# 基于数字全息显微的微粒三维位移跟踪测量技术

曾雅楠1,卢钧胜2,刘源1,胡晓东2,朱芮3,苏康艳1

1天津农学院工程技术学院,天津 300384;

2天津大学精密测试技术及仪器国家重点实验室,天津 300072;

<sup>3</sup>天津津航计算技术研究所,天津 300308

**摘要** 提出一种基于离轴数字全息显微的技术,用于测量液态环境中微粒的三维位置。该技术采用透射式离轴数 字全息显微系统,测量方法结合了光程长(OPL)差分算法和去条纹法。利用光程长差分算法定位微粒内部两点间 光程长差分曲线拐点的位置,追踪微粒的轴向位移;对离轴全息图使用去条纹方法,即频域滤波结合 Hough 变换, 获取微粒的横向二维位移。进行轴向测量时,与传统数字全息追踪微粒位移的技术相比,光程长差分算法仅用两 点光程长相对运算代替面的运算,提高了测量效率,且不需要对微粒进行自动聚焦,微粒的位置也不受离焦面的限 制。对微粒进行纳米级三维位移操纵,实验结果表明光程长差分算法结合去条纹法对液态环境中微粒的三维位移 测量分辨能力能够达到纳米量级。

关键词 测量;微粒位移;数字全息显微;微粒;光程长差分;去条纹

**中图分类号** O436 **文献标识码** A

doi: 10.3788/CJL201744.1204001

# Three-Dimensional Displacement Tracking Technique of Particle Based on Digital Holographic Microscopy

Zeng Yanan<sup>1</sup>, Lu Junsheng<sup>2</sup>, Liu Yuan<sup>1</sup>, Hu Xiaodong<sup>2</sup>, Zhu Rui<sup>3</sup>, Su Kangyan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Engineering and Technology, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; <sup>2</sup>State Key Laboratory of Precision Measuring Technology and Instruments, Tianjin University, Tianjin 300072, China; <sup>3</sup>Tianjin Jinhang Institute of Computing Technology, Tianjin 300308, China

**Abstract** A technique based on off-axis digital holographic microscopy is proposed to measure three-dimensional position of particle in a liquid environment. The technique uses the transmitting off-axis digital holographic microscopy system, and the method combines the optical path length (OPL) difference method and fringe removing method. The OPL difference method is used to measure the axial position of the particle by locating the inflection point of OPL difference curves of two specific points in the particle. The fringe removing method is utilized for the off-axis holograms to measure the in-plane displacement of the particle with frequency filtering and Hough transform combined. Compared to the traditional digital holographic particle tracking techniques, the OPL difference method applies the OPL between two points to relative calculation instead of plane calculation. As a result, the measurement efficiency is improved, auto-focusing of particles is not needed, and the particle position is not constrained by the defocusing plane. The experimental results of nano-scale three-dimensional particle measurement show that the resolution ability reaches nano-scale when the OPL difference method is combined with the fringe removal method to measure the three-dimensional displacement of particles in the liquid environment.

Key words measurement; particle displacement; digital holographic microscopy; particle; optical path length difference; fringe removal

OCIS codes 120.2880; 090.1995; 090.2880

收稿日期: 2017-06-20; 收到修改稿日期: 2017-07-29

基金项目:国家自然科学基金(51775381,51375340)

作者简介:曾雅楠(1988—),女,博士,讲师,主要从事光学微纳检测技术方面的研究。E-mail: ynzeng@tju.edu.cn 导师简介:胡晓东(1974—),男,博士,教授,主要从事微纳检测技术方面的研究。E-mail: xdhu@tju.edu.cn(通信联系人)

# 1 引 言

随着光学显微技术、荧光蛋白和纳米晶体光谱技术的发展,实时成像技术的分辨能力达到了细胞及分子 水平<sup>[1]</sup>。对微米尺度微粒的追踪能够在细胞及分子水平上获取有效信息,常用的测量手段有光镊测量、磁镊 测量<sup>[2-3]</sup>以及光学成像方法等。在细胞外微环境中,微粒跟踪测量同样重要<sup>[4]</sup>,可用于血液细胞元素间及血 管内皮细胞间的相互作用分析等<sup>[5]</sup>。

