

表面増強効果を利用した1分子ラマン分光

二又 政之*・丸山 芳弘**

Single Molecule Raman Spectroscopy Using Surface Enhanced Effect

Masayuki FUTAMATA* and Yoshihiro MARUYAMA**

Recent progress in Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) towards single molecule detection is reviewed. The origin of the blinking that is a fluctuation of SERS signal intensity and peak position, the additional peaks in elastic scattering, pronounced emission observed under SERS active state, and the role of halide ions are discussed to elucidate the electromagnetic and chemical enhancement mechanism.

Key words: single molecules sensitivity, surface enhanced Raman scattering, surface plasmon, FDTD method

振動分光学におけるひとつの大きな目標として、1 nm 以下の空間分解能とともに単一分子感度での状態分析が挙げられよう。固液界面に *in situ* で適用できるラマン分光法では、分子の存在状態・構造・配向性・周囲の化学種との相互作用などについて詳しい情報が得られる。このため、機能性材料や生体分子の高感度分析¹⁾ など幅広い利用が可能である。1974年に、「原子スケールから数百 nm の粗さをもつ金・銀・銅などの金属表面に吸着した化学種のラマン散乱が $10^4 \sim 10^6$ 倍増強する」という surface enhanced raman scattering (SERS)^{2,3)} が発見され、新しい物理現象として大きな注目を集めた。増強メカニズムとしては、① 金属の局在表面プラズモン (localized surface plasmon, LSP) が入射光により励起されたときに生じる巨大電場 (電磁気学的増強)³⁾、および② 金属表面と吸着種との間の電子移動相互作用による共鳴効果 (化学的増強)²⁾ が提案されている。増強度はどちらの場合も金属ナノ構造・表面形状に大きく依存する。従来の SERS 研究では、いろいろな形状やサイズの金属ナノ構造からの信号を統計平均として検出していたが、最近の走査型プローブ顕微鏡や高感度光検出器の発達により、基板上に固定した個々の粒子の光学的性質とナノスケール形状とを相関させること

が可能になった。これにより、最適な形状を有する粒子のみからの信号を検出することで 10^{14} の増強度が報告されるなど、単一分子ラマン検出は現実的になってきた。

1. 単一分子感度ラマンにおける金属ナノ粒子接合部の重要性

金属ナノ粒子を利用した SERS に関して、多くのグループで以下の点が確認されている⁴⁻²²⁾：(1) 硝酸銀や塩化金酸のクエン酸による化学還元で調製した金属ナノ粒子に溶液中でローダミン 6G (R6G) などの色素をナノ粒子1個当たり数十個程度の被覆率で吸着させたとき、ごく一部の粒子からきわめて強い SERS 信号が得られる (hot particles)。同様の結果は、アデニンやチロシンなどの生体分子でも観測されている。(2) 吸着量を1粒子当たり数分子以下に減らしたとき、SERS 信号強度およびピーク位置が時間的に揺動するプリンキングが観測される。このプリンキングは、1秒間に数回の頻度でくりかえし起こる現象で、励起波長やレーザー強度などを制御した条件下では、吸着分子の SERS スペクトルのみが観測されることから、本質的なものである^{17,23)}。

* 産業技術総合研究所界面ナノアーキテクトニクス研究センター (〒305-8562 つくば市東 1-1-1 中央第 4) E-mail: m.futamata@aist.go.jp

** 浜松ホトニクス(株)筑波研究所 (〒300-2635 つくば市東光台 5-9-2)

1.1 プリンキングとそのオリジン

hot particle は、いずれも金属ナノ粒子接合体あるいは近接体であり、接合軸に平行な偏光を照射したときのみ巨大な SERS 信号を与えることが偏光依存性から確かめられた⁶⁻¹³。実験結果を解釈するために、銀ナノ粒子表面付近に形成される局所電場を解析することが有効である。複雑な形状をもつ金属ナノ構造に適用可能な FDTD (finite difference time domain, 時間領域差分) 法を用いたところ、孤立した球状または回転楕円体状の銀ナノ粒子では場所によらず $10^2 \sim 10^3$ の電場増強 (ラマン増強として $10^4 \sim 10^6$) しか得られないが、近接銀ナノ粒子の in-phase LSP を軸に平行な偏光で励起することで、接合部に入射光の $10^5 \sim 10^6$ 倍もの巨大な電場が形成されることが判明した^{12,13}。これは SERS 増強度として $10^{10} \sim 10^{11}$ の単一分子感度に相当する。孤立粒子でも、シャープなエッジを有するナノ三角柱構造で、LSP 共鳴と電場の集中により同等の巨大電場が得られた。有限要素法や DDA (discrete dipole analysis) 法などの数値計算法の結果もよく一致した^{10,14}。局所電場の計算結果は、孤立粒子での SERS 増強度は比較的小さく、接合体に対して平行な偏光を用いたときのみ巨大な SERS 活性が得られるという実験結果とよく対応している。

被覆率が数十分子/ナノ粒子以下になるとプリンキングが観測される⁴⁻¹³。これは、① 完全なオン/オフ特性を示すこと⁶⁻⁹、② 強度がポアソン分布を示すことなどから^{4,5,15}、単一分子現象の証拠と考えられている。Aroca らは、蒸着した銀島状膜表面にアラキジン酸 (AA) とペリレン系色素 (PD) を混合したラングミュア・プロジェクト (LB) 膜を形成し、色素の SERS 信号の混合比依存性を測定した¹⁶。このとき、AA : PD の混合比を上げれば、 $10^3 : 1$ と $10^4 : 1$ の間で、アンサンブル平均された SERS スペクトルから、強度およびスペクトルが時間的に揺動する単一分子 SERS への転移が観測された。この結果は、これらの特異的な分子数の比を超えると、分子の大きさ・間隔から $1 \mu\text{m}$ 径の観測領域にはほぼ 1 分子の PD が存在する条件となることとよく対応している。プリンキングのオリジンとして、1 分子レベルでの光刺激脱離-再吸着という光励起メカニズムが提唱された。Haran らは、532 nm 励起のとき、銀ナノ粒子表面に吸着した R6G の SERS 信号の fluctuation の頻度がレーザー光強度に比例することを実験的に示した¹⁸。このメカニズムは、金属と吸着分子との間の光による電子移動を利用するので、特定の金属と吸着種の間でのみ有効なものである。これに関連して、筆者らは 488 nm 励起で温度依存性の実験を行い、プリンキング

が熱活性化過程であることを明らかにした²³。すなわち、室温で SERS 信号強度が揺動する粒子の温度を下げたとき、77 K ではプリンキングが抑制され測定の間中強い信号を与えるか、反対に全く信号を与えない場合が観測された。再び室温に戻すと、これらの粒子のプリンキングは回復した (図 1)。先に示した局所電場計算の結果に基づいて、① 吸着分子は接合部に局在し、その周辺との間で熱拡散することでプリンキングを示す、② 低温にしたとき、熱エネルギーが抑制され拡散のエネルギー障壁が越えられなくなるために、一部の分子の熱拡散が抑制される、さらに、③ 分子が接合部で固定されると常に巨大な増強度 (明るいスポット) を与え、周辺部で固定されると常に暗いイメージを与えるものと解釈される。熱拡散は、R6G のような可視領域に強い吸収をもつ分子に対しては、光刺激-脱離のメカニズムと同時に起こる可能性がある。可視部に吸収をもたない DNA 塩基でもプリンキングが観測されることは、熱的活性化機構を支持している²²。

1.2 弾性散乱に現れる接合部吸着の証拠^{12,13,19-26}

図 2 (c) に示す銀ナノ粒子接合体は、強いラマン信号 (増強度 $10^8 \sim 10^9$, 図 2 (a)) を与えた。同時に白色光を用いて弾性散乱を測定すると、LSP によるブロードな散乱ピーク (525 nm, 730 nm) とともに、630 nm に付加的なピークが観測された (図 2 (b), (d))。630 nm の散乱は、SERS 活性と強い相関があり、時間が経過して吸着分子の拡散などによりラマン信号が失われると消失した。300 分子/粒子程度のごく微量の色素や DNA 塩基のアデニンが吸着した銀ナノ粒子接合体のほか、プリンキングする粒子でも同様の付加的な散乱ピークが観測された。このピークのオリジンを明らかにすることは、巨大 SERS 増強のメカニズムの解明のために重要と考えられる。これに関連して、すでに 1980 年代初めに、Creighead や Garoff らにより、蒸着した銀島状膜への単分子層以下の色素分子蒸着による LSP 吸収スペクトル変化が報告されている²⁷。彼らは、ミー散乱や Garnet による有効誘電率近似を用いて、観測されたスペクトル変化が定性的に再現できることを示した。ここではより詳細な情報を得るために、FDTD 法により弾性散乱スペクトルを計算した。その結果、付加的な散乱ピークは、銀粒子の LSP が接合部に吸着した分子の電子遷移と相互作用することにより生じたものであることが明らかになった^{13,24}。球状銀粒子の接合部に吸着分子を配置し、接合軸に平行な偏光を入射したとき、370 nm (LSP の out-of-phase) と 470 nm (in-phase) の 2 つの LSP ピークとともに、長波長側 (750 nm) にそれらよりは弱いが明確なピークを与えた (図 3)。この付加的なピークは、

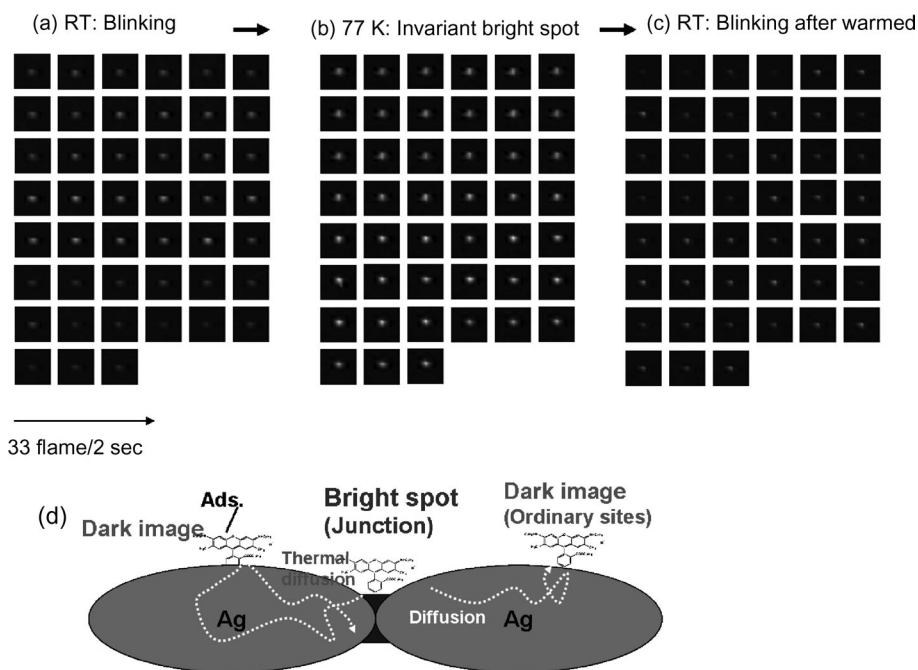


図1 プリンキングの温度依存性²³⁾. (a) 室温, (b) 77 K, (c) 室温 (再加熱後). 低温でプリンキングが抑制されることから, 熱活性化過程であることが示された. すべてのイメージは, 33 フレーム/秒の速度で CCD カメラで測定された. (d) 銀ナノ粒子接合部付近で分子が熱拡散する様子の模式図.

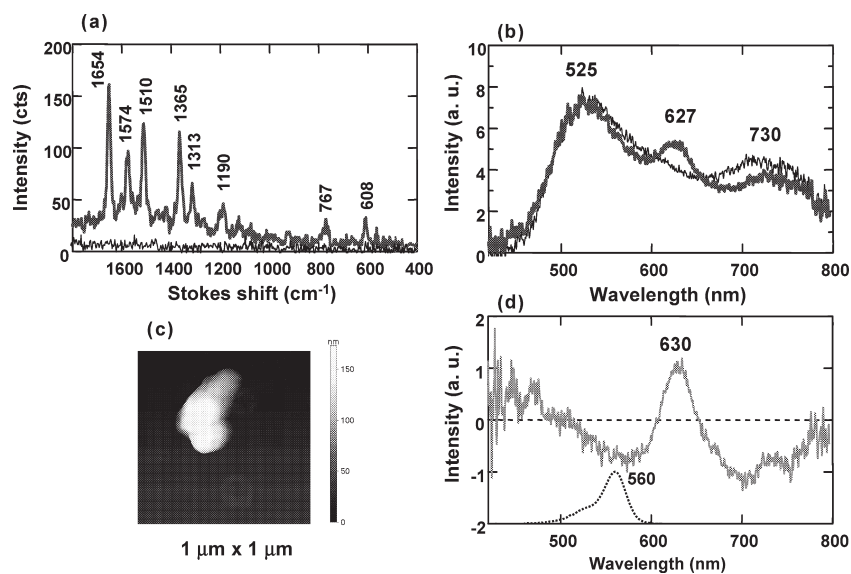


図2 活性な R6G/Ag ナノ粒子 (c) の SERS と弾性散乱スペクトルの比較. (a) SERS, (b) 弾性散乱, (d) SERS 活性状態と不活性状態の差スペクトル¹²⁾.

- ① 接合部以外の一般的な吸着サイトでは現れないこと,
- ② 吸収のない化学種を接合部においても現れないこと,
- ③ 吸着種の吸収波長を 650 nm から 260 nm に変えていったとき, 対応して散乱ピーク波長が 750 nm から 420 nm に単調にシフトすること (図 3 (a) (b)),
- ④ 吸着種の振動子強度を変えたとき, 対応して付加ピーク強度のみが変

化する (図 3 (c)) から, 明らかに吸着種の吸収に起因する¹³⁾. このピークは吸着種の吸収と LSP のカップリングにより増強されたものであり, 吸収波長が LSP 共鳴に近づけば, これらの帰属は不明瞭になる (図 3 (b)). このような相互作用が存在するとき, 420 nm 付近の LSP 共鳴とは別に, 弾性散乱の付加ピークにおいて接合部の電

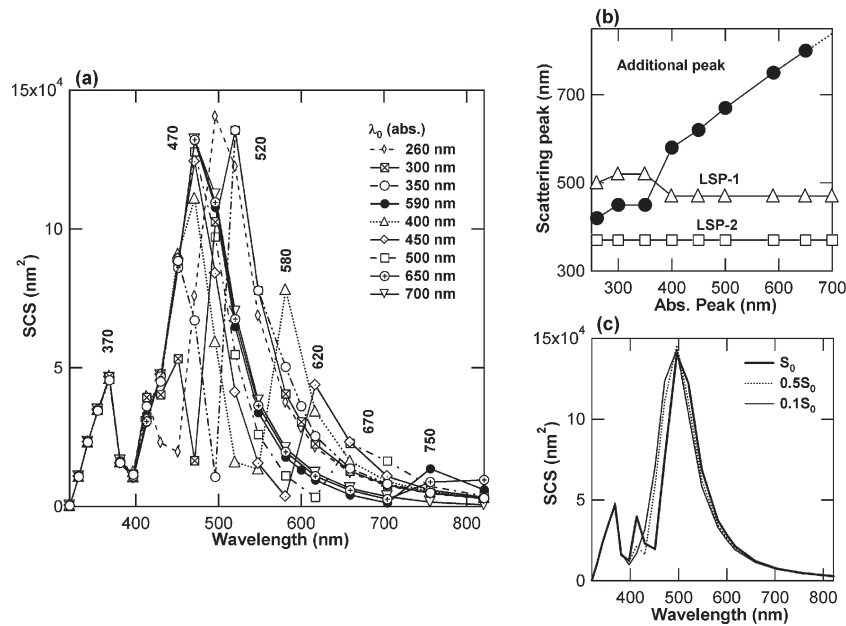


図3 近接する銀ナノ粒子（半径 40 nm，ギャップ 4 nm に色素 $4 \times 4 \times 4 \text{ nm}^3$ ）試料系の弾性散乱スペクトルの FDTD 法による計算値¹³⁾。(a) 吸収ピーク波長と付加的な散乱ピーク波長の相関，(b) (a) のまとめ，(c) 350 nm の吸収をもった色素についての振動子強度 (S_0) と付加的なピーク強度 (SCS) の相関。

場が増強される (図 4)。これまでの単一分子感度に関する金属ナノ粒子系の電場計算では，吸着分子をおかずに局所電場強度を計算し，ラマン増強度が見積もられてきた。しかし，特に励起波長に近い電子遷移をもつ分子系では，電場は吸収のために大きく減衰すると考えられる (図 4 (a))。ところが，付加ピーク波長では吸着分子内部に大きな増強電場が形成されることが判明した (図 4 (b))。同様に，弾性散乱での付加的なピーク波長で色素の吸収が大きく増大した。吸収をもたない分子では，ここで見いだした現象は，近接する銀ナノ粒子の LSP がこの波長で分子の電子状態を介して大きなカップリングをもつためと理解される。入射光電場だけでなくラマン散乱や蛍光増強を，量子化学計算を用いてより定量的に取り扱った報告が最近 Johansson らによりなされた³²⁾。彼らは，半径 40 nm の 2 つの Ag 粒子のギャップ (サイズ 0.5 nm~2.5 nm) におかれた 1 個の R6G 系モデル分子について，拡張ミー散乱理論で電磁場を求め，二準位モデルで電子吸収を表し，1 つの振動モードを用いて，振電カップリングおよび分子と電磁場のカップリングを表式した。それに基づいて，蛍光およびラマン散乱スペクトルのギャップサイズ依存性や励起波長，吸収バンド幅，励起光強度依存性を解析した。その結果，ギャップサイズ 0.5 nm のとき，電磁気学的増強により最大で 10^{10} の SERS 増強度と $10^{-13} \sim 10^{-12} \text{ cm}^2$ のラマン散乱断面積が得られている。また，近接 Ag 粒子系

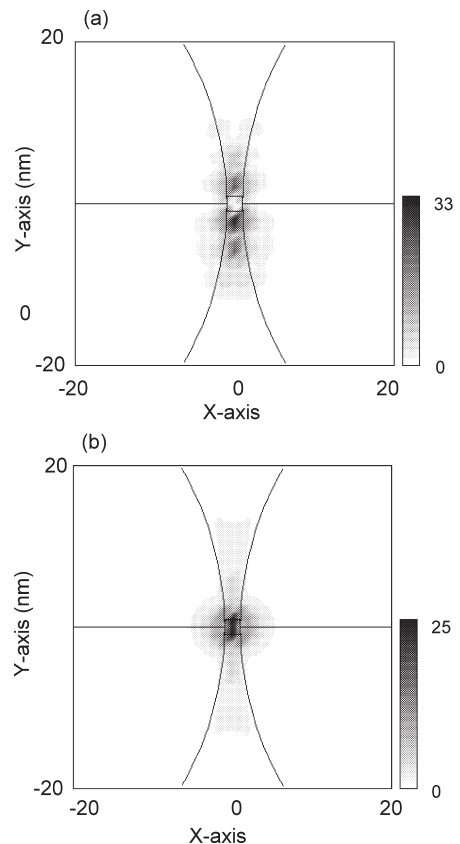


図4 R6G/Ag 粒子系 (半径 40 nm，ギャップサイズ 4 nm に色素を充填) の局所電場分布の計算値 (振幅)。(a) 励起波長 $\lambda_{\text{ex}} = 410 \text{ nm}$ (LSP 共鳴)，(b) 励起波長 $\lambda_{\text{ex}} = 760 \text{ nm}$ (付加的なピーク波長)。

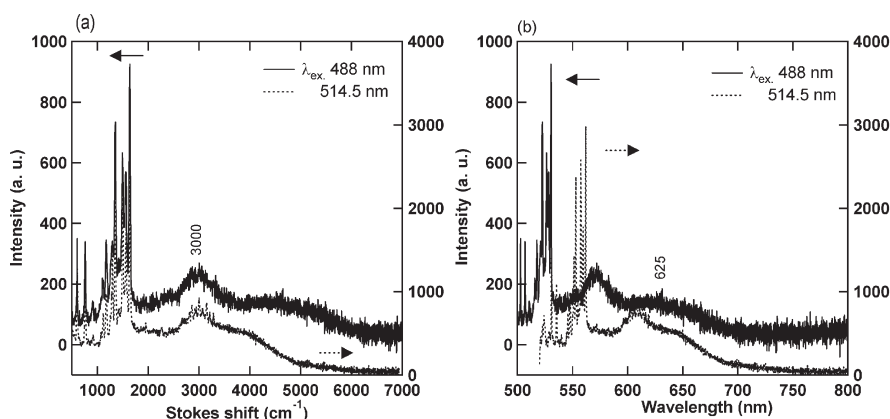


図5 異なる励起波長 (488 nm, 514.5 nm) でのSERSと発光スペクトル²⁶⁾。(a) ストークスシフト表示, (b) 波長表示。

では、蛍光の消光は不完全であり、有意のバックグラウンド発光を与えることが示された。

1.3 特異的な発光スペクトル

SERS研究の初期から、SERS信号のバックグラウンドとして強い非弾性散乱が観測されることが知られている^{2,3)}。このオリジンとしては、吸着種の発光、LSPの輻射緩和、金属酸化物の励起子、金属ナノクラスターの発光、金属表面の電子ラマン散乱などが挙げられているが、明確な結論には至っていない^{2,3,17,19,20,26,28)}。筆者らは、吸着色素の種類と被覆率を変えることで、色素の発光と金属表面からの非弾性散乱を区別することに成功した^{13,25,26)}。異なる被覆率のR6G、CV (クリスタルバイオレット)、MG (マラカイトグリーン) のSERSと同時に観測される発光スペクトルにおいて (励起波長 488 nm)、長波長側の620~710 nm にピークをもつ発光は、①色素の種類によりピーク波長が変化し、かつ吸着量とともに発光強度が増加すること、および②ガラス基板に調製した色素の吸収および発光スペクトルとほぼ一致することから、増強された色素の発光と帰属された。一方、短波長側に観測される550~600 nm のピーク波長・強度は色素や被覆率に依存しないことから、金属表面の電子状態に由来する発光と考えられる²⁵⁾。興味深いことに、励起波長を514.5 nmに変えたとき、R6G/銀ナノ粒子について観測された短波長側のピークは、488 nm励起のときと同じ3000 cm⁻¹のストークスシフトを示した (図5)²⁶⁾。これは、同じ粒子について励起波長のみを変えた実験で得られた結果であり、かつ別の粒子についても同様の発光特性が得られた¹³⁾。対照的に、長波長側の発光は、励起波長によらず一定のピーク波長を与えた。また、短波長側のストークスシフトは、色素をCV、MGと変えたときR6Gとほぼ同様に2625 cm⁻¹、2850 cm⁻¹付近に観測された²⁹⁾。この金属表面に由来する

非弾性散乱は、励起波長によらず一定のストークスシフトをもつことから、LSPの輻射緩和や金属酸化物の励起子緩和、金属クラスター、色素の蛍光のいずれでもない。これらの場合、ずっと大きなエネルギーをもった発光が、一定のピーク波長をもって放射されるはずである。これは以前、Ottoらが超高真空下、低温で蒸着した銅や銀表面で吸着種なしで観測した非弾性散乱によく似ている³⁰⁾。彼らはそれを、金属表面で励起された電子が原子レベルの粗さのために非弾性的な散乱を受けることで、結果的に基底状態のフェルミ面付近に電子-格子対が形成されるものとして説明した。筆者らの非弾性散乱は、色素などの分子を吸着した巨大SERS活性を有する銀ナノ粒子でのみ観測されるものであり、SERS活性のない粒子や、吸着種のない粒子では全く観測されない。このことは、金属電子が表面粗さや欠陥と同様に、吸着分子によって非弾性的に散乱されることを示唆している。ここで用いた銀ナノ粒子は、原子レベルの粗さは存在せず (111) facet面が独占的に形成されているため¹¹⁾、吸着種の存在によりはじめて非弾性散乱が起こるものと考えられる。

