

Technical Note

# TCSPC (时间相关单光子计数) 是什么？



EDINBURGH  
INSTRUMENTS

## 工作原理

TCSPC (Time-correlated single-photon counting, 时间相关单光子计数) 是一种很成熟且在荧光寿命测量中应用最多的技术, 在光子迁移测量、光学时域反射测量和飞行时间测量中也正变得越来越重要。

TCSPC 的主要原理为: 检测单光子及单光子相比于光源的同步信号到达检测器的时间。时间相关单光子计数需要一个高频重复的脉冲光源以累计足够多的光子数以用于数据分析。

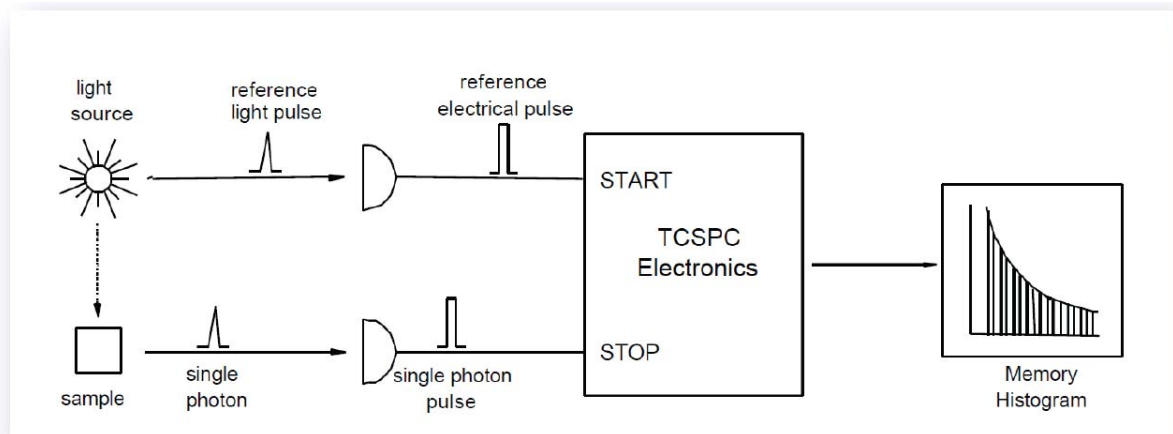


图 1. TCSPC-具有两个输入的快速秒表

TCSPC 的电子部分可以比作一个具有两个输入的快速秒表 (图 1)。这个秒表被 START 信号的脉冲触发, 而由 STOP 信号脉冲来终止计时。一次 START-STOP 记录下的时间将在柱状图中加入一个记忆数值, x 轴上的通道数则代表相应的时间。上百万次 START-STOP 循环将会在很短的时间内得到。最终显示在柱状图上的计数相对时间的函数实际上就代表了荧光强度相对时间的曲线。

一般来说, 输入 TCSPC 电子部分的单次脉冲 (START 或 STOP) 都是一个单光子产生的。可

以通过控制光子检测器一个特定的高增益值来检测单光子。大部分单光子检测器都是光电倍增管、微通道板光电倍增管，此外，单光子雪崩光电二极管也可以用于检测。从统计学的角度讲，确保每次闪烁时只检测不多于一个光子是十分重要的。多光子检测会影响柱状图的统计性，引起测量的误差（通常文献报道的“脉冲堆积效应”）。为了确保每次灯闪烁时只有一个光子被检测到，检测器检测光子的速率要保持在很低的数值，相比于激发光来看，通常是 5%或者更低。

## TCSPC 电子部分

TCSPC 信号处理的主要构成部分为：恒比甄别器( CFD ),电子延迟( DEL ),时幅转换器( TAC ),放大器（在 TAC 和 ADC 之间）, 模拟数字转换器（ADC）和数字记忆（MEM）。（图 2）

