

Guest Forum

特集寄稿

第2回 堀場雅夫賞 審査委員講演

赤外ラマン分光法の新展開 —表面増強ラマン散乱の原理と応用—



尾崎 幸洋
Yukihiro Ozaki

関西学院大学
理工学部長
教授
理学博士

赤外ラマン分光法の新しい展開として、表面増強ラマン散乱(Surface Enhanced Raman Scattering:SERS)を用いた単一分子のラマンスペクトル測定を紹介する。特に表面プラズモン共鳴(Surface Plasmon Resonance:SPR)とSERSとの関係について考察する。

はじめに

表面増強ラマン散乱(Surface Enhanced Raman Scattering: SERS)を用いると、単一分子からでもラマンスペクトル測定が出来る場合がある。ヘモグロビンなどの報告があり、SERSに基づくいろいろな超高感度分析が可能で、次世代の夢の高感度分析法といっても過言ではないであろう。単一分子のSERS測定の成功以来、SERSの機構解明の研究が急速に進んできた。それに伴いどのようにすれば、SERSスペクトルがより高感度で、しかも再現性よく測定できるかも明らかになってきた。SERS応用の実用化に一步近づいたと言えよう。

SERSの特徴と利点

SERSは以下のような特徴を持っている。

- ・SERSは銀、金、白金、ニッケル表面などで起こるが、銀、金表面において増強効果が特に著しい。
- ・SERSによりラマン散乱強度の著しい増大を示す分子もあれば、そうでないものもある。
- ・SERS強度は金属表面に吸着した分子の配向に依存する。また金属表面からの距離にも依存する。
- ・金属表面の粗さがSERS発現に何らかの形で関与して

いる。

- ・SERS強度は励起波長依存性を示す。

なぜこういうことが起こるのかという話をする前に、SERSの利点と長所を以下にまとめる。

SERSの利点

- ・感度が極めて高い(通常 $10^3 \sim 10^6$ 程度のラマン散乱強度の増大が期待できる)。
- ・選択性が高い。“選択性”には2つの意味がある。一つは金属表面に吸着した分子だけがSERS効果を示すという意味の選択性である。もう一つの意味は、吸着した分子の中でも吸着部位によるラマンバンドが特に強いSERS効果を示すという選択性である。
- ・金属表面へ吸着した分子の蛍光が消光するため、SERSスペクトルに現れる蛍光のバックグラウンドが弱くなり、蛍光に隠されていたラマンバンドがはっきり観察されるようになる。

SERSの長所

表面、界面研究法としてのSERSの長所は、他の方法、特に高真空を必要とする方法などとは異なり、液相と固相の界面にin situで適用できる点である。

このような利点や長所を生かし、SERSはかなり初期の時点から金属表面上での触媒作用や電極表面上での化学

反応機構の研究などに用いられた。

単一分子のSERS (1分子からのラマンスペクトル測定)

Kneippらは銀コロイドに吸着した単一結晶バイオレット分子のラマンスペクトルを830 nmの励起波長を用いて、一方Nieらはやはり銀コロイド系で単一ローダミン6G(R6G)分子のラマンスペクトルを514.5 nmの励起波長を用いて測定した。R6G(あるいは他の分子でも同じであるが)からのラマン散乱が確かに単一分子からのものであるということは、R6Gと銀ナノ粒子の比を1:1として、単一銀ナノ粒子からラマンスペクトル測定を行うことで確認されている。

単一分子のSERSスペクトルの特徴

単一分子のSERSスペクトルはおもしろい特徴(下記)を持っている。図1に、この特徴を示す単一分子(R6G)のSERSスペクトル測定例を示す。

- ・ラマンスペクトルが時間的に変化し、ラマンバンドがシフトしたり、バンドの相対強度が変化する。
- ・ラマンバンドが“blinking(点滅)”を起こす。すなわち全体的なラマン散乱強度が強くなったり、弱くなったりする。

