

时间分辨发光检测装置的小型化进展

朱泽策^{1*}, 沈爱国^{1,2}

(1. 武汉纺织大学 生物医学工程与健康学院, 湖北 武汉 430200; 2. 武汉纺织大学 分析测试中心, 湖北 武汉 430200)

摘要: 时间分辨发光检测技术可以消除散射光干扰并区分不同寿命的发光信号, 在生物检测与成像领域具有重要应用。传统时间分辨发光检测设备通常需采用精密复杂的激光器作为激发光源, 并搭配超快光探测器采集荧光延迟信号, 存在仪器复杂庞大、成本高昂等问题, 限制了技术推广应用。近年来, 磷光、延迟荧光等长寿命发光材料的应用大幅度降低了仪器时间分辨率要求, 低成本光源与快门得以应用, 显著降低了检测成本; CMOS图像传感器、光电二极管等小型探测器的使用有效提升了仪器集成度, 推动检测装置实现小型化。该文系统综述了时间分辨发光检测技术的原理、发展及应用, 重点阐述了时间分辨发光检测装置小型化研究进展及其在生物检测中的应用。

关键词: 时间分辨发光检测; 斩波器; 生物检测; 荧光; 磷光

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)09-2092-09

Research Progress on Miniaturized Apparatuses for Time-resolved Luminescence Detection

ZHU Ze-ce^{1*}, SHEN Ai-guo^{1,2}

(1. School of Biomedical Engineering and Health, Wuhan Textile University, Wuhan 430200, China; 2. Center of Analysis and Testing, Wuhan Textile University, Wuhan 430200, China)

Abstract: Time-resolved luminescence detection can eliminate scattered light and distinguish luminescence signals with different lifetimes, enabling important applications in biological detection and imaging. However, conventional time-resolved luminescence instruments typically require sophisticated and complex lasers as excitation sources and ultrafast photodetectors to capture delayed fluorescence, resulting in bulky, complex, and expensive instruments that limit the application of related technologies. In recent years, the application of long-lived luminescent materials such as phosphorescent and delayed fluorescent materials has significantly reduced the requirement for instrumental temporal resolution. Low-cost light sources and shutters have been used for time-resolved luminescence detection, significantly reducing instrument costs. The application of miniaturized detectors, such as complementary metal-oxide-semiconductor (CMOS) image sensors and photodiodes, has significantly improved integration level and realized the miniaturization of instruments. This review introduces the principles, development, and applications of time-resolved luminescence detection technology and focuses on research progress of miniaturized time-resolved luminescence devices and their applications in biological detection.

Key words: time-resolved luminescence detection; chopper; biological detections; fluorescence; phosphorescence

稳态荧光检测通过在持续激发条件下采集发光信号, 并借助光栅、滤光片等光学元件滤除激发光散射, 进而对荧光光谱和光强进行测量。但复杂样本的背景荧光干扰难以避免, 尤其生物组织存在自身荧光, 会降低检测信噪比^[1-3]。时间分辨发光检测技术通过采集荧光、磷光的延迟信号消除散射光, 可区分不同寿命的发光信号, 用于分子与材料激发态过程分析, 在生物检测和成像领域应用广泛^[1-16]。常规物质荧光寿命处于纳秒甚至皮秒级, 通常需要皮秒或飞秒激光器作为激发光源, 并采用超快光探

收稿日期: 2026-04-16; 修回日期: 2026-05-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52073109, 22474102)

* 通讯作者: 朱泽策, 博士, 教授, 研究方向: 时间分辨发光检测, E-mail: zczhu@wtu.edu.cn

网络首发日期: 2026-08-03

测器或者高速门控相机检测荧光延迟, 对仪器时间分辨率要求极高^[4-16]。因此, 传统时间分辨荧光检测设备体积大、价格昂贵, 普及率较低。

近些年, 随着材料科学的发展, 时间分辨技术越来越多地用于检测发光寿命长达微秒至毫秒级的延迟荧光与磷光^[1,3-5,17-33]。现有商用时间分辨发光检测装置虽具备较高时间分辨率与光学灵敏度, 但其复杂结构与高昂成本限制了技术推广。同时, 长寿命发光检测也对检测技术与装置提出新的需求和挑战: 长寿命发光检测需要更长脉冲周期, 导致光信号采集时间过长, 难以用于实时生物成像^[32-33]; 此外, 环境、食品、生物、医学检测领域的发展, 对即时检测、现场检测提出更高要求, 传统大型实验设备难以满足需求。

截至目前, 众多研究团队致力于检测装置的低成本与小型化。长寿命发光检测大幅降低了仪器时间分辨率要求, 使得发光二极管(LED)、激光二极管等低成本光源和机械快门可用于时间分辨发光检测^[18-23]; 同时, 互补金属氧化物半导体(CMOS)图像传感器、光电二极管等小型探测器的应用显著提升了仪器集成度, 手机相机作为高性价比CMOS传感器, 也被越来越多地用于时间分辨检测与成像^[26-44]。本文综述了时间分辨发光检测技术的原理、发展与应用, 重点论述相关检测装置小型化的研究进展, 以期对相关领域的研究者提供借鉴和参考。

