

基于一级傅立叶级数的相调制法荧光寿命测量

祝诗扬, 黄世华*, 陈多佳, 邓召儒

(北京交通大学光电子技术研究所 教育部发光和光信息技术重点实验室, 北京 100044)

摘要: 针对纳秒量级荧光寿命的测量, 提出一种改进的相调制法, 提取周期性激发信号和相应的发射波形信号傅立叶级数中的一级项, 按照相位法测量荧光寿命的原理求得荧光寿命 τ 值。据此采用易于调制的发光二极管为激发光源, 充分利用实验室常用的仪器资源, 设计了一种针对单指数衰减的测量系统。该系统主要由激发光源、光谱仪、示波器三部分组成, 结构简单灵活、抗噪性好。对测量原理、频率的选择、系统的组成进行了详细讨论。利用该系统测量了乙醇溶液中甲酚紫 (0.0033 mol/L) 的 τ 值为 $(4.03 \pm 0.87) \text{ ns}$ 与采用德国 PicoQuant 公司 TCPCSC 仪器测量的结果 4.24 ns 相当。

关键词: 荧光寿命; 相调制法; 傅立叶级数; 发光二极管

中图分类号: O482.31; TN247; TH744.1

PACC: 0765E

文献标识码: A

1 引言

荧光寿命是表征材料发光特性的重要参数。荧光寿命的测量不仅是发光材料研究, 也是化学、生物等领域研究所需要的一种重要实验手段。允许跃迁的荧光寿命通常为 ns 量级, 目前针对 ns 量级的荧光寿命测量技术主要有: 时间相关单光子计数法、取样法和相调制法。这些方法大都需要结构复杂、造价昂贵的仪器。因此, 本文提出了一种针对单指数衰减的、充分利用实验室常用的荧光光谱仪和数字示波器的测量方法。该方法在相调制法的基础上, 提取周期信号傅立叶级数中的一级项, 有效降低了测量系统的实现难度, 并极大地减小了噪声的影响。同时采用光谱窄、成本低、易于调制的发光二极管 (LED) 作为激发光源, 使得系统结构简单灵活, 易于组建。

2 测量原理

单指数衰减的相调制法原理如图 1 所示。用角频率为 ω 的正弦调制激发光 $E(t)$, 激发被测样品。设样品的荧光寿命为 τ 稳态下激发光 $E(t)$ 和样品的发射光 $I(t)$ 可分别表示为:

$$E(t) = 1 + m \sin(\omega t) \quad (1)$$

$$I(t) \propto 1 + \left| m / (1 + \omega^2 \tau^2)^{1/2} \right| \sin(\omega t - \varphi),$$
$$\varphi = \arctan(\omega \tau) \quad (2)$$

与 $E(t)$ 相比, $I(t)$ 有相同的频率 ω , 但相位滞后了 φ 。根据相调制法原理, 测得两波形的相位角或调制度之比, 就能得到荧光寿命 τ 值^[1]。

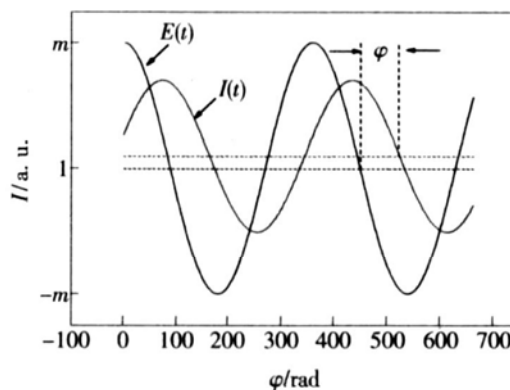


图 1 相调制法原理图

Fig 1 The principle of phase modulation measurement

但实验中, 受调制器件和光源的影响, 要使激发光强波形 $E(t)$ 严格简谐比较困难, 激发光波形中的高次谐波影响测量精度。此外, 发射光较弱时噪声的影响也进一步降低了结果的准确性。针对这个问题, 本文提出了一种改进的相位法, 可以用任意波形的周期性光 $E(t) = E(t+T)$ 作为激

收稿日期: 2008-01-27; 修订日期: 2008-05-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (10374002)

