

ー ラマン分光初歩講習会 ー

ラマン分光法を理解しよう



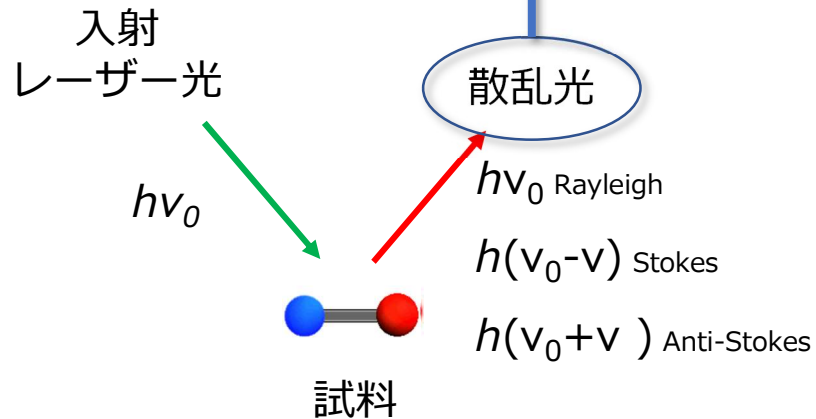
分子科学研究所 機器センター
中本 圭一

2022年4月27日

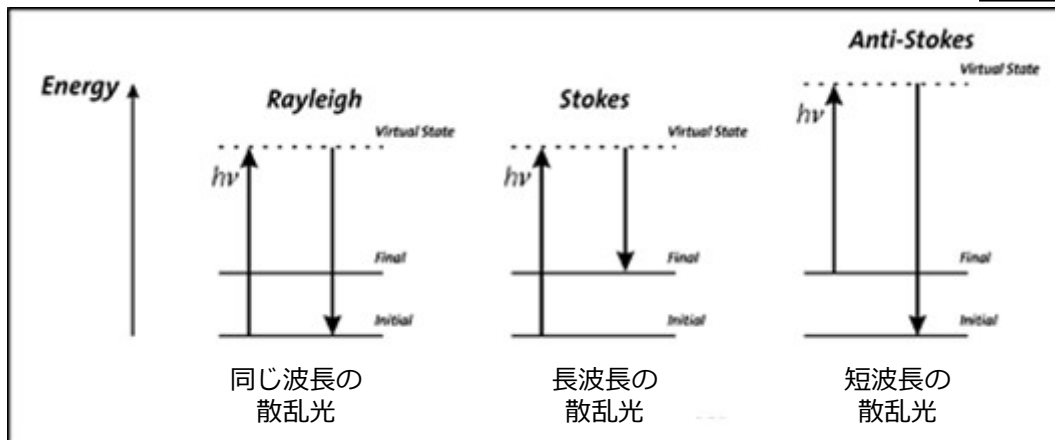
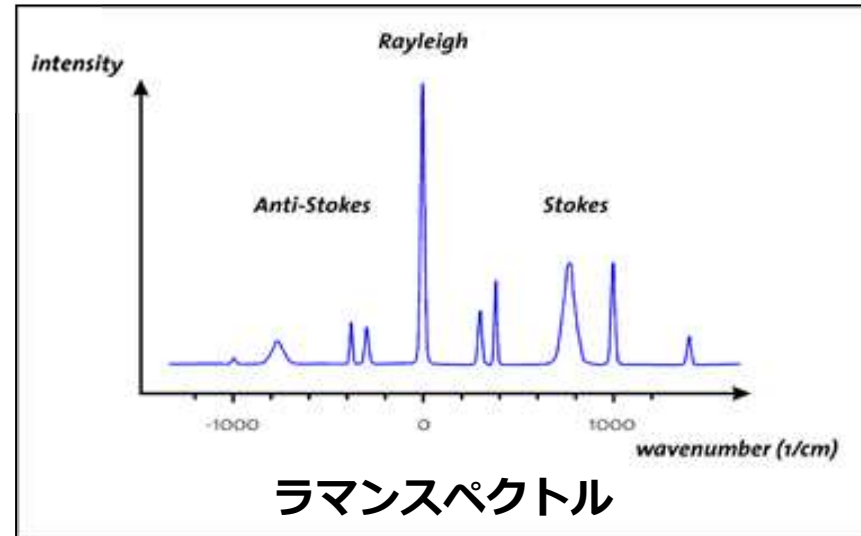
Raman

ラマン分光法とは

ラマン分光法の原理



散乱光の**波長の逆数**を横軸に、**散乱光の強度**を縦軸にとってプロット。

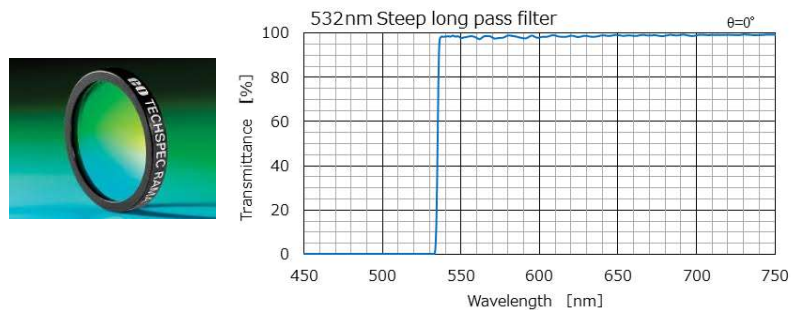
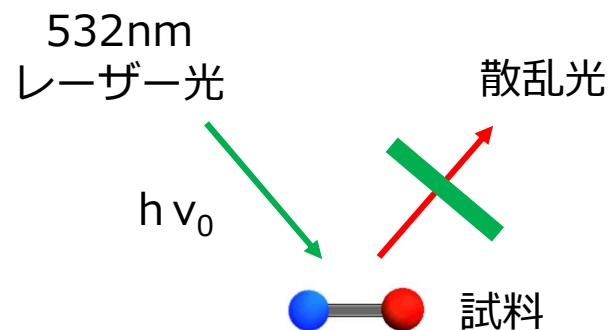


↓

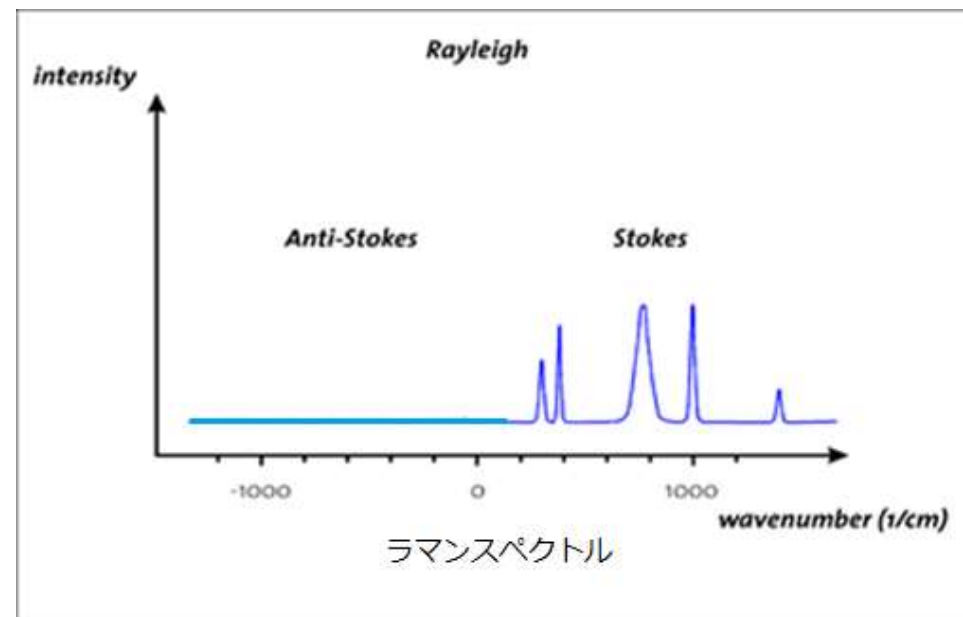
ラマンスペクトルを解析することによって、**試料の化学的特性**を知ることができる。

