原子間力顕微鏡による固液界面の サブナノスケール 3 次元水和構造解析

Sub-Nanoscale Three-Dimensional Analysis of Hydration

Structures at Solid-Liquid Interfaces by Atomic Force Microscopy

福間 剛士

金沢大学ナノ生命科学研究所 (WPI-NanoLSI)

〒 920-1192

石川県金沢市角間町

Takeshi FUKUMA

Nano Life Science Institute (WPI-NanoLSI),

Kanazawa University

Kakuma-machi, Kanazawa 920-1192, Japan

論文要旨：固液界面では水分子が固体表面と相互作用して、不均一な 3 次元密度分布、すなわち水和構造を形成する。このような水和現象は、様々な界面機能や界面現象の発現に深く関与しているが、そのメカニズムは十分に理解されていない場合が非常に多い。この問題を解決するための強力なツールとして、近年原子間力顕微鏡を用いた水和構造計測技術に注目が集まっている。この方法では従来観ることができなかったサブナノスケールの 3 次元水和構造を直接観察することが可能であり、水和現象に関する理解を大いに発展させられるものと期待されている。本稿では、この技術の開発動向と応用研究事例を総説する。

Abstract: At solid-liquid interfaces, water molecules interact with the surface to present a non-uniform three-dimensional distribution (i.e. hydration structure). Such hydration phenomena play important roles in various interfacial functions and phenomena, yet the detailed mechanisms have largely remained elusive. To address this issue, a hydration structure measurement technique using atomic force microscopy has recently attracted much attention. This method allows us to directly visualize subnanometer-scale hydration structures and hence can significantly advance our understanding on the hydration phenomena. In this review, here we summarize the technological development and applications of this emerging technology.

Key words: frequency modulation atomic force microscopy (FM-AFM), hydration structures, solid-liquid interfaces, three-dimensional scanning force microscopy (3D-SFM), subnanometer resolution

1 サブナノスケール水和構造観察の必要性

固液界面では、水分子が固体表面と相互作用しつつ、不均一な密度分布、すなわち水和構造を形成する。このような水和現象は、原子や分子の凝集、吸着、拡散などの動態に作用することで、潤滑性、防汚性、親水性などの界面機能や、生命現象、結晶成長、電気化学反応などの界面現象の発現に多大な影響を及ぼす。しかし、その詳細な機構については未解明の点が多く残されており、

これらの界面現象に関わる学術・産業分野の発展を妨げる要因となっている。

この問題の原因の一つとして、水和構造を観ることの難しさが挙げられる。水和構造とは約 0.25 nm の水分子が固体表面を構成する原子や分子と相互作用することで示す不均一な密度分布である。したがって、原子・分子スケールで不均一性を示す。また、界面が水和構造に影響を及ぼす距離は約 1 nm であり、これは水分子 3~4 層の厚みに相当する。つまり、水和構造を観るためには、固液界面に沿って存在する約 1 nm の厚みを持つ 3 次元空間内部において、揺動する水分子の密度分布をサブナ

連絡者：福間 剛士
E-mail : fukuma@staff.kanazawa-u.ac.jp

ノスケールの分解能で計測する必要がある。

この厳しい要求を全て満たすことは極めて困難であり、部分的に満足する手法として X 線反射率測定などの分光学的手法が用いられてきた¹⁾。これらの技術は、界面に垂直な方向にはサブナノスケールの分解能を持つが、水平方向には数 μm 以上の範囲を平均した情報しか得られない。そのため、直接 3 次元的水和構造を予測することは困難である。従来、それを補うために、シミュレーションによって 3 次元水和構造を予測し、それを平均化することで界面に垂直な 1 次元情報に変換し、それを実験結果と比較することで、界面構造を推測してきた。しかし、この方法では面内方向に存在する不均一性は平均化されてしまうため、3 次元構造の同定にあいまいさが残る。そのため、シミュレーション結果と直接比較可能な 3 次元水和構造を観察する実験手法の確立が強く望まれる。

2 AFM による 3 次元水和構造計測

上記の問題を解決し得る技術として、近年原子間力顕微鏡 (AFM)²⁾ を用いた水和構造計測技術に大きな注目が集まっている。AFM では、鋭く尖った探針を先端に備えた片持ち梁 (カンチレバー) を、力検出器として用いる。探針を試料表面に近づけると、探針-試料間に相互作用力が働く。これを検出し、それが一定となるように探針-試料間距離を制御する。その状態で、探針を水平方向に走査すると、探針は試料表面の凹凸をなぞるように上下するため、その際の探針の軌跡から表面形状像が得られる (Fig. 1a)。

AFM は、大気中、真空中、液中といったあらゆる環境中で、試料の導電性を問わず原子分解能観察が可能であるという特長を持っており、幅広い表面・界面研究に活用されてきた。特に、液中で絶縁体表面を原子・分子分解能観察できる技術は他になく、生物、化学分野を中心として固液界面研究に必須の計測技術の一つとなっている。

しかし、従来の AFM では 3 次元水和構造を計測することはできなかった。第一に、真の (平均でない) 原子分解能が得られる条件が限定的であり、応用範囲が限られていた。第二に、従来の AFM で得られるのは厚みを持たない 2 次元画像であり、それによって 3 次元的な広がりを持つ水和構造の性質を十分に捉えることは難しかった。

近年、これらの課題を解決する技術革新が達成された。第一の問題については、それまで超高真空中でのみ使用可能であった周波数変調 AFM (FM-AFM)³⁾ を、液中で動作させられる技術が開発されたことにより⁴⁾、

再現性良く液中原子分解能観察が可能となった⁵⁾。FM-AFM では、カンチレバーをその共振周波数で振動させ、探針-試料間相互作用によって生じる共振周波数の変化 (Δf) を検出し、それを一定に保つよう探針-試料間距離を制御する。一例として、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS 溶液) 中で測定したマイカ表面の液中 FM-AFM 像を Fig. 1b に示す⁶⁾。この図から、ハニカム状の表面構造を形成する個々の原子が明瞭に観察されていることが分かる。この例に示すような鉱物結晶表面以外に、自己組織化単分子膜⁷⁾ や生体分子表面⁸⁾ においてもサブナノスケール表面構造観察例が報告されている。

第二の問題を解決するために、3 次元 AFM 計測技術が開発されている^{6, 9)}。なかでも、3 次元走査型力顕微鏡 (3D-SFM) と呼ばれる方法は、現在最も広く使われている⁶⁾。従来の AFM では、探針-試料間距離を一定に保ちつつ、水平方向に探針を走査していた (Fig. 2a)。一方 3D-SFM では、その水平方向の走査に加えて、垂直方向にも探針を走査することで、試料表面近傍の 3 次元空間をくまなく探針で走査する (Fig. 2b)。この間、探針は界面空間内の水分子と相互作用して力を受けるため、それを記録することで、水和構造を反映した 3 次元力分布像が得られる。例えば、PBS 溶液中で測定したマイカ/水界面の 3D-SFM 像を Fig. 2c に示す⁶⁾。この図から、界面にそって帯状に分布する水和層に相当するコントラストが明瞭に観察されていることが分かる。

この他の方法として、観察面内にアレイ状に配置した多数の測定点で、探針を 1 次元的に垂直方向に走査して力-距離曲線を取得するフォースマッピング法を用いても同様の結果が得られることが示されている⁹⁾。また、3D-SFM を振幅変調 AFM (AM-AFM)¹⁰⁾ や Bimodal AFM¹¹⁾ などの、FM-AFM 以外の力検出法と組み合わせた例も報告されている。

3 AFM による水和構造計測の理論

3D-SFM は、サブナノスケールの 3 次元水和構造を実空間観察することを可能にした初めての技術だったため、水和研究の分野に大きな衝撃を与えた。しかし、開発当初は、その計測原理や測定データの解釈に不明な点が多くあり、理論的基盤の確立が強く求められていた。

第一の問題として、測定データに対する探針の影響が挙げられる。3D-SFM では、ナノスケールの探針で試料表面の水和構造を破壊しつつ探針を走査する。それにもかかわらず、取得した 3 次元力分布像はサブナノスケールの明瞭なコントラストを示し、それがシミュレーションで予想された水和構造と良い一致を示した^{6, 9)}。しかし、このメカニズムに関する明確な説明は得られてい

かった。

この問題を解決するために、カルサイト／水界面における3次元力分布像を実験と理論の両方で取得し、それらを比較することで計測原理に関する詳細な解析が行われた¹²⁾。その結果、探針の垂直方向への走査中に生じるサブナノスケールの力変化の大部分は、探針先端原子と試料表面原子との間に存在する局所的な水和構造の変化によってもたらされており、それ以外のナノスケールの探針構造がもたらす水和構造の変化は、緩やかな力変化にしか影響を与えないことが分かった(Fig. 3)。また、探針の垂直方向への走査中にも、探針直下における試料表面の水和構造は概ね保たれていることも示された。これらの結果は、なぜナノスケールの探針でサブナノスケールの分解能が得られるのかという疑問や、なぜ破壊的な探針走査にも関わらず真の水和構造を捉えることができるかという疑問に対して初めて明確な説明を与えた。

もう一つの問題として、AFMで測定される力と水密度との関係を説明できる理論が未確立であったという点が挙げられる。当初、3D-SFM計測の妥当性を検証するために、マイカやカルサイト上で測定された力分布像を、シミュレーションで得られた水の密度分布像と比較して、その類似性が示された^{6, 9)}。しかし、これらの異なる物理量の分布を比較することの妥当性を保証する理論的根拠は示されておらず、また、それが妥当だったとしても定量的な比較はできないという問題もあった。これらの問題に対する最初のアプローチとして、探針を水分子で近似する溶媒探針近似(STA)モデルが提案された^{13, 14)}。このモデルによれば、探針が垂直位置 z において受ける力 $F(z)$ は、以下の式で与えられる。

$$F(z) = \frac{k_B T}{\rho(z)} \frac{d\rho(z)}{dz} \quad (1)$$

ここで、 k_B 、 T 、 $\rho(z)$ はそれぞれボルツマン定数、絶対温度、水の密度である。この式を用いることで、シミュレーションで得た水の密度分布像を力分布像に変換し、実験で得た力分布像と定量的に比較できるようになった。

この方法の有効性を示す例として、CaF₂/水界面のシミュレーション結果と実験結果を比較した例をFig. 4に示す¹⁵⁾。この図から、水密度分布像では明確な輝点が存在しない場所(S3')に、STAモデルで計算した力分布像には輝点が生じており(F3')、それが実験結果においても確認できることが分かる。この結果は、水密度と力ではなく、力分布像同士での比較の重要性を示している。

STAモデルは、この例以外に、飽和溶液中での

CaF₂/水界面や¹⁶⁾、純水中でのカルサイト／水界面¹⁷⁾などの計測でもその有用性が示されており、汎用的な解析手法として利用されつつある。ただし、このモデルは探針を水分子で近似するという大胆な単純化に基づいており、改善の余地も多い。例えば、式(1)によって、実験で測定した力分布像を水密度分布に変換することも原理的には可能である。しかし、この変換は、実験結果に含まれるわずかなエラーを大きく増幅してしまうために実用的ではない。このような問題を解決するために、より高度なモデルを用いた変換方法の開発も現在進められている¹⁸⁾。

4 固液界面研究への応用事例

3D-SFMが開発された当初は、その計測原理の理解を主目的として、比較的計測が容易な、マイカ^{6, 9)}、カルサイト^{10, 12)}、フルオライト¹⁵⁾などの鉱物結晶表面での計測が盛んに行われた。一方最近では、より複雑な界面構造の可視化や、界面機能の理解を目指した計測事例が報告され始めている。

4・1 ナノバイオ界面の可視化

水和現象はタンパク質の折りたたみや、分子の凝集、吸着、認識、拡散などに影響し、多様な生命現象の発現に関与している。たとえば、細胞膜の表面に水和層が形成されているとすれば、イオンや分子が膜に吸着、透過する際にエネルギー障壁として働き、それらの動態に大きな影響を及ぼす。しかし、これを従来の計測技術で直接確認することはできなかった。このような関心から、生体膜の基本構造である脂質膜表面で3D-SFM計測が行われている(Fig. 5)¹⁹⁾。この力分布像から、脂質膜表面に沿って層状のコントラストが明瞭に観察されており、水和層が形成されていることが分かる。また、水和層の下には、熱揺動する脂質頭部の3次元分布も可視化されており、3D-SFMにより、水和構造だけでなく、表面揺動構造の3次元分布も可視化できることが示された。これ以外にも、GroEL¹¹⁾や、DNA²⁰⁾の表面に形成された3次元水和構造の計測事例が報告されている。

