Vol. 40 (1991)

# 準弾性レーザー散乱法によるニトロベンゼン/水界面での 単分子膜の形成に伴う界面張力変化の検出

高橋 賢,原田 明,北森武彦,澤田嗣郎<sup>®\*</sup>

(1991年6月29日受理)

水/油/水の3層人工液膜から成る化学振動系において,界面張力変化から単分子膜を検出する非接触で in-situ な計測法として,準弾性レーザー散乱法を適用するための基礎実験を行った.水/ニトロベンゼン界面にジパルミトイルホスファチジルコリンの単分子膜を展開し,膜の分子密度を変化させ,界面張力波(リプロン)の周波数の変化を測定して界面張力の変化を求めた.理論解析の結果と比較することにより,本方法で単分子膜をモニターできることを示した.

# 1緒言

膜が介在する物理化学的現象は、神経細胞膜における 電気パルス発生や、多孔質膜における分子の選択透過性 など種々の興味深い現象が知られている.そうした現象 のひとつに Yoshikawa らが見いだした人工液膜系の電 気振動現象がある<sup>1)</sup>. U 字管の底にピクリン酸のニトロ ベンゼン溶液を入れ、その上に管の両側から水相を入れ て3層とする.水相の一方は界面活性剤のセチルトリ メチルアンモニウム臭化物(CTAB)とブタノールなど のアルコール、他方はグルコースなどの水溶液である. この系で両水相間の電位差は自励振動するが、振動周波 数や振動モードは水溶液の成分や濃度などの条件によっ て変化することから、化学センサーへの応用が検討され ている<sup>2)</sup>.

この化学振動の機構として,油水界面における単分子 膜の形成破壊に基づくモデルが提案されている<sup>3)</sup>.油水 界面において CTA イオンとピクリン酸イオンとはイオ ン対の状態で存在し,これが自己触媒的に形成と破壊を 繰り返すと考えられている.

このモデルを実験的に検証するためには化学振動時の 液々界面の界面張力変化を測定すればよい.界面張力測 定では Wilhelmy 法がよく知られており<sup>4)</sup>,化学振動系 に関する界面張力モニターの報告もある<sup>2)</sup>.この方法は 白金板を液々界面に接触させ、白金板が界面張力により 引かれる力の大きさを測定する.この方法は界面とプ ローブの接触点が単分子膜生成の核になるなど,界面の 条件を変える可能性がある.更にこの方法は,界面が定 常状態にあることが前提であるが,化学振動系のように 動的な状態では界面が力学的に運動することも知られて おり<sup>5)</sup>,信頼性の高い界面張力変化の測定が困難となる ことが予想される.そのため,このモデルの検証には系 を乱さない,非接触かつ *in-situ* な界面張力計測法が必 要である.

界面張力の非接触測定法の一つとして準弾性レーザー 散乱が知られており,生体膜の研究を目的として水/へ、 プタン界面にブロックコポリマーやリン酸脂質を展開し た静的な系についての研究報告がある<sup>6)7)</sup>.液々界面に おいては,熱ゆらぎによって発生するリプロンと呼ばれ る界面張力波<sup>8)</sup>が存在する.準弾性レーザー散乱法は レーザーの非弾性散乱を利用してリプロンの波長と振動 数を測定し,界面張力を求める.この方法は界面に白金 板のようなプローブを挿入する必要がなく,そのうえ, 界面張力が復元力である波を利用しているので界面運動 が存在しても測定誤差を生じにくいという利点がある.

本研究では化学振動界面の界面張力変化を準弾性レー ザー散乱法を用いて測定するための基礎実験を行った. 化学振動系と同一の溶媒系であるニトロベンゼン/水系 の界面に人工的にリン脂質の単分子膜を展開し,その界 面分子密度変化によるリプロンの周波数を検出して,化 学振動系の動的界面張力計測に応用できることを示し, 理論的に予想される値と比較した.

