

相敏检测调制深度对受激拉曼信号强度及信噪比影响研究

潘科宇^{1,2}, 朱明尧^{1,2}, 王艺蒙^{1,2}, 徐阳¹, 迟明波^{1,2*}, 吴一辉^{1,2*}

1. 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所, 吉林 长春 130033

2. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要 受激拉曼散射是相干拉曼散射中的一种,其产生的信号在三阶非线性效应下得到了显著地增强,且没有非共振背景的干扰,光谱与自发拉曼光谱几乎完全一致。因此,基于受激拉曼散射的显微成像技术具有无标记、高特异性、非侵入等优点,已成功运用在生物细胞成像中并取得了许多重大的成就。受激拉曼信号与激发光的波长相同,易受到激发光背景噪声的干扰,为解决该难题,常采用光学调制与相敏检测相结合的方法对其进行检测。检测过程中,调制深度对受激拉曼信号强度和信噪比有重要影响。针对此,基于相关理论深入分析了调制深度对受激拉曼信号强度及信噪比的影响。同时考虑到在生物光谱成像等应用中,细胞光损伤阈值对两束激发光功率之和的限制,分析了不同调制深度下,获取最大信号强度及最佳信噪比的激发光功率配置方法。通过搭建受激拉曼实验系统,以二甲基亚砜为研究对象,进行实验验证。研究结果表明,在光损伤阈值的限制条件下进行受激拉曼损耗检测时,同一调制深度下,当泵浦光与斯托克斯光功率比为1:1时信号强度达到最强,比值为1:2时信号的信噪比达到最佳。在泵浦光与斯托克斯光功率比相同的条件下,受激拉曼信号强度和信噪比均随调制深度的降低而降低且近似呈线性相关。实验得到的二甲基亚砜受激拉曼光谱图也验证了在实际样品的光谱检测中,调制深度越高得到的光谱信号越强,信噪比越好,整体的光谱质量也越好。该研究结果是对受激拉曼显微技术在信号调制与检测方面的完善,可为受激拉曼光谱检测和细胞成像实验做出参考性指导。

关键词 相敏检测; 受激拉曼散射; 调制深度; 信号强度; 信噪比; 最佳光功率比

中图分类号: O437.3 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2023)04-1068-07

引言

拉曼光谱技术具有精确、无损、样品无需预处理等优点,已被广泛应用于化学、物理学、生物学和医学等各个研究领域^[1]。但是由于自发拉曼散射(spontaneous Raman scattering)信号十分微弱,导致光谱信息采集速度慢^[2],严重制约了其在生物细胞成像领域的进一步发展。区别于自发拉曼,受激拉曼散射(stimulated Raman scattering, SRS)使用两束激光对样品进行共线激发,在三阶非线性效应下,产生的拉曼信号经过受激过程得到了显著增强,通常是自发拉曼信号的 $10^4 \sim 10^5$ 倍,极大缩短了图像的采集时间^[3]。在2008年SRS就与显微镜成功地结合,观察了组织中无标记药物的运输过程^[4]。

由于SRS信号与激发光的波长相同,因此易受到激发光背景噪声的干扰。为解决该难题,通常使用光学调制和相敏检测技术相结合的方法从激发光中提取SRS信号^[5]。典型方案是采用声光调制器等调制器件对受激拉曼中的一束激发光进行高频幅度调制(MHz以上),待两束光与样品作用后,用滤光片将调制光滤除,再利用锁相放大器检测另一束激发光对应频率下的能量变化^[6],就能在降低激光器1/f噪声影响的同时,实现散粒噪声极限下的SRS信号检测。

声光调制器(acousto-optical modulator, AOM)是一种广泛使用的光调制器件,相对于电光调制器(electro-optic modulator, EOM),其具有成本低,色散低,且可以在更长波长下工作的优点。相关研究指出:在使用AOM进行光强度调制时,理论上只有严格满足Bragg衍射条件,1级衍射光才能达到100%的调制深度^[7],但常规实验条件下其调制

收稿日期: 2022-02-07, 修订日期: 2022-06-01

基金项目: 国家自然科学基金重大科研仪器研制项目(61727813), 吉林省科技发展项目(20200401043GX), 中国科学院科研仪器设备研制项目(YJKYYQ20210035)资助

作者简介: 潘科宇, 1996年生, 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所硕士研究生 e-mail: jixiepankeyu@163.com

* 通讯作者 e-mail: chimb@sklao.ac.cn; yihuiwu@ciomp.ac.cn

深度通常在 80% 左右。然而，当前对 SRS 信号强度及信噪比的分析都未纳入这一因素^[8-9]。因此，我们基于受激拉曼散射、光调制和相敏检测理论，分析了调制深度对 SRS 信号强度及信噪比的影响。同时考虑到细胞光损伤阈值对两束激发光功率之和的限制^[10]，分析了不同调制深度下，获取最大信号强度及最佳信噪比的激发光功率配置，并搭建受激拉曼实验系统，以二甲基亚砜为研究对象，进行实验验证。

