1.33~8µm に調整可能な超安定広帯域フェムト秒レーザーを使用した ほぼ回折限界の FTIR マッピング

FLORIAN MÖRZ,^{1,*} ROSTYSLAV SEMENYSHYN,¹ TOBIAS STEINLE,¹ FRANK NEUBRECH,^{1,3} UTE ZSCHIESCHANG,² HAGEN KLAUK,² ANDY STEINMANN,¹

AND HARALD GIESSEN¹

Check for

¹4th Physics Institute, University of Stuttgart, Research Center SCoPE, Germany
²Max Planck Institute for Solid State Research, Stuttgart, Germany
³Kirchhoff-Institute for Physics, University Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 227, 69120 Heidelberg, Germany

*f.moerz@pi4.uni-stuttgart.de



概要:マイクロフーリエ変換赤外分光法(FTIR)は、赤外線活性分子振動の広帯域測定を高感度で可能にする 広く普及した技術です。SiC グローバーは、卓上システムの光源としてよく使用され、通常、FTIR 分光計で 約1~20µm(10000~500cm⁻¹)のスペクトル範囲をカバーします。ただし、40x40µm²未満のサンプル領域を 測定するには、輝度が本質的に低いため、非常に長い積分時間が必要です。このため、微量の分子や単一の ナノ粒子などの極小サンプルの検出が妨げられます。この刊行物では、1250~7520cm⁻¹(1.33~8µm)のス ペクトル領域をカバーする、MHz繰り返し周波数とフェムト秒パルス幅を備えた広帯域卓上レーザーシス テムを利用して、測定可能なサンプル領域、検出限界、速度に関して FTIR 分光法の現在の限界を拡張しま す。10x10µm²の空間分解能と3.5µm/秒のスキャン速度で、1430cm⁻¹(7µm)で100nm 厚の分子層の 150x150µm²サンプルのマッピングを示します。同様のグローバー測定と比較して、優れた長期波および電 力安定性と桁違いの輝度により、桁違いの低ノイズが実現されます。

© 2017 Optical Society of America under the terms of the OSA Open Access Publishing Agreement

OCIS codes: (190.4970) Parametric oscillators and amplifiers; (300.6300) Spectroscopy, Fourier transforms; (300.6360) Spectroscopy, laser.

参考文献とリンク

- 1. P. B. Fellgett, "On the ultimate sensitivity and practical performance of radiation detectors," J. Opt. Soc. Am. 39(11), 970–976 (1949).
- 2. P. Connes, "Astronomical Fourier Spectroscopy," Annu. Rev. Astron. Astrophys. 8(1), 209–230 (1970).
- 3. P. Jacquinot, "New developments in interference spectroscopy," Rep. Prog. Phys. 23(1), 267-312 (1960).
- 4. P. R. Griffiths and J. A. de Haseth, Fourier Transform Infrared Spectrosocpy (Wiley, 2007), Chap. 14.
- R. Gasper, T. Mijatovic, R. Kiss, and E. Goormaghtigh, "FTIR spectroscopy reveals the concentration dependence of cellular modifications induced by anticancer drugs," Spectroscopy (Springf.) 24(1-2), 45–49 (2010).
- C. Petibois and G. Déléris, "Chemical mapping of tumor progression by FT-IR imaging: towards molecular histopathology," Trends Biotechnol. 24(10), 455–462 (2006).
- 7. A. Barth, "Infrared spectroscopy of proteins," Biochim. Biophys. Acta 1767(9), 1073–1101 (2007).
- C. Petibois, G. Deleris, M. Piccinini, M. Cestelli-Guidi, and A. Marcelli, "A bright future for synchrotron imaging," Nat. Photonics 3(4), 179 (2009).
- 9. M. Martin, U. Schade, P. Lerch, and P. Dumas, "Recent applications and current trends in analytical chemistry using synchrotron-based Fouriertransform infrared microspectroscopy," Trends Analyt. Chem. **29**(6), 453–463 (2010).
- T. Steinle, F. Neubrech, A. Steinmann, X. Yin, and H. Giessen, "Mid-infrared Fourier-transform spectroscopy with a high-brilliance tunable laser source: investigating sample areas down to 5 μm diameter," Opt. Express 23(9), 11105–11113 (2015). #308852 https://doi.org/10.1364/OE.25.032355 Journal © 2017 Received 10 Oct 2017; revised 22 Nov 2017; accepted 7 Dec 2017; published 12 Dec 2017
- I. W. Levin and R. Bhargava, "Fourier Transform Infrared Vibrational Spectroscopic Imaging: Integrating Microscopy and Molecular Recognition," Annu. Rev. Phys. Chem. 56(¹), 429–474 (2005).

