



國立臺灣大學電機資訊學院光電工程學研究所

碩士論文

Department or Graduate Institute of Photonics and Optoelectronics

College of Electrical Engineering and Computer Science

National Taiwan University

Master Thesis

OCT背向散射紋理應用於奈米顆粒尺寸分析

Estimation of Nanoparticle Size by OCT Backscattered

Pattern Analysis

黃安荷

An-Ho Huang

指導教授：黃升龍 博士

Advisor: Sheng-Lung Huang, Ph.D.

中華民國 111 年 8 月

August 2022



國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

OCT 背向散射紋理應用於奈米顆粒尺寸分析
Estimation of Nanoparticle Size by OCT
Backscattered Pattern Analysis

本論文係黃安荷君（學號 R08941063）在國立臺灣大學
光電工程學研究所完成之碩士學位論文，於民國 111 年 8 月
23 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：

（指導教授）

所 長

致謝

碩士生涯中我學到的知識、技術以及思考能力都讓我成長了許多。首先要感謝指導教授黃升龍老師，每次報告中給予的建議，往往都能將處於迷茫的我拉回問題的核心。除此之外，我也從多次的討論中學習到老師的思考邏輯以及表達能力，這些都將成為我能從實驗室中帶得走的養分。

另外，我也要感謝實驗室的學長們不吝於給予指教。感謝裕展、騰毅學長，在光路架構上教了我很多知識與技巧；感謝游鈐、庭璋、志傑、柏穎學長，教導我 FF-OCT 系統的相關知識以及影像擷取與處理技巧；感謝畢業多年的端書學長於研究上慷慨的協助；感謝千珍助理在 LabVIEW 程式的維持與修改上幫了許多忙；感謝雅婷助理在行政上大力協助；感謝學弟妹的陪伴與關心；感謝同屆的淑雯、柏彥、家沛的互相切磋指教與互相鼓勵。最後，感謝家人的支持，讓我能夠無憂無慮做研究，完成人生中一個里程碑。

中文摘要



米繞式(Mirau-based)全域式光學同調斷層掃描術(Full-field optical coherence tomography; FF-OCT) 具有非侵入性(Non-invasive)、高空間解析度以及掃描快速的優勢，被廣泛應用在生醫領域的成像。有別於以往利用 FF-OCT 的高解析影像分析待測樣品之結構與形貌，本研究探討以本米繞式 FF-OCT 系統是否能以量測得背向散射紋理，分析出小於系統空間解析度，直徑約為 100 nm 的奈米顆粒尺寸資訊。

在進行奈米顆粒量測之前，先以量測金屬標準粗糙度測試片，測試系統之絕對定位精準度(Localization accuracy)。金屬標準粗糙度測試片表面刻有 1.6、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 μm 的粗糙度，本系統量測最小的兩個粗糙度，0.1 μm 以及 0.05 μm ，得到的量測結果誤差分別為 1.4% 以及 20%。驗證基於光源特性、物鏡放大倍率以及取樣速率，本系統具有 50 nm 的絕對定位精準度。

本研究進一步量測 100 奈米顆粒溶液，並分析其背向散射紋理以獲得與顆粒尺寸相關的資訊。透過背向散射光強度分析，整理出兩個與尺寸相關之參數：相鄰奈米顆粒之間距，以及奈米顆粒粒徑分布。本研究製備兩種濃度的奈米顆粒溶液，粒子濃度分別為 1.6×10^{12} 以及 8.1×10^{11} particles/mL，並探討二者量測得兩個參數的結果。兩種濃度的平均相鄰奈米顆粒間距量測結果分別為 0.59 μm 以及 0.72 μm ，與以均勻分布模型估算之兩種濃度顆粒間距，0.85 μm 以及 1.07 μm 比較，誤差分別為 30.1% 以及 32.7%。由於本實驗取樣深度較靠近樣品載台底部，此誤差說明了奈米顆粒在三維空間中分布不完全均勻，較集中在靠近底部的深度位置。而本研究探討粒徑分布之參數為變異係數(Coefficient of variation; CV)。本研究量測得兩種濃度之 CV 分別為 15.24% 與 15.34%，此一致性歸因於樣品粒徑分布得均勻性。而樣品規格提供之 CV 為 8.6%，量測值相較於樣品規格來說 CV 值較大，說明散射光強度對於散射顆粒尺寸十分敏感。

關鍵字：光學同調斷層掃描、背向散射紋理、粗糙度量測、定位精準度、奈米顆粒粒徑分析

Abstract



Mirau-based full-field optical coherence tomography (FF-OCT) is widely utilized in biomedical 3D imaging, which is benefit from the characteristics of non-invasive scanning, sub-micron resolution and fast scanning speed. Aside from morphological analysis via 3D images, this research attends to exploring FF-OCT's ability of 100-nm nanoparticles detection, whose sizes are smaller than system's resolution, which is 0.9 μm .

Standard roughness test plate is measured first owing to system's absolute localization accuracy examination. The roughness plate consists of 6 grinding samples, which are 1.6, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, and 0.05 μm . This research conducts 0.1- and 0.05- μm roughness measurements and yields results with 1.4% and 20% error respectively. In conclusion, this FF-OCT has 50-nm absolute localization accuracy in consideration of its light source bandwidth, objective magnification and sampling rate.

100-nm nanoparticle in solution is measured afterward. Processed backscattered light intensity is analyzed to determine size-related parameters, which are adjacent particles separation and size distribution. Nanoparticle in solution is diluted with 2 concentrations, which are 1.6×10^{12} and 8.1×10^{11} particles/mL respectively. One parameter, which is adjacent particles separation, of these 2 concentrations are 0.59 μm and 0.72 μm . They have error of 30.1% and 32.7% respectively compared to values estimated with homogeneous distribution model. It can be explained due to the inhomogeneous distribution of nanoparticles in solution. The closer the sampling region is to the bottom, the more likely the nanoparticles are distributed. The other parameter is size distribution, which can be discussed quantitatively in terms of coefficient of variation. CV values of 2 concentrations are 15.24% and 15.34% respectively. This consistency is attributed to the uniformity of sample's size. Measured CV values are larger than CV from specification, which is 8.6%. This phenomenon describes that scattered light intensity is highly sensitive to scatters' sizes.

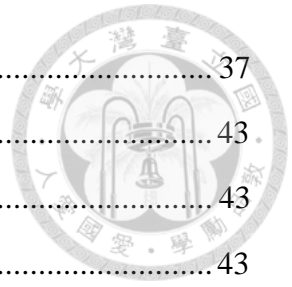
Keywords: optical coherence tomography, backscattered pattern, roughness measurement, localization accuracy, nanoparticles size analysis.

目錄



致謝.....	I
中文摘要.....	II
Abstract.....	III
目錄.....	IV
圖目錄.....	VI
表目錄.....	IX
第一章、緒論.....	1
第二章、Mirau-based 全域式光學同調斷層掃描系統及其特性.....	3
2.1 光學同調斷層掃描理論推導.....	3
2.2 摻鉍釷鋁石榴石晶體光纖寬頻光源.....	10
2.3 Mirau-based Full-Field OCT 系統架構.....	11
2.4 系統解析度理論推導與量測結果.....	15
第三章、金屬粗糙度測試板之背向散射紋理分析.....	19
3.1 實驗目的.....	19
3.2 實驗流程.....	19
3.2.1 實驗流程概述.....	19
3.2.2 樣品與玻片間隙介質填充.....	21
3.3 背向散射訊號處理步驟.....	24
3.3.1 移動平均.....	25
3.3.2 去除背景散射光趨勢—多項式擬合法.....	26
3.3.3 希爾伯轉換.....	26
3.3.4 低通濾波器.....	29
3.3.5 金屬粗糙測試版之同調閾深度—A-scan 最大值的深度.....	30
3.4 粗糙度量測結果—系統定位精準度.....	31
第四章、奈米顆粒樣本.....	34
4.1 奈米顆粒樣本.....	34

