

# 表面プラズモン共鳴センサの高感度化に関する研究

平成30年3月

市橋 宏基



## 目次

### 1 章 序論

- 1.1 表面プラズモン共鳴センサ
    - 1.1.1 概要
    - 1.1.2 課題と研究状況
  - 1.2 表面プラズモン共鳴イメージングセンサ
    - 1.2.1 概要
    - 1.2.2 課題と研究状況
  - 1.3 研究目的
  - 1.4 本論文の構成
- 参考文献

### 2 章 符号の異なる2つの回折次数を利用した回折格子結合型表面プラズモン共鳴センサの高感度化

- 2.1 緒言
  - 2.2 原理
  - 2.3 数値シミュレーション
    - 2.3.1 矩形波回折格子のフィルファクタ最適化
    - 2.3.2 回折格子の溝深さに関する検討
  - 2.4 結言
- 参考文献

### 3 章 液浸レンズを用いた高感度回折格子結合型表面プラズモン共鳴センサ

- 3.1 緒言
  - 3.2 原理
  - 3.3 センサの構成
    - 3.3.1 液浸レンズを用いたセンサ光学系
    - 3.3.2 高感度化の原理
  - 3.4 数値シミュレーション
  - 3.5 光学系の設計
  - 3.6 結言
- 参考文献

## 4 章 プリズム結合型表面プラズモン共鳴イメージングの高性能化

### 4.1 緒言

### 4.2 原理

#### 4.2.1 従来の表面共鳴プラズモン共鳴イメージングセンサ

#### 4.2.2 回折格子と物体側テレセントリック光学系を用いた表面プラズモン共鳴イメージングセンサ

### 4.3 光学設計と数値シミュレーション

#### 4.3.1 3種類の表面プラズモン共鳴イメージングセンサの設計

#### 4.3.2 数値シミュレーションによる性能比較

### 4.4 実験

#### 4.4.1 テストチャートによる性能評価

#### 4.4.2 マイクロ流路内での2つの溶液の混合過程の観察

### 4.5 考察

### 4.6 結言

## Appendix

### 参考文献

## 5 章 総括

### 参考文献

本研究に関する公表論文

本研究に関する学会発表

その他の表面プラズモンセンサに関する学会発表

謝辞

## 1 章 序論

### 1.1 表面プラズモン共鳴センサ

#### 1.1.1 概要

表面プラズモン共鳴 (SPR; surface plasmon resonance) センサ (SPRS; SPR sensor) は, 試料の微小な屈折率変化を検出するセンサの一つとして Nylander らによりガス検知への応用が初めて提案されて以来[1], 化学やバイオ関連分野で広く利用されている. 用途としては, そのようなガス濃度のモニタや[1, 2], 抗原抗体反応を用いる生体関連物質の選択的アフィニティセンサ[3]が代表的である. 特に, 金属薄膜表面にリガンドを固定しておき, アナライト分子がそのリガンドに結合したときの屈折率変化を検出する方式の SPRS は, Pharmacia Biosensor 社から BIACOA<sup>TM</sup> という商標で発売され, 既に 20 年以上が経過した. 今では生体分子の相互作用のリアルタイムモニタリングを目的としたアフィニティセンサの中心的存在であり, Gopinath のレビュー記事からもかなりの年数が経過している[4].

SPRS には, 誘電体と金属の界面に沿って表面プラズモン波 (SPW; surface plasmon wave: SPW) が伝搬する現象 (伝搬型 SPR) を用いる方式と, 金属微粒子表面に SPR が局在する現象 (局在型 SPR) を用いる方式 [5, 6]とがある. 伝搬型 SPR の場合, 金属表面から誘電体に滲みだした SPW の電場成分と誘電体側から入射する光の電場がある条件下で結合 (カップリング) する. この現象を SPR と呼ぶが, この時 SPW は表面電磁波すなわち界面の両側でエバネッセント波となり, その電場振幅は界面の法線方向に指数関数的に減衰する. 誘電体側と金属側各々におけるエバネッセント波の侵入長 (電場の振幅が界面から  $1/e$  倍になる距離) を  $\gamma_d, \gamma_m$ , 誘電体と金属の複素誘電率の実部を  $\text{Re}(\epsilon_d), \text{Re}(\epsilon_m)$  とすると, 表面電磁波の存在条件は,  $\text{Re}(\epsilon_d)/\text{Re}(\epsilon_m) = -\gamma_d/\gamma_m$  という関係式から得られる. すなわち, ここで  $\text{Re}(\epsilon_d)$  は正の実数であるので, SP が光と結合するためには  $\text{Re}(\epsilon_m)$  が負である必要がある. 金, 銀, アルミニウムなどの複素誘電率の実部は, 可視域の波長の光より長波長側の周波数域でそれが負となるためよく利用される. 一方, 局在型 SPR は, そのような金属微粒子 ( $\ll \lambda$ ) に光を照射することにより生じる非伝搬性の集団的分極振動である. 金属微粒子にエバネッセント波がまとわりついたような描像である. 本研究では, センサとしての実用性や汎用性といった点でより優ると考えられる伝搬型 SPRS を対象とするため, 以下では伝搬型 SPRS を単に SPRS と呼ぶことにする.

SPRS 以外でエバネッセント波を利用する屈折率センサとして, 光導波路センサと漏洩モードセンサが知られている[7]. 光導波路センサは, 基板-導波路-サンプルの 3 層から構成されており, 導波路の屈折率を基板とサンプルの屈折率より高く設定することにより, 光を導波路中に伝搬させる. 導波路への光の結合は, プリズムまたは回折格子を用いて行

う。サンプルの屈折率により導波光の位相が変化するので、この位相変化を例えば干渉計で測定する[8-10]。感度は、サンプルと接する導波路の長さを長くするほど向上し、SPRSより高い感度を得ることも可能であるが、導波路長の増加に伴いサンプル量も増加する。また、位相変化計測用の干渉計が別途に必要なため、光学系が複雑で高価になるという問題もある。漏洩モードセンサは、三角プリズムの底面にクラッド-導波路-サンプル層を形成することで構成される。そしてプリズム斜面から光を入射させ導波路に結合する。したがって、プリズムと導波路の屈折率はクラッドとサンプルの屈折より高く設定する。光は導波路内を伝搬しながらプリズム側に漏れ出すため漏洩モードと呼ばれる。サンプルに吸収がある場合は、入射光のエネルギー反射率の入射角依存性  $R(\theta)$  がサンプルの屈折率に依存して敏感に変化することからエネルギー反射率  $R(\theta)$  を測定することで屈折率を知ることが出来る。後に詳しく説明するが、このセンシング法は SPRS と同様である。サンプルに吸収が無い場合は、反射光の位相の跳びを測定したり[11]、クラッド層に金属層を用いて吸収のあるサンプルと同様  $R(\theta)$  の測定を可能とする[12, 13]等の工夫がなされている。感度は、SPRS に比べて一般に高いが、光学系のシンプルさという点では SPRS の方が優る。

SPRS の方式による分類を図 1.1 に示す。装置（センサ）の形態としては、波長  $\lambda$  を固定して入射角度  $\theta$  を走査する角度走査型と、入射角度  $\theta$  を固定して波長  $\lambda$  を走査する波長走査型[14-16]の 2 つに分類される。また、ヘテロダイナミクス干渉により位相変化を高感度に検出する方法[17, 18]や、エリプソトリーにより偏光状態の変化を高精度に検出する方式[19, 20]なども提案されている。センサの小型化という観点では、入射角を走査してエネルギー反射率の角度依存性  $R(\theta)$ 、すなわち角度スペクトルを取得する方式が望ましい。その中でも、集束光とイメージセンサを用いて一度に角度スペクトルを得る方式[21, 22]が、リアルタイム測定という点で特に有力であり、本研究でもこの方式を出発点とした。

SPR の発生のためには一般にプリズムが必要であり、1968 年に Otto [23]が、次いで Kretschman [24]がそれぞれ独立に異なる光学配置を発表した。これらのタイプのセンサは総称してプリズム結合型 SPR センサ (P-SPRS ; prism coupling-based SPRS) と呼ばれており、それぞれ図 1-2(a), 図 1-2(b)に示すような光学配置である。Otto 配置では、プリズム、被測定サンプル（以下単にサンプルとする）、金属の 3 層構造であり、全反射入射角以上で生じるエバネッセント波でサンプルと金属の界面で SPR を発生させる。それに対して Kretschman 配置では、プリズム底辺に金属膜を直接蒸着した構造であり、金属とサンプルの界面で発生する SPR を観測する。なおプリズム材質に関して、その屈折率はサンプルの屈折率より大きなものを選定する必要がある。伝搬型 SPR の挙動の詳細は（基本的には局在型 SPR であっても）、与えられた構造と電磁波の相互作用として、Maxwell の電磁方程式をそれらの境界条件のもとに解けばすべて把握できる[25, 26]。しかし、ここでは SPW

と光の分散関係から P-SPRS による SPR 発生メカニズムを簡単に記述するに留める。

まずは、単純にサンプルから金属に光を入射させた場合を考える。サンプルと金属の界面を  $x$  方向に伝搬する SPW の分散関係は Maxwell の式から式(1.1)のように与えられる。

$$\text{Re}(k_{sp}) = \pm \frac{\omega}{c} \text{Re}\left(\sqrt{\frac{\epsilon_s \epsilon_m}{\epsilon_s + \epsilon_m}}\right). \quad (1.1)$$

またサンプルから金属に入射角  $\theta$  で入射する伝搬光の分散関係は式(1.2)で与えられる。

$$k_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_s} \sin \theta. \quad (1.2)$$

ここで、 $\epsilon_s$  はサンプルの誘電率、 $\epsilon_m$  は金属の複素誘電率、 $k_{sp}$  は SPW の波数、 $k_x$  は光の波数の  $x$  成分、 $c$  は光の真空中での速度、 $\omega$  は角周波数である。真空中での光の波長を  $\lambda$  とすると  $\lambda = 2\pi c/\omega$  である。図 1.3(a)にはこの伝搬光と SPW の分散関係を示す。SPW を発生させるためには、光と SPW の伝搬方向の位相速度 ( $\omega/k_x$ ) が一致する必要があり、光と SPW の分散線が交わる点で SPR が観測される。単にサンプルと金属の界面に光を照射するだけでは、図 1.3(a)が示すように SPW の分散曲線は光の分散直線より常に右側にあるので、伝搬光と SPW は、結合できない。そこで仲介媒質としてプリズムが用いられる。上で述べたように Otto 配置では、プリズム底面と金属表面の間に適当な厚さのギャップ層を設ける。プリズム側からその底面に光を入射させ、全反射させた場合プリズム底面からエバネッセント波が滲みだす。エバネッセント波の分散関係は式(1.3)で与えられる。

$$k_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_p} \sin \theta. \quad (1.3)$$

ここでプリズムの誘電率を  $\epsilon_p$  ( $\epsilon_p > \epsilon_s$ ) とした。Otto 配置ではこのエバネッセント波を用いる。エバネッセント光と SPW の分散関係を図 1.3(b)に示す。プリズム底面に入射する光の入射角が全反射臨界角の時、エバネッセント光の分散直線は図 1.3(b)の①のようになる。また入射角が 90 度の場合③のようになる。従って入射角を臨界角から 90 度まで変化させると分散直線は①から③まで変化し、SPW の分散曲線と交点を持つ。例えば光の角周波数を  $\omega_0$  とすると図中分散直線②の場合の入射角  $\theta$  において SPR が観測される。Kretschman 配置では、SPR 発生にエバネッセント波を用いるのは、Otto 配置と同様であるが、金属-サンプル界面だけでなくプリズム-金属界面にも SPW が存在し得る可能性がある。しかし、図 1.3(c)に示した Kretschman 配置における分散関係から分かるように、プリズム-金属界面の SPW の分散曲線はエバネッセント波の分散直線と交点を持たない。したがって、金属-サンプル界面で SPR が観測される。実用面から両者を比較すると、Otto 配置はプリズムと金属表面の距離を数十 nm に制御しなければならない。また試料の導入と洗浄という問題があるためフロー測定に限定されがちである。これに対し Kretschman 配置はそのよ

うな問題がなく比較的容易に SP を観測できるので、現在実用化されている SPRS の主流となっている。しかしその一方で、これらの手法はいずれもプリズムを用いることから小型化が難しく、光学系の自由度にも制限がある。

そこで、プリズムを用いない SPR の発生法として、金属回折格子を用いる手法 (G-SPRS; grating coupled-based SPRS) が提案されている[27-29]。図 1-2(c)に示すように金属回折格子を用いる方法は、回折格子の周期、入射光の入射角、波長を適切に選べば、回折格子表面に光を単に入射するだけで SPR を発生させることが出来る。プリズムの代わりに誘電体回折格子の格子面の裏面に金属を配置して SPW を発生させることも可能であるが、回折格子だけで SPR を発生できる金属回折格子を用いる手法の方が盛んに研究されている。回折格子を用いた場合もその物理現象は分散関係を用いて説明できる。図 1.2(c)に示すように金属の回折格子に光を入射すると回折格子により回折された回折光が生じる。格子の溝が  $y$  軸方向に平行に配置された場合、回折光の分散関係は式(1.4)で与えられる。

$$k_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\epsilon_s} \sin \theta + mK. \quad (1.4)$$

ここで、 $m$  は回折次数、 $K$  は回折格子の格子ベクトルである。図 1.3(d)に回折光と SPW の分散関係を示す。式(1.4)から、あるいは図 1.3(d)から、回折光の分散直線は入射光の分散線を格子ベクトルと回折次数に応じて  $k_x$  方向に平行移動させた形であることが分かる。従って回折光の分散直線は SPW の分散曲線と交点を持つことができる。回折格子の断面形状やデューティ比、溝深さに関する検討などが必要ではあるが、光学システムを構築するうえで自由度が高く、実用的なセンサ実現の可能性が高い。これが本研究のモチベーションとなった。



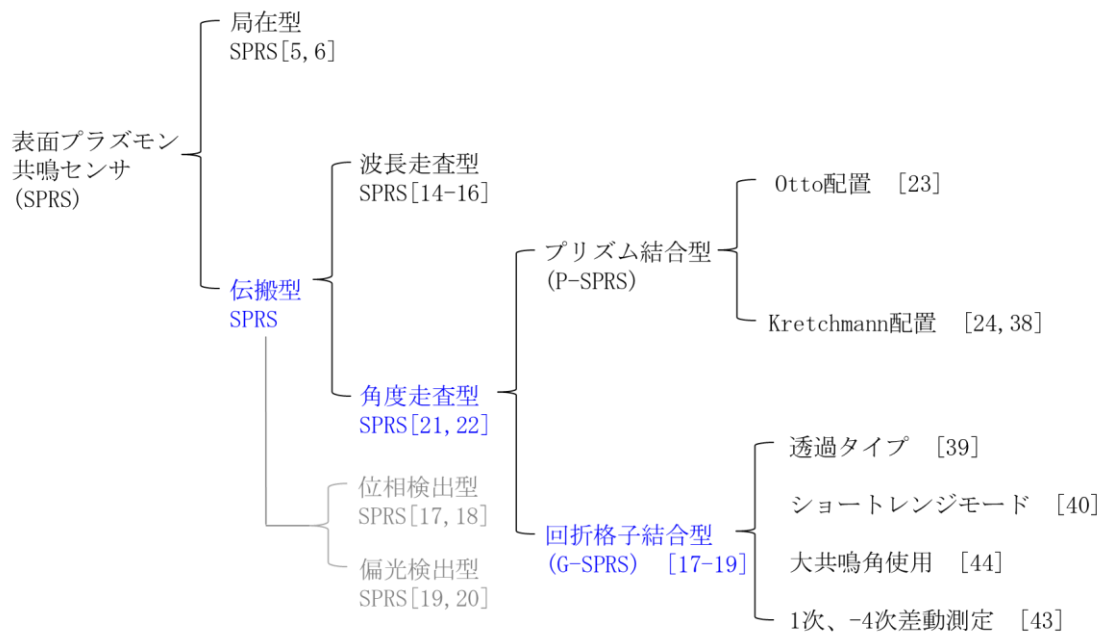


図 1.1 表面プラズモン共鳴センサ (SPRS) の分類.

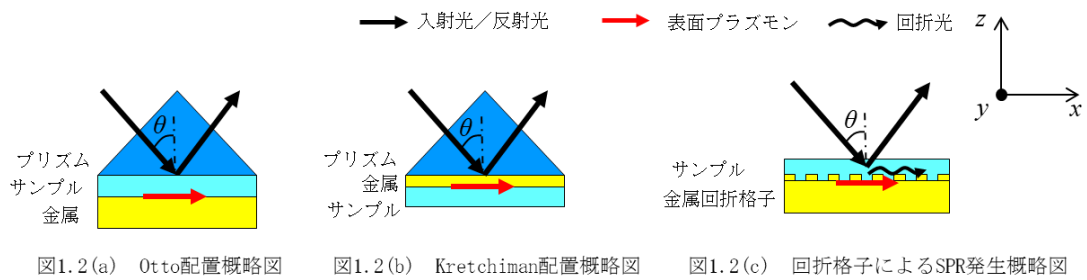


図1.2(a) Otto配置概略図

図1.2(b) Kretschiman配置概略図

図1.2(c) 回折格子によるSPR発生概略図

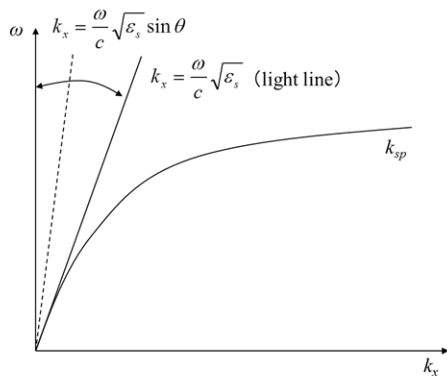


図1.3(a) 光とSPの分散関係

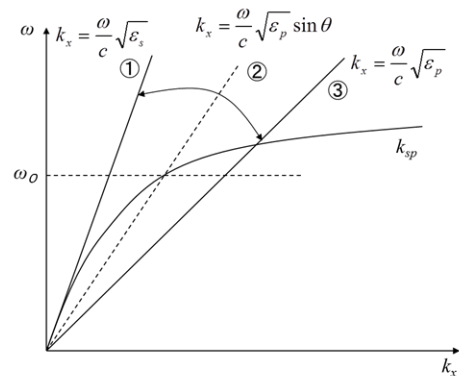


図1.3(b) Otto配置の分散関係

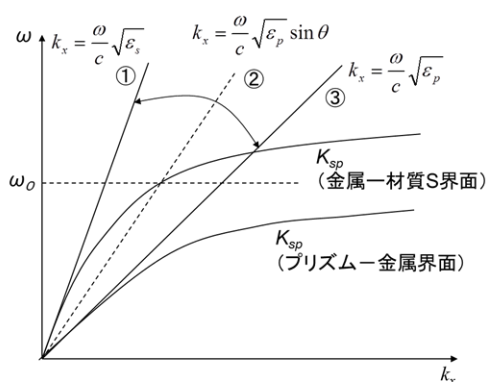


図1.3(c) Kretschman配置の分散関係

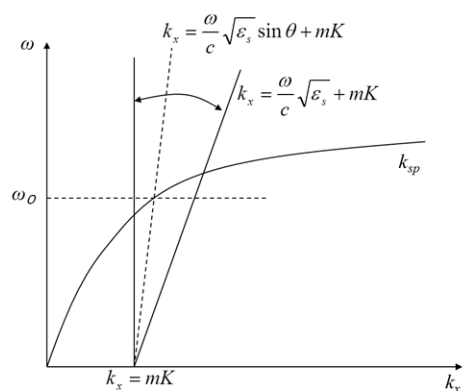


図1.3(d) 回折光とSPの分散関係

### 1.1.2 課題と研究状況

アフィニティセンサとしての SPRS に要求される主な特長は、リガンドに結合するアナライトとなる分子を非標識 (label-free) かつリアルタイムで測定可能ということである。すなわち、創薬の分野においては、薬 (アナライト) とターゲットとなる生体分子 (リガンド) の結合の有無を評価するだけでなく、反応速度定数を計測することが重要であるので、アナライトのリガンドへの結合量をリアルタイムで屈折率変化として測定する SPRS の特長が活かされる[30-32]。また、環境分野等における農薬や毒物の検出においても、実験室外の通常の野外の環境では、label-free で準リアルタイムの測定が不可欠なので SPRS が利用される[33-35]。しかし、SPRS は蛍光標識や isotope 標識を行う測定と比較すると、概して感度が低いという問題点がある[36,37]。創薬の分野では、低分子をアナライトとした相互作用測定が必要不可欠であるが、結合レスポンスが微小となるため SPR センサの高感度化が望まれている。農薬や毒物のセンシングにおいても、分子量が比較的小さく、濃度が低い測定対象を検出するためには、SPRS の高感度化が重要課題となる。そこで、SPRS 高感度化の課題に対し多くの研究が報告されている。しかし、ここでは、本研究で取り扱う

角度走査型の G-SPRS の高感度化に関する研究とそれとの比較のため P-SPRS の高感度化に関する研究状況に限定して述べる。

P-SPRS の感度向上に関しては Gupta らの報告が注目に値する[38]。彼らは、合成石英などの比較的屈折率のプリズム（屈折率、 $n=1.456$ ）を用い、共鳴角を大きくすることで、感度が向上することを見出し、サンプルの屈折率 1.33~1.35 の範囲に対してプリズムの屈折率を 1.597 から 1.456 に小さくすると、角度感度は 94.5 (°/RIU)から 204.41 (°/RIU) に改善されることを報告した。しかし、一方で共鳴ディップの半値全幅 (FWHM) は 2.24 度から 4.36 度へと広がり、測定の精度を低下させるという問題もある。さらには、上述したように SPR 現象の観察の前提として、プリズムの屈折率を試料の屈折率より大きく設定する必要があり、低屈折率プリズムの使用は測定のダイナミックレンジを制限してしまうという問題点もある。

これに対し G-SPRS は使い勝手はよいものの、感度は P-SPRS と比較すると一般には高くない。したがって、G-SPRS の感度改善が強く求められている。多くの場合、G-SPRS では+1 次の回折光で 1 つの SPR ディップを発生させる。例えば、透過タイプの G-SPRS やショートレンジモードの SPW を用いた G-SPRS などが提案されている[39, 40]。これらの感度は 70~103 (°/RIU) 程度である。また金属回折格子の材料に関する工夫として、金属回折格子の材質の平たん部（底辺）をアルミニウム、凸部を金とすることで、金のみから構成される回折格子に比べ、感度が約 7 % 改善したという報告もある[41]。一方、Homola らは-2 次回折光を SPR 発生に用いた場合、P-SPRS と同等の角度感度が得られることを報告した[42]。しかし、正弦波回折格子を用いたため、-2 次回折光による SPR ディップの深さが浅く、実用的なセンサとして用いるには精度の面で難しいと考えられる。これに対し Cai らは、矩形回折格子を用いて、符号の異なる 2 つの回折次数、具体的には+1 次と-4 次回折光、または+2 次と-4 次次回折光で励起された 2 つの SPR ディップを用いて差動測定を行い、最大+253(°/RIU)の角度感度が得られることを報告した[43]。このような 2 つの回折次数を用いる方式は、回折格子の断面形状を吟味しつつ、それぞれの次数に対して同時に SPW との結合効率を最適化させることが重要である。また、感度向上のための別の手法として、-1 次の回折次数の共鳴ディップを比較的大きな入射角度 60 度~70 度付近で発生させるという方式が提案されており、水素ガスの計測に適用されている[44]。これは、負符号の回折次数を用いた場合、回折格子への入射角が大きくなると角度感度がより改善される事実を計算で見出したことに基づいている。これら 2 つの感度向上の試みが本研究の背景にある。

## 1.2 表面プラズモン共鳴イメージングセンサ

### 1.2.1 概要

屈折率変化を二次元で可視化する SPR イメージングセンサ (SPRIS; SPR imaging sensor) への要求や需要も高い。したがって、これに関しても既に多くの研究がなされている [45-48]。例えば、観測面の領域を分割しそれぞれの領域に異なるリガンドを配置し、アレルギー物質等の多成分同時測定を可能とするマルチチャンネルセンサがある。例えば HORIBA Jobin Yvon 社の Open Plex™ は、生化学、生物物理、診断、創薬といった幅広い分野研究でも利用可能とされている。その主な仕様は、波長 810nm の LED を光源として用い、検出器に 8bit 階調の CCD カメラ (752×582 pixels) を用い、空間分解能が 50 μm, 屈折率の分解精度を <math>10^{-5}</math> (RIU) としている。

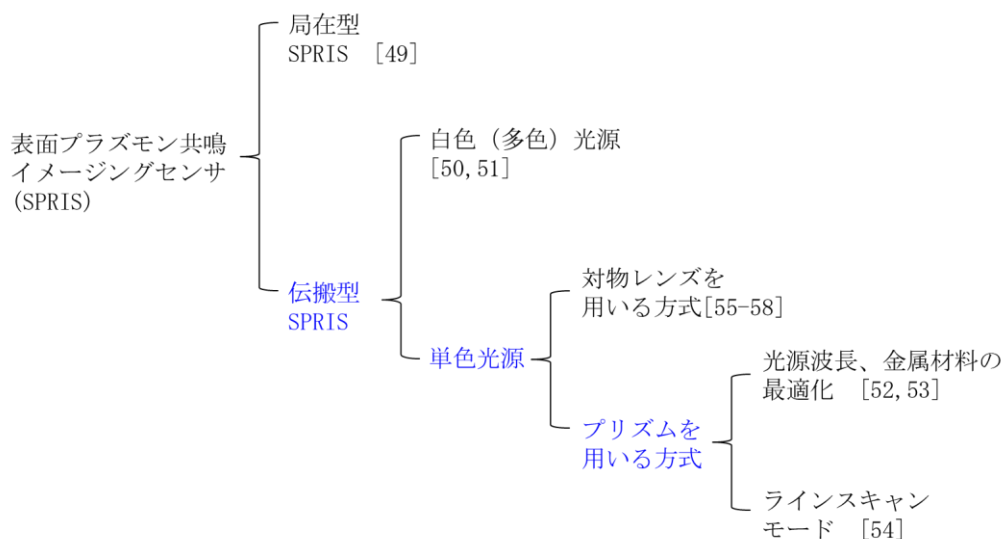


図 1.4 表面プラズモン共鳴イメージングセンサ (SPRIS) の分類.

