近接場における分子のダイナミック増強振動分光

竇 曉鳴*, 尾崎 幸洋

*京都第一科学 基盤技術研究所 (〒601-8045 京都市南区東九条西明田町57)

*上海交通大学 応用物理学科分子光学研究室 (中華人民共和国上海市20030)

関西学院大学 理学部 (〒662-8501 兵庫県西宮市上ヶ原1-1-155)

Dynamic Enhanced Vibrational Spectroscopy of Molecules in Near Field

Xiaoming DOU* and Yukihiro OZAKI

**Basic Technology Research Laboratory, KDK Corporation*

57 Nishi-aketa-cho, Higashi-kujo, Minami-ku, Kyoto 601-8045, Japan

**Molecular Optics Laboratory, Department of Applied Physics, Shanghai Jiao Tong University, 20030 Shanghai, China*

Department of Chemistry, School of Science, Kwansei-Gakuin University, 1-1-155 Uegahara, Nishinomiya 662-8851, Hyogo Japan

(Received March 15, 1999)

Dynamic enhanced vibrational spectroscopy in the near field such as surface-enhanced Raman scattering (SERS) and surface-enhanced infrared absorption (SEIRA) has recently received keen interest because it shows extremely high sensitivity in the observation of vibrational spectra of molecules. Studies of dynamic enhanced vibrational spectroscopy are of particular importance from the points of applications as well as basic science. A few groups succeeded in the single molecule detection by SERS, stimulating further possibilities of the applications of dynamic enhanced vibrational spectroscopy. The purpose of this review is to provide brief description of dynamic enhanced vibrational spectroscopy in the near field and to introduce our recent studies which aim at the elucidation of the mechanism of the surface enhancement.

Key Words: Dynamic enhanced vibrational spectroscopy, Plasmon resonance, Near-field, Surface-enhanced Raman scattering

1. はじめに

最近, 表面増強ラマン散乱 (surface-enhanced Raman scattering: SERS)¹⁻¹²⁾ や表面増強赤外吸収 (surface-enhanced infrared absorption: SEIRA)¹³⁻¹⁶⁾ など近接場に関する分子振動の超高感度分光法が注目されている. その理由は, これらの分光法が表面増強機構の解明という基礎研究においてのみならず, いろいろな応用においても極めて重要であるからである.

微小領域の金属表面における電磁現象, 光学効果およびその両者の関係に関する理論的研究¹⁷⁻¹⁹⁾, 特に光の波長に比べて十分小さな径を持つ金属微粒子の場合, 強い光電場と微粒子の相互作用により表面に生じるプラズモン励起およびエバネセント場の電磁効果はかなり以前からよく知られている²⁰⁻²⁴⁾. 最近では微粒子表面の近距離において, 光電場が非線形的に増強される現象が静電場理論により詳細に研究され, その光学増強効果の存在および非線形的現象が実験的に確認された²⁵⁻³⁰⁾. 特にSERSの場合, 数桁のラマン散乱強度の増強効果が知られている^{31,32)}. また, 金属微粒子プローブを用いた単分子蛍光の測定も報告さ

れている^{12,32-34)}.

しかし, 近接場における分子のダイナミック増強振動分光の場合, 実際の実験において単独の金属微粒子の光学的性質を測定するのは不可能である. したがって分散系全体のマクロな性質を研究せざるを得ない. 本稿の目的は, 金属微粒子の近接場における表面電磁効果を利用した分子のダイナミック増強振動分光の機構について概説するとともに, その機構解明を目指す筆者らの最近の研究結果について紹介することにある. なお本稿では“ダイナミック”分光という言葉を用い, 近接場における表面プラズモン等の“動き”により著しい表面増強効果をもたらす分光という意味で用いる.

