

**JASIS 2013 新技術説明会**  
Japan Analytical Scientific Instruments Show

**【ラマン分光】**

**これで解決！** 基本からノウハウまで、  
顕微ラマンの疑問にお答えします



株式会社 堀場製作所

## 講演内容



- ラマン分光法の基礎
- 顕微ラマン分光装置の特長
- 様々な測定ニーズに対応するアクセサリ類
- 測定の実際
- まとめ



XploRA

LabRAM HR Evolution

Explore the Future | Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific | HORIBA

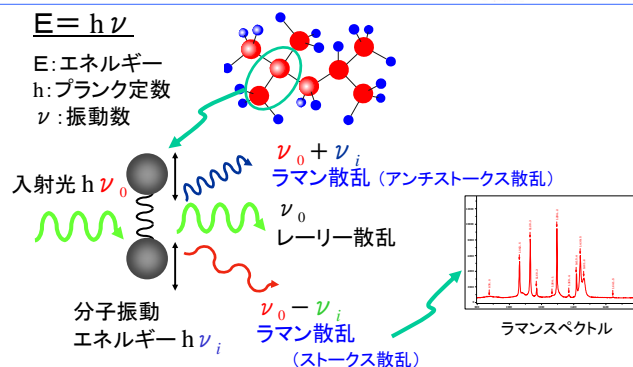
© 2013 HORIBA, Ltd. All rights reserved.

## ラマン散乱



$$E = h\nu$$

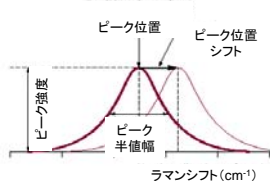
E: エネルギー  
h: プランク定数  
 $\nu$ : 振動数



Explore the Future | Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific | HORIBA

© 2013 HORIBA, Ltd. All rights reserved.

## Ramanスペクトルから得られる情報

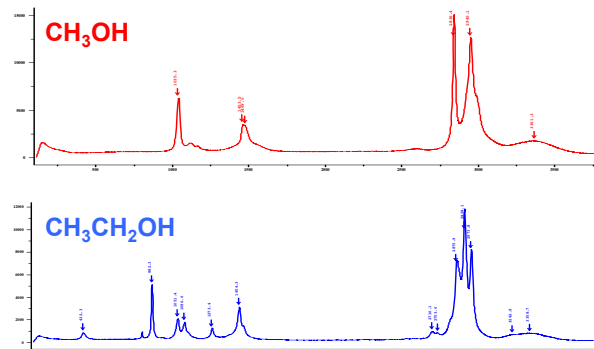


- **ピーク位置**
  - ・ 分子振動のエネルギー
  - ・ スペクトルから化合物の特定
- **ピーク強度**
  - ・ 濃度 (% レベル)
  - ・ 分子配向性 (偏光性)
- **ピーク半値幅**
  - ・ 結晶性
- **ピークシフト**
  - ・ 応力や歪み測定

Explore the Future | Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific | HORIBA

© 2013 HORIBA, Ltd. All rights reserved.

## メタノールとエタノール



Explore the Future | Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific | HORIBA

© 2013 HORIBA, Ltd. All rights reserved.

## 化学結合の情報



特定の化学結合はある程度決まった波数領域にピークを与える

### ● ラマン振動モードの領域

- 3700-2800cm<sup>-1</sup>: 単結合 (C-H, N-H, O-H)
- 2300-2200cm<sup>-1</sup>: 三重結合 (C≡C, C≡N)
- 1800-1500cm<sup>-1</sup>: 二重結合 (C=C, C=O, C=N)
- 1300-1000cm<sup>-1</sup>: 単結合 (C-C, C-O, C-N)
- 1500cm<sup>-1</sup>以下: 指紋領域 (Finger print region)  
分子の骨格振動やC-Hの変角振動などが複雑に交じり合って、分子固有のパターンを構成する
- 650cm<sup>-1</sup>以下: 無機物, 金属酸化物, 格子振動など

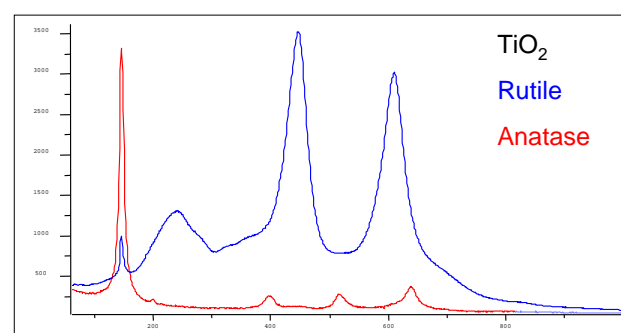
(参考)

<http://www.horiba.com/jp/scientific/products-jp/raman-spectroscopy/about-raman/6/>

Explore the Future | Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific | HORIBA

© 2013 HORIBA, Ltd. All rights reserved.

