

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24655020

研究課題名(和文) 単一分子吸収分光装置の開発

研究課題名(英文) Development of single molecule absorption spectroscopy

研究代表者

井村 考平 (Imura, Kohei)

早稲田大学・理工学術院・准教授

研究者番号：80342632

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円、(間接経費) 720,000円

研究成果の概要(和文)：吸収分光法は、分子の同定に有効である一方で単分子感度を実現することは困難である。本研究では、光照射領域をナノメートル空間に制限することで、吸光度を大きくし分子の吸収分光測定を実現することを提案した。光照射領域の制限法として開口型近接場プローブ内に発生する光場を利用することを提案し、これを自作して原理検証を行なった。本研究の結果、当初の予想通り照射領域の制限により吸収度の向上、つまり感度向上を実現し、微小なナノ物質の吸収スペクトル測定が可能となった。現状では、単一の分子の吸収分光測定を達成するには至っていないが、その実現に向けて研究を継続している。

研究成果の概要(英文)：Absorption spectroscopy is useful for molecular identifications, while its sensitivity is limited by intensity fluctuation of light source and noises of a detector. In order to improve the sensitivity, miniaturization of the illumination area down to nanometer scale is promising since the absorbance is inversely proportional to the illumination area. In this study, to reduce the illumination area, local illumination of the apertured near-field probe was utilized. The near-field fiber probe was fabricated, and the operation principle for enhancing the sensitivity was examined. Absorption sensitivity was enhanced with this technique, and the improvement enables to obtain valuable spectroscopic information on nanomaterials with wide spectral range. A single molecular sensitivity has not yet been achieved, however, by improving the fabrication of the near-field probe it will be realized in near future.

研究分野：基礎化学

科研費の分科・細目：物理化学

キーワード：吸収分光法 単一分子分光 近接場光学顕微鏡

1. 研究開始当初の背景

分子の化学的特性や分子間の相互作用を理解するためには、単一分子レベルで分光検出することが本質的に重要である。単一分子検出法として、蛍光を用いた手法が発展してきている。これは蛍光検出であれば、高感度、低ノイズの検出器が利用できるためである。蛍光は、高感度検出を可能とする一方、スペクトルがブロードであるため、発光特性が類似した分子や未知分子の同定を行うには不向きである。また、蛍光による単分子検出は、高い蛍光量子収率の分子でのみ実現され、それ以外の分子には適用できない欠点がある。

分子の同定を行うためには、分子構造に敏感なスペクトルの取得が不可欠である。ラマン分光法は、この目的において有力である一方、その感度が低いため、そのままではこれを単分子検出に利用することはできない。吸収分光法は、ラマン分光法同様、分子骨格に特有の遷移を観測できることから、分子の同定に有効である。しかし、これまでに単分子レベルの測定は報告されていない。分子の吸収断面積は、蛍光断面積よりも一般に大きいため、光源の出力を安定化し、計測ノイズを完全に除去することができれば、理屈上、単分子レベルの測定が実現できる。

2. 研究の目的

吸収分光法は、分子の構造に特有なスペクトル情報を得ることができることから、分子の同定に有効である一方で、従来の方法では蛍光分光法と比べて感度が低く、単分子感度を実現することは困難である。本研究では、吸光分析で測定される吸光度が試料の分子数密度に比例することに注目し、光照射面積を小さくすることで、単分子感度を実現することを目指した。対物レンズを利用する通常の集光法では、光照射される空間サイズは光の波長程度であり、分子のサイズと比べて集光スポットははるかに大きく、単一分子による吸収変化を測定することは困難である。本研究では、開口型近接場プローブの開口内に発生する近接場光を利用することで、光照射する空間領域を数十 nm に微小化し、これに光源の出力安定性向上を組み合わせることで、単分子感度の吸収分光測定を実現することを目指した。

3. 研究の方法

試料の吸光度 A は、吸収断面積 σ 、分子数密度 N^* 、そして光路長 l に比例する。分子が基板に分散されていると、 $N^* = N(\text{分子数}) / S(\text{光照射面積})$ となり、吸光度は、 $\sigma N / S$ に比例する。このことは、分子数が少なくても光照射面積を十分小さくすれば、大きな吸光度が得られることを示す。しかし、通常の測定条件では、光照射される空間サイズと比べて分子のサイズは極めて小さいため、分子一個による吸収変化を測定することは困難である。光の照射領域を分子レベルにまで絞ることができれば、単一

