

# 光纤式相干拉曼散射成像光源研究进展

郑世凯<sup>1</sup>, 杨康文<sup>1\*</sup>, 敖建鹏<sup>2</sup>, 叶蓬勃<sup>1</sup>, 郝强<sup>1</sup>, 黄坤<sup>1</sup>, 季敏标<sup>2</sup>, 曾和平<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>上海理工大学光电信息与计算机工程学院, 上海 200093;

<sup>2</sup>复旦大学应用表面物理国家重点实验室和物理学系, 上海 200433;

<sup>3</sup>华东师范大学精密光谱科学与技术国家重点实验室, 上海 200062

**摘要** 相干拉曼散射具有非侵入、无标记、化学特异性的优点, 广泛用于生物组织成像、药代动力学等领域。主要介绍了光纤式相干拉曼散射(CRS)成像光源的实现方式及特点, 总结了超连续谱展宽、孤子自频移和四波混频技术在提高双色超短脉冲输出功率、调谐范围、光谱分辨率方面的新进展。报道了基于四波混频的光参量振荡技术在产生可调谐双色超短脉冲方面的最新进展, 采用全保偏光纤光路和光子晶体光纤, 结合色散滤波和偏振操控技术, 获得时间自同步、空间自重合、波长可调谐的双色超短脉冲, 可实现脂类、蛋白和核酸的非侵入、无标记光谱检测与成像, 为实现结构紧凑、使用方便、环境稳定的 CRS 提供了一个有效的技术途径。

**关键词** 非线性光学; 相干反斯托克斯拉曼散射; 四波混频; 超快激光非线性成像; 相干拉曼散射

中图分类号 R318.51

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201946.0508008

## Advances in Fiber Laser Sources for Coherent Raman Scattering Microscopy

Zheng Shikai<sup>1</sup>, Yang Kangwen<sup>1\*</sup>, Ao Jianpeng<sup>2</sup>, Ye Pengbo<sup>1</sup>, Hao Qiang<sup>1</sup>,  
Huang Kun<sup>1</sup>, Ji Minbiao<sup>2</sup>, Zeng Heping<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>School of Optical-Electrical and Computer Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China;

<sup>2</sup>State Key Laboratory of Surface Physics and Department of Physics, Fudan University, Shanghai 200433, China;

<sup>3</sup>State Key Laboratory of Precision Spectroscopy, East China Normal University, Shanghai 200062, China

**Abstract** Coherent Raman scattering is extensively used in various fields, such as biomedical tissue imaging and pharmacokinetics, because of its significant advantages, including non-invasive detection, label-free operation, and chemical specificity. Further, we introduce the implementation and characteristics of the fiber laser sources for coherent Raman scattering (CRS) microscopy, and review the most recent advances in improving the output power, tuning range, and spectral resolution based on the dual-color synchronized ultrashort pulses via supercontinuum generation, soliton self-frequency shift, and four-wave mixing. Additionally, the latest advances in four-wave-mixing-based fiber optical parametric oscillators are introduced. Subsequently, the temporally synchronized, spatially overlapped, and wavelength-tunable dual-color ultrashort pulses are obtained based on dispersion filtering and polarization manipulation using the polarization-maintaining fiber and the photonic crystal fiber. Furthermore, the generated laser pulses can be used to achieve non-invasive as well as label-free spectroscopic detection and microscopic imaging for lipids, proteins, and nucleic acid, which could provide an effective methodology to realize compact, user-friendly, and environmentally stable coherent Raman scattering imaging.

**Key words** nonlinear optics; coherent anti-Stokes Raman scattering; four-wave mixing; ultrafast laser nonlinear imaging; coherent Raman scattering

**OCIS codes** 320.7110; 300.6230; 300.6290

收稿日期: 2018-12-12; 修回日期: 2019-01-28; 录用日期: 2019-02-19

基金项目: 国家自然科学基金(11727812, 11504235)、上海高校特聘教授(东方学者)岗位计划(18JC1412000)

\* E-mail: kangwenyang@yeah.net

# 1 引 言

相干拉曼散射(CRS)成像,包括受激拉曼散射(SRS)成像和相干反斯托克斯拉曼散射(CARS)成像,是一种基于四波混频(FWM)效应的三阶非线性光学过程,因其具有无标记、非侵入的特点,在生物样品分析、癌细胞识别和药代动力学等领域有着广泛的应用<sup>[1-4]</sup>。与传统光学显微镜相比,CRS成像可以提供样品中丰富的化学组分信息,从而能够帮助科学家了解生命活动过程中各种物质成分的变化。与染色和荧光标记的方法相比,CRS成像避免了外加荧光标记物对生物细胞的影响及光致漂白损伤的问题,是一种更加安全和高效的方式<sup>[5]</sup>。

为实现 CRS 成像,通常将两束超短脉冲(波长较短的脉冲称为抽运光,波长较长的脉冲称为斯托克斯光)同时照射到待测样品上,当这两束光的频率差所对应的能量与样品化学键的振转能级一致时,光子的能量被高效率地耦合到样品分子的振转能级上,这种共振作用使得两个抽运光子湮灭,同时产生一个斯托克斯光子与一个反斯托克斯光子,通过探测抽运光或者斯托克斯光的强度变化(SRS 成像的信号探测),或者探测反斯托克斯光的强度(CARS 成像的信号探测),就能实现物质分子的检测。实际应用中,CARS 和 SRS 各有特点,SRS 信号常用正向检测的方式,其中没有非共振背景噪声,信号强度与分子数目成正比,但是容易受到强抽运背景下的交叉相位调制、瞬态吸收和光热效应的干扰。CARS 信号处在抽运光的低波长区,实际操作中,采用滤波片排除其他噪声的干扰较易实现,前向或背向探测方式适用于活体,基于此,本文主要讨论相干反斯托克斯拉曼散射<sup>[6]</sup>。

相干反斯托克斯拉曼散射的实现需要两束超短脉冲的时间同步、空间重合、频差可调,最早是采用两台同步的钛宝石固体光源,或者钛宝石激光器抽运的固体光学参量振荡器(OPO)来实现相干反斯托克斯拉曼散射。基于钛宝石激光器的固体光源体积庞大,结构复杂,对环境敏感,要求恒温恒湿的超净使用环境,需要专业人员定期维护,这极大地限制了相干反斯托克斯拉曼散射技术的应用场合。近年来,研制基于光纤频率变换技术的新型光源逐渐成为本领域的研究热点。相比而言,光纤光源体积小,质量轻,环境稳定,光束质量好,应用潜力巨大<sup>[7]</sup>。因此,国内外研究人员逐渐转向对光纤光源的研究。到目前为止,基于光子晶体光纤(PCF),发展出了基

