溶液中の金属酸化物表面と吸着水の構造評価

荻野 俊郎・山崎 憲慈

横浜国立大学大学院 ☎ 240-8501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-5

(2012 年 3 月 28 日受付; 2012 年 4 月 10 日掲載決定)

Characterization of Metal Oxide Surfaces and Adsorbed Water Layers in Aqueous Environment

Toshio OGINO and Kenji YAMAZAKI

Yokohama National University, 79-5 Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama, Kanagawa 240-8501

(Received March 28, 2012 ; Accepted April 10, 2012)

Since metal oxide surfaces are chemically stable in aqueous solutions, their atomic structures and chemical properties can be utilized in nanofabrication and nano-biotechnology in aqueous environment. This article describes phenomena related to water layers on single-crystalline metal oxide surfaces. On sapphire (0001) surfaces, domain structures with different hydrophilicity and charged states are spontaneously formed during thermal annealing. This surface exhibits domain-selective adsorption of protein molecules. Phase separation on metal oxide surfaces is classified into structural and chemical ones. On the chemically phase-separated surfaces, terraces with different surface chemistry coexist. Surface chemistry in aqueous environment can be characterized by adsorption force measurement of a tip to the substrate surface using atomic force microscopy (AFM). Water layers on a metal oxide surface can be observed by AFM by attaching graphene films to the oxide surface. Chemical phase separation on titania (100) surfaces is also demonstrated.

KEYWORDS : metal oxide, sapphire, adsorbed water, atomic force microscopy, titania

1. は じ め に

無機固体結晶の表面科学は、超高真空による清浄表面の形成と、電子をプローブあるいは検出対象とする分析・観察手段の発展に支えられてきた。半導体や金属表面は空气中で容易に酸化されるため超高真空は必須の舞台であったが、金属酸化物はもともと酸化されているため、空气中や水溶液中で安定な表面構造が得られる。また、走査プローブ顕微鏡の発展により、空气中や液中で表面を観察・評価する手段が豊富に使えるようになった。一方、表面科学の適用領域が生体系に拡大し、水溶液中での表面現象への関心が高まってきた。このような背景から、金属酸化物表面はバイオナノテクノロジーにおける基板として注目されるようになった。チタン酸化物 (TiO_2 , Titania, チタニア) は、光化学反応を示す材料として¹⁾、また色素増感太陽電池の色素吸着層としてすでに広く利用されている²⁾。また、生体適合性の良い

素材としてインプラントや再生医療などへの応用も進んでいる³⁾。一方、サファイアは、SOS (Silicon On Sapphire) として Si-LSI の基板としても利用できるほどの高品質であり⁴⁾、現在では窒化物系発光デバイスの基板として量産されている⁵⁾。これら酸化物単結晶の表面は空气中や液中でも well-defined な表面形成が可能なことはよく知られている。しかし、本特集の趣旨であり、また、バイointerフェースの素材として見たときに重要な水溶液中での表面の評価や吸着水の状態、さらには生体分子との相互作用についてはまだ研究が十分には進んでいない。

本研究紹介では、金属酸化物単結晶表面の水に焦点を当てる。水に関わる直接的な表面の性質は親水性と疎水性である。その両方のドメインが共存するサファイア表面の性質とタンパク質吸着の機構解明への応用を紹介する。また、表面の相分離には、構造的なものと化学状態の違いを伴うものがあることを述べる。ついで、水溶液中でも表面の化学的状態の評価が可能なこと、グラフェンを用いることにより吸着水を閉じ込め、構造を可視

化できることを紹介する。最後に、化学的相分離は酸化チタンにおいても現れることを付記し、酸化物単結晶で一般的に起こり得る現象であることを述べる。こうした化学的に性質の異なるドメインは、超高真空中の半導体表面などでは関心を引くものではないが、溶液中の金属酸化物表面ではタンパク質分子吸着に特異な性質を示すことなど、表面科学的にも応用物理的にも興味ある現象である。

