

# 共焦点ラマン顕微鏡の横方向空間分解能を利用したポリマーラミネート中のミクロン/サブミクロンの層の解析

## 著者

Mohammed Ibrahim, Ph.D. and Rui Chen, Ph.D. Thermo Fisher Scientific, Madison, WI

## キーワード

ラミネート、ポリマー、共焦点ラマン顕微鏡、空間分解能

## アプリケーションの利点

適切に構成されたThermo Scientific™ DXR™2ラマン顕微鏡があれば、ラマン分光法の理論的空間分解能の限界に近い、厚さ(約0.4 μm)のポリマー層を解析できます。

## サーモフィッシャーサイエンティフィックのソリューション

- DXR2ラマン顕微鏡
- ラマン分析・解析用ソフトウェア  
Thermo Scientific OMNIC™

## はじめに

ポリマーラミネートは、食品から医薬品に至るまで広範囲な業界で使用されています。化学的、物理的特性や厚さの異なる複数の高分子層を接着すると、さまざまな包装用途に適した理想の化学的、機械的なバリア特性が得られます。技術の進歩と製造の高度化により、より複雑でより薄いラミネート構造が製造されるにつれて、製品の品質管理や不具合の分析、リバースエンジニアリングに向けたラミネート分析のニーズがますます増加しています。

ラミネート分析のツールには、光学顕微鏡、示差走査熱量測定(DSC)、フーリエ変換赤外分光法(FT-IR)、ラマン顕微鏡法などがあります。中でも、共焦点ラマン顕微鏡には多くの利点があります。ラマン分光法は化学的特性と物理的特性のどちらの情報も得ることができ、独自の選択性によって、物質の同定に最適な分子の指紋情報が得られます。共焦点ラマン顕微鏡は、多くの場合サンプル励起に短波長可視およびNIR(400~785 nm)レーザーを使用します。ラマンのシグナル強度はレーザー波長の四乗に反比例するため、これによって感度が増大します。さらに、空間分解能もレーザーの波長に反比例します。波長が短くなるにつれ、分解能が高くなります<sup>1,2</sup>。

このアプリケーションノートでは、Thermo Scientific DXR2ラマン顕微鏡を用いて行った2種類のポリマーラミネート分析に言及します。レーザーの波長、対物レンズの倍率、ピンホールサイズ、XY方向空間分解能を含め、機器の構成を詳細に説明します。

## 材料と方法

2種類のポリマーラミネートサンプルAとBをマイクロトーム処理し、フィルムにしました。このマイクロフィルムをスライドガラス上に載せ、ペンタンを滴下し平板化しました。その後、スライドガラスをラマン顕微鏡ステージに載せました。すべての分析にDXR2ラマン顕微鏡を使用しました。532 nmレーザーを使用し、出力を5 mWに設定しました。100X対物レンズと25  $\mu\text{m}$ 共焦点ピンホールを使用し、0.2  $\mu\text{m}$ ステップでラインマップ (27.4  $\mu\text{m}$ ) を収集しました。これは138スペクトルから成ります。また1  $\mu\text{m}$  (X) と0.2  $\mu\text{m}$  (Y) ステップでエリアマップ (3  $\mu\text{m}$  [X] $\times$ 20  $\mu\text{m}$  [Y]) を取得しました。これは584スペクトルから成ります。データの収集と解析には、ラマンソフトウェアThermo Scientific OMNICを使用しました。

## 結果と考察

ポリマーラミネート層は、ラマン顕微鏡法を用いた共焦点深さプロファイリングとクロスセクション分析によって同定できます。深さプロファイリングには、サンプル調製がほとんどあるいはまったく不要という利点がある一方で、ライン/エリアマッピングによるクロスセクション分析は空間分解能が優れており、ポリラミネートのミクロンからサブミクロン層までを同定できます。

