

# ラマンイメージング可視化解析技術

千葉事業所 藤原 豊 / 技術開発センター 大森 美穂

## 1 はじめに

物質に光を照射し分子に衝突すると、その一部は散乱される。散乱光の多くは入射光と同じ波長のレイリー散乱光であるが、ごく僅かに、入射光と異なった波長のラマン散乱光が含まれる。ラマン分光法は、このラマン散乱光の性質を調べることにより、物質の分子構造や結晶構造などを知る手法である。ラマン散乱光の強度は、レイリー散乱光の強度に対して10のマイナス6乗程度と極めて微弱であるが、高強度レーザー光源の開発や高感度検出器の飛躍的進歩に伴い、1990年代後半より振動分光法として広く利用されている。ラマン分光法で得られるラマンスペクトルでは波数情報から化学結合の種類やその変化の情報が得られ、強度情報から化学結合の相対的濃度の情報が得られる。また、結晶性や結晶格子の歪み・応力の情報も得られる(図1)。顕微鏡を組み合わせた顕微ラマン法では、

$\phi$  1 $\mu\text{m}$ 以下の微小スポットを狙って測定することが出来る。これら特徴を生かし、微細構造解析手法として、種々の工業材料をはじめとして、医薬品や生体試料にも適用が拡大している。

## 2 ラマンイメージングによる可視化分析

顕微ラマン法では、局所領域の構造情報を得ることが出来るが、2種類以上の物質の混合物または反応物である場合、局所情報だけでは試料全体を反映した情報にならない場合もある。スポットサイズを大きくしたマクロ測定では平均情報に留まってしまい、折角の高分解の利点を失い、分布や分散情報を得ることが出来ない。そこで、微小スポットを面内に走査し、一定面積の情報を得る面分析(ラマンイメージング)の手法が利用される。ラマンイメージングでは、化学結合、結晶情報、濃度の面分布を、高空

間分解能を有した画像で表現することが出来る。イメージング手法は、大きく分類して2種類ある。一つは、自動ステージにて試料移動を行い、対象座標毎に得たスペクトルをイメージ像に表現する方法であり、もう一つは、レーザーをライン状または面状に広げて、試料照射面の情報を二次元CCD(Charged Coupled Device)検出器にそのまま取り込む方法である。前者は古くから普及している方法であるが、測定に膨大な時間がかかり、試料の位置ずれを生じる欠点がある。後者は、CCD検出器の特性を利用して正確な位置情報を保ちつつ、短時間で測定できる。短時間測定であるため、試料のレーザー照射ダメージを低減させる利点もあり、近年急速に、化学状態の可視化(ケミカルイメージング)の手法として普及拡大している。本稿では、特定の化学結合の濃度分布としての毛髪断面のイメージング、化学状態分布としてのリチウム電池電極のイメージングについて説明する。

### 2.1 毛髪断面のラマンイメージング(ジスルフィド結合の濃度分布)

毛髪のようなケラチン繊維は、図2に示すようなキューティクル、コルテックス、メデュラから構成される階層構造を取っていることが知られている<sup>1)</sup>。毛髪の大部分を占めるコルテックスは、マイクロフィブリルとマトリックス蛋白質の二つの主成分から構成されており、マイクロフィブリルは $\alpha$ -ヘリックス構造を有する結晶性繊維タンパク質で、ジスルフィ

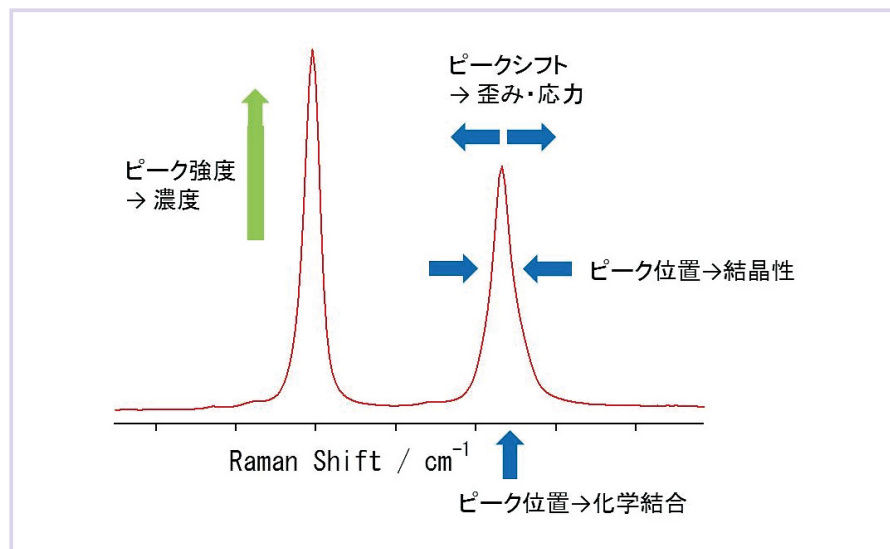


図1 ラマン分光法で得られる情報

ド (S-S) 結合で構成される高シスチン含有非晶質マトリックスで覆われている。ジスルフィド結合は三次元的な架橋を形成して毛髪の物理的および機械的特徴、構造安定性に大きく寄与しており、ブリーチ処理や紫外線の影響等により毛髪が損傷した際、多くの場合ジスルフィド結合が分解する。そのため、毛髪内部の微細構造におけるジスルフィド結合を

測定することは非常に重要となっている。ジスルフィド結合の解析等、毛髪のキャラクタリゼーションには、X線回折、固体NMR、IRスペクトルなども従来から用いられているが、結晶性繊維タンパク質以外の非結晶領域の情報が得られにくい(X線回折)、キューティクルとコルテックスを分離して測定できない(固体NMR)、ジスルフィド結合に関する情報が得られない(IRスペクトル)、などの課題がある。ラマン分光法では、キューティクルとコルテックスそれぞれを分離することなく微細構造を測定でき、ジスルフィド結合に加えてタンパク質二次構造などの化学結合情報を得ることができ、毛髪階層構造のキャラクタリゼーションツールとしての研究例も多く見られる<sup>2)</sup>。

試料として30代男性の白髪を使用した。試料は頭皮から繊維軸方向に数mmの箇所をエポキシ樹脂で包埋し、クライオミクロトームで断面を作製した後、

532nmレーザーでイメージング測定を行った。図3(a)には、キューティクル(1)、コルテックス(2~5)、メデュラ(6)における階層毎のラマンスペクトルを示した。スペクトルは1450 cm<sup>-1</sup> (CH<sub>2</sub>)のピークで規格化し、比較をしている。キューティクルでは、コルテックスと比較してジスルフィド結合に由来する513 cm<sup>-1</sup>バンド<sup>2,3)</sup>及びアミドⅢに由来する1245 cm<sup>-1</sup>バンド<sup>2)</sup>のピークの強度が強く観測されるなど、毛髪表面から内部への階層で濃度の違いが確認された。

また、ジスルフィド結合に帰属される513 cm<sup>-1</sup>ピーク面積を用いて作成したラマンイメージング(図3(b))では、階層構造におけるジスルフィド結合量の変化を可視化することができており、キューティクルが最も多く、次いでコルテックス、メデュラの順で濃度低下していることが確認された。このイメージング像を利用し、階層構造のジスルフィド結合濃度分布を解析することが出来る。