作者简介: 祝诗扬 (1983-), 女, 重庆人, 主要从事荧光寿命测量的研究。

*: 通讯联系人; E-mail: shuang@bjtu.edu.cn; Tel: (010) 51683414

发光来测量荧光寿命。把周期为 T 的周期函数 $E(t)$ 在 $[-T/2, T/2]$ 上展为 Fourier 级数:

$$E(t) = \frac{A_0}{2} + \sum_{n=1}^{\infty} [A_n \cos(n\omega t) + B_n \sin(n\omega t)] = \frac{A_0}{2} \left| 1 + \sum_{n=1}^{\infty} a_n \sin(n\omega t + \Phi_n) \right| \quad (3)$$

其中, $a_n = 2 \sqrt{A_n^2 + B_n^2} / A_0$, $\Phi_n = \arctan(A_n / B_n)$ 。

样品发光曲线 $I(t)$ 正比于激发光 $E(t)$ 和单指数衰减函数 $e^{-t/\tau}$ 的卷积,

$$I(t) \propto \int_{-\infty}^t e^{-(t-t')/\tau} E(t') dt' \quad (4)$$

将式 (3) 代入式 (4), 整理后得到:

$$I(t) \propto 1 + \sum_{n=1}^{\infty} m_n a_n \sin(n\omega t + \Phi_n - \varphi_n) \quad (5)$$

其中 $\varphi_n = \arctan(n\omega\tau)$ 是 $E(t)$ 和 $I(t)$ 的 n 次谐波间的相位差; $m_n = 1 / (1 + n^2 \omega^2 \tau^2)^{1/2}$ 。由此可得:

$$\tau = \tan \varphi_n / (n\omega) \quad (6)$$

由于噪声一般频率较高, 为避免噪声干扰, 仅采用基波 ($n=1$) 作为有效数据进行计算求出 τ 。

3 系统设计

测试系统装置简图如图 2 所示, 主要由激发光源、光谱仪、数字示波器三部分组成。

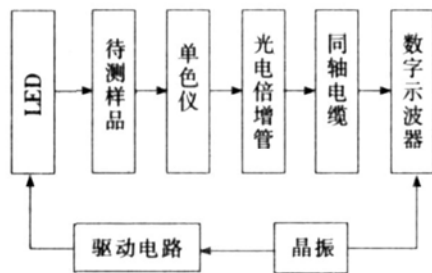


图 2 系统装置简图

Fig 2 The setup components of the test system.

激发光源受周期性变化的电信号驱动发光, 从而激励样品发光, 用光谱仪完成波长的选择, 由光电倍增管 (PMT) 将光信号转换为电信号, 得到激发光和发射光的光强随时间周期性变化的发光波形, 利用数字示波器完成模拟信号和数字信号的转换 (A/D 转换), 最后利用 VB 程序进行数据处理求得 τ 值。

自行组装的激发光源由 LED、晶体振荡器和驱动电路组成。目前 LED 从红外到深紫外 (255 nm) 都已商品化, 具有可选波长覆盖范围广、光谱

窄、成本低、响应快的优点。同时, 调制手段简单, 与电光调制相比, 更加灵活, 易于实现。实验时, 应根据样品情况选择相应波长的 LED。本文采用的紫光 LED 峰值波长为 403 nm, 半峰全宽 11 nm。晶体振荡器可输出数 kHz 到 160 MHz 的方波信号, 用作调制 LED 发光的信号源。LED 光强由工作电流决定, 驱动电路将晶振产生的电压信号转换为电流信号, 并隔离信号源和负载, 有利于晶振的稳定工作。

由式 (6) 可知, τ 和相移 φ 的关系并非线性。激发频率太低会造成 $\tau\omega$ 接近零值, 从而 φ 也接近零, $E(t)$ 和 $I(t)$ 波形重叠在一起, 极易造成误差。设 $t = 10$ ns, 采用正弦波激发, 重复频率 1 kHz 则 $\tan \varphi = \tau\omega = 2\pi \times 10^{-5}$, 因此 $\varphi \approx 2\pi \times 10^{-5}$, 相移角度仅有 0.0036°。若激发光重复频率提高为 1 MHz 则 $\tan \varphi = 2\pi \times 10^{-2}$, 从而 $\varphi \approx 2\pi \times 10^{-2} = 3.6^\circ$ 。由此可见, 适当提高激发频率能显著提高系统的分辨率。而当 $\varphi \rightarrow \pi/2$ 时, $\tan \varphi \rightarrow \infty$, 斜率非常大, 因此测量 φ 时极微小的误差都会引起 $\tan \varphi$ 极大的改变。所以频率过高会放大原始误差, 使系统不稳定。