<sup>\*</sup> 東京大学工学部工業化学科: 113 東京都文京区本郷 7-3-1

762

# 2 実 験

## 2・1 測定の原理

界面に垂直にレーザー光を入射するとリプロンにより 非弾性散乱され、そのとき運動量と、エネルギーとが保 存される<sup>8)</sup>. 界面に平行な方向の運動量保存により、散 乱光の散乱角  $\theta$  は散乱光の波数を  $k_0$ , リプロンの波数 を k として  $k = k_0 \sin \theta$  の関係式を満たす. 従ってリプ ロンをその波長が格子間隔に等しい回折格子に例えるこ とができる. 一方、エネルギー保存から、散乱光の周波 数は入射光の周波数を  $\Omega$ , リプロンの周波数を  $\omega$  とし て  $\Omega \pm \omega$ にドップラーシフトする. 従って散乱光の散 乱角とドップラーシフトの大きさを測定すれば、リプロ ンの波数と周波数を求められる.



Fig. 1 Laser scattering by ripplon at oil/water interface and optical heterodyne method with a diffraction grating

The laser light  $(B_1)$  is scattered by the ripplon with wavenumber k and angular frequency  $\omega$  at the oil(O)/water(W) interface. The scattering angle( $\theta$ ) is determined by Bragg's condition,  $k = k_0 \sin \theta$ , where  $k_0$  is the wavenumber of the scattered light. The angular frequency of the scattered light is shifted by the Doppler effect. The width of the shift is the same as the angular frequency of ripplon. The transmitted light (B<sub>3</sub>) without a Doppler shift is diffracted by the transmission grating (G). The diffracted beam (B<sub>4</sub>) which propagates parallel to the scattered light (B<sub>2</sub>) is optically mixed with the scattered light, and optical beat with angular frequency  $\omega$  generates 測定したドップラー周波数は本研究では約 10 kHz と 予想され、入射光の周波数に比べて非常に低いので、光 ヘテロダイン方式によって検出した. 散乱光と、入射光 と同じ周波数のレーザー光とを混合すると両者の差周波 数に相当する光ビートが発生し、そのビート周波数を測 定することにより、ドップラーシフトの大きさ、すなわ ちリプロンの周波数を決定することができる.

ビート発生のための光混合には透過型の回折格子を用いた<sup>10)</sup>. その概念図を Fig. 1 に示す. 散乱角 0 rad, すなわちドップラーシフトしていない, 界面を透過したレーザー光を透過型回折格子で回折させ,回折格子を透過した散乱光と混合した. このとき回折光と散乱光が平行である場合にビートが発生する. 回折角は散乱角に等しいので, どの波数のリプロンによる散乱光を検出しているかを求めることができる.

波数と周波数が分かると、両者の分散関係をもとに以下のように界面張力を求めることができる.すなわち、 液々界面におけるリプロンの波数と角周波数の分散関係 は次式で表される<sup>11)12)</sup>.

$$[\eta_{w}(k+m_{w})+\eta_{d}(k+m_{d})-\varepsilon^{*}k^{2}/i\omega]$$

$$\times [\eta_{w}m_{w}(k+m_{w})/k+\eta_{d}m_{d}(k+m_{d})/k-\sigma^{*}k^{2}/i\omega]$$

$$= [\eta_{w}(k-m_{w})-\eta_{d}(k-m_{d})]^{2} \qquad (1)$$

$$m = [k-i\omega\rho/\eta]^{1/2}$$

ここで、k は波数、 $\omega$  は角周波数、 $\eta$  は粘性係数、 $\sigma^*$ は複素界面張力、 $\epsilon^*$  は複素弾性定数、 $\rho$  は密度で、添 え字 w、d はそれぞれ水層、油層を表す、界面単分子膜 による界面粘弾性の影響を小さいと仮定すれば、 $\epsilon^*=0$ と近似することができるので、式(1)に油水の種々の物 性値及び準弾性レーザー散乱から求めたリプロンの波数 と角周波数を代入することにより、界面張力を計算でき る.