の分子であってもその吸収度を問題なく測定することが可能である。本研究では、光照射領域を数十 nm 程度にし、さらに光源の安定性向上を図ることで、単分子感度の吸収測定法を実現することを計画した。

単分子レベルの吸収変化を検出するためには、空間分解能 30 nm で、 10^{-4} の吸光度変化を測定できる顕微分光システムが必要であり、平成 24 年度は、このシステムの開発を行うこととし、主に光照射領域の微小化と測定系の改良を進めることとした。

(光照射領域の微小化) 開口型近接場プローブ内に発生する近接場光を利用すれば、開口径程度の空間分解能を実現できることから、近接場プローブを自作し必要に応じて最適化することを計画した。近接場プローブは、ガラスファイバをフッ酸水溶液でエッチング処理して先鋭化し、これに金属を蒸着コートして作製することができる。開口は、プローブ先端を基板平坦な表面に押し付けてプローブ先端の金薄膜を除去すると作製することができる。微小開口からの光透過率を高くするためには、プローブ先端部の形状を精密に制御する必要がある。エッチングの条件検討より、先端部の形状(角度)を制御することを計画した。

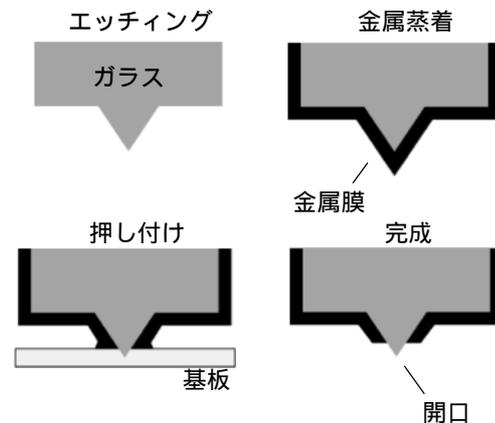


図1. 開口型近接場プローブの作製工程図。

(測定系の改良) 微小な吸光度変化を検出するためには、光源の出力安定性が高い必要がある。通常の放電ランプは、出力安定性が数%程度であり、これが当時保有していた顕微分光装置の検出限界の主要因となっていた。出力の安定性が高い白色光源を購入し、これと現有の近接場光学顕微鏡とを組み合わせ、装置の性能改善を図ることを計画した。見積もりでは、0.1%以下の出力安定性を実現することで、 4×10^{-4} 程度の吸光度変化を測定することが可能である。検出系の温度を低温にし、検出器のノイズを低減することができ、また、繰り返し測定を行うことで、信号ノイズ比をさらに改善できる。これらにより、 1×10^{-4} 程度の吸光度変化を測定可能なシステムの構築しその原理検証を計画した。

平成 25 年度は、装置の性能評価と最適化を計画した。装置性能において重要な点は、空間分解能、光源安定性、検出器のノイズレベルである。空間分解能は、近接場プローブの開口径で決まることから、これを走査電子顕微鏡 (SEM) で観察し評価することとした。また測定システムの評価は、金ナノ粒子 (直径 20 nm, 100 nm) を用いて行うことを計画した。金ナノ粒子の吸収断面積は、Mie 散乱理論計算により厳密に評価することができる。また、その顕微分光特性についても以前に確認済みである。したがって、金ナノ粒子を用いると、開発した装置の性能の評価や測定限界の見積もりが可能である。

装置性能評価を進めるとともに、興味深い光学特性を示す幾つかの分子系への適用も計画した。測定対象は、金ナノクラスター、J 会合体、半導体ナノ構造体などである。これらの試料を調製し、それらを用いて開発した装置の汎用性の評価を行うこととした。

4. 研究成果

平成 24 年度は、本研究に必要となる要素技術の開発 (光照射領域の微小化と測定系の改良) と本提案の原理検証を行なった。具体的には、微小光照射面積を実現するための開口型近接場プローブの作製とその評価、また作製したプローブを用いたナノ構造体の吸収スペクトル測定より測定原理の検証を行った。近接場プローブは、ガラスファイバをフッ酸水溶液でエッチング処理して先鋭化し、これに金薄膜 (50 nm-150 nm) を蒸着コートして作製した。開口は、プローブ先端を平坦な基板表面に押し付けてプローブ先端の金薄膜を除去し作製した。この方法で、直径 100 nm-400 nm の開口近接場プローブを作製した (図 2)。

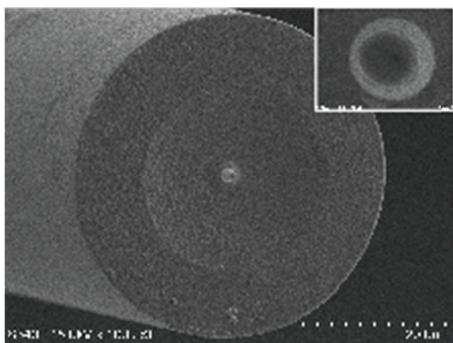


図 2. 作製した開口型近接場プローブの走査電子顕微鏡像。右上は開口部の拡大図。

微小な吸光度変化を測定するためには、出力の安定な光源を用いることに加えて、近接場プローブの光透過率を大きくすることが重要である。作製したプローブの光透過率 (Throughput) を測定し、直径 100 nm のプローブにおいて良好な透過特性であることを確認した (図 3)。

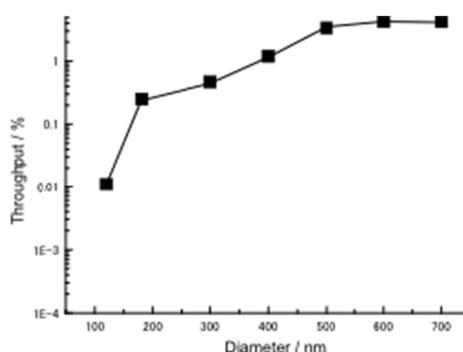


図 3. 作製した近接場プローブの透過率 (波長 633 nm) の開口径依存性。

さらに、金ナノ粒子をテストターゲットとして吸収測定装置の測定限界を見積もった結果、開口径 30 nm の近接場プローブを用いれば、数 nm 程度の単一金ナノ粒子の測定が可能であることが明らかとなった。

平成 25 年度は、装置性能向上を目指した。性能を向上するためには、数十 nm 以下の微小開口を再現性良く作製する方法を確立する必要があり、そのための装置を試作した。微小開口は、プローブを基板に押し付けて作製する。試作機では、この押しつけ量を極微移動ステージにより制御するシステムとした。また、微小開口からの漏れ光をリアルタイムに計測できるシステムとした。動作テストの結果、移動時の振動などが問題になることが明らかとなり、これを実現するには至っていない。現在その対策を進めるとともに、従来のパッシブな方法の最適化を進めている。

近接場プローブの光透過率は、開口径に依存するが、入射波長にも依存することが明らかとなった。これは開口近傍の金属膜に光励起されるプラズモンに起因すると推測される。したがって、薄膜の膜厚や開口形状を制御することで光の透過率を向上できる可能性がある。現在、電磁気学計算による解析と検討を進めている。

装置開発と平行して、吸収イメージ測定においてしばしば問題となるアーティファクトの除去法として独立成分分析法の導入を進めた。この解析法では、スペクトルに複数の固有成分 (例えば、分子) が含まれる場合に、その固有成分を測定後のデータから抽出することを可能とする。したがって、従来の測定スキームを変更せずに、アーティファクトの除去を可能とする。この解析法の利点は、固有成分ごとのイメージングを可能にするところにもある。また、ノイズの低減にも有効である。これまでに、本研究で提案する吸収測定スペクトルマッピング測定にこの解析法を組み合わせることに成功している。

開発した手法を用いて、いくつかの物質系 (J 会合体、ZnO マイクロディスク、CuO ナノキューブ、金ナノクラスターなど) の顕微吸収分光計測に取り組んだ。例えば、分子集

合体である J 会合体は、分子の配列の違いにより、特異な光学特性を発現する。その代表的な性質として、単量体の吸収帯から赤外シフトした J バンドの生成が挙げられる。J バンドの振動子強度、バンド幅は、構成する分子数とその配列の秩序性に依存する。溶液中に生成する J 会合体は、会合分子数の異なる会合体の混合物である。混合試料を用いた測定では、会合分子数とともに J バンドの強度やバンド幅がどのように変化するか、明らかにすることができない。単一の J 会合体（直径約 10 nm）の吸収分光測定により、これをはじめて解明することができる。チューブ状のシアニン色素 J 会合体を溶液中に調製し、ガラス基板上に展開し試料とした。チューブ状 J 会合体の単一の蛍光および吸収スペクトルを測定した結果、チューブの内壁、外壁の J バンドに起因する共鳴帯を明瞭に観測することに成功した。また、微小な吸光度変化（バックグラウンドレベル 10^{-4} オーダー）の測定も可能となった。これにより、J バンドの均一幅を決定することが可能となった。複数のチューブ状 J 会合体について吸収スペクトルを測定した結果、不均一幅の非常に狭い試料が調製されていることが明らかとなった。また、試料にはプレート状の構造体も含まれ、形状により吸収スペクトルが変化することも明らかとなった。