1 时间分辨发光检测技术概述

目前时间分辨发光检测方法主要分为时间门控发光检测与发光寿命检测两类^[1]。时间门控检测以脉冲光源激发样本, 通过控制探测器快门时间与延迟时间, 选择性收集不同时间窗口的发光信号(图1A)。针对样本常规纳秒级自身荧光干扰, 通过门控检测微秒级延时发光信号, 即可消除常规物质的荧光干扰。荧光、磷光寿命检测可通过测量发光衰减速率来分析各激发态发光寿命, 主要包括时域法与频域法两种(图1B)^[2]。时域法采用脉冲光源激发, 记录荧光强度随时间的变化信息, 经指数衰减拟合得到发光寿命; 频域法采用调制光源激发样本, 探测器记录荧光强度的周期变化, 通过分析发光信号的相移与振幅得到发光寿命信息。与时间门控检测相比, 荧光寿命检测流程更为复杂, 但可区分不同寿命的发光, 获取更丰富的激发态信息。

常规材料的荧光源于激发单重态的辐射跃迁, 该过程中电子自旋不变, 因而跃迁速率快, 荧光寿命大多处于皮秒至纳秒级别^[2], 对光源脉宽、同步精度及探测器时间分辨率要求较高。而近些年发展的磷光、延迟荧光、上转换发光材料, 在激发后形成长寿命的激发三重态或多重态, 因而具有较长的发光寿命^[1,3-5]。与荧光不同的是, 激发单重态经过系间窜越形成的激发三重态经辐射跃迁回到基态, 即发射磷光; 由于该辐射跃迁过程需要电子自旋的改变, 因而磷光寿命长达微秒至毫秒级。激发三重态经反系间窜越或者三重态-三重态湮灭形成激发单重态, 再经辐射跃迁释放光子, 即延迟荧光, 其发光寿命也在微秒到毫秒级。由于环境中氧分子对激发三重态的猝灭, 致使一些材料的磷光和延迟荧光寿命变短; 通过隔绝空气稳定激发态, 可使磷光和延迟荧光寿命变长。近年来有多篇综述介绍了各种长寿命发光的机理和研究进展^[1-3], 这些类型发光均比常规荧光寿命高出几个数量级, 因而在时间分辨检测中, 只需要微秒精度的延迟即可消除散射光和短寿命自荧光干扰, 显著降低对仪器时间分辨率的要求。

由于不同物质发光寿命跨多个数量级的差异, 使得不同寿命的时间分辨发光检测技术和装置存在显著差异。表1对比了短寿命和长寿命检测在时间分辨率和硬件上的区别。传统时间分辨检测技术针对常规纳秒级荧光, 必然以超快光源(皮秒、飞秒激光器)激发, 经高速快门和探测器捕获瞬态延迟信号^[4-16]。这些仪器的时间分辨率可达纳秒甚至皮秒级, 虽然也可用于微秒、毫秒级的延时发光探测, 但是成本过高。此外, 针对纳秒荧光寿命的测量, 所用光源的脉冲周期、探测器的时间窗口往往与长寿命的测量要求不匹配。正因如此, 需要针对长寿命发光发展专用的、高性价比的时间分辨检测技术和

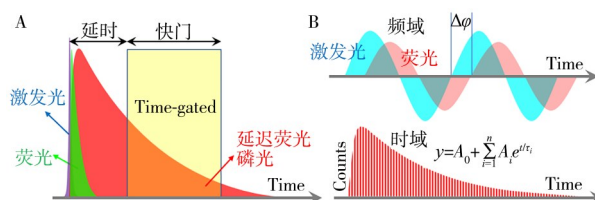


图1 时间门控发光检测(A); 荧光磷光寿命检测(B)
Fig. 1 Time-gated luminescence detection (A); fluorescence and phosphorescence lifetime detection (B)

装置。具体以微秒为界,当发光寿命长达微秒以上时,仪器成本有显著的下降空间。首先,微秒延时发光的测量不需要超快光源激发,低成本的发光二极管和激光模组经信号调制成脉冲光^[22-27],其精度很容易达到纳秒级,完全满足微秒寿命的检测需求。其次,机械斩波器^[18-37]等低成本的外置快门与科学级 CMOS 或 CCD 相机联用可取代一些高速探测器,实现微毫秒级时迟发光检测。

表1 短寿命与长寿命时间分辨发光检测对比

Table 1 Comparison of time-resolved luminescence detection of short- and long-lived luminescence

Parameter	Short-lived luminescence(<1 μs)	Long-lived luminescence(>1 μs)
发光类型	荧光、短寿命磷光	磷光、延迟荧光、上转换发光
分辨率要求	皮秒、纳秒	亚微秒、微秒、毫秒
激发光源	皮秒/飞秒激光器:脉宽窄、重复频率高,需精密同步,成本高、体积大	LED、激光二极管:TTL调制,低成本、小体积、易集成
探测器	单光子探测器+时间数字转换器:灵敏度高,死时间限制计数率;像增强器、条纹相机:系统复杂、成本非常高	CMOS相机:读出速度毫秒~微秒,成本低;光电二极管+放大电路:单点检测,灵敏度有限成本低、易集成
快门	像增强器(微通道板电压控制)、电光调制器+偏振元件:需专用脉冲发生器,成本高、功耗大	机械斩波器、电子快门(全局/卷帘):微秒级同步,可用模拟或数字电路控制,结构简单、易集成