ラマンフィルター

Rayleigh散乱光はラマン散乱より通常
10⁴~10⁵程度強い。→検出器が飽和



ラマンフィルター特性



Rayleigh散乱光をカットすることによっ
て、S/N良くラマン散乱光を検出できる。

Stokes散乱側だけを取得する装置が多い。

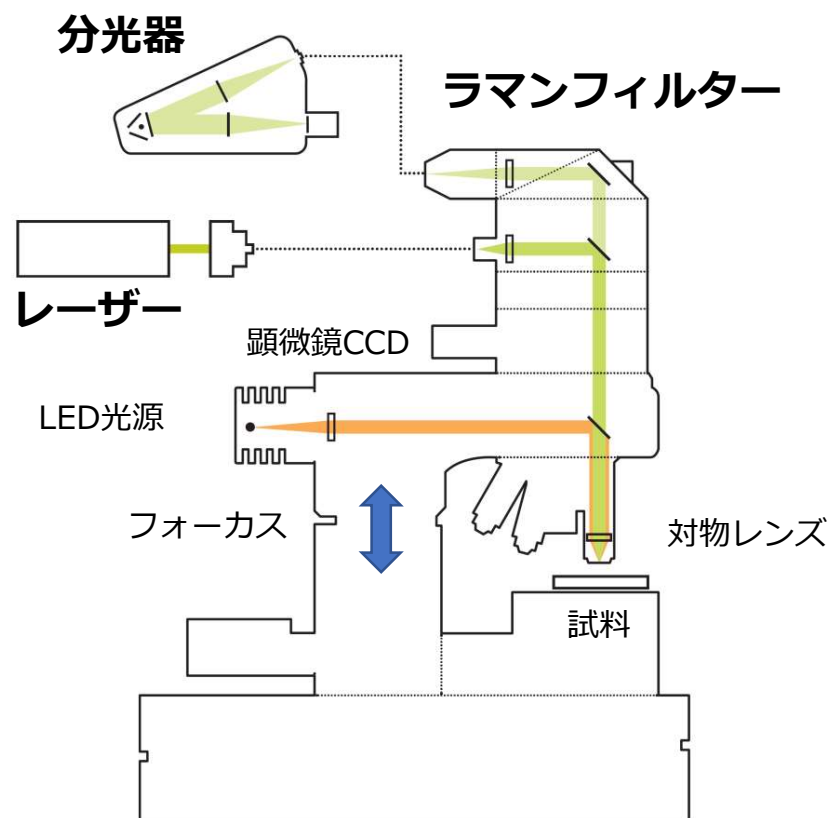
ラマン分光装置

ラマン分光装置の構造



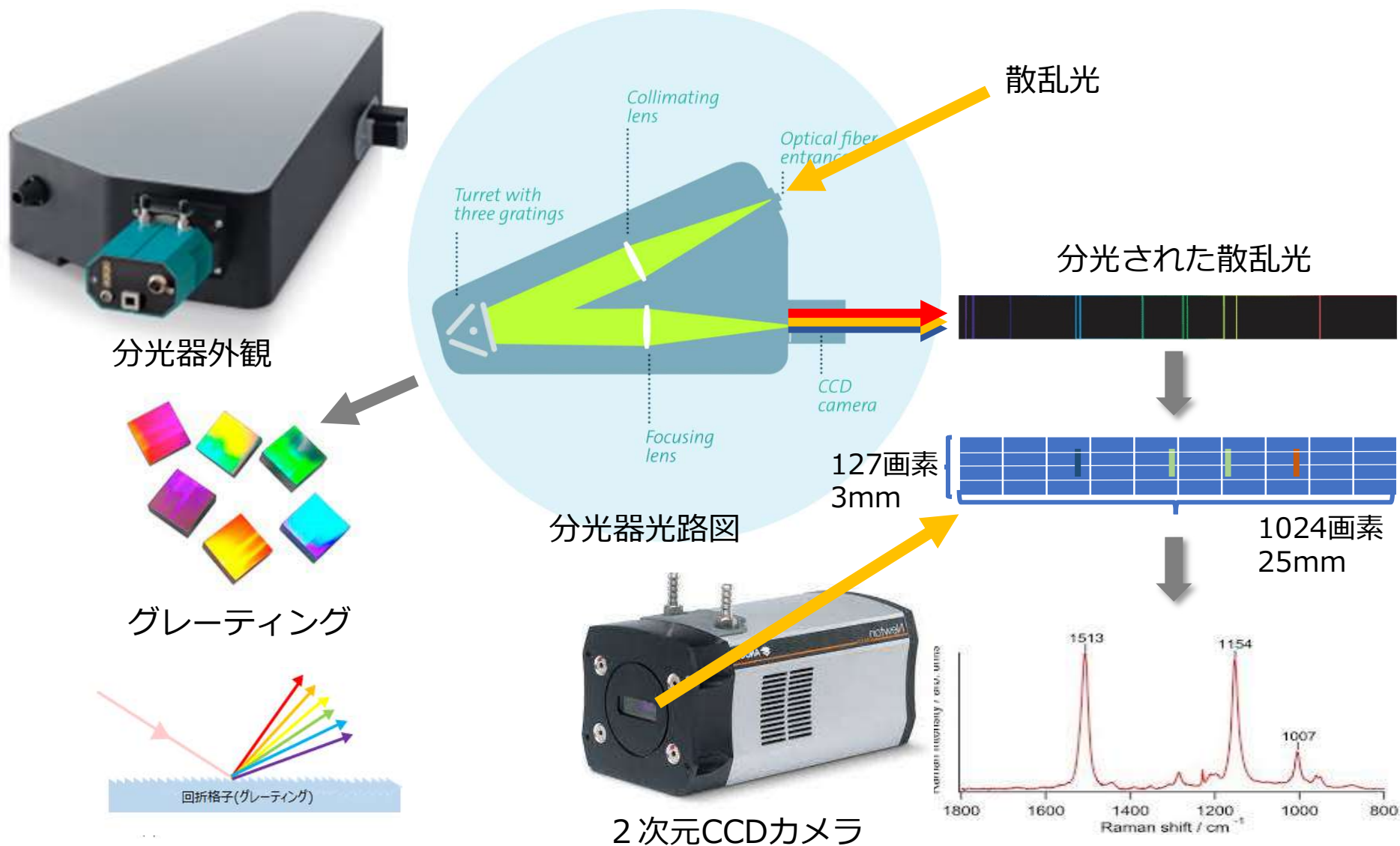
装置顕微鏡部写真

WITec ホームページより



光学経路図

分光器の構造



ラマンスペクトルの表記について

ラマンスペクトルの横軸表記について

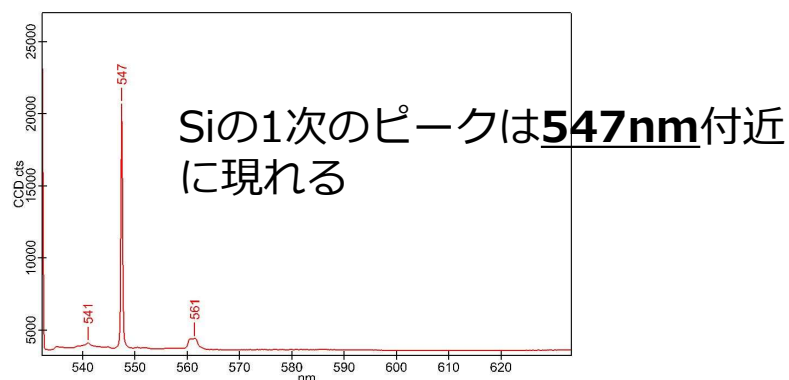
$$1/\lambda_0 - 1/\lambda$$

で表すのが一般的。単位は cm^{-1}

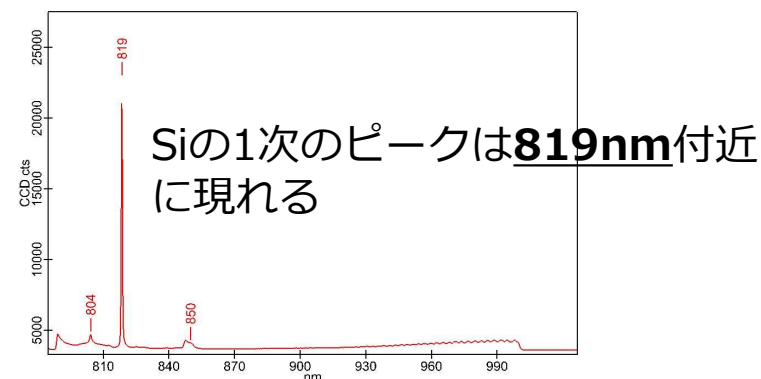
Wave number もしくは、**波数**と呼ぶ。
現在、**カイザー**という呼称は使用しない。

