周波数領域四光波混合分光法による 蛍光除去ラマンスペクトルの測定

平 位 和 也*・花 田 啓 明*・木 下 修 一**

*大阪大学大学院理学研究科物理学専攻 豊中市待兼山町 1-1 (〒560-0043)

**大阪大学大学院生命機能研究科 豊中市待兼山町 1-1 (〒560-0043)

(2003年 4 月 23 日 受理)

Fluorescence-Rejected Raman Spectroscopy using Frequency-Domain Four-Wave-Mixing

Kazuya HIRAI*, Hiroaki HANADA*, and Shuichi KINOSHITA**

*Department of Physics, Graduate School of Science, Osaka University,
Toyonaka, Osaka 560-0043, Japan

**Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University,
Toyonaka, Osaka 560-0043, Japan

(Received April 23, 2003)

A new fluorescence-rejected Raman spectroscopy using frequency-domain four-wave-mixing is demonstrated. This method utilizes a broadband light pulse created by continuum generation as one of two pump pulses and a quasi-CW pulse with narrow bandwidth as a probe pulse. The resulting signal is spectrally analyzed by a monochromator-CCD detector combination. Owing to nonlinear character of this method with spatial discrimination of Raman signal from fluorescence, it is possible to measure Raman signal under fluorescent contamination, the limiting concentration of which is about 1,000 times higher than that obtained by ordinary Raman spectroscopy.

Keywords: frequency-domain four-wave-mixing, fluorescence rejection, Raman scattering, rhodamine, femtosecond spectroscopy

1. はじめに

光散乱分光法は物質のミクロな性質を調べる手法として古くから知られている方法である。その中でも1928年に Raman と Krishnan によって発見されたラマン散乱¹⁻³⁾は、分子構造の研究にさかんに用いられてきた。光が物質に入射すると光の電場により分子の電子雲が歪み、振動する双極子モーメントが誘起される。このとき、分子を構成している原子が振動すると誘起された双極子モーメントに変調が与えられる。ラマン散乱は変調を受けた振動分極が入射光とは異なる周波数の光を放射する現象である。ラマン散乱の測定は、レーザー光を励起光源として用い、試料からの散乱光を分光器によって分光し、光電子増倍管や CCD 検出器により計測するという方法が一般的にとられている。散乱光の強度や偏光特性を調べることによって、

分子の振動状態や電子状態、あるいは固体や液体中での原子・分子の協同的な運動などを調べることができる。

一方、1960年代初めのレーザーの発明以後、非線形光学効果を用いた新しいラマン散乱の測定手法も開発されてきた。このうち3次の非線形分光法では、コヒーレント反ストークスラマン分光法 (Coherent Anti-Stokes Raman Spectroscopy: CARS)、誘導ラマン利得分光法 (Stimulated Raman Gain Spectroscopy: SRGS)、逆ラマン分光法 (Inverse Raman Spectroscopy: IRS)、光カー効果分光法 (Optical Kerr Effect Spectroscopy: OKE) など、いくつかの方法が確立されている⁴⁾。これらはいずれも物質にパルス光を入射して3次の非線形分極を生じさせ、発生する信号光を観測する。これらの分光法は1本あるいは2本のポンプ光を試料に入射し、誘導ラマン散乱によって物質中のラマン活性な振動を励起し、もう1本の光 (プロー

ブ光)を入射することによって生じる光散乱を観測していると考えることができ、本質的に通常のラマン散乱と同一の現象に基づいている。

我々のグループでは、以前から3次の非線形感受率を測定する手法の一つとして、プローブ光にスペクトル幅の狭いパルス光を用い、信号光を直接分光してそのスペクトルを測定する、周波数領域四光波混合 (FD-4WM) 分光法の開発・研究を行ってきた^{5,6)}。我々の実験では、2本のポンプ光に時間幅100フェムト秒程度のパルス光を、プローブ光に時間幅10ナノ秒程度のパルス光を用いている。プローブ光はポンプ光に比べて時間幅が十分に長く、スペクトル幅は 1 cm^{-1} 程度である。3本のパルス光のタイミングを合わせて試料に入射することにより、3次の非線形分極を生じさせ、発生する信号光を分光し、CCD検出器を用いてラマンスペクトルの測定を行なっている。