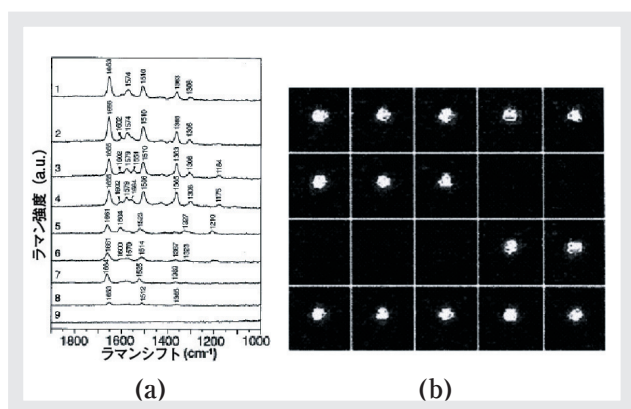


図1 単一分子(R6G)のSERSスペクトル測定例
(a)単一分子(R6G)のSERSスペクトルの時間変化(1秒毎測定)
(b)単一分子(R6G)のSERSスペクトルのblinking(点滅)

SERSの電磁機構

図2にSERS活性のある銀ナノ粒子凝集体のTEM像を示す。銀ナノ粒子はサイズや形状に依存して可視域から

近赤外域に強い共鳴を示す。この共鳴は銀粒子内の伝導電子の集団振動によるもので、局在表面プラズモン共鳴(Localized Surface Plasmon Resonance; LSPR)もしくは単に表面プラズモン共鳴(SPR)と呼ばれる。SPRにより銀ナノ粒子の周囲は強い電場に覆われるが、2個の銀ナノ粒子が近づくと、その接点付近に極めて強い増強電場が生じる。その接点に1~数個の分子が吸着すると、著しいSERS効果が生じる。図3にこの考え方を模式的に示す。

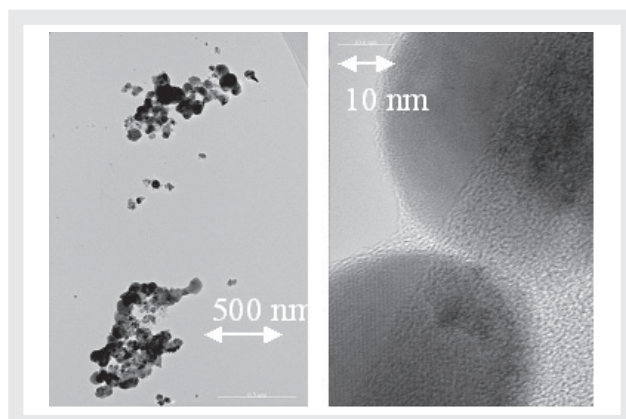


図2 SERS活性のある銀ナノ粒子凝集体のTEM像

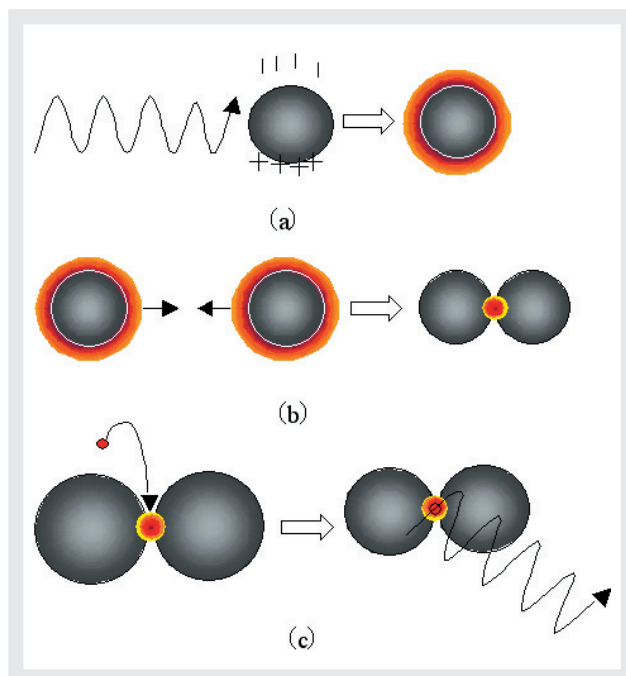


図3 SERS機構の考え方(模式図)
(a)光が当たると、ナノ粒子は伝導電子が振動して強い電場に覆われる
(b)強い電場におおわれた粒子の接点には非常に強い増強電場が生じる
(c)接点に分子が吸着すると、そこからSERSが出る