于超连续谱展宽(SCG)、孤子自频移(SSFS)<sup>[8]</sup>和 FWM 的光纤式相干拉曼散射光源技术。基于 SCG 的光纤光源技术,是将飞秒脉冲耦合到 PCF 中,利用光纤中各种非线性效应产生超连续谱,进而实现宽谱带范围的拉曼峰探测。2017 年,赵磊等<sup>[9]</sup>基于 PCF 产生了光谱范围为 460~1700 nm 的超连续谱。但是,基于 SCG 实现的光源各波长处光谱密度低,非线性噪声大,光谱分辨率受限。最近有报道采取光谱聚焦的方式提高这类光源在非线性成像过程中的光谱分辨率<sup>[10]</sup>。相对于 SCG,将飞秒脉冲耦合到负色散光纤中,并依靠光纤中色散和非线性效应的相互作用实现频率转换的 SSFS 方式,可以实现时频域更稳定的超短脉冲,其转换效率可达到 80%,功率谱密度更高,也可以通过改变入射光功率的方法对孤子的中心波长进行连续调谐<sup>[11]</sup>。但是,基于 SSFS 的光纤光源得到的光谱宽度较宽,导致用于 CARS 成像时频谱分辨率受限,另外,对光纤负色散的要求导致在石英光纤中不能实现波长小于 1250 nm 的频率转换<sup>[12]</sup>。相比上述两种方法,FWM 是一种三阶非线性过程,类似于参量振荡,可以实现窄谱带激光的频率变换,对应激光脉冲的时域宽度在皮秒量级,更便于传输和探测。通过优化非线性介质和信噪比<sup>[13]</sup>、操控相位匹配并采用 FWM 实现的信号光与闲频光之间的频差可以被精确操控,且覆盖大多数拉曼峰的范围。

## 2 国内外研究进展

1982 年,Duncan 等<sup>[14]</sup>建造了第一台 CARS 显微镜,通过使用二维检测器在相位匹配方向上检测 CARS 信号。1999 年,Zumbusch 等<sup>[1]</sup>通过高数值孔径的镜头紧密聚焦光束,弱化了相位匹配条件,获得了三维 CARS 显微成像。Cheng 等<sup>[15]</sup>不仅在理论上对 CARS 显微成像技术进行了研究,而且对前向探测、后向探测、偏振激发探测<sup>[16]</sup>和显微层析 CARS<sup>[17]</sup>成像等进行了细致的实验研究。经过多年发展,应用于 CARS 显微成像技术的光源从最初的基于钛宝石的固体激光器或倍频 Nd:YVO<sub>4</sub> 激光器同步抽运的 OPO 发展出基于光纤的 FWM 效应<sup>[18-19]</sup>、SSFS<sup>[20-21]</sup>和超连续谱等光纤特有的频率转换方案。

2012 年,Baumgartl 等<sup>[22]</sup>开发了一种基于单通式 FWM 的全光纤 CARS 显微镜,并成功获得甲苯的显微图像。同年,Ozeki 等<sup>[23]</sup>采用基于快速振镜的可调滤波器,实现了超光谱 SRS。2013 年,Lamb

等<sup>[24]</sup>研制出基于同步抽运 OPO 的光纤式 CARS 光源,实现了高质量老鼠组织的 CARS 成像。2014 年,Gottschall 等<sup>[25]</sup>将单通式结构改造为环形参量振荡结构,实现了分辨率为  $1\text{ cm}^{-1}$  的高对比度、高频谱分辨的 CARS 显微成像。2016 年,Brinkmann 等<sup>[26]</sup>在环形参量振荡腔的基础上,采用重复频率连续可调的固体光源作为抽运光,通过改变抽运光的重复频率,在  $8\text{ }\mu\text{s}$  的时间内,实现信号光在  $1130\sim 1310\text{ nm}$  波段内的快速调谐,有望提高 CARS 显微成像的速度。2017 年,Gottschall 等<sup>[27]</sup>进一步将环形参量谐振腔改造成线型腔,并通过在抽运激光器中加入可调谐滤波器和强度调制器,实现了聚苯乙烯小球的 SRS。2018 年,Shou 等<sup>[28]</sup>实现了基于正交偏振态的双偏振超光谱 SRS,其在生物组织的快速活体检测方面有潜在的应用前景。

SSFS 效应于 1986 年首次被发现<sup>[20]</sup>。2006 年,Andresen 等<sup>[11]</sup>利用钛蓝宝石激光器和 PCF 中的 SSFS 效应,研制了 CARS 显微成像所需的光源,探测波数达到  $4000\text{ cm}^{-1}$ ,频谱分辨率为  $25\text{ cm}^{-1}$ 。目前,采用 SSFS 产生脉冲宽度小于  $100\text{ fs}$  的可调谐脉冲,其更适用于飞秒 CARS<sup>[29]</sup>。超连续谱效应被广泛用于超短脉冲频率拓展方面<sup>[30-31]</sup>,2014 年,谢晓亮教授团队通过将掺铒光纤激光器非线性展宽到  $1\text{ }\mu\text{m}$  波段再进行放大的方式,实现掺铒激光与掺镱激光的同步,再通过倍频获得  $765\sim 795\text{ nm}$  与  $1010\sim 1060\text{ nm}$  波段的可调谐皮秒脉冲,并将其用于 SRS。由于 SCG 过程中的非线性噪声较大,后续采用平衡探测器抑制噪声,最终获得散粒噪声极限的成像探测灵敏度<sup>[32]</sup>。

国内也有许多科研机构开展了 CARS 显微成像技术的研究工作,主要集中在使用固体激光器作为激发光源进行应用研究<sup>[33-35]</sup>,如:深圳大学对有机溶液的宽带振转光谱进行了测量<sup>[36]</sup>,哈尔滨工业大学对 C—H 键的动力学特征进行了研究<sup>[37]</sup>,复旦大学对阿尔茨海默病小鼠脑组织进行了双色快速成像<sup>[38]</sup>等。2015 年,江俊峰等<sup>[39]</sup>研制了用于 CARS 成像的窄线宽、低重复频率全光纤皮秒脉冲种子源,并研究了腔长和光纤光栅带宽对脉冲稳定性和脉冲宽度的影响。同年,Yuan 等<sup>[40]</sup>基于双零色散的 PCF,实现了酒精样品的 CARS 光谱测量。2016 年,Chen 等<sup>[41]</sup>用光纤激光器抽运 PCF,基于光谱聚焦机制提出了一种使用双孤子作为斯托克斯脉冲的 CARS 光谱无背景检测装置。同年,Wang 等<sup>[42]</sup>基于时间透镜效应,提出了用于相干拉曼散射的新型

同步激发光源技术。2018 年,赵君等<sup>[43]</sup>对光纤飞秒激光抽运的非线性光学频率变换研究进展进行了详细的介绍,让研究人员能够更加清楚 CARS 显微成像光源频率变换的机理与方法。

