

基于声光偏转的高速 GHz 超快激光扫描技术

张静^{1,2}, 温俊鹏^{1,2}, 朱喆^{1,2}, 韦小明^{1,2,3,4*}, 杨中民^{1,2,3,4,5}¹华南理工大学物理与光电学院, 广东 广州 510640;²华南理工大学发光材料与器件国家重点实验室, 广东 广州 510640;³华南理工大学广东省特种光纤材料与器件工程技术研究开发中心, 广东 广州 510640;⁴华南理工大学广东省光纤激光材料及应用技术重点实验室, 广东 广州 510640;⁵华南师范大学未来技术研究院, 广东 广州 510006

摘要 双光子激发显微镜是研究脑神经元活动的重要工具。基于传统机械式逐点激光扫描技术的双光子激发显微镜成像速度较慢,无法进行脑神经元活动的实时观察研究。此外,高速双光子激发显微成像需要配置高重复频率飞秒激光,以保证在较短的像素停留时间内获得较高的信息强度。本文提出了基于声光偏转的并行 GHz 超快激光扫描技术,通过设计射频编码方案,在 920 nm 波段搭建了高速 GHz 超快激光扫描系统。通过调整时间和空间重合,最终在 15~31 MHz 频率范围内获得了 33 个可分辨的并行 GHz 超快激光扫描光束,为实现高速双光子激发显微成像提供了技术支撑。

关键词 双光子显微成像; 声光偏转; 高速激光扫描; 飞秒激光

中图分类号 O439

文献标志码 A

DOI: 10.3788/AOS231263

1 引言

高速飞秒激光扫描是实现高时间分辨率双光子激发显微成像的重要技术,是获得复杂神经网络激活过程信息的关键^[1-2]。因此,迫切需要探索新式高速飞秒激光扫描技术,实现高速双光子激发显微成像^[3]。传统机械式飞秒激光逐点扫描技术将双光子激光显微成像的刷新率限制在 Hz 水平,不适用于跟踪实时动态变化的大规模神经元活动,而声光偏转技术(AOD)因能在不受机械部件惯性的情况下实现高速光偏转^[4],非常适合用于快速扫描。通过射频编码技术使 AOD 实现并行化扫描,频分复用(FDM)显微镜可以提供最快的二维成像速度^[5]。

在微流体通道中流动的物体的时间位移可以充当额外的扫描轴^[6],通过使用一维梳状调制子光束垂直照射于流动的方向,能以 kHz 速率获得二维荧光共聚焦图像^[7],速度主要受荧光团的荧光寿命限制。通过将流成像与 Z 聚焦方法相结合,Mikami 等^[8]搭建的速度达 16000 frame/s 的共聚焦荧光显微镜突破了荧光寿命极限,并以 104 volume/s 的速度展示了三维细胞动力学,利用高速单像素成像通过空间双梳以 32000 frame/s 的速度显示乳腺癌细胞,并对流速超过

2 m/s 的荧光颗粒进行超快图像测速^[9]。通过与波前整形结合进行时空聚焦,可以增加光子在高散射状态下应用的潜力,在 3 mm 厚的鸡胸肉内将激光聚焦强度提高 3 倍,尽管受限于空间光调制器 1 kHz 的刷新率,但系统运行时间仅约 1 ms 左右^[10]。以上研究均聚焦于共聚焦显微镜,而双光子显微镜具有成像深度大、空间分辨率高、对比度高等优点^[11],更适用于深层组织成像和脑组织成像^[12]。Tsybouski 等^[13]通过振镜结合 AOD,使用理论分析、数值模拟和体外成像证明双光子频分复方法能在体内记录脑组织中的钙信号,但其需要光束定位以瞄准可访问的不同区域,此后并没有进一步关于高速双光子并行扫描显微镜的研究。此外,高速双光子激发显微成像需要配置高重复频率飞秒激光,GHz 飞秒激光可以在短时间内进行更密集的脉冲激发,增加单位时间内的信号光子数^[14],从而保证在较短的像素停留时间内也能获得较高的信息强度。

本文基于自研的瓦量级 920 nm GHz 飞秒光纤激光器^[15],搭建了适用于高速双光子显微成像的高速激光扫描系统,通过 AOD 射频编码技术设计了 55~71 MHz 射频频率范围内一维光束阵列输出,设计参考光路与其发生干涉并产生拍频信号从而对每个激光束进行频率标记,双光子显微系统所使用的飞秒脉冲光

收稿日期: 2023-07-13; 修回日期: 2023-08-17; 录用日期: 2023-09-03; 网络首发日期: 2023-09-22

基金项目: 国家自然科学基金重大科研仪器研制项目(61927816)、广东省珠江人才引进行创新团队项目(2021ZT09Z109)、广东省自然科学基金(2021B1515020074)、广东省科技计划(2020B1212060002)、中德交流项目(M-0296)

通信作者: *xmwei@scut.edu.cn

源要求在时间与空间维度同时重合,引入延迟线后实现了单个光束拍频信号输出。对于多个子光束同时输出时的拍频信号通过多次采集后平均的方法进行数据处理,最终在 15~31 MHz 频率范围内实现了 33 个可分辨的并行 GHz 超快激光扫描光束。