2. 金属微粒子表面の非線形光学現象

一般に, ある物質が電場の中に置かれるとその分子内部の電荷の空間的な分布に変位が生じる (分子分極). 通常, 光の電場は分子の価電子が原子核から受ける強い電場に比べて弱いので, 電子変位による分子分極は電場との相関が線形である. しかし, 近接場における分子振動のダイナミック増強現象においては, レーザー光と金属微粒子との

相互作用に起因する表面の強い電場の効果によって、分子分極 $\mathbf{P}$ と電場 $\mathbf{E}$ との間に $\mathbf{P}=\mathbf{f}(\mathbf{E})$ の非線形現象が生じると考えられている。したがって、非線形現象を摂動論的に逐次展開する近似的理論によると

$$\mathbf{P} = \epsilon_0 \chi^{(1)} \mathbf{E} + \epsilon_0 \chi^{(2)} \mathbf{E} \mathbf{E} + \epsilon_0 \chi^{(3)} \mathbf{E} \mathbf{E} \mathbf{E} + \dots \quad (1)$$

となる。 ϵ_0 は真空中の誘電率、 $\chi^{(n)}$ は n 次の感受率である。2次以上に対応する感受率は非線形感受率と呼ばれる。その場合、マクスウェル方程式による均一光学媒質中の非線形波動方程式は

$$\nabla^2 \mathbf{E} = \mu_0 \epsilon \partial^2 \mathbf{E} / \partial t^2 + \mu_0 \partial^2 \mathbf{P} / \partial t^2 \quad (2)$$

と書ける。 μ_0 は真空中の透磁率、 ϵ は物質の誘電率である。波動方程式(2)の右部分は、非線形分極の双極子モーメントが電磁波の振動源として存在していることを表している。もちろん、非線形光学効果による物質の光吸収、散乱の強度が強く影響し(強度 $\propto$ 非線形感受率)、周波数変化などの現象も現れる。

金属表面の非線形振動分光の基本は分子の2準位によるコヒーレント光の吸収と放出と考えられる。その非線形振動分光法は非線形光学効果を解明する極めて重要な研究テーマである。Fig.1 (a)はレーザー光と金属微粒子の相互作用によって表面に生じた近距離電磁場の分布である。通常、その電磁場は、近接場(near-field)と呼ばれるが、近接場では強度は表面から離れると急速に減衰する^{32,33}。Fig.1 (b)はSERS測定法の模式図であるが、近接場効果により金属微粒子表面の分子が強く励起される。

Fig.1 (a) Near-field effect on the surface of a metal particle. (b) SERS effect for molecules adsorbed on a metal particle.

3. 分散系の分子のダイナミック増強振動分光

3.1 金属微粒子と吸着分子の相互作用

筆者らは、分散系における光学的増強効果の機構を解明することを目的として金属微粒子表面に吸着したアミノ酸分子のSERSを測定し、金属表面と吸着分子の相互作用、分散系の安定性などについて調べた^{27,28}。Fig.2は中性アミノ酸のグリシン分子を例として、金属微粒子の分散系における吸着状態、凝集、pHなどの関係を示したものである²⁷。通常アミノ酸分子は、Fig.2 (a), (b), (c)のように、水溶液中のpHにより、荷電状態が変化する。Fig.2 (d)の状態では、等電点のpHより酸性側であるためアミノ基がプラスに荷電する。したがってグリシンはマイナス電位を持つ金属微粒子と静電的に吸着する。一方、等電点よりアルカリ側では(Fig.2 (f)の場合)、カルボキシル基がマイナスに荷電するので、アミノ酸分子と金属微粒子との間に電気的反発が起こる。よってアミノ酸分子は微粒子上に吸着できず、表面とは離れた状態となる。本来、コロイド分散系の安定性の主な原因となるのは、微粒子表面に電荷が存在することである。マイナスに帯電している金属微粒子の分散系全体は、粒子間の電気的な斥力によって安定化し、凝集も起こりにくい状態になっている。したがって、安定化されたマイナス電位を持つ金属微粒子の分散系にプラスに荷電した分子が混入すると、粒子と分子間の電気的結合により安定性が崩れ、不可逆的な凝集過程がおこる。Fig.2 (g), (i)はそれぞれアミノ酸分子が混入した場合、電気的な相互作用の強さの違いによって強く凝集が進む場合と凝

