

整理番号	H29-J-129	報告者氏名	北濱 康孝
------	-----------	-------	-------

研究課題名 プラズモン増強電磁場を位置制御した金属ナノ多量体による光反応機能性材料の作成

<代表研究者> 機関名：関西学院大学理工学部 職名：理工学部研究員 氏名：北濱 康孝

<共同研究者> 機関名： 職名： 氏名：
 機関名： 職名： 氏名：
 機関名： 職名： 氏名：
 機関名： 職名： 氏名：

<研究内容・成果等の要約>

回折限界を打ち破る技術である表面プラズモン共鳴によって発生する局在増強電磁場を利用した超微細な素子の作製を、光化学反応のみならず光圧捕捉（光ピンセット）をも用いて行うことを目標とした研究を行った。表面プラズモン共鳴とは、金属ナノ構造体に励起光を照射すると、その表面の自由電子が励起光の振動数に共鳴して集団的に振動する事で、特に構造体の間隙にナノメートルサイズの強い電磁場が出現するというものである。

金属ナノ構造体を直線状に多量体として配置すると、励起光の波長によって増強電磁場の出現位置を多量体の真ん中あるいは両端の間隙に制御できることを、電磁場計算で示した。また、増強電磁場の出現位置を実験的に確認するために、それにより発生する表面増強ラマン散乱（SERS）および表面増強蛍光（SEF）を観測した。従来、発光源の位置は光の回折限界により波長の半分程度までしか絞り込めなかったが、今回、超解像イメージングを用いて、回折限界を超えた正確な分子の位置決定を行った。本研究では二色同時超解像イメージングにより同一銀ナノ微粒子に吸着した単一色素分子からの SERS と SEF の明滅現象を同時測定し、各々の発光源の位置を正確に決定した。銀ナノ微粒子二量体では、励起光強度を大きくすると SERS および SEF 活性分子の位置ゆらぎが小さくなる事が判った。一方、銀ナノ微粒子多量体では、励起光強度を大きくしても SERS および SEF 活性分子の位置ゆらぎは変わらなかった。前者では、光を照射することで波長よりも小さいような微粒子などに電気双極子を誘起し、微粒子を焦点方向へ引き寄せる光圧捕捉（光ピンセット）が起きていると考える。後者の場合、今回の励起光波長では表面プラズモン共鳴が起きずに光圧捕捉できなかったと言える。また SEF 活性分子の方が SERS 活性分子よりも分子位置の揺らぎが大きいという傾向が明らかになった。この結果は、表面増強蛍光が金属ナノ構造体と結合することで正確な蛍光分子の位置決定が不可能になるという *mislocalization* 効果による従来の結果とは異なっており、それぞれに作用する増強電磁場の違いで説明できる。また今回の増強電場の位置制御の確認に、SERS 超解像イメージングを適用するのが妥当であることを示している。

これらのことから、プラズモン共鳴光ピンセットを単一分子に対して適用する事が出来たと言える。非接触な光ピンセットを活用することで単一分子をも配置できると言えるので、従来は自己組織化分子でしか出来なかった分子素子の開発が、通常の分子でも可能となるであろう。

<研究発表（口頭、ポスター、誌上別）>

口頭発表

1. 「冪乗則と超解像イメージングによる表面増強ラマン散乱・蛍光明滅現象の研究」、北濱康孝・船岡美里・西山由美・尾崎幸洋、日本化学会第98春季年会、船橋、2018年3月23日
2. “Raman imaging and tip-enhanced Raman scattering for epitaxial graphene grown on SiC”, Yasutaka Kitahama, Shohei Uemura, Sanpon Vantasin, Yoshito Tanaka, Toshiaki Suzuki, Daichi Doujima, Tadaaki Kaneko, Yukihiro Ozaki, META2018: the 9th International Conference on Metamaterials, Photonic Crystals and Plasmonics, マルセイユ（フランス）、2018年6月25日
3. “Power-law analysis and super-resolution imaging of blinking surface-enhanced Raman scattering and fluorescence”, Yasutaka Kitahama, 第26回国際ラマン会議、済州島（韓国）、2018年8月30日

