

広がる振動分光法の世界

——超短パルス光源がもたらした進歩——

森澤 勇介*・保科 宏道**・尾崎 幸洋*

Expanding World of Vibrational Spectroscopy: Advances Brought by Ultra-Short Pulse Laser Light

Yusuke MORISAWA*, Hiromichi HOSHINA** and Yukihiro OZAKI*

Recently vibrational spectroscopy has made tremendous progress. Near-infrared (NIR) and terahertz (THz) spectroscopy have developed markedly, and we cannot say anymore that vibrational spectroscopy is, namely, IR and Raman spectroscopy. So, nowadays, vibrational spectroscopy has four sisters; besides IR and Raman spectroscopy that treat mainly normal vibrations, NIR spectroscopy that is concerned with overtones and combinations, and THz spectroscopy that deals with intermolecular vibrations. Ultra-short pulse laser light plays very important roles in each spectroscopy. Moreover, we cannot imagine the remarkable developments of vibrational spectroscopy to time axis and special axis without the ultra-short pulse lasers. In this review article we report the recent progress on vibrational spectroscopy with particular emphasis on the developments to which ultra-short pulse laser light has contributed largely. Some focus has been put on biological molecules and systems in this review.

Key words: vibrational spectroscopy, near-infrared spectroscopy, IR spectroscopy, Raman spectroscopy, terahertz spectroscopy, ultra-short pulse laser light, biological molecules

本稿の目的は、超短パルス光源がもたらした進歩を中心に振動分光法の最新の進展について解説することにある。かつて振動分光法といえば、“赤外・ラマン”分光法であったが¹⁻⁵⁾、最近では近赤外分光法⁵⁻⁷⁾やテラヘルツ分光法^{8,9)}が大きく進歩し、振動分光法≒赤外・ラマン分光法という等式はもはや成立しなくなった。いまや振動分光法は、おもに基準振動を扱う赤外分光法、ラマン分光法を中心として、倍音、結合音を扱う近赤外分光法、分子間振動などを扱うテラヘルツ分光法の4つの分光法からなると考えてよい。近赤外分光法やテラヘルツ分光法が加わったことで、振動分光法の世界がより広がり、しかも奥行きが深くなったといえる。より面白くなったともいえよう。超短パルス技術は、これら4つの分光法の中でそれぞれ重要な役割を果たしつつある。

1. 振動分光法の最近の進歩

振動分光法の最近の進歩を1) 波長軸、2) 時間軸、3) 空間軸から考えてみよう。波長軸では振動分光法が近赤外域からテラヘルツ域まで大きく広がった¹⁻⁹⁾。可視域での高次倍音の測定もめずらしいことではなく、高次倍音が分子構造や非調和性の研究に用いられたり¹⁰⁾、食品の非破壊分析に使われたりしている⁷⁾。図1は筆者らが測定したフェノールのヘキサン溶液(0.05 molL⁻¹)の13600~13000 cm⁻¹ (735~770 nm) 領域の吸収スペクトルである。観測されているのはOH伸縮振動の第三倍音である¹⁰⁾。かなり薄い濃度でも第四倍音あたりまで測定可能で、今後、振動ポテンシャルの研究など新しい振動分光法の世界がひらけそうである。

テラヘルツ域の分光は昔から遠赤外分光法として存在していたが、超短パルス光源の導入により、新しい分光法と

*関西学院大学理工学部化学科 (〒669-1337 三田市学園2-1) E-mail: ozaki@kwansei.ac.jp

**理化学研究所 (〒980-0845 仙台市青葉区荒巻青葉 519-1399)

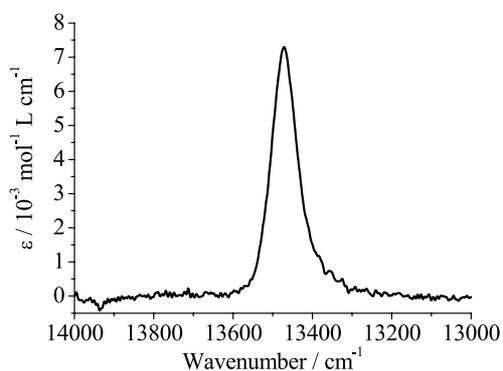


図1 フェノールのヘキサン溶液 (0.05 molL⁻¹) の 13600～13000 cm⁻¹ (735～770 nm) 領域の吸収スペクトル。

して生まれ変わった^{8,9)}。これについては第8節で解説する。

ラマン分光法における波長軸の方向の発展を考えると、深紫外 (deep UV) ラマン分光法、紫外ラマン分光法 (深紫外ラマン分光法と紫外ラマン分光法をひとつにまとめて扱うことも多い¹¹⁾)、近赤外ラマン分光法が大きく進歩した。深紫外ラマン分光法は、超薄膜のラマンスペクトル測定などに威力を発揮する。もちろん深紫外や紫外域での共鳴ラマン散乱も興味深く、タンパク質の構造やダイナミクスの研究に活発に用いられている¹¹⁾。近赤外ラマン分光法は蛍光回避に有効で、生命医学応用や、近赤外共鳴ラマン散乱、近赤外表面増強ラマン散乱 (SERS: surface-enhanced Raman scattering) などとしてもよく用いられている。

時間軸については、フェムト秒ラマン分光はもはや当たり前前のこととなり、アト秒ラマン分光へのチャレンジの時代に入りつつある^{12,13)}。フェムト秒域の時間分解ラマン分光法はまさに超短パルス光源の進歩によってもたらされたもので、化学反応や励起状態の研究に革命的な進歩をもたらした。

空間軸方向での発展は、近接場ラマン分光法、特に tip-enhanced Raman scattering (TERS) の進歩がめざましく、10 nm 前後の空間分解能でのラマンスペクトル測定が可能となっている^{14,15)}。この分野はナノテクノロジーの進歩と相携えて発展してきている。空間軸の方向の進歩でもうひとつ重要なのはイメージング技術である^{16,17)}。赤外、ラマン、近赤外、テラヘルツそれぞれの分光イメージングが特色ある技術として成長しつつある。

極限の振動分光法としてもうひとつ注目されるのは、SERSである^{18,19)}。SERSは単一分子の振動スペクトルの測定が可能であるという点で興味深い。そのメカニズム研究もかなり進んできたため、超高感度分光法としての実用的応用も期待される。

振動分光法の進歩をハード面で考えると、光源、分光

器、検出器、光ファイバー、光学部品などに分けて考えられよう。光源の進歩で最も注目されるのはいうまでもなく、超短パルスレーザーである。超短パルスレーザー技術に新たな進展を与えたものに、光コムを使った周波数安定技術や音響光学素子を使った波形整形技術などがある。またフォトリソミック結晶ファイバー、ノッチフィルター、面フィルター、光ファイバプローブなどの光学部品の進歩がぎわめて重要な役割を果たしているといえる。

振動分光法の研究で常に重要なのは、スペクトルの解析である^{1-9,20-24)}。いかに SN 比のよいスペクトルが多量に得られたとしても、スペクトル解析がいかげんでは全く間違った情報を与えてしまう。タンパク質のアミド I のバンドが何本の成分バンドから成り立っているのか、時間分解振動スペクトルがいくつの成分に分けられるのか、バンドの形状が温度とともに変化するのは2本のバンドの強度比が変わるからか、それともバンドがシフトするためか、などスペクトル解析に関する問題は案外難しいものが多い。ただ最近では、density function theory (DFT) 計算を中心として量子化学計算の進歩がめざましく²¹⁾、振動スペクトルの解析に大きく寄与している。また、もともと近赤外分光法から発展したケモメトリクス法^{22,23)}のアイデアが時間分解振動スペクトルの解析に用いられるなど、ケモメトリクス法がスペクトル解析に幅広く重要な役割を果たしている。さらに、二次元相関分光法²⁴⁾もスペクトル解析法としてユニークな存在である。

2. 振動分光法の生命科学・医学への応用

振動分光法の生命科学・医学への応用は、20世紀の初めにすでに細菌の赤外スペクトルの測定が試みられるなど、ずいぶん歴史は古い²⁵⁾。1950年代、1960年代にはタンパク質の二次構造の研究やDNAの水素結合の研究がスタートし、さらに医学応用ではこのころ胆石の研究が活発に行われた²⁵⁾。振動分光法の生命科学への応用で大きな革命が起こったのは1970年代で、共鳴ラマン分光法の発展により、生体分子の研究に火がついた²⁶⁻²⁸⁾。1970年代の後半から1980年代に入り、パルスレーザーを用いた時間分解ラマン分光法や非線形ラマン分光法が可能となり、光合成や視覚の研究など、単なる生体分子の研究からさらに生命現象の研究に踏み込んだ研究が可能となった²⁶⁻²⁸⁾。コヒーレントアンチストークスラマン散乱 (CARS)、顕微ラマン分光法、SERS、ラマン光学活性などすべて1970年代にスタートしている。ラマンの医学応用が始まったのも1970年代である²⁷⁻²⁹⁾。このように1970年代は今日の振動分光法の生命科学・医学への応用の出発点

と考えてよい。

この10年ばかりの間の進歩も1970年代の進歩にその土台を置いている。最近の進歩をまとめると、次の6つに分けられる³⁰⁻³³⁾。

- 1) 生体分子の構造やダイナミクスに関する研究^{11, 30-34)}
- 2) 細胞レベルでの研究^{30-33, 35, 36)}
- 3) 生命現象の本質にせまる研究³⁰⁻³⁷⁾
- 4) 生体物質の超高感度分析³⁸⁻⁴⁰⁾
- 5) 生体物質の非破壊、無侵襲分析^{7, 41, 42)}
- 6) 臨床医学への応用^{40, 42-44)}

