微粒子を含んだ薄膜の二次元実時間観察法

足立 栄希*, 吉村 英恭*, 永山 国昭**

Real-time Imaging of a Nanometer-scale Thin Film Including Fine Particles

by

Eiki ADACHI[†], Hideyuki YOSHIMURA[†] and Kuniaki NAGAYAMA^{††}

An imaging method for real-time visualization of a dynamic surface phenomena was developed based on a null ellipsometry with a white light source. Its performance was demonstrated by monitoring the process of a protein monolayer formation on a gallium surface. This method is significant because it visualizes the thicknesses and refractive indices of films on any types of substrate surfaces.

Key Words : Thin Film, Imaging Ellipsometry, Real-time Imaging

1. はじめに

微粒子を集積した材料は、新たな機能性材料とし工業的に期待される。特に、蛋白質分子は、単独で固有の機能を持っており、それを集積した材料は様々に応用できる可能性がある。微粒子の集積技術は古くから研究されているが、蛋白質分子を高密度で均一に大面積に集積する技術はまだ十分には確立していない。なぜなら、大気中で集積過程を実時間で調べるよい方法がなく、そのことが技術の進展を妨げているからである。

私達は水銀表面上^{1,2)}および、液体ガリウム上での、蛋白質、ポリスチレン粒子単分子膜の形成過程を研究しており、その目的は大面積で均一な単分子膜、単粒子膜をつくる技術を確認することにある。このために

は、集積過程の解明が必要不可欠である。もちろん、蛋白質分子は大きなものでも数10nmの大きさであり、大気中で分子を個別に観察するのはむづかしい。ところで、私達が開発した集積方法では、目的とする分子を含んだ溶液を基板上で薄膜化し分子を集積する³⁾。したがって、薄膜化過程そのものを観察することにより、その集積過程を調べることができると考えた。そのために、私達は、微粒子を含んだ膜の膜厚の差を色の差に変換し、実時間で可視化する方法を考案した。この方法は、偏光解析(ellipsometry)の応用の一つである。

ellipsometryは基板上の薄膜の膜厚、屈折率を測定する方法として古くから知られており^{4,5)}、最近では薄膜の膜厚、屈折率の2次元分布を可視化する方法⁶⁻⁸⁾の基礎として用いられている。しかし、これらの方法は2次元分布の可視化に時間がかかり、とても速い観察には使えない。また、ブリュースター角測定法^{9,10)}も薄膜の観察に盛んに用いられているが、この方法は複素屈折率を持つ(金属表面など)基板上の膜の観察には使えず、定量化する場合、機械的な操作が必要で困難を伴う。

一方、私達の方法は速い“実時間”観察ができ簡単に定量化も行える方法であり、その膜厚の分解能は1nm

1994年 3月 2日受付

第31回粉体に関する討論会(1993年10月, 神戸)にて発表

* 新技術事業団永山たん白集積プロジェクト

(〒300-26 茨城県つくば市東光台5-9-1 筑波コンソーシアムパイロット棟3F) TEL. 0298-47-9017

** 東京大学教養学部第一基礎科学科生体計測学講座

(〒153 東京都目黒区駒場) TEL. 03-3467-1171 内線 416

† Nagayama Protein Array Project, ERATO, JRDC

(5-9-1 Tokodai, Tsukuba, Ibaraki 300-26)

†† Dept. of Pure and Applied Sci., College of Art and Sci., The Univ. of Tokyo, (Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153)

程度で大面積を観察できる。

2. 原理

Fig. 1に原理を示す。この系で白色光源以外は、典型的な消光型ellipsometerである。ここで簡単のため白色光とは、すべての波長の光を等しい重みで含む光を指すことにする。G1, G2は、それぞれ偏光子、検光子(グラントムソンプリズム), Rは $\lambda/4$ 波長板でDは2次元検出器(CCDカメラ等)である。今白色光はある直径のビームにコリメートされており、薄膜の膜厚(または屈折率)はビーム径の大きさより小さい空間不均一性を持つとする。G1を適当に調整し、Rを出た光のある波長(λ_0)での偏光状態(ρ_0)を調整することにより、膜のある領域からの反射光(λ_0)の偏光状態を直線偏光(ρ_1)にすることができる。直線偏光の光はG2によって消光することができる。これは通常の消光型ellipsometerの消光原理であるが、光源が白色光の場合、 λ_0 以外の光の偏光状態は一般に波長と膜厚、屈折率、基板の光学的性質に依存した楕円偏光になり、したがって、消光されずにG2を通過する。このとき、反射光のスペクトルは消光された λ_0 で極小(強度ゼロ)を持ち、その付近で放物線の形を持つ。また、膜厚(または屈折率)が異なる場所からの反射光の λ_0 での偏光状態は ρ_1 ではなく、楕円偏光(ρ_2)になるので、反射光のスペクトルの極小を与える波長が λ_0 から λ_1 へとずれる。このためスペクトルに差が生じ、それらの差が可視光の範囲にあると、それは色の差として観察することができる。