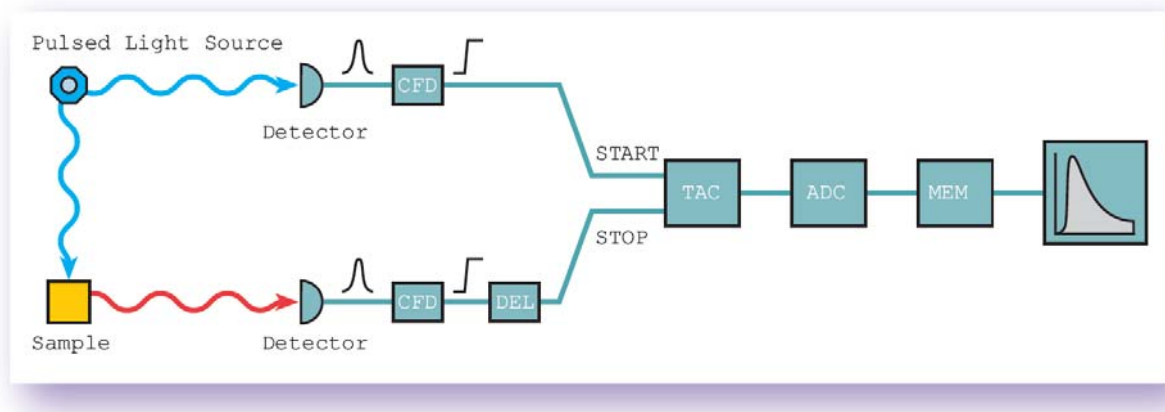


图 2. TCSPC 中信号处理主要构成部分

当电子部分有输入信号时，到达的脉冲信号会根据其脉冲高度进行评估。只有脉冲高度高于某一个阈值的信号能被接收用于进一步的信号处理。因此，小振幅的噪声信号将会被屏蔽掉。

分别位于 START 和 STOP 侧的恒比甄别器接着会对单独脉冲信号的形状进行分析。输入脉冲（通常是负脉冲）的初始边缘最陡的斜率部分将会被选择作为时间位置。至于是哪一部分的斜率将被选取主要取决于分数、恒比分数延迟（或者形状延迟），零点交叉线。

阈值、分数、恒比分数延迟和零点交叉线将取决于使用的检测器的类型并需要和检测器想匹配。

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

CFD 的输出信号脉冲经过重塑来得到一个标准的高度和形状。它们可以通过电子位移延迟来调节。这个延迟设置会使整个测量曲线在时间轴上向左或者向右移动。

TAC 相当于一个快速秒表，由 START 触发而由 STOP 停止。START 信号会触发信号斜线上升的增长。斜线增长的高度取决于 STOP 脉冲到达的时间。一旦斜升电压停止，高度将保持恒定在一个特定的周期内。TAC 输出的脉冲将会被放大，因此可以有效地拉伸时间轴。最小和最大可得的（放大）TAC 脉冲振幅决定了时间范围。

经过放大的 TAC 输出脉冲实际上相当于在一个单次 START-STOP 循环中模拟脉冲高度。这个脉冲高度将会被一个数字脉冲高度测量装置进行进一步处理，也就是 ADC。ADC 的分辨率决定了有多少离散时间的可能性。所有可能的 TAC 脉冲振幅因此会被放入不同的时间通道中。时间通道的宽度是全部时间范围和 ADC 通道分辨率的比值。实际上就是时间分辨率，经常以皮秒/通道或者纳秒/通道为单位。

### 正接和反接模式

在 TCSPC 中有两种操作模式：正接和反接。在正接模式中，光源的脉冲速率接入 START 的入口中。这个速率（通常是等距周期性脉冲）远远大于连接到 STOP 上的检测器的随机脉冲速率。正接模式的优点在于不需要位移延迟或者这个延迟相当小，更长延迟时间的光子将会显示在更长的时间尺度上。所以不需要进行时间尺度的转换。

然而，当光源的闪烁频率太高时，正接模式的缺点将显而易见。因为大量的 TAC 循环过程将会被 START 脉冲触发，而不会被 STOP 信号停止。这就需要在溢出上进行重新设置。电子部分将会需要进行比实际需要多 20 倍的处理。对于电子电路来说，每秒工作的上限（整个体系的死时间）也就是最高的计数率过程将会减少为 1/20。为了避免这种现象（以及充分利用信号处理能力），TCSPC 将以另外一种模式进行工作，即反接模式。在这种模式下，带有高频计数率的光源信号线将会连接到

S T O P 接口而低速率的连接到 S T O P 接口。这种工作模式的缺点是光源脉冲需要一个长时间延迟，使其到达 T A C 的时间要晚于检测器带来的 S T A R T 脉冲。一般来说，延迟都会稍微比所选的测量时间要稍微长一些。在反接模式下，记忆直方图中的时间轴也会进行内部翻转，以匹配长时间延迟下的光子。

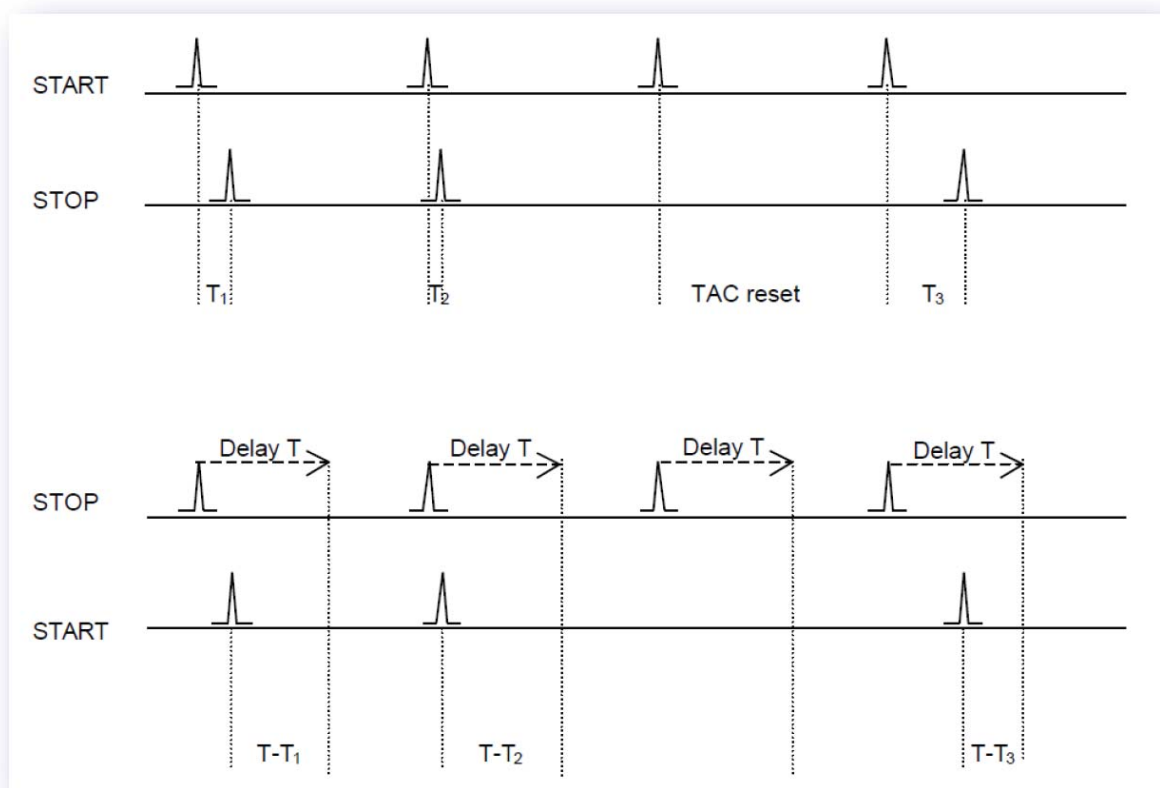


图 3. 正接模式（上图）和反接模式（下图）

### 时间分辨率和寿命范围

TCSPC 可以测量寿命的范围从  $5\text{ps}$ ~ $50\mu\text{s}$  ( 约为 7 个数量级 )。最低的检测限由 TCSPC 的电子部分决定，最高检测限由所能提供的获取数据合理准确度的时间决定。

然而，在大多数情况下，不是 TCSPC 技术本身决定可测量的时间范围和时间分辨率，而是取决于光源和所用检测器。

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

寿命测试范围的最低值（或者时间分辨率）可以用以下公式来表达：

$$\tau_{\min} = \frac{1}{10} \sqrt{\text{FWHM}_{\text{Light Source}}^2 + \text{FWHM}_{\text{TTS Detector}}^2 + \text{FWHM}_{\text{Electronics Jitter}}^2} .$$

公式 1

公式 1 中的平方和是评价仪器响应函数的重要参数（也可以用散光剂代替荧光样品测量得到）。这个值的 1/10 代表最短能测寿命数值。通常激发光的脉宽（ $\text{FWHM}_{\text{Light source}}$ ）和检测器响应的宽度( $\text{FWHM}_{\text{TTS Detector}}$ )决定时间分辨率。

寿命测试的最高限主要由激发光源的重复频率决定，但同时也会受到检测器暗噪声影响。如果荧光还没有来得及完全衰减到零而下一次脉冲又已经开始激发样品，会使背景信号增强，从而限制动态范围。如果荧光完全衰减到峰值信号的 1/10000 以下，那么最长的可测荧光寿命  $\tau_{\max}$  可以用以下公式定义：

$$\tau_{\min} = \frac{1}{f_{\text{Light Source}}} .$$

公式 2

同样的，当检测器的暗电流十分大的时候，在测量数据的过程中也会累积背景信号。类似的重复频率的问题也会限制动态范围。要把背景信号暗计数的速率包含在上述公式中是非常复杂的，因为需要考虑好几个因素。此外，用户能够容忍的背景信号的数量各不相同。经验的规则是：暗计数越大，长时间范围的测量会越不准确（特别对于弱发光样品）。