ナノ光ファイバを用いた蛍光性ナノ粒子の一粒子計測

Efficient Fluorescence Collection of Single Nanoparticles using Optical Nanofibers

藤原 正澄
Masazumi FUJIWARA

蛍光性ナノ粒子の一粒子検出技術は，量子情報通信やセンシング応用にとって極めて重要である。一粒子からの蛍光は微弱なため，検出の高感度化が求められる。さらに通信においては既存光ファイバ網の利用，センシングにおいては小型化・汎用化に向けたファイバデバイス化などの実用化の観点から，ナノ粒子からの蛍光を効率よく光ファイバに結合する事も重要となる。本研究ではナノ光ファイバという直径300 nmの極細光ファイバをセンサとして用いたファイバ型蛍光検出デバイスの開発を行った。このデバイスを用いて蛍光性ナノ粒子の一粒子検出を行った結果，従来の顕微鏡を利用した手法に比べて十倍近い性能の向上を実現した。

Efficient detection of single fluorescent nanoparticles is of fundamental importance in various applications such as quantum information and sensing. The detected fluorescence further needs to be coupled into optical fibers for exploiting existing fiber technology. We have realized an efficient fiber-based fluorescence collection method using ultrathin silica nanofibers. The nanofibers are low-loss tapered fibers having diameters of about 300 nm and can efficiently collect fluorescence of surface-adsorbed nanoparticles. The fluorescence is finally output from the standard single-mode-fiber ends. Our study recorded near 20% fiber-coupling efficiency of fluorescence from single nanoparticles, which is about 10 times more efficient than a conventional fluorescence collection method that uses a confocal fluorescence microscope.

はじめに

蛍光性ナノ粒子は，生命科学からエレクトロニクスまでの幅広い分野で不可欠なナノ材料である。生体組織中でのナノ粒子の挙動を蛍光顕微鏡で観察するための蛍光標識という用途から[1]，次世代通信として期待される量子情報通信における光源[2]としてなど，多様な利用方法が報告されている。これらの応用利用はナノ粒子からの蛍光を検出してそれぞれの目的に供するため，いずれにおいてもナノ粒子からの蛍光を効率よく検出する事が，高感度化・高性能化のために重要である。

量子情報通信での利用や微量サンプルのセンシングなどの目的には，特に一粒子レベルのナノ粒子からの微弱な蛍光を効率よく捉える事が重要となる。さらに通信においては既存光ファイバ網の利用，センシングにおいては小型化・汎用化に向けたファイバデバイス化などの実用化の観点から，ナノ粒子からの蛍光を効率よく光ファイバに結合する事も重要となる。従来このような単一ナノ粒子からの微弱蛍光を捉える手法としては，光学顕微鏡が用いられてきた。しかしながら，非常に高い倍率（開口数）を持つ対物レンズを用いても，実際にはナノ粒子からの総発光量の僅か1～2%程度しか検出する事ができなかった[3]。さらに通信用途にシングルモード光ファイバへ蛍光を結合させようとするのはさらに困難であった（結合効率1%以下）。

この問題を解決するために，著者らは光ファイバをベースに作ったナノ光ファイバというデバイスの開発を行った。ナノ光ファイバを通して，ナノ粒子からの蛍光を直接光ファイバに結合しようとする試みである。著者らは，電磁界解析による精密設計や製作プロセスの最適化によって，直径約300 nmかつ低光損失の極細ナノ光ファイバを実現した。このナノ光ファイバを用いて，蛍光性ナノ粒子からの蛍光検出性能を定量的に評価した結果，総発光量の約20%がシングルモードファイバに結合する事を見出した。これは従来の共焦点顕微鏡を用いる手法に比べて，10倍以上の性能向上を示している。