Research Article

Optics EXPRESS

- R. F. Curl, F. Capasso, C. Gmachl, A. A. Kosterev, B. McManus, R. Lewicki, M. Pusharsky, G. Wysocki, and F. K. Tittel, "Quantum cascade lasers in chemical physics," Chem. Phys. Lett. 487(1-3), 1–18 (2010).
- A. Hasenkampf, N. Kröger, A. Schönhals, W. Petrich, and A. Pucci, "Surface-enhanced mid-infrared spectroscopy using a quantum cascade laser," Opt. Express 23(5), 5670–5680 (2015).
- 14. J. Mandon, G. Guelachvili, and N. Picqué, "Fourier transform spectroscopy with a laser frequency comb," Nat. Photonics 3(2), 99–102 (2009).
- 15. I. Coddington, N. Newbury, and W. Swann, "Dual-comb spectroscopy," Optica 3(4), 414-426 (2016).
- L. Maidment, P. G. Schunemann, and D. T. Reid, "Molecular fingerprint-region spectroscopy from 5 to 12 μm using an orientation-patterned gallium phosphide optical parametric oscillator," Opt. Lett. 41(18), 4261–4264 (2016).
- S. Chaitanya Kumar, J. Krauth, A. Steinmann, K. T. Zawilski, P. G. Schunemann, H. Giessen, and M. EbrahimZadeh, "High-power femtosecond mid-infrared optical parametric oscillator at 7 μm based on CdSiP₂," Opt. Lett. 40(7), 1398–1401 (2015).
- T. Südmeyer, J. Aus der Au, R. Paschotta, U. Keller, P. G. Smith, G. W. Ross, and D. C. Hanna, "Femtosecond fiber-feedback optical parametric oscillator," Opt. Lett. 26(5), 304–306 (2001).
- T. Steinle, A. Steinmann, R. Hegenbarth, and H. Giessen, "Watt-level optical parametric amplifier at 42 MHz tunable from 1.35 to 4.5 μm coherently seeded with solitons," Opt. Express 22(8), 9567–9573 (2014).
- H. Linnenbank and S. Linden, "High repetition rate femtosecond double pass optical parametric generator with more than 2 W tunable output in the NIR," Opt. Express 22(15), 18072–18077 (2014).
- J. Krauth, T. Steinle, B. Liu, M. Floess, H. Linnenbank, A. Steinmann, and H. Giessen, "Low drift cw-seeded high-repetition-rate optical parametric amplifier for fingerprint coherent Raman spectroscopy," Opt. Express 24(19), 22296–22302 (2016).
- F. Mörz, T. Steinle, A. Steinmann, and H. Giessen, "Multi-Watt femtosecond optical parametric master oscillator power amplifier at 43 MHz," Opt. Express 23(18), 23960–23967 (2015).
- T. Steinle, F. Mörz, A. Steinmann, and H. Giessen, "Ultra-stable high average power femtosecond laser system tunable from 1.33 to 20 μm," Opt. Lett. 41(21), 4863–4866 (2016).
- L. Kühner, M. Hentschel, U. Zschieschang, H. Klauk, J. Vogt, C. Huck, H. Giessen, and F. Neubrech, "Nanoantenna-Enhanced Infrared Spectroscopic Chemical Imaging," ACS Sens. 2(5), 655–662 (2017).
- T. Neuman, C. Huck, J. Vogt, F. Neubrech, R. Hillenbrand, J. Aizpurua, and A. Pucci, "Importance of Plasmonic Scattering for an Optimal Enhancement of Vibrational Absorption in SEIRA with Linear Metallic Antennas," J. Phys. Chem. C 119(47), 26652–26662 (2015).
- F. Neubrech, C. Huck, K. Weber, A. Pucci, and H. Giessen, "Surface-Enhanced Infrared Spectroscopy Using Resonant Nanoantennas," Chem. Rev. 117(7), 5110–5145 (2017).
- 27. S. Amarie, T. Ganz, and F. Keilmann, "Mid-infrared near-field spectroscopy," Opt. Express 17(24), 21794-21801 (2009).
- 28. F. Huth, M. Schnell, J. Wittborn, N. Ocelic, and R. Hillenbrand, "Infrared-spectroscopic nanoimaging with a thermal source," Nat. Mater. 10(5), 352–356 (2011).
- S. Bensmann, F. Gaußmann, M. Lewin, J. Wüppen, S. Nyga, C. Janzen, B. Jungbluth, and T. Taubner, "Nearfield imaging and spectroscopy of locally strained GaN using an IR broadband laser," Opt. Express 22(19), 22369–22381 (2014).