今回、我々は2本のポンプ光のうち一方を白色の超短パルスにして波長範囲を広げることによって、広いエネルギー範囲の振動モードを一度に励起し、1分以内という非常に短い時間でラマン散乱スペクトルの測定ができるようにFD-4WMの改良を行なった。また、信号光がビーム状に放出されることを利用し、従来ラマン散乱スペクトルの測定の際に大きな障害となっていた蛍光を空間的に除去する試みを行ない、通常のラマン散乱で測定できる限界の約1000倍の濃度の色素を含んだ溶液のラマンスペクトルを測定することに成功した。

2. 周波数領域四光波混合 (FD-4WM) の原理

物質中に光が入射したとき、電場があまり強くない場合には、物質の n 次の電気感受率を $\chi^{(n)}$ として

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

で表される分極が生じる。四光波混合分光法は、この中の $\chi^{(3)}$ に関係した現象である。

四光波混合を直感的に理解するために、過渡格子という考え方をを用いることが多い。物質に入射する3本の光を、2本のポンプ光と1本のプローブ光に分けて考える。今、物質に

$$\mathbf{E}_j(\mathbf{r}, t) = \mathbf{E}_j(t) e^{-i(\mathbf{k}_j \cdot \mathbf{r} - \omega t)} + \mathbf{E}_j^*(t) e^{i(\mathbf{k}_j \cdot \mathbf{r} - \omega t)}, \quad j=1, 2 \quad (1)$$

で表される2本のパルス光が入射したとすると、物質中で

$$\mathbf{E}_1(t) \mathbf{E}_2^*(t) e^{-i(\Delta \mathbf{k} \cdot \mathbf{r} - \Delta \omega t)} + \mathbf{E}_1^*(t) \mathbf{E}_2(t) e^{i(\Delta \mathbf{k} \cdot \mathbf{r} - \Delta \omega t)} \quad (2)$$

で表される電場強度の空間分布が生じる。ここで、 $\Delta \mathbf{k} = \mathbf{k}_1 - \mathbf{k}_2$ 、 $\Delta \omega = \omega_1 - \omega_2$ である。今、ポンプ光の波長を $\lambda_1 = \lambda_2$ として、2本のポンプ光の交差角度を 2θ とすると、これによって生じる過渡格子の格子間隔は $\Lambda = \lambda_1 / (2 \sin \theta)$ で表される。光強度の強い場所では光と物質が強く相互作用し、過渡的な屈折率変化を生じるので、同じ間隔の過渡格子が空間的にパターンとして存在すると考えられる。ここにBraggの回折条件 ($\sin \phi = (\lambda_3 / \lambda_1) \sin \theta$) を満たす角度でプローブ光 $\mathbf{E}_3(\mathbf{r}, t)$ を入射すると、この過渡格子によって位相整合条件とエネルギー保存則 ($\mathbf{k} = \mathbf{k}_3 - \mathbf{k}_2 + \mathbf{k}_1$, $\omega = \omega_3 - \omega_2 + \omega_1$) を満たす方向に光が回折される。この回折光を信号として検出するのが四光波混合分光法である。

2本のポンプ光の波長が異なる場合には、 $\Delta \omega$ がゼロでないため、 $\exp[-i(\Delta \mathbf{k} \cdot \mathbf{r} - \Delta \omega t)]$ の式に従って、速さ $\Delta \omega / |\Delta \mathbf{k}|$ で過渡格子は伝播する。このとき、プローブ光 ω_3 を入射するとドップラー効果により、 $\omega_3 + \Delta \omega$ または $\omega_3 - \Delta \omega$ で与えられる周波数シフトをうける。このとき入射光と回折光の振動数が異なるため、先と同じくエネルギー保存と運動量保存が成り立つために、ポンプ光に周波数差がないときと比べて入射角を少しずつずらす必要がある。その角度は、振動数シフトが $\Delta \omega$ の時は、

$$\Delta \phi \simeq \frac{\Delta \omega}{2\omega_1} \left\{ \left(\frac{n_1 \omega_1}{n_3 \omega_3} \sin \theta - \frac{n_3}{n_1 \sin \theta} \right) \frac{1}{\sqrt{1 - \left(\frac{\omega_1}{\omega_3} \right)^2 \sin^2 \theta}} + \cot \theta \right\}$$