古典電磁気学的な計算から、この接点に強い増強電場が生じることがわかる。時間領域差分(Finite Difference Time Domain: FDTD)法を用いて近接した2個の銀ナノ

粒子(粒径60 nm)間(1 nm)に生じる増強電場を計算した。この増強電場は、 $10^8 \sim 10^{10}$ 倍のラマン散乱断面積の増大に対応し、SERSによるラマン散乱強度の増大をよく説明することがわかった。単一分子のラマン測定におけるラマン散乱断面積の増大は $10^{14} \sim 10^{15}$ である。 $10^{14} \sim 10^{15}$ と $10^8 \sim 10^{10}$ の差は、共鳴ラマン効果による増大($10^3 \sim 10^4$ 倍)もしくは電荷移動(CT)効果による増大($\sim 10^3$ 倍)によって説明される。もう一つ注目されるのは、増強電場が強い偏光依存性を示すことである(図4)。これは銀ナノ粒子が近接することにより、SPRが2粒子の長軸方向と短軸方向に分裂するからである。

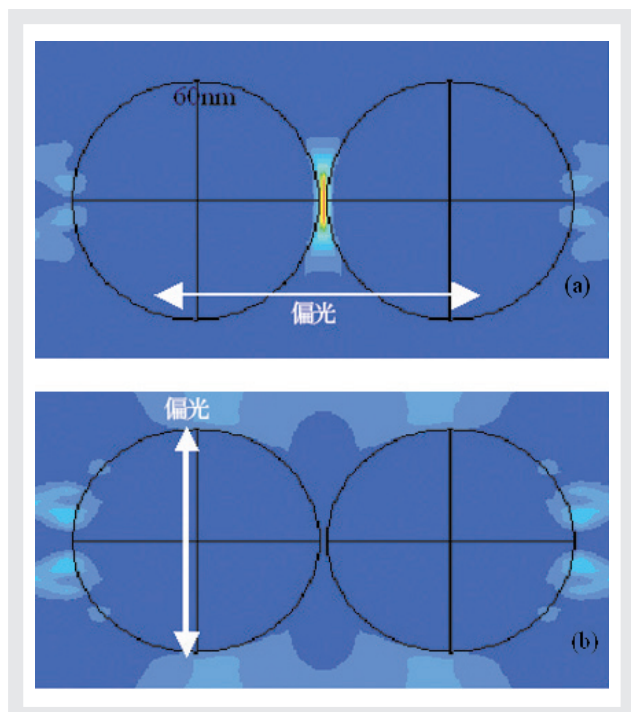


図4 FDTD法を用いて計算した近接した2個の銀ナノ粒子間に生じる増強電場
(a)偏光方向が2粒子の長軸方向の場合に強い増強電場が生じる
(b)偏光方向が2粒子の短軸方向の場合にはほとんど電場が生じない

SPR, SERS顕微分光システム

我々の研究室の伊藤らは、SPRが強い偏光特性を持つならSERSも強い偏光特性を持つだろうと考えて、同じ単一のナノ粒子系に対して、SPRスペクトルとSERSスペクトルの測定が可能なシステム(図5)を作って、両方の偏光特性が一致することを調べた。SPR励起光とSERS励起光が同じ場所を照射するようにし、更に試料からの光を集めて像を結ぶ所にピンホールを設けて、数100 nm程度の1つの銀粒子系のためのSPRとSERSスペクトルを測定できるようにした。

