったが、FT-IR の出現と共に S/N の高いスペクトルが得られるようになり益々その利用価値が高まってきている。

1. 2. 2 赤外全反射吸収法によるデプスプロファイリング

現在までのところ、ATR法によりデプスプロファイルを定量的に求める方法は確立されているとは言えない。これは試料に吸収が無い場合でもプローブ光（エバネッセント波）の振幅が界面から一定の値をもつのではなく指数関数的に減少するという原理的特徴が原因となっている。ATR法による深さ方向分析に関する従来の研究は、測定深さの目安として侵入深さをを用いる半定量的な議論にとどまっている。侵入深さは実際に測定される深さとは異なるため、この議論により得られたデプスプロファイルは実際のデプスプロファイルとは簡単な関係にはない[1.6]。また、測定深さの目安として有効深さをを用いているものもあるが、これは有効深さの正しい理解ではない。なぜなら、有効深さは試料とエバネッセント波の全体的な相互作用の程度を与えるものだからである。

ATR法によるデプスプロファイリングをもっと厳密に取り扱おうという試みが様々ななされてきた。H. G. Tompkinsは区別できないプロファイルはあるものの、関数形を仮定できれば入射角を変えて測定を行うことにより濃度のデプスプロファイルについての情報が得られることを示したが[1.7]、それ以後は殆ど用いられていない。

この問題に対する実験的アプローチとしては、試料とATR測定用高屈折率プリズムの間に透明なスペーサーを入れる方法がある[1.8]。これはスペーサーの厚みにより試料へのエバネッセント波の侵入の程度をかえるというものであるが、ここでも測定深さとしては侵入深さをを用いており、その点では半定量的な議論にとどまらざるを得ない。

これに対し、1977年にT. Hirschfeldにより全く新しいアプローチがなされた[1.9]。これは吸収が十分に小さい試料に対しては、吸光度が濃度プロファイルのラプラス変換の形で与えられるので、入射角を変えて吸光度を測定しその逆ラプラス変換を実行すれば、濃度のデプスプロファイルが得られると言うものである。この方法を用いて実際にシリコンオイルに触れたポリスチレンフィルム上のシリコン及び亜硝酸でエッチングしたガラス表面の水についてその濃度プロファイルを求めた。しかし、同時にこの方法の困難な点について、

- (1) 吸収の小さい試料を対象としているので必然的にS/Nが悪くなる
- (2) 高い波数精度が必要である
- (3) 高い入射角精度が必要である
- (4) 各波数における屈折率の測定が必要である

こと等を挙げている。FT-IRを利用することで(1)、(2)については改善が図れる。また(4)については、T. Hirschfeldは彼が提案した2プリズム法を用い

て屈折率を求めている[1.10]。この方法はデプスプロファイリングのユニークな一方法であるにもかかわらず、その実験的及び計算上の困難さのためにそれ以後用いられた例はない。

表1.1 ATR法による深さ方向分析の研究例

| 発表年 | 著者 | 方法 | 逆ラプラス変換 | 備考 |
|------|-------------------------|---------------------|---------|----------------|
| 1971 | D. J. Carlsson [1.6] | 角度依存データの フィッティング | 無 | |
| 1974 | H. G. Tompkins [1.7] | 角度依存データの フィッティング | 無 | |
| 1977 | T. Hirschfeld [1.9] | 角度依存データの 逆ラプラス変換 | 有 | 計算アルゴリズム等詳細は不明 |

1. 2. 3 本研究のアプローチ

FT-IR/ATR法のデプスプロファイリング分析法としての可能性は古くから知られていたが、その応用例は専ら定性的なものに限られていた。1977年に一般的なデプスプロファイリング分析法としての方法論が提案されたが、その後報告例は見当たらず、いまだ原理検証の段階である。しかし、スペクトル測定が容易な赤外域でのデプスプロファイリング分析が可能となれば非常に有効な手法となると考えられるので、本研究では以上の経緯を踏まえて、FT-IR/ATR法を実際に深さ方向に官能基の濃度分布を有する高分子フィルムのデプスプロファイリング分析に応用した。更に得られたデプスプロファイルの妥当性を他の方法を用いて示すことにより、本法のデプスプロファイリング分析法としての有効性を実証することを目的とした。

付録：ATR法の歴史

(全反射現象の発見)

- 1817年 I. Newtonがエバネッセント場を観察 [1.1]
1933年 A. M. TaylorらがIRS (Internal Reflection Spectroscopy) の
吸収スペクトル測定への利用の基礎的研究 (可視域) [1.2]

(全反射現象の吸収スペクトル測定への応用)

- 1960年 N. J. Harrick (Multiple Reflection)
1961年 J. Fahrenfort (Single Reflection) [1.4]
1962-67年 N. J. Harrickによる理論的 [1.11]、実験的研究
1965年 W. N. Hansenにより吸収を考慮した議論 [1.5]

(総説)

- 1967年 N. J. Harrick [1.3]
P. A. Wilks Jr. and T. Hirschfeld [1.12]

(再現性、定量分析能力等に関する疑問視) [1.13]

(Commercial FT-IRの登場)

- ・FT-IRの利用によるS/N比の向上及び内蔵のコンピューターによる
データ処理能力により、理論の検証と発展に多大なる進歩をもたらした。

(デプスプロファイリング分析)

- 1971年 D. J. Carlsson and D. M. Wiles [1.6]
1974年 H. G. Tompkins [1.7]
1977年 T. Hirschfeld [1.9]

§ 1. 3 光熱変換法の背景

1. 3. 1 光熱変換法とは

光熱変換法 (Photothermal Spectroscopy:PTS法) とは、物質と光との様々な相互作用の中で光エネルギーから熱エネルギーへの変換 (光熱変換) 過程を利用する分光分析法である。一般に物質に吸収された光のエネルギーの大部分は熱となって放出される。従ってその熱もしくはそれにより引き起こされる様々な現象を効率良く測定して物質のスペクトロスコピーを行う方法が光熱変換分光法である。その共通の特徴としては、高感度、非破壊、非接触、in-situ、大気中、局所、遠隔、多次元等が挙げられ、その応用途は広い。

光熱変換分光法の最も代表的な例は、光音響分光法 (Photoacoustic Spectroscopy:PAS法) [1.14] であろう。光音響効果自体は既に1880年電話の発明で有名な A. G. Bell によって見い出されていたが [1.15]、それが分析に利用されるまでにはレーザー等の高輝度光源の出現やエレクトロニクス等の技術の進歩を待たねばならなかった。最近の科学技術の急速な進歩に伴い、今日では光音響法にとどまらず光熱変換法全般としてその研究と応用はますますの広がりを見せている。

光熱変換法では上で述べたように、光吸収に基づく熱発生及びそこから生じる様々な現象を計測するわけであるが、ここではその中で主要なものについて以下に示すにとどめる。

1. 光音響法：試料及び周辺気体の熱膨張による音波の発生
→高感度マイクロフォンで検出
試料の熱膨張による試料内部の弾性波の発生
→圧電素子で検出
2. 熱レンズ法：試料の温度上昇による屈折率変化
→プローブ光の発散として検出
3. ビーム偏向法：試料周辺の気体の温度上昇による屈折率変化
→プローブ光の偏向として検出 (蜃気楼現象)
4. 光熱発光法：試料の温度上昇
→熱輻射量の変化として検出
5. 光熱変位 (変形) 法：試料表面の熱膨張による変位 (変形)
→プローブ光の偏向、干渉計等により検出
6. 光熱反射法：試料の温度変化にともなう反射率の変化
→プローブ光の反射率の変化として検出

1. 3. 2 光熱変換法によるデプスプロファイリング分析

光熱変換法によるデプスプロファイリング分析の原理は、熱拡散現象を利用して点にある。つまり、試料内のある深さの所で発生した熱が表面まで拡散していく際に受ける減衰と時間遅れが、試料に照射する光の変調周波数を変えることにより実験的に制御できることによる。このときに熱が伝わる距離の目安として頻繁に使われるのが熱拡散長と呼ばれる量で、光音響法により測定されるのは近似的には表面から熱拡散長程度の深さ領域であると考えられている。従って、異なる変調周波数で測定した光音響スペクトルから定性的に吸光度の深さ方向分布が推定できる。

これまでの光熱変換法によるデプスプロファイリング分析の研究例に於いては、熱拡散長を変えてスペクトル変化を見るという定性的なものが殆どである[1.16]。連続光をチョッパー等で同一周波数で変調する方法の他に、パルス光を用いる方法やランダムチョッパーで変調し相関法を用いて解析する相関光音響法[1.17]等が提案されているが、それらに於いても厳密に熱の解析を行ってデプスプロファイリング分析をしているものはなく、定性的な議論にとどまっている。

厳密なデプスプロファイリング分析の試みは1977年にM. A. Fromowitzらにより初めて提案された[1.18]。彼らは熱的に均一で吸光度が深さ方向に連続的に変わるような半無限固体に対して理論的解析を行って、光音響信号が吸光度のラプラス変換により記述できることを示した。更に実際に計算機シミュレーションにより光音響信号の変調周波数依存性から逆ラプラス変換を用いて吸光度のデプスプロファイルが求められることを示した。同様に熱物性の測定法という観点から熱伝導率と比熱のデプスプロファイリング分析が可能であることも理論的に示された。

しかしながらこの手法を利用した分析の報告例はこれ以後ないといってよい。その理由としては、逆ラプラス変換自体が数学的に条件の悪い問題である上に測定値のような本質的に雑音を含む有限個の数値から計算を実行することはさらなる困難を伴うことにあると考えられる。色素を吸着させたポリ塩化ビニル膜のデプスプロファイリング分析を行った報告があるのみである[1.19]。また熱的に不均一な物質のデプスプロファイリング分析については、最近数値シミュレーションの結果とその応用が一例報告された段階である[1.20]。

1. 3. 3 光熱ビーム偏向法とは

光熱ビーム偏向法 (Optical Beam Deflection: OBD法) は、物理学的にその現象が大変興味深いものであると同時に、大変身近に存在するものでもある。光熱ビーム偏向法は、別名 "Mirage Detection" という名前が示す通り、蜃気楼という現象で自然界には存在する。大気中を進む光の屈折率は、そこにある空気の密度 (主に温度に依存する) で決まるから、地面あるいは海面に近い空気中の温度分布で目に見える景色の見え方が異常になることがある。蜃気楼とは、このような光の異常屈折によって起こる気象学的現象全般を指す [1.21]。

このように蜃気楼現象は身近に観察できるが、これを最初に分析に応用したのは1980年の A. C. Boccaraら [1.22] である。それ以後、理論的解析が集中的に進められ [1.23]、速度計 [1.24] や濃度計 [1.25] への応用、吸収係数 [1.26] や熱拡散係数 [1.27] の測定、無輻射緩和過程の研究 [1.28]、光合成のエネルギー貯蔵のモニタリング [1.29]、そして最近ではレーザーアブレーションのモニタリングへの応用 [1.30] が盛んである。

最近になって OBD法は単一微粒子に対して、変調周波数が高い程、また粒径が小さい程高感度であるという特異的な性質を有することが実験的に見いだされた [1.31]。この性質は粒子の有する曲率のためにその周りに生じる温度勾配が増大するということからよく説明できる (図1.1) [1.32]。本法により単一微粒子の吸収スペクトルを測定したところ、 1.1×10^{-4} の吸光度を有する粒径 $50 \mu\text{m}$ の微粒子の吸収スペクトルを測定できることがわかった。これは感度の点で通常の分光測定法より2-3桁高い値である。また、ヒトの白血球 (粒径 $5-15 \mu\text{m}$) の吸収スペクトルを測定し、白血病患者の白血球と正常人の白血球とをスペクトル上で区別することができた [1.33]。

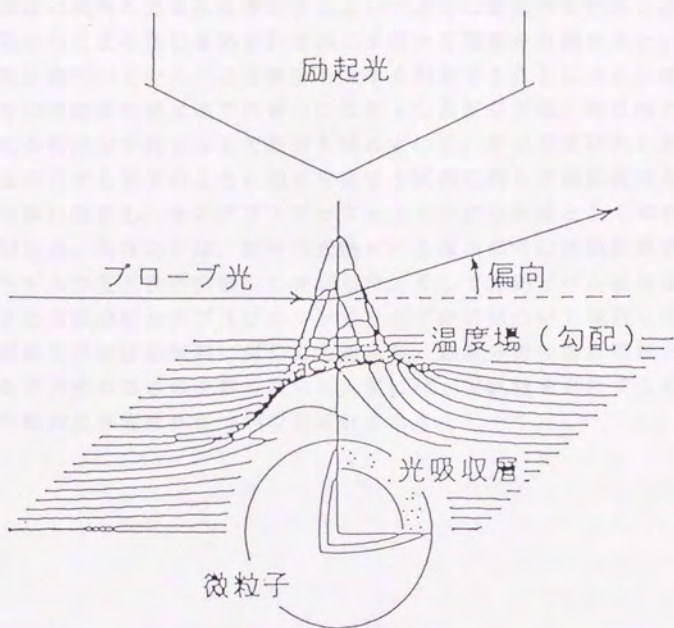


図1.1 微粒子の光熱ビーム偏向効果

1. 3. 4 本研究のアプローチ

光熱変換法は試料の光吸収を測定するという点では従来の吸光法と同じであるが、光熱変換により生じる熱が引き起こす様々な現象を計測するという点で新しい原理に基づいている。この事実を上手く利用することにより、様々な困難はあるものの従来の吸光法では得られなかった高度な情報、特に深さ方向の情報を与える有効な手法となる可能性を秘めている。そこで本研究に於いては、光熱変換法の中でも粒子のように曲率を有する試料に対して高感度である光熱ビーム偏向法に注目し、そのデプスプロファイリング分析法としての有効性について検討した。具体的には、粒子の光熱ビーム偏向信号の理論的解析を行い、その解析モデルの妥当性を実験的に検証した。そして光熱ビーム偏向法による単一微粒子の定量分析とデプスプロファイリング分析について検討した。

また本解析を平面状の試料に対しても適用し、定量分析の際に問題となっていた本法の再現性の悪さの改善を図った。更には、実試料を分析するために顕微鏡下での顕微光熱変換法についても検討した。

§ 1. 4 本論文の目的

光による非破壊デプスプロファイリング分析法を開発するために、本研究では従来からある赤外全反射吸収法及び光熱変換過程の利用という新しい原理に基づく光熱変換法に注目し、三次元非破壊分析法としての可能性について基礎的な検討を加える。官能基の定性と定量ができるという点から広く用いられて来た赤外域の全反射法は、デプスプロファイリング分析法としての能力は古くから指摘されてはいたがその応用は専ら定性的なものに限られていた。1977年に一般的なデプスプロファイリング分析法としての方法論が提案されたにも関わらず、その後は報告例がない。従って、赤外全反射吸収法によるデプスプロファイリング分析法はいまだ原理検証段階にあると言ってもよい。また光熱変換法に於いても、デプスプロファイリング分析法としては最も歴史の古い光音響法でさえ数件報告があるのみで、まだその研究は途についたばかりである。その上、粒子のような球状試料に対する光熱変換法の解析例は殆どない。そこで本研究では、上記二法の抱える問題点に対してデプスプロファイリング分析法としての可能性という観点から基礎的な検討を行うことを目的とする。

具体的には、赤外全反射吸収法に於いては、高分子フィルム中の化学種の深さ方向分布を非破壊で測定し、その結果の妥当性を顕微赤外法や中和滴定の結果から示した。また、粒子のように曲率を有する試料に対して原理的に高感度である光熱ビーム偏向法に於いては、球状試料のデプスプロファイリング分析の解析例はないので、粒子からの光熱ビーム偏向信号の理論的解析を行い、実験的にその解析モデルの妥当性を示した。その結果を単一微粒子の定量分析やデプスプロファイリング分析に応用した。また本解析を平面状試料の定量分析にも適用し、定量分析の際に問題となっていた再現性の改善を図った。更に、より小さな微粒子や微小領域を顕微鏡下で測定する顕微光熱変換法を検討した。

§ 1. 5 本論文の構成

本論文は大きく分けて3部から構成されている。第1部は赤外全反射吸収法によるデプスプロファイリング分析(第3章)、第2部は粒子からの光熱ビーム偏向信号の解析(第4章)とその応用(第5章:平面、第6章:粒子)、第3部が顕微光熱変換法(第7章)である。

章ごとに見ていくと、本論文の第1章では赤外全反射吸収法及び光熱変換法の二法の歴史的背景を含めた研究の背景と位置づけ、及び本研究の目的について説明した。

第2章では、最初に光による非破壊デプスプロファイリング分析法の一般的な原理について説明した。次に、上記二法を含む各種デプスプロファイリング分析法の原理について述べた。

第3章では、赤外全反射吸収法による二酢酸セルロースフィルムのデプスプロファイリング分析を行い、顕微赤外法や中和滴定法により結果の妥当性を検証した。

第4章では、第2章で用いた粒子からの光熱ビーム偏向信号の解析モデルの妥当性を実験的に示した。

第5章では、光熱ビーム偏向法による定量分析の問題点である再現性を改善する方法を提案し、その有効性を実証した。

第6章では、光熱ビーム偏向法による単一微粒子の定量分析とデプスプロファイリング分析について検討した。

第7章では、実試料の分析を目的として、さらに粒径の小さな粒子や微小領域を顕微鏡下で実際に測定対象を見ながら測定できる顕微光熱変換法の測定系の開発を行った。

最後の第8章では、本研究を総括して、光によるデプスプロファイリング分析法の開発という観点から本研究の意義と今後の展開及び課題を述べた。

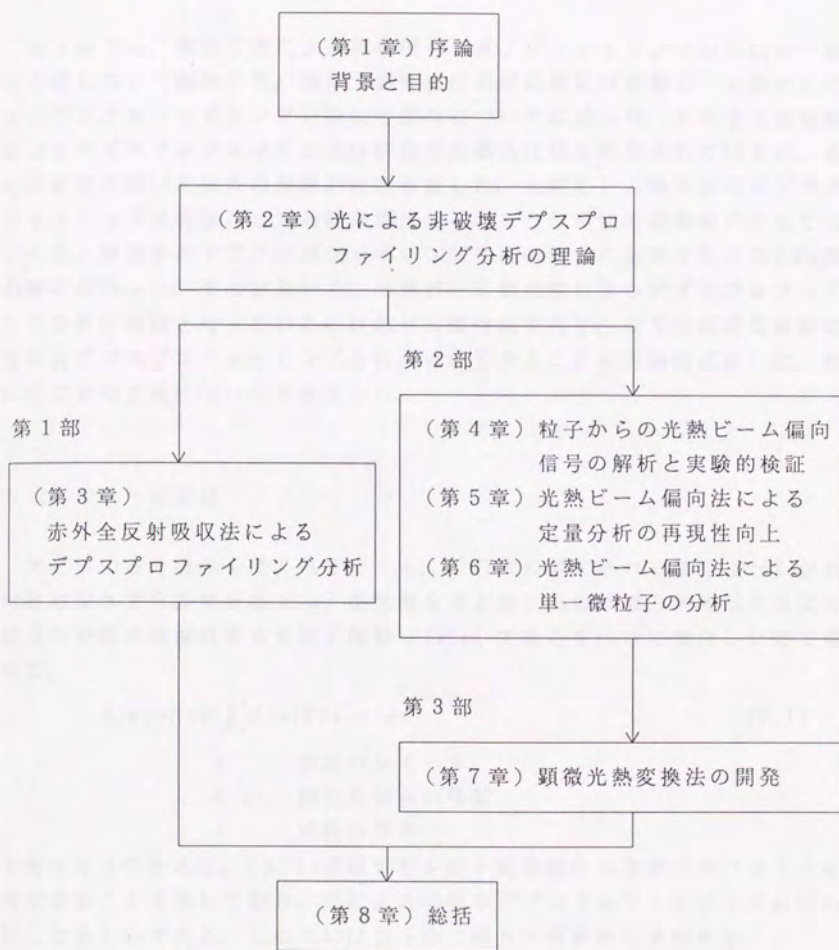


図 1. 2 本論文の構成

第2章 光による非破壊デプスプロファイリング分析の理論

第2章では、最初に光による非破壊デプスプロファイリング分析法の一般的な原理について説明した。次に、赤外全反射吸収法及び光熱ビーム偏向法によるデプスプロファイリング分析法の原理について記述した。赤外全反射吸収法によるデプスプロファイリング分析法の基礎式は既に報告されているが、それを本研究で用いた試料の解析用に書き直した。光熱ビーム偏向法のデプスプロファイリング分析法としての解析例は粒子のような球状の試料系に対してはないので、微粒子のデプスプロファイリング分析のために微粒子からのOBD信号の解析を行った。その結果から、光熱ビーム偏向法によるデプスプロファイリング分析の原理となっているのは熱の伝搬特性であり、信号の変調周波数依存性からデプスプロファイリング分析が可能であることを理論的に示した。最後にその他の方法についても言及した。

§ 2. 1 一般原理

光を用いる分析法を広くみていくと、その中に測定される信号 $S(\tau)$ が測定対象の深さ方向濃度分布 $C(z)$ を情報を運ぶ光や熱の特徴、例えば光強度の空間分布や熱の伝播特性等を表す関数 $F(z, \tau)$ で重みをつけて積分した形で帰納的に、

$$S(\tau) = K(\tau) \int_0^{\ell} C(z) F(z, \tau) dz \quad (2.1)$$

τ : 測定パラメータ

$K(\tau)$: 測定法固有の係数

ℓ : 試料の厚さ

と書けるものがある。(2.1)式は信号 S の τ 依存性から濃度プロファイルを抽出できることを示しており、光による非破壊デプスプロファイリング分析の基礎となるものである。この式には以下の二通りの解釈の仕方がある。

(1) $F(z, \tau)$ が空間的に広がりをもたないような場合

図2.1の(1)に示すように $F(z, \tau) = \delta(z - z_0, \tau)$ である場合、信号 $S(\tau)$ は直接深さ z_0 での濃度 $C(z_0)$ を与えるので、空間強度分布がデルタ関数であるようなプローブを用いれば直ちにその深さでの濃度を知ることができる。従って、実際の測定に用いるような空間的に広がりのあるプローブ $F(z, \tau)$ に対し

てはその重ね合わせとして、(2.1)式のような形で書けると解釈できる。これは、濃度分布がプローブのインパルス入力に対する応答関数となっているというアナロジーである。

(2) $C(z)$ が空間的に広がりをもたないような場合

図2.1の(2)に示すように $C(z)=\delta(z-z_0)$ である場合には、信号 $S(\tau)$ は深さ z_0 でのプローブの強度 $F(z_0, \tau)$ を与えるので、もし濃度分布がデルタ関数であるような試料を用いれば測定系のインパルス応答を知ることができる。従って、濃度分布 $C(z)$ が空間的に広がりをもつような実際の試料に対しては、その重ね合わせとして(2.1)式のような形で与えられることが理解できる。これは、 $F(z, \tau)$ が濃度のインパルス入力に対する測定系の応答関数となっているというアナロジーである。

以下の節では、本研究で検討を行った(赤外)全反射吸収法及び光熱変換分光法について、そのデプスプロファイリング分析法としての原理を一般論と対応づけながら述べる。本研究では取り上げなかった他の方法についても、そのいくつかについて簡単に触れることにする。

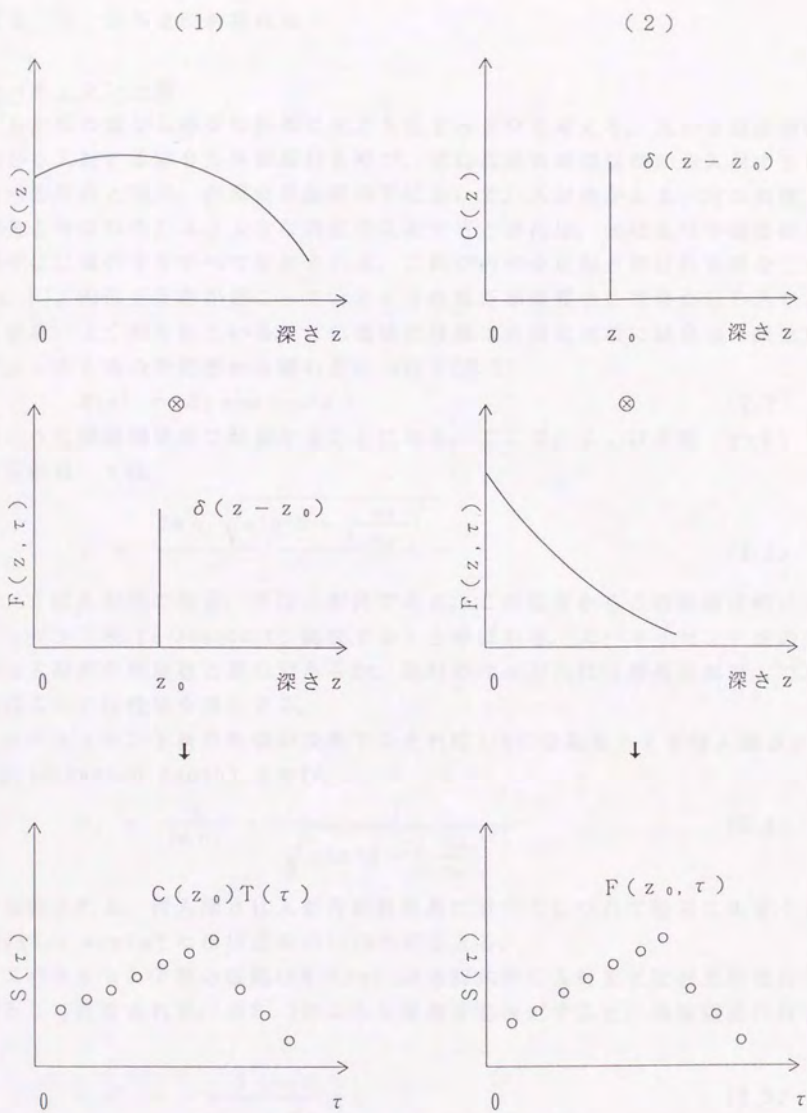


図2.1 光によるデプスプロファイリング
分析の基礎式の解釈

エバネッセント波

屈折率の異なる媒質の界面に光が入射する場合を考える。光が低屈折率媒質側から入射する場合を外部反射と呼び、逆に高屈折率媒質側から入射する場合を内部反射と呼ぶ。内部全反射条件下において、入射角がある一定の角度（臨界角と呼ばれる）より大きな角度で入射するときには、光はもはや低屈折率媒質中には進行せずすべて反射される。これが内部全反射と呼ばれる現象である[2.1]。内部全反射が起こっているとき低屈折率媒質中に電場がしみ込むという現象はよく知られている。この電場の強度は光の位相項に減衰項（実数部分）が入ってくるので表面から離れるにつれて[2.2]

$$E(z) = E_0 \exp(-\gamma z) \quad (2.2)$$

のように指数関数的に減衰することになる。ここで、 E_0 は表面（ $z=0$ ）での電場振幅、 γ は

$$\gamma = \frac{2\pi n_1 \sqrt{\sin^2 \theta - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}}{\lambda} \quad (2.3)$$

で、 λ は入射光の波長、 θ は入射角である。この性質からこの電場は特にエバネッセント場（evanescent：減衰する）と呼ばれる。エバネッセント波の周波数は入射光の周波数と同じであるが、試料の深さ方向には波長は無人大であり普通の光とは性格を異にする。

エバネッセント波の振幅が表面でのその1/eになる深さ z を侵入深さ d_p （penetration depth）と呼び、

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi n_1} \cdot \frac{1}{\sqrt{\sin^2 \theta - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}} \quad (2.4)$$

で定義される。侵入深さは入射角が臨界角に近づくにつれて無限に大きくなり、grazing angleではほぼ波長の1/10の値をとる。

エバネッセント波の振幅はMaxwellの方程式から入射光と反射光の重ね合わせとして計算される。図2.2のような座標系を仮定すると、垂直偏光に対しては、

$$E_r(0) = \frac{2 \cos \theta}{\sqrt{1 - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}} \quad (2.5)$$