図1Aは、マイクロフィルムAとラマンラインマッピングを行った場所 (赤線) の観察画像です。対応するラインマップを図1Bに示します。2-D等高線プロットに示したラインマップにより、層をまたいだ組成変化がわかります (y方向)。等高線プロットのレインボーカラーはラマンピークの強度を反映したもので、赤は最高強度を、青は最低強度を示します。垂直方向のラマンスペクトル変化に基づき、七つの異なる層がライブラリ検索で同定されました。層1、3、5、7はポリエチレン (PE)、層2と6はポリプロピレン (PP)、層4はポリビニルアルコール (PVA) です。各層の代表的なラマンスペクトルを図1Cに示します。隣接する層間にクロスコンタミネーションがないことから、空間分解能が適切であり、隣接する層と区別可能であることがわかります。もっとも薄い層 (層4) の厚さは、半値全幅 (FWHM) 法に基づき1.2  $\mu\text{m}$ と推定されました (図1D) <sup>3</sup>。

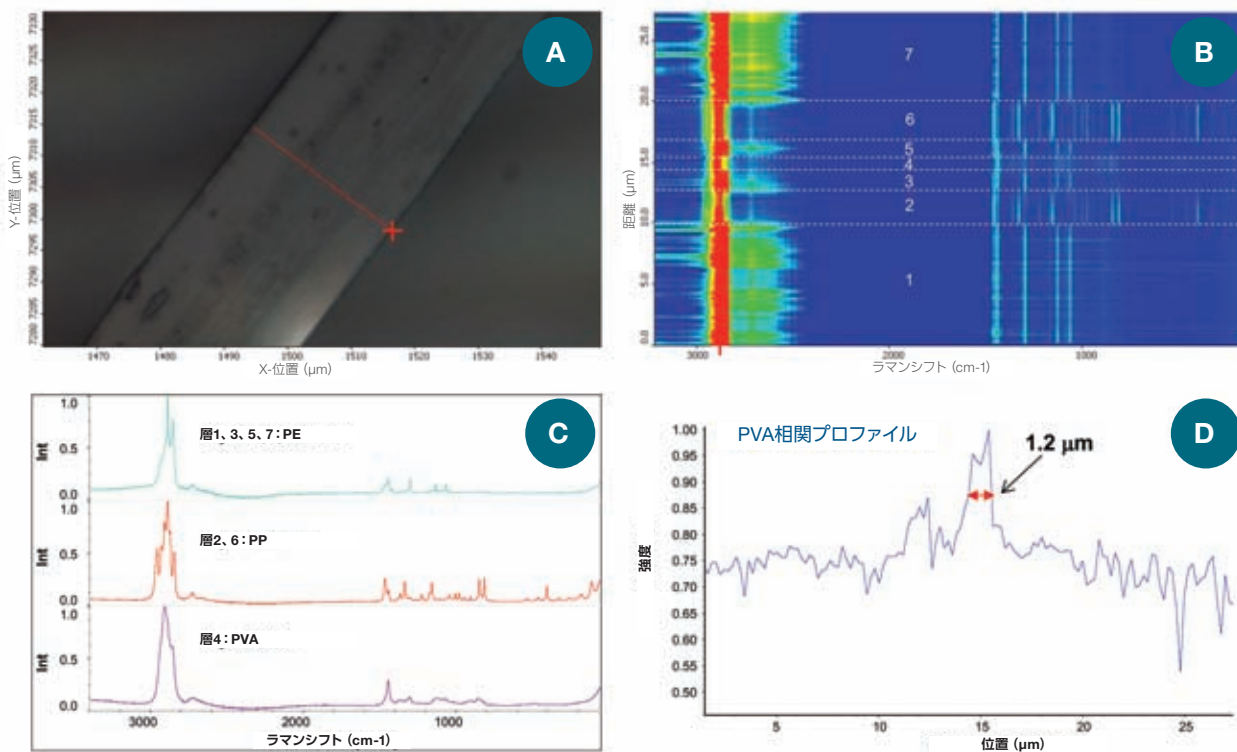


図1. (A) ラインマッピングを実施した領域を示すマイクロフィルムAの観察画像 (赤線)、(B) マイクロフィルムAのラインマップ、(C) 各層の代表的なラマンスペクトル PE=ポリエチレン、PP=ポリプロピレン、PVA=ポリビニルアルコール、(D) PVA標準スペクトルを使用して得たラマン相関プロフィール