### 3 低重复频率光纤参量振荡器

光纤参量振荡器(FOPO)是以 PCF 作为参量转换介质的 OPO,具有可调谐、转换效率高的特点,在生物光子学和超快光谱学中有着广泛的应用,其与传统 OPO 的区别在于它们依赖于腔内光纤的增益来支持信号光的振荡<sup>[7]</sup>。用于 CARS 显微成像光源的 FOPO 的主要结构如图 1 所示,包括抽运激光器、耦合器、PCF、输出分束器(OC)和延时线。抽运激光器的输出光经过耦合器入射到 PCF,在其中发生 FWM 效应,实现激光频率变换,产生信号光和闲频光。输出分束器将一部分信号光输出,将另一部分信号光反馈到延时线中,通过精确调节延时线的长度,抽运脉冲和反馈的信号脉冲在时间上重合并经过耦合器进入 PCF,信号光获得增益,从而形成振荡。

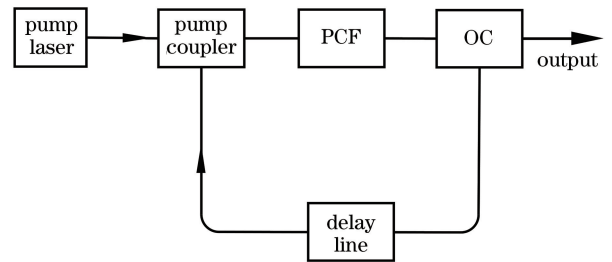


图 1 用于 CARS 显微成像的 FOPO

Fig. 1 FOPO used for CARS microscopy

FOPO 的优势在于:

1) 转换效率高。相对于单通式的 FWM,FOPO 将微弱的信号光再次耦合到 PCF 中进行谐振,有效提高了信号光的转换效率。

2) 调谐范围宽。信号光经过反馈腔中的延时线,在色散效应的作用下,脉冲宽度被展宽,在脉冲包络的不同位置对应着不同的频率成分。展宽后的信号光和抽运光再次被耦合到 PCF 中,由于信号光的脉冲宽度大于抽运光,抽运光在时域上仅能覆盖特定频率的信号光,该频率处的信号光获得增益,实现谐振。通过改变抽运光和信号光的延时,可以连续选择特定的信号光频率,基于色散滤波效应实现宽带调谐。

3) 时空自重合。CARS 是一种非线性过程,需要把两束光同时入射到样品的同一位置,通常搭建

延时光路实现两束光的精确时间同步,用二向色镜将两束光耦合在一起,实现两束光的空间重合。基于FWM的FOPO中,信号光和抽运光发生非线性作用后同时从输出分束器出射,具有时间自同步、空间自重合的特性,大大降低了后续同步光路的要求,实际应用更方便。

生物成像光源的重复频率与样品损伤、穿透深度、信号质量有直接的关系。实际应用中,通常根据样品的具体情况选择最优的重复频率。现有的钛宝石固体激光系统的重复频率一般为几十兆赫兹,用于CARS成像时,更适合于人工培养细胞等稀疏的细胞。而对于鞘髓等稠密生物样品细胞,研究表明,采用1~4 MHz的低重复频率激发光源能有效减小细胞损伤<sup>[44]</sup>。因此,本课题组主要围绕低重复频率FOPO,针对实际应用中的脉冲宽度、光谱分辨、波数范围和光源尺寸,开展腔外压缩、光谱窄化、谱带拓展和全光纤集成方面的工作。

### 3.1 从皮秒脉冲到飞秒脉冲

970~1025 nm波段处在镱离子和铒离子的增益谱带之间,目前尚没有较好的办法通过掺镱或掺铒光纤振荡器直接产生970~1025 nm波段的光。2018年,本课题组结合PCF(LMA-PM-5)的色散特性,经过理论计算,发现采用零色散波长附近的抽运光可以产生974 nm的信号光;通过搭建FOPO进行验证,实现了970~1025 nm波段的可调谐激光输出,再结合腔外光栅对补偿色散,最终实现该波段脉冲宽度为亚皮秒量级的超短脉冲<sup>[45]</sup>。

FOPO的实验装置如图2(a)所示,其中HWP为半波片,PBS为偏振分束器,DM为二向色镜,QWP为1/4波片。抽运激光器是中心波长为1064 nm的自制皮秒激光器,采用半导体可饱和吸

收体实现锁模,通过全保偏光纤放大器和声光调制器进行功率放大及重复频率选择,最终实现重复频率为0.8 MHz、脉冲宽度为20 ps、输出功率为1.0 W的激光脉冲,并将其作为FOPO的抽运光。PCF的种类是LMA-PM-5,其零色散波长为1053 nm,实验所用PCF的长度为36 cm。输出耦合器由偏振分束器和半波片组成,通过旋转半波片可以改变输出比。光学延迟线由260 m的延时光纤和延时电机组成,前者用于粗略调节光学延迟,后者用于精细调节光学延迟。通过优化延时光纤的长度和调整延时电机,使得光纤参量振荡腔的本征重复频率和抽运激光器的重复频率完全相同。二向色镜的作用是将抽运光与经过延时线的信号光再次耦合到PCF中。为了压缩输出光脉冲,腔外使用了一对线宽为1250 lines/mm的透射光栅进行色散补偿,光栅之间的距离约为12 cm。

基于已有的理论模型<sup>[46]</sup>,计算了不同抽运波长下的信号波长,如图2(b)所示。1064 nm的抽运波长对应的理论信号波长为974 nm。同时,当抽运波长接近零色散波长时,FWM增益的带宽可以显著被展宽<sup>[47]</sup>。因此,基于FOPO的增益及色散滤波作用,可以实现974 nm波段信号光的选择性放大及连续调谐。实验结果如图3所示,其中图3(a)为不同波长处信号光功率的变化,可以得出功率最高的波长在990 nm处,最大功率为26 mW;图3(b)为经过光栅压缩后982 nm处信号光的脉冲宽度和光谱,采用洛伦兹曲线拟合,脉冲宽度为800 fs,光谱宽度为3.8 nm,如图3(b)中插图所示,对应的傅里叶变换极限脉冲宽度为373 fs,实验得到的脉冲宽度为傅里叶变换极限脉冲宽度的2倍,出现该现象的原因主要是260 m延时光纤中累计的高阶色散没有被补偿。

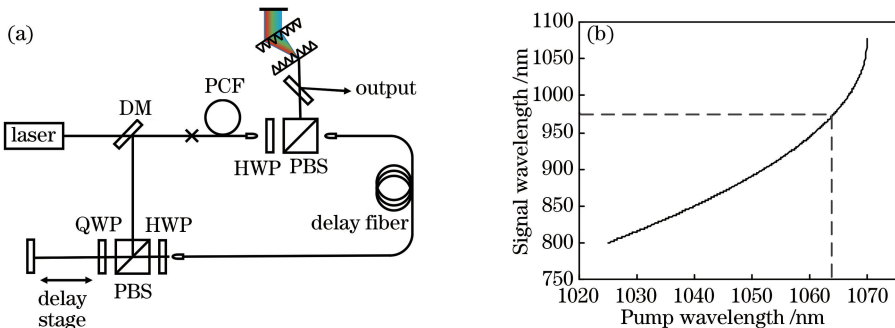


图2 实验装置与相位匹配曲线。(a) FOPO的实验装置;(b)利用不同抽运波长计算的信号波长

Fig. 2 Experimental setup and phase matching curve. (a) Experimental setup of FOPO; (b) calculated signal wavelength for different pump wavelengths