1) については可視、紫外の共鳴ラマン分光、時間分解ラマン分光などによるタンパク質の研究が中心となる。具体的にはタンパク質のフォールディング、酵素反応、タンパク質-核酸相互作用、光応答反応の研究などがあるが、ダイナミクスの研究などにおいて超短パルス光が果たす役割は非常に大きい^{11, 30-34)}。赤外円二色性やラマン光学活性を用いたタンパク質の構造研究、近赤外分光法やテラヘルツ分光法を用いたタンパク質の水和の研究など興味深い研究は数限りない。

2) ではラマン散乱や、CARS, SERSなどを用いた超高解像イメージングの研究が注目される。これらの方法を用いれば、あるがままの状態での細胞の研究ができる^{35, 36)}。振動分光法の強みは、細胞や組織内の生体分子の分布のみならず、分子構造の視点から生体分子の動態をも調べることができるという点にある。

呼吸、電子伝達、免疫、光合成、老化などさまざまな生命現象の本質にせまる研究がいろいろな振動分光法を用いて行われている³⁰⁻³⁷⁾。生命現象の研究も行きつくところは分子の状態変化の研究に帰せられる部分が多い。生命体にはクロロフィルやロドプシンのように励起状態を利用して化学反応を引き起こすものも多い。このような場合、超短パルス光を用いた時間分解ラマン分光法が役に立つ。赤外分光法を用いた研究は少ないが、タンパク質のエネルギー変換、情報交換の研究などユニークなものもある³⁷⁾。

振動分光法は長い間、超高感度分析には向かないと考えられてきた。しかしながら、1997年のSERS法による単一分子のラマンスペクトル測定以来、その考えが大きく変わり、今日生体物質の高感度分析に幅広く用いられつつある^{18, 19, 39, 40)}。

5) の生体物質の非破壊検査、無侵襲分析という点では近赤外分光法の活躍がめざましい。近赤外分光法は調和振動子近似のもとでは禁制遷移である倍音、結合音を扱うので、透過性は赤外分光法に比べ著しく高い。したがって本

質的に非破壊分析、無侵襲分析に適している。農産物、食品、薬品など多くの生体物質およびその関連物質の分析、オンラインモニタリングに用いられている^{7, 40, 41)}。

ラマン分光法も非破壊分析や無侵襲分析に向いており、この特性を生かして臨床医学分野における診断技術として期待されている。実験動物については生きてままで内視鏡プローブを用いて胃がんのスペクトル測定などに成功している⁴²⁻⁴⁴⁾。

3. 超短パルス光は振動分光法の進歩にいかに関与しつつあるか

超短パルス光はこの10年ばかりの間に振動分光法にさまざまな面で革命的な進歩をもたらした。中でも時間分解振動分光と非線形振動分光の発展はそれなしでは考えられない。時間分解ラマン分光はもちろんのこと、ポンプ-プローブ赤外時間分解分光、紫外/赤外二重共鳴分光法、二次元赤外(2D-IR)分光法など赤外分光にも興味深い時間分解分光法は多い。振動緩和の研究なども超短パルス光源の進歩なしには考えられない。これら時間分解振動分光と非線形振動分光の進歩により、生体分子のダイナミクス研究が著しい進展をみせている。

超短パルス光がもたらした大きな進歩のひとつは超解像ラマン顕微鏡である^{34, 35)}。これにより無標識で細胞中の生体分子の観察が可能となった。一方、酒井ら⁴⁵⁾は多波長時間分解赤外分光法を開発し、それを超解像赤外顕微鏡へ応用した。

超短パルス光が研究分野全体を革新的に発展させたのはテラヘルツ分光法である。超短パルス光は近赤外分光にも新しい波をよせている。スーパーコンティニューム(SC)光源は超短パルス光がもたらした全く新しい光源で、紫外から近赤外まで幅広く用いられている。time-of-flight near-infrared (TOF-NIR) 分光法⁴⁶⁾は電子分光法としても振動分光法としても用いられ、医学、食品、木材などの診断、分析、品質検査に用いられている。以下、本稿では、時間分解ラマン、SERS、近赤外、赤外、テラヘルツ分光法に超短パルス光がいかに関与し大きな影響を与えつつあるかについて解説する。

4. 超短パルスレーザー振動分光法を用いたタンパク質のダイナミクスの研究例

紫外ないしは深紫外ラマン分光法を用いたタンパク質の構造とダイナミクス研究の例を紹介しよう。ペプチド結合は190~220 nmの領域に電子遷移をもつ。したがってこの領域の励起光を用いてタンパク質の共鳴ラマンスペクトル

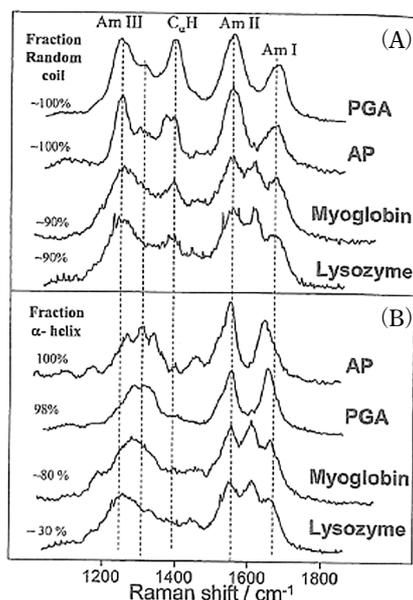


図2 unfolded (A) と folded (B) の状態のタンパク質とペプチドの紫外共鳴ラマンスペクトル。

を測定すると、タンパク質の二次構造とダイナミクスに関する知見が得られる。190~220 nm の領域の励起光を得る手法としては、i) 高圧 H₂ ガスラマンセル中におけるパルス Nd:YAG レーザーの第三高調波の 5 次のアンチストークスシフト (204 nm), ii) Ti:sapphire レーザーの第四高調波 (194 nm), iii) Kr レーザーの 413 nm 線の intracavity doubling などがある。

Asher ら⁴⁷⁾ は紫外共鳴ラマン分光法を用いてタンパク質のフォールディングの研究を行った。図 2 は unfolded (A) と folded (B) の状態のタンパク質とペプチドの紫外共鳴ラマンスペクトルである。それぞれのスペクトルの左側にランダム構造 (A) と α -ヘリックス構造 (B) の割合が示されている。非共鳴のラマンスペクトルではアミド I が強く観測され、アミド II はほとんど観測されないが、紫外共鳴ラマンスペクトルではアミド I, アミド II, アミド III のすべてが強く観測されている。folded と unfolded のスペクトルを比較すると、アミド III バンドの変化が特に顕著に表れている点が注目される。(A) と (B) のスペクトルを比較して興味深いのは、C α H 変角振動の強度変化である。Asher ら⁴⁷⁾ は異なる二次構造を区別するのに、アミドの振動と C α H 変角振動座標とのカップリングを見るのが非常に役に立つことを指摘している。中でもアミド III モードとのカップリングが重要であると考えられている。

次に、時間分解紫外共鳴ラマン分光法を用いたタンパク質のダイナミクス研究例を紹介する³⁴⁾。タンパク質のダイナミクスの特徴は、ピコ秒から秒まで幅広い時間帯に及ん

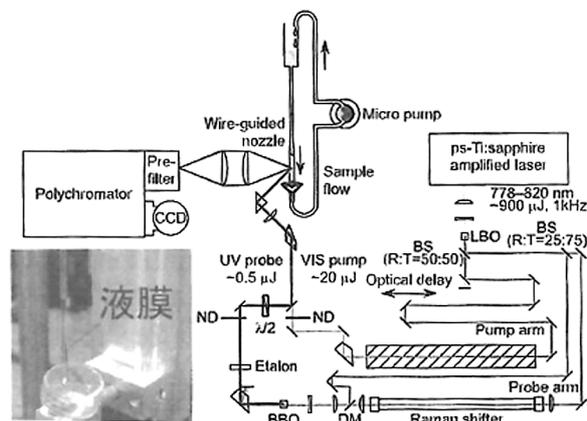


図3 ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光システムの一例。

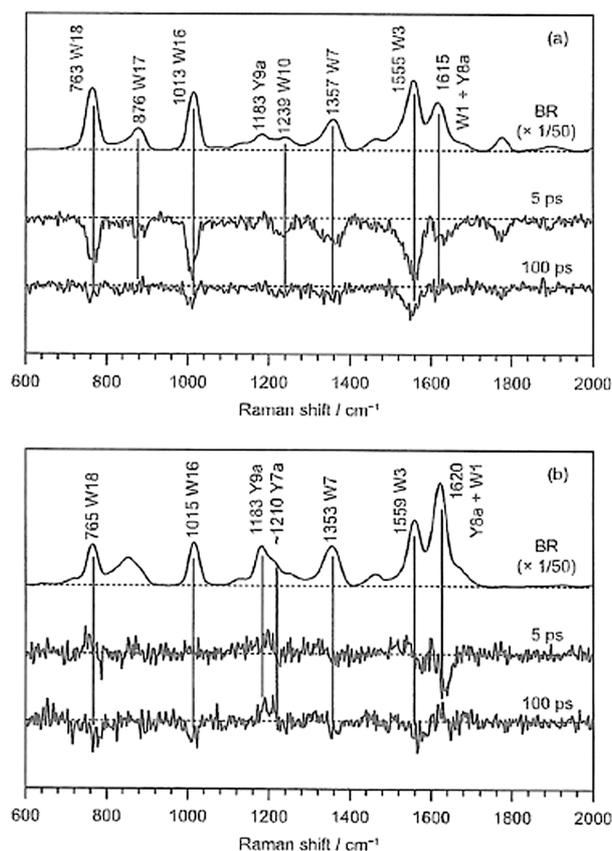


図4 それぞれ波長 225 nm (a), 238 nm (b) のプローブ光で測定した発色団の光異性化に伴う BR の紫外共鳴ラマンスペクトル。

でいることである。したがってタンパク質のダイナミクスを研究するためにはいろいろな時間分解分光が重要になってくる。最近ようやくタンパク質のダイナミクス研究に使えるサブピコ秒、ピコ秒領域での時間分解共鳴ラマン分光法が発展してきた。図 3 は水谷らが構築したピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光システムである³⁴⁾。光源にはピコ秒 Ti:sapphire 再生増幅システム (波長 778~820 nm, パル

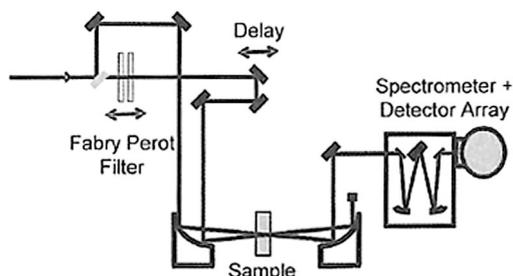


図5 フェムト秒域での赤外分光法を実現するシステムの一例。

エネルギー $\sim 800 \mu\text{J}$ /パルス, パルス幅 $\sim 2 \text{ ps}$, 繰り返し周波数 1 kHz) を用いている. この出力を波長変換することによってポンプ光, プローブ光を発生する. このシステムには3つの重要な工夫がある. ひとつは種々の非線形光学効果による波長変換によってプローブ光は $206 \sim 247 \text{ nm}$ の範囲で, ポンプ光は可視光のほぼ全領域で連続波長可変なレーザー光が得られるという点である. 2つ目はタンパク質からレイリー散乱光や蛍光などによる迷光を最大限に除去するシステムになっているという点である. もうひとつは繰り返しのパルスが常にフレッシュな試料に当たるよう, しかも試料溶液をフローさせているという点である.