## 2.2 実験装置

実験装置の概要を Fig. 2 に示す. He-Ne レーザー (Uniphase, 1135 型)の出力は 10 mW であった. レー ザー光はセル内の液々界面に垂直入射した. 自作したセ ルは内径 50 mm, 深さ 30 mm のビーカー型の容器で, 底には平坦なガラス板を用いた. 光ビートを発生させる ための回折格子は格子定数 30 本/cm のものを用いた. この回折格子はリソグラフィー技術によりガラス板上に 焼き付けたものである. 直径 1 mm のアパーチャーで 回折光の次数を選択し, アパーチャーを通った光はレン ズ(直径 10 mm, 焦点距離 100 mm)で集光し,ホトダ イオード(浜松ホトニクス, S2839)で検出した. ホト



Fig. 2 Schematic diagram of the quasielastic laser scattering method

M: mirror; C: cell; W: water; NB: nitrobenzene; G: transmission grating; A: aperture; L: lens; PD: photodiode; amp: preamplifier; S: spectrum analyzer, and R: XY-recorder

ダイオード(負荷抵抗を 10 kΩ)の出力はプリアンプ (EG & G, 5004 型)で 1000 倍に電圧増幅した後,パ ワースペクトルをスペクトラムアライザ(アドバンテス ト, R4131)で測定した.スペクトラムアライザの分解 能は 1 kHz であった.比較のため Dunoüy 式表面張力 計(太平理化学)を用いニトロベンゼン/水界面の界面 張力を測定した.

### 2.3 試 薬

油層にはニトロベンゼン(関東化学,特級)を用い, 水層には蒸留水を用いた.界面に展開する物質にはリン 脂質の一種であるジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC,フナコシ製)をメタノール(和光純薬工業, 特級)に溶かして使用した.試薬はすべて購入したまま の純度で使用した.

## 3 結果と考察

## 3・1 リプロンの検出

セル中にニトロベンゼンをいれ、その上に静かに水を 注いで 2 層とする. ニトロベンゼン/水界面にマイクロ シリンジを用いて 50 μM の DPPC メタノール溶液を展 開した. メタノールはニトロベンゼンよりも比重が小さ く、しかもニトロベンゼンに溶けにくいため、シリンジ



Fig. 3 Typical power spectrum of the optically mixed light intensity

O/W: ripplon frequency at nitrobenzene/water interface; W/A: rippton frequency at water/air interface

の先端をわずかにニトロベンゼン層にいれた状態で液を 注入すると膜が界面にできる.実験中の気温は 27℃, 液温は 26℃ であった.

ヘテロダイン法による光ビートのパワースペクトルを Fig. 3 に示す. 回折光次数として 5 次のものを選択し た. Fig. 3 中で, 20 kHz 付近にある鋭いピークは, レーザーの電源が投入されている間は、ホトダイオード ヘレーザー光を入射しない場合でも存在し、レーザーの 電源を切ると消えた.従ってレーザーの電源からのノイ ズであると推定した、レーザーのノイズとしてはこのよ うな定周波数のもののほかに、時間と共に周波数と強度 の変化するものがあった. このノイズはホトダイオード にレーザー光を直接入射した場合にも現れた. レーザー 光を入射しない場合には、レーザーの電源を投入した状 態でもノイズは現れなかったのでレーザー光の周波数に 関する不安定性に起因するものと判断した. このノイズ の強度は散乱光の光ビートによる信号強度を上回った. Fig. 3 はノイズが出ていないときを選んで取ったパワー スペクトルである. 40 kHz 付近にあるブロードなピー クは水/空気界面の準弾性レーザー散乱の実験でも現 れ, 高い回折次数ほどピーク周波数が高くなった. その ためこのピークは水/空気界面のリプロンによる散乱光 であると判断した. 10 kHz 付近にあるブロードなピー クはニトロベンゼン/水界面の準弾性レーザー散乱の実 験のみに現れ、高い回折次数ほどピーク周波数が高くな った. そこで, このピークはニトロベンゼン/水界面の リプロンによる光ビートのピークであると判断した.

