

Technical Note

# 为什么使用 TCSPC 进行荧光寿命测量？



EDINBURGH  
INSTRUMENTS

TCSPC (时间相关单光子计数) 是一种进行荧光寿命测试的技术。这种技术在测试灵敏度、动态范围、数据准确度和精密度上具有不可比拟的优势。

## 灵敏度:

TCSPC 测量的是单光子, 需要一个高频脉冲激发光源。每次检测一个光子信号强度, 每秒钟会有几千甚至一百万次重复累积单光子的过程, 之后我们可以得到一条与荧光寿命测试相关的衰减曲线。

每次只有一个光子被检测到, 所以激发样品所用的光源脉宽需要有一个最小的脉冲能量。这可以使样品的降解最小化以及避免非线性样品效应。

## 测量形式:

TCSPC 是一种时域技术, 通过数据累积, 最后显示出来可以用于分析的是一张以信号强度相对时间轴为函数的图形, 时间尺度通常是皮秒、纳秒甚至是微秒级别的。图 1 显示了纵坐标以对数形式表示的多指数衰减的复杂动力学过程。

## 时间分辨率:

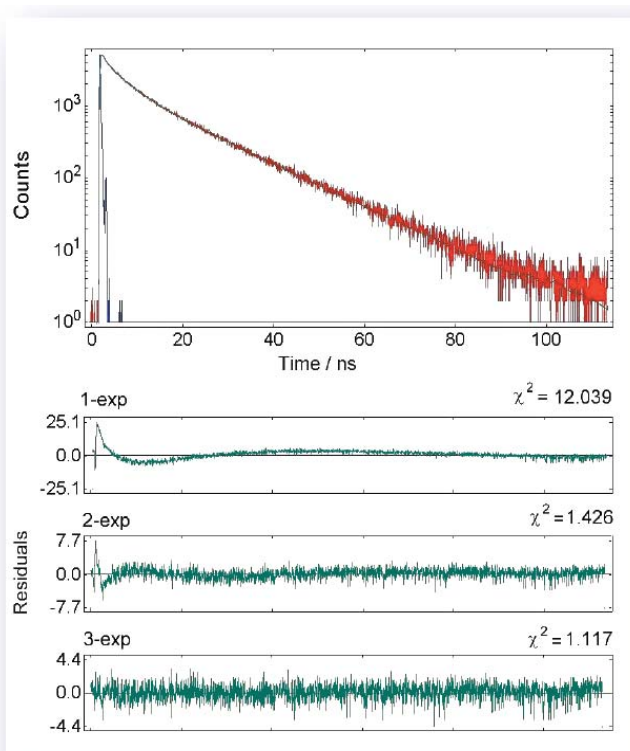


图 1. 三指数衰减曲线, 纵坐标以对数形式显示。波动偏差和 $\chi^2$ 数值显示这条衰减曲线包含三个指数组分。

天美（中国）科学仪器有限公司  
TECHCOMP (CHINA) LTD.  
  
中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层  
TEL:010-64010651  
FAX:010-64060202  
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn

TCSPC 使用单光子计数的检测器，相比于其他技术，具有很高的时间分辨率。这使得其从上转换、自相关技术和条纹相机技术中脱颖而出。TCSPC 的一个很明显的优势就是这种技术不需要使用模拟信号检测器的响应获得仪器响应函数。模拟检测器会产生很大的计时抖动，而使用光电倍增管检测器的计时抖动只有模拟检测器的 10%。

**噪声统计：**

TCSPC 是一种计数技术，主要是一种数字技术而不是模拟技术。唯一相关数据的噪声来源是泊松噪声( 计数噪声 )。泊松噪声是数据的均方根值。如果检测器检测到衰减曲线之外的一个单点数据，那么同时就在标准偏差上引入了一个噪声误差。

事实上我们知道噪声是大量的数据分析产生的结果，其中每一个数据点需要重新进行权重表征。泊松分布的噪声实际上主要是动态范围造成的。

**动态范围：**

TCSPC 数据遵循泊松噪声统计学原则。泊松噪声不是一个常量，而理论上是加到衰减曲线的每一个数据点上的。每一个数据点的噪声水平都是不一样的，信号自身的均方根值也不一样。简单说数值大的数据要比数值小的噪声更大。因此，相对于模拟技术，在 TCSPC 中较小的数据值可以得到更好进行观察和分析。TCSPC 数据通常以半对数坐标形式出现的原因是数据泊松分布噪声的存在。

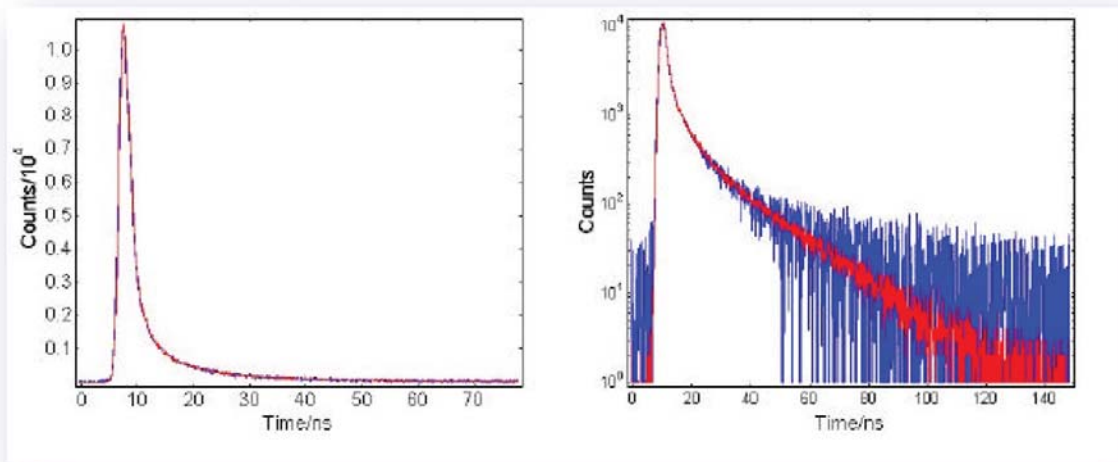


图 2.典型的荧光衰减曲线，泊松噪声（红线），高斯噪声（蓝线）。上图显示了线性和对数坐标尺度的对比。很明显可以看到以泊松噪声统计方式得到的衰减曲线具有更高的动态范围。

**时间范围：**

天美（中国）科学仪器有限公司  
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层  
TEL:010-64010651  
FAX:010-64060202  
E-MAIL:techcomp@techcomp.cn

---

TCSPC 可以覆盖 7 个数量级的时间范围。当我们使用模锁激光器和超快检测器 (MCP-PMTs) 的时候可以获得 50ps 的仪器响应函数。经过重卷积可以拟合得到的最短荧光寿命是  $\sim 5\text{ps}$  ( $5 \times 10^{-12}\text{s}$ )。寿命检测上限取决于激发光源的重复频率，检测器的暗计数水平和用户预计用在获取数据上的时间 (低频脉冲光源当要达到相同计数时需要花费更多时间)。50 $\mu\text{s}$  ( $5 \times 10^{-5}\text{s}$ ) 是通常的检测上限。

### 稳定性：

TCSPC 对于激发光源的脉冲强度的波动、检测器输出脉冲的波动和检测器的噪声信号是不灵敏的。背景信号 (服从泊松统计) 可以通过设定阈值来消除，阈值设定可以只允许达到一定强度的脉冲信号通过。恒比甄别器可以通过最快上升的脉冲来评估脉冲的时间位置。由于光源不稳定性或者光电倍增管的脉冲高度的特性本质带来的影响可以消除。