

Title	伝搬型表面プラズモン共鳴により増強されたラマン散 乱スペクトルの定量評価
Author(s)	本多, 巧一
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/92124
rights	Reproduced in part with permission from Honda K., Ishitobi H., Inouye Y Incident Angle Dependence of Raman Scattering for Distinct Vibrational Modes Enhanced by Surface Plasmon Resonance Excited on a Silver Thin Film. Journal of Physical Chemistry C 125, 27678 (2021); https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c09119. Copyright 2021 American Chemical Society.
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

博士学位論文

伝搬型表面プラズモン共鳴により増強された

ラマン散乱スペクトルの定量評価

Quantitative evaluation of Raman scattering spectra enhanced by propagating surface plasmon resonance

2023年3月2日生命機能研究科生命機能専攻ナノ・バイオフォトニクス研究室本多巧一

目次

Abstract	3
序論	4
第1音 実面増強ション戦争	

第1章 表面増強ラマン散乱

1.1.	ラマン散乱	6
1.2.	局在型表面プラズモン共鳴	11
1.3.	局在型表面プラズモン共鳴により増強されたラマン散乱	13

第2章 伝搬型表面プラズモン共鳴により増強されたラマン散乱

2.1.	伝搬型表面プラズモン共鳴	19
2.2.	伝搬型表面プラズモン共鳴により増強されたラマン散乱	26

第3章 銀薄膜の減衰全反射計測

3.1.	減衰全反射計測光学系	33
3.2.	銀薄膜の減衰全反射計測	35
3.3.	銀薄膜の表面粗さの評価	36
3.4.	結論	37

第4章 伝搬型表面プラズモン共鳴により増強されたラマン散乱の分光計測

4.1.	ラマン分光計測光学系	39
4.2.	実験方法	40
4.3.	ラマン散乱光強度の入射角度依存性	41
4.4.	共鳴ラマン散乱現象の定量評価	48
4.5.	表面プラズモン共鳴非励起条件下でのラマン分光計測	49
4.6.	試料側に放射されたラマン散乱光の分光計測	51
4.7.	結論	55

第5	章 伝搬型表面プラズモン共鳴により増強されたラマン散乱の顕微分光言	測
5.1.	顕微ラマン分光計測装置	60
5.2.	実験方法	67
5.3.	射出瞳のイメージング及び輪帯光強度の計測	68
5.4.	ラマン散乱の顕微分光計測	74
5.5.	結論	80
総括		84

業績リスト	86
謝辞	88

Abstract

Surface-enhanced Raman scattering (SERS) is a phenomenon in which localized surface plasmon resonance (LSPR) excited on metallic nanostructures increases the intensity of Raman scattered light from molecules near the metal surface. Although SERS can detect Raman scattered light with high sensitivity, it is difficult to predict analytically because the surface plasmon resonance enhancement factor (SPR-EF) strongly depends on the nanostructure of the metal. Raman scattering can also be enhanced by propagating surface plasmon resonance (PSPR), which is excited on a metal thin film. Since PSPR is excited on a flat metal thin film, this enhanced Raman scattering phenomenon can be analyzed by electromagnetic field analysis.

In this thesis, I built an optical system combining an attenuated total reflection optical system and a Raman spectroscopic system, and quantitatively evaluated the incident angle dependence of the Raman scattered light intensity of several bands (618, 780, 1190, 1364, 1653 cm⁻¹) of rhodamine 6G (R6G) enhanced by PSPR excited on the surface of silver thin film. It was found that the incident angle dependence of the Raman scattered light intensities of the five bands is consistent with the product of the SPR-FE of the incident light and the light of each Raman scattered light between the bands and the molecular vibration mode of each Raman scattering, the resonant Raman scattering phenomenon of R6G was quantitatively evaluated. In summary, this study has succeeded in quantitatively evaluating the enhanced Raman scattering phenomenon of R6G by PSPR excited on the silver thin film surface by SPR-EF and resonant Raman effect.

Furthermore, I built an enhanced Raman microscopic system that combined a PSPR microscopic optical measurement system with a high numerical aperture objective lens and a Raman spectroscopic system, for spectroscopic measurements of enhanced Raman scattering by PSPR excited on a metal thin film through the objective lens. When PSPR was excited on a silver thin film by controlling the angle and polarization of incident light on the silver thin film through an objective lens, the enhanced Raman scattered light of R6G was detected. The angle dependence of the Raman scattered light intensity was successfully evaluated by SPR-EF of the incident light. The result indicates that the SERS phenomenon excited by PSPR can be applied to high-sensitive microscopic Raman imaging.

表面増強ラマン散乱(surface-enhanced Raman scattering, SERS)は、金属ナノ構造 体に励起される局在型表面プラズモン共鳴(localized surface plasmon resonance, LSPR)により、金属表面近傍に存在する分子のラマン散乱光強度が増大する現象であ る. SERS はラマン散乱光の高感度検出を実現するが、表面プラズモン共鳴増強度 (Surface plasmon resonance enhancement factor, SPR-EF)が金属の微細な構造に敏感に 依存することから、解析的な予測が難しい、ラマン散乱光は金属薄膜上に励起される伝 搬型表面プラズモン共鳴(propagating surface plasmon resonance, PSPR)によっても 増強することができる. PSPR はナノ構造がない平坦な金属薄膜上に励起されることか ら、この増強ラマン散乱現象は、電磁界的に解析することができる.

本論文では,減衰全反射光学系とラマン分光計測光学系を組み合わせた光学実験装置を作製し,銀薄膜表面に励起した PSPR により増強されたローダミン 6G (R6G)の 複数のバンド (618,780,1190,1364,1653 cm⁻¹)のラマン散乱光強度の入射角度依存性 を定量評価した.この研究により,5 つのバンドのラマン散乱光強度の入射角度依存性 は,入射光と各ラマン散乱光の波長の光の SPR-FE の積と一致することを見出した.さ らに,バンド間のラマン散乱光の強度比と各ラマン散乱の分子振動モードを解析する ことにより,R6Gの共鳴ラマン散乱現象を定量的に評価することができた.以上のこと から,この研究により銀薄膜表面に励起した PSPR による R6G の増強ラマン散乱現象 を,SPR-EF と共鳴ラマン効果により定量的に評価することに成功した.

さらに本論文では、高開口数対物レンズを用いた PSPR 顕微光計測系とラマン分光計 測光学系を組み合わせた顕微ラマン分光計測装置を作製し、金属薄膜に励起した PSPR による増強ラマン散乱の分光計測を,対物レンズを用いた顕微光学配置で実現する研 究を行った.対物レンズを介して銀薄膜へ入射する光の角度と偏光を制御して,銀薄膜 上に PSPR を励起したときに,R6G の増強ラマン散乱光が検出された.また,このラマ ン散乱光強度の入射角度依存性は,入射光の SPR-EF により評価できることを確認した. この研究により,PSPR により励起される表面増強ラマン散乱現象を高感度顕微ラマン イメージングに応用できる可能性を示した.

最後に本論文の構成について解説する. 第1章では,研究背景の中で重要は位置づけ となるラマン散乱と表面増強ラマン散乱について解説する. 第2章では,本研究の手法 として用いた伝搬型表面プラズモン共鳴とそれにより増強されたラマン散乱について 解説する. 第3章では,減衰全反射光学系の作製とそれを用いて行った銀薄膜の減衰全 反射計測実験について報告する. 続いて第4章では,減衰全反射光学系とラマン分光計 測光学系を組み合わせた光学系を作製し, PSPR により増強されたローダミン 6G のラ マンスペクトルを計測し定量評価した結果について報告する. 第5章では, PSPR 顕微 光計測系とラマン分光計測系を組み合わせた顕微ラマン分光計測装置の作製と,これ を用いて測定した PSPR により増強されたローダミン 6G のラマンスペクトルを定量 評価した結果について報告する.

5

第1章 表面増強ラマン散乱

本章では,研究背景において重要な位置づけとなっている表面増強ラマン散乱につ いて解説する.はじめに,ラマン散乱について解説し,局在型表面プラズモン共鳴と, それによりラマン散乱が増強される現象,すなわち表面増強ラマン散乱について解説 する.前半のラマン散乱のセクションでは,ラマン散乱現象そのものについての基礎的 な理解とラマン散乱現象を定量するラマンスペクトルの実際について解説する.加え て,本研究で取り扱った共鳴ラマン散乱についても解説する.後半のセクションでは, 局在型表面プラズモン共鳴について述べたうえで,表面増強ラマン散乱の原理と研究 の歴史的背景について解説する.

1.1. ラマン散乱

光が分子と衝突すると散乱する. これは, 巨視的には一部の光の進行方向が変わると いう現象であり, 微視的には光と分子が双極子として相互作用するという現象である. このうちのほとんどは, レイリー散乱と呼ばれる入射光と同じ振動数の散乱光となる 弾性散乱である. しかし, ごく一部の散乱光は, 分子との相互作用を介して, 入射光と 異なる振動数の光となって散乱する. これらは非弾性散乱と呼ばれ, そのうち, 入射光 と散乱光の振動数の差が, 光が衝突した分子の遷移角振動数に等しい非弾性散乱現象 をラマン散乱という. この現象は, 1928 年に Raman と Krishmann によって初めて報告 され^[1], 発見者の名に因みラマン効果と名付けられた.

ラマン散乱光は,分子振動に関する情報を有することから,ラマン分光法は,大気中 で, 非侵襲的に分子構造や分子の空間分布を知る技術として,物理学,化学を中心に 幅広い分野で使用されている.また,非染色,非標識で生きた細胞動態の計測が可能で あることから,1970年代以降,生命科学や医学の研究分野でのラマン分光法の活用事例 が増加している.

しかし、ラマン散乱光はレイリー散乱光と比較して何桁も強度が小さいという特徴 があり、これがラマン分光法の応用の技術的な制限となっている.散乱光強度は、散乱 断面積で定量的に表現することができる.散乱断面積は、分子を粒子とみなし、これを 標的として光を入射したときに散乱が起こる確率を、標的の断面積で表す量子力学的 な解釈である.ラマン散乱の散乱断面積は、ラマン散乱選択律に依存することから実際 には幅広い値をとるものの、大きいものであっても 10⁻²³ cm²程度である.これは強い蛍 光よりも 10⁻¹⁰ ほど小さいことから^[2]、ラマン散乱光強度は非常に微弱であると言える.

続いて、ラマン散乱の原理を微視的な視点から詳細に解説する.電場の影響がない状態で孤立した分子を想定する.この場合分子は、静電気的に中性である.その分子に電場が作用すると、分子の中性的な静電状態が崩れ、双極子モーメントを生ずる.光は電磁波、つまり振動電場であることから、上記の通り、光にさらされた分子は双極子モーメントを誘起される.この結果、光の電場の振動により光と衝突した分子は、光の電場の振動数と同じ振動数の双極子モーメントを生じる.これがレイリー散乱の光学過程である.この場合は確かに、散乱前後で光の振動数は変化せず、弾性的な散乱現象であることが分かる.一方で、分子自身も分子構造に由来する固有の振動モードを持っている.そのため、光が物質に衝突すると、光の電場の振動と分子の振動が相互作用する. ラマン散乱はこの光学過程により生ずる. ω_s を散乱光の振動数、 ω_l を入射光の振動数、 ω_m を分子の固有振動として、これらの現象を数式化すると、レイリー散乱は $\omega_s=\omega_i$ 、ラマン散乱は $\omega_s=\omega_i\pm\omega_m$ とそれぞれ表すことができる.ラマン散乱における ω_m 、すなわち分子振動に由来する振動数の増減量は、ラマンシフトと呼ばれる.ラマンシフト が負の場合はストークスラマン散乱,正の場合はアンチストークスラマン散乱と呼ば れる.ストークスラマン散乱光の振動数は,入射光の振動数よりもラマンシフト分振動 数が小さい.つまりストークスラマン散乱光は入射光よりも波長が長い.この現象は, 散乱過程で入射光のエネルギーが分子振動により奪われたとエネルギー論的に解釈す ることもできる.反対に,散乱光の振動数がラマンシフト分増加するアンチストークス ラマン散乱は,散乱過程で分子振動によりエネルギーがもたらされ,入射光よりもエネ ルギーが大きい波長の短い光となって散乱する現象であると解釈することができる.

続いて, ラマン散乱の実際について解説する. ラマン分光計測結果は, 横軸にラマン シフトと呼ばれる入射光とラマン散乱光の波長の差の大きさを波数に換算した物理量, 縦軸に強度をとるスペクトルで表示する. 波数とは, 1 cm の長さに入る波の数であり, 単位は cm⁻¹である. 入射光の波長とラマン散乱光の波長をそれぞれλ_i [nm], λ_s [nm] とすると, ラマンシフト R [cm⁻¹]は以下のように算出される.