Fig.2 pH-dependence of structure of glycine (Gly, a, b, c), the mechanism of its adsorption on the gold colloid (d, e, f) and coagulation of gold colloid and Gly (g, h, i).²⁸

集がほとんど起こらない場合の両極を示す。

次に分散系におけるグリシンのSERSの例を示す。Fig.3は、連続発振の近赤外半導体レーザー(802nm)の励起による、 10^{-3} M濃度の金コロイド分散系におけるグリシン分子のSERSのpH依存性である(金属微粒子の平均電位=-41mV, 平均粒径=30nm)。pH9.8以上の場合(g, h)は、Fig.2に示すように凝集が起こらないため増強効果が全く観測されない。しかしpH7.5以下の場合、多くのグリシン分子が金微粒子表面に吸着するため、通常のラマン散乱強度に比べ約 10^5 倍増強されたスペクトルが観測された。このダイナミックな光学増強現象は、パルス制御の光電場が直接分子を励起することにより観測される応答現象と異なり、金属微粒子表面に生じるプラズマ励起により電磁場が非線形的に増大され、吸着分子が強く励起される効果と考えられる^{27,28,34-40}。Fig.3で注目されるのは、通常は非常に弱くしか観測されない NH_3^+ 伸縮振動や対称変角振動が1656と1490 cm^{-1} にはっきりと観測されることと、C-N伸縮振動が1003 cm^{-1} に強く観測されることである。これらはいずれも正電荷を帯びた NH_3^+ 基が金コロイド表面と直接相互作用していることを示す良い証拠である²⁷。

筆者らは金コロイドとグリシンの系についてSERSのpH依存性を詳細に調べた^{27,28}。その結果、pH7以下ではSERSの増強効果はあまり変化しないことがわかった。pHが下がるとコロイドの凝集は進みやすくなり、SERSの最大強度

Fig.3 SERS spectra of Gly adsorbed on gold colloid in aqueous solutions of various pH.²⁷⁾ (a) pH 2.0; (b) pH 4.2; (c) pH 5.5; (d) pH 6.0; (e) pH 7.5; (f) pH 8.2; (g) pH 9.8; (h) pH 12.0.

が観測される時間が早くなる(Fig.5参照)。しかし凝集が進みすぎるとかえってアミノ酸が外へ出てしまうため増強効果そのものはほとんど上がらない。

3.2 表面増強効果とプラズモン励起(共鳴)

筆者らは分散系のSERSの表面増強効果とプラズモン励起の関係を調べた²⁸。Fig.4は金コロイドゾルとグリシン水溶液の混合後に測定した吸収スペクトルである。Fig.4 (a)はpH9.8状態におけるスペクトルである(試料はFig.3 (g)と同じ)。この場合は、金コロイド粒子とグリシン分子は両方ともマイナスに荷電しているためグリシン分子が金属微粒子上に吸着せず、混合後のスペクトルは30nm粒径の金コロイドゾル本来の吸収スペクトルと全く同じであった(色はともにピンク色である)。Fig.4 (b), (c)は、それぞれ、pH6.0(試料はFig.3 (d)と同じ)およびpH3.9における吸収スペクトルである。これらの場合は、金コロイドの凝集が起こるので(Fig.2), 表面プラズモン吸収によるバンドが760~790nmに現れる²⁵⁻²⁸。

Fig.5 (a)は、802nmレーザー励起による金コロイド表面上のグリシン分子のSERSの時間依存である。Fig.2の(h)に相当する(試料はFig.3 (d)およびFig.4 (b)と同じ)状態で30秒間リアルタイムでスペクトルの時間変化を測定した。等電点に近い場合、吸着凝集は緩慢に進行していること(slow coagulation)がSERSの強度変化からわかる。Fig.2 (g)に相当するFig.5 (b)の場合、増強ラマン散乱は一時的に強く現れるが、短時間内(十数秒後)に消えてしまう(試料はFig.4 (c)と同じ)。この場合は、急速に凝集(rapid coagulation)が起こるためである。Fig.3とFig.4, Fig.5の測定結果を併せて考察すると、分散状態による増強光学効果が大きく変わるこの現象を理解するには、微粒子の電位, pH, 吸着凝集状態、およびプラズモン励起などの要因を調べるのが極めて重要であることがわかる。

