

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7537622号
(P7537622)

(45)発行日 令和6年8月21日(2024.8.21)

(24)登録日 令和6年8月13日(2024.8.13)

(51)国際特許分類 F I
G 0 1 N 21/65 (2006.01) G 0 1 N 21/65

請求項の数 11 (全14頁)

(21)出願番号	特願2023-543648(P2023-543648)	(73)特許権者	000001993 株式会社島津製作所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地
(86)(22)出願日	令和4年3月3日(2022.3.3)	(74)代理人	100179969 弁理士 駒井 慎二
(86)国際出願番号	PCT/JP2022/009071	(72)発明者	廣野 航平 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内
(87)国際公開番号	WO2023/026523	(72)発明者	青位 祐輔 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内
(87)国際公開日	令和5年3月2日(2023.3.2)	審査官	横尾 雅一
審査請求日	令和5年8月28日(2023.8.28)		
(31)優先権主張番号	特願2021-138263(P2021-138263)		
(32)優先日	令和3年8月26日(2021.8.26)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	日本国(JP)		

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ラマン分光分析方法および顕微ラマン分光装置

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

レーザー光源から出射されたレーザー光を対物光学素子により分析対象試料に照射し、分析対象試料からラマン散乱光を得、前記得られたラマン散乱光を分光し特定の波数範囲における全散乱強度を求め、前記レーザー光の照射から特定の波数範囲における全散乱強度を求める工程を複数回繰り返し、

1回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比を求め、

前記1回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度と、照射回数毎の特定の波数範囲における前記全散乱強度との相関係数を求め、

測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または1回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかの関係、および

前記測定回数と前記相関係数との関係から分析対象試料の損傷がない照射回数の上限を特定し、

前記上限の照射回数までのラマン散乱光のデータを用いるラマン分光分析方法。

【請求項2】

測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または1回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強

10

20

度の比、の少なくともいずれかをプロットする請求項 1 に記載のラマン分光分析方法。

【請求項 3】

前記測定回数と前記相関係数とをプロットする請求項 1 に記載のラマン分光分析方法。

【請求項 4】

測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかのプロットの直線回帰分析を行ない、傾きが変化する測定回数から分析対象試料の損傷がない照射回数の上限と特定する請求項 2 に記載のラマン分光分析方法。

【請求項 5】

前記測定回数から前記相関係数とのプロットの直線回帰分析を行ない、傾きが変化する測定回数を分析対象試料の損傷がない照射回数の上限と特定する請求項 3 に記載のラマン分光分析方法。

【請求項 6】

レーザー光源、
顕微鏡光学部、
分析対象試料を固定するプレート、
分光器、おおびラマン散乱光検出系を有し、
レーザー光照射の回数、その時のラマン散乱光スペクトルを記憶する記憶部、
レーザー光照射毎の特定の波数範囲におけるラマン散乱光の全散乱強度を演算する演算部、

1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比を求める演算部、

前記 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度と、照射回数毎の特定の波数範囲における前記全散乱強度との相関係数を求める演算部、および

測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかの関係、および

前記測定回数と前記相関係数との関係を表示する表示部、

前記測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかの関係、および

前記測定回数と前記相関係数との関係

から分析対象試料の損傷がない照射回数の上限を特定する解析部

を有する顕微ラマン分光装置。

【請求項 7】

前記表示部が測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかをプロットして表示する請求項 6 に記載の顕微ラマン分光装置。

【請求項 8】

前記表示部が測定回数と、前記相関係数をプロットして表示する請求項 6 に記載の顕微ラマン分光装置。

【請求項 9】

前記解析部が前記測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかのプロットの直線回帰分析を行なって分析対象試料の損傷がない照射回数の上限を特定する請求項 6 に記載の顕微ラマン分光装置。

【請求項 10】

前記解析部が前記測定回数と前記相関係数とのプロットの直線回帰分析を行なって分析

10

20

30

40

50

対象試料の損傷がない照射回数の上限を特定する請求項 6 に記載の顕微ラマン分光装置。

【請求項 1 1】

さらに分析対象試料の損傷がない照射回数のラマン散乱スペクトルを前記記憶部から呼び出し表示させる機能を有する請求項 6 に記載の顕微ラマン分光装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ラマン分光分析方法および顕微ラマン分光装置に関する。

【背景技術】

【0002】

ラマン分光装置は、励起レーザーを照射したときに試料から生じる波長の異なるラマン散乱光を分光分析することで試料の構造解析を実現する測定手法である（例えば、特許文献 1）。なかでも微小部の化学構造の分析手段として顕微ラマン分光法が開発され、近年、広く応用されている。