1 初めに

フーリエ変換赤外分光法(FTIR)は、従来の分散型分光計と比較して、感度と信号対雑音比(SNR)が 向上し(フェルゲットの利点[1])、スペクトル精度が高く(コネスの利点[2])、光学スループットが高く (ジャキノの利点[3])、分子振動を調査するために頻繁に使用される技術です。マイクロ FTIR 分光法[4]で は、FTIR 分光計に光学顕微鏡が取り付けられています。これにより、より厳密な焦点合わせ、空間分解測 定、およびスキャンが可能になります。したがって、従来の FTIR 分光法と比較して、より小さな構造や濃 度の低い分子溶液を調査できます。この方法は、分子構造と濃度の決定[5]、がん検出[6]、タンパク質セン シング[7]など、多くの用途に使用されています。

幅広いスペクトル範囲をカバーするために、最先端の光源はグローバーやシンクロトロンなどの熱的な 性質を持っています[8.9]。どちらも 500~10.000cm⁻¹(1~20um)の振動共鳴を調べることができ、スペクトル の上限は FTIR 分光計と検出器の光学系によって決まります。サンプルを幅広いスペクトル範囲で特性評価 する必要がある場合は、グローバーが最適です。ただし、単一ナノ粒子などの非常に小さなサンプルを調 べる必要がある場合は、グローバーを使用するとノイズが大幅に増加します。これは、1秒あたり、単位光 源面積あたり、単位立体角あたり、中心周波数の 0.1%帯域幅あたりの光子数として定義される輝度が低い ことで説明できます。グローバーは通常、1015ph/s/mm²/sr/0.1%BWのオーダーの輝度に達しますが、シン クロトロンはすでに約 2~3 桁高い輝度に達しています[8,10]。[10]では、グローバーを使用して妥当な時間 スケールで測定できる最小領域は40x40μm²のオーダーであり、それ以下では SN 比が大幅に低下することが 示されています。より小さな領域を測定するには、より長い積分時間とより高い平均化を使用しますが、 これは簡単に非常に長い測定時間につながります。サンプルの空間情報を含む分光測定や、許容できる測 定時間で非常に低いサンプル濃度の分光測定を行うには、より高い輝度を示す光源が必要です。そのため、 シンクロトロンは FTIR マッピングに推奨されています[11]。さらに、シンクロトロンは帯域幅が広くノイ ズ特性があるため非常に適しています。しかし、利用可能な測定時間は通常限られており、高コストを伴 います。FTIR 分光法の代替となる卓上光源は、シンクロトロンに比べて最大 4 桁高い輝度を持つレーザー 光源です。[10]では、我々の光源と同様の光源が使用されています。卓上セットアップで使用可能なレーザ ー光源は、多くの場合、量子カスケードレーザー(QCL)[12,13]に基づいています。これらのレーザーは通常、 1cm⁻¹という非常に狭い線幅を示しますが、高い輝度と優れたノイズ特性を備えています。一般に、QCLは 770~2500cm⁻¹(4~13µm)で使用できますが、調整範囲は 1~2µm と限られています。そのため、市販のシス テムは、妥当な波長範囲をカバーするために、複数のレーザーモジュールで構成されることがよくありま