$R = \frac{1}{\lambda_i \times 10^{-7}} - \frac{1}{\lambda_s \times 10^{-7}} \quad (1.1)$

例として以下に、本研究において実際に作製したラマン分光計測装置で測定したエ タノールのラマンスペクトルを示す. 波長 532 nm のレーザー光を入射し、おおむね 540 nm よりも長い波長の光を透過するフィルターを介して、ストークスラマン散乱光 を分光計測した. 図 1.1 は、計測したラマン散乱光のスペクトルを波長で表示したもの で、図 1.2 はラマンスペクトルである. スペクトルは、432、883、1049、1092、1277、1452、 2717、2748、2879、2926、2970、3121 から 3565 cm⁻¹にエタノールのラマン散乱信号を呈 した. ラマン散乱がエタノール分子のどの振動に由来するのかは、実験や量子化学計算 などにより明らかにされた文献値を参照することにより、同定することができる. 実際 に文献値を参照し、各ラマン散乱の由来となる分子振動を調べたところ、432 cm⁻¹は C-C-O 変角振動^[3]、883 cm⁻¹は C-C 伸縮振動^[3]、1049 cm⁻¹は C-O 伸縮振動^[3]、1092 cm⁻¹は C-C 伸縮振動と OHねじり振動^[3], 1277 cm⁻¹は CH₂縦揺れ振動^[3], 1452 cm⁻¹は CH₃ 変角振動^[3], 2717 と 2748 cm⁻¹は倍音^[3], 2879, 2926, 2970 cm⁻¹は炭化水素の伸縮振動の 混合^[3, 4], 3121 から 3561 cm⁻¹のなだらかなピークは OH 伸縮振動^[3]に由来しているこ とが分かった. 各ラマン散乱に対応する振動モードの割り当てと文献値は, 表 1.1 にま とめた.



図 1.1. エタノールのラマン散乱光のスペクトルを波長に対してプロットしたグラフ



表 1.1. エタノールのラマンバンドと振動モード

Raman	Raman bands in the literature [cm ⁻¹]			
bands in		Durlg et al. [3]	Kan	ogawa et al. ^[4]
this study	Raman bands ^a	assigned vibrational modes	Raman bands ^b	assigned vibrational modes
[cm ⁻¹]				
432	422	C-C-O bending		
883	883	C-C stretching (C-C-O)		
1049	1055	C-O stretching (C-C-O)		
1092	1093	C-C stretching, O-H torsion		
1277	1270	CH ₂ wagging		
1452	1460	CH3 asymmetric deformation		
2717	2730	overtone		
2748	2770	overtone		
2879	2887	CH ₂ symmetric stretching	2875	CH ₂ symmetric stretching
2926	2939	CH3 symmetric stretching	2927	CH3 symmetric stretching
2970	2985	CH3 asymmetric stretching	2974	CH2 asymmetric stretching
3121-3565	3659	OH stretching		
	3675	OH stretching		

^a Gaseous ethanol with 514.5 nm excitation (argon ion laser). ^b Liquid ethanol with 514.5 nm excitation (argon ion laser). The values were quantified from spectrum in Figure 1 of the reference ^[4].

上記では,最も基本的なラマン散乱の原理と実際について解説したが,高出力レーザ ーやパルスレーザーの登場により,ラマン散乱が高強度なレーザー光照射により生じ る強い光電場と相互作用することで誘起される,ハイパーラマン散乱や誘導ラマン散 乱などの非線形ラマン散乱と呼ばれる他の分類のラマン散乱現象も存在する.ちなみ に,上記で解説した基本的なラマン散乱は,自発ラマン散乱に分類される.またこれら の他に,共鳴ラマン散乱と呼ばれる分類も存在する.本論文では,自発ラマン散乱に加 え共鳴ラマン散乱を取り扱っていることから,最後に共鳴ラマン散乱について解説す る.

共鳴ラマン散乱は,電子共鳴効果を含んだラマン散乱現象である.入射光の角振動数 が,散乱する分子の電子遷移角振動数に近い条件,つまり入射光により分子が励起状態 になる条件下でのラマン散乱では,その散乱過程で電子共鳴効果が発生し,ラマン散乱 光強度が増大する.また共鳴ラマン散乱は,自発ラマン散乱と異なる選択律や偏光則を 持つ.そのため,共鳴ラマン散乱スペクトルのラマン信号のピークは,自発ラマンスペ クトルとは異なるラマンシフトや強度比を呈す.

1.2. 局在型表面プラズモン共鳴

続いて、局在型表面プラズモン共鳴(Localized surface plasmon resonance, LSPR) に ついて述べる.金や銀などの貴金属を中心とした多くの金属は、その内部に大量の自由 電子を有している.それらの金属のサイズを小さくしていくと、次第に比表面積が大き くなり、表面に存在する電子の量が増加する.そして金属が光の波長よりも小さいナノ 粒子などの構造体であるとき、これらに光を照射すると、LSPR が励起される(図1.3). これは、金属ナノ構造体表面の自由電子が、光の振動電場にさらされることにより、金 属表面に周期的な粗密波を生じる現象である(図 1.4). LSPR は, ナノメートルレベル の空間に閉じ込められた非伝搬光であり, 光電場の増強効果を有する. LSPR の励起条 件やその電場増強の大きさは, 光の波長, 金属の材質や大きさ, 形状, 金属周囲の屈折 率により異なる. 金属を例に挙げたが, 厳密には合金や半導体材料の一部にも LSPR を 励起するものがある.



図 1.3. 光電場にさらされた金属ナノに LSPR が励起される様子の概念図



図 1.4. 金属ナノに励起された LSPR の概念図

1.3. 局在型表面プラズモン共鳴により増強されたラマン散乱

ラマン散乱は表面プラズモン共鳴により増強することができる.これは,表面増強ラ マン散乱(Surface-enhanced Raman scattering, SERS)と呼ばれ,一般的には銀や金な どの金属ナノ構造体に励起されるLSPRにより生じる局所電場により,ラマン散乱が増 大する現象である.SERSは、ラマン散乱の散乱断面積を増大し、ラマン散乱光の高感度 な検出を実現する.特に,露光時間や入射光の照射強度に制限があり、かつ秒以下の単 位の変化を捉えたい生体や細胞の動態計測への応用には大きな需要がある.

SERS の最初の観測は 1974 年に Fleischmann らによって報告された^[5].彼らは,電気 化学的に粗造にした銀電極表面に吸着したピリジンのラマン散乱を測定した.当初彼 らは,銀電極の表面を粗造にすることでその表面積を大きくし,ピリジン分子の吸着量 を増大し,より強いラマン散乱光を検出することを想定していた.しかし,実際に測定 されたラマン散乱光は,銀の表面積の増大効果だけでは説明がつかないほど著しく強 かった.その後,銀ナノ構造体に吸着したピリジンのラマン散乱光は 10⁵~10⁶の増強係 数を呈すことが同時期に複数の研究により報告された^[6,7].さらに,Moscovits は,この ラマン散乱光強度の増大は,銀ナノ構造体に生じる自由電子の集団振動,つまり LSPR の電場増強効果によりもたらされることを提唱した^[8]. SERS 現象はこのような経緯で, 発見から定説化に至った.

その後,1977 年に Nie と Emory により, 色素分子であるローダミン 6G (R6G) の 単一分子の SERS 信号検出が報告された. 彼らは, 銀ナノ粒子の凝集体における銀ナノ 粒子間の微小な空隙に吸着した R6G の一分子のラマン散乱光が 10¹⁴-10¹⁵ 増強されたこ とを実験的に示した^[9]. このような金属ナノ構造体の微小な空隙は, 後に「ホット・ス ポット (hot spot)」もしくは「ホット・サイト (hot site)」などと呼ばれるようになり, 孤立した金属ナノ構造体の表面よりもさらに強い LSPR による増強電場を生じること が広く知られるようになった. Nie らは, このホット・スポットの強い電場増強効果と, 前述した共鳴ラマン散乱効果を応用することで, ラマン分光法による一分子検出が可 能な水準の増強効果を得たのだった.

さらに, 1999 年から 2000 年にかけて 3 つの研究グループから, ナノメートルスケー ルの金属の針の先端の LSPR により SERS を励起する先端増強ラマン散乱 (Tipenhanced Raman scattering, TERS) が報告された^[10-13]. TERS は, 原子間力顕微鏡 (Atomic force microscopy, AFM)とラマン分光計測系を組み合わせた光学系で成り立 ち, 現在では標準的な SERS 顕微鏡のひとつとなっている.

続いて SERS の原理について解説する. SERS の原理は,前述の Moskovits の提唱に端 する LSPR による電場増強効果と,化学増強と呼ばれる金属ナノ構造体と分子の界面の 電子移動による共鳴効果^[14]が提唱されている. LSPR による電場増強効果は,その名の 通り,金属ナノ構造体の表面に励起される LSPR の電場増強により,金属ナノ構造体表 面近傍に存在する分子のラマン散乱光が,電磁気的な効果で増大する現象である.その 理論は 1980 年代に体系化され, SERS の主要な原理として位置づけられている^[15]. LSPR がもたらす電場増強度は,金属ナノ構造体の大きさや形状,凝集状態などに強く依存す るうえ,金属ナノ構造体表面からの距離が大きくなるについて指数関数的に減衰する. 増強ラマン散乱光強度の定量性や再現性が低いことや,理論的予測が困難であること が SERS の実験研究の課題となっているが,これらは金属ナノ構造依存性や金属表面か らの急激な減衰といった LSPR の電場増強効果の性質に起因するところが大きい.

化学増強効果は、金属ナノ構造体表面とそれに吸着した分子間の電子移動現象によ りもたらされる.金属と分子が化学結合し、さらに金属と分子のエネルギー水準が互い に近く、電荷移動が容易に起きるエネルギー配置であるとき、金属と分子の界面で電子 移動が共鳴的に誘起される.したがって化学増強効果は、電場増強効果よりもさらに金 属や分子種に対して選択的である.加えて,化学増強効果は,分子の吸着サイトなどに よって決定される微細な分子の電子状態にも強く依存する.化学増強効果は,定性的な 理解はされているものの,理論的にも実験的にも定量的な理解はされておらず,電場増 強効果よりもさらに未解明な部分が多い.これには,現象が複雑であることに加え,電 場増強効果よりも増強度が小さく,SERS への寄与が少ないことから,盛んに研究され てこなかったという歴史的経緯もある^[15].

最後に,金属ナノ構造体表面と分子間の距離と SERS 効果の関係について解説する.前述 の通り,LSPR がもたらす電磁気的な増強度は,金属ナノ構造体表面から遠ざかるにつれて 指数関数的に減衰する.このため当然,LSPR がもたらす電磁気的な増強ラマン効果も,金 属ナノ構造体表面と被分析分子の間の距離に対して指数関数的に減衰する.さらに,金属 ナノ構造体表面と分子の距離がゼロ,つまり分子が金属表面に直接吸着している場合は, 電磁気的な増強効果に加えて化学増強効果が生じることから,実際の金属表面と分子の距 離に対する SERS 強度の減衰は,指数関数で与えられる SPR-EF の減衰よりもさらに急激 なものとなる^[16, 17].サブナノメートルスケールで金属表面-分子間距離と SERS 強度の関係 を定量評価した先行研究では,SERS 強度は 1 nm 以下^[16, 17],長くとも 2 nm 程度で半減する ことが報告されている^[18].このことから SERS 現象は,金属ナノ構造体表面に吸着する分 子,もしくはそこから数ナノメートルの領域のごく近傍に存在する分子に対して選択的に 起きるものと考えられる.

SERS の研究においては, 増強ラマン現象の原理の解明や定量的な計測・評価方法を 発展させること, 標準的な技術を確立することが課題となっている. そのうえで, 実験 研究における SERS 現象の定量評価や, 増強度の定量性や再現性, 理論的予測との一致 性は重要な議題となる.

15

参考文献

- C.V. Raman and K.S. Krishmann, "A new type of secondary radiation," *Nature*, **121**, 501 (1928).
- 2. 濱口宏夫, 岩田耕一, ラマン分光法, 講談社 (2015).
- J. R. Drulg, W. E. Bucy, and C. J. Wurrey, "Raman spectra of gases. XVI. Torsional transitions in ethanol and ethanethiol," *The journal of Physical Chemistry*, **79**, 988 (1975).
- K. Kamogawa, S. Kaminaka, and T. Kitagawa, "Behavior of ethanol in various binary solutions: Difference Raman spectroscopy on the C-H stretching vibrations," *The journal of Physical Chemistry*, **91**, 222 (1987).
- 5. M. Fleischmann, P. J. Hendra, and A. J. McQuillan, "Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode," *Chemical Physics Letters*, **26**, 163 (1974).
- D. L. Jeanmaire and R. P. Van Duyne, "Surface Raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode," *Journal of Electroanalitical Chemistry, Interfacial Electrochemictry*, 84, 1 (1977).
- M. G. Albrecht and J. A. Creighton, "Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode," *Journal of the American Chemistry Society*, 99, 5215 (1977).

- M. Moskovits, "Surface roughness and the enhanced intensity of Raman scattering by molecules adsorbed on metals," *The Journal of Chemical Physics*, 69, 4159 (1978).
- 9. S. Nie and S. R. Emory, "Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering," *Science*, **275**, 1102 (1997).
- 10. Y. Inouye, N. Hayazawa, K. Hayashi, Z. Sekkat, and S. Kawata, "Near-Field Scanning Optical Microscope Using a Metallized Cantilever Tip for Nanospectroscopy," In Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering, Vol. 3791, p 40. (1999).
- 11. R. M. Stöckle, Y. D. Suh, V. Deckert, and R. Zenobi, "Nanoscale chemical analysis by tip-enhanced Raman spectroscopy," *Chemical Physics Letters*, **318**, 131 (2000).
- M. S. Anderson, "Locally enhanced Raman spectroscopy with an atomic force microscope," *Applied Physics Letters*, **76**, 3130 (2000).
- 13. N. Hayazawa, Y. Inouye, Z. Sekkat, and S. Kawata, "Metallized tip amplification of near-field Raman scattering," *Optics Communications*, **183**, 333 (2000).
- 14. A. Otto, I. Morzek, H. Grabhorn, and W. Akemann, "Surface-enhanced Raman scattering," *Journal of Physics: Condensed Matter*, **4**, 1143 (1992).
- 15. K. Kneipp, Y. Ozaki, and Z. Q. Tian, "Recent developments in plasmon-supported Raman spectroscopy," World Scientific Publishing Europe Ltd. (2018).

