

國立臺灣大學工學院機械工程學系



碩士論文

Department of Mechanical Engineering

College of Engineering

National Taiwan University

Master Thesis

應用奈米金粒子布朗運動結合粒子追蹤測速之

溫度量測參數最佳化

Parametric Optimization of PTV Based Temperature

Measurement by Brownian Motion of Gold Nanoparticles

林均洋

Jun-Yang Lin

指導教授：孫珍理 博士

Advisor: Chen-li Sun, Ph.D.

中華民國 106 年 6 月

June 2017

國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書



應用奈米金粒子布朗運動結合粒子追蹤測速之

溫度量測參數最佳化

Parametric Optimization of PTV Based Temperature
Measurement by Brownian Motion of Gold Nanoparticles

本論文係林均洋君 (r04522319) 在國立臺灣大學機械工程學系完成之碩士學位論文，於民國 106 年 6 月 29 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

孫玲瓏 (簽名)

(指導教授)

LE PLOUËLE Bruno

王翔郁 王翔郁

WERTS Martinus

系主任

黃美嬌 (簽名)

誌謝

本論文能夠完成，首先要感謝我的指導教授孫珍理教授，在這段時間的細心指導，讓我在研究與對於人生態度皆獲益良多，感謝口試委員 Bruno Le Pioufle 教授、Martinus H. V. Werts 研究員與王翔郁教授在口試中給予許多指正與建議，在此表示深摯的謝忱。

感謝實驗室的淞哥學長給予我許多研究上的建議與鼓勵，感謝思緯、泓毅與菩引學長的教導與照顧，感謝志豪、邵育與家宜在研究與課業上的協助與激勵，感謝家璿、柳橙、佳諺與昇益的散播歡笑，能與你們一起相互砥礪與成長，真的是難得又珍貴的回憶。

感謝家人給予我的支持，讓我在求學期間可以沒有後顧之憂的專心學習，並在我失落的時候幫我加油打氣。

最後，衷心地感謝一路上陪伴我、幫助我的人們。

林均洋 謹致

中華民國 106 年 8 月 8 日



摘要

本研究中探討利用奈米金粒子布朗運動位移推估周圍流體溫度之技術中，各項分析參數對於誤差之影響，以獲得最佳之參數及分析策略。我們使用內含直徑 150 nm 奈米金粒子之溶液，在不同的流體溫度與粒子密度下，拍攝並記錄粒子之布朗運動影像，影像中粒子之直徑約為 11 px，並使用粒子追蹤測速法分析其位移以估算流體溫度，進而探討觀察時間、時間間隔與方均位移量等參數對溫度估算系統誤差與隨機誤差之影響，並找出最佳參數。

實驗之結果顯示，粒子密度對於溫度估算之系統誤差與隨機誤差並沒有明顯影響。但當粒子密度小於 10^8 ml^{-1} ，觀察時間為 10 s 時，粒子運動較不易產生影像重疊的情況，較適合進行溫度估算。當方均根位移量 (RMSD) 小於 1.5 px 時，pixel locking 現象會造成較大的溫度估算系統誤差與隨機誤差，但若增加 RMSD 或影像數量，則可有效降低 pixel locking 現象之影響；當 RMSD 介於 1.5 至 2 px 時，溫度估算之系統誤差有最小值。當 RMSD 大於 2 px 時，在固定觀察時間條件下，RMSD 越大即代表時間間隔較大，影像數量減少，誤差主要受到影像數量減少之影響而變大。但若在固定影像數量條件下，則 RMSD 小於 1.3 px 時，隨著 RMSD 增加，pixel locking 之影響變小，使溫度估算之系統誤差減少。固定觀察時間下，當時間間隔為 0.06 s 時，溫度估算之總不確定性有最小值；固定影像數量下，當時間間隔為 0.08 s 時，溫度估算之總不確定性有最小值。

從實驗結果可歸納出，當觀察時間為 10 s 時，最佳 RMSD 介於 1.5 至 2 px 之間，可使 pixel locking 之影響降到最低，同時獲得足夠的影像數量，而當影像數量大於 166 時，溫度估算有較小之隨機誤差。最佳粒子密度介於 10^5 ml^{-1} 與 10^8 ml^{-1} 間，此時粒子運動不易產生影像重疊，且影像中有足夠的粒子可供分析。

中文關鍵字：溫度量測、奈米金粒子、布朗運動、粒子追蹤測速

Abstract



In this study, we explore the accuracy of using Brownian motion of gold nanoparticles to quantify the temperature of surrounding fluid. By employing the particle tracking velocimetry (PTV), the displacement of gold nanoparticles is measured and used to estimate the temperature through Einstein's theory. In the image, the diameter of each particle is approximately 8 px. Influences of the tracking time, time interval, particle density and number of frames are investigated to obtain the optimal parameters, which minimize the total error.

The experimental results show that particle density plays a minor role in the temperature estimation. Nonetheless, particle density lower than 10^{-8} ml⁻¹ is recommended in order to avoid overlap of particles. When the root mean squared displacement (RMSD) is smaller than 1.5 pixels, pixel locking is more severe, which leads to higher systematic errors and random errors. However, random error can be reduced by increasing the number of frames at small RMSD. When RMSD falls between 1.5 and 2 pixels, temperature estimation has the lowest systematic error. Once RMSD exceeds 2 pixels, error is majorly influenced by number of frames. For a given tracking time, longer time interval is required to obtain larger RMSD, which results in fewer images. Hence, both systematic and random error raise with the increase of RMSD.

For a given number of frames, on the other hands, systematic errors are nearly independent of RMSD if RMSD is larger than 1.3 pixel. Due to influence of pixel locking, systematic errors decreases with increasing RMSD if RMSD is smaller than 1.3 pixel. When tracking time is fixed, the optimal time interval is 0.06 s. When the number of frames is fixed, the optimal time interval is 0.08 s.

In summary, the optimal RMSD falls between 1.5 and 2 pixels for a tracking time of 10s, so that number of frames are sufficient and the effect of pixel locking can be minimized. To reduced random errors, more than 166 frame should be taken with a RMSD larger than 1.5 pixel and smaller than 2 pixel.

Keywords : temperature measurements, gold nanoparticles, Brownian motion, particle tracking velocimetry

目錄



摘要	i
Abstract	ii
目錄	iv
符號索引	vii
圖目錄	ix
表目錄	xiv
第一章 導論	1
1.1 前言	1
1.2 Brownian motion	2
1.3 文獻回顧	4
1.3.1 溫度量測方式	4
1.3.2 微觀尺度之溫度量測技術	5
1.3.3 利用 Brownian motion 之溫度量測	6
1.3.4 質點追蹤之位置分析	7
1.4 研究目的	8
第二章 實驗架構及不確定性分析	10
2.1 實驗架構	10
2.1.1 試片	10
2.1.2 溫度控制平台	11
2.1.3 影像擷取系統	12
2.2 實驗程序	13
2.3 不確定性分析	17
2.3.1 奈米金溶液粒子密度之相對不確定性	18



2.3.2	微腔體內工作流體溫度量測之相對不確定性	19
2.3.3	粒子位移量之不確定性	19
2.3.4	MSD 之相對不確定性	20
2.3.5	粒子方均根位移量之不確定性	21
2.3.6	粒徑量測之相對不確定性	22
2.3.7	工作流體黏滯係數之相對不確定性	22
2.3.8	微腔體內工作流體溫度估算之相對不確定性	22
2.3.9	微腔體深度量測之相對不確定性	23
第三章 實驗結果		24
3.1	粒子位移量機率密度函數與 MSD	24
3.1.1	粒子位移量 PDF	24
3.1.2	MSD 與時間間隔之關係	25
3.2	時間間隔對溫度估算誤差之影響	25
3.2.1	系統性誤差	25
3.2.2	隨機誤差	26
3.3	觀察時間長度對溫度估算誤差之影響	27
3.3.1	系統性誤差	27
3.3.2	隨機誤差	28
3.4	粒子影像重疊率計算	29
3.5	粒子密度對溫度估算之影響	30
3.6	RMSD 對溫度估算之影響	31
3.6.1	系統性誤差	31
3.6.2	隨機誤差	32
3.7	溶液溫度對溫度估算之影響	32
3.8	固定時間間隔與固定影像數量之比較	33

3.8.1	系統性誤差	33
3.8.2	隨機誤差	34
3.8.3	總不確定性	35
3.9	物鏡放大倍率之影響	36
第四章	結論與建議	37
4.1	結論	37
4.2	建議	39
參考文獻	41





符號索引

- D 粒子之擴散係數 (diffusivity), m^2s^{-1}
- DOC 物鏡之相關景深 (depth of correlation), m
- DOF 物鏡之景深 (depth of field), m
- e 高速攝影機像素點間的實際間距 (spacing between pixels), m
- k 量測之位移資料個數 (number of data)
- k_B 波茲曼常數 (Boltzmann constant), JK^{-1}
- M 物鏡放大倍率 (Magnification of objective)
- MSD 粒子在二維平面之方均位移 (2-D mean square displacement of the particle), m^2
- N 粒子之個數 (number of particles)
- N_c 平均影像重疊次數 (average overlap rate)
- N_f 分析時所使用之影像數量 (number of frames), frames
- P 進行曲線耦合時所使用的像素數量 (number of pixel used in regression)
- r_c 有效碰撞半徑 (effective collision radius), m
- r_p 粒子半徑 (radius), m
- r_{img} 粒子之影像半徑 (radius of particle image), m
- $RMSD$ 粒子之方均根位移量 (root mean square displacement), m
- Δr 粒子在二維平面之位移 (2-D displacement of the particle), m^2
- t 時間 (time), s
- t_{tr} 實驗觀察之時間總長度 (tracking time), s
- Δt 每次觀察之時間間隔 (observation time interval), s
- T 粒子之絕對溫度 (temperature of particle), K



T_e	奈米金溶液之估算溫度 (temperature estimation), °C
T_i	奈米金溶液之給定溫度 (imposed temperature), °C
δT_{rand}	溫度估算之隨機誤差 (random error), °C
δT_{sys}	溫度估算之系統性誤差 (systematic error), °C
x	粒子在 x 方向上之位置 (x -position of the particle), m
$x_{[\text{px}]}$	粒子在 x 方向上之位置 (x -position of the particle), pixel
Δx	粒子在 x 方向上之位移 (x -displacement of the particle), m ²
$\Delta x_{[\text{px}]}$	粒子在 x 方向上之位移 (x -displacement of the particle), pixel
Δy	粒子在 y 方向上之位移 (y -displacement of the particle), m ²
$\Delta y_{[\text{px}]}$	粒子在 y 方向上之位移 (y -displacement of the particle), pixel

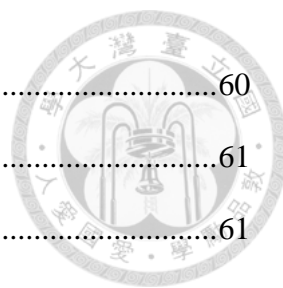
希臘符號

ζ	粒子之阻力係數 (drag coefficient)
μ	流體之黏滯係數 (viscosity), kg s ⁻¹ m ⁻¹
ρ_c	粒子密度之臨界值 (critical density of particle), m ⁻³
ρ_p	奈米金溶液之粒子密度 (particle density of gold nanoparticles), ml ⁻¹
σ	有效碰撞截面積 (effective collision area), m ²

圖目錄



圖 2.1 實驗架構圖	48
圖 2.2 試片製作程序	49
圖 2.3 試片上視圖	50
圖 2.4 加熱平台與試片示意圖	50
圖 2.5 不同粒子密度下拍攝之影像	51
圖 2.6 粒子之原始影像與處理後之影像	51
圖 2.7 不同溫度下，使用不同數量資料點進行 Gaussian fit 分析之 (a) 系統誤差與 (b) 隨機誤差	52
圖 2.8 粒子位置分析示意圖 (a) x 方向上影像強度 array 與回歸分析所得之擬合曲線 (b) y 方向上影像強度 array 與回歸分析所得之擬合曲線	53
圖 2.9 粒子位置分析與溫度估算流程圖	54
圖 3.1 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.01$ s，觀察時間 $t_{tr} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^5$ ml ⁻¹	55
圖 3.2 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.01$ s，觀察時間 $t_{tr} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^8$ ml ⁻¹	56
圖 3.3 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.06$ s，觀察時間 $t_{tr} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^5$ ml ⁻¹	57
圖 3.4 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.06$ s，觀察時間 $t_{tr} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^5$ ml ⁻¹	58
圖 3.5 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.02$ s，觀察時間 $t_{tr} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^5$ ml ⁻¹	59
圖 3.6 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.2$ s，觀	



觀察時間 $t_{tr} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^5$ ml ⁻¹	60
圖 3.7 $T_i = 30^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係	61
圖 3.8 $T_i = 35^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係	61
圖 3.9 $T_i = 40^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係	62
圖 3.10 $T_i = 50^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係	62
圖 3.11 $T_i = 60^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係	63
圖 3.12 $T_i = 70^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係	63
圖 3.13 不同溫度下，觀察時間間隔長度對於溫度估算系統誤差之影響 (a) $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) $T_i = 35^\circ\text{C}$ (c) $T_i = 40^\circ\text{C}$ (d) $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) $T_i = 60^\circ\text{C}$ (f) $T_i = 70^\circ\text{C}$	64
圖 3.14 不同溫度下，時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響 (a) $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) $T_i = 35^\circ\text{C}$ (c) $T_i = 40^\circ\text{C}$ (d) $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) $T_i = 60^\circ\text{C}$ (f) $T_i = 70^\circ\text{C}$	65
圖 3.15 不同溫度下，時間間隔對於溫度估算隨機誤差之影響 (a) $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) $T_i = 35^\circ\text{C}$ (c) $T_i = 40^\circ\text{C}$ (d) $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) $T_i = 60^\circ\text{C}$ (f) $T_i = 70^\circ\text{C}$	66
圖 3.16 不同溫度下，時間間隔對於溫度估算隨機誤差之影響 (a) $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) $T_i = 35^\circ\text{C}$ (c) $T_i = 40^\circ\text{C}$ (d) $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) $T_i = 60^\circ\text{C}$ (f) $T_i = 70^\circ\text{C}$	67
圖 3.17 不同粒子密度下，觀察時間對於溫度估算系統誤差之影響 (a) $\rho_p = 10^5$ ml ⁻¹ (b) $\rho_p = 10^6$ ml ⁻¹ (c) $\rho_p = 10^7$ ml ⁻¹ (d) $\rho_p = 10^8$ ml ⁻¹	68
圖 3.18 粒子密度 $\rho_p = 10^8$ ml ⁻¹ ， $T_i = 30^\circ\text{C}$ 時 (a)不同時間下之粒子影像 (b) 觀察時間與溫度估算系統誤差之關係	69
圖 3.19 觀察時間對於溫度估算系統誤差之影響	70
圖 3.20 不同粒子密度下，觀察時間對於溫度估算隨機誤差之影響(a) $\rho_p = 10^5$ ml ⁻¹ (b) $\rho_p = 10^6$ ml ⁻¹ (c) $\rho_p = 10^7$ ml ⁻¹ (d) $\rho_p = 10^8$ ml ⁻¹	71
圖 3.21 觀察時間對於溫度估算隨機誤差之影響	72
圖 3.22 (a)粒子之有效碰撞半徑計算 (b)在觀察時間間隔內，有效碰撞面積劃過的空間	73

圖 3.23 不同粒子密度下，流體溫度對於溫度估算系統誤差與隨機誤差之影響...	74
圖 3.24 不同流體溫度下，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	75
圖 3.25 粒子密度 $\rho_p=10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	76
圖 3.26 粒子密度 $\rho_p=10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	76
圖 3.27 粒子密度 $\rho_p=10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	77
圖 3.28 粒子密度 $\rho_p=10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	77
圖 3.29 RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	78
圖 3.30 粒子密度 $\rho_p=10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	79
圖 3.31 粒子密度 $\rho_p=10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	79
圖 3.32 粒子密度 $\rho_p=10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	80
圖 3.33 粒子密度 $\rho_p=10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	80
圖 3.34 RMSD 與溫度估算系統誤差之關係.....	81
圖 3.35 不同流體溫度下，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係.....	82
圖 3.36 粒子密度 $\rho_p=10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係.....	83
圖 3.37 粒子密度 $\rho_p=10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係.....	83
圖 3.38 粒子密度 $\rho_p=10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係.....	84
圖 3.39 粒子密度 $\rho_p=10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係.....	84
圖 3.40 RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係.....	85
圖 3.41 RMSD、影像數量與溫度估算隨機誤差之關係.....	85
圖 3.42 粒子密度 $\rho_p=10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$).....	86
圖 3.43 粒子密度 $\rho_p=10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$).....	86
圖 3.44 粒子密度 $\rho_p=10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響 (觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$).....	87



圖 3.45 粒子密度 $\rho_p=10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響	87
圖 3.46 粒子密度 $\rho_p=10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響	88
圖 3.47 粒子密度 $\rho_p=10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響	88
圖 3.48 粒子密度 $\rho_p=10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響	89
圖 3.49 粒子密度 $\rho_p=10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響	89
圖 3.50 粒子密度 $\rho_p=10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響	90
圖 3.51 粒子密度 $\rho_p=10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響	90
圖 3.52 粒子密度 $\rho_p=10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響	91
圖 3.53 粒子密度 $\rho_p=10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響	91
圖 3.54 粒子密度 $\rho_p=10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響	92
圖 3.55 粒子密度 $\rho_p=10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響	92
圖 3.56 粒子密度 $\rho_p=10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響	93
圖 3.57 粒子密度 $\rho_p=10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響	

差之影響	93
圖 3.58 不同粒子密度下，流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響	94
圖 3.59 不同粒子密度下，觀察時間間隔長度對於溫度估算系統誤差之影響	95
圖 3.60 不同粒子密度下，時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響	96
圖 3.61 時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響	97
圖 3.62 不同粒子密度下，時間間隔對於隨機誤差之影響	98
圖 3.63 不同粒子密度下，時間間隔對於隨機誤差之影響	99
圖 3.64 時間間隔長度對於隨機誤差之影響	100
圖 3.65 時間間隔對溫度估算不確定性、隨機誤差與系統誤差之影響	101
圖 3.66 時間間隔對溫度估算不確定性、隨機誤差與系統誤差之影響	101
圖 3.67 使用 5 倍物鏡，RMSD 對溫度估算系統誤差之影響	102
圖 3.68 使用 10 倍物鏡，RMSD 對溫度估算系統誤差之影響	102

表目錄



表 2.1 不同粒子密度下，奈米金溶液粒子密度之不確定性	46
表 3.1 不同溫度之流體黏滯係數、粒子擴散係數	46
表 3.2 時間間隔 $\Delta t = 1$ s 時，不同溫度之粒子 MSD 與 RMSD	47
表 3.3 不同粒子密度與溫度下，連續拍攝 10 秒，平均影像重疊次數 N_c	47

第一章 導論




1.1 前言

微流體技術 (microfluidics) 自 1980 年代開始，至今已發展超過 30 年，為一結合了生物、物理、化學等多種領域的整合技術，伴隨著微機電系統技術 (microelectromechanical systems, MEMS) 也漸趨成熟，我們得以製作出具有多種功能的微流體元件，在微觀的尺度下觀察與研究許多物理與化學以及生化反應，並更深入的了解他們的機制。

微觀尺度下有許多反應都會受到溫度的影響，像是在聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 中，溫度即是一項非常重要的參數[1-3]，因此反應發生時，每個循環中的不同溫度階段都需要精準的溫度控制來達成較佳的反應結果。在熱泳 (thermophoresis) 現象中，當粒子在具有溫度梯度的流體裡時，會受到一個強度與溫度梯度成正比的熱介電泳力使粒子運動[4]，常用來分析蛋白質或分子間的相互影響[5, 6]。另外，溫度敏感突變型 (temperature-sensitive mutant) 生物因為其在特定溫度範圍內具有與野生型不同的基因表現，常用來研究基因的功能[7]。多種浮游藻類的生長速率亦受到環境溫度的影響[8, 9]，當溫度超出其適合生長的範圍時即減緩或停止生長。在進行這些相關的研究時，溫度控制是非常必要的，而透過精準的溫度量測技術，良好的溫度控制才有可能被實現。

溫度是熱力學中重要的參數之一，同時也是工業上最常被量測的物理性質[10]，目前也已經發展出各種不同的溫度量測方式，然而當所需要觀察的範圍逐漸縮小，解析度的需求也逐漸升高時，一般的量測技術已經無法滿足需求，因此許多適用於微觀系統溫度量測之新技術正不斷的被開發出來，像是微機電製程製作之微型電阻式溫度感測元件[11, 12]及具有微尖端構造之熱電偶[13]的使用。



其中利用觀察 Brownian motion 來進行溫度量測是一項新穎且優異的技術，因其具備非侵入性的量測特性，且不像其他化學探針技術(如螢光等)可能會影響裝置的表面性質[14]，因此非常適合用於量測微流環境內部的溫度分佈，且不用擔心會對被量測的物體或細胞造成影響。

然而目前對於該技術之參數選擇以及誤差之間的關係並不是很了解，本研究將透過分析奈米金粒子在不同環境溫度下之 Brownian motion，來探討粒子密度、觀察時間之間隔及長度等實驗參數對溫度量測誤差的影響。

1.2 Brownian motion

懸浮在液體或氣體中的微粒，因為受到周遭液體或氣體分子的不平衡碰撞所造成的不規則運動，即稱為 Brownian motion。1827 年英國植物學家 Robert Brown [15]在觀察懸浮水中的花粉時，發現從花粉中迸裂出之微粒會不斷的運動，因而發現 Brownian motion 的存在。

在進行了許多謹慎的實驗觀察之後，他們獲得了許多和動力學理論相符的結果，並歸納出 Brownian motion 具有以下這些特性[16]：

- (1) Brownian motion 由平移和轉向所構成，運動不規則且其軌跡處處不相切。
- (2) 粒子間的運動是互相獨立的，即使當粒子間的距離小於他們的半徑，亦不受鄰近粒子影響。
- (3) 粒子越小時，則 Brownian motion 越強烈。
- (4) 粒子所在的流體黏滯性越小時，則 Brownian motion 越強烈。
- (5) 當溫度越高時，則 Brownian motion 越強烈。

1905 年，Einstein [17] 利用熱分子動力理論，提出了 Einstein relation，其廣義的形式如式 (1.1) 所示。



$$D = \frac{k_B T}{\zeta} \quad (1.1)$$

其中 D 為粒子之擴散係數 (diffusivity) ， k_B 為波茲曼常數， T 為粒子之絕對溫度， ζ 為粒子之阻力係數。

當粒子的形狀是圓形且其運動的速度極小時，由流體力學中的 Stokes' law 可知，粒子之阻力係數如式 (1.2) 所示。

$$\zeta = 6\pi\mu r_p \quad (1.2)$$

將式 (1.2) 代入 (1.1) 即可得到 Stokes-Einstein equation ，如式 (1.3) 所示。

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\mu r_p} \quad (1.3)$$

其中 k_B 為波茲曼常數， T 為流體之絕對溫度， μ 為流體之黏滯係數，為一溫度的函數， r_p 為粒子之半徑。

此處，由粒子擴散方程式，並給定粒子初始為原點 ($x=0$) 的條件後，可以得到在不同的時間 t 與位置 x 下，粒子出現的機率密度函數 (probability density function, PDF) ，如式 (1.4) 所示。

$$f(x, t) = \frac{1}{\sqrt{4\pi Dt}} e^{-\frac{x^2}{4Dt}} \quad (1.4)$$

因為粒子初始位置為原點，所以末位置之值也代表位移量，由式 (1.4) 即可得到在時間 t 時，粒子位移量為 x 之機率為常態分佈。

利用此常態分佈的關係，即可計算出時間間隔為 Δt 時，粒子在 x 方向下之方均位移 (mean squared displacement, MSD) $\langle \Delta x^2 \rangle$ 與擴散係數之間的關係，如式 (1.5) 所示。



$$\langle \Delta x^2 \rangle = 2D\Delta t \quad (1.5)$$

由於粒子在不同方向上的運動都是互相獨立的，因此可知粒子之 Brownian motion 在二維空間中的方均位移 MSD 如式 (1.6) 所示。

$$\text{MSD} = \langle \Delta r^2 \rangle = \frac{\sum_{i=1}^N (\Delta x_i^2 + \Delta y_i^2)}{N} = \langle \Delta x^2 \rangle + \langle \Delta y^2 \rangle = 4D\Delta t \quad (1.6)$$

利用式 (1.3) 與式 (1.6)，即可將二維空間中的 MSD 表示為溫度的函數，如式 (1.7) 所示。

$$\text{MSD} = \frac{2k_B T}{3\pi\mu r_p} \Delta t \quad (1.7)$$

因此透過偵測二維空間中的 Brownian motion，計算粒子 MSD 的大小，即可利用式 (1.8) 計算出流體的溫度。

$$T = \frac{3\pi\mu r_p}{2k_B} \cdot \text{MSD} \cdot \Delta t \quad (1.8)$$

1.3 文獻回顧

本節將回顧微觀尺度之溫度量測技術及利用 Brownian motion 之溫度量測技術發展之相關文獻。

1.3.1 溫度量測方式

溫度量測多是利用偵測與溫度相關的物理或化學性質變化來進行溫度推估，如熱電效應 (thermoelectric effect)、螢光的強度與生命期 (intensity and lifetime of fluorescence)、電阻變化 (electrical resistor change) 等。主要可將這些技術分為侵入性、半侵入性及非侵入性三種類型[18]。

在侵入性 (invasive) 量測中，量測裝置直接接觸被量測的介質，並藉由量測



裝置與被量測介質在達到熱平衡後，藉由量測性質上的變化來推算溫度，例如熱電偶[13, 19, 20]與熱敏電阻[11, 12]等皆是屬於此類型。

在半侵入性 (semi-invasive) 量測中，藉由在被量測的物質表面鍍 (coating) 上一層對溫度相當敏感的材料如液晶(liquid crystal) [21]等，或是在觀察區域內通入對溫度敏感之物質如磷光 (phosphorescence) [22]、螢光 (fluorescence) [23, 24]與雷射誘發螢光 (laser-induced fluorescence) [25, 26]等，並量測電磁波強度與生命期 (lifetime)，因此可以在不直接接觸被量測物質的情況下量測溫度。

在非侵入性 (noninvasive) 量測中，主要是量測目標物所發出電磁波或影像，因此量測裝置不需要接觸到被量測的物質即可量測溫度，例如紅外線量測儀 (infrared radiation thermometry)[27, 28]即是屬於此類型。

1.3.2 微觀尺度之溫度量測技術

在微觀尺度的溫度量測技術方面，2002年 Yamamoto 等人[11]製作出一可控制溫度之微反應器陣列，他們利用一種可導電的玻璃-氧化銦錫 (indium tin oxide, ITO) 來製作加熱器以及電阻式溫度感測元件，並使用微型熱電偶來進行校正。2005年 Arata 等人[12]利用微機電製程將鎳金屬蒸鍍至玻璃表面製作電阻式溫度感測元件。但這些微型溫度感測器只能針對特定區域進行單點量測，若要量測二維平面的溫度場，則螢光染劑是另一種常見的方式。

2001年，Ross 等人[23]利用一發光強度會隨溫度變化的螢光染劑來量測微流道系統內的流體溫度，其實驗設備簡單且有良好的空間與時間解析度，缺點是螢光染劑會因為光漂白現象 (photobleaching) 導致其發光強度隨時間逐漸減弱，而且可能在流道中殘留對生物樣本具有毒性的物質。

封裝熱致變色液晶珠 (encapsulated beads of thermochromic liquid crystals) 可被用於量測溫度，且具有良好的精準度。1998年，Chaudhari 等人[21]利用封裝熱致變色液晶珠來量測微結構內流體的溫度，其溫度量測之解析度可到 0.1°C 。但



因為液晶珠本身的大小約為 0.25~1 mm，因此量測之空間解析度受到限制且無法被使用在更微小的流道之中。


1.3.3 利用 Brownian motion 之溫度量測

目前利用觀察 Brownian motion 來量測溫度的技術主要有三種，分別是質點影像測速法 (Particle Image Velocimetry, PIV)、質點追蹤測速法 (Particle Tracking Velocimetry, PTV) 及低影像密度質點影像測速法 (Low Image Density Particle Image Velocimetry, LID-PIV)。

質點影像測速法是一種流場量測技術，具備良好的精準度以及非侵入式測量的特性，因此應用非常廣泛。當我們所要觀察的流場流速非常低且流體中粒子的粒徑又相當微小時，粒子存在的 Brownian motion 會使分析結果產生隨機的雜訊，這些雜訊限制了 PIV 技術量測結果的精準度，卻同時也隱含了與溫度相關的資訊。

2000 年，Olsen 與 Adrian [29]研究了 Brownian motion 對於 micro-PIV 分析結果影響之理論，發現 Brownian motion 的存在會減弱相關函數信號強度 (correlation signal strength)，使得相關函數信號峰值變得更寬。Olsen 與 Adrian [29]據此提出一新參數來量化 Brownian motion 所造成的影響，透過相關函數信號峰值的分析，可將質點影像測速技術應用至溫度量測。2002 年，Hohreiter 等人 [30]利用前述的理論進行研究，並提出了利用質點影像測速(PIV)來量測溫度的技術可達約 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ 的誤差。

質點追蹤測速法也是一種常見用來量測速度的技術，其與質點影像測速法不同的地方在於，質點追蹤測速法聚焦在單一粒子的影像來追蹤其位置，透過量測粒子的位移，這項技術也可以用來量測溫度。2005 年，Park 等人[31]使用顯微鏡拍攝奈米粒子之光學繞射影像，並利用質點追蹤測速法來分析粒子的三維運動並估算溫度，其溫度量測之不確定性約為 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，Park 等人[31]同時也比較了一維、



二維與三維運動分析結果的差異，發現三維運動軌跡分析的結果與理論值最為接近。2008年，Chung 等人[32]利用質點追蹤測速法技術，量測二維與三維空間之溫度場與模擬的結果進行比較，並提出一個可以在沒有生化因素干擾下，量測細胞周圍空間溫度分佈的技術。


低影像密度質點影像測速法[33]是利用影像訊號之間的交互關聯 (cross-correlation) 來分析單一粒子的位移，其與質點追蹤測速法皆屬於 Lagrangian 方法。2009年，Chamarthy 等人[34]進行研究，比較了三種利用 Brownian motion 來量測溫度的技術，發現低影像密度質點影像測速法具有較佳的精準度，其溫度量測之不確定性約為 $\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.4 質點追蹤之位置分析

利用影像偵測粒子位置目前主要的方式有矩量法 (moment method) [35-37]及曲線擬合法 (fitting methods) [35, 37, 38]兩種，都是利用點光源通過光學系統後產生的模糊影像來計算粒子位置，準確度可達到次像素 (sub-pixel) 的等級。

相較於曲線擬合法，矩量法所需的計算時間比較少且不失其精確性，因此被廣泛使用於分析大量資料，其計算的方式類似於重心的計算。2007年 Ivanov 等人[35]比較了矩量法與其他方法對於實驗與模擬之粒子影像位置分析上的準確性，發現即使在有雜訊的情況下，矩量法所得的方均根誤差 (root-mean-square error) 可以達到 0.3 像素以下，若是在採用矩量法前先將影像去除背景並用空間濾波器進行處理，則方均根誤差可以達到 0.2 像素以下。

透過顯微鏡觀察一微小的光源，因為光學元件之像差與光繞射的特性，其成像並不是一個點，而是一模糊的圖案，稱為點擴散函數 (point spread function)。點擴散函數可透過物鏡的數值孔徑 (numerical aperture) 及物鏡與被觀察物間介質特性等資訊來計算，其中較有名的有 Richards-Wolf 模型[39]與 Gibson-Lanni model 模型[40]。



雖然有這兩種模型可以用來計算點擴散函數，但因為其計算的過程非常繁複，許多人轉而使用 Airy 函數來近似點擴散函數。當點光源通過理想透鏡時，其繞射產生的成像為明暗相間的同心環狀條紋，可以用 Airy 函數來描述。儘管 Airy 函數已經是較為簡化的方式，但在使用上依然複雜，因此許多人使用計算上更容易的其他函數像是 Gaussian 函數來近似點擴散函數[41]。

利用曲線擬合法偵測粒子之位置，須將取得的粒子影像使用特定的函數來進行擬合，其峰值位置即為粒子之位置。其中較常被使用的函數為 Gaussian 函數。2005 年 Nobach 與 Honkanen [38]利用一新的迴歸分析方法來計算耦合之二維 Gaussian 函數，並將其與一維 Gaussian 函數近似之結果進行比較，發現使用濾波器將影像進行處理後，二維 Gaussian 函數法有較高的準確度，且在使用一維 Gaussian 函數進行計算之下，會有較明顯的 pixel locking 現象發生。

Pixel locking 現象又稱為 peak locking，指的是當利用影像分析粒子位置或位移時，因為有限數量之取樣像素點造成失真，使分析結果傾向集中在特定的值，並造成位置或位移量分析誤差之現象，不論是在 PIV、PTV 或是電腦視覺之相關分析中，pixel locking 現象皆會影響分析結果的精確度[36, 38, 42, 43]。

此現象會受到影像品質以及次像素位置分析方法之影響[44]，透過粒子位置或位移量分析結果之機率統計長條圖，可確認此現象對於分析結果之影響[45]。

1.4 研究目的

利用 Brownian motion 之溫度量測技術具有良好的精準度、非侵入性的量測特性，且不需要昂貴的分析儀器，對於量測微流道中細胞樣本周圍的溫度是非常重要的技術。然而目前對於各實驗參數與實驗誤差之間的關係並不清楚，因此本研究旨在探討奈米金溶液之粒子密度、時間間隔與觀察時間等實驗參數與溫度量測誤差間的關係，希望能為未來利用 Brownian motion 量測溫度時之實驗參數設

計提供一依據來降低實驗誤差。



第二章 實驗架構及不確定性分析



本章將介紹本研究所使用之實驗設備、實驗架構、實驗程序以及分析方法，並探討如何計算溫度量測的不確定性。

2.1 實驗架構

Brownian motion 量測實驗中，首先將製作好之試片水平放置於溫度控制平台上，透過金相顯微鏡搭配影像擷取系統將影像傳送至電腦並紀錄。所使用之實驗架構如圖 2.1 所示，可分為試片、溫度控制平台與影像擷取系統三個部分，茲分述如下：

2.1.1 試片

本研究所使用的試片，製作程序如圖 2.2 所示，尺寸如圖 2.3 所示，試片之詳細製作步驟如下：

A. 玻片清洗

首先將蓋玻片與載玻片放入裝有酒精的容器內，以超音波清洗機 (ultrasonic cleaner, DC80H, Delta New Instrument) 清洗 5 分鐘後吹乾。

B. 膠帶黏貼

黏貼防腐蝕膠帶 (corrosion protection tape, Scotchrap 50, 3M) 至載玻片的中央區域，過程中輕輕擠壓膠帶，避免膠帶與載玻片之間產生氣泡。

C. 切割出微腔體 (microchamber)

使用美工刀在膠帶中央刻畫一尺寸為 10 mm×10 mm 的方型區域，製作出一微腔體，並在邊緣刻出一寬度約 2 mm 之開口，最後將欲移除區域的膠帶撕起。



D. 黏貼蓋玻片

使用透明指甲油 (nail polish, Star Wing industry) 均勻塗抹至膠帶表面後，將蓋玻片覆蓋其上，靜置於室溫下 4 小時，待乾燥後即完成試片的製作。

2.1.2 溫度控制平台

在本研究中，我們使用一溫度控制裝置來調控微腔體中的流體溫度。溫度控制平台主要由熱電晶片、溫度擷取系統以及電源供應器組成，詳細配置如圖 2.4 所示，詳細製作步驟如下：

A. 熱電晶片安裝

首先製作一厚度為 3 mm 之壓克力外殼，用於減少外在流場干擾，加速微腔體內溫度之穩定。將熱電晶片 (Thermoelectric Cooling Modules, TES1-12703, 勝特力) 放置至壓克力外殼中後，使用黏土 (clay, PB-7202, 上海擁立膠粘) 固定位置，其中兩熱電晶片間的間距為 4 mm，使觀察時之光源得以穿過試片，避免熱電晶片表面反射光源影響擷取之粒子影像。將兩熱電晶片之電源線連接至電源供應器 (Switching DC Power Supply, GPC-3060D, GW Instek)，透過調整電源供應器輸出至熱電晶片之電壓，即可控制熱電晶片之熱面溫度。

B. 銅片製作

裁切一尺寸為 60 mm×30 mm×1 mm 之銅片，在銅片中央以電鑽鑽出兩個直徑為 4 mm，圓心距離為 8 mm 之圓孔，接著使用線鋸去除兩圓孔間的材料，製作出一孔洞，使用銼刀與砂紙將銅片剩餘的毛邊去除，並將銅片清洗乾淨。

C. 銅片安裝

使用酒精清洗熱電晶片表面，將導熱膏 (thermal compound, MX-4, ARCTIC)



均勻塗抹至熱電晶片上，蓋上銅片並稍微向下擠壓，使銅片完全貼合熱電晶片之表面，去除銅片邊緣擠壓出之多餘導熱膏。

D. 熱電偶黏貼

將兩組 K 型熱電偶 (thermocouple wire, TT-K-30-D-100, OMEGA) 之熱端使用黏土 (clay, PB-7202, 上海擁立膠粘) 黏貼固定在兩熱電晶片邊緣之表面，並連接至資料擷取卡 (data acquisition card, NI 9213, National Instrument)，透過資料擷取卡將熱電偶之電壓訊號傳至電腦中，並搭配 LabVIEW 軟體[46] 將量測到之電壓訊號轉換為溫度資料，使用溫度校正器 (temperature calibrator, Fluke 724, Fluke) 進行校正後，以圖形介面顯示並紀錄熱電晶片表面之溫度。


2.1.3 影像擷取系統

粒子觀察使用金相顯微鏡 (metallurgical microscopes, BX51M, Olympus) 搭配兩個放大倍率分別為 5 與 10 倍之物鏡 (objective lens, MPLN 5/10x, Olympus)，其中 5 倍物鏡只在討論放大倍率之影響時使用，其餘之實驗皆使用 10 倍之物鏡。使用鹵素光源箱 (light source, LA-150UE, HAYASHI) 外接光纖導管 (light guides, MSG3-1100S-SD, Moritex) 作為光源，入射光與試片之夾角約 40° ，由試片的斜上方往試片打光。

影像之拍攝使用高速攝影機 (high speed camera, MotionPro NX7-S1, Integrated Design Tool) 之每一個像素點大小為 $7.24 \times 7.24 \mu\text{m}^2$ ，搭配相機控制軟體 (MotionPro X Studio 2.02.01, IDT vision) 將影像擷取後傳送至電腦儲存。

物鏡的相關景深 (depth of correlation, DOC) 如式 (2.1) [47] 所示。

$$\text{DOC} = 2 \left\{ \frac{1 - \sqrt{\varepsilon}}{\sqrt{\varepsilon}} \left[f^{\#2} d_p^2 + \frac{5.95(M+1)^2 \lambda^2 f^{\#4}}{M^2} \right] \right\}^{1/2} \quad (2.1)$$



其中 ε 為門檻值 (the threshold value)，我們依照文獻中之設定為 0.01。 $f^\#$ 為焦比 (f-number)，引用 Bourdon 等人[48]之定義 $f^\# = n/2NA$ 。 n 為蓋玻片及物鏡鏡片間介質之折射率，NA 為物鏡之數值孔徑(numerical aperture)， λ 為光源之波長， M 為放大倍率， d_p 為質點直徑。本實驗中使用之 10 倍物鏡 (objective lens, MPLN 10x, Olympus) 其 NA 值為 0.25，蓋玻片及物鏡鏡片間介質為空氣 ($n = 1.00$)，實驗光源為鹵素燈光源，波長以 620 nm 計算，粒子之直徑為 150 nm，則由式 (2.1) 可知物鏡之相關景深約為 39.97 μm 。

2.2 實驗程序

本節將簡述實驗程序，包含奈米金粒子溶液的調配、去除溶液內預溶氣體、加熱平台的預熱、試片準備、溫度調整與影像分析程序。

A. 奈米金粒子溶液調配

奈米金粒子溶液由蒸餾水 (蒸餾水, 皓峰) 以及奈米金粒子 (150 nm stabilized gold nanoparticles, Cytodiagnosics) 原液調配而成，粒子之粒徑使用動態光散射粒徑分析儀 (dynamic light scattering particle size analyzer, Zetasizer Nano, Malvern) 在 25°C 下進行量測，量測之平均粒徑為 159.3 nm，粒徑分佈之標準差為 41.87 nm。

