

ガラス分散でのスペクトル焦点を用いたCARS顕微鏡

Coherent anti-Stokes Raman microspectroscopy using spectral
focusing
with glass dispersion

Rocha-Mendoza, Wolfgang Langbein, and Paola Borri

B4 増岡孝

概要

- CARS顕微鏡で、群速度分散で知られたガラス素子を用いることで強度の大きな低下をすることなくフェムト秒パルスチャーブすることでピコ秒パルスにし、高スペクトル解像度の実施を実現する。
- ポンプ光とストークス光のチャーブはチャーブされたパルス幅のフーリエ限界によって決められて得られるスペクトル解像度に合わせる。
- 今回は、ラマンのコヒーレンス時間や時間順序による様々な条件に付いても考えた。

非線形光学過程について

強い光（フェムト秒パルスなど）を試料に照射すると非線形作用が引き起こされる。

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

χ : 非線形感受率

E: 光の電場

2色のレーザー光の振動数差($\omega_1 - \omega_2$)が分子振動(Ω)と一致したときに増強される CARS 信号($\omega_{CARS} = 2\omega_1 - \omega_2$)を計測する

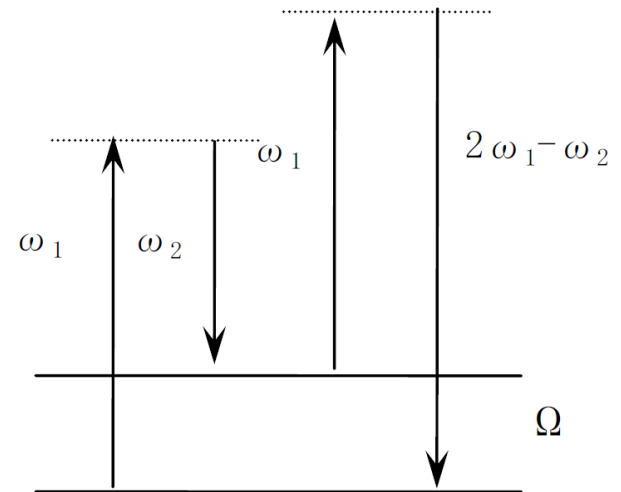


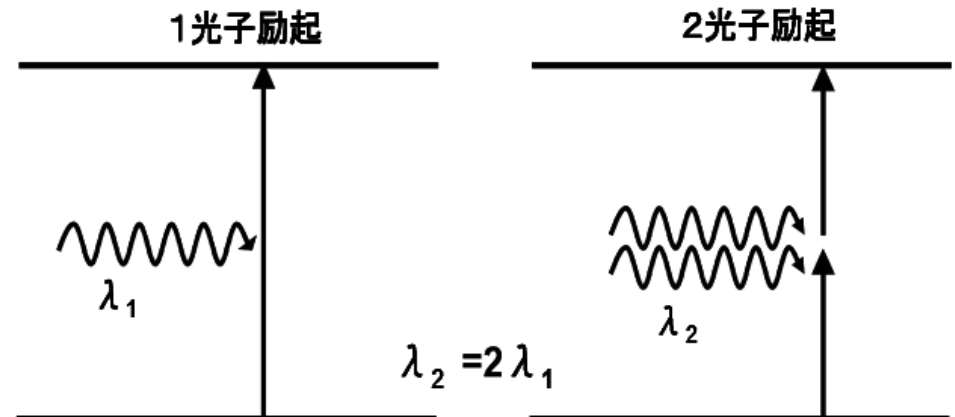
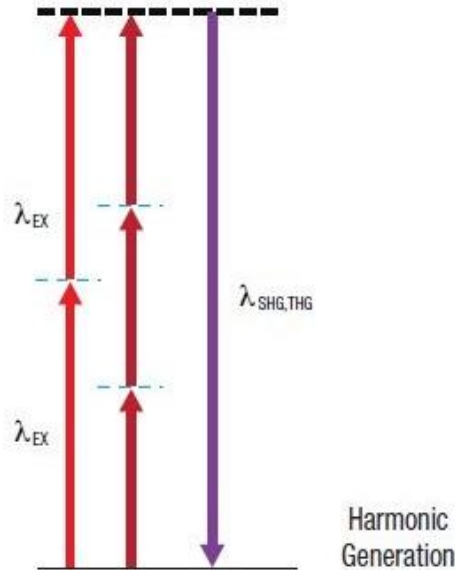
図1 CARS のエネルギーダイアグラム

