報 文 2

表面プラズモン顕微鏡によるLB膜のモルフォロジー観察

田島 信芳・近藤 聖二・篠原 悦夫・越石喜代三
岡本 隆之*・山口 一郎*・下村 政嗣**

オリンパス光学工業(株) 八王子市久保山町 2-3 (〒192)

*理化学研究所光工学研究室 和光市広沢 2-1 (〒351-01)

**北海道大学電子科学研究所 札幌市北区北十二条西 6 丁目 (〒060)

(1993 年 2 月 8 日受理)

Morphological Observation of LB Films With A Surface Plasmon Microscope

Nobuyoshi TAJIMA, Seiji KONDO, Etsuo SHINOHARA, Kiyozo KOSHIISHI,
Takayuki OKAMOTO*, Ichirou YAMAGUCHI*,
and Masatsugu SHIMOMURA**

Olympus Optical Co., Ltd., 2-3, Kuboyama-cho, Hachioji, Tokyo 192

*Optical Engineering Laboratory, The Institute of Physical and Chemical Research
(RIKEN), 2-1, Hirosawa, Wako, Saitama 351-01

**Research Institute of Electronic Science, Hokkaido Univ., Kita 12,
Nishi 6, Sapporo, Hokkaido 060

(Received February 8, 1993)

Morphology of Langmuir-Blodgett (LB) films was observed by means of a surface plasmon microscope. Images obtained by the microscope were compared with those obtained by an epifluorescence microscope. An LB film prepared from didodecylphosphate containing 2-mol% octadecyl rhodamine B as a fluorescence probe was transferred onto a slide glass coated with gold. Dendrite-like crystals observed with the fluorescence microscope were also found in the surface plasmon image when the monomolecular film was transferred onto the gold substrate coated with a polyimide LB film. The dendrites were not formed in the LB film directly deposited on the gold surface.

1. はじめに

Langmuir-Blodgett 膜 (LB 膜)¹⁾ は、分子レベルでの構造制御が可能であるためセンサー、非線型光学、有機エレクトロニクスなど種々の分野で注目を集めている。また、近年のエレクトロニクス技術の進歩に伴う制御技術の発達により、LB 膜作製装置の改良が進み、比較的容易に単分子有機薄膜の作製が可能になった。一方、LB 膜の評価技術も進歩し、電子顕微鏡、蛍光顕微鏡、全反射 X 線回折法、走査型プローブ顕微鏡など色々な方法が

用いられ、膜の凝集構造が検討されている。これらの手法による結果から、基板に累積した LB 膜だけでなく水面上の単分子膜においても考えられていたほどには均一な膜構造をとらないことが明らかになりつつある。我々も、LB 膜の特長を活かしたオプティカルイオンセンサー²⁻⁵⁾の設計を進めるにあたり、蛍光顕微鏡³⁻⁸⁾を用いた水面上および基板に移し取った単分子膜の評価を行ってきた⁹⁾。この方法では膜中に加えた微量の色素の蛍光を観察することで、容易に単分子膜の状態を評価することができる。しかし、金属表面上に LB 膜を累積した場

合、蛍光が消光されてしまう場合があり観察が困難であった。

金属表面上の LB 膜の評価は、LB 膜修飾電極や絶縁膜などの機能設計に非常に重要である。近年その方法の一つとして、金属と誘電体の界面に生じる表面プラズモン共鳴を利用して薄膜の厚さ分布¹⁰⁻¹⁴⁾や試料表面の屈折率分布¹⁵⁻¹⁷⁾を高感度で測定する表面プラズモン顕微鏡の開発が報告されている。本論文では、金属上に累積した LB 膜の状態を表面プラズモン顕微鏡で観察した。さらに、蛍光顕微鏡による像との比較によりその評価を行った。また、金属膜上に直接 LB 膜を累積した場合

と、金属表面上にスペイサー膜としてポリイミド LB 膜を 1 層介して累積した場合との比較を行った。

2. LB 膜とその蛍光顕微鏡観察

LB 膜の構成単位である水面上の単分子膜は、通常、表面圧-面積曲線 (π -A 曲線) によって評価される。 π -A 曲線は、単分子膜の圧縮に伴って生じた表面圧 π と膜物質 1 分子が表面で占める面積 A との関係を示したもので、単分子膜の相状態を反映している。これまで一般には、水面上の単分子膜は、表面圧が大きくなるにしたがって気体膜から液体膜をへて固体膜へと相変化すると考

