

國立臺灣大學工學院應用力學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Applied Mechanics

College of Engineering

National Taiwan University

Master Thesis

由柯莫氏因子、穿越頻率和尖端頻率的量測結果推算細

胞的介電性質

Extraction of the Cell Properties from the Measurements
of Clausius-Mossotti Factor, Crossover Frequency and
Peak Frequency

孫佩豪

Sun, Pei-Hao

指導教授：李雨 博士

Advisor: U. Lei, Ph.D.

中華民國 100 年 7 月

July, 2011

致謝

首先，我必須對我敬愛的指導老師，李雨教授致上最高的感激之意，若沒有您在我感到不知所措時的耐心指導，本論文將無法完成。在這短暫卻也不短暫的兩年中，您的指導讓我學會了許多不只是學業方面，同時也是做人處事方面的道理。其次，我必須感謝我的雙親、弟弟、女朋友、實驗室的夥伴們以及所有在我碰到困難時給予我鼓勵以及支持的人，你們都是我的貴人，沒有你們，這兩年的學習生涯將會比現在更加難熬。第三，我必須感謝口試委員胡文聰教授以及楊政穎教授，謝謝你們對我的研究給予適時並且相當受用的意見，沒有你們，我的論文將不會更好。最後也必須感謝台大醫學院的楊泮池教授提供本研究中所使用到的 CL1-0 和 CL1-5 肺癌細胞，同時也必須感謝台大醫學院的吳明賢教授提供本研究中所使用的 Colo205 大腸癌細胞，沒有你們的協助本研究將無法順利進行。

摘要

本篇論文的目的主要是闡述如何使用實部柯莫氏因子(Clausis-Mossotti factor; 簡稱 CMF)、介電泳中的穿越頻率(f_{co})以及電旋轉中的尖端頻率(f_{pk})的量測來推算生物細胞的介電性質。本文提出理論及計算步驟，並以文獻中現有實驗數據及本研究所補充的實驗數據作驗證。在本論文中所使用的生物細胞為肺癌細胞 CL1-0、高侵略性肺癌細胞 CL1-5 和大腸癌細胞 Colo205。

在現有文獻中與本論文中，CMF 在不同的施加電場頻率(從 10kHz 到 40MHz)以及不同溶液導電度中(從 0.01 到 1(S/m))被量測出。根據 CMF 的定義，本文中利用被量測出的 CMF 搭配最佳化計算得到生物細胞的介電性質。結果顯示，對 CL1-0、CL1-5 和 Colo205 三種生物細胞而言，細胞膜的電容值(介電係數與細胞膜厚的比值)隨著施加電場頻率改變的幅度相當小，為 4.97~5.92(mF / m^2)；然而，對細胞膜電導值來說(導電度與細胞膜厚的比值)，CL1-5 的 921~997(S / m^2)卻約為 CL1-0 與 Colo205(561~603 S / m^2)的兩倍；在原生質介電係數部分，CL1-5 的 72~101 略小於 CL1-0 與 Colo205 的 78~142。此外，dispersion 的現象，意即生物細胞電性隨施加電場頻率改變的現象，也在原生質的介電係數與導電度中被觀察到。

在現有文獻中，利用穿越頻率與尖端頻率的實驗數據去計算生物細胞電的方法是存在的，但在文獻中有提到，利用 f_{co} 所得到的細胞膜電導值與利用 f_{pk} 所得到的並不一致，當溶液導電度為 0.1(S/m)這個階數時約有三倍的誤差。經由理論上階數分析，本研究發現此種不一致性主要是因為現有文獻中所使用的直流近似假設事實上是無法使用的，因此，本研究提出一項修正理論並同時驗證它的可行性。利用修正過後的理論，本研究中發現，CL1-0、CL1-5 與 Colo205 的細胞膜電容值分別為 7.95、7.27 和 5.24(mF / m^2)；細胞膜電導值分別為 662、1245 和 512(S / m^2)；

原生質導電度分別為 0.935、0.862 和 0.828(S / m)；原生質介電係數則分別為 93、114 和 153，此外，以上生物細胞電性均與利用 CMF 所得到的大致相符。

關鍵字：柯莫氏因子、穿越頻率、尖端頻率、介電性質、電容值、電導值、導電度、介電係數



Abstract

The goal of this thesis is to study how to extract the dielectric properties of cells from the measurements of the real part of the Clausius-Mossotti factor (CMF), the crossover frequency (f_{co}) of dielectrophoresis, and the peak frequency (f_{pk}) of electrorotation. Both the theory and the calculation procedures are proposed and demonstrated using the experimental data in the literature, together with some additional CMF measurements in the present study, which includes the measurements of lung cancer cells CL1-0 and CL1-5, and the colorectal cancer cell Colo205.

In the present CMF measurement as well as those in the literature, CMF was measured for different applied electric frequencies (from 10 kHz to 40 MHz) and medium conductivity (from 0.01 – 1 S/m). The dielectric properties of cells can be extracted according to the definition of CMF together with a suitable cell model using the optimization method. The membrane capacitance (permittivity divided by the membrane thickness) differs slightly for various cells, and are found to be 4.97~5.92 (mF/m²) for different frequencies for CL1-0, CL1-5 and Colo205. However, the membrane conductance (conductivity divided by membrane thickness) of CL1-5 (more invasive in comparing with CL1-0) is 921~997 S/m², which is about twice greater than those of CL1-0 and Colo205 (561~603 S/m²). The cytoplasm conductivity is 0.842~1.165 S/m for these three cells. The cytoplasm relative permittivity is 72~101 for CL1-5, which is slightly less than 78~142 for CL1-0 and Colo205. The dispersion phenomenon, i.e., the variation of properties with applied electric frequency, is observed for both the cytoplasm conductivity and permittivity.

There exists theory and method for extracting the cell properties from the experimental data of f_{co} and f_{pk} in the literature. However, it was also found that the membrane conductance extracted from f_{co} is three times greater than that from f_{pk} when the medium conductivity is of order of 0.1 S/m. Through a theoretical scaling analysis, it was found in the present study that the discrepancy is due to the DC limit approximation employed in the previous theory. A modified theory was thus proposed and validated in the present thesis. With the modified theory, it was found that the membrane capacitance are 7.95, 7.27 and 5.24 mF/m², the membrane conductance are 662, 1245 and 512 S/m², the cytoplasm conductivity are 0.935, 0.862 and 0.828 S/m, and the cytoplasm relative permittivity are 93, 114 and 153, respectively, for CL1-0, CL1-5 and Colo205. Note that the above values agree with those obtained using CMF data.

Keywords: Clausis-Mossotti factor, crossover frequency, peak frequency, dielectric properties, capacitance, conductance, conductivity, permittivity.

目錄

致謝.....	I
摘要.....	II
Abstract	IV
目錄.....	VI
圖目錄.....	VIII
表目錄.....	X
第一章 緒論.....	1
1-1 研究動機與背景.....	1
1-2 研究目的.....	2
1-3 文獻回顧.....	2
1-4 本文架構.....	4
第二章 理論.....	6
2-1 有效偶極矩與柯莫氏因子.....	6
2-2 等效圓球模型.....	8
2-3 介電泳力.....	11
2-4 流體拖曳黏滯力.....	14
2-5 生物微粒電性的計算.....	15
2-5-1 利用柯莫式因子計算細胞電性	15
2-5-2 利用穿越頻率以及尖端頻率計算細胞電性.....	16
2-5-2-1 現有理論.....	16
2-5-2-2 現有理論的改進.....	18
2-5-3 最佳化計算	22
第三章 實驗方法與設備.....	25
3-1 實驗晶片.....	25
3-2 實驗設備.....	27

3-3 實驗步驟.....	28
3-3-1 柯莫氏因子的量測	28
3-3-2 穿越頻率的量測	28
3-4 生物微粒與實驗溶液.....	29
3-4-1 細胞培養液的製備	29
3-4-2 細胞培養	30
第四章 結果與討論.....	32
4-1 柯莫氏因子的量測與細胞電性分析.....	32
4-1-1 理論	32
4-1-2 實驗結果	35
4-1-2-1 柯莫氏因子之量測結果.....	35
4-1-2-2 細胞電性分析.....	36
4-1-2-3 細胞 dispersion 效應分析	36
4-2 使用穿越頻率和尖端頻率計算細胞電性的理論分析與傳統理論的改進.....	37
4-3 穿越頻率的量測與細胞電性分析.....	40
4-3-1 穿越頻率量測結果	40
4-3-2 細胞電性分析	41
第五章 結論與展望.....	42
5-1 結論.....	42
5-1-1 柯莫氏因子的量測與細胞電性分析結果.....	42
5-1-2 使用穿越頻率和尖端頻率計算細胞電性的理論分析與現有理論的改進.....	43
5-1-3 穿越頻率的量測與細胞電性分析	44
5-2 未來展望.....	45
參考文獻與書目.....	46

圖目錄

圖(2-1) 介電圓球在均勻電場中的電力線分佈示意圖。	49
圖(2-2) 均質球狀微粒的 CMF 與操作頻率關係圖。	50
圖(2-3) 等效薄膜結構。	51
圖(2-4) 圓球在不同高度的雙牆中，黏滯力修正係數與粒子在雙牆中位置的關係。	52
圖(2-5) 在不同的參數下，式子(2-29)與(2-34)的比較圖。	53
圖(2-6) 在不同的參數下，式子(2-30)與(2-37)的比較圖。	54
圖(3-1)運用微機電技術製造電極晶片的示意圖。	55
圖(3-2) 運用微機電技術製造微流道示意圖。	56
圖(3-3) 實驗設備。	57
圖(3-4) 實驗晶片實體圖。	58
圖(4-1) (A)為本研究使用之晶片設計。(B)為理論上模型化的情形。	59
圖(4-2) CL1-0 在溶液導電度 0.117(s/M)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。	60
圖(4-3) CL1-0 在溶液導電度 0.014(s/M)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。	61
圖(4-4) CL1-5 在溶液導電度 0.117(s/M)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。	62
圖(4-5) CL1-5 在溶液導電度 0.014(s/M)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。	63
圖(4-6) COLO205 在溶液導電度 0.117(s/M)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。	64
圖(4-7) COLO205 在溶液導電度 0.014(s/M)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。	65
圖(4-8) (A) (B)三種細胞的細胞膜電容值與電場頻率的關係。	66
圖(4-9) (A) (B)三種細胞的細胞膜電導值與電場頻率的關係。	67
圖(4-10) (A)(B)三種細胞的原生質介電常數與電場頻率的關係。	68
圖(4-11) (A) (B)三種細胞的原生質導電度與電場頻率的關係。	69
圖(4-12) PETHIG ET AL.,(2005)中，不同的溶液導電度對應不同的尖端頻率與回歸線分析。	70
圖(4-13) PETHIG ET AL.,(2005)中，不同的溶液導電度對應不同的穿越頻率與回歸線分析。	71

圖(4-14) ARNOLD AND ZIMMERMANN,(1988)中，尖端頻率、尖端旋轉速率與溶液導電度的關係。..72

圖(4-15) 三種不同細胞的穿越頻率與溶液導電度的關係。73



表目錄

表(2-1) 在不同的溶液與等效圓球的導電度與介電係數的搭配下，穿越頻率存在的情形。.....	74
表(2-2) 按 PETHIG ET AL., (2005)的實驗結果，(2-31A)和(2-31B)式子中，各項的比較。.....	75
表(2-3) 按 PETHIG ET AL., (2005)的實驗結果，(2-32)式子中，各項的比較。.....	76
表(4-1) 三種不同細胞在溶液導電度為 0.117(S/M)的溶液中，CMF 與施加頻率的關係。.....	77
表(4-2) 三種不同細胞在溶液導電度為 0.014(S/M)的溶液中，CMF 與施加頻率的關係。.....	78
表(4-3) 不同細胞在不同溶液導電度下利用 CMF 所計算出的細胞電性。.....	79
表(4-4) 三種不同細胞在溶液導電度為 1.1(S/M)的溶液中，CMF 與施加頻率的關係。.....	80
表(4-5) 三種不同細胞在溶液導電度為 0.105(S/M)的溶液中，CMF 與施加頻率的關係。.....	81
表(4-6) 三種不同細胞在溶液導電度為 0.0112(S/M)的溶液中，CMF 與施加頻率的關係。.....	82
表(4-7) 不同細胞在不同溶液導電度下利用 CMF 所計算出的細胞電性。.....	83
表(4-8A) CL1-0 和 CL1-5，細胞電性與電場頻率的關係。.....	84
表(4-8B) COLO205，細胞電性與電場頻率的關係。.....	85
表(4-9) 各種不同簡化級數的定義與使用條件。.....	86
表(4-10) 相同數據使用五級簡化模型的結果比較。.....	88
表(4-11) 相同數據使用不同級級簡化的結果比較。.....	89
表(4-12) 三種不同細胞的穿越頻率與溶液導電度的關係。.....	90
表(4-13) 利用表(4-12)的數據使用五級簡化模型的結果比較。.....	91

第一章 緒論

1-1 研究動機與背景

近年來，由於微機電(MEMS)製程的發展，使現今實驗尺度已經可以下探至微米甚至奈米等級，對生物實驗來說，此一尺度恰巧與細胞、蛋白質以及病毒相近，因此近年來有相當的研究利用微機電製程達到生物微粒操控、檢測以及量測等目的，也就是所謂的生物晶片研究。利用生物晶片做研究擁有實驗速度快、成本低廉、製程容易、體積輕巧以及樣本少量等優勢，相較於傳統的生物醫學儀器的使用方式，使用生物晶片是省時省力又省錢的一個好方法。

生物細胞的介電性質對於生物研究來說是非常重要的一個參數，介電性質除了可以代表細胞內部的性質之外，來可以用來做很多生物上的應用，如細胞分辨、細胞分離、細胞傳輸以及細胞操控等。事實上，由於使用生物儀器大多費時且需要大量的經費，所以現在除了利用生物儀器的方法來量測細胞電性之外，已經有許多人(Pethig et al., 2005、Huang et al., 1996、Arnold and Zimmermann, 1988 等)使用微機電技術搭配介電泳(Dielectrophoresis)，利用力學的方法來進行細胞內部電性的量測。

在使用介電泳的技術時，柯莫式因子(Clausius-Mossotti factor; 簡稱 CMF)是一個相當重要的參數，事實上，CMF 對於介電泳的重要性就相比於楊氏係數對於材料的重要性，它可以決定細胞在特定電場下所受的介電泳力大小，同時，它也是由生物細胞以及周邊溶液的特性所共同決定，因此，一旦有辦法將 CMF 定量的話，就可以其來進行更多的生物應用以及生物細胞內部電性的量測。很不幸地，由於介電泳在具有邊界下的效應尚未被廣泛地使用，現在既有的文獻中，鮮少文獻有提到任何方法將 CMF 定量化，大多文獻使用的方式是將一個定性得到的實驗現象，

並加以推論出一些在 CMF 中屬於特例的相關的數據，如：穿越頻率(Crossover Frequency)以及尖端頻率(Peak Frequency)等，再利用這些特殊的點，利用特定的理論，去推算出生物細胞的介電性質以及內部特性。很可惜的是，使用這些方法雖然可以估算出生物細胞的介電性質，但卻無法了解在這些特殊點上以外的 CMF 分布情況或是在其它頻率下，生物粒子所受介電泳力的情形。再者，想要利用理論的方法從特定的頻率點去計算細胞電性必須要能確定立論的準確性以及特定的理論所能使用的特定條件，唯有如此，此方法得到的細胞電性以及內部性質才可靠。此外，對進行微粒操控理論模擬與晶片設計的人而言，也需要知道微粒的 CMF 才可以開始工作。所以，使用一個具可靠性的晶片量測出生物細胞的 CMF 以及提高使用特殊頻率去推論出的細胞電性的可靠度就是本研究中所要去積極探討的。

1-2 研究目的

本研究中主要有兩個目的，其一為利用經過設計以及計算分析過的晶片去量測低侵略性肺癌細胞(CL1-0)、高侵略性肺癌細胞(CL1-5)以及直腸癌細胞(Colo205)的 CMF，再進一步的利用所得到的實驗數據，透過適當的理論去計算出生物細胞膜的內部電學性質。再者，在現有文獻(Pethig et al., 2005)中有提到利用尖端頻率以及穿越頻率所推算出的細胞電性的不準確性，所以在本研究中將重新檢視現有理論中的假設，並且進一步歸納出其不準確發生的可能性以及原因，並修正現有理論，以便日後欲使用此法計算細胞電性的研究者可以更加準確地計算細胞電性以及內部性質。

1-3 文獻回顧

基本的介電泳現象最早已在 Pohl(1951)中描述，介電溶液中的介電粒子可利用其受電場極化的差異產生電偶級距。當空間中電場分布不均勻時，其電場會與誘

導電偶極矩產生交互作用，使粒子受到一種非接觸力，並往電場中的特定方向移動，此力稱之為介電泳力(Dielectrophoresis; DEP)。

在理論面部分，介電泳力的數學理論模式在 Pohl(1978)、Wang et al.(1993)、Huges(2003)、Jones(1995,2003)等中被推導出，根據文獻中指出，介電泳力除了與溶液的介電係數、粒子半徑以及電場大小有關外，還與誘導偶極矩的實及虛部有相當大的關係。其中實部的部分即為當初最早發現的介電泳力，稱之為傳統式介電泳(Conventional dielectrophoresis; 簡稱 cDEP)，與電場的梯度有關；另外，與虛部的部分相關的稱之為旅波式介電泳(Travelling wave dielectrophoresis; 簡稱 twDEP)與相位差的梯度相關，最後與相位差相關的稱為電旋轉(Electrorotation; ER)，會產生一力矩使粒子旋轉。事實上，大多數的介電泳數學理論模型建立在無邊界的溶液情況下，包含對圓球(Jones,1995,2003)和橢圓球(Yang and Lei,2007b)擬穩態的分析以及暫態分析(Yang and Lei ,2006,2007a)，但在實際應用面上來說，我們的生物細胞永遠是在一個有邊界的溶液情況下工作，於是 Lo and Lei(2009,2010)提出了在具有邊界的情況下，介電泳力的修正方法，使理論應用更加完整。上述傳統式介電泳、旅波式介電泳與電旋轉可統稱廣義介電泳(Generalized dielectrophoresis; 簡稱 gDEP)，近日，Lei and Lo(2011)就廣義介電泳做了一詳細的統整及回顧。

在應用面部分，Pethig 和 Markx(1994)就介電泳在生物科技上的應用做了一個介紹，更詳細的介紹也可在 Huges(2003)中看到。近年來，介電泳在細胞應用上愈來愈廣泛，如 Hu et al.(2005)將其應用在血球細胞的分類上、Ho et al.(2006)將其應用在肝細胞上以及 Flanagan et al.(2008)將其應用在分辨不同幹細胞上。

Pethig et al.(2005)、Huang et al.(1996)以及 Arnold and Zimmermann(1988)等利用實驗得到穿越頻率以及尖端頻率，並且利用現有的理論推算出不同生物細胞細胞膜的電容值(capacitance)以及電導值(conductance)，但也在 Pethig et al.(2005)中的文末提到利用此法所得到的細胞膜電導值的不準確性。

1-4 本文架構

本篇論文共計有五章。

第一章對 CMF、細胞電性以及內部性質對於理論和應用面的重要性做大略的介紹，並且對本研究的目標做了基本的闡述，最後回顧了介電泳理論的發展歷史以及現今存在的應用和需要改善的部分。

第二章主要是介紹與本研究相關的理論部分。一開始會先介紹一介電粒子在溶液中被電場誘導出的有效偶極矩的發生原因和數學模型，再來定義 CMF 以及在 CMF 中所存在的穿越頻率和尖端頻率。下一步會介紹如何將生物粒子的模型化成我們數學上可使用的式子，於是導入等效圓球模型並且提供特定的符合生物粒子特性推導出適合的簡化過程。其次會開始介紹生物粒子在實際應用中所受力的情形，其中包含介電泳力分析、拖曳黏滯力分析、重力和浮力等，並利用牛頓第二運動定律導出生物粒子在應用中的運動情形。最後探討如何利用穿越頻率和尖端頻率做生物粒子的電性推算，其中包含現有理論的分析和改進以及研究中所使用的計算方法等。

第三章為生物晶片製程和生物細胞準備部分。先利用微機電技術分別製造出電極和流道兩部分，再將它們接合成我們所使用的晶片，以及外部設備使用情形，同時也介紹如何準備實驗中需要用到的生物細胞。

第四章為實驗結果部分，根據實驗目的可將實驗結果區分為三大部分。第一部分為利用近牆廣義介電泳所設計出的晶片，根據不同種類的生物細胞去量測得到不同細胞的 CMF，並利用此得到的 CMF 進一步計算生物細胞電性以及其內部性質，並且比較以及分析不同種類生物細胞間的不同。第二部分為利用現有文獻中的實驗數據套用到本研究中所改進的理論，討論及分析改進計算結果的情況，並且改進文獻中所提到細胞電性計算不準確的問題。第三部分為，利用本研究中所使用的生物細胞去進行實驗，在將實驗結果套用到本研究中所改進的現有理論，

並計算出生物細胞的電性及其內部性質，最後將此部分得到的結果與第一部份得到的結果做交叉比對分析，得到較準確的細胞電性。

第五章為結論與未來展望。在此章節中會對整篇研究得結果做一個結論，並且提出爲了可以改善以及待解決的部分。



第二章 理論

2-1 有效偶極矩與柯莫氏因子

當一個完美介電球在介電溶液中受到單一方向的均勻電場作用時，電力線的分佈形式會以如圖 2-1(b)的方式呈現，此時我們稱為無損耗的情形。但實際應用上來說，並沒有存在一種完美的導體或是介電材料，所以電力線的分佈會變成如圖 2-1(a)所示，此時我們稱之為有損耗的情形。在我們輸入的交流電頻率遠小於溶液的特徵頻率的情況下，可適用擬穩態分析，且考慮到電雙層的效應遠小於我們施加的電壓，所以溶液仍然會保持電中性。根據上述條件，Griffiths(1999)提到在無損耗的情況下空間中介電球在介電溶液中的電動勢可以表示成

$$\Phi_{sphere} = \frac{(\epsilon_p - \epsilon_m)R^3 \mathbf{E} \cdot \mathbf{r}}{2}, \quad (2-1)$$

其中 ϵ_m 及 ϵ_p 分別代表溶液與圓球的介電常數， R 為圓球半徑， \mathbf{r} 代表相對於電偶極中心的位置向量，純量 r 即空間中某一點距電偶極中心的距離， \mathbf{E} 為電場向量。由靜電學知，空間中偶極矩 \mathbf{p} 與電位勢 Φ 的關係為

$$\Phi_{dipole} = \frac{\mathbf{p} \cdot \mathbf{r}}{4\pi\epsilon_m R^3}. \quad (2-2)$$

比較(2-1)及(2-2)式可得到圓球內部的有效偶極矩 $\bar{\mathbf{p}}_{eff}$ 施加電場 $\bar{\mathbf{E}}$ 的關係為

$$\mathbf{p}_{eff} = 4\pi\epsilon_m R^3 \left(\frac{\epsilon_p - \epsilon_m}{\epsilon_p + \epsilon_m} \right) \mathbf{E}, \quad (2-3)$$

在有損耗的情況下，介電常數需要做以下修正

$$\epsilon \rightarrow \epsilon^* \equiv \epsilon + \frac{\sigma}{j\omega} \quad (2-4)$$

將(2-4)代回(2-3)可以得到

$$\mathbf{p}_{eff} = 4\pi\epsilon_m R^3 \left(\frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + \epsilon_m^*} \right) \mathbf{E} = 4\pi\epsilon_m R^3 K(\omega) \mathbf{E}, \quad (2-5)$$

其中

$$K(\omega) = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + \epsilon_m^*} \quad (2-6)$$

稱之為Clausius-Mossotti factor(簡稱CMF)。如果將CMF實部與虛部分解，則可得到以下結果：

$$K = K_r + jK_i, \quad (2-7)$$

其中

$$K_r = \frac{(\epsilon_p - \epsilon_m)(\epsilon_p + 2\epsilon_m) + \frac{1}{\omega^2}(\sigma_p - \sigma_m)(\sigma_p + 2\sigma_m)}{(\epsilon_p + 2\epsilon_m)^2 + \frac{1}{\omega^2}(\sigma_p + 2\sigma_m)^2}, \quad (2-8)$$

及

$$K_i = \frac{\frac{3}{\omega}(\sigma_m \epsilon_p - \epsilon_m \sigma_p)}{(\epsilon_p + 2\epsilon_m)^2 + \frac{1}{\omega^2}(\sigma_p + 2\sigma_m)^2}. \quad (2-9)$$

由以上兩式可以發現，實部的部份，在高頻以及低頻區都會趨近於一個極限值，而中間的部份則是一個由一邊極限到另一邊極限的變化過程，而虛部的部份，在高頻以及低頻區則是都會趨近於零，中間頻率則是會出現一個極值，具體的描述如圖2-2所示。在適當的溶液中，實部的低頻極限與高頻極限會呈現異號，而在轉變過程中必定會出現一個穿越點，若取實部為零所對應的頻率我們稱為穿越頻率(Crossover Frequency)，可表示如下

$$f_{co} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{(\sigma_m - \sigma_p)(\sigma_p + 2\sigma_m)}{(\epsilon_p - \epsilon_m)(\epsilon_p + 2\epsilon_m)}}. \quad (2-10)$$

若要使穿越頻率存在，則溶液與介電球的電性需要有特殊的搭配如表2-1所示。穿越頻率在應用上有許多層面的意義以及用途，它代表著當介電球受到傳統介電泳

(Conventional DEP)力作用時會以正介電泳(Positive DEP)還是負介電泳力(Negative DEP)的方式呈現，此現象可應用於許多層面，如類似細胞分離、不同細胞分辨等，同時，它也代表著介電球內部的電性，可藉由量測穿越頻率來了解生物粒子的內部性質。另一方面，若我們對虛部的極值有興趣則可以取CMF虛部的一次導數為零，此時可以得到所謂的尖端頻率(Peak Frequency)，可表示如下

$$f_{pk} = \frac{1}{2\pi} \frac{\sigma_p + 2\sigma_m}{\epsilon_p + 2\epsilon_m}. \quad (2-11)$$

尖端頻率代表著在電旋轉中(Electro-rotation; ER)所受到最大的力矩時的頻率，也代表著在旅波式介電泳中，所受到最大的旅波式介電泳力的頻率。當然，它同時也可以代表生物粒子內部的電性；與穿越頻率相同，我們也可利用尖端頻率來了解生物粒子內部的性質。