平行偏光に関しては二成分に分けて、

$$E_x(0) = \frac{2 \sqrt{\sin^2 \theta - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2} \cos \theta}{\sqrt{1 - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2} \sqrt{\left\{1 + \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2\right\} - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}} \quad (2.6)$$

$$E_z(0) = \frac{2 \sin \theta \cos \theta}{\sqrt{1 - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2} \sqrt{\left\{1 + \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2\right\} - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}} \quad (2.7)$$

のかたちで与えられる。これを入射角に対してプロットすると図2.3のようになる。

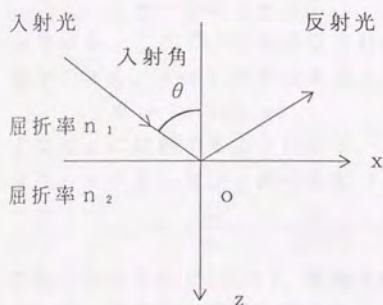


図2.2 座標系

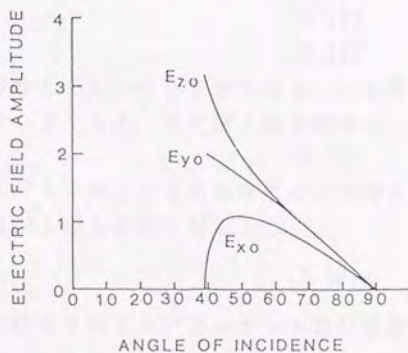


図2.3 界面でのエバネッセント場の入射角依存性[2.3]

ATR法

内部全反射が起こっているとき、低屈折率媒質に吸収がなければ光のエネルギーは100%反射されるが、もし吸収がある場合には吸収の強さに応じて反射光のエネルギーが減少する。その反射光を測定し試料のスペクトルを得ようとする方法が全反射吸収法(ATR法)である。

ATR法で測定される量は反射率であり、入射光強度を I_0 、反射光強度を I とすれば、エネルギー反射率 R は、

$$R = \frac{I}{I_0} \quad (2.8)$$

で与えられる。しかし、ATR法に於いても透過法からの類推で $\ln R$ と吸収係数 α を関係づける量として有効厚さ d_e を定義し、

$$\ln R = -\alpha \cdot d_e \quad (2.9)$$

なる関係を用いることがよくある。この式は吸収が小さいという条件の下でのみ成立する近似式であり、その導出には二通りの方法がある。それはエバネッセント波と試料の相互作用の物理的考察により導出する N. J. Harrick の方法 [2.4] と、フレネルの式を吸収係数について級数展開することにより数学的に求める W. N. Hansen の方法 [2.5] である。ここでは吸収の機構に対して物理的洞察が得られる Harrick の方法に従って (2.9) 式を導いてみることにする。

透過法からの類推で ATR 法に於いても吸光度を考えることにすると、見かけの吸光度 A は、吸収パラメータ a を用いて、

$$A = -\log R \quad (2.10)$$

$$= -\log(1 - a) \quad (2.11)$$

と書ける。ここで、 a は吸収される光の割合とでもいうべき量である。いま吸収が小さく、 $a \ll 1$ が成立するような場合を考えると、吸光度 A は近似的に

$$A \approx a \log e \quad (2.12)$$

となり a に比例するようになる。さて、エバネッセント波の吸収について考えよう。エバネッセント波の強度 I_e は振幅が 1 の入射光に対して

$$I_e = \frac{n_2}{n_1} \cdot \frac{E^2}{\cos \theta} \quad (2.13)$$

で与えられるので [2.2]、距離 dz の間に吸収されるエバネッセント波の強度 da は、透過法と同様に考えて、

$$da = \alpha \cdot I_e \cdot dz \quad (2.14)$$

$$= \frac{n_2}{n_1} \cdot \frac{\alpha E^2}{\cos \theta} dz \quad (2.15)$$

となる。ここで、 E がエバネッセント波の振幅を表す。従って、吸収される光の割合は、(2.15) 式を試料全体について積分すればよい。試料の厚さを t とすれば、

$$a = \int_0^t \frac{n_2}{n_1} \cdot \frac{\alpha E_0^2}{\cos \theta} \exp\left(-\frac{2z}{d_p}\right) dz \quad (2.16)$$

で与えられる。これが ATR 法に於ける吸光度を与える基本となる式である。

デプスプロファイリング分析

試料中での吸収成分の含有率を $C(z)$ とすると、十分厚い試料 ($t \gg d_p$) に対しては、

$$a = \int_0^{\infty} \frac{n_2}{n_1} \cdot \frac{\alpha C(z) E_0^2}{\cos \theta} \exp\left(-\frac{2z}{d_p}\right) dz \quad (2.17)$$

$$= \frac{n_2}{n_1} \cdot \frac{\alpha E_0^2}{\cos \theta} \int_0^{\infty} C(z) \exp\left(-\frac{2z}{d_p}\right) dz \quad (2.18)$$

となる。吸収成分が深さ方向に対して変化しないとき、つまり均一な試料のときには $C(z)=1$ として、

$$a = \frac{n_2}{n_1} \cdot \frac{\alpha E_0^2}{\cos \theta} \int_0^{\infty} \exp\left(-\frac{2z}{d_p}\right) dz \quad (2.19)$$

$$= \frac{n_2}{n_1} \cdot \frac{\alpha E_0^2}{\cos \theta} \cdot \frac{d_p}{2} \quad (2.20)$$

となるから、その比を改めて A とすると面倒な係数が省略できて、

$$A = \frac{2}{d_p} \int_0^{\infty} C(z) \exp\left(-\frac{2z}{d_p}\right) dz \quad (2.21)$$

と簡単になる。この式は吸光度が濃度プロファイルの積分変換で与えられることを示しており、吸光度の入射角依存性を測定することによりデプスプロファイリング分析が可能であることがわかる。この式を(2.1)式と比較してみると、

$$F(z, \tau) = \exp\left(-\frac{2z}{d_p}\right) \quad (2.22)$$

であり、全反射吸収法に於けるデプスプロファイリング分析の原理となっているのはエバネッセント波の深さ方向の減衰であることがわかる。

§ 2. 3 光熱変換法

2. 3. 1 光音響法

粒子の光熱変換過程の解析について述べる前に、数ある光熱変換法の中でも最も広く用いられている光音響法について簡単に触れることにより、光熱変換法によるデプスプロファイリング分析の概念を理解しておこう。ここでは、最も基本的な系（熱的には均一であるが、光学的には深さ方向に不均一な半無限固体）を対象としたM. A. Afromowitzら[2. 6]や原田ら[2. 7]の解析に従って、光音響法によるデプスプロファイリング分析の基礎式を見ていくことにする。

深さ方向に吸光度分布を有する試料に正弦波状に強度変調された光が入射するとき、試料内での入射光強度は、

$$I(x, t) = (1 - \mathcal{R}) I_0 \exp\left[-\int_0^x \beta(\xi) d\xi\right] \exp(j\omega t) \quad (2.23)$$

\mathcal{R} : 反射率

I_0 : 入射光強度

$\beta(x)$: 吸光度の深さ方向分布

j : 虚数単位

ω : 角変調周波数 ($\omega = 2\pi f$, f : 変調周波数)

であるから、深さ x での発熱量 $Q(x, t)$ は、

$$Q(x, t) = \eta \beta(x) I(x, t) \quad (2.24)$$

η : 光熱変換効率

与えられる。従って、熱拡散方程式は空気と試料に対してそれぞれ

$$\frac{\partial \theta_a(x, t)}{\partial t} = D_a \frac{\partial^2 \theta_a(x, t)}{\partial x^2} \quad (2.25A)$$

$$\frac{\partial \theta_s(x, t)}{\partial t} = D_s \frac{\partial^2 \theta_s(x, t)}{\partial x^2} + \frac{1}{\rho_s C_s} Q(x, t) \quad (2.25B)$$

θ : 温度

D : 熱拡散係数

ρ : 密度

C : 熱容量

となる。ここで、添え字の s と a はそれぞれ試料と空気を表す。これを

$$\theta(x, t) = T(x, \omega) \exp(j\omega t) \quad (2.26)$$

の形に変数分離すると、熱拡散方程式は、

$$\frac{\partial^2 T_s(x, \omega)}{\partial x^2} - \sigma_s^2 T_s(x, \omega) = 0 \quad (2.27A)$$

$$\frac{\partial^2 T_s(x, \omega)}{\partial x^2} - \sigma_s^2 T_s(x, \omega) = -H(x) \quad (2.27B)$$

$$H(x) = \frac{I_0}{2k_s} \eta(1-g)\beta(x) \exp\left[-\int_0^x \beta(\xi) d\xi\right] \quad (2.28)$$

$$\sigma = (1+j) \sqrt{\frac{\omega}{2D}} \quad (2.29)$$

k : 熱伝導率

の形となる。この解は一般に、

$$T_s(x, \omega) = C_1 \exp(\sigma_s x) + C_2 \exp(-\sigma_s x) \quad (2.30A)$$

$$T_s(x, \omega) = C_3 \exp(\sigma_s x) + C_4 \exp(-\sigma_s x) + T_p(x, \omega) \quad (2.30B)$$

$$T_p(x, \omega) = \frac{1}{2\sigma_s} \exp(-\sigma_s x) \int_0^x \exp(\sigma_s \xi) H(\xi) d\xi \quad (2.31)$$

$$- \frac{1}{2\sigma_s} \exp(\sigma_s x) \int_0^x \exp(-\sigma_s \xi) H(\xi) d\xi$$

で与えられる。係数 C_1, C_2, C_3, C_4 を以下の境界条件

(1) 温度が無限遠点で発散しない

$$\lim_{x \rightarrow \pm\infty} T(x, \omega) < \pm\infty \quad (2.32)$$

(2) 温度が界面で連続

$$T_s(+0, \omega) = T_s(-0, \omega) \quad (2.33)$$

(3) 界面での熱流束が等しい

$$k_s \frac{\partial T_s(x, \omega)}{\partial x} = k_s \frac{\partial T_s(x, \omega)}{\partial x} \quad (2.34)$$

から求めると、

$$C_1 = \frac{1}{(1+g)\sigma_s} \int_0^\infty \exp(-\sigma_s \xi) H(\xi) d\xi \quad (2.35)$$

$$C_2 = 0 \quad (2.36)$$

$$C_3 = \frac{1}{2\sigma_s} \int_0^\infty \exp(-\sigma_s \xi) H(\xi) d\xi \quad (2.37)$$

$$C_4 = \frac{1-g}{1+g} \frac{1}{2\sigma_s} \int_0^\infty \exp(-\sigma_s \xi) H(\xi) d\xi \quad (2.38)$$

$$g = \frac{k_s}{k_s} \sqrt{\frac{D_s}{D_s}} \quad (2.39)$$

となる。従って、表面温度は、

$$T(0, \omega) = \frac{1}{(1+g)\sigma_s} \int_0^\infty \exp(-\sigma_s \xi) H(\xi) d\xi \quad (2.40)$$

となり、 $H(x)$ のラプラス変換の形で与えられることがわかる。

光音響信号は表面温度に比例するから、光音響信号を変調周波数の関数として測定し、その結果を逆ラプラス変換することにより $H(x)$ が求められる。吸光度の深さ方向分布 $\beta(x)$ は $H(x)$ から、

$$\beta(x) = H(x) \left[\frac{1-R}{2k_s} I_0 \eta - \int_0^x H(\xi) d\xi \right]^{-1} \quad (2.41)$$

により求められる。

(2.40)式が光音響法に於ける非破壊デプスプロファイリング分析の基礎となる式である。一般論と対比させると、信号が表面温度に相当し、測定パラメータが変調周波数、重み関数が熱の拡散である。

以上まとめると、

$$S(\tau) = T(0, \omega) \quad (2.42)$$

$$K(\tau) = \frac{1}{(1+g)\sigma_s} \quad (2.43)$$

$$F(z, \tau) = \exp(-\sigma_s x) \quad (2.44)$$

という対応関係が得られた。

2. 3. 2 球状試料（粒子）の光熱変換効果

粒子などの球状試料に対する光熱変換効果に関する解析はいくつかのグループが行っているが、これから試みようとする粒子内部のデプスプロファイリング分析に関する解析例はないので、以下に系をモデル化して温度場の解析を行う。その結果から粒子表面温度と深さ方向濃度分布との関係式を導出し、光熱変換法による粒子のデプスプロファイリング分析の基礎式を求める。

まず、解析モデルに以下の仮定を設ける。

1. 粒子は空間的に均一な環境下に孤立して置かれており、時間的に強度変調された励起光により励起される。
2. 試料の励起光波長での吸収は十分小さいとして、試料は透明で試料内での励起光強度の減衰は無視できるとする。
3. 粒子は光学的には深さ方向に不均一な同心球状の吸光度分布を有しているが、熱的特性には変化がなく一様である。
4. 光熱変換過程は変調周波数と比較して十分速い。
5. 界面での熱伝達は熱伝導のみによるとし、熱による対流や熱輻射は考えない。

以上の仮定の下で、系の熱拡散方程式は粒子の外部と内部に対してそれぞれ、

$$\frac{\partial}{\partial t} \theta(r, t) = \begin{cases} D_e \nabla^2 \theta(r, t), & R \leq r & (2.45A) \\ D_s \nabla^2 \theta(r, t) + A[1 + \exp(j\omega t)], & 0 \leq r \leq R & (2.45B) \end{cases}$$

R : 粒子の半径

$\theta(r, t)$: 温度分布

D_i : 熱拡散係数 ($i=g$: 空気、 $i=s$: 試料)

ω : 角変調周波数 ($\omega=2\pi f$, f : 変調周波数)

$\beta(r)$: 吸光度深さ方向分布

$$\nabla^2 = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial}{\partial r} \right) \quad (2.46)$$

$$A = \eta(1-\mathcal{R}) \frac{I_0}{2\rho C} \quad (2.47)$$

\mathcal{R} : 表面反射率

I_0 : 入射光強度

η : 光熱変換効率

ρ : 試料の密度

C : 試料の熱容量

となる。これを

$$\theta(r, t) = T(r) \exp(j\omega t) + T_0(r) \quad (2.48)$$

のようにac成分 ($T(r)$) とdc成分 ($T_0(r)$) に分けると、熱拡散方程式は両成分に対してそれぞれ、

ac成分

$$(\nabla^2 - \sigma_s^2)T(r) = 0, \quad R \leq r \quad (2.49A)$$

$$(\nabla^2 - \sigma_s^2)T(r) = -\frac{A}{D_s}\beta(r), \quad 0 \leq r \leq R \quad (2.49B)$$

dc成分

$$\nabla^2 T_0(r) = 0, \quad R \leq r \quad (2.50A)$$

$$\nabla^2 T_0(r) = -\frac{A}{D_s}\beta(r), \quad 0 \leq r \leq R \quad (2.50B)$$

となる。ここで、

$$\sigma_s = \sqrt{\frac{j\omega}{D_s}} = (1+j)\sqrt{\frac{2\omega}{D_s}} \quad (2.51)$$

である。ac成分に注目すると、その一般解は、

$$T(r) = \begin{cases} \frac{1}{r} [C_1 \exp(\sigma_s r) + C_2 \exp(-\sigma_s r)], & R \leq r \\ \frac{1}{r} \left\{ C_3 - \frac{A}{2\sigma_s} \int_0^r \exp(-\sigma_s \xi) \beta(\xi) \xi d\xi \right\} \exp(\sigma_s r) \\ + \frac{1}{r} \left\{ C_4 - \frac{A}{2\sigma_s} \int_0^r \exp(\sigma_s \xi) \beta(\xi) \xi d\xi \right\} \exp(-\sigma_s r), & 0 \leq r \leq R \end{cases} \quad (2.52A)$$

$$(2.52B)$$

である。これらの係数 (C_1, C_2, C_3, C_4) は以下の境界条件、

1. 原点で温度が有限の値を持つ

$$\lim_{r \rightarrow +0} T(r) < \pm\infty \quad (2.53)$$

2. 無限遠点で温度が有限の値を持つ

$$\lim_{r \rightarrow +\infty} T(r) < \pm\infty \quad (2.54)$$

3. 温度が境界で連続

$$T(R+0) = T(R-0) \quad (2.55)$$

4. 熱流束が境界で連続

$$k_s \frac{\partial T(r)}{\partial r} \Big|_{r=R+0} = k_s \frac{\partial T(r)}{\partial r} \Big|_{r=R-0} \quad (2.56)$$

k_s : 熱伝導率

から、

$$C_1=0 \quad (2.57)$$

$$C_2 = \frac{2k_s R \exp(\sigma_s R) A}{\{k_s(\sigma_s R-1) + k_s(\sigma_s R+1)\} \exp(\sigma_s R) + \{k_s(\sigma_s R+1) - k_s(\sigma_s R-1)\} \exp(-\sigma_s R)} \\ \times \int_0^R \sinh(\sigma_s \xi) \beta(\xi) \xi d\xi \quad (2.58)$$

$$C_3 = \frac{A}{\{k_s(\sigma_s R-1) + k_s(\sigma_s R+1)\} \exp(\sigma_s R) + \{k_s(\sigma_s R+1) - k_s(\sigma_s R-1)\} \exp(-\sigma_s R)} \\ \times \left[\{k_s(\sigma_s R-1) + k_s(\sigma_s R+1)\} \exp(\sigma_s R) \frac{1}{2\sigma_s} \int_0^R \exp(-\sigma_s \xi) \beta(\xi) \xi d\xi \right. \\ \left. + \{k_s(\sigma_s R+1) - k_s(\sigma_s R-1)\} \exp(-\sigma_s R) \frac{1}{2\sigma_s} \int_0^R \exp(\sigma_s \xi) \beta(\xi) \xi d\xi \right] \quad (2.59)$$

$$C_4 = -C_3 \quad (2.60)$$

と計算される。

粒子外部の温度分布は、

$$T(r) = \frac{R}{r} T_s \exp[-\sigma_s(r-R)], \quad R \leq r \quad (2.61)$$

となる。ここで、 T_s は表面温度で、

$$T_s = \frac{2k_s A}{\{k_s(\sigma_s R-1) + k_s(\sigma_s R+1)\} \exp(\sigma_s R) + \{k_s(\sigma_s R+1) - k_s(\sigma_s R-1)\} \exp(-\sigma_s R)} \\ \times \int_0^R \sinh(\sigma_s \xi) \beta(\xi) \xi d\xi \quad (2.62)$$

である。(2.61)式は粒子外部の温度分布が試料の表面温度と試料表面からの距離との積で決まることを示している。

表面温度についての(2.62)式を見直してみると、表面温度は変調周波数の関数として、

$$T_s(\omega) = K(\omega) \int_0^R \beta(\xi) [\exp(\sigma_s \xi) - \exp(-\sigma_s \xi)] \xi d\xi \quad (2.63)$$

と表せるから、デプスプロファイリング分析の一般式と照らし合わせてみると、光熱変換法による粒子のデプスプロファイリング分析の測定原理は熱の拡散であり、信号の変調周波数依存性からデプスプロファイリング分析が可能であることがわかる。従って、(2.63)式が光熱変換法による粒子のデプスプロファイリング分析の基礎式である。

以下に四つの特別な場合 (図2.4) について結果を書き下しておく。

1. 均一 : $\beta(r) = \beta \quad 0 \leq r \leq R$

$$T_s = \frac{k_s}{k} f(R) \frac{A\beta}{j\omega} \quad (2.64)$$

2. 外部 : $\beta(r) = \begin{cases} \beta & R-l \leq r \leq R \\ 0 & 0 \leq r \leq R-l \end{cases}$

$$T_s = \frac{k_s}{k} \{ f(R) - f(R-l) \} \frac{A\beta}{j\omega} \quad (2.65)$$

3. 内部 : $\beta(r) = \begin{cases} 0 & R-l \leq r \leq R \\ \beta & 0 \leq r \leq R-l \end{cases}$

$$T_s = \frac{k_s}{k} f(R-l) \frac{A\beta}{j\omega} \quad (2.66)$$

4. 表面 : $\beta(r) = \beta \delta(r-R)$

$$T_s = \frac{k_s}{k} \{ \exp(\sigma_s R) - \exp(-\sigma_s R) \} \alpha \beta R \quad (2.67)$$

$$\alpha = \int_0^R \beta(r) dr$$

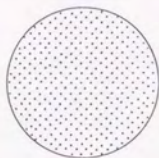
但し、

$$k = \{ k_s(\sigma_s R - 1) + k_s(\sigma_s R + 1) \} \exp(\sigma_s R) + \{ k_s(\sigma_s R + 1) - k_s(\sigma_s R - 1) \} \exp(-\sigma_s R) \quad (2.68)$$

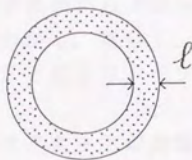
$$f(\xi) = (\sigma_s \xi - 1) \exp(\sigma_s \xi) + (\sigma_s \xi + 1) \exp(-\sigma_s \xi) \quad (2.69)$$

である。

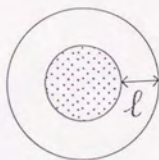
(1) 均一



(2) 外部



(3) 内部



(4) 表面

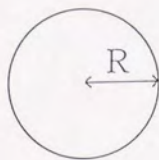


図2.4 粒子内吸収分布が特別な四つの場合

さて、OBD信号は § 4. 2 で述べるように、この温度分布中を通過するプローブ光の偏向角として与えられ、偏向ベクトルの各成分は、

$$\Phi_n = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{\partial}{\partial z} \left[\frac{R}{r} T_s \exp[-\sigma_p(r-R)] \right] dx \quad (2.70)$$

$$\Phi_t = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{\partial}{\partial y} \left[\frac{R}{r} T_s \exp[-\sigma_p(r-R)] \right] dx \quad (2.71)$$

$$r = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}$$

から計算できる。これよりOBD信号に寄与する項には大きく分けて二つあり、その中の一つが表面温度であり、もう一つは粒子表面からプローブ光までの距離（プローブビームオフセット）であることがわかる。従って、プローブビームオフセットを一定にしてOBD信号を測定することにより、デプスプロファイリング分析が可能である。

これから話しが進むにつれてプローブビームオフセットが頻繁に登場することになるので、ここでプローブビームオフセット（y-オフセット、z-オフセット）についてその定義を明確にしておくために図2.5を示す。

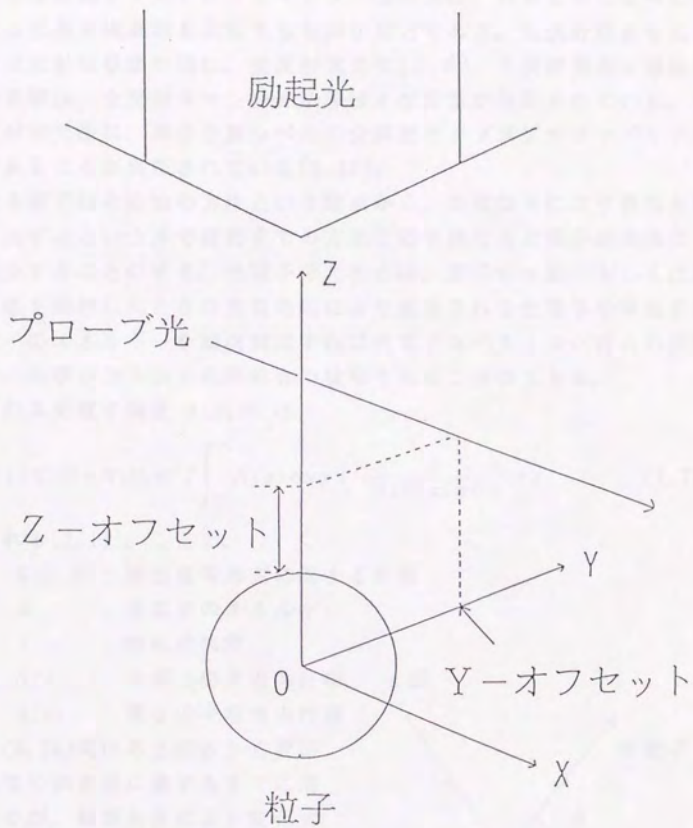


図2.5 プローブビームオフセットの定義

§ 2. 4 その他の方法

光による非破壊デプスプロファイリング分析法は、前節までに述べた全反射現象または光熱変換過程を利用するものが殆どである。全反射現象を利用する方法には全反射吸収法の他に、全反射蛍光法[2.8]、全反射蛍光x線法[2.9]、全反射光音響法、全反射ラマン分光法等様々な変型が提案されている。その中でも全反射蛍光法は、単分子層レベルの分解能でデプスプロファイリング分析が可能であることが実証されている[2.10]。

そこで本節ではその他の方法という観点から、光電効果により放出される光電子を検出するという点で前節までの方法と若干異なる光電子分光法について簡単に紹介することにする。光電子分光法とは、原子にx線、もしくは波長の短い紫外線を照射したときに光電効果により放出される光電子を検出する方法で、光電子のエネルギーを順次測定すれば光電子スペクトルが得られ元素分析が可能で、化学シフトから化学結合の状態を知ることができる。

観測される光電子強度 $I(E, \theta)$ は、

$$I(E, \theta) = K(E, \theta) J \int_0^{\infty} N(z) \exp\left(-\frac{z}{\lambda(E) \sin \theta}\right) dz \quad (2.72)$$

で与えられる[2.11]。ここで、

- $K(E, \theta)$: 検出器等測定に関する定数
- E : 光電子のエネルギー
- J : 励起光強度
- $N(z)$: 元素の深さ方向分布
- $\lambda(E)$: 電子の平均自由行程

である。(2.72)式はある深さから放出された光電子が表面に達するまでに消滅する割合が、観測角度により変化することを示している。(2.72)式で $\lambda \sin \theta$ が実際に光電子が放出される深さで、有効電子平均自由行程と呼ばれる。従って、光電子分光法によるデプスプロファイリング分析の原理は、光電子の脱出深さの観測角度依存性である。

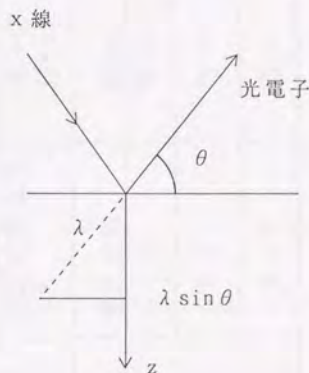


図2.6 観測角度変化光電子分光法

主なデブスプロファイリング分析法の比較

| 励起源 | 方法 | 測定深さ (深さ分解能) | 特徴 | 非破壊性 | 問題点 |
|-----|--------|---|--------------------|------------|-----------------|
| 赤外 | 全反射法 | 数 $10\mu\text{m}$ (数 μm) | 官能基の定性・定量 | 非破壊 | 原理検証の段階 |
| | 光音響法 | 数 $10\mu\text{m}$ (数 μm) | in-situ測定可能 | 非破壊 | 試料セルが必要 |
| 可視 | OBD法 | 数 $10\mu\text{m}$ (数 μm) | 粒子に対し高感度 | 非破壊 | 解析例がない |
| | 全反射蛍光法 | 数 μm (数nm) | 薄膜で測定可能 | 非破壊 | 蛍光物質のみ |
| | x線 | 数nm 数nm | 元素の状態分析 元素の状態分析 | 非破壊 非破壊 | 検証の段階 高真空が必要 |
| 電子 | AES | 数nm | 元素の状態分析 | 破壊 | 高真空が必要 |
| イオン | SIMS | 数nm | 元素組成 | 破壊 | 高真空が必要 |

第3章 フーリエ変換赤外全反射吸収法によるデブスプロファイリング分析

§ 3. 1 緒言

第3章では、赤外全反射吸収法 (Fourier Transformed Infrared Attenuated Total Reflection Spectroscopy: FT-IR/ATR法) によるデブスプロファイリング分析について検討した。ポリエチレンテレフタレートフィルム上に酢酸セルロースフィルムを展開した二層構造の高分子フィルムを表面からけん化して、表面第一層中の官能基が深さ方向に不均一な濃度分布を有するような試料を作製した。FT-IR/ATR法を用いて、§ 2. 2 に述べた方法により実際にこの試料のけん化度の非破壊デブスプロファイリング分析を行った。さらに得られた濃度プロファイルが妥当なものであることを示すために、顕微FT-IR法及び中和滴定法による測定を行った。その結果からFT-IR/ATR法のデブスプロファイリング分析法としての有効性について検討した。