SPRIS の分類を図 1.3 に示す。SPRS と同様に、SPRIS も局在型 [49] と伝搬型 SPR に分類できる。本研究では伝搬型 SPRIS を取り扱うので、以下伝搬型 SPRIS を単に SPRIS と呼ぶ。使用する光源は白色光源を用いるタイプ [50,51] と単色光源を用いるタイプがある。光学配置の主なタイプは、Kretschmann 配置の SPRIS にイメージングカメラを組み合わせ、プリズムと金属の界面の像を観測するタイプ (prism based-SPRIS; P-SPRIS) [52-54] と対物レンズを用いるタイプ (objective based-SPRIS; OB-SPRIS) [55-58] に分類される。

### 1.2.2 課題と研究状況

SPRIS に限らず画像観測に共通して当てはまることであるが、センサとしての適用範囲を広げるためには、より高い空間分解能とより広い視野 (FOV; field of view) が要求される。一般に OB-SPRIS は P-SPRIS より高い空間分解能が得られることが知られているが、FOV は P-SPRIS より 1~2 桁程度小さい。一方 P-SPRIS においては、本質的な 2 つの問題点がある。1 つは空間分解能が SPW の伝搬長で制限されてしまうことである。具体的には分解能は伝搬長に比例して悪化することが知られている。SP の伝搬長  $L$  は式(1.5)で与えられる。

$$L = (2k_x'')^{-1} = \left(2\left(\frac{\omega}{c}\right)\left(\frac{\text{Re}(\epsilon_m)\epsilon_s}{\text{Re}(\epsilon_m) + \epsilon_s}\right)^{3/2}\left(\frac{\text{Im}(\epsilon_m)}{2(\text{Re}(\epsilon_m))^2}\right)\right)^{-1}. \quad (1.5)$$

ここで  $\text{Im}(\epsilon_m)$  は、金属の複素誘電率の虚数部である。もう 1 つの問題点は、イメージングカメラに対し物体 (金属・誘電体界面) が傾いて配置されるため、Scheimpflug 現象によって空間分解能と FOV の両者が制限されてしまうことである[59]。具体的には、受光センサをカメラの光軸に垂直に配置すると受光センサの線状の領域以外はピント外れとなり、分解能が急激に低下する。したがって、SPRIS の高分解能化と FOV の拡大は相反する事項ではあるが、それらの両立が重要な課題である。

OB-SPRIS に関しては、FOV を拡大する報告がいくつかなされている。田中らは、試料ステージを面内にスキャンすることで約  $100\mu\text{m} \times 100\mu\text{m}$  の FOV を達成している。空間分解能は約  $1.6\mu\text{m}$  である[45]。Zang らは、対物レンズにアプラナチックなソリッドイマージョンレンズを用いて  $70\mu\text{m} \times 70\mu\text{m}$  の FOV と約  $1\mu\text{m}$  の空間分解を達成している[47]。一方、P-SPRIS に関しても空間分解能を向上させる研究がなされている。すなわち、式(1.5)から光の波長と金属材料の選定により SPW の伝搬長をコントロールすることができる。この事実に着目し、分解能を改善させた研究例がいくつか存在する。Berger らは、SPW の伝搬長が短くなるように入射光の波長を適切に選択し [42]、 $2\mu\text{m}$  の空間分解を達成した。SPW の伝搬長が短くなるとサンプルの屈折率変化に対する反射率の変化量が小さくなりコントラストが低下するが、画像処理のテクニックを用いてコントラストの改善を行っている。Giebel らは、金属材料に伝搬長の短いアルミニウムを選択することで分解能を向上させ[43]、 $1\mu\text{m}$  未満の空間分解能を達成した。しかし、それらはいずれも SPW の伝搬長を短くすることに注力しており、P-SPRIS の本質的な問題である Scheimpflug 現象に対する対策がなされていない。したがって、FOV はいずれもサブ  $\text{mm}^2$  オーダのやや小さい値に留まっている。この難点は、Laplatine らによって解決された。彼らは P-SPRIS において、サンプルをスキャンしながら、Scheimpflug 状況下の視野内でピントが合っている線上の領域だけを撮影し、その後、撮影した線像を画像処理で接続して編集するというラインスキャンモードを用いることで、FOV と空間分解能を向上させた。またそれに加え、

幾何光学を用いた解析により、観測物体から出射した主光線のプリズム斜面への入射角が垂直であるとき、光学系の収差が最も低減されることを見出した。この事実に基づきプリズムの屈折率に対し、形状（頂角）を最適化することを提案した。彼らはこのラインスキャンモードとプリズムの最適化により、光源に 632 nm の単色光源を用いた P-SPRIS で 20mm<sup>2</sup> の FOV と 2.8 $\mu$ m 以下の空間分解能でのイメージングを成功させた[44]。しかしながらこのようなラインスキャンモードは、複数回の撮影を必要とし、リアルタイム測定には不向きである。そこで本研究では、リアルタイム測定が可能な画像処理を必要としない環境下で P-SPRIS の FOV と空間分解能の向上をめざした。

### 1.3 研究目的

本研究では、以上のような技術的背景を踏まえ、SPRS 及び SPRIS に対し次に示すような取り組みを行った。

- (1) G-SPRS の角度感度のみならず測定精度の向上をも目的とし、+1 次回折光と -2 次回折光を同時に利用した。すなわち、角度スペクトル中の 2 つの共鳴ディップが、屈折率変化に伴い逆角度方向にシフトすることに着目し、これらのディップを用いた差動測定のコセプトを提案した。また、測定精度を改善するため、矩形回折格子形状の最適化について検討を行った。その結果、数値計算により通常の +1 次回折光のみを用いる G-SPRS に比べ、角度感度が 3 倍以上改善されることを確認した。この取り組みについては第 2 章で示す。
- (2) G-SPRS のさらなる角度感度の向上を目的とし、我々が知る限り最大感度が得られる G-SPRS の構成について新たな提案を行った。提案した光学系では、サンプルに液浸させる高開口数 (NA; numerical aperture) の集光レンズを採用した。それによって、従来の G-SPRS では不可能であった液体サンプルに対する広い入射角度範囲での角度スペクトル取得が可能となった。このとき、 $\pm 1$  次の回折光を同時に用いて 2 つの共鳴ディップを大きな入射角で発生させ差動測定を行う。最終的に、本構成により角度感度は従来の G-SPRS と比較して 4.8 倍以上向上した。本取り組みは第 3 章で示す。
- (3) P-SPRIS において、FOV の拡大と空間分解能の向上を目的として、新たな光学系を提案した。提案した光学系では、測定試料と対物レンズの間に反射型回折格子を設置し、撮像光学系を物体側テレセントリック系とする。これにより、Scheimpflug 現象による像歪みとピント外れを除去することが可能となった。すなわち、ラインスキャンを行わなくとも広い FOV と高い空間分解能が得られるようになった。また、テストチャートによる基本性能評価とマイクロ流路を流れる 2 つの溶液の混合課程のリアルタイム観測を行った。本取り組みは第 4 章で示す。

以上の(1),(2)の研究の位置づけを図 1.5 に, (3)の研究の位置づけを図 1.6 にそれぞれ示す.

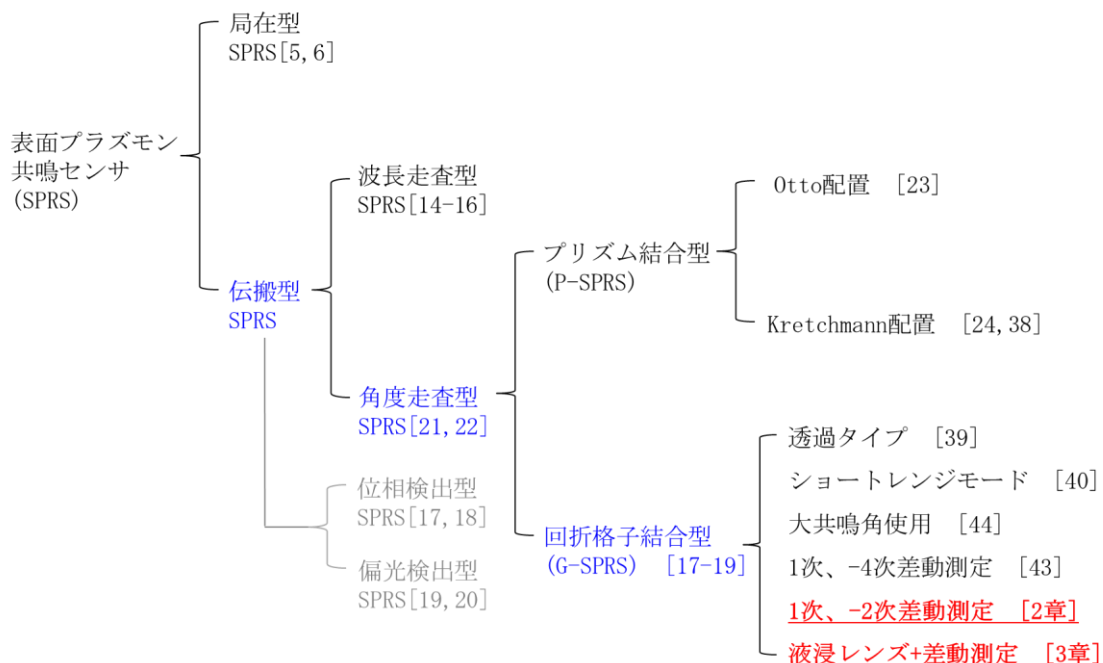


図 1.5 表面プラズモン共鳴センサ (SPRS) の分類における本研究の位置づけ.

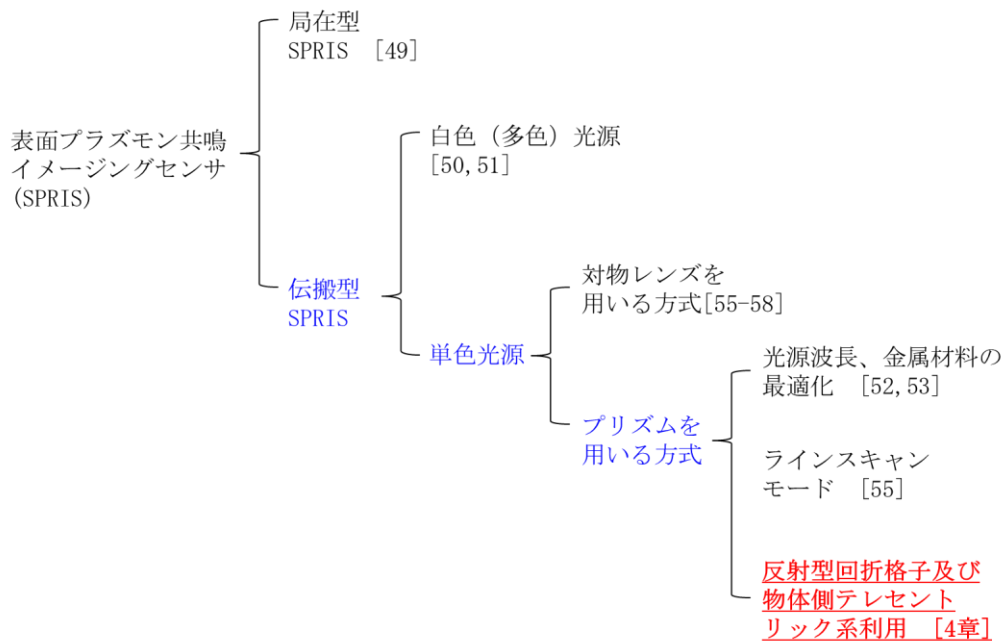


図 1.6 表面プラズモン共鳴イメージングセンサ (SPRIS) の分類における本研究の位置づけ.

#### 1.4 本論文の構成

本論文は本章を含めた5章から構成されている。

第2章では、2つの回折次数を利用した **G-SPRS** について記述する。符号の異なる2つの **SPR** ディップによる差動測定の原理、装置構成、数値シミュレーションによる性能評価結果、さらに矩形回折格子の最適化の結果について示す。

第3章では、さらに高感度化を目的とした液浸レンズを用いた新たな **G-SPRS** について記述する。装置の構成、測定原理及び数値シミュレーションによる性能評価の結果について示す。また、実現化のため具体的な光学設計を行った結果について示す。

第4章では、反射型回折格子と物体側テレセントリック光学系を用いた新たな **P-SPRIS** について記述する。装置の構成と傾いた試料に対してその傾きを抑制する原理について述べる。また、光学系の設計と数値シミュレーションによる性能評価について述べる。さらに基礎性能評価結果とマイクロ流路内での2つの溶液の混合過程の動画撮影実験結果を示す。

第5章では、本研究を総括し、今後の課題と将来展望について論じ本論文の結論とする。



## 参考文献

- [1] C. Nylander, B. Liedberg, and T. Lind, “Gas Detection by means of Surface Plasmon Resonance”, *Sensors and Actuators* 3 (1982) 79.
- [2] M. Niggemann, A. Katerkamp, M. Pellmann, P. Bolsmann, J. Reinbold, and K. Cammann, “Remote Sensing of Tetrachloroethene with a Micro-Fibre Optical Gas Sensor Based on Surface Plasmon Resonance Spectroscopy”, *Sensors and Actuators B* 34 (1996) 328.
- [3] L. G. Fägerstam, Å. Frostell, R. Karlsson, M. Kullman, A. Larsson, M. Malmqvist, and H. Butt, “Detection of Antigen—Antibody Interactions by Surface Plasmon Resonance. Application to Epitope Mapping”, *J. Molecular Recognition* 3 (1990) 208.
- [4] S. C. B. Gopinath, “Biosensing Applications of Surface Plasmon Resonance-Based Biacore Technology” *Sensors and Actuator B* 150 (2010) 722.
- [5] K. A. Willets, and R. P. Van Duyne, “Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy and Sensing”, *Annual Review of Physical Chemistry* 58 (2007) 267.
- [6] A. J. Haes, and R. P. V. Duyne, “A Nanoscale Optical Biosensor: Sensitivity and Selectivity of an Approach Based on the Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy of Triangular Silver Nanoparticles”, *Journal of the American Chemical Society* 124 (2002) 10596.
- [7] 岡本隆之, “エバネッセント波を用いた表層屈折率測定センサー: 原理と実装”, *分光研究* 第47巻 第1号 (1998) 19.
- [8] R. G. Heideman, R. P. H. Kooyman, J. Greve, and B. S. F. Altenburg, “Simple Interferometer for Evanescent Field Refractive Index Sensing as a Feasibility Study for an Immunosensor”, *Applied Optics* 30 (1991) 1474.
- [9] Y. Liu, P. Hering, and M. O. Scully, “An Integrated Optical Sensor for Measuring Glucose Concentration”, *Applied Physics B* 54 (1992) 18.
- [10] W. Lukosz, C. Stamm, H.R. Moser, R. Ryf, and J. Dubendorfer, “Difference Interferometer with New Phase-Measurement Method as Integrated-Optical Refractometer, Humidity Sensor and Biosensor”, 39 (1997) 316.
- [11] Y. Liu, P. Hering, and M.O. Scully, “An Integrated Optical Sensor for Measuring Glucose Concentration”, 54 (1992) 18.
- [12] M. Osterfeld, and H. Franke, “Optical Gas Detection Using Metal Film Enhanced Leaky Mode Spectroscopy”, *Applied Physics Letters* 62 (1993) 2310.
- [13] L. Levesque, B.E. Paton, and S.H. Payne, “Precise Thickness and Refractive Index Determination of Polyimide Films Using Attenuated Total Reflection”, 33 (1994) 8036.

- [14] W. W. Lam, L. H. Chu, C. L. Wong, and Y. T. Zhang, "A Surface Plasmon Resonance System for the Measurement of Glucose in Aqueous Solution", *Sensors and Actuators B* 105 (2005) 138.
- [15] Z. Wang, Q. Y. Zheng, and Y. Chen, "Detection of Metal Ions Using a Wavelength Interrogation Surface Plasmon Resonance Sensor with Calix [4] Arene Derivatives as Sensing Films", *Analytical Letters* 34 (2001) 2609.
- [16] J. T. Hastings, "Optimizing Surface-Plasmon Resonance Sensors for Limit of Detection Based on a Cramer–Rao Bound", *IEEE Sensors Journal* 8 (2008) 170.
- [17] HP Chiang, JL Lin, R Chang, SY Su, and PT Leung, "High-Resolution Angular Measurement using Surface-Plasmon-Resonance via Phase Interrogation at Optimal Incident Wavelengths", *Optics letters* 30 (2005) 2727.
- [18] TC Peng, WC Lin, CW Chen, DP Tsai, and HP Chiang, "Enhanced Sensitivity of Surface Plasmon Resonance Phase-Interrogation Biosensor by Using Silver Nanoparticles", *Plasmonics* 6 (2011) 2.
- [19] I. R. Hooper, M Rooth, and JR Sambles, "Dual-Channel Differential Surface Plasmon Ellipsometry for Bio-Chemical Sensing", *Biosensors and Bioelectronics* 25 (2009) 411.
- [20] T. Iwata, and Y. Mizutani, "Ellipsometric Measurement Technique for a Modified Otto Configuration Used for Observing Surface-Plasmon Resonance", *Optics Express* 18 (2010) 14480.
- [21] K. Matsubara, S. Kawata, and S. Minami, "A Compact Surface Plasmon Resonance Sensor for Measurement of Water in Process", *Appl. Spectroscopy* 42 (1998) 1375.
- [22] J. Dostálek, and J. Homola, "Surface Plasmon Resonance Sensor Based on an Array of Diffraction Gratings for Highly Parallelized Observation of Biomolecular Interactions", *Sensors and Actuators B* 129 (2008) 303.
- [23] A.Otto, "Excitation of Nonradiative Surface Plasma Waves in Silver by the Method of Frustrated Total Reflection", *Z. Phys.* 216(1968) 398.
- [24] E. Kretschmann, and H. Raether, "Radiative Decay of Non Radiative Surface Plasmons Excited by Light", *Z. Naturfors.* , 23 (1968) 2135.
- [25] Stefan Maier, "Plasmonics: Fundamentals and Applications", Springer (2006).
- [26] R. B. M. Schasfoort, and A. J. Tudos, "Hndbook of Surface Plasmon Resonance", RSC publishing (2008).
- [27] D. C. Cullen, R. G. W. Brown, and C. R. Lowe, "Detection of Immuno-Complex Formation via Surface Plasmon Resonance on Gold-Coated Diffraction Gratings", *Biosensors.* 3 (1987) 211.
- [28] M. J. Jory, P. S. Vukusic, and J. R. Sambles, "Development of a Prototype Gas Sensor Using Surface Plasmon Resonance on Gratings", *Sensors and Actuators B* 17 (1994) 203.

- [29] K. H. Yoon, and M. L. Shuler, “Design Optimization of Nano-Grating Surface Plasmon Resonance Sensors”, *Opt. Express* 14 (2006) 4842.
- [30] S. G. Patching, “Surface Plasmon Resonance Spectroscopy for Characterisation of Membrane Protein–Ligand Interactions and its Potential for Drug Discovery”, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes* 1838 (2014) 43.
- [31] W. Huber, and F. Mueller, “Biomolecular Interaction Analysis in Drug Discovery Using Surface Plasmon Resonance Technology”, *Current pharmaceutical design* 12 (2006) 3999.
- [32] I. Navratilova, and A. L. Hopkins, “Emerging Role of Surface Plasmon Resonance in Fragment-Based Drug Discovery”, *Future Medicinal Chemistry* 3 (2011) 14
- [33] J. W. Choi, K. W. Park, D. B. Lee, W. Lee, and W. H. Lee, “Cell Immobilization Using Self-Assembled Synthetic Oligopeptide and its Application to Biological Toxicity Detection Using Surface Plasmon Resonance”, *Biosensors and Bio electronics* 20 (2005) 2300.
- [34] V. Hodnik, and G. Anderluh, “Toxin Detection by Surface Plasmon Resonance”, *Sensors* 9 (2009) 1339.
- [35] K. Campbell, S. A. Haughey, H. Top, H. Egmond, N. Vilarino, L. M. Botana, and C. T. Elliott, “Single Laboratory Validation of a Surface Plasmon Resonance Biosensor Screening Method for Paralytic Shellfish Poisoning Toxins”, *Analytical Chemistry* 82 (2010) 2977.
- [36] Y. Liu, Y. Tang, N. N. Barashkov, I. S. Irgibaeva, J. W. Y. Lam, R. Hu, D. Birimzhanova, Y. Yu, and B. Z. Tang, “Fluorescent Chemosensor for Detection and Quantitation of Carbon Dioxide”, *Journal of the American Chemical Society* 132 (2010) 13951.
- [37] D. C. Macallan, C. A. Fullerton, R. A. Neese, K. Haddock, S. S. Park, and M. K. Hellerstein, “Measurement of Cell Proliferation by Labeling of DNA with Stable Isotope-Labeled Glucose: Studies in Vitro, in Animals, and in Humans”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (1998) 708.
- [38] G. Gupta and, J. Kondoh, “Tuning and Sensitivity Enhancement of Surface Plasmon Resonance Sensor”, *Sensors and Actuators B* 122 (2007) 381.
- [39] K. M. Byun, S. J. Kim, and D. Kim, “Grating-Coupled Transmission-Type Surface Plasmon Resonance Sensors Based on Dielectric and Metallic Gratings”, *Appl. Opt.* 46 (2007) 5703.
- [40] J. Guo, P. D. Keathley, and J. T. Hastings, “Dual-Mode Surface-Plasmon-Resonance Sensors Using Angular Interrogation”, *Opt. Lett.* 33 (2008) 512.
- [41] Ashish Bijalwan, and Vipul Rastogi, “Refractive Index Sensor Based on Multilayered Au-SiO<sub>2</sub>-Al Structure”, 第 78 回応用物理学会秋季学術講演会 講演予稿集 (2017) 04-009.
- [42] J. Homola, I. Koudela, and S. S. Yee, “Surface Plasmon Resonance Sensors Based on

Diffraction Gratings and Prism Couplers: Sensitivity Comparison”, *Sensors and Actuators B* 54 (1999) 16.

[43] D. Cai, Y. Lu, K. Lin, P. Wang, and H. Ming, “Improving the Sensitivity of SPR Sensors Based on Gratings by Double-Dips Method (DDM)”, *Opt. Express* 16 (2008) 14597.