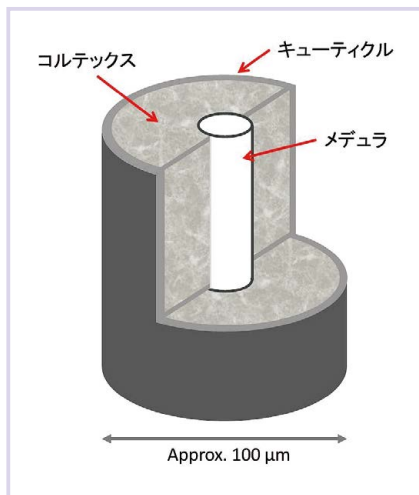


図2 毛髪の断層構造

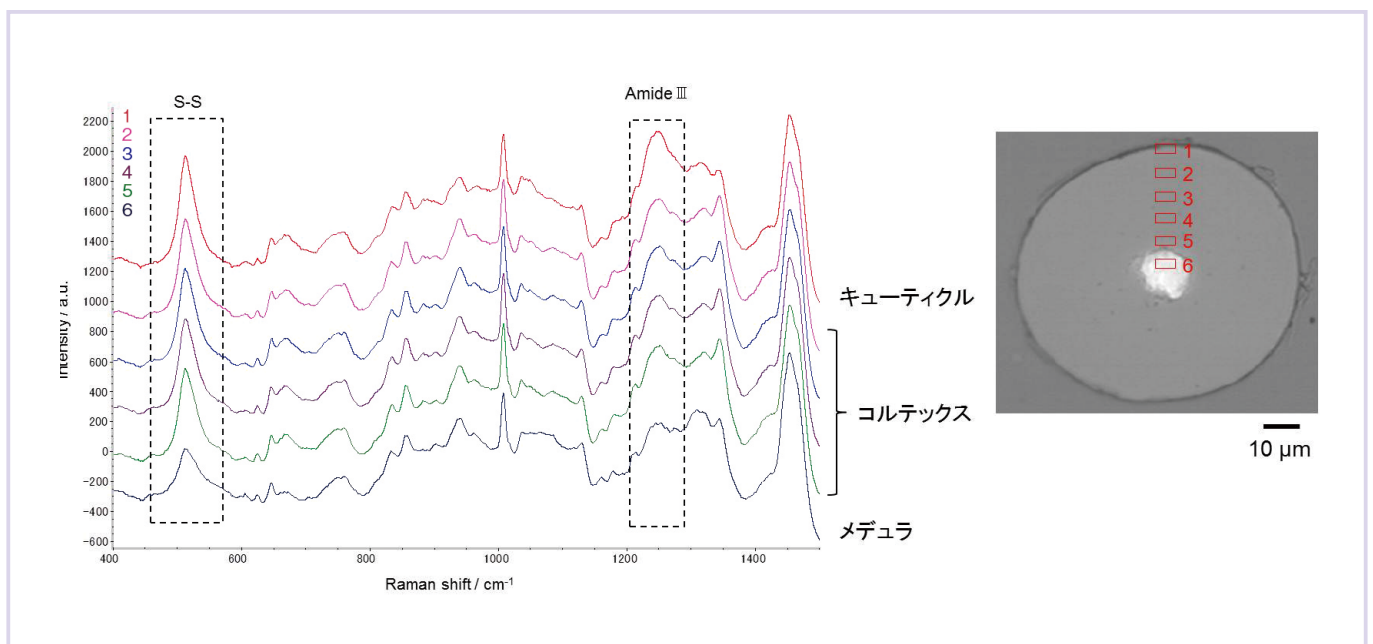


図3 (a) 毛髪断面のラマンスペクトル

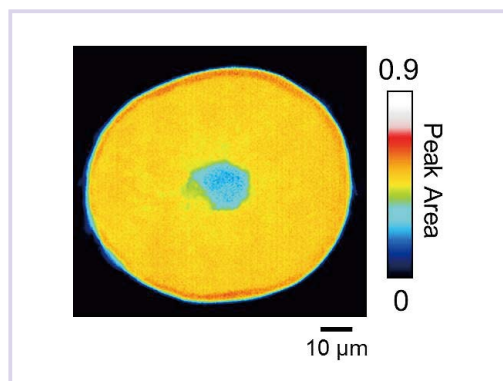


図3 (b) 毛髪断面のラマンイメージング  
(ジスルフィド結合の濃度分布)

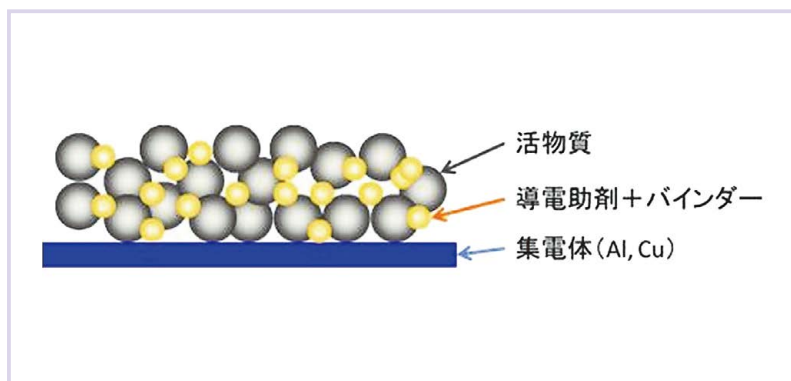


図4 リチウムイオン電池の電極構造

この解析方法を利用することで、ブリーチ処理等の毛髪損傷状態を把握することも可能である。

## 2.2 リチウム電池電極材料のラマンイメージング (電気化学 *in situ* イメージングによる組成分布)

近年注目を集めているリチウムイオン電池の電極材料は、図4に示すように複数の材料が混ざりあって構成されている。ラマンはこれらほとんどの材料を化合物として検出することが可能であり、ラマンイメージングは電極分析の強力なツールとなる。また、大気圧下で試料を取り扱える、ガラス容器越しに測定できるといった特徴から、*in situ* モニターの最適ツールでもある。電池の起電反応のもととなる活物質が電池容量にどのように寄与しているかを知ることは高性能電池開発において重要であり、その評価解析のために、充放電下での *in situ* ラマン研究例も多く見られる<sup>4)</sup>。我々は、活物質の利用率を知るために、充放電セルとラマンイメージングを組み合わせた、電気化学 *in situ* ラマンイメージング測定を行い、充放電と活物質の化学状態変化の関連性について解析を行った。

