

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24510138

研究課題名(和文)単分子架橋ナノ粒子二量体配列による単分子表面増強ラマン分光

研究課題名(英文)Surface-enhanced Raman spectroscopy using single molecule bridged gold nanoparticle dimers

研究代表者

菅野 公二 (Sugano, Koji)

神戸大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20372568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：金ナノ粒子二量体は、その粒子連結方向と入射光偏光方向が一致した際に、巨大な電磁場増強を引き起こすことが知られている。本研究では、巨大な増強を得るために、ナノトレンチを用いたセルフアSEMBルによって方向が揃ったナノ粒子二量体アレイを基板上に生成した。入射光偏光方向と粒子連結方向が一致した際に最大のラマン強度が得られることを、実験による評価によって実証した。さらに、二量体間距離に最適値があることを明らかにし、構造の最適化を達成した。その結果、4,4'-ビピリジン分子を10 pMの極低濃度で検出することに成功し、また100 nMの溶液では0.2 sの短時間で検出できることを示した。

研究成果の概要(英文)：A gold particle dimer shows huge electromagnetic enhancement when particle connection direction is matched to polarization direction of incident light. In this study the dimers were arrayed by the nanotrench-guided self-assembly for generating huge total Raman enhancement. The fabricated structures were characterized for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) depending on polarization angle to particle connection direction. The Raman intensity increased with decreasing the angle. Since electromagnetic interaction between dimers has large effect on Raman enhancement, the distance between dimers were optimized. The distance of 100 nm between dimers showed the highest Raman intensity. The optimized structure detected 4,4'-bipyridine molecules at the concentration of 10 pM. The detection for 100 nM solution was possible at the integration time of 0.2 s. This developed SERS substrate is expected to be applied to various trace analysis with high sensitivity and short detection time.

研究分野：ナノマイクロ加工

キーワード：表面増強ラマン分光 化学分析 ナノ粒子 プラズモン共鳴 セルフアSEMBル

1. 研究開始当初の背景

近年、微量分子の高感度検出は医学、生物学の分野や環境計測分野など様々な分野において用いられている。例えば、残留農薬の検出やセキュリティ対策として爆薬物の検出、環境中の有害物質検出が含まれる。検出対象物質の経時的観察や利便性などから、高感度検出および短時間検出、その場検出の更なる技術発展が求められている。そこで、本研究では、短時間かつその場検出を実現する方法として、表面増強ラマン分光 (SERS: Surface-Enhanced Raman Spectroscopy) 分析による微量分子検出手法に着目した。ラマン分光では、物質からのラマン散乱光を分光したラマンスペクトルに、分子構造に由来したラマンピークが現れるため、物質の同定が可能となる。比較的安価でハンドヘルドサイズのラマン分光器が市販されており、高感度・短時間のその場計測への応用が期待されている。

微量な分子が検出対象である場合、生じるラマン散乱光が微弱であるためにラマン分光法の検出感度は低い。SERS とは、金属ナノ粒子の表面近傍に生じる局所プラズモン共鳴効果を利用して微弱なラマン散乱光を増強する手法であり、高感度なラマン分光分析が可能となる。特に、金属ナノ粒子を2つ連結させた構造である二量体の粒子間微小ギャップ部分において、入射光偏光方向と粒子連結方向が一致するとき、巨大な光電場増強効果が生じると報告されており、その感度は一分子検出が可能なほどである。

SERS において、近接した粒子間の相互作用により粒子の配置状態に依存して、ラマン増強度が大きく変化することが知られている。特に、入射光偏光方向と二量体連結方向が重要なパラメータとなる。しかしながら、基板上での金属ナノ粒子配列制御が難しいため、従来の SERS 基板では基板上に金属粒子がランダムに配置されているものが多い。これらの報告では、入射光偏光方向と粒子連結方向が偶然一致した部分での増強が支配的となるため、ラマン増強を効果的に利用できず、高感度化に限界がある。

金属ナノ粒子を規則的に配列するためには、電子ビーム (EB) リソグラフィによるナノパターニングが用いられている。しかし、巨大な電場増強を実現するためには、連結した粒子の間に形成される 1 nm 以下の間隔が必要であることが解析および実験から明らかにされている。EB リソグラフィを用いた手法ではそのような微小間隔を作製することができない。

