

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：82118

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25620120

研究課題名(和文) チューナブルフィルターを利用する高速、高精細ラマン直接イメージング装置の開発

研究課題名(英文) Development of Direct Raman Imaging System using a Pair of Tunable Bandpass Filters

研究代表者

文珠四郎 秀昭 (MONJUSHIRO, HIDEAKI)

大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構・放射線科学センター・教授

研究者番号：80191071

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：チューナブルバンドパスフィルターを利用した新しいラマンイメージングシステムを設計開発した。この方法では、2枚のチューナブルバンドパスフィルターを組み合わせ、特定波数の光だけを透過するフィルターシステムを構築、顕微ラマン分光系に組み込んだ。このシステムを用いることにより、任意波数、波数幅のラマンイメージを取得できた。開発したシステムの基本性能をテスト、金属表面の異物微粒子などの試料について測定を行い、化学種の分別イメージを簡単に取得できることを示した。また透過波数域を変化させ、連続的にラマンイメージを取得することにより、高精細、高分解能、高速でのラマンイメージングが可能となった。

研究成果の概要(英文)：A new Raman imaging system using a pair of tunable band pass filters was designed and developed. The pair of tunable band pass filters acts as a flexible filter system for Raman scattering light. Raman images of a certain wavenumber and a certain width could be acquired by the developed system. Basic performance of the system has been tested and Raman images of substance particles on a metal surface was measured, and it was shown that discreet images of the chemical species can be easily acquired. Raman hyper images with high spatial resolution and high spectral resolution can be acquired in a short time.

研究分野：分析化学

キーワード：ラマン分光 イメージング 顕微分光

1. 研究開始当初の背景

顕微ラマンイメージング分析は生体試料や材料の2次元ケミカルイメージ分析を行う方法として注目されており、共焦点顕微システムを用いた励起レーザービーム走査方式のイメージマッピングが広く用いられている。しかし、この方法では、精緻なラマンイメージを取得するために膨大な測定時間が必要となり、また回折限界までレーザー光を集光するため試料にダメージを与える可能性があるという欠点がある。一方、視野全体に励起レーザーを照射し、検出系に液晶チューナブルフィルター、音響光学可変波長フィルターなどを挿入し、波長弁別を行う直接ラマンイメージング法も発展しつつあるが、スペクトル分解能の任意設定が困難である、一般に透過率が低い、透過フィルターシステムが高価であるなどの問題点を持っている。

一方、最近、入射角を変更することによりバンドパス波長を変化させることができるチューナブルバンドパスフィルターが入手可能となった。このフィルターはエッジ特性に優れ、バンドパス領域は広いが透過率が高いという特性を持つ。したがって、このフィルター2枚を用いて、それぞれの入射角を制御することにより、高い透過率で任意の波長、任意のバンド幅をもつフィルターシステムを構築できることに思い至った。このフィルターシステムを用いれば、従来のラマンイメージング手法の欠点を克服し、フレキシブルで、高精細、高速なラマン直接イメージング装置の開発が可能と考えた。

2. 研究の目的

本研究では、簡便にかつ高速で観察領域全体のラマンイメージングができるチューナブルバンドパスフィルター方式のラマン分光システムを試作し、試料ダメージを抑えた高速のメガピクセルケミカルイメージ取得の可能性を示し、その有用性を明らかにすることを目的とした。

具体的には、自作顕微ラマン分光分析システムに2枚のチューナブルバンドパスフィルターを組み込み、その角度を自動回転ステージを用いてそれぞれ調節することにより、目的成分のラマンピークのみを透過する光学系を構築する。これに高感度 CCD 検出器を導入して高速、高精細顕微ラマンイメージングシステムを構築、その性能を評価し、高速でのメガピクセルイメージングの可能性を示すことを目標とした。

3. 研究の方法

図1に示すように2枚のチューナブルバンドパスフィルターを導入し、目的のラマンピ

ークのみを透過する光学系を構築、これに高感度 CCD 検出器を組み合わせ、高速に顕微ラマン直接イメージング画像を取得できる装置を試作した。

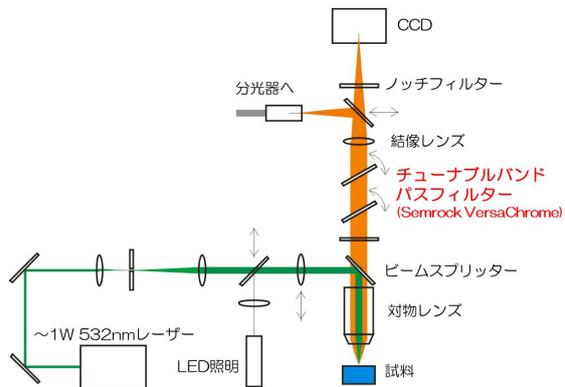


図1 チューナブルフィルターを用いたラマン直接イメージング装置

ラマン励起レーザーとして 532nm 高出力 2W レーザーを用いた。顕微鏡視野全体に均一に励起光を照射するため、デフォーカシングレンズを照射系に導入した。この手法では、集光を行わないため高出力レーザーをそのまま利用でき、これにより高速イメージングが可能となると考えられる。

