

# ラマン分光

武安伸幸, 熊本康昭

## 1 はじめに

物質は光を散乱する。Chandrasekhar Venkata Raman は、散乱光の中に、入射光と同じ波長をもつものだけでなく、異なる波長をもつものも含まれており、それが物質の固有振動による非弾性散乱であることを発見した。彼にちなみ、この散乱現象はラマン効果と呼ばれている。Raman はラマン効果の発見当初から、ラマン散乱光のスペクトル (=ラマンスペクトル) により物質を同定できることを見抜いていた。しかし当時は、ラマンスペクトルの測定に使える光源は水銀やアルゴンなどのガスのアーク放電に伴う発光の輝線しか見当たらず、微弱なラマン散乱光を微量の物質から測定することは容易ではなかったようである。この状況を変えたのがレーザーの発明である。高い輝度をもち単色性のあるレーザー光は、微弱なラマン散乱光のスペクトルの測定に、まさに適した光源である。レーザーを用いたラマン分光法、すなわちレーザーラマン分光法の研究は、1960年代中頃から盛んに行われるようになり、50年以上たった今なお廃れることなく続いている。本講座ではレーザーラマン分光法の基礎と最近の話題を概説する。

## 2 ラマン散乱とは

### 2.1 ラマン散乱光が生じるメカニズム

まず、原子のような単に正電荷と電子から成る物質により光が散乱される現象から述べよう。この物質に光が照射されると、図 1(a) に示すように、物質内に電気双極子 (双極子モーメント:  $\mu$ ) が誘起される。したがって、この物質には、外部光電場と同じ振動数を持つ電気双極子の振動が誘起される。散乱光は、この電気双極子の振動によって生成される。

分子は複数の原子と化学結合で構成されており、分子からの光散乱を記述するには、化学結合に由来する様々な分子振動も考慮しなければならない。例として、図 1(b) に  $\text{CO}_2$  の分子振動を示す。 $\text{CO}_2$  の振動モードには、左右の  $\text{C}=\text{O}$  が対称的に伸縮するものや、それとは対照

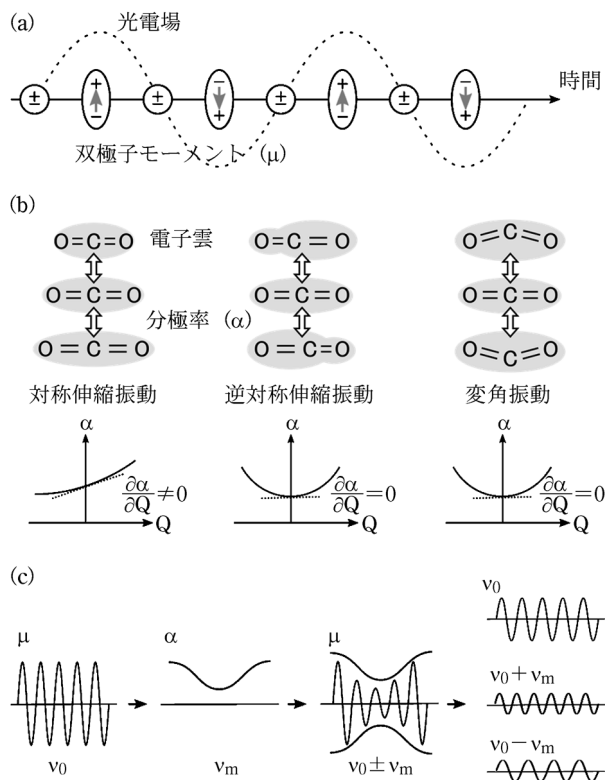


図 1 (a) 光電場と物質の相互作用, (b) 分子振動と分極率, (c) ラマン散乱過程

的に、左右で逆対称的に伸縮するものなどがある。同じ図に電子雲も併せて示している。電子雲がもつ電荷分布の相対的な偏りは分子の分極率 ( $\alpha$ ) を表している。各振動モードの下に、振幅 ( $Q$ ) と  $\alpha$  との関係を示している。横軸の中心は平衡状態を示すが、平衡状態近傍での傾き ( $=\partial\alpha/\partial Q$ ) が 0 のものとそうでないものがある点に注目してほしい。これは、振動モードによって、 $\alpha$  の変化を起こすものとそうでないものがあることを意味している。

前置きが長くなってしまったが、図 1(c) にラマン散乱光が生じるメカニズムを示す。外部光電場 ( $\nu_0$ ) が分子内に  $\nu_0$  で振動する双極子モーメント ( $\mu$ ) を誘起する。分子には様々な振動モードが存在するが、その中には、例えば  $\text{CO}_2$  の対称伸縮振動のように  $\alpha$  を変化させるものがある。そのような振動は、光電場の振動:  $\nu_0$  より