[44] K. Lin, Y. Lu, J. Chen, R. Zheng, P. Wang, and H. Ming, “Surface Plasmon Resonance Hydrogen Sensor Based on Metallic Grating with High Sensitivity”, *Opt. Express* 16 (2008) 18599.

[45] B. P. Nelson, T. E. Grimsud, M. R. Liles, R. M. Goodman, and R. M. Corn, “Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of DNA and RNA Hybridization Adsorption onto DNA Microarrays”, *Anal. Chem.* 73 (2001) 7.

[46] H. J. Lee, D. Nedelkov, and R. M. Corn, “Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of Antibody Arrays for the Multiplexed Detection of Low Molecular Weight Protein Biomarkers”, *Anal. Chem.* 78 (2006) 6504.

[47] E. A. Smith, W. D. Thomas, L. L. Kiessling, and R. M. Corn, “Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of Antibody Arrays for the Multiplexed Detection of Low Molecular Weight Protein Biomarkers”, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) (20), 6140.

[48] Y. Iwasaki, T. Tobita, K. Kurihara, T. Horiuchi, K. Suzuki, and O. Niwa, “Imaging of Flow Pattern in Micro Flow Channel Using Surface Plasmon Resonance”, *Meas. Sci. Technol.* 17(2006) 3184.

[49] 岡本隆之, “表面プラズモン顕微鏡とローカルプラズモン顕微鏡”, *光学* 第21巻第11号 (1992) 793.

[50] T. Xu, Y. K. Wu, X. Luo, and L. J. Guo, “Plasmonic Nanoresonators for High-Resolution Colour Filtering and Spectral Imaging”, *Nature communications*, 1 (2010) 59.

[51] J. S. Yuk, H. S. Kim, J. W. Jung, S. H. Jung, S. J. Lee, W. J. Kim, J. A. Han, Y. M. Kim, and K. S. Ha, “Analysis of Protein Interactions on Protein Arrays by a Novel Spectral Surface Plasmon Resonance Imaging”, *Biosensors and Bioelectronics* 21 (2006) 1521.

[52] C. E. H. Berger, R. P. H. Kooyman, and J. Greve, “Resolution in Surface Plasmon Microscopy”, *Review of Scientific Instruments* 65 (1994) 2829.

[53] K. F. Giebel, C. Bechinger, S. Herminghaus, M. Riedel, P. Leiderer, U. Weiland, and M. Bastmeyer, “Imaging of Cell/Substrate Contacts of Living Cells with Surface Plasmon Resonance Microscopy”, *Biophysical Journal* 76 (1999) 509.

[54] L. Laplatine, L. Leroy, R. Calemczuk, D. Baganizi, P. N. Marche, Y. Roupioz, and T. Livache, “Spatial Resolution in Prism-Based Surface Plasmon Resonance Microscopy”, *Optics Express* 22 (2014) 22771.

- [55] T. Tanaka, and S. Yamamoto, “Laser-Scanning Surface Plasmon Polariton Resonance Microscopy with Multiple Photodetectors”, *Applied Optics* 42 (2003) 4002.
- [56] G. Stabler, M. G. Somekh, and C. W. See, “High-Resolution Wide-Field Surface Plasmon Microscopy”, *Journal of Microscopy* 214 (2004) 328.
- [57] J. Zhang, C. W. See, M. G. Somekh, M. C. Pitter, and S. G. Liu, “Wide-Field Surface Plasmon Microscopy with Solid Immersion Excitation”, *Applied Physics Letters* 85 (2004) 5451.
- [58] L. Berguiga, S. Zhang, F. Argoul, and J. Elezgaray, “High-Resolution Surface-Plasmon Imaging in Air and in Water:  $V(z)$  Curve and Operating Conditions”, *Optics Letters* 32 (2007) No. 5, 509.
- [59] P. Ott, “Imaging with Tilted Surfaces: An Efficient Matrix Method for the Generalized Scheimpflug Condition and Its Application to Rotationally Symmetric Triangulation”, *Journal of the Optical Society of America A* 22 (2005) 2077.

## 2章 符号の異なる2つの次数の回折光を利用した回折格子結合型表面プラズモン共鳴センサの高感度化

### 2.1 緒言

本章では、「回折格子結合型表面プラズモン共鳴センサ」において、符号の異なる2つの次数の回折光によって誘起される2つの表面プラズモン共鳴ディップを用い、それらを差動測定することによって感度向上を図るセンサの提案を行う。また、数値シミュレーションを通して、従来方式に対する感度向上の評価と矩形回折格子のパラメータ最適化による測定精度の改善について議論する。

表面プラズモン共鳴 (SPR; surface plasmon resonance) センサ (SPRS; SPR sensor) は、生化学、表面科学等の分野において実用化が進められている[1-3]。SPRSの主な方式として、プリズムを用いてSPRを発生させるプリズム結合型SPRSと金属回折格子を用いる方式がある。金属回折格子結合型SPRS (G-SPRS; grating coupling-based SPRS) [4-7]は、回折格子の周期、入射光の入射角、波長をうまく選べば、回折格子表面に光を入射するだけでSPRを誘起させることができるため、回折格子の断面形状や溝深さに関する検討が必要とされるものの、光学系を構築するうえで自由度が高く実用的なセンサへの応用が期待できる。各種光学デバイスに活用されているナノコンポジット材料[8-10]などの精密な評価にも有用であろう。

入射光の角度を走査し、角度スペクトルを取得する角度走査型のG-SPRSでは、複数のSPRディップを観測することができる。ここで、角度スペクトルとは反射光強度の角度分布を意味する。そこでは複数のSPRディップが異なる次数の回折光によって誘起される。各々のSPRディップに対応する共鳴角は、サンプルの屈折率変化に伴い相対的に移動(シフト)する。そして正の次数の回折光により誘起されるSPRディップと負の次数の回折光により誘起されるSPRディップでは、そのシフトの方向が互いに逆になる[4]。それ故、正・負各々の次数の回折光により発生する2つのSPRディップを用いて差動測定を行えば、1つのSPRディップのシフトのみを測定する場合と比較して、SPRSの感度を最大2倍にまで向上させることが期待できる。本章では、そのような符号の異なる2つの次数の回折光により誘起される2つのSPRディップを用いた差動測定方式のG-SPRSの提案を行う。さらに、精度向上の目的で、矩形波回折格子のフィルファクタの最適化について議論する。

### 2.2 原理

図2.1(a)にG-SPRSの構成図を示す。サンプルを透過した $p$ 偏光の単色光は、レンズにより回折格子に集光する。この図では、回折格子の刻線方向は、 $x$ - $z$ 平面に対し垂直である[6]。

回折格子とサンプルの界面において、複数個の入射角  $\theta$  で回折光 (DL; diffracted light) と表面プラズモン波 (SPW; surface plasma wave) が結合する。したがって角度スペクトルの中には、複数個の SPR ディップが形成される。そして、最終的に入射角度範囲が  $\theta_1$  から  $\theta_2$  の角度スペクトルがラインセンサによって同時に取得される。

DL の波数ベクトルの  $x$  成分  $k_x$  は、式(2.1)で与えられる。

$$k_x = \frac{\omega}{c} n_s \sin \theta + mK. \quad (2.1)$$

ここで、 $c$  は真空中での光の速度、 $\omega$  は光の角周波数、 $n_s$  はサンプルの屈折率、 $K$  は回折格子の格子ベクトル、 $m$  は回折次数である。回折次数  $m$  は、正負両方の符号を取り得るので、DL は  $m$  の符号に対応して  $+x$  方向にも  $-x$  方向にも伝搬する。回折格子とサンプルの界面に沿って伝搬する SPW の波数の実部は、式(2.2)で与えられる。

$$\text{Re}(k_x) = \pm \frac{\omega}{c} \text{Re}\left(\sqrt{\frac{\varepsilon_s \varepsilon_m}{\varepsilon_s + \varepsilon_m}}\right). \quad (2.2)$$

ここで、 $\varepsilon_s$  と  $\varepsilon_m$  は、サンプルと金属の誘電率である。SPW の波数の値も正負の値を取り得るので、SPW も  $+x$  方向と  $-x$  方向に伝搬する。

図 2.1(b)に+1 次および-2 次の DL の分散直線を示す。また、サンプル A (屈折率;  $n_A$ ) に対する SPW の分散曲線を実線で、サンプル B (屈折率;  $n_B$ ) に対する SPW の分散曲線を点線で示す。ただし、 $n_B > n_A$  とした。 $\omega_0$  は光の角周波数である。式(2.1)で与えられる  $k_x$  と式(2.2)で与えられる  $\text{Re}(k_x)$  が  $\omega_0$  の位置で一致するとき、DL は SPW と結合する。図 2.1(b)では、+1 次と-2 次の DL が SPW と異なる入射角  $\theta$  で結合している。ここで、サンプルの屈折率が  $n_A$  から  $n_B$  に変化すると SPW の分散曲線も A から B に変化する。この時+1 次の DL の分散直線と SPW の分散曲線の交点は、点  $a$  から点  $b$  へ正方向に移動する。これに対し-2 次の DL の分散直線と SPW の分散曲線の交点は点  $a'$  から点  $b'$  へ負方向に移動する。この場合、+1 次と-2 次以外の DL は SPW と結合しない。何故なら図のグレーの塗りつぶしで表示した次数の DL は、 $\omega_0$  の角周波数において SPW の分散曲線と交点を持たないからである。

図 2.1(c)にはラインセンサから得られる 2 つの角度スペクトルの模式図を示す。サンプル A の角度スペクトルを実線で、サンプル B の角度スペクトルを点線で示す。双方とも+1 次の DL と-2 次の DL により得られる 2 つの SPR ディップが観測される。これら 2 つの SPR ディップはサンプルの屈折率変化に伴いそれぞれが逆の角度方向にシフトする。そのため、2 つの SPR ディップの  $\Delta\theta$  (+1 次:  $a \rightarrow b$ , -2 次:  $a' \rightarrow b'$ ) を同時に差動測定すれば、観測されるシフト量は  $\Delta\theta_{(1st\ order)} - \Delta\theta_{(-2nd\ order)}$  となり、感度の向上が見込める。

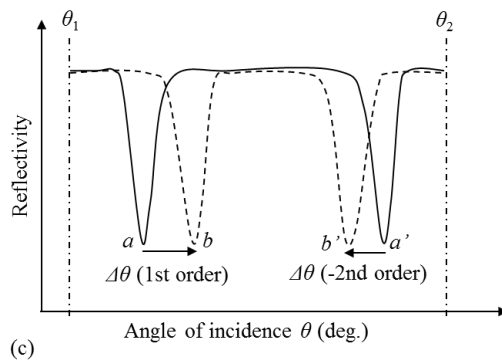
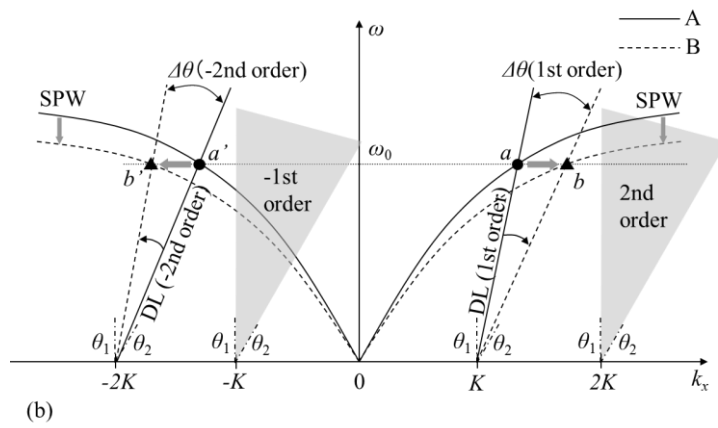
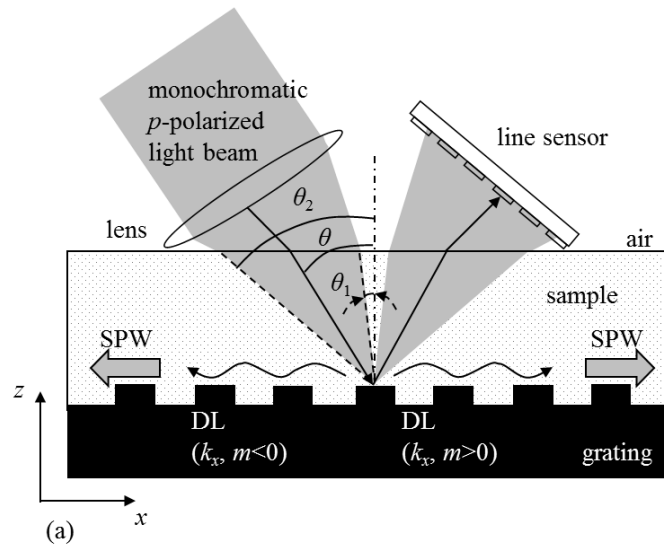


図 2.1 (a) G-SPRS 構成図, (b) 屈折率  $n_A$  及び  $n_B$  ( $n_B > n_A$ ) のサンプル A 及び B に対する +1 次 DL, -2 次 DL 及び  $\pm x$  方向に伝搬する SPW の分散関係, (c) ラインセンサで観測されるサンプル A 及び B の角度スペクトル.



## 2.3 数値シミュレーション

### 2.3.1 矩形回折格子のフィルファクタ最適化

差動測定を精度良く行うためには、2つの SPR ディップの深さが同程度で、かつ可能な限り深いことが望まれる。本章における G-SPRS では、電子ビーム露光により矩形回折格子を作成することを想定している。このため、+1 次と-2 次の回折光でそのような SPR ディップが得られるように回折格子のフィルファクタ（デューティ比）を最適化した。

矩形回折格子の断面形状のフーリエ変換は式(2.3)で表せる[11].

$$h_m = d f p \operatorname{sinc}(m f). \quad (2.3)$$

ここで、 $h_m$  は第  $m$  次の高調波の振幅、 $f$  はフィルファクタ、 $d$  は矩形回折格子の溝深さ、 $p$  は矩形回折格子の周期である。図 2.2 に  $d=1$ ,  $p=1$  の場合の、次数  $m$  毎の  $f$  と  $h_m$  の関係を示す。この結果は直ちに  $m$  次の回折光の回折効率に相当し、振幅  $h_m$  はフィルファクタ  $f$  に依存することを示している。また、例えば、 $(m, f) = (1, 0)$ ,  $(1, 1)$  及び  $(-2, 0.5)$  などの場合には、回折効率は 0 となる。これに対し  $(m, f) = (1, 0.5)$ ,  $(-2, 0.25)$ ,  $(-2, 0.75)$  などでは、 $|h_m|$  が極大となる。

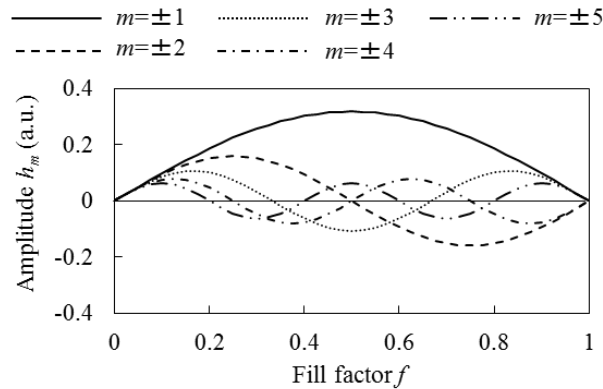


図 2.2 次数  $m=\pm 1 \sim \pm 5$  の回折光の振幅  $h_m$  のフィルファクタ  $f$  依存性.

G-SPRS では、回折格子の周期  $p$  は、入射光（回折光）の  $\lambda$  より小さいため、 $f$  を最適化するためにはベクトル回折理論を用いた厳密な回折効率のシミュレーションが必要である。したがって、RCWA (rigorous coupled-wave analysis method) 法[12]を用いて最適化を行った。計算条件は、波長を  $\lambda=850$  nm に固定、回折格子の材質は金とし複素屈折率  $n_m$  は、 $n_m=0.23+4.88i$ 、サンプルの屈折率を  $n_s=1.33$  および  $1.38$  とした場合の角度スペクトルを計算した。得られた角度スペクトルを図 2.3 に示す。図 2.3(a)は、 $d=30$  nm,  $p=800$  nm,  $f=0.5$  の場合の入射角  $\theta$  に対する反射率である。 $n_s=1.33$  の場合を実線で、 $n_s=1.38$  の場合を点線で示した。(a)では、+1 次の回折光の SPR ディップは深いディップが得られているが、-2

次の回折光のディップの深さは浅い。(b)には、 $f=0.37$  の場合の反射率の計算結果を示す。その他のパラメータは(a)と同じとした。これより、+1次、-2次回折光の SPR ディップ両者ではほぼ同じ深さの共鳴ディップが得られており、差動測定に適していることが分かる。

ここで、角度感度を  $S = d\theta/dn_s$  で定義する。すると、図 2.3(b)より、+1 次回折光による SPR ディップ 1 つのみを用いる従来法では、 $S = d\theta_{m=1}/dn_s = 2.05/0.05 = 41$  [deg./RIU]となるのに対し、ここで提案した差動測定を用いる方式の G-SPRS では、 $S = (d\theta_{m=1} - d\theta_{m=-2})/dn_s = (2.05 - (-4.2))/0.05 = 125$  [deg./RIU] となることが導出できる。したがって、従来法に対し 3.0 倍以上角度感度が向上することが確認できた。

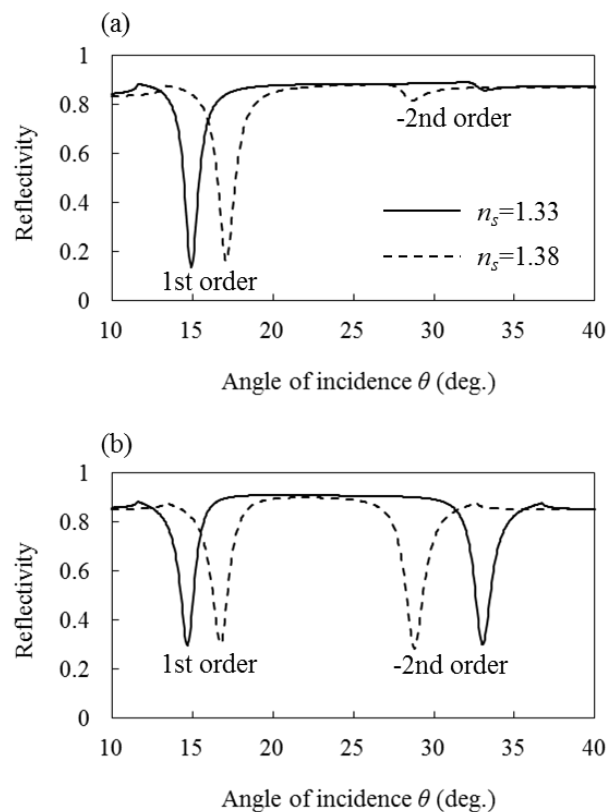


図 2.3 サンプル屈折率  $n_s=1.33$  (実線) 及び  $n_s=1.38$ (点線)のサンプルに対する反射率の  $\theta$  依存性 (a)  $f=0.5$ , (b)  $f=0.37$ .

### 2.3.2 回折格子の溝深さに関する検討

本節では、回折格子の溝の深さ  $d$  が角度スペクトルの形状に及ぼす影響について検討する。計算条件は、波長を  $\lambda=850$  nm, 金  $n_m=0.23+4.88i$  の回折格子を想定し、周期  $p=800$  nm, フィルファクタ  $f=0.37$  とした。図 2.4(a)は  $d=10$  nm の場合の G-SPRS の角度スペクトルである。実線は屈折率  $n_s=1.33$  のサンプル、点線は  $n_s=1.38$  のサンプルを想定した。同様に、図

2.4(b)-4(f)は、それぞれ  $d=20, 30, 40, 50, 60$  nm の場合である。  $f=0.37$  の条件下では、回折次数  $m=1$  と  $-2$  による2つの共鳴ディップの深さは  $d$  が変わっても常にほぼ等しくなることが分かる。

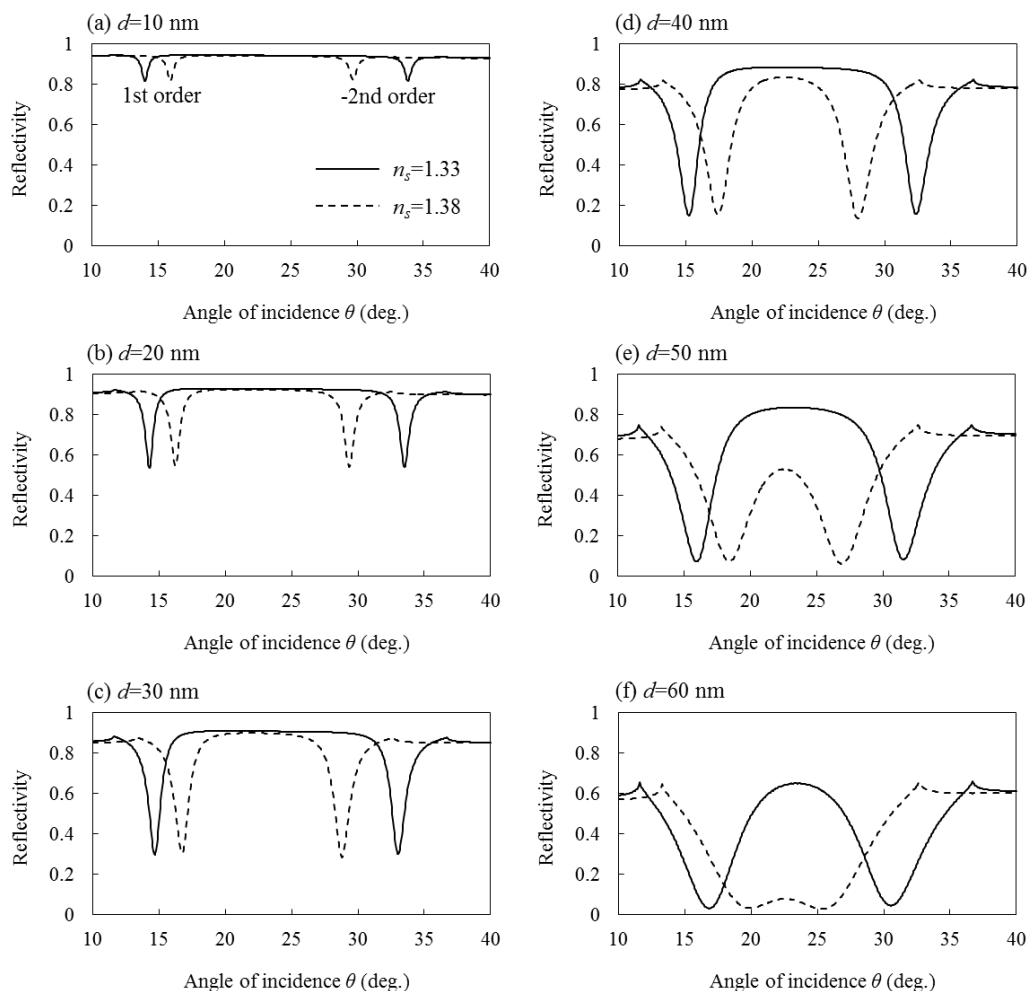


図 2.4 回折格子の溝深さ  $d$  を変化させた場合のサンプル屈折率  $n_s=1.33$  (実線)および  $n_s=1.38$  (点線) に対する角度スペクトル; (a)  $d=10$  nm, (b)  $d=20$  nm, (c)  $d=30$  nm, (d)  $d=40$  nm, (e)  $d=50$  nm, (f)  $d=60$  nm.