2. 研究の目的

そこで本研究では、高感度分析に必要な粒子配列が作製可能であるセルフアセンブル粒子配列手法を用いる。この手法では、1 nm 程度の粒子間ギャップが作製可能であり、EB リソグラフィを用いた手法より巨大な電場

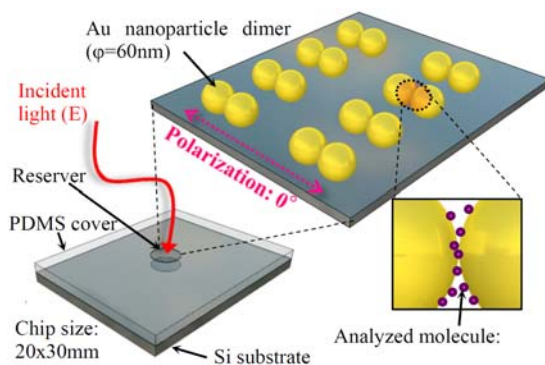


図1 一方向に配列したナノ粒子二量体構造の概要図。

増強効果を得ることができる。本研究では、図1に示すように、形成したすべての金ナノ粒子二量体を等間隔に向きを揃えて基板上に配列することで、すべての二量体構造で強い電場増強効果を生み出し、高感度な SERS 分析を目指した。

本論文では、作製した金ナノ粒子二量体構造に対して、以下の評価結果について報告する。
① 金ナノ粒子二量体の連結方向に対する入射光偏光角度が SERS 強度に与える影響を明らかにすることで、提案構造の有用性を示す。
② アレイ化した金ナノ粒子二量体の間隔を変化させることにより、構造の最適化を行う。以上の2点については、粒子表面に均一に付着したアセトンジカルボン酸分子により評価する。

③ 農薬成分である 4,4'-ビピリジン分子を検出対象に、その濃度および積算時間をパラメータとしたラマン分光実験結果を行った。この結果より得られた、検出限界濃度・積算時間について報告する。

3. 研究の方法

(1) 金ナノ粒子二量体配列方法

本研究では粒子配列方法として、Nanotrench-guided Self-Assembly を用いた。概要を図2に示す。まず、ナノトレンチ構造を有するテンプレート基板とガラス基板の間にコロイド溶液を充填する。両基板は表面が親水性であるため、図2に示すようなメニスカスが形成される。コロイド溶液が乾燥する過程において、ナノ粒子はメニスカスの端

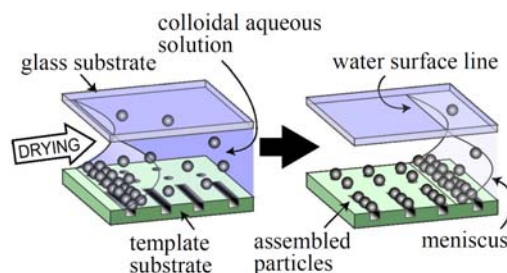


図2 Nanotrench-guided Self-Assembly を用いたナノ粒子二量体配列方法の概要

に集められ、気液界面において粒子に働く界面張力により基板に押し付けられる。乾燥により、メニスカスが後退し、ナノトレンチを通過する際に界面張力によって粒子がトレンチに捕捉される。

本実験では、平均直径 100 nm の金ナノ粒子コロイド溶液 (EMGC100, BBI Solutions) を用いた。コロイド粒子の濃度は 0.0004 wt. % とした。

テンプレート基板上的ナノトレンチ構造は、シリコン (Si) 基板の上に、EB リソグラフィとドライエッチングによって作製される。本実験では、長方形のパターンを $5 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$ の領域に配列した。パターン作製後の長方形テンプレートの平均深さは 38 nm, 平均幅は 89 nm, 平均長さは 265 nm であった。次に、ナノ粒子配列となるようテンプレートの配列を設計した。テンプレート長手方向の中心間距離を 400 nm, 短手方向の中心間距離を 150, 200, 250, 300, 400, 1100 nm とし、直径 100 nm の粒子配列後に短手方向の二量体間隔 (粒子表面間距離) がそれぞれ 50, 100, 150, 200, 300, 1000 nm となるよう作製した。