ポスター発表

1. 「超解像イメージングによる表面増強ラマン散乱と表面増強蛍光の明滅現象の研究」、船岡美里・北濱康孝・尾崎幸洋、日本化学会第98春季年会、船橋、2018年3月21日
2. “Blinking surface-enhanced Raman scattering and fluorescence analyzed by super-resolution imaging”, Yasutaka Kitahama, Misato Funaoka, Yukihiro Ozaki, International Conference on Advancing Molecular Spectroscopy, 西宮、2018年7月1日

誌上发表

1. “Plasmon-Enhanced Optical Tweezers for Single Molecules On and Near a Colloidal Silver Nanoaggregate”, Yasutaka Kitahama, Misato Funaoka, Yukihiro Ozaki, 投稿中

<研究の目的、経過、結果、考察（5000 字程度、中間報告は 2000 字程度）>

超微細な配線を必要とする集積回路作製などに用いられるフォトリソグラフィ技術では短波長の光が使われているが、波長の半分以上に絞ることができないという回折限界がある。これを打破するために、表面プラズモン共鳴によって発生する局在増強電磁場の利用が研究されている。これは、自由電子の集団的振動が励起光の周波数（波長）と共鳴して起きることにより、金属ナノ構造体上やその間隙で電磁場が著しく増強される現象である。異方性を持つ構造体では、増強電磁場の発生位置は偏光方向で制御できることが知られているし、銀ナノ二量体の間隙には多重極子の結合によってナノメートルサイズの周期的な増強電磁場が発生することが予想されている。後者の場合、励起光波長によってその出現が制御できると思われる。また、本申請の際に直線状の金ナノ円盤六量体の直径を変えることで、増強電磁場を多量体中心あるいは両端に出現させられることを計算で示した。このように、励起波長を変化させて増強電磁場の発生位置を制御することを確立するとともに、その位置での光化学反応のみならず、分子の光圧捕捉（光ピンセット）をも引き起こせることを示すことを目標とした。これにより、ただ一種の金属ナノ多量体を走査しながら様々な励起波長で増強電磁場の発生位置を制御しながら、光化学反応や光圧捕捉を行い複雑なナノ構造体を大面積で作製できる技術、すなわち単一基板によるプラズモン増強極微細フォトリソグラフィ技術に発展しうる。

まず、Finite-difference time-domain (FDTD) 法による電磁場計算を行ない、励起波長を変えることで、直線状金属ナノ多量体のどの部分の間隙に増強電場が集中するかを検証した。同じ直線状の金ナノ円盤六量体で、励起波長を長くすると中心に、励起波長を短くすると両端に増強電磁場が集中することがわかった。増強電磁場の強さは中心に出現した方が大きかった。また、間隙のサイズを制御する必要がなく作製が容易である構造体同士が接触している状態でも同様の結果が得られた。しかし、間隙がある場合に比べて、中心に出現する増強電磁場は弱くなり、両端に出現する増強電磁場は強くなった（図 1）。

