

数字全息显微术用于生物细胞相位重构与补偿的研究

范金坪 张德思 吕晓旭 赵 晖 曾凡创 钟丽云*

(华南师范大学广东省微纳光子功能材料与器件重点实验室, 广东 广州 510006)

摘要 讨论了数字全息显微术(DHM)相位测量中显微物镜引入的附加相位的消除问题。在 DHM 相位重构中,对比分析了两步法和泽尼克多项式拟合两种附加相位补偿方法,进行了相应的实验研究,实现了多种生物细胞的相位重构。研究表明:两种补偿方法均能有效地消除 DHM 系统的相位误差。对于两步补偿法,由于补偿计算需要两组数字全息图,实验记录耗时,对记录系统稳定性要求高,但采用有、无样品相位相减的补偿算法简单,能够同时补偿显微物镜带来的球面附加相位和光学系统带来的其他相位畸变,相位重构的精度高。对于泽尼克多项式拟合补偿方法,补偿计算仅需一组数字全息图,在动态相位测量中具有特别的优势,但相位重构的误差随测细胞高度和面积的增大而增大,为提高泽尼克相位补偿法的相位重构精度,需要保证物体的光学高度或者是物体的横向面积在一个较小的范围内变化。上述结果将为 DHM 用于生物细胞相位重构的研究和应用提供参考。

关键词 全息;数字全息显微术;相位重构;两步相位补偿法;泽尼克多项式拟合相位补偿法

中图分类号 O438.1 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/CJL201441.0209019

Phase Reconstruction and Compensation of Biological Cell with Digital Holographic Microscopy

Fan Jinping Zhang Desi Lü Xiaoxu Zhao Hui Zeng Fanchuang Zhong Liyun

(Key Laboratory of Nanophotonic Functional Materials and Devices in Guangdong Province, South China Normal University, Guangzhou, Guangdong 510006, China)

Abstract To obtain the real phase in digital holographic microscopy (DHM), it needs to compensate the additional phase induced by the microscope. Based on the theoretical analysis, both two-step compensation algorithm and Zernike polynomials fitting algorithm are employed to perform the phase reconstruction for biological cell. The obtain results show that both two-step compensation algorithm and Zernike polynomials fitting algorithm are useful for system phase compensation of DHM. In two-step compensation algorithm, since the subtraction operation is performed between the reconstructed phases with the object and without the object, the DHM system phase error can be compensated effectively while it is still time-consuming and needs high experimental stability for recording holograms. In Zernike polynomials fitting algorithm, only one group of digital holograms with the object is required for compensating the additional phase induced by the microscope, therefore it is suitable for the dynamic phase measurement while the constructed phase error increases with both the increase of object height and transverse area. To decrease the reconstruction phase error of Zernike polynomials fitting phase compensation algorithm, it is required to ensure that one of the variations of object optical height or transverse area to be a small value. The result supplies a useful tool for the study and application of biological cell phase compensation by DHM.

Key words holography; digital holographic microscopy; phase reconstruction; two-step phase compensation; Zernike polynomials fitting phase compensation

OCIS codes 090.1995; 170.0180; 100.5088

收稿日期: 2013-09-10; 收到修改稿日期: 2013-10-22

基金项目: 国家自然科学基金(61078064, 61177005, 61275015)

作者简介: 范金坪(1982—), 女, 博士后, 主要从事数字全息和图像处理方面的研究。E-mail: frieada@qq.com

* 通信联系人。E-mail: zhongly@sncu.edu.cn

1 引言

数字全息显微术(DHM)是数字全息术与显微技术结合的测量技术^[1-2]。显微物镜对物光场进行变换后,在像空间用 CCD 或 CMOS 记录物光场与参考光的干涉条纹得到显微数字全息图,通过数字再现得到物体调制光场的复振幅,可以同时测量物体的振幅和相位信息,继而定量地得到物体的透射信息和形貌信息^[3-4]。数字全息显微术具有非介入、非干预、非扫描、快速、全场、动态、三维成像的特点,可以达到横向亚微米、纵向亚纳米量级高分辨率,既可以利用物体的反射光进行测量,也可以利用物体的透射光进行测量,非常适用于对微小物体的实时三维形貌测量^[5-9],其相位测量特性已经在非标记活细胞光学厚度测量^[10]、纳米金颗粒标记的活细胞三维重建^[11]、细胞折射率测量^[12-14]、细胞形态分析^[15-16]、细胞计数^[17]和细胞跟踪^[18]等研究中得到了广泛的应用。然而,由数字全息显微术重构的相位分布中,除了物体相位外,还包含着显微物镜带来的球面附加相位和光学系统带来的附加像差和相位畸变。为了准确获得物体的相位,需要从数字全息显微术重构的相位分布中消除附加相位,或者对附加相位进行补偿。