で与えられる⁶⁾ (ここで n_1, n_2, n_3 は物質の屈折率を、 θ, ϕ はそれぞれポンプ光、プローブ光の入射角度を表す; Fig. 1参照)。

FD-4WMに関する3次の非線形分極

$$P_j^{(3)}(\mathbf{r}, t) = \sum_{klm} e^{i(\omega t - \mathbf{k} \cdot \mathbf{r})} E_{3k} \int_0^\infty \int_0^\infty dt' dt'' \chi_{jklm}^{(3)}(t', t'') E_{1l}(t - t' - t'') E_{2m}^*(t - t' - t'' - t_{12}) \times e^{-i\omega t' - i(\omega_1 - \omega_2)t'' - i\omega_2 t_{12}}$$

は、線形応答理論を用いて

$$P_j^{(3)}(t) = \sum_{klm} E_{3k} e^{i\omega_3 t} \int_{-\infty}^t dt' R_{jklm}(t-t') E_{1l}(t') E_{2m}^*(t'-t_{12}) e^{-i(\omega_1-\omega_2)t' - i\omega_2 t_{12}}$$

と書き直すことができる⁷⁾。ここで、 $R_{jklm}(t)$ は物質の応答関数で、2本のポンプ光は電子的には非共鳴条件で入射されているとし、 $\mathbf{k} = \mathbf{k}_3 - \mathbf{k}_2 + \mathbf{k}_1$ の方向の光だけを検出するとした。また、 $\omega = \omega_3 - \omega_2 + \omega_1$ で、ポンプ光が物質に入射する時間差を t_{12} とした。FD-4WM では、3次の非線形分極から発生される光のスペクトルを測定するので、信号光のスペクトルはウィナー・ヒンチンの定理より

$$S(\Delta\omega) = \int d\tau \left\langle \sum_j P_j^*(t) P_j(t+\tau) \right\rangle e^{-i(\omega_3 + \Delta\omega)\tau}$$

となり、ポンプ光・プローブ光・検出系に適当な偏光条件を選べば、

Fig. 1 Concept of a transient grating method.

$$S_{jklm}(\Delta\omega; t_{12}) = |E_{3k}|^2 |\bar{R}_{ijkl}(\Delta\omega)|^2 \bar{G}_{12m}^{(2)}(\Delta\omega - \omega_2 + \omega_1; t_{12})$$

と表される⁶⁾。ただし、チルダはフーリエ変換されていることを表す。また、 $G_{12m}^{(2)}(\Delta\omega - \omega_2 + \omega_1; t_{12})$ は2本のポンプ光の相互相関関数で

$$G_{12m}^{(2)}(\Delta\omega - \omega_2 + \omega_1; t_{12}) = \langle E_{2m}(t_{12}) E_{1l}^*(0) E_{1l}(\tau) E_{2m}^*(\tau + t_{12}) \rangle$$

と表される。

今回の実験では片方のポンプ光を白色光にしてあるため、波長の異なる任意の光振動数の対による無数の過渡格子が生じる。これらは(2)式より時間的に移動する。ここで共鳴励起に関与しない過渡格子は急速に減衰していく。一方この振動数差が物質の固有振動数と一致すると、その振動モードがコヒーレントに共鳴励起されて残り、やがて緩和していく。ここに時間幅の長いプローブ光を入射すると、コヒーレントに励起された振動モードによる過渡格子によりプローブ光が回折されるが、位相緩和により振動のコヒーレンスが失われていくので、回折はおきにくくなる。結局、回折は有限の時間でおわることになり、信号光のスペクトルを測定すると、不確定性関係からスペクトルに広がりを生じることになる。これが、FD-4WM による

Fig. 2 Experimental arrangement of frequency-domain four-wave-mixing.

