

## 原著論文

表面分析による L-アラニン結晶成長への  
添加物作用機構の解明Elucidation of Acting Mechanism of Additive  
on L-Alanine Crystal Growth by Surface Analysis小川 薫<sup>\*1</sup>, 今井 潤<sup>\*2</sup>, 本城 幸<sup>\*3</sup>, 趙 彬<sup>\*3</sup>, 清水健司<sup>\*3</sup><sup>\*1</sup> (財)いわて産業振興センター, <sup>\*2</sup> 岩手大学地域共同研究センター,<sup>\*3</sup> 岩手大学工学部応用化学科Kaoru Ogawa<sup>\*1</sup>, Jun Imai<sup>\*2</sup>, Sachi Honjo<sup>\*3</sup>, Bin Zhao<sup>\*3</sup> and Kenji Shimizu<sup>\*3</sup><sup>\*1</sup> Advanced Science and Technology Institute, Iwate Industrial Promotion Center<sup>\*2</sup> Center for Cooperative Research and Development, Iwate University<sup>\*3</sup> Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Iwate University

(received May 20, 2003; accepted for publication August 14, 2003)

The effect of L-methionine additive on the crystal growth of L-alanine crystal was investigated by atomic force microscope (AFM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and time of flight-secondary ion mass spectrometry (TOF-SIMS). The crystal was grown in the presence of L-methionine (5 mol % with respect to L-alanine concentration) at a supercooling  $\Delta T=2$  K. The growth rate of (120) face was almost suppressed and that of (011) face was only relatively inhibited. The surface topography of each face was also observed by AFM and they showed to be different. From the XPS depth profile results, sulfur atoms were detected only outer surface of the (120) face, but in the case of (011) face, sulfur atoms were detected not only outer surface but also in side of the crystalline lattice. In addition, from the TOF-SIMS results, L-methionine molecule and L-alanine molecule were dotted each other on the surface of (011) face, but in the case of (120) face, L-methionine molecule was present only on local part of surface, on which L-alanine molecule won't. It was considered that L-methionine molecule which exist in outermost surface of (120) face hinder the growth of that face of L-alanine and that which exist in the surface of (011) face don't prevent the growth. The difference of growth suppression effect on each face by L-methionine additive was confirmed by XPS analysis and TOF-SIMS analysis.

## §1 はじめに

結晶は、医薬品から食品、さらに機能性素材<sup>1,2)</sup>へと用途も広がり、ますます純度や形状への要求が高まってきている。しかし、結晶製造過程において純度や形状は不純物により著しく左右されているが作用機構は十分に解明されていない<sup>3,4)</sup>。そこで、本研究では、モデル物質としてアミノ酸の一種である L-アラニン結晶を用い、その結晶成長への添加物効果を L-メチオニンを用いて、

E-mail : kshimizu @ iwate-u.ac.jp

(財)いわて産業振興センター

〒 020-0852 岩手県盛岡市飯岡新田 3-35-2

岩手県先端科学技術研究センター内

Advanced Science and Technology Institute,

Iwate Industrial Promotion Center

Morioka 020-0852, Japan

岩手大学地域共同研究センター

〒 020-8551 岩手県盛岡市上田 4-3-5

Center for Cooperative Research and Development,

Iwate University

Morioka 020-8551, Japan

岩手大学工学部応用化学科

〒 020-8551 岩手県盛岡市上田 4-3-5

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering,

Iwate University

Morioka 020-8551, Japan

作用機構解明を試みた。すなわち、その添加物効果を干渉顕微鏡によるその場観察法により結晶成長速度を測定し、さらにその成長面を原子間力顕微鏡(AFM)観察<sup>5,6)</sup>、X線光電子分光法(XPS)測定および飛行時間型二次イオン質量分析法(TOF-SIMS)測定により、構造的観点から検討したのでここに報告する。添加物であるL-メチオニンがL-アラニンにはないイオウ原子を1つ含む分子であるので、イオウ原子のXPS分析により、L-メチオニン分子のアラニン結晶表面および深さ方向の分布も知ることができる。さらにTOF-SIMSは、結晶表面の一分子層を剥ぎ取ってその質量分析を行うことができるので、結晶最表面の構成原子や分子を高感度で検出し、その分布状態を知ることができる。このように本研究では、干渉顕微鏡を用いた結晶成長速度の測定と、これら種々の表面分析法の測定結果を合わせ、L-アラニン結晶成長への添加物の作用機構を検討した。