水谷らは図3の装置を用いてバクテリオロドプシン (BR) のダイナミクスを調べた³⁴⁾. 図4 (a), (b) はそれぞれ波長 $225, 238 \text{ nm}$ のプローブ光で測定した発色団の光異性化に伴う BR の紫外共鳴ラマンスペクトルを示す⁴⁸⁾. いずれも上段のスペクトルは明順応状態のスペクトルである. (a) と (b) のスペクトルのバンドに付されている W と Y の記号は, それぞれ Trp, Tyr を示し, W18, W16 等は原田らによって帰属されたモード名である¹¹⁾. 各図中段, 下段は光反応によるスペクトル変化を差スペクトルで示したピコ秒時間分解紫外共鳴ラマンスペクトルである.

プローブ光に 225 nm を用いた場合は Trp 残基のバンドが強く観測され, これらのバンドは時間分解差スペクトルでは負のピークを示している. 水谷らはこの結果を Trp 残基周辺の疎水性の変化と解釈した. さらに 1555 cm^{-1} の Trp バンドの時間変化からタンパク質部分には 30 ps の時定数を示す構造変化があることがわかった. プローブ光に 238 nm を用いた場合は, 時間分解差スペクトルでは, W3 バンドには波数シフトを意味する微分形の差スペクトルが, Y9a バンドには強度変化を意味する差スペクトルが確認された. 水谷らはこれらの変化をそれぞれ Trp 残基の側鎖配向の変化, Tyr 残基の水素結合変化に帰属した.

図4 (b) の 100 ps のスペクトルは, ナノ秒時間分解測定で得られた KL 中間体のものに似ている. このことから水

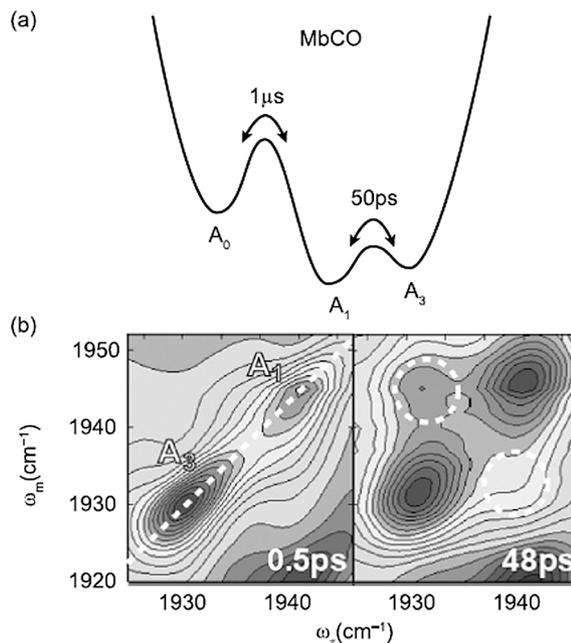


図6 2D-IR スペクトル例: ミオグロビンの CS 間ゆらぎ. (a) コンフォメーションエネルギーランドスケープ. (b) L29I ミオグロビンの一酸化炭素伸縮振動 2D-IR スペクトル.

谷らは 100 ps のスペクトルを KL 中間体に, 5 ps のスペクトルを K 中間体に帰属した. さらに時定数 30 ps のタンパク質の構造ダイナミクスを K 中間体から KL 中間体への構造変化と結論している.

極短パルス励起時間分解紫外共鳴分光法は, この例のようにタンパク質の機能と動的性質の関係を理解する重要な手法となりつつある.

フェムト秒赤外分光法を用いた 2D-IR 法はペプチドの二次構造研究にユニークな存在となっている. 赤外フェムト秒パルスレーザーの生成については第7章で述べる. 図5に示すように, 2D-IR では生成された赤外フェムト秒パルスレーザーを2つに分ける⁴⁹⁾. 1つはチューナブルファブリー・ペローフィルターを用いてナローバンドビームとし, 特定の基底振動状態にホールをつくるためのポンプ光として用いられる. もう一方はブロードバンドのまま遅延光路を経てプローブ光として分光器により検出される. 2D-IR スペクトルはファブリー・ペローフィルターのチューニング波数とプローブ光の分光波数の二次元スペクトルとして得られる. 石川ら⁵⁰⁾ は平衡状態におけるタンパク質のダイナミクスの研究に 2D-IR を用いた. タンパク質は平衡状態においてさまざまなゆらぎをもっているが, これらはエネルギー的に準安定な状態, コンフォメーションサブステート (CS) 間の構造変化として考えることが可能である. 図6 (a) はミオグロビンのコンフォメーションエネルギーランドスケープ, (b) は L29I ミオグロビ

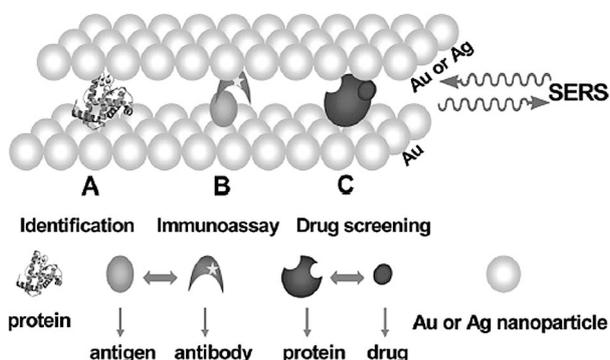


図7 金銀ナノ粒子サンドイッチ法。

ンの一酸化炭素伸縮振動 2D-IR スペクトルを示す⁵⁰⁾。0.5 ps のスペクトルでは対角線上に A_1 と A_3 に由来するピークのみが観察され、CS 間のスイッチは起きていない。しかし 48 ps では対角線上の交差ピークが新たに観測された。これらの研究から、石川ら⁵⁰⁾ はミオグロビンの CS 間ゆらぎについて興味深い結果を得ている。

5. 表面増強ラマン散乱 (SERS)

SERS は一般に、金属のナノ粒子、電極、結晶、蒸着膜さらには半導体などの表面上に吸着したある種の分子のラマン散乱強度が、その分子が溶液中にあるときよりも、著しく増強される現象をいう^{18,19)}。SERS の利点は大きく分けて3つある。ひとつは、いうまでもなく感度がきわめて高いということである (通常 $10^3 \sim 10^8$ 程度のラマン散乱強度の増大が期待できる)。もうひとつは、選択性が高いということである。“選択性”には2つの意味がある。ひとつは、金属表面に吸着した分子だけが SERS 効果を示すという意味の選択性である。もうひとつの意味は、吸着した分子の中でも吸着部位によるラマンバンドが特に強い SERS 効果を示すという選択性である。第三の利点は、金属表面へ吸着した分子の蛍光のバックグラウンドが弱くなり、蛍光に隠されていたラマンバンドがはっきり観察されるようになるという点である。

SERS 法を用いた生体物質の超高感度分析の例として、ここでは筆者らが提案している「金銀ナノ粒子サンドイッチ法」(図7) について説明する⁵¹⁾。この方法では、タンパク質が真ん中に存在し、その上下を金と銀のナノ粒子が層を成すサンドイッチ型の基板を用いる。サンドイッチ構造をとることにより、タンパク質の配向やタンパク質と基板との相互作用を安定させ、SERS の再現性を向上させた。また、layer-by-layer 構造に基づくサンドイッチ構造は、無数のいわゆる SERS 活性な “hot spot” を作り出すので、超高感度分析に向いている。さらに一方に銀ナノ粒子を用

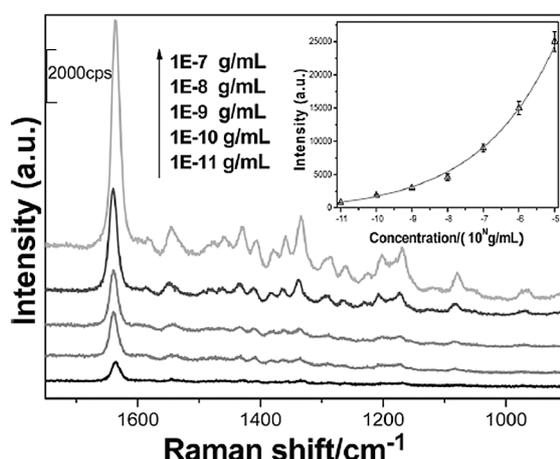


図8 金銀ナノ粒子サンドイッチ法を用いて測定した Att610 でラベルした bition-avidin 複合体の SERS スペクトルの濃度依存性。

いることにより SERS の高感度化を、一方に金ナノ粒子を用いることにより安定化を実現した。このシステムの特徴は、1) 簡便、超高感度、高再現性、高安定性であること、2) タンパク質の同定、イムノアッセイ、drug screening など幅広いタンパク質分析に応用できる点にある。

図8 は金銀ナノ粒子サンドイッチ法を用いて測定した Att610 でラベルした bition-avidin 複合体の SERS スペクトルの濃度依存性である⁵¹⁾。挿図には濃度とラマン散乱強度との関係を示した。この図に示すように 10^{-11} g/ml の濃度まで検量が可能である。

SERS で超短パルス光が用いられるのはややめずらしいが、表面増強ハイパーラマン (SEHRS) ではそれが用いられている⁵²⁾。ハイパーラマンはラマンと異なる対称性の振動モードが観測でき、ラマンと組み合わせれば分子の構造決定に有用である。しかしハイパーラマン断面積が小さいので高強度のパルスレーザーが必要である。Kneipp ら⁵²⁾ は SEHRS に基づくナノセンサーを用いて細胞の光学的 pH プローブに成功した。

6. 近赤外分光法

近赤外域 ($800 \sim 2500$ nm, $12500 \sim 4000$ cm^{-1}) には電子遷移によるバンドと、おもに XH 伸縮振動の倍音および結合音によるバンドが観測される^{6,7)}。近赤外域は同じく振動遷移を扱う赤外域に比べ透過性にすぐれることから、光路長の長いセルを用いて透過スペクトルが測定できる。また、赤外分光器に比べて扱う光学素子が安価で耐久性のよいものである。このような利点を生かして近赤外分光法は、これまで食品、高分子、薬品などの非破壊分析へ活発に応用されてきた²⁾。一方において倍音、結合音や非調和

性など近赤外分光法の基礎研究も進みつつある¹⁰⁾。ここでは、極短パルスレーザーによってもたらされた近赤外分光法の発展について紹介する。

6.1 スーパーコンティニューム (SC) 光源を用いた分析機器

超短パルス光源をフォトニック結晶ファイバー (PCF) や高非線形ファイバー (HNLF) 等に入射させると、ファイバー内の非線形光学現象 (例えば自己位相変調や四光波混合, 誘導ラマン散乱など) により多波長の光が発生する。さらに、ファイバーの構造や長さを最適化することで広い波長を連続的にカバーする光が生成される⁵³⁻⁵⁶⁾ (図1)。この現象を用いた光源がスーパーコンティニューム (SC) 光源である。SC 光源は、レーザー並みの指向性, 可干渉性, 収束性, エネルギー密度をもつ一方, 熱光源並みかそれ以上の広い波長をカバーする光源として注目されている。

SC 光発生元となるレーザーとしてはフェムト秒からナノ秒までさまざまなパルスレーザーが用いられ, 近年では連続波を用いた SC 光源も開発されている。ファイバー内の非線形効果により波長が広がるので, フェムト秒レーザーを用いた場合において, 広い波長域をもつ SC 光が発生する。一方, SC 光の波長あたりのパワー密度は入力される短パルス光の強度とファイバーの損傷閾値により決まるので, 波長あたりのパワー密度が高いものについてはナノ秒パルス光を用いる。一般的に用いられるフェムト秒レーザーは, モードロック Ti: sapphire レーザー^{55, 57)}, Er ドープファイバーレーザー^{56, 58, 59)} 等で, これらは 10~100 MHz の繰り返し周波数で動作する。また, 最も簡便で安価な SC 光源は, Q スイッチ Nd: YAG マイクロチップレーザーで, 1 ns のパルス幅で約 1 kHz 程度の繰り返し周波数で動作する^{58, 59)}。

ファイバーとしては, 石英中に光路に沿った空孔配列をもった PCF, ゲルマニウム等をファイバー中にドープしファイバーの非線形性を高めた HNLF, コアの形を非円形にした偏波保持ファイバー (PMF), あるいはこれらの特性を組み合わせたさまざまなファイバーが用いられる⁵⁶⁻⁶¹⁾。

発生する SC 光源のスペクトルの一例を図9に示す。Nd: YAG マイクロチップレーザーのナノ秒オーダーの励起光を用いても 350~1750 nm という幅広光が出力され, これまで用いられてきたフィラメント光源並みである。一方で, SC 光はフィラメント光源より高輝度でファイバー光学系とのカップリング効率が高い。SC 光源をフィラメント光源に置き換えるのに最も問題となるのは, 種光となる

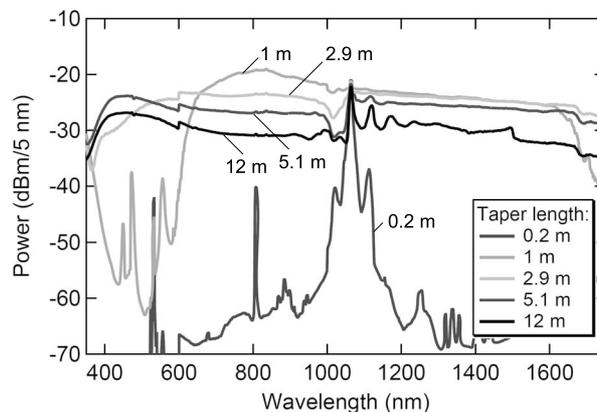


図9 Nd: YAG マイクロチップレーザー (パルス幅 0.6 ns, ピーク出力 15 kW, 繰り返し 7.25 kHz) をポンプ光にして, コア径およびテーパ長の違う PCF を通して発生する SC 光 (文献⁶¹⁾ Fig. 3 より)。

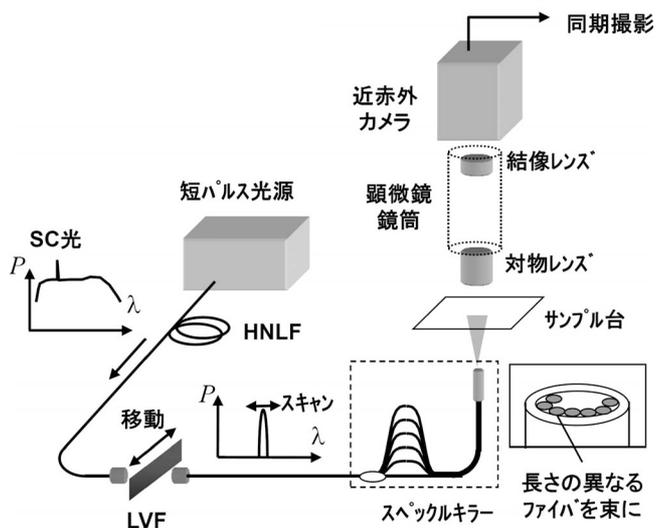


図10 Compovision 顕微鏡の概略図 (住友電気(株)より提供)。

レーザーである。フィラメント光源はほとんど空間を占有することなく, 安価 (数万~10 数万円) でいかなる研究室や実験施設にも配置可能であるが, SC 光源の種光となる極短パルスレーザーは極端な場合であれば数百万円もし, 必要なスペースも大きい⁶²⁾。しかし, ナノ秒・ピコ秒のマイクロチップレーザーによる SC 光源の開発も進められており, 安価でコンパクトな SC 光源も開発されている^{60, 61)}。今後, フィラメント光源が用いられてきた分光システムの光源を SC 光源に置き換えることで, 特徴ある分光システムが開発されることが期待される。

すでに, SC 光源の高輝度性とファイバー光学系との親和性を利用した分析機器が開発されている。例えば, 住友電気工業はサンプル照射前に SC 光をリニアバルブフィルターによって分光することで, サンプル (例えば生体標本

であっても) に対して無駄な光を照射することなく, 熱影響が小さい近赤外イメージングシステム Compovision を開発した (図 10)⁶³⁾. SC 光源は高輝度なので, 短時間で S/N の高いスペクトル測定を可能とし, これにケモトリクス解析手法を組み合わせることで, リアルタイムにサンプルの成分分布を計測することができる.

また, SC 光源を用いたマンモグラフィの開発も行われている. これまでにヘモグロビンの可視光の吸収を用いたマンモグラフィが発表されているが, Bassi らは, SC 光源の広帯域性を利用して近赤外域に観測される水や脂肪酸の倍音吸収を用いることで, マンモグラフィの高精度化が行えることを指摘した⁶⁴⁾.

SC 光源が短パルスであることを利用した新しい分光法が開発されている^{54, 58, 65)}. SC 光源をさらに長距離ファイバーに入射させ, ファイバー内で波長ごとに伝播する群速度が異なることを利用し, 出力される光を時間的に分散させることで, 超高速波数スキャンを実現することができる^{54, 58, 65)}. Sanders は, この方法を用いると, 通常分散型分光器ではおよそ $1 \text{ nm}/\mu\text{s}$ であるものが, 種光となる短パルスレーザーの繰り返しとなる 50 MHz (つまり 20 ns) で 200 nm スキャン ($0.1 \text{ nm}/\text{ns}$) を行うことができることを示した. さらに, これらを使った大気圧下における H_2O , CO_2 , C_2H_2 および $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ といったガス成分のリアルタイム計測が行えることを発表した⁵⁸⁾. 一方, Sych らはナノ秒マイクロチップレーザーを使ったコンパクトな SC 光源で, 25 kHz で $1390\sim 1740 \text{ nm}$ ($7200\sim 5750 \text{ cm}^{-1}$) の領域を分解能 2 cm^{-1} で H_2O , CO_2 , CH_4 の振動回転線が分離した近赤外吸収を測定することができることを示した⁶⁵⁾.

6.2 キャビティーリングダウン分光法 (CRDS)

キャビティーリングダウン分光法 (CRDS) とは, レーザー光を高反射率の反射鏡を用いた光学キャビティーの中に閉じこめ, そのキャビティーから漏れてくる光の減衰時間を観測することで, キャビティー内の試料の吸収量を測定する分光法である⁶⁶⁾. 入射光に検出したい物質が吸収をもつ短パルス光を用いると, キャビティー内の物質が光を吸収し, 減衰時間は物質がない場合に比べて速くなる. その度合いから吸光度を求めることができる. キャビティー内の光の光路長は 1 km にも及ぶために, pptv オーダーの気体による微小な吸光度の変化も検出することができ, 超高感度分光法として用いられる⁶⁷⁾.

