

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23760055

研究課題名（和文）コヒーレントラマン散乱イメージングのための新しいファイバー光源の開発

研究課題名（英文）Development of novel fiber-based light sources for coherent Raman scattering imaging

研究代表者

古澤 健太郎 (FURUSAWA KENTARO)

東北大学・多元物質科学研究所・助教

研究者番号：40392104

研究成果の概要（和文）：

本研究は、コヒーレントラマン散乱(CRS)顕微鏡において、高速かつ安定なスペクトルイメージングを実現するための光源開発を行い、その実証を行った。近赤外線波長域に零分散波長を有する非線形ファイバを利用して、光パラメトリック発振器の実現を試みると共に、非線形ファイバにおける広帯域光の短期的、長期的な安定性の向上を実現した。これらの成果をもとに、コヒーレントアンチストークスラマン散乱(CARS)によるスペクトルイメージングの高速化を実証し、近接場顕微鏡に応用した。具体的には分子の指紋領域($600 \sim 1600 \text{cm}^{-1}$)において測定に用いる複数のパルス間の群遅延の調整無しに DNA 構成分子の CARS スペクトルを取得できることを実証した。さらにこのシステムを近接場顕微鏡に応用し、単一カーボンナノチューブの G バンドにおいて空間分解能 60 nm、スペクトル分解能 30cm^{-1} でイメージングを行なった。これらの成果は論文誌に掲載された。

研究成果の概要（英文）：

This research focused on the development of novel fiber sources for rapid and stable spectral imaging in a coherent Raman scattering microscope. An optical parametric oscillator as well as a stable supercontinuum source were developed using a highly nonlinear optical fibers with their zero dispersion wavelengths tuned to near-infrared wavelengths. Having established the light sources, a coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscope and a near-field CARS microscope were developed. CARS spectra of DNA constituent molecules in the finger-print region were measured without modifying the group delay between the pump and the Stokes pulses, significantly decreasing the data acquisition time. Moreover, high resolution CARS imaging was realized for an isolated single-walled carbon nanotube with spatial resolution of 60 nm and spectral resolution of 30cm^{-1} . These results were published in a scientific literature.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学・工学基礎・応用光学・量子光工学

キーワード：レーザ

1. 研究開始当初の背景

多光子過程を利用したレーザ顕微鏡は、サブミクロンオーダーの空間分解能で3次元画像化を可能とする手法であり、様々な非線形

光学効果に起因して多様なコントラストが得られることから、生物・化学分野においても注目を集めている。その中でもコヒーレントラマン散乱 (CRS: Coherent Raman Scattering) 顕微鏡は、物質固有の振動モード

に起因する化学的なコントラストが得られる。従来用いられている蛍光顕微鏡と異なり、ラベルフリーであるため、画像化のプロトコルが簡便であり、よりインタクティブな情報を取得できる方法として期待されている。

CRS 顕微鏡はポンプ・プローブ法のひとつであり、2色のパルスの離調を検出しようとする物質固有の振動数と同調し、その相互作用を観測する。これには狭帯域($< 10 \text{ cm}^{-1}$)かつ2色の位相同期された光が必要であり、分子振動の検出範囲を考慮すると 3000 cm^{-1} 以上の波長可変性が必要となる。このため、通常の多光子顕微鏡用のレーザ光源(フェムト秒パルスレーザ)とは仕様が大きく異なる。従来は、2台の位相同期されたピコ秒チタンサファイアレーザや、波長 1064 nm のピコ秒レーザの第2高調波を励起光源とする光パラメトリック発振器(OPO: Optical Parametric Oscillator)といった光源の使用が必須であり、コンパクトでかつ、他の多光子顕微鏡光源と両立可能な光源の開発が望まれていた。

2. 研究の目的

本研究は CRS 顕微鏡で高速なスペクトルイメージングを行うこと、また近接場光学顕微鏡への応用し、回折限界を超えた空間分解能を得ることも視野に入れ、近赤外線波長域において3次の非線形光学効果を利用した、コンパクトな光ファイバ型光パラメトリック発振器(F-OPO)などの光源を開発し、短時間に振動スペクトルを一括取得できる手法を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