色素の吸着していない金属ナノ構造体から、類似した発光スペクトルが報告されている。Kudelskiらは、電気化学的にKCl水溶液中で酸化還元処理で粗くしたAu、Ag基板について、時間的に揺動する多くのシャープなピークを観測した¹⁷⁾。これらを積算すると、バルクのアモルファスカーボンと同じ1380 cm⁻¹および1590 cm⁻¹付近にピークをもつ幅広い2本のラマンバンドを与えた。最初に酸素を飽和し、窒素ガスを流しながら測定すると、平均強度および揺動はだんだん弱くなった。ピリジン(Py)共吸着下では、Pyのバンドの揺動はなく、カーボンのみ揺動を示すことなどから、表面に不純物として存在するカーボンが、酸素と光により局所反応を起こし、そのラマンスペク

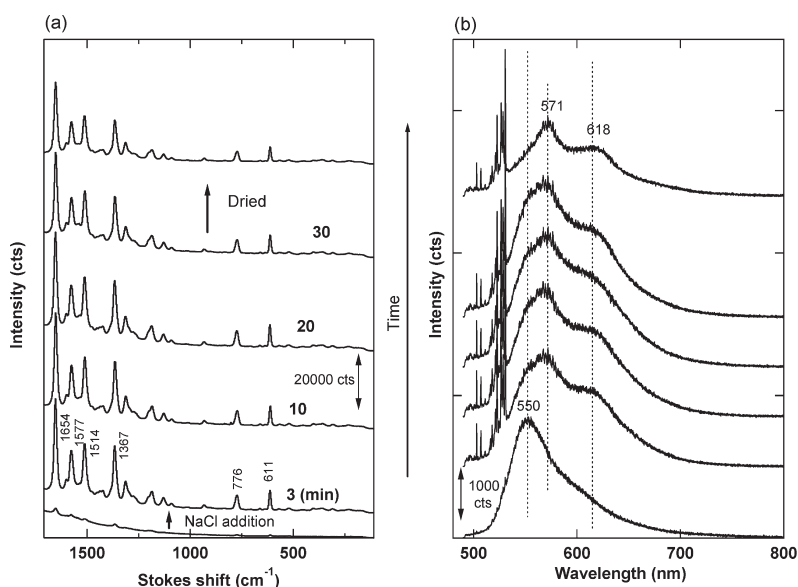


図6 塩化物イオン添加によるSERS (a), および発光・非弾性散乱スペクトル (b) の変化. R6Gを吸着させたAgナノ粒子は, カバーガラスにAPTMSで固定しており, 10 mM NaCl溶液100 μ l (溶液はR6Gを含まない) を添加した直後からのSERSおよび発光スペクトルの時間変化を示す. 最初にR6GがAg表面から脱離し, Cl^- が吸着した後R6Gが再吸着する. R6G被覆率は, NaCl添加により大きく低下しているが, SERS強度は著しく増加した. 同時に, 550 nmのR6Gの蛍光ピークが, NaCl添加により571 nmの非弾性散乱ピークと, 618 nmの長波長シフトした蛍光ピークに変化した (b).

トルが時間変化したものと結論された. 類似した発光スペクトルが, JacobsonらによりAg蒸着膜 (5 nm厚さ) について報告されている²⁸⁾. この点に関連して筆者らは, ①化学還元で形成したAgナノ粒子にハロゲン化物イオンを加えないとき, 表面に残留したクエン酸分解物がアモルファスカーボンのSERSを与え, 幅広い発光ピークが600 nm付近に観測されることを確認している. ②清浄なAg蒸着膜, Agコロイド (Cl^- 置換したもの) やSERS不活性なAg- Cl^- -R6G系では, 発光およびカーボンのラマンは観測されず, SERS活性のある (吸着分子を含む) Agナノ粒子でのみ観測された. また, ③Ag- Cl^- -R6G試料系では, 窒素雰囲気下でも空気中と同じようにblinkingが観測された. 以上のことから, SERSとともに観測される強い発光は, 吸着分子 (不純物としてのカーボンを含む) の増強された発光と金属ナノ粒子の電子ラマンの可能性が高い.

2. 化学的増強効果の微視的メカニズム

電子移動相互作用は, 吸着状態での分子や金属の種類に大きく依存し, 原子レベルの粗さを含む金属表面で顕著に観測される²⁾. また, PyやR6Gなどが, ハロゲン化物イオンの共吸着によりSERS活性となることが知られている³¹⁾. 化学的増強は, 第1層吸着種にのみ効果的であり, 低温蒸着膜では格子欠陥などに特異的に吸着する単分子層以下の酸素や膜のアニールにより失活される. 第1層での

電子的相互作用は, 吸着分子の存在状態を決めるので, 化学的増強メカニズムを明らかにすることは手法の確立のために重要である.