【0003】

ラマン散乱光はレーザー光に比べて強度が極めて小さいため、高強度のレーザー光を用いる必要がある。加えて、ラマン散乱光の強度が小さいことから得られるスペクトルの S/N 比も低い。そのため、レーザー光を複数回、分析対象試料に照射し、ラマン散乱光を複数回測定して、その結果を積算することで高い S/N 比を得る必要がある。

【0004】

しかし、レーザー光の強度が強すぎる、または積算回数が多すぎるとレーザー光による分析対象試料のダメージが大きくなる。特に分析対象試料が有機物の場合、レーザー光の照射による炭化や熱分解等で試料が焼損することがある。特に極微小領域を測定対象とする顕微ラマン分光法では、レーザー光が照射される領域が極微小の部分に集中するため、分析対象試料の焼損が顕著となる。

【0005】

試料の焼損が起こると分析対象試料の構造が変化するため、本来の構造に基づくラマン散乱光のデータが得られなくなるため、正確な構造な分析のためには再度、ラマン散乱光を測定する必要がある。

しかしながら焼損した部分は構造が壊れているため、同じ場所を測定しても本来の構造を反映したラマン散乱光を得ることはできない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【文献】特開 2006 - 113021 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

したがって、ラマン分光測定中に分析対象試料がレーザー光により損傷する前に得られたラマン散乱光のデータを見極め、これら損傷前のラマン散乱光のデータのみから分析対象試料の構造解析を行う必要がある。

【0008】

本発明は複数回のラマン分光測定中に分析対象試料がレーザー光により損傷するレーザー光の照射回数を特定し、分析対象試料が未損傷の状態の時に得られたラマン散乱光のデータを使用し、分析対象試料の構造解析を行うラマン分光分析方法の提供を目的とする。

さらに本発明は前記ラマン分光分析方法を実行する顕微ラマン分光装置の提供を目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

すなわち本発明は、

10

20

30

40

50

レーザー光源から出射されたレーザー光を対物光学素子により分析対象試料に照射し、
 分析対象試料からラマン散乱光を得、
 前記得られたラマン散乱光を分光し特定の波数範囲における全散乱強度を求め、
 前記レーザー光の照射から特定の波数範囲における全散乱強度を求める工程を複数回繰
 り返し、

1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射の前記特定の波
 数範囲における前記全散乱強度の比を求め、

前記 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度と、照射回数毎の特定の波
 数範囲における前記全散乱強度との相関係数を求め、

測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数
 範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強
 度の比、の少なくともいずれかの関係、および

前記測定回数と前記相関係数との関係

から分析対象試料の損傷がない照射回数の上限を特定し、

前記上限の照射回数までのラマン散乱光のデータを用いるラマン分光分析方法、
 を提供する。

【0010】

また本発明は、

レーザー光源、

顕微鏡光学部、

分析対象試料を固定するプレート、

分光器、おおびラマン散乱光検出系を有し、

レーザー光照射の回数、その時のラマン散乱光スペクトルを記憶する記憶部、

レーザー光照射毎の特定の波数範囲におけるラマン散乱光の全散乱強度を演算する演算
 部、

1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射の前記特定の波
 数範囲における前記全散乱強度の比を求める演算部、

前記 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度と、照射回数毎の特定の波
 数範囲における前記全散乱強度との相関係数を求める演算部、および

測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数
 範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強
 度の比、の少なくともいずれかの関係、および

前記測定回数と前記相関係数との関係を表示する表示部、

前記測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の
 波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散
 乱強度の比、の少なくともいずれかの関係、および

前記測定回数と前記相関係数との関係から分析対象試料の損傷がない照射回数の上限を
 特定する解析部

を有する顕微ラマン分光装置、

を提供する。

【発明の効果】

【0011】

本発明によれば、ラマン分光測定中に分析対象試料がレーザー光により損傷する前に得
 られたラマン散乱光のデータを見極め、これら損傷前のラマン散乱光のデータのみから分
 析対象試料の構造解析が行なえるラマン分光分析方法が提供される。

さらに本発明によれば、前記ラマン分光分析方法を実行する顕微ラマン分光装置が提供
 される。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図 1】本発明のラマン分光分析方法を示すフローチャートである。