ラマン散乱測定の実験である。

3. 実験装置

FD-4WM 分光法の測定系を Fig. 2 に示す。今回の実験では、ポンプ光にチタンサファイア再生増幅器を用いたフェムト秒のパルス光（中心波長 ~ 800 nm, 時間幅 ~ 100 fs, 平均出力 ~ 100 mW, 繰り返し 1 kHz）を、プローブ光にこれと同期させた Q スイッチ Nd:YLF レーザーの SHG 光によるナノ秒のパルス光（中心波長 523 nm, 時間幅 ~ 10 ns, 平均出力 ~ 2.8 mW）を用いた。

再生増幅器からのパルス光はそのままでは試料が誘電破壊を起こすほど強いため、回転 ND (Neutral density) フィルターを透過させることによって適当な強度に調整した。測定試料のラマン信号の強さにもよるが、概ね試料に入射する時点での強度が $2\sim 6$ mW になるように調整している。更に $\lambda/4$ 板で円偏光にした後にグランレーザプリズムに通すことにより、縦偏光（ポンプ光 1）と横偏光（ポンプ光 2）の光に分けている。ポンプ光 2 については、 $\lambda/2$ 板を光路に入れ偏光をポンプ光 1 と同じ縦偏光にそろえて用いることもできるようにした。ポンプ光 1 の光路の途中にはリトロフレクターとして直角プリズムを入れて光学遅延回路を構成している。

今回の実験では、ポンプ光の周波数領域を広げるために、ポンプ光 1 の光路に重水と水の $1:1$ の混合液を置き、レンズで絞って入射することによって白色光を発生させている。さらに、この白色光の短波長成分が信号光に混ざること防ぐために、赤色フィルターを入れて短波長成分をカットしている。この 2 本のポンプ光とプローブ光を、それぞれレンズで絞り、時間的・空間的に合わせて試料に入射すると、位相整合条件を満たす方向に信号光が現れる。この得られた信号光をレンズで平行光に戻してダブルモノクロメーターに入射して分光し、液体窒素冷却型 CCD 検出器を使ってスペクトルの測定を行なった。一般に CCD 検出器には熱雑音や読み出しノイズが存在するため、試料にプローブ光だけを当てて測定したものをバックグラウンドとして計測し、測定データから差し引いた。

試料にはベンゼン、トルエン、ペンタン、シクロヘキサン、クロロホルム、アセトンなどの有機溶媒を用いた。いずれも、ナカライテスク社製で純度は $98\sim 99.5\%$ のものをそのまま使い、厚さ 1 mm のセルに入れて測定した。蛍光色素にはローダミン 6G を使い、これをクロロホルム、アセトンに溶解して用いた。色素濃度は、分光光度計で測定した吸光度から吸収のピーク波長でのモル吸光度が $1.16 \times 10^5 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ であることを用いて求めた。

この実験系の特徴として、広い範囲のラマンスペクトルを一度に測定するために、2 本のポンプ光のうち一方の波長範囲を広げて測定を行なっている点がある。Fig. 3 に、赤色フィルターで 600 nm 以下の短波長成分をカットした

Fig. 3 Broadband spectra obtained by continuum generation.

後の白色光のスペクトルを示す。横軸は、中心波長からの周波数シフトを表す。白色にする前の光に比べて励起光の周波数範囲がかなり広がっていることがわかる。励起できるラマンモードの振動数は 2 つのポンプ光の振動数差で決まるため、いろいろな振動数のラマンモードを測定するには白色光の波長範囲は広い方がよい。実験から励起光を強くすると、通常のラマン散乱の測定に必要な $0\sim 3000$ cm^{-1} の広い範囲で白色光が得られることが分かった。また、白色光はスペクトル幅が広いため、ガラスセルやレンズを通過することにより、大きな周波数チャープを受けるが、今回はこの補正を行わず、ポンプ光 1 の目的とする波長域がポンプ光 2 と同期が取れるように時間遅延を調節して用いた。

4. 実験結果

4.1 FD-4WM と通常のラマンスペクトルの比較

初めに、今回開発した白色光励起の FD-4WM を用いて、種々の液体についてラマン散乱スペクトルを測定し、通常の光散乱によるスペクトルとの比較を行なった。Fig. 4 にその結果を示すが、これらの試料において FD-4WM スペクトルと通常のラマン散乱測定によって得られたスペクトルは、ほぼ同じスペクトルを与えていることが分かる。FD-4WM 分光法の測定データの波数は、分光器内で入射光の波数が空間に対して線形に広げられているとして、プローブ光の中心波数付近で分光器の波数をずらして測定しスペクトルシフトから求めた。今回用いた試料では、FD-4WM 分光法の測定時間は長いものでも 1 分以内と、短時間で測定できた。スペクトルを詳しく見ると、FD-4WM スペクトルでは、ペンタンのように左肩上がりやバックグラウンドが見られる場合やクロロホルムのようにほぼ一定のバックグラウンドが観測されることがある。

Fig. 4 Raman spectra obtained by FD-4WM (a, c, e, g) and ordinary light scattering measurements (b, d, f, h) for benzene (a, b), toluene (c, d), pentane (e, f) and cyclohexane (g, h).