す。その結果、QCL は特定の周波数でのイメージング用途に非常に適していますが、完全な振動スペクト ルを測定するには、線幅が狭いため複雑なステッチング方法が必要になります。さらに、QCL は通常、kHz の繰り返し速度とナノ秒のパルス持続時間で動作します。広帯域レーザー光源を提供し、FTIR 分光法にう まく適用されている別の技術は、周波数コムの生成です[14,15]。これにより、非常に高い感度、高いスペク トル分解能、および広い帯域幅での測定が可能になります。ただし、高度な検出技術と電子機器も必要で あり、利用可能なスペクトル範囲は約 3~7µm のギャップがあります[15]。残念ながら、周波数コム分光法 は市販の FTIR 分光計と組み合わせるのが困難です。高い輝度を示す他のレーザー光源は、広い波長範囲を カバーできるため、光パラメトリックオシレーター(OPO)[16,17]に基づいています。ただし、周囲の条件に 非常に敏感であり、十分なノイズレベルを得るには外部での波長と電力の安定化が必要です。

ここでは、キャビティの大部分がシングルモードファイバーに変換されるため、これらの問題を克服す るファイバーフィードバック OPO(ffOPO)[18]を採用しています。ffOPO 出力を光パラメトリック増幅器 (OPA)で増幅し、差周波発生(DFG)を使用して光を中赤外光に変換することで、QCL の帯域幅を 2 桁上回り、 優れた長期波長およびパワー安定性を示す卓上光源が実現します。さらに、QCL ではカバーするのが難し い全チューニング範囲をカバーします。[10]で紹介されたシステムとは対照的に、私たちのシステムは中赤 外スペクトル範囲もカバーし、より広い帯域幅を示します。私たちのグループの以前のアプローチは、ソリ トンシード OPA[19]、光パラメトリック発生[20]、または cw シードダブルパス OPA[21]に基づいていました。 ただし、この出版物で紹介されているセットアップのノイズレベルは最小限であり、これは FTIR 分光法に とって非常に重要です。我々は、10x10µm² の空間分解能で、約 1430cm⁻¹(7µm)の 100nm 厚の分子層を数層 集めた 150x150µm² のマップを作成し、このシステムの性能を実証しました。改善された検出限界を実証す るために、2%以下の吸収を示す分子振動が検出されました。所定の測定手順で妥当な精度で測定できる最 小の信号を検出限界と呼びます。したがって、SN比がこの限界に寄与し、同じ感度を持つ2つの測定でも検 出限界が異なる場合があります。

この出版物に記載されているすべての測定は、当社のレーザーシステムとグローバーを使用して実施され、レーザーの性能を最も一般的な卓上 FTIR 光源と比較しています。

2. 実験のセットアップ

光源の主要部分は、光パラメトリック増幅器をシードするファイバーフィードバック OPO です。図1に 示すように、OPOとOPAは両方ともYb固体オシレーターによって同期的にポンプされます。同様のシステ ムの詳細な説明は[22]で発表されています。[22]とは対照的に、はるかに短いパルス、したがってはるかに 広い帯域幅を持つ MontfortGmbH の市販の Yb 固体レーザーが、提示されたシステムのポンプソースとして 適用されています。これは、73MHzの繰り返しレートで98fsのパルスを提供し、中心波長は1.048μmです。 合計平均出力は 2.5W のオーダーで、そのうち 1W が ffOPO のポンプに使用され、1.5W が OPA のポンプに 使用されます。したがって、レーザー波長は 1.33~4.6µm(2174~7520cm⁻¹)の間でほぼギャップなしで調整 できます。次に、OPA 信号ビームとアイドラービームは、2mm 長の AR コーティングされた AgGaSe2 結晶 で結合され、差周波数を生成します。8µm未満の波長では非線形性が高くなるため、タイプ1角度位相整合 が使用されます。レーザー設定の詳細については、[23]を参照してください。ここでは、1.33~20µmの波長 (500~7520cm⁻¹)にわたるチューニング範囲を実証しています。[23]とは対照的に、この設定のチューニング 範囲は、ポンプ電力が約 3 倍低いため、8µm(1250cm⁻¹)に制限されています。ただし、このシステムでは、 帯域幅が広がり、パルスが短くなり、繰り返し率が高くなります。図2は、DFG チューニング範囲を示して います。これは、少なくとも 250nm の FWHM で 4.65~8µm(1250~2150cm⁻¹)に達します。5.5µm 波長 (1818cm⁻¹⁾では最大 2.65mW の出力が測定されますが、チューニング範囲の端では少なくとも 0.2mW が生成 されます。7µm(1429cm⁻¹)では、中心波長の変動は 0.013%rms と測定されますが、FWHM 帯域幅の変動は 0.61%rms と低くなっています。信号は通常、サンプルで測定されたスペクトルを基準スペクトルで割るこ とによって得られるため、波長安定性は FTIR 分光法にとって非常に重要です。したがって、後述するよう に、わずかなスペクトル変動でも大きな信号ノイズにつながる可能性があります。