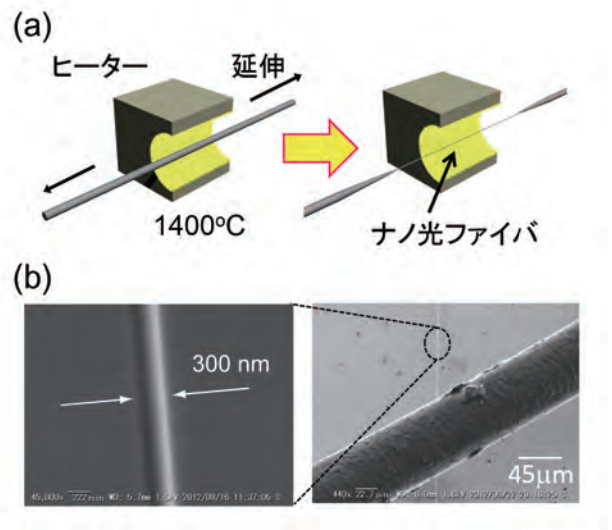

Figure 1　(a)ナノ光ファイバの作製方法
(b)ナノ光ファイバの電子顕微鏡画像(右は人間の毛髪との比較)

ナノ光ファイバ

ナノ光ファイバは，市販のシングルモード光ファイバの一部を加熱・溶融し，テーパ形状*1に延伸する事で作製する。特にテーパ部の直径を可視光波長以下(数百ナノメートル)にまで引き延ばしたものが近年実現可能となり，それらはナノ光ファイバと呼ばれている。光ファイバの加熱には酸水素バーナーや炭酸ガスレーザー，セラミックマイクロヒーターを用いる方法が知られている[4]。著者らはセラミックマイクロヒーターを用いて作製を行っている。**Figure 1a**のようにセラミックヒーターでシングルモード光ファイバ(Thorlabs社，630HP)を1300－1400℃程度に加熱した後，自動ステージによって引き延ばす。温度・延伸距離・延伸速度の3つを精密に制御する事により，直径300 nmかつ光損失が数％以下のナノ光ファイバが作製可能である(**Figure 1b**)。これまで著者らはこのナノ光ファイバの極細化に取り組んできた。最近では直径が300 nmかつテーパ部での光損失が1％以下の非常に良質なものまで作製可能となっている[5, 6]。また，延伸による光の減偏光がなく，光ファイバ用偏波コントローラを用いる事で，ナノ光ファイバ部での偏光状態を自在に制御する事が可能である[7]。**Figure 2**に直径300 nmと1200 nmのナノ光ファイバ中を導波する光(波長630 nm)の強度分布を示した。直径300 nmの場合，相当量の光強度がファイバ部の外に染み出しているが，波長より大きな直径の1200 nmの場合はほとんど染み出しが存在しない。また，直径300 nmの場合では，特に表面において強い電場集中が生じる[8]。この強い光の染み出しによって，後述のように，ナノ光ファイバ表面上に付着した蛍光性ナノ粒子からの高効率蛍光検出が可能となる。

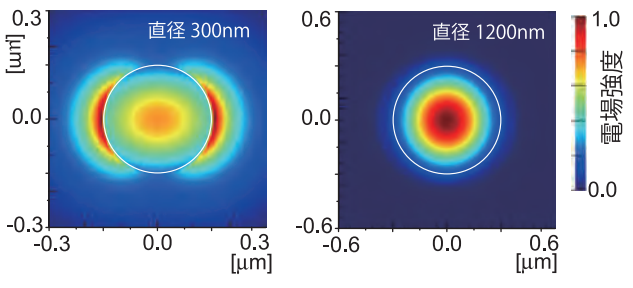

Figure 2　ナノ光ファイバの基本導波モードの電場分布
直径300 nm(左側)と1200 nmの場合(右側)

*1：円錐のように，先細りの形になっている形状の事。テーパ領域の先に長さ10 mmくらいのナノ光ファイバ部分が存在する。

表面吸着粒子による光散乱とナノ光ファイバの劣化

直径300 nmのナノ光ファイバを実現した後，大きな課題となったのが，透過率の急激な減少であった。直径1 μm程度の太めのファイバの透過率が，時間と共に徐々に(数日の内に)減衰していく事は2011年以前から様々な研究者によって知られていたが，その理由は深く調べられる事はなかった。しかし，直径が300 nmの場合は作製直後から僅か数時間(早い時には数10分)で光が全く通らなくなるなど深刻な問題となった。このナノ光ファイバの透過率減衰に関しては，空気中の水分が引き起こすマイクロクラックの影響や，酸素アタックの影響，また，空気中のホコリの影響などが指摘されていた。しかし，系統的な原因解明がなされておらず，統一的な見解が存在しなかった。そのため，各研究者がそれぞれの推測にもとづいて対策を取るという状況であった。