また、スペクトルに分散型の波形のひずみがある場合も見られる。この現象は、CARSでは良く知られていて、電子の即時応答による非共鳴バックグラウンドが原因で、FD-4WMがCARSやCSRS（コヒーレント・ストークス

ラマン分光法）と同じファインマンダイアグラムを用いていることに基づいている。また、バックグラウンドノイズが多いのは、プローブ光だけを照射して測定したバックグラウンドを差し引いたことによるもので、主にCCD検出

器のノイズによっており改善の余地があるものと思われる。

4.2 蛍光除去ラマン散乱の測定

通常のラマン散乱スペクトルを測定する際には、しばしば試料中に含まれる不純物の蛍光に悩まされることが多い。蛍光は不純物からだけでなく、測定している試料自身が蛍光を放つ場合もある。こうした蛍光の影響を受けずにラマン散乱を測定する試みはこれまでも多くなされてきた（これについては次章で詳述する）。FD-4WM 分光法は非線形分光であるため信号が位相整合条件を満たした方向に指向性のよい光として得られるので、等方的に光を発する蛍光と、空間的に区別することができる。実際、今回の測定系の空間的な蛍光除去率を計算すると、試料から $l = 5 \text{ cm}$ 離れた場所に半径 $r = 1 \text{ mm}$ のアパーチャーを置いて蛍光を除去した場合、

$$\frac{\pi \times r^2}{4\pi \times l^2} = \frac{\pi \times 1^2}{4\pi \times 50^2} \approx 10^{-4} \quad (3)$$

と見積もることができる。

また、ポンプ光の波長が色素の吸収波長と大きく異なり、蛍光強度はポンプ光強度には事実上依存しないため、ポンプ光の強度を強くすることによって、理想的には無限

に S/N 比を上げることができる。ただし、実際にはポンプ光を強くすると試料に誘電破壊が生じたり、白色光発生や熱レンズ効果など他の非線形効果が起こるため、その除去率にはおのずと限界が存在することは止むをえない。ここでは以上のような問題が生じない範囲で蛍光除去がどの程度効率的に行なわれるか調べてみた。

今回は蛍光を発する色素としてローダミン 6G を用いた。これは吸収のピーク波長が 528 nm 、発光のピーク波長が 555 nm 、発光の量子効率が 0.90 で、蛍光収率の極めて高い色素として知られており、レーザー色素にもしばしば用いられている。また、吸収のピーク波長がプローブ光の波長 (523 nm) に極めて近い点も、FD-4WM によるラマン散乱測定には極めて不利な条件になっている。

今回の測定には、ラマン線の強度の大きい試料としてクロロホルム、小さい試料としてアセトンを選び、その中に色素を溶かしたものを用いた。その色素濃度を変えて溶媒のスペクトルを順に測定した結果を Fig. 5 と Fig. 6 に示す。それぞれの図において、左側の図が FD-4WM 分光法によって得られたスペクトルを、右側の図が通常のラマン散乱の測定法（励起波長 514.5 nm ）によって得られたスペクトルを示す。

純粋なクロロホルムのスペクトルには 2 つのピークが

Fig. 5 Raman spectra of chloroform obtained by FD-4WM (left) and ordinary light scattering measurements (right). The concentrations of rhodamine 6G are (a) 0, (b) $1.7 \times 10^{-10} \text{ mol/l}$, (c) $2.4 \times 10^{-8} \text{ mol/l}$, (d) $4.4 \times 10^{-7} \text{ mol/l}$, and (e) $7.3 \times 10^{-6} \text{ mol/l}$.

Fig. 6 Raman spectra of acetone obtained by FD-4WM (left) and ordinary light scattering measurements (right). The concentrations of rhodamine 6G are (a) 0, (b) $1.9 \times 10^{-10} \text{ mol/l}$, (c) $1.9 \times 10^{-8} \text{ mol/l}$, (d) $1.2 \times 10^{-6} \text{ mol/l}$, and (e) $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$.