CARSについて

非線形光学顕微鏡の一種であり、

- ・非侵襲、非蛍光、非染色
- ・三次元分解能 ・化学特異性

などの特徴を持つ。非線形光学顕微鏡には他にもSHG顕微鏡、二光子励起顕微鏡がある



従来

- ピコ秒の範囲のコヒーレント時間を持つあるラマン共振は、ピコ秒パルスを用いたスペクトル選択性でコヒーレント励起を最適にしてきた。
- しかしそれでは、同じようなSHGやTPFのイメージング手法よりも効率が悪い

解決法

- スペクトル分解能は個々の励起パルスの上スペクトルで決まるのではなく、励起パルスの一時干渉で決まる。
 - パルスの位相を制御することで、パルスのエネルギーを失うことなく高分解能が得られる。
 - また、スペクトル選択性は効率のよく早い単一チャンネル検出器で行うことができる。

原理

Spectral focusing

- 高解像度が可能となる。
- Fsレーザーでポンプおよびストークス両方の同じ線形時間的チャープを与えたパルスでパルス間に一定の瞬時周波数差(IFD)を作成
- そしてこれは多くのピコ秒に線形チャープの適用によって伸長することができる。
- この方法は、さらに、単にレーザー光源を調整することなく、CARS分光法を実行することができ、それらの相対的な時間遅延を調整することにより、パルスのスペクトル幅内同調IFDを可能にします。

