

# Feature Article

特集論文

## 第2回 堀場雅夫賞 受賞者論文

### 近接場ナノ振動分光学の開拓研究

井上 康志

光の回折限界を超えた空間分解能を実現する近接場顕微鏡を用いて、顕微振動分光法の超解像化技術に関する研究を行った。シリコンプロセスで作製した微小開口型近接場プローブと波長可変赤外レーザを用いた赤外近接場顕微鏡を開発し、部分的に光解離された領域をサブミクロン分解能で分光イメージングした。また、金属ナノ探針先端に誘起される局在プラズモンを用いることでナノスケールの顕微ラマン分光・イメージングを実現し、さらに、近接場特有の新たなラマン現象も見い出した。

#### はじめに

顕微振動分光法はミクロな領域の物質の分析・同定法として、基礎科学分野から産業応用まで広く利用されている。例えば、顕微赤外分光法ではフーリエ変換赤外分光装置からの干渉光をカセグレン対物鏡<sup>1)</sup>により集光し、試料を透過した光を検出することで、ミクロな領域の吸収スペクトルを得る。集光スポットで決まる空間分解能は光の波長により制限され、現状では数10 μm程度である。したがって、必ずしも最先端の機能性材料やナノ物質の分析に対するニーズを満たしているとは言えない。そこで本稿では、波長の限界を超える分解能を実現する近接場光学技術を振動分光法と組み合わせることで、光の波動性により制限されていた顕微振動分光法の空間分解能を観察波長以下に到達させる技術を紹介する。具体的には、波長可変な高輝度赤外レーザを光源として、チップ先端に微小開口を有する原子間力顕微鏡用カンチレバーを近接場プローブとして用いた赤外近接場顕微鏡<sup>1,2)</sup>と、金属ナノ探針先端に誘起される局在プラズモン<sup>2)</sup>を光源とした近接場ナノラマン顕微鏡の原理とその測定例<sup>3-7)</sup>を示したい。

\*1: 大きな凹面鏡で反射した光を小さな凸面鏡でさらに反射させて、凹面鏡中央の孔から取り出す光学系。

\*2: 物質中の電子の分布が平衡からずれたときに生じる電子の集団運動は波として伝播し、その波を量子化した場合の量子をプラズモンと呼ぶ(第2版MARUZEN物理学大辞典より)。

#### 近接場顕微鏡 エバネッセント光

高屈折率媒質から低屈折率媒質に臨界角以上で光が入射すると、媒質の境界面で入射光は全反射する。このとき、低屈折率媒質側では境界面から離れるにしたがい、電場強度が指数関数的に減衰するエバネッセント光が生じている。このエバネッセント光では境界面方向の成分の波長が高屈折率媒質での境界面方向の波長と一致するため、低屈折率媒質中を伝搬する光より短い波長となる。一方、境界面に垂直な方向の振動電場は指数関数的に減衰するため、境界面近傍に局在した場を形成する。ただし、光の振動数(エネルギー)は変わらないことから、エバネッセント光は、空間中を伝搬する光とは異なり非放射で不均質な場であり、その局在性により近接場光とも呼ばれる。

このようなエバネッセント光は、全反射だけではなく光の波長よりも微小な構造による散乱によっても生成される<sup>8)</sup>。このときのエバネッセント光の見かけ上の波長は微小構造と同程度となり、微小構造に局在したエバネッセント

光を検出するあるいはエバネッセント光で試料を照明することで、試料の微小構造の情報を可視化することができる。エバネッセント光の短波長性から、エバネッセント光を検出するあるいはエバネッセント光で照明することができれば、波長以下の分解能を実現できる。ただし、エバネッセント光の見かけ上の波長は空間中を伝搬する波長よりも短くなるため、エバネッセント光は空間中を伝搬することができず、微小構造近傍に局在する(なお、局在距離は微小構造程度である)。このようなエバネッセント光すなわち近接場光を取り扱うのが近接場光学である<sup>[9,10]</sup>。これに対して、従来の光学顕微鏡では、伝搬光成分だけを対物レンズで集光し、エバネッセント光を取り扱うことができないことから、分解能の制限(～波長程度)が生じていた。