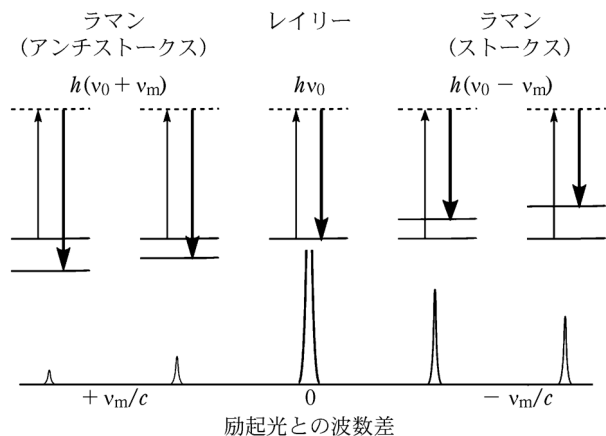


図2 レイリー散乱過程およびラマン散乱過程のエネルギーダイアグラムと散乱スペクトルの概略

も低い振動数 ( $\nu_m$ ) で  $\alpha$  を変化させ、結果的に  $\mu$  の強度が変調された“うなり”が散乱光として観測される。この“うなり”は、外部電場と同じ振動数のレイリー散乱光 ( $\nu_0$ ) の成分と、異なる振動数のラマン散乱光 ( $\nu_0 \pm \nu_m$ ) の成分に分けられる。つまり、 $\alpha$  の変化を伴う分子振動がラマン散乱光を生成するということである (ラマン選択律)。

### 2.2 ストークス光とアンチストークス光

図2に、励起光と生成するラマン散乱光との関係をエネルギー準位で示す。振動数  $\nu_0$  の照射により双極子モーメントが誘起された分子は、仮想的な励起状態 (実準位と区別するため波線で示す) にあるとみなされる。レイリー散乱では、仮想励起状態の分子が、同じエネルギーの光子 (エネルギー:  $h\nu_0$ ) を生じる。ラマン散乱では、分子振動によって  $\alpha$  が変化し、エネルギー  $h(\nu_0 \pm \nu_m)$  の光子が生成される。 $h\nu_0$  よりも高エネルギー  $h(\nu_0 + \nu_m)$  の散乱光をアンチストークス光、低エネルギー  $h(\nu_0 - \nu_m)$  の散乱光をストークス光と呼ぶ。ラマン分光では、一般にストークス光が利用される。これはストークス光の方がアンチストークス光より、一般的に強いためである。

励起光と散乱光のエネルギー差を波数に変換した  $\nu_m/c$  ( $c$  は光速 [cm/s]) はラマンシフトと呼ばれ、分子を構成する元素や化学結合の種類に依存する。すなわち、ラマンスペクトルから分子を同定できるわけである。

ラマン散乱の原理は、文献1, 2などにさらに詳しく解説されている。

## 3 分析技術としてのラマン散乱分光

### 3.1 どんな情報が得られるか?

ラマン散乱光の強度は、レイリー散乱光や蛍光の強度と比べてとても小さく、レーザーなしには現在のラマン分光技術を語ることはできない。レーザーは集光性が高く、その焦点にて高い光子密度を達成できる。それに加

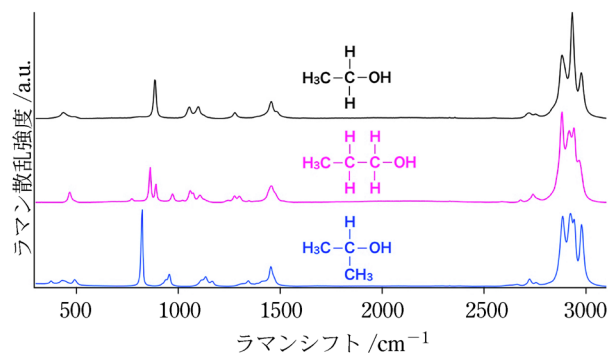


図3 上から順に、エチルアルコール、1-プロパノール、イソプロピルアルコールのラマンスペクトル。励起波長は532 nm。

えレーザーの特徴である狭い線幅は、振動バンドを詳細に観測する上で有利である。

ラマン分光法の長所として、観測されるラマン散乱光が試料中分子そのものから生じること、つまり、蛍光標識のようなラベリングが不要である点が挙げられる。試料にレーザーを集光し、ラマン散乱光のラマンシフトを調べるだけで、試料中の分子を構成する元素・化学結合や官能基といった化学的情報が得られる。図3に示す通り、エチルアルコール、1-プロパノール、イソプロピルアルコールといった似通った化学構造をもつ物質でも、ラマンスペクトルは全く異なる。