2 基本原理

2.1 声光偏转器扫描工作原理

声光偏转器利用超声波与光波的相互作用,改变驱动频率的强度和频率从而对衍射光束的强度和方向进行控制和偏转^[6]。首先通过外加高频电场产生射频(RF)信号,压电换能器则负责将 RF 信号转换成声能,声波经过声光介质内振动使其折射率产生相应的变化,形成“光栅”的效果^[16]。“光栅”常数等于声波波长,入射的激光束通过这个“光栅”会被衍射成几个级数,调整入射激光束的偏振态和与超声波传播轴之间的入射角以及放大器的功率,使得一级衍射达到最高效率。当入射光束以特定角度进入工作在布拉格衍射模式下的声光偏转器时,衍射光束的偏转角 θ 由如下公式计算得到^[17]:

$$\theta = \frac{\lambda f}{v}, \quad (1)$$

式中: λ 是光波长; v 是超声在声光介质中的声速; f 是驱动频率。由式(1)可知,经过 AOD 后衍射角与驱动频率成正比关系,AOD 光束扫描是通过调整驱动频率从而改变光的偏转方向实现的。

本文所使用的声光偏转器(ISOMET, OAD1344-XY-75)声光介质材料为离轴型 TeO_2 ,其声速为 681 m/s,根据所设计的 9 mm 方形通光孔径计算得到渡越时间为 13.2 μm ,对应的频率分辨率即为 75 kHz,这决定了最大可分辨的点数,在后续实际 RF 编码运用时需要考虑不同参数相互之间的影响。

2.2 技术方案原理

通过激光束点阵 RF 编码机理和技术,在产生激光束阵列的同时,通过与参考光束的干涉给每个激光束标记一个特别的 RF 频率。由 AOD 生成的光束阵列需要与参考光束拍频从而进行标记和解调,故在光路设计中,920 nm 高重复频率飞秒激光经过偏振分光棱镜(PBS)分束为两路线偏振光(P光和S光),其中通过声光调制器(AOM)频率偏移的光路为参考光束,经过 AOM 频移 $f_0 + f_r$ 的光场为

$$E_R(x_D, y_D, z_D, t) = V_R \exp[i2\pi(f_0 + f_r)t], \quad (2)$$

式中: f_0 是入射 920 nm 的频率; V_R 是参考光幅值; f_r 为 AOM 的驱动频率。而由 AOD 生成的光束阵列的每一个子光束都有唯一的频率和角度,其光场表示为空间 (x_m, y_n, z) 和时间 t 的函数:

$$E_{m,n}(x_m, y_n, z, t) = V_{m,n} \exp[i2\pi(f_0 + f_{m,n})t + i\theta_{m,n}], \quad (3)$$

式中: $m = 1, \dots, M$ 和 $n = 1, \dots, N$ 分别标记每个子光束; $V_{m,n}$ 是其对应的幅值; $f_{m,n}$ 是 AOD _{x,y} 引起的频移,因此每个子光束都有特定的波矢; $\theta_{m,n}$ 是通过 AOD 后角色散产生的空间依赖的相位。将两光束合束,得

$$E = E_{m,n}(x_m, y_n, z, t) + E_R(x_D, y_D, z_D, t). \quad (4)$$

所产生的动态干涉光束阵列通过物镜聚焦照射至生物样品,并产生频率复用荧光辐射拍频信号。经过光学系统收集到的信号光被高速单像素探测器接收并转换成电信号。受益于雪崩光电探测器(APD)的快速发展,它比标准光电探测器(PD)具有更低的噪声和更高的灵敏度,因此非常适合用于极低光功率的探测,为照射生物样品后探测到的信号提供技术支持。通过高速单像素并行信号探测,光电探测器产生的电信号经过数字采集卡高速采集后再进行快速傅里叶变换(FFT),得到频率复用信号的 RF 谱,根据二维空间 RF 编码的对应频率,就能将各个频率上的强度对应于像素点的像素值,从而重建生物样品的二维图像。

3 系统实现

3.1 RF 编码

首先测试 920 nm 波长激光入射时,该 AOD 在不同驱动频率下对应的衍射效率,固定信号发生器(RIGOL, DG4202)的输出频率为 75 MHz, AOD 水平放置,由于 AOD 要求水平线偏振入射,因此在 AOD 前放置一个半波片和一个 PBS 进行偏振态的优化。通过调整 AOD 角度和放大器的功率,在 1 级衍射光束功率最大时,在 30~90 MHz 驱动频率范围内分别测试相应的 1 级衍射光效率,得到实验结果如图 1 所示。在 75 MHz 和 50 MHz 附近衍射效率最高,并且中间出现的凹陷频率都是离轴型 TeO_2 作为声光介质的典型特征,其往往具有较大的 3 dB 带宽,从图中测得 AOD 的 3 dB 带宽是 40.2 MHz。

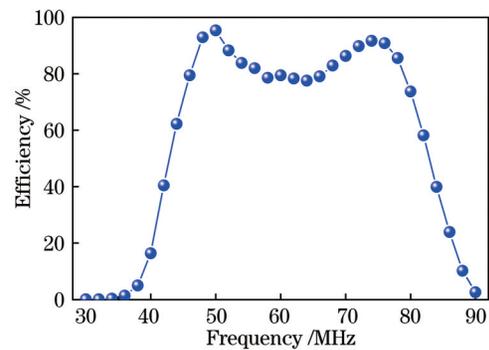


图 1 x 轴方向 AOD 的衍射效率曲线

Fig. 1 Diffraction efficiency curve of AOD in x -axis direction

为了产生功率均匀的子光束阵列,选择衍射效率相对平坦时对应的驱动频率 55~71 MHz 进行 RF 编码设计。根据所选择的 16 MHz 带宽,设计 33 个频率同时驱动,则频率间隔为 0.5 MHz,大于频率分辨率,