(2) 電磁場解析方法

ラマン増強度は電場増強度から求める。粒子二量体の電磁場解析には時間領域差分法 (FDTD: Finite-difference time-domain) を用いた。ナノ粒子二量体の配列構造として厚さ 2 nm の自然酸化膜を有する Si 基板の上に二量体を配列した構造とした。二量体における粒子間隔を 1 nm とし、粒子連結部付近には 0.2 nm, 粒子基板間隔部分には 0.5 nm の立方体メッシュを適用し、その他の領域は自動メッシング機能を用いて要素分割を行った。側壁には周期境界条件を設定し、二量体が連続して繰り返される条件とした。

金ナノ粒子二量体配列の評価のため、二量体連結方向に対する入射光偏光方向の角度を 0° から 90° まで 15° 毎に解析を行った (二量体間隔 200 nm)。さらに偏光角度を 0° とし、二量体間隔を 0~1000 nm で変化させ解析を行った。

(3) ラマン分光分析実験方法

ラマン分光実験には顕微レーザーラマン分光装置 (LabRAM ARAMIS, 堀場製作所) を使用した。グレーティングは 600 /mm, ホールとスリットのサイズは $500 \mu\text{m}$ とした。倍率 50 倍, N.A. 0.5 の対物レンズを使用した。使用したレーザーの波長は 632.8 nm であり、基板上でのスポット径は約 $2 \mu\text{m}$ である。レーザースポットを $5 \times 5 \mu\text{m}$ の粒子配列領域のおよそ中心に位置合わせて計測を行った。

本実験では、まず提案構造の SERS 特性評価として、金ナノ粒子表面に付着したアセトンジカルボン酸分子の SERS 分析を行った。1 回の測定において、積算時間は 2 秒、積算回数は 2 回とした。

その後、農薬の原料となる 4,4'-ビピリジン分子を検出対象として、検出限界濃度および積算時間の影響を調べた。計測の前に、紫

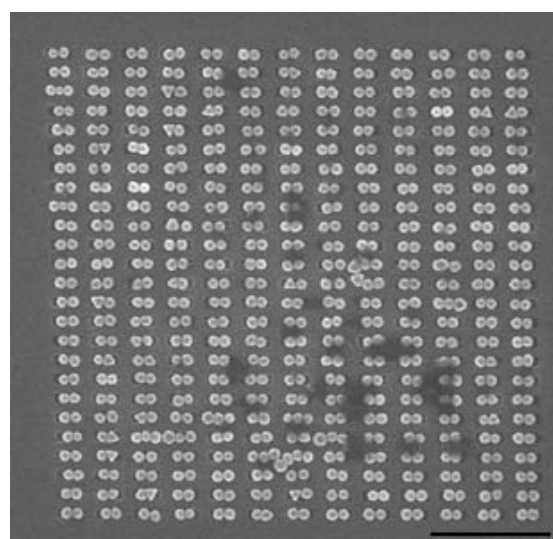
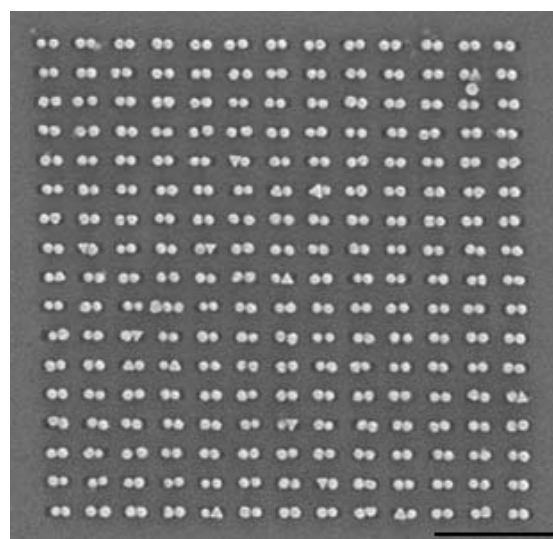


図 3 ナノ粒子二量体配列 (直径 100 nm) の SEM 写真 (二量体間隔 (a) 200 nm, (b) 100 nm)。配列領域: $5 \times 5 \mu\text{m}$ 。スケールバー: $1 \mu\text{m}$ 。

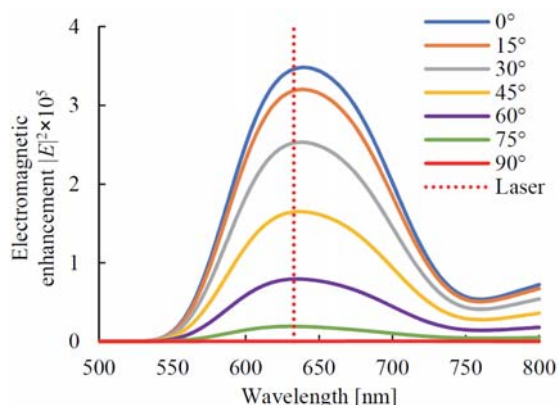


図 4 FDTD 電磁場解析によって計算した入射光偏光方向による電場増強度スペクトル。

外線 (UV) / O_3 処理により粒子表面に付着したアセトンジカルボン酸分子を、 80°C , 90 分の条件で、除去した。この処理により、アセ

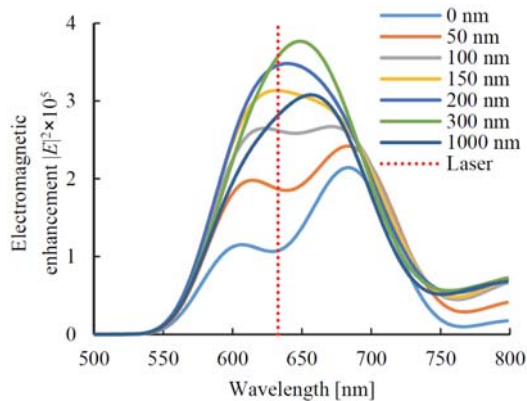


図5 FDTD電磁場解析によって計算した二量体間隔による電場増強度スペクトル。

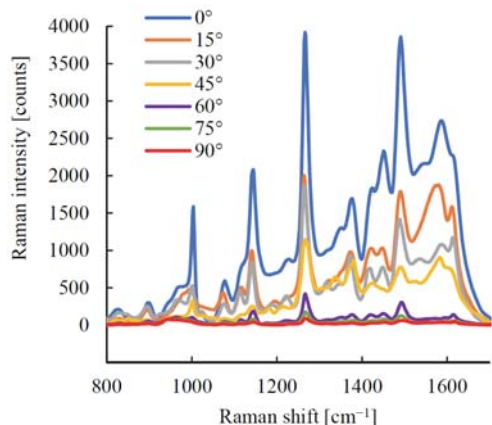


図6 入射光偏光角度によるアセトンジカルボン酸のラマンスペクトル

トンジカルボン酸のラマンピークが無視できる程度に減少したことを確認している。4,4'-ビピリジンの粉末を純水に溶かし濃度を調整した。

4. 研究成果

(1) 金ナノ粒子二量体配列結果

図3に作製した金ナノ粒子二量体アレイのSEM写真(二量体間隔 200 nm)を示す。すべての二量体において2つの金ナノ粒子が連結していることがわかる。トレンチの長さは平均 265 nm であるが、トレンチにナノ粒子が補足された後、液架橋力によって2つの粒子が連結されたと考えられる。すべての二量体が同一の方向に配列されていることが確認された。

(2) 電磁場解析結果

電磁場解析結果として図4に偏光方向による電場増強度スペクトルを示す。角度 0° では波長 640 nm に増強度のピークが観察され、使用するレーザー波長において高い電場増強が得られた。さらに、角度が大きくなるにつれて増強度が減少する結果が得られた。角度が 0° と 90° の増強度はそれぞれ 3.5×10^5 と約 1.1×10^2 であった。これらの結果より、ランダムな方向を持つナノ粒子二量体と比べて、一方向に配列した二量体構造がより高感度なSERS分析に適していると言える。

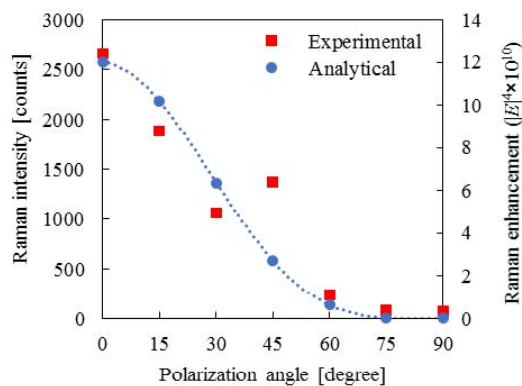


図7 入射光偏光方向によるラマン強度(実験値)およびラマン増強度(解析値)

