

基于单棱镜复用的轴向可调式共光路干涉相位成像系统

张明明¹, 韩豪¹, 刘景业², 徐媛媛², 王亚伟², 季颖²

¹江苏大学机械工程学院, 江苏 镇江 212013;

²江苏大学理学院, 江苏 镇江 212013

摘要 基于干涉成像原理,提出了一种结构简单的轴向可调式共光路干涉成像系统的设计。该设计充分利用光路可逆性和分光棱镜的反射、折射特性,先通过棱镜将入射光分为两束平行光,一束照射到样品上被反射载物台反射作为物光,另一束则直接被反射作为参考光,然后利用上述棱镜使反射回的物光和参考光合束发生干涉。通过调整棱镜的分光层与光轴之间的夹角可分别实现不同类型的干涉。分别以傅里叶变换和三步相移范数法为例对实验获得的干涉条纹进行相位恢复,并通过对结果的分析评估了系统的性能,对设计用于生物细胞相位成像的可行性进行了论证。所设计的系统结构简单、操作方便、系统误差小,可为均质细胞的无损免标记形态检测提供一种简单易行的方法。

关键词 生物光学; 相位成像; 干涉系统; 共光路; 生物细胞

中图分类号 O436.1

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201845.0407007

Axial Adjustable Common-Path Interferometric Phase Imaging System Based on Prism Reuse

Zhang Mingming¹, Han Hao¹, Liu Jingye², Xu Yuanyuan², Wang Yawei², Ji Ying²

¹School of Mechanical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China;

²Faculty of Science, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China

Abstract An axial adjustable common-path interferometric phase imaging system with simple structure is proposed based on the theory of interference imaging. In this design, making full use of the reversibility of the optical path and the reflection and refraction characteristics of the splitter prism, the incident beam is split into two parallel beams by a prism. One beam is incident on the sample and reflected by the reflecting stage as object light, and the other beam is directly reflected as reference light. The interferograms can be captured by combining object beam with reference beam through the same beam splitter. The interferometer can achieve different types of interference by adjusting the angle between the layer of the beam splitter prism and the optic axis. Taking Fourier transform and three steps phase shift norm method as examples, the phase of the interference fringe is recovered, and the performance of the system is evaluated by the analysis of the results. The feasibility of the proposed design for biological cells phase imaging is demonstrated. The system has the characteristics of simple structure, easy operation and low system error, which can provide an easy and simple method for label-free morphological detection of homogeneous cell.

Key words biotechnology; phase imaging; interferometric system; common-path; biological cell

OCIS codes 170.0110; 170.3880; 100.3175; 100.5070

收稿日期: 2017-08-22; **收到修改稿日期:** 2017-09-28

基金项目: 国家自然科学基金(11474134, 11374130, 11604127)、江苏省“六大人才高峰”(2015-DZXX-023)

作者简介: 张明明(1994—),男,硕士研究生,主要从事生物细胞形态及动态行为的光学检测方面的研究。

E-mail: 1589169460@qq.com

导师简介: 季颖(1978—),女,教授,博士,主要从事生物细胞形态及动态行为的光学检测方面的研究。

E-mail: jy@ujs.edu.cn(通信联系人)

1 引言

生物细胞是生命体的基本单元,对细胞形态结构和动力学行为的识别与检测,在生命科学研究中已经受到越来越多的关注,尤其是在临床医学领域,对癌症等重大疾病的病因检测、发病机理的研究以及药物对疾病医治效果的评测,都离不开对该区域细胞不同状态下细胞形态特征的观察和检测^[1]。但是由于细胞无色透明,传统显微镜对细胞的直接观测极为困难,扫描电子显微镜纵向分辨率可达到 0.7 nm 左右,但是由于采用逐点扫描观察,导致该方法成像速度相对较慢且范围相对较小,不利于实时观测^[2]。荧光显微技术借助合适波长的激发光激发样本中的荧光探针可以实现对样本的成像,此技术信噪比高、特异性强,但是需要对细胞进行染色等预处理,信号强度与光漂白效应往往较难平衡,而且成像过程中光毒作用对活细胞的影响不容忽视^[3-5]。因此,研发可对活细胞样品进行原态可视化观测的无损标记成像技术一直是人们关注的重点与热点之一^[6]。干涉相位成像技术作为一种非接触无标记测试方法,利用细胞内各组分的折射率为固有对比源这一特性,可从干涉图样中提取被测样品的相位分布,并从中解调出物体表面乃至亚表面的整体形貌,其纵向测量精度可以达到纳米量级^[7]。其中,物参共光路干涉系统因物光和参考光沿着相同的路径进行传播,装置对环境振动不敏感,系统的抗干扰能力和稳定性较好,在医学检测方面得到了广泛的应用。例如傅里叶相位显微技术^[8]通过将样本的散射光和非散射光分别作为物光和参考光,在傅里叶变换频谱面上使用软件控制的相位调制器进行移相,可分时获得相移干涉图。该技术具有共光路系统高稳定性的优势,可以进行长达数小时的显微观察。空间光干涉显微技术^[9]也是利用将透过样品的散射和非散射光分别作为物光和参考光,使用液晶相位调制器对参考光进行移相获得干涉图。该技术分辨率达到了纳米级别,且处理速度极快,可以适用于多种类型细胞的观测。但是上述显微系统的结构较为复杂,需要较多的光学元件,实验成本较高、操作难度较大,不利于推广使用。因此对于均质细胞形态的快速无损检测需要一种低成本、易操作的成像方法。本文基于共光路干涉原理,利用棱镜的分光原理和特性,设计了一种结构简单且应用范围较广的干涉相位成像系统,并且通过实验验证了该系统的可行性。