次に測定の精度について考察する。まず、図 2.5(a)に示すように SPR ディップの深さ  $p$  を  $p=\alpha-\beta$ 、SPR ディップの幅  $fw$  を  $(\alpha+\beta)/2$  における全幅で定義する。  $\alpha$  は角度スペクトルのベースライン値、  $\beta$  は SPR ディップの最小値である。図 2.5(b)は、図 2.4 の  $n_s=1.33$  の場合の角度スペクトルにおける  $p$  と  $fw$  の  $d$  依存性である。これより、  $fw$  の値は  $d$  の増加に伴って増加する。G-SPRS の測定精度を向上させるためには、  $fw$  の値は可能な限り小さい方が望ましく、  $d$  の値は小さくする必要があるように思われる。しかし、  $p$  の値は  $d=50$  nm

で最大になる。  $d \leq 50$  nm では、  $d$  を小さくすると  $p$  の値も減少し、結果として SN 比の低下を招く。すなわち、  $d$  と測定の SN 比にはトレードオフが存在する。そこで、性能指数 (*FOM*; figure of merit) として  $FOM = p/fw$  を定義した。 *FOM* の値が大きいほど精度の向上が見込める。図 2.5(c)に *FOM* の  $d$  依存性を示す。最終的に、ここでの条件では  $d = 30$  nm が最適であることが分かる。

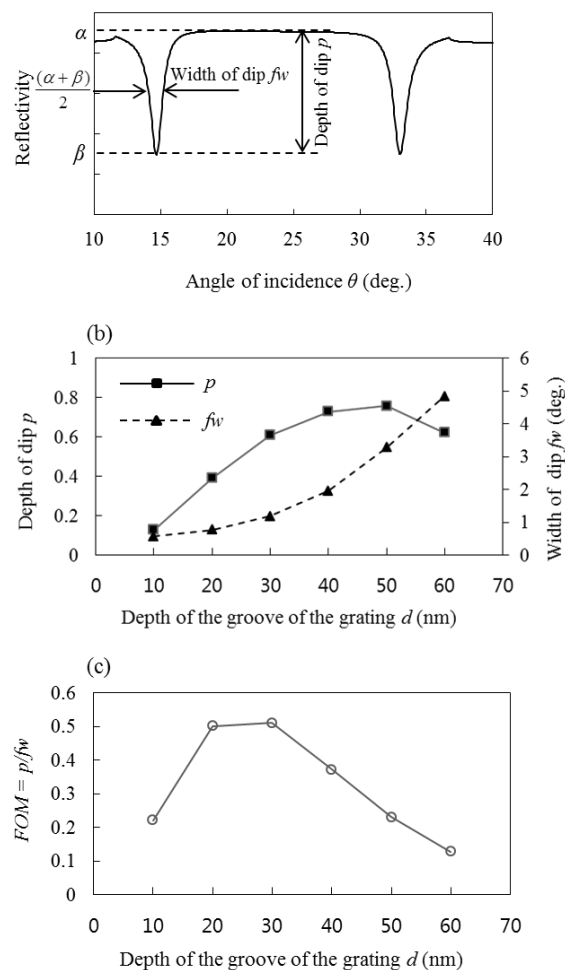


図 2.5 (a) SPR ディップの深さ  $p$  と半値全幅  $fw$  の定義, (b)  $p$  と  $fw$  の  $d$  依存性 ( $n_s = 1.33$ ), (c)  $FOM = p/fw$  の  $d$  依存性.

## 2.4 結言

高感度な金属回折格子結合型表面プラズモン共鳴センサ (G-SPRS) を提案した。測定感度を増大させるため、角度スペクトルの中の符号の異なる 2 つの次数の回折光による SPR ディップ位置がサンプルの屈折率変化に伴い互いに逆方向の角度にシフトすることを利用し、

それらを差動測定する方式を提案した。さらに精度を向上させるため、RCWA法を用いて、矩形回折格子のフィルファクタを最適化した。数値シミュレーションの結果、提案したG-SPRSの感度が、従来方式の1つのSPRディップを用いる方式のそれと比較して3倍以上向上できることを示した。

## 参考文献

- [1] S. Löfås, M. Malmqvist, I. Rönnerberg, and E. Stenberg, “Bioanalysis with Surface Plasmon Resonance”, *Sensors and Actuators B* 5 (1991) 79.
- [2] P. S. Vukusic, G. P. Bryan-Brown, and J. R. Sambles, “Surface Plasmon Resonance on Gratings as a Novel Means for Gas Sensing”, *Sensors and Actuators B* 8 (1992) 155.
- [3] K. Kajikawa, M. Hara, H. Sasabe, and W. Knoll, “Exchange Kinetics of Alkanethiol Self-Assembled Monolayers Probed by Attenuated Total Reflection with Enhancement of Surface Plasmon Resonance”, *Japanese Journal of Applied Physics* 36 (1997) L1116.
- [4] J. Homola, I. Koudela, and S. S. Yee, “Surface Plasmon Resonance Sensors Based on Diffraction Gratings and Prism Couplers: Sensitivity Comparison”, *Sensors and Actuators B* 54 (1999) 16.
- [5] J. Dostálek, J. Homola, and M. Miler, “Rich Information Format Surface Plasmon Resonance Biosensor Based on Array of Diffraction Gratings”, *Sensors and Actuators B* 107 (2005) 154.
- [6] J. Dostálek, and J. Homola, “Surface Plasmon Resonance Sensor Based on an Array of Diffraction Gratings for Highly Parallelized Observation of Biomolecular Interactions”, *Sensors and Actuators B* 129 (2008) 303.
- [7] B. K. Singh, and A. C. Hillier, “Surface Plasmon Resonance Imaging of Biomolecular Interactions on a Grating-Based Sensor Array”, *Analytical Chemistry* 78 (2006) 2009.
- [8] K. C. Krogman, T. Druffel, and M. K. Sunkara, “Anti-Reflective Optical Coatings Incorporating Nanoparticles”, *Nanotechnology* 16 (2005) S338.
- [9] C. Lü, C. Guan, Y. Liu, Y. Cheng, and B. Yang, “PbS/Polymer Nanocomposite Optical Materials with High Refractive Index”, *Chemistry of materials* 17 (2005) 2448.
- [10] J. Liu, Y. Nakamura, T. Ogura, Y. Shibasaki, S. Ando, and M. Ueda, “Optically Transparent Sulfur-Containing Polyimide–TiO<sub>2</sub> Nanocomposite Films with High Refractive Index and Negative Pattern Formation from Poly(amic acid)–TiO<sub>2</sub> Nanocomposite Film”, *Chemistry of Materials* 20 (2003) 273.
- [11] T. Okamoto, and K. Kajikawa: *Plasmonics* (Koudansha, Tokyo, 2010) p. 113 [in Japanese]
- [12] M. G. Moharam, and T. K. Gaylord, “Rigorous Coupled-Wave Analysis of Planar-Grating Diffraction”, *Journal of Optical Society of America* 71 (1981) 811.

### 3章 液浸レンズを用いた高感度回折格子結合型表面プラズモン共鳴センサ

#### 3.1 緒言

本章では、2章で述べた「差動測定方式の回折格子結合型表面プラズモン共鳴センサ」にさらに改良を加え、より感度を向上させた「液浸レンズを用いる方式」を提案する。数値シミュレーションにより、最も高感度な「回折格子結合型表面プラズモン共鳴センサ」が実現できることを確認するとともに（本研究完了時点）、適切な光学設計の必要性について言及する。

表面プラズモン共鳴 (SPR; surface plasmon resonance) センサ (SPRS; SPR sensor) は、今や試料の微小な屈折率変化を検出するセンサの一つとして生化学分野で広く利用されている。例えば、ガス濃度モニタのための化学センサ[1]、抗原抗体反応を用いるバイオセンサ[2]などが実用化されており、試料の状態変化に伴う屈折率の微小変化を SPR ディップの位置のシフトから推定する。バイオセンサとして典型的な SPRS では、金属薄膜表面にリガンドを固定し、アナライト分子が結合したときの屈折率変化を選択的に検出する。その際、波長  $\lambda$  を固定して入射角度  $\theta$  を走査する方式と、入射角度  $\theta$  を固定して波長  $\lambda$  を走査する方式の2つが存在する。ここで、センサを小型化するという観点からは、入射角を走査してエネルギー反射率の角度依存性  $R(\theta)$ 、すなわち角度スペクトルを取得する方式が望ましい。その中でも、集束光とイメージセンサを用いて一度に角度スペクトルを得る手法が特に有力である[3,4]。

SPR 現象の観察のためにはプリズム結合方式を採用する 경우가多く[5,6]、ラベルフリーで準リアルタイム測定が可能である。しかし、概して蛍光標識や同位体標識をする測定に比べ、感度が低いという問題もある[7,8]。それ故、そのようなプリズム結合型 SPR センサ (P-SPRS; prism coupling-based SPRS) の角度感度の向上については既に多くの報告がある。例えば、文献[6]では合成石英などの比較的low屈折率のプリズム (屈折率;  $n=1.456$ ) を用い、共鳴角を大きくすることで感度が向上することを報告している。また、試料の屈折率 1.33 ~ 1.35 の範囲に対してプリズムの屈折率を 1.597 から 1.456 に小さくすると、角度感度は 94.5 (°/RIU) から 204.41 (°/RIU) に改善されるという。しかし、一方で SPR ディップの半値全幅 (FWHM) が 2.24 °から 4.36 °へ広がってしまい、測定の精度が低下するという問題もある。また、SPR 現象の観察の前提として、プリズムの屈折率を試料の屈折率より大きく設定する必要があるが、低屈折率プリズムの使用は測定のダイナミックレンジを制限してしまうという問題点もある。

そのような P-SPRS に対して、金属回折格子を用いる回折格子結合方式がある。[9-11] 金属回折格子結合型 SPR センサ (G-SPRS; grating coupling-based SPRS) では、回折格子の

周期, 入射角, 波長を適切に選択すれば, 単に回折格子表面に光を入射するだけで表面プラズモン波 (SPW; surface plasma wave) を誘起できる. 格子の断面形状や溝深さに関する検討が必要であるが, 光学系を設計するうえで自由度が高くより実用的なセンサが期待できる. センサの小型化も容易である. しかし, 従来の G-SPRS は, 多くの場合+1 次回折光 (DL; diffracted light) を SPW 誘起に用いており, 角度感度は P-SPRS のそれと比較すると高くない. したがって G-SPRS の感度改善が強く求められている. これに対して, 例えば透過タイプの G-SPRS やショートレンジモードの SPR を用いた G-SPRS が提案されている [12,13]. これらの感度は 70-103 (°/RIU) の範囲である. これらの G-SPRS は, いずれも+1 次 DL によって誘起される 1 つの SPR ディップのみを用いており (以後このタイプ G-SPRS を従来型と呼ぶ), 依然として P-SPRS の角度感度を越えられない.

このような背景で, 文献[5]では, +2 次 DL で SPR を発生させた場合, P-SPRS と同等の角度感度が得られることが報告されている. しかし, そこでは正弦波回折格子を想定しているため, SPR ディップの深さが浅く, 実際の測定に用いることは精度の観点から問題がある. これに対し Cai らは, 符号の異なる 2 つの回折次数, 例えば, +1 次と-4 次, または +2 次と-4 次で誘起された 2 つの SPR ディップを用いて差動測定を行い, 最大 253°/RIU の角度感度が得られることを報告している[14]. このような 2 つの回折次数を用いる方式は, 回折格子の断面形状を吟味して, それぞれの次数に対して同時に SPW との結合効率を最適化させる必要があるはずである. しかしそこまでの配慮は払われていない. 筆者らは, 矩形波回折格子に対して+1 次 DL と-2DL の 2 つの共鳴ディップを用いる場合において, 回折格子の断面形状を最適化した[15]. 感度向上のための他の手法として, -1 次の回折次数の共鳴ディップを比較的大きな入射角度 60°~70°付近で発生させるという方式が提案されており, 水素ガスの計測に適用されている[16]. これは負符号の回折次数を用いた場合, 回折格子への入射角が大きくなると角度感度がより改善される事実を数値計算で見出したことに基づいている.

ところで, バイオセンサや化学センサの目的は, 多くの場合は溶液中のアナライト分子の定量定性分析である. そのような系に対して G-SPRS を構成しようとする, 入射光は, 空気側から溶液試料の層を経て回折格子に入射することになる. このとき回折格子への光線の入射角  $\theta$  の最大値はスネルの法則  $n_a \sin \theta_a = n_s \sin \theta$  により決まる. ここで,  $n_a$  は空気の屈折率で 1 である.  $n_s$  は試料溶液の屈折率,  $\theta_a$  は入射角である. したがって, 空気側から溶液試料に入射した光がそれを通過して回折格子への入射する際の入射角は  $\theta$  となり,  $\theta_a$  よりも必ず小さくなる. 仮に試料が純水 ( $n=1.333$ ) とすると,  $\theta_a=80^\circ$  としても, 回折格子への光の入射角は  $47.8^\circ$  となってしまう. したがって, 文献[16]に示されているような感度を向上する目的で回折格子への入射角を  $60^\circ$  以上とする提案は注目に値するが, 溶液試料



に対しては、そのままでは適用しにくい。

以上のような背景で、本章では筆者らが知り得る限り最大感度が得られる角度走査方式の G-SPRS の構成を提案する。そのために、試料溶液に液浸させる高 NA (numerical aperture) の集光レンズを敢えて採用した。それによって、従来の G-SPRS では不可能であった広い入射角度範囲の角度スペクトル取得が可能となる。このとき、 $\pm 1$  次の DL を同時に用いて 2 つの共鳴ディップを大きな入射角で、しかもディップ深さと幅のバランスをとりながら生じさせる。その結果、文献[16]で報告されているようなコンセプトで感度の向上を実現させ、さらに 2 つのディップの差動測定を行うことでさらに高感度化を達成できる。このような方式の G-SPRS はこれまで報告されていない。本章では数値シミュレーションでその検証を行い、光学系の具体的な設計例を示したうえで、従来の G-SPRS や P-SPRS との比較を行う。その結果、提案方式が液体試料測定において、従来の P-SPRS と比べ、感度で 2 倍以上、精度で 1.8 倍以上、従来 G-SPRS と比べ感度で 4.8 倍以上、精度で 2.8 倍以上の性能向上が達成できることを示す。

### 3.2 原理

SPW は、金属/誘電体界面に沿って伝搬する縦波の表面電磁波である。その伝搬方向を  $x$  軸とすると、DL の波数ベクトルの  $x$  軸方向成分  $k_x$  と SPW の波数  $k_{sp}$  が一致したとき共鳴条件が満たされ両者は結合して SPR 現象が観測される。

SPW の波数  $k_{sp}$  は、次式で与えられる。

$$k_{sp} = \pm \frac{\omega}{c} \left( \sqrt{\frac{n_s^2 \epsilon_m}{n_s^2 + \epsilon_m}} \right). \quad (3.1)$$

ここで  $c$  は真空中の光の波長、 $\omega$  は光の角周波数、 $n_s$  は試料の屈折率、 $\epsilon_m$  は、金属の誘電率である。 $k_{sp}$  は、正負の符号を取りうるので、対応する SPW はそれに応じて  $x$  軸の正、負方向に伝播する。 $k_x$  は、回折格子の溝が  $x$  軸方向に垂直として、次式で与えられる。

$$k_x = \frac{\omega}{c} n_s \sin \theta + m \frac{2\pi}{p}. \quad (3.2)$$

ここで  $p$  は回折格子の周期、 $m$  は回折次数である。この回折次数も正負の値を取り、したがって DL も  $x$  軸の正、負方向に伝播する。共鳴条件は次式で与えられる。

$$\frac{\omega}{c} n_s \sin \theta_R + m \frac{2\pi}{p} = \pm \frac{\omega}{c} \left( \sqrt{\frac{n_s^2 \epsilon_m}{n_s^2 + \epsilon_m}} \right). \quad (3.3)$$

ここで  $\theta_R$  が SPW の共鳴角である。この式が成立するためには、 $\theta_R$  の値の正負に関わらず、右辺の符号が+のとき  $m > 0$ 、符号が-のとき  $m < 0$  となることに注意する。

G-SPRS の感度  $S_G$  は、式(3.3)において  $\theta_R$  を  $n_s$  で微分すればよい。

$$S_G = \left| \frac{d\theta_R}{dn_s} \right| = \left| \frac{1}{n_s \cos\theta_R} \left[ \pm \left( \frac{\varepsilon_m}{n_s^2 + \varepsilon_m} \right)^{\frac{3}{2}} - \sin\theta_R \right] \right| \quad (3.4)$$

式(3.4)の右辺第二項の符号が正の場合が  $m>0$ 、負の場合が  $m<0$  に対応している。したがって、 $\theta_R$  が正の場合は負の回折次数を、 $\theta_R$  が負の場合は正の回折次数を用いた場合に高感度化が達成できる。また文献[16]で指摘されているように、感度は回折次数の絶対値には依存せず、 $\theta_R$  が大きくなるにつれ増大することも再確認できる。

後での比較の議論のため、Kretchman 光学配置の P-SPRS の感度の一般式もここで導出しておく。Kretchman 光学配置では、プリズム底面に金属薄膜を直接密着させ、その上に試料を配置する。プリズムの屈折率を  $n_p$  ( $>n_s$ ) とする。金属薄膜への光の入射光の波数の  $x$  成分  $k_x$  は次式で与えられる。

$$k_x = \frac{\omega}{c} n_p \sin\theta. \quad (3.5)$$

式 (3.1)、式 (3.5) より共鳴条件は次のようになる。

$$\frac{\omega}{c} n_p \sin\theta_R = \pm \frac{\omega}{c} \left( \sqrt{\frac{n_s^2 \varepsilon_m}{n_s^2 + \varepsilon_m}} \right). \quad (3.6)$$

したがって、P-SPRS の感度  $S_p$  は、次のようになる。

$$S_p = \left| \frac{d\theta_R}{dn_s} \right| = \left| \tan\theta_R \frac{\left( \frac{\varepsilon_m}{n_s^2 + \varepsilon_m} \right)^{\frac{3}{2}}}{\sqrt{\frac{n_s^2 \varepsilon_m}{n_s^2 + \varepsilon_m}}} \right|. \quad (3.7)$$

式(3.7)より、この場合も  $\theta_R$  の増大にともない感度が増大することが分かる。また式(3.6)から  $n_p$  を小さくすれば、大きな  $\theta_R$  が得られることも確認できる。

### 3.3 センサの構成

#### 3.3.1 液浸レンズを用いたセンサ光学系

図 3-1 に提案する G-SPRS の構成図を示す。ビームスプリッタ (BS) を透過したコリメートされた  $p$  偏光の単色光を  $x$  方向にのみ集光パワーを有するシリンジカルレンズ (L1) に入射させ、それからの収束光を金属回折格子 (G) に入射させる。G は L1 の後ろ側焦点位置に配置し、入射角範囲は  $-\theta_{max}$  から  $\theta_{max}$  とする。ここで、従来の G-SPRS とは異なり、L1 と G との間には液体試料を充填する。そのため L1 は液浸レンズとする。回折格子 G の溝は  $x$ - $y$  平面に垂直とする。正負の共鳴入射角 ( $\theta_R, -\theta_R$ ) で入射し、回折された DL は、そ

それぞれ試料と回折格子の境界で SPW を誘起する．そのため，それらの共鳴角で入射した光のエネルギー反射率は低下し，2つの SPR ディップが生じる．G からの反射光は BS で反射した後， $y$  方向にのみパワーを有するシリンダリカル投影レンズ (L2) に入射する．L2 は L1 の前側焦点面の像を検出器 (D) 面上に投影する．すなわち L1 は，フーリエ変換レンズの役割を果たし，その前側焦点面に形成される角度スペクトルの分布を L2 により D 上に投影する．その結果，回折格子から反射された光線の角度スペクトル ( $-\theta_{max} \sim \theta_{max}$ ) が D に記録される．最終的に，試料の屈折率変化に伴う  $\theta_R$  ( $-\theta_R$ ) の変化  $\Delta\theta_R$  の測定結果から屈折率の変化量が算出できる．

既に 3.1 節で述べたように，従来の G-SPRS で溶液試料を分析しようとする時，空気から液体試料へ光線が入射するため，回折格子への光線の入射角  $\theta$  の最大値はスネルの法則で制限されてしまう．それに対して，提案する G-SPRS では液浸レンズを用いるため広い入射角度範囲がそのまま使用できる．実際は，L1 の NA で決定されるが， $\theta_{max} = -70 \sim 70^\circ$  程度でビームを入射させることは容易である．しかし，このような高い NA のレンズは収差の影響が大きく，角度スペクトル測定精度に影響を及ぼす懸念がある．そのため，実際には L1 は，組み合わせレンズや非球面レンズを用いた光学系を採用すべきである．実際に光学設計を行った例を 3.5 節で示す．

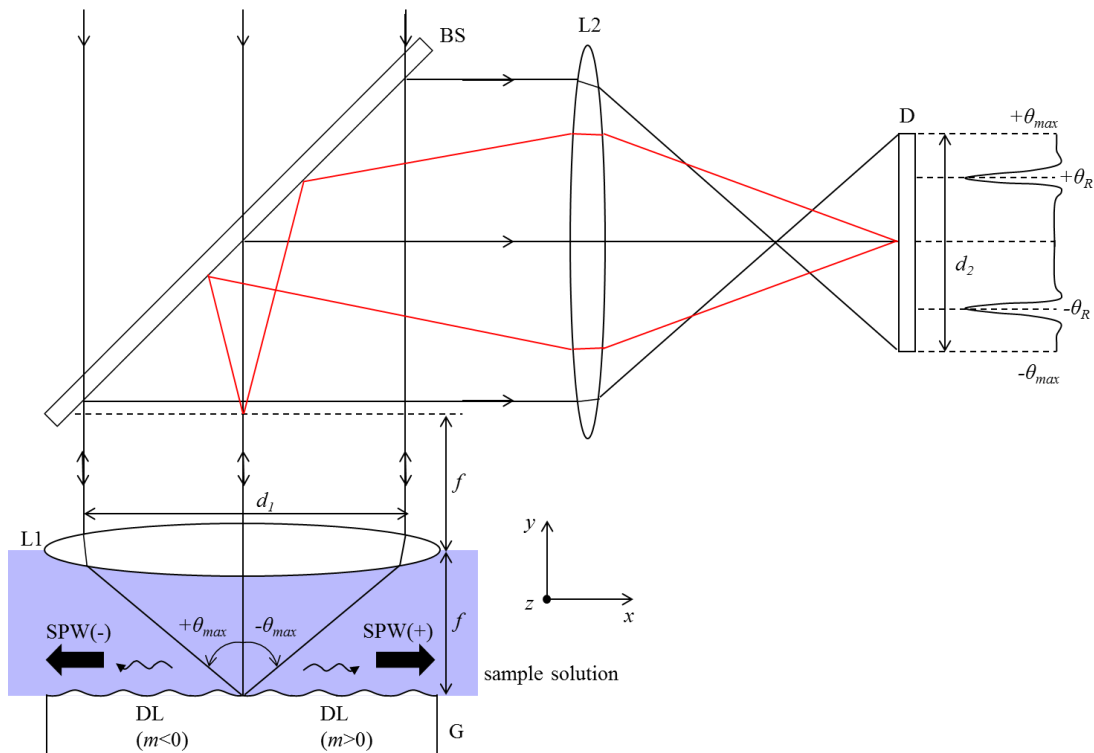


図 3.1 差動方式 G-SPRS の光学構成概略図： BS; beam splitter, L1; water-immersion cylindrical lens, G; metal diffraction grating, L2; cylindrical lens, D; array detector, DL; diffracted

light, SPW; surface plasmon wave.