## 結晶構造の違いとスペクトル変化の例



Explore the Future | Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific | HORIBA

© 2013 HORIBA, Ltd. All rights reserved.

### PETボトルの偏光測定

入射光の偏光方向と散乱光の偏光方向を平行にし、レーザーの偏光方向に対して試料の長手方向を平行と垂直になるように設置して測定を行った。

— // (Blue)  
— ⊥ (Red)

PETボトルの飲み口  
PETボトルの胴  
PETボトルの胴 熱をかけて延伸

C=C 伸縮振動

Explore the Future  
Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific  
HORIBA

### 結晶構造の違いとスペクトル変化の例

Si  
c-Si  
p-Si  
a-Si

Explore the Future  
Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific  
HORIBA

### Si断面応力測定

Si基板断面  
圧縮 中央で応力ゼロ 引っ張り  
試料模式図  
4点曲げ治具写真

応力によるピークシフトは小さい。  
↓  
高い波数分解能が必要

Explore the Future  
Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific  
HORIBA

### 講演内容

- ラマン分光法の基礎
- 顕微ラマン分光装置の特長
- 様々な測定ニーズに対応するアクセサリ類
- 測定の実際
- まとめ

XploRA  
LabRAM HR Evolution

Explore the Future  
Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific  
HORIBA

### 顕微ラマン分光装置の特長

ラマン分光法を光学顕微鏡と組み合わせる事で微小領域の測定を行うことが可能になる。

- 空間分解能 約0.5  $\mu\text{m}$  (532nmレーザー使用時)
- 非破壊 非接触
- 共焦点機構により試料内部の測定が可能
- 電動XYZステージとの組み合わせによるケミカルイメージング

XploRA  
LabRAM HR Evolution

Explore the Future  
Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific  
HORIBA

### 共焦点顕微ラマン分光装置の構成

レーザー  
バンドパスフィルタ  
共焦点ホール  
レーリ光カットフィルタ  
分光器スリット  
グレーティング  
観察カメラ  
対物レンズ  
試料ステージ  
CCD  
PC

LabRAM HR Evolution

Explore the Future  
Automotive Test Systems | Process & Environmental | Medical | Semiconductor | Scientific  
HORIBA

## 励起レーザー選択の必要性

励起レーザーのラインナップ

$\lambda$ / nm	200	400	600	800	1000
レーザーの波長 (nm)	244 266	325 355 405 442 473	514 532 638 660	785 830	1064

励起レーザー選択のメリット

- 蛍光の影響の低減
- 共鳴ラマンによる高感度測定
- 試料への潜り込み深さのコントロール

## 蛍光低減の例

励起レーザーを変えると蛍光の影響を低減できる。

633nm励起

1064nm励起

試料: ポリイミド

## 励起レーザー波長とラマンシフトの関係

785nm励起

アンチストークス散乱    ストークス散乱

488nm励起

波長 (nm)

## 共焦点顕微ラマン分光装置の構成

レーザ

バンドパスフィルタ

共焦点ホール

レイリー光カットフィルタ

観察カメラ

対物レンズ

試料ステージ

分光器スリット

グレーティング

CCD

PC

LabRAM HR Evolution

## 共焦点型 Raman顕微鏡の原理

共焦点光学系

共焦点ピンホールは、可変型空間フィルタとして働く。精密にコントロールすることで分析されるポイントの空間的広がりをコントロールできる。

共焦点光学系を用いて深さ方向分析が可能

## 多層フィルムの深さ方向分析

XZマッピング

対物レンズ

X = 40  $\mu$ m

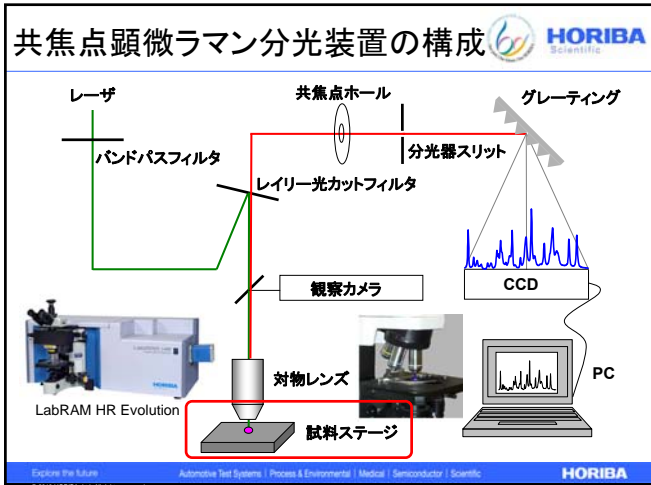
Z = 75  $\mu$ m

ポリエチレン

ナイロン

ポリエチレン

共焦点光学系により、断面出しすることなく深さ方向分析ができる。



### ポイント・マッピング

- ポイント・マッピング
  - 一度にひとつのスペクトルを測定
  - 2次元(XY方向)の走査が必要
- 特長
  - 単一スペクトル測定のスเปクトル品質が維持されている。
  - 高い自由度
  - 各ポイントでコンフォーカリティが維持されている。

### マッピングデータの表示方法

- ピーク強度分布 } ほとんどデータ処理することなく、特徴的なピークを持つ成分の分布を描くことができる。
- ピーク強度比 } 同上
- ピークフィッティング
  - ピーク位置
  - 半値幅
  - 面積
  - 強度
 } 応力や結晶性の評価などに有効
- 多変量解析による成分分布

### Liイオン電池材料の測定例 正極

コバルト酸Li (酸化コバルトを含む)  
カーボン  
コバルト酸Li

Liイオン電池の正極をマッピング測定した。マッピングエリアからは、上記の3種類のスペクトルが得られた。  
充放電を繰り返すと、コバルト酸Liがした酸化コバルトが付着している様子を観察できる。

### 講演内容

- ラマン分光法の基礎
- 顕微ラマン分光装置の特長
- 様々な測定ニーズに対応するアクセサリ類
- 測定の実際
- まとめ

XploRA      LabRAM HR Evolution

### ラマン分光の応用範囲

#### アプリケーション例

- 二次電池・・・構造解析、成分分布、in-situ分析
- ディスプレイ関連材料・・・異物検査、均一性
- 半導体材料・・・応力、結晶性、異物検査
- バイオ・・・構造解析、成分分布
- カーボン・・・結晶性、結晶構造
- 医薬品・・・結晶多形、成分分布
- 高分子・・・配向性、結晶性、多層構造、成分分布

ラマン分光法は、幅広い分野で活躍している。

アプリケーション掲載Website(英文)  
<http://www.horiba.com/scientific/products/raman-spectroscopy/applications/application-notes-articles/>

## 様々な測定ニーズに対応する アクセサリ類

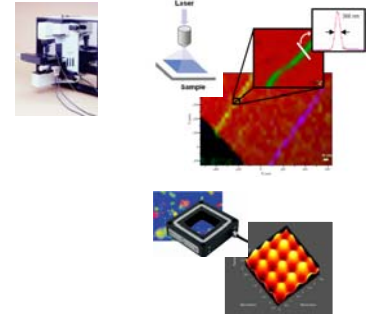


- マッピングオプション
- 顕微鏡周辺アクセサリ
  - 暗視野・偏光観察
  - LIB用In-situセル
  - 加熱・冷却ステージ
  - クライオスタット
  - 透過Raman測定ユニット
  - 液体測定用ユニット・・・マルチパスセル
- 光学フィルタ
  - 超低波数測定ユニット・・・ULF
  - 偏光フィルタ
- 検出器
  - EMCCD
  - 近赤外用検出器 (800~1600-1100~2100nm)

## マッピングオプション



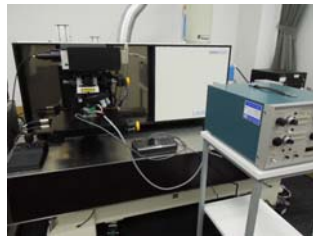
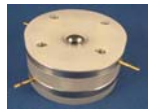
XYZモータステージ  
DuoScan™  
XYZピエゾステージ  
SWIFT