## 3・2 界面分子密度とリプロンの周波数との関係

DPPC の界面分子密度を1分子当たりの界面占有面 積 で 表 す こ と と し,  $82.5 \text{ Å}^2/\text{molecule}$ , 110 Å<sup>2</sup>/molecule, 165 Å<sup>2</sup>/molecule, 及び膜の存在しない清 浄界面の4点について、ニトロベンゼン/水界面におけ るリプロンの周波数を測定した. DPPC の膜が存在し ない清浄界面は,界面分子密度無限大の極限に相当する と考えられる、測定に用いた回折光の次数はすべて5 次で,光ビートの周波数は波数 9.4×10<sup>2</sup> cm<sup>-1</sup> のリプロ ンの周波数に等しい. 散乱光強度は低波数のリプロンほ ど高いが、低波数では水/空気界面におけるリプロンの 周波数とニトロベンゼン/水界面におけるリプロンの周 波数とが近く,パワースペクトルで二つのピークが重な りあった.しかし5次の回折光を測定することにより 水/空気界面のリプロンによる散乱光によるビートの ピークとの識別が可能で、しかも十分なピーク強度が得 られた. Table 1 に各界面分子密度ごとのリプロン周波 数をまとめた.液々界面に単分子膜が存在する場合,膜 分子による界面圧によって界面張力が低くなり<sup>9)</sup>,リプ

Table 1	Dependency of ripplon frequencies on the
	dipalmitoylphosphatidylcholine molecular
	densities at the nitrobenzene/water inter-
	face

Area per molecule $\text{\AA}^2$ molecule $^{-1}$	Ripplon frequency/kHz	
82.5	11.1	
110	11.5	
165	12.5	
Clean interface	13.5	

Table 2Relation between the interface molecular<br/>density and interfacial tension determined<br/>by both the present quasielastic laser scat-<br/>tering method and Dynoüy's one

Area per molecule	Interfacial tension/mN m <sup>-1</sup>		
(A <sup>*</sup> molecule <sup>*</sup> )	Quasielastic laser scattering method	Dynöy's method	
82.5	16.0	14.6	
110	17.2	18.0	
165	20.2	20.0	
Clean interface	23.4	23.0	

ロンの周波数低下を引き起こす. Table 1 より, 界面分 子密度が高いほど, 膜の分子による界面圧が上昇し, リ プロンの周波数が下がる様子が分かる.

# 3・3 界面張力と界面分子密度の関係

3・2節で求めたリプロンの周波数と波数を両者の分散 関係式(1)に代入して界面張力を求め、界面張力に関す る単分子膜の界面分子密度依存性を調べた. 求めた界面 張力は Dunoüy 式表面張力計による測定結果と比較し た. 結果を Table 2 に示す. DPPC 膜の界面分子密度 が増加すると界面張力は減少することが分かる.又,準 弾性レーザー散乱による界面張力の計算値と Dunoüy 式表面張力計による界面張力の測定値との間の差は, 82.5 Å<sup>2</sup> molecule<sup>-1</sup>を除いては  $1 \text{ mN m}^{-1}$  以内であり, リプロンの周波数をもとに水/ニトロベンゼン界面の界 面張力を推定できることが分かる. 82.5 Å<sup>2</sup> molecule<sup>-1</sup> では、他の測定点に比べて二つの測定法の結果の差が大 きかった.この差の測定上の原因としては、分子密度の 高い膜は Dunoüy 式表面張力計による界面張力測定の 際に白金リングのプローブにより破壊される可能性があ ること、準弾性レーザー散乱法では、Fig. 3 からも分か るようにパワースペクトルの低周波数側はバックグラウ ンドが高く,ビート周波数が決めにくくなること,など が考えられる. 又, リプロンによる界面張力計算におい て、式(1)で複素弾性定数  $\epsilon^*$  を 0 と仮定したが、単 分子膜の存在する界面では単分子膜による弾性がリプロ ンの周波数に寄与することが知られており11)12),高分 子密度側ではその影響が大きくなるために、界面張力の 計算結果に誤差が増えたことも考えられる.