1 受激拉曼散射及其检测方法原理

受激拉曼散射采用两束激光来激发样品的拉曼信号，一束称为泵浦光(pump)，另一束称为斯托克斯光(stokes)。当泵浦光频率 ω_p 与斯托克斯光频率 ω_s 之差等于分子振动的频率 Ω_R 时(即 $\Omega_R = \omega_p - \omega_s$)，在斯托克斯光的诱导下，光和探测样品的分子之间发生了能量交换，一个泵浦光子借助分子振动能级的跃迁而转化成为了斯托克斯光子。此过程中，泵浦光发生了受激拉曼损耗(stimulated Raman loss, SRL) ΔI_p ，导致强度降低，而斯托克斯光发生了受激拉曼增益(stimulated Raman gain, SRG) ΔI_s ，导致强度升高^[11]。SRL 和 SRG 均表征了 SRS 信号，在本文中以 SRL 表示 SRS 信号强度，见式(1)和式(2)

$$\Delta I_p(\omega_p) = \epsilon I_p I_s \quad (1)$$

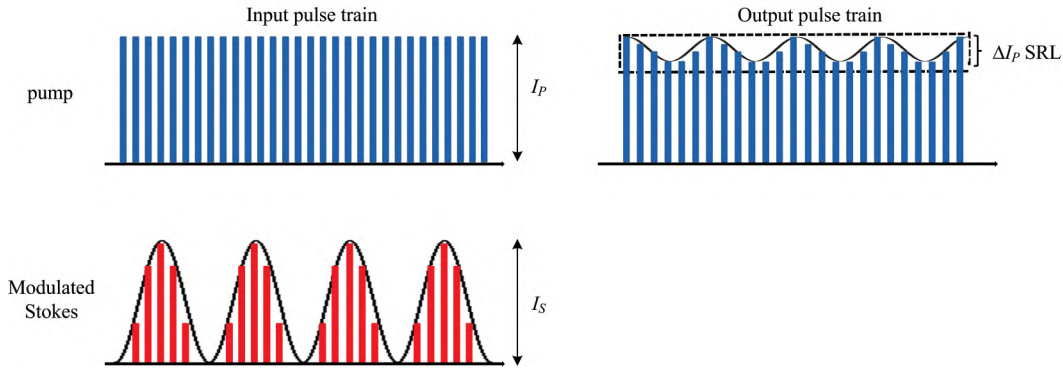


图 1 产生 SRL 过程的激光脉冲序列关系

Fig 1 Laser pulse sequence relationship of SRL generation process

2 理论分析与建模

2.1 纳入调制深度后 SRS 信号强度及信噪比表达式

当对斯托克斯光的强度调制不能达到 100% 时，产生 SRL 的过程如图 2 所示，定义调制深度 M 为

$$M = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max}} \quad (4)$$

式(4)中， I_{\max} 为调制后的斯托克斯光波峰光强值； I_{\min} 为调制后的斯托克斯光波谷光强值。此时 SRL 中包含周期性变化成分和直流成分。

由于锁相放大器无法检测出直流信号^[6]，因此，式(1)改写为

$$\Delta I_p(\omega_p) = M\epsilon I_p I_s \quad (5)$$

式(3)改写为

$$\epsilon = -\frac{1.51 \times 10^{-5} \omega_p \text{Im}[\chi^{(3)}(\omega_p)]Z}{n_p n_s} \quad (2)$$

式(1)和式(2)中， ω_p 为泵浦光的角频率； n_p 为泵浦光的折射率； n_s 为斯托克斯光的折射率； Z 为光与物质作用的有效长度； $\chi^{(3)}$ 为三阶非线性极化率张量。对于同种物质 $\chi^{(3)}$ 在指定激发光波长下是个定值^[7]。因此，在外部条件不变，只改变泵浦光和斯托克斯光光强的条件下， ϵ 为一个常数。

与入射的泵浦光强度 I_p 相比， ΔI_p 相差数个数量级，这使得产生的 SRS 信号被淹没在泵浦光的强背景噪声中^[11]。在低频时，背景噪声中的 $1/f$ 噪声占主导会为信号检测带来不利影响。因此，将光学调制和相敏检测技术相结合对 SRS 信号进行检测。对脉冲斯托克斯光施加高频(MHz 级)幅度调制，如图 1 所示，待两束光与样品作用后，SRL 将在泵浦光中以相同频率周期性地发生，用滤光片将调制的斯托克斯光滤除，再通过锁相放大器(lock-in amplifier, LIA)特异性地检测这个能量变化，就能大幅降低背景噪声中的 $1/f$ 噪声，使散粒噪声占主导，实现散粒噪声极限下的 SRS 信号检测。因此，SRS 信号的信噪比公式为

$$\text{SNR}_{\text{SRL}} = \frac{\epsilon I_p I_s}{\sqrt{I_p}} = \epsilon \sqrt{I_p} I_s \quad (3)$$