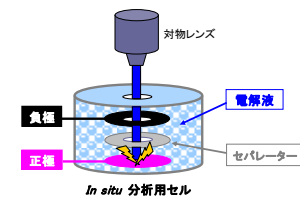
50ms/pointsの取込みスピードで、3万点の測定ポイント(25分相当)からイメージされた医薬品結晶

Nano-Structured Polymer

## Liイオン電池 In situ 分析用セル



LabRAM HR800Iに設置した様子



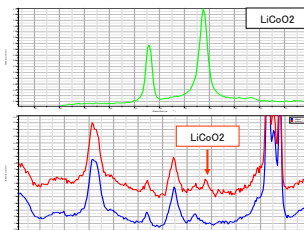
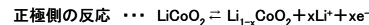
In situ 分析用セル

電極、電解液、セパレータなどをセル内に入れて電池を組み、充放電をしながら電極材料が変化する様子を観察できます。

## 正極材料の充電に伴う スペクトル変化



Liイオン電池では、充放電に伴い、Liイオンが正極と負極間を行き来します。放電状態では、リチウムはLiCoO<sub>2</sub>の形態で正極に存在しますが、充電とともに負極側へ移動し、負極活性物質であるカーボン(グラファイト)の層間に入ります。

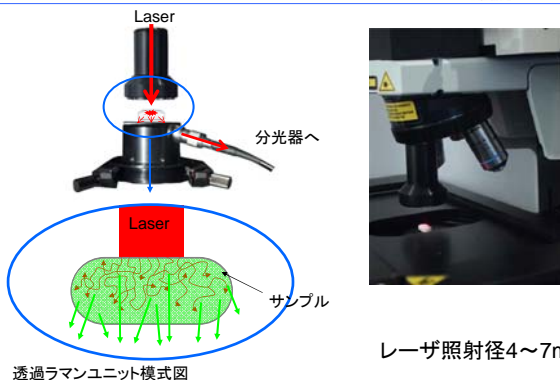


正極側を窓側にセットし、電解液中で充電状態と放電状態でラマンスペクトルを測定しました。  
充電によりLiCoO<sub>2</sub>のラマンピークの減少が確認されました。

電解液中の充電状態と放電状態の正極とLiCoO<sub>2</sub>のラマンスペクトル比較

赤:放電状態 青:充電状態 緑:LiCoO<sub>2</sub>

## 透過ラマン測定ユニット



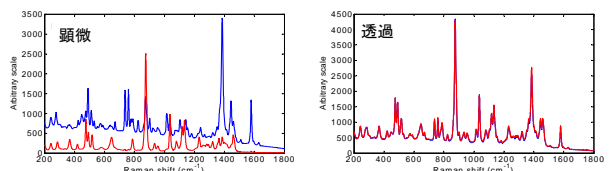
透過ラマンユニット模式図

レーザ照射径4~7mm φ

## 透過ラマンの医薬品錠剤への応用



2層より構成された錠剤のラマンスペクトル比較  
(1層目: propranolol 2層目: mannitol)



顕微ラマンによる各表層から測定したラマンスペクトル

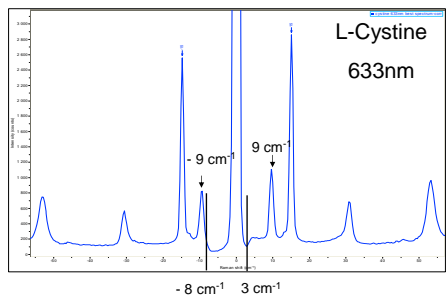
透過型ラマンにより測定

顕微ラマンは高空間分解能のため、表面近傍のスペクトルが得られるが、透過ラマンでは、錠剤全体を反映したスペクトルを測定することができる。

## 超低波数測定ユニット:ULF

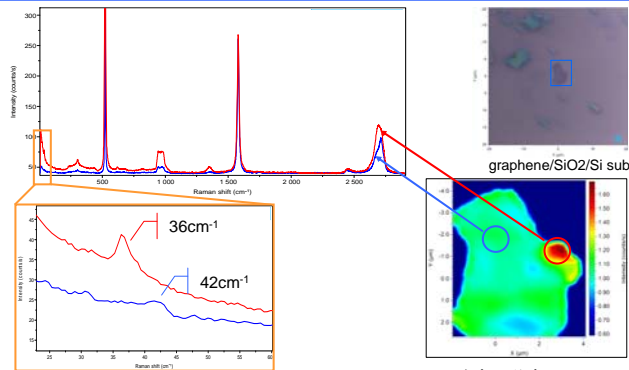


Ultra Low Frequency module : ULF  
約 $5\text{cm}^{-1}$ ~のラマンスペクトルが測定可能



対応波長  
 ●488nm  
 ●514nm  
 ●532nm  
 ●633nm  
 ●785nm  
 ●1064nm

## グラフェン $E_{2g_1}$ ピークの測定



強度比分布2D/G

## 講演内容



- ラマン分光法の基礎
- 顕微ラマン分光装置の特長
- 様々な測定ニーズに対応するアクセサリ類
- 測定の実際
- まとめ



## 講演内容



- ラマン分光法の基礎
- 顕微ラマン分光装置の特長
- 様々な測定ニーズに対応するアクセサリ類
- 測定の実際
  - 測定の基本・・・サンプリングから測定条件決めまで
  - “測れない！”を“測れる！”へ・・・測定条件で変わるスペクトル品質
- まとめ

## 測定の基本 スペクトル測定の手順



1. サンプルング
2. 対物レンズの選択
3. 観察と測定位置決め
4. レーザの選択
5. グレーティングの選択
6. 露光時間・積算回数の決定
7. 測定の範囲(スペクトルの横軸)の決定
8. データ保存

## 1. サンプルング(1/2)



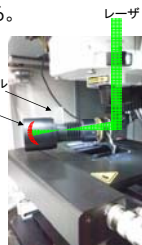
- ① バルク
  - 大きいものはステージにのり大きさにカットする。
- ② 粉末
  - スライドガラス上に少量分取する。
  - この時、試料内でのばらつきが少ないと考えられるものであれば、スパチュラ半分程度を目安とする。
  - サンプリング後、凹凸が少なくなるように平らにする。(無理に潰さない)
- ③ フィルム
  - カットして、スライドガラスなどに貼り付ける。
  - 大きいとレーザの熱により試料が動く可能性があるため。
  - また、両面テープで固定する時は、粘着材などの影響を避けるために測定したい位置の下には、テープが無いようにする。

## 1. サンプルング (2/2)



### ④ 液体

- スライドガラスか金属板に1滴とる。  
量が少ない、粘度が高い、色が付いている場合  
蒸発しやすい試料の場合は、カバーガラスで蓋をする。
- マルチパスセル(液体測定用ユニット)を使う。
- サンプル管に入った試料をそのまま測定する場合は、容器をステージ上に置いて、90度曲げミラー付きレンズユニットを使用する。



マルチパスセル写真

### ⑤ 気体

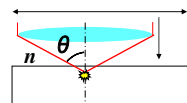
- 容器に封入する。

## 2. 対物レンズの選択



### ■ 通常の顕微測定時

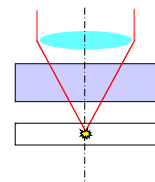
- 高NA(開口数) 高倍率のレンズを使う
  - 微弱なラマン光を効率よく集めるため
  - 高い空間分解能(共焦点光学系)を生かす



$$\text{N.A.} = n \sin \theta$$

### ■ 測定対象、測定波長に合わせて

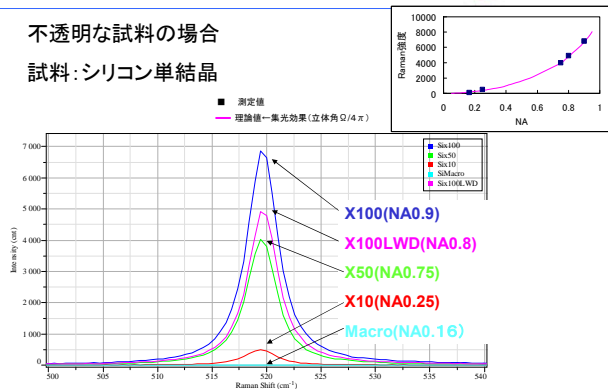
- 長作動レンズを使う
- 波長に合わせてレンズの材質を変える
- マクロレンズを使う



## 対物レンズとラマン散乱強度



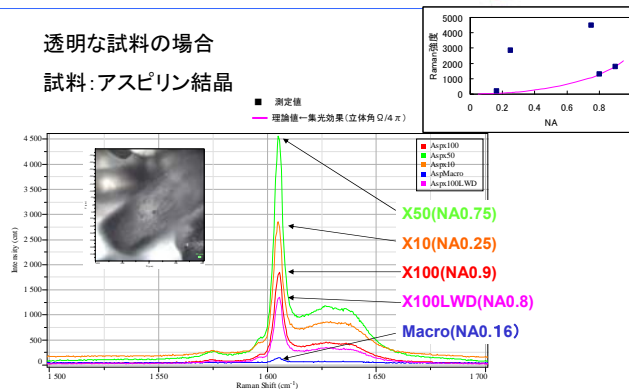
不透明な試料の場合  
試料: シリコン単結晶



## 対物レンズとラマン散乱強度



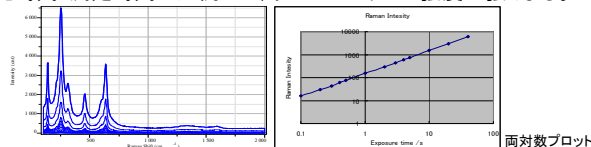
透明な試料の場合  
試料: アスピリン結晶



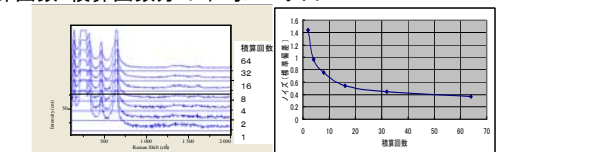
## 6. 露光時間・積算回数の決定



露光時間: 測定時間に比例して、ラマンスペクトル強度が強くなる。



積算回数: 積算回数分の平均スペクトル



## もし、全て同じ条件で測定したら・・・?



### 電子基板の測定

- 初期の測定条件
  - 赤色レーザー(633nm)励起
  - 露光時間10秒・2回積算
  - 共焦点ピンホール 200μm
  - レーザパワー 6mW@sample
- 測定部位
  - ・白色プラスチック
  - ・基板上的印字
  - ・電子部品
  - ・紫色プラスチック
  - ・緑色基板
  - ・黒色電子部品
  - ・白色接着剤
  - ・電子部品
  - ・プラスチック



## ラマン測定の結果



### ■ 測定できた試料

- 顔料(プラスチック+白色顔料:酸化チタン)
- 基板上的の印字:顔料(緑:HostalGreen)
- 電子部品(チタン酸バリウム)
- 紫色プラスチック(ポリジメチルシロキサン)

### ■ ダメージを受けた試料

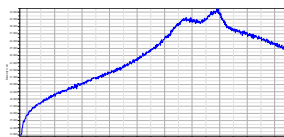
- 緑色基板(HostalGreen) ←炭化
- 黒色電子部品(エポキシ樹脂) ←ノイズが多い
- 強度が弱かった試料
  - 白色接着剤(フタルアセート)
- 強度が強すぎた試料
  - 電子部品(Si結晶)
- 蛍光が強すぎた試料
  - プラスチック部(カプトン)

## ダメージを受けた試料 →レーザーパワーを下げる

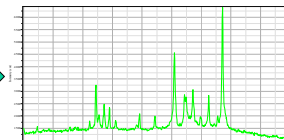


### 緑色基板

#### 初期条件で測定した場合



#### 1/100に減光した場合(露光時間 30s)



レーザーによる試料ダメージにより蛍光が発生しベースラインが上がる。炭化によるカーボンのラマンピークも現れている。

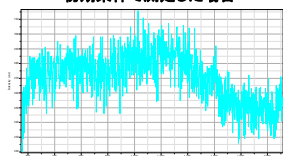
緑色顔料:HostalGreen

## ラマン散乱が弱い試料 →測定時間を長くする



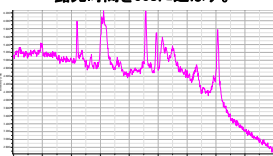
### 黒色電子部品

#### 初期条件で測定した場合



ラマン散乱強度が非常に弱く、ノイズしか観測されない。

#### 露光時間を60sに延ばす。



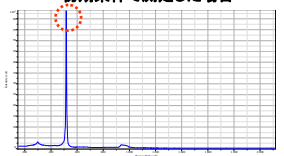
エポキシ樹脂

## ラマン散乱が強い試料 →露光時間を短くする



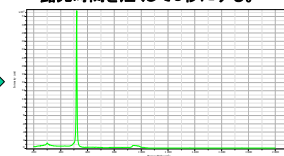
### 電子部品

#### 初期条件で測定した場合



ラマン散乱光が強すぎて検出器が飽和しピークの先端がつぶれている。

#### 露光時間を短くして5秒にする。

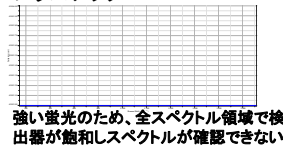


シリコン結晶

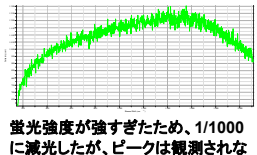
## 蛍光が強い試料 →共焦点ピンホールを絞る



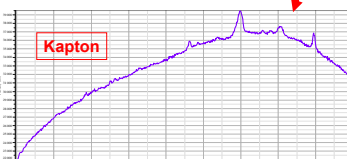
### プラスチック



強い蛍光のため、全スペクトル領域で検出器が飽和しスペクトルが確認できない。



蛍光強度が強すぎたため、1/1000に減光したが、ピークは観測されなかった。



蛍光を抑えるため、ピンホールを30 μmに絞る。減光なし、露光時間15秒、積算5回

## 測定条件設定で改善する ラマンスペクトルの品質



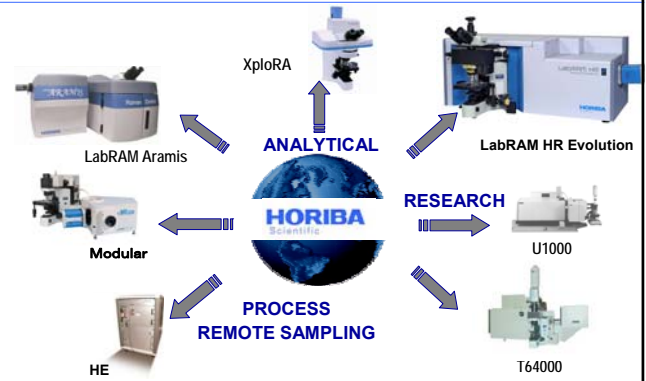
- レーザによりダメージを受ける:減光フィルタを使って試料位置での照射レーザーのパワーを下げる
- ラマン散乱が弱い:露光時間を長くする
- ラマン散乱が強すぎる:露光時間を短くする
- 蛍光が強い
  - 高NAの対物レンズを使う
  - 共焦点ピンホールを絞る
  - 高S/Nで測定し、バックグラウンドを除去する
  - フォトブリーチング

## まとめ



- ラマン分光は、その情報量の多さから様々な種類のアプリケーションに対応している。
- 各アプリケーション毎、測定目的毎に最適なアクセサリを選択すると、目的に合った測定が可能になる。
- 試料毎に最適なパラメータを設定することで、スペクトルの品質は向上する。

## ラマン分光装置のラインナップ



## ラマン分光関連 参考図書



### ●教科書

1. 濱口宏夫, 平川暁子編: ラマン分光法 (日本分光学会測定法シリーズ17), 学会出版センター(1988).
  2. 尾崎幸洋編: ラマン分光法, アイビーシー出版部 (1998).
  3. 古川行夫, 高橋正夫, 長谷川健編: 赤外・ラマン分光法(分光測定入門シリーズ) 日本分光学会/講談社サイエンティフィック(2009).
  4. 田中誠之, 寺前紀夫: 赤外分光法と分子振動 (機器分析シリーズ, 赤外分光法, 日本分析学会編), 共立出版 (1993).
  5. 北川 禎三, Anthony T. Tu: ラマン分光学入門 (1988).
  6. P. R. Carey, 伊藤雄一, 尾崎幸洋訳: ラマン分光学—基礎と生化学への応用—, 共立出版(1984).
  7. 水島 三一郎, 島内 武彦: 赤外線吸収とラマン効果 (共立全書 129) (1958).
  8. 実験化学講座6 分光 I P317, 坪井正道, 田隅三生, 濱口宏夫, 林秀則, 西村善文, 原田一誠, 竹内英夫他, 丸善, (1991).
  9. 田中誠之: 赤外・ラマン分析, 基礎分析化学講座, 日本分析化学会編集, 共立出版 (1965)
  10. E. Smith and G. Dent, Modern Raman Spectroscopy, John Wiley & sons (2005).
  11. Handbook of Raman Spectroscopy, ed. L. R. Lewis, H. G. M. Edwards (Marcel Dekker, Inc., New York, 2001), Chap. 2, Evolution and Revolution of Raman Instrumentation.
- ### ●スペクトル帰属
1. D. Lin-Vien, N. B. Colthup, W. G. Fateley and J. G. Grasselli, The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules, Academic Press, Inc.(1991).
  2. George Socrates, Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies Table and Charts, John Wiley & Sons Ltd., (2001).
  3. E. Smith and G. Dent, Modern Raman Spectroscopy, John Wiley & Sons (2005).