2. 構造ドメインと化学ドメイン

2.1 サファイア単結晶表面

サファイア (Al_2O_3) は六方晶系に属し、(0001), (1-102), (11-20)面などが容易に入手可能な面方位である。研磨した表面を 900~1400°C, 空气中で熱処理することにより規則的なステップ配列が得られる。(0001)面であれば, 1300~1400°Cの熱処理ではステップがパンチングした表面が, 1000~1200°Cでは単原子ステップがほぼ均等に配列した表面が得られる^{6,7)}。(0001)面上で安定なステップ方向は〈1-100〉方向であるので, 基板面が〈11-20〉方向に傾いているとき, 最も直線になりやすい⁸⁾。したがって, 基板のオフ方向が〈11-20〉方向からずれているとき, マルチステップ形成条件では, 表面には直線的な〈1-100〉ステップとテラスをクロスするステップとが現れる (クロスステップ表面と呼ぶ)⁹⁾。

2.2 化学ドメインとタンパク質吸着

Fig. 1 に, Al_2O_3 (0001) クロスステップ表面の原子間力顕微鏡像 (Atomic Force Microscopy, AFM) のコンタクトモードによる大気中での (a) 形状像と (b) 摩擦像を示す。パンチングしたステップとその間を走るクロスステップによりテラスが分割され, さらにその各テラス内に原子ステップ一段分だけ低い楕円形のテラスが観察

される。この楕円形のテラスは平坦性がきわめてよい。このドメインで注目すべきことは, Fig. 1 (b) に示すように, 摩擦が小さいことである。この観察ではカンチレバーを横にスライドさせ, 上下方向のたわみから形状像を, ねじれから摩擦像を同時に得ている。大気中での観察では, カンチレバーと基板表面との間に形成されるメニスカス (吸着水のつくる曲面) によってカンチレバーの動きが妨げられ, 摩擦力として観察される。楕円形領域は周辺に比べて摩擦が小さく, したがって疎水性の領域である。Fig. 1 に示す表面には (0001) 以外の方位の面は含まれないので, 疎水性か親水性かは表面の化学状態だけに依存する。すなわち, 化学的に状態の異なるドメインに相分離していると結論付けられる。今後, 楕円形の領域を疎水ドメイン, その他の領域を親水ドメインと呼ぶことにするが, 親水性か疎水性かは相対的なものである。Fig. 1 (c) にモデル図を示す。

化学ドメインが親水性か疎水性かは表面の終端状態による。金属酸化物表面は, 一般に水酸基 (OH) で終端されており, 極性をもつ OH 基が水分子を引き付けるため親水性である^{10,11)}。しかし, もう一つの終端構造として架橋 O (酸素) 終端があり得る¹²⁾。架橋 O 終端は OH 基を含まないため分極が小さくより疎水性である。一般に, O 終端は OH 終端に比べて表面歪が大きくなると考えられるため, OH 終端がより安定であるが, 表面歪は 2 種類のドメインが共存することによってより緩和されやすくなるため, 化学ドメイン構造が形成される方が安定な場合もある。OH 終端サファイア表面は pH7 付近では負に帯電するため¹³⁾, 親水ドメインの電荷は負であり, 疎水ドメインの電荷は弱いと考えられる。

相分離したサファイア (0001) 表面ではタンパク質分子の選択的な吸着が起こる¹⁴⁾。これは本誌でもすでに紹介

Fig. 1. (color online). AFM images on a phase-separated sapphire (0001) surface : (a) topography, (b) frictional force image, and (c) its illustration where solid lines indicate principal step direction toward [1-100] and dashed lines secondary direction toward [1-210]. The image was taken in air.

