

過渡蛍光検出赤外分光法を用いたファーフールド 赤外超解像顕微分光法の開発

(東工大資源研・オリンパス*)

○ 酒井 誠、大森 努、川島安武、武田朗宏、池滝慶記*、藤井正明

【序】赤外顕微鏡と FT-IR を組み合わせた赤外顕微分光法は、容易に 1) 微小試料の赤外吸収スペクトルの測定が可能である、2) 非破壊分析である、3) 試料のイメージング測定ができる、等の利点から微小構造分析に有用である。その一方で、空間分解能は $10\ \mu\text{m}$ 程度であり、他のファーフールド顕微分光法によって達成される空間分解能に比べても極めて低い。これは赤外波長に起因するに他ならない。従来の赤外顕微分光では、赤外光を試料へ集光し、透過もしくは反射率変化をモニターする。この時の空間分解能は、赤外光の集光スポットサイズで決まるが、その大きさはレンズの NA と波長で決まる回折限界により制限される。即ち、回折限界以下に集光することは物理的に不可能であり、波長が $3\sim 20\ \mu\text{m}$ の赤外光を用いる赤外顕微分光において $10\ \mu\text{m}$ 以下の空間分解能を達成するのは極めて困難である。

我々は、赤外光と可視光を用いた二重共鳴分光法である過渡蛍光検出赤外分光法をファーフールド顕微分光へ応用することによって光の回折限界で限定される空間分解能を凌駕する赤外超解像顕微分光が実現されることを提案し、昨年の分子構造総合討論会において原理検証実験に成功したことを報告した¹。本研究では、さらなる空間分解能の向上により $10\ \mu\text{m}$ より遥かに小さな赤外超解像を観測することに成功するとともに、この $10\ \mu\text{m}$ 以下という極めて小さな空間における分光測定（時間分解測定、可視および赤外波長依存測定など）も併せて行ったので報告する。

【赤外超解像原理】我々の提案する赤外顕微分光法では、赤外光と可視光を用いた二重共鳴分光法である過渡蛍光検出赤外分光法をレーザー走査型顕微鏡へ応用することによって赤外超解像が達成される。過渡蛍光検出赤外分光法（図 1）は、従来振動緩和の研究手段²⁻³として用いられているものであり、第 1 の赤外レーザー光によって特定の振動に赤外励起した分子のみを第 2 の可視レーザー光により選択的に電子励起することで生じる S_1 状態からの蛍光（過渡蛍光）を検出する分光法である。この時、赤外光と可視光が重なったところからのみ蛍光が発生する現象を超解像原理に利用する（図 2）。赤外光および可視光はそれぞれの NA と波長で一意に決まる回折限界以下に集光できないが、この重なり部分の蛍光領域は、原理上、赤外光の回折限界よりも遥かに小さな可視光の回折限界まで収縮可能である。即ち、赤外の振動情報を可視光の回折限界に依存する空間分解能で取り出す赤外超解像顕微分光が実現できる。