### 3.3.2 高感度化の原理

従来の G-SPRS では、 $\theta$  の符号は正または負のいずれかを用いる。すなわち、図 3.1 の  $y$  軸に対し片側からのみ光を入射させる。これに対し提案する G-SPRS は、回折格子への入射角が正から負にまたがるように両側から対称的に入射させる。その結果、 $\theta$  の正と負側に対称的に SPR ディップを発生させられる。図 3.2 に、本方式の  $\pm 1$  次 DL と  $+x$  方向と  $-x$  方向に伝播する SPW の分散特性を示す。この図では、式(3.1)と式(3.2)で  $\omega = \omega_0$ ,  $k_x = k_{sp}$  とおき、それらの交点から式(3.3)の解を図的に求める様子を示している。 $k_x > 0$  で  $m=1$ ,  $k_x < 0$  で  $m=-1$  である。 $\omega_0$  は、入射光の角周波数である。ここで、試料の屈折率が  $n_A$  から  $n_B$  ( $n_B > n_A$ ) に変化すると SPW の分散カーブは A (実線) から B (点線) へと変化する。この時  $+1$  次 DL の共鳴角は、 $-\theta_{RA}$  から  $-\theta_{RB}$  へ、 $-1$  次 DL の共鳴角は  $\theta_{RA}$  から  $\theta_{RB}$  へ変化する。そのため、両者の差動測定を行えば変化量は  $2(\theta_{RA} - \theta_{RB})$  となり、感度が従来 G-SPRS の 2 倍となり得る。また、提案する G-SPRS では、容易に DL と SPW の結合を最適化でき、結果として 2 つの共鳴角  $\pm \theta_R$  で同時に SPR ディップの反射率を 0 とすることができる。このことは、文献[14,15]に報告されている従来の差動測定方式の G-SPRS に対するもう一つの優位点である。

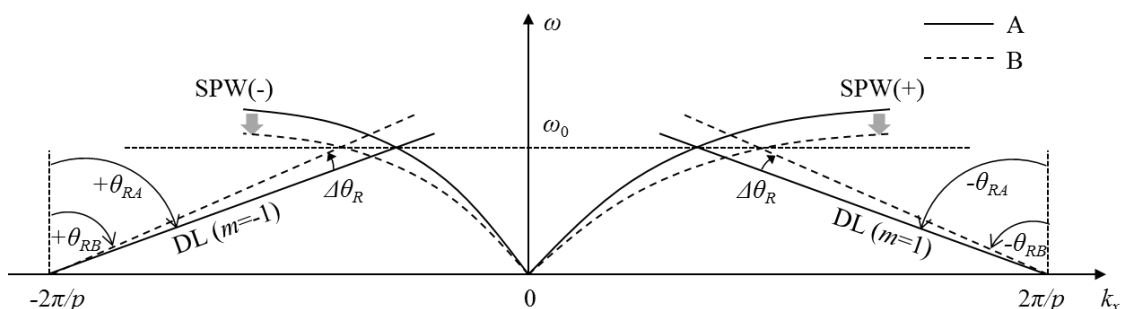


図 3.2  $\pm x$  方向に伝搬する SPW (surface plasmon wave) と  $\pm 1$  次 DL (diffracted light) の分散関係 (サンプルの屈折率が  $n_A$  の場合が実線,  $n_B$  の場合が点線).

図 3.3 は、式(3.4), 式(3.7)を用いて、差動方式を用いない従来の G-SPRS ( $m > 0$  と  $m < 0$  の場合), P-SPRS, 本論文での提案方式の G-SPRS の感度の入射角依存性を計算した結果である。計算条件のためのモデルとして、試料は純水 ( $n_s = 1.333$ ), 金属回折格子は金 ( $\epsilon_m = -31.151 - 2.198i$ ) とした。3.1 節で述べたように、従来型の G-SPRS では、角度スペクトル測定範囲が空気から試料への入射角を  $80^\circ$  とした場合,  $0 < \theta_R < 47.8^\circ$  とかなり制限されて

しまう。  $\theta_R$  が正の場合、最大感度は正の回折次数 ( $m>0$ ) の場合で  $\theta_R=0^\circ$  となり、  $S_G=48.3^\circ/\text{RIU}$ 、負 ( $m<0$ ) の場合には  $\theta_R=47.8^\circ$  で  $S_G=119.4^\circ/\text{RIU}$  となる。また、  $\theta_R$  が負の場合には、符号の関係が逆転し、負の回折次数 ( $m>0$ ) の場合で  $\theta_R=0^\circ$  となり、  $S_G=48.3^\circ/\text{RIU}$ 、正 ( $m<0$ ) の場合には  $\theta_R=47.8^\circ$  で  $S_G=119.4^\circ/\text{RIU}$  となる。 P-SPRS では、  $n_p$  を小さくし  $\theta_R$  を大きくした方がより高い感度が得られる。光学ガラス中で最も屈折率が低いもの (FCD100;  $n_p=1.43$ ) を用いたとすると、  $\theta_R=74.7^\circ$  で  $S_p=170.6^\circ/\text{RIU}$  となる。これらの値に対して、提案方式の G-SPRS では  $\theta_R=70.0^\circ$  で負の回折次数を  $\theta_R=-70.0^\circ$  で正の回折次数をもちいて差動測定を行うと、  $S_G=519.3^\circ/\text{RIU}$  となる。従来型 P-SPRS に比べ感度で 3.0 倍以上、従来型 G-SPRS に比べ感度で 4.3 倍以上の性能向上が見込めることが確認できる。

上に述べたように、式(3.4)の  $\theta_R$  は、液体サンプルから G への入射角である。実際の G-SPRS では、多くの場合ターゲットのアナライトが金属表面に設置されたリガンドに付着した時に屈折率変化が生じるので、その変化は金属界面近傍の薄い層で発生する。そのため、厳密にいうとサンプルは屈折率変化が発生しない層 1 と屈折率変化が発生する層 2 に分割して考えるべきである。それ故、以降の章では、層 1 から層 2 への入射角を  $\theta$  として定義し、(層 1/層 2/金属回折格子) の 3 層モデルとして考える。これにより、  $\theta$  を層 2 から G への入射角として定義した(層 2/金属回折格子)の 2 層モデルでの図 3.3 の感度の値とは若干異なってくる。なお Kretschman 配置の P-SPRS の場合は、サンプルは金属薄膜を挟んで光の入射側とは反対側に設置されるので、上記のような問題は生じない。

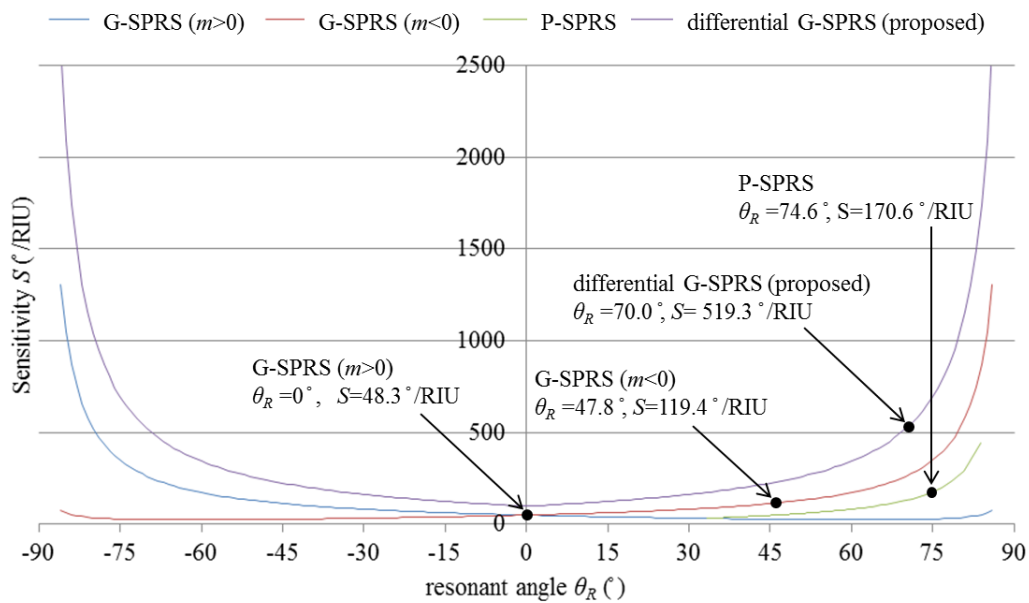


図 3.3 角度感度  $S$  の共鳴角  $\theta_R$  依存性 ( $\lambda=850 \text{ nm}$ ,  $n_s=1.33$ ).

### 3.4 数値シミュレーション

図 3.4 に、従来の Kretschman 配置 P-SPRS, 従来の G-SPRS, そして提案方式 G-SPRS の各々から得られる角度スペクトルを性能比較の目的で計算した結果を示す. 計算には, RCWA (rigorous coupled-wave analysis method) 法を用いた. 試料溶液の屈折率は,  $n_s=1.33$  (青の実線) と  $1.36$  (赤の実線) の場合を仮定した. 入射波長は  $\lambda=850$  nm, P-SPRS の金属薄膜と G-SPRS の金属回折格子の材質は金とし,  $\lambda=850$  nm での誘電率は  $\epsilon_m=-31.151-2.198i$  とした.

図 3.4(a), 3.4(b)は P-SPRS の角度スペクトルである. P-SPRS のプリズムの材質は, 一般的によく用いられる NBK7 ( $n_p=1.51$ ) (図 3.4(a)) と低屈折率の FCD100 ( $n_p=1.43$ ) (図 3.4(b)) の 2 つの場合を計算した. P-SPRS の金薄膜の厚さは, SPW と励起光の結合が最大になるように (すなわち反射率ディップが最小となるように)  $50$  nm とした. 図 3.4(c), 3.4(d)には,  $m>0$  及び  $m<0$  の回折次数を用いた場合の従来の G-SPRS の角度スペクトルのグラフを示す. G-SPRS の場合, 共鳴角  $\theta_R$  において, 反射ディップの幅をできるだけ狭窄化し反射率が零になるように回折格子の幾何学的形状を最適化する必要がある. ここでは, 形状として正弦波を仮定し, 回折格子のピッチ  $p$  と振幅  $a$  を変数としてそれらを最適化した. 最適化基準は  $\theta_R$ , ディップの深さ (ディップの反射率の最小値) である. その結果, 回折格子のピッチ  $p$  は主に  $\theta_R$  (結果としてセンサ感度) に依存することが分かった. すなわち図 3.2 における  $K (=2\pi/p)$  が  $p$  により変化しこれにより  $\theta_R$  が変化する. また, + の回折次数を用いる場合, 回折格子のピッチが大きいほど  $\theta_R$  が大きくなる. 逆に- の回折次数を用いる場合, ピッチが小さいほど  $\theta_R$  は大きくなることを再確認した. さらに, 回折格子の振幅  $a$  は励起光と SPW との結合の強さ, 結果としてディップの深さに影響を与える. 正弦波格子も矩形格子も  $\pm 1$  次 DL を SPW とフルカップリングさせることが可能であり, 両者に有意な差はない. しかしながら文献[14,15]に示されるような複数の回折次数により複数の共鳴ディップを発生させる方式においては, フィルファクタを最適化するだけで各々の次数の DL と SPW の結合の強さを制御することが可能な矩形格子が適する. 一方で矩形波格子は特に微細なピッチの場合, 製作面で矩形のエッジだれにより, 思い通りのディップが得られないという現実的な課題がある. そのため, 我々は正弦波形状を想定した. 従来の G-SPRS においては, 原理の節で述べたように, 角度スペクトル測定範囲を  $0<\theta<47.8^\circ$  とした. 回折次数は  $m=+1$  次, もしくは-1 次のいずれかの使用を前提とした.  $m=+1$  次の場合,  $\theta_R$  が小さいほど感度が高くなるので,  $n_s=1.33$  での  $\theta_R$  が  $10^\circ$  程度になるように回折格子のピッチを決定した. その結果  $p=730$  nm となった. 振幅  $a$  については, SPW と励起光の結合が最大になるようにした結果,  $a=75$  nm となった.  $m=-1$  次の場合,  $\theta_R$  が大きいほど感度が高くなるので,  $n_s=1.33$  での  $\theta_R$  が  $45^\circ$  程度になるように  $p=365$  nm とした. また励起光と SPW との結合が最大になるように  $a=28$  nm とした. 提案方式 G-SPRS においては,

$m=+1$  次と  $-1$  次を同時に使用し、且つ角度スペクトルは負から正の範囲にわたり測定することを想定した。原理の章で述べたように、最大感度が得られるように、共鳴角が  $\theta_R = \pm 70^\circ$  付近となるように回折格子のピッチを決定した。その結果、 $p=323$  nm となった。回折格子の振幅は、SPW と光の結合が最大になるように  $a=19$  nm とした。

図 3.4 に示す屈折率が  $n_s=1.33$  の角度スペクトルに加え、 $n_s=1.331$  の角度スペクトルを計算し、それらから角度感度を計算した結果を図 3.5 に示す。P-SPRS に関しては、 $\theta_R$  の増大とともに感度は上昇する。 $n_p=1.433$  の FCD100 のプリズムを用いた場合、 $S_p=160.0$  °/RIU ( $\theta_R=74.7^\circ$ ) となる。従来の G-SPRS では、 $m>0$  の場合、 $S_G=47.7$  °/RIU ( $\theta_R=10.0^\circ$ )、 $m<0$  の場合、 $S_G=66.6$  °/RIU ( $\theta_R=45.3^\circ$ ) となる。提案方式の G-SPRS の角度感度は、 $S_G=322.6$  °/RIU ( $\theta_R=\pm 70.3^\circ$ ) となり、角度感度は、従来 P-SPRS (FCD100) に対し 2.0 倍、従来 G-SPRS ( $m=-1$ ) に対し 4.8 倍に改善される。ここで、上述したように入射角の定義を 2 層モデルから 3 層モデルに修正したので、G-SPRS の角度感度は、図 3.3 の角度感度とは若干値が異なっていることを追記しておく。具体的には、層 1 から層 2 への入射角を  $\theta$  としているので、2 層モデルに対して、層 2 の屈折率  $n_s$  が増大すると  $\theta_R$  も増大し、逆に  $n_s$  が減少すると  $\theta_R$  も減少する。これによって、 $m<0$  及び提案方式の G-SPRS では、図 3.3 に比べて角度感度若干減少し、 $m>0$  の G-SPRS では、逆に感度が増大するのである。

SPRS の測定では、SPR ディップは、幅が狭いほど、深さが深いほど、測定精度は向上する。我々は、感度  $S$  と SPR ディップの FWHM= $w$  との比として測定精度を表す性能指数  $Q=S/w$  を導入した。その結果を図 3.5 に示す。ここではどの場合も SPW と励起光の結合が最大になるよう設計しているので、ディップ反射率の最小値はいずれの場合もほぼ 0 となる。そのため、各方式において同じ光源と光検出器を用いたとすると、分解精度は、 $Q$  で決定されることになる。図 3.5 より、提案方式の  $Q$  は、従来 P-SPRS (FCD100) 及び P-SPRS(BK7) に対し 1.8 倍、従来 G-SPRS ( $m=-1$ ) に対し 2.8 倍、従来 G-SPRS ( $m=1$ ) に対し 6.4 倍に増大する。

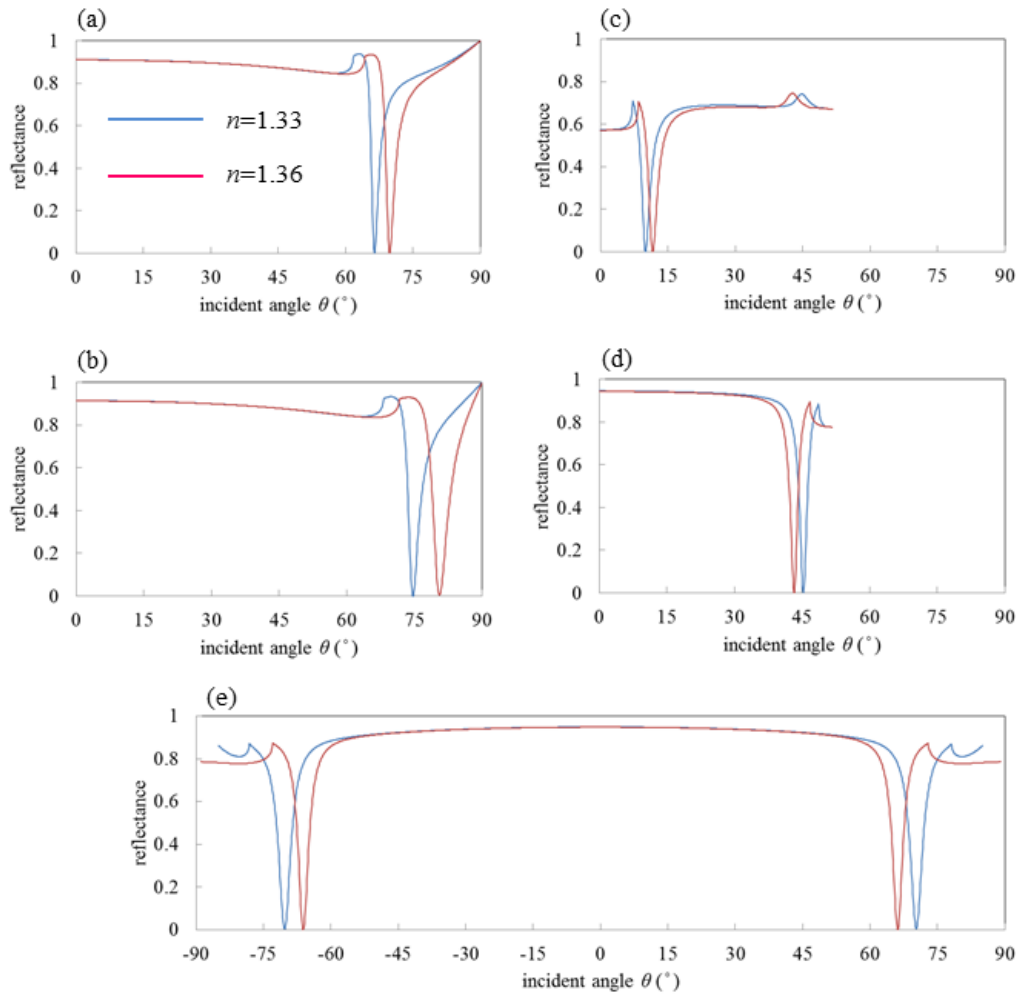


図 3.4 各 SPRs の角度スペクトル( $n_s=1.33$  : 青線,  $n_s=1.36$  : 赤線). (a) P-SPRS (NBK7), (b) P-SPRS (FCD100), (c) G-SPRS ( $m>0$ ), (d) G-SPRS ( $m<0$ ), and (e) differential G-SPRS (proposed).



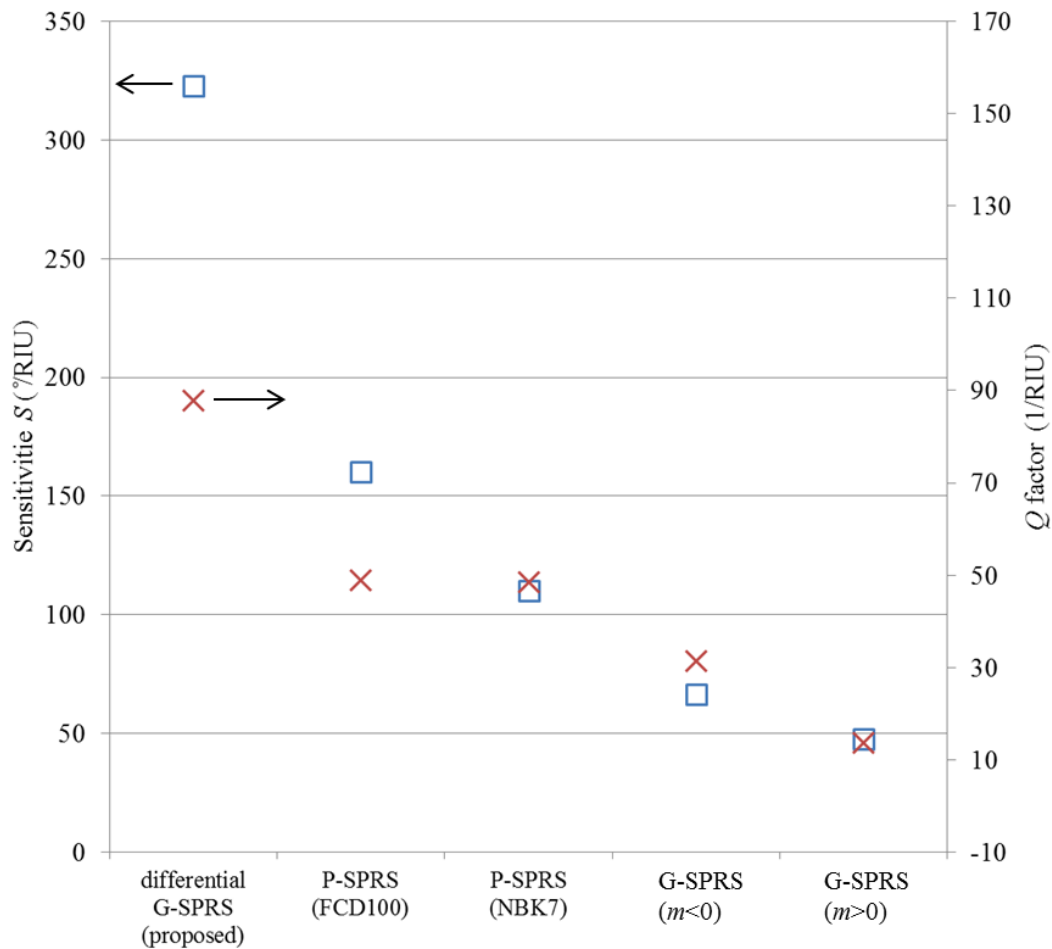


図 3.5 各 SPRS の角度感度  $S$  と性能指数  $Q$  の比較.

### 3.5 光学系の設計

次に提案方式の G-SPRS の光学系の設計例を以下に示す. 既に 3.3 節で述べたように, 図 3.1 の L1 と L2 で使用するレンズは高い  $NA$  を持つため, 実際には収差低減のため非球面レンズ, または組みレンズ, またはその両者の組み合わせを用いる必要がある. ここでは光学ソフトウェア CodeV (Synopsys 社) を用いて設計をおこなった. 図 3.6(a)にその光学系のレイアウト図を示す. ここで,  $d_1=25\text{ mm}$ ,  $\lambda=850\text{ nm}$  とした. フーリエ変換レンズ L1 は, 2 枚のレンズ L1a, L1b で構成した. L1a の入射面, 出射面及び L1b の入射面は  $x$  方向にのみパワーを持つトロイダル非球面である. レンズの材質は VC90 (屈折率 1.836 at  $\lambda=850\text{ nm}$ ) とした. L1 の焦点距離は, L1a, L1b の合成焦点距離であり,  $f=9.524\text{ mm}$  とした. L1b は液浸レンズであり, 回折格子 G は L1 の後ろ側焦点面に配置した. 図 3.1 の L2 は, トロイダルレンズ L2' に置き換えた. L2' の材質は NBK7 (屈折率 1.510 at  $\lambda=850\text{ nm}$ ) とした. ここで, L1 は通常の  $d=f\sin\theta$  の関係式ではなく,  $d=f\theta$  の関係式を満たすように設計した.

これにより  $\theta$  の増大による感度の低下を避けることができる. センサ上の SPR ディップ位置と角度の関係がリニアに保たれ, 角度への換算が直接行えるという利点もある.

次に個々のレンズ面の形状について説明する, L1a の入射面, 出射面の形状 (サグ量) を  $L1a_{in}(x)$ ,  $L1a_{out}(x)$ , L1b 入射面の形状を  $L1b_{in}(x)$ , L2' の入射面, 出射面の形状を  $L2'_{in}(y)$ ,  $L2'_{out}(y)$  とすると各々の面形状は次式で与えられる.

$$\begin{aligned} L1a_{out}(x) &= L1a_{out}(x) = L1b_{in}(x) \\ &= \frac{(1/r_x)x^2}{1 + \sqrt{1 - (1+k)(1/r_x)x^2}} + Ax^4 + Bx^6 + Cx^8 + Dx^{10} + Ex^{12} + Fx^{14} + Gx^{16} + Hx^{18} + Jx^{20} \end{aligned} \quad (3.8)$$

$$\begin{aligned} L2'_{in}(y) &= L2'_{out}(y) \\ &= \frac{(1/r_y)y^2}{1 + \sqrt{1 - (1+k)(1/r_y)y^2}} + Ay^4 + By^6 + Cy^8 + Dy^{10} + Ey^{12} + Fy^{14} + Gy^{16} + Hy^{18} + Jy^{20} \end{aligned} \quad (3.9)$$

ここで  $r_x$ ,  $r_y$  は各々  $x$  と  $y$  方向の曲率半径,  $k$  は円錐定数,  $A-J$  は 4-20 次の非球面係数である. 各面の  $k$  及び  $A-J$  の値を表 3.1 に示す. また, 各レンズの厚み及び隣接する 2 つの面の間隔を表 3.2 に示す. なお L1 (L1a と L1b) の無限遠物点における波面収差の RMS 値は,  $0.064 \lambda$  (at  $\lambda=850 \text{ nm}$ ) である.

表 3.1 L1a, L1b, L2 の各面の曲率半径,  $k$ ,  $A-J$  の値.

	$r$	$k$	$A$	$B$	$C$	$D$	$E$	$F$	$G$	$H$	$J$
L1a_in	2.04252E+01	-8.53000E-01	-1.26000E-06	1.52000E-08	-1.82000E-11	-1.01500E-13	1.77000E-17	2.10500E-19	-1.04700E-22	0.00000E+00	0.00000E+00
L1a_out	-8.36733E+01	3.23748E+00	4.38619E-06	5.83484E-08	9.95213E-11	-6.81367E-14	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00
L1b_in	8.67871E+00	-1.46488E-01	5.72640E-06	-1.10606E-07	1.88677E-09	-9.79848E-11	-1.25856E-12	5.42791E-15	3.30766E-16	3.08479E-18	-1.06340E-19
L2_in	2.84103E+01	-1.10352E+00	-1.05608E-05	5.63714E-09	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00
L2_out	-4.00700E+01	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00

表 3.2 各レンズの厚み及び隣接する面の間隔.

	$t$ ; thickness		$d$ ; distance
L1a	5.7824	L1a_out~L1b_in	0.1
L1b	10.5747	L1a_in~BS	54.932
L2	10	BS~L2_in	50
sample solution	1	L2_out~D	47.3692

設計した光学系の性能を評価するため, 図 3.4(e)に示す角度スペクトルを再計算した. 計算は, 設計した光学系の収差の影響を考慮するため, 光線追跡ソフトウェア (LightTools, Synopsys 社) を用いた. RCWA と異なり光線追跡ソフトウェアでは, SPR 現象を計算できない. そのため, 光線追跡ソフトウェアの中で回折格子  $G$  を図 3.4(e)に示す角度スペクトルと同じ反射率を持つ仮想面としてモデリングした. 図 3.6(b)にサンプルの屈折率が各々  $n_s=1.33$  (青線),  $n_s=1.36$  (赤線) の場合の角度スペクトルを示す.  $Lb1_{out}$  と回折格子  $G$  の間隔は  $1 \text{ mm}$  である.  $n_s=1.36$  の計算は, バイオセンサにおいて金属回折格子の上に設置されたり

ガンドにアナライト分子が付着した場合を想定した3層モデルとした。リガンドにアナライト分子が付着した第2層は、 $n_s=1.36$ で厚さが $1\ \mu\text{m}$ とし計算した。 $n_s=1.33$ と $n_s=1.36$ の角度スペクトルは、RCWAで計算した図3.4(e)の角度スペクトルとほぼ同じであり、光学系が性能良く設計されていることが確認できる。感度 $S$ と性能指数 $Q$ は、各々 $S=318.4^\circ/\text{RIU}$ と $Q=87.0\ \text{RIU}^{-1}$ であり、RCWAによる計算結果とほぼ同じ値であることを確認した。また、比較のためL1aとL1bを球面とした場合の角度スペクトルを点線で示す。L1の波面収差のRMS値は、 $90\ \lambda$ に増大する。この収差のため、角度スペクトルの形状が崩れSPRディップが消失する。以上の結果より、提案方式のG-SPRSを実現するためには、厳密な光学設計が必要不可欠であることが確認できた。

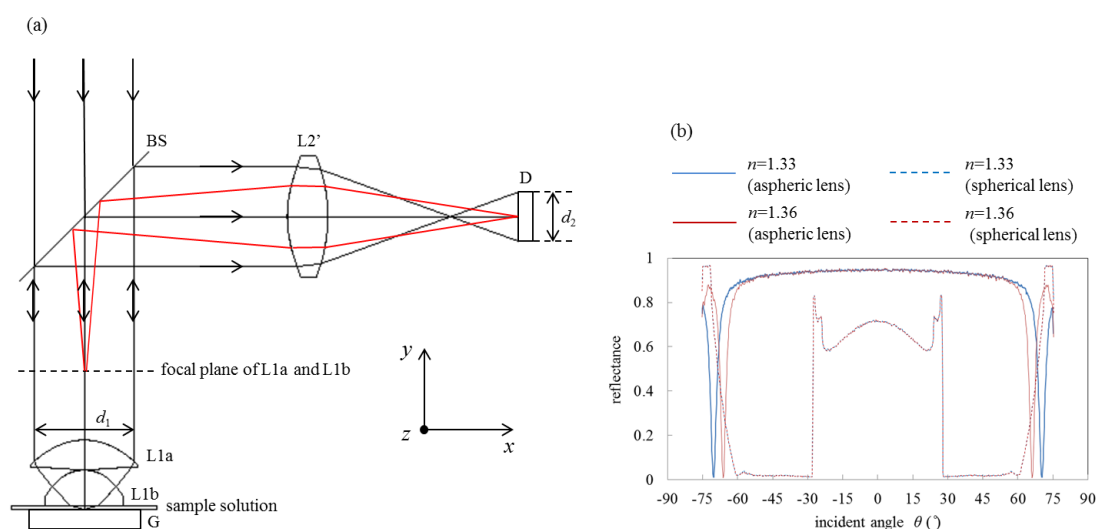


図 3.6 (a) 設計した差動測定 G-SPRS の光学系レイアウト図。(b)  $n_s=1.33$  (青線)及び  $n_s=1.36$ (赤線)のサンプルにおける角度スペクトル (実線が設計した光学系の角度スペクトル, 点線は L1a, L1b を球面レンズとした場合の角度スペクトル)。

### 3.6 結言

差動測定を用いた新たな G-SPRS の提案を行った。提案した G-SPRS では、液体サンプルの測定を目的とし、液浸レンズを用いて、 $\pm 1$  次回折光による SPR ディップを含む広範囲の角度スペクトルを同時に測定する。その結果、角度感度は従来の G-SPRS に比べて 4.8 倍、従来の P-SPRS に対して 2.0 倍向上する。また性能指数  $Q$  も従来の G-SPRS に比べて 2.8 倍、P-SPRS に対しては 1.8 倍向上することを確認した。最後に正確な光学設計の重要性を示すため、提案した G-SPRS の厳密な光学設計の例を紹介した。この新たな G-SPRS を実現するためには、専用の非球面レンズが必要であることや、測定毎に液浸レンズの交

換又は洗浄が必要であるといった、従来の G-SPRS にはない新たな問題点もある。しかしながら今回提案した高感度な G-SPRS は、フローサイトメトリー及び高速液体クロマトグラフィーの分野における屈折率測定の新たな手段となることが期待される。さらに結合レスポンスが微小な低分子をアナライトとした相互作用測定が必要不可欠な創薬分野や分子量が比較的小さく、規制濃度が低い測定対象を検出する環境分野における農薬や毒物のセンシング等においても SPRS の高感度化が重要である。今回提案した高感度の G-SPRS は、上記分野においても有効なツールの一つになると考える。

## 参考文献

- [1] M. Niggemann, A. Katerkamp, M. Pellmann, P. Bolsmann, J. Reinbold, and K. Cammann, “Remote Sensing of Tetrachloroethene with a Micro-Fibre Optical Gas Sensor Based on Surface Plasmon Resonance Spectroscopy”, *Sensors and Actuators B* 34 (1996) 328.
- [2] L. G. Fägerstam, Å. Frostell, R. Karlsson, M. Kullman, A. Larsson, M. Malmqvist, and H. Butt, “Detection of Antigen—Antibody Interactions by Surface Plasmon Resonance”, *Journal of Molecular Recognition* 3 (1990) 208.
- [3] K. Matsubara, S. Kawata, and S. Minami, “A Compact Surface Plasmon Resonance Sensor for Measurement of Water in Process”, *Applied Spectroscopy* 42 (1988) 1375.
- [4] J. Dostálek, and J. Homola, “Surface Plasmon Resonance Sensor Based on an Array of Diffraction Gratings for Highly Parallelized Observation of Biomolecular Interactions”, *Sensors and Actuators B* 129 (2008) 303.
- [5] J. Homola, I. Koudela, and S. S. Yee, “Surface Plasmon Resonance Sensors Based on Diffraction Gratings and Prism Couplers: Sensitivity Comparison”, *Sensors and Actuators B* 54 (1999) 16.
- [6] G. Gupta, and J. Kondoh, “Tuning and Sensitivity Enhancement of Surface Plasmon Resonance Sensor”, *Sensors and Actuators B* 122 (2007) 381.
- [7] Y. Liu, Y. Tang, N. N. Barashkov, I. S. Irgibaeva, J. W. Y. Lam, R. Hu, D. Birimzhanova, Y. Yu, and B. Z. Tang, “Fluorescent Chemosensor for Detection and Quantitation of Carbon Dioxide Gas”, *Journal of The American Chemical Society* 132 (2010) 13951.
- [8] D. C. Macallan, C. A. Fullerton, R. A. Neese, K. Haddock, S. S. Park, and M. K. Hellerstein, “Measurement of Cell Proliferation by Labeling of DNA with Stable Isotope-Labeled Glucose: Studies *in Vitro*, in Animals, and in Humans”, *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (1998) 708.
- [9] D. C. Cullen, R. G. W. Brown, and C. R. Lowe, “Detection of Immuno-Complex Formation via Surface Plasmon Resonance on Gold-Coated Diffraction Gratings”, *Biosensors*. 3 (1987) 211.
- [10] M. J. Jory, P. S. Vukusic, and J. R. Sambles, “Development of a Prototype Gas Sensor Using Surface Plasmon Resonance on Gratings”, *Sensors and Actuators B* 17 (1994) 203.
- [11] K. H. Yoon and M. L. Shuler, “Design Optimization of Nano-Grating Surface Plasmon Resonance Sensors”, *Optics Express* 14 (2006) 4842.
- [12] K. M. Byun, S. J. Kim, and D. Kim, “Grating-Coupled Transmission-Type Surface Plasmon Resonance Sensors Based on Dielectric and Metallic Gratings”, *Applied Optics* 46 (2007) 5703.
- [13] J. Guo, P. D. Keathley, and J. T. Hastings, “Dual-Mode Surface-Plasmon-Resonance Sensors Using Angular Interrogation”, *Optics Letters* 33 (2008) 512.

- [14] D. Cai, Y. Lu, K. Lin, P. Wang, and H. Ming, "Improving the Sensitivity of SPR Sensors Based on Gratings by Double-Dips Method (DDM)", *Optics Express* 16 (2008) 14597.
- [15] K. Ichihashi, Y. Mizutani, and T. Iwata, "Enhancement of the Sensitivity of a Diffraction-Grating-Based Surface Plasmon Resonance Sensor Utilizing the First-and Negative-Second-Order Diffracted Lights", *Optical Review* 21 (2014) 728
- [16] K. Lin, Y. Lu, J. Chen, R. Zheng, P. Wang, and H. Ming, "Surface Plasmon Resonance Hydrogen Sensor Based on Metallic Grating with High Sensitivity", *Optics Express* 16 (2008) 18599.
- [17] R. R. Shannon, "Applied optics and optical Engineering", ACADEMIC PRESS (1980), Chap. 3, pp. 59-6

## 4章 プリズム結合型表面プラズモン共鳴イメージングの高性能化

### 4.1 緒言

本章では、プリズム結合型表面プラズモン共鳴イメージングセンサにおける本質的な問題点、すなわち、物体面の光軸に対する傾きによる Scheimpflug 現象によって発生する像歪みとボケを解決する新規な光学系を備えたセンサの提案を行う。

被測定サンプル（以下、サンプルと呼ぶ）の屈折率変化を高感度に測定する、表面プラズモン共鳴（SPR; surface plasmon resonance）センサは、生物・化学分野において広く用いられている[1,2]。通常、SPR センサは、サンプル上の1点の屈折率変化を測定する機会が多いが、サンプルの屈折率変化を2次元で可視化する表面プラズモンイメージングセンサ（SPRIS; SPR imaging sensor）は、生物・化学反応を2次元で一括に観測可能なツールとして期待されている[3-6]。SPRIS の用途をさらに拡大するためには、分解能の向上と視野（FOV; field of view）の拡大が必要である。これらの要求は互いに相反するため、SPRIS の構成方式は主に2通りに分類される。1つは対物レンズを用いるタイプ（OB-SPRIS; objective based-SPRIS）[7-9]と、Kretschmann 配置の表面プラズモン共鳴センサにイメージングカメラを組み合わせ、プリズムと金属の界面の像を観測するタイプ（P-SPRIS; prism based-SPRIS）[10-13]である。OB-SPRIS は P-SPRIS に比べ高い分解能を与えることが特長であるが、その FOV は、典型的なもので  $200 \times 200 \mu\text{m}$  ( $=0.04 \text{ mm}^2$ ) 程度であり、P-SPRIS に比べ一般に狭い。一方、P-SPRIS の FOV は、 $0.1 \sim 20 \text{ mm}^2$  程度である。

P-SPRIS は、さらに撮影方法により、通常の撮影タイプ[11-13]とラインスキャンタイプ[10]と呼ばれる2つのタイプに分類できる。通常タイプは2次元のイメージセンサを従来通り用いる。しかしその FOV は、像歪みとボケのため FOV が  $0.1 \sim 2.0 \text{ mm}^2$  程度となってしまう。像歪みとボケの原因は物体面（サンプル）が撮像光学系の光軸に対し垂直に配置されていないことにより発生する Scheimpflug 現象[14]と呼ばれるものであり、撮像光学系が無収差であっても避けられない。Scheimpflug 現象の状況下では、多くの場合がそうであるように、イメージセンサが光軸に垂直に配置された場合、光軸に垂直な直線領域のみが合焦し、その他の領域は、ピントが外れた状態になりボケを生じる。さらにこのような状況においては、イメージセンサの位置により、横倍率が変動するため像歪みが生じる。ここで、横倍率は、イメージセンサ上の像の長さで物体の長さの比として定義する。それに対して、ラインスキャンタイプは、この像歪みとボケを回避することが出来るが[10]、像全体を撮影するのに長い時間を要する。したがって、動画撮影を行うことが困難であり、生物や化学反応のリアルタイム観測が殆ど不可能となる。

そこで本研究では、通常の撮影タイプにおいても像歪みとボケを回避し、FOV が  $20 \text{ mm}^2$

以上でも動画撮影が可能な新たな P-SPRIS を提案した[15]. 提案した P-SPRIS では, 物体と対物レンズの間に反射型回折格子を配置する. また, 撮像光学系に物体側テレセントリック光学系を採用した. 本章では, その提案した P-SPRIS の原理・設計と, 従来タイプの P-SPRIS との性能比較シミュレーション結果を示す. また, 原理検証実験として, 顕微鏡のテストチャートの観測, マイクロ流路内での純水とエタノール混合溶液の混合過程の観測を実施した. それら結果についても示す.

## 4.2 原理

### 4.2.1 従来タイプの表面プラズモン共鳴イメージングセンサ

図 4.1(a)に従来タイプの P-SPRIS の構成図を示す. コリメートされた  $p$  偏光の単色光がプリズム底面に入射角  $\theta$  で入射する. プリズム底面には, Au または Ag 等の金属層がコーティングされている. サンプルは, 金属層下面に接触した状態で配置される. 入射角  $\theta$  が式 (4.1)で与えられる表面プラズモンの共鳴角に  $\theta_r$  と一致したとき, SPR 現象が観測される.

$$\theta_r = \sin^{-1} \left[ \pm \frac{1}{\sqrt{\varepsilon_p}} \operatorname{Re} \left( \sqrt{\frac{\varepsilon_s \varepsilon_m}{\varepsilon_s + \varepsilon_m}} \right) \right]. \quad (4.1)$$

ここで,  $\varepsilon_p$ ,  $\varepsilon_s$  及び  $\varepsilon_m$  は, それぞれプリズム, サンプル及び金属の誘電率である. 共鳴角  $\theta_r$  では, 金属の反射率  $R$  がサンプルの誘電率  $\varepsilon_s$  に依存して減少する. それ故にサンプル屈折率の 2 次元空間分布がイメージセンサにより測定出来る. 既に 4.1 節で述べたように, 従来の P-SPRIS では, イメージセンサはレンズの光軸に対して垂直に配置されるが, 物体 (金属-サンプル界面) は, 垂直に配置されていないため, センサ面に対し像面が Scheimpflug の原理[14]にしたがって傾いてしまう. 結果として, 光軸と紙面に垂直な線上の領域のみが合焦し, それ以外の領域ではピント外れとなりボケた像となる. また観測される像は歪んだものとなり, この像歪みはイメージセンサを光学系の像面に合わせても残存する. この原因は光学系の横倍率が像の位置により異なるためである. この 2 つの問題が従来の P-SPRIS の FOV を制限していた.



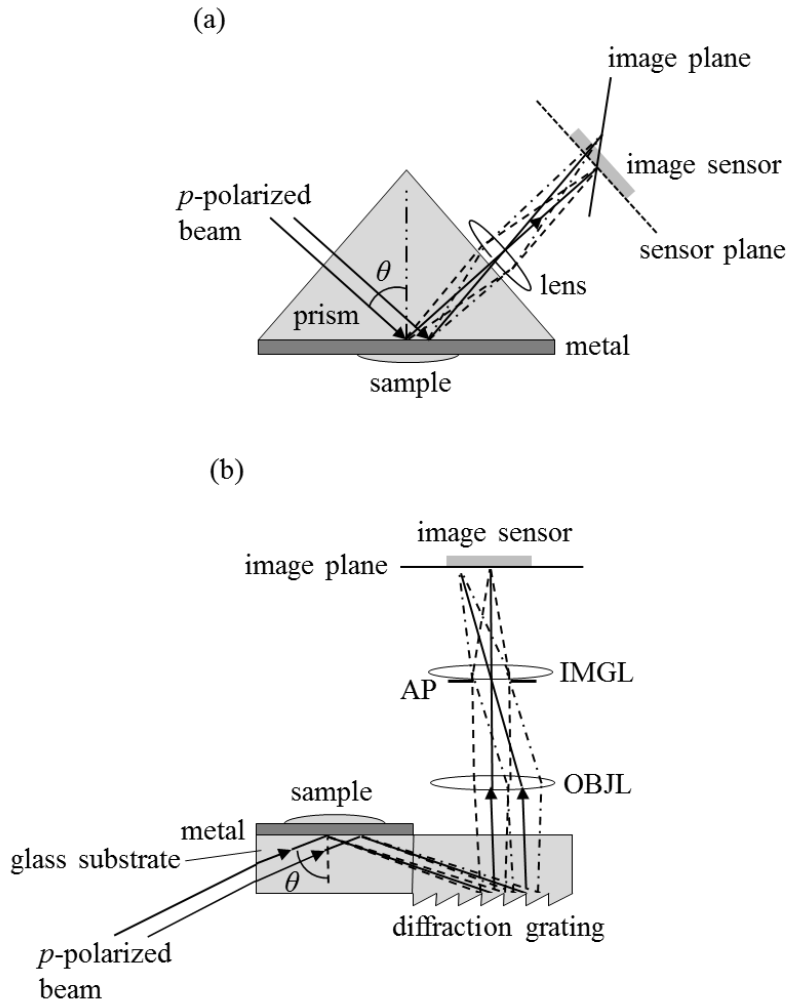


図 4.1 (a) 従来の P-SPRIS 構成図, (b) 提案した P-SPRIS 構成図.

#### 4.2.2 回折格子と物体側テレセントリック光学系を用いた表面プラズモン共鳴イメージングセンサ

図 4.1(b)に上で述べた 2 つの問題点を解決した新たな P-SPRIS の構成図を示す. 提案した P-SPRIS の光学構成には, 2 つの重要なポイントがある. 第 1 のポイントは反射型の回折格子を物体面に対し平行に配置した点である. また, 対物レンズと結像レンズから構成される撮像光学系は, その光軸が回折格子と垂直になるように配置する. 金属層で反射された  $p$  偏光の単色光は, 回折格子に入射角  $\alpha$  で入射する. この時回折の式は, 式(4.2)で与えられる.

$$d(\sin \alpha + \sin \beta) = \frac{m\lambda}{\sqrt{\epsilon_p}}. \quad (4.2)$$

ここで,  $d$  は回折格子の周期,  $\beta$  は回折角,  $m$  は回折次数,  $\lambda$  は真空中での光の波長,  $\epsilon_p$  は,

回折格子の誘電率である。符号は紙面上、回折格子の垂線に対して、回折光が時計周りの方向のとき負とする。この構成において  $\alpha=\theta_r$ ,  $\beta=0$  の時、物体面に対し入射角  $\theta_r$  で入射した光線は、回折格子の垂線と平行に回折される。この条件を満たす回折格子の周期  $d$  は、式(4.3)で与えられる。

$$d = \frac{m\lambda}{\sqrt{\varepsilon_p} \sin \theta_r}. \quad (4.3)$$

なお、今回の検証実験においては正弦波回折格子を用いたが、ブレード回折格子を用いることで、回折効率がさらに向上する。この場合のブレード各  $\theta_b$  は、 $\alpha=\theta_r$ ,  $\beta=0$  であることを考慮すると  $\theta_b=(\alpha+\beta)/2=\theta_r/2$  となる。また、本実験では反射型回折格子を用いたが、透過型回折格子を用いても本質的な差異はない。

提案した P-SPRIS の第 2 のポイントは、撮像光学系を物体側テレセントリックとしたことである。そのため、開口絞りを対物レンズの後側焦点面に設置した。したがって、対物レンズの像側主平面と開口絞りの距離は、対物レンズの焦点距離に等しくなる。このような光学系の構成によって、物体面に入射角  $\theta_r$  で入射した光線が主光線となり、すべての主光線の物体面から対物レンズの主平面までの光路長が等しくなる。その結果、FOV 全域で撮像光学系の横倍率が等しくできる。以上に述べた 2 つの効果によって、Scheimpflug の原理によって引き起こされる像歪みとボケの問題は、本質的に解決される。なお、イメージセンサを傾いた像面に合わせて設置し、画像処理によって像歪み補正を行うことも可能であるが、まずは光学系による改善処理を施した上で画像処理を行うのが筋である。

### 4.3 光学設計と数値シミュレーション

#### 4.3.1 3 種類の表面プラズモン共鳴イメージングセンサの設計

ここで提案した P-SPRIS の従来のそれに対する優位性を示すため、図 4.2 に示す 3 種類の P-SPRIS について比較検討を行った。図 4.2(a)に示す P-SPRIS の光学系は、物体側テレセントリック系であり反射型回折格子が用いられている (OST-SPRIS-G; object telecentric system SPRIS with grating)。すなわちこれが提案した P-SPRIS である。図 4.2(b)に撮像光学系は物体側テレセントリック系を用いているが、回折格子の代わりにミラーを配置した場合を示す (OST-SPRIS-M; object telecentric system SPRIS with mirror)。そして図 4.2(c)には、反射型回折格子を用いているが、撮像光学系が物体側テレセントリック系でない P-SPRIS を示す (Non-OST-SPRIS-G)。なお、物体面は  $x$ - $y$  面に平行で撮像光学系の光軸は  $z$  軸に平行である。ここで、 $\lambda=670$  nm,  $\varepsilon_p=2.31$  (BK7),  $\varepsilon_m=-11.923+1.915i$  (金), 及び  $\varepsilon_s=1.769$  (サンプル) とした。式(4.1)から共鳴角は、 $\theta_r=71^\circ$ , 式(4.3)から回折格子の周期は、 $m=1$  として、 $d=466.2$  nm である。なお、回折格子のサイズは物体面からの光束をすべて受光できるように設定

した。また、対物レンズと撮像レンズの焦点距離は、それぞれ  $f_1=75.0$  mm,  $f_2=150.0$  mm とした。

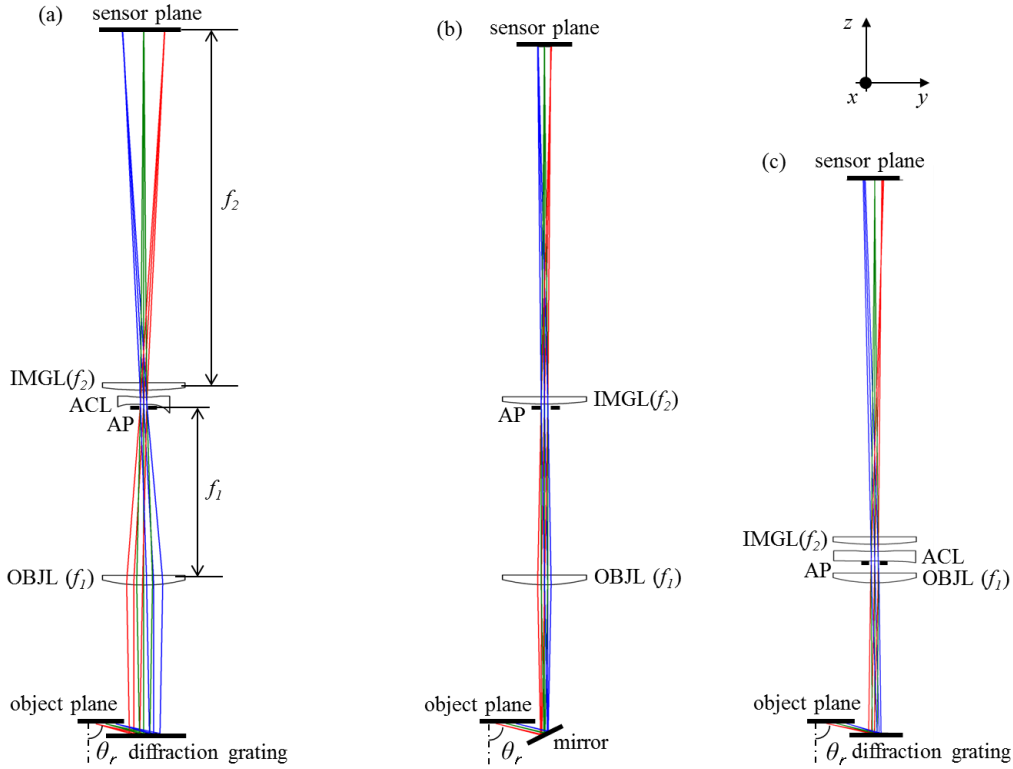


図 4.2 3 種類の P-SPRIS: (a)OST-SPRIS-G, (b)OST-SPRIS-M, (c)Non-OST-SPRIS-G 対物レンズ(OBJL; objective lens), 撮像レンズ(IMGL; imaging lens), 開口絞り(AP; aperture), 収差補正レンズ(ACL; aberration correction lens).