これまで有機分子について述べてきたが、ラマン散乱光を生じる試料は有機分子に限定されず、シリコンのような無機材料からも、その結晶の格子振動が反映されたラマン散乱光が生じる。シリコンのような固体試料は、溶液試料よりもずっと密度が高いため、強いラマン散乱光が得られる。光学異方性を示すような結晶の場合には、レーザーの偏光方向の違いを利用して、その結晶の特徴をラマン分光にて知ることも可能である。

### 3.2 赤外吸収との得られる情報の違い

ラマン分光は、分子振動に由来する散乱光を計測する、振動分光法である。同じ振動分光法に、分子による光吸収を観測する、赤外吸収分光がある。分子の振動エネルギーは中赤外～遠赤外にあり、ある振動エネルギーに相当するエネルギーをもつ赤外光が分子に照射され、かつ、その分子の振動遷移双極子モーメントを変化させる場合には、その光は分子に吸収される。中赤外～遠赤外吸収スペクトルを調べると分子種を同定できる。

赤外吸収とラマン散乱は、どちらも振動分光であるが、それぞれ双極子モーメントと分極率の変化をとともなう振動モードによってのみ発生する。すなわち選択律が異なり、得られる振動スペクトルは相補的である。

水やエタノールなど、一般に溶媒として用いられるほとんどの物質は中赤外～遠赤外域に強い吸収を持つことから、赤外吸収分光を利用した溶液試料の分析は極めて

難しい。同じ振動分光法でも、分子に生じる分極率変化を利用するラマン分光では、溶媒が吸収しない波長を励起光として選択すれば良いため、試料の制約が少ないことが長所である。生体組織や薬剤分子などのラマン計測ではしばしば試料からの自家蛍光に妨害されることがあるが、蛍光を生じさせない励起波長を選択することにより、蛍光に妨害されないラマン計測を行える場合もある。

### 3・3 非線形光学効果を利用したラマン分光

ラマン計測における蛍光の妨害を避ける手段として、励起光よりも光子エネルギーが高く、蛍光と波長分離しやすいアンチストークス光を使う方法もある。しかしアンチストークス光は非常に弱いため、高強度レーザーを用いた非線形光学効果により、指向性の強い位相のそろったアンチストークス光を生成するコヒレントアンチストークスラマン散乱 (CARS) が研究されてきた。図 4(a)に CARS 過程のエネルギーダイアグラムを示す。CARS では、 $\nu_0$  と  $\nu_{-1}$  のレーザーを用い、四波混合過程を経て、アンチストークス光 ( $\nu_1$ ) が発生する。

レーザーは、連続的に光が放射される連続 (CW) レーザーとパルスレーザーとに大きく分類される。パルスレーザーでは、ナノ秒やピコ秒といった短いレーザーパルスが繰り返し出力される。短い時間 (=狭い空間) に光子が詰め込まれているため、パルスレーザーの焦点では CW レーザーでは得られないほど高い光子密度を達成できる。光パラメトリック発振 (これも非線形光学効果) を利用した波長可変レーザーやチタンサファイアレーザーなどは、そのような高い光子密度を広帯域で提供できることから、CARS の測定に用いられる。

レーザー強度の観点から、さらにパルス幅が短いフェムト秒パルスの方が非線形光学効果には有利である。しかしながら、フェムト秒パルスを利用すると、競合する他の非線形現象 (例えば、短パルス光のスペクトルの広がり誘発される自己位相変調) が起こってしまう。したがって、非線形光学効果を利用するラマン分光では、一般的にピコ秒パルスが利用されることが多い。

非線形ラマン散乱には他に、誘導ラマン散乱やハイ

パーラマン散乱もある。図 4(b)と図 4(c)にそれぞれ、誘導ラマン散乱とハイパーラマン散乱のエネルギーダイアグラムを示す。誘導ラマン散乱は CARS と同様に、異なる波長をもつ二つのレーザー光により、その波長差が振動モードのエネルギーに相当する場合に、誘起されるが、エネルギーが小さい方のレーザー光 (=ストークス光) と同じ波長で発生する点で、CARS とは異なる。ハイパーラマン散乱は、分子の励起過程が 1 光子ではなく 2 光子である。2 光子励起では、その励起過程の選択律が変わり、従来のラマン散乱では観測できない振動準位からの散乱光を観測できる。ハイパーラマンスペクトルは、ラマンスペクトルと赤外スペクトルをあわせたようなものとなる。

非線形ラマン分光の詳細は文献 3 などに詳しく解説されている。

## 4 共鳴ラマン効果

前章ではラマン散乱分光と赤外吸収分光を比較し、特にラマン散乱分光の利点にフォーカスしたが、ラマン散乱光には弱みもある。それは散乱効率の小ささである。光と物質の相互作用の起きやすさを表す反応断面積はラマン散乱では  $10^{-28} \sim 10^{-32} \text{ cm}^2/\text{sr}$  であり、赤外吸収と比べて 10 桁以上小さい。このため、ラマン散乱光の測定には高強度のレーザー光照射や長い露光時間を必要とする場合があるが、レーザー光量をあげて試料を測定することはそれほど簡単ではない。レーザー光量を増やすと試料がダメージを受ける場合がある。測定時間が長くなり動的な試料の観察ができなくなることもある。また、レーザー光量を増やすことで、試料からの自家蛍光や装置由来の環境光なども同時に増えてしまい、弱いラマン散乱光を観察できないこともある。

