

用于相干拉曼散射成像的光纤光源研究进展

李佳颖¹, 胡东升¹, 庄浩², 李依泽³, 季敏标^{1*}

- (1. 复旦大学 工程与应用技术研究院 应用表面物理国家重点实验室 物理学系 义乌研究院 人类表型组研究院 微纳光子结构教育部重点实验室, 上海 200433;
2. 上海理工大学 能源与动力工程学院, 上海 200093;
3. 上海理工大学 光电信息与计算机工程学院, 上海 200093)

摘要: 相干拉曼散射显微镜凭借其化学特异性、无标记成像能力、高光谱分辨率和高灵敏度, 被广泛认为是解决生物医学问题的强大工具。然而, 相干拉曼散射成像技术的临床应用长期以来受到环境敏感性的影响和大体积固体激光器的阻碍。超快光纤激光器凭借其紧凑性和稳定性, 能够有效克服这些缺点。文章对于光纤光源在相干拉曼散射成像中的不同实现方法和研究进展进行了评述, 主要包括超连续谱光纤光源、孤子自频移光纤光源、光纤参量振荡器、同步光纤光源, 并对未来发展进行了展望。

关键词: 非线性光学; 光纤光源; 相干拉曼散射成像; 超连续谱; 孤子自频移; 光纤参量振荡器; 同步技术
中图分类号: O43; **文献标识码:** A

Research progress on fiber-based laser sources for coherent Raman scattering imaging

LI Jia-Ying¹, HU Dong-Sheng¹, ZHUANG Hao², LI Yi-Ze³, JI Min-Biao^{1*}

- (1. Academy for Engineering and Technology, State Key Laboratory of Surface Physics and Department of Physics, Yiwu Research Institute, Human Phenome Institute, Key Laboratory of Micro and Nano Photonic Structures (Ministry of Education), Fudan University, Shanghai 200433, China;
2. The School of Energy and Power Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China;
3. The School of Optical-Electrical and Computer Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: Coherent Raman scattering microscopy is widely regarded as a powerful tool for solving biomedical problems due to its chemical specificity, label-free imaging capability, high spectral resolution and high sensitivity. However, the clinical application of coherent Raman scattering imaging technology has long been hindered by environmental sensitivity and large volume solid-state lasers. Ultrafast fiber lasers, with their compactness and stability, can effectively overcome these shortcomings. In this paper, different realization methods and research progress of fiber-based laser sources in coherent Raman scattering imaging are reviewed, including supercontinuum fiber source, soliton self-frequency shift fiber source, fiber optical parametric oscillator and synchronized fiber source, and the future development is prospected.

Key words: nonlinear optics, fiber-based laser sources, coherent Raman scattering imaging, supercontinuum, soliton self-frequency shift, fiber optical parametric oscillator, synchronization technique

PACS:

基金项目: 国家自然科学基金(62425501)

Foundation items: Supported by the National Natural Science Foundation of China(62425501)

作者简介(Biography): 李佳颖(1997-), 女, 湖北十堰人, 博士研究生, 主要研究领域为相干拉曼散射成像、超快光纤激光器. E-mail: 23110860038@m.fudan.edu.cn

*通讯作者(Corresponding author): E-mail: minbiaoj@fudan.edu.cn

引言

拉曼效应发现于1928年^[1]。在拉曼散射中,非弹性散射的光子携带分子振动信息,这些振动的能量通常处于中红外(Mid-Infrared, MIR)范围。将激光从中红外波段转变为可见光波段,可以避开水分子对中红外光的强烈吸收,从而在生物学和医学领域中发挥出前所未有的应用价值^[2]。拉曼散射的信号非常微弱^[3],散射截面通常在 10^{-30} cm^2 的量级^[4]。

随着激光技术的出现,人们开始利用非线性光学过程来增强拉曼散射信号,相干拉曼散射(Coherent Raman Scattering, CRS)应运而生,包括相干反斯托克斯拉曼散射(Coherent Anti-Stokes Raman Scattering, CARS)和受激拉曼散射(Stimulated Raman Scattering, SRS)^[5,6]。和自发拉曼相比,相干拉曼的散射截面提高了大约 10^8 倍^[7,8]。相干拉曼信号的产生需要两束激光,一束称为泵浦光,频率为 ω_p ;另一束称为斯托克斯光,频率为 ω_s 。当两束光的频率被调谐至 $\omega_p - \omega_s$ 恰好与分子的某一振动频率相匹配时,拉曼信号可以显著增强^[9,10]。在CARS中,会产生第三种光,称为反斯托克斯光,其频率为 $\omega_{AS} = 2\omega_p - \omega_s$ 。由于CARS的本质为四波混频过程,它不仅在共振条件下发生,也会在非共振条件下产生信号。这种非共振信号会形成较强的背景噪声,干扰目标信号的检测,导致光谱失真和伪影^[11]。由于SRS过程不存在非共振背景,其信号强度与分子的拉曼散射截面成正比,因此能够直接反映出自发拉曼光谱的特征^[12]。在SRS中,泵浦光的能量减少称为受激拉曼损耗(Stimulated Raman Loss, SRL),而斯托克斯光的能量增加称为受激拉曼增益(Stimulated Raman Gain, SRG)。

CRS成像装置的成本和鲁棒性主要由激光器决定。早期用于CRS成像的固体激光器从使用非共线光束几何结构的可见染料激光器^[13]发展到钛蓝宝石激光器^[14],通过主动同步技术使用外部电子控制系统,监测两台激光器的脉冲,并通过反馈机制调整其同步。这种同步方式系统复杂,对电子控制设备要求较高。此后发展出了同步泵浦的腔内倍频皮秒光学参量振荡器(Optical Parametric Oscillator, OPO),但仍然依赖于固体激光器^[15,16]。固体激光器具有良好的稳定性、宽波长可调谐能力和高能量密度,在实验室中被广泛使用。然而它们价格昂贵且体积庞大,难以离开超净间,尤其是需要水循环冷却,极大限制了临床场合的应用。为进一步减

小尺寸,研究者们将固体激光器替换为光纤激光器^[17,18]。光纤激光器因其紧凑和免维护的特性而备受青睐,将掺杂的稀土元素作为增益介质,并以激光二极管作为泵浦源,实现高质量的光束空间模式和高能量的激光输出。常见的光纤激光器有掺镱(Yb)、掺铒(Er)和掺铥(Tm)光纤激光器,其输出波长范围分别为1000~1100 nm、1500~1600 nm和1800~2100 nm,由稀土离子的发射谱带和吸收谱带直接决定。两种激光增益介质能够在CRS光谱中形成优势互补,通常掺镱和掺铒光纤激光器之间的固有能量差直接覆盖了CRS中C-H键伸缩振动区域($2700\sim 3100 \text{ cm}^{-1}$)^[19,20]。为了将可调谐全光纤激光器的最大波束范围扩展到 $700\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$,可以结合光纤自身的非线性效应实现波长转换。光转换有三种基本机制:超连续谱(Supercontinuum, SC)、孤子自频移(Soliton Self-Frequency Shift, SSFS)和简并四波混频(Four Wave Mixing, FWM)。这些非线性效应的效率和可控性很大程度上取决于光纤的色散特性和非线性系数,因此,选择合适的光纤结构至关重要。光子晶体光纤(Photonic Crystal Fiber, PCF)在此方面具有显著优势,其不仅具有较高的非线性系数,还可通过微结构几何设计灵活调控色散特性,从而提升频率转换的效率和可控性。在完成频率转换后,还可以进一步利用二次谐波产生(Second Harmonic Generation, SHG)或和频产生(Sum Frequency Generation, SFG)对激光光源进行参数调控,使其更好地匹配CRS成像需求。