2 干涉成像装置与工作原理

基于共光路设计的微分干涉显微系统如图 1 所示。从氦氖(He-Ne)激光器中发出的光(波长为 632.8 nm)向前传输经过中性可调衰减器 NF 调节至合适的光强后,利用扩束准直器 BE 将激光光束调整为大小合适的平行光后射向样品,光束经分光棱镜 BS₁ 反射为水平向右的光束并向分光棱镜 BS₂ 传输,在这两个装置中间放置一个大小合适的视场光阑 A_p,使得成像区域的大小不超过电荷耦合器件(CCD)记录靶面的面积,又经 BS₂ 分光为两束平行光束,照射到反射载物台 M 上。其中照射到样品上的一束作为样品光 O,另一束则被 M 全反射后直接原路返回作为参考光 R;物、参反射光束经过 BS₂ 合束后发生干涉,并原路返回经过 A_p 和 BS₁,再经过显微物镜 MO 放大后,由透镜 L₁ 准直为平行光,进而被 CCD 接收,并将干涉数据传输到计算机,以便后续用相应算法恢复相位信息。理论上,通过改变 BS₂ 分光层与光轴之间的夹角可以实现同轴干涉、轻微离轴和离轴干涉,分别如图 1(a)、(b)、(c) 所示。从实际应用来看,同轴干涉对光路精密度要求较高,需参考光与物光之间没有夹角,而且同轴干涉会带来共轭像问题,给原始像的提取和处理带来一定的困难^[10],因此该系统实际操作时只对离轴和轻微离轴干涉进行了实验。参考光臂上的相移器 PS 可根据实验目的和要求对参考光进行相移,从而获得不同相移下的多幅干涉图,以便进行后续的相位恢复等数据处理工作。

采集到的干涉图通过相位恢复运算获得样品的定量相位信息。常用的方法有积分变换法、微分法、相移法等。下面通过实验验证上述成像系统的可行性。考虑到同轴干涉的干涉图中会出现共轭像从而给原始像的提取带来一定困难,而离轴干涉获得的干涉图的信息在频谱面上是完全分开的,可以从单幅干涉图中很方便地获取样品信息,并且该方法在实际的实验中也较为容易实现。因此,实验以目前较为常用的离轴干涉为例进行验证,并分别以傅里叶变换法和三步相移法对平面波进行了相位恢复。

3 干涉成像实验与结果分析

上述共光路干涉系统的实验装置见图 2,其中,光源采用波长为 632.8 nm 的非偏振 He-Ne 激光器,激光经过分光镜后分成的两束平行光分别作为

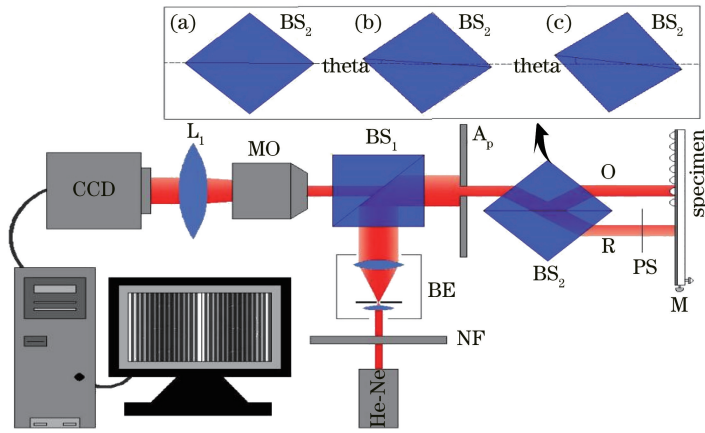


图 1 共光路干涉相位显微示意图。(a)同轴干涉;(b)轻微离轴干涉;(c)离轴干涉

Fig. 1 Schematic diagram of common-path interference phase microscopy. (a) On-axis interference; (b) micro off-axis interference; (c) off-axis interference

