

超快荧光光谱的光谱特性和 时间特性的研究^{*}

王建岗¹ 杨莉松¹ 王桂英¹ 徐至展¹ 王光斌² 干福熹²

(中国科学院上海光机所¹ 强光光学实验室,² 光盘实验室 上海 201800)

提要 飞秒脉冲激光器和时间分辨率优于 2 ps 的条纹相机相结合测量超快荧光光谱的光谱特性和时间特性, 分析了荧光光谱的产生, 给出了时间分辨荧光光谱的测量; 实际测量了一种有机光盘存储记录材料偶氮染料掺杂薄膜的时间分辨荧光光谱和荧光寿命。

关键词 飞秒脉冲激光器, 条纹相机, 时间分辨荧光光谱, 荧光寿命

光谱方法在生物和材料研究中发挥着越来越大的作用^[1~4]。通过研究人体组织的荧光光谱特性可以诊断疾病, 根据不同组织荧光光谱时间特性的不同, 可以进行组织的荧光寿命成像等; 在材料研究中, 测量材料的荧光寿命, 可以获得能级结构和激发态弛豫时间等信息。

荧光光谱按激励方式的不同可以分为稳态和时间分辨荧光光谱^[5], 稳态荧光光谱用连续光束研究荧光光谱, 时间分辨荧光光谱用脉冲光束研究分子从激发态到基态跃迁发射荧光的动力学过程。荧光发射包括光谱特性和时间特性, 这些特性反映在以下这些参数里: 荧光的谱分布特性、荧光谱峰值、带宽、量子产率、上升时间、峰值强度和位置、荧光寿命。荧光光谱的这些参数受环境的影响而变化, 这些环境的影响来自于激励源的功率密度, 采集信号的集光系统及被测物本身的环境变化, 比如组织吸收和散射等。

本文分析了超快荧光光谱的产生及其光谱特性和时间特性的测量, 并具体测量了一种有机光盘存储记录材料偶氮染料掺杂薄膜的时间分辨荧光的谱分布和荧光寿命。

1 荧光光谱的产生

当一束光照射到某种物质上时, 分子吸收光子从基态跃迁到某一激发态 ($S_0 \rightarrow S_n^*$ 的快速吸收过程为 10^{-15} s), 处于某一激发态的分子失去一部分能量进入某一能级 ($S_n^* \rightarrow S_n$ 的振动弛豫过程为 10^{-13} s), 然后当分子从某一能级跃迁到基态时会发出荧光 ($S_n \rightarrow S_0$ 的荧光寿命为 $10^{-10} \sim 10^{-8}$ s)。

随着近红外高功率激光器的出现, 分子对红外光子的吸收分为线性吸收、饱和吸收和多光子吸收。当光子密度足够高时, 一个分子同时吸收两个或更多个光子而发射荧光, 激发波长为

^{*}国家自然科学基金重点基金资助项目(批准号:69637030)。

收稿日期:1999-02-04; 收到修改稿日期:1999-04-06

荧光波长的两倍或更多倍,多光子荧光应用在显微术上有独特优点,比传统显微镜有更好的穿透深度,减小了对生物组织的破坏,提高了成像像质,因此多光子荧光引起人们普遍关注^[6]。

研究超快现象的动力学过程,比如细菌光合作用反应中心的原初电子传递过程在室温条件下发生在 3 ps 以内^[7],这就需要高时间分辨率的探测设备和超短激光脉冲作激励源,由于快吸收过程为飞秒量级,用飞秒激光器作激励源可以提高超快荧光的测量准确度,减小退卷积算法带来的误差。