式(3)中，散粒噪声与泵浦光光强的 $\frac{1}{2}$ 次方成正比。

$$\text{SNR}_{\text{SRL}} = \frac{M\epsilon I_p I_s}{\sqrt{I_p - (1-M)\Delta I_p}} \quad (6)$$

由前述 ΔI_p 与 I_p 相差数个数量级，式(6)又可写为

$$\text{SNR}_{\text{SRL}} = M\epsilon I_s \sqrt{I_p} \quad (7)$$

2.2 当存在细胞光损伤阈值限制时的最佳光强比

在实际检测中，当激光照射到细胞样品上的光斑面积大小一定时，光强与光功率成正比。而在激光的峰值功率超过某一特定值后，对应的光强会对细胞等组织造成不可逆转的伤害，该光强值被定义为细胞光损伤阈值，它限制了两束激光应用总功率的上限。泵浦光和斯托克斯光的光损伤机制相似，在光损伤与总功率呈线性关系的情况下^[9-10]，假设两束激光之间的功率变化都会导致相同的曝光量和光损伤量，则它们之间的总功率分配对应了照射到细胞上的总光强分配，从而决定了 SRS 信号的强度和信噪比的大小。将式(5)设为

目标函数一，式(7)设为目标函数二，建立共同的约束条件

$$\begin{cases} I_p + I_s \leq I_{total} \\ 0 < I_p < I_{total} \\ 0 < I_s < I_{total} \\ 0 < M \leq M_{max} \end{cases}$$

在此， I_{total} 为细胞光损伤阈值， M_{max} 为声光调制器在实际使用中能达到的最大调制深度。

将该功率分配问题转化为非线性规划问题，对其使用非

线性规划的方法进行求解^[12]。结果如图 3 所示，图 3(a)为目标函数一的仿真结果，从图中可以看出，不论调制深度 M 取值如何，SRS 信号强度均在 $I_p/I_s = 1 : 1$ 时得到最大值；在相同光强比的条件下，随着调制深度的减小，对应的信号强度也在减小。图 3(b)为目标函数二的仿真结果，从图中可以看出，不论调制深度 M 取值如何，SRS 信噪比均在 $I_p/I_s = 1 : 2$ 时得到最大值；在相同光强比的条件下，随着调制深度的减小，对应的信噪比也在减小。