对数字全息显微术的相位误差进行补偿的方法主要有相位掩模法、参考光路补偿法、两步法和泽尼克多项式拟合法四类。相位掩模法是在再现过程中用具有适当相位分布的复指数函数与数字全息图相乘后再进行再现^[19-20]。这种方法需要对相位掩模板的参数进行手工调整和反复运算,对相位掩模板参数的设置和选择需要一定的经验,难以实现附加相位的自动化补偿。参考光路补偿法是在参考光路中加入一个与物光光路中显微物镜类似的成像光学元件,在数字全息图的记录过程中对附加相位进行补偿^[21-22]。这种方法在物体位置调整或更换不同倍率的显微物镜时,参考光路中的光学元件也需要进行对应的调整或更换,系统调试难度大。两步补偿方法中的第一步是记录一张没有样品的显微数字全息图即背景全息图,第二步在相同的记录条件下记录有样品的显微数字全息图即样品全息图,两张显微数字全息图分别进行相位重建并对重建相位进行相减处理,即可得到被测量物体的相位^[19]。这种方法能够同时补偿显微物镜带来的球面附加相位和光学系统带来的附加像差和相位畸变,但是在前后记录数字全息图时必须保证所有的记录条件不变,在采用高倍率显微物镜时,操作难度比较大。第四

类方法是利用泽尼克多项式拟合的自动补偿方法^[23],这种方法利用泽尼克多项式具有的单位圆上的正交性能满足一般被测光学系统的圆形通光孔径的特点,只需要对一幅数字再现的相位分布图进行泽尼克多项式拟合,将拟合前后的相位分布图相减即可得到待测物体的相位,能够同时补偿显微物镜带来的球面附加相位和光学系统带来的附加像差和相位畸变,但是使用时必须考虑泽尼克多项式系数的选择和算法的适用条件。

本文在介绍两步相位补偿法和泽尼克多项式拟合补偿法的基础上,利用像面同轴相移数字全息显微术进行了多种生物细胞相位重构的实验研究,通过对两步补偿方法与泽尼克多项式拟合补偿方法进行对比分析,研究了两种方法的特点和应用条件。

2 原理

在数字全息显微系统中,通过在物体和全息记录面之间放置一个显微物镜来实现待测物体的放大,以此提高系统的分辨率。但即使是理想光学成像系统成像,也会引入二次相位因子,即球面相位偏差 $\varphi_q(x_i, y_i) = \frac{i\pi}{\lambda\beta f}(x_i^2 + y_i^2)$ 。实际光学系统成像时,除了物体对平行照明光的相位调制 $\varphi_o(x_i, y_i)$ 和上述球面相位偏差 $\varphi_q(x_i, y_i)$ 外,系统还会带来其他相位误差和相位畸变 $\varphi_a(x_i, y_i)$,因此像面上的物光场 $O(x_i, y_i)$ 可以表示为

$$O(x_i, y_i) = |O(x_i, y_i)| \cdot \exp\{i[\varphi_o(x_i, y_i) + \varphi_q(x_i, y_i) + \varphi_a(x_i, y_i)]\}. \quad (1)$$

为方便相位重构的计算,采用像面相移数字全息显微系统记录数字全息图。采用相移为 $0, \frac{\pi}{2}, \pi, \frac{3\pi}{2}$ 的参考光 $R_k(x_i, y_i) = R(x_i, y_i)\exp\left[\frac{i(k-1)\pi}{2}\right]$, ($k = 1, 2, 3, 4$) 分别与物光在位于像平面上的 CCD 表面干涉,记录到的 4 幅相移数字全息图为

$$I_k(x_i, y_i) = |O|^2 + |R|^2 + R^* O \exp\left[-\frac{i(k-1)\pi}{2}\right] + RO^* \left[\frac{i(k-1)\pi}{2}\right], k = 1, 2, 3, 4. \quad (2)$$

当参考光为沿平行于 CCD 表面法线传输的平行光时,物光场为

$$O = \frac{[I_1 - I_3 + i(I_2 - I_4)]}{4|R|}, \quad (3)$$

而物光场的相位分布 $\Phi(x_i, y_i)$ 可以表示为

$$\Phi(x_i, y_i) = \arctan\left(\frac{I_4 - I_2}{I_3 - I_1}\right). \quad (4)$$

一般情况下,从(4)式得到的物光场相位 $\Phi(x_i, y_i)$ 除了包含有调制相位 $\varphi_o(x_i, y_i)$ 和球面相位差 $\varphi_q(x_i, y_i)$ 外,系统还会引入其他的相位误差和相位畸变 $\varphi_a(x_i, y_i)$, 即

$$\Phi(x_i, y_i) = \varphi_o(x_i, y_i) + \varphi_q(x_i, y_i) + \varphi_a(x_i, y_i). \quad (5)$$