微弱なラマン散乱光を検出しやすくするには試料からのラマン散乱光のみを増大するのが効果的である。これは、共鳴ラマン効果により実現される。共鳴ラマン効果は、レーザー光の波長が試料の電子遷移による吸収帯の波長域にある場合に、試料からのラマン散乱効率が增大する現象である。共鳴ラマン散乱は通常のラマン散乱

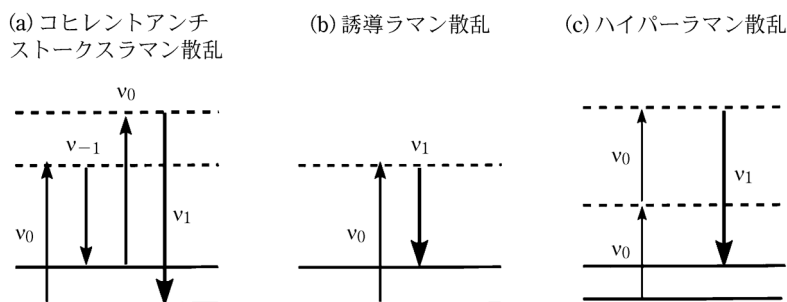


図 4 (a)コヒレントアンチストークスラマン散乱, (b)誘導ラマン散乱および(c)ハイパーラマン散乱過程のエネルギーダイアグラム

(=非共鳴ラマン散乱)に比べて4~8桁も効率よく起きる。レーザー光の波長を試料中の分子の吸収帯波長にあわせれば、試料中の分子のラマン散乱効率だけを増大させられるため、試料からの微弱なラマン散乱光が検出しやすくなる。また、試料へのレーザー光量を抑えることができるようになるため、測定時間の短縮や試料ダメージの低減につながる場合もある。

共鳴ラマン効果のメカニズムについてさらに詳しく説明しよう。電子遷移による吸収帯の波長域では、光子と電子との相互作用は強くなるため、大きな分極が生じる(分極率が大きくなる)。分極率が大きい場合、分子振動に伴う分極率振動も大きくなり、双極子は大きくなる。その結果、双極子からの二次放射であるラマン散乱光は増大する。ただしこの場合、増大するのは共鳴している励起状態との間で遷移活性な電子基底状態の振動モードのみである。そのため、共鳴ラマンスペクトルは非共鳴ラマンスペクトルとは異なる形状となる(図5)。

共鳴ラマン測定ではよく、紫外光、特に波長300nm以下の深紫外光が利用される。これには二つ理由がある。一つはほとんどの物質が可視域、近赤外域には電子遷移による吸収帯を持たない一方で、紫外域には顕著な吸収帯をもち共鳴ラマン効果が得られるためである。もう一つの理由は、励起波長を250nm以下にまで短くすると、ラマン散乱波長と自家蛍光の波長域がわかれるため、自家蛍光による背景光フリーの測定をできるように

なるためである。可視励起の場合、共鳴ラマン測定では自家蛍光の影響を受けることが多い。

紫外光を使う場合にはただし、試料へのダメージに注意する必要がある。共鳴ラマン散乱は電子遷移による吸収帯の波長域で起きるため、吸収と必ず競合して起きる。吸収断面積は共鳴ラマン散乱断面積より6~8桁大きいいため、エネルギーの高い紫外光を使う場合は特に、光吸収に起因する試料ダメージが起きやすい。紫外ラマンでは測定時のダメージを減らす方法も研究されている。

## 5 表面増強ラマン散乱 (SERS)

前章で述べた共鳴ラマン散乱と同様、微弱なラマン散乱光を増強する手段として表面増強ラマン散乱(surface-enhanced Raman scattering: SERS)が知られている。1974年、M. Fleischmannらは銀電極表面に吸着したピリジン分子のラマン計測を報告した。さらに、R. P. Van DuyneやM. G. Albrechtらは、金属表面に吸着した分子からのラマン散乱光強度が異常に大きい点を指摘し、SERSが盛んに研究されるようになった。ここでは、その増強メカニズムとSERS応用について述べる。

貴金属ナノ粒子に光を照射すると、金属中に豊富に存在する自由電子が光電場に応答して集団的に振動する。光電場の振動が自由電子の集団振動と同期した共鳴状態では、金属ナノ粒子表面に大きな増強電場が形成される(局在表面プラズモン共鳴)。例えば、水溶液中の金ナノ

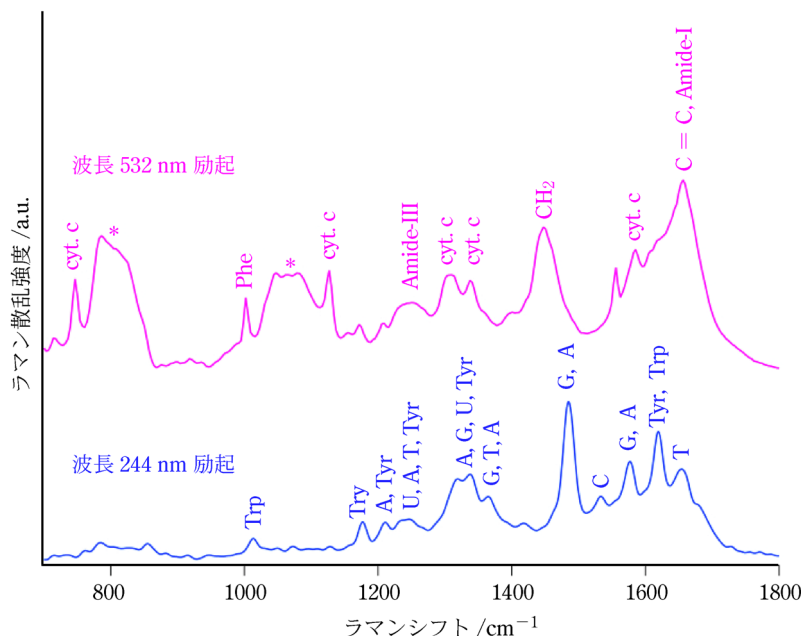


図5 培養細胞(HeLa, ヒト子宮頸がん由来)の平均ラマンスペクトル。励起波長532nmの場合(上)と励起波長244nmの場合(下)。cyt. cはシトクロムC, Pheはフェニルアラニン, Trpはトリプトファン, Tyrはチロシン, Aはアデニン, Uはウラシル, Tはチミン, Gはグアニン, Cはシトシンを表す。\*は細胞培養石英基板由来のラマンバンド。培養基板由来のラマンバンドは共鳴効果が顕著な深紫外励起の場合には観察されない。



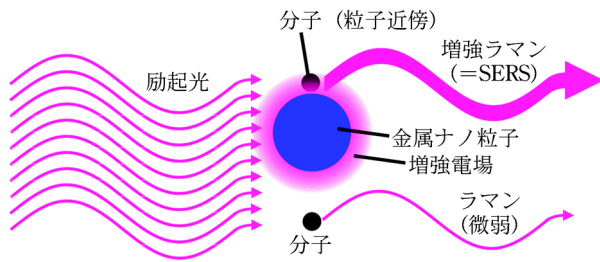


図6 通常のラマン散乱と表面増強ラマン散乱

粒子（直径 50 nm）は、532 nm 付近に半値全幅約 35 nm のプラズモン共鳴ピークを示し、金ナノ粒子表面には入射光の  $10^2 \sim 10^3$  倍の電場 ( $|E/E_0|^2$ ) が生成される。水溶液中の銀ナノ粒子（直径 50 nm）の場合、409 nm 付近に半値全幅約 25 nm のプラズモン共鳴ピークを示す。金と比べて、銀は光学的な損失が小さいため、銀ナノ粒子表面には入射光の  $10^3 \sim 10^4$  倍の電場 ( $|E/E_0|^2$ ) が生成される。金属ナノ粒子表面では大きな増強電場が形成され、そこに存在する分子からは著しく大きなラマン散乱光が観測される（図 6）。

金属ナノ粒子に光 ( $E_0$ ) が照射されると、その表面には強い増強電場 ( $E_{out}$ ) が形成される。金属ナノ粒子表面に吸着/結合した分子は、その増強電場にさらされるため、強いラマン散乱光 ( $E_{out}$ ) が生じる。さらに、発生したラマン散乱光も入射光と同様に金属表面で増強されるため、理論的に SERS における電場増強因子 ( $EF$ ) は次のように表される。

$$EF = \left| \frac{E_{out}}{E_0} \right|^2 \left| \frac{E'_{out}}{E_0} \right|^2$$

ラマン散乱光の波長が入射光と近い場合、 $|E_{out}/E_0|^2 \sim |E'_{out}/E_0|^2$  となり、結果的に SERS 計測では通常のラマン散乱よりも数桁程度大きな散乱光が得られる。実際の計測では、ラマン散乱光強度は分子数にも依存し、金属表面に吸着/結合した分子数 ( $N_{surf}$ )、SERS 光強度 ( $I_{SERS}$ )、通常のラマン散乱光強度 ( $I_{NRS}$ ) とその焦点に含まれる分子数 ( $N_{vol}$ ) を用いて、 $EF$  は次式で書き換えることができる。

$$EF = \left( \frac{I_{SERS}}{N_{surf}} \right) / \left( \frac{I_{NRS}}{N_{vol}} \right)$$