なぜ $1/\lambda_0 - 1/\lambda$ を用いるのか？

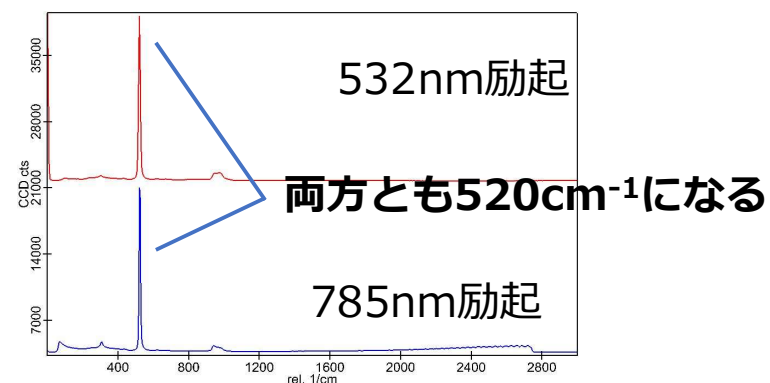
Si試料を532nmレーザーで励起した場合



Si試料を785nmレーザーで励起した場合



波数で表示を行った場合

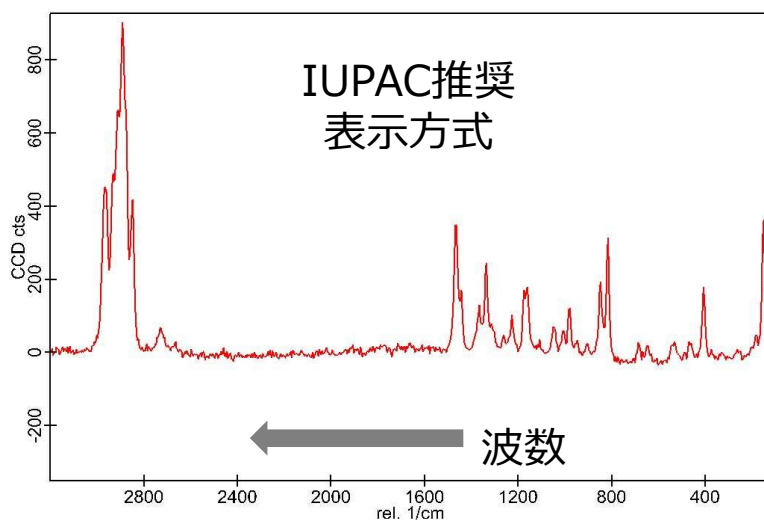


励起波長に依存しないため便利

ラマンスペクトルの表記について

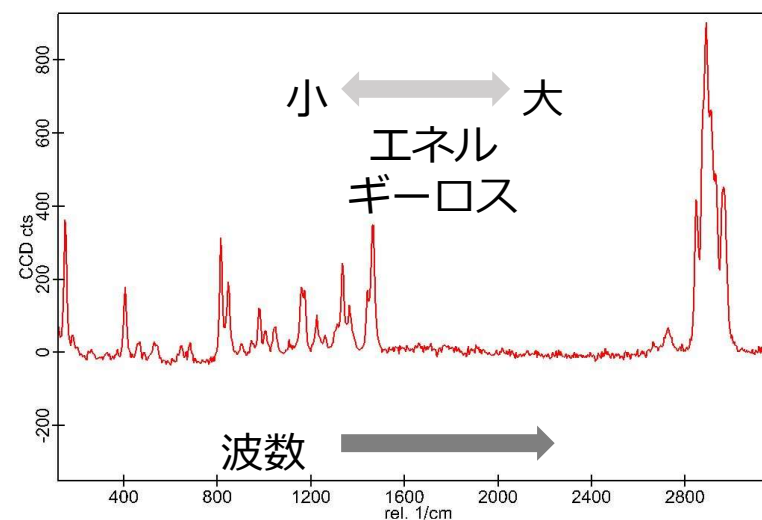
2種類の表記方法が用いられている。

ポリプロピレンのラマンスペクトル



- 赤外線吸収スペクトルとの対応がつけやすい

※ IUPAC 国際純正・応用化学連合
(英: International Union of Pure and Applied Chemistry)