接着,把上述系统球面相位误差和其他相位误差之和统称为系统相位误差,即

$$\varphi_s(x_i, y_i) = \varphi_q(x_i, y_i) + \varphi_a(x_i, y_i). \quad (6)$$

两步补偿法的基本思路是通过采集有物体和无物体的显微数字全息图,然后分别重构它们的相位,将有物体时重构的相位分布 $\Phi(x_i, y_i)$ 减去无物体时重构的相位分布即系统相位误差 $\varphi_s(x_i, y_i)$ 即可获得待测物体的真实相位分布 $\varphi_o(x_i, y_i) = \Phi(x_i, y_i) - \varphi_s(x_i, y_i)$ 。

泽尼克补偿法从产生相位误差的原因出发,通过记录有物体时的显微数字全息图并进行相位重构得到物光场的相位分布 $\Phi(x_i, y_i)$, 然后利用泽尼克多项式对系统相位误差 $\varphi_s(x_i, y_i)$ 进行拟合计算,其中泽尼克多项式系数的选择,决定其所得数字全息显微系统相位误差 $\varphi_s(x_i, y_i)$ 的精度。然后利用 $\varphi_o(x_i, y_i) = \Phi(x_i, y_i) - \varphi_s(x_i, y_i)$, 就能把所要重构的物体调制相位从总相位中分离出来。

从上面的分析可以看出,在实验系统稳定的情况下,两步补偿法可以方便地补偿系统的相位误差,但需要记录两组显微数字全息图;泽尼克补偿法虽然只需要记录一幅数字全息图,但存在系统相位误差 $\varphi_s(x_i, y_i)$ 的拟合精度决定重构相位的精度问题,需要评估其精度和算法的适用条件。下面将对两步相位补偿法和泽尼克相位补偿法用于生物细胞的相位补偿和重构问题进行实验研究。

3 实验结果和讨论

为简化显微数字全息的记录和再现,采用像面相移数字全息显微系统,其光路的基本构架为马赫-曾德尔光路,如图 1 所示。实验所用光源为波长 632.8 nm 的 He-Ne 激光器,由平行光照明的样品被显微物镜(MO)成像在 CCD 表面,与同轴平行参考光干涉后形成像面同轴显微数字全息图,通过压电陶瓷(PZT)驱动反射镜产生微小移动实现相移数字全息图的采集,显微物镜(MO)的放大倍率 β 为 $40\times$, CCD 为 $768 \text{ pixel} \times 576 \text{ pixel}$ ($7.68 \text{ mm} \times 5.76 \text{ mm}$),即单个像素尺寸为 $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ 。由于实验记录的显微数字全息图是像面数字全息图,可以直接从全息图得到再现像,无需用菲涅耳衍射公式就能快速进行再现。

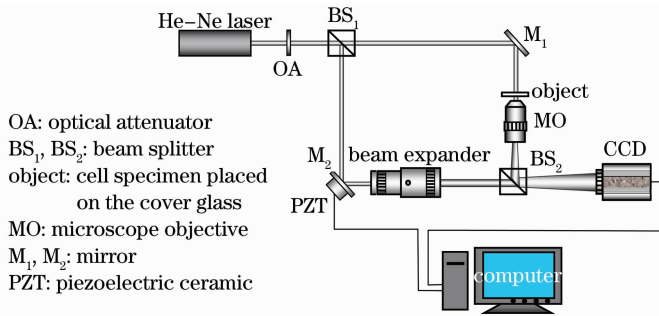


图 1 相移数字全息显微系统示意图

Fig. 1 Schematic of phase-shifting digital holographic microscopy system

利用图 1 所示的光路,以 $0, \pi/2, \pi, 3\pi/2$ 为相移量分别采集无样品和有样品时的四步相移显微数字全息图,利用(4)式的四步相移算法分别计算出无样品和有样品时的包裹相位分布。利用最小二乘相位解包法^[24]分别对两包裹相位进行解包,得到解包裹相位,然后分别用两步相位补偿法和泽尼克相位补偿法进行显微数字全息系统相位补偿,获得待测生物细胞的相位分布。

首先选择尺度比较小、近似圆形的慢性髓原白

血病活体 K562 细胞作为样品进行显微数字全息图的记录和相位重构。其中 K562 活细胞样品的制作过程如下:首先将 K562 细胞株在 RPMI 1640 细胞培养基中培养 24 h,然后用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗并用质量分数为 2.5% 的戊二醛溶液固定,最后将 K562 细胞置于平均折射率为 1.35 的载玻片上。一般情况下, K562 细胞近似为圆形,直径为 $5 \sim 8 \mu\text{m}$ 。实验结果如图 2 所示。

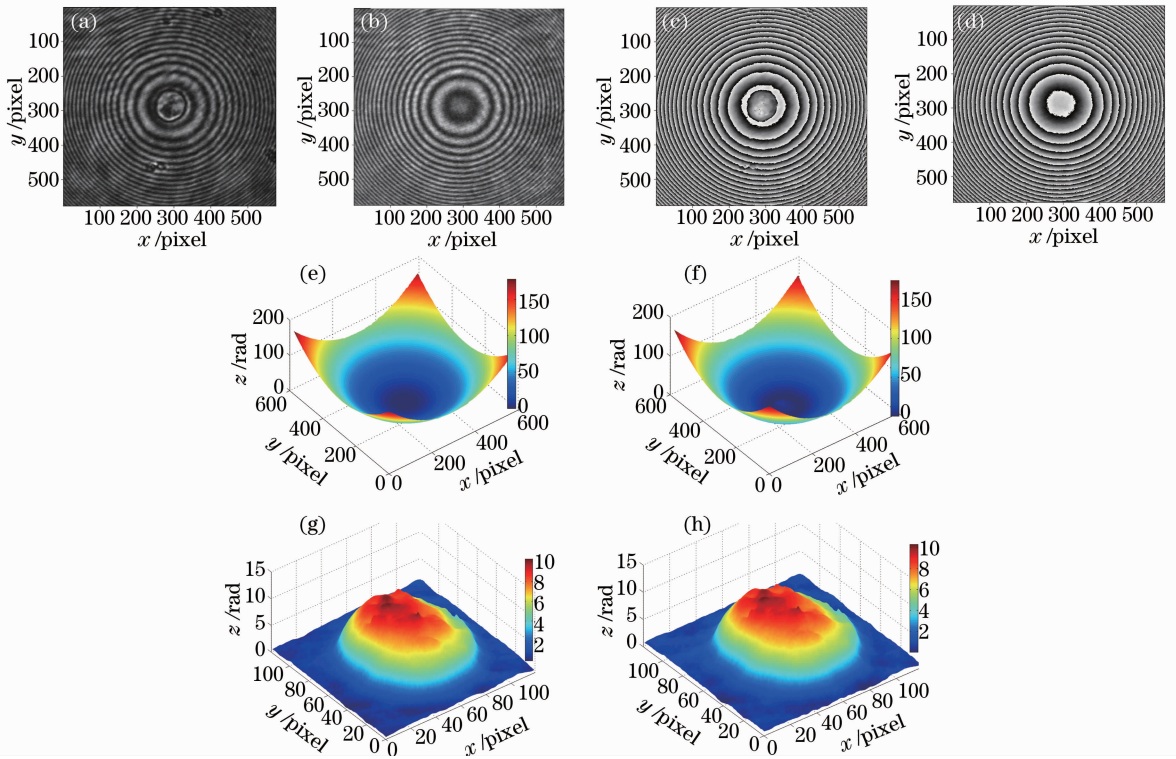


图 2 K562 活细胞的显微数字全息图及重构相位。(a) 有 K562 细胞的全息图;(b) 无 K562 细胞的全息图;(c)和(d)分别为(a)和(b)的包裹相位分布图;(e)和(f)分别为(c)和(d)的解包裹相位;(g) 基于两步补偿法重构的 K562 细胞相位分布;(h) 基于泽尼克补偿法重构的 K562 细胞相位分布

Fig. 2 Phase reconstruction of digital holographic microscopy for K562 cell. (a) Hologram with K562 cell; (b) hologram without K562 cell; (c) and (d) are the wrapped phase of (a) and (b) respectively; (e) and (f) are the unwrapping phase of (c) and (d) respectively; (g) phase distribution of K562 cell reconstructed based on two-step compensation algorithm; (h) phase distribution of K562 cell based on Zernike compensation algorithm

比较图 2(e)和 2(f)可以看出,显微数字全息系统的相位误差为二次曲面形式,其误差应该主要来自显微物镜引入的附加相位,待测细胞的相位远小于显微物镜引入的附加相位。消除显微物镜引入的附加相位是显微数字全息发展和应用中需要解决的一个重要问题。两步补偿法和泽尼克补偿法重构的 K562 细胞相位分布分别如图 2(g)和图 2(h)所示。考虑到细胞的折射率是未知的,为便于描述,用单位为 rad 的光学相位(或者叫光学高度)表示细胞高度。上述两种方法所得光学高度差的均方根误差值为 0.16 rad,表明两种方法都能较好地重构 K562 细胞的相位。与两步补偿法相比,泽尼克补偿法只需采集一组相移数字全息图,大大简化了实验过程。