§ 3. 2 実験

【試料作製方法】 (図3. 1参照)

- 1) ポリエチレンテレフタレート (PET) フィルム上に二酢酸セルロース (DAC、酢化度55) を溶媒 (アセトン/ジアセトンアルコール) に溶かしたものを約 9 g/m^2 (比重を1とすると厚さ $9 \mu\text{m}$ になる) で均一に塗布し (インスタント感材を作る塗布機を使用)、その後 100°C で乾燥した。
- 2) 上記塗布膜上に、 NaOH / メタノール溶液を塗布、けん化しながら乾燥する。けん化の程度は NaOH 溶液の濃度を変えることにより調節した。
- 3) けん化が終了したサンプルは、残存する塩等を除くため十分に水洗し、乾燥した。

【FT-IR/ATR法による測定】 (図3. 2参照)

入射角を変化させることによりエバネッセント波の侵入深さを変えて深さ方向の情報を得るために、角度可変型ATR用アタッチメント (日本分光社製ATR-500/V) にゴニオメーターを取り付けた。これをFT-IR分光計 (日本分光社製FTIR/VTT8型) の試料室に取り付けて測定した。臨界角は 38.7° であるため、入射角を 41° から 60° まで 1° 刻みで変化させて吸光度の入射角依存性を測定した。

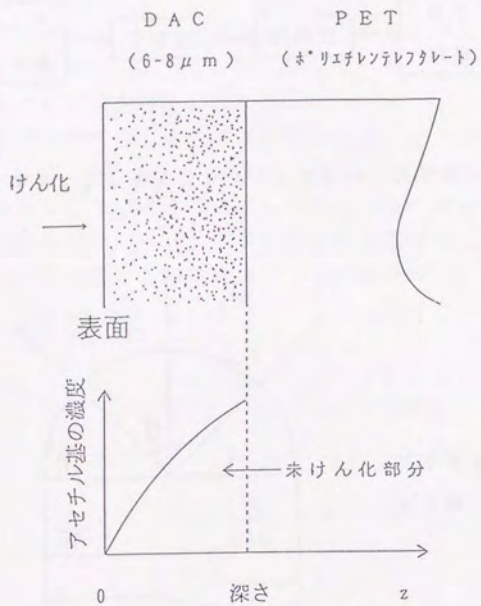
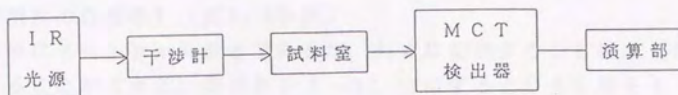
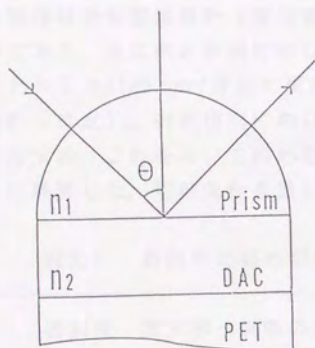


図3.1 深さ方向にけん化度分布を有する
 DAC/PETフィルム

分光器 (J A S C O V T T - 8)



ATRアタッチメント (J A S C O A T R - 5 0 0 / V)



プリズム : K R S - 5

入射角 : $41 - 60^\circ$

図3.2 FT-IR/ATR法の測定系

§ 3. 3 検証実験

3. 3. 1 顕微FT-IR法

【斜め切削片の作製法】（図3. 3参照）

DAC層は6~8 μm の厚さであるが、斜めに切削することによりDAC層を拡大することができる。切削角を4~9°位にするとDAC層を6~10倍に拡大することができる。

斜め切削片の作製はライヘルト社製 OmU₄ 型マイクロトーム（ナイフはガラスナイフ（刃角：45°））を用いて行った。切削角は4~9°、切削厚はIRの検出器が飽和しないように0.5~1.0 μm 厚に作製した。

作製した斜め切削片のDAC層の拡大率は以下のようにして求めた。DAC層の実際の膜厚は触針型膜厚計（安立電気製 K-402B STAND 型）を用いてあらかじめ求めておく。次に斜め切削片のDAC層とPET層の境界を顕微FT-IR法で求め（PETの1100 cm^{-1} 付近に現れるCOの対称伸縮振動のバンドが丁度現れる所から推定）、斜め切削片のDAC層の長さを実際のDAC層の厚さから拡大率を求め、これを用いて斜め切削片上の各点を実際のDAC層の表面からの深さに換算した。切削条件を表3. 1にまとめる。

表3.1 各試料の斜め切削片の切削条件

| 試料 | 切削角 | 拡大率 | 実際のDAC膜厚 | 斜め切削片の膜厚 |
|------|------|--------|-------------------|-------------------|
| けん化前 | 8.6° | × 6.7 | 6.7 μm | 45 μm |
| けん化後 | 4.3° | × 13.5 | 7.8 μm | 105 μm |

【顕微FT-IR法によるスペクトルの測定】（図3. 3参照）

試料のけん化度の深さ方向分布を求めるための顕微FT-IR測定は、斜め切削片をシリコンウェハー上に均一に広げ、端から順にアパーチャーを用いて、2.5~10 μm 間隔で透過モードにより測定した。実際の測定は、アパーチャーを固定し、サンプルステージを移動することにより行った。

顕微FT-IRの装置と測定条件は以下の通りである。

装置：分光器；JIR-100（JEOL製）

顕微ユニット；IR-MAU110（JEOL製）

（検出器；狭帯域型MCT）

測定条件：分解能； 8 cm^{-1}

積算回数；200回

移動鏡駆動速度； 8 mm/sec

電気フィルター（ローパスフィルター）； 9.6 KHz

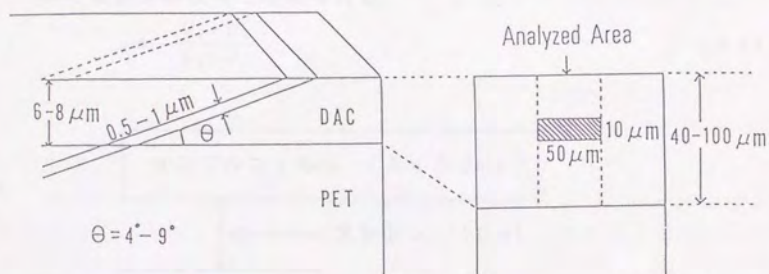


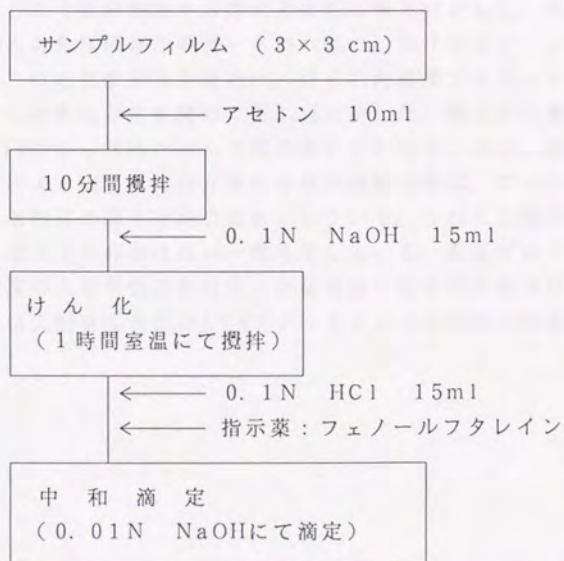
図3.3 斜め切削顕微FT-IR測定

3. 3. 2 中和滴定

手順

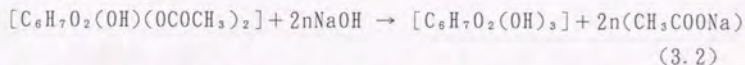
- 1) サンプルフィルムを正確に3cm×3cmに切り出し細かく切り刻み、共栓付きフラスコに入れる。
- 2) アセトン10mlを加え10分間超音波洗浄器にかけた後、0.1規定の水酸化ナトリウム水溶液15mlを加え1時間室温で放置する。
- 3) 0.1規定の塩酸15mlを加え、フェノールフタレインを数滴加える。
- 4) 3)の溶液を0.01規定の水酸化ナトリウム水溶液で滴定する。
- 5) この時要した水酸化ナトリウム水溶液の量をそれぞれ次のように表すと、
けん化処理したサンプル： V_s
未けん化のサンプル： V_u
ブランク（PETのみ）： V_b
けん化度 x は次式で与えられる。

$$x = 1 - \frac{V_s - V_b}{V_u - V_b} \quad (3.1)$$



§ 3. 4 結果と考察

図3. 4に試料のけん化反応前後のFT-IR/ATRスペクトル(入射角 45°) 変化を示す。けん化反応は、



で表せるので、一言でいうとD A Cのアセチル基が除去され水酸基に置き換わる反応であるといえる。スペクトルはそれを反映してアセチル基に起因する三本のピーク、 1730cm^{-1} (C=O伸縮振動)、 1215cm^{-1} (C-O-C逆対称伸縮振動)、 1370cm^{-1} (CH_3 変角振動)のピーク強度がけん化反応により減少しているのが見て取れる。そこで、これらの吸収帯をキーバンドとして深さ方向のけん化度分布をATR測定に於ける吸光度の入射角依存性により検討した。吸光度の規格化には未けん化試料を用いた。

図3. 5に規格化した吸光度の入射角依存性の測定結果を示す。けん化反応はけん化液の表面からの拡散により進むと考え、未けん化領域の深さ方向分布として誤差関数形

$$C(z) = \text{erf}\left(\frac{z}{\ell}\right) \quad (3.3)$$

を仮定する。ここで試料表面から深さ方向を z 軸方向とした。そのパラメータ ℓ を吸光度の入射角度依存性のデータから最小二乗フィッティングにより決定し($\ell=2.0$)、けん化度分布を求めた。得られた濃度プロファイルから計算される吸光度の入射角依存性を同時に図3. 5に示した。得られた濃度プロファイルを顕微FT-IR法から求めたけん化度の深さ方向分布と共に、図3. 6に示す。顕微FT-IR法により得られた深さ方向分布の横線の幅は、アパーチャーの幅に相当する斜め切削片の深さ方向の幅を示している。これら二種の方法から求めたけん化度の深さ方向分布は良い一致を示している。濃度プロファイルから考えると、吸光度の入射角依存性は滑らかな曲線になるのが妥当な結果であり、実験値の凹凸は入射角変化用のATRアタッチメントの性能に原因があると考えられる。

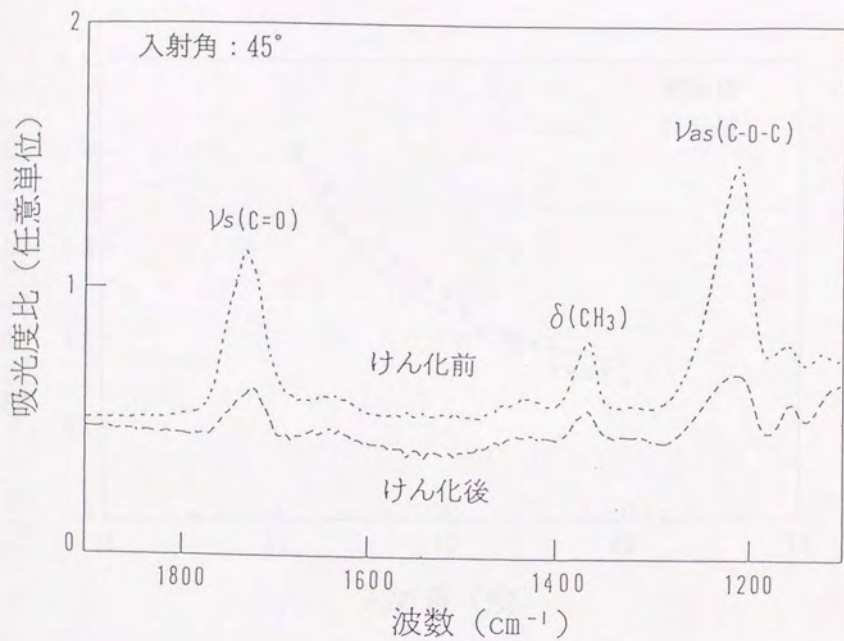


図3.4 けん化によるATRスペクトル変化

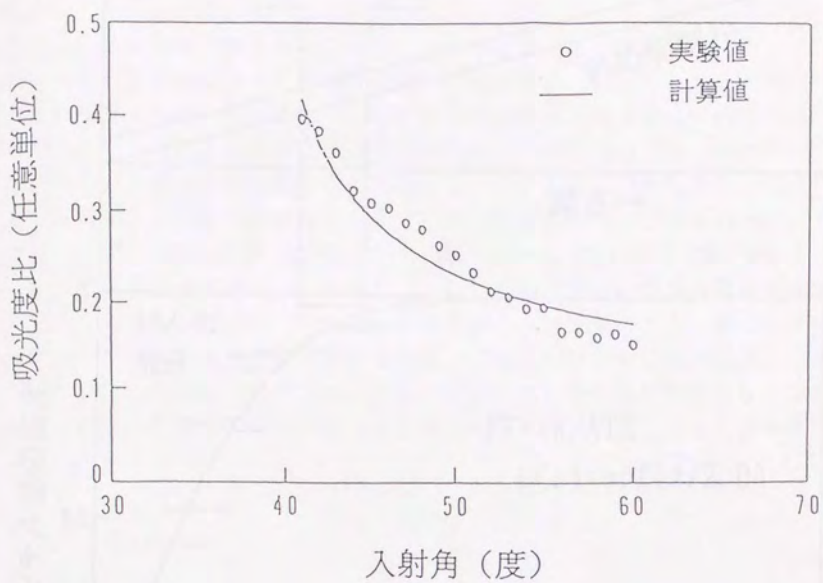


図3.5 吸光度比の入射角依存性

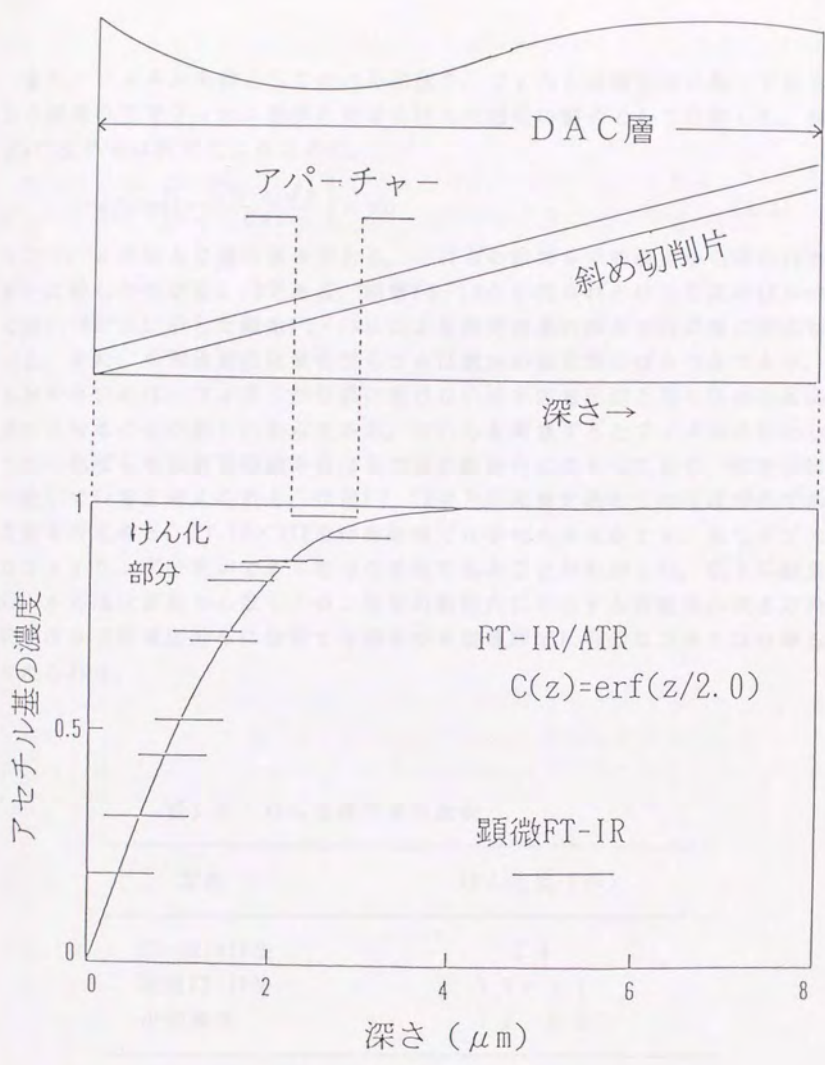


図3.6 けん化度の深さ方向分布の比較

また、フィルム全体としてのけん化度を、フィルムは横方向に均一であるという仮定の下でフィルム全体に対するけん化部分の割合として計算した。例えばATR法からは次式により求めた。

$$x(\%) = \left[1 - \frac{\int_0^d C(z) dz}{d \times 1} \right] \times 100 \quad (3.4)$$

ここで、 d はDAC層の厚さである。これらの結果を中和滴定から得られた結果と比較したのが表3.2である。顕微FT-IRから得られたけん化度のばらつきは図3.6の上にした顕微FT-IR法による測定結果の深さ方向の幅に対応している。また、中和滴定の結果のばらつきは数回の測定間のばらつきであり、それが大きいのは、フィルムが溶媒に溶けないので固液反応となり完全に反応を進行させることが難しいからである。それらを考慮するとフィルム全体としてのけん化度も中和滴定の結果のばらつきの範囲内に収まっており、両者はほぼ一致していると考えられる。顕微FT-IR法と中和滴定法の二法は破壊法であることを考えると、FT-IR/ATR法は非破壊で化学種の同定ができ、且つデブスプロファイリング分析ができる有力な手法であることがわかった。以上の結果から、本方法は表面から数ミクロン程度の範囲内に存在する有機物の深さ方向分析や深さ方向濃度分布に依存する諸量の非破壊測定に有効な方法となり得ると考えられる。

表3.2 けん化度の値の比較

| 方法 | けん化度 (%) |
|------------|-----------|
| FT-IR/ATR法 | 1.4 |
| 顕微FT-IR法 | 1.1 - 1.7 |
| 中和滴定 | 1.1 - 2.5 |

第4章 粒子からの光熱ビーム偏向信号と解析モデルの妥当性の実験的検証

§ 4. 1 緒言

第4章では、第2章で導出した粒子の光熱変換効果の解析モデルが妥当であることを実験的に示した。光熱ビーム偏向信号の励起光強度依存性、プローブ光のオフセット依存性などについて測定を行い、モデルから計算される値との比較を行った。基板への熱伝導の効果などを考慮すると、実験値と計算値はよい一致を示した。この結果から第2章で導いた理論が妥当であることがわかった。またその過程で、本法を定量分析に用いる際に問題となっていたプローブ光のオフセットのばらつきによる再現性の悪さを、同時に測定した位相によるデータ処理により補正する方法を提案した。この方法により原理的に位相による信号強度の補正が可能であることを示した。この方法は平面状試料に対しても同様に有効であり、第5章で詳しく述べるように免疫分析に応用してその有効性を実証した。

§ 4. 2 粒子からの光熱ビーム偏向信号

§ 2. 3 の2で粒子の光熱変換効果により形成される粒子近傍の温度場分布を解析した。この節では、この温度勾配中を光が通過するとき光が受ける偏向効果、即ち光熱ビーム偏向信号を最も直接的な導出法であるJ. C. Murphyら[4.1]の方法に従い数式化する。考察する系のモデルを図4.1に示す。

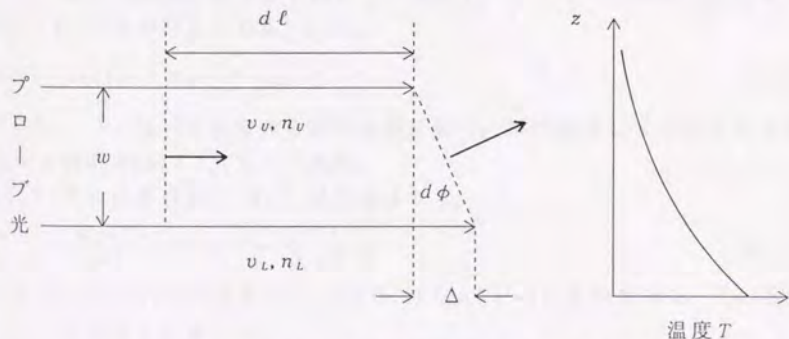


図4.1 偏向原理のモデル

温度勾配即ち屈折率勾配が存在する空气中を、プローブ光が温度勾配に垂直方向に通過する場合を考える。温度勾配は上冷下暖に形成されており、プローブ光が上方に偏向するとする。温度勾配方向を z 軸方向、プローブ光進行方向を x 軸方向に取る。プローブ光の上部の方が下部に比べて屈折率の大きい領域を通過するので、光の速度に差を生じて光が偏向する。ビーム径 w のプローブ光上部が $d\ell$ だけ進んだ時を考える。このときプローブ光の上部と下部の光路長差 Δ は、(4.1)式で与えられる。

$$\Delta = d\ell \left(\frac{v_U}{v_L} - 1 \right) \quad (4.1)$$

従って、波面の微小偏向角 $d\phi$ は(4.2)式で与えられる。

$$\begin{aligned} d\phi &= \frac{\Delta}{w} \\ &= - \left(\frac{n_U}{n_L} - 1 \right) \cdot \frac{d\ell}{w} \end{aligned} \quad (4.2)$$

ここで、 v_i は i 部での光速、 n_i は i 部での屈折率である。添え字 U, L はプローブ光上部、下部をそれぞれ表している。微小変化を一次近似で表すと、屈折率 n は(4.3)、(4.4)式と書ける。

$$n_U = n_L + \frac{dn}{dz} w \quad (4.3)$$

$$n_L = n \quad (4.4)$$

ここで、 n は位置 z における屈折率である。(4.3)、(4.4)式を(4.2)式に代入すると、(4.5)式を得る。

$$\phi = \int \frac{1}{n} \frac{dn}{dz} dx \quad (4.5)$$

一方、温度と屈折率の関係を検討してみると、 T ($^{\circ}\text{C}$) に於ける屈折率 $n(T)$ は、(4.6)式で与えられる[4.2]。

$$n(T) - 1 = \frac{n_0 - 1}{1 + \epsilon T} \quad (4.6)$$

ここで、 n_0 は 0°C に於ける空気の屈折率で、 ϵ は波長により変わるがほぼ一定の定数 0.00367 ($/^{\circ}\text{C}$) である。

(4.6)式の温度微分は(4.7)式で表される。

$$\frac{dn(T)}{dT} = -\epsilon \frac{n_0 - 1}{(1 + \epsilon T)^2} \quad (4.7)$$

ここで、 $\epsilon \sim 10^{-3}$ であるから、 $n \sim 1$ 、 $(1 + \epsilon T) \sim 1$ と近似できて、(4.5)式は(4.9)式のように書ける。

$$\phi = \int \frac{1}{n} \frac{dn}{dT} \frac{dT}{dz} dx \quad (4.8)$$

$$= -\varepsilon(n_0 - 1) \cdot \int \frac{\partial T}{\partial z} dx \quad (4.9)$$

この式から、偏向は温度勾配に比例することがわかる。

粒子からの光熱ビーム偏向信号は、粒子近傍の温度分布中を通過するプローブ光の偏向角として計算できる。§ 2. 3 の 2 で求めた粒子が作る温度分布の(2.61)式を(4.9)式に代入すると、垂直偏向 Φ_n (normal deflection) 及び横偏向 Φ_t (transverse deflection) はそれぞれ、

$$\Phi_n = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{\partial}{\partial z} \left[\frac{R}{r} T_s \exp[-\sigma_s(r-R)] \right] dx \quad (4.10)$$

$$\Phi_t = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{\partial}{\partial y} \left[\frac{R}{r} T_s \exp[-\sigma_s(r-R)] \right] dx \quad (4.11)$$

$$r = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}$$

で与えられる。但し、簡単のため係数は省略した。

以下、本実験で取り扱う二層構造をなす粒子からの垂直偏向信号に対してのみ、その強度と位相を計算する式を導出しておくことにする。(4.10)式から、

$$\Phi_n = \varepsilon(n_0 - 1) R z \int_{-\infty}^{+\infty} T_s \left\{ \frac{1 + \sigma_s r}{r^3} \exp[-\sigma_s(r-R)] \right\} dx \quad (4.12)$$

であり、積分の中の二項をそれぞれ、

$$T_s = A_1 \exp(j\theta_1) \quad (4.13)$$

$$\frac{1 + \sigma_s r}{r^3} \exp[-\sigma_s(r-R)] = A_2 \exp(j\theta_2) \quad (4.14)$$

と複素数表示すると、その振幅と位相は、

$$A_1 = \eta \beta I_0 \frac{D_s}{2k_s \omega} \left(\frac{t_1^2 + t_2^2}{t_3^2 + t_4^2} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (4.15)$$

$$\theta_1 = \tan^{-1} \left(\frac{t_2 t_3 - t_1 t_4}{t_1 t_3 + t_2 t_4} \right) \quad (4.16)$$

$$t_1 = f_1(a_s, R) - f_1(a_s, (R-d)) \quad (4.17)$$

$$f_1(x) = (x \cos x - \sin x) \cosh x + (x \sin x) \sinh x \quad (4.18)$$

$$t_2 = f_2(a_s, R) - f_2(a_s, (R-d)) \quad (4.19)$$

$$f_2(x) = (x \sin x + \cos x) \sinh x - (x \cos x) \cosh x \quad (4.20)$$

$$t_3 = f_3(a_s, R) \quad (4.21)$$

$$f_3(x) = x \left(\cos x - \frac{k_s a_s}{k_s a_s} \sin x \right) \cosh x \quad (4.22)$$

$$+ \left\{ \left(\frac{k_s a_s}{k_s a_s} x + \frac{k_s}{k_s} - 1 \right) \cos x - x \sin x \right\} \sinh x$$

$$t_i = f_i(a_s, R) \quad (4.23)$$

$$f_i(x) = \left\{ x \cos x + \left(\frac{k_g a_s}{k_s a_s} x + \frac{k_g}{k_s} - 1 \right) \sin x \right\} \cosh x \quad (4.24)$$

$$+ x \left(\frac{k_g a_s}{k_s a_s} \cos x + \sin x \right) \sinh x$$

及び

$$A_2 = r^{-3} \{ (1 + a_s r)^2 + (a_s r)^2 \}^{\frac{1}{2}} \exp[-a_s(r-R)] \quad (4.25)$$

$$\theta_2 = -a_s(r-R) + \tan^{-1} \left(\frac{a_s r}{1 + a_s r} \right) \quad (4.26)$$

となる。ここで、

$$a_i = \frac{1}{\mu_i} \quad (i = g, s) \quad (4.27)$$

である。よって光熱ビーム偏向信号の強度と位相は、

$$|\Phi_n| = (R_e^2 + I_n^2)^{\frac{1}{2}} \quad (4.28)$$

$$\theta = \tan^{-1} \left(\frac{I_n}{R_e} \right) \quad (4.29)$$

$$R_e = \varepsilon(n_0 - 1) R z \int_{-\infty}^{\infty} A_1 A_2 \cos(\theta_1 + \theta_2) dx \quad (4.30)$$

$$I_n = \varepsilon(n_0 - 1) R z \int_{-\infty}^{\infty} A_1 A_2 \sin(\theta_1 + \theta_2) dx \quad (4.31)$$