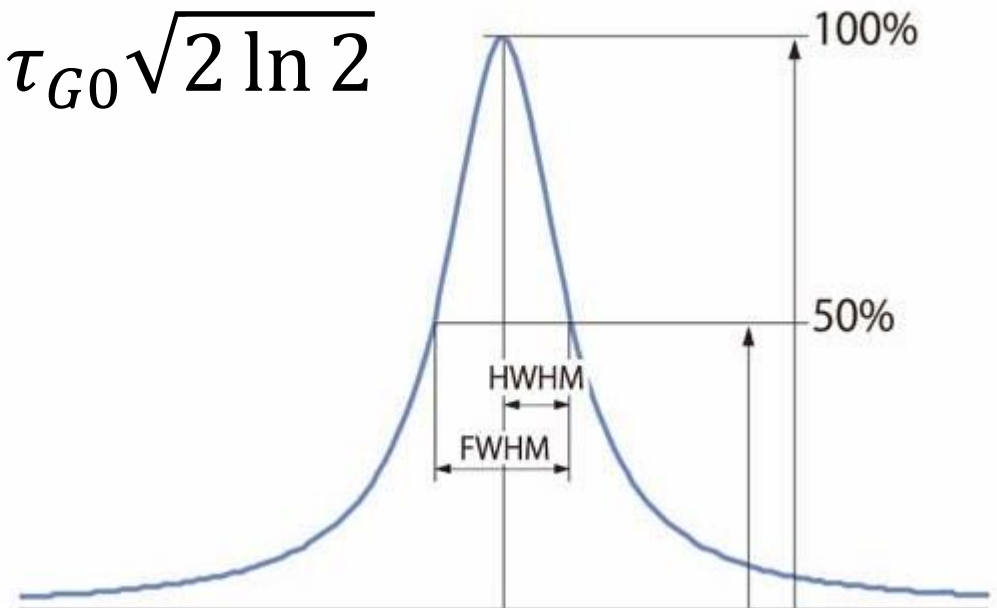
FWHMについて

- ガウス型パルスの電場

$$E \propto \exp\left(-\frac{t^2}{\tau_{G0}^2} + i\omega_0 t\right)$$

- パルス幅は半値全幅 (FWHM) を用いて

$$\tau = \tau_{G0} \sqrt{2 \ln 2}$$



具体的な方法

- 長さ z の分散物質を通して得られる瞬時周波数 $\omega(t)$ と幅 $\tau(z)$ は

$$\omega(t) = \omega_0 + 2\beta t$$

$$\tau(z) = \tau_0 \sqrt{1 + \left(\frac{4 \ln 2 |k''| z}{\tau_0^2} \right)^2}$$

z : ガラス素子の長さ

k'' : 物質の群速度分散のパラメーター

β : 線形チャープパラメーター

具体的な方法

$$k'' = \frac{\lambda^3}{2\pi c} \frac{d^2 n}{d\lambda^2}$$

k'' : 物質の群速度分散のパラメーター

c : 光速 n : 波長 λ における物質の屈折率

$$\beta(z) = 8(\ln 2)^2 |k''| z \tau_0^{-2} \tau^2$$

β : 線形チャープパラメーター

具体的な方法

Sellmeier equation

$$n^2(\lambda) = 1 + \sum_{m=1}^3 A_m \lambda^2 / (\lambda^2 - B_m)$$

今回はSF57を使用(A_1, A_2, A_3) =

(1.8165 , 0.4289 , 1.072)[μm]

(B_1, B_2, B_3) = (0.01437 , 0.05928 , 121.42) [μm]

具体的な方法

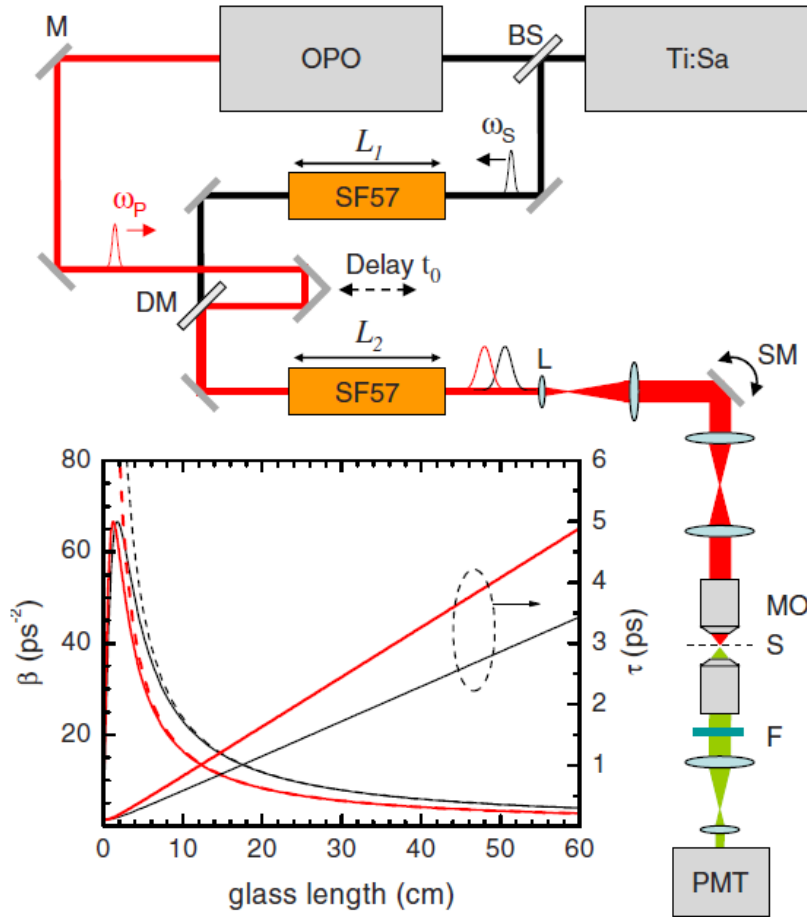
- ポンプ光とストークス光の中心のパルス幅は
スペクトル幅 144cm^{-1} にFWHMを用いて $\tau_0 = 102[\text{fs}]$
ここで、

$$z \gg \frac{\tau_0^2}{|k''|}, \tau \gg \tau_0 \text{ ならば}$$
$$\beta^{-1} \approx 2z|k''|$$

ストークス光とポンプ光のガラス素子の長さの比を一定比率で用いることによって

同じ量の線形チャープ($\beta_S = \beta_P$)
を与えることが出来る。

装置



$$L_S/L_p = k_p''/k_S'' \approx 1.42$$

$$k_p = k''(662.5\text{nm}), k_S = k''(832.5\text{nm})$$

今回の装置の場合は

$$L_S = L_1 + L_2 + L_{MO}$$

$$L_p = L_{OPO} + L_2 + L_{MO}$$

$$L_{OPO} \approx 2[\text{cm}], L_{MO} \approx 5[\text{cm}]$$

FIG. 1. (Color online) Sketch of the experimental setup. BS: beam splitter; M: mirror; SF57: glass blocks; DM: dichroic mirror; L: lens; SM: scanning mirror; MO: objective; S: sample; F: filter; PMT: photomultiplier tube. Graph: calculated $\beta(z)$ parameter and $\tau(z)$ for the pump (bold) and Stokes (thin) beams. Dashed traces are approximations for $\beta(z)$ (see text).

具体的な方法

- チャープされたことによって起きた励起のスペクトル選択性は振動を引き起こしている強度変調によってきまり

- $E_P E_S^* \propto \exp\left[-\frac{t_0^2}{2\tau_G^2} - \frac{2(t+t_0)^2}{\tau_G^2} + i(\omega_P - \omega_S + 2\beta t_0)t\right]$

である。また

- $\exp\left[-\frac{(\omega - \omega_D)^2 \tau_G^2}{4} - \frac{t_0^2}{2\tau_G^2}\right]$

を持ちそれはIFD(瞬時周波数差) $\omega_D(t_0)$ を中心に幅 σ_D で置かれ ω_D 、 σ_D は

- $\omega_D(t_0) = \omega_P - \omega_S + 2\beta t_0$
- $\sigma_D = 4\sqrt{\ln 2} / \tau_G$
- (数値系: $\sigma_D = 20.8[cm^{-1}](\tau = 1[ps]), \tau = \tau_G \sqrt{2\ln 2}$)

実験結果 1

試料: ポリスチレンビーズ

ラマン共振周波数 $\omega_r = 3054[\text{cm}^{-1}]$

直径 $d=3[\mu\text{m}]$

これらを2%のアグロース

98%の水からできたゲルに浸漬する。

芳香族C-Hのラマン共振を見る。

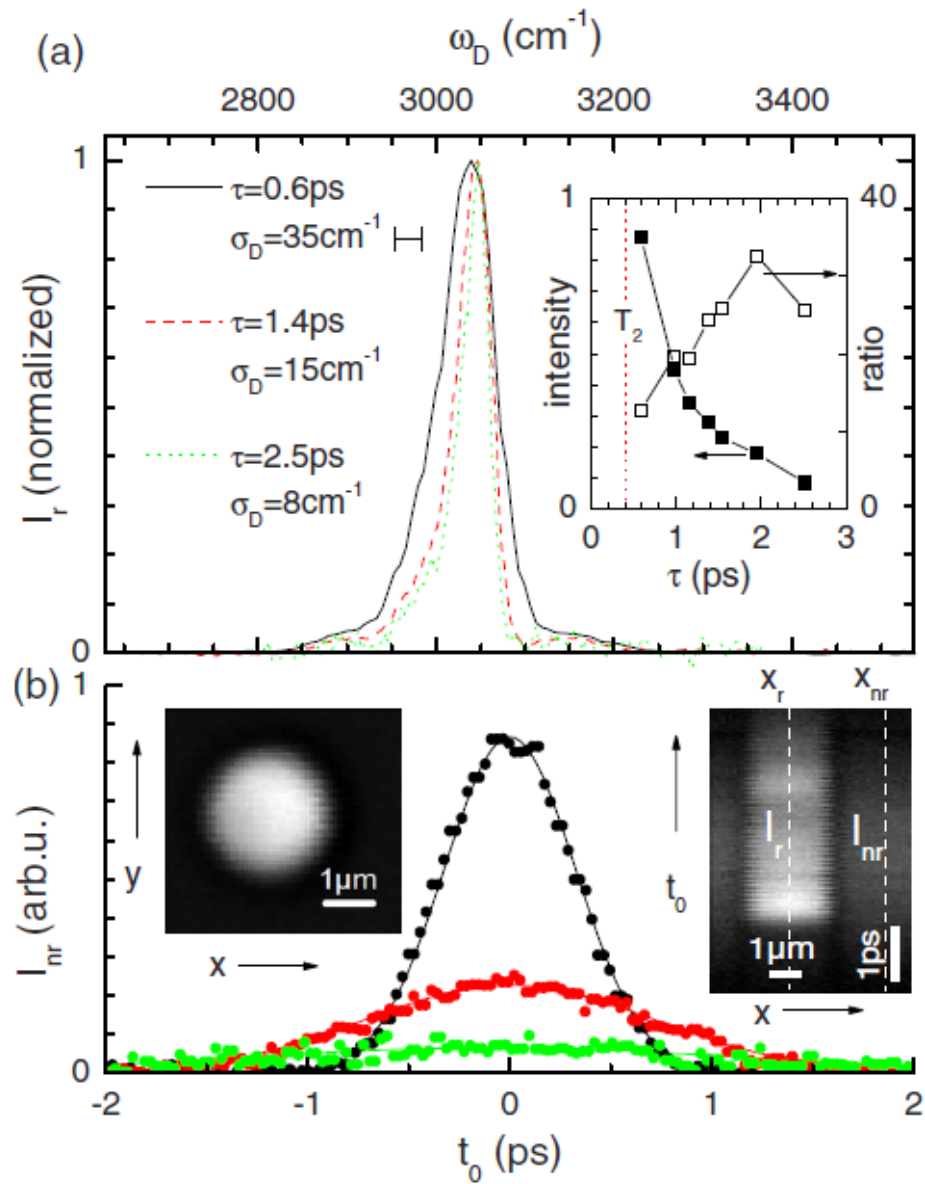
FIG2の(b)の左の画像

ビーズを中央におきCARSイメージを
取得したものである。

この画像からこの方法での横方向
の分解能は $\sim 0.3[\mu\text{m}]$ であると推測される。

FIG2の(b)の右の画像

ビーズをおいた状態でディレイタイム t_0 ごとに
ラインスキャンし、CARSスペクトルを得たもの
である。非共鳴CARS(I_{nr}, x_{nr})とポリスチ
レンから共振CARS(I_r, x_r)の両方のゲルから
一つを走査できたことを示している。



実験結果2

FIG3 (a)

芳香族C-Hは脂肪族の振動帯域2851 - 2901[cm^{-1}]を持っている。なので、加えてその範囲が観察可能にした。

FIG3 (b) (c) (d)

ここではスペクトル範囲をFIG2と同じく変化させ共鳴ラマンと非共振ラマンの強度の比をとった。これにより、計測するスペクトルの範囲を絞っているのに(d)では高い比率が得られている。

$\tau=0.6$ [ps]ではスペクトルがシフトしていることが観察された。これは励起共鳴と時間順序の間の相互作用に起因している。しかし、この時間順序はスペクトル応答関数では無視できるが、強いチャープパルスのみにはこれは影響する。