将上述显微数字全息系统用于巨噬细胞和神经元细胞的相位重构研究,其结果分别如图 3 和图 4 所示。样品为贴壁生长的细胞标本,其中巨噬细胞

为圆形或椭圆形,横向尺度为 10~20 μm ;神经元细胞形状不规则,有较多突起,横向尺度为 30~50 μm 。对应两步补偿法和泽尼克补偿法,两种方法重构细胞相位的均方根误差值分别为 0.29 rad 和 0.9 rad。从实验结果可以看出,使用泽尼克补偿方法也能相对准确地重构待测细胞的相位。然而,当细胞的高度和面积的变化相对较大时,使用两种方法重构细胞相位的均方根误差值会逐渐增大。对于两步补偿法来说,相位补偿的精度取决于两次拍摄参数的一致性,需要高稳定性的实验系统。为此,首先对实验系统的稳定性进行调试和校正,使拍摄过程中外界干扰(如气流、温度、震动等)引起的最大误差小于 $\lambda/10$,尽量满足两步相位补偿算法对拍摄参数一致性的要求。在此基础上,以两步补偿法的实验结果作为基准,重点讨论细胞光学高度及面积的变化对泽尼克补偿法拟合精度的影响。

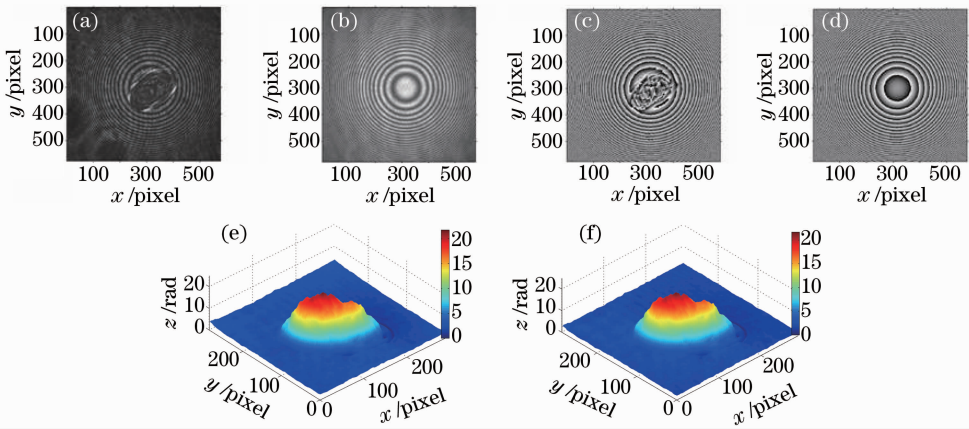


图3 数字全息显微术用于巨噬细胞的相位重构。(a) 有巨噬细胞的数字全息图;(b) 无巨噬细胞的数字全息图;(c)和(d)分别为(a)和(b)的包裹相位;(e) 基于两步补偿法重构的巨噬细胞的相位分布;(f) 基于泽尼克补偿法重构的巨噬细胞的相位分布

Fig.3 Phase reconstruction of digital holographic microscopy for macrophage. (a) Hologram with macrophage; (b) hologram without macrophage; (c) and (d) are the wrapped phase of (a) and (b) respectively; (e) phase distribution of macrophage reconstructed based on two-step compensation algorithm; (f) phase distribution of macrophage based on Zernike compensation algorithm

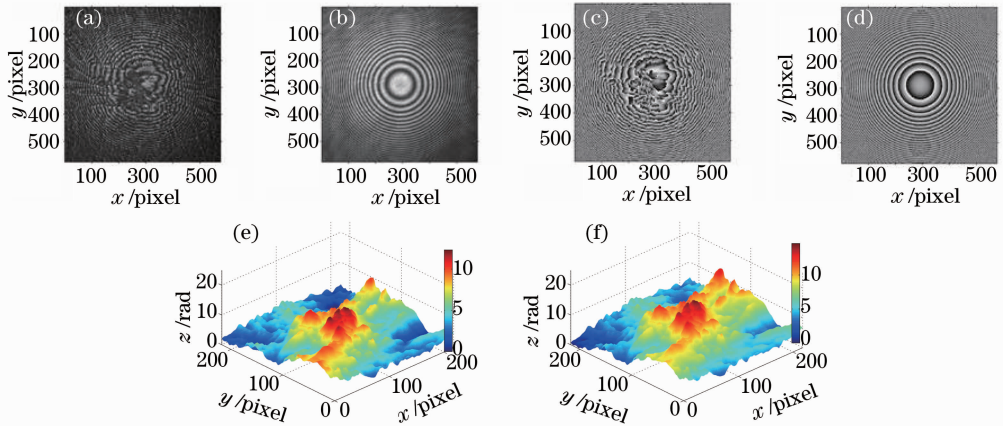


图4 数字全息显微术用于神经元细胞的相位重构。(a) 有神经元细胞的全息图;(b) 无神经元细胞的全息图;(c)和(d)分别为(a)和(b)的包裹相位;(e) 基于两步补偿法重构的神经元细胞的相位分布;(f) 基于泽尼克补偿法重构的神经元细胞的相位分布