光パラメトリック発振器の開発に加え、高速にスペクトルイメージングを行う手法として有用なスーパーコンティニューム(SC)光源の安定化も同時平行して進め、十分な性能が得られたと判断した光源から順次、CRS 顕微鏡・近接場光学顕微鏡への応用に取り組んだ。CRS 顕微鏡の中でも、CARS 顕微鏡、及びその近接場光学顕微鏡へ応用し、評価を行った。

(1) ファイバ型光パラメトリック発振器

狭帯域なピコ秒レーザ光源を用いて高速なスペクトルイメージングを行うためには、一方のレーザの波長を高速掃引できる光源が必要である。計画当初は他の多光子顕微鏡で使用されるフェムト秒レーザとの両立性を鑑み、波長 $1.06 \mu\text{m}$ のフェムト秒レーザパルスを断熱圧縮してピコ秒パルス光源を発生し、シード光として用いる計画であったが、途中でフェムト秒レーザ光源の利用がむず

かしくなったことから、波長 1047 nm のモード同期ピコ秒 Nd:YVO₄ レーザを増幅することによってシードとし、非線形ファイバ共振器を構成することによって、F-OPOの開発を行った。非線形ファイバの分散特性評価と、それを元にした数値計算によって最適ファイバの選別を行い、そのファイバを利用してファイバ共振器を構成し、分散チューニングによる波長掃引を目指した。

(2) スーパーコンティニューム光源の安定化

非線形フォトニック結晶ファイバを用いて SC 光を発生させ、CARS スペクトル一括取得する手法は広く知られているが、SC 光発生において異常分散波長域における変調不安定性が、ラマンソリトンに作用するため、異常分散領域の SC 光には顕著な強度揺らぎが存在し、また長期的に安定した SC 光を発生することは容易ではない。しかし、一般に測定時間の長い近接場光学顕微鏡(画像1枚取得するのに >10 分以上かかる)などに応用する際には、ノイズの抑制及び長期的な安定性は必要不可欠である。

より長波長側に零分散波長を有するファイバを用いることで、ノイズは低減できるが、これは同時にファイバの非線形性を低下させ、SC 光のスペクトル幅は極端に狭くなってしまふ。そこで本研究では、波長可変モード同期チタンサファイアレーザを励起光源として、SC 光のスペクトルの経時変化をモニタする装置を構成し、様々な仕様のフォトニック結晶ファイバに対して、初期チャープ量、励起強度依存性を含め、系統的にノイズ特性と安定性を調査し、特に近接場光学顕微鏡にも利用できる長期的な強度安定性を有する SC 光の発生を目指した。

(3) CARS 顕微鏡への応用

開発された光源を、CARS 顕微鏡に応用し、様々なサンプルに対して振動スペクトルの取得・評価を行った。また、従来よりも高速にスペクトルイメージングを行うための技術開発を行った。

(4) 近接場光学顕微鏡への応用

CARS 顕微鏡に原子間力顕微鏡を組み込むことによって近接場光学顕微鏡を構築し、カーボンナノチューブなどの標準的なサンプルに対して、空間分解能と電界増強度などの評価を行った。

4. 研究成果

(1) 光パラメトリック発振器

非線形光ファイバには零分散波長 1030~1080nm の空孔アシスト型のファイバを用いた。分散特性は白色干渉計を利用して測定を行った。使用した光ファイバの分散特性はファイバ長手方向に極めて均一であり、サンプルの両端で特性の変化が見られなかったことから、ファイバの長手方向の揺らぎは無視できると結論できた。これらのファイバパラメータを用いて、数値計算により、パラメトリック利得を見積もったところ、零分散波長 1049 nm に零分散を有する光ファイバにおいて、最も高い励起効率が得られることを見出した。

ファイバ共振器を構成するにあたっては、低温融着プロセスを最適化することによって融着損失 1dB 以下を実現した。Yb ファイバ増幅器を構築し、シード光を増幅して最大 4.5W の出力を得た。これをシングルモードファイバに結合し、0.5W の励起パワーを確認したが、結合できるパワーの上限は、ファイバ融着部の光損傷で限られることがわかった。フアブリーペロー共振器を構成して、発振を試みたところ、波長 1120 nm 付近での OPO 発振を確認できた。これは合成石英のピークラマン波長(1097 nm)より長波長であり、ミラーの損失によって実効利得が最大となる波長において発振したものと思われる。

しかし、波長選択性を実現するために、分散チューニング機構を導入したところ、長波長側への利得が不十分であり、寄生発振を抑制することができず、CRS 顕微鏡に有用な波長制御技術の確立には至らなかった。今後は、より波長選択性の優れた低損失な共振器と分散チューニング機構を開発し、高速掃引と共に、CRS 顕微鏡への応用を目指す。

(2) スーパーコンティニウム光源の安定化

長さ 30cm のフォトニック結晶ファイバ(零分散波長 800 nm)に対して、波長 745 nm でわずかに正にチャープさせたパルス(スペクトル幅 10 nm)を励起強度~60 mW において、励起することにより、波長 780~900 nm の範囲で単一偏光の極めて安定な SC 光を発生することを見出した。一度アライメントを定めると、スペクトル形状はほとんど変化しないことを確認し、また各波長でモニタした強度変化率も上記波長範囲では 5% 以下であった。強度変化率の上限は零分散波長へ近づくにつれ、大きくなることがわかり、SC 光源による低波数領域の CARS 信号の取得には限界があることがわかった。これらの結果は、フォトニック結晶ファイバに入射された光パ

ルスが一度再圧縮され、尖頭値が十分に大きくなって自己位相変調が顕著な形でスペクトルが広がった後に、ほぼ線形なパルス伝搬を行い、異常分散の効果を受けることで、MI の効果を相対的に抑制できた結果と考えている。CARS スペクトルの取得に際しては、顕微鏡の光学系の分散が重畳されるが、これらをほぼ補償される結果となっており、ファイバの分散特性を考慮すると、入射後 2~3 cm で SC 光が発生したことが見積もられた。

(3) CARS 顕微鏡の構築と評価

SC 光源を用いたスペクトル多重 CARS 顕微鏡を構築した。SC 光源の励起に用いるパワーをビームスプリッターで分波し、残りは狭帯域フィルタを通してスペクトル幅 13cm⁻¹ まで狭帯域化し、ポンプ光として用いた。SC 光とポンプ光の時間遅延を調整し、顕微鏡に入射した。サンプルには、DNA の構成分子であるアデニンやグアニン分子の微結晶や液晶分子である 5CB などをガラス基板上に分散させて用いた。

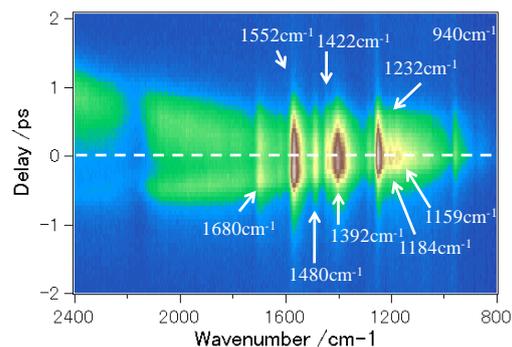


図1. 安定化されたSCで取得したグアニンのCARSスペクトル。

図1にグアニン分子の微結晶に対してポンプとプローブ光の時間遅延を変化させたときのCARSスペクトルの変化を示す。上述のSC光の特性により、940 cm⁻¹~1680 cm⁻¹の範囲でグアニン分子に起因する様々な振動スペクトルが一括取得できていることがわかる。また、非共鳴背景放射(NRB: Non-Resonant Background)も遅延範囲 ±1 ps 以内でほぼ同様な波長依存性を示しており、2000 cm⁻¹までの範囲ではスペクトルの一括取得が可能であることがわかった。2200 cm⁻¹付近の信号の落ち込みは、フィルタの透過特性によるものであり、今後改善が可能である。さらに、NRBをリアルタイムで数値处理的に除去する手法を開発し、従来は大きな時間遅延を与えて信号量を落とさなければ得られなかったCARSスペクトルを、大きな信号量で取得することが可能となった。この数値処理の例を図2に示す。