图 2 为设计的含 33 个频率的多频率 RF 驱动信号, 设置输出一个任意波形循环时间长度均为 $32.76 \mu\text{s}$, 其中图 2(a) 为每个频率具有随机初始相位的多频率驱动信号, 图 2(b) 为每个频率初始相位为 0 时的多频率驱动信号, 由于多频率驱动下, 同时生成多个衍射光束, 因此入射光束能量被分散, 每个衍射光束能量很低, 因此在后续探测拍频信号时, 需要将多次采集得到

的信号通过平均来增大其信噪比, 所以选择具有随机初始相位的多频率驱动信号。

图 3(a)~(d) 分别对应 55~71 MHz RF 范围内 3、5、17、33 个均匀间隔的随机初始相位频率加载在 AOD 上的多频驱动信号傅里叶光谱图, 虽然最初设置的幅度均匀, 但在经过信号发生器和 RF 放大器后出现了一定的变化。

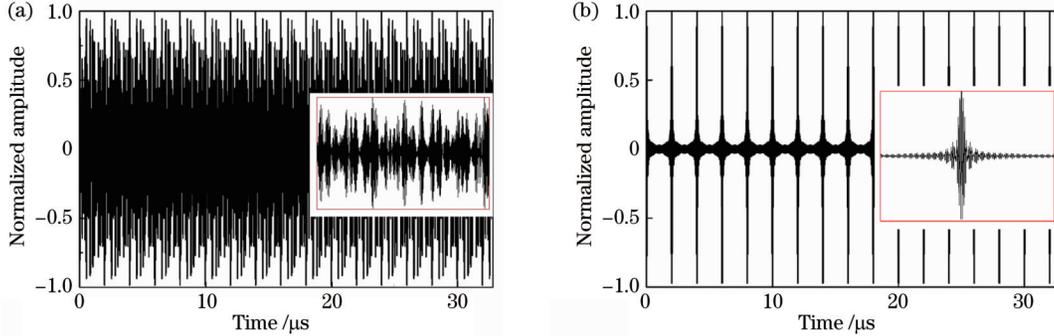


图 2 多频率 RF 信号。(a) 每个频率具有随机初始相位的 33 个频率的时域信号; (b) 每个频率具有一致初始相位为 0 的 33 个频率的时域信号。插图是时域信号的细节

Fig. 2 Multitone RF signals. (a) 33-tone time-domain signal with a random initial phase for each frequency; (b) 33-tone time-domain signal with a consistent initial phase of 0 for each frequency. Insets show close-ups of time-domain signals

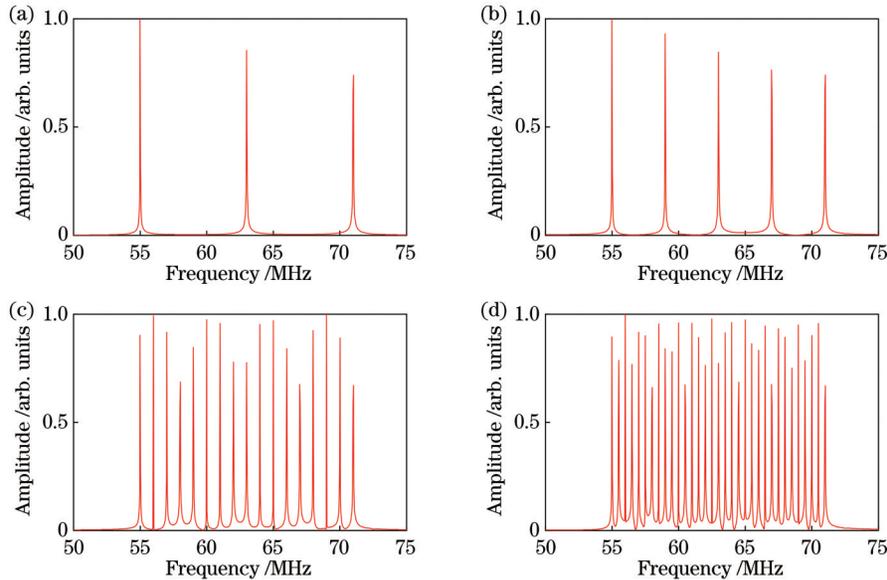


图 3 加载在 AOD 上的 RF 信号。对应的频率分别为 (a) 55、63、71 MHz; (b) 55、59、63、67、71 MHz; (c) 55、56、...、70、71 MHz; (d) 55、55.5、...、70.5、71 MHz

Fig. 3 RF signals loaded on AOD. Corresponding frequencies are (a) 55, 63, 71 MHz; (b) 55, 59, 63, 67, 71 MHz; (c) 55, 56, ..., 70, 71 MHz; (d) 55, 55.5, ..., 70.5, 71 MHz

为了测试所设计驱动频率下对应生成的衍射光斑, 由于生成的衍射光束呈不同角度偏转, 因此利用透镜进行聚焦后用 CCD 相机拍摄, 如图 4 所示, 经过透镜聚焦后的光斑间距 x 可表示为

$$x = f_L \tan \Delta \theta, \quad (5)$$

式中: f_L 是聚焦透镜的焦距; $\Delta \theta$ 是相邻两光束之间的夹角。根据 AOD 的衍射式(1)可得

$$x = f_L \tan \Delta \theta \approx f_L \Delta \theta = \frac{f_L \lambda \Delta f}{v}. \quad (6)$$

为了能看清楚每个光斑, 需要保证光斑间距 x 大于光斑直径, 聚焦后光斑直径 d_0 为

$$d_0 = \frac{4f_L \lambda}{\pi d}, \quad (7)$$

式中, d 为入射光束直径。因此需满足:

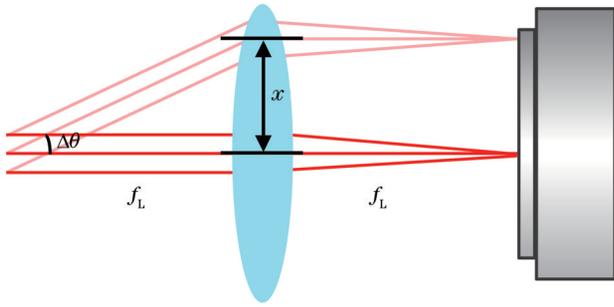


图 4 CCD 相机拍摄的光斑示意图

Fig. 4 Schematic diagram of light spot captured by CCD camera

$$\frac{f_L \lambda \Delta f}{v} > \frac{4f_L \lambda}{\pi d}, \quad (8)$$

即

$$\frac{\Delta f \pi d}{4v} > 1. \quad (9)$$

增大入射光束直径 d 可在衍射光束数量增加即 Δf 减小的情况下依然能实现可分辨的光斑, 由于 AOD 通光孔径为 9 mm, 而从压缩光路出来的光斑直径为 2.6 mm, 为最大化提高其分辨率, 需要对光斑进行扩束从而充分利用 AOD 的通光孔径。所以采用焦距分别为 30 mm 和 100 mm 的透镜组对光束进行扩束, 扩束后得到的光束直径为 8.6 mm, 正好能通过通光孔径而不会发生功率损耗。图 5 是在 55~71 MHz RF 范围内多个频率同时驱动时由 CCD 相机拍摄得到的一维激光束光斑阵列, 并读取了每个光斑对应的灰度强度, 由图可知, 衍射光束数量少时强度均匀, 随着数量逐渐增多, 光斑强度开始出现差异, 但也基本均匀。

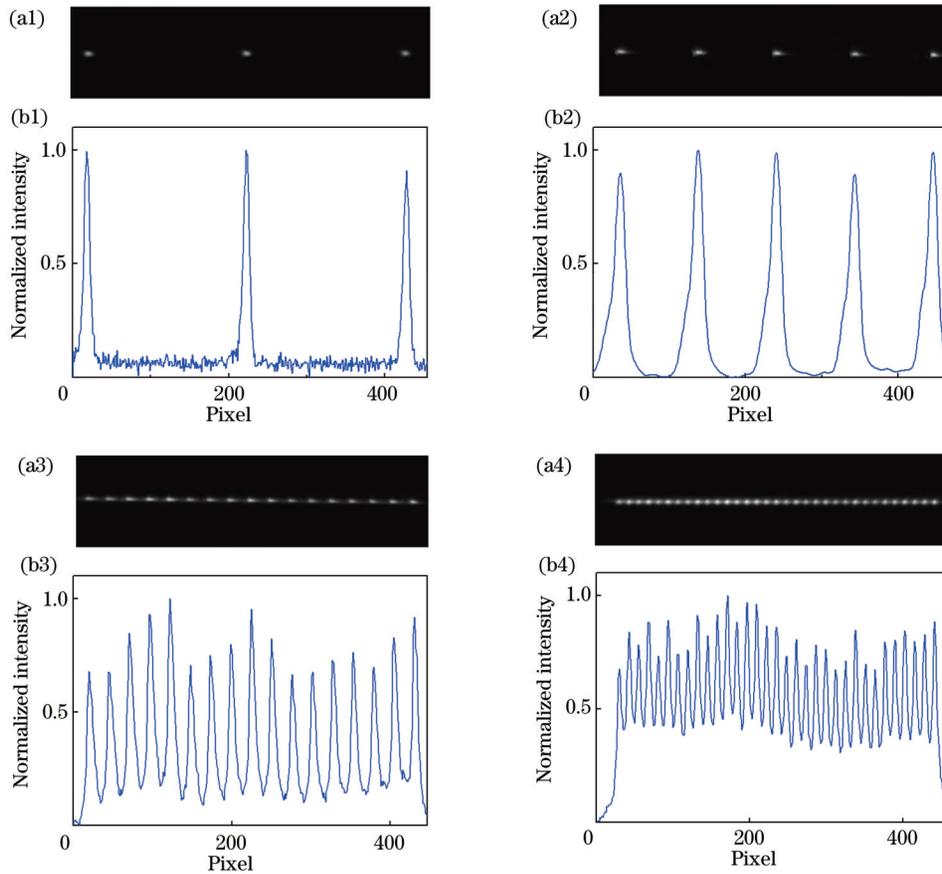


图 5 CCD 相机拍摄得到的一维激光束阵列。(a1)~(a4)生成的一维激光束阵列;(b1)~(b4)一维激光束阵列中光斑的相应强度
Fig. 5 1D laser beam array captured by CCD camera. (a1)~(a4) Generated 1D laser beam array; (b1)~(b4) corresponding intensities of spots across 1D laser beam array

3.2 光路设计

本文所设计的基于声光偏转器的 920 nm 高速 GHz 超快激光扫描系统如图 6 所示, 采用一维衍射光束进行该系统的扫描验证。扩束后的 920 nm 高重复频率飞秒激光由 PBS1 分束为 P 光和 S 光分别进入含有 AOM 的参考光路路和含有 AOD 的光路。利用焦距均为 200 mm 的透镜 lens 3 和 lens 4 作为一组中继透

镜将从 AOD 输出的一维光束阵列转移至 lens 4 的焦平面。在进入 PBS2 合束前, 通过半波片调整光束偏振态, 使合束后的功率最大。

与共聚焦显微系统所用的连续激光不同, 双光子显微系统的光源是锁模脉冲激光, 由于其发生拍频需要同时满足光束在时间和空间维度上的重合, 因此选择在参考光路搭建延迟线来精细调节两路时间差。设