図 1.実験のセットアップ。[22]に示されているように、後増幅ファイバーフィードバック光パラメトリックオシレーター(ffOPO)システムの信号ビームとアイドラービームを混合することにより、長さ 2mm の AgGaSe2 結晶で中赤外放射が生成されます。 [22]とは対照的に、はるかに短いパルスと広い帯域幅を持つ市販の Yb 固体レーザーがポンピングに使用され、73MHz の繰り返しレートと 1.048µm の中心波長で 98fs のパルスを提供します。DFG 信号は、FTIR 分光計と付属の顕微鏡に結合されます。顕微鏡画像の一部は、面積 10x10µm² の正方形の開口部によって抽出され、MCT 検出器によって検出されます。 100nm 厚の C60 および Cu-フタロシアニン膜の中赤外分子吸収が調査されます。すべての測定には、36 倍のコンデンサーと対物レンズが使用されます。

レーザーには分光計ユニットが取り付けられており、これは BrukerVertex80FTIR と BrukerHyperion2000 顕微鏡の組み合わせで構成されています。すべてのスペクトルを測定するために MCTD313 検出器が使用さ れます。メーカーによると、この検出器は 850~12000cm⁻¹ のスペクトル範囲をカバーし、感度は D*>4x1010cmHz^{1/2}W⁻¹ です。FTIR には内蔵グローバーも備わっており、その性能はレーザーシステムの基 準として使用されます。

サンプルの調査には、36 倍の対物レンズとコンデンサーが使用されます。これにより、15 倍のコンデン サーと対物レンズを使用する場合と比較して、タイトなフォーカスが可能になり、より高い空間分解能が得 られます。測定領域、つまり空間分解能は、図1に示すように、検出器の前にある調整可能な開口部によっ て定義されます。これは10x10µm²に設定されています。

ほこりや空気の流れを考慮し、大気の吸収を減らすために、レーザーと顕微鏡は乾燥空気で満たされ、 フラッシュされます。特にレーザーボックスでは、レーザーポンプダイオードのコネクタが原因で、若干の 漏れが見られることに注意してください。一般に、水分の吸収を完全に避けることはできません。



図 2.4.65~8µm の DFG 信号チューニング範囲における正規化されたスペクトルと出力。スペクトル帯域幅(FWHM)は、チュ ーニング範囲全体にわたって少なくとも 250nm に達します。5.5µm の波長では最大 2.65mW の出力を生成できますが、チュ ーニング範囲の端では 0.2mW が利用可能です。5~7µm の波長では、水分の吸収によるスペクトル特性がスペクトルトレー スに現れます。

3. 実験結果

測定サンプルは、ステンシルマスクを使用して CaF2 基板上に蒸着された、厚さ 100nm の銅フタロシアニ ン(CuPc)と C60 の複数の層で構成されています。FTIR 分光法で分子振動を検出するには、サンプルで測定さ れたスペクトルを裸の光源の参照スペクトルで割ります。こうして、小さな吸収によるスペクトルの変化が、 理想的には平坦な 100%ラインに重ね合わされて見えるようになります。そのため、以下に簡単に説明する ように、光源の優れた波長安定性が必要です。2 つの同一スペクトルを分割すると、その分割は振幅 1 また は 100%の平坦なラインになります。1 つのスペクトルがスペクトル的にシフトすると、このベースラインは 傾き、強度が変化するとベースラインの振幅が変わります。その結果、FTIR 光源のスペクトルとパワーの