著者らはこの透過率減衰の原因を空気中の水・酸素・ホコリの影響に分類し，系統的に調べた。その結果，この減衰がホコリだけによるものである事を結論づけ，統一的な見解を与える事に成功した[5]。**Figure 3**に，通常実験室，準クリーンルーム(クラス10,000)，クリーンルーム(クラス10)での，直径300-400 nmのナノ光ファイバの透過率時間変化を示した。通常実験室では，測定開始後すぐに階段状の透過率の大きな減衰が観測された。その後も同様の階段状の

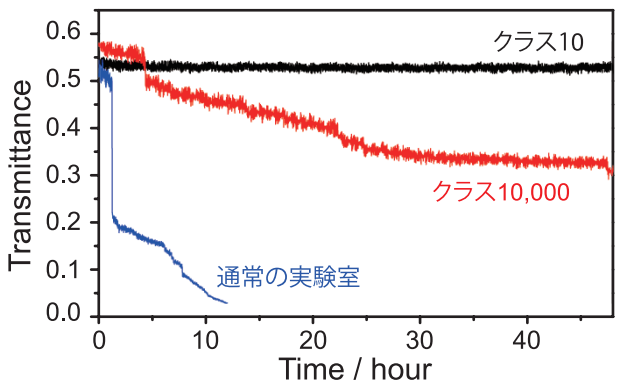

Figure 3　直径300-400 nmのナノ光ファイバの透過率時間変化

透過率減衰が観測され，6時間後にはファイバ中を光がほとんど通らなくなってしまった。準クリーンルーム（クラス10,000）では階段状の透過率減衰が観測されたものの，減衰の程度が大幅に改善される結果となった。そして，クラス10のクリーンルームでは2日間経過しても全く透過率減衰が観測されなかった（論文発表後の経験では数ヶ月の長期間でも透過率は減少しない）。なお，時間原点における透過率が0.55となっているのは，ファイバ接続による光損失を含んでいるためであり，ナノ光ファイバの透過率自体は全て0.9以上である事を確認している。これに加えて，クリーンルーム内で空気中の水分の影響も別に調べた結果，水による影響は全く無視できることが明らかとなった。これらの結果から，ナノ光ファイバの透過率減衰の原因は空気中のホコリによるものである事が分った。この知見は現在ではナノ光ファイバ開発における標準的認識となっており，通常クラス1,000程度の清浄度が必要とされている。

注目すべき事は，ナノ光ファイバが空気中のホコリ微粒子の検出センサになっている点である。特に階段状に見られる透過率の減衰は大きな粒子が付着したためであると推測される。実際，2014年にはこの原理を応用して，マイクロ流路中に埋め込んだナノ光ファイバを用いて超高感度に粒径測定を行う技術が報告されている[9]。このように，ナノ光ファイバは後述する蛍光検出以外の光検出法でもナノ粒子計測に利用可能である。

蛍光性ナノ粒子の超高感度検出

ナノ粒子（特に量子ドットなどの単一量子二準位系）からの蛍光は，レーザー光を照射すると光子1つの吸収・放出を繰り返すために，時系列で見ると光子が1粒1粒飛び出してくる。これを量子光学ではアンチバンチングと呼び，単にレーザー光の強度を弱くしただけの極微弱光とは光子統計の観点から区別されている（極微弱光の光子統計はポアソン分布に従う）[2]。このような光子列を発生するものを単一光子源と呼び，量子情報通信処理における光源として極めて重要なデバイスである。量子情報への応用を考えた場合，干渉性の確保や光ファイバネットワークという既存インフラの活用という観点から，単一光子源はシングルモードファイバに結合する事が必須である。単一ナノ粒子からの蛍光を捉えるためには，これまで対物レンズなどの顕微鏡系が用いられてきた。しかしながら，開口数（*NA*）の非常に大きな対物レンズを持ってしても，レンズの後に配置される様々な光学素子（レンズやピンホールなど）の影響もあり，シングルモードファイバへの結合は全発光量の1％にも達しなかった。この解決手段として本研究ではナノ光ファイバを用いた。

Figure 4に実験図を示す。直径300 nmのナノ光ファイバを用意し，極細部をCdSe/ZnS量子ドット溶液*2に浸す事で，

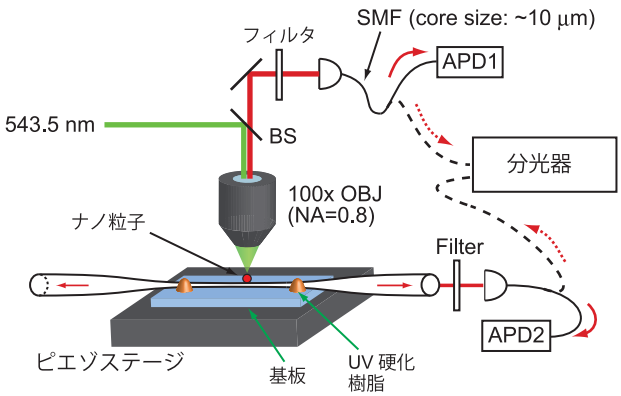

Figure 4　ナノ光ファイバとナノ粒子の結合効率測定実験
APD：単一光子検出器，SMF：シングルモードファイバ
OBJ：対物レンズ

量子ドットをナノ光ファイバ表面にディップコートした。これを共焦点顕微鏡の自動ピエゾステージに取り付けた。共焦点顕微鏡では，*NA*0.8の対物レンズを使用しており，励起光として波長543.5 nmのHe-Neレーザーを使用した。ナノ光ファイバ上の量子ドットからの蛍光は，自由空間中に放出される成分とナノ光ファイバ中に流れ込む成分の二つに分類される。自由空間中に放出された蛍光は対物レンズによって集光し，一般的な共焦点顕微鏡配置によって検出した。ここでは，ピンホールの代わりにコア径10 μm程度の光ファイバを用いた。ファイバに流れ込んだ蛍光は，励起光をフィルタによって除去した後，光子検出器で検出した。ピエゾステージを2次元にスキャンすることで，対物レンズによって集められた蛍光を検出する場合とナノ光ファイバに流れ込んだ蛍光を検出する場合のどちらでも，蛍光スキャニング画像が得られることになる。

Figure 5a, 5bはナノ光ファイバ上の単一量子ドットをそれぞれ対物レンズ，ナノ光ファイバから観察した場合の共焦点顕微鏡画像である。どちらの画像にも，量子ドットからの明るい発光点が観測されている。ナノ光ファイバで蛍光を検出した方が，対物レンズによって検出した場合よりも多くの蛍光強度を検出している。さらに，ナノ光ファイバの両端から蛍光が均等に射出される事を考えれば（これは実験的に確かめている），25 kHzの2倍，つまり50 kHzの蛍光がナノ光ファイバに結合している事が分かる。**Figure 5c**はこの発光点からの蛍光の二次光子相関関数測定の結果である。二次光子相関関数測定は，発光体からの光子が光子検出器1（*APD1*）と光子検出器2（*APD2*）によって同時に検出される頻度を，検出信号の時間差に対してヒストグラム化したものである。時間差ゼロの時に頻度がゼロになった場合（より厳密には$g^{(2)}(0)<0.5$），発光体は単一の量子二準位系である事を示している（アンチバンチング）。**Figure 5c**においては，非常に良好なアンチバンチングが観察されており（$g^{(2)}(0)=0.096$），共焦点顕微鏡画像に写った発光点が単一の量子ドットである事を示している。