置驱动 AOM (IntraAction Corp, AOM-402AF3) 的频率为 40 MHz, 经过其衍射偏转后的激光经过准直后进入安装在量程 2.5 cm 位移台上的角锥型回射器 (Thorlabs, PS976M-B) 构成延迟线。此外, 由于 AOD 输出的是一维光束阵列, 因此需要对参考光束路 x 轴方向进行缩束, 这样在经过物镜聚焦后光斑 x 轴方向被拉长, 可覆盖一维光束阵列, 所以参考光束路用一组焦距分别为 150 mm 和 10 mm 的柱面透镜缩束。为防止由于光斑直径较小带来严重的光束发散, 在参考光

路中引入连续变倍缩束镜 (GCO-2502), 通过调节变倍手轮和调焦手轮, 使缩束后的光束能保持相当长距离内不会发生大幅发散。同样在进入 PBS2 合束前, 通过半波片调整光束偏振态, 使合束后的功率最大。空间重合通过用 CCD 相机观察经透镜聚焦后的两路光斑进行调整, 时间重合通过移动回射器所在的位移台调节两路光程实现, 借助示波器 (Agilent Technologies, DS0-X 3102A, 1 GHz 带宽) 实时 FFT 功能判断中心频率拍频信号强度。

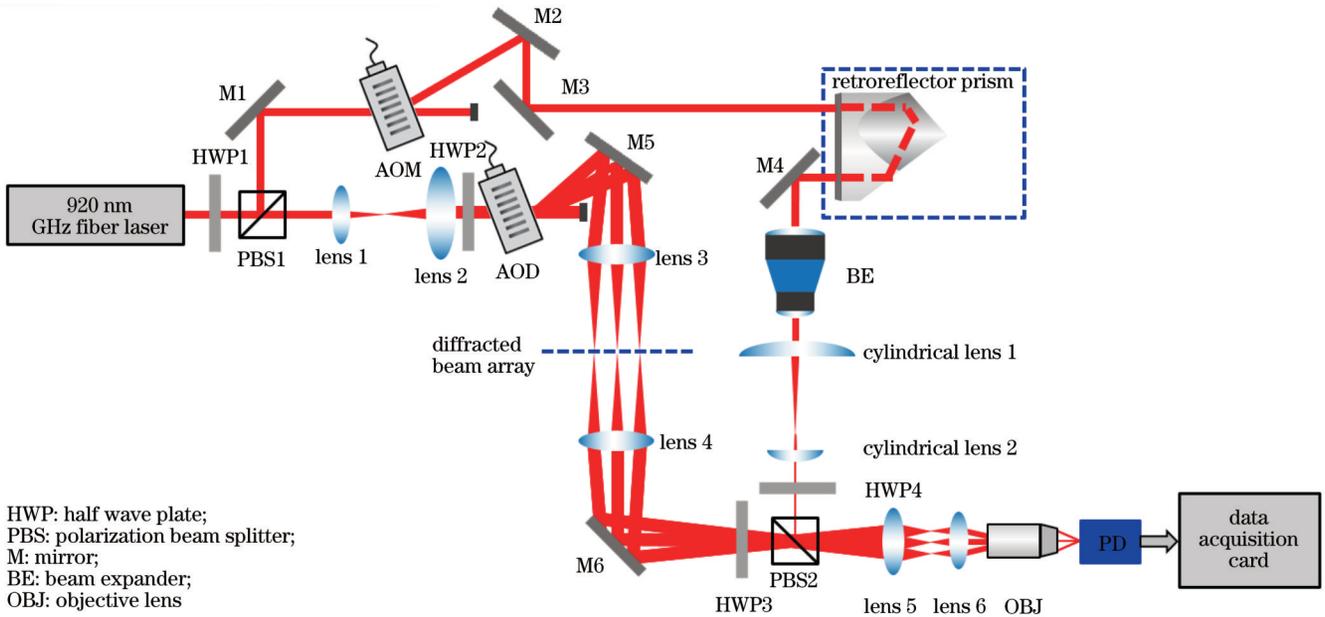


图 6 基于 AOD 的 920 nm 高速 GHz 超快激光扫描系统示意图

Fig. 6 Schematic diagram of high-speed GHz ultrafast laser scanning system at 920 nm using AOD

在实现时间与空间维度的重合后, 为使光束能正好通过物镜 (Newport, M-20x, 0.4NA) 后开孔, 在进入物镜前放置一组焦距为 50 mm 的 lens 5 和 30 mm 的 lens 6 对合束后的光束进行缩束, 缩束后的光斑直径为 5.2 mm, 匹配了物镜的 6 mm 通光孔径。基于此, 系统光路搭建完毕, 此时用 CCD 相机拍摄在物镜聚焦后的参考光束与 AOD 路一维衍射阵列光束光斑能在空间重合。示波器做 FFT 得到的 63 MHz 频率驱动下 AOD 和 40 MHz 频率驱动下 AOM 的两路干涉后的拍频信号频谱图如图 7 所示, 信号频率为 23 MHz。

3.3 信号处理

拍频信号用数字采集卡 (Alazartech, ATS9325-128 M) 记录, 每个通道能提供最大 250 MSa/s 的实时采样率, 根据奈奎斯特定律^[18], 对于频率在 15~31 MHz 频率范围内的信号, 满足被测信号带宽的 2 倍以上, 可以完全还原出原来信号中承载的信息。利用硅带放大高速光电探测器 (EOT, ET-2030A, 30 kHz~1.2 GHz 带宽) 对所设计的 32.76 μ s 时间长度的拍频信号进行采集, 对采集到的数据进行 FFT, 发现有较强的 40 MHz 和 80 MHz 频率成分出现, 分析