由于短寿命和长寿命发光的检测应用和要求不同,使得当下的时间分辨发光检测技术朝着两个不同的方向发展。具体在短寿命发光检测中,主要是朝着高性能、高通量、高效率发展,在一些高速快门和探测器的发展上尤为突出。而长寿命发光检测中,主要朝着低成本、小型化方向发展。其中仪器小型化不仅要克服传统仪器结构复杂、体积庞大问题,还需要确保足够的时间分辨率和较高的光学灵敏度,以适配高灵敏检测应用场景。下文将对两个发展方向逐一阐述。

2 高速快门和先进探测器的发展

对于皮秒至纳秒级发光过程的测量,激发探测时序的同步精度以及快响应特性直接决定了系统的性能上限。因此,高速快门和探测器作为核心零部件一直是该领域的重要发展方向,并占据很大一部分仪器成本。以下围绕像增强器、电光调制器、条纹相机、单光子探测器及时间数字转换器等关键器件,分别阐述其原理、性能特征与发展现状。

2.1 像增强器

像增强器是一种通过光电转换与电子倍增实现微弱光信号放大的核心器件,主要由光阴极、微通道板和荧光屏构成:入射光子激发阴极产生光电子,随后经微通道板雪崩倍增后,再经荧光屏转化为可见光输出。其快门机制源于对微通道板电压的快速开关控制,开关精度可达到亚纳秒至皮秒级。像增强器通常与 CCD 或 CMOS 传感器通过光纤耦合集成,即构成增强型相机,在时间分辨发光成像和高速光探测中有重要应用。例如,Reponen 等^[4]用 Andor 像增强相机实现了手性稀土发光材料圆偏振光谱的时间分辨测量。此外,张宇航等^[5]利用中智科仪的像增强相机,通过时间门控成像采集稀土离子的亚毫秒级长寿命发光,实现了对大型蚤体内纳米塑料摄取与排出的实时活体观察。尽管像增强器可实现亚纳秒级的时间分辨率,但成像帧率受限于所耦合的 CCD 或 CMOS 相机,通常不超过 100 fps。此外,器件制备成本较高,需要配套高压、高速脉冲发生器,增加了系统的复杂性、体积和功耗。

2.2 电光调制器

电光调制器基于普克尔斯(Pockels)效应,通过外加电场改变铌酸锂等非线性晶体的折射率,从而实现对光信号相位和偏振态的调控^[6-8]。其快门机制源于对电场的高速调制,然而电场改变的是光在晶体中传输的偏振态,因而需要配合偏振元件的使用,将输入光转化为线偏振光才能发挥光学快门的作用。Bowman 等^[6]首次将该器件用于时间门控荧光成像,通过电光调制使延时和非延时荧光的线偏振态垂直,进而用偏振棱镜将二者投影到 CMOS 相机的不同区域,通过二者图像差异重构荧光寿命图。随后,他们将该技术用于神经元的实时荧光寿命成像,通过 1 千帧/秒的高速荧光寿命成像首次拍摄到神经冲动的产生过程^[8]。该方法虽然具有较高的时间分辨率和成像速度,但是所用的电光器件为专门设计,需要配套的脉冲高压控制和水冷设备,仪器复杂。此外,该方法需要起偏器过滤其它偏振态的荧光,因而降低了光学灵敏度;且由于消光比限制和不同波长光的折射率差异,限制了调制的“开关”比。

2.3 条纹相机

条纹相机的条纹管用扫描电场将不同时刻激发的光电子在空间上偏离到不同角度,从而将“时间差异”转化为荧光屏上的“空间位置差异”;光电子束经微通道板雪崩倍增后轰击荧光屏形成的条纹图像被CCD/CMOS记录^[9]。该方法不同于快门技术只捕获特定延时的光信号,而是同时记录不同延时的光信号,因而条纹相机的单帧图像即可用于荧光寿命分析^[10]。其时间分辨率可达到百飞秒级,是目前最快的光探测器。通过与光栅联用,条纹相机可捕获单次激发的时间波长二维光谱,无需累积多个脉冲周期,在超快光谱动力学测量中应用广泛。与像增强器相同,条纹相机需要微通道板放大光电子信号。此外还需要高速扫描电路来分离不同延时的光电子,复杂的真空系统和精密的电子光学设计使其成本显著高于像增强相机,是限制其应用的主要原因。

2.4 单光子探测器与时间数字转换器

单光子探测器与时间数字转换器广泛应用于时间相关单光子计数(TCSPC)系统,是众多商业瞬态光谱仪的核心部件。二者通常协同工作实现荧光寿命测量:单光子探测器将单光子信号转换为电脉冲时序信号,再由时间数字转换器记录电脉冲的精确时间;进而根据激发同步信号计算每个光子的到达时间,经过统计可得各时间段到达的光子数,从而解析荧光动力学^[11]。通过与共聚焦荧光系统联用,TCSPC广泛用于荧光寿命成像。然而其逐点扫描探测效率低,尤其是针对微秒级长寿命发光,脉冲周期长,要完成大视场高分辨扫描荧光寿命成像至少需要数分钟^[12],无法用于实时测量。

近年来,人们将TCSPC功能集成到CMOS传感器的芯片上,发展出单光子雪崩二极管(SPAD)阵列相机^[13-16]。该相机不同于传统的CCD/CMOS,每个像元可集成时间数字转换器以及必要的存储单元,具体可根据实际测量需要设计芯片时间箱的长度和数量,使单个芯片具备全局荧光寿命测量的能力。多个课题组利用这类相机显著提升了荧光寿命成像的效率。关于SPAD阵列在荧光寿命成像中的应用已有专门综述进行了系统总结^[13]。单个芯片集成时间分辨检测的多个功能,简化了控制系统,有望应用于小型化仪器。然而,除极少数芯片已实现商业化外,大多数TCSPC相机仍处于实验室阶段。即便成功商业化,若芯片无法大规模量产,产品价格仍会居高不下。此外,芯片方案虽简化了装置和操作,但测量参数(如时间箱长度和通道数)通常是固定的,导致发光寿命检测范围不易调节,限制了其普适性。