近年来,微粒位置的跟踪测量方法受到了国内外研究人员的广泛关注<sup>[6]</sup>。在现有液态环境微粒三维位 置的测量研究中,横向位置可通过 Hough 变换法<sup>[7]</sup>、质心法<sup>[8]</sup>、互相关法<sup>[9]</sup>、矢径投影法<sup>[10]</sup>、梯度法等方法 进行测量,但报道的这些方法测量对象多为单微粒。对于交叠微粒,数字全息显微方法能够重构聚焦图像的 优势使其比其他方法更为适用<sup>[11]</sup>。对于轴向位置的测量,数字全息显微方法能够在离焦记录的条件下重构 聚焦位置,轴向分辨力能够达到纳米级,因此数字全息显微技术在微粒三维位置跟踪测量中具有较大优 势<sup>[12-14]</sup>。目前,数字全息显微技术在微粒三维位置跟踪测量方面已有广泛应用,例如双波长数字全息显微技 术可用于微粒场测速<sup>[15]</sup>,全息显微结合神经网络技术可快速测量微粒尺寸<sup>[16]</sup>,数字全息结合截面法可测量 不规则微粒尺寸<sup>[17-18]</sup>。然而在目前的测量中,数字全息显微方法仍存在一些问题。同轴数字全息显微方法 虽然光路简单,测量精准,但测量受到限制,即当粒子位于显微物镜的聚焦面附近时,存在孪生像干扰问题, 在这个特殊位置不能应用同轴数字全息显微方法进行测量<sup>[19-21]</sup>。离轴数字全息显微方法通过测量相位得到 位置信息,但相位提取的前提是找到聚焦像的准确位置,如果位置不准确会使测量精度下降,因此需要复杂 的重聚焦算法保证相位计算的准确性。离轴数字全息显微方法算法复杂,效率低,而且测量精度不高<sup>[22-23]</sup>。

本文利用离轴数字全息显微系统,结合光程长差分算法和去条纹法对微粒的三维位移进行测量。光程 长差分算法用于测量微粒轴向位移,该方法解析光程长变化,适用于形状较为理想的球形微粒;既保证了纳 米级的测量,又突破了同轴数字全息显微方法的测量限制。同时,由于该方法只对面内两点进行光程长的计 算,相对于传统的重聚焦像面的方法,其测量效率得到提升。光程长差分算法需借助离轴全息系统获取光程 长,因此在横向面内的微粒中心定位中会带来高载频干涉条纹的困扰。本文利用去条纹化方法,频域滤波结 合 Hough 变换,获取微粒横向面内的位移。经实验验证,光程长差分算法结合去条纹化方法对微粒三维位 移测量分辨力均能达到纳米量级。

# 2 基本原理

利用光程长差分算法测量微粒轴向位移,用去条纹法测量微粒横向面内位移。

#### 2.1 光程长差分算法

设粒子为透明的理想球形粒子,光束照射到粒子上并经过粒子内部的折转透射出去,如图1所示。





Fig. 1 Schematic of transmitted light through the particle

图 1 中,光线进入粒子后发生折射,从粒子出射时发生二次折射。假设光轴方向为 z 向。r 是球形粒子的球面半径;θ 是光线进入粒子时的入射角,即入射光线与折射界面法线的夹角;z 是光程长计算面在光轴上的位置,也是数字全息显微重构面与粒子中心垂直于光轴的面的距离。l<sub>1</sub>,l<sub>2</sub>,l<sub>3</sub> 是从粒子前端面开始,光 线经过的绝对长度。则从微粒球体相切且与光轴垂直的轴向位置起到记录面,入射光线的光程长(L<sub>op</sub>)为  $L_{\rm OP}(\theta,z) = n_{\rm m}(l_1+l_3) + n_{\rm p}l_2 = n_{\rm m}(r/\cos\theta - r) + \{r - r[\cos\theta + 2n_{\rm m}^2\cos\theta(\cos^2\theta - 1)/n_{\rm p}^2 - 2n_{\rm m}(\cos^2\theta - 1)\sqrt{n_{\rm m}^2(\cos^2\theta - 1)/n_{\rm p}^2 + 1}/n_{\rm p}] + z/\{2\{\{\cos^2\theta[n_{\rm m}^2(\cos^2\theta - 1)/n_{\rm p}^2 + 1] + n_{\rm m}^2(\cos^2\theta - 1)/n_{\rm p}^2 - 2n_{\rm m}\cos\theta(\cos^2\theta - 1)\sqrt{n_{\rm m}^2(\cos^2\theta - 1)/n_{\rm p}^2 + 1}/n_{\rm p}\} - 1\}\} + 2n_{\rm p}r/\sqrt{1 - n_{\rm m}^2\sin^2\theta/n_{\rm p}^2},$ (1) 式中  $n_{\rm p}$  和  $n_{\rm m}$  分别为球形粒子与周围液态介质的折射率。