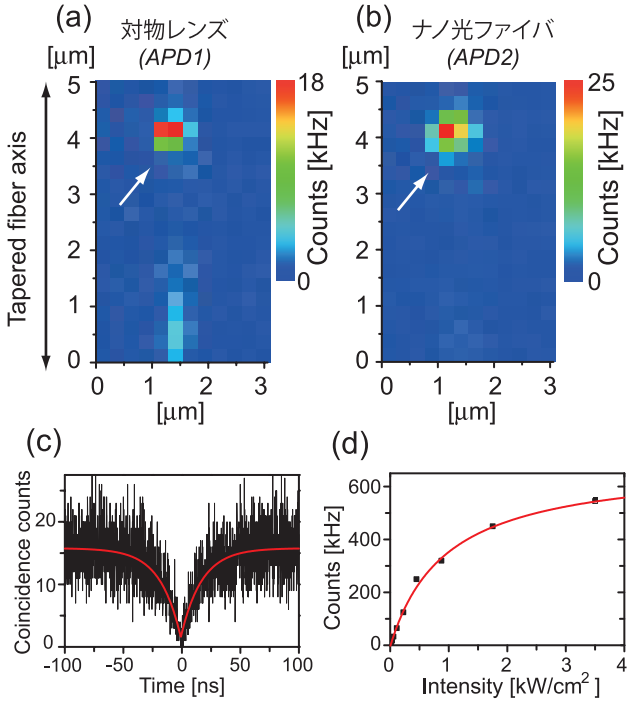

Figure 5　(a)対物レンズ，もしくは(b)ナノ光ファイバから検出した蛍光強度を用いた蛍光スキャニング顕微画像。同じ量子ドットが両方で見える，(c)矢印で示された量子ドットが示した二次光子相関関数ヒストグラムと(d)ファイバ片端からの蛍光強度の励起強度依存性

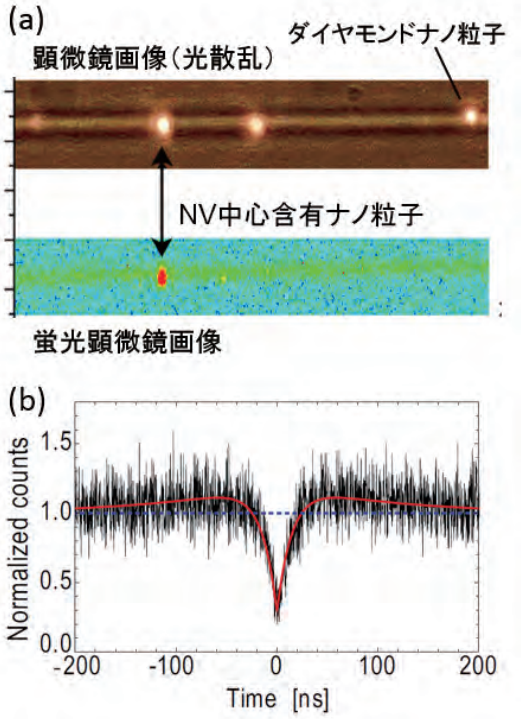

Figure 6　(a)ダイヤモンドナノ粒子の顕微画像
(b)その二次光子相関関数データ

次に，量子ドットからの総発光量の何%がナノ光ファイバに結合しているかを決定するために，蛍光強度の励起強度依存性を測定した。量子二準位系では，励起状態の寿命の逆数によって決定される理論上最大の蛍光光子数が存在する(蛍光飽和)。この量子ドットの寿命は，**Figure 5c**の指数関数曲線の時定数から35.4 nsであった。逆に，**Figure 5d**による蛍光強度の励起強度依存性の結果では，実際に検出した飽和蛍光光子数は1.2 MHzであった。この比率を取ると共に，単一光子検出器の量子効率とナノ光ファイバ直後に配置されたフィルタ，光ファイバへの再結合効率を考慮すると，実に総発光量の7.4%の蛍光がナノ光ファイバに結合し，最終的にシングルモードファイバ端から射出されている事が明らかとなった[10]。この結合効率はより詳細な実験解析によって，実際には，約20%という値であった事が，後に報告されている[11]。さらに同様の手法をダイヤモンドナノ結晶中のNV中心*3にも応用する事で，689 kHzという非常に大きな蛍光光子数を単一のNV中心からシングルモードファイバへ結合する事にも成功した[12]。ダイヤモンドは屈折率が非常に大きく，全反射の影響で空気中に蛍光を取り出す事が困難であったため，対物レンズなどでは60 kHz程度の蛍光検出強度が限界であった。この結果は，ナノ光ファイバの蛍光検出デバイスとしての有用性を如実に示している。

*2：CdSe/ZnSコロイド型量子ドットは，数nmの直径のCdSeナノ粒子の表面をZnS層で覆ったもの。全体で数十個の原子で構成される。高い蛍光量子効率を持ち，粒子のサイズに応じて蛍光波長を変化させられる。生体イメージングや，照明，ディスプレイ，太陽電池など，さまざまな用途への利用が検討されている。

*3：ダイヤモンド窒素欠陥(NV)中心は，ダイヤモンド中に窒素が不純物として混入する事で形成される，ダイヤモンド中の色欠陥中心。NV中心を多く含むダイヤモンドは黄色を呈する。バルク結晶中にもナノ結晶中にも安定して存在する。生体毒性がなく，非常に安定な蛍光を示す。量子ドットと同様に，生命科学応用からエレクトロニクス応用まで，幅広い応用が検討されている。