## §2 実験方法

試料は、市販のL-アラニン(味の素(株)製)およびL-メチオニン(和光純薬(株)製)特級試薬を用いた。

結晶成長測定には、**Fig. 1**に示す「その場観察装置」を用いた。観察装置はレーザーダイオードを光源とし、対物レンズ、CCDカメラ、モニター、ビデオおよび結晶成長用セルからなり、セ

ルの温度は、温度制御装置により一定に保つことができる。

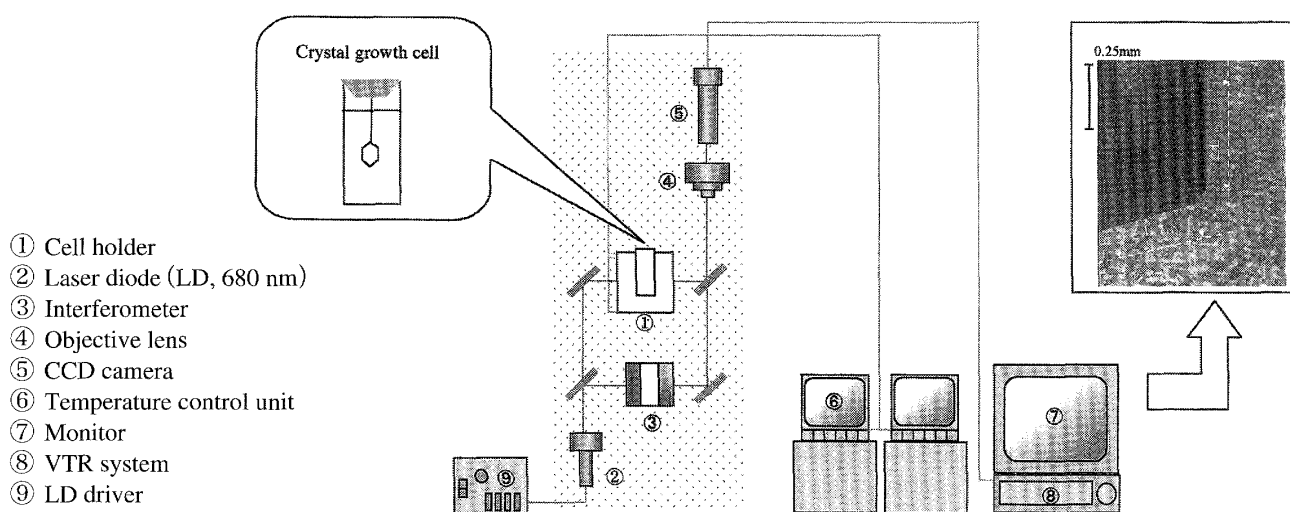
測定に用いるL-アラニン種結晶は、次のように作成した。飽和温度313 KのL-アラニン水溶液をシャーレに採取し、室温で一昼夜放置し、析出した結晶の中から比較的形のよいものを選び出す。サイズは、約4×4×2 mmのものを使用した。

### 2.1 L-メチオニン添加系におけるL-アラニン結晶のモルホロジーの観察

飽和温度313 KのL-アラニン水溶液(以下、L-アラニン純粋溶液と記す)にL-アラニン濃度に対しL-メチオニンが5 mol %になるように添加物として溶解させたものを、5 mol % L-メチオニン添加溶液とした。先に作成したL-アラニン種結晶をステンレスの針金にマニキュアで接着し、313 KのL-アラニン純粋溶液および5 mol % L-メチオニン添加溶液に浸漬させた。その後、すばやく溶液を過飽和度2 Kになるように311 Kまで冷却し、一週間種結晶を成長させた後取り出し、L-アラニン結晶のモルホロジーを観察した。

### 2.2 「その場観察装置」による結晶成長速度の測定

使用した溶液は、前述同様の過飽和度313 KのL-アラニン純粋溶液および5 mol % L-メチオニン添加溶液で、これらの溶液を角型石英セルに2.5 ml 注入し、温度制御装置を用いて313 Kに設定



**Fig. 1** Schematic diagram of *in situ* observation apparatus.

された観察場に設置した。前述同様に L-アラニン種結晶を用意し、セル内の所定の位置に設置し、温度制御装置で過飽和度が 2 K になるように溶液を 311 K に冷却し、Fig. 1 に示すように L-アラニン結晶の (120) 面、(011) 面の各面の成長の様子をモニターで 30 分間観察し、ビデオに録画した。録画された画像から、画像処理ソフトを用いて L-アラニン結晶の各面ごとの成長量を 5 分毎に測定し、それぞれの条件について成長量と時間の関係を求め、成長速度を得た。