$EF$  は 1 分子当たりの金属表面から生じるラマン散乱光強度と通常のラマン散乱光強度の比であり、この値が大きいほど大きなラマン信号が得られる。ラマン散乱光強度の増強因子には化学増強の効果も含まれる。分子が金属ナノ構造表面に吸着・結合することにより、両者の間に電荷遷移が起こるため、共鳴ラマン散乱のような効果が得られる。化学増強の効果は  $10^1 \sim 10^2$  程度といわれている。

SERS の高い感度は微量な成分の分析に利用されてき

た。金属ナノ構造を有する SERS 活性基板表面に標的分子が溶解した試料を滴下し、乾燥後、SERS を計測する手法が一般的である。一方、表面をデカンチオールとメルカプトヘキサノールの自己組織化単分子膜で修飾した両親媒性を示す金属表面は、水溶液中でも、例えば、グルコースのような分子を金属表面に吸着しやすく、溶液中での実時間計測が可能となる。また、標的分子と特異的に結合する分子で金属表面を化学修飾すると、標的分子からのラマン散乱光を選択的に増強することができる。最近では、金属ナノ粒子をシリカ薄膜で被覆することで、洗浄・再利用が可能、かつ凹凸のある試料表面を均一に覆うことのできる技術 (Shell-Isolated Nanoparticle Enhanced Raman Spectroscopy) なども開発されている。SERS は金属表面を化学修飾する技術とともに発展し、グルコースなど疾患バイオマーカーやトリニトロトルエンのような危険物の検知、電池電解液中の不純物検査、食品衛生検査、歴史・文化遺産など、その応用は多岐にわたる。SERS については、文献 4 などでも詳しく述べられている。

## 6 ラマン分光装置

共鳴効果や SERS 効果を利用すればラマン散乱光を増大できるとはいえ、ほとんどの場合において、ラマン散乱光は非常に微弱である。微弱な信号を測定するには、一般論として、発生した信号光を効率よく取得しつつ、環境光、迷光、背景光などの信号光以外の成分ができるだけ検出されない装置が必要となる。これらのことはラマン散乱光測定にも当然当てはまる。

ラマン散乱光測定は主に三つの方法により行える。その三つというのは、干渉計を用いてラマン散乱光を測定し得られるインターフェログラムをフーリエ変換してラマン散乱光のスペクトルを求める方法、回折光学素子を用いてラマン散乱光を波長ごとに空間上で分離しセンサーアレイにより検出する方法、異なる波長のレーザービームを試料中において重ね合わせ二つのレーザーの差周波数をもつ非線形ラマン散乱を誘導し検出する方法である。ここでは、広く普及している回折光学素子を用いるラマン分光装置についてのみ詳しく述べる。

図 7 に回折光学素子を用いるラマン分光装置の一例を示す。励起光源から射出したビームは、可変減光フィルターによりパワー調節され、偏光子および波長板により偏光制御される。試料への光照射は電磁シャッターにより行われる。試料からのラマン散乱光はレンズにより収集され、ダイクロイックミラーおよびエッジフィルターにより励起光と分離される。ラマン散乱光は分光器の入射スリットに集光され、分光器内部において回折光学素子により分散されたのち、検出器アレイによりスペクトルとして記録される。