最近, Doeringらは, 凝集体を含むAgコロイド粒子をガラス基板に固定し, 溶液セルを用いてハロゲン化物イオンによるR6GのSERS活性化過程およびチオ硫酸イオンによる失活過程を観測した⁹⁾. これは個々の粒子の形状や集合状態, 電子状態のSERS活性化・失活に伴う変化とともに, 電子移動相互作用を解析するために重要な実験である. 彼らは, 散乱イメージ観測から活性化や失活で大きな共鳴条件の変化がないとして, ハロゲン化物イオンは電磁気学的増強を変えず, 活性サイトで化学的増強効果を引き起こすこと, およびチオ硫酸イオンは活性サイトの Ag^+ カチオンを溶解し失活すると解釈した. 筆者らは, この点について, AFMや弾性散乱および発光スペクトル測定により詳細な検討を行った. その結果, Cl^- イオンは基板上に固定したAgナノ粒子を凝集や拡散・溶解させることなく, 表面に残留するクエン酸分解物を自分自身で置換し, そのあとでR6Gを再吸着させることが確かめられた. それに伴い, LSP散乱スペクトルが有意の変化を示した. このとき用いた条件では, R6Gの被覆率は Cl^- イオンがないときに比べてずっと低いにもかかわらず, きわめて強いSERS信号が得られた. また, R6Gの増強蛍光ピークが単独で吸着したときの550 nmから618 nmに大

きく長波長シフトするとともに、金属ナノ粒子の非弾性散乱ピークが 3000 cm^{-1} に観測された (図6)。これらの点は、銀ナノ粒子と吸着色素が Cl^- イオンを通して静電的に安定化されるだけではなく、電子的相互作用により活性化されていることを示している。同様の結果が、チオシアン酸イオンでも観測された。またチオ硫酸ナトリウム添加により、 Ag^+ が錯イオンを形成して溶液中に溶け出すことで、SERS 活性が非可逆的にクエンチされたものと考えられる (Ag ナノ粒子を純水で洗った後、再度十分な濃度の R6G と Cl^- を添加しても活性化されない)。この失活過程では、 Ag ナノ粒子の形状や集合状態に有意の変化はなく (LSP 共鳴条件は変わらない)、カチオン系色素の SERS 活性化のために Ag^+ が重要な役割を果たしていると考えられる。こうした化学的増強メカニズムにかかわる、アニオンのさらに詳細な役割の解明が必要である。

単一分子感度ラマン分光法が確立されるためには、電磁気学的増強に関して、① 金属ナノ構造の形状・サイズ・ギャップを制御したうえで、励起波長・入射方向・偏光方向などを変えながら、吸着種の SERS 信号の (空間分布を含む) 詳細な測定を行うこと、および② 吸着種と金属表面の間の電子移動を含めたラマン散乱強度の理論解析を行うこと、それにより接合部モデルを実証すること、③ そのうえで、さまざまな吸着分子に適用し、表面被覆率を規定できる条件で単一分子感度を実証し、汎用性を確かめることが必要である。並行して、化学的増強効果に関して、ハロゲン化物イオンなどの役割や吸着種依存性を微視的に解明することが必要である。

ここで示した研究成果の一部は、科研費基盤研究 (B1) 17350013 および NEDO により支援されたものである。

文 献

- 1) J. A. Dieringer, A. D. McFarland, N. C. Shah, D. A. Stuart, A. V. Whitney, C. R. Yonzon, M. A. Young, X. Zhang and R. P. Van Duyne: "Surface enhanced Raman spectroscopy: New materials, concepts, characterization tools, and applications," *Faraday Discuss.*, **132** (2006) 9-26.
- 2) A. Otto, I. Mrozek, H. Grabhorn, W. Akemann: "Surface-enhanced Raman scattering," *J. Phys.: Condens. Matt.*, **4** (1992) 1143-1211.
- 3) M. Kerker: *Selected Papers on Surface Enhanced Raman Scattering*. SPIE Press Book Vol. MS10 (SPIE, 1990).
- 4) K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari and M. S. Feld: "Ultrasensitive chemical analysis by Raman spectroscopy," *Chem. Rev.*, **99** (1999) 2957-2975.
- 5) K. Kneipp, H. Kneipp, V. B. Kartha, R. Manoharan, G. Deinum, I. Itzkan, R. R. Dasari and M. S. Feld: "Detection and identification of a single DNA base molecule using surface-enhanced Raman scattering (SERS)," *Phys. Rev.*

- E, **57** (1998) R6281-R6285.
- 6) J. T. Krug, II, G. D. Wang, S. R. Emory and S. Nie: "Efficient Raman enhancement and intermittent light emission observed in single gold nanocrystals," *J. Am. Chem. Soc.*, **121** (1999) 9208-9214.
- 7) S. Nie and S. R. Emory: "Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering," *Science*, **275** (1997) 1102-1106.
- 8) S. R. Emory and S. Nie: "Near-field surface-enhanced Raman spectroscopy on single silver nanoparticles," *Anal. Chem.*, **69** (1997) 2631-2635.
- 9) W. Doering and S. Nie: "Single-molecule and single-nanoparticle SERS: Examining the roles of surface active sites and chemical enhancement," *J. Phys. Chem.*, **B106** (2002) 311-317.
- 10) H. Xu, J. Aizpurua, M. Käll and P. Apell: "Electromagnetic contributions to single-molecule sensitivity in surface-enhanced Raman scattering," *Phys. Rev. E*, **62** (2000) 4318-4324.
- 11) M. Michaels, J. Jiang and L. Brus: "Ag nanocrystal junctions as the site for surface-enhanced Raman scattering of single rhodamine 6G molecules," *J. Phys. Chem. B*, **104** (2000) 11965-11971.
- 12) M. Futamata, Y. Maruyama and M. Ishikawa: "Adsorbed sites of individual molecules on Ag nanoparticles in single molecule sensitivity-surface-enhanced Raman scattering," *J. Phys. Chem. B*, **108** (2004) 13119-13127.
- 13) M. Futamata: "Single molecule sensitivity in SERS: Importance of junction of adjacent Ag nanoparticles," *Faraday Discuss.*, **132** (2006) 45-61.
- 14) J. P. Kottmann, O. J. F. Martin, D. R. Smith and S. Schultz: "Dramatic localized electromagnetic enhancement in plasmon resonant nanowires," *Chem. Phys. Lett.*, **341** (2001) 1-6.
- 15) E. C. Le Ru, M. Meyer and P. G. Etchegoin: "Proof of single-molecule sensitivity in surface enhanced Raman scattering (SERS) by means of a two-analyte technique," *J. Phys. Chem. B*, **110** (2006) 1944-1948.
- 16) P. J. G. Goulet, N. P. W. Pieczonka and R. F. Aroca: "Mapping single-molecule SERS from Langmuir-Blodgett monolayers on nanostructured silver island films," *J. Raman Spectrosc.*, **36** (2005) 574-580.
- 17) A. Kudelski and B. Pettinger: "SERS on carbon chain segments: Monitoring locally surface chemistry," *Chem. Phys. Lett.*, **321** (2000) 356-362.
- 18) A. Weiss and G. Haran: "Time-dependent single-molecule Raman scattering as a probe of surface dynamics," *J. Phys. Chem. B*, **105** (2001) 12348-12354.
- 19) T. Itoh, K. Hashimoto, V. Biju, M. Ishikawa, B. R. Wood and Y. Ozaki: "Elucidation of interaction between metal-free tetraphenylporphine and surface Ag atoms through temporal fluctuation of surface-enhanced resonance Raman scattering and background-light emission," *J. Phys. Chem. B*, **110** (2006) 9579-9585.
- 20) T. Itoh, V. Biju, M. Ishikawa, Y. Kikkawa, K. Hashimoto, A. Ikehata and Y. Ozaki: "Surface-enhanced resonance Raman scattering and background light emission coupled with plasmon of single Ag nanoaggregates," *J. Chem. Phys.*, **124** (2006) 134708.
- 21) M. Futamata, Y. Maruyama and M. Ishikawa: "Local electric field and scattering cross section of Ag nanoparticles under surface plasmon resonance by finite difference time domain method," *J. Phys. Chem. B*, **107** (2003) 7607-7617.

- 22) M. Futamata, Y. Maruyama and M. Ishikawa: "Metal nanostructures with single molecule sensitivity in surface enhanced Raman scattering," *Vib. Spectrosc.*, **35** (2004) 121-129.
- 23) Y. Maruyama, M. Ishikawa and M. Futamata: "Thermal activation of blinking in SERS signal," *J. Phys. Chem. B*, **108** (2004) 673-678.
- 24) M. Futamata and Y. Maruyama: "Critical importance of the junction in touching Ag particles for single molecule sensitivity in SERS," *J. Mol. Struct.*, **735-736** (2005) 75-84.
- 25) Y. Maruyama and M. Futamata: "Elastic scattering and emission correlated with single-molecule SERS," *J. Raman Spectrosc.*, **36** (2005) 581-592.
- 26) Y. Maruyama and M. Futamata: "Inelastic scattering and emission correlated with enormous SERS of dye adsorbed on Ag nanoparticles," *Chem. Phys. Lett.*, **412** (2005) 65-70.
- 27) H. G. Creighead and A. M. Glass: "Optical absorption of small metal particles with adsorbed dye coats," *Opt. Lett.*, **6** (1981) 248-250.
- 28) M. L. Jacobson and K. L. Rowlen: "The role of O₂ in SERS-active thin metal film photodynamics," *J. Phys. Chem. B*, **110** (2006) 19491-19496.
- 29) A. Otto and M. Futamata: "Electronic mechanisms of SERS," *Surface Enhanced Raman Scattering: Physics and Applications*, eds. K. Kneipp, M. Moskovits and H. Kneipp (Springer, 2006) pp. 147-181.
- 30) A. Otto: "Theory of first layer and single molecule surface enhanced Raman scattering (SERS)," *Phys. Stat. Sol. (a)*, **188** (2001) 1455-1470.
- 31) A. Otto, A. Bruckbauer and Y. X. Chen: "On the chloride activation in SERS and single molecule SERS," *J. Mol. Struct.*, **661-662** (2003) 501-514.
- 32) P. Johansson, H. Xu and M. Käll: "Surface enhanced Raman scattering and fluorescence near metal nanoparticles," *Phys. Rev. B*, **72** (2005) 035427.

(2007年4月9日受理)