以上のとおり、微小な構造体の比較的高いシグナルノイズ比での吸収測定が可能となっているが、単一の分子の吸収分光測定を実現するには至っていない。主な原因は、微小開口近接場プローブの作製が当初の予想以上に困難であることがあげられる。現在、開口作製法の改善を進めており、これにより問題が解決され最終的に吸収分光法の感度向上に繋げることができるものと考えている。このように、当初の研究目標を完全に達成するには至ってはいないが、その実現は目前となっている。吸収分光測定法の改善により、微小な物質の比較的高感度な吸収分光測定は可能となってきたことは、確認することが出来ており、相応の成果が得られたと考えている。

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 4 件)

- (1) K. Imura, K. Ueno, H. Misawa, H. Okamoto, D. McArthur, B. Hourahine, and F. Papoff, "Plasmon modes in single gold nanodiscs", *Opt. Express*. 22, 12189-12199 (2014).
- (2) K. Imeada, K. Imura, "Optical control of plasmonic fields by phase modulated pulse excitations", *Opt. Express*. 21, 27481-27489 (2013).
- (3) H. Okamoto, K. Imura, "Visualizing the Optical Field Structures in Metal Nanostructures",

J. Phys. Chem. Lett. 4, 2230-2241 (2013).

- (4) K. Imura, K. Ueno, H. Misawa, H. Okamoto, "Optical Field Imaging of Elongated Rectangular Nanovoids in Gold Thin Film", *J. Phys. Chem. C* 117, 2449-2454 (2013).

〔学会発表〕(計 12 件)

- (1) K. Imura, H. Okamoto, Spatio-temporal Imaging and Control of Plasmonic Optical Fields by an Aperture Near-field Optical Microscope, The Third International Conference on Frontiers of Plasmonics (FOP3) (招待講演), 2014 年 3 月 29 日, アモイ, 中国
- (2) 武内麻未, 井村考平, ZnO マイクロディスクの近接場顕微分光とその独立成分分析, 第 61 回応用物理学学会春季学術講演会, 2014 年 3 月 19 日, 青山学院大学
- (3) 大村淳, 井村考平, 酸化銅(Ⅱ)ナノキューブの顕微分光研究, 平成 25 年度日本分光学会年次講演会, 2013 年 11 月 19 日, 大阪大学
- (4) 堤内勇貴, 溝端秀聡, 井村考平, 近接場光学顕微鏡を用いた高感度吸収分光測定法の構築, 第 7 回分子科学討論, 2013 年 9 月 25 日, 京都テルサ
- (5) 井村考平, 牧田賢彦, チューブ状シアニン J 会合体の近接場顕微分光, 第 7 回分子科学討論, 2013 年 9 月 25 日, 京都テルサ
- (6) K. Imura, H. Okamoto, Visualization and optical control of localized plasmons by near-field optical microscopy, ICP2013 Pre-conference: Symposium on plasmon-based chemistry and physics (招待講演), 2013 年 7 月 19 日, ルーバン, ベルギー
- (7) 井村考平, ナノ分光法を用いたプラズモン可視化と制御, 筑波大学 化学セミナー (招待講演), 2013 年 7 月 9 日, 立命館大学
- (8) K. Imaeda, K. Imura, Visualizing plasmon lifetime by ultrafast near-field optical microscope, The 6th International Conference on Surface Plasmon Photonics, 2013 年 5 月 27 日, オタワ, カナダ
- (9) 市川陽一, 今枝佳祐, 上野貢生, 三澤弘明, 岡本裕巳, 井村考平, 金ナノ粒子正方配列の近接場分光特性, 日本化学会第 93 春学年会, 2013 年 3 月 24 日, 立命館大学
- (10) 武内麻未, 井村考平, 近接場光学顕微鏡による酸化亜鉛マイクロ構造体の励起モードの可視化, 分子科学討論会, 2012 年 9 月 21 日, 東京大学
- (11) 大瀬戸彬, 井村考平, 金ナノクラスターの近接場顕微分光研究, 分子科学討論会, 2012 年 9 月 21 日, 東京大学
- (12) 武内麻未, 井村考平, 酸化亜鉛マイクロ構造体の近接場イメージング, ナノ学会, 2012 年 6 月 15 日, 大阪大学

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.chem.waseda.ac.jp/imura/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井村 考平 (IMURA KOHEI)

早稲田大学・大学院先進理工学研究科・准
教授

研究者番号：80342632