2-2 等效圓球模型

生物粒子並不如一般的聚合物是一種均勻分佈的物質。首先，生物微粒的形狀並不是圓球型，而是針對不同種，甚至同種不同個體的生物微粒有所改變。再者，生物微粒並不是從裡到外都是均勻的電性分佈，例如細胞內部的原生質與細胞膜的性質差異就非常大，而比較像一種多層結構的介電粒子，如圖2-3所示。所以在此處我們採用薄膜層理論(Thin Surface Layers Theory, Jones, 1995)，以一個等效的介電球來模型化我們的生物微粒。如圖2-3所示，若將具有雙層結構的介電球等效成一個等效介電球，則等效介電常數可以表示成

$$\tilde{\epsilon}_p^* \equiv \tilde{\epsilon}_p - j \frac{\tilde{\sigma}_p}{\omega} = \epsilon_p \left\{ \frac{\left(\frac{R_1}{R_2} \right)^3 + 2 \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_s^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_s^*}}{\left(\frac{R_1}{R_2} \right)^3 - \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_s^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_s^*}} \right\}. \quad (2-12)$$

在本研究中是將生物微粒模型成一個具有外層細胞膜與中間原生質部分的同

心圓，亦即如圖2-3所示一般。並且，根據生物微粒特性，細胞膜厚度($d = R_1 - R_2$)的部份往往是遠小於整個細胞的半徑大小(約千分之一)，所以 $R_1 \approx R_2$ ，並將介電常數與導電度分開，此時，可再進一步將(2-12)式寫為

$$\tilde{\varepsilon}_p = \frac{(\varepsilon_p \varepsilon_s - \frac{1}{\omega^2} \sigma_p \sigma_s)(\varepsilon_s + \frac{d}{R} \varepsilon_p) + \frac{1}{\omega^2} (\sigma_s \varepsilon_p + \varepsilon_s \sigma_p)(\sigma_s + \frac{d}{R} \sigma_p)}{(\varepsilon_s + \frac{d}{R} \varepsilon_p)^2 + \frac{1}{\omega^2} (\sigma_s + \frac{d}{R} \sigma_p)^2} \quad (2-13)$$

及

$$\tilde{\sigma}_p = \frac{-(\varepsilon_p \varepsilon_s - \frac{1}{\omega^2} \sigma_p \sigma_s)(\sigma_s + \frac{d}{R} \sigma_p) + (\sigma_s \varepsilon_p + \varepsilon_s \sigma_p)(\varepsilon_s + \frac{d}{R} \varepsilon_p)}{(\varepsilon_s + \frac{d}{R} \varepsilon_p)^2 + \frac{1}{\omega^2} (\sigma_s + \frac{d}{R} \sigma_p)^2} \quad (2-14)$$

其中 σ_p 及 ε_p (下標p表示細胞內部原生質)分別為細胞內部原生質的導電度與介電常數， σ_s 及 ε_s (下標s表示細胞膜)分別為細胞膜的導電度與介電常數， d 為細胞膜厚度， $R = R_1$ 為細胞半徑， ω 為所施加的電場頻率。在實際應用時，我們可將生物微粒內部性質的階數代入上兩式子中，做進一步地簡化。根據Gimsa et al.(1996)，就人類紅血球，其細胞性質為 $\varepsilon_s = 8.445\varepsilon_0$, $\sigma_s = 3.6\mu S/m$, $\varepsilon_p = 212 \sim 50\varepsilon_0$, $\sigma_p = 0.4 \sim 0.535S/m$ ，其中原生質的性質會隨頻率由低而高改變。雖然不同生物微粒間細胞性質各有差異，但階數上來說是差不多的，所以我們可以簡單的估計一下各個性質的階數如

$$\varepsilon_s \cong 10\varepsilon_0, \quad \sigma_s \cong 10^{-6} S/m, \quad \varepsilon_p \cong 10^2 \varepsilon_0, \quad \sigma_p \cong 1S/m. \quad (2-15a)$$

將此估計階數代回(2-13)、(2-14)中，將與頻率有關與無關的項分開並簡化可得到結果如下

$$\tilde{\epsilon}_p \cong \frac{(\epsilon_s)^2(\epsilon_p) + \frac{\sigma_p^2}{\omega^2}(\epsilon_s)\left(\frac{\delta}{R}\right)}{(\epsilon_s)^2 + \frac{\sigma_p^2}{\omega^2}\left(\frac{\delta}{R}\right)^2} \quad (2-15)$$

$$\tilde{\sigma}_p \cong \frac{(\epsilon_s)^2(\sigma_p) + \frac{\sigma_p^2}{\omega^2}(\sigma_s)\left(\frac{\delta}{R}\right)}{(\epsilon_s)^2 + \frac{\sigma_p^2}{\omega^2}\left(\frac{\delta}{R}\right)^2} \quad (2-16)$$

這兩式子在忽略的過程中並沒使用到頻率部分的忽略，所以可以使用在任何頻率，且忽略的項目至少與主要項目差三個階數以上，是個十分可靠的近似。更進一步地，將(2-15)、(2-16)中各項再進一步的階數分析，如

$$(\epsilon_s)^2(\epsilon_p) \sim 10^{-29}, \frac{\sigma_p^2}{\omega^2}(\epsilon_s)\left(\frac{\delta}{R}\right) \sim 10^{-25}, (\epsilon_s)^2(\sigma_p) \sim 10^{-20}, \frac{\sigma_p^2}{\omega^2}(\sigma_s)\left(\frac{\delta}{R}\right) \sim 10^{-24} \quad , \quad \text{可將}$$

(2-15)再次簡化為

$$\tilde{\epsilon}_p \cong \frac{\frac{\sigma_p^2}{\omega^2}(\epsilon_s)\left(\frac{\delta}{R}\right)}{(\epsilon_s)^2 + \frac{\sigma_p^2}{\omega^2}\left(\frac{\delta}{R}\right)^2}, \quad (2-15b)$$

然而，(2-16)卻無法再將次要項(差三個階數以上)丟掉的情況下再次簡化。我們將(2-13)以及(2-14)中表示等效介電常數與等效導電度代入(2-8)中，即可得到一個由細胞膜與原生質電性所表示的CMF實部。相同地，如果將此兩式代入(2-10)(或(2-11))，可以得到一個如此一來由細胞膜與原生質電性所表示的穿越頻率(尖端頻率)，只要實驗量測出CMF實部或是穿越頻率(或尖端頻率)，就可以利用式子推算出細胞膜以及原生質的電性。

2-3 介電泳力

當一粒子處在不均勻的電場當中時，因為被偏極化的粒子兩端所受電場向量不同，就會產生介電泳力。在無邊界的電場中，其淨作用力如下(參考Jones, 1995)

$$\mathbf{F} = q\mathbf{E}(\mathbf{r} + \mathbf{a}) - q\mathbf{E}(\mathbf{r}), \quad (2-17)$$

其中 \mathbf{a} 為由負電荷中心到正電荷中心的位置向量，在 $|\mathbf{a}| \rightarrow 0$ 時，對(2-17)式第一項用泰勒展開式展開後可得粒子的受力為

$$\mathbf{F}_{dipole} = \mathbf{p} \cdot \nabla \mathbf{E}(\mathbf{r}). \quad (2-18)$$

如電場為三度空間與時間的函數，則擬穩態交流電場可依其向量的分量型式寫出(Wang et al., 1994)為

$$\begin{aligned} \vec{E} &= E_x(t)\hat{i} + E_y(t)\hat{j} + E_z(t)\hat{k} \\ &= E_{x0}(x, y, z)\cos(\omega t + \Phi_x(x, y, z))\hat{i} \\ &\quad + E_{y0}(x, y, z)\cos(\omega t + \Phi_y(x, y, z))\hat{j} \\ &\quad + E_{z0}(x, y, z)\cos(\omega t + \Phi_z(x, y, z))\hat{k} \end{aligned} \quad (2-19)$$

其中 E_{x0}, E_{y0}, E_{z0} 表電場的各方向分量大小，而 Φ_x, Φ_y, Φ_z 則為各方為相位， $\hat{i}, \hat{j}, \hat{k}$ 為 x, y, z 方向上的單位向量。

將 (2-19)式代入(2-3)式後，再代入(2-18)式即可得到瞬時介電泳力。因為電的作用週期遠小於微粒運動的時間尺度，故我們對其時間作單位周期的平均，最後可整理出粒子在無邊界電場中所受到的時間平均介電泳力(Wang et al, 1994)為

$$\begin{aligned} \langle \mathbf{F}(t) \rangle &= 2\pi\epsilon_m R^3 K_r \nabla E_{rms}^2 + 2\pi\epsilon_m R^3 K_i (E_{x0}^2 \nabla \Phi_x + E_{y0}^2 \nabla \Phi_y + E_{z0}^2 \nabla \Phi_z) \\ &= \langle \mathbf{F}_{cDEP}(t) \rangle + \langle \mathbf{F}_{twDEP}(t) \rangle, \end{aligned} \quad (2-20)$$

其中 R 為粒子半徑， $E_{rms} = \sqrt{\frac{E_{x0}^2 + E_{y0}^2 + E_{z0}^2}{2}}$ 。

由(2-20)式可以看出介電泳力區分為兩項：其中 $\langle \mathbf{F}_{cDEP}(t) \rangle$ 稱為傳統介電泳力(Conventional DEP)，其受到CMF的實部影響， K_r 的正負會決定此為正介電泳或者

為負介電泳，且介電泳力也與其大小成正比。除此之外介電泳力也與粒子尺寸成三次方成正比，與電場方均根的平方的梯度成正比；另一項 $\langle \mathbf{F}_{twDEP}(t) \rangle$ 為旅波介電泳力(Traveling Wave DEP)，其大小與 K_i 成正比、與粒子尺寸成三次方成正比、及與電場分佈和相位變化有關，在本次研究中，並無使用到旅波介電泳。

(2-20)中所描述的是一個粒子在無邊界的溶液中所受的介電泳力的情況，但實際應用上來說，我們所使用的永遠是一個有邊界的溶液環境。在這種情況下，我們必須考慮粒子本身在被極化的情況下產生的有效偶極矩所產生的額外電場，此一電場會對粒子本身所受到的介電泳力產生加總的效果，按邊界的電性有可能是加強或是減弱其大小，也依照粒子在邊界中的位置而定。對於此種情況下的介電泳力在文獻中(Lo and Lei, 2009; 羅英傑, 2010)有提到，利用鏡像法可推導出當一個圓球介電粒子被置放於一單牆邊界空間中，其介電泳力可表示如下：

$$\begin{aligned}
\frac{\langle \mathbf{F}(t) \rangle}{2\pi\epsilon_m R^3} &= \frac{\langle \mathbf{F}(t) \rangle_\infty}{2\pi\epsilon_m R^3} \\
&\mp \Delta (K_r^2 - K_i^2) \nabla (E_{0x}^2 / 2 + E_{0y}^2 + E_{0z}^2 / 2) \\
&\mp 2\Delta K_r K_i (E_{0x}^2 \nabla \varphi_x + 2E_{0y}^2 \nabla \varphi_y + E_{0z}^2 \nabla \varphi_z) \\
&\pm 3\Delta |K|^2 (E_{0x}^2 + 2E_{0y}^2 + E_{0z}^2) / (2h) \hat{y} \\
&- 3\Delta^2 |K|^2 K_r (E_{0x}^2 + 4E_{0y}^2 + E_{0z}^2) / (2h) \hat{y} \\
&- 3\Delta^2 |K|^2 [K_r \cos(\varphi_x - \varphi_y) + 3K_i \sin(\varphi_x - \varphi_y)] E_{0x} E_{0y} / (2h) \hat{x} \\
&- 3\Delta^2 |K|^2 [K_r \cos(\varphi_y - \varphi_z) - 3K_i \sin(\varphi_y - \varphi_z)] E_{0y} E_{0z} / (2h) \hat{z}, \quad (2-21)
\end{aligned}$$

其中 $\langle \mathbf{F}(t) \rangle_\infty$ 表無邊界時的介電泳力，如(2-20)所示， $\Delta = (\frac{R}{2h})^3$ ， R 為粒子半徑， h

表粒子中心點與牆的距離， $|K|^2 = K_r^2 + K_i^2$ 。在本研究中是將粒子放置在流道中，屬於雙牆邊界的情形，若將介電粒子至於高度 H 的雙牆中，則介電粒子在此情況下所受的介電泳力可以表示成：

$$\begin{aligned}
\frac{\langle \mathbf{F}(t) \rangle}{2\pi\epsilon_m R^3} &= \frac{\langle \mathbf{F}(t) \rangle_\infty}{2\pi\epsilon_m R^3} \\
&\mp (K_r^2 - K_i^2) \Delta \left[(S_a \pm S_b) \nabla (E_{0x}^2 / 2 + E_{0z}^2 / 2) + (S_a \mp S_b) \nabla E_{0y}^2 \right] \\
&\mp 2K_r K_i \Delta \left[(S_a \pm S_b) (E_{0x}^2 \nabla \varphi_x + E_{0z}^2 \nabla \varphi_z) + 2(S_a \mp S_b) E_{0y}^2 \nabla \varphi_y \right] \\
&\pm 3|K|^2 \Delta S_c (E_{0x}^2 + 2E_{0y}^2 + E_{0z}^2) / (2h) \hat{y} \\
&- 3|K|^2 K_r \Delta^2 S_c \left[(S_a \pm S_b) (E_{0x}^2 + E_{0z}^2) + 4(S_a \mp S_b) E_{0y}^2 \right] / (2h) \hat{y} \\
&+ 3|K|^2 [E_{0x} E_{0y} / (2h)] \Delta^2 S_c \left[(-S_a \pm 3S_b) K_r \cos(\varphi_x - \varphi_y) \right. \\
&\quad \left. - (3S_a \mp S_b) K_i \sin(\varphi_x - \varphi_y) \right] \hat{x} \\
&+ 3|K|^2 [E_{0y} E_{0z} / (2h)] \Delta^2 S_c \left[(-S_a \pm 3S_b) K_r \cos(\varphi_y - \varphi_z) \right. \\
&\quad \left. + (3S_a \mp S_b) K_i \sin(\varphi_y - \varphi_z) \right] \hat{z}, \tag{2-22}
\end{aligned}$$

其中介電粒子被放置於 $y = h$ (其中 $R < h < H - R$) ,

$$\begin{aligned}
S_a &= 1 + \left(\frac{h}{H} \right)^3 \sum_{n=1}^{\infty} \left\{ \left[(n-1) + h/H \right]^{-3} + \left[n - h/H \right]^{-3} \right\}, \\
S_b &= \left(\frac{h}{H} \right)^3 \sum_{n=1}^{\infty} 2n^{-3},
\end{aligned}$$

及

$$S_c = 1 + \left(\frac{h}{H} \right)^4 \sum_{n=1}^{\infty} \left\{ \left[(n-1) + h/H \right]^{-4} - \left[n - h/H \right]^{-4} \right\}.$$

由上式中可發現，當雙牆距離無限大時， $S_a \rightarrow 1$ ， $S_b \rightarrow 0$ ， $S_c \rightarrow 1$ 此時(2-22)可簡化成(2-20)，即無邊界時的介電泳力。事實上，(2-22)中並不是每一項都這麼重要，原因是因為在實際應用時 Δ 往往都小於 0.1，因此，在應用上我們使用(2-22)時往往都只取乘以 Δ 一次方的項，而忽略乘以 Δ 二次方的項，意即使用(2-22)中的前三行的部分。

2-4 流體拖曳黏滯力

在本研究中，粒子在流體中移動主要受到的力是介電泳力以及流體拖曳黏滯力。對一個直徑約15微米以每秒50微米的速度在水溶液中移動的圓球粒子來說，此時的雷諾數是遠小於1，所以我們可以使用史托克流體模型(Stokes' Flow)來計算流體拖曳黏滯力。當粒子在具邊界的溶液中移動時，其拖曳黏滯力可以寫成(Happel and Brenner,1986)：

$$\mathbf{F}_{drag} = 6\pi\mu RUC_d \quad (2-23)$$

其中U為粒子與流體間的相對速度， μ 為黏滯係數， C_d 為具邊界溶液中的拖曳黏滯力修正係數。關於 C_d 的求法，在文獻中有提到(Happel and Brenner,1986)，當一個圓球粒子沿著上下兩牆壁做直線運動時，其修正係數可以表示成：

$$C_d = \frac{1}{1 - A(R/l) + B(R/l)^3 - O(R/l)^5} \quad (2-24)$$

其中

$$A = \frac{3(1-h)}{4} \int_0^\infty \frac{x}{N(st-1)} (s^2 t^3 (1-h)((1-h)x-1) + s^3 t^2 (1+h)((1+h)x-1) + 4s^2 t^2 (2(1-h^2)x^2 - 2x + 1) + 2st^2 ((3-h^2)x-h) + 2s^2 t ((3-h^2)x+h) - 4st(2(1-h^2)x^2 + 2x + 1) + s(1-h)((1-h)x+1) + t(1+h)((1+h)x+1)) dx + \frac{9(1-h)}{8} \int_0^\infty \frac{s+t-2}{st-1} dx$$

$$B = \frac{(1-h)^3}{8} \int_0^\infty \frac{x^2}{N} (st^2(2(1-h)x-1) + s^2 t(2(1+h)x-1) + st((4x-1)^2 + 1) + t(2(1+h)x+1) + s(2(1-h)x+1) - 2) dx + \frac{(1-h)^3}{4} \int_0^\infty \frac{x^3}{(st-1)N} (s^2 t^3 (1-h) + s^3 t^2 (1+h) + s^2 t^2 (8x-4) - st^2 (8x-2h) - s^2 t (8x+2h) + st(8x+4) - s(1-h) - t(1+h)) dx - \frac{(1-h)^3}{8} \int_0^\infty x^2 \frac{s+t-2}{st-1} dx$$

$$N = (st-1)^2 - 16x^2 st, s = e^{2x(1-h)}, t = e^{2x(1+h)}, h = 1 - \frac{l}{L},$$

l 為粒子距離牆壁的較短距離, L 為兩牆壁半間距, R 為粒子半徑。注：此處 h 與前定義不同。

由以上式子可知黏滯修正係數是由粒子半徑、兩牆壁高度以及粒子距離牆壁高度所共同決定，在本研究中所使用的生物微粒直徑約為15微米，所以此種粒子在不同流道高度下所得到的黏滯修正係數如圖2-4所示，在圖中可發現，由於邊界層的關係，當雙牆距離愈小時修正係數會愈大，且當粒子愈靠近牆邊時，修正係數也會愈大，符合我們的認知。

綜合以上各種力，我們可得到粒子完整的三維運動方程式為：

$$M_{cell} \frac{d\mathbf{V}}{dt} = \mathbf{F}_{drag} + \mathbf{F}_{DEP} + \mathbf{F}_{buoyancy} \quad (2-25)$$

其中 M_{cell} 為粒子的質量，(2-25)式中等號左邊為慣性項，等號右邊第一項為拖曳黏滯力，第二項為介電泳力及第三項為浮力。由以上各種力的平衡，經過適當的結構設計可以拿來測量生物微粒的CMF以及穿越頻率等。

2-5 生物微粒電性的計算

在本研究中，我們嘗試使用兩個方法來計算生物微粒的電性，以期望進行交叉比對增加準確度，此兩種方法分別由透過CMF以及穿越頻率(或尖端頻率)的測量，加上理論的計算所構成。

2-5-1 利用柯莫式因子計算細胞電性

由(2-8)式可知，CMF是由七個參數所決定，分別是施加電場頻率、溶液的導電度和介電常數、及生物微粒的等效導電度和介電常數、生物微粒的半徑以及細胞膜厚度等，其中施加電場頻率以及溶液的特性是本研究的實驗參數。再者，由(2-13)以及(2-14)式可知，生物微粒的等效導電度以及介電常數可利用近似，進一步由生物微粒中細胞膜的導電度和介電常數以及原生質的導電度和介電常數所決定。

將(2-13)以及(2-14)代回(2-8)式，即可得到由生物微粒中細胞膜的導電度和介電常數以及原生質的導電度和介電常數所決定的CMF，表示如下：

$$K_r = \frac{(\tilde{\epsilon}_p - \epsilon_m)(\tilde{\epsilon}_p + 2\epsilon_m) + \frac{1}{\omega^2}(\tilde{\sigma}_p - \sigma_m)(\tilde{\sigma}_p + 2\sigma_m)}{(\tilde{\epsilon}_p + 2\epsilon_m)^2 + \frac{1}{\omega^2}(\tilde{\sigma}_p + 2\sigma_m)^2}, \quad (2-26)$$

其中 $\tilde{\epsilon}_p$ 及 $\tilde{\sigma}_p$ 如(2-13)及(2-14)式所示。

如此一來，只要實驗給定特定的溶液以及電場頻率，即可利用量測出來的CMF計算出生物微粒的內部電性。

2-5-2 利用穿越頻率以及尖端頻率計算細胞電性

2-5-2-1 現有理論

傳統文獻(例如Pethig et al., 2005、Huang et al., 1996、Arnold and Zimmermann, 1988等)中已經有許多人利用穿越頻率或尖端頻率來計算生物微粒的特性，但其計算重點大多集中於細胞膜上，而關於細胞內部原生質的計算則十分稀少。其理論方法大多是將等效的細胞導電度以及介電常數做一個所謂的直流假設，如此即可得到在直流假設的情況下，細胞的等效性質是由細胞膜部分主導，其形式如下：

$$\tilde{\epsilon}_p = \tilde{\epsilon}_{pDC} \equiv \frac{R}{d} \epsilon_s \quad (2-27a)$$

$$\tilde{\sigma}_p = \tilde{\sigma}_{pDC} \equiv \frac{R}{d} \sigma_s \quad (2-27b)$$

其中R為細胞半徑，d為細胞膜厚度，下標DC表示直流假設。事實上，若我們將(2-15)以及(2-16)式中的頻率取直流頻率，則也可以得到(2-27中所謂的直流r近似假設的結果。在穿越頻率部分，若將上式(2-27)代回(2-10)並經過一些近似($\epsilon_m \ll \tilde{\epsilon}_p$)以及電

性轉換可得

$$f_{co} = \frac{\sqrt{2}}{8\pi RC_s} \sqrt{(4\sigma_m - RG_s)^2 - 9R^2 G_s^2} \quad (2-28)$$

其中 $C_s = \frac{\epsilon_s}{d}$ 為細胞膜電容值(Capacitance), $G_s = \frac{\sigma_s}{d}$ 為細胞膜電導值(Conductance)。

再進一步將(2-28)做近似以及泰勒展開式可得

$$f_{co}R = \frac{\sqrt{2}}{2\pi C_s} \sigma_m - \frac{\sqrt{2}G_s R}{8\pi C_s} \quad (2-29)$$

由上式(2-29)可看出穿越頻率與細胞半徑的乘積 ($f_{co}R$) 恰巧與溶液的導電度 (σ_m) 呈現一個線性關係, 如此只要利用不同的溶液導電度搭配量測到的穿越頻率即可利用斜率及截距計算細胞膜的電性。此外, 在尖端頻率部分, 將(2-27(a),(b))代入(2-11)並利用與上述相同的假設則可得到

$$f_{pk}R = \frac{\sigma_m}{\pi C_s} + \frac{G_s R}{2\pi C_s} \quad (2-30)$$

由上式也可以發現尖端頻率與細胞半徑的乘積 ($f_{pk}R$) 與溶液導電度 (σ_m) 呈現一線性關係, 可利用此關係透過實驗計算出細胞膜的電性, C_s 與 G_s 。

再者, 若要確定此法可用還需要確定其準確度, 因此, 本研究中利用Pethig et al., (2005)中所給的實驗數據來做以下分析來確認利用斜率以及截距來計算細胞膜的電容值以及電導值的可靠度。根據Pethig et al., (2005)的實驗結果, 在電旋轉(ER)部分, 其結果可分為高溶液導電度 ($\sigma_m = 48.7\text{mS/m} \sim 101.4\text{mS/m}$) 以及低溶液導電度 ($\sigma_m = 11.5\text{mS/m} \sim 42.5\text{mS/m}$) 兩部分來看, 其結果如下兩式所表示

$$f_{pk}R = 0.0299\sigma_1 + 0.0207, \quad \text{for } 11.5\text{mS/m} \leq \sigma_1 \leq 42.5 \text{ mS/m} \quad (2-31a)$$

$$f_{pk}R = 0.0311\sigma_m + 0.0147, \quad \text{for } 48.7\text{mS/m} \leq \sigma_1 \leq 101.4 \text{ mS/m} \quad (2-31b)$$

我們將上兩式與(2-30)做係數對照，將結果整理如表(2-2)所示。從表上我們可以觀察出，與電容值相關的第二項以及第一項是在相同的階數上，但與電導值相關的第三項卻與前兩項差兩個階數以上，甚至比實驗值的標準差還要小一個階數，如此意味著若我們想要利用此方法去得到較可靠的電導值必須將實驗誤差壓低在1%以下。很不幸地，對生物實驗來說非常困難。雖然此方法對於電導值的計算有著不小的不確定性，但對於電容值的計算卻是相對可靠的，因為與電容值相關的第三項與實驗值的平衡是屬於主要項的平衡，比較不會因為一點誤差而發生巨大的改變。另一方面，利用相同的方法來分析DEP的部分，同樣根據Pethig et al., (2005)，其結果為

$$f_{co}R = 0.0226\sigma_m - 0.018, \quad \text{for } 48.7\text{mS/m} \leq \sigma_m \leq 101.4 \text{ mS/m} \quad (2-32)$$

摘要結果如表(2-3)所示。其與ER部分相同的現象一樣在DEP部份發生，所以我們一樣可以推論，在電容值的部分計算結果是可靠的，但電導值的部分不確定性則扮演一個重要的腳色，事實上，在此文獻的討論上有提到其ER與DEP所測得的電導值不一致的問題，比較表(2-2)及(2-3)，由DEP所算出的 G_s 較由ER算出的高約三倍以上。

2-5-2-2 現有理論的改進

由上節我們已經知道現有理論有其缺失以及計算誤差會發生的地方，因此，在本研究中，改善電導值計算的結果會從簡化的過程中去下手，尋找是否有不適當或是過度簡化的情況。

在現有理論中可將穿越(尖端)頻率和細胞半徑的乘積與溶液導電度表示成線性關係的重要假設就是在(2-27)中提到的直流極限假設。但在各文獻中(Pethig et al., 2005、Huang et al., 1996、Arnold and Zimmermann, 1988等)所使用的頻率大多是在

1MHz左右的階數，顯而易見的，它不是所謂的直流，於是我們將此頻率以及我們已知的生物微粒的特性一起代回(2-15)及(2-16)式做階數分析。在(2-15)式中，當頻率在1MHz時，其各的階數約為

$$\left(\frac{\epsilon_s}{\epsilon_0}\right)^2 \left(\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}\right) \cong 10^4, \quad \frac{\sigma_p^2}{\omega^2 \epsilon_0^2} \left(\frac{\epsilon_s}{\epsilon_0}\right) \left(\frac{d}{R}\right) \cong 10^8, \quad \left(\frac{\epsilon_s}{\epsilon_0}\right)^2 \cong 10^2, \quad \frac{\sigma_p^2}{\omega^2 \epsilon_0^2} \left(\frac{d}{R}\right)^2 \cong 10^4,$$