## 参考 帰属表 (1/3)



Functional Group/ Vibration	Region	Raman	InfraRed
Lattice vibrations in crystals, LA modes	10 - 200 cm <sup>-1</sup>	strong	strong
ν(CC) aliphatic chains	250 - 400 cm <sup>-1</sup>	strong	weak
ν(Se-Se)	290 - 330 cm <sup>-1</sup>	strong	weak
ν(S-S)	430 - 550 cm <sup>-1</sup>	strong	weak
ν(Si-O-Si)	450 - 550 cm <sup>-1</sup>	strong	weak
ν(X(metal)-O)	150-450 cm <sup>-1</sup>	strong	med-weak
ν(C-I)	480 - 660 cm <sup>-1</sup>	strong	strong
ν(C-Br)	500 - 700 cm <sup>-1</sup>	strong	strong
ν(C-Cl)	550 - 800 cm <sup>-1</sup>	strong	strong
ν(C-S) aliphatic	630 - 790 cm <sup>-1</sup>	strong	medium
ν(C-S) aromatic	1080 - 1100 cm <sup>-1</sup>	strong	medium
ν(O-O)	845 - 900 cm <sup>-1</sup>	strong	weak
ν(C-O-C)	800 - 970 cm <sup>-1</sup>	medium	weak
ν(C-O-C) asym	1060 - 1150 cm <sup>-1</sup>	weak	strong

## 参考 帰属表 (2/3)



ν(CC) alicyclic, aliphatic chain vibrations	600 - 1300 cm <sup>-1</sup>	medium	Medium
ν(C=S)	1000 - 1250 cm <sup>-1</sup>	strong	weak
ν(CC) aromatic ring chain vibrations	*1580, 1600 cm <sup>-1</sup>	strong	medium
	*1450, 1500 cm <sup>-1</sup>	medium	medium
	*1000 cm <sup>-1</sup>	strong/medium	weak
δ(CH <sub>3</sub> )	1380 cm <sup>-1</sup>	medium	strong
δ(CH <sub>2</sub> )			
δ(CH <sub>3</sub> ) asym	1400 - 1470 cm <sup>-1</sup>	medium	medium
δ(CH <sub>2</sub> )			
δ(CH <sub>3</sub> ) asym	1400 - 1470 cm <sup>-1</sup>	medium	medium
ν(C-NO <sub>2</sub> )	1340 - 1380 cm <sup>-1</sup>	strong	medium
ν(C-NO <sub>2</sub> ) asym	1530 - 1590 cm <sup>-1</sup>	medium	strong
ν(N=N) aromatic	1410 - 1440 cm <sup>-1</sup>	medium	-
ν(N=N) aliphatic	1550 - 1580 cm <sup>-1</sup>	medium	-
δ(H <sub>2</sub> O)	~1640 cm <sup>-1</sup>	weak broad	strong
ν(C=N)	1610 - 1680 cm <sup>-1</sup>	strong	medium

## 参考 帰属表 (2/3)



ν(C=C)	1500 - 1900 cm <sup>-1</sup>	strong	weak
ν(C=O)	1680 - 1820 cm <sup>-1</sup>	medium	strong
ν(CaC)	2100 - 2250 cm <sup>-1</sup>	strong	weak
ν(CaN)	2220 - 2255 cm <sup>-1</sup>	medium	strong
ν(-S-H)	2550 - 2600 cm <sup>-1</sup>	strong	weak
ν(C-H)	2800 - 3000 cm <sup>-1</sup>	strong	strong
ν(-C-H))	3000 - 3100 cm <sup>-1</sup>	strong	medium
ν(=C-H))	3300 cm <sup>-1</sup>	weak	strong
ν(N-H)	3300 - 3500 cm <sup>-1</sup>	medium	medium
ν(O-H)	3100 - 3650 cm <sup>-1</sup>	weak	strong