

國立交通大學

電子物理系所

碩士論文

類嗜中性球的兆赫輻射時析頻譜研究



Study of The Dielectric Properties of Neutrophil-like

by Terahertz -Time Domain Spectroscopy

研究生：張以恆

指導教授：羅志偉 教授

中華民國九十九年七月

類嗜中性球的兆赫輻射時析頻譜研究

Study of The Dielectric Properties of Neutrophil-like

by Terahertz -Time Domain Spectroscopy

研究生：張以恆

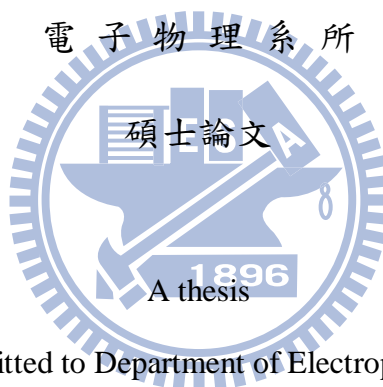
Student: Yi Heng Chang

指導教授：羅志偉 教授

Advisor: Dr. Chih Wei Luo

國立交通大學

電子物理系所



Submitted to Department of Electrophysics

College of Science

National Chiao Tung University

In partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master

in

Electrophysics

July 2010

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十九年七月

# 類嗜中性球的兆赫輻射時析頻譜研究

研究生：張以恆

指導教授：羅志偉 教授

國立交通大學

電子物理系所

中文摘要

在本論文中，利用本研究群所建立之兆赫茲波段的時域頻譜量測分析技術，研究活類嗜中性球與壞死的類嗜中性球在此頻段下的光學特性，利用量測結果經過分析可獲得與頻率相關之類嗜中性球之複數折射率，並進一步求得細胞之介電常數。壞死的類嗜中性球在此頻段下比活的類嗜中性球有較大的吸收。在實驗過程中利用染劑確定細胞的狀態，並證明兆赫茲波段的電磁波對類嗜中性球並無影響。

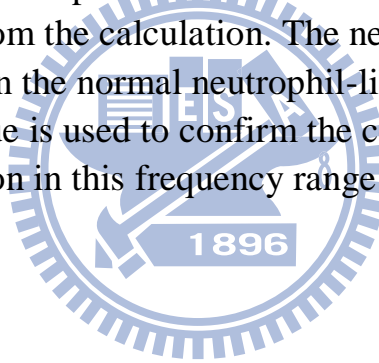
# Study of the dielectric properties of neutrophil-like by Terahertz -time domain spectroscopy

Student: Yi Heng Chang

Advisor: Dr. Chih Wei Luo

Institute of Electrophysics  
National Chiao Tung University  
Abstract in English

The Terahertz-time domain spectroscopy is built to detect the optical characteristic of the neutrophil-like cells condition in this frequency range, the complex refractive index of neutrophil-like cell is obtained and the dielectric constant could be acquired from the calculation. The necrosis neutrophil-like cell has higher absorption than the normal neutrophil-like cell. In the process of the experiment, the trypan blue is used to confirm the cell's condition, and it demonstrates the THz radiation in this frequency range has no impact on neutrophil-like cell.



# 誌謝

時間過得真快，一轉眼就過了兩年。到現在我仍然覺得作研究是一件很不簡單的事情，但從作研究的過程當中，我學到了如何做事的態度。

首先，我要感謝羅志偉老師，帶我進入超快雷射的領域，雖然很難又具有挑戰性，但老師在研究過程中不斷給我鼓勵和指導，讓我能度過重重難關。除了研究，老師也像一位大學長一樣常常和我們一起打球吃飯，告訴我們一些人生的小故事。謝謝徐琅老師，跨領域這條路真的不簡單，裡面有好多未知的挑戰，但也因此這才是作研究的樂趣吧。也很感謝劉承慈老師在生物領域上提供的訊息，讓我這位物理人對這塊領域有更深的瞭解。也謝謝小林教授和藪下教授能不吝給我有關解決實驗問題的方法。

謝謝博真學姐，雖然我實驗常常失敗，但你仍然耐心的提供細胞給我嘗試，而且在設計實驗上，學姐也給我很多受益無窮的建議，畢竟這是實驗室第一次量測生物相關的樣品，對於生物上的變因控制上常常遇到困難。感謝訓全學長傳授我有關 Terahertz 的知識，不管在實驗上，或是分析數據的技巧，你都盡你最大的協助來幫助我，真的是謝謝學長。育賢，龍羿和斌哥，謝謝你們在實驗室給予我最大的精神支持，希望你們早日畢業。博安學長，雖然只有在假日的時候才看的到你，不過梅竹賽也請繼續加油。新安，純芝，享穎，很懷念那段我們四個人彼此互相盯進度的過程，

我相信我們以後一定都會懷念那段沒日沒夜的在無塵室調光路的日子。謝謝達克幫忙，身為師父的我卻需要徒弟幫忙拯救來瞭解細胞有多厚。王媽，宣懿，劭軒，裕廉，潤東，謝謝你們在實驗室幫我的大小忙，希望你們接下來這一年也能研究順利！剛進來的韋臻，佳璟，易修，志翔，很遺憾和你們相處的時間沒有很長。不過看的出來你們真的都很有研究的潛力！

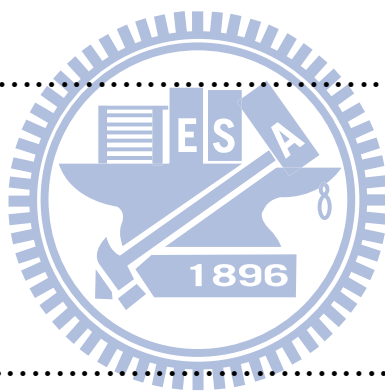
電物 96 的朋友們，感謝你們在我實驗低潮的時候拉我一把，雖然有時候通常只是缺人打保齡球和吃漢堡王，不過偶爾的放縱自己對研究進度的確是有幫助的，未來大家也都要畢業，希望大家都能保持聯絡！

最感謝的是一直在背後默默支持我的女朋友和家人，雖然在進研究所之前遇到一些不順利的事情，但真的要很謝謝你們的傾聽和意見，讓我變得更成熟與懂事，畢竟人生中總是會有一些不如意，但何嘗不是一個讓自己成長的好機會呢？

我將我一生中最精華的六年留給了交大，這六年的酸甜苦辣依舊讓我點滴在心頭，我想我會永遠懷念這段在交大的日子！畢竟他見證了我的成長！

# 目 錄

中文摘要 .....	I
英文摘要 .....	II
誌謝 .....	III
目錄 .....	V
圖目錄 .....	VIII
表目錄 .....	XII
第一章 緒論	
1-1 兆赫輻射時析頻譜 .....	1.
1-2 嗜中性球 .....	3.
1-3 大蒜精油 .....	3.
第二章 光學量測系統-兆赫輻射產生與偵測	
2-1 兆赫輻射產生機制 .....	6.
2-2 兆赫輻射的偵測-自由空間電光取樣 .....	8.
2-2-1 線性電光效應 .....	9.
2-2-2 ZnTe 電光晶體 .....	10.



2-2-3 電光調制 .....	16.
2-3 實驗建構之 THz-TDS 系統 .....	17.
第三章 薄膜製備與基本特性分析	
3-1 細胞製備步驟 .....	22.
3-1-1 類嗜中性球 .....	22.
3-1-2 大蒜精油萃取 .....	22.
3-2 細胞特性分析-光破壞細胞實驗 .....	23.
3-3 原子力顯微鏡 .....	26.
第四章 實驗相關電磁理論	
4-1 傅立葉轉換 .....	32.
4-2 實驗透射係數比 .....	32.
4-2-1 基板 n 與 k 的理論計算 .....	32.
4-3 薄膜性質的理論計算 .....	34.
4-3-1 理論透射係數比 .....	34.
4-3-2 介電常數與複數折射率 .....	37.
第五章 實驗結果與討論	
5-1 THz-TDS 經空氣量測結果 .....	39.
5-2 THz-TDS 經基板量測結果 .....	43.
5-2-1 基板測試 .....	43.





5-2-2 時域訊號	44.
5-2-3 頻域訊號	45.
5-2-4 參考基板的量測結果	47.
5-3 類嗜中性球 THz-TDS 量測結果	48.
5-3-1 類嗜中性球與死亡後類嗜中性球時域和頻域訊號	48.
5-3-2 複數穿透係數比	52.
5-3-3 複數折射率	54.
5-3-4 介電函數	58.
5-3-5 吸收係數	60.
5-4 類嗜中性球加入大蒜精油 THz-TDS 量測結果	64.
5-4-1 類嗜中性球與死亡後類嗜中性球加入大蒜精油時域和頻域訊號	64.
5-4-2 複數穿透係數比	67.
5-4-3 複數折射率	69.
5-4-4 介電函數	72.
5-4-5 吸收係數	74.
5-5 討論	77.
第六章 結論與展望	83.
參考文獻	84.

# 圖目錄

圖 1-1. 兆赫輻射波段在電磁波頻譜中的位置	2.
圖 1-2. 嗜中性球	3.
圖 2-1: 飛秒脈衝雷射造成光電流與兆赫輻射電場大小	7.
圖 2-2. THz Emitter 電極正面示意圖	8.
圖 2-3. THz 電場輻射示意圖	8.
圖 2-4. THz 輻射及入射探測光對 ZnTe 晶體之相對位置	13.
圖 2-5. 電光晶體新舊主軸之關係圖	13.
圖 2-6. 電光取樣系統架構圖	18.
圖 2-7. 穿透率與相位延遲的關係	18.
圖 2-8. Terahertz 系統架構圖	21.
圖 3-1. 固定 THz 強度，不同照射時間的類嗜中性球	24.
圖 3-2. 不同 THz 強度，固定照射時間的類嗜中性球	26.
圖 3-3. 類嗜中性球的 AFM	28.
圖 3-4. 類嗜中性球死亡的 AFM	29.
圖 3-5. 類嗜中性球(加入大蒜精油)的 AFM	30.
圖 3-6. 類嗜中性球(加入大蒜精油)死亡的 AFM	31.

圖 4-1. THz 垂直經過基板與空氣傳遞示意圖	34.
圖 4-2. THz 經過薄膜傳遞示意圖	36.
圖 4-3. THz 經過基板與樣品示意圖	37.
圖 5-1. THz 輻射單純經過空氣所量取到的時域訊號分布	39.
圖 5-2. THz 的功率頻譜	40.
圖 5-3. THz 在不同條件下訊號比較	41.
圖 5-4. THz 水氣吸收頻譜	42.
圖 5-5. THz 穿過基板的時域訊號	43.
圖 5-6. THz 穿過基板的 FFT Spectrum	44.
圖 5-7. THz 穿過參考基板 (Teflon、Lysine 和細胞培養液) 的時域訊號	45.
圖 5-8. THz 穿過參考基板 (Teflon、Lysine、細胞培養液和大蒜精) 的時域訊號	45.
圖 5-9. THz 穿過參考基板 (Teflon、Lysine 和細胞培養液) 的頻域訊號	46.
圖 5-10. THz 穿過參考基板 (Teflon、Lysine、細胞培養液和大蒜精油) 的頻域訊號	47.
圖 5-11. 經參考基板 (Teflon、Lysine 和細胞培養液) 之複數折射率量測結果	48.
圖 5-12. 經參考基板 (Teflon、Lysine、細胞培養液和大蒜精油) 之複數折射率量測結果	48.

圖 5-13. 量測 THz 穿過三次不同 HL60 細胞分化的類嗜中性球的時域訊號	50.
圖 5-14. THz 穿過三次不同 HL60 細胞分化的類嗜中性球的頻域訊號	52.
圖 5-15. 量測三次不同分化類嗜中性球的複數穿透係數比	54.
圖 5-16. 量測三次不同分化類嗜中性球的複數折射率實部	56.
圖 5-17. 量測三次不同分化的類嗜中性球的複數折射率虛部	58.
圖 5-18. 不同次分化類嗜中性球的介電函數虛部	60.
圖 5-19. 不同次分化類嗜中性球吸收係數	62.
圖 5-20. 不同次分化類嗜中性球吸收係數差 (歸一化)	63.
圖 5-21. 三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)的 THz 時域訊號	65.
圖 5-22. 三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)的 THz 頻域訊號	67.
圖 5-23. 三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)複數穿透係數比	69.
圖 5-24. 三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)複數折射率實部	71.
圖 5-25. 三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)複數折射率虛部	72.
圖 5-26. 三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)介電函數虛部	74.
圖 5-27. 三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)吸收係數	76.
圖 5-28. 三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)吸收係數差 (歸一化)	77.
圖 5-29. (a)滴入酒精前類嗜中性球顯微影像(b)滴入酒精後類嗜中性球顯微影像	78.

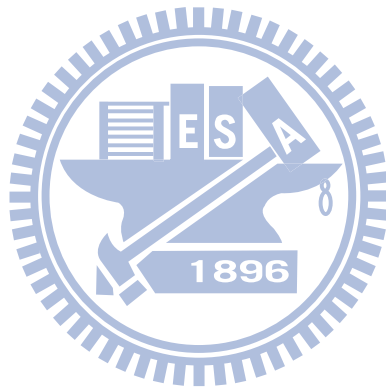
圖 5-30. HEWL 和 HEWL+3NAG 溶液的吸收係數	79.
圖 5-31: HEWL 和 HEWL+3NAG 溶液的折射率	80.
圖 5-32 : CP43 和 CP47 在不同條件下的 THz 吸收係數頻譜	80.
圖 5-33 : 細胞壞死後蛋白質變性示意圖	81.
圖 5-34 : THz 經過細胞蛋白質的吸收光譜示意圖	82.
圖 5-35 : THz 經過壞死細胞內變性蛋白質示意圖	82.



# 表 目 錄

表 3-1. 不同條件類嗜中性球的大小與厚度比較

27.



# 第一章

## 緒論

### 1-1 兆赫輻射時析頻譜(Terahertz Time-Domain-Spectroscopy)

兆赫輻射(Terahertz,  $10^{12}$  Hz)位於微波和紅外波段之間，圖 1-1 是電磁波頻譜和 THz 輻射在電磁波頻譜的位置。在 1980 年代，人類對於兆赫輻射瞭解甚少，其主要原因在於兆赫輻射光源取得不易和缺乏相關探測元件。使得 THz 輻射在電磁光譜中屬於空乏未知的區域，稱為 THz Gap。1981 年 G.Mourou 利用  $\text{Nd}^{3+}$ :YAG 雷射觸發 GaAs 光導開關上的偶極天線產生脈衝寬度小於 50 ps 的電磁脈衝波[1]，1988 和 1989 年 Grischkowsky 等人以光導偶極天線當作發射器成功產生比微波波段更短的電磁脈衝，且將光源頻率推至 0.5 THz [2][3]。之後 Auston 及其研究群利用飛秒 (femtosecond) 脈衝雷射光激發半導體光導偶極天線來產生 THz 輻射脈衝[4]。從此開始，以超短脈衝雷射激發偶極天線來產生兆赫輻射之相關研究便蓬勃發展[5][6][7][8]。兆赫輻射光源有其特色以及優點因而受到廣泛的研究，例如光子能量低，約只有毫電子伏特(meV)，與傳統 X-ray 比較，兆赫輻射攜帶能量小，對於研究物質性質不會因為電離造成被測樣品的破壞。

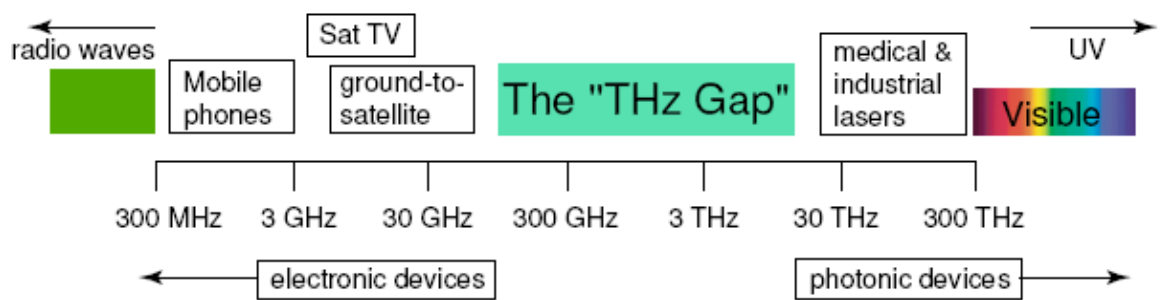


圖 1-1 兆赫輻射波段在電磁波頻譜中的位置

到目前為止，超短脈衝對於兆赫輻射的產生與應用仍然為物理界重要研究課題；兆赫輻射的產生更提供了遠紅外線(Far-Infrared)光譜皮秒(picosecond)級的時間解析能力，其中兆赫輻射時析頻譜(Terahertz Time-Domain-Spectroscopy, THz-TDS)的發展更是研究材料相當有力的工具。

THz-TDS 的實際量測應用相當的廣泛，包含了物理、電機、電子、化學、生物方面。在物理上，1990 年 D.Grischkowsky 等人針對石英等介電材料與矽、砷化鎵等半導體研究其兆赫波的吸收光譜，發現到載子濃度對吸收特性有一定影響[9][10]。在生物上，B.M.Fischer 利用 THz 量測 DNA 遠紅外波段的振動模態(Vibrational modes)[11]，除此之外 THz 也能探測某些細胞型態上的變化[12][13]。

目前 THz-TDS 的量測技術相較於過去光譜量測技術有諸多的優點：(1)可以直接量測時域暫態波形，得到穿透振幅(amplitude)和相位(phase)相關訊息，進而得到包含實部與虛部的複數光譜(例如：複數折射係數、複數介電常數等等)，並且不需要透過 Kramers-Kronig



transformation 的計算。(2)在偵測 THz wave 時可以避免背景輻射的熱效應。(3)擁有很大的頻寬，從 GHz 到數十 THz 的範圍，覆蓋整個遠紅外線波段。(4)這種時間解析的量測技術有很高的訊噪比(SNR)。

## 1-2 嗜中性球 (Neutrophil)

在人體血液內含量最多的一種白血球，並且是主要的非專一性作用細胞(nonspecific effector cells)，表示此類細胞能在一發現入侵者時立即進行消滅。除巨噬細胞外，它為人體受到細菌感染後最重要的吞噬細胞；細菌感染通常會使骨髓裏的嗜中性球產量增加。當醫生對病患抽血檢查後，表示因白血球的增加而診斷病患受到細菌感染，通常所指的是嗜中性球的數量增加。

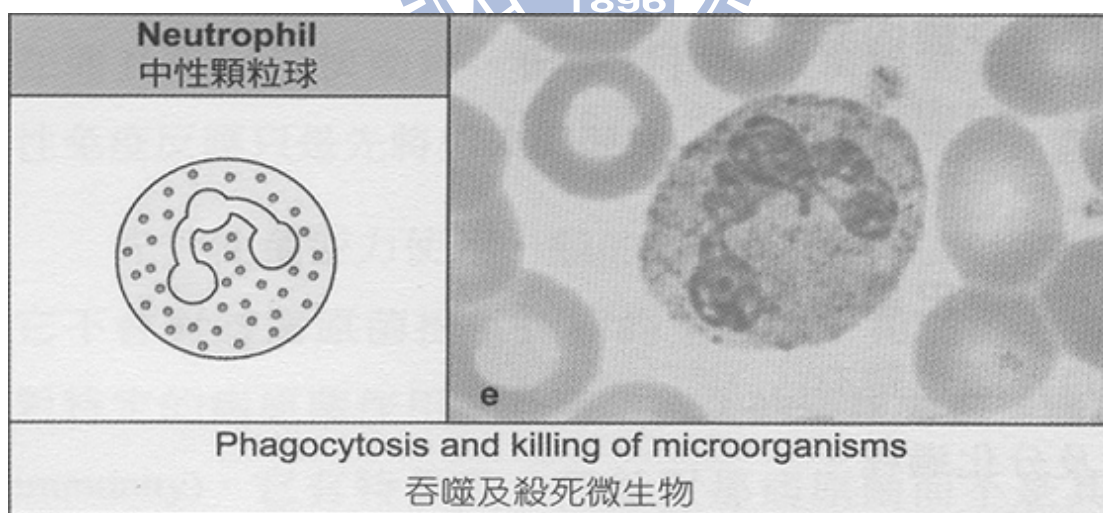


圖 1-2 嗜中性球

## 1-3 大蒜精油 (Garlic Oil)

大蒜(*allium sativum*)是百合科蔥屬植物的地下鱗莖，除了可食用

外，自古以來也是一種非常重要的草藥材。早在19世紀中期，大蒜已被發現能抑制細菌[14]。大蒜的特殊香氣成份主要來自蒜素(allicin)及油溶性的含硫化合物。大蒜具有相當多的營養成分，能有效治療和預防疾病[15][16][17][18][19]。

黃酮類化合物(flavonoid)和有機硫化物(organosulfur)是兩項構成大蒜醫學特性的主要成分[20]。大蒜中主要的生物活性(bioactivities)物質為烯丙基硫化物(allyl sulfides)。烯丙基硫化物(allyl sulfides)能抑制腫瘤細胞增殖(proliferation) [20-21]。除此之外，allyl sulfides也能抑制凝血因子(thrombin)，ADP 和成膠質(collagen)引發的血小板凝集、抑制血液凝固、增加抗凝血因子活性及增加纖溶活性的物質，減少血栓形成，以預防心血管疾病[22-24]。

近年來，大蒜防癌研究引發相當熱烈的討論。流行病學的研究指出攝取大蒜的量和減少罹患癌症的機會成正比[25]。這項防癌的證據被認為和大蒜能有效降低胃中的氮濃度有關[26]。

大蒜裡的蒜素(diallyl thiosulfinate)藉由和硫醇類反應抑制細胞增殖和造成細胞凋亡。蒜素亦能抑制細胞極化、遷移、和抑制細胞有絲分裂[27]。

在本論文中，我們針對嗜中性球進行TDS量測分析，藉由此技術分析，可以得知活細胞和凋亡細胞在THz頻率範圍內的頻譜。透過THz頻

譜所得之穿透係數，我們可進一步得到複數折射率，甚至經過計算推得介電常數。在本論文中我們另外利用AFM量測類嗜中性球在健康和壞死時的厚度。也利用染劑trypan blue染色後用顯微鏡觀察類嗜中性球在活的狀態和凋亡之後的圖像，和TDS所得到細胞的透射係數 $T_{\text{exp}}^*(\omega, n_s^*)$ 做對照。

本論文共分成六章，除了第一章為 THz-TDS 與細胞的簡介之外，其餘依序為第二章介紹完整 THz-TDS 實驗原理與實驗架構，第三章為嗜中性球的製備與特性分析，第四章為實驗分析所用到的電磁相關理論，第五章為實驗結果與討論，第六章為結論與展望。



## 第二章

### 光學量測系統-兆赫輻射產生與偵測

#### 2-1 兆赫輻射產生機制

光導電流脈衝(Current surge)和非線性光整流(Optical rectification)是利用短脈衝雷射產生 THz 常見的兩種方法。光導電流脈衝產生 THz 原理為飛秒雷射脈衝 (femtosecond laser pulse) 照射在半導體材料 InP 表面產生 THz 輻射。飛秒雷射的超短脈衝照射在半導體材料表面或界面時，如果入射光的能量大於半導體材料的能隙(energy gap)，半導體材料表面將被激發產生電子-電洞對 (electron-hole pairs)。此時如果半導體表面或界面存有一個靜電場，半導體中的電子-電洞對將分離並加速形成一種暫態的光電流，光電流會隨著脈衝雷射光激發在時間上的變化而產生瞬間電偶極輻射，其輻射電場的大小正比於電流對時間的一階導數(2.1 式)，如圖 2-1。其實後來的研究者亦發現即使入射光子能量小於半導體能隙時，仍然有兆赫輻射的產生[28]，稱為虛光導效應(virtual photoconducting)。

$$E(t) \propto \frac{\partial J(t)}{\partial t} \quad (2.1)$$

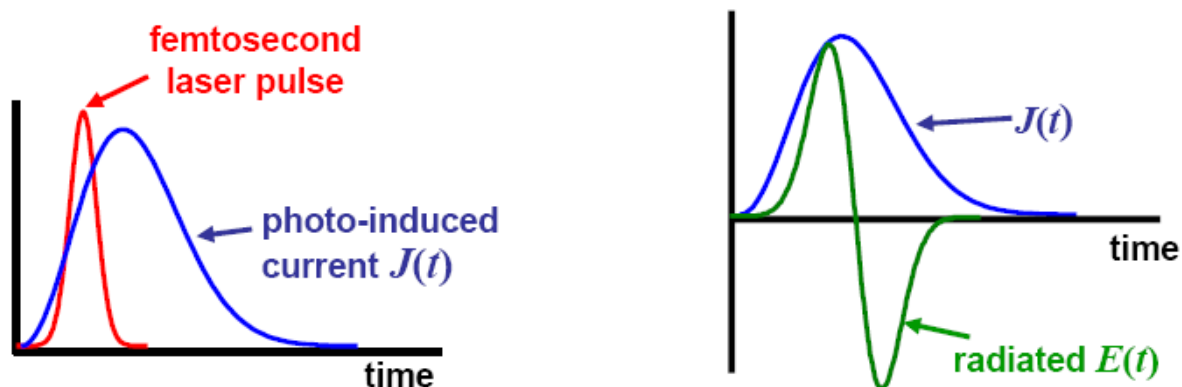


圖 2-1：飛秒脈衝雷射造成光電流與兆赫輻射電場[29]

光電導方法產生的 THz 輻射脈衝包含的頻譜比較低，一般而言，不超過幾個 THz。而光整流效應所產生的 THz 頻寬較寬，其是利用非對稱性的晶體，如電光晶體受到高強度的雷射光入射時，因為材料本身的光學非對稱關係，使得內部產生感應極化向量。暫態的感應極化向量對時間的一階微分後，即可產生光電流。隨超快雷射脈衝做時變的光電流會產生自由空間傳播的電磁輻射[30][31]，因此電磁輻射的電場是正比於二階非線性介電極化向量對時間的二次微分。利用光電導方式產生 THz 的優點在於效率高，外加高電壓可讓電子-電洞對分離加速更快產生更大的光電流。反觀光整流效應產生的 THz 效率只能依賴材料本身的非線性係數。利用材料的相位匹配可以改善光整流效應產生的 THz 效率。

我們以半絕緣磷化銦（Semi-Insulating InP）材料作為產生 THz 輻射的元件，我們在 SI-InP 基板上鍍金當作電極，並提供外加電場對雷射光所激發的自由載子作加速，電極的圖形如圖 2-2 所示，其相關數值

及產生 THz 輻射的示意圖如圖 2-3 所示。

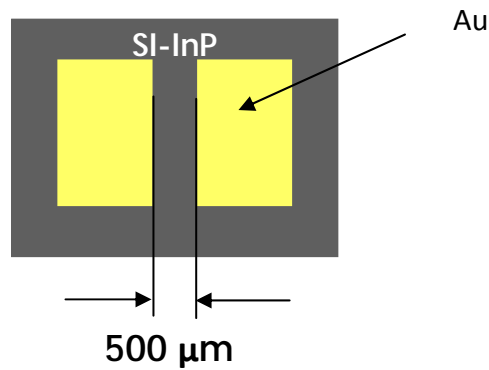


圖 2-2：THz Emitter 電極正面示意圖

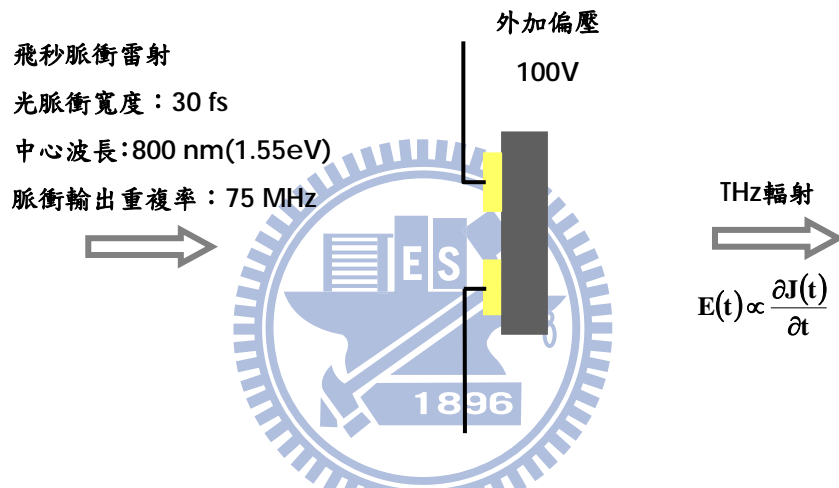


圖 2-3：THz 電場輻射示意圖

## 2-2 兆赫輻射的偵測-自由空間電光取樣 (Free Space E-O Sampling)

偵測兆赫波的方法主要分成三種，光導偶極天線(Photoconductive Sampling)、遠紅外干涉技術(Far-infrared interferometric Techniques)和自由空間電光取樣技術[32]等方式。光導偶極天線有優良的偵測反應，也能提供比遠紅外干涉技術中用來探測兆赫波強度的 bolometer 更佳的訊雜比。但光電導天線偵測卻會受到偶極共振干擾而不能準確得到真正的 THz 波形。遠紅外干涉技術雖然能得到 THz 訊號，但無法得到重要



的相位資訊。在大部分的材料分析中，完整包含振幅相位的 THz 波形是非常重要的。電光取樣簡而言之是利用電光晶體中的線性電光效應 (Pockel effect)，其中交互作用時間短，提供了快速平穩的頻率響應，接著再以電光調制的方式量測穿透光的強度，使兆赫輻射的訊號可以真實的被量測出來[33]。

### 2-2-1 線性電光效應

有些晶體在外加電場作用下會改變材料的光學各向異性性質，其折射率會隨著電場強度產生變化，使得入射光通過晶體後的極化方向隨外加電場變化，此現象稱為電光效應(Electro-optic effect)。

在沒有外加電場時，晶體折射率的空間分布可以用折射率橢圓球來表示：

$$\sum_{ij} b_{ij} x_i x_j = 1 \quad (2.2)$$

$b_{ij}$  稱為材料的介電非滲透張量 (dielectric impermeability tensor)，和材料的介電滲透張量(dielectric permeability)  $\epsilon_{ij}$  與折射率  $n$  關係如下：

$$b_{ij} = \epsilon^{-1}_{ij} = n^{-2} \quad (2.3)$$

外加電場後晶體的折射率  $n$  變化，可用  $b_{ij}$  的變化量  $\Delta b_{ij}$  來表示， $\Delta b_{ij}$  可用級數展開式表示：

$$\Delta b_{ij} = b_{ij}(\vec{E}) - b_{ij}(0) = \sum_k \gamma_{ijk} E_k + \sum_{k,l} S_{ijkl} E_k E_l \quad (2.4)$$

(2.4)式等號右邊第一項代表線性電光效應，是波克爾 (Pockels)

在 1893 年發現的，故又稱之為波克爾效應 (Pockels effect)。(2.4)式等號右邊第二項代表二次電光效應，是克爾 (Kerr) 在 1875 年發現的，故又稱之為克爾效應 (Kerr effect)。更高階的電光效應非常微弱，故予以省略。

### 2-2-2 ZnTe電光晶體

在我們的實驗中，我們使用碲化鋅晶體來量測 THz 電磁輻射，這種晶體為線性電光晶體，考慮線性電光效應：

$$\Delta b_{ij} = \sum_k \gamma_{ijk} E_k \quad (2.5)$$

由於 ZnTe 電光晶體的  $r_{ij}$  為實數且對稱，所以具有  $\Delta b_{ij} = \Delta b_{ji}$  的特性，亦即  $\gamma_{ijk} = \gamma_{jik}$ ，我們用下標  $l$  代替  $ij$ ，可改記為：

$$\begin{aligned} l = 1 & \text{ for } ij = 11 \\ l = 2 & \text{ for } ij = 22 \\ l = 3 & \text{ for } ij = 33 \\ l = 4 & \text{ for } ij = 23 \text{ or } 32 \\ l = 5 & \text{ for } ij = 13 \text{ or } 31 \\ l = 6 & \text{ for } ij = 12 \text{ or } 21 \end{aligned} \quad (2.6)$$

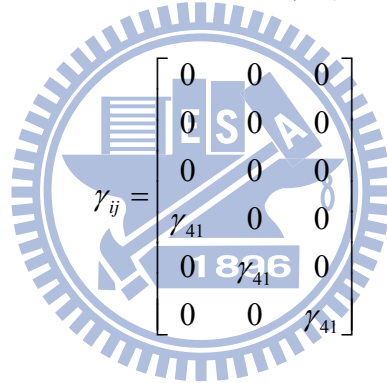
根據(2.3)式與(2.5)式，將  $b_{ij}$  以折射率  $n$  改寫為矩陣形式：



$$\begin{bmatrix} \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_1 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_2 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_3 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_4 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_5 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_6 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \gamma_{11} & \gamma_{12} & \gamma_{13} \\ \gamma_{21} & \gamma_{22} & \gamma_{23} \\ \gamma_{31} & \gamma_{32} & \gamma_{33} \\ \gamma_{41} & \gamma_{42} & \gamma_{43} \\ \gamma_{51} & \gamma_{52} & \gamma_{53} \\ \gamma_{61} & \gamma_{62} & \gamma_{63} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{bmatrix} \quad (2.7)$$

矩陣描述折射率變化和電場間的關係式。

本研究群選擇 ZnTe 晶體作為 THz 自由空間取樣系統的電光晶體。ZnTe 晶體為結構最簡單的電光晶體，屬於閃鋅礦（Zinc-blend）結構，具  $\bar{4}3m$  點群對稱性，其電光係數具對稱性：



$$\gamma_{ij} = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ \gamma_{41} & 0 & 0 \\ 0 & \gamma_{41} & 0 \\ 0 & 0 & \gamma_{41} \end{bmatrix} \quad (2.8)$$

在未加電場下，此結構是同向性晶體，其各方向的折射率均相同，

令  $n_x = n_y = n_z = n_0$  折射橢圓球（the index ellipsoid）方程式如下：

$$\frac{x^2}{n_0^2} + \frac{y^2}{n_0^2} + \frac{z^2}{n_0^2} = 1 \quad (2.9)$$

一般而言，若在電光晶體上外加電場，例如 THz 輻射電場，則電

光晶體對應之折射橢圓球變成

$$\left(\frac{1}{n_x^2} + \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_1\right)x^2 + \left(\frac{1}{n_y^2} + \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_2\right)y^2 + \left(\frac{1}{n_z^2} + \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_3\right)z^2 + 2\Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_4 yz + 2\Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_5 xz + 2\Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_6 xy = 1 \quad (2.10)$$

以 ZnTe 晶體為例，當外加電場時，

$$\begin{aligned}\Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_1 &= \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_2 = \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_3 = 0 \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_4 &= \gamma_{41}E_x \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_5 &= \gamma_{41}E_y \\ \Delta\left(\frac{1}{n^2}\right)_6 &= \gamma_{41}E_z\end{aligned}\quad (2.11)$$

所以加電場後，ZnTe 晶體對應之折射橢圓球變成：

$$\left(\frac{x^2 + y^2 + z^2}{n_0^2}\right) + 2\gamma_{41}(E_x yz + E_y xz + E_z xy) = 1 \quad (2.12)$$

在(2.12)式中有交叉項  $yz$ 、 $xz$ 、 $xy$ ，我們利用建立新座標軸轉換讓折射率橢圓球的主軸落在新座標軸上。首先我們將座標以  $z$  軸為轉軸逆時針旋轉  $45^\circ$ ，新座標軸  $x'$ 、 $y'$  和  $z'$  與原座標軸  $x$ 、 $y$ 、 $z$  之關係如圖

2-5 所示，新舊座標軸將其以數學式表達則為：

$$\begin{aligned}x &= x' \cos 45^\circ - y' \sin 45^\circ = \frac{x' - y'}{\sqrt{2}} \\ y &= x' \sin 45^\circ + y' \cos 45^\circ = \frac{x' + y'}{\sqrt{2}} \\ z &= z'\end{aligned}\quad (2.13)$$

考慮圖 2-4，假設 THz 輻射沿晶體 ZnTe(110) 水平方向傳播且不具有  $z$  方向分量，因此

$$E_x = -\frac{1}{\sqrt{2}} E_{\text{THz}}$$

$$\begin{aligned} E_y &= \frac{1}{\sqrt{2}} E_{THz} \\ E_z &= 0 \end{aligned} \quad (2.14)$$

所以可以先將折射率橢圓球(2.12)式化簡為：

$$\left( \frac{x^2 + y^2 + z^2}{n_0^2} \right) + \sqrt{2} \gamma_{41} E_{THz} (xz - yz) = 1 \quad (2.15)$$

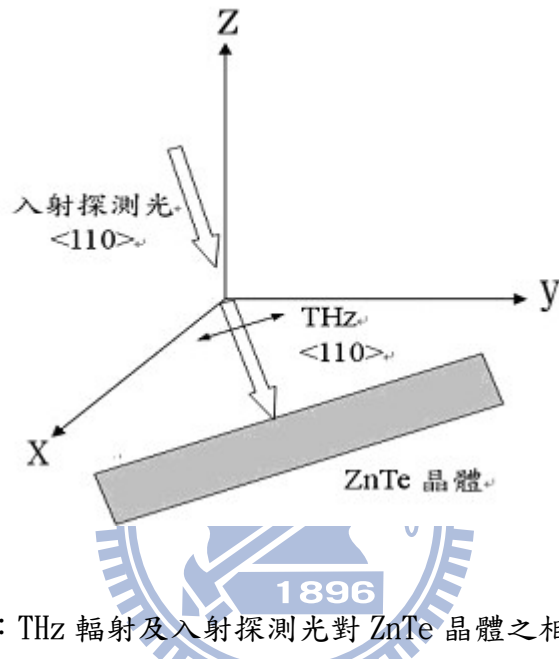


圖 2-4：THz 輻射及入射探測光對 ZnTe 晶體之相對位置

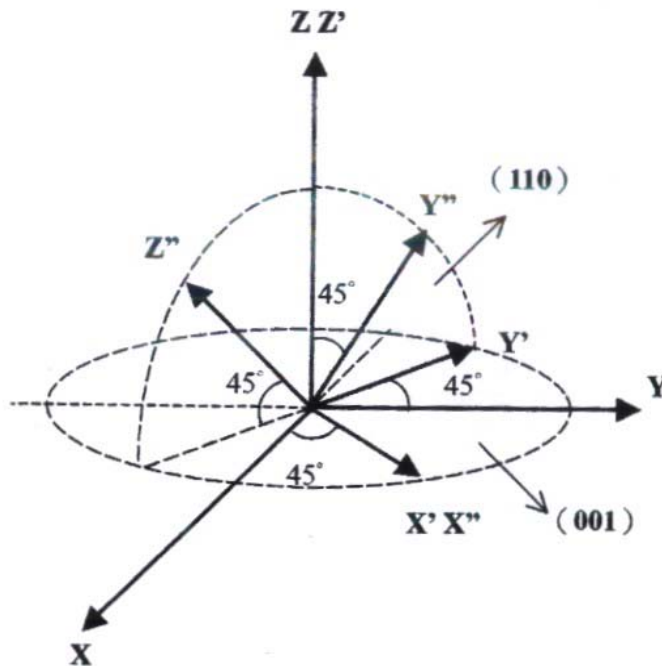


圖 2-5：電光晶體新舊主軸之關係圖

由於(2.15)式中仍有交叉項 $y'z'$ ，故我們再次對 $x'$ 、 $y'$ 、 $z'$ 軸進行座標轉換。我們將圖 2-5 中之座標軸以 $x'$ 軸為中心作逆時針  $45^\circ$  旋轉做轉換，新座標軸 $x''$ 、 $y''$ 、 $z''$ 和 $x'$ 、 $y'$ 、 $z'$ 之關係如圖 2-5 所示，將其以數學式表達則為：

$$\begin{aligned}x' &= x'' \\y' &= \frac{y'' - z''}{\sqrt{2}} \\z' &= \frac{y'' + z''}{\sqrt{2}}\end{aligned}\tag{2.16}$$

將(2.16)式代入(2.15)式中，得折射橢圓球二次轉換後的表示式可為：

$$\frac{x''^2}{n_0^2} + \left( \frac{1}{n_0^2} - \gamma_{41} E_{THz} \right) y''^2 + \left( \frac{1}{n_0^2} + \gamma_{41} E_{THz} \right) z''^2 = 1\tag{2.17}$$

由(2.17)式和(2.15)式作比較，可知 $x''$ 、 $y''$ 、 $z''$ 上的折射率 $n_{x''}$ 、 $n_{y''}$ 與 $n_{z''}$ ：

$$\begin{aligned}n_{x''}^2 &= n_0^2 \\n_{y''}^2 &= \frac{1}{\left( \frac{1}{n_0^2} - \gamma_{41} E_{THz} \right)} \\n_{z''}^2 &= \frac{1}{\left( \frac{1}{n_0^2} + \gamma_{41} E_{THz} \right)}\end{aligned}\tag{2.18}$$

由於 $\gamma_{41} E_{THz} \ll 1$ ，(2.18)式中的 $n_{y''}^2$ 與 $n_{z''}^2$ 取近似：

$$\begin{aligned}
n_{x''} &= n_0 \\
n_{y''} &= n_0 + \frac{n_0^3}{2} r_{41} E_{\text{THz}} \\
n_{z''} &= n_0 - \frac{n_0^3}{2} r_{41} E_{\text{THz}}
\end{aligned}
\tag{2.19}$$

由(2.19)式可看出，如果有外加 THz 電場通過晶體 ZnTe， $y''$  方向上的折射率會比未加入電場時多出  $\frac{n_0^3}{2} r_{41} E_{\text{THz}}$ ，而  $z''$  方向折射率會減少  $\frac{n_0^3}{2} r_{41} E_{\text{THz}}$ ，所以光在沿  $y''$  及  $z''$  兩個方向前進時，兩者相速度不同，在晶體內行走 L 長度的距離(ZnTe 厚度)後將產生一相位延遲 (phase retardation)  $\Gamma$ ：

$$\Gamma = (n_{y''} - n_{z''}) \frac{\omega L}{c}
\tag{2.20}$$

將 (2.19) 式代入 (2.20) 式，改寫 (2.20) 式：

$$\Gamma = \frac{n_0^3 r_{41} E_{\text{THz}} \omega L}{c}
\tag{2.21}$$

2-2-2 小節推導了 ZnTe 晶體的光學原理：ZnTe 晶體在無電場的狀態下為同向性晶體，但若在 ZnTe 晶體上外加電場，例如 THz 輻射，此電場將使 ZnTe 晶體由同向性晶體轉為異向性晶體，如前面所推導，在  $y''$  及  $z''$  軸上之折射率不同，使入射光在  $y''$  及  $z''$  兩軸間產生一相位差。由 (2.21) 式可知，此相位差和外加電場，即本論文中之 THz 輻射場成正比。

### 2-2-3 電光調制

當 THz 輻射電場作用在 ZnTe 晶體後產生的電光效應，造成  $y''$  及  $z''$  軸上之折射率不同而產生相位差。藉由量測 ZnTe 晶體在不同軸向的相位差可以量測偏壓在 ZnTe 晶體的 THz 輻射電場的大小。

如圖 2-6，THz 輻射與雷射探測光皆正向入射 ZnTe(110)晶體，THz 輻射電場  $E_{THz}$  偏壓及雷射探測光偏振方向均在 ZnTe 晶體的  $y'$  方向上。首先考慮在圖 2-6 中不含  $\lambda/4$  波板之情形，入射 ZnTe 晶體之雷射探測光電場  $E_{Pb}$  偏振方向可以  $E_{Pb}y'$  表示且進一步改寫以  $y''$  及  $z''$  軸表示：

$$E_{Pb}y' = \frac{E_{Pb}}{\sqrt{2}}(y'' - z'') \quad (2.22)$$

當探測雷射光入射 ZnTe 晶體時，其在  $y''$  和  $z''$  的分量所對應之折率分別為  $n_{y''}$ 、 $n_{z''}$ ，故經此加偏壓之電光晶體時，會產生與其成正比之相位差  $\Gamma$ ，如(2.21)式所示，故經 ZnTe 晶體後之探測光電場可寫作：

$$E_{out} = \frac{E_{Pb}}{\sqrt{2}}(y'' - z''e^{i\Gamma}) \quad (2.23)$$

若在電光晶體後面加入一極化分光鏡 (PBS, Polarizer Beam Splitter)，如圖 2-6 所示，則可將  $y'$  和  $z'$  方向的線偏極光分開，其分量分別為  $E_{out,y'}$  和  $E_{out,z'}$ ：

$$E_{out,y'} = E_{out} \cdot y' = \left[ \frac{E_{Pb}}{\sqrt{2}}(y'' - z''e^{i\Gamma}) \right] \cdot \left( \frac{y'' - z''}{\sqrt{2}} \right) = \frac{E_{Pb}}{2}(e^{i\Gamma} + 1) \quad (2.24)$$

$$E_{out,z'} = E_{out} \cdot z' = \left[ \frac{E_{Pb}}{\sqrt{2}}(y'' - z''e^{i\Gamma}) \right] \cdot \left( \frac{y'' + z''}{\sqrt{2}} \right) = \frac{E_{Pb}}{2}(e^{i\Gamma} - 1) \quad (2.25)$$

在 $y'$ 軸及 $z'$ 軸上之穿透率 (transmission)  $t$  則分別表示為 $t_{y'}$ 及 $t_{z'}$ ：

$$t_{y'} = \frac{|E_{out,y'}|^2}{|E_{in}|^2} = \frac{1}{4} |\cos \Gamma + i \sin \Gamma + 1|^2 = \frac{1}{2} (\cos \Gamma + 1) \quad (2.26)$$

$$t_{z'} = \frac{|E_{out,z'}|^2}{|E_{in}|^2} = \frac{1}{4} |\cos \Gamma + i \sin \Gamma - 1|^2 = \frac{1}{2} (1 - \cos \Gamma) \quad (2.27)$$

(2.26)式及(2.27)式中  $t$  對  $\Gamma$  之關係如圖 2-7 所示。由於實驗中產生的 THz 電場很小，由(2.21)式可知外加 THz 電場的 ZnTe 晶體所產生的相位差  $\Gamma$  也很小。如圖 2-7 所示，若  $\Gamma$  很小，則穿透後的探測光波形將失真。比較大的  $\Gamma$  才能有相對應之穿透率  $t$ 。改善的方法為在 ZnTe 晶體之後再加入  $\lambda/4$  波板，由  $\lambda/4$  波板提供  $\pi/2$  之相位差，將原本的操作區將移至圖中之線性操作區，以解決上述之失真問題。加入  $\lambda/4$  波片後，相位差為  $\Gamma + \Gamma_B$  (改成  $\Gamma + \pi/2$ )，我們改寫(2.26)式及(2.27)式如下：

$$t_{y'} = \frac{1}{2} (\cos(\Gamma + \Gamma_B) + 1) = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \cos(\Gamma + \Gamma_B) \cong \frac{1-\Gamma}{2} \quad (2.28)$$

$$t_{z'} = \frac{1}{2} (1 - \cos(\Gamma + \Gamma_B)) = \frac{1}{2} - \frac{1}{2} \cos(\Gamma + \Gamma_B) \cong \frac{1+\Gamma}{2} \quad (2.29)$$

設入射光強度為  $P_0$ ，則其在  $y'$  及  $z'$  兩軸上之穿透強度分別為：

$$P_{y'} \cong \frac{1-\Gamma}{2} P_0 \quad P_{z'} \cong \frac{1+\Gamma}{2} P_0 \quad (2.30)$$

經由光電二極體分別讀取其光強度值，再求取此兩道光之強度差

$\Delta I$ ，則可得到  $\Delta I$  如下式所示：

$$\Delta I = P_{z'} - P_{y'} = \Gamma P_0 \quad (2.31)$$

將 (2.21)式入(2.31)式：

$$\Delta I = \frac{n_0^3 r_{41} E_{THz} \omega L P_0}{c} \quad (2.32)$$

當  $E_{THz}$  為 0 時， $y'$  及  $z'$  兩軸上的相位差為 0，兩道光之強度差為 0，當  $E_{THz}$  不為 0 時，光強度差與  $E_{THz}$  成線性關係，故由此光強度差  $\Delta I$  與  $E_{THz}$  之關係，我們可描繪出  $E_{THz}$  之波形變化。

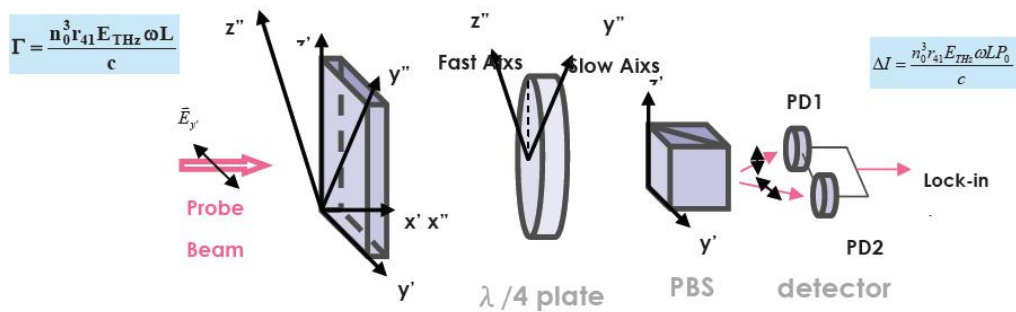


圖 2-6：電光取樣系統架構圖

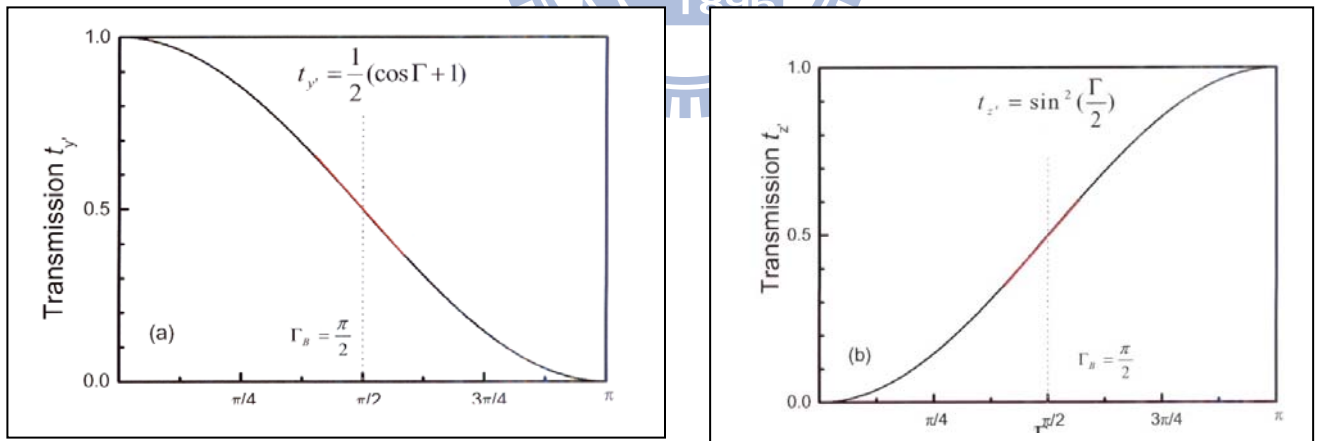


圖 2-7：穿透率與相位延遲的關係

我們產生 THz 輻射的光學系統架設如圖 2-8。以鎖模鈦藍寶石雷射 (Mode Locked Ti-Sapphire Laser) 作為 THz 輻射的激發光源，使用連續波固態雷射 (Solid State Laser) 激發鈦藍寶石產生超短脈衝雷射，



產生的雷射光脈衝寬度約為 30 fs，中心波長為 800 nm，脈衝輸出重複率（Repetition Rate）為 80 MHz，輸出功率約為 800 mW，雷射光的偏振方向在水平方向。

以分光鏡將脈衝雷射光源分成兩道強度比為 1：1 的雷射光，一道作為激發 THz 輻射的激發光（pump beam），另一道則為探測光（probe beam）。

激發光先經 Chopper 以 2.33 KHz 頻率調制，並將此調變訊號送至鎖相放大器，以配合鎖相放大器偵測訊號，其訊號輸送線路如圖 2-6 所示。激發光經一透鏡聚焦於 THz 輻射元件上，激發此元件而產生 THz 輻射，THz 輻射產生後，我們以兩對離軸拋物面鏡（paraboloidal mirror）將 THz 輻射導引至 ZnTe 晶體。

探測光經由另一道光路前進，為了改變激發光與探測光之間的光程差，我們在探測光的光路上設置 Retrorefractor 組成的時間延遲（time delay）裝置，並由一個移動控制器（motion controller）控制。實驗過程中移動參數將告知電腦，使我們可藉由調整時間延遲裝置的位置來改變探測光的光程。通過時間延遲裝置後，經一個離軸拋物面鏡收集後聚焦於 ZnTe 晶體上。我們在 ZnTe 晶體前置放一透射率 90%與反射率 10%的分光鏡，使 THz 輻射與探測光合併於同一光路上，並儘量使 THz 輻射與探測光聚焦於 ZnTe 晶體上的同一位置，由前述 ZnTe 之工

作原理可知，THz 輻射場會影響 ZnTe 晶體的折射率，使得入射的探測光產生一相位延遲，本系統之 THz 輻射及探射光皆沿著 ZnTe 晶體之 <110>方向前進，且 THz 輻射場的偏振方向在水平方向，故通過 ZnTe 晶體後探測光將產生一相位差  $\Gamma$ ：

$$\Gamma = \frac{n_0^3 r_{41} E_{THz} \omega L}{c} = \frac{2\pi}{\lambda} L n_0^3 r_{41} E_{THz}$$

