顕微界面振動分光法による，界面分子・電子環境の高精細解像

東京科学大学生命理工学院　准教授　関　貴一 *

1. はじめに

新奇な電子・機械・光学特性を持ち合わせた材料を開発する上で，材料界面における分子の配向や位置などの三次元構造や界面における電荷密度などの局所状態を理解することは重要である．例えば，電極界面反応の効率は，界面の不均一性に大きく影響を受けることが知られている．グラフェン電極上でラマン分光測定を行うと，局所的な電荷密度のゆらぎが確認される（Fig. 1）．このような不均一性は，触媒・電子デバイス特性に大きく影響することが知られ，従来，触媒活性や電子デバイス特性を損なうため避けられてきた．

しかし近年では，このような局所不純物や歪などの空間的な不均一性は，触媒活性や電子デバイス特性に特異な性質をもたらすことから，注目を集めるようになっている．例えば，空間的に単独に埋め込まれた金属原子の単一金属触媒（single-atom catalyst）などの **Å**-ナノレベルの空間的な不均一性は，触媒活性を著しく高めることが知られ[1]，ナノーマイクロレベルの電荷や親水疎水の空間パターンは特定の細胞を吸着させるために都合が良いことや，歪構造はバイオセンサーにおいては高感度な生体分子の検出を実現する上で重要であることが報告されている[2,3]．

また生体系では，脂質膜のドメイン構造（Fig. 1）や液液相分離により形成されるミクロスコピックな核酸とタンパク質の凝縮相など，分子論的な形成機構などがわかっていない現象が多々挙げられ，生命科学的観点から局所分子環境の理解が求められている．

このように，材料・生体界面におけるミクロスコピックな局所電子・分子環境：（1）空間的な電荷分布，（2）分子組成，そして（3）界面機能性分子の配向構造や局所水和構造など，界面近傍の分子・イオン環境を含めて詳細に解明することは，新たな機能性材料の設計指針の確立や，複雑な生体機能の解明につながると期待されている．

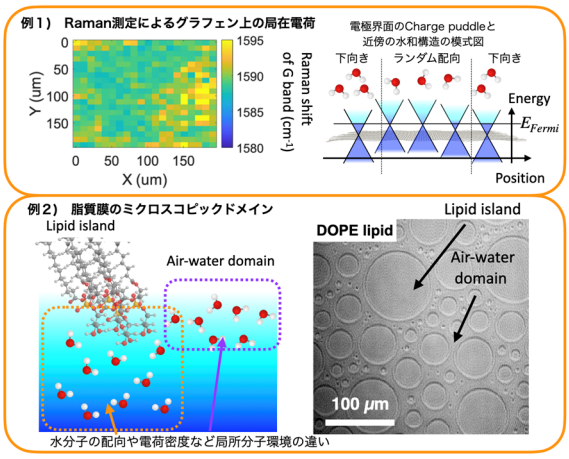

Fig. 1　局所電子・分子環境の存在する２つの例

これまで材料表面・界面における局所分子構造や電荷状態の観察は，赤外・ラマン顕微鏡や物理プローブを用いる原子間力顕微鏡（AFM）や走査型トンネル顕微鏡（STM）などが用いられてきた．前者を用いることで空間的に化学組成を把握することが可能であり，後者を用いることでトポグラフィ像など界面の形状を得ることができる．しかし，前者の分光顕微法では原理的にバルクに存在する分子と界面に局在する分子の区別ができず，後者のプローブ顕微鏡では気液界面などのソフト分子界面や固固界面などの埋没界面の分子構造や電荷情報を取得できないという問題があり，既存の表面•界面分析法では，分子選択性と水

*（助成採択時）　弘前大学大学院理工学研究科　助教

平方向・深さ方向への空間分解能など界面の分子現象を“見る”上で必要な要件をすべて満たすことは容易ではなかった．

そこで，本研究で私が着目した技術は，界面特異的な非線形振動分光法の 1 つである和周波発生振動分光法（Sum-Frequency Generation, SFG）である．SFG 分光法は，非侵襲かつ分子選択性，さらに光学的選択律に基づく界面選択性から，界面の分子イベントを界面の化学部位の“赤外吸収”スペクトルを通して“見る“強力なツールであり，近年我々が提案してきた，界面電荷量の定量法[4]，界面分子の三次元配向•界面深さ方向の Å スケールでの分子位置推定[5]，界面イオン種の水和構造解析[6]を利用することで，上述の不均一材料・生体界面の理解が可能になると考えられる．

本研究期間では，これらの界面解析手法を顕微分光法として拡張し，不均一材料・生体界面の局所分子環境の取得を可能とする計測プラットフォームの土台構築に取り組んだ．

2. 研究内容・成果

上述の SFG 分光法を行うためには，分子振動情報を高精度かつ詳細に取得する位相検出法であるヘテロダイン検出顕微 SFG 分光システムを構築する必要がある．まず本研究期間初期では，その土台構築として，2024 年 7 月に自身の研究室に導入した新規高繰り返しフェムト秒パルス光源を用いて，まず広視野のヘテロダイン検出顕微 SFG 分光システムの構築に取り組んだ．

SFG 分光法では，界面の振動子を振動励起するための中赤外光パルス（3 μm-7 μm 程度の領域）と，その振動子を仮想励起状態へアップコンバージョンするための近赤外光パルス（今回用いた光源においては，1030 nm）を用いる必要がある．さらに，それらのビームをサンプル測定位置で，時間的，空間的にオーバーラップさせる必要がある．それぞれの光路を，ビーム径（1030 nm: 4 - 5 mm, 3 μm: 3 - 4 mm）などを調整しつつ構築した．まず SFG 分光測定の波長分解能を決めるアップコンバージョン光の狭帯域化に取り組んだ．初期のプリリミナルな検討により，反射型回折格子・シリンドリカルレンズ・スリット・ミラーを用いた自作の 4 f パルスシェーパーを構築した場合の狭帯域化では，高輝度光源による回折格子の熱収縮などによりビームポインティングが安定しないことが判明していたため，この方法は断念した．そこで熱膨張や素子のダメージを軽減させるため，透過型回折格子（Light Smith, Coherent）を用いて同様に 4f パルスシェーパーを構築し，狭帯域化を行ったところビームポイントも安定しており，狭帯域化が可能となった．

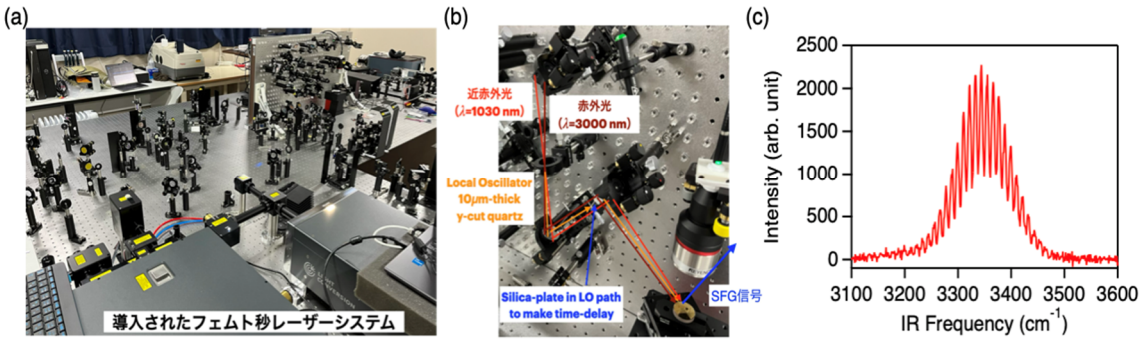

Fig. 2　(a, b) SFG 分光システムの様子と (c) 金表面より取得したヘテロダイン検出 SFG 信号

アップコンバージョンのビーム幅は～12 cm^{-1} 程度であり，サンプル位置で 1 -2 μJ 程度の強度となった．適宜 ZnSe レンズなどを用いてコリメーションを行うことで，中赤外光に関しては，サンプル位置で，1 μJ 程度のパルス強度となった．このシステムを用いて，10 μm 厚の y カット水晶から発生させた参照 SFG 信号と，テストサンプルとしての金表面や z カット水晶からの SFG 信号を干渉させ，ヘテロダイン SFG 信号を検出することができた（Fig. 2）．

次に，このシステムを用いたテスト測定として 2-propanol/water の空気水界面からの SFG 信号の位相検出に取り組んだ．しかしながら，$\mathrm{Im}\chi^{(2)}$スペクトル内に観測されると予想した 2-propanol に由来する C-H 伸縮モードのピークは，はっきりと検出されず，位相の correction を 60 度ほど行うとピーク様の信号がようやく観測された（Fig. 3）．

これはエアコンなどの外乱により，参照サンプルの SFG 信号取得時と 2-propanol/water 表面からの SFG 信号取得時において，サンプル高さ（もしくはビーム集光位置）が参照サンプル表面の高さと比べて，数 10 μm ほどずれてしまっていることに由来すると考えられた．

この原因としては，SFG 分光測定部位が空調やコンプレッサー類の振動などの外部環境に対してオープンな状態となっており，測定対象である液面の高さが安定でなかったためだと考えた．そこで，光路の安定性やサンプル表面の平面性を担保するために，SFG 分光装置全体を外部環境から遮断するためのエンクロージャーを行った（Fig. 4a）．そして，z-cut 水晶からの SFG 信号の位相安定性を評価したところ，1 時間あたり，わずか 1 -2 度の位相ドリフトのみが発生することがわかった（Fig. 4b）．

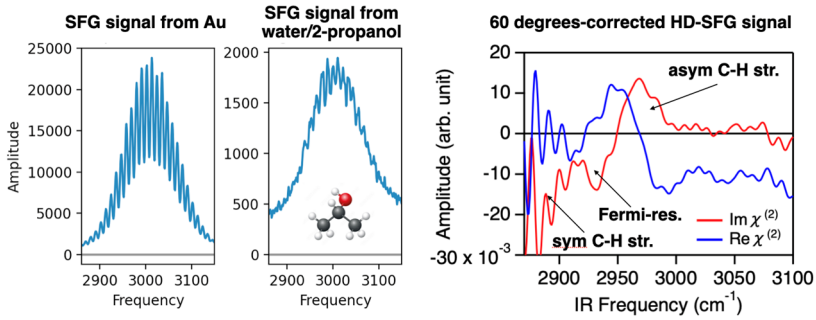

Fig. 3　金表面と 2-propanol/water の空気水界面より取得したヘテロダイン検出 SFG 信号の結果.

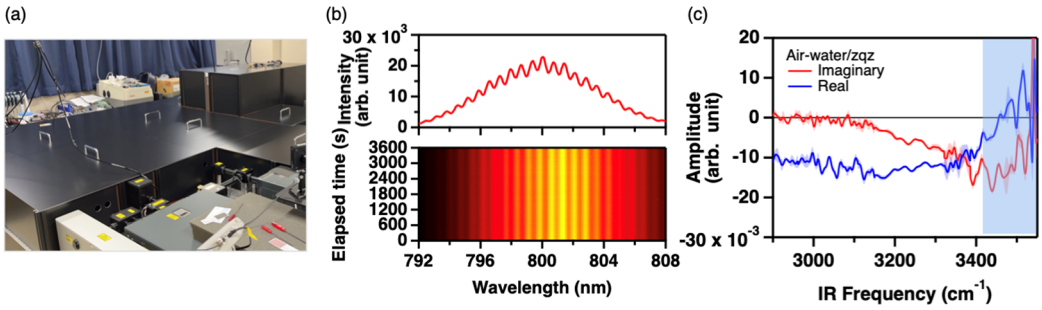

Fig. 4　(a) SFG 分光システムへのエンクロージャーの導入と，(b) z-cut 水晶からの SFG 信号の位相安定性の評価，そして(c)空気水界面の O-H 伸縮モード領域のヘテロダイン検出 SFG 信号測定.

エンクロージャーの効果だけでなく，おそらく新規光源の安定性に由来して，従来のノンコリニアタイプの SFG 分光システム（Ti サファイヤ光源を用いるもの）の位相安定性（10-20 度/h）の 5 - 10 倍ほど優れていることが判明した．このシステムを用いて，微弱な信号ではあるが，SFG 分光における，いわばゴールドスタンダードである空気水界面の O-H 伸縮モード領域のスペクトル測定した（Fig. 4c）．注目する $\mathrm{Im}\chi^{(2)}$ スペクトル内の 3000 cm^{-1} 付近は，resonant なモードが存在しないためゼロ amplitude を示し，3100 - 3400 cm^{-1} にかけて，負の O-H 伸縮モード信号を見ることができる．このスペクトル形状は，先行研究を十分に再現しており（3400 cm^{-1} 以上の振動数領域は，光路内の水蒸気による中赤外光の吸収の効果が出てしまっているため noisy である）[7]，この SFG 分光システムにはゴースト信号の発生や高次の光学効果などの寄与はなく，信頼性の高いシステムであると結論づけられる．と考えられた．

そして，この土台となる SFG 分光システムにブランチを作製する形で，顕微 SFG 分光システムの構築に取り掛かった（Fig. 5）．顕微 SFG 分光システムにおいては，波長領域の大きく異なる光をサンプル上で集光する必要がある．そのため，通常のガラスを用いる対物レンズなどの屈折光学素子を用いることはできず，反射型の対物システムを用いる必要があり，本研究期間では，まず操作の容易さを鑑みて，Beck Optronic 社の銀コート低倍率反射型対物（x15）を用いて，従来法の強度検出型顕微 SFG 測定の検証を行うこととした．

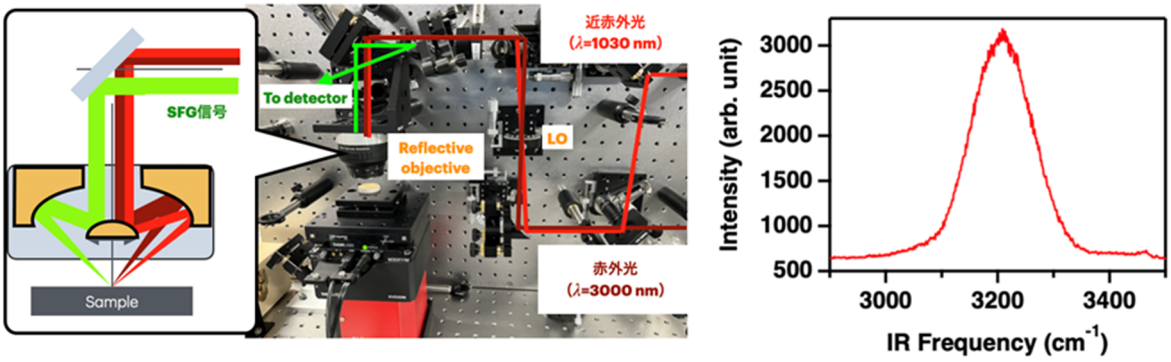

Fig. 5　顕微 SFG 分光システム測定部の概観と，金表面からのホモダイン検出 SFG 信号測定．

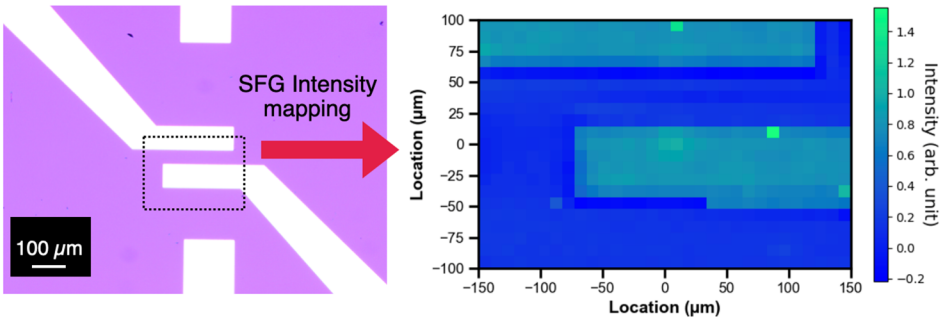

Fig. 6　顕微 SFG 分光システムによるシリコンウェハ上のパターン金属電極のホモダイン検出スキャンと積算非共鳴信号に基づく再構築画像．

上述のマクロスコピック SFG 分光システムにブランチを作製する形で，顕微 SFG 分光システムの光学素子の配置を完了した．近赤外光と中赤外光のビームサイズを 1 - 2 mm とし，直径 12 mm の凸面鏡の半面に反射させ，金表面から従来法であるホモダイン検出 SFG 信号測定を行う状態まで装置を構築できた．そしてテスト測定として，シリコンウェハ上にパターニングした FET 基板を強度検出型 SFG システムでスキャンした結果を Fig. 6 に示す．

スキャンした波数領域は，Fig. 5 と同じ 3000 - 3400 cm^{-1} であり，各点 10 μm のステップサイズで，露光時間は 30 s である．この波数領域において，金，シリコンウェハ（270 nm-thick SiO_2 on *p*-doped Si）は明確な振動モードを持たないため，非共鳴バックグラウンドの違いによるコントラストが見えている．空間分解能・時間分解能ともに課題は残されているが，顕微 SFG 分光システムの構築により，界面振動情報の空間マッピングが可能となった．

そして，研究室の移転後に，これまでの実験設備の問題点を踏まえて，10 m ほどあった光路長を 8m 程度に短縮し，強度検出 SFG 顕微鏡を位相検出タイプへとアップグレードした．それを用いて，パターン電極基板を再度スキャンした．参照信号により，サンプル表面からの信号が増強されているため，各点 1 秒程度の露光時間で，Fig. 6 と同様の SN 比の信号を得ることができた（Fig. 7）．

3. 結論

本研究期間内では，界面分子環境測定のための測定システムとして，位相検出型顕微 SFG 分光システムの土台構築に取り組んだ．高輝度の新規光源を用いた SFG 分光システムの構築を通して，適切な光学素子を選定し，まずマクロスコピック SFG 測定システムの構築を完了した．そのシステムを用いて，空気水界面や脂質膜界面の先行研究データを十分に再現し，素子類の選定や測定システムのデザインに問題がないことを確認した．

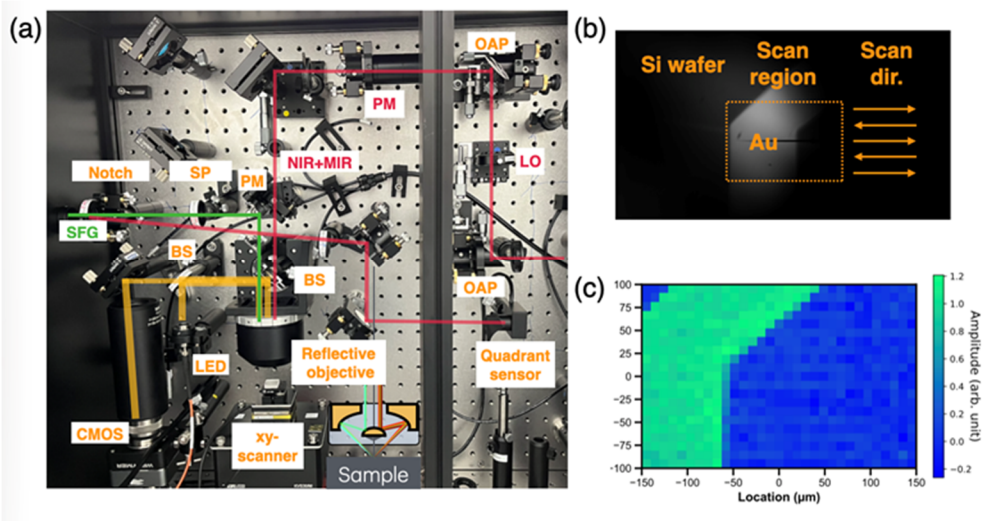

Fig. 7　再設計を施した顕微 SFG 分光システム測定部の概観と，パターン金電極表面からの位相検出 SFG 信号測定による画像再構成．

その後に，マクロスコピック SFG 分光システムにブランチを作製する形で，SFG 顕微鏡の作製に取り掛かった．強度検出型 SFG 顕微鏡の構築から始め，途中研究室の移動をはさみ，位相検出 SFG 顕微鏡の構築を行った．現状は，測定条件や高速測定へ向けた条件出しを行っており，それが完了し次第，当初の開発目標である，表面電荷計測や分子構造解析のアドオンを実装していく予定である．装置構築を進める傍ら，水和構造から界面イオン種の特定を行う方法論の展開を進めていた（下記，成果参照）．その手法に関しても，SFG 顕微鏡に実装していく所存である．

4. 参考文献

[1] Kyriakou, G. et al. Isolated metal atom geometries as a strategy for selective heterogeneous hydrogenations. Science 335, 1209–1212 (2012).

[2] Hwang, M. T. *et al.* Ultrasensitive detection of nucleic acids using deformed graphene channel field effect biosensors. *Nat. Commun.* **11**, 1543 (2020).

[3] Du, F. *et al.* Controlled adsorption of multiple bioactive proteins enables targeted mast cell nanotherapy. *Nat. Nanotechnol.* **19**, 698–704 (2024).

[4] Seki, T. *et al.* Real-time study of on-water chemistry: Surfactant monolayer-assisted growth of a crystalline quasi-2D polymer. *Chem* 1–13 (2021).

[5] Yu, C.-C., Seki, T., Wang, Y., Bonn, M. & Nagata, Y. Polarization-dependent sum-frequency generation spectroscopy for Ångstrom-scale depth profiling of molecules at interfaces. *Phys. Rev. Lett.* **128**, 226001 (2022).

[6] Seki, T. *et al.* Ions speciation at the water-air interface. *J. Am. Chem. Soc.* **145**, 10622–10630 (2023).

[7] Nihonyanagi, S. *et al.* Accurate determination of complex $\chi(2)$ spectrum of the air/water interface. *J. Chem. Phys.* **143**, 124707 (2015).

5. その他成果発表等

- Seki, T.; Yu, C.-C.; Yu, X.; Chiang, K.-Y.; Sun, S.; Bonn, M.; Nagata, Y. Spontaneous Appearance of Triiodide Covering the Topmost Layer of the Iodide Solution Interface Without Photo-Oxidation. Environ. Sci. Technol. 58, 3830–3837 (2024).
- Takakazu Seki, Chun-Chieh Yu, Kuo-Yang Chiang, Mischa Bonn, and Yuki Nagata, SFG 分光法を用いた，空気—ヨウ化ナトリウム水溶液界面の界面活性イオン種の解析，第 18 回分子科学討論会，京都大学, 2024 年 9 月 21 日.
- 関貴一，花王科学奨励賞、花王芸術・科学財団, 2024 年 3 月.

6. 謝辞

研究室立ち上げ時から，島津科学技術振興財団様の助成を頂け大変助かりました．また細々とした研究室整備などに財源を利用でき助かりました．ここに感謝申し上げます．