由於實驗所需之粒子密度範圍極大，為了降低奈米金粒子溶液粒子密度之不確定性，先使用粒子密度為 $3.6 \times 10^9 \text{ ml}^{-1}$ 之奈米金粒子原液調配粒子密度為 10^9 ml^{-1} 之溶液 15 ml 與 $5 \times 10^7 \text{ ml}^{-1}$ 之溶液 50 ml。接著使用粒子密度為 $5 \times 10^7 \text{ ml}^{-1}$ 之溶液調配粒子密度為 10^6 ml^{-1} 與 10^5 ml^{-1} 之奈米金粒子溶液各 50 ml；再使用粒子密度為 10^9 ml^{-1} 之溶液調配粒子密度為 10^8 ml^{-1} 與 10^7 ml^{-1} 之奈米金粒子溶液各 50 ml。各粒子密度之溶液在實驗中所拍攝之影像如圖 2.5 所示。



B. 去除溶液內預溶氣體

為了避免實驗中的加熱過程使溶液在微腔體中產生氣泡影響觀察，必須先去除溶液內之預溶氣體。取出欲使用之奈米金粒子溶液約 10ml 倒入燒杯中，使用鋁箔紙覆蓋燒杯之開口避免水分蒸發，利用加熱板 (hot plate, C-MAG HS 10, IKA) 將燒杯以溫度 70°C 加熱 10 分鐘，去除溶液中之預溶氣體。

C. 預熱加熱平台

將連接至兩熱電晶片之電源供應器電壓調整至 5 V 預熱加熱平台，時間約 10 分鐘。

D. 試片準備

輕輕搖晃燒杯中之奈米金粒子溶液，使沉積於容器底部之粒子均勻分佈在溶液中，使用注射器(hypodermic syringes, Terumo)將奈米金粒子溶液從微腔體開口處注射並填滿微腔體，再將 K 型熱電偶從微腔體開口嵌入，另一端連接至資料擷取卡並進行校正，使用黏土(clay, PB-7202, 上海擁立膠粘) 將微腔體完全密封，避免實驗過程中溶液的蒸發與外界空氣的擾動。將試片水平放置在加熱平台上，並調整微腔體使之對齊銅片上的孔洞。

E. 溫度調整

藉由嵌入微腔體與黏貼在熱電晶片上之熱電偶，即可使用 LabVIEW 軟體顯示並記錄微腔體內工作流體與兩熱電晶片表面之溫度，作為工作流體溫度調整之依據。

待微腔體內之奈米金溶液溫度接近所需溫度時，小心微調電源供應器之輸出電壓，以保持微腔體內工作流體達到實驗所需之溫度，並注意兩熱電晶片表面之溫度必須相同使微腔體內之工作流體溫度均勻。待微腔體內之奈米金溶液溫度維持穩定時，即可進行影像擷取。



F. 影像擷取

以顯微鏡觀察微腔體內奈米金粒子，確認所有粒子的運動皆為隨機並沒有特定之運動方向時，代表微腔體內之流體為靜止狀態，即可開始擷取影像。

在討論放大倍率之影響時，以拍攝速率 50 fps (frame per second) 連續拍攝 60 秒來得到一組影像(共 3000 張影像)，影像解析度為 1920×1080 像素，8 位元深度(bit depth)。

其餘實驗以拍攝速率 100 fps (frame per second) 連續拍攝 10 秒來得到一組影像(共 1000 張影像)，影像解析度為 1920×1080 像素，8 位元深度(bit depth)。

G. 影像前處理

為了方便進行後續分析，我們使用 ImageJ 軟體[49]將原始影像組(每組含 1000 張影像)裁剪成許多尺寸較小的粒子影像組，使每組影像內只包含一顆待分析之粒子，並捨棄粒子在過程中靜止(沉降至微腔體底部)與粒子從影像中消失(位移過大或是超出物鏡對焦之景深)的影像組，再從這些粒子影像組中選擇十組光線較均勻之影像組資料進行後續處理與分析。

粒子影像中若有明顯影響分析結果之亮點，則使用 ImageJ 軟體[49]來清除。由於後續分析使用影像中的最亮點來做為位置分析之參考，這些不屬於粒子亮點會造成粒子中心位置的誤判。

接著將粒子影像組中的每一張影像分別以 Matlab 軟體[50]讀取成影像陣列後，獨立進行正規化處理，使每一張影像的強度值範圍由 0 至 255 調整成 0 至 1。此處定義正規化之影像陣列 \tilde{I} ，如式 (2.2) 所示。

$$\tilde{I} = \frac{I - I_{\max}}{I_{\max} - I_{\min}} \quad (2.2)$$

其中 I 為原始影像 array， I_{\min} 為原始影像 array 之影像強度最小值， I_{\max} 為原始影像 array 之影像強度最大值，原始影像與處理後之影像如圖 2.6 所示。



H. 粒子位置分析

在分析粒子位置時，我們嘗試使用 2×3 , 2×5 與 2×7 個像素點 (pixel, px) 來進行 Gaussian fit，其結果如圖 2.7 所示，可知當使用 2×3 px 的 Gaussian fit 時，得到的分析結果有較小誤差，因此在後續所有的資料分析皆使用 2×3 px 的 Gaussian fit 方法。

2×3 px 的 Gaussian fit 方法中，首先找出影像 array 中亮度最高的像素，以此像素的位置作為中心點，分別在 x 與 y 方向上取出兩個大小為 1×3 與 3×1 px 的 array，使用 MATLAB 軟體[50]內的 fit 函式進行曲線擬合，結果如圖 2.8 所示。

本研究所使用之擬合曲線為一維 Gaussian 函數，其函式如式 (2.3) 所示。

$$G(x_{[px]}) = I_0 \exp \left[- \left(\frac{(x_{[px]} - x_{0,[px]})^2}{2\sigma_x^2} \right) \right] \quad (2.3)$$

其中 G 為陣列各元素的強度值， $x_{[px]}$ 為陣列各元素所對應的座標位置， I_0 為 Gaussian 函數之峰值， $x_{0,[px]}$ 為 Gaussian 函數峰值之座標位置， σ_x 為 Gaussian 函數之標準差。藉由已知的 G 與 $x_{[px]}$ 即可進行曲線擬合來求得 I_0 、 $x_{0,[px]}$ 與 σ_x 。

I. 計算 MSD 與平均溫度

將 x 與 y 方向上之兩個 array 進行曲線擬合後，即可由擬合得到之 Gaussian 函數峰值座標。由於此峰值座標為以最亮像素點位置為原點之增量座標，因此將峰值座標再加上最亮像素點的位置即可求得第 i 與 $i+1$ 張影像之粒子中心位置 $(x_0, y_0)_i$ 與 $(x_0, y_0)_{i+1}$ ，進而計算出粒子的位移，如式 (2.4) 所示。

$$(\Delta x_{[px]}, \Delta y_{[px]})_i = (x_0, y_0)_{i+1} - (x_0, y_0)_i \quad (2.4)$$

得到以像素為單位之粒子位移後，須將其單位轉換為公尺。根據 2.1.3 小節之影像擷取系統資訊可知，粒子位移之單位轉換如式 (2.4) 所式。

$$\Delta x_{[m]} = \frac{7.24 \times 10^{-6}}{M} \cdot \Delta x_{[px]} \quad (2.5)$$

接著利用 1.2.3 節之式 (1.6) 計算出粒子之 MSD 後，再利用式 (1.8) 即可求出微腔體中工作流體之溫度。在使用式 (1.8) 計算工作流體之溫度時，由於流體之黏滯係數亦為溫度之函數，因此需要先給定工作流體之溫度猜值，再使用迭代法重複計算，詳細流程如圖 2.9 所示。其中工作流體之黏滯係數是在壓力為 0.101 MPa 下，溫度介於 278 K 至 373 K 之間，以間隔 5 K 由套裝軟體 NIST database – Refprop [51] 計算得到，再利用 cubic spline interpolation 方法計算所需的值供迭代使用。

最後將 10 組影像計算得到之溫度，剔除與平均值相差超過兩個標準差以上的結果後，計算溫度估算之系統誤差與隨機誤差。

2.3 不確定性分析

由於實驗過程中諸多因素會導致實驗結果的誤差，因此藉由不確定性分析來估算實驗量測的誤差，以證明實驗結果的可信度。

實驗量測誤差可分為隨機誤差 (random errors) 及系統誤差 (systematic errors) 兩種。系統誤差取決於量測設備本身的精確度及量測的方式所決定，可藉由設備的校正來降低。隨機誤差為不可預期因素所產生之誤差，可藉由重複量測來降低。

量測誤差與隨機誤差及系統誤差的關係式如式 (2.6) 所示。

$$\delta z = \left(\delta z_{\text{sys}}^2 + \delta z_{\text{ran}}^2 \right)^{1/2} \quad (2.6)$$

其中 δz 代表整體量測誤差， δz_{sys} 代表系統誤差， δz_{ran} 代表隨機誤差。

實驗量測結果通常受到不同獨立變數的影響，即 $z = f(z_1, z_2, \dots, z_n)$ ，其中 z 代表量測數據，而 z_1, z_2, \dots, z_n 代表影響 z 之各獨立變數。由於受到誤差傳遞 (error



propagation) 的影響， z 的相對系統誤差如式 (2.7) 所示。

$$\frac{\delta z_{\text{sys}}}{z_{\text{sys}}} = \left[\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial z_{\text{sys}}}{\partial z_i} \cdot \frac{z_i}{z_{\text{sys}}} \frac{\delta z_i}{z_i} \right)^2 \right]^{1/2} \quad (2.7)$$

其中 δz_i 代表各項獨立量測變數之系統不確定性。

z 的相對隨機不確定性如式 (2.8) 所示。

$$\frac{\delta z_{\text{ran}}}{z} = \frac{1}{z} \frac{\sigma_z}{n^{1/2}} \quad (2.8)$$

其中 σ_z 代表 z 量測 n 次所得之樣本標準差 (standard deviation)。本章節將敘述實驗中各項量測之不確定性。

2.3.1 奈米金溶液粒子密度之相對不確定性

為了計算奈米金溶液粒子密度之相對不確定性，我們使用高速攝影機在常溫下，拍攝粒子密度 ρ_p 為 10^5 ml^{-1} 、 10^6 ml^{-1} 、 10^7 ml^{-1} 與 10^8 ml^{-1} 之溶液影像。每個粒子密度下皆拍攝 10 張影像。在每一張影像中光線均勻的位置，裁剪出面積分別為 $300 \times 300 \text{ px}$ 、 $960 \times 540 \text{ px}$ 、 $1080 \times 960 \text{ px}$ 與 $1920 \times 1080 \text{ px}$ 之影像，進行二值化處理去除在景深之外不清晰的粒子影像，並使用 ImageJ 軟體[49]內的粒子分析功能，計算影像中粒子面積介於為 5 px 至 15 px 間的粒子個數，即為觀察之溶液體積內所含的奈米金粒子數量。

欲由影像估算奈米金溶液之粒子密度，可利用式 (2.9) 進行計算。

$$\rho_p = \frac{N}{V} = \frac{N}{A \cdot \text{DOF}} \quad (2.9)$$

其中 N 為溶液中粒子之個數， V 為溶液之體積， A 為影像之實際面積， DOF 為物鏡之景深 (depth of field)，可使用式 (2.10) [52] 計算，其值約為 $12.8 \mu\text{m}$ 。



$$\text{DOF} = \frac{n \cdot \lambda}{\text{NA}^2} + \frac{n \cdot e}{\text{NA} \cdot M} \quad (2.10)$$

其中 e 為高速攝影機像素點之間的實際間距，其值為 $7.24 \mu\text{m}$ 。

由式 (2.9) 可得不同粒子密度下影像所得的系統不確定性與隨機不確定性，如表 2.1 所示，故奈米金溶液粒子密度之相對不確定性為 $\pm 60.13\%$ 。

2.3.2 微腔體內工作流體溫度量測之相對不確定性

本研究使用 K 型熱電偶量測微腔體內工作流體之溫度，其系統誤差 $\delta T_{i, \text{sys}} = \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。

欲知溫度之隨機誤差 $\delta T_{i, \text{rand}}$ ，以取樣時間 1 秒、取樣頻率 100 Hz 的條件，量測實驗使用之溫度最大值 70°C 與最小值 30°C 下之微腔體內工作流體之溫度，將量測結果使用式 (2.7) 計算，可得各溫度下之溫度量測隨機誤差，取其中之最大值作為微腔體內工作流體溫度量測之隨機誤差 $\delta T_{i, \text{rand}}$ 約為 $\pm 0.045^\circ\text{C}$ 。

根據隨機誤差與系統誤差之值，帶入式 (2.5) 即可得到微腔體內工作流體之溫度量測之相對不確定性 $\delta T_i / T_i$ 皆小於 $\pm 0.17\%$ 。

2.3.3 粒子位移量之不確定性

由式 (2.5) 可知，位移量 Δx_i 之系統誤差如式 (2.11) 所示。

$$\begin{aligned} \delta \Delta x_{i, \text{sys}} &= \left[\left(\frac{\partial \Delta x_i}{\partial x_{i+1}} \cdot \delta x_{i+1} \right)^2 + \left(\frac{\partial \Delta x_i}{\partial x_i} \cdot \delta x_i \right)^2 \right]^{1/2} \\ &= \left[\delta x_{i+1}^2 + \delta x_i^2 \right]^{1/2} \\ &= \sqrt{2} \cdot \delta x \end{aligned} \quad (2.11)$$

其中 x_i 與 x_{i+1} 分別為第 i 與 $i+1$ 張影像中之粒子中心位置， Δx_i 為第 i 組位移量資料。因為位置之計算皆使用同樣之影像擷取系統與分析方法，故在此假設每一



筆位置中心之不確定性皆相同，即 $\delta x_i = \delta x_{i+1} = \delta x$ 。

使用 2×3 px Gaussian interpolation 來判斷粒子之位置，根據 Nobach 與 Honkanen 的研究[38]可知，粒子之影像直徑接近 8 px 時，粒子中心位置之系統不確定性約為 $\delta x_{\text{sys}} = \delta y_{\text{sys}} = \pm 0.065$ px。

接著，若欲估算粒子中心位置之隨機不確定性與粒子位移量之不確定性，我們針對一個沉降至微腔體底部而靜止不動的質點，以拍攝速率 100 fps (frame per second)，擷取 1000 張影像。由此 1000 張影像可分析得到 1000 筆粒子中心位置資料，再從位置中心計算得到 999 筆位移資料。則粒子在 x 與 y 方向之中心位置隨機不確定性可由 1000 筆粒子中心位置之標準差來估算，其值分別為 $\delta x_{\text{rand}} = \pm 0.019$ px 與 $\delta y_{\text{rand}} = \pm 0.039$ px。粒子在 x 與 y 方向之位移量隨機誤差可由 999 筆位移之標準差來估算，其值分別為 $\delta \Delta x_{\text{rand}} = \pm 0.026$ px 與 $\delta \Delta y_{\text{rand}} = \pm 0.048$ px。

將 δx_{sys} 、 δx_{rand} 、 δy_{sys} 與 δy_{rand} 之代入式 (2.5) 可得 δx 與 δy 分別為 ± 0.068 px 與 ± 0.076 px，將 δx 與 δy 之代入式 (2.10) 可得到粒子在 x 與 y 方向位移量之系統不確定性分別為 $\delta \Delta x_{\text{sys}} = \pm 0.096$ px 與 $\delta \Delta y_{\text{sys}} = \pm 0.11$ px。將 $\delta \Delta x_{\text{sys}}$ 、 $\delta \Delta x_{\text{rand}}$ 、 $\delta \Delta y_{\text{sys}}$ 與 $\delta \Delta y_{\text{rand}}$ 代入式 (2.5) 可得 $\delta \Delta x$ 與 $\delta \Delta y$ 為 ± 0.099 px 與 ± 0.11 px。

2.3.4 MSD 之相對不確定性

本研究中之 MSD，是透過計算粒子在不同時間時在影像上之位置與 N 筆 x 與 y 方向之位移資料 $\Delta x_1, \dots, \Delta x_N, \Delta y_1, \dots, \Delta y_N$ ，代入式 (1.6) 進行計算所得。故可以知道 $\text{MSD} = \text{MSD}(\Delta x_1, \dots, \Delta x_N, \Delta y_1, \dots, \Delta y_N)$ ，其相對不確定性如式 (2.12) 所示。

$$\frac{\delta \text{MSD}}{\text{MSD}} = \left\{ \sum_{i=1}^N \left[\left(\frac{\partial \text{MSD}}{\partial \Delta x_i} \cdot \frac{\delta \Delta x_i}{\text{MSD}} \right)^2 + \left(\frac{\partial \text{MSD}}{\partial \Delta y_i} \cdot \frac{\delta \Delta y_i}{\text{MSD}} \right)^2 \right] \right\}^{1/2} \quad (2.12)$$

因為位移之計算皆使用同樣之影像擷取系統與分析方法，故在此假設每一筆



位移資料之不確定性皆相同，即 $\delta\Delta x_i = \delta\Delta x$ 且 $\delta\Delta y_i = \delta\Delta y$ ，則由式 (2.12) 可進一步得到式 (2.13)。

$$\begin{aligned} \frac{\delta\text{MSD}}{\text{MSD}} &= \left\{ \sum_{i=1}^N \left[\left(\frac{2\Delta x_i}{N} \cdot \frac{\delta\Delta x}{\text{MSD}} \right)^2 + \left(\frac{2\Delta y_i}{N} \cdot \frac{\delta\Delta y}{\text{MSD}} \right)^2 \right] \right\}^{1/2} \\ &= \left\{ \frac{4}{\text{MSD}^2} \sum_{i=1}^N \left[\left(\frac{\Delta x_i}{N} \cdot \delta\Delta x \right)^2 + \left(\frac{\Delta y_i}{N} \cdot \delta\Delta y \right)^2 \right] \right\}^{1/2} \\ &= \left\{ \frac{4}{N \cdot \text{MSD}^2} \left[(\delta\Delta x)^2 \cdot \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\Delta x_i)^2 + (\delta\Delta y)^2 \cdot \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\Delta y_i)^2 \right] \right\}^{1/2} \end{aligned} \quad (2.13)$$

假設粒子 x 與 y 方向之位移為隨機分佈且 N 之數量足以使資料之統計分析呈現總體性，因此滿足式 (2.14)。

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\Delta x_i)^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\Delta y_i)^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{(\Delta x_i^2 + \Delta y_i^2)}{2} = \frac{1}{2} \text{MSD} \quad (2.14)$$

將式 (2.14) 代入式 (2.13) 可得 MSD 之相對不確定性如式 (2.15) 所示。

$$\begin{aligned} \frac{\delta\text{MSD}}{\text{MSD}} &= \left\{ \frac{4}{N \cdot \text{MSD}^2} \left[(\delta\Delta x)^2 \cdot \left(\frac{1}{2} \text{MSD} \right) + (\delta\Delta y)^2 \cdot \left(\frac{1}{2} \text{MSD} \right) \right] \right\}^{1/2} \\ &= \left\{ \frac{2}{N \cdot \text{MSD}} \left[(\delta\Delta x)^2 + (\delta\Delta y)^2 \right] \right\}^{1/2} \end{aligned} \quad (2.15)$$

由前一小節計算得到之粒子 x 與 y 方向位移量之不確定性 $\delta\Delta x$ 與 $\delta\Delta y$ ，代入式 (2.15) 可計算出 MSD 之最大相對不確定性 $\frac{\delta\text{MSD}}{\text{MSD}}$ 約為 $\pm 1.24\%$ 。

2.3.5 粒子方均根位移量之不確定性

由於粒子之方均根位移量 (root-mean-square displacement, RMSD) 為 MSD 之平方根，故本研究中 RMSD 之不確定性如式 (2.16) 所示。



$$\begin{aligned}\delta\text{RMSD} &= \left[\left(\frac{\partial\text{RMSD}}{\partial\text{MSD}} \cdot \delta\text{MSD} \right)^2 \right]^{1/2} \\ &= \frac{1}{2\sqrt{\text{MSD}}} \cdot \delta\text{MSD}\end{aligned}\tag{2.16}$$

由式 (2.16) 可計算出 RMSD 之最大不確定性 δRMSD 為 $\pm 1.07 \times 10^{-8}$ m。

2.3.6 粒徑量測之相對不確定性

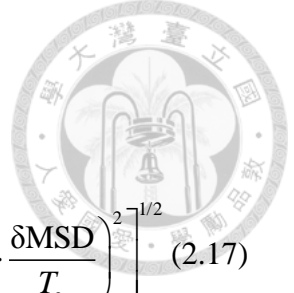
由量測可知奈米金粒子粒徑之系統不確定性 $\delta r_{p, \text{sys}}$ 為 9.3 nm，隨機不確定性 $\delta r_{p, \text{rand}}$ 為 41.62 nm，使用式 (2.5) 可計算得知，粒徑之相對不確定性 $\delta r_p / r_p$ 約為 $\pm 28.43\%$ 。

2.3.7 工作流體黏滯係數之相對不確定性

工作流體之黏滯係數 μ 由套裝軟體 NIST database – Refprop[51] 計算得到，軟體中使用模型所計算出之工作流體黏滯係數相對不確定性 $\delta\mu$ 可參考 IAPWS (The International Association for the Properties of Water and Steam) 於 2008 年所釋出的文件[53]。可知當工作流體溫度在 273 K 至 573 K 之間且壓力在 0 至 100MPa 之間時，黏滯係數之相對不確定性 $\delta\mu$ 為 $\pm 1\%$ 。

2.3.8 微腔體內工作流體溫度估算之相對不確定性

微腔體內工作流體之溫度由式 (1.8) 計算得到，故 $T_e = T_e(\mu, r_p, \text{MSD})$ ，則工作流體溫度估算之相對不確定性如式 (2.17) 所示。



$$\begin{aligned}
\frac{\delta T_e}{T_e} &= \left[\left(\frac{\partial T_e}{\partial \mu} \cdot \frac{\delta \mu}{T_e} \right)^2 + \left(\frac{\partial T_e}{\partial r_p} \cdot \frac{\delta r_p}{T_e} \right)^2 + \left(\frac{\partial T_e}{\partial \text{MSD}} \cdot \frac{\delta \text{MSD}}{T_e} \right)^2 \right]^{1/2} \\
&= \left[\left(\frac{2\pi r_p}{3k_B \cdot \Delta t} \cdot \text{MSD} \cdot \frac{\delta \mu}{T_e} \right)^2 + \left(\frac{2\pi \mu}{3k_B \cdot \Delta t} \cdot \text{MSD} \cdot \frac{\delta r_p}{T_e} \right)^2 + \left(\frac{2\pi \mu r_p}{3k_B \cdot \Delta t} \cdot \frac{\delta \text{MSD}}{T_e} \right)^2 \right]^{1/2} \quad (2.17) \\
&= \frac{2\pi}{3k_B \cdot \Delta t} \left[\left(r_p \cdot \text{MSD} \cdot \frac{\delta \mu}{T_e} \right)^2 + \left(\mu \cdot \text{MSD} \cdot \frac{\delta r_p}{T_e} \right)^2 + \left(\mu \cdot r_p \cdot \frac{\delta \text{MSD}}{T_e} \right)^2 \right]^{1/2}
\end{aligned}$$

將 2.3.5 小節至 2.3.7 小節所得之粒子方均根位移量、粒徑與工作流體黏滯係數不確定性代入式 (2.16)，可得微腔體內工作流體溫度估算之相對不確定性最大值為 $\pm 17.23\%$ ，其中大部分的不確定性主要為粒徑之不確定性所造成。

2.3.9 微腔體深度量測之相對不確定性

本研究中，微腔體之深度是使用厚度規 (dial depth gage, Mitutoyo) 量測 10 次後，將結果計算平均後得出，由式 (2.8) 與 10 筆量測結果之標準差計算可得量測隨機誤差為 $\pm 0.9 \mu\text{m}$ ，由厚度規之最小刻度可知系統誤差為 $\pm 0.5 \mu\text{m}$ ，並由式 (2.6) 計算可得微腔體深度量測之相對不確定性為 $\pm 0.21\%$ 。

第三章 實驗結果



本章將透過奈米金粒子 Brownian motion 之分析結果，來探討奈米金溶液之粒子密度、時間間隔、觀察時間、溶液溫度與影像數量等實驗參數與溫度量測之系統性誤差 (systematic error) 與隨機誤差 (random error) 間的關係，以了解應用 Brownian motion 之溫度量測技術最佳的使用條件。

3.1 粒子位移量機率密度函數與 MSD

本節將討論不同溫度下位移量之機率密度函數 (probability density function, PDF) 及時間間隔對 MSD 的影響，並與理論值進行比較來驗證 Brownian motion 的特性。其中不同溫度下，流體之黏滯係數與粒子 MSD 如表 3.1 與表 3.2 所示。

3.1.1 粒子位移量 PDF

圖 3.1 至圖 3.2 為粒子密度 ρ_p 為 10^5 ml^{-1} 與 10^8 ml^{-1} ，時間間隔 Δt 為 0.01 s，固定觀察時間 $t_{tr}=10 \text{ s}$ 下，不同溫度之 x 與 y 方向粒子位移量 PDF。從圖 3.1 至圖 3.2 中可以得知，粒子位移量介於 0 px 至 0.1 px 間之出現機率高於式 (1.4) 計算之理論值，粒子位移量介於 0.1 px 至 0.7 px 間之出現機率低於式 (1.4) 計算之理論值，粒子位移量介於 0.7 px 至 1.1 px 間之出現機率高於式 (1.4) 計算之理論值。此現象之成因推測為 pixel locking 現象，使粒子位移量被誤判。

圖 3.3 至圖 3.4 為粒子密度 ρ_p 為 10^5 ml^{-1} 與 10^8 ml^{-1} ，時間間隔 Δt 為 0.06 s，固定觀察時間 $t_{tr}=10 \text{ s}$ 下，不同溫度之 x 與 y 方向粒子位移量 PDF。圖 3.5 至圖 3.6 為粒子密度 ρ_p 為 10^5 ml^{-1} 與 10^8 ml^{-1} ，時間間隔 Δt 為 0.1 s，固定觀察時間 $t_{tr}=10 \text{ s}$ 下，不同溫度之 x 與 y 方向粒子位移量 PDF。

從圖 3.3 至圖 3.6 中可以得知，實驗所得之 MSD 接近一常態分佈，其分佈不



受粒子密度之影響，且隨著溫度與時間間隔的增加，常態分佈之標準差會增加但峰值下降。代表隨著溫度的增加，粒子出現高位移量之機率增加，其結果皆與式 (1.4) 之理論值非常接近。

3.1.2 MSD 與時間間隔之關係

圖 3.7 至圖 3.12 為不同溫度、粒子密度之下，觀察時間 $t_{tr}=10$ s 之下，時間間隔與粒子在二維平面上之 MSD 的關係。

從圖中可以得知實驗所得之 MSD 會隨著時間間隔變大而線性增加，其結果皆與式 (1.7) 之理論值非常接近，但當時間間隔較大時，MSD 會與理論值有較大的偏差。

3.2 時間間隔對溫度估算誤差之影響

3.2.1 系統性誤差

圖 3.13 為粒子密度 $\rho_p=10^5$ ml⁻¹ 且固定觀察時間 $t_{tr}=10$ s 時，不同溫度下，時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響。從圖 3.13 可看出，當時間間隔 Δt 介於 0.01 s 與 0.04 s 時，隨著時間間隔的上升，溫度估算之系統誤差逐漸下降，這是因為根據式 (1.7) 粒子位移量會與時間間隔成正比，當時間間隔非常小的時候，粒子位移量同樣非常小，此時影像分析過程中發生之 pixel locking 現象，造成較大的相對誤差，使溫度估算系統不確定性也因此變大。隨著時間間隔的增加，粒子位移量也逐漸增加，pixel locking 現象對於粒子實際位移量之影響逐漸下降，因此溫度估算系統不確定性也逐漸下降。

當時間間隔 Δt 介於 0.04 s 與 0.08 s 時，溫度估算之系統誤差較小；當時間間隔 Δt 大於 0.08 s 時，隨著時間間隔的上升，溫度估算之系統誤差緩慢的上升而且跳動幅度變大，推測是因為影像數量減少造成的影響。由於觀察時間是固定的，



時間間隔的增加代表可以分析的影像數量減少，當時間間隔增加至一臨界點後，影像數量之影響逐漸主宰溫度估算系統不確定性，使溫度估算之系統不確定性不斷震盪且隨時間間隔 Δt 的增加而略微上升。

圖 3.14 為粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 且固定影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$ 時，不同溫度下，時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響。從圖 3.14 可以看出，當時間間隔 Δt 介於 0.01 s 與 0.04 s 時，隨著時間間隔的上升，溫度估算之系統誤差逐漸下降，此現象與圖 3.13 出現之現象相同，皆為 pixel locking 現象所產生之影響；當時間間隔 Δt 介於 0.04 s 與 0.08 s 時，溫度估算之系統誤差較小；當時間間隔 Δt 大於 0.8 s 時，隨著時間間隔的上升，溫度估算之系統誤差不受到時間間隔的影響但持續震盪，原因推測為當影像數量 N_f 固定為 50 frames 時，在位移較大的情況下，影像數量不足以使 MSD 之計算結果呈現統計上的代表性，造成較大之溫度估算系統誤差，使圖中曲線不斷震盪。可知當時間間隔較大時，需要更長的觀察時間來得到足夠的影像數量，使 MSD 之計算結果能呈現統計上的代表性。

固定時間間隔與固定影像數量之比較將在 3.8 節詳細說明。在此，溶液溫度對於溫度估算之系統誤差並沒有明顯的影響，這是因為在式 (1.7) 中，MSD 與溫度 T 成正比，當溫度由 30°C 增加至 70°C 時，即由 303.15 K 增加至 343.15 K 時，MSD 僅增加了 13.2%，但 MSD 也與時間間隔 Δt 成正比，當時間間隔由 0.01 s 增加至 0.2 s 時，MSD 將增加至 20 倍，因此對 MSD 產生更大的影響。

3.2.2 隨機誤差

圖 3.15 為粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 且固定觀察時間 t_{cr} 為 10 s 時，不同溫度下，時間間隔對於溫度估算之隨機誤差之影響。

從圖 3.15 可以看出，固定觀察時間時，隨著時間間隔的增加，溫度估算之隨機誤差略為上升，原因推測為當時間間隔增加時，影像數量減少所造成的影響；當時間間隔 Δt 大於約 0.08 s 時有較明顯之震盪。這是因為固定觀察時間 t_{cr} 下，當

時間間隔長度增加，減少了可以分析的影像數量，每個粒子估算出的溫度有著較大的系統誤差，由十顆粒子位移所得之溫度估算隨機誤差也隨之增加並且震盪。

圖 3.16 為粒子密度 $\rho_p=10^5 \text{ ml}^{-1}$ 且固定影像數量 $N_f=50 \text{ frames}$ 時，不同溫度下，時間間隔對於溫度估算之隨機誤差之影響。

從圖 3.16 可以看出，當固定影像數量，時間間隔 Δt 介於 0.01 s 與 0.04 s 時，隨著時間間隔的增加，溫度估算之隨機誤差下降；且在所有時間間隔 Δt 下，溫度估算隨機誤差皆不斷震盪。在這裡，當時間間隔較小時，因為 pixel locking 現象對於粒子實際位移量之影響相對較大，因此有較大的溫度估算隨機誤差，並且其值不斷震盪。

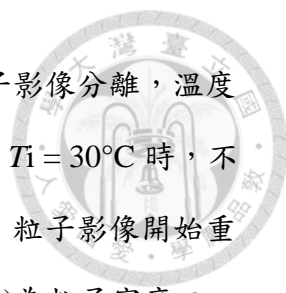
另外，我們發現奈米金粒子溶液之溫度對於溫度估算之隨機誤差並沒有明顯的影響。

3.3 觀察時間長度對溫度估算誤差之影響

3.3.1 系統性誤差

圖 3.17 為固定時間間隔 Δt 為 0.06 s 時，不同粒子密度下將所有溫度之資料平均後，觀察時間對於溫度估算之系統誤差的影響。從圖 3.17 可以看出，當溶液之粒子密度 $\rho_p < 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，溫度估算之系統誤差將隨著觀察時間增加而下降，在觀察時間為 10 s 時，其溫度量測之系統誤差可達 1°C ；當溶液之粒子密度增加至 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，溫度估算之系統誤差則會不斷震盪，其系統誤差最小值可達 1°C 左右。

粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時所出現之系統誤差震盪現象，原因推測為粒子影像之重疊所造成。當粒子影像重疊時，會使粒子中心位置被誤判且 MSD 之分析結果



偏離理論值，讓溫度估算之系統誤差上升，之後隨著重疊之粒子影像分離，溫度估算之系統誤差逐漸下降。圖 3.18 (a) 為粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ ， $T_i = 30^\circ\text{C}$ 時，不同時間下之粒子影像，從圖 3.18 (a) 中可以看出在時間為 6 s 時，粒子影像開始重疊，直到時間約為 8 s 時，重疊之粒子影像開始分離。圖 3.18 (b) 為粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ ， $T_i = 30^\circ\text{C}$ 時，觀察時間與系統誤差之關係。從圖 3.18 (b) 可以看到觀察時間介於 1 至 6 秒時，溫度估算系統誤差隨著觀察時間的增加而下降；觀察時間介於 6 至 8 秒時，因為粒子影像發生重疊，使溫度估算系統誤差隨著觀察時間的增加而增加；觀察時間 8 秒後，重疊之粒子逐漸分離，使溫度估算系統誤差隨著觀察時間的增加而稍微下降。關於粒子影像重疊率之理論計算，將在 3.4 節詳細敘述。

圖 3.19 為固定時間間隔 Δt 為 0.06 s 時，將所有粒子密度下的資料進行平均後，所得到的觀察時間對於溫度估算系統誤差之影響。從圖中可以更明顯看出溫度估算之系統誤差隨著觀察時間增加而下降。

3.3.2 隨機誤差

圖 3.20 為固定時間間隔 Δt 為 0.06 s 時，不同粒子密度下將所有溫度之資料平均後，觀察時間對於溫度估算之隨機誤差之影響。從圖 3.20 可以看出，在所有粒子密度的情況之下，溫度估算之隨機誤差皆隨著觀察時間增加而明顯的下降，這是因為當觀察時間增加時，分析之影像數量同時增加，使溫度估算之隨機誤差下降。此外，由圖 3.20 也可得知粒子密度在觀察時間對溫度估算之隨機誤差之變化的趨勢並沒有明顯的影響。

圖 3.21 為固定時間間隔 Δt 為 0.06 s 時，將所有粒子密度下的資料進行平均後，所得到的觀察時間對於溫度估算之隨機誤差之影響。從圖 3.21 中可以更明顯看出溫度估算之隨機誤差隨著觀察時間增加而下降的現象，且當觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$ 時其溫度估算之隨機誤差之最小值可達 2°C 左右。



3.4 粒子影像重疊率計算

本研究中透過影像分析來計算粒子的位置與 MSD，並進而估算對應之流體溫度。影像中的粒子發生重疊時，粒子在影像中的強度分佈可近似為兩個 Gaussian 函數的疊加，在使用迴歸分析進行曲線擬合時，會產生峰值位置的判斷錯誤，其值會與粒子正確的位置存在差異，進而造成 MSD 計算的誤差。本節將透過理論分析，來計算不同密度下的粒子影像重疊率。

為了計算粒子影像重疊率，我們參考氣體動力論中平均自由程 (mean free path) 的計算方法[54]，首先定義有效碰撞半徑 r_c (effective collision radius) 如式 (3.1) 所示，假設若粒子間的中心距離小於有效碰撞半徑時，會發生碰撞造成影像重疊，如圖 3.22 (a) 所示。

$$r_c = r_{img} + \frac{p}{2} \quad (3.1)$$

其中 r_{img} 為粒子半徑在影像中所佔的像素數量， p 為進行曲線擬合時所使用的像素數量。接著定義粒子的有效碰撞截面積 σ (effective collision cross-section) 如式 (3.2) 所示。

$$\sigma = 2 \cdot r_c \cdot e \cdot \text{DOC} \quad (3.2)$$

其中 DOC 為物鏡之相關景深，可利用式 (2.1) 來進行計算。此處與氣體動力論中的不同之處在於，氣體動力論中的碰撞需要粒子間的中心距離小於有效碰撞半徑；但在此處，影像中粒子重疊的情況只需要 z 座標在相關景深的範圍中，且粒子在 xy 平面上投影之中心距離小於有效碰撞半徑即會發生。

我們在空間中將一顆粒子視為靶粒子，當靶粒子移動一距離時，其碰撞截面積 σ 將在空間中劃過一個長方體，如圖 3.22 (b) 所示，因為考慮入射粒子和靶粒子之間的相對運動，其之間的相對平均方均根位移量等於方均根位移量再乘上 $\sqrt{2}$ ，在經過 N_f 個時間間隔後，劃過之長方體體積 V 如式 (3.3) 所示。



$$V = \sigma \cdot (\sqrt{2} \cdot \text{RMSD} \cdot N_f) \quad (3.3)$$

存在此長方體中之粒子即會與靶粒子產生影像之重疊，因此體積中所存在之平均粒子數量即為每次粒子運動的平均影像重疊率 N_c ，如式 (3.4) 所示。

$$N_c = V \cdot \rho_p = (2 \cdot r_c \cdot \text{DOC}) \cdot (\sqrt{2} \cdot \text{RMSD} \cdot N_f) \cdot \rho_p$$

$$= \frac{4\sqrt{3}}{\pi} \cdot e \cdot \left(r_{\text{img}} + \frac{p}{2} \right) \cdot \left\{ \frac{1 - \sqrt{\epsilon}}{\sqrt{\epsilon}} \left[f^{\#2} d_p^2 + \frac{5.95(M+1)^2 \lambda^2 f^{\#4}}{M^2} \right] \right\}^{1/2} \cdot \sqrt{\frac{k_B T}{\mu r_p}} \Delta t \cdot N_f \cdot \rho_p \quad (3.4)$$

其中 RMSD 為時間間隔內粒子之方均根位移量，為 MSD 之平方根， N_f 為分析之影像數量， ρ_p 為奈米金溶液之粒子密度。從式 (3.4) 可得不同粒子密度下之粒子影像重疊率如表 3.3 所示。可知當粒子密度 $\rho_p < 10^8 \text{ ml}^{-1}$ ，觀察時間 t_{tr} 為 10 s 時，粒子平均影像重疊率 N_c 皆低於 1 次，因此較適合進行溫度估算。

3.5 粒子密度對溫度估算之影響

圖 3.23(a) 為固定觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$ 且時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ 時，不同粒子密度與溶液溫度下，時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響。由圖 3.23(a) 可知，在所有粒子密度與溶液溫度之下，溫度估算之系統誤差皆在 2°C 以內，可知粒子密度對於溫度估算之系統誤差沒有明顯影響。

圖 3.23(b) 為固定觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$ 且時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ 時，不同粒子密度與溶液溫度下，時間間隔對於溫度估算隨機誤差之影響。由圖 3.23(b) 可知，在所有的粒子密度下，溫度估算之隨機誤差皆小於 3°C ，可知粒子密度對於溫度估算之隨機誤差並沒有明顯的影響。但由 3.3 節與 3.4 節之敘述可知，粒子密度增加同時也提高了粒子影像重疊率，可能使粒子之位置出現誤判。而粒子密度 ρ_p 為 10^5 ml^{-1} 時，影像中之粒子數量非常少，因此需要進行多次實驗來獲得足夠之影像數量。



3.6 RMSD 對溫度估算之影響

3.6.1 系統性誤差

圖 3.24 為粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 且固定觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$ 時，不同溫度下，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係。從圖 3.24 中可以看出，當 $\text{RMSD} < 1.5 \text{ px}$ 時，溫度估算之系統誤差隨 RMSD 的增加快速下降，此趨勢與圖 3.8 相似，皆為 pixel locking 現象所產生之影響；當 RMSD 介於 1.5 至 2 px 時，溫度估算之系統誤差有最小值；當 $\text{RMSD} > 2 \text{ px}$ 時，溫度估算之系統誤差則隨 RMSD 的增加略為增加，且持續介於 0°C 至 5°C 間震盪，此趨勢與圖 3.23 相同，皆為影像數量過少所產生之影響。對於同一溫度下之情況，RMSD 的增加即為時間間隔的增加，代表可分析的影像數量減少。

圖 3.25 至圖 3.28 為固定觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$ ，粒子密度 ρ_p 分別為 10^5 ml^{-1} 、 10^6 ml^{-1} 、 10^7 ml^{-1} 與 10^8 ml^{-1} 時，不同溫度下，RMSD 與溫度估算系統誤差關係之比較。從圖 3.25 至圖 3.28 中可看到，當 $\text{RMSD} < 1.5 \text{ px}$ 時，溫度估算之系統誤差隨 RMSD 的增加快速下降，此趨勢與圖 3.13 相似，皆為 pixel locking 現象所產生之影響，當 $\text{RMSD} > 2 \text{ px}$ 時，溫度估算之系統誤差則隨 RMSD 的增加略為增加，且持續介於 0°C 至 5°C 間震盪，此趨勢與圖 3.13 相同。圖 3.30 至圖 3.33 為固定影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$ ，粒子密度 ρ_p 分別為 10^5 ml^{-1} 、 10^6 ml^{-1} 、 10^7 ml^{-1} 與 10^8 ml^{-1} 時，不同溫度下，RMSD 與溫度估算系統誤差關係之比較。從圖 3.30 至圖 3.33 中同樣可看到，當 $\text{RMSD} < 1.5 \text{ px}$ 時，溫度估算之系統誤差隨 RMSD 的增加快速下降，此趨勢與圖 3.13 相似，皆為 pixel locking 現象所產生之影響，當 $\text{RMSD} > 2 \text{ px}$ 時，溫度估算之系統誤差持續介於 0°C 至 10°C 間震盪。此外，粒子密度對於系統誤差則沒有明顯的影響。