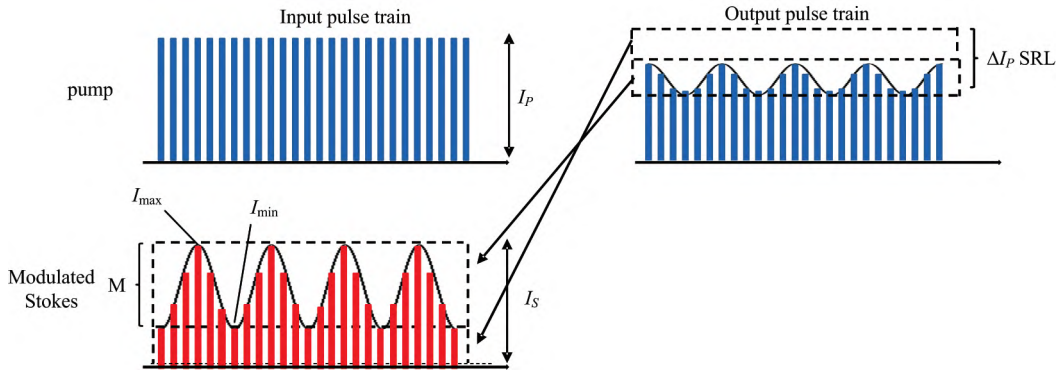


图 2 调制深度 M 时产生 SRL 过程的激光脉冲序列关系

Fig 2 Laser pulse sequence relationship of SRL process when modulating depth M

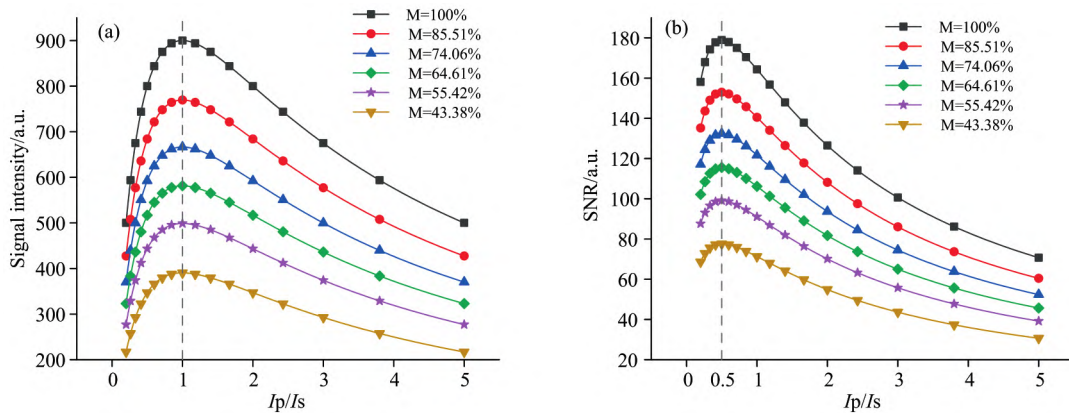


图 3 建模仿真结果

(a): 目标函数一仿真结果; (b): 目标函数二仿真结果

Fig 3 Modeling and simulation results

(a): Simulation results of objective function I; (b): Simulation results of objective function II

3 实验部分

利用 SRS 效应检测二甲基亚砷 $2\ 915\ \text{cm}^{-1}$ 处对应的拉曼峰信号，研究调制深度对 SRS 信号强度及信噪比的影响和当两束激发光功率受限时的最佳光功率比配置方法。

3.1 试剂

二甲基亚砷试剂采购自赛默飞科技 (ThermoFisher Scientific, 美国)，纯度大于 99%。

3.2 受激拉曼检测系统

SRS 显微检测系统如图 4 所示。激光源使用双色可调谐

飞秒激光器 (Insight X3, Spectra-physics, 美国)。激光器提供两路输出，其中可调谐的一路调至 801 nm 用作泵浦光，1 045 nm 固定光束用作斯托克斯光。激光器前放置由半波片 (GCL-0608, 大恒光电, 中国) 和格兰泰勒棱镜 (GCL-0702, 大恒光电, 中国) 组成的光功率控制模块。由信号发生器 (33500B, Agilent, 美国) 向声光调制器 (M1205-P80L-2, ISOMET, 美国) 输入调制信号，使其在 2.5 MHz 下对斯托克斯光进行幅度调制。采用光谱聚焦技术，利用两个高折射率的玻璃棒 (SF57, 福晶科技, 中国) 对激光脉冲进行啁啾色散，提高 SRS 的光谱分辨率。探测器为大面积硅基光电二极管探测器 (PD-2.5M, 武汉华眸光电科技, 中国)。将信号发生器的输出信号作为参考信号，光电探测器的电信号作为被

测信号，一同送至锁相放大器 (HF2L1, Zurich Instruments, 瑞士) 中进行解调，获取 SRS 信号。使用数据采集卡 (PCF-

6251, National Instruments, 美国) 对锁相放大器输出的数据进行采集。

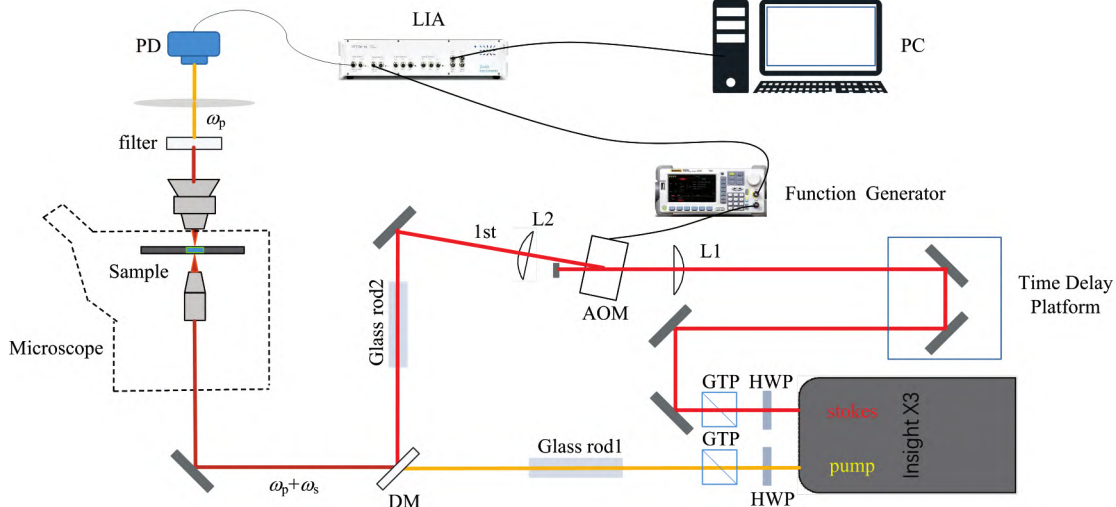


图 4 SRS 显微检测系统

HWP: 半波片; GTP: 格兰泰勒棱镜; L1: 会聚透镜; L2: 准直透镜; DM: 二向色镜

Fig 4 SRS microscope detection system

HWP: Half wave plate; GTP: Gran Taylor prism; L1: Convergent lens; L2: Collimating lens; DM: Dichroic mirror