からそれぞれ計算できる。これらの積分は解析的には解けないので、数値的に積分する必要がある。

§ 4. 3 モデルの検証実験

粒子からのOBD信号の解析モデルの妥当性を実験的に示すために、モデルの検証実験を行った。その測定系の概略を図4.2に示す。励起光にはArイオンレーザ（波長488nm）を用い、チョッパーで強度変調して試料上方から試料粒子径よりも十分に大きなスポットサイズで照射する。He-Neレーザ（出力1mW、波長632.8nm）をプローブ光として用い、焦点距離100mmのレンズで試料直上にプローブ光のビームウエストがくるように絞った。ビームウエストの径は約120 μ mであった。ナイフエッジでプローブ光の半分を覆い、ナイフエッジを通過してきた残りの部分の光をレンズで絞り、その強度変化をフォトダイオードでモニターした。フォトダイオードからの信号は、プリアンプで100倍に増幅した後ロックインアンプで同期検出される。ロックインからの出力をA/D変換してパーソナルコンピュータに取り込み、そこでデータの処理と保存を行う。試料は電動ステージに乗せ、試料位置の微調整やプローブ光のオフセット依存性の測定はパソコンで電動ステージを自動的にスキャンすることにより行った。

用いたモデル試料は、XAD粒子（粒径約300 μ mの合成吸着剤アンバーライト）に金属のオキシ錯体を吸着させたもので、吸着層の厚さが金属の種類により異なる三種類のもの（鉄：6 μ m、カドミウム：12 μ m、亜鉛：粒子全体）である[4.3]。試料の概略を模式的に図4.3に示す。

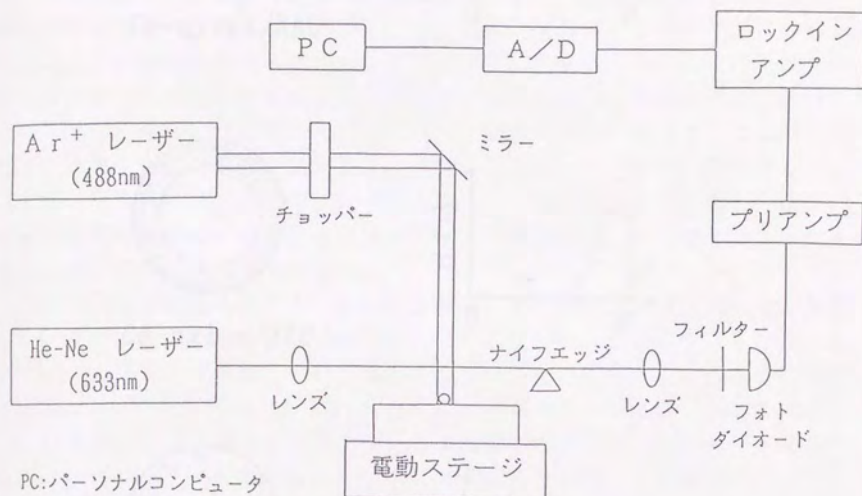
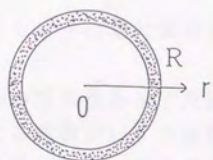
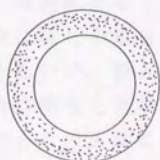
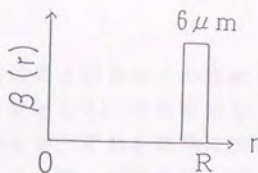


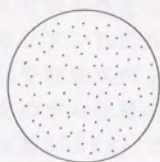
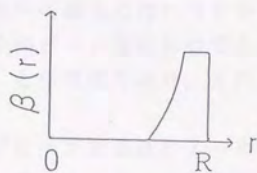
図4.2 OBD測定系の構成



Fe-oxine/XAD



Cd-oxine/XAD



Zn-5-NO₂-oxine/XAD

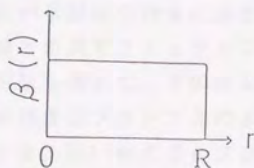


図4.3 粒子内吸収分布の異なる試料
(粒径300 μm)

§ 4. 4 結果と考察

A. Z-オフセットの絶対値の決定

解析モデルの妥当性を示すための実験結果と計算値との比較を行う際に、測定条件に関する数値がいくつか計算に必要となる。その中でもZ-オフセットの絶対値の決定法は様々考えられてはいるが、それを簡単に決定する有効な方法はなく頭の痛い問題となっている。ここでは、試料表面とプローブ光の中心との高さ方向の距離をZ-オフセットと呼ぶことにする。本研究では、プローブ光と試料との重なり具合からZ-オフセットの絶対値を求める方法を用いた。この方法は、試料によるプローブ光の散乱の影響や、本研究のように試料が球状である場合にはその解析が平面状の試料の場合に比べてやや複雑になるという欠点はあるものの、粒径がプローブ光のビーム径に比べて十分大きい場合には平面状試料の場合と同様に取り扱うことが可能であり、また最も直接的な方法である点からこの方法を採用した。

0BD信号強度と検出器に入っているプローブ光強度のZ-オフセット依存性について測定した結果を図4.4に示す。Z-オフセットが小さくなるにつれてプローブ光の強度が減少しているのが、プローブ光の試料粒子による遮断効果(eclipse effect)である。0BD信号がZ-オフセットが小さいところで減少し始めるのも同様の理由による。プローブ光強度のZ-オフセット依存性の実験値を、ガウシアン強度分布を有する光が平面状の物体により遮られていくときの強度変化を理論式から計算した曲線との間でフィッティングすることによりプローブ光の中心位置のz座標の絶対値を求めた。その結果から本実験条件下(変調周波数333Hz)では、0BD信号強度はプローブ光のZ-オフセットがほぼプローブ光のビーム半径に等しいとき、言い換えるとプローブ光が試料に遮られないぎりぎりのところで0BD信号強度が最大になることがわかった。ここで、プローブ光のビーム半径(60 μ m)はナイフエッジ法[4.4]により決定した。以下の実験ではこの方法によりプローブ光のZ-オフセットを決定した。

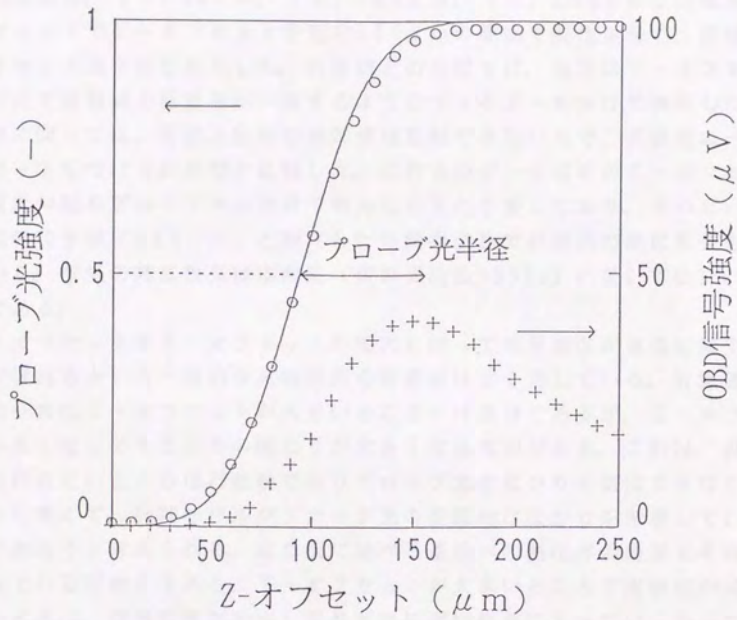


図4.4 プローブ光とOBD信号のZ-オフセット依存性

B. Y-オフセット依存性 (Z-オフセット変化)

0BD信号のY-オフセット依存性をZ-オフセットを変えて測定した結果が図4.5である。(1) $60\mu\text{m}$ 、(2) $160\mu\text{m}$ 、(3) $260\mu\text{m}$ の三種類のZ-オフセットでY-オフセットを左右 $500\mu\text{m}$ の範囲で変化させて、信号のY-オフセット依存性を測定した。計算値との比較では、強度はY-オフセットの極大点で実験値と計算値が一致するようにファクターをかけて調節した。また位相に関しては、測定上位相の絶対値は比較できないので、実験値に一定のオフセットをつけて計算値と比較した。これらのピークはそのZ-オフセットでの温度勾配をプローブ光の光路で積分したものを表しており、そのピークの幅は試料粒子径 ($300\mu\text{m}$) と測定した変調周波数での空気の熱拡散長を反映している。空気の熱拡散長は本測定 (変調周波数 333Hz) に於いては $135\mu\text{m}$ 程度である。

Y-オフセットやZ-オフセットの増大に伴って信号強度が急激に減少し、位相が遅れるという一般的な実験結果を計算値はよく表している。計算値と実測値の一致はZ-オフセットが大きいところでは良好であるが、Z-オフセットが小さくなってくるとその隔たりが大きくなる傾向がある。これは、温度勾配が試料に近いところほど急峻でありプローブ光の広がりを見無視できなくなることから考えて、計算モデルがプローブ光の空間的な広がりを考慮していないからであろうと考えられる。また次に述べる基板への熱伝導の効果もその一因になっている可能性もある。Y-オフセットが大きいところで実験値がばらついているのは、信号強度が小さくなりゼロに近い領域に入っているからである。この結果はまた§4.4のA.の結論、つまり0BD信号強度がZ-オフセットがプローブ光のビーム半径に等しいときに最大となるという結果を支持している。

信号強度がY-オフセットに大きく依存することから、0BD法を定量分析に用いる際には、Y-オフセットの調整が重要となる。信号強度のY-オフセット依存性はY-オフセットを最適化する ($y=0$) のに利用できる。Y-オフセットをゼロにする方法にはこの他に、プローブ光の横方向の偏向 (transverse deflection) を用いる方法がある[4.5]。また顕微分光法に応用するためには、励起光を小さく絞って変調周波数を上げて分解能を高める必要がある。

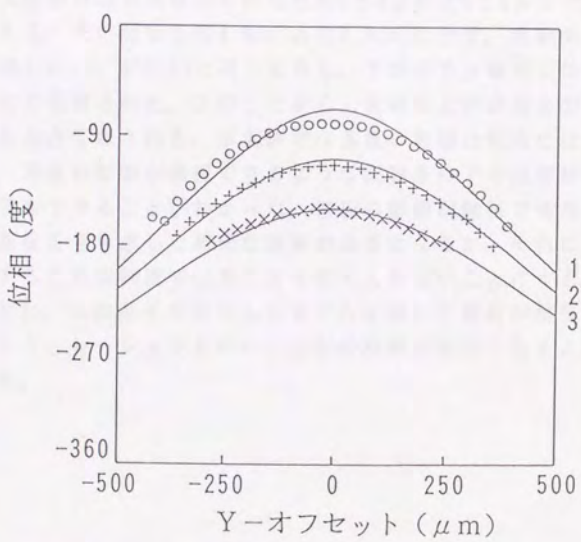
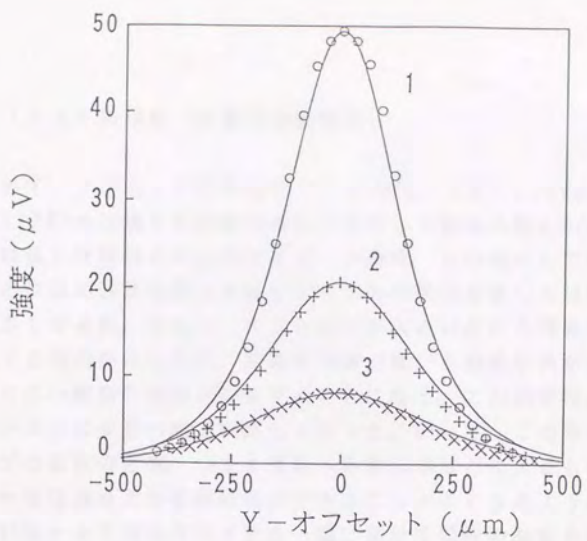


図4.5 OBD信号のY-オフセット依存性

- 1 : Z-オフセット = $60 \mu m$
- 2 : Z-オフセット = $160 \mu m$
- 3 : Z-オフセット = $260 \mu m$

C. Y-オフセット依存性 (変調周波数変化)

0BD信号のY-オフセット依存性を(1)78Hz、(2)177Hz、(3)333Hz、(4)777Hzの四通りの変調周波数で測定した結果を図4.6(a)と図4.6(b)に示す。実験値と計算値との比較は§4.4のB.と同様にして行った。0BD信号の強度と位相の計算結果は実験値の大まかな傾向を表してはいるが、変調周波数が小さくなる程、またY-オフセットが大きいところ程実験値は計算値からずれてくる傾向がみられた。変調周波数が低いと熱拡散長が長くなるので、測定値はより広い範囲の情報を反映することになる。この測定は、試料粒子をスライドガラス上に少量の糊で固定して行った。従って、この実験値と計算値とのギャップは基板の影響、つまり基板への熱伝導などによるものではないかと考えて、今度は基板との接触面積ができるだけ小さくなるようにという発想の下に、試料粒子を中空のガラス管の一端に乗せて同様の測定を行った(図4.7)。ガラス管の外径と内径はそれぞれ約 $280\mu\text{m}$ と $150\mu\text{m}$ で、粒子径は約 $300\mu\text{m}$ である。その結果を図4.8(a)と図4.8(b)に示す。実験条件は試料の支持法以外は図4.6(a)、4.6(b)と同じである。予想通り実験値と計算値との間の一致度はかなり改善された。このことから、実験値と計算値との間のズレは基板の影響であると予想される。本実験では基板の影響は完全には取り除けなかったものの、基板の影響が無視できるような実験条件下では解析モデルからよく実験値を予測できることがわかった。基板の影響が無視できないような場合にはさらに基板をも考慮した厳密な議論が必要となるが、それにはかなりの労力を必要とするため本研究ではそこまで立ち入らないことにする。

そのかわりに、この系を単純化したモデルを用いて基板が温度場に与える影響についてシミュレーションを行い、上記の推測が妥当であることを以下に示すことにする。

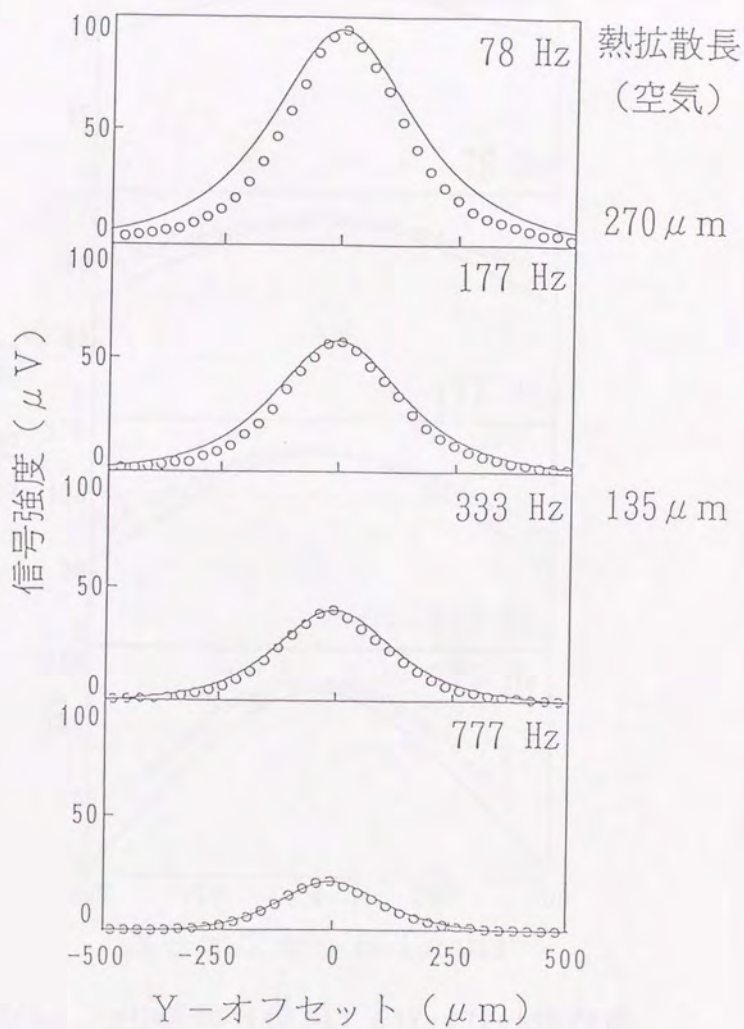


図4.6(a) OBD信号 (強度) のY-オフセット依存性

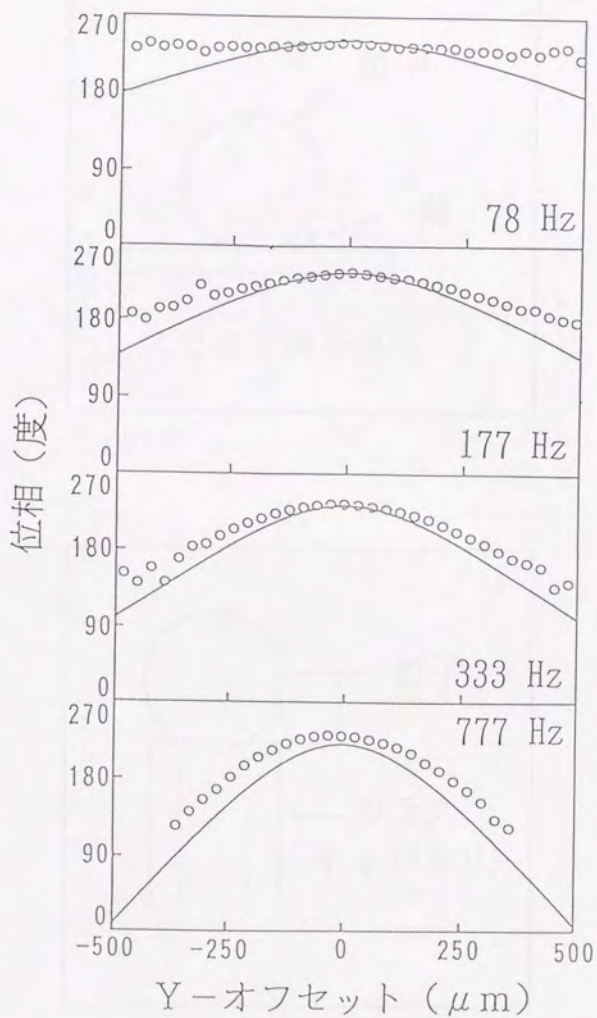


図4.6(b) OBD信号 (位相) のY-オフセット依存性

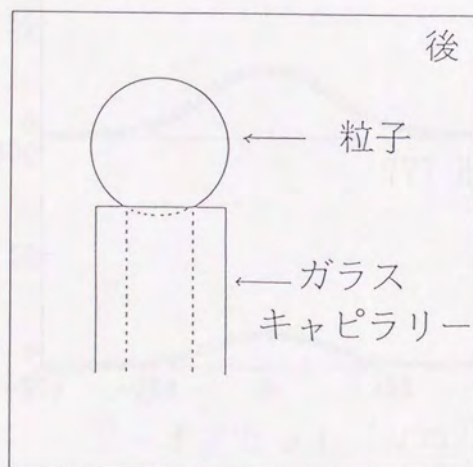
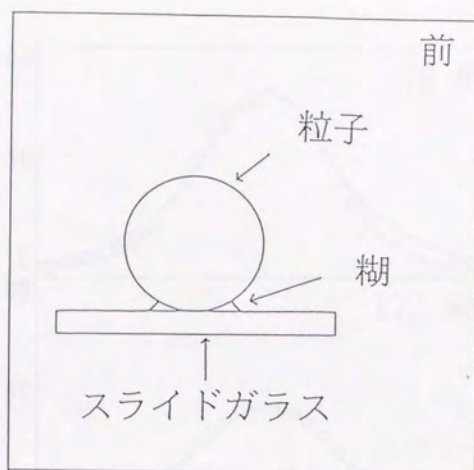


図4.7 粒子支持法の改善

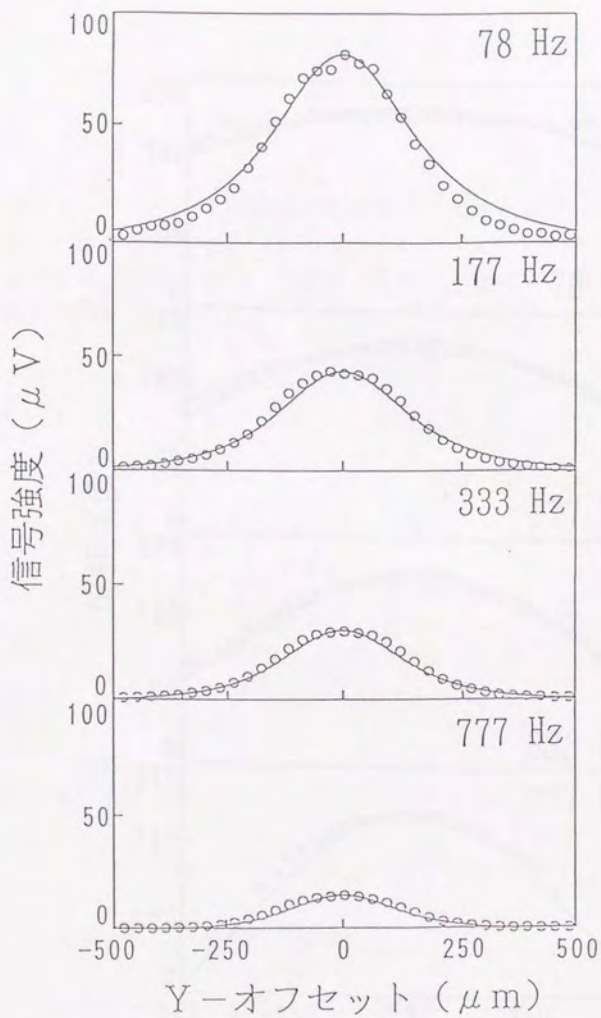


図4.8(a) OBD信号(強度)のY-オフセット依存性

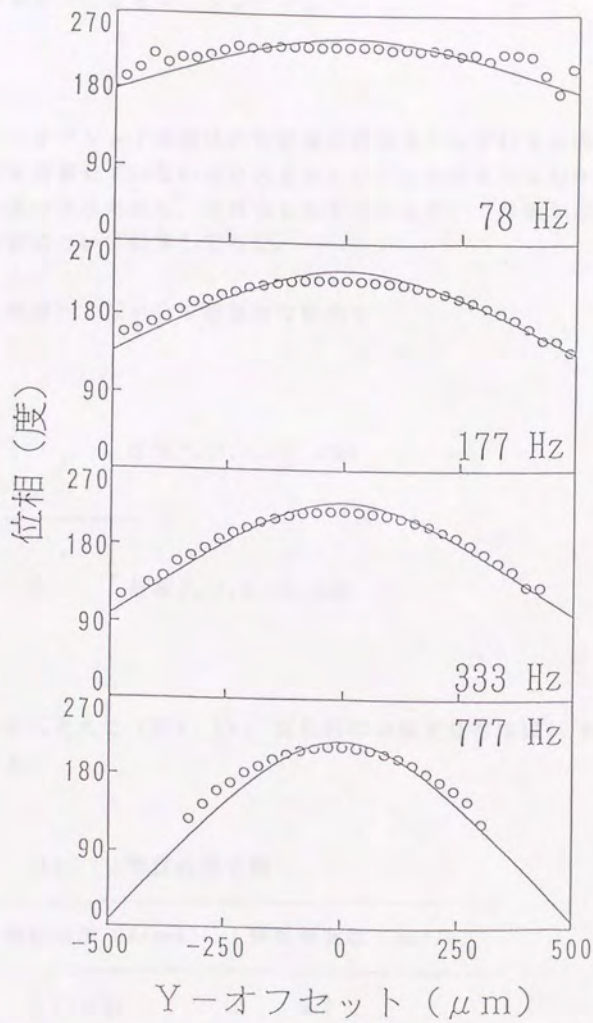


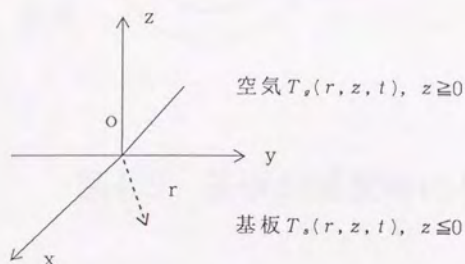
図4.8(b) OBD信号 (位相) のY-オフセット依存性

※基板がOBD信号のY-オフセット依存性に与える影響について
 -単純化したモデルによるシミュレーション-

0. 目的

OBD信号のY-オフセット依存性の実験値が計算値からずれる原因が、計算値は基板の存在を考慮していない点にあるらしいことが実験的にわかってきた。更にこの事実を裏づけるために、単純化したモデルを用いて基板が温度(勾配)分布に与える影響について計算してみた。

1. モデル(点熱源)：原点Oで周期的な熱発生



物質の熱定数から考えて(表4.1)、定性的には温度分布は図4.9のようになると考えられる。

表4.1 物質の熱定数

| | 熱伝導率 (W/cmK) | 熱拡散係数 (cm ² /s) |
|-----|-----------------------|----------------------------|
| 空気 | 2.61×10^{-4} | 0.2 |
| ガラス | 8.4×10^{-3} | 5.13×10^{-3} |

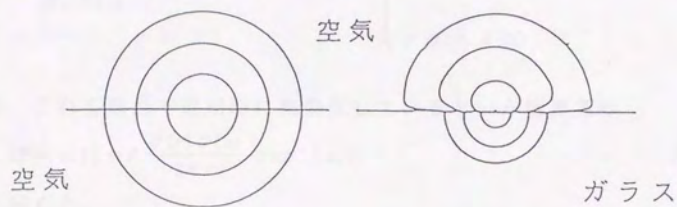


図4.9 基板が温度場に与える影響

しかし、OBD法により測定されるのは温度勾配であるから、温度勾配をもう少し定量的に取り扱うために、上記の単純化したモデルを用いて温度分布を計算し、基板がOBD信号に与える影響について検討してみる。粒子の大きさを考慮すると一気に解析が困難となるので、粒子の大きさは無視できるとし、粒子は空気と基板との界面に存在し座標系の原点をそこに取る。

熱拡散方程式は、

$$\left[\nabla^2 - \frac{1}{\alpha_i} \frac{\partial}{\partial t} \right] T_i(r, z, t) = 0 \quad i = \begin{cases} g & \text{for } z > 0 \\ s & \text{for } z < 0 \end{cases} \quad (4.32)$$

となる。これを原点で周期的に熱発生しているという境界条件

$$Q(r, z, t) = A \frac{\delta(r) \delta(z)}{2\pi r} \exp(j\omega t) \quad (4.33)$$

の下で解くと、

$$T_i(r, z, t) = \phi_i(r, z) \exp(j\omega t) \quad (4.34)$$

$$\phi_i(r, z) = \int_0^\infty C(\lambda) J_0(\lambda r) \exp[-\sigma_i(\lambda)z] d\lambda \quad (4.35)$$

となる。ここで、

$$C(\lambda) = \frac{A}{2\pi} \frac{\lambda}{k_g \sigma_g(\lambda) + k_s \sigma_s(\lambda)} \quad (4.36)$$

$$\sigma_i(\lambda) = \sqrt{\lambda^2 + j\omega/\alpha_i} \quad (4.37)$$

α : 熱拡散係数

k : 熱伝導率

ω : 角変調周波数

である。従って、空気中の温度勾配は、

$$\frac{\partial}{\partial z} T_g(r, z, t) = -\sigma_g(\lambda) \int_0^\infty C(\lambda) J_0(\lambda r) \exp[-\sigma_g(\lambda)z] d\lambda \quad (4.38)$$

となる。これに対してOBD信号（垂直偏向成分）は、

$$\Phi_n(y, z) = k \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{\partial}{\partial z} T_g(r, z, t) dx \quad (4.39)$$

から計算できるが、このままでは数値積分が二回必要で大変なため、代表的な値として $\frac{\partial}{\partial z} T_g(r, z, t)$ の $x=0$ での値を用いてその傾向をみることにする。

2. 結果と考察

計算結果を図4.10に示す。基板が引き起こす現象としては、実験値の傾向と一致している。定量的には、

1. モデルが単純化されたものであること
2. OBD信号 Φ_n は $\frac{\partial T_o}{\partial z} \Big|_{x=0}$ と完全には同じではないこと

の二点から比較はできない。

但し、変調周波数の異なるデータ間の相対的な比較は可能である。



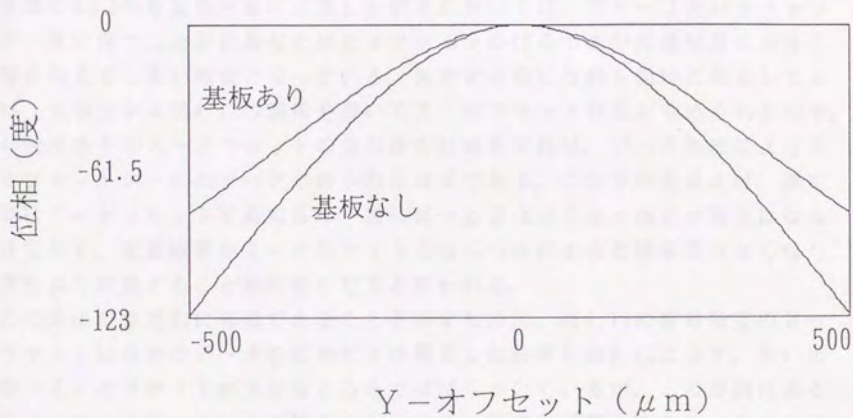
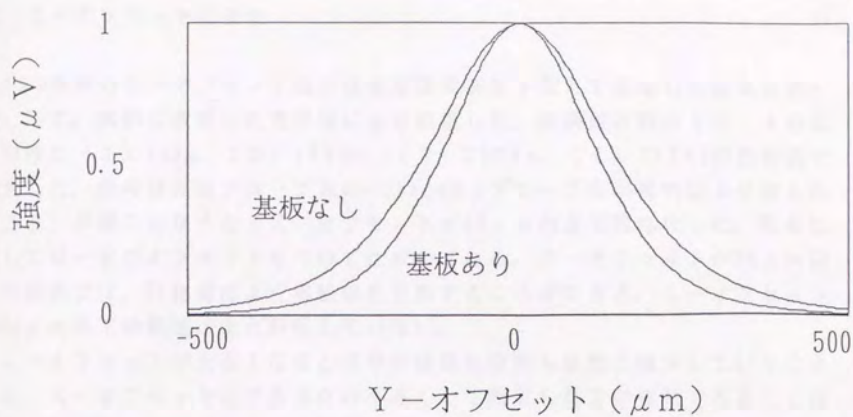


図4.10 基板がOBD信号のY-オフセット依存性に与える影響 (シミュレーション)

D. Z-オフセット依存性

OBD信号のZ-オフセット依存性を変調周波数を変えて測定した結果を図4.11に示す。試料は改善した支持法により測定した。変調周波数は§4.4のCと同様に(1)78Hz、(2)177Hz、(3)333Hz、(4)777Hzの四種類で測定した。信号強度はプローブ光のeclipse(プローブ光が試料により遮られること)が起こらなくなるZ-オフセットが $80\mu\text{m}$ の点で規格化した。位相に関しては一定のオフセットをつけて比較してある。Z-オフセットが $80\mu\text{m}$ 以上の範囲では、計算値はよく実験値を予測することができる。Z-オフセットが $80\mu\text{m}$ 以下の範囲はまだ解析していない。

Z-オフセットが大きくなると信号の強度も位相も急激に減少していくことから、Z-オフセットをできるだけ小さくして測定した方が有利であることは容易に見て取れる。同時にこの結果は定量結果がZ-オフセットに非常に敏感であることを意味しており、定量分析の際にはZ-オフセットを正確に一定に保つことが重要となる。

実際にOBD法を定量分析に応用した研究に於いては、プローブ光のオフセットを一定に保つことが困難なためにオフセットのばらつきが定量結果に大きく影響を与えてしまい障害となっている。測定する際に位相も同時に測定しておけば、位相差から図4.11の関係をを用いてZ-オフセットの差が求められるので、信号強度をそのZ-オフセットの差の分だけ補正すれば、データ処理によりZ-オフセットが一定のデータが得られるはずである。この方法を使えば、測定の際にZ-オフセットを測定毎に一定に保つ必要はなくなり測定が簡便になるだけでなく、定量結果がZ-オフセットのばらつきによる影響を受けなくなり、再現性良く定量することが可能になると思われる。

この方法が原理的に有効であることを示すために、図4.11の信号強度のZ-オフセット依存性のデータを位相により補正した結果を図4.12に示す。高い周波数でZ-オフセットが大きくなるにはばらついているが、この原因はある程度の大きさを持っている実験値をゼロに近い計算値で割り算を行ったためである。また低い周波数でやや右上がりの傾向を示しているが、これは各周波数で一律Z-オフセットが $80\mu\text{m}$ のところ規格化した点に問題があると思われる。プローブ光のeclipse効果が現れるZ-オフセットは周波数により多少異なっており、周波数が低いほど大きなZ-オフセットでもeclipse効果が見られる傾向があった。従って、低い周波数のデータに関してはもっと大きなZ-オフセットでの値で規格化すれば、この傾向は見られなくなるはずである。図4.12から見て、定性的にはこの予測は妥当なものである。それらの点を除けば

信号強度はZ-オフセットの如何に関わらず一定の値となっており、位相によるZ-オフセットの補正法は有効であることが示された。



図4.11 0°位相のZ-オフセット依存性

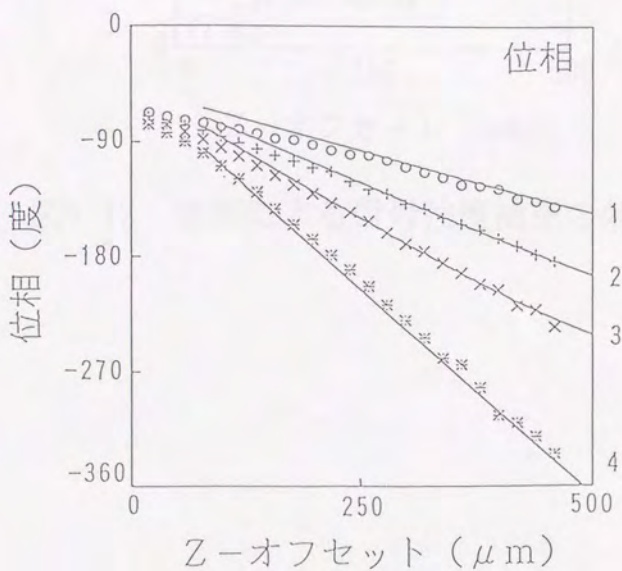
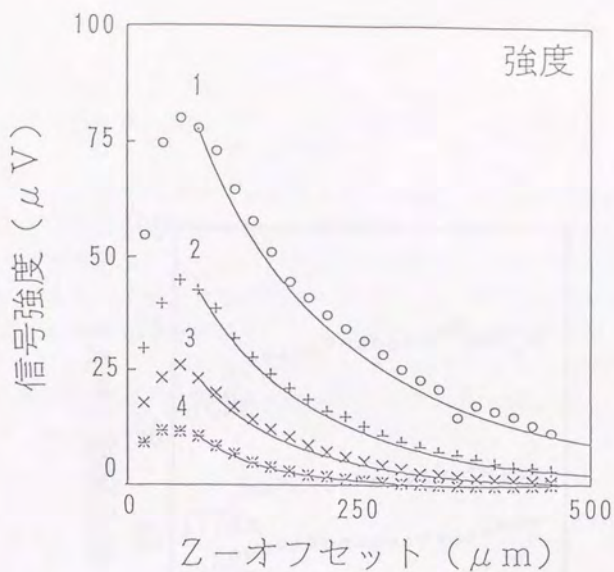


図4.11 OBD信号のZ-オフセット依存性

(1: 78 Hz; 2: 177 Hz; 3: 333 Hz; 4: 777 Hz)

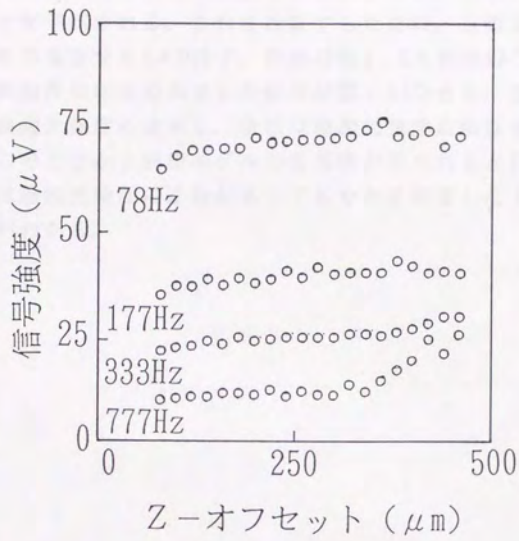


図4.12 位相による信号強度補正の効果

E. 励起光強度依存性

理論式からOBD信号の強度は励起光強度に比例するが、位相は励起光強度には依存しないことが予測される。これを検証するために、三種類の粒子（金属のオキシ錯体を吸着させたXAD粒子、詳細は図4.2を参照のこと）を用いてOBD信号の励起光強度依存性を測定した結果が図4.13である。粒子の種類によらず信号強度は励起光強度に比例し、位相は励起光強度に依存せず一定で、予想と一致した。このことから解析モデルの妥当性が示されると同時に、位相を利用する分析では励起光強度に変動があってもそれを考慮しなくて済むという利点があることがわかる。

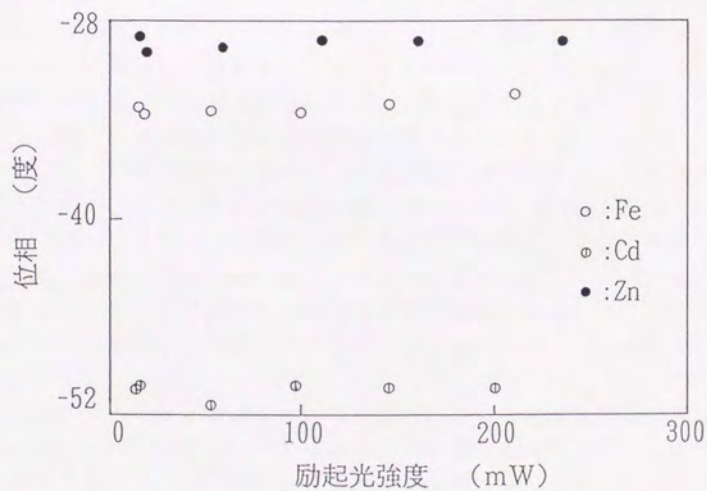
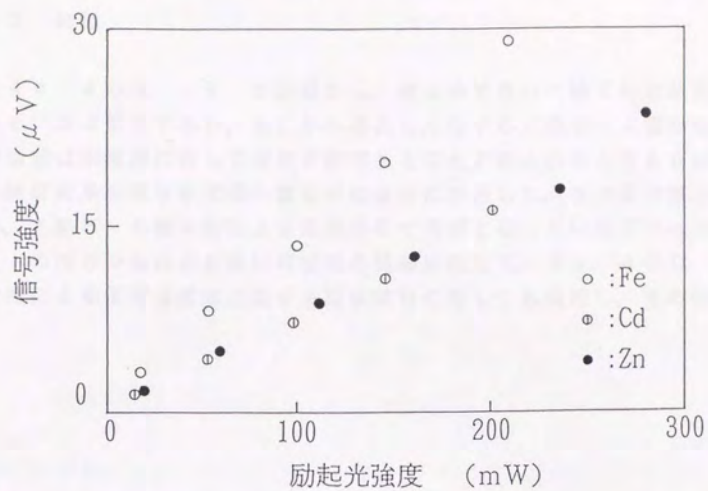


図4.13 OBD信号の励起光強度依存性

§ 4. 5 結論

以上 § 4. 4 の A. - E. の結果から、第 2 章で用いた粒子の光熱変換効果の解析モデルは妥当であり、そこから導出した粒子の光熱ビーム偏向信号に関する理論式は本測定に対して適用可能であることが示されたと考えられる。そこで、解析結果を第 6 章で単一微粒子の分析に応用した。その前の第 5 章に於いては、光熱ビーム偏向法による定量分析で問題となっていたプローブ光のオフセットのばらつきによる悪い再現性の問題に対して、§ 4. 4 の D. で提案した位相による信号強度補正法を平面状試料に対しても適用し、その改善を図った。

第5章 光熱ビーム偏向法の定量分析への応用（平面）

§ 5. 1 緒言

第5章では、光熱ビーム偏向法の平面状試料の定量分析への応用について検討した。定量分析に本法を用いる際に問題となっていた再現性の悪さの主たる原因がプローブ光のオフセットであることをつきとめ、理論解析の結果から位相による信号強度の補正法を提案した。この手法を免疫分析に応用し、その有効性について検討した。

§ 5. 2 定量分析の問題点

光熱ビーム偏向法による免疫物質の定量を行っているうちに、本法が有している欠点が明らかになってきた。それは同じ条件下で作製した免疫試料の測定結果の再現性が頗る悪いということであった。測定結果が、50%程度の差を生ずる事がざらであった。原因としては大きく分けて二つ考えられる。一つは免疫試料作製時における再現性の問題であり試料調製の最適化努力が必要であるが、もう一つは測定系側の再現性の問題である。

この原因は、一つの試料のみを用いて繰り返し測定をすることで確かめられる。アライメントを一度設定すると試料一シリーズ（一つのガラスシートに乗っている）の測定に於いては再現性よく測定できるが、光学系を設定し直したりメンブランの乗っているガラスシートを取り替えると途端に再現性が悪くなる。このことから、再現性の悪さの測定系側の問題は即ち、アライメントの問題、特に試料表面とプローブ光との距離（ビームオフセット）の問題であることがわかってきた。

このビームオフセットの問題は、再現性だけでなく定量性にも悪影響を及ぼす。それは異なるガラスシートを用いるだけで信号強度が大きく変化することから容易に想像がつく。しかもガラスシートの厚みが数 $10\mu\text{m}$ レベルで制御されているとすれば、このオーダーでの制御がなされない限り、本法は定量には向かないことを意味する。

以上述べてきたことから、本法を定量分析に応用するためには、このビームオフセット設定の問題は絶対克服しなければならない問題である。第2章で述べたように、ビームオフセットと信号強度にはある一定の関係がある。詳細は本章3節以降に譲るとして、ここではその依存度に注目してみたい。例えば励起光変調周波数 320Hz の条件下で光熱ビーム偏向信号を測定すると、空気の熱

拡散長が $137.5\mu\text{m}$ であるから、ビームオフセットが $864\mu\text{m}$ 変わると信号強度が約1桁変化する。これは、オフセット $10\mu\text{m}$ で約2.70%、 $50\mu\text{m}$ で14.2%の誤差を生ずることを意味する。10数%の誤差を内包している測定系で高精度測定が可能になるとは到底思えない。

そこで本章では、光熱ビーム偏向信号とビームオフセットとの関係の解析結果からこのビームオフセットを補正する方法を提案し、実際の免疫分析に応用した。

表5.1 悪い再現性、定量性の要因

| 試料系 | 測定系 |
|-----------------------------------|-------------------------|
| 未熟な試料作製技術 困難な反応制御 不十分なB/F分離 | 困難な光学設定 (特にビームオフセット) |

§5. 3 光熱ビーム偏向信号とビームオフセット (理論)

本研究に用いた試料の特徴から、光吸収物質(金コロイド)は試料の表面近傍に局在すると仮定する。本節ではこの系をモデル化し(図5.1)、理論解析を行って、光熱ビーム偏向信号とビームオフセットとの関係を明らかにする。更に実験的にその妥当性を検証し、信号の位相情報を用いてビームオフセットを補正する方法を提案する。

・熱拡散方程式

いま表面に局在した平面状の光吸収物質に光を断続的に照射した場合を考える。即ち、光吸収物質の厚さが熱拡散長よりも十分小さく、無視できる場合を対象とする。このとき熱拡散方程式は(5.1)式で与えられる。

$$\left(\nabla^2 - \frac{1}{D_i} \frac{\partial}{\partial t} \right) T_i(z, t) = f_i \quad (5.1)$$

ここで、 $D_i = k_i / \rho_i C_i$ 、 k_i 、 ρ_i 、 C_i はそれぞれ領域 i に於ける熱伝導率、密度及び比熱、 T_i 、 f_i は領域 i の温度及び熱源のAC成分をそれぞれ表している。添え字 i は試料基板領域に於いては s 、空気中領域では g を表す。

・境界条件

(1) 界面での発熱量が試料基板と空気中への熱流束の和に等しい

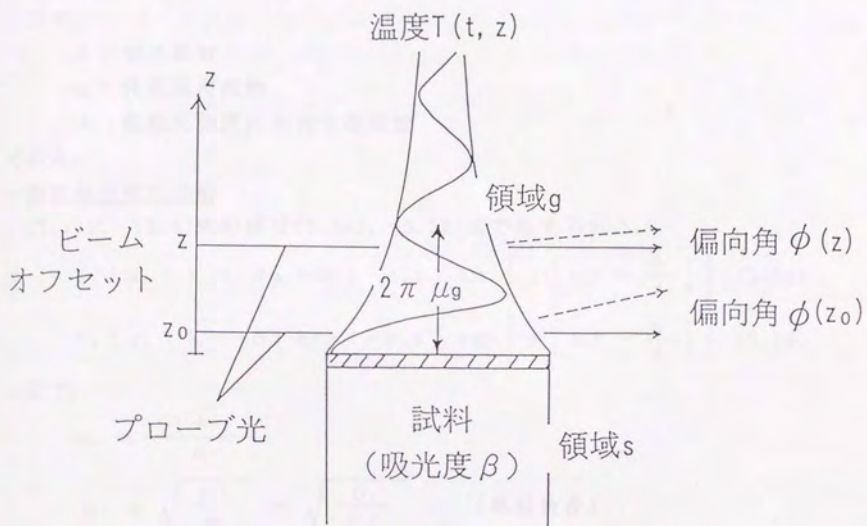


図5.1 位相による信号補正の原理

$$\left[-k_s \frac{\partial}{\partial z} T_s(z, t) \Big|_{z=0} \right] + \left[-k_a \frac{\partial}{\partial z} T_a(z, t) \Big|_{z=0} \right] = A\beta \exp(j\omega t) \quad (5.2)$$

(2) 界面の温度が試料基板側と空気側で等しい

$$T_s(0, t) = T_a(0, t) \quad (5.3)$$

(3) 無限遠点で温度は有限(0)である

$$T_s(-\infty, 0) = T_a(+\infty, 0) = 0 \quad (5.4)$$

ここで、

β : 吸光係数

ω : 角変調周波数

A : 励起光強度に比例する定数

である。

・熱拡散方程式の解

(5.1)式-(5.4)式の解は(5.5A)、(5.5B)式で与えられる。

$$T_s(z, t) = B\beta \exp(-\sigma_s z) \exp \left[j \left(\omega t - \frac{\pi}{4} \right) \right] \quad (5.5A)$$

$$T_a(z, t) = B\beta \exp(-\sigma_a z) \exp \left[j \left(\omega t - \frac{\pi}{4} \right) \right] \quad (5.5B)$$

ここで、

$$\sigma_i = \frac{(1+j)}{\mu_i}$$

$$\mu_i = \sqrt{\frac{2D_i}{\omega}} = \sqrt{\frac{D_i}{\pi f}} \quad (\text{熱拡散長})$$

$$B = \frac{A}{\sqrt{\omega} (\sqrt{\rho_s C_s k_s} - \sqrt{\rho_a C_a k_a})}$$

である。

・光熱ビーム偏向信号

偏向角 $\Phi(z)$ は、(5.6)式-(5.8)式で与えられる。

$$\Phi(z) = \int \frac{1}{n} \frac{dn}{dT} \frac{dT}{dz} dx \quad (5.6)$$

$$= \frac{1}{n} \frac{dn}{dT} \frac{dT}{dz} \int dx \quad (5.7)$$

$$= C\beta \exp\left(-\frac{z}{\mu_s}\right) \exp \left[j \left(\omega t - \frac{z}{\mu_s} - \pi \right) \right] \quad (5.8)$$

ここで、

$$C = \frac{1}{n} \frac{dn}{dT} \frac{\sqrt{2}}{\mu_g} w B、$$

$$w = \int dx \text{ は励起光のスポットサイズ}$$

である。

・信号強度とビームオフセット

信号強度はAC成分の振幅に相当するから、(5.8)式が示すようにその大きさ $A(z)$ 及びその対数表示は、(5.9)式及び(5.10)式と求まる。

$$A(z) = C\beta \exp\left(-\frac{z}{\mu_g}\right) \quad (5.9)$$

$$\log[A(z)] = \log(C\beta) - \frac{z}{\mu_g} \log(e) \quad (5.10)$$

これは、光熱ビーム偏向信号がビームオフセット z に関して指数関数的に減衰することを示している。つまり信号強度の対数は、(5.10)式で示されるように傾き $(-1/\mu_g)$ で直線的に減衰することがわかる。

・位相信号とビームオフセット

位相信号は励起光に対する位相差であるから、(5.8)式からわかるようにその値 $\theta(z)$ は(5.11)式で与えられる。

$$\theta(z) = -\frac{z}{\mu_g} - \pi \quad (5.11)$$

これは、位相がプローブビームオフセットに対して傾き $(-1/\mu_g)$ で一次直線的に減少することを示す。

・吸光係数と光熱ビーム偏向信号

また(5.9)、(5.11)式が示すように、光熱ビーム偏向信号強度 A は試料の吸光係数 β に比例するが、位相信号 θ は吸光係数 β に依存しないことも容易に見て取れよう。

§ 5. 4 光熱ビーム偏向信号とビームオフセット (検証実験)

今まで述べてきたことを実験的に確かめるために、吸光度の異なる試料の光熱ビーム偏向信号強度及び位相の Z -オフセット依存性を測定した。測定は図5.2に示すような装置系で行い、 Z -オフセットは電動ステージをコンピュータで制御し自動的にスキャンすることにより測定した。得られた結果を図5.3に示す。実験値と理論値はよい一致を示した。ただ、ここで強調しておかなけ

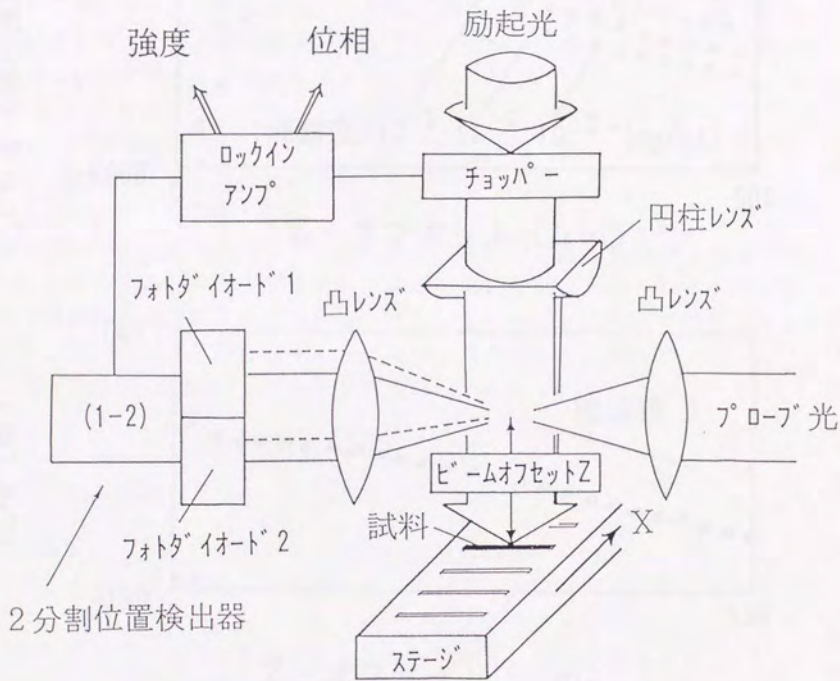


図5.2 Z-オフセット依存性の測定系

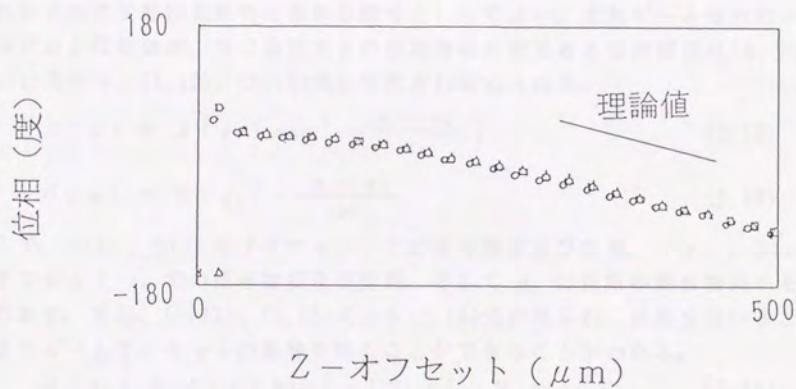
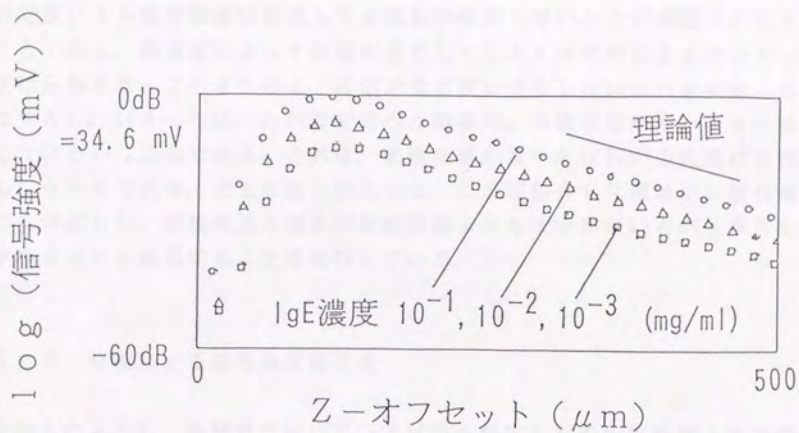


図5.3 吸光度の異なる試料に対する信号のZ-オフセット依存性

ればならないことが二点ほどある。一つは、光吸収物質が薄い場合には、試料の吸光度により信号強度は変化しても位相は変化しないことが確認されたということである。吸光度によって位相が変化してしまえば位相によるオフセット補正は困難となってしまうので、位相が吸光度に依存しないことを実証した意義は大きい。いま一つは、これまで述べた関係が、光吸収層が厚い場合には成立しないということである。これは、光吸収層が厚いと位相が吸光度に依存してしまうからである。以上指摘した二点は、ここに紹介した理論が、理論解析の際に仮定した、光吸収層の厚さが熱拡散長よりも十分小さいという条件を満たす場合にのみ成立することを意味している。

§ 5. 5 位相による信号強度補正法

上述したように、本研究で用いている試料を測定した際の実験値と理論値が良い一致を示したことで、ここで用いている数式の有効性が示された。従って、これからの式変形は実際の意味を持つと見てよい。光熱ビーム偏向のAC成分である信号強度、及び励起光との相対的位相差である位相信号は(5.9)、(5.11)式から、(5.12)、(5.13)式とそれぞれ求められる。

$$A(z) = A(z_0) \exp\left(-\frac{z-z_0}{\mu_s}\right) \quad (5.12)$$

$$\theta(z) = \theta(z_0) - \frac{z-z_0}{\mu_s} \quad (5.13)$$

ここで、 $A(z)$ 、 $\theta(z)$ はオフセット z での信号強度及び位相、 $A(z_0)$ 、 $\theta(z_0)$ はオフセット z_0 での信号強度及び位相、そして μ_s は空気の熱拡散長をそれぞれ表す。また、(5.12)、(5.13)式より(5.14)式が得られ、位相を用いることによりビームオフセットの影響を除くことができることがわかる。

$$A(z_0) = A(z) \exp[-\{\theta(z) - \theta(z_0)\}] \quad (5.14)$$

(5.14)式の物理的意味は以下のように説明できる。即ち、ビームオフセット z で測定された光熱ビーム偏向信号強度は、基準ビームオフセット z_0 での位相 $\theta(z_0)$ と測定点 z での位相 $\theta(z)$ の差の負のエクスポネンシャルを乗ずることで、基準にとったビームオフセット z_0 での測定値に変換することができる。これにより、信号強度と同時に位相も測定しておけば、(5.14)式を用いてデータ処理の段階で、すべてある基準ビームオフセット z_0 での測定値に換算することができる。この位相による信号補正法を用いれば、ビームオフセットに多少のばらつきがあっても克服できることが示された。