- 16. Q. Ye, J. Fang, and L. Sun, "Surface-enhanced Raman scattering from functionalized self-assembled monolayers. 2. Distance dependence of enhanced Raman scattering from an Azobenzene terminal group," *The Journal of Physical Chemistry B*, 101, 8221 (1997).
- 17. S. S. Masango, R. A Hackler, N. Large, A. I. Herry, M. O. McAnally, G. C. Schatz, P. C. Stair, and R. P. Van Duyne, "High-resolution distance dependence study of surface-enhanced Raman scattering enabled by atomic layer deposition," *Nano Letters*, 16, 4251 (2016).
- G. Compagnini, C. Galati, and S. Pignataro, "Distance depence of sueface enhanced Raman scattering probed by alkanethiol self-assembled monolayer," *Physical Chemistry Chemical Physics*, 1, 2351 (1999).

第2章 伝搬型表面プラズモン共鳴により増強された ラマン散乱

この章では、本研究で取り扱った伝搬型表面プラズモン共鳴により増強されたラマ ン散乱について解説する.前半のセクションで、伝搬型表面プラズモン共鳴の原理を説 明するとともに、本研究で制作した減衰全反射計測法について解説する.後半のセクシ ョンでは、伝搬型表面プラズモン共鳴により増強されたラマン散乱について解説する. 重要な先行研究とそれらから得られた知見について、歴史的な経緯に沿って解説し、そ の光学過程について解説したうえで、本研究の位置づけについて述べる.

2.1. 伝搬型表面プラズモン共鳴

伝搬型表面プラズモン共鳴を解説するにあたり,あらためて表面プラズモンについ て述べる.そもそもプラズマとは,自由に運動する正・負の電荷粒子が共存して静電気 に中性になっている状態のことである.金属も結晶格子を構成する陽イオンとその周 りの自由電子から成ることからプラズマである.金属に電場などの外力が作用すると, 自由電子の均衡が乱れ,互いに働くクーロン力により,集団的な振動運動が生じる.こ の電子,または電子の集団的な振動をプラズモンという.プラズモンには,金属中を伝 搬するバルクモードと金属表面近傍に局在する表面モードがある.表面プラズモンは, そのうちの表面モードのプラズモンを指す.表面プラズモンは,金属表面から遠ざかる につれて指数関数的に減衰するエバネッセント波である.この表面プラズモンが伝搬 光と結合することで共鳴的に励起する現象を表面プラズモン共鳴という. 表面プラズモン共鳴は、前述の LSPR と伝搬型表面プラズモン共鳴(propagating surface plasmon resonance, PSPR)に大別される. PSPR は平滑な金属薄膜表面に励起される表面プラズモン共鳴であり、金属薄膜表面を連続的に伝搬する(図 2.1). 伝搬型表面プラズモンは、局在型表面プラズモンのように空間を伝搬する光とは直接結合しないので、PSPR は単に金属薄膜に光を照射するだけでは励起されない. PSPR は、エバネッセント波と呼ばれる全反射で染み出す非伝搬光を伝搬型表面プラズモンと結合させることで励起することができる. これを実現する光学的な配置として、オットー配置^[1] とクレッチマン配置^[2]と呼ばれるプリズムと金属薄膜を結合させた配置が提案されている. ここでは、主流で用いられており、かつ本研究でも使用しているクレッチマン配置を例にとり、PSPR の原理と実際について解説する.



図 2.1. 金属表面の伝搬型表面プラズモンの概念図

クレッチマン配置は,図 2.2 のように,高屈折ガラスプリズムの底面に金属薄膜が張 り付けられた配置を指す.プリズムの底面に直接金属薄膜を製膜することが,原初的な クレッチマン配置の作製方法であるが,現在はガラスプリズムと同じ屈折率を持つカ バースリップに金属薄膜を製膜し, その基板試料のガラス側の面とガラスプリズム底 面を, ガラスと同じ屈折率のオイルを介して接合する簡便な方法が普及している. 金属 薄膜の膜厚は, 入射光の波長や金属の材質によるが, 一般的に 40 nm から 60 nm の範 囲のものが用いられる.

高屈折率媒質(屈折率 n₂)から低屈折率媒質(屈折率 n₃)に臨界角以上の角度で光を 入射すると全反射する.全反射条件において低屈折率側に透過する成分の光はエバネ ッセント波となる.このエバネッセント波の波長は、入射光の境界面方向成分の波長に 等しい.この波長は、高屈折率媒質中を進行する光の波長と入射角度に依存し、低屈折 率媒質中を進行する光の波長よりも必ず短い.入射光の波長をλ [nm]とすると、高屈 折率媒質中の波長は λ/n₂ [nm],エバネッセント波の波長は λ/(n₂sin θ) [nm]と表せる. なお、このエバネッセント波の振動電場は境界面から放射されず、境界面から離れるに つれて指数関数的に減衰する.このエバネッセント波の性質は図 2.3 に示した.エバネ ッセント波と金属薄膜の表面プラズモンが空間的に重なり、なおかつ両者の波数と角 周波数が一致したときに、両者が結合し表面プラズモン共鳴が励起される.この入射光 のエバネッセント波と表面プラズモンの結合は、分散関係と呼ばれる波数と角周波数 の関係から解析的に理解することができる.

上記の表面プラズモン共鳴の励起条件について,分散関係に基づいて解説する.はじ めに伝搬光について考える. 伝搬光の角周波数と波数は比例関係にあり,高屈折率媒質 中を伝搬する光の分散関係は以下のように表すことができる.cは光速, ε₂は高屈折率 媒質の誘電率である.

 $k = \frac{\omega}{c} \sqrt{\varepsilon_2}$ (2.1)

エバネッセント波の分散関係は以下の式で表すことができる. ここでは,境界面と平 行な成分(x)のみを考える.

$$k_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\varepsilon_2} sin\theta \quad (2.2)$$

また,表面プラズモンの分散関係は以下のように表すことができる. ε₃は低屈折率 媒質の誘電率である.

$$k_{\chi} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\varepsilon_2 \varepsilon_3}{\varepsilon_2 + \varepsilon_3}} \quad (2.3)$$

この二つの分散関係をグラフにしたものを図 2.4 に示した. エバネッセント波は, 伝 搬光と同様波数と角周波数が比例しているが, 表面プラズモンの分散関係においては, 波数が大きくなっても角周波数は線形的に大きくならない. この両者が交差する点が, エバネッセント波と表面プラズモンの波数と角周波数が一致しており, 表面プラズモ ン共鳴が励起される条件となる. このときの*θ*を共鳴角と呼ぶ.



図 2.2. クレッチマン配置の概念図



図 2.3. クレッチマン配置における高屈折率媒質と低屈折率媒質の境界面で発生するエ バネッセント波



図 2.4. 分散関係 a)高屈折率媒質と低屈折率媒質の界面で発生するエバネッセント波 b)低屈折率媒質の表面プラズモン

クレッチマン配置にp偏光した光を臨界角以上の角度で入射し,入射角度を走査する と、ある入射角度でエパネッセント波の波数と表面プラズモンの波数が一致し,表面プ ラズモン共鳴が励起される.表面プラズモン共鳴が励起されるとき、プラズモンと結合 した入射光は,表面プラズモンボラリトン (surface plasmon polariton, SPP) となり、金 属薄膜表面及びその近傍のナノメートルスケールの空間に閉じ込められた近接場光に なる.このため、表面プラズモン共鳴が励起されているときは、見かけ上入射光の一部 が金属薄膜に吸収されたようなかたちとなり、反射率が減衰する現象がみられる.減衰 全反射法 (Attenuated total reflection, ATR) は、この現象を定量する標準的な計測手 法である.ATR は、クレッチマン配置した試料へ入射する光の角度を走査しながらその 反射率もしくは反射光強度を測定する光学系により実現し、反射率の入射角度の関数 は ATR 曲線あるいは ATR スペクトルと呼ばれる.通常、光源にはレーザー、反射光強 度の計測にはフォトダイオードが用いられる.入射光を走査するうえでは、光源を変位 させても良いし、試料を回転させても良い.

ATR 曲線は, 分散関係により理論的に予測することができる. 図 2.5 は, 膜厚 50 nm の銀薄膜と膜厚 50 nm の金薄膜をそれぞれ BK7 プリズムとクレッチマン配置し, p 偏 光した波長 532 nm のレーザー光を入射したときに得られる ATR 曲線の理論計算結果 である. BK7 の屈折率は Schott 社の公表値^[3], 金と銀の屈折率は Johnson and Christy の文献値^[4], 空気の屈折率は Ciddor の文献値^[5]を引用し(表 2.1), 計算には Winspall 3.2 (Max Planck Institute for Polymer Research) を用いた.

24



図 2.5. BK7 プリズムと銀薄膜(黒線)もしくは金薄膜(灰色線)をクレッチマン配置 した試料の ATR 曲線の計算結果

表 2.1. Fresnel の公式に基づく ATR 曲線の計算に使用した各物質の屈折率

material	refractive index $n(\kappa)$	reference
BK7	1.5195	[3]
silver	0.054007 (3.4290)	[4]
gold	0.54386 (2.2309)	[4]
air	1.00028	[5]

2.2. 伝搬型表面プラズモン共鳴により増強されたラマン散乱

ラマン散乱は、クレッチマン配置やオットー配置した金属薄膜上に励起した PSPR に よっても増強することができる. PSPR はナノ構造がない平坦な金属薄膜上に励起され ることから、この増強ラマン散乱現象は、電磁界理論に基づいて、解析的に予測するこ とができる.

ここでは、PSPR により増強されたラマン散乱について、重要な先行研究を取り上げ ながら、その歴史的背景に沿って解説する. 金属薄膜上の PSPR による増強ラマン散乱 は, 1976年に Burstein らによって理論的に提唱された^[6]. 彼らは, 平坦な金属薄膜を増 強基板とする場合は, 増強度は 10² と比較的小さいものの, クレッチマン配置の減衰全 反射法を応用した実験系により、PSRP による増強ラマン散乱の励起が理論的に可能で あることを示した.当時すでに金属膜に吸着した分子の非弾性散乱や光吸収が増大す る現象自体は、ラマン分光法や赤外吸収分光法などの実験研究で知られていたが、彼ら の近接場光学の概念を取り入れた定量的な解析は、以降 PSRP により増強されるラマン 散乱現象の基礎理論となった. Burstein らの提唱は, 1979 年に Pettinger らにより初め て実験的に観測された^[7].彼らは、半球型の石英ガラスと銀電極、塩化カリウムとピリ ジンを含有する電解液から成るクレッチマン配置の試料について,減衰全反射計測と ラマン分光計測を行い、ピリジンのラマン散乱強度の入射角度依存性を報告した.しか し、これは実験系に電気化学的な効果、すなわち銀の表面粗さが介入しており、 Bursteinらの理論を部分的に実証する報告となった. 電気化学的実験系を取り除いた光 学実験系での PSPR による増強ラマン散乱光の検出は, 1980 年に Dornhaus らによって 報告された^{18]}. 彼らは, 半円柱型ガラスプリズムと銀薄膜, 4-ニトロ安息香酸または 4-アミノ安息香酸の吸着膜からなるクレッチマン配置した試料のラマン分光計測を行っ

た. 彼らは, 膜厚 5 nm の粗造な表面の銀薄膜と膜厚の 57 nm の平滑な銀薄膜の増強ラ マンのスペクトルの比較を行い. 銀の表面粗さ効果によりもたらされる LSPR による SERS 現象と平滑な銀薄膜上に励起した PSPR により増強されるラマン散乱現象を定性 的に比較した. 前述の Pettinger らと Dornhaus らの研究では, クレッチマン配置のプ リズム底面側(試料側)に放射されるラマン散乱光が測定され、入射光の PSPR による ラマン増強効果が評価された.1982年にSakodaらは、誘起されるラマン散乱光のPSPR 自体のラマン増強効果を理論的に提言した^[9].彼らは、クレッチマン配置のプリズム側 のラマン散乱光を検出する場合、入射光の SPR-EF とラマン散乱光の SPR-EF の重ね合 わせにより、4×10⁴の増強度が得られることを解析的に予測した.この予測は、翌年 Ushioda と Sasaki が報告した前方散乱配置でプリズム側に放射されるメタノールの増 強ラマン散乱光を分光計測する実験により証明された^[10]. Ushioda らはさらに、クレッ チマン配置の銀薄膜から放射されるアセトンの増強ラマン散乱光強度の入射光と散乱 光の角度依存性を評価し、入射光がその波長固有のプラズモン共鳴角で PSPR 増強度が 最大化するのと同様, ストークスラマンシフトした散乱光も, その光の波長のプラズモ ン共鳴角でPSPR増強度が最大化し、かつ共鳴角の方向に指向的に放射されることを定 量的に示した^[11]. Ushioda らは、このラマン散乱光が SPP からプリズム側の共鳴角に指 向的に放射される伝搬光となる光学過程を,入射光による PSPR の励起の逆過程である と解釈した^[11]. さらに Ushioda らは, 銀薄膜表面に励起した PSPR の銀薄膜表面に対し て垂直方向の到達距離について検討した. 彼らは, 実験と理論計算の結果から PSPR は 150 nm 程度まで到達することを見出し,実際に銀薄膜から MgF2のスペーサーを介し て 100 nm 隔離されたアセトンの増強ラマン散乱を検出した実験結果を報告した^[11].