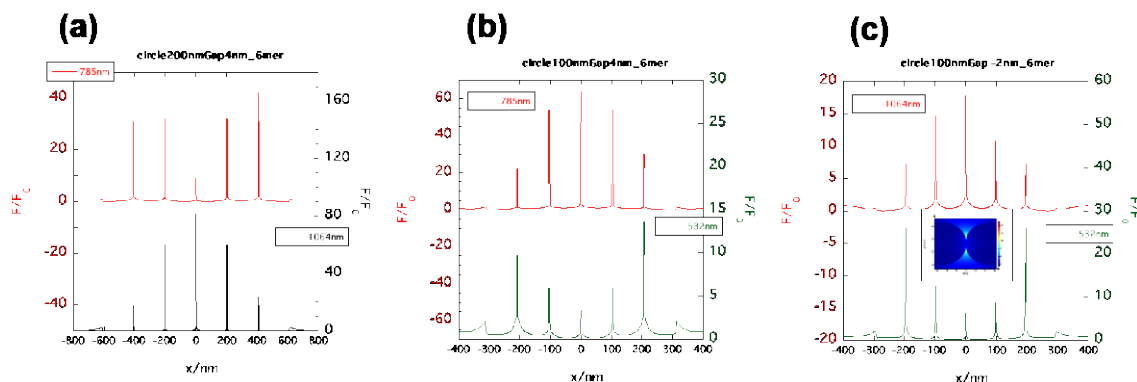


図 1 直線状金ナノ円盤六量体に発生した増強電磁場の位置プロファイル。(a) 直径 200nm; 間隙 4nm; 励起波長 785nm(上), 1064 nm(下)。(b) 直径 100nm; 間隙 4nm; 励起波長 785nm(上), 532 nm(下)。(c) 直径 100nm; 間隙 -2nm; 励起波長 1064nm(上), 532 nm(下)。

次に、プラズモン共鳴による増強電磁場で分子の光圧捕捉（光ピンセット）が起きるかを確認するために、以下のような実験を行った。光ピンセットはレーザー光により小物体を捕捉する手法であり [1,2]、2018 年にはこの提唱者にノーベル物理学賞が授与された。粒子が波長より十分に小さい場合、光が当たると、その電磁場でナノ微粒子に分極が起こる。この分極を点双極子として扱うことができ、ナノ微粒子は電場勾配に比例する力を受けて焦点に捕捉される。

銀コロイド溶液、チアジカルボシアニンあるいはチアカルボシアニン色素、5 mM または 1 M NaCl 溶液を混合した溶液をスライドガラスに滴下しスピンコートして、1 M NaCl 溶液を滴下し、同じ大

きさのライドガラスを被せ、サンプルとした。励起光 ($\lambda = 532 \text{ nm}$) を用い、また $570\sim 590 \text{ nm}$ 、 $670\sim 690 \text{ nm}$ の範囲で波長を分け、二色同時イメージングにより同一銀ナノ微粒子に吸着した単一色素分子からの表面増強ラマン散乱 (SERS) と表面増強蛍光 (SEF) の明滅現象を 122 ms の時間分解能で同時測定した。SERS および SEF 活性分子の位置は光の回折限界により波長の半分程度までしか絞り込めなかったが、近年は二次元ガウス関数でフィッティングする超解像イメージングにより回折限界を超えた正確な分子の位置決定が可能となっている。今回、レーザー強度を変えて、SERS および SEF 活性分子の位置の揺らぎがどう変化するかを測定した。

レーザー強度を大きくするにしたがい、SERS および SEF 活性分子の位置揺らぎが小さくなっていることが確認できた (図2)。しかも、 5 mM NaCl 溶液を用いて銀ナノコロイド微粒子凝集体を作製した場合にのみ、レーザー強度を大きくするにしたがって発光源の位置の揺らぎが小さくなるという結果が見られた。一方、 1 M NaCl 溶液を用いて銀ナノコロイド微粒子凝集体を作製した場合は、レーザー強度を大きくしても発光源位置の揺らぎはほとんど変わらなかった。電子顕微鏡で双方の銀ナノ凝集体を観測すると、前者の銀ナノ凝集体は二量体あるいは極少数の微粒子で構成されていたのに対して、後者では多数の微粒子によりマイクロメートルサイズの凝集体が生成されていた。

前者では、特定の波長の光で励起した時にプラズモン共鳴が起きて効率よく増強電磁場が間隙に集中するのに対して、後者では、プラズモン共鳴散乱スペクトルはブロードなものとなり、増強電磁場もあまり発現しないことが知られている[3]。すなわち、銀ナノ二量体ではプラズモン共鳴による増強電磁場が発現することで単一分子を光圧捕捉していると考えられる。励起光強度を強くすると増強電磁場も強くなって光圧捕捉ポテンシャルも深くなり、単一分子の位置ゆらぎが抑制されると思われる。一方、プラズモン共鳴が起きない銀微粒子多量体では、単一分子を光圧捕捉できるだけの増強電磁場が発生しないものと考えられる。

