

平成21年6月22日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2008～2008

課題番号：20043037

研究課題名（和文） SERSの機構解明による光一分子強結合場の定量評価法開発

研究課題名（英文） Quantitative analysis method for light-molecule strong coupling system using SERS

研究代表者

伊藤 民武 (TAMITAKE ITOH)

独立行政法人産業技術総合研究所・健康工学センター・研究員

研究者番号：00351742

研究成果の概要：

SERS 増強度は、励起光とプラズモン共鳴モードの結合、散乱光とプラズモン共鳴モードの結合によって決定される。この分子の光散乱応答を実験的に検証するため独自の顕微分光装置を開発し、プラズモン共鳴増強光電場の強度、共鳴ラマン散乱断面積、蛍光断面積を SERS2 段階増強機構に組み込むことで実験で得られた SERS スペクトルを計算で再現した。更に結果を時間領域差分(FDTD)法を使用して検証した。この結果、電磁場増強機構が SERS の支配的なメカニズムであることを証明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	0	1,900,000
総計	1,900,000	0	1,900,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学、工学基礎・応用光学、量子工光学

キーワード：光、プラズモニクス、近接場分光、単一分子分光

1. 研究開始当初の背景

SERS とは、銀や金ナノ粒子凝集体に吸着した分子のラマン散乱断面積($\sim 10\text{-}30\text{ cm}^2$)が最大で 10^{14} 倍程度増強される現象であり、この結果、実効的な増強ラマン散乱断面積($\sim 10^{-16}\text{ cm}^2$)が蛍光断面積($\sim 10^{-16}\text{ cm}^2$)とほぼ同じになり単一分子測定が可能となる。単一分子のスペクトル検出を可能とする手法として蛍光分光法が挙げられるが、測定できるのは最低電子励起状態からの発光遷移のみであり、圧倒的に多い非発光性の分子には適用できない。更に、基底電子状態との2準位間の情報しか与えないため複数種の分子の多重検出は苦手としている。それに対し、SERS 分光は分子振動による励起光のエネルギーシフトで分子を認識するため、発光・非発光に関係なく原理的に全て分子に適応できる。更に

そのスペクトル形状は分子種ごとに異なりかつ複雑なため、生体試料など複数種の分子から構成された試料の多重分光検出として期待されている。よって、近年、SERS を用いた細胞組織イメージング、疾患の早期発見のためのツール、迅速なウイルス検出など SERS に関連した研究が急増している。本領域に関していえば、SERS を利用して光一分子強結合反応場に存在する分子の構造変化や反応を超高感度でモニターされることが期待できる。しかし SERS 増強機構は定量的に明らかにされていないため、分子の化学変化の有無は明らかにすることは出来るが、分子の構造変化の割合や収率の予測といった定量的情報については、明らかに出来ない。よって、本研究では、光一分子強結合反応場の定量的な評価法として SERS を発展させる

ため、SERS 増強を定量的に取り扱う実験計算手法を確立する。

2. 研究の目的

本研究では、光-分子強結合反応場の定量的な分光評価法の開発のため、SERS 増強を定量的に取り扱う実験計算手法の確立を目的とする。応募者はこれまで SERS 増強機構は光-分子強結合場のモデルであることを示してきた。光-分子強結合場では分子の光散乱応答は2段階の増強をプラズモン共鳴から受ける。即ち 1. 励起光とプラズモン共鳴モードの結合(1 段階目の増強)、2. 散乱光とプラズモン共鳴モードの結合(2 段階目の増強)によって SERS 増強度は決定される。この2段階増強機構は、実験で取得可能な3つのパラメータ(プラズモン共鳴増強光電場の強度、共鳴ラマン散乱断面積、蛍光断面積)を2段階増強機構に組み込むことで SERS が定量的に再現できることを示している。応募者はこの定量的再現を単一銀ナノ粒子凝集体のプラズモン共鳴と SERS を詳細に調べることで試みる。また、現在、光-分子強結合反応場の定量的可視化のため、2段階増強の空間分布、即ち、入射光と散乱光のプラズモン増強空間分布を計算で再現する準備をしている。計算には FDTD(時間領域差分)法を使用する。