この光学系においてラマン散乱光を効率よく検出する

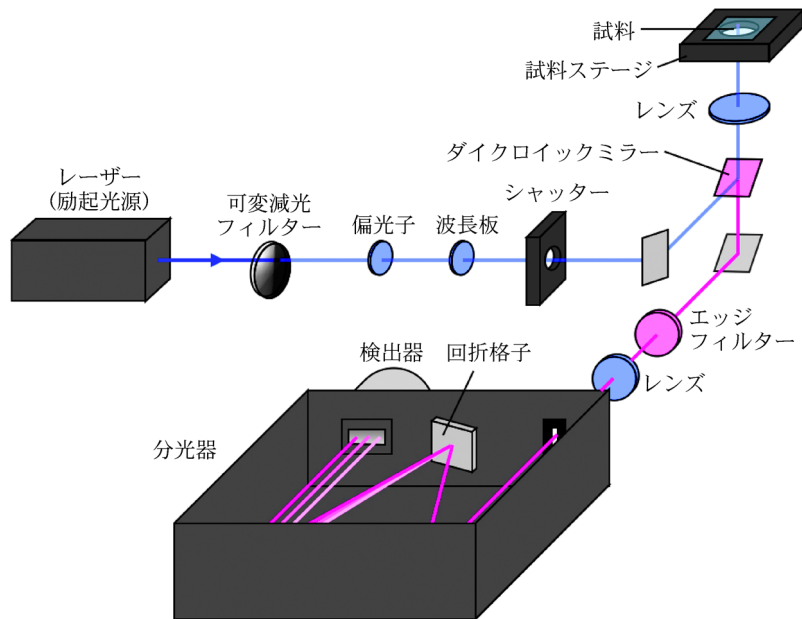


図7 回折型ラマン分光装置の光学系の一例

上で重要な点は、ラマン散乱を収集するレンズの立体角を大きくすること、ラマン散乱光を分光器入射スリットにうまく通すこと、光損失の少ない検出光学素子・デバイスを利用することなどである。一方、信号光以外の成分の検出を抑えるには、迷光の少ない分光器を用いること、分光器の入射スリットを広げすぎないこと、励起光路では自家蛍光が発生しない光学素子を用いること、レーザー光をよくブロックするダイクロイックミラーおよびエッジフィルターを用いることなどが重要となる。

ラマン分光測定のポイントは微弱な信号を測定することだけではない。目的に合わせた波数分解能で測定することも重要である。波数分解能というのは、スペクトルの波数軸上においてどれだけ近い二つのバンドを区別して検出できるかを表す分光器の性能指標である。波数分解能が低い場合、近接する複数のバンドを区別して測定することができないことがあり、化学分析能は低くなる。かといって、波数分解能が高ければ高いほどいいとは限らない。回折光学素子を用いるラマン分光装置では、波数分解能が高い場合、センサー一つに入射する光子の数は少なくなるため、信号はノイズや背景光などに埋もれやすくなる。

回折光学素子を用いるラマン分光装置では波数分解能を決めるのは一般に、光源のスペクトル線幅、分光器の分散性能、分光器の入射スリット幅、およびスペクトルを測定する検出器のセンサーサイズという4因子である。光源のスペクトル線幅はMHzかそれ以下であることが望ましく、ラマン分光装置の光源には縦モード単一周波数のレーザーが用いられることが多い。分光器の分散性能は、異なる波長をどれだけ検出器上で分離できるかを表すものであり、分光器内部の回折光学素子の回折

角波長依存性と結像光学素子の焦点距離とによって決まる。スリット幅とセンサーサイズはそれぞれ、検出器上でのビームスポットサイズとサンプリングピッチを決める。スリット幅やセンサーサイズが大きすぎる場合、十分な波数分解能を得られない。

励起光源として用いられるレーザーの特徴の一つに直進性と指向性がある。そのため励起レーザー光は顕微鏡対物レンズにより微小領域に集光される。このことからラマン分光計測は顕微分光と相性が良い。特にレーザー集光点からのラマン散乱光を分光器入射スリットに結像させスリット幅を調節した場合、共焦点効果により、レーザー集光点以外からの光を検出しないようにできるため、背景光を抑制できる。共焦点効果を得られるようにするには、分光器入射スリットの幅は、対物レンズの点像分布関数の半値全幅に試料～スリット間の像倍率をかけあわせた値の2～4倍がよい。

## 7 ラマンイメージング

顕微ラマン分光装置に走査系を導入すれば、顕微ラマンイメージングを行える。従来の顕微ラマンイメージングは、励起ビームを点に集光し、その点照明により試料を空間2次元または空間3次元で走査していたため、時間単位の時間を要していた（所要時間は0.1～1 sec × 空間画素数）。しかし最近では、試料をライン状の励起ビームにより照明し複数座標のラマンスペクトルを平行に検出する方法が普及してきており、通常1時間以下、条件次第では10分以下でラマンイメージングができるようになってきている。