设相位角的读数误差为 $\Delta\varphi$, 为保证荧光寿命的误差小于 ε , φ 应该限制在一定的范围之内:

$$\frac{\Delta\tau}{\tau} = \frac{\Delta\varphi}{\cos^2 \varphi \tan \varphi} = \frac{2\Delta\varphi}{\sin 2\varphi} < \varepsilon \quad (7)$$

整理后得到 φ 的取值范围:

$$\frac{1}{2} \arcsin \frac{2\Delta\varphi}{\varepsilon} < \varphi < \frac{1}{2} \left| \pi - \arcsin \frac{2\Delta\varphi}{\varepsilon} \right| \quad (8)$$

例如, 若 $\Delta\varphi = 1^\circ$, 如果要求 ε 为 5%, φ 则应保持在 $22^\circ \sim 68^\circ$ 之间。如果要求准确度为 10%, φ 的范围则可能扩大到 $10^\circ \sim 80^\circ$ 。对于 10 ns 的寿命, 相应的调制频率范围为 2.8 ~ 90 MHz。

但 LED 受有源区载流子复合寿命和寄生电容的影响^[2], 调制带宽最高仅数十兆赫兹, 过高的频率会使激发光没有足够的幅度变化, 降低信噪比。总之, 应在保证光强波形信噪比的前提下尽可能的提高驱动频率。本系统采用 50 MHz 驱动, 实测驱动电压和 LED 发光波形如图 3 所示。

因仅有一台光谱仪, 采用分两次测量的方法。示波器信道 1 接晶振, 并设为触发源, 设置好触发水平。信道 2 接 PMT 输出端。第一次同时测量驱动电压和激励光 $E(t)$, 第二次同时测量驱动电

压和样品发射光 $I(t)$ 。采用的 $50(1 \pm 25 \times 10^{-6})$ MHz 通用筒式晶振, 其周期为 $20 \text{ ns} \pm 5 \text{ ps}$ 以此

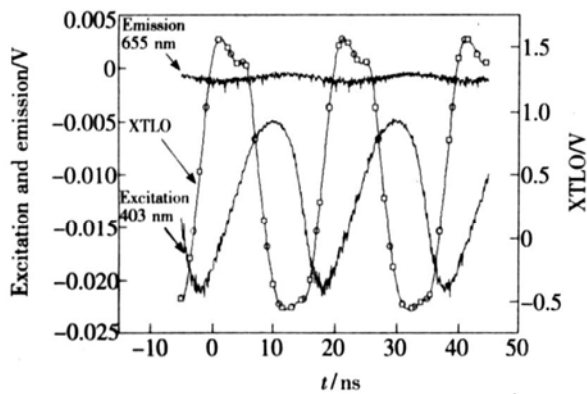


图 3 激发、发射光波形及晶振(XTLO)信号

Fig. 3 The waveform of excitation/emission light and crystal oscillation(XTLO) signal.

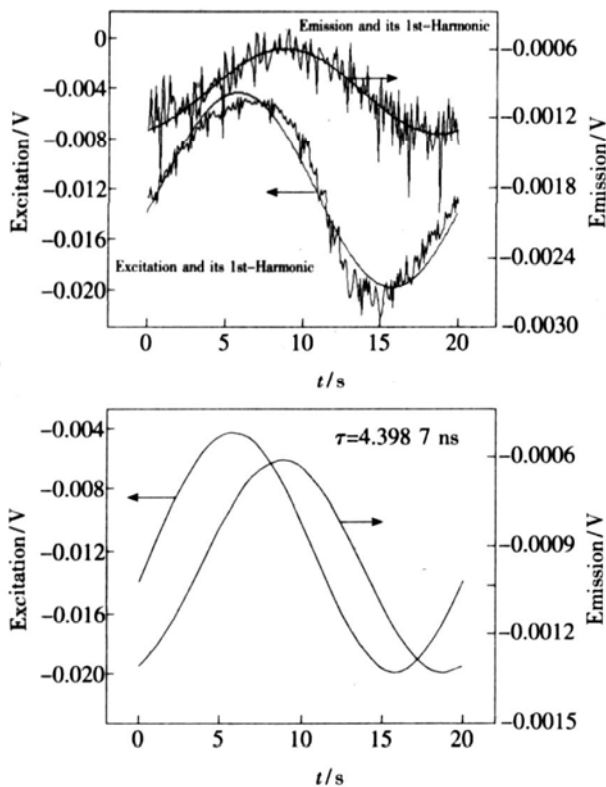


图 4 单次测量示例

Fig. 4 A sample of a single test.

