

小型エンドキャプトラップの製作と微小液滴が示す 励起光共鳴に起因した蛍光増強効果の観測

阪市大院理

○佐野元哉, ハッ橋知幸, 迫田憲治

Construction of a small endcap trap and observation of fluorescence enhancement effect caused by excitation light resonance on a microdroplet

○Motoya Sano, Tomoyuki Yatsuhashi, Kenji Sakota

Division of Molecular Material Science, Osaka City University, Japan

【Abstract】 Single-molecule spectroscopy using a confocal laser scanning microscope is a powerful technique for directly observing the behavior of individual molecules. ^[1] However, observing a specific molecule in solution for a long time is generally difficult because the molecules in the solution get out of an observation area in a short time due to Brownian motion. A single levitated microdroplet in the air is a superior platform of observing a specific molecule in solution for a long time because the molecule is confined in the microdroplet. Recently, we constructed a small endcap trap, which was originally developed by Schrama for laser cooling, ^[2] in order to improve the detection efficiency of photons. The emission spectra from dye molecules in the single microdroplet levitated by using the endcap trap have a sufficient S/N ratio with low excitation light intensity. In this study, we measured the time evolution of the emission spectra in the same single microdroplet for a long time.

【序】 共焦点レーザー顕微鏡を用いた単一分子分光は、個々の分子の振る舞いを直接観察することができる強力な手段である[1]。しかしながら、溶液中の分子はブラウン運動によって短時間のうちに観測領域から逃げ出すため、溶液中で1分子のみを長時間にわたり観察し続けることは一般的に困難である。我々は、溶質分子を1分子だけ含む単一微小液滴を安定に空間捕捉できれば、長時間にわたり溶液環境で一分子計測を行うことができる、という考えに基づき、その実現を目指して研究を進めている。最近、当研究室では Schrama らによって原子イオンのレーザー冷却用に開発された小型エンドキャプトラップを製作した[2]。シンプルな構造を有する小型エンドキャプトラップは、対物レンズと液滴の間に障壁物が存在しないので、光捕集の立体角を大きくすることができる。よって、これを用いれば発光スペクトルの高感度観測が可能になる。本研究では、小型エンドキャプトラップを用いて単一微小液滴を空間捕捉し、励起光強度を十分弱くした実験条件で、同一の単一微小液滴からの発光スペクトルを長時間観測した。

【方法】 エレクトロスプレー法を用いて生成した Rhodamine B (RhB) を含む微小液滴 (RhB の濃度は 10^{-5} M, 溶媒はメタノール/グリセリン混合溶媒) を小型エンドキャプトラップによって空間捕捉した (Fig. 1)。捕捉された単一微小液滴にピコ秒パルスレーザーを照射し、作動距離が 2 mm の対物レンズ (NA 0.8) を用いて液滴からの発光を捕集した。これを冷却 CCD 検出器付き分光器に集光することで微小液滴に含まれる RhB からの発光スペクトルを測定した。

【結果・考察】 小型エンドキャプトラップは直径が 0.7 mm のステンレスワイヤー

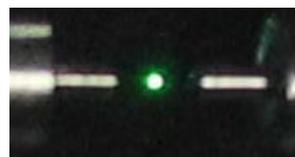


Fig. 1. A single levitated microdroplet in the air using the small endcap trap.

と外径が 3.18 mm, 肉厚が 0.7 mm のステンレスチューブで構成されている。ステンレスワイヤーとステンレスチューブは PTFE チューブで絶縁されている。ステンレスワイヤーに方形波もしくは正弦波を印加することで、向かい合うステンレスワイヤーの間にトラップポテンシャルを形成した。

単一微小液滴に溶存した RhB からの発光スペクトルには鋭い発光線が観測される。これは、微小液滴の気液界面近傍で RhB からの蛍光が全反射を起こし、共振するためである (Whispering gallery mode)。Mie の散乱理論を用いると、各発光線を帰属でき、微小液滴の直径を精密に決定することが可能である。

RhB を含む液滴の発光スペクトルを 3 秒間隔で連続測定した。Fig. 2 は、1 回目の測定を時間ゼロと定義し、測定の時間経過に対して各時間に観測された発光スペクトルの積分強度をプロットしたものである。Fig. 2 を見ると、3 つの時間領域において発光強度が著しく増大していることが分かる。点線で囲んだ部分の発光スペクトルの時間変化を Fig. 3 に示す。最初は弱い発光を示しているが、時間経過とともに発光強度が著しく増加し、その後、減少していることが分かる。測定した 375 本のスペクトルを解析し、各測定時間における液滴の直径を決定した (Fig. 4)。Fig. 4 から、時間経過とともに溶媒が蒸発していき、液滴が小さくなっていることが分かる。Fig. 4 では「測定時間」と「液滴の直径」が 1:1 に対応しているため、これを利用すれば、Fig. 2 の横軸を測定時間から液滴の直径に変換できる。つまり、液滴中の RhB からの発光は、液滴の直径が特定の大きさ (の近傍) で特異的に増大していることが分かる。

Mie 理論では、液滴の直径と共振波長を結びつける量としてサイズパラメータ (x) が用いられており、 $x = 2\pi r / \lambda$ で表すことができる。ここで、 $2\pi r$ は液滴の外周、 λ は共振波長である。液滴の共振波長を励起光の波長である 530.2 nm と仮定し、Fig. 2 の横軸を「サイズパラメータ」に変換したプロットを Fig. 5 に示す。また Mie 理論を用いると、液滴の共振モードがどのサイズパラメータで現れるかを理論的に予測できる。Fig. 5 に Mie 理論による予測を棒グラフとして示した。Fig. 5 を見ると、発光強度が増大しているサイズパラメータと Mie 理論が予測する共振モードのサイズパラメータが極めてよく一致していることが分かる。これは、サイズパラメータを算出するときに置いた作業仮設である「液滴の共振波長を励起光の波長と仮定する」ことが正しかったこと、つまり、励起光が液滴の共振モードと共鳴していることを意味する。液滴の直径は溶媒が蒸発することで連続的に変化するが、ある特定の直径になったときに励起光が液滴の共振モードと共鳴する (閉じ込められる) ことで液滴内部の実効的な励起光強度が増大する。これが原因で液滴からの発光強度が著しく増大したと考えられる。

【参考文献】 [1] Moerner and Fromm, *Rev. Sci. Instrum.*, **74**, 3597-3619 (2003)., [2] Schrama *et al.*, *Opt. Commun.*, **101**, 32-36 (1993).

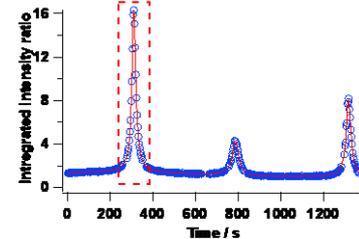


Fig. 2. Time evolution of the integrated emission intensity of a single microdroplet.

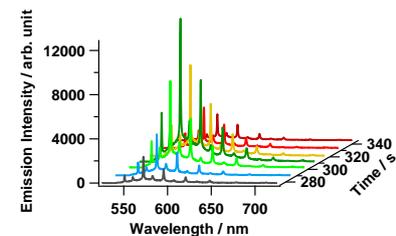


Fig. 3. Time evolution of the emission spectra in the red dotted region of Fig. 2.

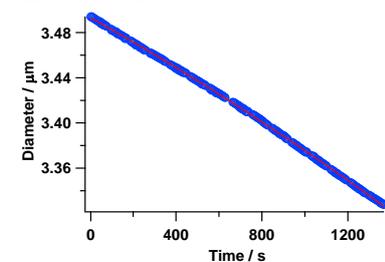


Fig. 4. Time evolution of the diameter of the single microdroplet.

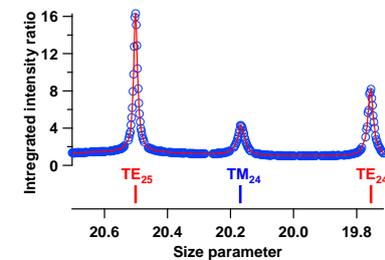


Fig. 5. The integrated emission intensity of a single microdroplet as a function of size parameter, and theoretical size parameters in which resonance modes appear.