

2023年5月29日
分子科学研究所

ラマン分光講習会報告書

【概要】令和5年度大学連携研究設備ネットワークおよびマテリアル先端リサーチインフラ共催における講習会として「ラマン分光講座」を開催した。ラマン分光の基礎を復習し、スペクトル測定の方法とトラブル対応、イメージングおよび解析方法について解説を行った。

【開催日時】 2023年5月22日(月)、13:00~14:30

【場所】 WEB ミーティング(ZOOM)

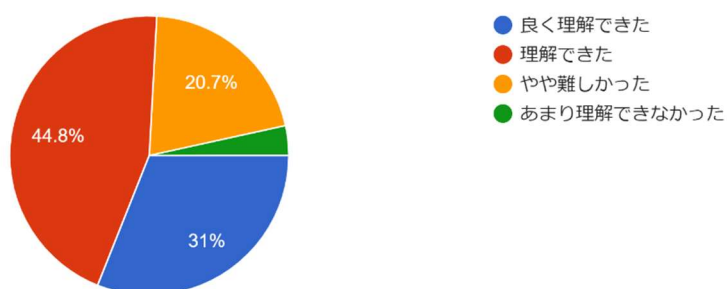
【講師】 中本 圭一 (分子科学研究所)、渡部 直樹 (レニショー株式会社)

【参加対象者】 ラマン分光測定経験者および今後、使用する予定のある方。

【参加者数】 38名

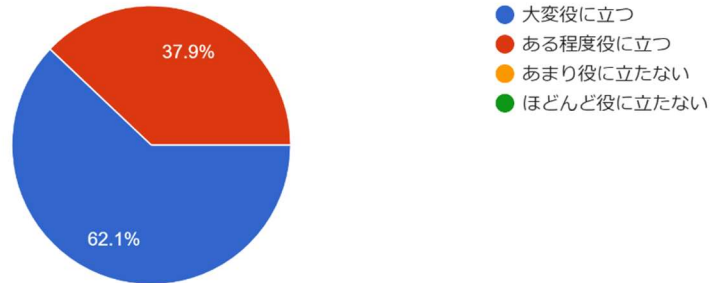
【アンケート】 回答数 29件

講習会の理解度
29件の回答



講習会が今後の業務に役に立ちそうですか

29件の回答



コメント

- 素晴らしいご講演、ありがとうございました。呑み込めないところもあるので、本日の講習資料、PDF でよろしいので、いただくことは可能でしょうか？ よろしくお願いたします。
- 装置から離れて長いので、久しぶりにラマン分光のことを学び記憶が戻ってきたとともに、知らなかった改善方法も知れてとても良い機会になりました。
- (当方の都合で途中参加となってしまいました。すいません。設備ネットアーカイブ資料に今回分の動画記載があれば幸いです。)
- 蛍光を避けるためにレーザー波長を変更する際、その透過率によって強度が大幅に低下することも考えられますが、その他に顕微でサンプルを捉えにくくなることも考えられますが、高波長のレーザー光に変更した場合にその透過率はどのようになりますでしょうか。また、サンプルは高分子の場合、着色したものは測定できないことも多いのですが、これも透過率の問題でしょうか。今回はラマン講習初級であったかと思えます。ぜひ中級編として、それぞれの詳細な測定のポイントの講習の開催を希望いたします。
→ **長波長のレーザーでの対物レンズの透過率は、実際には測定したことは無いのですが、532nm と 785nm では大きな違いは無いように思います。試料に色がついていれば、試料内部からの信号は取れなくなります。**
- 次年度から顕微レーザーラマンの保守管理をするかもしれないので、もう一度基礎から聞けて助かりました。忘れていたことや昔の知識のままだったことが自覚できて、もし次年度から任されても大丈夫な気がしてきました。
- 中本先生、質問へのご回答ありがとうございました。50x 対物 543nm が標準、という情報がよかったですと思います。過去に顕微鏡メーカーにいたので inVia の構成を見た時そうだなと判断できましたが、初心者には判断できません。教科書にもはっきり書いてくれないし、「どれを使ってもいい」と言われても困るだけだと思います。もう一件質問してもよいでしょうか。ソフトウェアによる BKG 補正、論文書く時に面倒だなと敬遠しがちなのですが、皆さん普通に使うものでしょうか。論文投稿時の注意などありますでしょうか。

→ バックグラウンドが無ければ当然補正の必要はないと思います。また、補正を行った場合は、論文にどのような処理を行ったかを記述すれば大丈夫だと思います。

- この場を借りて顕微ラマンの蛍光補正について以下のケースについて教えてください。銅グラフェンのラマンシフトを励起波長 $\lambda 532\text{nm}$ で波数範囲 $50\sim 3300\text{cm}^{-1}$ で測定したところ、蛍光の影響が出て、6次式の蛍光補正でも補正しきれず、励起波長を $\lambda 780\text{nm}$ に切り替えたのですがラマン強度が弱すぎて測定が困難でした。結局 $\lambda 532\text{nm}$ で波数を3分割($50\sim 1000\text{nm}$ 、 $1000\sim 2000\text{nm}$ 、 $2000\sim 3300\text{nm}$)でそれぞれ測定し、6次式の蛍光補正を各々おこなったところ補正が効きました。3つの波形をつなげて表示した結果はデータとして問題ありますか？（測定地点のズレ誤差や時間差等は生じていますがそれ以外にも問題がありますか？）講習会ではラマン測定は微妙な測定という印象を得たので、よろしく願いいたします。

→ 補正後に分割した部分がうまくつながれば問題ないと思います。785nmでは、強度が1/10になりますので、測定時間を10倍にするか、強度を10倍にして測定してみるといいと思います。

- 大阪大学ARIM拠点の和辻と申します。今回はこのような講習会を開催して頂きまして、ありがとうございました。私はラマン顕微鏡の担当を昨年度7月からしているのですが、装置の操作方法をユーザーへ教える事はできても、スペクトル取得のテクニックや、測定条件の決定、その後の解析についてはあまりユーザーをサポートできずにおります。今回の講習会で、測定条件の決定は大変よくわかりましたので、今後のユーザー対応へ生かしたいと考えております。ひとつ質問をお願い致します。測定後にどのように解析するのかわかりません。ユーザーによってやりたい事は様々あると思うのですが、代表的な事例を教えてくださいませんか？曖昧な質問になり申し訳ございません。また、大変厚かましいお願いなのですが、ユーザー向けのマニュアルで公開できるものがございましたら、拝見させて頂けないでしょうか？弊所のマニュアルは測定方法やソフトの操作に留まっており、その後の具体的な解析方法についての記載が無い状態です。重ね重ねのお願いで恐縮ですが、どうぞよろしくお願い致します。

→ 測定データがスペクトルの場合は、宇宙線、バックグラウンドがあれば、この2つの処理を行い、解析で多いのはカーブフィッティングが多いです。イメージングの場合は、宇宙線、バックグラウンド除去を全部にかけてからの解析となりますが、今回はクラスタリングを説明しましたが、カーブフィッティングも多いです。

- 急用が入り聴講できませんでした。申し訳ございません。
- 実際のスペクトルなどを使って説明していただいて、わかりやすかったです。装置の副担当をしており、装置に触れる機会も少ないので、勉強になりました。日本分光の装置でも、マッピングなどの実習ができる機会があるとありがたいです。

- 今後の設備共用に活用させていただけるような多くの事例の紹介がありがたかったです。また、初心者でも理解しやすいように測定のポイントが整理されており分かりやすかったです。
- 本学はラマン分光装置を所有しておりませんが(要望は多くあります)大変参考になりました。
- レニショーの方のご発表で、マッピング測定をオートフォーカスで行うというお話がありましたが、本学の日本分光(NRS4100)ではオートフォーカスがうまく機能しないため、ボケボケデータを良く測定しています。そんなもんかな?とっていたのですが、これは装置間誤差でしょうか?←日本分光に聞きなさいという質問で恐縮です。。。

日本分光様のオートフォーカス方式がわからないので回答が難しいですが、レニショーのオートフォーカスは独自の方式を使っておりますのでオートフォーカス機能の性能差に由来していると思われます。

- 元素分析を行うにしても、原子吸光分析計、ICP、全自動元素分析計等、いろいろな名称の機器がありますが、そのような機器の使い分けに関する講習があればよいと思っています。
- 6月開催予定の『おじいちゃんのおじいちゃんによる若者の為のNMR講習会』の内容にとても興味があります。ぜひオンラインで同じような内容の講習会を開催していただきたいです。もしくは、若者ではなくても参加できる講習会をお願いしたいです。
- 基本的な内容からイメージングでの測定例まで丁寧に説明していただけて大変良かったです。不織布マスク繊維の構造や $\Phi 0.2\mu\text{m}$ のポリスチレンビーズなど、レーザーのビーム径と比較して小さなサンプルまでも深さ方向も含めて細かくイメージングできることや液中での測定効果などを知る事ができ、大変勉強になりました。ありがとうございました。小さなサンプルの測定の際は、イマージョンオイルなどで周囲の屈折率をサンプルに近くすることが重要でしょうか? また、共焦点でポリスチレンビーズを測定した際のスポット径($\Phi 700\text{nm}$ でしたでしょうか)と、分光器前のスリット径(共焦点を構成する系)を教えてくださいませんか?

PSビーズの測定はNA0.95のドライレンズを使用しています。

一方で、更にNAの高いオイルレンズを使用すれば分解能が上がる可能性がございますが、そこまでの検討はしておりません。

今回の200nmPSビーズのような測定では粒子の大きさからサンプル内部に集光させている事にはならないので、屈折率補正のためにオイルレンズ等を使用する必要はないかと思えます。

一方で、サンプルに対して内部方向に測定する場合には必ず屈折率差による球面収差が出ます(NAの高い対物レンズ程収差は大きくなります)ので、場合によっては液浸対物レンズを使用する事もございます。

- 実際の測定例を示されていたので、大変参考になりました。

- 原理をしっかり説明して頂いたうえで、装置や測定の実際について触れて頂けた点が、とても勉強になりました。ありがとうございました。

-以上-