在此情況下，(2-15)至(2-15b)式中的假設是合適的，被忽略的項都比主要項小三個階數以上。另一方面，在(2-16)式中，同樣的將頻率設定在1MHz時，其各項的階數約為

$$\left(\frac{\epsilon_s}{\epsilon_0}\right)^2 \sigma_p \cong 10^2, \quad \left(\frac{\sigma_s \sigma_p^2}{\omega^2 \epsilon_0^2}\right) \left(\frac{d}{R}\right) \cong 10, \quad \left(\frac{\epsilon_s}{\epsilon_0}\right)^2 \cong 10^2, \quad \frac{\sigma_p^2}{\omega^2 \epsilon_0^2} \left(\frac{d}{R}\right)^2 \cong 10^4,$$

在此情況下，如要令所有被忽略的項均小最大項三個階數以上，則(2-16)式無法再進一步簡化。

如果我們只保留前兩階的項，則(2-15)式可簡化為(2-27a)式的直流假設結果，但(2-16)式則變為

$$\tilde{\sigma}_p \approx \frac{(\epsilon_s)^2 \sigma_p + \left(\frac{\sigma_s \sigma_p^2}{\omega^2}\right) \left(\frac{d}{R}\right)}{\frac{\sigma_p^2}{\omega^2} \left(\frac{d}{R}\right)^2} = \frac{\epsilon_s^2 \omega^2 \left(\frac{R}{d}\right)^2}{\sigma_p} + \sigma_s \left(\frac{R}{d}\right). \quad (2-33)$$

與(2-27b)式的相對直流假設相比，多了(2-33)式中的等號右方第一項，此項即為我們的修正項。我們可以發現修正項的大小與頻率平方成正比，所以當我們的頻率在1MHz的階數時，修正項不僅不能忽略，甚至會比直流假設項大一個階數，如果要讓直流假設成立的話，亦即前一項比後一項小兩個階數以上的話，此時頻率必須小於30kHz方能成立。

若以(2-27a)與(2-33)式較直流假設更接近真實狀況(但較(2-15b)與(2-16)式差的)的 $\tilde{\sigma}_p$ 與 $\tilde{\epsilon}_p$ 代回(2-10)(2-11)式去求得修正之後的穿越頻率和尖端頻率與溶液導電度的關係。在DEP的部分，可得

$$2\pi C_s R f_{co} = \frac{\sqrt{2}\sigma_p}{2} \sqrt{-(1 + \frac{\sigma_m}{\sigma_p} + 2\frac{G_s R}{\sigma_p}) + \sqrt{1 + 9(\frac{\sigma_m}{\sigma_p})^2 + 2\frac{\sigma_m}{\sigma_p} + 4\frac{G_s R}{\sigma_p}}} \quad (2-34)$$

其中 $C_s = \frac{\varepsilon_s}{d}$, $G_s = \frac{\sigma_s}{d}$ 。根據二項式級數(binomial series)，在

$$2\left(\frac{\sigma_m}{\sigma_p}\right) + 9\left(\frac{\sigma_m}{\sigma_p}\right)^2 + \frac{4G_s R}{\sigma_p} \ll 1 \quad (2-34a)$$

的情況下，(2-34)在取前幾項主要項的情況下可被展開為

$$2\pi C_s R f_{co} \approx \sqrt{2}\sigma_m - \frac{1}{\sqrt{2}}\frac{\sigma_m^2}{\sigma_p} - \frac{35\sqrt{2}}{64}\frac{\sigma_m^3}{\sigma_p} - \frac{\sqrt{2}}{4}G_s R. \quad (2-35)$$

在此處，根據文獻(Pethig et al., 2005、Huang et al., 1996、Arnold and Zimmermann, 1988等)， $G_s R \approx 10^{-3} S/m$, $\sigma_p \approx 1 S/m$ ，因此當 $\sigma_m \leq 10^{-1} S/m$ 時，(2-34a)可成立。更

進一步的作項目分析，當 $\sigma_m \leq 10^{-2} S/m$ 時，(2-34)中的 $-\frac{1}{\sqrt{2}}\frac{\sigma_m^2}{\sigma_p} - \frac{35\sqrt{2}}{64}\frac{\sigma_m^3}{\sigma_p}$ 就會

遠小於 $\sqrt{2}\sigma_m - \frac{\sqrt{2}}{4}G_s R$ ，因此，此時(2-34)可以簡化為

$$2\pi C_s R f_{co} \approx \sqrt{2}\sigma_m - \frac{\sqrt{2}}{4}G_s R \quad \text{當 } \sigma_m \leq 10^{-2} S/m. \quad (2-36)$$

經由以上推導我們可以發現(2-36)與前文所提到的(2-29)幾乎相同，僅有使用的條件上不同，有趣的是，我們所利用的假設與前文中所提到的直流假設完全無關。另一方面，在ER的部分，採用跟以上完全一樣的分析方法可以得到

$$2\pi C_s R f_{pk} = \frac{\sigma_p}{2} \left\{ 1 - \sqrt{1 - \frac{4}{\sigma_p} (2\sigma_m + G_s R)} \right\}. \quad (2-37)$$

同樣根據二項式級數，在

$$(8\sigma_m + 4G_s R) / \sigma_p \ll 1 \quad (2-37a)$$

的情況下，對(2-37)取主要項展開可得

$$2\pi C_s R f_{pk} \approx 2\sigma_m + \frac{4\sigma_m^2}{\sigma_p} + \frac{16\sigma_m^3}{\sigma_p^2} + G_s R. \quad (2-38)$$

相同的，根據對(2-36)所使用的項目分析方法，(2-38)可化簡為

$$2\pi C_s R f_{pk} \approx 2\sigma_m + G_s^* R \quad \text{當} \quad \sigma_m \leq 10^{-2} \text{ S/m}. \quad (2-39)$$

相同地，我們可以發現，在與(2-30)使用完全不同的假設下得到一樣的結果。事實上，根據(2-36)以及(2-39)我們可以發現，傳統文獻中使用的(2-29)與(2-30)並不是無法使用，而是必須在相對較低的溶液導電度下使用才準確，而在Pethig et al., (2005)中所使用的溶液導電度大約是在 $10^{-1} \sim 10^{-2} \text{ S/m}$ 並不符合我們所導出來的適用條件，這也是文獻中計算誤差的來源。但必須要注意的是，即使是使用(2-27a)與(2-33)式也不是都可以使用，部份情況(如Pethig et al., 2005 中高 σ_m 的情況)還是會出現較大的誤差，此時必須使用(2-15b)與(2-16)式。另一方面來說，文獻中所使用的直流假設是建立在電場頻率愈低愈好的前提上，事實上，根據穿越頻率以及尖端頻率的定義，我們不難看出相對較低的穿越頻率以及尖端頻率對應到的也是相對較低的溶液導電度，從這個方面來看也可以呼應本研究與文獻中常用的假設。

如此一來，只要利用實驗得到不同的溶液導電度對應到的穿越頻率，根據實驗的條件使用適當的假設並選用適當的公式，即可計算出生物微粒的內部電性。事實上，若將(2-29)和(2-36)與(2-30)和(2-39)在特定參數下做比較，如圖2-5及圖2-6所示，可發現在溶液導電度不高的情況下偏差的情況不會太明顯，但隨著溶液導電度的增加，則修正的重要性就有增加的趨勢，此外，修正過後的式子不僅準確度比較高，而且可計算出除了細胞膜電性以外的原生質電性，可以幫助我們進一步了解細胞內部的特性。

2-5-3 最佳化計算

無論是利用CMF或是穿越(尖端)頻率去計算生物微粒內部電性都會用到最佳化計算，原因是研究中實驗量測到的數據點是多於本身需要求解的未知數的數目的，意即我們可利用最佳化，可以在眾多數據點中計算出最適當的生物微粒內部電性值。在本研究中，我們所採用的最佳化方法是最小平方法(Huang et al.,1996)，如下所示：

$$\text{Min} \sum_i [z(x_1, x_2, \dots, x_k)_{\text{theory},i} - z_{\text{experiment},i}]^2 \quad (2-40)$$

其中z代表實驗資料(在本研究中為CMF以及穿越(尖端)頻率)，i代表不同的數據點， x_k 代表欲利用此法求得的參數，當然，在此處數據點數目必須大於欲求參數的數目。利用以上的方法，我們就可以在眾多的數據點中找到一組最適當的參數解使得我們所有實驗點以及理論點的誤差值要最小，達到最佳化的效果。值得一提的是，想要用利用此法來計算參數必須將實驗資料以顯函數(explicit form)形式由欲求參數來表示，換句話說，實驗資料z中不可以再有z存在，必須純粹的以 x_1, x_2, \dots 表示。此一情況在我們利用CMF計算細胞電性時沒有問題，因為由(2-26)可知，CMF可確實以顯函數的形式由 $\epsilon_s, \sigma_s, \epsilon_p, \sigma_p$ 表示。此外，由(2-34)以及(2-37)可知，在適當的假設下，穿越(尖端)頻率也可以以 $\epsilon_s, \sigma_s, \epsilon_p, \sigma_p$ 表示成一個顯函數的形式。然而，如果我們想要在更少假設的情況下去以穿越(尖端)頻率做細胞電性的計算，例如，將(2-13)和(2-14)或(2-15)和(2-16)直接代回(2-10)和(2-11)，此時我們會發現我們會得到一個高次的方程式，而我們無法在不知道參數數值的情況下解出適當的解析解，在此情況下，我們便無法將實驗資料點由欲求參數表示成顯函數的形式，(2-40)將無法使用。針對此一現象本研究中解決的方法是將自變數與應變數交換，意即將(2-10)與(2-11)中的應變數穿越頻率以及尖端頻率與自變數溶液導電度交換，如此，

(2-10)、(2-11)可以分別改寫成

$$\sigma_m = \frac{\tilde{\sigma}_p}{4} + \frac{1}{2} \sqrt{\frac{9}{4} \tilde{\sigma}_p^2 + 8\pi^2 f_{co}^2 (\tilde{\epsilon}_p - \epsilon_m)(\tilde{\epsilon}_p + 2\epsilon_m)} \quad (2-41a)$$

以及

$$\sigma_m = \frac{1}{2} \left\{ 2\pi f_{pk} (\tilde{\epsilon}_p + 2\epsilon_m) - \tilde{\sigma}_p \right\}. \quad (2-41b)$$

如此一來，若將(2-27a)與(2-33)代入(2-41a)與(2-41b)，則可以得到由溶液導電度為應變數的關係如下

$$\sigma_m = \pi f_{pk} (C_s R + 2\epsilon_m) - \frac{1}{2} G_s^* R - \frac{2\pi^2 C_s^2 f_{pk}^2 R^2}{\sigma_p} \quad (2-42a)$$

以及

$$\begin{aligned} \sigma_m = \frac{1}{4} \left(G_s R + \frac{4\pi^2 C_s^2 f_{co}^2 R^2}{\sigma_p} \right) & \\ + \frac{1}{2} \sqrt{\frac{9}{4} \left(G_s^* R + \frac{4\pi^2 C_s^2 f_{co}^2 R^2}{\sigma_p} \right)^2 + 8\pi^2 f_{co}^2 (C_s R + 2\epsilon_m)(C_s R - \epsilon_m)}. & \end{aligned} \quad (2-42b)$$

同時，我們可利用此法將(2-15)和(2-16)直接代回(2-41a)及(2-41b)，此時我們可以得到

$$\sigma_m = \frac{\tilde{\sigma}_p}{4} + \frac{1}{2} \sqrt{\frac{9}{4} \tilde{\sigma}_p^2 + 8\pi^2 f_{co}^2 (\tilde{\epsilon}_p - \epsilon_m)(\tilde{\epsilon}_p + 2\epsilon_m)}$$

以及

$$\sigma_m = \frac{1}{2} \left\{ 2\pi f_{pk} (\tilde{\epsilon}_p + 2\epsilon_m) - \tilde{\sigma}_p \right\},$$

其中

$$\tilde{\epsilon}_p \cong \frac{(\epsilon_s)^2 (\epsilon_p) + \frac{\sigma_p^2}{4\pi^2 f_{co(pk)}^2} (\epsilon_s) \left(\frac{\delta}{R} \right)}{(\epsilon_s)^2 + \frac{\sigma_p^2}{4\pi^2 f_{co(pk)}^2} \left(\frac{\delta}{R} \right)^2},$$

$$\tilde{\sigma}_p \cong \frac{(\varepsilon_s)^2 (\sigma_p) + \frac{\sigma_p^2}{4\pi^2 f_{co(pk)}^2} (\sigma_s) \left(\frac{\delta}{R}\right)}{(\varepsilon_s)^2 + \frac{\sigma_p^2}{4\pi^2 f_{co(pk)}^2} \left(\frac{\delta}{R}\right)^2}, \quad (2-43)$$

或將(2-13)和(2-14)直接代回(2-41a)及(2-41b)可得

$$\sigma_m = \frac{\tilde{\sigma}_p}{4} + \frac{1}{2} \sqrt{\frac{9}{4} \tilde{\sigma}_p^2 + 8\pi^2 f_{co}^2 (\tilde{\varepsilon}_p - \varepsilon_m) (\tilde{\varepsilon}_p + 2\varepsilon_m)}$$

以及

$$\sigma_m = \frac{1}{2} \left\{ 2\pi f_{pk} (\tilde{\varepsilon}_p + 2\varepsilon_m) - \tilde{\sigma}_p \right\},$$

其中

$$\begin{aligned} \tilde{\varepsilon}_p &= \frac{(\varepsilon_p \varepsilon_s - \frac{1}{4\pi^2 f_{co(pk)}^2} \sigma_p \sigma_s) (\varepsilon_s + \frac{d}{R} \varepsilon_p) + \frac{1}{4\pi^2 f_{co(pk)}^2} (\sigma_s \varepsilon_p + \varepsilon_s \sigma_p) (\sigma_s + \frac{d}{R} \sigma_p)}{(\varepsilon_s + \frac{d}{R} \varepsilon_p)^2 + \frac{1}{4\pi^2 f_{co(pk)}^2} (\sigma_s + \frac{d}{R} \sigma_p)^2}, \\ \tilde{\sigma}_p &= \frac{-(\varepsilon_p \varepsilon_s - \frac{1}{4\pi^2 f_{co(pk)}^2} \sigma_p \sigma_s) (\sigma_s + \frac{d}{R} \sigma_p) + (\sigma_s \varepsilon_p + \varepsilon_s \sigma_p) (\varepsilon_s + \frac{d}{R} \varepsilon_p)}{(\varepsilon_s + \frac{d}{R} \varepsilon_p)^2 + \frac{1}{4\pi^2 f_{co(pk)}^2} (\sigma_s + \frac{d}{R} \sigma_p)^2}. \end{aligned} \quad (2-44)$$

如此一來便解決無法以顯函數來表示實驗數據的問題，事實上，或許將自變數與應變數互換會改變其式子的物理意義，但從數學的層面來想的話，兩種表示方式應該都是合理的。

第三章 實驗方法與設備

3-1 實驗晶片

本論文所使用之微留晶片為羅英傑(2010)所研製，本章研究使用期來進行實驗，茲將製作及實驗相關步驟加以說明。此外，本章節對實驗晶片的製作過程尚參考林鈺閔(2010)與馮德威(2009)。

由於本研究主題使用的生物粒子大小大約在數十微米的等級，使用的電極幾何尺寸也約在數十到數百微米，因此使用微機電技術所製造出來的電極在尺度上非常理想。在本研究中所使用的基材是選用玻璃，因為玻璃可以利用簡單的黃光微影技術將我們所需要的圖形從光罩上轉移至玻璃上，且玻璃不同於一般矽晶圓，是屬於透明可透光的，這個性質對於需要使用光學顯微鏡的研究來說十分重要。此外，使用微機電製程也有以下其他優點：成本低廉、與多數生物晶片製程相容以及易於與光系統整合等。

整個實驗晶片製作流程大致可分為電極晶片製作以及流道製作兩個部分。在電極製作部分，製作流程可參考圖(3-1)，主要可分為以下步驟：

1. 光罩設計。

本研究中所使用到最低的寬度約為 15 微米上下，為了同時兼顧線寬、成本以及製作期間難易度等問題，因此使用 20000dpi 的膠片光罩

2. 基材清潔。

在進行鍍膜之前必須仔細地清潔基材表面，因為其表片會有相當多殘餘的有機物，(如油脂)，以及無機物(如灰塵)等，若是其表面有殘餘的粒子，則進行鍍膜製程時會造成鍍膜厚度不均勻、鍍膜貼付不佳等問題，進而影響後續製程。

3. 金屬鍍膜。

鍍膜的方法十分多種，如蒸鍍、濺鍍等，在本研究中選用蒸鍍的方法還進行金屬鍍膜，而蒸鍍的方法中又大致可分為物理氣相沈積(PVD)與化學氣相沈積(CVD)兩種，綜合優缺點，最後選擇了物理氣相沈積蒸鍍的方式還進行本研究中的電極金屬的鍍膜。

4. 電極黃光微影與蝕刻。

而在流道製作部分，微流道的材料選用要考慮到十分多的因素，例如觀察便利性、與基材的皆合度以及化學活性等，因此，本研究中使用在生物應用上最常使用的材料聚對二甲基矽氧烷(Poly Dimethyl Siloxane; PDMS)作為我們微流道的材料，詳細製作流程圖可參考圖(3-2)。製作過程主要可分為以下步驟：

1. 流道母模製作。

在母模的部份，本研究所採用的顯影材料是 SU-8 負光阻，原因是因為此種光阻具有高深寬比的特性，可製作約 20 微米至 100 微米的高度，剛好本實驗中所使用的高度約在 20 微米至 40 微米間，恰巧符合需求，且 SU-8 負光阻的成本低廉且製作上也容易。

2. PDMS 翻模。

PDMS 的原料分為主劑與固化劑，調配時須配合適當的流道深寬比來調配，若調配比例不當則有流道塌陷的可能性，在本研究中，我們採用主劑與固化劑 10:1 的比例混合以配合我們的流道。

3. PDMS 與玻璃基材接合。

PDMS 本身的表面為疏水性，欲使其與晶圓或是本研究中使用的玻璃接合則必須進行表面改質使其成為親水性。在本研究中，PDMS 表面改質的方便是使用氧電漿表面改質，將玻璃與 PDMS 都經過氧電漿表面改質使雙方都具有親水性，如此便可使兩者緊密接合。

經過以上電極以及流道製作過程即可得到本實驗中所使用的晶片，完成圖如圖(3-4)所示。

3-2 實驗設備

1. 波型產生器(Function Generator)與訊號傳輸設備：

本實驗採用能輸出四的獨立形式相位、最大頻率可達 40MHz 且最大電壓可達 20Vpp 的 TITGA12104 型波型產生器。在訊號傳輸方面，我們的電極故意配合某種 32 接腳的壓排去做設計，使電極可透過壓排與波型產生器做連接，如圖 3-4(a)。

2. 光學顯微鏡與 CCD 影像裝置：

本研究使用光學顯微鏡 Olympus CX41 搭配數位攝影機 Pike F032C 來觀察以及記錄生物微粒的行為，以作為數據分析以及後處理之用，如圖 3-4(b)。

3. 注射針筒：

本研究採用直徑 1.5mm 的玻璃針筒將工作流體推入流道中，如圖 3-4(c)。

4. 光學桌：

本研究中使用 Newport corporation research series table top 來避免外界震動的干擾。光學桌內有懸吊式氣體隔離系統以及氣體穩壓裝置，可有效隔離外界震動。

5. 加熱板：

本研究使用的加熱溫度最高不超過攝氏 150 度，所以選用最高加熱溫度達攝氏 300 度的加熱板

6. 超音波震洗機：

本研究中無論製程中晶片的清潔以及實驗結束後清除殘留的生物微粒均會使用超音波震洗機，需注意的是，使用超音波震洗機時清洗面必須有流體才可作用，如圖 3-4(d)。

7. 二氧化碳培養箱：

生物微粒的生長需要嚴格的環境，二氧化碳培養箱可提供恆溫攝氏 37 度以及二氧化碳濃度 95%的良好環境，是最適合生物微粒生長的環境，如圖 3-4(f)。

3-3 實驗步驟

3-3-1 柯莫氏因子的量測

在本研究中，我們所使用的生物細胞為低侵略性肺癌細胞(CL1-0)、高侵略性肺癌細胞(CL1-5)以及大腸癌細胞(Colo205)，而我們所使用的溶液為甘露醇(Mannitol)，有導電度 0.117(S/m)以及 0.014(S/m)兩種，實驗步驟如下：

1. 將 1mL 的細胞與溶液的混合物以微量吸管由流道入口處吸入晶片中，並以衛生紙在出口處吸起流出的實驗溶液以達到穩流的效果。
2. 以每秒 30 張的 CCD 紀錄生物細胞在流道內運動的情形。
3. 將紀錄影片以 MATLAB 做影像分析，計算每兩張圖片相關係數去計算出生物細胞在流道內的移動速率。
4. 將得到的移動速率帶入(4-7)式即可得到我們所需要的 CM factor。

重複上述 1~4，每個特定頻率實驗五次，取其平均值與標準差為實驗值。

3-3-2 穿越頻率的量測

在本研究中，我們利用與量測 CMF 相同的晶片，如圖(3-5)所示，去量測生物細胞的穿越頻率，實驗步驟如下：

1. 將 1mL 的細胞與溶液的混合物以微量吸管由流道入口處吸入晶片中，並以衛生

紙在出口處吸起流出的實驗溶液以達到穩流的效果。

2. 調整電壓大小至 6Vpp 並調整電場頻率，以肉眼觀察，若細胞受到正介電泳力則將頻率調小，反之，若細胞受到負介電泳力則將頻率調大，一次調節 1kHz。
3. 往上調整頻率至生物細胞無受到任何介電泳力，此時頻率為下頻率，反之，往上調整頻率至生物細胞無受到任何介電泳力，此時頻率為上頻率。最後，將上頻率與下頻率取平均即為穿越頻率。
4. 使用單一細胞，重複步驟 2~3 五次，取平均與標準差即為穿越頻率的實驗值。
5. 針對不同的溶液導電度，本研究中採用 3.1~43.2(mS/m)，重複步驟 1~4，即可得到穿越頻率與溶液導電度的關係。

3-4 生物微粒與實驗溶液

本次研究中，主要用到的生物微粒有肺腺癌細胞 CL1-0 與高轉移型肺腺癌細胞 CL1-5 以及大腸癌細胞 Colo205，前兩種細胞均為貼付型細胞而大腸癌細胞 Colo205 雖為懸浮型細胞，但其貼付性質也是十分顯著，均可使用 RPMI1640+10%FBS 作為培養液。在實驗過程中，因為 RPMI1640+10%FBS 的導電度約在 0.8~1.1S/m，不易觀察觀察正負介電泳以及穿越頻率(Cross over Frequency)的現象，基於以上理由，我們採用不同導電度的甘露醇以達到上述目的。甘露醇除了可以隨意調整至我們所需要的導電度外，還剛好可以配合生物微粒的滲透壓，使細胞不致於漲破或是縮水，可維持細胞正常的運作。

3-4-1 細胞培養液的製備

如上段所述，本研究所使用的細胞培養液是 RPMI1640+10%FBS，其詳細製備

步驟如下(以一公升為例)：

1. 取 RPMI1640 粉末、小蘇打 2 公克、丙酮酸鈉 0.11 公克、肝素鈉 3.575 公克、青黴素 0.06 公克與鏈黴素 0.1 公克。
2. 將以上材料加入一公升去離子水中攪拌均勻。
3. 在無菌層流操作台上將其以 0.22 微米的過濾網過濾，並作適當的分裝。
4. 以石蠟封存至攝氏 4 度的冰箱。
5. 要使用時，將其加入純胎牛血清(Fetal Bovine Serum; FBS)至容積比為 10%，以增加培養液的營養度。

3-4-2 細胞培養

生物細胞的培養大致有以下三個部分，細胞解凍、細胞繼代培養以及細胞冷凍保存，詳細步驟如下。

1. 細胞解凍：
 - i. 將冷凍的細胞從液態氮中取出至攝氏 37 度恆溫水槽中回溫約 20 分鐘。
 - ii. 吸取 1ml 的新鮮 RPMI1640+10%FBS 與回溫後的冷凍細胞液一起至 15ml 的離心管中，並使其混合均勻。
 - iii. 將混合液體放置在離心機中進行離心，參數設定為轉速 1500rpm、5 分鐘。
 - iv. 將懸浮的細胞廢液去除，重新加入 1ml 的新鮮 RPMI1640+10%FBS 並均勻混合。
 - v. 將混合液與新鮮 RPMI1640+10%FBS 10ml 一起加入培養皿中，並輕微搖晃使其分布均勻，在一起放入二氧化碳培養箱中以進行培養。
2. 細胞繼代培養：
 - i. 將新鮮 RPMI1640+10%FBS、PBS 以及 Trypsin-EDTA 從冰箱取出並於攝氏 37 度恆溫水槽回溫。其中 PBS 為一種磷酸鹽類，為細胞的緩衝液；

Trypsin-EDTA 為一種胰蛋白，會對細胞蛋白質產生反應，可使貼付型細胞脫離貼附表面。

- ii. 將細胞培養皿從二氧化碳培養箱中取出，並置顯微鏡下觀察期生長情形以及是否受污染。
- iii. 利用電動分注器抽乾懸浮液，並吸取 1ml 的 PBS 注入，旋轉培養皿均勻濕溼後移除，重複兩次。
- iv. 吸取 Trypsin-EDTA 1ml 加入培養皿，並且使其均勻覆蓋後置放於二氧化碳培養箱中 5 分鐘，使貼附的細胞懸浮。
- v. 細胞懸浮完成後，吸取新鮮培養液 1ml 至培養皿中並均勻搖晃，此時懸浮液呈現混濁。
- vi. 將細胞懸浮液抽取至 15ml 離心管中，並以轉速 1500rpm、30 秒離心後，將上懸浮廢液清除，加入新鮮的培養液 1ml，重複兩次可得新鮮的細胞懸浮液。
- vii. 將新鮮的細胞懸浮液與 10ml 新鮮培養液一同抽取至新的培養皿中，並放進二氧化碳培養箱以完成繼代培養。