7. 赤外領域

赤外領域において波長連続的に短パルスレーザー光を発

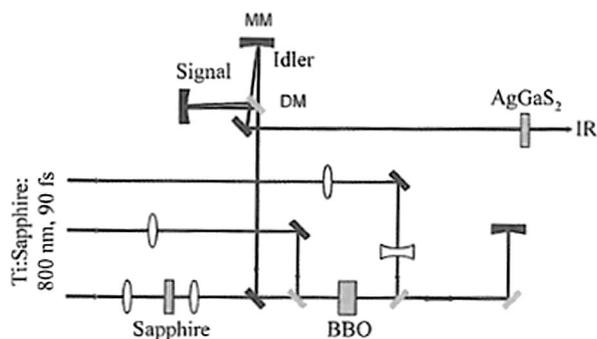


図 11 フェムト秒赤外パルスレーザー生成の一例 (文献⁴⁹⁾より).

生させる方法を説明する (図 11). 再生増幅させた Ti:sapphire レーザーより発生する近赤外の超短パルスレーザーをポンプ光として, 光パラメトリクス発振器 (OPO) に入射させると, 波長が長波長側に変換された 2 つの光が発生する. この長波長の光同士またはいずれかの光とポンプ光との光の差周波発生により, 超短パルスの赤外光が発生する^{68, 69)}. たとえば, OPO 出力として得られるシグナル光 (通常光; $1.1\sim 1.5 \mu\text{m}$) とアイドラー光 (異常光; 波長 $2 \mu\text{m}$ 付近) の差周波発生により赤外領域 (およそ $3\sim 10 \mu\text{m}$) の超短パルスを波長可変的に得ることができる. この手法によって得られる超短パルス赤外光を用いた時間分解赤外分光は, これまでに 2D-IR やポンプ・プローブ赤外分光といった振動エネルギー緩和の研究や水素分子移動反応の研究に用いられてきた.

伴野らは発生するブロードバンドのフェムト秒赤外パルスレーザーによるポンプ・プローブ分光スペクトルを観測した. 振動励起直後の分子の赤外スペクトルをサブピコ秒オーダーの時間分解で観測した⁷⁰⁾. たとえば, 酢酸 (CH_3COOD) の希薄重水溶液中で $\text{C}=\text{O}$ の伸縮振動 ($1750\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$) 領域には, 重水と酢酸が $\text{C}=\text{O}\cdots\text{DO}$ 水素結合を介した $1:1$ (1712 cm^{-1}) および $2:1$ (1683 cm^{-1}) 水素結合会合体が観測される. ポンプ光 ($1950\sim 1550 \text{ cm}^{-1}$) の光とプローブ光 (ポンプ光と同じ光を分光器によりスペクトル測定する) に遅延時間を設けて, $\text{C}=\text{O}$ 伸縮振動を励起した直後のこの領域のスペクトルを観測した. そこには, $\nu=0\rightarrow 1$ 遷移による吸収の過渡的減少と, それより低波数側にあらわれる $\nu=1\rightarrow 2$ の吸収の過渡的増加が観測される (図 12 (a)). この 2 つの過渡信号 (時間によって減衰する増加および減少) は $\nu=1$ 励起状態の占有数の減衰を示しており, まさに振動エネルギー緩和を表す. この領域の遅延時間依存信号変化を観測波数領域においてグローバルフィットした結果, $450\pm 200 \text{ fs}$ ($a(\omega)$) および $980\pm 40 \text{ fs}$ ($b(\omega)$) の 2 つの減衰定数をもった成分が

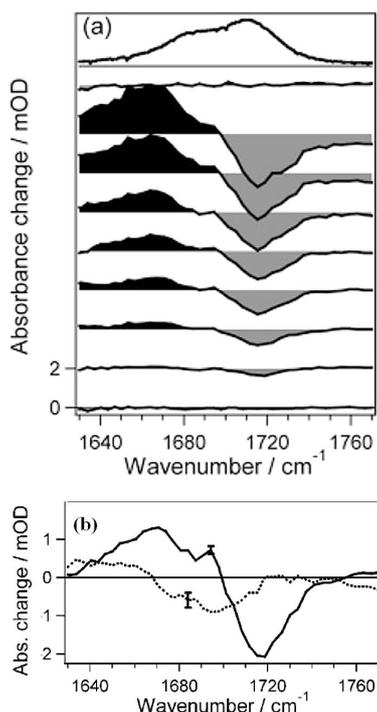


図 12 D_2O 中の CH_3COOD における, (a) $C=O$ 伸縮振動励起直後の吸収変化, (b) (a) のグローバルフィットから求められた緩和時定数の異なる 2 つの成分 $a(\omega)$ ($\tau=450\pm 200$ fs, 点線) および $b(\omega)$ ($\tau=980\pm 20$ fs, 実線) (文献⁷⁰) Fig. 3 (a) および Fig. 4 (a) より).

観測されることが示された (図 12 (b)). この 2 つの減衰成分のそれぞれの減少ピークは $a(\omega)$ では 1711 cm^{-1} に観測され, $b(\omega)$ では 1694 cm^{-1} に観測された. これは定常スペクトルにおいて観測される 1:1 会合体および 2:1 会合体の吸収と一致する. つまり, 水素結合による会合の違いによって振動緩和の速度は大きく異なることがわかる. この原因は, 水素結合の形成に伴って緩和の受容状態の状

態密度や状態間カップリングが増加することに起因すると考えられる. つまり, 振動エネルギー緩和は分子の, さらには官能基の周囲の環境や分子間相互作用に強い影響を受けることが示された.

石内らは UV と IR レーザーを用いた二重共鳴分光である UV-IR-UV イオン dip 分光法を用いてフェノール-(アンモニア) n 会合体 ($PhOH-(NH_3)_n$) の UV 励起後のプロトン移動について研究を行った^{68, 71, 72}. $PhOH-(NH_3)_n$ においてアンモニアは塩基性が高いため酸解離反応が起こり, プロトン移動クラスター ($H^+(NH_3)_n$) とフェノレートイオンになると考えられてきた⁷³. 石内らは分子線中の $PhOH-(NH_3)_n$ に $S_1 \leftarrow S_0$ への遷移励起エネルギーに相当するパルス UV レーザー (ν_{UV}) を照射し解離をスタートさせ, 遅延時間のあとパルス IR レーザー (ν_{IR}) を照射し, 最終的にはもうひとつのパルス UV レーザー (ν_{ion}) によりイオン化して TOF 法で質量選別されたイオン信号として検出した (図 13). 照射された IR 光が解離クラスターにより吸収された場合, クラスターは振動励起状態からの前期解離により消滅し, 吸収のない場合と比べてイオン信号が減少する. このような実験により, UV 照射直後の過渡的なクラスター状態の赤外スペクトルが観測された^{68, 71, 72}. その結果, プロトン移動クラスター ($H^+(NH_3)_n$) が生成されるのではなく, 水素原子が移動した ($NH_4(NH_3)_{n-1}$) が形成されることが明らかになった. ナノ秒パルスレーザーを用いた $PhOH-(NH_3)_3$ の UV-IR-UV イオン dip 分光スペクトルにおいては, $NH_4^+(NH_3)_2$ のイオンシグナルには $NH_3-NH_3-NH_4$ と $NH_3-NH_4-NH_3$ の吸収が観測された. この 2 つの中性クラスターは $NH_3-NH_4-NH_3$ のほうが安定であるが, $NH_3-NH_3-NH_4$ との生成エネルギーの差はわずか 0.5 kcal/mol

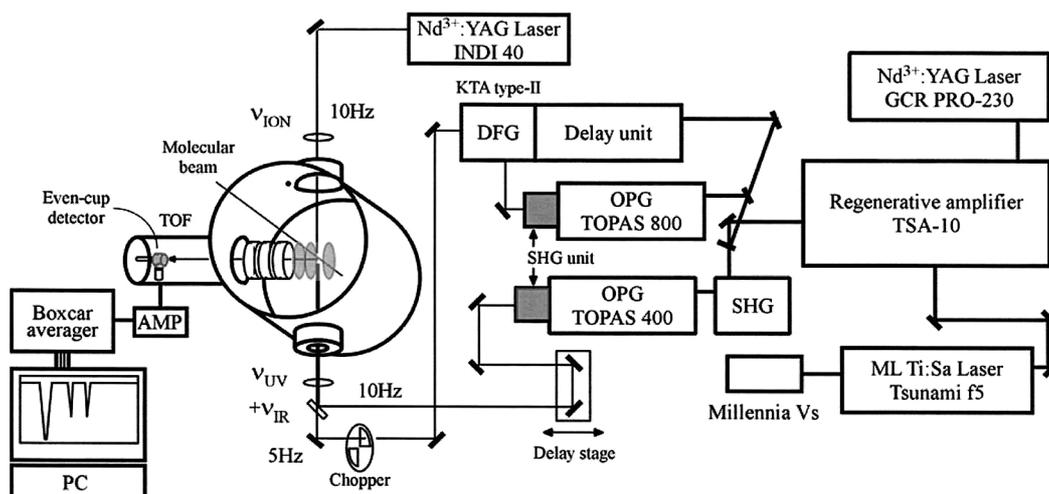


図 13 UV-IR-UV イオン dip 分光法の概略図 (文献⁷²) Fig. 2 より).