図2A～2Cは、マイクロフィルムBの3-Dエリアイメージです。PE、PP、PVAスペクトルを標準としてマップから慎重に選択し、相関プロファイリングとともにエリアイメージを作製しました。赤色は標準物質との高い相関を示し、青色は低い相関を示します。マイクロフィルムAと同様に、七つの層が明確に同定されます。層1、3、5、7はPE、層2と6はPP、中心の層4はPVAです。層4の厚さを推定するため、まず白色の破線で示した図2Cのエリアマップからラインマップを抽出しました。次に、抽出した線に対して、マップ

のPVAスペクトルを基準として相関プロファイリングを行いました。結果を図2Dに示します。14.5 μm付近の鋭いピークは層4に相当し、プロファイルピークのFWHMに基づく厚さは推定約0.4 μmです<sup>3</sup>。ここで説明した方法は、スペクトルの質と隣接する層間のスペクトルの差異に大きく依存することにご注意ください。相関プロファイルから得られる層の厚さは推定値とみなす必要があります。層の厚さを正確に測定するには、走査電子顕微鏡法 (SEM) のような技術が必要です。

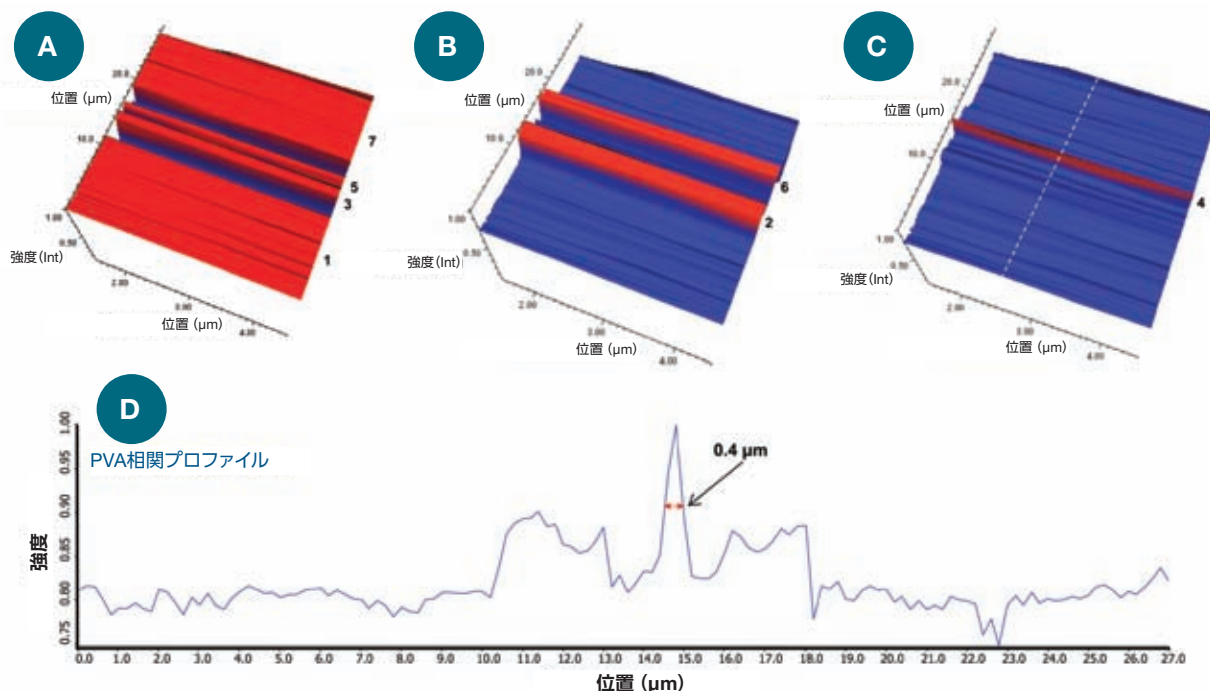


図2. マイクロフィルムBの3Dラマン相関イメージ。(A) ~ (C) :それぞれPE、PP、PVAに対する相関イメージ。(D) エリアマップから抽出した線にPVA基準スペクトルを用いて得た相関プロファイル (C上の白色の破線)

光学顕微鏡では多くの場合、回折限界分解能は下記のレイリーの分解能によって経験的に評価されます。ここで、 $d$ はレイリーの分解能、 $\lambda$ はレーザー波長、 $\eta$ は浸漬/固定剤の屈折率、 $N.A.$ は顕微鏡対物レンズの開口数です。

レイリーの分解能	
x, y plane (lateral):	$d = 0.61 \frac{\lambda}{N.A.}$
z-axis (axial):	$d = \frac{2\lambda\eta}{(N.A.)^2}$

式に示すように、XY面 (平面方向) とZ軸 (深さ方向) のどちらのレイリーの分解能も波長に正比例しますが、対物レンズの開口数には反比例します。さらに、Z軸レイリーの分解能は被験物質の屈折率に比例します。空気よりも光学的に密度の高い