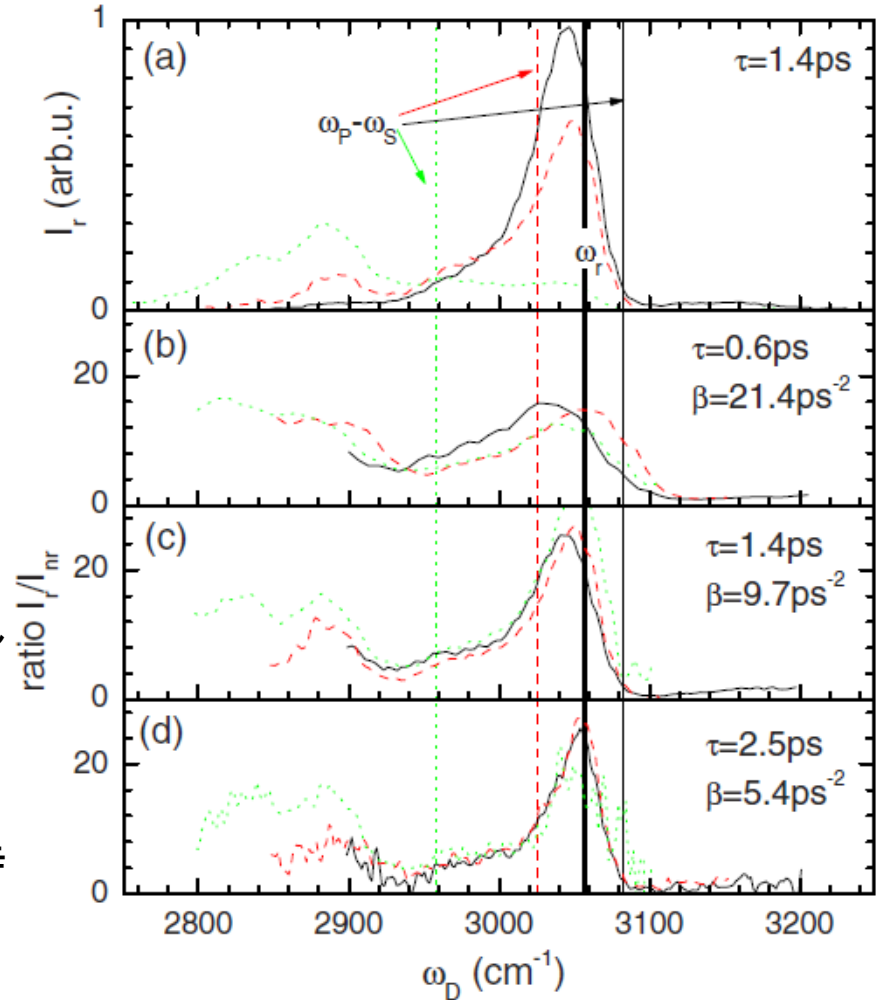


FIG. 3. (Color online) CARS in polystyrene vs $\omega_D(t_0)$ for different $\omega_p - \omega_s$ as indicated by the vertical lines. (a) I_r for $\tau = 1.4$ ps. [(b)–(d)] ratio I_r/I_{nr} for τ as labeled.

まとめ

- ガラスの二次分散を使用して、スペクトル的に非感受性で高効率、楽な位置合わせ、および費用対効果の高い方法で高スペクトル分解能を有する単一周波数全帯域100フェムト秒パルスで出来ることを実証した。
- 時間的なパルスの重なりを最適化するために、ポンプおよびストークスの差周波数を制御することによって、CARSの発生の時間順序の影響が原因していたが、共鳴CARS信号を増加させることができることを示した。
- この方法は高速かつ広帯域波長可変性の周波数選択のCARSシステムチャープニング方法は、SHGやTPFなどのフェムト秒の単一のサブ10-FSソースを用いる技術と互換性があり、その結果、サブ10-FSソースを用いる技術での使用に適してる。