1990 年に Furtak らは、半球プリズムと銀薄膜から成るクレッチマン配置から放射されるパラニトロソジメチルアニリンの放射状の増強ラマン散乱光を検出する実験研究

を報告した^[12]. Futamata らは, 1994 年から 1997 年にかけて, ワイエルシュトラス・プ リズムをオットー配置した実験系を用いて, 金属表面から放射される放射状の増強ラ マン散乱光を検出する実験研究を報告した. 彼らは, PSPR により増強されたラマン散 乱光強度のオットー配置のギャップ距離や金属膜厚, 吸着分子の膜厚, 金属材料, 励起 波長, 入射角度依存性を詳細に報告した^[13-16]. さらに彼らは, オットー配置した試料に 向けた対物レンズの後方に印画紙を置き, SPP からプリズム側への放射する散乱光の射 出瞳像を測定した. また Futamata らは, 入射光が PSPR を励起する過程を「イン・カ ップリング (in-coupling)」, SPP ラマン散乱光がプリズム側のその散乱光波長の光の共 鳴角に放射される過程を「アウト・カップリング (out-coupling)」と呼び, Ushioda ら が唱えた光学過程をより詳細に解説した.

2011 年に Meyer らは, ATR 光学系の後方散乱配置でクレッチマン配置の増強ラマン 散乱光を検出する光学系を考案し, ATR 計測とラマン分光計測を同時に行う実験研究 を報告した^[17]. これまでの歴史的経緯で PSPR による増強ラマン散乱の実験研究は, 光 学系が複雑化していったが, 彼らは簡素かつ部品点数の少ない実験系で, 金もしくは銀 薄膜に吸着したナイルブルーの増強ラマン散乱強度の入射角度依存性を評価した.本 研究においても, ATR 光学系を用いた実験には, 後方散乱配置でラマン散乱を分光計測 する光学系を用いた.

上記の一連の先行研究の知見に基づき,統一的に理解されている PSPR により増強さ れるラマン散乱の光学過程を図2.6 に示した.金属薄膜表面に PSPR が励起されるとき, その金属薄膜表面近傍に存在する分子のラマン散乱光が PSPR により増強される.この 増強ラマン散乱光は SPP であり,このラマン散乱光自体が SPR-EF を持つ.この近接 場の増強ラマン散乱光は,入射光が SPP となったのと逆過程を経るように,ラマン散 乱光の波長の光のプラズモン共鳴角に放射(アウト・カップリング)される.

28

先行研究では、PSPR により増強されたラマン散乱のこのような光学過程が明らかに され、分子の単一の振動モードの増強ラマン散乱光強度の角度依存性が評価されてき た.本研究では、複数の分子振動モードの増強ラマン散乱光強度の角度依存性を解析し、 それぞれの振動モードのラマン散乱における SPR-EF の寄与を定量評価した.また、増 強ラマン散乱光強度の分子振動モード依存性を解析し、共鳴ラマン散乱効果の寄与を 定量的に評価することにより、これまでに報告されていないより網羅的な増強ラマン 散乱現象の定量評価に成功した.さらに、高開口数対物レンズを用いた顕微配置下で、 PSPR により増強されたラマン散乱現象を計測する顕微ラマン分光計測装置を構築し、 増強ラマン散乱スペクトルの定量評価を行った.これにより、PSPR により誘起された SERS 現象を高感度顕微ラマンイメージング法に応用できる可能性を示した.



図 2.6. クレッチマン配置において PSPR により増強されるラマン散乱の光学過程

参考文献

- A. Otto, "Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection," *Zeitschrift für Physik*, **216**, 398 (1968).
- 2. E. Kretschmann, "The determination of the optical constants of metals by excitation of surface plasmons," *Zeitschrift für Physik*, **241**, 313 (1971).
- 3. SCHOTT Zemax catalog 2017-01-20b
- P. B. Johnson and R. W. Christy, "Optical constants of the noble metals," *Physical Review B*, 6, 4370 (1972).
- P. E. Ciddor, "Refractive index of air: new equations for the visible and near infrared," *Applied Optics*, 35, 1566 (1996).
- Y. J. Chen, W. P. Chen, and E. Burstein, "Surface-electromagneticwave-enhanced Raman scattering by overlayers on metals," *Physical Review Letters*, 36, 1207 (1976).
- 7. B. Pettinger, A. Tadjeddine, and D. M. Kolb, "Enhancement in Raman intensity by use of surface plasmons," *Chemical Physics Letters*, **66**, 544 (1979).
- R. Dornhaus, R. E. Benner, R. K. Chang, and I. Chabay, "Surface plasmon contribution to SERS," *Surface Science*, **101**, 367 (1980).
- 9. K. Sakoda, K. Ohtaka, and E. Hanamura, "Surface-enhanced Raman scattering in

attenuated total reflection arrangement," *Solid State Communications*, **41**, 393 (1982).

- S. Ushioda and Y. Sasaki, "Raman scattering mediated by surface-plasmon polariton resonance," *Physical Review B*, 27, 1401 (1983).
- K. Kurosawa, R. M. Pierce, S. Ushioda, and J. C. Hemminger, "Raman scattering and attenuated-total-reflection studies of surface-plasmon polaritons," *Physical Review B*, 33, 789 (1986).
- 12. S. Byahut and T. E. Furtak, "A device for performing surface-plasmon-polaritonassisted Raman scattering from adsorbates on single-crystal silver surfaces," *Review* of Scientific Instruments, **61**, 27 (1990).
- M. Futamata, P. Borthen, J. Thomassen, D. Schumacher, and A. Otto, *Applied Spectroscopy*, 48, 252 (1994).
- Masayuki Futamata, "Surface-plasmon-polariton-enhanced Raman scattering from self-assembled monolayers of p-nitrothiophenol and p-aminothiophenol on silver," *The Journal of Physical Chemistry*, 99, 11901 (1995).
- 15. Masayuki Futamata, "Surface plasmon polariton enhanced Raman scattering from adsorbates on a "smooth" metal surface: The effect of thickness and dielectric properties of constituents," *Langmuir*, **11**, 3894 (1995).
- 16. Masayuki Futamata, "Application of attenuated total reflection surface-plasmon-

polariton Raman spectroscopy to gold and copper," Applied Optics, 36, 364 (1997).

17. S. A. Meyer, E. C. Le Ru, and P. G. Etchegoin, "Combining surface plasmon resonance (SPR) spectroscopy with surface-enhanced Raman scattering (SERS)," *Analytical Chemistry*, 83, 2337 (2011).

第3章 銀薄膜の減衰全反射計測

本博士学位論文の研究は、クレッチマン配置した銀薄膜表面に PSPR を励起し、かつ それを定量評価する ATR 計測実験装置を作製するところから始まった.この光学実験 装置は第4章で、ラマン分光計測系を追加することを想定した設計となっており、研究 の第一段階という位置づけである.この章では、私が作製した光学実験装置と ATR 計 測実験結果を報告する.

3.1. 減衰全反射計測光学系

作製した ATR 計測実験装置の光学系と制御系の概念図を 図 3.1, 図 3.2 にそれぞれ 示した.光源には波長 532 nm の連続発振レーザー(Sapphire 532-50 CW CDRH, Coherent Inc.)を用い, BK7 直角プリズムと金属薄膜からなるクレッチマン配置した試 料を,ステップモーター駆動方式の回転ステージ(OSMS-60YAM, シグマ光機株式会 社)上の試料台に置いた.反射光強度を計測するフォトダイオード(PDA100A2, Thorlabs Inc.)は,試料台と同軸かつ独立制御するステッピングモーター式の回転ステ ージ(OSMS-60YAM, シグマ光機株式会社)と接続したアームに取り付けた.この回転 ステージは,回転角度分解能 0.0025°/pulse を有する.レーザーと試料台の間には 1/2 波長板を挿入し,p 偏光した光が試料に入射するようにした.試料台とフォトダイオー ドの間にはレンズを挿入し,プリズム-フォトダイオード間の光路を補正できるように した.

回転ステージはステージコントローラ(GSC-02,シグマ光機株式会社)を経由して

コンピュータに接続され、命令の送信、ポジション(角度)やステータスの受信を行う. フォトダイオードの電圧は、BNC 端子台(BNC2110、National Instruments Corp.)を経 由して、コンピュータに組み込んだ AD ボード (PCIe-6321、National Instruments Corp.) にて A/D 変換処理され、コンピュータに入力される. この制御系を介して ATR 計測を コンピュータ制御で行った. 制御用のソフトウェアは、Visual Studio 2017 にて言語 C++により開発した.



図 3.1. 減衰全反射計測用光学系の概念図



図 3.2. 減衰全反射計測用光学系の制御系の概念図
3.2. 銀薄膜の減衰全反射計測

銀薄膜をコンパクトスパッタ(ACS4000,株式会社アルバック)にて、50 nm を膜厚 狙い値として、BK7 カバースリップに製膜した.銀薄膜基板を、油浸対物レンズ用オイ ル(タイプF,株式会社ニコン)を介して BK7 直角プリズムの底面に貼り付け、クレッ チマン配置した.これを試料台に置き、レーザー光を入射し、試料台とフォトダイオー ドを取り付けたアームを回転させることで、入射角度を走査しながら反射光強度を測 定した.このとき、フォトダイオードのアームは、試料台の回転量の2倍量回転するこ とで、入射角度が変化しても反射光がフォトダイオードの受光面に入射するようにし た.図 3.3 に ATR 曲線の測定結果と、膜厚 50.73 nm の銀薄膜の ATR 曲線の理論計算 結果を示した.理論計算における BK7 の屈折率は Schott 社の公表値^[1],銀の屈折率は Johnson and Christy の文献値^[2],空気の屈折率は Ciddor の文献値^[3]を引用し(表 3.1), 銀の膜厚は Winspall 3.2 の反復アルゴリズムを用いて実験結果にフィッティングして 算出した.

ATR 曲線の測定結果は, 銀薄膜特有の反射光強度の減衰曲線(ディップ)を示し, 43.62 ° に共鳴角を持つことが分かった.また,この ATR 曲線は,理論計算値とよく 一致した.実験値のディップが計算値のものよりも僅かに大きい入射角度にあるが,こ れは,実験系の実際の材料の屈折率と文献値の屈折率が異なることや,BK7と銀の界面 のごく微小な粗さや空隙の影響によるものと考えた.銀表面の粗さは共鳴角を大きい 入射角にシフトさせ,かつディップの幅を広げる^[4]が,実験的に得られた ATR 曲線の ディップの幅は理論値と変わらなかったことから,製膜した銀薄膜の粗さは,光学的に は十分無視できる水準であると判断した.

35

material	refractive index $n(\kappa)$	reference
BK7	1.5195	[1]
silver	0.054007 (3.4290)	[2]
air	1.00028	[3]

表 3.1. Fresnel の公式に基づく ATR 曲線の計算に使用した各物質の屈折率



図 3.3. 銀薄膜の ATR 曲線の実験結果の計算結果

3.3. 銀薄膜の表面粗さの評価

より詳細に銀薄膜の表面粗さを評価するために,前セクションと同様の手順で製膜 した銀薄膜の表面粗さを走査型プローブ顕微鏡(AFM-5000 II,株式会社日立ハイテク) により測定した. 任意の 25 μ m² (5 μ m×5 μ m) の領域について測定した算術平均粗 さは,2.2 nm だった. 典型的な LSPR を励起するナノ構造体が,数十 nm から百 nm の 直径であることを考えると,本研究で製膜した銀薄膜の表面粗さは,LSPR の励起とい う観点において,その粗さ効果を無視できる程度に小さいと評価することができる. 加 えて,20 nm 以上の膜厚の銀薄膜は,LSPR を励起しないという先行研究の報告もある^[5]. 表面粗さの小ささと膜厚の効果を考慮すると,本研究に用いる銀薄膜の SPR-EF は, LSPR の影響を排除したうえで, PSPR の電場増強効果により定量評価できるものと考 えた.

3.4. 結論

本章の研究において, ATR 計測実験装置を作製した. この実験装置には, コンピュー タにより自動的に ATR 計測を行う機械制御系を実装した. 実験に用いる試料として, 銀薄膜をスパッタリングにより作製した. 成膜した銀薄膜の膜厚 50.73 nm であり, 表 面粗さは, LSPR の励起を無視できるほど小さいことを確認した. また, ATR 曲線の実 験結果は, 理論計算結果とよく一致しており, 43.62 ° に共鳴角を持つ PSPR の励起に 伴うディップが確認された. 以上のことから, クレッチマン配置した銀薄膜表面での PSPR の励起およびそれを定量評価する光学実験装置の作製を完了した.

参考文献

- 1. SCHOTT Zemax catalog 2017-01-20b
- P. B. Johnson and R. W. Christy, "Optical constants of the noble metals," *Physical Review B*, 6, 4370 (1972).
- 3. P. E. Ciddor, "Refractive index of air: new equations for the visible and near infrared," *Applied Optics*, **35**, 1566 (1996).
- A. J. Braundmeier Jr. and E. T. Arakawa, "Effect of surface roughness on surface plasmon resonance absorption," *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 35, 517 (1974).
- C. Lee, C. S. Robertson, A. H. Nguyen, M. Kahraman, and S. Wachsmann Hogiu, "Thickness of a metallic film, in addition to its roughness, plays a significant role in SERS activity," *Scientific Reports*, 5, 11644 (2015).

第4章 伝搬型表面プラズモン共鳴により増強された ラマン散乱の分光計測

PSPRにより増強されたラマン散乱の先行研究において、散乱光強度の角度依存性に ついて、理論的、実験的に評価が行われ、その励起および散乱特性が解明されてきた. しかし、これらの研究では、単一のラマンバンドの散乱光のみが評価されてきたことか ら、ラマンバンド間の散乱光強度の比較や振動モード依存性については評価されてこ なかった.本研究では、ラマン散乱の実験研究のモデル分子として知られ、ラマン散乱 スペクトル及び、その振動モードが明らかにされているローダミン 6G (R6G)の PSPR による増強ラマン散乱を分光計測し、その複数のバンドのラマン散乱光強度の角度依 存性を定量評価した.本章では、PSPR により増強されたラマン散乱光強度の角度依存 性やスペクトルを定量評価する実験装置の作製と、これを用いて行った R6G の PSPR により増強されるラマン散乱の分光計測結果、振動モードごとのラマン散乱光強度の 入射角度依存性を定量評価した結果を報告する.さらに、補足的な実験として、PSPR が励起されない条件でのラマン分光計測と、クレッチマン配置の試料側に放射される ラマン散乱光のスペクトル評価も行ったので、後半のセクションでそれらの実験結果 を報告する.

4.1. ラマン分光計測光学系

前章で作成したATR光学系に後方散乱配置のラマン分光計測光学系を組付け,図4.1

a のような光学系を作製した.p 偏光した波長 532 nm の連続発振レーザー光は,レン ズを介してコリメートされ,クレッチマン配置した試料に照射される.ATR 計測の光路 は,前章の光学系と同じで,反射光強度はフォトダイオードで検出される.後方散乱す るラマン散乱光は,入射と同じレンズで集められ,ダイクロイックミラーとロングパス フィルターによりレイリー散乱光と分離され,分光器 (Plc., Shamrock 303i A, Oxford Instruments Plc., 焦点距離: 303 mm, グレーティング: 600 lines/mm)と電子冷却型 電子増倍型電荷結合素子 (EM-CCD)カメラ (Newton DU970P-BV, Oxford Instruments Plc.,冷却温度: -80°C) により分光計測される.前章と同様,コンピュータ制御により, 試料台とフォトダイオードのアームを回転させることで,入射角度を走査しながら反 射光強度の計測,さらにラマンスペクトルの計測を行った.

4.2. 実験方法

前章と同様の手順でスパッタリングにより, 膜厚 48 nm の銀薄膜を BK7 カバースリ ップに製膜した.この基板に 1×10⁻⁴ モル濃度のローダミン 6G (R6G) エタノール分 散液を滴下し,常温で乾燥させた (図 4.1 b と c に基板試料の概念図と R6G の化学構造 を示した).この基板を前章と同様の手順で,クレッチマン配置し,ATR 計測とラマン 分光計測を行った.ATR 計測もラマン分光計測もレーザーの出力は 20 mW に固定し, ラマン分光計測における分光器のスリット幅は 50 μ m, 露光時間は 5 秒とした.



図 4.1. (a)光学系の概念図 (b)クレッチマン配置した試料部を拡大した図 (c)ローダミン 6G (R6G)の化学構造. Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.

4.3. ラマン散乱光強度の入射角度依存性

回転ステージを 42.85°から 44.63°まで走査しながら, 試料の ATR 曲線とラマンス ペクトルを測定した(図 4.2,図 4.3). ATR 曲線から, 43.94°に共鳴角をもち, PSPR が 励起されたことが示された.図 4.3 に示すように,入射角が共鳴角である 43.94°付近 では, 318, 379, 412, 516, 618, 780, 1127, 1190, 1306, 1364, 1511, 1579, 1653 cm⁻¹にラ マン信号のピークが見られた. これらのラマンバンドは R6G の振動モード^[1,2]に割り当 てられた. 表 4.1 に詳細なラマンバンドの振動モードの割り当てを示した. 共鳴角から 離れた入射角である 42.85°と 44.63°では, BK7 プリズムのラマンスペクトルのみが バックグラウンド成分として検出された.

618, 780, 1190, 1364, 1653 cm⁻¹のラマン散乱光強度の入射角依存性を解析した. 解 析にあたりまず, ベースライン補正を行った. 例えば, 618 cm⁻¹のラマンバンドの散乱 光強度は, 602 cm⁻¹と 634 cm⁻¹の強度プロットを直線で結び, この直線上の 618 cm⁻¹の 強度の値をベースライン強度とした. 618 cm⁻¹のスペクトル強度から 618 cm⁻¹のベース ライン強度を差し引くことで, 618 cm⁻¹のラマンバンドの散乱光強度を算出した. 他の バンドのラマン散乱光強度も同様のベースライン補正を行った.



図 4.2. 銀薄膜/R6G をクレッチマン配置した試料の ATR 曲線. 挿入図は, SPR 角 (43.94°) 付近の拡大したスペクトルを示している. Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.

図 4.4 に,各バンドのラマン散乱強度を入射角度の関数として示した.618 cm⁻¹と 780 cm⁻¹のラマン散乱強度は 43.74°で,1190 cm⁻¹と 1364 cm⁻¹は 43.64°で,1653 cm⁻¹は 43.54°でそれぞれ最大となった.5つのバンドのラマン散乱光強度が最大となる入射角度は,いずれも入射光の共鳴角よりも小さく,また,ラマンシフトが大きいバンドの散乱光ほど,強度が最大となる入射角度が小さいことが分かった.



図 4.3. 後方散乱配置で計測した銀薄膜/R6G クレッチマン配置試料のラマンスペクト ル. スペクトルは垂直方向にずらして表示している. また, 各スペクトルの右側に計測 時の入射角度を示している. Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.

Raman	Raman bands in the literature [cm ⁻¹]				assigned vibrational modes	
bands in this	Hildebra	ndt et al. [1]	Watanabe et al. ^[2]		[2]	-
study [cm ⁻¹]	RRS	SERRS	RRS	SERRS	NRS	-
318		313				ring torsional and/or bending [1]
379	371	380				ring torsional and/or bending [1]
412	405	405				ring torsional and/or bending [1]
516	522	522				ring torsional and/or bending [1]
618	514	614	611	612	613	C-C-C ring in-plane bending [1]
780	776	774	775	772	775	C-H out-of-plane bending [1]
1127	1131	1129	1127	1127	1130	C-H in-plane bending [1]
1190	1187	1183	1178	1185	1184	C-H in-plane bending [2]
1364	1365	1363	1361	1361	1364	aromatic $C - C$ stretching [1]
1511	1509	1509	1505	1508	1512	aromatic $C - C$ stretching [1]
1579	1575	1572	1577	1575	1577	aromatic $C - C$ stretching [1]
1653	1652	1650	1649	1650	1651	aromatic $C - C$ stretching [1]

表 4.1. R6G のラマンバンドと振動モード

^aResonant Raman scattering of R6G. ^bSurface-enhanced resonance Raman scattering of R6G/silver. ^cNormal Raman scattering (off-resonant Raman scattering) of R6G. Reprinted with permission from Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.



図 4.4. 618, 780, 1190, 1364, 1653 cm⁻¹のラマン散乱光強度の入射角度依存性. Reprinted with permission from Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.

次に,入射光の表面プラズモン共鳴増強度 (SPR-EF) と各ラマンバンドの SPR-EF の 積を評価した.図 4.5 に、フレネルの式に基づく多層膜構造の光電場強度の電磁界解析 ^[3]から算出した入射光(532 nm)のSPR-EFと,618,780,1190,1364,1653 cm⁻¹のラマ ン散乱の SPR-EF の入射角依存性を示した. 電磁界解析に用いる光学定数は, 文献値^{[4-} ^{7]}(表 4.2)を引用した. 銀薄膜と R6G の膜厚は, 屈折率の文献値を用いて, Winspall 3.02 の反復アルゴリズムにより,図 4.2 の ATR スペクトルをフィッティングして決定し た. 銀薄膜と R6G 薄膜の厚さは、それぞれ 48.305 nm と 3.188 nm であった. 電磁界解 析は、これらの光学定数と膜厚を用いて、Mathematica により行った. 図 4.6 に、励起光 と各ラマンバンドの SPR-EF の積(実線),および実験結果(点)を示します. 各ラマ ンバンドにおいて、ラマン散乱強度が最大となる入射角とSPR-EFが最大となる入射角 は一致しており、その角度依存性も同様だった.これらの結果は、5 つそれぞれの振動 モードのラマン散乱光に対して、入射光の SPR-EF とラマン散乱光の SPR-EF が乗算的 に与えられたことを示している.しかし、ラマン散乱強度の実験値と計算した SPR-EF を比較すると, 780 cm⁻¹と 1190 cm⁻¹のラマン散乱強度は, 618 cm⁻¹, 1364 cm⁻¹, 1653 cm⁻¹ ¹と比べて相対的に低いことが分かった. 表 4.1 に示すように, 780 cm⁻¹, 1190 cm⁻¹のラ マンバンドは C-H 振動モード, 618 cm⁻¹, 1364 cm⁻¹, 1653 cm⁻¹のラマンバンドは 532 nm の入射光を吸収するキサンテン環の振動モードに割り当てられていることが分かる (R6G の UV-Vis 吸収スペクトルを図 4.7 に示した). したがって、このラマン散乱強 度の相対的な差は, R6Gの共鳴ラマン効果に起因するものと考えた.

45

wavele	ength of	refractive index $n(\kappa)$					
resona	ant light						
[nm]	[cm ⁻¹]	BK7 ^[4]	silver ^[5]	R6G [6]	air [7]		
532	0	1.5195	0.054007 (3.4290)	1.39	1.00027821		
550	618	1.5185	0.059582 (3.5974)	1.47	1.00027784		
555	780	1.5183	0.058090 (3.6380)	1.46	1.00027774		
568	1190	1.5177	0.054209 (3.7435)	1.43	1.00027750		
574	1364	1.5174	0.052418 (3.7922)	1.42	1.00027740		
583	1653	1.5170	0.050259 (3.8656)	1.41	1.00027725		

表 4.2. SPR-EF のための電磁界解析に使用した光学定数

Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.



図 4.5. 入射光 (532 nm) と 618,780,1190,1364,1653 cm⁻¹のラマン散乱光波長の光の SPR-EF の計算結果. Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.



図 4.6. 618, 780, 1190, 1364, 1653 cm⁻¹のラマン散乱強度の入射角依存性(マーカー), 618, 780, 1190, 1364, 1653 cm⁻¹における入射光とラマン散乱光の SPR-EF の積 (実線). Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.



図 4.7. R6G エタノール分散液(濃度: 1×10⁻⁶モル濃度)の UV-Vis 吸収スペクトル

4.4. 共鳴ラマン散乱現象の定量評価

R6G のラマンバンドに対する共鳴ラマン効果の定量的な評価は先行研究で行われて いる. Watanabe ら^[2]は, 618, 780, 1190, 1364, 1653 cm⁻¹のラマンバンドに対する共鳴ラ マン散乱の相対強度比は, それぞれ 1.00, 0.58, 0.51, 0.88, 1.00 と報告した(表 4.3). この各ラマンバンドの相対強度比を補正項として SPR-EF に乗じた入射角依存性(実 線)を図 4.8 に示す. 補正後の SPR-EF の入射角依存性は実験結果(マーカー)とよく 一致し, バンド間のラマン散乱光強度の相対差が共鳴ラマン散乱現象により, 定量的に 評価できたことを確認した.

Raman bands [cm ⁻¹]	relative RRS intensities
618	1.00
780	0.58
1190	0.51
1364	0.88
1653	1.00

表 4.3. R6G の相対共鳴ラマン散乱光強度の文献値^[2]

Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.



図 4.8. 618, 780, 1190, 1364, 1653 cm⁻¹のラマン散乱強度の入射角依存性(マーカー), 618, 780, 1190, 1364, 1653 cm⁻¹における入射光とラマン散乱光の SPR-EF の積に相対 共鳴ラマン散乱強度の文献値をかけた計算結果 (実線). Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.

4.5. 伝搬型表面プラズモン共鳴非励起条件下でのラマン分光計測

PSPR を励起しない s 偏光でレーザー光を入射した条件での実験も行った. 偏光以外 の実験条件は全て前述の p 偏光の場合の実験と同じである. 図 4.9 に, 共鳴角(43.94°) 近傍で入射角度を走査しながら測定した試料のラマン散乱スペクトルを示す. 共鳴角 を含むすべての入射角度において, 図 4.3 の共鳴角から離れた入射角度(42.85°, 44.63°)で観測されたラマンスペクトルとよく一致する BK7 プリズムのラマンスペク トルのみが観測され, R6G のラマン信号は検出されなかった. これは, 図 4.3 で観測さ れた R6G のラマン散乱は, PSPR によって増強されたことを示している. さらに,図4.10に銀薄膜を製膜せず,BK7 カバースリップにR6Gをキャストした基 板を,クレッチマン配置を構成する要領でプリズム底面に貼り付けて計測した場合の スペクトルを示す.銀薄膜を成膜しなかったこと以外の実験条件と手順は,前述の実験 と同じである.この場合は,入射角度に非依存的に,R6Gの蛍光スペクトルが観測され た.入射光がカバースリップ上に分散した R6G に伝搬光として直接照射され,これに より励起された蛍光のうち後方散乱したものが検出されたものと考えられる.図4.3の ラマンスペクトルにおいては,蛍光は R6G 分子が銀表面に接触していることにより, 消光していることが示唆された.



図 4.9. s 偏光したレーザー光を入射して,後方散乱配置で計測した銀薄膜/R6G クレッチマン配置試料のラマンスペクトル.スペクトルは垂直方向にずらして表示している. また,各スペクトルの右側に計測時の入射角度を示している. Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.



図 4.10. 銀薄膜を成膜してないカバースリップに R6G をキャストし, プリズム底面に 貼り付けた試料の後方散乱配置で計測したスペクトル.スペクトルは垂直方向にずら して表示している.また,各スペクトルの右側に計測時の入射角度を示している.

4.6. 試料側に放射されたラマン散乱光の分光計測

クラッチマン配置の試料側に放射されるラマン散乱光強度の入射角度依存性を評価 するため,図4.11のような光学系を作製した.2枚のレンズと光ファイバーケーブルは, 軸がプリズム底面に対して垂直となるよう試料台に固定され,入射角度を走査しなが ら,放射される散乱光を分光器のスリットにリレーする.レーザー強度は 30 mW で, EM-CCD カメラの露光時間は 420 秒に設定した.その他の測定条件は,図 4.3 の分光 計測と同じとした.



図 4.11. 試料側に放射されるラマン散乱を分光計測する光学系の概念図. Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.

図 4.12 にこの実験で計測した ATR 曲線を示す. 43.97° に共鳴角を持つディップが 確認された. 図 4.13 に入射角度を走査しながら計測したラマンスペクトルを示す. R6G のラマン信号は, 共鳴角である 43.97° 付近で増強されていることが確認された.

図 4.13 に,5 つのラマンバンドの散乱光強度(617,778,1189,1366,1650 cm⁻¹)を入 射角度の関数として示した.なお,これらのラマン散乱光強度は,線形ベースライン補 正によりバックグラウンドを差し引いて定量した.図 4.14 の実線は,入射光の SPR-EF の理論値を示している.この理論値は,図 4.5 の SPR-EF の電磁界解析と同様の手順で 計算した.計算には文献値^[4-7](表.4.2)を引用し,銀薄膜と R6G 薄膜の厚さは,それぞ れ 44.236 nm と 3.250 nm であった(膜厚は,Winspall 3.02 の反復アルゴリズムにより 図 4.12 の ATR 曲線をフィッティングして算出した). 5 つのラマンバンドの散乱光強度は 43.97° で最も大きく, 散乱光強度の入射角依存 性は入射光の SPR-EF とよく一致した. さらに図 4.3 と図 4.13 に示したラマン散乱強 度の実験値, EM-CCD カメラの露光時間, レーザー光強度を比較すると, 図 4.3 に示し たラマン散乱スペクトルの増強度は, 図 4.13 に示したスペクトルに比べて 2 桁大きい. したがって, 図 4.13 に示す試料側のラマン散乱は, 入射光の PSPR によってのみ増強 されたと結論づけた.



図 4.12. 銀薄膜/R6G をクレッチマン配置した試料の ATR 曲線. 挿入図は, SPR 角 (43.97°)付近の拡大したスペクトルを示している.



図 4.13. 試料側で計測した銀薄膜/R6G クレッチマン配置試料のラマンスペクトル.スペクトルは垂直方向にずらして表示している.また,各スペクトルの右側に計測時の入射角度を示している. Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.



図 4.14.617,778,1189,1366,1650 cm⁻¹のラマン散乱強度の入射角依存性(マーカー), 入射光の SPR-EF (実線). Reprinted with permission from reference [8] Copyright 2021 American Chemical Society.

4.7. 結論

本研究では, ATR 計測光学系とラマン分光計測光学系を組み合わせた, PSPR により 誘起された表面増強ラマン散乱分光計測装置を作製した. PSPR による R6G の増強ラ マン散乱光の励起および散乱特性を, 618, 780, 1190, 1364, 1653 cm⁻¹のバンドに現れた 複数の振動モードについて解明した. 増強ラマンの手法に PSPR を用いたことにより, 入射光の SPR-EF とラマン散乱光の SPR-EF を個別に定量的に評価することができる こと, また検出されるラマン散乱光の角度依存性が, 入射光およびラマン散乱光の波長 の光の SPR-EF の積として与えられることを見出した. さらに, 5 つのバンド間のラマ ン散乱光の強度比と各ラマン散乱の分子振動モードを解析することにより,R6Gの共鳴 ラマン散乱現象を定量的に評価した.以上の結果から,銀薄膜に吸着した R6G の表面 増強ラマン散乱現象を SPR-EF と共鳴ラマン散乱現象により定量的に解明することに 成功した.

参考文献

- P. Hildebrandt and M. Stockburger, "Surface-enhanced resonance Raman spectroscopy of Rhodamine 6G adsorbed on colloidal silver," *The Journal of Physical Chemistry A*, 88, 5935 (1984).
- H. Watanabe, N. Hayazawa, Y. Inouye, and S. Kawata, "DFT vibrational calculations of Rhodamine 6G adsorbed on silver: analysis of tip-enhanced Raman spectroscopy," *The Journal of Physical Chemistry B*, **109**, 5012 (2005).
- 3. S. Ushioda and Y. Sasaki, "Raman scattering mediated by surface-plasmon polariton resonance," *Physical Review B*, **27**, 1401 (1983).
- 4. SCHOTT Zemax catalog 2017-01-20b, 2017.
- P. B. Johnson and R. W. Christy, "Optical constants of the noble metals," *Physical Review B*, 6, 4370 (1972).
- 6. Y. Lu and A. Penzkofer, "Absorption behaviour of methanolic Rhodamine 6G solutions at high concentration," *Chemical Physics*, **107**, 175 (1986). Figure Refractive indices of R6G dispersed in methanol in a 2.0 mol/L concentration shown in Figure 4 were cited.
- P. E. Ciddor, "Refractive index of air: new equations for the visible and near infrared," *Applied Optics*, 35, 1566 (1996).

K. Honda, H. Ishitobi, and Y. Inouye, "Incident angle dependence of Raman scattering for distinct vibrational modes enhanced by surface plasmon resonance excited on a silver thin film," *The Journal of Physical Chemistry C*, **125**, 27678 (2021).

第5章 伝搬型表面プラズモン共鳴により増強された ラマン散乱の顕微分光計測

顕微ラマン分光法は、ラマン分光計測光学系と光学顕微鏡を組み合わせることによ り、試料のラマンスペクトルとその空間情報を同時に計測し、ラマン散乱の空間的な分 布を得るラマン分光計測法であり^[1]、材料の微小部の化学構造の解析や、細胞の構造や 動態の計測などに応用されている.このような手法はラマンイメージングと呼ばれ、特 に大気圧下で染色せずに生きた細胞の構造を振動分光学的に計測できることから、光 学顕微鏡や蛍光顕微鏡を用いた従来の細胞のライブイメージング技術では見出されて いなかった新たな知見がもたらされると期待され、生命科学への応用が特に盛んに試 みられている.生きた細胞のラマンイメージングにおいては、自発ラマン散乱の散乱断 面積が小さいことに起因する露光時間の長さや信号雑音比の低さが技術的な課題とな るが、共焦点顕微鏡^[2]やスリット・スキャニング^[3]の提案を筆頭に技術が高度化し、現 在では分単位、もしくは特に短いもので秒単位の時間の撮像により、生きた細胞の構造 や代謝物を解析できる水準となっている^[4].

SERS をラマンイメージングに応用することで,原理的には自発ラマン散乱の場合よ りも何桁も短い露光時間で,さらに高感度なラマンイメージングを実現することが期 待できる^[5].しかし,SERS を誘起する LSPR がもたらす SPR-EF が,ナノメートルスケ ールの金属の微細な構造や大きさに強く依存し,かつ金属表面から離れるにつれて指 数関数的に減衰することから (1 nm 以下^[6,7],長くとも 2 nm 程度で半減する^[8]),金属 ナノ構造体を用いた SERS で,空間的に均一な SPR-EF を得ることは原理的に難しい. このような背景から, SPR-EF が空間的に均一な SERS イメージング技術は報告されて いない.

PSPR は、平坦な金属薄膜上に連続的に励起することができ、さらに金属表面からの SPR-EF の減衰距離は LSPR のそれよりも少なくとも 1 桁以上長い(PSPR は銀薄膜表 面から 150 nm 程度まで到達する^[9]). このような特性を鑑み、PSPR により誘起される SERS 現象を応用することで、これまでに報告のない空間的に均一な SPR-EF を有する 顕微増強ラマンイメージング法を開発することが期待できる.

本研究では、上記のような顕微ラマンイメージング法の確立を指向して、前章までで 報告した ATR 光学系-クレッチマン配置で行った PSPR により増強されたラマン散乱 光の計測を、高開口数対物レンズを用いた顕微光学配置で実現する研究を行った.本章 では、私が作製した顕微ラマン分光計測装置の原理と設計について解説し、それを用い て行った PSPR により増強されたローダミン 6G のラマン散乱の分光計測実験の結果 を報告する.

5.1. 顕微ラマン分光計測装置

前章までのクレッチマン配置の光学系でPSPRを励起する場合,プリズムと金属薄膜 の境界面方向にPSPRが伝搬し,空間的に数十 μ m程度に広がる^[10]. さらに入射光その ものの広がりを考慮すると,実際の実験における PSPR の広がりは数十 μ m よりもさ らには大きいはずである.このような PSPR の広がりを低減する手法として,高開口数 対物レンズを用いてより小さい領域に PSPR局所励起する手法が Kano らにより報告さ れている^[11]. 彼らは,入射光の偏光を制御することにより,金属薄膜上に励起した PSPR を干渉させ, PSPR による SPR-EF を局在化することができることを理論的,実 験的に報告した. さらに Kano らは, 径偏光した輪帯照明を油浸対物レンズの瞳に入射 することで, PSPR の励起に寄与する入射光の成分を大きくする SPR 顕微光計測システ ムを提案した^[12]. 本研究では, この Kano らが提案した輪帯照明を油浸対物レンズの瞳 に入射することで入射角度を制御して, 金属薄膜上に PSPR を励起する SPR 顕微光計 測システムの照明系とラマン分光計測光学系を組み合わせた顕微ラマン分光計測装置 を作製した. このセクションでは, はじめに照明系における対物レンズを介した PSPR の励起の原理について述べ, 続いてラマン分光計測光学系と統合した顕微ラマン分光 計測法について解説する.

第2章で述べた通り,高屈折率ガラスと接した金や銀などの金属薄膜に,高屈折率ガ ラス側から共鳴条件を満たす入射角度と偏光で光を入射すると,入射した光のエバネ ッセント波と PSPR の空間,波数,角周波数が一致し,金属薄膜表面に PSPR が励起さ れる.この現象は,プリズムを用いたクレッチマン配置だけでなく,高開口数対物レン ズを用いた顕微配置下でも実現することができる.図5.1に示すような光学系を用いて, 対物レンズの中心に対して軸対称的にラジアル(径)偏光(図 5.2 a)させた一様な強度 分布の光を対物レンズに入射したとき,射出瞳は図 5.3 のような光強度分布を示す.な お,ここで述べる瞳は対物レンズの後ろ焦点面のことであり,射出瞳は像側からみた瞳 の像空間のことである.図5.1の光学系には,前章までと同様の手順で作製した R6G分 子を分散させた銀薄膜基板試料を試料部に仕掛け,対物レンズの焦点面は BK7 カバー スリップと銀薄膜界面に位置するよう光学調整した.また,対物レンズと径偏光板の間 にはスペックルノイズリデューサーを挿入,射出瞳像のスペックルノイズを低減した. 図 5.3 が示す射出瞳像は,瞳における R6G/銀薄膜試料からの反射光の強度分布を示し ている.この像には,円環状の光強度が低い領域が見られるが,この部分は PSPR の励 起条件を満たした入射光が反射している,つまり,表面プラズモン共鳴により反射光強 度が低下したことを示している. この試料の ATR 曲線は, 共鳴角を 43.95 ° に持つ SPR ディップを持つことから (ATR 曲線を図 5.11 に示している.), この光強度が低い 円環状の領域は, 43.95 ° を共鳴角とした SPR ディップが軸対称的に分布しているこ とを示している. なお, 反射光強度が低い領域が軸対称的に分布するのは, 入射光がラ ジアル偏光しているためである. ここでは, この円環状の光強度が低い領域を SPR デ ィップリングと呼ぶことにする.







図 5.2. 軸対称偏光の概念図 a) ラジアル偏光 b) アジムサル偏光



図 5.3. 図 5.1 の光学系で撮像された R6G/銀薄膜試料の射出瞳像

この SPR ディップリングに重なるような円環状の光を瞳に入射すると, 理論的には 最も効率的に PSPR を励起することができる^[12]. また PSPR が励起されたときに, 金属 薄膜上に分子があれば, そのラマン散乱光は PSPR により増強される. この増強ラマン 散乱光は対物レンズ側に指向的に放射されることから, 照明系と同じ対物レンズで集 めることができる. これを実現するために, 図 5.4 と図 5.5 に示すような光学系を作製 した. 532 nm の連続発振レーザーを光源として, ビームエキスパンダーでレーザー光 を拡大し, 径偏光板 (SWP-532, 株式会社フォトニックラティス) とアキシコンレンズ を介して, ラジアル偏光したベッセル Jo ビームを生成する. ベッセルビームはアキシコ ンレンズに続くレンズにより, フーリエ変換像として輪帯照明となる. この輪帯照明を ズームレンズシステムにより拡大縮小することで, その大きさを調節する. このズーム

レンズにより大きさを制御した輪帯照明は、さらにいくつかのレンズとビームスプリ ッター (TS レーザーライン用キューブ型無偏光 B/S 532nm 25mm, Edmond Optiocs Inc.) を介して、対物レンズ (CFI Plan Apo λ,株式会社ニコン, 倍率: 100 倍, 開口 数:1.45)の瞳にリレーされる. 対物レンズの焦点面には, 瞳に入射する輪帯照明の大 きさに対応した角度で光が入射する.射出瞳の像は、モノクロCMOSカメラ(acA4024-29um, Basler Inc., 画素数:12 MP (4024 pixel × 3036 pixel), ピクセルサイズ:1.85 μm×1.85μm) で撮像され、ラマン散乱は、ロングパスフィルターとラジアル偏光板 を介して, レイリー散乱光を取り除き, 直線偏光に戻したうえで, 分光器と CCD カメ ラにより分光計測される. 分光器と EM-CCD カメラは前章までの実験に用いたものと 同じである(分光器: Shamrock 303i A, Oxford Instruments Plc., 焦点距離: 303 mm, グレーティング:600 lines/mm EM-CCD: Newton DU970P-BV, Oxford Instruments Plc., 冷却温度:-80℃). 射出瞳のイメージング光学系とラマン分光計測の光学系は, 光 路セレクタースイッチにより切り替えることができる.また、ラジアル偏光板に入射す る光を s 偏光から p 偏光に変更することで, 焦点面への入射光をラジアル偏光からアジ ムサル(方位角) 偏光(図 5.2 b) にすることができる.図 5.6 は、光学系の対物レンズ と試料部における入射光と反射光、ラマン散乱光の光路を示している.図 5.7 と図 5.8 に,光学系のアキシコンレンズの焦点面,その後ろのレンズの焦点面の光強度分布の測 定結果をそれぞれ示した. これらの光強度分布は, 各面に CMOS カメラ(Zelux 1.6 メ ガピクセルモノクロ CMOS カメラ, Thorlabs, Inc., 画素数:1.6 MP (1440 pixel × 1080 pixel), ピクセルサイズ: 3.45 μ m × 3.45 μ m)を置いて測定した. アキシコンレン ズに入射した光は、ベッセルビームに変換され、さらにその後ろのレンズにより、ベッ セル Jo関数のフーリエ変換像である輪帯状の照明が形成されたことが確認された.

64







図 5.5. ラマン分光計測用光学系の概念図



図 5.6. 対物レンズと試料部の光路の概念図 a)入射光 b)反射光とラマン散乱光



図 5.7. アキシコンレンズの焦点面の光強度分布



図 5.8. アキシコンレンズの後ろのレンズの焦点面の光強度分布

5.2. 実験方法

前セクションで解説した光学装置を用いて,入射角度を走査しながら,射出瞳のイメ ージング及びその光強度の計測, ラマン分光計測を行った. 試料には,前章までと同様 の手順により, R6G 分子を分散させた銀薄膜を用いた. ラマン分光計測においては, ラ マン散乱光強度の偏光依存性を確認するため,入射光がアジムサル偏光した場合の測 定も行った. アジムサル偏光は,レーザーとビームエキスパンダーの間に 1/2 波長板を 挿入することにより生成した. ラマン分光計測時のレーザーの出力は入射瞳で実測 4.0 mW で,分光器のスリット幅は 50 μm, 露光時間は 30 秒とした.

5.3. 射出瞳のイメージング及び輪帯光強度の計測

R6G を銀薄膜上にキャストした試料を光学装置の試料部に固定し, ズームレンズの 倍率を変更することで, 瞳に入射する輪帯照明の直径を SPR ディップリングの直径周 辺の範囲で走査した. 図 5.9 にそのときの射出瞳のイメージを示す.



図 5.9. 入射角度を走査しながら計測した射出瞳像

輪帯の直径を大きくしてく過程で,輪帯照明が SPR ディップリングと重なったとき に,輪帯状の反射光強度が低下したことが確認された.なお,図 5.9 の各イメージに記 載した数値は,測定時の入射角度を示している.この現象を定量評価するため,図 5.10 に各像の輪帯光の強度を入射角度の関数として示した.ATR 光学系を用いて計測した R6G/銀薄膜試料の共鳴角 43.95 ° (図 5.11)周辺の入射角度で,輪帯の反射光強度が 低下していることが分かった.



図 5.10. 各入射角度で計測した射出瞳の輪帯光強度



図 5.11. R6G/銀薄膜試料の ATR 曲線

図 5.9 で示した瞳の輪帯照明は,厚みを有している.ここでは,この輪帯照明の厚み が入射角度に与える影響について考察する.図 5.12 a に示すように,もし瞳に入射する 輪帯照明の厚みが限りなく無に近いごく薄いものであれば,入射角度 θ;は広がりを持 たないものと見なすことができる.一方,瞳に入射する輪帯照明が厚さを有する場合は, 図 5.12 b に示すように,入射角度は無視できない一定の広がりを持つ.このため,図 5.10 の射出瞳の輪帯光強度の入射角度の関数を定量評価するうえで,輪帯照明の厚み がもたらす入射角度の広がりを考慮する必要があるものと考えた.はじめに,共鳴角か ら離れており,輪帯光の射出瞳像が最も鮮明に得られた入射角度 41.92 °の時の輪帯 の厚みを計算した.輪帯の中心から右側左側の2本の水平方向の断面プロファイルと,
それらと隣り合う 100 本の断面プロファイルの平均をとったプロファイルを図 5.13 に 示す. このプロファイルを最小二乗法で近似したローレンツ関数も,同じく図 5.13 に 示している.図 5.11の ATR 曲線を輪帯光断面プロファイルに近似したローレンツ関数 で、ピークトップ±1°の区間で畳み込み積分を行った.この畳み込み積分により、輪 帯光のうちの 80.9 %の成分の入射角度の広がりを考慮した ATR 曲線を計算すること ができた.その結果を図 5.14 に示す.畳み込み積分をした計算結果は、入射角度の広が りの影響により、もともとの ATR 曲線よりもディップが浅くなり、また曲線自体もな だらかになった.図 5.15 に, ATR 曲線の畳み込み積分の計算結果(図 5.14)と射出瞳 の輪帯光強度(図 5.10)を併載した.射出瞳の輪帯光強度の入射角度の関数(図 5.10) は, ATR 光学系で計測した ATR 曲線(図 5.11)よりも明らかにディップの幅が広く, 両者はもともと一致しなかったが,入射角度の広がりを考慮した畳み込み積分を行っ た場合(図 5.14)は,ATR 曲線のディップの幅が広がり,射出瞳の輪帯光強度の入射角 度の関数により近い曲線となった.このことから,輪帯光の反射光強度の入射角度の関 数は, 輪帯光の厚みがもたらす入射角度の広がりを考慮した ATR 曲線によって評価で きることを見出した. また同様に, 励起光の SPR-EF の理論計算についても, 輪帯光断 面プロファイルに近似したローレンツ関数のピークトップ±1°の範囲の畳み込み積 分を行った. 励起光の SPR-EF は図 4.5 の SPR-EF の電磁界解析と同様の手順で計算し た. 計算には文献値^[13-16] (表 4.2) を引用し, 銀薄膜と R6G 薄膜の厚さは, それぞれ 48.106 nm と 3.191 nm とした(膜厚は, Winspall 3.02の反復アルゴリズムにより図 5.11 のATR曲線をフィッティングして算出した).

71



図 5.12. 入射瞳の輪帯照明がもたらす入射角度 θ_i の広がりの概念図 a)輪帯照明が限り なく薄く,入射角度の広がりが無視できるほど小さい場合 b)輪帯照明に一定の厚みが あり,これにより入射角度が広がりを持つ場合.



図 5.13. 入射角度 41.92 °の射出輪帯光の断面プロファイルと近似ローレンツ関数. グラフ内の図の黄色い領域のように,入射角度 41.92 °の時の射出瞳の輪帯光におけ る,中心から水平方向の左右 2本の断面と,これらと隣り合う断面を併せた合計 202 本の断面のプロファイルの平均から,この輪帯光の断面プロファイルを得た.



図 5.14. ATR 曲線(図 5.11)とその畳み込み積分(convolution integral, CI)の計算結果,入射光の SPR-FE の計算結果とその CI の計算結果



図 5.15. 畳み込み積分した ATR 曲線と射出瞳の輪帯光強度の入射角度の関数

5.4. ラマン散乱の顕微分光計測

前章の実験で輪帯照明の直径を走査したときに,検出系の光路をラマン分光計測系 に切り替えて, ラマン分光計測を行った. ラジアル偏光の場合に加え, PSPR を励起し ないアジムサル偏光で入射する場合でも計測を行い,両者を比較した. 図 5.16 に入射 光をラジアル偏光させて測定したラマンスペクトルを示す. このラマンスペクトルに おいて,入射光が焦点面に入射する角度が共鳴角に近いとき,ラマン散乱光が増大した ことが確認された. そのうち, 317, 406, 614, 775, 1126, 1192, 1365, 1507, 1575, 1650 cm⁻¹は,前章の図 4.4 のラマンスペクトルで確認された R6G のラマン散乱のラマンシ フトとよく一致していることを確認した.ラマン散乱の詳細な振動モードの割り当て は,表 5.1 にまとめた.この結果から, PSPR により R6G のラマン散乱光が増強された ことが示唆された.入射光をアジムサル偏光させて計測したラマンスペクトルを図 5.17 に示す.アジムサル偏光の場合は,微弱な R6G のラマン散乱光しか確認されなか った.この微弱な R6G のラマン散乱光は,共鳴角周辺の入射角度において角度依存的 に増大した.このことから,アジムサル偏光条件下でも,アジムサル偏光に変換されな かった僅かな入射光が存在し,これが PSPR を励起し,増強ラマン散乱が誘起されたも



図 5.16. ラジアル偏光で入射した場合の R6G/銀薄膜試料のラマンスペクトル

のと考えた.入射光の偏光を完全に制御することができないのは,そもそもラジアル偏 光板の偏光変換効率が100%でないことや,ラジアル偏光板で偏光が制御された入射光 も,光学素子で散乱することにより僅かにその偏光が崩れることに起因するものと考 えられる.ここで補足的に,ラジアル偏光板の偏光の変換効率が100%にならない原理 について解説する.図5.18に示す通り,ラジアル偏光板は,直線偏光を軸対称的な偏光 に変換するよう,パターン方向の異なる偏光素子を12枚軸対称的に配置した構造を持 つ.これらの分割された各素子の辺縁部は中心部よりも偏光変換効率が低いはずであ り,これがラジアル偏光板の偏光効率を低下させているものと考えた.



図 5.17. アジムサル偏光で入射した場合の R6G/銀薄膜試料のラマンスペクトル



図.5.18.12枚の素子から構成されたラジアル偏光板(SWP-532)の概念図

Raman bands in	pands in Raman bands in Raman bands in the literature [cm ⁻¹]						assigned vibrational modes
this study (Fig.	Fig. 4.3 of this	Hildebrandt et al. [17]		Watanabe et al. [18]			
5.13) [cm ⁻¹]	study [cm ⁻¹]	RRS	SERRS	RRS	SERRS	NRS	
317	318		313				ring torsional and/or bending [17]
	379	371	380				ring torsional and/or bending [17]
406	412	405	405				ring torsional and/or bending [17]
	516	522	522				ring torsional and/or bending [17]
614	618	514	614	611	612	613	C-C-C ring in-plane bending [17]
775	780	776	774	775	772	775	C-H out-of-plane bending [17]
1126	1127	1131	1129	1127	1127	1130	C-H in-plane bending [17]
1192	1190	1187	1183	1178	1185	1184	C–H in-plane bending [18]
1365	1364	1365	1363	1361	1361	1364	aromatic C – C stretching [17]
1507	1511	1509	1509	1505	1508	1512	aromatic C – C stretching [17]
1539				1536	1538	1533	aromatic C – C stretching [18]
1575	1579	1575	1572	1577	1575	1577	aromatic C-C stretching [17]
1650	1653	1652	1650	1649	1650	1651	aromatic C-C stretching [17]

表 5.1. R6G のラマンバンドと振動モード

^aResonant Raman scattering of R6G. ^bSurface-enhanced resonance Raman scattering of R6G/silver. ^cNormal Raman scattering (off-resonant Raman scattering) of R6G. Partially reprinted with permission from reference [19] Copyright 2021 American Chemical Society.

ラジアル偏光により増強されたスペクトル成分を評価するために、ラジアル偏光の スペクトルからアジムサル偏光のスペクトルを差し引いたスペクトルを計算した.図 5.19 にその差分スペクトルを示す.このスペクトル中の 5 つの R6G のラマンバンド ^[17,18]について、散乱光強度を測定した.測定にあたり前章までと同様の手順で線形ベー スライン補正を行い、バックグラウンドスペクトルの強度の影響を取り除いた.図 5.20 に 5 つのラマン散乱光強度を入射角度の関数として示した(マーカー).また、図 5.14 に示した輪帯光の厚みがもたらす入射角度の広がりを考慮した入射光の SPR-EF の畳



図 5.19. R6G/銀薄膜試料についてラジアル偏光で計測したラマンスペクトルからアジ ムサル偏光で計測したラマンスペクトルの差分スペクトル

み込み積分の計算結果も併せて示した(実線).両者がよく一致したことから, PSPRの 電場増強効果により R6G のラマン散乱光強度の増大を定量的に評価することができた. なお,この光学配置では,銀薄膜から放射される増強ラマン散乱を高開口数対物レンズ で集めていることから,前章までの実験で用いた ATR 光学系と組み合わせたラマン分 光計測とは異なり,入射角度にとは独立的に常に十分広い放射角度のラマン散乱を検 出している.このため,この実験で得られたラマン散乱光強度の入射角度依存性は,入 射光の SPR-EF とラマン散乱光波長の光の SPR と積ではなく,入射光の SPR-EF と一 致するはずである.さらに,532 nm の光を吸収するキサンテン環の振動モードに由来 する 614,1365,1650 cm⁻¹のラマン散乱が,炭化水素の振動モードに由来する 775 と 1192 cm⁻¹のラマン散乱よりも強度が高いことから,共鳴ラマン効果が発生しているこ とが示唆された.