本方法を化学振動系の水/ニトロベンゼン界面におけ る単分子膜検出に適用し、化学振動界面のリプロンの周 波数を測定することができた.詳細については次報で述 べるが、単分子膜の生成消滅過程を非接触かつ *in-situ* にモニターすることにより、化学振動機構に関する詳細 な知見を得られることが期待できる.

本研究をすすめるに当たり,透過型回折格子をお貸し下 さり,実験技術について御指導いただきました東京大学生 産技術研究所高木堅志郎教授と酒井啓司博士に感謝致しま す.

> (1991 年 5 月, 第 52 回分析化学討論会) (において一部発表

## 文 献

- K. Yoshikawa, Y. Matsubara: J. Am. Chem. Soc., 106, 4423 (1984).
- 2) K. Yoshikawa, M. Shoji, S. Nakata, S. Maeda, H.

報 文 高橋,原田,北森,澤田:準弾性レーザー散乱法による油水界面における界面張力変化の検出

765

Kawakami: Langmuir, 4, 759 (1985).

- K. Toko, K. Yoshikawa, M. Tsukiji, M. Nosaka, K. Yamafuji: *Biophys. Chem.*, 22, 151 (1985).
- 4) J. Mingins, J. A. G. Taylor, B. A. Pethica, C. M. Jackson, B. Y. T. Yue: J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1, 78, 323 (1982).
- 5) K. Arai, F. Kusu, K. Takamura: Chem. Lett., 1990, 1517.
- 6) B. B. Sauer, Y. L. Chen, G. Zografi, H. Yu: Langmuir, 4, 111 (1988).
- 7) B. B. Sauer, H. Yu, C. Tien, D. F. Hager: Macromolecules, 20, 393 (1987).
- 8) R. H. Katyl, U. Ingard: *Phys. Rev. Lett.*, **20**, 248 (1968).
- 9) 宮野健次郎:日本物理学会誌,45,317 (1990).
- S. Haard, Y. Hamnerias, O. Nilsson: J. Appl. Phys., 47, 2433 (1976).
- 11) H. Löfgren, R. D. Neuman, L. E. Scriven, H. T. Davis: J. Colloid Interface Sci., 98, 175 (1984).
- 12) L. Kramer: J. Chem. Phys., 55, 2097 (1971).

☆

Detection of a monolayer at the nitrobenzene/water interface by a quasielastic laser scattering method. Satoshi TAKAHASHI, Akira HARATA, Takehiko KITAMORI and Tsuguo SAWADA (Department of Industrial Chemistry, Faculty of Engineering, The University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113)

In oil/water system there are various kinds of reactions which take place at the interface. One of the most interesting such reactions is a self oscillation of the electrical potential in a water/nitrobenzene/water three-layer system. However, there are few effective techniques for an *in-situ* investigation of such interface reactions. In the present study a quasielastic laser scattering was applied to the remote detection of a monolayer at the nitrobenzene/water interface. Dipalmitoylphosphatidylcholine molecules with various molecular densities were spread at nitrobenzene/water interface and the dependence of the frequency of capillary wave (ripplon) at the interface was determined by the quasielastic laser scattering with optical heterodyne. The interfacial tension was estimated and compared with the conventional Dunoüy's method.

(Received June 29, 1991)

## Keyword phrases

chemical oscillation; ripplon; monolayer at interface; quasielastic laser scattering.