サンプルではすべて、通常、Z軸分解能は平面方向分解能より4倍から6倍低くなります。532 nmレーザー、100×対物レンズ ( $N.A.=0.90$ ) に対しては、ラミネートに対する屈折率を1.5と仮定すると、理論上、XY平面方向空間分解能は約0.4 μm、Z軸深さ方向分解能は約2 μmです。ただし、レーザー/ラマン光子の散乱やサンプルのインターフェイスとの相互作用などの多くの因子により、この分解能は低下する可能性があります。機器構成で考察すべきもう一つの重要事項は、ピンホールサイズです。ラマン分光装置では、ピンホールを使用しない従来の構造よりも空間領域を限定することで、共焦点ピンホールは空間フィルターとして作用し、サンプルの焦点外領域を減衰させます<sup>2</sup>。本試験では、532 nmレーザー、 $N.A.0.9$ および25 μm共焦点ピンホールと100×対物レンズを組み合わせることで厚さ0.4 μmのPVA層の解像を可能にし、XY方向空間分解能の理論的限界に近づくことができました。

## まとめ

本アプリケーションノートでは、ラインおよびエリアマッピングを利用したポリマーラミネートの分析を報告しました。いずれも、7層を同定しました。適切に構成されたラマン顕微鏡を用いると、理論的空間分解能の限界に非常に近い厚さ（約0.4 μm）のポリマー層を解析することができました。

## 参考文献

1. Guillory P., Deschaines T. Henson P, *Materials Today*, **2009**, 12(4), 38-39.
2. Rzhetskii A, Ibrahim M, Ramirez J, Macisaac C., *Considerations and Techniques for Optimizing Raman Spectral and Spatial Information*, Thermo Scientific White Paper 52699, **2015**.
3. Guillory P., Deschaines T., Henson P. *Confocal Raman microscopy analysis of multilayer polymer films*, Thermo Scientific Application Note 51718, **2008**.

© 2019 Thermo Fisher Scientific Inc. 無断複写・転写を禁じます。 FTIR089\_A19020B  
ここに記載されている会社名、製品名は各社の商標または登録商標です。  
ここに記載されている内容は予告なく変更することがあります。  
ここに記載されている製品は研究用機器であり、医療機器ではありません。

## サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

thermofisher.com

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC