



顕微ラマン測定のちょっとしたチップス Tips for Raman measurements ~

今月のスコップニュースレターでは、府中キャンパスに設置されている顕微ラマン分光装置（堀場製作所製 LabRAM HR Evolution）で測定を行う際のチップスを2例ご紹介します。これら以外にも測定ノウハウは色々ありますので、お困りの際はどうぞお気軽にご相談下さい。

蛍光の回避

ラマン測定でしばしば遭遇する困難さは、レーザー照射によって試料が蛍光を発してしまい、ラマンピークが蛍光発光に埋もれて見えなくなってしまう現象です。試料依存が大きい現象なので万能の解決策はありませんが、一番よく行われる蛍光の回避方法は励起レーザーの波長を変更することです（図1）。またフォトブリーチング（蛍光褪色）と呼ばれる時間変化を待ってから測定を行う場合もあります（図2）。本装置では共焦点光学系を採用していますので、共焦点絞りを狭めることでマトリクス成分由来の蛍光を相対的に抑えられる場合もあります（図3）。

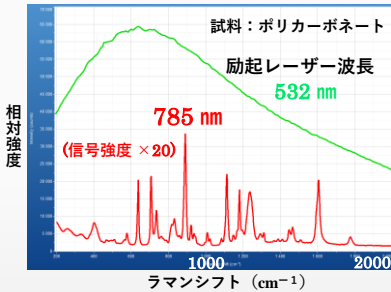


図1 励起レーザー波長の変更例

（一般には励起効率の高い波長532 nmのレーザーを用いて測定する場合がありますが、上図の様に蛍光発光を励起することもあります。より低エネルギーの785 nmでは蛍光が抑えられ、S/Nが改善する場合があります。但し励起効率によっては信号強度が少ないので、積算時間等でカウント数を稼ぐ必要があります。）

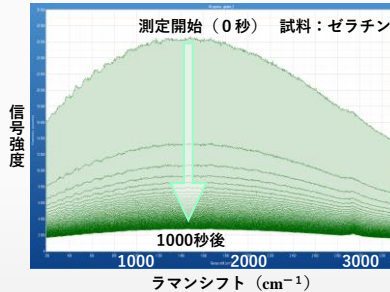


図2 蛍光褪色の例

（蛍光発光は時間と共に減少（褪色）して行くことが多いですが、その時定数は試料に依存します。数百秒程度で蛍光バックグラウンドが減少する様であれば測定開始前にレーザーを照射し続けておくことも有効です。但し、長時間照射・測定においては、次項に示す試料ダメージに特に注意が必要です。）

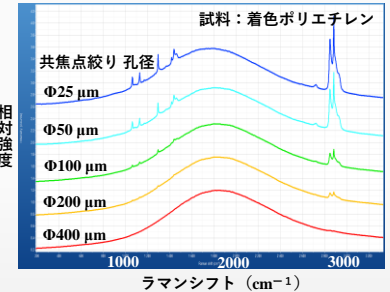


図3 共焦点絞りの変更例

（蛍光物質が不均質に分布している試料等では、スペクトル信号を取り込む空間的な領域を制限することでS/Nが改善される場合があります。但し、共焦点絞りの孔径で25 μm程度迄が実質的な下限であり、この手法でも十分な信号強度を取得するには積算時間を延長する等の対策が必要です。）

レーザーによる試料ダメージ

顕微ラマン測定は基本的には非破壊分析とされていますが、試料によってはレーザー照射による熱ダメージを受ける場合があります。図4に有機材料（寒天）でのレーザー出力に伴う変化の例を示します。

この例では高出力の方がスペクトルのS/Nは向上していますが、レーザーを強くし過ぎると焼損による炭化のピーク（D-バンド、G-バンド、2D-バンド）が観測され、試料外観にもクレーター痕が発生しました。

尚、試料ダメージはレーザー出力以外にもレーザー波長や対物レンズ倍率、測定時間等に影響されますので、これらの測定条件を適切に設定することが大切です。

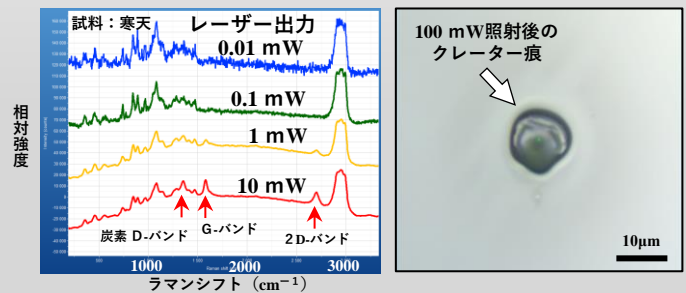


図4 レーザーによる試料ダメージの例

（左：レーザー波長 532 nm、対物レンズ ×100倍、2秒×5回平均測定による寒天試料のラマンスペクトル。右：測定後の試料外観写真。1 mW以上のレーザー照射で試料の炭化に伴う炭素のラマンピークが出現しました。）

これらの機器をご利用希望の方は窓口担当scoop-groups@go.tuat.ac.jpまでお問合せ下さい。