

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2006 年 8 月 3 日 (03.08.2006)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2006/080382 A1

(51) 国際特許分類:

G01N 21/65 (2006.01)

城県つくば市東 1-1-1 中央第 4 独立行政法人
産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP).

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2006/301197

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) 国際出願日:

2006 年 1 月 26 日 (26.01.2006)

(25) 国際出願の言語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(30) 優先権データ:

特願 2005-022698 2005 年 1 月 31 日 (31.01.2005) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人産業技術総合研究所 (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関 1 丁目 3 番 1 号 Tokyo (JP).

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 藤巻 真 (FUJIMAKI, Makoto) [JP/JP]; 〒3058562 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 4 独立行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 富永 淳二 (TOMINAGA, Junji) [JP/JP]; 〒3058562 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 4 独立行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 岩邊 泰彦 (IWANABE, Yasuhiko) [JP/JP]; 〒3058562 茨

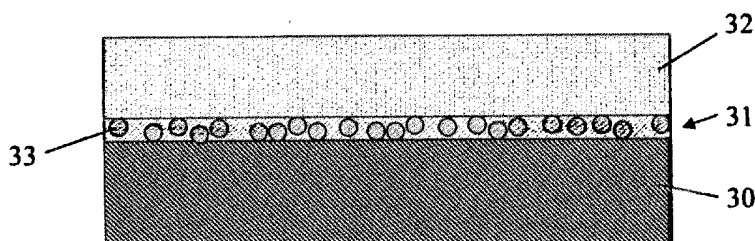
添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: MOLECULE SENSING DEVICE AND RAMAN SCATTERING ENHANCING CHIP

(54) 発明の名称: ラマン散乱増強用チップ及び該チップを具備する分子センシング装置



(57) Abstract: A molecule sensing device-use chip used in a molecule sensing device for performing Raman spectroscopic analysis utilizing Raman scattering enhancement by plasmon and used to increase and stabilize sensing sensitivity and downsizing the chip, and a molecule sensing device provided with the chip. A Raman scattering enhancing chip used in a molecule sensing

device which comprises a Raman scattering exciting light source, a Raman scattering enhancing chip and a Raman scattering light detector, wherein a chip is used that has a molecule detection unit having a dielectric material thin film or a transparent protection material thin film (32) constituted by a semiconductor material thin film formed on a thin film (31) containing a noble metal oxide, and Raman scattering enhancement by a thin film containing a noble metal oxide is used.

(57) 要約: 本発明は、プラズモンによるラマン散乱増強を利用したラマン分光分析を行う分子センシング装置に使用される、センシング感度の高感度化、安定化、及び小型化を実現するための分子センシング装置用チップ及び該チップを具備する分子センシング装置を提供することを目的とする。本発明では、ラマン散乱励起用光源と、ラマン散乱増強用チップと、ラマン散乱光検出器を備えるラマン分光分析を用いた分子センシング装置に使用するラマン散乱増強用チップとして、貴金属酸化物を含有する薄膜 31 上に誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜により構成された透明性保護材料薄膜 32 を形成した分子検出部を有するチップを用い、貴金属酸化物を含有する薄膜によるラマン散乱増強を利用する。

WO 2006/080382 A1

明 細 書

ラマン散乱増強用チップ及び該チップを具備する分子センシング装置
技術分野

- [0001] 本発明は、ラマン分光分析によって分子のセンシングを行う分子センシング装置（分子センサー）のセンサーとして使用されるラマン散乱増強用チップ、及び該チップを具備する分子センシング装置に関する。

背景技術

- [0002] 金属薄膜表面や金属微粒子表面に発生するプラズモンを用いたラマン散乱光の増強（ラマン散乱増強）は、表面増強ラマン散乱（Surface Enhanced Raman Scattering, SERS）として知られ、様々な物質の検出、同定への利用が報告されている。例えば、J. Appl. Phys., Vol. 88, No. 11, pp.6187-6191 (2000)には、表面プラズモン・ポラリトンによる電場増強を利用したラマン分光分析について記載されている。この論文では、ガラス基板上に形成した銀薄膜の表面プラズモン共鳴を利用して、Ag薄膜上に存在するTiO₂薄膜のラマン分光分析を行っている。但し、このような、金属薄膜による表面プラズモン・ポラリトンを用いたラマン散乱の増強には、全反射プリズムを用いる必要があり、全反射プリズムを用いることによる装置の大型化、励起レーザー光の入射角の固定などが必要となり、装置形成が煩雑になってしまうという欠点があった。
- [0003] SERSの誘起は、薄膜のみではなく、金属がナノスケールであればよいので、例えば、ナノスケールの先端径を有する金属の針を分子などの検体に接触させ光を照射すれば、その分子からのラマン散乱光を増強することもできる。このようなナノスケールの金属針を用い、微小空間の検体をマッピングする近接場ラマン顕微鏡も報告されている（Proc. SPIE., 3791, 40 (1999)）。このような観察手法は、微小領域の検体観察には有効であるが、微細金属針の形成が煩雑であることや、一般に測定に長時間を要することから、簡易かつ高速な検体検出、検体同定には適応できない。
- [0004] 貴金属微粒子、例えば、銀等の島状粒子を真空成膜法等で析出させたものや、貴金属コロイドなどを用いたSERSの報告もこれまでに多数ある。しかしながら、貴金属微粒子を用いたSERSでは、粒子サイズのばらつきや、粒子間隔のばらつきの制御

が難しく、増強効果にばらつきが大きいという欠点があった。コロイドを用いる場合には、溶液の特性、特にpHや溶けている物質など、によってSERSによる増強効果がばらついてしまい、測定が難しい、又は定量性が得られない、といった欠点があることが知られている。

[0005] 貴金属微粒子を用いた分子センサーにおける上述のような欠点を克服し、安定かつ高感度に分子を検出する分子センサーとして、酸化銀などの貴金属化合物へのレーザー光照射などによる熱分解時に形成される銀微粒子を用いた分子センサーが報告されている(Jpn. J. Appl. Phys., 39, 980-981(2000)、Appl. Phys. Lett., 79, 620-622(2001)、特開2002-277397号公報)。

[0006] 特許文献1:特開2002-277397号公報

非特許文献1:J. Appl. Phys., Vol. 88, No. 11, pp.6187-6191 (2000)

非特許文献2:Proc. SPIE., 3791, 40 (1999)

非特許文献3:Jpn. J. Appl. Phys., 39, 980-981 (2000)

非特許文献4:Appl. Phys. Lett., 79, 620-622 (2001)

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0007] レーザー光照射などによる酸化銀の分解によって形成される銀微粒子を用いた分子センサーは、ラマン活性の低い検体(分子など)の検出には、感度が足りないという欠点があった。また、酸化銀などの金属酸化物は酸化力が強く、検体や検体が含まれる溶媒を酸化して変質させてしまい、その結果、本来溶媒中に含まれていない物質まで検出してしまうという欠点があった。

[0008] 以上の問題点に鑑み、本発明は、プラズモンによるラマン散乱増強を利用したラマン分光分析を行う分子センシング装置に使用される、センシング感度の高感度化、安定化、及び小型化を実現するための分子センシング装置用チップ及び該チップを具備する分子センシング装置を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明では、ラマン散乱励起用光源と、ラマン散乱増強用チップと、ラマン散乱光検出器を備えるラマン分光分析を用いた分子センシング装置において、ラマン散乱

増強用チップとして、貴金属酸化物を含有する薄膜上に誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜を形成した分子検出部を有するチップを用い、貴金属酸化物を含有する薄膜によるラマン散乱増強を利用する。

発明の効果

- [0010] 本発明によると、従来の貴金属酸化物を含有する薄膜(又は貴金属酸化膜)を用いた分子センシング装置より、さらに高感度に分子を検出することができる。さらには、貴金属酸化物と検出分子又は検出分子が含まれる溶液や気体との化学反応を抑制し、安定してより高精度に分子を検出することができる。

図面の簡単な説明

- [0011] [図1]図1は本発明による分子センシング装置の構成例を示す図である。
- [図2]図2は本発明によるラマン散乱増強用チップの構造例を示す断面模式図である。
- [図3]図3は貴金属酸化物を含有する薄膜中に貴金属を含有する微粒子が形成された様子を示す概念図。
- [図4]図4は本発明によるラマン散乱増強用チップの他の構造例を示す断面模式図である。
- [図5]図5は酸化銀へのレーザー光照射によって形成された銀微粒子のSEM像を示す図である。
- [図6]図6は酸化銀上に形成されたシリコン酸化膜にレーザー光を照射した時のSEM像を示す図である。
- [図7]図7はラマン散乱増強用チップ、検体、セル、励起光入射方向、ラマン散乱光検出方向の配置例を示す図である。
- [図8]図8は本発明によるラマン散乱増強用チップの他の構造例を示す断面模式図である。
- [図9]図9は本発明によるラマン散乱増強用チップの他の構造例を示す断面模式図である。
- [図10]図10は本発明によるラマン散乱増強用チップを用いて測定したラマン散乱スペクトルを示す図である。

[図11]図11は本発明によるラマン散乱増強用チップと比較用チップを用いて測定したラマン散乱スペクトルを示す図である。

[図12]図12はチップ上に形成された誘電体材料層の膜厚とラマン散乱光強度の関係を示す図である。

[図13]図13は熱処理を行ったチップと行っていないチップによる測定結果を示す図である。

[図14]図14はIPA中に溶解したアデニンのラマン散乱スペクトルを示す図である。

[図15]図15は水に溶解したアデニンのラマン散乱スペクトルを示す図である。

[図16]図16は本発明によるラマン散乱増強用チップを用いて測定したラマン散乱スペクトルを示す図である。

[図17]図17は本発明によるラマン散乱増強用チップを用いて測定したラマン散乱スペクトルを示す図である。

[図18]図18は本発明によるラマン散乱増強用チップを用いて測定したラマン散乱スペクトルを示す図である。

[図19]図19は本発明によるラマン散乱増強用チップを用いて測定したラマン散乱スペクトルを示す図である。

[図20]図20は本発明によるラマン散乱増強用チップを用いて測定したラマン散乱スペクトルを示す図である。

[図21]図21は本発明によるラマン散乱増強用チップを用いて測定したラマン散乱スペクトルを示す図である。

符号の説明

- [0012] 10:励起光源、11:光学フィルター、12:ミラー、13:ハーフミラー、14:対物レンズ、15:容器、16:検体、17:ラマン散乱増強用チップ、18:ノッチフィルター、19:分光器、20:光検出器、30:基体、31:貴金属酸化物を含有する薄膜、32:誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜、33:貴金属を含有する微粒子、35:金属層、36:誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜、37:蓋、38:TiO₂薄膜層、39:SiO₂薄膜層、41:励起光、42:ラマン散乱光

発明を実施するための最良の形態

- [0013] 本発明の分子センシング装置は、検出対象となる分子からのラマン散乱光を観測することによって、分子の検出を行う。図1は、本発明による分子センシング装置の構成例を示す図である。
- [0014] ラマン散乱を誘起する励起光源10から発せられた光は、光学フィルター11に通して、不要な輝線等を取り除く。その後、ミラー12によって、光軸を変えて対物レンズ14に導く。対物レンズ14によって、励起光41を、後述する本発明のラマン散乱増強用チップ17上に集光するように照射する。この時、ラマン散乱増強用チップ17は、検体を入れる容器15の底に配置されており、この容器15には検体(この場合、溶液)16が入っている。ラマン散乱増強用チップ17は、分子検出部、すなわち、貴金属酸化物を含有する薄膜層及び、誘電体材料薄膜層又は半導体材料薄膜層が上面になるように配置してある。ラマン散乱増強用チップ表面付近に存在する検体は、そのラマン散乱光強度がラマン散乱増強用チップ17によって増強される。このラマン散乱光42には励起光の反射光や散乱光が含まれているため、これらをノッチフィルター18によって除去し、ラマン散乱光のみを分光器19に取り込んで分光し、光検出器20によって検出することによって分子センシングを行う。
- [0015] 上記は分子センシング装置の一例であって、従来のラマン散乱分光分析を行う光学配置であれば、どのようなものでも用いることが出来る。例えば、光学フィルター11は、励起光源10からの不要な光を取り除き、観測すべきシグナルにこの励起光源からの不要な光や、この不要な光によるラマン散乱光が光検出器に入らないようにすることが主な目的であることから、使用する励起光源、及び観測するラマン散乱シグナルによっては、光学フィルターは不要となる。また、光軸を合わせるためにミラー12を使用しているが、これは勿論、励起光源の配置によって、不要になる場合もあれば、複数必要になる場合もある。また、光ファイバによって、励起光を導いても良い。対物レンズ14は、微小容量の検体を微小領域で測定する、所謂、顕微観測に有効であるが、検体の量が多い場合、または検出すべき領域が広い場合には、用いなくとも良い。
- [0016] 図1では、ラマン散乱光は後方散乱(励起光が入射された側へのラマン散乱)を観測しているが、ラマン散乱はあらゆる方向に発する為、必ずしも後方である必要は無

く、任意の方向で観測が可能である。図1は、後方散乱による観測の例を示しており、その為、励起光源の光軸とラマン散乱光の光軸が重なってしまうため、ハーフミラー13を用いて、ラマン散乱光を光検出器20の方向に導いている。ハーフミラー13を用いる理由は、もしこのミラーが全反射ミラーであった場合、励起光も全反射されてしまうため、励起光を試料に導けないからである。よって、ラマン散乱光を取り込む方向が異なれば、ハーフミラーはミラーに置き換えることも可能であり、また、当然、光検出器の配置によっては、ミラーも不要となる。また、励起光と同様に、ラマン散乱光も光ファイバによって、光検出器に導いても良い。

[0017] ノッチフィルター18は、上述のように、励起光を取り除くために使用するが、これも、観測したいシグナルが、励起光とエネルギー的に離れた位置に観測される場合は不要である。また、図1では、シグナルの検出の為に分光器19を用いているが、観測すべきシグナルの波長帯域が固定されている場合、つまり特定の分子の特定のシグナルのみを観測し、特定の分子の有無の検出を行う場合などは、分光器の代わりに光学フィルターを用いることによって、より装置を簡素化できる。光検出器20としては、CCD、光電子倍增管、フォトダイオードなど、従来用いられているあらゆる光検出器を用いることができる。

[0018] つまり、上述のように、本発明では、従来のラマン分光分析を行う光学配置であれば、どのようなものでも用いることができることから、本発明における検出装置自身の具体的構造は特に限定しない。しかし、少なくとも、ラマン散乱を励起する励起光源及び、ラマン散乱光を検出する光検出器、及び本発明によるラマン散乱増強用チップは必ず備えるものとする。

[0019] 図1では、本発明によるラマン散乱増強用チップは、検体を入れる容器の底に上向きに配置され、容器中に検体を満たし、ラマン散乱増強用チップ表面に励起光を照射して観測を行った。この配置も検出すべきものによっていろいろと変えることが望ましい。また、検体を入れる為の容器を用いなくとも、ラマン散乱増強用チップ上に検体を塗布する又は乗せるだけでも、センシングは可能である。つまり、センシングを実施するには、少なくとも、ラマン散乱増強用チップの表面上(つまり分子検出部上)に、検体が接触、又は近接していれば良い。ラマン散乱増強用チップ及び検体の配置

、ラマン散乱励起用光源の照射方向、ラマン散乱光の観測方向に関しては、以下に述べるラマン散乱増強用チップの構成によって、様々な方法があることから、ラマン散乱増強用チップの構造を示した後に説明する。

[0020] 本発明によるラマン散乱増強用チップは、基体の表面の一部又は全部に貴金属酸化物を含有する薄膜を形成し、さらにこの貴金属酸化物を含有する薄膜の表面に、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜等からなる透明性保護材料薄膜を形成したものである。基体は、固体状の物質であれば、いずれも使用でき、また、その形状も用途や応用分野によって、適宜選定すればよい。

[0021] 本発明の分子センシング装置は、ラマン散乱増強用チップの貴金属酸化物から貴金属を含有する微粒子を生成し、この微粒子の表面付近に発生する局在プラズモンによるラマン散乱増強を利用して、ラマン分光分析によって検体を検出しているものと考えられる。つまり、貴金属酸化物を含有する薄膜上に、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜を形成し、その後、貴金属酸化物から貴金属を含有する微粒子を生成して分子のセンシングを行うものである。

[0022] この貴金属酸化物からの貴金属を含有する微粒子の生成は、例えば、貴金属酸化物への電磁波照射や加熱によって行うことができる。この微粒子生成反応に関しては、特開2002-277397号公報にも記載されているが、電磁波照射や加熱による、貴金属酸化物の還元又は分解によって、上述のような貴金属を含有する微粒子が形成されると思われる。

[0023] 貴金属酸化物は、銀、白金、又はパラジウムのように、上述のような電磁波照射や加熱による還元又は分解によって、実質的に貴金属を含有する微粒子が形成できるものであれば、特に限定されないが、銀の酸化物を使用することが好ましい。また、貴金属酸化物は、化学量論組成であっても良いが、必ずしも化学量論組成を満たしている必要はなく、ラマン散乱の増強量が大きくなるように実験的に適宜組成を決定すればよい。例えば、銀の酸化物を用いた場合、 AgO_x における x は0.2から1の範囲が望ましい。

[0024] 貴金属酸化物を含有する薄膜は、物理蒸着法又は真空成膜法によって形成することが望ましい。物理蒸着法としてはスパッタリング法が、真空成膜法としては真空蒸着

法が望ましい。スパッタリング法では、貴金属酸化物を含有する材料をターゲットとして用いても良く、酸素を含む雰囲気中で貴金属ターゲットを用いて反応性スパッタリングを行ってもよい。反応性スパッタリングを用いれば、酸素ガスの流量や雰囲気中の酸素分圧を制御することによって、貴金属酸化物中の組成、特に酸素含有量を容易に制御することができることから、ラマン散乱増強をより強く生じる組成を持った貴金属酸化物を容易に形成できる。貴金属酸化物中の組成、特に酸素含有量は、薄膜形成中又は薄膜形成後の熱処理によっても調整が可能である。

- [0025] 貴金属酸化物を含有する薄膜の膜厚は、1～500nm程度、好ましくは3～100nm程度である。膜厚が薄いほど、形成される粒子の大きさが小さくなるため、ラマン散乱光の強度は強くなる。しかし、膜が薄すぎると、粒子径が小さくなりすぎて、かえってラマン散乱増強が小さくなってしまう。
- [0026] 本発明では、上記のように形成した貴金属酸化物を含有する薄膜上に、さらに誘電体材料薄膜、又は半導体材料薄膜を形成する。本発明によるラマン散乱増強用チップの最も基本的な構造例の断面模式図を図2に示す。図2のように、まず基体30を用意し、その表面に前述の手法にて、貴金属酸化物を含有する薄膜31を形成し、さらにその上に、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜32を形成する。
- [0027] このように誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜32を形成することによって、貴金属酸化物が還元又は分解されて、貴金属を含有する微粒子33が形成された際、この微粒子は、誘電体又は半導体に包まれた形で形成される。この様子を概念的に示したものが図3である。このように微粒子33が誘電体や半導体に内包されると、ラマン散乱増強を生じさせるための励起光の波長帯域を変化させることができ、様々な光源を用いた高感度なセンシングが可能となる。
- [0028] この効果を、図3の状況を、擬似的に貴金属微粒子が球形の誘電体粒子内に内包されている場合で説明する。貴金属微粒子として銀微粒子を、誘電体材料としてシリカガラスを用いた場合、銀微粒子の直径が40nmで、シリカガラスが無い場合は、局在プラズモンを発生させて効率良く電場増強を行える励起光の波長帯域は370nm～430nm付近である。一方、この銀微粒子が厚さ50nmのシリカガラスの球内に内包されると、この励起光の波長帯域は430nm～600nm付近までシフトさせることが

できる。また、シリカガラスの代わりに2酸化チタンを用いれば、同等の厚さ(50nm)で励起波長帯域を500nm～700nmまでシフトさせることができる。

[0029] 一般にラマン散乱を用いた分析は、分子を特定する上で有力な方法であるが、ラマン散乱を誘起するためのレーザー光照射によって検体又は検体を含有する物質、例えば溶媒、などが発光を生じてしまう場合、ラマン散乱光がその発光のために検出しにくくなる場合がある。ラマン散乱光は、その励起光のエネルギーに対して、常に一定のエネルギー差をもった位置にそのピーク、又は波形が観測される。一方、発光は、光源によらずピーク位置は一定のエネルギー帯域に生じることが多く、また、光源の選択によって発光を抑制することも可能である。よって、本手法によって、ラマン散乱増強を効率良く生じさせる励起光の波長帯域を変化させ、適切な光源を用いることによって、ラマン分光分析に有効な波長帯域で、尚且つ発光による測定の影響を抑制することができる。

[0030] このように本発明は、従来技術より光源の選択の幅を広げ、より高感度に分子センシングすることを可能にする。

[0031] また、貴金属微粒子を内包した誘電体粒子又は半導体粒子は、局在プラズモンをより強く発生する場合がある。本発明は、上述のように、擬似的に貴金属微粒子を内包した誘電体粒子又は半導体粒子を形成しているともいえる。このことも、センサーの感度の向上に寄与する。

[0032] また、貴金属微粒子の近傍に金属の層、又は島状の金属粒子を含有する層が存在すると、さらに局在プラズモンを強く発生させることができる。よって、基体の表面に金属層、又は金属微粒子を含有する層を形成するか、又は、基体自身を実質的に金属で形成することによって、ラマン散乱増強をより強くし、センサーの感度をさらに向上することが出来る。この時、この金属が金、銀、白金、パラジウム等の貴金属であれば、さらに感度の向上が期待できる。

[0033] 但し、この時、貴金属酸化物を含有する層から形成される貴金属を含有する微粒子と、基体表面又は基体自身の金属とが直接接触してしまうと、局在プラズモンの強度が弱くなってしまう恐れがある。よって、基体表面の金属のさらに上に誘電体材料薄膜又は半導体材料薄を形成し、貴金属酸化物を含有する層と、基体表面の金属とが

直接触れないようにすることによって、この局在プラズモン強度の減少を防ぐことができる。このような構造を持つラマン散乱増強用チップの例を図4に示す。図4に示したラマン散乱増強用チップは、基体30上に金属層35、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜36、貴金属酸化物を含有する薄膜31、及び誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜32を積層した構造を有する。

[0034] さらに本発明のラマン散乱増強用チップは、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜32を貴金属酸化物を含有する薄膜31上に形成することによって、検体と貴金属酸化物との直接の接触をなくすという効果がある。貴金属酸化物は、場合によって酸素を放出し、他の物質を酸化させてしまう。例えば、 AgO は、強力な酸化剤として知られている。このため、検体又は検体を含む溶媒等が貴金属酸化物と直接接触すると、化学反応によって元々含まれていなかった別の物質に変化してしまう恐れがあり、その結果、検出したい物質の検出が困難になってしまう場合がある。本発明のように、貴金属酸化物を含有する薄膜を誘電体や半導体のような透明性を有する保護材料薄膜によってコートすることにより、このような化学反応を抑制し、安定した分子センシングが可能になる。