由(1)式得出,任何入射光线的光程长都与入射角度和记录面的轴向位置有关。由于(1)式较为复杂,因此利用枚举方法总结其规律,可得到在记录面轴向位置固定的情况下,入射角度不同,其光程长变化规律也不同,如图 2 所示。



图 2 不同轴向位置的光程长变化。(a)  $z=10 \ \mu m$ ; (b)  $z=5 \ \mu m$ ; (b)  $z=2.5 \ \mu m$ ; (b)  $z=0 \ \mu m$ Fig. 2 Change of optical path length at different axial positions. (a)  $z=10 \ \mu m$ ; (b)  $z=5 \ \mu m$ ; (b)  $z=2.5 \ \mu m$ ; (b)  $z=0 \ \mu m$ 

模拟一个折射率  $n_p = 1.5$ ,半径  $r = 2.5 \ \mu m$  的理想球形微粒在折射率  $n_m = 1.33$  的介质中的光线折射情况。图 2 中不同颜色表示不同入射角的入射光束,9 种颜色分别代表入射角度为 0°,10°,20°,30°,40°,50°,60°,70°和 80°的透射光线。对比图 2(a)~(d),每个入射角度的光程长随重构面的位置而变化,且变化是不一致的,在  $z = 0 \ \mu m$  位置附近,入射角度为 0°的光束光程长明显大于其他角度;在  $z = 5 \ \mu m$  附近,入射角度为 0°的光束光程长不再是最大的;在  $z = 10 \ \mu m$  附近,入射角度为 0°的光束光程长反而接近最小值。利用这种在不同重构面上光程长的变化规律反向推导,即可判断重构面相对于粒子中心的距离,从而判断粒子的位置。

分析可知,图 2 中 y-z 坐标面内,每一个特定的入射角  $\theta$  以及特定的重构面即特定的 z 值,有且仅有一个 y 值与其对应:

$$y(\theta, z) = \tan\{2\left[\theta - \arcsin(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right]\} \times \{z - 2r\cos\left[\arcsin(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] \times \cos\left[\theta - \arcsin(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + r + r\cos\theta\} + cos\left[\theta - \arcsin(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + r + r\cos\theta\} + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + r + r\cos\theta\} + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + r + r\cos\theta\} + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + r + r\cos\theta\} + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + r + r\cos\theta\} + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + r + r\cos\theta\} + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + r + r\cos\theta\} + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + r + r\cos\theta\} + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + r + r\cos\theta\} + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right] + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm m})\right] + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m})\right] + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m})\right] + cos\left[\theta - \cosh(n_{\rm m})\right] + cos\left[\theta - (n_{\rm m})\right] + cos\left[\theta - (n_$$

 $r\sin\theta - 2r\cos\left[\arcsin(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right]\sin\left[\theta - \arcsin(n_{\rm m}\sin\theta/n_{\rm p})\right]_{\circ}$ (2)

由(1)式与(2)式可知,光程长  $L_{\text{OP}}$ 和入射光线的 y 值均与入射角 $\theta$  以及重构面位置 z 值有对应的函数 关系,则不同 y 值所对应的光程长  $L_{\text{OP}}$ 的变化也一定有规律。设  $y_1$ 和  $y_2$ 两点对应的光程长差值为  $L_{\text{OP}}(y_1 - y_2)$ :

$$L_{\rm OP}(y_1 - y_2) = L_{\rm OP}(y_1, z) - L_{\rm OP}(y_2, z)_{\circ}$$
(3)

同样,通过枚举的方法作图可得出结论,在 $y_1$ 和 $y_2$ 两点固定的情况下, $L_{OP}(y_1 - y_2)$ 呈现一致的变化规律, 如图 3 所示。

图 3 中,当 y<sub>1</sub> 和 y<sub>2</sub> 两点固定时,L<sub>OP</sub>(y<sub>1</sub>-y<sub>2</sub>)均会在轴向某两点出现极点,且极点的轴向位置相对于 微粒中心是固定的,当微粒在轴向发生位移时,极点的轴向位置发生相同的位移。因此,追踪极点的轴向位



图 3 特定  $y_1$  值和  $y_2$  值的光程长差分变化规律。(a)  $y_1 = 0 \ \mu m, y_2 = 0.15 \ \mu m;$ (b)  $y_1 = 0.15 \ \mu m, y_2 = 0.30 \ \mu m;$ (c)  $y_1 = 0.30 \ \mu m, y_2 = 0.45 \ \mu m$ Fig. 3  $L_{OP}(y_1 - y_2)$  variation for two specified points  $y_1$  and  $y_2$ . (a)  $y_1 = 0 \ \mu m, \ y_2 = 0.15 \ \mu m;$ (b)  $y_1 = 0.15 \ \mu m, \ y_2 = 0.30 \ \mu m;$  (c)  $y_1 = 0.30 \ \mu m, \ y_2 = 0.45 \ \mu m$ 

置即可完成对微粒轴向位移的测量。在实际测量中,与传统离轴数字全息显微技术相比,应用光程长差分方 法测量微粒轴向位移时,不再需要对整个面的像素进行重构,只需要计算两个像素点的光程长,因此效率可 提高数倍。

#### 2.2 光程长的测量

光程长与波面相位存在线性关系:

$$L_{\rm OP} = \frac{\phi \lambda}{2\pi},\tag{4}$$

式中 φ 是相位,λ 是测量光源的波长。

物光波与参考光波在 CCD 面上形成干涉图,即为数字全息显微图,其强度为

$$I(x_{\rm h}, y_{\rm h}) = |U(x_{\rm h}, y_{\rm h}) + R(x_{\rm h}, y_{\rm h})|^{2} = U(^{x}_{\rm h}, y_{\rm h})^{2} + R(^{x}_{\rm h}, y_{\rm h})^{2} + U^{*}(x_{\rm h}, y_{\rm h})R(x_{\rm h}, y_{\rm h}) + U(x_{\rm h}, y_{\rm h})R^{*}(x_{\rm h}, y_{\rm h}),$$
(5)

式中 $(x_h, y_h)$ 是全息面的坐标, $U(x_h, y_h)$ 和 $R(x_h, y_h)$ 分别是传播到全息面的物光波和参考光波的复振 幅,\*代表复共轭。因此重构物光波的复振幅过程为

 $U(x_{r}, y_{r}) = A \mathscr{F}^{-1} \{ D(f_{x_{h}}, f_{y_{h}}, x_{h}, y_{h}) W(f_{x_{h}}, f_{y_{h}}) \times \mathscr{F}[I(x_{h}, y_{h})] \exp[-i\pi\lambda d(v_{x_{h}}^{2} + v_{y_{h}}^{2})] \}, \quad (6)$ 式中  $\mathscr{F}$ 代表傅里叶变换,通过傅里叶变换得到记录全息图的频谱, $\mathscr{F}^{-1}$ 为傅里叶逆变换; $D(f_{x_{h}}, f_{y_{h}}, x_{h}, y_{h})$ 是一个相位校正函数, $W(f_{x_{h}}, f_{y_{h}})$ 是一个窗函数,用低通滤波的方法在频谱面上将  $U^{*}(x_{h}, y_{h}) R(x_{h}, y_{h})$ 的频谱滤出,所用窗函数的大小及位置与频谱图上的频谱能量分布有关; $A = \exp(i2\pi d/\lambda)/(i\lambda d), \lambda$  是测量 光源的波长,d是重构距离; $v_{x_{h}} = x_{h}/(M\Delta x_{h}), v_{y_{h}} = y_{h}/(N\Delta y_{h}), M$  和 N 是全息图 x 向和 y 向的像素数,  $\Delta x_{h}$ 和  $\Delta y_{h}$  是全息图 x 向和 y 向的像素大小。重构面上的相位  $\phi(x_{r}, y_{r})$ 为

$$\phi(x_r, y_r) = \arctan\left\{\frac{\operatorname{Im}[U(x_r, y_r)]}{\operatorname{Re}[U(x_r, y_r)]}\right\}$$
(7)

#### 2.3 去条纹法的原理

当微粒发生面内运动时,微粒中心的位置也在变化。因此,微粒中心位置的变化可以作为追踪微粒面内运动的标志。CCD 记录的微粒全息显微图上有粒子的衍射图样,衍射圆环的中心相对于粒子中心的位置是一定的,所以只需定位衍射圆环的中心。

CCD 记录的是粒子的离轴数字全息显微图,图中分布有细密的、具有高载频的干涉条纹。密集的干涉 条纹严重影响了衍射圆环的对比度,这对圆环中心的判断是十分不利的。因此首先应该对离轴全息图进行 干涉条纹的"净化":

 $I_{p}(x_{h}, y_{h}) = \{\mathscr{F}^{1}\{W_{p}(f_{x_{h}}, f_{y_{h}})\mathscr{F}[I(x_{h}, y_{h})]\}\} \times \{\mathscr{F}^{1}\{W_{p}(f_{x_{h}}, f_{y_{h}})\mathscr{F}[I(x_{h}, y_{h})]\}\}^{*}, \quad (8)$ 式中  $I_{p}(x_{h}, y_{h})$ 为去除干涉条纹,即"净化"后的全息图。对原始全息图进行傅里叶变换后得到其频谱图,  $W_{p}(f_{x_{h}}, f_{y_{h}})$ 是一个窗函数,与全息图的频谱图相乘,利用低通滤波方法滤出中心频谱,即零级频谱,再进行

傅里叶逆变换计算,即可得到不受干涉条纹影响的复振幅函数,使其与复共轭相乘,就可去除全息图的干涉 条纹。这样处理可使衍射圆环的对比度大幅度提升,易于判断圆环中心的位置。利用 Hough 变换来判断圆 心的位置。

# 3 实验结果与分析

采用的测量系统是透射式数字全息显微系统,如图 4 所示。波长为 690 nm 的激光光源(XPERAY)发出的光束通过中灰镜 NF 调节到合适光强后,被分光棱镜 BS1 分为两路,即物光和参考光。物光束被反射镜 M1 折转后照射样本,透射后携带有样本的信息被显微物镜 MO1(Mitutoyo,50×,NA=0.42)放大。参考光路中设置与物光路相同的显微物镜 MO2,将其放置在与 MO1 相对一致的位置,使畸变相位易于校正。分光棱镜 BS2 将两路光会合,在 CCD(PX-2M30-L,Imperx)上发生干涉。BS2 的轴线与光轴成一定角度,此为离轴角度,使干涉图易于将实像与零级像的频谱分离。



图 4 透射式离轴数字全息显微测量系统

Fig. 4 Transmitting off-axis digital holographic microscopic measurement system

利用透射式数字全息显微系统测量液态环境中微粒的三维位移,样品制备如图5所示。



0.1 nm 分辨率的位移台为压电陶瓷位移台(PI,S-303),分别作用于轴向的 z 向和面内的 x 向。设置压 电陶瓷位移台的轴向位移为 50,30,10 nm,面内位移为 50,20,10,5 nm。图 6 为微粒的数字全息显微图,小 图为局部放大图。



图 6 (a) 微粒的数字全息显微图;(b) 局部放大图 Fig. 6 (a) Digital holographic micrograph of particle; (b) partial magnification 根据光程长差分理论,y<sub>1</sub>选择为微粒中心的像素点,y<sub>2</sub>选择为距离中心像素点5 pixel的位置。y<sub>1</sub>和 y<sub>2</sub> 有固定的差值,y<sub>2</sub>-y<sub>1</sub>=0.68 μm。根据数字全息术的原理计算两个像素点的光程长,得出光程长沿 z 轴 的变化,计算两像素点的光程长差沿 z 轴的变化规律。图 7 所示为这两点的光程长差分变化图。与理论模 拟结果一致,实测图中有两个拐点。将这两个拐点的中间位置作为追踪标记点对微粒进行轴向定位。值得 注意的是,图 7 中横轴为重构像方空间的光轴坐标,经过显微镜的放大作用,微粒的轴向位移也被放大,像方 空间的位移相对于物方空间位移的放大倍数为横向放大倍数的平方,在实验中为 54.77<sup>2</sup>。

通过标记两拐点的中心位置,测得微粒轴向位移如图 8 所示。z 轴的追踪分辨力至少能达到 10 nm。 粒子轴向追踪的相对位置列于表 1 中。



图 7  $y_2 - y_1 = 0.68 \ \mu m$  时测得的光程长差分变化图





Fig. 8 Diagram of axial displacement of the particle

#### 表1 微粒轴向位移

Table 1 Axial displacement of the particle

Frame No.	1-117	120-235	238-353	358-472
Axial position /nm	$-104.3 \pm 4.1$	$-51.1 \pm 3.2$	$-22.5\pm3.8$	$-11.3 \pm 3.9$

微粒的面内运动需要通过去条纹化方法确定粒子中心位置进行判断。图 9 为去条纹化过程,对图 6 进行频域滤波[图 9(a)],过滤离轴干涉条纹得到图 9(b),通过 Hough 变换定位微粒中心,对微粒进行面内跟踪。图 10 和表 2 为横向跟踪结果,根据表 2 数据可知,横向位移能达到 5 nm 的分辨力。

根据轴向位移和横向位移的测量结果,可分析得到微粒三维位移跟踪结果已达纳米量级。由于进行的 测量为图像连帧测量,能够证明具有动态测量特性,根据图像采集卡的采集帧率以及图像处理效率,得出测 量帧率为 33 frame/s。





图 9 面内横向位移测量原理。(a)数字全息显微图频域滤波;(b)去条纹后的全息图;(c)图 9(b)的局部放大 Fig. 9 Principle of in-plane lateral displacement measurement. (a) Frequency spetrum filtering of digital holographic micrograph; (b) hologram without the interference fringes; (c) partial magnification of Fig. 9(b)

表 2 微粒面内横向位移 Table 2 In-plane lateral displacement of the particle

Frame No.	1-30	32-67	69-102	106-138	142-175
In-plane position /nm	$62.5 \pm 2.8$	$-13.5 \pm 3.0$	$-7.7 \pm 3.2$	$-16.7 \pm 4.3$	$-21.6 \pm 3.7$



图 10 微粒面内横向位移图

Fig. 10 Diagram of in-plane displacement of the particle

### 4 结 论

表1和2表明离轴数字全息显微系统应用光程长差分法结合去条纹化方法得到的位移测量分辨力为纳 米级。轴向位移的测量是技术难点,所用的光程长差分算法仅利用两点的光程长作了相对运算,因此测量效 率高于传统全息中应用重聚焦像面算法的效率。这种方法存在以下局限性:

1) 该方法利用透射光的信息进行计算得到粒子的三维位置,因此目前只适用于透明粒子。

2) 计算需要选取两个固定像素点的光程长,所以能够测量的粒子最小直径应在 CCD 上至少占据 3 pixel。

3) 像素点并不是模拟计算中的理想点,只是一个小区域的平均,所以测量误差不可避免。

#### 参考文献

- Lukinavičius G, Umezawa K, Olivier N, *et al*. A near-infrared fluorophore for live-cell super-resolution microscopy of cellular proteins[J]. Nature Chemistry, 2013, 5(2): 132-139.
- Kotnala A, Gordon R. Quantification of high-efficiency trapping of nanoparticles in a double nanohole optical tweezer
   [J]. Nano Letters, 2014, 14(2): 853-856.
- [3] Chung Y C, Chen P W, Fu C M, *et al*. Particles sorting in micro-channel system utilizing magnetic tweezers and optical tweezers [J]. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2013, 333: 87-92.
- [4] Saxton M J. Single-particle tracking: Connecting the dots[J]. Nature Methods, 2008, 5(8): 671-672.
- [5] Luo R, Yang X Y, Peng X F, et al. Three-dimensional tracking of fluorescent particles applied to micro-fluidic measurements[J]. Journal of Micromechanics and Microengineering, 2006, 16(8): 1689-1699.
- [6] Le Gall A, Perronet K, Dulin D, et al. Simultaneous calibration of optical tweezers spring constant and position detector response[J]. Optics Express, 2010, 18(25): 26469-26474.
- [7] Halyo V, LeGresley P, Lujan P, *et al*. First evaluation of the CPU, GPGPU and MIC architectures for real time particle tracking based on Hough transform at the LHC[J]. Journal of Instrumentation, 2014, 9(4): P04005.
- [8] Cnossen J P, Dulin D, Dekker N H. An optimized software framework for real-time, high-throughput tracking of spherical beads[J]. Review of Scientific Instruments, 2014, 85(10): 103712.
- [9] Xie Xiangjun, Lei Hai, Chang Xinyu, et al. Three-dimensional microsphere tracking using off-focus images based on cross-correlation matching algorithm[J]. Acta Optica Sinica, 2015, 35(2): 0212002.

谢湘军, 雷海, 常新宇, 等. 离焦图像的互相关匹配法测量微球三维位置研究[J]. 光学学报, 2015, 35(2): 0212002.

[10] Yao Chengwen, Lei Hai, Chang Xinyu, et al. New method of three-dimensional position fast and precision measurement of microspheres[J]. Acta Optica Sinica, 2017, 37(1): 0112002.

姚成文, 雷海, 常新宇, 等. 微球三维位置快速精密测量的新方法[J]. 光学学报, 2017, 37(1): 0112002.

[11] Chang Xinyu, Zeng Yanan, Lei Hai, et al. Three-dimensional position measurement method with nanoscale precision for overlapped particles in liquid[J]. Acta Optica Sinica, 2017, 37(8): 0812002.

常新宇,曾雅楠,雷海,等.液态中交叠微球的三维纳米级位置测量方法[J].光学学报,2017,37(8):0812002.

[12] El Mallahi A, Dubois F. Dependency and precision of the refocusing criterion based on amplitude analysis in digital holographic microscopy[J]. Optics Express, 2011, 19(7): 6684-6698.

- [13] Yu L, Mohanty S, Zhang J, et al. Digital holographic microscopy for quantitative cell dynamic evaluation during laser microsurgery[J]. Optics Express, 2009, 17(14): 12031-12038.
- [14] Dubois F, NovellaRequena M L, Minetti C, et al. Partial spatial coherence effects in digital holographic microscopy with a laser source[J]. Applied Optics, 2004, 43(5): 1131-1139.
- [15] Grare S, Allano D, Coëtmellec S, et al. Dual-wavelength digital holography for 3D particle image velocimetry: Experimental validation[J]. Applied Optics, 2016, 55(3): A49-A53.
- Schneider B, Dambre J, Bienstman P. Fast particle characterization using digital holography and neural networks[J].
   Applied Optics, 2016, 55(1): 133-139.
- [17] Berg M J, Subedi N R, Anderson P A. Measuring extinction with digital holography: Nonspherical particles and experimental validation[J]. Optics Letters, 2017, 42(5): 1011-1014.
- [18] Wu Y, Wu X, Yao L, et al. 3D boundary line measurement of irregular particle with digital holography[J]. Powder Technology, 2016, 295: 96-103.
- [19] Cheong F C, Grier D G. Three-dimensional nanorod tracking with holographic video microscopy [C]. Digital Holography and Three-Dimensional Imaging, Optical Society of America, 2011: DWC35.
- [20] Dixon L, Cheong F C, Grier D G. Holographic deconvolution microscopy for high-resolution particle tracking [J]. Optics Express, 2011, 19(17): 16410-16417.
- [21] Dixon L, Cheong F C, Grier D G. Holographic particle-streak velocimetry [J]. Optics Express, 2011, 19(5): 4393-4398.
- [22] Miccio L, Memmolo P, Merola F, et al. Particle tracking by full-field complex wavefront subtraction in digital holography microscopy[J]. Lab Chip, 2014, 14(6): 1129-1134.
- [23] Memmolo P, Finizio A, Paturzo M, et al. Twin-beams digital holography for 3D tracking and quantitative phasecontrast microscopy in microfluidics[J]. Optics Express, 2011, 19(25): 25833-25842.