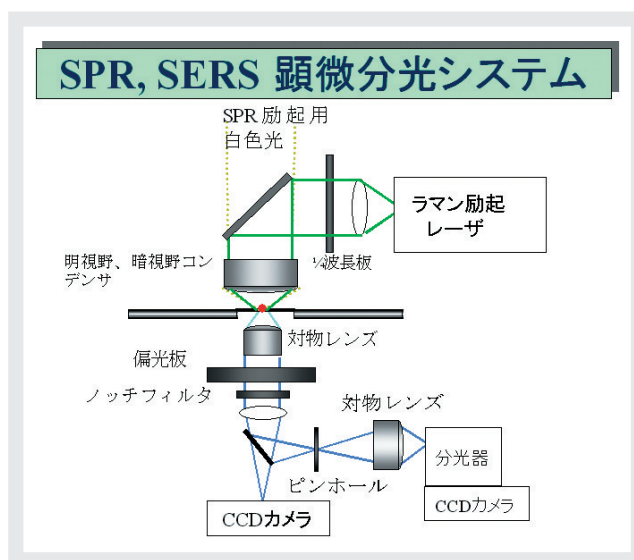


図5 単一銀ナノ粒子のSPR, SERS測定装置

SERS活性ナノ粒子凝集体の試料調整方法を図6に示す。

本分光システムの優れた特色の1つは、同一条件下で全く同じ単一金属ナノ粒子からSPRとSERSが測定できるという点である。2つ目は、暗視野顕微鏡下で選択的に単一金属ナノ粒子からの散乱光を測定することで、サイズが回折限界以下のナノ粒子の分光測定を近接場を用いず簡便に行うことができるという点である。これによりSPRとSERSの関係を直接捉えることができる。3つ目の特色は、多波長で分子の電子共鳴あるいは非共鳴領域でSERS分光が容易に行えるという点である。

単一銀ナノ粒子凝集体のSERSバンドとSPRバンドの偏光角依存性

図7に銀ナノ凝集体のSERSとSPRの偏光角依存性を示す。偏光角依存性は、図5の偏光板を回転させることにより測定した。

図7(c)に示すように、SERSバンドとSPRバンドの偏光角依存性はよく一致した。このことはSPRバンドの光学異方性がSERSの光学異方性を引き起こしたことを示す。更に、SERSバンドと同期するSPRバンドは、常に銀ナノ粒子凝集体長軸(凝集接点方向)に起因するものであった。この結果は銀ナノ粒子の凝集接点に吸着したR6G分子がそこに生じる増強電場と相互作用し、SERSを発現するというモデルを強く支持している。