図 5.20. ラマン散乱光強度の入射角度の関数と畳み込み積分した入射光の SPR-EF

5.5. 結論

本研究では、金属薄膜上に励起された PSPR により増強されたラマン散乱を、対物レ ンズを用いた顕微光学配置で励起、検出する光計測装置を作製した.対物レンズの焦点 面へ入射する光の入射角度と偏光を制御し、入射光がプラズモン共鳴条件を満たした とき、銀薄膜上に PSPR が励起し、また、それに伴う表面増強ラマン散乱が誘起された. PSPR の励起は、入射角度を走査しながら射出瞳の光強度を測定し、さらに、畳み込み 積分により入射瞳面の輪帯照明の厚さを考慮した ATR 曲線で定量的に評価した.また、 PSPR により誘起された R6G の表面増強ラマン散乱光強度を、614、775、1192、1365、 1650 cm⁻¹のバンドに現れた 5 の振動モードについて解析し、これらの散乱光強度の入 射角度依存性が、畳み込み積分により入射瞳面の輪帯照明の厚さを考慮した入射光の SPR-EF により定量的に評価できることを示した.以上の結果より、定量的に解析する ことができる表面増強ラマン散乱光の観察および計測を、高感度ラマンイメージング 法への応用を指向した顕微光学配置で実現することに成功した.

参考文献

- 1. M. Delhaye and P. Dhamelincourt, "Raman microprobe and microscope with laser excitation," *Journal of Raman Spectroscopy*, **3**, 33 (1975).
- G. P. Puppels, F. F. M. de Mul, C. Otto, J. Greve, M. Robert-Nicoud, D. J. Arndt-Jovin, and T. M. Jovin, "Studying single living cells and chromosomes by confocal Raman microscopy," *Nature*, 347, 301 (1990).
- K. Hamada, K. Fujita, N. I. Smith, M. Kobayashi, Y. Inouye, and S. Kawata, "Raman microscopy for dynamic molecular imaging of living cells" *The Journal of Biomedical Optics*, 13, 044027-1 (2008).
- 4. 濱口宏夫, 岩田耕一, ラマン分光法, 講談社 (2015).
- K. Fujita, S. Ishitobi, K. Hamada, N. I. Smith, A. Taguchi, Y. Inouye, and S. Kawata, "Time-resolved observation of surface-enhanced Raman scattering from gold nanoparticles during transport through a living cell," *Journal of Biomedical Optics*, 142, 024038-1 (2009).
- Q. Ye, J. Fang, and L. Sun, "Surface-enhanced Raman scattering from functionalized self-assembled monolayers. 2. Distance dependence of enhanced Raman scattering from an Azobenzene terminal group," *The Journal of Physical Chemistry B*, 101, 8221 (1997).

- S. S. Masango, R. A Hackler, N. Large, A. I. Herry, M. O. McAnally, G. C. Schatz, P. C. Stair, and R. P. Van Duyne, "High-resolution distance dependence study of surface-enhanced Raman scattering enabled by atomic layer deposition," *Nano Letters*, 16, 4251 (2016).
- G. Compagnini, C. Galati, and S. Pignataro, "Distance depence of sueface enhanced Raman scattering probed by alkanethiol self-assembled monolayer," *Physical Chemistry Chemical Physics*, 1, 2351 (1999).
- K. Kurosawa, R. M. Pierce, S. Ushioda, and J. C. Hemminger, "Raman scattering and attenuated-total-reflection studies of surface-plasmon polaritons," *Physical Review B*, 33, 789 (1986).
- H. Reather, "Surface plasmon on smooth and rough surface and gratings," Springer Tracts in Modern Physics Volume 111 (1988).
- 11. H. Kano, S. Mizuguchi, and S. Kawata, "Excitation of surface-plasmon polaritons by a focused laser beam," *Journal of the Optical Society of America B*, **15**, 1381 (1998).
- 12. H. Kano, D. Nomura, and H. Shibuya, "Excitation of surface-plasmon polaritons by use of a zeroth-order Bessel Beam," *Applied Optics*, **43**, 2409 (2004).
- 13. SCHOTT Zemax catalog 2017-01-20b, 2017.
- P. B. Johnson and R. W. Christy, "Optical constants of the noble metals," *Physical Review B*, 6, 4370 (1972).

- 15. Y. Lu and A. Penzkofer, "Absorption behaviour of methanolic Rhodamine 6G solutions at high concentration," *Chemical Physics*, **107**, 175 (1986). Figure Refractive indices of R6G dispersed in methanol in a 2.0 mol/L concentration shown in Figure 4 were cited.
- 16. P. E. Ciddor, "Refractive index of air: new equations for the visible and near infrared," *Applied Optics*, **35**, 1566 (1996).
- 17. P. Hildebrandt and M. Stockburger, "Surface-enhanced resonance Raman spectroscopy of Rhodamine 6G adsorbed on colloidal silver," *The Journal of Physical Chemistry A*, 88, 5935 (1984).
- H. Watanabe, N. Hayazawa, Y. Inouye, and S. Kawata, "DFT vibrational calculations of Rhodamine 6G adsorbed on silver: analysis of tip-enhanced Raman spectroscopy," *The Journal of Physical Chemistry B*, **109**, 5012 (2005).
- K. Honda, H. Ishitobi, and Y. Inouye, "Incident angle dependence of Raman scattering for distinct vibrational modes enhanced by surface plasmon resonance excited on a silver thin film," *The Journal of Physical Chemistry C*, **125**, 27678 (2021).

総括

本論文の第1章では、研究背景の中で重要は位置づけとなるラマン散乱と表面増強ラ マン散乱について解説した. 第2章では, 本研究の手法の中核となる伝搬型表面プラズ モン共鳴とそれにより増強されたラマン散乱について解説した. 第3章では, 減衰全反 射光学系の作製とそれを用いて行った銀薄膜の減衰全反射計測実験について報告し, 続いて第4章では, 減衰全反射光学系とラマン分光計測光学系を組み合わせた光学系を 作製し. PSPR により増強されるローダミン 6G のラマンスペクトルを計測し定量評価 した結果について報告した. この研究では、PSPR による R6G の増強ラマン散乱光の 励起および散乱特性を, 618, 780, 1190, 1364, 1653 cm⁻¹のバンドに現れた複数の振動モ ードについて解明した. 増強ラマンの手法に PSPR を用いたことにより, 励起光の SPR-EF とラマン散乱光の SPR-EF を個別に定量的に評価することができること, また 検出されたラマン散乱光の角度依存性が、入射光およびラマン散乱光の波長の光の SPR-EF の積として与えられることを見出した. さらに, 5 つのバンド間のラマン散乱 光の強度比と各ラマン散乱の分子振動モードを解析することにより,R6Gの共鳴ラマン 散乱現象を定量的に評価した. 以上の結果から, 銀薄膜に吸着した R6G の表面増強ラ マン散乱現象を SPR-EF と共鳴ラマン散乱現象により定量的に解明することに成功し た.

第5章では, PSPR 顕微光計測系とラマン分光計測系を組み合わせた顕微ラマン分光 計測装置の作製と, これを用いて測定した PSPR により増強されたローダミン 6G のラ マンスペクトルを定量評価した結果について報告した. PSPR により誘起された R6G の増強ラマン散乱光の散乱特性を, 614, 775, 1192, 1365, 1652 cm⁻¹のバンドに現れた複 数の振動モードについて解明した. これらのラマン散乱光強度の入射角度依存性が, 畳 み込み積分により瞳の輪帯照明の厚みを考慮した入射光の SPR-EF により与えられる ことを見出した. 以上の結果から, 銀薄膜に吸着した R6G の表面増強ラマン散乱現象 を, 対物レンズを用いた顕微光学配置により観察および計測することに成功し, PSPR により誘起された表面増強ラマン散乱現象を高感度顕微ラマンイメージング法に応用 できる可能性を示した.

業績リスト

原著論文

- <u>Koichi Honda</u>, Hidekazu Ishitobi, and Yasushi Inouye, "Incident Angle Dependence of Raman Scattering for Distinct Vibrational Modes Enhanced by Surface Plasmon Resonance Excited on a Silver Thin Film," *The Journal of Physical Chemistry C*, **125**, 27678-27684 (2021).
- <u>Koichi Honda</u>, Hidekazu Ishitobi, and Yasushi Inouye, "Microscopy of Raman scattering enhanced by propagating surface plasmon resonance on a metal thin film," (in preparation).

国際学会(口頭発表)

 O<u>Koichi Honda</u>, Hidekazu Ishitobi, Yasushi Inouye, "Quantitative evaluation of Raman scattering intensity enhanced by propagating surface plasmon resonance", Conference on Laser and Elector-Optics Pacific Rim 2022 (CLEO-PR 2022), CTuA16C-05, Sapporo, August, 2022.

国際学会 (ポスター発表)

 <u>Koichi Honda</u>, Hidekazu Ishitobi, Yasushi Inouye, "Incident angle dependence of Raman scattering enhanced by propagating surface plasmon resonance", Global Nanophotonics 2022, P-12, Osaka, March, 2022. <u>Koichi Honda</u>, Kyoko Masui, Hidekazu Ishitobi, Yasushi Inouye, "Raman scattering of Rhodamine 6G enhanced by propagating surface plasmon resonance on a flat silver film", Global Nanophotonics 2019, P-24, Taipei, December, 2019.

国内学会(口頭発表)

- ○<u>本多巧一</u>,石飛秀和,井上康志. "伝搬型表面プラズモン共鳴により増強され たラマン散乱スペクトルの定量評価", 2021 年度日本分光学会年次講演会, BI-15, オンライン, 2021 年 10 月.
- ○<u>本多巧一</u>,石飛秀和,井上康志. "伝搬型表面プラズモン共鳴により励起され たローダミン 6Gの増強ラマン散乱における共鳴ラマン効果",第68回応用物 理学会春季学術講演会, 18a-Z08-11, オンライン, 2021 年 3 月.
- ○本多巧一,石飛秀和,井上康志. "伝搬型表面プラズモン共鳴によるローダミン 6Gの増強ラマン散乱",第81回応用物理学会秋季学術講演会,10a-Z17-3, オンライン,2020年9月.
- ○<u>本多巧一</u>,石飛秀和,井上康志. "伝搬型表面プラズモン共鳴による増強ラマン散乱",第 67 回応用物理学会春季学術講演会,14a-B309-8,東京,2020 年 3
 月.

謝辞

本研究は、大阪大学大学院生命機能研究科井上研究室、並びに産業技術総合研究所先 端フォトニクス・バイオセンシング・オープンイノベーションラボラトリにおいて行わ れたものである.

大阪大学大学院生命機能研究科の井上康志教授には,私を研究室に受け入れていた だき,5年間にわたり本研究の全てにおいて懇切丁寧なご指導を賜りましたことを深く 感謝いたします.

本学大学院生命機能研究科の石飛秀和准教授には,ソフトウェアの開発,理論計算, 光学装置の使用など,研究の実際に関するさまざまな指導を賜りましたことを深く感 謝いたします.

産業技術総合研究所先端フォトニクス・バイオセンシング・オープンイノベーション ラボラトリの民谷栄一ラボ長,藤田聡史副ラボ長,永井秀典副ラボ長,脇田慎一氏には, 産業技術総合研究所のリサーチアシスタントとして受け入れていただき,研究指導を 賜りましたことを深く感謝いたします.

学際融合を推進し社会実装を担う次世代挑戦的研究者育成プロジェクトの森井英一 次世代研究者育成推進室長には、プロジェクト生として博士課程における教育および 研究費獲得の機会を賜りましたことを深く感謝いたします. 本学生命機能研究科の倉橋隆教授には,1,2年次に副指導教員として生命機能研究 科 B 群科目生命機能学の担当教員,および中間評価論文の副査をご担当いただきまし たことを深く感謝いたします.

本学生命機能研究科の木村真一教授には,予備審査員の主査として本論文の執筆に あたりご指導をいただいたうえ,予備審査を統括していただきましたことを深く感謝 いたします.また,本審査の副査として本論文の執筆にあたりご指導を賜りましたこと を深く感謝いたします.

本学生命機能研究科の石島秋彦教授には,予備審査員の副査を担当していただくと ともに,本審査の副査として本論文の執筆にあたりご指導をいただきました.深く感謝 の意を表します.また,4 年生のときには,コンピュータ科学演習に参加させていただ き,画像解析を中心に本研究において有用な技術を習得させていただきました.このよ うな教育機会を与えていただきましたことにも深く感謝の意を表します.

本学生命機能研究科の上田昌宏教授には,予備審査員の副査としてご助言をいただ くとともに,本論文の執筆にあたりご指導をいただきましたことを深く感謝いたしま す.また,本審査の副査として,本論文の執筆にあたりご指導を賜りましたことを深く 感謝いたします.

89