レーザー微細構造形成された金属の抗菌効果

東海大学　総合科学技術研究所
教授　橋田　昌樹
（2022 年度 一般研究開発助成 AF-2022233-B3）

キーワード：レーザー微細構造形成，金属，抗菌効果

１．研究の目的と背景

蝉の翅[1]やトンボの翅[2]には高密度高アスペクト比の突起（ここでは，ナノドット構造と呼ぶ）があり抗菌効果があると知られている．蝉の翅のナノドット構造は蝉の種類によるが高さ 200 nm，大きさ（幅）100 nm 程度，その間隔約 200 nm で高密度に整列している．この高密度に並んだナノドット構造により表面積が増大し，菌の吸着力を引き寄せる力（毛細管力）が増加する．引き寄せられた菌は身動きできなくなりストレスを感じ，細胞の自滅（アポトーシス）や突起による細菌の細胞壁が変形・破壊し死滅すると言われている．自然界にはナノ構造による機能が既に存在している．これらの生体模倣をするために，シリコンに半導体露光技術を使ってナノドット構造を形成し抗菌効果が確かめられている．課題として，①半導体露光技術が適用する素材に限られていること，②数センチメートル四方に構造を形成させるためには長時間を要することが挙げられる．これらの課題を解決するため本研究では，様々な固体材料表面に生体模倣できる高密度のナノ微細構造を短時間に形成技術としてレーザー微細加工を提案し，その可能性を調べたので報告する．

レーザー微細加工では，材料の破壊閾値近傍のレーザーを材料表面に照射すると様々な固体材料（金属，半導体，絶縁体）にレーザー波長と同程度またはそれ以下の大きさ（周期）のナノ周期構造(LIPSS)が形成される．ナノ周期構造の大きさはナノ秒レーザー照射ではレーザー波長程度，フェムト秒レーザー照射では，レーザー波長の 0.80 倍から 0.1 倍程度である[3-5]．LIPSS の形成メカニズムにはレーザー照射された固体表面に形成される表面プラズマ波（定在波）が関わっていると考察されている[6]．

本研究では，ステンレス表面にレーザー照射することでナノ周期構造を形成し，大腸菌に対する抗菌増殖抑制が示されたので報告する．

２．実験方法

2・1　ナノ秒レーザー照射による SUS340 への LIPSS 形成実験

図 1 にナノ周期構造形成のための照射光学系を示す．ナノ秒レーザーの光源として Nd : YAG レーザーの 2 倍高調波（Spectra Physics 社製 GCR 250: レーザー波長 532 nm，パルス幅 10 ns，繰返周波数 10 Hz）を用いた．レーザーパルスのエネルギーは 1/2 波長板と偏光プリズムからなるエネルギー減衰器により最大 1/10,000 程度に減衰し破壊閾値近傍のレーザーフルエンスとなるように精密に制御した．本研究で対象とするステンレス(SUS430)表面に対してナノ周期構造を形成する実験ではシリンドリカルレンズ(f = 300 mm)を用い，SUS430 照射位置におけるレーザー集光形は水平方向 8.65 mm(FWHM)，垂直方向 23 μm (FWe^{-1}M)であった．He-Ne レーザーは，LIPSS 形成レーザーの照射位置を模擬するために用いた．LIPSS 形成ではレーザーフルエンスを 1.20 J/cm^2 に設定し縦 25 mm×横 25 mm 全面に LIPSS を形成した（図 2）．約 500 nm の周期性をもつ LIPSS がレーザーの偏光に垂直方向に形成された．尚，SUS430 の閾値フルエンスは 1.18 J/cm^2 であった．