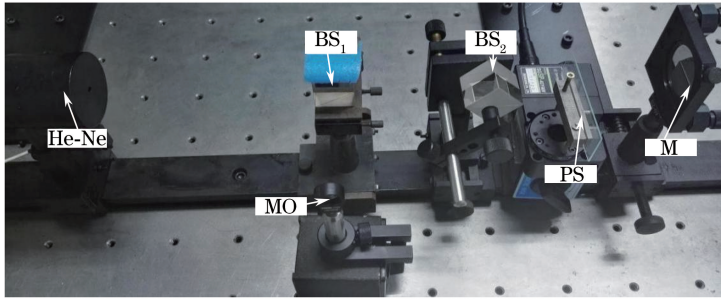


图 2 实验装置图

Fig. 2 Diagram of experimental setup

物光和参考光。通过相移器实现多步相移,该相移器放置在参考光光路上是由电动旋转平台(SGSP-40YAW型,西格玛,日本)和玻璃板组成,而电动旋转平台的控制器与电脑相连,采用步进(每步转角 $\alpha=0.0025^\circ$)的方式来实现较为精确的相移,由于参考光两次通过移相器,所以相移量 $\delta \approx 2 \times \pi d(n-1)\alpha^2/(n\lambda)$,其中 λ 为光源波长, d 和 n 分别为玻璃板的厚度和折射率,即 $\lambda=632.8\text{ nm}$, $d=0.28\text{ mm}$, $n=1.55$ 。干涉条纹的采集使用日本索尼 ILCE-6000型数码相机完成,其感光器件为 Exmor,图像有效像素数为 $6000\text{ pixel} \times 4000\text{ pixel}$,传感器尺寸为 $23.5\text{ mm} \times 15.6\text{ mm}$ 。实验以焦距 $f=20\text{ mm}$ 的平凸透镜为物镜,放大倍率为13.5倍。

基于傅里叶变换的相位恢复法^[11] 仅需采集一幅干涉图[图 3(a)],干涉光强可表示为

$$I(x, y) = I_S + I_R + 2\sqrt{I_S I_R} \cos[\varphi(x, y) + 2\pi f_x x] = a(x, y) + b(x, y) \exp[j2\pi f_x x] + b^*(x, y) \exp[-j2\pi f_x x], \quad (1)$$

式中 f_x 为空间载频, $a(x, y) = I_S + I_R$ 为背景光

强, $b(x, y) = \frac{1}{2} \times 2\sqrt{I_S I_R} \exp[j\varphi(x, y)]$, * 代表复共轭。对(1)式进行傅里叶变换得

$$I(f, x) = A(f, y) + B(f - f_x, y) + B^*(f + f_x, y), \quad (2)$$

由于载波的调制作用,在(2)式右边的3项是相互分离的。其中滤波器的中心频率为 f_x ,并且可以通过移频的方式来得到 $B(f, y)$,以此来消除背景光和共轭像的影响,再对其使用傅里叶逆变换获取 $b(x, y)$ 得到样本的相位分布:

$$\varphi(x, y) = \arctan \frac{\text{Im}[b(x, y)]}{\text{Re}[b(x, y)]}. \quad (3)$$

恢复的结果如图 3 所示,图 3(b)和图 3(c)分别为恢复得到的平面波包裹相位图和三维相位分布图。其中,色坐标表示图中的相位值。

下面再基于相移法进行图像采集和相位恢复运算。在相同的实验条件下,采用移相器使参考光产生相移。这里拟采用三步相移法^[12],因此分别设置下列相移量 0 rad , 1 rad , 3 rad 。需要注意的是,该相移量是根据移相器的工作原理计算而来

的,实际产生的相移可通过范数法^[13]确定。分别采集了相应的3幅干涉图[图4(a)、(b)、(c)],其光强的分布分别记为 I_1, I_2, I_3 ,其强度函数表

示为

$$I_{kmn} = a_{mn} + b_{mn} \cos[\varphi_{mn} + \delta_k], \quad k = 1, 2, 3, \quad (4)$$

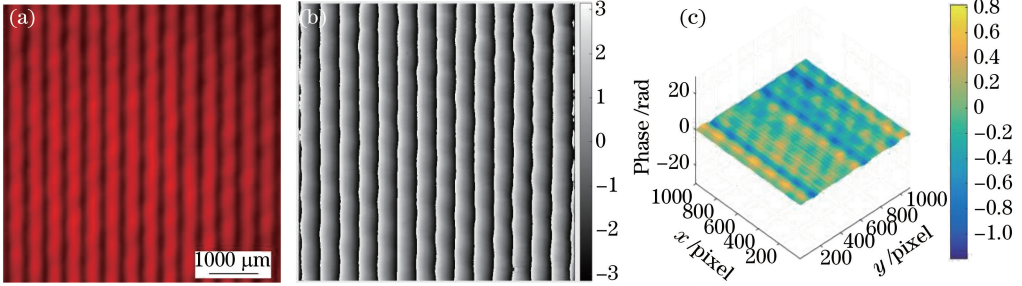


图3 平面波的离轴干涉图样及基于傅里叶变换的相位恢复结果。(a)干涉图;(b)包裹相位;(c)三维相位分布图

Fig. 3 Off-axis interference image of plane wave and phase recovery results of Fourier transform.

(a) Interferogram; (b) wrapped phase; (c) 3D phase distribution

式中 m 和 n 为空间坐标, k 为获得的干涉图的帧数, a_{mn} 和 b_{mn} 分别为采集到的干涉图中某一点的背景光强和强度调制因子, φ_{mn} 为在某一点处物光和参考光之间的相位差, δ_k 为第 k 幅干涉图的相移值。首先采用差运算来消除背景项的影响,即从获取的3幅干涉图中任取2幅相减,其强度差可以表示为

$$\begin{aligned} \Delta I_{pq} &= I_{pmn} - I_{qmn} = \\ &= 2b_{mn} \sin\left(\varphi_{mn} + \frac{\delta_q + \delta_p}{2}\right) \sin\left(\frac{\delta_q - \delta_p}{2}\right), \\ & \quad p, q = 1, 2, 3, \end{aligned} \quad (5)$$

进而由二范数的定义得到上述强度差的二范数表达式为

$$\begin{aligned} E_{pq} &= \|\Delta I_{pq}\|_2 = \\ &= \left\{ \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N \left[2b_{mn} \sin\left(\varphi_{mn} + \frac{\delta_q + \delta_p}{2}\right) \sin\left(\frac{\delta_q - \delta_p}{2}\right) \right]^2 \right\}^{1/2} = \\ &= \sqrt{2} \left| \sin\left(\frac{\delta_q - \delta_p}{2}\right) \right| \left\{ \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N b_{mn}^2 [1 - \right. \\ & \quad \left. \cos(2\varphi_{mn} + \delta_q + \delta_p)] \right\}^{1/2}, \end{aligned} \quad (6)$$

式中 ΔI_{pq} 为两幅干涉图的光强差。如果干涉图中条纹的数目超过1,则有下列的关系式成立:

$$\sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N b_{mn}^2 \gg \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N b_{mn}^2 \cos(2\varphi_{mn} + \delta_q + \delta_p), \quad (7)$$

因此(6)式可以简化为

$$\begin{aligned} E_{pq} &\approx \sqrt{2} \left| \sin\left(\frac{\delta_q - \delta_p}{2}\right) \right| \left\{ \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N b_{mn}^2 \right\}^{1/2} = \\ &= C \left| \sin\left(\frac{\delta_q - \delta_p}{2}\right) \right|, \end{aligned} \quad (8)$$

式中 $C = \sqrt{2} \left\{ \sum_{m=1}^M \sum_{n=1}^N b_{mn}^2 \right\}^{1/2}$ 。在三步相移的情况下,(8)式中有 $\delta_1, \delta_2, \delta_3$ 和 C 共4个未知数。通常把

第1相移值 δ_1 取为0,(8)式中根据 p, q 的取值不同可以获得3个独立方程构成的方程组,其余3个未知数便可从中求解得到。

为了避免三角函数的周期性带来的相移不确定,通常把 δ 限定在 $(0, \pi)$ 之间,在此区间内正弦函数均为正值,则得到的方程组可以表示为

$$\begin{cases} E_{12} = C \sin\left(\frac{\delta_2}{2}\right) \\ E_{13} = C \sin\left(\frac{\delta_3}{2}\right) \\ E_{23} = C \sin\left(\frac{\delta_3 - \delta_2}{2}\right) \end{cases} \quad (9)$$

解方程获得第2,3相移值分别为 $\delta_2 \approx 0.95$ rad和 $\delta_3 \approx 2.99$ rad。将确定的相移值代入三步相移相位计算公式中,从而完成相位信息的获取:

$$\varphi = \arctan \frac{I_3 - I_2 + (I_1 - I_3) \cos \delta_2 + (I_2 - I_1) \cos \delta_3}{(I_1 - I_3) \sin \delta_2 + (I_2 - I_1) \sin \delta_3}. \quad (10)$$

按照上述过程恢复出来的包裹相位如图4(d)所示,图4(e)为二维解包裹相位图,图4(f)为三维相位分布图。其中,色坐标表示图中的相位值。

由计算结果可以看到,由三步相移法得到的平面光波相位分布比傅里叶方法得到的结果更均匀光滑,意味着其精度较高。一方面是因为三步相移法基于更多的实验数据,另一方面是因为采用的范数法对干涉图像的要求较为宽松,对噪声不敏感。不足之处在于,相移法需要采集多幅干涉图,而该成像系统目前尚未实现同步采集,不适用于样品动态检测。对于细胞形态特征的静态观察,还可以通过其他途径来提高观测精度,比如选用更加稳定的激光器降低相干噪声的影响,提高

采样精度等。此外,若要对样品进行 3D 形态重建,往往需要从多个角度或层面采集多个相位信

息,还需对该装置的光路结构进行扩展优化,这也是后续的工作目标。

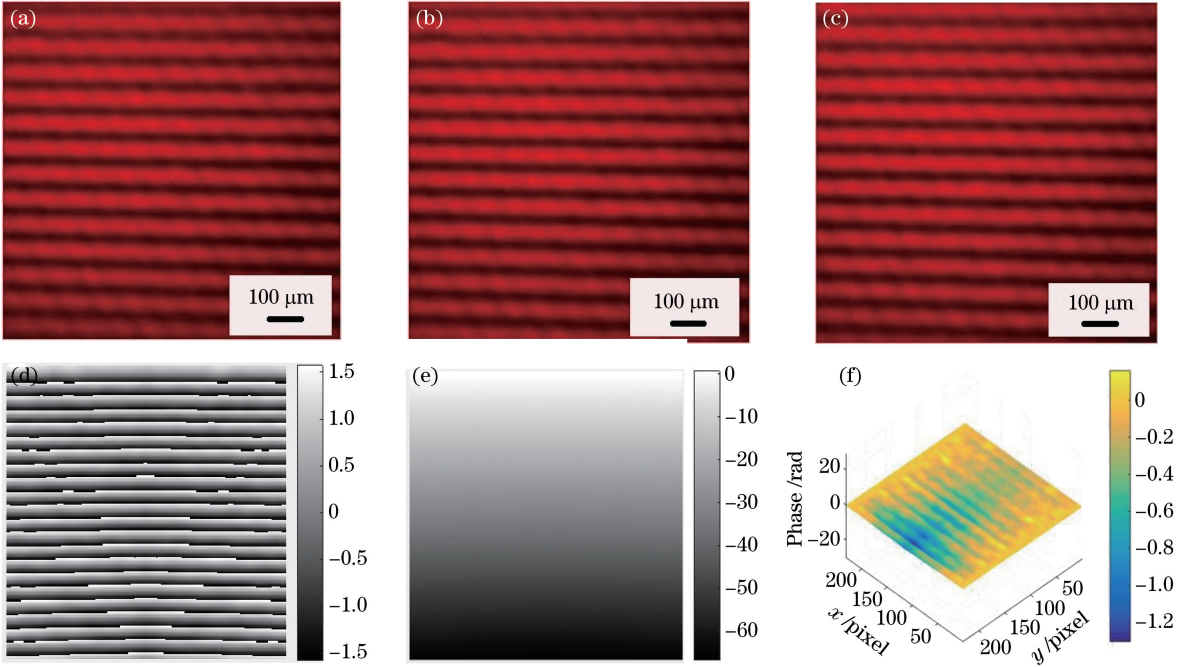


图 4 离轴干涉下平面波的三步相移范数法的相位恢复结果。(a)~(c)第 1,2,3 帧相移干涉图; (d)包裹相位;(e)二维解包裹相位图;(f)三维相位分布图

Fig. 4 Phase recovery results of the three step phase shift norm method for plane wave under off-axis interference.

(a)-(c) 1st, 2nd and 3rd interferograms; (d) wrapped phase; (e) 2D display of the unwrapped phase; (f) 3D phase distribution

上述实验结果及分析是以平面波为例进行的,对实际样品(如红细胞)分析时,光透过样品会产生

$\Delta\varphi(x_0, y_0) = -\frac{2\pi}{\lambda}h(x_0, y_0)$ 的相位延迟,其中

$h(x_0, y_0)$ 为样品在点 (x_0, y_0) 处的物理厚度。该系统的干涉光路为反射式,即物光 O 和参考光 R 被反射式载物台反射后再相干(如图 5 所示),这样物光两次穿过样品,故相位延迟为 $2\Delta\varphi(x_0, y_0)$ 。

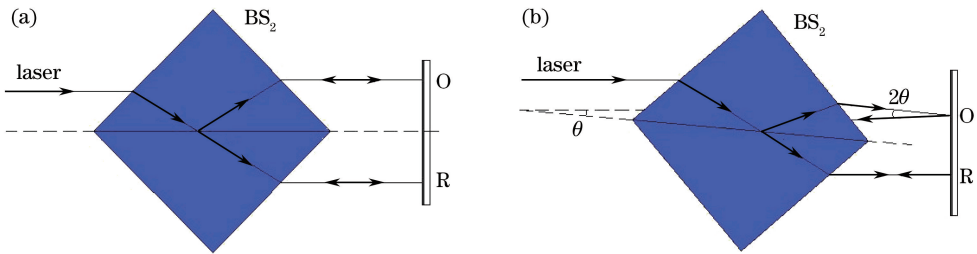


图 5 物光、参考光在 BS₂ 中的光路图。(a)同轴光路;(b)离轴光路

Fig. 5 Light path diagrams of the object light and the reference light in BS₂. (a) Path of on-axis; (b) path of off-axis

对于同轴干涉,入射光经 BS₂ 分束后平行向前传播,校准反射镜(即载物台)使其与两束平行入射光垂直,则物光两次穿过样品的路径完全一致。对于离轴干涉,物光的反射路径与入射路径会出现微小夹角 2θ ,离轴干涉的夹角 θ 的范围由奈奎斯特采样定理^[14] 来确定,即 $\theta_{\max} \leq \frac{\lambda}{2\Delta x}$,其中 Δx 为像素尺寸,则 $0 \leq \theta \leq \theta_{\max} \approx 4.63^\circ$ 。假设入射时物光在点 (x_0, y_0) 处的样品内实际穿过的物理厚度为 h' ,反

射时实际穿过的厚度为 h'' ,则在均质细胞中 h' 与 h'' 是相等的。而在点 (x_0, y_0) 处物光在样品内实际穿过的厚度 h' 与样品在该点处的实际物理厚度 h 间存在误差,取 $\theta = 2^\circ$ 估算两者误差,则 h' 与 h 间的关系式为 $h/h' = \cos \theta = \cos 2^\circ \approx 0.9994$,即此时物光在点 (x_0, y_0) 处 h' 与 h 间的误差为 0.06%。此外,反射光在样品横向也将发生偏移,横向偏移量 l 与样品在该点的实际厚度 h 间的关系表示为 $l = h \tan \theta = h \tan 2^\circ \approx 0.0349 h$,即横向偏移量为该点处

样品厚度的 3.49%，以红细胞为例，其平均厚度 $h_{av} = 2.10 \mu\text{m}$ ，平均直径 $D = 7.33 \mu\text{m}$ ，则 l 对红细胞直径产生的误差 $l/D \approx 1.00\%$ 。因而该装置对于均质细胞的形态检测和分类完全适用。

此外，选取聚苯乙烯小球作为均质相位体样品，以离轴干涉为例进行了实验。该小球直径为 $78.00 \mu\text{m}$ ，折射率 $n = 1.59$ ，使用图 2 所示的实验

装置进行了离轴干涉实验，并对干涉图进行采集 [图 6(a)]，截取干涉图中有效的部分用傅里叶变换法对其进行相位恢复，结果如图 6(b)、(c) 所示。根据同样方法，按照相同的样品参数建模并进行仿真计算，得到的结果如图 6(d)~(f) 所示。可以看出，图 6(c) 和图 6(f) 中的分布特征基本相似。其中，色坐标表示图中的相位值。

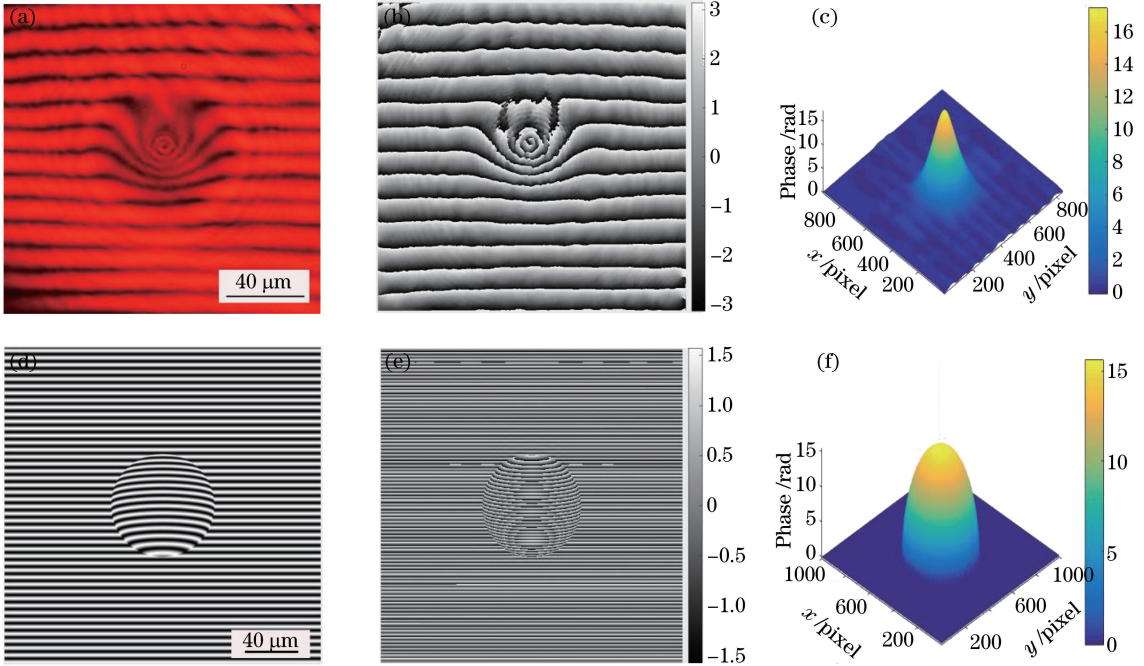


图 6 聚苯乙烯小球的离轴干涉实验图和仿真模拟图及基于傅里叶变换的相位恢复结果。(a)~(c)聚苯乙烯小球的实验干涉图、包裹相位图及三维相位分布图；(d)~(f)聚苯乙烯小球的仿真干涉图、包裹相位图及三维相位分布图

Fig. 6 Diagrams of the off-axis interference experiment and simulation of polystyrene sphere and phase recovery results based on Fourier transform. (a)-(c) Experimental interferogram, wrapped phase and 3D phase distribution of polystyrene sphere; (d)-(f) simulation interferogram, wrapped phase and 3D phase distribution of polystyrene sphere

根据相位函数的定义，相位反映的是样品与周围环境相对折射率差与其厚度的乘积，是一个沿光轴方向的积分整体变化量，并不能反映样品每一个空间点的情况。因而要获得样品的 3D 形态还需要采集不同角度(不同层面)的相位图，并通过相应的算法从相位信息中将其厚度分布提取出来。该装置目前尚未加载诸如光镊等辅助模块，仅供采集单一方向的干涉图。对于均质样品的快速检测，在对空间分辨率要求不高(如微米或亚微米量级)的情形下，可利用相位梯度对折射率变化敏感的特性对相位分布进行边缘检测从而确定样本的边界信息，以此来估计其大小和形态，实验和仿真的结果分别如图 7(a)、(c) 所示，从图 7(c) 中可以清楚地看出边界处梯度的变化，在图 7(a) 中可以大体看出边界梯度的变化，但这些都只是定性的判断。为了可以量化

边界信息，取过图 7(b)、(d) 中中心(即相位值最大处)的横向 AB 和 CD 的梯度分布曲线，可以得出样品边界的定量数据。梯度分布曲线表示沿曲线方向相位前后的变化幅度，由于厚度变化为定值，折射率的变化则决定了相位的变化^[15]。从仿真结果来看 [图 7(d) 中的 C, D 点处]，小球的相位梯度经历了一正一反两次跳变，且幅度相等，这也与样本折射率的变化相吻合，意味着这个跳变的位置对应样本的边界点。在实际实验中，由于噪声等原因，实际梯度图的边界不如仿真结果清晰 [图 7(a)]。为了获得小球的尺寸信息，选取图 7(b) 中经过相心的线，即 AB ，经换算得 AB 对应的尺寸约为 $74.53 \mu\text{m}$ ，与实际尺寸 $78.00 \mu\text{m}$ 的误差为 4.44% 。

上述信息处理过程都只需一幅干涉图，图像采集和数据运算都很简便，且误差满足均质样本检测的要

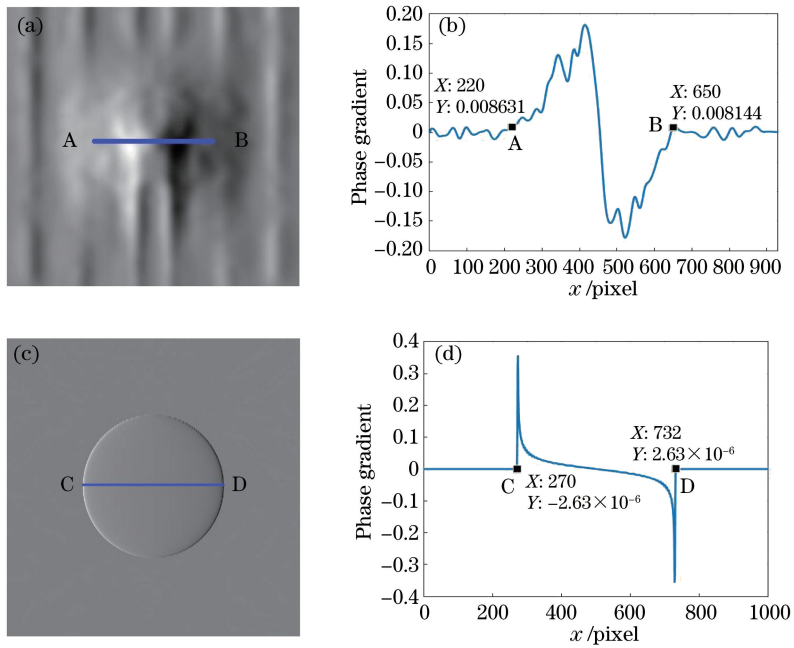


图 7 聚苯乙烯小球的相位梯度图。(a)实验相位梯度图;(b)实验相位梯度分布曲线;
(c)模拟相位梯度图;(d)模拟相位梯度分布曲线

Fig. 7 Phase gradient diagrams of polystyrene sphere. (a) Experimental phase gradient map; (b) experimental phase gradient distribution curve; (c) simulated phase gradient map; (d) simulated phase gradient distribution curve

求,因此该系统可以用于均质样品的实时动态检测。

4 结 论

所设计的基于单棱镜复用的共光路干涉相位成像系统,结构简单紧凑,易于搭建和调试,可实现多种干涉成像,如离轴、轻微离轴等。经实验验证,该系统可方便、快速地采集单幅或多幅干涉图,相位恢复运算的结果表明,该设计能够满足均质生物细胞形态快速检测的要求,并且可以根据研究需要采用动态和静态观察。该系统不仅具有共光路光学系统本身稳定性高、抗噪能力强的优点,还因其使用的光学元件较少,降低了使用成本和操作难度,在一定程度上减少了由光学器件引入的误差,如材料误差、面形误差、装配误差等,可为生物细胞无损免标记成像技术的发展提供一定的参考。该成像系统目前尚未具备多角度、多幅干涉图同步采集的功能,将在后续的工作中进一步开发完善。

参 考 文 献

[1] Lin D Y, Qu J L. Recent progress on super-resolution imaging and correlative super-resolution microscopy[J]. Acta Physica Sinica, 2017, 66(14): 271-293.
林丹樱, 屈军乐. 超分辨成像及超分辨关联显微技术研究进展[J]. 物理学报, 2017, 66(14): 271-293.

[2] Sun C J, Jiang F H, Gao W, *et al.* Scanning electron microscopy coupled with energydispersive X-ray spectrometry for quick detection of sulfuroxidizing bacteria in environmental water samples[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2017, 35(1): 185-191.
[3] Renz M. Fluorescence microscopy: A historical and technical perspective[J]. Cytometry Part A, 2013, 83(9): 767-779.
[4] Wu C Z, Xu F, Gao Y L, *et al.* Application of fluorescent labeling technique in the research of biology and medicine [J]. Journal of Chongqing University of Technology (Natural Science), 2014, 28(5): 55-62.
吴超柱, 徐凡, 郜炎龙, 等. 荧光标记技术在生物学和医学研究中的应用[J]. 重庆理工大学学报(自然科学), 2014, 28(5): 55-62.
[5] Vicidomini G, Moneron G, Han K Y, *et al.* Sharper low-power STED nanoscopy by time gating [J]. Nature Methods, 2011, 8(7): 571-573.
[6] Xiong J W, Chen L, Liu M S, *et al.* An optical manner for estimation viability of cells based on their morphological characteristics [J]. Journal of Optoelectronics • Laser, 2005, 16(12): 1514-1519.
熊建文, 陈丽, 刘明胜, 等. 基于形态学特征的细胞活性无损检测新方法研究[J]. 光电子•激光, 2005, 16(12): 1514-1519.
[7] Jin W F, Wang Y W, Bu M, *et al.* Research

- progress in phase microscopy for biological cells [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2011, 20(3): 417-424.
- 金卫凤, 王亚伟, 卜敏, 等. 生物细胞相位显微技术研究进展 [J]. *激光生物学报*, 2011, 20(3): 417-424.
- [8] Popescu G, Deflores L P, Vaughan J C, *et al.* Fourier phase microscopy for investigation of biological structures and dynamics [J]. *Optics Letters*, 2004, 29(21): 2503-2505.
- [9] Wang Z, Millet L, Mir M, *et al.* Spatial light interference microscopy (SLIM) [J]. *Optics Express*, 2011, 19(2): 1016-1026.
- [10] Wang Y X, Wang D Y, Yang Y S, *et al.* Application and analysis in the biomedicine field using digital holographic technology [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2014, 41(2): 0209002.
- 王云新, 王大勇, 杨怡姝, 等. 数字全息技术在生物医学成像和分析中的应用 [J]. *中国激光*, 2014, 41(2): 0209002.
- [11] Takeda M, Ina H, Kobayashi S. Fourier-transform method of fringe-pattern analysis for computer-based topography and interferometry [J]. *Journal of the Optical Society of America*, 1982, 72(1): 156-160.
- [12] Awatsuji Y, Fujii A, Kubota T, *et al.* Parallel three-step phase-shifting digital holography [J]. *Applied Optics*, 2006, 45(13): 2995-3002.
- [13] Xu Y Y, Wang Y W, Ji Y, *et al.* Three-frame generalized phase-shifting interferometry by a Euclidean matrix norm algorithm [J]. *Optics & Lasers in Engineering*, 2016, 84: 89-95.
- [14] Wu J. Research on microscopic measurement technology of reflecting digital holography [D]. Soochow: Soochow University, 2016.
- 吴杰. 反射式数字全息显微测量技术研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2016.
- [15] Xu Y Y. Fast phase retrieval method and imaging technology of cells based on interference microscopy [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2016.
- 徐媛媛. 干涉显微细胞相位快速恢复方法及成像技术的研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2016.