- 近年はこちらの表示が多い

どちらの表記方法も使用されており、ほとんどの装置がどちらの表示もできる。

ラマンスペクトルの基礎

ラマンピークの現れ方

強度 au
CCDのカウント数

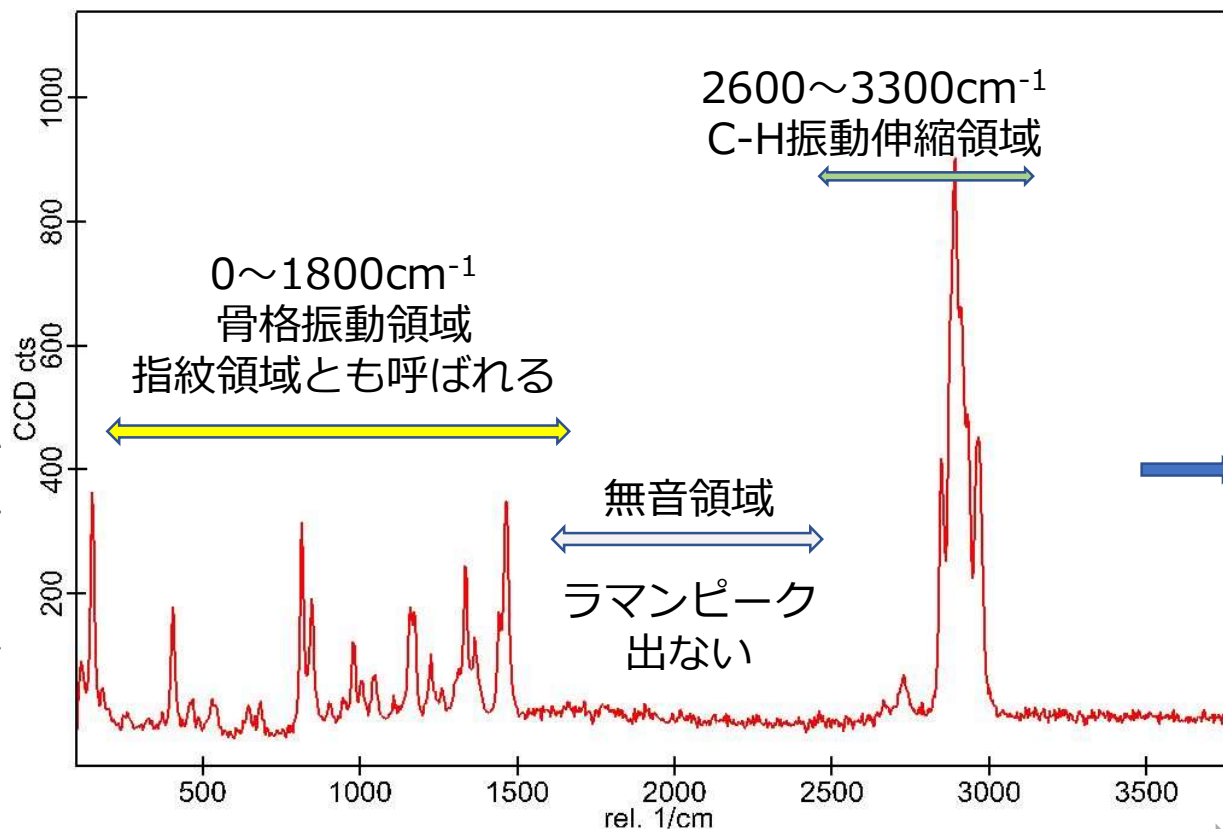


C-H振動伸縮領域に
ピークが出れば、
CH結合が試料にあ
る。→ 有機物質

波数0はRayleigh
励起波長

どこからとれるか
はフィルターの性
能による。

通常は $100\text{cm}^{-1}\sim$

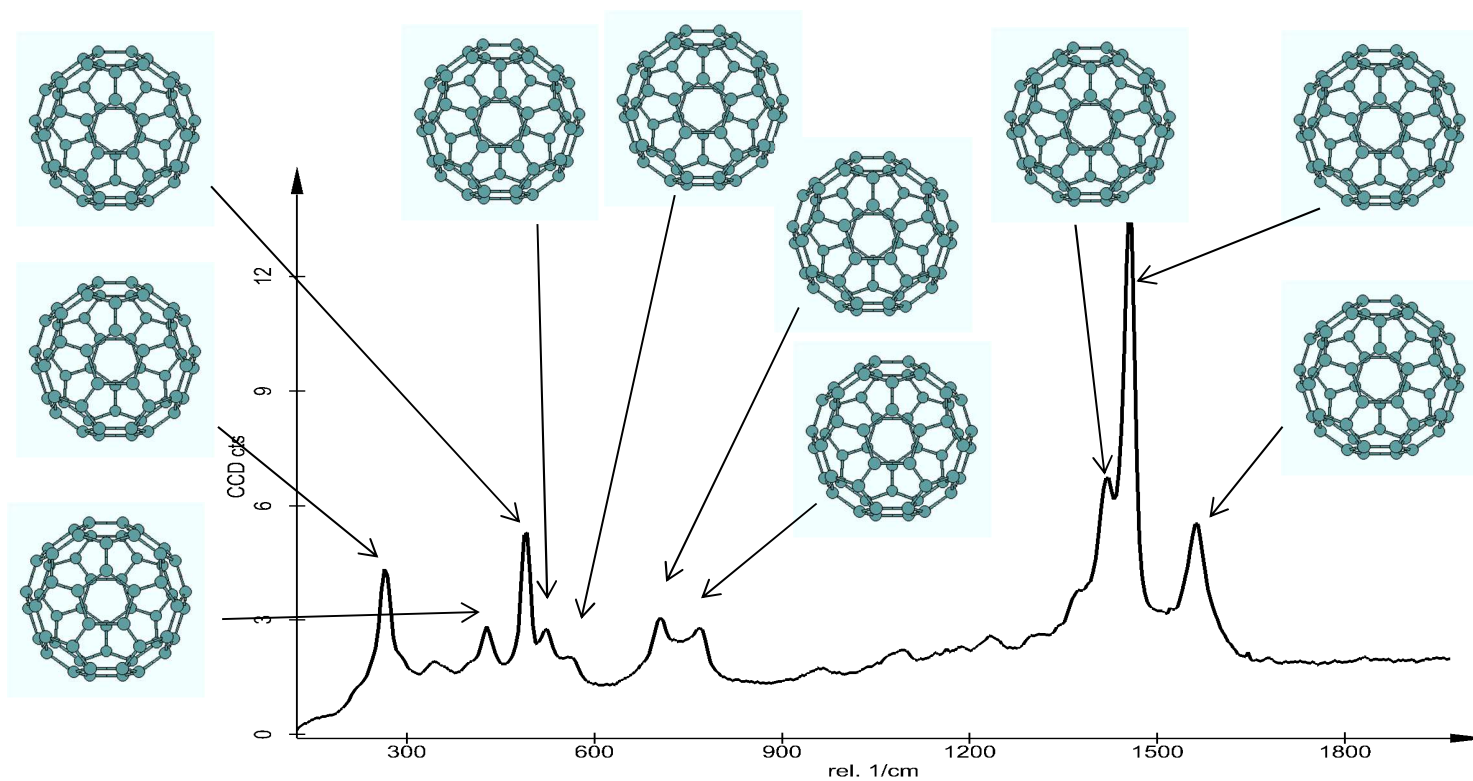


ポリプロピレンのラマンスペクトル

波数
[cm^{-1}]

骨格振動の例

C₆₀のラマンスペクトル



励起レーザー波長の選択

$$I_R \propto a^2 \cdot (\nu_0 - \nu)^4 \cdot I_0$$

↑ ラマン強度 I_R
励起レーザー振動数 ν_0

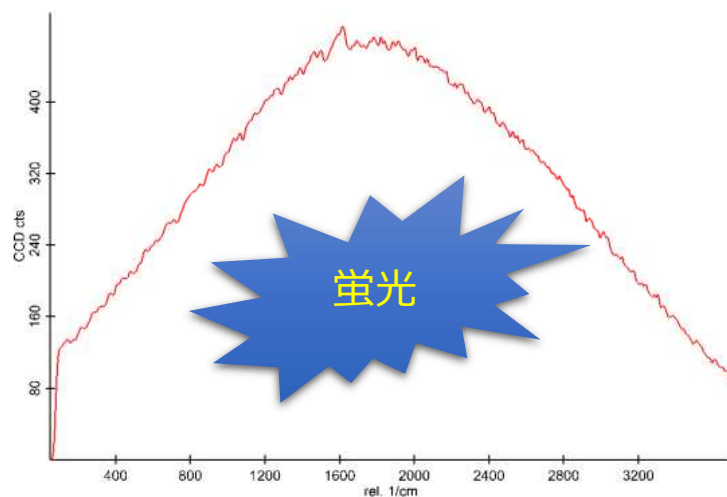
↑ ラマンテンソル a
励起レーザー強度 I_0

波長	レーザー	適用	ラマン強度 I_R	CCD感度	グレーティング効率	総合強度
355nm	3 ω Nd:YAG	半導体	5	30%(UV)	70%(UV)	<<1
442nm	HeCd	半導体、高分解能	2.1	85%	80%(500)	1.5
488/514nm	Ar-ion	多用途	1.4	90%	80%(500)	1.3
標準 532nm	2 ω Nd:YAG	多用途	1	90%	75%(500)	1
633nm	HeNe	蛍光防止	0.5	85%(DD)	65%(750)	0.33
785nm	Diode	蛍光防止	0.2	55%(DD)	55%(750)	0.1

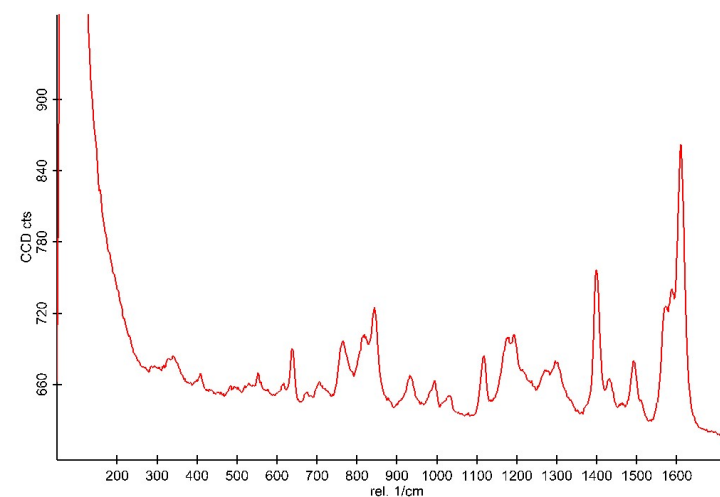
532nmは、強度・安定性・価格から標準波長として使用されている。

蛍光とは？

カーボン系試料



波長： 532nm



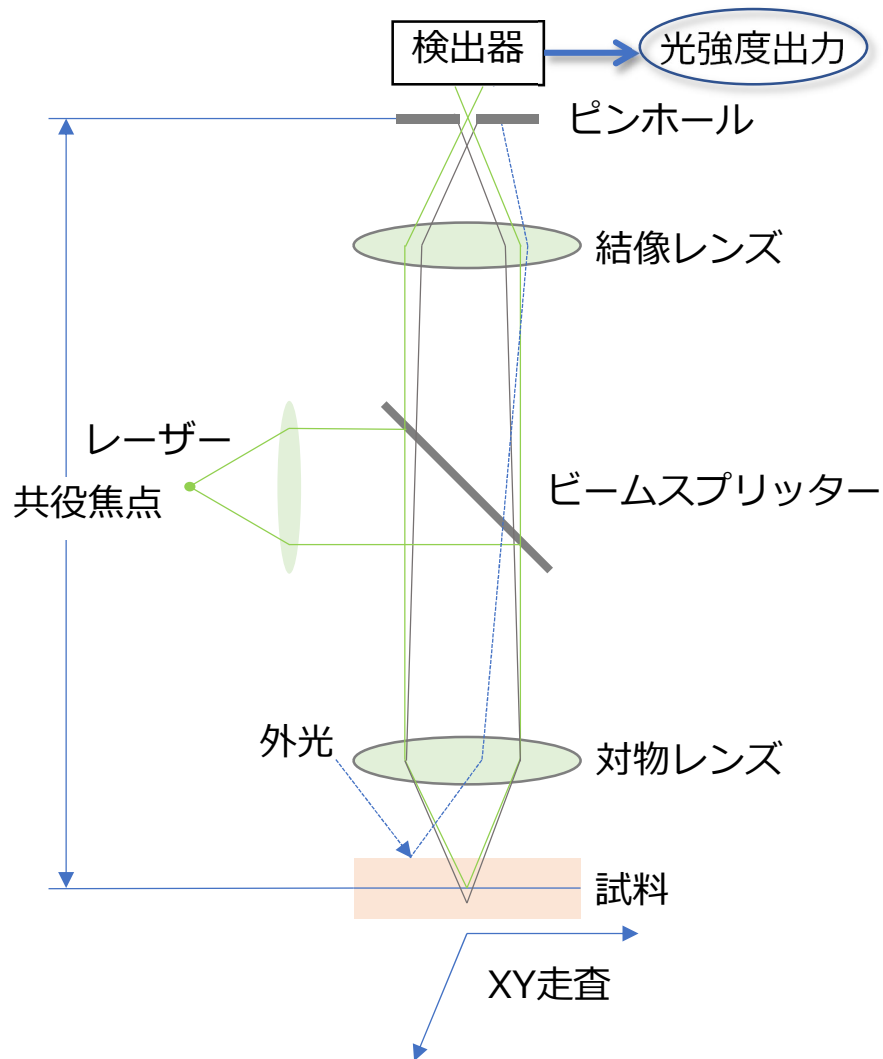
波長： 785nm

蛍光とは
得られたエネルギーの一部が熱として放出される。
→放出されるエネルギー値が不定→全領域に現れる

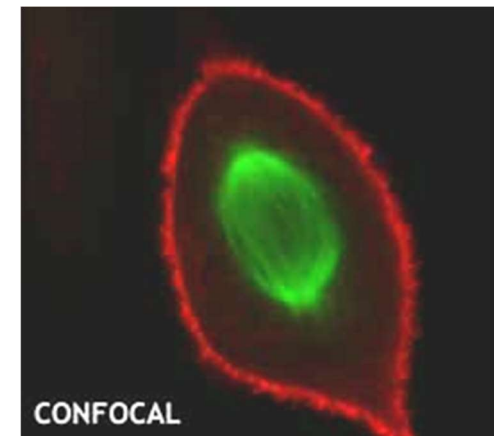
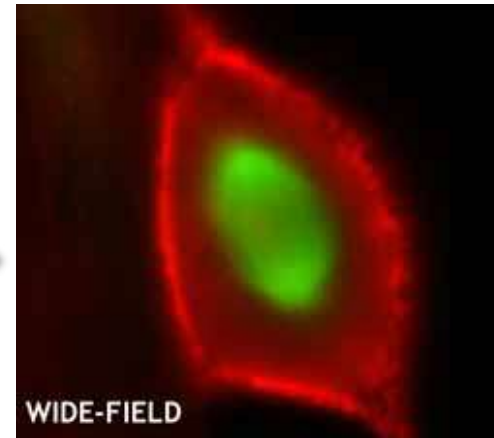
※ 蛍光が強い場合は、長波長レーザーを使用すると、蛍光が押さえられる可能性がある。

ラマンスペクトラムから ラマンイメージングへ

共焦点顕微鏡法とは



試料：蛍光染色した細胞



共焦点顕微鏡法の特長は

- **S/Nが良い** (分解能の向上ではない)
- 深さ方向の情報が得られる

ラマン分光法と共焦点顕微鏡法の融合

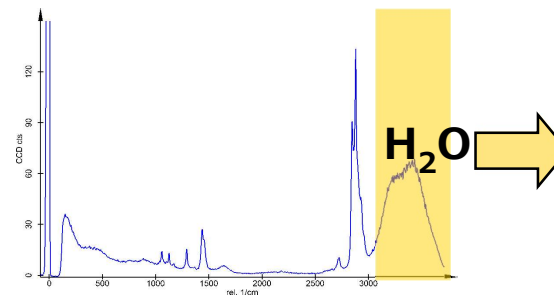
共焦点顕微鏡法 + ラマン分光法



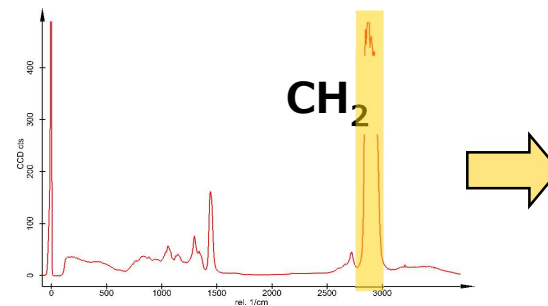
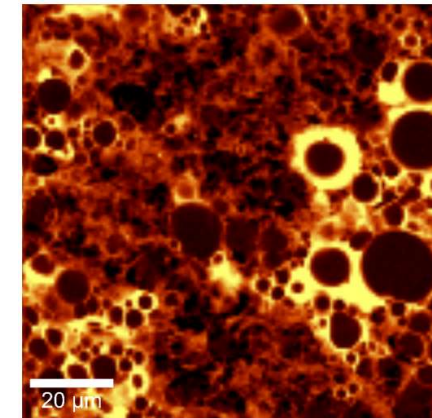
(共焦点) ラマンイメージング法

- 各測定点でラマンスペクトルを収集
- 特徴のある情報を抽出 (ピーク強度、ピーク幅、ピーク位置 等)
- これらの情報を画像表示

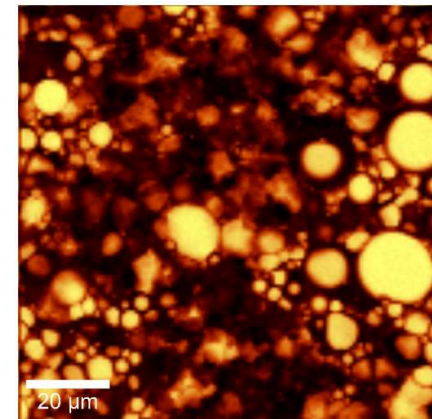
試料: 油/水 ニベアスキンミルク



H₂Oの強度で画像表示

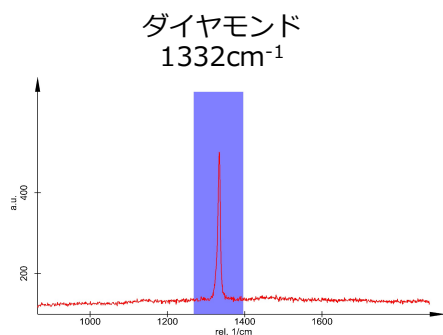


CH₂の強度で画像表示

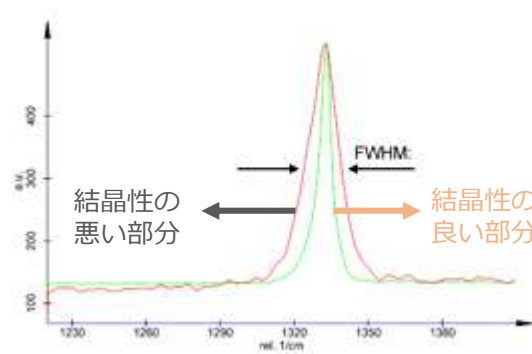
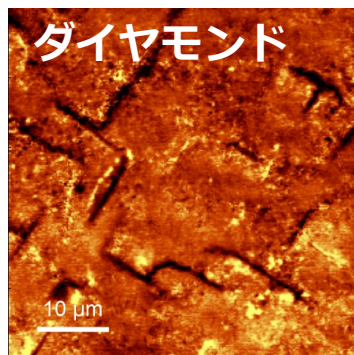


ラマンイメージ解析方法

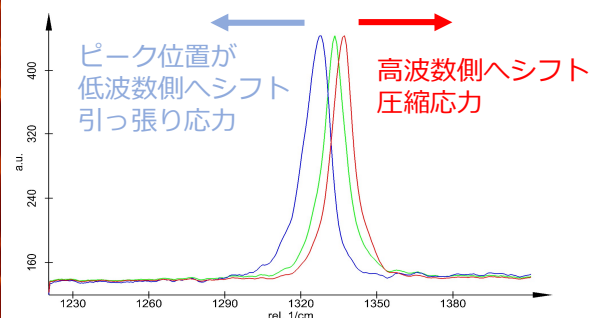
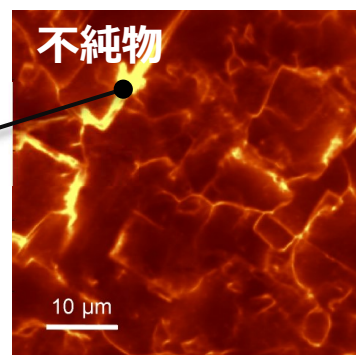
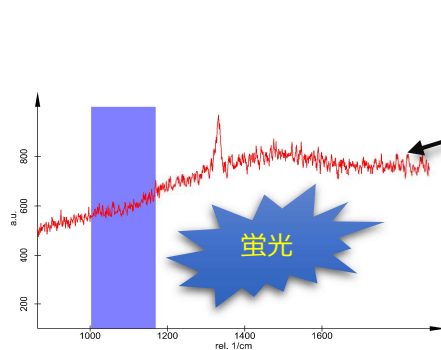
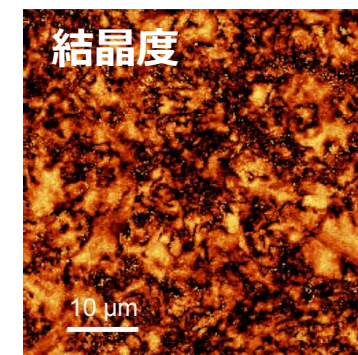
試料：CVDダイヤモンド 走査幅：50 μm^2
測定点数：256 x 256 画素



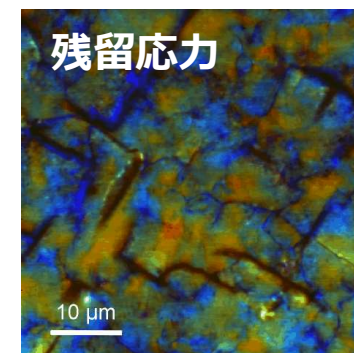
青い領域の積算強度で画像を表示



半値幅で画像を表示



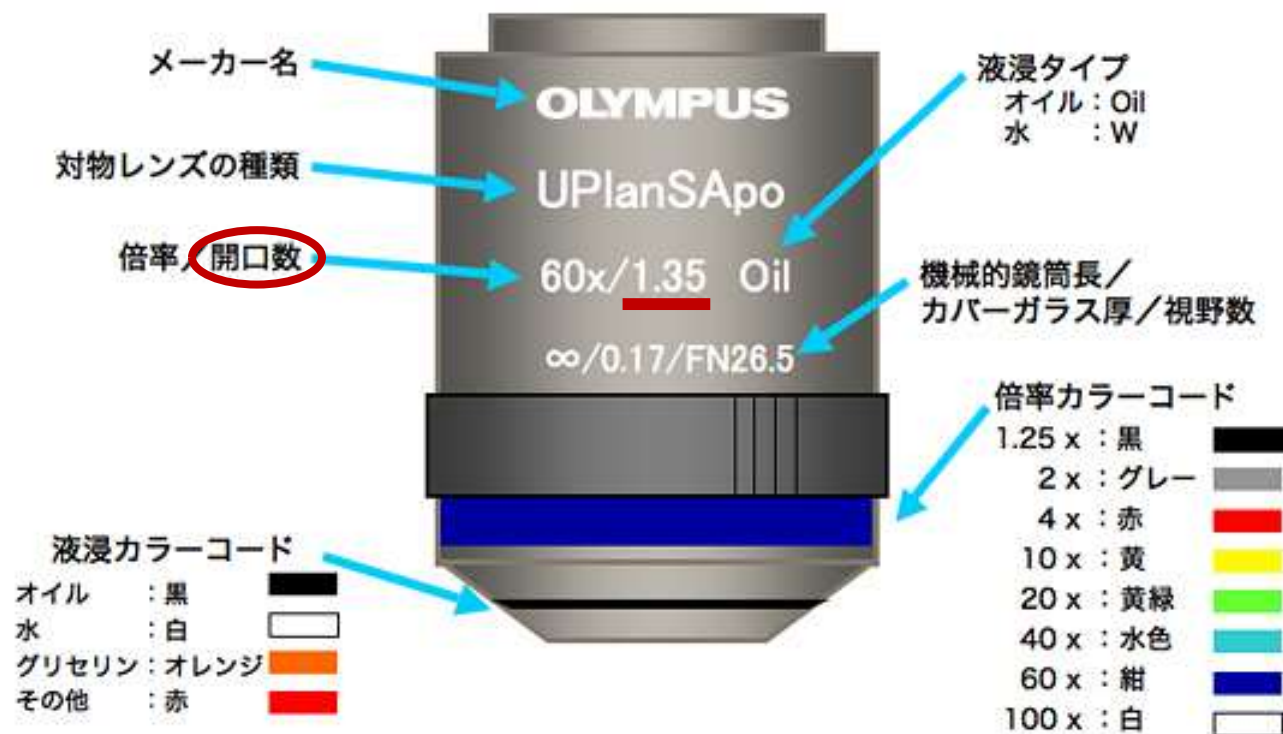
波数で画像を表示



一度データを取得すれば、測定し直す必要なく様々な解析が可能となる。

共焦点ラマン顕微鏡の 分解能

対物レンズの重要なパラメータ



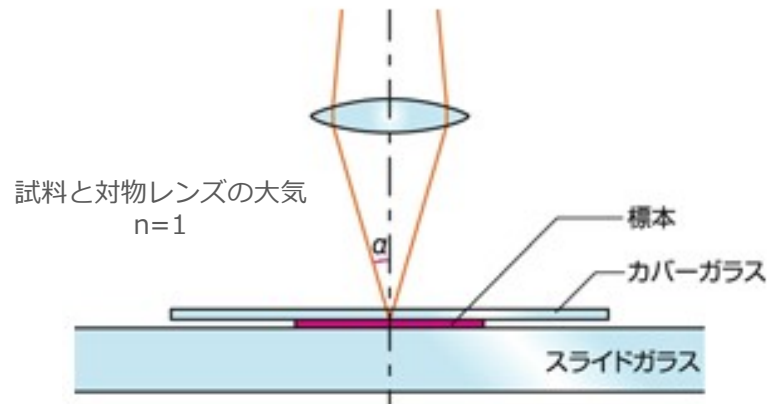
Olympusホームページより

開口数とは

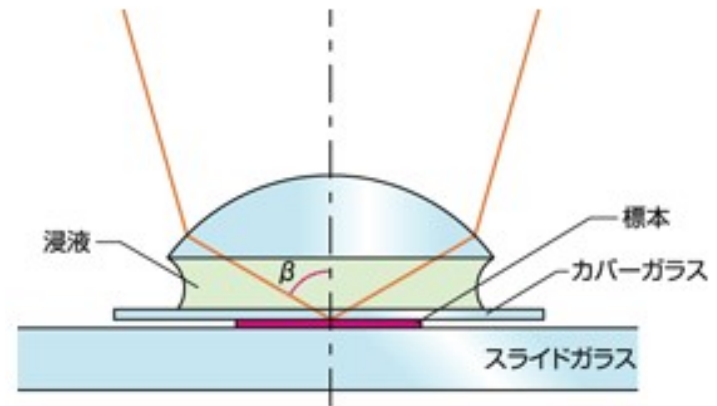
開口数(Numerical Aperture: N.A.)は、対物レンズのパラメータの中でも重要