ラマンイメージング高速化の恩恵は、生物試料の観察において大きい。試料を前処理せず非接触、非侵襲的に

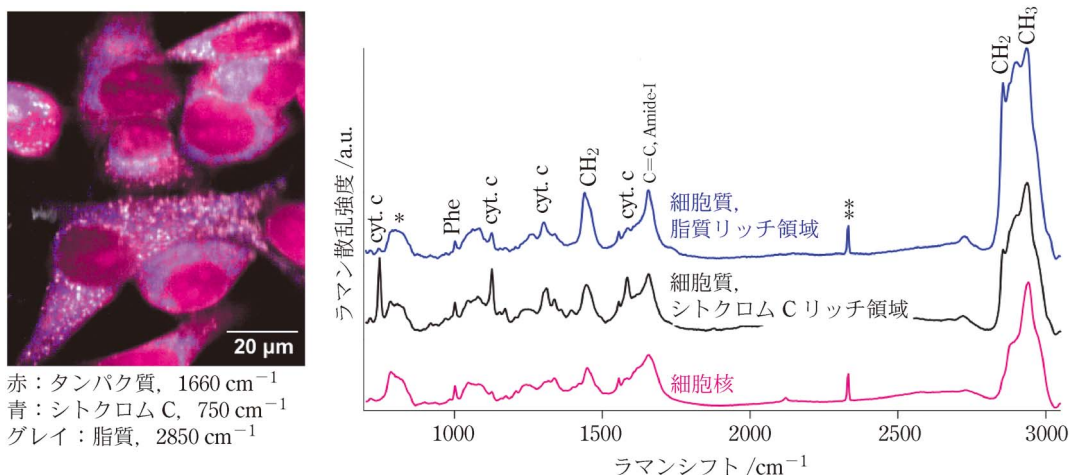


図 8 生きた HeLa 細胞の顕微ラマンイメージング

左はタンパク質、脂質、シトクロム C それぞれに帰属されるラマンバンドの強度分布により再構成したラマン画像。右は細胞から得られる代表的ラマンスペクトル。cyt. c はシトクロム C, Phe はフェニルアラニンを表す。\*と\*\*はそれぞれ細胞培養石英基板、大気中窒素に由来するラマンバンド。

分子分析できるラマン分光は生体試料の分析において有用であるが、従来のラマンイメージングは長い測定時間のため、生きた試料の観察には適さなかった。ライン照明を用いるラマン顕微鏡は 2008 年 Hamada らによって報告 (文献 5) されて以来、生きた細胞の観察を可能にしている (図 8)。バイオイメージングの分野では最近、従来の顕微鏡技術 (= 蛍光顕微鏡) では観察できない分子の観察にラマン顕微鏡が使われている。特に、蛍光標識するには小さすぎる小分子の観察では、原子数個からなる小さな修飾基をつけてそのラマン散乱により分子を同定し検出する方法が注目されている。

ラマンイメージングの高速化はデータサイエンスとラマン分光法の融合にも一役買っている。ラマンイメージングの高速化により、それまでは現実的な時間ではおよそ測定することが困難であった大量の顕微ラマンスペクトルを短時間のうちに取得できるようになった。ラマンデータを情報数論学的アプローチにより解析し、新たな医療診断法やセルソーティング法を生み出す研究も進められている。

ラマンイメージングのより詳しい解説は文献 6, 7 などで行われている。

## 8 まとめ

本稿ではレーザーラマン分光法の基礎と最近の話題について述べた。レーザーが発明される前からその存在を知られていたラマン散乱は、レーザー技術の恩恵を受けながら、レーザーラマン分光法として進化を遂げてきた。特に、大きな課題の一つであったラマン散乱光強度の弱さが、様々なアプローチにより克服されてきた。それにより迅速な測定が可能となり、最近ではラマンイメージングがバイオ・医療分野などで応用されるように

なってきた。レーザー技術はもとより、今後、数理データサイエンスとも融合しながら、ラマン分光技術はさらに発展することが期待される。

## 文 献

- 1) 濱口宏夫, 岩田耕一: “分光法シリーズ 1 ラマン分光法”, p. 13 (2015), (講談社).
- 2) 長谷川健, 尾崎幸洋: “分析化学実技シリーズ 機器分析編 2 赤外・ラマン分光分析”, 日本分析化学会編, p. 101 (2020), (共立出版).
- 3) 加納英明: 生化学, **91**, 820 (2019).
- 4) P. L. Stiles, J. A. Dieringer, N. C. Shah, R. P. Van Duyne: *Annu. Rev. Anal. Chem.*, **1**, 601 (2008).
- 5) K. Hamada, K. Fujita, N. I. Smith, M. Kobayashi, Y. Inouye, S. Kawata: *J. Biomed. Opt.*, **13**, 044027 (2008).
- 6) Y. Kumamoto, Y. Harada, T. Takamatsu, H. Tanaka: *Acta Histochem. Cytochem.*, **51**, 101 (2018),
- 7) 熊本康昭, 藤田克昌: 生物物理, **60**, 331 (2020).



武安伸幸 (Nobuyuki TAKEYASU)  
岡山大学学術研究院自然科学学域 (〒700-8530 岡山市北区津島中 3-1-1)。九州大学大学院工学研究科。博士 (工学)。《現在の研究テーマ》金属ナノファブ리케이션とその表面増強ラマン分光への応用。  
E-mail: takeyasu@okayama-u.ac.jp



熊本康昭 (Yasuaki KUMAMOTO)  
大阪大学大学院工学研究科応用物理学 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1)。大阪大学大学院工学研究科応用物理学修了。博士 (工学)。《現在の研究テーマ》顕微鏡学と分光学を駆使したメディカルデバイス。《主な著書と出版社名》“Far- and Deep-Ultraviolet Spectroscopy”, (Springer).  
E-mail: kumamoto@ap.eng.osaka-u.ac.jp