[0035] さらには、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜32は、貴金属酸化物を含有する薄膜31を保護する役目も果たす。貴金属酸化物は、酸やアルカリに溶けやすい場合が多い。また水に対しても、微量ながら溶けることがある。元々、この貴金属酸化物を含有する薄膜31は1～500nm程度の厚さしか持たないため、微量の溶解でも膜がなくなってしまう、全くセンサーとしての感度がなくなってしまうこともある。検体に対して安定な誘電体材料や半導体材料を選ぶことによって、貴金属酸化物の溶解を抑制し、センシングを安定化することができる。

[0036] 以上に述べた、誘電体材料や半導体材料としては、基本的にはどのような材料でも適応可能である。但し、上述のように、センサーの化学的安定を高める目的を達成するためには、これらの材料が化学的に安定であることが望ましい。このようなことから、誘電体材料としては、シリコンの酸化物(シリカガラスを含む)や窒化物、一般的に用いられているガラス材料、アクリルやポリカーボネート、ポリエチレン、ポリプロピレン等のポリマー材料などが好ましい。半導体材料としては、やはり化学的に安定なSiやG

e、又は化合物半導体が好ましい。但し、半導体の導電性が高い場合、プラズモンによる電場増強、つまりラマン散乱増強が発生しにくくなってしまう。よって、これらの材料は真性半導体に近い電気特性を示すことが好ましい。

- [0037] これらの誘電体材料薄膜、及び半導体材料薄膜は、貴金属酸化物を含有する薄膜と同様に、物理蒸着法又は真空成膜法によって形成することが望ましい。物理蒸着法としてはスパッタリング法が、真空成膜法としては真空蒸着法が望ましい。また、スピコートなどによって、薄膜形成が可能な材料であれば、スピコートによって、貴金属酸化物を含有する薄膜の表面に塗布してもよい。
- [0038] これらの誘電体材料薄膜、及び半導体材料薄膜の厚さは、1～500nmが好ましく、10～200nmがより好ましい。この膜厚は、厚すぎるとプラズモンによる電場増強効果がなくなってしまい、一方、薄すぎると、プラズモンを励起する励起光の波長帯域の広帯域化が十分ではなくなってしまう。
- [0039] この効果を実際に確かめた結果を図12に示す。ここでは、貴金属酸化物として酸化銀を、誘電体材料薄膜としてシリコン酸化物薄膜(シリコン酸化膜)を用いた。この時の検体は、イソプロピルアルコール(IPA)中に安息香酸(BA)を溶解したものである。詳細は、実施例2を参照されたい。シリコン酸化膜を付けない場合より、1～160nm程度の厚さにシリコン酸化膜を付けた方が、シグナルの強度が高いことが分かる。しかし、シリコン酸化膜の厚さをさらに厚くしてしまうと、シリコン酸化膜を付けない場合よりもシグナルが小さくなってしまい、500nm程度での膜厚では非常に微小なシグナルが得られる程度となってしまう。さらに600nm以上では、実施例2ではシグナルが観測されなかった。勿論、実施例2で用いた検体より、BAの濃度が高い場合は検出が可能であるが、微量分子の高感度検出は難しくなってしまうことが分かる。
- [0040] しかし、一方で、この誘電体材料薄膜や半導体材料薄膜は、検体と貴金属酸化物との化学反応を抑制するという効果も持つ。この効果は、当然、膜厚が厚くなったほうが高くなる。よって、検体や溶媒が貴金属酸化物と反応を生じ易い物質の場合、多少シグナルの検出感度を落としてでも、化学反応の抑制を重視したほうが、結果的に高感度な観測が可能となる。この様な場合、シリコン酸化膜の膜厚は10～500nm程度が望ましい。

- [0041] 以上の条件から、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜の膜厚は1～500nmが好ましく、さらに、シグナルの高感度化及び化学反応の抑制を同時に得るためには、10～200nm程度がより好ましい。
- [0042] 本発明における、上記ラマン散乱増強用チップを用いたラマン分光分析による分子センシングの実施には幾つかの方法が挙げられる。
- [0043] 1つ目の方法は以下の通りである。ラマン分光分析を行う前に、ラマン散乱増強用チップ中の貴金属酸化物を還元又は分解して、基体と誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜との間に、貴金属を含有する微粒子を形成する。この微粒子の形成には、電磁波照射を利用することが好ましい。使用する電磁波の波長は特に限定されず、還元又は分解対象の貴金属酸化物に応じて、適宜決定すればよい。例えば、酸化銀を用いたラマン散乱増強用チップの場合、紫外域から赤外域での様々な波長の電磁波照射で銀を含有する微粒子の形成が行える。また、電磁波はレーザー光のような単色光でもよく、連続スペクトル光でもよい。
- [0044] 厚さ100nmの酸化銀薄膜にArイオンレーザー光(波長488nm)を照射した際に形成される銀微粒子のSEM(走査型電子顕微鏡)像を図5に示す。ここで、この酸化銀は、Agをターゲットとし、反応性ガスとして酸素とArの混合ガスを用いた反応性スパッタリング法により形成した。図5(a)は、酸素とArの流量比 $O_2 / (Ar + O_2)$ を0.75、図5(b)は流量比を0.7、図5(c)は流量比を0.6、図5(d)は流量比を0.5として作製したものである。レーザー光照射時間は図5(a)の試料のみ5分とし、他は7分とした。レーザー光が照射された部分に凝集した微粒子の形成が確認できる。微粒子の粒径は約20～100nm程度である。
- [0045] これらのSEM像は一例であって、粒径や粒子の分布は酸化銀の膜厚、酸素含有量、作製方法、レーザーの照射時間などによって変化する。また、ここで示したSEM像は、誘電体材料薄膜や半導体材料薄膜を付けていない試料において撮影したものである。なぜなら、これらの膜を付けてしまうと微粒子はこの膜中に形成されることから、SEMでの観察は不可能であるからである。
- [0046] 誘電体材料薄膜として、シリコン酸化膜を用いたラマン散乱増強用チップに対して、Arイオンレーザー光を照射した場合のSEM像の例を図6に示す。図6(a)は酸化

銀上に厚さ160nmのシリコン酸化膜を形成したラマン散乱増強用チップ、図6(b)は厚さ80nmのシリコン酸化膜を形成したラマン散乱増強用チップのレーザー光照射後のSEM像である。シリコン酸化膜の存在によって、Agを含有する微粒子を確認することは出来ないが、レーザー光照射した部分のシリコン酸化膜表面に凹凸が出来ていることが確認できる。これは、内部で、Agを含有する微粒子が形成されたこと、又は酸化銀が分解又は還元され酸素が放出されたことが原因ではないかと考えられる。但し、この図6に示したようなシリコン酸化膜表面の凹凸が常に観測される訳ではない。例えば、酸化銀薄膜の厚さが薄かったり、シリコン酸化膜の厚さが厚すぎたり、薄すぎたりした場合、観測されないこともある。また、酸化銀中の酸素量が少ない場合も明瞭な凹凸は観測されないことがある。

- [0047] 電磁波照射以外にも、ラマン散乱増強用チップ形成後の熱処理によっても、貴金属を含有する微粒子を形成できる。熱処理温度は、酸化銀の場合100℃以上、酸化白金の場合は500℃以上、酸化パラジウムの場合700℃以上が好適である。処理時間は数分から数十分が望ましい。
- [0048] また、酸化銀の場合、ラマン散乱増強用チップを50～300℃、好ましくは80～150℃で数分熱処理した後に電磁波照射することによって微粒子を形成した場合、効率のよい分子検出効果が確認されている。例えば、AgOを100度で5分加熱した後、Arイオンレーザー光照射を行い、その後、Arイオンレーザー光を励起光としてラマン分光分析を行った場合、熱処理を行わない場合より、1.5～2倍程度の感度を得ることが出来た。詳細は実施例4で説明する。
- [0049] これらの手法によって、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜の内側に貴金属を含有する微粒子を形成したラマン散乱増強用チップの表面に、溶液や気体などの検体を接触又は近接させ、ラマン分光分析を行うことによって、検体の検出がなされる。
- [0050] 但し、以上のような、測定前の電磁波照射や熱処理は必ずしも必要ない。その方法を以下に、2つ目の方法として説明する。
- [0051] 2つ目の方法は、ラマン分光分析に用いる光源からの光によって、貴金属を含有する微粒子を形成し、この微粒子を用いて、ラマン散乱増強を行う方法である。この手法では、ラマン分光分析の観測自身が、微粒子を形成する工程となるため、前述の

ような、あらかじめ微粒子を形成する電磁波照射や熱処理の工程を省略することができ、より簡易にセンシングが可能となる。

[0052] また、この場合にも、1つ目の方法と同様、ラマン分光分析における励起光照射(つまり電磁波照射)の前に、ラマン散乱増強用チップを50～300℃、好ましくは80～150℃で熱処理することによって、センシング感度を高めることができる。

[0053] 但し、この手法では、ラマン分光分析に用いる励起光の照射によって、徐々に微粒子が形成されていくことから、徐々にラマン散乱増強効果が大きくなり、その結果、シグナル強度は測定時間が経つにつれて大きくなっていく。よって、定量分析を行うには、シグナル強度の飽和値を測定するか、又は励起光照射開始からある一定時間後にシグナル強度が達する値にて評価する。

[0054] 以上に述べた微粒子形成のための電磁波照射、及びラマン分光分析のための励起光照射は、基体側からでも、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜側からでもよい。また、ラマン散乱光の検出も上記のいずれの側からでもよい。しかし、センシングの感度を高めるため、もし、基体側から上記の電磁波照射、励起光照射、又はラマン散乱光の検出を行う場合には、これらの電磁波、励起光、又はラマン散乱光に対して、基体の透過率が高いことが好ましい。同様に、もし、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜側から、電磁波照射、励起光照射、又はラマン散乱光の検出を行う場合には、電磁波、励起光、又はラマン散乱光に対して、これらの薄膜の透過率が高いことが好ましい。

[0055] ここで図7に、基体30、金属酸化物を含有する薄膜31、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜32からなるラマン散乱増強用チップ17、検体16、検体を入れるセル(容器)15、励起光41の入射方向、ラマン散乱光42の検出方向の配置例を幾つか示す。

[0056] 図7(a)は、図1に示した配置例と同じである。まず、検体16を入れるセル15の底に、上面に分子検出部が形成されている面が来るようにラマン散乱増強用チップ17を置く。セル15中に検体16を入れ、上方から励起光41を入射し、上方へのラマン散乱光42を観測する。この場合、検体16は、溶液か、又は空気より重い気体となる。

[0057] 図7(b)は、図7(a)と同様のセル15とラマン散乱増強用チップ17の配置において

、上方から励起光41を入射し、下方へのラマン散乱光42を観測する配置である。この場合、ラマン散乱増強用チップ17の基体30及びセル15の下面(底)は、ラマン散乱光42を透過しやすい材料とする必要がある。

[0058] 図7(e)、図7(f)はそれぞれ、図7(a)、図7(b)の配置において、励起光41を下側から入射した場合である。この場合、ラマン散乱増強用チップ17の基体30及びセル15の下面は、励起光41を透過しやすい材料とする必要がある。また、図7(f)では、ラマン散乱光42も下側から検出することから、ラマン散乱増強用チップ17の基体30及びセル15の下面はラマン散乱光42も透過しやすい材料とする必要がある。

[0059] 図7(c)、図7(d)はセル15の底に、貴金属酸化物を含有する薄膜31及び誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜32を形成したものである。つまり、セル自身を基体として用い、ラマン散乱増強用チップとしたものである。図7(c)、図7(d)の両者とも励起光41は上方から照射しているが、勿論、下方からの照射でも良い。

[0060] また、図7(g)のようにセル15に蓋37をすれば、検体16が気体であっても、容易に観測ができる。また、図7(h)のように、蓋37の内側に貴金属酸化物を含有する薄膜31及び誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜32を形成し、蓋をラマン散乱増強用チップの基体として用いることもできる。

[0061] 勿論、いずれの場合も、励起光の照射及びラマン散乱光の検出は、上方からでも下方からでも行える。また、これらの図中では、励起光照射及びラマン散乱光検出はラマン散乱増強用チップに対して垂直方向で行っているが、これは実際には、あらゆる角度を用いることが可能である。また、基体の断面形状、セルの断面形状ともに、矩形である必要は無く、検体の形状、及び用途に応じて、各種形状を選択することが望ましい。

[0062] また、上記のセルは、流路にも置き換えることができる。流路中に上記のようにラマン散乱増強用チップを配置したり、流路内壁にラマン散乱増強用チップを直接形成したりすることによって、検体を流しながらの分子検出が可能となる。

[0063] 以上では、1種類の貴金属酸化物を含有する薄膜1層の上に1種類の誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜を1層形成する方法を述べたが、これらは必ずしも1種類ずつ、又は1層ずつである必要はない。むしろ、複数層組み合わせることによって、よ

り高い検出感度及び安定性が得られることもある。

[0064] 例えば、酸化銀薄膜を貴金属酸化物を含有する薄膜として、 SiO_2 を誘電体材料薄膜として用いた場合、酸化銀薄膜は上述のように、膜厚が厚すぎても薄すぎても、ラマン散乱増強効果が小さくなってしまう。そこで、最適な膜厚の酸化銀薄膜層を基体上に形成し、その上に SiO_2 層をさらに形成し、さらにその上に酸化銀薄膜層、 SiO_2 層を形成することによって、最適な粒径の銀を含有した微粒子が多層に形成され、より強いラマン散乱増強を得ることができ、かつセンサーの安定化も図れる。この様なラマン散乱増強用チップの例を図8に示す。図8に示したラマン散乱増強用チップは、基体30の上に第1の貴金属酸化物を含有する薄膜31a、第1の誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜32a、第2の貴金属酸化物を含有する薄膜31b、及び第2の誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜32bを積層した構造を有する。

[0065] また、貴金属を含有する微粒子の周りに形成される誘電体材料又は半導体材料の屈折率が大きいほど、効率の良いラマン散乱増強が得られる励起光の波長帯域は大きく変化する。よって、誘電体材料、又は、半導体材料は屈折率が高い方が好ましい。しかし、このような材料が容易に貴金属酸化物を含有する薄膜上に形成できるとは限らない。例えば、スパッタリング法で、 SiO_2 よりはるかに屈折率の高い TiO_2 を堆積する場合、 TiO_2 の堆積速度は SiO_2 の堆積速度に対して5分の1程度となってしまい、産業的ではない。よって、このような場合には、貴金属酸化物を含有する薄膜上に薄く TiO_2 層を形成し、さらにその上に SiO_2 層を形成すればよい。この様なラマン散乱増強用チップの概念図を図9に示す。図9に示したラマン散乱増強用チップは、基体30の上に貴金属酸化物を含有する薄膜31、 TiO_2 薄膜層38、及び SiO_2 薄膜層39を積層した構造を有する。 TiO_2 薄膜層38の膜厚は1～20nm程度あればよい。

[0066] また、例えば、屈折率の高い材料として、Si層を用いる場合、Siは可視光領域で大きな光吸収を持つてしまうため、Si層側から光を照射したり、ラマン散乱光を取り出すことが困難になってしまう。このような場合も、Si層を膜厚1～20nm程度に薄く形成した後、その上に SiO_2 層を形成すればよい。

[0067] 以上に示した組み合わせは、上記に限定されるものではなく、貴金属酸化物を含有する薄膜を1層以上、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜のいずれかを1層以

上、層状に積層するあらゆる組み合わせが考えられ、検体の種類、検体の様態(例えば、気体なのか、液体なのか、固体なのか、高温か、低温か、反応性が高いのか低いのか、等)に合わせて、選択することが好ましい。

[0068] 以下、実施例により、本発明をさらに具体的に説明するが、以下の具体例は本発明を限定するものではない。

[0069] [実施例1]

本実施例では、基体上に貴金属酸化物を含有する層と、さらにその上に誘電体材料薄膜層を形成した場合について示す。また、比較として、誘電体材料薄膜層を持たないチップ(比較用チップA)、及び、基体のみのチップ(比較用チップB)を用いた結果も示す。

[0070] 基体としては1cm角、厚さ525 μ mのシリコン基板を用いた。貴金属酸化物を含有する層には、酸化銀を用いた。この酸化銀は、Agをターゲットとし、反応性ガスとして酸素とArの混合ガスを用いた反応性スパッタリング法により形成した。この時、酸素とArの流量比 $O_2 / (Ar + O_2)$ は0.75とした。形成された酸化銀の組成はAgとOの比がほぼ1対1、つまりAgOであったことから、以下この酸化銀薄膜をAgO薄膜と呼ぶ。さらに、Arガスを用いたスパッタリング法によって SiO_2 をターゲットとしたスパッタリングを行い、前記のAgO薄膜上に誘電体材料薄膜としてシリコン酸化膜を形成し、ラマン散乱増強用チップとした。AgO薄膜の膜厚は50nm、シリコン酸化膜の膜厚は80nmとした。

[0071] 比較用チップAは、上記と同様のシリコン基板上に、上記と同じ条件で形成したAgO薄膜を持つチップとした。また、比較用チップBは上記と同様のシリコン基板のみのチップとした。

[0072] ラマン散乱測定用の励起光源にはArイオンレーザー(波長488nm)を用いた。本実施例では、基体にシリコン基板を用いたため、基体側からはこの励起光は透過しない。そのため、光の照射は、薄膜が形成されている側から行った。この配置は図7(a)に示した配置である。ここでは、銀を含有する微粒子の形成は、このラマン散乱測定用の励起光源を用い、ラマン散乱測定と同時に銀含有微粒子を形成する方法を取った。チップ表面に照射された励起光強度は2.7mWであった。励起光は、倍率50

倍、NA0.55の対物レンズによって集光しチップに照射した。ラマン散乱測定は、励起光照射開始後から1分間隔で5分まで観測した。

[0073] 検体には溶媒IPA中にBAを 1.0×10^{-5} mol/l溶解した溶液を用いた。

[0074] 図10に、本発明によるラマン散乱増強用チップを用いた場合の、励起光照射直後と励起光照射開始から5分後の検体のラマン散乱スペクトルを示す。励起光照射直後はBAによるシグナルはあまり観測されないが、その後、励起光の照射を続けていくことによって、BAシグナルが大きくなる、つまりラマン散乱増強が起きることが分かる。

[0075] 図11に、本発明によるラマン散乱増強用チップと比較用チップA、Bを用いて検出した検体のラマン散乱スペクトルを示す。いずれも、励起光照射開始後5分経過したときの、ラマン散乱スペクトルである。一番下のスペクトルが本発明によるラマン散乱増強用チップを用いた際のラマン散乱スペクトルであり、中央が比較用チップAを用いた際のラマン散乱スペクトルであり、一番上が比較用チップBを用いた際のラマン散乱スペクトルである。本発明によるラマン散乱増強用チップを用いた方が比較用チップAを用いた時より、BAによるラマン散乱光強度が約1.5倍高いことが分かる。また、比較用チップBでは、溶媒であるIPAのシグナルは観測されるが、BAのシグナルは全く観測されない。

つまり、比較用チップBでは、ラマン散乱増強は生じないことが分かる。この様に、本発明のラマン散乱増強用チップを用いることによって、微量に溶解している分子を、高感度で検出できることが分かる。

[0076] また、比較用チップAを用いて測定を行ったラマン散乱スペクトルには、本来、検体に含まれていないはずの物質によるブロードなピークが $1340 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ の領域に観測されている。これは、AgO薄膜と溶液との化学反応によって生成した物質によるピークであると思われる。一方、本発明によるラマン散乱増強用チップを用いたラマン散乱スペクトルにはこのようなピークは殆ど観測されず、IPA及びBAのピークが明瞭に観測できている。つまり、本発明のラマン散乱増強用チップには、検体とラマン散乱増強用チップとの化学反応を防ぐことに効果があるということである。この効果によって、各種溶液や気体に対して安定でより正確な分子観測が可能となる。

[0077] [実施例2]

実施例1と同様の酸化銀薄膜形成方法で、シリコン基板上に膜厚15nmのAgO薄膜を形成し、その上に、膜厚40nm、80nm、160nm、320nm、640nmの5つの異なる厚さのシリコン酸化膜層を形成したチップ作製した。シリコン酸化膜の形成方法も、実施例1と同じ方法で行った。また、比較用チップとして、同様のAgO薄膜を持ち、シリコン酸化膜層を形成していないチップも用意した。

[0078] 検体は、溶媒IPA中にBAを 1.0×10^{-5} mol/l溶解した溶液を用い、実施例1と同様に図7(a)の配置でラマン散乱測定を行った。本実施例では、ラマン散乱測定用の光源にはHe-Neレーザー(波長633nm)を用いた。ここでも実施例1と同様に、銀を含有する微粒子の形成は、このラマン散乱測定用の光源を用い、ラマン散乱測定と同時にを行った。チップ表面に照射された励起光強度は約1mWであった。励起光は、倍率50倍、NA0.55の対物レンズによって集光しチップに照射した。

[0079] それぞれのチップを用いて測定したBAシグナルの強度を図12に示す。ここでは、励起光照射開始後9分経過した時に観測されたシグナルの強度を用いて比較を行っている。また、本光源では、照射する光の強度のバラつきがあったため、BAシグナル強度そのものでは、正確な強度比較が難しかったため、 1002cm^{-1} に観測されるBAシグナルの強度を、 820cm^{-1} に観測されるIPAシグナル強度で除した値を用い、シグナル強度の校正を行っている。

[0080] 図12から、シリコン酸化膜層の厚さが40nm又は80nmのチップでは、比較用チップより感度が向上していることが分かる。シリコン酸化膜層の厚さが160nmのチップでは比較用チップと同程度のシグナル強度となり、膜厚が320nmになると、シグナルがかなり小さくなり、膜厚620nmの時には殆ど観測されなかった。このように、本発明によるラマン散乱増強用チップの誘電体層(本実施例ではシリコン酸化膜層)の膜厚に対して、最適値を実験的に、又はシミュレーションにて得ることによって、ラマン散乱強度をより増強できる。

[0081] しかし、誘電体層の膜厚が最適値であっても、その膜厚では化学反応を抑制しきれない場合もある。その場合には、多少感度を落としてでも、化学反応を抑制したほうが、結局高感度検出が可能となるため、このことを考慮に入れて、膜厚を決定するこ

とが望ましい。

[0082] [実施例3]

