チップ増強型近接場ラマン散乱 分光によるナノイメージング

井上康志・市村垂生・渡辺裕幸*・河田 聡**, ***

大阪大学大学院生命機能研究科 ☎ 565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1
*富士写真フイルム株式会社先進コア技術研究所解析技術センター ☎ 250-0193 神奈川県南足柄市中沼 210
**大阪大学大学院工学研究科応用物理学専攻 ☎ 565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1
***理化学研究所 ☎ 351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1

(2005 年 6 月 23 日受理)

Tip-enhanced Near-field Raman Spectroscopy for Nano-imaging

Yasushi INOUE, Taro ICHIMURA, Hiroyuki WATANABE* and Satoshi KAWATA**, ***

Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, 2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871

*Analysis Technology Center, Advanced Core Technology Laboratories, Fuji Photo Film Co., Ltd.

210 Nakanuma, Minamiashigara, Kanagawa 250-0193

**Department of Applied Physics, Osaka University, 2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871

***RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198

(Received June 23, 2005)

A metallic probe having a nano-scaled tip strongly enhances the optical field in the local vicinity of the tip apex. Using this effect, which is analogous to the surface enhanced Raman scattering, we can excite Raman scattering in a nanometric region, and consequently realize nano-identification, nano-analysis and nano-imaging of molecules and crystals. In this article, we introduce the mechanism and recent results of the tip-enhanced near-field Raman scattering spectroscopy. In particular, unique spectral shapes observed in the tip-enhanced Raman scattering spectra are discussed via a quantum chemical calculation. We also demonstrate that tip-enhanced spectroscopy has been applied to nonlinear Raman scattering and has achieved molecular nano-imaging with a high resolution and a high sensitivity.

1. は じ め に

金や銀などの金属ナノ構造に吸着した分子種からのラマン散乱光は、孤立した分子からのラマン散乱光と比べると、その散乱光強度が 10^4 以上増強されることが知られている。この現象は表面増強ラマン散乱 (SERS: surface enhanced Raman scattering) と呼ばれる。電極や触媒に吸着した分子からのラマン散乱光を高感度に検出することで電極反応や触媒反応での分子の吸着状態を解明する計測法として、表面科学の分野でも利用されている。SERS には、金属ナノ構造による局在プラズモンポラリトンの誘起による電磁気学的な増強メカニズムと、吸着した分子の分子軌道と金属表面のエネルギーバンド間の共鳴的な電荷移動による化学的な増強メカニズムが混在してい

るとわれている¹⁾。とくに、2つの金属ナノ粒子が接合したときの間隙では 10^{12} 倍ものラマン散乱の増強が得られ、それにより1分子からのラマン散乱光を検出できることが報告されている²⁻⁵⁾。また、化学的な電荷移動型の増強効果では、振動モード選択性により特定のラマンバンドだけが増強されたり、金属表面への吸着により分子構造が摂動を受け、振動数が変化することもある。

このような SERS 効果は、ナノスケールの先端を有する金属ナノ探針でも誘起することができる。金属ナノ探針を試料表面上で2次元的に走査し、各点でのラマン散乱光スペクトルを検出すれば、ナノ探針先端近傍の分子を識別、分析し、各化学種の空間分布をマッピング、イメージングすることができる。とくに電磁気学的増強メカニズムにおいては、ナノ探針先端の金属の近接領域に局在した光場 (=近接場)⁶⁾によりラマン散乱を励起するため、その空間分解能はナノ探針の先端径程度となる。

E-mail: ya-inoue@ap.eng.osaka-u.ac.jp

これがチップ増強型近接場ラマン散乱分光法 (TERS: tip enhanced near field Raman scattering) である。従来の光学顕微鏡は、伝搬する光 (=ファークフィールド、遠方場とも) を励起光として用いるため、空間分解能は波長の半分程度に制限される (これを回折限界と言う) が、チップ増強型近接場ラマン分光法では、この制限を遥かに超えてナノメートルオーダーの空間分解能を達成できる。1999年に私たちのグループがこの方法を発表した後^{7, 8)}, 欧米からも追隨してナノラマン散乱分光法として報告されている^{9~11)}。

最近では、化学的な増強効果によると見られる特定のラマンバンドだけの増強や振動数変化がナノスケールの空間分解能で観察されたり¹²⁾, 金属ナノ探針でファン・デル・ワールス力を印加することで特定のラマンバンドだけが振動数をシフトさせるという新たな現象も見いだされている¹³⁾。また、コヒーレントアンチストークスラマン散乱 (CARS: coherent anti-Stokes Raman scattering) を金属ナノ探針で誘起し、フォトンの閉じ込め効果を非線形光学効果と組み合わせることで相乗的に高め、15 nm の空間分解能も実現している¹⁴⁾。本稿では、金属ナノ探針を用いた増強型近接場ラマン散乱分光法の原理と実際を、これら最新の研究成果を交えながら紹介していきたい。