### 2.3 AFM による表面マイクロトポグラフィの観察

L-アラニン結晶の (120) 面および (011) 面の表面観察は AFM (Nanoscope D3000, Digital Instruments Inc. 製) 測定により行われた。測定モードはコンタクトモードで行われ、カンチレバーは  $\text{Si}_3\text{N}_4$  V 字型カンチレバー (長さ; 200  $\mu\text{m}$ , バネ定数; 0.12 N/m) を使用した。AFM の観察領域は  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$  とした。測定に使用した結晶は、前述のモルホロジーの観察の際のサンプル作成と同様の方法で作成したものをを用いた。すなわち、針金で固定した種結晶を 313 K の L-アラニン純粋溶液および 5 mol % L-メチオニン添加溶液に浸漬させ、その後、溶液を過飽和度 2 K になるように 311 K まで冷却し、24 時間成長させ取り出したものをを用いた。

### 2.4 XPS による結晶表面分析

L-アラニン結晶の (120) 面および (011) 面の表面分析は、XPS (ESCA 5600, ULVAC-PHI. Inc. 製) 測定により行われた。測定条件としては、単色光化 Al K $\alpha$  を X 線源とし、中和銃を用いて表面の帯電補正を行った。分析面積は 800  $\mu\text{m}$   $\phi$  とした。XPS 表面分析は、ワイドスキャン・ナローズキャン・デプスプロファイルの 3 つの測定モードで行った。ワイドスキャンモードの測定では、広いエネルギー範囲のスペクトルを測定して、表面に存在する元素の種類を同定を行い、ナローズキャンモードの測定ではワイドスキャンモードで検出された元素についてより詳しく定量を行った。また、表面から深さ方向の元素組成の分布を調べる

ために、アルゴン銃によるエッチングを行い、表面を削り取りながら測定を行うデプスプロファイルを行った。アルゴン銃の加速電圧は 3 kV とし、エッチングのスピードは 3.7 nm/分とした。エッチングの 0.3 分後毎、スペクトルの測定を行った。測定に使用した結晶は AFM 測定用サンプルと同様にして作成したものである。

### 2.5 TOF-SIMS による結晶表面分析

L-アラニン結晶の (120) 面および (011) 面の表面分析は、TOF-SIMS (TRIFT II Model TFS-2100, ULVAC-PHI. Inc. 製) 測定により行われた。本測定法は物質表面の一分子層を一次イオン源により丁寧に剥ぎ取り質量を分析するというもので、広い質量範囲にわたって高感度、高分解能で分析できるという特徴を有している。一次イオン源として  $\text{Ga}^+$  (beam voltage 15 kV  $\times$  1.5  $\mu\text{A}$ ) を照射し、発生した二次イオンを質量分析することにより、試料最表面の構成原子や分子の分析を行った。測定に使用した結晶は AFM 測定用サンプルと同様にして作成したものである。

## §3 実験結果と考察

### 3.1 結晶モルホロジーの変化

Fig. 2 に L-アラニン種結晶 (a)、L-アラニン純粋溶液中で一週間成長させた結晶 (b) および 5 mol % L-メチオニン添加溶液中で一週間成長させ

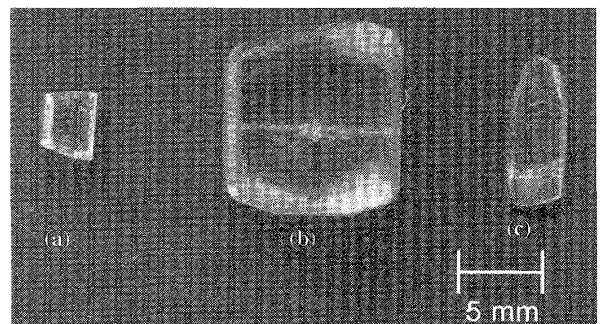


Fig. 2 The photograph of L-alanine crystal.

- (a) L-alanine seed crystal
- (b) L-alanine crystal after 7 days
- (c) L-alanine crystal with 5 mol % L-methionine after 7 days

た結晶(c)を示す。これらの結果から、L-アラニン純粋系とL-メチオニン添加系で大きさおよび形状に顕著な違いが見られた。すなわち、L-アラニン純粋系では、(120)面、(011)面ともに成長がみられた。しかし、L-メチオニン添加系では、(120)面方向は成長が著しく抑制され、主にZ軸方向に成長し、最終的には(011)面はなくなってしまうことがわかった。