10

20

30

40

50

【図2】ラマンスペクトルの模式図である。

【図3】レーザー光により分析対象試料が損傷を受ける前後でのラマンスペクトルの変化を表す模式図である。

【図4】 n に対して S_n または s_n をプロットした時の模式図である。

【図5】 n に対して r をプロットした時の模式図である。

【図6】本発明の顕微ラマン分光装置の一態様を示す模式図である。

【発明を実施するための形態】

【0013】

図1は顕微ラマン分光装置を用いた本発明のラマン分光分析方法を示すフローチャートである。

ステップ1および2は対物光学素子により分析対象試料の所望の分析対象領域にレーザー光を照射し、分析対象試料からのラマン散乱光を得、得られたラマン散乱光を分光することで波長または波数に対して図2で模式的に示したようにラマンスペクトルが得られる。

【0014】

通常、ラマンスペクトルの強度は非常に弱いため、前記ステップ1から3を複数回繰り返すことで図2に模式的に示したようなスペクトルが得られる。

【0015】

しかしながら前記ステップ1から3を複数回繰り返すと、分析対象試料がレーザー光により分解、酸化、焼け等のダメージを受けやすくなる。特に分析対象試料が有機物の場合は焼損が起こりレーザー光によるダメージが大きくなる。

また顕微ラマンによる分析の場合、対物光学素子により局所にレーザー光が集中的に照射されるため、分析対象試料の焼損が顕著となる。

【0016】

図3にはレーザー光による分析対象試料が焼損を受ける前後でのラマン散乱スペクトルの変化を模式的に示した。

図3に示したように、レーザー光による焼損等の損傷を分析対象試料が受けた場合、ラマン散乱スペクトルのベースラインが上昇する。また分析対象試料が有機物の場合、炭素の炭化による 1350 cm^{-1} 付近のD-bandおよび 1590 cm^{-1} 付近のG-bandが出現する。その結果、本来得られるラマン散乱スペクトルが小さく、またブロードとなり構造解析に支障をきたす場合がある。

損傷によるラマン散乱スペクトルの変化は徐々に進行するため、何回目のレーザー光の照射で損傷が起こったかをスペクトルの変化のみから特定するのは困難である。またラマン分析後に分析対象試料が損傷していることが判明することで、その分析が無駄となる場合や、再度の分析対象試料の調整が必要となる場合がある。

【0017】

前記損傷が起こったレーザー光の照射回数を特定することができれば、損傷が起こった照射回数までのラマン散乱スペクトルを分析に用いることで、正確な分析を行なうことができる。また分析が無駄となることも分析対象試料の再調整も不要となる。

【0018】

そこで本発明の分析方法では、ステップ3ではステップ2で得られたラマン散乱スペクトルにおいて、特定の波数範囲における全散乱強度を求める。波数範囲は全波数について全散乱強度を求める必要はなく、分析対象試料がもつと予想されるスペクトルの波数であればよい。

【0019】

前記特定の波数範囲での全散乱強度、 S_n を求める。全散乱強度とは前記特定の波数範囲でスペクトルとスペクトル図の横軸で囲まれた面積に相当し、例えばラマン散乱強度が電気信号で表される場合、特定の波数範囲での全電気信号の積分で表される。なお S_n は n 回目のレーザー光照射の時の前記全散乱強度を表す。

ステップ4では前記ステップ1からステップ3を繰り返し、レーザー光の照射毎に S_n を求める。この時、照射回数、 n 、全散乱強度、 S_n 、を記憶し適切な時に呼び出せるよ

10

20

30

40

50

うにしておくか、照射回数毎に表示装置に n および S_n を表示させてもよい。

【0020】

またステップ5では1回目のレーザー光照射の時の全散乱強度 S_1 に対する S_n の強度比、 s_n 、を求める。 s_n は下記式(1)で表される。

$$s_n = S_n / S_1 \quad (1)$$

ステップ5は前記ステップ4で S_n を求める毎に計算により求めてもよいし、ラマン分光測定が完了した後、まとめて s_2 から s_n まで計算してもよい。

【0021】

ステップ6では S_1 と各 S_n との相関係数、 r 、を求める。 r は統計処理で用いられる係数であり、共分散を標準偏差で除した値である。

共分散は S_n の偏差を測定回数 n で除した値であり、標準偏差は n 回のレーザー光照射で得られる全散乱強度の平均値と各 S_n との差の二乗の総和の平方根である。

前記 n および S_n と同様、前記 s_n および r を記憶し適切な時に呼び出せるようにしておくか、照射回数毎に表示装置に n および S_n と同時に s_n 、 r を表示させてもよい。

【0022】

ステップ7では前記 S_n または s_n と n との関係、および r との関係から分析対象試料が損傷を受けていない n の上限を求める。

図3に示したとおり、分析対象試料が損傷を受けるとラマン散乱スペクトルのベースラインが上昇する。すなわち損傷を受けるまでは S_n は一定であるが、損傷を受けた後はベースラインが上昇した分、 S_n は大きくなる。 s_n も同様に分析対象試料が損傷を受けた後は大きくなる。したがって、 S_n または s_n が大きくなる n を特定すれば、その直前の $n - 1$ が分析対象試料が損傷を受けていない上限の回数となる。

【0023】

さらに図3に示したように、分析対象試料が有機物の場合、炭素の炭化による 1350 cm^{-1} 付近の D - band および 1590 cm^{-1} 付近の G - band が出現する。その結果、前記ベースラインの上昇のように S_n または s_n が大きくなるのに対して、焼損等により新しく出現したピークの影響で r は小さくなる。

したがって、 r が小さくなる n を特定することで、焼損による有機物の損傷を受けた n を特定することができる。その直前の $n - 1$ が分析対象試料が焼損を受けていない上限の回数となる。

【0024】

前記 n と S_n または s_n との関係、および n と r の関係は数値をこれまで記憶させた各 n 、 S_n または s_n 、 r を呼出し比較することで、分析対象試料が損傷を受けていない上限の回数を特定することができる。 n に対して S_n または s_n をプロットし、 n に対して r をプロットすれば、視覚的に分かりやすくなる。

【0025】

図4および図5は前記 n に対して S_n または s_n をプロットし、 n に対して r をプロットした場合の結果を模式的に示した。

図4に示したように、 n に対して S_n または s_n をプロットした場合、ある n に対して S_n または s_n の値が大きくなり、各点を直線で結んだ場合、 x 軸に対して平行であった直線が右肩上がりに変化する n が出現する。この n が分析対象試料が損傷を受けたレーザー光の照射回数である。

【0026】

また図5に示したように、 n に対して r をプロットした場合、ある n に対して r の値が小さくなり、各点を直線で結んだ場合、 x 軸に対して平行であった直線が右肩下がりに変化する n が出現する。この n が分析対象試料が焼損等により新たなピークが出現した回数であり、分析対象試料が焼損を受けたレーザー光の照射回数である。

【0027】

すなわち分析対象試料が損傷を受けた場合、 S_n または s_n の値が大きくなる n が存在する。したがって S_n とそのひとつ前の S_{n-1} 、または s_n とそのひとつ前の s_{n-1} を

10

20

30

40

50

比較し、 $S_n - 1 < S_n$ または $s_n - 1 < s_n$ となる n を求めることで、分析対象試料が焼損を受けたレーザー光の照射回数を求めることができ、分析対象試料が焼損を受けていない上限の回数を特定することができる。

またはある閾値 d を予め決めておき、 $S_n - S_{n-1} > d$ または $s_n - s_{n-1} > d$ となるような n を分析対象試料が焼損を受けたレーザー光の照射回数とし、分析対象試料が焼損を受けていない上限の回数を特定してもよい。

r と n についても同様である。

【0028】

なお図4および図5は前記 n に対して S_n または s_n をプロットし、 n に対して r をプロットした場合の結果を模式的に示しており、その変化が非常に小さい場合もある。したがって、 n に対する S_n または s_n のプロット、および n に対する r のプロットを直線回帰分析により、直線の傾きの変化から分析対象試料が損傷を受けていない上限の回数を特定するのが、より正確に回数を特定できるので好ましい。

10

【0029】

前記方法により分析対象試料が損傷を受けたレーザー光の照射回数 n が求められれば、 $n - 1$ 回目までは分析対象試料が損傷を受けていないレーザー光の照射回数として特定できるので、 $n - 1$ 回目までのデータを使用し、分析対象試料の構造解析を行うことで、正確な分析が可能となる。

前記のとおり各 n とそのラマン散乱スペクトルとを記憶させておけば、前記で特定した分析対象試料が損傷を受けていないレーザー光の照射回数の上限までのラマン散乱スペクトルを呼び出し分析すればよい。

20

【0030】

上記分析方法を行なうための顕微ラマン分光装置の態様の模式図を図6に示した。

図6に示した顕微ラマン分光装置は、レーザー光源A、顕微鏡光学部4、分析対象試料を固定するプレート2、分光器5、およびラマン散乱光検出系6を有している。図6はさらにこのましい態様としてプレート2を固定するステージ3、分析視野を画像で表示する光学撮影素子11を有している。

【0031】

さらに本発明の顕微ラマン分光装置は、レーザー光照射の回数、その時のラマン散乱光スペクトルを記憶する記憶部7、レーザー光照射毎の特定の波数範囲におけるラマン散乱光の全散乱強度を演算する演算部81、1回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比を求める演算部82、前記1回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度と、照射回数毎の特定の波数範囲における前記全散乱強度との相関係数を求める演算部83、および測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または1回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかの関係、および前記測定回数と前記相関係数との関係を表示する表示部9、前記測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または1回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかの関係、および前記測定回数と前記相関係数との関係から分析対象試料の損傷がない照射回数の上限を特定する解析部10を有する。

30

40

【0032】

レーザー光源Aは前記ラマン散乱光を得るためのレーザー光を照射する光源である。

顕微鏡光学部4は対物光学素子(図示せず)として凸レンズと凹レンズを組み合わせた対物レンズ(図示せず)を組み合わせた構成が例示でき、顕微鏡光学部3に入射した光はこれら対物光学素子によりプレート2に固定された測定対象試料上に焦点を結ぶ。

サンプルにより反射したラマン散乱光は集光レンズ(図示せず)および集光スポット(図示せず)を経て分光器5、ラマン散乱光検出系6に導かれる。集光レンズにより集光されたラマン散乱光は集光スポット上で焦点を結び分光器5に導かれる。

この時、光源A、プレート2、集光スポットの位置が共役関係にある共焦点光学系とな

50

る顕微鏡光学部 4 が解像度の観点から好ましい。

【 0 0 3 3 】

前記光学撮影素子 11 は例えば、CCD (Charge Coupled Device) イメージセンサや CMOS (Complementary Metal Oxide Semiconductor) イメージセンサ等が挙げられ、サンプルの静止画あるいは動画を撮像可能に構成されている。光学撮影素子は、顕微鏡光学部 4 や透過照明 (図示せず) の構成に応じて、サンプルの明視野像、暗視野像、位相差像、蛍光像、偏光顕微鏡像等の全部または少なくともいずれかを撮像することができる。光学撮影素子は、必要であれば撮像した画像を他の情報処理装置等に出力する。

【 0 0 3 4 】

本発明の顕微ラマン分光装置は前記レーザー光照射の回数、 n 、その時のラマン散乱光スペクトル、 W_n 、を記憶する記憶部 7 を有する。記憶部 7 は n および W_n の値を記憶するだけでなく、必要な時に呼出し可能となるように構成されている。記憶部 7 は n と W_n とを一組のデータとして記憶するのが好ましい。

【 0 0 3 5 】

本発明の顕微ラマン分光装置はレーザー光照射毎の特定の波数範囲におけるラマン散乱光の全散乱強度 S_n を演算する、演算部 8 の一部である演算部 81 を有する。 S_n の求め方は前記のとおりであり、演算部 81 は前記 S_n を計算するように構成されている。

【 0 0 3 6 】

また本発明の顕微ラマン分光装置は、前記 S_1 に対する S_n の比 s_n を求める、演算部 8 の一部である演算部 82、前記 S_1 と S_n との相関係数 r を求める、演算部 8 の一部である演算部 83 を有する。

前記演算部 81 から 83 は同一の演算装置ともよいし、それぞれが独立した演算装置でもよい。

s_n および r の計算方法は前記のとおりである。

【 0 0 3 7 】

前記演算部 8 で得られた S_n 、 s_n 、および r は前記記憶部 7 に送り、記憶するようにしてもよい。記憶する場合は先に記憶した n と S_n および s_n とを組として記憶するのが好ましい。また記憶した S_n および s_n は必要な時に呼出し可能となるように構成されているのが好ましい。

【 0 0 3 8 】

前記演算部 8 で得られた S_n または s_n と測定回数 n の少なくともいずれかの関係、および n と r との関係を表示部 9 に表示する。表示の方法は例えば、 n に対して対応する S_n または s_n 、および n と r を一組として表示する方法、 n に対して S_n または s_n 、 r を一組として表示する方法等が挙げられるが、前記のとおり n に対して S_n または s_n をプロットし、 n に対して r をプロットして表示するのが好ましい。

例えば図 4 または図 5 に模式的に示したような図を表示すると視覚的に分かりやすく、分析対象試料がレーザー光によって損傷を受けた照射回数が判別しやすい。

【 0 0 3 9 】

また本発明の顕微ラマン分光装置は、前記演算部 8 で得られた S_n または s_n と測定回数 n の少なくともいずれかの関係、および n と r との関係から分析対象試料の損傷がないレーザー光の照射回数の上限を特定する解析部を有する。

解析部 10 での分析対象試料の損傷がないレーザー光の照射回数の上限を特定する方法は前記のとおりである。得られた分析対象試料の損傷がないレーザー光の照射回数の上限を前記表示部 9 に表示させてもよく、例えば分析対象試料の損傷がないレーザー光の照射回数の範囲を、表示部 9 で表示させた n に対する S_n または s_n のプロット、または n に対する r のプロットともに表示させてもよい。

【 0 0 4 0 】

前記のように n に対する S_n または s_n のプロット、または n に対する r のプロットともに、分析対象試料の損傷がないレーザー光の照射回数の範囲を表示部 9 に表示させるこ

10

20

30

40

50

とで、表示部 9 の画面上でその範囲を選択することができる。

表示部 9 の画面上で範囲を選択することで、 n およびラマン散乱スペクトル、 W_n を記憶する記憶部 7 からレーザー光によって損傷を受けていない n の範囲に相当する W_n を呼び出せるよう、記憶部 7 と表示部 9 および解析部 10 を連動させてもよい。選択の方法は解析部 10 で特定された分析対象試料の損傷がないレーザー光の照射回数の上限值以下のラマン散乱スペクトルを自動的に記憶部 7 から呼び出せるようにしてもよいし、分析者が表示部 9 の画面上をマウスまたはキーボードにより指定する等の方法で記憶部 7 から呼び出してもよい。

分析者が範囲を選択する場合、必ずしも前記解析部 10 で特定された $n - 1$ 回目を指定する必要はなく、分析者の判断で範囲を選択出来るようにしてもよい。

【 0 0 4 1 】

前記顕微ラマン分光装置を用いることで、ラマン分光測定中に分析対象試料がレーザー光により損傷する前に得られたラマン散乱光のデータを見極め、これら損傷前のラマン散乱光のデータのみから分析対象試料の構造解析が行なえる。

【 0 0 4 2 】

前記本発明のラマン分光分析方法によれば、ラマン分光測定中に分析対象試料がレーザー光により損傷する前に得られたラマン散乱光のデータを見極め、これら損傷前のラマン散乱光のデータのみから分析対象試料の構造解析が行なえる。

さらに本発明によれば、前記ラマン分光分析方法を実行する顕微ラマン分光装置が提供される。

【 0 0 4 3 】

[態様]

前記例示的な実施形態は、以下の態様の具体例であることが当業者により理解される。

【 0 0 4 4 】

[1]

レーザー光源から出射されたレーザー光を対物光学素子により分析対象試料に照射し、分析対象試料からラマン散乱光を得、

前記得られたラマン散乱光を分光し特定の波数範囲における全散乱強度を求め、

前記レーザー光の照射から特定の波数範囲における全散乱強度を求める工程を複数回繰り返し、

1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比を求め、

前記 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度と、照射回数毎の特定の波数範囲における前記全散乱強度との相関係数を求め、

測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかの関係、および

前記測定回数と前記相関係数との関係から分析対象試料の損傷がない照射回数の上限を特定し、

前記上限の照射回数までのラマン散乱光のデータを用いるラマン分光分析方法。

【 0 0 4 5 】

前記 [1] の発明によれば、ラマン分光測定中に分析対象試料がレーザー光により損傷する前に得られたラマン散乱光のデータを見極め、これら損傷前のラマン散乱光のデータのみから分析対象試料の構造解析が行なえるラマン分光分析方法が提供される。

【 0 0 4 6 】

[2] 測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかをプロットする前記 [1] に記載のラマン分光分析方法。

[3] 前記測定回数と前記相関係数とをプロットする前記 [1] または [2] に記載の

10

20

30

40

50

ラマン分光分析方法。

【 0 0 4 7 】

[4] 測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかのプロットの直線回帰分析を行ない、傾きが変化する測定回数から分析対象試料の損傷がない照射回数の上限と特定する前記 [2] に記載のラマン分光分析方法。

[5] 前記測定回数と前記相関係数とのプロットの直線回帰分析を行ない、傾きが変化する測定回数から分析対象試料の損傷がない照射回数の上限と特定する前記 [4] に記載のラマン分光分析方法。

【 0 0 4 8 】

前記 [2] から [5] の発明によれば、より簡便にラマン分光測定中に分析対象試料がレーザー光により損傷する前に得られたラマン散乱光のデータを見極めが可能となる。

【 0 0 4 9 】

また前記例示的な実施形態は、以下の態様の具体例であることが当業者により理解される。

[6] レーザー光源、

顕微鏡光学部、

分析対象試料を固定するプレート、

分光器、およびラマン散乱光検出系を有し、

レーザー光照射の回数、その時のラマン散乱光スペクトルを記憶する記憶部、

レーザー光照射毎の特定の波数範囲におけるラマン散乱光の全散乱強度を演算する演算部、

1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比を求める演算部、

前記 1 回目の前記特定の波数範囲における全散乱強度と、照射回数毎の特定の波数範囲における前記全散乱強度との相関係数を求める演算部、および

測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかの関係、および

前記測定回数と前記相関係数との関係を表示する表示部、

前記測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかの関係、および

前記測定回数と前記相関係数との関係から分析対象試料の損傷がない照射回数の上限を特定する解析部

を有する顕微ラマン分光装置。

【 0 0 5 0 】

前記 [6] の発明によれば、ラマン分光測定中に分析対象試料がレーザー光により損傷する前に得られたラマン散乱光のデータを見極め、これら損傷前のラマン散乱光のデータのみから分析対象試料の構造解析が行なえるラマン分光分析を簡単に行える顕微ラマン分光装置が提供される。

【 0 0 5 1 】

[7] 前記表示部が測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかをプロットして表示する前記 [6] に記載の顕微ラマン分光装置。

[8] 前記表示部が測定回数と、前記相関係数をプロットして表示する前記 [6] または [7] に記載の顕微ラマン分光装置。

【 0 0 5 2 】

10

20

30

40

50

[9] 前記解析部が前記測定回数と、前記照射回数毎の前記全散乱強度、または 1 回目の照射の前記特定の波数範囲における全散乱強度に対する各照射回数の前記特定の波数範囲における前記全散乱強度の比、の少なくともいずれかのプロットの直線回帰分析を行なって分析対象試料の損傷がない照射回数の上限を特定する前記 [6] から [8] のいずれかに記載の顕微ラマン分光装置。

[1 0] 前記解析部が前記測定回数と前記相関係数とのプロットの直線回帰分析を行なって分析対象試料の損傷がない照射回数の上限を特定する前記 [6] から [9] のいずれかに記載の顕微ラマン分光装置。

[1 1] さらに分析対象試料の損傷がない照射回数のラマン散乱スペクトルを前記記憶部から呼出し表示させる機能を有する前記 [6] から [1 0] に記載の顕微ラマン分光装置。 10

【 0 0 5 3 】

前記 [7] から [1 1] の発明によれば、より簡便にラマン分光測定中に分析対象試料がレーザー光により損傷する前に得られたラマン散乱光のデータを見極めが可能となる顕微ラマン分光装置が提供される。

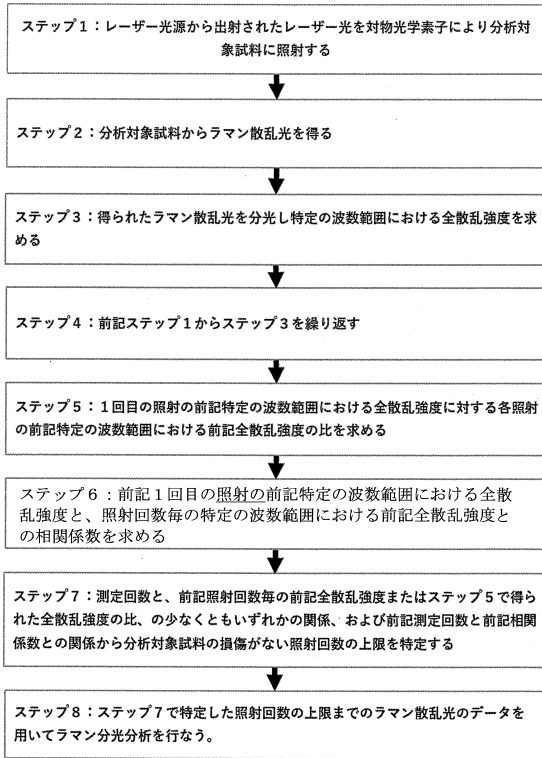
【 符号の説明 】

【 0 0 5 4 】

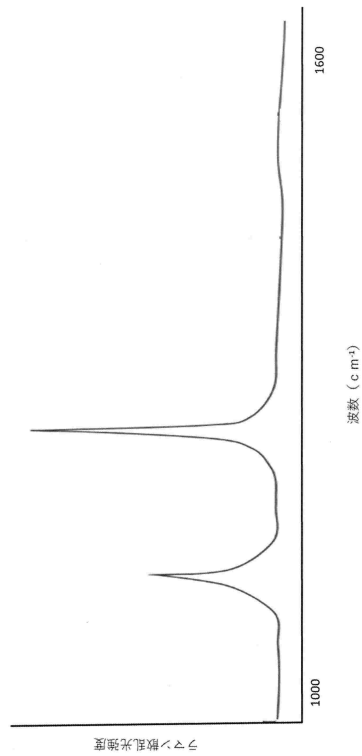
- 1 : 顕微ラマン分光装置
- 2 : プレート
- 3 : ステージ 20
- 4 : 顕微鏡光学部
- 5 : 分光器
- 6 : ラマン散乱光検出系
- 7 : 記憶部
- 8 : 演算部
- 8 1 : 演算部
- 8 2 : 演算部
- 8 3 : 演算部
- 9 : 表示部
- 1 0 : 解析部 30
- 1 1 : 光学撮像素子
- A : レーザー光源

【 図 面 】

【 図 1 】



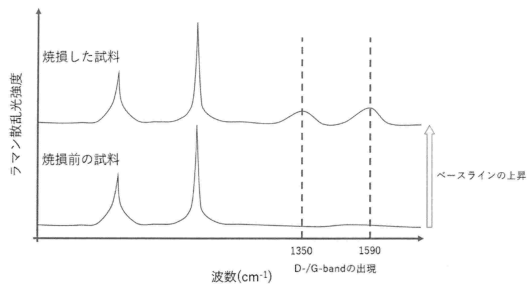
【 図 2 】



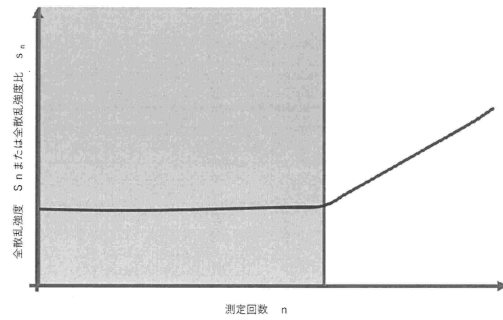
10

20

【 図 3 】



【 図 4 】

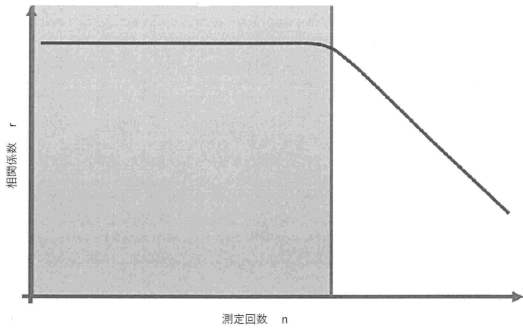


30

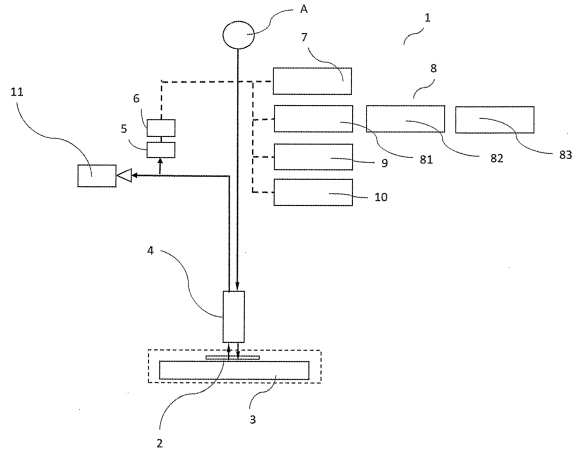
40

50

【図 5】



【図 6】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

- (56)参考文献 特開2014-153098(JP,A)
特開2001-051202(JP,A)
特表2010-521662(JP,A)
特開2006-113021(JP,A)
特表2018-518719(JP,A)
特開2007-209219(JP,A)
米国特許出願公開第2020/0049627(US,A1)
米国特許出願公開第2018/0299384(US,A1)
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
G01N 21/00 - G01N 21/958
G01N 33/48 - G01N 33/98
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)