探測光再經過與其偏振方向成 45° 的  $\lambda/4$  波片後， $\lambda/4$  提供其快軸與慢軸  $\pi/2$  的相位延遲後，使 ZnTe 晶體的電光調變偏壓點在線性區操作，由前述，我們可得透射係數比與 THz 輻射場之關係，之後由極化分光鏡將之分成偏振方向互相垂直的兩道光，並以光電二極體讀取這兩道光的訊號，最後對這兩道光訊號進行差分求得光強度比後，將訊號送至鎖相放大器。

訊號經鎖相放大器做長時間積分與平均後，和移動平台控制器的資訊一併匯入電腦，便可取得某個延遲時間（delay time）下的 THz 輻射強度。改變時間延遲裝置的位置，可使激發光與探測光間產生不同的光程差，藉由改變時間延遲裝置的位置提供不同的延遲時間，我們便可完整掃瞄出 THz 輻射的時域響應暫態波形。



## 第三章

### 樣品製備與基本特性分析

#### 3-1 細胞製備步驟

##### 3-1-1 類嗜中性球

人類骨髓癌細胞 (HL-60) 成長於含 10 % FCS、50 IU/ml penicillin、50 g/ml streptomycin 及 2 mM glutamine 的 37 °C RPMI-1640 培養液，並放在濕度 5 % CO<sub>2</sub> 細胞培養箱。需要使用類嗜中性球細胞時，於含有 HL-60 的培養皿中加入 1.3 % DMSO，使 HL-60 分化七天為類嗜中性球細胞。當需要大蒜精油加入培養時，則加入 3 µg/ml 大蒜精油於培養皿中，靜置於 37 °C 的烤箱中，一小時後取出，抽離上懸浮液，加入乾淨正常培養液。



##### 3-1-2 大蒜精油萃取

大蒜精油由中山醫學大學營養所劉承慈老師實驗室所提供。萃取過程為：取 1 公斤新鮮大蒜於 Warring Blender 中打碎，加入 2 公升蒸餾水，以水蒸氣蒸餾法 (steam distillation method) 抽取可揮發部份，所取得油狀物即為大蒜精油，每一回抽出時間為 4 小時，每公斤生鮮大蒜約可抽取 2-2.5 公克精油。所得精油組成為 10 % diallyl sulfide、39 % diallyl disulfide、31 % diallyl trisulfide、2 % methyl allyl disulfide 及 8 % methyl allyl trisulfide。

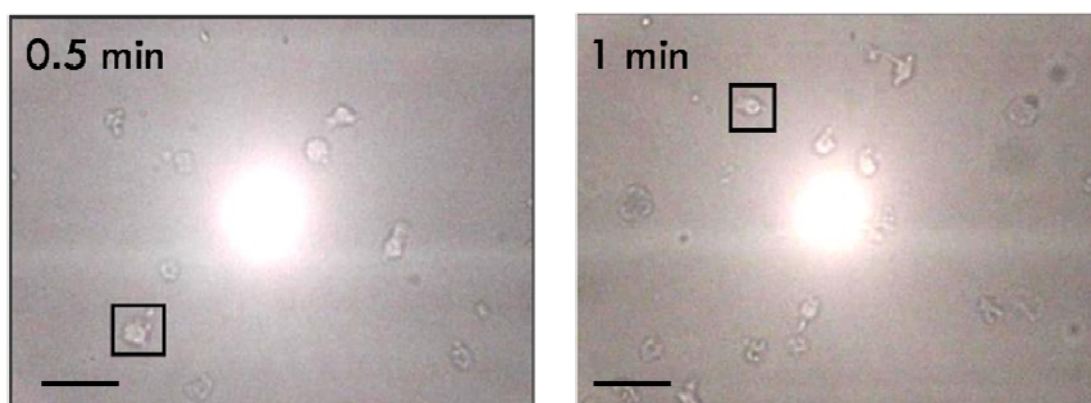
### 3-2 細胞特性分析-光破壞細胞實驗(Photo-damage)

我們利用徐琅老師實驗室提供的染劑(trippon blue)來探討類嗜中性球是否會受 THz 影響。實驗步驟是將照射過 THz 的類嗜中性球滴入染劑後在光學顯微鏡下觀察，來判定類嗜中性球的健康狀況。

#### 實驗步驟

1. 電壓固定為 250V，以時間為參數，分別照射 100 $\mu$ l 類嗜中性球(以比色槽裝置)時間為 30 s, 1 min, 5 mins, 10 mins, 30 mins, 60 mins。
2. 待樣品照射 THz 後，從比色槽取出 100 $\mu$ l 類嗜中性球再以 1:1 比例和染劑混合後滴入載玻片上，用顯微鏡觀察細胞的健康程度。
3. 藉由調整外加在 THz Emitter 的電壓，改變 THz 強度大小。調整電壓範圍為 200V, 230V, 250V, 280V, 300V。待 THz 照射 100 $\mu$ l 類嗜中性球 10 mins 後，重複步驟 2。

#### 實驗結果



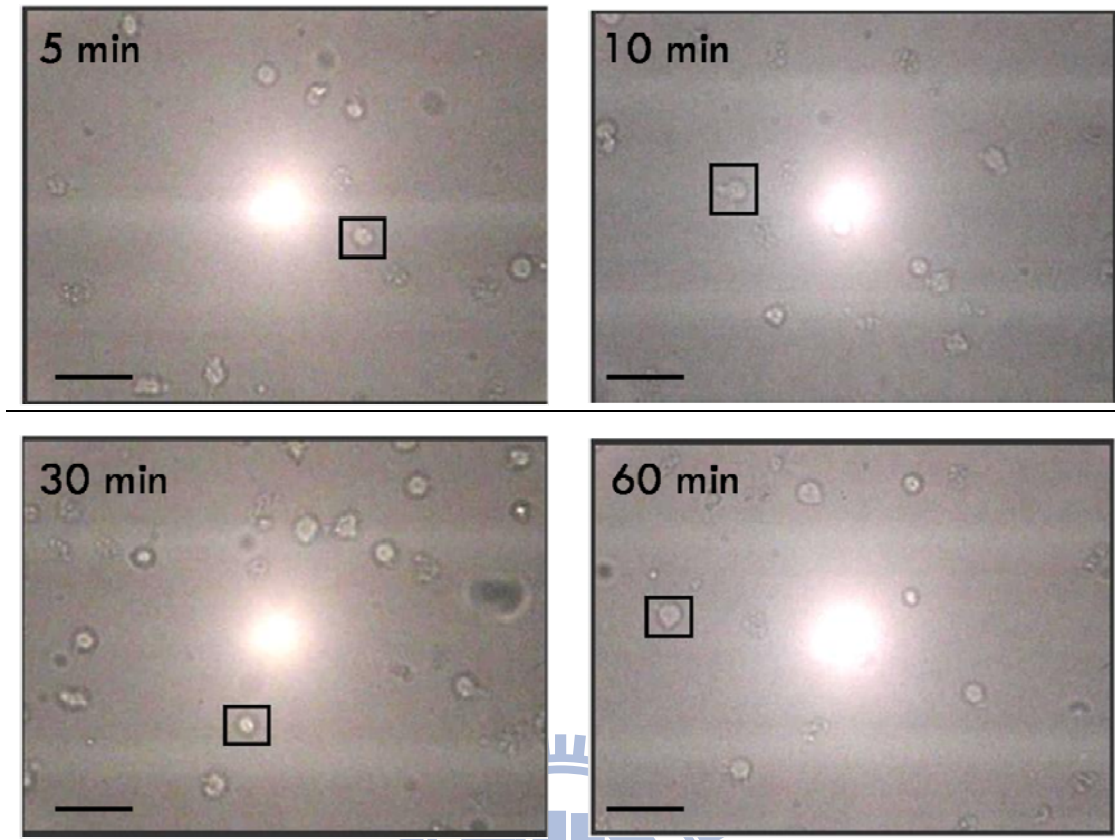
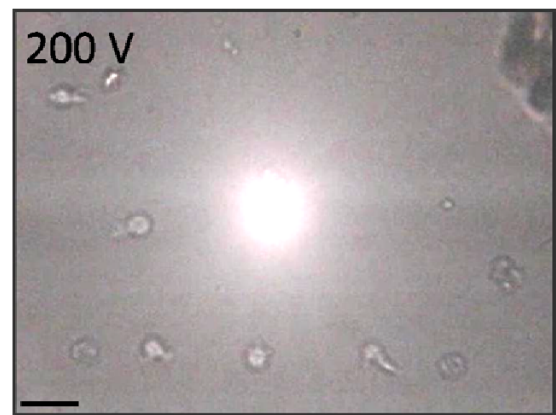
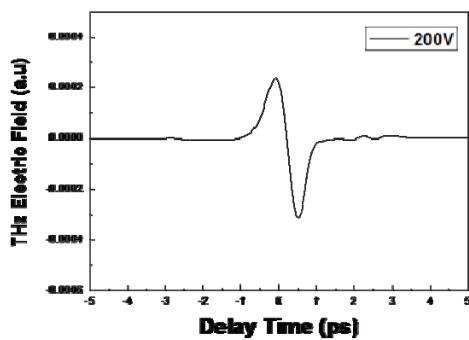


圖 3-1：固定 THz 強度，不同照射時間的類嗜中性球。使用物鏡的倍率為 20 倍

根據上面六張圖，可以發現細胞照射過 THz 之後細胞膜並沒有受到 THz 破壞使得染劑可以滲透進細胞中，細胞仍然是活著的狀態。圖中有些細胞呈現不規則形狀的原因是長出偽足變形。





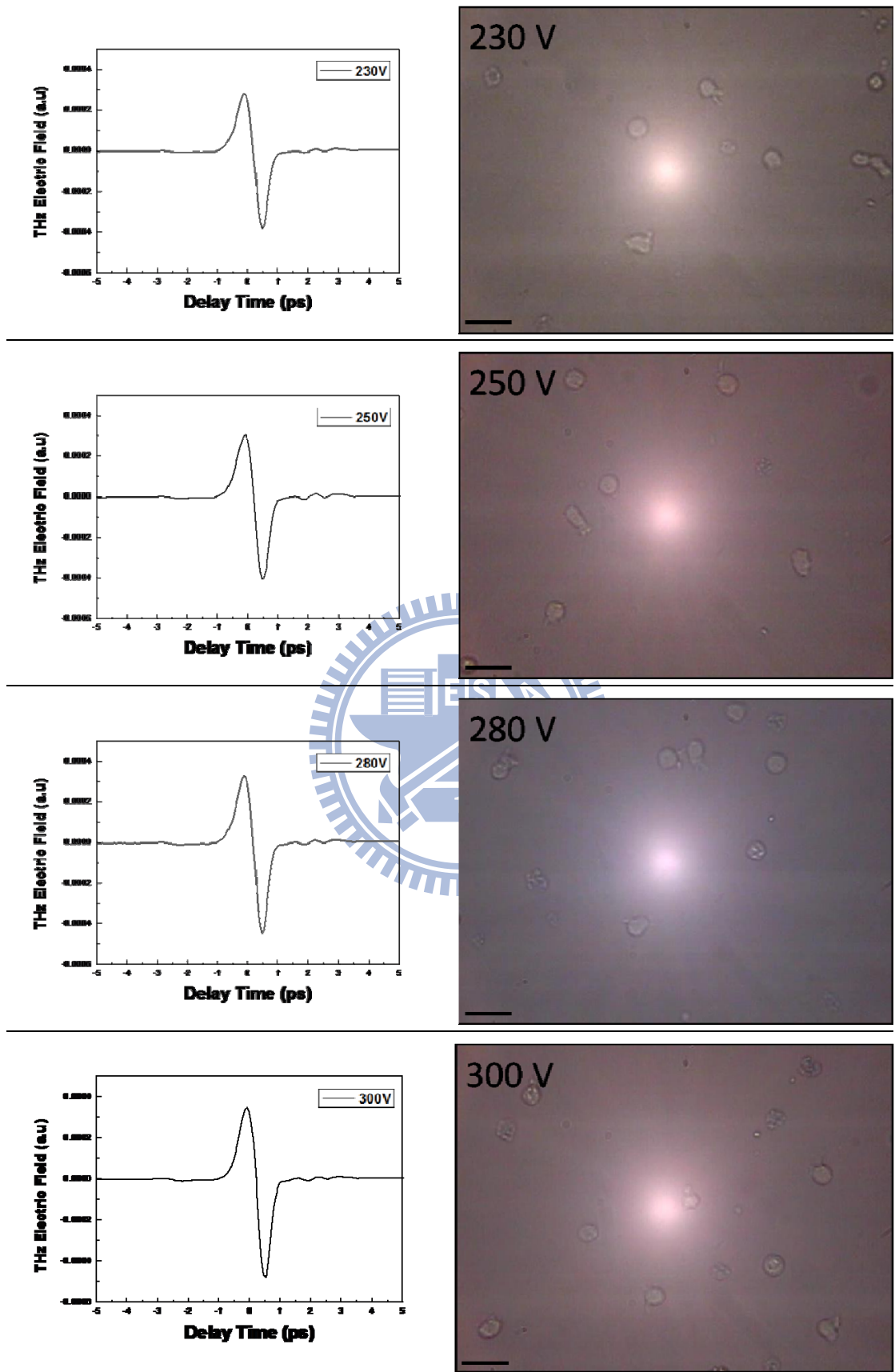


圖 3-2：不同 THz 強度，固定照射時間的類嗜中性球。使用物鏡的倍率為 20 倍

左圖顯示的是照射在類嗜中性球的 THz 波形與強度，右圖顯示則是照射細胞的形貌。雖然 THz 強度變強，但細胞仍然是維持活的狀態，並沒有因為照射過 THz 而受到傷害。

從上述結果我們發現，類嗜中性球不會受到 THz 的傷害而死亡，依舊能維持原有的生命狀態。

### 3-3 原子力顯微鏡

我們所使用的原子力顯微鏡操作模式為輕敲式 (tapping mode)，探針的尖端大小為原子的數量級，而探針與樣品間的作用力為原子與原子之間的作用力，所以經由作用力大小的變化，很容易得到原子級的解析度。藉由 AFM 的檢測，我們可以得到細胞表面的狀況和細胞的厚度。觀察實驗結果，活的類嗜中性球保有細胞膜和細胞的原貌。但加入酒精後，細胞膜破裂，裡面的細胞質流出導致細胞死亡。比較形貌圖上細胞的圖像，也變得難以辨識，在壞死的類嗜中性球形貌圖上原本膠的訊號也和細胞內的物質混合在一起而模糊不清。橫截面圖清楚顯示活的類嗜中性球細胞比壞死的細胞厚。精確的細胞厚度對接下來我們計算細胞介電常數非常重要，詳細的推導將在第四章敘述。



	類嗜中性球	壞死類嗜中性球
大小	8 $\mu\text{m}$	8 $\mu\text{m}$
厚度	2.5 $\mu\text{m}$	2 $\mu\text{m}$
	類嗜中性球加大蒜精油	壞死類嗜中性球加大蒜精油
大小	10 $\mu\text{m}$	10 $\mu\text{m}$
厚度	2.5 $\mu\text{m}$	2 $\mu\text{m}$

表 3-1：不同條件下類嗜中性球的大小與厚度比較。



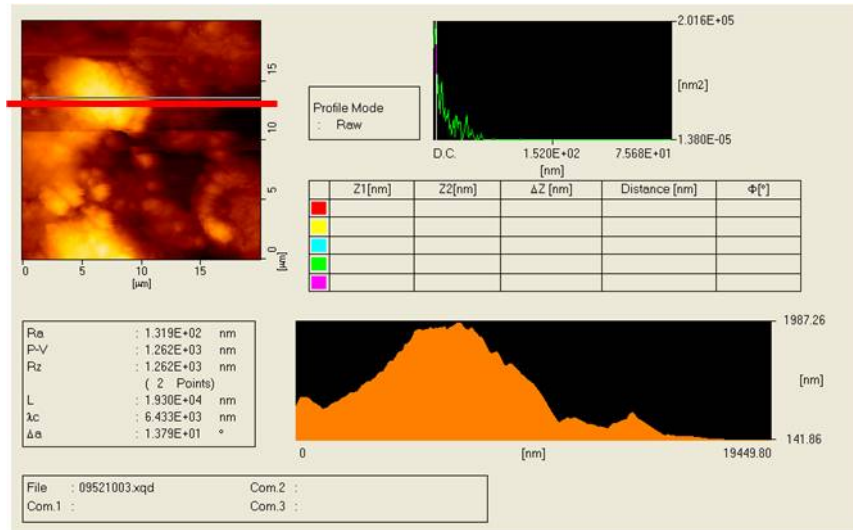
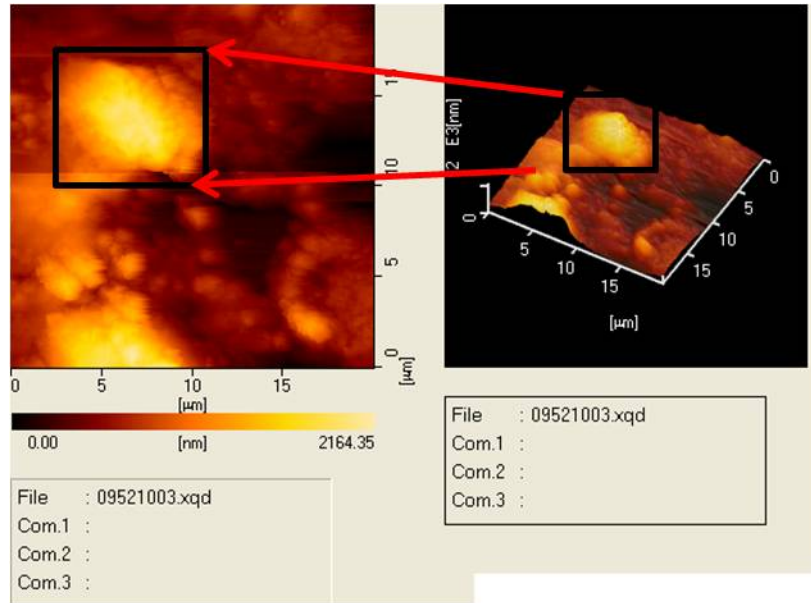


圖 3-3：類嗜中性球的 AFM。

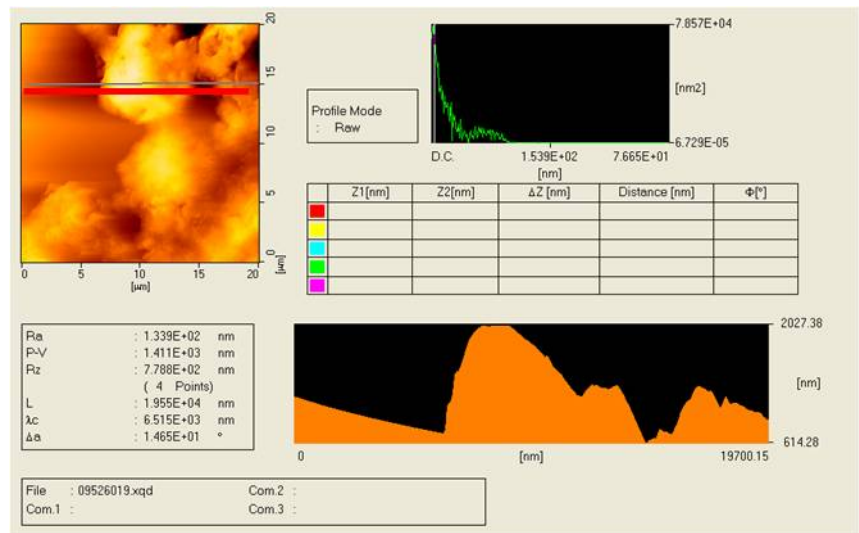
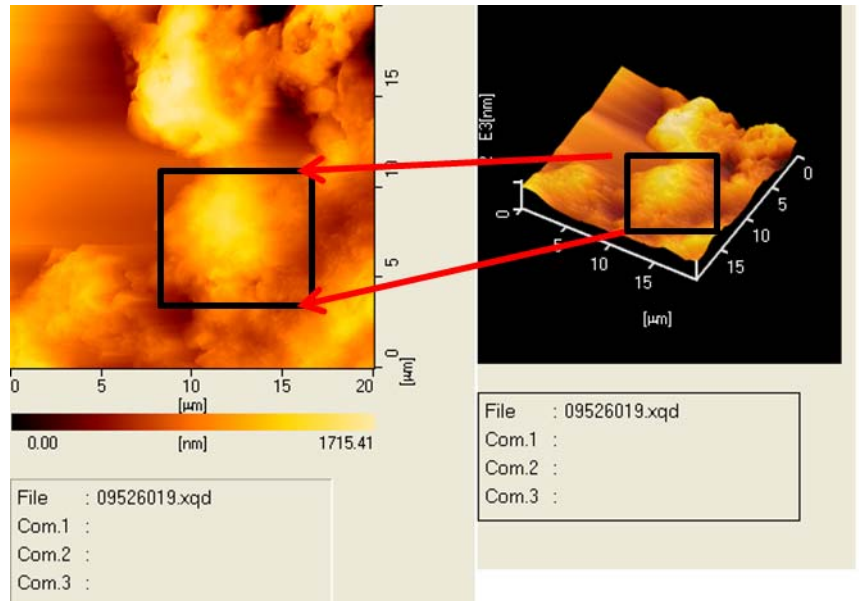


圖 3-4：類嗜中性球死亡的 AFM。

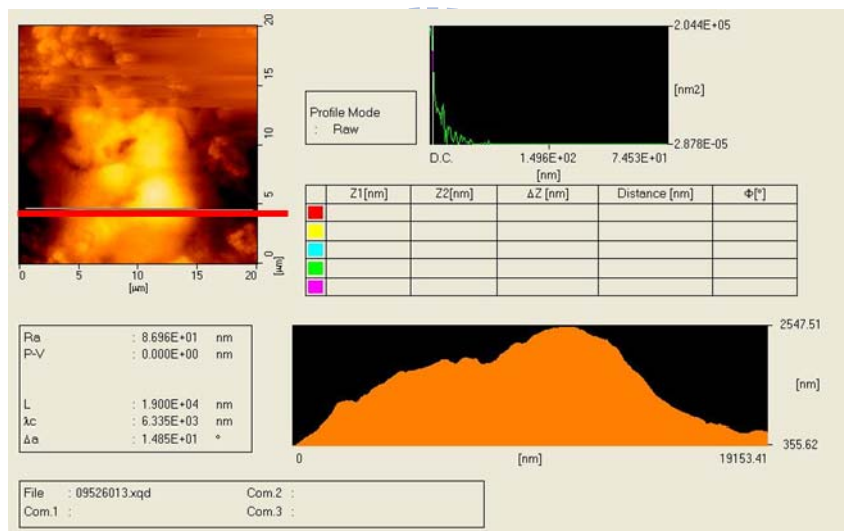
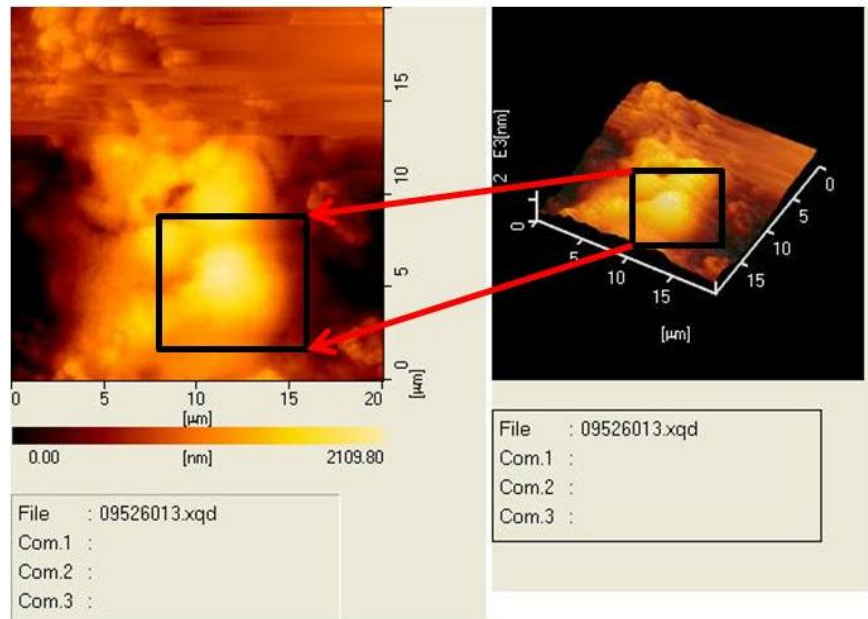


圖 3-5：類嗜中性球（加入大蒜精油）的 AFM。

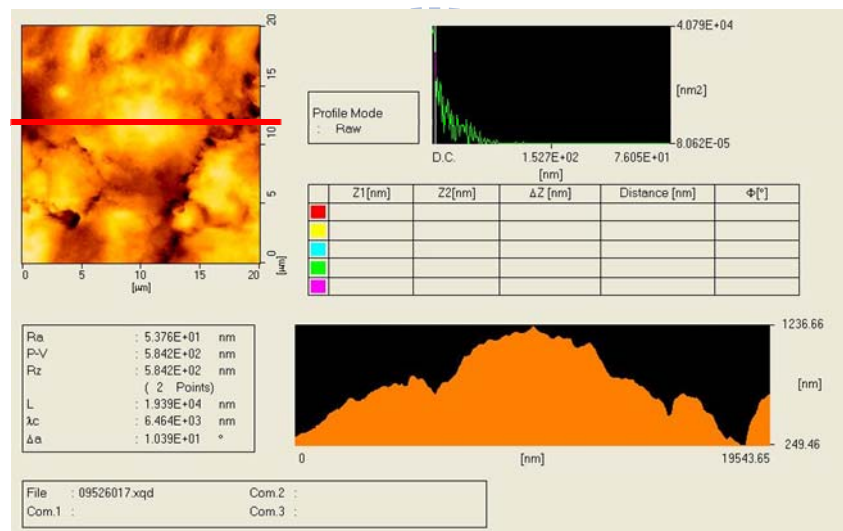
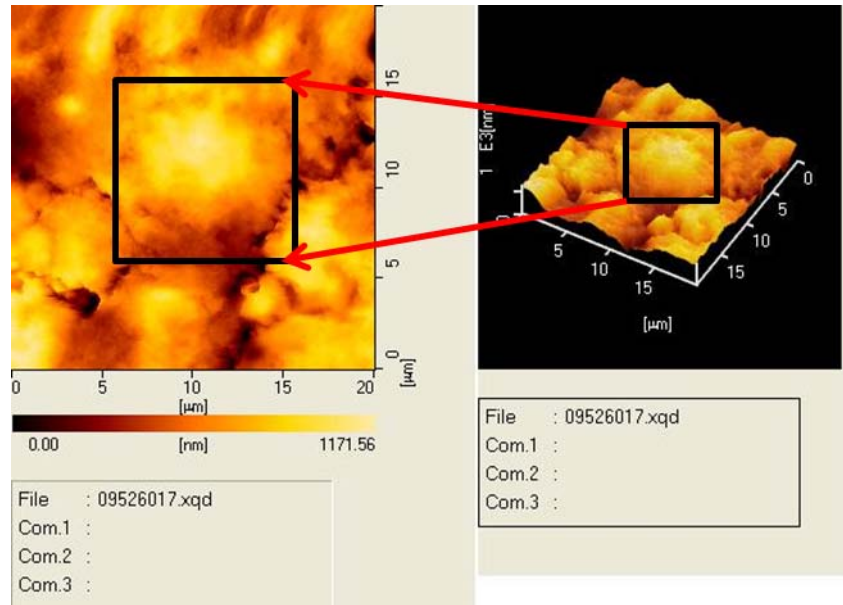


圖 3-6：類嗜中性球（加入大蒜精油）死亡的 AFM。

## 第四章

### 實驗相關電磁理論

#### 4-1 傅立葉轉換

量測時域訊號分佈  $E(t)$ ，經由傅立葉轉換，可取得其頻域訊號分佈  $E(\omega)$ ，以下是最原始的傅立葉積分式：

$$F(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t)e^{-i\omega t} dt \quad (4.1)$$

若  $E(t)$  在實驗中為離散式，而非函數，以傅立葉的離散式表示，此即所謂快速傅立葉轉換（Fast Fourier Transform）：

$$X(\omega) = \sum_{t=0}^{\infty} X(t)e^{-i\omega t} \quad (4.2)$$

而一般的實驗數據是在有限時間下所進行的有限數據，故若以  $N$  表示時域空間下的取樣個數，改寫（4.2）式如下：

$$X(k) = \sum_{n=0}^{N-1} X(t)e^{-i\frac{2\pi}{N}kt} \quad (4.3)$$

$k$ : 頻域之頻率指數

#### 4-2 實驗透射係數比

由我們所架設的 THz-TDS 系統，可以由量測得到樣品的時域訊號  $E_{sam}(t)$  及參考基板的時域訊號  $E_{ref}(t)$ ，另外我們將  $E_{sam}(t)$  和  $E_{ref}(t)$  各別做 4-1 節所介紹的傅立葉轉換獲得頻域訊號  $E_{sam}^*(\omega)$ ， $E_{ref}^*(\omega)$ ，定義  $E_{diff}^*(\omega) = E_{sam}^*(\omega, n^*) - E_{ref}^*(\omega)$ 。

##### 4-2-1 基板 $n$ 與 $k$ 的理論計算

當 THz 經過基板時，基板會產生相對於空氣的時間延遲，

$$\Delta t = \frac{(n_3 - 1)d}{c} \quad (4.4)$$

其中  $n_3$  為基板的折射率， $d$  為基板的厚度， $C$  為光速。如果已知基板厚度與延遲時間，從(4.4)式能獲得基板的折射率並對照時域訊號。

利用基板與自由空間穿透電場計算基板的折射率。假設  $E_0(t)$  為自由空間的電場強度， $E_t(t)$  為穿過參考基板的電場強度，如圖 4-1。根據 4-1 小節將時域訊號做傅立葉轉換獲得  $E_0(\omega)$  和  $E_t(\omega)$ 。其中

$$\frac{E_t(\omega)}{E_0(\omega)} = T \frac{e^{i\frac{n_2\omega d}{c}}}{e^{i\frac{\omega d}{c}}} = \rho e^{i\Delta} \quad \text{其中 } T = t_{12}t_{21}$$

$$\rho e^{i\Delta} = \frac{4n_2}{(n_2+1)^2} e^{i\frac{(n_2-1)\omega d}{c}} \quad \text{where } n_2 = n + ik$$

$\rho$  為頻譜上穿過基板與空氣電場強度比值， $\Delta$  為基板與空氣的相位差。

首先假設基板的  $n \gg k$

$$n \approx 1 + \frac{c\Delta}{\omega d}$$

$$k \approx -\frac{c}{\omega d} \ln\left(\rho \frac{(1+n)^2}{4n}\right)$$

$n_2$  為參考基板的複數折射率， $n$  為折射率實部， $k$  為折射率虛部。在物理意義上，折射率實部對電磁波來說主要造成相位延遲，折射率虛部則代表吸收。



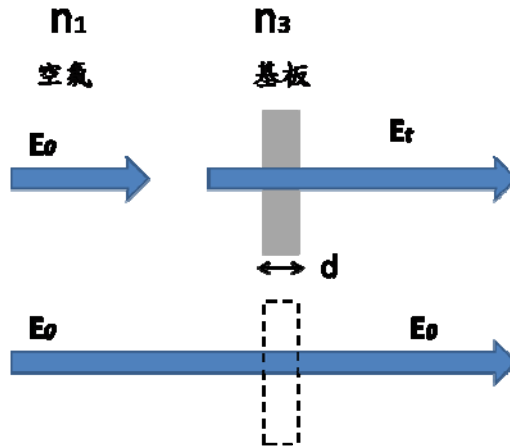


圖 4-1：THz 垂直經過基板與空氣傳遞示意圖

### 4-3 薄膜性質的理論計算

#### 4-3-1 理論透射係數比[34]

如圖 4-2、4-3 所示，THz 輻射垂直正向入射類嗜中性球/參考基板，從空氣經過進入薄膜後再穿過基板進入空氣中，空氣、薄膜、基板折射率分別為  $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$ ，細胞厚度  $d_2$ ，參考基板厚度為  $d_3$ 。由於基板的折射率與空氣很接近，所以不考慮 THz 在基板中的多重反射，經過計算後得到穿透樣品的 THz 電場

$$\begin{aligned}
 E_{sam}(\omega) &= E_1(\omega) + E_2(\omega) + E_3(\omega) + \dots \\
 &= (t_{12}t_{23}e^{i\delta(\omega)} \\
 &\quad + t_{23}r_{12}r_{32}t_{12}e^{i3\delta(\omega)} + t_{23}r_{12}^2r_{32}^2t_{12}e^{i5\delta(\omega)} \\
 &\quad + \dots)t_{31}e^{\frac{id_2n_2\omega}{c}}E_0(\omega) \\
 &= \frac{t_{12}t_{23}e^{i\delta(\omega)}}{1 - r_{12}r_{32}e^{2i\delta(\omega)}}t_{31}e^{\frac{id_2n_2\omega}{c}}E_0(\omega)
 \end{aligned}
 \tag{4.5}$$



其中  $E_0$  為入射電場， $t_{AB} = \frac{2n_A}{n_A + n_B}$  為穿透係數， $r_{AB} = \frac{n_A - n_B}{n_A + n_B}$  為反射係

數，( $t_{AB}$  代表由介質 A 穿透到介質 B， $r_{AB}$  代表由介質 A 反射到介質 B)，

$\delta(\omega) = \frac{n_2 d_2 \omega}{c}$  ( $c$  為光速) 為薄膜造成的相位延遲。

另一個參考電場為只經過參考基板(Teflon、lysine，和類嗜中性球培養液)所得到的電場，可表示為

$$E_{ref}(\omega) = t_{13} t_{31} E_0(\omega) e^{\frac{id_3 n_3 \omega}{c}} e^{i \frac{d_2 \omega}{c}} \quad (4.6)$$

對於有吸收的類嗜中性球來說，穿透係數、反射係數和相位延遲中的折射率為一個複數(complex number)。假設 THz 電場在空氣中還有基板

中並不會有吸收，即空氣與基板的折射率為實數。將  $E_{sam}(t)$  和  $E_{ref}(t)$

各別做 4-1 節所介紹的傅立葉轉換獲得頻域訊號  $E^*_{ref}(\omega)$ ，

$E^*_{sam}(\omega, n^*)$ ，定義  $E^*_{diff}(\omega) = E^*_{sam}(\omega, n^*) - E^*_{ref}(\omega)$ 。接著我們將

穿透係數與反射係數帶入(4.5)式與(4.6)式中，首先化簡  $E_{sam}(\omega)$ ：

$$\begin{aligned} E_{sam}(\omega) &= \frac{\frac{4n_1 n_2}{(n_1 + n_2)(n_2 + n_3)} e^{i\delta}}{1 - \frac{(n_1 - n_2)(n_3 - n_2)}{(n_1 + n_2)(n_2 + n_3)} e^{2i\delta}} t_{31} e^{\frac{id_3 n_3 \omega}{c}} E_0(\omega) \\ &= \frac{2n_1 n_2}{n_1 n_2 \cos\left(\frac{n_2 d_2 \omega}{c}\right) - in_1 n_3 \sin\left(\frac{n_2 d_2 \omega}{c}\right) - in_2^2 \sin\left(\frac{n_2 d_2 \omega}{c}\right) + n_2 n_3 \cos\left(\frac{n_2 d_2 \omega}{c}\right)} t_{31} e^{\frac{id_3 n_3 \omega}{c}} E_0(\omega) \\ &\approx \frac{2n_1}{n_1 - in_1 n_3 \frac{d_2 \omega}{c} - in_2^2 \frac{d_2 \omega}{c} + n_3} t_{31} e^{\frac{id_3 n_3 \omega}{c}} E_0(\omega) \end{aligned}$$

since  $\frac{n_2 d_2 \omega}{c} \ll 1$  (4.7)

同理， $E_{diff}(\omega)/E_{ref}(\omega)$ 如下面方程式：

$$\begin{aligned} \frac{E_{diff}(\omega)}{E_{ref}(\omega)} &= \frac{\frac{2n_1}{n_1 - in_1n_3 \frac{d_2\omega}{c} - in_2^2 \frac{d_2\omega}{c} + n_3}}{\frac{2n_1}{n_1 + n_3} e^{\frac{id_2\omega}{c}}} - 1 && \text{since } \frac{d_2\omega}{c} \ll 1 \\ &= \frac{1}{\left(1 - \frac{i(n_1n_3 + n_2^2)d_2\omega}{n_1 + n_3} \frac{d_2\omega}{c}\right) \left(1 + \frac{id_2\omega}{c}\right)} && \text{so } e^{\frac{id_2\omega}{c}} \approx 1 + \frac{id_2\omega}{c} \\ &= \frac{1}{1 + \frac{id_2\omega}{c(n_1 + n_3)}(n_1 + n_3 - n_1n_3 - n_2^2)} - 1 \\ &\approx 1 - \frac{id_2\omega}{c(n_1 + n_3)}(n_1 + n_3 - n_1n_3 - n_2^2) - 1 \\ &= \frac{id_2\omega}{c(n_1 + n_3)} \left( (n + i\kappa)^2 - n_3 - n_1 + n_1n_3 \right) && \boxed{n_2 = n + i\kappa} \quad (4.8) \\ &\equiv \rho e^{i\Delta} = \rho(\cos \Delta + i \sin \Delta) && (4.9) \end{aligned}$$

在本實驗中，量測 THz 穿過樣品時域訊號與基板時域訊號後做傅立葉

轉換可計算  $\rho = \left| \frac{E_{diff}(\omega)}{E_{ref}(\omega)} \right|$  與  $\Delta$ 。

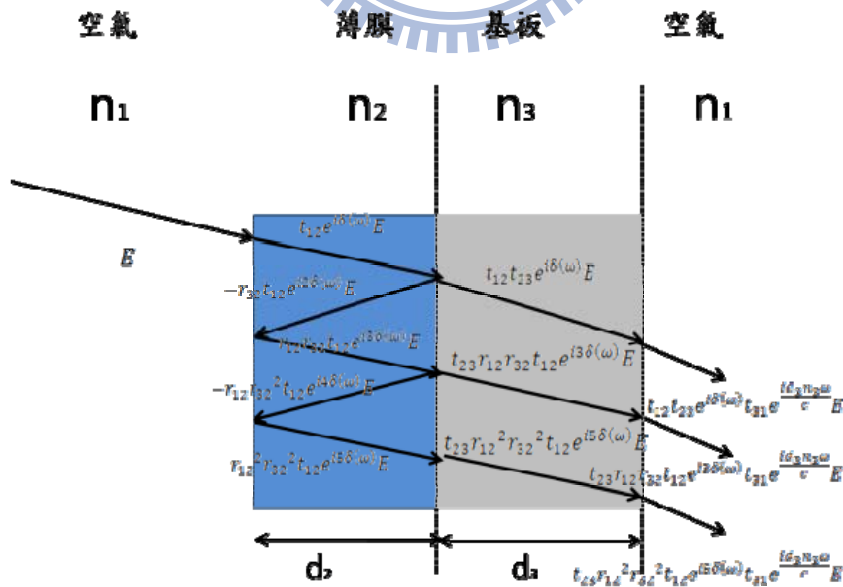


圖 4-2：THz 經過薄膜傳遞示意圖

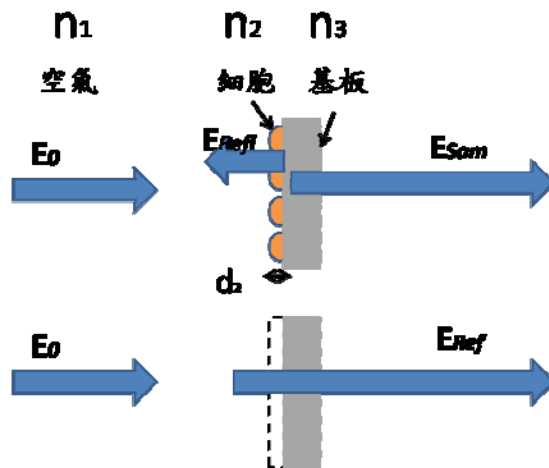


圖 4-3：THz 經過基板與樣品示意圖

#### 4-3-2 介電常數與複數折射率

介電函數的實數部分與虛數部分可由  $\epsilon' = n^2 - k^2$  和  $\epsilon'' = 2nk$  得到，比較(4.8)與(4.9)兩式，可以得到

$$\epsilon' = \frac{c}{d_2 \omega} (n_1 + n_2) \rho \sin \Delta - n_1 n_2 + n_1 + n_2 \quad (4.10)$$

$$\epsilon'' = \frac{c}{d_2 \omega} (n_1 + n_2) \rho \cos \Delta \quad (4.11)$$

由介電常數的實部與虛部(4.10)與(4.11)式得到折射率的實部與虛部與吸收

$$n = \frac{1}{\sqrt{2}} \left[ \epsilon' + \sqrt{\epsilon'^2 + \epsilon''^2} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (4.12)$$

$$k = \frac{\epsilon''}{\sqrt{2} \left[ \epsilon' + \sqrt{\epsilon'^2 + \epsilon''^2} \right]^{\frac{1}{2}}} \quad (4.13)$$

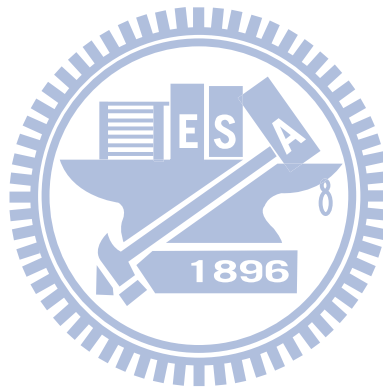
考慮一平面電磁波經過樣品的電場

$$E(z, t) = E_0 e^{i\left(\frac{\omega n_2}{c} z - \omega t\right)} \quad \text{where } n_2 = n + ik$$

$$\text{所以 } E(z, t) = E_0 e^{i(\frac{\omega}{c}z - \omega t)} = E_0 e^{i(\frac{\omega}{c}(n+ik)z - \omega t)} = E_0 e^{-\frac{\omega k}{c}z} e^{i(\frac{\omega}{c}nz - \omega t)}$$

，強度為  $E(z, t)^2$  正比於  $E_0^2 e^{-\frac{2\omega k}{c}z}$ 。定義  $\alpha$  為吸收係數 (absorption coefficient)，單位為  $\text{cm}^{-1}$

$$\alpha = 2\omega k/c \quad (4.14)$$



# 第五章

## 實驗結果與討論

### 5-1 THz-TDS 經空氣量測結果

圖 5-1 為 THz 輻射經過去除水氣後的空氣所量到的時域訊號，經過系統量測，由此訊號也可以得知量測系統中的訊噪比，如圖 5-2，在本系統中訊噪比約為  $10^6$ 。

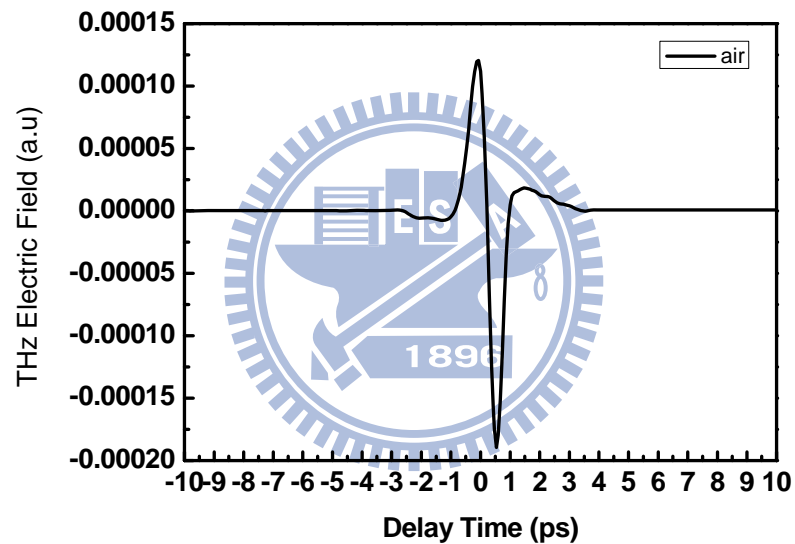


圖 5-1：THz 輻射單純經過空氣所量取到的時域訊號。

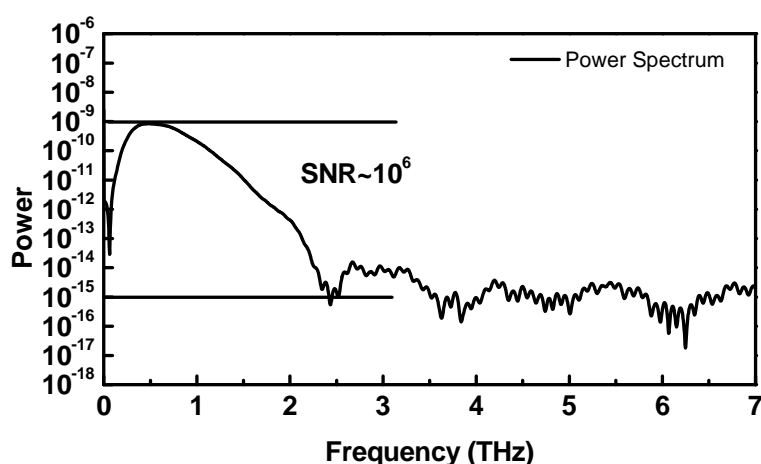


圖 5-2：THz 的功率頻譜。

如圖 5-3(a)，將 THz 時域訊號取傅立葉轉換得到頻域訊號，發現在沒有去除水氣的情況下，水氣對 THz 某些頻率有很強的吸收[34]，對照圖 5-3、圖 5-4 可以發現約在 0.556、0.753、0.989、1.099、1.115、1.165、1.209、1.230、1.412、1.7、1.85 THz 左右有水氣吸收峰出現。將水氣去除後，轉換後的 THz 頻譜原本出現的吸收峰消失。並且我們可以知道本系統 Si-InP 的 THz 輻射源中心頻率在 0.488THz，頻寬(Bandwidth)約為 0.738THz。THz 在行進中有可能遇到某些物質而使得 THz 發生多重反射，如圖 5-3(c)。圖中出現類似吸收峰的頻率並非代表那些頻率有吸收的情形，而只是多重反射的訊號經過傅立葉轉換後會發生調頻(modulation)作用。多重反射常會讓我們誤以為多重反射的訊號是樣品吸收。因此在實驗中勢必要將多重反射訊號去除後才能呈現正確的數據分析。

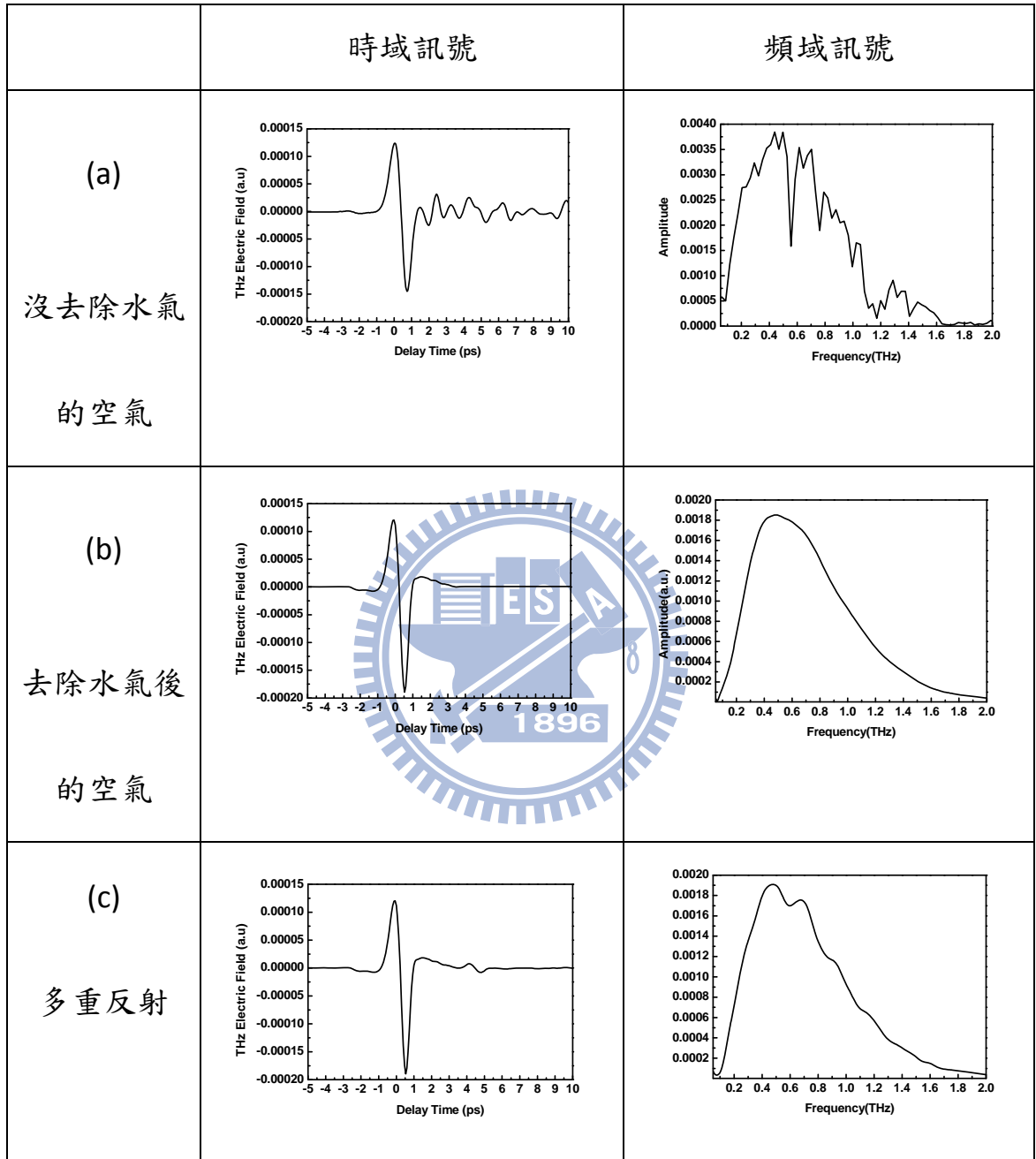


圖 5-3：THz 在不同條件下訊號比較，(a) 沒去除水氣  
的空氣(b) 去除水氣後的空氣(c) 多重反射。

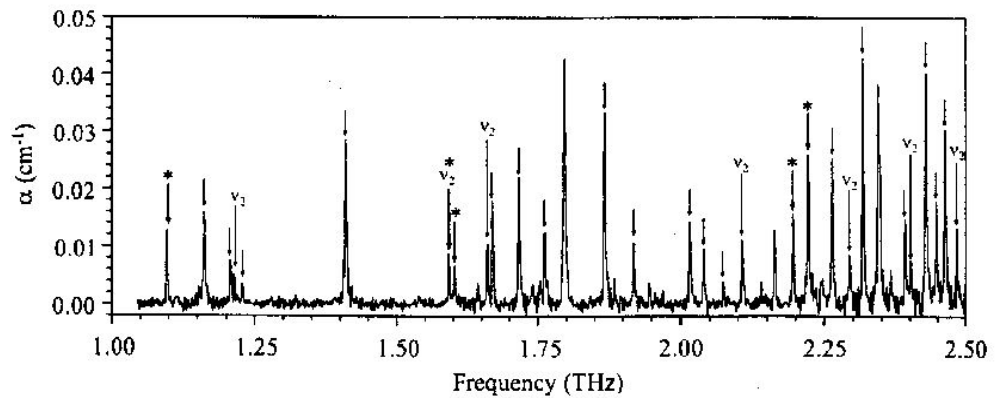
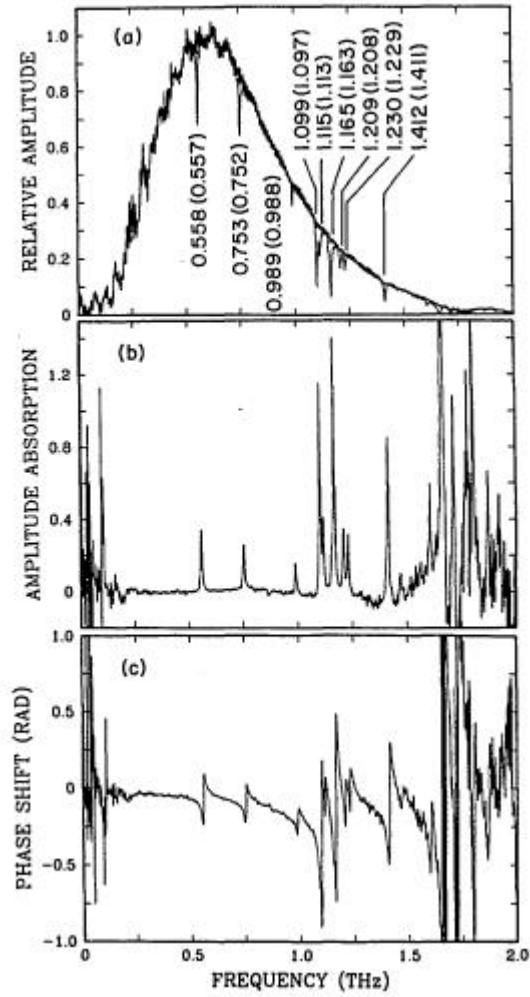


Fig. 2. Measured power absorption coefficient of active flame region. Lines marked with arrows are those for which linewidth was determined. Lines in the  $\nu_2 = 1$  vibrational state are marked with  $\nu_2$  and longer arrows. Numerical fits from Eq. (3) (solid curve) and the measured data (dots) for one individual line and two pairs of lines, marked with an asterisk, appear in upper panels.

圖 5-4：THz 輻射水氣吸收圖。



## 5-2 THz-TDS 經基板量測結果

### 5-2-1 基板測試

為了找出適合實驗的基板，我們選定不同的三種基板作為測試，0.17 mm 的載玻片、1 mm 的鐵弗龍、和 1 mm 的矽膠。圖 5-5 是量測三種基板的時域訊號，圖 5-6 則是時域訊號經過傅立葉轉換的結果。經過測試的結果，1 mm 的鐵弗龍有著較佳的穿透特性，而其他材料例如玻璃在 0.5 THz 到 1 THz 這個波段的吸收很強，導致有可能即使樣品在這部分有訊號也有可能因為基板的原因而不被察覺。即使一般生物實驗都是以載玻片作為基板，但我們還是選用不會影響細胞的鐵弗龍做為我們的基板。矽膠則因為穿透率低的原因而且其材質較軟不適合放置樣品，所以我們不予考慮。

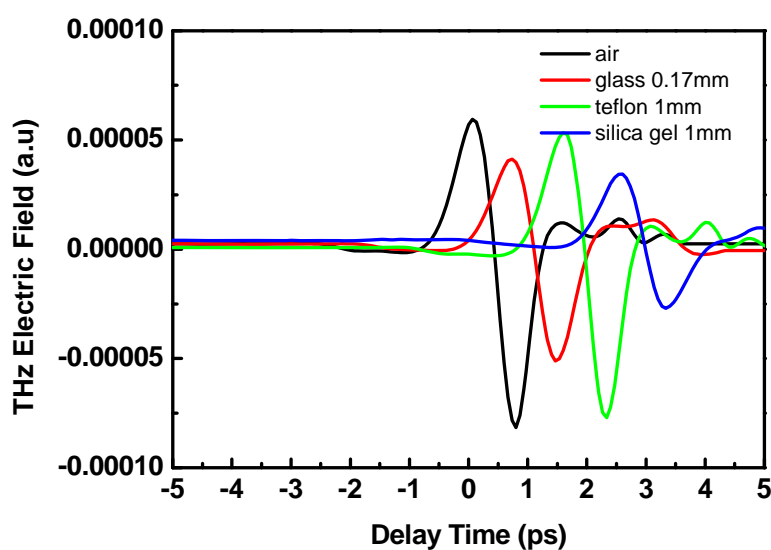


圖 5-5： THz 穿過基板的時域訊號。

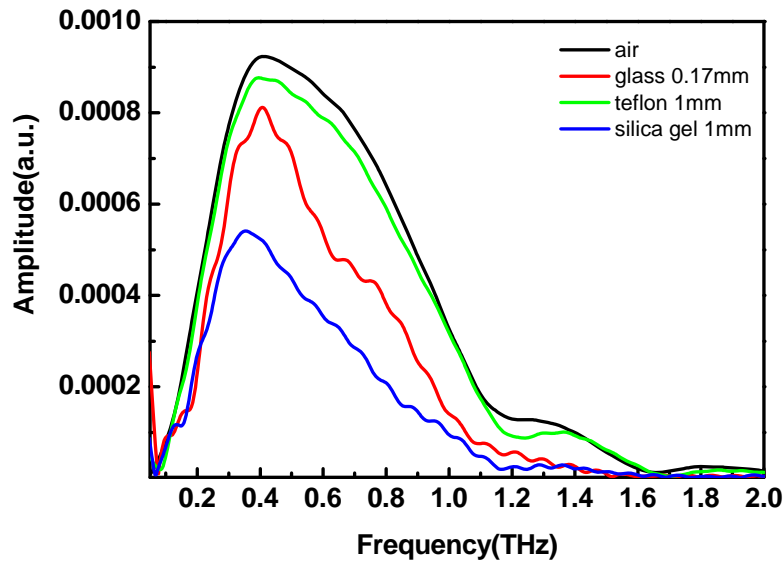


圖 5-6： THz 穿過基板的 FFT Spectrum。

### 5-2-2 時域訊號

在室溫下延遲時間為零的訊號為 THz 主訊號在自由空間傳播，另一訊號是我們讓 THz 經過參考基板。參考基板有兩種，其中一種包含 1 mm Teflon 板、黏膠 Lysine 和細胞培養液，如圖 5-7。另一種參考基板包含 1 mm Teflon 板、黏膠 Lysine、細胞培養液和大蒜精油，如圖 5-8。當 THz 經過參考基板時，參考基板會產生相對於空氣的時間延遲，

$$\Delta t = \frac{(n_s - 1)d}{c} \quad (5.1)$$

其中  $n_s$  為基板的折射率， $d$  為基板的厚度， $C$  為光速。如果已知基板厚度與延遲時間，從(5.1)式能獲得基板的折射率並對照時域訊號。

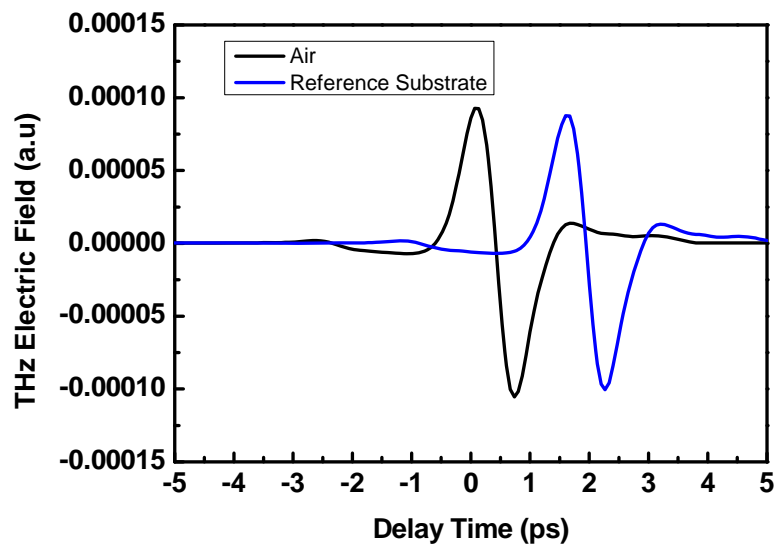


圖 5-7：THz 穿過參考基板（Teflon、Lysine 和細胞培養液）的時域訊號。

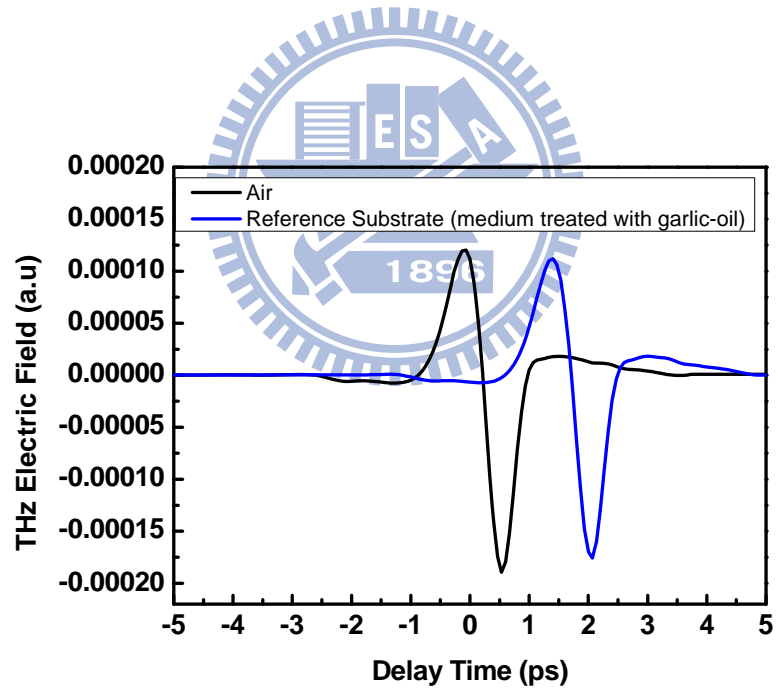


圖 5-8：THz 穿過參考基板（Teflon、Lysine、細胞培養液和大蒜精）的時域訊號。

### 5-2-3 頻域訊號

如圖 5-9、圖 5-10，將上述兩時域訊號做傅立葉轉換得到頻域分布，

觀察兩個訊號差別僅在經過參考基板的訊號振幅隨頻率均勻下降，其結果相當合理，原因為當我們不考慮多重反射的影響時，其透射係數比之振幅大小為

$$|T^*(\omega, n_s^*)| = \frac{4n_s^*}{(n_s^* + 1)^2} = \frac{E_{sub}^*(\omega, n_s^*)}{E_{air}^*(\omega)} \quad (5.2)$$

其中，基板為不吸收 THz 的材料，基板複數折射率  $n_s^*$  的虛部  $\kappa$  趨近於零，且實部  $n$  幾乎不隨頻率改變，如此一來  $|T^*(\omega, n_s^*)|$  便可視為一定值，所以  $E_{sub}^*(\omega, n_s^*) / E_{air}^*(\omega)$  應也為一常數，所以  $E_{sub}^*(\omega, n_s^*)$  與  $E_{air}^*(\omega)$  的頻譜分布應相同，而只有振幅下降。

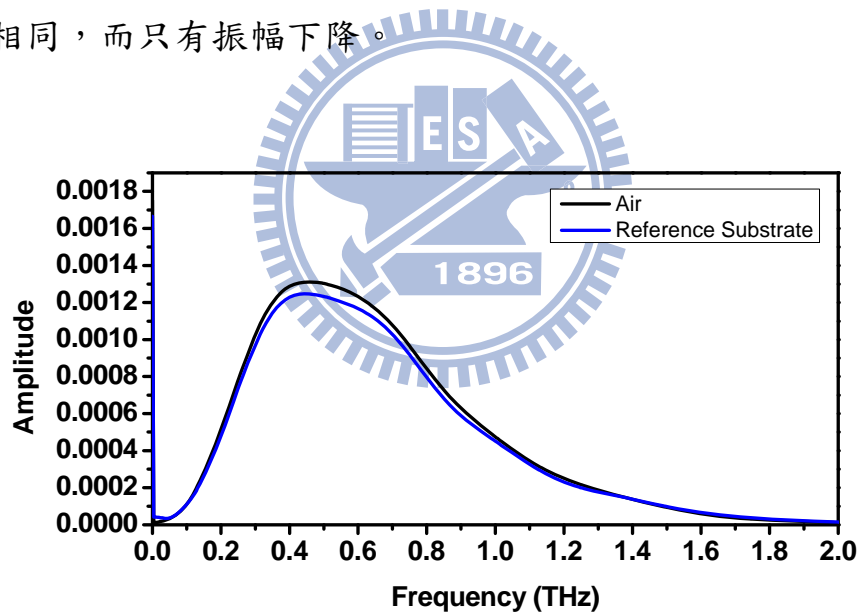


圖 5-9：THz 穿過參考基板（Teflon、Lysine 和細胞培養液）的時域訊號。

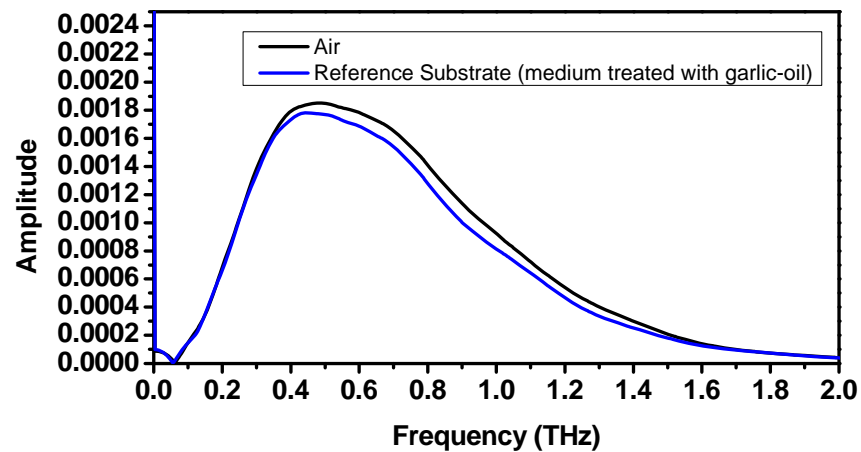


圖 5-10： THz 穿過參考基板（Teflon、Lysine、細胞培養液和大蒜精油）的頻域訊號。

#### 5-2-4 參考基板的量測結果

由第四章理論推導的過程中可知我們的目的是要計算出類嗜中性球的複數折射率，計算過程中需要獲得基板的折射率，在前面幾個小節得到 THz 經過空氣的訊號和 THz 經過參考基板的訊號，依照前章理論推導且經過數值計算，我們可以得到參考基板的複數折射率  $n^* = n + i\kappa$ ，如圖 5-11、圖 5-12。觀察參考基板複數折射率的變化，實部  $n$  隨頻率增加而變小，虛部  $\kappa$  在此頻段內趨近於零。

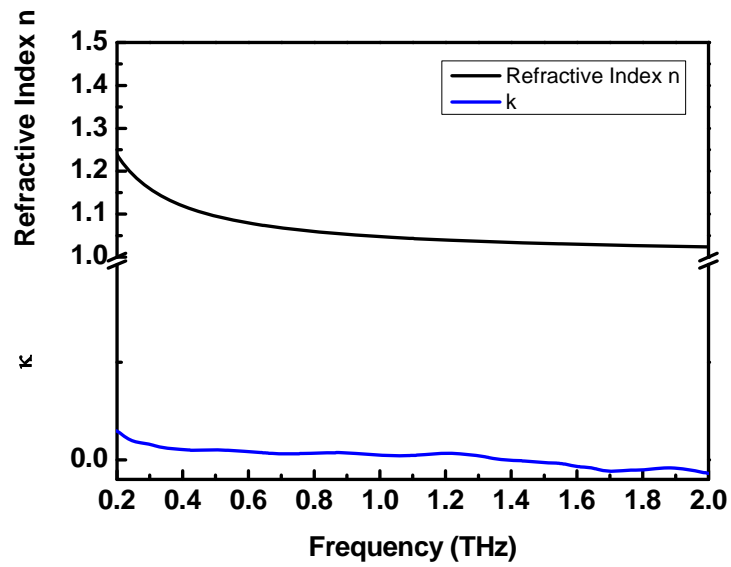


圖 5-11：經參考基板（Teflon、Lysine 和細胞培養液）之複數折射率量測結果。

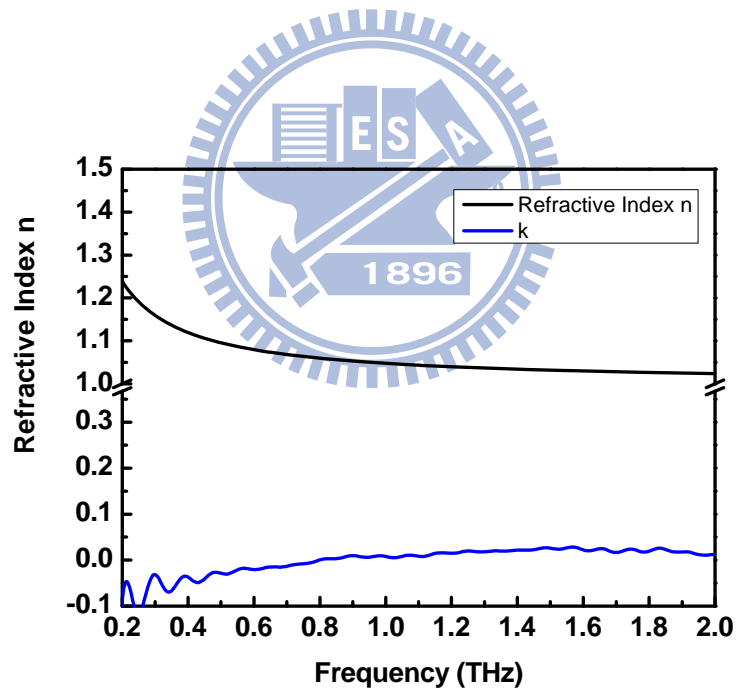


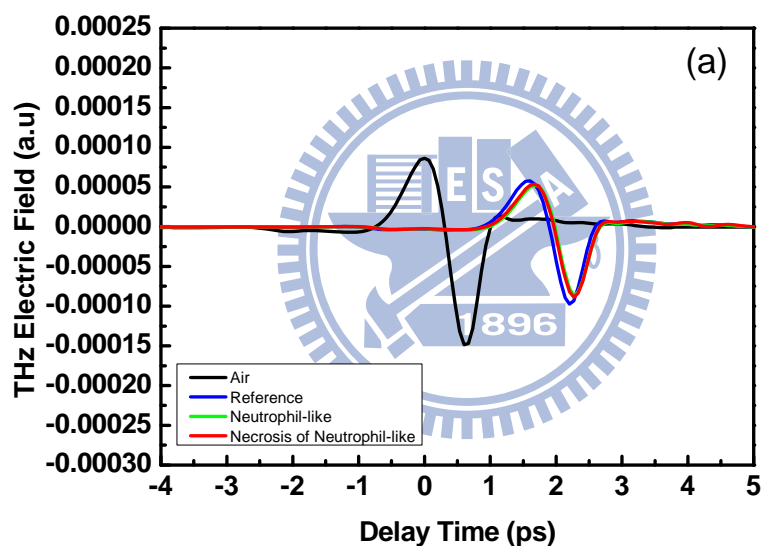
圖 5-12：經參考基板（Teflon、Lysine、細胞培養液和大蒜精油）之複數折射率量測結果。

### 5-3 類嗜中性球THz-TDS量測結果

#### 5-3-1 類嗜中性球與死亡後類嗜中性球時域和頻域訊號

圖 5-13 是比較 THz 穿過類嗜中性球與壞死類嗜中性球的時域訊

號。實驗步驟為先量測類嗜中性球，量測結束後在基板上滴入酒精使類嗜中性球壞死。比較兩者，類嗜中性球死亡之後，THz 的穿透率比原本存活時的類嗜中性球還要高。我們個別量測三次不同 HL60 細胞分化的類嗜中性球以確認實驗的再現性。經過 THz-TDS 量測後，樣品滴入染劑 trypan blue 確認細胞的狀態。將時域訊號作傅立葉轉換後可以獲得類嗜中性球與壞死的類嗜中性球在 THz 頻譜上的變化，如圖 5-14。



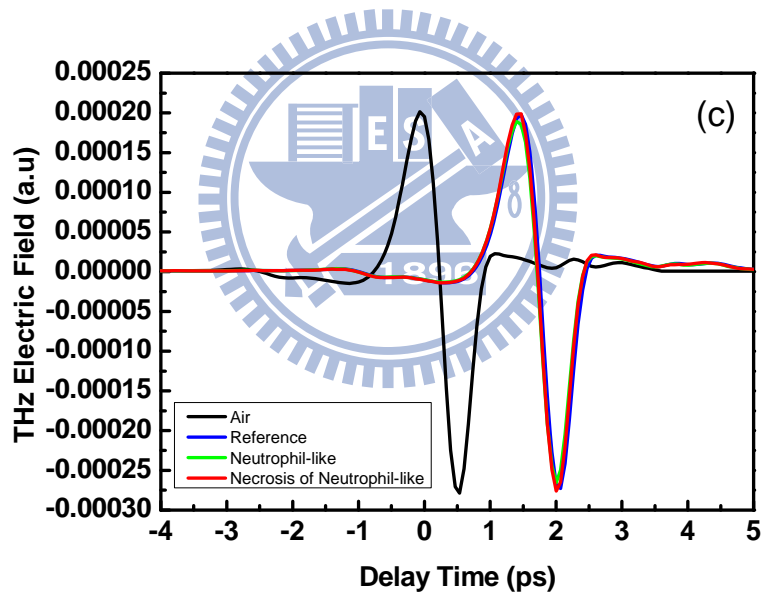
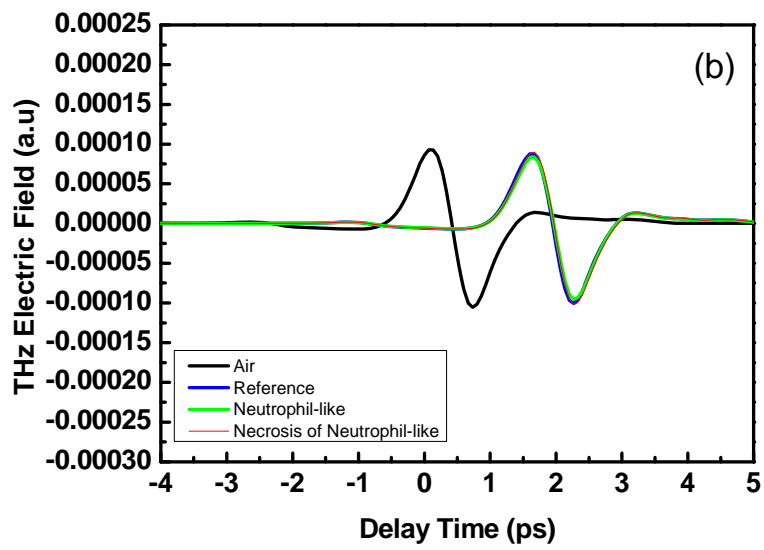
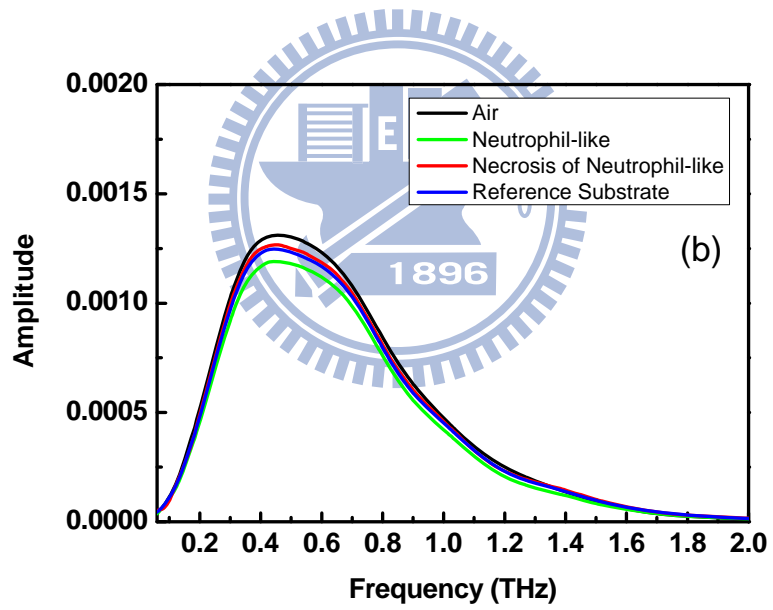
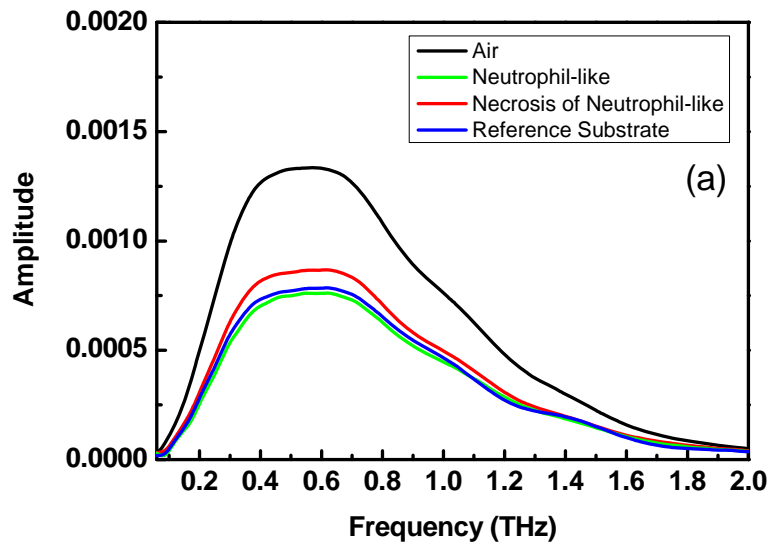


圖 5-13(a)、(b)、(c)：量測 THz 穿過三次不同 HL60 細胞分化的類嗜中性球的時域訊號。





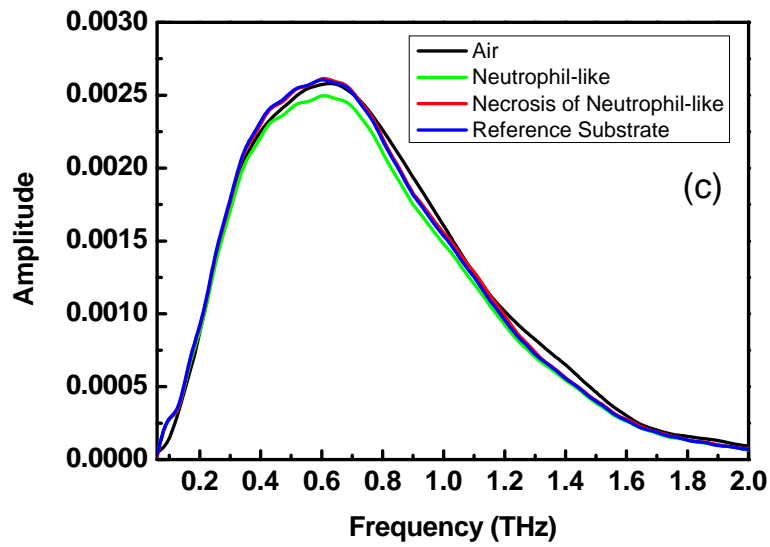


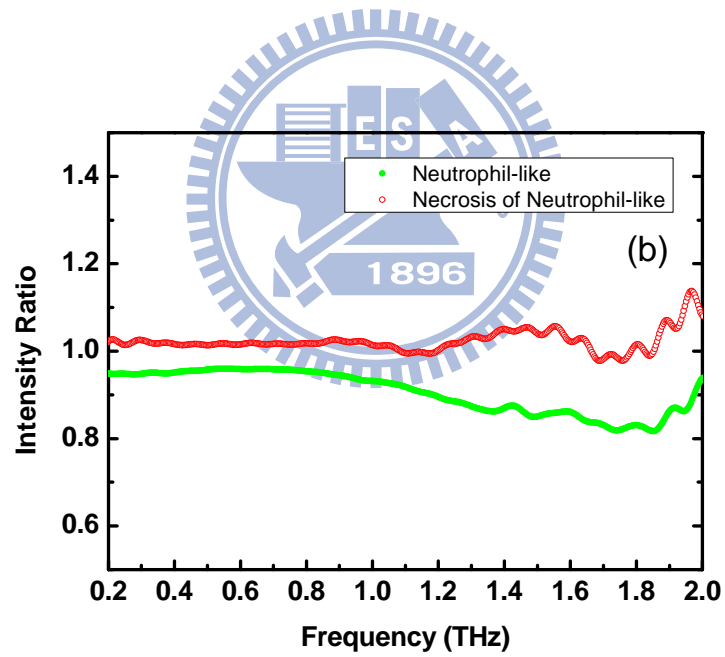
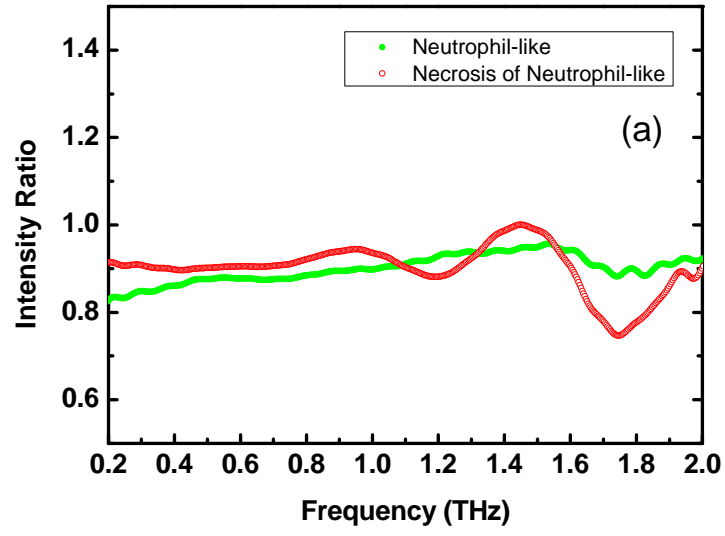
圖 5-14(a)、(b)、(c)：THz 穿過三次不同 HL60 細胞分化的類嗜中性球的頻域訊號。

### 5-3-2 複數穿透係數比

在不考慮多重反射的情況下，計算複數透射強度比

$|T_{\text{exp}}^*(\omega, n_f^*)| = |E_{\text{film}}^*(\omega, n_f^*)| / |E_{\text{ref}}^*(\omega)|$ ，如圖 5-15。觀察實驗結果，壞死的

類嗜中性球穿透強度比健康的透射強度來的大。



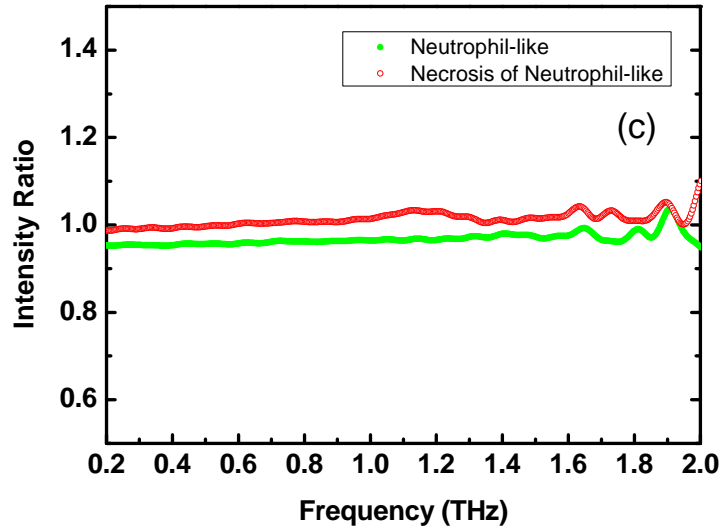
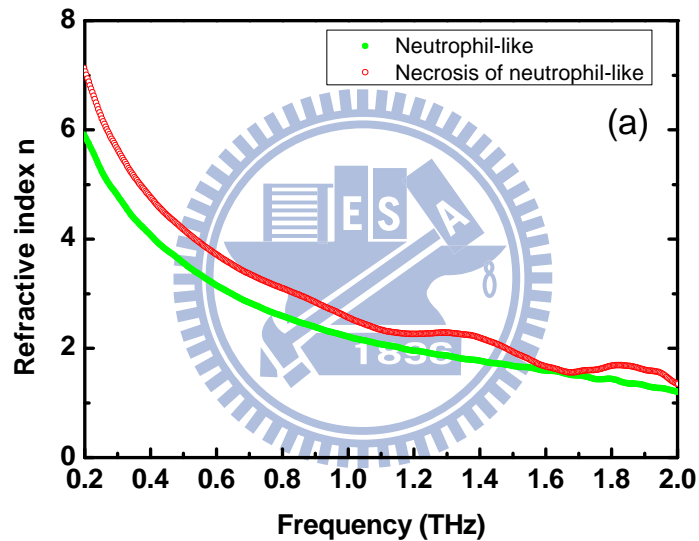


圖 5-15(a)、(b)、(c)：量測三次不同分化類嗜中性球的複數穿透係數比。

### 5-3-3 複數折射率

頻域訊號裡包含樣品的強度與相位訊息，比較參考基板與類嗜中性球的強度與相位後計算出強度比  $\rho = \left| \frac{E_{diff}(\omega)}{E_{ref}(\omega)} \right|$  與相位差  $\Delta$ 。根據上一章 (4.13) 式的理論計算，利用強度比、相位差和參考基板等物理量可以獲得類嗜中性球的複數折射率。圖 5-16 是不同狀態的類嗜中性球的複數折射率實部。圖 5-17 則是複數折射率虛部。我們比較類嗜中性球和壞死類嗜中性球，其複數折射率的實部與虛部值非常接近  $n(\omega) \approx \kappa(\omega)$ 。觀察圖 5-16，類嗜中性球的折射率隨著頻率上升而下降。比較兩個不同狀態的細胞，壞死細胞具有比健康細胞較大的折射率。除此之外，壞死細胞的折射率在 1.2THz 和 1.8THz 這個波段有波動的現象。從物理觀點來說，實部  $n(\omega)$  所代表的是材料對光所造成的相位延遲，虛部

$\kappa(\omega)$ 所代表的則是材料對於光的吸收。我們推測壞死細胞的折射率之所以會發生變化的原因是類嗜中性球滴入酒精後，細胞膜破裂導致樣品表面變得支離破碎。當 THz 穿過壞死的類嗜中性球時，造成 THz 發生散射的現象，導致某些頻率的 THz 增強或減弱，同時其相位也發生不尋常的變化。THz 在樣品的干涉訊號反映在樣品的折射率上。



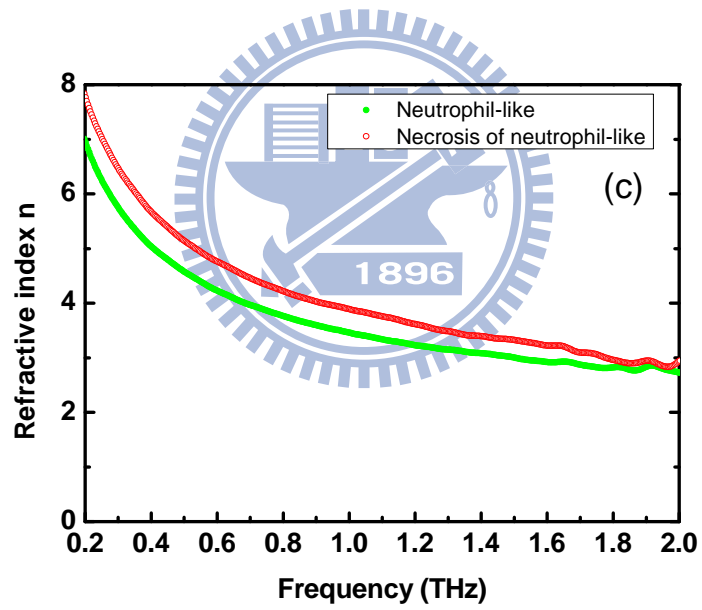
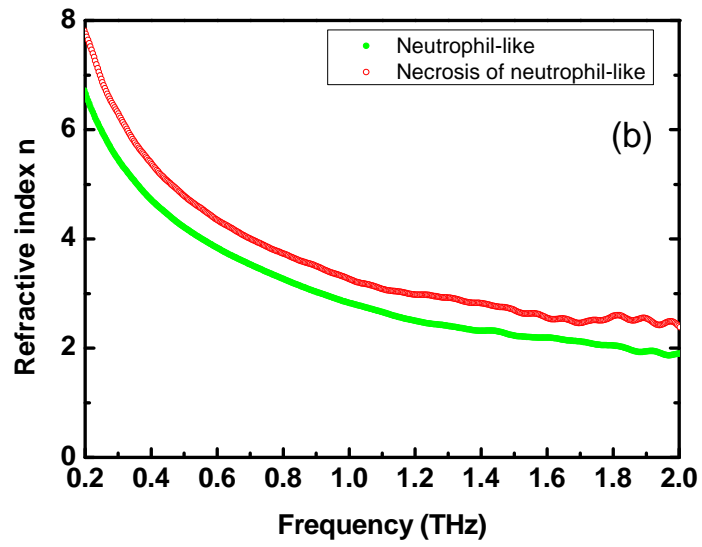
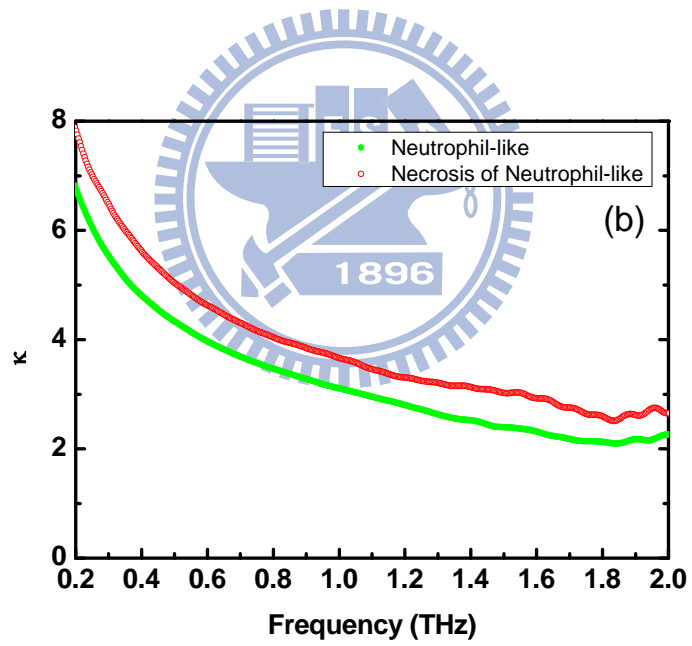
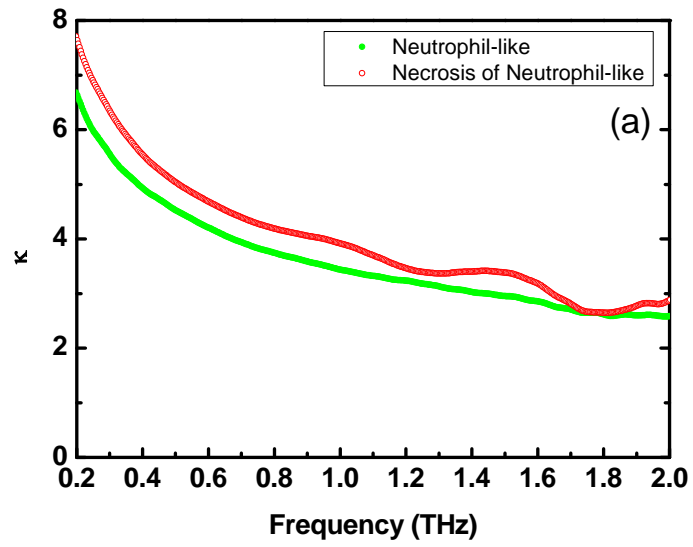


圖 5-16(a)、(b)、(c)：量測三次不同分化類嗜中性球的複數折射率實部。



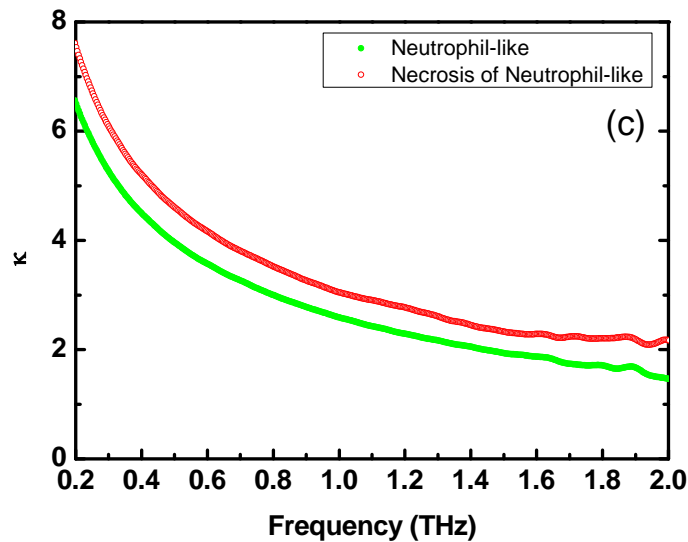
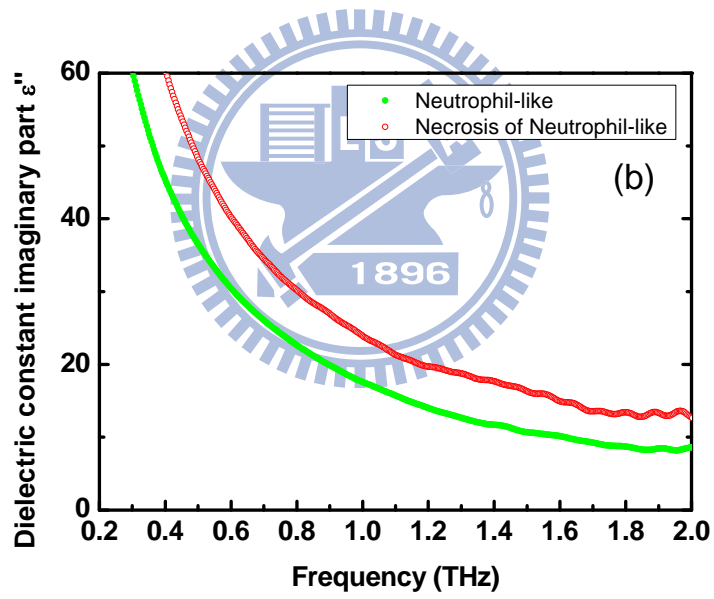
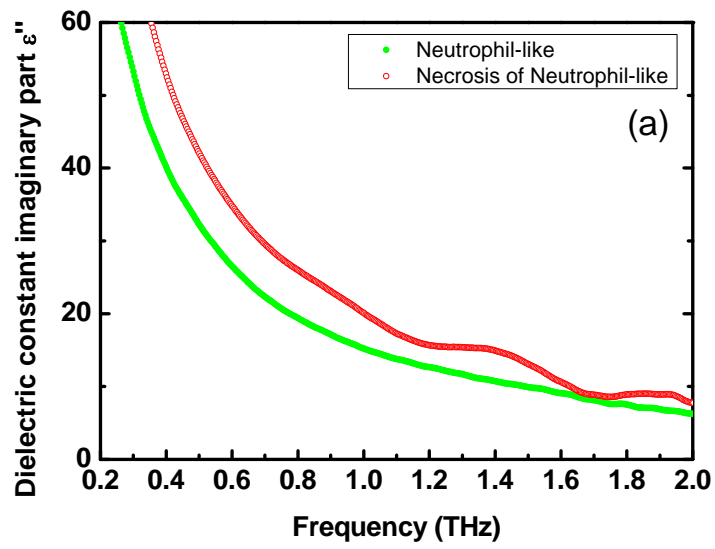


圖 5-17(a)、(b)、(c)：量測三次不同分化的類嗜中性球的複數折射率虛部。

#### 5-3-4 介電函數 (Dielectric Function)

介電函數  $\varepsilon^*(\omega)$ ，介電函數的虛部  $\varepsilon''(\omega) = 2n\kappa$ ，如圖 5-18。利用前面小節得到的複數折射率實部虛部計算出介電函數虛部(4.11)式，圖中為健康類嗜中性球與壞死類嗜中性球的介電函數。 $\varepsilon''(\omega)$  介電函數的虛部對應的物理意義代表類嗜中性球對 THz 光能量的吸收。介電函數虛部和  $\kappa$  的趨勢相當類似。類嗜中性球的介電函數虛部隨著頻率上升而下降。比較兩種不同狀態的細胞，壞死的細胞有著比健康細胞大的介電函數虛部。





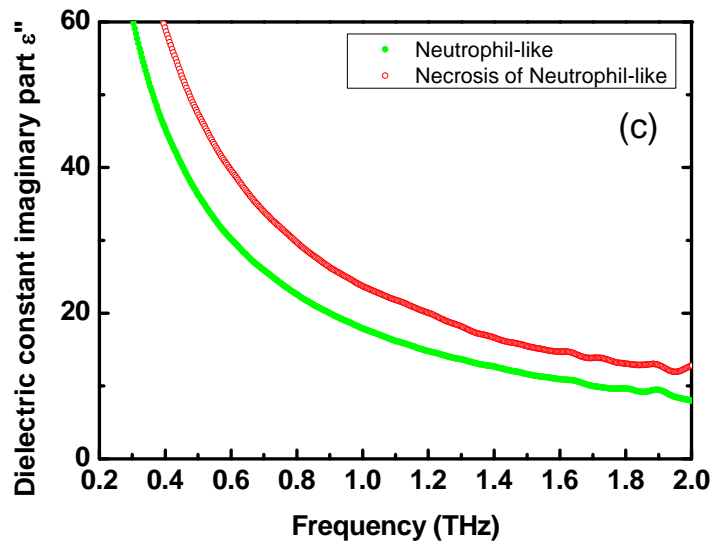
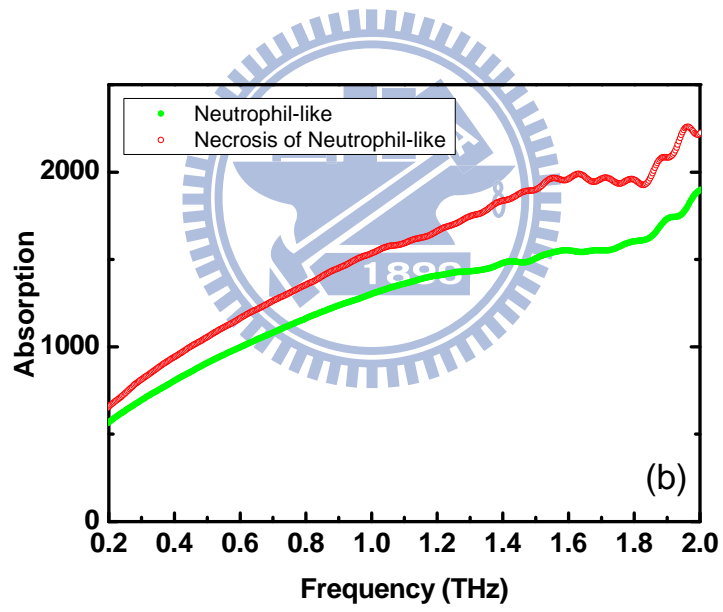
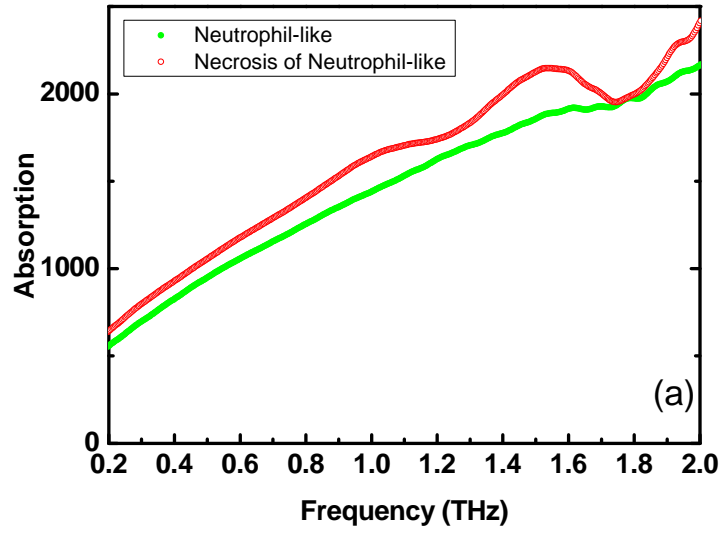


圖 5-18(a)、(b)、(c)：不同次分化類嗜中性球的介電函數虛部。

### 5-3-5 吸收係數

根據上一章的理論計算，獲得健康的類嗜中性球與壞死的類嗜中性球的吸收，如圖 5-19。類嗜中性球細胞的吸收隨著頻率上升而增加。壞死細胞有著比健康細胞較高的吸收，但吸收係數在 1.2 THz 和 1.8 THz 呈現下降出現兩個吸收谷。

將圖 5-19 歸一化，再將縱軸轉成以  $\ln$  標示做 fitting。最後將原本的 Absorption(A)和 fitting 的 exponential 函數相減獲得  $\Delta$ Absorption (normalized)，如圖 5-20。



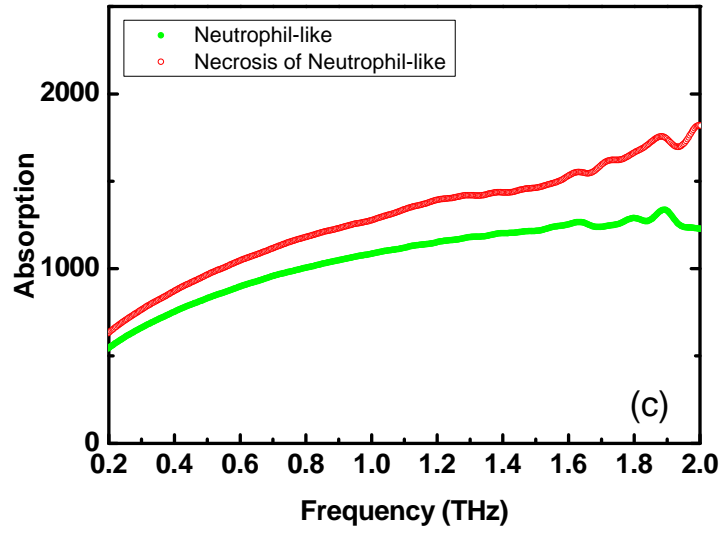
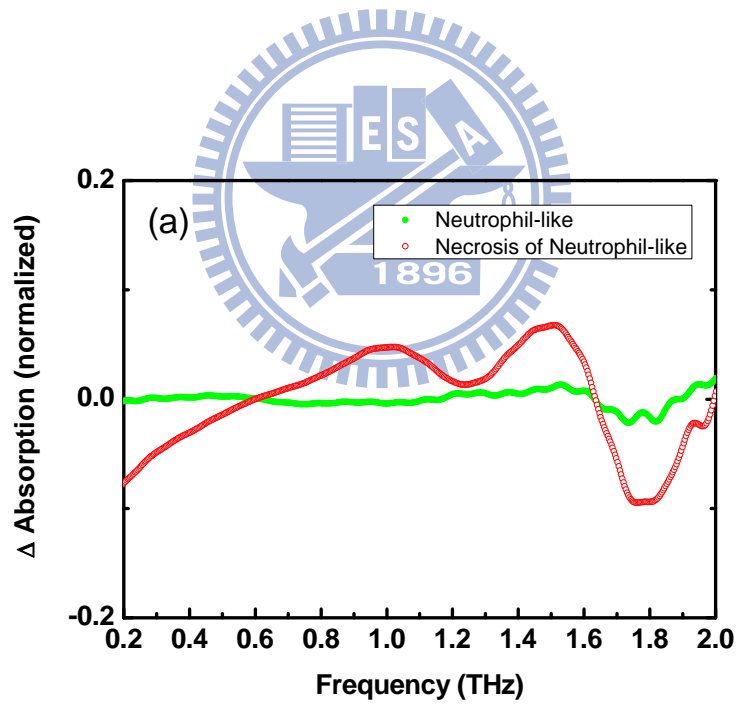


圖 5-19(a)、(b)、(c)：不同次分化類嗜中性球吸收係數。



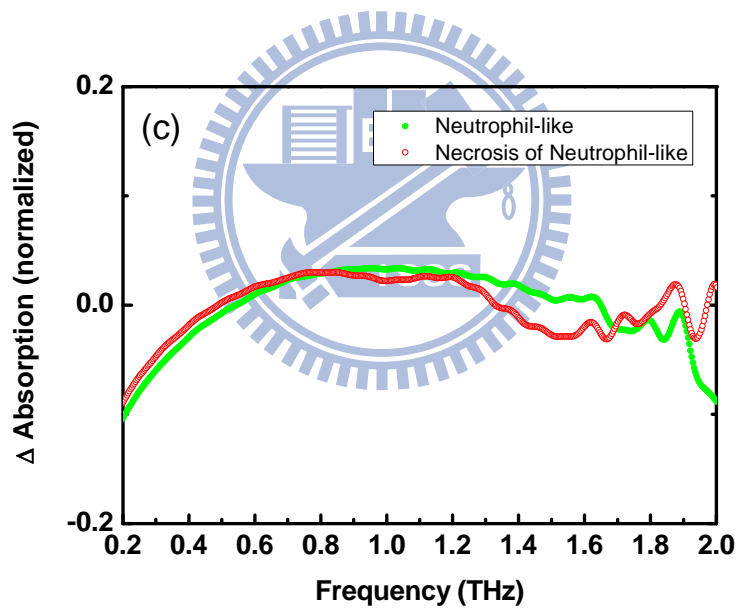
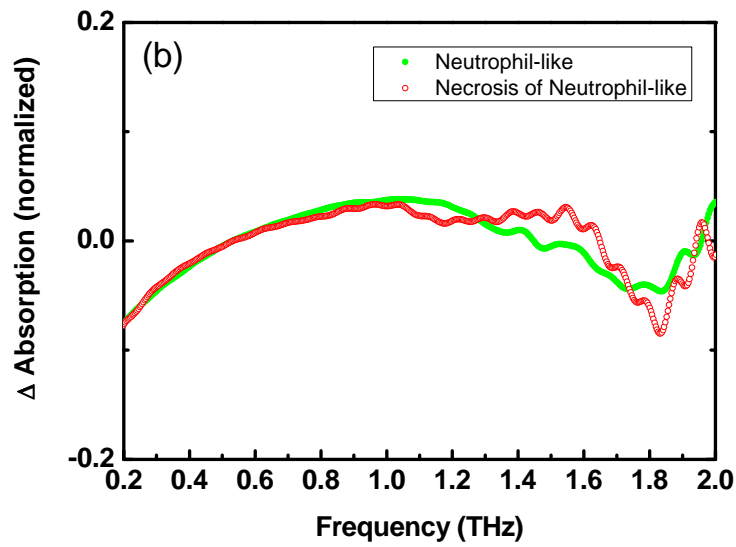


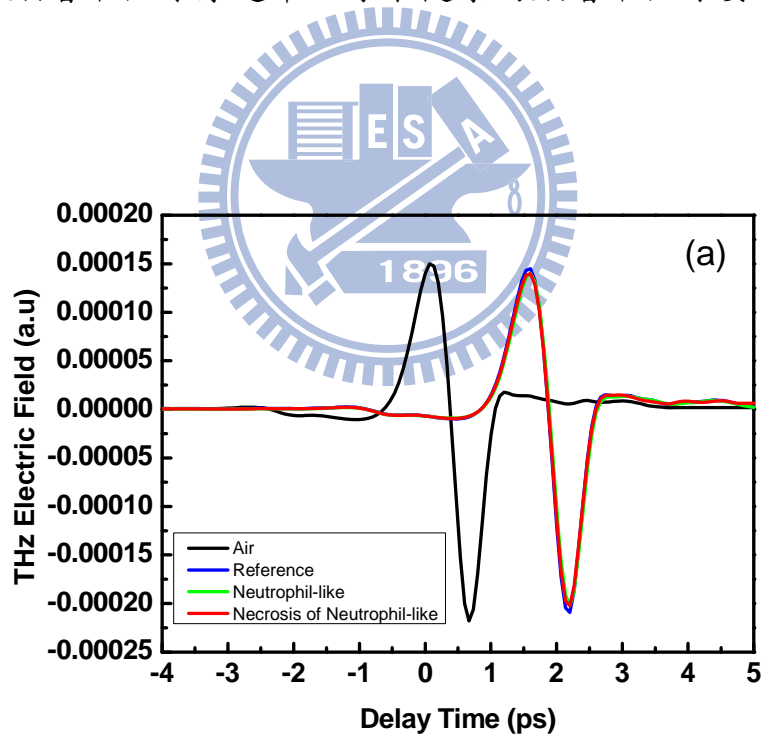
圖 5-20(a)、(b)、(c)：不同次分化類嗜中性球吸收係數差（歸一化）。

從圖 5-19 可以發現類嗜中性球的吸收係數隨著頻率上升而變大，壞死的類嗜中性球的吸收係數比健康的類嗜中性球要大。此外，壞死的細胞在 1.2THz 和 1.8THz 左右出現吸收谷，健康的細胞卻沒有觀察到有吸收谷的出現。

## 5-4 類嗜中性球加入大蒜精油THz-TDS量測結果

### 5-4-1 類嗜中性球與死亡後類嗜中性球加入大蒜精油時域和頻域訊號

加入大蒜精油之後的類嗜中性球得到時域訊號後再滴入酒精量測壞死的類嗜中性球時域訊號，如圖 5-21。為了確認實驗的再現性，我們個別量測三次加入大蒜精油的類嗜中性球實驗，如圖(a)、圖(b)、圖(c)。將時域訊號作傅立葉轉換後可以獲得類嗜中性球與壞死的類嗜中性球在 THz 頻譜上的變化，如圖 5-22。其結果和沒加大蒜精的結果類似，壞死的類嗜中性球穿透率比原本健康的類嗜中性球要高。



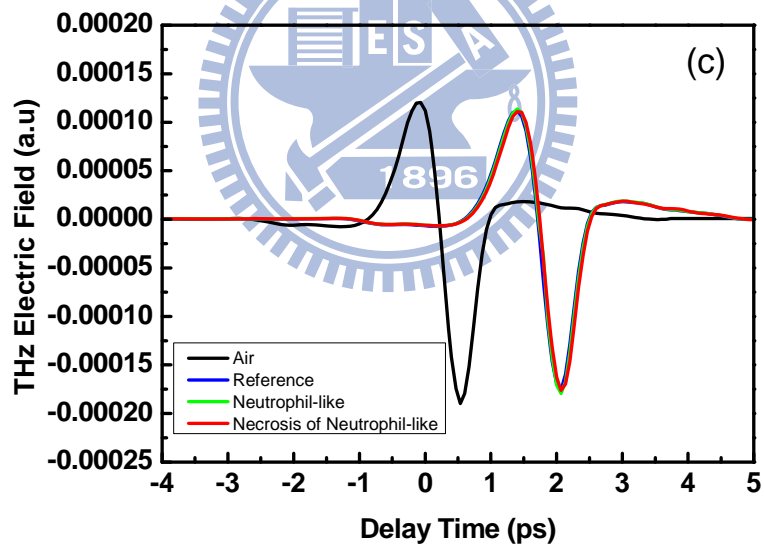
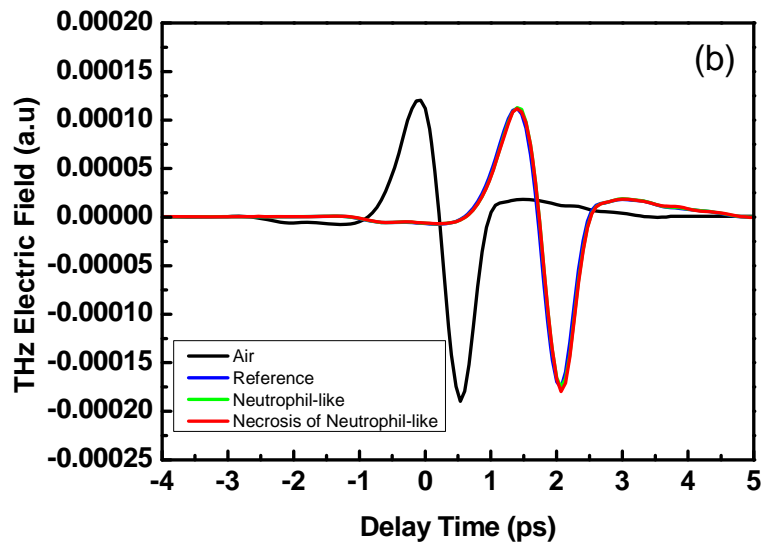
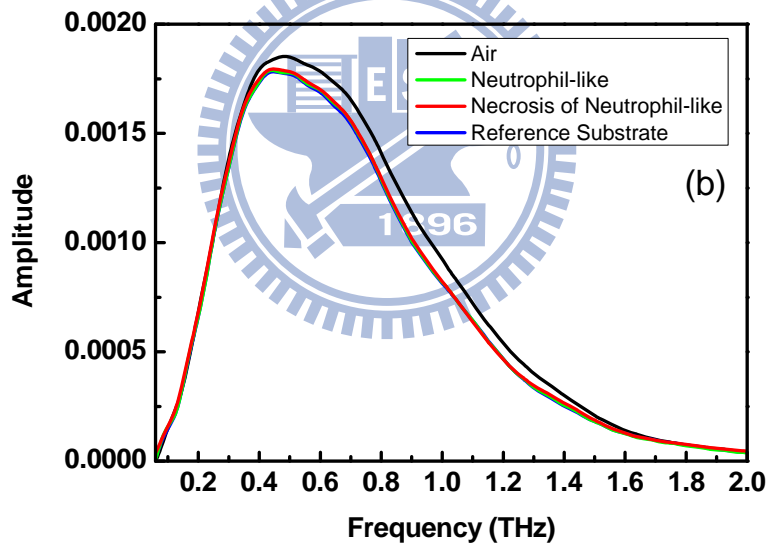
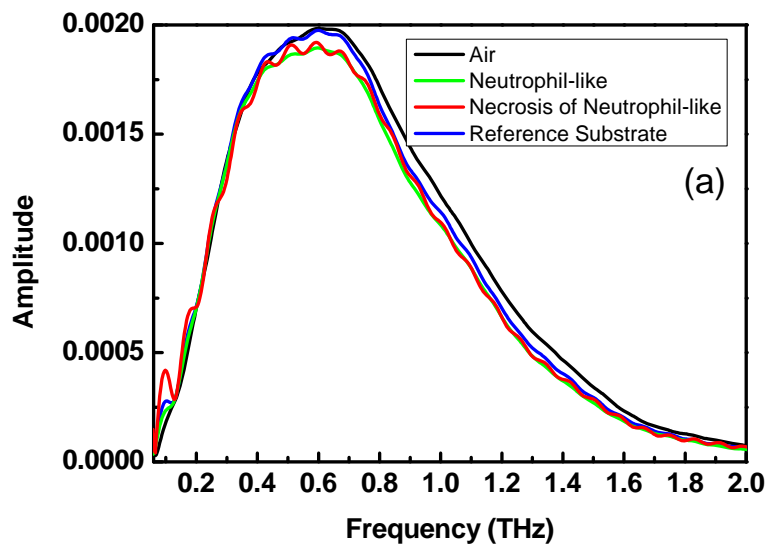


圖 5-21(a)、(b)、(c)：三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)的 THz 時域訊號。





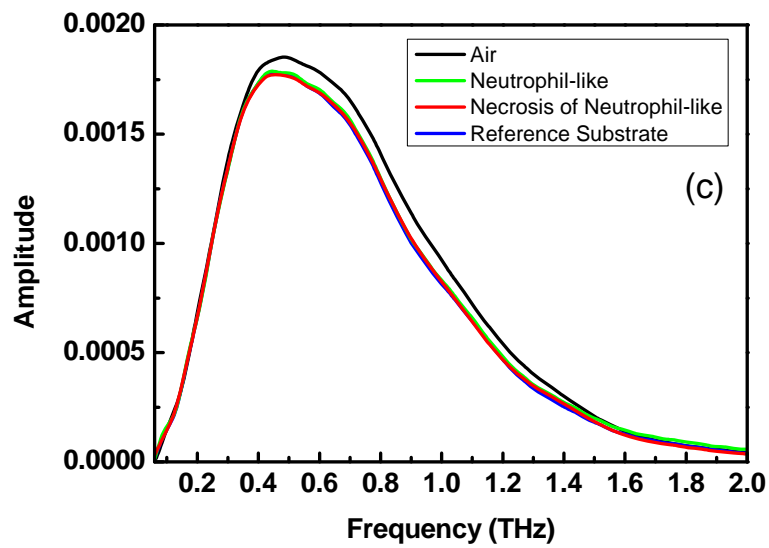
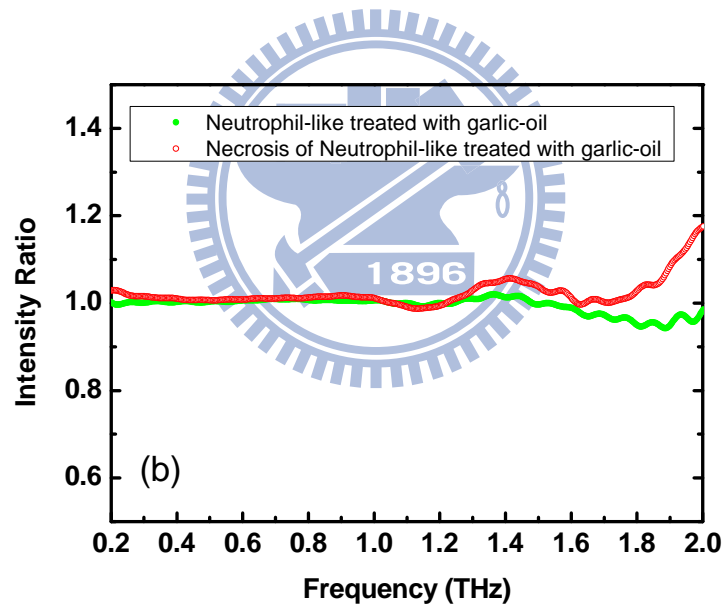
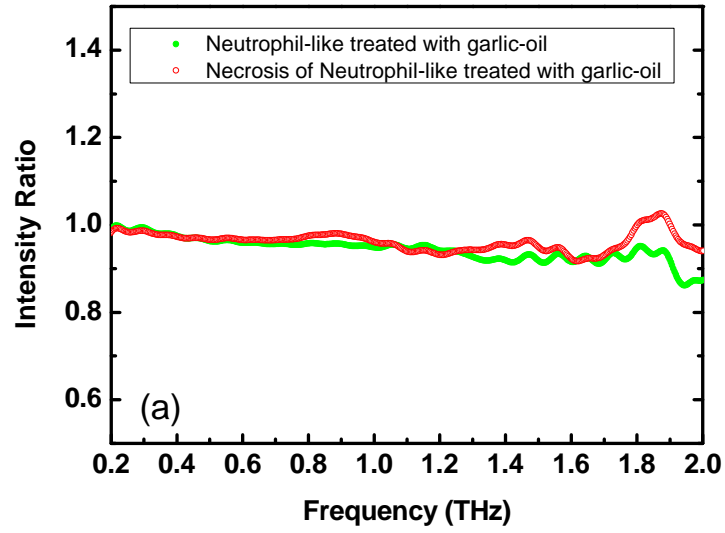


圖 5-22(a)、(b)、(c)：三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)的 THz 頻域訊號。

#### 5-4-2 複數穿透係數比

在不考慮多重反射的情況下，計算複數透射強度比

$|T_{\text{exp}}^*(\omega, n_f^*)| = |E_{\text{film}}^*(\omega, n_f^*)| / |T_{\text{ref}}^*(\omega)|$ ，如圖 5-23。觀察實驗結果，壞死類嗜中性球穿透強度比健康的透射強度來的大。



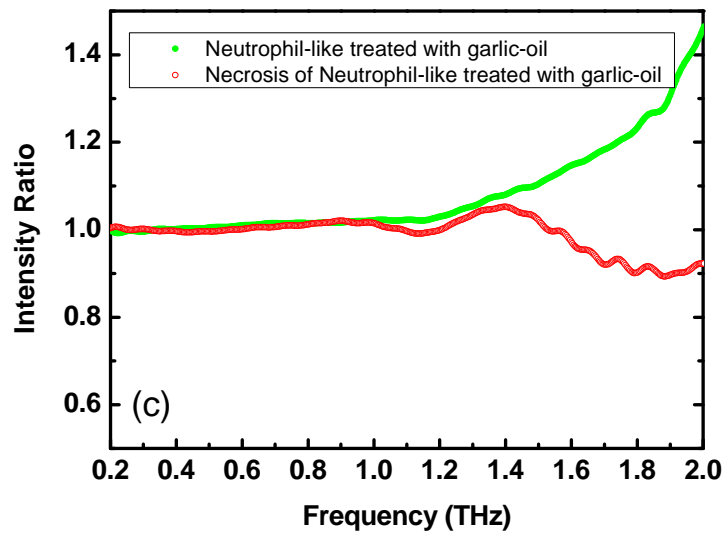
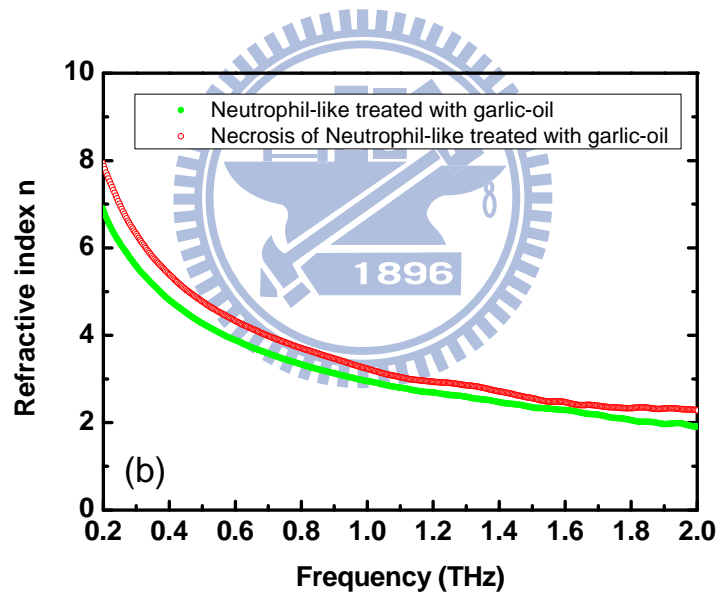
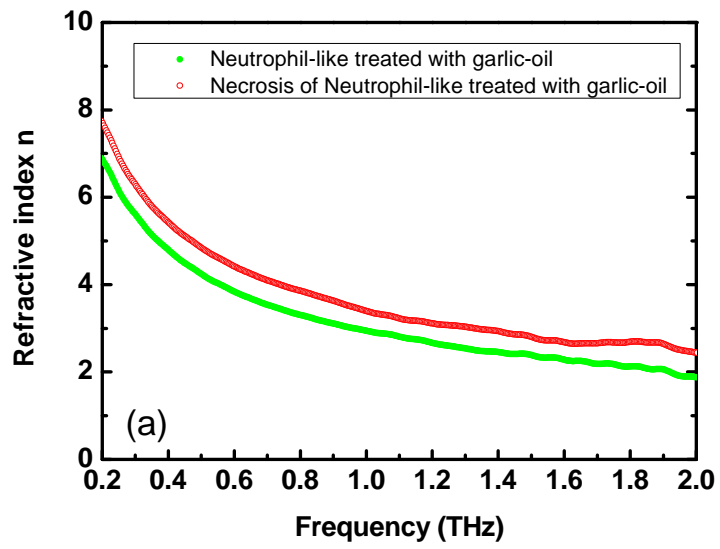


圖 5-23(a)、(b)、(c)：三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)複數穿透係數比。

#### 5-4-3 複數折射率

圖 5-24 為類嗜中性球(加入大蒜精油)的複數折射率實部，細胞的折射率實部隨頻率上升而變小。壞死細胞的折射率實部比健康細胞的折射率實部要大。圖 5-25 為類嗜中性球(加入大蒜精油)的複數折射率虛部，和折射率實部相同，細胞的折射率虛部隨頻率上升而變小，壞死的細胞的折射率虛部較健康的細胞大，從物理觀點來說，壞死類嗜中性球對 THz 有較大的吸收。



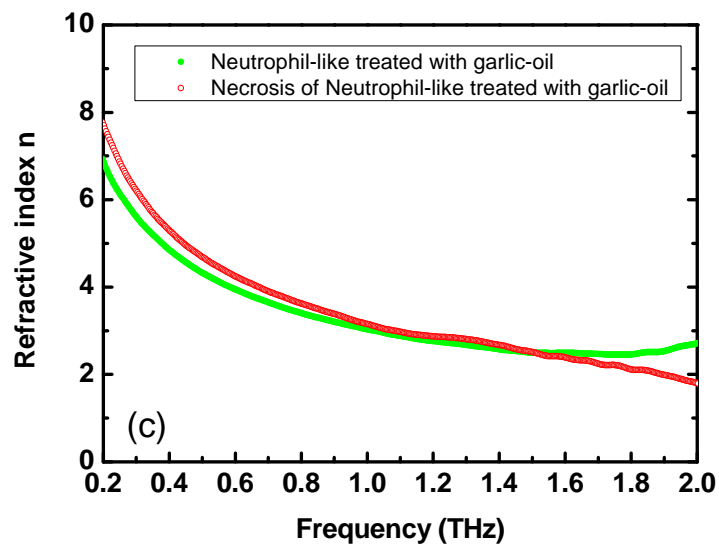
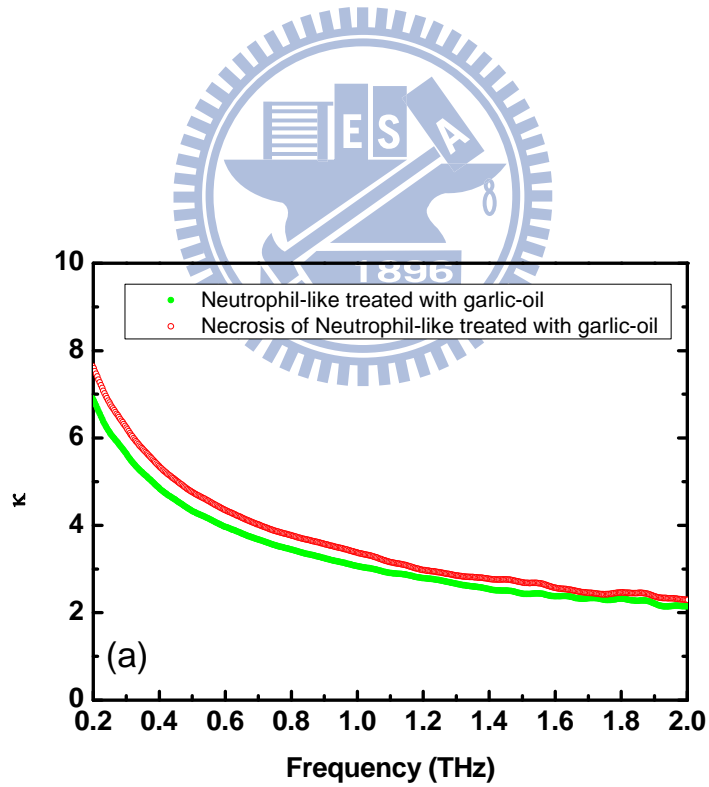


圖 5-24(a)、(b)、(c)：三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)複數折射率實部。



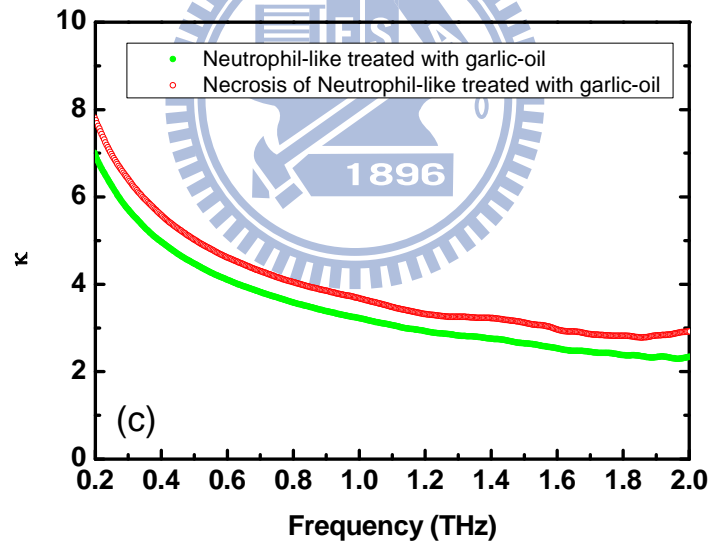
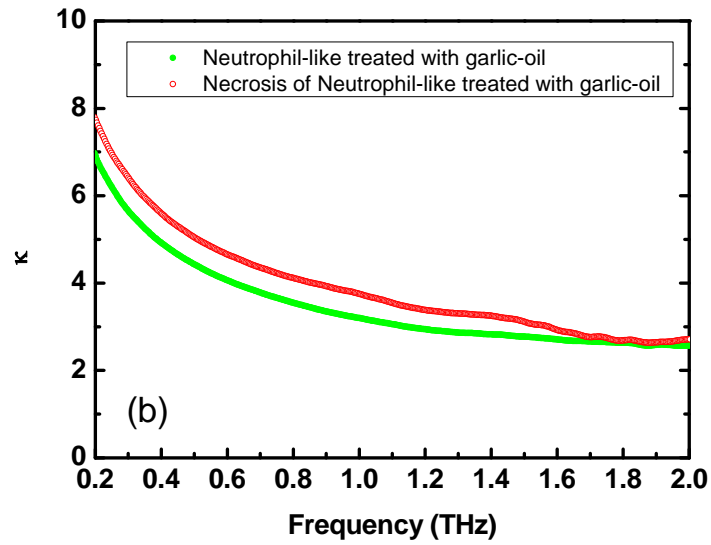
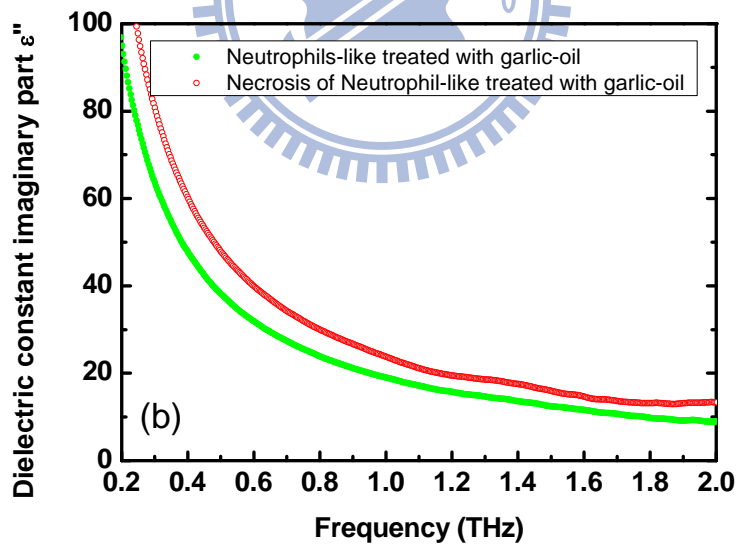
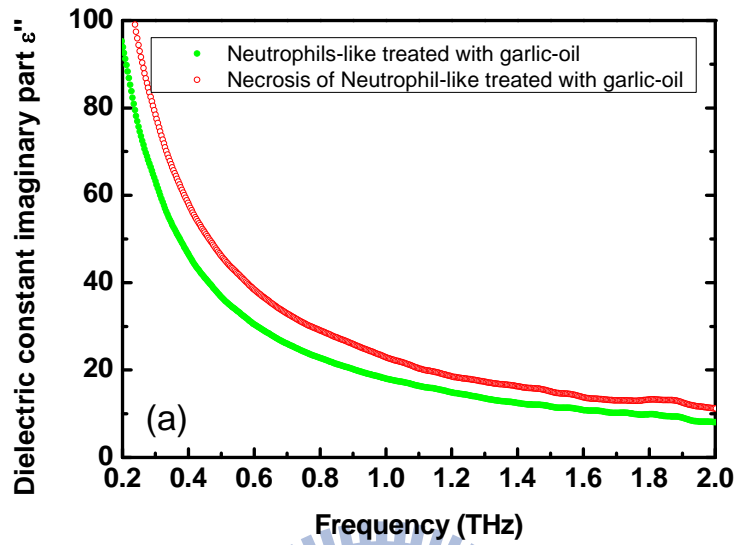


圖 5-25(a)、(b)、(c)：三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)複數折射率虛部。