### 3.2 結晶成長速度

L-アラニン純粋溶液および5 mol % L-メチオニン添加溶液における結晶成長量と時間の関係をFig. 3に示す。図中、直線は、各プロットに対して最小二乗法によって求めた。いずれの条件でも成長量は時間とともに直線的に増加した。(120)面、(011)面の成長速度を比較してみると、L-アラニン純粋系の場合、(120)面よりも(011)面の成長が約1.6倍速いことがわかった。次にL-アラニン純粋系とL-メチオニン添加系を比較する

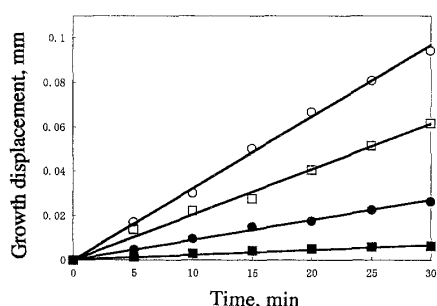


Fig. 3 The growth displacement of L-alanine crystal.

- L-alanine (011) face ( $G=5.33 \times 10^{-5}$  mm/s)
- L-alanine (120) face ( $G=3.33 \times 10^{-5}$  mm/s)
- L-alanine with 5 mol % L-methionine (011) face ( $G=1.50 \times 10^{-5}$  mm/s)
- L-alanine with 5 mol % L-methionine (120) face ( $G=3.30 \times 10^{-6}$  mm/s)

Fig. 4 AFM images of L-alanine crystal surfaces.

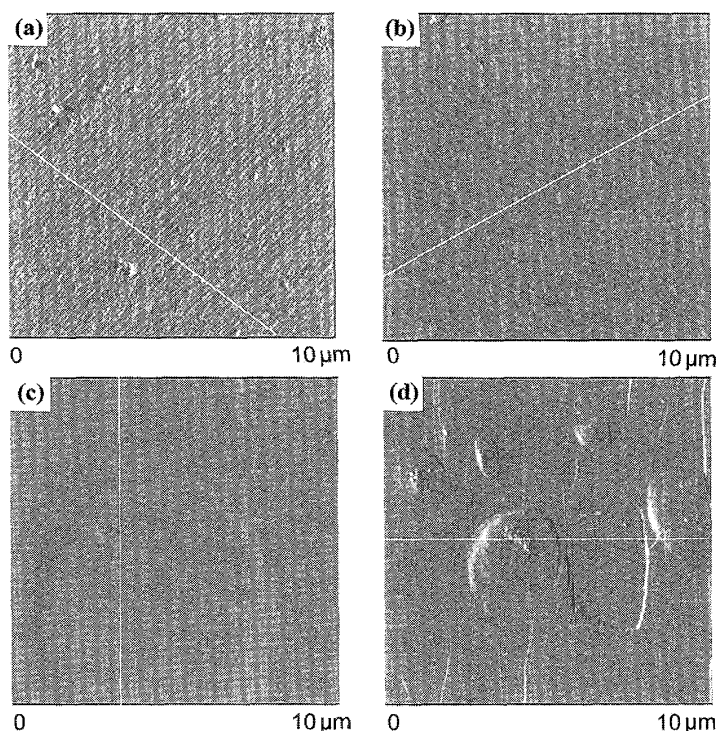
- (a) (011) face of L-alanine crystal
- (b) (011) face of L-alanine crystal mixed with L-methionine
- (c) (120) face of L-alanine crystal
- (d) (120) face of L-alanine crystal mixed with L-methionine