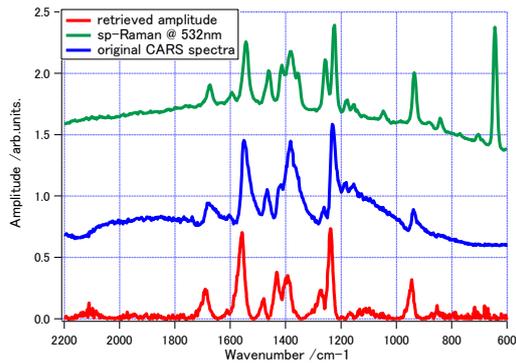


図 2. 自発ラマン散乱スペクトルと CARS スペクトルの比較 (中央: 数値処理前、下: 数値処理後)。

CARS ではサンプル濃度の 2 乗に比例して信号が強くなるため、微弱な信号は背景光に埋もれてしまいやすい。そのため、波長 532 nm 励起の自発ラマン散乱スペクトルにみられる 600~1200 cm^{-1} の範囲の微弱なピークは、CARS スペクトルでは NRБ に埋もれてしまっていることがわかる。しかし 1200 cm^{-1} 以上の波数領域ではラマン散乱で検出される振動スペクトルが観測されており、同じ画像コントラスト比を得るための積算時間は約 1/10 にできることがわかった。

(4) 近接場光学顕微鏡への応用

近接場光学顕微鏡には、金コートのガラスファイバースプロブを用い、シアフォースモードにてチップ増強効果を確認した。図 3 にチップがアプローチした場合としない場合の単層カーボンナノチューブからの CARS スペクトルの比較を示す。チップの増強によって信号量が増加したことがわかる。しかし、同時に背景光も大きく増加していることがわかる。フィルタを用いずに観測される背景光のスペクトルから、この主な原因はチップに使われている金薄膜の二光子蛍光であると結論した。今後は、このような背景光を抑制することが課題となる。一方、CARS は 3 次の非線形光学効果であるため、チップの先端径で決まる相互作用体積を仮定して電界増強度は 1.7 倍であった。CARS ではポンプ光とプローブ光の離調が大きいため、プラズモン共鳴による顕著な電界増強効果を利用できる波長範囲は限られてしまう。この場合、プローブ光の電界増強効果のみが寄与し、ポンプ光とプローブ光の電界増強度が平均化された結果、顕著な電界増強度が得られなかったものと考えている。今後、より高い電界増強度を得るために、チップ増強の共鳴波長をデザインするアプローチが必要と考えられる。

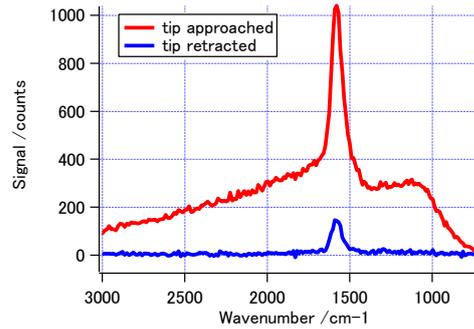


図 3. チップの有無での単層カーボンナノチューブ CARS スペクトル。

しかしながら、単層カーボンナノチューブの画像化では、コントラストが得られ、空間分解能は 60 nm と見積もられた (図 4)。これは AFM 像とほぼ同程度であり、今後電界増強度を改善することにより、空間分解能、コントラスト共に改善されることが期待できる。