変動によって、強い FTIR 信号ノイズが発生する可能性があります。一般的に、測定中の光源の時間依存的 な変動や大気条件の変化により、ベースラインがシフトする可能性があります。

3.1 サンプルの特性

サンプルを当社のレーザー光源でマッピングする前に、グローバーを適用して特性評価を行います。この特性評価では、両方の分子を含む十分に大きなサンプル領域を調査するために、アパーチャサイズを100x100µm²に設定し、15倍のコンデンサーと対物レンズを使用します。200個のスペクトルを平均化して、 妥当な SN 比を実現します。スペクトル分解能 4cm⁻¹ で記録されます。図 3(a)は、1350~1500cm⁻¹(7.4-6.67µm)の範囲の特性評価データを示しています。この周波数範囲は、両方の分子が互いに近く、同様の大 きさの振動を示すため、興味深いものです。共鳴は、それぞれ 1421cm⁻¹(CuPc)と 1429cm⁻¹(C60)にあること がわかりました。

3.2 レーザーベースの FTIR マッピング

以下では、当社のレーザーシステムを使用して 150x150µm² のサンプル領域をマッピングします。開口部 のサイズは10x10µm²に設定され、すべてのスペクトルは2cm⁻¹のスペクトル分解能で測定されます。図3(a) に示すように、レーザーを 1430cm⁻¹(7µm)に調整することで、両方の振動を同時に処理できます。ここで、 レーザーは 59cm⁻¹(289nm)の FWHM に達します。実験中は、平均0.7mW のレーザー出力が適用されます。

すべての測定では、分子層上のサンプルスペクトルを測定する前に、裸の CaF2 基板上のバックグラウン ドスペクトルが記録されます。マップの各ピクセルには 15 個のスペクトルが記録され、平均化されます。 この目的で、サンプルスペクトルとバックグラウンドスペクトルが交互に測定されます。したがって、1 ピ クセルの測定には 143 秒かかります。レーザーの FWHM 帯域幅内で線形ベースライン補正を行った後、各 分子のピーク吸収が評価されます。これらの値は、マップの対応するピクセル位置に表示されます。信号し きい値は 0.25%が適用されます。

測定されたサンプル領域を図 3(b)に示します。ここでは、CuPc 層は青く、C60 層は赤く表示されていま す。図 3(c)は、両方の分子を示す評価マップを示しており、顕微鏡画像と非常によく一致しています。ここ でも、CuPc は青く、C60 は赤く表示されています。詳細は、それぞれ CuPc と C60 の分離吸収マップを示す 図 3(d)と 3(e)で確認できます。層とさまざまな分子はよく区別でき、CaF2 基板とのコントラストは高くなっ ています。



図 3.a)FTIR セットアップを使用して調査される Cu-フタロシアニンおよび Cao 振動の特性スペクトル。これらの特性スペクト ルは、100x100µm²の開口部サイズで、4cm⁻¹のスペクトル分解能で 200 スペクトルを平均化することにより、グローバーを 使用して測定されました。灰色のスペクトルは、実験中に使用されるレーザースペクトルを示しています。レーザースペクト ルの FWHM は 59cm⁻¹(289nm)であるため、レーザー波長を調整せずに両方の振動を測定できます。b)レーザーで調査され たスキャンされた 150x150µm²のサンプル領域の顕微鏡画像。c-e)レーザーシステムで測定された評価済み FTIR マップ。 それぞれの振動の分子吸収の強度は、位置の関数として示されています。この領域は、10x10µm²の解像度、4cm⁻¹のスペ クトル解像度でスキャンされ、ピクセルあたり平均 15 スペクトルが取得されます。これは、ピクセル測定時間 143 秒に相当 します。したがって、両方の分子特性は明確に区別できます。サンプル画像(b)との重なりを視覚化するために、マップのカ ラーコードは顕微鏡画像と一致しています。したがって、C60 の吸収は赤で表示され、CuPc は青で表示されます。測定され たマップと顕微鏡画像(b)の間には、良好な重なりが見られます。