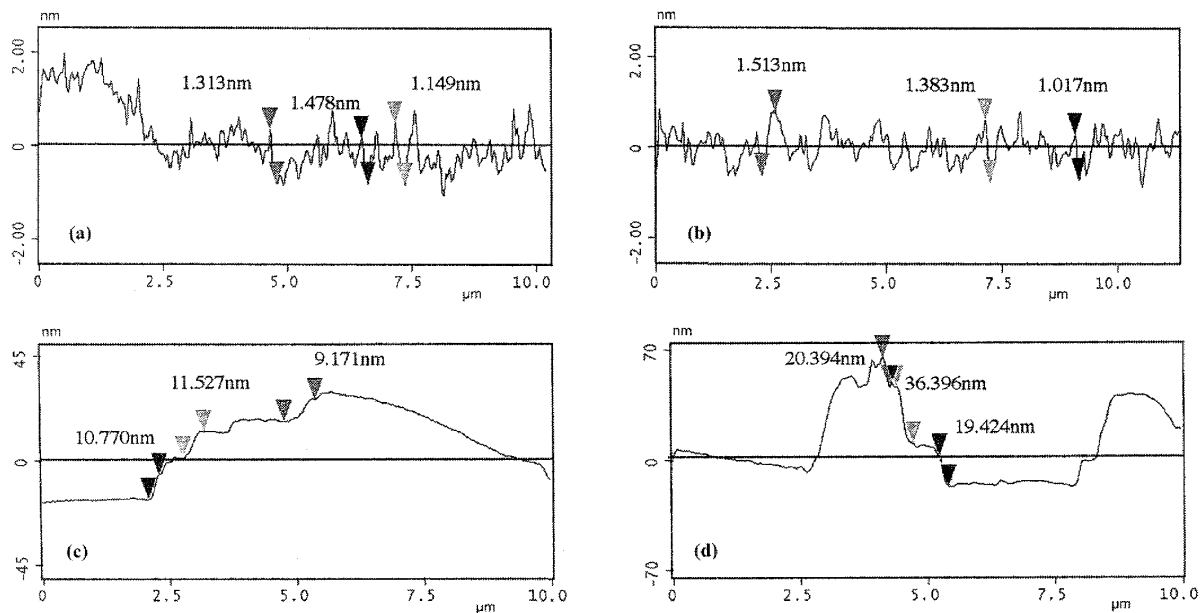
と、(120)面は約1/10、(011)面は約1/4いずれの面においても、L-メチオニン添加系で成長が抑制されていることがわかった。これらの結果は、先の結晶のモルホロジーの変化の結果と一致するものである。

### 3.3 AFMによる結晶表面観察結果

Fig. 4にL-アラニン純粋溶液および5 mol % L-メチオニン添加溶液において24時間成長させた結晶の各結晶面におけるAFM像の一例を示す。(a)および(c)は、純粋系の(011)面および(120)面の表面マイクロトポグラフを示し、(b)および(d)は、L-メチオニン添加系の(011)面および(120)面の表面マイクロトポグラフを示す。(a)~(d)の成長ステップを比べてみると、(120)面では成長丘がみられるが、(011)面では直線状のステップがみられる。

また、Fig. 4の各画像上の白線に対応したステップの高さ方向の断面図をFig. 5の(a)~(d)に示す。(a)~(d)の成長ステップを比べてみると、(a)の成長ステップの間隔が最も密である。先に示した成長速度の結果では、この面の成長が最も速いことがわかっている。また、(c)、(d)を比較





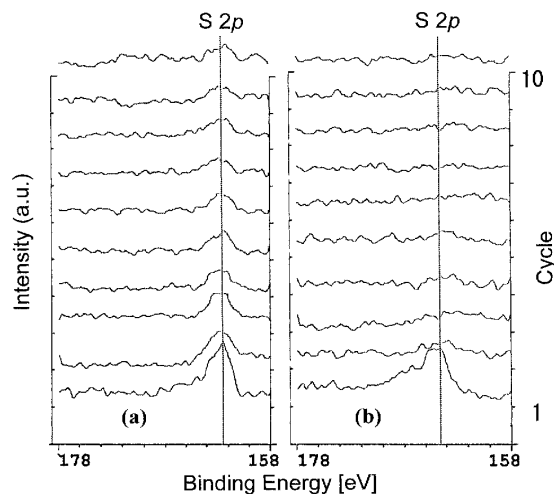
**Fig. 5** Vertical profiles of L-alanine crystal surfaces.  
 (a) (011) face of L-alanine crystal  
 (b) (011) face of L-alanine crystal mixed with L-methionine  
 (c) (120) face of L-alanine crystal  
 (d) (120) face of L-alanine crystal mixed with L-methionine

してみると、純粋系では、水平方向に大きく広がった成長丘がみられるが、L-メチオニン添加系の成長丘は、添加物により水平方向の広がりが純粋系の約 1/3 ほどに抑制され、また、その高さは純粋系の約 2 倍であることがわかった。

### 3.4 XPS による結晶表面分析結果

L-アラニン純粋系と L-メチオニン添加系の (120) 面および (011) 面の表面に存在する元素の種類を同定を行うために、ワイドスキャンでスペクトルの測定を行った。ワイドスキャンスペクトルでは、純粋系では C, N, O 元素のピークが、添加系では C, N, O, S 元素のピークが検出され、いずれもこれら以外の元素は検出されなかった。

また、L-メチオニン添加系の (120) 面および (011) 面の表面で検出された元素についてより詳しく定量を行うために、ナローズキャンでスペクトルの測定を行った。このモードで検出された C, N, O, S 元素の各ピークの面積から表面の元素組成比を求めたところ、S 原子が約 1 ~ 2% 存在することがわかった。これは L-メチオニン分子に換算すると表面に約 0.7 ~ 1.4% 存在している