3. 細胞冷凍保存：

冷凍細胞時，需用一種化學物質叫做二甲基亞砷(DMSO)，此物質功用為防止冷凍過程中冰晶刺穿細胞造成細胞死亡，在低溫生物學終場作為抗凍劑使用。

- i. 重複細胞繼代培養步驟至步驟 vi。
- ii. 將回溫後的 DMSO 與新鮮細胞懸浮液以 1:9 的比例混合，並分裝置 1.5ml 螺旋管中保存。
- iii. 將螺旋管放入緩慢降溫槽，緩慢降溫槽外加入 95%酒精，放置於室溫約 15 分鐘。
- iv. 將螺旋管移放置攝氏-80 度冰櫃中四小時，再轉入液態氮內做長期保存。

第四章 結果與討論

在本章節中一共有三大部分，第一部分為以羅英傑(2010)的微流晶片做生物細胞 CMF 的量測以及利用羅英傑(2010)以及本文所量測得到的 CMF 做後續的電性分析。第二部分為修正穿越頻率和尖端頻率計算細胞電性的理論。在這個部分中，本研究利用文獻中的實驗數據，指出前人的缺失並提出有效改善的方法。第三部分為量測肺癌細胞(CL1-0)、高侵略性肺癌細胞(CL1-5)與大腸癌細胞(Colo205)的穿越頻率，並且利用第二部分所發展的理論來計算該群癌細胞的電學性質。

4-1 柯莫氏因子的量測與細胞電性分析

4-1-1 理論

本研究中所採用的晶片是根據羅英傑(2010)所提出並已用於驗證其近牆廣義介電泳的理論(Lo and Lei, 2010)，該晶片的工作區域如圖(4-1a)所示。在本研究中的通道幾何條件為 $r_1 = 300\mu m$, $r_2 = 700\mu m$, $r_3 = 1100\mu m$, $H = 21\mu m$, $2\alpha = 45^\circ$ 。在理論上此設計可模型化為圖(4-1b)，即同時在 $r = r_1$, $r = r_2$ 分別施加一交流電位時，其工作區域中的電場僅存在於徑向，可表示為

$$\mathbf{E} = Ee^{j\omega t}\hat{r}, \quad (4-1)$$

根據(2-20)與(2-22)式，若將一顆圓球微粒至於工作區域中，所受到的擬穩態平均介電泳力為(見 Lo and Lei, 2010)

$$\langle \mathbf{F}(t) \rangle = \langle \mathbf{F}(t) \rangle_\infty + \langle \mathbf{F}(t) \rangle_w, \quad (4-2)$$

其中

$$\langle \mathbf{F}(t) \rangle_{\infty} = 2\pi\epsilon_m R^3 K_r \frac{\partial}{\partial r} (E^2 / 2) \hat{r} \quad (4-2a)$$

以及

$$\begin{aligned} \langle \mathbf{F}(t) \rangle_w &= F_r \hat{r} + F_y \hat{y} \\ &= 2\pi\epsilon_m R^3 ((K_r^2 - K_i^2) \Delta S_1 \frac{\partial}{\partial r} (E^2 / 2) \hat{r} + 3K^2 \Delta S_c (1 + K_r \Delta S_1) E^2 / (2h) \hat{y}), \end{aligned} \quad (4-2b)$$

分別為無邊界介電泳力與近牆介電泳力，且

$$K = K_r + jK_i, K^2 = K_r^2 + K_i^2,$$

$$S_1 = S_a + S_b, (\text{參考(2-22)式})$$

ϵ_m 為溶液導電度， \hat{r} 為逕向方向的單位向量， \hat{y} 為垂直工作區域方向的單位向量，

h 為粒子中心距離較近的牆的距離，其中要注意的是，在(4-2b)式中，我們已經將

(2-22)式中的 Δ^2 項忽略，原因如前所述，此外，由於是與 $\langle \vec{F}(t) \rangle_{\infty}$ 做比較，所以也將

(2-22)式中的第一項在 y 方向忽略掉。因此，根據牛頓第二運動定律，在忽略生物

細胞慣性力的情況下，在逕向方向就由介電泳力與拖曳黏滯力進行平衡，根據(2-23)、

(4-2)，平衡結果如

$$2\pi\epsilon_m R^3 (K_r + (K_r^2 - K_i^2) \Delta S_1) \frac{\partial}{\partial r} (E^2 / 2) = 6\pi\mu RUC_d, \quad (4-3)$$

而垂直工作區域則由介電泳力與浮力進行平衡，根據(4-2)結果如

$$3\pi\epsilon_m R^3 K^2 \Delta S_c (1 + K_r \Delta S_1) E^2 / h = \frac{4\pi}{3} R^3 (\rho_p - \rho_m) g, \quad (4-4)$$

其中 ρ_p 及 ρ_m 分別代表生物細胞與溶液的密度。有了(4-3)式、(4-4)式後，想要得到

Kr 則必須在進一步的解出工作區域內電場的解析解。根據拉普拉斯方程式(Laplace

Equation)，我們可以得到當在 $r = r_1, r = r_2$ 分別施加 V_0 的電壓時，此時工作區域內的

電場可寫成

$$E(r) = \frac{2V_0}{\ln(r_2/r_1)} \left(\frac{1}{r}\right), \quad (4-5)$$

但事實上，由於本設計中的電極並非立體電極，所以在 $r = r_1, r = r_2$ 兩個垂直平面上並非都滿足我們所設定的邊界條件，即 $V = V_0$ 的邊界條件。因此，(4-5)式中必須再做一個非立體電極修正，修正結果如(Lo and Lei, 2010)

$$E(r) = C_E \frac{2V_0}{\ln(r_2/r_1)} \left(\frac{1}{r}\right), \quad (4-6)$$

其中

$$C_E^i = 1 - BC_E^{i-1},$$

$$B = \frac{1}{\ln(r_2/r_1)} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{8/\pi^2}{(2n-1)^2} \left[\frac{1}{k_n r_1} \frac{I_0(k_n r_1)}{I_1(k_n r_1)} + \frac{1}{k_n r_2} \frac{K_0(k_n r_2)}{K_1(k_n r_2)} \right],$$

$$k_n = (2n-1)\pi/(2H),$$

$I_0(k_n r_1)$ 及 $I_1(k_n r_1)$ 為第一類修正貝氏函數, $K_0(k_n r_2)$ 及 $K_1(k_n r_2)$ 為第二類修正貝氏函數。有了電場的解析解以後，將(4-6)式帶回(4-3)式中，在只取介電泳力主導項的情況下，可得到徑向方向的力平衡式為

$$K_r = \frac{3\mu U r^3 C_d}{-4R^3 \epsilon_m \left(\frac{C_E V_0}{\ln(r_1/r_2)}\right)^2}, \quad (4-7)$$

在此需要注意的是，只要生物細胞的尺度與流道高度接近，則在生物細胞在流道內移動時，就可以利用垂直工作區域方向的介電泳力將細胞控制在流道的中間。以本研究來說，所使用的生物細胞的平均直徑約為 $16 \sim 17 \mu m$ ，而所使用的流道高度為 $21 \mu m$ ，因此，在垂直工作區域的方向可以簡單地將生物細胞視為在流道的中間。最後，根據(4-7)式，我們只要透過實驗測量出生物細胞在特定施加電壓下的移動速率，則可利用此式計算出 CMF。關於此部分的詳細說明與分析可參考羅英傑 (2010)。

4-1-2 實驗結果

在本研究中，我們所使用的生物細胞為低侵略性肺癌細胞(CL1-0)、高侵略性肺癌細胞(CL1-5)以及大腸癌細胞(Colo205)，而我們所使用的溶液為甘露醇(Mannitol)，有導電度 0.117(S/m)以及 0.014(S/m)兩種。

4-1-2-1 柯莫氏因子之量測結果

我們利用圖(4-1)的晶片搭配影像分析可得到不同種類的細胞在不同電場施加頻率以及溶液導電度下的 CMF，如圖(4-2)~圖(4-7)以及表(4-1)~表(4-2)所示，其中穿越頻率估算的部分分為兩種方法，一種是使用最接近的兩點進行線性內插(Linear interpolation)，另一種是使用 CMF 的形式去做回歸曲線所得(Rational fitting)。

由實驗結果我們可以看出三種細胞在不同的溶液導電度中，CMF 與施加電場頻率的定性關係是相同的，事實上，此關係與 CMF 的定義，如(2-8)式，是相符合的。從定量上來看，當溶液導電度為 0.117(S/m)時，CL1-0、CL1-5 與 Colo205 的 CMF 分別為 -0.218~0.303、-0.205~0.173 與 -0.349~0.167，穿越頻率約在 175~212(kHz)、233~250(kHz)與 304~320(kHz)。從這些數據來看，此等溶液導電度下穿越頻率對三種細胞來說都是存在的，且三種細胞的 CMF 值與穿越頻率值由於細胞電性的關係不盡相同，至於如何分析細胞電性會在下一節詳細描述：另一方面，溶液導電度為 0.014(S/m)時，CL1-0、CL1-5 與 Colo205 的 CMF 分別為 -0.312~0.554、-0.177~0.509 與 -0.247~0.587，穿越頻率約在 33~34(kHz)、16~17(kHz)與 52~56(kHz)。由兩種不同溶液導電度下進行比較可發現在溶液導電度變小的情況下，CMF 的值在正的部分是略為變大的，此外，穿越頻率是明顯變小的，這兩個現象都與 CMF 的定義，如(2-8)式，所述相符合。

4-1-2-2 細胞電性分析

有了 CMF 對施加電場頻率的關係後，我們就可以利用如 2-5-1 所提到的方法搭配 2-5-3 的最佳化計算做細胞內部的電性分析，其中，根據文獻中所提到(Gimsa et al.(1996)等)，一般生物細胞的細胞膜厚度約為 5~7.5(nm)，因此在本研究中的計算，細胞膜厚度一律採用 5nm。利用表(4-1)與表(4-2)中的實驗結果所計算得到的細胞電性結果如表(4-3)所表示。由表(4-3)可以看出，對細胞膜來說，三種不同的細胞電容值的部分是差不多的，約在 4.54~6.14(mF/m/m)，而電導值的部分則是 CL1-5 的 903~1023(S/m/m)約兩倍於 CL1-0 與 Colo205 的 492~602(S/m)；另一方面，對原生質的導電度來說，三種細胞的差異均不大，導電度約在 0.701~0.865(S/m)而對相對介電係來說，CL1-5 的 74~87 則是略小於 CL1-0 與 Colo205 的 95~133。除此之外，為了使本研究中的分析更加具有參考性，我們採用 Lo and Lei(2011)中使用相同晶片所得到的 CMF 數據搭配本研究中的最佳化計算方法進行細胞電性分析，其數據與結果如表(4-4)~表(4-7)所示。由結果來看，此一系列數據所得的結果與表(4-1)與表(4-2)中所得的結果大致相符，對細胞膜來說，三種不同的細胞電容值的部分是差不多的，約在 4.97~5.92(mF/m/m)，而電導值的部分則是 CL1-5 的 921~997(S/m/m)約兩倍於 CL1-0 與 Colo205 的 561~603(S/m)；另一方面，對原生質的導電度來說，三種細胞的差異均不大，導電度約在 0.842~1.165(S/m)而對相對介電係來說，CL1-5 的 72~102 則是略小於 CL1-0 與 Colo205 的 78~142。

4-1-2-3 細胞 dispersion 效應分析

所謂 dispersion 效應是指由於電場頻率的增加，細胞內部電性隨電場頻率改變的情形。根據 Gimsa et al.(1996)中指出，人類紅血球細胞發生 dispersion 的電場頻

率約為 15MHz。

在本研究中，我們利用量測出的 CMF，並取特定頻率進行細胞電性的分析，進而研究細胞電性與電場頻率的關係。由於本研究中所有 CMF 在特定頻率下均是由測量五次的數據點平均而成，因此，我們可以利用這五個數據點配合本研究中所提到的最佳化方法得到特定頻率下的細胞電性，然而，為求數據點的數量能夠更多以增加最佳化的可靠度，本研究中電性計算的結果乃是結合表(4-1)、表(4-2)、表(4-4)~表(4-6)的所有數據，在細胞電性與溶液導電度無關的前提下，這個方法是可靠的。利用表(4-1)、表(4-2)、表(4-4)~表(4-6)的所有數據，我們可得到，在假設細胞電性不受溶液導電度影響情況下，三種生物細胞的電性與電場頻率的關係，如表(4-8)所示，更進一步，我們分別將細胞膜電容值、細胞膜電導值、原生質導電度和原生質相對介電係數等四種性質與電場頻率的關係獨立出來看，如圖(4-8)~圖(4-11)。由結果我們可以發現，在細胞膜部分的兩個性質 dispersion 的效應並不明顯；而在原生質部分，相對介電係數約在電場頻率達 10MHz 後開始有下降的趨勢，從 10MHz 至 40MHz 下降的幅度對 CL1-0、CL1-5 和 Colo205 來說分別為 29.3%、13.9% 和 9.9%，另一方面，對導電度來說也是從 10MHz 後開始有上升的趨勢，上升的幅度分別為 42%、24.8% 和 9.6%。由此可看出 dispersion 效應對細胞膜來說相對不重要，而對原生質來說則相對重要，尤其在高頻的部分。此外，我們也可發現 CL1-0 對 dispersion 效應的敏感度較其它兩種細胞高，也可利用此現象將 CL1-0 與 CL1-5 兩種肺癌細胞做區分。

4-2 使用穿越頻率和尖端頻率計算細胞電性的理論分析與傳統理論的改進

如 2-5-2 所提，本研究中重新將傳統使用的計算方式重新檢視使用情況的正確

性，以及提出新的計算方式與使用情況。爲了確認本研究中指出的新的計算方式確實可以改善原有理論的缺失，採用 Pethig et al.,2005 中所給的實驗數據進行一系列的分析，數據部分如圖(4-12)、圖(4-13)所示，其中文獻中將 ER 部分藉由溶液導電度的不同分爲 11.5~42.5(mS/m)和 48.7~101.4(mS/m)兩個群體，而 DEP 的部分則是自成一個群體，此外，爲了使分析更加嚴謹，本研究中自行將 ER 中兩個群體的數據合在一起自成一個新群體做計算。在進行分析之前，爲了方便，我們將在 2-5-2 中所提到的各種條件與簡化方式定義成五級，五級分別依照簡化多寡由寡至多分別爲第一級到第五級簡化，如表(4-9)所示，其中，第五級簡化即爲傳統理論中所使用的直流極限假設。有了五級簡化定義後，我們將圖(4-12)、圖(4-13)中的數據分別用五級簡化進行計算，結果如表(4-10)所示。由計算結果來看，我們可以發現以下幾件事情。首先，我們可以看到第四級與第四級*和第四級**的結果相似，這可以說明 $\epsilon_m \ll \tilde{\epsilon}_p$ 這個假設是合理的，而且我們可以使用任何一個第四級來代表整個第四級與其它級別做比較。第二點，當我們比較第四級*與第五級時可以發現，在 DEP 部分，兩個級別所得到的 C_s 與 G_s 值均類似，但在 ER 部分，則只有 C_s 有相似的答案， G_s 方面，在 48.7(mS/m)~101.4(mS/m)這個群體則與 DEP 相比則有大約十倍左右的誤差，因此，第四級的簡化至少對高溶液導電度 ER 來說是無法使用的。第三點，第一級、第二級與第三級在簡化過程中簡化掉的項均至少比 G_s 項少一個階數以上，所以此三個級數所得到的計算答案會相符也是符合預測的。第四點，同時也是很重要的一部分，我們可以發現在 48.7(mS/m)~101.4(mS/m)這個群體中的 ER 與 DEP 的結果，在第一級(第二級與第三級也類似)可以得到類似的答案， C_s 、 G_s 、 σ_p 與 ϵ_p 的差異度分別爲 37%、19%、8.8%與 44%；另一方面，在 11.5(mS/m)~42.5(mS/m)這個群體中， C_s 、 G_s 、 σ_p 與 ϵ_p 的差異度分別爲 23%、14%、33%與 26%，這兩個 ER 群體與 DEP 的誤差均在實驗誤差範圍以內，因此我們可以

推測部分誤差是來自實驗點的不足，如果實驗數據點可以增加的話，應可改善部分誤差現象。第五，我們可以發現不同溶液導電度在第一級計算下各個參數的結果均差不多，因此可以推斷細胞電性不會隨著溶液導電度來改變。最後，我們將第一級所得到的答案，也就是 $C_s \approx 10.98(mF/m)$ 、 $G_s \approx 1184(S/m^2)$ 、 $\sigma_p \approx 0.99(S/m)$ 和 $\varepsilon_p \approx 164\varepsilon_0$ ，在細胞膜厚度約為 5nm 的情況下，可換算得到 $\sigma_s = 6(\mu S/m)$ 和 $\varepsilon_s = 6.2\varepsilon_0$ ，進一步將其結果代回(2-15a)式中去檢視可發現 σ_p, ε_p 相當符合估計，但 σ_s, ε_s 則僅有大致上符合。若我們遵循簡化項必須小主要項三個階數以上，則將我們計算的結果重新做階數分析可得到(2-15)式仍然適用，但(2-16)式則可修正為

$$\tilde{\sigma}_p \cong \frac{(\varepsilon_s)^2 (\sigma_p) + \varepsilon_s \varepsilon_p \left(\frac{\delta}{R}\right) \sigma_p + \frac{\sigma_p^2}{\omega^2} (\sigma_s) \left(\frac{\delta}{R}\right)}{(\varepsilon_s)^2 + \frac{\sigma_p^2}{\omega^2} \left(\frac{\delta}{R}\right)^2}, \quad (4-8)$$

其中 $\varepsilon_s \varepsilon_p \left(\frac{\delta}{R}\right) \sigma_p$ 即為與(2-16)不同的修正項，它僅比 $(\varepsilon_s)^2 (\sigma_p)$ 小兩個階數因此無法簡化，同時，它也是第一級與第二級之間微小差距存在的原因。

最後，若我們比較表(4-10)中的每一行可發現我們可使用第一級、第二級和第三級去計算 ER(兩組溶液導電度均可)，甚至若取低溶液導電度的群組，第四級也是可以使用的。另一方面，我們可以發現，對 DEP 來說，在此種溶液導電度下 ($<101.4(mS/m)$)，無論哪一級得到的結果都是可以接受的，即使是第五級(即線性假設)。事實上，線性假設可以使用於 DEP 但無法使用於 ER 的原因是因為 DEP 的部分可以大略滿足(2-34a)，但 ER 部分卻無法符合(2-37a)，這也就是 DEP 可以使用線性假設來計算但 ER 卻無法的原因。此外，值得一提的是，我們可利用不同級別的計算去得到我們想要的細胞電性，也就是說，我們可以透過第五級得到 C_s 和 G_s ，

透過第四級和第三級得到 C_s 、 G_s 和 σ_p ，以及透過第二級和第一級得到 C_s 、 G_s 、 σ_p 和 ϵ_p 。

爲了再次驗證線性假設在低溶液導電度的可行性，如(2-36)式和(2-39)式中所示，我們採用 Arnold and Zimmermann(1988)中的數據點來進行驗證，選用其數據的原因是因爲該篇文獻中的溶液導電度非常小，因此相當符合我們推導中的條件，其數據如圖(4-14)所示。我們將其數據判讀出來後，一樣以本研究中的五級簡化理論去分析，其結果如表(4-11)所示。從結果可以看出在溶液導電度 0.36~1.2(mS/m)的溶液中，從第五級至第一級的計算值近乎相同，這也可以再次驗證我們在(2-36)式和(2-39)式中所推導出的線性假設使用條件，也就是溶液導電度小於 10(mS/m)的結果是可靠的。



4-3 穿越頻率的量測與細胞電性分析

在章節中，我們利用與量測 CMF 相同的晶片，如圖(4-1)所示，去量測生物細胞的穿越頻率，並且進一步的利用我們於本研究中所提出的五級簡化模型去計算出生物細胞的電性，並進一步的與使用 CMF 所得到的電性做比較與討論。

4-3-1 穿越頻率量測結果

根據上述方法，我們可以得到三種細胞的穿越頻率與溶液導電度的關係如表(4-12)以及圖(4-15)。經由實驗結果我們可以發現，首先，三種細胞的穿越頻率與溶液導電度的線性關係大致上來說是存在的，甚至在低導電度(<10.3(mS/m))的幾個數據點，線性關係更加顯著。由於我們使用的溶液導電度約在

3.1(mS/m)~43.2(mS/m)，基本上符合式(2-34a)中所提到的假設，因此，此結果符合我們理論推測。第二，由數據可知，CL1-0、CL1-5 和 Colo205 在溶液導電度為 10.3(mS/m)時的穿越頻率分別為 31(kHz)、25(kHz)和 45(kHz)，與我們在圖(4-3)、(4-5)和(4-7)所預測的 33(kHz)~34(kHz)、16(kHz)~17(kHz)和 52(kHz)~56(kHz)約有 9.7%~36%的誤差，因此可說明由 CMF 所預測的穿越頻率基本具有參考性，但若要相對精確的穿越頻率，還是以實際實驗數據為主較佳。

4-3-2 細胞電性分析

利用表(4-12)的數據以及本研究中討論到的五級簡化模型，我們可將數據利用五級簡化模型來進行與表(4-10)相同的分析，結果如表(4-13)所示。由表(4-13)我們可以看出，首先，無論哪種細胞，由第一級至第五級簡化所得到的結果均相去不遠，其原因是因為我們所使用溶液導電度 3.1(mS/m)~43.2(mS/m)基本夠低且細胞性質均滿足各級簡化中，忽略的項目均小主要項目三個階數以上的假設，因此，五級簡化的結果相去不遠是符合期待的。第二，由第一級結果來分析可看出 CL1-0、CL1-5 和 Colo205 的細胞膜電容值分別為 7.95(mF/m²)、7.27(mF/m²)和 5.24(mF/m²)；細胞膜電導值則分別為 662(S/m²)、1245(S/m²)和 512(S/m²)；原生質導電度分別為 0.935、0.862 和 0.828；原生質介電係數分別為 93、114 和 153。再者，若想分析此法與利用 CMF 所得到的值間的誤差則分別為，細胞膜電容值部分為 26.4%、15.8%和 1%；細胞膜電導值部分為 15.7%、17.8%和 8.1%；原生質導電度部分為 21.4%、1.9%和 1.2%；原生質介電係數部分為 6.9%、22.8%和 13.1%。由此可見，無論哪一個參數使用兩種方法所得到的值誤差最大不超過 26.4%，因此可以說兩種方法事實上都是可行的方法。此外，在 CMF 中所看到的 CL1-5 得細胞膜電導值較其它兩種大一倍左右的現象依然存在，因此，若我們想利用細胞電性來區分 CL1-0 與 CL1-5 的話，細胞膜電導值，或者說是細胞膜的導電度是一個比較好去著手的部分。

第五章 結論與展望

5-1 結論

第一部分是我們已經成功的利用近牆廣義介電泳量測出不同種生物細胞，包含 CL1-0、CL1-5 與 Colo205，的細胞電性，包含細胞膜電容值、細胞膜電導值、原生質導電度以及原生質介電係數等。第二部分是本研究中已經成功地改進了現有利用穿越頻率或尖端頻率去計算細胞電性的理論，並建立了五級簡化模式以及其分別的使用限制和條件。最後一部分為利用第二部分所改進的理論搭配現有的生物細胞再次以與第一部分不同的方法計算得到如第一部分所提到的生物細胞性質，增加本研究所使用的生物細胞電性的可靠度。

5-1-1 柯莫氏因子的量測與細胞電性分析結果

1. 當溶液導電度為 $0.117(\text{S/m})$ 時，CL1-0、CL1-5 與 Colo205 的 CMF 約為 $-0.218\sim-0.303$ 、 $-0.205\sim-0.173$ 與 $-0.349\sim-0.167$ ；且穿越頻率約在 $175\sim 212(\text{kHz})$ 、 $233\sim 250(\text{kHz})$ 與 $304\sim 320(\text{kHz})$ ；當溶液導電度為 $0.014(\text{S/m})$ 時，CL1-0、CL1-5 與 Colo205 的 CMF 約為 $-0.312\sim-0.554$ 、 $-0.177\sim-0.509$ 與 $-0.247\sim-0.587$ 且穿越頻率約在 $33\sim 34(\text{kHz})$ 、 $16\sim 17(\text{kHz})$ 與 $52\sim 56(\text{kHz})$ 。
2. 對細胞膜來說，三種不同的細胞電容值的部分是差不多的，約在 $4.54\sim 6.14(\text{mF/m}^2)$ ，而電導值(conductance)的部分則是 CL1-5 的 $903\sim 1023(\text{S/m}^2)$ 略大於 CL1-0 與 Colo205 的 $492\sim 602(\text{S/m}^2)$ ；另一方面，對原生質的導電度(conductivity)來說，三種細胞的差異均不大，導電度約在 $0.701\sim 0.865(\text{S/m})$ 而

對相對介電係來說,CL1-5 的 74~87 則是略小於 CL1-0 與 Colo205 的 95~133。此外,若使用 Lo and Lei(2011)中以與本研究相同的晶片設計所得到的結果來看,對細胞膜來說,三種不同的細胞電容值的部分是差不多的,約在 4.97~5.92(mF/m²),而電導值的部分則是 CL1-5 的 921~997(S/m²)略大於 CL1-0 與 Colo205 的 561~603(S/m²);另一方面,對原生質的導電度來說,三種細胞的差異均不大,導電度約在 0.842~1.165(S/m)而對相對介電係來說,CL1-5 的 72~102 則是略小於 CL1-0 與 Colo205 的 78~142。

3. Dispersion 效應方面,對細胞膜來說相對不重要,而對原生質來說則相對重要,尤其在高頻的部分。原生質部分,相對介電係數約在電場頻率達 10MHz 後開始有下降的趨勢,而導電度則是有上升的趨勢。
4. 原生質相對介電係數從 10MHz 至 40MHz 下降的幅度對 CL1-0、CL1-5 和 Colo205 來說分別為 29.3%、13.9%和 9.9%,而對導電度來說上升的幅度分別為 42%、24.8%和 9.6%。

5-1-2 使用穿越頻率和尖端頻率計算細胞電性的理論分

析與現有理論的改進

1. 改進原有理論的五級簡化理論模式已經成功地被建立並且驗證。
2. 第四級與第四級*和第四級**的結果相似,這可以說明 $\epsilon_m \ll \tilde{\epsilon}_p$ 假設是合理的,而且我們可以使用任何一個第四級來代表整個第四級與其他級數做比較。
3. 第四級的簡化至少對高溶液導電度的電旋轉(ER)實驗來說是無法使用的。
4. 第三級、第四級與第五級在簡化過程中簡化掉的項均至少小含有 G_s 的項一個

階數以上，第一級、第二級與第三級這三個級數所得到的計算答案會相符是符合預測的。

5. 在 48.7(mS/m)~101.4(mS/m)這個群體中的 ER 與 DEP 的結果，在第一級(第二級與第三級也類似)中， C_s 、 G_s 、 σ_p 與 ϵ_p 的差異度分別為 37%、19%、8.8% 與 44%；另一方面，在 11.5mS/m)~42.5(mS/m)這個群體中， C_s 、 G_s 、 σ_p 與 ϵ_p 的差異度分別為 23%、14%、33%與 26%。
6. 我們可以發現不同溶液導電度在第一級計算下各個參數的結果均差不多，因此可以推斷細胞電性不會隨著溶液導電度來改變。
7. 對 DEP 來說，在此種溶液導電度下(<101.4(mS/m))，無論哪一級得到的結果都是可以接受的，即使是第五級(即線性假設)。
8. 我們可以透過第五級得到 C_s 和 G_s ，透過第四級和第三級得到 C_s 、 G_s 和 σ_p ，以及透過第二級和第一級得到 C_s 、 G_s 、 σ_p 和 ϵ_p 。

5-1-3 穿越頻率的量測與細胞電性分析

1. 三種細胞的穿越頻率與溶液導電度的線性關係大致上來說是存在的，甚至在低導電度(<10.3(mS/m))的幾個數據點，線性關係更加顯著。
2. 無論哪種細胞，由第一級至第五級簡化所得到的結果均相去不遠，其原因是因為我們所使用溶液導電度 3.1(mS/m)~43.2(mS/m)基本夠低且細胞性質均滿足各級簡化中，忽略的項目均小主要項目三個階數以上的假設。
3. CL1-0、CL1-5 和 Colo205 的細胞膜電容值分別為 7.95(mF/m²)、7.27(mF/m²) 和 5.24(mF/m²)；細胞膜電導值則分別為 662(S/m²)、1245(S/m²)和 512(S/m²)；原生質導電度分別為 0.935、0.862 和 0.828；原生質介電係數分別為 93、114 和 153。

4. 利用穿越頻率搭配五級簡化模型與利用 CMF 所得到的細胞性質差距不大，最大不超過 26.4%，說明兩個方法均是可行的。
5. 若我們想利用細胞電性來區分 CL1-0 與 CL1-5 的話，細胞膜電導值，或者說是細胞膜的導電度會是一個比較好去著手的部分。

5-2 未來展望

本研究已經成功的量測出 CMF 實部和穿越頻率，並且分別利用他們計算出生物細胞的電性，此外，也成功地修改了一般常用的理論並整理出五級簡化模型，對於利用尖端頻率或穿越頻率去了解細胞電性的研究有更清楚了認識。在此，本研究作者對將來還希望達到的遠程目標大致有以下幾個：

1. 利用電旋轉或是旅波式介電泳量測出生物細胞的 CMF 虛部。因為除了實部之外，虛部也會是生物細胞特性中相當重要的一個部分，他直接關係著尖端頻率、最大電旋轉轉速和旅波式介電泳力等。此外，可以再進一步使用 CMF 虛部去計算生物細胞的電性，再與本研究中使用的部分做比較，以便更清楚的了解生物細胞。
2. 在生物細胞的電性被量測出來後，我們可以更進一步的使用這些電性去做相同細胞的分離、收集和分類等生醫上的應用。
3. 尋找另一個更為精確去量測穿越頻率或尖端頻率的方法。傳統文獻中(包含本研究)對於量測穿越頻率或是尖端頻率多少因為判斷上的因素使用了部分的近似，雖然結果顯示是正確的，但希望可以使用更為精確的方法去量測穿越頻率或尖端頻率。

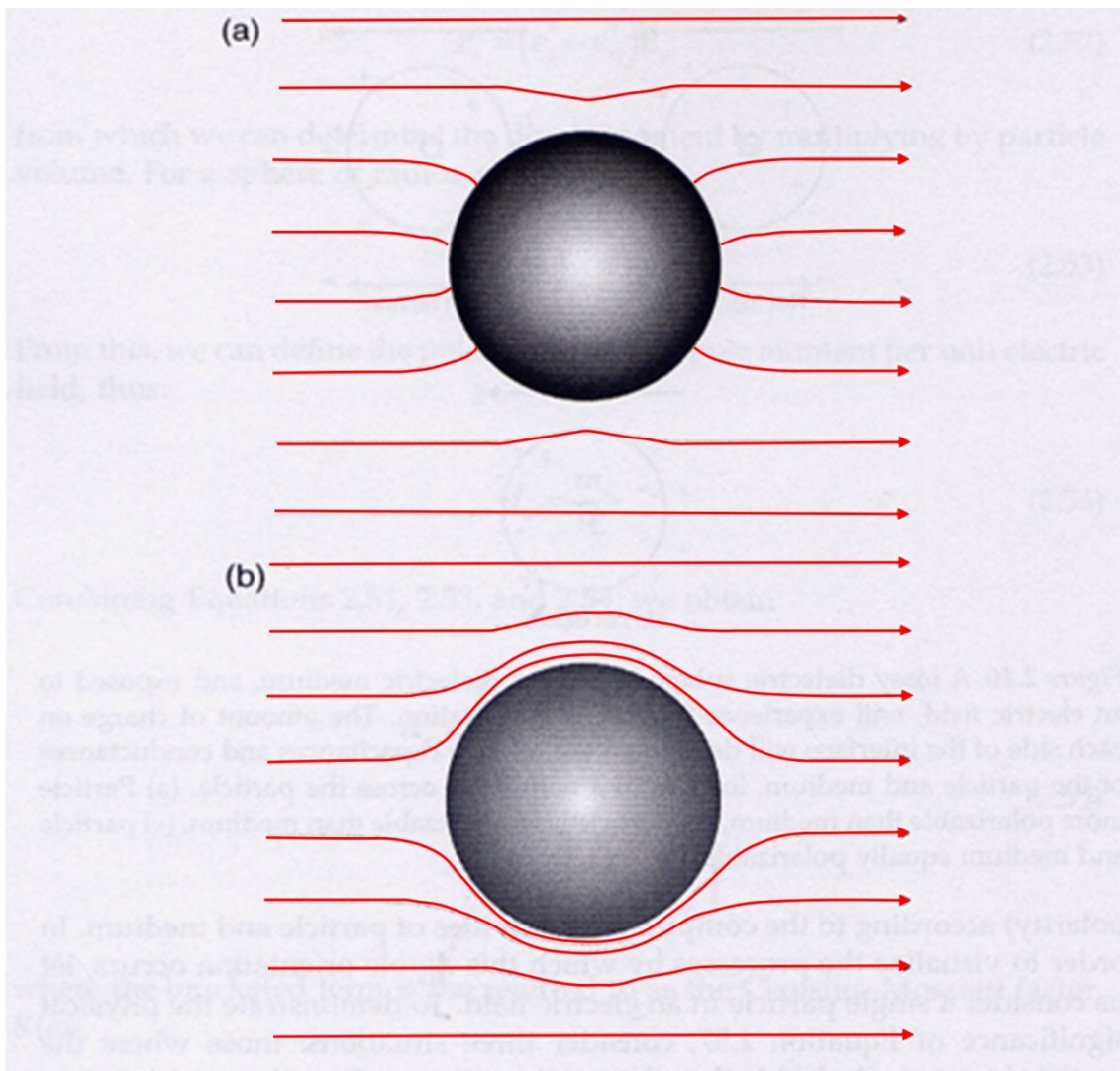
參考文獻與書目

1. Fung T.W., "Study of the cell separation and Delivery Using Dielectrophoresis", National Taiwan University Master Thesis, 2009.
2. Griffith D.J., "Introduction to Electrodynamics," Prentice Hall, New Jersey, 1999.
3. Happel J. and Brenner H., "Low Reynold number hydrodynamics", Martinus Nijhoff Publisher 1986.
4. Ho C.T., Lin R.Z., Chang W.Y., Chang H.Y., and Liu C.H., "Rapid heterogeneous liver-cell on-chip patterning via the enhanced field-induced dielectrophoretic trap", Lab on Chip **6**, 724-734, 2006.
5. Hu X.Y., Bessette P.H., Qian J.R., Meinhart C.D., Daugherty P.S., and Soh H.T., "Marker-specific sorting of rare cells using dielectrophoresis", Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **102 (44)**, 15757-15761, 2005.
6. Hughes M. P., "Nanoelectromechanics in Engineering and Biology", CRC PRESS, London, 2003.
7. Jan Gimsa, Torsten Moller, Thomas Schnelle, and Ginter Fuhr, "Dielectric Spectroscopy of Single Human Erythrocytes at Physiological Ionic Strength: Dispersion of the Cytoplasm", Biophysical Journal **Volume 71** July 1996 495-506.
8. Jones T. B., "Electromechanics of Particles", Cambridge University Press, Cambridge, 1995.
9. Lin Y.M., "Separation of bio-particles by dielectrophoresis and microfluidics", National Taiwan University Master Thesis, 2010.
10. Lo Y. J. and U. Lei, "Quasi-static force and torque on spherical particles under

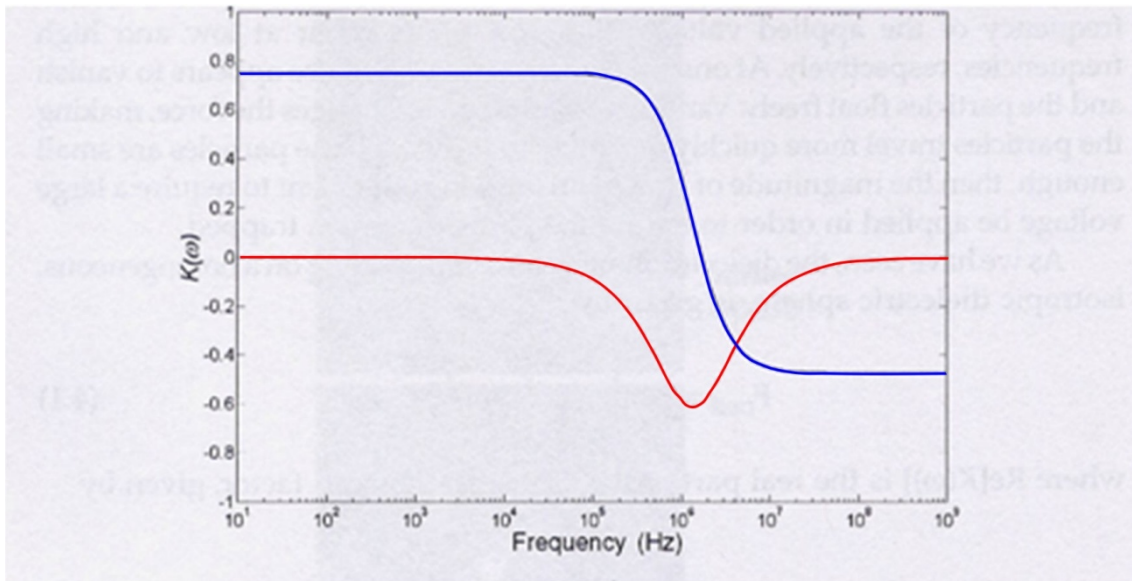
- generalized dielectrophoresis in the vicinity of walls”, *Applied Physics Letters*, **vol. 95**, 253701, 2009.
11. Lo Y. J., “Generalized Dielectrophoresis near Walls – Theory, Experiment and Application”, National Taiwan University Doctoral Dissertation, 2010.
 12. Lo Y.J. and U. Lei, “Measurement of the Clausius-Mossotti factor for dielectrophoresis,” The Second Conference on Advances in Microfluidics and Nanofluidics and Asian-Pacific International Symposium on Lab on Chip (AMN-APLOC 2011), Paper number: AMNA00107-00216, 5 - 7 January 2011, Singapore.
 13. Markx G. H., M. S. Talary, R. Pethig, “Separation of viable and non-viable yeast using dielectrophoresis”, *Journal of Biotechnology*, **vol. 32**, pp.29-37, 1994.
 14. Pohl H.A., “Dielectrophoresis the behavior of neutral matter in nonuniform electric fields”, Cambridge, Cambridge University Press, 1978.
 15. R. Pethig, L.M. Jakubek, R.H. Sanger, E. Heart, E.D. Corson and P.J.S. Smith,” Electrokinetic measurements of membrane capacitance and conductance for pancreatic b-cells”, *IEE Proc.-Nanobiotechnol.*, **Vol. 152**, No. 6, December 2005.
 16. T.B. Jones and G.A.Kkallio,” Dielectrophoretic levitation of spheres and shells”, *Journal of Electrostatics*, **6** (1979) 207—224.
 17. Wang X. B., Y. Huang, R. Holzel, J. P. H. Burt, R. Pethig, “Theoretical and experimental investigations of the interdependence of the dielectric, dielectrophoretic and electrorotational behaviour of colloidal particles”, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **vol. 26**, pp.312-322, 1993.
 18. W.M. Arnold and U. Zimmermann,” Electro-rotation: development of a technique for dielectric measurements on individual cells and particles”, *Journal of Electrostatics*, **21** (1988) 151-191.

19. Yang C. Y., U. Lei, "Dielectrophoretic force and torque on an ellipsoid in an arbitrary time varying electric field," Applied Physics letters, **vol. 90**, 153901, 2007.
20. Ying Huang, Xiao-Bo Wang, Frederick F. Becker, Peter R.C. Gascoyne," Membrane changes associated with the temperature-sensitive P85gag-m^os-dependent transformation of rat kidney cells as determined by dielectrophoresis and electrorotation", Biochimica et Biophysica Acta **1282** (1996) 76-84.



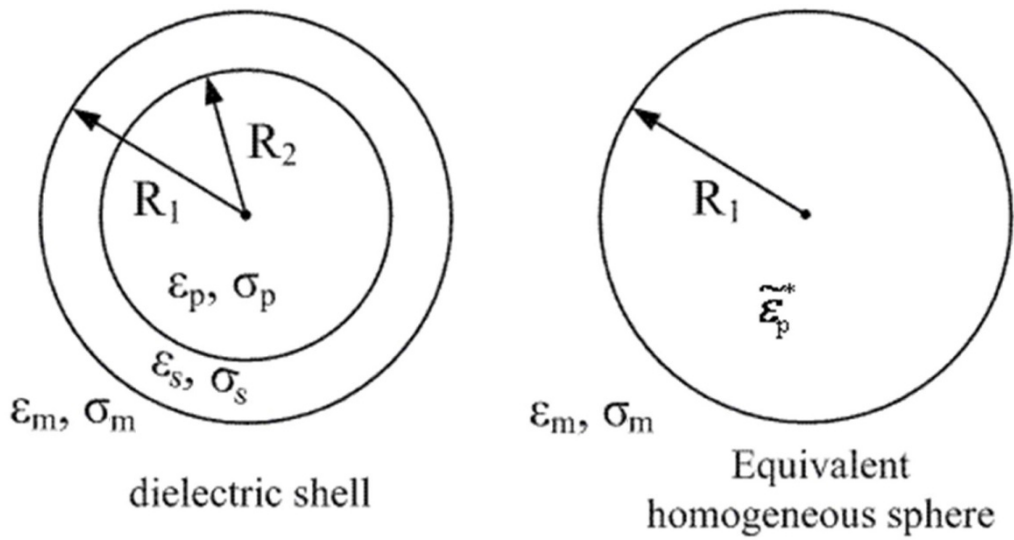


圖(2-1) 介電圓球在均勻電場中的電力線分佈示意圖。(a)為有導電性的介電圓球，此時有耗損(loss)。(b)為絕緣的介電圓球。本圖錄自 Hughes (2003)。



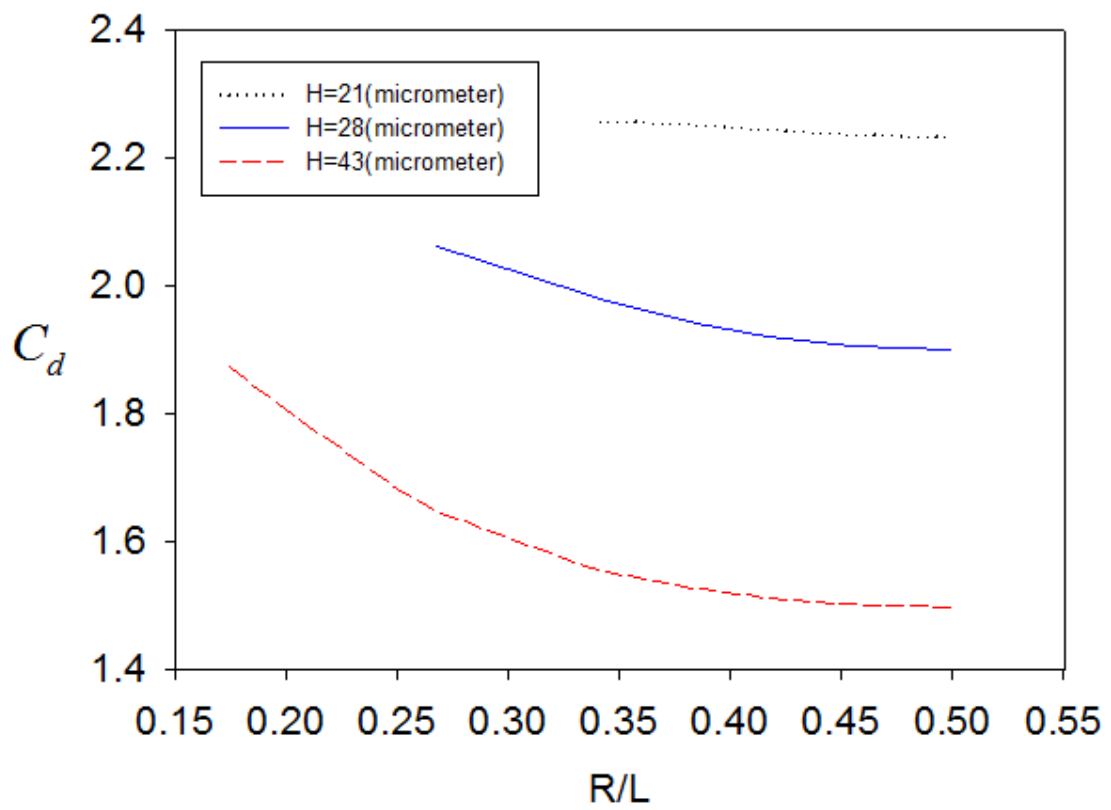
圖(2-2) 均質球狀微粒的 CMF 與操作頻率關係圖(其中介電常數與導電度均不是頻率的函數)。藍色線為 CMF 實部；紅色線為 CMF 虛部。可發現實部在高低頻率極限時都會趨近於一極限值，而虛部則會趨近於 0。本圖錄自 Hughes (2003)。





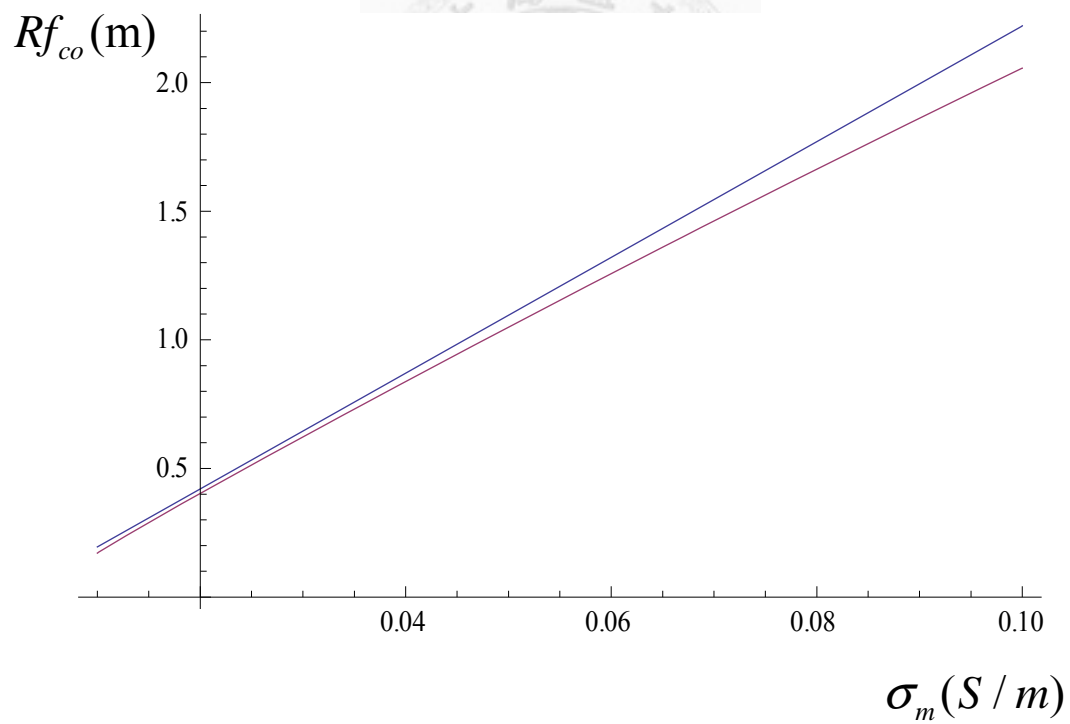
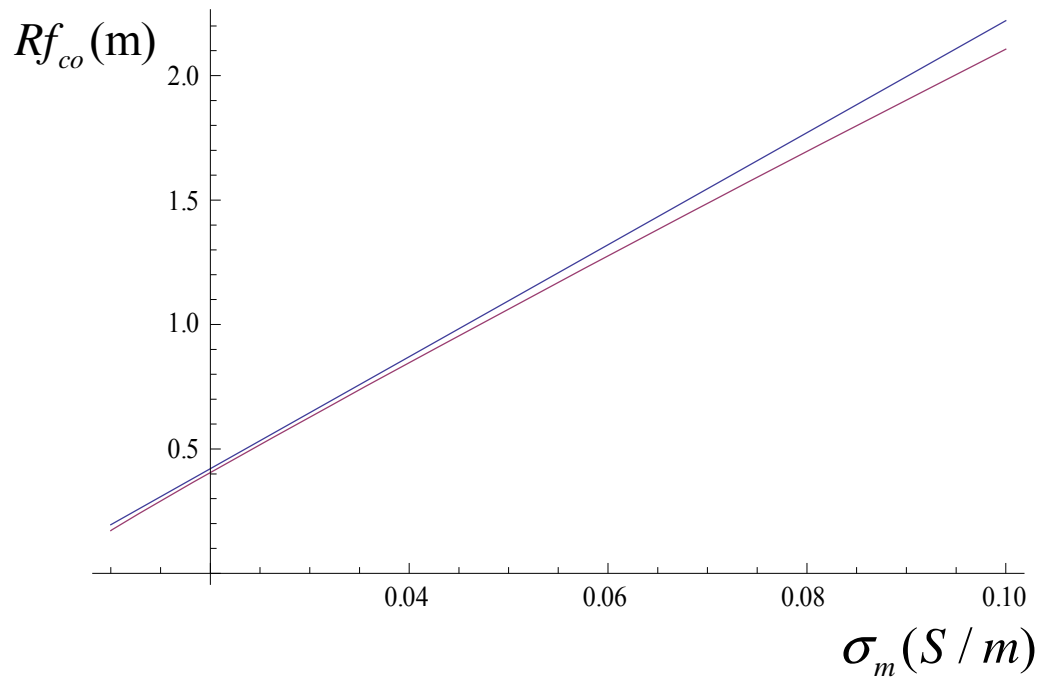
$\epsilon_p, \epsilon_s, \epsilon_m$: permittivity of particle interior, particle shell and surrounding medium
 $\sigma_p, \sigma_s, \sigma_m$: conductivity of particle interior, particle shell and surrounding medium
 $\tilde{\epsilon}_p^*$: equivalent complex permittivity of the particle

圖(2-3) 等效薄膜結構。(a)具有同心圓的生物粒子結構。(b)等效後的均勻粒子結構。
 本圖參考 Jones (1995)。

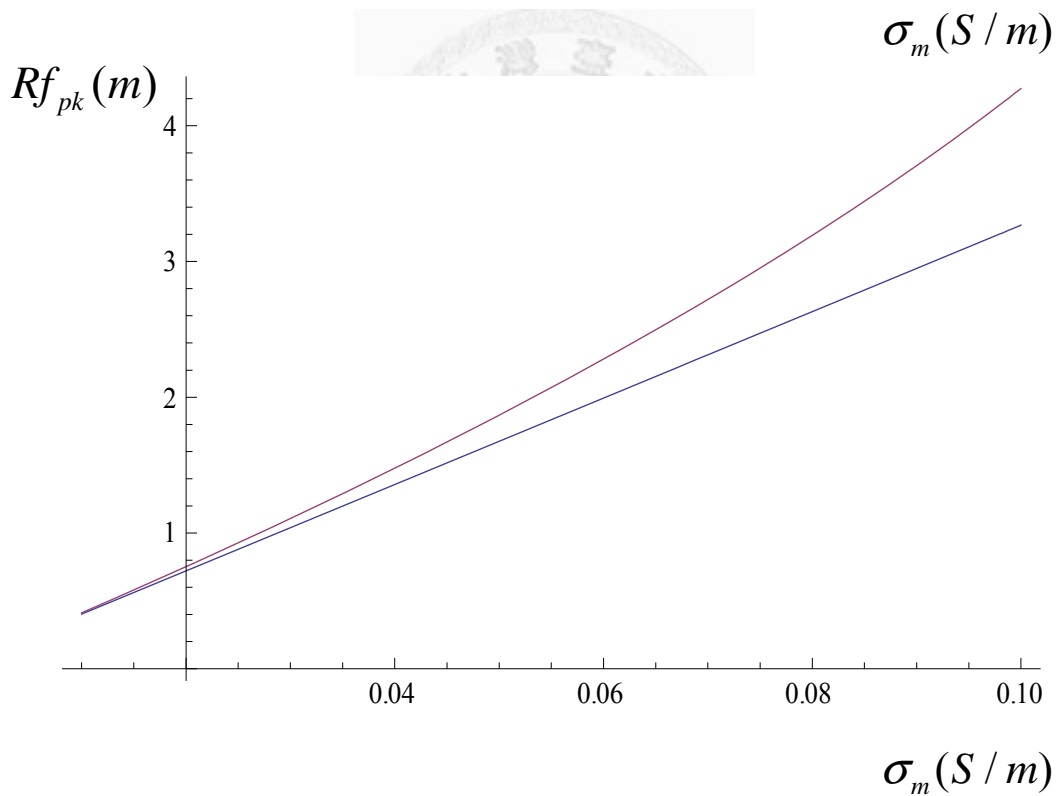
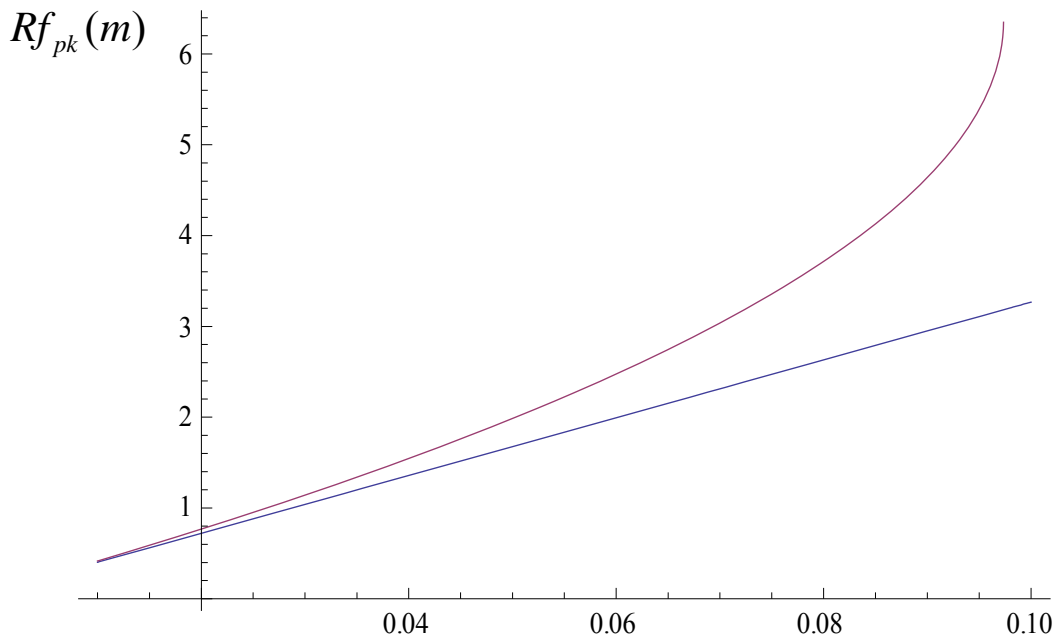


圖(2-4) 直徑 15 微米的圓球在不同高度的雙牆中，拖曳黏滯力修正係數與粒子在雙牆中位置的關係。

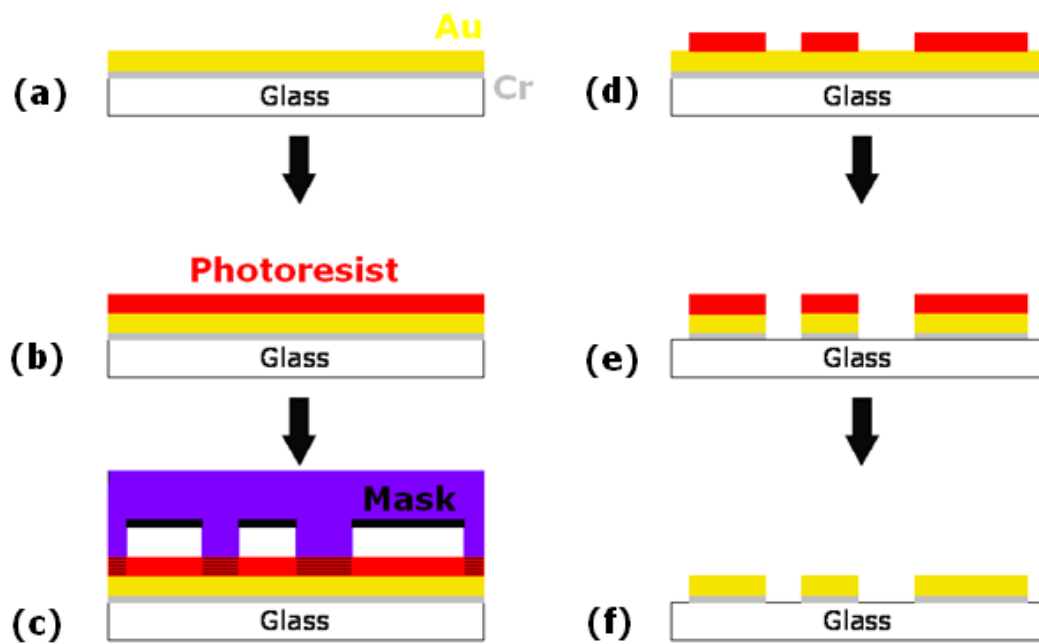




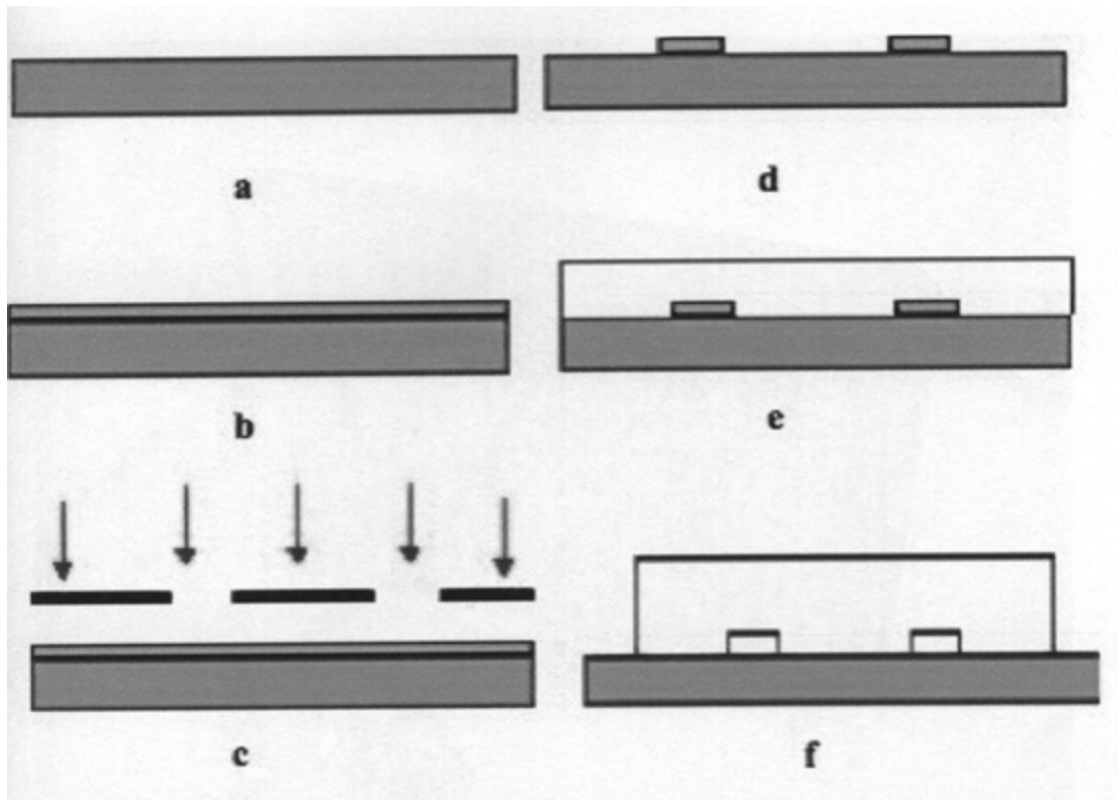
圖(2-5) 在不同的參數下，式子(2-29)與(2-34)的比較圖。藍色線為式(2-29)，紅色線為式(2-34)。上圖為粒子半徑 5.3 微米， $C_s = 0.01(Fm^{-2})$ ， $G_s = 1000(Sm^{-2})$ ， $\sigma_p = 1.14(Sm^{-1})$ ，下圖參數為粒子半徑 5.3 微米， $C_s = 0.01(Fm^{-2})$ ， $G_s = 1000(Sm^{-2})$ ， $\sigma_p = 0.8S(m^{-1})$ 。



圖(2-6) 在不同的參數下，式子(2-30)與(2-37)的比較圖。藍色線為式(2-30)，紅色線為式(2-37)。上圖為粒子半徑 5.3 微米， $C_s = 0.01(Fm^{-2})$ ， $G_s = 1000(Sm^{-2})$ ， $\sigma_p = 1.14(Sm^{-1})$ ，下圖參數為粒子半徑 5.3 微米， $C_s = 0.01(Fm^{-2})$ ， $G_s = 1000(Sm^{-2})$ ， $\sigma_p = 0.8S(m^{-1})$ 。



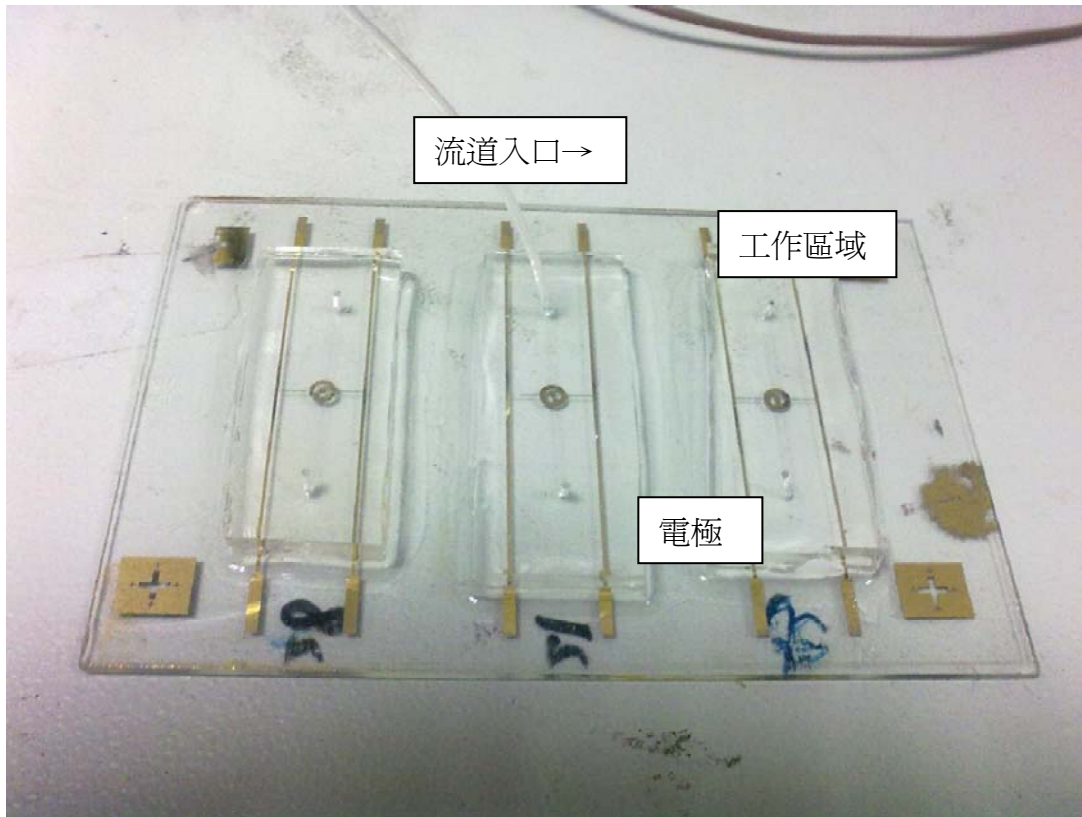
圖(3-1)運用微機電技術製造電極晶片的示意圖。(a)蒸鍍鉻黏著層及金導電層(b)塗佈光阻與軟烤(c)曝光(d)硬烤(e)蝕刻(f)去光阻(錄自 林鈺閔(2009))



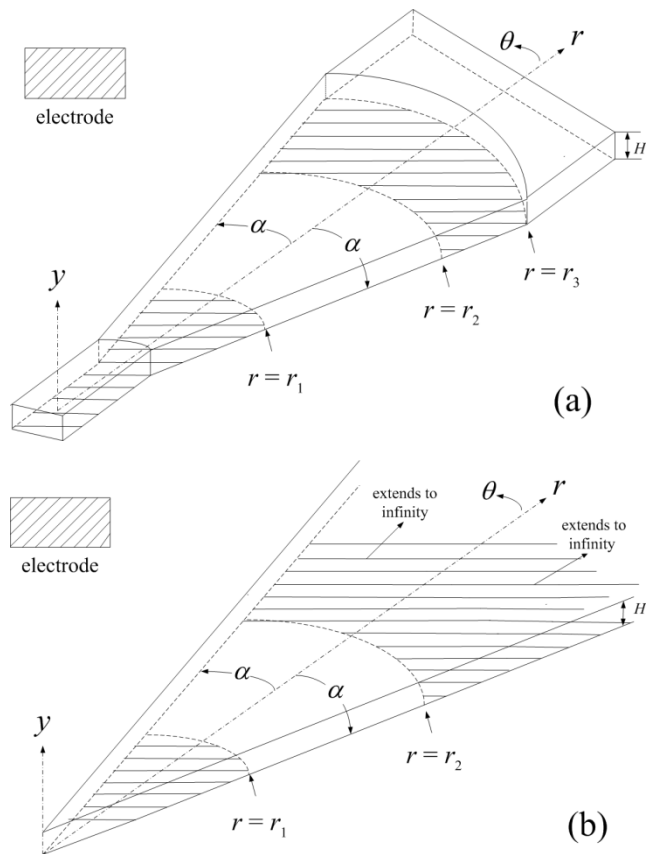
圖(3-2) 運用微機電技術製造微流道示意圖。(a)清洗玻璃(b)塗佈光阻、預烤、軟烤
(c) 曝光、曝後烤 (d)顯影、清洗(e)SU-8 澆注(f)翻模並與電極晶片結合(錄自 黃敬文(2008))

	
<p>(a)波型產生器</p>	<p>(b)光學顯微鏡與 CCD</p>
	
<p>(c)注射針筒</p>	<p>(d)超音波震洗機</p>
	
<p>(e)真空食物罐</p>	<p>(f)二氧化碳培養箱</p>

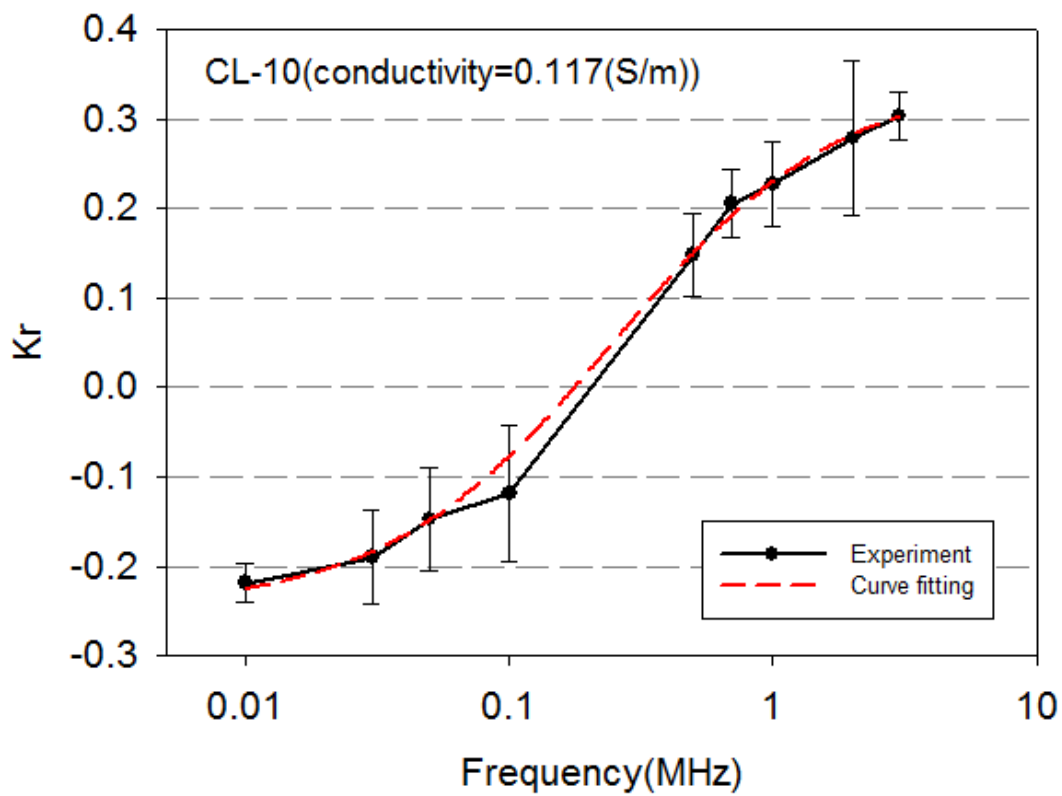
圖(3-3) 實驗設備。



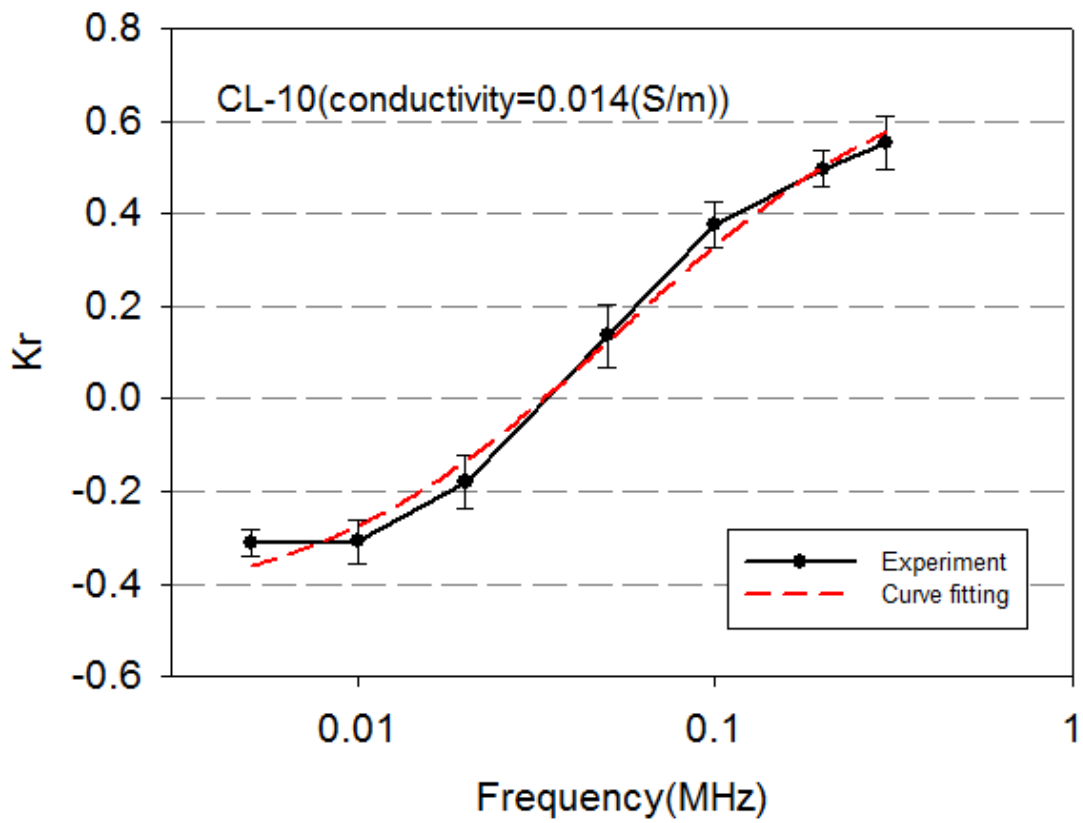
圖(3-4) 實驗晶片實體圖。



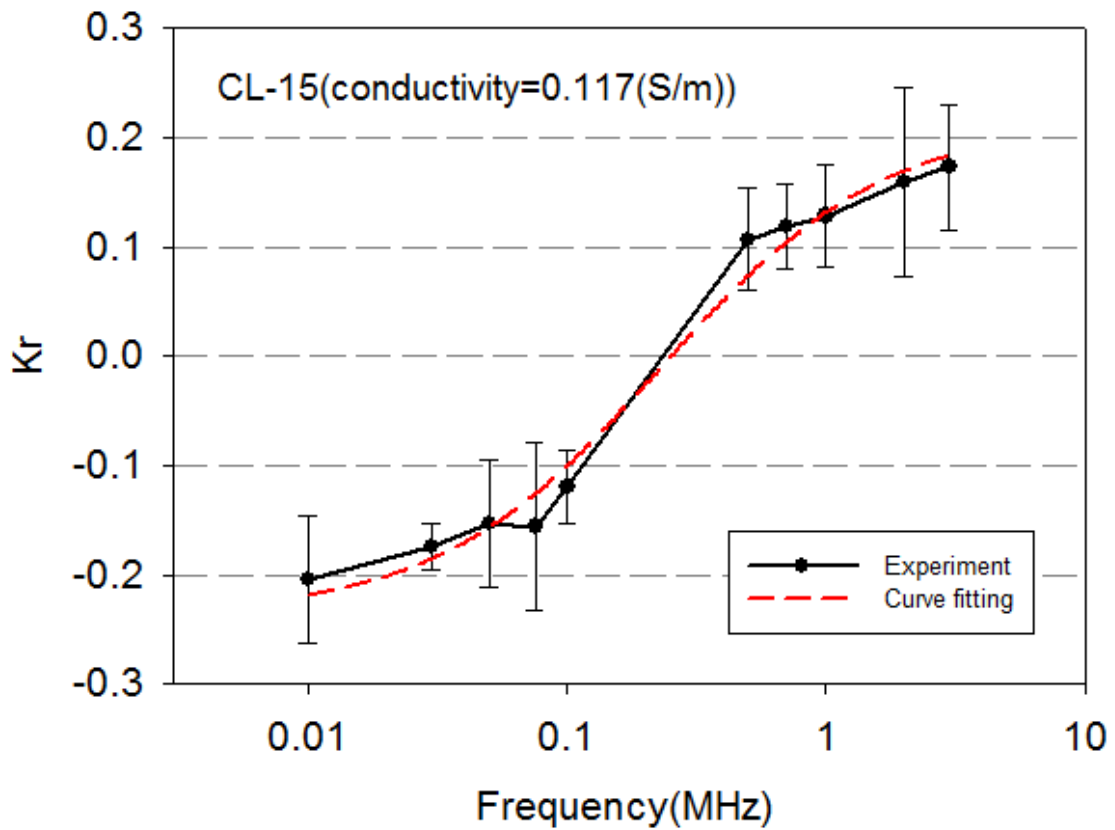
圖(4-1) (a)為本研究使用之晶片設計，其中幾何條件為 $r_1 = 300\mu m$, $r_2 = 700\mu m$, $r_3 = 1100\mu m$, $H = 21\mu m$, $2\alpha = 45^\circ$ 。(b)為理論上模型化的情形。(錄自 羅英傑(2010))



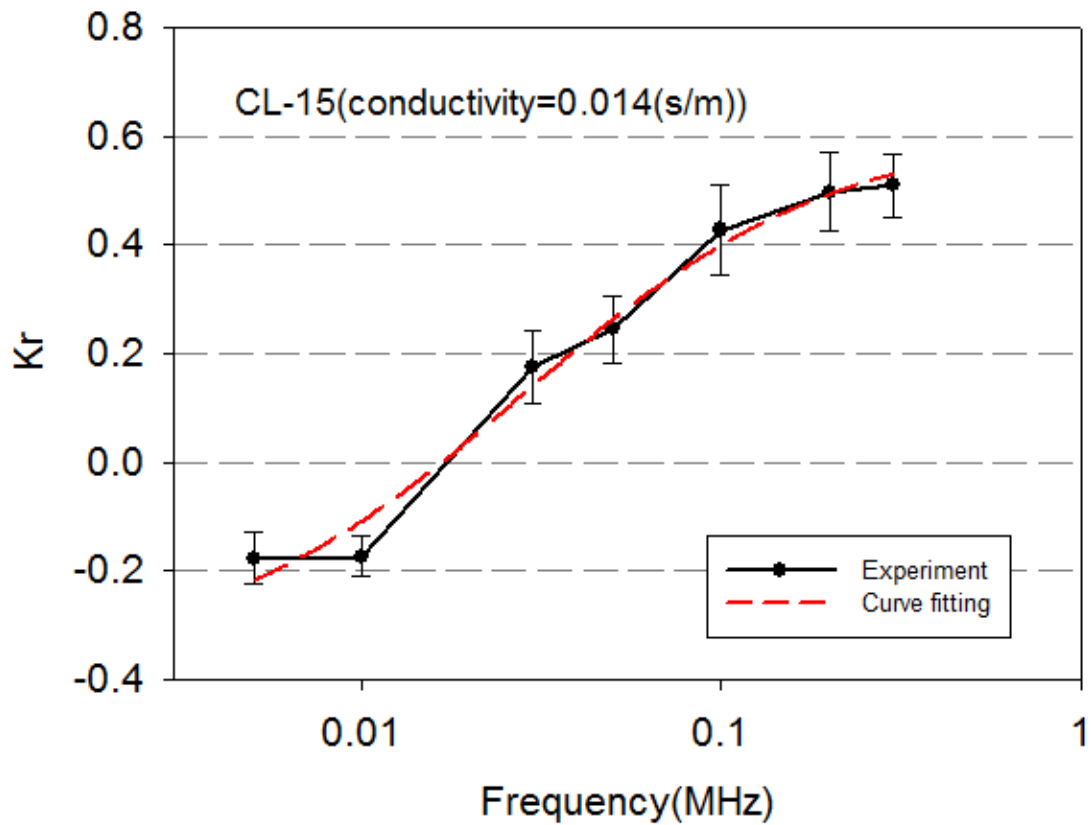
圖(4-2) CL1-0 在溶液導電度 0.117(s/m)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。利用實驗數據做線性內插所得的穿越頻率為 214(kHz)，利用 Curve fitting*的則為 175(kHz)。*：使用 CMF 的定義，如(2-8)式，做曲線回歸。