Fig. 1 Schematic view of the system and the measurement principle(see the text). Here, λ and $I(\lambda)$ are a wavelength of light and a spectra of the light, respectively

3. 観察例

3.1 装置

装置の構成はFig. 1と同様である。白色光源に100 Wのハロゲンランプを用い、波長板はマイカを用いた。記録用に3CCDカラービデオカメラを用いた。

3.2 シリコンウエハ上のテストパターンの観察

この方法を評価するためにシリコンウエハ上のテストパターンを観察した。試料は以下のようにして作製した。厚さ2nmの酸化膜を持つシリコンウエハ上に、レタリング用の文字(約1mm 平方)を張り付け、10%フッ化水素溶液に約30秒浸した後、純水で洗いその後、それをアセトンに浸してレタリングを除いた。レタリングを張り付けた場所だけ元の厚さの酸化膜が残り凸凹として文字ができた。得られた写真を**Fig. 2**に示す。“ERATO”部分は白色、その周囲はオレンジ色であった。酸化膜の膜厚は、白色光を干渉フィルターを用いて単色光にし、消光法⁸⁾で測定したところ、“ERATO”の部分は2nm、その周囲は1nmであった。

3.3 液体ガリウム上の蛋白質薄膜の形成過程の実時間観察

実時間観察方法としての評価をするために、液体ガリウム上の蛋白質薄膜の形成過程を観察した。薄膜はその溶液のぬれ膜(Wetting Film)の乾燥過程を通じて形成される。まず、ぬれ膜は次のようにして準備した。水平方向に可動なステージ上に温度制御(35度)したトラフを配置し、その中に液体ガリウムを満たした。その表面上にカバーガラス(18×18×0.5mm)を垂直に立て、一辺がガリウムの表面に接するように配置し、その接している線に目的とする蛋白質溶液(アポフェリチン溶液, 5mg/ml, 0.15M NaCl, 0.25% Glycerol)を3 μ lを滴下した。その後ステージを0.8 mm/sの速度で移動させ、膜厚26nm, 屈折率1.40のぬれ膜(水色)を形成した。**Fig. 3**は実時間で記録した蛋白質薄膜の形成過程(ぬれ膜の乾燥過程)を5秒おきに抜粋したものである。形成された薄膜(紫色)は膜厚14nm, 屈折率1.44であることが、実験後、消光法⁸⁾で測定することによりわかった。**Fig. 4**に形成した蛋白質薄膜の電子顕微鏡写真を示す。試料は薄膜をカーボン蒸着したマイカに転写したのち、電子顕微鏡用グリッドに移し、2%酢酸ウラン負染色した後観察した。アポフェリチンは直径13nmの球状蛋白質であり、写真からこの薄膜は単分子膜であることがわかる。

Fig. 2 An example of observation with a test pattern, "ERATO". The film thickness at the words and around the words are 2nm and 1nm, respectively

Fig. 4 A transmission electron microscope image of the formed protein film on the gallium surface. From this image shows that the film is known to be a monolayer

Fig. 3 A protein film formation process on a gallium surface in the air. The time interval between A and B, B and C is 5 seconds. The bar in B is 1mm. The film thickness and refractive index at the violet area are 14nm and 44, respectively. At the blue area, these are 26nm and 1.40, respectively

4. おわりに

表面(界面)での動的現象の観察方法は限られており、この方法はそのひとつである。ここで紹介した方法の利点は粒子の凝集過程の研究に不可欠な物理量で

ある膜厚、屈折率を知ることができることである。今回示した例は大面積を観察した例であるが、この方法は微小領域の観察にももちろん応用できる。その場合の面積は入射ビームの収束の実際の限界から $10\mu\text{m}$ 平方程度が限界となる。

References

- 1) Nagayama, K. : *Nanobiology*, 1, 25(1992)
- 2) Yoshimura, H., M. Matsumoto., S. Endo and K. Nagayama : *Ultramicroscopy*, 32, 265(1990)
- 3) Denkov, D. N., D. O. Velev, A. P. Kralchevsky : B. I. Ivanov, H. Yoshimura, and K. Nagayama : *Langmuir*, 8, 3183(1992)
- 4) Bashara, N. M., A. B. Buckman and A. C. Hall, Proceedings, Symp. on Recent Developments in Ellipsometry, eds. North-Holland(1969)
- 5) Bashara, N. M., and R. M. A. Azzam : Ellipsometry, eds. North-Holland(1976)
- 6) Erman, M. and J. B. Theeten : *J. Appl. Phys.*, 60, 859(1986)
- 7) Beaglehole, D. : *Rev. Sci. Instrum.*, 59, 2557(1988)
- 8) Reiter, R., H. Motschmann, H. Orendi, A. Nemetz and W. Knoll : *Langmuir* 8, 1784(1992)
- 9) Henon, S. and J. Meunier : *Rev. Sci. Instrum.*, 64, 936
- 10) Hönig, D. and D. Möbius : *J. Phys. Chem.*, 12, 4590(1991)