おわりに

ナノ光ファイバを用いた光検出技術は現在極めて活発に研究が行われている。ごく最近では，ナノ光ファイバ表面に周期構造(ファイバブラッググレーティング構造)を刻んで光共振器構造を刻む研究が報告されている[13, 14]。共振器による光物質相互作用の増大により，更なる高効率蛍光検出(理論的にはほぼ100%)が可能となる事が理論予測されている。このような光検出効率を極限まで追求する研究は，特に量子情報通信分野への応用を指向している。一方，この超高感度光検出技術をセンシングや分析技術として利用する試みが始まっている。本文中でも少し触れたが，マイクロ流路中に埋め込んだナノ光ファイバを用いた粒径計測などの注目すべき成果が報告されている[9]。同様に，本研究で示したナノ光ファイバの蛍光検出技術も，マイクロ流路中の超高感度蛍光センサとしての利用が期待される。ま

た，ナノ光ファイバによって金属ナノ構造中の表面プラズモンが高効率に励起可能な事が明らかとなっており[15]，超高感度バイオセンサとしての展開も今後期待される。

謝辞

本研究は，著者が北海道大学に在籍していた時に主に行われたものです(国立大学附置研究所間連携事業のため一貫して大阪大学に常駐)。また，独国ベルリン・フンボルト大学との共同研究として，研究の一部が行われました。特に，多くのご支援とご協力を頂きました竹内繁樹教授(現・京都大学)，Oliver BENSON教授(フンボルト大)に，この場をかりて深く御礼申しあげます。また，共に研究し，日頃から様々な議論を頂きました竹内研究室，BENSON研究室のスタッフ，学生の皆様に心より感謝申しあげます。

参考文献

[1] 米澤徹(編)，“ナノ粒子の創製と応用展開”，(フロンティア出版，2008)．
[2] 竹内繁樹，“量子コンピュータ”，(講談社ブルーバックス，2005)．
[3] C. Gell, D. Brockwell, and A. Smith, “Handbook of Single Molecule Fluorescence Spectroscopy”, pp. 99(Oxford University Press, New York, 2008)．
[4] G. Brambilla, *J. Opt.*, **12**, 043001(2010)．
[5] M. Fujiwara, K. Toubaru, and S. Takeuchi, *Opt. Express*, **19**, 8597(2011)．
[6] R. Nagai and T. Aoki, *Opt. Express*, **22**, 28427(2014)．
[7] H. Konishi, H. Fujiwara, S. Takeuchi, and K. Sasaki, *Appl. Phys. Lett.*, **89**, 121107(2006)．
[8] M. Almokhtar, M. Fujiwara, H. Takashima, and S. Takeuchi, *Opt. Express*, **22**, 20045(2014)．
[9] X.-C. Yu, B.-B. Li, P. Wang, L. Tong, X.-F. Jiang, Y. Li, Q. Gong, and Y.-F. Xiao, *Adv. Mater.*, **26**, 7462(2014)．
[10] M. Fujiwara, K. Toubaru, T. Noda, H.-Q. Zhao, and S. Takeuchi, *Nano Lett.*, **11**, 4362(2011)．
[11] R. Yalla, F. L. Kien, M. Morinaga, and K. Hakuta, *Phys. Rev. Lett.*, **109**, 063602(2012)．
[12] T. Schröder, M. Fujiwara, T. Noda, H.-Q. Zhao, O. Benson, and S. Takeuchi, *Opt. Express*, **20**, 104790(2012)．
[13] A. W. Schell, H. Takashima, S. Kamioka, Y. Oe, M. Fujiwara, O. Benson, and S. Takeuchi, *Sci. Reports*, **5**, 9619(2015)．
[14] R. Yalla, M. Sadgrove, K. P. Nayak, and K. Hakuta, *Phys. Rev. Lett.*, **113**, 143601(2014)．
[15] X. Guo, M. Qiu, J. Bao, B. J. Wiley, Q. Yang, X. Zhang, Y. Ma, H. Yu, and L. Tong, *Nano Lett.*, **9**, 4515(2009)．

藤原 正澄
Masazumi FUJIWARA
関西学院大学　理工学部
環境・応用化学科
助教
博士 (理学)