見られるが、 261 cm^{-1} のものは縮重変角振動、 366 cm^{-1} のものは対称変角振動によるものである。また 366 cm^{-1} のスペクトルに肩が見えるのは、塩素の同位体による効果のためである。FD-4WM 分光法の測定結果でスペクトルの歪みが見られるのは、先に述べた非共鳴バックグラウンドとの干渉効果のためである。色素溶液の実験結果を見ると、色素の濃度が高くなると通常のラマン分光法では強い蛍光バックグラウンドのため全くラマン線の存在が分からなくなっているが、FD-4WM 分光法では、励起光の波長が通常のラマン散乱測定での励起波長より色素の吸収波長に近いにもかかわらず、高い色素濃度まで極めてS/N比よく測定できていることが分かる。

Fig. 6のアセトンの 782 cm^{-1} のピークは炭素原子間の伸縮振動によるピークである。FD-4WM でのアセトンの測定結果は非共鳴バックグラウンドの影響により斜めの大きなバックグラウンドが見られる。アセトンはローダミン6Gを溶かしやすいので、クロロホルムより高濃度での測定ができるが、色素濃度 10^{-4} mol/l で光がほとんど進入できないほどの色素濃度でもFD-4WM ではわずかにピークの痕跡を残していることが分かる。このことから、今回の実験条件での測定限界は色素濃度に関して 10^{-4} mol/l であると言えるが、さらに薄いセルで測定を行なうことによって、より高濃度の測定の可能性もあることも分かった。

通常のラマン分光法と今回のFD-4WM 分光法の蛍光除去率の定量的比較は困難である。それは、通常のラマン分光法ではどんなに蛍光強度が強い試料でも無限に長い時間をかければS/N比の無限に高いラマンスペクトルを得ることはできるだろう。また、FD-4WM 分光法でもポンプ光の強度を無限に強くすれば理論的にはどんな弱い信号でも測定することは可能である。しかし、現実的にはそのようなことは不可能である。そこで、一つの指標として、今回の実験での各色素濃度での測定データのS/N比で両者の比較を行なった。S/N比の求め方としては、FD-4WM では励起光の強度揺らぎや非線形効果の影響のため蛍光の影響だけを分離することが難しいため、ピーク強度とピークのない場所のノイズの標準偏差の比として求めた。また、通常のラマン散乱の方は、純粋なクロロホルムを測定したときのピーク強度と、それぞれの測定におけるピークの値でのノイズの標準偏差を光子数がポアソン分布に従うとして信号の平方根を用いて計算した。

その結果をFig. 7, 8に示す。通常のラマン散乱スペクトルではクロロホルムでもアセトンでも色素濃度が 10^{-8} mol/l を越えると急激にS/N比が低下するのに対して、四光波混合を用いると 10^{-5} mol/l 程度の濃度まではほぼ変わらないS/N比の測定ができることが分かる。S/N比が低下し始める濃度を比較すると3桁程度異なることから、今回の四光波混合分光法を用いると、通常のラマン散

Fig. 7 Comparison of S/N ratio of Raman spectra of chloroform obtained by FD-4WM and ordinary light scattering measurement.

Fig. 8 Comparison of S/N ratio of Raman spectra of acetone obtained by FD-4WM and ordinary light scattering measurement.

乱の測定方法で測定可能な1000倍の色素濃度の溶媒のラマンスペクトルを測定することができると結論できる。

5. 考 察

これまで行なわれてきた蛍光除去ラマン散乱測定法は、大きく分けて次の3つのカテゴリーに分類される。1) ラマン散乱と蛍光の量子過程の違いを利用して時間的に両者を区別する時間ゲート法、2) 同じく周波数的に両者を区別する長波長励起法、それに、3) 非線形ラマン分光法である。ここでは、それぞれの測定方法の特徴を述べ、蛍光除去ラマン分光法として今回報告するFD-4WM との比較を行なってみよう。

ラマン散乱は分子内振動モードの測定から分子構造に関する情報が得られるため、分子構造の研究ばかりでなく、各種工業製品、生体試料など多くの分野で測定の要求の多い分光法の一つである。同じ振動分光法である赤外吸収分光法が透過スペクトルを測定するため試料が薄膜でなくてはならないことに比べて、ラマン散乱は散乱過程を測定す