## 近接場顕微鏡

近接場顕微鏡は、試料構造に局在するエバネッセント光を検出する(あるいはエバネッセント光で照明する)ための光学顕微装置である。エバネッセント光は空間中を伝搬できないため、近接場プローブをエバネッセント光内に挿入し、エバネッセント光を伝搬光に変換する(あるいは近接場プローブでエバネッセント光を生成し、そのエバネッセント光を試料の微小構造と結合させ、伝搬光に変換する)。プローブを試料表面近傍で走査しながら、この変換された伝搬光をレンズ等で集光して検出することで、試料構造を観察することができる。これが近接場光学顕微鏡の結像原理である。ただし、エバネッセント光の局在距離は微小構造あるいはプローブ構造程度であるため、プローブは試料構造に近接して走査する必要がある。

## 近接場プローブ

近接場プローブは主として2つのタイプに分けられる。一つは不透明なフィルムに波長よりも微小な開口を設けた微小開口プローブ<sup>[11]</sup>と波長よりも微小な先端径を持つ針状の散乱型プローブである<sup>[12]</sup>。

前者の代表的な例として、張力を加えながら加熱したりあるいは化学的エッチングにより先鋭化した光ファイバーに金属フィルムをコーティングし、その先端に微小開口を設けた光ファイバープローブがある(図1(a))<sup>[13]</sup>。ただ

し、光ファイバープローブでは、開口部に光を伝達する際にファイバー内で波長よりも微小な領域を伝搬し、金属薄膜による吸収や散乱による光の損失があるので、光学的スループットは低いものとなる。そこで、異方性エッチングを用いて形成される広角チップ形状を有するカンチレバー(図1(b))が開発されている<sup>[14]</sup>。広角形状による光学的スループットの向上だけではなく、チップを中空型にできることから、中赤外域全領域で使用することもできる。

散乱型プローブは先端で電気双極子を直接励振することで電場が形成されるとみなせる。特に、材質に金属を用いた散乱型プローブ(図1(c))では、探針先端で、自由電子の集団的な振動が光と共鳴することで、表面プラズモンポラリトン<sup>3</sup>が局所的に励振され、非常に強い電場を誘起することができる<sup>[9]</sup>。

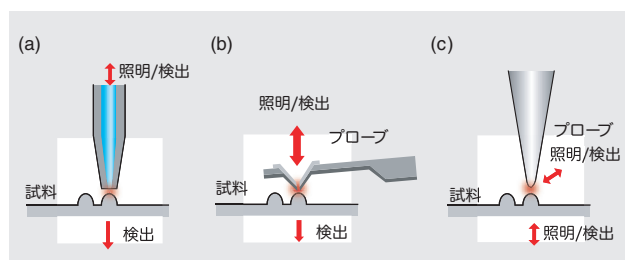


図1 近接場プローブ (a) 微小開口型光ファイバープローブ (b) 微小開口型カンチレバープローブ (c) 散乱型プローブ

誘起された光はエバネッセント化していて、探針先端直下に閉じ込められることで、探針径程度の光ナノスポットが形成される(図2)。さらに、光電場が増強されることで、明るい信号光が得られ、最近では、この金属ナノ探針を用いた近接場計測がラマン分光<sup>[3,4,15]</sup>、2光子励起蛍光<sup>[16]</sup>等へ積極的に適用されている。

