

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 23 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870184

研究課題名(和文) 固液界面と吸着分子の断面イメージングを可能とするナノキュベットの創成

研究課題名(英文) Fabrication of nanocuvette : a new platform to visualize liquid-solid interface and adsorbed molecules

研究代表者

三宮 工 (Sannomiya, Takumi)

東京工業大学・総合理工学研究科(研究院)・講師

研究者番号：60610152

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：水溶液中での物質のイメージングは、生体メカニズムの解明、創薬、潤滑性能向上、触媒プロセスなど幅広い分野で重要なテーマである。しかしながら、現存する分光法や走査プローブ顕微鏡法では、空間的・時間的分解能は十分ではない。また、最も興味ある界面のイメージングができない。本研究では、高い空間分解能をもつ透過型電子顕微鏡(TEM)による液中観察の新たなプラットフォームとして、「ナノキュベット」を作製する。ナノスケールに薄く、電子透過の高い「ナノキュベット」を用いて、キュベット内で溶液中その場観察を行う。

研究成果の概要(英文)：Imaging in aqueous condition is essential to reveal biological processes, develop drugs, improve lubrication, design catalysis, etc. However, existing methods such as spectroscopy or scanning probe microscopy do not have sufficient spatial and temporal resolution. Cross-section imaging is also not possible. In this work, a new platform "nano-cuvette" that enables observation in aqueous conditions by transmission electron microscopy (TEM) is developed. The nanocuvette is as thin as a few tens of nanometers, which allows high resolution imaging by TEM. We also perform in-situ TEM observation in liquid.

研究分野：電子顕微鏡

キーワード：電子顕微鏡 ナノホール 表面プラズモン

1. 研究開始当初の背景

透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いた、液中でのその場観察手法は近年注目を集めている。これまでに、液中でのブラウン運動、DNA やタンパク質などの生体分子、電気化学反応、電池反応などが、これまで見ることの出来なかったナノスケールで観察されはじめている。TEM による液中その場観察では、試料付近のみ液体に浸すことで、電子線の光路では、できるだけ真空中に保ち、電子線が液体を通過する距離を減らすことで、電子線の散乱吸収を抑えている。この試料を真空中から遮断する容器は「環境セル」とよばれ、様々な方法が提案されている。環境セル共通の問題は、環境セル内での電子線の散乱による像のボケである。解決策は、環境セルを薄くするか、加速電圧を高くするかのいずれかとなるが、高い加速電圧では、液体の分解など電子線によるダメージが増えるため、環境セルを薄くするほうが望ましい。電子線の物質透過距離は 200kV の TEM では数 100nm 程度であり、明瞭なサブ 10nm の構造観察を行うには、電子線透過距離は 100nm 以内に抑える必要がある。これまでの環境セルでは、セル厚を薄くすることが難しく、電子線散乱吸収が大きく、分解能の高い観察や、コントラストの低い分子の in-situ 観察は困難であった。

我々はこれまでに、厚さ 10nm ~ 100nm 程度の自立多層膜に、直径数十 nm ~ 1 μm の孔を簡便に大量に作製することに成功している (ナノポア膜、図 1 a)、このナノポア膜にプラズモニック材料を用いることで、光学的な吸着センシングや表面機能性を持たすことができるということが分かっている。今回、この多孔自立膜の上下を 10nm 程度の隔離カーボン膜でシールし、液体を内包することで、「ナノキュベット」とし、薄く高機能な環境セルに発展させることができると考えた (図 1)。全膜厚は 50nm 以下に薄くすることができ、孔サイズも調整可能である。ナノキュベット壁面の材料は任意であるため、壁面に選択的な分子吸着を行うことができ、吸着分子の断面観察が可能となる。

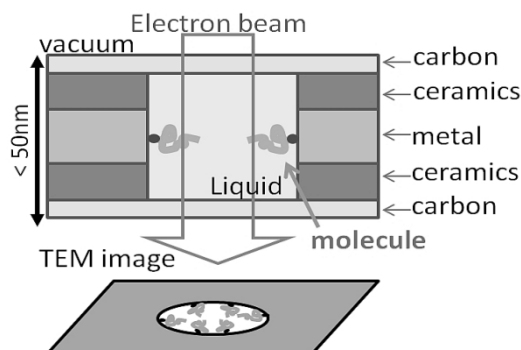


図1 真空中で液体を内包することのできるナノキュベットと、TEMによる吸着分子イメージングの模式図。

2. 研究の目的

(1) ナノキュベット作製手法の確立
ナノキュベットは、薄膜化できる全ての材料を用いることができ汎用性が高い。この作製手法を確立することが最初の目標である。

(2) 水溶液中での反応のその場観察
ナノキュベット内部に液体を閉じ込め、液中でのダイナミクスを観察する。加速電子線により液中の化学反応等が誘起されることが予想され、TEM により反応の様子をナノスケールでその場観察する。