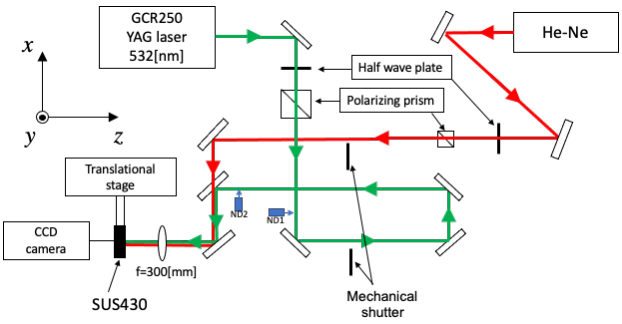


図 1　LIPSS 形成のための光学配置．

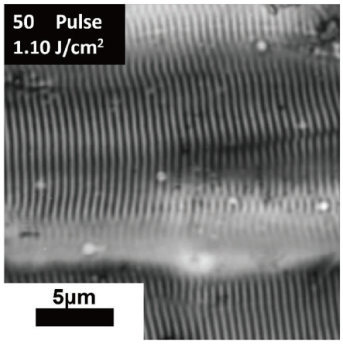


図 2　SUS430 に形成された LIPSS（F = 1.10 J/cm^2，N = 50 pulses）．原著論文(1)より転載許可を得ています．

2・2　ナノ秒レーザーLIPSS 形成 SUS430 の抗菌試験

抗菌試験は大腸菌(*Escherichia Coli*, DH5α)を用い LIPSS 形成の有無の SUS430 に対し JIS Z2801[7]のフィルム密着試験を行った．フィルム密着試験の概略を図 3 に示す．

大腸菌の溶液を SUS430 表面に滴下し，フィルムを密着させ 24 時間培養した後，10,000 倍希釈し 3 つ固体培地に

植え付けた．3 つの固体培地は 36 ± 1 ℃に設定した高温槽で 4 日間，下記の手順に従って行った．

第 1 日　液体培養培地の準備および大腸菌の培養

第 2 日　McFarland 濁度計とフィルム付着法による大腸菌溶液濃度の制御

第 3 日　フィルム付着後の大腸菌溶液の希釈及び固体培養培地での培養

第 4 日　大腸菌の活性数測定および抗菌活性の評価

抗菌評価で必要な抗菌活性値は，3 つの固体培地を準備し発生するコロニー数を数えて評価した．

図 4 に(a)SUS430 表面と(b)LIPSS 形成 SUS430 表面の大腸菌コロニー数を示す．SUS430 表面の大腸菌コロニー数は 1244 個, LIPSS 形成 SUS430 の大腸菌コロニー数は 198 個を示し約 1/6 に低減し大腸菌に対し増殖抑制が 0.159 であることが分かった．

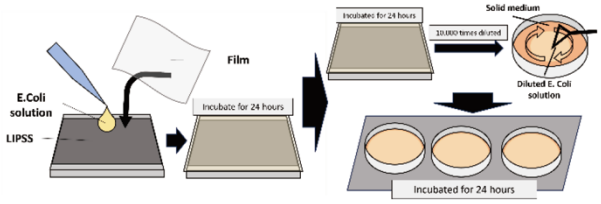


図 3　フィルム密着試験法. 原著論文(1)より転載許可を得ています.

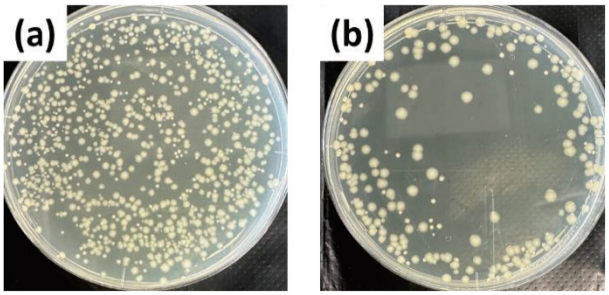


図 4　フィルム密着試験後のコロニー(a)LIPSS なし SUS430 (b)LIPSS あり SUS430．原著論文(1)より転載許可を得ています.

2・3　フェムト秒レーザー照射による SUS430 表面の LIPSS 形成実験と抗菌効果

フェムト秒レーザー(CARBIDE CB-5SP，Light Conversion社，λ = 1030 nm，τ = 150 fs，R = 5 kHz)でナノ周期構造(LIPSS)をSU430表面に形成しフィルム密着法により抗菌性を評価した．図5にフェムト秒レーザー加工の光学配置を示す．フェムト秒レーザーからの基本波(λ = 1030 nm) を 2 倍高調波発生 (SHG: Second Harmonics Generation)結晶により2倍高調波(λ = 515 nm)を発生させハーモニクスセパレーターにより基本波と2倍高調波に分離した．LIPSS形成には基本波(λ = 1030 nm)を用い，光路には1/2波長板と薄膜ポラライザー対からなるエネルギ減衰

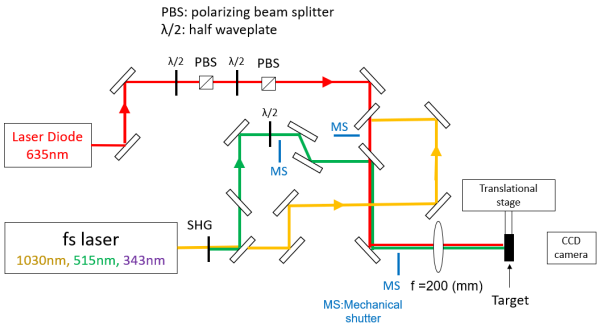


図5　フェムト秒レーザー加工の光学配置.