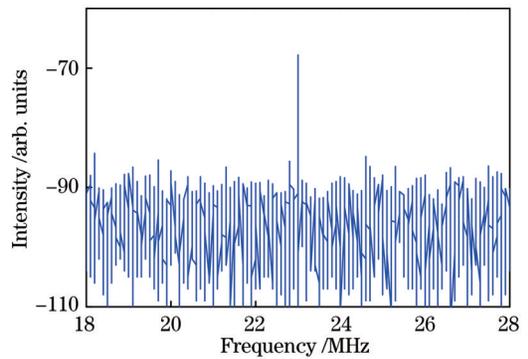


图 7 对拍频信号进行 FFT 处理后的频谱图

Fig. 7 Frequency spectrum of beating signal after performing FFT

是由参考光路中的 AOM 驱动频率 40 MHz 及其倍频频率所引入的, 因此在后续采集时加入了通带截止频率为 12.5 MHz、阻带截止频率为 31.25 MHz 的带通滤波器。如图 8 所示是由 PD 探测到的脉冲串模式输出时 AOD 一维衍射光束阵列与参考光束合束后的拍频信号, 拍频时间长度对应 32.76 μ s, 从其中插图可看出信号细节特征, 是典型的拍频信号。

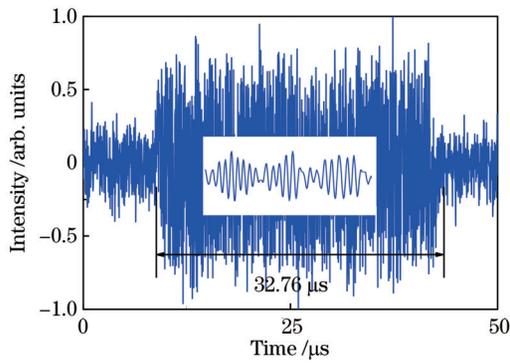


图 8 PD 探测得到的典型拍频信号。插图是拍频信号的细节特征

Fig. 8 Typical beating signal detected by PD. Inset exhibits detail features of beating signal

考虑到因同时生成多个衍射光束导致每个子光束能量变低,并且随着衍射光束数量的增加相应每个子光束能量就越低,单次采集的数据做 FFT 根本无法显示某些拍频频率成分,因此对于采集到的数据需要采取多次平均的方法以增加信噪比。在外部时钟源控制、采样率为 250 MSa/s 的设置下,采集从信号发生器输出的频率为 22.5 MHz 的 20 个脉冲组成的正弦波脉冲串,如图 9 所示是对采集到时域信号进行 FFT 后的 RF 谱,可见相对于单次采集的数据,平均 16 次后 22.5 MHz 的信号信噪比明显提高,信噪比从 35.81 dB 提高至 41.85 dB,证明了该平均方法的有效性。

图 10 (a)~(d) 分别对应 3、5、17、33 个在 15~

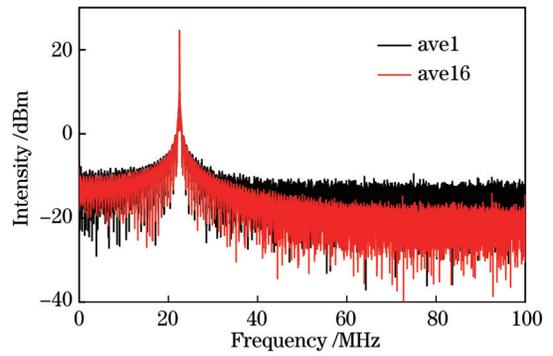


图 9 分别进行 1 次和 16 次平均后做 FFT 得到的信号 RF 谱
Fig. 9 RF spectra of signals after performing FFT with average times of 1 and 16 respectively

31 MHz 频率范围内均匀间隔的拍频信号,均可独立分辨,证明编码方法和数据处理的正确性。一个最短触发周期的时间为 33.76 μ s,值得注意的是,采样平均 60 次时信号的信噪比最高,即需要 2.03 ms,继续增加平均次数因为采集的时间逐渐加长,不能再继续提高信噪比,虽然系统光路搭建在气浮光学平台上,但还是会生产不可避免的一些环境振动等。图中所呈现的拍频信号强度分布也与前述所测光斑强度基本吻合,在光束数量较少时强度分布均匀,数量增多后差异逐渐增大,并且发现信号在中心频率时强度高,两侧低,推测可能是由于 AOM 路长条椭圆光斑往两边逐渐变窄,从而导致两路光束拍频到的区域变小,所以强度减弱,后续可以进行进一步的优化。综上所述,本文成功搭建了基于声光偏转效应的 920 nm 高速 GHz 超快激光