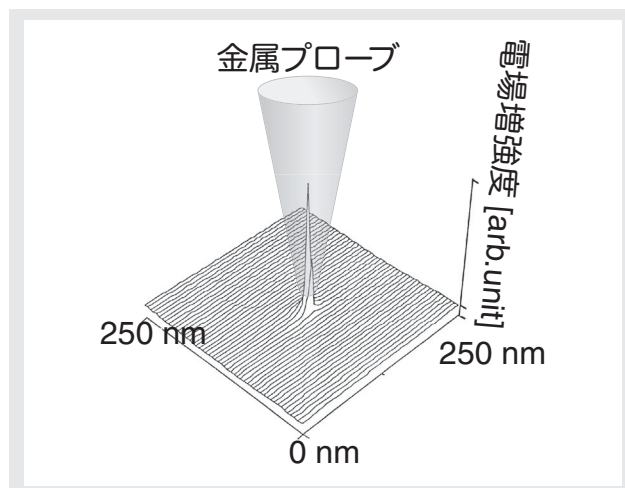


図2 金属ナノ探針による光ナノスポットの形成

# Feature Article 特集論文 近接場ナノ振動分光学の開拓研究

\*3: 電磁波が物質中を伝わるとき、その振動数が物質に固有な原子的分極波(例えば、光学格子振動や励起子の波など)の振動数に近いときは、電磁波と分極波とが結合し、両者の連成波が物質内での実際の波となる。この連成波の量子をポラリトンと呼ぶ(岩波理化学辞典より)。

## 赤外近接場顕微鏡

赤外領域で近接場分光を実現するには、赤外光源と近接場プローブの検討が重要である。従来の赤外顕微分光を含めて赤外分光分析では、グローバ光源<sup>4</sup>等の熱源が主に光源として用いられ、スペクトル帯域は連続的に2.5  $\mu\text{m}$ から10  $\mu\text{m}$ 以上をカバーするものの、輝度が低く、また発光面積も広いため、赤外光のエネルギーを空間的に集中させることが困難で、まして赤外近接場分光用には非常に暗い光源であった。これに対して、赤外域でチューナブルに発振するレーザーが、最近のレーザー技術の進展により開発され、赤外近接場顕微鏡に利用され始めている。自由電子レーザー(FEL: Free Electron Laser)と超短パルスレーザー(チタンサファイアレーザーなど)からのパルス光を種光としたパラメトリック赤外光(差周波発生光: DFG)がその代表例である。

一方、プローブではフッ化物ガラス<sup>[17,18]</sup>やカルコゲン化合物<sup>5[19, 20]</sup>による赤外ファイバーが用いられることがあるが、先に述べた光学的スループットだけではなく、波長領域の広い中赤外光をすべてカバーすることはできない。そこで、上記の点を解決するために、本研究では、微小開口カンチレバーを用いることにした<sup>[1,2]</sup>。シリコンプロセスベースのマイクロマシン技術を利用し、また開口を集束イオンビームで形成することから、複数のカンチレバーを同時に作製でき、かつ、再現性の高い微小開口径を実現することが可能である。図3に作製したカンチレバーを示す(開口径: 500 nm)。光学的スループットは、これまでに報告されているカルコゲナイトファイバーを用いたプローブよりも2桁高い数値を実現した。

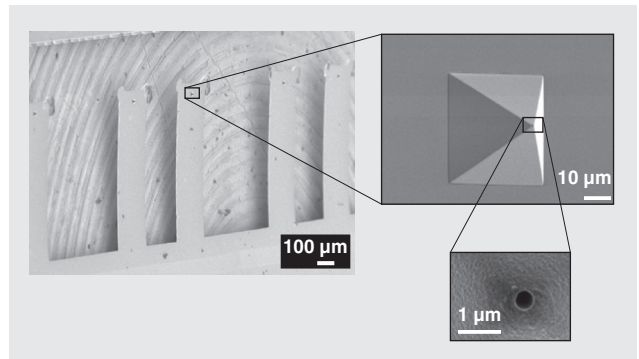


図3 作製した微小開口カンチレバー

図4に設計試作した赤外近接場顕微鏡を示す。赤外顕微鏡をベースとして、微小開口カンチレバーを通して試料の照明を行い、試料を走査しながら赤外光を検出する。赤外光源には、超短パルスレーザー励起の差周波赤外光(主に、3~6  $\mu\text{m}$ )と赤外自由電子レーザー(5~16  $\mu\text{m}$ : 東京理科大学赤外自由電子レーザー研究センター)を用い、中赤外域をおおよそ検出できるようにした。