Fig.4 Phase reconstruction of digital holographic microscopy for neuronal cell. (a) Hologram with neuronal cell; (b) hologram without neuronal cell; (c) and (d) are the wrapped phase of (a) and (b) respectively; (e) phase distribution of neuronal cell reconstructed based on two-step compensation algorithm; (f) phase distribution of neuronal cell based on Zernike compensation algorithm

一般来说,生物细胞横向尺寸的变化范围可以从不足 $1 \mu\text{m}$ 到数百微米,高度变化范围可以从 $1 \mu\text{m}$ 到数十微米。为了降低相位重构的误差,高精度的重构细胞相位,必须找出泽尼克多项式拟合算法的误差规律和算法的适用条件,通过模拟计算的方法对这些问题进行研究。为了使结果接近真实情况,在模拟计算中,将上面实验中重构的 K562 细胞相位作为模拟计算的相位模板,对其进行简单的相位增减和尺度变换后作为标准的待测物体相位 φ_{ob} ,

将实验中计算得到的系统相位误差作为标准的系统相位误差 φ_{sb} ,将标准的物体相位与标准的系统相位误差叠加的结果称为标准的物光场相位 Φ_b 。为了对泽尼克补偿法的测量误差进行定量分析和评价,对标准的物光场相位进行泽尼克多项式拟合,拟合结果称为对比的系统相位误差 φ_{sc} ,从标准的物光场相位 Φ_b 中减去对比的系统相位误差,即可得到对比的待测物体相位 φ_{oc} 。对模拟计算结果进行评价的方法有两种,一种是将计算出的对比物体相位 φ_{oc}

与标准物体相位 φ_{ob} 相减;另一种是用泽尼克方法拟合出来的系统相位误差 φ_{sc} 与标准系统相位误差 φ_{sb} 相减,两种方法得到的结果是相同的。模拟仿真结果如图 5 所示。

图 5(a)是由上面的实验数据中恢复的 K562 细胞相位作为标准物体相位,其中细胞所占的横向面积为 6299 pixel,光学高度的变化范围为 0~10 rad。图 5(b)为实验中计算得到的标准系统相位误差,由实验中采集到的无物体解包裹相位数据经泽尼克多项式拟合得到,其图像面积为 576 pixel×576 pixel,

用于泽尼克拟合的有效面积为 $288^2\pi$ pixel,其相位变化范围为 0~182.31 rad。图 5(c)是由图 5(a)和图 5(b)中的数据叠加后得到的标准物光场相位。图 5(d)和图 5(e)分别是用泽尼克多项式方法从标准物光场相位中进行泽尼克多项式拟合得到的系统相位误差和恢复出的物体相位。图 5(f)显示了泽尼克多项式方法恢复的对比物体相位与标准物体相位之间的偏差,其中的最大相位差偏仅为 0.11 rad。从图 5(f)可以看出,拟合曲面与原曲面之间存在一定的曲率偏差,是产生拟合误差的主要来源。

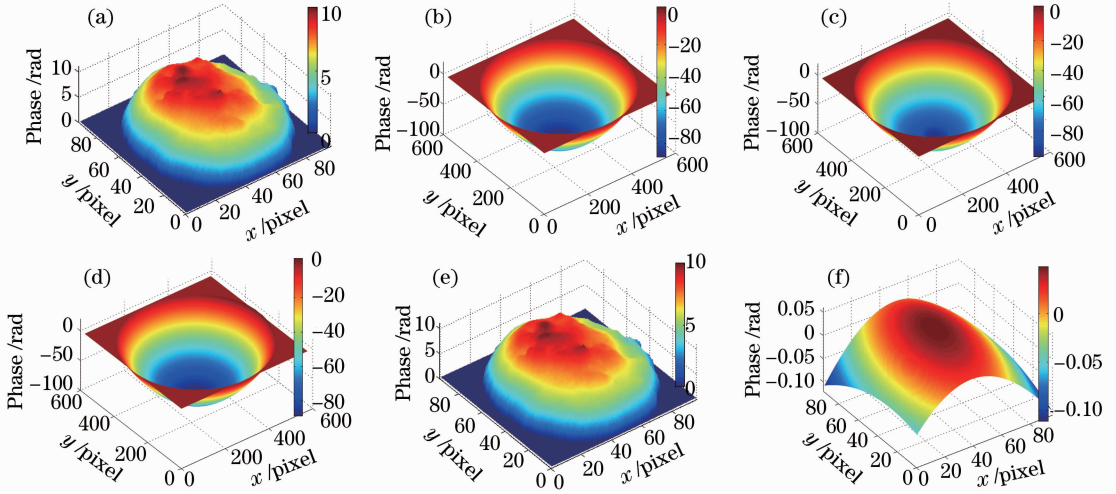


图 5 泽尼克多项式拟合相位误差的模拟计算结果。(a) 作为标准物体相位的 k562 细胞相位;(b) 标准系统相位误差;(c) 是(a)和(b)的叠加相位;(d)是对(c)进行泽尼克多项式拟合的结果;(e)是由(c)减去(d)后得到的对比物体相位;(f) 是对比物体相位(e)与标准物体相位(a)的差