検出系に2枚の高性能バンドパスフィルターを組み込み、この2枚のフィルターの角度を回転ステージによりそれぞれ調節することにより、任意の波数、任意の分解能で目的のラマンピークのみを透過するラマン光検出光学系を構築した。フィルターの透過特性は、CCD 分光器システムを用いてモニターし、入射角度を調整した。

ラマンイメージの取得には、民生用デジタルカメラまたは冷却型の 16bit 高感度 CCD 検出器を用いた。フィルターの回転角制御、イメージの取り込み等の PC による制御には Labview 2012 を用いた。

4. 研究成果

(1) チューナブルバンドパスフィルターの透過特性

図2に実験に用いたチューナブルバンドパスフィルター(Semrock VersaChrome™)の入射角-透過特性を示した。入射角により透過波長域が変わること、また、急峻なエッジ特性があることがわかる。このような特性を持つフィルターを2枚使い、それぞれの角度を調整することにより任意の波数(波長)、任意の透過幅を持つフィルターシステムを構築できることがわかった。532nm のレーザーを励起源として用いた場合、約 250cm⁻¹ から 3200cm⁻¹ のラマン光を検出系に導くことが

可能であった。また、この波長域では、エッジ波数遷移幅は 10 cm^{-1} 程度であった。

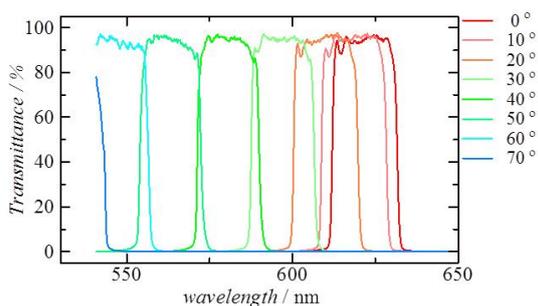


図2 チューナブルバンドパスフィルターの透過特性の入射角依存性

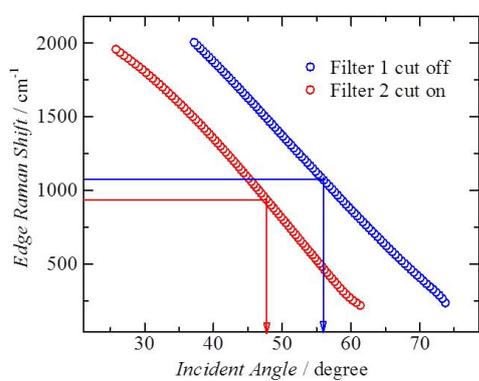


図3 チューナブルバンドパスフィルターのエッジ特性の入射角依存性

図3には入射角とバンドパスフィルターのエッジ波数の関係を示した。この関係から2枚のチューナブルフィルターを組み合わせることにより、任意の波数、任意の半値幅のフィルターシステムを構築できることがわかる。

(2) 2枚のチューナブルバンドパスフィルターを用いた化学種別ラマンイメージング

実験系として金属ニオブ表面に分散したイオウと酸化ニオブ微粉末を用い2種類の化学種の分別ラマンイメージングを試みた。対物レンズは10倍とし、画像の取得には、デジタルカメラ(LUMIX DMC-G3)を用いた。

図4に試料の明視野顕微鏡画像とレーザー照射時のノッチフィルターのみを用いた全ラマン散乱画像を示した。

全ラマン散乱画像には、イオウと酸化ニオブの粉末が明るく見えている。それぞれのラマン散乱光の波長が若干異なるため、色合いが異なっていることがわかる。

次に2枚のチューナブルバンドパスフィルターを挿入し、それらの角度を調整して、

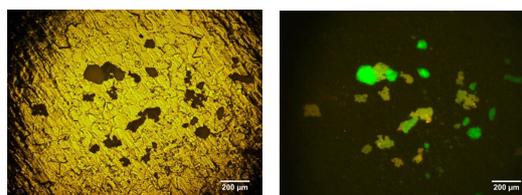


図4 金属ニオブ表面に分散したイオウと酸化ニオブ微粉末の明視野画像(左)と全ラマン散乱イメージ(右)

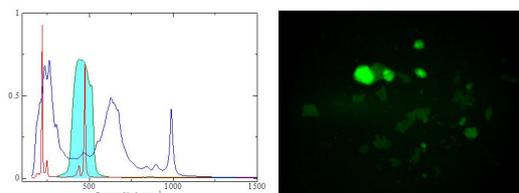


図5 イオウのラマンピーク透過のフィルター設定(左)と得られたラマンイメージ(右)

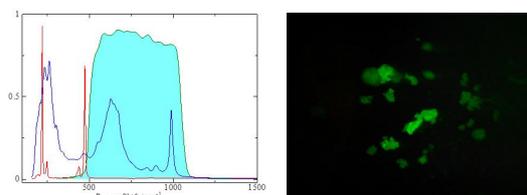


図6 酸化ニオブのラマンピーク透過のフィルター設定(左)と得られたラマンイメージ(右)

イオウ、酸化ニオブのラマンピーク波数を透過する設定として画像を取得した。

図5と図6にそれぞれイオウと酸化ニオブのフィルター設定透過スペクトルと各設定で得られたラマンイメージを示した。透過波数をそれぞれのラマンピークに合わせることでラマンイメージから粉末微粒子の分別が容易にできることがわかった。それぞれの測定に要する時間は数秒であり、本研究で開発したイメージング装置を用いることにより迅速な化学種の分別イメージングが可能であることがわかった。

(3) フィルター角度調整の自動化と画像取得の自動化

図2に示したフィルターの透過特性をデータ化し、これを制御系に反映させ、フィルターシステムの透過特性の自動制御を行った。図7に2枚のチューナブルフィルターの角度を自動回転ステージで制御することにより得られたフィルターシステムの透過特性を示した。この実験では、透過波数の半値幅を 30 cm^{-1} に設定した。角度調整の自動化によりほぼ設定どおりの透過特性が安定して得ら

れることがわかった。

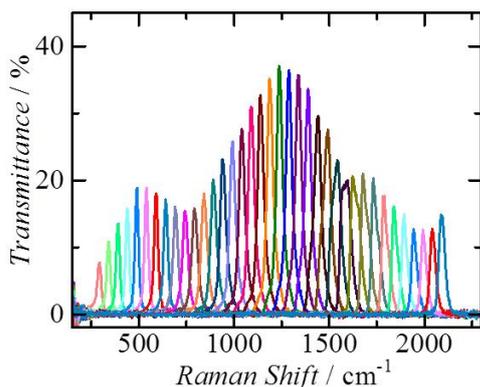


図 7 2枚のチューナブルフィルターを組み合わせさせたシステムでの透過波数の制御

さらに、画像取得のタイミングとフィルター入射角の制御を同期させ、ラマン波数を変化させながら連続的に画像を取得する制御システムを構築した。これにより図 8 に示すようなハイパーラマンイメージの取得が可能となった。

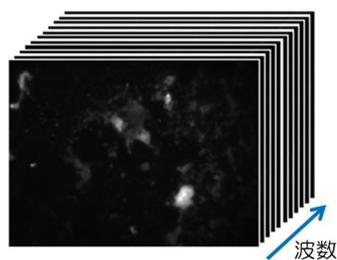


図 8 一定分解能、等波数間隔でラマンイメージを取得したハイパーラマンイメージデータ

(4) 2枚のチューナブルバンドパスフィルターを用いたハイパーラマンイメージング

実験系として金属ニオブ表面に分散したイオウ、酸化ニオブ、硝酸カリウムの微粉末を用い 3 種類の化学種のハイパーラマンイメージングを試みた。

対物レンズは 10 倍とし、画像の取得には、感度増強のためのイメージインテンシファアを接続した 16bit 冷却 CCD カメラ (Bitran BU-57LIR/C) を用いた。実験条件は以下の通りであった。

- レーザーパワー : 200 mW,
- スペクトル範囲 : 200 cm⁻¹ - 2200 cm⁻¹
- 分解能: 30 cm⁻¹ イメージ枚数 : 201
- 画像分解能 : 966 x 726 pixels
- 露光時間 : 0.2 sec
- 総データ取得時間 : 約 240 sec