図 4.2(a)に示す OST-SPRIS-G では、回折格子は物体面に対し平行かつ撮像光学系の光軸に対し垂直に配置される。また、直径 2 mm の開口絞りが対物レンズの像側焦点面に配置され物体側テレセントリック系を形成している。物体面と対物レンズの物体側主平面の距離は  $f_1$  で、センサ面と撮像レンズの像側主平面の距離は  $f_2$  に設定されている。したがって、撮像光学系の横倍率は、 $f_2/f_1=2.0$  倍となる。この光学系の開口数 ( $NA$ ) は 0.013, 分解能は Rayleigh の式  $\sigma=0.61\lambda/NA$  から  $31 \mu\text{m}$  である。センサ面は撮像光学系の光軸に垂直に配置する。ここで、OST-SPRIS-G には収差補正レンズを用いることが重要である。収差補正レンズは、 $y$  軸方向にのみパワーを有し、回折格子の導入によって発生する収差を補正する。この回折格子による収差は、光線の回折角が式(2.2)に従うことに由来する。この収差補正レンズの詳細は APPENDIX で記述する。また、本光学系は像側  $NA$  の値が比較的小さく、これによって分解能がやや低い値となっているが、これについては 4.5 節で議論する。

図 4.2(b)に示した OST-SPRIS-M では、回折格子の代わりにミラーを用いている。OST-SPRIS-M では、ミラーで反射される光線の反射角の絶対値は、常に入射角と等しいため、収差補正レンズは必要とならない。それ以外の光学パラメータは、図 4.2(a)の OST-SPIS-G と同じとした。しかしながら OST-SPRIS-M では、物体から対物レンズの物体側主平面までの光路長が物体の位置により変化するため、像面がセンサ面に対し必然的に傾いてしまう。

図 4.2(c)に示した Non-OST-SPRIS-G では、対物レンズの像側主平面と開口絞りの距離を 5.0 mm ( $\neq f$ )としたため、物体側テレセントリック系ではない。しかし、回折格子を使用するため OST-SPRIS-G と同じ理由で収差補正レンズが必要となる。その他の光学パラメータは OST-SPRIS-G と同じとした。Non-OST-SPRIS-G でも、主光線の物体から対物レンズ主平面までの光路長が物体の位置により異なるので、像面はセンサ面に対し傾くことになる。

#### 4.3.2 数値シミュレーションによる性能比較

OST-SPRIS-G、OST-SPRIS-M 及び Non-OST-SPRIS-G の性能を比較するため、光学ソフトウェア CODE V (Synopsys, Inc., CA) を用いて結像のシミュレーションを行った。図 4.3(a)に物体として用いたテストパターンを示す。テストパターンは、辺の長さ 1 mm の正方形を 2 mm 周期で格子状に配置したものである。図 4.3(b)に OST-SPRIS-G により得られた像を示す。4 つの正方格子のパターンがアスペクト比 1:1 で像歪みなく得られている。FOV は 3.5×3.5 mm である。図 4.3(c)に OST-SPRIS-M により得られた像を示す。正方格子パターンの像のアスペクト比は 2.0:0.65 となった。OST-SPRIS-M のセンサ面に対する像面の傾きにより、y 軸方向の収縮が発生していることが分かる。また、 $y=0$  mm の x 軸とその近傍のみ合焦しており、その他の領域はデフォーカスによる像のボケが発生している。このことから、撮像光学系に像側テレセントリック系を用いただけでは、像歪みとボケは回避出来ず、回折格子が必要なことが分かる。また、仮にイメージセンサを像面に平行に配置しても光学系の横倍率が y 軸方向で変化するため台形歪が残存する。図 4.3(d)には Non-OST-SPRIS-G で得られた像を示す。正方格子パターンの像の中央部付近のアスペクト比は、2.0:0.96 であり、アスペクト比は像高により変化している。既に 4.3.1 節で述べたように、Non-OST-SPRIS-G の場合、物体面から対物レンズの物体側主平面の主光線の光路長が物体の位置により異なるため、像面はセンサ面に一致しない。従って、OST-SPRIS-M と同様に像面のセンサ面に対する傾きによって、像が y 軸方向に収縮する。また、図面の上部及び下部では、デフォーカスにより像がボケる。さらに、台形歪みも発生している。これらの結果から SPRIS に回折格子を用いただけでは像歪みやボケは回避できず、物体側テレセントリックな撮像光学系が不可欠であるということが分かった。

以上の結像シミュレーションにおいて、像の明るさは、ブレード角  $\theta_b = 35^\circ$  の回折格子の回折効率を  $\sim 45\%$ 、ミラーの反射率を  $100\%$  として、グレースケールで表した。すなわち、白が明るく黒が暗い。回折効率は、RCWA (rigorous coupled-wave analysis) 法により、計算を行った。なお物体側テレセントリック系を用いているため、OST-SPRIS-G と OST-SPRIS-M は、FOV 内で輝度の均一性が保たれている。蛇足であるが、OST-SPRIS-M のような従来の SPRIS では、適切な画像処理を行えば、像歪みを除去することが出来る。しかしながら、既に 4.2.2 節で述べたように、最初は光学系により補正を行うのが望ましい。

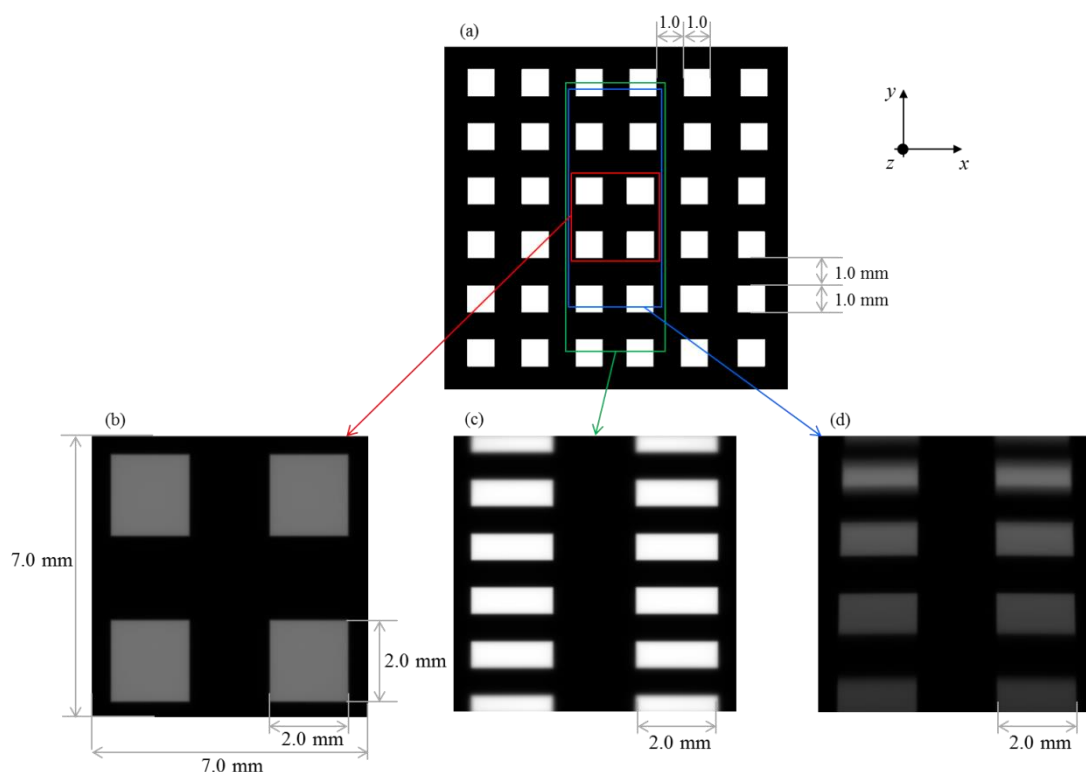


図 4.3 (a) 像シミュレーションに用いた正方格子パターンの物体, (b) OST-SPRIS-G (提案した SPRIS) の像, (c) OST-SPRIS-M の像, (d) Non-OST-SPRIS-G の像.

## 4.4 実験

### 4.4.1 テストチャートによる性能評価

図 4.3 で示した 3 種類の像シミュレーション結果を実際に検証するため、図 4.2 で示した OST-SPRIS-G, OST-SPRIS-M, Non-OST-SPRIS-G の光学系を図 4.1(b)で示した P-SPRIS のセットアップに導入し、撮像実験を行った。比較のため、標準的な顕微鏡用テストチャート (#39-857, negative type, Edmund Optics Inc.) をサンプルとして用いた。そのテストチャートを厚さ  $6\text{ mm}$  の BK7 ガラス基板に密着配置した。光源としてレーザダイオード (波長

$\lambda = 670 \text{ nm}$ , LDM145P/670/1, Imatronic Ltd.) を用い、テストチャートに  $\theta_r = 71^\circ$  で入射させた。テストチャートからの反射光は周期が  $1/1800 \text{ mm}$  の正弦波回折格子 (#43-223, Edmund Optics Inc.) に入射させ、それからの回折光は撮像光学系を透過後、CCD カメラ (BU51-LN,  $1360 \times 1024$  画素, 画素サイズ =  $6.45 \times 6.45 \mu\text{m}$ , ダイナミックレンジ =  $60 \text{ dB}$ , Bitran) で受光し、テストチャートの像を形成させた。ここで、 $f_1 = 75.0 \text{ mm}$ ,  $f_2 = 150.0 \text{ mm}$  とした。収差補正レンズは、非球面レンズの代用品として、入手が容易な  $f = 50 \text{ mm}$  のシリンダリカルレンズを用いた。開口絞りの直径は  $2 \text{ mm}$  とした。

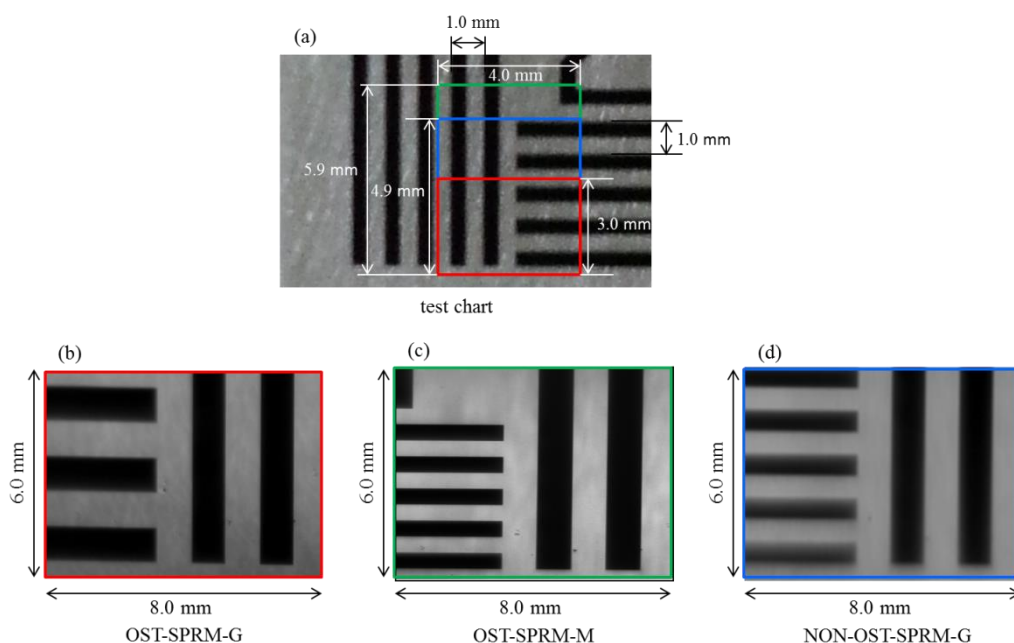


図 4.4 (a) 物体として用いたテストチャート, (b) OST-SPRIS-G により得られた像, (c) OST-SPRIS-M により得られた像, (d) Non-OST-SPRIS-G により得られた像。

図 4.4(a)にテストチャートの写真を示す。ライン幅および間隔の幅はともに  $0.5 \text{ mm}$  である。図 4.4(b)-(d)に OST-SPRIS-G, OST-SPRIS-M 及び Non-OST-SPRIS-G により得られたテストチャートの像をそれぞれ示す。図 4.4(a)に示された赤, 緑, 青の四角の枠は, 図 4.4(b), (c), (d)に対応する撮影エリアである。これらの結果から提案した OST-SPRIS-G は, 数値シミュレーションの結果と同様に良好に機能していることが分かる。図 4.3 と同様に各々の図におけるグレースケールで表される像の明るさは, 回折効率とミラーの反射率を反映している。なお, 図 4.4 に見られる各画像の明るさの不均一性は, 光学系の僅かな調整誤差によるものと考えられる。

#### 4.4.2 マイクロ流路内での2つの溶液の混合過程の観察

原理検証実験として、マイクロ流路内で純水とエタノール・水混合溶液（重量比 4:1）が混合する過程を実際に観測した。溶液混合過程観測の前に OST-SPRIS-G が屈折率測定系として良好に機能するか確認実験を行った。

まず、画像測定の前に、SPR 測定で得られる反射率とサンプルの屈折率の関係を把握しておく必要がある。そこで、測定温度 20°Cにおいて屈折率が既知の種々の濃度の蔗糖水溶液を用意し、通常の SPR 測定を行った。図 4.5 に反射率  $R$  の屈折率  $n$  依存性の測定結果を示す。屈折率  $n$  が 1.333 から 1.380 まで増大するのに伴い、反射率  $R$  は 0.08 から 0.86 まで上昇する。図 4.5 の中の実線は、 $\lambda=670 \text{ nm}$ ,  $\theta_r=71^\circ$  の条件での理論計算を行った結果をプロットしたものである。図 4.5 の結果から上記の屈折率の範囲内で溶液（の混合過程）が観測出来ることが分かった。なお、屈折率の測定範囲は、金の層の厚みを変化させることで広げることができる。具体的には層の厚みを薄くするほど屈折率測定範囲は広くなる。しかしながら、それにつれて共鳴ディップの深さが浅くなり、結果として観測される像のコントラストが低下する。今回の実験では、そのような屈折率測定範囲と像のコントラスト低下のトレードオフを考慮し、金の層の厚さを 50 nm とした。

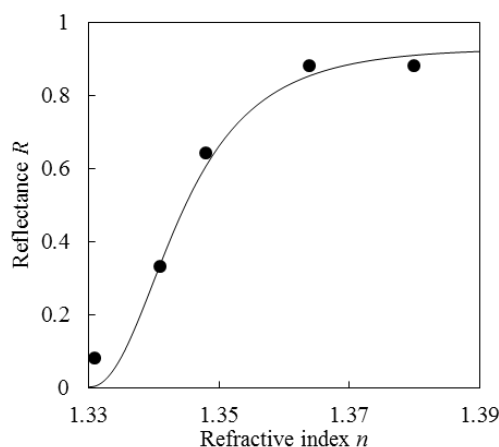


図 4.5 種々の濃度の蔗糖水溶液に対する SPR 測定の反射率  $R$  のサンプル屈折率  $n$  依存性。実線は  $\lambda=670 \text{ nm}$ ,  $\theta_r=71.0^\circ$ , 金の層の厚さ 50 nm での理論計算値を示す。

図 4.6 は、マイクロ流路（BK7, 幅=0.5 mm, 長さ=8.0 mm, 深さ=2.0 mm）を流れる 2 つの液体（純水とエタノール・水混合溶液）の時間  $t$  における反射率分布の像である。ここで、純水 ( $n=1.333$ ) は図の右側から、エタノール・水混合溶液は ( $n=1.345$ ) は図の左側から注入されている。2 つの液体はマイクロ流路に沿って互いに向き合う方向に流れてい

る。マイクロ流路は、UV 効果樹脂 ( $n=1.5$ ) であり、金の層に密着配置させている。  $t=0$  で 2つの液体が流れ始めている。この時点で液体はまだ混合していない。  $t=\Delta t$  では、流路の端において2つの溶液が触れ始めている。それ以降2つの液体が流路内で混合し始める。  $t=100\Delta t$  では、不均一な部分はあるものの2つの液体が混合している。この時の平均屈折率は  $n=1.337$  であった。分解時間  $\Delta t$  は 1/30 秒のフレームレートである。測定した反射率分布像は、図 4.5 に示した  $R$ - $n$  較正曲線を用いて屈折率分布像に変換できる。

OST-SPRIS-G を用いて 30 フレーム/秒の動画撮影に成功した。トリミング処理後の FOV は、  $2.9 \times 1.9$  mm となった。本実験での屈折率分解能は、CCD カメラのダイナミックレンジにより  $\Delta n=2.5 \times 10^{-4}$  に制限されている。しかし、従来の P-SPRIS では、このような広い FOV での撮影は困難である。また、ラインスキャンモードを用いれば FOV を広げることが可能であるが、このようなフレームレートでの撮影は不可能である。従って、提案した OST-SPRIS-G は、広い FOV でのリアルタイム測定が可能な唯一の手法と思われる。

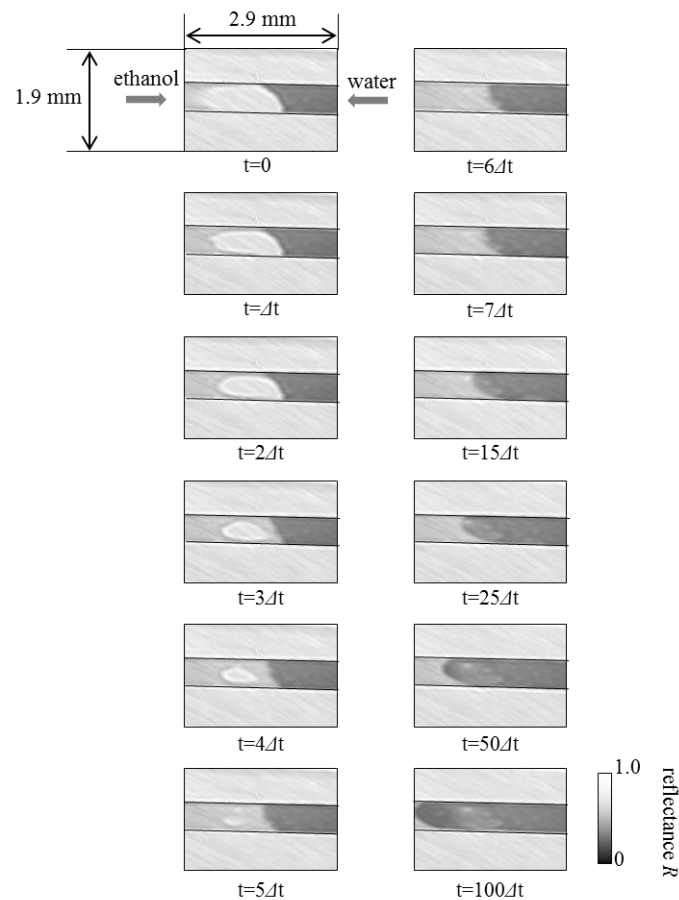


図 4.6 OST-SPRIS-G により、30 フレーム/秒で撮影した、純水とエタノール・水混合溶液の混合過程の画像。ここで、  $t=0$  で水は右側から混合溶液は左側から注入されている。



#### 4.5 考察

ここでは、P-SPRIS の空間分解能とそれに関連する事項について考察する。従来の P-SPRIS の空間分解能は表面プラズモンの伝搬長により制限されており、それは数十  $\mu\text{m}$  である[11]。適切な金属と波長を選択することによって、その伝搬長を短くし空間分解能を改善する研究がいくつかなされているが[12,13]、本質的な問題である Scheimpflug の原理によって引き起こされる像歪みとボケの問題を解決しない限り、広い FOV で高分解能化は達成され得ない。また、過去に報告された FOV は通常タイプでは、高々数百  $\mu\text{m}$  程度であり、さらに FOV と分解能を同時に向上させるためには、測定に時間がかかるラインスキャンモードを採用せざるを得ない [10]。OST-SPRIS-G は、像歪みとボケの問題が解決でき、結果として FOV を拡大できるが空間分解能がさほど高くない（理論値：約 30  $\mu\text{m}$ 、実験値：数百  $\mu\text{m}$ ）という問題がある。この低分解能の理由は、設計においてはテレセントリック光学系の像側 NA を小さくせざるを得ない ( $\sim 0.013$ ) ということに起因し、実験においては収差補正レンズの代用品としてシリンダリカルレンズを用いたことにある。

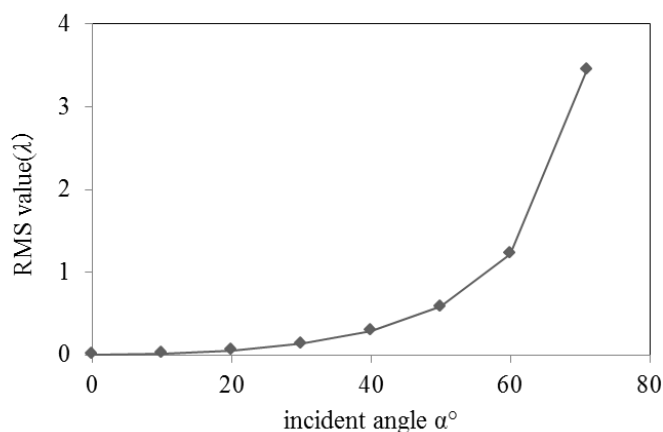


図 4.7 OST-SPRIS-G の波面収差の RMS 値(@ $\lambda=670\text{ nm}$ )の入射角  $\alpha$  依存性.