3 低成本与小型化策略

上述高速快门和探测器主要针对微秒级以下的荧光寿命测量,需要极致的器件性能,不论是超快光源还是各种高速探测器,不仅成本高,而且不易小型化。片上集成方案虽然可显著降低探测系统的体积,但是成本较高。针对微秒级以上的延时发光检测,只需要纳秒甚至微秒级的时间精度,无需超快光源和高速探测器,各种零部件成本较低。仪器发展的核心在于脉冲激发和检测快门的同步方式,具体方法是将机械斩波器等外置快门或CMOS相机内置的电子快门与脉冲激发同步,以此实现时间分辨发光检测。此外,围绕检测装置低成本与便携化需求,一些独特的方法被发展出来用于特殊场景。表2总结了近年来各种小型化时间分辨检测装置的主要特点和适用范围,后文将详细介绍各种方法。

3.1 机械斩波器作为微秒级快门

机械斩波器通过电机驱动带孔光盘旋转(图2),实现光路的周期性通断,其调制深度可达100%,且不受波长限制^[19-38],是时间分辨检测中应用最广泛的机械快门。研究者开发出多种自动同步策略^[27-32],如采用同轴双斩波盘设计^[34],或利用单一斩波盘结合平行光路实现激发与检测的自锁相^[28-32],并降低频率抖动的影响。近几年,Kanani等^[34]采用同轴斩光盘同步激发与检测过程,结合手机成像技术,搭建的基于3D打印的便携式小型检测设备,可用于生物组织成像。该装置采用铕、铽稀土配合物或微球探针,延迟时间为数百微秒至毫秒级,通过时间门控方式有效去除背景荧光干扰,但延迟时间调控不便。Shu等^[32]通过位移台调节斩波器边缘光耦位置,实现了脉冲激光与快门之间延迟时间的调控;为提升设备自动化程度,该团队将现场可编程门阵列(FPGA)用于脉冲LED与斩波器的同步控制,并调节延迟时间实现了小鼠肾切片组织的磷光寿命成像^[36]。FPGA延迟控制精度可达20 ns,远低于斩波器快门速度,但该研究中同步控制仅占用少量芯片内存与引脚,未充分利用FPGA的资源。为简化

同步控制并提升检测通量, 朱泽策等^[37]后续采用模拟电路实现激发与检测同步, 结合紫外LED阵列实现了多样本延时发光的同步检测, 该装置成功应用于牛奶中四环素的检测, 无需复杂样本前处理即可消除牛奶荧光干扰, 检测限达 53 nmol/L, 显著低于欧盟规定上限。Zhu 等^[38]利用双路可重触发单稳多频振荡器芯片实现LED激发与斩波器的同步, 进一步简化了仪器结构, 延迟时间可调且精度达微秒级。

表2 各种小型化时间分辨发光检测装置对比

Table 2 Comparison of various miniaturized apparatuses for time-resolved luminescence detection

Method	Temporal resolution	Advantage	Limitation	Application	Reference
机械斩波器+手机/CMOS	微秒~毫秒	累积多次激发周期, 单次拍照并行检测多样本	斩光盘尺寸大, 机械振动降低时间精度, 开关速度受限, 手动位移台不便	时间门控成像 发光寿命成像	[34]
机械斩波器+电路控制	微秒	可自动化调控延时和脉宽, 延时步进达 20 ns			[36-37]
全局快门相机(单片机)	毫秒	全电子控制, 无机械振动, 集成度高, 无需外置快门	受读出时间限制, 时间分辨率受像素数量限制		[42]
全局快门虚拟斩波器	数十微秒	系统简单	采集单次激发信号, 无法累积测量以提高灵敏度		[43]
卷帘快门 频域法	微秒	无需外置快门, 利用行间隔时间标尺, 成本低	需调制光源, 高浓度样本	发光寿命检测 (多点并行)	[44]
时间-空间转换(微流控)	亚毫秒	连续光激发, 无需同步, 结构简单	受限于流体速度和转速, 时间分辨率提升困难; 不能用于成像	发光寿命检测 (单点)	[45-46]
时间-空间转换(转盘/光弧)	微秒	连续光激发, 无需同步, 单帧拍照发光衰减曲线		发光寿命检测	[47-48]
光电二极管 多通道检测	微秒	响应快, 电路简单, 可多通道并行, 成本低	无空间分辨, 不能用于成像	时间门控检测(非成像)	[49]

机械斩波器在实际应用中的主要问题是其开关速度受限于电机转速和斩光盘大小(图2)。要降低开关过渡时间(即更快的上升/下降沿), 需要减小光斑尺寸, 即降低光通量; 而增大斩光盘直径则会增大惯量, 且不利于小型化。此外, 高速转动可能引起仪器共振, 降低系统稳定性。尽管电机转速在数十年前已突破数千转/秒, 但常规材料的机械强度有限, 高速旋转时离心力在径向上产生的应力分布不均, 可能导致斩光盘发生机械破坏。