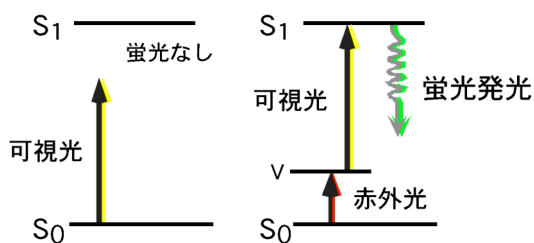


図 1 : 過渡蛍光検出赤外分光法

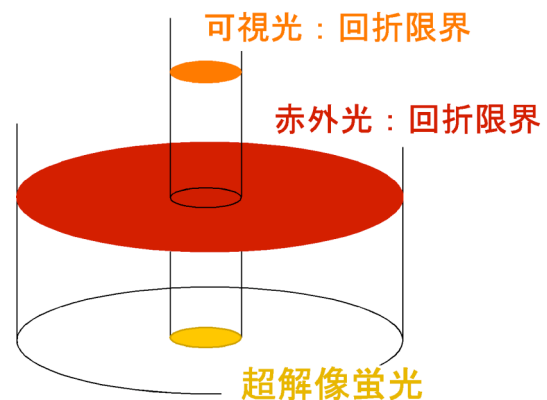


図 2 : 赤外超解像原理

【結果と考察】赤外超解像顕微分光を実現する鍵は赤外光によって振動励起された分子の振動緩和である。即ち、振動緩和するよりも前に可視光で S_1 状態に電子励起することが必要不可欠である。従って、赤外超解像顕微分光をピコ秒パルスレーザーで実行し、赤外光と可視光の遅延時間の関数として振動緩和ダイナミクスを測定する必要がある。図3に過渡蛍光像の時間依存測定を行った結果を示す。ピコ秒レーザーの波長およびビーム径(ϕ)は、可視光：621 nm (7.5 mm ϕ)、赤外光：3400 nm (2.5 mm ϕ)を用い、焦点距離10 mmの反射対物レンズで同軸から蛍光測定用の1 cm角石英セル内へ集光した。試料にはローダミン6 G/重クロロホルム溶液を用いた。可視光を赤外光よりも時間的に先に入射した-3 psでは過渡蛍光像は全く観測されていない。一方、赤外光と紫外光を同時に入射した0 psでは、過渡蛍光像が現れ、さらに時間と共に強度変化を示し、減衰していく様子まで明瞭に観測されている。これらの時間変化は、溶質分子であるローダミン6 Gから溶媒である重クロロホルムへの振動緩和(振動冷却)に他ならず、従来振動緩和の研究手段として用いられていた過渡蛍光検出赤外分光法の特徴を大いに反映している。過渡蛍光像の大きさに着目すると、半値全幅はおよそ6.8 μm と算出された。過渡蛍光像の大きさは、赤外光のビーム径を1~7.5 mm ϕ の間で変える、即ち、回折限界を変える測定をしても全く影響されず、さらには、赤外波長を3100~3550 nmの間で変えても蛍光像のサイズ変化はほとんど観測されなかった。これらの事実は、過渡蛍光像の大きさが赤外光の回折限界に依存する集光スポットサイズではなく、可視光との重なり部分の大きさ=可視光のスポットサイズで決まることを示唆している。一方、過渡蛍光像は、可視のビーム径：7.5 mm ϕ から求められる回折限界：~1 μm よりもかなり大きい。これは主に、溶液試料を測定に用いたために焦点の深さ方向の分解能が低下したためであり、共焦点光学系を組むなどすれば改善可能である。講演では、10 μm 以下の微小空間における分光実験結果についても論じる。

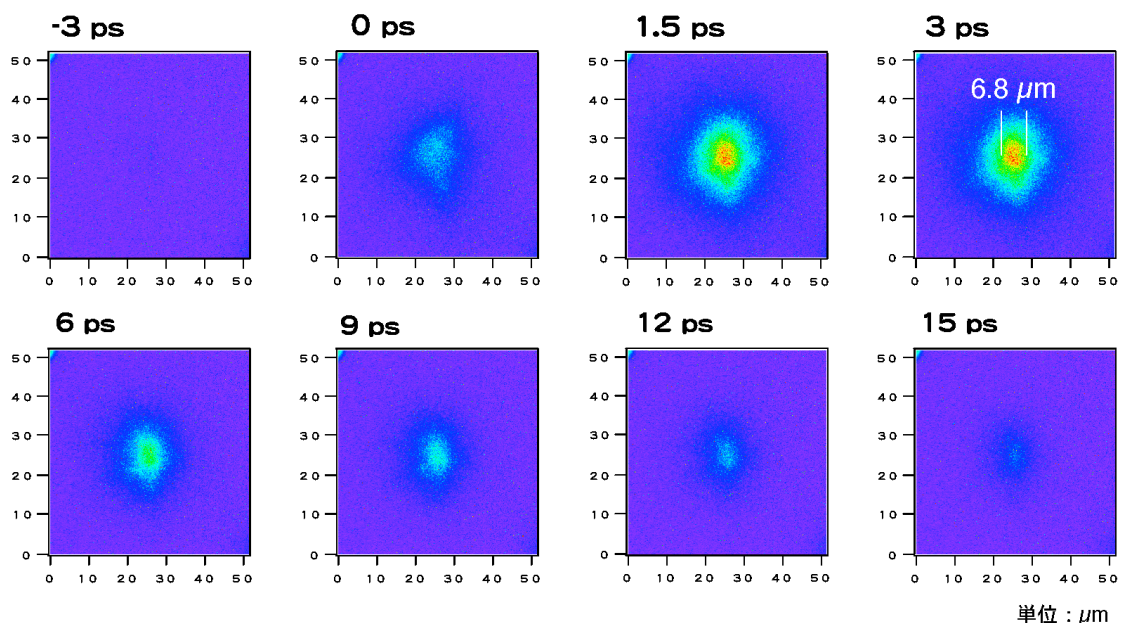


図3：過渡蛍光像の時間依存測定

【参考文献】

1. 酒井他、分子構造総合討論会 2004 (広島) 1P052.
2. A. Seilmeier, W. Kaiser, A. Laubereau, S.F. Fischer, *Chem. Phys. Lett.* **58** (1978) 225.
3. M. Sakai, M. Fujii, *Chem. Phys. Lett.* **396** (2004) 298.