圖 3.29 為固定觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$ 時，將所有粒子密度下的資料進行平均後，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係。圖 3.34 為固定影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$ 時，

將所有粒子密度下的資料進行平均後，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係。從圖 3.28 可以更明顯看到，當固定觀察時間，則 RMSD 介於 1.5 px 至 2 px 時，溫度估算之系統誤差有最小值。從圖 3.33 可以更明顯看到，當固定影像數量，則 RMSD 大於 1.5 px 時，溫度估算之系統誤差有最小值。

3.6.2 隨機誤差

圖 3.35 為粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ，固定觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$ 時，不同溫度下，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係。從圖 3.34 可以看出，不論流體溫度為何，隨著 RMSD 的增加，溫度估算之隨機誤差也逐漸的上升，推測原因為影像數量減少所造成的；圖 3.36 至圖 3.39 為固定觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$ ，粒子密度 ρ_p 分別為 10^5 ml^{-1} 、 10^6 ml^{-1} 、 10^7 ml^{-1} 與 10^8 ml^{-1} 時，不同溫度下，RMSD 對於溫度估算隨機誤差之影響，從圖 3.36 至圖 3.39 可以看出，奈米金粒子溶液之溫度與粒子密度對於溫度估算之隨機誤差並沒有明顯的影響。

圖 3.40 為固定觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$ 時，將所有粒子密度下的資料進行平均後，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係，可以看出 RMSD 對於溫度估算隨機誤差的影響明顯大於溶液溫度之影響，原因與 3.2.1 之敘述相同。

圖 3.41 將所有粒子密度下的資料進行平均後，RMSD、影像數量與溫度估算隨機誤差之關係。從圖 3.41 可以看出在所有 RMSD 下，隨機誤差皆隨著影像數量的增加而下降，RMSD < 1.4 px 時，溫度估算有較大的隨機誤差；RMSD 介於 1.4 px 至 2.2 px 之間時，隨著影像數量之增加而快速下降；在 RMSD > 2.2 px 後，溫度估算之隨機誤差受影像數量之影響變小，隨著影像數量之增加略微下降。

3.7 溶液溫度對溫度估算之影響

圖 3.42 至圖 3.45 為不同粒子密度下，固定觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$ 時，時間間隔與

流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響；圖 3.46 至圖 3.49 為不同粒子密度下，固定影像數量 $N_f=50$ frames，時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響。從圖 3.42 至圖 3.49 中可知，不論是固定觀察時間或是固定影像數量，流體溫度與溫度估算之系統誤差沒有明顯的相關。

圖 3.50 至圖 3.53 為不同粒子密度下，固定觀察時間 $t_{tr}=10$ s 時，時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響；圖 3.54 至圖 3.57 為不同粒子密度下，固定影像數量 $N_f=50$ frames，時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響。從圖 3.50 至圖 3.57 中可知，不論是固定觀察時間或是固定影像數量，流體溫度與溫度估算之隨機誤差沒有明顯的相關。

圖 3.58 為粒子密度 ρ_p 分別為 10^5 ml⁻¹、 10^6 ml⁻¹、 10^7 ml⁻¹ 與 10^8 ml⁻¹ 時，固定觀察時間 t_{tr} 為 10 s，時間間隔 Δt 為 0.06 s 時，不同流體溫度下之系統誤差與隨機誤差。從圖 3.23 同樣可看出在所有粒子密度下，流體溫度與溫度估算之系統及隨機誤差皆沒有明顯的相關。

3.8 固定時間間隔與固定影像數量之比較

3.8.1 系統性誤差

圖 3.59 為固定觀察時間 $t_{tr}=10$ s，粒子密度 ρ_p 分別為 10^5 ml⁻¹、 10^6 ml⁻¹、 10^7 ml⁻¹ 與 10^8 ml⁻¹ 時，時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響。從圖 3.59 中可以看出，時間間隔 Δt 介於 0.01 s 至 0.06 s，隨著時間間隔 Δt 的上升，溫度估算之系統誤差快速的下降；當時時間間隔 Δt 為 0.06 s 時，溫度估算有最小的系統誤差；當時時間間隔 $\Delta t > 0.06$ s，隨著時間間隔的上升，溫度估算之系統誤差略微的上升。

圖 3.60 為固定影像數量 $N_f=50$ frames，粒子密度 $\rho_p=10^5$ ml⁻¹、 10^6 ml⁻¹、 10^7 ml⁻¹ 與 10^8 ml⁻¹ 時，時間間隔對溫度估算系統誤差之影響。從圖 3.60 中可以看



出，時間間隔 Δt 介於 0.01 s 至 0.06 s，隨著時間間隔 Δt 的上升，溫度估算之系統誤差快速的下降；當時時間間隔 $\Delta t > 0.06$ s，溫度估算之系統誤差並不受時間間隔之影響，僅略微震盪。

圖 3.61 為將所有粒子密度下的資料進行平均後，時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響。由圖 3.61 可以更容易比較固定觀察時間與固定影像數量兩種條件下的結果。

從圖 3.61 中可以看出當時時間間隔 Δt 介於 0.01 s 至 0.06 s 時，溫度估算之系統誤差皆隨著時間間隔增加而快速下降，此現象之成因同 3.2 節之敘述，為 pixel locking 現象所造成之粒子位置分析產生誤差之影響；當時時間間隔 $\Delta t > 0.06$ s 時，固定觀察時間下之溫度估算系統誤差略微上升，而固定影像數量下之溫度估算系統誤沒有明顯的增加，此現象之成因同 3.2 節之敘述，為增加時間間隔時，同時減少了影像數量所產生之影響。

3.8.2 隨機誤差

圖 3.62 為固定觀察時間 $t_{tr}=10$ s，粒子密度 $\rho_p=10^5$ 、 10^6 、 10^7 與 10^8 ml⁻¹ 時，時間間隔對溫度估算隨機誤差之影響。從圖 3.62 可以看出，當實驗固定的條件是觀察時間 t_{tr} 時，隨著時間間隔 Δt 的增加，溫度估算之隨機誤差不斷的上升，且震盪的幅度也逐漸增加。

圖 3.63 為固定影像數量 $N_f=50$ frames，粒子密度 $\rho_p=10^5$ 、 10^6 、 10^7 與 10^8 ml⁻¹ 時，時間間隔對溫度估算隨機誤差之影響。從圖 3.63 可以看出，當實驗固定的條件是影像數量 N_f 時，當時時間間隔 Δt 介於 0.01 s 至 0.04 s，隨著時間間隔 Δt 的增加，量測之隨機誤差快速的下降；當時時間間隔 $\Delta t \geq 0.03$ s 時，溫度估算之隨機誤差持續在 2°C 與 3°C 之間上下震盪，並沒有太大改變。

圖 3.64 為將所有粒子密度下的資料進行平均後，時間間隔對於溫度估算隨機誤差之影響。由圖 3.64 可以更容易比較固定觀察時間與固定影像數量兩種條件下

的結果差異。從圖 3.64 可明顯看出，固定觀察時間時，溫度估算之隨機誤差隨著時間間隔變大而增加，原因主要為影像數量減少所造成的影響，與 3.2.2 小節敘述的相同。而固定影像數量下，當時間間隔 Δt 介於 0.01 s 至 0.03 s 之間時，溫度估算之隨機誤差快速下降，原因推測為 pixel locking 現象所造成之粒子位置分析誤差與影像數量不足共同造成的影響；當時間間隔 $\Delta t \geq 0.03$ s 時，溫度估算之隨機誤差則在 2.5°C 附近略微震盪。

從上面的結果可以歸納出：當時間間隔 $\Delta t < 0.03$ s 時，粒子之 RMSD 較小，pixel locking 現象所造成之粒子位置分析誤差之影響相對較大，因此在影像數量 $N_f = 50$ frames 下之實驗結果具有較大的溫度估算隨機誤差，然而 pixel locking 所造成之溫度估算隨機誤差增加可藉由增加影像數量來避免，可知溫度估算之隨機誤差主要受到影像數量影響，當影像數量降低時，樣本數逐漸減少，計算得到的 MSD 無法反映出流體的溫度資訊，使得溫度估算之隨機誤差隨之上升；當時間間隔 $\Delta t > 0.03$ s 時，粒子之 RMSD 較大，pixel locking 現象之影響相對較小，因此在固定影像數量 $N_f = 50$ frames 下，溫度估算隨機誤差僅略微震盪。

3.8.3 總不確定性

溫度估算之總不確定性可由系統誤差、隨機誤差帶入式 (2.5) 計算得到。圖 3.65 為固定觀察時間下，時間間隔對溫度估算總不確定性、隨機誤差與系統誤差之影響。從圖 3.65 中可以看出，當時間間隔 Δt 介於 0.01 s 至 0.06 s 時，溫度估算之總不確定性隨著時間間隔增加而快速下降，此現象之成因同 3.2 節之敘述，皆為 pixel locking 現象所造成之粒子位置分析誤差使溫度估算系統誤差增加之影響；當時間間隔 $\Delta t > 0.06$ s 時，溫度估算總不確定性略微上升，此現象之成因同 3.2 節之敘述，為增加時間間隔時，同時減少了影像數量所產生之影響。

圖 3.66 為固定影像數量下，時間間隔對溫度估算總不確定性、隨機誤差與系統誤差之影響。從圖 3.66 中可以看出，當時間間隔 Δt 介於 0.01 s 至 0.06 s 時，溫

度估算之總不確定性隨著時間間隔增加而快速下降，此現象之成因同 3.2 節之敘述，皆為 pixel locking 現象所造成之粒子位置分析誤差使溫度估算系統誤差與隨機誤差增加之影響；當時間間隔 $\Delta t > 0.06$ s 時，溫度估算總不確定性沒有明顯的增加。

3.9 物鏡放大倍率之影響

圖 3.67 為固定觀察時間 = 30 s 下，使用 5 倍物鏡時，RMSD 對溫度估算系統誤差之影響；圖 3.68 為固定觀察時間 = 10 s 下，使用 10 倍物鏡時，RMSD 對溫度估算系統誤差之影響。其中使用 5 倍物鏡時，粒子影像直徑約為 7 px，使用 10 倍物鏡時，粒子影像直徑約為 11 px。

從圖 3.67 與圖 3.68 中可以看到，當使用之物鏡倍率為 5 時，使系統誤差較小之最佳 RMSD 介於 2 px 至 2.5 px 之間；當使用之物鏡倍率為 10 時，使系統誤差較小之最佳 RMSD 介於 1.5px 至 2 px 之間。


第四章 結論與建議



本研究利用奈米金粒子 Brownian motion 之分析結果，來探討粒子密度、觀察時間、時間間隔、溶液溫度與觀察之影像數量等實驗參數對溫度估算之系統性誤差與隨機誤差的影響，茲將結論與建議分述如下。

4.1 結論

1. 在所有粒子密度與溶液溫度之下，溫度估算之系統誤差皆在 2°C ，隨機誤差皆小於 3°C ，可知粒子密度對於溫度估算之系統誤差與隨機誤差沒有明顯影響。但粒子密度增加將提高粒子影像重疊率，使粒子之位置誤判，當粒子密度 $\rho_p < 10^8 \text{ ml}^{-1}$ ，觀察時間 t_{tr} 為 10 s 時，粒子平均影像重疊率 N_c 皆低於 1 次，因此較適合進行溫度估算。
2. 流體溫度對溫度估算之系統及隨機誤差皆沒有明顯的影響，這是因為在式 (1.7) 中，MSD 與溫度 T 成正比，當溫度由 30°C 增加至 70°C 時，即由 303.15 K 增加至 343.15 K 時，RMSD 僅增加了 6.4%，對溫度估算之系統及隨機誤差非常微小。
3. 當固定時間間隔 Δt 為 0.06 s，溶液之粒子密度 $\rho_p < 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，溫度估算之系統誤差將隨著觀察時間增加而下降，在觀察時間為 10 s 時可達最小值 1°C ；當溶液之粒子密度增加至 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，則因為粒子影像之重疊現象，使溫度估算之系統誤差不斷震盪，最小值同樣可達 1°C 左右。
4. 在所有粒子密度之下，溫度估算之隨機誤差皆隨著觀察時間增加而下降，這是因為當觀察時間增加時，可分析之影像數量同時增加，使溫度估算之隨機誤差下降，在觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$ 時可達最小值 2°C 。
5. 固定觀察時間下，當 $\text{RMSD} < 1.5 \text{ px}$ 時，因為 pixel locking 現象所產生之影響



相對較大，造成較大的溫度估算系統誤差，但隨著 RMSD 增加，pixel locking 現象之影響逐漸減弱，使溫度估算系統誤差快速下降。當 RMSD 介於 1.5 至 2 px 時，溫度估算之系統誤差有最小值。當 $\text{RMSD} > 2 \text{ px}$ 時，誤差主要受到影像數量減少之影響，RMSD 的增加會使可分析影像數量減少，增加溫度估算之系統誤差與隨機誤差。

6. 當 $\text{RMSD} < 1.5 \text{ px}$ 時，需要較多的影像數量來降低 pixel locking 現象對隨機誤差的影響；當 $\text{RMSD} > 1.5 \text{ px}$ 時，溫度估算之系統誤差與隨機誤差不受時間間隔的影響，主要受到影像數量的影響，且隨著影像數量的增加而下降。
7. 固定觀察時間下，當時間間隔 Δt 介於 0.01 s 至 0.06 s 時，溫度估算之總不確定性隨著時間間隔增加而快速下降，此現象為 pixel locking 現象所造成之粒子位置分析誤差使溫度估算系統誤差增加之影響；當時間間隔 $\Delta t > 0.06 \text{ s}$ 時，固定觀察時間下之溫度估算總不確定性略微上升，此現象之成因為增加時間間隔時，同時減少了影像數量所產生之影響。
8. 固定影像數量下，當時間間隔 Δt 介於 0.01 s 至 0.06 s 時，溫度估算之總不確定性皆隨著時間間隔增加而快速下降，此現象為 pixel locking 現象所造成之粒子位置分析誤差使溫度估算系統誤差與隨機誤差增加之影響；當時間間隔 $\Delta t > 0.06 \text{ s}$ 時，溫度估算總不確定性沒有明顯的增加。



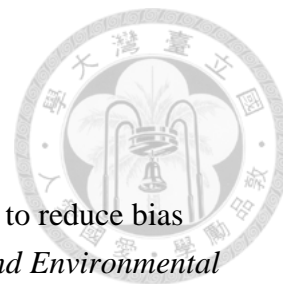
4.2 建議

1. 本實驗之光源使用單一鹵素燈由流道斜上方打光，因此拍攝之影像亮度並不均勻，而且在實驗時需要耗費許多時間在調整光線入射之角度與位置，同時有嚴重的反光問題，建議其他研究者嘗試使用其他種類的打光方式或是調整光源入射的角度與方式，減少影像之雜訊、並避免粒子照光不均勻產生的形狀偏差。
2. 拍攝粒子之影像時，避免挑選位置太過接近壁面之粒子，以免粒子在拍攝過程中因沉降至流道底部而靜止不動，或是因為受到壁面摩擦之影響而量測到不正確的位移量。
3. 當實驗之溫度逐漸增加時，因為流體之氣體溶解度逐漸的下降，因此在流道內會有小氣泡產生，其反光會影響影像之品質，建議其他研究者在實驗之前先取出實驗所需體積之奈米金溶液，並加熱至實驗條件之最高溫度，以去除流體內溶解之氣體。
4. 本實驗在進行影像分析之前，需要花費許多時間來手動進行影像裁剪與處理，因此在有限時間內限制了分析之粒子的數量，建議其他研究者撰寫可直接由拍攝之原始影像自動進行粒子追蹤與分析之程式，來縮短影像處理之時間，並增加粒子取樣數量來降低實驗誤差。
5. 本實驗中因為奈米金粒子會沉降的特性，使得實驗具有時間限制，而降低實驗之成功機率，建議其他研究者嘗試尋找可避免粒子沉降之機制，或是改良加熱平台使整體系統能在更短的時間內達到熱平衡。
6. 本實驗中粒子流道內溫度估算使用體積較大之 k 型熱電偶，使得流道無法完整的密封，因此隨著實驗溫度的升高，流道內流體將更快的蒸發，同樣也限制了實驗之時間，建議其他研究者可以嘗試使用微機電元件製作微型溫度感測元件，增加流道密封性以避免流體之蒸發並降低流體溫度估算之不確定性。

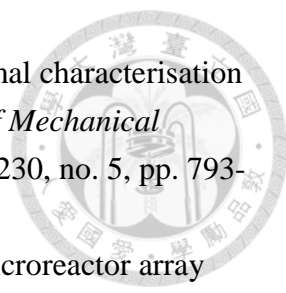
7. 目前的實驗並未研究物鏡放大倍率以及不同次像素位置估算之演算法對於系統與隨機誤差所產生的影響，建議其他研究者可以嘗試研究這些實驗條件所產生之影響，以便更完整了解此溫度估算技術最佳之實驗參數。



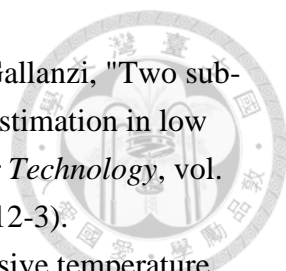
參考文獻



- [1] K. Ishii and M. Fukui, "Optimization of annealing temperature to reduce bias caused by a primer mismatch in multitemplate pcr," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67, no. 8, pp. 3753-5, 2001 (10.1128/AEM.67.8.3753-3755.2001).
- [2] P. F. Ray, "Increasing the denaturation temperature during the first cycles of amplification reduced allele dropout from single cells for preimplantation genetic diagnosis," *Molecular Human Reproduction*, vol. 2, no. 3, pp. 213-218, 1996 (10.1093/molehr/2.3.213).
- [3] M. Leber, L. Kaderali, A. Schonhuth, and R. Schrader, "A fractional programming approach to efficient DNA melting temperature calculation," *Bioinformatics*, vol. 21, no. 10, pp. 2375-82, 2005 (10.1093/bioinformatics/bti379).
- [4] R. Piazza and A. Parola, "Thermophoresis in colloidal suspensions," *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 20, no. 15, pp. 153102, 2008 (10.1088/0953-8984/20/15/153102).
- [5] C. J. Wienken, P. Baaske, U. Rothbauer, D. Braun, and S. Duhr, "Protein-binding assays in biological liquids using microscale thermophoresis," *Nature Communications*, vol. 1, no. 100, pp. 2010 (10.1038/ncomms1093).
- [6] M. Jerabek-Willemsen, C. J. Wienken, D. Braun, P. Baaske, and S. Duhr, "Molecular interaction studies using microscale thermophoresis," *ASSAY and Drug Development Technologies*, vol. 9, no. 4, pp. 342-53, 2011 (10.1089/adt.2011.0380).
- [7] G. Velve Casquillas, C. Fu, M. Le Berre, J. Cramer, S. Meance, A. Plecis, D. Baigl, J. J. Greffet, Y. Chen, M. Piel, and P. T. Tran, "Fast microfluidic temperature control for high resolution live cell imaging," *Lab on a Chip*, vol. 11, no. 3, pp. 484-9, 2011 (10.1039/c0lc00222d).
- [8] C. Butterwick, S. I. Heaney, and J. F. Talling, "Diversity in the influence of temperature on the growth rates of freshwater algae, and its ecological relevance," *Freshwater Biology*, vol. 50, no. 2, pp. 291-300, 2004 (10.1111/j.1365-2427.2004.01317.x).
- [9] R. H. Foy, C. E. Gibson, and R. V. Smith, "The influence of daylength, light intensity and temperature on the growth rates of planktonic blue-green algae," *British Phycological Journal*, vol. 11, no. 2, pp. 151-163, 2007 (10.1080/00071617600650181).
- [10] D. Ross-Pinnock and P. G. Maropoulos, "Review of industrial temperature

- 
- measurement technologies and research priorities for the thermal characterisation of the factories of the future," *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part B: Journal of Engineering Manufacture*, vol. 230, no. 5, pp. 793-806, 2015 (10.1177/0954405414567929).
- [11] T. Yamamoto, T. Fujii, and T. Nojima, "Pdms-glass hybrid microreactor array with embedded temperature control device. Application to cell-free protein synthesis," *Lab on a Chip*, vol. 2, no. 4, pp. 197-202, 2002 (10.1039/b205010b).
- [12] H. F. Arata, Y. Rondelez, H. Noji, and H. Fujita, "Temperature alternation by an on-chip microheater to reveal enzymatic activity of beta-galactosidase at high temperatures," *Analytical Chemistry*, vol. 77, no. 15, pp. 4810-4, 2005 (10.1021/ac050385+).
- [13] M. Genix, P. Vairac, and B. Cretin, "Local temperature surface measurement with intrinsic thermocouple," *International Journal of Thermal Sciences*, vol. 48, no. 9, pp. 1679-1682, 2009 (10.1016/j.ijthermalsci.2009.01.020).
- [14] D. Ross and L. E. Locascio, "Effect of caged fluorescent dye on the electroosmotic mobility in microchannels," *Analytical Chemistry*, vol. 75, no. 5, pp. 1218-20, 2003 (10.1021/ac026277u).
- [15] R. Brown, "Xxvii. A brief account of microscopical observations made in the months of june, july and august 1827, on the particles contained in the pollen of plants; and on the general existence of active molecules in organic and inorganic bodies," *Philosophical Magazine Series 2*, vol. 4, no. 21, pp. 161-173, 1828 (10.1080/14786442808674769).
- [16] E. Nelson, *Dynamical theories of brownian motion*. New Jersey: Princeton University Press, 1967.
- [17] A. Einstein, *Investigations on the theory of the brownian movement*. New York: Dover Publications, 1956.
- [18] P. R. N. Childs, J. R. Greenwood, and C. A. Long, "Review of temperature measurement," *Review of Scientific Instruments*, vol. 71, no. 8, pp. 2959-2978, 2000 (10.1063/1.1305516).
- [19] G. Mills, H. Zhou, A. Midha, L. Donaldson, and J. M. R. Weaver, "Scanning thermal microscopy using batch fabricated thermocouple probes," *Applied Physics Letters*, vol. 72, no. 22, pp. 2900-2902, 1998 (10.1063/1.121453).
- [20] F. E. Kennedy, D. Frusescu, and J. Y. Li, "Thin film thermocouple arrays for sliding surface temperature measurement," *Wear*, vol. 207, no. 1-2, pp. 46-54, 1997 (10.1016/S0043-1648(96)07473-X).
- [21] A. M. Chaudhari, T. M. Woudenberg, M. Albin, and K. E. Goodson, "Transient liquid crystal thermometry of microfabricated pcr vessel arrays," *Journal of Microelectromechanical Systems*, vol. 7, no. 4, pp. 345-355, 1998

- (10.1109/84.735341).
- [22] Z. Chen, K. Y. Zhang, X. Tong, Y. Liu, C. Hu, S. Liu, Q. Yu, Q. Zhao, and W. Huang, "Phosphorescent polymeric thermometers for in vitro and in vivo temperature sensing with minimized background interference," *Advanced Functional Materials*, vol. 26, no. 24, pp. 4386-4396, 2016 (10.1002/adfm.201600706).
- [23] D. Ross, M. Gaitan, and L. E. Locascio, "Temperature measurement in microfluidic systems using a temperature-dependent fluorescent dye," *Analytical Chemistry*, vol. 73, no. 17, pp. 4117-4123, 2001 (10.1021/ac010370l).
- [24] T. Katsumata, Y. Kohno, H. Kubo, S. Komuro, and T. Morikawa, "Low temperature fluorescence thermometer application of long afterglow phosphorescent $\text{SrAl}_2\text{O}_4:\text{Eu}^{2+}, \text{Dy}^{3+}$ crystals," *Review of Scientific Instruments*, vol. 76, no. 8, pp. 084901, 2005 (10.1063/1.1988147).
- [25] C. Chan and J. W. Daily, "Measurement of temperature in flames using laser induced fluorescence spectroscopy of OH," *Applied Optics*, vol. 19, no. 12, pp. 1963-8, 1980 (10.1364/AO.19.001963).
- [26] M. Megahed, "Estimation of the potential of a fluorescence thermometer for diesel spray studies," *Applied Optics*, vol. 32, no. 25, pp. 4790-6, 1993 (10.1364/AO.32.004790).
- [27] O. Struß, "Transfer radiation thermometer covering the temperature range from $-50\text{ }^\circ\text{C}$ to $1000\text{ }^\circ\text{C}$," vol. 684, no. 1, pp. 565-570, 2003 (10.1063/1.1627187).
- [28] S. Prakash, P. Y. Lee, and T. Caelli, "3d mapping of surface temperature using thermal stereo," presented at the International Conference on Control Automation Robotics & Vision, Singapore, 2006.
- [29] M. G. Olsen and R. J. Adrian, "Brownian motion and correlation in particle image velocimetry," *Optics and Laser Technology*, vol. 32, no. 7-8, pp. 621-627, 2000 (10.1016/S0030-3992(00)00119-5).
- [30] V. Hohreiter, S. T. Wereley, M. G. Olsen, and J. N. Chung, "Cross-correlation analysis for temperature measurement," *Measurement Science and Technology*, vol. 13, no. 7, pp. 1072-1078, 2002 (10.1088/0957-0233/13/7/314).
- [31] J. S. Park, C. K. Choi, and K. D. Kihm, "Temperature measurement for a nanoparticle suspension by detecting the brownian motion using optical serial sectioning microscopy (ossm)," *Measurement Science and Technology*, vol. 16, no. 7, pp. 1418-1429, 2005 (10.1088/0957-0233/16/7/003).
- [32] K. Chung, J. K. Cho, E. S. Park, V. Breedveld, and H. Lu, "Three-dimensional in situ temperature measurement in microsystems using brownian motion of nanoparticles," *Analytical Chemistry*, vol. 81, no. 3, pp. 991-9, 2009 (10.1021/ac802031j).

- 
- [33] D. D. Udrea, P. J. BryanstonCross, W. K. Lee, and M. FunesGallanzi, "Two sub-pixel processing algorithms for high accuracy particle centre estimation in low seeding density particle image velocimetry," *Optics and Laser Technology*, vol. 28, no. 5, pp. 389-396, 1996 (Doi 10.1016/0030-3992(95)00112-3).
- [34] P. Chamorthy, S. V. Garimella, and S. T. Wereley, "Non-intrusive temperature measurement using microscale visualization techniques," *Experiments in Fluids*, vol. 47, no. 1, pp. 159-170, 2009 (10.1007/s00348-009-0646-1).
- [35] Y. Ivanov and A. Melzer, "Particle positioning techniques for dusty plasma experiments," *Review of Scientific Instruments*, vol. 78, no. 3, pp. 033506, 2007 (10.1063/1.2714050).
- [36] Y. Feng, J. Goree, and B. Liu, "Accurate particle position measurement from images," *Review of Scientific Instruments*, vol. 78, no. 5, pp. 053704, 2007 (10.1063/1.2735920).
- [37] M. K. Cheezum, W. F. Walker, and W. H. Guilford, "Quantitative comparison of algorithms for tracking single fluorescent particles," *Biophysical Journal* vol. 81, no. 4, pp. 2378-88, 2001 (10.1016/S0006-3495(01)75884-5).
- [38] H. Nobach and M. Honkanen, "Two-dimensional gaussian regression for sub-pixel displacement estimation in particle image velocimetry or particle position estimation in particle tracking velocimetry," *Experiments in Fluids*, vol. 38, no. 4, pp. 511-515, 2005 (10.1007/s00348-005-0942-3).
- [39] B. Richards and E. Wolf, "Electromagnetic diffraction in optical systems. Ii. Structure of the image field in an aplanatic system," *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 253, no. 1274, pp. 358-379, 1959 (10.1098/rspa.1959.0200).
- [40] S. F. Gibson and F. Lanni, "Experimental test of an analytical model of aberration in an oil-immersion objective lens used in three-dimensional light microscopy," *Journal of the Optical Society of America A*, vol. 8, no. 10, pp. 1601, 1991 (10.1364/josaa.8.001601).
- [41] B. Zhang, J. Zerubia, and J. C. Olivo-Marin, "Gaussian approximations of fluorescence microscope point-spread function models," *Applied Optics*, vol. 46, no. 10, pp. 1819-29, 2007 (10.1364/AO.46.001819).
- [42] S. Käding and A. Melzer, "Three-dimensional stereoscopy of yukawa (coulomb) balls in dusty plasmas," *Physics of Plasmas*, vol. 13, no. 9, pp. 090701, 2006 (10.1063/1.2354149).
- [43] V. Nosenko, J. Goree, and A. Piel, "Laser method of heating monolayer dusty plasmas," *Physics of Plasmas*, vol. 13, no. 3, pp. 032106, 2006 (10.1063/1.2182207).
- [44] K. T. Christensen, "The influence of peak-locking errors on turbulence statistics

- computed from piv ensembles," *Experiments in Fluids*, vol. 36, no. 3, pp. 484-497, 2004 (10.1007/s00348-003-0754-2).
- [45] M. Shimizu and M. Okutomi, "Precise sub-pixel estimation on area-based matching," presented at the Proceedings Eighth IEEE International Conference on Computer Vision, Canada, 2001.
- [46] C. Elliott, V. Vijayakumar, W. Zink, and R. Hansen, "National instruments labview: A programming environment for laboratory automation and measurement," *Journal of the Association for Laboratory Automation*, vol. 12, no. 1, pp. 17-24, 2007 (10.1016/j.jala.2006.07.012).
- [47] M. Rossi, R. Segura, C. Cierpka, and C. J. Kähler, "On the effect of particle image intensity and image preprocessing on the depth of correlation in micro-piv," *Experiments in fluids*, vol. 52, no. 4, pp. 1063-1075, 2012 (10.1007/s00348-011-1194-z).
- [48] C. J. Bourdon, M. G. Olsen, and A. D. Gorby, "The depth of correlation in micro-piv for high numerical aperture and immersion objectives," *Journal of Fluids Engineering*, vol. 128, no. 4, pp. 883, 2006 (10.1115/1.2201649).
- [49] C. A. Schneider, W. S. Rasband, and K. W. Eliceiri, "Nih image to imagej: 25 years of image analysis," *Nature Methods*, vol. 9, no. 7, pp. 671-675, 2012 (10.1038/nmeth.2089).
- [50] Matlab, version r2015a (8.5.0 197613), the mathworks inc., 2015.
- [51] Reference fluid thermodynamic and transport properties-refprop, version 9.1, national institute of standards and technology, 2002.
- [52] S. Inoué and K. Spring, *Video microscopy : The fundamentals*. New York: Plenum Press, 1997.
- [53] I. A. f. t. P. o. W. a. Steam, "Release on the iapws formulation 2008 for the viscosity of ordinary water substance," Berlin, 2008.
- [54] P. Atkins and J. de Paula, *Atkins' physical chemistry*. Oxford, England, U.K.: Oxford University Press, 2010.

表 2.1 不同粒子密度下，奈米金溶液粒子密度之不確定性

particle density (ml ⁻¹)	image size (px)	systematic error(ml ⁻¹)	random error(ml ⁻¹)	relative uncertainty
10 ⁵	1920×1080	3.64×10 ⁴	4.79×10 ⁴	60.13%
10 ⁶	1080×960	3.99×10 ⁵	4.21×10 ⁵	58.03%
10 ⁷	960×540	5.35×10 ⁵	3.22×10 ⁶	32.64%
10 ⁸	300×300	1.47×10 ⁷	9.12×10 ⁶	17.34%

表 3.1 不同溫度之流體黏滯係數、粒子擴散係數

temperature (°C)	viscosity of fluid[51] (μPa·s)	diffusivity of particles by Eq(1.3) (m ² s ⁻¹)
30	797.22	3.71×10 ⁻¹²
35	719.13	4.18×10 ⁻¹²
40	652.73	4.68×10 ⁻¹²
50	546.52	5.77×10 ⁻¹²
60	466.03	6.98×10 ⁻¹²
70	403.55	8.30×10 ⁻¹²

表 3.2 時間間隔 $\Delta t = 1$ s 時，不同溫度之粒子 MSD 與 RMSD

temperature ($^{\circ}\text{C}$)	MSD by Eq(1.7) (μm^2)	MSD (px^2)	RMSD (μm)	RMSD (px)
30	14.9	28.43	3.85	5.33
35	16.7	31.86	4.09	5.64
40	18.7	35.68	4.33	5.97
50	23.1	44.07	4.81	6.63
60	27.9	53.23	5.28	7.29
70	33.2	63.34	5.76	7.95

表 3.3 不同粒子密度與溫度下，連續拍攝 10 秒，平均影像重疊率 N_c

Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	particle density, ρ_p (ml^{-1})			
	10^5	10^6	10^7	10^8
30	0.005	0.045	0.45	4.48
35	0.005	0.048	0.48	4.76
40	0.005	0.051	0.51	5.04
50	0.006	0.056	0.56	5.60
60	0.006	0.062	0.61	6.14
70	0.007	0.067	0.67	6.70

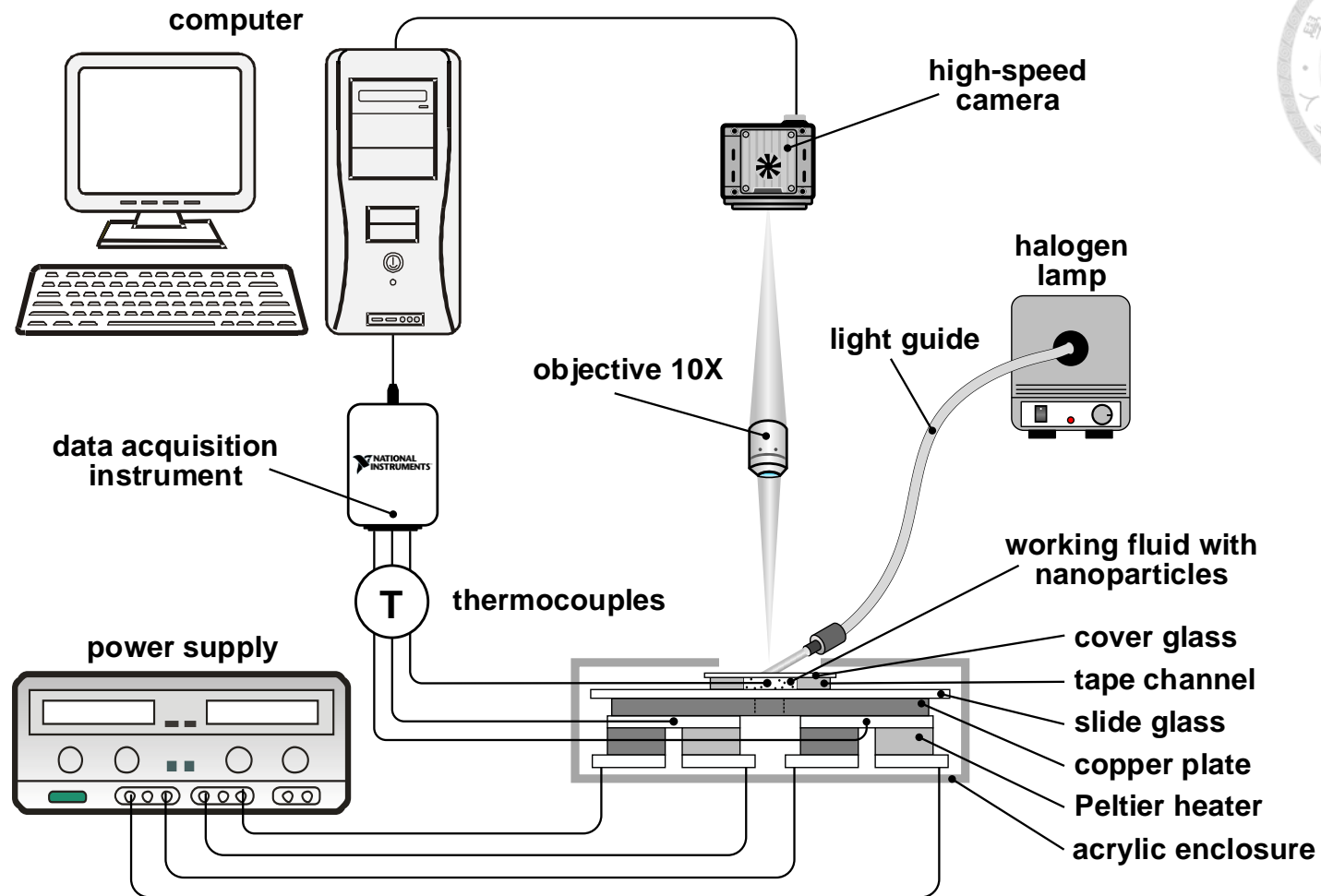
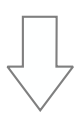
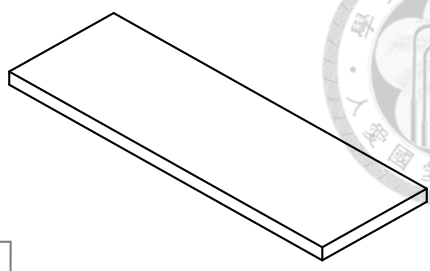


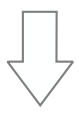
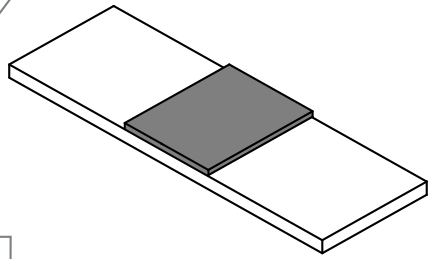
圖 2.1 實驗架構圖



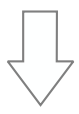
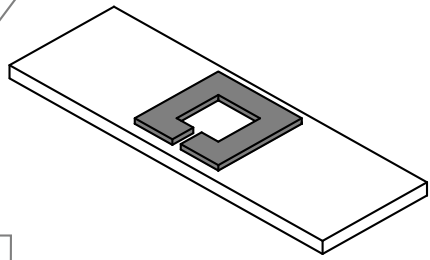
surface cleaning



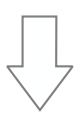
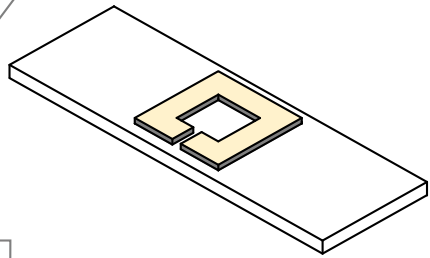
tape attaching



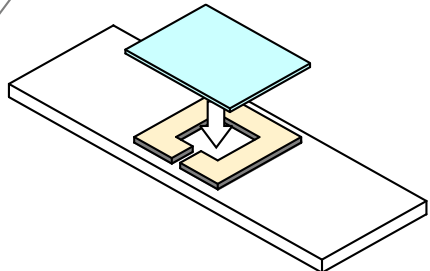
tape cutting and removal



coating of clear nail polish



cover glass bonding







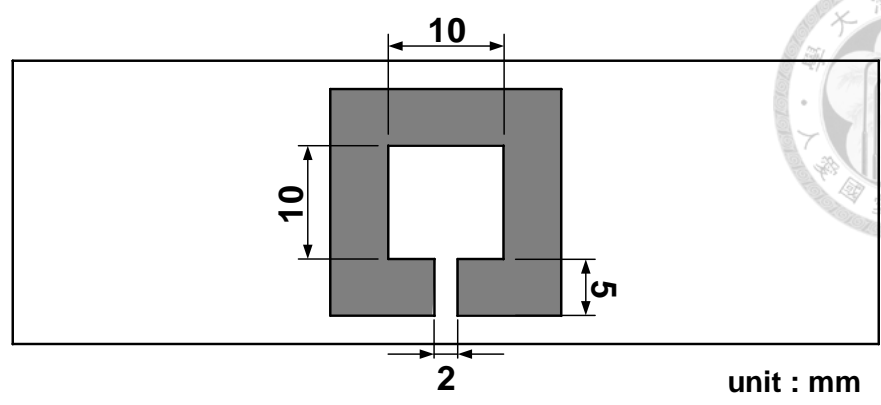
- | | |
|---|---|
|  glass slide |  tape (3M, Scotchrap 50) |
|  clear nail polish |  cover glass |