るため試料の形状によらないことも大きな利点である。また、こうして得られたデータがしばしば赤外スペクトルと相補的な情報を有していることも重要である。また、赤外吸収では測定しにくい低振動数領域の測定が可能な点も今後重要になってくると思われる。試料が純粋な物質の時にはあまり問題にならないが、工業製品や生体試料などでは不純物の蛍光が邪魔をしてしばしば測定が困難になることは多くの研究者の経験するところである。これはラマン散乱が非共鳴励起条件下では共鳴励起条件下での蛍光と8桁から9桁の光放出効率の違いがあることが原因である。したがって、わずかな蛍光成分の存在でもラマン散乱は隠されてしまうことは今回の実験でも良く示されている。

この両者を区別するにはラマン散乱と蛍光の原理的な過程の違いに注目することが重要である。1970年代終わりからの数多くの議論の結果、ラマン散乱と蛍光はいずれも光を入射して放出するという2光子に関係した2次光学過程の2つの表現であることが明らかになってきた。現在でも完全に理解されたわけではないが、ラマン散乱に代表される光散乱が光の入射と放出が一つながりの量子過程であるのに対し、蛍光は入射と放出が独立になった2ステップの過程であるという解釈は大方の研究者の了承を得ているだろう⁸⁾。すなわち、光が物質に入射すると物質中に分極が生じるが、光によりコヒーレントに励振された分極が放出する光が光散乱である。このコヒーレンスが原子の衝突やフォノン・揺らぎにより乱されると、いわゆる位相緩和が起こり、入射の位相を忘れてしまう。分極状態は基底状態と励起状態の重ね合わせでできているので、このときにいずれかの状態に遷移することになる。この過程で励起状態に遷移した場合が光吸収で、その後起きる発光が蛍光になる。入射光がこの二つの状態の遷移エネルギーに近ければ近いほど基底状態と励起状態の重ね合わせは励起状態の割合が多くなるので、乱された結果励起状態に遷移する確率が増え、発光の割合は多くなる。このような原理的な過程の違いから、両者を分けるには時間と励起波長に対する応答の違いを利用することが優れていることがわかる。

時間的に区別するには、位相緩和時間より早い時間ではラマン散乱の割合が多くなり、それ以後では蛍光を中心に測定できることを利用する。位相緩和時間は不均一広がりを別にすれば吸収スペクトル幅の逆数程度であるので、常温の物質では大体10 fs 前後である。こうした早い時間だけを測定して蛍光を除去しようとする方法が蛍光除去の1番目の時間ゲート法で、これまで、パルスレーザーやモード同期レーザーとゲート付き単一光子計数法を組み合わせた方法などが提案されてきた⁹⁾。この方法では20-50 ps 程度のゲート時間が限界であるが、それでも、寿命の長い蛍光の場合はかなりの除去が可能である。

最近では、さらに短い時間ゲートとして光カーシャットが用いられ、成果をあげている¹⁰⁻¹²⁾。この方法ではパルス光を2つに分け、それぞれをポンプ光とゲート光に用い、試料と検出器の間に2つの偏光子を偏光方向が互いに直交するように配置し、その間にCS₂などの非線形媒質を置く。通常は直交する偏光子に妨げられて試料からの散乱光は検出器まで届かないが、ゲート光を非線形媒質に入射すると光カー効果が起こり、非線形媒質の屈折率が変化して、偏光子を通過できる散乱光が測定できる。蛍光の寿命は散乱過程の起こる時間に比べて長いので、散乱過程の起こるタイミングに合わせてゲート光を非線形媒質に入射することによって、散乱過程だけを選択的に測定することができる。このような非線形な時間ゲート法を用いると、原理的には上述した位相緩和時間10 fs に匹敵するようなフェムト秒での時間ゲートも可能であるが、ゲート時間が短くなるにつれ、不確定性関係によりスペクトル幅も広がるので、目的とするスペクトル分解能で最適なゲート時間が決まる。例えばゲート光パルスの時間強度波形をローレンツ型と仮定すると、1 ps のゲートでは5 cm⁻¹のスペクトル分解能になる。