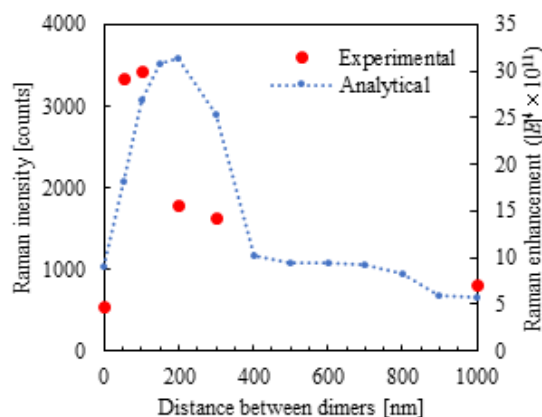


図8 二量体間隔によるラマン強度(実験値)および二量体個数密度を考慮したラマン増強度(解析値)。

次に、二量体間隔による連結部の電場増強度 $|E|^2$ のスペクトルを図5に示す。間隔 300 nm において最も増強度が高くなる結果が得られた(増強度 3.6×10^5)。200 nm においても同等の増強度が見られる(増強度 3.5×10^5)。300 nm から間隔が小さくなるにつれ、増強度は大きく減少する。この結果より、最適な間隔が存在することがわかった。間隔が変化すると、単位面積当たりの二量体個数密度が変化する。

(3) 偏光角度依存性

各角度における代表的なラマンスペクトルを図6に示す。測定したラマンスペクトルはいくつかの特徴的なピークを示し、これらはアセトンジカルボン酸分子に由来するものと考えられる。これらのピークの強度は角度に依存することがわかる。

実験で得られた 1580 cm^{-1} 付近でのピークラマン強度および図4に示したラマン増強度の解析結果を図7に示す。ここで、解析結果としてラマン増強度を表す電場の4乗 $|E|^4$ を用いた。実験結果、解析結果ともに偏光角度が大きくなるにつれラマン強度が減少する結果が得られた。実験結果と解析結果におい

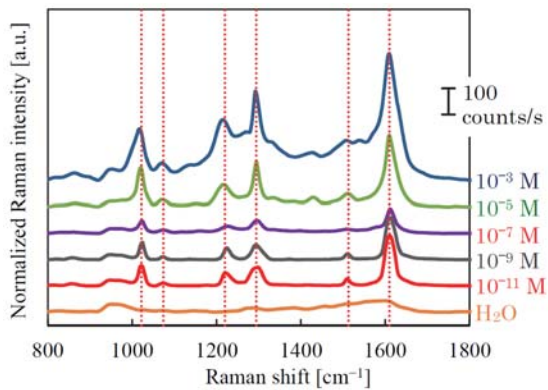


図9 4,4'-ビピリジン濃度によるラマンスペクトル。赤点線は4,4'-ビピリジンのラマンピークを示す。縦軸はラマン強度を積算時間で割った値を示す。

て減少傾向が一致している。実験結果と解析結果の傾向のずれは、解析において考慮されていない化学的増強効果および分子配向による影響であると考えられる。これらの結果から、金ナノ粒子二量体によるラマン増強は電場増強効果が支配的であることがわかる。そして、作製した構造では二量体連結方向が一方向に揃っており、構造全体において巨大な電場増強を効果的に利用できていることを示している。

(4) 二量体間隔依存性

次に、金ナノ粒子二量体間隔を0 nm から1000 nm まで変化させた場合のラマン分光計測を行った。図6と同様のラマンスペクトルが得られ、角度依存性と同様に1580 cm⁻¹付近での最大SERS強度の二量体間隔依存性を示す。二量体間隔0 nmのラマン強度として、粒子稠密凝集構造による結果を用いた。図8には解析結果も比較のため示している。解析結果は、図6に示した電場増強強度 $|E|^2$ を基に、二量体の最大ラマン増強強度 $|E|^4$ を算出し、それにレーザスポット内の個数密度を乗じた値を合計ラマン増強強度として定義した。

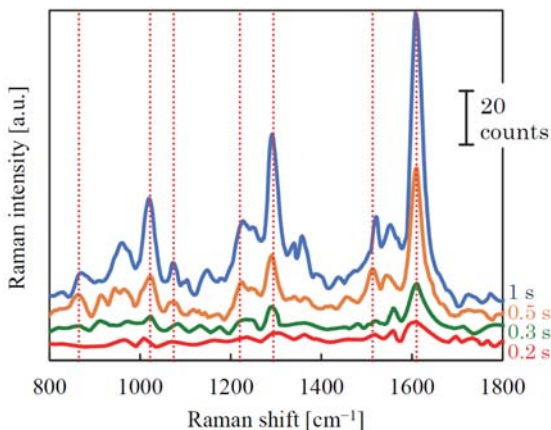


図11 積算時間による4,4'-ビピリジンのラマンスペクトル。赤点線は4,4'-ビピリジンのラマンピークを示す。

実験結果では、ラマン強度は間隔0 nm から広がるにつれて急激に増加し、その後100 nm から減少した。解析結果では、ピークの位置が200 nm であったが、実験結果と同様の傾向を示した。これは、二量体同士の相互作用によるものと考えられる。

光が入射した際、二量体の粒子連結部に非常に強い電場増強が発生する。これは、二つの粒子内において入射光電場により強い双極子がそれぞれ生成し、それらの双極子が作り出す電場の向きが同じであるため互いに強め合う。しかし、入射光偏光方向に直交した方向に位置する構造には電場を弱める効果がある。そのため、0~100 nm においては二量体間隔を広くするにつれてラマン強度が増加する。100 nm より広い間隔では、二量体の個数密度が減少するため、ラマン強度も減少すると考えられる。

これらの結果から、粒子を稠密に凝集させた構造より二量体を一定の間隔で配列した構造のほうが高いラマン増強強度が得られることを示し、その間隔には最適値が存在することが明らかになった。

(5) 4,4'-ビピリジン分子検出

次に、4,4'-ビピリジン溶液を用いて分子検出を行った結果について述べる。本実験では二量体間隔100 nmの配列構造を用いた。図9には、4,4'-ビピリジン濃度が10⁻³から10⁻¹¹ Mまでの溶液を用いたラマンスペクトルおよび検体分子を含まない純水のみでのスペクトルを示す。ラマン強度は実測値を積算時間で割った値(単位: counts/s)を示している。純水のスペクトルでは、1500~1600 cm⁻¹付近に水由来のブロードなピークが観察された。すべてのスペクトルにおいて、950 cm⁻¹付近のピークはSiに由来するものである。図中の赤色点線は4,4'-ビピリジン由来のラマンピークを示している。

図9によると10⁻³から10⁻¹¹ Mまでの溶液すべてにおいて4,4'-ビピリジン由来の明確なラマンピークが観察された。この結果から、10⁻¹¹ Mの4,4'-ビピリジン分子を検出可能であることを明らかにした。10⁻¹¹ Mは一辺が約5 μmの立方体中に分子が1個存在する濃度であり、高感度な分子検出が可能であることを示した。

次に、10⁻⁷ Mの4,4'-ビピリジン溶液を用いて、積算時間によるラマンスペクトルを取得した。その結果を図10に示す。最短で0.2 sの積算時間で4,4'-ビピリジン分子由来のラマンピークを確認することができた。10⁻⁷ Mは国の定める残留許容濃度程度であり、この濃度の溶液において短時間で分子検出を行うことができることが示された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4件)

① [Koji Sugano](#), Akihiro Nakata, Toshiyuki Tsuchiya, Osamu Tabata, High-speed Pulsed Mixing in a Short Distance with

High-frequency Switching of Pumping from Three Inlet channels, Journal of Micromechanics and Microengineering, 査読有, 2015 (Accepted).

② 菅野公二, 平岡亮二, 土屋智由, 田畑修, ナノテンプレートを用いた金ナノ粒子直鎖配列の作製と光学特性評価, 電気学会論文誌 (センサ・マイクロマシン部門誌), 査読有, Vol. 135-E, No. 11, 2015 (Accepted).