2 实验装置和方法

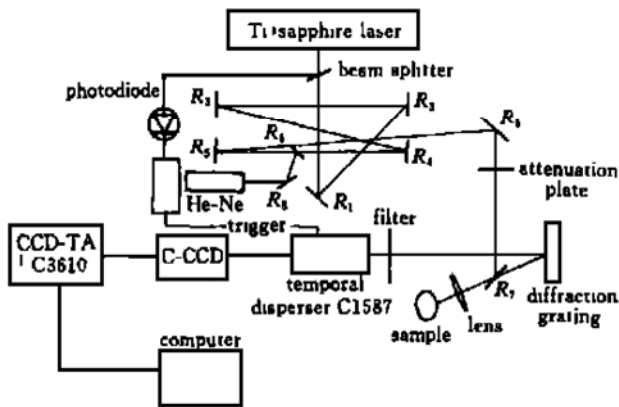


图 1 实验装置图

$R_1 \sim R_9$: 反射镜; lens: 显微物镜

Fig. 1 Schematic diagram of the experimental set-up

$R_1 \sim R_9$: reflectors; lens: objective lens

实验装置主要包括掺钛蓝宝石超短脉冲激光系统^[8]和高时间分辨率条纹相机(C1587, Hamamatsu Photonics, K. K.)。激光系统技术指标为中心波长 785 nm, 脉冲宽度 43.3 fs, 能量可调, 脉冲重复频率 10 Hz; 条纹相机的时间分辨率优于 2 ps, 动态范围大于 1:30。实验装置如图 1 所示。

这里反射镜 $R_1 \sim R_5$ 产生约 13 m 的光路延迟, 使条纹相机的触发与被探测信号到达时间处在电控延迟单元的调节范围以内, 反射镜 R_8, R_9 引入 He-Ne 校准光源, 由于眼睛对 785 nm 的近红外光不灵敏, 因此 He-Ne 激光器作为调整光源, 另一方面, He-Ne 激光器也作为光栅光谱的定标

光源; 从装置图可以看出, 实验用显微物镜构成反射式信号采集光学系统, 它既是聚光透镜又是集光透镜; 当测出了荧光的谱分布特性后, 可以加上合适的滤光片以进一步减小杂散光对测量结果的影响; C-CCD 为致冷型 CCD; C3610 负责控制 C-CCD, 测量数据的获取和处理。

实验方法包括光栅光谱定标、荧光的谱分布特性和时间特性的测量, 分别叙述如下:

2.1 光栅光谱的定标

所用衍射光栅为 1400 线/mm, 采用 +1 级光栅光谱, 如图 2 所示, 光栅方程如下

$$d(\sin \varphi + \sin \theta) = k\lambda \quad (1)$$

这里 d 为光栅常数, φ 为入射角, θ 为衍射角, k 为衍射级, λ 为衍射波长。当 He-Ne 激光从某一角度 φ 入射时, 它的 +1 级谱线刚好落在条纹相机的狭缝上, 由公式(1), k 取为 1, $d = 1/1400$ mm, $\lambda = 6328 \times 10^{-7}$ mm, 可以算出衍射角 θ 。光栅转过某一角度 $\varphi + \alpha$ 时, 由光栅方程(1)式得

$$d[\sin(\varphi + \alpha) + \sin(\theta + \alpha)] = \lambda \quad (2)$$

这里 $k = 1$, 取 +1 级光栅光谱, 由上式可以知道光栅转角 $\varphi + \alpha$ 与衍射波长 λ 的对应关系, 当 $\varphi = 40^\circ$ 时, 光栅转角 $\varphi + \alpha$ 与衍射波长 λ 的定标曲线如图 3 所示, 这样就完成了光栅的定标。转动光栅到某一角度就可以让相应衍射波长的光束进入条纹相机的狭缝, 调整狭缝宽度和条纹相机到光栅的距离可以提高光栅光谱的线分辨能力。