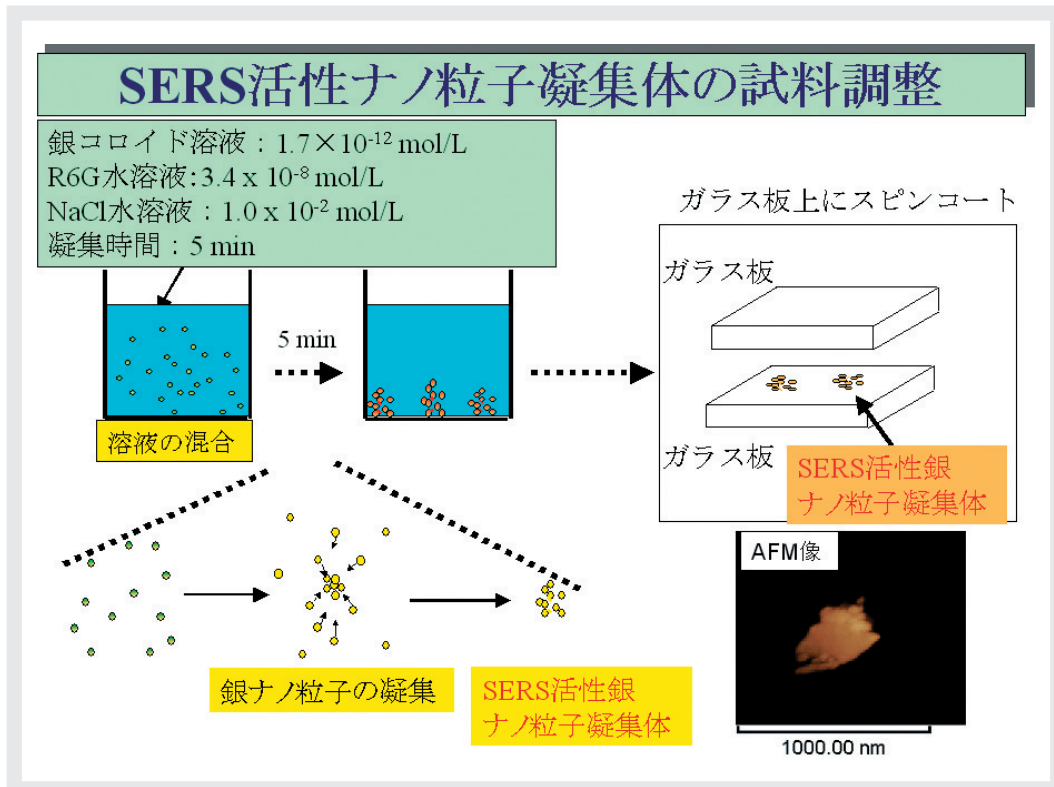


図6 SERS活性ナノ凝集体の試料調整

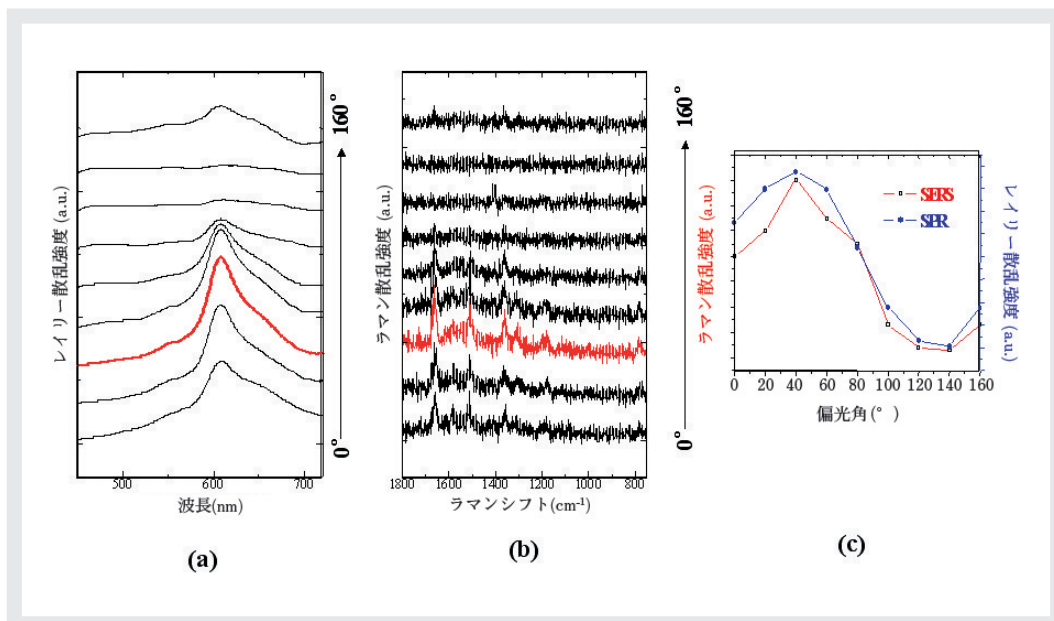


図7 単一銀ナノ粒子凝集体の偏光角依存性

(a)SPRバンド

(b)SERSバンド

(c)680 nmのSPRバンドのピーク強度(青線)と1660 cm⁻¹のSERSバンドのピーク強度(赤線)の偏光角依存性

SERS及びCT発光強度とSPR

通常のラマン散乱と異なり、SERSには常に広帯域の発光が重なる。この発光は金属と吸着分子が形成するCT準位からの発光遷移もしくは通常の蛍光がSPRと結合し増強されたものと考えられている。この発光がどちらによるものかはまだ明らかになっていないが、CT発光であることを示す結果がいくつかのグループから出されている。ここではCT発光として話を進めていく。我々は最近、双極子モードのSPRを有する単一銀ナノ粒子凝集体を選択し、そのSERS及びCT発光強度とSPRバンドの共鳴Q値との比較を試み、SERS発現機構を考察した。