$$N.A. = n \sin \alpha$$

乾燥系対物レンズの開口数: $NA = \sin \alpha$



液浸系対物レンズの開口数: $NA = n \sin \beta$



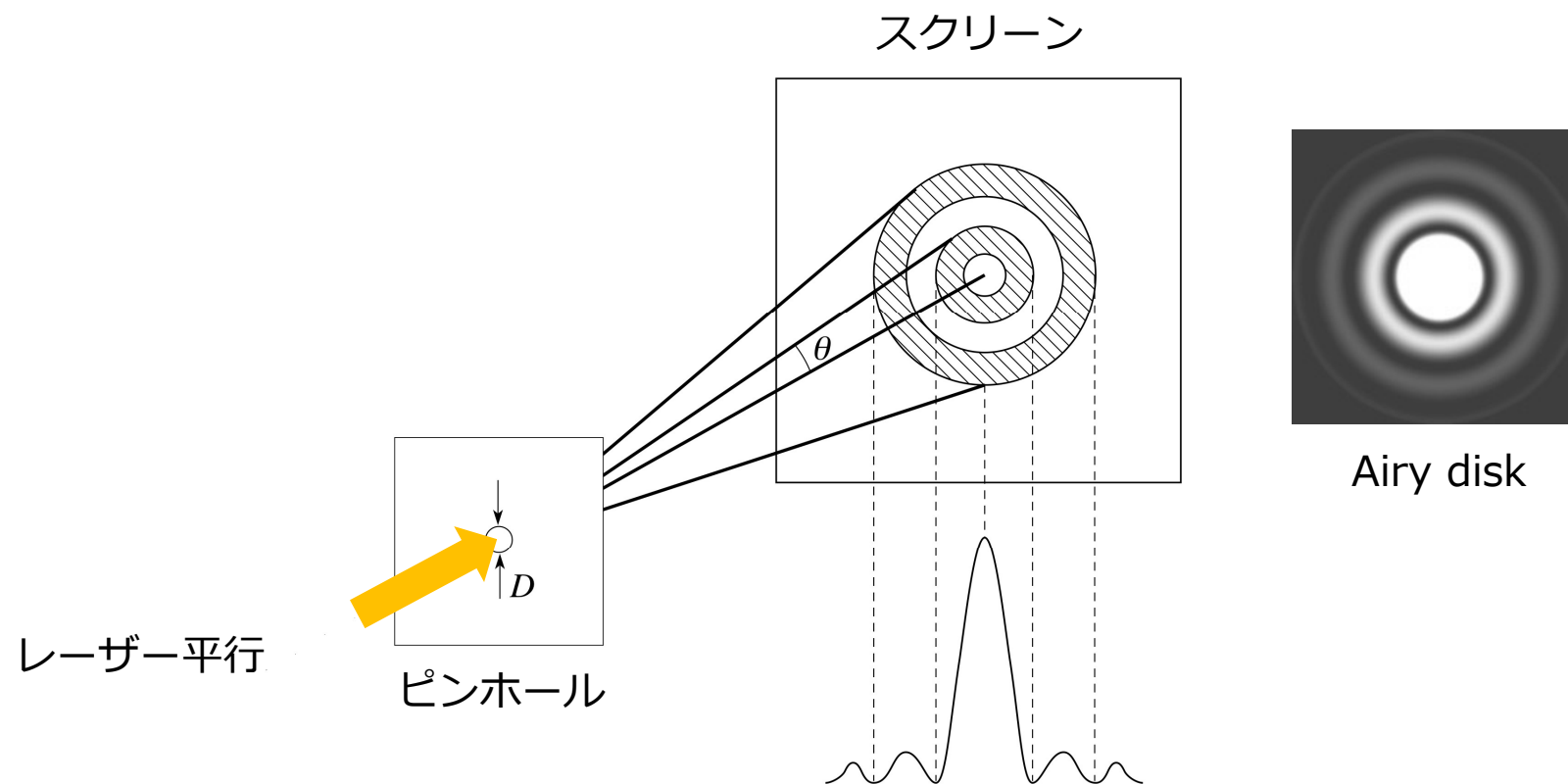
Olympusホームページより

浸液	屈折率 n	N.A.
大気	1.0	≤ 0.9
水 (水浸レンズ)	1.33	≤ 1.2
オイル (油浸レンズ)	1.515	≤ 1.4

N.A.が大きいと取り込む角度が大きくなる。

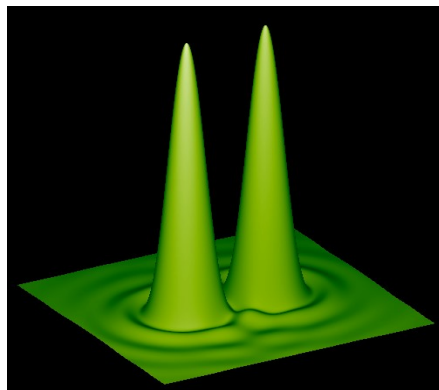
分解能について

ピンホールに平行光を照射すると、回折して観察面上に同心円状の明暗のパターンをつくる Airy Disk

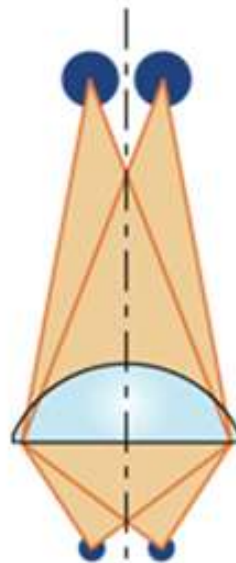


分解能について

2個のAiry Diskを観察したときに、2個の円形像を判別できる
最小の距離（臨界距離）がこのレンズの分解能である。

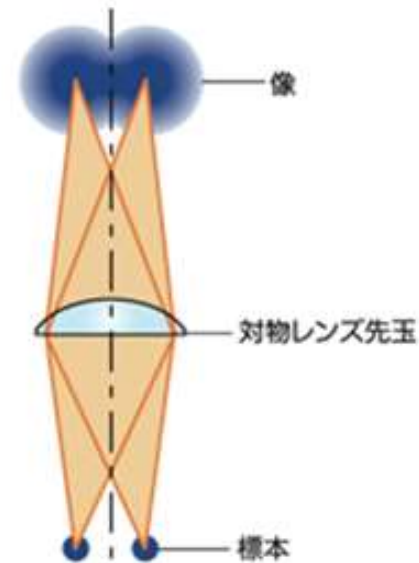


完全に分解
標本がきちんと
2点に分かれて
見えている

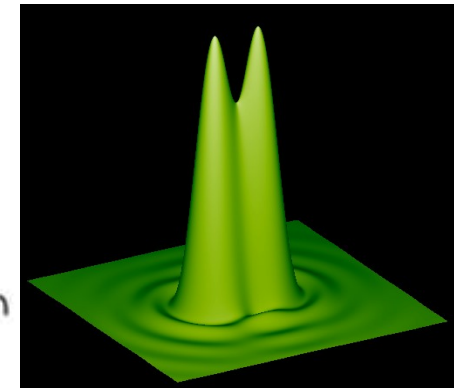


開口数大きい

全く分解していない
2点が全く2点として
見えていない



開口数が小さい



分解能について

レイリー (Lord Rayleigh, 1842-1919) の分解能定義式

Rayleigh Limit: $\Delta x = 0.61 \times \lambda / N.A$ ←回折限界

近年は、半値幅を用いて

Abbe Limit:(FWMH) $\Delta x = 0.51 \times \lambda / N.A$

浸液	N.A.	分解能 Δx
大気	≤ 0.9	301nm
水 (水浸レンズ)	≤ 1.2	226nm
オイル (油浸レンズ)	≤ 1.4	193nm

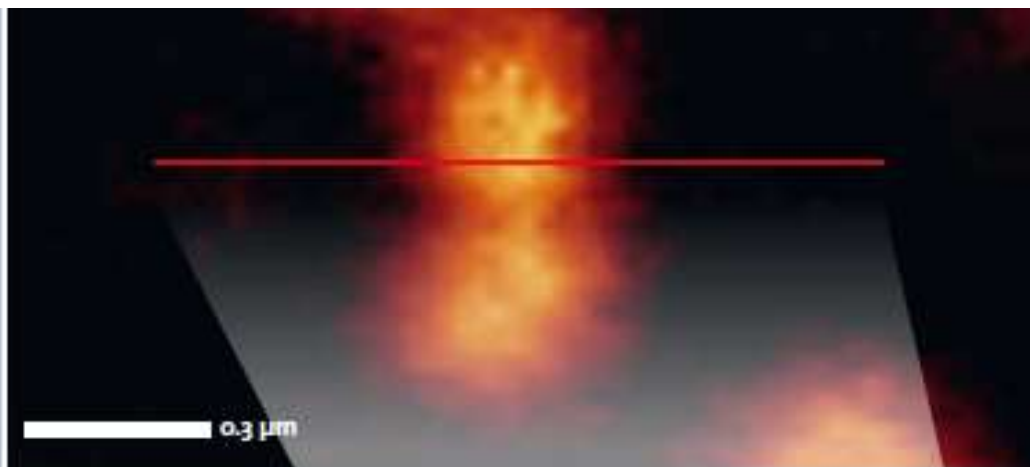
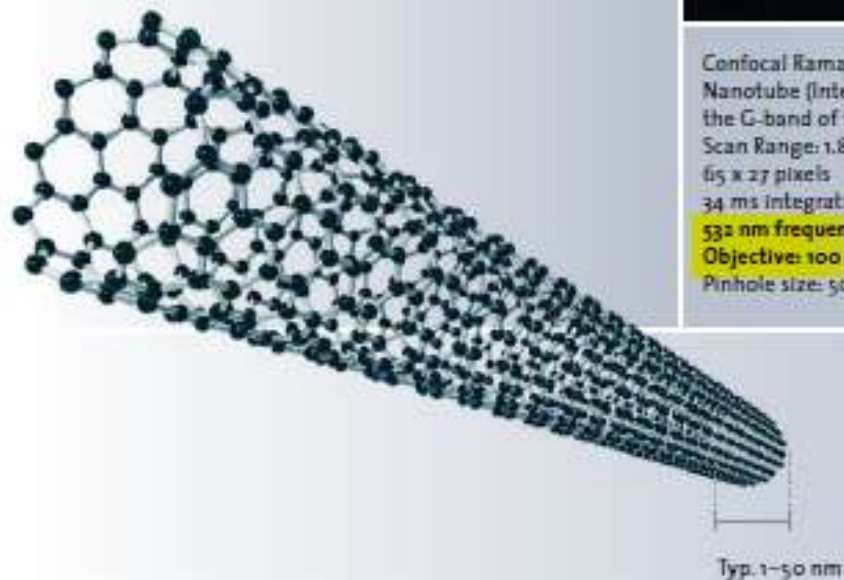
$\lambda = 532\text{nm}$ で計算

※ 分解能には、対物レンズの倍率は関係しない。

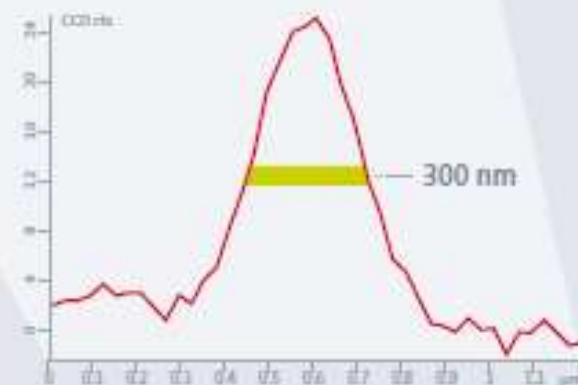
分解能について (横方向)