以下では、OST-SPRIS-G の分解能を向上させ性能をさらに改善することについて検討を加える。図 4.7 は OST-SPRIS-G における波面収差 RMS (root-mean-square) 値の回折格子への主光線の入射角  $\alpha$  ( $=\theta_r$ ) 依存性をプロットしたものである。この結果は収差補正レンズを用いない光学系に対する数値計算の結果である。ここで、入射角  $\alpha$  に対応する回折格子の周期  $d$  は式(4.3)により決定される。図 4.7 より、RMS 値は  $\alpha$  の増加とともに著しく増加することが分かる。RMS 値があまり大きくなり過ぎると、もはや収差補正レンズを用いたとしてもその補正が困難となる。そのため収差の少ない (RMS 値の小さい) 光学システムを実現するためには、できるだけ  $\alpha$  の値を小さくすべきである。式(4.1)より、 $\alpha$  の値

を小さくするためには、 $\epsilon_p$ の値が大きなプリズムを使用すればよいことが分かる。それ故、ここでは、ガラス基板の材質として、高誘電率ガラスとして知られている K-LaSF<sub>n</sub>22 ( $\epsilon_p=3.57$ , 住田光学) を用いて OST-SPRIS-G を設計した。その結果、 $\theta_r = \alpha = 50^\circ$ ,  $NA = 0.033$  で、分解能は  $\sigma = 12.4 \mu\text{m}$  まで改善できる。この時の RMS 値は、Maréchal 基準である  $0.07 \lambda$  より小さく、解像限界の性能が得られている。以上の検討で得られた分解能  $\sigma = 12.4 \mu\text{m}$  は、文献 12,13 及び OB-SPRIS[7-9]の分解能  $\sigma \approx 1 \mu\text{m}$  には依然として及ばない。しかしながら、提案した OST-SPRIS-G は、これらのシステムに比べ、非常に広い FOV での撮影をスキヤニング無しで可能とし、高フレームレートでの動画の取得も容易に行える。

#### 4.6 結言

従来の P-SPRIS における、物体面が撮像光学系の光軸に対し傾いていることによって発生する像歪みとボケの問題を解決するため、反射型回折格子と物体側テレセントリックな撮像光学系を導入した新たな P-SPRIS (OST-SPRIS-G) を提案した。数値シミュレーションを通して OST-SPRIS-G の光学システム的设计手法を示した。また、OST-SPRIS-G の従来タイプの P-SPRIS に対する優位性を示すため基礎的な比較実験を行った。最後に OST-SPRIS-G を使ってマイクロ流路内での純水とエタノール・水混合溶液の混合過程を 30 フレーム/秒で観測した。

#### Appendix

提案した OST-SPRIS-G では、原理的に像歪みとボケの問題を解決できたが、回折格子を光学系に導入することで、新たに収差の問題が発生した。この原因は、回折格子に入射する光線の入射角  $\alpha$  と  $\beta$  の関係が式(4.2)にしたがうため、物点から出射し回折格子で回折された光線を逆追跡しても 1つの点に収斂しないためである。これに対し、OST-SPRIS-M では、 $\beta$  の値の絶対値は常に  $\alpha$  の値に等しいので、このような収差は発生しない。それ故に、OST-SPRIS-M を除いた光学系には収差補正レンズが必要となる。

OST-SPRIS-G での収差補正レンズの機能について詳細に説明する。まず、光学ソフトウェア CodeV により、図 4.2(a)に示す OST-SPRIS-G から収差補正レンズを除去した光学系の波面収差  $W(x,y)$  を計算後、 $W(x,y)$  を Zernike 多項式で近似した。Zernike 多項式は極座標系 ( $\rho, \theta$ ;  $0 \leq \rho \leq 1, 0 \leq \theta \leq 2\pi$ ) で定義され式(4.A.1)及び式(4.A.2)で与えられる。

$$\begin{aligned}
 W(x, y) &= W(\rho \sin \theta, \rho \cos \theta) = W(\rho, \theta) \\
 &= \sum_{n=0}^k \sum_{m=0}^k A_{nm} \cdot R_n^{n-2m}(\rho) \cdot \begin{cases} \cos|n-2m|\theta & \text{for } n-2m > 0 \\ \sin|n-2m|\theta & \text{for } n-2m < 0 \end{cases} \quad (4.A.1)
 \end{aligned}$$

$$R_n^{n-2m}(\rho) = \sum_{s=0}^m (-1)^s \frac{(n-s)! \rho^{n-2s}}{s!(m-s)!(n-m-s)!} \quad (4.A.2)$$

ここで、 $A_{nm}$  は、 $(n,m)$  次の Zernike 係数である。  $W$  と  $A_{nm}$  の単位は波長  $\lambda$  ( $=670$  nm) である。  $W$  の計算は、  $\lambda=670$  nm の単色光で行った。 表 4.A.1 に非点収差とコマ収差に相当する Zernike 係数を示す。 収差補正レンズがない場合、 OST-SPRIS-G の非点収差とコマ収差の Zernike 係数は、それぞれ  $2.8\lambda$ 、  $0.16\lambda$  と大きな値となる。 波面収差  $W(x,y)$  の RMS 値は、  $3.4\lambda$  以上である。 この収差を補正するために図 4.2(a)に示したような、 収差補正レンズの導入が必要である。 ここで、 収差補正レンズの材質は BK7 とした。

次に、 収差補正レンズの形状について説明する。 入射面は  $y$  軸方向にのみパワーを持つ非球面であり、 主にコマ収差を補正する。 非球面の形状は式(4.A.3)で与えられる。

$$z(y) = (2.519 \times 10^{-3})y^3 + (5.827 \times 10^{-4})y^4. \quad (4.A.3)$$

ここで、  $z$  (mm)は、 光軸から  $y$  (mm)における面のサグ量である。 一方出射面は、  $y$  軸方向にのみ分解パワーを有するシリンダリカル凹面であり、 主に非点収差を補正する。 曲率半径は  $27$  mm とした。

表 4.A.1 OST-SPRIS-G の Zernike 係数 (収差補正レンズを用いない場合) .

Order $n$	Order $m$	Polynomial	Meaning	$A_{nm}$ (waves at 670 nm) image height $= (0,-3)$	$A_{nm}$ (waves at 670 nm) image height $= (0,0)$	$A_{nm}$ (waves at 670 nm) image height $= (0,3)$
2	0	$\rho^2 \cos 2\theta$	Astigmatism, Primary (axis at $x$ or $y$ )	2.8217	2.8313	2.8364
3	2	$(3\rho^3 - 2\rho)\sin\theta$	Coma, Primary ( $y$ -axis)	0.1613	0.1684	0.1735
4	1	$(4\rho^4 - 3\rho^2)\cos 2\theta$	Astigmatism, Secondary (axis at $x$ or $y$ )	0.0068	0.0086	0.01

表 4.A.2 OST-SPRIS-G の Zernike 係数 (収差補正レンズを搭載した場合) .

Order $n$	Order $m$	Polynomial	Meaning	$A_{nm}$ (waves at 670nm) image height = $(0,-3)$	$A_{nm}$ (waves at 670nm) image height = $(0,0)$	$A_{nm}$ (waves at 670nm) image height = $(0,3)$
2	0	$\rho^2 \cos 2\theta$	Astigmatism, Primary (axis at $x$ or $y$ )	0.0005	0.0188	0.0067
3	2	$(3\rho^3 - 2\rho) \sin \theta$	Coma, Primary ( $y$ -axis)	0.0147	0.0015	0.0088
4	1	$(4\rho^4 - 3\rho^2) \cos 2\theta$	Astigmatism, Secondary (axis at $x$ or $y$ )	0.0026	0.0041	0.0052

表 4.A.2 に収差補正レンズを搭載した OST-SPRIS-G の Zernike 係数を示す. 表 4.A.1 に比べ, 非点収差及びコマ収差の係数が著しく減少しており, 収差補正レンズによりこれらの収差が良好に補正されていることが分かる. 波面収差  $W(x,y)$  の RMS 値は  $0.035 \lambda$  となった. なお光源からの光のスペクトル幅が  $1 \text{ nm}$  とすると, 回折格子の波長分散の影響で波面収差は約 20 倍劣化するが, 必要に応じて狭帯域 He-Ne レーザを用いるか, あるいは光源の後にエタロン板を配置しスペクトルを狭帯域化することでそのような問題は解決できる.

## 参考文献

- [1] S. Löfås, M. Malmqvist, I. Rönnerberg, and E. Stenberg, “Bioanalysis with Surface Plasmon Resonance”, *Sensors and Actuators B* 5 (1991) 79.
- [2] P. S. Vukusic, G. P. Bryan-Brown, and J. R. Sambles, “Surface Plasmon Resonance on Gratings as a Novel Means for Gas Sensing”, *Sensors and Actuators B* 8 (1992) 155.
- [3] B. P. Nelson, T. E. Grimsrud, M. R. Liles, R. M. Goodman, and R. M. Corn, “Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of DNA and RNA Hybridization Adsorption onto DNA Microarrays”. *Analytical Chemistry* 73 (2001) 7.
- [4] H. J. Lee, D. Nedelkov, and R. M. Corn, “Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of Antibody Arrays for the Multiplexed Detection of Low Molecular Weight Protein Biomarkers”, *Analytical Chemistry* 78 (2006) 6504.
- [5] E. A. Smith, W. D. Thomas, L. L. Kiessling, and R. M. Corn, “Surface Plasmon Resonance Imaging Studies of Protein-Carbohydrate Interactions”, *Journal of The American Chemical Society* 125 (2003) (20), 6140.
- [6] Y. Iwasaki, T. Tobita, K. Kurihara, T. Horiuchi, K. Suzuki, and O. Niwa, “Imaging of Flow Pattern in Micro Flow Channel Using Surface Plasmon Resonance”, *Measurement Science Technology* 17(2006) 3184.
- [7] G. Stabler, M. G. Somekh, and C. W. See, “High-Resolution Wide-Field Surface Plasmon Microscopy”, *Journal of Microscopy* 214 (2004) 328.
- [8] J. Zhang, C. W. See, M. G. Somekh, M. C. Pitter, and S. G. Liu, “Wide-Field Surface Plasmon Microscopy with Solid Immersion Excitation”, *Applied Physics Lett.* 85 (2004) 5451.
- [9] L. Berguiga, S. Zhang, and F. Argoul, “High-Resolution Surface-Plasmon Imaging in Air and in Water:  $V(z)$  Curve and Operating Conditions”, *Optics Letters* 32 (2007) No. 5, 509.
- [10] L. Laplatine, L. Leroy, R. Calemczuk, D. Baganizi, P. N. Marche, Y. Roupioz, and T. Livache, “Spatial Resolution in Prism-Based Surface Plasmon Resonance Microscopy”, *Optics Express* 22 (2014) 22771.
- [11] E. M. Yeatman, “Resolution and Sensitivity in Surface Plasmon Microscopy and Sensing”, *Biosensors and Bioelectronics* 11 (1996) 635.
- [12] C. E. H. Berger, R. P. H. Kooyman, and J. Greve, “Resolution in Surface Plasmon Microscopy”, *Review of Scientific Instruments* 65 (1994) 2829.
- [13] A. W. Peterson, M. Halter, A. Tona, K. Bhadriraju, and A. L. Plant, “Surface Plasmon Resonance Imaging of Cells and Surface-Associated Fibronectin”, *BMC Cell Biology* 10:16 (2009) 1.

- [14] P. Ott, “Imaging with Tilted Surfaces: an Efficient Matrix Method for the Generalized Scheimpflug Condition and Its Application to Rotationally Symmetric Triangulation”, *Journal of the Optical Society of America A* 22 (2005) 2077.
- [15] K. Ichihashi, T. Maehara, Y. Mizutani, and T. Iwata, “Optical Design and Numerical Simulations for an Object-Side-Telecentric Surface-Plasmon-Resonance Microscope with a Diffraction Grating”, *Proceedings of ODF’16*, 2016, 1S4-08.
- [16] A. Maréchal, “Review Optics”, 26 (1947) 257.
- [17] M. Born, and E. Wolf, “in *Principles of Optics* 7<sup>th</sup> (expanded) Edition”, Cambridge University Press (1999) Chap. 9, p. 523.

## 5章 総括

本論文では、回折格子結合型表面プラズモン共鳴センサとプリズム結合型表面プラズモン共鳴イメージングセンサの性能改善について論じた。各章の結論を以下に示す。

第1章では、表面プラズモン共鳴 (SPR; surface plasmon resonance) センサ (SPRS; SPR sensor) と表面プラズモン共鳴イメージングセンサ (SPRIS; SPR imaging sensor) の概要と課題及びこれまでの研究状況について整理を行い、本研究の位置づけを明確にした上で研究目的を述べた。

第2章では、高感度な回折格子結合型表面プラズモン共鳴センサ (G-SPRS; grating coupling-based SPRS) を提案した。そこでは、測定感度を増大させるため、角度スペクトルの中の符号の異なる2つの次数の回折光による SPR ディップの位置がサンプルの屈折率変化に伴い互いに逆方向の角度にシフトすることを利用し、それらを差動測定する方式を提案した。さらに G-SPRS の精度を向上させるため、RCWA 法を用いて、矩形回折格子のフィルファクタを最適化した。数値シミュレーションの結果、提案した G-SPRS の感度が、従来方式の1つの SPR ディップを用いる方式のそれと比較して3倍以上向上できることを示した。

第3章では、2章で述べた差動方式の G-SPRS にさらに改良を加えた G-SPRS の提案を行った。ここでは、液体サンプルの測定を目的とし、液浸レンズを用いて、 $\pm 1$  次回折光による SPR ディップを含む広範囲の角度スペクトルを同時に測定する方式を提案した。その結果、角度感度は従来の G-SPRS と比較して 4.8 倍、従来のプリズム結合型表面プラズモン共鳴センサ (P-SPRS; prism coupling-based SPRS) と比較して 2.0 倍向上することを示した。また性能指数  $Q$  も従来の G-SPRS と比較して 2.8 倍、P-SPRS に対しては 1.8 倍向上することを確認した。この提案方式では正確な光学設計が特に重要となるのであるが、それを示すため厳密な光学設計の例を提示した。このような高感度な G-SPRS は、フローサイトメトリーや高速液体クロマトグラフィーの分野での屈折率検出器として、及び創薬分野における低分子をアナライトとした相互作用測定や、環境分野での農薬や毒物のセンシング等においても有効な分析機器ツールの一つになることが期待される。

第4章では、プリズム結合型表面プラズモン共鳴イメージングセンサ (P-SPRIS; prism based-SPR imaging sensor) における本質的な問題点、すなわち、Scheimpflug の原理によって発生する像面の傾きによる像歪みとボケを解決する反射型回折格子と物体側テレセントリックな撮像光学系を導入した新たな P-SPRIS (OST-SPRIS-G; object telecentric system SPRIS with grating) を提案した。まず、数値シミュレーションを通して OST-SPRIS-G の光学システムの設計手法を示し、従来タイプの P-SPRIS に対する OST-SPRIS-G の優位性を示したのち、水とエタノール-水混合溶液の混合過程を 30 フレーム/秒で観測できることを示した。

図 5.1, 図 5.2 は, それぞれ第 1 章で示した SPRS と SPRIS の分類における本研究の位置づけの再掲である. 図中の下線部が本研究で提案した手法である.

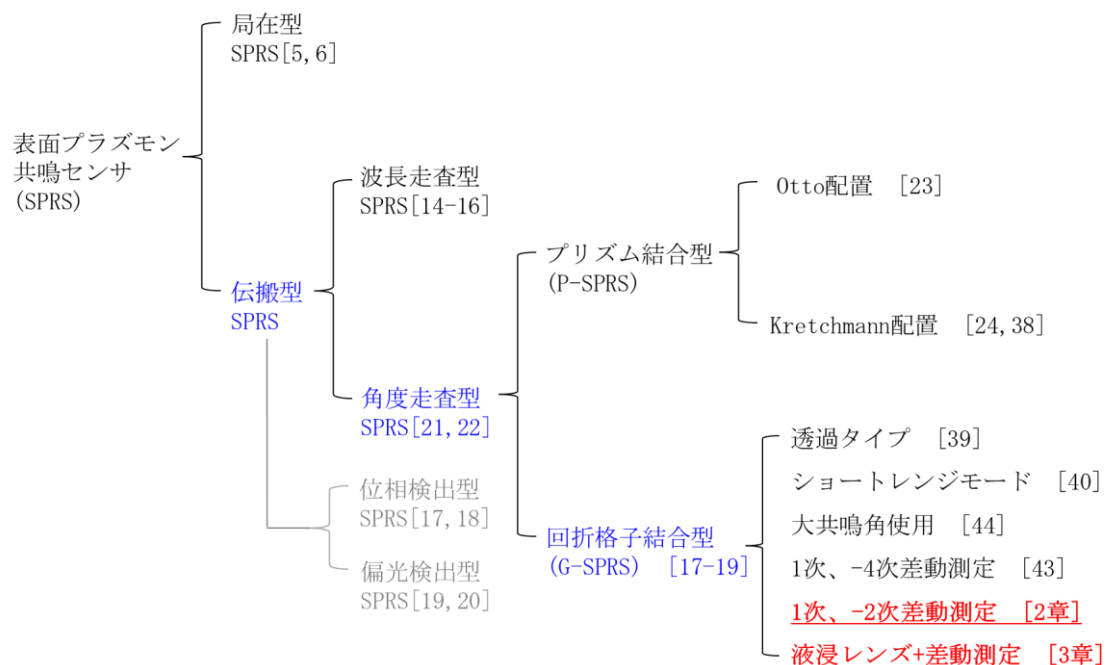


図 5.1 表面プラズモン共鳴センサ (SPRS) の分類における本研究の位置づけ.



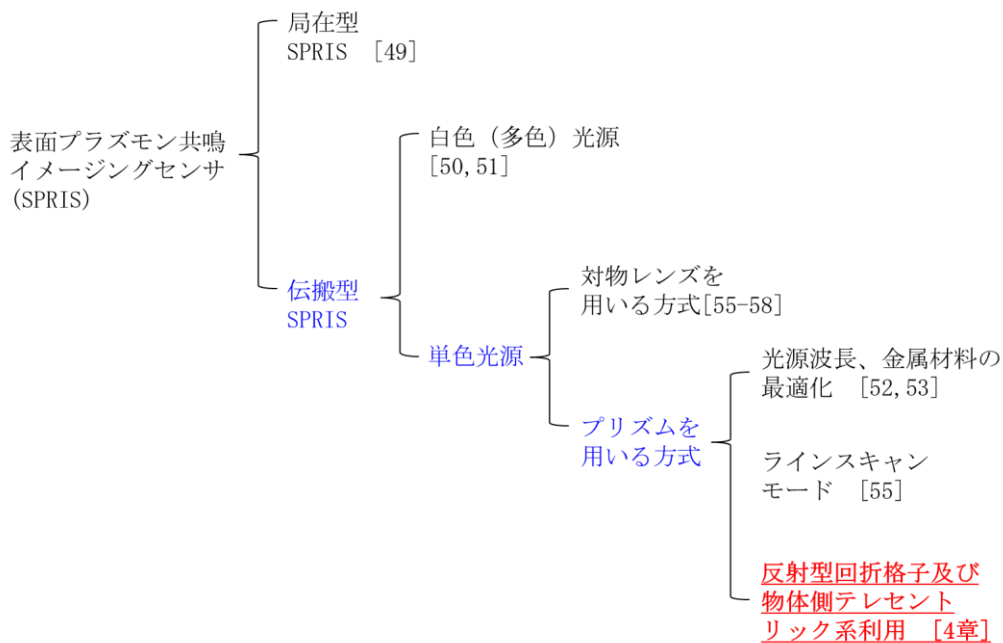


図 5.2 表面プラズモン共鳴イメージングセンサ(SPRIS)の分類における本研究の位置づけ.

本提案手法の今後の展望としては、次の 2 つが考えられる。1 つ目は、3 章で提案した G-SPRS の具現化及びさらなる高感度化の検討、2 つ目は、4 章で提案した P-SPRIS 高解像度化である。

3 章で提案した G-SPRS を実現するためには、専用の非球面レンズが必要であることや、測定の度に液浸レンズの交換又は洗浄が必要であるといった、従来の G-SPRS にはない新たな問題点もある。しかし、提案した G-SPRS の、高感度なセンシング能力は、化学・創薬・環境分野において重要なツールになる可能性を秘めている。ここでは、測定パラメータとして角度を用いたが、位相検出[1, 2]やエリプソメトリの手法[3-5]を適用することでさらなる高感度化の可能性を秘めている。

4 章で提案した P-SPRIS に関しては、10 mm<sup>2</sup> 以上の FOV で 2 次元画像がリアルタイムで、観測できるツールとして期待できる。今後は、専用の光学系の適用及び高屈折率プリズムの使用等の実機による検証が望まれる。

## 参考文献

- [1] HP Chiang, JL Lin, R Chang, SY Su, and PT Leung, “High-Resolution Angular Measurement Using Surface-Plasmon-Resonance via Phase Interrogation at Optimal Incident Wavelengths”, *Optics letters* 30 (2005) 2727.
- [2] TC Peng, WC Lin, CW Chen, DP Tsai, and HP Chiang, “Enhanced Sensitivity of Surface Plasmon Resonance Phase-Interrogation Biosensor by Using Silver Nanoparticles”, *Plasmonics* 6 (2011) 2.
- [3] T. Iwata, and S. Maeda, “Simulation of an Absorption-Based Surface-Plasmon Resonance Sensor by Means of Ellipsometry”, *Applied Optics* 46 (2007) 1575.
- [4] T. Iwata, and Y. Mizutani, “Ellipsometric Measurement Technique for a Modified Otto Configuration Used for Observing Surface-Plasmon Resonance”, *Optics Express* 18 (2010) 14480.
- [5] N. Taki, Y. Mizutani, T. Iwata, T. Kojima, H. Yamamoto, and T. Kozawa, “Optical Trapping of Nanoparticles on a Silicon Subwavelength Grating and Their Detection by an Ellipsometric Technique”, *International Journal of Optomechatronics* 10 (2016) 24.

本研究に関する公表論文

## 第2章

1. Kouki Ichihashi, Ysuihiro Mizutani, and Tetsuo Iwata, “Enhancement of the Sensitivity of a Diffraction-Grating-Based Surface Plasmon Resonance Sensor Utilizing the First- and Negative-Second-Order Diffracted Lights”, *Optical Review*, Vol. 21, Page 728-731, September, 2014.

## 第3章

2. Kouki Ichihashi, Tomoyuki Maehara, Yasuhiro Mizutani, and Tetsuo Iwata, “Proposal of a New Optical System for Prism-Based Surface-Plasmon-Resonance Imaging”, *Optical Review*, Vol. 24, Page 156-164, April, 2017.

## 第4章

3. Kouki Ichihashi, and Tetsuo Iwata, “Numerical Simulation of a Metal Diffraction Grating-Based SPR Sensor with a Water-Immersion Lens”, *Optical Review*, Vol. 24, Page 668-676, December, 2017.

本研究に関する学会発表

## 第2章

[国際学会]

1. Kouki Ichihashi, Yasuhiro Mizutani, Tetsuo Iwata, “Enhancement of the Sensitivity of a Diffraction Grating-Based Surface-Plasmon-Resonance Sensor Utilizing Two Opposite-Signed Different Diffraction Orders”, 9th International Conference on Optics-photonics Design & Fabrication, Itabashi (Japan), 13PSb-43, 2014.2.

[国内学会]

2. 市橋宏基, 水谷康弘, 岩田哲郎, 「グレーティング結合型表面プラズモン共鳴センサーの高感度化」, Optics & Photonics Japan 2014, 奈良, 13pP1, 2013.11.

## 第4章

[国際学会]

3. Kouki Ichihashi, Tomoyuki Maehara, Yasuhiro Mizutani, Tetsuo Iwata, “Optical Design and Numerical Simulation for an Object-Side-Telecentric Surface-Plasmon-Resonance Microscope with a Diffraction Grating”, 10th International Conference on Optics-photonics Design & Fabrication, Weingarten (Germany), 1S4-08, 2016.3.

その他の表面プラズモンセンサに関する学会発表

[国際学会, 非筆頭]

1. Tomoyuki Maehara, Kouki Ichihashi, Yasuhiro Mizutani, Tetsuo Iwata, “Development of Surface Plasmon Resonance Microscope with Gratings for Nanocomposite Dispersion State Observation”, 14th euspen International Conference, Dubrovnik (Croatia), P4.21, 2014.6.

[国内学会, 非筆頭]

2. 前原知佑, 市橋宏基, 水谷康弘, 岩田哲郎, 「グレーティング結合型 SPR センサによる屈折率の高精度測定」, Optics & Photonics Japan 2015, 東京, G082P29, 2015.10.

## 謝辞

本研究を進めるにあたり，終始懇切丁寧なご指導を賜りました徳島大学大学院社会産業理工学研究部岩田哲郎教授に感謝致します。教授の指導なくして本研究をとりまとめる事はできませんでした。深く感謝の意を表しますとともに厚くお礼申し上げます。

本学大学院社会産業理工学研究部安井武史教授，ならびに原口雅宣教授には，本論文の内容についてご検討いただくとともに，貴重なご教示を賜りました。ここに感謝の意を表し，厚くお礼申し上げます。

大阪大学工学研究科水谷康弘准教授には，徳島大学に在籍しておられた間に指導していただきました。ここに感謝の意を表し，厚くお礼申し上げます。

本学工学部機械工学科光応用計測研究室の学生諸氏には，本研究を進めるにあたり多大な協力を頂きました。特に，前原知佑氏（同研究室，2016年修士課程修了）には，本研究の要となる実験結果の収集やとりまとめにおいてご助力を頂きました。ここに感謝の意を表し，厚くお礼申し上げます。

最後に，博士後期課程への進学を快く承諾し，応援し続けてくれた妻市橋美穂氏をはじめとする家族に深く感謝致します。

平成 30 年 3 月吉日

市橋宏基