3.3 调制

在信号发生器中选择正弦信号模式，输出的信号为： $x(t) = A\sin(2\pi ft + \varphi) + k$ 。其中， A 为振幅， k 为偏置量。声光调制器的调幅原理指出^[13-14]， $k \geq A$ 可避免过调幅现象的产生，调幅指数 $m = \frac{A}{k}$ 反映调制信号 $x(t)$ 改变载波幅度的程度。因此，将 A 设为 0.5 V 不变，通过增加 k 值达到减小调制深度的目的。

3.4 测量及数据处理

在 k 值增加的过程中，用连接了示波器 (InfiniiVision 3000TX, KEYSIGHT, 美国) 的快速光电二极管探测器 (S3071-C8366, HAMAMATSU, 日本) 测量 AOM 的 1 级衍射光 (即斯托克斯光) 实际调制深度。

由 2.2 节中的分析可知，两束激光照到细胞上的光强可以用光功率衡量。因此，在探求光损伤阈值限制下的最佳光功率比时，根据相关文献计算^[10]，将总光功率 P_{total} 设为 60 mW。在两束激光进入样品前，使用大带宽光功率计 (DC-100 MHz, PM100D, Thorlabs, 美国) 对两束光的光功率分别进行测量。从 $P_p = 10$ mW (对应 $P_s = 50$ mW) 开始取值，每隔 2.5 mW 取值一次，直至 $P_p = 50$ mW (对应 $P_s = 10$ mW) 结束，测量每一对光功率值对应的 SRS 信号强度及信噪比。在五个不同调制深度下重复该流程。

锁相放大器时间常数设置为 1 ms，阶数设置为 3 阶。每次测量均从锁相放大器读取 1 000 个电压值数据，取其平均值 \bar{x} 作为 SRS 信号的强度值，取其均方差 σ 作为 SRS 信号的噪声值^[15]，则实际的信噪比计算公式为 $SNR = \frac{\bar{x}}{\sigma}$ 。

3.5 光谱扫描

为进一步验证理论分析的正确性，对二甲基亚砜在不同

实验条件下进行 SRS 光谱扫描。先保持总光功率和光功率比不变，分别在五个不同调制深度下，对二甲基亚砜进行 SRS 光谱扫描；再保持总光功率和调制深度不变，分别在三个不同光功率比下，对二甲基亚砜进行 SRS 光谱扫描。

4 结果与讨论

4.1 调幅指数 m 与斯托克斯光调制深度 M 的关系

图 5 为调幅指数 m 与斯托克斯光调制深度 M 随偏置量 k 的变化关系。从图中可以看出，偏置量 k 的增加使 m 值减小，调制深度 M 也随之减小。从最大值 $M = 85.51\%$ 下降到 $M = 3.88\%$ 后便保持不变。这是因为在 k 值增加的过程中调制信号的功率随之增加，但声光调制器的驱动电路中存在功

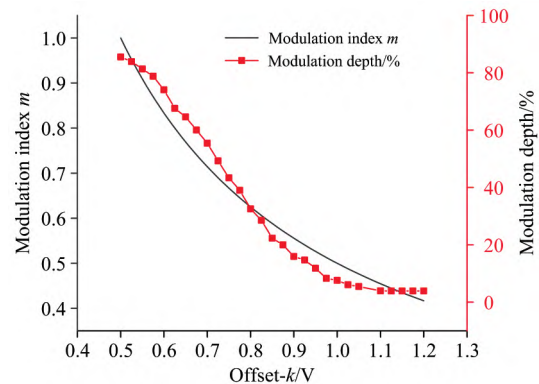


图 5 调幅指数 m 与斯托克斯光调制深度 M 随偏置量 k 的变化关系

Fig 5 Variation of amplitude modulation index m and Stokes modulation depth M with offset k

率过载保护模块。因此,当 k 值超过该功率限制值对应的偏置量(设为 k')之后,实际作用到光强调制过程的偏置量将由 k' 所决定且保持不变。这就导致了调制深度 M 下降到 3.88% 后保持不变这一现象。以上的结果与分析说明可用调制指数 m 有效地衡量斯托克斯光调制深度 M 的大小。