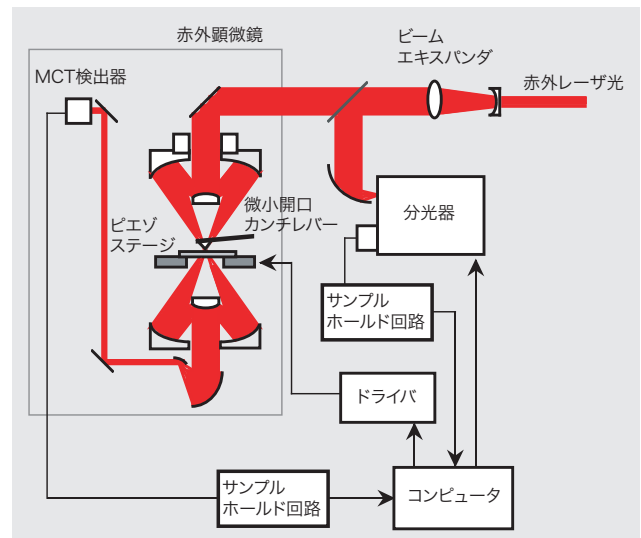


図4 試作した赤外近接場顕微鏡

設計試作した装置を用いて、動脈硬化の原因物質として知られるオレイン酸コレステリルを赤外自由電子レーザーによりオレイン酸とコレステロールに分解した領域の近接場観察を行った<sup>[1]</sup>。具体的には、赤外顕微鏡を用いて赤外自由電子レーザーのパルス光(照射波長5.75  $\mu\text{m}$ , 5  $\mu\text{J}$ (試料面上))をオレイン酸コレステリルフィルム(膜厚2  $\mu\text{m}$ )に照射し、照射領域を差周波発生による赤外パルス光(観察波長5.75  $\mu\text{m}$ , 0.1 nJ(試料面上))と開口径2  $\mu\text{m}$ のカンチレバーを用いた赤外近接場顕微鏡で観察した。その結果を図5(a)に示す。図内の破線外部がFEL

光を照射した領域である。非照射領域はエステル結合による赤外光の吸収が観察される一方、照射領域は吸収量が少ないことがわかる。この結果から赤外自由電子レーザー照射領域内ではエステル結合が切断され、オレイン酸コレステリルが分解していることを回折限界以下の空間分解能で確認することができた。また、吸収のない波長で観察すると、一定のコントラストが得られる(図5(b))。

さらに、非照射領域との吸収光量を比較することで赤外自由電子レーザー照射領域の表面下1  $\mu\text{m}$ まで分子構造変化が起こっていることを確かめた。

\*4: SiCの棒に電流を流し、1000  $^{\circ}\text{C}$ くらいにして用いる赤外線的光源(岩波理化学辞典より)。

\*5: 硫化物, セレン化物, テルル化物の総称。

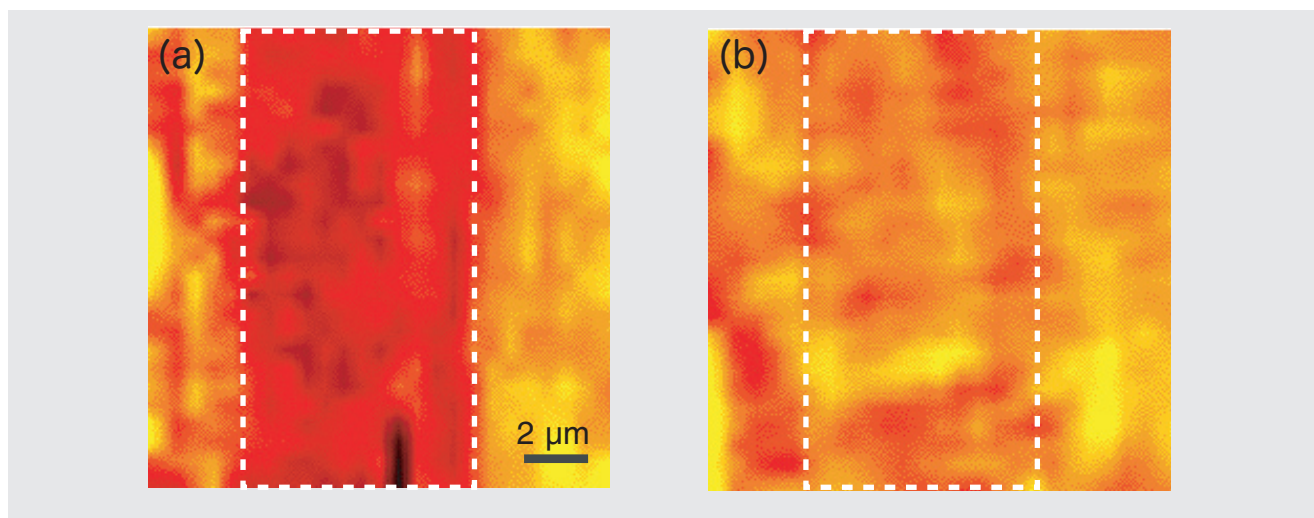


図5 オレイン酸コレステリル薄膜の赤外近接場吸収像 (a) エステル結合の吸収波長(5.75  $\mu\text{m}$ ) (b) 吸収のない波長(5.30  $\mu\text{m}$ )

## 近接場ナノラマン顕微鏡

光が分子と非弾性散乱することで生じるラマン散乱光を分光計測することでも、分子の振動スペクトルが得られる。このラマン散乱の光学過程は入射光子と散乱光子の2つが関与することから、例えば吸収過程と比べて生起する確率が低く、ラマン散乱光の強度は弱い。そこで、ラマン散乱光の近接場測定を可能にするため、金属ナノ探針を用いて局所的に光電場を増強することで、散乱光を増幅して、検出することを考案した<sup>[3,4]</sup>。すなわち、金属ナノ探針先端で表面増強ラマン散乱(SERS: Surface Enhanced Raman Scattering)を誘起し、電磁気学的及び化学的な増強効果を利用することで、高感度、高空間分解能を達成した<sup>[5,6]</sup>。

試作装置を用いてDNA塩基分子の一つであるアデニン分子のナノ結晶の近接場ラマンスペクトルを測定した結果を紹介する。ナノ結晶に金属ナノ探針を近接させることで得た近接場ラマンスペクトルを図6(a)に示す。矢印で示す9つのラマンピークを観察できた。次に、金属ナノ探針を試料表面から離してスペクトル測定を行った結果を図6(b)に示す。金属ナノ探針がないため局所的に電場

が増強されず、アデニン分子のラマン散乱光はほとんど観察することができなかった(924  $\text{cm}^{-1}$ のピークはカバーガラスからのラマン散乱光によるものである)。金属ナノ探針があるときとないときのラマン散乱光(@739  $\text{cm}^{-1}$ )の強度を比較すると、単位面積あたりの増強度は約2700倍と見積もることができる。

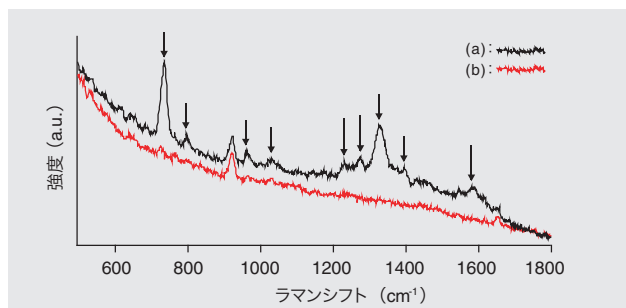


図6 アデニンナノ結晶のラマンスペクトル  
(a) 金属ナノ探針を近接させて測定したラマンスペクトル  
(b) 金属ナノ探針を離して測定したラマンスペクトル

非線形光学現象であるコヒーレントアンチストークスラマン散乱(CARS)を金属ナノ探針で近接場誘起することで、DNA分子poly(dA-dT)のネットワーク構造を近接場イメージングした結果を図7(a)に示す<sup>[6]</sup>。観察波数はアデニン分子の五員環のリングブリージングモード( $1337\text{ cm}^{-1}$ )に一致させている。一方、アデニン、チミン、糖鎖のいずれの分子振動に対しても非共鳴な条件( $1278\text{ cm}^{-1}$ )で試料を観察した結果を図7(b)に示す。いずれの分子振動に対しても非共鳴であるので、CARS光が誘起されないことがわかる。達成された空間分解能は $15\text{ nm}$ で、自発ラマン散乱の近接場観察(線形な応答を示す)で実現している空間分解能よりも、2倍向上している。