3.2 基于CMOS电子快门的小型化检测装置

随着智能手机的普及, CMOS相机的性能显著提升, 手机相机作为高性价比的探测器, 被越来越多地应用于时间分辨检测与成像。针对近年来发展的超长寿命磷光材料, 其具备肉眼可分辨的余辉发光, 通过手机录像即可记录磷光随时间的衰减过程, 实现单次激发超长磷光寿命成像^[39-41]。该方法无需同步控制, 其本质是依赖于CMOS相机固有的电子快门: CMOS传感器的每个像元都类似一个光电二极管, 并由晶体管控制光生电荷的累积和输出。

根据控制方式不同, 现有CMOS相机的电子快门分为全局快门和卷帘快门2种。全局快门是控制所有像元在同一时间段曝光, 曝光结束后, 再逐行读出各像元的电荷量; 而卷帘快门是以固定的时间间隔逐行开启各行像元的曝光(图3), 各行曝光结束后即时输出电荷。全局快门常用于高速拍摄, 而卷帘快门因各行像元曝光时段不一致, 在拍摄高速运动物体时会产生条纹畸变。然而不管是哪种快门, 都需要逐行读取数据, 使得连续拍摄帧率受限, 且像素越高, 帧率越低。这使得一般CMOS相机的曝光时间最短为毫秒级, 难以直接捕获微秒级延时发光。尽管如此, 通过合理设计仍可实现毫秒级时间分辨检测。例如, Huang等^[42]以全局快门CMOS图像传感器为探测器, 通过单片机编程控制脉冲激发与延时曝光, 延时精度在毫秒级, 正好可以用于毫秒级延迟的稀土上转换发光的检测和成像, 不仅可通过纳米标记设计DNA杂交探针实现细菌检测, 亦可对抗体标记细胞进行时间分辨成像。该方法所检测的上转换纳米材料的发光寿命达毫秒级, 处于硬件性能允许的范围之内。

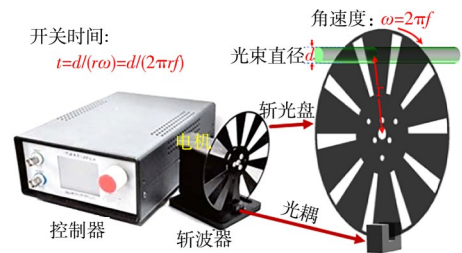


图2 机械斩波器的结构

Fig. 2 Structure of the mechanical chopper

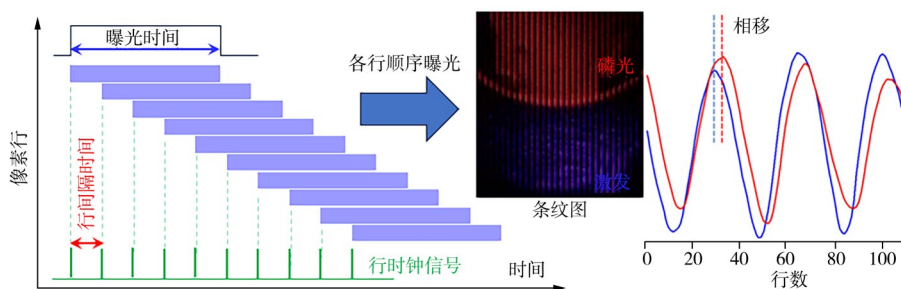


图3 卷帘快门时序与频域法测量磷光寿命

Fig. 3 Rolling shutter timing for measuring phosphorescence lifetime based on frequency domain

A. luminescence lifetime detection of fluid samples; B. upconversion luminescence lifetime detection on a turntable (A. 流体样本的发光寿命检测; B. 转盘上的上转换发光寿命检测)

为实现微秒级延时发光检测, 需要一些巧妙设计来突破上述限制。2023年Wang等^[43]利用手机录像与脉冲激发的频率差, 实现了亚毫秒级延时发光检测, 可对磷光寿命仅75 μs 的四环素-铜配合物进行磷光寿命成像。具体原理如下: 手机支持30帧/秒视频录制, 但实际精确的帧率为29.98 fps, 若设定紫外LED脉冲激发频率为30 Hz, 则脉冲和快门频率的微小差异会随多次脉冲激发逐渐累积, 使脉冲激发和CMOS相机快门的延迟时间持续以微秒精度的步进改变, 进而使某一帧图像的曝光恰巧在脉冲结束后微秒延时时开启, 形成“虚拟斩波器”效果。结合机器学习可快速筛选一系列不同微秒级延迟时间的图像, 进而重构发光寿命成像。该方法无需外置快门即可实现数十微秒级的延时发光探测, 但单次脉冲激发收集的光信号有限, 限制了其在低探针浓度样本分析中的应用。

由于大部分手机的CMOS传感器使用的是卷帘快门, 因而上述基于频率差实现微秒延时的方法不适用。但卷帘快门相邻行像素的曝光时间差是固定的, 相当于一种自带的时间标尺, 为时间分辨测量提供了另外的思路。Xiong等^[44]利用这种行间隔时间发展了一种发光寿命频域检测法: 将卷帘快门逐行曝光的模式作为周期性的时间门, 通过调制激发脉冲周期与相机行像素曝光时间差处于同一量级, 即可在单帧图像中观察到光学条纹, 通过滤光片区分激发光和样本发光, 即可根据二者条纹的相位差计算发光寿命。该方法巧妙利用卷帘快门自带的时序控制实现微秒级磷光寿命测量, 无需额外同步控制, 显著简化了装置并降低了成本。