程度であり共存しうる⁶⁸⁾。しかし、ナノ秒の実験ではこれらがどのようなダイナミクスにおいて生成されるのかが観測されなかった。ピコ秒のUV-IR-UVイオンdip分光スペクトルにおいては、2つのクラスターが異なる時間経過で生成されることが明らかになった。その結果、準安定クラスターであるNH₃-NH₃-NH₄が最安定構造クラスターであるNH₃-NH₄-NH₃よりも先行して生成されることが示された^{71,72)}。これは、もとなるPhOH-(NH₃)₃がサイクリッククラスターであり、水素原子移動により直接生成されるのはNH₃-NH₃-NH₄であり、その後異性化によって最安定状態となるNH₃-NH₄-NH₃が生成されるためである。このような反応モデルを立てた時間分解解析により、水素原子移動反応が24 psで、その後異性化とその逆反応が6 psおよび9 psの時定数で起こることが明らかになった⁷²⁾。

以上の例はともに水素結合会合体に起こるピコ秒オーダーの現象を赤外パルスレーザーによって観測した基礎研究の例である。水素結合による振動エネルギー緩和や水素原子移動反応はこういったモデルとなる分子だけでなく、生体分子のような巨大分子やその分子が生体内で機能を発揮する場においても重要な要素となるだろう。

また、上記のような共鳴による分光スペクトル観測だけでなく、励起状態の波束を制御する、コヒーレントコントロールを赤外パルス光を用いて振動準位間で行う基礎研究が行われている⁷⁴⁻⁷⁶⁾。たとえば、振動状態を制御することで光化学反応を制御する、または光を演算子として振動状態をq-ビットに応用するといった試みがなされている。振動準位間のコヒーレントコントロールのためには波形整形をした極短パルス赤外光が必要となる。このような波形整形された極短パルス光は、可視・近赤外ではすでに装置が市販されているが、最近赤外においても波形整形のための技術研究が行われている。

坪内と百瀬はOPOのシグナル光を波形整形し、アイドラー光との差周波発生により、1~2 μJの強度をもった3~10 μmの波形整形された赤外光を得ることに成功した⁷⁴⁾。このとき、OPOシグナル光の波形が赤外光の波形に正確に転写されないことも明らかになり、その補正技術も同時に発表している⁷⁴⁾。また、さらに高い強度の波形整形赤外パルス光を得るためにCWの赤外光にGeの音響光学素子(AOM)を用いることにより波形整形する技術の開発も行われている^{75,76)}。

8. テラヘルツ領域

テラヘルツ (THz) 領域は一般に周波数 0.1~10 THz (3.3~333 cm⁻¹) の領域をいう。これまではこの領域の電

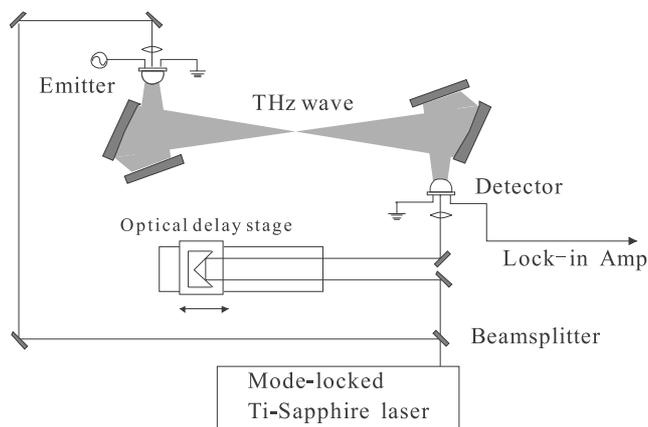


図14 THz-TDSの概念図。

磁波の発生と検出が難しく、電波の技術を用いた場合は約1 THzが周波数上限であり、光の技術を用いた場合は約3 THzが周波数の下限であった。そのため1~3 THzの領域は双方の技術の境界領域であり、分光的な研究が難しかった。

しかし近年のレーザー技術の発展により、テラヘルツ領域の高感度分光が可能になり^{8,9)}、専門家でなくても1~3 THzのスペクトルが簡単に測定できるようになった。その結果、テラヘルツ分光法の基礎研究・応用研究が活発に行われるようになった。

8.1 極短パルス光によるテラヘルツ分光—テラヘルツ時間領域分光法

テラヘルツ時間領域分光法 (THz-TDS) は、フェムト秒レーザーによって発生させたテラヘルツパルス光の電界波形を、プローブ光の光学遅延を掃引しながら測定する手法である (図14)。発生素子にはGaAsなどの半導体やGaPなどの非線形光学結晶が用いられ、検出には半導体の光キャリアーや非線形光学結晶のポッケルス効果を用いる。THz-TDSの詳細については文献^{8,9)}に詳しい。

THz-TDSはコヒーレントなテラヘルツ波の電界波形を測定するため、熱輻射の影響を受けにくい。そのため、発生するテラヘルツパルス光のエネルギーがpJ~fJ/pulseと低いにもかかわらず、非常にS/Nのよいスペクトルが測定できる (一般的にダイナミックレンジは6桁程度)。1980年代にこの手法が開発されたことで、それまで遠赤外領域の分光が必要であったHe冷却検出器が不要になり、テラヘルツ領域の分光研究がさかんに行われるようになった。現在では市販のTHz-TDSも販売され、ファイバーレーザーを使った低価格でコンパクトな分光器の開発も進んでいる。

ここ数年の技術的ブレークスルーとしては、フェムト秒再生増幅器を用いた高強度テラヘルツ光の発生が挙げられ

る。非線形結晶からのテラヘルツ光発生の高出力化のためには、非線形光学係数が高くかつダメージ閾値の高い結晶を用いる必要がある。しかし、その条件に最適な LiNbO_3 はノンコリニアな位相整合条件をもち、かつテラヘルツ帯の屈折率が高いため、発生したテラヘルツ光を効率よく取り出すことが難しかった。2007年に Nelson らのグループは回折格子を使って励起光のパルス面を傾けることでこれらの課題を克服し、 LiNbO_3 結晶表面付近から効率よくテラヘルツ光を発生させることに成功した⁷⁷⁾。この手法により数十～数百 μJ のパルス光の発生が可能になっている⁷⁸⁾。

一方、Zhang らのグループは、800 nm の高強度フェムト秒パルスの基本波と二次の高調波をガス中で集光すると、発生したプラズマの三次の非線形効果で高強度テラヘルツ光が発生することを発見した⁷⁹⁾。この手法では非線形光学結晶のフォノンバンドによる吸収の影響がなく、広範囲のテラヘルツ光発生が実現している。また、発生の逆過程を用いた検出も可能であり⁸⁰⁾、広帯域の THz-TDS が可能である。

現在、世界的に高出力のテラヘルツ光源の研究が行われており、数年前と比べて飛躍的にパルス強度が強くなっている。その結果、非線形分光など、これまでテラヘルツ周波数領域では難しいと考えられた研究が可能になると期待される^{81,82)}。

8.2 テラヘルツ振動分光

テラヘルツ領域で観測されるスペクトルは、気体、液体、固体で異なる運動状態を起源とする。気体ではマイクロ波・ミリ波領域と同様に、分子の回転運動による鋭い吸収線が観測される⁸³⁾。テラヘルツ領域ではマイクロ波領域よりも周波数が高いため、水やメタノールなどの回転定数が大きい分子の吸収が観測される。一方、液体では分子の回転緩和や秤動運動によるブロードな吸収が観測される。テラヘルツ領域の液体の吸収は、ギガヘルツ領域から続く連続的な吸収構造の一部であり、誘電緩和スペクトルと併せて解析されることが多い⁸⁴⁾。

固体のテラヘルツスペクトルには、フォノンや分子間振動による吸収ピークが観測される。特に糖やアミノ酸などの有機物結晶は物質固有の吸収を示すので、テラヘルツスペクトルは赤外吸収スペクトルと同様に「指紋スペクトル」とよばれる。現在、理化学研究所と情報通信研究機構の共同で、テラヘルツ指紋スペクトルのデータベースが構築され、Web 上で公開されている⁸⁵⁾。

テラヘルツ振動スペクトルには赤外スペクトルとは異なる以下の特徴がある。

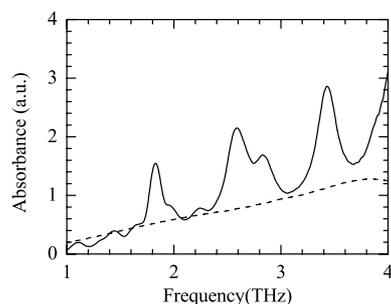


図 15 結晶 (実線) およびアモルファス (点線) スクロースのテラヘルツ吸収スペクトル。

① 赤外スペクトルには分子の官能基の基準振動によるバンドが観測されるが、テラヘルツ光は赤外光に比べてエネルギーが2桁低いため、大きな有効質量の大振幅振動が観測される。特に有機物結晶のテラヘルツスペクトルには、水素結合など分子間相互作用による分子間振動の吸収ピークが観測される。そのため、テラヘルツ振動スペクトルの形状は分子構造だけでなく、その結晶構造にも依存する。図 15 に筆者が測定したスクロースのテラヘルツ吸収スペクトルを示す。実線と点線は結晶とアモルファスのスクロースの吸収スペクトルであるが、同一分子でも結晶状態によって振動スペクトルが全く異なることがわかる。

② テラヘルツ振動スペクトルの解析には、その物質の結晶構造も含めた理解が必要である。観測された吸収ピークの同定は単純でなく、結晶構造を取り入れた量子化学計算が必要である。図 15 に示したスクロースの場合、Jepsen らによって結晶の周期的境界条件を取り入れた DFT 計算が行われており、実測のスペクトルとのよい一致が得られている⁸⁶⁾。今後このような理論計算の高速化が期待される。

③ 室温におけるテラヘルツ振動ピークの線幅は約 0.1 THz 程度と広く、異なる振動モードが重なって観測されることが多い。また、テラヘルツ領域の振動ポテンシャルは非調和性が大きいため、振動周波数の温度シフトも大きい。よって、振動モードを分離して解析するために、試料の極低温までの温度依存測定とその解析といった基礎研究が進められている。