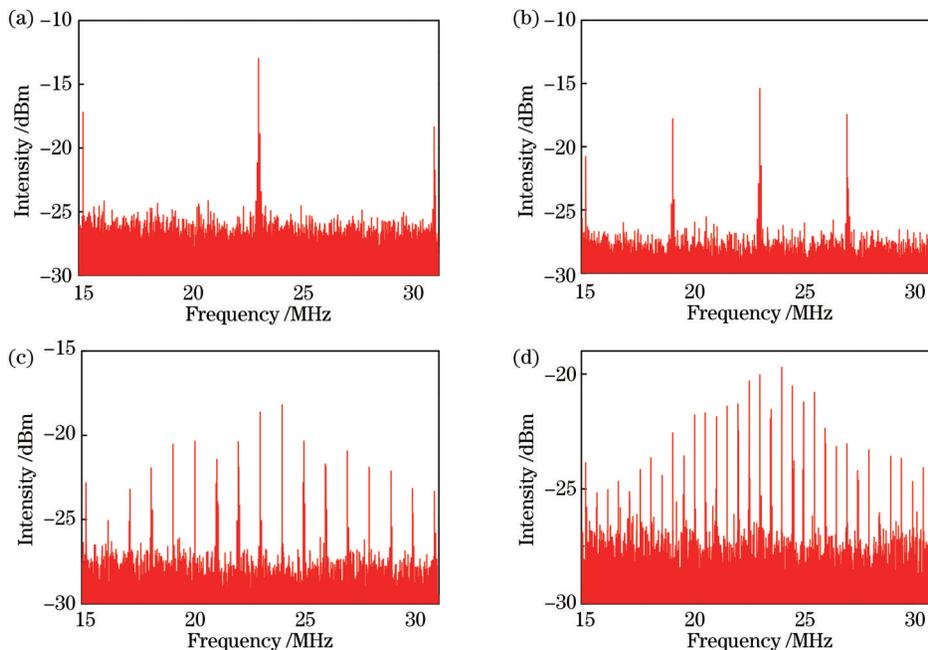


图 10 FFT 处理后的拍频信号的 RF 谱。对应的频率分别为 (a) 15、23、31 MHz; (b) 15、19、23、27、31 MHz; (c) 15、16、...、30、31 MHz; (d) 15、15.5、...、30.5、31 MHz

Fig. 10 RF spectra of beating signals after performing FFT. Corresponding frequencies are (a) 15, 23, 31 MHz; (b) 15, 19, 23, 27, 31 MHz; (c) 15, 16, ..., 30, 31 MHz; (d) 15, 15.5, ..., 30.5, 31 MHz

扫描系统,该技术可以为生物样品双光子显微成像的扫描带来更快的速度和更大的自由度。

4 结 论

本文设计并搭建了基于 920 nm 的 GHz 超快激光的高速并行扫描系统。优化了 AOD 衍射效率,测得 30~90 MHz 驱动频率范围内其衍射效率呈双峰状,3 dB 带宽约 40.2 MHz,基于 AODRF 编码技术在 55~71 MHz 随机初始相位驱动频率范围内同时输出 33 个 RF 信号,同时生成的衍射激光束阵列强度基本均匀。通过延迟线调节时间和空间重合后,与参考光束拍频标记了每个激光束特定的 RF 频率。拍频信号由采集到的数据多次平均得到,最终在 15~31 MHz 频率范围内实现了 33 个可分辨的拍频信号,证明该系统能够作为高速 0.9 μm 双光子激光并行扫描光源。

参 考 文 献

- [1] Ulivi A F, Castello-Waldow T P, Weston G, et al. Longitudinal two-photon imaging of dorsal hippocampal CA1 in live mice[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2019(148): e59598.
- [2] Damisah E C, Hill R A, Rai A, et al. Astrocytes and microglia play orchestrated roles and respect phagocytic territories during neuronal corpse removal *in vivo*[J]. *Science Advances*, 2020, 6(26): eaba3239.
- [3] 高露, 高贝贝, 王富. 超分辨显微成像技术在活体大脑成像中的应用[J]. *中国激光*, 2022, 49(20): 2007301.
Gao L, Gao B B, Wang F. Applications of super-resolution microscopy techniques in living brain imaging[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2022, 49(20): 2007301.
- [4] Xu J, Stroud R. Acousto-optic devices: principles, design, and applications[M]. New York: Wiley, 1992.
- [5] Duocastella M, Surdo S, Zunino A, et al. Acousto-optic systems for advanced microscopy[J]. *Journal of Physics: Photonics*, 2021, 3(1): 012004.
- [6] Diebold E D, Buckley B W, Gossett D R, et al. Digitally synthesized beat frequency multiplexing for sub-millisecond fluorescence microscopy[J]. *Nature Photonics*, 2013, 7(10): 806-810.
- [7] Helmchen F, Denk W. Deep tissue two-photon microscopy[J]. *Nature Methods*, 2005, 2(12): 932-940.
- [8] Mikami H, Harmon J, Kobayashi H, et al. Ultrafast confocal fluorescence microscopy beyond the fluorescence lifetime limit[J]. *Optica*, 2018, 5(2): 117-126.
- [9] Kanno H, Mikami H, Goda K. High-speed single-pixel imaging by frequency-time-division multiplexing[J]. *Optics Letters*, 2020, 45(8): 2339-2342.
- [10] Wei X M, Shen Y C, Jing J C, et al. Real-time frequency-encoded spatiotemporal focusing through scattering media using a programmable 2D ultrafine optical frequency comb[J]. *Science Advances*, 2020, 6(8): eaay1192.
- [11] 王少伟, 雷铭. 双光子激光动力治疗研究进展[J]. *中国激光*, 2022, 49(15): 1507101.
Wang S W, Lei M. Research progress of two-photon excitation photodynamic therapy[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2022, 49(15): 1507101.
- [12] Zong W J, Wu R L, Li M L, et al. Fast high-resolution miniature two-photon microscopy for brain imaging in freely behaving mice[J]. *Nature Methods*, 2017, 14(7): 713-719.
- [13] Tsybouski D, Orlova N, Ledochowitsch P, et al. Two-photon frequency division multiplexing for functional *in vivo* imaging: a feasibility study[J]. *Optics Express*, 2019, 27(4): 4488-4503.
- [14] Chu S W, Liu T M, Sun C K, et al. Real-time second-harmonic-generation microscopy based on a 2-GHz repetition rate Ti: sapphire laser[J]. *Optics Express*, 2003, 11(8): 933-938.
- [15] Zhang J, Wen J P, Wang Y F, et al. Watt-level gigahertz femtosecond fiber laser system at 920 nm[J]. *Optics Letters*, 2022, 47(19): 4941-4944.
- [16] Sapriel J. Acousto-optics[M]. New York: John Wiley & Sons Ltd, 1976.
- [17] 徐介平. 声光器件的原理、设计和应用[M]. 北京: 科学出版社, 1982.
Xu J P. Principle, design and application of acousto-optic devices [M]. Beijing: Science Press, 1982.
- [18] 约翰·G·普罗克斯, 迪米特里·G·马诺拉可斯. 数字信号处理: 原理、算法与应用[M]. 方艳梅, 刘永清, 译. 4 版. 北京: 电子工业出版社, 2014.
Proakis J G, Manolakis D G. Digital signal processing: principles, algorithms, and applications[M]. Fang Y M, Liu Y Q, Transl. 4th ed. Beijing: Electronic Industry Press, 2014.