尽管光纤光源在相干拉曼散射成像中展现出紧凑、宽调谐和易集成等优势,但其在实际应用中仍面临多方面挑战。首先,输出功率与信噪比受限。多数基于SC、SSFS、FWM构建的系统虽然具备宽波段覆盖能力,但每个拉曼位移点的光谱能量密度较低,难以满足脂肪、血管等弱散射组织的高灵敏度成像需求。此外,由于频率转换过程涉及强非线性调制与展宽,这类系统的相对强度噪声普遍偏高,对SRS等强度调制类成像模式影响尤为显著。其次,调谐速度慢且系统稳定性差。当前光纤光源的波长调控多依赖机械旋转光栅、温控滤波器等方法,调谐速度常处于Hz级,难以实现快速多窗口切换,同时系统对振动与温漂高度敏感,尤其在同步激光系统中更易出现频率漂移或失配。除此之外,脉冲同步与锁模机制仍具挑战。无论主动或被动同步系统,实现双通道皮秒/飞秒脉冲的稳定锁定对

腔长、偏振态及非线性反馈的精密协同提出较高要求,全光纤结构中尤为如此,容易因微扰引发失锁与漂移。最后,系统临床转化路径尚不明晰。尽管已有多种高性能光纤光源在实验室实现宽带、高分辨 CRS 成像,但基本都缺乏成熟的商业化能力,难以满足临床所需的稳定性、易用性与批量复制性。

本文对用于 CRS 成像的光纤光源的两种策略进行综述:(1)光纤变频技术驱动型,涵盖超连续谱光纤光源、孤子自频移光纤光源及光纤参量振荡器;(2)双激光器同步型,利用主动同步技术或被动同步技术实现两台独立光纤激光器的脉冲精确锁定。本文通过汇总近年具有代表性的文献实例,比较其波长调谐范围、平均功率、脉冲宽度、光源类型与成像样本,并进一步归纳不同光源结构性能方面的优势与不足,为后续的系统设计与选型提供参考

依据。同时,文章也对当前的关键挑战和未来的发展趋势进行了展望。

1 基于光纤变频技术的光纤光源

1.1 超连续谱光纤光源

超连续谱的产生主要依赖于光纤中的非线性效应,其中自相位调制(Self-Phase Modulation, SPM)是关键机制之一。该过程可使光谱大幅展宽,形成跨越数百纳米的超宽带光源^[21],在 CRS 成像等应用中具有重要潜力^[22]。然而,SC 的生成存在光谱功率密度较低($< 10 \text{ mW/nm}$)^[23]的问题,并且需要一个可调谐的窄带光谱滤波器来提取不同波长的脉冲。因此,基于 SC 的可调谐光源的输出功率通常低于 5 mW。

Christian W. Freudiger 等^[19]在 2014 年基于宽带 SC 实现了两个皮秒放大器的光学同步,并据此开发

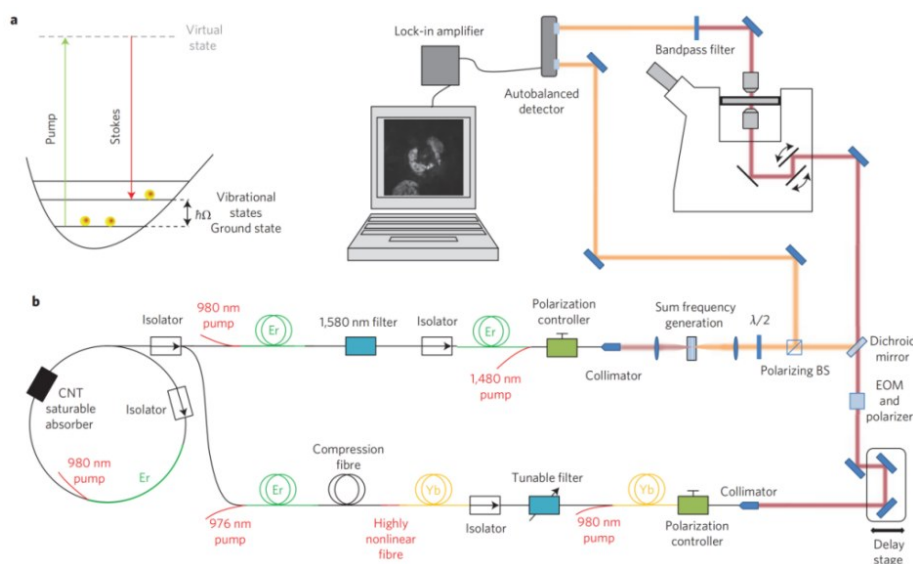


图1 基于宽带超连续谱、用于SRS的全光纤激光系统示意图:(a) SRS能级图。当泵浦光和斯托克斯光光子之间的能量差与目标分子的某一振动态能量相匹配时,分子被高效地从基态激发到相应的激发态,泵浦光子被吸收并产生斯托克斯光子;(b) 光纤激光器示意图。激光系统有一通过碳纳米管(CNT)可饱和吸收器锁模的掺铒光纤振荡器,其输出被分成两路以分别产生泵浦光(上)和斯托克斯光(下)。使用电光调制器(EOM)以 10 MHz 的频率调制斯托克斯光,使之在时间和空间上与泵浦光重合,并准直进入光束扫描显微镜中。透射光束通过聚光镜收集。斯托克斯光会被滤光片阻挡,而泵浦光会被自动平衡探测器检测。在显微镜前用偏振分光镜(BS)以分束采集参考光

Fig. 1 Schematic of all-fiber laser system for SRS based on broadband supercontinuum: (a) Energy diagram for SRS. When the difference in photon energy between the pump and Stokes beams matches the energy of a vibrational state of the target molecule, molecules are efficiently excited from the ground state to the corresponding excited state and a pump photon is absorbed and a Stokes photon is generated. (b) Schematic of the fiber laser. The laser system starts with an Er-doped fiber oscillator, which is mode-locked with a carbon nanotube (CNT) saturable absorber. The output is split into two arms to generate the pump (upper arm) and Stokes (lower arm) beams. The Stokes beam is modulated at 10 MHz with an electro-optic modulator (EOM), temporally and spatially combined with the pump beam, and aligned into a beam-scanning microscope. Transmitted beams are collected with a condenser. The pump beam is detected by the autobalanced detector after the Stokes beam is blocked with an optical filter. The reference beam is sampled in front of the microscope with a polarizing beamsplitter (BS)

了一种用于SRS成像的全光纤系统(如图1所示)。该研究构建了一种可调谐双波长光纤激光系统,其核心是重复频率为59 MHz、工作在锁模孤子状态(1560 nm)的钕掺杂光纤振荡器,采用碳纳米管可饱和吸收器实现锁模。泵浦光臂通过功率放大、滤波、倍频技术得到近红外泵浦光,斯托克斯光臂经过预放大、压缩脉宽技术产生高峰值功率脉冲,随后耦合进高非线性光纤,即可产生稳定且宽带的SC,光谱覆盖950~1700 nm波段。通过电动可调滤波器实现泵浦光与斯托克斯光之间的差频精确调谐,以适用于SRS。该系统成像性能优越,实现了高达1帧/秒的快速成像速率。作者在小鼠皮肤组织上进行了双通道成像,在 2850 cm^{-1} 获取脂类信号,在 2950 cm^{-1} 获取蛋白信号,成功显示出皮脂腺环绕毛发结构的形貌特征。在 $100\text{ }\mu\text{m}$ 深度范围内,还演示了快速Z-stack成像能力,并通过自平衡检测技术实现了接近本征散粒噪声的信噪比水平,在图像质量上显著优于未校准系统。整体方案展示了基于SC的光纤激光器在快速、生物兼容的CRS成像中的实用性与鲁棒性,具备向临床拓展的潜力。

为实现临床应用,在2017年,Daniel A. Orringer等^[24]在上述非保偏光纤装置的基础上开发了一种基于保偏光纤元件的全光纤系统(如图2所示)。该

装置集成在一个可移动小型化系统中,相比非保偏系统,稳定性大幅提升。为实现高质量高速成像(每波长2秒内获取100万像素图像),并保持与固态激光器相当的信噪比,泵浦光(790 nm)输出功率提高至约120 mW,斯托克斯光(1010~1040 nm)输出功率提高至约150 mW,脉冲重复率为40 MHz,变换极限脉冲宽度为2 ps。该系统在长途运输(加利福尼亚至密歇根)过程中保持稳定,并在临床环境中免维护、连续运行超过一年,无需重新校准。该系统的成像能力在临床中也得到验证。研究团队利用该装置,在101例神经外科患者的新鲜脑组织上实现了术中无染色、快速获取百万像素级别的虚拟组织切片。通过双通道拉曼成像(2845 cm^{-1} 脂类, 2930 cm^{-1} 蛋白质),可对每个视野在2秒内完成高对比度图像采集,生成类HE苏木精-伊红(hematoxylin-eosin)染色风格的受激拉曼组织学(Stimulated Raman Histology, SRH)图像。SRH成像在识别脑组织结构、肿瘤级别及边界方面表现出与传统冷冻切片高度一致的诊断能力(诊断一致性达92.2%),为术中即时诊断提供了可靠依据。

2023年,Todd Hollon等^[25]基于该小型化装置开发了基于人工智能的快速诊断筛查系统DeepGlioma,通过结合无标记的SRH成像和大规模基因组数

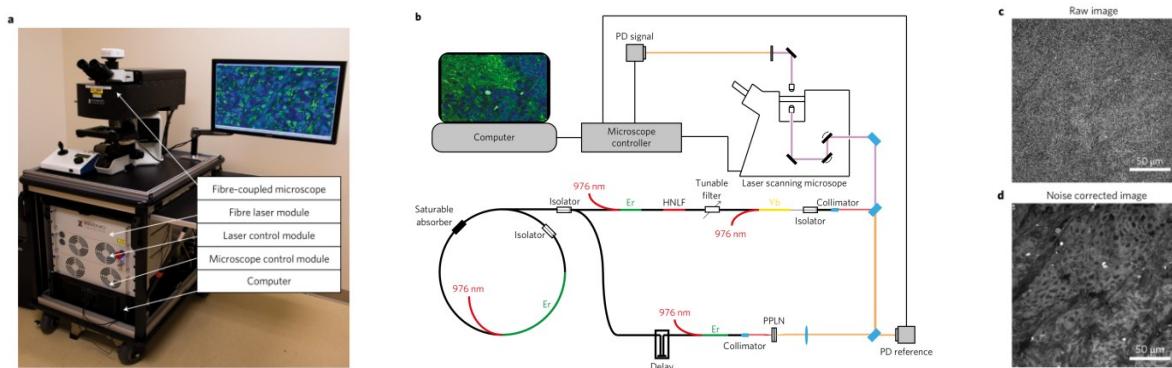


图2 基于保偏光纤元件的临床SRS显微镜:(a)手术室的SRS显微镜;(b)搭建便携式临床兼容SRS成像系统所需的双波长光纤激光耦合显微镜的关键部件。上臂产生斯托克斯光(红色),下臂产生泵浦光(橙色)。两束光合束(紫色)后通过试样。HNLF,高度非线性光纤;PD,光电二极管;PPLN,周期性极化铌酸锂;(c)(d)基于平衡检测的噪声消除前(c)和后(d)的人体组织 2845 cm^{-1} 原始图像

Fig. 2 Clinical SRS microscope based on polarization-maintaining optical fiber components: (a) SRS microscope in operating room. (b) Key components of the dual-wavelength fiber-laser coupled microscope required to create a portable, clinically compatible SRS imaging system. The top arm of the laser diagram indicates the scheme for generating the Stokes beam (red), while the bottom arm generates the pump beam (orange). Both beams are combined (purple) and passed through the specimen. HNLF, highly nonlinear fiber; PD, photodiode; PPLN, periodically poled lithium niobate. (c)(d) Raw 2845 cm^{-1} image of human tissue before (c) and after (d) balanced-detection-based noise cancellation

据,实现了对弥漫性胶质瘤分子分型的高效预测,准确率达93.3%。该研究在4家国际临床中心中对153例新发胶质瘤患者进行了前瞻性测试,系统在无需染色、无需组织处理的条件下,仅通过双通道SRH图像(2845 cm^{-1} 和 2930 cm^{-1})便可实现快速分型推理。与传统的IDH1-R132H免疫组化(immunohistochemistry, IHC)方法相比,DeepGlioma在IDH突变识别中的敏感性更高(95.5% vs 82.8%),特异性亦优于IHC(90.6% vs 87.8%),在55岁及以下患者群体中平衡准确率达到97.0%。此外,DeepGlioma系统可对三种关键分子亚型(IDH突变/野生型、1p19q共缺失、ATRX突变)进行分类预测,分型准确率为91.5%。该系统在术中可于90秒内完成推理,展现出在精准病理辅助诊断、实时手术导航和个性化治疗决策中的潜在临床转化价值。

2024年,Akhil Kondepudi等人^[26]在相同的硬件平台上进一步提出视觉基础模型驱动的快速术中诊断系统FastGlioma。该系统利用无标记的SRH图像,结合多模态视觉transformer网络,在无需染色或病理准备的前提下,仅用时不足10秒即可对新鲜组织中的胶质瘤浸润程度进行精准识别,整体准确率达92.1%。在临床验证中,FastGlioma使用280份来源于190名患者的术中组织切片,在4家医院的独立术中样本上仍维持91.3%的准确率,显示出良好的泛化能力和跨机构稳定性。此外,该模型在与神经病理学专家的盲测对比中表现出更高的一致性

和较低的平均预测偏差,显著优于传统依赖经验判断的边界评估方法。研究还指出,FastGlioma在低细胞密度区域中的检测能力更强,有助于识别浸润性边界模糊或早期病灶区域,从而为术中切缘决策提供关键依据。这一研究展示了基础视觉模型与无标记拉曼成像融合的新路径,为“术中智能病理”提供了实用化的解决方案,也为AI在脑肿瘤患者术中实时分型、边界识别及手术导航中的深度介入奠定了基础。

1.2 孤子自频移光纤光源

孤子自频移依赖于光纤的异常色散谱域中孤子的产生^[27],光谱调谐通过调整输入功率来实现^[28-30]。SSFS是一种非线性现象,主要由SRS驱动。当孤子在光纤中传输时,SRS导致其高频分量的能量向低频转移,从而使中心波长逐渐向长波方向漂移^[31, 32]。基于这一效应,光纤激光器可在红外波段实现宽波长调谐的超短脉冲输出。基于SSFS技术的光纤激光器作为一种新型可调谐超短脉冲光源,近年来备受关注。其通过在光子晶体光纤中调节孤子波长以匹配分子振动模式来实现CRS成像^[33-36]。

基于飞秒光纤光源,Ruxin Xie等^[37]结合PCF的SSFS技术实现斯托克斯光波长连续调谐(850~1200 nm),构建了多模态无标记成像系统(如图3所示),通过线性啁啾匹配和光谱聚焦提升光谱分辨率,同步获取CARS、SRS及光热图像。该系统基于一个简

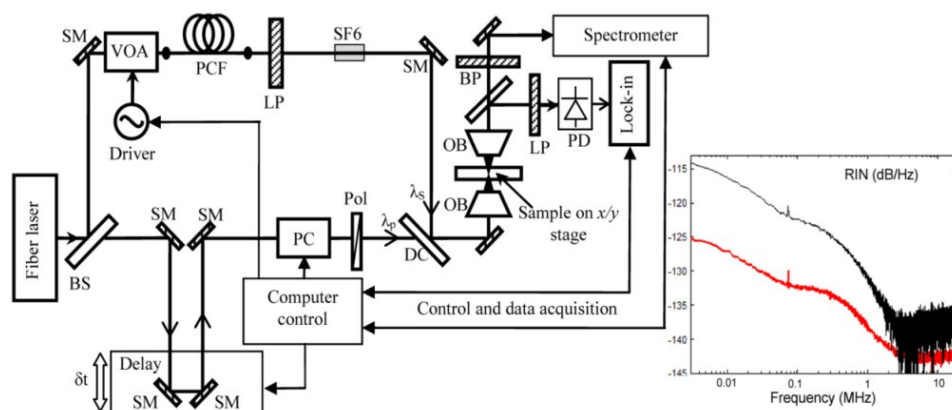


图3 具有可控斯托克斯波长(λ_s)和相对泵浦延迟(δt)的多模态无标记成像系统。BS,分束器;SM,银镜;PCF,光子晶体光纤;LP,长通滤光片;BP,带通滤光片;SF6,SF-6玻璃棒;DC,二向色镜合束器;OB,物镜;PC,普克尔斯盒;Pol,偏振片;PD,光电二极管。右插图为测得的光纤激光器(红色)和孤子自频移脉冲(黑色)的相对强度噪声。

Fig. 3 Multimodal label-free imaging system with controllable Stokes wavelength (λ_s) and relative pump delay (δt). BS, beam splitter; SM, silver mirror; PCF, photonic crystal fiber; LP, long-pass filter; BP, bandpass filter; SF6, SF-6 glasses rod; DC, dichroic beam combiner; OB, objective lenses; PC, pockels cell; Pol, polarizer; PD, photodiode. Inset on the right: measured relative intensity noise of the fiber laser (red) and of the soliton self-frequency shifted pulses (black).

单的光纤-激光源耦合的 PCF 的 SSFS 技术,采用全光纤架构,兼具紧凑性与快速波长调谐能力,为生物医学实时病理分析提供了高灵敏度、多参数协同的解决方案。SSFS 产生的斯托克斯脉冲提供了一种在非常短的时间尺度调谐不同振动共振或切换的可能性。该系统实现了小鼠大脑切片样本和红细胞的成像,以证明所提出的技术的可行性。

1.3 光纤参量振荡器

光纤参量振荡器(Fiber Optical Parametric Oscillator, FOPO)是一种基于四波混频效应的可调谐激光光源,其利用特种光纤(如高非线性光纤或光子晶体光纤)作为增益介质,通过泵浦光诱导非线性参量增益,在光纤谐振腔内实现信号光的振荡和放大。相比于传统的 OPO,FOPO 的主要特点在于增益介质的不同:OPO 通常使用非线性晶体(如 BBO、PPLN)并依赖二阶非线性效应;FOPO 则基于光纤的 FWM 效应,利用三阶非线性效应。OPO 的波长调谐通常由腔内光学晶体的缓慢机械旋转^[38]或温度依赖的相位匹配^[39]控制,极大地限制了调谐速率,而 FOPO 具有更紧凑的结构和更快的调谐速率^[40]。

用于 CRS 成像的 FOPO 的主要结构如图 4 所示,包括泵浦激光器、耦合器件、特种光纤、延时线等。泵浦激光器的输出光通过耦合器件耦合进入特种光纤发生 FWM 效应,转化为信号光和闲频光。一部分信号光从分束器件输出,另一部分信号光则进入延时线。通过精确调节延时线的长度,与输入泵浦脉冲序列的重复频率相匹配,使得信号光反馈回耦合器件时和泵浦光在时间上重叠,并经由耦合器件再次进入特种光纤,从而进一步增强信号光的振荡,最终形成振荡输出。

研究者们对用于 CRS 成像的光纤集成的 OPO 系统开展了一系列开发和优化工作。2009 年, Khanh Kieu 等^[17]报道了一种用于相干拉曼显微镜

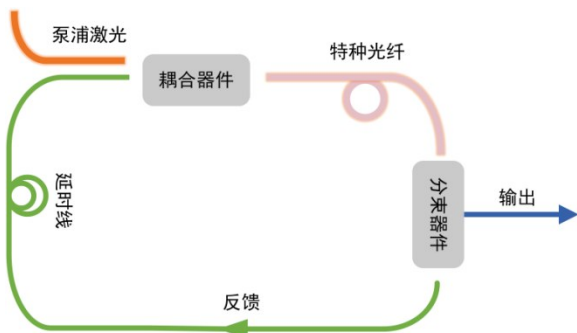


图4 用于 CRS 成像的 FOPO

Fig. 4 FOPO for CRS Imaging

(Coherent Raman Microscopy, CRM)的高功率皮秒光纤泵浦激光系统。该光纤光源产生平均功率 6 W、波长 1030 nm、脉宽 3.5 ps 的脉冲光,通过倍频转换生成功率超过 2 W 的绿光(515 nm),用于泵浦 OPO,从而产生可调谐的泵浦光和斯托克斯光。利用该系统获得的 CARS 图像说明了光纤光源在 CRM 中的潜力。2011 年, Yanhua Zhai 等^[41]利用飞秒光纤光源和基于 PCF 的 FOPO 组成的光源,实现多模态 CARS 成像。通过切换两种具有不同零色散波长的 PCF, FOPO 产生了覆盖 840~930 nm 范围的可调谐信号光束。该系统采用光纤激光泵浦的全光纤 FOPO 腔,消除了自由空间设计,为 CRM 提供了紧凑的激光光源,为后续可调谐脉冲的全光纤源的发展奠定了基础。2015 年, Marcus Beutler 等^[18]利用商用掺镱光纤泵浦系统及 AgGaSe₂ 晶体在中红外波段实现超短脉冲的差频产生(Difference Frequency Generation, DFG),在 80 MHz 和 53 MHz 的重复频率下,分别对同步泵浦的皮秒和飞秒 OPO 的信号光和闲频光进行 DFG。在皮秒工作模式下,实现了 5~18 μm 的连续可调谐输出,在 6 μm 处的平均功率为 140 mW;在飞秒工作模式下,可调谐范围扩展至 5~17 μm ,在 6 μm 处的平均功率为 69 mW。2017 年, Thomas Gottschall 等^[42]展示了首个用于 CRS 成像、具有宽波长调谐范围的 FOPO。该系统的泵浦源是一种全光纤化、连续可调的掺镱光纤振荡器,输出波长范围为 1015~1065 nm,并具有连续可调的脉冲重复频率。信号经过放大后,通过一个长光纤腔,利用 FWM 将光转换至 764~960 nm 和 1164~1552 nm 的范围,实现了像素驻留时间仅为 1 μs 的快速 SRS 成像,验证了次级输出信号的稳定性达到 -148 dBc/Hz。2019 年, Maximilian Brinkmann 等^[43]开发了一种用于 CRS 成像的、基于 FOPO 的快速可调谐的双输出全光纤光源。该系统利用一台色散匹配的锁模激光器泵浦参量振荡器,能够产生脉宽为 7 ps 的泵浦光和斯托克斯光,最大输出功率分别为 170 mW 和 400 mW,通过全电子调谐机制,无需机械延迟线,即可实现跨越 2700 cm^{-1} 范围的任意波数切换,切换时间小于 5 ms。该系统紧凑且稳健的设计在承受超过 25 m/s^2 的机械冲击下仍表现出可靠的运行性能,适合便携式应用。在小鼠和人类皮肤组织的成像实验中,该便携光源与商用实验室系统的成像结果一致,验证了其在移动环境中进行 CRS 成像的有效性。2021 年, Hongli Ni 等^[44]报道了一种多窗

口 SRS 成像系统,该系统由快速且宽范围可调的 FOPO 和自动平衡检测技术实现,能够覆盖 $1050\sim 3150\text{ cm}^{-1}$ 的拉曼波数,并可在 5 ms 内在任意两个波数之间进行调谐。

近年来,FOPO 系统在 CRS 成像领域取得了显著进展。从高功率皮秒/飞秒光纤激光器的开发到全光纤化设计,研究者们通过创新结构优化与材料技术,逐步实现了光源的高功率输出、宽光谱调谐以及快速波长切换。关键突破包括利用 PCF 提升非线性效率,利用全电子调谐机制替代传统机械延迟线,通过紧凑化设计增强系统稳定性与便携性。这些技术不仅推动了 CRS 成像在生物医学领域的应用,还为便携式显微设备的开发奠定了基础。

2 同步光纤光源

2.1 主动同步光纤光源

Steve Bégin 等^[20]在 2011 年提出了一种专为 CARS 光谱和高光谱成像设计的主动同步光纤激光系统(如图 5 所示),其由可编程激光器(Programmable Laser, PL)和主振荡功率放大器(Master Oscillator Power Amplifier, MOPA)组成。PL 采用色散调谐的主动锁模方案,通过四个啁啾光纤布拉格光栅(Chirped Fiber Bragg Gratings, CFBGs)实现不同波长对应不同腔长,并通过 EOM 调节驱动频率进行波长调谐($1524\sim 1608.6\text{ nm}$)。PL 的不同波长对应不同重复率,由于两者由相同的电子驱动系统控制,可实现精确同步,无需机械延迟线。两台激光器产生的脉冲均小于 35 ps , CARS 激发线宽小于 0.5 cm^{-1} 。