このプラズモン共鳴光ピンセットの仮説に対して、励起光強度を大きくすることで信号強度も大きくなり、S/N 比が良くなることで位置決定の精度が上がり、それが見かけの位置ゆらぎの減少として観測されたのではないかという考えもある。しかし、銀微粒子多量体では励起光強度を大きくしても位置ゆらぎの減少が観測されないことと、励起光強度を大きくしても銀ナノ二量体からの信号強度がほぼ同じであったことから、この考えは否定される。ちなみに、励起光強度を大きくすると信号強度のゆらぎも小さくなっていった。SERS や SEF の信号強度に大きく影響する増強率は金属表面や間隙からの距離に大きく依存するので、位置ゆらぎと信号強度ゆらぎの減少は矛盾しない。また、励起光強度を大きくしても SERS 信号強度がほぼ一定ということは、信号源が増強電磁場によって限界まで信号を発しているということであり、単一あるいは少数分子測定の特徴と言えるのかもしれない。

また、SERS および SEF 活性分子の位置ゆらぎが電子顕微鏡で観測された銀ナノ二量体やその間隙のサイズをやや超えているという点も疑問視される。この位置ゆらぎの大きさの矛盾は、SEF 超解像イメージングで報告されている mislocalization 効果で説明できる。この効果は、分子からの蛍光が金属ナノ構造体と結合することで、本来の発光源である分子の正確な位置決定が不可能になるというものである[4]。しかしながら、金属ナノ構造体から発光源が移動した場合、実際の距離を反映しないものの、位置の移動が観測されるということが、計算から示されている。すなわち、今回の系では mislocalization 効果の下でも、超解像イメージングで観測された SERS/SEF 活性分子の位置揺らぎの減少が実際に起きていると考えられる。

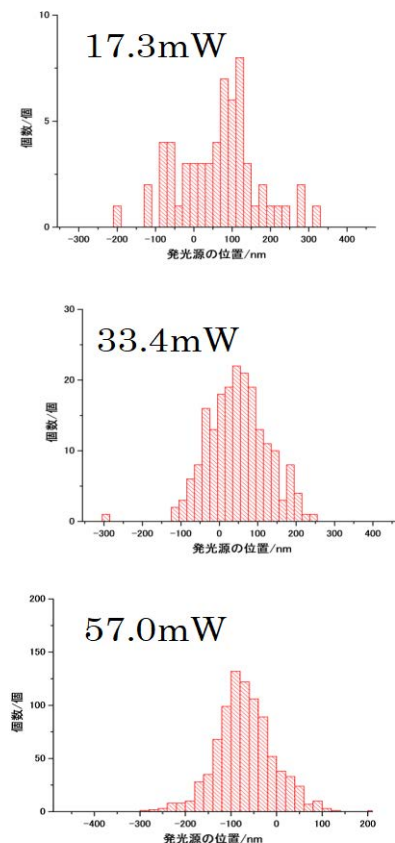


図2 SEF 活性分子の位置のヒストグラム。横軸は同スケール

過去に、励起光と信号光（ストークスシフトが小さく、励起光と波長の近い蛍光）の双方がプラズモンによって増強されるような分子と励起光のみが増強されるような分子に、超解像イメージングを適用した報告がある。前者と後者はそれぞれ SERS と SEF の増強機構と酷似している。その報告では、前者の方が、三角形に配置した金ナノ円盤間の増強電磁場の発現を反映せずに、位置のゆらぎが後者よりも大きくなっており、mislocalization 効果が強く発現していた[4]。一方、今回の系では、SERS 活性分子の位置ゆらぎの方が、SEF 活性分子の位置ゆらぎよりも小さかった。このように、mislocalization 効果は SERS よりも SEF において顕著に発現するのかもしれない。これは、直線状金属ナノ多量体の真ん中あるいは両端のどちらに増強電磁場が発現しているかを確認するには、SERS 超解像イメージングを適用するのが妥当であることを示している。SERS 活性分子は金属表面に吸着しており、強い増強電磁場を感じているのに対して、SEF 活性分子はエネルギー移動を抑制するために金属表面から離れており、感じる増強電磁場も弱い。このように、それぞれに影響する増強電磁場の大きさや動きやすさの違いが、位置ゆらぎの違いの原因と思われる。

