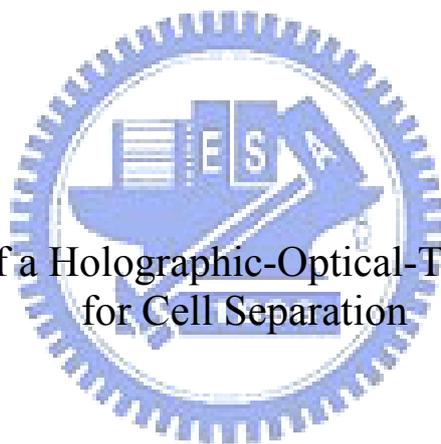


國立交通大學

電子物理系所

博士論文

應用於細胞分離之線形捕捉全像雷射鑷夾的設計與分析



Design and Analysis of a Holographic-Optical-Tweezers-Based Line Trap
for Cell Separation

研究生：林禾千

指導教授：徐 琅 教授

中華民國九十八年七月

應用於細胞分離之線形捕捉全像雷射鐷夾的設計與分析
Design and Analysis of a Holographic-Optical-Tweezers-Based Line Trap
for Cell Separation

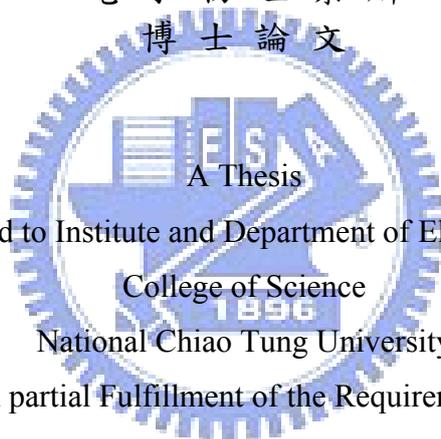
研究生：林禾千

Student : Ho-Chien Lin

指導教授：徐 琅

Advisor : Long Hsu

國立交通大學
電子物理系所
博士論文



A Thesis
Submitted to Institute and Department of Electrophysics
College of Science
National Chiao Tung University
in partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of
Doctor
in

Institute of Electrophysics

July 2009

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十八年七月

應用於細胞分離之線形捕捉全像雷射鐳夾的設計與分析

學生：林禾千

指導教授：徐 琅

國立交通大學電子物理系所 博士班

摘 要

在當前生醫科技的發展熱潮中，快速診斷的能力與效率是提升醫療服務的先決條件。因此，建立更快速分離檢體細胞或病菌的新技術，是生醫科技中熱門的關鍵技術之一。現行最常用的細胞分離儀器為流式細胞儀及微流體實驗室晶片。然而，前者體積龐大又價格昂貴，而後者微結構複雜且管道容易阻塞。近年來，全像雷射鐳夾以其非接觸式捕捉搬運多細胞的優勢，若能再結合微流管道導引細胞的功能，可加速細胞分離的效率。因此，本論文提出結合全像雷射鐳夾系統與微流管道，發展一種線形捕捉雷射鐳夾在微流管道中能快速分離微粒子的新技術。

在本研究中，我們建構一套線形捕捉全像雷射鐳夾系統，並建立模型分析線形雷射鐳夾捕捉微粒子的捕捉力。在系統上，我們利用一台可程式化相位調變器（PPM），經由電腦輸入相位圖樣後，會在像平面產生一線形光圖案，此線形圖案即為線形捕捉微粒子的圖案。配合微流管道，此整合系統即具有操控及分離微粒子的功能。接著在理論模型上，藉由線形圖案作用在不同微粒子的捕捉力以及水流推動微粒子的水流黏滯力，決定細胞之間的分離距離。並且從分離距離得到最佳的分離效果，以達到快速分離微粒子的目標。

在研究結果中，我們模擬並實際量測出線形雷射鐳夾捕捉力。從理論值與實驗值中，我們共比較 133 處位置的捕捉力，其平均誤差百分比為 5.5%，由此數據證明模型具有準確性。接著，我們以模型模擬半徑 1.5 與 3 μm 微粒子在改變水流速與線形圖案角度條件下的分離距離。在線形長度為 22.5 μm 之下，我們找出最大分離距離為 14.5 μm ，並對應最佳分離條件為水流速是 217.5 $\mu\text{m/s}$ ；線形角度為 77°。根據模型的分析結果，我們就可以應用在系統上，得到最佳的分離效果。此一結合全像雷射鐳夾與微流管道以動態及可連續操作方式進行細胞與分子生物的捕捉、導引與分離，是一個創新的研究。

關鍵字：全像雷射鐳夾、微流管道、可程式化相位調變器

Design and Analysis of a Holographic-Optical-Tweezers-based Line Trap for Cell Separation

Student : Ho-Chien Lin

Advisor : Dr. Long Hsu

Institute and Department of Electrophysics
National Chiao Tung University

ABSTRACT

Rapid and sensitive diagnoses are the prerequisite in developing advanced biomedical technology. Cell and bacteria separations are the basis of the diagnostic technology. Currently, flow cytometry and microfluidics lab-on-a-chip are the two techniques most commonly used for these purposes. However, the former is often bulky and expensive and the latter is complex microstructures and are difficult to manufacture. In recent years, the Holographic optical tweezers (HOT) becomes famous for its non-contact in trapping and manipulating cells. If it would be combine with the guiding function of microchannels in the efficiency of cell separation would enhance. Therefore, we propose the HOT system along with microchannels to develop a novel technique of holographic-optical-tweezers-based line traps in rapid cell separation.

We constructed a holographic-optical-tweezers-based line traps system and established a theoretical model for the line trap. We utilize a programmable phase modulator (PPM) to generate an optical line pattern by controlled phase pattern. The beads were trapped by the optical line pattern. Based on the HOT and the designed microchannel chip, the integrated system became a powerful tool for manipulation and separation of cell. In the model, base on the trapping force exerted by the line trap and the water-dragging-force exerted by the flowing water on the bead, the separation of beads is determined. Then, we can base on the separation to obtain optimal separation condition and to complete the goal of rapid cell separation.

The optimal operating conditions of a lab-on-a-chip type holographic-optical-tweezers based line trap for cell separation were analyzed. The trapping forces exerted on the respective beads were measured experimentally at 133 separated positions around the line pattern. The agreement between the experimental data and the calculated values is better than 5.5%. Moreover, we simulate the trajectory of individual bead flowing through the line pattern in the microchannel. In particular, we found the optimal operating conditions, in terms of the water flow velocity is $217.5 \mu\text{m/s}$ and its angle with the line pattern is 77° , for obtaining the maximum bead separations is $14.5 \mu\text{m}$ with the line trap. Base on the result, we can apply it in the system for the optimal cell separation. A holographic-optical-tweezers based line trap combined with a microchannel chip could be a dynamic and continuous operation in trapping, guiding, and separating cells.

Keywords: holographic optical tweezers, microchannel, programmable phase modulator

誌謝

終於，在眾人的引頸期盼之下，完成了人生求學過程中最後一個階段——博士。

時間過的真快，從大學畢業剛進來實驗室到現在已經博士畢業要離開了，彷彿好像昨天才剛發生的事一樣，真的讓人心中無限懷念在這段過程所經歷的點點滴滴，也要感謝在我求學過程中幫助過我的人。

首先要感謝的人是徐琅老師，從碩士一直帶領我到博士畢業。在研究上不僅能細心教導，而且給我很大的空間發揮。在日常生活上，也給了我許多做人處世上的幫助，可以說是良師益友。接著要感謝龍蝦團隊老師們，張老師、彭老師、劉老師和游老師等，在學習上的幫助，讓我能得到非本科系外的知識，真的獲益良多。還有感謝莊老師最後在期刊論文上的幫助，讓論文更具可看性。再來要感謝的是實驗室的學弟妹，從畢業的博睿、宜仁、家傑、怡君、玉堂到目前的博真、益志、佳翰、東銘、勝陽、哲良、愛堂、豐榮、雅程、士模、孟晏、瀚平、頌揚等，感謝你們在研究上的協助以及在日常生活上的相互照顧扶持，因為有你們，才能讓我有完美的結果，非常感謝。記得，還是要保持聯絡喔，實驗室出遊時，別忘了我。也祝目前在實驗室的成員能夠早日畢業。

最後要感謝的是我的家人，老爸的默默付出，老媽的主動積極，尤其為了能讓我順利畢業，到處求神問卜。媽，你的付出終於有了收穫。其他家人在精神上的鼓勵，非常感謝。最最後要感謝的是我最親愛的老婆——奕寧。雖然妳不在身邊，但我能知道妳的心是一直陪伴著我，讓我能夠完成我的學業。還有，妳的想法與做法也是推動我完成學業的動力，非常謝謝妳，愛妳的老公。從現在開始，我們終於可以一起過屬於我們自己的人生了。

這段路程終於到達終點了，在這段過程中有苦有樂，有歡笑有淚水，這些都將是我人生中最美好的回憶。

老大 2009/7/7

目 錄

中文摘要	i
英文摘要	ii
目錄	iii
表目錄	v
圖目錄	vi
一、	緒論.....	1
二、	理論模型.....	4
2-1	雷射鐳夾捕捉力之來源.....	4
2-2	雷射鐳夾對微粒子之幾何光學捕捉力模型.....	5
2-3	線形雷射鐳夾對微粒子之幾何光學捕捉力模型.....	7
2-4	微粒子運動軌跡之分析.....	11
2-4-1	微粒子軌跡模型.....	11
2-4-2	微粒子分離條件.....	12
2-4-3	微流管道流速模擬.....	12
2-5	水流黏滯力量測法.....	13
三、	實驗系統與裝置.....	15
3-1	全像雷射鐳夾系統.....	15
3-1-1	多點雷射鐳夾.....	15
3-1-2	全相位光空間調變器.....	17
3-1-3	相位分佈函數.....	19
3-1-4	線形捕捉全像雷射鐳夾系統架構.....	20
3-2	微流管道.....	21
3-2-1	光微影術.....	22
3-2-2	聚二甲基矽氧烷.....	23
3-2-3	微流管道製作方法.....	23
3-2-3-1	Silicon 的製程.....	23
3-2-3-2	PDMS 的製程.....	25
3-2-3-3	軟微影法的製作過程.....	25
3-2-4	微流管道設計與製作結果.....	27
3-3	水流黏滯力量測系統.....	28
四、	線形雷射鐳夾捕捉力與微粒子軌跡量測方法.....	30
4-1	線形雷射鐳夾捕捉微粒子之捕捉力量測.....	30
4-1-1	光強度分佈量測方法.....	30
4-1-1-1	光強度分佈取樣的準確性.....	32
4-1-2	捕捉力量測方法.....	32

4-2	微粒子軌跡的量測方法.....	33
五、	結果與討論.....	34
5-1	理論模擬結果.....	34
5-1-1	線形圖案光強度分佈.....	34
5-1-2	線形雷射鐳夾捕捉微粒子之力場.....	37
5-1-3	線形雷射鐳夾捕捉微粒子之位能.....	38
5-1-4	線形雷射鐳夾捕捉力.....	40
5-1-4-1	捕捉力之水平分量.....	40
5-1-4-2	捕捉力之垂直分量.....	42
5-1-5	微粒子軌跡與分離距離之最佳化.....	43
5-1-6	流體流速.....	45
5-2	實驗量測結果.....	46
5-2-1	捕捉力量測及模型準確性驗證.....	46
5-3	微粒子軌跡之理論模擬與實驗量測比較.....	53
5-4	微粒子與細胞的導引與分離.....	54
5-5	討論.....	56
六、	結論與展望.....	59
參考文獻	61
附錄一	雷射偏振態.....	63
附錄二	晶片清洗程序.....	66
附錄三	力量測系統.....	67
附錄四	線形圖案.....	72



表 目 錄

表 5.1 兩微粒子在不同角度的線形圖案的分離距離..... 45



圖 目 錄

圖 2.1	線形捕捉全像雷射鐳夾分離大小微粒子連續影像實例圖.....	5
圖 2.2	單一光線入射微粒子示意圖.....	6
圖 2.3	雷射鐳夾捕捉微粒子機制示意圖.....	6
圖 2.4	雷射鐳夾捕捉力對應彈簧模型機制示意圖.....	7
圖 2.5	微粒子與線形雷射鐳夾之間的交互作用示意圖.....	8
圖 2.6	層流示意圖.....	13
圖 3.1	繞射幾何圖形示意圖.....	16
圖 3.2	經透鏡的繞射示意圖.....	16
圖 3.3	GS 演算法流程圖.....	18
圖 3.4	線形捕捉全像雷射鐳夾系統裝置圖.....	21
圖 3.5	微流管道設計圖.....	23
圖 3.6	長熱氧化層示意圖.....	24
圖 3.7	蝕刻入口與出口氧化層示意圖.....	24
圖 3.8	蝕刻微流管道出口與入口氧化層示意圖.....	24
圖 3.9	蝕刻矽晶片與接合 Pyrex 玻璃示意圖.....	25
圖 3.10	負光阻 SU8-50 塗佈圖.....	25
圖 3.11	曝光與顯影示意圖.....	26
圖 3.12	鐵氟龍液塗佈圖.....	26
圖 3.13	PDMS 材質的微流管道圖.....	27
圖 3.14	PDMS 與玻璃片接合圖.....	27
圖 3.15	微流管道設計與製作圖.....	28
圖 3.16	平台與微粒子位移的關係圖.....	29
圖 4.1	光強度分佈圖.....	31
圖 4.2	捕捉點數與捕捉力的關係圖.....	32
圖 5.1	線形圖案的相位圖.....	35
圖 5.2	實際光強度分佈圖.....	35
圖 5.3	二維光功率分佈圖.....	36
圖 5.4	一維光功率分佈圖.....	36
圖 5.5	線形雷射鐳夾捕捉微粒子力場圖.....	37
圖 5.6	線形雷射鐳夾捕捉半徑 $3\mu\text{m}$ 微粒子的力場圖.....	38
圖 5.7	線形雷射鐳夾捕捉半徑 $1.5\mu\text{m}$ 微粒子的位能場圖.....	39
圖 5.8	線形雷射鐳夾捕捉半徑 $3\mu\text{m}$ 微粒子的位能場圖.....	39
圖 5.9	水平捕捉力理論模擬分佈圖.....	40
圖 5.10	水平捕捉力理論模擬分佈圖.....	41
圖 5.11	半徑 $1.5\mu\text{m}$ 微粒子的垂直捕捉力分佈圖.....	42
圖 5.12	個別的二維平面垂直捕捉力理論模擬分佈圖.....	42
圖 5.13	半徑 $3\mu\text{m}$ 微粒子的垂直捕捉力分佈圖.....	43
圖 5.14	個別的二維平面垂直捕捉力理論模擬分佈圖.....	43
圖 5.15	微粒子軌跡模擬圖.....	44
圖 5.16	分離距離 Δd 與線形角度 θ_w 及流速 v_w 關係圖.....	45
圖 5.17	微流管道流速分佈圖.....	46

圖 5.18	線形圖案位置流速分佈圖.....	46
圖 5.19	線形雷射鐳夾捕捉微粒子的實驗量測與理論計算成果圖.....	47
圖 5.20	模擬線形雷射鐳夾捕捉力(實線)的水平分量分佈圖.....	48
圖 5.21	模擬的垂直捕捉力分佈(實線曲線)與實驗數據(黑點)圖.....	49
圖 5.22(a)	對應到圖 5.21 的 α 平面與力平衡點 x'_1 的垂直捕捉力分佈圖.....	49
圖 5.22(b)	對應到圖 5.21 的 β 平面與力平衡點 x'_2 的垂直捕捉力分佈圖.....	50
圖 5.22(c)	對應到圖 5.21 的 γ 平面與力平衡點 x'_3 的垂直捕捉力分佈圖.....	50
圖 5.23	模擬線形雷射鐳夾捕捉力(實線)的水平分量分佈圖.....	51
圖 5.24	模擬的垂直捕捉力(實線)與實驗數據(黑點)圖.....	52
圖 5.25(a)	對應到圖 5.24 的 α 平面與力平衡點 x'_1 的垂直捕捉力分佈.....	52
圖 5.25(b)	對應到圖 5.24 的 β 平面與力平衡點 x'_2 的垂直捕捉力分佈.....	53
圖 5.26	模擬與實驗量測半徑 $3\mu\text{m}$ 微粒子軌跡的比較圖.....	53
圖 5.27	引導微粒子流動方向圖.....	54
圖 5.28	酵母菌沿 45° 線形雷射鐳夾移動圖.....	55
圖 5.29	微粒子與酵母菌分離圖.....	55
圖 5.30	捕捉力(曲線)與水流黏滯力(直線)比較圖.....	58
圖 A.1	透鏡偏折光場之行進與偏振方向示意圖.....	64
圖 C.1	LabVIEW 控制電壓及移動方向面板圖.....	68
圖 C.2	電壓與平台移動速度關係圖.....	68
圖 C.3	被捕捉的微粒子受水流沖力之偏移影像圖.....	69
圖 C.4	微粒子軌跡影像辨識圖.....	70
圖 C.5	影像解析度圖.....	71
圖 D.1	光強度與捕捉力分佈圖.....	73



第一章 緒論

細胞分離與篩選是生物與臨床的檢驗上，每日基本與必要的操作程序。但如何在操作程序中，分離出關鍵的細胞做檢測，是生物醫學上非常重要的技術。在目前大部分生醫用的細胞分類及篩選工具中，典型的有大型的流式細胞儀與微小的微流體實驗室晶片。流式細胞儀利用電力吸引標定過的細胞，是現行最可靠的細胞篩選儀器之一，適用於大多數的細胞。但其體積龐大，價格昂貴。而微流體實驗室晶片恰好相反。此晶片利用微流管道導引細胞的基本功能，進一步配合微結構的篩選功能與介電泳電極的捕捉功能之後，可以分離不同大小的細胞。微流體實驗室晶片最主要的優點是成本低廉，極具產業競爭力。但因為這些硬體的尺寸與布置一經製成即固定不變，所以大多只適用指定大小的細胞，無法隨樣品細胞的尺寸而調整。此外，微結構經過長期連續操作之後，管道容易阻塞。至於電極方面，電極的電壓容易造成水解而產生氣泡。氣泡會引發紊流，干擾微流管道的導引功能，甚至造成管道堵塞。反之，雷射鑷夾為光學式而非機械式的捕捉，且捕捉光點可在大口徑的微流管道中任意移動，帶動微粒子，所以無管道阻塞的問題。因此，雷射鑷夾的操控搬運特性與微流管道導引功能的組合，是發展線形捕捉全像雷射鑷夾動態操控，達到細胞快速分離的新技術。

雷射鑷夾於 1986 年由 Ashkin 所發明之後^[1]，由於功能有如中的一隻手，可在顯微鏡視野下捕捉並操控單一細胞或生物分子，自此開啟了細胞與分子生物學的研究領域^[2-7]。稍後，1970 年代，Ashkin 提出一個光學追跡理論模型【Ray-Optics Model】，解釋了雷射鑷夾捕捉力的工作原理。1999 年 Reicherter 與 Curtis 進一步結合程式化相位調變器(PPM)與雷射鑷夾，建立一套全像式雷射鑷夾(HOT)^[8,9]，將單一捕捉點發展到多捕捉點，能同時操控多個微粒子或細胞^[10]。2004 年本實驗室曾勝陽根據全像式雷射鑷夾技術，利用 PPM 將多個捕捉點排成一條直線，將點的捕捉方式延伸到線的捕捉概念^[11,12]。他也最先提出利用線形雷射鑷夾導引分離不同大小的微粒子的可行性。2006 年紐約大學 David Grier 也針對線形圖案雷射鑷夾，研究了 PPM 的相位調變對線形圖案的光強度分佈的關係^[13,14]。自此，引導了我們對線形捕捉雷射鑷夾在特性及功能上的研究。

我們相信線形雷射鑷夾能夠導引細胞的關鍵在於線形捕捉力的特殊分佈。根據 RO model，傳統單一捕捉點雷射鑷夾的捕捉力呈點對稱幅射式分佈。由於線形圖案是許多單一捕捉光點緊密排列而成，因此線形圖案上每一點的捕捉力都受到鄰近捕捉點的影響。對線形圖案上任一點而言，在垂直於線形圖案的橫向捕捉力方面，因鄰近

捕捉點在此點的橫向捕捉力的方向相同，因此疊加之後造成橫向捕捉力變大。反之，在平行於線形圖案的縱向捕捉力方面，因左右兩邊鄰近捕捉點在此點的縱向捕捉力的方向相反，因此互相抵銷之後造成縱向捕捉力變小。結果，線形雷射鐳夾因較大的軸對稱式的橫向捕捉力而有如一個無形的空心水管。當一個細胞被線形圖案雷射鐳夾捕捉之後，細胞被限制在類似空心水管的線形圖案上移動。因此，適當安排線形圖案的位置，線形圖案雷射鐳夾可以有效導引細胞移動。

其次，線形圖案雷射鐳夾能夠分離細胞的關鍵在於線形圖案軸對稱式的橫向捕捉力對不同大小的細胞有強弱之別。根據 RO model，雷射鐳夾的捕捉力和進入微粒子內的光功率成正比。由於線形圖案是許多單一捕捉光點緊密排列而成，因此進入尺寸較大細胞的捕捉光點數目較多而總光功率較大，因而所造成的橫向捕捉力也較大。反之，同一個線形圖案對小細胞所造成的橫向捕捉力則較小。考慮當一個大細胞和一個小細胞分別被線形圖案雷射鐳夾捕捉之後，額外加入一個斜向沖刷的水流對這兩個大小細胞運動的影響。首先，此一斜向水流會對任一細胞產生一額外的水流黏滯力。其次，此一斜向水流黏滯力將有兩個分力作用在這個等效空心水管內的細胞上，其中一個是垂直於線形圖案的橫向分力，另一個則是平行於線形圖案的縱向捕捉分力。如果水流黏滯力的橫向分力大於細胞所受到橫向捕捉力，那麼細胞將被沖離線形圖案。反之，細胞則留在線形圖案上，同時被水流黏滯力的縱向分力推動。結果，前述線形圖案上的小細胞因為所受到的橫向捕捉力較小而被水流沖走，而大細胞則會被留在線形圖案上移動，達到大小細胞分離的效果。因此，適當控制水流的速度，以及利用 PPM 調整線形圖案相對於水流方向的角度，線形雷射鐳夾可以在微流管道內有效分離不同大小的細胞，達到動態且最佳化的分離效果。

了解線形捕捉雷射鐳夾系統導引及分離細胞的機制之後，本論文的目的就在於提出一個分析線形雷射鐳夾捕捉、導引、與分離功能的模型，以及設計出一套動態的最佳化細胞分離與篩選系統。為達此目的，理論上，首先我們建立一個線形捕捉模型，根據線形圖案的光強度分佈 I 與微粒子的半徑 R_B ，計算線形雷射鐳夾的捕捉力 F 與捕捉位能 U 的空間分佈。接著，考慮一個額外加入的斜向水流。根據水流速度 v_w 以及水流方向與線形圖案之間的夾角 θ_w ，計算此一斜向水流黏滯力垂直於線形圖案的橫向分力，與平行於線形圖案的縱向捕捉分力。如此，我們可以計算估計不同半徑的微粒子在微流管道的水流中，流經線形圖案時被導引分離的運動軌跡。最後，再由運動軌跡得到每個微粒子被導引分離後偏離原來流道的平移距離，作為分離效果的指標。

在線形捕捉模型建立後，為驗證其準確性，我們設計了兩個實驗。第一個實驗是藉由變化馬達驅動平台的移動速度調控載玻片上的水流黏滯力，用以校正半徑為 $1.5\ \mu\text{m}$ 與 $3\ \mu\text{m}$ 的微粒子分別在線形圖案上每一個平衡點的捕捉力的水平分量與垂直分量。接著第二個實驗是觀察並紀錄上述微粒子流經線形圖案時被導引分離的運動軌跡。然後，根據運動軌跡量測微粒子偏離原來流道分別的平移距離。我們比較上述兩個實驗的數據與線形捕捉模型的預測值，以支持本線形捕捉模型的可行性。

在本研究工作中，我們從建立線形捕捉全像雷射鐳夾系統開始，提出一個線形捕捉模型，並從探討線形圖案的光強度分佈與捕捉力的分佈關係做起。最終，我們結合線形圖案雷射鐳夾獨特導引分離細胞的功能與微流管道導引收集細胞的優點，並利用 PPM 的電腦可程式化的靈活特性，建立一個動態的最佳化細胞分類與篩選系統。這個具有即時、並能連續操作、且成本低廉有潛力的細胞分離技術，我們希望未來能應用到生醫檢測。

本文其他的章節介紹如下：第二章將敘述線形雷射鐳夾的理論模型。模型的建立以 RO model 為基礎，模擬出線形雷射鐳夾捕捉力的分佈。接著，模型結合運動方程式，模擬微粒子或細胞的運動軌跡及分離效果。第三章介紹實驗系統。包含全像雷射鐳夾光路的設計、系統的的架設及各個元件的細節。另外，微流管道的設計與製作以及水流黏滯力量測系統，也加以敘述。第四章敘述線形雷射鐳夾捕捉力與微粒子軌跡量測方法。第五章是結果與討論。根據實驗數據與理論模擬值的比較驗證模型的準確性以及模擬微粒子分離的效果。第六章是結論與展望，呈現本論文對學術研究的貢獻以及未來可應用以及改進的地方。

第二章 理論模型

線形雷射鐳夾已被展示具有分離大小微粒子的功能，如圖 2.1 所示。為了更進一步了解線型雷射鐳夾分離微粒子的機制，因此我們將在本章節中提出一個線形雷射鐳夾捕捉力的理論模型，以及從實驗的量測結果驗證本模型準確性的驗證方法。對於任何一個由全像雷射鐳夾系統的 PPM 經由相位圖形產生的線形圖案，我們將先利用本模型模擬計算兩個不同大小的微粒子分別受到這個線形圖案的捕捉力場分佈。接著，我們再利用數值模擬法，分別模擬這大小微粒子在各種不同的水流黏滯力與線形圖案雷射鐳夾捕捉力的合力作用下，二者在經過線形圖案時的運動軌跡，特別是在垂直於水流方向上與原路徑的平移距離：大微粒子為 d_1 與小微粒子為 d_2 ，如圖 2.1 所示。這兩個平移距離的差距即是大小微粒子在此系統中的分離距離。本模型即根據這分離距離的大小作為分離效果的量化依據，最後找出兩微粒子的最大分離距離，及其所對應的最佳化的分離條件：水流速度 $v_{w_{opt}}$ 以及線形圖案與水流方向的夾角 $\theta_{w_{opt}}$ ，以及有效分離微粒子的條件範圍，達到最有效率並快速的分離。

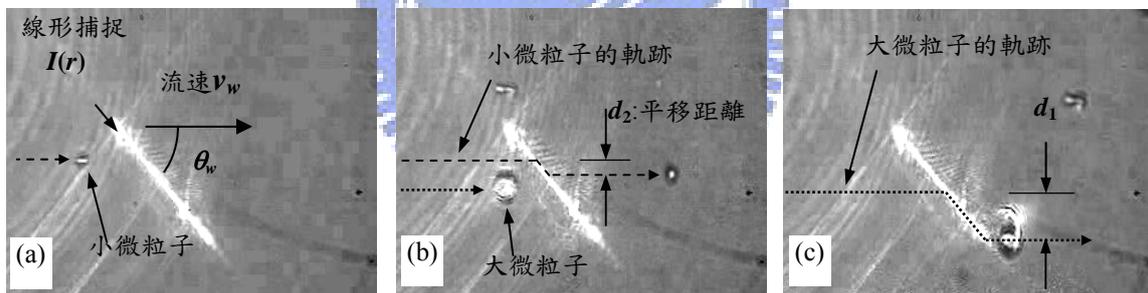


圖 2.1 線形捕捉全像雷射鐳夾分離大小微粒子連續影像實例圖。(a)小微粒子與大微粒子(在後)流經線形圖案。(b)與(c)圖清楚的顯示大小微粒子分別被偏離原來的路徑在流經線形圖案之後。這是由於線形雷射鐳夾對大小微粒子不同的捕捉力，各造成一段平移距離 d_1 與 d_2 。

2-1 雷射鐳夾捕捉力之來源

當一高斯光束雷射光通過物鏡聚焦之後，會產生一聚焦焦點，並且以焦點為中心形成一位能井。當微粒子靠近這個位能井時，若具有的動能較位能井深度小，便會受到吸引而限制在焦點，我們稱為捕捉陷阱。可以吸引微粒子的物理量，我們稱之為捕捉力。這個利用光場捕捉微小粒子的現象，也就是所謂雷射鐳夾的捕捉現象。其中，一般雷射光源聚焦時所用的物鏡，都是利用高數值孔徑 (numerical aperture) 的顯微物鏡，其目的

在於高度聚焦下產生較大的捕捉力。雷射鐳夾的功能結合進顯微鏡當中，是一個可以在非侵入式、低傷害性下，進行微小捕捉操控的系統。這方式對於生物上的研究，有很大的幫助。

雷射鐳夾會對微粒子產生一捕捉力，主要有兩個來源。一個是雷射光束與被捕捉的微粒子間動量的變化。^[15] 當雷射光束照射在微粒子時，由於環境與介質的折射率不同，根據 snell's 定律，便會產生折射與反射等散射現象，使得改變了光束的行進方向。由於行進方向改變，在動量守恆的條件下，雷射光束和微粒子之間隨時間產生動量的變化。另一個捕捉力的來源則是雷射光束中的電場與微粒子產生感應電偶極矩 (induced dipole moment)，形成電力的吸引。由於微粒子都是由介電物質組成，在電場之下，介電物質會被感應產生感應電偶極矩。此時電場若為不均勻的分佈，此感應電偶極矩會受力的吸引。恰好，雷射鐳夾提供了如此的不均勻電場，因此對微粒子產生捕捉力。

從一般的光學概念得知發現，當微粒子被雷射鐳夾捕捉時，微粒子的尺寸是決定何者捕捉力的來源。若微粒子的尺寸遠大於波長時($d \gg \lambda$)，則適用於一般定義的幾何光學模型，可以用折射與反射等散射現象來解釋光束與微粒子間的作用，稱為米氏散射範疇 (Mie scattering regime)。因此，光散射所造成的動量轉換是雷射鐳夾捕捉力的來源。^[16] 反之，當微粒子的尺寸遠小於波長時($d \ll \lambda$)，則因為作用在微粒子的光束產生不明顯的散射現象，因此無法用幾何光學來解釋。此時，就必須用非均勻電場與感應電偶極矩來描述雷射鐳夾捕捉微粒子的現象，我們稱之為瑞利近似的電場感應模型 (Rayleigh scattering regime)。^[17] 在本篇論文中，提出的微粒子尺寸皆大於雷射光波長，因此我們以幾何光學捕捉力模型為基礎，然後建立及應用線形捕捉力模型。

2-2 雷射鐳夾對微粒子之幾何光學捕捉力模型

在幾何光學模型的範圍裡，由 Ashkin 提出雷射鐳夾捕捉力的 RO model 理論，是將一道雷射光束分成許多的光線通過物鏡後，在焦平面上聚焦成一捕捉光點，以此單一捕捉光點建立雷射鐳夾捕捉力的模型。因此，我們把產生單一捕捉光點的雷射光束分成許多光線之後，是以不同的光線角度入射到微粒子。當光線進入微粒子時，發生折射與反射 (如圖 2.2 所示)，由上述知光子動量產生改變。這表示微粒子對光子施加一作用力，改變了光子的運動方向，而動量也跟著改變。再者，根據牛頓第三運動定律，微粒子同時會受到一大小相等方向相反的反作用力。將所有光子對微粒子產生的反作用力疊加，便是雷射鐳夾對微粒子的捕捉力。因此，只要了解雷射光束的入射光線作用在微粒子的數量，就可算出雷射鐳夾捕捉微粒子的捕捉力，如圖 2.3 所示。另外，雷射鐳夾的機制，