本実施例では、実施例1と同様の手法で、膜厚15nmと膜厚50nmのAgO薄膜を持つ2種類のラマン散乱増強用チップを作製し、溶媒IPA中にBAを 1.0×10^{-5} mol/l溶解した溶液に対して、実施例1と同様に図7(a)の配置でラマン散乱測定を行った。本実施例では、ラマン散乱測定用の光源にはArイオンレーザー(波長488 nm、強度2.7mW)を用いた。なおラマン散乱増強用チップの誘電体層(シリコン酸化膜層)の膜厚は80nmとした。ここでも、シリコン酸化膜の形成方法及び銀を含有する微粒子の形成は、実施例1と同じ方法で行った。

[0083] この結果、膜厚15nmのAgO薄膜を持つラマン散乱増強用チップでは、励起光照射開始後5分経過した際のBAによる 1002cm^{-1} に見られるピーク強度が430カウントであったが、膜厚50nmのAgO薄膜を持つラマン散乱増強用チップでは、同様の条件で、このピーク強度は320カウントであった。ここで、カウントとは、我々の用いた光検出器(CCD)で検出したシグナル強度に比例する値である。この様に、AgO膜厚の最適化によっても、大きい感度を得ることができる。

[0084] 但し、高強度を得られる貴金属酸化物を含有する層の最適厚さは、貴金属酸化物の組成やその上に形成する誘電体材料又は半導体材料によって異なってくる為、実験的に最適化するか、または、形成される貴金属を含有する微粒子の径を予想し、シミュレーションによって最適化することが好ましい。

[0085] [実施例4]

本実施例では、実施例1と同様のラマン散乱増強用チップ、つまりシリコン基板上に膜厚50nmのAgO薄膜と膜厚80nmのシリコン酸化膜を作製し、ラマン散乱測定前に、窒素雰囲気中100℃で5分間熱処理を行った。また、比較用チップとして、熱処理を行っていない以外は同じ条件のチップも用意した。

[0086] これらのチップによって、実施例1と同様に、ラマン散乱測定用の励起光源にArイオンレーザー(波長488nm)を用い、図7(a)に示す配置にて、溶媒IPA中のBA(1.0×10^{-5} mol/l)を測定した。チップ表面に照射された励起光強度は、実施例1同様、2.7mWであり、励起光は、倍率50倍、NA0.55の対物レンズによって集光し、

チップに照射した。但し、本実施例では、銀を含有する微粒子の形成は、このラマン散乱測定用の光源を用いて行ったが、この照射処理は、測定の前に別途行った。この微粒子形成用のレーザー光照射時間は5分とした。

[0087] 本実施例における測定結果を図13に示す。図13の下方のスペクトルが熱処理を行ったチップを用いた測定結果であり、上方が熱処理を行っていないチップを用いた測定結果である。熱処理によって、約1.7倍、高感度にBAが検出できることが分かる。

[0088] [実施例5]

本実施例では、実施例1と同様の作製方法で、シリコン基板上に膜厚15nmのAgO薄膜と膜厚80nmのシリコン酸化膜を作製した。また、比較用チップとして、シリコン酸化膜を持たない試料も用意した。

[0089] これらのチップを用いて、溶媒IPA及び水にそれぞれDNA塩基の一つであるアデニンを $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ 溶解した2種類の溶液を検体として用いて、ラマン散乱測定を行った。測定方法は実施例1と同様である。本発明によるラマン散乱増強用チップ及び比較用チップを用いて測定したIPA中に溶解したアデニンのラマン散乱スペクトルを図14に、水に溶解したアデニンのラマン散乱スペクトルを図15に示す。いずれのスペクトルも、励起光照射開始後9分経過した時に観測したシグナルである。

[0090] 比較用チップを用いた場合はアデニンのシグナルは観測されないが、本発明によるラマン散乱増強用チップを用いた場合は、アデニンによるシグナルが観測されている。これは、本発明によるラマン散乱増強用チップを用いることによって、高感度に分子検出が為され、尚且つ、AgOとアデニン分子との化学的反応を抑え、アデニンの分解を抑制することにより、アデニンの検出が可能になったことを示している。

[0091] [実施例6]

本実施例では、基体として、2cm角、厚さ0.5mmの SiO_2 ガラスを用い、貴金属酸化物を含有する層には、酸化銀を用いた。この酸化銀は、Agをターゲットとし、反応性ガスとして酸素とArの混合ガスを用いた反応性スパッタリング法により形成した。この時、酸素とArの流量比 $\text{O}_2 / (\text{Ar} + \text{O}_2)$ は0.5とした。形成された酸化銀の組成はAgとOの比がほぼ2対1、つまり Ag_2O であった。しかしながら、実際には、この場合は

酸素流量が少ない為、均一な Ag_2O というよりは、むしろ、 AgO 、 Ag_2O 、 Ag 等が混在しており、結果的に Ag と O の比が2対1となっていたと思われる。よって、以下、この層を Ag_2O を含有する層と呼ぶ。この Ag_2O を含有する層の上に、実施例1と同様の手法で、シリコン酸化膜を形成し、ラマン散乱増強用チップとした。 Ag_2O を含有する層の膜厚は50nm、シリコン酸化膜の膜厚は80nmとした。

[0092] 上記のようなラマン散乱増強用チップを用いて、基体側から励起光を照射してラマン分光分析を行った。この時に用いたラマン散乱増強用チップ、検体、及び検体を入れるセルの配置は図7(h)に示した配置である。ラマン散乱測定用の励起光源には、He-Neレーザー(波長633nm)を用い、溶媒IPA中のBA($1.0 \times 10^{-5} \text{mol/l}$)を測定した。ラマン散乱増強用チップ表面に照射された励起光強度は2.3mWであった。励起光は、倍率50倍、NA0.55の対物レンズによって集光し、ラマン散乱増強用チップに照射した。また、銀を含有する微粒子の形成は、実施例1と同様に、このラマン散乱測定用の光源を用い、ラマン散乱測定と同時に行った。

[0093] 励起光照射開始後9分経過した時の測定結果を図16に示す。本実施例でも、BAの検出が可能であり、かつ、実施例1の比較用チップAを使用した際に見られたような、本来存在しないはずの物質による $1340 \sim 1600 \text{cm}^{-1}$ 領域でのピークの低減が実現できている。

[0094] [実施例7]

本実施例では、基体自身を金属にした場合及びこの金属基体の表面に誘電体材料薄膜層を形成して基体とした場合、また、表面に金属薄膜層を持つ基体を使用した場合について示す。

[0095] 作製したラマン散乱増強用チップは、次のチップ1、チップ2、チップ3の3種類である。

[0096] チップ1:アルミニウム板を基体として、その上に膜厚50nmの Ag_2O を含有する層と膜厚80nmのシリコン酸化膜層を形成したもの。

チップ2:アルミニウム板上に膜厚20nmのシリコン酸化膜層を形成して基体とし、その上に膜厚50nmの AgO 層と膜厚80nmのシリコン酸化膜層を形成したもの。

チップ3: SiO_2 ガラス基板上に厚さ100nmの銀の層を形成して基体とし、その上に膜

厚50nmのAgO層と膜厚80nmのシリコン酸化膜層を形成したもの。

- [0097] 上記のAgO層、及びAg₂Oを含有する層は、それぞれ、上記実施例1、実施例6と同様の方法で形成した。つまり、Agをターゲットとし、反応性ガスとして酸素とArの混合ガスを用いた反応性スパッタリング法において、AgO層形成時は、酸素とArの流量比 $O_2 / (Ar + O_2)$ を0.75とし、Ag₂Oを含有する層の形成時は、酸素とArの流量比 $O_2 / (Ar + O_2)$ を0.5として形成した。シリコン酸化膜層はいずれの場合も、SiO₂をターゲットとして、Arガスを用いたスパッタリング法によって形成した。
- [0098] ラマン散乱測定用の励起光源にはHe-Neレーザー(波長633nm)を用いた。また、ラマン散乱増強用チップ、検体、検体を入れるセルの配置は図7(a)に示した配置とした。銀を含有する微粒子の形成は、このラマン散乱測定用の光源を用い、ラマン散乱測定と同時に行った。ラマン散乱増強用チップ表面に照射された励起光強度は約1mWであった。励起光は、倍率50倍、NA0.55の対物レンズによって集光し、ラマン散乱増強用チップに照射した。検体は、溶媒IPA中にBAを 1.0×10^{-5} mol/l溶解した溶液を用いた。
- [0099] チップ1、チップ2、チップ3における、励起光照射開始後9分経過した時の測定結果をそれぞれ、図17、18、19に示す。いずれの試料においても、BAによるピークが明瞭に観測されており、また、実施例1の比較用チップAを使用した際に見られたような、本来存在しないはずの物質による $1340 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ 領域でのピークは殆ど観測されていない。
- [0100] これらの各チップ間で観測されたBAシグナルの強度を比較してみる。ここでも、照射する光の強度のバラつきがあったため、BAシグナル強度そのものでは、正確な強度比較が難しいため、 1002 cm^{-1} に観測されるBAシグナルの強度を、 820 cm^{-1} に観測されるIPAシグナル強度で除した補正值で比較を行う。この補正值は、チップAで1.4、チップBで2.2、チップCで4.6となっている。つまり、金属基体の表面に誘電体材料薄膜層を形成して基体とすることにより、金属基体をそのまま用いるより感度が高く、さらには、金属基体に貴金属を用いることによって、さらに高感度化が得られることとなる。
- [0101] [実施例8]

本実施例では、2cm角、厚さ0.5mmの SiO_2 ガラス基板を基体として、その上に、膜厚50nmのAgO層、膜厚20nmのシリコン酸化膜層、膜厚50nmのAgO層、膜厚80nmのシリコン酸化膜層を、下からこの順番で形成し、ラマン散乱増強用チップとした。ここでも、AgO層は、Agをターゲットとし、酸素とArの流量比 $\text{O}_2 / (\text{Ar} + \text{O}_2)$ が0.75の混合ガスを用いた反応性スパッタリング法により形成し、シリコン酸化膜層は、 SiO_2 をターゲットとして、Arガスを用いたスパッタリング法によって形成した。

[0102] ラマン散乱測定用の励起光源にはHe-Neレーザー(波長633nm)を用いた。ラマン散乱増強用チップ表面に照射された励起光強度は2.3mWであった。励起光は、倍率50倍、NA0.55の対物レンズによって集光し、ラマン散乱増強用チップに照射した。また、ラマン散乱増強用チップ、検体、検体を入れるセルの配置は図7(h)に示した配置とした。銀を含有する微粒子の形成は、このラマン散乱測定用の光源を用い、ラマン散乱測定と同時に行った。検体は溶媒IPA中にBAを $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ 溶解した溶液を用いた。

[0103] 本実施例のラマン散乱増強用チップによる励起光照射開始後9分経過した時の測定結果を図20に示す。本実施例でも、BAシグナルが明瞭に観測でき、かつ、実施例1の比較用チップAを使用した際に見られたような、本来存在しないはずの物質による $1340 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ 領域でのピークも殆ど観測されない。

[0104] [実施例9]

本実施例では、2cm角の SiO_2 ガラス基板上に、実施例1と同様の手法で膜厚50nmのAgO層を形成し、その上に、半導体材料薄膜層として膜厚5nmのSi層を、SiをターゲットとしArガスを用いたスパッタリング法にて形成し、さらにその上に、実施例1と同様の手法で、80nmのシリコン酸化膜を形成し、ラマン散乱増強用チップとした。