している¹⁵⁾、ここでは要点のみ述べる。様々な等電点 (Isoelectric point, 水溶液中で電的に中性となる pH の値) をもつタンパク質を pH が 7 程度の溶液中で吸着させると、大雑把には等電点によって吸着パターンが決定され、等電点の低いタンパク質 (フェリチンやアルブミン) は電荷の弱い疎水ドメイン (Domain A) に、等電点の高いタンパク質 (アビジン等) は負電荷をもつ親水ドメイン (Domain B) に選択的に吸着する。この実験結果から、吸着の選択性にはタンパク質の電荷が最も大きく寄与すると結論付けられる。

この相分離表面はタンパク質吸着における固体と生体分子の界面の性質を調べるのに非常に有力である。Fig. 2 は、フェリチン分子とアビジン分子の吸着パターンが pH の変化に対してどのように変わるかを観察したものである。静電相互作用だけが関わっているときは、pH の変化に対して吸着力が変化するためパターン (あるいは吸着量) も変化するはずである。アビジンの場合は、吸着後に pH を静電相互作用が強くなるように変化させ

ると、吸着していた分子は脱離する (Fig. 2 c, d)。一方、フェリチンの場合は、同様に静電相互作用を強めてもほとんど脱離は起きない (Fig. 2 a, b)。この結果は、吸着までの相互作用は遠距離力である静電相互作用が支配的であっても、吸着後は別の力が関わる場合とそうでない場合があることを示唆する。吸着後はタンパク質の変性によってタンパク質の疎水部が基板と接触し、疎水性相互作用が支配的になる場合があり、フェリチンではそのようになっている可能性がある。しかし、固体と生体分子の界面はまだ未解明なことが多く、相分離表面が吸着機構解明に有用であると考えている。

2.3 構造ドメインと化学ドメイン

Fig. 1 に示した疎水ドメインは高さが一段低いだけでなく、疎水の性質という化学的性質が異なっている。これを化学ドメインと呼ぶ。Fig. 3 (a) は、 $\text{Al}_2\text{O}_3(1-102)$ 面に現れたいし型構造である。この構造は表面にダイヤモンドペンでスクラッチを施したのち熱処理を行ったときに形成され、スクラッチに近い部分でのみ規則構造が

Fig. 2. (color online). Adsorption patterns of protein molecules on phase-separated sapphire surfaces. (a) Ferritin adsorbed at pH 6.5, (b) ferritin after pH change to 7.6, (c) avidin adsorbed at pH 7.0, and (d) avidin after pH change to 5.3. Isoelectric points of ferritin and avidin are pH 4.5 and pH 10–10.5, respectively.

Fig. 3. (color online). (a) AFM topographic image of structural phase-separation on a sapphire (1-102) surface, (b) its frictional image, and (c) illustration of (a). (d) AFM topographic image of chemical phase-separation on a sapphire (1-102) surface, (e) its frictional image, and (f) illustration of (d).

現れる。その形成機構は明らかでないが、スクラッチによる可動原子密度の低下や局所的に異なる傾斜面の形成などが原因として考えられる。この表面の形状像で特徴的なのは、くし型のメサ部分が一段高いテラスとつながっていることである。また、摩擦像は、Fig. 3 (b) に示すように完全に均一である。すなわち、くし型構造の上部と下部の表面は同じ化学的性質をもつ表面構造である。したがって、この表面形態は、Fig. 3 (c) に示すように、同一の表面原子構造に覆われながらも、表面歪を緩和するために切り目を入れた構造であると言える。Fig. 3 (d) は、Fig. 3 (a) および (b) と同じサファイア (1-102) 面上に自己形成した別の表面である¹⁶⁾。Fig. 3 (e) で明らかなように、この場合のストライプ状ドメインは親水性となっており、また、高さも本来の単原子ステップの高さとは一致しない。これは、表面原子配列の対称性の違いにより形状は全く異なるが、Fig. 1 と同じ化学ドメインである。

ここで、親水ドメイン表面が OH 終端されているかどうかについて表面反応を用いた確認方法を示す。OH 基と反応して自己組織化単分子膜をつくるシランカップリング剤を相分離表面と反応させたとき、親水性ドメインにのみ単分子膜が形成する。たとえば、Octadecyltrichlorosilane (OTS) 分子は、OH 基と反応し、さらに分子同士が架橋することによって自己組織化単分子膜 (Self-Assembled Monolayer, SAM) を形成する。実際、相分離表面上に OTS 膜を堆積すると、親水性表面にのみ膜が形成されていることが形状像で観察され⁹⁾、また、OTS-SAM が疎水性であることを反映して摩擦像のコントラストが反転する。したがって、化学ドメインは確かに表面を終端する官能基の違いであると結論される。

3. 化学ドメインの液中評価

前節では、表面の化学状態、すなわち表面の終端官能基の状態を、大気中での吸着水量の違いとして AFM により評価した。しかし、バイオ応用などで用いるときの表面は水溶液中の表面であるため、液中での表面化学状態の評価が必要になる。

液中でのドメインの相分離を検出するため、AFM による吸着力測定を行った。AFM ティップの位置を固定し、基板表面に接触させて荷重をかけた後、再びティップを離していく過程でカンチレバーの曲がりにジャンプが観察される。これは、チップ先端が基板表面から急激に離れることに相当する。相分離表面の場合、探針と表面の材質は同じものであるから、吸着力の差はそれぞれの表面の水和構造を反映したものになると想像される。

Fig. 4. (color online). Histograms of adsorption force measurements on the hydrophilic and hydrophobic domains.

ここで、吸着力はチップ先端の形状 (実効接触面積) に依存するため、コロイドプローブを用いると再現性が良い^{17,18)}。コロイドプローブは先端が形状の揃った 1 μm 径程度の球であり、材質を選ぶことによって吸着力を調整できる。空間分解能は劣るが、測定位置を特定するのに十分な分解能は得られる。Fig. 4 に、サファイア (0001) 相分離表面の測定結果を示す。ここでは、疎水性を示すポリスチレンコロイドを用いているが、親水性の SiO_2 プロブを用いたときよりはるかにドメインを明確に区別できる。Fig. 4 から明らかなように、吸着力は疎水ドメインで大きく、親水ドメインでは相対的に小さい。測定された吸着力は各点ごとに大きく異なっているが、一点に固定して複数回測定を繰り返したときのばらつきは小さい。すなわち、Fig. 4 の分布は測定の再現性ではなく、同じドメイン内であってもプローブ先端とサファイア表面との吸着力が場所によって異なることがわかる。疎水性ドメインでは、疎水性のポリスチレンと疎水性のサファイア表面間の吸着力であるため、一度吸着すると水を排除する力が働く。一方、親水性ドメイン上では表面は水和構造に戻ろうとするために吸着力は弱くなる。親水性の SiO_2 プロブを用いると、相対的に吸着力が小さくなることから、上記の議論は支持される。また、この相分離表面の疎水ドメインは表面の平坦性がきわめて高く均一な表面であるため、場所ごとのばらつきも小さくなっている。表面平坦性の劣る親水ドメインでは場所ごとのばらつきが大きい、これはステップ密度の差などが原因と考えられる。

上で述べたように、一点に固定して測定したときのばらつきは小さいが、場所ごとのばらつきは大きい。このことは、単に疎水ドメインと親水ドメインの区別だけでなく、同一種類のドメインでも場所による違いが検出できていることを意味する。すなわち「メニスカス」というマクロな力による大気中の測定よりも、水和構造を直接反映している溶液中の力の方が、表面化学状態に敏感であることが示唆される。したがって、本手法は、表面を終端する官能基の分布測定などに幅広く適用可能であ

る。

4. 吸着水の観察

金属酸化物表面と水との相互作用について述べてきたが、実際に吸着水がどんな構造を取るのかを観察するのは、非常に高度な技術が必要であった。しかし、グラフェンをカバーシートとして用いると、吸着水を簡便に観察できる。グラフェンは柔軟性が高く¹⁹⁾、また、Heを含めてすべての原子、分子に対して不透過であることが知られているため、界面に吸着水層を完全に閉じ込めることができる^{20~22)}。単層グラフェン薄膜は、接着テープを用いて基板に転写する方法で形成できる²³⁾。Fig. 5は、グラフェンを貼り合わせるときの湿度を、(a) 18%、(b) 60%、(c) 99%、に調整したときのグラフェン表面のAFM像である。ここで観察されている構造が界面に存在する液体層であることは、AFM探針のスクラッチにより部分的に排除できること、そのとき排除された領域の表面はスクラッチ前と同じグラフェン表面であることから確認できる。また、真空中の放置により周辺に移動しつつ徐々に失われることなどからも、基板とグラフェン薄膜の間に閉じ込められた水層であることは明らかである。さらに、スクラッチによりグラフェンの上から界面の吸着水層を部分的に除去することにより、水層の厚さを見積もることができる。

Fig. 5 (a) では、表面の一部に水層が観察され、Fig. 6 (b) では大部分を覆っている。すなわち、吸着水の量は湿度に依存し、グラフェン薄膜によりそのまま閉じ込められたと考えられる。この時、水層の厚さは場所に依存せず 0.37 nm 程度で一定値を示す。この厚さを単位膜厚と定義すると、湿度 60% で吸着水はほぼ一単位膜厚となる。湿度が 99% になると、Fig. 5 (c) に示すように、水層が層構造を作り、一層目も二層目も厚さはやはり 0.37 nm 程度である。さらに、二層目の上には島構造が観察される。これらの観察から、貼り合わせ時の湿度 99% に対応する吸着水の構造が、Fig. 5 (d) に示すように決定される。この表面の吸着水は、ほぼ二層膜厚に相当する。

グラフェンは疎水性であるため大気中では水滴を作って接触面積を減らす。水溶液中では接触面積を減らさないため、規則構造をもつ水層を作って安定化されると言われる。このときグラフェンと基板間に閉じ込められた水層は、片面をグラフェンに束縛されつつ、もう片面はより親水性の高いサファイアと界面をつくる。このような水層が安定に存在するには、水分子数個の厚さが必要で、そのために一層膜厚の最小単位が存在すると考えられる。

Fig. 5. (color online). Observation of water layers using graphene films to confine the water. The graphene films were attached at humidity of (a) 18%, (b) 60%, and (c) 99%. (d) Illustration of the water layer at humidity of 99%.

Fig. 6. (color online). Chemically phase-separated TiO_2 surface : (a) topography and (b) frictional force image.

5. チタニア表面の化学ドメイン

生体適合性の観点からバイオ応用ではより適用範囲の広い TiO_2 の化学ドメインを紹介する。Fig. 6 に、大気中、900℃で3時間熱処理した $\text{TiO}_2(100)$ 面の大気中での、(a) 形状像と (b) 摩擦像を示す。ステップ/テラス構造を有する表面を 900℃で熱処理すると、ステップ/テラス構造が崩れ、ストライプ状に変化するとともに、親水性の高いドメインが成長し始め、3時間で Fig. 6 に示す短冊状ドメインが現れる。形状像ではこの短冊状ドメインの高さが周辺より 1 nm 程度低いことがわかり、摩擦像からこの短冊状の領域は親水ドメイン、すなわち表面の終端状態の異なる化学ドメインであることがわかる。この表面に 2.3 節で述べた OTS-SAM 膜を堆積すると、親水性の高い短冊状ドメインに OTS 膜が形成され、

表面の親水性コントラストがOTS膜形成により反転することが観察されている。したがって、サファイア(0001)面の相分離と同様のOH基密度の異なるドメインが形成されており、このような化学的相分離が少なくともAlとTi酸化物表面で共通する現象であることを示す。

6. ま と め

本研究紹介では、金属酸化物単結晶表面において吸着水が関わる現象を取り上げた。固体表面のバイオ応用では高真空中ではなく溶液中や大気中の表面の性質が重要である。このとき、表面の性質を記述するのは、表面の形状、表面電荷(電位)、親水性/疎水性、などであるが、とりわけ水の存在は重要である。我々は、金属酸化物表面の吸着水を調べるのに、同一表面で異なる親水性/疎水性、したがって溶液中では異なる電荷状態をもつ表面を発見し、その評価と生体分子吸着機構の解明への応用を行ってきた。水溶液中で親水性を精密に評価できる見通しが得られ、また、同一表面上に親水性のみが異なるドメインがパターン化された各種の基板も形成可能なことを確認した。これらは、固体表面と生体分子の界面の性質を明らかにするうえで有力なツールになると期待される。