測定は石英窓を有した当社作製の充放電セルを用いた。正極、負極には、それ

ぞれ活物質として  $\text{LiCoO}_2$  およびグラファイトを用いた電極を使用した。電解液として 1M  $\text{LiPF}_6$  を加えた Ethylene Carbonate (EC) : Diethyl Carbonate (DEC) = 1 : 1 (vol %)を用い、0.2 C で充放電を行い、正極の  $160 \mu\text{m} \times 30 \mu\text{m}$  の領域について 20 分毎にラマンイメージング測定を行った。図5 (a) に各電位における  $\text{LiCoO}_2$  の代表的なラマンスペクトルを示す。充電前のスペクトルでは  $\text{LiCoO}_2$  の  $A_{1g}$  モードが  $596 \text{ cm}^{-1}$  に、 $E_g$  モードが  $485 \text{ cm}^{-1}$  に観測されている。

$A_{1g}$  モードは Co-O stretching,  $E_g$  モードは O-Co-O bending に帰属される<sup>5)</sup>。 $A_{1g}$ ,  $E_g$  モードとも充電を開始すると低波数側へのシフトおよび強度低下が確認された。これは Li イオンが正極活物質から脱離し負極活物質へ挿入されている、すなわち充電状態にあることを示している。4.20 V まで充電すると  $A_{1g}$  モードのピーク位置は  $570 \text{ cm}^{-1}$  に観測された。電圧が低下すると元の波数位置に戻り始め、放電後では充電前と同様のスペクトルが確認された。

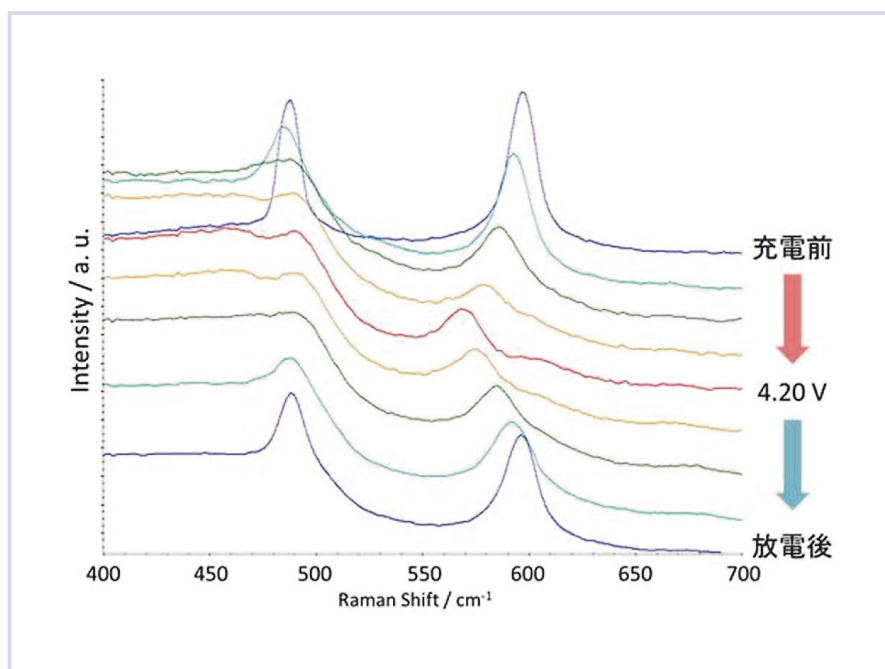


図5 (a) 充放電状態における  $\text{LiCoO}_2$  のラマンスペクトル変化

検出ピークの波数位置から活物質の化学状態分布の可視化および解析を行った。図5 (b) に  $A_{1g}$  モードのピーク位置から作成したラマンイメージングを示す。イメージング像は、 $596\text{ cm}^{-1}$  から  $565\text{ cm}^{-1}$  の範囲におけるピークシフトを虹色のグラデーション (カラーバー) で表現している。充電過程の  $3.76\text{ V}$  でのイメージング画像では、活物質の粒子毎に  $A_{1g}$  ピーク位置の違いに伴う、イメージカラーの相違が確認された。Li イオンの脱離速度に、活物質粒子間で差異が生じていると推測される。また、充電完了時の  $4.20\text{ V}$  でのイメージング画像では、 $A_{1g}$  ピークが低波数シフトしていない活物質粒子が一部存在することがわかった。こ