3.3 レーザーシステムとグローバーの比較

レーザーベースの FTIR 分光法の検出限界の向上を定量化するために、レーザーシステムの代わりに標準 のグローバー光源を使用して、以前の測定を繰り返しました。すべての測定設定は変更せず、同様の条件を 確保するためにレーザー測定の直後に実験を実施しました。対応するマップを図 4(a)に示します。ここで は、グローバー輝度がかなり低いため、分子層を識別できません[10]。これにより、検出器に当たる光子が 少なすぎて検出器ノイズを克服できず、ノイズレベルが高くなります。ノイズを減らすには、より長い積分 が必要ですが、現在のマッピングですでに 8 時間 56 分かかっているため、測定時間が許容できないほど長 くなります。この時点で、レーザー測定とグローバー測定に水分吸収が異なる影響を与える可能性があるこ とを指摘しておきます。特に、レーザーボックスには若干の漏れが見られます。レーザーボックス内で測定 された相対湿度は 20%を下回ったことはありませんが、マイクロ FTIR 分光計内では 10%程度でした。

次に、レーザーによる分子共鳴の検出に必要な平均スペクトルの最小数を調べます。以前のレーザーベースのマッピングのデータを使用すると、振動特性を観察するには少なくとも3つの信号スペクトルを平均化する必要があります。これは、ピクセルあたり29秒の測定時間に相当し、スキャン速度は3.5µm/秒に相当します。したがって、150x150µm²のマップには109分かかると推定されます。図4(b)は、ピクセルあたり3つの平均信号スペクトルを使用したレーザーベースのマップを示しています。図3(d)および3(e)とは対照的に、約0.5%未満の吸収特性はノイズで覆われています。



図4.グローバー(a)とレーザー(b)を光源として使用して実行したFTIRマップの比較。グローバーでは分子の特徴を分解できませんが、レーザーでは、ピクセルあたりの秒数(sec/px)で示される5倍短い積分時間でも、高い化学コントラストが得られます。グローバーマップとレーザーマップのスケールが異なるのは、グローバーのノイズレベルが高いためです。

3.4 ノイズ調査

最後に、提示された測定のノイズレベルを評価します。そのために、連続するバックグラウンドスペク トルを分割し、その rms 偏差を計算して、裸の光源ノイズを反映します。これは、レーザースペクトルの FWHM 帯域幅に対応する 1400~1460cm⁻¹の周波数範囲で実行されます。計算された rms 変動は、前に示した マップのノイズレベルを表します。吸収がこのノイズレベルを超える振動バンドは、1 つのスペクトルで測 定できます。このノイズフロアを下回る他の吸収信号を検出するには、複数の測定を平均化する必要があり ます。図 5(a)は、400 分間のレーザーとグローバーの両方の rms ノイズを示しています。ここでは、グロー バーノイズは平衡性能に達する前に初期ドリフトを示しています。このドリフトは、グローバーが熱を放射 するため、熱によって引き起こされる可能性があります。さらに、MCT 検出器には液体窒素が補充されてお り、これにより、検出器全体の余分な重量による顕微鏡の機械的ドリフトも発生します。この影響は、顕微 鏡の周囲にボックスが構築され、それが顕微鏡を補強しているため、かなり小さいと予想されます。ただし、 両方の問題の組み合わせがこの初期ドリフトの原因であると考えられており、現在さらに調査中です。レー ザーを使用した場合、同等のドリフトは見られませんでした。これは、測定中に適用された 0.7mW という低 い電力によるものと考えられます。したがって、光源による熱ドリフトは除外できます。それでも、グロー バーノイズは平均で 6.41%rms に達し、レーザーを 1 桁以上上回っています。レーザーノイズは 0.47%rms と 小さく、図 4(b)に示されている約 0.5%のノイズレベルとよく一致しています。図 5(b)は、ベースライン補 正を適用せずに、分子層上の任意に選択した測定位置の信号スペクトルを示すことにより、これらの結果を 強調しています。レーザーと比較してグローバーのノイズレベルが1桁以上高いことがはっきりとわかりま す。15個の信号スペクトルを平均化しても(ピクセル測定時間は143秒に相当)、分子振動はノイズに覆われ