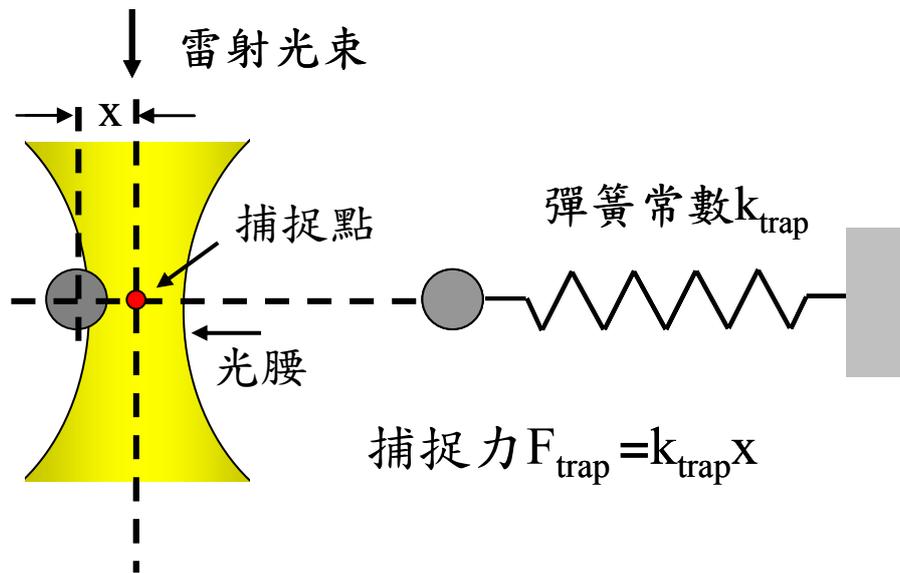


圖 2.4 雷射鐳夾捕捉力對應彈簧模型機制示意圖

2-3 線形雷射鐳夾對微粒子之幾何光學捕捉力模型

為計算線形雷射鐳夾對微粒子的捕捉力分佈，如圖 2.5 所示，我們考慮一個浸在水溶液中的微粒子，和其附近一段線形雷射鐳夾之間的交互作用。已知水溶液的折射率為 n_s ，微粒子的折射率為 n_B 、半徑為 R_B 、且質量為 M ，以及雷射的波長為 λ 。假設微粒子中心 O_B 點的座標為 (x_o, y_o, z_o) ，線形圖案的长度為 L ，且線形圖案上的雷射總功率為 P 。在本模型中，我們將線形雷射鐳夾視為由多個單一捕捉點雷射鐳夾排成一列而成。因此，我們根據 Ashkin 的單一捕捉點雷射鐳夾光學追跡模型(Single-Trap RO Model)，先計算每個單一捕捉點對微粒子的捕捉力分佈，最後將所有單點的捕捉力分佈疊加起來，以得到線形雷射鐳夾的捕捉合力分佈。

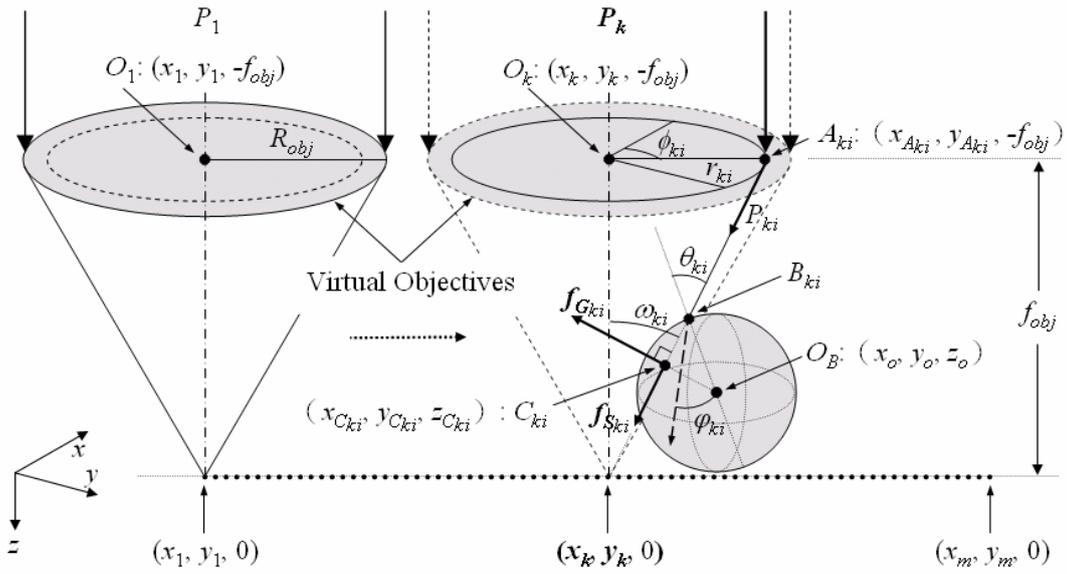


圖 2.5 微粒子與線形雷射鐳夾之間的交互作用示意圖

根據上述概念，參考圖 2.5，首先我們將長度為 L 且位於 $z=0$ 平面上的線形圖案分成 m 個單一捕捉點，其中任何一個捕捉點 k 的座標為 $(x_k, y_k, 0)$ ；此處 $1 \leq k \leq m$ 。其次，我們假設每一捕捉點上的雷射功率 P_k 並不相同，但 $\sum_{k=1}^m P_k = P$ 。此外，因為每一個捕捉點都被視為一個單一雷射鐳夾，所以我們還假設每一個捕捉點正上方都有一個相同的虛擬顯微物鏡，同時將各自所對應功率為 P_k 的入射平行雷射光束匯聚到焦平面上而形成一線形圖案。在此，我們假設這些虛擬顯微物鏡的規格和實驗系統的顯微物鏡規格一樣：焦距為 f_{obj} ，且入瞳(Entrance Pupil)的半徑為 R_{obj} ，因此任何一個鏡心 O_k 點的座標為 $(x_k, y_k, -f_{obj})$ 。為模擬雷射光束的匯聚過程，我們進一步將每一個捕捉點所對應的雷射光束平均分為 j 條光線，以方便個別追蹤。如此，在任何一個捕捉點 k 上任何一條光線 i 的雷射功率 $P_{ki} = P_k/j$ ；此處 $1 \leq i \leq j$ 。

接下來，在追蹤每一條光線的行進過程中，我們假設第 k 個雷射光束上的第 i 條光線是從虛擬顯微物鏡鏡面上座標為 $(x_{Aki}, y_{Aki}, -f_{obj})$ 的 A_{ki} 點以一個傾角 (Incline Angle) Ω_{ki} 斜向射出，然後在微粒子表面 B_{ki} 點處折射進入微粒子內。從幾何關係，我們可以得出 B_{ki} 點的座標，以及這條入射光線距離微粒子中心最近的位置 C_{ki} 點的座標 $(x_{Cki}, y_{Cki}, z_{Cki})$ ：

$$x_{C_{k_i}} = \frac{x_o + y_o \cdot \tan \phi_{k_i} - \frac{z_o}{\tan \Omega_{k_i} \cdot \cos \phi_{k_i}}}{1 + \tan^2 \phi_{k_i} + \left(\frac{1}{\tan \Omega_{k_i} \cdot \cos \phi_{k_i}} \right)^2}, \quad (2-1-a)$$

$$y_{C_{k_i}} = y_k + (x_{C_{k_i}} - x_k) \cdot \tan \phi_{k_i}, \quad (2-1-b)$$

與

$$z_{C_{k_i}} = \frac{-(x_{C_{k_i}} - x_k)}{\tan \Omega_{k_i} \cdot \cos \phi_{k_i}}, \quad (2-1-c)$$

其中

$$\phi_{k_i} = \tan^{-1} \left(\frac{y_{A_{k_i}} - y_k}{x_{A_{k_i}} - x_k} \right), \quad (2-1-d)$$

是向量 O_k 點到 A_{k_i} 點和 x 軸的夾角，

$$\Omega_{k_i} = \tan^{-1} \left(\frac{r_{k_i}}{f_{obj}} \right), \quad (2-1-e)$$

與

$$r_{k_i} = \sqrt{(x_{A_{k_i}} - x_k)^2 + (y_{A_{k_i}} - y_k)^2}, \quad (2-1-f)$$

是 A_{k_i} 點到鏡心 O_k 點的距離。於是，我們可以得到這條光線在 B_{k_i} 點的入射角 θ_{k_i} 與折射角 φ_{k_i} ：

$$\theta_{k_i} = \sin^{-1} \frac{\sqrt{(x_o - x_{C_{k_i}})^2 + (y_o - y_{C_{k_i}})^2 + (z_o - z_{C_{k_i}})^2}}{R_B}, \quad (2-2)$$

$$\varphi_{k_i} = \sin^{-1} \left[\frac{n_s \cdot \sin \theta_{k_i}}{n_B} \right]. \quad (2-3)$$

此外，考慮電場 s -與 p -偏極的情況下(附錄一)，這條光線在 B_{k_i} 點的反射率 R_{k_i} 與穿透率 T_{k_i} 分別為

$$R_{k_i} = \begin{cases} \left(\frac{n_s \cdot \cos \theta_{k_i} - n_B \cdot \cos \varphi_{k_i}}{n_s \cdot \cos \theta_{k_i} + n_B \cdot \cos \varphi_{k_i}} \right)^2 & \text{for } s \text{ polarization} \\ \left(\frac{n_s \cdot \cos \varphi_{k_i} - n_B \cdot \cos \theta_{k_i}}{n_s \cdot \cos \varphi_{k_i} + n_B \cdot \cos \theta_{k_i}} \right)^2 & \text{for } p \text{ polarization} \end{cases}, \quad (2-4)$$

與

$$T_{k_i} = \begin{cases} \left(\frac{n_B \cdot c \cos \varphi_{k_i}}{nc \cos \theta_{k_i}} \right) \left(\frac{2n_s \cdot c \cos \theta_{k_i}}{n_s \cdot c \cos \theta_{k_i} + n_B \cdot c \cos \varphi_{k_i}} \right)^2 & \text{for s polarization} \\ \left(\frac{n_B \cdot c \cos \varphi_{k_i}}{n \cdot c \cos \theta_{k_i}} \right) \left(\frac{2n_s \cdot c \cos \varphi_{k_i}}{n_s \cdot c \cos \varphi_{k_i} + n_B \cdot c \cos \theta_{k_i}} \right)^2 & \text{for p polarization} \end{cases} \quad (2-5)$$

根據 Ashkin 的 RO Model，每一條進入微粒子的入射光線最終對微粒子產生兩個互相垂直的作用力^[15,18]：其中一個是平行於這條入射光線的散射力 f_S ，而另一個是垂直於這條入射光線的梯度力 f_G 。將其結果套用在本模型中，則如圖 2.5 所示，第 k_i 條入射光線對微粒子所產生的散射力 $f_{S_{k_i}}$ 以及梯度力 $f_{G_{k_i}}$ 分別為

$$f_{S_{k_i}} = \frac{n_s}{c} \left(\frac{P_k}{j} \right) \left\{ 1 + R_{k_i} \cdot \cos 2\theta_{k_i} - \frac{T_{k_i}^2 [\cos(2\theta_{k_i} - 2\varphi_{k_i}) + R_{k_i} \cdot \cos 2\theta_{k_i}] }{1 + R_{k_i}^2 + 2R_{k_i} \cdot \cos 2\varphi_{k_i}} \right\}, \quad (2-6)$$

與

$$f_{G_{k_i}} = \frac{n_s}{c} \left(\frac{P_k}{j} \right) \left\{ R_{k_i} \cdot \sin 2\theta_{k_i} - \frac{T_{k_i}^2 [\sin(2\theta_{k_i} - 2\varphi_{k_i}) + R_{k_i} \sin 2\theta_{k_i}] }{1 + R_{k_i}^2 + 2R_{k_i} \cos 2\varphi_{k_i}} \right\}, \quad (2-7)$$

其中 c 是光在真空中的速率。

為計算所有捕捉點光線對微粒子所產生的合力，我們先將每一條光線對微粒子所產生的散射力 $f_{S_{k_i}}$ 與梯度力 $f_{G_{k_i}}$ 的合力，轉換成直角座標系下分別在 x 、 y 、與 z 軸的分量：

$$f_{k_i, x} = -\frac{r_{k_i} \cos \phi_{k_i}}{\sqrt{r_{k_i}^2 + f_{obj}^2}} f_{S_{k_i}} - \frac{f_{obj} \cdot \cos \phi_{k_i}}{\sqrt{r_{k_i}^2 + f_{obj}^2}} f_{G_{k_i}}, \quad (2-8)$$

$$f_{k_i, y} = -\frac{r_{k_i} \sin \phi_{k_i}}{\sqrt{r_{k_i}^2 + f_{obj}^2}} f_{S_{k_i}} - \frac{f_{obj} \cdot \sin \phi_{k_i}}{\sqrt{r_{k_i}^2 + f_{obj}^2}} f_{G_{k_i}}, \quad (2-9)$$

與

$$f_{k_i, z} = \frac{f_{obj}}{\sqrt{r_{k_i}^2 + f_{obj}^2}} f_{S_{k_i}} - \frac{r_{k_i}}{\sqrt{r_{k_i}^2 + f_{obj}^2}} f_{G_{k_i}}. \quad (2-10)$$

然後，我們再將所有捕捉點上的每一條光線，對微粒子在各軸上的捕捉力分量疊加起來。如此，我們即可得到線形雷射鐳夾對微粒子的捕捉力 \bar{F}_{Line} 在各軸上的分量：

$$F_{Line, x}(x_o, y_o, z_o) = \sum_{k=1}^m \left(\sum_{i=1}^j f_{k_i, x} \right), \quad (2-11)$$

$$F_{Line, y}(x_o, y_o, z_o) = \sum_{k=1}^m \left(\sum_{i=1}^j f_{k_i, y} \right), \quad (2-12)$$

與

$$F_{Line,z}(x_o, y_o, z_o) = \sum_{k=1}^m \left(\sum_{i=1}^j f_{k_i,z} \right), \quad (2-13)$$

其中 (x_o, y_o, z_o) 是微粒子的中心位置， m 是捕捉點總數， j 是匯聚到每個捕捉點上的光線總數。

2-4 微粒子運動軌跡之分析

2-4-1 微粒子軌跡模型

在得到線形雷射鐳夾對微粒子的捕捉力場分布後，我們接著根據該微粒子的運動方程式模擬其運動軌跡。假設在微流管道內有一流速為 \bar{v}_w 的水流，那麼微粒子將同時受到水流黏滯力 \bar{F}_d 與線形雷射鐳夾捕捉力 $\bar{F}_{Line}(x_o, y_o, z_o)$ 的合力作用。首先，上述這兩個力對該微粒子的運動方程式可表示為：

$$M \frac{d^2 \bar{r}}{dt^2} = \bar{F}_d(\bar{r}) + \bar{F}_{Line}(\bar{r}), \quad (2-14)$$

其中 M 是微粒子的質量， $\bar{r} = (x_o, y_o, z_o)$ 是微粒子的中心位置向量， t 是時間。此處，水流黏滯力 \bar{F}_d 為：

$$\bar{F}_d(\bar{r}) = -6\pi\eta R_B \left(\frac{d\bar{r}}{dt} - \bar{v}_w \right), \quad (2-15)$$

其中 η 是水流黏滯係數， R_B 是微粒子的半徑。假設微粒子的運動很快即達到穩定狀態，即加速度為零，則公式 (2-14) 可改寫成

$$\frac{d\bar{r}}{dt} = \bar{v}_w + \frac{\bar{F}_{Line}(\bar{r})}{6\pi\eta R_B}. \quad (2-16)$$

接著，我們利用有限差分法 (Finite Element Time Domain, FDTD) ^[19] 對微粒子速度公式 (2-16) 進行數值分析，以獲得微粒子在水流黏滯力 \bar{F}_d 與線形雷射鐳夾捕捉力 \bar{F}_{Line} 的合力作用下的運動軌跡 $\bar{r}(t)$ 。根據有限差分法，我們可以將公 (2-16) 改寫為

$$\Delta \bar{r}_n = \left[\bar{v}_w + \frac{\bar{F}_{Line}(\bar{r}_n)}{6\pi\eta R_B} \right] \Delta t, \quad (2-17)$$

其中 $\Delta \bar{r}_n = \bar{r}_n - \bar{r}_{n-1}$ 是微粒子在運動過程中單位時間 Δt 內的位置變化量。因此，利用公式 (2-17)，我們將可推導出任何一個微粒子，在微流管道中流經線形圖案時的運動軌跡，特別是在垂直於水流方向上與原路徑的平移距離 d 。

2-4-2 微粒子分離條件

在本論文中，我們的重點是比較兩個不同大小的微粒子與原路徑的平移距離 d_1 與 d_2 。這兩個平移距離的差距即是大小微粒子在線形圖案作用下的分離距離： $\Delta d = d_1 - d_2$ ，我們將以此作為分離效果的量化依據。本模型將根據輸入的線形圖案光強度分佈，與大小微粒子的半徑，先計算每一個微粒子受到線形圖案的捕捉力分佈以及水流產生的黏滯力，然後自動改變水流速度 v_w 大小以及線形圖案與水流方向的夾角 θ_w ，逐一計算兩微粒子的分離距離 Δd 。由此，我們可以得到這兩個微粒子的分離距離 Δd 分別和 v_w 與 θ_w 的關係，從中找出兩微粒子的最大分離距離 Δd_{Max} ，及其對應的水流速度 $v_{w_{opt}}$ 以及線形圖案與水流方向的夾角 $\theta_{w_{opt}}$ ；這是理論上最佳化的分離條件。同樣從分離距離 Δd 分別和 v_w 與 θ_w 的關係，我們可以定義門檻分離距離 d_{th} ，做為有效的分離距離，並對應出有效的水流速度及夾角做為分離條件。

2-4-3 微流管道流速模擬

在上述探討微粒子的分離條件中，水流速是其中條件之一，而當考慮微流管道內的水流速時，因為層流(laminar flow)的現象，使得從管中到接近管壁之間會形成一流速的分佈，並非均勻的流速。因此我們在模型裡必須考慮微流管道內水流速的變化，所以使用一般流體模擬常用的軟體 CFDRC 來模擬並算出流體在管道中的流速，然後將此參數代入模型中，準確的算出微粒子的軌跡，以及分離距離。

在微流管道裡，我們通常以雷諾數(Reynold number)的大小，來決定液體在管道流動的方式。而雷諾數的定義為慣性力與黏滯力之比，即

$$\text{Re} = \frac{D\bar{v}\rho}{\eta}, \quad (2-18)$$

D ：管道的直徑，[m]

\bar{v} ：平均流速，[m/s]

ρ ：密度，[kg/m³]

η ：黏滯係數。[kg/m·s 或 Pa·s]

雷諾數為一無因次，而以雷諾數判別液體在管道中流動的方式為：

$\text{Re} < 2,300$ 層流(laminar flow)，

$\text{Re} > 4,000$ 紊流(turbulent flow)，

$2,300 < \text{Re} < 4,000$ 過渡流(transition flow)。

所謂層流即是液體在管道中沿著管軸水平的方向分層流動，在管內形成一流速的分佈，如圖 2.6。由於流體與管壁的黏滯力作用，使得接近管壁的流速最慢，而管中央的流速最快，其管內流速的分佈為

$$v = v_c \left[1 - \left(\frac{r}{R} \right)^2 \right] \quad (2-19)$$

v ：管徑的橫截面上，與管中心距離 r 的流體速度，[m/s]

v_c ：管內中心處的流體速度，[m/s]

R ：管半徑，[m]

r ：流體速度位置與管中心點間的距離，[m]

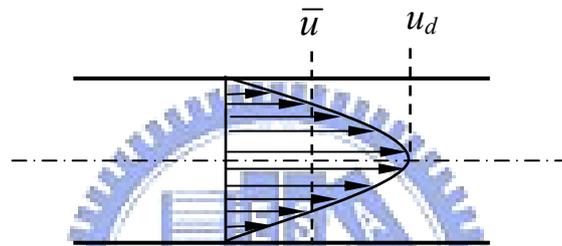


圖 2.6 層流

再者，紊流就是流速沒有一定的方向，在管中心無規則的流動。而過渡流則是流速從層流轉換成紊流的過渡時期，即是流體從層流變成波浪狀的擺動，擺動的頻率及振幅隨流速的增加而增加，增加到最後則形成紊流。

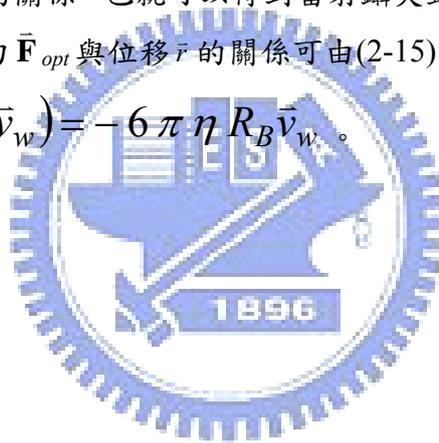
2-5 水流黏滯力量測法

在理論上，我們可以從 Ashkin 的 RO model，算出捕捉力的大小。而在實驗上，當雷射鐳夾捕捉住微粒子的時，若要知道雷射鐳夾對微粒子的捕捉力，通常的方式是力或光彈性係數的量測。在早期的雷射鐳夾捕捉力的量測是以水流黏滯力法，但近期在雷射鐳夾對生物力的量測中，通常是藉由單一粒子追蹤技術，先測得微粒子的偏移量，再乘上光彈性係數以得到雷射鐳夾作用在微粒子的捕捉力 ($F_{trap} = k_{trap}x$; Hook's Law)。這種用光彈性係數的方法，常用有功率頻譜密度 (Power spectrum density, PSD)，統計分佈圖 (Histogram)，自相關 (Autocorrelation)，飛行時間 (Time of fly, TOF)。這些方法雖然有較高的解析度，但相對需要較昂貴的儀器輔助。在使用力量測方面，最常用的方法便是水流黏滯力量測法，尤其捕捉的微粒子或細胞的尺寸在數個微米至十數個微米的微粒子之間。雖然沒有光彈性係數法的準確度，但在上述微粒子或細胞的尺度之下，不必使用昂

貴的儀器就能量得雷射鐳夾的捕捉力應有的準確性。因此在研究中，我們使用水流黏滯力法得到雷射鐳夾捕捉微粒子的捕捉力。^[20,21]

水流黏滯力量測法是利用已知水流對微粒子的水流黏滯力去得到捕捉力與微粒子位移間關係的方法。此方法是被雷射鐳夾捕捉住的微粒子位於已知水流速度的環境中，藉由水流沖擊微粒子時，會對被捕捉的微粒子施以黏滯力，而此黏滯力便會將微粒子推離捕捉中心。由於微粒子被雷射鐳夾的捕捉力捕捉住，所以微粒子只會偏離捕捉中心而不會被沖離，除非黏滯力大於最大的捕捉力。當微粒子偏離捕捉中心的位移停止時，表示達到靜力平衡的狀態，此時的雷射鐳夾捕捉力就等於黏滯力。因此，我們從水流黏滯力量測法得到，微粒子偏離捕捉中心的位移是與黏滯力有關，也間接算出此時的微粒子位移的捕捉力。於是，只要黏滯力不大於最大捕捉力的情況下，依序給定不同的流速，就會對應得到不同的黏滯力也會對應微粒子在靜力平衡時不同的位移。由此得到了黏滯力與微粒子位移間的關係，也就可以得到雷射鐳夾對微粒子的捕捉力與微粒子位移間的關係了。此一捕捉力 \bar{F}_{opt} 與位移 \bar{r} 的關係可由(2-15)式知

$$\bar{F}_{opt}(\bar{r}) = \bar{F}_d(\bar{v}_w) = -6\pi\eta R_B \bar{v}_w \quad (2-20)$$



第三章 實驗系統與裝置

本論文的目的是在於提出一個分析線形雷射鐳夾捕捉、導引、與分離功能的模型，以及設計出一套動態的最佳化細胞分離系統。本實驗系統包含一全像雷射鐳夾系統以及微流管道晶片。全像雷射鐳夾系統包含傳統的單一捕捉雷射鐳夾加上可程式化的相位調變器。藉由此系統完成多捕捉形式的雷射鐳夾。另外，微流管道晶片是由材料 PDMS 利用光微影製程方式完成此晶片。結合此兩者，將應用在細胞或微粒子的分離上。

3-1 全像雷射鐳夾系統

雷射鐳夾於 1986 年由 Ashkin 所發明之後，已廣泛的應用在細胞或生物的研究上。於 1999 年 Reicherter 與 Curtis 進一步結程式化相位調變器 (PPM) 與雷射鐳夾，建立一套全像式雷射鐳夾 (HOT)，將單一捕捉點發展到多捕捉點，能同時操控多個微粒子或細胞。全像雷射鐳夾是根據輸入到 PPM 的相位圖形，經由 PPM 的相位調變後，在焦平面上產生捕捉的圖樣。因此控制相位圖形就可控制捕捉圖樣的形式，可以是點、線或面的捕捉形式，都可以適時的安排。在本論文中，理論模擬的方式是將線形捕捉雷射鐳夾分成許多單一的捕捉點來模擬。因此我們利用相位圖形，將全像雷射鐳夾產生的多捕捉點排列成一直線形成一線形雷射鐳夾，以符合理論的模擬以及驗證時的一致性，最後應用到細胞或微粒子的分離。

3-1-1 多點雷射鐳夾

應用富氏光學的理论公式，我們可以用(3-1)與(3-2)式來描述在菲涅爾(Fresnel)繞射下，光波電場的分佈情形。如圖 3.1 所示， $U(\xi, \eta)$ 是光波剛離開 ξ - η 平面時電場的分佈，此電場分佈會等於入射光的電場 $U_{in}(\xi, \eta)$ 乘上 ξ - η 平面的電場穿透函數 $t(\xi, \eta)$ 。而 $U(x, y)$ 則是在距離 ξ - η 平面為 z 的 x - y 平面上電場分佈（如圖 3-1），其中

$$U(x, y) = \frac{e^{jkz}}{j\lambda z} e^{j\frac{k}{2z}(x^2+y^2)} \iint_{-\infty}^{\infty} \left\{ U(\xi, \eta) e^{j\frac{k}{2z}(\xi^2+\eta^2)} \right\} e^{j\frac{k}{2z}(\xi x + \eta y)} d\xi d\eta, \quad (3-1)$$

且

$$\begin{aligned} U(\xi, \eta) &= U_{in}(\xi, \eta) t(\xi, \eta) \\ &= \frac{e^{jkz}}{j\lambda z} e^{j\frac{k}{2z}(x^2+y^2)} \iint_{-\infty}^{\infty} \left\{ U_{in}(\xi, \eta) t(\xi, \eta) e^{j\frac{k}{2z}(\xi^2+\eta^2)} \right\} e^{j\frac{k}{2z}(\xi x + \eta y)} d\xi d\eta. \end{aligned} \quad (3-2)$$

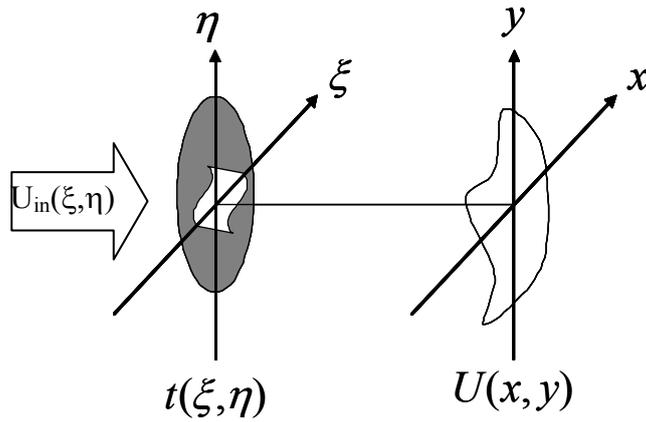


圖 3.1 繞射幾何圖形示意圖

當我們放入一焦距為 f 的凸透鏡在 ξ - η 平面與 x - y 平面間，並且將 x - y 平面置於此凸透鏡的後焦平面（如圖 3-2 所示）。此時由上式(3-1)、(3-2)兩式子，我們可以得到 $U(x,y)$ 與 $U(\xi,\eta)$ 的關係為(3-3)式。我們可以注意到 $U(x,y)$ 是 $U(\xi,\eta)$ 的富氏轉換後再乘上一相位項。當距離 d 等於凸透鏡的焦距 f 時，我們可以得到 $U(\xi,\eta)$ 的富氏轉換就是 $U(x,y)$ 。因此如果所需要的場分佈為 $U(x,y)$ ，則反富氏轉換後即可得到 $U(\xi,\eta)$ ，同樣也可得知 ξ - η 平面上電場穿透函數 $t(\xi,\eta)$ 。在本論文中，我們採用圖 3.2 所示的光路架設，以電腦控制光空間調變器，適當的控制輸入的 $t(\xi,\eta)$ (相位圖形)來得到所需的光場分佈。

$$\begin{aligned}
 U(x, y) &= \frac{e^{j\frac{k}{2f}(1-\frac{d}{f})(x^2+y^2)}}{j\lambda z} \iint_{-\infty}^{\infty} U(\xi, \eta) e^{j\frac{k}{2z}(\xi x + \eta y)} d\xi d\eta \\
 &= \frac{e^{j\frac{k}{2f}(1-\frac{d}{f})(x^2+y^2)}}{j\lambda z} F\{U(\xi, \eta)\}_{f_x=\frac{x}{\lambda f}; f_y=\frac{y}{\lambda f}}
 \end{aligned} \tag{3-3}$$

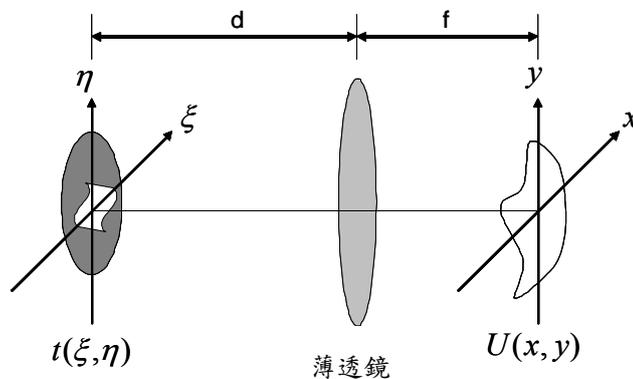


圖 3.2 經透鏡的繞射示意圖

3-1-2 全相位光空間調變器 (phase only spatial light modulator)

在全像雷射鑷夾系統中，全相位光空間調變器 (phase only spatial light modulator) 是決定雷射鑷夾光場分佈的主要元件。全相位光空間調變器的意義是可調變入射光場的相位分佈，但不改變入射光的強度分佈。此種光空間調變器的優點是：無外在因素條件下，光波經過光空間調變器反射出來後，不會損耗光的能量，所以不容易被損壞。由理論得知，雷射鑷夾的捕捉力只與光場強度有關，因此我們可以任意設計一空間相位分佈的函數圖形輸入光空間調變器，使得產生的光強度分佈符合我們所需的雷射鑷夾捕捉圖形，像是線形雷射鑷夾。為了得到空間相位分佈的函數圖形，我們必須使用數學演算法。在一些演算法中，我們使用由 Gerchberg 及 Saxton 提出的 G-S 演算法來得到空間相位分佈^[22]，以符合我們的需求。演算法的計算方式流程圖如圖 3.3 所示