Fig. 5 Simulation results of phase compensation error based on Zernike polynomials fitting algorithm. (a) Standardized object phase of K562 cell; (b) standardized system phase error; (c) summation of (a) and (b); (d) Zernike polynomials fitting result of (c); (e) referenced object phase obtained by the subtraction operation between (c) and (d); (f) phase difference between the referenced phase and the standardized phase

为了便于分析,将模拟计算中用泽尼克多项式方法恢复的对比物体相位与标准物体相位之间的重构相位误差的均方根误差表示为 R_{RMS} ,待测细胞的横向面积为 S_o ,用于泽尼克拟合的面积为 S_z 。通过上面描述的模拟计算过程,对相位模板进行相位增减和尺度变换,可以得到 R_{RMS} 随物体光学高度和物体的横向面积的变化关系如图 6 所示。其中用于泽尼克拟合的面积 S_z 为 $288^2\pi$ pixel,物体光学高度的变化范围从 0~10 rad 变化到 0~150 rad,物体横向面积的变化范围为 476~80386 pixel。从图中可以看出,重构相位误差的均方根误差 R_{RMS} 随着物体横向面积和物体光学高度的增大而增大;物体的光学高度越高, R_{RMS} 越大;物体的横向面积越大, R_{RMS} 越大。特别需要注意的是,当物体的光学高度小于 10 rad 时,尽管 S_o/S_z 的比值足够大, R_{RMS} 的值仍然

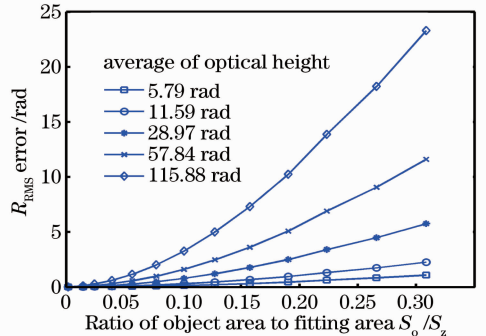


图 6 拟合相位偏差随物体光学高度及物体面积变化的关系

Fig. 6 Relationship between the root mean square of phase error induced by Zernike polynomials fitting algorithm and the optical height, as well as the ratio of object transverse area to the fitting circle area of Zernike polynomials fitting operation

保持在一个较小的范围内;当 S_0/S_z 的比值小于 0.1 时,即使物体的光学高度增加到 100 rad, R_{RMS} 的值依然很小。换句话说,如果要降低泽尼克拟合补偿法重构的相位误差,需要保证物体的光学高度或者是物体的横向面积在一个较小的范围内。

4 结 论

在理论分析的基础上,分别采用两步补偿法和泽尼克多项式拟合补偿法,对数字全息显微术相位重构中的系统相位误差进行补偿,并将其用于多种生物细胞的相位重构。研究表明:数字全息显微系统中产生的相位畸变主要是由显微物镜引入的附加相位,两步补偿法和泽尼克多项式拟合补偿法都能较好地消除数字全息显微系统的相位误差。

对于两步补偿法,由于补偿算法需要两组数字全息图,使得记录过程耗时,但采用减法运算的相位补偿算法相对简单,能够同时补偿显微物镜带来的球面附加相位和光学系统带来的其他像差和相位畸变,在实验系统稳定的情况下可以对系统的相位误差进行完全校正,大大提高了相位重构的精度。而对于泽尼克多项式拟合补偿法,由于补偿算法仅需记录一组数字全息图,大大简化了数字全息记录的难度,减少了记录时间,在动态相位测量中具有特别的优势,但相位重构的精度随待测细胞高度和面积的变化增大而减小,为提高泽尼克相位补偿法的相位重构精度,需要保证物体的光学高度或者是物体的横向面积在一个较小的范围内变化。

参 考 文 献

- 1 T Zhang, I Yamaguchi. Three dimensional microscopy with phase shifting digital holography[J]. *Opt Lett*, 1998, 23(15): 1221-1223.
- 2 C D Depeursinge, E Cuche, P Marquet, *et al.*. Digital holography applied to microscopy[C]. *SPIE*, 2002, 4659: 30-34.
- 3 E Cuche, P Marquet, C Depeursinge. Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of Fresnel off-axis holograms [J]. *Appl Opt*, 1999, 38(34): 6994-7001.
- 4 J Fung, K E Martin, R W Perry, *et al.*. Measuring translational, rotational, and vibrational dynamics in colloids with digital holographic microscopy[J]. *Opt Express*, 2011, 19(9): 8051-8065.
- 5 T Colomb, E Cuche, F Charrière, *et al.*. Automatic procedure for aberration compensation in digital holographic microscopy and applications to specimen shape compensation [J]. *Appl Opt*, 2006, 45(5): 851-863.
- 6 J Sheng, E Malkiel, J Katz. Digital holographic microscope for measuring three-dimensional particle distributions and motions [J]. *Appl Opt*, 2006, 45(16): 3893-3901.
- 7 I Yamaguchi, T Ida, M Yokota, *et al.*. Surface shape measurement by phase-shifting digital holography with a