3.3 时间-空间转换的时间分辨发光检测

上述介绍的各种方法均需脉冲光激发, 需要在激发停止后测量延时发光衰减, 不可避免地需要将探测器与脉冲光源同步, 系统较复杂。而利用时间-空间转换可实现连续光激发下的时间分辨发光检测, 即通过移动受激发的样本使不同延时的发光在空间域上分离, 再通过检测光强在空间域的分布实现发光寿命检测。Vullev等^[45]利用该思路首先在微流体中实现了亚毫秒级稀土发光寿命的检测: 如图4A所示, 微通道中流体受到激发后, 在随后流动过程中发光, 再根据流速将流体经过的位置换算成延时时间, 进而实现发光寿命分析。该方法用荧光显微系统将空间激发光聚焦到微通道中形成激发光斑, 通过相机拍照实现数据采集, 无需额外同步控制, 显著降低了成本。

为进一步精简系统, 朱泽策等^[46]以两根光纤分别作为激发光与检测光的传输通道, 平行置于微流体中, 流体经过上游光纤端面时受到激发, 随后流经下游光纤端面便会将延时发光传输到光谱仪中实现实时光谱测量。由于两根光纤端面面向不同位置, 因而自然排除散射光干扰, 无需额外快门, 且无需显微成像和滤光片, 显著简化了装置, 适用于小型化应用场景。通过标记稀土微球和核酸探针, 该方法成功应用于病毒核酸检测。

上述方法受流体速度的限制, 常规微流体流速上限约每秒数米, 加之光学空间分辨率有限, 该方法仅用于亚毫秒级稀土发光寿命的检测。为提高时空转换的分辨率, 可采用马达转动受激发的样本。朱泽策^[47]将样本固定于电机驱动的转盘上, 并将激光聚焦于样品旋转轨迹的一点上, 进而使样本周期性被激发, 其延时发光会随转盘旋转形成光弧并被手机拍摄(图4B), 根据弧长与延迟时间的关系得到发光衰减曲线, 经指数拟合得到发光寿命。该方法无需脉冲调制与同步控制, 适用于各类连续光源, 显著简化了检测流程, 大幅降低了仪器成本。Nonaka等^[48]参照该方法搭建类似装置, 用于上转换发光寿

命测量, 验证了方法的可靠性。

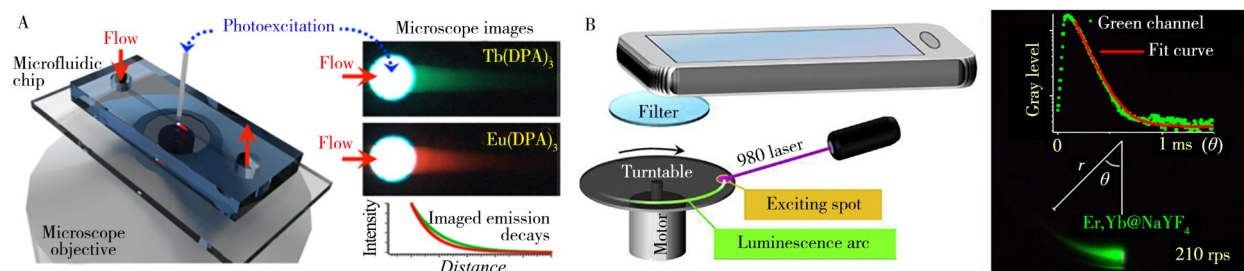


图 4 连续光激发的时间分辨发光测量

Fig. 4 Time-resolved luminescence measurements based on continuous light excitation

3.4 其它小型化时间分辨检测装置

除 CMOS 图像传感器外, 光电二极管也是一种常见的小型化光探测器。与 CMOS 传感器相比, 光电二极管具有响应速度快、电路简单、成本低廉等优势, 适合搭建多通道、便携式的时间分辨检测系统。近年来, 研究者开始将光电二极管与脉冲 LED、微控制器等集成, 开发出无需复杂成像模块的紧凑型检测仪。Xu 课题组近期利用光电探测器开发出便携式多通道时间分辨发光检测仪。该仪器采用硅光电二极管探测器收集光信号, 通过差分运算放大电路与滤波电路将微弱光电流转换为稳定、低噪声的模拟信号, 实现光电采集功能; 由单片机控制 LED 脉冲与延迟光电探测, 实现时间分辨发光检测^[49]。结合稀土磷光标记与免疫层析法, 该装置成功应用于杀虫剂啉虫脒的检测, 可同时完成 6 通道采样, 对多种蔬菜样本的检测限达 0.056~0.074 mg/kg, 展现出时间分辨检测技术在小分子污染物现场快速检测中的应用前景。

4 总结与展望

本文综述了时间分辨发光检测技术的研究进展, 依据发光寿命范围的不同, 现有技术路径可分为两大类: 一类面向皮秒至纳秒级短寿命发光, 依赖像增强器、电光调制器、条纹相机、单光子探测器及时间数字转换器核心器件, 这些器件时间分辨率极高, 但成本昂贵、系统复杂、难以实现便携化; 另一类则面向微秒至毫秒级长寿命发光(如磷光、延迟荧光、稀土上转换发光等), 通过降低时间分辨率要求, 可采用机械斩波器、CMOS 电子快门、时间-空间转换等低成本、小型化方案, 成为当前检测装置小型化的主要发展方向。