4・2 界面分子層の3次元水和揺動構造解析

固液界面に分子層を形成し、界面物性を制御しようとする技術は、潤滑、防汚、保護、親水・疎水化、分散などの目的で様々な学術・産業分野で活用されている。これらの界面構造を構成する分子は、水分子と相互作用しつつ、その分子自身も揺動し、複雑な3次元界面構造を形成するが、これを直接観ることは従来技術では困難であった。

このような問題に対する3D-SFMの応用例として、分子吸着抑制機能を持つ界面分子層の研究例を紹介する

Fig. 1 (a) AFM の原理。(b) PBS 溶液中で FM-AFM により取得したマイカ表面の原子分解能像⁶⁾。

Fig. 2 (a) 2D-AFM と (b) 3D-SFM の原理。(c) PBS 溶液中で取得したマイカ/水界面の 3D-SFM 像⁶⁾。

(Fig. 6)²¹⁾。シリカビーズ表面に glycidoxypyriltrimethoxysilane (GPS) 分子鎖を修飾し、そのビーズを家屋の壁や屋根などに塗布することで、分子吸着を抑制し、防汚効果を付与する技術がある。しかし、この吸着抑制機構の詳細は理解されていなかった。そこで、GPS 修飾前後の界面を 3D-SFM により計測すると大きな違いが確認された (Fig. 6)。GPS 修飾前に観察されていた層状の水和構造が、修飾後に消失していることが分かる。点線で示した位置における Δf 曲線を見ると、GPS 修飾

Fig. 3 MD シミュレーションにより計算した (a) カルサイト/水界面における自由エネルギーと力の距離依存曲線と (b) 水和構造の Z 断面¹²⁾。

前には振動的な振舞いをしているのに対し、修飾後には単調に変化していることが分かる。

FM-AFM で測定した Δf 曲線は、探針を試料に近づける際に探針が受ける力の増減を示したものであり、正の Δf が概ね斥力に相当する。これを踏まえて Fig. 6 の結果をみると、GPS 修飾前には探針を試料に近づけていくと、探針と試料表面の間にある水和水を排除することにより、振動的な曲線が得られるのに対し、修飾後には探針を近づけていっても試料表面の水和水が排除されず、GPS 鎖の変形によって大きな斥力が発生することが分かる。同様の相互作用が、表面に衝突する分子にも生じると考えれば、GPS 修飾の持つ吸着抑制機構が分子レベルで理解できる。

5 今後の展望

本稿では、3D-SFM を用いたサブナノスケール 3 次元水和構造解析技術について、その技術開発や理論研究の動向と、応用事例について総説した。技術開発については、これまでに鉱物結晶や自己組織化単分子膜などの比較的シンプルな構造を持つ表面上での水和計測技術はある程度確立してきた。これらの用途では、温度制御、溶液置換、密閉セルなどの環境制御性の向上が今後の課題と言える。また、これまでは静的な水和構造の計測が中心であったが、今後は、界面現象に伴って動的に変化する水和構造を観察するために、観察速度の向上も求めら

Fig. 4 CaF_2 (111) 表面の水和構造と 3D-SFM 像の関係。(a) MD シミュレーションで計算した水和構造。(b) STA モデルにより (a) から計算した力分布像。(c) 実験で取得した力分布像¹⁵⁾。

Fig. 5 脂質／水界面の3D-SFM観察¹⁹⁾ Fig. 6 (a, b) GPS 修飾前後に取得したシリカ粒子／水界面の3次元 Δf 像。(c, d) 点線の位置で取得した Δf 曲線²¹⁾。

れる。

理論研究については、これまでの研究により、サブナノスケール水和構造計測が実現できるメカニズムは概ね理解されたが、探針依存性については部分的な理解にとどまっている。実際、実験で取得される3次元力分布像が、探針に依存して異なるコントラストを示すことは確認されているが、それをシミュレーションとの詳細な比較により検証した例は報告されておらず、その実現が強く望まれる。また、力と水分子密度との関係を紐づける理論も、従来から取り組まれている液体の統計力学に基づくアプローチの他に、機械学習を用いたアプローチも並行して検討することで、さらに発展させることが望まれる。