(3) 分子観察
孔壁面に吸着する分子や液中の分子を観察する。水溶液中における吸着分子形態は、水溶液内に存在するイオン種とその濃度に依存することが知られている。しかし、これらの情報は、主に1次元のスペクトルから推測されてものである。本研究では、TEM により、分子の吸着を像として観察する。

3. 研究の方法

(1) ナノキュベットの作製
カーボン・シール膜と犠牲膜からなる基板にコロイドマスクを準備し、薄膜堆積後に取り除き、ナノホールを作製する (図 2 b、コロイダルリソグラフィ)。犠牲膜をエッチングし基板から剥離して、グリッドに転送し自立膜とする (図 2 c)。自立膜中の孔壁面に分子吸着をして、液面に浮いたカーボンでシールをしながら液中から引き上げることで、ナノキュベットを作製する (図 2 d)。ナノキュベット壁面に金を用いることで表面プラズモン共鳴を引き起こすことも可能であり、吸着過程の確認に利用する。薄膜作製にはスパッタリングと蒸着を用いる。これまでに申請者は、カーボンシール膜のないサスペンデッド・ナノポア膜の開発に成功しており、これまでに得られた試料作製技術を応用する。

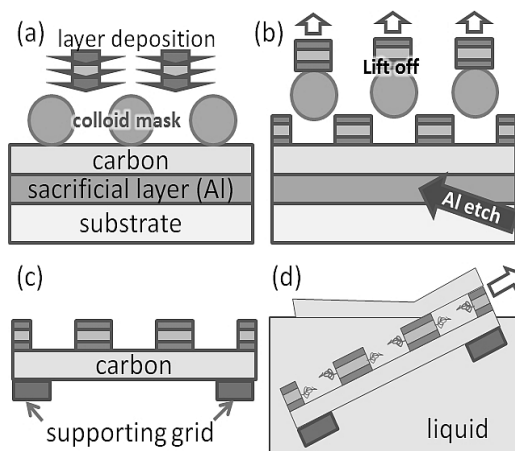


図2 ナノキュベット作製方法模式図

(2) 光学測定による液体シーリング測定

電子顕微鏡観察に先立って、液体の導入を確認する方法を確立することが観察スループットをあげるために重要となる。本研究では、ナノホール・プラズモン共鳴を用いた光学センシングを応用し、Ex situ で液体シーリングの確認を光学測定により行う。TEM グリッド上のサンプル観察領域は数十 μm 四方の領域で、共鳴シフトは波長数 nm 程度であるため、高波長分解をもつ顕微分光システムを新たに構築する。

(3)液中 TEM 観察

水溶液中では、電子線照射により、化学反応が誘起されることが予想される。その反応を観察しながら液体導入を確認すると共に、電子線によりナノキュベットが破壊されない最適な照射条件を探り電子顕微鏡観察方法を確立する。具体的には、加速電圧・電流密度を最適化することになる。

液中観察対象は、硝酸銀水溶液から生成した銀微粒子、ポリマー吸着、淡白質とする。

4. 研究成果

(1)ナノキュベット作製法の確立

炭素膜、AIN 膜、AIN/Au 多層膜をベースにしたナノキュベット作製に成功した。上下のシーリング炭素膜によるシーリングや構造は TEM 観察だけでなく、SEM/STEM 複合機による BFI、SEI により確認した。

また、AIN/Au 多層膜のナノキュベットでは、光学測定によるプラズモン共鳴が発現することを確認した。共鳴波長は表面誘電率に敏感であることから、水が表面に接していることや、カーボン膜が表面に接することにより、共鳴波長シフトが起きる。この共鳴シフトをモニタすることにより液体が炭素膜によりシールされたことを電子顕微鏡観察する前に光学測定により確認することができる。これにより、観察スループットを高めることが期待できる。

さらに、本研究でのナノキュベット作製方法を応用し、TEM 用位相板作製にも成功している。

(2)液中観察 I： 水泡生成

図 3 に示すように 300kV で高電流密度で観察したところ、泡のようなコントラストの生成が確認された。この現象加速電子線による液体の分解と考えられる。1 秒以内に、観察領域がなくなってしまうため、このままでは問題だが、加速電圧を 80-200kV に下げ、照射電流密度を減らすことで泡生成を抑制する条件を見出した。

(3) 液中観察 II： 銀粒子の分解・成長

硝酸銀水溶液をナノキュベットに閉じ込め、電子線照射をすることで、銀粒子の成長分解過程をダイナミックに観察した。(図 4) ナノキュベット壁面に付着した 30nm 程度の

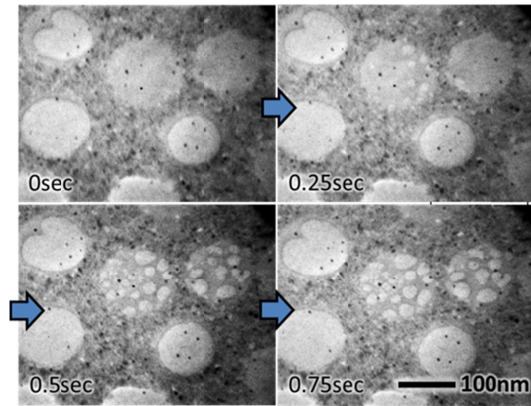


図 3 電子線照射による水泡生成のダイナミクス

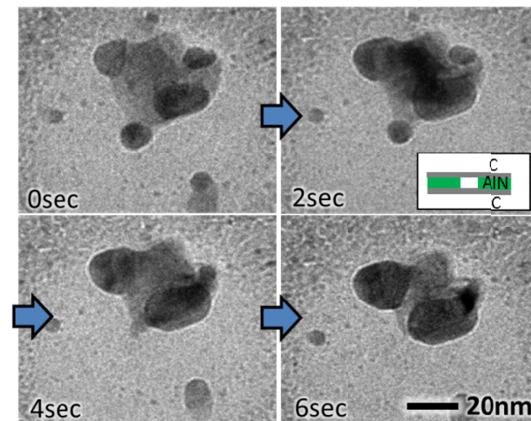


図 4 電子線照射による銀粒子成長・分解のダイナミクス観察

多結晶銀粒子が、加速電子線により、時々刻々とその形状を変化させている。微小な結晶粒は淘汰され、大きな結晶粒になっていくオストワルト成長に近い成長様式が観察されている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 10 件)

T. Sannomiya, J. Junesch, F. Hosokawa, K. Nagayama, Y. Arai, Y. Kayama, Multi-pore carbon phase plate for phase-contrast transmission electron microscopy, *Ultramicroscopy*, 146, 91-96, 2014.

Doi:10.1016/j.ultramic.2014.07.008
査読あり

T. Ohno, C. WadeI, S. Inagaki, J. Shi, Y. Nakamura, S. Matsushita, T. Sannomiya, Hole-size tuning and sensing performance of hexagonal plasmonic nanohole arrays, *Optical Materials Express*, 6, 1594-1603, 2016.

Doi: 10.1364/OME.6.001594, 査読あり

T. Sannomiya, H. Saito, J. Junesch, N. Yamamoto, Coupling of Plasmonic Nanopore Pairs: Facing Dipoles Attract Each Other, *Light: Science &*

Applications, 5, e16146, 2016.
doi:10.1038/lsa.2016.146, 査読あり

〔学会発表〕(計 16 件)

T. Sannomiya, Short-range Ordered Plasmonic Nanoholes and Nanopores for Sensing, EMN 2014 Fall Meeting, Nov. 2014, Florida, USA.

(Invited Talk)

稲垣 諭, 三宮 工, グリッド支持されたプラズモニック・ナノポア液体セルの作製, 第 71 回 顕微鏡学会, 2015 年 5 月, 京都

T. Sannomiya, Chemical Sensing with Refractive Index Sensitive Plasmonic Nanostructures Pacifichem 2015, Dec, Honolulu, USA.

(invited talk)

三宮 工, プラズモニック・ナノホールの光学特性とセンサーへの応用, レーザー学会 第 36 回大会, 2016 年 1 月, 名古屋 (招待講演)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

該当なし

取得状況 (計 0 件)

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.iem.titech.ac.jp/~sannomiya>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三宮 工 (SANNOMIYA, Takumi)

東京工業大学 物質理工学院・講師

(総合理工学研究科、物質科学創造専攻)

研究者番号: 60610152

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

稲垣 聡 (INAGAKI, Satoshi)

JUNESCH, Juliane