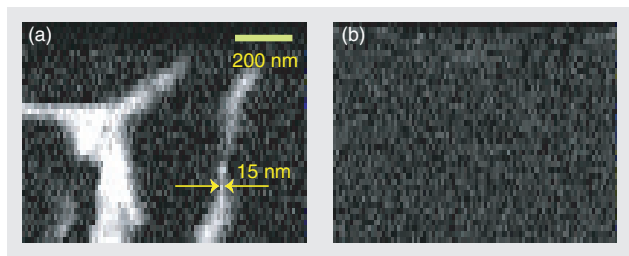


図7 poly(dA-dT) ネットワーク構造の近接場CARSイメージング  
(a) 観察波数:  $1337\text{ cm}^{-1}$  (b) 観察波数:  $1278\text{ cm}^{-1}$

ところで、先にも述べたように、SERSはナノスケールの島状金属構造に吸着した分子からのラマン散乱光を検出する。金属ナノ探針は、その探針先端が孤立した1つの島状金属構造そのものであるから、現象論的には同じ散乱現象が生じていると考えてよい。図8(a)にアデニンナノ結

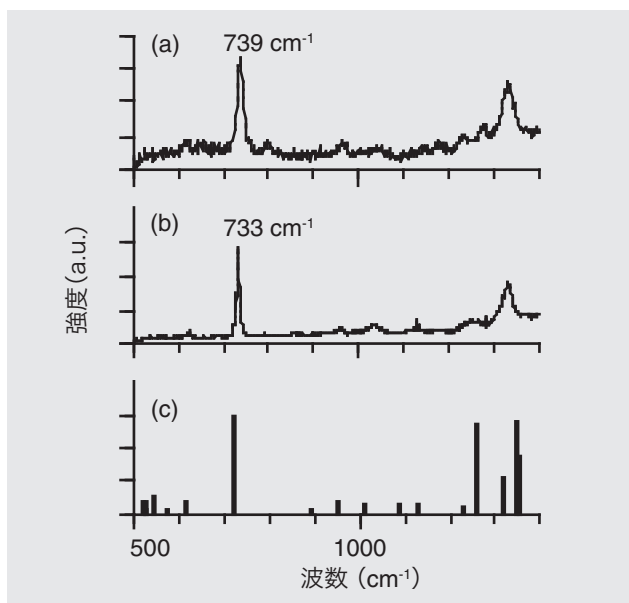


図8 アデニン分子のラマンスペクトル  
(a) 近接場ラマンスペクトル  
(b) 表面増強ラマンスペクトル  
(c) 振動計算により得られたラマンスペクトル

晶の近接場ラマンスペクトルを再度示す。金属ナノ探針を試料表面から離して検出したラマンスペクトル(通常の顕微ラマン分光と比較すると、通常 $724\text{ cm}^{-1}$ にある六員環・五員環リングブリージングモードのラマンバンドは近接場ラマンスペクトルでは高波数側( $739\text{ cm}^{-1}$ )にシフトしている。さらに、図6(a)の近接場ラマンスペクトルは、図8(b)に示す銀微粒子上に吸着させたアデニン分子のSERSスペクトルとも一部異なり、 $739\text{ cm}^{-1}$ のラマンバンドはSERSに比べても $5\text{ cm}^{-1}$ 以上高波数シフトすることを観測した。SERSスペクトルはアデニン分子の銀粒子への化学吸着に由来することから、アデニンと銀1原子からなる単純な錯体による吸着種モデルの振動計算を行った結果(図8(c))と一致した。さらに、銀とアデニン間の結合長を変えた仮想的な錯体構造の振動計算を行ったところ、ナノ探針の位置を原子間力顕微鏡によりオングストロームオーダーで制御することで錯体構造が変化し、ラマンバンドがさらに高波数側にシフトすることを明らかにした<sup>[7]</sup>。この方法を利用することで、分子種の特特定けではなく、分子の配向方向も決定できることが期待できる<sup>[21]</sup>。