2. チップ増強型近接場ラマン散乱分光法の原理

チップ増強型の近接場ラマン散乱分光法では、先鋭な金属ナノ探針を用いて、その先端のナノ構造によりラマン散乱を局所的に増強する。通常、原子間力顕微鏡 (AFM: atomic force microscopy) 用のカンチレバー探針に金属薄膜を蒸着コートしたもの⁸⁾や、電解研磨により先鋭化した金属ナノ探針が用いられる¹¹⁾。金属ナノ探針先端での電場増強効果は、従来の SERS における増強効果と同様に、入射場と金属ナノ探針先端のナノ構造による局在プラズモンの共鳴効果として説明される^{1, 15)}。局在プラズモンは、波長よりも十分に小さな金属ナノ探針先端において金属内の自由電子が集団的に同位相で振動することにより、誘起される。この分極した電子集団は、それ自身が作る反電場により復元力を受けることで、誘起と復元が繰り返され振動する。このような集団的な電子の振動をプラズモンと呼び、プラズモンが外部の電磁場とカップリングすることで、共振状態になり周囲の近接場が著しく増強される。とくに、ナノサイズの探針先端では空間的な位相遅延が無視できるため、カップリングが容易に実現され、局在プラズモンを強く誘起できる¹⁶⁾。このような双極子的なプラズモンモードは、SERS にお

ける金属微粒子の電場増強効果を記述する最もシンプルなモデルとしてよく用いられてきた。

実際の TERS の実験において金属ナノ探針は、単純な真球や楕円球ではなく複雑な構造となるため、局在プラズモンによる電場増強効果を解析的に記述するのは容易ではない。通常、数値解析手法を用いて電場計算し、その分布や分光特性を解釈する^{17~19)}。Fig. 1 (a) に、金属ナノ探針先端における電場増強効果を有限差分時間領域法 (FDTD: finite-difference time-domain) により計算した結果を示す¹⁷⁾。誘電体基板 (ガラス基板) 上に先端径 40 nm の銀探針を垂直に配置し、誘電体側から 45 度の角度 (全反射角以上) で光を入射したときの、探針先端付近における光強度分布を計算した。入射場の偏光は基板表面に対して p 偏光とした。光電場が探針先端近傍のごく微小な局所領域で増強されている様子がわかる。Fig. 1 (b) は、この局在場の基板平面上の空間的な広がりを見せている。その広がりには 40 nm 程度であり、入射場の波長に無関係に探針先端径のみで決まる。従来の光学顕微鏡の焦点スポットサイズが波長程度であることを考えると、遥かに小さい空間に光が閉じ込められていることがわかる。このナノサイズの局所場により、ナノ領域の分子のラマン散乱を増強するのである。この計算においては、電場強度の増強度は約 80 倍であった。ラマン散乱過程においては、電場増強効果が入射場と散乱場に対して作用するため^{20, 21)}, ラマン散乱強度がおおよそ 6,400 (=80²) 倍に増強されることになる。増強度の数値は計算条件 (解析法、先端形状、複素誘電率、照明方法など) に大きく依存することに注意しなければならないが、計算上 10⁶ 倍以上のラマン散乱増強度が実現可能であることが示されている^{18, 19)}。

Fig. 1. Enhanced electric field localized at a silver probe tip, calculated with the FDTD method. A silver probe is placed on a dielectric (glass) substrate. (a) Intensity distribution in a plane involving the tip axis and the wave vector of the incident field. (b) Intensity distribution on the surface of the dielectric substrate.

3. ローダミン 6 G の近接場ラマン散乱測定

金属ナノ探針による増強ラマン散乱分光の実験結果の一例として、蛍光色素の1つであるローダミン 6 G の増強ラマンスペクトル測定について紹介する²²⁾。試料には、銀を蒸着コート（膜厚：約 8 nm）したカバーガラスに、ローダミン 6 G 分子（Fig. 2）のエタノール溶液（2 mM）を滴下・乾燥したものを用いた。これを、Fig. 3（a）に示すような近接場分光システムにより観察した。本システムでは、AFM 用のシリコンカンチレバー先端に約 40 nm

Fig. 2. Molecular structure of a Rhodamine 6 G molecule.

Fig. 3. (a) Schematic of a near-field Raman microscope. See the text for details. (b) Tip apex of the metallic probe observed by a scanning electron microscope.

の銀を蒸着したもの（Fig. 3(b)）を用いた。この先端を原子間力制御（コンタクトモード）によりローダミン 6 G の薄膜に近接させ、ラマン散乱を局所的に増強した。ラマン散乱の励起光として、発振波長 488 nm のアルゴンレーザー（92 μ W）を用い、高開口数（NA=1.4）の対物レンズにより試料表面上に集光した。Fig. 3(a) に示すような集光全反射照明光学系²³⁾を採用し、試料上で基板から波長程度の領域に局在した集光スポットを形成した。探針先端からのラマン散乱光は、液体窒素冷却 CCD 検出器によって検出した。試料ステージに PZT（チタン酸ジルコン酸鉛） piezo 移動ステージを用い、スペクトルマッピングや分光イメージングすることを可能とした。

本実験では銀薄膜を蒸着したガラス基板を用いることで、ローダミン 6 G の蛍光をクエンチさせ、その影響を軽減した。また、この銀薄膜は電場増強効果も有することから、基板側においても SERS 効果を誘起する。したがって本実験では、銀ナノ探針と銀薄膜の両方による電場増強効果（すなわち、TERS と SERS）が生じている。もちろん、ナノスケールの空間分解能を実現するのは、ナノ探針での局所増強効果による。

銀ナノ探針を接触させて増強したラマンスペクトルを Fig. 4（a）に示す。試料表面から離れたときのラマンス

Fig. 4. (a) A Raman spectrum of Rhodamine 6 G obtained when the tip of the probe is attached on the sample surface. The laser power and the exposure time are 92 μ W and 1s, respectively. (b) A Raman spectrum of Rhodamine 6 G without the probe. (c) The TERS spectrum resulting from subtraction of the spectrum (b) from (a).

Fig. 5. TERS spectra mapping with 30 nm step.

ペクトル, すなわち通常の SERS スペクトルを, Fig. 4 (b) に併せて示す。Fig. 4 (a), (b) を比較すると, 銀ナノ探針がある場合には, 探針先端での電場増強効果によりラマンスペクトル強度が増大していることがわかる。この増大分こそが, 探針先端直下の約 40 nm 程度の領域内で誘起されたラマン散乱スペクトルであり, TERS スペクトルと呼べるものである。Fig. 4 (a) と 4 (b) の差をとった TERS スペクトルを Fig. 4 (c) に示す。

TERS スペクトルを一次元的にマッピングした結果を Fig. 5 に示す。試料ステージを 30 nm 間隔で走査し, *a* から *j* 点までの各点においてラマンスペクトルを取得した。Fig. 5 中で細線で示されるスペクトル *-a*, *-b*, *-c*, *-d*, *-h*, *-i* および *-j* は, いずれも同一のスペクトル形状を与え, 探針を試料に近づけない状態で測定される SERS スペクトルとよく一致した。一方, 図中で太線で示されるスペクトル *-e*, *-f* および *-g* は, スペクトル *-a* などで見られたバンドに加え, 付加的にいくつかのラマンバンドが増強されている。

4. 近接場ラマンスペクトルの分子振動解析

Fig. 5 で示したローダミン 6 G の TERS スペクトル形状変化の原因を明らかにするために, ローダミン 6 G のラマンバンドについて, 密度汎関数法による基準振動計算を行い, 振動モードを帰属した¹²⁾。特定のラマンバンドの強度変化を解析することによって, 銀薄膜表面における吸着構造ならびにナノ探針先端との相互作用について考察した。基準振動計算には, 汎用分子軌道計算プログラムパッケージ GAUSSIAN 98 Rev. A. 9²⁴⁾ を利用し, 計算レベルとしてはハイブリッド型の汎関数である B3LYP/6-311++G**^{25, 26)} を用いた。

一連のローダミン 6 G の TERS スペクトルのうちで, SERS スペクトルと類似の形状を与えたスペクトルの 1 つ (Fig. 5-a) を Fig. 6 (a) に, 特異な形状を示したスペクトルの 1 つ (Fig. 5-e) を Fig. 6 (b) に示す。Fig. 6 (a) のスペクトルに対して強い増強が見られた 6 本のバンドについて, その振動数を Fig. 6 (b) 中に示す。ま

Fig. 6. Comparison amongst (a) a TERS spectrum similar to SERS spectra (Fig. 5-a), (b) a TERS spectrum exhibiting a unique spectral shape (Fig. 5-e), (c) a NRS spectrum and (d) a calculated Raman spectrum of Rhodamine 6 G.

Fig. 7. The vibrational modes which are strongly enhanced by the silver tip.

た, 非共鳴条件 (励起波長: 1,064 nm) で得られた通常のラマン (NRS: normal Raman scattering) スペクトル (Fig. 6 (c)) および, 基準振動計算より得られた計算ラマンスペクトル (Fig. 6 (d)) を示す。計算ラマンスペクトルの各モードの振動数は, 実測の NRS スペクトルのそれと誤差 15 cm⁻¹ 以内でよく一致し, すべてのバンドの振動モードを帰属することができた。Fig. 7 に, 強度の増強がみられる 6 本のラマンバンドについて, 帰属され

た振動モードを示す。

低振動数領域の SERS スペクトル測定において Ag-N 結合の伸縮振動に帰属される 235 cm^{-1} の振動線²⁷⁾が得られたことから、ローダミン 6 G はアミノ基部位で銀表面に吸着していることが示唆された。加えて、全領域にわたって NRS スペクトル上での振動数と比較してほとんど振動数変化が見られないことから、その吸着構造は、たとえばピリジンなどで見られる吸着角度までも規定されるような強い結合様式²⁸⁾ではないと考えられる。一方、Fig. 6 (b) の TERS スペクトルにおいて強い増強の見られた 6 本のバンドのうち 702 cm^{-1} , $1,054\text{ cm}^{-1}$, および $1,269\text{ cm}^{-1}$ の振動線はキサンテン環とは直交するベンゼン環の振動モードに、 $1,027\text{ cm}^{-1}$, $1,457\text{ cm}^{-1}$ の振動線はキサンテン環のメチル基の振動モードに、 $1,120\text{ cm}^{-1}$ の振動線はアミノ基の NH 変角振動とキサンテン環の骨格振動の結合振動モードにそれぞれ帰属された。6 本のいずれの振動線も、銀表面に吸着していると思われるアミノ基とは反対側にある部分構造の寄与の大きい振動モードであることがわかった。

SERS スペクトルに対する TERS スペクトルの平均的な増強効果の程度としては、銀ナノ探針の接触、非接触時でのラマン強度比と、探針先端径 (40 nm)、照射光のスポット径 (400 nm) を考慮して約 1×10^2 倍と見積もられた。一方、TERS スペクトル中で特異的なラマン強度の増強を示す振動線 (たとえば, ν_3 ($1,054\text{ cm}^{-1}$)) では、増強度は約 2×10^4 倍となることがわかった。TERS 分光におけるラマン散乱強度の増強効果のメカニズムは、2 節で述べた、金属ナノ探針先端での局在プラズモンポラリトンによる電磁気学的 (EM) 機構²⁹⁾に加えて、SERS と同様金属ナノ探針先端部との化学的相互作用 (吸着) による電荷移動 (CT) 機構^{30, 31)}も存在する。先に見積もった平均的なラマン散乱強度の増強度は、EM 機構に基づく実質的な励起光量の増大によってもたらされ、特定のラマン振動線における特異的な散乱強度の増大は、探針先端部の銀原子とローダミン 6 G 分子間の CT 機構によるものと考えられる。したがって、ローダミン 6 G の TERS 測定における CT 機構による寄与分は 2×10^2 と見積もられる。この値は SERS でいわれている CT 機構による増強効果の程度³²⁾とよく一致している。

CT 機構によるラマン強度の増強がみられるローダミン 6 G の 6 本の振動線は、先に述べたように、分子構造的にアミノ基 (= 吸着サイト) の反対側に位置する領域に局在した振動モードである。CT 機構によるラマン強度の増大とは、入射光で生じる金属表面のフェルミレベルから吸着分子種の空軌道への (あるいは逆向きの) CT 遷移によってもたらされる、一種の共鳴ラマン効果と解

釈されている。TERS 分光においては、銀ナノ探針先端の銀原子と吸着分子種の間の分子軌道の重なりによる近距離の相互作用によるものと考えられることができる。今回の測定システムの構成では、銀ナノ探針は、試料基板側の銀薄膜表面に吸着したローダミン 6 G 分子にむかって基板とは反対側から接近、接触する配置をとっている^{22, 23)}。したがって、ナノ探針先端の銀原子は、ローダミン 6 G 分子の銀薄膜表面への吸着位置であるアミノ基とは反対側の部位と相互作用すると考えられる。先述したように、SERS スペクトルより得られるローダミン 6 G の銀薄膜表面への結合様式としては、吸着角度が規定できる強い結合様式ではない (ローダミン 6 G 分子は銀表面ではアミノ基を吸着部位としてランダムな配向構造をとる) ことから、アミノ基の反対側の部位は平均的な描像となり、探針先端の銀原子との特定の部位の相互作用は見られないはずである。一方、特異的な TERS スペクトルを示す領域におけるローダミン 6 G 分子は、探針先端の方向に強く並び、探針先端の銀原子とベンゼン環の分子軌道およびメチル基と強く相互作用していると推定される。つまり、特異的な TERS スペクトルを示す領域では、ローダミン 6 G 分子が、たとえば会合や凝集によって、高次の配向性を有していると考えられる。

以上の議論より推定されたローダミン 6 G の銀薄膜表面への吸着構造および銀ナノ探針との関係のイメージを Fig. 8 に示す。ガラス基板上に蒸着した銀は、海島構造 (Fig. 8 中の楕円) をとり薄膜を形成していることが AFM 観察より確認されている²²⁾。銀薄膜表面へ吸着したローダミン 6 G 分子は、その分子構造をアミノ基 (N)、キサンテン環 (直線) およびベンゼン環 (六角形) で表した場合、アミノ基部位で吸着している。本測定においては、銀ナノ探針を図上方から試料基板に接触した状態で横方向にスキャンして TERS スペクトル (Fig. 5) を取得した。測定された TERS スペクトルにおいて、SERS 類似のスペクトル (Fig. 5-a, b, c, d, h, i, j) を与

Fig. 8. A model of the adsorption of Rhodamine 6 G on the silver surface, deduced from the experiment and calculation.

えた領域では、ローダミン6G分子は特定の配向構造をとらない(ランダムな)状態である一方で、一部の特異なラマン強度の増強を示すスペクトル (Fig. 5-e, f, g)を与えた領域では、たとえば図中央に示すような分子会合あるいは凝集状態を示していると推察した。以上のように、TERS分光では、ナノメートル領域での分子イメージが得られるだけでなく、ナノメートル領域での表面における配向や凝集のような高次構造情報をも明らかにできることを見出した。

5. チップ増強場による非線形ラマン散乱の誘起とナノ分子イメージング

金属ナノ探針先端における局所電場増強効果は、前節で示した通常のラマン散乱(=自発ラマン散乱)だけでなく様々な光-分子相互作用に対しても有効である。たとえば、蛍光²³⁾や二光子励起蛍光³³⁾、第二高調波発生³⁴⁾などを金属ナノ探針先端で局所励起する試みが報告されている。私たちは最近、非線形ラマン散乱の1つであるコヒーレントアンチストークスラマン散乱(CARS: coherent anti-Stokes Raman scattering)を金属ナノ探針により誘起することを実現したので紹介したい。CARSは三次のコヒーレントラマン散乱の1つであり、そのコヒーレンスにより自発ラマン散乱と比べて強い信号が得られるというメリットがある。最近、レーザー走査CARS顕微鏡^{35, 36)}や、金属微粒子による表面増強CARS^{37, 38)}が報告され、注目されている。Fig. 9 (a)にCARS過程を説明するエネルギー遷移図を示す。振動数の異なる2色の励起光により、 $\omega_{\text{CARS}} = 2\omega_1 - \omega_2$ なる振動数を持つ三次の非線形分極を誘起する。この過程において、励起

Fig. 9. (a) Energy diagram of the CARS process. (b) Spatial distribution of the probability of the CARS photon generation in comparison with other optical effects.

光の振動数差 ($\omega_1 - \omega_2$) が分子の分子振動数に等しいとき、この過程は共鳴となり強い分極が生成される。この分極による放射がCARS光である³⁹⁾。

三次の非線形過程であるCARSは、その分極強度が励起光強度の三乗に比例することから、近接場顕微鏡の空間分解能に対して大きな恩恵をもたらすことが期待される⁴⁰⁾。Fig. 9 (b)に示すように、励起光強度に対して線形な光学過程(蛍光、自発ラマン散乱など)や二次の光学過程(第二高調波発生、二光子励起蛍光など)と比較して、CARS分極の誘起効率の空間分布がより狭い領域に閉じ込められる。この結果、高い空間分解能が達成されうる。非線形効果により空間分解能を向上する概念は、ファーフールドの光学顕微鏡においては近年広く認知されつつあるが^{35, 41)}、近接場光学においてはまだ未知数である。非線形効果による恩恵を受けるのは空間分解能だけではない。励起光の増強効果の四乗*の増強効果がCARS光強度に対して作用するため、たとえ弱い増強効果でも、十分強いCARSの増強が得られる。このことは、線形過程に比べて遥かに効率の低い非線形過程を、効率よく誘起するために有利に働く。さらにそれに付随して、チップ増強CARS信号が、集光スポット内の探針先端近傍以外の領域からのバックグラウンド光に比べて、非常に大きくなり、S/N比の大幅な向上も期待される。

試作した近接場非線形ラマン散乱顕微鏡システムの基本的な構成は自発ラマン散乱のときと同様 (Fig. 3 (a) 参照) で、金属ナノ探針を近接させた試料に対してレーザーを照射し、増強されたラマン信号を検出する。ただし、非線形過程であるCARSを効率よく励起するために、2台のモードロックTi:Sapphireレーザー(パルス幅: 5 ps)を励起光源として用いた。約5 psのパルス幅は、周波数領域では約 4 cm^{-1} 程度のスペクトル幅に相当する。これは分子振動のバンド幅とほぼ同程度である。さらに時間幅を狭くすると信号強度は強くなるが、スペクトル分解能が低下してしまうことを考えると、ピコ秒パルスは、励起効率とスペクトル分解能の両方を高める最適な選択であると言える。これら、2本のパルス列を時間的および空間的に同軸に重ね、対物レンズ(NA=1.4, 油浸)により試料表面に集光した。探針として、シリコンカンチレバー探針に銀を20 nm真空蒸着したものを用いた。探針先端でCARS分極を誘起し、この散乱光を対物レンズで集め励起光除去フィルターとモノクロメーターを通して、アバランシェフォトダイオード(APD)により光子計数した。通常のラマン散乱と異な

* 増強効果は励起場に対して三乗で作用するのに加え、誘起されたCARS光に対しても作用するので、四乗となる。

り、CARS 光は 2 色の励起光の波長で決まる単色光であるため、このような単色計測が適しており、効率よく検出される。

試料としては、DNA のネットワーク構造を用いた⁴²⁾。アデニン (A) とチミン (T) のみを含んだ DNA 二重螺旋構造 (poly(dA-dT), poly(dA-dT)) が十数本程度の束になって、網目状に自己組織化したものである。試料の AFM 像を Fig. 10 (a) に示す。構造の高さは 2.5 nm 程度であり、これは 1 本の DNA 二重螺旋構造と同程度である。2 色の励起光の振動数を、 $\omega_1=12,710\text{ cm}^{-1}$ (波長=786.77 nm) と $\omega_2=11,373\text{ cm}^{-1}$ (879.25 nm) に合わせ、その振動数差 ($\omega_1-\omega_2$) を $1,337\text{ cm}^{-1}$ に固定した。これは、DNA を構成するアデニンに特徴的なラマン活性分子振動、五員環伸縮モードの固有振動数に一致する^{13, 38)}。この共鳴条件下でイメージングした後、 ω_2 を変化させ、振動数差をどの分子振動にも共鳴しない $1,278\text{ cm}^{-1}$ に合わせた。

共鳴および非共鳴の振動数条件でイメージングした結果を Fig. 10 (b)-(c) に示す。Fig. 10 (b) に見られるように DNA ネットワークの微細構造が CARS 光でイメー

ジングできた。一方、非共鳴条件下で得られた像 (Fig. 10 (b)) ではほとんどコントラストが得られなかった。すなわち、分子振動に共鳴したときのみ強い CARS 信号が得られた。また、チップ増強信号に比べてそれ以外の領域からの信号がほぼゼロであり、実質的にファーフールドバックグラウンドのないイメージングを達成した。これらの像の矢印で示した 1 ラインのプロファイルを、Fig. 10 (d) に示す。銀ナノ探針を基板から遠ざけて取得したラインプロファイルも併せて示す。ここから明らかなように、非共鳴の条件下では構造からの信号がほとんど得られず、銀ナノ探針を遠ざけると背景光ともども信号強度はゼロになる。また、このラインプロファイルの右のピークの半値幅は 15 nm 程度であった。これは、分子振動イメージングの空間分解能としては過去に類を見ないものである。また、得られた増強効果は、通常ファーフールドの (すなわち銀ナノ探針を用いずに計測した) CARS 分光の結果と比較することにより、単位体積あたりで約 10^6 程度と見積もられた。この増強度は、自発ラマン散乱における増強度が $10^3\sim 10^4$ である^{13, 43)} ことを考えると、著しく大きい。本節の冒頭に述べた、非線形効果による空間分解能と増強度の両方の向上を実験的に実現できたことを示している。

6. ま と め

先端がナノメートル径の金属探針に光を照射することで、その先端のナノ空間に光を閉じこめることができ、さらにナノ光源として分子を照明することで、分子からのラマン散乱光をナノ空間分解能で検出できることを示した。とくに、共鳴現象である局在プラズモンポラリトンが探針先端に励起されるので、光の電場強度が増強され、ラマン散乱の散乱断面積が実効的に増大することで、弱散乱性が補償され、ナノ空間分解能を実現することができた。本稿で示したように TERS を用いることで色素分子やアデニン分子だけではなく、カーボンナノチューブの光物性も評価でき、直径やカイラリティーも決定できる⁴³⁾。また、ナノ探針先端の金属に分子が化学的に吸着することで、特定のラマンバンドだけが増強し振動数が変化する現象が観察され、それにより分子の配向方向を推定できることも示した。さらに、化学吸着で形成された金属原子と分子の錯体の結合長を原子間力顕微鏡で変化させることで振動数がより高振動数側にシフトする現象も見いだしている¹³⁾。光を局在させるもう 1 つの方法である非線形光学現象を TERS で誘起させることで 15 nm の空間分解能で分子イメージングが実現したことも紹介した。今後は、ナノ探針形状の最適化による光の閉じ込め空間の極小化や、特定の分子だけにファン・デ

Fig. 10. Tip-enhanced near-field CARS images of the DNA network structure. (a) A topographic image of the DNA network. (b) A tip-enhanced CARS image in the on-resonant condition ($\omega_1 - \omega_2 = 1,337\text{ cm}^{-1}$). (c) A tip-enhanced CARS image in the off-resonant condition ($\omega_1 - \omega_2 = 1,278\text{ cm}^{-1}$). (d) One-dimensional line profiles at the positions indicated by the solid arrows. The scanned area is 1,000 nm by 800 nm. The pixel dwell time was 100 ms, and the acquisition time for obtaining one image was about 12 min. The average powers of the ω_1 and ω_2 beams were $45\text{ }\mu\text{W}$ and $23\text{ }\mu\text{W}$, respectively, at the 800 kHz repetition rate.

ル・ワールス力を印加することで生じるラマンバンドの振動数変化の検出,あるいは非線形光学現象を組み合わせることで,1分子だけを識別,観察,分析する技術を確立していきたい。

謝 辞

本研究の一部は,文部科学省科学研究補助金(研究課題番号:12131208,16360034,17034034)の援助により行った。また,共同研究者である大阪大学の橋本守博士,Prabhat Verma 博士,矢野隆章氏,理化学研究所の早澤紀彦博士,に感謝いたします。