相比于依赖公共电子驱动源和时间延迟控制的复杂电子同步机制,基于交叉相位调制(Cross-Phase Modulation, XPM)的被动同步方法在简化系统复杂性方面更具潜力。

2.2 被动同步技术与被动同步光纤光源

2.2.1 被动同步技术

光纤激光器的噪声强度较大,因此在 CRS 成像时通常需要引入平衡探测技术来抑制噪声^[19, 45-48]。然而,对于宽光谱的动态样本,平衡探测的性能难以维持稳定。这是因为动态样本的光学特性和信号强度会随时间变化,导致系统难以持续匹配参考光束和信号光束。此外,利用主动同步技术或平衡探测技术也会显著增加系统的复杂性。

一种颇具前景的方法能够实现低噪声的 CRS 成像:利用交叉相位调制效应,让两台独立的激光

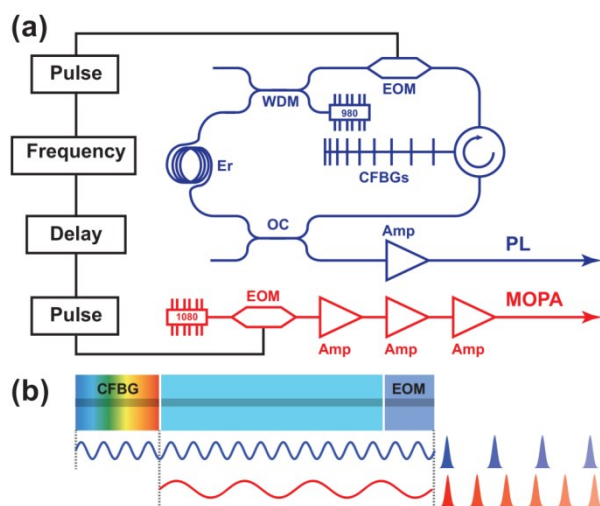


图 5 (a) 同步激光器的示意图。PL(蓝色)和 MOPA(红色)由延迟可调的高速函数生成器(黑色)驱动。在 PL 中,波长由频率发生器使用四个色散 CFBG 和一个 EOM 的色散调谐来确定。EOM 由一个 25 ps 脉冲发生器驱动。波分复用器(WDM)将 980 nm 泵浦光和信号组合到掺铒光纤中。MOPA 由一个连续波激光二极管组成,该二极管由一个 25 ps 脉冲发生器通过 EOM 调制,其重复频率与 PL 相同。(b) CFBG 在每个波长下形成不同的腔长。通过改变 EOM 的驱动频率实现调谐,从而改变激光器的重复频率

Fig. 5 (a) Schematic of the synchronized lasers. The PL (blue) and the MOPA (red) are driven by high-speed function generation electronics with adjustable delay (black). In the PL, the wavelength is determined by the frequency generator through dispersion tuning using four dispersive CFBGs and an EOM. The EOM is driven by a 25 ps pulse generator. A wavelength division multiplexer (WDM) is used to combine the 980 nm pump and the signal into the erbium-doped fiber. The MOPA consists of a continuous wave laser diode modulated through an EOM by a 25 ps pulse generator with the same repetition rate as the PL. (b) The CFBG forms different cavity lengths for each wavelength. Tuning is achieved by changing the driving frequency of the EOM, and consequently the repetition rate of the laser

器实现两束脉冲光的高精度同步输出。

XPM 是一种瞬时同步机制。如图 6 所示,在主激光器注入从激光器的瞬间,两束脉冲会发生碰撞,导致一个脉冲的相位被另一个脉冲的强度所调制,从而引起频移^[49]。两个脉冲的相对时间差直接影响 XPM 的频移方向。快的脉冲在相位调制过程中红移,慢的脉冲蓝移。若腔内存在异常色散,频率的红移或蓝移会进一步影响脉冲的传播速度。通常,红移会导致脉冲减速,而蓝移会加速脉冲,在

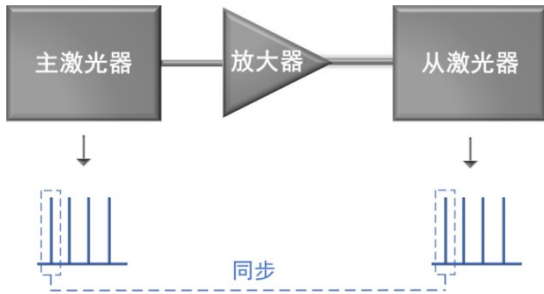


图6 被动同步系统示意图

Fig. 6 Schematic of the passive synchronization system

正常色散的腔内则相反。在每一轮回程中,从脉冲会与注入脉冲交互,最终达到平衡状态^[50]。这种自调节同步和锁模机制确保泵浦光和斯托克斯光优良的相对强度噪声和较低的时间抖动。

2.2.2 被动同步光纤光源

Cihang Kong 等^[50]在2020年提出了一种新型的高功率自同步双色脉冲光纤激光器,其谐振腔通过非线性极化旋转技术实现无源锁模。该光纤光源实现了 $2700\text{--}3550\text{ cm}^{-1}$ 高波数区域的波长可调谐性。由于利用 XPM 实现相干波长生成,泵浦光和斯托克斯光均表现出非常低的相对强度波动(低于 -140 dBc/Hz)。利用这种紧凑且稳定的激光源可以进行高速 CRS 成像,且无需平衡探测,获得高对比

度、快速扫描的 CRS 图像,包括活体人类细胞和小鼠上腔静脉组织的成像结果。此前的方式需要较长的信号积分时间或平衡探测来消除过高的激光噪声。这项改进对于成功将 CRS 成像及相关非线性光学成像技术转化为临床应用具有重要意义。

同年, Kangwen Yang 等^[51]介绍了一种全保偏用于 CARS 成像的被动同步光纤激光器实验装置(如图7所示)。两台保偏光纤振荡器均采用更为稳定的九字腔结构,通过非线性放大环境实现无源锁模^[51-58]。来自掺铒支路的倍频激光脉冲和来自掺镱支路的可调谐激光脉冲通过二向色镜合束,分别作为泵浦光和斯托克斯光,并进入商用显微镜进行非线性生物医学成像。该光纤光源的腔长容差范围达到 1 mm , 所有光纤均为偏振保持光纤(Polarization Maintaining Fiber, PMF), 提高了抗环境振动和温度变化的能力,从而确保稳定的锁模和放大过程,是一种用于 CRS 成像且颇具潜力的同步光源。

3 光纤光源类型与性能比较

为进一步说明不同类型光纤光源在相干拉曼散射成像中的具体实现方式与适用特性,表1总结了近年来具有代表性的文献实例,并对其波长调谐范围、平均功率、脉冲宽度、光源光纤类型及成像样

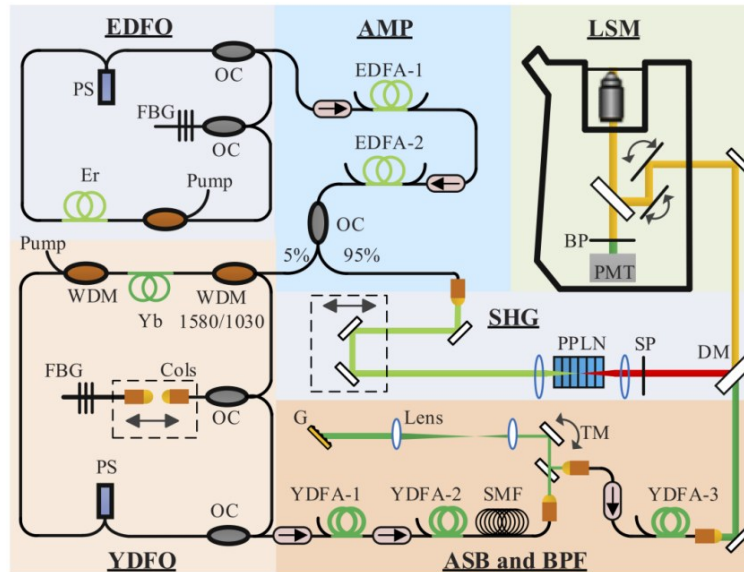


图7 用于CARS成像的被动同步光纤激光器。EDFO,掺铒光纤振荡器;YDFO,掺镱光纤振荡器;AMP,放大器;ASB,主动频谱展宽模块;BPF,带通滤波器;SP,短通滤波器;LSM,激光扫描显微镜;PS,移相器;OC,光耦合器;G,光栅;SMF,单模光纤;WDM,波分复用器;TM,可调镜面;PMT,光电倍增管

Fig. 7 The experimental setup of passive synchronization fiber lasers used for CARS imaging. EDFO, Er-doped fiber oscillator; YDFO, Yb-doped fiber oscillator; AMP, amplifiers; ASB, active spectral broadening module; BPF, bandpass filter; SP, short pass filter; LSM, laser scanning microscopy; PS, phase shifter; OC, optical coupler; G, grating; SMF, single mode fiber; WDM, wavelength division multiplexer; TM, tunable mirror; PMT, photomultiplier tube

本等关键参数进行了系统比较。值得注意的是,非偏振保持光纤虽然结构简单、成本较低,但在环境扰动(如温度波动、机械振动)下,易引起偏振态漂移,进而影响干涉性过程中的相位稳定性和信噪比,尤其在需要长时间连续成像或临床部署的场景中表现出明显局限性。相比之下,偏振保持光纤能有效维持光束的线偏振状态,抑制偏振态随机扰动,在同步机制、锁模稳定性及相干信号提取中具备显著优势。因此,采用偏振保持光纤构建的激光系统在系统鲁棒性、成像一致性和临床适配性方面更具优势。

表2总结了用于CRS成像的不同光纤光源的优缺点,有助于理解不同光源结构在成像性能、系统可实现性与应用适配性方面的差异,为实际系统设计与选型提供参考依据。

从激光性能角度来看,各类光源在调谐范围、输出功率、脉宽控制、系统集成度及稳定性等方面各具特色,适用于不同的成像需求和应用场景。孤

子自频移光源凭借其宽广的调谐范围(可覆盖约1000~3000 cm^{-1})和较高的能量集中性,适用于对比度要求较高的SRS成像,但受限于其调谐过程对泵浦功率的高度依赖,输出波长控制精度较低,且仅能在负色散区域运行。超连续谱光源结构最为简洁,能够覆盖多个拉曼窗口,但其光谱能量密度较低,非线性干扰大且谱线稳定性不足,难以满足高灵敏度或定量成像的需求。FOPO具备高调谐精度($< 1 \text{ cm}^{-1}$)和光束共轴输出等优势,在实现高分辨率、高选择性成像方面展现出潜力,但其输出功率相对较低,且对腔长、色散参数等结构设计要求较高。主动同步激光系统则提供了极高的波长配置自由度与脉冲同步精度,可灵活适配多窗口成像任务,但系统集成复杂、对电子控制要求高,长期运行的稳定性也有待进一步优化。相比之下,被动同步光源因无需外部锁相器件,整体结构更加紧凑,光束天然共轴,具备良好的抗干扰能力和小型化潜力,适合面向便携设备或临床场景的集成应用,但

表1 用于相干拉曼散射成像的光纤光源的参数总结

Table 1 Parameters of fiber-based laser sources for coherent Raman scattering imaging

光纤光源类型	波长调谐范围(nm)	平均功率(mW)	脉冲宽度(ps)	光源光纤类型	成像样本	参考文献
基于光纤变频技术的 光纤参量振荡器	Pump: 790 Stokes: 1015-1045	Pump: 75 Stokes: 120	Pump: 4 Stokes: 1	非偏振保持	聚苯乙烯微球、小鼠皮肤组织	[19]
	Pump: 790 Stokes: 1010-1040	Pump: 120 Stokes: 150	Pump: 2 Stokes: 2	偏振保持	人脑组织	[24]
	Pump: 802 Stokes: 850-1200	Pump: 9 Stokes: 0.2(样品上)	Pump: 0.12 Stokes: 0.12	\	小鼠脑组织、人类血液样本	[37]
同步光纤光源	Pump: 764-960 Stokes: 1164-1552	Pump: 50-100 Stokes: 250	Pump: 30 Stokes: 30	偏振保持	环己烷中玻璃球体	[42]
	Pump: 780-980 Stokes: 1020-1060	Pump: 170 Stokes: 400	Pump: 7 Stokes: 7	偏振保持	小鼠耳组织、人类面部皮肤组织、DMSO、药物晶体	[43]
	Pump: 775-946 Stokes: 1027-1053	Pump: 30 Stokes: 99(样品上)	Pump: 7 Stokes: 7	\	真菌、卵巢癌细胞、秀丽隐杆线虫	[44]
主动同步光纤光源	Pump: 1080 Stokes: 1524-1608.6	Pump: 40 Stokes: 15(样品上)	Pump: 35 Stokes: 35	\	小鼠耳组织、花生油、DMSO、硅树脂、聚苯乙烯微球、脂肪酸	[20]
被动同步 光纤光源	Pump: 789 Stokes: 1010-1060	Pump: 160 Stokes: 1000	Pump: 2.7 Stokes: 3.2	非偏振保持	人骨肉瘤细胞、原代肌母细胞、小鼠尾部组织、小鼠肾脏组织、小鼠脑组织	[50]
被动同步 光纤光源	Pump: 790 Stokes: 1018-1051 / 1070-1095	Pump: 41.8 Stokes: 20(样品上)	Pump: 16.2 Stokes: 22.3	偏振保持	小鼠耳组织	[51]

表2 用于相干拉曼散射成像的光纤光源的优缺点比较

Table 2 Comparison of pros and cons of fiber-based laser sources for coherent Raman scattering imaging

激光器类型	实现技术手段	优点	缺点
基于光纤变频技术的光纤光源	孤子自频移光纤光源	光谱宽广($\sim 1000\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$) 能量集中,适用于高对比成像	调谐关系非线性,波长控制依赖泵浦功率 仅在负色散波段运行(需特殊设计光纤)
	超连续谱光纤光源	波段宽广(覆盖多个拉曼窗口) 构造简单,便于实现	光谱能量密度低,信噪比差 多种非线性干扰导致光谱不可控 对输入变化敏感,谱线稳定性差
	光纤参量振荡器	调谐精度高,可达 $< 1\text{ cm}^{-1}$ 光束共轴输出 易于小型化	输出功率较低 对结构参数匹配要求高
同步光纤光源	主动同步光纤光源	波长配置灵活,适用于多窗口扫描 同步精度高,可实现亚ps级脉冲锁定 激光通道可独立调节	系统复杂,需外部电子控制与锁相器 易受温度与腔长波动影响,同步稳定性有限 成本高、集成难
	被动同步光纤光源	系统结构紧凑 高抗干扰性 易于小型化	波长调控范围有限 参数匹配要求高,需精确匹配腔长、色散参数

其波长调谐范围相对受限,且调谐精度依赖于腔体结构设计与参数匹配的准确性。

总体而言,不同光纤光源技术在成像性能、系统复杂性与应用适应性方面各有优劣,需根据具体的成像窗口、样本类型、空间约束及系统开发目标进行综合权衡选择。

4 总结与展望

本文系统回顾并归纳了当前相干拉曼散射显微成像中光纤光源的实现路径,包括超连续谱、孤子自频移、光纤参量振荡器以及主动/被动同步光纤激光系统,通过总结不同技术架构的优势与局限,进一步突出光纤激光技术在推动新一代高性能、低成本CRS平台构建中的核心价值。