[0105] ラマン散乱測定用の励起光源にはArイオンレーザー(波長488nm)を用いた。ラマン散乱増強用チップ表面に照射された励起光強度は2.7mWであった。励起光は、倍率50倍、NA0.55の対物レンズによって集光し、ラマン散乱増強用チップに照射した。また、ラマン散乱増強用チップ、検体、検体を入れるセルの配置は図7(a)に示した配置とした。銀を含有する微粒子の形成は、このラマン散乱測定用の光源

を用い、ラマン散乱測定と同時に行った。検体は溶媒IPA中にBAを 1.0×10^{-5} mol/l溶解した溶液を用いた。

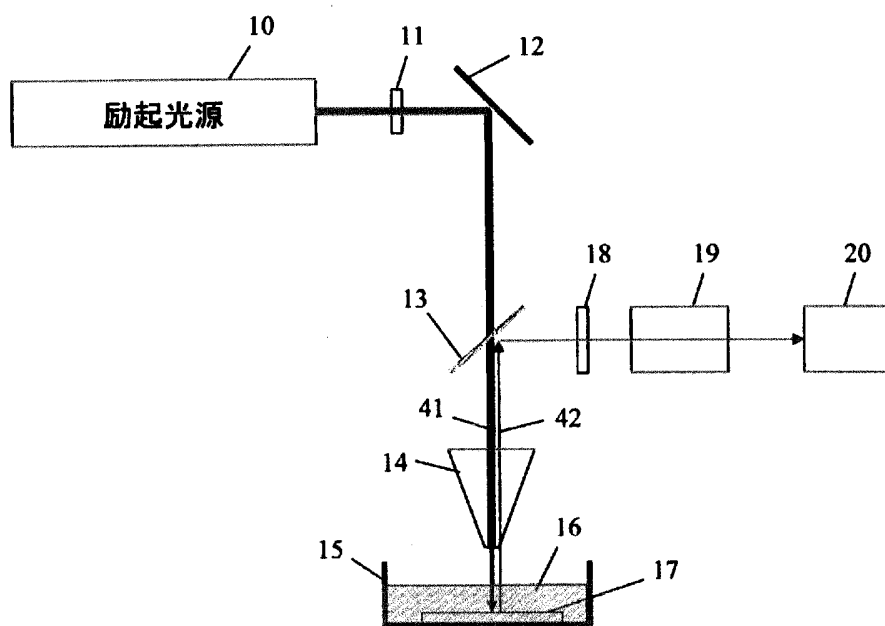
- [0106] 本実施例のラマン散乱増強用チップによる励起光照射開始後5分経過した時の測定結果を図21に示す。本実施例でも、BAシグナルが明瞭に観測でき、かつ、実施例1の比較用チップAを使用した際に見られたような、本来存在しないはずの物質による $1340 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ 領域でのピークの出現も抑制できている。このように本発明のラマン散乱増強用チップを用いることにより、各種溶液や気体に対して安定な分子観測が可能となる。

請求の範囲

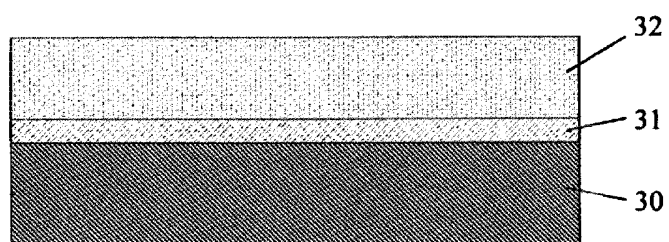
- [1] 励起光照射によって検体から発生するラマン散乱を増強するラマン散乱増強用チップであって、
- 貴金属酸化物を含有する薄膜と、その上に形成された透明性保護材料薄膜とを有することを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [2] 請求項1に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記貴金属酸化物が銀酸化物であり、前記透明性保護材料薄膜が誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜であることを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [3] 請求項1又は2に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記貴金属酸化物を含有する薄膜は物理蒸着法又は真空成膜法により基体表面に形成されたものであることを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [4] 請求項3に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記基体は、前記貴金属酸化物を含有する薄膜を形成する表面に、金属層又は金属の粒子を含有する層を有することを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [5] 請求項3に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記基体は、実質的に金属で形成されていることを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [6] 請求項4又は5に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記金属は貴金属であることを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [7] 請求項4～6のいずれか1項に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記基体は
- 、その表面の前記金属部のさらに上面に、誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜を有することを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [8] 請求項1～7のいずれか1項に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記貴金属酸化物を含有する薄膜が該貴金属酸化物が還元された貴金属微粒子を含有することを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [9] 請求項1～8のいずれか1項に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜の膜厚が1nm以上500nm以下であることを特徴とするラマン散乱増強用チップ。

- [10] 請求項1～9のいずれか1項に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記誘電体材料薄膜又は半導体材料薄膜は、物理蒸着法又は真空成膜法により、前記貴金属酸化物を含有する薄膜の表面に形成されたものであることを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [11] 請求項1～10のいずれか1項に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記貴金属酸化物を含有する薄膜層と前記誘電体材料薄膜層又は半導体材料薄膜層を、層状に複数層有することを特徴とするのラマン散乱増強用チップ。
- [12] 請求項1～11のいずれか1項に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記誘電体材料薄膜はシリコンの酸化膜であることを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [13] 請求項1～12のいずれか1項に記載のラマン散乱増強用チップにおいて、前記半導体材料薄膜はシリコンであることを特徴とするラマン散乱増強用チップ。
- [14] 請求項1～13のいずれか1項に記載されたラマン散乱増強用チップと励起光源及び前記ラマン散乱増強用チップによって増強されたラマン散乱光を検出する検出器を具備する分子センシング装置。

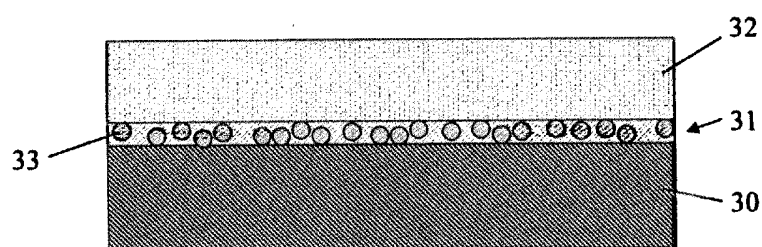
[図1]



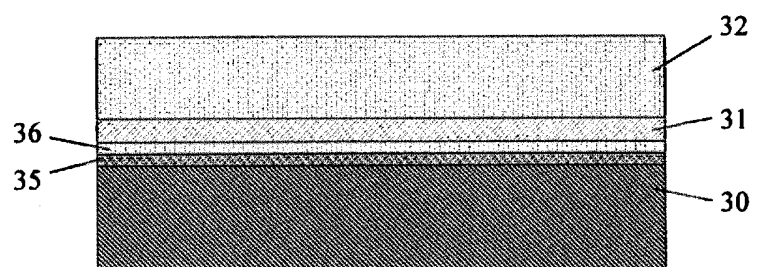
[図2]



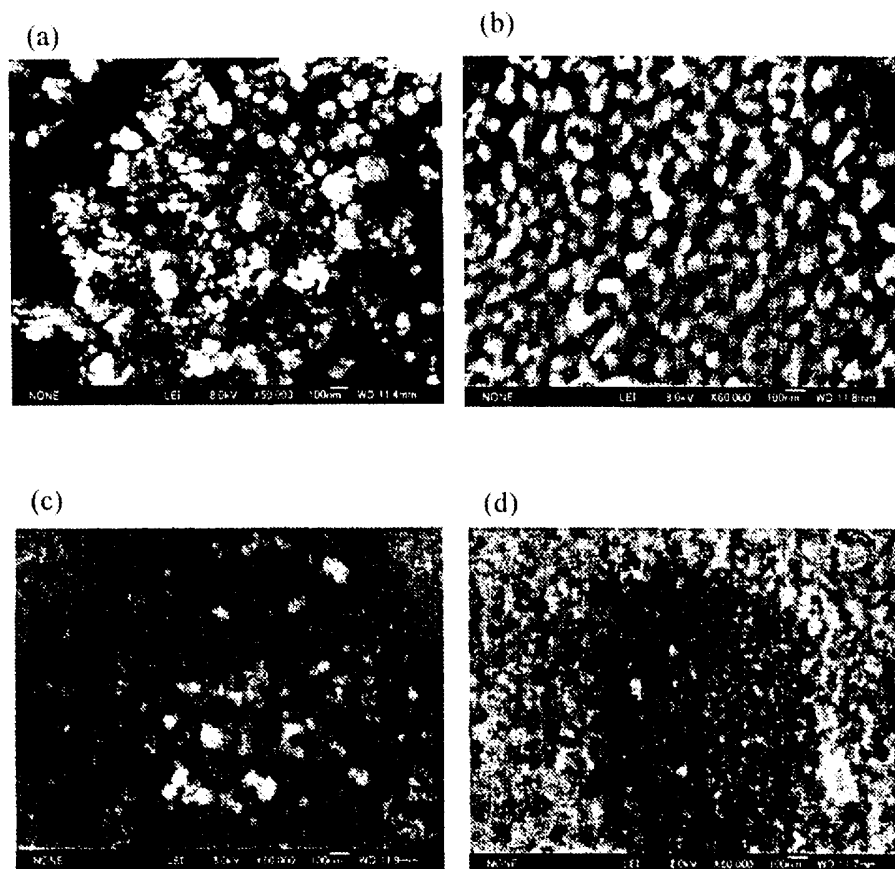
[図3]



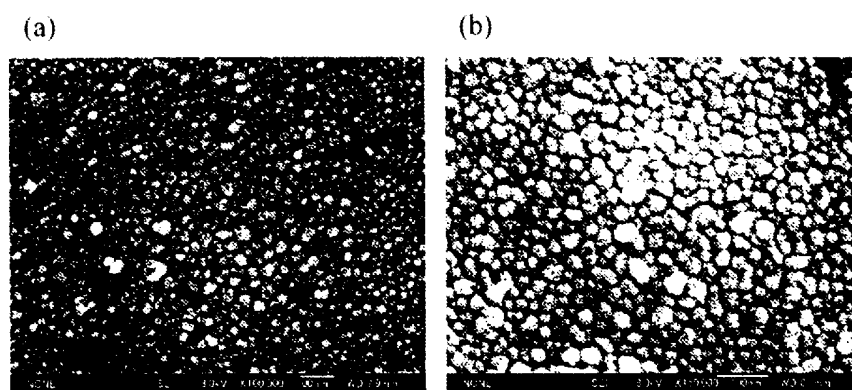
[図4]