4.2 两束激发光功率受限时的最佳光功率比及调制深度对 SRS 信号强度和信噪比的影响

图 6 为 2.2 节中目标函数一的相关实验结果。图 6(a) 为不同调制深度下光功率比与 SRS 信号强度的实验结果图,通过与图 3(a) 的对比,可知实验结果与仿真结果高度一致,验证了理论分析的正确性;图 6(b) 为实验中的光功率比取 $P_p/P_s=1:1$ 时, SRS 信号强度与调制深度的关系图,从图中可以看出, SRS 信号强度随调制深度的降低而降低且近似呈线性相关。

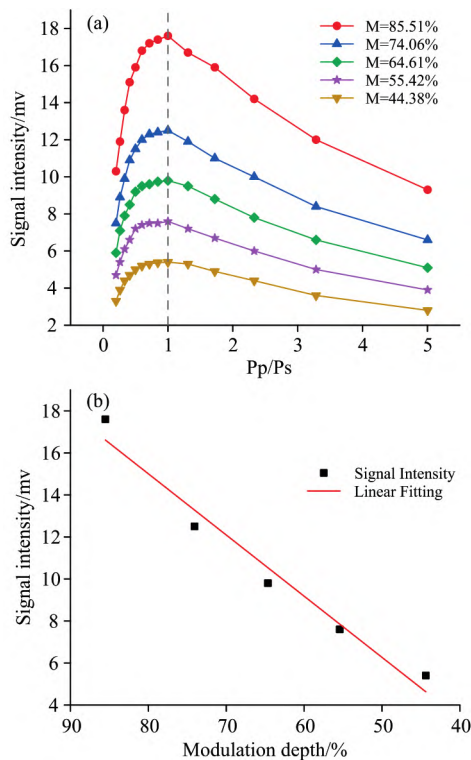


图 6 目标函数一相关实验结果

(a): 不同调制深度下光功率比与 SRS 信号强度的实验结果;

(b): 相同光功率比时 SRS 信号强度与调制深度的关系

Fig 6 Objective function I related experimental results

(a): Experimental results of optical power ratio and SRS signal intensity at different modulation depths; (b): The relationship between SRS signal intensity and modulation depth at the same optical power ratio

图 7 为 2.2 节中目标函数二的相关实验结果。图 7(a) 为不同调制深度下光功率比与 SRS 信号的信噪比实验结果,通过与图 3(b) 的对比,可知实验结果与仿真结果非常接近,但还存在细微差别。这是因为散粒噪声服从泊松分布,需要对其进行大量试验,才能准确的描述其变化规律^[6]。因此认为图 7(a) 的结果验证了理论分析的正确性。图 7(b) 为实验中

的光功率比取 $P_p/P_s=1:2$ 时,信噪比与调制深度的关系图,从图中可以看出,信噪比随调制深度的降低而降低且近似呈线性相关。

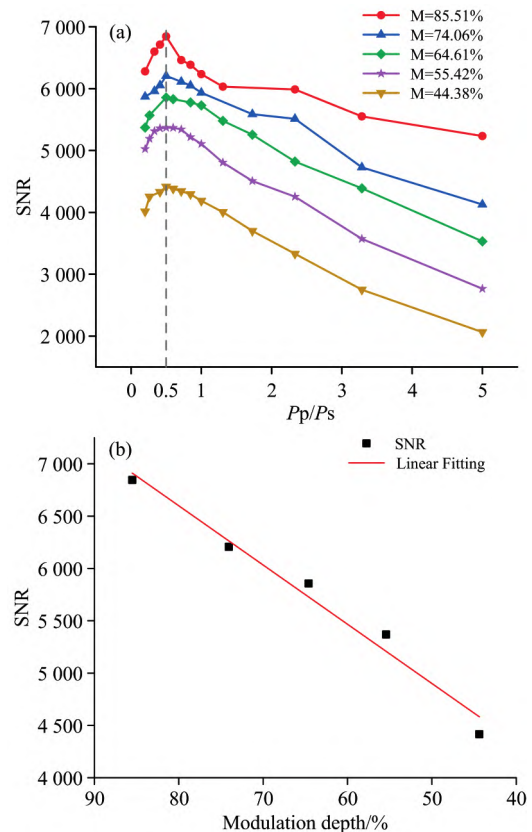


图 7 目标函数二相关实验结果图

(a): 不同调制深度下光功率比与 SRS 信号信噪比的实验结果;

(b): 相同光功率比时信噪比与调制深度的关系

Fig 7 Objective function II related experimental results

(a): Experimental results of optical power ratio and SRS signal-to-noise ratio at different modulation depths; (b): The relationship between SNR and modulation depth at the same optical power ratio