CRS显微镜凭借其高空间分辨率、无需荧光标记以及具有化学特异性等优点,近年来已广泛应用于活体成像、组织诊断与代谢研究等领域^[59-63],特别是在脑肿瘤^[64, 65]、乳腺癌^[66-69]、前列腺癌^[70]、痛风^[71, 72]等术中快速分子病理分析中展现出巨大潜力。然而,目前CRS系统的临床应用仍面临诸多挑战,主要包括设备体积庞大、操作复杂、同步机制复杂、成本高昂等限制。目前,全球仅美国Invenio Imaging公司基于SRS的商业系统(NIO Laser Imaging System)实现了初步的临床落地应用^[24-26],但整体仍处于早期阶段。

面向未来,光纤光源的持续发展将成为推动CRS系统性能提升与临床转化的关键驱动力。具体而言,以下四个方向尤为关键:1、输出稳定性与噪

声控制:当前SC、SSFS与FOPO等频率变换型光源普遍存在相对强度噪声较高的问题,影响SRS图像信噪比。未来需从非线性机制调控、与系统抗扰性优化等方面入手,提升整体成像质量。2、高速波长调谐与多窗口成像:为满足复杂样本多波段成像需求,需发展基于电控滤波、无机械延迟的高速调谐机制,或采用多通道并行光源架构,实现在毫秒级时间内切换多个拉曼窗口。3、同步机制的集成化与稳健性提升:被动同步方案已有效规避外部锁相系统带来的系统复杂性,但其对光纤腔参数漂移、环境温漂与振动的鲁棒性仍需进一步优化,以满足临床高强度、长时间连续运行需求。4、将激光器、显微成像模块与AI分析平台进行模块化集成,是推动CRS走向临床常规使用的关键路径。光纤激光器的紧凑性、抗扰性和免维护特性使其天然适配临床成像、术中导航及远程病理等多场景部署。

总而言之,随着光纤激光器在性能、结构和智能化控制方面的持续优化,CRS显微成像有望摆脱对固体激光系统的依赖,朝着“高性能+低成本+可部署”的方向快速发展。未来,融合高速光谱调谐、深度学习分析与光纤平台小型化的CRS系统,有望成为新一代数字病理成像设备的核心技术支撑,为精准医疗和术中诊断提供高时效、高灵敏度和高通量的成像解决方案。

References

- [1] Raman C V, Krishnan K S. A new type of secondary radiation [J]. Nature, 1928, 121(3048): 501-502.
- [2] Zhang C, Cheng J. Perspective: Coherent Raman scattering

- microscopy, the future is bright [J]. *APL Photonics*, 2018, 3(9): 090901.
- [3] Raman C V. A new radiation [J]. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences – Section A*, 1953, 37(3): 333–341.
- [4] Gao S, Zhang Y, Cui K, et al. Self-stacked small molecules for ultrasensitive, substrate-free Raman imaging in vivo [J]. *Nature Biotechnology*, 2024.
- [5] Min W, Gao X. Fundamental detectability of Raman scattering: A unified diagrammatic approach [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2024, 160(9): 094110.
- [6] Gao X, Li X, Min W. Absolute stimulated Raman cross sections of molecules [J]. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2023, 14(24): 5701–5708.
- [7] Maker P D, Terhune R W. Study of optical effects due to an induced polarization third order in the electric field strength [J]. *Physical Review*, 1965, 137(3A): A801–A818.
- [8] Min W, Gao X. Raman scattering and vacuum fluctuation: An Einstein-coefficient-like equation for Raman cross sections [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2023, 159(19): 194103.
- [9] Saar B G, Freudiger C W, Reichman J, et al. Video-rate molecular imaging in vivo with stimulated Raman scattering [J]. *Science*, 2010, 330(6009): 1368–1370.
- [10] Camp J C H, Cicerone M T. Chemically sensitive bioimaging with coherent Raman scattering [J]. *Nature Photonics*, 2015, 9(5): 295–305.
- [11] 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.
- [12] Tipping W J, Lee M, Serrels A, et al. Stimulated Raman scattering microscopy: an emerging tool for drug discovery [J]. *Chemical Society Reviews*, 2016, 45(8): 2075–2089.
- [13] Duncan M D, Reintjes J, Manuccia T J. Scanning coherent anti-Stokes Raman microscope [J]. *Optics Letters*, 1982, 7(8): 350–352.
- [14] Potma E O, Jones D J, Cheng J, et al. High-sensitivity coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy with two tightly synchronized picosecond lasers [J]. *Optics Letters*, 2002, 27(13): 1168–1170.
- [15] Ganikhanov F, Carrasco S, Xie X S, et al. Broadly tunable dual-wavelength light source for coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy [J]. *Optics Letters*, 2006, 31(9): 1292–1294.
- [16] Evans C L, Potma E O, Puoris’haag M, et al. Chemical imaging of tissue in vivo with video-rate coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102(46): 16807–16812.
- [17] Kieu K, Saar B G, Holtom G R, et al. High-power picosecond fiber source for coherent Raman microscopy [J]. *Optics Letters*, 2009, 34(13): 2051–2053.
- [18] Beutler M, Rimke I, Büttner E, et al. Difference-frequency generation of ultrashort pulses in the mid-IR using Yb-fiber pump systems and AgGaSe₂ [J]. *Optics Express*, 2015, 23(3): 2730–2736.
- [19] Freudiger C W, Yang W, Holtom G R, et al. Stimulated Raman scattering microscopy with a robust fibre laser source [J]. *Nature Photonics*, 2014, 8(2): 153–159.
- [20] Bégin S, Burgoyne B, Mercier V, et al. Coherent anti-Stokes Raman scattering hyperspectral tissue imaging with a wavelength-swept system [J]. *Biomedical Optics Express*, 2011, 2(5): 1296–1306.
- [21] Tu H, Liu Y, Turchinovich D, et al. Stain-free histopathology by programmable supercontinuum pulses [J]. *Nature Photonics*, 2016, 10(8): 534–540.
- [22] Andresen E R, Paulsen H N, Birkedal V, et al. Broadband multiplex coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy employing photonic-crystal fibers [J]. *Journal of the Optical Society of America B*, 2005, 22(9): 1934–1938.
- [23] Liu W, Li C, Zhang Z, et al. Self-phase modulation enabled, wavelength-tunable ultrafast fiber laser sources: an energy scalable approach [J]. *Optics Express*, 2016, 24(14): 15328–15340.
- [24] Orringer D A, Pandian B, Niknafs Y S, et al. Rapid intraoperative histology of unprocessed surgical specimens via fibre-laser-based stimulated Raman scattering microscopy [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2017, 1(2): 0027.
- [25] Hollon T, Jiang C, Chowdury A, et al. Artificial-intelligence-based molecular classification of diffuse gliomas using rapid, label-free optical imaging [J]. *Nature Medicine*, 2023, 29(4): 828–832.
- [26] Kondepudi A, Pekmezci M, Hou X, et al. Foundation models for fast, label-free detection of glioma infiltration [J]. *Nature*, 2025, 637(8045): 439–445.
- [27] 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.
- [28] Wang K, Horton N G, Charan K, et al. Advanced fiber soliton sources for nonlinear deep tissue imaging in biophotonics [J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2013, 20(2): 50–60.
- [29] Andresen E R, Berto P, Saint-Jalm S, et al. Stimulated Raman scattering microscopy by spectral focussing and fiber-generated soliton as Stokes pulse [J]. *International Society for Optics and Photonics*, 2012, 8226: 822606.
- [30] Wang K, Xu C. Tunable high-energy soliton pulse generation from a large-mode-area fiber and its application to third harmonic generation microscopy [J]. *Applied Physics Letters*, 2011, 99(8): 1027.
- [31] Dudley J M, Genty G, Coen S. Supercontinuum generation in photonic crystal fiber [J]. *Reviews of Modern Physics*, 2006, 78(4): 1135–1184.
- [32] Agrawal G. *Nonlinear Fiber Optics* [M]. 5th ed. Boston: Academic Press, 2013: 129–191.
- [33] Andresen E R, Nielsen C K, Thøgersen J, et al. Fiber laser-based light source for coherent anti-Stokes Raman scattering microspectroscopy [J]. *Optics Express*, 2007, 15(8): 4848–4856.
- [34] Unruh J R, Price E S, Molla R G, et al. Two-photon microscopy with wavelength switchable fiber laser excitation [J]. *Optics Express*, 2006, 14(21): 9825–9831.
- [35] Tada K, Karasawa N. Broadband coherent anti-Stokes Raman scattering spectroscopy using soliton pulse trains from