§ 5. 6 再現性の向上

5. 6. 1 方法

§ 5. 5に紹介した補正法が実際に有効であるかどうかを確認することを目的に、繰り返し測定の実験を行った。免疫反応の影響がないように、一つの試料をガラスプレート上に付着して測定し、これをガラスプレートを取り替えて数回繰り返した。これにより測定データの再現性は、試料の付着のさせ方及びガラスプレートの厚さのみに依存することになるが、これをビームオフセットの変動と考えると、本補正法により変動分は補正されるはずである。

5. 6. 2 実験

実験条件を表5.2に示す。試料は、ラテックス法により作製した。その概略を図5.4に示す。金コロイド標識したヒトIgG(Immunoglobulin G)を抗原感作したポリスチレン微粒子に免疫吸着させ、これをニトロセルロース膜上にプロットする。このメンブランをガラスプレートに付着させて測定する。繰り返し測定はこの一つの試料を異なるガラスプレート上に貼り替えていくことで行い、繰り返し回数は統計的に意味を持つ最低数の10回とした。試料を走査して信号のピーク面積を算出した(図5.2参照)。

表5.2 実験条件

| 項目 | 値 |
|--------------|------------------------------------|
| (試料) | |
| 方法 | ラテックス法 |
| 免疫試薬(測定対象物質) | ヒトIgG(10^{-1} mg/ml) |
| メンブラン | ニトロセルロース膜 |
| (測定) | |
| 励起光強度 | 100 mW |
| 変調周波数 | 320 Hz |
| ビームオフセット | 位相にして信号最大点より -2.5度(約60 μ m) |
| 繰り返し回数 | 10回 |

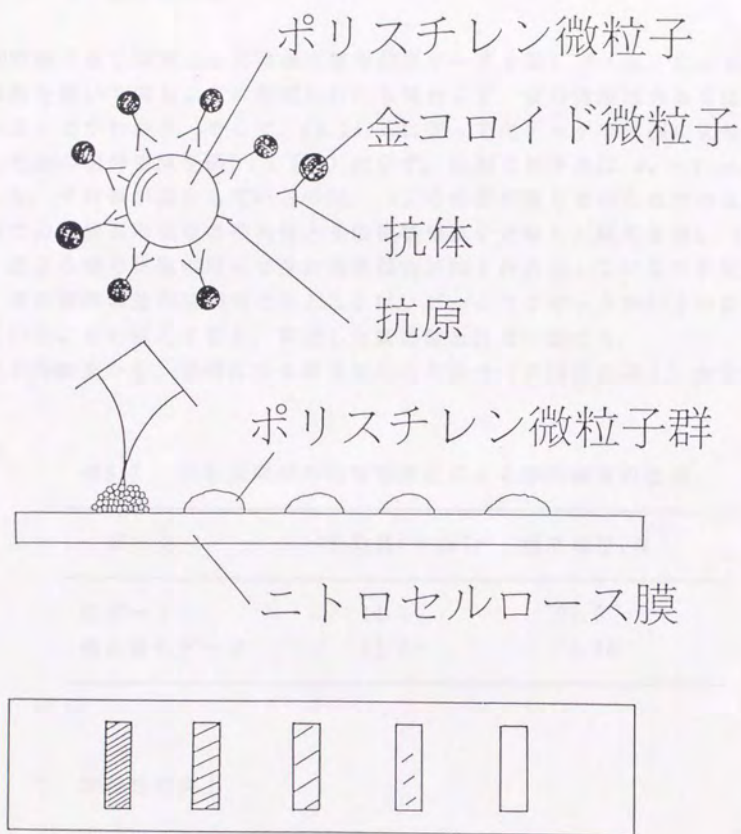


図5.4 ラテックス法による試料作製概要図

5. 6. 3 結果と考察

10回繰り返し測定した光熱偏向信号の生データを図5.5(上)に示す。同一の試料を用いて同じように測定したにも関わらず、信号強度は大きくばらついていることがわかる。そこで、(5.14)式に従って生データを位相により強度補正した後の信号強度を図5.5(下)に示す。位相の基準点は $z_0 = 2$ (mm) の点とした。平均値が減少しているのは、 z_0 の位置の取り方のためである。補正前後での光熱偏向信号の平均値とその標準偏差を比較した結果を表5.3に示した。表より信号強度のばらつきの標準偏差が約1桁向上しているのが見て取れる。また標準偏差が32.6%であることは、ビームオフセットが50 μ m以上変動していることを示しており、前述した変動値とほぼ一致する。

以上の結果から、位相による信号補正の有効性(再現性の向上)が実証された。

表5.3 光熱偏向信号の信号補正による標準偏差の改善

| データ | 平均値($\times 2$ mV) | 標準偏差(%) |
|---------|---------------------|---------|
| 生データ | 14.7 | 32.6 |
| 補正後のデータ | 12.8 | 5.86 |

§ 5. 7 定量性の向上

5. 7. 1 方法

§ 5. 6では、繰り返し測定の結果の検討を通じて位相による信号補正法により再現性を向上できることを実証したが、§ 5. 7では一シリーズの試料を測定したときの、信号補正による定量性の向上について検討する。ある免疫物質の検量線作成のために作製した試料を一枚のガラスプレート上に乗せ(一シリーズ)、今度はこれを走査しながら測定して、その走査中のビームオフセットの変動の影響を検討する。

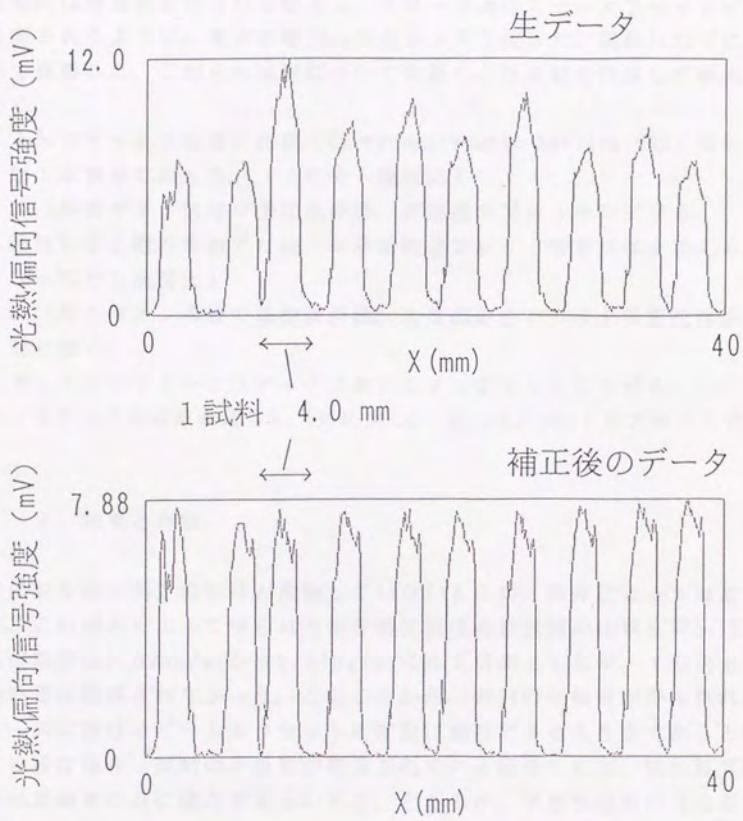


図5.5 繰り返し測定における信号補正の効果

5. 7. 2 実験

検出器には四分割型 PSD を使用し、プローブ光はビームオフセットがきちんと反映されるように、焦点距離 10cm の凸レンズで絞った。試料は以下に記した方法で作製した。これらの試料について定量し、検量線を作成して検出限界を求める。

- ① 1% ラテックス溶液に抗原 (Carcinoembryonic Antigen:CEA) 溶液を 1 対 1 の割合で加える。(4℃で1晩反応)
- ② 0.1% カゼイン溶液で遠沈洗浄後、同溶液でブロッキングする。
- ③ 遠沈して上澄みを捨てた後、十分量の金コロイド吸着抗体を加える。(4℃で1晩反応)
- ④ 0.1% カゼイン溶液で遠沈洗浄後、未反応の金コロイド吸着抗体を取り除く。
- ⑤ ドットプロッターでラテックス粒子をメンブラン上にのせる。
(ラテックス溶液濃度を 0.5% に戻し、100 μ l / well をプロットする。)

5. 7. 3 結果と考察

位相は繰り返し測定の時ほど変動していないものの、条件によっては変動があった。この測定によって得られた信号補正前後の検量線の比較を図 5. 6 に示す。検出限界は 5.62 ng/ml から 2.51 ng/ml に約 2 倍向上したが、1 桁向上するほどの改善は観察されなかった。このことから、試料の平板性が得られれば、一シリーズに於けるビームオフセットの変動は無視できる大きさであるといえる。この様な場合 (試料の平板性が確保されている場合) には、検出限界は試料調製の正確さのみに依存するといえる。ところが、平面性の悪い (走査方向に対して傾いている) 支持台に変えて測定したところ、位相がかなり変動した。ここでは、信号補正の効果が観察された。この二つの実験結果から、支持台の平板性の確保の重要性及びそれが確保されなかったときの位相による信号強度補正の有効性が実証された。

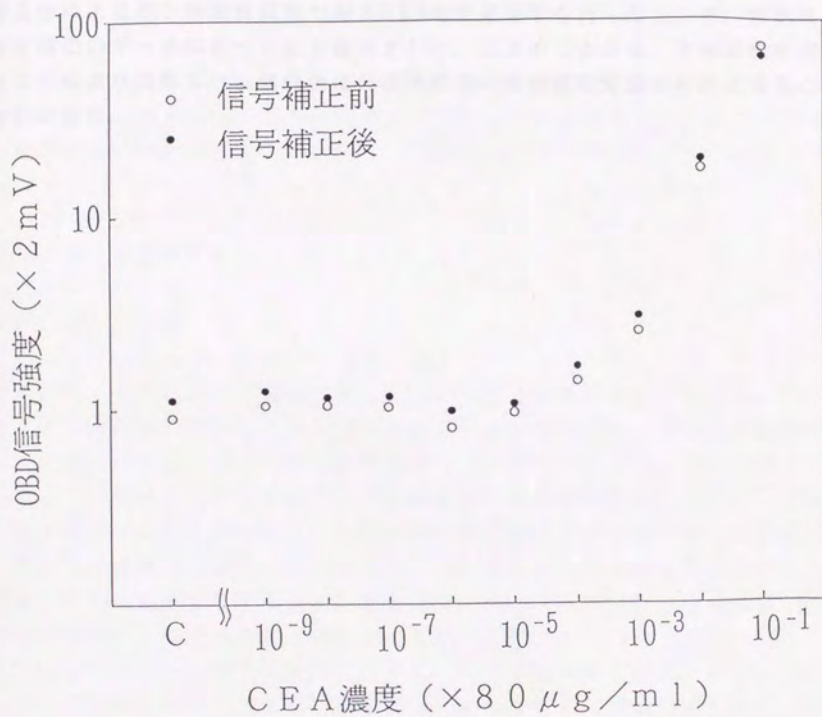


図5.6 信号補正前後のCEAの検量線の比較

§ 5. 8 結論

光熱ビーム偏向法を定量分析に応用する際に問題となっていたプローブ光のオフセットを、位相を用いて補正する方法を提案した。この補正法により同一試料の繰り返し測定に於ける信号強度の標準偏差は約1桁向上した。また、この方法によりガン特異性抗原であるCEAの定量分析を行ったところ、検出限界も未補正のデータに比べて約2倍向上した。以上のことから、本補正法を用いることにより光熱ビーム偏向法は再現性の良い高感度な定量分析法となることが示された。

第6章 光熱ビーム偏向法による微粒子の分析

§ 6. 1 緒言

第6章では、光熱ビーム偏向法による微粒子の分析として、定量分析とデブスプロファイリング分析への応用について検討した。光熱ビーム偏向法が微粒子のように曲率を有する試料に対して原理的に高感度であることに注目して、微粒子一粒で免疫分析を行うことを検討した。また微粒子のデブスプロファイリング分析への応用では、吸着層の厚さが異なる三種類の粒子（粒径 $300\mu\text{m}$ のXAD粒子、詳細は第4章を参照のこと）をモデル試料として用いて、光熱ビーム偏向法のデブスプロファイリング分析法としての可能性について検討した。

§ 6. 2 定量分析

6. 2. 1 背景

光熱ビーム偏向法は粒子のように曲率を有する試料に対して平面状の試料よりも原理的に高感度であることがわかってきた。光熱ビーム偏向法は試料近傍に生じる温度勾配によりプローブ光が偏向するのを検出する方法であるが、粒子のように曲率を有する試料ではその温度勾配が試料自体の曲率のためにより急峻になることから、光熱ビーム偏向法が曲率を有する試料に対して高感度となることは理解できる[6, 1]。そこで、この光熱ビーム偏向法が微粒子に対して特異的に高感度であるという性質を利用して、微粒子一個に免疫吸着した免疫物質を効率よく定量する方法を検討した。

免疫分析に於いては粒子を反応固相として用いる方法は目新しいことではなく、ラテックス凝集法などその発想は古くから分析に応用されていた。当研究室の光熱ビーム偏向法による免疫分析に於いては、当初その簡便性の故にメンブラン上で免疫反応を起こさせるメンブラン法を用いていたが、比表面積が大きく吸着量が増大すること、B/F分離が確実にできること等の点を考慮してラテックス法へ移行して高感度化を図っていた。

しかし、これは多粒子系が測定対象であり、光熱ビーム偏向法の特徴を直接利用しているものではない。また粒子一粒で免疫測定が行えれば、検体量が少なく済む等のメリットがあることから、我々は微粒子一個での免疫測定を提案した。その研究経緯の中で、ラテックス法のように多数の粒子の平均値を測定する方法ではその吸着量が仕込の量に比例しているが、その粒子一粒一粒を

見てみると必ずしも均一に吸着していないことがわかってきた。一般にラテックス法等で用いられている粒子は粒径が μm オーダーで非常にばらつきの小さい製品が市販されている。これに対し、光熱ビーム偏向法による単一微粒子の免疫分析に於いては、測定上の都合から粒径が $100\mu\text{m}$ 程度の粒子を用いたが、粒径のばらつきが大きく免疫反応の条件の検討もまだ行われていない領域であった。現在までのところ粒子個々のばらつきをなくす反応条件はいまだ見い出されていない状況にある。

そこで本研究では、粒子一個一個についてその吸着量をファーンエス原子吸光法 (Atomic Absorption Spectroscopy:AAS法) により決定し光熱ビーム偏向法との相関を取ることにより、光熱ビーム偏向法による単一微粒子の定量分析について検討した。

6. 2. 2 実験

(試料)

ポリスチレン微粒子 (中心粒径 $150\mu\text{m}$) 上で金コロイド標識の抗原抗体反応 (抗原はヒトIgG) を起こさせたもの。作製法はメンブラン法やラテックス法と同様。今回は仕込量は変えず、一定の仕込量で試料を作製した。仕込が一定でも検量線が作れるほどばらつきがある。吸着量をできるだけ一定にするように攪拌操作を加えた。

(ファーンエス原子吸光法)

装置 : 島津原子吸光光度計 (AA-646)

グラファイトファーンエスアトマイザ (GFA-3)

条件 : Arガス流量 : $1.5\text{l}/\text{min}$

dry : 150°C , 40sec

ash : 750°C , 30sec

atomize : 2300°C , 6sec

(光熱ビーム偏向法)

励起光 : Arレーザ 514.5nm 、出力 20mW

変調周波数 : 320Hz

6. 2. 3 結果と考察

測定は粒子一個一個につき光熱ビーム偏向法により測定した後、原子吸光法により吸着量を決定した。横軸に原子吸光法により決定した金の吸着量を、縦軸に光熱ビーム偏向信号強度を取って光熱ビーム偏向法による金の検量線を作成した。この一連の実験を三回行った。

まず粒子個々の吸着量のばらつきの大さを示すために、金の吸着量のポリスチレン粒子径依存性を図6.1に示す。試料は仕込濃度一定で調製したもので、理想的にはすべての粒子に対して粒径が同じならば同量の金が吸着しているはずのものである。しかし、原子吸光法及び光熱ビーム偏向法のどちらの測定結果も金の吸着量のばらつきが大きく、単純な粒径依存性も見られない。このままでは仕込濃度を10倍ずつ変えて試料調製しても、仕込による吸着量の変化よりも個々の濃度での吸着量のばらつきの方が大きいので、検量線を作ることができない。

原子吸光法で金の定量を行うために必要な検量線を作成した。その結果を図6.2に示す。原子吸光法による検量線の直線域は一般に狭く、本測定結果も金濃度500ppb(金の絶対量10ng)で飽和しているのが観察された。検出限界は本測定系に於いては、金の絶対量でサブng程度と見積もられた。

次に実際に粒子一個一個を光熱ビーム偏向法により測定し、その後原子吸光法による測定を行った。その結果の相関を図6.3に示す。横軸に原子吸光の吸光度を、縦軸には光熱ビーム偏向信号強度を取ってある。ある程度高い濃度領域ではほぼ相関が見られ、光熱ビーム偏向法による定量分析が可能であることを示している。低濃度領域では原子吸光法による測定が困難なためにばらつきが大きくなっているが、その領域でも光熱ビーム偏向法による測定結果はブランク試料(金が吸着していないポリスチレン微粒子)の信号強度値を有意に越えた信号強度を観測しており、原子吸光法よりも高感度な定量分析法となり得ると考えられる。

図6.3の結果から、図6.2の原子吸光法による金の検量線を用いて粒子に吸着している金の量を求め、光熱ビーム偏向法による金の検量線を作成したのが図6.4である。横軸は原子吸光法により求めた粒子一個に吸着している金の量で、縦軸が光熱ビーム偏向信号強度である。三回の測定結果はまちまちではあるが、金の量が少ない領域、つまり原子吸光法による測定が困難な領域を除けば、ほぼ光熱ビーム偏向信号は濃度に応じた値を示している(図6.5)。検出限界は原子吸光法の結果から考えてサブng以下と見積もられる。また、光熱ビーム偏向法の測定は励起光出力20mWで行ったことを考慮すると、市販のファースト原子吸光法よりも高感度となる可能性がある。

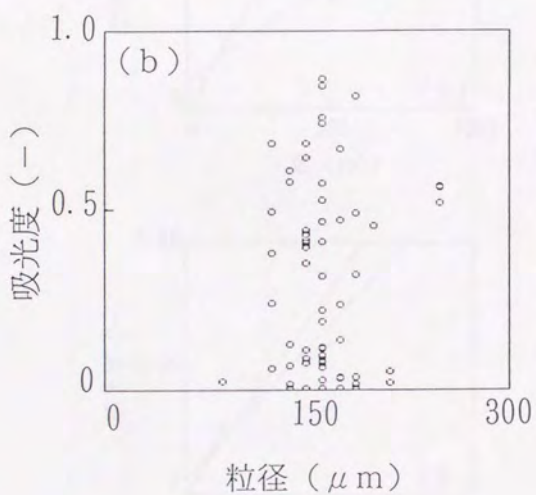
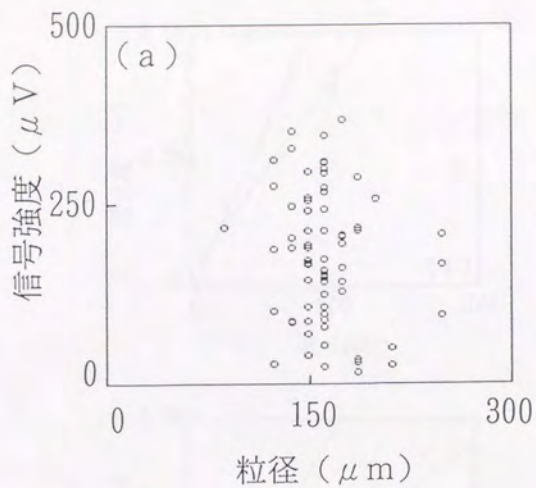


図6.1 金の吸着量のポリスチレン粒子径依存性
 (a) 光熱ビーム偏向法 (b) 原子吸光法

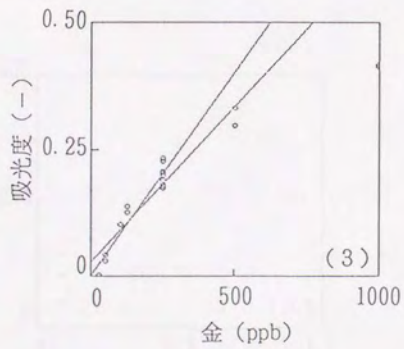
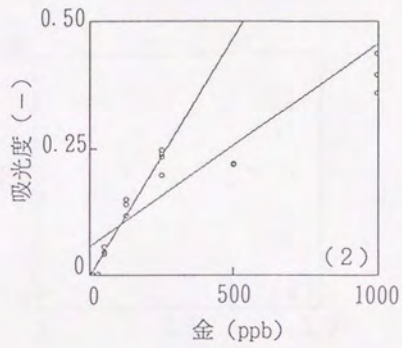
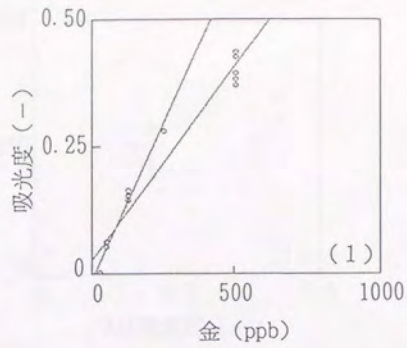


図6.2 原子吸光法による金の検量線

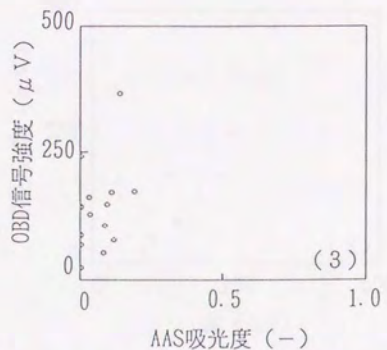
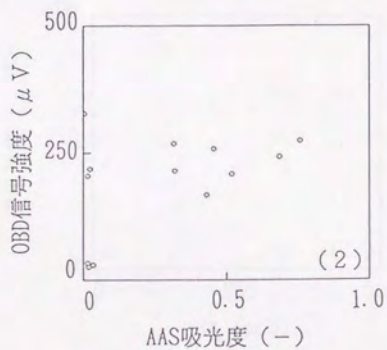
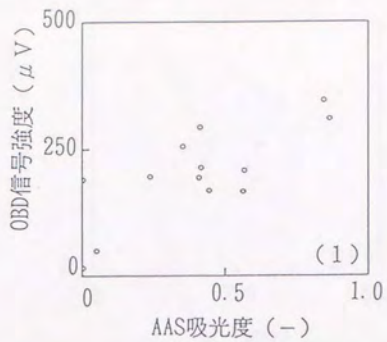


図6.3 OBD法とAAS法の相関

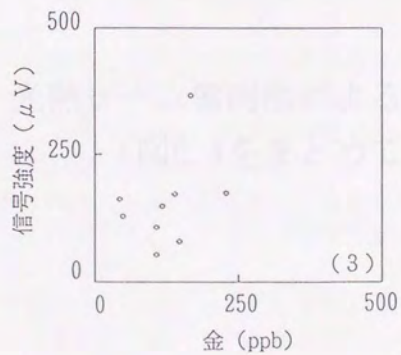
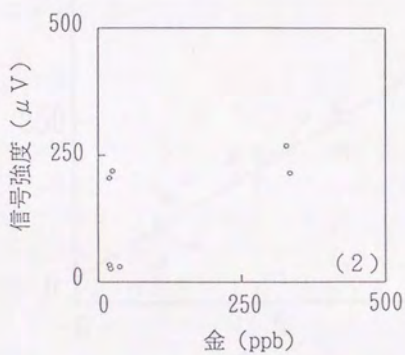
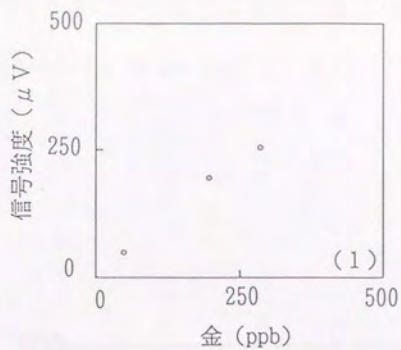


図6.4 光熱ビーム偏向法による金の検量線

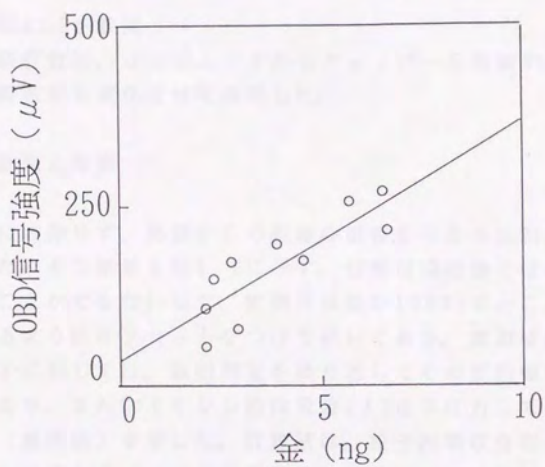


図6.5 光熱ビーム偏向法による金の検量線
(図6.4をまとめて)

§ 6. 3 デプスプロファイリング分析

6. 3. 1 実験

(試料)

§ 4. 3 の図4. 3を参照

(測定系)

§ 4. 3 の図4. 2を参照

変調周波数依存性は、コンピュータからチョッパーを制御することにより自動的に変調周波数を変化させて測定した。

6. 3. 2 結果と考察

励起光強度に依存せず、熱源からの距離の情報を与える位相の変調周波数依存性を測定した。その結果を図6. 6に示す。位相は現段階ではその絶対値を用いて解析することができないので、変調周波数が100Hzのところですべての測定値が一致するようにオフセットをつけて描いてある。実測値はFeオキシソ錯体吸着XAD粒子に対しては、数回測定を繰り返してその変動幅中の最大値と最小値を示してある。またCdオキシソ錯体吸着XAD粒子に対しては、最も頻りに測定された値(最頻値)を示した。計算値は、粒子内吸収分布が均一な場合と吸収層の厚さが表面から6 μ mの二層構造の粒子について実線で示してある。吸収層の厚さが6 μ mの場合と12 μ mの場合では、この周波数範囲(100Hzから1000Hz)で約5°の位相変化量の差を生じると計算されるが、Feオキシソ吸着粒子の測定結果の変動幅を考えると、実験的にはっきりとFeオキシソ錯体吸着XAD粒子とCdオキシソ錯体吸着XAD粒子とを区別することはできなかった。しかし、粒子内濃度分布が一様なものとそうでないものとはその位相の変調周波数依存性の傾向は計算値から予測される傾向と一致しており、この結果から位相の変調周波数を測定することにより微粒子のデプスプロファイリング分析が可能であることが示された。

第4章の粒子の光熱ビーム偏向信号の解析結果から考えると、位相に影響を与える項には二つあり、その中の一つが本節で検討した粒子内部の吸光度分布である。いま一つがいつも問題となるプローブ光のオフセットであり、変化量としてはこの後者の項の方が圧倒的に大きいことから考えれば、位相の変調周波数依存性がばらついてしまうのも不思議ではない。オフセットからの寄与は、実際にオフセットは変化していなくても位相が熱拡散長によって変化するので、

試料近傍の温度場が攪乱を受けるとそれが影響を与えてしまう。これらの悪影響を避ける方法としては、位相の絶対値を利用する方法が考えられる。この方法を用いると比較的大きな位相変化を見ることになるので、測定の精度向上が期待できる。しかしながら、測定毎に位相の校正が必要となり、そのためには試料内部の吸光度分布が既知の微粒子が必要となるという非実用的な問題が生じてしまう。