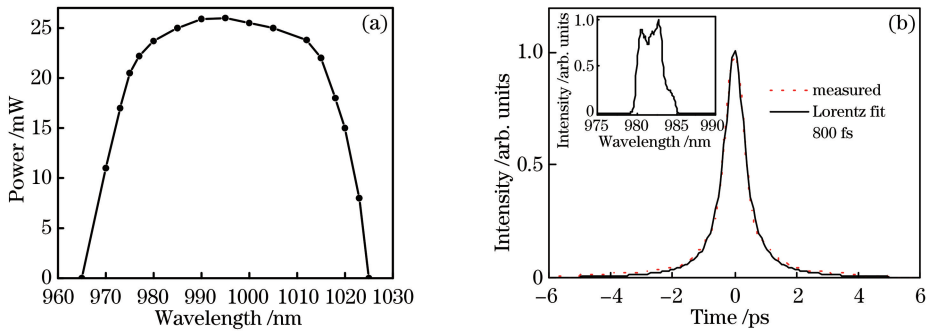


图 3 实验结果。(a)信号脉冲不同波长处的输出功率;(b)信号脉冲的脉冲宽度及光谱  
Fig. 3 Experimental results. (a) Output powers of signal pulse at different wavelengths;  
(b) pulse duration and spectrum of signal pulse

### 3.2 从参量振荡到参量放大

为了提高 CARS 显微成像的光谱分辨率,需要更窄光谱的激发光源,其对应的傅里叶变换极限脉冲宽度更宽,因此,实验采用 140 ps 的抽运激光器,并搭建了对应的 FOPO。但是,随着脉冲宽度的增加,对应的脉冲峰值功率下降,仅通过 FOPO 产生的信号光功率较低,不足以实现 CARS 显微成像。为提高信号光的输出功率,在 FOPO 的基础上增加了一个光纤参量放大器(FOPA)<sup>[48]</sup>,实验装置如图 4 所示。FOPO 和 FOPA 由自制的掺镱光纤激光器抽运,抽运激光的中心波长为 1030 nm,重复频率为 0.8 MHz,平均功率为 2.0 W,光谱宽度和脉冲宽度分别为 1.0 nm 和 140 ps,经过偏振分束器分成两部分,分别驱动 FOPO 和 FOPA。

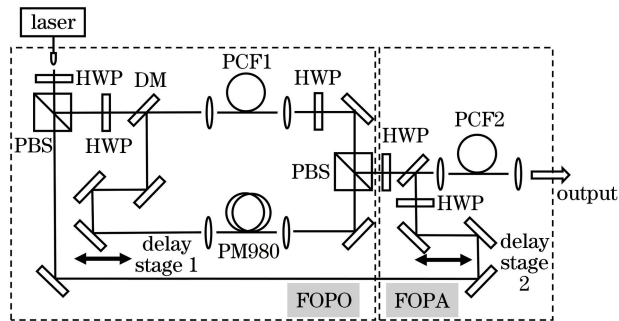


图 4 光纤参量振荡器和放大器

Fig. 4 Fiber optical parametric oscillator and amplifier

FOPO 由 36 cm 长的 PCF(PCF1)、输出分束器、256 m 的无源光纤(PM 980)和可调延时电机 1 (delay stage 1)组成。在 0.8 W 抽运光的作用下,输出信号光的平均功率为 5.0 mW,并将其作为 FOPA 的种子光。FOPA 由 38 cm 的 PCF(PCF2)和可调延时电机 2(delay stage 2)组成。PCF 用作参量增益介质,延时装置 2 用来实现种子光和抽运光之间的时间重合。

图 5(a)为单次光参量产生(FOPG)、FOPO、FOPA 的输出信号光光谱,其光谱宽度分别为 5.0, 3.0, 1.1 nm,对应的输出功率分别为 6.0, 9.0, 26.0 mW。可以看到,通过光纤参量振荡与放大,有效提高了信号光的输出功率,优化了其光谱宽度。

图 5(b)为 FOPG、FOPO、FOPA 中信号脉冲的输出功率随抽运功率的变化关系。在 FOPG 与 FOPO 中,信号光功率都随抽运功率呈线性增加,两者的抽运阈值相同,均为 0.6 W。由于 FOPO 将部分信号光再次反馈并增强,其斜率效率大于 FOPG。在 FOPA 中,当抽运功率较低时,参量增益很小,种子光以恒定的损耗通过 PCF2;随着抽运功率的提高,FWM 过程开始占据主导地位,使得种子光获得增益,输出功率逐渐提高。与 FOPO 相比,FOPA 不仅提供了 3 倍的平均功率放大,而且还将信号光谱宽压窄为原来的 1/3,从而使光谱强度增强了 9 倍,最终实现输出功率为 26 mW、光谱宽度为 1.1 nm 的信号光,剩余抽运光的光谱宽度为 3.2 nm。通过光纤参量振荡加放大的方式,实现了时间同步、空间重叠的窄带双色超短脉冲输出,峰值功率约为几百瓦,能够满足 CARS 显微成像的需求。

### 3.3 从高波数拉曼区到指纹拉曼区

受限于 PCF 的色散参数,现有的基于 LMA-PM-5 的 CARS 显微成像光源,仅能实现 3000  $\text{cm}^{-1}$  附近的振转能级探测,要实现其他波数的探测需采用调谐抽运光或更换不同型号 PCF 的方法。前者需要在抽运激光器内加入调谐器件,容易导致锁模失锁;后者对光纤种类的要求更高,更换光纤也比较繁琐。对于保偏 PCF 而言,可以通过调节入射光的偏振态,选择不同的相位匹配条件,实现新的信号光谱带。2018 年,本课题组报道了在可调谐 FOPO

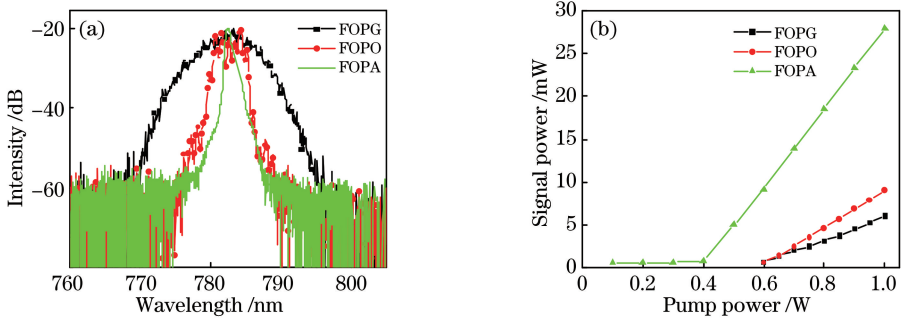


图 5 实验结果。(a) FOPG、FOPO、FOFA 的信号脉冲光谱；(b) FOPG、FOPO、FOFA 中放大信号脉冲的输出功率随着抽运功率的演变

Fig. 5 Experimental results. (a) Spectra of signal pulses for FOPG, FOPO and FOFA; (b) evolution of output powers of amplified signal pulses in FOPG, FOPO and FOFA as function of pump power