圖 2.2 試片製作程序



channel depth : 500 μ m

圖 2.3 試片上視圖

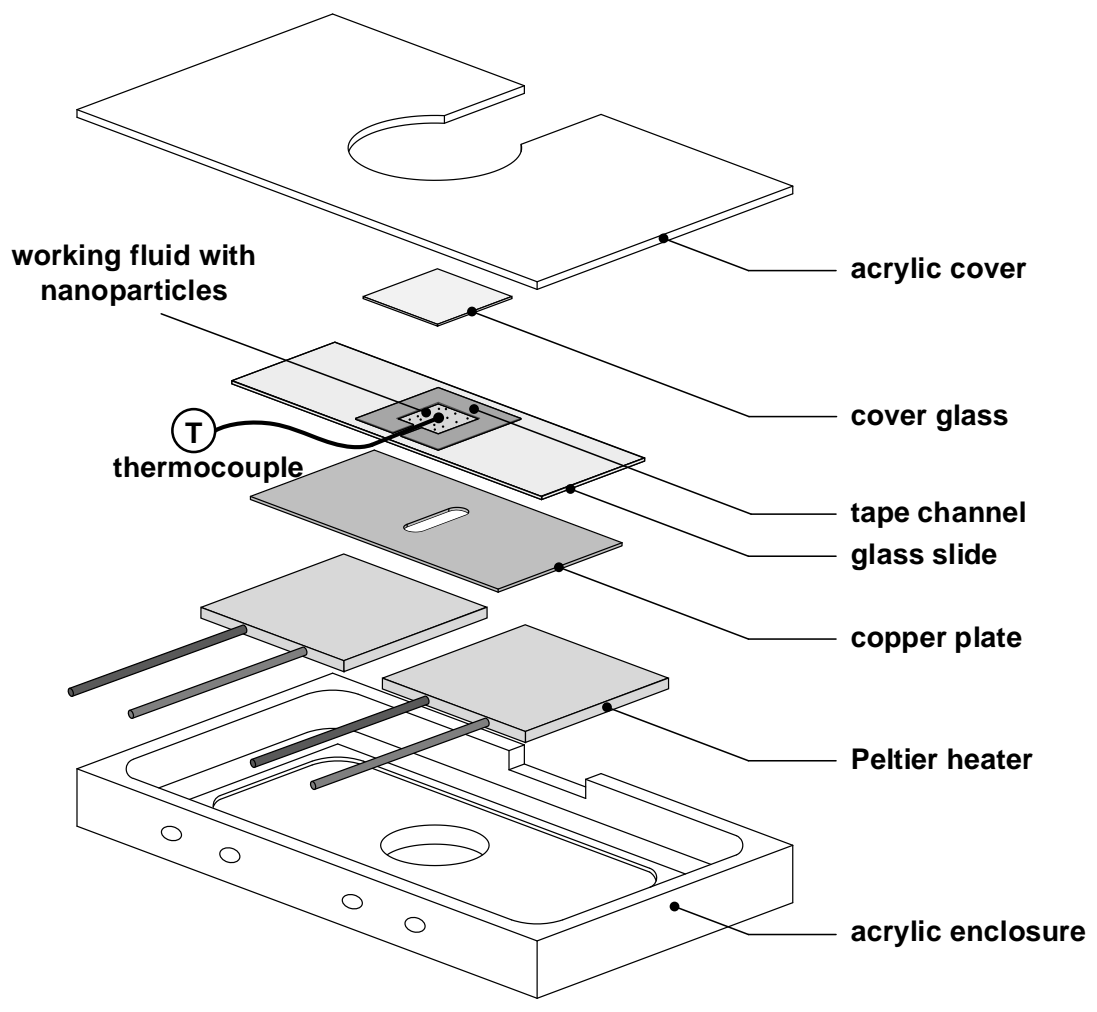


圖 2.4 加熱平台與試片示意圖

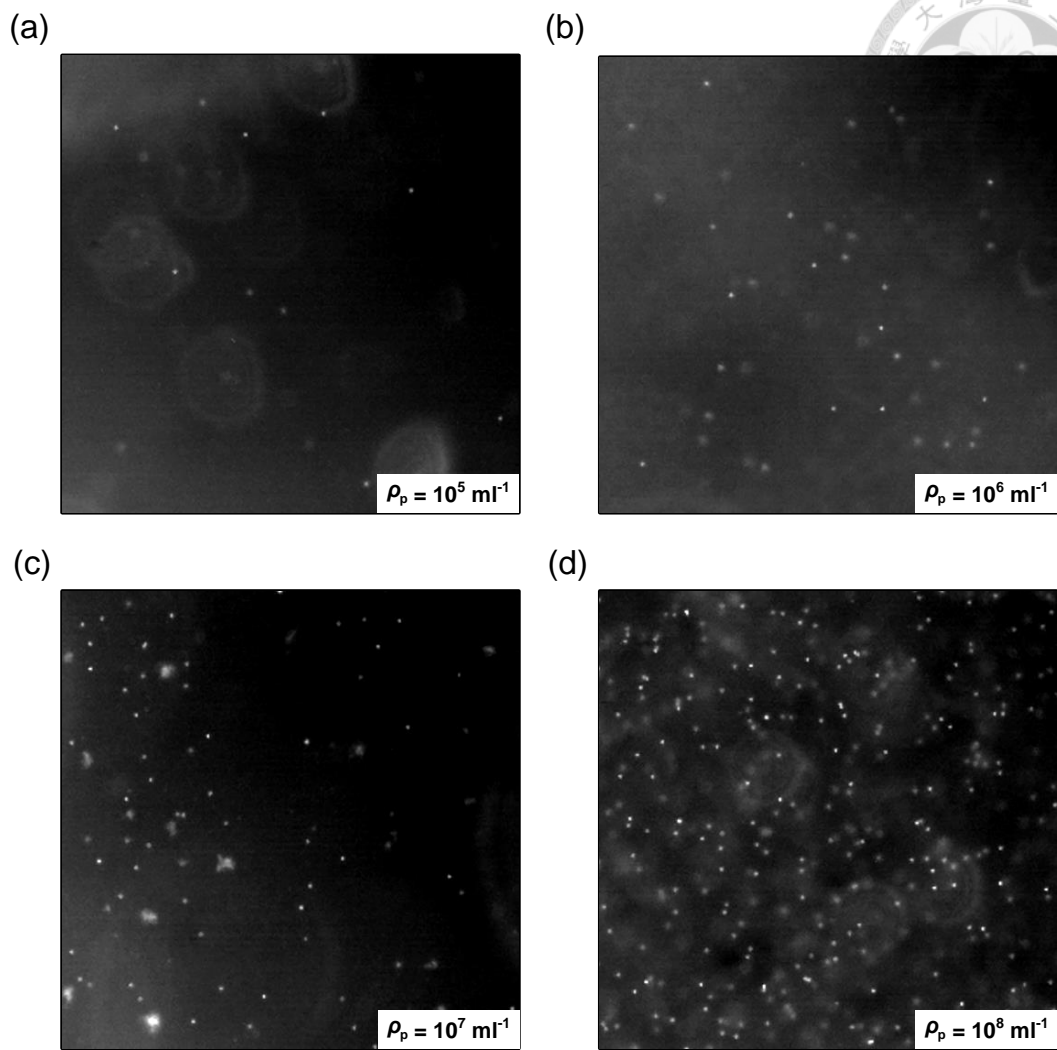


圖 2.5 不同粒子密度下拍攝之影像

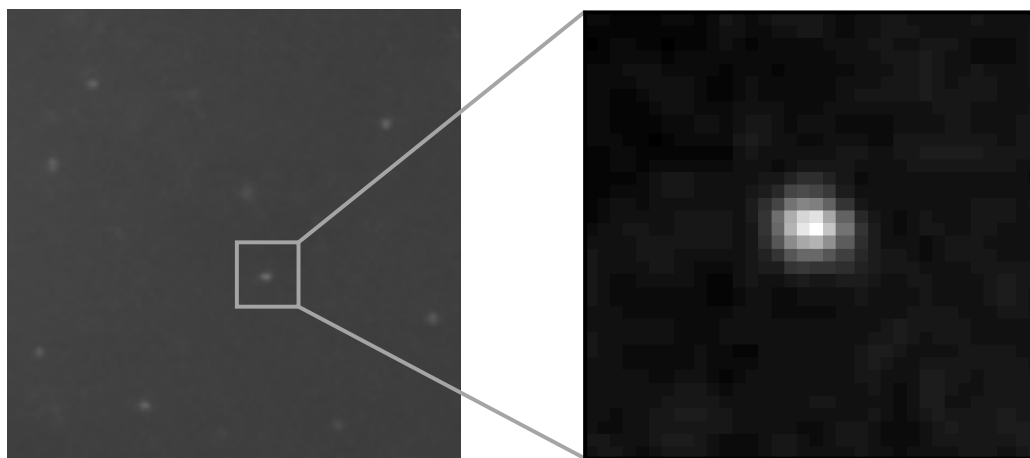


圖 2.6 粒子之原始影像與處理後之影像

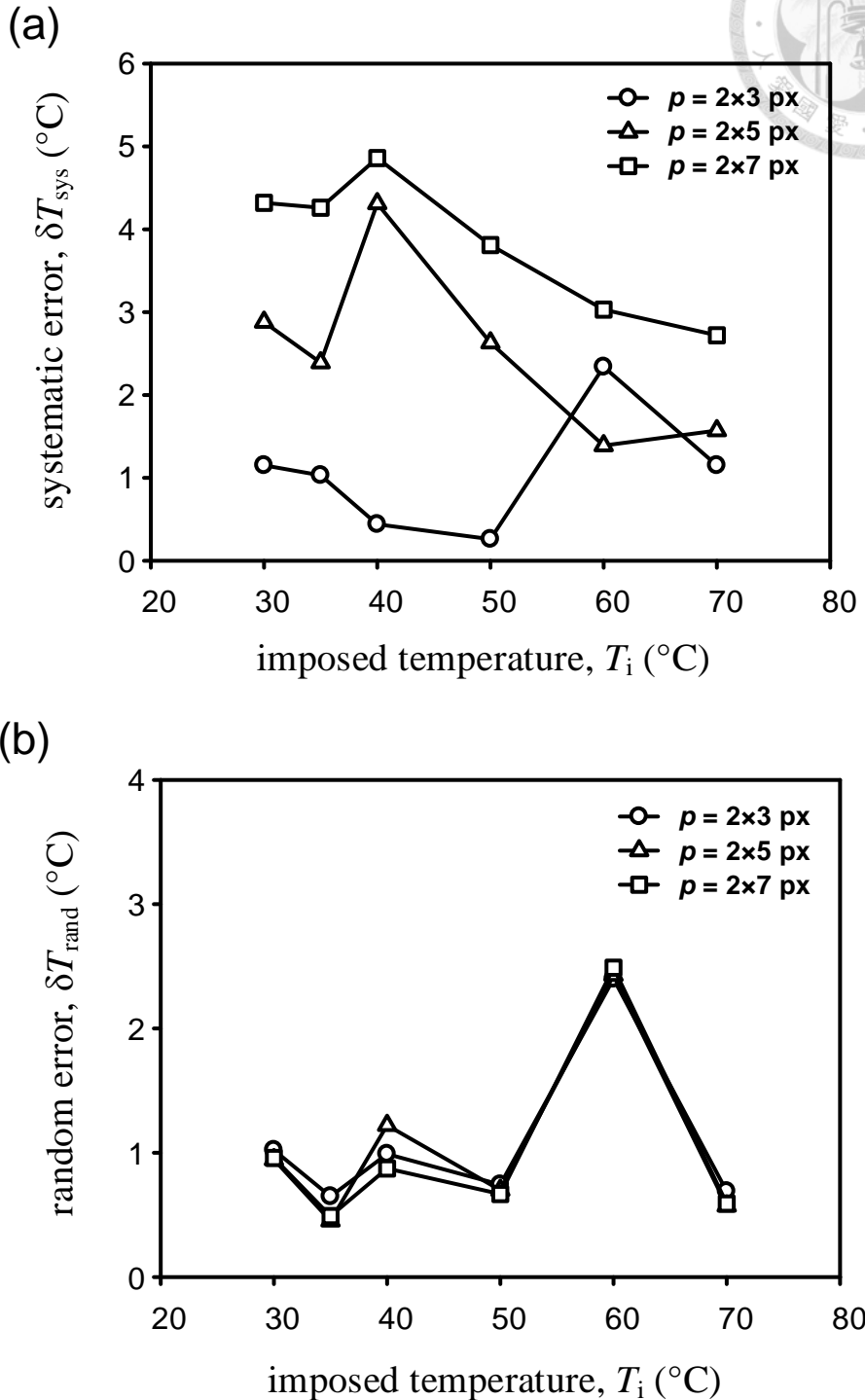
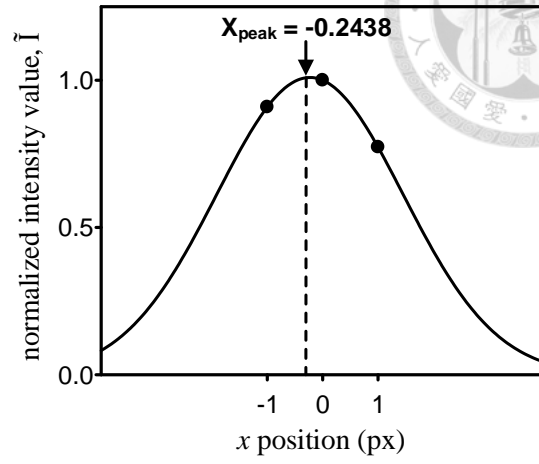
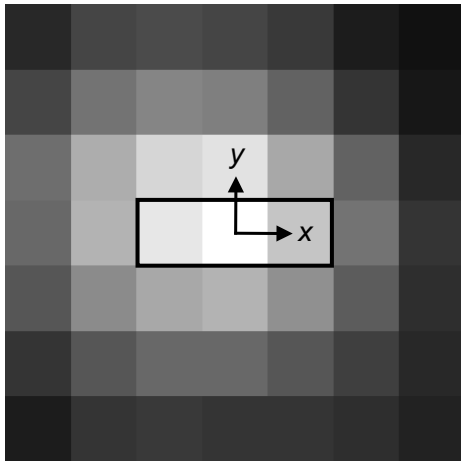


圖 2.7 不同溫度下，使用不同數量資料點進行 Gaussian fit 分析之 (a) 系統誤差與 (b) 隨機誤差

(時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ ，觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$ ，粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$)

(a)



(b)

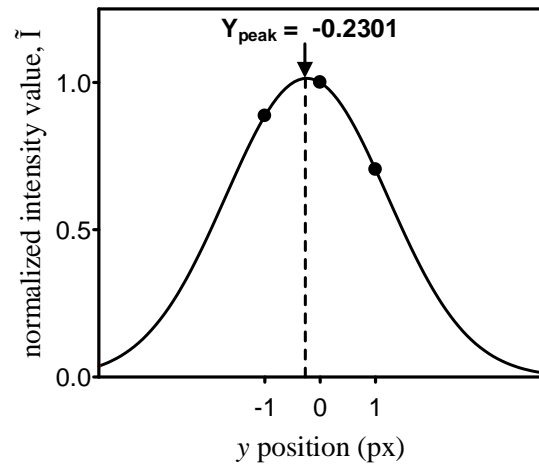
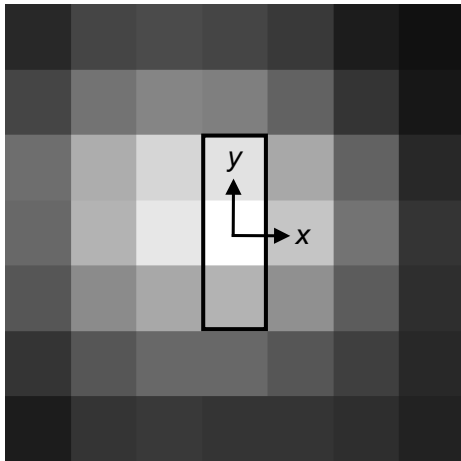


圖 2.8 粒子位置分析示意圖 (a) x 方向上影像強度 array 與回歸分析所得之擬合曲線 (b) y 方向上影像強度 array 與回歸分析所得之擬合曲線

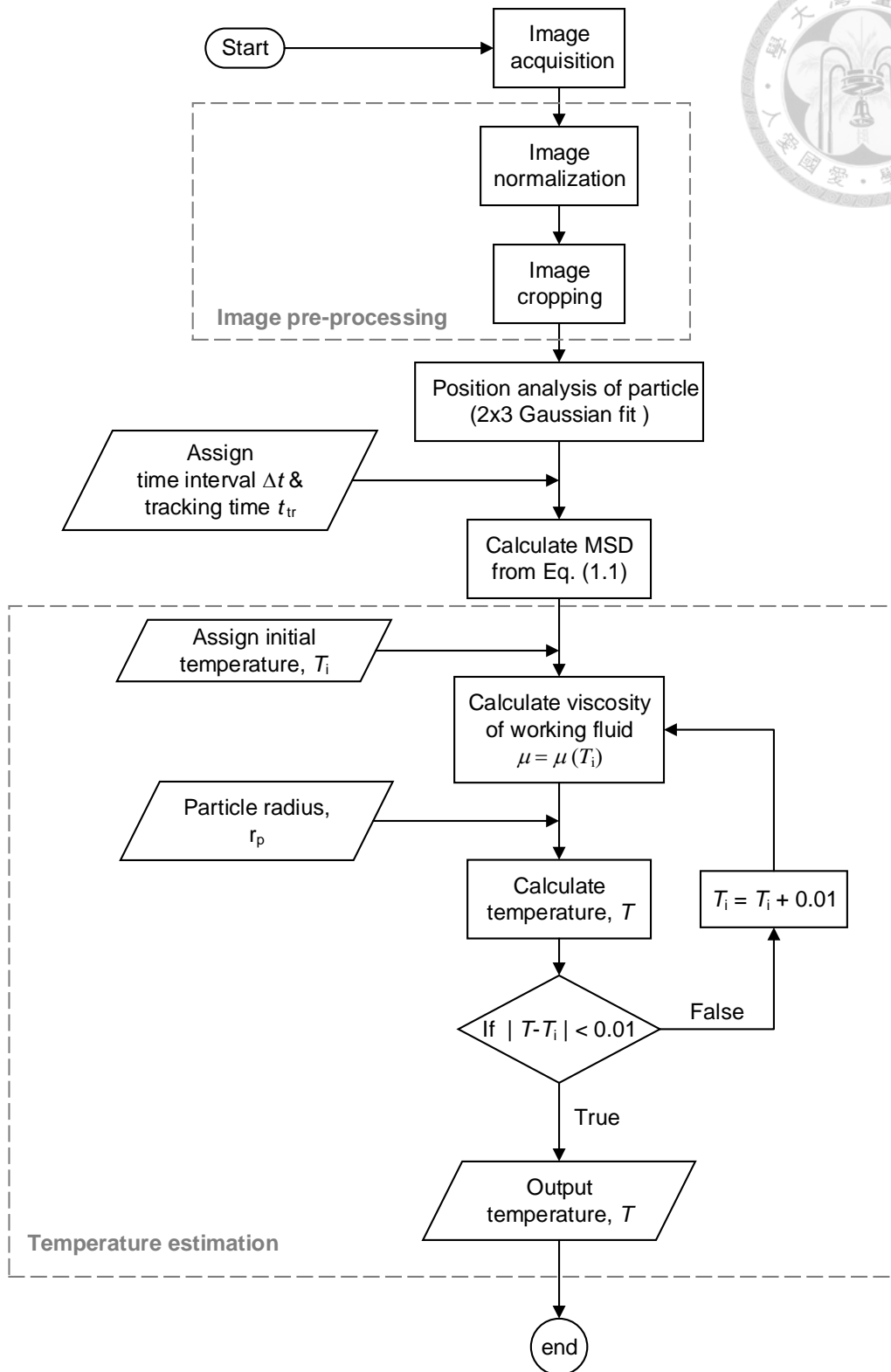


圖 2.9 粒子位置分析與溫度估算流程圖

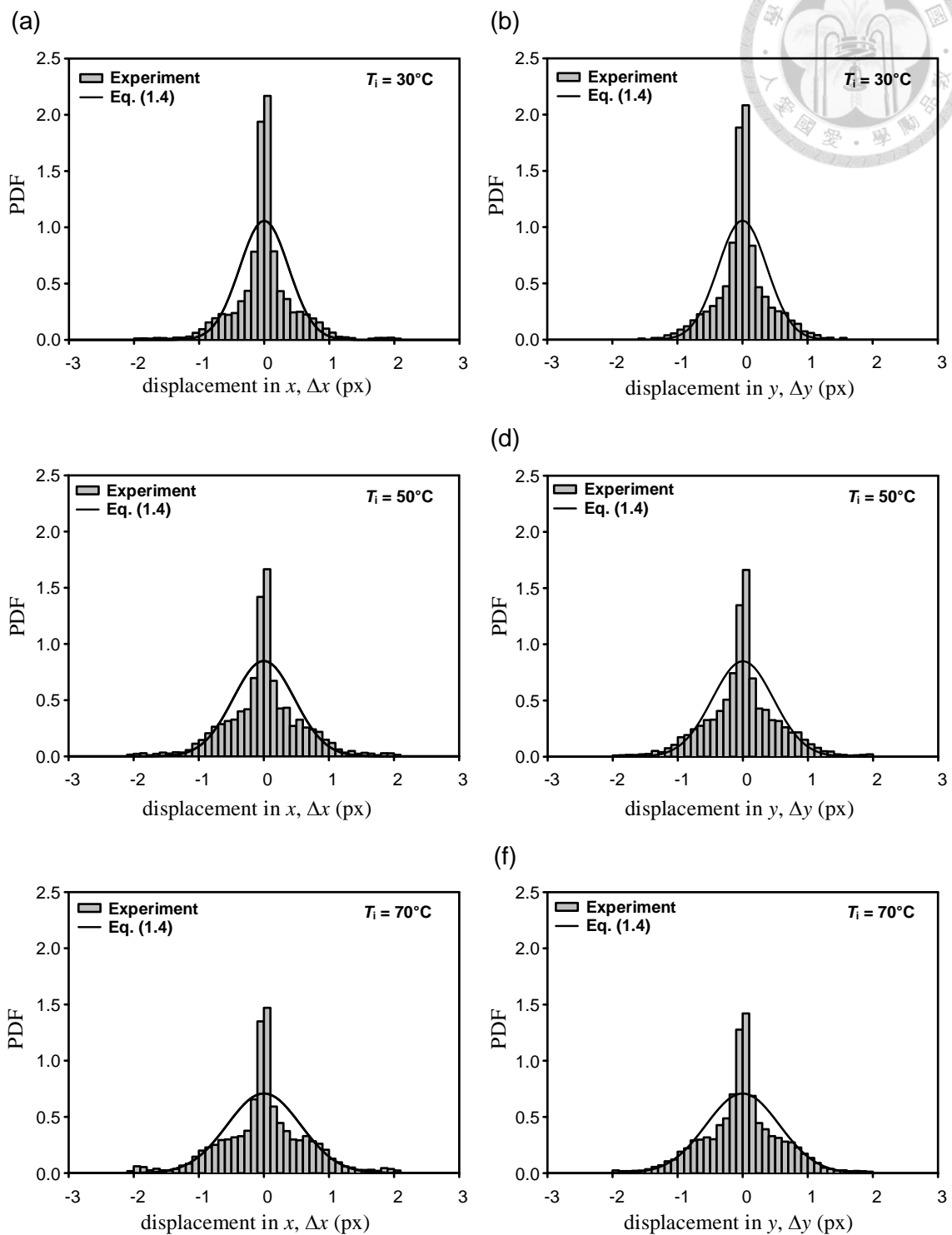


圖 3.1 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.01$ s，觀察時間 $t_{tr} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$

- (a) x 方向, $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) y 方向, $T_i = 30^\circ\text{C}$ (c) x 方向, $T_i = 50^\circ\text{C}$
 (d) y 方向, $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) x 方向, $T_i = 70^\circ\text{C}$ (f) y 方向, $T_i = 70^\circ\text{C}$

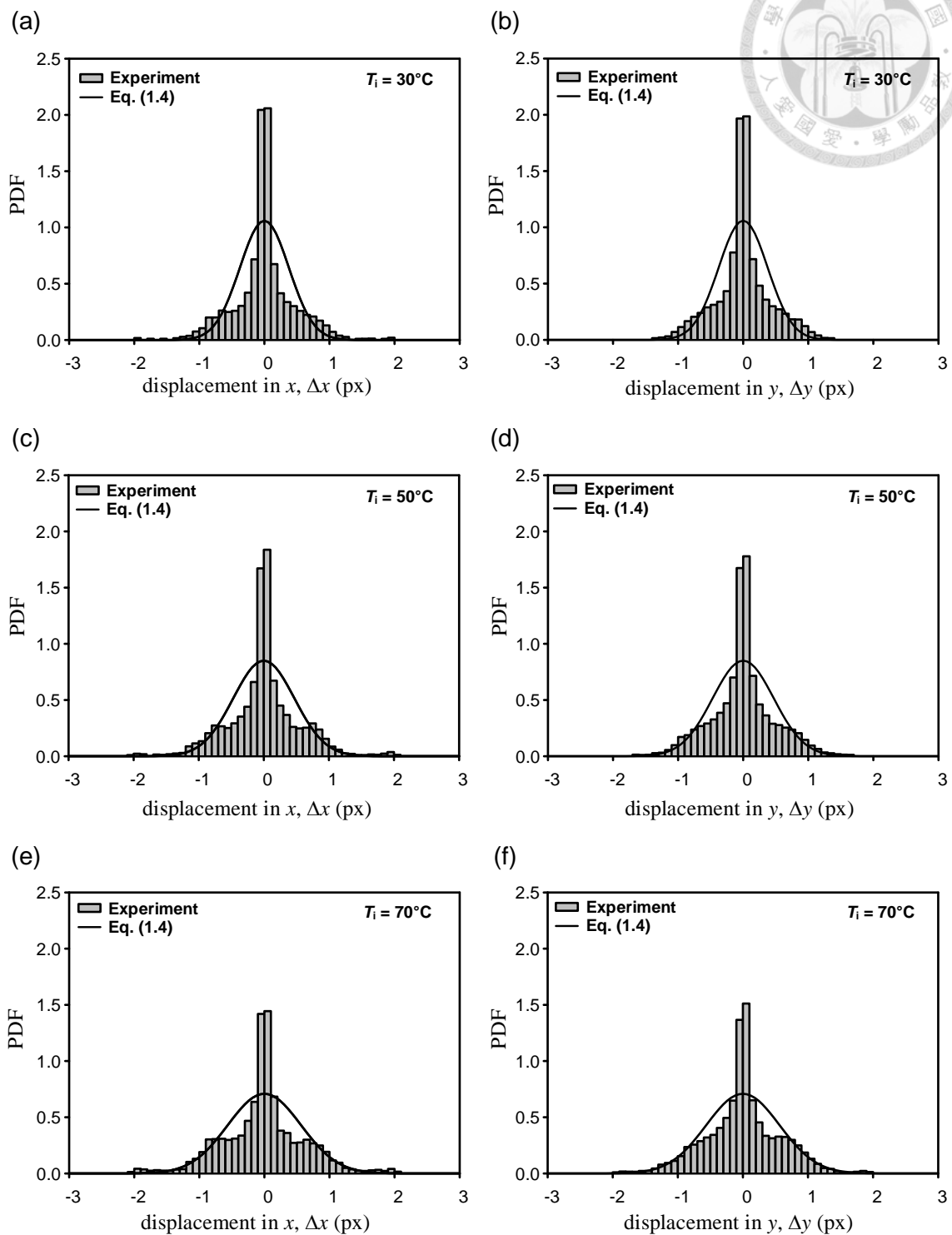


圖 3.2 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.01$ s，觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$

- (a) x 方向, $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) y 方向, $T_i = 30^\circ\text{C}$ (c) x 方向, $T_i = 50^\circ\text{C}$
 (d) y 方向, $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) x 方向, $T_i = 70^\circ\text{C}$ (f) y 方向, $T_i = 70^\circ\text{C}$

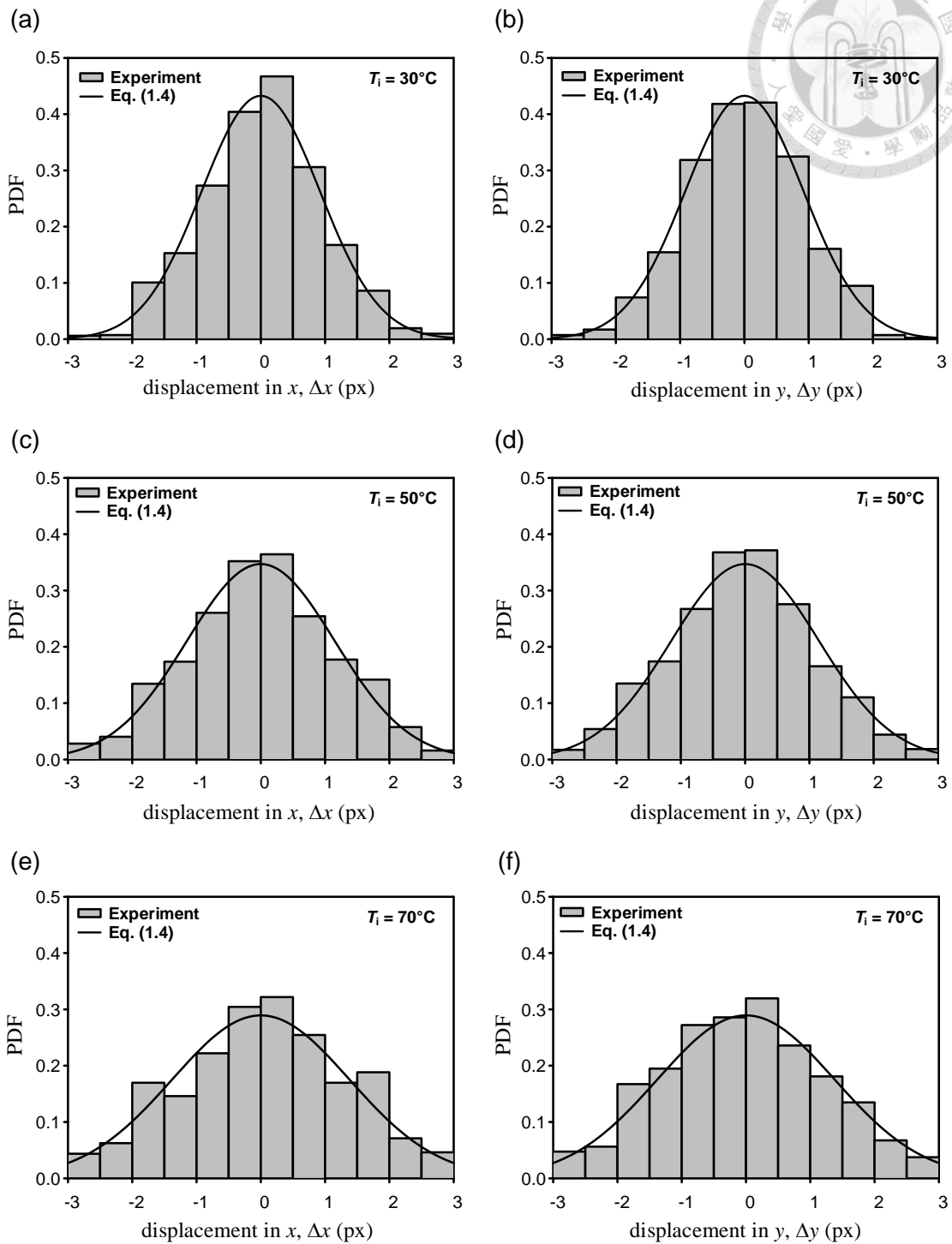


圖 3.3 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.06$ s，觀察時間 $t_{tr} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$

- (a) x 方向， $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) y 方向， $T_i = 30^\circ\text{C}$ (c) x 方向， $T_i = 50^\circ\text{C}$
 (d) y 方向， $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) x 方向， $T_i = 70^\circ\text{C}$ (f) y 方向， $T_i = 70^\circ\text{C}$

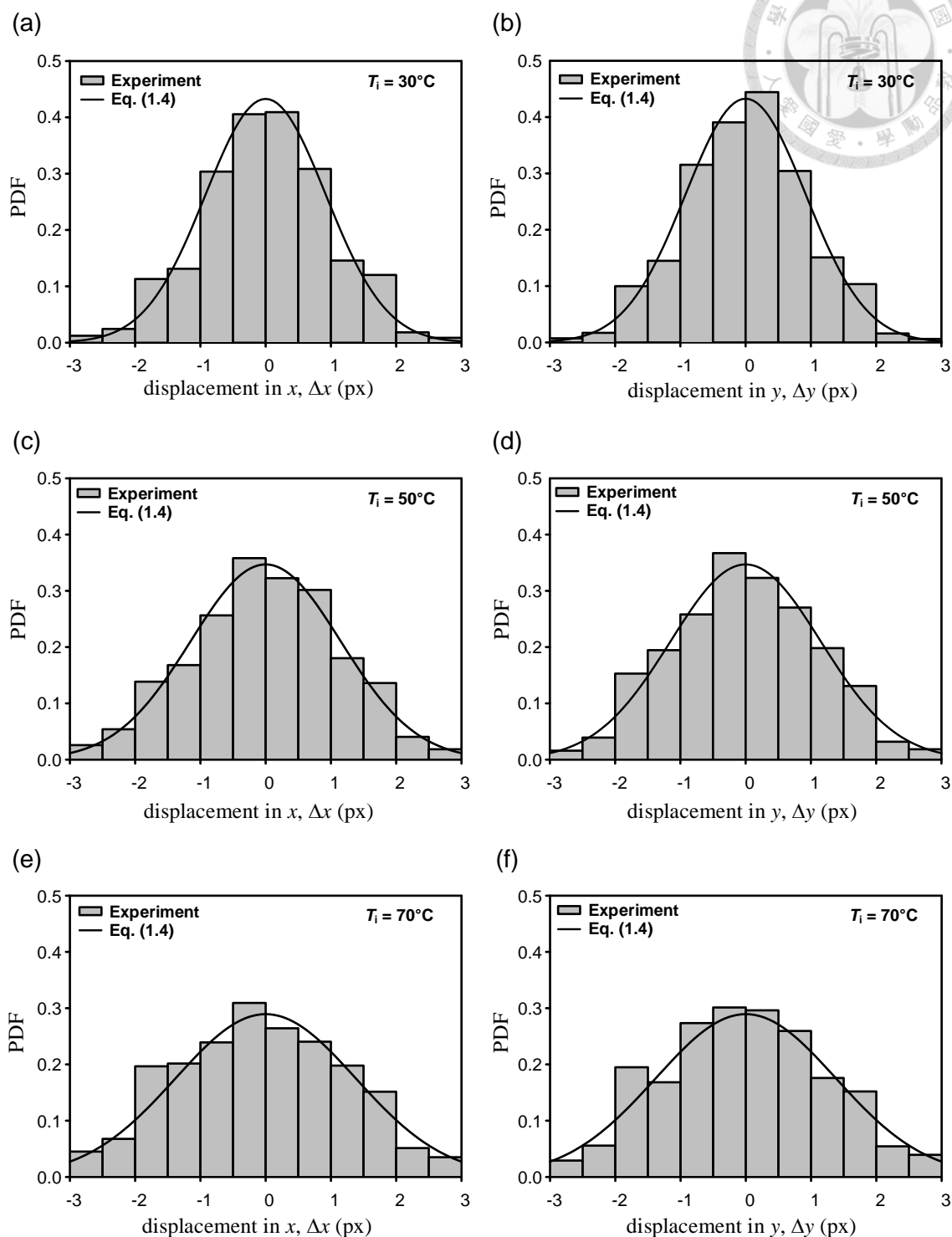


圖 3.4 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.06$ s，觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$

- (a) x 方向， $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) y 方向， $T_i = 30^\circ\text{C}$ (c) x 方向， $T_i = 50^\circ\text{C}$
 (d) y 方向， $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) x 方向， $T_i = 70^\circ\text{C}$ (f) y 方向， $T_i = 70^\circ\text{C}$

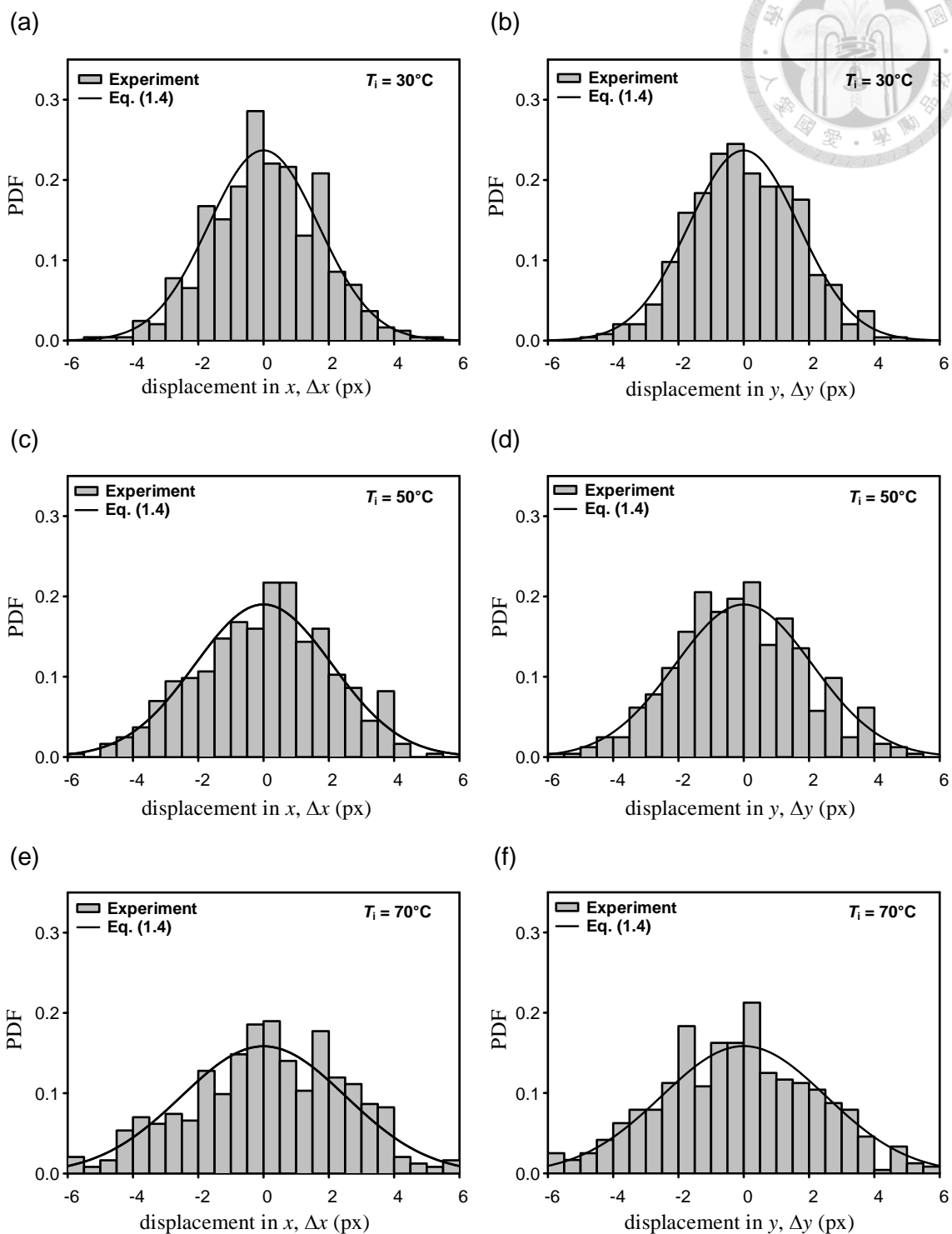


圖 3.5 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.02$ s，觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$

- (a) x 方向， $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) y 方向， $T_i = 30^\circ\text{C}$ (c) x 方向， $T_i = 50^\circ\text{C}$
 (d) y 方向， $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) x 方向， $T_i = 70^\circ\text{C}$ (f) y 方向， $T_i = 70^\circ\text{C}$

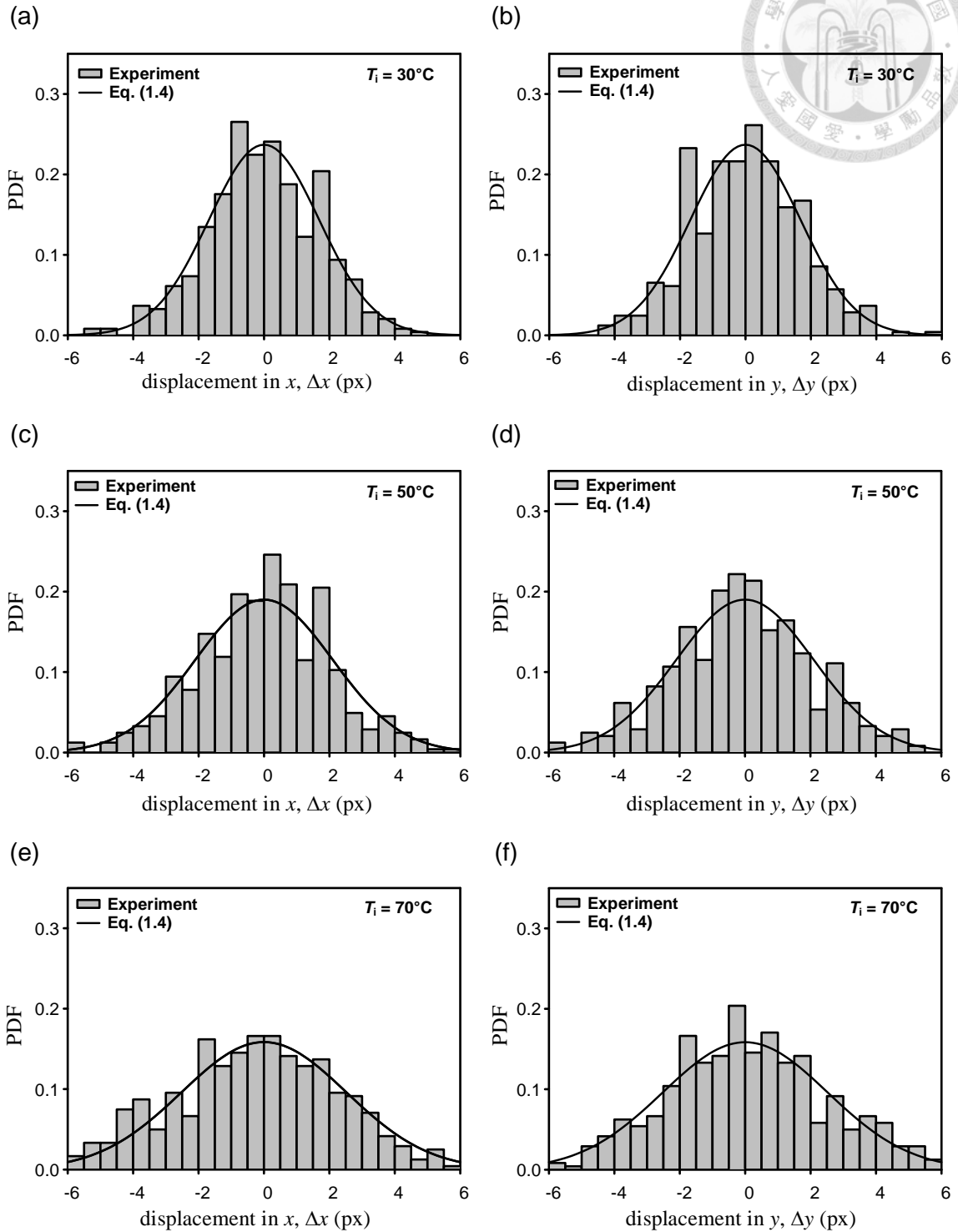


圖 3.6 不同溫度下，粒子在 x 與 y 方向之位移量分佈圖，時間間隔 $\Delta t = 0.2$ s，觀察時間 $t_{tr} = 10$ s，粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$

- (a) x 方向， $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) y 方向， $T_i = 30^\circ\text{C}$ (c) x 方向， $T_i = 50^\circ\text{C}$
 (d) y 方向， $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) x 方向， $T_i = 70^\circ\text{C}$ (f) y 方向， $T_i = 70^\circ\text{C}$

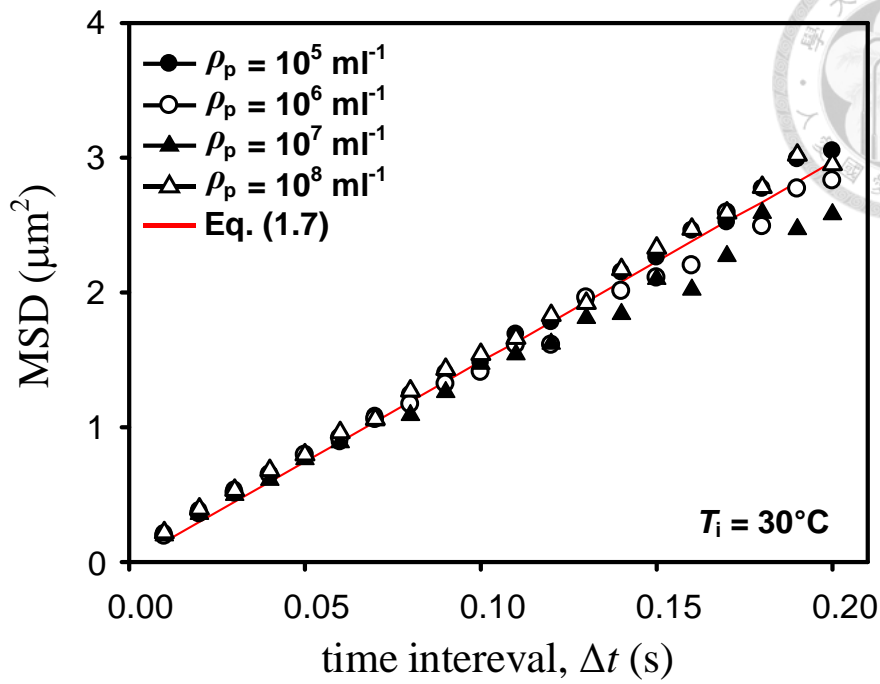


圖 3.7 $T_i = 30^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係

(粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ ，時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ ，觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

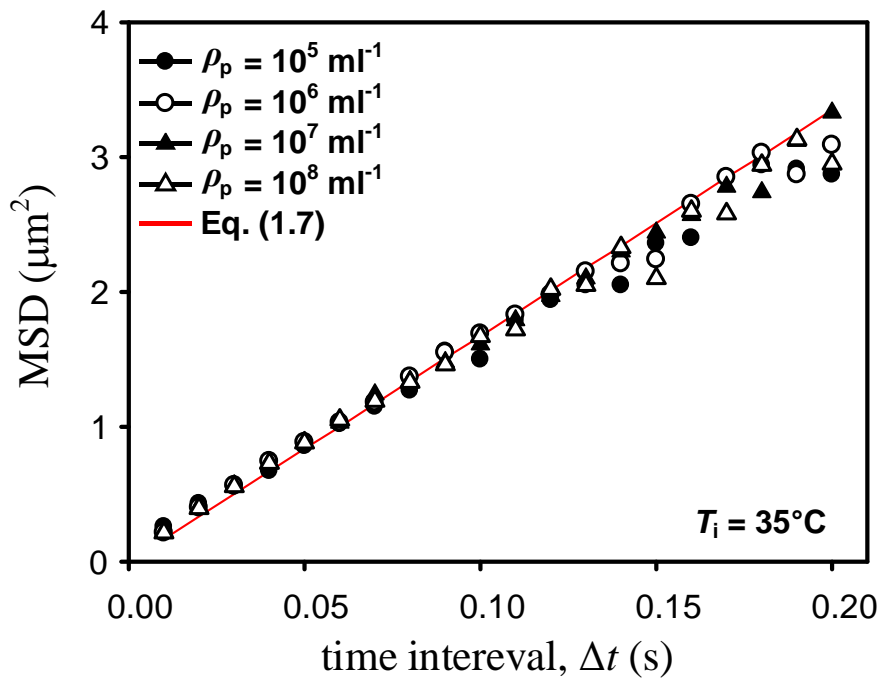


圖 3.8 $T_i = 35^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係

(粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ ，時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ ，觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

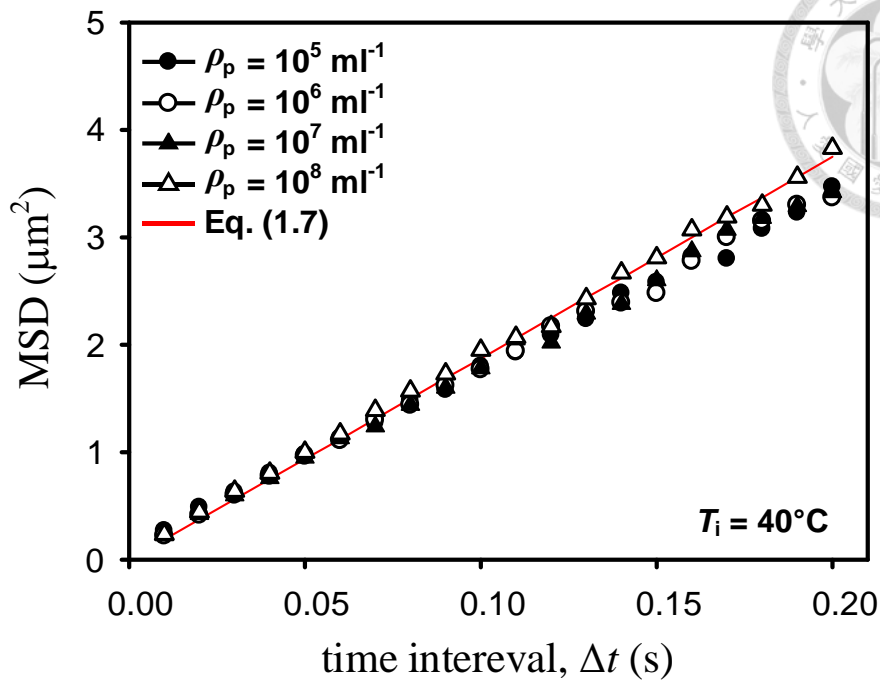


圖 3.9 $T_i = 40^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係

(粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ ，時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ ，觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

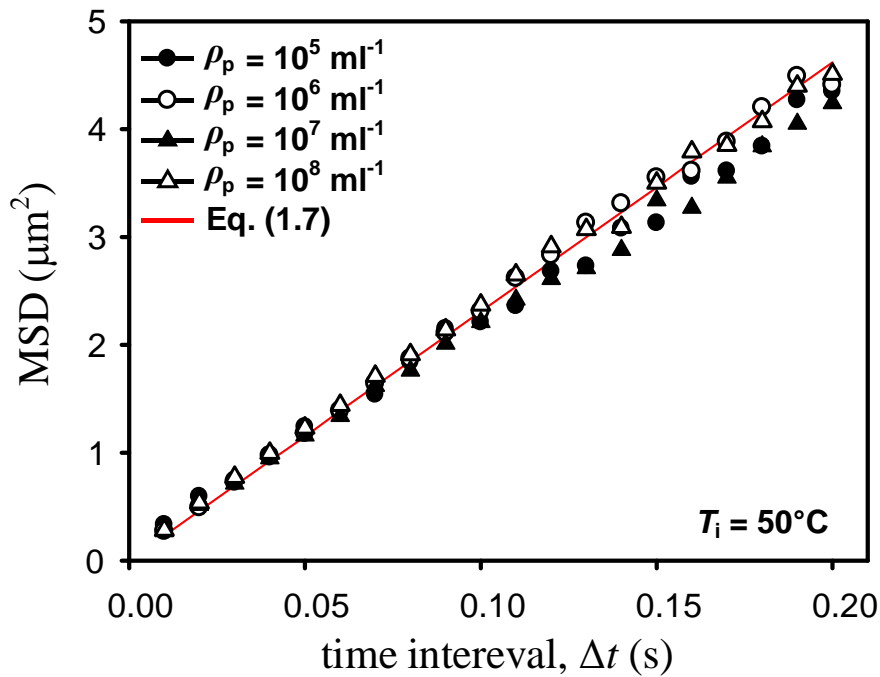


圖 3.10 $T_i = 50^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係

(粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ ，時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ ，觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

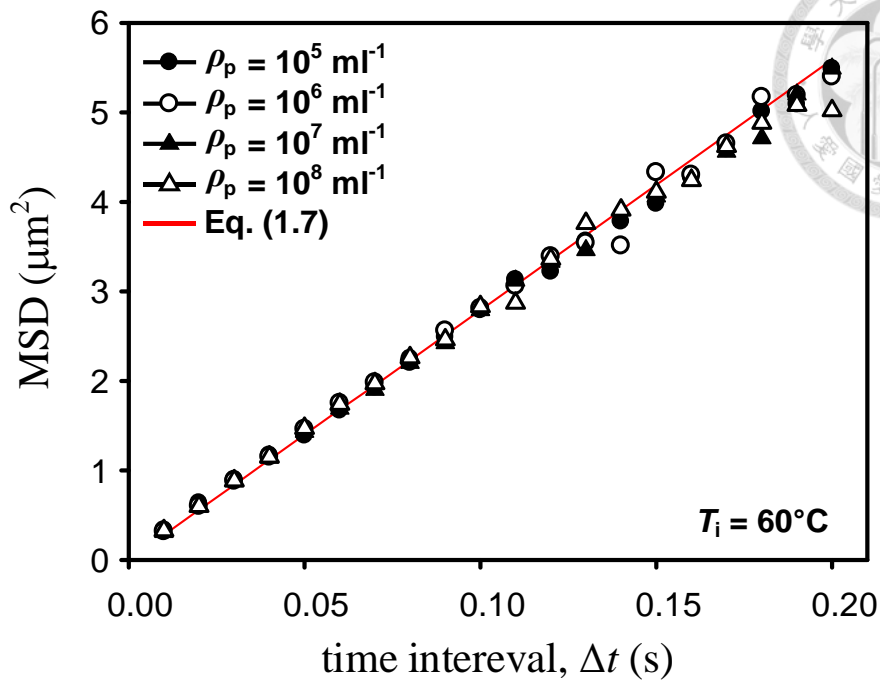


圖 3.11 $T_i = 60^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係

(粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ ，時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ ，觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

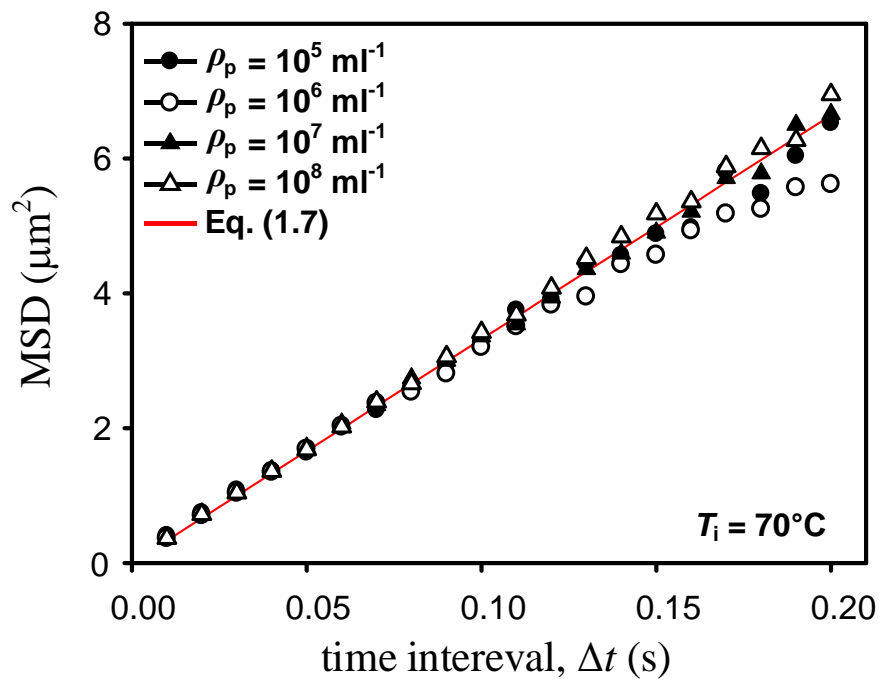


圖 3.12 $T_i = 70^\circ\text{C}$ 時，MSD 與時間間隔 Δt 之間的關係

(粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ ，時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ ，觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

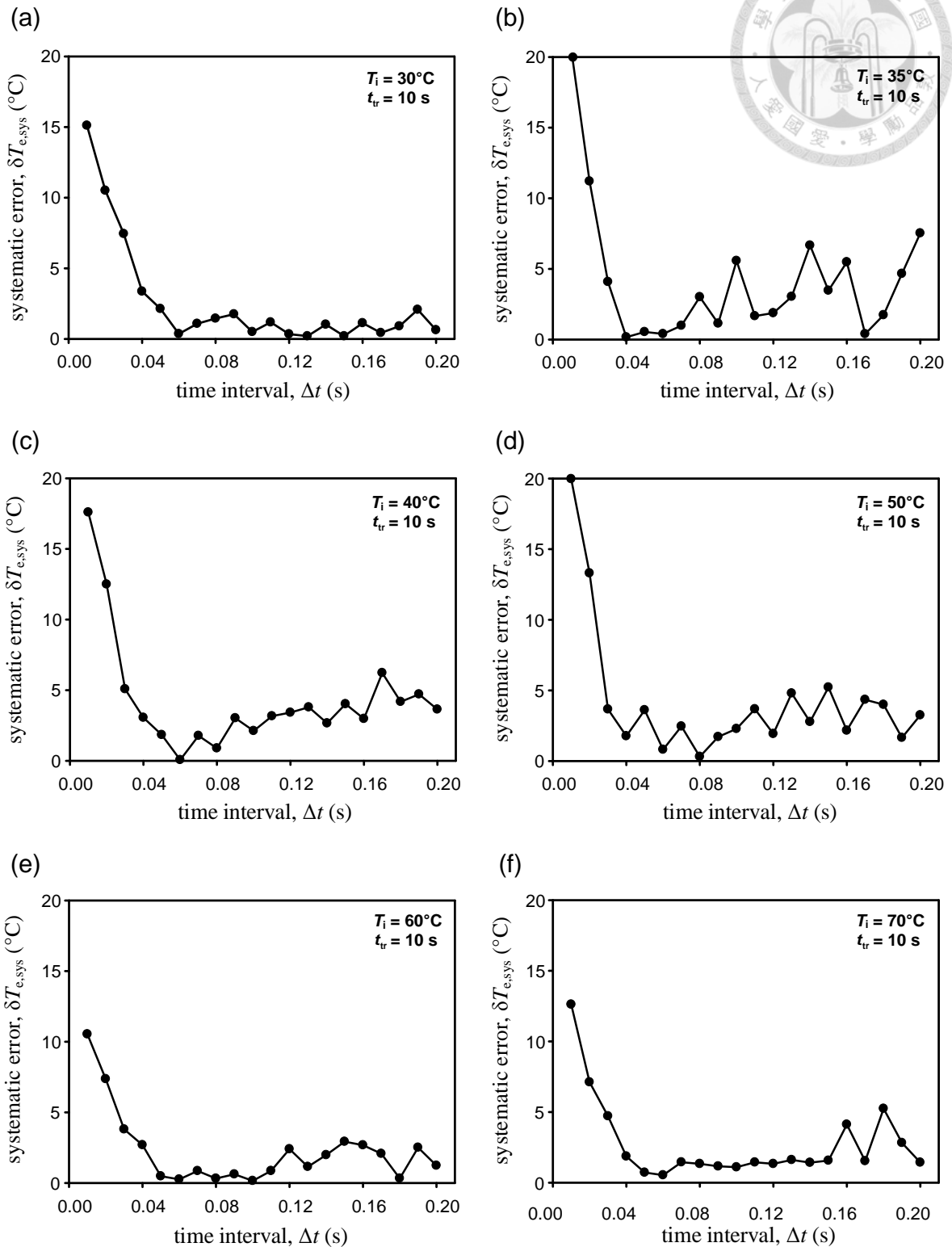


圖 3.13 不同溫度下，觀察時間間隔長度對於溫度估算系統誤差之影響 (a) $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) $T_i = 35^\circ\text{C}$ (c) $T_i = 40^\circ\text{C}$ (d) $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) $T_i = 60^\circ\text{C}$ (f) $T_i = 70^\circ\text{C}$

(粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ，固定觀察時間 $t_{tr} = 10$ s)

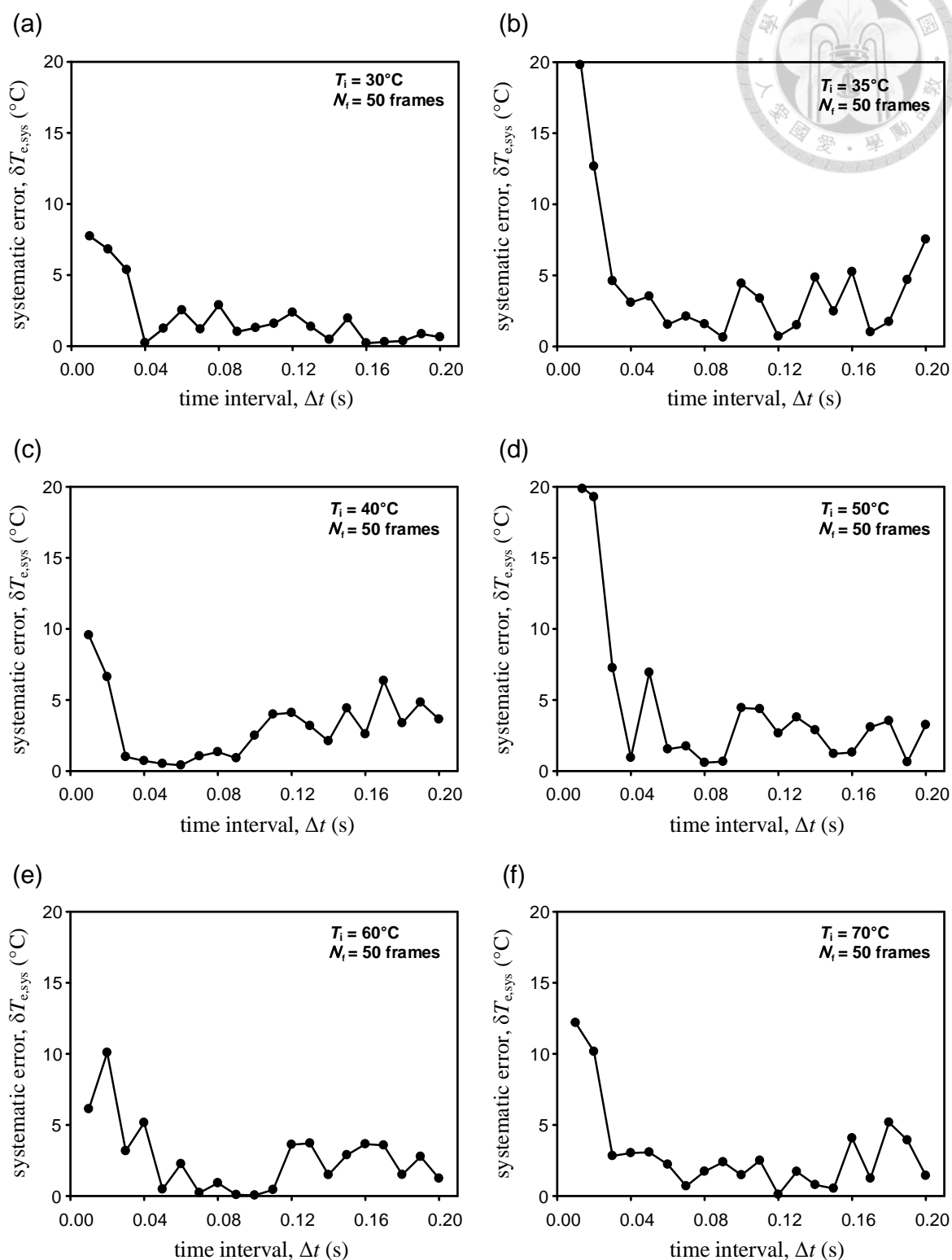


圖 3.14 不同溫度下，時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響 (a) $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) $T_i = 35^\circ\text{C}$ (c) $T_i = 40^\circ\text{C}$ (d) $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) $T_i = 60^\circ\text{C}$ (f) $T_i = 70^\circ\text{C}$
 (粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ，影像數量 $N_f = 50$ frames)

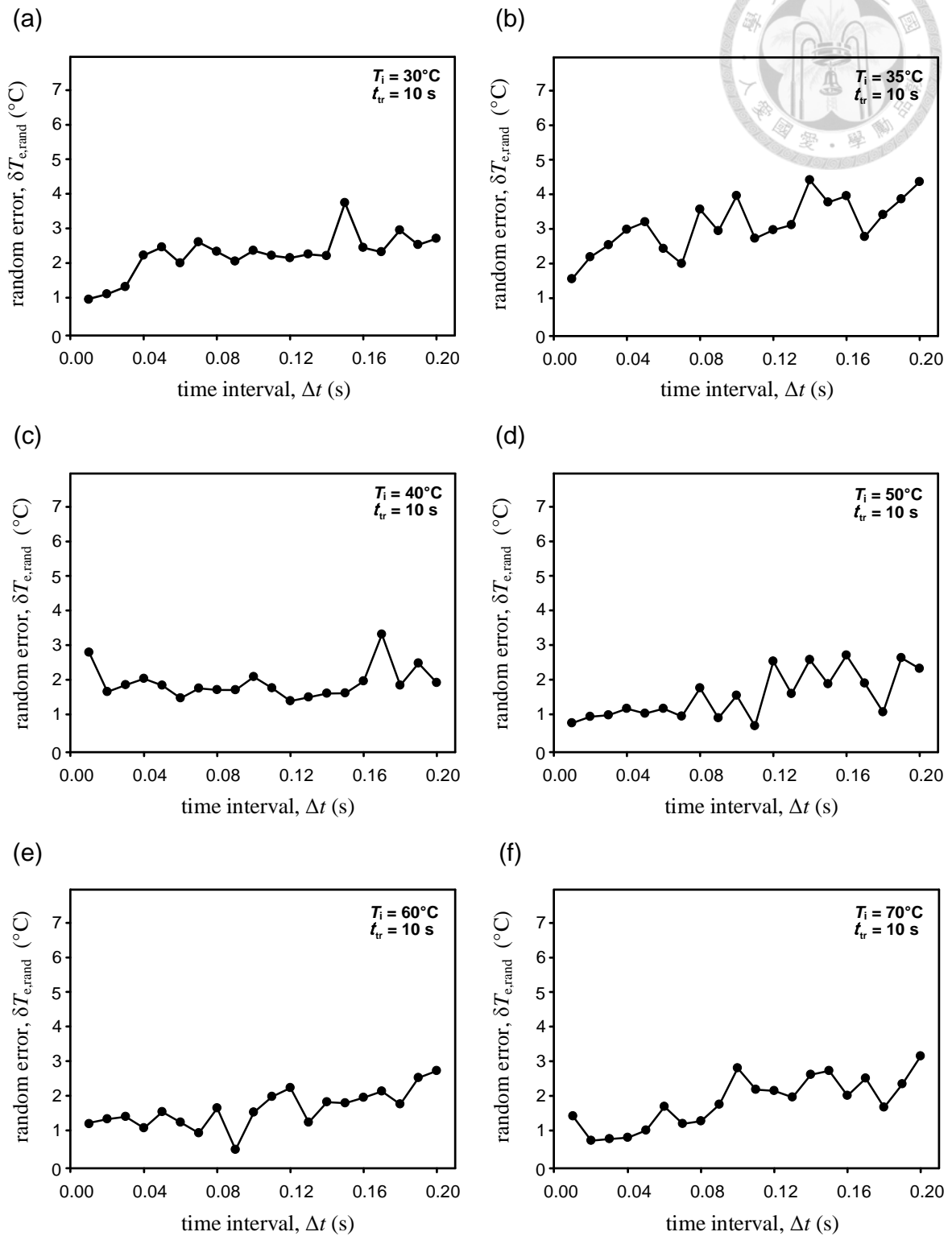


圖 3.15 不同溫度下，時間間隔對於溫度估算隨機誤差之影響 (a) $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) $T_i = 35^\circ\text{C}$ (c) $T_i = 40^\circ\text{C}$ (d) $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) $T_i = 60^\circ\text{C}$ (f) $T_i = 70^\circ\text{C}$
 (粒子密度 $\rho_p = 10^5\text{ ml}^{-1}$ ，固定觀察時間 $t_{tr} = 10\text{ s}$)

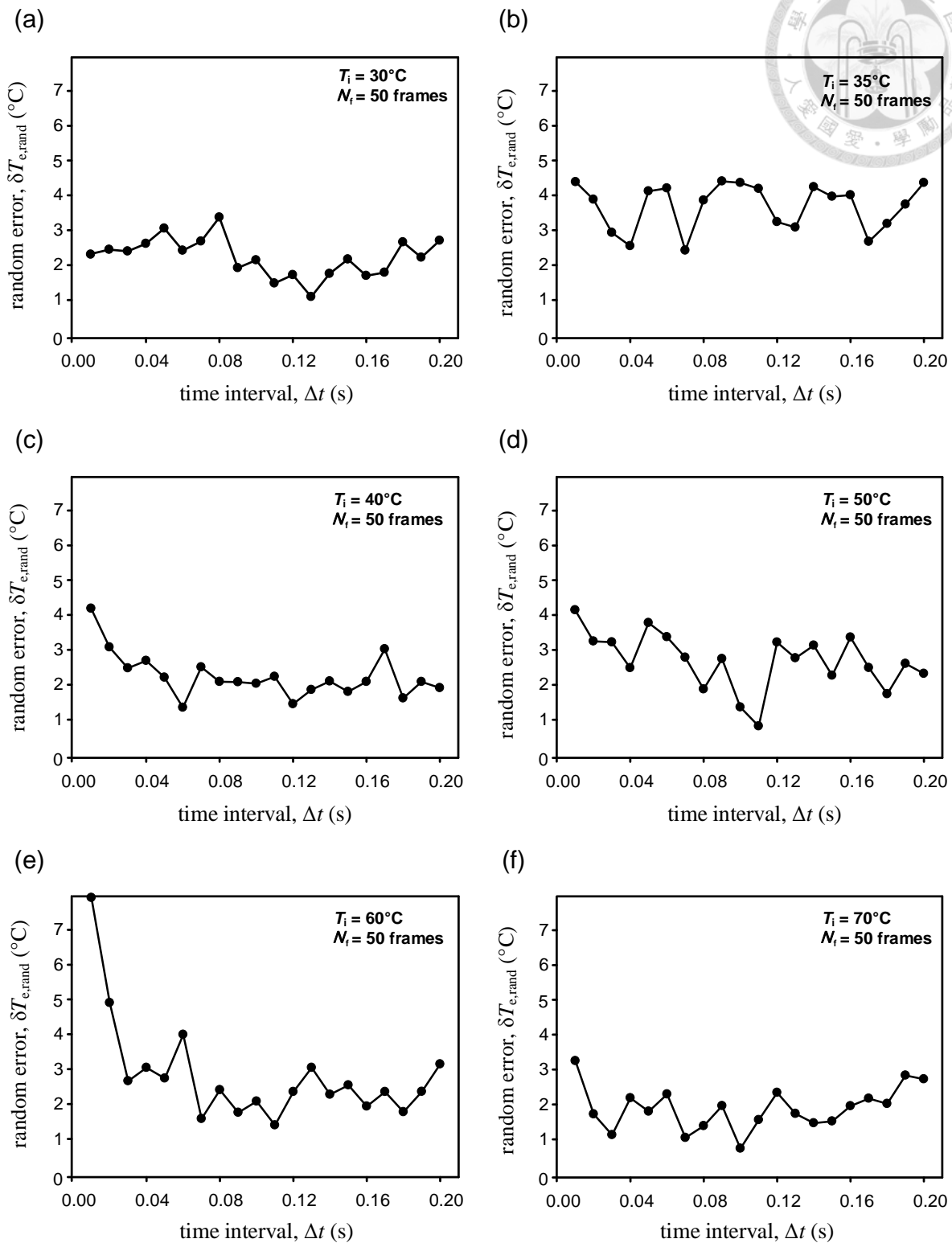


圖 3.16 不同溫度下，時間間隔對於溫度估算隨機誤差之影響 (a) $T_i = 30^\circ\text{C}$ (b) $T_i = 35^\circ\text{C}$ (c) $T_i = 40^\circ\text{C}$ (d) $T_i = 50^\circ\text{C}$ (e) $T_i = 60^\circ\text{C}$ (f) $T_i = 70^\circ\text{C}$
 (粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ，影像數量 $N_f = 50$ frames)

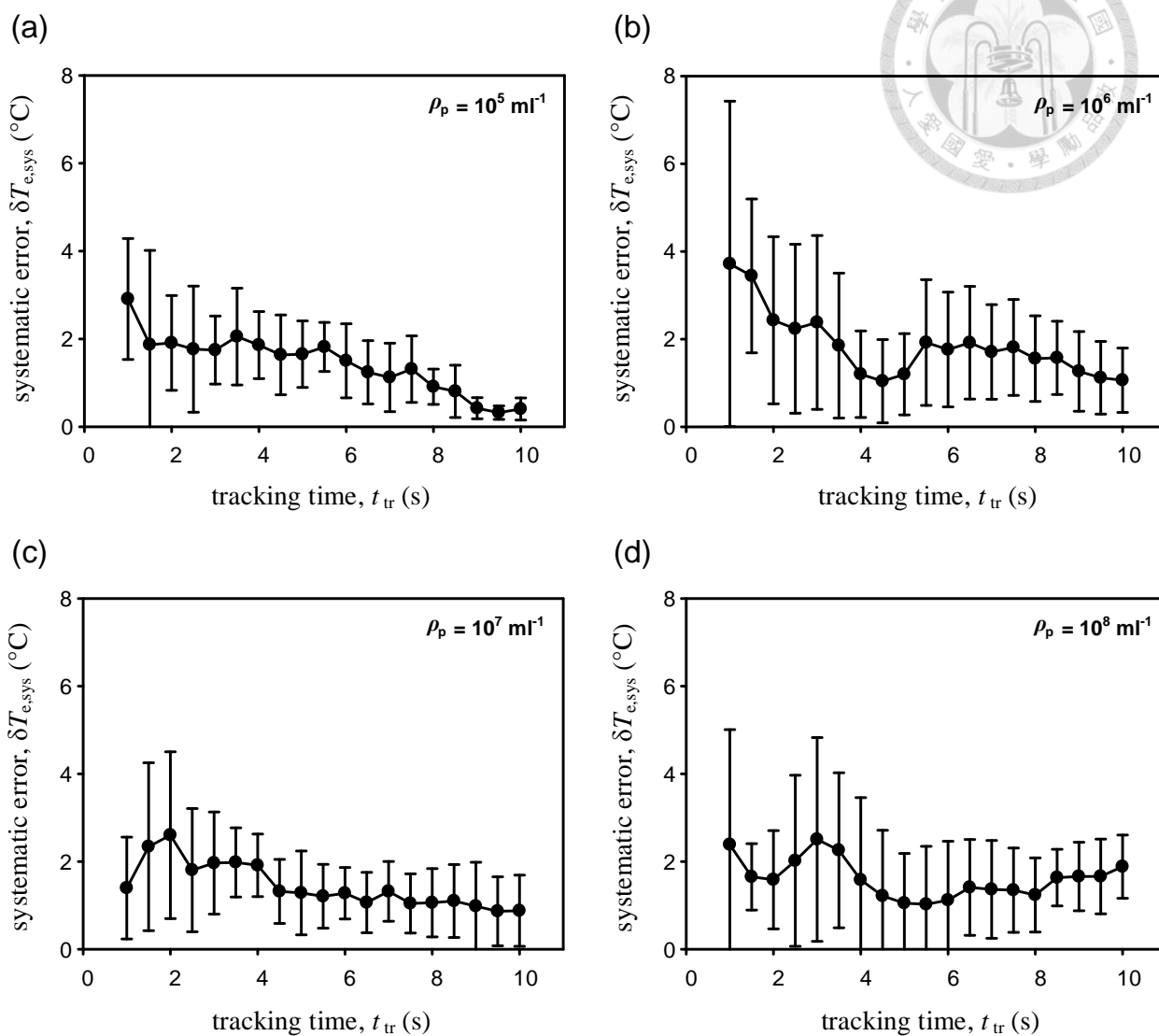
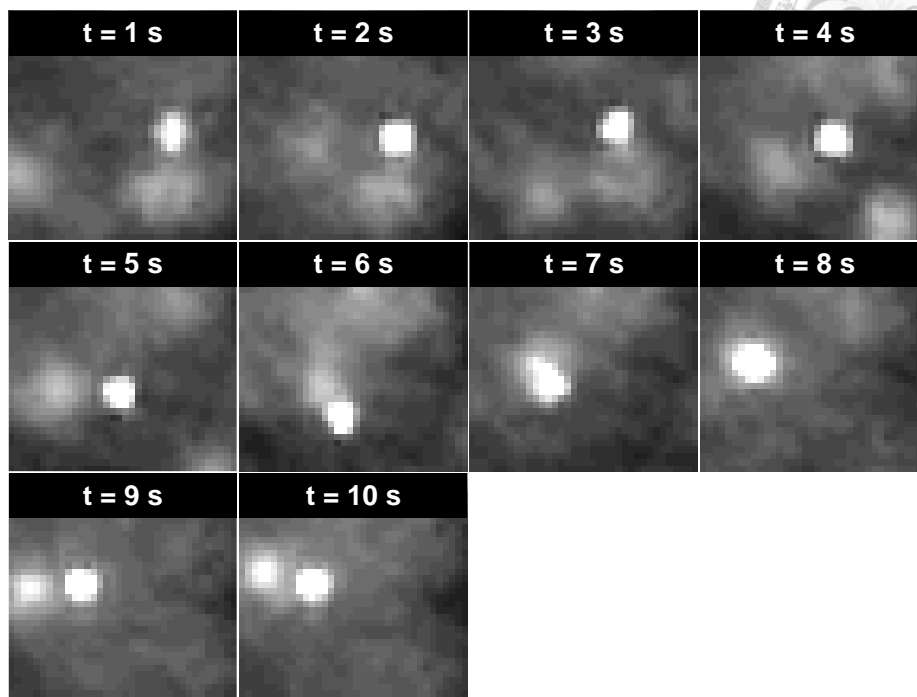


圖 3.17 不同粒子密度下，觀察時間對於溫度估算系統誤差之影響 (a) $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ (b) $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ (c) $\rho_p = 10^7 \text{ ml}^{-1}$ (d) $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$
(時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ ，所有溫度之平均)

(a)



(b)

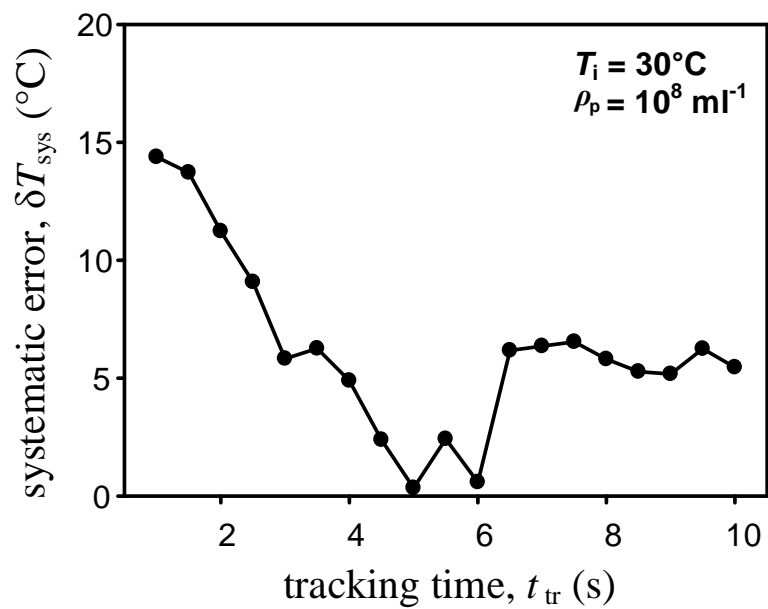


圖 3.18 粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ ， $T_i = 30^{\circ}\text{C}$ 時 (a)不同時間下之粒子影像 (b) 觀察時間與溫度估算系統誤差之關係

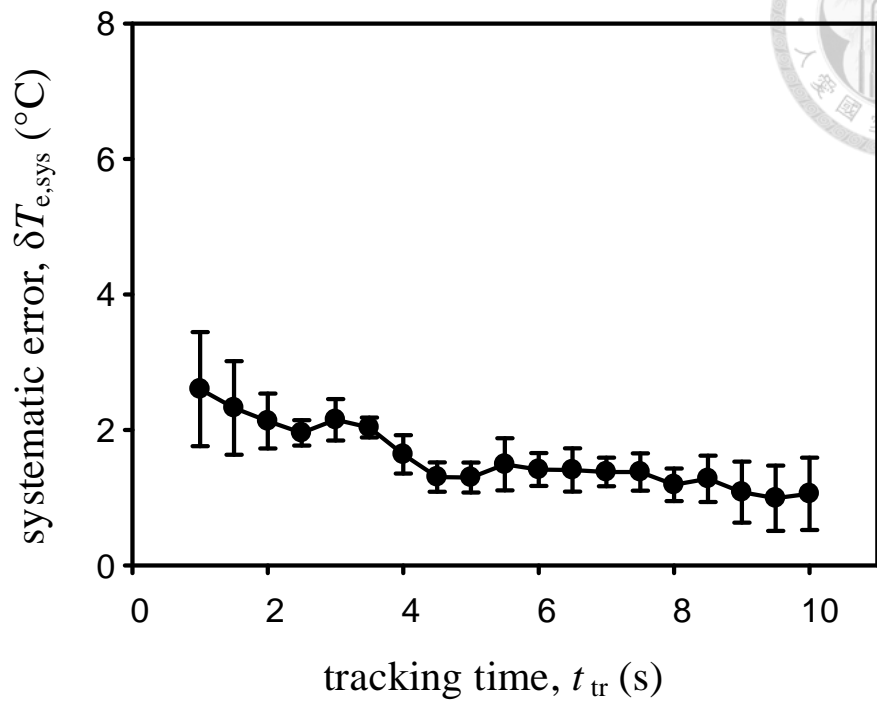


圖 3.19 觀察時間對於溫度估算系統誤差之影響
 (時間間隔 $\Delta t = 0.06$ s , 所有粒子密度與溫度下之平均)