**Fig. 6** XPS Depth profile spectra of S 2p.  
 (a) (011) face, (b) (120) face

ことを意味している。

さらに L-メチオニン添加系の結晶では表面から深さ方向の S 原子の分布を調べるために、デプスプロファイルでスペクトルの測定を行った。Fig. 6 (a) に (011) 面の深さ方向の S 2p のスペクトルの変化を、(b) に (120) 面におけるスペクトル変化を示した。(a), (b) いずれの図においても、一番下側のスペクトルはエッチング前のスペクトルである。S 2p のピーク位置は約 160 eV で、エッチングに伴うピークシフトが見られないことから、エッチングにより L-メチオニンの化学結合状態には変化がなかったことがわかる。また、(011) 面の最表面の S の元素組成比は約 2% と高

いが、最初でエッチング(1.2 nmの深さ)で S 2p のピークの高さは減少している。しかしながら、9 サイクルのエッチングの後(約 10 nm の深さ)でも、S 2p のピークが存在していることから、L-メチオニンの分子が L-アラニン結晶の(011)面の最表面だけでなく、成長しながら結晶の内部格子にも取り込まれていることがわかった。一方、(120)面の深さ方向の S 2p のスペクトルでは、最初のエッチング(1.2 nm の深さ)で S 2p のピークはなくなっている。すなわち、このことは L-メチオニンの分子が L-アラニン結晶の(120)面の最表面にだけ存在し、結晶格子内部には取り込まれていないことを示している。このことから、先に示した(120)面の抑制効果は、L-メチオニンの分子が結晶表面に存在することにより、この面の成長が停止したものであることがわかった。

### 3.5 TOF-SIMS による結晶表面分析結果

L-メチオニン添加系の(011)面および(120)面の一分子層の質量分析の結果をイメージで表したものを Fig. 7 (a)-(c), (d)-(f)に示す。(a), (d)は検

出された総イオンのマッピング、(b), (e)は質量数 90 のピークのマッピング、(c), (f)は質量数 150 のピークのマッピングを示す。質量数 90 のピークは L-アラニン分子のピークであり、質量数 150 のピークは L-メチオニン分子のピークである。(b), (c)の(011)面の分布図を比較してみると、いずれの図でもイオンの分布が全面に点在しているのがわかる。一方、(e), (f)の(120)面の分布図では、いずれの図でも局部的に分布の明暗が見られる。これは、L-アラニン分子が存在しない部分に、L-メチオニン分子が存在していることを示している。すなわち、(120)面では、L-メチオニンの分子がいったん表面に吸着すると、その上に L-アラニン分子が成長しにくいと考えられる。

### 3.6 添加物作用機構の考察

以上の測定結果をまとめてみると、(011)面と(120)面の結晶成長における添加物の作用機構には、顕著な違いが見られることは明らかである。すなわち、(011)面では、L-メチオニン分子が結晶表面に吸着しても、多少成長速度は抑制される