器によりパルスエネルギーを25 μJ～50 nJの範囲で精密に制御しf = 200 mmの集光レンズでSUS430表面に照射した．SUS430表面でのレーザー照射スポットの直径は45 μm (FWe^{-1}M)で，空間形状はガウス分布であった．

SUS430のアブレーション閾値フルエンスは0.166 J/cm^{2}であることを加工径のレーザーフルエンス依存性から評価した．LIPSS形成はアブレーション閾値よりわずかに高いレーザーフルエンス0.20 J/cm^{2}及び0.30-0.40 J/cm^{2}を縦25 mm，横25 mm，厚み1 mmのSUS430を電動ステージに取り付け1箇所あたり50 pulses照射されるように水平及び垂直方向の走査速度を調整し全面に行った．

2・4　フェムト秒レーザーLIPSS 周期と均一性が与える抗菌効果への影響

1030nm のフェムト秒レーザーを照射した SUS430 表面に形成される LIPSS の周期及び均一性評価は著者らが独自に開発した P^{3}S 法(perpendicular period and phase scanning method)[8]を用いた．LIPSS 形成された SUS430 の FE-SEM 写真より評価した．P^{3}S 法の特徴は輝度に関係なく周期及び均一性を評価できるものである．0.20 J/cm^2 で形成される LIPSS 周期ωが 410 nm, 均一性Δω/ωは 0.37 を示し，0.30 – 0.40 J/cm^2 で形成される LIPSS 周期ωが 380 nm と 750 nm の混合，均一性Δω/ωは 0.55 – 0.81 を示した．抗菌抑制は 0.20 J/cm^2 で形成される LIPSS 形成 SUS430 について大腸菌コロニー数は 205±56 個を示し，未加工の SUS430 表面の大腸菌コロニー数は 1181±94 個の約 1/6 に低減し大腸菌に対する増殖抑制は 0.17 であった．一方，0.30 – 0.40 J/cm^2 で形成される LIPSS では大腸菌コロニー数は 813±83 個を示し大腸菌に対する増殖抑制は 0.69 であった．LIPSS の均一性が高い方が大腸菌の増殖抑制効果が大きいことが示された．

SUS430 表面に均一性の高いナノ周期構造を形成することにより表面積が増大し，菌を引き寄せる吸引力（毛細管力）が増加し，菌は身動きできなくなりストレスを感じ細胞の自滅（アポトーシス）や突起による細菌の細胞壁が変形・破壊し死滅したものと考えられる．

３．まとめ

ナノ秒レーザー及びフェムト秒レーザー照射によりSUS430 表面に LIPSS を形成し抗菌性の評価を行なった．ナノ秒レーザーで形成されるLIPSSは周期が約500 nmナノ秒レーザーで抗菌抑制効果は特に大腸菌の増殖抑制は0.159であった．

一方，フェムト秒レーザーで形成されるLIPSSは2種類あり，0.20 J/cm^{2}で形成されるLIPSSの周期は410 nmで，均一性の高いLIPSSであった．0.30 – 0.40 J/cm^{2}で形成されるLIPSSは周期ωが380 nmと750 nmの混合，均一性Δω/ωは0.55 – 0.81で0.20 J/cm^{2}より2倍程度均一性は悪かった．
0.20 J/cm^{2}で形成されるLIPSS形成SUS430の抗菌抑制は0.17，0.30 – 0.40 J/cm^{2}で形成されるLIPSS形成SUS430の抗菌抑制は0.69を示し均一性が抗菌抑制に影響することを示唆するものと考える．