③ Koji Sugano, Keisuke Suekuni, Toshimitsu Takeshita, Kiyohito Aiba, Yoshitada Isono, Surface-Enhanced Raman Spectroscopy using Linearly Arranged Gold Nanoparticles Embedded in Nanochannels, Japanese Journal of Applied Physics, 査読有, Vol. 54, No. 6S1, 2015, 06FL03 pp. 1-6.

dx. doi.org/10.7567/JJAP.54.06FL03

④ 竹下俊光, 末國啓輔, 饗庭清仁, 菅野公二, 磯野吉正, 金粒子配列ナノチャンネルを用いた表面増強ラマン分光分析デバイス, 電気学会論文誌 (センサ・マイクロマシン部門誌), 査読有, Vol. 135-E, No. 6, 2015, pp. 214-220.

doi.org/10.1541/ieejsmas.135.214

[学会発表] (計10件)

① Koji Sugano, Daimon Matsui, Toshiyuki Tsuchiya, Osamu Tabata, Ultrasensitive Surface-Enhanced Raman Spectroscopy with Directionally-Arrayed Gold Nanoparticle Dimers, The 28th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS2015), pp.608-611, 2015.1.18-22, Estoril (Portugal).

② Koji Sugano, Keisuke Suekuni, Toshimitsu, Takeshita, Yoshitada Isono, Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Analysis Using Micro/Nanofluidic Devices with Gold Nanoparticle-Embedded Nanochannels, 27th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2014), 6C-6-6, 2014.11.4-7, ヒルトン福岡シーホーク (福岡県).

③ Koji Sugano, Daimon Matsui, Toshiyuki Tsuchiya, Osamu Tabata, Highly-sensitive Surface-Enhanced Raman Spectroscopy with Directionally-Arrayed Gold Nanoparticle Dimers, 27th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2014), 7P-11-90, 2014.11.4-7, ヒルトン福岡シーホーク (福岡県).

④ 竹下俊光, 末國啓輔, 饗庭清仁, 菅野公二, 磯野吉正, 金粒子配列ナノ流路を用いた表面増強ラマン分光分析デバイス, 第31回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 20pm1-B6, 2014.10.20-22, くにびきメッセ (島根県).

⑤ 菅野公二, 松井大門, 土屋智由, 田畑修,

金ナノ粒子二量体の規則的配列構造による高感度表面増強ラマン分光, 第31回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 20pm1-B1, 2014.10.20-22, くにびきメッセ (島根県).

⑥ Koji Sugano, Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Molecular Trace Analysis using Directionally-Arranged Gold Nanoparticles, 2014 International Symposium of Materials on Regenerative Medicine (2014 ISOMRM), BB-I-02, 2014.8.27-29, Tao-Yuan (Taiwan).

⑦ 菅野公二, 松井大門, 土屋智由, 田畑修, 一方向に配列した金ナノ粒子二量体構造の表面増強ラマン分光特性評価, 平成26年度電気学会マイクロマシン・センサシステム部門総合研究会, MSS-14-011, 2014.5.27-28, 東京大学 (東京都).

⑧ Keisuke Suekuni, Toshimitsu Takeshita, Koji Sugano, and Yoshitada Isono, Fabrication of Gold Nanoparticle-Embedded Nanochannels for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, The 27th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS2014), pp.1059-1062, 2014.1.26-30, San Francisco (USA).

⑨ 末國啓輔, 竹下俊光, 菅野公二, 磯野吉正, 表面増強ラマン分光法のための金粒子配列ナノチャンネルの作製, 第30回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 6PM3-PSS-126, 2013.11.5-7, 仙台国際センター (宮城県).

⑩ Koji Sugano, Hiroshi Katayama, Yoshikazu Hirai, Toshiyuki Tsuchiya, Osamu Tabata, SERS characterization based on silver nanoparticle dimer in microfluidic laminar flow for molecule trace detection, The 17th International Conference on Solid-State Sensors Actuators and Microsystems (Transducers2013), pp.1807-1810, 2013.1.16-20, Barcelona (Spain).

[その他]

ホームページ等

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/eng-is-onolab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菅野 公二 (SUGANO, Koji)

神戸大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号: 20372568