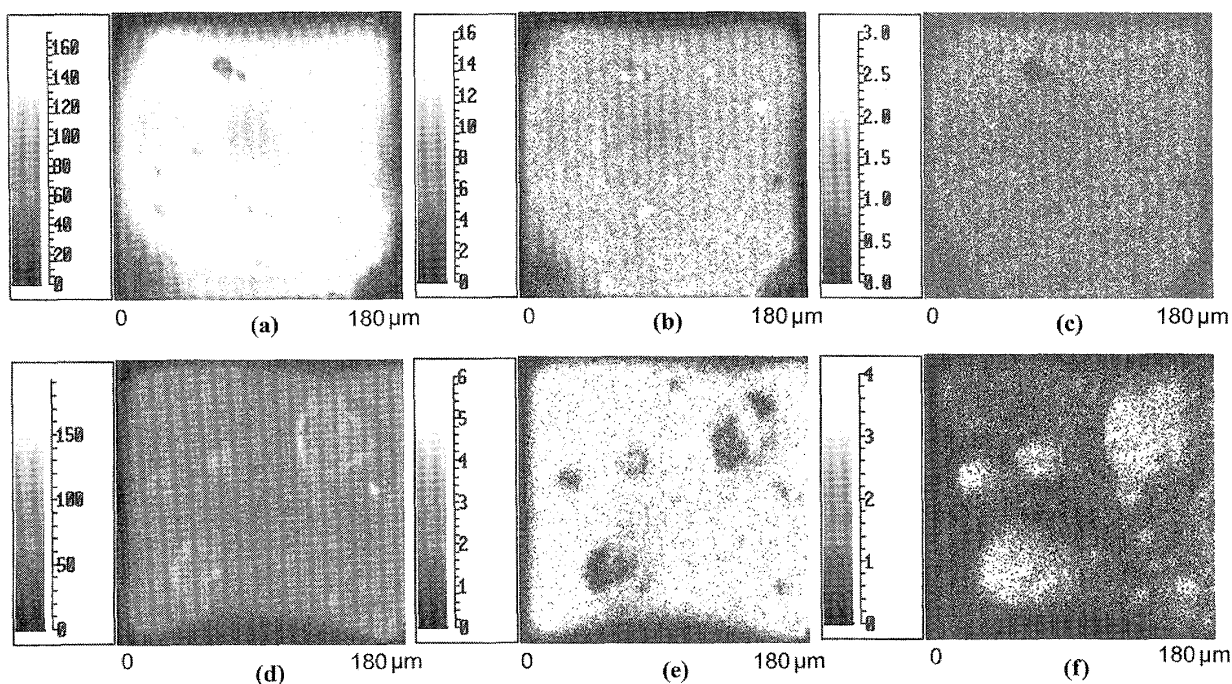
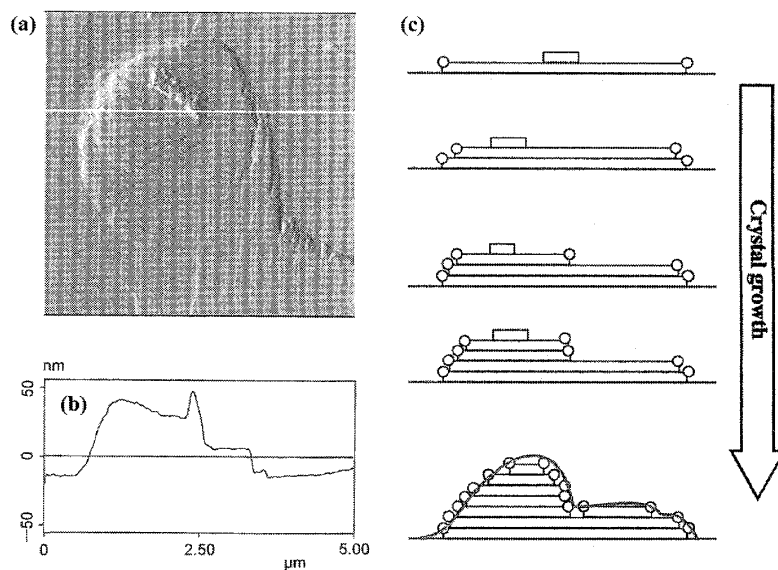


Fig. 7 Mapping images of L-alanine molecule and L-methionine molecule on L-alanine crystal surfaces with L-methionine by TOF-SIMS analysis.

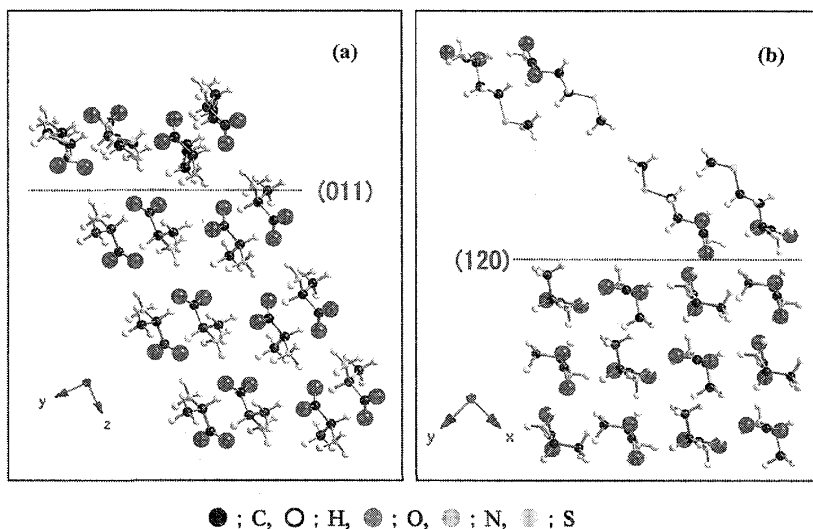
(a) Total ion on (011) face, (b) Mass ; 90 (L-alanine) on (011) face, (c) Mass ; 150 (L-methionine) on (011) face, (d) Total ion on (120) face, (e) Mass ; 90 (L-alanine) on (120) face, (f) Mass ; 150 (L-methionine) on (120) face.