High-Speed Scanning of GHz Ultrafast Laser Using Acousto-Optic Deflection

Zhang Jing^{1,2}, Wen Junpeng^{1,2}, Zhu Zhe^{1,2}, Wei Xiaoming^{1,2,3,4*}, Yang Zhongmin^{1,2,3,4,5}

¹*School of Physics and Optoelectronics, South China University of Technology, Guangzhou 510640, Guangdong, China;*

²*State Key Laboratory of Luminescent Materials and Devices, South China University of Technology, Guangzhou 510640, Guangdong, China;*

³*Guangdong Engineering Technology Research and Development Center of Special Optical Fiber Materials and Devices, South China University of Technology, Guangzhou 510640, Guangdong, China;*

⁴*Guangdong Provincial Key Laboratory of Fiber Laser Materials and Applied Techniques, South China University of Technology, Guangzhou 510640, Guangdong, China;*

⁵*Research Institute of Future Technology, South China Normal University, Guangzhou 510006, Guangdong, China*

Abstract

Objective Two-photon excitation microscopy is a powerful tool for studying brain neuronal activities. The imaging speed of traditional two-photon excitation microscopy technologies based on mechanical point-by-point laser scanning is relatively slow, which prevents the real-time observation of neuronal activities. Additionally, femtosecond lasers with high repetition rate are essential for high-speed two-photon excitation microscopy to achieve high signal intensity within a short pixel dwell time. We demonstrate a parallel GHz ultrafast laser scanning technology using acousto-optic deflection to exploit new potential for high-speed two-photon microscopy. The high-speed GHz ultrafast laser scanning system is built in the 920 nm wavelength range. By adjusting the temporal and spatial arrangement, 33 distinguishable parallel GHz ultrafast laser scanning beams are simultaneously generated within a frequency range of 15–31 MHz.

Methods We adopt high-speed single-pixel parallel signal detection. The 920-nm femtosecond laser with a high repetition rate is split into two polarized beams using a polarizing beam splitter. One beam experiencing multitone-frequency modulation via an acousto-optic modulator serves as the reference beam, and the other beam is deflected by the radio frequency (RF) encoding technology. A time-domain signal with a random initial phase for each frequency drives the acousto-optic deflector to generate a one-dimensional laser beam array. The light spot is characterized by a CCD camera, then a delay line is employed to adjust the spatio-temporal overlap of the two beams to achieve interference. The electrical signals generated by the photodetector are digitally sampled by a high-speed data acquisition card and then are applied with a fast Fourier transform (FFT). Each laser beam is tagged with a specific frequency.

Results and Discussions Frequency encoding design is performed within an RF range of 55–71 MHz to generate multitone RF driving signals with 33 frequencies, and each with a random initial phase. The duration of an arbitrary waveform cycle is set at 32.76 μs (Fig. 2). Although initially set with uniform amplitudes, the Fourier spectra of the loaded multi-frequency driving signals show variations after passing through the waveform generator and RF amplifier (Fig. 3). The acousto-optic deflector generates a one-dimensional laser beam array with relatively uniform intensities of the spots (Fig. 5), validating the correctness of the encoding scheme. After achieving spatio-temporal overlap, the photodetector detects typical beating signals with a duration of 32.76 μs (Fig. 8). A final RF spectrum of 33 uniformly spaced beating frequencies after performing FFT is obtained by multiple averaging (Fig. 10). The proposed parallel scanning technology presents promising applications in high-speed two-photon microscopy.

Conclusions We design a high-speed parallel scanning system based on a 920 nm GHz ultrafast laser. The diffraction efficiency of the acousto-optic deflector is optimized, and a double-peak pattern is found within the driving frequency range of 30–90 MHz, with a 3 dB bandwidth of approximately 40.2 MHz. By designing an RF encoding scheme, the system generates 33 frequencies simultaneously. The generated diffraction laser beam array shows a nearly uniform intensity distribution. By adjusting the spatio-temporal overlap, each laser beam is frequency-tagged with a specific frequency. The RF spectrum of the beating signals after performing FFT is obtained by averaging the data multiple times to generate 33 distinguishable beating frequencies in the frequency range of 15–31 MHz. This confirms that the system can serve as a high-speed 0.9 μm two-photon laser parallel scanning light source.

Key words two-photon microscopy imaging; acousto-optic deflection; high-speed laser scanning; femtosecond laser