以上、光熱ビーム偏向信号の位相情報から微粒子の吸収層の厚さに関する情報を得ることができることを示した。この結果から、本法は粒子内の化学種の濃度分布が何らかの刺激により変化するような系、例えばin-situで細胞の代謝等をモニターする手法となることが期待できる。

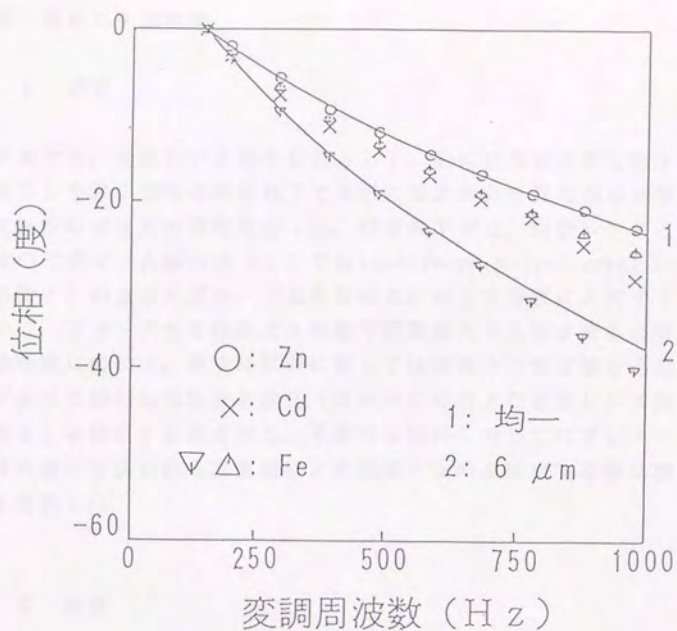
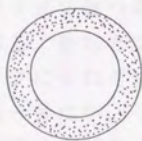


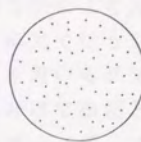
図6.6 位相の変調周波数依存性
(吸着層厚の異なる試料)



Fe-oxine/XAD



Cd-oxine/XAD



Zn-5-NO₂-oxine/XAD

第7章 顕微光熱変換法

§ 7. 1 緒言

第7章では、実試料の分析を目的として、更に粒径の小さな粒子（粒径100 μm 以下）や微小領域を顕微鏡下で実際に測定対象を見ながら測定できる顕微光熱変換法の測定系の開発を行った。顕微鏡下では、対物レンズと試料の配置上通常の光熱ビーム偏向法（ここではtransverse photothermal beam deflectionを指す）のようにプローブ光を励起光に対して垂直に入射することができないので、プローブ光を励起光と同軸で顕微鏡内に入射させる必要がある。試料の透明度に応じて、透明な試料に対しては試料中の温度場を透過してくるプローブ光の空間的な強度分布変化（試料内に形成される熱レンズ効果によると思われる）を検出する透過型と、不透明な試料に対してはプローブ光の散乱光が試料近傍に形成される温度場により偏向するのを検出する散乱型の二つのタイプを提案した。

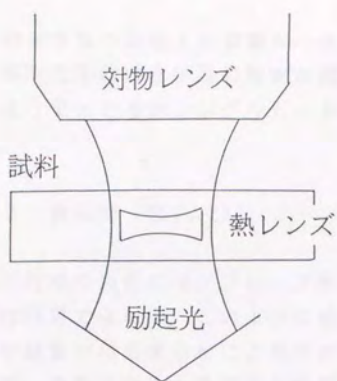
§ 7. 2 原理

7. 2. 1 透過型（図7. 1）

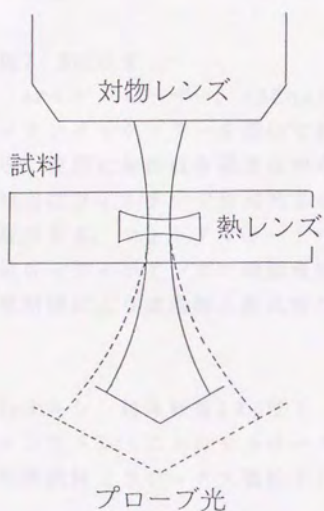
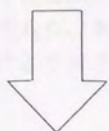
試料が透明な場合には、プローブ光が試料中や試料近傍の媒質中の温度勾配（により形成される熱レンズ）中を通過する時に、その空間的な強度分布が変化することが予想される。これを検出するのが熱レンズ法[7. 1]であり、熱レンズ法は古くからある光熱変換法の一つである。

熱レンズ法は、励起光とプローブ光に幾つのレーザーを使うかにより大きく分けて三種類の検出法がある。即ち、励起とプローブを一本の光で行うシングルビーム法[7. 2]、励起とプローブにそれぞれ別のレーザーを用いるダブルビーム法[7. 3]、そしてレーザーは一台だが、その光を二本に分けて励起とプローブに用いる前の二法の間位置する存在のシングルレーザー/デュアルビーム法[7. 4]の三法である。初期の熱レンズ測定はシングルビーム法で行われていたが、最近では解析の容易さ等の点からダブルビーム法が主流となっている。

本研究では基礎的な検討を行うのが目的なのでダブルビーム法を採用したが、本研究のように測定対象が微小な場合や試料の微小領域を測定したいという場合には、ダブルビーム法では高精度で励起光とプローブ光を同軸にする必要が



試料の光吸収に基づく
熱レンズの形成



熱レンズ効果による
プローブ光の広がり

図7.1 透過型顕微光熱変換法の原理

生じる等の光学系の設定上の困難がつきまとうことになる。従って、シングルビームで測定できれば光学系の設定が飛躍的に簡便になるので、時代の流れに逆行するようではあるがシングルビーム法による測定も今後は検討してみる価値がある。

7. 2. 2 散乱型 (図7. 2)

試料が不透明な場合には、プローブ光は試料を透過しないので前述の透過型の検出法は利用できない。このような場合には、試料表面の変位や変形、また試料近傍の媒質中の温度分布によりプローブ光の散乱光が偏向することが期待されるので、それを検出する方法を検討した。類似のタイプの光熱変換法には光熱変位法[7. 5]や光熱反射法[7. 6]等があるが、いずれもプローブ光の反射光を利用する方法であり、本法のように拡散する散乱光を検出するものではない。従って、本法により信号が得られれば新しい光熱変換法の一つとなり得る。

§ 7. 3 実験

測定系：図7. 3に示す

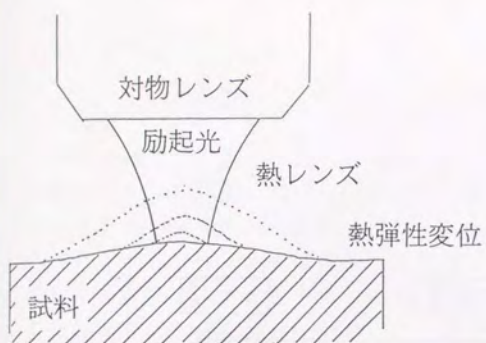
励起光 (Arイオンレーザー、488nm) とプローブ光 (He-Neレーザー、633 nm) をダイクロミックミラーを用いて同軸にし、顕微鏡の写真撮影用の鏡筒から入射する。実際に接眼鏡を覗きながら測定対象に同軸光が当たるように微調整する。検出はフィルターで励起光をカットし、プローブ光のみをフォトダイオードで検出する。フォトダイオードからの信号は、プリアンプで100倍に増幅された後ロックインアンプで同期検出する。

試料の透明度により透過型と散乱型の二つの検出方式を用いた。

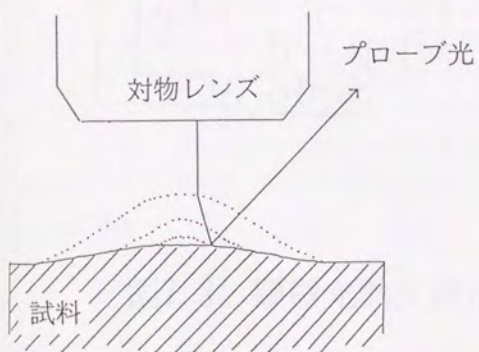
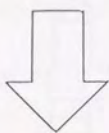
試料

透過型：Feオキシソルゲル吸着XAD粒子 (粒径250 μ m)

散乱型：メンブラン (ニトロセルロース) 上に金コロイド標識した
免疫試料 (ラテックス微粒子) を乗せたもの



試料の光吸収による
試料の変形と熱レンズの形成



熱レンズ及び試料の変位による
プローブ光の偏向

図7.2 散乱型顕微光熱変換法の原理

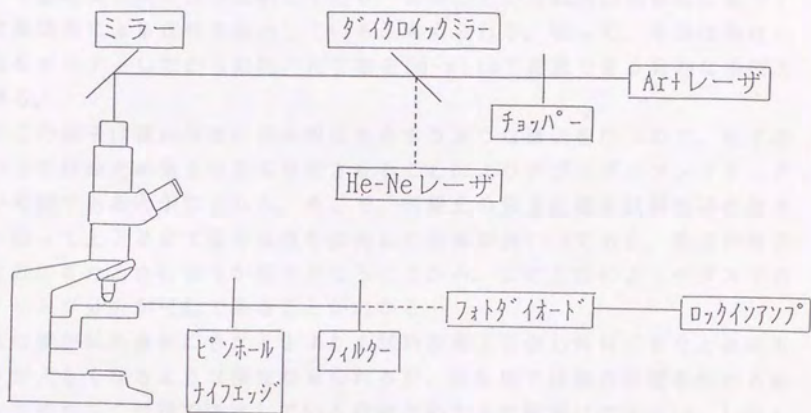


図7.3 顕微光熱変換法による測定系

§ 7. 4 結果と考察

【透過型】

励起光強度に比例した信号が得られた。信号強度の励起光強度依存性の測定結果を図7. 4に示す。試料はFeオキシソルゲル吸着XAD粒子（粒径 $250\mu\text{m}$ ）で、変調周波数 319Hz で測定した。信号強度は測定した励起光強度の範囲（ 100mW 以下）で励起光強度にほぼ比例しており、このことから試料の光吸収に基づく光熱変換効果による信号を検出していると考えられる。従って、本法は染色した細胞をモニターしながら細胞内化学種をin-situで定量できる有効な手法となり得る。

更にこの粒子は試料表面にのみ吸収を有するような構造を持つので、粒子の径に沿って同軸光の焦点位置を移動させることによりデプスプロファイリング分析が可能であると予想される。そこで、同軸光の焦点位置を試料粒子の高さ方向に沿って上下させて信号強度を測定した結果が図7. 5である。焦点が粒子表面付近にきたときに信号が極大となることから、この方法によりデプスプロファイリング分析が可能であることがわかる。

焦点位置が試料表面にきたときよりも試料表面より少し外側にきたときの方が信号が大きくなるような傾向が見られるが、現段階では焦点位置を決める客観的な方法がなく目視で決定している段階なのでまだ断定はできない。しかしながら、何らかの原理的な理由がある可能性もあるので、今後は粒子内吸収分布の異なる粒子を用いて同様の測定を行っていく予定である。

【透過型】

実験条件

試料：F e オキシソルゲル吸着 X A D 粒子
(粒径 $250 \mu\text{m}$)

測定：励起光アルゴンレーザー 488nm
変調周波数 319Hz

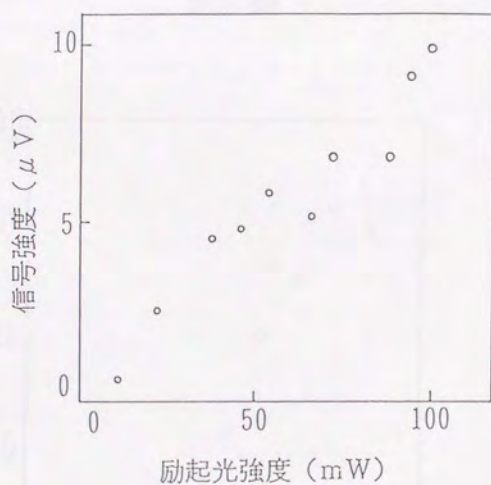


図7.4 信号強度の励起光強度依存性

【透過型】

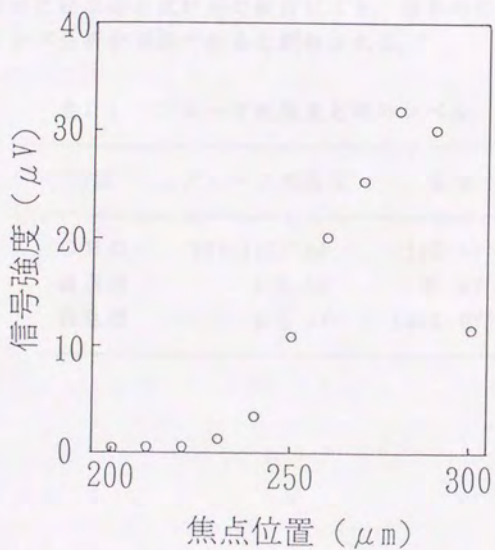
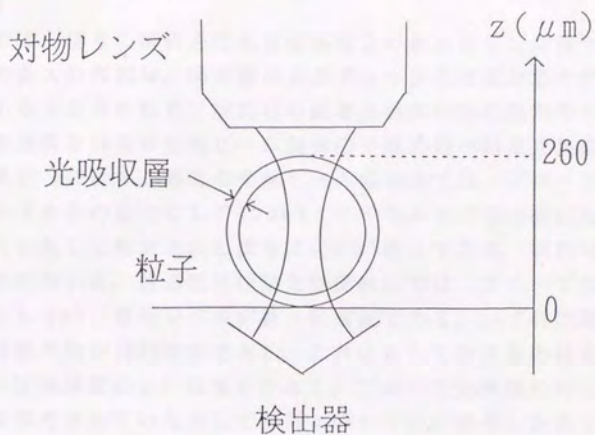


図7.5 同軸光の焦点位置による信号強度変化

【散乱型】

現段階では、信号の解析を行える程再現性のある安定した信号は得られていない。その最大の原因は、検出器に入るプローブ光強度が絶対的に不足していることであろうと思われる。散乱型の顕微光熱変換法の測定時に検出器に入るプローブ光強度を通常の光熱ビーム偏向法や透過型の顕微光熱変換法と比較した結果を表7.1に示す。通常の光熱ビーム偏向法では、プローブ光強度はフォトダイオードからの出力にして300mV(ナイフエッジで半分にしても150mV)あり、それに対して測定される信号は150 μ V程度である。試料はメンブラン上の免疫試料を用いた。透過型の顕微光熱変換法では、プローブ光強度がずっと弱くなって1.5mV、信号レベルが数 μ V程度である。いずれの場合も信号はプローブ光強度の約1/1000程度である。これに対して散乱型の顕微光熱変換法では、プローブ光強度が μ V程度しかなく、プローブ光強度に対して他の二法と同じ割合の信号が出ていたとしても高々nVレベルの信号しか出ていないことになり、現測定系では測定できないことになる。

しかし、原理的には他の光熱変換法と同じだと考えられるので、プローブ光の強度を含めた検出系と試料系の検討により、最終的には散乱型でもデブスプロファイリング分析が可能であると期待される。

表7.1 プローブ光強度と信号レベル

| 方法 | プローブ光強度 | 信号 |
|-------|-------------|-------------|
| O B D | 300(150) mV | 150 μ V |
| 透過型 | 1.5 mV | 数 μ V |
| 散乱型 | 2.5 μ V | (2.5 nV) |

第8章 総括

§ 8. 1 結論

1. フーリエ変換赤外全反射吸収法 (FT-IR/ATR法) により深さ数 μm 内の高分子フィルム表面のけん化度分布を非破壊デプスプロファイリング分析し、結果の妥当性を顕微FT-IR法及び中和滴定により示した。
2. 単一微粒子からの光熱ビーム偏向信号について解析し、解析モデルの妥当性を実験的に示した。更に本法を単一微粒子の定量分析とデプスプロファイリング分析に応用した。
3. 光熱ビーム偏向法による定量分析の際に問題となっていたプローブ光のオフセットの補正法を提案した。この補正法を実際に免疫分析に応用し、再現性の向上等その有効性を実証した。
4. 実際の微粒子分析に対応できるように顕微光熱変換法の測定系を検討し、デプスプロファイリング分析の可能性を示した。

以上のことから、光による非破壊デプスプロファイリング分析法は、新たな三次元分析法として期待できる。

§ 8. 2 今後の展望

光による非破壊デプスプロファイリング分析法の開発という観点から本研究を振り返り、本研究の位置づけと意義及び今後の展望と課題を表8.1にまとめた。吸収を考慮した理論を用いて一般的な逆積分変換が可能となったときに、光によるデプスプロファイリング分析法は真に実用的な手法となるであろう。

表8.1 本研究の位置づけと今後の課題

| 濃度プロファイル | 試料の吸収小 | 試料の吸収大 |
|----------|-------------------------|---------------------|
| 予測可能 | 本研究 | 吸収を考慮した 厳密な理論が必要 |
| 全く未知 | 一般的な逆積分変換の アルゴリズムが必要 | 両者が必要 |

参考文献

第1章

§ 1. 2

- 1.1 I. Newton, "Opticks", Dover Publications, New York (1952)
- 1.2 A. M. Taylor and A. M. Glover, J. Opt. Soc. Am. 23, 206, (1933)
A. M. Taylor and D. A. Durfee, J. Opt. Soc. Am. 23, 262, (1933)
A. M. Taylor and A. King, J. Opt. Soc. Am. 23, 308, (1933)
- 1.3 N. J. Harrick, "Internal Reflection Spectroscopy", Harrick Scientific Corp., New York, (1967)
- 1.4 J. Fahrenfort, Spectrochim. Acta, 17, 698 (1961)
- 1.5 W. N. Hansen, Spectrochim. Acta, 21, 815 (1965)
- 1.6 D. J. Carlsson and D. M. Wiles, Macromolecules, 4(2), 174 (1971)
- 1.7 H. G. Tompkins, Appl. Spectrosc., 28, 335 (1974)
- 1.8 F. M. Mirabella, J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed., 21, 2403-17 (1983)
C. S. P. Sung and C. B. Hu, Adv. Chem. Ser. (Multiphase Polym.), 176, 69 (1979)
J. P. Sibiliala, J. Appl. Polym. Sci. 17, 2911-4 (1973)
- 1.9 T. Hirschfeld, Appl. Spectrosc., 31(4), 289 (1977)
- 1.10 T. Hirschfeld, Appl. Spectrosc., 24(2), 277 (1970)
- 1.11 N. J. Harrick, J. Opt. Soc. Am., 55, 851 (1965)
N. J. Harrick and F. K. du Pre, Appl. Opt., 5, 1739 (1966)
- 1.12 P. A. Wilks Jr. and T. Hirschfeld, Appl. Spectrosc. Rev., 1(1), 99 (1967)
- 1.13 C. S. Blackwell, P. J. Degen, and F. D. Osterholtz, Appl. Spectrosc., 32(5), 480 (1978)

§ 1. 3

- 1.14 澤田嗣郎「光音響法とその応用-PAS」(学会出版センター, 1982)
A. Rosencwaig "Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy", (John Wiley & Sons, New York, 1980)
V. P. Zharovm, V. S. Letokov, "Laser Optoacoustic Spectroscopy", (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1986)

- A. Mandelis ed., "Photoacoustic and Thermal Wave Phenomena in Semiconductors", (Elsevier Science Publ., 1987)
- 1.15 A. G. Bell, *Am. J. Sci.*, 20, 305 (1880)
- 1.16 N. Teramae and S. Tanaka, *Appl. Spectrosc.*, 39, 797 (1985)
- 1.17 杉谷嘉則, *化学の領域*, 35, 848 (1981)
杉谷嘉則, *ぶんせき*, 146, 131 (1987)
- 1.18 M. A. Fromowitz, P. Yeh, and S. Yee, *J. Appl. Phys.*, 48, 209 (1977)
- 1.19 A. Harata and T. Sawada, *J. Appl. Phys.*, 65(3), 959-63 (1989)
- 1.20 A. Mandelis, S. B. Peralta, and J. Thoen, *J. Appl. Phys.*, 70(3), 1761-70 (1991)
A. Mandelis, E. Schoubs, S. B. Paralta, and J. Thoen, *J. Appl. Phys.*, 70(3), 1771-7 (1991)
- 1.21 浅井富雄ほか監修 「気象の辞典」 平凡社
- 1.22 A. C. Boccara, D. Fournier, and J. Bodaz, *Appl. Phys. Lett.*, 36 (2), 130-2 (1980)
- 1.23 J. C. Murphy and L. C. Aamodt, *J. Appl. Phys.* 51, 4580-8 (1980)
W. B. Jackson, N. M. Amer, A. C. Boccara, and D. Fournier, *Appl. Opt.* 20, 1333-44 (1981)
L. C. Aamodt and J. C. Murphy, *J. Appl. Phys.* 52, 4903-14 (1981)
L. C. Aamodt and J. C. Murphy, *J. Appl. Phys.* 54, 581-91 (1983)
- 1.24 H. Sontag and A. C. Tam, *Opt. Lett.*, 10, 436 (1985)
- 1.25 M. J. D. Low, et. al., *Appl. Spectrosc.*, 36(5), 582 (1982)
T. I. Chen and M. D. Morris, *Anal. Chem.*, 56, 19 (1984)
- 1.26 A. C. Boccara, D. Fournier, W. Jackson, and N. M. Amer, *Opt. Lett.*, 5, 377 (1980)
A. Mandelis, *J. Appl. Phys.*, 54, 3404-9 (1983)
- 1.27 P. K. Kuo, M. J. Lin, C. B. Reyes, L. D. Favro, R. L. Thomas, D. S. Kim, Shu-yi Zhang, L. J. Inglehart, D. Fournier, A. C. Boccara, and N. Yacoubi, *Can. J. Phys.*, 64, 1165 (1986)
- 1.28 H. Sontag, A. C. Tam, and P. Hess, *J. Chem. Phys.*, 86, 3950 (1987)
- 1.29 M. Havaux, L. Lorrain, and M. Leblanc, *Photosynth. Res.*, 24, 63 (1990)
- 1.30 J. A. Sell, D. M. Heffelfinger, P. L. G. Ventzek, and R. M. Gilgenbach, *J. Appl. Phys.*, 69, 1330 (1991)

- 1.31 J. Wu, T. Kitamori, and T. Sawada, *Appl. Phys. Lett.*, 57(1), 22-4 (1990)
- 1.32 J. Wu, T. Kitamori, and T. Sawada, *J. Appl. Phys.*, 69(10), 7015-20 (1991)
- 1.33 J. Wu, T. Kitamori, and T. Sawada, *Anal. Chem.*, 63, 217-9 (1991)

第 2 章

§ 2. 2

- 2.1 N. J. Harrick, "*Internal Reflection Spectroscopy*", Harrick Scientific Corp., New York (1967)
- 2.2 N. J. Harrick, *J. Opt. Soc. Am.*, 55, 851 (1965)
- 2.3 F. M. Mirabella JR., *Appl. Spectrosc. Rev.*, 21, 45-178 (1985)
- 2.4 N. J. Harrick and F. K. Du Pre, *Appl. Opt.*, 5(11), 1739 (1966)
- 2.5 W. N. Hansen, *Spectrochim. Acta*, 21, 815-833 (1965)

§ 2. 3

- 2.6 M. A. Afromowitz, P. Yeh, and S. Yee, *J. Appl. Phys.*, 48, 209 (1977)
- 2.7 A. Harata and T. Sawada, *J. Appl. Phys.*, 65(3), 959-63 (1989)

§ 2. 4

- 2.8 P. A. Suci and W. M. Reichert, *Appl. Spectrosc.*, 42, 120 (1988)
- P. A. Suci and W. M. Reichert, *Langmuir*, 4, 1131 (1988)
- X-Z. Wu, T. Kitamori, N. Teramae, and T. Sawada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 64, 755 (1991)
- 2.9 J. M. Bloch, M. Sansone, F. Rondelez, D. G. Peiffer, P. Pincus, M. W. Kim, and P. M. Eisenberger, *Phys. Rev. Lett.*, 54(10), 1039-42 (1985)
- A. Iida, K. Sakurai, A. Yoshinaga, and Y. Gohshi, *Nucl. Instr. and Meth.*, A246, 736-8 (1986)
- W. B. Yun and J. M. Bloch, *J. Appl. Phys.*, 68(4), 1421-8 (1990)
- 2.10 X-Z. Wu, T. Kitamori, N. Teramae, and T. Sawada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 64, 1757-62 (1991)
- 2.11 P. C. McCaslin and V. Young, *Scanning Microscopy*, 1(4), 1545-56 (1987)

第 4 章

§ 4. 2

- 4.1 J. C. Murphy and L. C. Aamodt, *J. Appl. Phys.* 51, 4580-8 (1980)
4.2 International Critical Tables, National Research Council, Vol. VII,
p. 4 (1930)

§ 4. 3

- 4.3 Y-M. Hsueh, A. Harata, T. Kitamori, and T. Sawada, *Anal. Sci.*, 6,
71-5 (1990)

§ 4. 4

- 4.4 J. M. Khosrofian and B. A. Garetz, *Appl. Opt.* 22, 3406 (1983)
4.5 M. Woelker, B. K. Bein, J. Pelzl, and H. G. Walther, *J. Appl.
Phys.*, 70(2), 603 (1991)

第 6 章

§ 6. 2

- 6.1 J. Wu, T. Kitamori, and T. Sawada, *J. Appl. Phys.*, 69(10),
7015-20 (1991)

第 7 章

§ 7. 2

- 7.1 J. M. Harris and N. J. Dovichi, *Anal. Chem.*, 52(6), 695A-706A
(1980)
7.2 J. P. Gordon, R. C. C. Leite, R. S. Moore, S. P. S. Porto, and J.
R. Whinnery, *J. Appl. Phys.*, 36(1), 3-8 (1965)
J. H. Brannon and D. Magde, *J. Phys. Chem.*, 82(6), 705-9 (1978)
N. J. Dovichi and J. M. Harris, *Anal. Chem.*, 51(6), 728-31 (1979)
N. J. Dovichi and J. M. Harris, *Anal. Chem.*, 52(14), 2338-42 (1980)
N. J. Dovichi and J. M. Harris, *Anal. Chem.*, 53(1), 106-9 (1981)
K. Fujiwara, H. Uchiki, F. Shimokoshi, K. Tsunoda, K. Fuwa, and
T. Kobayashi, *Appl. Spectrosc.*, 36(2), 157-61 (1982)

- C. A. Carter and J. M. Harris, *Appl. Spectrosc.*, 37(2), 166-72 (1983)
- M. J. Sepaniak, J. D. Vargo, C. N. Kettler, and M. P. Maskarinec, *Anal. Chem.*, 56(8), 1252-7 (1984)
- T-K. J. Pang and M. D. Morris, *Anal. Chem.*, 56(8), 1467-9 (1984)
- K. L. Jansen and J. M. Harris, *Anal. Chem.*, 57(8), 1698-703 (1985)
- K. J. Skogerboe and E. S. Yeung, *Anal. Chem.*, 58(6), 1014-8 (1986)
- S. R. Erskine, C. M. Foley, and D. R. Bobbitt, *Appl. Spectrosc.*, 41(7), 1189-93 (1987)
- 7.3 R. L. Swofford and J. A. Morrel, *J. Appl. Phys.*, 49(7), 3667-74 (1978)
- S. D. Woodruff and E. S. Yeung, *Anal. Chem.*, 54(7), 1174-8 (1982)
- C. E. Buffet and M. D. Morris, *Anal. Chem.*, 54(7), 1824-5 (1982)
- K. Mori, T. Imasaka, and N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, 54(12), 2034-8 (1982)
- K. Miyaishi, T. Imasaka, and N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, 54(12), 2039-44 (1982)
- C. E. Buffet and M. D. Morris, *Anal. Chem.*, 55(2), 376-8 (1983)
- T. Higashi, T. Imasaka, and N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, 55(12), 1907-10 (1983)
- T. Higashi, T. Imasaka, and N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, 56(12), 2010-3 (1984)
- K. Nakanishi, T. Imasaka, and N. Ishibashi, *Anal. Chem.*, 57(7), 1219-23 (1985)
- N. Teramae, E. Voigtman, J. Lanauze, and J. D. Winefordner, *Anal. Chem.*, 58(4), 761-5 (1986)
- T. Berthoud and N. Delorme, *Appl. Spectrosc.*, 41(1), 15-9 (1987)
- N. Teramae and J. D. Winefordner, *Appl. Spectrosc.*, 41(1), 164-5 (1987)
- J. Georges and J-M. Mermet, *Analyst*, 114, 541-6 (1989)
- 7.4 Y. Yang, *Anal. Chem.*, 56(13), 2336-8 (1984)
- Y. Yang and R. E. Hairrell, *Anal. Chem.*, 56(14), 3002-4 (1984)
- T-K. J. Pang and M. D. Morris, *Appl. Spectrosc.*, 39(1), 90-3 (1985)
- Y. Yang, S. C. Hall, and M. S. De La Cruz, *Anal. Chem.*, 58(4), 758-61 (1986)
- J. Georges and J-M. Mermet, *Analyst*, 113, 1113-6 (1988)