- wavelength shift [J]. *Appl Opt*, 2006, 45(29): 7610-7616.
- 8 Wang Yunxin, Wang Dayong, Zhao Jie, *et al.*. 3D profile measurement for micro-optical component by using digital holographic microscopy[J]. *Acta Optica Sinica*, 2011, 31(4): 0412003.
王云新, 王大勇, 赵洁, 等. 基于数字全息显微成像的微光学元件三维面形检测[J]. *光学学报*, 2011, 31(4): 0412003.
- 9 Ma Lihong, Wang Hui, Jin Hongzhen, *et al.*. Experimental study on quantitative phase imaging by digital holographic microscopy[J]. *Chinese J Lasers*, 2012, 39(3): 0309002.
马利红, 王辉, 金洪震, 等. 数字全息显微定量相位成像的实验研究[J]. *中国激光*, 2012, 39(3): 0309002.
- 10 P Ferraro, S Grilli, L Miccio, *et al.*. Full color 3-D imaging by digital holography and removal of chromatic aberrations[J]. *J Display Technol*, 2008, 4(1): 97-100.
- 11 N Warnasooriya, F Joud, P Bun, *et al.*. Imaging gold nanoparticles in living cell environments using heterodyne digital holographic microscopy[J]. *Opt Express*, 2010, 18(4): 3264-3273.
- 12 F Charrière, A Marian, F Montfort, *et al.*. Cell refractive index tomography by digital holographic microscopy [J]. *Opt Lett*, 2006, 31(2): 178-180.
- 13 M De Angelis, S De Nicola, A Finizio, *et al.*. Digital-holography refractive-index-profile measurement of phase gratings[J]. *Appl Phys Lett*, 2006, 88(11): 111114.
- 14 B Rappaz, P Marquet, E Cuche, *et al.*. Measurement of the integral refractive index and dynamic cell morphometry of living cells with digital holographic microscopy[J]. *Opt Express*, 2005, 13(23): 9361-9373.
- 15 N Pavillon, A Benke, D Boss, *et al.*. Cell morphology and intracellular ionic homeostasis explored with a multimodal approach combining epifluorescence and digital holographic microscopy[J]. *J Biophotonics*, 2010, 3(7): 432-436.
- 16 Liu Feifei, Liao Wei, Huang Min, *et al.*. Morphological image of chinese herbal medical cell by digital image-plane holographic microscopy with spherical reference wave [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2013, 50(2): 020904.
刘飞飞, 廖微, 黄敏, 等. 球面参考光像面数字全息显微术及对中药饮片细胞形貌的表征[J]. *激光与光电子学进展*, 2013, 50(2): 020904.
- 17 A Mölder, M Sebesta, M Gustafsson, *et al.*. Non-invasive, label-free cell counting and quantitative analysis of adherent cells using digital holography[J]. *J Microsc*, 2008, 232(2): 240-247.
- 18 J Persson, A Mölder, S G Pettersson, *et al.*. Cell motility studies using digital holographic microscopy [M]. *Badajoz: A Méndez-Vilas, J Diaz Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*, 2010. 1063-1072.
- 19 P Ferraro, S De Nicola, A Finizio, *et al.*. Compensation of the inherent wave front curvature in digital holographic coherent microscopy for quantitative phase-contrast imaging [J]. *Appl Opt*, 2003, 42(11): 1938-1946.
- 20 F Montfort, F Charrière, T Colomb, *et al.*. Purely numerical compensation for microscope objective phase curvature in digital holographic microscopy: influence of digital phase mask position [J]. *J Opt Soc Am A*, 2006, 23(11): 2944-2953.
- 21 C J Mann, L Yu, C M Lo, *et al.*. High-resolution quantitative phase-contrast microscopy by digital holography [J]. *Opt Express*, 2005, 13(22): 8693-8698.
- 22 L Yu, S Mohanty, J Zhang, *et al.*. Digital holographic microscopy for quantitative cell dynamic evaluation during laser microsurgery[J]. *Opt Express*, 2009, 17(14): 12031-12038.
- 23 L Miccio, D Alfieri, S Grilli, *et al.*. Direct full compensation of the aberrations in quantitative phase microscopy of thin objects by a single digital hologram[J]. *Appl Phys Lett*, 2007, 90(4): 041104.
- 24 J Arines. Least-square modal estimation of wrapped phases: application to phase unwrapping[J]. *Appl Opt*, 2003, 42(17): 3373-3378.