首先，我們用假設的方式輸入相位空間分佈 ϕ_{in}^1 。然後將此相位空間分佈 $t(\xi, \eta)$ 乘上入射光場振幅的空間分佈 $U_{in}(\xi, \eta)$ ，就得到 $U(\xi, \eta)$ 。將 $U(\xi, \eta)$ 用快速富氏轉換即可得到光場在 $x-y$ 平面上的空間分佈 $U(x, y)$ 。檢查 $U(x, y)$ 的振幅空間分佈是否符合我們所需的光場振幅分佈。如果符合，則假設輸入的相位空間分佈 ϕ_{in}^1 剛好是我們想要的。如果不是，我們將 $U(x, y)$ 的振幅空間分佈 A_f' 換成所需的振幅空間分佈 A_f ，再反富氏轉換回到 $\xi-\eta$ 平面上。接著我們將所得到的光場分佈的振幅部分再換回入射光場的振幅分佈 A_{in} ，再進入下個迴圈中。如此重複上述步驟直到得到所需的輸入相位空間分佈 ϕ_{in}^n 。

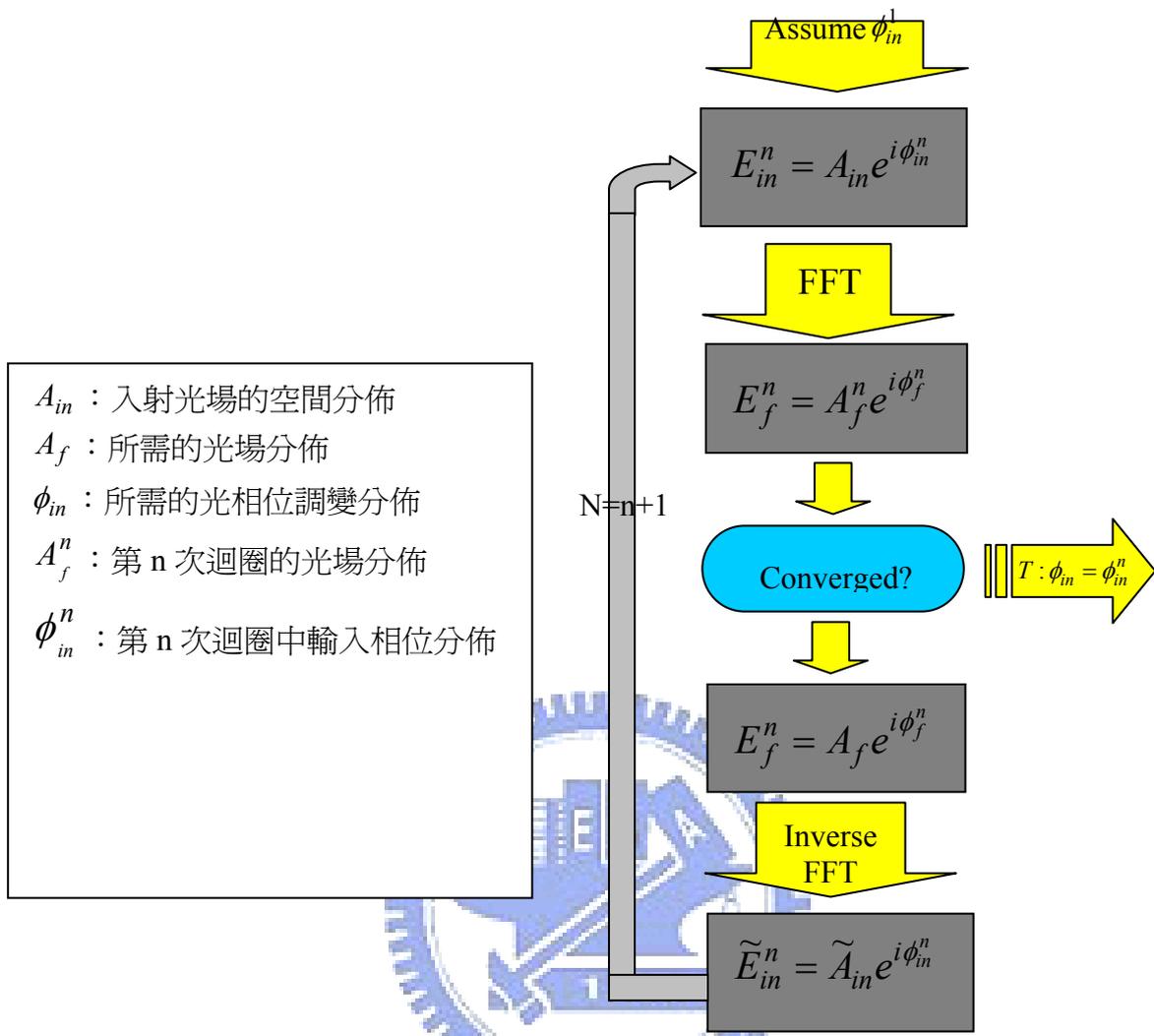


圖 3.3 GS 演算法流程圖

得到相位空間分佈所需要的演算時間，有很大的部分是決定於一開始時所假設的相位空間分佈 ϕ_{in}^1 。因此，好的經驗假設，就可以很快縮短演算的時間。所以我們選用所需光場分佈 $U(x,y)$ 的反富氏轉換後的相位空間分佈，來作為一開始所輸入的 ϕ_{in}^1 。在單一捕捉光點的情況下，用此種方法大多可以很快的得到所需的光場分佈。

3-1-3 相位分佈函數

在上節的相位空間分佈的假設過程中，我們通常利用常用的相位分佈函數來改變光場的分佈，以及將雷射光點做空間上的位移。還可利用分割 SLM 上的區域的方式，來產生光圖樣。

$$t(\xi, \eta) = e^{i2\pi(f_x\xi + f_y\eta)} \quad (3-4)$$

利用(3-4)式的函數形式，可以將雷射光點做二維的移動。式中的 f_x 與 f_y 決定光點在 x-y 平面上的位置。由上述知，x-y 平面上的光場分佈是 ξ - η 平面上光場的富氏轉換。3-4 式的富氏轉換為 $\delta(x-f_x, y-f_y)$ ，由 3-3 式可以得知，在 x-y 平面上座標為 $x=\lambda f_x$ ， $y=\lambda f_y$ (λ 是光波波長， f 是凸透鏡的焦距) 的地方有一亮點。所以適當的改變 f_x 與 f_y 就可以將光點移至想要的地方。假設光場在 x-y 平面上的分佈為 $U(x,y)$ ，如果要平移此光場分佈 (即得到 $U(x-\lambda f_x, y-\lambda f_y)$)，那麼只要將(3-4)式乘上造成 $U(x,y)$ 的 $U(\xi,\eta)$ 即可。所以用(3-4)式子，即可將任何的光場分佈做平移。

$$\delta(x - f_x, y - f_y) \otimes U(x, y) = U(x - f_x, y - f_y) \quad (3-5)$$

$$\begin{aligned} F^{-1}\{\delta(x - f_x, y - f_y) \otimes U(x, y)\} &= F^{-1}\{\delta(x - f_x, y - f_y)\} \otimes F^{-1}\{U(x, y)\} \\ &= e^{i2\pi(f_x\xi + f_y\eta)} U(\xi, \eta) \end{aligned} \quad (3-6)$$

在許多的狀況下，如果用 3-1-2 節中所提的方式尋找所需輸入的相位分佈需要花費相當多的時間，所以我們提出了利用分割 SLM 區域的方式再配合上(3-4)式中移動光點的方法，來產生多重光點圖樣的方法。假設我們今天要產生四個光點，最快的方式就是將 SLM 分成 4 個區域。在每一個區域中輸入(3-4)式所示的相位分佈函數，分別將光點推到不同的位置上。如此一來即產生 4 個光點。如果以數學的方式表示，一分成 4 個區域的 $t(\xi,\eta)$ 可以寫成 ($2w$ 為 SLM 的有效區域的邊長)：

$$\begin{aligned}
t(\xi, \eta) = & \left\{ \text{Rect}\left(\frac{\xi}{w}\right) \text{Rect}\left(\frac{\eta}{w}\right) e^{i2\pi(x_1\xi + y_1\eta)} \right\} \otimes \delta\left(\xi - \frac{w}{2}, \eta - \frac{w}{2}\right) \\
& + \left\{ \text{Rect}\left(\frac{\xi}{w}\right) \text{Rect}\left(\frac{\eta}{w}\right) e^{i2\pi(x_2\xi + y_2\eta)} \right\} \otimes \delta\left(\xi + \frac{w}{2}, \eta - \frac{w}{2}\right) \\
& + \left\{ \text{Rect}\left(\frac{\xi}{w}\right) \text{Rect}\left(\frac{\eta}{w}\right) e^{i2\pi(x_3\xi + y_3\eta)} \right\} \otimes \delta\left(\xi + \frac{w}{2}, \eta + \frac{w}{2}\right) \\
& + \left\{ \text{Rect}\left(\frac{\xi}{w}\right) \text{Rect}\left(\frac{\eta}{w}\right) e^{i2\pi(x_4\xi + y_4\eta)} \right\} \otimes \delta\left(\xi - \frac{w}{2}, \eta + \frac{w}{2}\right). \quad (3-7)
\end{aligned}$$

(3-7)式中的 $t(\xi, \eta)$ 經過富氏轉換後就變成

$$\begin{aligned}
t(\xi, \eta) = & \left\{ \text{Sinc}(w\xi) \text{Sinc}(w\eta) e^{i\pi(xw + yw)} \right\} \otimes \delta(x - x_1, y - y_1) \\
& + \left\{ \text{Sinc}(w\xi) \text{Sinc}(w\eta) e^{i\pi(-xw + yw)} \right\} \otimes \delta(x - x_2, y - y_2) \\
& + \left\{ \text{Sinc}(w\xi) \text{Sinc}(w\eta) e^{i\pi(-xw - yw)} \right\} \otimes \delta(x - x_3, y - y_3) \\
& + \left\{ \text{Sinc}(w\xi) \text{Sinc}(w\eta) e^{i\pi(xw - yw)} \right\} \otimes \delta(x - x_4, y - y_4). \quad (3-8)
\end{aligned}$$

如果 $(x_1, y_1), (x_2, y_2), (x_3, y_3), (x_4, y_4)$ 為不同的位置，(3-8)式即表示 4 個在不同位置的光點。用此種方法產生的光點數量有限制，因為當 w 越來越小時，富氏轉換後所產生的光點大小就越來越大。當光點大到某一程度時，光場強度的梯度變化就不足以捕捉微粒子。所以這種方法只能產生有限數量的光點。光點的數量取決於入射光能量以及 SLM 的有效面積。能量越強，SLM 的面積越大，所以產生的光點數目越多。

3-1-4 線形捕捉全像雷射鑷夾系統架構

和典型的全像雷射鑷夾的裝置一樣，本實驗所用的線形雷射鑷夾的系統裝置，是在一傳統單點捕捉雷射鑷夾系統中置入一反射式 PPM (Hamamatsu, X8267)。其中最重要的是，這個 PPM 應放置在系統中顯微物鏡的等效前焦平面上，使得 PPM 所調變的相位圖案得以在顯微物鏡的後焦樣品平面上產生一個富利葉轉換對應的線形圖案。

如圖 3.4 所示，一個半導體雷射光束 ($\lambda @ 1064 \text{ nm}$) 首先經過一個由 L_1 與 L_2 兩片透鏡組成的擴束器 (Beam Expander) 擴大其截面積，以填滿 PPM 的接收面積，預期能充分利用 PPM 調變雷射光束相位的功能。這個被 PPM 相位調變後的反射光束經過由透鏡 L_3 與 L_4 組成的縮束器 (Telescope) 縮束之後，再經過一個二色反射鏡 (Dichroic Mirror)，剛好填滿顯微物鏡 (100X, NA=1.25) 的入瞳。同時，透鏡 L_3 與 L_4 也將 PPM 調變過的相位圖案，成像在顯微物鏡的前焦平面上。最後，進入顯微物鏡的光束在樣品平面上呈現出

一個由多捕捉點組成的線形圖案。為同時觀察實驗過程並擷取影像分析，我們開啟樣品平面後方的照明光源，使得樣品平面上的影像得以經由顯微物鏡與透鏡 L_5 成像在 CCD 攝影機上。

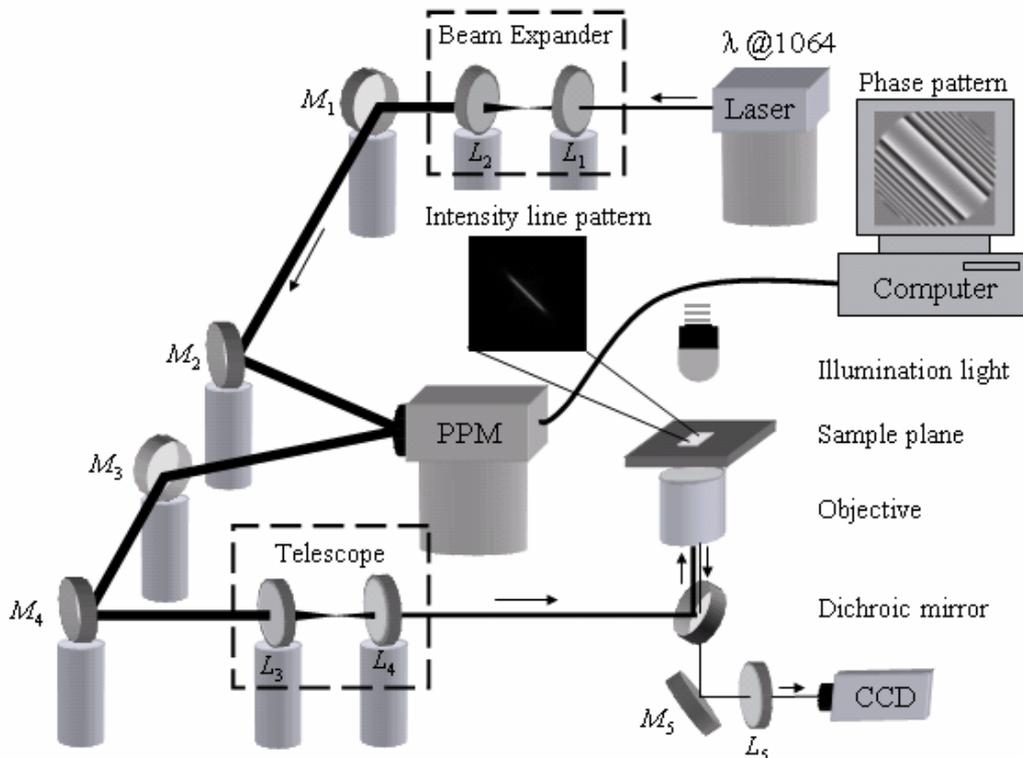


圖 3.4 線形捕捉全像雷射鑷夾系統裝置圖。系統包含一傳統式雷射鑷夾與一反射式 PPM

3-2 微流管道

現今科技的潮流除了生物科技、奈米科技、通訊外，還有一個就是微機電。從現今當紅的科技來看，微小化已是趨勢。微流管道的運用是從微流體理論而來的，而微流體是微機電中很重要的一部份。我們知道，液體在管道中流動，會受到管壁的磨擦阻力。當管道的口徑越小時，管壁的磨擦阻力會越大。所以必須施加外力，才能使液體在微小的管道中流動。目前普遍採用的方法是加壓或加高壓電場來控制液體在微小管道裡流動。若能在微流管道中置入非對稱微電極和加低壓交變電場也能控制液體在微流管道中的流動，微流管道的寬度大約在幾個 μm 到幾十個 μm 。微流體的技術，目前大部分使用在生化方面，而在生化方面主要有兩大方向。一是 Lab on a chip，也就是竭盡所能地在同一晶片上完成最多的操作方式，如樣品存取、分子篩選或提高濃度、分離、分類和檢測等。這樣就能在一片晶片完成所有的實驗，因為如前所述的知道，傳統的生化實驗是

費時、費力及耗材，若能 Lab on a chip 是一大突破。第二項即是建立可以同時進行大量同種分析，如 DNA 的解碼、DNA 片段擴增、蛋白質結晶等的系統，生物晶片的發展，就是一個很好的例子。

在線形雷射鑷夾分離微粒子的過程中，我們需要利用微流管道來輸送微粒子，因此必須製作微流管道。微流管道的利用已普遍的應用在生醫的檢測上，藉由微流管道晶片，能將原本需要在實驗室完成的生物樣品檢測能在晶片上完成，也就是 Lab-on-a-chip。這也是我們的雷射鑷夾結合微流管道所要做的事。目前微流管道的尺寸介於直徑數微米至數百微米之間，有很大的範圍。在我們的論文裡，微流管道的尺寸在於數十微米之間。微流管道的製作我們一開始用兩種方式：一個是用 Silicon 矽晶片製作，另一個是用軟性材質 PDMS 製作^[23-25]，製作的過程都需用到半導體光微影製程技術。選擇兩種材質製作微流管道的主要目的是要比較流體在不同材質的流動情形，以及緊密貼合度，再選出較適合的材質。在經過實際的測試之後，其兩者的液體流速控制相同，而製作過程後者較前者簡單，且 PDMS 材質與生物樣品具相容性，對於以後有較大的應用性，所以我們選擇 PDMS 材質的微流管道。

3-2-1 光微影術 (Photolithography)

光微影術是半導體製程中的前段製程技術，在製作微流管道微米尺寸時必須用到此技術。光微影術主要是利用對光會產生化學反應的化學藥劑，我們稱之為光阻劑。光阻劑可分為正光阻劑與負光阻劑，其特性以照光的特性作區分。在本研究中，所用的光阻為負光阻，因此我們以負光阻為例，來說明其特性。負光阻的特性是在照光時，受到光照射的部分會因為紫外光產生化學反應，使光阻的結構的鍵結更加堅固，相對沒照光的部分結構上就變的鬆散。經由照光與沒照光的區別，我們就可以經由溶劑即顯影劑將沒照光的光阻也就是相對結構鬆散的光阻去除。負光阻的特性如此，而正光阻的特性則是與負光阻相反，照光後的光阻結構變鬆散，容易被溶劑去除。一般負光阻為厚膜光阻，適合直接以此光阻製作微結構。由於這樣的特性，我們可以設計光罩，也就是將我們要的圖樣，像是微流管道製作成光罩，經由光罩圖樣的透光與不透光就可以來區分光阻照光或不照光的部分，這樣就可製作出光罩上的圖樣。微結構的製程技術從 1980 年代初期懷特賽斯與努索之研究衍生而來，他們把高度排列整齊的「自組單層分子膜」(self-assembled monolayers, SAMs) 中的分子製成薄膜。軟微影術中有一種使用 PDMS 做為材料的一種鑄模技術，可以造出小至 10 奈米的結構。

3-2-2 聚二甲基矽氧烷 (PDMS)

PDMS 為一具有彈性的材料，本身有些黏性，組成的成分為重複的 $-\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$ 分子，由 PDMS 與硬化劑兩種化合物混合而成，一般使用的比例為 10:1，經烘烤後會固化。由於 PDMS 本身具有些微的黏性可以和玻璃、矽晶片和 PDMS 自己本身黏合，所以可以與這些材料結合製做微結構。不過這種鍵結的力量並不是很強，不能抵抗太大的力量。PDMS 有很多的應用，而優點有：

- 1.較高的生物與化學相容性和安全性。
- 2.製程簡單。
- 3.材料的硬度及表面的黏性易控制。
- 4.透明的材質，易於觀察液體的流動。
- 5.成本低。

3-2-3 微流管道的製作方法

圖 3.5 為微流管道的設計藍圖，是使用 Autocad 軟體繪製出來的，其中有 7 個出入口，最左邊二個是樣品溶液進入的入口，中間三個是收集被分離樣品的出口，剩下最右邊兩個是排出剩餘樣品溶液的出口。Silicon 的製程和 PDMS 的製程將會在後面的文章做說明。

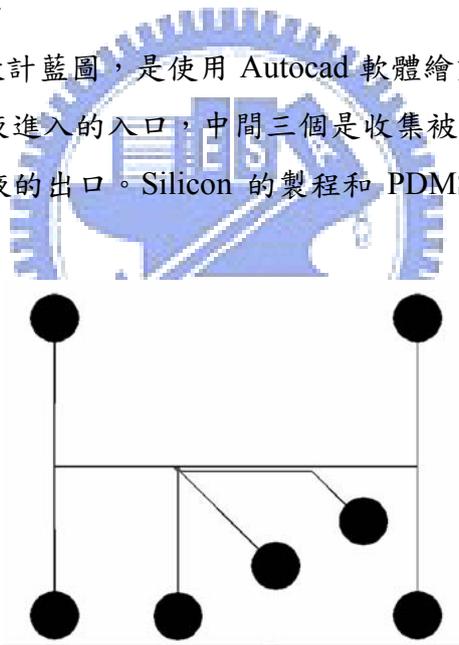


圖 3.5 微流管道設計圖

3-2-3-1 Silicon 的製程

本實驗步驟使用半導體製程技術，包括微影、蝕刻以及陽極接合技術，製程方法如下：

在晶格結構為 $\langle 100 \rangle$ 的矽晶圓上做標準 RCA 清洗處理製程(附錄二)。接著，如圖 3.6 所示，在晶圓正反面上長 $1 \mu\text{m}$ 的熱氧化層(thermal oxide SiO_2)當 Mask Oxide，以抵擋正面電感藕合電漿蝕刻(ICP)深蝕刻。



圖 3.6 長熱氧化層

如圖 3.7 所示，我們接著利用黃光微影製程將微流道入口與出口的光罩圖案，製作在矽晶圓反面上。接著使用反應離子蝕刻(RIE)，把沒被光阻保護的 thermal oxide 蝕刻掉，以定義出微流道入口與出口圖案並使用丙酮把多餘光阻去掉。



圖 3.7 蝕刻入口與出口氧化層示意圖

在氧化層做完出入口後，再利用黃光微影製程將光罩上的微流道製作在矽晶片的正面上。如圖 3.8 所示，我們同樣使用反應離子蝕刻(RIE)，把正面沒被光阻保護的 thermal oxide 蝕刻掉，做出正面微流道及入口與出口圖案，並使用丙酮把多餘光阻去掉。

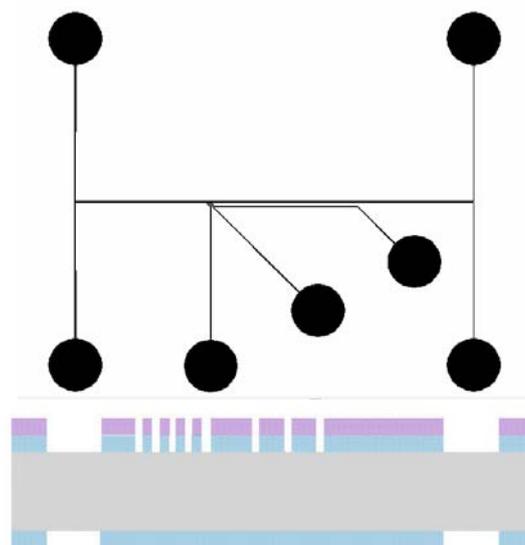


圖 3.8 蝕刻微流管道出口與入口氧化層示意圖

接著，蝕刻微流道所需之深度，利用電感耦合電漿蝕刻(ICP)做矽晶片深蝕刻製程。利用陽極接合製程，將矽晶片與 Pyrex 玻璃接合(圖 3.9)。利用 TMAH 濕蝕刻製程將背部微

流道入口與出口蝕穿，使微流道出口與微流道相連通，以完成矽晶片之製程。

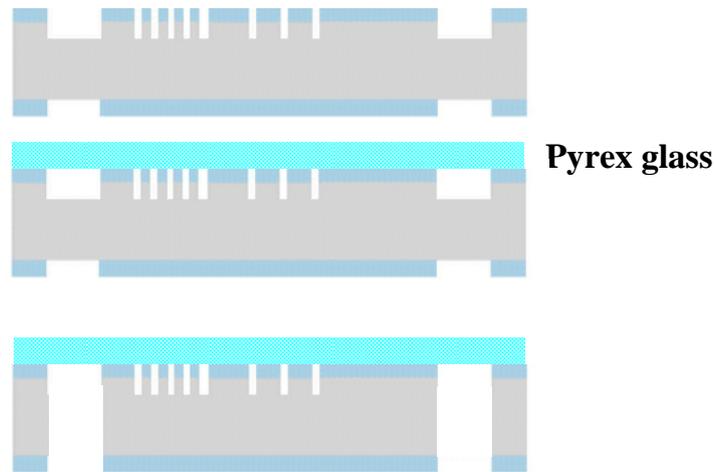


圖 3.9 蝕刻矽晶片與接合 Pyrex 玻璃示意圖

3-2-3-2 PDMS 的製程

在製作 PDMS 的微流管道之前，我們必須先用厚膜光阻 SU-8 利用光微影術製作微流管道在晶片，然後當成模片。接著將 PDMS(Sylgard184)的與硬化劑兩部分以 10:1 混合，均勻攪拌 15 分鐘。因攪拌的動作會使 PDMS 產生氣泡，因此將混合的 PDMS 置入抽氣瓶中以抽氣馬達抽氣，將攪拌產生的氣泡抽出，抽到沒有氣泡為止。另外，還有一種方式是利用靜置的方法，讓氣泡自然消失，但需要花較長的時間，通常是 1 小時。當完成 PDMS 的配製後，將它倒在微流管道的模片上，以完成微流管道的製作。全部的製程如下。

3-2-3-3 軟微影法 (Soft Lithography) 的製作過程

如圖 3.10 所示，將 SU8-50 負光阻先塗佈在矽晶片(Silicon wafer)上，再利用光阻塗佈機 (Spin Coater) 設定轉速與旋轉時間為兩段式，第一段是 1000rpm；15 秒，先將光阻均勻散佈在晶片上，第二段是 1500rpm；30 秒，將光阻利用旋轉的速度的控制得到預設的光阻厚度，此塗佈的厚度為 $75\mu\text{m}$ 。兩段式的塗佈光阻，目的是避免一開始就是高速旋轉，容易照成光阻塗佈不均勻。

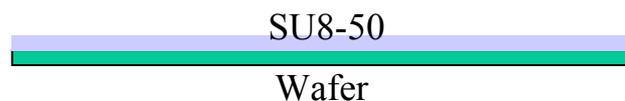


圖 3.10 負光阻 SU8-50 塗佈圖

接下來如圖 3.11 所示，我們利用半導體黃光製程將事先設計好有微流管道圖案的光罩 (Mask) 與塗佈光阻的矽晶圓置於對準曝光機 (Aligner) 上對準，並讓光罩與矽晶片接觸增加圖案轉換的準確性，經由 325nm 波長的紫外光照射曝光後，使得微流管道圖案感光在光阻上。然後經由顯影劑去除多餘未照光的光阻後，完成此片 PDMS 微流管道的模片製作。

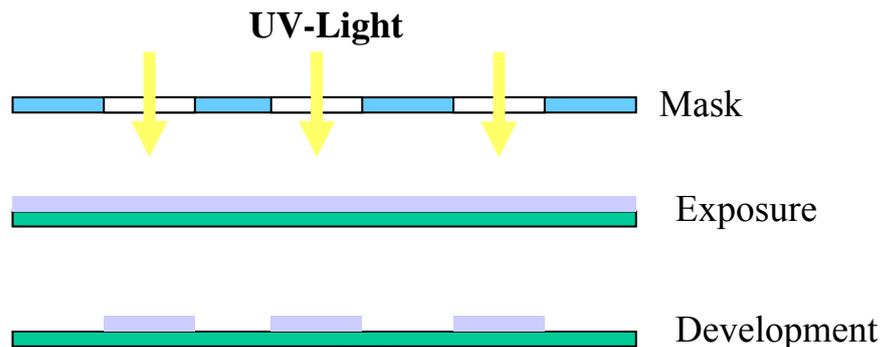


圖 3.11 曝光與顯影示意圖

接著，如圖 3-12 所示，我們將鐵氟龍液 (Teflon liquid)，均勻塗佈在晶片的光阻圖案上形成一薄膜。此目的是避免 PDMS 直接塗佈在光阻上，否則 PDMS 與光阻會黏結在一起，導致脫模時造成 PDMS 的損壞。



圖 3-12 鐵氟龍液塗佈圖

完成鐵氟龍液的塗佈後，如圖 3.13 所示，我們將備製好的膠狀 PDMS 倒在 SU8-50 光阻建造的微流管道結構上。由於在倒 PDMS 溶液的過程中會使 PDMS 產生氣泡，若直接置於烤箱烘烤會使 PDMS 因氣泡而產生孔洞。因此避免孔洞產生必須將到在晶片上的 PDMS 靜置直到氣泡消除。完成此步驟後，將晶片置於烤箱中以 65°C 烤 4 小時，讓 PDMS 固化。烘烤完成後，取出置於室溫中，待冷卻後將 PDMS 從模片上剝離，完成 PDMS 的微流管道製作。

PDMS

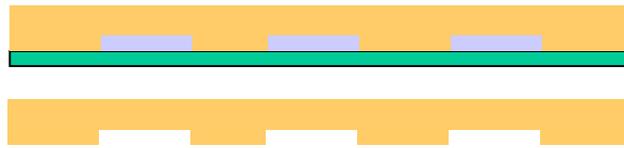


圖 3.13 PDMS 材質的微流管道圖

然後，如圖 3.14 所示，我們將做好的 PDMS 微流管道在入口與出口處打洞以外接管子導引樣品流入與流出。接著將 PDMS 與蓋玻片接合，完成微流管道晶片的製作。另外，選擇蓋玻片接合的目的是蓋玻片的厚度符合顯微物鏡的工作距離。

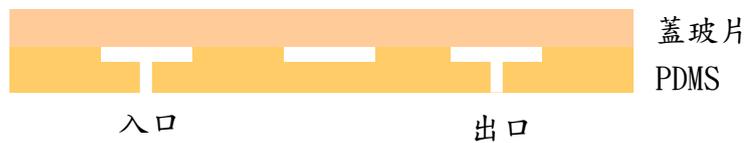
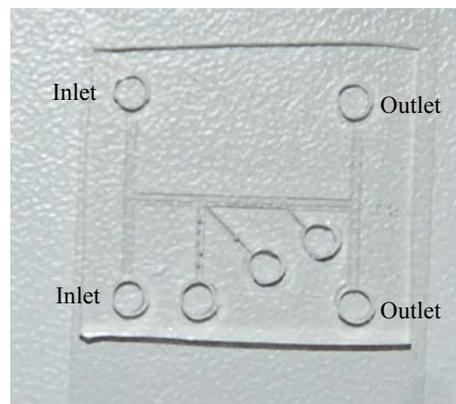
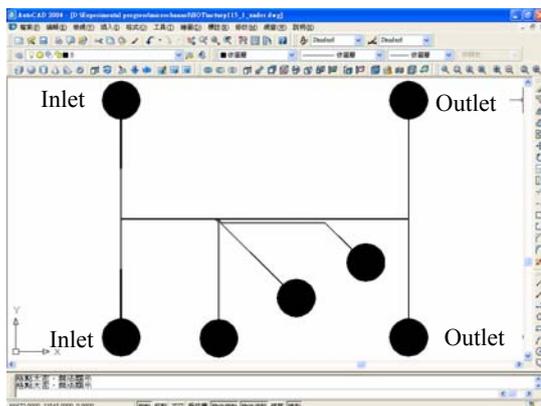