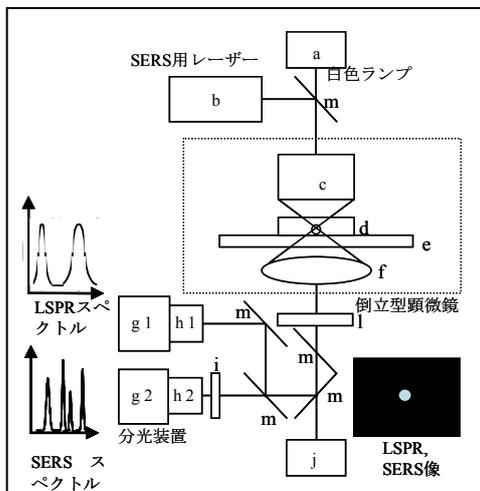


Fig. A. 顕微光散乱分光測定装置

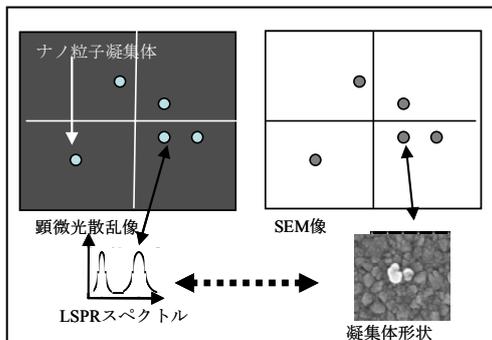


Fig. B. 顕微光散乱像とSEM像

3. 研究の方法

本研究ではまず光-分子強結合増強因子の空間プロファイルの可視化を行う。可視化の計算には SERS の2段階増強を表す式を用いる(1)。この式は SERS 断面積 σ_{SERS} を、 $\sigma_{\text{SERS}}(r, \lambda) = M_1(r, \lambda_1) \times (\sigma_{\text{Raman}}(\lambda_2) + q\sigma_{\text{fl}}(\lambda_2)) \times M_2(r, \lambda_2)$ (Eq. 1) と表す。 λ_1, λ_2 はそれぞれ励起波長と放射光波長、 r は分子の吸着部位の座標、 $\sigma_{\text{Raman}}(\lambda_2)$ はラマン散乱断面積、 $\sigma_{\text{fl}}(\lambda_2)$ は蛍光断面積、 q は消失係数、 $M_1(r, \lambda_1) \times M_2(r, \lambda_2)$ は入射光、放射光の増強因子の空間プロファイルである。この式では SERS はプラズモン共鳴によって増強されたラマン散乱と蛍光とで再現できると仮定している。走査電子顕微鏡(SEM)測定で得られた銀ナノ粒子凝集体形状を境界条件として FDTD 法で $M_1(r, \lambda_1) \times M_2(r, \lambda_2)$ を計算し SERS 増強因子の空間プロファイルを導く。そして、その SERS 増強因子の空間に分子を配置し Eq. 1 を用い SERS スペクトルを再現する。再現された SERS スペクトルと実験で得られた SERS スペクトル比較することで、可視化された SERS 増強場を定量的に検証する。この計算において $M_1(r, \lambda_1)$ は単一波長なのに対し $M_2(r, \lambda_2)$ はスペクトル広がりを持つため、その計算は非常に時間を要する。よって、10台以上の専用 PC の並列 FDTD 計算を行う。計算時間を短くするため、なるべく単純な形状を持ちかつ SERS 活性を有する銀ナノ粒子凝集体を選択する必要がある。よって、SEM により単純な銀ナノ粒子凝集体形状を選択する。更に、銀ナノ粒子凝集体の構造や分子の配置座標に“ゆらぎ”を持たせ増強電場の空間プロファイルや SERS スペクトルがどのような影響を受けるか検証する。

実験系を FIG. A, B に示す。測定は倒立型顕微鏡下で行う。a は LSPR 励起用白色ランプ、b は SERS 励起用レーザー、c は暗視野コンデンサーレンズ、d は ITO ガラス表面に固定した銀ナノ粒子凝集体(測定サンプル)、e は銀ナノ粒子凝集体移動用 3-D 電動ステージ、f はレーリー散乱光、SERS 光集光用の 60 倍対物レンズ、g1、h1 と g2、h2 はそれぞれ LSPR レーリー散乱スペクトル、SERS スペクトル測定用高感度 CCD カメラと分光器である。i はノッチフィルター、j は画像撮影用 CCD カメラ、m はミラーもしくはハーフミラーである。この顕微光散乱分光システムを用いると簡便に同一銀ナノ粒子凝集体の LSPR レーリー散乱スペクトルと SERS スペクトルの顕微分光測定が可能となる。

4. 研究成果

単一分子感度の測定法として蛍光分光法があるが、測定できるのは最低電子励起状態からの発光遷移のみであり、圧倒的に多い非発光性の分子には適用できない。更に、基底電子

状態との2準位間の情報しか与えないため複数種にわたる分子の多重検出は苦手としている。それに対してラマン散乱分光は分子振動による励起光のエネルギーシフトで分子を測定するため、発光・非発光に関係なく原理的に全て分子に適用できる。更にそのスペクトル形状は分子種ごとに異なるため、複数種の分子から構成された生体試料の分光検出に適している。また、SERS分光を用いると単一分子レベルの感度が可能となる場合があるがその発現機構が解明されておらず実用化は進んでいない。

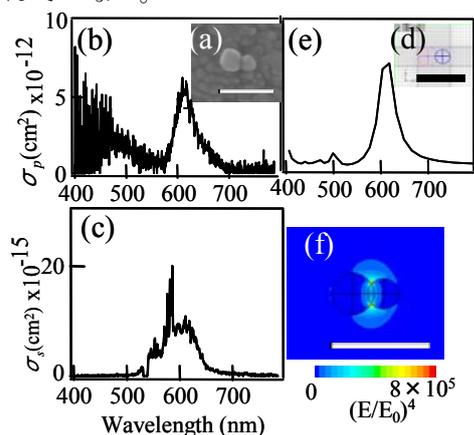


FIG. a SEM image of Ag particle (a), plasmon resonance (b), and SERS spectra (c), FDTD calculation condition (d), calculated plasmon resonance (e), SERS enhancement factor (f)

本研究では、光-分子強結合反応場の典型的現象である SERS を定量的な分光評価法として発展させるため、SERS 増強を定量的に取り扱う実験・計算手法の確立を行った。光-分子強結合場では分子の光散乱応答は2段階の増強をプラズモン共鳴から受ける。即ち 1. 励起光とプラズモン共鳴モードの結合(1 段階目の増強)、2. 散乱光とプラズモン共鳴モードの結合(2 段階目の増強)によって SERS 増強度は決定される。この分子の光散乱応答を実験的に検証するため独自の顕微分光装置を開発し、取得した SERS スペクトルを3つのパラメータ(プラズモン共鳴増強光電場の強度、共鳴ラマン散乱断面積、蛍光断面積)を2段階増強機構に組み込むことで再現した。更にこの定量結果を FDTD 法を使用して検証した(Fig 参照)。この検証の結果、電磁場増強機構が定量的に SERS の支配的なメカニズムであることを証明した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1) Surface Enhanced Raman Scattering Analyses

of Individual Silver Nanoaggregates on Living Single Yeast Cell Wall, Sujith Athiyathil, 伊藤民武, 安部博子, 吉田健一, Anas Aziz Abdul, Biju Vasudevan Pillai, 石川 満, APPLIED PHYSICS LETTERS, 92-10, pp.103901-103903, 2008/02、査読の有無 有

2) Experimental evaluation of the two-fold electromagnetic enhancement theory of surface-enhanced resonance Raman scattering, 吉田健一, 伊藤民武, Biju Vasudevan Pillai, 石川 満, 尾崎幸洋, PHYSICAL REVIEW B, 79-8, pp. 0854191-0854196, 2009/02、査読の有無 有

3) Optical force enhanced by plasmon resonance allowing position-sensitive synthesis and immobilization of single Ag nanoparticles on glass surfaces, 伊藤民武, Biju Vasudevan Pillai, 石川 満, 伊都将司, 宮坂 博, APPLIED PHYSICS LETTERS, 94-14, pp. 1441051-1441053, 2009/04、査読の有無 有

[学会発表] (計 3 件)

1) Investigation of relationship between plasmon resonance and surface-enhanced hyper Raman scattering from single Ag nanoaggregates, 伊藤民武, 吉田健一, Biju Vasudevan Pillai, 石川 満, 尾崎幸洋, 吉川裕之, XXI International Conference on Raman Spectroscopy ICORS 2008, Uxbridge, West London, UK, 2008/08/21

2) 光還元法による単一銀ナノ粒子の合成・制御とプラズモン共鳴バンドによる評価, 伊藤民武, 吉田健一, Biju Vasudevan Pillai, 尾崎幸洋, 石川 満, 2008 年光化学討論会, 大阪府立大学 中百舌鳥キャンパス, 2008/09/12

3) 銀ナノ粒子凝集体の形状とプラズモン共鳴に基づく表面増強ラマン散乱電磁場増強機構の検証, 伊藤民武, 吉田健一, Biju Vasudevan Pillai, 石川 満, 尾崎幸洋, 第 27 回 固体・表面光化学討論会, 徳島大学, 2008/11/22

[図書] (計 2 件)

1) 産総研 TODAY, 細胞表面タンパク質の新しい超高感度分析法の開発, 伊藤民武, 産業技術総合研究所, 2008/07/01

2) Frontiers of Molecular Spectroscopy, Surface-Enhanced Raman Scattering Spectroscopy: Electromagnetic Mechanism and Biomedical Applications, 伊藤民武, Sujith Athiyathil, 尾崎幸洋, Elsevier, 2008/09/03

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況（計 0件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 民武 (TAMITAKE ITOH)
独立行政法人産業技術総合研究所・健康工学
センター・研究員
研究者番号：00351742

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者