偏光角依存性

図8(a)にSPRレイリー散乱光スペクトルとSERS及びCT発光スペクトルを示す。SPRレイリー散乱光スペクトルには、ピーク波長650 nmと450 nmを持つ2つのSPRバンドが現れている。短波長側と長波長側に現れたSPRバンド強度の偏光角依存性を図8(b)に示す。お互いのプロットは $\cos(2\theta)$ でよくフィッティングでき、それぞれの位相角は 90° 異なっている。この結果は、それぞれのバンドが凝集体の短軸と長軸に対応するSPRバンドであることを示している。図8(c)に凝集体長軸のSPRバンドとSERS及びCT発光強度の偏光角依存性を示す。このSPRバンド

がSERSやCT発光と同じ偏光特性を持つことが明らかである。この結果は、SERSとCT発光が、共に長軸に対応するSPRと結合し、増強されていることを示している。

SPRバンドの共鳴Q値とSERS及びCT発光強度

SPRバンドの共鳴Q値(Q 値 = E_{res} / G , E_{res} : ピークエネルギー, $1/G$; 緩和時間, G : SPRバンドの線幅)とSERS強度, CT発光強度との相関関係を調べた。Q値が大きいほどSPRの無輻射失活効率に対し輻射失活効率が高く、SERSを発現させる能力が高い。

長軸側と短軸側のSPRバンドの共鳴Q値を図9(a)に示す。同じ凝集体について、常に長軸側のQ値が短軸側より大きく、これが長軸側のSPRとSERSが効率よく結合し、それらの偏光角依存性が等しい理由と考えられる。また、従来のSPRモデルから、SERS強度は共鳴Q値の4乗に比例すると予想されているので、図9(b),(c)にQ値の4乗とCT発光強度, SERS強度との関係を示す。両者は共にQ値の4乗に対し正の相関を持つことが明らかに示されている。また、CT発光強度とSERS強度は比例することが図9(d)からわかる。これは両者の起源が同じであることを示唆している。これらの結果からSERSとは凝集体に生じる高強度電場によって増強されたCT共鳴ラマン散乱がSPRと結合し、輻射されたものとして考えられ

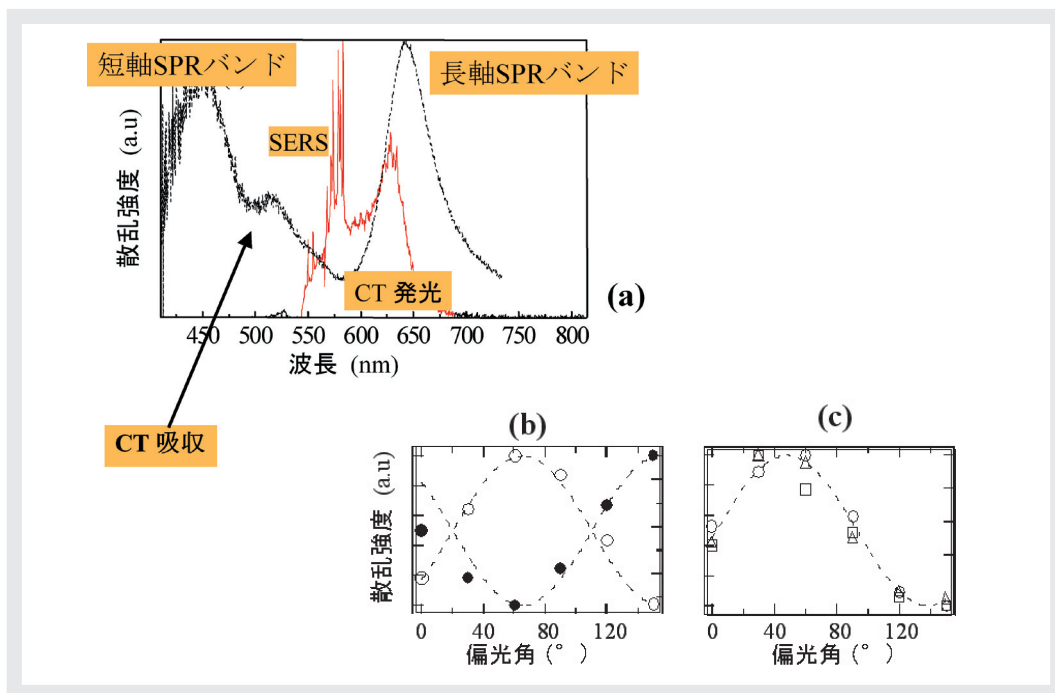


図8 SERS及びCT発光強度とSPR
 (a) SPRレイリー散乱光スペクトル(黒)とSERS及びCT発光スペクトル(赤)
 (b) 長軸SPRバンド(○)と短軸SPRバンド(●)の偏光角依存性
 (c) 長軸SPRバンド(○)とSERS(△)及びCT発光(□)の偏光角依存性