金属微粒子分散系におけるプラズモン励起の非線形的応答による表面電磁場の増強効果について電磁気学理論により解析すると、非線形理論から得られる以下の二つの式が重要となる。

$$\chi^{(3)} = P f^2 |f|^2 \chi_m^{(3)} \quad (3)$$

$$f = 3\epsilon_d / (\epsilon_m + 2\epsilon_d) \quad (4)$$

Fig.4 UV-Vis spectra of Gly adsorbed on gold colloid at pH 9.8 (a), 6.0 (b), and 3.9 (c).²⁸⁾

Fig.5 Time-resolved SERS spectra of Gly adsorbed on gold colloid (a) pH 6.0 and (b) pH 3.9.²⁸⁾

式(3)は、光電場と金属微粒子の相互作用による3次の非線形光学特性の理論式である($\chi^{(3)}$:三次非線形感受率, P :分子の非線形分極率, f :局所電磁場係数, $\chi_m^{(3)}$:三次非線形応答感受率). 式(4)によると $\epsilon_m + 2\epsilon_d \rightarrow 0$ のとき(ϵ_m :金属微粒子の誘電率, ϵ_d :吸着媒体の誘電率),局所電磁場係数 f は極大となり($f \rightarrow \infty$),分散系の吸収の増大に伴って非線形感受率である $\chi^{(3)}$ が大きくなるので、プラズモン共鳴の非線形光学特性が現れる³¹⁻³³⁾. 励起光波長と分散系のプラズモンの共鳴吸収ピークがほぼ重なる場合,SERSを特に表面増強共鳴ラマン散乱(surface-enhanced resonance Raman scattering: SERRS)と呼ぶ^{10-12,28)}.

Fig.6は、リアルタイムで分散系のSERSとプラズモン吸収の強度変化が同時に観測できるシステムである²⁸⁾. このシステムを用いて分散系の吸着凝集におけるプラズマ励起(共鳴)を観測した. Fig.7は、Fig.5 (b)のグリシン分子の802nmレーザー励起SERSと同時に測定したプラズモン吸収の時間依存特性である. この吸収強度の経時変化は、分散系内部の急速な吸着凝集過程における光学特性とプラズモン励起現象の関連性を反映している. つまり分散系の凝集状態とプラズモン励起現象は、増強光学効果に直接影響することが明らかになった. 吸着凝集の状態変化とプラズモン励起状態はSERSの安定性、再現性に影響を与える大きな要因と考えられる. 一方、その過程において、試料はピンク色から紫色へ、そして最終的に黒色まで変化した. これはプラズマ共鳴のピークが近赤外側へシフトする過程を反映し、プラズマ共鳴吸収のバンドが分散系の凝集過程とともに不可逆的に変化することが確認された. 分散系のダイナミック増強の生起、消滅および強度変化な

Fig.6 A Raman scattering-plasmon absorption simultaneous measurement system employed in the present study.²⁸⁾

Fig.7 Time-dependent change in the absorbance at 802 nm of Gly adsorbed on the gold colloid at pH 3.9.²⁸⁾

どの機構は、主に吸着凝集、表面プラズモン現象による電磁場効果と関連することが明確に示された. また、金属微粒子の分散系における吸着分子の増強効果を考える場合、吸着媒体と微粒子の相対誘電率、粒径、電子移動による自由電子密度の変化などプラズモン励起の非線形光学増強効果と関連する要因についても考察する必要がある²⁵⁻²⁸⁾.

以上解説したSERSを中心とした吸着凝集、プラズモン励起と非線形光学増強効果との関連性の解析から“表面プラズモン励起の吸収バンドが観測されない場合や、プラズモン共鳴の吸収帯から外れる波長を励起波長として用いた場合、SERSは弱いあるいは観測されない”あるいは“分子と表面間の電子遷移に伴うプラズモン共鳴の吸収ピークに励起波長が近づくとも増強効果が強く現れる”というような現象を簡単に理解できるだろう.

4. 増強光学効果と分子構造との関係

分散系における表面増強の非線形光学効果は、分子と金属微粒子との相互作用、相対誘電率、プラズモン励起の光特性だけでなく、温度、微粒子電位、励起光波長および吸着分子種の構造などにも関係する^{25,34-40)}. これまで分子構造と増強光学効果との関係についてはいくつかの考え方が

Fig.8 SERS spectra of Lys and its oligomers and polymers on gold colloid.²⁷⁾ Degree of polymerization (n) is 1 (A), 3 (B), 5 (C), 17 (D), 65 (E), and 154 (F). SERS intensity at 932 cm^{-1} of Lys vs. its molecular weight.²⁷⁾

あった。例えば、増強光学効果は、一般に表面からの距離に依存するため(表面から離れると増強光学効果は指数関数的に減弱する)、鎖状高分子については増強現象はあまり期待できないという考えがある^{25,36,40)}。ここでは、分子構造と表面増強光学効果との関係に関する一つの研究例を紹介する。

Fig.8は、一定モル濃度の条件でリジン分子が(A)154分子、(B)65分子、(C)17分子、(D)5分子、(E)3分子、(F)1分子重合したものを金コロイド上に吸着させたもののラマンスペクトル(励起波長802nm)である²⁷⁾。高分子化するにつれSERS強度が著しく弱くなるのがよくわかる。それについては、二つ重要な要因がある。一つは高分子化した分子の立体障害のために(例えば、長鎖分子が金属微粒子表面を覆う)、他の分子の微粒子表面への吸着が阻害されるということである。もう一つは、局所的表面プラズモン励起には、金属微粒子表面の近距離における近接場が大きな役割を果たしており、その近接場の強度勾配は表面から離れると指数関数的に減衰するという要因である(Fig.1)。実際分子の重合度とSERS強度間の非線形的関係(Fig.8)は近接場の強度関数分布とよく似ることが確認された²⁷⁾。

5. 展 望

本稿で述べた近接場における分子のダイナミック増強振動分光についてはいろいろの応用が期待できる。中でも注目されるのは生物医学分野への応用である。生物医学応用における生体分子の振動分光では、測定感度が実際的な条件(試料の量、濃度など)に左右されるだけでなく、生体分子の特徴(分子構造や電子状態)によっても決まってくる。調べようとしている分子そのものが、強いシグナルを与えない場合、試料の量が微量の場合などは金属コロイドを用いたSERSは高感度を得るためにきわめて有効である。実際、筆者らはSERS酵素イムノアッセイ¹¹⁾やDNAの定量¹⁰⁾において微量生体物質の超高感度分光分析の例を示した。また、ごく最近、単一生体分子のラマンスペクトル

ルもいくつか発表された⁴¹⁾。

このような状況にありながら、分散系のダイナミック増強振動分光では、直接的に本質を明らかにしようとする実験が未だに少なく、理論と十分一致しない現象も多く存在している。したがって、これからのいろいろな分子種の増強振動分光の規則性、機構、複雑な因果関係について、さらに深く研究を進める必要がある。同時にいろいろな測定系の工夫により、高感度分析、医学生物学分野へのさらなる応用の可能性を探る必要がある。

参考文献

- 1) 二又 政之: 分光研究 **46** (1997) 61.
- 2) 大澤 雅俊: 分光研究 **42** (1993) 127.
- 3) S. Nie and S. Emory: *Science* **275** (1997) 1102.
- 4) X. Xu and E. Yeung: *Science* **275** (1997) 1106.
- 5) K. Kneipp, H. Kneipp, G. Deinum, I. Itzkan, R. Dasari, and M. Feld: *Appl. Spectrosc.* **52** (1998) 175.
- 6) M. Ishikawa, O. Yogi, J. Ye, and T. Yasuda: *Anal. Chem.* **70** (1998) 5198.
- 7) W. Suetaka: *Surface Infrared and Raman Spectroscopy* (Plenum, New York, 1995).
- 8) M. Urban: *Vibrational Spectroscopy of Molecules and Macromolecules of Surfaces* (John Wiley & Sons, New York, 1993).
- 9) T. E. Rohr, T. M. Cotton, and N. Fan: *Anal. Biochem.* **182** (1989) 388.
- 10) X. Dou, T. Takama, H. Yamamoto, S. Doi, and Y. Ozaki: *Appl. Opt.* **37** (1998) 759.
- 11) X. Dou, T. Takama, H. Yamamoto, and Y. Ozaki: *Anal. Chem.* **69** (1997) 1492.
- 12) R. Dickson, D. Norris, Y. Tzeng, and W. Moerner: *Science* **274** (1996) 966.
- 13) R. Kellner: *Anal. Chem.* **69** (1997) 395A.
- 14) G. Merklin and P. Griffiths: *J. Phys. Chem.* **B101** (1997) 5810.
- 15) 大澤 雅俊: 触媒 **38** (1996) 534.
- 16) S. Kang, I. Jeon, and K. Kim: *Appl. Spectrosc.* **52** (1998) 278.
- 17) G. Mie: *Ann. Physik.* **25** (1908) 377.
- 18) C. Nylander, B. Liedberg, and I. Lind: *Sens. Actuators* **3** (1982) 79.
- 19) K. Kneipp, R. R. Dasari, and Y. Wang: *Appl. Spectrosc.* **48** (1994) 951.
- 20) U. Kreibig: *J. Phys.* **C2** (1997) 7.
- 21) A. Otto: *Phys. Status Solid.* **26** (1969) K99.
- 22) U. Durig, D. Pohl, and F. Rohner: *J. Appl. Phys.* **59** (1986) 3318.
- 23) A. Ashkin, J. M. Dziedzic, and S. Chu: *Opt. Lett.* **11** (1986) 288.
- 24) F. Hacher, D. Ricard, and U. Kreibig: *Appl. Phys.* **A47** (1988) 347.
- 25) 竹中 亨: 日本写真学会誌 **52** (1989) 63.
- 26) 黒川 洋一, 細谷 洋介: 表面 **34** (1996) 100.
- 27) X. Dou, Y. Jung, H. Yamamoto, S. Doi, and Y. Ozaki: *Appl. Spectrosc.* **53** (1999) 133.
- 28) X. Dou, Y. Jung, Z. Cao, and Y. Ozaki: *Appl. Spectrosc.* in press.
- 29) M. Osawa, K. I. Ataka, K. Yoshii, and Y. Nishikawa: *Appl. Spectrosc.* **47** (1994) 1497.
- 30) A. Henglein: *J. Phys. Chem.* **97** (1993) 5457.
- 31) K. Kneipp, E. Roth, C. Engert, and W. Kiefer: *Chem. Phys. Lett.* **207** (1993) 450.
- 32) M. Kerker, D. Wang, and H. Chew: *Appl. Opt.* **19** (1980) 4159.
- 33) K. Jang and W. Jhe: *Opt. Lett.* **21** (1996) 236.
- 34) M. Xu, and M. Dignam: *J. Chem. Phys.* **96** (1992) 3370.
- 35) P. Hildebrandt and M. Stockburger: *J. Phys. Chem.* **90** (1986) 6017.
- 36) T. Takenaka, K. Eda, M. Mabuchi, Y. Fujiyoshi, and N. Uyeda: *Institu. Chem. Res.* **62** (1984) No. 4, 219.
- 37) G. Chumanov and I. Nabiev: *J. Raman Spectrosc.* **21** (1990) 43.
- 38) P. Lee and D. Melsel: *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 3654.
- 39) S. McCall and P. Platzman: *Phys. Lett.* **77A** (1980) No. 5, 381.
- 40) K. Ohtaka and M. Inoue: *J. Phys.* **15** (1982) 6463.
- 41) M. M. Fang, J. R. Taylor, and S. Nie: *Proc. 1998 Optical Society of America, Annual Meeting & Exhibit ILS-XIV, 14th Interdisciplinary Laser Science Conference*, Optical Society of America, p.464.