中,使用 FWM 不同信号光谱带的偏振开关<sup>[49]</sup>,可产生 780~791 nm 和 960~1000 nm 波段可调谐的激光脉冲,实验装置如图 6 所示,其中 WDM 为波分复用器,LD 为激光二极管。

FOPO 由 1030 nm 脉冲激光器抽运,重复频率为 2 MHz。FOPO 包括掺镱双包层光纤放大器、48 cm 的 PCF、输出分束器、98 m 的延时光纤、可调延时电机和光纤波分复用器。双包层光纤放大器用于将抽运激光器的平均功率从 5 mW 提高到 1.5 W,对应的光谱宽带为 1.0 nm,脉冲宽度为 40 ps。

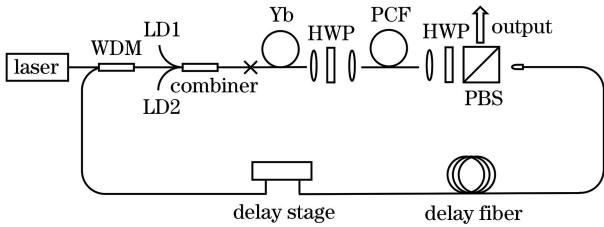


图 6 FOPO 的实验装置

Fig. 6 Experimental setup of FOPO

通过改变输入抽运光的偏振态方向和光纤双折射轴的角度,可满足 PCF 中 FWM 的不同相位匹配

条件,从而使 FWM 在标量调制不稳定(SMI)和交叉相位调制不稳定(XPMI)之间切换,形成偏振开关。根据 Zlobina 等<sup>[46,50]</sup>提出的模拟方法计算了 SMI 和 XPMI 相位匹配条件的参量增益。各种入射光偏振方向的理论参量增益如图 7(a)所示,虚线和实线分别对应抽运光的偏振态方向与 PCF 的快轴和慢轴重合时的 SMI 过程,点线对应抽运光的偏振态方向与 PCF 的快慢轴夹角为 45°时的 XPMI 过程。计算结果表明,通过调节抽运光的输入偏振态方向,可以实现 3 个参量边带的产生。图 7(b)为不同参量边带内,通过改变延时,得到的输出信号光的调谐范围。如图所示,信号光可以分别在 780~791 nm 和 960~1000 nm 两个波段范围进行连续调谐。前者位于 SMI 边带,后者位于 XPMI 和拉曼诱导的反斯托克斯边带。SMI 过程的波长调谐范围明显小于 XPMI 的波长调谐范围,这是由这两个过程的增益带宽不同引起的。实验证明,抽运光的偏振方向可以作为一种开关,用来选择 FWM 过程时由相位匹配条件决定的不同增益谱带,结合反馈回路能够实现谱带内信号光波长的连续调谐,这种大

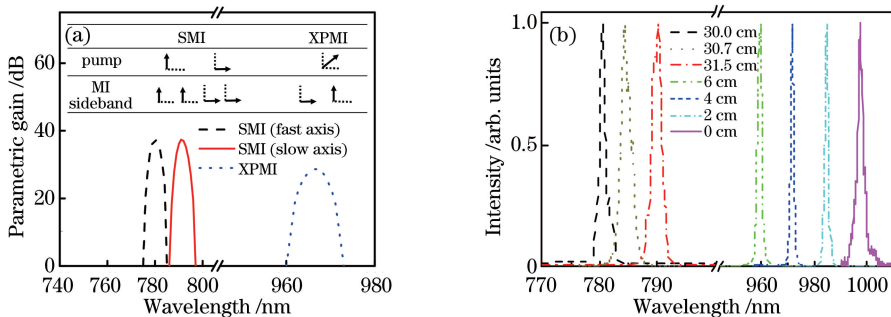


图 7 参量增益谱与可调范围。(a)参量增益谱；(b)调节延时电机时输出的不同波长

Fig. 7 Parametric gain spectra and tunable range. (a) Parametric gain spectra; (b) wavelength tuning results by changing delay stage

范围切换、小范围调谐的能力,可以为 CARS 成像应用于高波数区和指纹波数区的快速、多次测量提供更加灵活的工具。对比第 3.1 节中介绍过的 FOPO(抽运波长为 1064 nm),本实验所采用的抽运光中心波长更短(抽运波长为 1030 nm),导致通过 FWM 效应产生的信号光中心波长也向短波移动。同时,抽运波长与 PCF 的零色散波长(1053 nm)差得更远,由相位匹配条件决定的参量增益谱带也更窄,导致调谐范围减小。

### 3.4 从腔外放大器结构到腔内放大器结构

光纤式的 CARS 显微成像光源相对于固体光源的一大显著优势就是可集成,之前的报道中,抽运激光和反馈腔都是采用光纤光路,但是 PCF 的耦合还是采用空间光路,这成为全光纤化 CARS 显微成像光源的一大难点,瓶颈在于光纤耦合器件引起的色散会对参量过程产生不利影响。为了解决该问题,提出了一种新的有源反馈腔结构,将光纤放大器置于 OPO 腔内<sup>[51]</sup>,装置如图 8(a)所示,其中 PC 为偏振控制器。全光纤集成的 FOPO 由两部分组成:抽运激光器和反馈腔。抽运激光器输出中心波长为 1030 nm、光谱宽度为 0.2 nm、脉冲宽度为 30 ps 的

超短激光。反馈腔包括主放大器、PCF、光纤延迟线、输出分束器和 WDM。主放大器的增益光纤为 0.3 m,抽运吸收系数为 1200 dB/m,腔内 PCF 的长度为 0.4 m。根据反馈腔中主放大器的相对位置,实验测试了两种反馈腔结构,一种称为腔外放大器结构(AOC),另一种称为腔内放大器结构(AIC)。在 AOC 结构中,首先将低功率抽运脉冲耦合到主放大器中,经过放大的脉冲通过 WDM 耦合到 PCF 并进行参量转换,WDM 的尾纤长度设定为 0.5 m。在这种情况下,主放大器的增益和 PCF 之间的 WDM 将引入不利的非线性效应。对于 AIC 结构,低功率的抽运脉冲首先通过 WDM,然后进入主放大器和 PCF 中,主放大器的增益光纤直接与 PCF 熔接,这就从结构上避免了耦合器件尾纤引入的非线性效应。受益于改进结构的低噪声和全光纤耦合的特点,本课题组将包括电子元件在内的整个系统集成在一个尺寸为 39 cm×28 cm×13 cm 的铝盒中,如图 8(b)所示。盒子中装有三个抽运 LD,用于抽运光纤振荡器、前置放大器和主放大器。所研制的激光光源中的所有元件都是光纤器件,可确保输出脉冲的长期稳定和免维护特性。

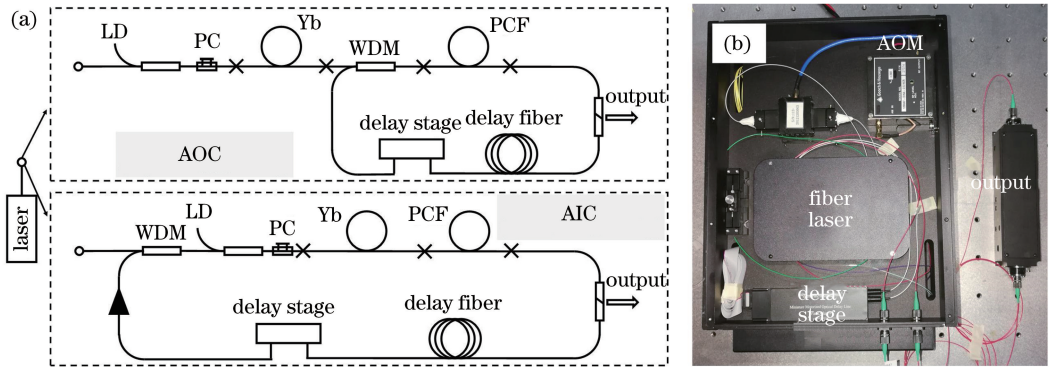


图 8 实验装置与实物图。(a) FOPO 的实验装置;(b)全光纤集成 CARS 光源实物图

Fig. 8 Experimental setup and physical diagram. (a) Experimental setup of FOPO; (b) photo of all-fiber integrated CARS source

图 9(a)为重复频率在 3 MHz 时,两种反馈腔结构输出的抽运光和信号光的光谱,由于抽运光放大后峰值功率较高,其光谱表现出明显的自相位调制边带。对比两种结构的输出光谱,可以看出:AIC 方案的光谱宽度更窄,说明该方案对耦合器件引入的非线性噪声进行了有效抑制。图 9(b)是两种方案下信号光的输出功率曲线。由图可知,AIC 方案的输出功率明显高于 AOC 方案,且发生 FWM 效应所需的抽运光阈值更低。

### 3.5 从光谱分析到光谱成像

采用上述低重复频率光源,搭建了乙醇样品拉

曼光谱的测试光路。激光脉冲的重复率设定为 1 MHz,用于 CARS 成像的抽运光功率为 5.0 mW,波长范围为 788~797 nm,斯托克斯光的功率为 3.0 mW,中心波长为 1030 nm。实验装置如图 10 所示,通过 750 nm 长通滤波器(LP750)对输出脉冲进行滤波,滤除 PCF 中的自发 FWM 边带。使用两个相同的 20 倍显微物镜进行激光的聚焦和反斯托克斯信号光的收集。收集到的信号光通过 700 nm 短通滤波器(SP700)和焦距为 50 mm 的透镜耦合到光纤光谱仪(HR4000, Ocean Optics, 新西兰)中。

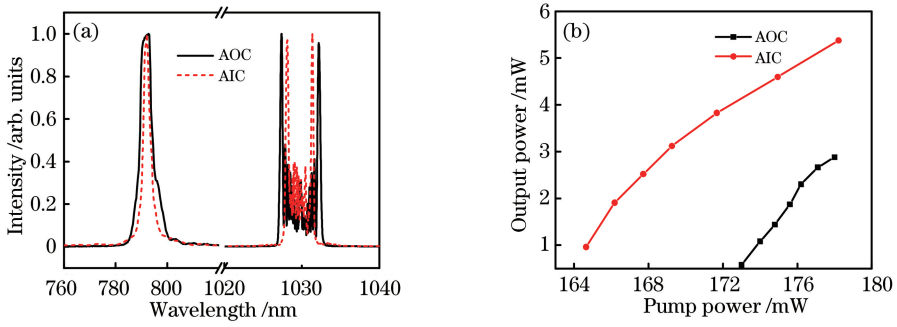


图 9 实验结果。(a) AIC 和 AOC 装置中 FOPO 的光谱；(b) AIC 和 AOC 装置中的输出功率曲线

Fig. 9 Experimental results. (a) Spectra of FOPO in AIC and AOC configurations;  
(b) output power curves of AIC and AOC configurations

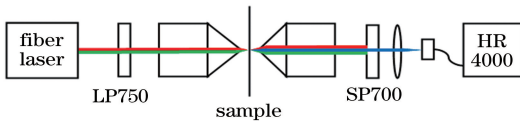


图 10 CARS 光谱探测装置示意图

Fig. 10 Schematic of setup for CARS spectroscopy

通过仔细调整焦点位置和激光波长,检测到 646 nm 附近的乙醇样品的反斯托克斯信号。如图 11(a)所示,对检测到的 CARS 信号进行处理后,获得了 2830~2980  $\text{cm}^{-1}$  的乙醇样品 CARS 光谱, 2900  $\text{cm}^{-1}$  附近的拉曼峰对应于  $\text{CH}_2$  和  $\text{CH}_3$  的振动能级,验证了所研制光源在 CARS 检测中的应用能力。另外,将集成后的光源运输到复旦大学,在商售显微成像系统上实现了对小鼠耳朵样品的 CARS 成像,如图 11(b)所示,能够清晰看到小鼠耳朵皮下脂肪细胞的分布。

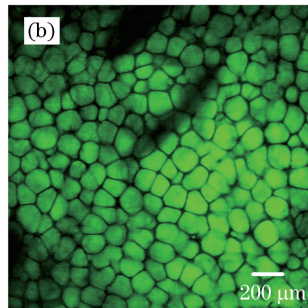
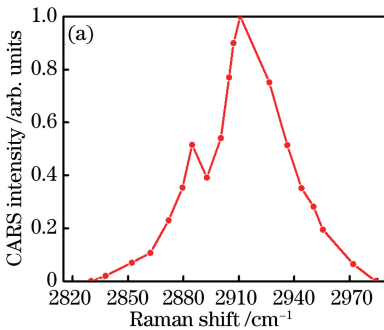


图 11 CARS 光谱与图像。(a)用 AIC 方案检测的乙醇样品的 CARS 光谱；(b)小鼠耳朵皮下脂肪组织的 CARS 图像

Fig. 11 CARS spectrum and image. (a) CARS spectrum of ethanol sample for AIC scheme;  
(b) CARS image of mouse ear adipose tissue

## 4 结 论

主要基于 FWM 的 FOPO,介绍了课题组在脉冲压缩、谱宽优化、谱带拓展以及全光纤集成方面的工作。采用该方案产生的双色超短脉冲,重复频率一般在 1~4 MHz 之间,脉冲宽度为几十皮秒,调谐

激光器的脉冲宽度、谱宽、重复频率等输出参数相互影响,在实际应用中,往往需要同时考虑多个参数,才能实现最优的激发效果。为此,德国莱布尼兹光子技术研究所针对 CRS 成像在穿透深度、细胞损伤、成像速度、光谱分辨率等方面的实际需求,指出理想的激发光源应满足:脉冲宽度在 15~1.5 ps 之间;对应光谱分辨率在 1~10  $\text{cm}^{-1}$  之间;调谐范围覆盖 0~4000  $\text{cm}^{-1}$ ;重复频率范围为 1~8 MHz;体积小;可在非光学实验室的一般环境下稳定工作<sup>[29]</sup>。本课题组围绕上述目标,分别通过腔外压缩实现 20~0.8 ps 的脉冲宽度,通过参量放大实现光谱分辨率从 77  $\text{cm}^{-1}$  (5.0 nm) 到 15  $\text{cm}^{-1}$  (1.0 nm) 的窄化,通过矢量相位匹配实现调谐范围从高波数区到指纹区的拓展,通过参量腔内放大实现全光纤集成,并演示了该类光源在 CRS 方面的应用效果。

范围覆盖高波数拉曼区和指纹区,双色脉冲从同一根光纤输出,时间上自同步,空间上自重合。这些特性对于将相干拉曼散射应用到临床具有现实意义。在相同的峰值功率与脉冲宽度的前提下,激发光的重复频率越低,照射到生物样品上的平均功率就越低,引起的热效应就越低;同时,低重复频率激发光



对于稠密细胞样品的非线性光致损伤也更低,因此能够有效降低成像过程对细胞样品的损伤。此外,皮秒脉冲在光纤中传输时,相比飞秒脉冲,色散和非线性效应引起的脉冲畸变会大幅减小,更适合采用光纤或者内窥装置将激发光引至病灶部位,实现实时在线成像与诊断。双色脉冲时空自重合的特性极大简化了传统实现相干反斯托克斯拉曼散射所需要的复杂同步措施,在简化光源结构的同时,有效提升了临床实用的稳定性。

相干拉曼散射技术已经在基础研究和生物医学方面取得了许多有价值的研究成果,将该技术推广到临床,不仅需要光源方面不断优化,还需要在信号接收、快速检测、灵敏探测、光谱数据分析与处理等方面开展工作。通过设计更为紧凑的微型化探针、优化成像速度与灵敏度、选择新的光学窗口降低光致损伤以及开发新的算法快速处理光谱数据等措施,CRS 成像必将成为研究生物医学、药代动力学、材料科学的有力工具<sup>[6]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] Zumbusch A, Holtom G R, Xie X S. Three-dimensional vibrational imaging by coherent anti-stokes Raman scattering[J]. *Physical Review Letters*, 1999, 82(20): 4142-4145.
- [2] Freudiger C W, Min W, Saar B G, *et al.* Label-free biomedical imaging with high sensitivity by stimulated Raman scattering microscopy[J]. *Science*, 2008, 322(5909): 1857-1861.
- [3] Xu C, Wise F W. Recent advances in fibre lasers for nonlinear microscopy[J]. *Nature Photonics*, 2013, 7(11): 875-882.
- [4] Shipp D W, Sinjab F, Notinger I. Raman spectroscopy: techniques and applications in the life sciences[J]. *Advances in Optics and Photonics*, 2017, 9(2): 315-428.
- [5] Müller J, Ibach W, Weishaupt K, *et al.* Confocal Raman microscopy[J]. *Microscopy and Microanalysis*, 2003, 9(S02): 1084-1085.
- [6] Zhang C, Cheng J X. Perspective: coherent Raman scattering microscopy, the future is bright[J]. *APL Photonics*, 2018, 3(9): 090901.
- [7] Sharping J E. Microstructure fiber based optical parametric oscillators[J]. *Journal of Lightwave Technology*, 2008, 26(14): 2184-2191.
- [8] Kong D F, Jia D F, Feng D J, *et al.* Soliton self-frequency shift in optical fibers [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2018, 55(10): 101902. 孔德飞, 贾东方, 冯德军, 等. 光纤中的孤子自频移效应[J]. *激光与光电子学进展*, 2018, 55(10): 101902.
- [9] Zhao L, Li C, Li Y, *et al.* Hundred-watt-level supercontinuum spectrum generation based on photonic crystal fiber[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2017, 44(2): 0201018. 赵磊, 李超, 黎玥, 等. 基于光子晶体光纤的百瓦超连续谱的产生 [J]. *中国激光*, 2017, 44(2): 0201018.
- [10] He R Y, Xu Y K, Zhang L L, *et al.* Dual-phase stimulated Raman scattering microscopy for real-time two-color imaging[J]. *Optica*, 2017, 4(1): 44-47.
- [11] Andresen E R, Birkedal V, Thøgersen J, *et al.* Tunable light source for coherent anti-Stokes Raman scattering microspectroscopy based on the soliton self-frequency shift [J]. *Optics Letters*, 2006, 31(9): 1328-1330.
- [12] Al-Kadry A, Rochette M. Maximized soliton self-frequency shift in non-uniform microwires by the control of third-order dispersion perturbation [J]. *Journal of Lightwave Technology*, 2013, 31(9): 1462-1467.
- [13] Wang L, Jing J T. Theoretical research on optimization of signal-noise ratio based on cascaded four-wave mixing system [J]. *Acta Optica Sinica*, 2017, 37(7): 0719001. 王丽, 荆杰泰. 基于级联四波混频系统实现信噪比优化的理论研究 [J]. *光学学报*, 2017, 37(7): 0719001.
- [14] Duncan M D, Reintjes J, Manuccia T J. Scanning coherent anti-stokes Raman microscope [J]. *Optics Letters*, 1982, 7(8): 350-352.
- [15] Cheng J X, Volkmer A, Xie X S. Theoretical and experimental characterization of coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy [J]. *Journal of the Optical Society of America B*, 2002, 19(6): 1363-1375.
- [16] Wurpel G W H, Schins J M, Müller M. Chemical specificity in three-dimensional imaging with multiplex coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy[J]. *Optics Letters*, 2002, 27(13): 1093-1095.
- [17] Dudovich N, Oron D, Silberberg Y. Single-pulse coherently controlled nonlinear Raman spectroscopy and microscopy[J]. *Nature*, 2002, 418(6897): 512-514.
- [18] Nodop D, Jauregui C, Schimpf D, *et al.* Efficient high-power generation of visible and mid-infrared light by degenerate four-wave-mixing in a large-mode-area photonic-crystal fiber[J]. *Optics Letters*, 2009, 34(22): 3499-3501.