在光栅光谱的使用中应注意光谱不同级的重叠问题, 比如 +1 级谱的近红外与 +2 级谱的

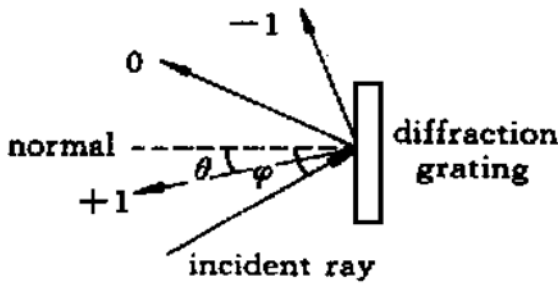


图 2 光栅光谱示意图

Fig.2 Schematic diagram of grating spectrum

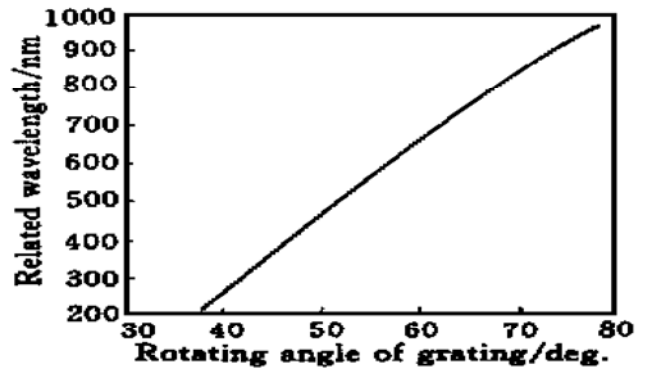


图 3 光栅光谱定标

Fig.3 Calibration of grating spectrum

紫外有部分重叠,这个问题可以由各级光谱相对强度的不同及合适滤光片的使用而得到解决。

2.2 荧光光谱的光谱特性和时间特性的测量

通过转动光栅到某一角度选取波长,每次用一定能量的飞秒激光脉冲激发样品,在激光稳定工作的条件下,加衰减片调节能量的大小,使每次激发脉冲的功率密度一定,用条纹相机接收探测信号,记录下相应波长的时间特性曲线。从不同波长的时间特性曲线的峰值大小可以分析荧光的谱分布特性,从而得到相应的时间分辨荧光光谱分布曲线。

3 实验结果

实验中飞秒激光输出的平均功率为 20 mW,重复频率为 10 Hz,脉冲宽度为 46 fs,每次测量一个脉冲激发后的荧光信号;实验所用材料为偶氮染料掺杂薄膜,它是一种有机光盘存储记录材料。实验测量的时间分辨荧光光谱如图 4 所示,从图中可以看出它有三个峰值,分别为 571 nm, 442 nm 和 366 nm。其中 366 nm 荧光光谱的时间特性和指数拟合的结果见图 5 所示,实验数据采用非线性最小平方拟合,拟合函数为多指数形式,拟合质量通过 χ^2 判据来评价。该荧光衰减过程含两种组份,其荧光寿命分别为 40.6 ns 和 408.9 ns,指前因子分别为 0.54 和 0.46。

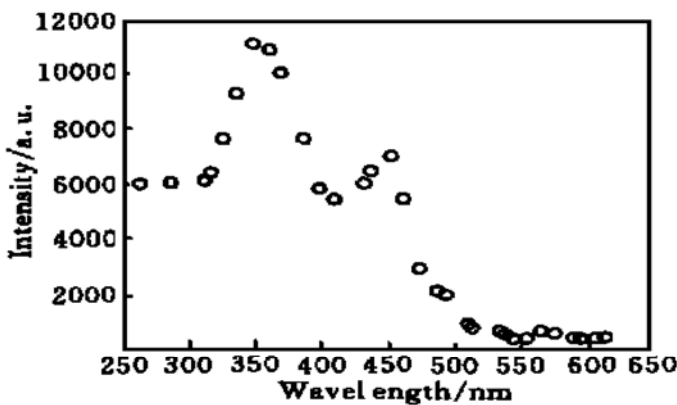


图 4 偶氮染料掺杂薄膜的时间分辨荧光光谱分布 (○: 激发后 12 ps 测得的强度)

Fig.4 Time-resolved fluorescent spectra of azo

dye-doped thin film (○: intensing of 12 ps after excitement)