れらの活物質はLi イオンの脱離が起こっておらず、電池反応に関与していないと推定される。この結果より、活物質粒子毎のLi イオンの脱離挙動を解析することが出来た。本手法は、電池製造工程の改善や不良原因の特定を行うための重要な知見が得られるツールになると考えられる。

### 3 おわりに

本稿で示した事例以外にも、ラマンイメージングは様々な先端材料の可視化解析に利用することが期待される。我々は、*in situ* 評価を含めた測定手法の拡大と解析の高度化に取り組んでおり、今後お客様に更に役立つ高度な解析技術の提供を進めていく。

### 4 謝辞

リチウムイオン電池の電気化学 *in situ* イメージングは、(独) 新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) 「次世代蓄電池材料評価技術開発」の助成を受けて実施しました。関係各位に深く感謝いたします。

### 文献

- 1) C.Popescu, H.Hocker, *Chem. Soc.Rev.*, **36**, 1282-1291, (2007)
- 2) 葛原 亜起夫, *高分子論文集*, **69**, 313-325, (2012)
- 3) C.M.Panda., *J. Soc. Cosmetic. Chem.*, **45**, 257-268, (1994)
- 4) T.Nishi, H.Nakai, A.Kita, *The Electrochemical Society*, (2012)
- 5) *Nanomaterials for Lithium-Ion Batteries: Fundamentals and Applications*, pp.240 (2013)

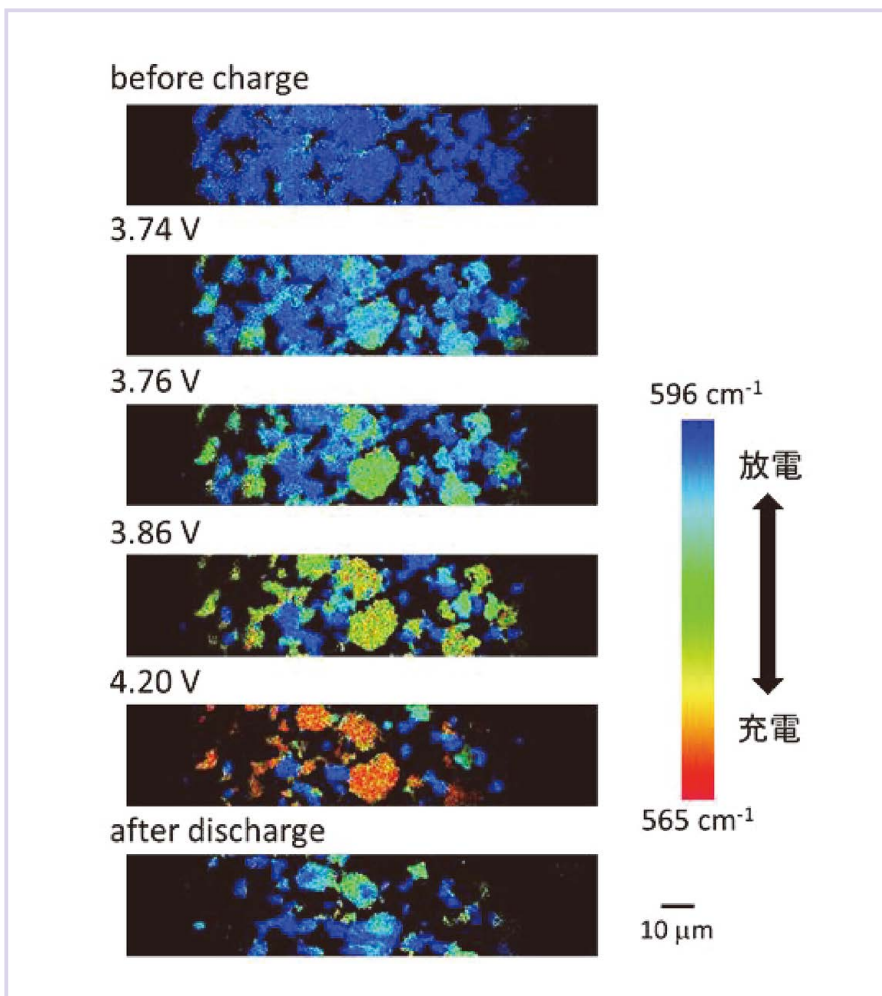


図5 (b)  $\text{LiCoO}_2$  正極の電気化学 *in situ* ラマンイメージング ( $A_{1g}$  ピークシフト分布)



藤原 豊  
(ふじわら ゆたか)  
千葉事業所



大森 美穂  
(おおもり みほ)  
技術開発センター