- a photonic crystal fiber [J]. *Optics Communications*, 2009, 282(19): 3948–3952.
- [36] Baumgartl M, Chemnitz M, Jauregui C, et al. All-fiber laser source for CARS microscopy based on fiber optical parametric frequency conversion [J]. *Optics Express*, 2012, 20(4): 4484–4493.
- [37] Xie R, Su J, Rentchler E C, et al. Multi-modal label-free imaging based on a femtosecond fiber laser [J]. *Biomedical Optics Express*, 2014, 5(7): 2390–2396.
- [38] Fève J P, Pacaud O, Boulanger B, et al. Widely and continuously tunable optical parametric oscillator based on a cylindrical periodically poled KTiOPO_4 crystal [J]. *Optics Letters*, 2001, 26(23): 1882–1884.
- [39] Zhang B, Yao J, Zhang H, et al. Temperature Tunable Infrared Optical Parametric Oscillator with Periodically Poled LiNbO_3 [J]. *Chinese Physics Letters*, 2003, 20(7): 1077–1080.
- [40] Kong C, Pilger C, Kunisch M, et al. Hyperspectral coherent Raman scattering (CRS) microscopy based on a rapidly tunable and environmentally stable fiber laser [J]. *Laser & Photonics Reviews*, 2023, 17(12): 2300512.
- [41] Zhai Y, Goulart C, Sharping J E, et al. Multimodal coherent anti-Stokes Raman spectroscopic imaging with a fiber optical parametric oscillator [J]. *Applied Physics Letters*, 2011, 98(19): 191106.
- [42] Gottschall T, Meyer T, Jauregui C, et al. All-fiber optical parametric oscillator for bio-medical imaging applications [C]// *Proc. of SPIE. SPIE*, 2017, 10083: 100831E.
- [43] Brinkmann M, Fast A, Hellwig T, et al. Portable all-fiber dual-output widely tunable light source for coherent Raman imaging [J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(9): 4437–4449.
- [44] Ni H, Lin P, Zhu Y, et al. Multiwindow SRS imaging using a rapid widely tunable fiber laser [J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(47): 15703–15711.
- [45] Choi Y, Lim S, Shim J W, et al. Shot-noise-limited two-color stimulated Raman scattering microscopy with a balanced detection scheme [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2020, 124(13): 2591–2599.
- [46] Nose K, Ozeki Y, Kishi T, et al. Sensitivity enhancement of fiber-laser-based stimulated Raman scattering microscopy by collinear balanced detection technique [J]. *Optics Express*, 2012, 20(13): 13958–13965.
- [47] Crisafi F, Kumar V, Scopigno T, et al. In-line balanced detection stimulated Raman scattering microscopy [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 10745.
- [48] Nose K, Ozeki Y, Kishi T, et al. Sensitivity enhancement of fiber-laser-based stimulated Raman scattering microscopy by intensity noise suppressor [C]// 2012 Conference on Lasers and Electro-Optics (CLEO). *IEEE*, 2012: 1–2.
- [49] Yang K, Li J, Wu J, et al. Mode-locking threshold decrease in a fiber laser by heterochromic optical pulse injection [J]. *Optics Letters*, 2022, 47(16): 4095–4098.
- [50] Kong C, Pilger C, Hachmeister H, et al. High-contrast, fast chemical imaging by coherent Raman scattering using a self-synchronized two-colour fibre laser [J]. *Light: Science & Applications*, 2020, 9(1): 25.
- [51] Yang K, Shen Y, Ao J, et al. Passively synchronized mode-locked fiber lasers for coherent anti-Stokes Raman imaging [J]. *Optics Express*, 2020, 28(9): 13721–13730.
- [52] Duling I N. All-fiber ring soliton laser mode locked with a nonlinear mirror [J]. *Optics Letters*, 1991, 16(8): 539–541.
- [53] Agueraray C, Broderick N G R, Erkintalo M, et al. Mode-locked femtosecond all-normal all-PM Yb-doped fiber laser using a nonlinear amplifying loop mirror [J]. *Optics Express*, 2012, 20(10): 10545–10551.
- [54] Runge A F J, Agueraray C, Provo R, et al. All-normal dispersion fiber lasers mode-locked with a nonlinear amplifying loop mirror [J]. *Optical Fiber Technology*, 2014, 20(6): 657–665.
- [55] Zhao W, Ma H, Zhang W, et al. Environmentally stable ytterbium figure-of-eight fiber laser producing 177-fs pulses [J]. *Optics Communications*, 2007, 273(1): 242–245.
- [56] Liu G, Jiang X, Wang B, et al. 313 MHz repetition rate mode-locked Yb: fiber laser with phase-biased nonlinear amplifying loop mirror [J]. *Laser Physics Letters*, 2017, 14(8): 085103.
- [57] Chu H, Zhao S, Li G, et al. Mode-locked femtosecond polarization-maintaining Yb-doped fiber laser with a figure-nine configuration [J]. *Optics Communications*, 2021, 482: 126595.
- [58] Zhao D, Zhang B, Liu S, et al. Wavelength tunable dissipative soliton resonant holmium-doped fiber laser beyond 2.1 μm [J]. *Optics Communications*, 2023, 537: 129395.
- [59] 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.
- [60] Freudiger C W, Min W, Holtom G R, et al. Highly specific label-free molecular imaging with spectrally tailored excitation-stimulated Raman scattering (STE-SRS) microscopy [J]. *Nature Photonics*, 2011, 5(2): 103–109.
- [61] Fu D, Lu F K, Zhang X, et al. Quantitative chemical imaging with multiplex stimulated Raman scattering microscopy [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(8): 3623–3626.
- [62] Cheng J, Xie X S. Vibrational spectroscopic imaging of living systems: An emerging platform for biology and medicine [J]. *Science*, 2015, 350(6264): aaa8870.
- [63] Lin H, Cheng J. Computational coherent Raman scattering imaging: breaking physical barriers by fusion of advanced instrumentation and data science [J]. *eLight*, 2023, 3(13): 2–20.
- [64] Lu F, Calligaris D, Olubiyi O I, et al. Label-free neurosurgical pathology with stimulated Raman imaging [J]. *Cancer Research*, 2016, 76(12): 3451–3462.
- [65] Bae K, Xin L, Zheng W, et al. Mapping the intratumoral heterogeneity in glioblastomas with hyperspectral stimulated Raman scattering microscopy [J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(4): 2377–2384.
- [66] Shin K S, Laohajaratsang M, Men S, et al. Quantitative chemical imaging of breast calcifications in association with neoplastic processes [J]. *Theranostics*, 2020, 10(13): 5865–5878.

- [67] Yang Y, Yang Y, Liu Z, et al. Microcalcification-based tumor malignancy evaluation in fresh breast biopsies with hyperspectral stimulated Raman scattering [J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(15): 6223–6231.
- [68] Yang Y, Liu Z, Huang J, et al. Histological diagnosis of unprocessed breast core-needle biopsy via stimulated Raman scattering microscopy and multi-instance learning [J]. *Theranostics*, 2023, 13(4): 1342–1354.
- [69] Ni H, Dessai C P, Lin H, et al. High-content stimulated Raman histology of human breast cancer [J]. *Theranostics*, 2024, 14(4): 1361–1370.
- [70] Ao J, Shao X, Liu Z, et al. Stimulated Raman scattering microscopy enables Gleason scoring of prostate core needle biopsy by a convolutional neural network [J]. *Cancer Research*, 2023, 83(4): 641–651.
- [71] Zhang B, Xu H, Chen J, et al. Highly specific and label-free histological identification of microcrystals in fresh human gout tissues with stimulated Raman scattering [J]. *Theranostics*, 2021, 11(7): 3074–3088.
- [72] Xu H, Zhang B, Chen Y, et al. Type II collagen facilitates gouty arthritis by regulating MSU crystallisation and inflammatory cell recruitment [J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2023, 82(3): 416–427.