Diocetadecylammonium bromide

Octadecyl rhodamine B

Carboxymethylcellulose

Polyimide

えられていた。しかし、蛍光顕微鏡観察、電子顕微鏡観察¹⁸⁾、FT-IR 分光法¹⁹⁾などの結果から、脂肪酸単分子の場合には均一に圧縮されるのではなく、水面上への展開直後から単分子膜が島状に存在し、それらが圧縮に伴って凝集することが分かってきた。

蛍光顕微鏡による単分子膜の観察は、多くの場合膜物質に数 mol% の蛍光プローブを混入することによって可能となる。この例として、Fig. 1 に、ジドデシルリン酸に蛍光プローブとしてオクタデルシロダミン B を 2 mol% 混入した単分子膜の π -A 曲線を示す。表面圧が低い状態では、膜が流動的であるため色素が膜全体に分散して、視野全体が均一に光った蛍光顕微鏡像 (Fig. 2a) が得られる。圧縮に伴い膜に相変化が起こり、 π -A 曲線には変曲点が現われ、蛍光顕微鏡像には明るい視野の中

Fig. 1 Pressure-area isotherm of the surface monolayer of didodecylphosphate with 2 mol% octadecylrhodamine B.

Fig. 2 Pressure dependence of fluorescence image and schematic diagram of molecular aggregation state.

に暗い部分 (Fig. 2b) が出現し次第に成長して樹状結晶 (デンドライト) (Fig. 2c) を形成する。この変化は、単分子膜の結晶化に伴い蛍光色素が不純物として結晶相からはじき出されることによって生じる。その結果、流動相は明るく結晶相は暗くなる (Fig. 2 の模式図参照)。蛍光顕微鏡によるモルフォロジー観察により、単分子膜の凝縮状態が評価でき、さらに累積した基板上的蛍光顕微鏡像と比較することで、水面上での膜の状態が基板上で維持されているかどうかの判断も容易に行える。

ここで用いたジドデシルリン酸は、バリノマイシンを用いたカリウムイオンセンサーのマトリックス膜として適しており^{2-5, 20)}、また、基板の表面状態により LB 膜の累積のされ方が大きく変化することがわかっている⁵⁾。したがって、金属表面上に累積した場合の膜状態にも興味を持たれる。

3. 表面プラズモン顕微鏡

表面プラズモンは、誘電体と金属との界面を伝搬する電子密度波で、ATR 法を用いることで TM 偏光のエバネッセント光によって励起できる。光によって表面プラズモンが励起された状態を表面プラズモン共鳴といい、この共鳴条件は金属および誘電体の屈折率に大きく依存する。表面プラズモンの分散関係は Maxwell 方程式を解くことによって求められ、次式で表される²¹⁾。

$$K_{sp} = \frac{\omega}{c} \cdot \frac{n_m n_s}{\sqrt{n_m^2 + n_s^2}} \quad (1)$$

ここで、 K_{sp} は表面プラズモンの波数ベクトル、 ω は振動数、 c は真空中での光速、 n_m は金属の屈折率、 n_s は誘電体 (試料) の屈折率である。エバネッセント光の波数ベクトルの界面に平行な成分が表面プラズモンのそれと等しくなったとき、表面プラズモンが励起される。このとき、光のエネルギーが表面プラズモンに移り、反射光強度は著しく減衰する。エバネッセント光の波数ベクトルは励起光の入射角に依存するため、反射率の入射角依存性を測定すると鋭い谷を持つ曲線となる。したがって、表面プラズモン共鳴はこの反射率曲線の谷として観測される。(1) 式に示すように、試料の屈折率 n_s が変化すると、表面プラズモンの波数 K_{sp} も変化し、それによって反射率曲線の谷の位置もシフトする。したがっ

Fig. 3 Kretschmann configuration.

Fig. 4 Schematic diagram of the surface plasmon microscope.

て、屈折率 n_m が既知の金属を用いた場合、反射率曲線の谷の位置を測定することにより、試料の屈折率 n_s を求めることができる。

エバネッセント光の強度は界面で最大でそこから離れるに従い指数関数的に減衰し、しみこみ長は光の波長オーダーである。したがって、表面プラズモン共鳴により、金属に接した誘電体の界面近傍のみの屈折率を高感度で検出できる。また、膜厚がエバネッセント光のしみこみ長より薄い超薄膜では、さらに外層の誘電体（例えば空気）の屈折率にも共鳴条件が影響されるため、超薄膜の厚さに関する情報も得ることができる。一般化すると、共鳴角は膜厚情報を含んだ等価屈折率に依存する。膜の屈折率とその外側の屈折率より大きい場合、膜厚および膜の屈折率が大きくなるほど、等価屈折率は大きくなる。

表面プラズモンを励起するために、我々は ATR 法の一変形である Kretschmann 配置²²⁾を用いた。この配置は、Fig. 3 に示すように、プリズムに金属を薄膜として蒸着し、これを試料と接触させたものである。Fig. 4 に装置の概略を示す。誘電体試料（LB 膜）は、スライドガラスの一方の表面に金属薄膜を介して形成する。BK7 製 ($n=1.515$) の 60 度プリズムはスライドガラスの他方の表面にマッチングオイルを介して密着させる。励起光として TM 偏光の He-Ne レーザー ($\lambda=632.8$ nm, 2 mW) をビームエキスパンダー ($\times 15$) で拡大し、顕微鏡対物レンズ ($\times 10$, N.A.=0.28) で集光して試料—

Fig. 5 Resonance angles as a function of the index of refraction of 2-nm thick dielectric film (a) and as a function of the thickness of that with an index of refraction of 1.5 (b).

金属薄膜界面に照射する。反射光をシリンドリカルレンズで 1 次元方向にコリメートして、1 次元フォトリソグラフィ (1024 素子) で検出し、強度分布を求める。この方法を採用することにより、反射光強度の入射角依

存性を機械走査せずに測定できるので、共鳴角を高速に検出することができる²³⁾。観測位置はパルスモーター制御のXYステージを用い、試料とプリズムを一体化して2次元走査した。そのため、レンズから試料までの光路長が走査中に変化し、測定誤差の要因となることが予想されるが、本実験の観察範囲 ($200 \times 200 \mu\text{m}^2$) では問題とならなかった。パルスモーターはパーソナルコンピュータによって制御される。検出器からの信号は、AD変換の後パーソナルコンピュータに取り込まれ、CRT上に共鳴角の変化を色分けしてマッピングされ、濃淡像や疑似カラー像として表示される。この画像が誘電体試料の等価屈折率分布に相当する。

本顕微鏡の面内分解能は表面プラズモンの伝搬長に依存し、数 $10 \mu\text{m}$ である。一方、薄膜測定において、屈折率および膜厚の感度は Fig. 5 の様になる。Fig. 5a は本配置において、試料の膜厚を 2 nm としたときの共鳴角の屈折率依存性を示す。また、Fig. 5b は試料の屈折率を 1.5 としたときの共鳴角の膜厚依存性を示す。本顕微鏡では、1次元フォトリソグラフィの各素子の位置が反射角に線型に対応し、角度分解能は 0.0070° である。この値より本顕微鏡の薄膜に対する屈折率および膜厚の分解能は Fig. 5 の条件下で、それぞれ平均 0.021 および 0.058 nm となる。

4. 実験結果

4.1 LB膜の膜厚と反射率曲線

LB膜を層数を変えて累積し、それぞれの累積層数に対する反射率曲線を測定した。膜材料としては、安定で累積性に優れた高分子LB膜材料であるポリイミド²⁴⁾と、オクタデシルジメチルアンモニウムブロマイドとカルボキシメチルセルロースのポリイオンコンプレックス²⁵⁾ ($2\text{C}_{18}\text{N}^+2\text{C}_1/\text{CMC}$) の2種類を用いた。基板には、クロム 1 nm を蒸着した上に金 45 nm を蒸着したスライドガラスを用いた。蒸着後の金表面は疎水性を示したので、酸素プラズマ (150 W) によって3分間処理し表面を清浄化して親水表面とした。さらに、汚染を避けるため使用直前まで水中に保存した。 $2\text{C}_{18}\text{N}^+2\text{C}_1/\text{CMC}$ のLB膜はプラズマ処理せずに累積したが、本論文で用いたそれ以外のLB膜は全てプラズマ処理を行った。

Fig. 6 に測定結果を示す。図中の Au は金蒸着膜のみ、P1 と P3 はそれぞれポリイミドLB膜1層と3層、C2 と C4 はそれぞれ $2\text{C}_{18}\text{N}^+2\text{C}_1/\text{CMC}$ のLB膜2層と4層の反射率曲線である。金表面に対する共鳴角に比べて、LB膜を累積した表面の共鳴角は、膜厚が1層増

Fig. 6 Reflectance curves. Au: bare metal, P1: monolayer of polyimide, P3: 3 layers of polyimide, C2: 2 layers of polyioncomplex, and C4: 4 layers of polyioncomplex LB films on the gold surface.

えるごとに、ポリイミドLB膜の場合は約 0.029° 、 $2\text{C}_{18}\text{N}^+2\text{C}_1/\text{CMC}$ LB膜の場合は約 0.193° 増加した。ポリイミドLB膜の膜厚は約 0.4 nm であるので²⁴⁾、 $2\text{C}_{18}\text{N}^+2\text{C}_1/\text{CMC}$ のLB膜の膜厚は、屈折率がポリイミドLB膜と同じであると仮定した場合、1層が約 2.7 nm と推定できる。

4.2 LB膜のモルフォロジー観察

表面プラズモン顕微鏡により、蛍光プローブのオクタデシルローダミンBを $2 \text{ mol}\%$ 含んだジドデシルリン酸の単層LB膜を観察し、蛍光顕微鏡像と比較した。試料は金表面上に直接ジドデシルリン酸単分子膜を移し取ったものと、金表面上にポリイミドLB膜を1層形成し、その上に移し取ったものを用いた。なお、金表面上の蛍光顕微鏡像は消光が起こって観察することができなかったため、金蒸着をスライドガラスの中央部のみに行い、蛍光顕微鏡像は周辺部の金蒸着の無い部分から得るようにした。

Fig. 7 に、金蒸着の無い部分の蛍光顕微鏡像を示す。デンドライト状のモルフォロジーが観察できた。Fig. 8 に表面プラズモン顕微鏡により観察した金表面上に直接

Fig. 7 Fluorescence image of the didodecylphosphate monolayer on a glass surface.

Fig. 8 Image of the didodecylphosphate monolayer, which is directly deposited on a gold surface, observed with the surface plasmon microscope.

移し取ったLB膜の像を示す。この像からはデンドライト状のモルフォロジーは観察できなかった。Fig. 9にポリイミドLB膜を1層形成した上に移し取ったLB膜の表面プラズモン顕微鏡像を示す。蛍光像と類似の像を得ることができた。なお、Fig. 8とFig. 9の両試料ともジドデシルリン酸単分子膜の累積比はほぼ1（被覆率約100%）であった。Fig. 9の明るい部分が等価屈折率が大きい部分であり、暗い部分との共鳴角の差は、約

Fig. 9 Image of the didodecylphosphate monolayer, which is deposited on the gold surface coated with a polyimide monolayer, observed with the surface plasmon microscope. The transfer condition is the same as that in Fig. 8.

0.071° であった。この部分は結晶化したドメインに相当すると考えられる。なぜならば、結晶相は流動相に比べ分子が高密度、高配向状態であるので、屈折率および膜厚が共に大きくなるためである。この解釈はFig. 7の蛍光像と一致している。ジドデシルリン酸の分子モデルから推定した単分子膜の膜厚を2 nmで一定とし、平均屈折率を1.5と仮定すると、明るい部分と暗い部分との差は屈折率に換算して約0.22になる。実際には、明るい部分の方が膜厚も厚いと考えられるので、この値はもっと小さくなると考えられる。

5. 考 察

Fig. 9と比較すると、Fig. 8は明らかに像が異なっており、LB膜の状態も異なっていると考えられる。Fig. 8とFig. 9の試料の差はポリイミドLB膜を1層介したか、介していないかだけの差である。したがって、この原因は、主としてジドデシルリン酸の金表面、ポリイミドLB膜表面に対する相互作用の差であると考えられる。ジドデシルリン酸LB膜は、種々のシランカップリング材を用いて表面処理したガラス基板上へ累積した場合、表面が親水性から疎水性になるにつれて、累積のされ方がZ累積、Y累積、X累積へと大きく変化する⁵⁾。金のような金属表面は、非常に有機物などを吸着しやすく、疎水性に変わりやすい性質がある。このことは本実験に用いた金蒸着膜を、プラズマ処理によって親

水化した後空气中に放置しておくと、徐々に水の接触角が大きくなり、その分布も不均一になったことからわかる。ジドデシルリン酸 LB 膜は基板の表面状態の影響を受けやすい膜材料であるため、表面状態が変化しやすい金表面上に移し取った場合に、その影響を受けて膜構造が変化したものと考えられる。ただし、金表面の状態の変化は、LB 膜の累積前か後かは不明である。これに対し、ポリイミド LB 膜を 1 層介したサンプルは安定な親水表面を持つため、水面上のモルフォロジーが基板上でも維持されたものと考えられる。また、ポリイミド LB 膜の膜厚が 0.4 nm と非常に薄いこと表面プラズモン顕微鏡によるモルフォロジー観察への影響も少なく、明瞭な像が得られたのであろう。

6. ま と め

表面プラズモン顕微鏡を用いて LB 膜のモルフォロジー観察を行った結果、金属表面上に直接累積した LB 膜の状態は、水面上およびガラス表面上に累積したものとは異なることがわかった。ジドデシルリン酸のような基板表面の状態の影響を受けやすい膜を金表面上に形成する場合には、ポリイミドなどの安定な超薄膜を介することが有効であることが分かった。また、ジドデシルリン酸の結晶化部と非晶部とは、屈折率もしくは膜厚あるいはその両方が大きく異なっていることが明らかとなった。

表面プラズモン顕微鏡による観察では、LB 膜に蛍光色素を混入する必要がないため、直接 LB 膜の評価が可能である。また、比較的簡単に複雑なデータ処理をしなくても高感度での測定が可能であり、膜の情報（等価屈折率）が定量的に得られる特長を持つ。

LB 膜の実用化を目指すには、膜の広い範囲を分子レベルで評価することが求められる。表面プラズモン顕微鏡は面内分解能は数 10 μm であるものの、薄膜の観測においては、膜厚、屈折率の感度が非常に高いため、この目的に適している。今後、走査型プローブ顕微鏡などと組み合わせて用いることにより、さらに多くの情報が得られるものと期待できる。

文 献

- 1) K. B. Blodgett and I. Langmuir: Phys. Rev. **51**, 964 (1937).
- 2) M. Shimomura, E. Shinohara, S. Kondo, N. Tajima, Y. Nagata and K. Koshiishi: Sensor and Materials **4**, 29 (1992).
- 3) E. Shinohara, N. Tajima, K. Koshiishi, M. Shimomura, T. Okamoto and I. Yamaguchi: Proc. Int. Symp. on IFCC/JSCC-WGSE (IFCC, Tokyo, 1992) p. 201.
- 4) M. Shimomura, E. Shinohara, S. Kondo, N. Tajima and K. Koshiishi: Supramol. Chem. (in press).
- 5) M. Shimomura, A. Honma, S. Kondo, E. Shinohara, N. Tajima and K. Koshiishi: Sens. Actuators B (in press).
- 6) R. Peters and K. Beck: Proc. Nat. Acad. Sci., USA, **80**, 7183 (1983).
- 7) H. M. McConnell, L. K. Tamm and R. M. Weis: Proc. Nat. Acad. Sci., USA, **81**, 3249 (1984).
- 8) M. Lösche, E. Sackmann and H. Möhwald: Ber. Bunsenges. Phys. Chem. **87**, 848 (1983).
- 9) M. Shimomura, K. Fujii, T. Shimamura, M. Oguchi, E. Shinohara, Y. Nagata, M. Matsubara and K. Koshiishi: Thin Solid Films **210/211**, 98 (1992).
- 10) E. M. Yeatman and E. A. Ash: Electron. Lett. **23**, 1091 (1987).
- 11) E. M. Yeatman and E. A. Ash: Proc. SPIE **897**, 100 (1988).
- 12) B. Rothenhäusler and W. Knoll: Nature **322**, 615 (1988).
- 13) W. Hickel and W. Knoll: Thin Solid Films **187**, 349 (1990).
- 14) W. Hickel and W. Knoll: Appl. Phys. Lett. **57**, 1286 (1990).
- 15) 岡本隆之, 山口一郎: 光学 **19**, 682 (1990).
- 16) T. Okamoto and I. Yamaguchi: Proc. SPIE **1329**, 472 (1990).
- 17) T. Okamoto and I. Yamaguchi: Opt. Commun. **93**, 265 (1992).
- 18) R. Neuman, S. Fereshtekhou and R. Ovalle: J. Colloid Interface Sci. **101**, 309 (1984).
- 19) E. Okamura, J. Umemura and T. Takenaka: Biochim. Biophys. Acta. **812**, 139 (1985).
- 20) M. Sugawara, H. Sazawa and Y. Umezawa: Langmuir **8**, 609 (1992).
- 21) H. Raether: *Surface plasmons on smooth and rough surfaces and gratings*, (Springer, Berlin, 1988).
- 22) K. Kretschmann: Z. Phys. **241**, 313 (1971).
- 23) X. Matsubara, S. Kawata and S. Minami: Appl. Spectrosc. **42**, 1375 (1988).
- 24) M. Kakimoto, M. Suzuki, T. Konishi, Y. Imai, M. Iwamoto and T. Hino: Chem. Lett., 823 (1986).
- 25) M. Shimomura and T. Kunitake: Thin Solid Films **132**, 243 (1985).