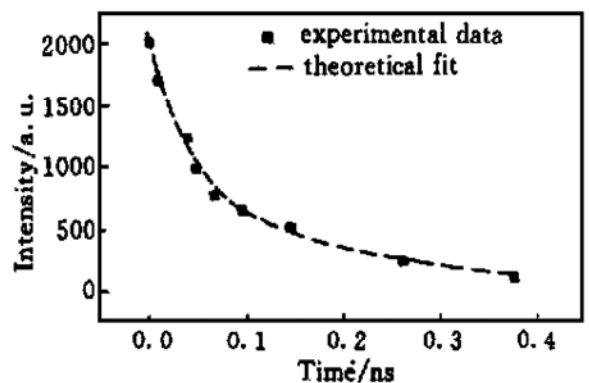


图 5 偶氮染料掺杂薄膜的 366 nm 荧光光谱瞬态衰减特性

Fig.5 Transient decay of the 366 nm fluorescent spectrum of azo dye-doped thin film

4 结 论

飞秒脉冲激光器和条纹相机相结合可以测量超快荧光光谱的光谱特性和时间特性, +1 级光栅光谱用来选择波长, 对每一波长的荧光光谱的时间特性进行分析得到时间分辨荧光光谱的光谱特性和此波长的荧光寿命。这套实验装置不仅可以用于小于 2 ps 的超快现象的动力学过程的研究, 而且可以进行光谱维和时间维的三维成像研究, 比如多光子荧光成像和荧光寿命成像的研究等。

致谢 作者感谢江云华、陆海鹤、王文跃、杨晓东、彭家晖等同志在实验中的大力帮助。

参 考 文 献

- 1 M. Kohl, J. Neukammer, U. Sukowski *et al.*. Imaging of tumors by time-delayed laser-induced fluorescence. *SPIE*, 1991, **1525**:26 ~ 34
- 2 M. Straub, S. W. Hell. Fluorescence lifetime three-dimensional microscopy with picosecond precision using a multifocal multiphoton microscope. *Appl. Phys. Lett.*, 1998, **73**(13):1769 ~ 1771
- 3 S. Yu. Arzhantsev, A. S. Koval', E. Y. Cheredni-Kova *et al.*. Multifunctional laser complex for the study of biomolecules. *Laser Physics*, 1998, **8**(2):518 ~ 523
- 4 Maurice D. Edington, Ruth E. Riter, Warren F. Beck. Interexciton-state relaxation and exciton localization in allophycocyanin trimers. *J. Phys. Chem.*, 1996, **100**(33):14206 ~ 14217
- 5 B. B. Das, Feng Liu, R. R. Alfano. Time-resolved fluorescence and photon migration studies in biomedical and model random media. *Rep. Prog. Phys.*, 1997, **60**(2):227 ~ 292
- 6 Elizabeth Pennisi. Photons add up to better microscopy. *Science*, 1997, **275**(5299):480 ~ 481
- 7 Mei Du, Sandra J. Rosenthal, Xiaoliang Xie *et al.*. Femtosecond spontaneous-emission studies of reaction centers from photosynthetic bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, **89**:8517 ~ 8521
- 8 Xu Zhizhan, Luc Vigroux, Frederic Saviot *et al.*. 2 TW/45 fs Ti:sapphire ultrashort high intensity laser system. *Science in Chinese (Series A)* [中国科学(A辑)], 1997, **27**(7):640 ~ 645

Study on the Characteristics of Spectra and Time of Ultrafast Fluorescence

Wang Jiangang¹ Yang Lisong¹ Wang Guiying¹ Xu Zhizhan¹

Wang Guangbin² Gan Fuxi²

(¹High-intensive Light Optics Lab., ²Optical Disk Lab.,

Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

Abstract The measurement of characteristics of spectra and time of ultrafast fluorescence is studied by combination of the femtosecond laser pulse and the streak camera with a time resolution better than 2 ps. The generation of fluorescence is analyzed, the way to measure time-resolved fluorescent spectra is proposed. The data of the time-resolved fluorescent spectra and fluorescent life-time of an organic optical disk named the azo dye-doped thin film are given.

Key words femtosecond pulse laser, streak camera, time-resolved fluorescent spectra, fluorescent life-time