**Fig. 8** Growth mechanism of the (120) face of the L-alanine crystal mixed with 5 mol % L-methionine.

- (a) AFM image of L-alanine crystal surfaces  
 (b) Vertical profiles of L-alanine crystal surfaces  
 (c) Schematic diagram of the growth mechanism :  
 □ is L-alanine molecule,  
 ○ is L-methionine molecule



**Fig. 9** Projections of molecular arrangement in the crystal of L-alanine mixed with 5 mol % L-methionine. Projected along the (a) x-axis ; (b) z-axis.



が、L-アラニン結晶の成長を完全にストップさせるものではなかった。しかしながら、(120)面では、L-メチオニン分子の吸着により結晶の成長は阻害され、成長はほとんど停止してしまった。このように、L-メチオニン分子には(120)面のステップの前進を止める強い阻害効果があると思われる。Fig. 8にこの作用機構を模式的に表わしたものを示す。成長モデルは、L-アラニンの成長ステップにおいて、キंकにL-メチオニン分子が取り込まれると、その上にはL-アラニン分子が成長できず、最終的にはL-メチオニン分子で最表面が埋まってしまい、垂線方向の成長が止まってしまう。このような作用機構の結果として、L-

メチオニン分子が(120)面の最表面に存在し、結晶成長を抑制していると考えた。

また、結晶の分子モデルから添加物の作用機構を検討したものをFig. 9に示す。L-アラニン結晶の格子定数のデータはR. Destro *et al.* : J. Phys. Chem. **92** (1988)966 より引用した。便宜上、モデル図は二次元的に表わした。(011)面においては、L-アラニン結晶格子にL-アラニン分子の代わりにL-メチオニン分子が結合したとしても、立体的にかさ高いチオエーテルの部分が(011)面の成長方向には存在しないため、この面の成長を停止するのではなく、抑制するにとどまった。一方、(120)面においては、L-アラニン結晶にL-メチオ

ニン分子が結合した場合、かさ高いチオエーテルの部分が(120)面の成長方向を遮断し、L-メチオニン分子がいったんL-アラニン結晶に吸着してしまうと、その上にはL-アラニン分子は結合できなくなり、成長が止まったことがわかる。この結果は、XPS や TOF-SIMS の測定結果と矛盾しない。

#### §4 まとめ

L-メチオニン添加による L-アラニン結晶成長へ抑制効果の作用機構解明のため、成長速度測定、AFM 測定、XPS 測定および TOF-SIMS 測定が試みられた。添加系のモルホロジーの変化および成長速度測定の結果から、(120)面の結晶成長はほとんどストップしているが、(011)面の成長は、多少成長抑制は見られるものの、成長し続けていることがわかった。この添加物の作用機構を明らかにするため、XPS、TOF-SIMS の測定を行い、その結果から L-メチオニン分子が(120)面の最表面にだけ存在して、L-アラニンの(120)面の成長を停止させていることが明らかになった。また、(011)面に関しては、L-メチオニン分子が面の内部にも取り込まれながら、L-アラニン結晶が成長

し続けていることが明らかになった。

このように、結晶成長機構を解明していく上で、光学顕微鏡によるその場観察に加えて、AFM 測定による表面マイクロトポグラフィの観察、XPS 測定による表面および内部構造の組成元素分析および TOF-SIMS 測定による質量分析を併せて行うと、有用な手法と成り得ると期待される。

**謝辞** 本研究は、味の素(株)の支援と科学技術振興事業団 岩手県地域結集型共同研究事業「生活・地域への磁気活用技術の開発」の一環として行われたことを記して、関係者への謝辞とします。

#### [参考文献]

- 1) L. Misoguti, A. T. Varela, F. D. Nunes, V. S. Bagnato, F. E. A. Melo, J. M. Filho and S. C. Zilio : *Optical Materials* **6** (1996) 147.
- 2) D. R. Babu, D. Jayaraman, R. M. Kumar and R. Jayavel : *J. Crystal Growth* **245** (2002) 121.
- 3) C. Sano, T. Kashiwagi, N. Nagashima, and T. Kawakita : *J. Crystal Growth* **178** (1997) 568.
- 4) Y.-J. Fu, Z.-S. Gao, J.-M. Lieu, Y.-P. Li, H. Zeng and M.-H. Jiang : *J. Crystal Growth* **198/199** (1999) 682.
- 5) Y. G. Kuznetsov, A. J. Malkin, R. W. Lucas and A. McPherson: *Colloids and Surfaces B* **19** (2000) 333.
- 6) M. Kitamura and K. Onuma : *J. Colloid Interf. Sci.* **224** (2000) 311.