圖 3.14 PDMS 與玻璃片接合圖

最後我們將做好的微流管道晶片接上微流量奈米幫浦，作用是推動管道內液體的流動，然後將晶片放在雷射鐳夾平台上，進行微粒子的研究。針對不同大小微粒子的分離來進行研究，我們將設計一適當的微流管道以配合線形捕捉雷射鐳夾的分離與篩選。

3-2-4 微流管道設計與製作結果

藉由 AutoCAD 軟體的設計以及半導體製程的製作，我們完成微流管道設計與製作如圖 3.15 所示。



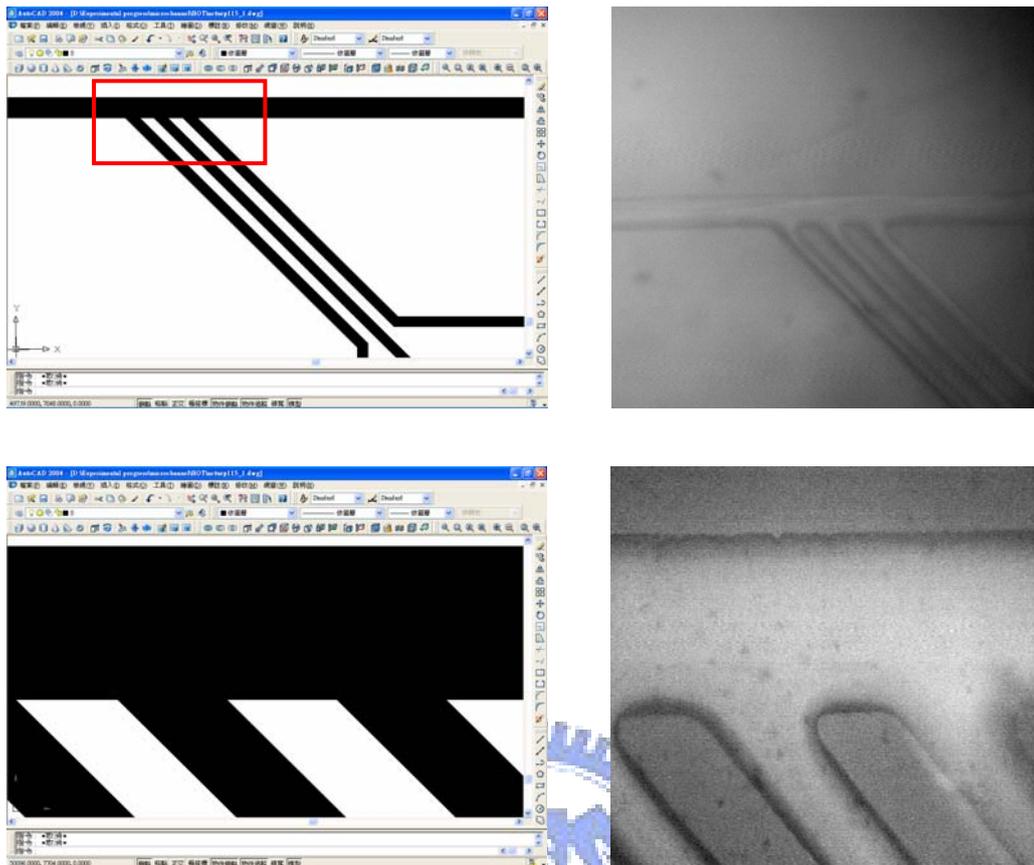


圖 3.15 微流管道設計與製作圖。圖左邊是設計圖，右邊是製作圖

3-3 水流黏滯力量測系統

結合前一節中我們所提到的水流黏滯力量測法，在本系統中，進行捕捉力與微粒子位移校正量測時，我們首先利用線形雷射鐳夾捕捉一個微粒子。之後，我們藉由電腦的輔助，藉由電控平台，等速移動樣品整體。由此，樣品中的水便會隨著樣品整體移動，而與被捕捉而不能移動的微粒子產生相對速度，且施加水流黏滯力在被捕捉的微粒子。同時，我們也可以藉由電腦擷取 CCD 攝影機所拍攝到的微粒子影像，以及影像處理的方式，量測出微粒子的位移。因此，只要不停改變電控平台的移動速度，並由影像計算記錄下對應的微粒子位移，我們就可以量測出雷射鐳夾的捕捉力與微粒子位移的關係了，如圖 3.16 所示。由(2-20)式子知： $\bar{F}_{opt}(x_1) = \bar{F}_d(\bar{v}_1) = -6\pi\eta R_B \bar{v}_1$ 。其中， \bar{F}_{opt} 為捕捉力， x_1 為微粒子位移， \bar{F}_d 為水流黏滯力， \bar{v}_1 為水流速度， R_B 為微粒子半徑。

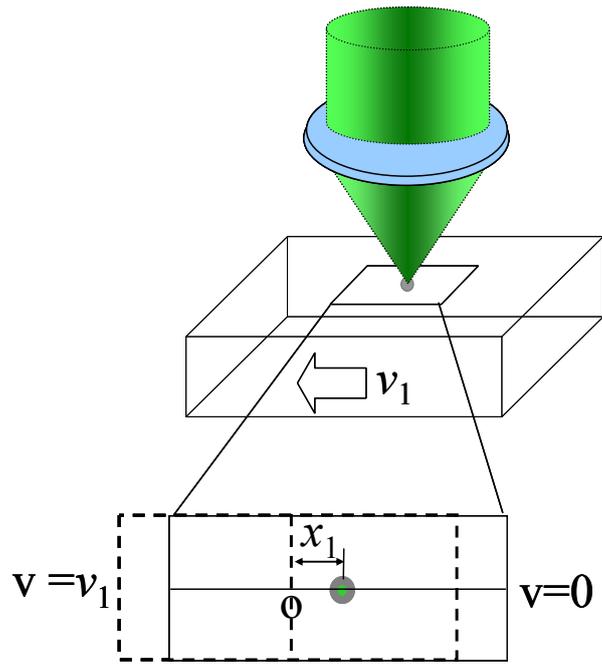


圖 3.16 平台與微粒子位移的關係圖。



第四章 線形雷射鐳夾捕捉力與微粒子軌跡量測方法

4-1 線形雷射鐳夾捕捉微粒子之捕捉力量測

4-1-1 光強度分佈量測方法

本模型主要的輸入變數有三個：(i) 線形圖案光強度分佈，與 (ii) 微粒子的半徑，與 (iii) 線形圖案上的雷射總功率；其中最複雜的是第一個參數的製備。在本實驗中，我們利用上述線形圖案雷射鐳夾系統產生一個線形圖案，再利用影像處理技術解析其光強度分佈，以建立第一個輸入變數。其餘的輸入參數只要參照實驗使用的實際數值輸入即可。

例如，圖 4-1(a) 展示一個由 PPM 調變，再由 CCD 擷取出來的二維線形圖案的部份影像，其解析度為 720×480 像素 (Pixels)。接著，我們利用 LabVIEW 影像處理軟體 IMAQ，分析該影像中線形圖案各像素的灰階值分佈(附錄三)。為此，我們先將所有像素的灰階值總和對應成雷射光的總功率 P ，然後再計算各個像素灰階值所對應的光功率值。根據影像分析，由於大部分的光強度分佈集中在此二維線形圖案的中心軸附近，於是我們將原本的二維線形圖案，簡化成一維的線形圖案。簡化的方式是我們將圖 4.1(a) 選取的紅框中，將像素座標點上，有相同的 x 像素座標的座標點的光強度疊加起來，於是在 x 軸上得到一個等效的一維線形圖案的光強度分佈，如圖 4.1(b) 所示。這是製備本模型第一個輸入變數的典型作法。

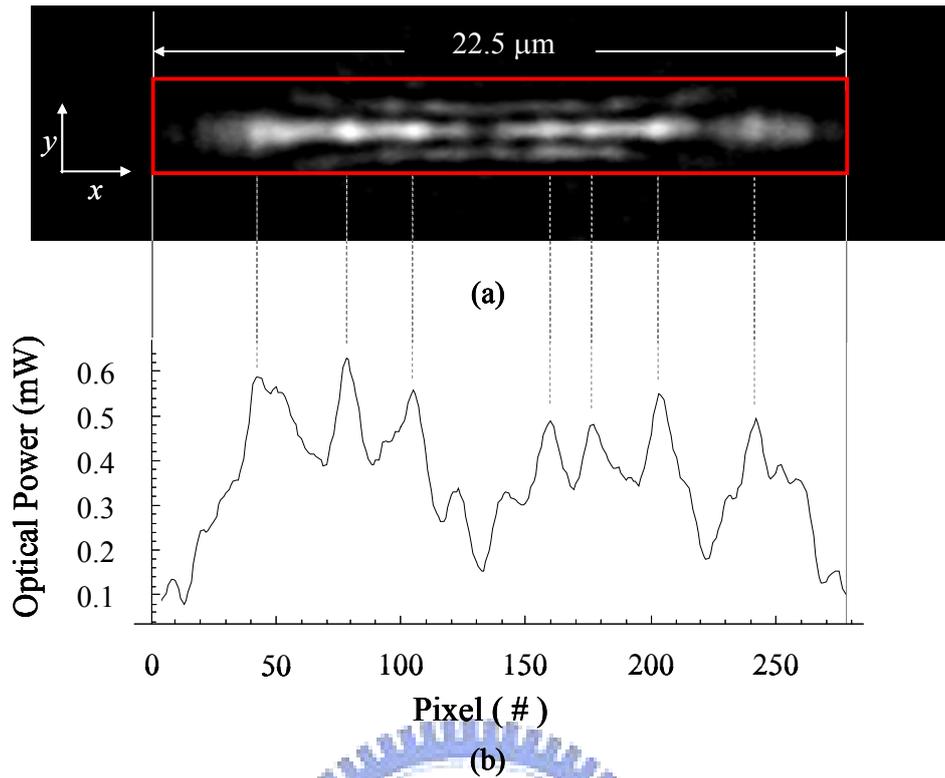


圖 4.1 光強度分佈圖。(a) 實際的二維光強度分佈。(b) 簡化為一維相對的光強度分佈

了解了光強度的量測方法，我們先後產生兩條長度分別為 $12.9 \mu\text{m}$ 與 $22.5 \mu\text{m}$ 的一維線形圖案。我們先按照線形圖案的像素數目，將這兩條線形圖案分別分成 154 個與 278 個捕捉點，再根據每個像素點的灰階值得到每個捕捉點上的光強度 P_k 。

接著，依據這兩條線形的光強度分佈，我們先分別計算捕捉力分佈，再利用水流黏滯力法設計兩種實驗以驗證理論模型的正確性。在理論方面，我們根據前一節原理所述，先計算長度為 $12.9 \mu\text{m}$ 的線形圖案對一半徑為 $1.5 \mu\text{m}$ 的乳膠微粒子的捕捉力分佈，其中已知總光功率值 P 為 100 mW ，乳膠微粒子的折射率 n_B 為 1.57 ，水溶液的折射率 n_s 為 1.33 。我們接著計算長度為 $22.5 \mu\text{m}$ 的線形圖案分別對半徑 $R_1 = 3.0 \mu\text{m}$ 與 $R_2 = 1.5 \mu\text{m}$ 兩種大小的乳膠微粒子的捕捉力分佈。在實驗方面，我們先觀察靜止水中的小微粒子在長度較短的線形圖案上的穩定平衡位置；即捕捉力為零的地方。我們接著再觀察大小兩微粒子各自在長度較長的線形圖案上的穩定平衡位置，並量測大小兩微粒子在這些平衡位置附近分別所受到的水平及垂直捕捉分力。最後我們量測微粒子在經過線形圖案時的軌跡。

4-1-1-1 光強度分佈取樣的準確性

由上述可知，在理論模擬時，光強度的分佈與影像的解析度有關。當然，解析度越高，像素越多，捕捉點也就越多，光強度分佈的準確性就越高。雖然解析度越高準確度就越好，但相對模擬時，就相對要花更多的時間計算。因此找出適當的解析度又有好的準確性是重要的依據。在這裡，我們將模擬一道線形光束圖案，從低到高的解析度(像素)，依序算出線形圖案對同一位置微粒子的捕捉力，找出像素的使用門檻。圖 4.2 顯示捕捉點超過 210 點時捕捉點趨於一定值，此時使用的影像解析度為 720x480 像素。因此在我們的系統裡，只要使用影像解析度為 720x480 像素，就可得到較準確的捕捉力。

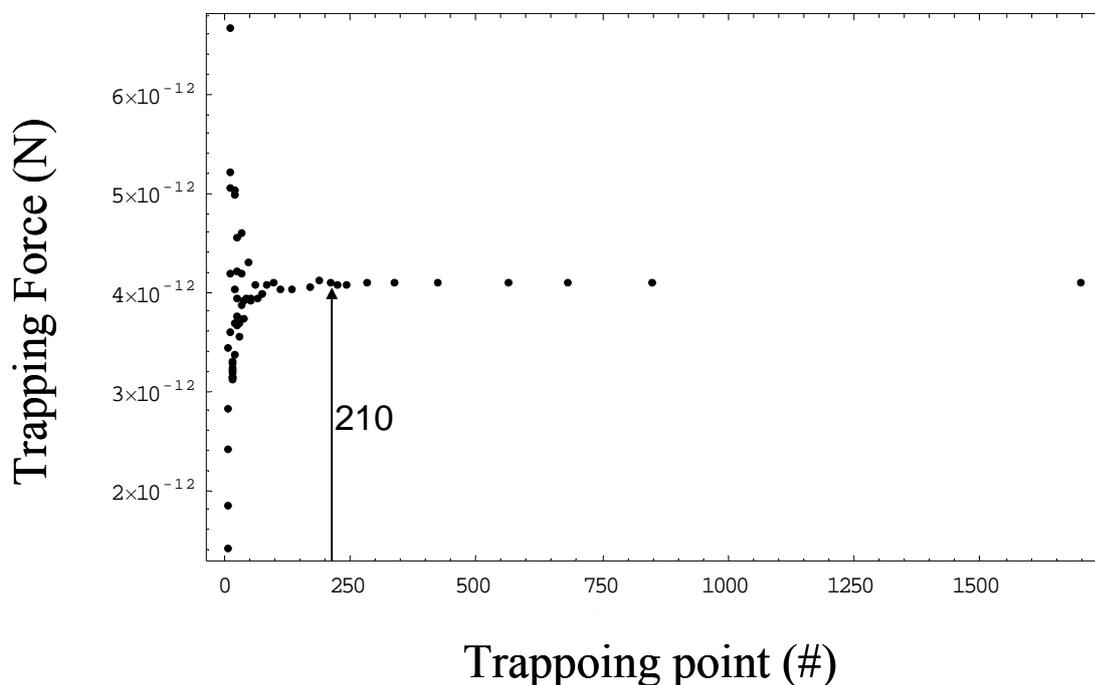


圖 4.2 捕捉點數與捕捉力的關係圖。影像解析度為 720x480 像素時，線形圖案可分成 210 個捕捉點，此時就可得到較準確的捕捉力。

4-1-2 捕捉力量測方法

建立了光強度分佈後，為驗證本模型的準確性，我們以實驗方式量測大小微粒子在線形圖案上分別所受到的水平捕捉分力以及垂直捕捉分力的實際分佈，以便和模型預測的分佈比較。在實驗上，我們使用長度 $22.5 \mu\text{m}$ 線形圖案，先後捕捉半徑為 $1.5 \mu\text{m}$ 與 $3.0 \mu\text{m}$ 的乳膠微粒子。然後，藉由水流黏滯力法與影像處理技術，分別量出大小微粒子所受到的捕捉力分佈。首先，在沒有水流的情況之下，位於線形圖案附近的微粒子，因為受到線形圖案捕捉力的吸引，最後會分別靜止在線形圖案上的幾個地方。很明顯地，這

幾個位置即為線形圖案對微粒子捕捉力場中的穩定平衡點。在此處，這幾個微粒子所受到的捕捉力均為零。接著，我們以一等速移動樣品平台，對這些微粒子額外產生一水流黏滯力，使得這些微粒子各自移到新的平衡點。如此，我們分別沿著線形圖案的水平方向與垂直方向，依序增加樣品平台的速度，同時觀察並錄影這些微粒子的平衡過程，直到這些微粒子脫離線形雷射鐳夾的捕捉為止。在上述過程中，我們可以利用影像處理技術，一方面即時確認每個微粒子在每次流速之下的新平衡點的位置，並算出穩定平衡點到新平衡點的距離。同時，另一方面，根據水流黏滯力公式(2-20)，我們也即時計算出水流黏滯力的大小，進而得到捕捉力的數值。如此，經由水流黏滯力法，我們得到微粒子的位置與捕捉力的關係。然後，我們將此結果與本模型計算得到的捕捉力分佈相比較，即可驗證本模型的正確性。

4-2 微粒子軌跡的量測方法

在第二章，我們了解了模擬微粒子軌跡的方法並計算出兩大小不同的微粒子，分離的距離。在這裡，我們以實驗量測微粒子的軌跡，也就我們讓微粒子流過與模擬相同的線形圖案，並用 CCD 紀錄微粒子流過線形圖案的影像。接著，我們用 LABVIEW 的影像處理軟體 IMAQ，分析與紀錄微粒子流過線形圖案的位置，以得到微粒子的軌跡 (附錄三)。



第五章 結果與討論

在本章節裡，我們呈現線形雷射鐳夾從模型模擬及實驗量測中，獲得細胞分離條件的結果及討論。我們從全像雷射鐳夾系統，得到一長度為 $22.5\mu\text{m}$ 線形雷射鐳夾的光強度分佈。在理論方面，根據光強度分佈，我們模擬出線形雷射鐳夾捕捉半徑 $3\mu\text{m}$ 與 $1.5\mu\text{m}$ 微粒子的力場與位能分佈。從這兩個力場與位能的分佈我們可以了解線形雷射鐳夾捕捉力的範圍。然後再由模型算出兩微粒子的捕捉力理論，從捕捉力的水平分量及垂直分量討論捕捉力的分佈情形。接著從模型模擬出微粒子的軌跡及分離距離，從分離的距離得到最佳化及有效的分離條件：水流溯及線形角度。此外，我們也模擬在微流管道裡，流速的分佈以更準確的流速作為模型的參數。在實驗方面，我們測量線形雷射鐳夾捕捉力的水平分量及垂直分量，然後與理論預測值比較得到誤差，並以誤差值驗證模型是準確的。接著，呈現實驗量測的微粒子軌跡，並與理論值比較，以誤差值作驗證。最後從結果中，討論細胞分離的效果，以達到快速分離的目的。

5-1 理論模擬結果

5-1-1 線形圖案光強度分佈

在模擬線形雷射鐳夾捕捉力前，我們必須先要有一重要參數，即線形雷射鐳夾光強度分佈。此參數決定線形雷射鐳夾捕捉微粒子的捕捉力分佈。由上所述，輸入全像雷射鐳夾系統中的 PPM 的相位圖形決定光強度分佈的圖形。如下圖所示，經由 GS 演算法，我們算出線形相位圖形(圖 5.1)，然後經由全像雷射鐳夾系統得到對應的光強度分佈圖(圖 5.2)，長度為 $22.5\mu\text{m}$ 。經由計算，我們將二維光強度分佈轉換成二維的光功率值分佈(圖 5.3)且由於大部分的光強度分佈在中心軸，因此簡化成一維的光功率值分佈(圖 5.4)的結果。如此，就可將此參數以及其他的參數代入模型中，計算線形雷射鐳夾的捕捉力分佈。理想上，從輸入 PPM 的相位圖形得到的光強度分佈必須是均勻的，但從圖 5.2 知，光強度分佈並不均勻，這是由於系統光路以及元件的關係，造成的結果。因此，要得到較好的光強度分佈可以從系統上來調整得到改善。

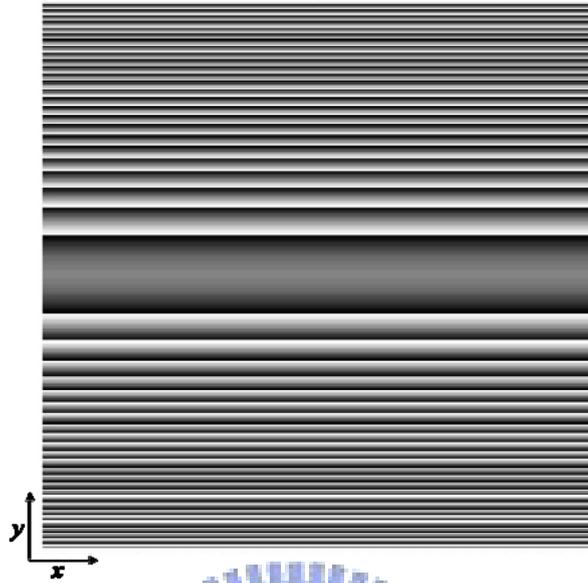


圖 5.1 線形圖案的相位圖。形成線形光強度分佈所需對應的相位圖形

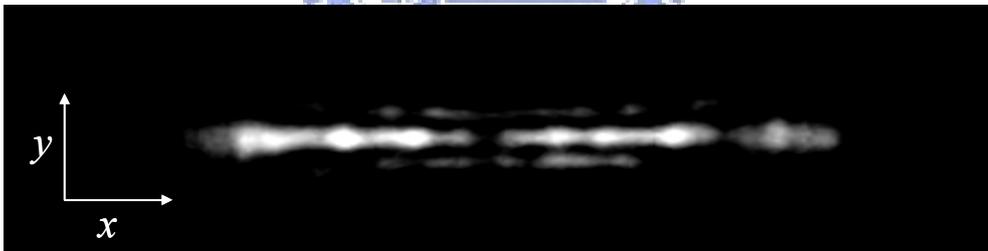


圖 5.2 實際光強度分佈圖。將線形的相位圖形輸入 PPM 後，全像雷射鐳夾系統產生的線形光強度分佈圖案，長度為 $22.5\mu\text{m}$ 。理想上的線形光強度分佈會是均勻的，但受光路設計及元件材質的影響，呈現不均勻的情況。

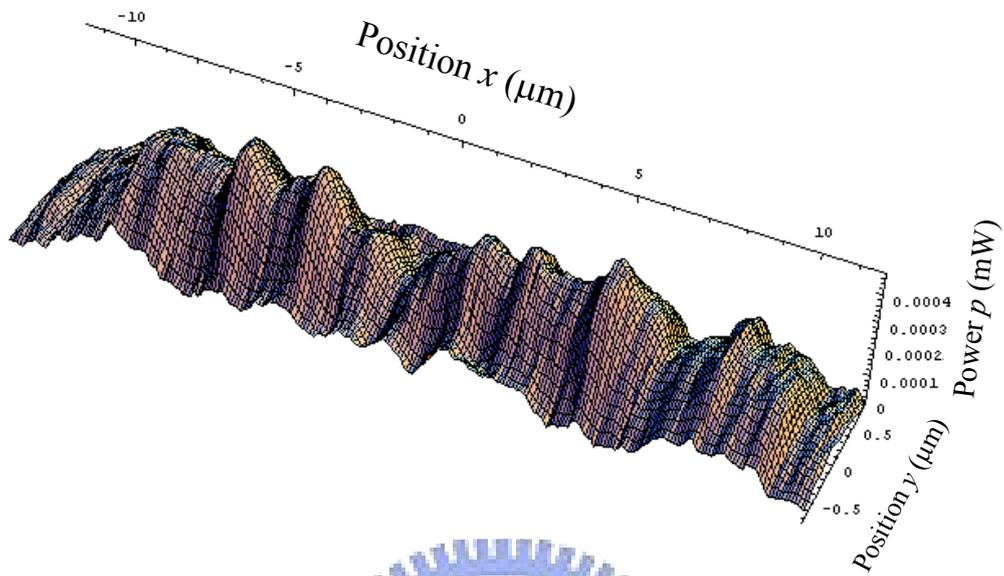


圖 5.3 二維光功率分佈圖。由光強度分佈轉換成光功率分佈值

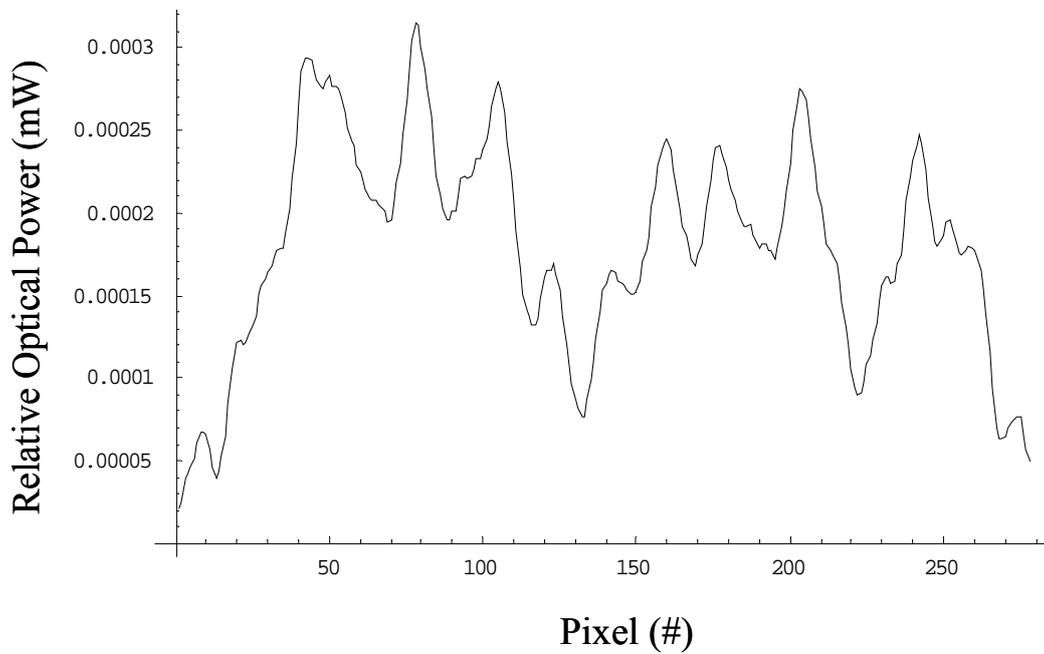


圖 5.4 一維光功率分佈圖。大部分的光強度集中於中心軸，所以從二維簡化為一維的光功率分佈。

5-1-2 線形雷射鐳夾捕捉微粒子之力場

有了線形圖案光功率分佈值之後，我們將此主要參數與其他的參數帶入理論模型中，計算得到捕捉力的力場分佈情形。圖 5.5 及 5.6 分別是線形雷射鐳夾捕捉半徑 $1.5\ \mu\text{m}$ 與 $3\ \mu\text{m}$ 微粒子的捕捉力大小及方向變化的情形。圖的橫軸是微粒子的位置，縱軸是線形雷射鐳夾捕捉微粒子的捕捉力，箭頭方向為捕捉力的方向，長度為捕捉力的大小。從圖 5.5 中我們可以看到箭頭方向指向三個位置，分別為 $-4.39\ \mu\text{m}$ ， $2.38\ \mu\text{m}$ ，與 $8.60\ \mu\text{m}$ 以及從圖 5.6 中也可以看到箭頭指向兩個位置，分別為 $-5.37\ \mu\text{m}$ 與 $3.32\ \mu\text{m}$ ，這些位置便是捕捉力為零的地方，我們稱為穩定平衡位置(紅圈)，也就是微粒子一旦進入線形雷射鐳夾捕捉範圍後，最後會停在這些位置上。力場圖的呈現，讓我們能清楚的了解，線形雷射鐳夾捕捉微粒子的捕捉範圍，也可以找到捕捉力最大的地方，也就是箭頭最長的地方。

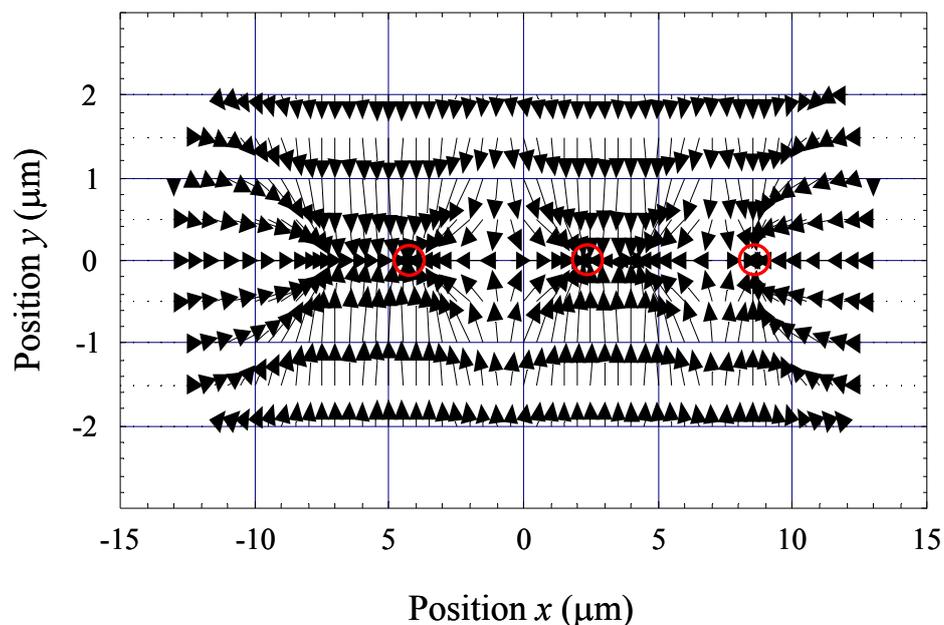


圖 5.5 線形雷射鐳夾捕捉微粒子力場圖。在捕捉範圍內捕捉半徑 $1.5\ \mu\text{m}$ 微粒子的力場分佈情形。箭頭表示力的方向，長度表示力的大小，紅圈為捕捉力為零的位置，分別為 $-4.39\ \mu\text{m}$ ， $2.38\ \mu\text{m}$ ，與 $8.60\ \mu\text{m}$ 。

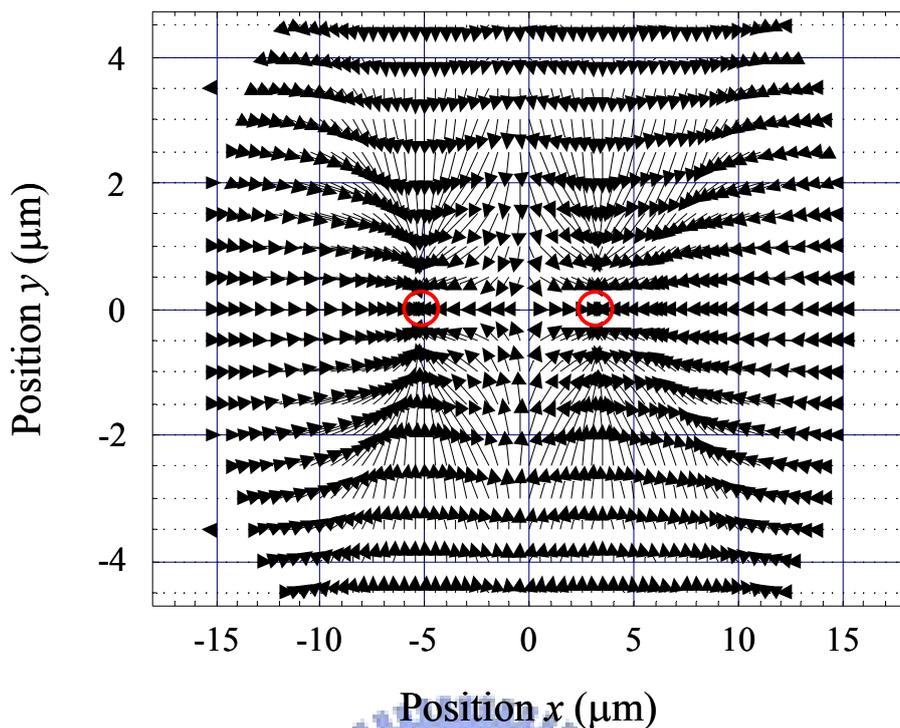


圖 5.6 線形雷射鐳夾捕捉半徑 $3\mu\text{m}$ 微粒子的力場圖。箭頭表示力的方向，長度表示力的大小，紅圈為捕捉力為零的位置，分別為 $-5.37\mu\text{m}$ 與 $3.32\mu\text{m}$ 。