通常の光ピンセットの研究と同様に、位置ゆらぎの時間変化をフーリエ変換することで、パワースペクトル密度のグラフから光圧捕捉のバネ係数を算出しようと試みた。離散フーリエ変換では等間隔データである必要があるが、SERS/SEF 明滅現象で得られるデータは不等間隔データであるので等間隔データとするためにスプライン補間を行った。多数の微粒子によりマイクロメートルサイズの凝集体の場合、パワースペクトル密度は通常の光ピンセットの結果と同じローレンツ型（両対数プロット下で低周波数では直線で、高周波数になると減衰曲線を示す）を示した（図3）。しかし、励起光強度を大きくしても、減衰し始める周波数は変わらなかったため、バネ係数が大きくなったとは認められなかった。これは調和振動子の特徴を示す通常の光ピンセットの結果とは異なる。一方、銀ナノ二量体の場合のパワースペクトル密度は両対数プロット下で直線となった。較正のための銀ナノ微粒子の暗視野散乱像の超解像イメージング等のように、ノイズである場合に直線が得られるが[2]、ノイズはランダムな現象であるので、プラズモン増強光ピンセットに捕捉された単一分子はランダムな動きをしていると考えられる。実際、代表研究者らによる単一分子から発生する SERS 明滅現象の研究では、明暗状態の持続時間とその頻度の確率分布の関係から、プラズモン共鳴が効率よく起きている時は増強電磁場による光圧捕捉ポテンシャルの引力により、SERS 活性分子が銀ナノ二量体間隙で次元ランダムウォークをしていると推測されていた[5]。今回、その推測が SERS 超解像イメージングによって直接的に裏付けられたと言える。

上記のように本研究では、間隙のサイズを制御する必要がない直線状のナノ構造接触多量体においても、励起波長を変えることで増強電磁場の発生位置を制御できることを計算で示した。これにより、作製が容易な接触ナノ多量体でもプラズモン増強極微細フォトログラフィが可能であることが明らかになった。また、増強電磁場による単一分子の光圧捕捉を、超解像イメージングで確認することができた。この場合、測定位置を精密に制御できる走査型プローブ顕微鏡と金属ナノ探針を組み合わせたチップ増強ラマン散乱を溶液中で用いることで[6]、溶液中あるいは探針上の分子を配列させて、従来は自己組織化分子でしか出来なかった、分子素子の開発も可能となるであろう。

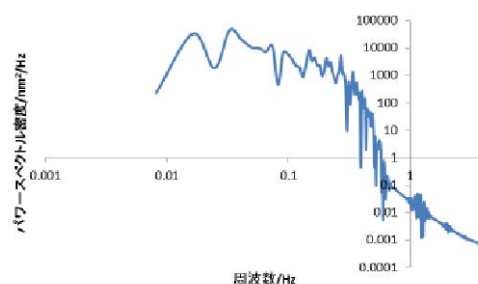


図3 多数の銀微粒子上の SERS 活性分子の位置ゆらぎのパワースペクトル密度

参考文献：[1] A. Ashkin, *Phys. Rev. Lett.* **1970**, *24*, 156.

[2] L. P. Ghislain, N. A. Switz, W. W. Webb, *Rev. Sci. Instrum.* **1994**, *65*, 2762.

[3] T. Itoh, Y. S. Yamamoto, H. Tamaru, V. Biju, N. Murase, Y. Ozaki, *Phys. Rev. B* **2013**, *87*, 235408.

[4] D. L. Mack, E. Cortés, V. Giannini, P. Török, T. Roschuk, S. A. Maier, *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 14513.

[5] Y. Kitahama, Y. Tanaka, T. Itoh, Y. Ozaki, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 7439.

[6] P. Pienpinijtham, S. Vantasin, Y. Kitahama, S. Ekgasit, Y. Ozaki, *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120*, 14663.