Spatial XY-Resolution
Carbon Nanotubes

Theoretical value for FWHM
NA = 0.9; $\lambda = 532 \text{ nm}$: **300 nm**



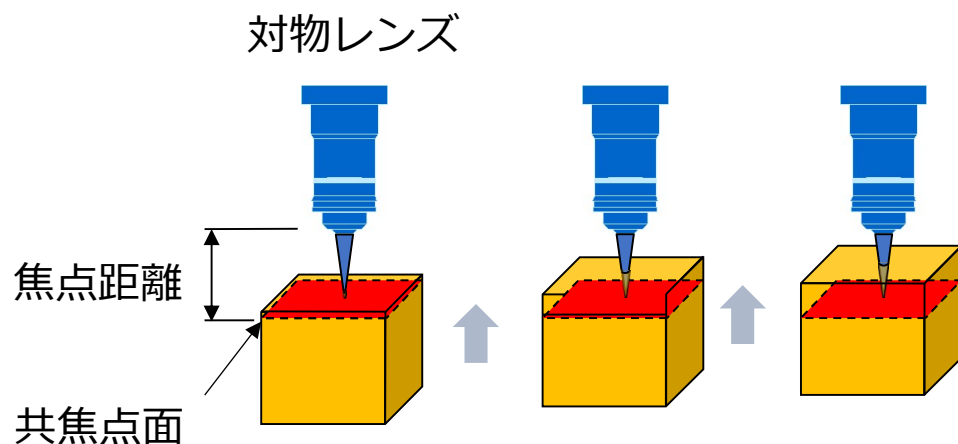
Confocal Raman Image of the Carbon Nanotube (Integrated intensity of the G-band of the nanotube)
Scan Range: $1.85 \times 0.83 \mu\text{m}$
65 x 27 pixels
34 ms integration/pixel
532 nm frequency-doubled Nd: YAG laser
Objective: 100 x NA 0.9
Pinhole size: 50 μm



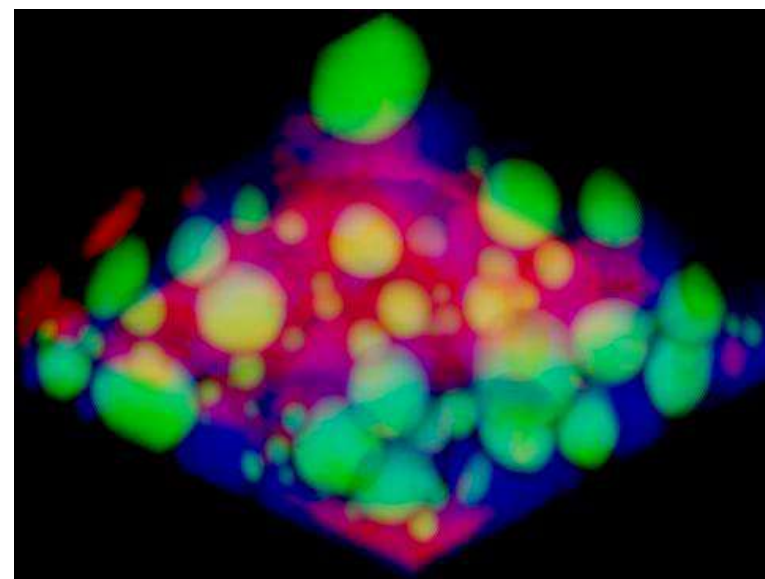
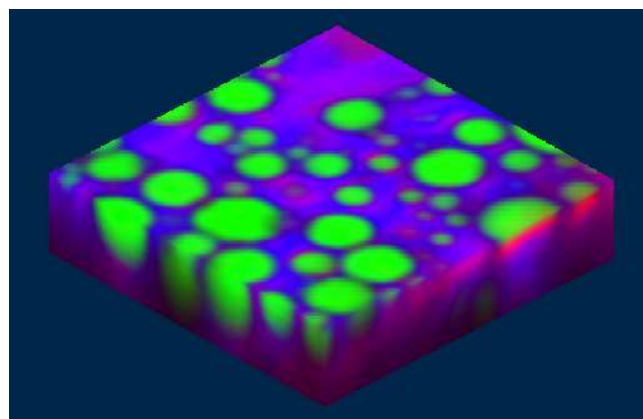
Measured FWHM: **~300 nm**

イメージングから 3Dイメージングへ

3次元ラマン画像取得方法



いくつもの2次元ラマンイメージを、
画像処理して3次元像を作成。



CH₂(油成分)を強調して表示

試料: ニベアスキンミルク
励起レーザー: 532nm
走査幅: 100 μm² x 30 μm
測定点: 150 x 150 画素 x 23層

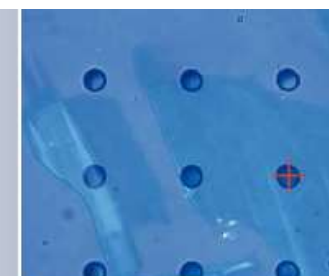
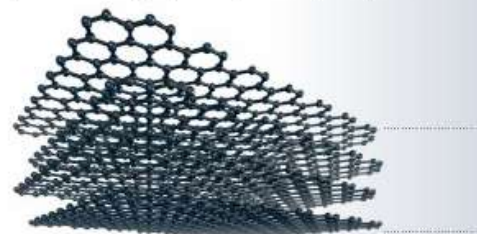
分解能について（深さ方向）

$$\Delta z \doteq 1.4 \times n \times \lambda / (N.A.)^2$$

浸液	N.A.	分解能 Δz
大気	≤ 0.9	919 nm
水 (水浸レンズ)	≤ 1.2	517 nm
オイル (油浸レンズ)	≤ 1.4	380 nm

$\lambda=532\text{nm}$, $n=1$ で計算

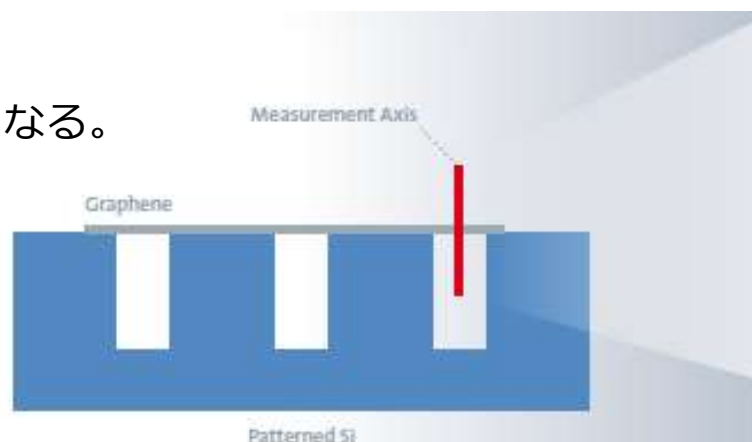
Spatial XZ-Resolution
Suspended multilayered graphene
(ultrathin graphite) – Depth profile



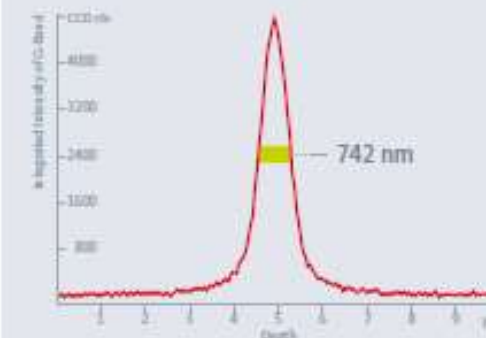
Video top view image of suspended Graphene on Si

深さ方向の分解能は、
横方向分解能の約3倍悪くなる。

$$\Delta z \doteq \Delta x \times 3$$



Measured FWHM: ~742 nm



Confocal Raman depth profile
(Integral intensity of the G-Band of Graphene)
Point distance: 50 nm
2 s integration/pixel
532 nm frequency-doubled Nd:YAG laser
Objective: 100x NA 0.9
Pinhole size: 10 μm

まとめ

- ラマン分光法は、試料にレーザー光を照射し、試料からのラマン散乱光を分光測定する。
- ラマン散乱光は、試料の化学的特性を反映している。
- ラマンスペクトルの横軸は、波数 cm^{-1} と呼ぶ。
- ラマンスペクトルをXY平面で取り込み処理すると、2次元のラマン像を得ることができる。
- 2次元ラマン像の分解能は、回折限界によって決まる。
- 2次元像を深さ方向に積層することによって、3次元ラマン像を得ることができる。