7.5 L. Chen, K. H. Yang, and S. Y. Zhang, Appl. Phys. Lett., 50(19), 1349-51 (1987)

7.6 J. Opsal, A. Rosenzweig, and D. L. Willenborg, Appl. Opt., 22(20), 3169-76 (1983)

Research Report, Institute of Optics, North Carolina
State University, Raleigh, NC, and Virginia State
University, Pamlico, Virginia, 1981-1982

"Nondestructive Determination of Superficial Defects
Using Laser Light Back Scattering Method"

2. 曹光武, 王明, 王德, 王德, 王德

王德, 王德, 王德, 王德, 王德

王德, 王德, 王德, 王德, 王德

3. 曹光武, 王明, 王德, 王德

王德, 王德, 王德, 王德, 王德

王德, 王德, 王德, 王德, 王德

王德, 王德, 王德, 王德, 王德

附录

Research Report, Institute of Optics, North Carolina
State University, Raleigh, NC, and Virginia State
University, Pamlico, Virginia, 1981-1982

"Nondestructive Determination of Superficial Defects
Using Laser Light Back Scattering Method"

Research Report, Institute of Optics, North Carolina
State University, Raleigh, NC, and Virginia State
University, Pamlico, Virginia, 1981-1982

"Nondestructive Determination of the Depth of Superficial
Defects Using Laser Light Back Scattering Method"

学会発表、報文リスト

【学会発表】

1. Masaaki Harada, Takehiko Kitamori, Norio Teramae, Kiyokazu Hashimoto, Shohei Oda, and Tsuguo Sawada
International Congress on Analytical Sciences
(Makuhari-Messe, JAPAN, 1991)
"Nondestructive Estimation of Saponification Degree Using FT-IR/ATR Depth Profiling Method"
2. 原田 雅章、北森 武彦、澤田 嗣郎
日本分析化学会第40年会(東京、1991)
「光熱偏向分光法による単一微粒子の分析」
3. 原田 雅章、北森 武彦、澤田 嗣郎
日本分析化学会第41年会(京都、1992)
「光熱偏向分光法による単一微粒子の分析(2)」
- 粒子内濃度分布の異なる試料 -

【報文】

1. Masaaki Harada, Takehiko Kitamori, Norio Teramae, Kiyokazu Hashimoto, Shohei Oda, and Tsuguo Sawada
Analytical Sciences, 7, Supplement, 1289 (1991)
"Nondestructive Estimation of Saponification Degree Using FT-IR/ATR Depth Profiling Method"
2. Masaaki Harada, Takehiko Kitamori, Norio Teramae, Kiyokazu Hashimoto, Shohei Oda, and Tsuguo Sawada
Applied Spectroscopy, 46(3), 529 (1992)
"Nondestructive Determination of the Degree of Saponification Using Concentration Depth Profiling of Functional Groups by FT-IR/ATR Spectroscopy"

3. Masaaki Harada, Takehiko Kitamori, and Tsuguo Sawada
Journal of Applied Physics (accepted)
"Phase Signal of Optical Beam Deflection from Single
Microparticles : Theory and Experiment"
4. Masaaki Harada, Shigeo Obata, Takehiko Kitamori, and Tsuguo
Sawada, Analytical Chemistry (in preparation)
"Signal Correction Method in Photothermal Beam Deflection
for Quantitative Measurement"
5. Masaaki Harada, Kouji Iwamoto, Takehiko Kitamori, and Tsuguo
Sawada, Analytical Chemistry (in preparation)
"Coaxial Photothermal Deflection Microscopy"

謝 辞

本論文を終えるに当たり、これまで御指導頂いた方々に、簡単ながらここに心から感謝の意を表したいと思います。

卒業研究から現在に至るまで、6年の歳月を澤田研究室に在籍させて頂き、澤田嗣郎教授には、一貫して寛容の態度を崩さず御指導、御配慮頂き、心から感謝致しております。

北森武彦助教授には、御多忙中にも関わらず、常に細かい助言、御指導を始めとして、研究のあり方、進め方等々、あらゆる面に渡りお世話になり、感謝致しております。

松井とも子助手には、数多くの御助力を頂き、大変お世話になりました。

原田明助手には、常に適切な助言のみならず、他の多くの面でいろいろとアドバイスを頂きました。

栄慎也技官を始めとする分析化学実験室の方々には大変お世話になりました。特に、故丸山定男助手にはいつも楽しいお話を聞かせて頂き、有り難うございました。この場を借りて、心から御冥福をお祈り致します。

本論文の完成と学位取得は御指導頂いた諸先生方、助言を頂いた先輩、また常に励ましてくれた同僚、後輩の存在なくしては考えられません。ここに記して心から感謝とお礼を述べさせて頂きます。

最後になりましたが、本論文を完成させるに当たり、お世話になった数多くのここに記すことのできなかつた方々に、感謝とお礼を述べさせて頂きます。

短い言葉では感謝の気持ちを十分に表すことはできませんが、この謝辞をもって本論文を締めくくらせて頂きます。本当に有り難うございました。

1993年3月 原田 雅章

1. 緒言

近年の科学技術の発展に伴い、それを支える測定技術に対しても非破壊、非接触、多次元、局所計測などといった高度な技術が求められている。光を用いる測定法の最大の特徴は、その非破壊性にあると言える。特に化学種などが不均一に分布する物質の非破壊分光分析法は未開拓の分野で、かつ緊急に取り組むべき課題である。そこで本研究では、深さ方向に対して平均的な情報しか得られなかった従来の吸光法に新たな3次元非破壊分析法としての可能性を探るとともに、光熱変換法に対しても同様に基礎的検討を試みた。具体的にはモデル試料を用いて、全反射現象に基づく多成分同時分析が可能な赤外全反射吸収法と、微小な試料に対して有効な光熱ビーム偏向法について上記の観点から考察した。

2. 光による非破壊デプスプロファイリングの原理

光によるデプスプロファイリング分析においては、測定される信号 $S(\tau)$ が測定対象の深さ方向濃度分布 $C(z)$ と情報を運ぶ光や熱の特徴、例えば光強度の空間分布や熱の伝播特性等を表す関数 $F(z, \tau)$ との積の形として

$$S(\tau) = k \int_0^l C(z) F(z, \tau) dz \quad (1)$$

で与えられる。ここで、 τ は測定パラメータ、 k は測定法固有の係数、 l は試料の厚さである。いま仮に

$F(z, \tau)$ が空間的に広がりを持たないような場合、つまり $F(z, \tau) = \delta(z - z_0, \tau)$ である場合には、信号

$S(\tau)$ は直接深さ z_0 での濃度 $C(z_0)$ を与えるので、広

がりのある $F(z, \tau)$ に対してはその重ね合わせとして (1) 式のような形で書けると解釈できる。(1) 式は信号 S の τ 依存性から濃度プロファイルを抽出できることを示しており、光による非破壊深さ方向分析の基礎となるものである。本研究で用いた赤外全反射吸収法と光熱ビーム偏向法では、 $F(z, \tau)$ はそれぞれエバネッセント波の減衰と熱の拡散である。

赤外全反射吸収法 (FT-IR/ATR法) では、測定される吸光度 A は近似的に、

$$A(\theta) = \int_0^{\infty} C(z) \exp(-2z/d_p(\theta)) dz \quad (2)$$

で与えられることが既に知られている¹⁾。ここで、 d_p は侵入深さと呼ばれる

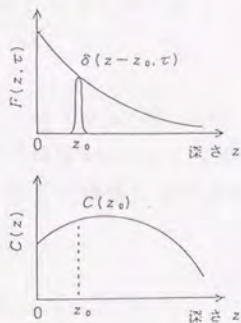


図1 $F(z, \tau)$ と $C(z)$ の例

量で、入射角 θ の関数である。

光熱ビーム偏向法(OBD法)による粒子の深さ方向分析においては、ある仮定の下で表面温度 T_s が $C(r)$ なる濃度分布を有する粒子に対して

$$T_s(\omega) = \int_0^R C(r) K(\omega) [\exp(\sigma, r) - \exp(-\sigma, r)] r dr \quad (3)$$

と書けることを導いた。ここで、 R は粒子の半径、 $K(\omega)$ は変調周波数 ω に依存する係数である。 σ_s は試料の熱波数を表しているから、OBD法における $F(z, \tau)$ は、熱の伝播特性であることが分かる。

従って、FT-IR/ATR法においては入射角度依存性から、OBD法においては変調周波数依存性から深さ方向分析が可能である。

3. 実験

3. 1 FT-IR/ATR法による高分子フィルムの非破壊深さ方向分析

ポリエチレンテレフタレートフィルム上に展開した酢酸セルロースフィルムを表面から部分的にけん化したものを試料として用いた。FT-IR/ATR法による測定は、試作した角度可変ATRアタッチメントにより入射角度を変えながらけん化反応に特徴的なアセチル基に帰属される吸収バンドを追跡した。結果の検証のための顕微FT-IR法による測定は、フィルムをマイクロトームで切り出した斜め切削片を透過型の顕微FT-IR法により順次測定した。

3. 2 OBD法による微粒子の深さ方向分析

Arイオンレーザー(波長488nm)を励起光とし、He-Neレーザー(波長632.8nm)をプローブ光として用いた。用いたモデル試料は、粒子(粒径 $300\mu\text{m}$)に金属のオキシ錯体を吸着させたもので、吸着層の厚さが金属の種類により異なる3種類のもの(厚さ $6\mu\text{m}$ 、 $12\mu\text{m}$ 、粒子全体)である。

4. 結果と考察

4. 1 FT-IR/ATR法による高分子フィルムの非破壊深さ方向分析¹⁾

けん化反応はけん化液の表面からの拡散により進むと考え、未けん化領域の深さ方向分布として誤差関数形を仮定する。

そのパラメータを吸光度の角度依存性のデータから最小2乗フィッティングにより決定し、けん化度分布を求めた。その結果を顕微FT-IR法から求めたけん化度の深さ方向分布とともに、図2に示す。これら2種の方法から求めたけん化度の深さ方向分布は良い一致を示した。また、バルクとしてのけん化度を中和滴定から得られた結果と比較した。フィルム全体としてのけん化度も

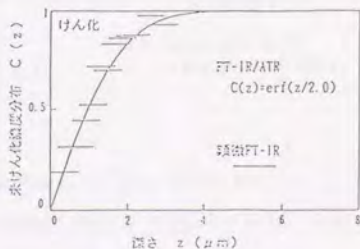


図2 FT-IR/ATR法及び顕微FT-IR法により得られたけん化度分布の比較

中和滴定の結果のばらつきの範囲内に収まっており、両者はほぼ一致していた。これらの結果から、本方法は表面から数ミクロン程度の範囲内の深さ方向分析や深さ方向濃度分布に依存する諸量の非破壊測定に有効な方法となり得ることが示された²⁾。

4. 2 OBD法による微粒子の深さ方向分析²⁾

用いた解析モデルの妥当性を示す実験結果の一例として、図3に位相のプロブ光の高さ方向オフセット(Z-オフセット)依存性を示す。OBD信号Φは、(3)式から

$$\Phi = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{\partial}{\partial z} \left[\frac{R}{r} T_s(\omega) \exp(-\sigma_s(r-R)) \right] dx, \quad r = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2} \quad (4)$$

により計算した。ここで、 σ_s は空気の熱波数である。各周波数における位相の実測値は計算値と良い一致を示しており、このことから用いたモデルは妥当であると言える。またこの結果は、位相がプロブ光のオフセットに強く依存するので、定量分析の際に問題となるオフセットの差を位相を用いて補正できることを示しており有用である。

以上の実験結果から解析モデルの妥当性が示されたので、これを吸収層の分布の異なる粒子の分析に応用した。熱源からの距離の情報を与える位相の測定結果を図4に示す。3種類の粒子からの位相信号の周波数依存性はほぼ計算値から予測される傾向と一致しており、OBD信号の位相情報から微粒子の吸収層の厚さに関する情報が得られることが示された。この結果は、本方法が例えば粒子内の化学種の濃度分布が何らかの刺激により変化するような系、例えば細胞の代謝などをin-situでモニターする手法となり得る事を示している。

現在、さらに粒径の小さな粒子や微小領域を目視下で測定するために、顕微鏡下で実際に測定対象を見ながら測定できる測定系の開発を行っている⁴⁾。

【参考文献】*) T. Hirschfeld, Appl. Spectrosc., **31**, 289(1977)

【発表状況】1) M. Harada et al., Appl. Spectrosc., **46**(3), 529(1992)

2) M. Harada et al., Anal. Sci., **7**, Suppl., 1289(1991)

3) M. Harada et al., J. Appl. Phys. (in press)

4) M. Harada et al., Anal. Chem. (in preparation)

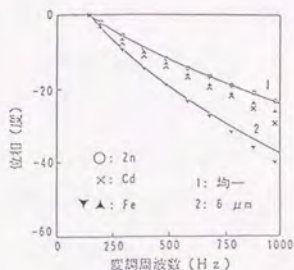


図4 位相の周波数依存性 (吸収層厚の異なる試料)

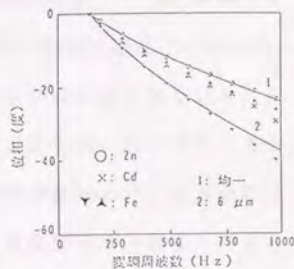


図4 位相の周波数依存性 (吸収層厚の異なる試料)

定量分析だけではもはや最近の高度な計測法の要請に必ずしも十分対応しきれなくなっている。特に化学種などが空間的に不均一に分布する物質に対して、従来の光を励起源とする分光分析法ではデプスプロファイリング分析が出来なかった。従って、光を用いる分光分析法によるデプスプロファイリング分析が可能となれば、上記の要件を満足し得る有力な方法になると思われるが、この光による非破壊三次元空間分布測定法の開発はまだ未開拓の分野であり、緊急に取り組むべき課題であると言える。

そこで本研究では、深さ方向に対して定性的な情報しか得られなかった従来の全反射法及び光熱変換という新しい原理に基づく光熱変換法に注目して、その新たな3次元非破壊分析法としての可能性に関して基礎的な検討を行うことを目的とした。具体的には、官能基に関する情報が得られ多成分同時分析が可能な赤外全反射吸収法（FT-IR/ATR法）と、微小な試料に対して有効な光熱ビーム偏向法（OBD法）について上記の観点から考察した。

FT-IR/ATR法のデプスプロファイリング分析法としての可能性は古くから知られていたが、その応用例は専ら定性的なものに限られていた。1977年に一般的なデプスプロファイリング分析法としての方法論が提案されたが、その後報告例は見当たらず、いまだ原理検証の段階である。そこで本研究では、本法を実際に深さ方向に官能基の濃度分布を有する高分子フィルムのデプスプロファイリング分析に応用し、さらに得られたデプスプロファイルの妥当性を他の方法を用いて示すことにより、本法のデプスプロファイリング分析法としての有効性を実証することを目的とした。次にOBD法は、粒子のように曲率を有する試料に対して原理的に高感度であるが、そのデプスプロファイリング分析法においては、微粒子のような球状試料に対する解析例はない。そこで本研究では、微粒子からのOBD信号を解析し、その解析モデルの妥当性を実験的に証明した。その結果を単一微粒子の定量分析及びデプスプロファイリング分析へ応用することを目的とした。また本解析を平面状の試料に対しても適用し、定量

分析の際に問題となっていた再現性の無さの改善を図った。

本論文の第一章では、上記二法の歴史的背景を含めた研究の背景と位置づけ、及び本研究の目的について説明した。

第二章では、最初に光による非破壊デプスプロファイリング分析法の一般的な原理について説明した。次に、FT-IR/ATR法及びOBD法によるデプスプロファイリング分析法の原理について記述した。FT-IR/ATR法によるデプスプロファイリング分析法の基礎式は既に報告されているが、それを本研究で用いた試料の解析用に書き直した。OBD法のデプスプロファイリング分析法としての解析例は粒子のような球状の試料系に対してはないので、微粒子のデプスプロファイリング分析の為に微粒子からのOBD信号の解析を行った。その結果からOBD法によるデプスプロファイリング分析の原理となっているのは熱の伝搬特性であり、信号の変調周波数依存性からデプスプロファイリング分析が可能であることを理論的に示した。最後にその他の方法についても言及した。

第三章では、FT-IR/ATR法によるデプスプロファイリング分析について検討した。ポリエチレンテレフタレートフィルム上に展開した酢酸セルロースフィルムを表面から部分的にけん化した試料を用いて実際に第二章で述べた方法に従ってけん化度のデプスプロファイリング分析を行った。FT-IR/ATR法による測定は、試作した角度可変ATRアタッチメントをFT-IR分光計の試料室に入れて行った。入射角度を変えながらけん化反応に特徴的なアセチル基に帰属される吸収バンドを追跡した。けん化反応はけん化液の表面からの拡散により進むと考え、未けん化領域の深さ方向分布として誤差関数形を仮定した。そのパラメータを信号の入射角度依存性のデータから最小2乗フィッティングにより決定し、けん化度分布を求めた。結果の検証のための顕微FT-IR法による測定は、フィルムをマイクロトームで切り出した斜め切片を透過型の顕微FT-IR法により順次測定する方法で行った。その結果はFT-IR/ATR法から求めたけん化度の深さ方向分布と良い一致を示した。また、バルクとしてのけん化度を中和滴定

から得られた結果と比較したところ、フィルム全体としてのけん化度も中和滴定の結果のばらつきの範囲内に収まっており、両者はほぼ一致していた。これらの結果から、本方法は表面から数ミクロン程度の範囲内の深さ方向分析や深さ方向濃度分布に依存する諸量の非破壊測定に有効な方法となり得ることがわかった。

第四章では、第二章で導出した粒子からのOBD信号の解析モデルの妥当性を実験的に示した。信号の励起光強度依存性、プローブ光のオフセット依存性などについて測定を行い、モデルから計算される値との比較を行った。基板への熱伝導の効果などを考慮すると実験値と計算値はよい一致を示した。この結果から第二章で導いた理論が妥当であることがわかった。またその過程で、本法を定量分析に用いる際に問題となっていたプローブ光のオフセットのばらつきによる再現性の悪さを、同時に測定した位相によるデータ処理により補正する方法を提案した。この方法により原理的に位相による信号強度の補正が可能であることを示した。またこの方法は平面状試料に対しても同様に有効で、第五章で詳しく述べるように免疫分析法に応用してその有効性を実証した。

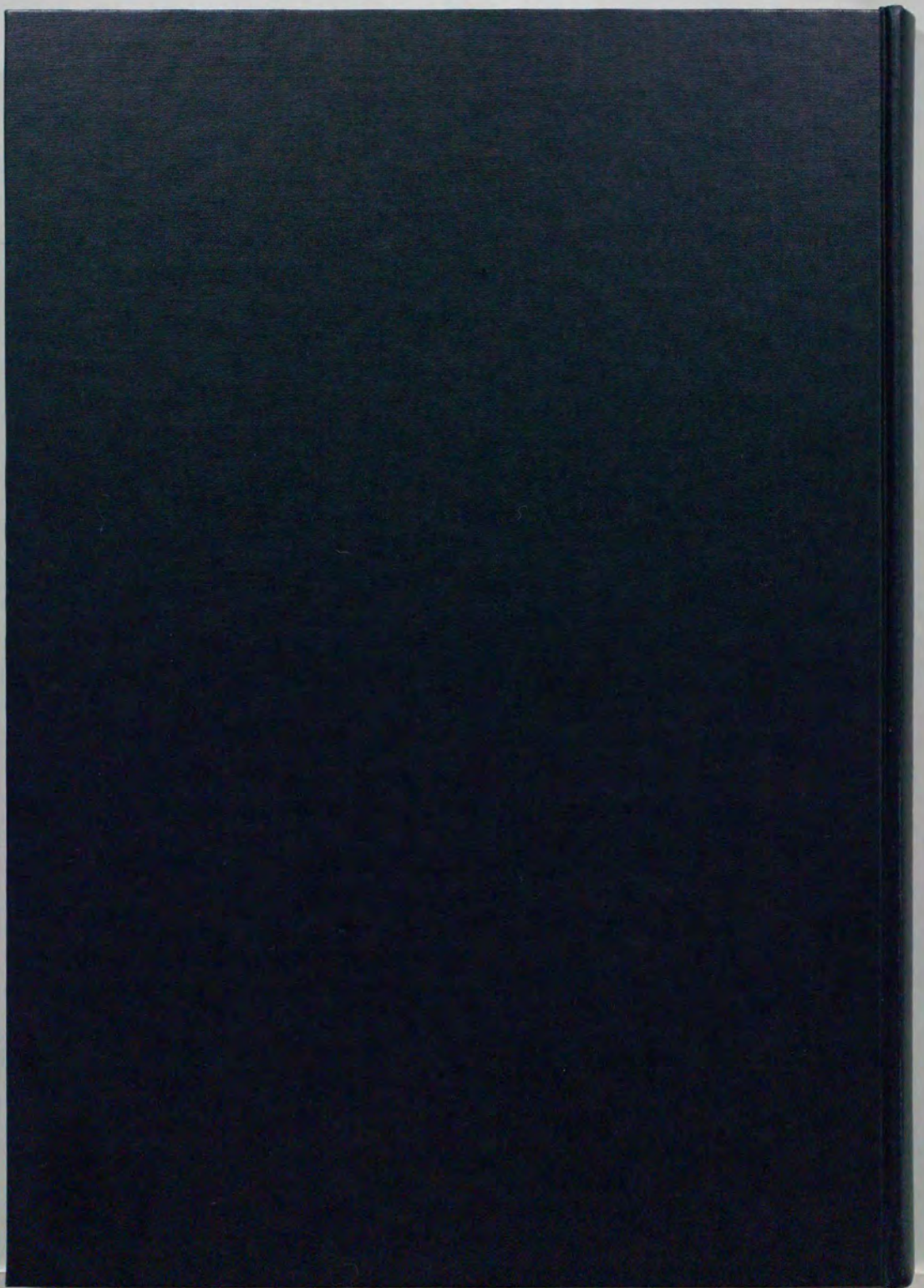
第五章では、OBD法の平面状試料の定量分析への応用について検討した。免疫分析の際に問題となっていた本法の再現性の悪さの主たる原因がプローブ光のオフセットであることをつきとめ、理論解析の結果から位相による信号強度の補正法を提案した。この方法を用いると同一試料の10回の測定における信号強度の標準偏差は約1桁向上した。またこの方法を用いてガン特異性抗原であるCEAの定量分析を行ったところ、検出限界も未補正のデータと比べて約2倍向上した。このことから本補正法を利用することにより、OBD法は再現性のよい高感度な定量分析法となることを示した。

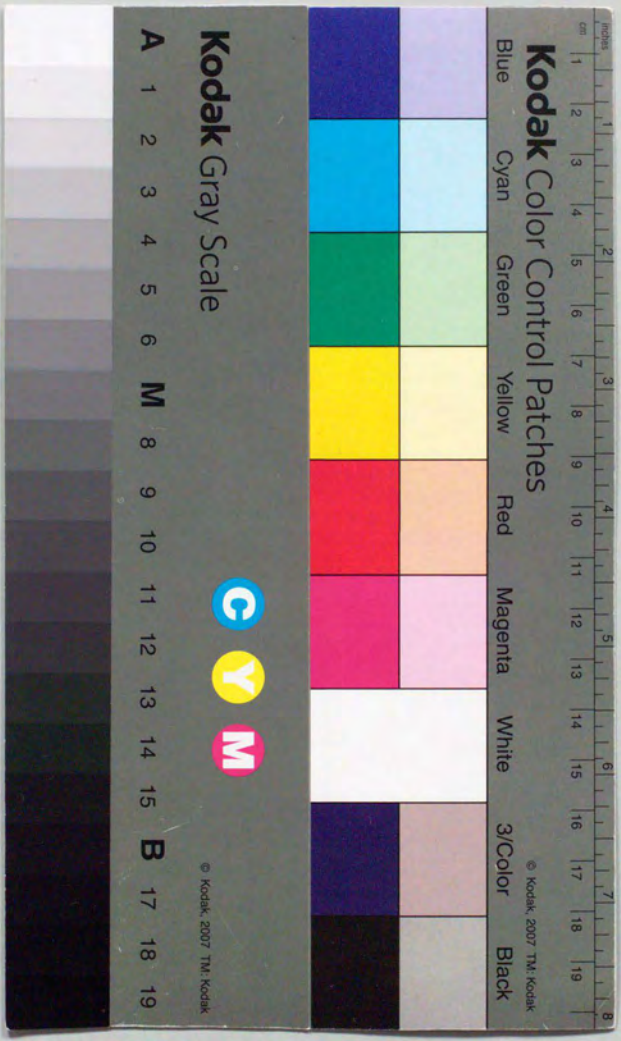
第六章では、OBD法による微粒子の分析について検討した。粒子のデプスプロファイリング分析への応用では、吸着層の厚さの異なる3種類の粒子（粒径 $300\mu\text{m}$ のXAD）をモデル試料として、励起光強度に依存せず熱源からの距離の

情報を与える位相の変調周波数依存性を測定した。3種類の粒子からの位相信号の周波数依存性はほぼ計算値から予測される傾向と一致しており、OBD信号の位相情報から微粒子の吸収層の厚さに関する情報を得ることができることを示した。この結果から、本法は粒子内の化学種の濃度分布が何らかの刺激により変化するような系、例えば細胞の代謝などをin-situでモニターする手法となり得ることがわかった。

第七章では、実試料の分析を目的として、さらに粒径の小さな粒子や微小領域を顕微鏡下で実際に測定対象を見ながら測定できる顕微光熱変換法の測定系の開発を行った。顕微鏡下では通常のOBD法のようにプローブ光を横方向から入射できないので、プローブ光を励起光と同軸で入射させる必要がある。試料の透明度に応じて、透明な試料に対しては試料を透過してくるプローブ光の温度場による空間的な強度分布変化を検出する透過型と、不透明な試料に対してはプローブ光の散乱光が温度場により偏向されるのを検出するという散乱型の二つのタイプを提案した。透過型では励起光強度に比例した信号が得られた。さらに試料表面のみに吸収を有するような粒子に対しては、同軸光の焦点位置を上下させると焦点が表面付近に来たときに信号が極大となることから、この方法によるデプスプロファイリング分析が可能であることを示した。散乱型においては、検出器に入るプローブ光の絶対量が不足しているため現段階では安定した再現性のある信号は得られていないが、プローブ光の強度を含めた検出系と試料系の検討により最終的には散乱型でもデプスプロファイリング分析が可能であると考えられる。

最後の第八章では、本研究を総括して、光によるデプスプロファイリング分析法の開発という観点から本研究の意義と今後の展開及び課題を述べた。





Kodak Color Control Patches

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black

Kodak Gray Scale

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

C Y M

© Kodak, 2007 TM: Kodak