4.3 二甲基亚砷受激拉曼光谱图

图 8 为二甲基亚砷在不同实验条件下进行 SRS 光谱扫描的结果。图 8(a) 为保持总光功率 $P_{total}=60$ mW, $P_p/P_s=1:1$ 不变,分别在调制深度 M 为 85.51%, 74.06%, 64.61%, 55.42% 和 44.38% 下,对二甲基亚砷进行 SRS 光谱扫描的结果。从图中可以看出,调制深度越高,得到的光谱信号越强,整体的光谱质量越好。图 8(b) 为保持总功率 $P_{total}=60$ mW, $M=85.51%$ 不变,分别在 $P_p/P_s=1:1$, $P_p/P_s=1:2$ 和 $P_p/P_s=1:3$ 下,对二甲基亚砷进行 SRS 光谱扫描的结果。从图中可以看出,在同一调制深度下, $P_p/P_s=1:1$ 时得到的光谱信号最强。

5 结论

基于受激拉曼散射、光调制和相敏检测理论,分析了调制深度对受激拉曼信号强度及信噪比的影响。通过数学建模

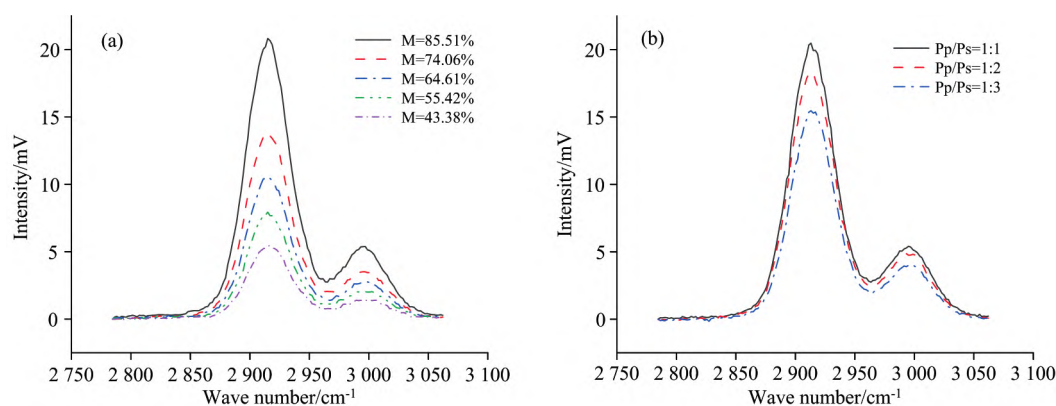


图 8 不同实验条件下二甲基亚砜 SRS 光谱扫描结果图

(a): $P_{\text{total}} = 60 \text{ mW}$, $P_p/P_s = 1:1$ 时不同调制深度下二甲基亚砜 SRS 光谱图;

(b): $P_{\text{total}} = 60 \text{ mW}$, $M = 85.51\%$ 时不同光功率比下二甲基亚砜 SRS 光谱图

Fig 8 SRS spectrum scanning results of dimethyl sulfoxide under different experimental conditions

(a): Spectra of dimethyl sulfoxide at different modulation depths when $P_{\text{total}} = 60 \text{ mW}$, $P_p/P_s = 1:1$;

(b): Spectra of dimethyl sulfoxide at different optical power ratio when $P_{\text{total}} = 60 \text{ mW}$, $M = 85.51\%$

将两束激发光功率分配问题转化为非线性规划问题, 得到存在细胞光损伤阈值限制时, 不同调制深度下获取受激拉曼最大信号强度及最佳信噪比的激发光功率配置。通过搭建受激拉曼实验系统, 以二甲基亚砜为研究对象, 进行实验验证。研究结果表明, 在细胞光损伤阈值的限制下进行受激拉曼损

耗检测时, 泵浦光与斯托克斯光的光功率比为 1:2 且保持斯托克斯光的高调制深度, 能使受激拉曼信号的信噪比达到最佳。该结果可以对生物细胞的受激拉曼显微成像做指导, 以获取高信噪比的优质图像。