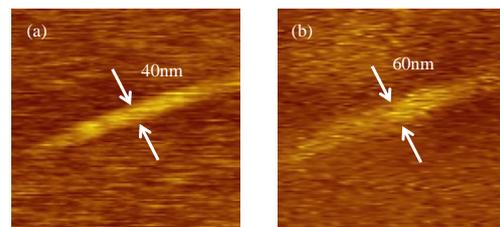


図 4. 単層カーボンナノチューブのトポグラフィック像と近接場 CARS 像。

(5) その他の成果

近接場 CARS 顕微鏡において、2 光子蛍光と CARS が競合する問題に関しては、今後微小ナノ構造体の制御を合わせた最適化が必要である。金属微粒子を利用したサンプルに対して CARS の測定を行い、近接場顕微鏡においてどのようなチップ構造が理想的であるかという知見が得られている。また、超短パルス光に対する金属チップのプラズモン応答の時間分解評価を行い、時間領域での測定によっても CARS スペクトルを取得できる見通しを得ることができた。これらの成果は、振動分光において極限的な時間空間分解能を実現するためのアプローチとして、国内外の会議から招待を受け、講演発表を行った。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① N. Hayazawa, K. Furusawa, and S. Kawata, "Nanometric locking of the tight focus for optical microscopy and tip-enhanced microscopy," *Nanotechnology*, **23**, 465203 (2012). (10.1088/0957-4484/23/46/465203) 査読あり
- ② K. Furusawa, N. Hayazawa, F. C. Catalan, T. Okamoto, and S. Kawata, "Tip-enhanced broadband CARS spectroscopy and imaging using a photonic crystal fiber based broadband light source," *J. Raman Spectrosc.* **43**, 656 (2012). (10.1002/jrs.3151) 査読あり
- ③ K. Aoki, K. Furusawa, and T. Tanaka, "Magnetic assembly of gold core-shell necklace resonators," *Appl. Phys. Lett.* **100**, 181106 (2012). (10.1063/1.4706254) 査読あり
- ④ K. Furusawa, N. Hayazawa, T. Okamoto, T. Tanaka, and S. Kawata, "Generation of broadband longitudinal fields for applications to ultrafast tip-enhanced near-field microscopy," *Opt. Exp.* **19**, 25328 (2011). (10.1364/OE.19.025328) 査読あり

[学会発表] (計 6 件)

- ① N. Hayazawa, K. Furusawa, and S. Kawata, "Highly sensitive tip-enhanced nanoscopy and its applications to ultrafast nonlinear spectroscopy," JSAP-OSA Joint Symposia (The 73rd JSAP Autumn Meeting 2012) (Matsuyama, Japan, September 12, 2012).
- ② K. Furusawa, N. Hayazawa, and S. Kawata, "Characterization of longitudinal fields generated by a sub-10fs broadband pulse for applications to tip-enhanced microscopy," The 12th International Conference on Near-field Optics, Nanophotonics and Related Techniques (NFO12) (San Sebastian, Spain, September 6, 2012).
- ③ N. Hayazawa, K. Furusawa, and S. Kawata, "Tip-enhanced Raman spectroscopy of carbon & semiconductor nanomaterials," Canada-Japan Nanotechnology Workshop (Waterloo, Canada, November 21, 2011).
- ④ N. Hayazawa, K. Furusawa, and S. Kawata, "Broadband Near-field Nonlinear Raman Spectroscopy and Nanoscopy," The International Quantum Electronics Conference (IQEC) and The Conference on Lasers and Electro-Optics (CLEO) Pacific Rim (Sydney, Australia, September 1, 2011).
- ⑤ 古澤健太郎、早澤紀彦, "近接場非線形分光イメージング," 第 72 回応用物理学会学術講演会 (山形県, 2011 年 8 月 29 日).(招待講演)
- ⑥ K. Furusawa, N. Hayazawa, and S. Kawata, "Broadband near-field nonlinear

spectroscopy & microscopy," 10th European Conference on Nonlinear Optical Spectroscopy (ECONOS) and 30th European CARS Workshop (ECW) (Enschede, Netherland, May 24, 2011). (Invited)

[図書] (計 1 件)

Challa S. S. R. Kumar ed., "Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization," N. Hayazawa, A. Tarun, A. Taguchi, K. Furusawa, "Tip-Enhanced Raman Spectroscopy," 445-476, (Springer, Berlin, 2012).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古澤 健太郎 (FURUSAWA KENTARO)

東北大学・多元物質科学研究所・助教

研究者番号 : 40392104