以上のように、テラヘルツ振動スペクトルは赤外吸収スペクトルに比べて複雑であるが、今後さらなる基礎研究の発展が期待される。

8.3 生体分子・高分子のテラヘルツ分光

テラヘルツ振動分光の今後の展開として、高分子・生体分子を対象とした研究が期待される。テラヘルツ振動スペクトルは分子間相互作用、特に水素結合に敏感であるため、生体分子や高分子のように、水素結合との関連が深い

物質を対象とした研究に適している。

例えば Markelz らはタンパク質のテラヘルツ吸収スペクトルの温度依存性を測定し、吸光度の温度依存性が 200 K 付近で大きく変化することを明らかにした⁸⁷⁾。この現象はタンパク質側鎖の運動状態がその温度付近で大きく変化することを示唆しており、これまで中性子散乱で測定されていた dynamical transition を分光学的に観測したと考えられている。また、Havenith らのグループでは、タンパク質水溶液の pH を変えながらそのテラヘルツスペクトルを測定し、その吸光度がタンパクの水和状態によって変化することを明らかにした⁸⁸⁾。さらに、小川らは avidin-biotin 抗原抗体反応をテラヘルツ屈折率の変化として検出し、テラヘルツ光を用いたラベルフリー検出の可能性を提案している⁸⁹⁾。このように、テラヘルツ分光は生命科学研究のユニークなツールとなりつつある。

一方、ポリマーやゲルなどの高分子では、その高次構造が物性と深くかかわっているため、テラヘルツ分光は新しい物性研究手法として応用できる可能性がある。筆者らの研究では、生分解性ポリマーの一種であるポリヒドロキシ酪酸のスペクトル構造が、その高次構造によって大きく変化することを見いだした⁹⁰⁾。高分子の高次構造は、これまで詳細に測定する手段がなかったため、テラヘルツ分光によって得られた情報が新しい物性や機能をもつ高分子の開発に役立つ可能性が高い。

文 献

- 1) 濱口宏夫, 平川暁子(編): ラマン分光法(学会出版センター, 1988).
- 2) 田隅三生(編): FT-IR の基礎と実際, 第二版(東京化学同人, 1994).
- 3) J. M. Chalmers and P. R. Griffiths (eds.): *Handbook of Vibrational Spectroscopy, Vol. 1-5* (Wiley, 2002).
- 4) 北川禎三, A. T. Tu: ラマン分光法入門(化学同人, 1988).
- 5) 日本分光学会(編): 赤外・ラマン分光法(講談社, 2009).
- 6) 尾崎幸洋, 河田 聡(編): 近赤外分光法(学会出版センター, 1996).
- 7) Y. Ozaki, W. F. McClure and A. A. Christy (eds.): *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology* (Wiley-Intersciences, 2006).
- 8) Y.-S. Lee: *Principles of Terahertz Science and Technology* (Springer, 2009).
- 9) テラヘルツテクノロジーフォーラム(編): テラヘルツ技術総覧 (NGT, 2007).
- 10) T. Gonjo, Y. Futami, Y. Morisawa, M. J. Wojcik and Y. Ozaki: *J. Phys. Chem. A* (in press).
- 11) 竹内英夫: “タンパク質のラマン分光: 芳香族アミノ酸側鎖の構造・相互作用解析”, *分光研究*, **59** (2010) 73-86.
- 12) 田原太平: “フェムト秒分光による凝縮相分子の核波束運動実時間観測—分光から反応へ—”, *レーザー研究*, **32** (2004) 687-693.
- 13) 吉澤雅幸: “誘導ラマン散乱を用いた超高速時間分解振動分光”, *分光研究*, **53** (2004) 102-103.
- 14) S. Kawata and V. M. Shalae (eds.): *Tip Enhancement (Advanced in Nano-Optics and Nano-Photonics)* (Elsevier, 2007).
- 15) T. Dieing, O. Hollricher and J. Toporski (eds.): *Confocal Raman Spectroscopy* (Springer, 2011).
- 16) R. Salzer and H. W. Siesler (eds.): *Infrared and Raman Spectroscopic Imaging* (Wiley-VCH, 2009).
- 17) S. Sasic and Y. Ozaki (eds.): *Raman, Infrared, and Near-Infrared Chemical Imaging* (Wiley, 2010).
- 18) K. Kneipp, M. Moskivits and H. Kneipp (eds.): *Surface-Enhanced Raman Scattering: Physics and Applications* (Springer, 2006).
- 19) R. Aroca: *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy* (Wiley, 2007).
- 20) J. M. Chalmers and P. R. Griffiths (eds.): *Handbook of Vibrational Spectroscopy, Vol. 3* (Wiley, 2002).
- 21) R. G. Parr and W. Yang: *Density-Functional Theory of Atoms Molecules* (Oxford Science Publications, 1989).
- 22) 尾崎幸洋, 宇田明史, 赤井俊雄: 化学者のための多変量解析—ケモメトリックス入門—(講談社サイエンティフィック, 2002).
- 23) 長谷川健: スペクトル定量分析(講談社, 2005).
- 24) I. Noda and Y. Ozaki: *Two-Dimensional Correlation Spectroscopy* (Wiley, 2004).
- 25) F. S. Parker: *Applications of Infrared, Raman, and Resonance Raman Spectroscopy in Biochemistry* (Plenum, 1983); *Applications of Infrared Spectroscopy in Biochemistry, Biology and Medicine* (Plenum, 1971).
- 26) P. R. Carey: *Biochemical Applications of Raman Spectroscopy* (Academic Press, 1982) (伊藤敏一・尾崎幸洋訳, ラマン分光法—生化学への応用—, 共立出版, 1984).
- 27) A. T. Tu: *Raman Spectroscopy in Biology: Principle and Applications* (Wiley-Interscience, 1982).
- 28) 尾崎幸洋, 岩橋秀夫: 生体分子分光学入門(共立出版, 1992).
- 29) Y. Ozaki: “Medical application of Raman spectroscopy,” *Appl. Spectrosc. Rev.*, **24** (1988) 259-312.
- 30) H. H. Mantsch and D. Chapman: *Infrared Spectroscopy of Biomolecules* (Wiley-Liss, 1996).
- 31) H. U. Gremlich and B. Yan: *Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials* (Marcel Dekker, 2001).
- 32) J. M. Chalmers and P. R. Griffiths (eds.): *Handbook of Vibrational Spectroscopy, Vol. 5* (Wiley, 2002).
- 33) F. Siebert and P. Hildebrandt: *Vibrational Spectroscopy in Life Science* (Wiley-VCH, 2008).
- 34) 水谷泰久: “時間分解共鳴ラマン分光法で観るヘムタンパク質の構造ダイナミクスと機能発現機構”, *生物物理*, **47** (2007) 288-294; 水谷泰久, 水野 操: “ピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光法でみたタンパク質分子の光反応応答”, *生物物理*, **51** (2011) 10-13.
- 35) 濱口宏夫: “生細胞化学—化学の眼で生命を見る—”, *現代化学*, **448** (2008) 24-30.
- 36) 藤田克昌: “超解像顕微鏡の進展”, *生物物理*, **50** (2010) 174-179.
- 37) H. Kandori: “Hydrogen bonds of protein-bound water molecules in rhodopsins,” *Hydrogen Bonding and Transfer in the Excited State*, eds. K.-L. Han and G.-J. Zhao (John Wiley & Sons, 2010) pp. 377-391.
- 38) X. X. Han, B. Zhao and Y. Ozaki: “Surface-enhanced Raman scattering for protein detection,” *Anal. Bioanal. Chem.*, **394** (2009) 1719-1727.
- 39) T. Itoh, A. Sujith and Y. Ozaki: “Surface-enhanced Raman scattering spectroscopy: Electromagnetic mechanism and biomedical applications,” *Frontiers of Molecular Spectroscopy*, ed. J. Laane (Elsevier, 2008) pp. 289-319.

- 40) K. Kneipp, R. Aroca, H. Kneipp and E. Wenstrup-Byrne (eds.): *New Approaches in Biomedical Spectroscopy* (American Chemical Society, 2007).
- 41) Y. Ozaki, H. Shinzawa, K. Maruo, Y.-P. Du and S. Kasemsumran: "In vivo nondestructive measurement of blood glucose by near-infrared diffuse-reflectance spectroscopy," *Handbook of Optical Sensing of Glucose in Biological Fluids and Tissues*, ed. V. V. Tuchin (CRC Press, 2008) pp. 205-236.
- 42) P. Matousek and M. D. Morris: *Emerging Raman Applications and Techniques in Biomedical and Pharmaceutical Fields* (Springer, 2010).
- 43) P. Lasch and J. Kneipp: *Biomedical Vibrational Spectroscopy* (Wiley-Interscience, 2008).
- 44) H. Sato, H. Shinzawa and Y. Komachi: "Fiber-optic Raman probes for biomedical and pharmaceutical applications," *Emerging Raman Applications and Techniques in Biomedical and Pharmaceutical Fields*, eds. P. Matousek and M. D. Morris (Springer, 2010) pp. 25-46.
- 45) 酒井 誠, 井上圭一, 藤井正明: "細胞内部可視化を目指した赤外超解像顕微分光法の開発", *レーザー研究*, **37** (2009) 729-733.
- 46) Y. Kurata and S. Tsuchikawa: "Application of time-of-flight near-infrared spectroscopy to fruits: Analysis of absorption and scattering conditions of near-infrared radiation using cross-correlation of the time-resolved profile," *Appl. Spectrosc.*, **63** (2009) 306-312.
- 47) S. A. Asher, A. Ianoul, G. Mix., M. N. Karnoup, M. Diam and R. Schweitzer-Stenner: "Dihedral ψ angle dependence of the amide III vibration: A uniquely sensitive UV resonance Raman secondary structural probe," *J. Am. Chem. Soc.*, **123** (2001) 11775-11781.
- 48) M. Mizuno, M. Shibata, J. Yamada, H. Kandori and Y. Mizutani: "Picosecond time-resolved ultraviolet resonance Raman spectroscopy of bacteriorhodopsin: Primary protein response to the photoisomerization of retinal," *J. Phys. Chem. B*, **113** (2009) 12121-12128.
- 49) P. Hamm, R. A. Kaindl and J. Stenger: "Noise suppression in femtosecond mid-infrared light sources," *Opt. Lett.*, **25** (2000) 1798-1800.
- 50) 石川春人: "2次元赤外分光法によるタンパク質のダイナミクス測定", *生物物理*, **49** (2009) 194-195.
- 51) X. X. Han, Y. Kitahama, T. Itoh, C. X. Wang, B. Zhao and Y. Ozaki: "Label-free highly sensitive detection of proteins in aqueous solutions using surface-enhanced Raman scattering," *Anal. Chem.*, **81** (2009) 3329-3333.
- 52) J. Kneipp, H. Kneipp, B. Wittig and K. Kneipp: "One- and two-photon excited optical pH probing for cells using surface-enhanced Raman and hyper-Raman nanosensors," *Nano Lett.*, **7** (2007) 2819-2823.
- 53) A. R. Alfano (ed.): *The Supercontinuum Laser Source*, 2nd ed. (Springer, New York, 2005).
- 54) C. F. Kaminski, R. S. Watt, A. D. Elder, J. H. Frank and J. Hult: "Supercontinuum radiation for applications in chemical sensing and microscopy," *Appl. Phys. B*, **92** (2008) 367-378.
- 55) J. K. Ranka, R. S. Windeler and A. J. Stentz: "Optical properties of high-delta air silica microstructure optical fibers," *Opt. Lett.*, **25** (2000) 796-798.
- 56) N. Nishizawa and T. Goto: "Widely broadened super continuum generation using highly nonlinear dispersion shifted fibers and femtosecond fiber laser," *Jpn. J. Appl. Phys.*, **40** (2001) L365-L367.
- 57) G. Genty, M. Lehtonen, H. Ludvigsen, J. Broeng and M. Kaivola: "Spectral broadening of femtosecond pulses into continuum radiation in microstructured fibers," *Opt. Express*, **10** (2002) 1083-1098.
- 58) S. T. Sanders: "Wavelength-agile fiber laser using group-velocity dispersion of pulsed super-continua and application to broadband absorption spectroscopy," *Appl. Phys. B*, **75** (2002) 799-802.
- 59) J. W. Nicholson, A. K. Abeeluck, C. Headley, M. F. Yan and C. G. Jorgensen: "Pulsed and continuous-wave supercontinuum generation in highly nonlinear, dispersion-shifted fibers," *Appl. Phys. B*, **77** (2003) 211-218.
- 60) W. J. Wadsworth, N. Joly, J. C. Knight, T. A. Birks, F. Biancalana and P. S. J. Russell: "Supercontinuum and four-wave mixing with Q-switched pulses in endlessly single-mode photonic crystal fibres," *Opt. Express*, **12** (2004) 299-309.
- 61) A. Kudlinski, A. K. George, J. C. Knight, J. C. Travers, A. B. Rulkov, S. V. Popov and J. R. Taylor: "Zero-dispersion wavelength decreasing photonic crystal fibers for ultraviolet-extended supercontinuum generation," *Opt. Express*, **14** (2006) 5715-5722.
- 62) NKT Photonics: *Supercontinuum Generation in Photonics Crystal Fiber*, <http://www.nktphotonics.com/side5412-cid-7858.html> (2009)
- 63) 住友電気工業(株): http://www.sei.co.jp/news/press/10/prs838_s.html (2010).
- 64) A. Bassi, L. Spinelli, C. D'Andrea, A. Giusto, J. Swartling, A. Pifferi, A. Torricelli and R. Cubeddu: "Feasibility of white-light time-resolved optical mammography," *J. Biomed. Opt.*, **11** (2006) 054035.
- 65) Y. Sych, R. Engelbrecht, B. Schmauss, D. Kozlov, T. Seeger and A. Leipertz: "Broadband time-domain absorption spectroscopy with a ns-pulse supercontinuum source," *Opt. Express*, **18** (2010) 22762-22771.
- 66) K. W. Busch and M. A. Busch (eds.): *Cavity Ring-Down Spectroscopy: An Ultratrace Absorption Measurement Technique*, *ACS symp. ser. 720* (American Chemical Society, 1999).
- 67) HORIBA 微量アンモニアガスモニタ CG-1000 Series: <http://www.horiba.com/jp/scientific/budget/surface/details/trace-ammonia-gas-monitor-cg-1000-756/>
- 68) S. Ishiuchi, M. Saeki, M. Sakai and M. Fujii: "Infrared dip spectra of photochemical reaction products in a phenol/ammonia cluster: Examination of intracuster hydrogen transfer," *Chem. Phys. Lett.*, **322** (2000) 27-32.
- 69) P. Hamm, R. A. Kaindl and J. Stenger: "Noise suppression in femtosecond mid-infrared light sources," *Opt. Lett.*, **25** (2000) 1798-1800.
- 70) M. Banno, K. Ohta and K. Tominaga: "Ultrafast dynamics of the carbonyl stretching vibration in acetic acid in aqueous solution studied by sub-picosecond infrared spectroscopy," *J. Phys. Chem. A*, **112** (2008) 4170-4175.
- 71) S. Ishiuchi, M. Sakai, K. Daigoku, T. Ueda, T. Yamanaka, K. Hashimoto and M. Fujii: "Picosecond time-resolved infrared spectra of photo-excited phenol-(NH₃)₃ cluster," *Chem. Phys. Lett.*, **347** (2001) 87-92.
- 72) S. Ishiuchi, M. Sakai, K. Daigoku, K. Hashimoto and M. Fujii: "Hydrogen transfer dynamics in a photoexcited phenol/ammonia (1 : 3) cluster studied by picosecond time-resolved UV-IR-UV ion dip spectroscopy," *J. Chem. Phys.*, **127** (2007) 234304.
- 73) D. Solgadi, C. Jouvet and A. Tramer: "Resonance-enhanced multiphoton ionization spectra and ionization thresholds of phenol-(ammonia)_n clusters," *J. Phys. Chem.*, **92** (1988) 3313-3315.
- 74) M. Tsubouchi and T. Momose: "Femtosecond pulse shaping in the mid-infrared generated by difference-frequency mixing: A simulation and experiment," *J. Opt. Soc. Am. B*, **24** (2007)

- 1886.
- 75) M. Tsubouchi and T. Momose: "Pulse-shaping and its characterization of mid-infrared femtosecond pulses: Toward coherent controls of molecules in the ground electronic states," *J. Opt. Comm.*, **282** (2009) 3757-3764.
- 76) M. Tsubouchi and T. Momose: "Cross-correlation frequency-resolved optical gating for mid-infrared femtosecond laser pulses by an AgGaGeS₄ crystal," *Opt. Lett.*, **34** (2009) 2447-2449.
- 77) K. L. Yeh, M. C. Hoffmann, J. Hebling and K. A. Nelson: "Generation of 10 μ J ultrashort terahertz pulses by optical rectification," *Appl. Phys. Lett.*, **90** (2007) 171121.
- 78) J. Hebling, K. L. Yeh, M. C. Hoffmann, B. Bartal and K. A. Nelson: "Generation of high-power terahertz pulses by tilted-pulse-front excitation and their application possibilities," *J. Opt. Soc. Am. B*, **25** (2008) B6.
- 79) J. M. Dai and X. C. Zhang: "Terahertz wave generation from gas plasma using a phase compensator with attosecond phase-control accuracy," *Appl. Phys. Lett.*, **94** (2009) 021117.
- 80) X. F. Lu, N. Karpowicz and X. C. Zhang: "Broadband terahertz detection with selected gases," *J. Opt. Soc. Am. B*, **26** (2009) A66.
- 81) M. Jewariya, M. Nagai and K. Tanaka: "Ladder climbing on the anharmonic intermolecular potential in an amino acid microcrystal via an intense monocycle terahertz pulse," *Phys. Rev. Lett.*, **105** (2010) 203003.
- 82) S. Watanabe, N. Minami and R. Shimano: "Intense terahertz pulse induced exciton generation in carbon nanotubes," *Opt. Express*, **19** (2011) 1528-1538.
- 83) G. Winnewisser: "Spectroscopy in the terahertz region," *Vib. Spectrosc.*, **8** (1995) 241-253.
- 84) H. Yada, M. Nagai and K. Tanaka: "Origin of the fast relaxation component of water and heavy water revealed by terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy," *Chem. Phys. Lett.*, **464** (2008) 166-170.
- 85) <http://www.riken.jp/THzdatabase/>
- 86) P. U. Jepsen and S. J. Clark: "Precise ab-initio prediction of terahertz vibrational modes in crystalline systems," *Chem. Phys. Lett.*, **442** (2007) 275-280.
- 87) A. G. Markelz, J. R. Knab, J. Y. Chen and Y. F. He: "Protein dynamical transition in terahertz dielectric response," *Chem. Phys. Lett.*, **442** (2007) 413-417.
- 88) S. Ebbinghaus, S. J. Kim, M. Heyden, X. Yu, M. Gruebele, D. M. Leitner and M. Havenith: "Protein sequence- and pH-dependent hydration probed by terahertz spectroscopy," *J. Am. Chem. Soc.*, **130** (2008) 2374-2375.
- 89) Y. Ogawa, S. Hayashi, M. Oikawa, C. Otani and K. Kawase: "Interference terahertz label-free imaging for protein detection on a membrane," *Opt. Express*, **16** (2008) 22083.
- 90) H. Hoshina, Y. Morisawa, H. Sato, A. Kamiya, I. Noda, Y. Ozaki and C. Otani: "Higher order conformation of poly(3-hydroxyalkanoates) studied by terahertz time-domain spectroscopy," *Appl. Phys. Lett.*, **96** (2010) 101904.

(2011年3月31日受理)