References

- [1] ZHU Ting, LIU Yang, WU Jun, et al(朱婷, 刘洋, 吴军, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2019, 39(4): 997.
- [2] GUO Xiao-yuan, YASHENG Paierhati, LIU Chen-yang, et al(郭晓媛, 排尔哈提·亚生, 刘晨阳, 等). Journal of Fuzhou University (Natural Science Edition)[福州大学学报(自然科学版)], 2021, 49(1): 135.
- [3] MIN Wei, YANG Chi, WANG Ping(闵玮, 杨驰, 王平). Optics & Optoelectronic Technology(光学与光电技术), 2020, (4): 1.
- [4] Freudiger C W, Min W, Saar B G, et al. Science, 2008, 322(5909): 1857.
- [5] LI Zi-lin, LI Shao-wei, ZHANG Si-lu, et al(李姿霖, 李少伟, 张思鹭, 等). Chinese Journal of Lasers(中国激光), 2020, 47(2): 0207005.
- [6] GAO Jin-zhan(高晋占). Detection of Weak Signals(微弱信号检测). 3rd Ed.(第3版). Beijing: Tsinghua University Press(北京: 清华大学出版社), 2019. 47, 190.
- [7] Cheng Jixin, Xie Xiaoliang Sunney. Coherent Raman Scattering Microscopy. Boca Raton: CRC Press, 2013: 7, 219.
- [8] Audier X, Heuke S, Volz P, et al. Apl. Photonics., 2020, 5(1): 011101.
- [9] Moester M, Ariese F, De Boer J F. J. Eur. Opt. Soc-Rapid., 2015, 10: 15022.
- [10] Fu Y, Wang H, Shi R, et al. Opt. Express, 2006, 14(9): 3942.
- [11] CHEN Tao, YU Zhi-long, ZHANG Xian-nian, et al(陈涛, 虞之龙, 张先念, 等). Scientia Sinica; Chimica(中国科学: 化学), 2012, 42(1): 1.
- [12] YUAN Ya-xiang(袁亚湘). Numerical Methods For Nonlinear Programming(非线性规划数值方法). Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers(上海: 上海科学技术出版社), 1993.
- [13] YU Kuan-xin, DING Xiao-hong, PANG Zhao-guang(俞宽新, 丁晓红, 庞兆广). Acoustooptic Principle and Acoustooptic Devices(声光原理与声光器件). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 2011.
- [14] Alan V Oppenheim, Alan S Willsky, S Hamid Nawab. Signal and Systems(信号与系统). 2nd Ed(第2版). Translated by LIU Shu-tang(刘树棠, 译). Beijing: Publishing House of Electronics Industry(北京: 电子工业出版社), 2013.
- [15] FEI Ye-tai(费业泰). Theory of Error and Data Processing(误差理论与数据处理). 7th Ed(第7版). Beijing: China Machine Press(北京: 机械工业出版社), 2015.

Research on the Influence of Modulation Depth of Phase Sensitive Detection on Stimulated Raman Signal Intensity and Signal-to-Noise Ratio

PAN Ke-yu^{1,2}, ZHU Ming-yao^{1,2}, WANG Yi-meng^{1,2}, XU Yang¹, CHI Ming-bo^{1,2*}, WU Yi-hui^{1,2*}

1. Changchun Institute of Optics, Precision Machinery and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract Stimulated Raman scattering is one of coherent Raman scattering. The signal generated by stimulated Raman scattering is significantly enhanced under the third-order nonlinear effect, and there is no interference from non-resonant background. Its spectrum is almost consistent with the spontaneous Raman spectrum. Therefore, the micro-imaging technology based on stimulated Raman scattering has the advantages of no labeling, high specificity and being non-invasive. It has been successfully used in biological cell imaging and has made many great achievements. Stimulated Raman signal has the same wavelength as excitation luminescence and is easily disturbed by excitation luminescence background noise. In order to solve this problem, the combination of optical modulation and phase-sensitive detection is often used to detect it. In the detection process, modulation depth influences the intensity and signal-to-noise ratio of the stimulated Raman signal. Because of this, this paper deeply analyzes the influence of modulation depth on stimulated Raman signal intensity and signal-to-noise ratio based on relevant theories. At the same time, considering the limitation of cell photodamage threshold on the sum of two excitation optical powers in applications such as bio-spectral imaging, the excitation optical power configuration method to obtain the maximum signal intensity and the best signal-to-noise ratio at different modulation depths is analyzed. By establishing a stimulated Raman experimental system, dimethyl sulfoxide is taken as the research object for experimental verification. The results show that when the stimulated Raman loss is detected under the limitation of photodamage threshold, at the same modulation depth, the signal intensity reaches the strongest when the optical power ratio of pump light to the one of stokes light is 1 : 1, and the signal-to-noise ratio reaches the best when the ratio is 1 : 2. When the optical power ratio of pump light to the one of stokes light is the same, the intensity and signal-to-noise ratio of stimulated Raman signal decrease with the decrease of modulation depth, and the correlation is approximately linear. The stimulated Raman spectrum of dimethyl sulfoxide obtained from the experiment also verified that the higher the modulation depth, the stronger the spectral signal and the better the signal-to-noise ratio and the better the spectral quality of the whole sample. The research results are the improvement of stimulated Raman microscopy in signal modulation and detection and can provide reference guidance for stimulated Raman spectroscopy detection and cell imaging experiments.

Keywords Phase sensitive detection; Stimulated Raman scattering; Modulation depth; Signal Intensity; Signal-to-Noise ratio; Optimum optical power ratio

(Received Feb. 7, 2022; accepted Jun. 1, 2022)

* Corresponding authors