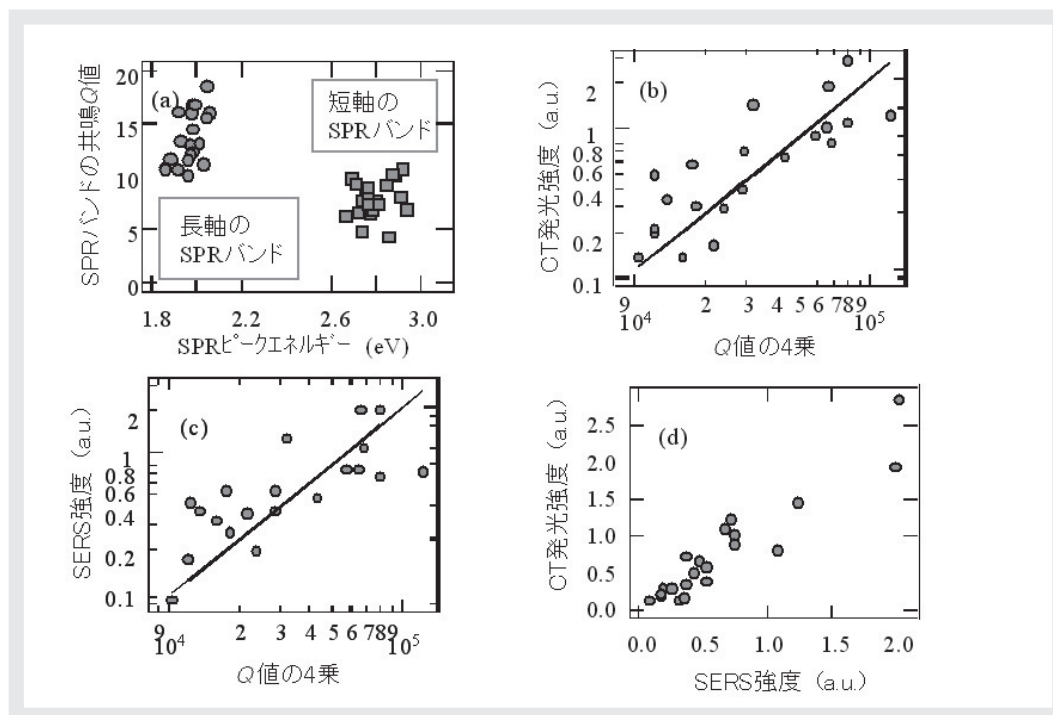


図9 SPRバンドの共鳴Q値とSERS及びCT発光強度
 (a)SPRバンドの共鳴Q値 (b)CT発光強度とSPRバンド共鳴Q値との関係
 (c)SERS強度とSPRバンド共鳴Q値との関係 (d)SERS強度とCT発光強度との関係

る。また、この結果はSERSを引き起こす増強電場の存在する局所的な領域だけでなく、銀ナノ粒子凝集体全体の構造が高Q値を与えることが、SERSを用いた分子分析の高効率化のために不可欠であることを示している。

おわりに

赤外分光法とラマン分光法は非常に古い分光法で、赤外に至っては19世紀からあるが、しかしいつの時代にも非常に重要であって最先端をいっている分光法である。特に最近の赤外分光器とラマン分光器の進歩は、光源から検出器に至るまで非常にすばらしいものがある。これらをうまく用いると、いろいろな最先端の科学の研究ができる。今回紹介したものも、その一例である。

<堀場雅夫賞審査委員講演会(2005年5月10日)より抜粋>