文 献

- 1) R.K. Chang and T.E. Furtak: "Surface Enhanced Raman Scattering" (Plenum Press, New York, 1981).
- 2) K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L.T. Perelman, I. Itzkan, R.R. Dasari and M.S. Feld: *Phys. Rev. Lett.* **78**, 1667 (1997).
- 3) S. Nie and S.R. Emory: *Science* **275**, 1102 (1997).
- 4) H. Xu, E.J. Bjerneld, M. Käll and L. Börjesson: *Phys. Rev. Lett.* **83**, 4357 (1999).
- 5) A.M. Michaels, M. Nirmal and L.E. Brus: *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 9932 (1999).
- 6) Y. Inouye and S. Kawata: *Opt. Lett.* **19**, 159 (1994).
- 7) Y. Inouye, N. Hayazawa, K. Hayashi, Z. Sekkat and S. Kawata: *Proc. SPIE* **3791**, 40 (1999).
- 8) N. Hayazawa, Y. Inouye, Z. Sekkat and S. Kawata: *Opt. Commun.* **183**, 333 (2000).
- 9) R.M. Stöckle, Y.D. Suh, V. Deckert and R. Zenobi: *Chem. Phys. Lett.* **318**, 131 (2000).
- 10) M.S. Anderson: *Appl. Phys. Lett.* **76**, 3130 (2000).
- 11) A. Hartschuh, E.J. Sanchez, X.S. Xie and L. Novotny: *Phys. Rev. Lett.* **90**, 95503 (2003).
- 12) H. Watanabe, N. Hayazawa, Y. Inouye and S. Kawata: *J. Phys. Chem. B* **109**, 5012 (2005).
- 13) H. Watanabe, Y. Ishida, N. Hayazawa, Y. Inouye and S. Kawata: *Phys. Rev. B* **69**, 155418 (2004).
- 14) T. Ichimura, N. Hayazawa, M. Hashimoto, Y. Inouye and S. Kawata: *Phys. Rev. Lett.* **92**, 220801 (2004).
- 15) S. Kawata: "Near-Field Optics and Surface Plasmon Polaritons" (Springer, Berlin, 2001).
- 16) C.F. Bohren and D.R. Huffman: "Absorption and Scattering of Light by Small Particles" (Wiley, New York, 1983).
- 17) H. Furukawa and S. Kawata: *Opt. Commun.* **148**, 221 (1998).
- 18) J.T. Krug II, E.J. Sánchez and X.S. Xie: *J. Chem. Phys.* **116**, 10895 (2002).
- 19) Y.C. Martin, H.F. Hamann and H.K. Wickramasinghe: *J. Appl. Phys.* **89**, 5774 (2001).
- 20) B. Pettinger: *J. Chem. Phys.* **85**, 7442 (1986).
- 21) K. Ohtaka and M. Inoue: *J. Phys. C* **15**, 6463 (1982).
- 22) N. Hayazawa, Y. Inouye, Z. Sekkat and S. Kawata: *Chem. Phys. Lett.* **335**, 369 (2001).
- 23) N. Hayazawa, Y. Inouye and S. Kawata: *J. Microsc.* **194**, 472 (1999).
- 24) M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, V.G. Zakrzewski, J.A. Montgomery Jr., R.E. Stratmann, J.C. Burant, S. Dapprich, J.M. Millam, A.D. Daniels, K.N. Kudin, M.C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G.A. Petersson, P.Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J. Cioslowski, J.V. Ortiz, A.G. Baboul, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong, J.L. Andres, C. Gonzalez, M. Head-Gordon, E.S. Replogle and J.A. Pople: "GAUSSIAN 98 Revision A. 9" (Gaussian Inc., Pittsburgh, USA, 1998).
- 25) A.D. Becke: *J. Chem. Phys.* **98**, 5648 (1993).
- 26) C. Lee, W. Yang and R.G. Parr: *Phys. Rev. B* **37**, 785 (1988).
- 27) P. Hildebrandt and M. Stockburger: *J. Phys. Chem.* **88**, 5935 (1984).
- 28) D.Y. Wu, B. Ren, Y.X. Jiang, X. Xu and Z.Q. Tian: *J. Phys. Chem. A* **106**, 9042 (2002).
- 29) M. Moskovits: *Rev. Mod. Phys.* **57**, 783 (1985).
- 30) A. Otto, J. Timper, J. Billmann, G. Kovacs and I. Pockrand: *Surf. Sci.* **92**, L 55 (1980).
- 31) A. Otto, J. Billmann, J. Eickmans, U. Ertuerk and C. Pettenkofer: *Surf. Sci.* **138**, 319 (1984).
- 32) J. Billmann, G. Kovacs and A. Otto: *Surf. Sci.* **92**, 153 (1980).
- 33) E.J. Sánchez, L. Novotny and X.S. Xie: *Phys. Rev. Lett.* **82**, 4014 (1999).
- 34) A.V. Zayats and V. Sandoghdar: *Opt. Commun.* **178**, 245 (2000).
- 35) A. Zumbusch, G.R. Holtom and X.S. Xie: *Phys. Rev. Lett.* **82**, 4142 (1999).
- 36) M. Hashimoto, T. Araki and S. Kawata: *Opt. Lett.* **25**, 1768 (2000).
- 37) E.J. Liang, A. Weippert, J.-M. Funk, A. Materny and W. Kiefer: *Chem. Phys. Lett.* **227**, 115 (1994).
- 38) T. Ichimura, N. Hayazawa, M. Hashimoto, Y. Inouye and S. Kawata: *J. Raman Spectrosc.* **34**, 651 (2003).
- 39) Y.R. Shen: "The Principles of Nonlinear Optics" (Wiley, New York, 1984).
- 40) 河田 聡, 井上康志: *応用物理* **71**, 653 (2002).
- 41) For reviews see, for example; W. Denk, J.H. Strickler and W.W. Webb: *Science* **248**, 73 (1990); S. Kawata, H.-B. Sun, T. Tanaka and T. Takada: *Nature* **412**, 667 (2001); M. Hashimoto and T. Araki: *J. Opt. Soc. Am. A* **18**, 771 (2001).
- 42) S. Tanaka, L.T. Cai, H. Tabata and T. Kawai: *Jpn. J. Appl. Phys.* **40**, L 407 (2001).
- 43) N. Hayazawa, T. Yano, H. Watanabe, Y. Inouye and S. Kawata: *Chem. Phys. Lett.* **376**, 174 (2003).