たままです。これとは対照的に、レーザーベースの FTIR 分光法では、ピクセルあたりわずか 29 秒という 5 倍短い測定時間でも、CuPc と C60 の共鳴がはっきりと見えます。



図 5.a)レーザースペクトルの FWHM に対応する 1400~1460cm⁻¹ の周波数範囲におけるレーザーとグローバーのノイズの 比較。400 分間グローバーを使用すると、約 1 桁高い rms ノイズが発生します。両方の測定値は、CaF2 基板で測定された 後続の参照スペクトルを比較することにより、図 3 に示すマッピングから抽出されました。したがって、ノイズレベルは、複数 のスペクトルを平均化せずに検出可能な分子吸収の下限を示します。b)図 3 に表示されているマップのランダムに選択さ れたピクセル(ピクセル 25 とピクセル 37)から抽出された、グローバーとレーザーを使用した FTIR 信号スペクトルの比較。a) に示すように、ノイズレベルから予想されるように、グローバーノイズは分子吸収を大幅に上回っています。29 秒という短い 測定時間でも、レーザーを使用すると両方の分子吸収が明確に見えます。これらのスペクトルにはベースライン補正は適 用されていません。

4. 要約

結論として、1250~7520cm⁻¹(1.33~8µm)の範囲で連続的に調整可能な広帯域、低ノイズ、低ドリフトのレーザー光源を適用することで、測定可能なサンプル領域、測定時間、検出限界の点で FTIR 分光法の限界を広げることができます。熱光源と比較すると、ノイズレベルが1桁以上低いため、検出限界が向上します。これにより、測定時間が大幅に短縮され、空間分解 FTIR 分光法が可能になります。これは、150x150µm²の大きな領域をわずか109分でマッピングすることで実証されています。これは、合計で約9時間の測定であっても、熱光源を使用した場合には不可能でした。

平均出力の高いポンプレーザーを使用することで、レーザーのチューニング範囲を波長 20μm まで拡張 することができ[23]、指紋領域全体の分光が可能になります。さらに、AgGaSe2 結晶を、より広い位相整合 帯域幅を示す GaSe 結晶に置き換えることで、中赤外パルスの FWHM 帯域幅が広くなることが期待されま す。これにより、レーザー波長のチューニングが少なくて済むため、プラズモニック共鳴などのより広い共 鳴の検出や、複数の明確に分離された振動バンドの検出が簡単になります。

この卓上システムは、高感度、低ノイズ、シンプルさにより、中赤外分光法に大きな可能性を秘めてい ます。必要な強度が非常に低く、パラメトリックソースから得られる平均パワーが小さいことを考慮すると、 焦点面アレイを使用した直接 FTIR マッピングが可能になり、大規模なサンプルの取得が大幅に加速されま す。レーザー波長の回折限界程度の単一ナノ粒子の FTIR 測定や、非常に低い分子濃度の検出などの補完的 な新しいアプリケーションも可能になります。

現在、このセットアップは、単一の金ナノアンテナでの表面増強赤外吸収(SEIRA)[24-26]と組み合わ せて、タンパク質の折り畳みプロセスをモニターするために適用されています。遠距離場分光法の用途に加 えて、このシステムは、s-SNOM(散乱型走査型近接場光学顕微鏡)を使用した近接場分光法でも大きな可 能性を示しています。最先端のデバイスは干渉分光法(ナノ FTIR)も使用するため、システムを遠距離場 から近接場に移行させることは興味深いことです。さらに、s-SNOM 用の中赤外光源に関する以前の出版物 で示されているように[27-29]、私たちのレーザーシステムは、その帯域幅、低ノイズ、チューニング範囲、 長期安定性により、そのような用途に適している可能性があります。レーザーシステムは、最終的には低ノ イズの中赤外フェムト秒ポンププローブ構成を可能にするかもしれません。

資金調達

欧州研究評議会(ERC)(COMPLEXPLAS);バーデンヴュルテンベルク財団(PROTEINSENS、 SpitzenforschungII);カールツァイス財団;建築とフォルシュング連邦大臣(BMBF);ドイツ自動車整備機構 (DFG)(SPP1839)。