## おわりに

近接場光学技術を赤外ラマン分光法に適用することで、振動スペクトルを光の回折限界をはるかに超える空間分解能で測定し、分子イメージングが行えることを紹介した。とくに、赤外分光、ラマン分光に適した近接場プローブをそれぞれ選択することが重要であることを、実験を通して示した。各々の特徴としては、赤外近接場分光では定量分析が可能であること、近接場ラマン分光では金属ナノ探針、非線形光学現象の利用と力学的摂動を加えることで高分解能を実現できることがあげられる。近接場振動分光法をさらに発展させることで、分子レベルの分解能で1分子分析することも夢ではなくなりつつある。

## 参考文献

- [1] T. Masaki, K. Goto, Y. Inouye, and S. Kawata, *J. Appl. Phys.*, **95**, 334-338 (2004).
- [2] T. Masaki, Y. Inouye, and S. Kawata, *Rev. Sci. Instrum.*, **75**, 3284-3287 (2004).
- [3] Y. Inouye, N. Hayazawa, K. Hayashi, Z. Sekkat, and S. Kawata, *Proc. SPIE*, **3791**, 40-48 (1999).

- [4] N. Hayazawa, Y. Inouye, Z. Sekkat, and S. Kawata, *Opt. Commun.*, **183**, 333-336 (2000).
- [5] N. Hayazawa, Y. Inouye, Z. Sekkat, and S. Kawata, *Chem. Phys. Lett.*, **335**, 369-374 (2001).
- [6] T. Ichimura, N. Hayazawa, M. Hashimoto, Y. Inouye, and S. Kawata, *Phys. Rev. Lett.*, **92**, 220801 (2004).
- [7] H. Watanabe, Y. Ishida, N. Hayazawa, Y. Inouye, and S. Kawata, *Phys. Rev. B*, **69**, 155418 (2004).
- [8] E. Wolf and M. Nieto-Vesperinas, *J. Opt. Soc. Am. A*, **2**, 886-889 (1985).
- [9] S. Kawata ed., *Near-field Optics and Surface Plasmon Polaritons*, (Springer, Heidelberg, 2001).
- [10] S. Kawata, M. Ohtsu, M. Irie eds., *Nano-optics*, (Springer, Heidelberg, 2002).
- [11] D. W. Pohl, W. Denk, M. Lanz, *Appl. Phys. Lett.*, **44**, 651-653 (1984).
- [12] Y. Inouye and S. Kawata, *Opt. Lett.*, **19**, 159-161 (1994).
- [13] E. Betzig, J. K. Trautman, T. D. Harris, J. S. Weiner, and R. L. Kostelak, *Science*, **251**, 1468-1470 (1991).
- [14] T. Masaki, A. Ono, K. Goto, Y. Inouye, S. Kawata, and H. Kuroda, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **Suppl. 41-1**, 71-72 (2002).
- [15] R. M. Stoeckle, Y. D. Suh, V. Deckert, and R. Zenobi, *Chem. Phys. Lett.*, **318**, 131-136 (2000).
- [16] E. J. Sanchez, L. Novotny, X. S. Xie, *Phys. Rev. Lett.*, **82**, 4014-4017 (1999).
- [17] A. Piednoir, F. Creuzet, C. Licoppe, and J.M. Ortéga, *J. Microsc.*, **57**, 282-286 (1995).
- [18] C.A. Michaels, S.J. Stranick, L.J. Richter, and R.R. Cavanagh, *J. Appl. Phys.*, **88**, 4832-4839 (2000).
- [19] M.K. Hong, A.G. Jeung, N.V. Dokholyan, T.I. Smith, H.A. Schwettman, P. Huie, and S. Erramilli, *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B*, **144**, 246-255 (1998).
- [20] D.T. Schaafsma, R. Mossadegh, J.S. Sanghera, I.D. Aggarwal, J.M. Gilligan, N.H. Tolks, M. Luce, R. Generosi, P. Perfetti, A. Cricenti, and G. Margaritondo, *Ultramicroscopy*, **77**, 77-81 (1999).
- [21] H. Watanabe, N. Hayazawa, Y. Inouye, and S. Kawata, *J. Phys. Chem. B*, **109**, 5012-5020 (2005).



井上 康志

Yasushi Inouye

大阪大学大学院  
生命機能研究科  
教授  
工学博士