5-1-3 線形雷射鐳夾捕捉微粒子之位能

除了從被捕捉微粒子的力場分佈了解被捕捉的情形之外，我們也可以從位能的分佈模擬分析捕捉微粒子的能量大小，定性的判斷微粒子位能的分佈情形以及當形成一位能井時，最低點處即是微粒子靜止平衡的位置。位能井的意義，有如一個碗，一顆珠子在碗裡滾動，最後會停在碗裡的最低點，我們稱最低點處為位能零點。圖上是在捕捉微粒子的範圍內的位能，我們以灰階值(0 黑~255 白)來表示位能的大小，由最大的位能(最白)變化到位能為零(最黑)，紅圈即是位能為零的地方。對應力場圖，我們同樣得到相同位置的穩定平衡位置(位能為零)。

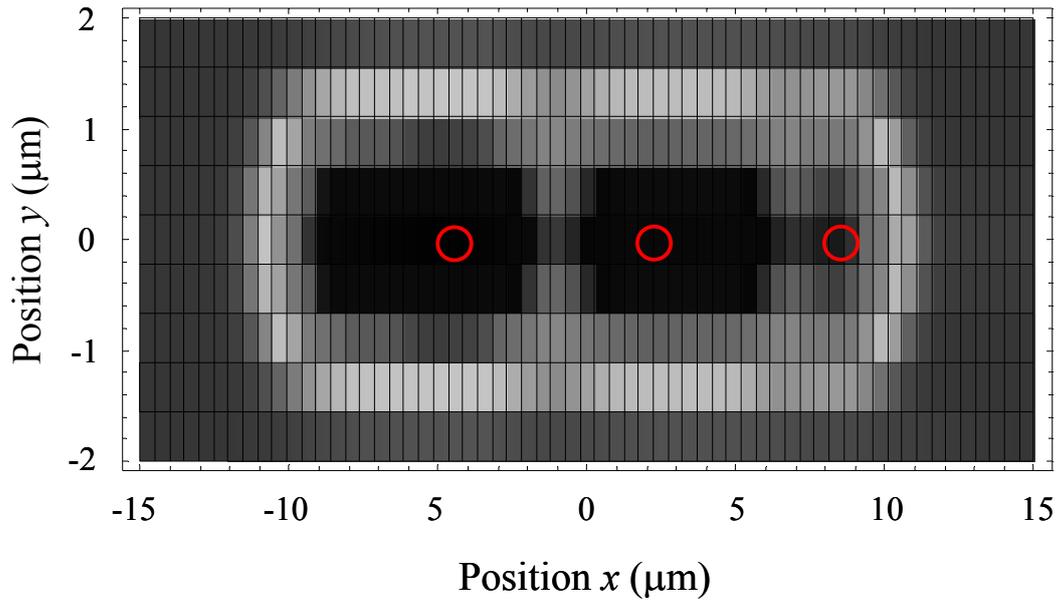


圖 5.7 線形雷射鐳夾捕捉半徑 $1.5\mu\text{m}$ 微粒子的位能場圖。能量的大小，藉由灰階值(0 黑~255 白)的變化對應位能的大小。紅圈表示位能為零，即捕捉力為零的地方。

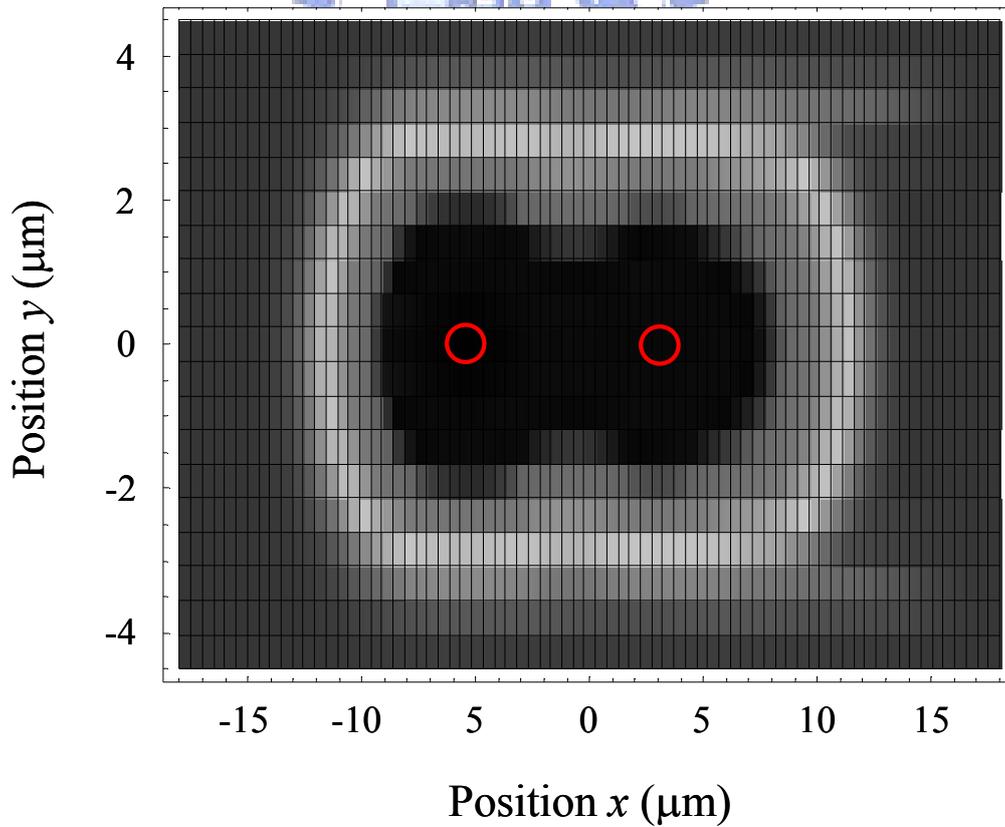


圖 5.8 線形雷射鐳夾捕捉半徑 $3\mu\text{m}$ 微粒子的位能場圖。同圖 5.7，紅圈表示位能為零，即捕捉力為零的地方。

5-1-4 線形雷射鐳夾捕捉力

從上述力場與位能場的分佈，可概略了解線形雷射鐳夾對微粒子的捕捉情形及捕捉範圍。接著，我們呈現模型模擬出的捕捉力，以了解線形雷射鐳夾捕捉微粒子的捕捉力分佈情形。根據模型，長度 $22.5\ \mu\text{m}$ 的線形圖案，模擬計算各自對兩個半徑分別為 $1.5\ \mu\text{m}$ 與 $3.0\ \mu\text{m}$ 的微粒子的捕捉力的水平分量以及垂直分量，我們也各自稱為水平捕捉力及垂直捕捉力。

5-1-4-1 捕捉力之水平分量

圖 5.9 與 5.10 是利用理論模型計算微粒子在線形圖案上的水平捕捉力分佈情形，橫軸為微粒子的位置，縱軸為捕捉力。我們使用同計算力場及位能的線形圖案做模擬，因此在這樣的條件下我們得到跟力場與位能場相同的穩定平衡位置(紅圈),即捕捉力為零的地方。在圖上我們也看到其他非紅圈捕捉力為零的地方，此位置為非穩定平衡點，也就是只要受到外力就會被推離此點，而向穩定平衡點移動。

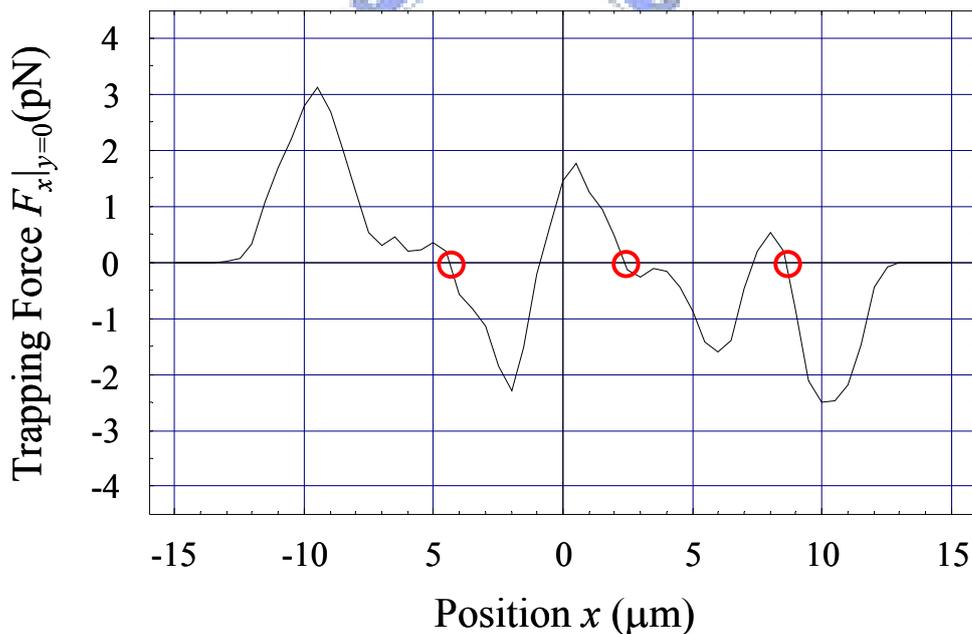


圖 5.9 水平捕捉力理論模擬分佈圖。長度 $22.5\ \mu\text{m}$ 的線形雷射鐳夾捕捉半徑 $1.5\ \mu\text{m}$ 微粒子的水平捕捉力的理論值，紅圈是穩定平衡位置分別為 $-4.39\ \mu\text{m}$ ， $2.38\ \mu\text{m}$ ，與 $8.60\ \mu\text{m}$ 。

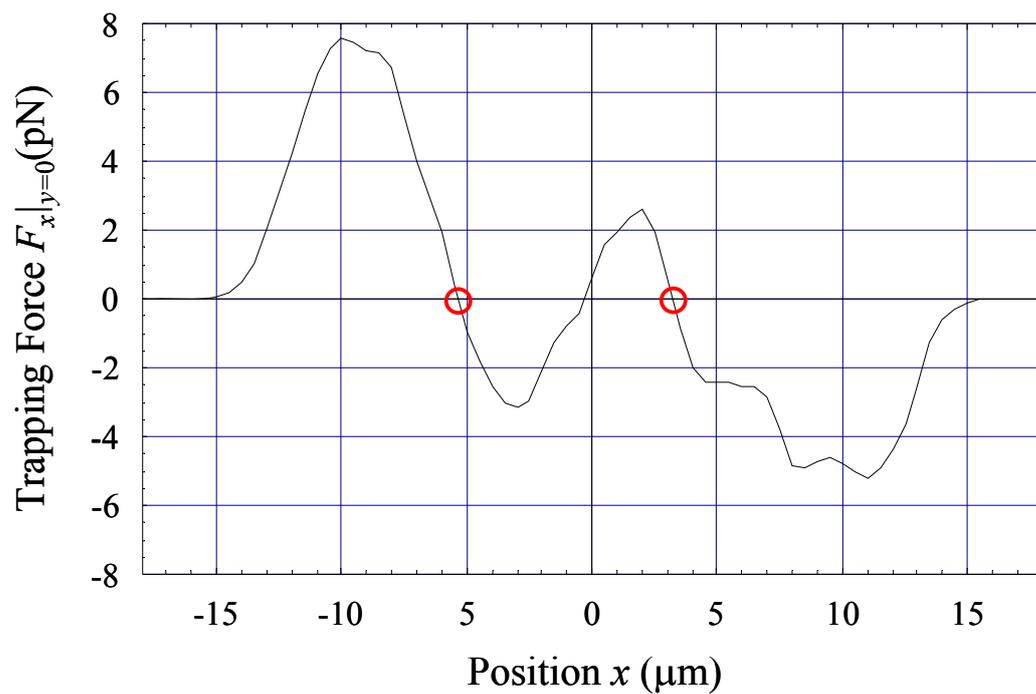


圖 5.10 水平捕捉力理論模擬分佈圖。線形雷射鐳夾捕捉半徑 $3\mu\text{m}$ 微粒子的水平捕捉力的模擬理論值，紅圈是穩定平衡位置，分別為 $-5.37 \mu\text{m}$ 與 $3.32 \mu\text{m}$ 。



5-1-4-2 捕捉力之垂直分量

圖 5.11 是微粒子在線形圖案上的穩定平衡位置時，所計算出微粒子在 y 軸位置上的捕捉力分佈，也就是垂直捕捉力分佈，並分別呈現微粒子在穩定平衡位置上的垂直捕捉力分佈(圖 5.12)。穩定平衡位置，如同圖 5.9 所示，分別為 $x'_1 = -4.39 \mu\text{m}$ ， $x'_2 = 2.38 \mu\text{m}$ ， $x'_3 = 8.60 \mu\text{m}$ 。

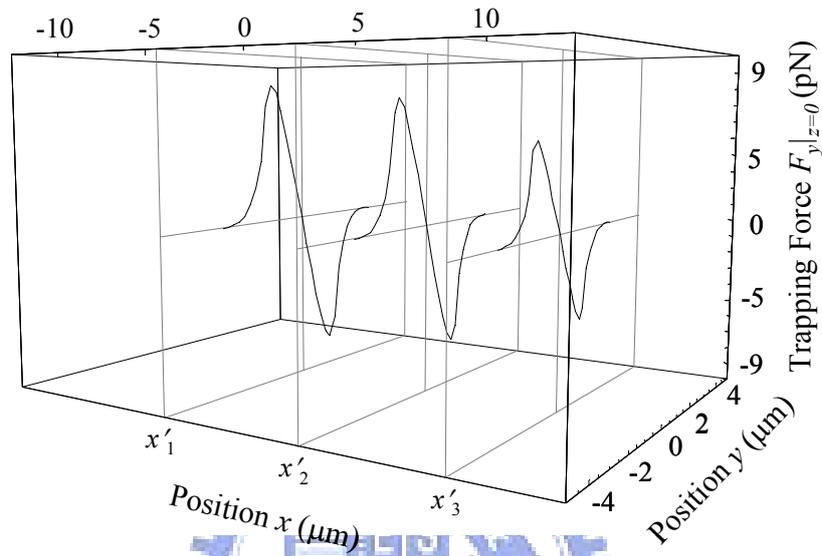


圖 5.11 半徑 $1.5 \mu\text{m}$ 微粒子的垂直捕捉力分佈圖。三個垂直捕捉力分佈 $F_y(y)|_{x'_1}$ ， $F_y(y)|_{x'_2}$ 與 $F_y(y)|_{x'_3}$ 各在 x'_1 ， x'_2 ， x'_3 之力穩定平衡點位置上，分別對應圖 2.13 的三個紅圈位置。

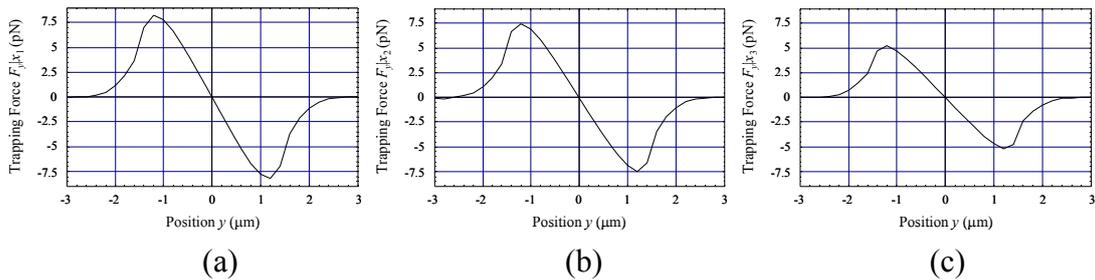


圖 5.12 個別的二維平面垂直捕捉力理論模擬分佈圖。圖(a),(b),(c)分別對應到圖 5.11 之力穩定平衡點 x'_1 ， x'_2 ， x'_3 ，各自的垂直捕捉力分佈。

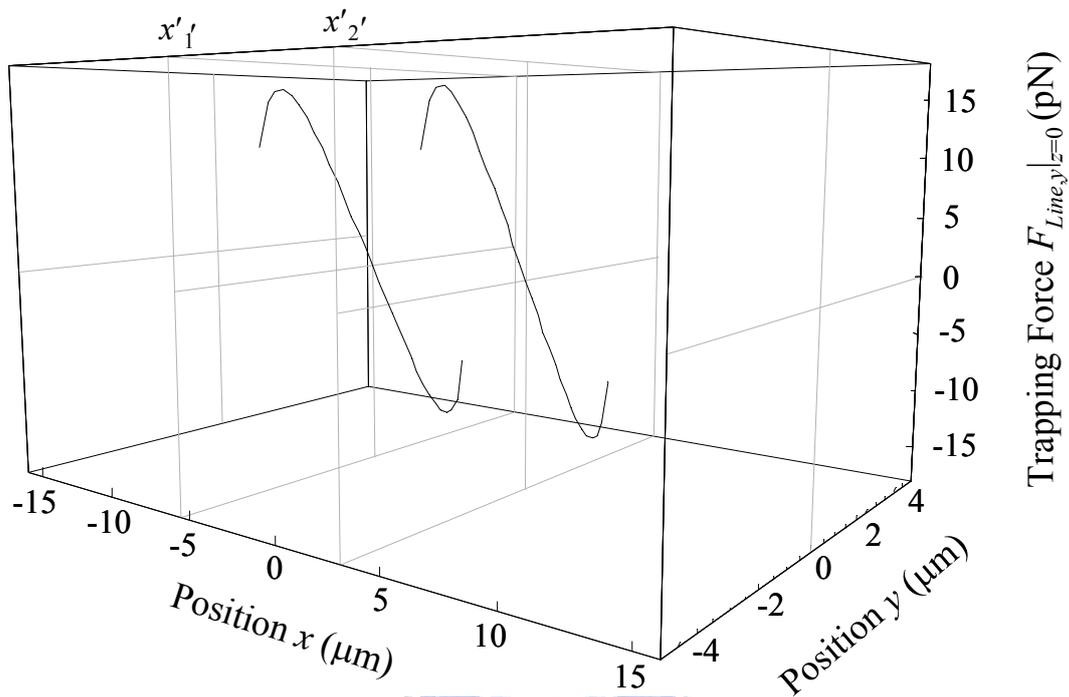


圖 5.13 半徑 $3\mu\text{m}$ 微粒子的垂直捕捉力分佈圖。兩個垂直捕捉力分佈 $F_y(y)|_{x'_1}$, $F_y(y)|_{x'_2}$ 各在 x'_1 , x'_2 的力穩定平衡點位置上。

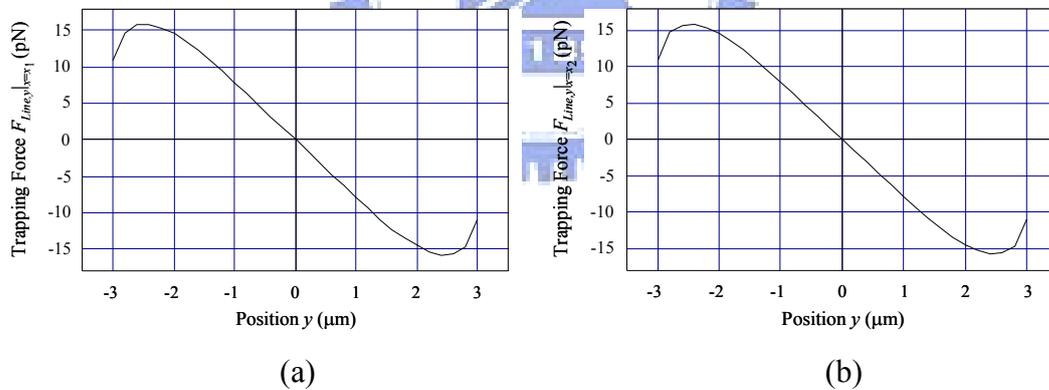


圖 5.14 個別的二維平面垂直捕捉力理論模擬分佈圖。圖(a),(b)分別對應到圖 5.13 的力穩定平衡點 x'_1 , x'_2 , 各自的垂直捕捉力分佈。

5-1-5 微粒子軌跡與分離距離

在得到線形雷射鐳夾對微粒子的捕捉力之後，我們進一步模擬微粒子流經線形雷射鐳夾時的軌跡，並算出微粒子間的分離距離及分離條件。我們針對半徑 $1.5\mu\text{m}$ 與 $3\mu\text{m}$ 的乳膠微粒子，計算其流經幾個不同角度 θ_w 的線形圖案時的運動軌跡與分離距離 d_1 與 d_2 。更進一步，我們還可利用本模型自動改變水流速度 v_w 以及水流方向與線形圖案的夾角 θ_w ，逐一計算兩微粒子的分離距離 $\Delta d = d_1 - d_2$ ，直到找出兩微粒子的最大分離距離

Δd_{Max} 。在此情況之下，對應出最佳化的水流速度 $v_{w_{opt}}$ 以及夾角 $\theta_{w_{opt}}$ 。圖 5.15 是兩微粒子分別在角度為 $15^\circ, 30^\circ, 45^\circ, 60^\circ, 75^\circ, 80^\circ$ 的線形圖案，流速為 $250 \mu\text{m/s}$ 時的軌跡。從軌跡我們觀察出兩微粒子的分離距離，表 5.1 是不同線形角度的分離距離數據。更進一步，圖 5.16(a) 立體圖顯示，半徑 $1.5 \mu\text{m}$ 與 $3 \mu\text{m}$ 的乳膠微粒子流經長度為 $22.5 \mu\text{m}$ 的線形圖案的軌跡與分離距離。 x 軸為夾角 θ_w ：範圍從 15° 到 80° ， y 軸為水流速率 v_w ：範圍從 $150 \mu\text{m/s}$ 到 $300 \mu\text{m/s}$ ， z 軸為這兩個微粒子彼此的分離距離 $\Delta d = d_1 - d_2$ 。此外，在此立體圖上方則為 Δd 投影到 $x-y$ 平面的灰階圖，其中灰階值(0~255)愈大表示分離距離 Δd 愈遠。從本圖中，我們得到最大的分離距離 $\Delta d_{max} \cong 14.5 \mu\text{m}$ ，其對應的最佳化的分離條件是 $\theta_{w_{opt}} = 77^\circ$ 與 $v_{w_{opt}} = 217.5 \mu\text{m/sec}$ 。圖 5.16(b) 特別展示在此最佳化的水流流速 $v_{w_{opt}}$ 之下，分離距離 Δd 與夾角 θ_w 的關係。根據我們在理論一節中為量化有效分離兩微粒子而自行定義的門檻分離條件： $\Delta d_{th} \cong 2R_{B1}$ ，即如圖中水平黑色虛線所示，我們發現凡在此線以上的 Δd 所對應的角度： $55^\circ \leq \Delta \theta_w(v_{w_{opt}}) \leq 78^\circ$ ，即是有效分離的角度範圍；其中 55° 為有效分離的門檻角度 $\theta_{w_{th}}(v_{w_{opt}})$ ，而 78° 為有效分離的最大角度。餘此類推，在每一個水流流速 v_w 下，我們都可以得到一個有效分離的角度範圍。如此，在不同的水流流速下，我們可找出一片符合 $\Delta d > \Delta d_{th} \cong 2R_{B1}$ 的有效角度範圍 $\Delta \theta_w$ 與有效流速範圍 Δv_w 的組合，如圖 5.16 (a) 灰階圖中的灰色區域所示。

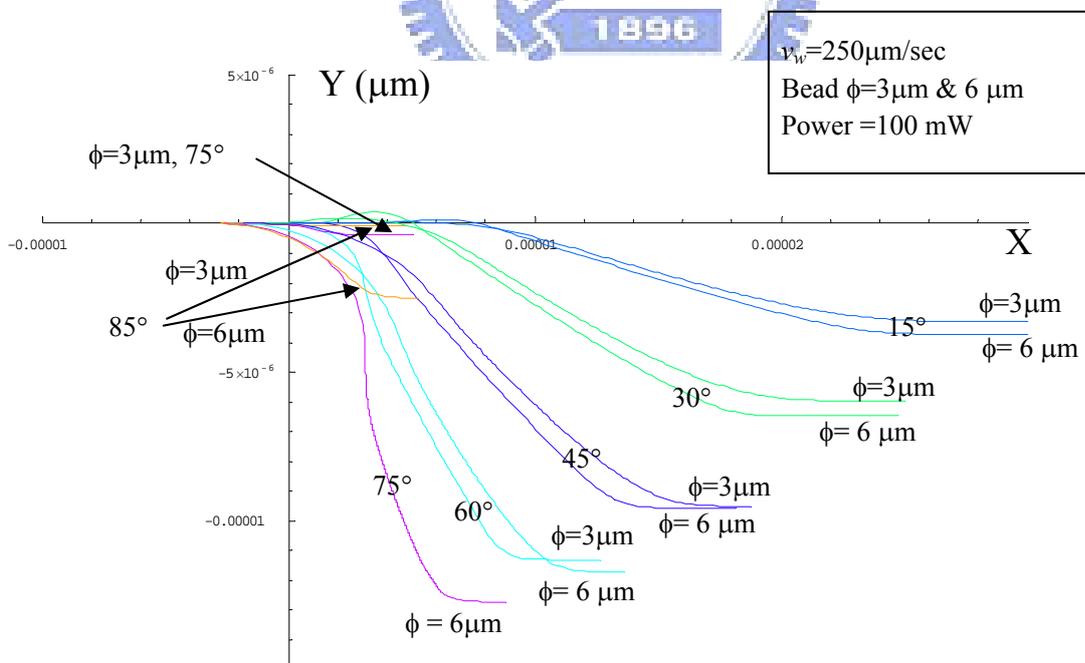


圖 5.15 微粒子軌跡模擬圖。直徑 $3 \mu\text{m}$ 與 $6 \mu\text{m}$ 的微粒子流經不同角度的線形圖案的軌跡，由兩微粒子的平移距離比較分離的效果。

線形角度 θ_w	15°	30°	45°	60°	75°	85°
	平移距離 d (μm)					
半徑 1.5 μm 微粒子	3.71279	6.47642	9.56358	11.3085	0.35586	0.09728
半徑 3 μm 微粒子	3.30537	5.95752	9.51661	11.7355	12.7366	2.50100
兩微粒子分離距離 $ \Delta d $	0.40742	0.5189	0.04697	0.427	12.3805	2.4037

表 5.1 兩微粒子在不同角度的線形圖案的分離距離。

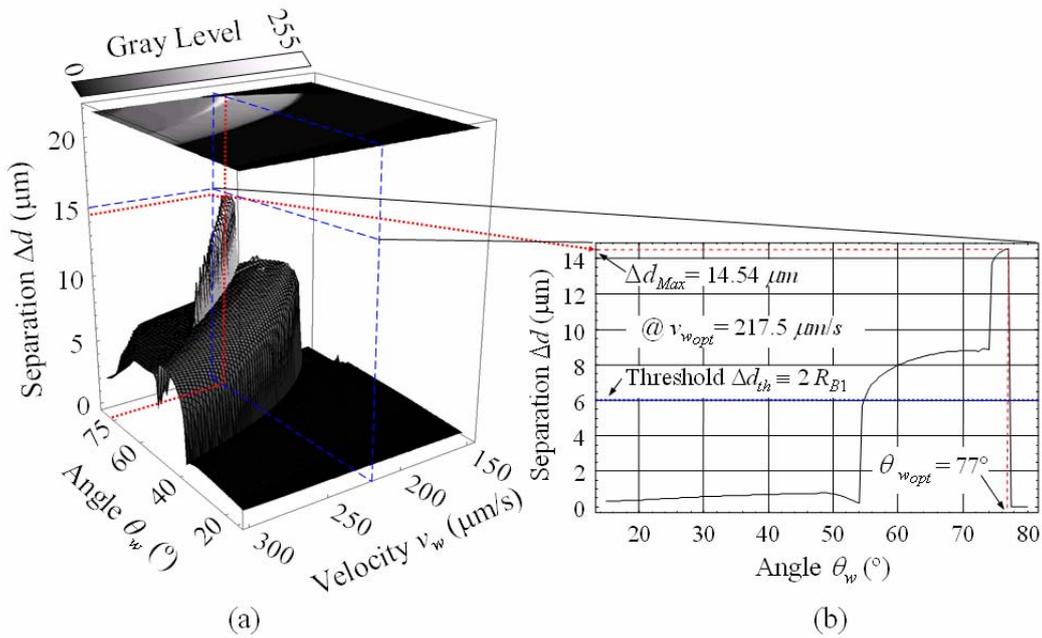


圖 5.16 分離距離 Δd 與線形角度 θ_w 及流速 v_w 關係圖。(a) 在這三維立體圖中，兩微粒子被分離的最大分離距離 $\Delta d_{Max} \cong 14.54 \mu\text{m}$ 並對應線形角度 θ_w 是 77° 還有流速 v_w 為 $217.5 \mu\text{m/s}$ 。在立體圖的上方是在等高面上分離距離的投影並用灰階值(0(黑)~255(白))表示。灰階值越白表示分離距離 Δd 越大。(b) 我們特地畫出在最佳的流速 $v_{w_{opt}} = 217.5 \mu\text{m/s}$ 之下，分離距離與線形角度的關係。門檻分離距離， $\Delta d_{th} \cong 2R_{B1}$ ，對應到門檻角度 55° ，所以有效分離的範圍是 $55^\circ \leq \Delta \theta_w(v_{w_{opt}}) \leq 77.5^\circ$

5-1-6 流體流速

為了準確模擬微粒子在管道內流經線形圖案時的軌跡，我們藉由流體模擬軟體 CFDRC，模擬微流管道內的流速分佈，如圖 5.17 所示，由顏色及箭頭方向，讓我們清楚了解微流管道內形成層流的效果。在管道內，我們設定線形圖案的位置，即圖上兩綠

色十字連的線，模擬出線形圖案位置上流速的水平分量(圖 5.18(a))及垂直分量(圖 5.18(b))。

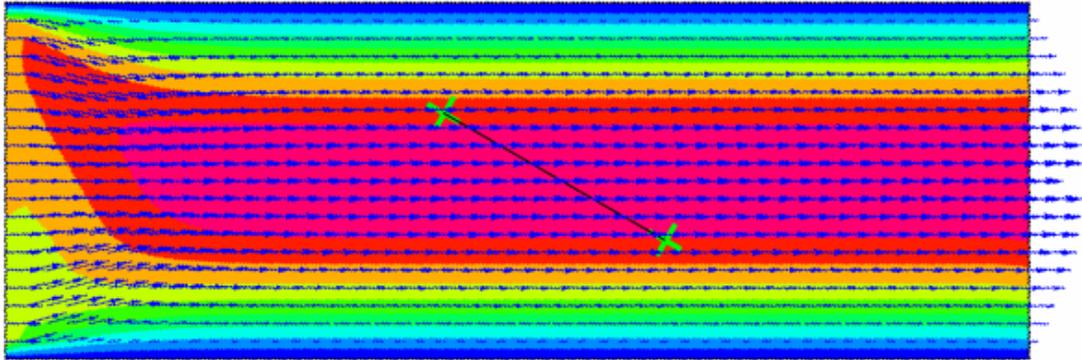


圖 5.17 微流管道流速分佈圖。管徑 $70\ \mu\text{m}$ 的流速分佈圖，由兩個綠色十字連成的線，表示為線形圖案放置的位置並且此線形圖案與水流方向成 30° 的夾角。由箭頭方向與顏色的變化，可得知管道內形成層流的效果以及得到線形圖案位置上的流速分佈。

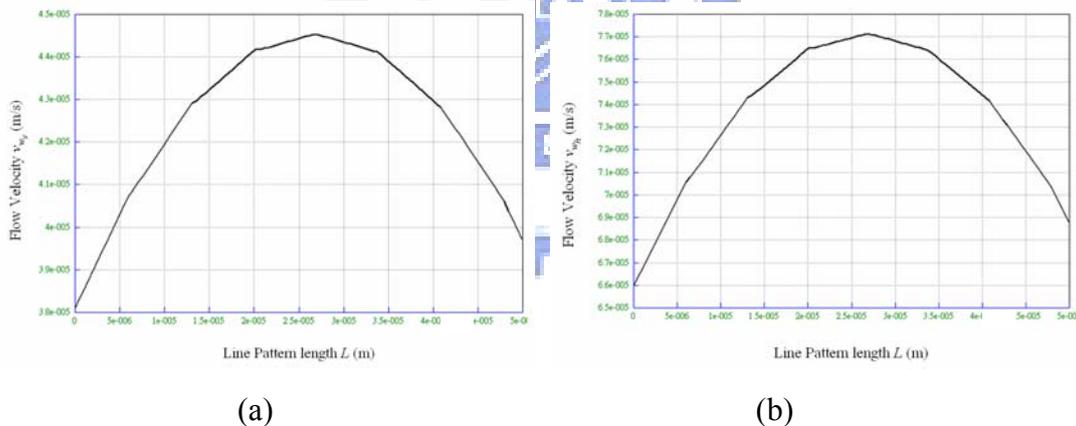


圖 5.18 線形圖案位置流速分佈圖。以線形圖案為中心軸，圖(a)表示線形圖案上的水平分量的流速分佈；圖(b)是垂直分量的流速分佈。

5-2 實驗量測結果

5-2-1 捕捉力量測及模型準確性驗證

如圖 5.19 所示，我們首先從實驗上和理論上，比對上節所述那個長度為 $12.9\ \mu\text{m}$ 的線形圖案對一個半徑為 $1.5\ \mu\text{m}$ 的微粒子在線形圖案中心軸上的捕捉力分佈。圖 5.19(a) 為此線形圖案光強度分佈的原始二維影像，其總光功率值經量測已知為 $100\ \text{mW}$ 。由影

像中可見大部分的光強度分佈集中在此二維線形圖案的中心軸附近，因此我們將此線形圖案投影疊加到中心軸，簡化成一條由 154 個像素組成的一維線形圖案。結果，每個像素上的光功率值的分布如圖 5.19(b)所示。在本例中，我們將每個像素視為一個捕捉點。於是，我們根據圖 5.19(b)中每個捕捉點的光功率值分佈，計算出此一微粒子在中心軸 $y = 0$ 上各處 x 所受到的水平捕捉力分布 $F_x(x)|_{y=0}$ ，結果如圖 5.19(c)所示。在此圖中，我們發現該線形圖案對微粒子有三個捕捉力為零的穩定平衡位置，如三個紅圈所示，其座標分別為 $-4.76\mu\text{m}$ ， $0.79\mu\text{m}$ ，和 $4.68\mu\text{m}$ 。至於其他捕捉力為零的位置則為非穩定平衡，微粒子經過此處反而被彈開。圖 5.19(d)則為上述預測的實驗結果：當一群乳膠微粒子流經這個線形圖案而於水流靜止後，線形圖案上留下 3 個被捕捉不動的微粒子，其位置分別為 $-5.08\mu\text{m}$ ， $0.86\mu\text{m}$ ，和 $5.04\mu\text{m}$ ，和圖 5.19(c)中理論預測位置的最大誤差值低於 8%。此一實驗結果初步驗證了前述線形圖案雷射鐳夾理論模型的正確性。

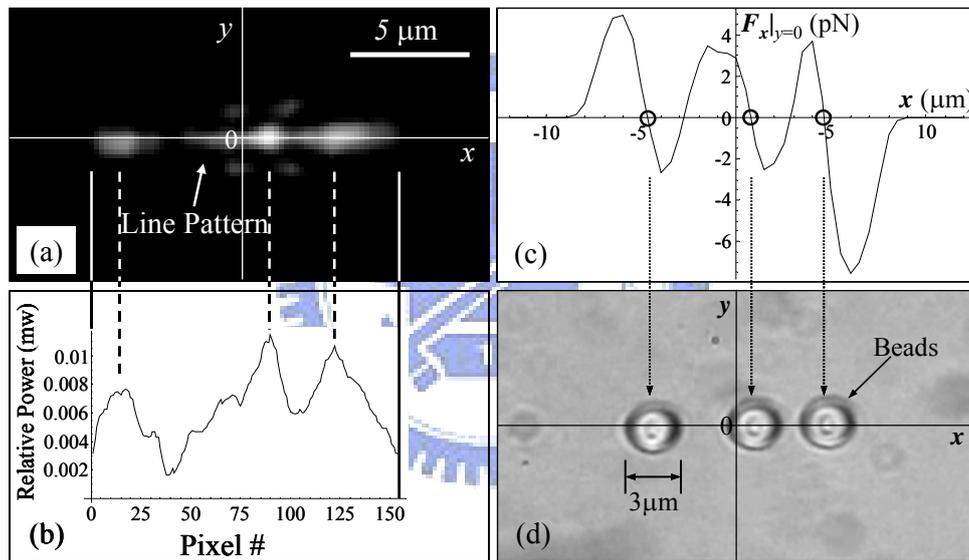


圖 5.19 線形雷射鐳夾捕捉微粒子的實驗量測與理論計算成果圖。(a)為長度 $12.9\mu\text{m}$ 線形圖案的二維光強度分佈。(b)是一維光功率分佈圖經由二維光強度分佈投影與計算，(c)為模擬的捕捉力的水平分量。理論計算的水平捕捉力分佈，其中三個黑圈標示微粒子的穩定平衡位置。(d)實驗結果顯示半徑 $1.5\mu\text{m}$ 的微粒子被捕捉在三個穩定平衡位置。

類似圖 5.19(c)，圖 5.20 展示另一長度為 $22.5\mu\text{m}$ 的線形圖案對同樣一個半徑為 $1.5\mu\text{m}$ 的微粒子在線形圖案中心軸上的水平捕捉力分布。在本圖中，實線曲線代表理論值 $F_x(x)|_{y=0}$ ，而黑點則是我們利用水流黏滯力法所量測到的水平捕捉力的實驗數據，兩者之間的最小誤差百分比為 0.9%，最大誤差百分比為 15.3%。圖 5.20 右上角為局部放大的實驗數據誤差值。此外，圖 5.20 也呈現 3 個穩定平衡位置，其實驗值分別為 $x_1 = -4.53$

μm ， $x_2 = 2.81\mu\text{m}$ ，與 $x_3 = 8.73\mu\text{m}$ ，而理論模擬值分別為 $x'_1 = -4.39\mu\text{m}$ ， $x'_2 = 2.38\mu\text{m}$ ，與 $x'_3 = 8.60\mu\text{m}$ 。由於 x_1, x_2 ，與 x_3 是微粒子在線形圖案中心軸上最容易被捕捉的位置，這讓我們比較容易以實驗方式量測微粒子在這三點附近所受到的捕捉力。

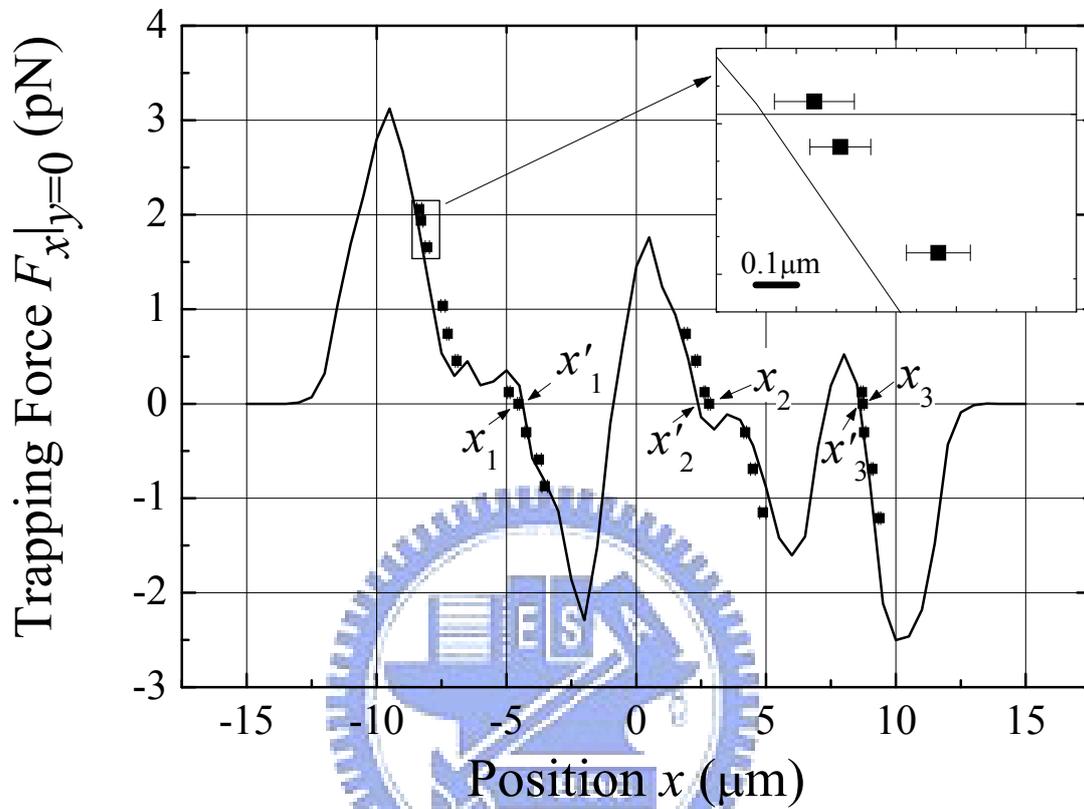


圖 5.20 模擬線形雷射鐳夾捕捉力(實線)的水平分量分佈圖。長度 22.5 公分的線形雷射鐳夾捕捉半徑 $1.5\mu\text{m}$ 的微粒子。方塊是實驗數據與實線是理論計算值 $F_x(x)|_{y=0}$ ，做一比較。插圖顯示實驗數據的誤差，此誤差以標準差來表示。

圖 5.21 展示此線形圖案對對半徑 1.5 與 $3\mu\text{m}$ 的微粒子分別在 x 軸的這三個穩定平衡位置上，然後沿 y 軸位置上的捕捉力分布，也就是線形圖案捕捉力在穩定平衡位置上的垂直分量。在本圖中，黑點為實驗數據，而實線曲線 $F_y(y)|_{x'_1}$ ， $F_y(y)|_{x'_2}$ ，與 $F_y(y)|_{x'_3}$ 則為理論值，兩者的誤差百分比介於 $3 \sim 18\%$ 之間。

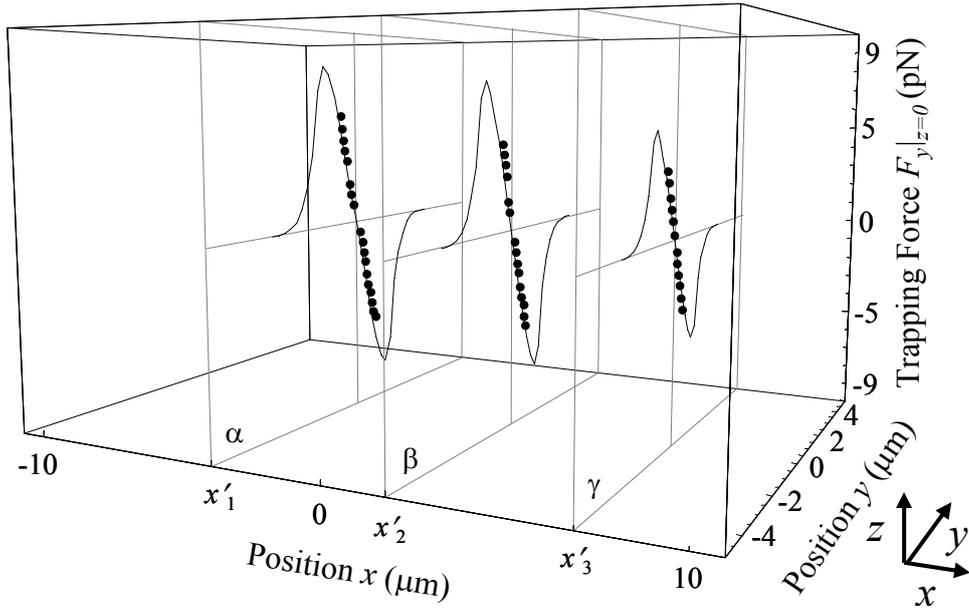


圖 5.21 模擬的垂直捕捉力分佈（實線曲線）與實驗數據(黑點)圖。

為了清楚的顯示線形雷射鐳夾捕捉力分佈的垂直分量，以比較模擬值與實驗值，我們將穩定平衡位置 x'_1 , x'_2 , 與 x'_3 的垂直捕捉力分佈，分別顯示在二維平面上，如圖 5.22(a),(b),(c)。同樣地，實線曲線為模擬值，黑點為實驗數據，並包含實驗誤差值。

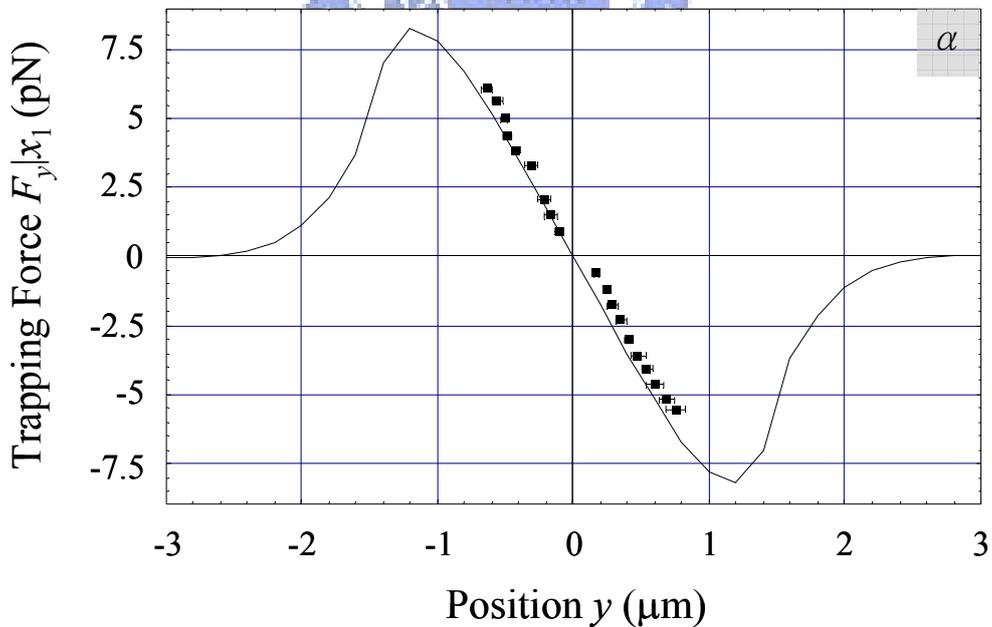


圖 5.22 (a) 對應到圖 5.21 的 α 平面與力平衡點 x'_1 的垂直捕捉力分佈圖。實線是模型預測值，黑點是實驗數據包含誤差值。

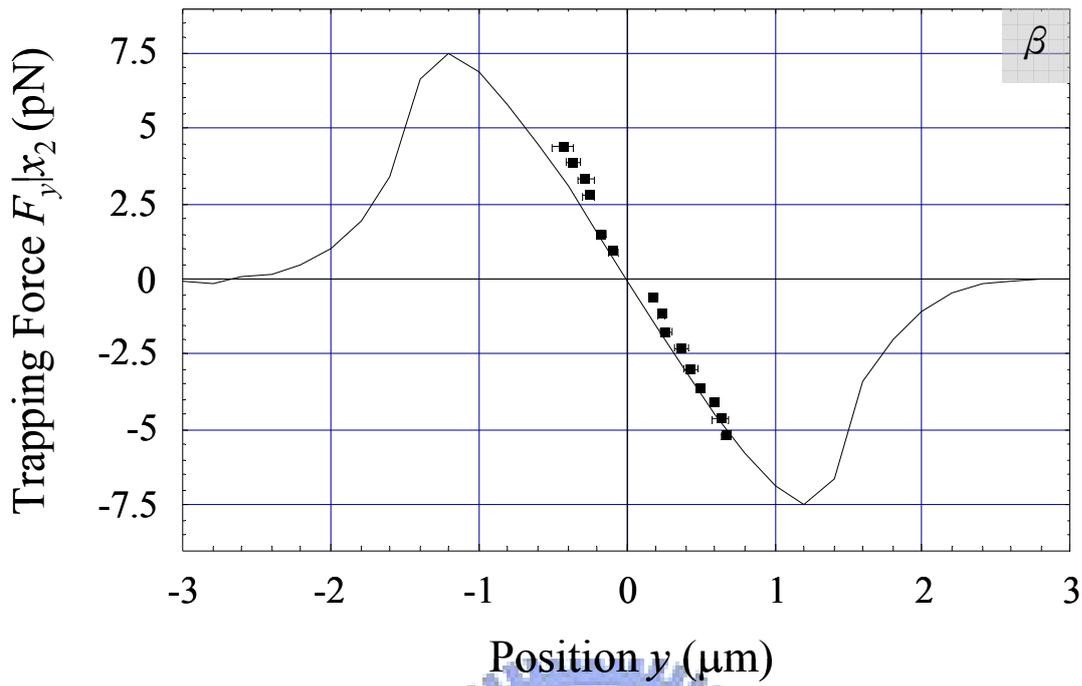


圖 5.22 (b) 對應到圖 5.21 的 β 平面與力平衡點 x'_2 的垂直捕捉力分佈圖：實線是模型預測值，黑點是實驗數據包含誤差值。

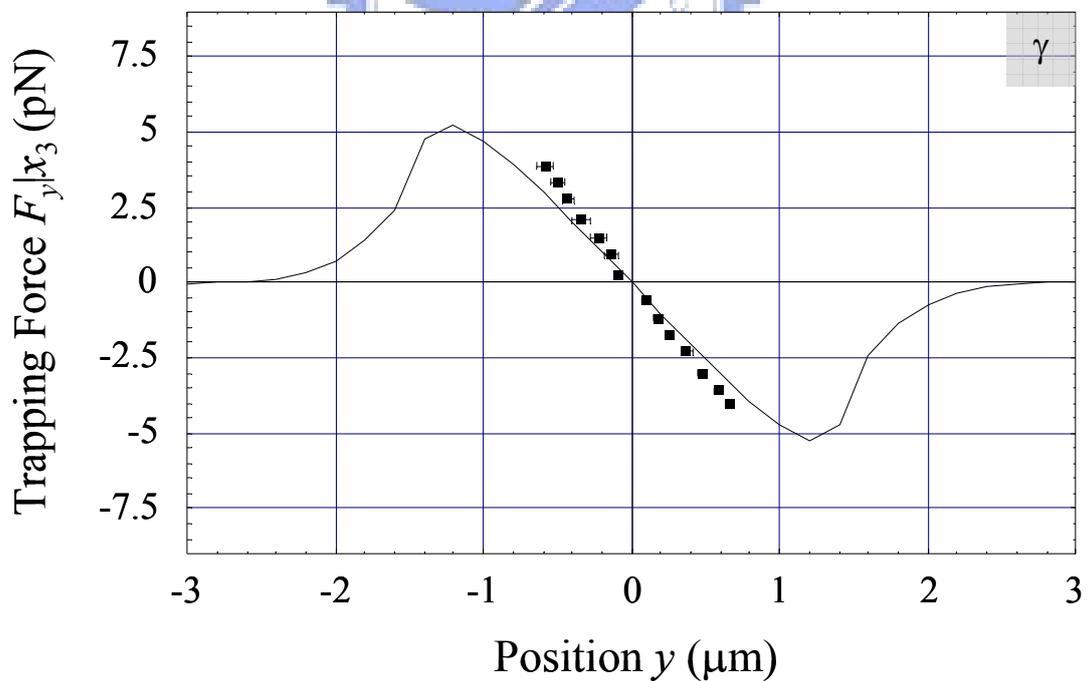


圖 5.22 (c) 對應到圖 5.21 的 γ 平面與力平衡點 x'_3 的垂直捕捉力分佈圖：實線是模型預測值，黑點是實驗數據包含誤差值。所有圖 4.7 的模型預測值與實驗數據的誤差百分比介於 3~18%之間

除了量測半徑 $1.5\mu\text{m}$ 微粒子的捕捉力之外，我們也量測相同線形圖案對半徑為 $3.0\mu\text{m}$ 的微粒子的捕捉力分布。在圖 5.23 中，實線曲線代表理論值 $F_x(x)|_{y=0}$ ，其穩定平衡位置為 $x'_{1'} = -5.37\mu\text{m}$ 與 $x'_{2'} = 3.32\mu\text{m}$ 。圖上黑點則是同樣利用水流黏滯力法所量測到的水平捕捉力的實驗數據，其穩定平衡點為 $x_{1'} = -5.14\mu\text{m}$ 與 $x_{2'} = 3.11\mu\text{m}$ 。比較理論與實驗值，兩者之間的最小誤差百分比為 0.9% ，最大誤差百分比為 7.1% ，圖的右上角同樣為局部放大的實驗數據誤差值。

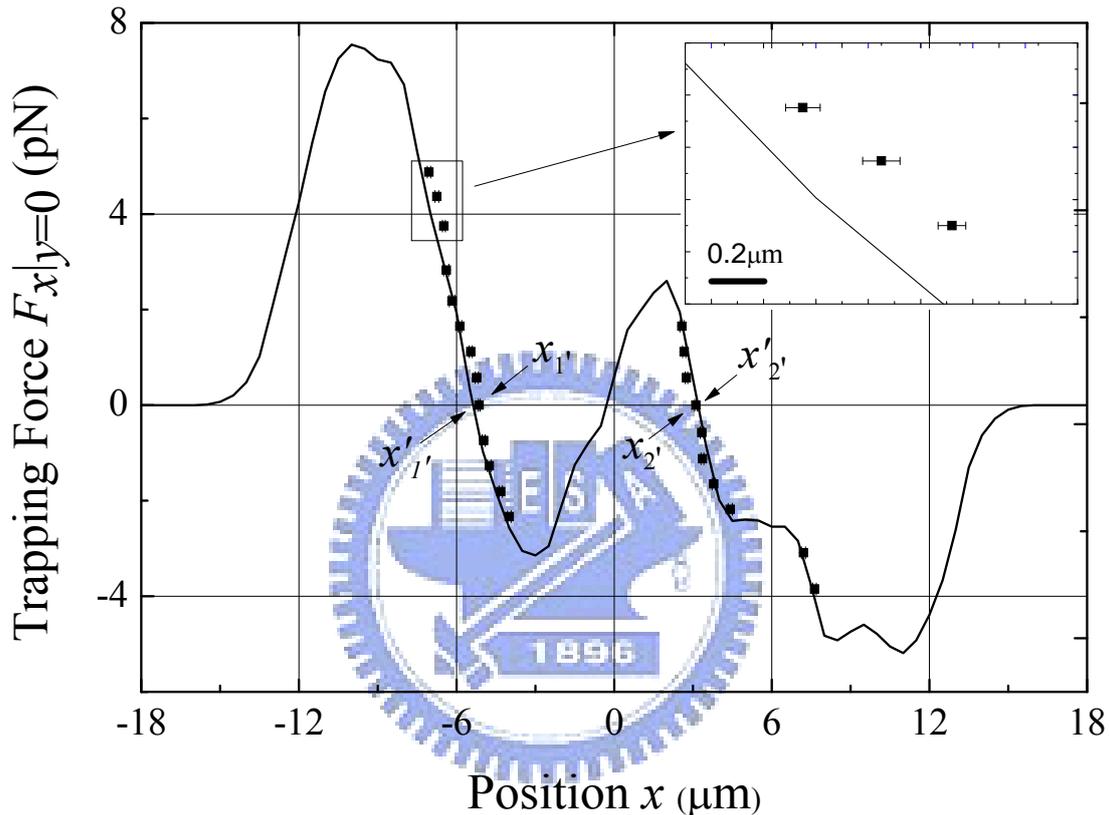


圖 5.23 模擬線形雷射鐳夾捕捉力(實線)的水平分量分佈圖。長度 22.5 公分的線形雷射鐳夾捕捉半徑 $3\mu\text{m}$ 的微粒子。方塊是實驗數據與實線是理論計算值 $F_x(x)|_{y=0}$ ，做一比較。插圖顯示實驗數據的誤差，此誤差以標準差來表示。

圖 5.24 展示此線形圖案對相同微粒子分別在這兩個 x 軸上的穩定平衡位置沿 y 軸上的垂直捕捉力分布。在本圖中，同樣地，黑點為實驗數據，而實線曲線 $F_y(y)|_{x'_{1}}$ 與 $F_y(y)|_{x'_{2}}$ 則為理論值，兩者的誤差百分比介於 $1.2\sim 12.5\%$ 之間。為了清楚的顯示模擬值與實驗值的比較，我們以力平衡點 x'_{1} 與 x'_{2} 為捕捉中心，分別顯示在二維平面上，如圖 5.25(a),(b)。上述所有誤差的主要來源是微粒子與蓋玻片表面產生的摩擦力。當平台移動速度愈快時，雖然可以製造出愈大的水流黏滯力，不過因為蓋玻片移動的距離也愈長，所以由摩擦而累積的誤差也隨之增大。由比較知，實驗結果與理論預測相符。上述多種實驗結果再次驗證本論文線形圖案雷射鐳夾理論模型的正確性。

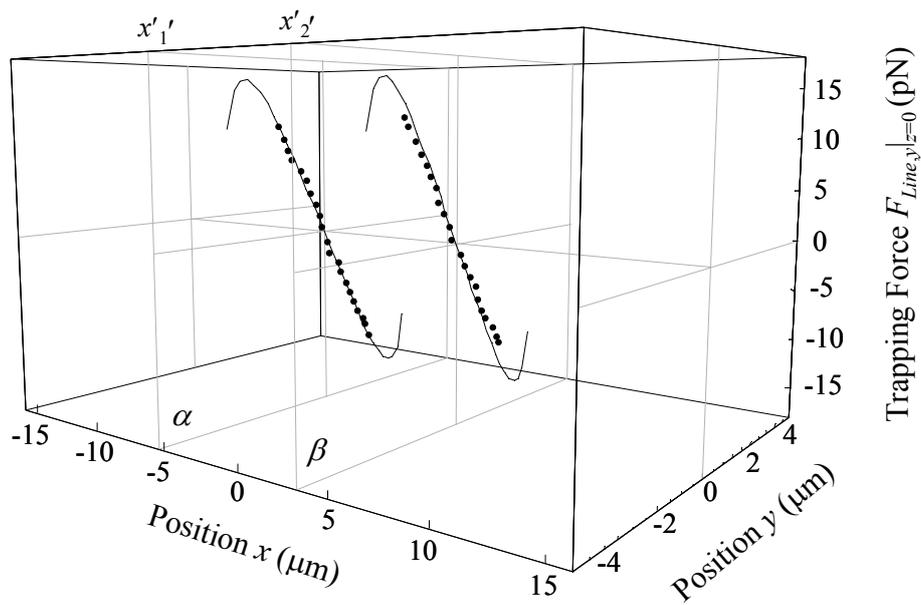
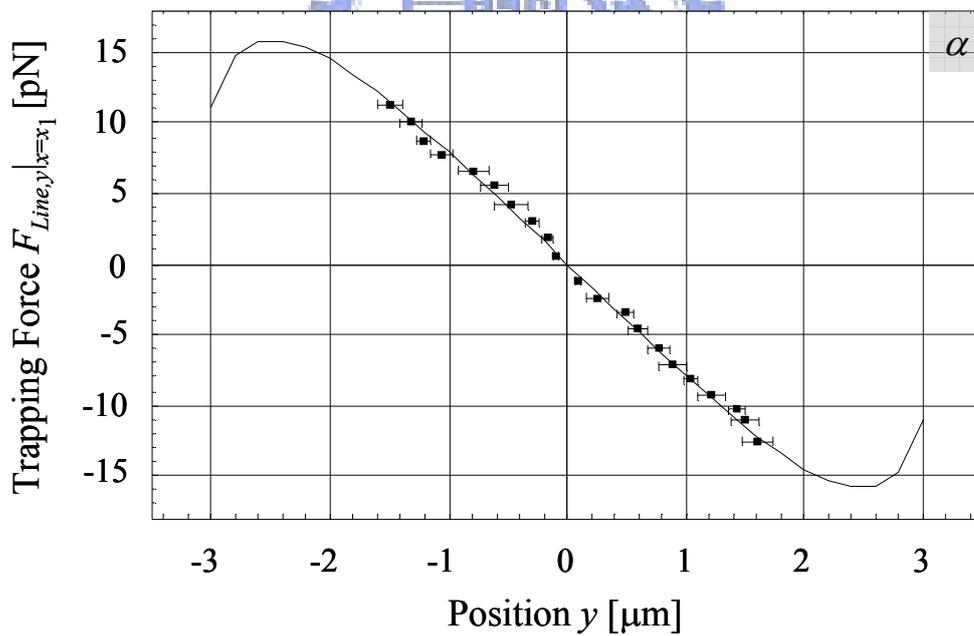
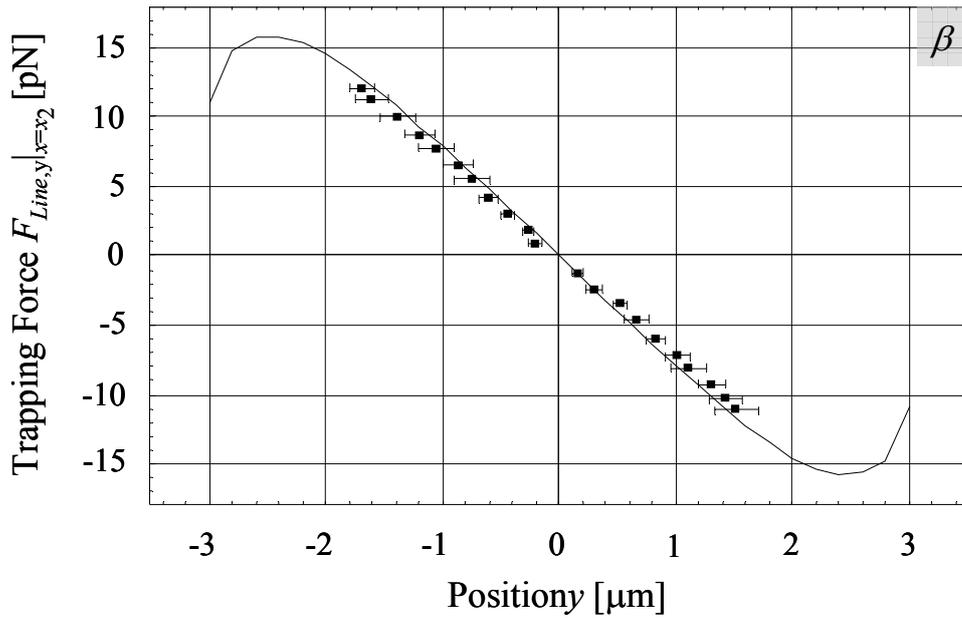