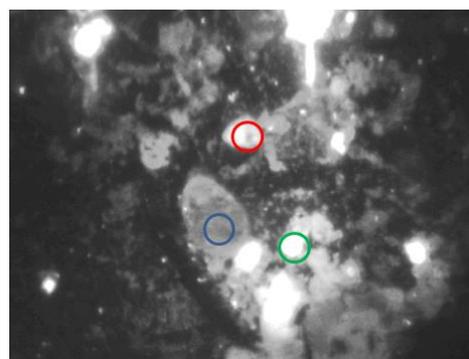


図 9 金属ニオブ表面に分散したイオウ、酸化ニオブ、硝酸カリウムの微粉末の全ラマン散乱イメージ

図 9 に試料の全ラマン散乱イメージを示した。明るく光っている微粒子が 3 種類の微粒子である。

図 9 中の丸で囲んだ部分のスペクトルデータを図 10 に示す。各点で観測されたスペクトルはそれぞれの標準ラマンスペクトルと良い一致を示した。

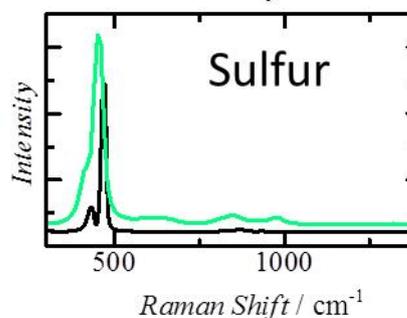
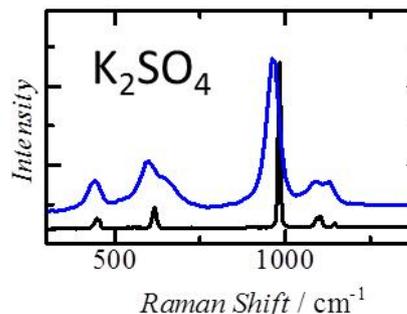
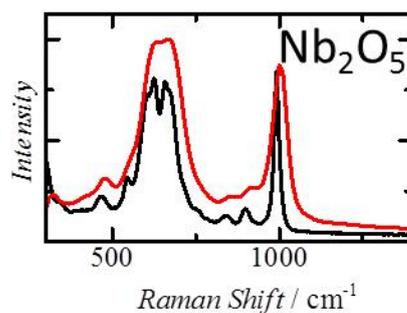


図 10 ハイパーラマンイメージから得られた各点 (図 9) のラマンスペクトルとそれぞれの化合物の標準ラマンスペクトル

(6) まとめ

以上のように本研究で開発したラマンイメージングシステムを用いることにより、簡単に高精度な顕微ラマンイメージが取得でき、試料の分別イメージング、ハイパーラマンスペクトルイメージングが可能であることがわかった。

本方法の利点としては以下の点があげられる。

- ・高精細（メガピクセル）ラマンイメージが短時間で取得できる
- ・強度の大きなレーザーを利用できる
- ・透過波数、帯域を任意に設定できる
- ・フィルターシステムが比較的安価である

一方、欠点としては、次の2点が考えられる。

- ・励起レーザーを集光していないため、深さ方向の分解能がない
- ・照射レーザーの試料上での強度分布を一樣にすることが困難

本方法における直接ラマンイメージングの空間分解能は光学顕微鏡と同等であり、高画素数のイメージ検出器を用いることにより、広い視野で、かつ回折限界に応じた分解能の精緻な高速イメージングが可能である。本方法を用いることにより、これまで困難であったブラウン運動する微粒子、自走する生体試料、時間変化、温度変化を起こす材料表面などについて、その組成や目的化学種の分布及びその変化を迅速に画像化することができると考えられる。以上、本方法は、簡単に化学情報を取得できる新しいイメージング分析法として発展することが期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 3件)

1. 文珠四郎秀昭, “チューナブルバンドパスフィルターを用いた直接ラマンイメージング装置の開発”, 日本分析化学会第62年会, 2013年9月10-12日, 近畿大学東大阪キャンパス, 大阪
2. 文珠四郎秀昭, “テレセントリック光学系を利用したフィルター方式直接ラマンイメージング装置の開発”, 第74回分析化学討論会, 2014年5月24-25日, 日本大学工学部, 郡山市
3. 文珠四郎秀昭, “チューナブルバンドパスフィルターを用いた高速、高精細ラマン直接イメージング装置の開発”, 日本分析化学会第63年会, 2014年9月17-19日, 広島大学東広島キャンパス, 東広島

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

文珠四郎 秀昭 (MONJUSHIRO HIDEAKI)
高エネルギー加速器研究機構・放射線科学
センター・教授
研究者番号: 80191071

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし