

# 高稳定性定量相位显微技术

温凯<sup>1</sup>, 马英<sup>1</sup>, 张美玲<sup>1</sup>, 王宇<sup>1</sup>, 付驰<sup>1</sup>, 郑娟娟<sup>1</sup>, 刘立新<sup>1</sup>, 郜鹏<sup>1\*</sup>, 姚保利<sup>2</sup>

<sup>1</sup>西安电子科技大学物理与光电工程学院, 陕西 西安 710071;

<sup>2</sup>中国科学院西安光学精密机械研究所瞬态光学与光子技术国家重点实验室, 陕西 西安 710119

**摘要** 定量相位显微技术容易受到环境扰动的影响。如何克服环境扰动对量化相位成像的影响,一直是相位成像领域研究的热点。着重介绍了物参共路数字全息显微技术和单光束定量相位显微技术。前者主要包括斐索干涉显微、Mirau 干涉显微、离轴和同轴点衍射干涉显微、双球面照明的数字全息显微和空间复用数字全息显微;后者主要包括共轴数字全息和基于平行光照明、超斜照明和多点离轴照明的定量相衬显微。希望该综述能为构建高稳定性、实用化定量相位显微装置提供有益参考。

**关键词** 全息; 定量相位显微; 数字全息显微; 物参共路; 高稳定性; 相衬显微

**中图分类号** O436 **文献标志码** A

**doi:** 10.3788/LOP57.200001

## Quantitative Phase Microscopy with High Stability

Wen Kai<sup>1</sup>, Ma Ying<sup>1</sup>, Zhang Meiling<sup>1</sup>, Wang Yu<sup>1</sup>, Fu Chi<sup>1</sup>, Zheng Juanjuan<sup>1</sup>,  
Liu Lixin<sup>1</sup>, Gao Peng<sup>1\*</sup>, Yao Baoli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> School of Physics and Optoelectronic Engineering, Xidian University, Xi'an, Shaanxi 710071, China;

<sup>2</sup> State Key Laboratory of Transient Optics and Photonics, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an, Shaanxi 710119, China

**Abstract** The quantitative phase microscopy is sensitive to environmental disturbance. It has been a hot topic that how to get rid of the influence of environmental disturbance on quantitative phase imaging. This review focuses on the common-path digital holography microscopy (DHM) and single beam quantitative phase microscopy. The former mainly includes Fizeau interference microscopy, Mirau interference microscopy, off-axis and coaxial point diffraction interference microscopy, DHM of double spherical illumination, and spatially-multiplexed DHM. The latter mainly includes coaxial digital holography, and quantitative phase-contrast microscopy based on parallel light illumination, ultra-oblique illumination, and multi-point off-axis illumination. We hope that this review will provide useful reference for the construction of high stability and practical quantitative phase microscopic devices.

**Key words** holography; quantitative phase microscopy; digital holographic microscopy; common-path configuration; high stability; phase-contrast microscopy

**OCIS codes** 090.1995; 170.0180; 100.5070

## 1 引言

光学显微镜自 16 世纪诞生以来,就一直作为人们观测和认识微观世界的重要工具。与电子显微镜相比,光学显微镜具有对样品损伤小、适合活体成像等优点。传统的光学显微只能获取样品的强度信

息,对于透明样品则无能为力。尽管借助荧光标记能够以很高的成像衬度观测期望的细胞结构,但是荧光标记所带来的光毒性破坏了细胞等活体生物样品的天然状态,照明光对荧光染料/荧光蛋白的漂白作用也限制了对细胞的长时间观测。

振幅、相位以及偏振是表征光场最常见的三

**收稿日期:** 2020-03-19; **修回日期:** 2020-04-16; **录用日期:** 2020-04-20

**基金项目:** 国家自然科学基金(61475187, 61605150)、国家 QR 计划、陕西省自然科学基金(2020JM-193, 2020JQ-324)、中国博士后科学基金(2017M610623)、中央高校基本科研业务费专项资金(XJS190508)

\* **E-mail:** peng.gao@xidian.edu.cn

个参量。其中,相位分布是一个非常重要的属性。如图 1 所示,当光波照射在待测样品表面,表面的不同形貌会引起不同的反射光相位变化。对于透明样品,当光波经过样品后,样品的结构或折射率分布的不同会导致透射光光程差发生改变。通过对样品的反射光或透射光进行相位成像,便可以得到待测样品的三维形貌或折射率分布。因此,相位成像可被广泛应用于工业检测、生物医学成像、特殊光束产生、气体流体可视化,以及自适应成像等领域。

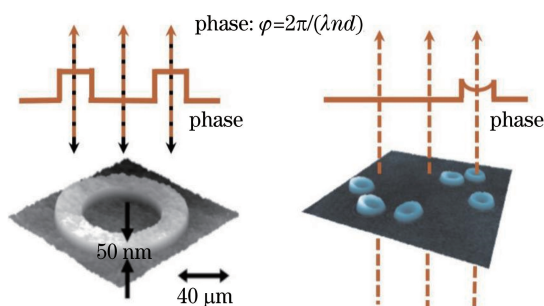


图 1 相位成像对样品三维形貌和折射率的测量  
Fig. 1 Measurement of 3D profile and refractive index via phase imaging

全息技术是相位成像技术的重要分支之一,已经经历了 70 年的发展。1948 年,Gabor<sup>[1]</sup>为了克服电子显微镜中电子透镜引起的畸变,提出直接记录电子束衍射产生的图像的方法以提高电子显微镜的空间分辨率。该衍射图像虽然只包含强度信息,但

可以通过光学再现恢复物体的完整信息(振幅和相位分布)。由于当时照明光源(汞灯)的相干性很低,只能采用同轴的方式来记录全息图,这就导致图像重建时难以将零级像与其孪生像在频谱上分开,从而严重制约了全息技术的发展。20 世纪 60 年代初,激光器的出现克服了全息记录对光源相干性的要求,也使离轴全息记录和再现成为可能。离轴全息技术可以有效地分离零级像和孪生像,极大地提高了相位成像的信噪比,也扩大了全息技术的可应用范围。然而,在很长一段时间内全息图一直由全息干板和照相乳胶记录,该记录介质对光强的灵敏度较低,所需的曝光时间较长,对记录装置的稳定性要求也比较高。此外,全息图的记录过程需要额外的化学操作,不利于实时测量。20 世纪 90 年代初,随着数字探测器(CCD、CMOS)的出现,全息技术的发展迎来了新的春天。CCD 和 CMOS 替代了传统的记录介质,使全息图可以通过计算机实现数字存储和数字重建,此时的全息技术被称为数字全息<sup>[2]</sup>。至今,数字全息技术作为现代光学领域中一个独特的类别,已经在许多领域产生了深远的影响,例如显微技术<sup>[3]</sup>、3D 成像<sup>[4]</sup>、计量学<sup>[5]</sup>、显示技术<sup>[6]</sup>、材料处理<sup>[7]</sup>、数据存储<sup>[8]</sup>、信息处理<sup>[9]</sup>、自适应光学<sup>[10]</sup>以及颗粒测量<sup>[11]</sup>等。与此同时,空间光调制技术<sup>[12-13]</sup>的出现进一步扩展了数字全息术的应用范围,例如全息显微操作<sup>[14-16]</sup>、像差补偿<sup>[17-18]</sup>、计算显微<sup>[19-21]</sup>、全息显示<sup>[22-23]</sup>和比较数字全息<sup>[24-25]</sup>。

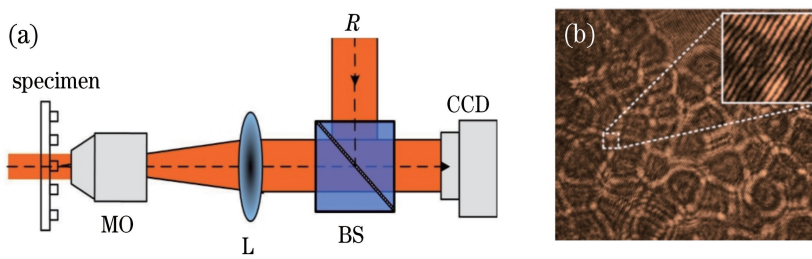


图 2 DHM 光路示意图。(a) DHM 成像原理;(b)物光与参考光干涉图样

Fig. 2 Schematic of DHM optical path. (a) Imaging principle of DHM; (b) interference pattern of object light and reference light

数字全息显微(DHM)是数字全息在显微领域的应用。相比于传统显微技术,DHM 无需对样品进行特殊处理,是一种快速、高分辨率、高衬度、无损的成像方法。DHM 成像原理如图 2 所示:照明光被分成两束光,一束光穿过样品并被显微物镜 MO 和透镜 L 组成的望远镜系统放大,形成物光(强度为  $O$ );来自同一激光器的另一束光被扩束后作为参

考光(强度为  $R$ );在分光棱镜 BS 的作用下物光和参考光在探测器表面会合后产生干涉图样[图 2 (b)]。为了实现实时振幅/相位成像,使物光和参考光之间形成一定的夹角(离轴全息),此时形成的离轴全息图样可以表示为

$$I(x, y) = |O|^2 + |R|^2 + 2|O||R|\cos(\varphi + Kx), \quad (1)$$

式中: $\varphi$ 表示物光和参考光之间的相位差; $K$ 表示 CCD 面上干涉条纹的载频量,这里假定条纹的载频方向沿  $x$  方向。采用传统的离轴数字全息再现方法,可以再现出物光的复振幅:

$$O_r(x, y, d_0) = \text{IFT}\{\text{FT}[IR_D] \cdot \hat{W}(\xi, \eta) \cdot \exp[ikd_0 \sqrt{1 - (\lambda\xi)^2 - (\lambda\eta)^2}]\}, \quad (2)$$

式中: $d_0$ 表示离焦距离,即 CCD 到样品像面的距离; $I$ 为干涉图样的强度分布; $R_D = \exp(-iKx)$ 为数字参考光强度,可以通过测量条纹的载频量  $K$  来确定,主要用于补偿物光与参考光之间的夹角所引起的频谱移动,利用  $IR_D$  可将实像  $O^* R_D$  的频谱移至频率域的中心; $\text{FT}\{\cdot\}$ 和  $\text{IFT}\{\cdot\}$ 分别表示傅里叶变换和傅里叶逆变换; $(x, y)$ 表示空间域坐标;

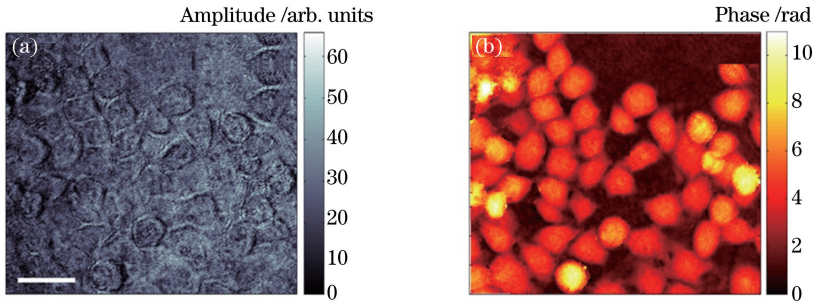


图3 DHM的重建结果。(a)重建的振幅图像;(b)重建的相位图像

Fig. 3 Reconstruction results of DHM. (a) Reconstructed amplitude; (b) reconstructed phase

近年来,国内外学者围绕 DHM 技术及其应用开展了诸多工作<sup>[26-46]</sup>。瑞士 Charrière 课题组率先对 DHM 技术进行研究和商业化开发(成立了 LynceeTec<sup>DHM</sup> 公司),并利用 DHM 技术测量了微透镜的特性<sup>[28]</sup>。德国 Kemper 课题组利用 DHM 研究了人体血红细胞的三维结构<sup>[29]</sup>。Park 等<sup>[30-31]</sup>分别从提高空间分辨能力和减小散斑噪声方面提高了 DHM 的性能。在我国,众多高校与科研院所也在 DHM 方面开展了大量研究<sup>[32-46]</sup>,例如,西北工业大学赵建林教授课题组在 DHM 技术提升和应用方面做了出色的工作<sup>[32-33]</sup>,山东大学在相移数字全息的相移量获取和相位再现算法方面取得了卓越的成绩<sup>[34-35]</sup>,北京工业大学在数字全息的自动调焦算法方面进行了有益的探索<sup>[36-37]</sup>。

虽然数字全息显微有着传统光学显微无法比拟的优点,但是仍然存在着一些不足与挑战。如图 2 所示,目前的 DHM 装置大多采用物参分离的光路结构,即物光和参考光分别沿不同的路径传播一段距离后才发生干涉,形成全息图样,因此外界环境的扰动会对物光和参考光造成不同的影响,使全息图

( $\xi, \eta$ )表示频域坐标; $\hat{W}(\xi, \eta)$ 为窗函数(在所选择的区域内取值为 1,其他区域取值为 0),用于选择物光实像的频谱分布。利用再现的复振幅  $O_r(x, y, d_0)$ 和对应关系  $O_r = |O_r| \exp(i\varphi_r)$ 可以得到样品的振幅像  $|O_r(x, y)|$ 和相位像  $\varphi(x, y)$ 。最后,通过  $\varphi = 2\pi/(\lambda nd)$ 还可以计算出被测样品的三维形貌  $d(x, y)$ 和折射率分布  $n(x, y)$ 。

利用(2)式对图 2(b)中的全息图像进行数值再现,可以得到待测样品的振幅图像[图 3(a)]和相位图像[图 3(b)]。通过对比图 3(a)和(b),不难发现对于该待测透明样品,相位图像明显提高了成像对比度,并且量化了样品引起照明光的光程差变化。

极易受到环境扰动的影响。因此,如何提高装置的稳定性成为 DHM 实用化过程中不可避免的问题。提高装置稳定性的常用方法有气垫隔振法、真空封闭式隔振法以及负反馈电子线路隔振法。Popescu 等<sup>[47]</sup>通过在装置中加入反馈系统来提高系统的稳定性,虽然该方法隔振效果明显,但反馈系统价格昂贵,还增加了装置的结构复杂性。除此之外,利用物参共路和单光束相位成像两种光路也可以克服环境扰动对相位成像的影响:1)物参共路可改善装置的稳定性,成像过程中物光和参考光经历完全相同的路径到达探测器表面并产生干涉图样,由于环境扰动对物光和参考光造成完全相同的影响,所以不会影响两者之间的光程差;2)单光束相位成像可改善装置稳定性,该成像方法通过记录物光本身(无需引入额外的参考光)的全息图实现相位成像,在简化实验光路的同时还增强了装置的抗干扰能力。

本文主要就物参共路数字全息显微和单光束相位显微两个方面综述了高稳定性定量相位显微技术的最新研究进展。

## 2 物参共路数字全息显微

如前所述,物参共路的 DHM 通过令物光和参考光经历完全相同的路径到达探测器表面(并发生干涉),以克服环境扰动对相位成像与测量的影响。下面将分别介绍以物参共路为基础的斐索和 Mirau 干涉显微、离轴和同轴点衍射干涉显微、双球面照明数字全息显微以及空间复用数字全息显微的研究进展。

### 2.1 斐索和 Mirau 干涉显微

1862 年 Fizeau<sup>[48]</sup>首次提出用准直的单色光束对样品进行小角度倾斜照明,利用反射光和参考平面产生的干涉条纹来恢复待测样品的结构信息。此后,斐索干涉显微<sup>[49-50]</sup>开始应用于样品表面相对于

标准平板的相对相位畸变测量。斐索干涉显微的结构如图 4(a)所示,激光器发出的光束经过透镜  $L_1$ 、 $L_2$  构成的扩束准直系统后成为平行光照射到参考平板上:一部分光经参考平板的反射后原路返回,这部分光束作为参考光;另一部分光透过参考平板后照射到待测样品上并被样品表面反射后沿原路返回,这部分光束作为物光。物光和参考光经过透镜  $L_2$  后被分光棱镜 BS 和反射镜  $M_1$  两次反射,由透镜  $L_3$  准直后在 CCD 面上产生干涉图样。干涉图样反映了被测样品表面与参考平面的差异。近年来,通过将相移技术引入斐索干涉,使得相位成像由定性观测逐渐向定量测量过渡<sup>[51]</sup>。此外,通过将参考平板换成  $1/4$  波片,还可以实现同步相移,通过一次曝光得到被测样品的相位分布<sup>[52]</sup>。

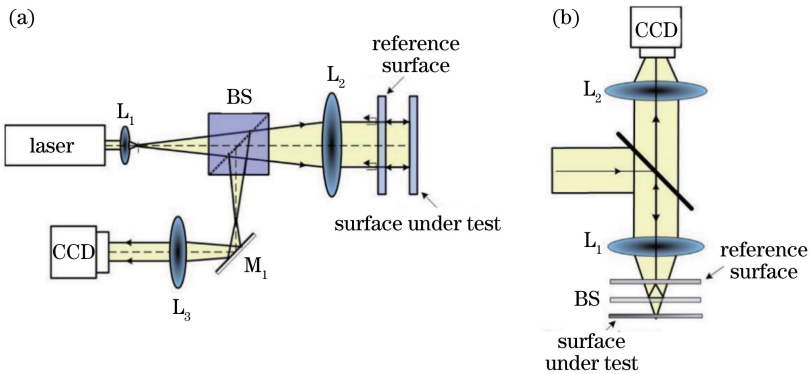


图 4 物参共路干涉显微。(a)斐索干涉显微;(b) Mirau 干涉显微

Fig. 4 Common-path interference microscopy. (a) Fizeau interference microscopy; (b) Mirau interference microscopy

1952 年 Mirau Andre<sup>[53]</sup>首次提出用 Mirau 干涉显微技术来表征物体表面的抛光度,之后其在显微领域得到了广泛应用<sup>[54-55]</sup>。Mirau 干涉显微的原理如图 4(b)所示。经过透镜  $L_1$  和参考平板的照明光被分光面 BS 分成两束光:一束光透过分光面 BS 照射到被测样品上并经样品表面的反射后沿原路返回,这束光作为物光;另一束光被分光面 BS 反射后又经参考平面以及分光面 BS 两次反射,这束光作为参考光。反射后的两束光在 CCD 面上产生干涉图样,利用该干涉图样就可以得到样品表面相对于参考面的相对变形。斐索和 Mirau 干涉显微装置具有体积较小、结构紧凑的优点。近年来,人们进一步将参考平板与透镜  $L_1$  封装成一个整体,构建了 Mirau 物镜,使得利用 Mirau 干涉进行相位成像更为便捷<sup>[56]</sup>。然而,这两种方法的测量精度直接依赖于参考板的平面度。同时,参考平板的引入减小了样品与物镜之间的空间。样品与参考平板之间的距离也会受到

光源相干性的约束。

### 2.2 离轴点衍射数字全息显微

为提高实验装置的抗干扰能力,Popescu 等<sup>[57]</sup>提出了一种基于物参共路的离轴点衍射数字全息显微技术,并利用该技术实现了对红细胞生理动态过程的实时定量检测。实验装置如图 5 所示, Nd:YAG 激光器发出的光束( $\lambda = 532 \text{ nm}$ )作为倒置显微镜的照明光源,扩束后的照明光照射到样品,样品被由物镜和透镜组成的望远镜系统(RL)成像到像面 IP 上。一衍射光栅被放置于样品 IP 处,经过衍射将物光分成多个衍射级光束,这些衍射光束经过由透镜组成的  $4f$  系统( $L_1$ - $L_2$ )后成像到 CCD 面上。在  $L_1$ - $L_2$  的中间频谱面上,利用一个掩模板对这些衍射光的频谱进行滤波:利用该掩模板上的针孔对 0 级衍射光进行滤波(形成参考光),大孔令 +1 级衍射光无损地通过(用作物光)。经过掩模板的 0 级光和 +1 级光最终在 CCD 面上产生干涉图像。由于物光和参考光经历完全相同的

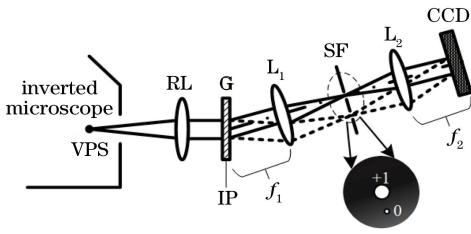


图5 离轴点衍射数字全息显微<sup>[57]</sup>。G, 光栅; IP, 像平面;  $L_1$ - $L_2$ , 透镜; SF, 空间滤波器; VPS, 虚拟点光源

Fig. 5 Off-axis point-diffraction digital holographic microscopy<sup>[57]</sup>. G, grating; IP, image plane;  $L_1$ - $L_2$ , lenses ( $f_1$  and  $f_2$  are focal distances of  $L_1$  and  $L_2$ , respectively); SF, spatial filter (expanded in the inset); VPS, virtual source point

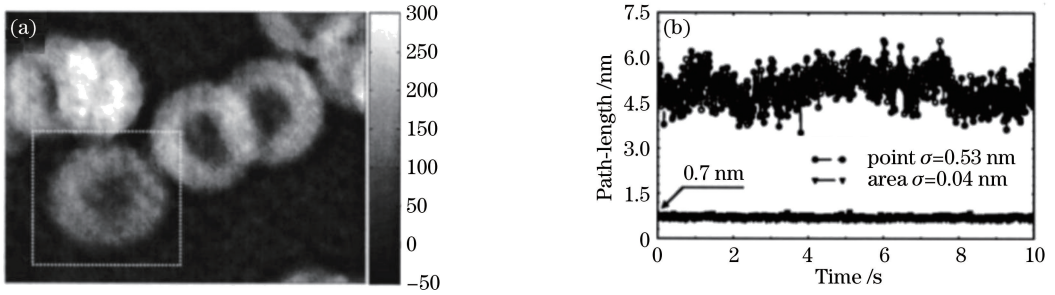


图6 离轴点衍射数字全息显微的成像结果<sup>[57]</sup>。(a)血液涂片的定量相位图像;(b)无样品时视场和任意单点空间标准偏差的时间波动。 $\sigma$ 为两个信号的时间标准偏差

Fig. 6 Imaging results of off-axis point-diffraction DHM<sup>[57]</sup>. (a) Quantitative phase image of whole blood smear; (b) temporal fluctuations of the spatial standard deviation of the field of view without sample and arbitrary single point in the field of view.  $\sigma$  is the temporal standard deviation for these two signals

需要说明的是,现有的点衍射相位显微技术都是通过对物光波进行滤波形成参考光,因此参考光的光强与被测样品有关,无法保证所有样品的干涉图样都有高的条纹对比度。此外,Akondi等<sup>[58]</sup>利用空间光调制器作为掩模板,对不同衍射光的频谱进行滤波。通过调节针孔(用于产生参考光)直径提高成像对比度。与此同时,Wang等<sup>[59]</sup>提出利用一个单模光纤代替点衍射数字全息中的针孔,实现了离轴点衍射数字全息。

### 2.3 同轴点衍射数字全息显微

与传统的离轴 DHM 一样,离轴点衍射 DHM 虽然可以通过记录单幅全息图来恢复待测样品的相位信息,但却未充分利用 CCD 的空间带宽积(空间分辨能力受到了限制)<sup>[60]</sup>。为了克服这一缺点,Gao 等<sup>[61]</sup>设计了如图 7 所示的物参共路同轴点衍射 DHM 装置,激光器发出的光束经过光强控制单元 P 的调节后,被光束扩展器扩束准直成平行光。透镜  $L_1$  和显微物镜  $MO_1$  组成共焦系统用于对光束

光学元件,所以该装置对环境的扰动具有非常好的免疫性。

图 6(a)为离轴点衍射数字全息显微对血液涂片的定量相位成像结果,实验选取放大倍数为  $40\times$ 、数值孔径(NA)为 0.65 的显微物镜,在全孔径照明下系统的横向分辨率为  $0.4\ \mu\text{m}$ 。为了量化该装置的稳定性,实验记录了 1000 幅无样品时的干涉图样,每张图样的采集间隔为 10.3 ms。如图 6(b)所示,全视场光程的空间标准偏差的时间平均值为 0.7 nm,时间标准偏差为 0.04 nm,任意单点(平均大小为  $3\ \text{pixel}\times 3\ \text{pixel}$ )的光程随时间变化的标准差为 0.53 nm。

进行缩束,然后照射样品。样品放置在显微物镜  $MO_2$  的前焦点处并经过显微成像系统( $MO_2$  和  $L_2$ ) 放大后成像到像面上。在该像面处放置了一个周期为  $T$  的 Ronchi 光栅  $G_1$ ,通过衍射将物光复制成完全相同的几份,并分别沿着各个衍射级方向传播。由于 Ronchi 光栅的  $\pm 1$  级各具有 40% 的衍射效率,所以其他衍射级均可以忽略不计<sup>[62]</sup>。沿  $\pm 1$  级方向传播的物光可以分别表示为  $O_{+1}$  和  $O_{-1}$ ,两者同时经过由透镜  $L_3$  和透镜  $L_4$  组成的共焦滤波系统,其频谱位于透镜  $L_3$  的后焦面上。偏振方向正交的偏振片  $P_1$ 、 $P_2$  分别置于  $+1$  和  $-1$  级衍射光的频谱之上。 $-1$  级衍射光保持不变,作为物光;而  $+1$  级衍射光被针孔滤波后被透镜  $L_4$  准直成平面光波,作为参考光。物光和参考光在透镜  $L_4$  的后焦面处重合,此处放置一个与光栅  $G_1$  完全相同的光栅  $G_2$ ,通过衍射使物光和参考光都沿光轴方向传播。最后经过由透镜  $L_5$  和  $L_6$  组成的中继系统将物像呈现到 CCD 靶面进行记录。通过光栅  $G_2$  沿光栅矢量方向

的移动实现相移。

将一石英玻璃上刻蚀的微透镜阵列(折射率 $n = 1.45704$ )作为被测样品,通过四步相移干涉法可以得到被测微透镜阵列的三维厚度分布,如图8所示。图8(a)~(d)中的相移量依次为 $0, \pi/2, \pi$ 以及 $3\pi/2$ ,从图8(e)中可以看出,再现的相位分布具有较高的信噪比。如果将该装置中的光栅 $G_2$ 和透镜 $L_5, L_6$ 去掉,直接将 CCD 放到 $G_2$ 的位置,则可以形成离轴物参共路点衍射 DHM 光路,利用一幅全息图即可再现物

体,但是离轴记录只能利用 CCD 空间带宽的 $1/4$ ,这限制了再现像的空间分辨率。通过开展与图6类似的稳定性实验,测得该装置在45 min的重复测量误差小于3 nm,说明该装置具有良好的稳定性。总之,该物参共路点衍射 DHM 方案具有以下优点:1)具有物参共路的光学结构,因此装置对环境的振动不敏感;2)物参共路的光学结构降低了装置对光源相干性(单色性)的要求,因此可采用扩展光源照明;3)采用同轴光路可以充分利用 CCD 的空间带宽积。

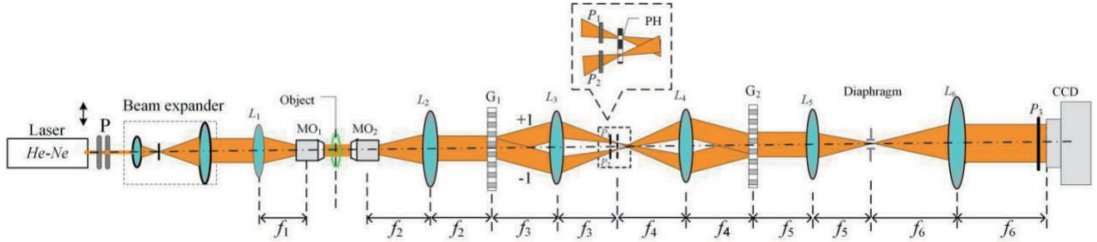


图7 基于衍射光栅的同轴相移物参共路点衍射 DHM 光路<sup>[61]</sup>。 $G_1$ 和 $G_2$ , Ronchi 相位光栅; $L_1 \sim L_6$ , 透镜; $MO_1$ 和 $MO_2$ , 显微物镜; $P$ , 偏振片组合; $P_1 \sim P_3$ , 偏振片; $PH$ , 针孔滤波器

Fig. 7 Optical path for phase-shifting point-diffraction DHM with common-path and in-line configuration based on diffraction grating<sup>[61]</sup>.  $G_1$  and  $G_2$ , Ronchi phase grating;  $L_1 \sim L_6$ , lens;  $MO_1$  and  $MO_2$ , objective;  $P$ , polarizer combination;  $P_1 \sim P_3$ , polarizer combination;  $PH$ , pinhole filter

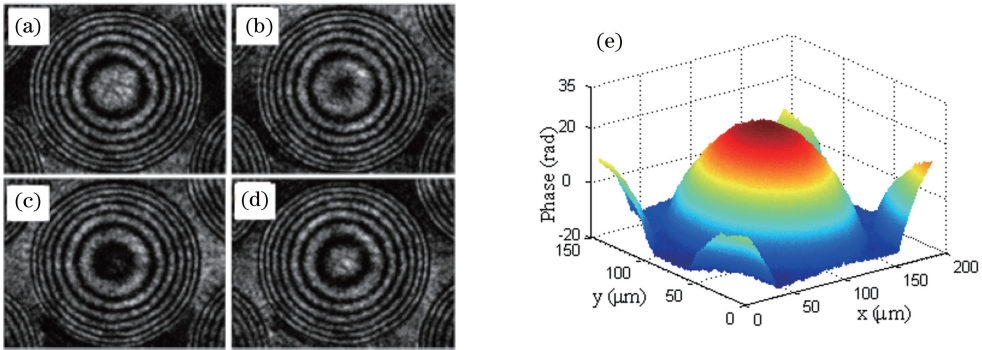


图8 同轴相移点衍射 DHM 全息图样和再现结果<sup>[61]</sup>。(a)~(d)相移量分别为 $0, \pi/2, \pi, 3\pi/2$ 的全息图像;(e)相位再现结果

Fig. 8 Holographic patterns and reconstructed result obtained with coaxial phase shifting point-diffraction DHM<sup>[61]</sup>.

(a)~(d) Holographic patterns with phase shifts of  $0, \pi/2, \pi$ , and  $3\pi/2$ ; (e) reconstructed phase

离轴与同轴点衍射数字全息显微的特点比较:离轴点衍射数字全息显微只需记录单幅全息图像便可恢复待测样品的振幅和相位信息,能够实现对样品的实时测量。然而,该技术不能充分利用 CCD 的空间带宽积,故其空间分辨能力较弱(相比于同轴点衍射数字全息显微)。同轴点衍射数字全息显微可以充分利用 CCD 的空间带宽积,但是需要引入额外的相移操作,不利于样品的快速动态过程观测。离轴和同轴点衍射干涉都是通过对物光进行滤波形成参考光,因此它们干涉图样的对比度都与待测样品

有关。如何有效地提高条纹对比度是该技术亟需解决的问题之一。例如,在点衍射数字全息显微光路中,使用偏振光栅或引入其他偏振元件后,可以通过改变入射光的偏振态实现对条纹对比度的调节。

### 2.4 基于双球面照明的数字全息显微技术

Mico 等<sup>[63]</sup>提出了一种利用空间光调制器实现超分辨率增强的共路数字全息显微技术。该方法的原理如图9所示,在空间光调制器上加载球面相位分布,当对照明光进行空间光调制将产生球面光束;与此同时,一部分照明光被空间光调制器(SLM)的

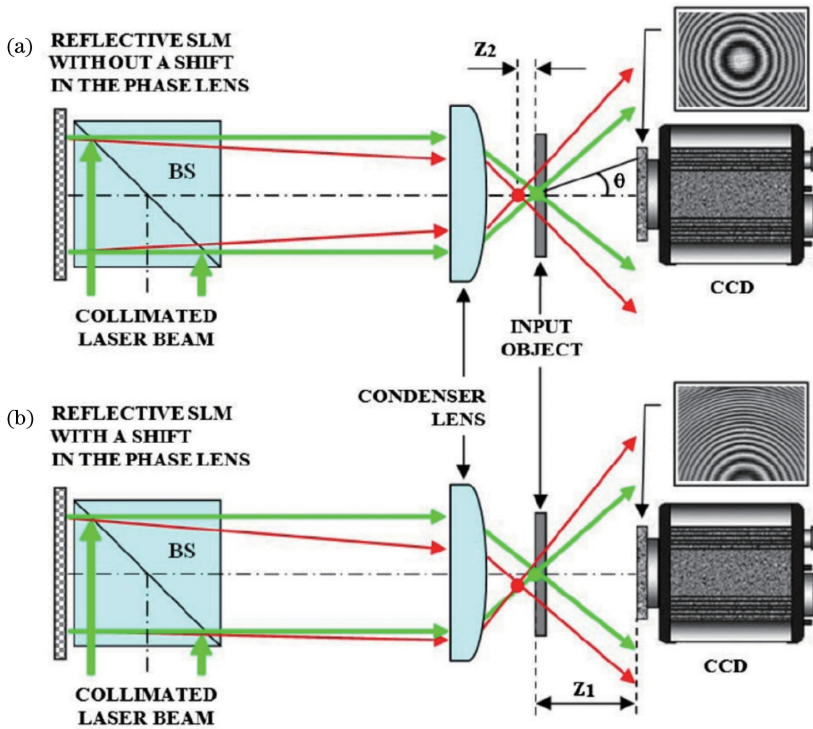


图 9 基于 SLM 的共路相移数字全息显微<sup>[63]</sup>。(a)轴向照明;(b)离轴照明  
 Fig. 9 SLM based common-path phase-shifting digital holographic microscopy<sup>[63]</sup>.  
 (a) On-axis illumination; (b) off-axis illumination

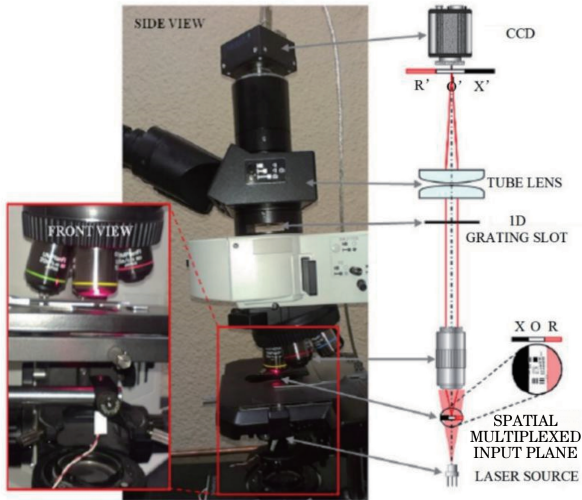
前保护玻璃所反射,产生了另外一束平面光。这两个光束同时被具有高 NA 的聚光透镜所聚焦,形成两个在轴向方向分离的激光焦点。其中,球面光的焦点出现在离聚光透镜较近的位置,如图 9(a)所示。样品放置于平面光焦点所在的平面上。通过移动样品,使得平面光的焦点位于样品上的空白区域,其透射光不含样品信息,被作为参考光。样品在球面光照明下形成物光。物光和参考光在 CCD 靶面上发生干涉,形成的包含样品信息的全息图被一个 CCD 所记录。当在 SLM 上加载的球面相位的中心位于光轴中心,所形成的全息图为同轴全息图。此时,通过在 SLM 上额外引入不同的相移量,可以得到不同的相移全息图样。利用相移全息的再现方法,可以去除全息图的零级像和孪生像,恢复出样品的强度和相位图样。同时,如图 9(b)所示,通过在 SLM 上加载球面光束和不同倾斜角度楔形相位的叠加相位可产生不同传播方向的球面光束,从而能够以不同的角度照明待测样品。实验上分别在  $x$  和  $y$  方向上产生两个相反倾斜方向的照明光束,并在这 4 个照明方向上依次记录 3 幅相移全息图样,以恢复该倾斜照明下样品的复振幅信息。在再现过程中,通过将不同倾斜照明下物光的频谱进行拼接,

提高了该成像系统的空间分辨率。

该方法利用 SLM 引入不同相移量,并利用相移算法消除了孪生像与零级像对重构图像的影响。同时,该方法还可以利用 SLM 产生不同方向的照明光并依次照明样品,通过合成孔径提高成像系统的空间分辨率。然而,为了产生不含样品信息的参考光,该方法必须令参考光的焦点正好聚焦在样品上的一个平整/空白区域,这对成像前样品的放置和调节具有一定要求,增加了实验难度。同时,目前该方法只能用于透射型样品(反射式样品无法实现镜面反射且无法对参考光提供合适的反射率和波前平整度)。此外,该方法利用一个离焦光斑照明样品来形成物光,其成像视场比较小。

### 2.5 空间复用数字全息显微

Mico 等<sup>[64]</sup>在传统显微镜的基础上实现了基于空间复用的数字全息显微(SMIM)。如图 10 所示,该技术采用点光源照明,将样品面划分为三种不同的区域,分别为参考光区域(R)、样品区域(O)和遮挡区域(X)。参考光区域被空置,经过该区域的光束用作参考光。在样品区域放置待成像的样品,经过该区域的光束用作物光。在 CCD 前一定距离处放置一个衍射光栅,通过光栅的衍射作用使得物光

图 10 SMIM 实验装置<sup>[64]</sup>Fig. 10 Experimental setup of SMIM<sup>[64]</sup>

和参考光发生重叠,产生的离轴干涉图像由 CCD 接收。相比于传统的 DHM,该技术具有较高的相位测量精度。同时,由于物光和参考光经历了相同的光学元件,该光路具有对振动不敏感的优点。另一方面,通过使用低相干长度的光源可降低散斑噪声对图像的不利影响。在此基础上,Picazo-Bueno 等<sup>[65]</sup>还将  $4\pi$ (双向)照明引入空间复用数字全息显微,通过利用透射和反射光波的复振幅分布,对样品中的透明和非透明区域同时进行相位成像。

基于空间复用的数字全息显微采用了平行光照明,其空间分辨率会受到物镜数值孔径的限制,进而不能完全满足生物医学上对细胞精细结构观测的要求。为提升光学系统的成像能力,Mico 等<sup>[66]</sup>在空间复用数字全息的基础上,利用一个 2D 的垂直腔面发射激光器(VCSEL)依次产生不同角度的离轴照明光,并通过合成数值孔径提高了光学成像系统的空间分辨率。此外,Gao 等<sup>[67]</sup>将结构光照明和空间复用 DHM 相结合,实现了对微小相位物体的超分辨相位成像。众所周知,结构照明显微(SIM)是一种超分辨成像方法,它通过在被测样品上投影一组具有周期性分布的条纹,记录并处理样品(含高频分量)和条纹形成的莫尔条纹,进而实现超分辨显微成像。但是,传统 SIM 只能用于荧光样品或能对照明光形成强度调制的样品,对于透明相位型物体的成像则无能为力。为了实现透明样品的超分辨成像,利用 SLM 产生结构照明,在该结构照明下的物光和参考光发生干涉,形成的全息图样被 CCD 记录。通过对不同照明方向下的全息图进行数字再现,将不同方向结构照明下的物光在频谱面上进行

合成,实现了对微小物体的相位和振幅的超分辨成像。实验结果表明,该方法在  $NA=0.25$  的成像物镜下,将横向分辨率从  $1.55 \mu\text{m}$  提高到了  $0.90 \mu\text{m}$ ,即平行光照明 DHM 的 1.7 倍。

空间复用数字全息显微中物光和参考光具有相同的光程差,降低了对光源相干性的要求。因此,该方法可以利用低相干照明光源来降低相位成像中的散斑噪声。同时,该方法还可以与离轴照明相结合,通过合成数值孔径提高该成像系统的空间分辨率。然而,该方法在成像时需要将样品面进行分割,仅具有传统显微镜一半的成像视场。此外,该方法对样品具有一定要求:样品需要足够稀疏,通过移动样品能够使得视场内一半的区域处于空置状态(作为参考光)。

### 3 单光束定量相位成像技术

虽然基于光学干涉的相位成像方法具有很高的测量精度,但是它需要额外的参考光,具有对光源相干性要求较高和抗环境干扰性差等缺点。与之相反,单光束相位成像不需要参考光,具有结构简单、抗干扰能力强等优点,逐渐受到人们的青睐。该技术在研究特殊光束的相位分布、成像系统的畸变测量与补偿以及自适应成像等方面发挥着越来越重要的作用。

目前常用的单光束相位成像技术大致有以下几类:

1) 基于微透镜阵列或棱锥的波前传感技术(Hartmann-Shack)。该传感器主要由二维微透镜阵列和面阵 CCD 组成。传感器上的微透镜阵列将入射光波面分割成许多子波面。通过探测每个子波面引起的微透镜焦点的横向移动量实现对子波前的探测。这些波前探测器都具有结构简单、灵活性好、动态范围大、光学效率高、无运动部件、对环境条件要求低以及适应能力强等优点,被广泛应用于自适应光学和定量相位显微领域<sup>[68-70]</sup>。然而,这些波前探测方法具有空间分辨率受到微透镜孔径(一般为  $100 \mu\text{m}$  左右)的限制,其分辨率无法满足对生物样品的相位成像要求。

2) 微分干涉显微<sup>[71-72]</sup>。显微放大后的物光被分成平行的两份,两份光在某方向上错开一定的距离,从而发生干涉。干涉图样反映的是被测相位在剪切方向上的导数。该方法通过测量样品在两个正交方向上的相位导数来确定样品相位分布。微分干涉能测量连续性相位物体的相位分布,但是不能对阶跃



型相位物体进行测量。

3) 基于衍射光斑记录和迭代再现的单光束相位成像技术。Almoro 等<sup>[73-74]</sup>通过不同离焦平面的强度图像结合迭代算法再现了样品的相位分布。Bao 等<sup>[75]</sup>通过记录样品在不同波长照明下的衍射图样,定量获得了样品的相位分布。此外,通过在样品平面上移动子孔径<sup>[76]</sup>、翻转样品<sup>[77]</sup>、对物光波进行不同的相位调制<sup>[78]</sup>、采用不同照明方向以及结构光照明<sup>[79-80]</sup>来记录所得的衍射图样,再结合类似的迭代算法可以从衍射图像中得到相位信息。共轴数字全息也属于一种单光束相位成像,近年来研究人员将其与压缩感知相结合,使其能够在稳定成像的同时消除传统全息术中的孪生像。

此外,相衬成像也是单光束相位成像技术中重要的分支。1942年,Zernike<sup>[81]</sup>提出采用环状光源照明样品,同时采用一个环状相位板实现物光波零频分量的相位延迟,从而将样品的相位信息转换为强度信息,实现了相衬显微。由于被测物体的相位和干涉图样的强度之间是非线性的,所以传统的Zernike相衬成像(只有单幅干涉图)只能用于对被测物体的定性观测。伴随着空间光调制器的出现,该技术在高稳定性和定量成像方面得到了进一步的发展。这类定量相衬显微成像技术<sup>[82-84]</sup>也可以被归为DHM技术,因为相衬成像的本质是物光的零频分量(作为参考光)与高频分量(作为物光)之间的干涉。

接下来将着重介绍单光束相位成像技术的研究进展,具体包括基于压缩感知技术的单光束共轴数字全息技术和基于平行光照明、偏振调制、超斜照明以及多点离轴照明的定量相衬显微技术。

### 3.1 单光束共轴数字全息显微

同轴数字全息通过记录样品在平行光或球面光照明下的衍射图样,并结合一定的再现算法得到样品的振幅和相位信息。该方法不需要独立的参考光,因此不受空气扰动和环境振动的影响。然而,在全息图再现时,零级像与孪生像在空间频谱上难以分开,影响了再现图像的质量<sup>[1]</sup>。在过去的几十年里,为了消除孪生像的影响,很多数值重建的方法被提出<sup>[85-90]</sup>。Latychevskaia和Fink<sup>[85]</sup>提出利用迭代的方法从单幅同轴全息图中获取待测样品的振幅和相位信息以抑制孪生像的干扰。Rong等<sup>[86]</sup>提出通过Sobel边缘检测,在常规重建的基础上建立了松散支撑(作为目标平面上的约束)的相位重建方法。Gaur等<sup>[87]</sup>提出利用标准的混合输入输出方法,并

将该方法与图像稀疏性增强相结合实现相位重建。Cho等<sup>[88]</sup>提出了一种掩模生成分割的再现方法。近年来,Rivenson等<sup>[89]</sup>利用基于神经网络的深度学习从全息图中再现待测样品的信息分布,抑制了同轴数字全息重建时孪生像对成像的影响。

2018年,Zhang等<sup>[90]</sup>将压缩感知(CS)技术用于单光束共轴数字全息技术,在充分利用探测器空间带宽积的同时消除了孪生像对重建结果的影响。单光束共轴数字全息显微技术的光路如图11所示,照明光源发出的光束经准直后照射样品,由探测器记录样品的衍射图像。该衍射图像可以看成物光不同频率分量之间的干涉图样,因此仍然被称作全息图。

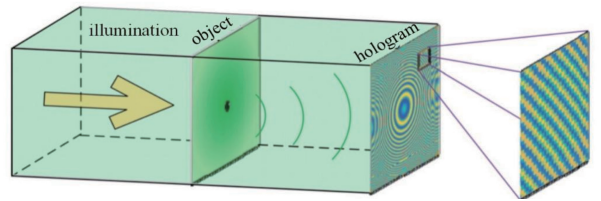


图11 单光束共轴数字全息显微示意图<sup>[90]</sup>

Fig. 11 Diagram of single-beam in-line digital holographic microscopy<sup>[90]</sup>

全息图可以表示为  $\tilde{H} = U^*(x, y) + U(x, y) + |U(x, y)|^2 = 2\text{Re}[U(x, y)] + |U(x, y)|^2$ 。若  $G$  表示物体强度分布  $\rho(x_1, y_1)$  向衍射光场  $U(x, y)$  的正向转换,则该全息图的强度分布可表示为

$$\tilde{H} = 2\text{Re}[G\rho(x_1, y_1)] + |U(x, y)|^2. \quad (3)$$

这里,  $(x, y)$  和  $(x_1, y_1)$  表示物面和全息图平面的空间坐标。通过已知的  $\tilde{H}$  (即已知测量值) 和正向转变  $G$  求解  $\rho$  是一个典型的求逆问题,而基于稀疏性约束条件的CS算法是解决求逆问题的强大方法之一。

Zhang等<sup>[90]</sup>利用CS技术实现了Gabor全息图中的定量相位成像。CS是建立在信号的稀疏性表达和测量的非相干性基础上,通过在已知测量值( $Y$ )和测量矩阵( $\Phi$ )的基础上求解CS方程,获得原信号( $X$ )。在共轴全息图的再现中,聚焦的重建图像(实像)具有锐利的边缘,而离焦的孪生像的边缘则是扩散的。该物理上的差异性导致了重建图像和孪生图像在稀疏性上的差异,这为利用CS消除孪生像提供了必要条件。此外,再现中的光波传播是由傅里叶变换来完成的,这自然满足了CS的非相干条件。因此,同轴全息图的再现可以通过CS来实现。

在满足了 CS 的稀疏性和非相干性的基础上,为求解待测样品的信息,曹良才课题组提出了基于两步迭代的再现算法,通过寻求目标函数极小值来求解该逆问题,利用测量值( $\tilde{\mathbf{H}}$ )来估计待测样品的信息分布( $\boldsymbol{\rho}$ ),估计值可表示为

$$\hat{\rho} = \operatorname{argmin} \left( \frac{1}{2} \|\tilde{\mathbf{H}} - K\boldsymbol{\rho}\|_2^2 + \tau \|\boldsymbol{\rho}\|_{\text{TV}} \right), \quad (4)$$

式中: $K$  是正向转换  $G$  与保留实部两种操作的组合算符; $\tau$  是相对权重因子。利用递推关系  $\boldsymbol{\rho}_{t+1} = (1-\alpha)\boldsymbol{\rho}_{t+1} + (\alpha-\beta)\boldsymbol{\rho}_t + \beta\psi_{\tau}[\boldsymbol{\rho}_t + K^T(\tilde{\mathbf{H}} - K\boldsymbol{\rho}_t)]$  进行重复迭代,其中  $\alpha$  和  $\beta$  为迭代系数, $\psi_{\tau}$  为去噪函数, $K^T$  为  $K$  的伴随算符。在迭代过程中,利用判据  $R(\boldsymbol{\rho}_{t+1}) = \frac{1}{2} \|\tilde{\mathbf{H}} - K\boldsymbol{\rho}_{t+1}\|_2^2 + \tau \|\boldsymbol{\rho}_{t+1}\|_{\text{TV}}$  计算残差来确保  $\hat{\rho}$  单调减小。重复进行迭代过程,直至残差小于预先设定的阈值,此时将最终得到的  $\boldsymbol{\rho}$  作为样品的再现强度分布。

实验中,以波长为 532 nm 的平面光波作为照明光源,将分辨率板作为待测样品放置在  $xyz$  三维

平移台上,分辨率板与探测器(像元大小为  $3.8 \mu\text{m}$ )之间的距离约为 9 mm。由于待测样品与探测器的距离很近,当利用基于光波衍射传播的传统方法进行图像再现时,恢复结果如图 12(a)所示。从图中可发现孪生像对重建结果影响比较大。利用基于(3)、(4)式的压缩感知算法,经过 500 次迭代后得到的结果如图 12(b)所示。通过对比图 12(a)和(b)不难发现,利用压缩感知算法得到的重建结果更加平滑,有效抑制了孪生像对再现结果的影响,并且不存在图像模糊等缺陷。同时,基于压缩感知的单光束共轴数字全息技术还可以应用于样品的三维层析成像<sup>[91]</sup>。单光束共轴数字全息通过利用压缩感知技术,能够在充分利用 CCD 空间带宽积的同时抑制孪生像的影响。因此,该技术具有结构简单、可实时相位成像(只需单幅强度图样)、环境适用性强等优点。然而,该技术的计算复杂度较高,目前还无法在成像过程中实现相位图像的实时再现。压缩感知理论和算法研究的不断提升,为共轴全息技术的再现提供更加快捷、有效的重建算法。

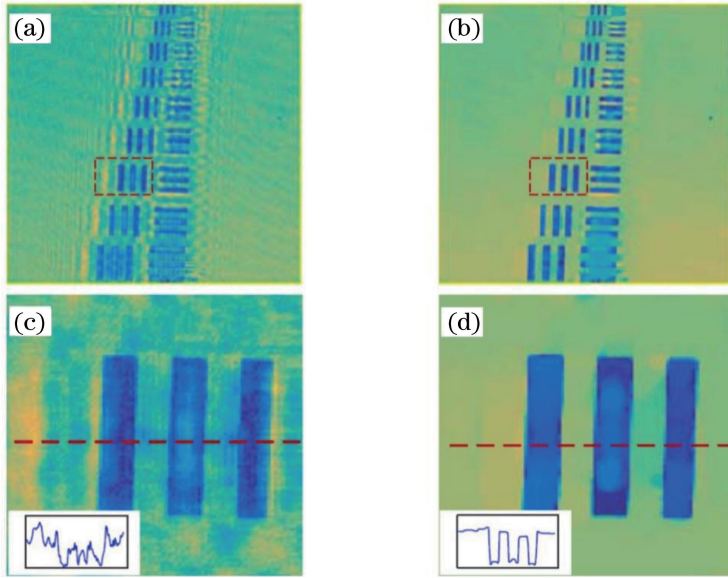


图 12 实验全息图及重建结果<sup>[90]</sup>。(a)利用传统反向传播算法重建结果(有孪生像);(b)压缩感知算法 500 次迭代的重建结果(无孪生像);(c)(d)分别为图 12(a)和(b)虚线方框内的放大结果

Fig. 12 Experimental hologram and reconstruction results<sup>[90]</sup>. (a) Reconstructed result of conventional back propagation algorithm (with twin image); (b) reconstructed result after 500 iterations by CS algorithm (without twin image); (c)(d) enlarged areas of the dotted box in Figs. 12 (a) and (b), respectively

### 3.2 基于平行光照明的定量相衬显微

美国麻省理工学院的 Popescu 等<sup>[92]</sup>提出了一种基于平行光照明的相衬干涉显微光路,如图 13 所示。波长为 633 nm 且随机偏振的 He-Ne 激光器作为照明光源,出射光的强度由一个连续可调的衰减

器(NF)进行控制。偏振片  $P_1$  放置在连续可调衰减器(NF)之后,将照明光变为线偏振光。线偏振光经扩束器(BE)扩束成平行光后照射到置于显微物镜前焦面的样品上。经过样品后形成的物光被由显微物镜(MO)和透镜  $L_1$  组成的系统放大并成像到透镜  $L_2$

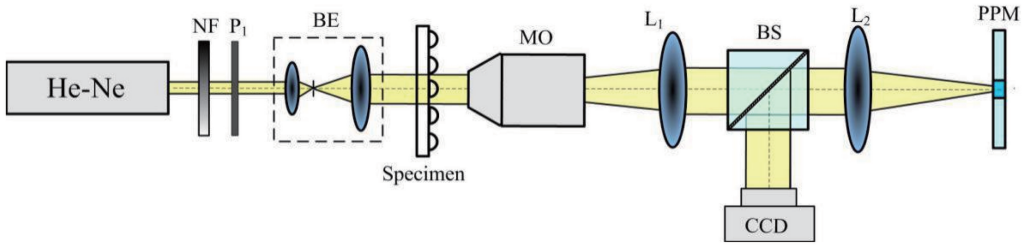


图 13 基于平行光照明的定量相衬显微<sup>[92]</sup>

Fig. 13 Quantitative phase contrast microscopy with parallel light illumination<sup>[92]</sup>

的前焦面处。经过透镜  $L_2$  的傅里叶变换后,该物光的频谱出现在透镜  $L_2$  的后焦平面上。其中,物光的零频分量聚焦在频谱面的中央,高频分量分布在零频的周围。在该频谱面上放置一个反射式可编程的空间光调制器(PPM,  $768 \text{ pixel} \times 768 \text{ pixel}$ , 像素大小为  $26 \mu\text{m} \times 26 \mu\text{m}$ , 相位调制范围为  $0 \sim 2\pi$ , 相位阶为 8 bit), 用于改变物光零频分量的相位。被 PPM 调制后的物光沿原路返回。物光再次经过透镜  $L_2$  后, 经过分光棱镜(BS)的反射成像到 CCD 面上, 原来的相位分布转化为强度分布并被 CCD 记录。

该相衬显微光路中,物光的零频分量充当参考光,其高频分量充当物光。参考光和物光经历了完全相同的光学元件,即形成了物参共路的光学结构。因此,该光路具有较好的抗振动能力,对环境振动不敏感。同时,采用可编程空间光调制器来改变物光零频分量的相位,通过实现零频分量的不同相位延迟实现相移。该相移操作通过计算机向 PPM 加载灰度图像来实现,避免了传统相移操作所带来的机械振动。另外,物参共路的光学结构降低了对光源相干性的要求,因此可以采用低相干光源来减小测量中的相干噪声。

在相衬成像中,物光的零频和 高频分量分别充当了参考光和物光,因此条纹对比度与样品有关。为了解决这一问题,Zheng 等<sup>[82]</sup>提出了一种衬度可调的相衬成像方法,实验光路如图 14 所示。He-Ne 激光器发出的光束经过 BE 的扩束准直后照射样品。经过样品后的光波被望远镜系统(MO- $L_1$ )准直放大,被放大的光称作物光。经过透镜  $L_2$  的傅里叶变换后,该物光的频谱出现在透镜  $L_2$  的后焦平面上。将一个 SLM 放在该处,通过对物光波频谱进行调制实现相衬成像。实验中,在 SLM 上依次加载的图像如图 14(a)~(e)所示。每一个空间光调制图像都由一个中心光栅和周围光栅组成,分别对物光波的零频分量和高频分量进行调制。通过在 SLM 上加载图 14(a)、(b)所示的空间光调制图像,可以得到物光的高频和低频分量的强度分布;通过加载如图 14(c)~(e)的图像,可以获得相移量分别为  $0$ 、 $\pi/2$  和  $\pi$  的相衬图像。通过 3 幅相移干涉图样便可再现出被测样品的相位分布。此外,通过调节中心区域光栅的调制度,可以调节 CCD 面上零频分量和高频分量的光强,最终实现条纹对比度的调节。

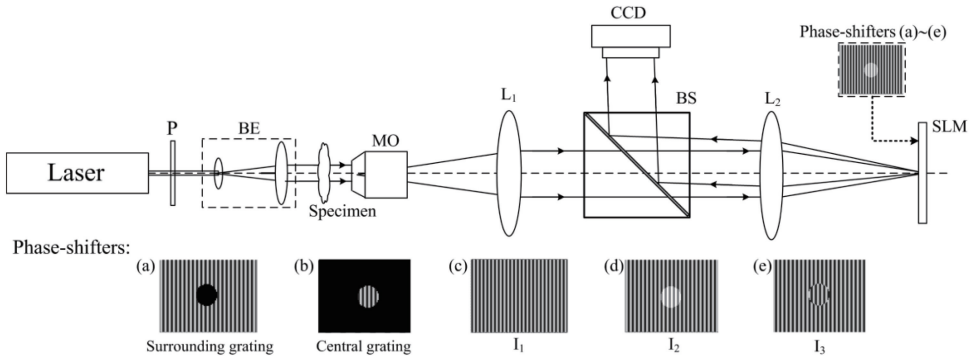


图 14 基于 SLM 的相衬显微光路示意图<sup>[82]</sup>。(a)周围光栅;(b)中心光栅;(c)~(e)分别是衍射和未衍射部分之间相移为  $0$ 、 $\pi/2$  和  $\pi$  的相移干涉图

Fig. 14 Diagram of phase contrast microscopy optical path based on SLM<sup>[82]</sup>. (a) Surrounding grating; (b) center grating; (c)~(e) phase shift interferograms with phase shifts between the diffracted and undiffracted parts of  $0$ ,  $\pi/2$ , and  $\pi$ , respectively

基于平行光照明的定量相衬显微使用 SLM 调制物光零频分量的相位,克服了传统相位板存在的相位误差。同时,SLM 的使用也带来了很多的便捷性,人们可以自由地改变零频分量的相位延迟量,实现快速相移操作。此外,通过在 SLM 上加载不同灰度的图像可以调节干涉图样的条纹对比度。然而,利用 SLM 对物光的零频分量进行调节时对 SLM 像元尺寸具有较大要求。例如,当图 13 中  $L_2$  的焦距为 100 mm 时,零频分量对应圆形区域的直径仅为几个微米,甚至小于一个 SLM 像元的大小 ( $6.5 \mu\text{m}$ )。实验上为了克服 SLM 像元较大的缺点,需要利用焦距较大的透镜( $L_2$ )来放大物光的频谱分布。这样一来,冗长的实验光路不利于其结构的小型化。然而,随着 SLM 像元尺寸的逐步减小,该方法将具有更大的发展空间。

### 3.3 基于偏振调制的定量相衬显微

除了利用空间光调制器可以实现衬度可调的定量相衬成像外,还可以利用偏振调制来实现相同的目的。4D Technology 公司的 North-Morris

等<sup>[93-96]</sup>首次提出基于偏振调制的定量相衬显微技术,该方法通过调节入射光偏振态改善干涉条纹对比度,同时结合同步相移技术实现对动态样品或动态过程的定量测量。

基于偏振调制的定量相衬显微光路如图 15 所示。被测物光经透镜的傅里叶变换后,其频谱出现在透镜的后焦平面上。在该频谱面上放置一个偏振调制器,该偏振调制器的中心区域和外围区域布满了方向垂直的、周期为亚波长量级的两组金属光栅。该金属光栅对偏振方向平行于光栅刻线的入射光具有很高的吸收率,而对偏振方向垂直于光栅刻线的入射光则具有很高的透过率<sup>[97-99]</sup>。调制器的中心针孔区域的光栅矢量与周围区域的光栅矢量相互垂直。为了避免体光栅衍射,偏振调制器上金属的厚度小于  $1.5\lambda/NA^2$ 。当物光频谱通过该偏振调制器后,物光的零频和低频分量被调制成相互正交的线偏振光,再结合同步偏振相移理论从单次曝光中获得多幅相移干涉图,从而再现出被测样品的振幅和相位信息。

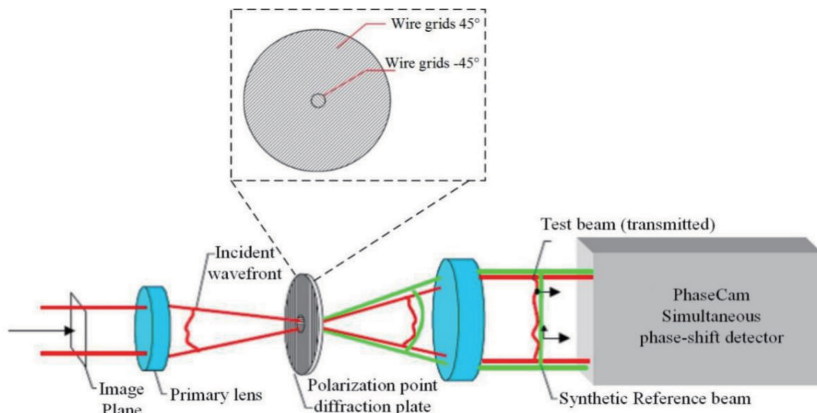


图 15 基于偏振调制的定量相衬显微<sup>[96]</sup>

Fig. 15 Quantitative phase contrast microscopy based on polarization modulation<sup>[96]</sup>

为了验证基于偏振调制的定量相衬显微光路的可行性,Millerd 等<sup>[96]</sup>利用该基于偏振调制的定量相衬显微对气流进行了相位成像。实验中,偏振调制器上中心区域直径为  $10 \mu\text{m}$ ,外围区域直径为  $7.5 \text{mm}$ ;两个透镜的焦距为 100 mm。利用该装置通过一次曝光可以获得 4 幅相移干涉图样,如图 16(a)所示。利用传统相移干涉的再现方法,可以得到该气流场对应的相位分布[图 16(b)]。该方法通过改变物光的偏振方向调节物光零频分量和高频分量之间的相对光强。该方法采用同步相移技术,可以对动态样品进行实时、高分辨相位成像。然而,该方法将 CCD 的靶面分成 4 份,用于记录不同相移量的干涉图样。因此,该

方法的成像视场被相应地减少为原来的 1/4。

### 3.4 超斜照明量化相位显微

上述定量相衬成像方法采用平行光照明,其横向分辨率低于光学衍射极限水平<sup>[92]</sup>。Zernike 最早提出利用环状光照明样品来得到高分辨率、低噪声的相衬图像。然而,传统 Zernike 相衬成像只能对样品进行定性观测,无法进行量化相位成像,这限制了其在生物研究领域的应用。Wang 等<sup>[100]</sup>提出了基于环状光源照明和环形相移器的定量相衬成像技术。然而,由于环状相移器会改变环上物光高频分量的相位分布,因此得到的相衬图样存在光晕(相位失真)现象。为了解决这一问题,Ma 等<sup>[101]</sup>提出超

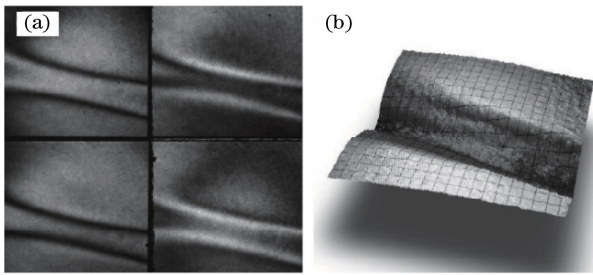
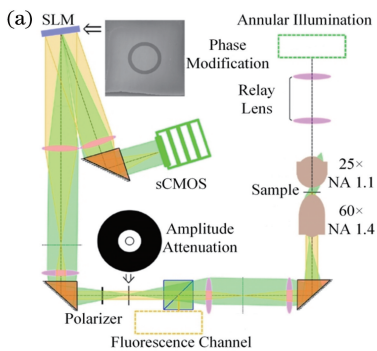


图 16 基于偏振调制的定量相衬显微对气流的测量结果<sup>[96]</sup>。(a)气流的四步相移干涉图样;(b)气流对应的再现相位分布

Fig. 16 Measurement results of airflow based on quantitative phase contrast microscopy with polarization modulation<sup>[96]</sup>. (a) Four-step phase-shift interference patterns of airflow; (b) reconstructed phase distribution of airflow

斜照明量化显微(UO-QPM),UO-QPM利用具有一定带宽的环状光源实现了大数值孔径的超斜照明,并且具有高时空分辨、低相干噪声以及量化相位显微的特点。

UO-QPM装置如图17(a)所示,多个LED排列组成的环形阵列用于实现科勒照明。环形光源由24个中心波长为505 nm、带宽为20 nm左右的LED均匀分布组成。每一个LED在组装时均存在一定的倾角,以便尽可能多地让LED发出的光进入



系统。此外,每一个LED均配有散热环来加快热量的消散,避免LED工作时产生的热量影响光源的光谱和寿命。环形光源发出的光束通过透镜组成像到浸水物镜(放大倍数为25,NA为1.1)的光瞳面处,实现对样品约 $55^\circ$ 的超斜照明。物镜的傅里叶变换作用使得环状光源上每一点都将形成一束平行光,并以不同角度照明样品。照明光束与待测样品相互作用产生的散射光和非散射光均由油浸物镜(放大倍数为60,NA为1.4)收集。在后续光路中,散射光和非散射光的频谱依次经过环形幅值掩模(透过率为10%)和SLM的调制,以实现定量相衬成像。放置在成像面处的探测器sCMOS用于记录散射光与非散射光之间的干涉图像。利用SLM对非散射光进行3次相位调制( $0$ ,  $0.5\pi$ 和 $\pi$ )得到对应的相移图像,最终结合相移算法恢复样品的相位信息。该技术能够在高稳定成像的同时,利用环形多角度同步照明来收集样品更多的频谱信息,得到了270 nm的横向分辨率。对cos7细胞进行相位重建得到的结果如图17(b)所示。与传统显微技术不同的是,该方式无需荧光标记就能够辨别活细胞内多种细胞器的精细结构,如内质网网络结构、线粒体等。此外,该技术的时间分辨率为250 Hz,能够对活细胞内多种细胞器的复杂运动进行捕捉。

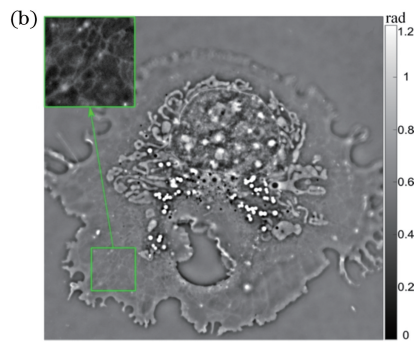


图 17 UO-QPM装置和恢复结果<sup>[101]</sup>。(a)UO-QPM装置示意图;(b)cos7细胞重建结果

Fig. 17 Setup of UO-QPM and reconstruction results<sup>[101]</sup>. (a) Schematic of UO-QPM system; (b) reconstruction result of cos7 cells

此外,Wang等<sup>[100]</sup>利用类似技术在无需物理接触或者染色的前提下获得了生物神经细胞结构的定量相位信息。基于扭曲向列液晶SLM的空间光干涉显微(SLIM)成像技术<sup>[102]</sup>能够在相位和幅值调制之间相互切换,该技术不仅克服了衍射效率低和色散强的问题,而且具有较高的横向分辨率;此外,基于机器学习的SLIM<sup>[103]</sup>能够根据组织内的光程差分布定量评估细胞癌变的信息,实现对乳腺癌组

织的无标记成像。

超斜照明量化相位显微通过引入相移操作,克服了传统Zernike相衬成像只能对样品进行定性观察的缺点。该方法利用SLM进行数字化相位调制和相移操作,提高了量化相位成像的时间分辨率。同时,该方法利用大数值孔径的超斜照明,提高了成像系统的空间分辨率,降低了相干噪声的影响,并且保证了系统的时空尺度相位灵敏度。目前,该方法

仅应用于二维薄样品的量化相位成像,因此对三维厚样品的高对比度、高分辨以及三维层析成像将是该技术未来的重要发展方向。

### 3.5 基于多点离轴照明的定量相衬显微

3.4 节介绍了基于环状光源照明的定量相衬显微技术。当采用该技术对一台阶状样品进行成像时,台阶的周围会出现一个环状“光晕”。这是因为采用环状照明光时,物光频谱的低频分量在同一个环上,一部分高频分量也分布在同一环上。利用相位板或空间光调制器改变该环状区域的相位时,也错误地改变了高频分量的相位。为了克服这一缺点,Gao 等<sup>[84]</sup>提出基于多点离轴照明的定量相衬显微技术,实现了对微小物体振幅和相位的定量测量。

如图18所示,实验中利用锥镜来产生环状照明

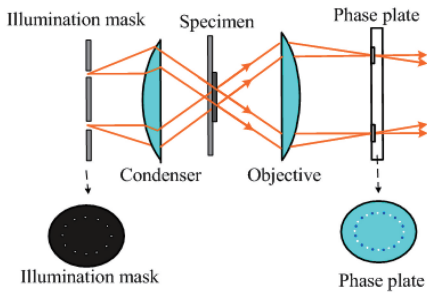


图 18 改进后的 Zernike 相衬成像光路示意图<sup>[84]</sup>

Fig. 18 Diagram of optical path of improved Zernike phase contrast imaging<sup>[84]</sup>

光束,该光束在频谱面上对应一个锐利的圆环,同时实验中利用一个旋转散射体使环上的每一点互不相干。利用振幅掩模板选择该圆环上均匀分布的 24 个点作为新的照明光源。这些点光源被透镜准直成平行光后以不同的入射方向照明样品。不同照明光对应的物光在频谱面上彼此分开,它们的零频分量均匀分布在一个圆环上,高频分量围绕在零频分量周围。为了改变物光零频分量的相位,将相位掩模板放置于物光的频谱面上。掩模板上分布有不同厚度的三组点状相位台阶,它们交替地分布在环形光源对应的圆环上,每组相位台阶恰好可以覆盖 24 个零频分量。旋转相位板使这三组相位台阶依次覆盖 24 个零频分量,从而在零频和低频之间实现不同程度的相移。最后,利用传统相移干涉的再现方法可以从三组相衬干涉图中再现出被测样品的振幅和相位分布。

实验采用微透镜阵列作为待测样品,每次以  $5^\circ$  为间隔旋转相位掩模板,相移量相应地改变为  $0$ 、 $-\pi/2$ 、 $\pi/2$ , 采集到对应的三幅相衬图像如图 19(a)~(c) 所示。利用再现方法对这些相衬图像进行再现,得到被测微透镜阵列的相位分布如图 19(d) 所示。该方法保留了传统 Zernike 相衬成像相干噪声小、抗振动性好以及横向分辨率高等多个优点。基于多点离轴照明的定量相衬显微通过利用多点源产生的离轴照明和点状相位掩模板克服了

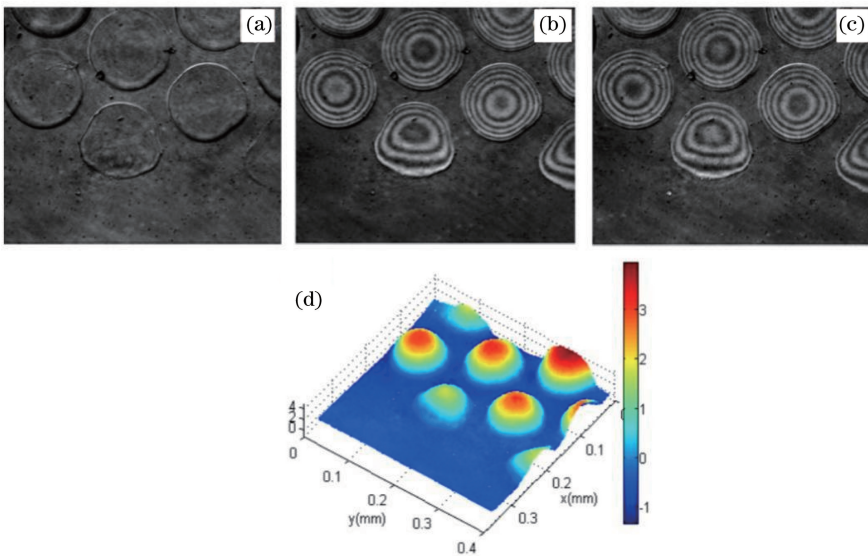


图 19 基于多点离轴照明的定量相衬显微对微透镜阵列的成像结果<sup>[84]</sup>。(a)~(c)相移量分别为  $0$ 、 $-\pi/2$  以及  $\pi/2$  的微透镜阵列的相衬图样;(d)重建的微透镜阵列的相位分布

Fig. 19 Imaging results of microlens array based on quantitative phase contrast microscopy with multi-point off-axis illumination<sup>[84]</sup>. (a)~(c) Interference patterns with phase shifts of  $0$ ,  $-\pi/2$ , and  $\pi/2$ , respectively; (d) reconstructed phase distribution of microlens arrays

传统 Zernike 相衬成像(采用环状照明和环状相位延迟器)的光晕效应。然而,该方法利用机械旋转相位板来实现相移操作,不利于动态样品的实时量化相位成像。在今后的研究中,利用 SLM 代替点状相位掩模板,将可以几十到几百帧频的速度实现高分辨、低噪声、动态相位测量。

## 4 结 论

定量相位显微通过获得物光波的振幅和相位信息,为微观样品的三维形貌或折射率分布提供了一种高分辨、快速、无损测量手段。基于光学干涉的相位成像技术,对环境扰动十分敏感。尽管采用机械隔振或负反馈电路主动隔振可以有效减小环境扰动对相位成像的影响,然而,额外的隔振装置会增大装置的体积和成本。通过采用物参共路或单光束相位成像光路,可以克服环境扰动的影响,该方向的相关研究也一直是量化相位显微探索的热点。根据是否需要参考光,目前定量相位显微技术可分为数字全息显微技术(需要参考光)和单光束相位显微技术(无需参考光)两类。

目前出现了很多物参共路数字全息显微技术。这些技术的共同点在于:尽量令物光和参考光经历相同的路径(物参共路)。这样一来,环境振动和空气扰动对物光和参考光产生了相同的影响,进而不会影响两者之间的相位差。例如,斐索和 Mirau 干涉显微光路通过在样品上方增加一个半透半反平板来产生参考光,并通过参考光与物光的干涉实现相位测量。点衍射数字全息技术通过将物光分成两束,将其中一束通过滤波形成参考光,并与物光进行干涉。双球面照明数字全息显微利用两个曲率不同的球面光波作为照明光,其中一光波在样品上聚焦为一点,另一光波照明一个圆域(作为成像区域),根据这两个光束的干涉图样可以实现对样品相位的定量测量。

单光束定量相位显微不需要额外的参考光,通过记录样品的单光束全息图样或衍射图样,可以实现对样品振幅和相位图像的再现。其中,作为单光束相位成像方法之一,共轴数字全息具有结构简单等优点,但是其再现像一直受到零级像和共轭像的影响。近年来,有研究利用迭代再现方法或压缩感知有效消除了传统全息术中的孪生像,实现了单幅同轴全息的定量相位成像。相衬显微通过延迟物光零频分量的相位,将物光的相位分布转换为强度分布。通过改变对零频分量的相位延迟量实现相移技

术,恢复出待测样品的振幅和相位信息。通过采用偏振掩模板代替传统的相位掩模板,并通过调节入射光偏振态实现了条纹对比度可调的目的。该技术通过引入超斜照明实现了高时空分辨成像的目的。然而,当采用环状照明光和环状相位板时,相衬图像会存在环状光晕。采用多点离轴照明和点状相位掩模板可以改善环状照明时的光晕效应,且保留相干噪声小和横向分辨率高的优点。在未来的研究中,当利用空间光调制器代替点状相位掩模板,将可以几十到几百帧频的速度实现高分辨、低噪声、动态相位测量。

整体而言,上述两种定量相位成像技术各有优点和缺点。在相位重建精度方面,相比于单光束定量相位显微技术,物参共路数字全息显微技术具有更高的相位恢复精度。然而,单光束定量相位显微技术具有结构简单、对光源相干性要求低等优点。

近年来,有关定量相位显微方面的研究有着朝以下几个方面发展的趋势:1)通过采用不同光场调控或照明技术,来提高相位成像的空间分辨率;2)通过自动探测样品像面与全息图之间的离焦距离,实现对样品的自动调焦;3)研究具有极简光学结构的相位显微技术,例如基于 LED 照明的片上相位显微技术;4)与基于 SLM 的全息 3D 光学微操纵技术相结合,实现对活细胞和组织的综合研究;5)利用相位恢复技术,透过散射介质再现隐藏物体的振幅和相位图像;6)现代数字全息通过对照明光波前进行调制来克服特殊样品对干涉检测的苛刻要求;7)结合超连续谱激光器和光频梳技术等现代光源实现对物体的高精度测量和 3D 重建。

未来,随着高稳定性定量相位显微技术研究的进一步深入,此类技术将在工业检测、生命科学等研究领域发挥越来越重要的作用。

## 参 考 文 献

- [1] Gabor D. A new microscopic principle[J]. Nature, 1948, 161(4098): 777-778.
- [2] Schnars U, Juptner W. Direct recording of holograms by a CCD target and numerical reconstruction[J]. Applied Optics, 1994, 33(2): 179-181.
- [3] Lin Y C, Chen H C, Tu H Y, et al. Optically driven full-angle sample rotation for tomographic imaging in digital holographic microscopy [J]. Optics Letters, 2017, 42(7): 1321-1324.
- [4] Neutsch K, Gö-ring L, Tranelis M J, et al. Three-

- dimensional particle localization with common-path digital holographic microscopy [J]. *Proceedings of SPIE*, 2019, 1094: 109440J.
- [5] Kreis T. *Handbook of holographic interferometry* [M]. New Jersey: Wiley, 2004.
- [6] Geng J. Three-dimensional display technologies [J]. *Advances in Optics and Photonics*, 2013, 5(4): 456-535.
- [7] Hasegawa S, Hayasaki Y, Nishida N. Holographic femtosecond laser processing with multiplexed phase Fresnel lenses [J]. *Optics Letters*, 2006, 31(11): 1705-1707.
- [8] Lin X, Hao J Y, Wang K, et al. Frequency expanded non-interferometric phase retrieval for holographic data storage [J]. *Optics Express*, 2020, 28(1): 511-518.
- [9] Yaroslavsky L. *Digital holography and digital image processing: principles, methods, algorithms* [M]. New York: Springer Science & Business Media, 2013.
- [10] Li S, Wang D, Lu Y T. Method for improving imaging resolution of digital holographic adaptive optical system [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2019, 46(7): 0709001.  
李顺, 王地, 陆彦婷. 一种提高数字全息自适应光学系统成像分辨率的方法 [J]. *中国激光*, 2019, 46(7): 0709001.
- [11] Yao L C, Wu X C, Lin X D, et al. Measurement of burning biomass particles via high-speed digital holography [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2019, 56(10): 100901.  
姚龙超, 吴学成, 林小丹, 等. 基于高速数字全息的燃烧生物质颗粒测试 [J]. *激光与光电子学进展*, 2019, 56(10): 100901.
- [12] Sutkowski M, Kujawińska M. Application of liquid crystal (LC) devices for optoelectronic reconstruction of digitally stored holograms [J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2000, 33(3): 191-201.
- [13] Kohler C, Schwab X, Osten W. Optimally tuned spatial light modulators for digital holography [J]. *Applied Optics*, 2006, 45(5): 960-967.
- [14] Zwick S, Haist T, Warber M, et al. Dynamic holography using pixelated light modulators [J]. *Applied Optics*, 2010, 49(25): F47-F58.
- [15] Reicherter M, Haist T, Wagemann E U, et al. Optical particle trapping with computer-generated holograms written on a liquid-crystal display [J]. *Optics Letters*, 1999, 24(9): 608-610.
- [16] Daneshpanah M, Zwick S, Schaal F, et al. 3D holographic imaging and trapping for non-invasive cell identification and tracking [J]. *Journal of Display Technology*, 2010, 6(10): 490-499.
- [17] Yu H Q, Jia S H, Dong J, et al. Phase curvature compensation in digital holographic microscopy based on phase gradient fitting and optimization [J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2019, 36(12): D1-D6.
- [18] Liu S, Lian Q S, Xu Z P. Phase aberration compensation for digital holographic microscopy based on double fitting and background segmentation [J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2019, 115: 238-242.
- [19] Maurer C, Jesacher A, Bernet S, et al. What spatial light modulators can do for optical microscopy [J]. *Laser & Photonics Reviews*, 2011, 5(1): 81-101.
- [20] Haist T, Hasler M, Osten W, et al. Programmable microscopy [M] // Bahram J, Enrique T, Pedro A. *Multi-dimensional imaging*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2014: 153-173.
- [21] Marquet P, Depeursinge C. Digital holographic microscopy: a new imaging technique to quantitatively explore cell dynamics with nanometer sensitivity [M] // *Multi-dimensional imaging*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2014: 197-223.
- [22] Onural L, Yaraş F, Kang H. Digital holographic three-dimensional video displays [J]. *Proceedings of the IEEE*, 2011, 99(4): 576-589.
- [23] Lee B, Kim Y. Three-dimensional display and imaging: status and prospects [M] // *Optical imaging and metrology*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012: 31-56.
- [24] Osten W, Baumbach T, Juptner W. Comparative digital holography [J]. *Optics Letters*, 2002, 27(20): 1764-1766.
- [25] Baumbach T, Osten W, von Kopylow C, et al. Remote metrology by comparative digital holography [J]. *Applied Optics*, 2006, 45(5): 925-934.
- [26] Mico V, Zheng J J, Garcia J, et al. Resolution enhancement in quantitative phase microscopy [J]. *Advances in Optics and Photonics*, 2019, 11(1): 135-214.
- [27] Yaghoubi S H S, Ebrahimi S, Dashtdar M, et al.



- Common-path, single-shot phase-shifting digital holographic microscopy using a Ronchi ruling [J]. *Applied Physics Letters*, 2019, 114(18): 183701.
- [28] Charriere F, Kuhn J, Colomb T, et al. Characterization of microlenses by digital holographic microscopy [J]. *Applied Optics*, 2006, 45(5): 829-835.
- [29] Kemper B, von Bally G. Digital holographic microscopy for live cell applications and technical inspection [J]. *Applied Optics*, 2008, 47(4): A52-A61.
- [30] Park Y, Choi W, Yaqoob Z, et al. Speckle-field digital holographic microscopy [J]. *Optics Express*, 2009, 17(15): 12285-12292.
- [31] Bertaux N, Frauel Y, Réfrégier P, et al. Speckle removal using a maximum-likelihood technique with isoline gray-level regularization [J]. *Journal of the Optical Society of America A*, 2004, 21(12): 2283-2291.
- [32] Zhao J L, Yan X B, Sun W W, et al. Resolution improvement of digital holographic images based on angular multiplexing with incoherent beams in orthogonal polarization states [J]. *Optics Letters*, 2010, 35(20): 3519-3521.
- [33] Jiang H Z, Zhao J L, Di J L, et al. Reconstruction of synthetic aperture digital lensless Fourier transform hologram by use of the screen-division method [J]. *Acta Optica Sinica*, 2009, 29(12): 3304-3309.  
姜宏振, 赵建林, 邸江磊, 等. 合成孔径数字无透镜傅里叶变换全息图的分幅再现 [J]. *光学学报*, 2009, 29(12): 3304-3309.
- [34] Cai L, Liu Q, Yang X. Phase-shift extraction and wave-front reconstruction in phase-shifting interferometry with arbitrary phase steps [J]. *Optics Letters*, 2003, 28(19): 1808-1810.
- [35] Meng X, Cai L, Xu X, et al. Two-step phase-shifting interferometry and its application in image encryption [J]. *Optics Letters*, 2006, 31(10): 1414-1416.
- [36] Wang H Y, Liu J B, Wang D Y, et al. Autofocus for numerical reconstruction in digital holographic microscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2008, 28(s2): 343-347.  
王华英, 刘景波, 王大勇, 等. 显微数字全息数值再现中的自动聚焦 [J]. *光学学报*, 2008, 28(s2): 343-347.
- [37] Liu C G, Wang D Y, Zhang Y Z, et al. Derivatives-based autofocus algorithms for the digital holographic imaging [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2009, 36(11): 2989-2996.  
刘长庚, 王大勇, 张亦卓, 等. 数字全息成像中基于导数的自动对焦算法 [J]. *中国激光*, 2009, 36(11): 2989-2996.
- [38] Yuan C J, Zhai H C, Wang X L, et al. Lensless digital holography with short-coherence light source for three-dimensional surface contouring of reflecting micro-object [J]. *Optics Communications*, 2007, 270(2): 176-179.
- [39] Yan H, Long J, Liu C Y, et al. Review of the development and application of deformation measurement based on digital holography and digital speckle interferometry [J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2019, 48(6): 0603010.  
闫浩, 隆军, 刘驰越, 等. 数字全息技术及散斑干涉技术在形变测量领域的发展及应用 [J]. *红外与激光工程*, 2019, 48(6): 0603010.
- [40] Gao P, Yao B L, Min J W, et al. Parallel two-step phase-shifting point-diffraction interferometry for microscopy based on a pair of cube beamsplitters [J]. *Optics Express*, 2011, 19(3): 1930-1935.
- [41] Min J W, Yao B L, Gao P, et al. Parallel phase-shifting interferometry based on Michelson-like architecture [J]. *Applied Optics*, 2010, 49(34): 6612-6616.
- [42] Qu W J, Liu D A, Zhi Y N, et al. Visualization of domain inversion region characteristics in  $\text{RuO}_2 : \text{LiNbO}_3$  crystal by digital holographic interferometry [J]. *Acta Physica Sinica*, 2006, 55(8): 4276-4281.  
曲伟娟, 刘德安, 职亚楠, 等. 利用数字全息干涉术观察  $\text{RuO}_2 : \text{LiNbO}_3$  晶体中畴反转的区域特性 [J]. *物理学报*, 2006, 55(8): 4276-4281.
- [43] Li J, Peng Z. Statistic optics discussion on the formula of digital holographic 3D surface profiling measurement [J]. *Measurement*, 2010, 43(3): 381-384.
- [44] Qian X F, Dong K P, Zhang L, et al. Study on cells by use of reflecting digital holographic microscopy [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2007, 36(7): 1318-1321.  
钱晓凡, 董可平, 张磊, 等. 反射式数字全息显微术对细胞的研究 [J]. *光子学报*, 2007, 36(7): 1318-1321.
- [45] Wang X G, Zhao D M, Jing F, et al. Information synthesis (complex amplitude addition and subtraction) and encryption with digital holography

- and virtual optics [J]. *Optics Express*, 2006, 14(4): 1476-1486.
- [46] Liang M D, Chen L, Lin W T, et al. A speckle noise reduction method for lensless Fourier transform digital holography [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2018, 55(11): 110901.  
梁明大, 陈丽, 林伟涛, 等. 一种无透镜傅里叶变换数字全息的散斑降噪方法 [J]. *激光与光电子学进展*, 2018, 55(11): 110901.
- [47] Popescu G, Ikeda T, Goda K, et al. Optical measurement of cell membrane tension [J]. *Physical Review Letters*, 2006, 97(21): 218101.
- [48] Fizeau H. Recherches sur les modifications que subit la vitesse de la lumiere dans le verre sous l'influence de la chaleur [J]. *Annales de Chimie et de Physique*, 1862, 66: 429-482.
- [49] de Groot P J. Phase-shift calibration errors in interferometers with spherical Fizeau cavities [J]. *Applied Optics*, 1995, 34(16): 2856-2863
- [50] Schwider J. Fizeau-type multi-pass shack-hartmann-test [J]. *Optics Express*, 2008, 16(1): 362-372.
- [51] Zhu W H, Chen L, Yang Y, et al. Advanced simultaneous phase-shifting Fizeau interferometer [J]. *Optics & Laser Technology*, 2019, 111: 134-139.
- [52] Abdelsalam D G, Yao B L, Gao P, et al. Single-shot parallel four-step phase shifting using on-axis Fizeau interferometry [J]. *Applied Optics*, 2012, 51(20): 4891-4895.
- [53] Mirau Andre H. Interferometer: US15215150A [P]. 1952-09-30.
- [54] Dobroi A, Sakai H, Ootaki H, et al. Coaxial Mirau interferometer [J]. *Optics Letters*, 2002, 27(13): 1153-1155.
- [55] Bhushan B, Wyant J C, Koliopoulos C L. Measurement of surface topography of magnetic tapes by Mirau interferometry [J]. *Applied Optics*, 1985, 24(10): 1489-1497.
- [56] Mehta D S, Sharma A, Dubey V, et al. Quantitative phase imaging of biological cells and tissues using singleshot white light interference microscopy and phase subtraction method for extended range of measurement [J]. *Proceedings of SPIE*, 2016, 9718: 971828.
- [57] Popescu G, Ikeda T, Dasari R R, et al. Diffraction phase microscopy for quantifying cell structure and dynamics [J]. *Optics Letters*, 2006, 31(6): 775-777.
- [58] Akondi V, Jewel A R, Vohnsen B. Digital phase-shifting point diffraction interferometer [J]. *Optics Letters*, 2014, 39(6): 1641-1644.
- [59] Wang D, Xie Z M, Wang C, et al. Probe misalignment calibration in fiber point-diffraction interferometer [J]. *Optics Express*, 2019, 27(23): 34312-34322.
- [60] Shaked N T, Zhu Y Z, Rinehart M T, et al. Two-step-only phase-shifting interferometry with optimized detector bandwidth for microscopy of live cells [J]. *Optics Express*, 2009, 17(18): 15585-15591.
- [61] Gao P, Harder I, Nercissian V, et al. Phase-shifting point-diffraction interferometry with common-path and in-line configuration for microscopy [J]. *Optics Letters*, 2010, 35(5): 712-714.
- [62] Ronchi V. On the phase grating interferometer [J]. *Applied Optics*, 1965, 4(8): 1041-1042.
- [63] Mico V, Zalevsky Z, Garcia J. Superresolved common-path phase-shifting digital inline holographic microscopy using a spatial light modulator [J]. *Optics Letters*, 2012, 37(23): 4988-4990.
- [64] Mico V, Ferreira C, Zalevsky Z, et al. Spatially-multiplexed interferometric microscopy (SMIM): converting a standard microscope into a holographic one [J]. *Optics Express*, 2014, 22(12): 14929-14943.
- [65] Picazo-Bueno J Á, Micó V. Opposed-view spatially multiplexed interferometric microscopy [J]. *Journal of Optics*, 2019, 21(3): 035701.
- [66] Mico V, Zalevsky Z, Garcia J. Superresolution optical system by common-path interferometry [J]. *Optics Express*, 2006, 14(12): 5168-5177.
- [67] Gao P, Pedrini G, Osten W. Structured illumination for resolution enhancement and autofocusing in digital holographic microscopy [J]. *Optics Letters*, 2013, 38(8): 1328-1330.
- [68] Platt B C, Shack R. History and principles of shack-hartmann wavefront sensing [J]. *Journal of Refractive Surgery*, 2001, 17(5): S573-S577.
- [69] Rativa D, de Araujo R E, Gomes A S, et al. Hartmann-Shack wavefront sensing for nonlinear materials characterization [J]. *Optics Express*, 2009, 17(24): 22047-22053.
- [70] Laude V, Olivier S, Dirson C, et al. Hartmann wave-front scanner [J]. *Optics Letters*, 1999, 24

- (24): 1796-1798.
- [71] Rimmer M P, Wyant J C. Evaluation of large aberrations using a lateral-shear interferometer having variable shear[J]. *Applied Optics*, 1975, 14(1): 142-150.
- [72] Liu X J, Gao Y S. Surface roughness profile measurement using shearing microscope interference method[J]. *China Measurement Technology*, 2004, 30(2): 3-5.  
刘晓军, 高咏生. 显微剪切干涉表面粗糙度轮廓测量[J]. *中国测试技术*, 2004, 30(2): 3-5.
- [73] Almero P F, Pedrini G, Osten W. Complete wavefront reconstruction using sequential intensity measurements of a volume speckle field[J]. *Applied Optics*, 2006, 45(34): 8596-8605.
- [74] Pedrini G, Osten W, Zhang Y. Wave-front reconstruction from a sequence of interferograms recorded at different planes [J]. *Optics Letters*, 2005, 30(8): 833-835.
- [75] Bao P, Zhang F C, Pedrini G, et al. Phase retrieval using multiple illumination wavelengths[J]. *Optics Letters*, 2008, 33(4): 309-311.
- [76] Faulkner H M L, Rodenburg J M. Movable aperture lensless transmission microscopy: a novel phase retrieval algorithm [J]. *Physical Review Letters*, 2004, 93(2): 023903.
- [77] Rodenburg J M, Faulkner H M L. A phase retrieval algorithm for shifting illumination [J]. *Applied Physics Letters*, 2004, 85(20): 4795-4797.
- [78] Zhang F C, Pedrini G, Osten W. Phase retrieval of arbitrary complex-valued fields through aperture-plane modulation[J]. *Physical Review A*, 2007, 75(4): 043805.
- [79] Liu Y J, Chen B, Li E, et al. Phase retrieval in X-ray imaging based on using structured illumination [J]. *Physical Review A*, 2008, 78(2): 023817.
- [80] Gao P, Pedrini G, Zuo C, et al. Phase retrieval using spatially modulated illumination[J]. *Optics Letters*, 2014, 39(12): 3615-3618.
- [81] Zernike F. Phase contrast, a new method for the microscopic observation of transparent objects part II[J]. *Physica*, 1942, 9(10): 974-986.
- [82] Zheng J J, Yao B L, Gao P, et al. Phase contrast microscopy with fringe contrast adjustable by using grating-based phase-shifter [J]. *Optics Express*, 2012, 20(14): 16077-16082.
- [83] Maurer C, Jesacher A, Bernet S, et al. Phase contrast microscopy with full numerical aperture illumination[J]. *Optics Express*, 2008, 16(24): 19821-19829.
- [84] Gao P, Yao B L, Harder I, et al. Phase-shifting Zernike phase contrast microscopy for quantitative phase measurement[J]. *Optics Letters*, 2011, 36(21): 4305-4307.
- [85] Litychevskaia T, Fink H. Solution to the twin image problem in holography[J]. *Physical Review Letters*, 2007, 98(23): 233901.
- [86] Rong L, Li Y, Liu S, et al. Iterative solution to twin image problem in in-line digital holography[J]. *Optics and Lasers in Engineering*, 2013, 51(5): 553-559.
- [87] Gaur C, Mohan B, Khare K. Sparsity-assisted solution to the twin image problem in phase retrieval [J]. *Journal of the Optical Society of America A-Optics Image Science and Vision*, 2015, 32(11): 1922-1927.
- [88] Cho C, Choi B, Kang H, et al. Numerical twin image suppression by nonlinear segmentation mask in digital holography[J]. *Optics Express*, 2012, 20(20): 22454-22464.
- [89] Rivenson Y, Zhang Y B, Gunaydin H, et al. Phase recovery and holographic image reconstruction using deep learning in neural networks [J]. *Light-Science & Applications*, 2018, 7(2): 17141.
- [90] Zhang W H, Cao L C, Brady D J, et al. Twin-image-free holography: a compressive sensing approach[J]. *Physical Review Letters*, 2018, 121(9): 093902.
- [91] Yu Y J, Lin X Y, Wu X Y. Tomographic reconstruction of magnified in-line hologram based on compressive sensing [J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2019, 48(6): 0603017.  
于瀛洁, 林星羽, 伍小燕. 放大同轴全息图压缩传感层析重建 [J]. *红外与激光工程*, 2019, 48(6): 0603017.
- [92] 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.
- [93] North-Morris M B, Millerd J E, Brock N J, et al. Phase-shifting multiwavelength dynamic interferometer [J]. *Proceedings of SPIE*, 2004, 5531: 64-75.
- [94] Novak M, Millerd J E, Brock N, et al. Analysis of a micropolarizer array-based simultaneous phase-shifting interferometer[J]. *Applied Optics*, 2005,

- 44(32): 6861-6868.
- [95] Millerd J, Brock N, Hayes J, et al. Pixelated phase-mask dynamic interferometers [M]. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2005: 640-647.
- [96] Millerd J E, Brock N J, Hayes J B, et al. Instantaneous phase-shift point-diffraction interferometer [J]. Proceedings of SPIE, 2004, 5531: 264-272.
- [97] Jensen M A, Nordin G P. Finite-aperture wire grid polarizers [J]. Journal of the Optical Society of America A, 2000, 17(12): 2191-2198.
- [98] Stenkamp B, Abraham M, Ehrfeld W, et al. Grid polarizer for the visible spectral region [J]. Proceedings of SPIE, 1994, 2213: 288-296.
- [99] Clausnitzer T, Fuchs H J, Kley E B, et al. Polarizing metal stripe gratings for a micro-optical polarimeter [J]. Proceedings of SPIE, 2003, 5183: 8-15.
- [100] Wang Z, Millet L, Mir M, et al. Spatial light interference microscopy (SLIM) [J]. Optics Express, 2011, 19(2): 1016-1026.
- [101] Ma Y, Guo S Y, Pan Y, et al. Quantitative phase microscopy with enhanced contrast and improved resolution through ultra-oblique illumination (UO-QPM) [J]. Journal of Biophotonics, 2019, 12(10): e201900011.
- [102] Nguyen T H, Popescu G. Spatial Light Interference Microscopy (SLIM) using twisted-nematic liquid-crystal modulation [J]. Biomedical Optics Express, 2013, 4(9): 1571-1583.
- [103] Majeed H, Nguyen T H, Kandel M E, et al. Label-free quantitative evaluation of breast tissue using Spatial Light Interference Microscopy (SLIM) [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 6875.