圖 5.24 模擬的垂直捕捉力（實線）與實驗數據（黑點）圖。兩個垂直捕捉力分佈 $F_y(y)|_{x'_1}$ 與 $F_y(y)|_{x'_2}$ 各在 x'_1 ， x'_2 位置與 α ， β 平面上。



(a)

圖 5.25(a) 對應到圖 5.24 的 α 平面與力平衡點 x'_1 的垂直捕捉力分佈：實線是模型預測值黑點是實驗數據包含誤差值。



(b)

圖 5.25(b) 對應到圖 5.24 的 β 平面與力平衡點 x'_2 的垂直捕捉力分佈圖：實線是模型預測值黑點是實驗數據包含誤差值。所有圖 4.9 的模型預測值與實驗數據的誤差百分比介於 1.2 ~ 12.5% 之間

5-3 微粒子軌跡之理論模擬與實驗量測初步比較

圖 5.26 為半徑 $3\mu\text{m}$ 微粒子流經一角度為 45° 的線形圖案時，得到模擬與實驗量測的軌跡。從圖上看出軌跡前端有較好的擬合，但到後端時產生了誤差。我們比較平移距離，實驗值為 $8.58\mu\text{m}$ ，模擬值為 $10.11\mu\text{m}$ 。兩者相差 $1.71\mu\text{m}$ ，誤差百分比為 15.13 %。

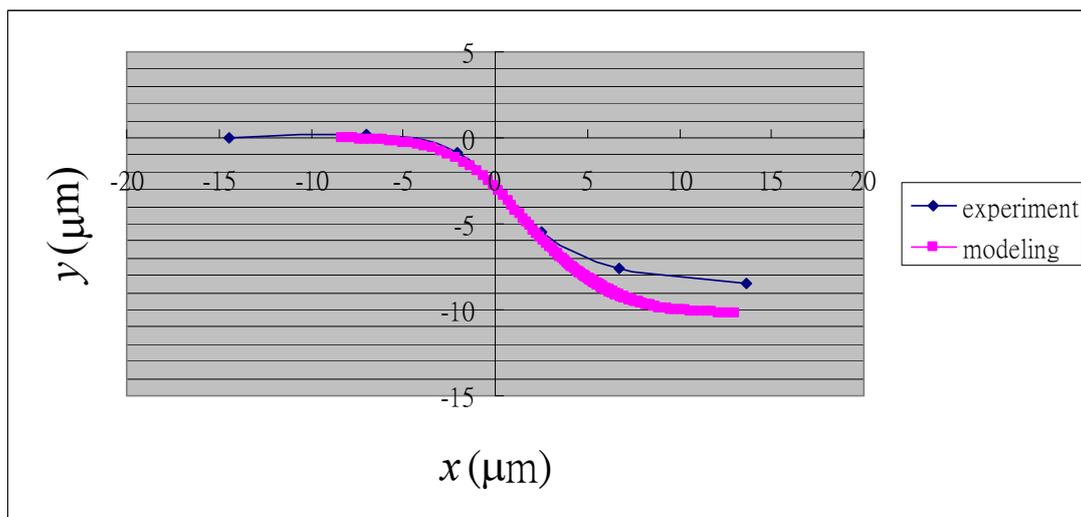


圖 5.26 模擬與實驗量測半徑 $3\mu\text{m}$ 微粒子軌跡的比較圖

5-4 微粒子與細胞的導引與分離

圖 5.27 顯示一直徑 $6\mu\text{m}$ 的微粒子在由 PDMS 製作的微流管道裡流動，然後被兩條線形雷射鐳夾從主流道自動的導引到支流道。在 100 倍物鏡的可視範圍底下對照示意圖，我們可以觀察到微粒子，從主流道的邊緣經線形圖案的導引，沒有進入不被導引的支流道，然後進入被導引的流道。這顯示線形雷射鐳夾發揮功用，能正確的引導微粒子流動的方向。

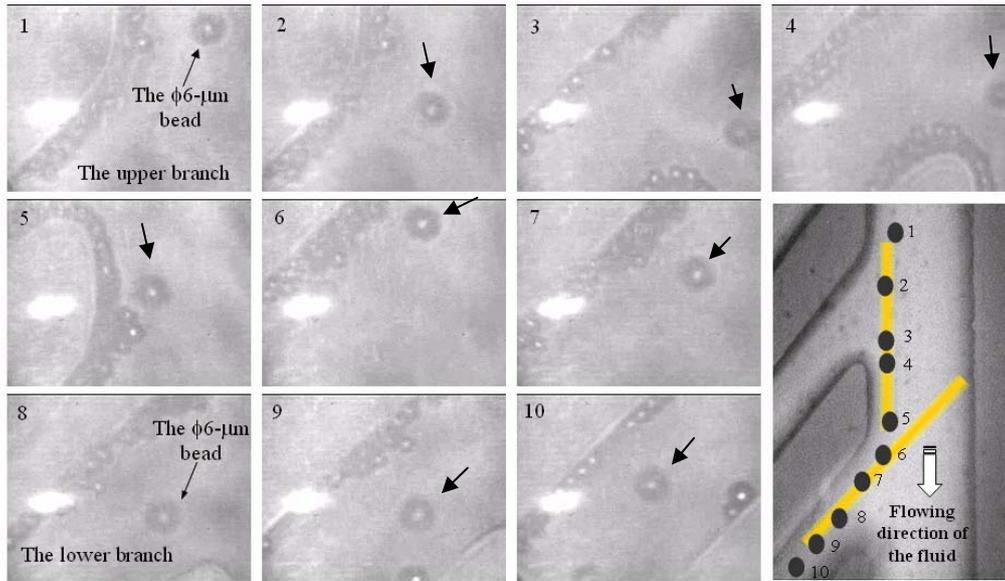


圖 5.27 引導微粒子流動方向圖。直徑 $6\mu\text{m}$ 的微粒子被兩條線形圖案從直徑 $60\mu\text{m}$ 的主流道引導到 $30\mu\text{m}$ 的支流道。在微流管道內，由箭頭指引我們可以看到微粒子由主流到被導引到支流道。

圖 5.28 顯示證明生物樣品酵母菌可以被線形雷射鐳夾捕捉並且沿著線形圖案移動，直到脫離線形圖案。圖 5.29 顯示一大小相同，直徑約 $6\mu\text{m}$ 的微粒子與酵母菌的分離情形。從圖上我們觀察到微粒子與酵母菌在相同的水平方向，經過線形雷射鐳夾(紅線)之後被分離了。這表示微粒子與酵母菌受到不同的捕捉力，且微粒子受到較大的捕捉力，所以可以繼續在線上移動，不被水流產生的水流黏滯力沖走。而酵母菌則受到較小的捕捉力，很快的就會抵擋不住水流黏滯力的沖擊，而脫離線形圖案的束縛。這個結果讓我們了解，生物樣品可以被線形雷射鐳夾捕捉及導引，而且除了可以分離不同大小尺寸的樣品之外，我們還可以在相同尺寸的樣品下，分離不同材質的樣品。

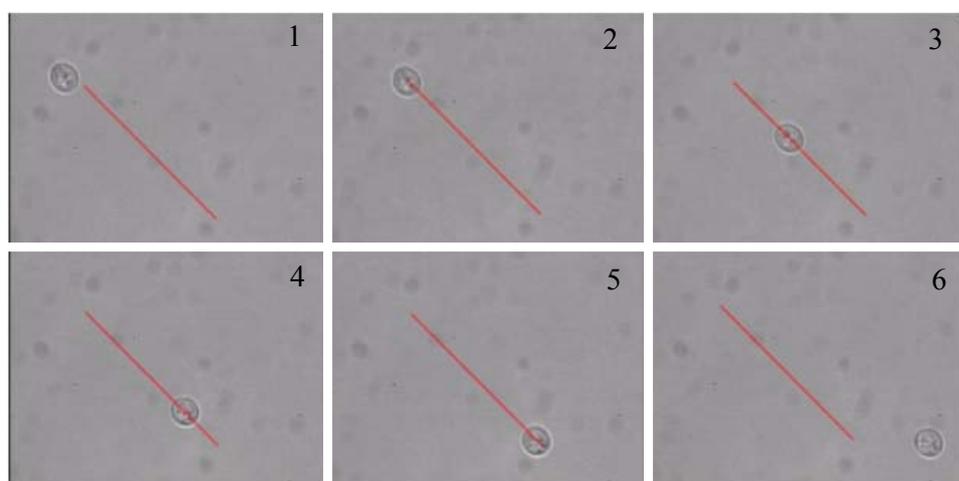


圖 5.28 酵母菌沿 45° 線形雷射鐳夾移動圖

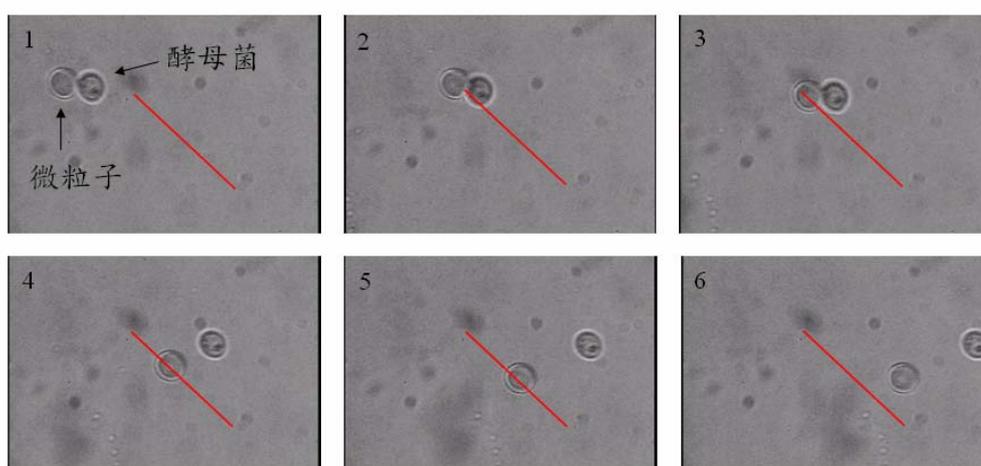


圖 5.29 微粒子與酵母菌分離圖。相同尺寸直徑約 $6\mu\text{m}$ 的微粒子與酵母菌的分離情形。當酵母菌脫離線形圖案時，微粒子仍在線上。

5-5 討論

根據本模型，我們先後針對兩個長度分別為 12.9 μm 與 22.5 μm 的線形圖案，計算他們各自對兩個半徑分別為 3.0 μm 與 1.5 μm 的微粒子的捕捉力分布。同時，我們也利用水流黏滯力法，測得這兩個大小不同的微粒子分別在上述兩線形圖案附近受到的捕捉力分布。結果，實驗數據符合理論預測。我們以線形雷射鐳夾捕捉半徑 1.5 μm 微粒子，一共比較了 68 處位置的捕捉力，其平均誤差為 5.23 %。另外，我們也用同一線形雷射鐳夾捕捉半徑 3 μm 微粒子，比較了 65 處位置的捕捉力，平均誤差為 5.85%。因此由這些比較數據知，我們所提出的線形雷射鐳夾理論模型獲得驗證。

接著，我們進一步探討線形雷射鐳夾被應用在微流管道中分離大小細胞的有效安排。我們發現影響分離效果的因素有四：線形圖案的光強度分佈、大小兩微粒子的半徑、水流速度 v_w 、與線形圖案的角度 θ_w ，其中最關鍵的因素也就是線形圖案的光強度分佈，分佈的狀態會影響線形雷射鐳夾捕捉力的分佈，而水流速度與線形圖案角度則是實驗可調控的操作因素。在本研究中，我們再次針對長度為 22.5 μm 的線形圖案，模擬其分離上述兩種大小不同的微粒子的分離距離。理論計算的結果顯示，兩微粒子的最大分離距離為 14.5 μm ，其對應的最佳化的分離條件是 $v_{w,opt} = 217.5 \mu\text{m/s}$ 與 $\theta_{w,opt} = 77^\circ$ 。此外，在此條件附近也有一段有效分離兩微粒子的有效角度範圍 $\Delta\theta_w$ 與有效流速範圍 Δv_w 。譬如，在最佳化的水流速度 217.5 $\mu\text{m/s}$ 之下，我們預期此一線形圖案在 $55^\circ \leq \Delta\theta_w \leq 78^\circ$ 的角度範圍之內都可以有效分離這兩個微粒子。這些因素以及模擬得到的數據，都會是日後應用在分離生物細胞重要的依據。

在探討線形圖案光強度方面，理想的線形圖案光強度是均勻的，也就是只有在線形圖案兩端有捕捉力的分佈，其餘中間部分則因力對稱的關係，作用在粒子的捕捉力會相互抵銷，捕捉力為零。但在實際狀態下，線形圖案光強度的分佈，因為受光學元件與光路系統架設的影響，會有不均勻的光強度分佈產生，使得除了線形兩端有同樣有較大捕捉力分佈外，其餘中間地方因為沒有力對稱的關係，而有捕捉力的產生。因此，我們必須用實際線形光強度分佈來模擬捕捉力的分佈，這樣才能與實驗量測的結果作比較，也符合真實條件狀況。

在本研究中主要以微粒子的尺寸來作分離。在同一線形相同的位置上，因體積關係，大微粒子會比小微粒受到更多雷射光束的作用而有較大的捕捉力分佈。接著考慮當微粒子在流體中受一水流黏滯力牽引流經線形時，因捕捉力讓微粒子沿著線形移動。在移動的過程中，小微粒子的被捕捉力較小，所以容易沿著線形移動時，被水流黏滯力帶

離線形，而大微粒子因捕捉力大，不易被帶離線形，在線上移動的距離會比小微粒子長，因此形成不一樣長的運動軌跡，造成移動距離之間的差距，也以此差距作為不同微粒子分離的指標。若不同微粒子間分離的差距越小，且符合門檻分離距離的限制時，使得在線形雷射鐳夾上，能安排最多被分離的微粒子。

另外，在線形圖案雷射鐳夾的捕捉力分佈探討方面，由模型模擬得知，任何的線形光強度分佈，線形圖案雷射鐳夾的兩端有最大的捕捉力。這個訊息提供我們在細胞分離時，設定的水流速所造成微粒子水流黏滯力的大小，必須大於兩端的最大捕捉力。從模擬的捕捉力的水平分量得知，若水流黏滯力小於線形兩端較大的捕捉力時，一旦微粒子進到線形捕捉的範圍後，一端的捕捉力方向與水流黏滯力同向，粒子從這端被帶進線形中，但到達另一端時，因水流黏滯力小於捕捉力且反向，這時就會被侷限在中間而流不出去，如同位能井，如此無法分類粒子。因此從模型得到兩端最大捕捉力之後，就能設定水流速的臨界速度，使得水流黏滯力能夠大於最大的捕捉力，如此才能分離微粒子或細胞。

由模擬結果我們得知，在每一個水流速度 v_w 之下，每一個線形圖案都有一個不同的有效分離的門檻夾角 $\theta_{wth}(v_w)$ 與一個不同的最佳化分離夾角 $\theta_{wopt}(v_w)$ 。圖 5.16 清楚展示水流的速率 v_w 愈快，則有效分離的門檻夾角 $\theta_{wth}(v_w)$ 愈小。如此，有效分離的夾角 θ_w 範圍愈大，將使得分離操作愈容易。在圖上，我們也注意到小角度的夾角，分離的距離很小幾乎沒有分開，然後到夾角時，突然有明顯的分離距離。其原因有二：一是線形圖案小角度時相對微粒子移動的平移距離也小，且因為與水流方向成小角度的線形圖案，微粒子容易在移動直到端點才脫離，所以分離的距離受到限制。二是受捕捉力與水流黏滯力的影響。我們由線形捕捉力的垂直分量與同樣垂直於線形圖案的水流黏滯力的大小比較，可得知結果，我們由圖 5.30 為例子來說明。

由模型算出，實線與虛線的曲線分別為大小微粒子最大的捕捉力，而實線與虛線的直線分別為大小微粒子在線型角度 30° 、 45° 與相同流速下，垂直於線形圖案的水流黏滯力。當線型角度 30° 時，大小微粒子的線形捕捉範圍的捕捉力皆大於水流黏滯力，使得微粒子都能承受水流黏滯力的衝擊而沿著線形移動到端點才離開 (T_1 與 T_2 ，分離距離為 x_2-x_1)，所以兩微粒子分離距離很小。但線形角度 45° 時，小微粒子的捕捉力在 T_4 時，小於水流黏滯力，這時小微粒子承受不住水流黏滯力而脫離線形圖案。而大微粒子在線形角度 45° 時，在小微粒子的脫離點位置，捕捉力仍大於水流黏滯力，因此持續在線形移動直到 T_4 才脫離線形圖案。在此流速與角度下，大小微粒子形成明顯的分離距

離。在這裡，我們可以清楚的了解到，在每一個水流速下，當到達某一個線形角度時，大小微粒子就會有明顯的分離距離，甚至是再有更明顯的分離距離，如圖 5.30 所示。我們也更進一步了解到線形捕捉力的分佈與水流黏滯力的大小，影響微粒子分離的距離。

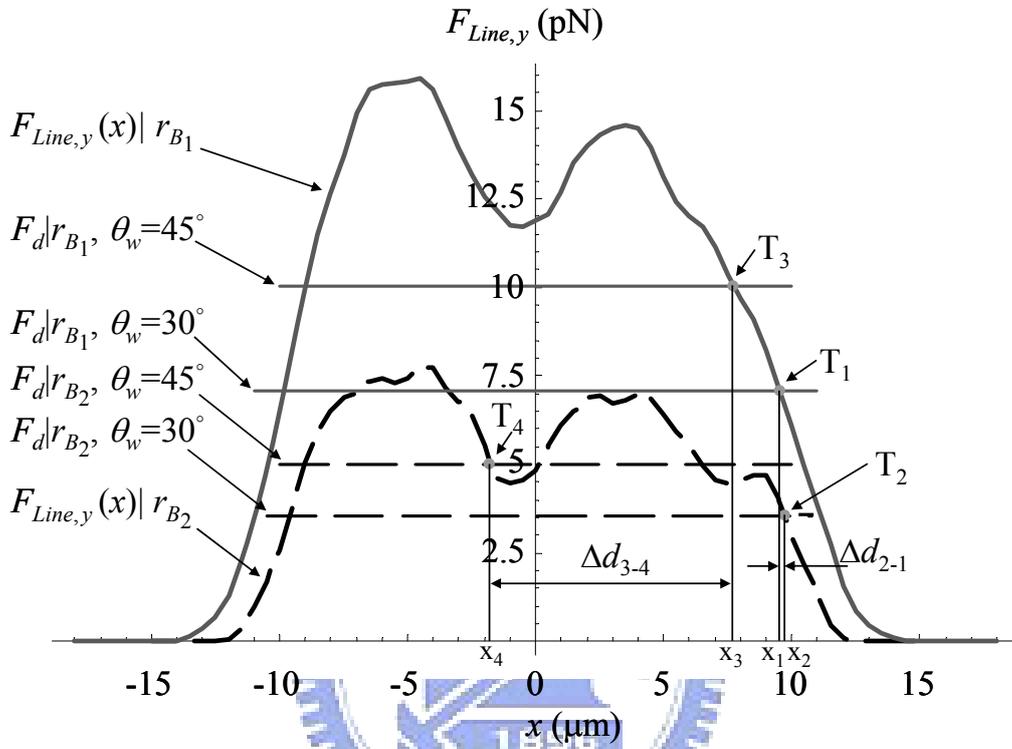


圖 5.30 捕捉力(曲線)與水流黏滯力(直線)比較圖。由捕捉力與水流黏滯力的比較了解有效的分離。在 T_1 、 T_2 、 T_3 與 T_4 這些位置上是捕捉力小於水流黏滯力，表示微粒子將脫離線形圖案的位置。當線形圖案角度 30° 時，大小微粒子脫離線形圖案的位置分別是 T_1 與 T_2 ，差距為 $x_2 - x_1$ 。當線形圖案角度 45° 時，大小微粒子脫離線形圖案的位置分別是 T_3 與 T_4 ，差距為 $x_3 - x_4$ (直線) 的比較，得到一門檻角度。在線形角度 45° 度時，小微粒子的捕捉力(虛曲線)在 T_1 位置小於水流黏滯力(虛直線)而脫離線形圖案，大微粒子的捕捉力(實曲線)在此位置仍大於水流黏滯力(實直線)，直至 T_2 位置才小於水流黏滯力而脫離線形圖案，使得大小微粒子形成明顯的分離距離。此時的線形角度 45° 即為門檻角度。

綜觀所述，本線形圖案雷射鐳夾理論模型將有助於我們，針對被分離的細胞，設計適當的線形圖案的光強度分佈(附錄四)，預測其最佳化的分離條件：水流速度 $v_{w,opt}$ ，與線形圖案的角度 $\theta_{w,opt}$ ，並拓寬其有效分離細胞的操作範圍 $\Delta\theta_w$ 與 Δv_w 。當細胞大小改變時，我們也可重複上述流程，即時調變由 PPM 產生的線形圖案的光強度分佈及其角度與水流速度，以維持最佳化的分離條件。

第六章 結論與展望

在本研究中，我們證明了線形捕捉全像雷射鐳夾整合微流體實驗室晶片能夠分離不同微粒子的能力。我們建立了線形雷射鐳夾捕捉力分佈模型，並架設全像雷射鐳夾系統及利用電腦可程式化產生線形圖案的雷射鐳夾。從模型，讓我們能夠清楚的了解多點組成的線形雷射鐳夾，在捕捉微粒子時的捕捉力分佈。也就是說，從單點、多點、線甚至到面，都可從本模型得到雷射鐳夾捕捉力的分佈，並從實驗的結果證明了模型的準確性。這有利的結果，讓我們利用線形捕捉全像雷射鐳夾結合微流管道的特性，來預測微粒子在不同參數條件下的運動軌跡，進而得到微粒子的最佳分離條件及效果。

最佳的分離效果也就是能快速的分離細胞，本模型的另一特色就是從微粒子的門檻分離距離下，找出最有效率分離微粒子的分離條件，也就是在最快的流速下分離最多的微粒子數。流速越快分離微粒子的速度也越快效率相對增加，但流速對微粒子產生的水流黏滯力也會變大，微粒子脫離線形圖案的速度也會變快，平移距離就會變小，使得微粒子間的分離距離相對的變小。微粒子間的分離距離小到門檻分離距離時，此時的流速就我們要找的最快流速。所以利用本模型，我們可以在符合門檻分離距離的流速中，找出分離微粒子的最快流速，以達到最佳的分離效果。

全像雷射鐳夾系統結合微流管道技術，發展線形捕捉全像雷射鐳夾操控動態微粒子的新技術，改善了現有的細胞分離技術。本實驗系統的微型化，改善了流式細胞儀體積龐大與價格昂貴的問題，以及雷射鐳夾能動態的操控微粒子，也改善了原只用微流體實驗室晶片的固型化及管道阻塞的問題。除了技術上的改善外，我們也建立一套模型，根據細胞的尺寸大小，即時的經由 PPM 改變線形的光強度分佈及線形圖案的角度分離細胞，能夠即時改變分離細胞的大小，達到客製化的需求。

提出研究論文的目的是希望能夠實際應用在生醫工程上，因此我們提出一具體可行的應用在未來。我們已經藉由線形雷射鐳夾結合微流管道，得到導引微粒子的成果。因此，在導引微粒子之前，我們可以藉由模型先模擬一個待測樣品完成後，設計一個符合模擬參數條件的微流管道晶片，將線形雷射鐳夾與微流管道晶片結合後，完成一個能更快速、準確、有效率的將生物樣品分類及收集的檢測晶片，提供後續再做量化的分析。我們也可針對特定的樣品，設計檢測晶片，例如在緒論中提出的全血分離技術。全血分離技術主要是將血液中的血球與血清分離。血液基本性質主要包括血液中各種血球的尺寸、幾何形狀、濃度、折射率大小以及血清的折射率、黏滯係數等。由於血球的尺寸、

幾何形狀、折射率與血清的折射率會決定線形雷射鑷夾捕捉血球細胞的捕捉力大小，而血球的尺寸、幾何形狀與血清的黏滯係數會決定血流對於血球細胞的沖刷力大小，即是黏滯力大小。由本論文得知，捕捉力與黏滯力的大小是決定血球分離的重要指標，因此我們必須先知道雷射鑷夾對血液中血球的捕捉力大小以及血液濃度對血球造成的黏滯作用。

血液中的血球包含白血球、紅血球與血小板，直徑各為 $8\sim 12\mu\text{m}$ ， $6\sim 9\mu\text{m}$ ， $2\sim 4\mu\text{m}$ 。白血球略呈圓球狀，紅血球是圓餅狀，而血小板則無規則形狀，這些在雷射鑷夾中的受力大小與運動狀態尚未有理論模型可供參考與預測。因此，也無法得知血球在線形雷射鑷夾中的運動情形，是否會與結果中的分離水溶液中酵母菌的實驗有相同的效果。因此，可利用本模型先了解雷射鑷夾對各血球的捕捉力大小，以及模擬各血球在線形雷射鑷夾中的運動軌跡以及分離的情形。有了初步的資訊，就能設計線形圖案的光強度分佈用於分離血液中的血球與血清，根據線形圖案的分離效果，找出最佳的分離條件。

經由模型模擬出血球與血清分離的參數條件，然後結合微流體晶片技術，設計出最佳化的全血分離晶片來分離血球與血清。更可再結合生物感測元件，能夠即時的檢測或監控血球或血清的變化，提升檢測的效率，幫助治療的時效性，並提供生物界從定性提升到定量的分析。我們相信本論文展示了一種新的生醫用細胞分類及篩選工具的可行性。此一以動態式線形雷射鑷為基礎的微流體實驗室晶片，將有利於未來微型化的細胞分離技術。

本研究最終的目的是希望將理工發展的技術真正應用在生物醫學上，甚至是臨床的檢驗上，針對生物的問題，提供適合的技術解決生物應用的需求。也希望藉由理工與生物的結合來提供許多跨領域的機會，藉由不同領域激盪，激發出更多更能造福人類的一些新福祉。因此，希望藉由本論文的研究，能夠激發有興趣的人，更多的創意在研究上。

參考文獻

1. A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm, and S. Chu, "Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles," *Opt. Lett.* **11**, 288-290 (1986).
2. A. Ashkin, and J. M. Dziedzic, "Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria," *Sci.* **235**, 1517-1520 (1987).
3. S. C. Grover, A. G. Skirtach, R. C. Gauthier, and C. P. Grover, "Automated single-cell sorting system based on optical trapping," *J. Biomed. Opt.* **6**, 14-22 (2001).
4. Y. Wakamoto, I. Inoue, H. Moriguchi, and K. Yasuda, *Fresen. J. Anal. Chem.* **371** (2001) 276.
5. M. Ozkan, M. Wang, C. Ozkan, R. Flynn, A. Birkbeck, and S. Esener, "Optical manipulation of objects and biological cells in microfluidic devices," *Biomed. Microdevices* **5**, 61-67 (2003).
6. M. Ozkan, T. Pisanic, J. Scheel, C. Barlow, S. Esener, and S. N. Bhatia, "Electro-optical platform for the manipulation of live cells," *Langmuir* **19**, 1532-1538 (2003).
7. A. D. Mehta, M. Rief, J. A. Spudich, D. A. Smith, and R. M. Simmons, "Single-Molecule biomechanics with optical Methods," *Sci.* **283**, 1689-1695 (1999).
8. M. Reicherter, T. Haist, E. U. Wagemann, and H. J. Tiziani, "Optical particle trapping with computer-generated holograms written on a liquid-crystal display," *Opt. Lett.* **24**, 608-610 (1999).
9. J. Liesener, M. Reicherter, T. Haist, and H. J. Tiziani, "Multi-functional optical tweezers using computer-generated holograms," *Opt. Commun.* **185**, 77-82 (2000).
10. J. E. Curtis, B. A. Koss and D. G. Grier, "Dynamic holographic optical tweezers," *Opt. Commun.* **207** 169-175 (2002).
11. S. Y. Tseng, S. Chi, and L. Hsu, "Particle sorting by optical pattern of line shapes," *Proc. SPIE* **5514**, 687-694 (2004).
12. 曾勝陽, "利用可程式化全像雷射鑷夾系統進行微粒子分離之研究," 國立交通大學光電工程研究所 碩士畢業論文 (2004).
13. Y. Roichman, and D. G. Grier, "Projecting extended optical traps with shape-phase holography," *Opt. Lett.* **31**, 1675-1677 (2006).
14. Y. Roichman, I. Cholis, and D. G. Grier, "Volumetric imaging of holographic optical traps," *Opt. Express* **14**, 10907-10912 (2006).
15. A. Ashkin, "Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime," *Biophys. J.* **61**, 569-582 (1992).
16. M. J. Lang, C. L. Asbury, J. W. Shaevitz, and S. M. Block, "An automated two-dimensional optical force clamp for single molecule studies," *Biophys. J.* **83**, 491-501 (2002).
17. Y. Harada and T. Asakura, "Radiation forces on a dielectric sphere in the Rayleigh scattering regime," *Opt. Commun.* **124**, 529-541 (1996).
18. A. Ashkin. "Acceleration and trapping of particles by radiation pressure." *Phys. Rev. Lett.* **24**, 156-159 (1970).
19. K. S. Yee, "Numerical solution of initial boundary value problems involving Maxwell's

- equations in isotropic media,” *IEEE Trans. Antennas Propag.* **14**, 302-307 (1966).
20. W. H. Wright, G. J. Sonek, and M. W. Berns, “Parametric study of the force on microspheres held by optical tweezers,” *Appl. Opt.* **33**, 1735-1748 (1994).
 21. S. Sato, H. Inaba, “Optical trapping and manipulation of microscopic particles and biological cells by laser beams,” *Opt. Quant. Electron.* **28**, 1-16 (1996).
 22. R. W. Gerchberg and W. O. Saxton, “A practical algorithm for the determination of the phase from image and diffraction plane pictures,” *Optik* **35**, 237 (1972).
 23. Todd Thorsen, Sebastian J. Maerkl, “Microfluidic Large-Scale Integration,” *SCIENCE* **298**, 580 (2002).
 24. David C. Duffy, J. Cooper McDonald, “Rapid Prototyping of Microfluidic Systems in Poly(dimethylsiloxane),” *Anal. Chem.* **70**, 4974 (1998)
 25. Marc A. Unger, Hou-Pu Chou, ”Monolithic Microfabricated Valves and Pumps by Multilayer Soft Lithography,” *SCIENCE* **288**, 113 (2000).
 26. J. D. Jackson, “Reflection and refraction of electromagnetic waves at a plane interface between dielectrics,” in *Classical Electrodynamics* (Wiley, New York, 1999), pp.154-159.
 27. 蔡玉堂, “雷射偏振態對雷射鑷夾捕捉力影響之研究,” 國立交通大學 電子物理系 碩士畢業論文 (2005).
 28. 張宜仁, “雷射鑷夾單一粒子追蹤系統之設計與分析,” 國立交通大學 光電工程研究所 博士畢業論文 (2006).