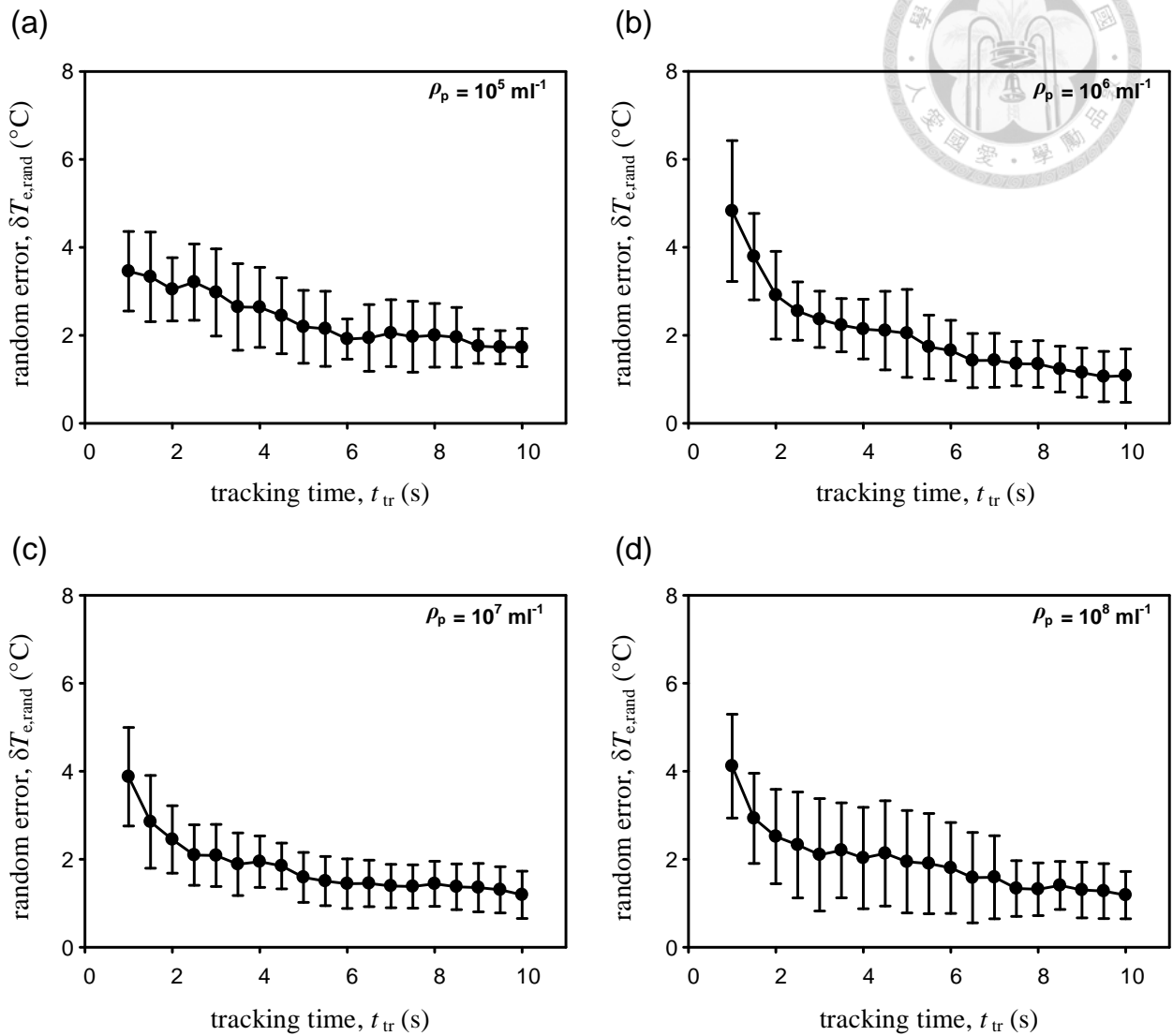


圖 3.20 不同粒子密度下，觀察時間對於溫度估算隨機誤差之影響(a) $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ (b) $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ (c) $\rho_p = 10^7 \text{ ml}^{-1}$ (d) $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$
(時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ ，所有溫度之平均)

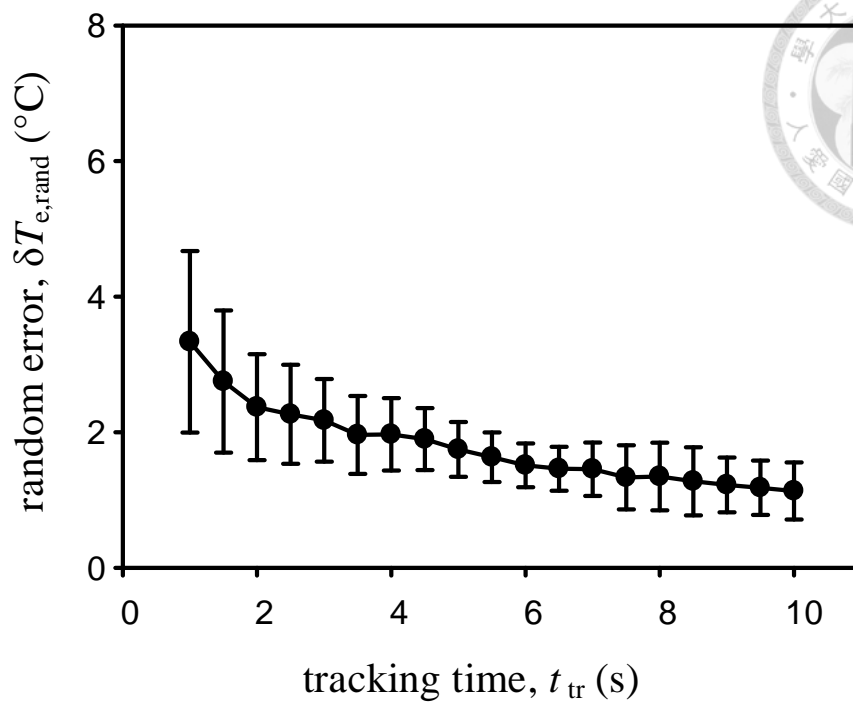


圖 3.21 觀察時間對於溫度估算隨機誤差之影響

(時間間隔 $\Delta t = 0.06$ s , 所有粒子密度與溫度下之平均)

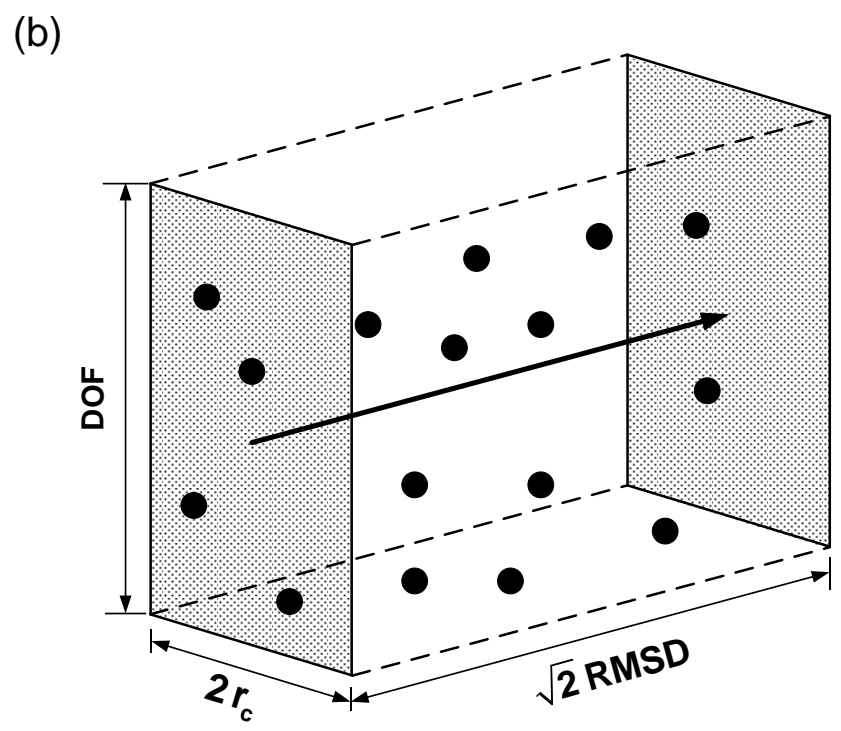
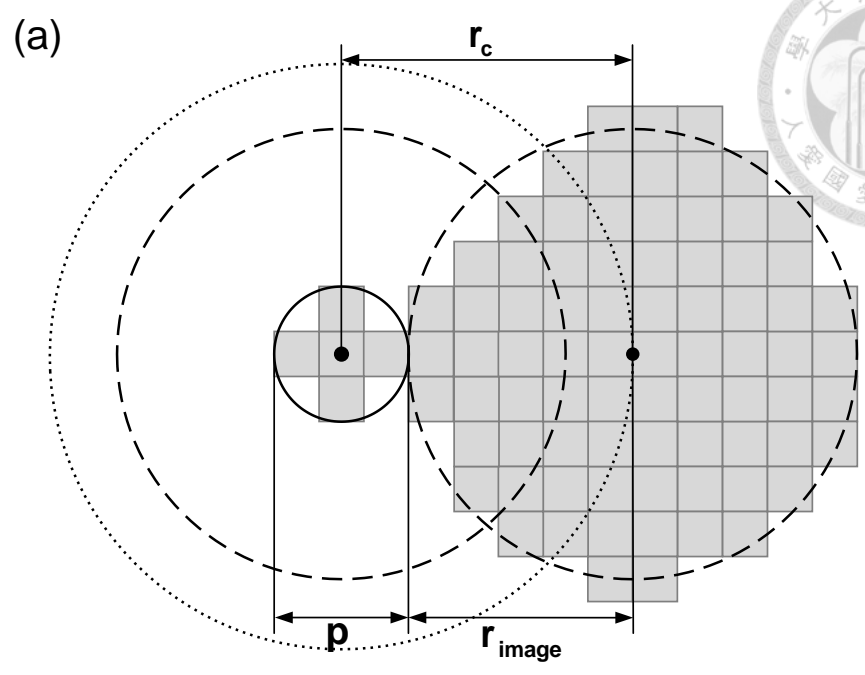
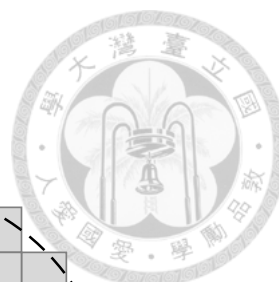


圖 3.22 (a) 粒子之有效碰撞半徑計算 (b) 在觀察時間間隔內，有效碰撞面積劃過的空間

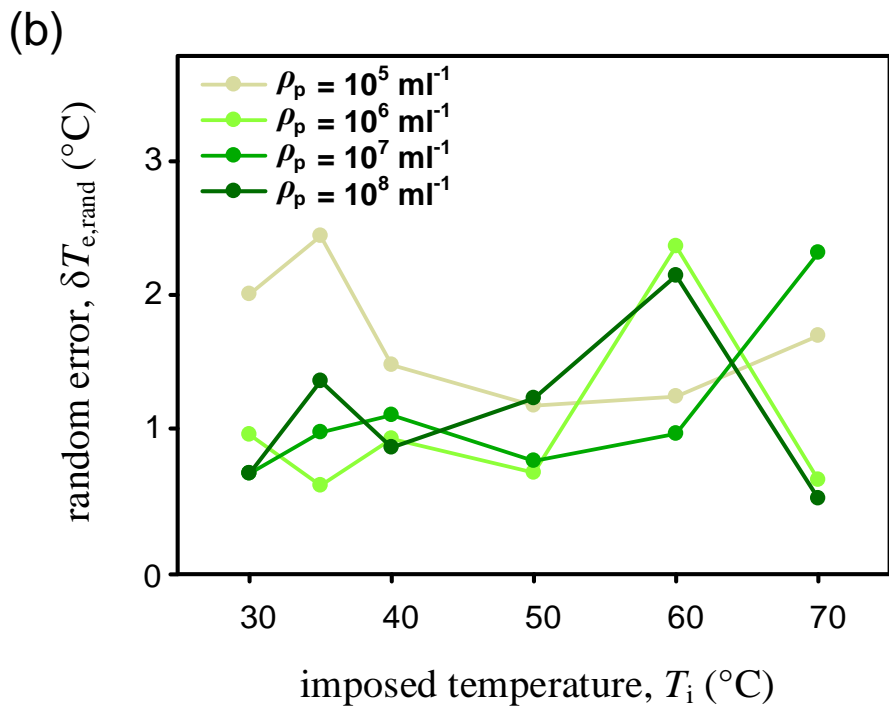
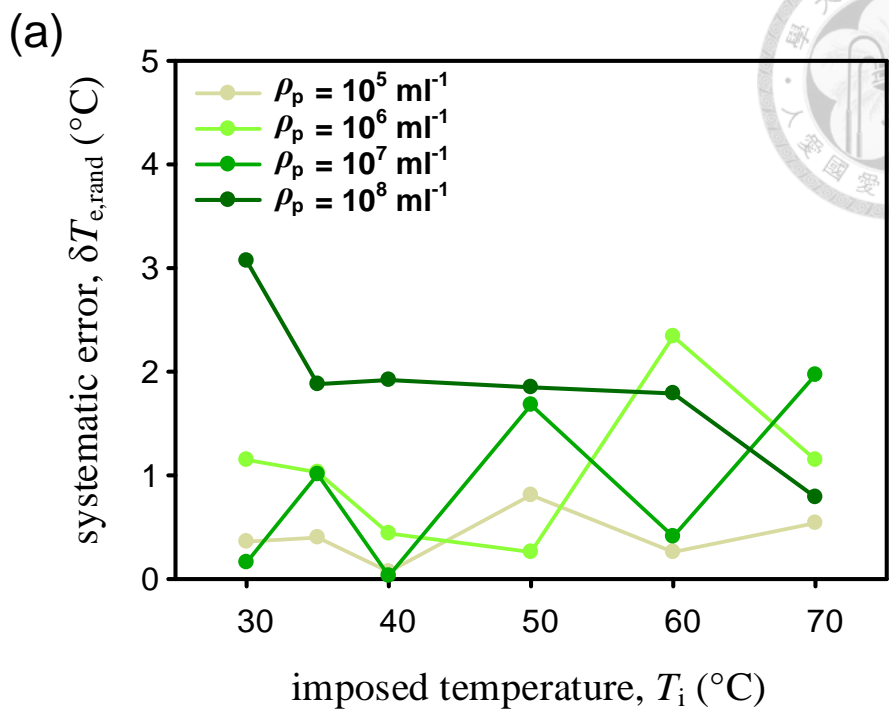


圖 3.23 不同粒子密度下，流體溫度對於溫度估算系統誤差與隨機誤差之影響
(時間間隔 $\Delta t = 0.06 \text{ s}$ ，觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

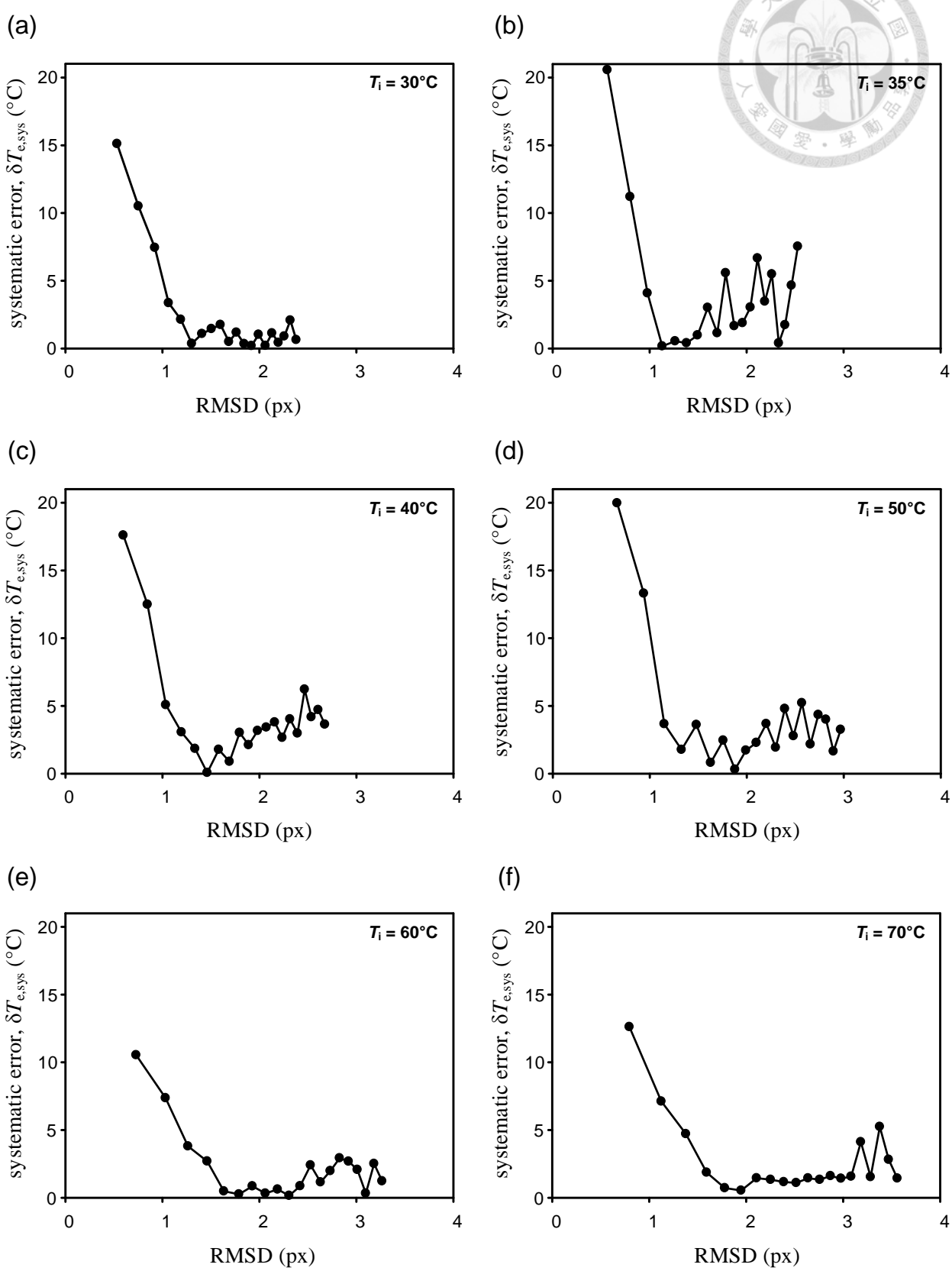
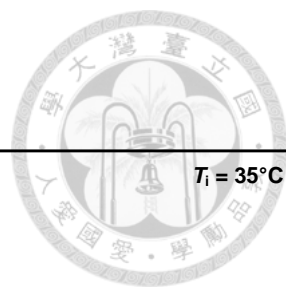


圖 3.24 不同流體溫度下，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係

(粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ，觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

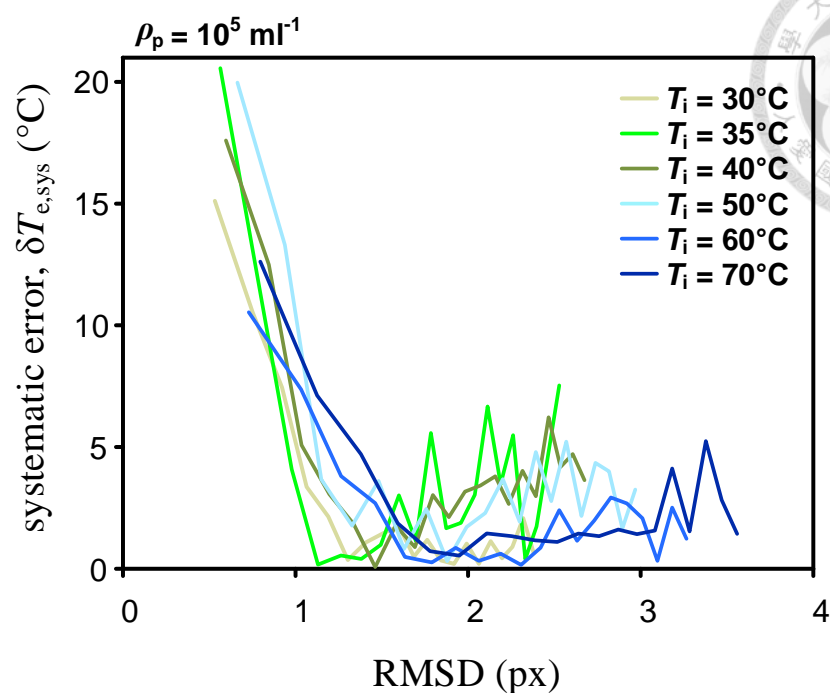
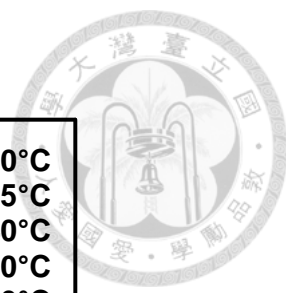


圖 3.25 粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係
(觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$)

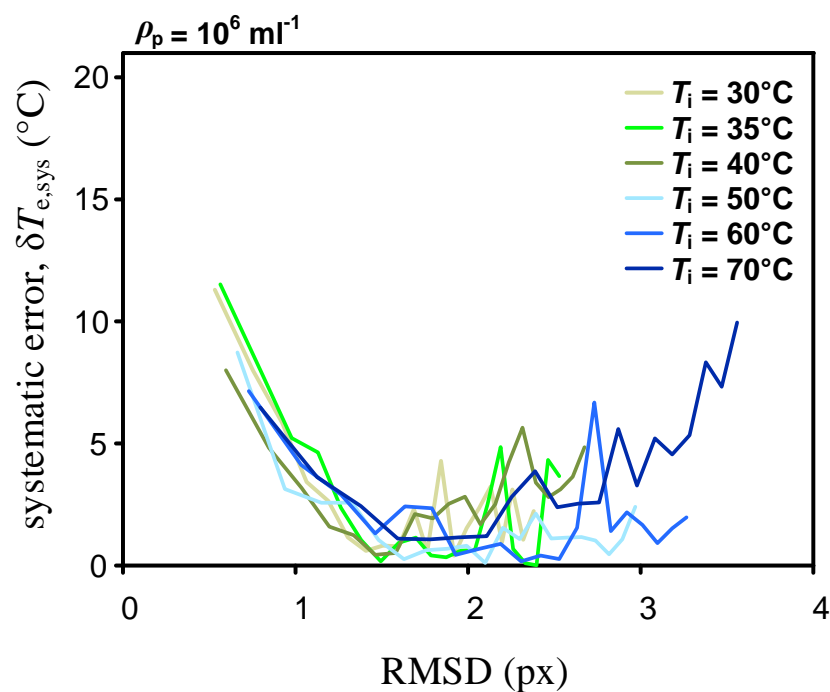


圖 3.26 粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係
(觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$)

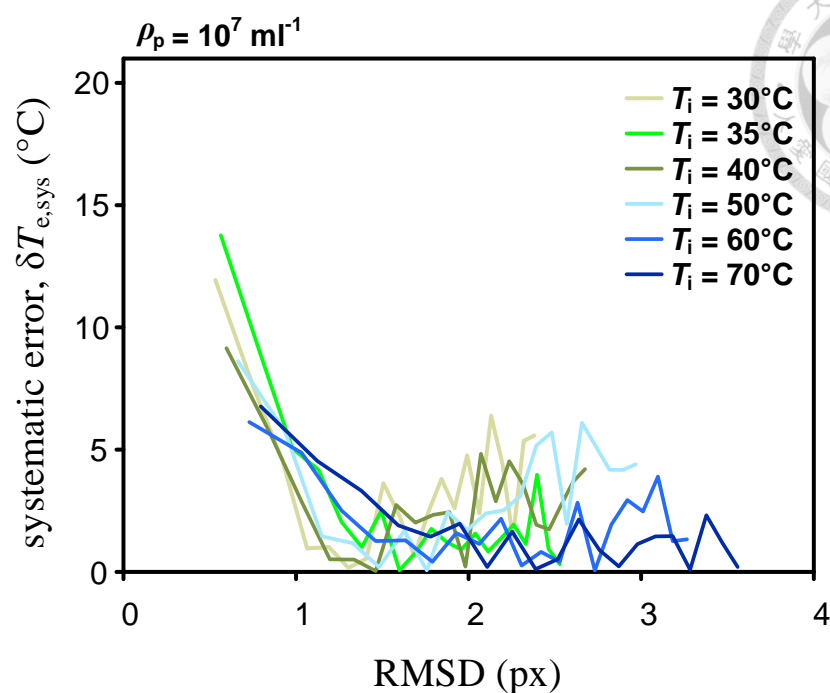
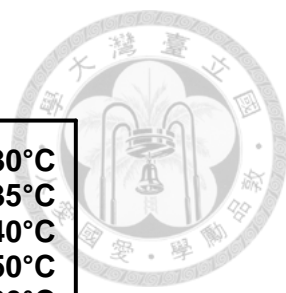


圖 3.27 粒子密度 $\rho_p = 10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係
(觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$)

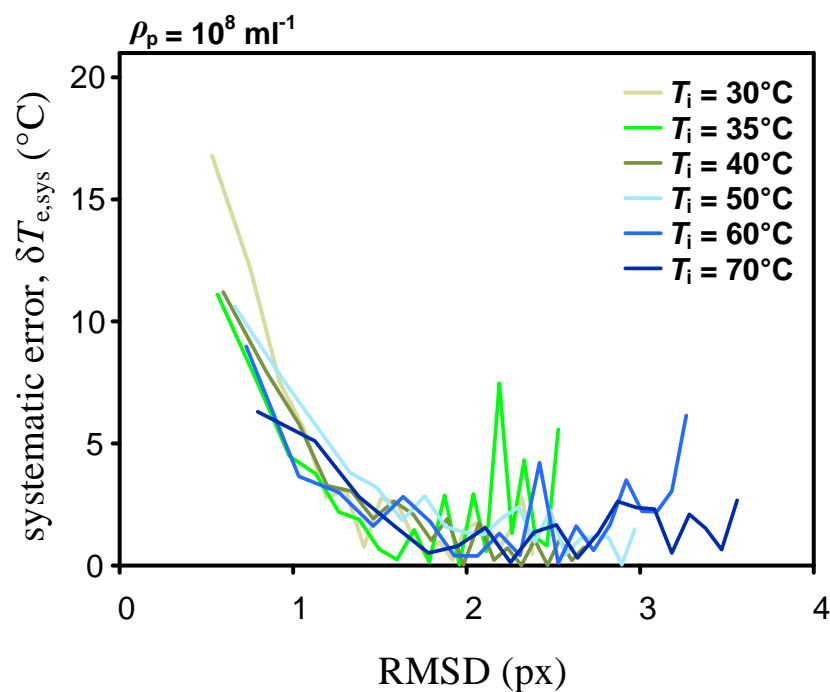


圖 3.28 粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係
(觀察時間 $t_{\text{tr}} = 10 \text{ s}$)

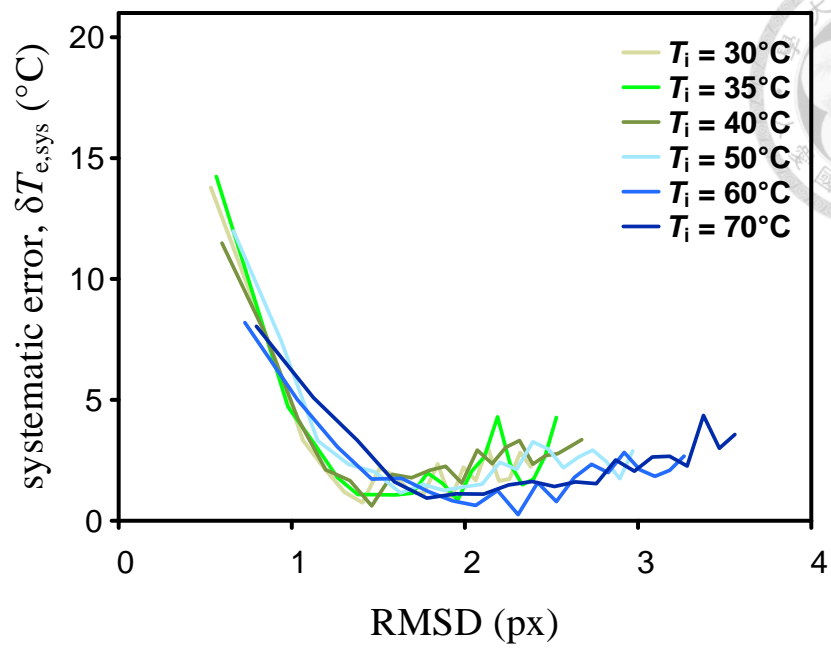


圖 3.29 RMSD 與溫度估算系統誤差之關係
 (觀察時間 $t_{tr} = 10$ s，所有粒子密度下之平均)

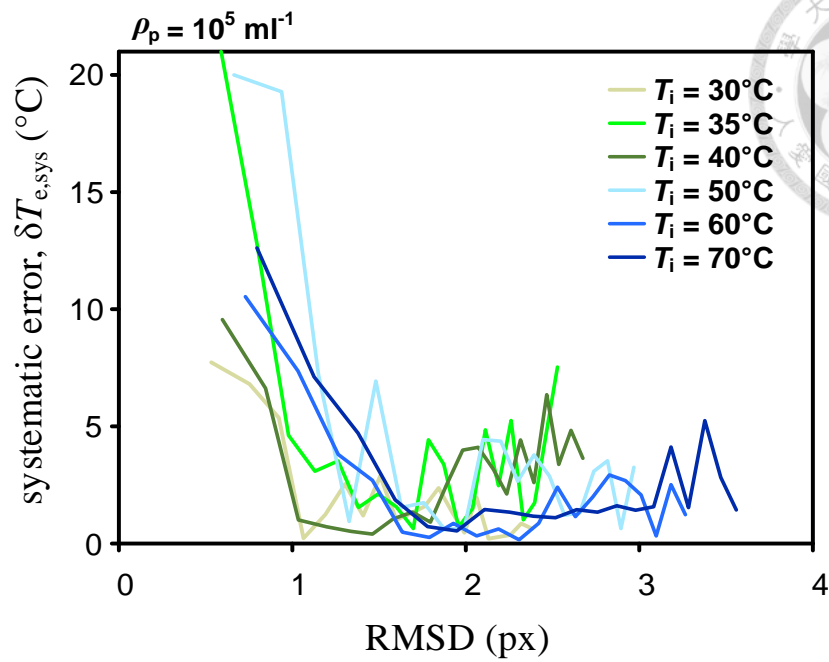


圖 3.30 粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

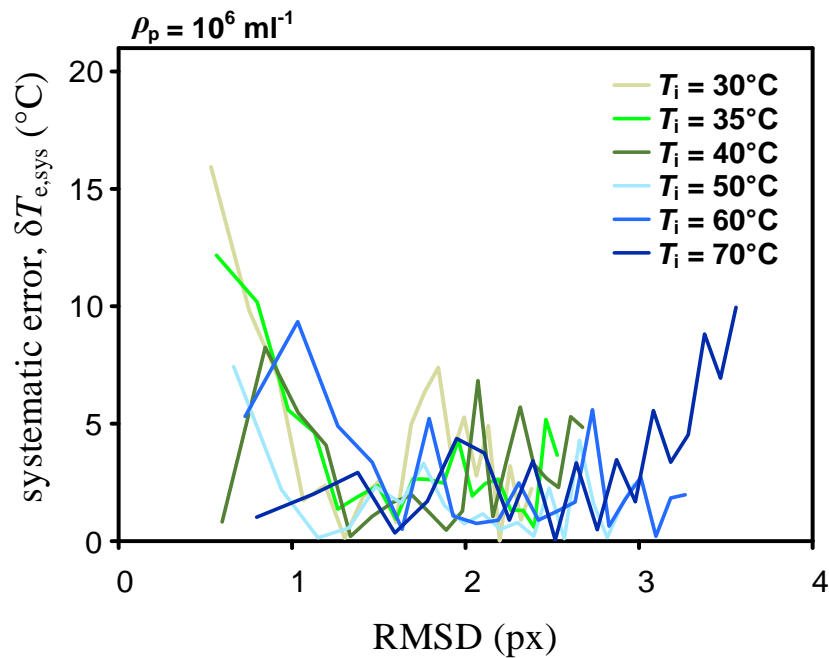


圖 3.31 粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

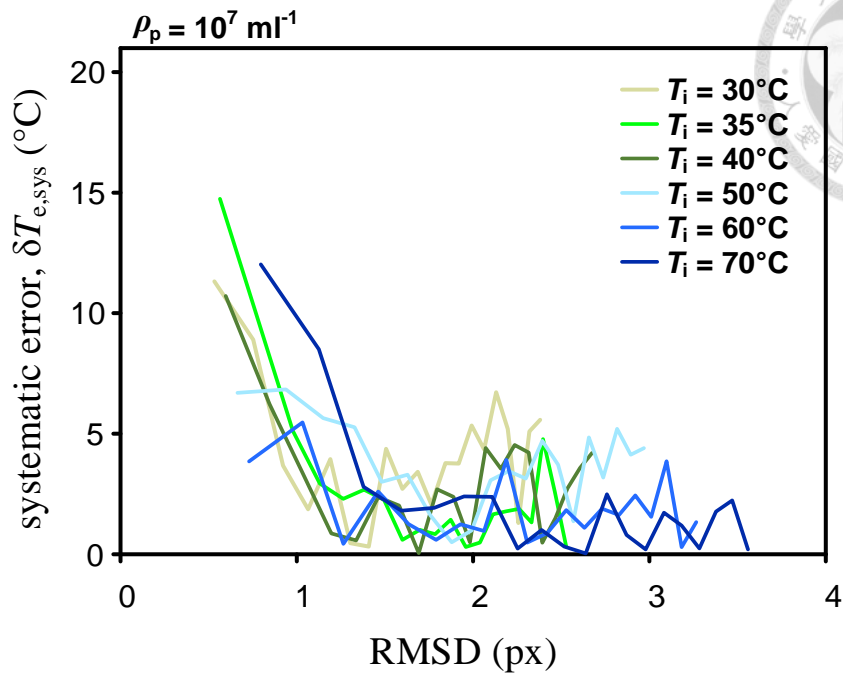


圖 3.32 粒子密度 $\rho_p = 10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

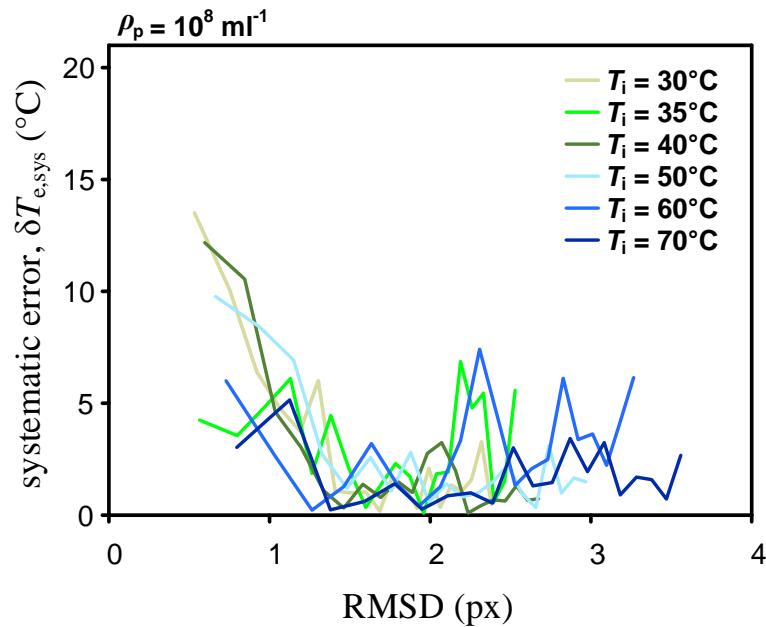


圖 3.33 粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算系統誤差之關係
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

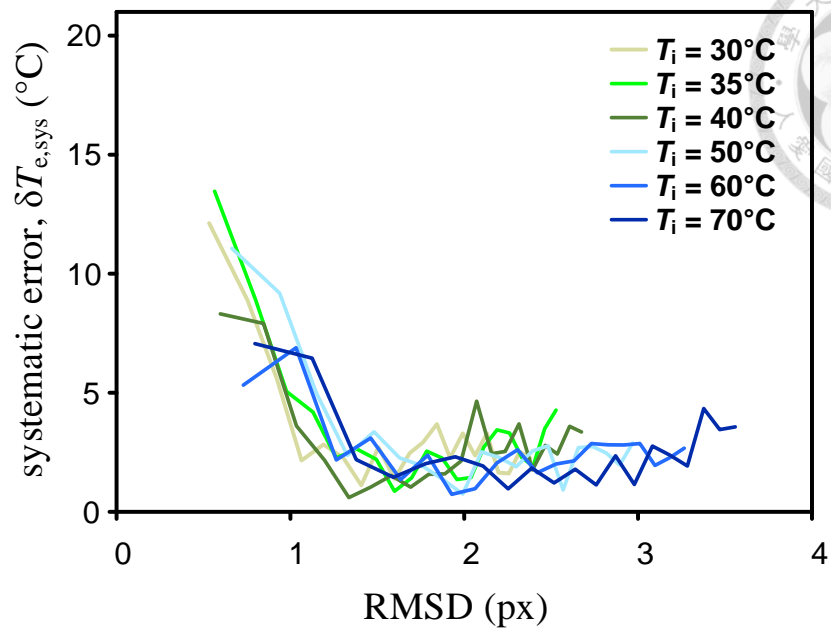


圖 3.34 RMSD 與溫度估算系統誤差之關係

(影像數量 $N_f = 50$ frames，所有粒子密度下之平均)

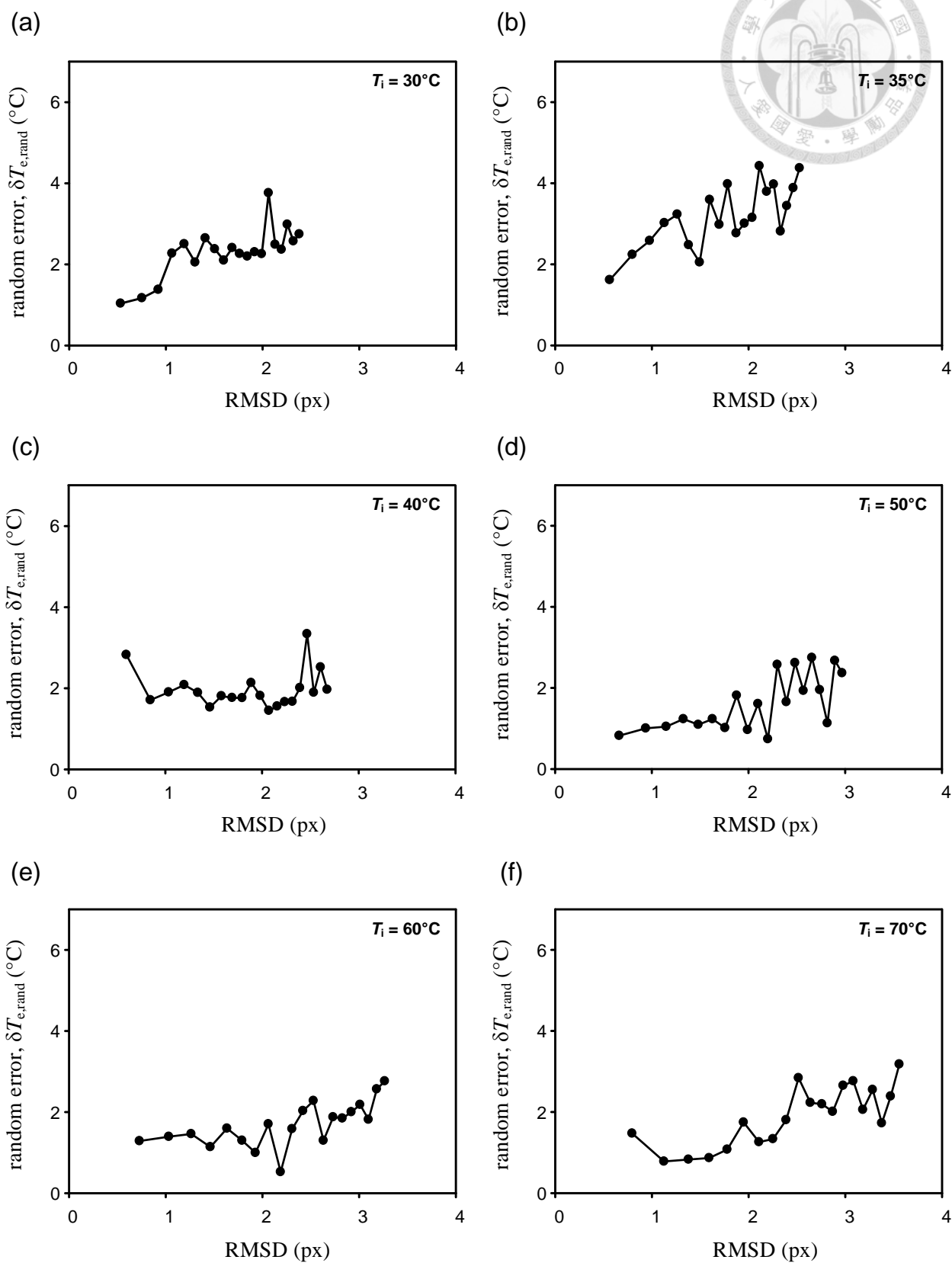


圖 3.35 不同流體溫度下，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係

(粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ，觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

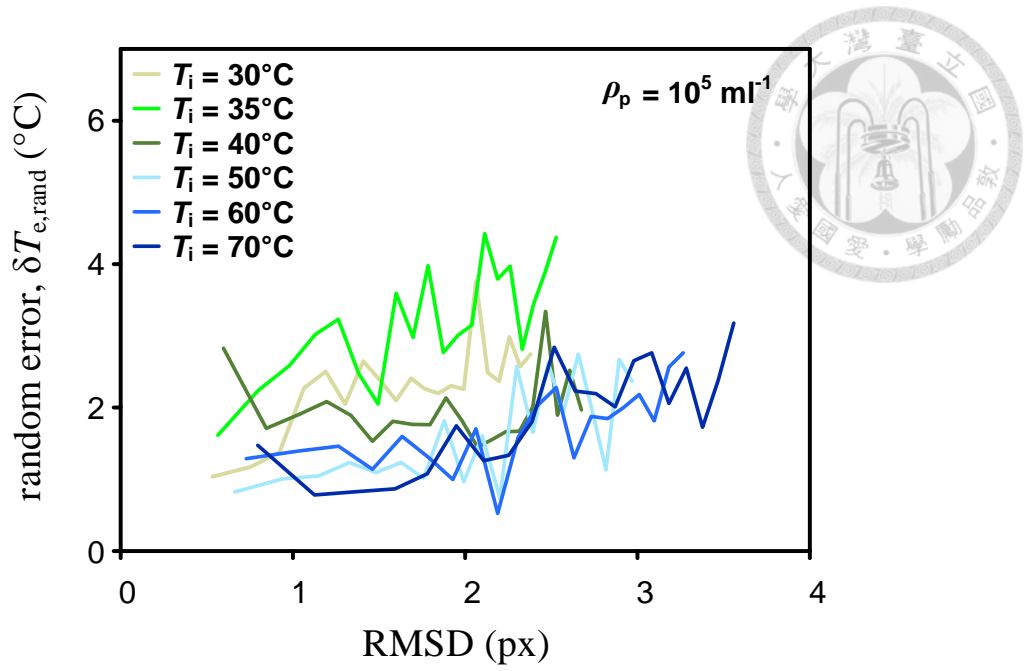


圖 3.36 粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

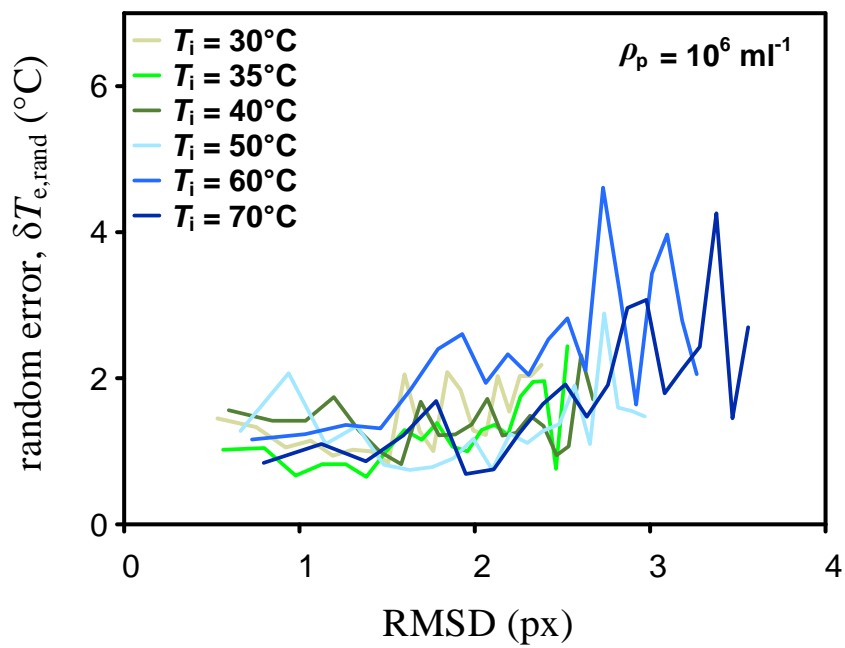


圖 3.37 粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

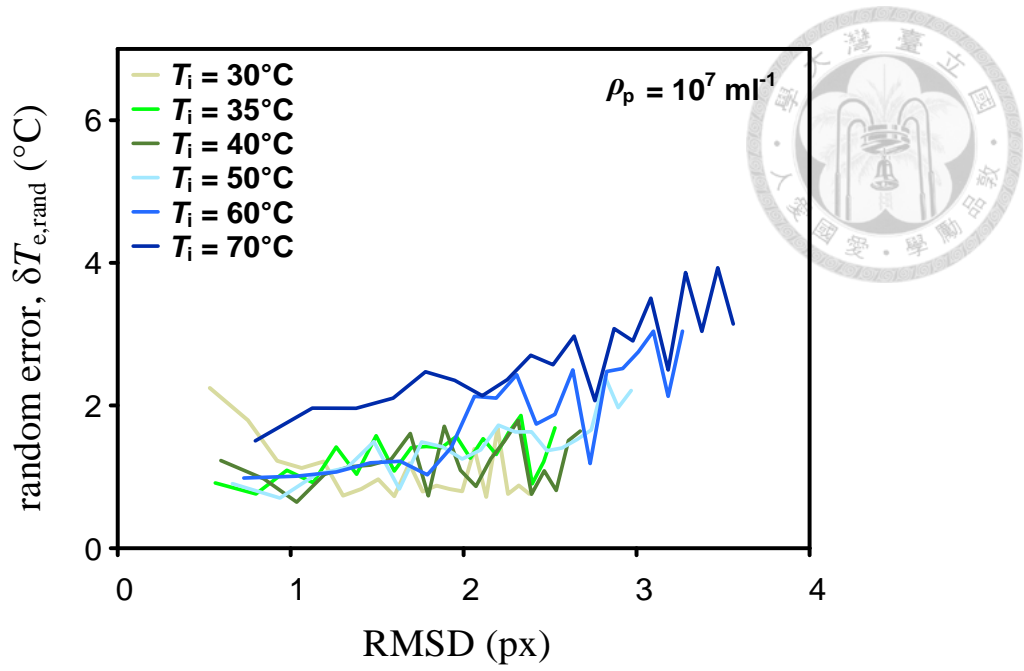


圖 3.38 粒子密度 $\rho_p = 10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

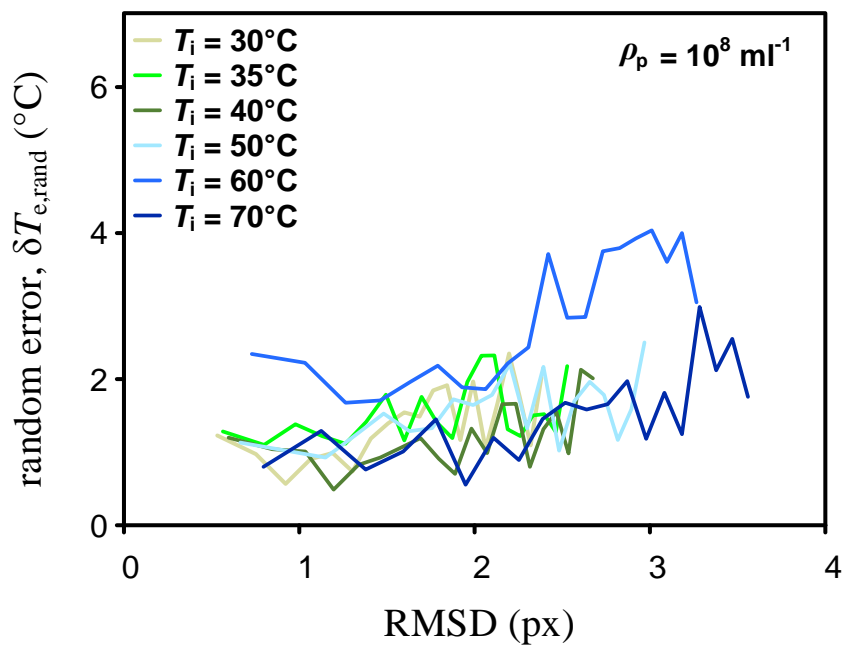


圖 3.39 粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

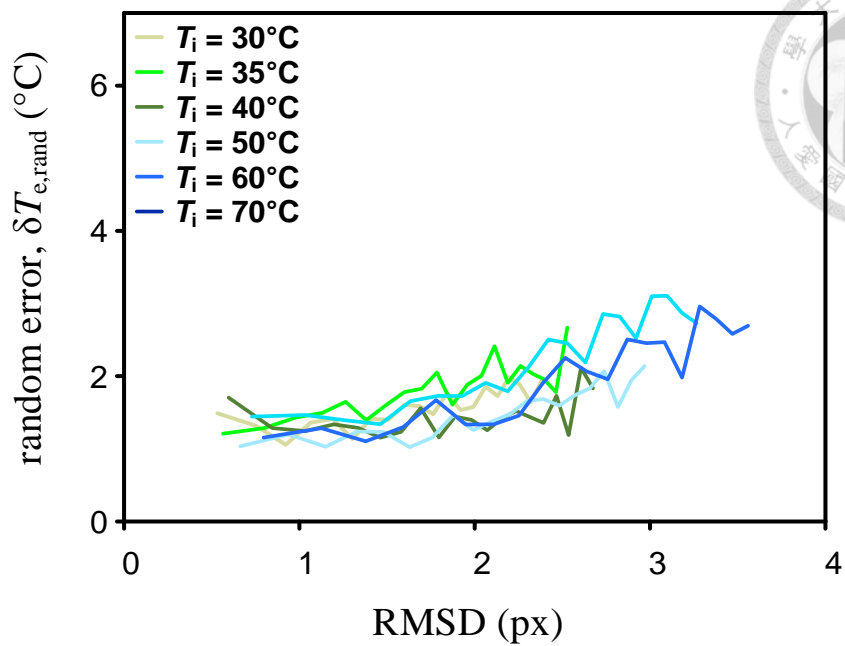


圖 3.40 RMSD 與溫度估算隨機誤差之關係
(觀察時間 $t_{tr} = 10$ s , 所有粒子密度下之平均)

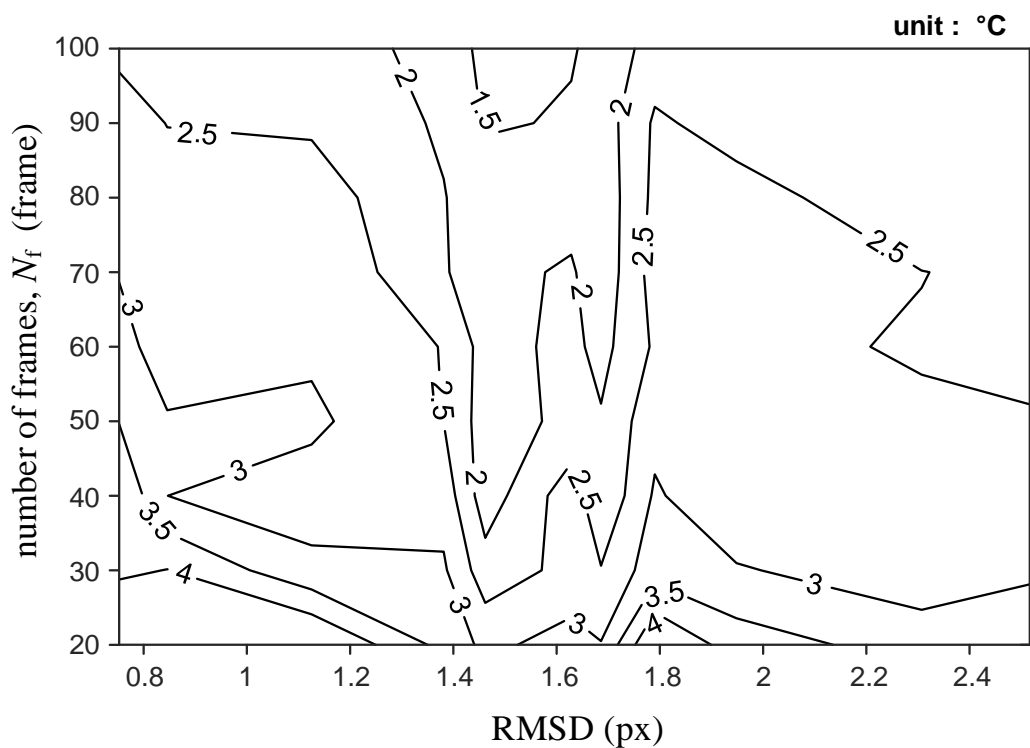


圖 3.41 RMSD、影像數量與溫度估算隨機誤差之關係
(所有粒子密度下之平均)