応用研究については、結晶表面における水和構造観察技術は実用段階に達しており、今後は、計測対象の多様化が進むものと予想される。また、計測速度が向上すれば、結晶成長・溶解機構の研究へと発展するものと期待される。一方で、分子／液体界面の3次元立体構造解析とその界面機能との相関についての研究は、学術的にも

産業的にも極めて大きなニーズがあり、今後ますます発展するものと期待される。

文 献

- 1) Cheng, L.; Fenter, P.; Nagy, K. L.; Schlegel, M. L.; Sturchio, N. C. *Phys. Rev. Lett.* **87**, 156103 (2001).
- 2) Binnig, G.; Quate, C. F. *Phys. Rev. Lett.* **56**, 930-933 (1986).
- 3) Albrecht, T. R.; Grutter, P.; Horne, D.; Rugar, D. *J. Appl. Phys.* **69**, 668-673 (1991).
- 4) Fukuma, T.; Kimura, M.; Kobayashi, K.; Matsushige, K.; Yamada, H. *Rev. Sci. Instrum.* **76**, 053704 (2005).
- 5) Fukuma, T.; Kobayashi, K.; Matsushige, K.; Yamada, H. *Appl. Phys. Lett.* **87**, 034101 (2005).
- 6) Fukuma, T.; Ueda, Y.; Yoshioka, S.; Asakawa, H. *Phys. Rev. Lett.* **104**, 016101 (2010).
- 7) Inada, N.; Asakawa, H.; Matsumoto, Y.; Fukuma, T. *Nanotechnology* **25**, 305602 (2014).
- 8) Asakawa, H.; Ikegami, K.; Setou, M.; Watanabe, N.; Tsukada, M.; Fukuma, T. *Biophys. J.* **101**, 1270-1276 (2011).
- 9) Kobayashi, K.; Oyabu, N.; Kimura, K.; Ido, S.; Suzuki, K.; Imai, T.; Tagami, K.; Tsukada, M.; Yamada, H. *J. Chem. Phys.* **138**, 184704 (2013).
- 10) Marutschke, C.; Walters, D.; Walters, D.; Hermes, I.; Bechstein, R.; Kuhnle, A. *Nanotechnology* **25**, 335703 (2014).
- 11) Herruzo, E. T.; Asakawa, H.; Fukuma, T.; Garcia, R. *Nanoscale* **5**, 2678-2685 (2013).
- 12) Fukuma, T.; Reischl, B.; Kobayashi, N.; Spijker, P.; Canova, F. F.; Miyazawa, K.; Foster, A. S. *Phys. Rev. B* **92**, 155412 (2015).
- 13) Amano, K.; Suzuki, K.; Fukuma, T.; Takahashi, O.; Onishi, H. *J. Chem. Phys.* **139**, 224710 (2013).
- 14) Watkins, M.; Reischl, B. *J. Chem. Phys.* **138**, 154703 (2013).
- 15) Miyazawa, K.; Kobayashi, N.; Watkins, M.; Shluger, A. L.; Amano, K.; Fukuma, T. *Nanoscale* **8**, 7334-7342 (2016).
- 16) Miyazawa, K.; Watkins, M.; Shluger, A. L.; Fukuma, T. *Nanotechnology* **28**, 245701 (2017).
- 17) Miyata, K.; Kawagoe, Y.; Tracey, J.; Miyazawa, K.; Foster, A. S.; Fukuma, T. *J. Phys. Chem. C* **123**, 19786-19793 (2019).
- 18) Amano, K.; Liang, Y.; Miyazawa, K.; Kobayashi, K.; Hashimoto, K.; Fukami, K.; Nishi, N.; Sakka, T.; Onishi, H.; Fukuma, T. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 15534-15544 (2016).
- 19) Asakawa, H.; Yoshioka, S.; Nishimura, K.; Fukuma, T. *ACS Nano* **6**, 9013-9020 (2012).
- 20) Kuchuk, K.; Sivan, U. *Nano Lett.* **18**, 2733-2737 (2018).
- 21) Molino, P. J.; Yang, D.; Penna, M.; Miyazawa, K.; Knowles, B. R.; MacLaughlin, S.; Fukuma, T.; Yarovsky, I.; Higgins, M. J. *ACS Nano* **12**, 11610-11624 (2018).