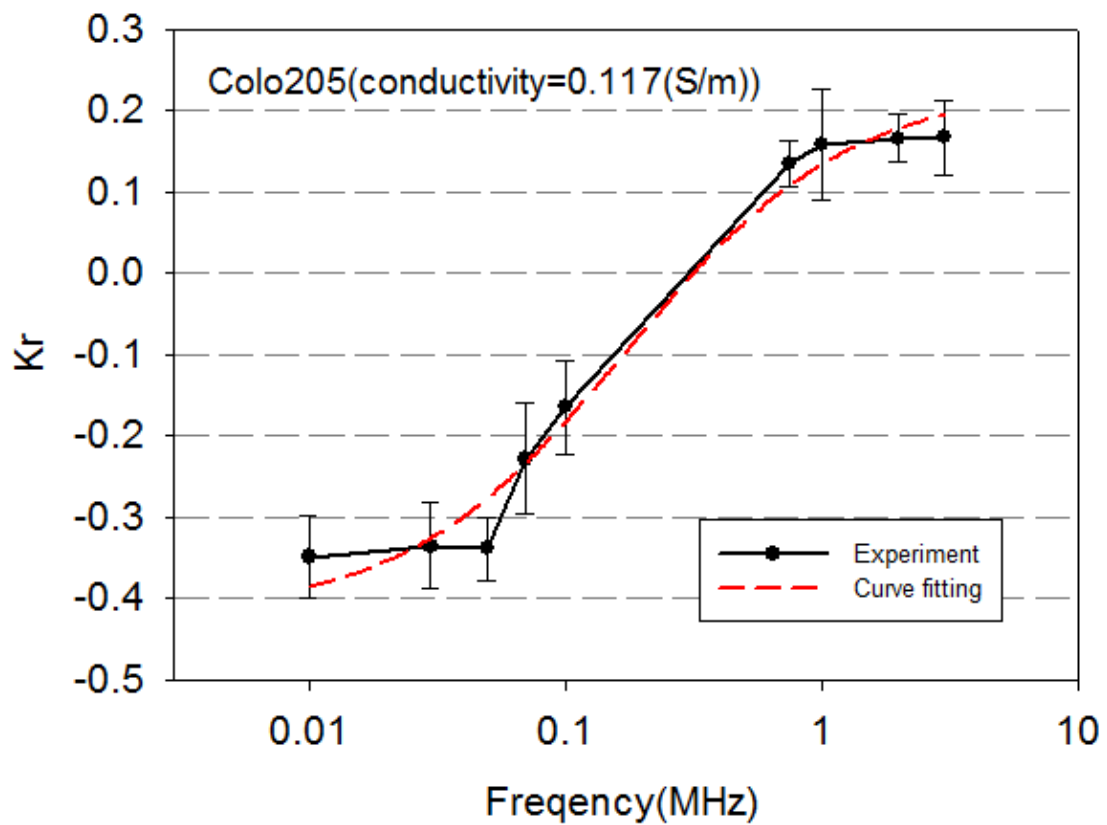
圖(4-3) CL1-0 在溶液導電度 0.014(s/m)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。利用實驗數據做線性內插所得的穿越頻率為 34(kHz)，利用 Curve fitting*的則為 33(kHz)。*：如圖(4-2)所述。



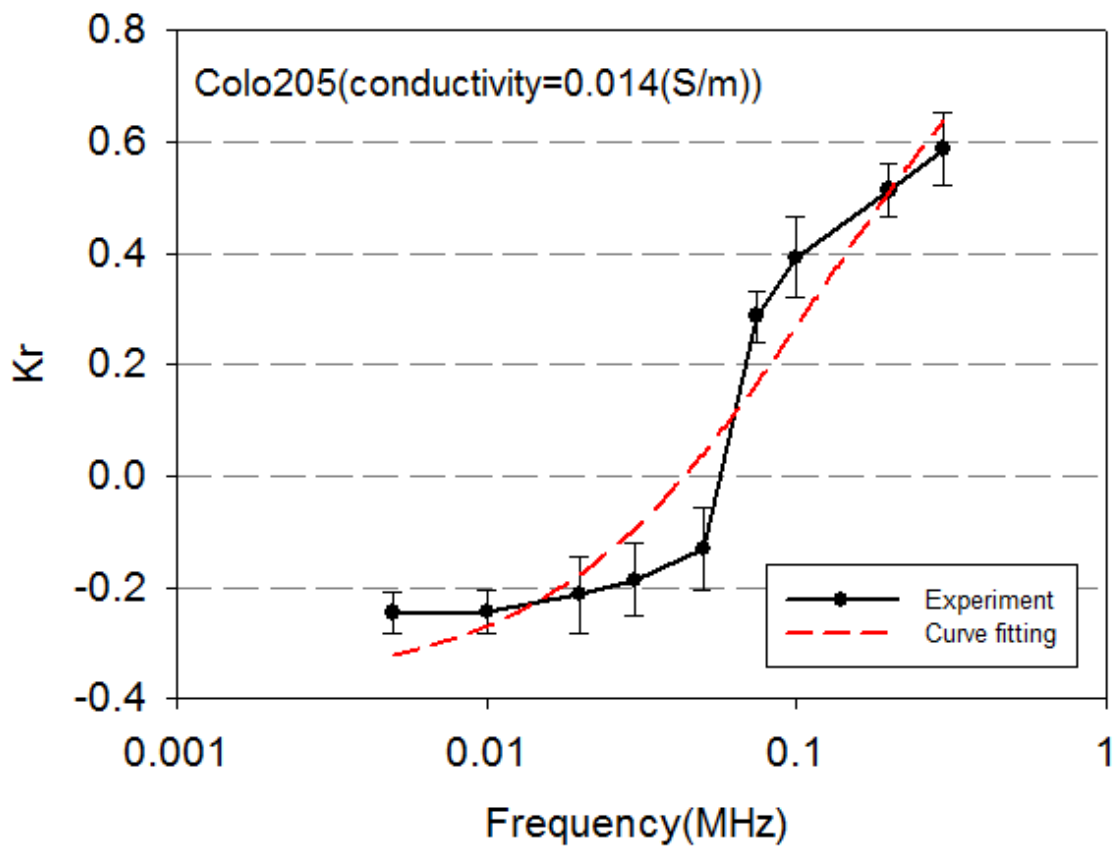
圖(4-4) CL1-5 在溶液導電度 0.117(s/m)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。利用實驗數據做線性內插所得的穿越頻率為 233(kHz)，利用 Curve fitting*的則為 250(kHZ)。*：如圖(4-2)所述。



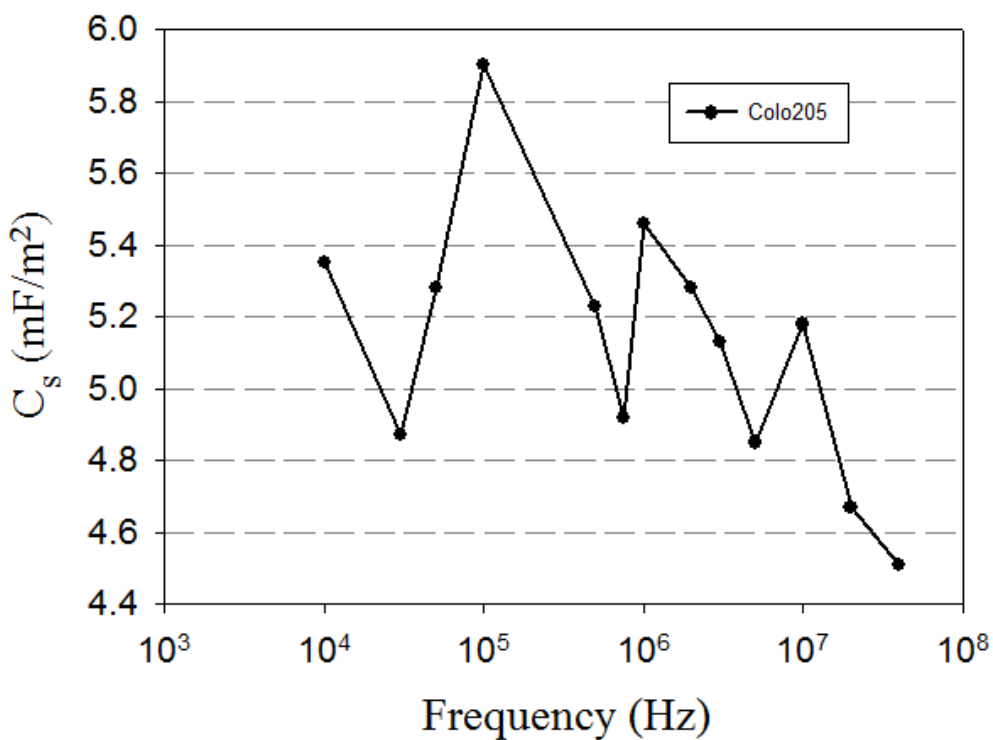
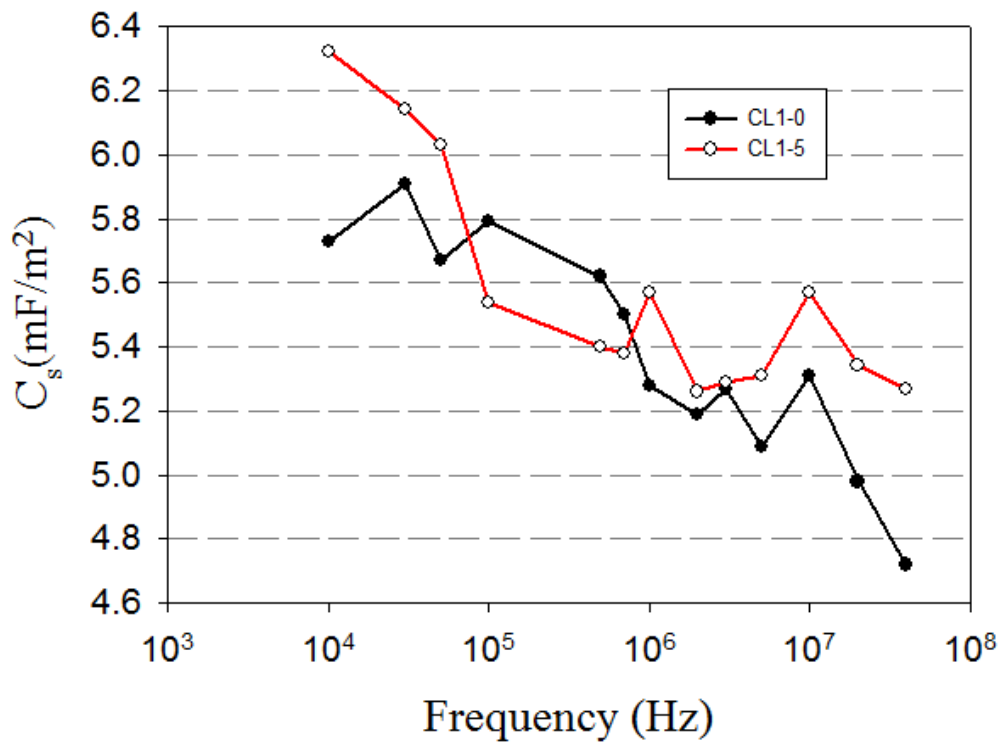
圖(4-5) CL1-5 在溶液導電度 0.014(s/m)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。利用實驗數據做線性內插所得的穿越頻率為 17(kHz)，利用 Curve fitting*的則為 16(kHz)。*：如圖(4-2)所述。



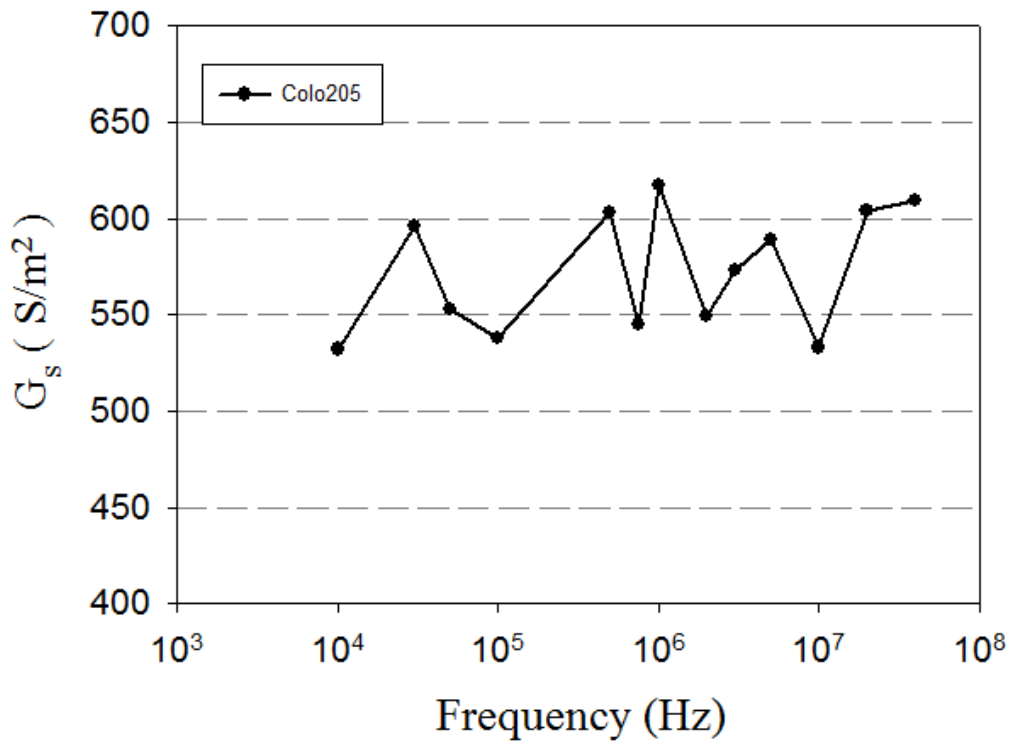
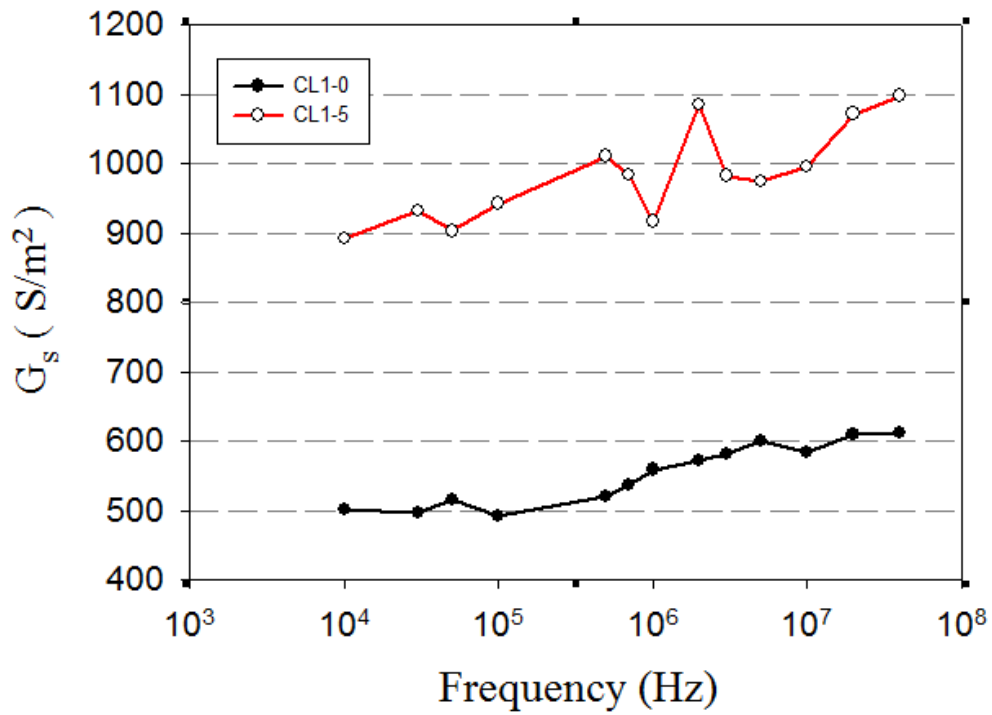
圖(4-6) Colo205 在溶液導電度 0.117(s/m)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。利用實驗數據做線性內插所得的穿越頻率為 304(kHz)，利用 Curve fitting*的則為 320(kHz)。*：如圖(4-2)所述。



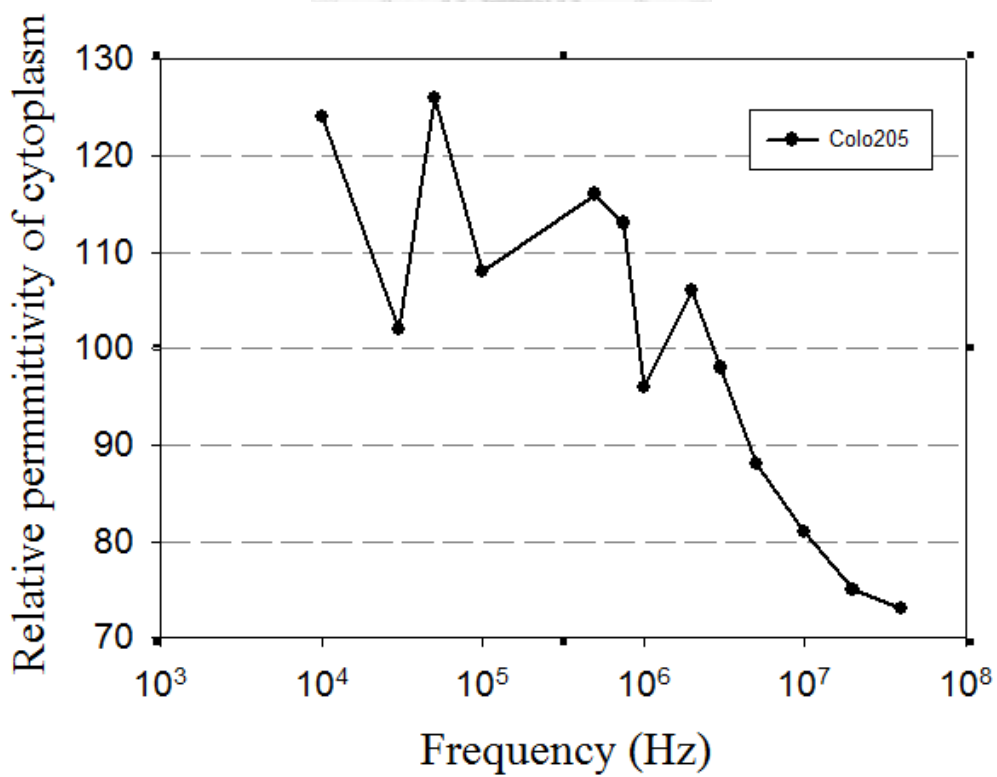
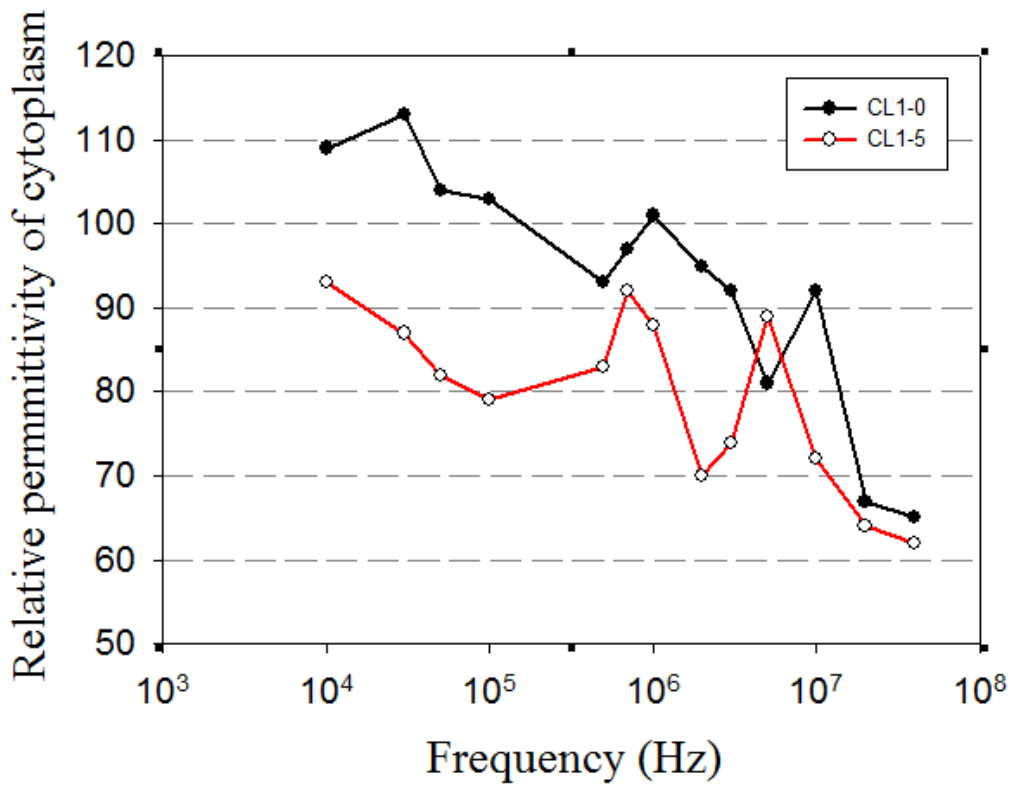
圖(4-7) Colo205 在溶液導電度 0.014(s/m)的溶液下，CMF 實部與施加電場頻率的關係。利用實驗數據做線性內插所得的穿越頻率為 56(kHz)，利用 Curve fitting*的則為 52(kHz)。*：如圖(4-2)所述。



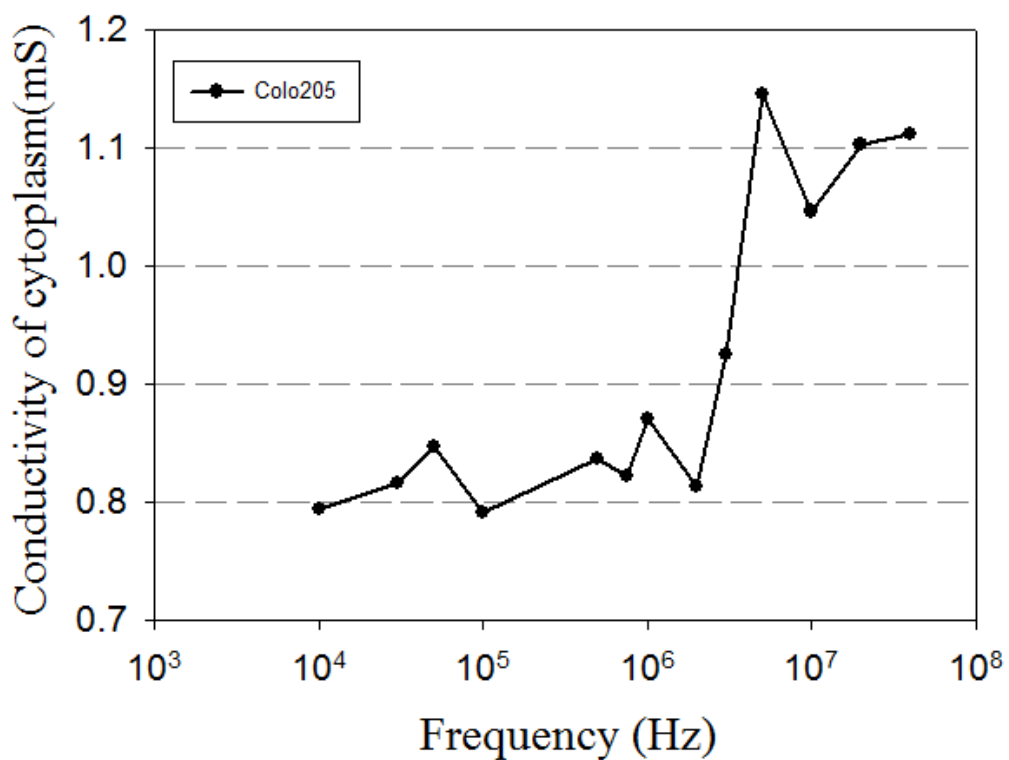
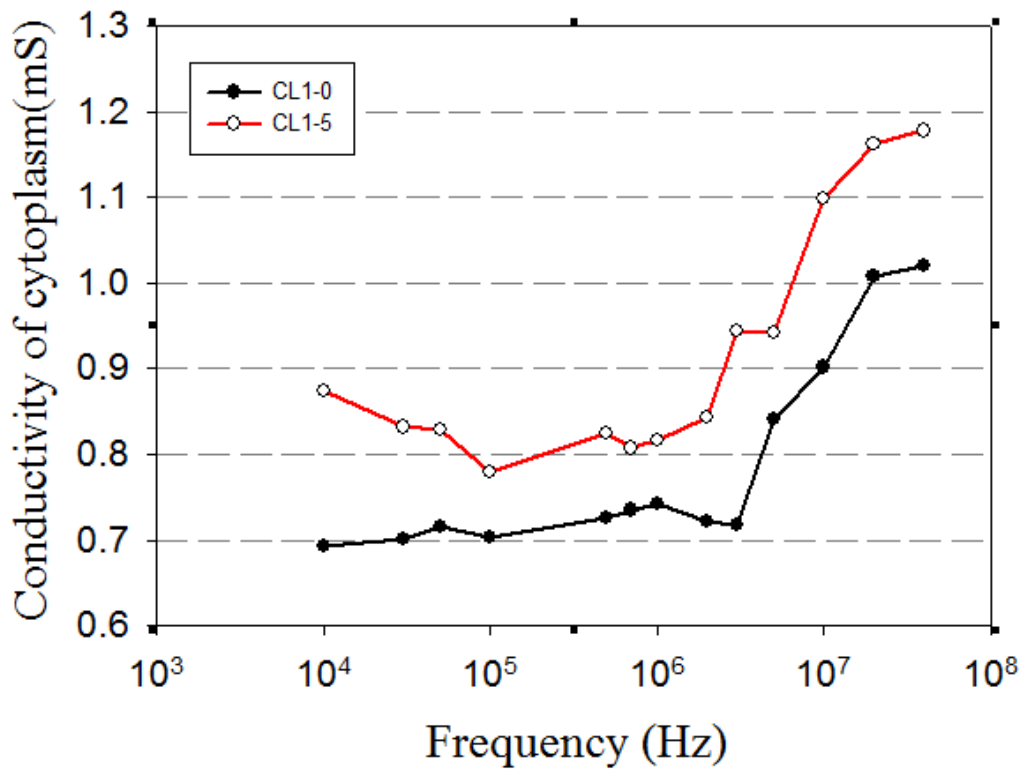
圖(4-8) (a)在假設細胞電性不受溶液導電度的影響下，CL1-0 和 CL1-5 的細胞膜電容值與電場頻率的關係。(b)Colo205 的細胞膜電容值與電場頻率的關係。



圖(4-9) (a)在假設細胞電性不受溶液導電度的影響下，CL1-0 和 CL1-5 的細胞膜電導值與電場頻率的關係。(b)Colo205 的細胞膜電導值與電場頻率的關係。

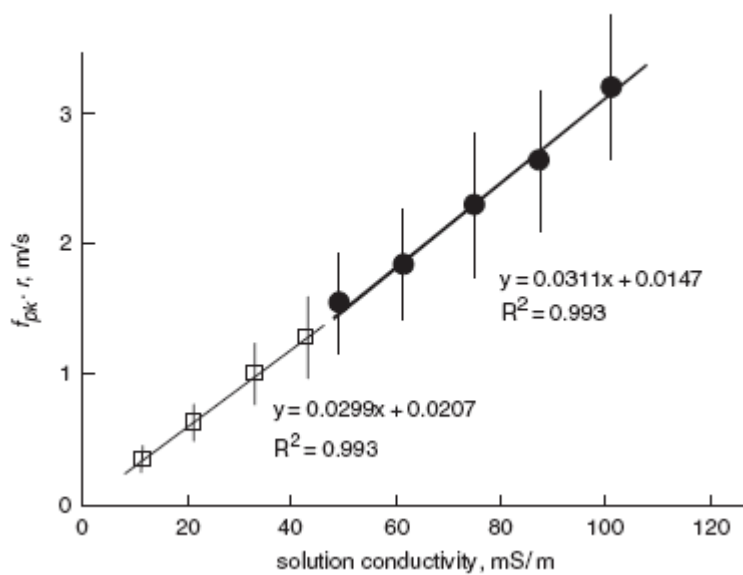


圖(4-10) (a)在假設細胞電性不受溶液導電度的影響下，CL1-0 和 CL1-5 的原生質介電常數與電場頻率的關係。(b)Colo205 的原生質介電常數與電場頻率的關係。