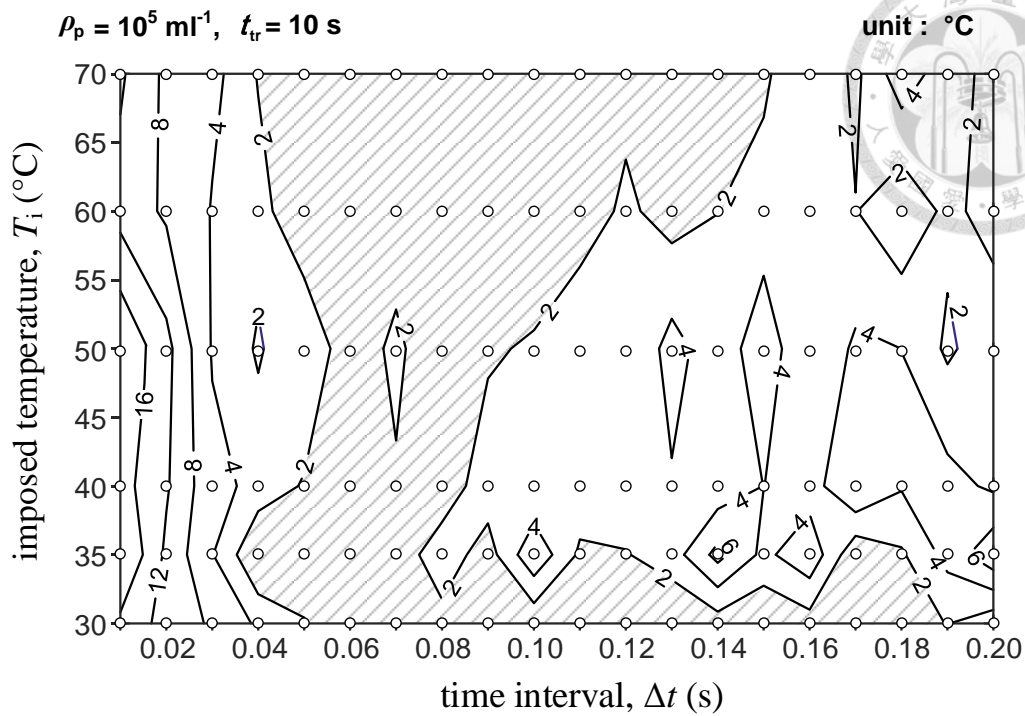


圖 3.42 粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

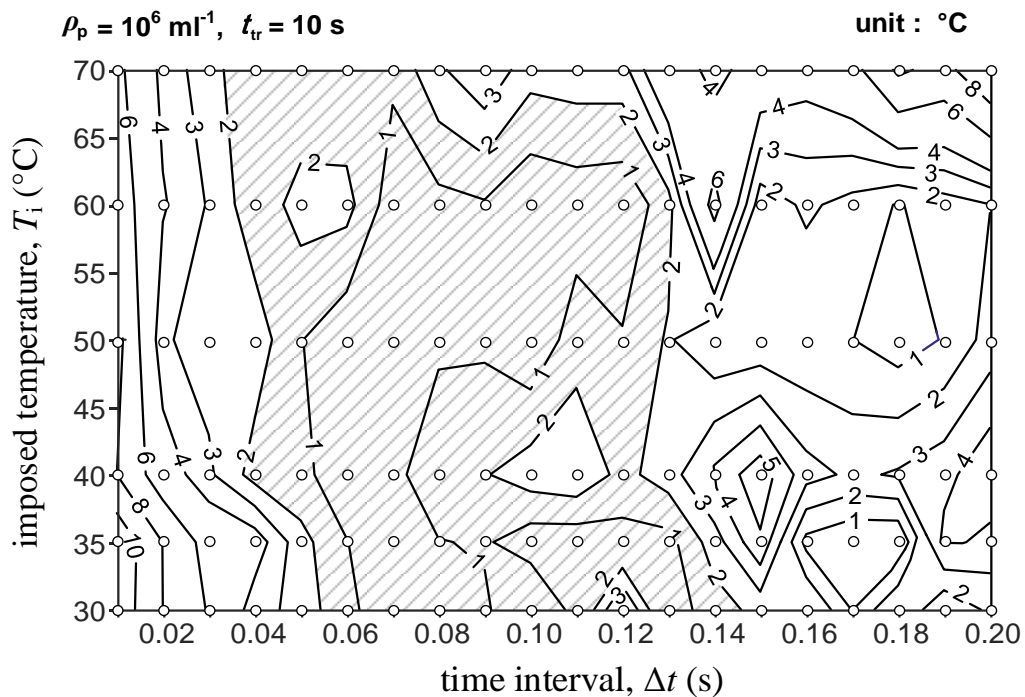


圖 3.43 粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

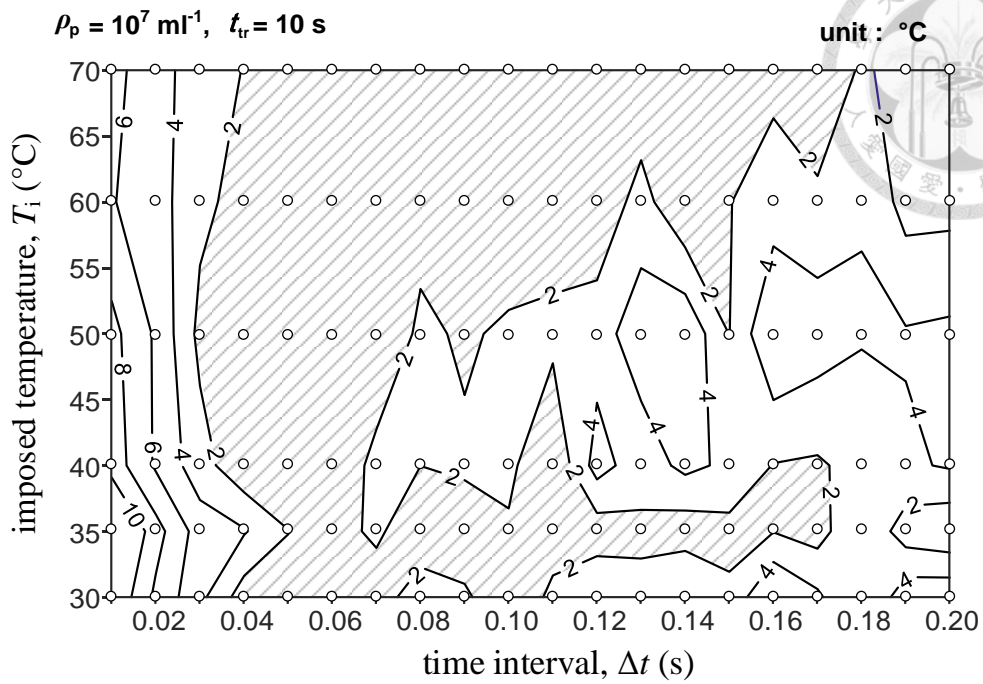


圖 3.44 粒子密度 $\rho_p = 10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

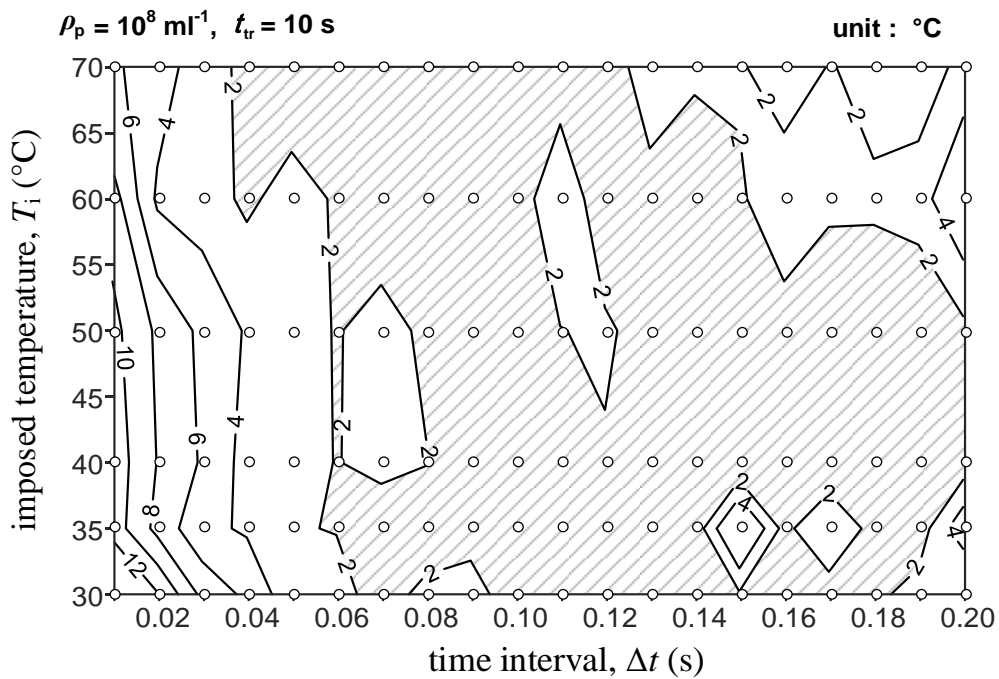


圖 3.45 粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

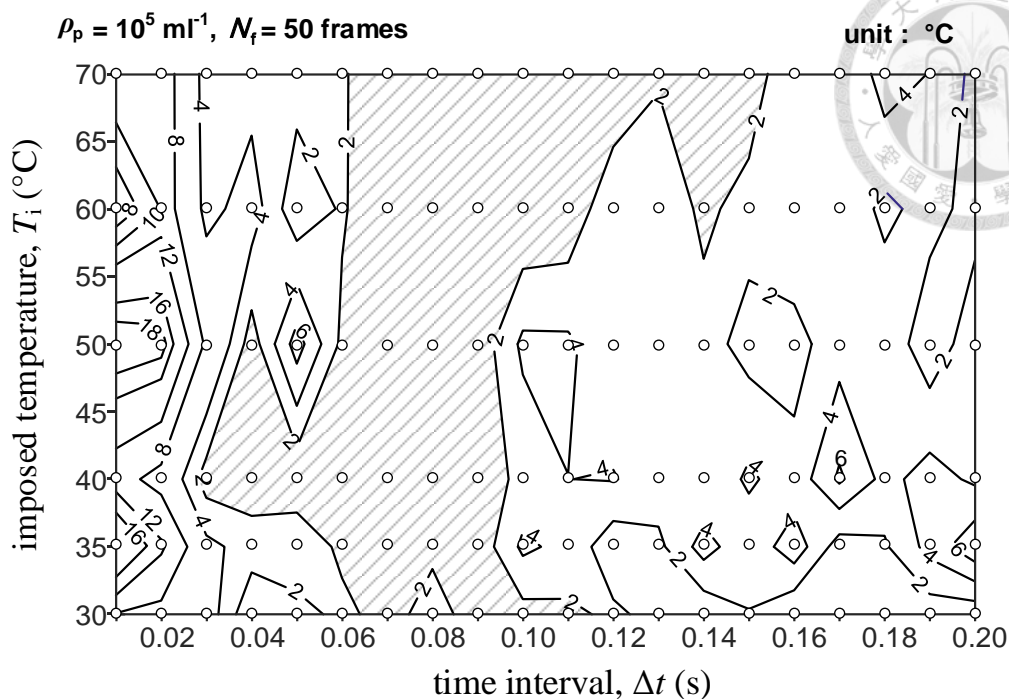


圖 3.46 粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

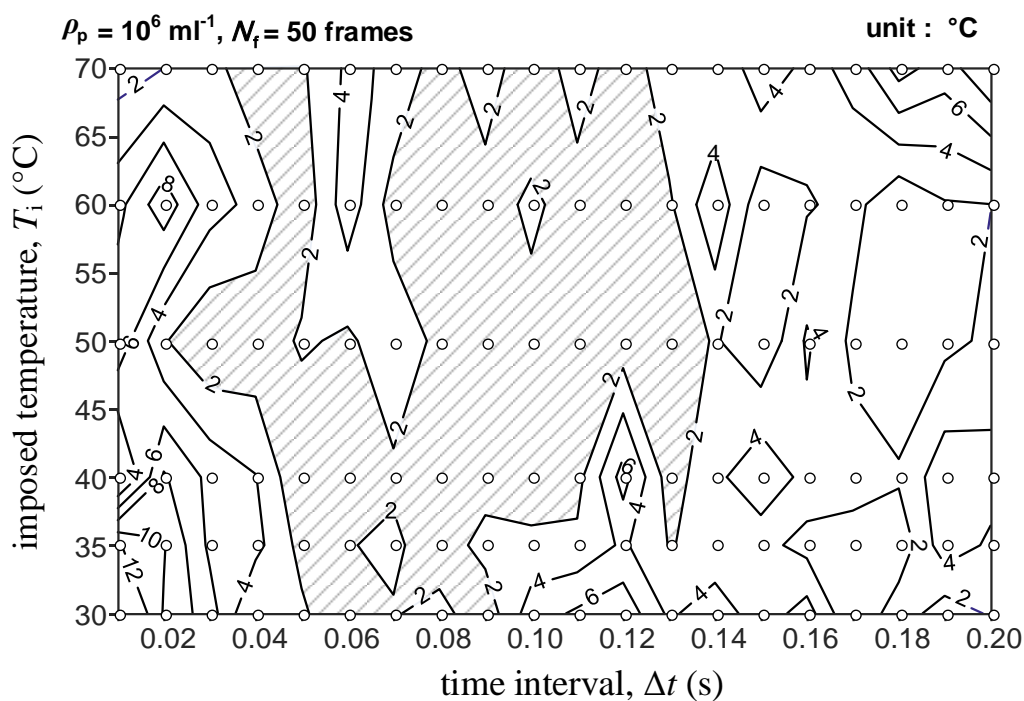


圖 3.47 粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

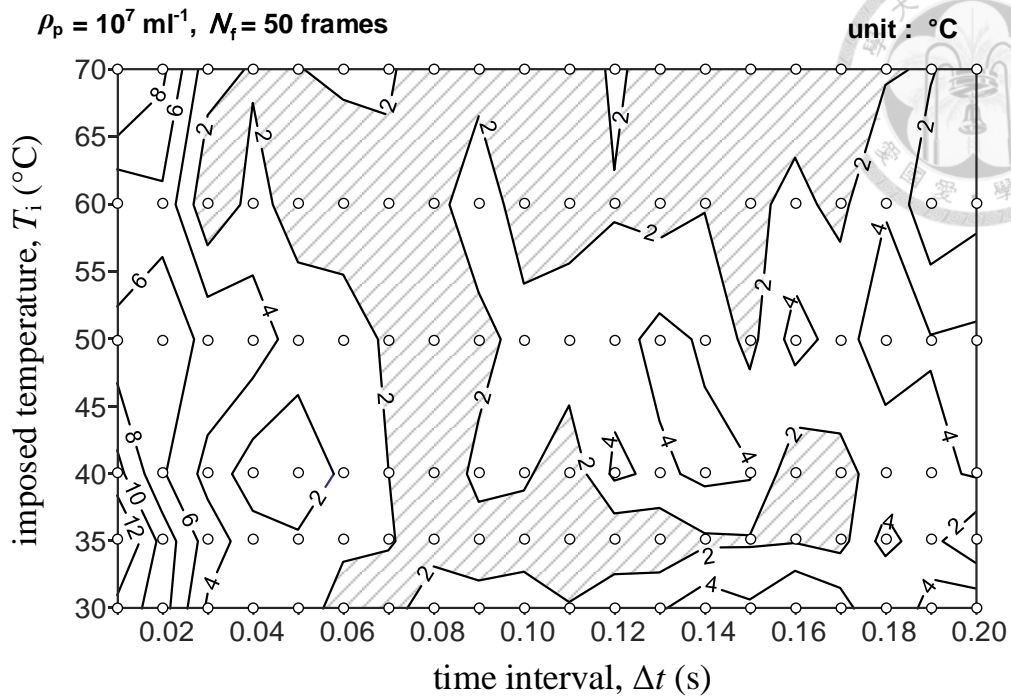


圖 3.48 粒子密度 $\rho_p = 10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

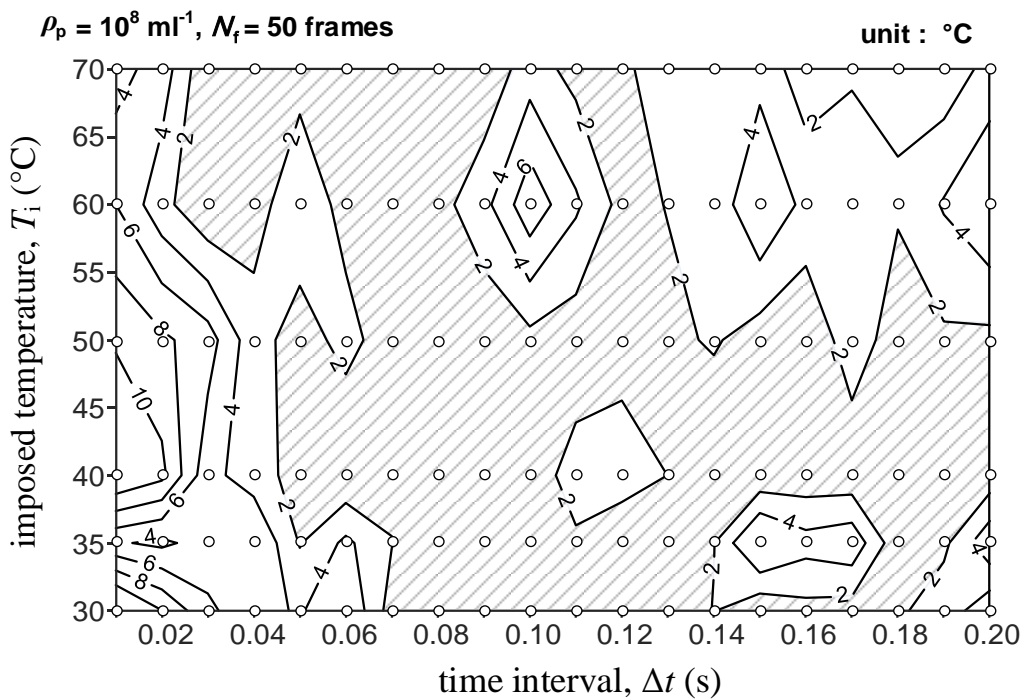


圖 3.49 粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

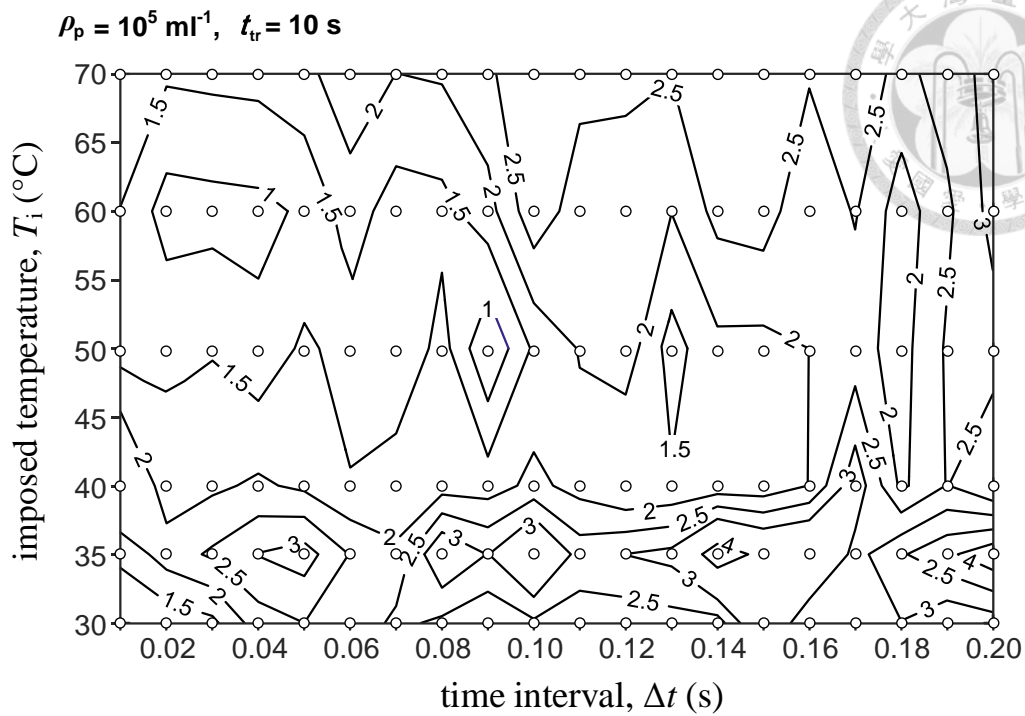


圖 3.50 粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

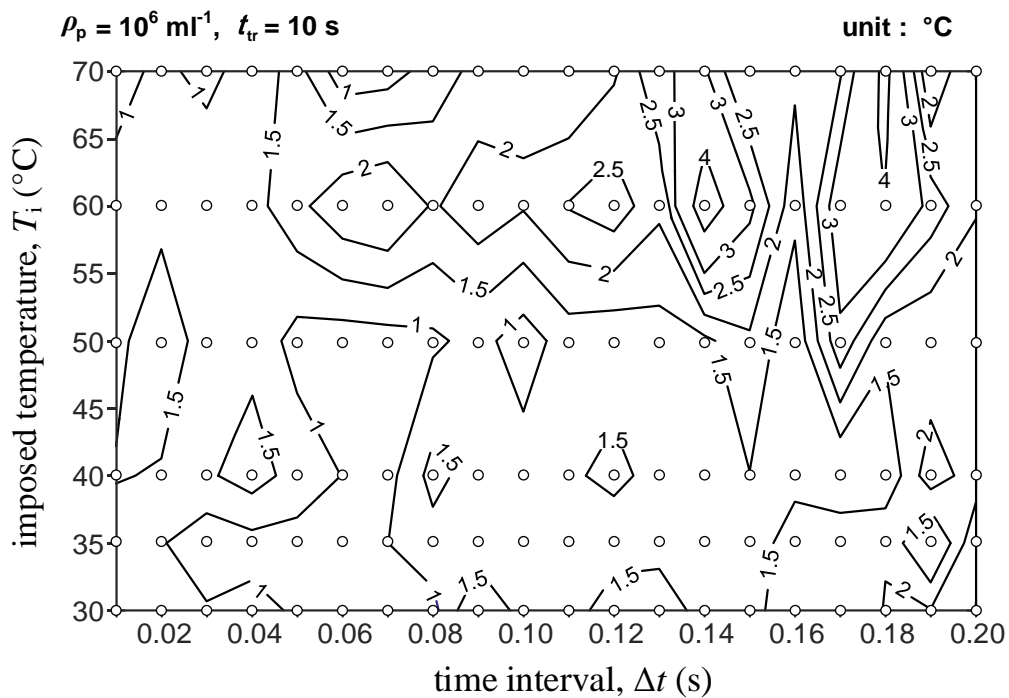


圖 3.51 粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

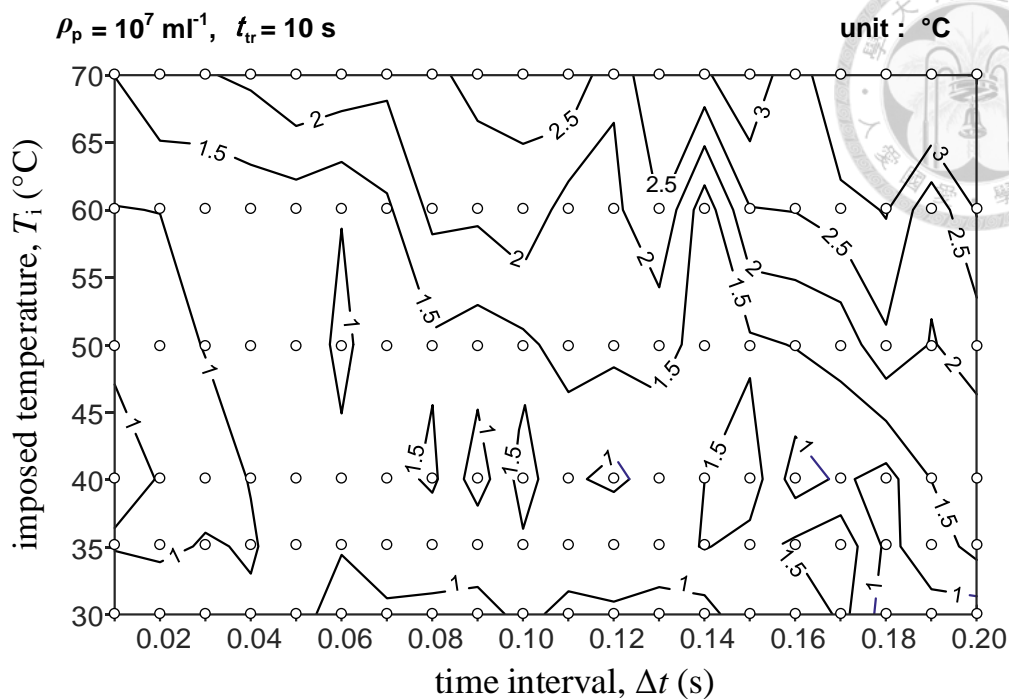


圖 3.52 粒子密度 $\rho_p = 10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

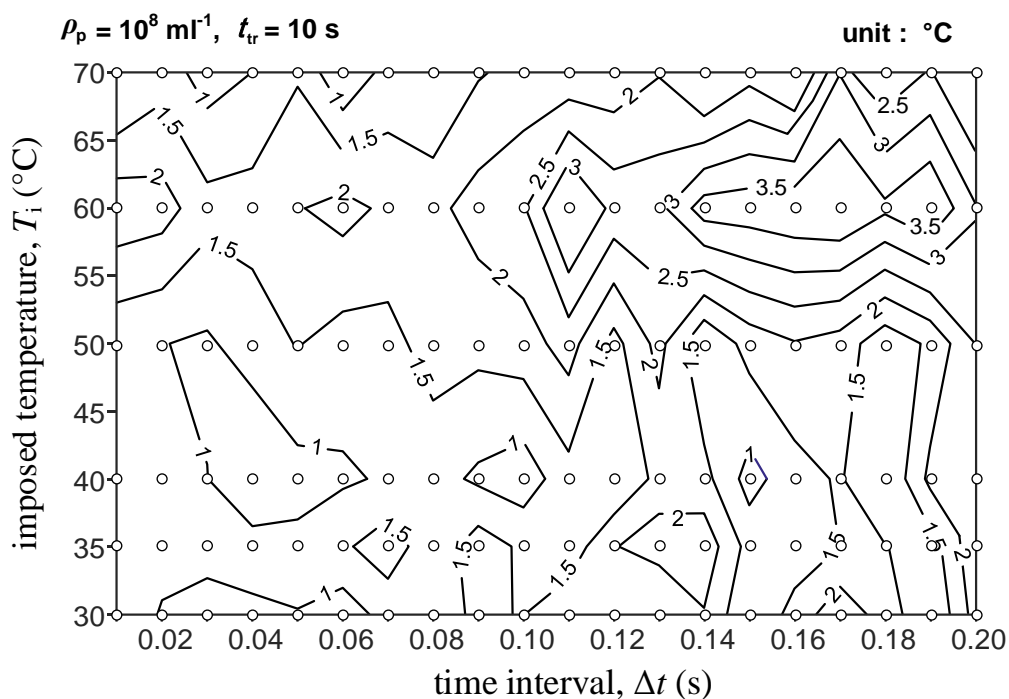


圖 3.53 粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

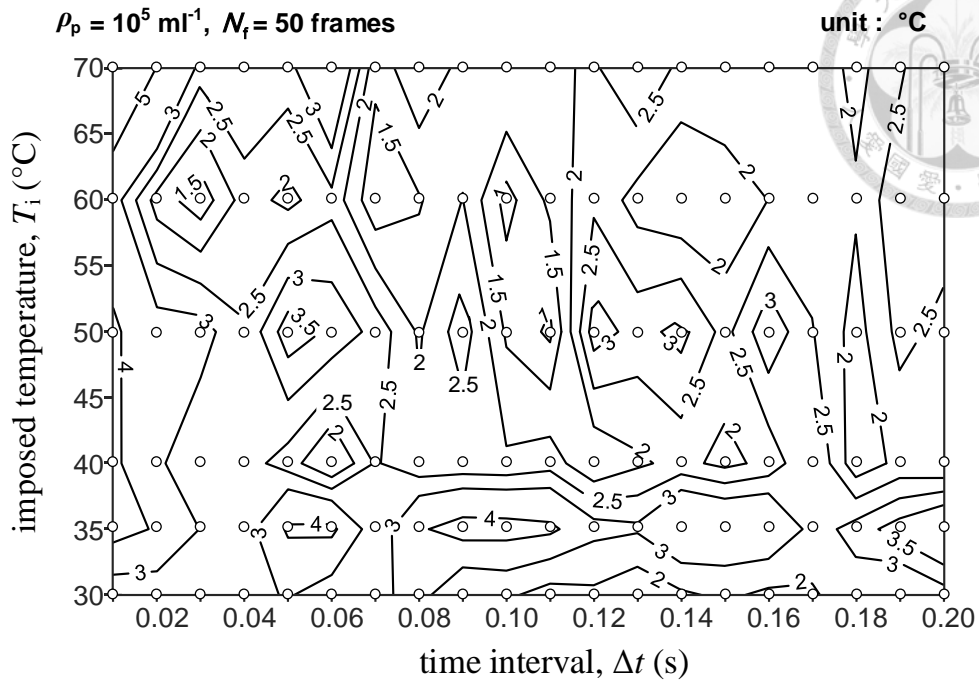


圖 3.54 粒子密度 $\rho_p = 10^5 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

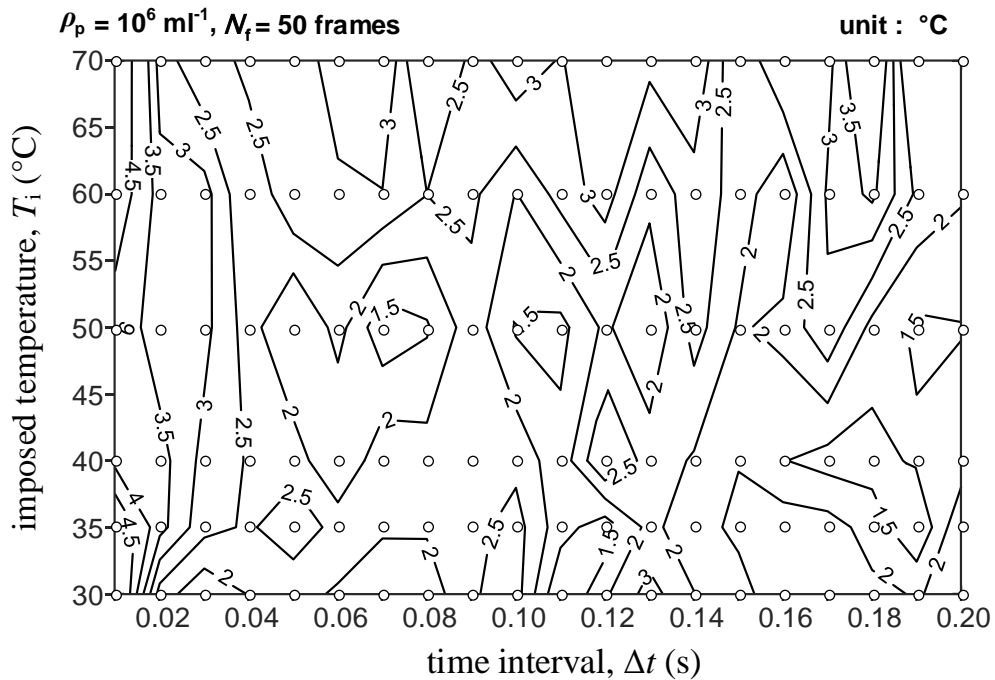


圖 3.55 粒子密度 $\rho_p = 10^6 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

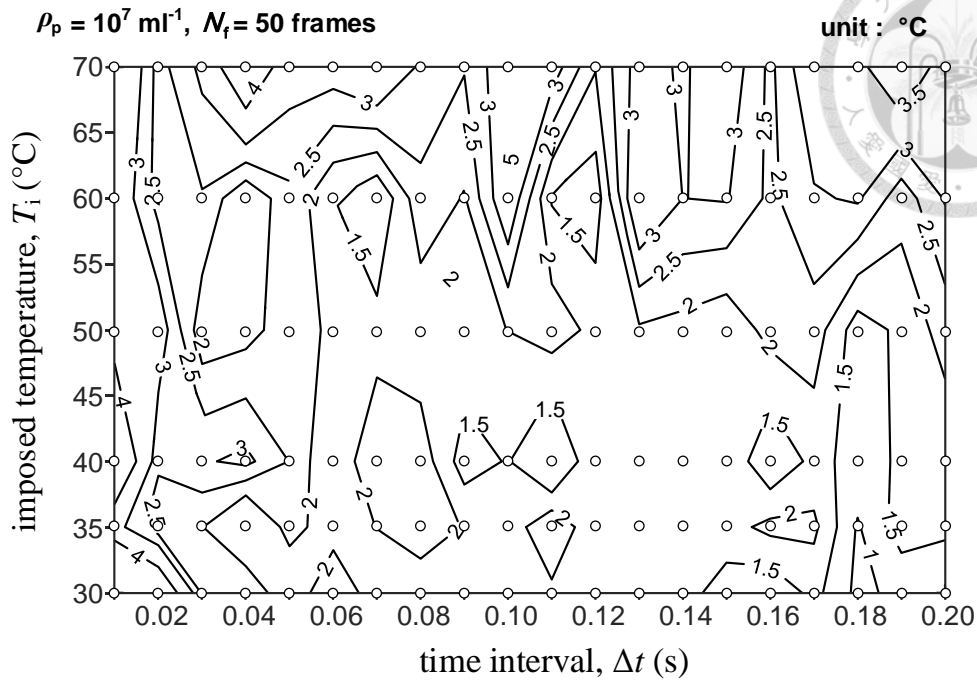


圖 3.56 粒子密度 $\rho_p = 10^7 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

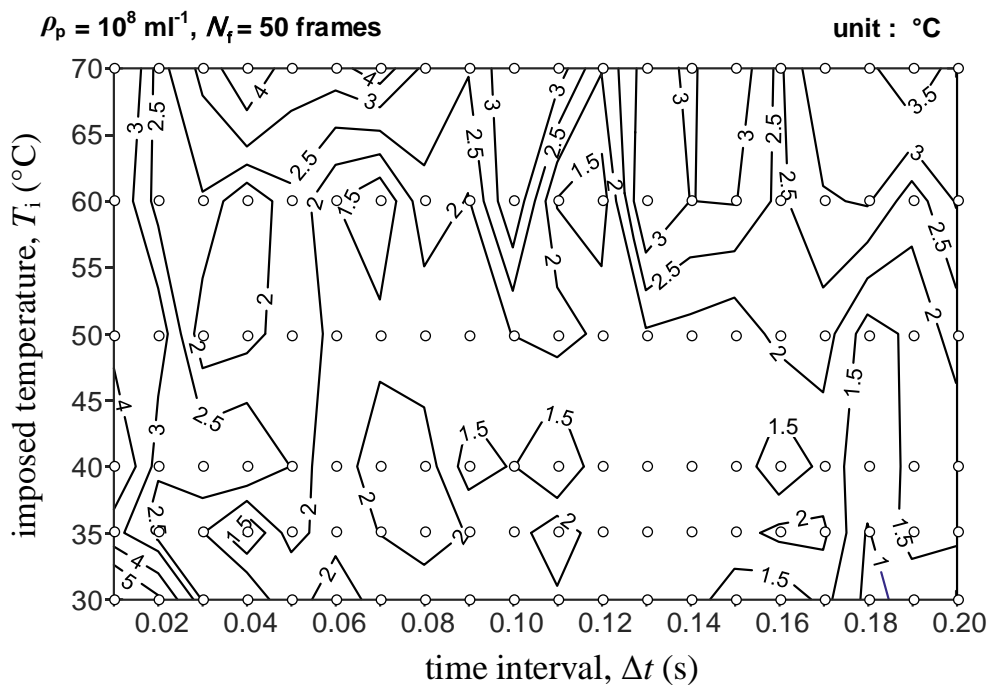


圖 3.57 粒子密度 $\rho_p = 10^8 \text{ ml}^{-1}$ 時，觀察時間間隔與流體溫度對於溫度估算隨機誤差之影響
(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

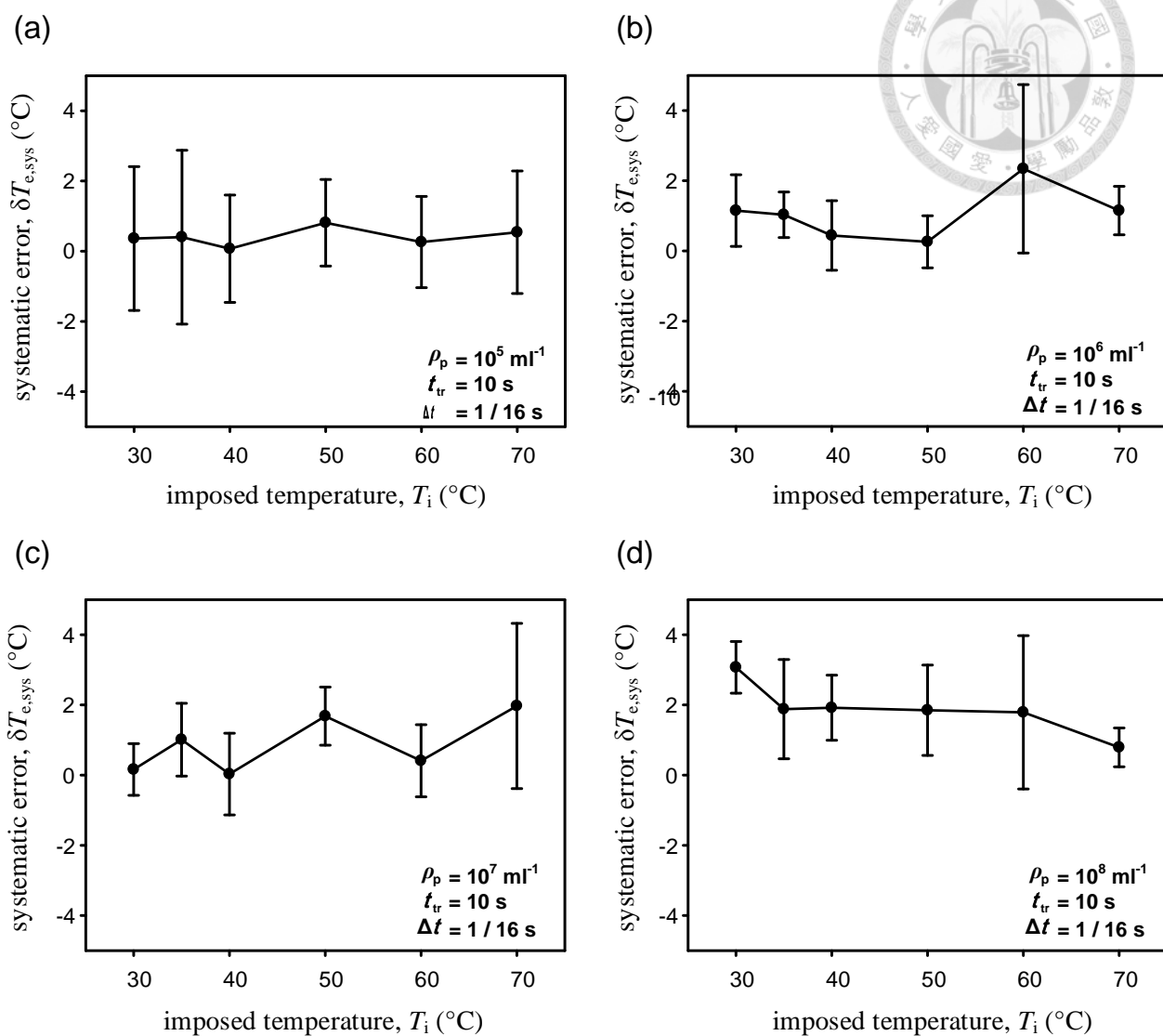


圖 3.58 不同粒子密度下，流體溫度對於溫度估算系統誤差之影響

(時間間隔 $\Delta t = 1/16 \text{ s}$ ，觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$ ，error bar 為隨機誤差 $\delta T_{e,rand}$ 之值)

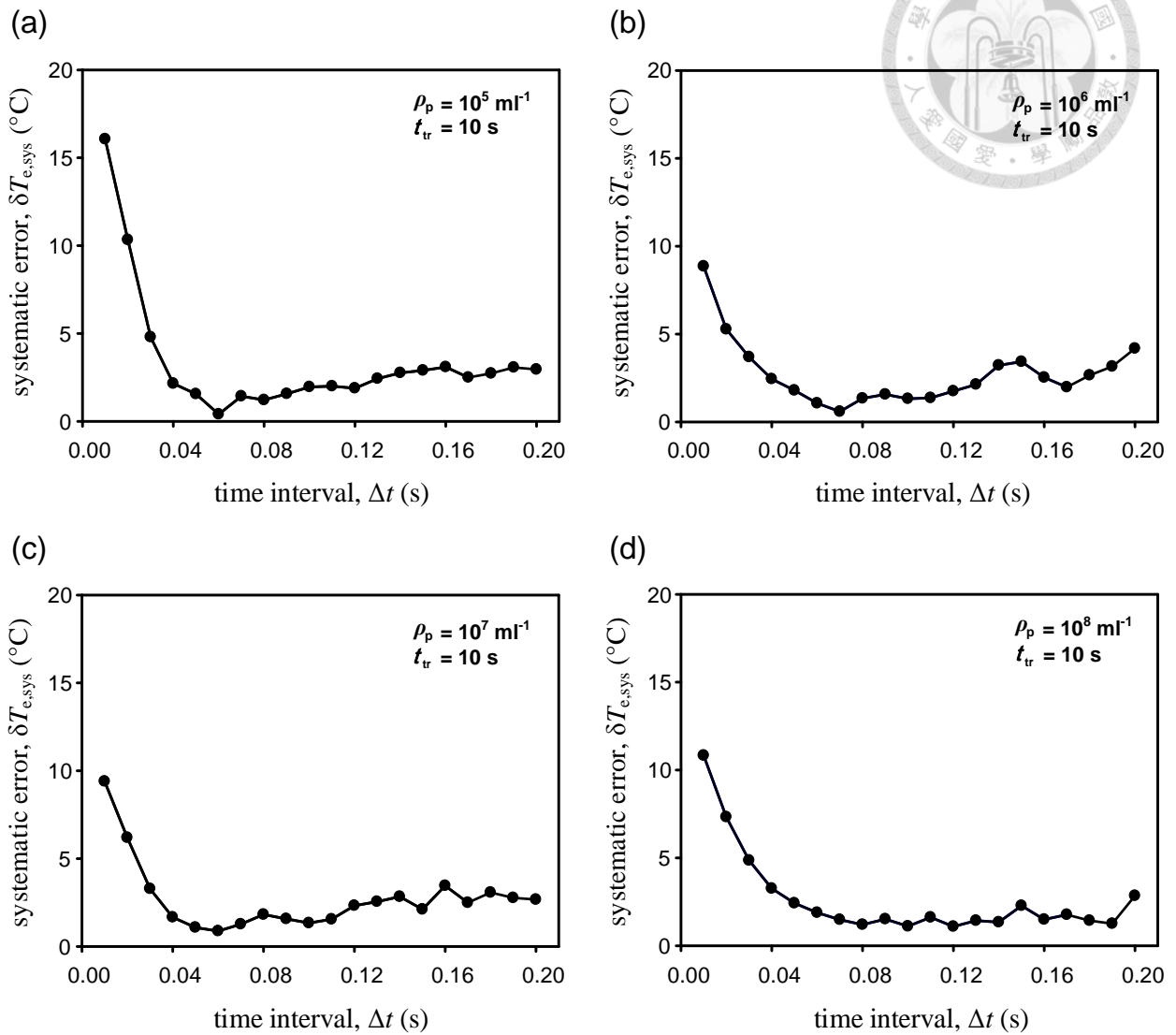


圖 3.59 不同粒子密度下，觀察時間間隔長度對於溫度估算系統誤差之影響
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

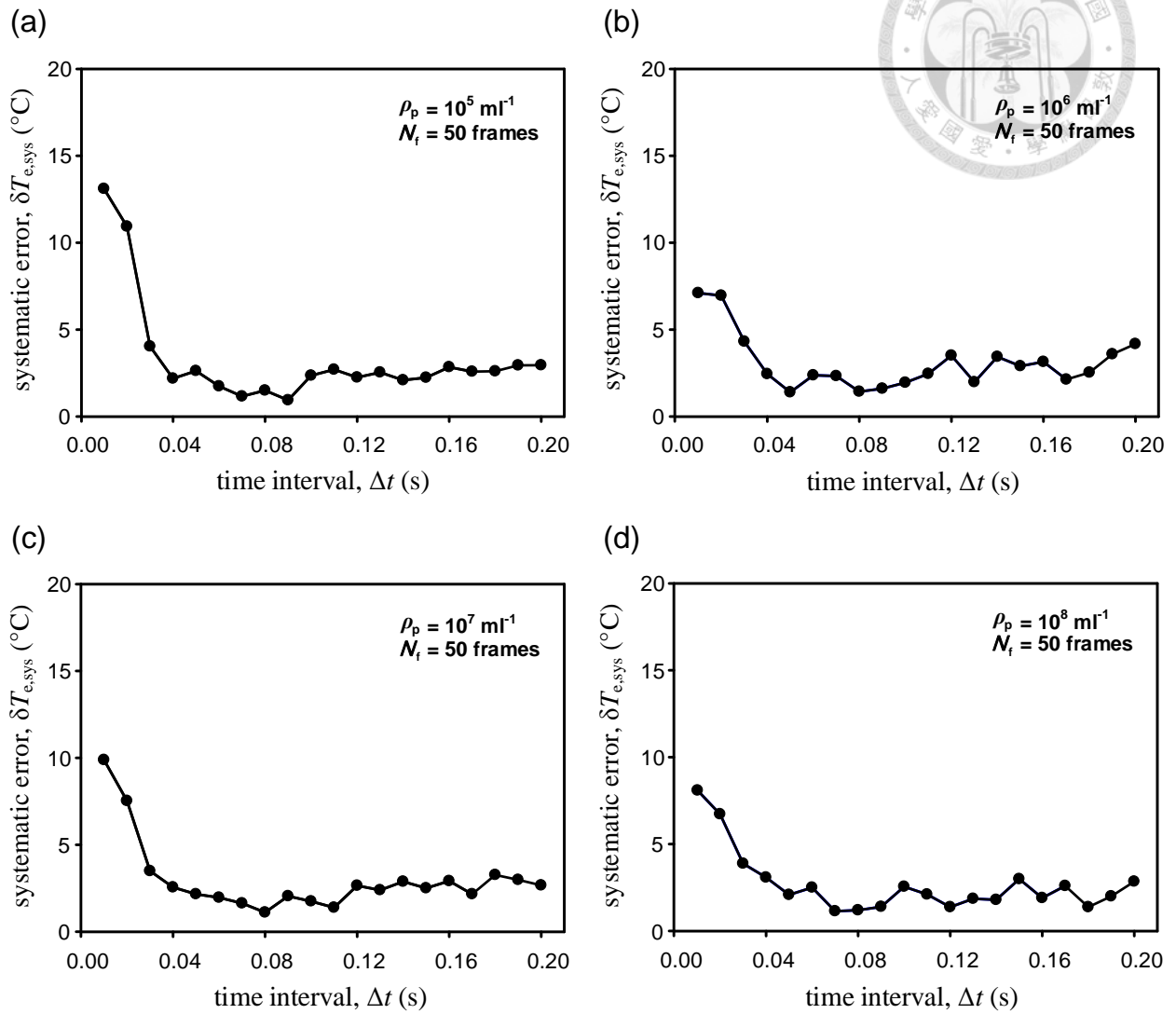


圖 3.60 不同粒子密度下，時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響

(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

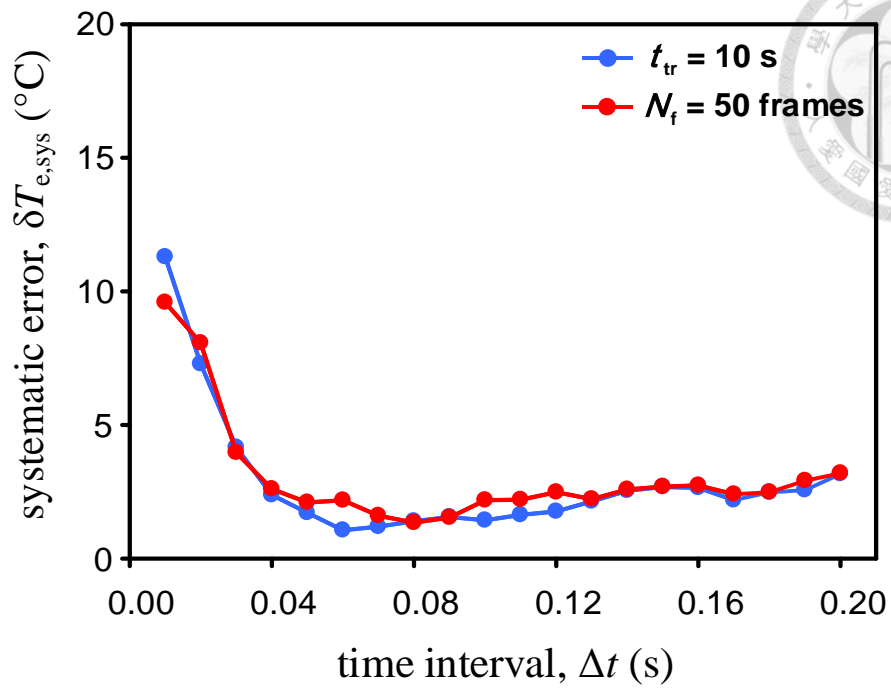


圖 3.61 時間間隔對於溫度估算系統誤差之影響
(所有流體溫度與粒子密度下之平均)

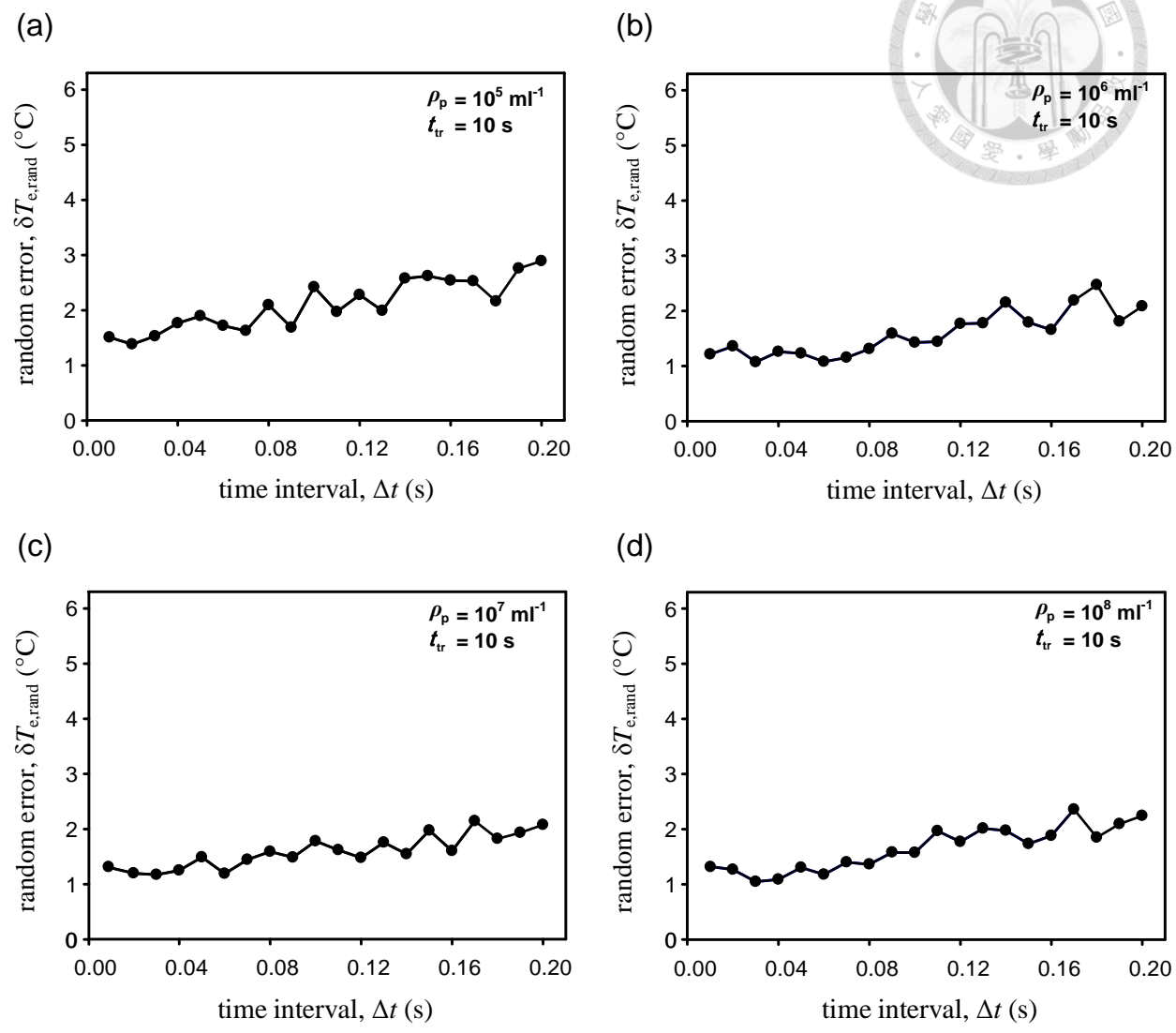
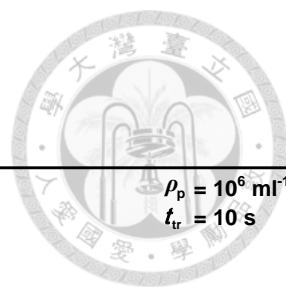


圖 3.62 不同粒子密度下，時間間隔對於隨機誤差之影響
(觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)

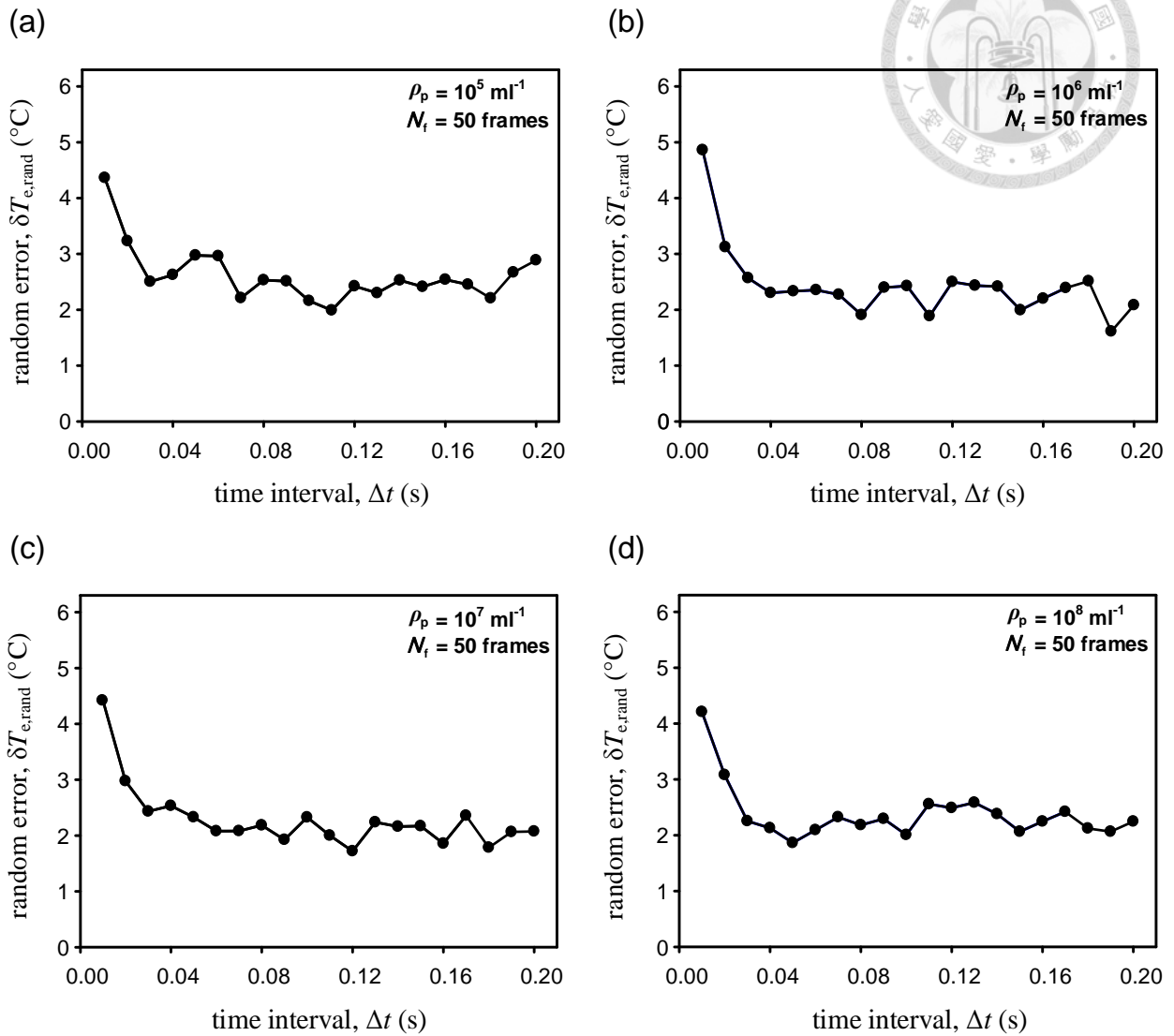


圖 3.63 不同粒子密度下，時間間隔對於隨機誤差之影響

(影像數量 $N_f = 50 \text{ frames}$)

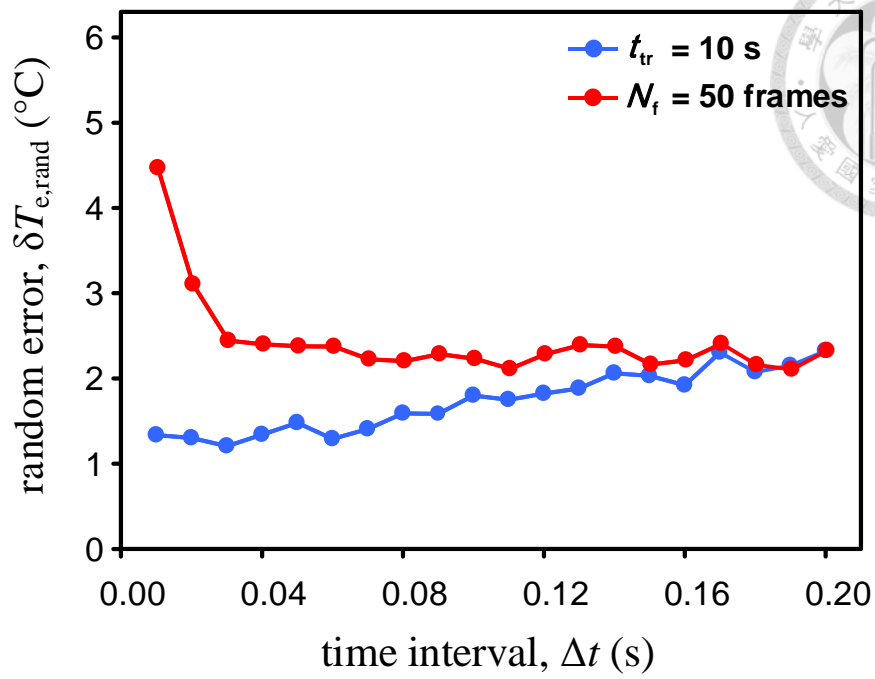


圖 3.64 時間間隔長度對於隨機誤差之影響
(所有流體溫度與粒子密度下之平均)

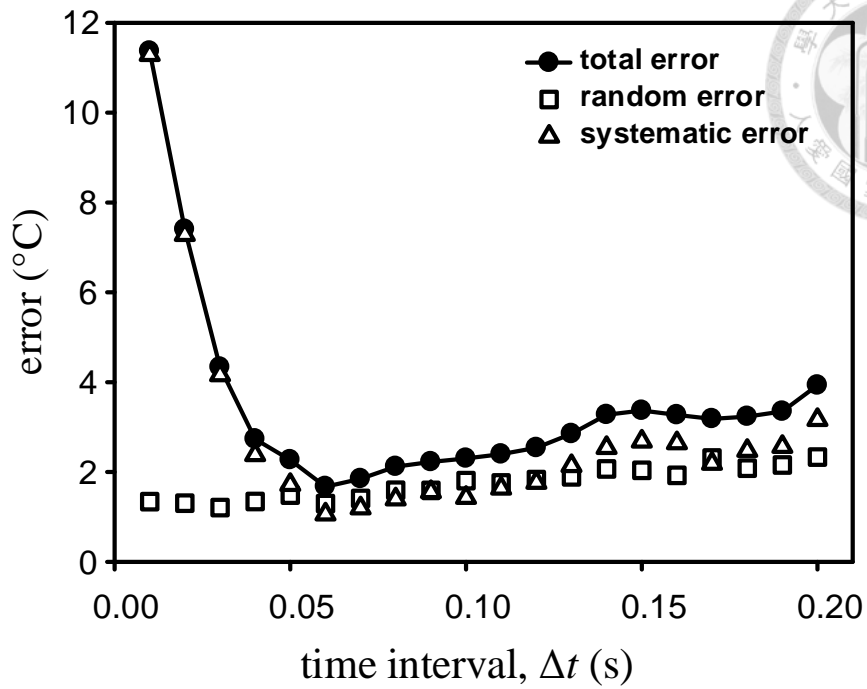


圖 3.65 時間間隔對溫度估算不確定性、隨機誤差與系統誤差之影響
 (觀察時間 $t_{tr} = 10$ s, 所有流體溫度與粒子密度下之平均)

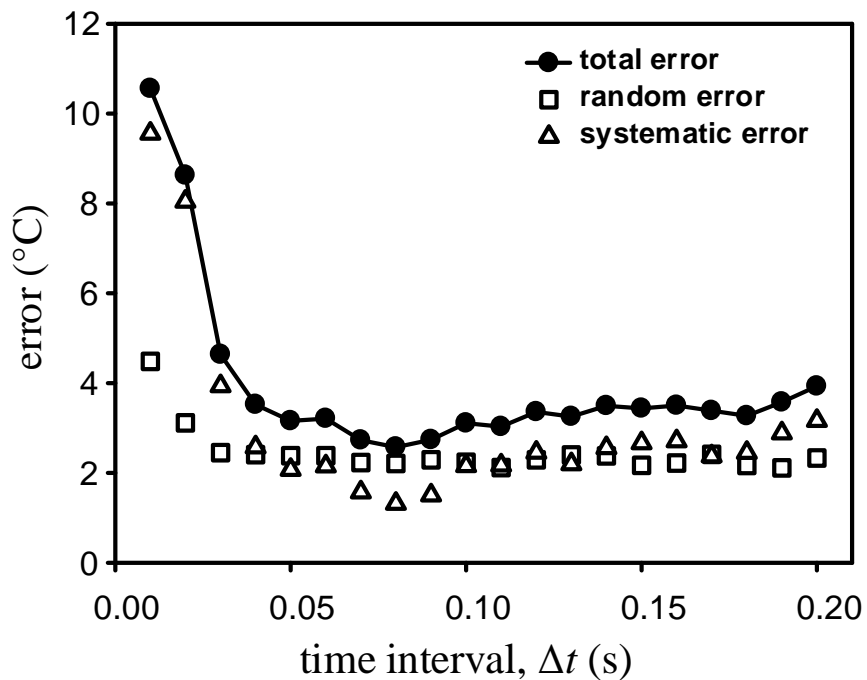


圖 3.66 時間間隔對溫度估算不確定性、隨機誤差與系統誤差之影響
 (影像數量 $N_f = 50$ frames, 所有流體溫度與粒子密度下之平均)

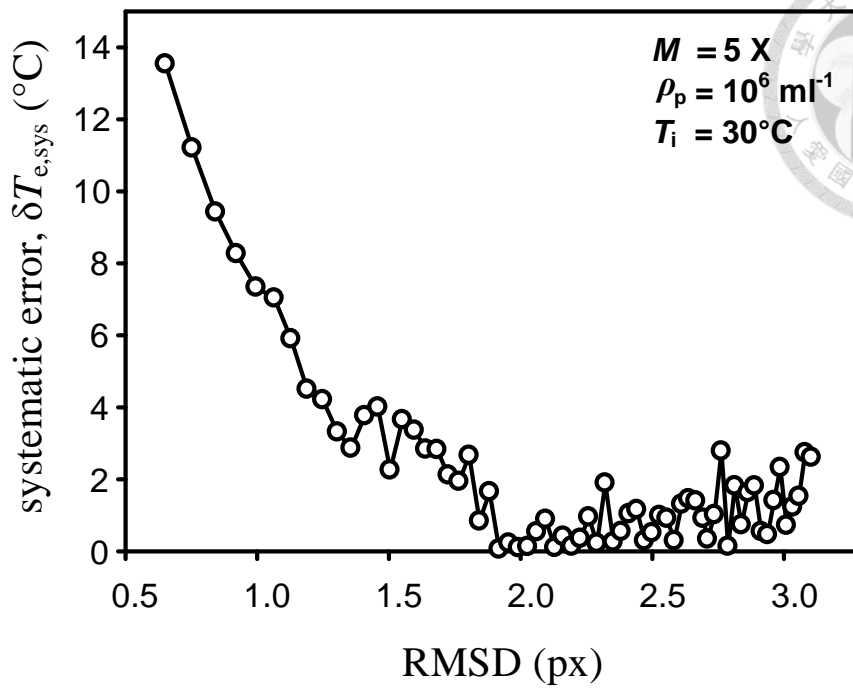


圖 3.67 使用 5 倍物鏡，RMSD 對溫度估算系統誤差之影響
(固定觀察時間 $t_{tr} = 30 \text{ s}$)

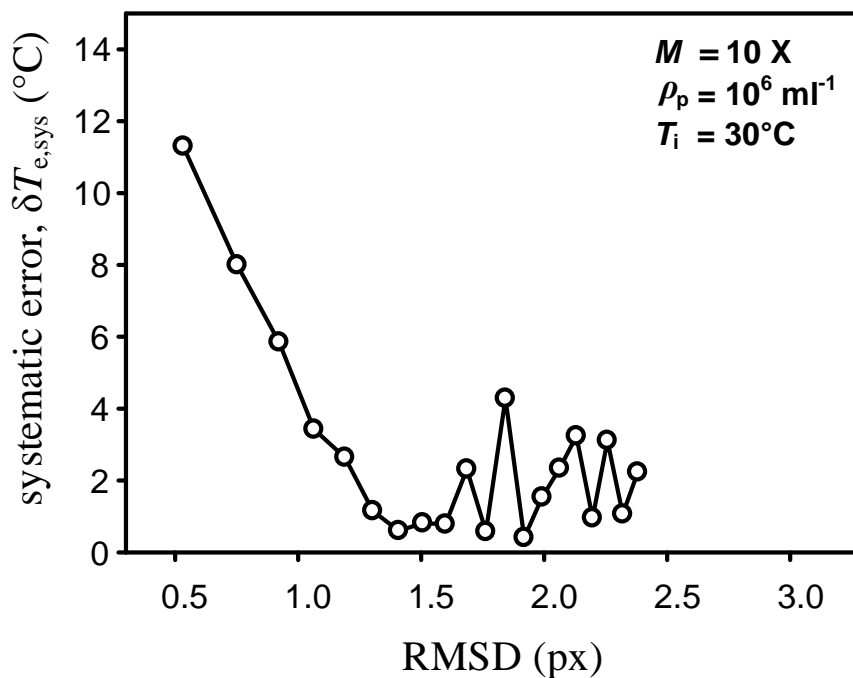


圖 3.68 使用 10 倍物鏡，RMSD 對溫度估算系統誤差之影響
(固定觀察時間 $t_{tr} = 10 \text{ s}$)