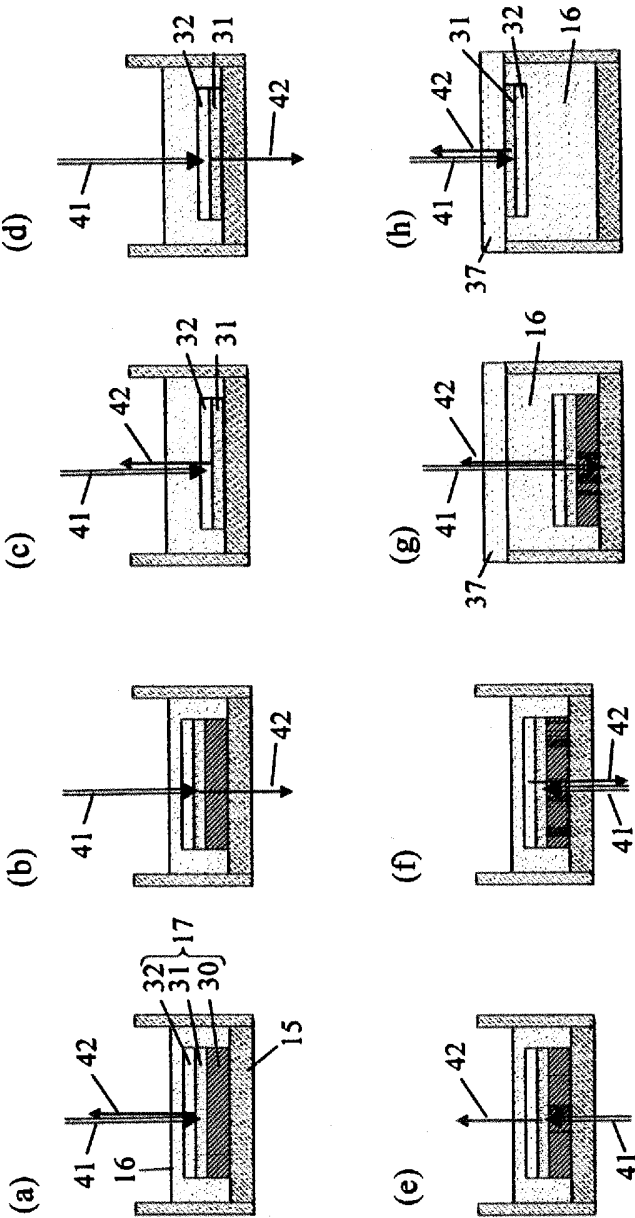
[図5]



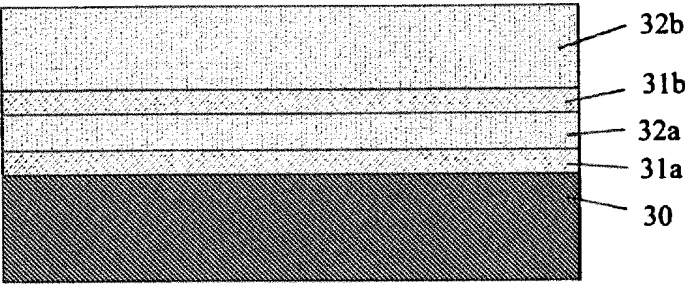
[図6]



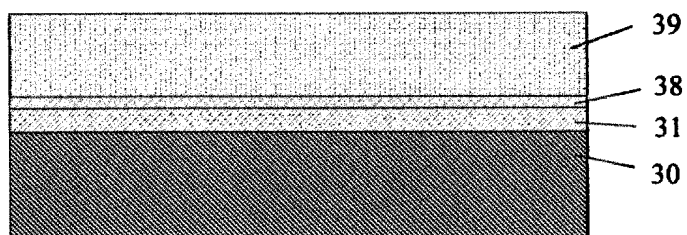
[図7]



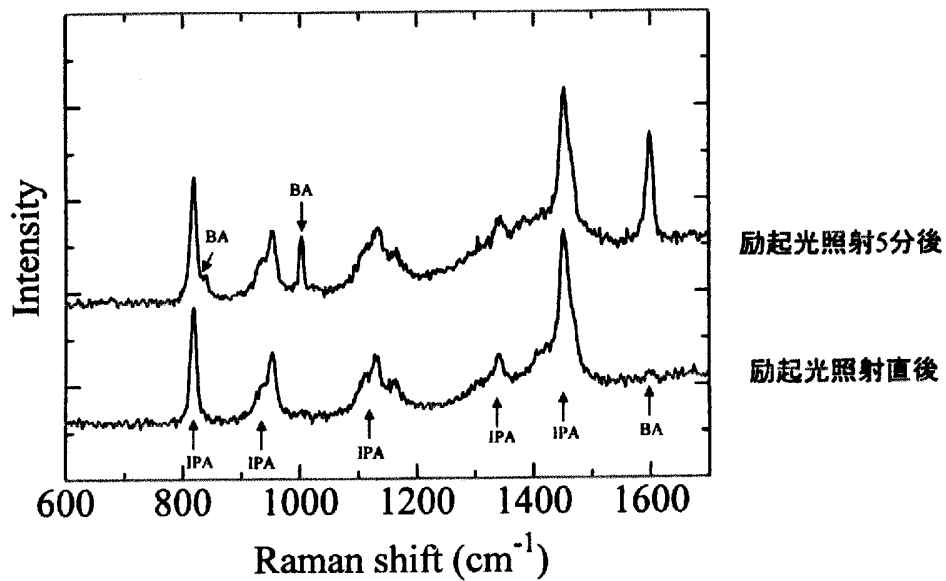
[図8]



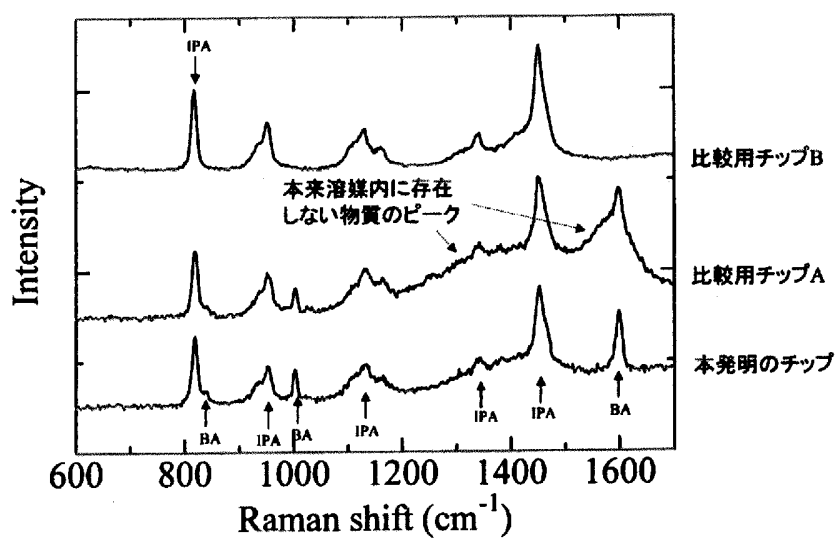
[図9]



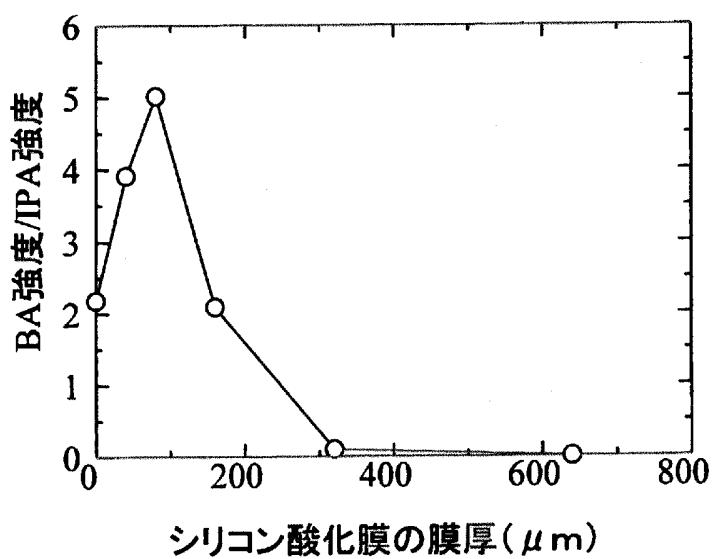
[図10]



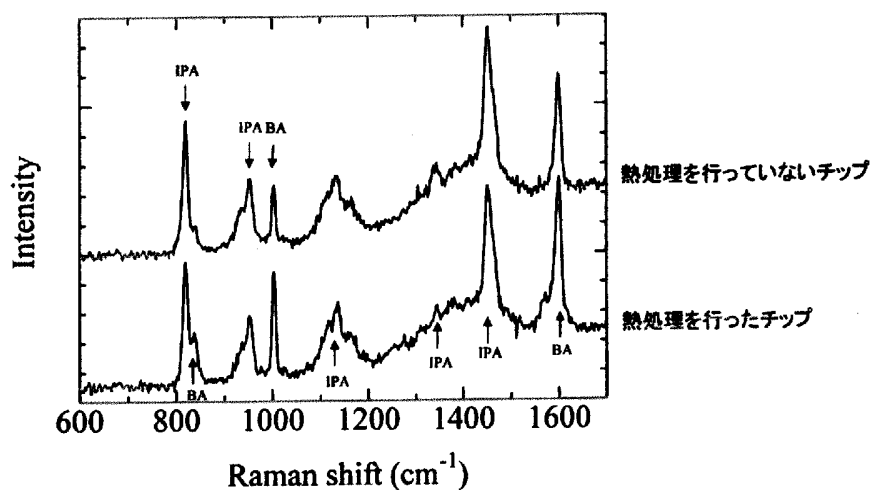
[図11]



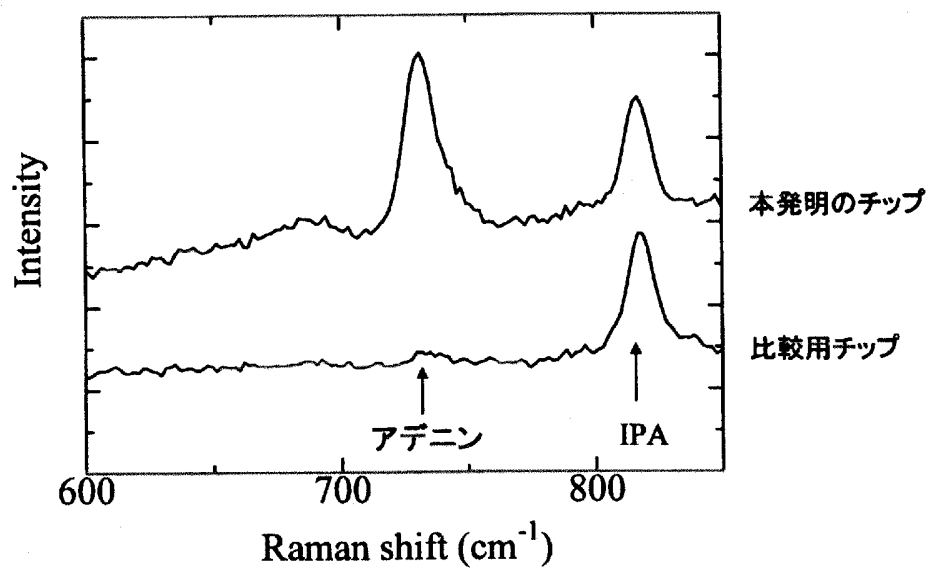
[図12]



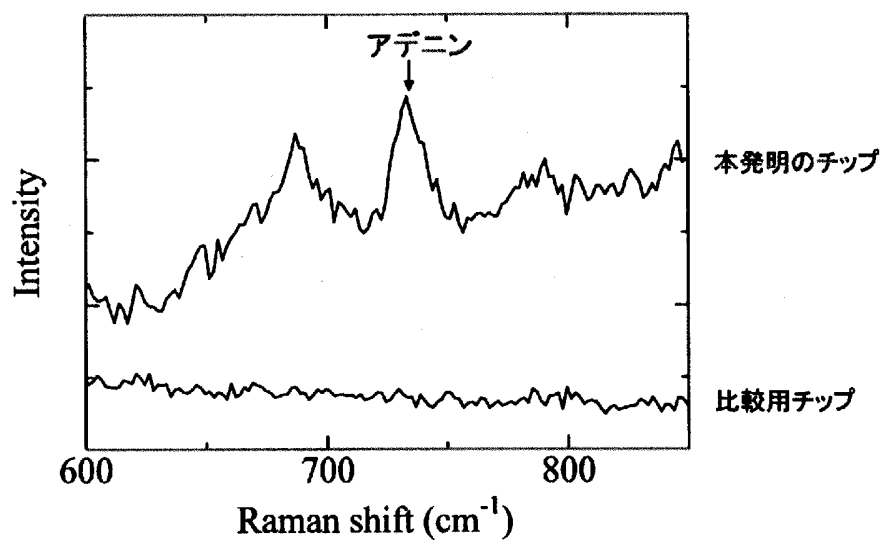
[図13]



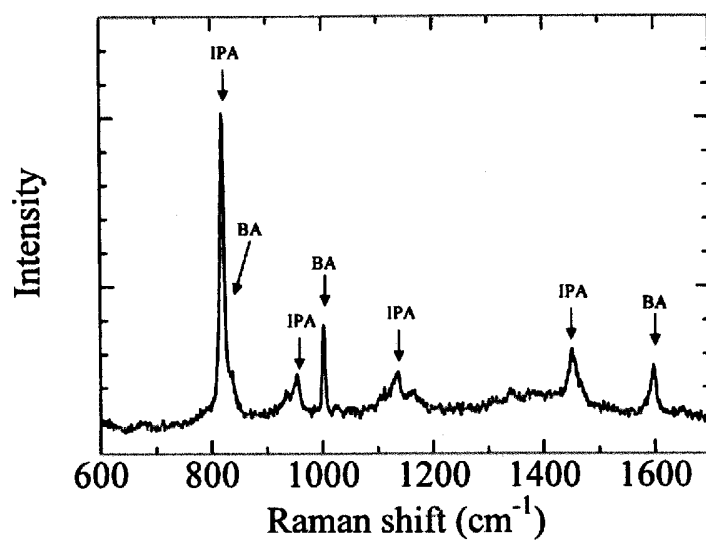
[図14]



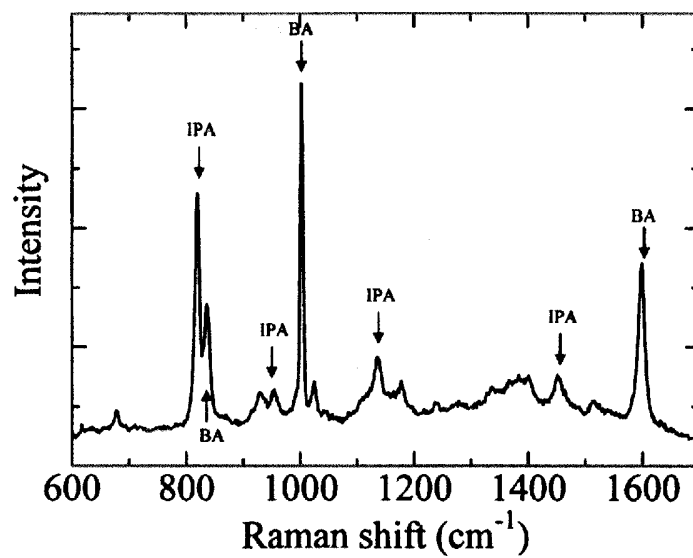
[図15]



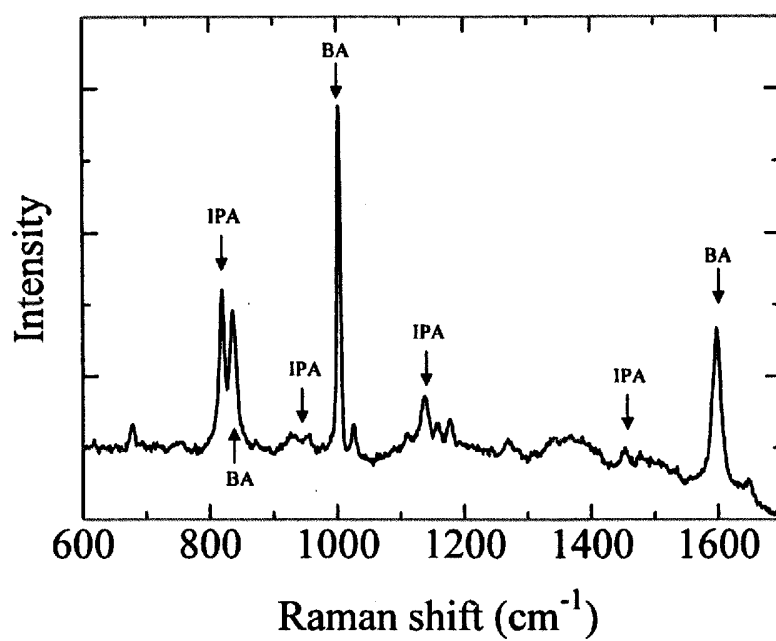
[図16]



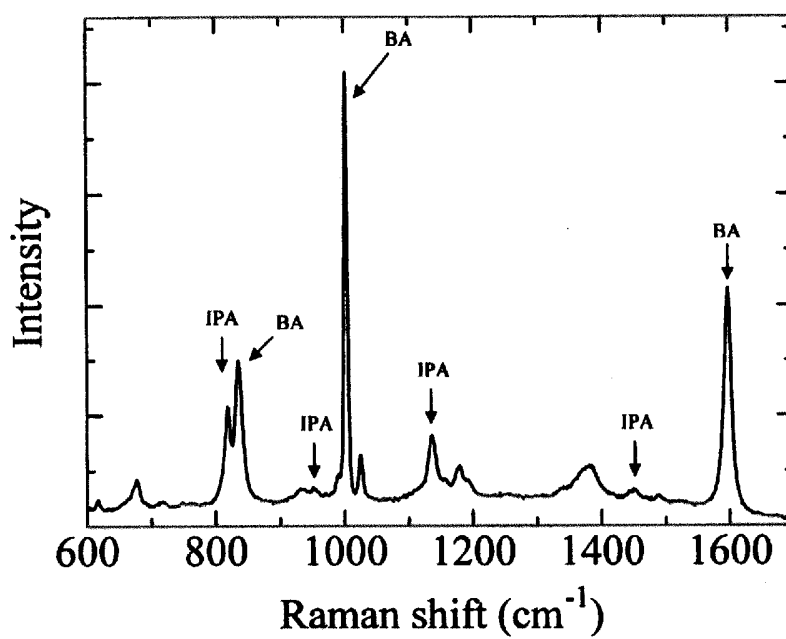
[図17]



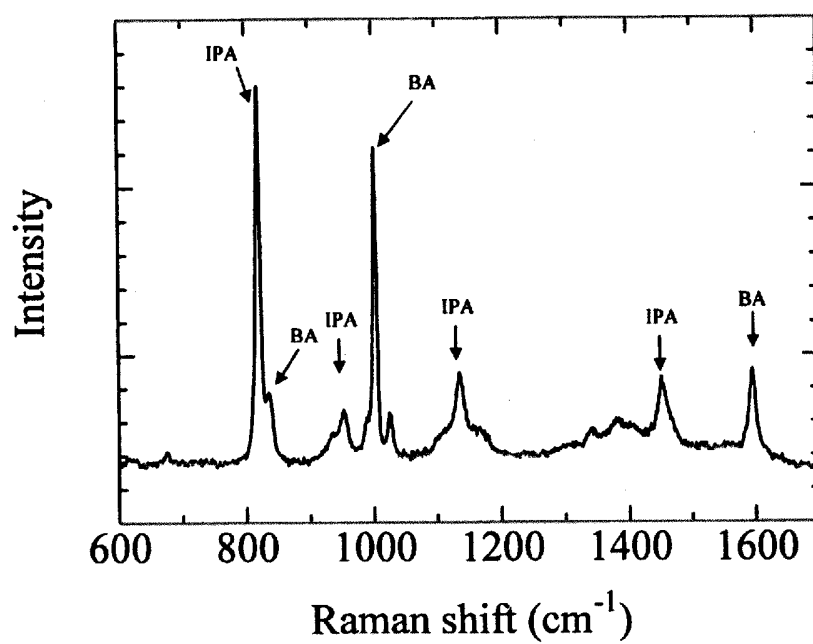
[図18]



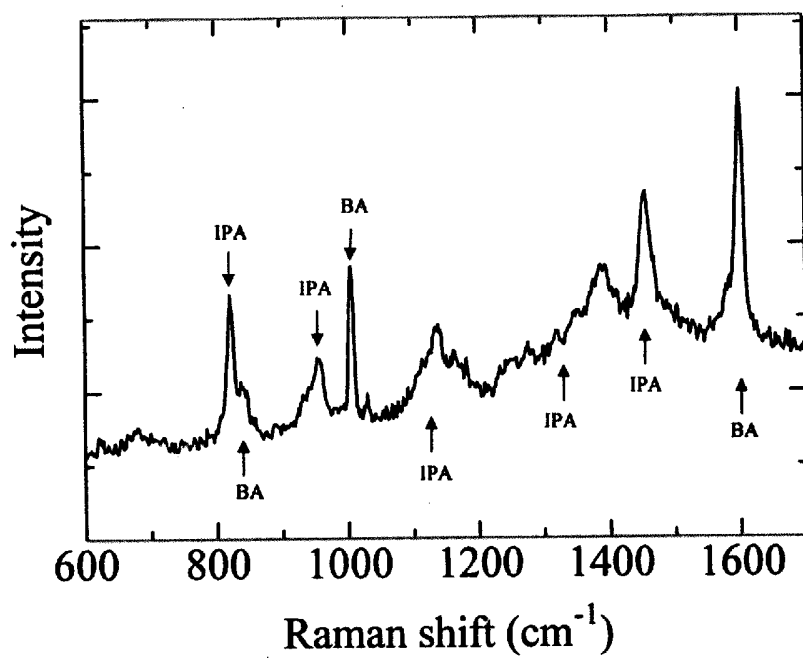
[図19]



[図20]



[図21]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/301197

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N21/65 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N21/00-G01N21/74, G01N33/48-G01N33/98

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2006

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2006 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2006

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus (JDream2)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2004-20822 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 22 January, 2004 (22.01.04), Full text & US 2004/0048075 A1	1-14
A	JP 2002-277397 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 25 September, 2002 (25.09.02), Full text & US 6707549 B2	1-14
A	JP 4-506999 A (Christopher G. Milne), 03 December, 1992 (03.12.92), Full text & US 5017007 A & EP 485425 A & WO 1991/002228 A1 & DE 69017031 C	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 April, 2006 (14.04.06)

Date of mailing of the international search report

25 April, 2006 (25.04.06)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/301197

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2000-356587 A (The Institute of Physical and Chemical Research), 26 December, 2000 (26.12.00), Full text (Family: none)	1-14

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N21/65 (2006. 01)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N 21/00-G01N 21/74
G01N 33/48-G01N 33/98

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 6 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 6 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 6 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus(JDream2)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2004-20822 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2004. 01. 22 全文 & US 2004/0048075 A1	1-14
A	JP 2002-277397 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2002. 09. 25 全文 & US 6707549 B2	1-14
A	JP 4-506999 A (ミルン、クリストファー ジョージ) 1992. 12. 03, 全文 & US 5017007 A & EP 485425 A & WO 1991/002228 A1 & DE 69017031 C	1-14

☒ C 欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 4 . 0 4 . 2 0 0 6

国際調査報告の発送日

2 5 . 0 4 . 2 0 0 6

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

横井 亜矢子

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 9 2

2 W

9 7 0 6

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2000-356587 A (理化学研究所) 2000. 12. 26 全文 (ファミリー無し)	1-14