謝　辞

本研究の一部は，天田財団一般研究開発助成（課題番号AF-2018203-A3，AF-2022233-B3），H30-R9 年度文部科学省光・量子飛躍フラッグシッププログラム(Q-LEAP)基礎基盤研究「先端ビームによる微細構造物形成過程解明のためのオペランド計測」JPMXS0118070187，（独）新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)「エネルギー・環境新技術先導プログラム/新機能材料創成のための高品位レーザ加工技術の開発」，JSPS 科学研究費補助金（基盤研究(C)課題番号基盤研究 JP22K04766，JP25K08333），NIFS 共同研究(NIFS17KNTS053，NIFS20KNTS067)及び大阪大学接合科学研究所「接合科学共同利用・共同研究拠点」共同研究員制度，2025 年度京都大学エネルギー理工学研究所「ゼロエミッションエネルギー研究拠点」(ZE2025B-02)，東海大学高度物性評価室の支援を受けて行われました．本研究である微細構造の有無による金属の抗菌効果について総合理工学研究科・総合理工学専攻 博士課程後期の岡崎未来瑠氏が取り組んでいただきました．ここに感謝申し上げます．

参考文献

1） 伊藤 健：「蝉の翅のフシギな力」，Re:ORDIST **46** (2021)1-5.

2） A. Jaggessar, H. Shahali, A. Mathew, P. K. D. V. Yarlagadda: “Bio-mimicking nano and nicro-structured surface fabrication for antibacterial properties in medical implants”, J. Nanobiotechnol. **15**(2017)64.

3） 橋田昌樹，宮坂泰弘，清水雅弘，坂上仁志，井上峻介，阪部周二，“フェムト秒レーザーアブレーションにより固体表面に自己組織的に形成するナノ周期構造”レーザー研究 第**43**巻11号(2015)745-751.

4） R. Buividas, M. Mikutis, and S. Juodkazis: “Surface and bulk structuring of materials by ripples with long and short laser pulses: Recent advances”, Prog. Quant. Electron. **38**(2014)119.

5） J. Bonse, J. Krüger, S. Höhm, A. Rosenfeld: “Femtosecond laser-induced periodic surface Structures”, J. Laser Appl. **24**(2012) 042006.

6） 坂上仁志：“ナノ構造形成を解析するための3次元電磁粒子シミュレーション”レーザー研究 第**53**巻1号，(2025)p20-25.

7） Japanese Industrial Standard，“Antibacterial products—Test for antibacterial activity and efficacy，” JIS Z 2801, ICS No. 07．100．10;11．100;83．080．01．Revised 2010-12-20.

8） K. Takenaka, M. Hashida, H. Sakagami, S. Masuno, M. Kusaba, S. Yamaguchi, S. Iwamori, Y. Sato, and M. Tsukamoto: “Uniformity evaluation of laser-induced periodic surface structures formed by two-color double-pulse femtosecond laser irradiation”, Rev. Sci. Instrum. **93**(2022) 093001.

成果報告

原著論文・解説論文（5 報）

(1)岡崎未来瑠，橋田昌樹，岩森暁，“ナノ秒レーザによって形成された微細構造と抗菌性の関係”，電気学会研究会資料光応用・視覚研究会 LAV-23-012 (2023)p. 7-10.

(2)M. Okazaki, M. Hashida, S. Iwamori, “Antibacterial effect of periodic structure formed onSUS430 by using nanosecond pulsed laser", J. Laser Appl. **35** (2023) 042075.

(3)橋田昌樹，“パルスレーザーにより形成される微細周期構造の基礎と応用”RTM-24-27(2024)p．9-12.

(4)M. Okazaki, M. Hashida, S. Iwamori, “Uniformity of Laser-Induced Periodic Surface Structures and Their Effect on the Antibacterial Performance of Stainless Steel”．，J. Laser Micro/Nanoeng．**21**(2026)14-18.

(5)橋田昌樹，草場光博“固体材料表面へのレーザー量子加工の展望”レーザー研究　第54巻7号(2026)掲載受理.

国内・国際会議報告（17件）

[1]M. Okazaki, M. Hashida, S. Iwamori, “Measurement of pulsed laser ablation threshold for LIPSS formation” The 12th Asia Pacific Laser Symposium 2023 年 9 月 4 日-7 日，Hakodate，Japan (2023).

[2]M. Okazaki, M. Hashida, S. Iwamori, “Antibaterial effect of periodic structure formation on SUS430 by using nanosecond pulsed laser” The 42nd annual International Congress on Applications of Lasers & Electro-Optics (ICALEO 2023) Chicago, USA, 2023 年 10 月 16 日-19 日.