謝 辞

本研究で用いたサファイア基板は並木精密宝石(株)にご提供いただいた。また、本研究は科学研究費補助金により行われた。ここで紹介した研究は、横浜国立大学工学府の青木隆二、池田高之、磯野俊成、塚本貴広、和田朋也、小紫大希、田口俊輔、吉原万莉、他、多くの大学院学生によって行われたものである。

文 献

- 1) A. Fujishima, X. Zhang and D.A. Tryk : *Surf. Sci. Rep.* **63**, 515 (2008).
- 2) B. Liu and E.S. Aydil : *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 3985 (2009).
- 3) G.A. Crawford, N. Chawla, K. Das, S. Bose and A. Bandyopadhyay : *Acta Biomaterialia* **3**, 359 (2007).
- 4) G.K. Celler and S. Cristoloveanu : *J. Appl. Phys.* **93**, 4955 (2003).
- 5) S. Nakamura, M. Senoh and T. Mukai : *Appl. Phys. Lett.* **62**, 2390 (1993).
- 6) J.R. Heffelfinger, M.W. Bench and C.B. Carter : *Surf. Sci.* **370**, L168 (1997).
- 7) L.P. Van, O. Kumosikov and J. Cousty : *Surf. Sci.* **411**, 263 (1998).
- 8) Y. Shiratsuchi, M. Yamamoto and Y. Yamada : *Jpn. J. Appl. Phys.* **41**, 5719 (2002).
- 9) T. Isono, T. Ikeda, R. Aoki, K. Yamazaki and T. Ogino : *Surf. Sci.* **604**, 2055 (2010).
- 10) P.J. Eng, T.P. Trainor, G.E. Brown Jr., G.A. Waychunas, M. Newville, S.R. Sutton and M.L. Rivers : *Science* **288**, 1029 (2000).
- 11) 竹内雅人, G. Martra, S. Coluccia, 安保正一 : *表面科学* **30**, 148 (2009)
- 12) P.S.P. Wei and A.W. Smith : *J. Vac. Sci. Technol.* **9**, 1209 (1972).
- 13) G.V. Franks and Y. Gan : *J. Am. Ceram. Soc.* **90**, 3373 (2007).
- 14) K. Yamazaki, T. Ikeda, T. Isono and T. Ogino : *J. Colloid Interface Sci.* **361**, 64 (2011).
- 15) 松崎典弥, 明石 満, 高井まどか, 石原一彦, 荻野俊郎 : *表面科学* **30**, 193 (2009).
- 16) H. Komurasaki, T. Isono, T. Tsukamoto and T. Ogino : *Appl. Surf. Sci.* **258**, 5666 (2012).
- 17) W.A. Ducker, T.J. Senden and R.M. Pashley : *Nature* **353**, 239 (1991).
- 18) I.U. Vakarelski, K. Ishimura and K. Higashitani : *J. Colloid Interface Sci.* **227**, 111 (2000).
- 19) T. Tsukamoto and T. Ogino : *Appl. Phys. Express* **2**, 075502 (2009).
- 20) J. Shim, C.H. Lui, T.Y. Ko, Y.-J. Yu, P. Kim, T.F. Heinz and S. Ryu : *Nano Lett.* **12**, 648 (2012).
- 21) K. Xu, P. Cao and J.R. Heath, *Science* **329**, 1188 (2010).
- 22) J.S. Bunch, S.S. Verbridge, J.S. Alden, A.M. van der Zande, J.M. Parpia, H.G. Craighead and P.L. McEuen : *Nano Lett.* **8**, 2458 (2008).
- 23) K.S. Novoselov, A.K. Geim, S.V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S.V. Dubonos, I.V. Grigorieva and A.A. Firsov, *Science* **306**, 666 (2004).