在长寿命发光检测领域, 各类技术路径各有优劣。基于机械斩波器的方案时间分辨率可达微秒级、信噪比优异、延迟时间调控灵活, 是目前实现高灵敏定量检测的可靠路径之一, 但依赖外置机械部件, 存在开关速度与斩光盘尺寸矛盾等问题, 系统集成度受限。基于 CMOS 电子快门(尤其是手机平台)的方案优势在于极致便携, 通过挖掘传感器自身特性(如全局/卷帘快门、虚拟斩波、行间隔时间标尺)可实现系统硬件高度简化, 但受相机固有曝光模式(单次激发单次曝光)和读出噪声限制, 在低浓度、弱信号检测中面临挑战。时间-空间转换方法(如微流控移动样本、旋转盘片)无需脉冲光源和同步控制, 结构简单、成本极低, 适用于微秒至亚毫秒级以上寿命检测, 但不能用于成像分析。基于光电二极管的多通道检测装置具有响应快、成本低、易于集成等优点, 适合搭建便携式定量检测仪。

未来, 相关技术突破将进一步推动检测装置小型化发展。在高速快门方面, 基于超高速电机和机电系统的快门有望将时间分辨率提升至亚微秒甚至纳秒级, 同时大幅缩小体积、降低振动, 更好地集成于便携设备。在探测器方面, 随着半导体工艺的进步, 更高性能的 CMOS 传感器或电子快门技术将逐步普及, 更低读取噪声、更高帧率为消费级设备实现高灵敏、高时间分辨成像奠定了硬件基础。尽管片上集成 TCSPC 的雪崩二极管相机当前成本仍较高, 但随着技术成熟和量产规模扩大, 有望下沉至小型化平台。在算法方面, 先进人工智能技术可通过深度学习降噪、硬件缺陷校正(如卷帘快门畸变修正)、自动寿命拟合等, 弥补硬件性能的不足, 实现数据快速自动化处理与分析。此外, 新材料(如超长寿命室温磷光材料)与小型化装置的协同设计, 有望进一步降低对时间精度的要求, 拓展应用场景。

综上, 现有方法与装置需要在时间分辨率、灵敏度、成本、便携性与操作复杂度之间进一步寻求平衡, 在实现低成本、小型化的同时, 保障检测灵敏度与时间分辨率仍是核心挑战。随着磷光、延迟荧光、上转换发光等长寿命发光材料的广泛应用, 以及机械、电子、算法等多学科的交叉融合, 时间分辨检测装置的小型化将不仅服务于分子与材料表征, 更将在即时检测、现场分析、实时生物成像等领域发挥重要作用, 特别是在消除短寿命自荧光干扰、简化样本前处理、提高检测效率等方面展现出独特优势。

参考文献:

- [1] Zhang K Y, Yu Q, Wei H, Liu S, Zhao Q, Huang W. *Chem. Rev.*, **2018**, 118(4): 1770–1839.
- [2] Berezin M Y, Achilefu S. *Chem. Rev.*, **2010**, 110(5): 2641–2684.
- [3] Bünzli J G. *Chem. Rev.*, **2010**, 110(5): 2729–2755.
- [4] Reponen A P M, Mattes M, Van Orman Z A, Estaque L, Pieters G, Feldmann S. *Nature*, **2025**, 643: 675.
- [5] Zhang Y H, Gao R Y, Wang Z J, Shao Q Q, Hu Y W, Jia H B, Liu X J, Dong F Q, Fu L M, Zhang J P. *Chemosphere*, **2023**, 326: 138341.
- [6] Bowman A J, Klopfer B B, Juffmann T, Kasevich M A. *Nat. Commun.*, **2019**, 10: 4561.
- [7] Bowman A J, Kasevich M A. *ACS Nano*, **2021**, 15(10): 16043–16054.
- [8] Bowman A J, Huang C, Schnitzer M J, Kasevich M A. *Science*, **2023**, 380(6651): 1270–1275.
- [9] Biskup C, Zimmer T, Benndorf K. *Nat. Biotechnol.*, **2004**, 22(2): 220–224.
- [10] Wang P, Liang J Y, Wang L V. *Nat. Commun.*, **2020**, 11: 2091.
- [11] Wang Y, Tian D, Zhu Z. *J. Photoch. Photobio. A*, **2025**, 468: 116514.
- [12] Zhu Z C, Tian D, Gao P L, Wang K, Li Y C, Shu X W, Zhu J T, Zhao Q. *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140(50): 17484–17491.
- [13] Bruschini C, Homulle H, Antolovic I M, Burri S, Charbon E. *Light Sci. Appl.*, **2019**, 8: 87.
- [14] Williams G O S, Williams E, Finlayson N, Erdogan A T, Wang Q, Fernandes S, Akram A R, Dhaliwal K, Henderson R K, Girkin J M, Bradley M. *Nat. Commun.*, **2021**, 12: 6616.
- [15] Radmacher N, Nevskiy O, Gallea J I, Thiele J C, Gregor I, Rizzoli S O, Enderlein J. *Nat. Photon.*, **2024**, 18: 1059.
- [16] Ronceray N, Bennani S, Mitsioni M F, Siegel N, Marcaida M J, Bruschini C, Charbon E, Roy R, Dal Peraro M, Acuna G P, Radenovic A. *Light Sci. Appl.*, **2025**, 14: 258.
- [17] Yang Z Y, Mao Z, Xie Z L, Zhang Y, Liu S W, Zhao J, Xu J R, Chi Z G, Aldred M P. *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, 46(3): 915–1016.
- [18] Zhou B, Shi B Y, Jin D Y, Liu X G. *Nat. Nanotechnol.*, **2015**, 10(11): 924–936.
- [19] Connally R, Jin D, Piper J. *Cytometry A*, **2006**, 69(9): 1020–1027.
- [20] Jin D Y. *Cytometry A*, **2011**, 79(5): 392–397.
- [21] Zhang L X, Zheng X L, Deng W, Lu Y Q, Lechevallier S, Ye Z Q, Goldys E M, Dawes J M, Piper J A, Yuan J L, Verelst M, Jin D Y. *Sci. Rep.*, **2014**, 4: 6597.
- [22] Jin D Y, Lu Y Q, Leif R C, Yang S A, Rajendran M, Miller L W. *Curr. Protoc. Cytom.*, **2014**, 67(1): 2.22.1–2.22.36.
- [23] Deng Q S, Zhu Z C, Shu X W. *Front. Chem.*, **2020**, 8: 562.
- [24] Han M M, Zhu Z C, Ouyang M T, Liu Y, Shu X W. *Adv. Funct. Mater.*, **2021**, 31: 2104044.
- [25] Jin D Y, Piper J A. *Anal. Chem.*, **2011**, 83(6): 2294–2300.
- [26] Zheng X L, Zhu X J, Lu Y Q, Zhao J B, Feng W, Jia G H, Wang F, Li F Y, Jin D Y. *Anal. Chem.*, **2016**, 88(7): 3449–3454.
- [27] Connally R. *Anal. Chem.*, **2011**, 83(12): 4782–4787.
- [28] Zhu Z C, Tian D, Shu X W. *Sens. Actuators B*, **2018**, 260: 289–294.
- [29] Sakiyama M, Sugimoto H, Fujii M. *Nanoscale*, **2018**, 10(29): 13902–13907.
- [30] Zhu Z C, Shu X W. *Opt. Lett.*, **2018**, 43(11): 2575–2578.
- [31] Yang W Z, Srivastava P K, Han S S, Jing L L, Tu C C, Chen S L. *Anal. Chem.*, **2019**, 91(9): 5499–5503.
- [32] Zhu Z, Shu X. *Sens. Actuators B*, **2019**, 280: 177–182.
- [33] Zhu Z, Luo Z, Xie Y Q, Sun Y, Xu L, Wu Q. *Adv. Funct. Mater.*, **2024**, 34(13): 2313701.
- [34] Kanani S S, Tsai H Y, Algar W R. *Anal. Chem.*, **2023**, 95(35): 13258–13265.
- [35] Deng Q S, Liu Y L, Zhu Z C, Shu X W. *Opt. Lett.*, **2022**, 47(14): 3427–3430.
- [36] Deng Q S, Lan Z H, Xu L, Zhu Z C, Shu X W. *Sens. Actuators B*, **2021**, 343: 130086.
- [37] Luo J H, Zhu Z C. *Anal. Chem.*, **2024**, 96(28): 11115–11120.

- [38] Gulbag A, Huang M, Rong B, Sreenan B, Zhu X S. *IEEE Sens. Lett.*, **2025**, 9: 5500704.
- [39] Zhu Z C, Sun Y, Ma T, Tian D, Zhu J T. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2021**, 413(13): 3291–3297.
- [40] Zhu Z C, Zeng L F, Li W, Tian D, Xu W L. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **2021**, 9(51): 17420–17426.
- [41] Chen W X, Zhu Z C. *Food Chem.*, **2024**, 454: 139778.
- [42] Huang C H, Park Y I, Lin H Y, Pathania D, Park K S, Avila-Wallace M, Castro C M, Weissleder R, Lee H. *ACS Nano*, **2019**, 13(10): 11698–11706.
- [43] Wang Y, Sadeghi S, Velayati A, Paul R, Hetzler Z, Danilov E, Ligler F S, Wei Q S. *PNAS Nexus*, **2023**, 2(4): 106.
- [44] Xiong B, Fang Q Y. *Opt. Lett.*, **2020**, 45(1): 81–84.
- [45] Nuñez V, Upadhyayula S, Millare B, Larsen J M, Hadian A L, Shin S, Vandrangi P, Gupta S, Xu H, Lin A P, Georgiev G Y, Vullev V I. *Anal. Chem.*, **2013**, 85(9): 4567–4577.
- [46] Wang X, Ji C X, Liu H H, Guan H Y, Wang J, Li W, Zhu Z C, Hong S L. *Biosens. Bioelectron.*, **2025**, 287: 117679.
- [47] Zhu Z C. *Anal. Chim. Acta*, **2019**, 1054: 122–127.
- [48] Nonaka T, Sugiura T, Tsukamoto T, Yamamoto S I. *Korean Ceram. Soc.*, **2022**, 59(6): 889–894.
- [49] Xu R, Xiang Y D, Shen Z, Li G Z, Sun J S, Lin P Y, Chen X F, Huang J C, Dong H W, He Z Y, Liu W Z, Zhang L, Duan X Y, Su D B, Zhao J C, Marrazza G, Sun X, Guo Y M. *Anal. Chim. Acta*, **2023**, 1280: 341842.

(责任编辑: 盛文彦)