蛍光が励起状態への実遷移によることを利用すると、励起波長を共鳴からずらすことにより、虚遷移であるラマン散乱だけを測定することができるが、これが2番目の方法である。蛍光物質の光吸収領域を避け、励起光の波長を長波長側や短波長側にして測定すればよいが、蛍光物質が何種類も含まれるときには一般的には長波長励起が優れている¹³⁻¹⁴⁾。この方法は励起光の波長を変えるだけで測定が可能であるという利点があるが、難点としては赤外領域の検出器では感度が悪くなるために、微量しか存在しない物質や薄膜などの測定には適さないことなどが挙げられる。

3番目の方法は非線形ラマン散乱の方法で、これまでCARSあるいはCSRSなどが良く用いられてきた¹⁵⁾。これらはパルス光を光源に用いるが、基本的には周波数領域での測定であり、スペクトル幅が狭く中心周波数の異なる2本のパルス光(各周波数を ω_1 , ω_2 とする)を試料に入射し、位相整合条件を満足する方向に放出される $2\omega_1 - \omega_2$ あるいは $2\omega_2 - \omega_1$ の光を観測する非線形分光法である。これらの方法は基本的にはFD-4WMと同様の測定方法であるが、 ω_1 と ω_2 の振動数が近いので、蛍光の吸収に共に重なってしまう場合は微弱なラマン散乱を測定するときに問題になる。

今回報告したFD-4WM分光法は次のような点でこれまでにない新しい蛍光除去ラマン散乱の測定の手段を与えるとして期待できる。1) FD-4WM分光法は非線形分光法であるため、線形の現象である蛍光とは強度に大きな差があること、2) 放出される信号光が位相整合条件を満たす方向に限られるため、蛍光とは空間的に区別することがで

きること, 3) ポンプ光とプローブ光に波長の大きく異なる光を用いているため, その両方に共鳴する蛍光物質でない限り蛍光の影響は極めて小さいこと, 4) ポンプ光にフェムト秒パルスを用いているため, ラマン振動はコヒーレンスが続くわずかな間だけ起こっており, その時間だけ検出するような時間ゲートを用いることにより更に蛍光除去比を改善できる可能性があること, などである. 特に蛍光除去に特化した分光法としてみた場合には, 非線形効果に加え, 空間的・時間的除去を併用することができ, 微弱なラマン信号の測定にも対応している. また, フェムト秒パルスにより瞬間的に振動を励起し, その後, 振動が位相緩和していく時間全体をプローブ光で測定するので, 不確定性関係に邪魔をされることなしに高分解能の測定ができる点も大きな利点であり, 今後の装置の改良と共に大いに利用されることが期待される.

参考文献

- 1) C. V. Raman and K. S. Krishnan: *Nature* **121**, 501 (1928).
- 2) 濱口宏夫, 平川暁子編: 日本分光学会測定法シリーズ 17 ラマン分光法 (学会出版センター1988).
- 3) 水島三一郎, 島内武彦共著: 赤外線吸収とラマン効果 (共立全書1958).
- 4) Y. R. Shen: *The Principles of Nonlinear Optics*, (John Wiley & Sons, 1984).
- 5) Y. Watanabe and S. Kinoshita: *Chem. Phys. Lett.* **331**, 413 (2000).
- 6) Y. Watanabe and S. Kinoshita: *Rev. Sci. Instrum.* **72**, 3772 (2001).
- 7) R. W. Hellwarth: *Prog. Quantum Electron.* **5**, 1 (1971).
- 8) T. Kushida and S. Kinoshita: *Phys. Rev. A* **41**, 6042 (1990).
- 9) J. Watanabe, S. Kinoshita, and T. Kushida: *Rev. Sci. Instrum.* **56**, 1195 (1985).
- 10) P. P. Yaney: *J. Opt. Soc. Am.* **62**, 1297 (1972).
- 11) J. Howard, N. J. Everall, R. W. Jackson, and K. Hutchinson: *J. Phys. E: Sci. Instrum.* **19**, 934 (1986).
- 12) P. Matousek, M. Towrie, and A. W. Parker: *J. Raman Spectrosc.* **33**, 238 (2002).
- 13) T. Hirshfeld and B. Chase: *Appl. Spectrosc.* **40**, 133 (1986).
- 14) B. Schrader, A. Hoffmann, and S. Keller: *Spectrochim. Acta, Part A* **47**, 1135 (1991).
- 15) L. A. Carreira, L. P. Goss, and T. G. Malloy, Jr.: *J. Chem. Phys.* **68**, 280 (1978).