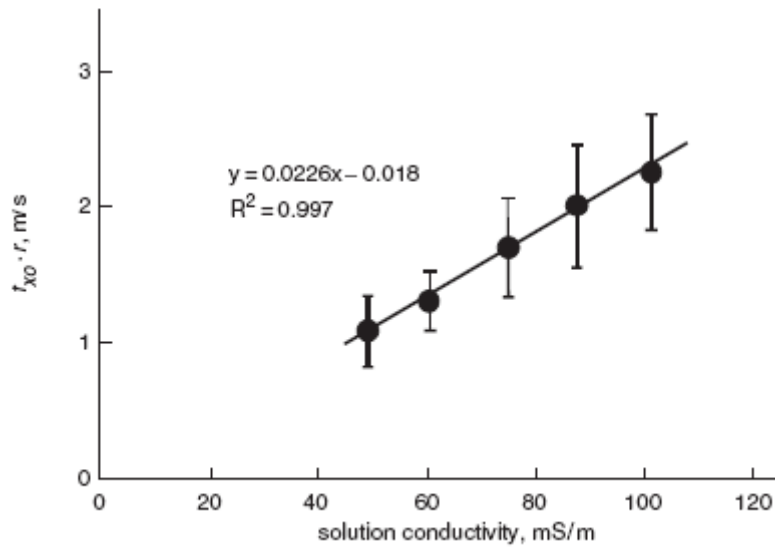
圖(4-11) (a)在假設細胞電性不受溶液導電度的影響下，CL1-0 和 CL1-5 的原生質導電度與電場頻率的關係。(b)Colo205 的原生質導電度與電場頻率的關係。

Conductivity, mSm^{-1}	Cells, n	Radius r , μm	$f_{pk} \cdot r$, ms^{-1}
Range 1			
11.5	15	5.3 (0.76)	0.39 (0.10)
21.7	21	5.6 (0.84)	0.62 (0.14)
32.8	15	5.6 (0.54)	1.03 (0.22)
42.5	19	5.3 (0.63)	1.29 (0.30)
Range 2			
48.7	25	4.95 (0.67)	1.58 (0.40)
60.3	15	5.28 (0.77)	1.85 (0.43)
74.9	24	5.61 (0.70)	2.34 (0.67)
86.9	20	5.28 (0.67)	2.66 (0.54)
101.4	24	5.61 (0.71)	3.23 (0.66)

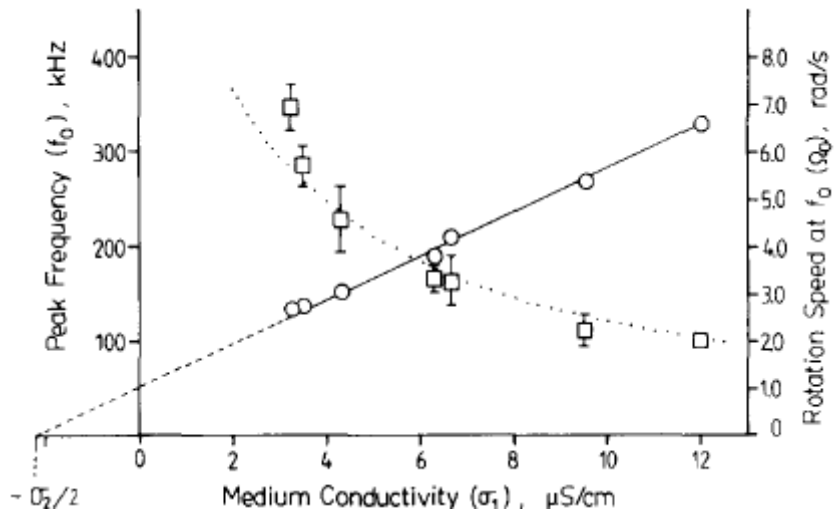


圖(4-12) Pethig et al.,(2005)中，不同的溶液導電度對應不同的尖端頻率與回歸線分析。

Conductivity, mSm^{-1}	Cells, n	Radius r , μm	$f_{\text{XO},r}$, ms^{-1}
48.7	19	5.24 (0.45)	1.08 (0.26)
60.3	14	5.72 (0.86)	1.33 (0.21)
74.9	15	5.28 (0.70)	1.69 (0.38)
86.9	18	4.96 (0.68)	1.98 (0.47)
101.4	20	5.28 (0.63)	2.25 (0.43)

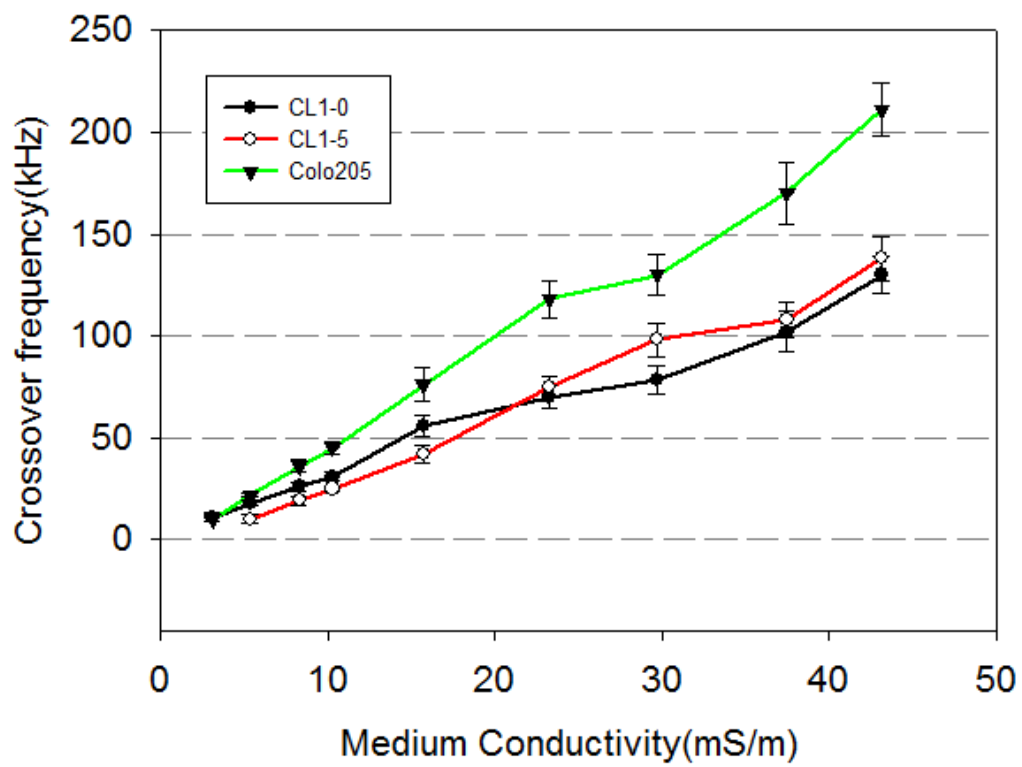


圖(4-13) Pethig et al.,(2005)中，不同的溶液導電度對應不同的穿越頻率與回歸線分析。



圖(4-14) 尖端頻率、尖端旋轉速率與溶液導電度的關係。(Arnold and Zimmermann, 1988)





圖(4-15) 三種不同細胞的穿越頻率與溶液導電度的關係。



	$\epsilon_2 < \epsilon_1$	$\epsilon_2 > \epsilon_1$
$\sigma_2 > \sigma_1$	Stable levitation at high frequencies only Cutoff frequency exists	No stable levitation No cutoff frequency exists
$\sigma_2 < \sigma_1$	Stable levitation at all frequencies No cutoff frequency exists	Stable levitation at low frequencies only Cutoff frequency exists

表(2-1) 在不同的溶液導電度和介電細數與等效圓球的導電度與介電係數的搭配下，穿越頻率存在的情形。錄自Jones and Kallio (1978)。



Equation	$f_{pk}R$	$\frac{\sigma_m}{\pi C_s}$	$\frac{G_s R}{2\pi C_s}$	$\left(\frac{G_s R}{2\pi C_s}\right)\left(\frac{1}{f_{pk}R}\right)$
(2-31a)	0.39 (0.10) – 1.29 (0.30)	0.344 – 1.271	0.0207	5.3% – 1.6%
(2-31b)	1.58 (0.40) – 3.23 (0.66)	1.515 – 3.154	0.0147	0.93% – 0.46%

表(2-2) 按Pethig et al., (2005)的實驗結果，(2-31a)和(2-31b)式子中，各項的比較。
實驗數據後括號內數字表實驗標準差。



$f_{co}R$	$\frac{\sqrt{2}\sigma_m}{2\pi C_s}$	$\frac{\sqrt{2}G_s R}{8\pi C_s}$	$\left(\frac{\sqrt{2}G_s R}{8\pi C_s}\right)\left(\frac{1}{f_{co}R}\right)$
1.08 (0.26) – 2.25 (0.43)	1.101 – 2.292	0.018	1.6% – 0.8%

表(2-3) 按Pethig et al., (2005)的實驗結果，(2-32)式子中，各項的比較。實驗數據後括號內數字表實驗標準差。



Medium conductivity=0.117(S/m)

Freq. (Hz)	K_r			$\frac{ K_{r,exp} - K_{r,opt} }{K_{r,exp}} (\%)$		
	CL1-0	CL1-5	Colo205	CL1-0	CL1-5	Colo205
10k	-0.218(0.0219)	-0.205(0.0578)	-0.349(0.0497)	8.4	10.2	11.2
30k	-0.189(0.0528)	-0.175(0.0211)	-0.335(0.0539)	9.3	9.6	11.6
50k	-0.148(0.0582)	-0.153(0.0582)	-0.339(0.0384)	8.1	9.5	10.8
70k			-0.229(0.0683)			11.8
100k	-0.119(0.0762)	-0.120(0.0341)	-0.165(0.0572)	9.5	9.2	10.7
500k	0.148(0.0467)	0.107(0.0467)		9.7	10.4	
700k	0.206(0.0385)	0.119(0.0383)		8.2	9.6	
750k			0.135(0.0275)			11.6
1M	0.227(0.0474)	0.128(0.0232)	0.160(0.0683)	9.1	10.1	11.8
2M	0.280(0.0863)	0.160(0.0863)	0.166(0.0687)	8.2	9.0	9.3
3M	0.303(0.0265)	0.173(0.0573)	0.167(0.0462)	8.6	8.9	9.5

表(4-1) 三種不同細胞在溶液導電度為0.117(S/m)的溶液中，CMF與施加頻率的關係，其中

係，其中 $\frac{|K_{r,exp} - K_{r,opt}|}{K_{r,exp}}$ 為實驗值與最佳化值得相對誤差。實驗數據後括號

內數字表實驗標準差。

Medium conductivity=0.014(S/m)

Freq. (Hz)	K_r			$\frac{ K_{r,exp} - K_{r,opt} }{K_{r,exp}} (\%)$		
	CL1-0	CL1-5	Colo205	CL1-0	CL1-5	Colo205
5k	-0.312(0.0285)	-0.177(0.0482)	-0.247(0.0384)	6.4	7.7	5.7
10k	-0.309(0.0482)	-0.174(0.0375)	-0.241(0.0582)	8.2	9.2	7.1
20k	-0.179(0.0572)		-0.236(0.0462)	6.6		6.7
30k		0.175(0.0682)	-0.213(0.0314)		10.1	6.3
50k	0.136(0.0692)	0.245(0.0616)	-0.132(0.0572)	7.9	9.7	7.8
75k			0.287(0.0642)			5.3
100k	0.376(0.0495)	0.427(0.0822)	0.392(0.0413)	8.4	10.4	7.6
200k	0.498(0.0384)	0.497(0.0726)	0.513(0.0532)	7.6	7.8	5.2
300k	0.554(0.0571)	0.509(0.0583)	0.587(0.0275)	7.9	8.7	6.9

表(4-2) 三種不同細胞在溶液導電度為0.014(S/m)的溶液中，CMF與施加頻率的關

係，其中 $\frac{|K_{r,exp} - K_{r,opt}|}{K_{r,exp}}$ 為實驗值與最佳化值得相對誤差。實驗數據後括號內數字表實驗標準差。

σ_m (S/m) Cell Properties	0.117			0.014		
	CL1-0	CL1-5	Colo205	CL1-0	CL1-5	Colo205
Numbers of data points	9	9	9	7	7	9
C_s (mF/m ²)	5.12	5.37	4.54	5.85	6.14	5.37
G_s (S/m ²)	572	1023	602	492	903	557
σ_p (S/m)	0.735	0.865	0.836	0.701	0.846	0.818
$\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$	95	74	104	119	87	133

表(4-3) 不同細胞在不同溶液導電度下利用CMF所計算出的細胞電性。



Medium conductivity=1.1(S/m)

Freq. (Hz)	K_r			$\frac{ K_{r,exp} - K_{r,opt} }{K_{r,exp}} (\%)$		
	CL1-0	CL1-5	Colo205	CL1-0	CL1-5	Colo205
500k			-0.216(0.0320)			3.9
1M	-0.156(0.0160)	-0.164(0.0126)	-0.197(0.0448)			3.1
5M	-0.143(0.0121)	-0.114(0.0139)	-0.180(0.0135)			2.7
10M	-0.134(0.0166)	-0.092(0.0104)	-0.143(0.0192)			2.8
20M			-0.159(0.0149)			3.4
40M	-0.243(0.0475)	-0.204(0.0340)				

表(4-4) 三種不同細胞在溶液導電度為1.1(S/m)的溶液中，CMF與施加頻率的關係，

其中 $\frac{|K_{r,exp} - K_{r,opt}|}{K_{r,exp}}$ 為實驗值與最佳化值得相對誤差。實驗數據後括號內數

字表實驗標準差。本表實驗結果錄自羅英傑(2010)。



Medium conductivity=0.105(S/m)

Freq. (Hz)	K_r			$\frac{ K_{r,exp} - K_{r,opt} }{K_{r,exp}} (\%)$		
	CL1-0	CL1-5	Colo205	CL1-0	CL1-5	Colo205
10k	-0.196(0.0221)	-0.214(0.0402)	-0.323(0.0201)	10.9	10.3	16.3
50k	-0.154(0.0211)	-0.153(0.0434)	-0.344(0.0245)	9.7	9.3	15.9
75k		-0.150(0.0286)			9.1	
100k	-0.107(0.0125)		-0.184(0.0116)	10.2		15.6
500k	0.165(0.0120)	0.106(0.0283)		10.6	11.5	
750k			0.157(0.0136)			13.3
1M	0.190(0.0341)	0.128(0.0232)	0.155(0.0212)	9.3	10.2	13.8
3M	0.290(0.0083)	0.172(0.0259)	0.143(0.0210)	10.4	8.7	14.1

表(4-5) 三種不同細胞在溶液導電度為0.105(S/m)的溶液中，CMF與施加頻率的關

係，其中 $\frac{|K_{r,exp} - K_{r,opt}|}{K_{r,exp}}$ 為實驗值與最佳化值得相對誤差。實驗數據後括號

內數字表實驗標準差。本表實驗結果錄自Lo and Lei(2011)。

Medium conductivity=0.0112(S/m)

Freq. (Hz)	K_r			$\frac{ K_{r,exp} - K_{r,opt} }{K_{r,exp}} (\%)$		
	CL1-0	CL1-5	Colo205	CL1-0	CL1-5	Colo205
5k	-0.297(0.0324)	-0.168(0.0198)	-0.240(0.0651)	5.1	8.3	4.3
10k	-0.282(0.0370)	-0.179(0.0478)	-0.232(0.0478)	5.5	8.2	4.9
50k	0.182(0.0126)	0.275(0.0616)	-0.099(0.0347)	6.3	9.1	6.1
75k			0.316(0.0622)			5.6
100k	0.411(0.0316)	0.447(0.0822)	0.433(0.0621)	7.4	10.5	5.7
300k	0.576(0.0267)	0.511(0.5830)	0.605(0.0676)	8.1	11.1	6.3

表(4-6) 三種不同細胞在溶液導電度為0.0112(S/m)的溶液中，CMF與施加頻率的關係，其中

係，其中 $\frac{|K_{r,exp} - K_{r,opt}|}{K_{r,exp}}$ 為實驗值與最佳化值得相對誤差。實驗數據後括號

內數字表實驗標準差。本表實驗結果錄自Lo and Lei(2011)。



σ_m (S/m) Cell Properties	1.1			0.105			0.0112		
	CL1-0	CL1-5	Colo205	CL1-0	CL1-5	Colo205	CL1-0	CL1-5	Colo205
Numbers of data points	4	4	5	6	6	6	5	5	6
C_s (mF/m ²)	5.03	5.50	5.31	5.31	5.84	5.92	4.97	5.21	5.12
G_s (S/m ²)	603	450	561	997	949	921	597	539	591
σ_p (S/m)	1.163	0.963	0.903	1.185	1.165	0.931	1.097	0.931	0.842
$\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$	62	78	127	57	72	102	79	93	142

表(4-7) 不同細胞在不同溶液導電度下利用CMF所計算出的細胞電性。實驗數據取自Lei and Lo(2011)及羅英傑(2010)。



	CL1-0					CL1-5				
	Numbers of data points	C_s	G_s	$\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$	σ_p	Numbers of data points	C_s	G_s	$\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$	σ_p
10k	20	5.73	502	109	0.693	20	6.32	892	93	0.874
30k	5	5.91	496	113	0.701	10	6.14	932	87	0.832
50k	20	5.67	515	104	0.715	20	6.03	903	82	0.828
100k	20	5.79	492	103	0.704	15	5.54	943	79	0.779
500k	10	5.62	520	93	0.726	10	5.40	1011	83	0.824
700k	5	5.50	537	97	0.735	5	5.38	985	92	0.974
750k										
1M	15	5.28	559	101	0.743	15	5.57	917	88	0.742
2M	5	5.19	572	95	0.721	5	5.26	1086	70	0.844
3M	10	5.27	582	92	0.718	10	5.29	983	74	0.944
5M	5	5.09	601	81	0.842	5	5.31	974	89	0.942
10M	5	5.31	583	92	0.802	5	5.57	996	72	1.098
20M	5	4.98	609	69	1.13	5	5.2700	1098	62	1.178
40M	10	4.72	612	65	1.020	10	5.27	1098	62	1.178

表(4-8a) CL1-0和CL1-5，在假設細胞電性不受溶液導電度影響的情況下，細胞電性

與電場頻率的關係。 C_s 、 G_s 、 σ_p 與 $\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$ 單位分別為(mF/m²)、(S/m²)、(S/m)

與無單位。

	Colo205				
	Numbers of data points	C_s	G_s	ϵ_p	σ_p
10k	20	5.35	532	124	0.794
30k	10	4.87	596	102	0.816
50k	20	5.28	553	126	0.847
100k	20	5.90	538	108	0.791
500k	5	5.23	603	116	0.837
700k					
750k	10	4.92	545	113	0.822
1M	15	5.46	617	96	0.871
2M	5	5.28	549	106	0.813
3M	10	5.13	573	98	0.925
5M	5	4.85	589	88	1.146
10M	5	5.18	533	81	1.046
20M	5	4.67	604	75	1.103
40M	5	4.5100	609	73	1.112

表(4-8b) Colo205，在假設細胞電性不受溶液導電度影響的情況下，細胞電性與電

場頻率的關係。 C_s 、 G_s 、 σ_p 與 $\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$ 單位分別為(mF/m²)、(S/m²)、(S/m)

與無單位。

簡化級數	$\tilde{\epsilon}_p, \tilde{\sigma}_p$ 所使用的公式	細胞電性限制	穿越頻率或尖端頻率	溶液導電度
1	(2-13)、(2-14)	$\frac{d}{R} \approx 10^{-3}$	無限制	無限制*
2	(2-15)、(2-16)	滿足(2-15a)	無限制	無限制*
3	(2-15b)、(2-16)	滿足(2-15a)	小於 1MHz	小於 10^{-1} (S/m)
4	(2-27a)、(2-33)	滿足(2-15a)	小於 0.3MHz	小於 10^{-2} (S/m)
5	(2-27a)、(2-27b) (DC limit)	滿足(2-15a)	小於 0.1MHz	小於 10^{-3} (S/m)

*根據 Gimsa et al. (1996)，我們有可能在過高的溶液導電度(約 1S/m)下無法發現穿越頻率。



表(4-9) 各種不同簡化級數的定義與使用條件。

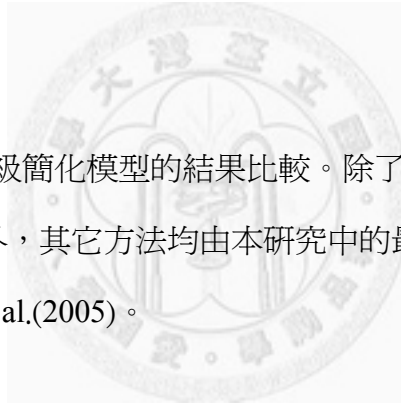
		ER			DEP
溶液導電度(mS/m)		48.7~101.4	11.5~101.4	11.5~42.5	48.7~101.4
計算點數目		5	9	4	5
斜率與截距(來自文獻)	G_s	261		179	601
	C_s	10.65		10.23	9.96
第五級	G_s	103	230	179	889
	C_s	10.2	10.62	10.12	9.90
第四級*	G_s	11099	1103	1341	1016
	C_s	18.03	12.77	12.69	9.26
	σ_p	1.327	0.801	1.121	1.137
第四級**	G_s	10907	1254	1241	878
	C_s	17.88	13.26	12.76	9.89
	σ_p	1.331	0.784	1.157	1.252
第四級	G_s	10320	1310	1110	901
	C_s	17.48	13.52	12.53	9.82
	σ_p	1.315	0.737	1.141	1.240
第三級	G_s	1321	1181	1197	935
	C_s	11.92	11.2	11.32	10.11
	σ_p	0.973	0.862	0.878	1.277
第二級	G_s	1314	1176	1202	927
	C_s	12.04	11.13	11.31	10.04
	σ_p	0.916	0.843	0.873	1.231
	$\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$	170	142	151	112
第一級	G_s	1345	1197	1214	984

	C_s	11.83	10.92	11.27	9.91
	σ_p	1.132	0.752	0.834	1.241
	$\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$	193	161	169	134

C_s 、 G_s 、 σ_p 與 $\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$ 單位分別為(mF/m²)、(S/m²)、(S/m)與無單位。

註 1：第四級、第四級*與第四級**均採用相同的簡化，唯第四級*與第四級**採用 $\epsilon_m \ll \tilde{\epsilon}_p$ 的假設，第四級則否。

註 2：第四級*採用 Rf_{co} (or Rf_{pk})為應變數，第四級**則是採用 σ_m 為應變數，如(2-41a)、(2-41b)。



表(4-10) 相同數據使用五級簡化模型的結果比較。除了斜率與截距是使用文獻直接提供的數據之外，其它方法均由本研究中的最佳化計算得到。實驗數據點引用自Pethig et al.(2005)。

		ER			
溶液導電度(mS/m)		0.36~1.2			
計算點數目		6			
斜率與截距(自文獻)	$\tilde{\sigma}_p$	0.47			
第五級	G_s	109	第三級	G_s	108
	C_s	0.28		C_s	0.28
第四級*	G_s	106	第二級	σ_p	1.122
	C_s	0.28		G_s	108
	σ_p	1.122		C_s	0.28
第四級**	G_s	106	第一級	σ_p	1.121
	C_s	0.28		$\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$	72
	σ_p	1.122		G_s	108
第四級	G_s	108	第一級	C_s	0.28
	C_s	0.28		σ_p	1.119
	σ_p	1.103		$\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$	68

表(4-11) 相同數據使用不同級級簡化的結果比較。除了斜率與截距是使用文獻直接提供的數據之外，其它方法均由本研究中的最佳化計算得到。實驗數據點引用自Arnold and Zimmermann,(1988)。 C_s 、 G_s 、 σ_p 與 $\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$ 單位分別為(mF/m²)、(S/m²)、(S/m)與無單位。*和**與表(4-10)相同。

$\sigma_m (mS / m)$	$f_{co} (kHz)$			$R(\mu m)$		
	CL1-0	CL1-5	Colo205	CL1-0	CL1-5	Colo205
43.2	130(9)	138(11)	211(13)	8.35	7.95	8.34
37.5	102(10)	108(9)	170(15)	8.23	8.04	8.21
29.7	78(7)	98(8)	130(10)	8.41	8.03	8.13
23.3	70(6)	75(5)	118(9)	8.53	8.11	8.16
15.7	56(5)	42(4)	76(8)	8.31	7.97	8.34
10.3	31(2)	25(1)	45(3)	8.38	8.09	8.42
8.3	26(2)	19(2)	36(3)	8.39	7.88	8.26
5.4	18(1)	10(2)	22(1)	8.53	8.12	8.24
3.1	11(2)	註*	10(1)	8.45	7.92	8.33

註*：在此情況下由於頻率過低會使電極水解，故無法實驗。

表(4-12) 三種不同細胞的穿越頻率與溶液導電度的關係。實驗數據後括號內數字表實驗標準差。



細胞種類		CL1-0	CL1-5	Colo205					
計算點數目		9	8	9					
第五級	G_s	623	1187	508	第三級	G_s	657	1228	529
	C_s	7.72	7.34	5.31		C_s	7.98	7.38	5.51
第四級*	G_s	644	1211	520	第二級	σ_p	0.910	0.918	0.879
	C_s	7.90	7.53	5.58		G_s	660	1231	534
	σ_p	0.938	0.960	0.883		C_s	7.93	7.43	5.38
第四級**	G_s	649	1209	522	第一級	σ_p	0.912	0.838	0.849
	C_s	7.91	7.51	5.61		$\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$	89	108	138
	σ_p	0.939	0.963	0.886		G_s	662	1245	512
第四級	G_s	655	1213	521	第一級	C_s	7.95	7.27	5.42
	C_s	7.99	7.42	5.48		σ_p	0.935	0.862	0.828
	σ_p	0.932	0.948	0.873		$\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$	93	114	153

C_s 、 G_s 、 σ_p 與 $\frac{\epsilon_p}{\epsilon_0}$ 單位分別為(mF/m²)、(S/m²)、(S/m)與無單位。*和**與表(4-10)

相同。

表(4-13) 利用表(4-12)的數據使用五級簡化模型的結果比較。