[3]岡崎 未来瑠，橋田 昌樹，岩森 暁，“ナノ秒レーザによって形成された微細構造と抗菌性の関係，電気学会光応用・視覚研究会，東海大学 2023 年 12 月 22 日.

[4]岡崎 未来瑠，橋田 昌樹，岩森 暁，クリニッチ セルゲイ，關 一樹，“抗菌付与を目指したパルスレーザーによるステンレス表面の微細構造形成” レーザー学会第

44 回年次大会，日本科学未来館&東京国際交流会館プラザ，平成 2024 年 1 月 16 日-19 日．

[5]岡崎 未来瑠，橋田 昌樹，岩森 暁，“抗菌構造付与に向けたフェムト秒レーザによるステンレス表面への微細構造形成”レーザ加工学会第 100 回記念講演会，東京都立産業貿易センター浜松町館，2024 年 3 月 18 日．

[6]M．Okazaki，M．Hashida，S．Iwamori，“Estimation of surface roughness for antimicrobial structure evaluation from the reduction in reflectance” The 5th Smart Laser Processing Conference，Yokohama，Japan，2024 年 4 月 22 日−26 日．

[7]M. Hashida，H. Sakagami，M. Kusaba，S. Iwamori，S. Yamaguchi and S．Tokita，” Laser Induced Periodic Structures: generation and applications” The 25th International Symposium on Laser Precision Microfabrication (LPM 2024) San Sebastian，Spain 2024年6月11-14日．

[8]M．Hashida，“Recent progress of laser induced nano structuring for solar cell production and biomimetics"，Workshop “Biomedical Engineering” Varna，Bulgari，2024年6月24日-29日．

[9]橋田 昌樹，“パルスレーザーにより形成される微細周期構造の基礎と応用” レーザー学会 第589回研究会，3GeV高輝度放射光施設 Nano Terasu（ナノテラス）2024年9月9日．

[10] M. Hashida, M. Kusaba, H. Sakagami, “Recent progress of laser-induced periodic nanodot structures on solid surface”, Optical Laser Congress and Exhibition, Osaka, Japan 2024年10月20日-24日．

[11] M. Okazaki, S. A. Klinich, M. Hashida. A. Iwamori, “Antibacterial effect of periodic structure formed on stainless steel by using femtosecond pulsed laser”, 17th International Conference on Laser Ablation，Crete，Greece，2024年10月20-24日．

[12] 橋田 昌樹，“レーザー微細構造形成の進展とその生体分野への応用”，第11回バイオミメティクス加工研究会インタラクティブシンポジウム（リモート開催）2024年12月17日．

[13] M. Okazaki，M. Hashida，S. Iwamori，“The study aim to optimize LIPSS formed on stainless steel surfaces by femtosecond laser irradiation to improve antibacterial effect”, The 13th Asia-Pacific Laser symposium 2025，FP-0685，Seogwipo Jeju Island，South Korea，2025年5月13日-15日．

[14] 橋田 昌樹，塚本 雅裕，佐藤 雄二，竹中 啓輔，草場 光博，坂上 仁志，“ナノドット構造形成による材料機能性付与 －見えてきたレーザー量子加工－”，大阪大学 接合科学研究所 第22回 産学連携シンポジウム2025年5月23日．

[15] M. Okazaki，M. Hashida，S. Iwamori，”Uniformity of LIPSS affect to antibacterial effect on stainless steel” The 9th International Congress on Laser Advanced Material Processing，Mie，Japan，2025年6月10日-13日．

[16] K. Okazaki，M. Hashida，S. Iwamori，“ Comparison of LIPSS on stainless steel using 515 nm femtosecond and 355 nm nanosecond laser”，P30，The 10th Japan-Korea International Symposium on Materials Science and Technology，2025年7月28日-31日．

[17] 橋田 昌樹，“レーザー量子加工による表面改質と機能付与の最新動向と展望”，東海大学マイクロ・ナノ研究開発センター2025年度シンポジウム「ナノ構造制御と先端プロセスが拓く次世代機能性ナノ材料の新展開」東海大学湘南キャンパス，2025年10月10日．

受　賞

(1) 橋田 昌樹，“レーザ加工におけるビームと材料の相互作用ならびにレーザ加工現象の解明〜パルスレーザ照射による材料表面のナノドット構造形成” 大阪大学 接合科学共同利用・共同研究賞，2024年9月26日．