为参考信号, 提取 $E(t)$ 和 $I(t)$ 的一个周期内的信号数据, 进行 Fourier 级数的数学处理, 求得 τ 值, 如图 4 所示。

驱动频率 50 MHz 处于射频段, 信号传输必须采用屏蔽良好的同轴电缆。示波器输入阻抗和同轴电缆特性阻抗匹配^[3], 仅能取 50Ω 。设 PMT 的阳极电流为 $1 \mu\text{A}$, 则仅转换为 $50 \mu\text{V}$ 电压。因此示波器应选用高带宽、高灵敏度机型, 并要保证 PMT 能接收到足够强的光信号。

PMT 阳极脉冲上升时间典型值为 2.2 ns 。实验室用示波器 TDS540D 输入电容为 10 pF , 与负载电阻 50Ω 形成的 RC 积分电路, 时间常数约为 0.5 ns 。即该方法至少能测 6 ns 或更慢的过程。并且, 通过提取一级 Fourier 级数的数学处理, 一定程度上减小了系统响应速度的影响, 提高了分辨率。

4 应用实例

选取甲酚紫 (Exciton 公司 CRESYL VIOLET 670) 为样品, 配制为乙醇溶液 (0.0033 mol/L)。系统采用 TEK 示波器 TDS540D 以及 Jobin Yvon 荧光光谱仪 FL3。激发波长峰值 403 nm , 发射光入口狭缝带宽 10 nm , 选取波长 655 nm , 平均次数均为 128 次。重复 5 次测量, 求得 τ 值为 $(4.03 \pm 0.87) \text{ ns}$ 。与德国 PiccoQuant 公司 TCPCSC 仪器测量结果 4.24 ns 相当。

5 结 论

在相调制法的基础上, 提出了采用一级 Fourier 级数解卷积的数学处理方法, 设计了一种针对单指数衰减的、充分利用实验室条件的 τ 测量系统。对乙醇溶液中的甲酚紫进行了测量, 取得了较好的实验效果。

参 考 文 献:

- [1] Suo Zhiyong, Wei Xianwen, Xu Zheng *et al*. Two novel time resolved spectrometry systems [J]. *Chin. J. Inorganic Chem.* (无机化学学报), 2000, **16**(5): 404-406 (in Chinese).
- [2] Wang Yongjie, Zhang Weilian. The study of high-speed semiconductor LEDs [J]. *J. Hebei University of Technology* (河北工业大学学报), 2005, **34**(4): 65-68 (in Chinese).
- [3] Qi Guanyuan. *Design and Fabrication of High Frequency Electronic Circuits* (高频电路设计与制作) [M]. Beijing: High Education Press, 1999, 22-25 (in Chinese).

Phase Modulation Method Based on First Harmonic of Fourier Series for Measuring Fluorescence Lifetime

ZHU Shiyang HUANG Shihua CHEN Duo-jia DENG Zhao-mu

(*Institute of Optoelectronic Technology, Key Laboratory of Luminescence and Optical Information, Ministry of Education, Beijing Jiaotong University, Beijing 100044, China*)

Abstract A modified phase demodulation method for measuring nanosecond fluorescence lifetime is introduced in this paper. The method is based on phase modulation technique and Fourier analysis of both the excitation and the emission waveforms. Excitation light is modulated by an arbitrary periodic wave. Emission of the sample follows the excitation light, is also modulated and with a delay because of the fluorescence lifetime. In the modified method, the first harmonics of the Fourier series are figured out from the excitation and the emission waveforms. The lifetime can be obtained by the relationship same as in the ordinary phase modulation method from the phase difference between the first harmonics.

A test system, composed of an oscilloscope, a spectroscope and an excitation light source, was designed and developed. An LED light source modulated by a crystal oscillator is built at an acceptable cost for the system. The emission and excitation are detected by a spectroscope, converted to electrical signal by a photomultiplier tube, digitalized by a digital oscilloscope, and then transmitted to a computer. Fluorescence lifetime is then obtained by Fourier analysis of the emission and excitation waveforms. The relationship between the optimized modulation frequency and the range of the measured lifetimes is discussed.

The lifetime of cresyl violet ethanol solution (0.0033 mol/L) measured with this method is (4.03 ± 0.87) ns which is comparable with that by a commercial equipment.

Key words fluorescence lifetime, phase-demodulation measurement, Fourier series, LED