附錄一 雷射偏振態

由 Ashkin 的 RO-model 知，當聚焦後的雷射光束照射在微粒子時，會施予微粒子一作用力。此作用力由每一條光線在微粒子介面上的反射與折射的偏折變化所產生。光線偏折後的反射和折射角度，可以藉由司乃耳定律 (Snell's law) 求出，而反射率與折射率，則可以從菲涅爾公式中 (Fresnel formula) 得到。

在菲涅耳公式中，對於反射率的計算裡，其參數除了與入射角 θ_i 和介面的介質折射率 n_s 、 n_B 有關之外，同時還必須考慮入射光的偏振方向。所謂偏振方向即是入射光的電場方向，當電場方向垂直入射面，稱為垂直偏振 (s-polarization)，而電場方向平行入射面，則稱為平行偏振 (p-polarization)。這兩個偏振的反射率並不相同，由菲涅爾公式，可以得到這兩者的反射率 R_s 與 R_p 分別為^[26]

$$R_s = \left(\frac{n_s \cos \theta_i - n_B \cos \varphi_i}{n_s \cos \theta_i + n_B \cos \varphi_i} \right)^2 \quad \text{for s-polarization,} \quad (\text{A.1})$$

與

$$R_p = \left(\frac{n_s \cos \varphi_i - n_B \cos \theta_i}{n_s \cos \varphi_i + n_B \cos \theta_i} \right)^2 \quad \text{for s-polarization,} \quad (\text{A.2})$$

其中， φ_i 為折射角。而由光的可逆性及(A.1)與(A.2)式知，若在相同的介面上，從光線原來的折射處入射的話，我們依然會得到相同的反射率，只是此時 θ_i 為折射角， φ_i 為入射角。

因此，雷射光線入射到微粒子表面的反射率，必須考慮入射光線在這電場所在兩個分量上的比例。雷射本身具有不同的偏振特性，可分為圓偏振 (circular polarization)、線偏振 (linear polarization) 或是無特定偏振 (random polarization) 的。若雷射為圓偏振或者無特定偏振時，不論光線穿過物鏡後的行進方向為何，垂直偏振的分量 $\delta_{s,cir}$ 、 $\delta_{s,ran}$ 與平行偏振的分量 $\delta_{p,cir}$ 、 $\delta_{p,ran}$ 都是相同的，也就是

$$\delta_{s,cir} = \delta_{s,ran} = \delta_{p,cir} = \delta_{p,ran} = 1/2。 \quad (\text{A.3})$$

因此，反射率 $R_{tot,cir}$ 與 $R_{tot,ran}$ 則為

$$R_{tot,cir} = \delta_{s,cir} R_{s,cir} + \delta_{p,cir} R_{p,cir} = (R_{s,cir} + R_{p,cir})/2, \quad (\text{A.4})$$

$$R_{tot,ran} = \delta_{s,ran} R_{s,ran} + \delta_{p,ran} R_{p,ran} = (R_{s,ran} + R_{p,ran})/2。 \quad (\text{A.5})$$

一般在考慮雷射光功率時，為了簡化計算通常會以圓偏振雷射的模式作計算，但是在實際的情況下，我們所使用的雷射通常都是線偏振 (linear polarization)，而線偏振的 $\delta_{s,line}$ 與 $\delta_{p,line}$ 不在是相同的。因此，我們便需要考慮雷射線偏振分量的問題。在考慮線偏振的問題之前，我們先需要考慮線偏振的光通過物鏡作用在球狀微粒子時，球座標下不同空間角度 (θ, φ) 的光線各自的偏振方向為何。而此一關係則可以由偏振函數 $\bar{P}_i(\theta, \varphi)$ 得到：

$$\bar{P}_i(\theta, \varphi) = \begin{bmatrix} 1 - \cos^2 \theta \cos^2 \varphi / (1 + \sin \theta) \\ -\cos^2 \theta \cos \varphi \sin \varphi / (1 + \sin \theta) \\ -\cos \theta \cos \varphi \end{bmatrix}, \quad (\text{A.6})$$

其推導方式如下：^[27,28]

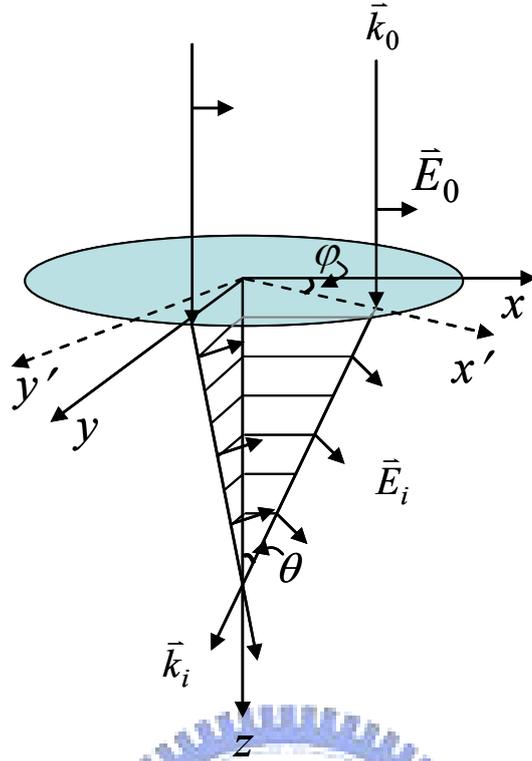


圖 A.1 透鏡偏折光場之行進與偏振方向示意圖

如圖 A.1 所示，當一光線在 z 方向行進時，波向量為 $\vec{k}_0(0, 0, k)$ ，而電場 $\vec{E}_0(E, 0, 0)$ 偏振為 x 方向上的光場。當此光線通過一個透鏡時產生偏折，使前進方向，由原來的 \vec{k}_0 偏折為 $\vec{k}_i(k_{ix}, k_{iy}, k_{iz})$ 。在偏折時，光線行進方向與偏振方向的改變，可視為以垂直折射面的方向，旋轉轉軸 θ 角度所產生。光線的偏折可視為新座標的轉換，我們可以将座標以 z 軸為轉軸旋轉角度 φ ，如此，新座標中的 $x'-z$ 平面便為折射面， y' 軸便為透鏡偏折光場時的轉軸。其中，角度 θ 與 φ 可代表偏折後的波向量 \vec{k} 。因此，我們便可以由座標轉換的方式，計算出偏折時的旋轉矩陣為 $T_r(\theta, \varphi)$ 為：

$$T_r(\vec{k}) = T^{-1}(\varphi) \cdot T(\theta) \cdot T(\varphi)$$

$$= \begin{bmatrix} \cos \varphi & -\sin \varphi & 0 \\ \sin \varphi & \cos \varphi & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \cos \theta & 0 & \sin \theta \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin \theta & 0 & \cos \theta \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \cos \varphi & \sin \varphi & 0 \\ -\sin \varphi & \cos \varphi & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (\text{A.7})$$

由(A.1)式，帶入入射透鏡前的光場偏振方向 $(1, 0, 0)$ ，可以得到內文所提的偏振函數 $\vec{P}_i(\theta, \varphi)$ 為

$$\vec{P}_i(\theta, \varphi) = T_r(\theta, \varphi) \cdot \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 - \cos^2 \theta \cos^2 \varphi / (1 + \sin \theta) \\ -\cos^2 \theta \cos \varphi \sin \varphi / (1 + \sin \theta) \\ -\cos \theta \cos \varphi \end{bmatrix} \quad (\text{A.8})$$

由偏振函數及座標的定義，線偏振的垂直分量的 $\delta_{s,lin}$ 則藉由向量分析得到

$$\delta_{s,lin} = (\vec{P} \cdot \hat{x}')^2 = [\vec{P} \cdot (\hat{y}' \times \hat{z})]^2 \quad (\text{A.9})$$

同理，若我們代入內文所提到的光線的方向向量 \vec{k}_i 與微粒子中心對應光線的垂直向量 \vec{d} ，則可以針對通過物鏡後不同角度光線的垂直分量符合

$$\delta_{s,line} = [\vec{P} \cdot (-\hat{k}_i \times \vec{d} / |\vec{d}|)]^2 \quad (A.10)$$

同時，平行分量 $\delta_{s,lin}$ 與總反射率 $R_{tot,lin}$ 則可以表示為

$$\delta_{p,lin} = 1 - \delta_{s,lin} = 1 - [\vec{P} \cdot (-\hat{k}_i \times \vec{d} / |\vec{d}|)]^2 \quad (A.11)$$

與

$$\begin{aligned} R_{tot,lin} &= \delta_{s,lin} R_s + \delta_{p,lin} R_p \\ &= [\vec{P} \cdot (-\hat{k}_i \times \vec{d} / |\vec{d}|)]^2 R_s + \{1 - [\vec{P} \cdot (-\hat{k}_i \times \vec{d} / |\vec{d}|)]^2\} R_p \quad (A.12) \end{aligned}$$



附錄二 晶片清洗程序

B.1 標準 RCA 晶片清洗程序

在晶片塗佈光阻之前，必須先將晶片表面上的雜質或有機物質清洗乾淨，以維持光阻塗佈時的平整及均勻度。以下是清洗晶片的步驟。

1. 先將晶片用去離子水(D.I. water)沖洗五分鐘。
2. 以硫酸及雙氧水 3:1 的比例配置，配置完成後會產生 75°~80°C 的溫度，然後將晶片放入溶液中高溫清洗 10~20 分鐘，其目的在於清除晶片表面上的有機污染物。
3. 清洗完成後，用 D.I. water 沖洗五分鐘。
4. 以氫氟酸及水 1:100 的比例配置，配置完成後將晶片放入溶液中高溫清洗 10~30 分鐘，其目的在於清除晶片表面上的氧化物。清洗的乾淨度可用水測試，若晶片不沾水即清洗完畢。
5. 清洗完成後，用 D.I. water 沖洗五分鐘。
6. 以氨水、雙氧水及水 0.25:1:5 的比例配置，配置完成後會產生 75°~80°C 的溫度，然後將晶片放入溶液中高溫清洗 10~20 分鐘，其目的在於清除晶片表面上的微塵粒子。
7. 清洗完成後，用 D.I. water 沖洗五分鐘。
8. 以鹽酸、雙氧水及水 1:1:6 的比例配置，配置完成後會產生 75°~80°C 的溫度，然後將晶片放入溶液中高溫清洗 10~20 分鐘，其目的在於清除晶片表面上的金屬離子。
9. 清洗完成後，用 D.I. water 沖洗五分鐘。
10. 以氫氟酸及水 1:100 的比例配置，配置完成後將晶片放入溶液中高溫清洗 10~30 分鐘。同樣以晶片不沾水測試清洗的乾淨度。
11. 清洗完成後，用 D.I. water 沖洗五分鐘。
12. 最後用氮氣將晶片吹乾後即完成清洗步驟。

附錄三 力量測系統

在力量測系統上，我們使用兩支直流馬達控制顯微鏡平台移動的速度，製造出相對於微粒子的水流並配合 CCD camera 的影像擷取及影像辨識方法，來完成力量測系統。在這套系統中我們使用 National Instrument 的 DAQ Card (PCI-6024E) 及 IMAQ 卡 (PCI-1409) 來作平台移動的自動控制及影像擷取的工作。其目的是運用 LabVIEW 程式，達到自動化量測雷射鐳夾捕捉力。程式的部分主要可以分為兩部分，一是水流速度的控制。當微粒子被雷射鐳夾捕捉後，若我們移動平台，則可製造出一相對於微粒子的水流，如圖 3.16 所示。因此我們將顯微鏡平台加裝兩支直流馬達去控制平台水平與垂直方向的移動速度並利用 LabVIEW 的 DAQ 卡來控制馬達的速度以得到精確的水流速度，增加力量測的準確性。根據 Stoke's Law，水流黏滯力 $F_d = 6\pi\eta R_B v_w$ ，其中 R_B 為微粒子的半徑， η 為黏滯係數， v_w 為水流速度，我們可以算出雷射鐳夾捕捉力與微粒子位移的關係。

C.1 量測系統校正

在量測雷射鐳夾捕捉力之前，我們必須校正平台的移動速度，以得到準確的力量測。我們用來操控平台的直流馬達為 Newport 的 806A motorizer，其控制器為 Newport 的 860-C2 motion controller。由於我們把直流馬達裝置在移動平台上，但每一個平台裡面的結構及負載程度都不同，因此對於每一個要使用的平台，都必須重新校正移動速度。移動速度的校正是我們在載玻片上放置微粒子，將它黏住固定，然後例用影像辨識方式，先建立要比對的微粒子的影像。接著我利用 LabViewt 程式及 DAQ 卡給直流馬達一個固定電壓，使平台開始移動，並利用影像比對來辨識微粒子的位置。然後我們將擷取的每張圖片中微粒子的位置座標與對應的時間做計算，就可校正出平台移動速度。陸續校正其他電壓下的平台速度，我們就可得到電壓與平台移動速度的關係。

在上述的影像辨識上，其實實際辨識出的只是微粒子的像素座標並非位置座標，因此我們必須再把像素座標轉換成位置座標。轉換的方式就是我們使用有刻畫已知標準線長度的載玻片，在使用相同倍率的顯微物鏡下擷取影像，然後用程式去比對標準線長度所佔的像素數。如此，我們就可以算出在影像中，一個像素所佔的大小，然後就可以從像素轉換成位置，微粒子在影像中，移動的距離。

經由 LabVIEW 軟體控制輸出電壓，然後可經由手動或自動的控制移動方向(圖 C.1)，最後得到電壓與平台移動速度關係圖，如圖 C.2。有了電壓與平台移動速度的關係後，我們就可以量測雷射鐳夾捕捉微粒子的捕捉力。圖 C.3 表示一個被雷射鐳夾捕捉

的微粒子分別在平台靜止時以及移動時的偏移情形。從圖中我們可以明顯的看到當微粒子受水流沖力時，會離開雷射鐳夾捕捉中心，但沒有脫離，因為捕捉力大於水流沖力，然後在新的位置上達到動態平衡，此時這位置的水流沖力就是捕捉力。依此方式，依序增加平台移動速度，也就是水流速度，就可量得微粒子的偏移與雷射鐳夾捕捉力的關係。

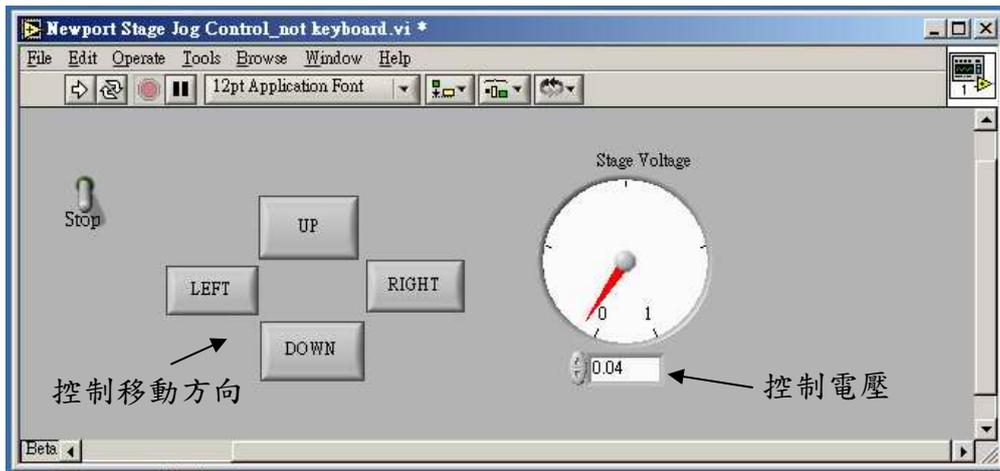


圖 C.1 LabVIEW 控制電壓及移動方向面板圖

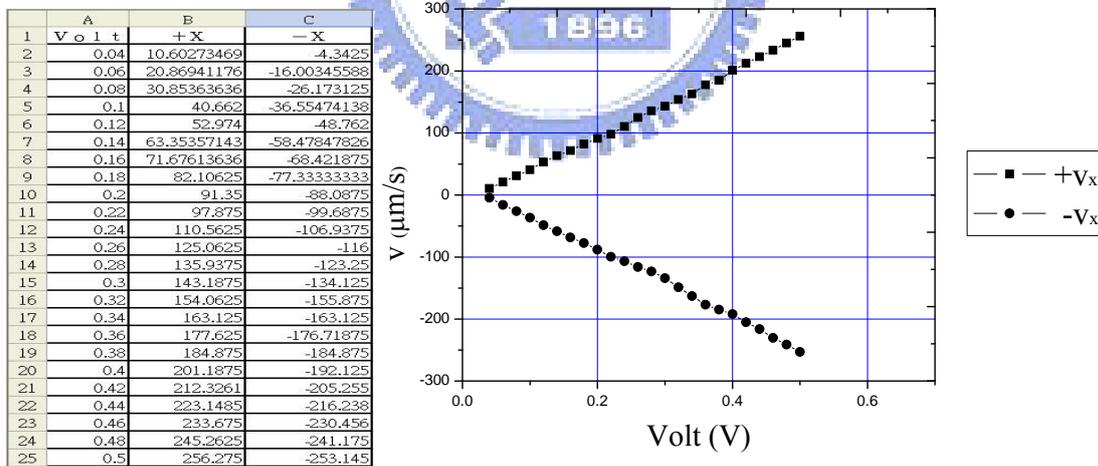


圖 C.2 電壓與平台移動速度關係圖

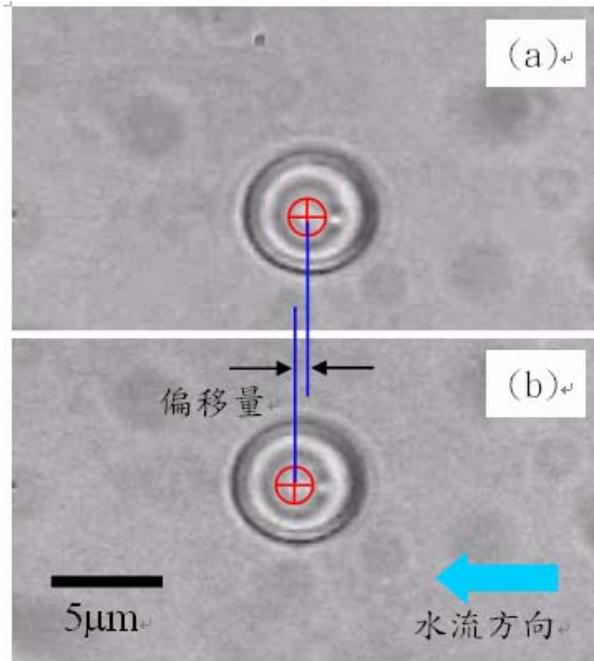


圖 C.3 被捕捉的微粒子受水流沖力之偏移影像圖。(a)平台靜止時，(b)平台移動時，微粒因水流沖力而偏離原來的位置

C.2 微粒子軌跡影像辨識

在影像處理或辨識的過程中，有一些方法可以增加影像辨識度，達到辨識的準確度。在這裡我們概述一些增加辨識度方法以及在研究裡使用的辨識方法。(1)對比度增加法：是較簡單的一種方法，也就是增加對比度，讓辨識的微粒子明顯許多，但這種方式有時也會把其他影像凸顯出來，造成辨識錯誤，所以可以用下一個方法。(2)邊緣增強法：邊緣增強(Edge enhancement)是對所想要分析的微粒子增強邊緣的效果。增強邊緣通常是用來使物體與背景能有較清楚的區分。常用有兩種運算法，梯度濾波器(Gradient filter)與拉普拉斯濾波器(Laplacian filter)，可增強邊緣加強辨識度。(3)臨界值法：臨界值法(Thresholding)是以設定一灰階值做基準，在這個值為臨界上下做影像的處理。例如以灰階值 150 為基準，影像中的圖素之灰階值在 150 以上的通通以灰階值 255 取代，灰階值 150 以下則用 0 取代，整張圖變只剩下兩種灰階值(0 與 255)表示。另外，亦可設定一灰階值範圍，在範圍內的灰階值以 0 到 255 選取其中一值，在範圍外的灰階值選取另一值。選取適合的灰階值做為區分基準可以使影像有較好的區域分割，例如區分微粒子與背景。(4)形態學法：形態學(Morphology)的演算法是先將影像的灰階值從 0 到 255，總共 256 個值變成只有兩個值，然後經由演算法對像素做處理，如膨脹(Dilation)、侵蝕(Erosion)、斷開(Opening)、閉合(Close)和形態交離轉

換 (Hit-or-Miss transform) 等，目的是要使所欲分析的影像部分有更完整的型態。有了足夠資訊的影像形態後，我們可以進行邊緣偵測 (Edge detect)、量測面積、和位置等記錄一些影像的物理量。有了上述的物理量，便可以對目標物體的面積大小做比較，當在做兩種大小不同的細胞的篩選時，我們可以選定其中之一大小的細胞作為篩選的標準。

最後要介紹的影像辨識方法，是本研究所使用的方法稱為” Cross Correlation”，在數學上一般式子的表示為：

$$C(i,j) = \sum_{x=0}^{L-1} \sum_{y=0}^{K-1} w(x,y)f(x+i,y+j)$$

其中 $w(x, y)$ 可視為子影像也就是欲辨識的目標物，整個處理方法的運算原理是把子影像與原來 CCD 所擷取的影像 $f(x, y)$ 的圖素一個一個地做比對，當 $w(x, y)$ 與 $f(x, y)$ 中的某部分範圍的子影像相似度越高時， $C(i, j)$ 值越大，完全相符時， $C(i, j)$ 有最大值。因此在量測微粒子的軌跡時，我們先建立要比對的微粒子的子影像，然後根據子影像比對微粒子在各影像中的像素座標，然後再轉換成位置座標，如此就可得到微粒子的軌跡，如圖 B.4。

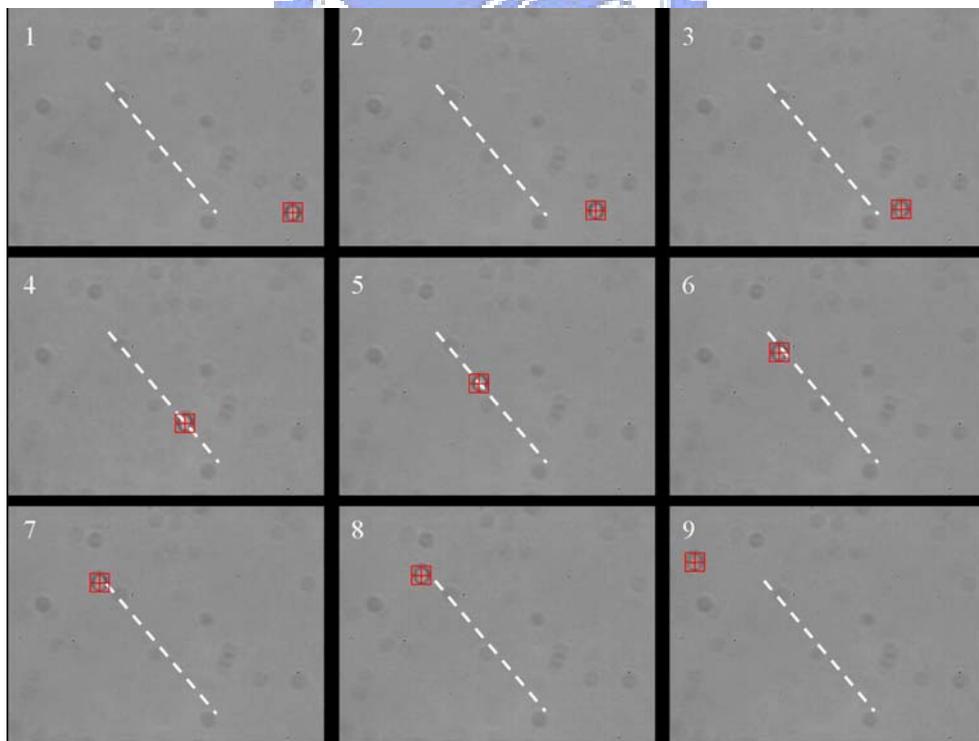


圖 C.4 微粒子軌跡影像辨識圖。當微粒子出現在影像時，LabVIEW 影像辨識軟體會自動紀錄微粒子的像素座標，如十字方框，然後在轉換成位置座標，計算出微粒子的軌跡。

C.3 影像解析度

有了影像辨識之後，我們就可以根據樣品的實際大小與影像的像素，算出影像的解析度。也就是我們可以用標準已知的樣品大小如微粒子直徑，用影像辨識量得微粒子直徑在顯微鏡下的影像所佔的像素。將微粒子的直徑除以所佔的像素，就可以得到一個像素的大小，這樣即可得到影像的解析度。如圖 C.5，微粒子的直徑為 $16\mu\text{m}$ ，在 $100\times$ 的顯微物鏡下，影像的像素為 640×480 ，微粒子直徑所佔的像素，經由影像辨識為 190 個像素。所以微粒子直徑 $16\mu\text{m}$ 除以所佔的像素 190 個，得到一個像素為 $0.084\mu\text{m}$ 等於 84 奈米 ($1 \text{ pixel} = 16/190 \mu\text{m}$)。有了影像解析度，我們也就可以算出由全像雷射鐳夾產生的線形圖案實際的長度。

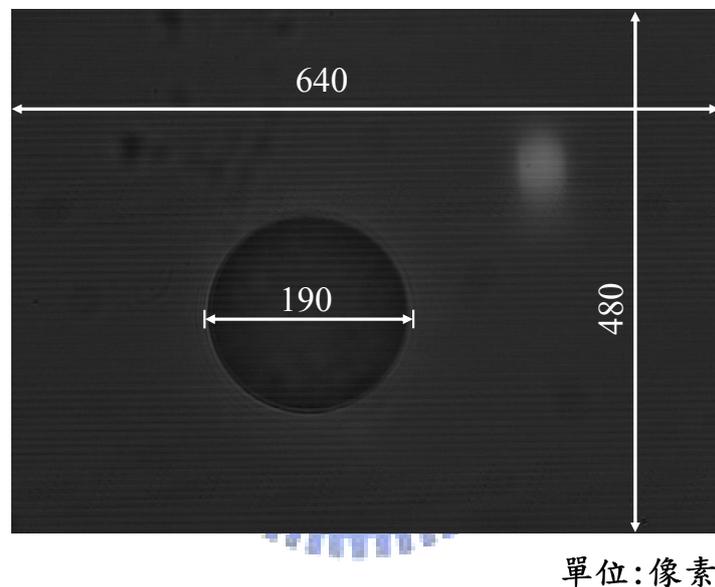


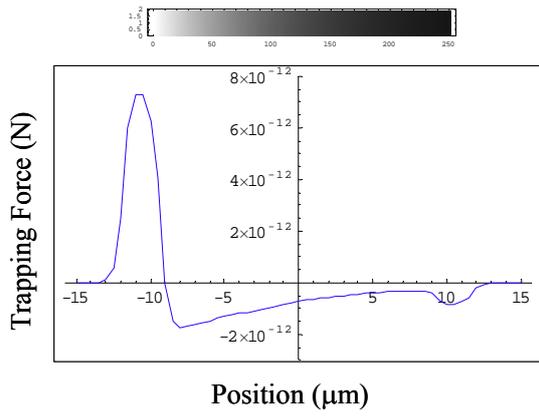
圖 C.5 影像解析度圖

附錄四 線形圖案

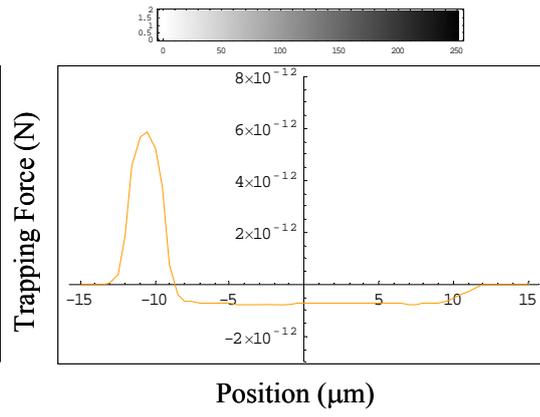
D.1 線形圖案設計

我們由本文知，線形圖案的光強度分佈會影響捕捉力的大小及分佈的情形，也會影響微粒子被分離的效果，而且在線形圖案的兩端會有較大的捕捉力，微粒子從一端進來時，很容易被吸引而進入線形圖案，但到另一端時則呈現微粒子移動方向與捕捉力成反向，使得微粒子有可能被限制在線形圖案中。所以如何設計線形圖案的光強度是很重要的，甚至不用水流就能靠著吸引端的捕捉力而能分離微粒子。設計好的線形圖案光強度若沒有模型來模擬捕捉力的大小，就還是無法預測微粒子的運動行為。因此本模型的建立在微粒子分離上扮演重要的腳色，以下我們實際模擬幾個線形光強度的捕捉力，就能從中窺知一二。

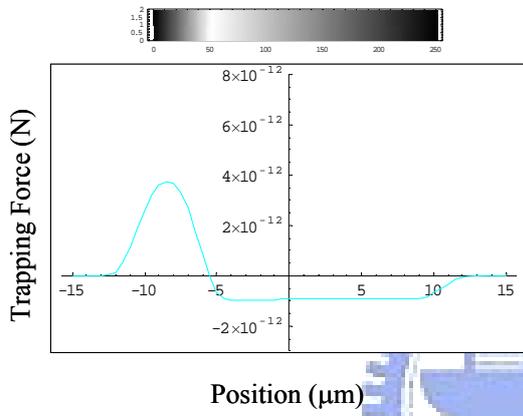
圖 D.1 是我們設計在相同線形強度下的光強度分佈以及對應的線形捕捉力。每一個圖的上方是光強度分佈，以灰階值表示(0(黑)~255(白))，數值越大光強度越高，下方是捕捉 $3\mu\text{m}$ 微粒子的捕捉力。在相同的刻度尺寸下，我們看到圖(a)與圖(b)的光強度分佈是由左至右變弱，對應的捕捉力左邊大往右邊則迅速變小到負值。圖(c)光強度最強的地方是往右邊移動，對應的捕捉力在左邊則變小與圖(b)比較下。圖(d)的光強度分佈最強移到了中間，相對的也得知捕捉力左右反對稱，有如單點捕捉。由圖 D.1 知，當微粒子從左端進入線形捕捉範圍時，圖(a)與(b)提供較大的捕捉力吸引微粒子往線形移動，雖然很快的遇到反向的捕捉力，但由於反向的捕捉力很小，只要較少的外力，微粒子有可通過線形圖案。反觀圖(c)通過線形圖案的機會需增加外力，圖(d)則是需要更多的外力，因為有如單點捕捉，被捕捉在中心點。這些結果將幫助我們思考如何設計線形來分離微粒子，例如光強度的分佈，可以從強到到弱來分佈。因此，藉由模型的建立能夠輔助我們依研究的需要，設計適當的線形光強度的分佈，以有效分離微粒子



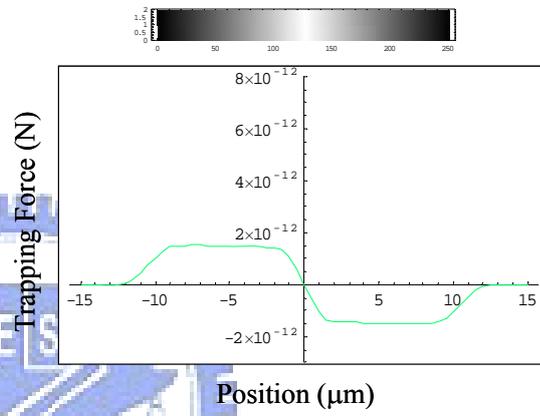
(a)



(b)



(c)



(d)

D.1 光強度與捕捉力分佈圖