#### 5-4-4 介電函數 (Dielectric Function)

圖 5-26 為類嗜中性球(加入大蒜精油)的介電函數虛部，和複數折射率虛部相似，細胞的介電函數虛部隨著頻率上升而下降。以壞死的細

胞和健康的細胞做比較，壞死的細胞介電函數虛部較大。



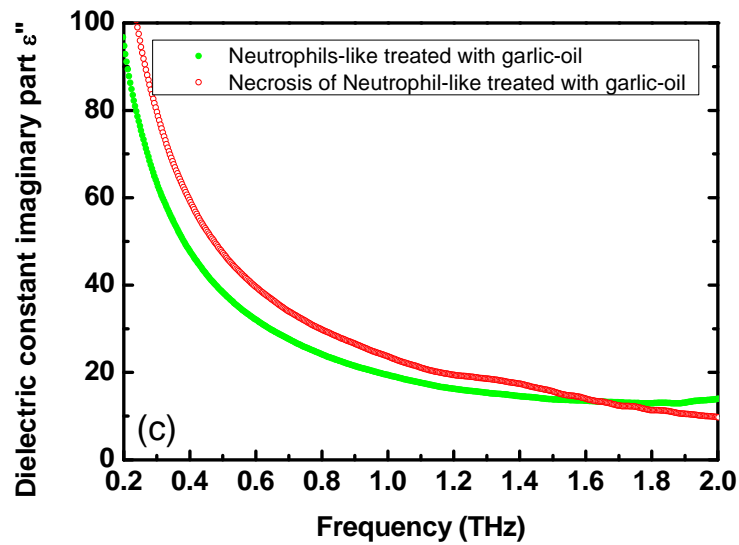
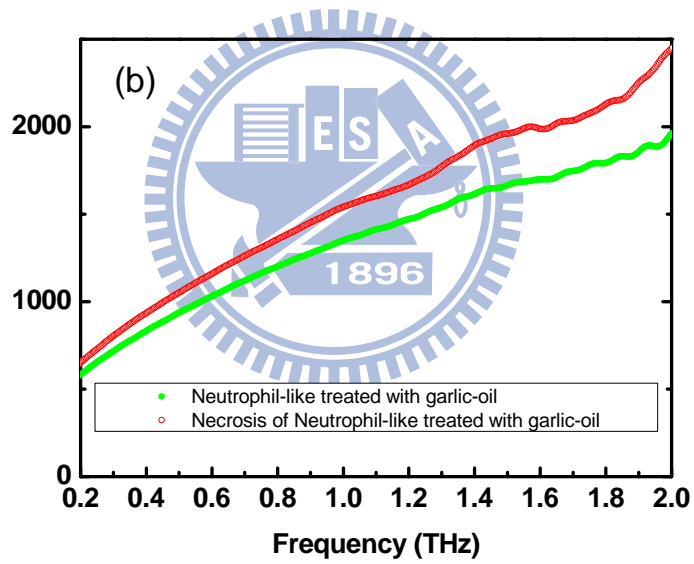
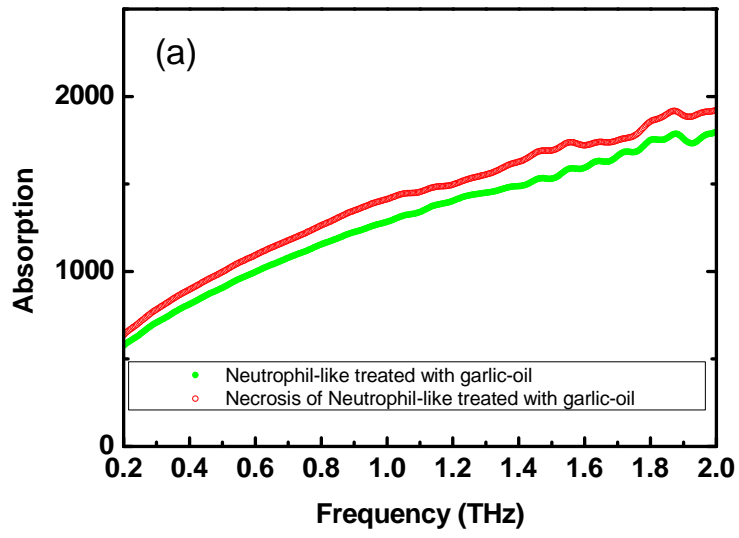


圖 5-26(a)、(b)、(c)：三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)介電函數虛部。

#### 5-4-5 吸收係數

計算類嗜中性球(加入大蒜精油)的吸收係數於圖 5-27，利用計算類嗜中性球吸收係數差的相同方法，獲得類嗜中性球(加入大蒜精油)的吸收係數差，如圖 5-28。隨著頻率上升，細胞的吸收越強。而細胞壞死之後的吸收也比原本健康時還大，壞死細胞在 1.2THz 和 1.8THz 有兩個吸收谷。





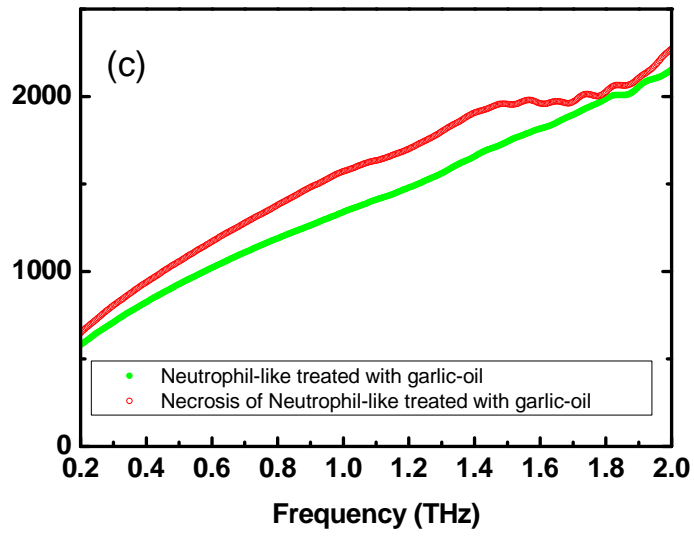
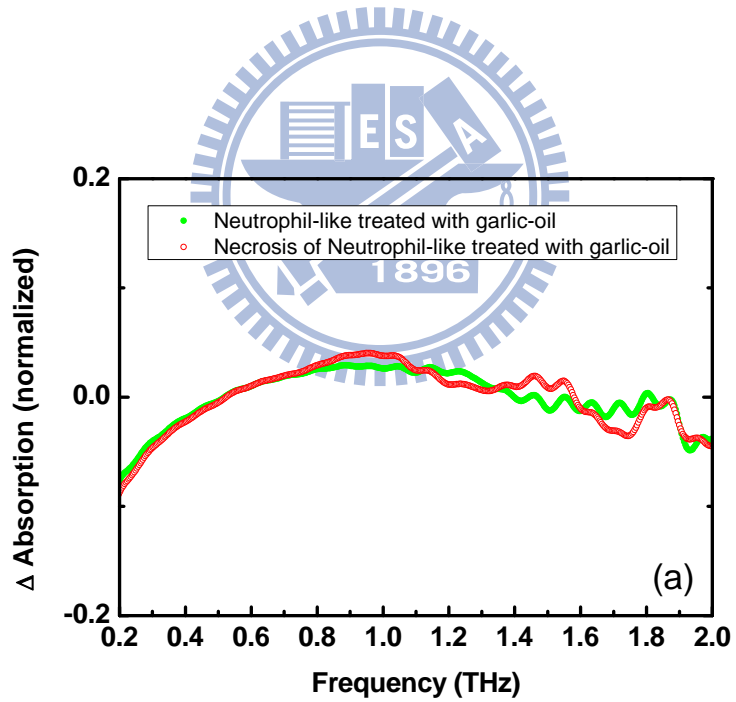


圖 5-27(a)、(b)、(c)：三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)吸收係數。



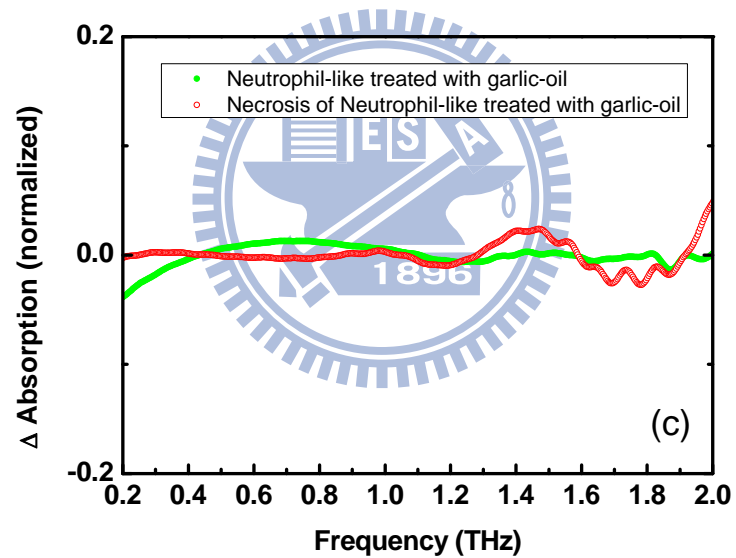
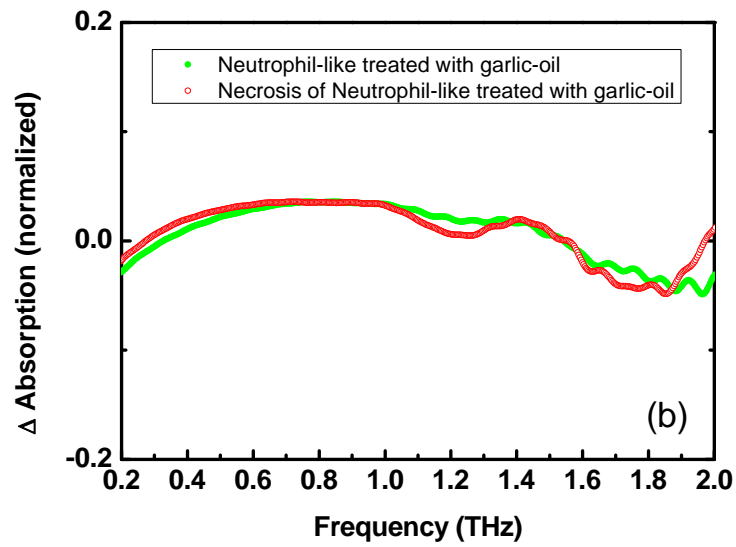


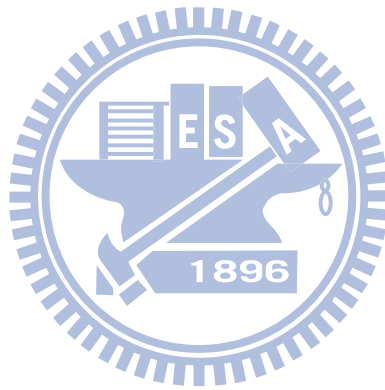
圖 5-28(a)、(b)、(c)：三組不同次分化的類嗜中性球(加入大蒜精油)吸收係數差(歸一化)。

### 5-5 討論

為何吸收係數在 1.2 THz 和 1.8 THz 呈現下降的趨勢，原因我們可從細胞裡的結構和功能探討。

類嗜中性球加入濃度 75%酒精後，酒精不會立即瓦解細胞膜(雖然

有一些膜蛋白可能變性，且因而造成細胞通透性改變)，而是會滲入細胞中，造成胞內蛋白質的變性凝聚，藉此造成細胞死亡。在顯微鏡下看到有完整形狀但卻被 trypan blue 染進胞內的細胞，就表示選擇性通透已遭破壞，細胞膜雖一時尚未瓦解，但是已不能進行正常的生理活性，我們視之為已壞死的細胞，如圖 5-29。



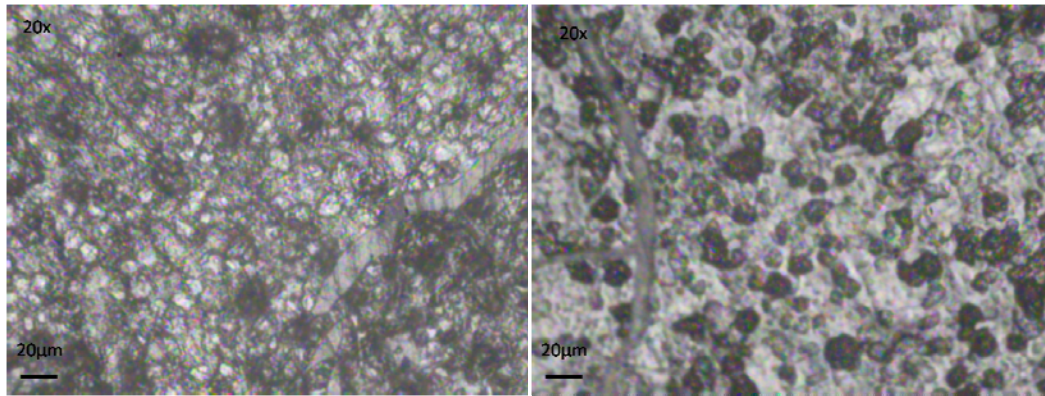


圖 5-29(a)(b)：(a)滴入酒精前類嗜中性球顯微影像。(b)滴入酒精後類嗜中性球顯微影像。

有關吸收變化的原因，我們根據發表在Applied Physics Letters的文章” Terahertz dielectric assay of solution phase protein binding” [35]。這篇文獻闡述利用THz-TDS量測hen egg white lysozyme (HEWL)，和hen egg white lysozyme (HEWL)與triacetylglucosamine (3NAG)鍵結後的吸收和折射率等物理量，快速決定蛋白質是否和3NAG產生鍵結。圖5-30為HEWL和HEWL+3NAG的吸收係數，圖5-31為HEWL和HEWL+3NAG的折射率。HEWL與3NAG產生鍵結之後，折射率和吸收係數有下降的趨勢。折射率和吸收係數有下降的原因是因為3NAG和HEWL鍵結產生的新鍵結抑制了HEWL上某條鏈的行動和相關的群體模態(collective modes)，減少鍵結對THz的反應。除了蛋白質鍵結對THz的影響之外，蛋白質變性也是可能造成THz吸收改變的原因之一。根據發表在Journal of Applied Physics的文章” Investigation of guanidine hydrochloride induced chlorophyll protein 43 and 47 denaturation in the terahertz frequency range”[36]。利用THz-TDS探測因(Gu)HCl而造成變

性的葉綠素蛋白質43(CP43)和CP47和相關構造上的變化。葉綠素內的蛋白質(chlorophy a)的C=O鍵和GuHCl的N-H群作用後產生氫鍵，造成變性的蛋白質對THz吸收增加，如圖5-32。

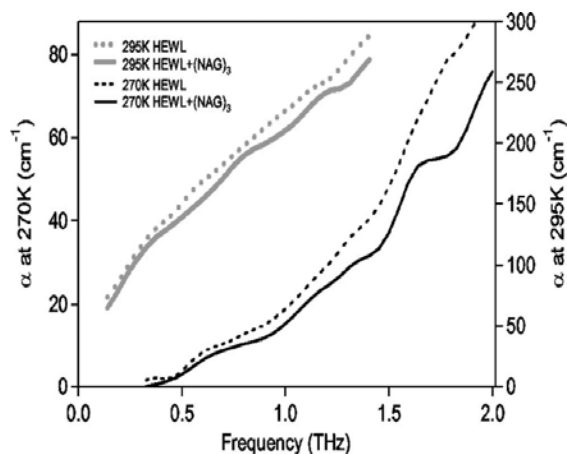


圖 5-30：HEWL 和 HEWL+3NAG 溶液的吸收係數。HEWL 與 3NAG 產生鍵結之後，吸收係數出現下降的情形。

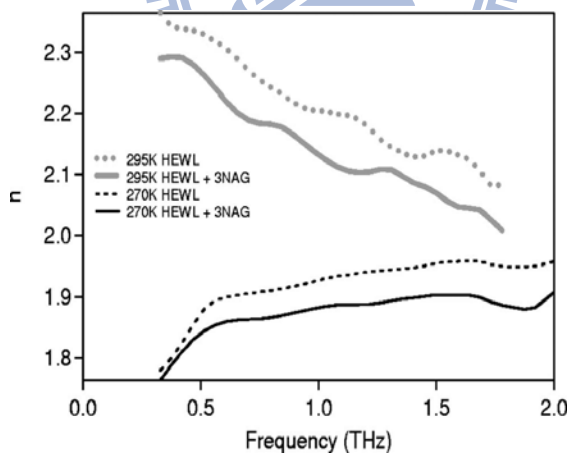


圖 5-31：HEWL 和 HEWL+3NAG 溶液的折射率。HEWL 與 3NAG 產生鍵結之後，折射率出現下降的情形。

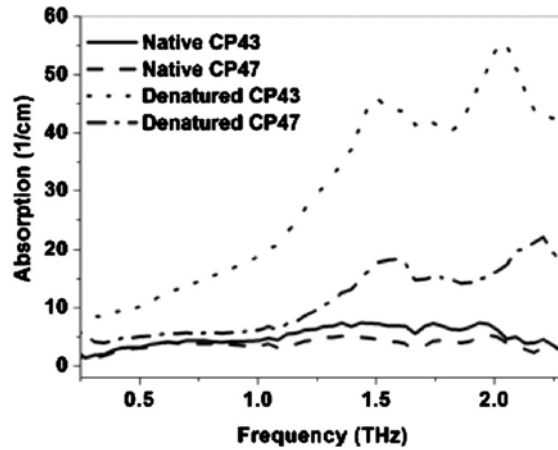


圖 5-32：CP43 和 CP47 在不同條件下的 THz 吸收係數頻譜。

根據[35][36]，我們推測壞死的類嗜中性球內的蛋白質與酒精作用後變性，如圖 5-33。表示細胞內的蛋白質形成了新的鍵結，而新鍵結抑制了原本蛋白質中某些鏈的行動和相關的振動模態(Collective modes)。圖 5-34 為 THz 穿過細胞蛋白質的吸收光譜圖，而細胞在壞死後內部蛋白質變性後形成新的鍵結，因此吸收在 1.2 THz 和 1.8 THz 的位置將下降，如圖 5-35。

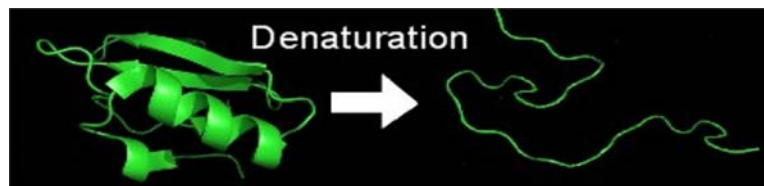


圖 5-33：細胞壞死後蛋白質變性示意圖。

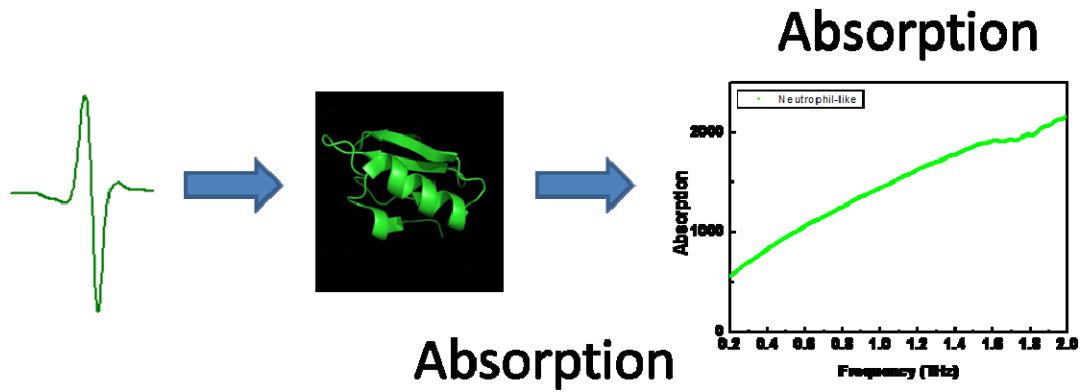


圖 5-34：THz 經過細胞蛋白質的吸收光譜示意圖。

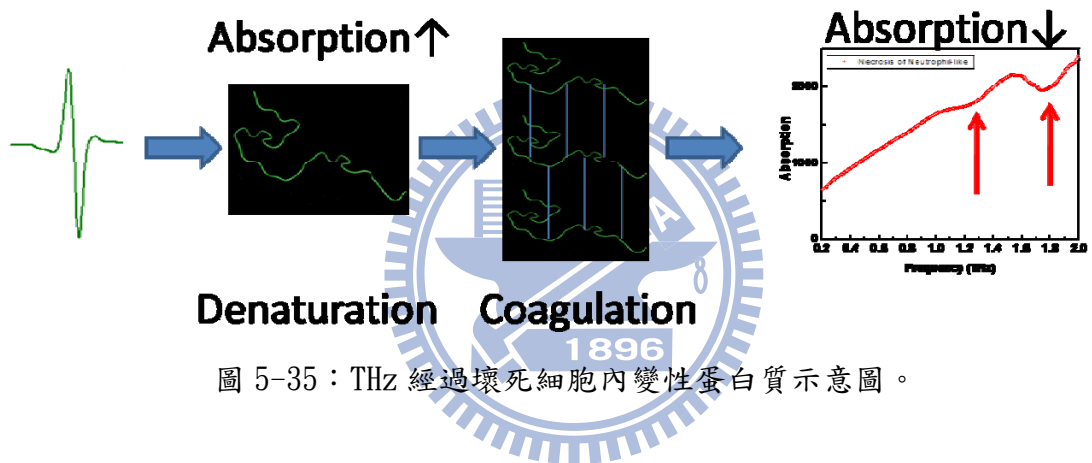


圖 5-35：THz 經過壞死細胞內變性蛋白質示意圖。

加入大蒜精油的類嗜中性球所得之 THz 頻譜和未加大蒜精油的類嗜中性球有相同的特性，雖然大蒜精對於細胞有抑制遷移的作用，現階段我們無法利用 THz 探測出大蒜精抑制類嗜中性球的變化。



## 第六章

### 結論與展望

將THz-TDS量測系統應用在生物細胞上，計算類嗜中性球的介電性質，包括複數折射率、介電常數、吸收係數等等。希望能建立非侵入式生物探測系統，判別細胞的生跟死的狀態。但現階段我們仍無法確實了解造成THz光譜上差異的機制，例如我們目前無法確定細胞內是哪種蛋白質造成 1.2THz和 1.8THz吸收係數下降的情形。根據參考資料[34]0，可以確定葉綠素裡的蛋白質變性之後也會在相同波段出現吸收谷的情形。但類嗜中性球內的蛋白質在細胞壞死後變性沈澱形成和文獻中類似的鍵結，是我們必須進一步設計其他的實驗去驗證的。此外，受限於空間的解析度，目前我們只能量測一群細胞的平均結果，而非單一顆類嗜中性球的訊號。

未來，我們希望能改善 THz-TDS 的空間解析度，和觀察觀察細胞凋亡(apoptosis)之光學特性，進而定義單一細胞的健康狀態，並將這套遠紅外非侵入式影像系統應用於生醫檢測上。

## 參考文獻

- [1] G. Mourou, Appl. Phys. Lett. **39**, 295 (1981).
- [2] Ch. Fattinger, and D. Grischkowsky, Appl. Phys. Lett. **53**, 1480 (1988).
- [3] Ch. Fattinger, and D. Grischkowsky, Appl. Phys. Lett. **54**, 490 (1989).
- [4] X.-C. Zhang, B.B. Hu, J.T. Darrow, and D.H Auston, Appl. Phys. Lett. **56**, 1011 (1990).
- [5] X.-C. Zhang, Y. Jin, T. D. Hewitt, and T. Sangsiri, Appl. Phys. Lett. **62**, 2003 (1993).
- [6] Z.P Jiang, F.G. Sun, and X.C. Zhang, 94, IEEE, (1998).
- [7] Nobuhiko Sarukura, Hideyuki Ohtake, Shinji Izumida, and Zhenlin Liu, J. Appl. Phys. **84**, 654 (1998).
- [8] C. W. Siders, J. L. W. Siders, A. J. Taylor, S.-G. Park, M. R. Melloch, and A. M. Weiner, Optics Lett. **24**, 241 (1999).
- [9] Martin van Exter, and D. Grischkowsky, Appl. Phys. Lett. **56**, 1694 (1990).
- [10] Tae-In Jeon , and D. Grischkowsky, Phys. Rev. Lett. **78**, 1106 (1997)
- [11] B. M. Fischer, M. Walther, and P. Uhd. Jepsen, Phys. Med. Biol. **47**, 3807 (2002).
- [12] Hai-Bo Liu, George Plopper, Sarah Earley, Yunqing Chen, Bradley Ferguson, and X.-C. Zhang, Biosensors and Bioelectronics **22**, 1075 (2007).
- [13] Mingxia He, Abul K. Azad, Shenghua Ye, and Weili Zhang, Optics Communications **259**, 389 (2006).
- [14] L. Pasteur, Ann. Chim. Phys. Ser. **52**, 404 (1858).
- [15] W. C. Willet and C. A. Cancer. J. Clin. **49**, 3316 (1999).
- [16] E. Fattorusso, M. Iorizzi, V. Lanzotti, and O. Taglialatela-Scafati, J. Agric. Food Chem. **50**, 5686 (2002).
- [17] K. T. Augusti, Ind. J. Exp. Biol. **34**, 634 (1996).
- [18] L. D. Lawson, American Chemical Society Symp. Ser. **691**, 176 (1998).
- [19] V. Lanzotti, J Chromatogr A **1112**, 3 (2006).
- [20] L. M. Knowles and J. A. Milner, Drug Metabol Drug Interact **17**, 81 (2000).
- [21] S. G. Sundaram and J. A. Milner , Biochim Biophys Acta **1315**, 15 (1996).
- [22] T. Ariga, and Seki T Biofactors **26**, 93 (2006).
- [23] R. Qi, F. Liao, K. Inoue, Y. Yatomi, K. Sato, and Y. Ozaki, Biochem

- Pharmacol **60**, 1475 (2000).
- [24]K. C. Chan, C. C. Hsu, and M. C. Yin, Thromb Res **108**, 317 (2003).
- [25]E. Buiatti and W. Blott, Int. J. Cancer **44**, 611 (1989).
- [26]M. Xing, W. Mei-Ling, X. Hai-Xiu, P. Xi-Pu, G. Chun-Yi, H. Na, and F. Mei-Yun, Acta Nutr. Sin. **4**, 53 (1982).
- [27]Masha Prager-Khoutorsky, Igor Goncharov, Aharon Rabinkov, David Mirelman, Benjamin Geiger, and Alexander D. Bershadsky Cell Motility and the Cytoskeleton, **64**, 321 (2007).
- [28]E. Yablonovitch, J. P. Heritage, D. E. Aspnes, and Y. Yafet , Phys. Rev. Lett. **63**, 976 (1989).
- [29]D. Mittleman (ed.), “Sensing with THz radiation”, Springer, New York, (2002).
- [30]R. Williams, Modern GaAs Proceeding Methods (Artech House, Boston, MA, 1990), Chap.4, P.89.
- [31]X. C. Zhang, J. T. Darrow, B. B. Hu, D.H. Auston, M.T. Schmidt, P. Tham, and E.S. Yang, Appl. Phys. Lett. **56**, 2228 (1990).
- [32]Q. Wu and X. C. Zhang, Appl. Phys. Lett. **67**, 3523 (1995).
- [33]Z. P Jiang, M. Li, and X.-C. Zhang, Appl. Phys. Lett. **76**, 3221 (2000).
- [34]黃雯妃,「兆赫輻射時析頻譜於鈹鋇銅氧及基板之研究」, 國立交通大學碩士論文(2003).
- [35]J. Y. Chen, J. R. Knab, S. Ye, Y. He, and A. G. Markelz, Appl. Phys. Lett. **90**, 243901(2007).
- [36]H. Chen, L. Wang ,Y. Qu, T. Kuang, L. Li and W. Peng, J. Appl. Phys. **102**, 074701 (2007).