- [19] Lavoute L, Knight J C, Dupriez P, *et al.* High power red and near-IR generation using four wave mixing in all integrated fibre laser systems[J]. *Optics Express*, 2010, 18(15): 16193-16205.
- [20] Mitschke F M, Mollenauer L F. Discovery of the soliton self-frequency shift[J]. *Optics Letters*, 1986, 11(10): 659-661.
- [21] Gordon J P. Theory of the soliton self-frequency shift [J]. *Optics Letters*, 1986, 11(10): 662-664.
- [22] Baumgartl M, Gottschall T, Abreu-Afonso J, *et al.* Alignment-free, all-spliced fiber laser source for CARS microscopy based on four-wave-mixing [J]. *Optics Express*, 2012, 20(19): 21010-21018.
- [23] Ozeki Y, Umemura W, Sumimura K, *et al.* Stimulated Raman hyperspectral imaging based on spectral filtering of broadband fiber laser pulses[J]. *Optics Letters*, 2012, 37(3): 431-433.
- [24] Lamb E S, Lefrancois S, Ji M B, *et al.* Fiber optical parametric oscillator for coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy[J]. *Optics Letters*, 2013, 38(20): 4154-4157.
- [25] Gottschall T, Meyer T, Baumgartl M, *et al.* Fiber-based optical parametric oscillator for high resolution coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscopy [J]. *Optics Express*, 2014, 22(18): 21921-21928.
- [26] Brinkmann M, Janfrüchte S, Hellwig T, *et al.* Electronically and rapidly tunable fiber-integrable optical parametric oscillator for nonlinear microscopy [J]. *Optics Letters*, 2016, 41(10): 2193-2196.
- [27] Gottschall T, Meyer T, Jauregui C, *et al.* All-fiber optical parametric oscillator for bio-medical imaging applications[J]. *Proceedings of SPIE*, 2017, 10083: 100831E.
- [28] Shou J W, Ozeki Y. Dual-polarization hyperspectral stimulated Raman scattering microscopy[J]. *Applied Physics Letters*, 2018, 113(3): 033701.
- [29] Gottschall T, Meyer T, Baumgartl M, *et al.* Fiber-based light sources for biomedical applications of coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy [J]. *Laser & Photonics Reviews*, 2015, 9(5): 435-451.
- [30] Kano H, Hamaguchi H. Near-infrared coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy using supercontinuum generated from a photonic crystal fiber[J]. *Applied Physics B*, 2005, 80(2): 243-246.
- [31] Porquez J G, Cole R A, Tabarangao J T, *et al.* Brighter CARS hypermicroscopy via “spectral surfing” of a Stokes supercontinuum [J]. *Optics Letters*, 2017, 42(12): 2255-2258.
- [32] Freudiger C W, Yang W L, Holtom G R, *et al.* Stimulated Raman scattering microscopy with a robust fibre laser source [J]. *Nature Photonics*, 2014, 8(2): 153-159.
- [33] Liu S L, Liu W, Chen D N, *et al.* Research on coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy [J]. *Acta Physica Sinica*, 2016, 65(6): 064204. 刘双龙, 刘伟, 陈丹妮, 等. 相干反斯托克斯拉曼散射显微成像技术研究[J]. *物理学报*, 2016, 65(6): 064204.
- [34] Wang K, Wang J Q, Qiu P. Peak power fluctuation due to timing jitter in synchronized time-lens source for coherent Raman scattering microscopy[J]. *Optics Express*, 2016, 24(9): 9645-9650.
- [35] He R Y, Liu Z P, Xu Y K, *et al.* Stimulated Raman scattering microscopy and spectroscopy with a rapid scanning optical delay line[J]. *Optics Letters*, 2017, 42(4): 659-662.
- [36] Yin J, Lin Z Y, Qu J L, *et al.* Coherent anti-Stokes Raman scattering microscopic imaging technique[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2009, 36(10): 2477-2484. 尹君, 林子扬, 屈军乐, 等. 相干反斯托克斯拉曼散射显微成像技术[J]. *中国激光*, 2009, 36(10): 2477-2484.
- [37] Zhao Y, Zhang S, Zhang Z B, *et al.* Molecular vibrational dynamics in ethanol studied by femtosecond CARS [J]. *Optics Communications*, 2015, 334(28): 319-322.
- [38] Ji M B, Arbel M, Zhang L L, *et al.* Label-free imaging of amyloid plaques in Alzheimer's disease with stimulated Raman scattering microscopy [J]. *Science Advances*, 2018, 4(11): eaat7715.
- [39] Jiang J F, Guo H L, Liu T G, *et al.* Research on all-fiber narrow bandwidth picosecond pulse seed source for CARS excitation source [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2015, 42(2): 0205004. 江俊峰, 郭洪龙, 刘铁根, 等. 用于 CARS 激发源的全光纤窄线宽皮秒脉冲种子源的研究[J]. *中国激光*, 2015, 42(2): 0205004.
- [40] Yuan J H, Zhou G Y, Xia C M, *et al.* Degenerate four-wave mixing-based light source for CARS microspectroscopy[J]. *IEEE Photonics Technology Letters*, 2016, 28(7): 763-766.
- [41] Chen K, Wu T, Wei H Y, *et al.* Background-free coherent anti-stokes Raman spectroscopy by all-fiber-generated dual-soliton as stokes pulse [C] // CLEO: Science and Innovations 2016, 5-10 June, 2016, San Jose, California, USA. OSA, SF10: SF10.3.
- [42] Wang K, Wang Y X, Liang R F, *et al.* Contributed review: a new synchronized source solution for coherent Raman scattering microscopy[J]. *Review of*

- Scientific Instruments, 2016, 87(7): 071501.
- [43] Zhao J, Hu M L, Fan J T, *et al.* Research progress of nonlinear frequency conversion technology based on fiber femtosecond lasers[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2018, 55(4): 040001.  
赵君, 胡明列, 范锦涛, 等. 光纤飞秒激光抽运的非线性光学频率变换研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2018, 55(4): 040001.
- [44] Fu Y, Wang H F, Shi R Y, *et al.* Characterization of photodamage in coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy[J]. Optics Express, 2006, 14(9): 3942-3951.
- [45] Yang K W, Jiang J S, Guo Z R, *et al.* Tunable femtosecond laser from 965 to 1025 nm in fiber optical parametric oscillator [J]. IEEE Photonics Technology Letters, 2018, 30(7): 607-610.
- [46] Zlobina E A, Kablukov S I, Babin S A. Phase matching for parametric generation in polarization maintaining photonic crystal fiber pumped by tunable Yb-doped fiber laser [J]. Journal of the Optical Society of America B, 2012, 29(8): 1959-1967.
- [47] Chemnitz M, Baumgartl M, Meyer T, *et al.* Widely tuneable fiber optical parametric amplifier for coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy [J]. Optics Express, 2012, 20(24): 26583-26595.
- [48] Yang K W, Wu Y X, Jiang J S, *et al.* Fiber optical parametric oscillator and amplifier for CARS spectroscopy[J]. IEEE Photonics Technology Letters, 2018, 30(10): 967-970.
- [49] Yang K W, Ye P B, Zheng S K, *et al.* Polarization switch of four-wave mixing in a tunable fiber optical parametric oscillator [J]. Optics Express, 2018, 26(3): 2995-3003.
- [50] Zhang L, Yang S G, Wang X J, *et al.* Photonic crystal fiber based wavelength-tunable optical parametric amplifier and picosecond pulse generation [J]. IEEE Photonics Journal, 2014, 6(5): 1501908.
- [51] Yang K W, Zheng S K, Wu Y X, *et al.* Low-repetition-rate all-fiber integrated optical parametric oscillator for coherent anti-Stokes Raman spectroscopy[J]. Optics Express. 2018, 26(13): 17519-17528.