4.2	奈米顆粒之光散射特性.....	37
第五章、奈米顆粒之背向散射紋理分析.....		43
5.1	奈米顆粒之背向散射訊號處理及初步分析.....	43
5.1.1	背向散射訊號處理.....	43
5.1.2	散射光強度局部極小值—閾值界定.....	45
5.2	顆粒尺寸分布參數計算及其結果分析.....	47
5.3	顆粒間距計算及其結果分析.....	52
第六章、研究結論與未來展望.....		55
6.1	研究結論.....	55
6.2	未來展望.....	56
參考文獻.....		57
附錄一 近紅外光拉曼系統.....		59



圖目錄



圖 2.1 邁克森干涉儀架構.....	3
圖 2.2 為寬頻光源的干涉儀架構.....	6
圖 2.3 縱向上一反射面的干涉訊號示意圖.....	8
圖 2.4 相干函數與光源頻譜之傅立葉轉換對關係圖[9].....	9
圖 2.5 $Ce^{3+}:YAG$ 晶體的吸收頻譜圖[11].....	10
圖 2.6 $Ce^{3+}:YAG$ 體光纖的輸出光頻譜圖[12].....	11
圖 2.7 Mirau 物鏡示意圖.....	12
圖 2.8 自製 Mirau 物鏡示意圖.....	13
圖 2.9 為 Mirau-based FF-OCT 系統示意圖.....	14
圖 2.10 光偏振示意圖[12].....	14
圖 2.11 兩點 PSF 重疊情形的示意圖[13].....	15
圖 2.12 GP3 與空氣界面之干涉訊號量測值.....	16
圖 2.13 圓孔繞射示意圖[15].....	17
圖 2.14 左圖為解析度測試片，右圖為刻紋亮暗邊界之歸一化訊號強度.....	18
圖 3.1 圖左為金屬粗糙測試板放置於 Mirau 物鏡示意圖。圖右為 FF-OCT 系統架構圖.....	20
圖 3.2 (a)為原始背向散射訊號；(b)為扣除背景趨勢光的背向散射訊號；(c)為振幅調變並通過低通濾波器後的背向散射訊號，黃色實線為波包訊號、紫色實線為通過低通濾波器之波包訊號.....	21
圖 3.3 左圖為 PZT 尚未移動之 Mirau 物鏡。右圖為當 PZT 向上移動了 d ，到達粗糙板表面.....	22
圖 3.4 d 為粗糙版與 GP3 的間隙； $d_{confocal}$ 為粗糙版界面之共焦閘，即物鏡聚焦位置； $d_{coherent}$ 為粗糙版界面之同調閘，即界面干涉訊號 PSF 發生位置.....	22



圖 3.5 同調閘與實際深度位置示意圖.....	24
圖 3.6 共焦閘與同調閘關係圖.....	24
圖 3.7 為背向散射訊號處理流程圖.....	25
圖 3.8 三維影像移動平均示意圖.....	26
圖 3.9 左圖為原始背向散射訊號，右圖為扣除背景趨勢後的向散射訊號.....	26
圖 3.10 藍線為去背景之一維背向散射訊號；橘線為振幅調變後的 A-scan.....	29
圖 3.11 A-scan 訊號及其頻譜.....	30
圖 3.12 左右兩圖為兩像素點之背向散射訊號載波及其波包.....	31
圖 3.13 SNR 計算示意圖。藍線為干涉訊號；橘線為波包訊號.....	32
圖 3.14 空間中縱向解析度的數值模擬.....	33
圖 3.15 上圖為縱向解析度的空間分布；下圖為其空間頻域分布.....	33
圖 4.1 為二氧化矽奈米顆粒水溶液之穿透式電子顯微鏡影像 [19].....	35
圖 4.2 將一邊長為 L 的大方塊均分成 n 個邊長為 l 的小方塊.....	35
圖 4.3 為稀釋之奈米顆粒溶液製備流程圖.....	37
圖 4.4 波長為 λ 、強度為 I_0 的光入射進半徑為 a 的顆粒。光會發生吸收、反射、折 射，及繞射等現象[20].....	38
圖 4.5 為散射幾何圖形[23].....	39
圖 4.6 比較不同介質顆粒大小散射光方向的差異[25].....	42
圖 5.1 為奈米顆粒之背向散射訊號處理流程圖.....	44
圖 5.2 為 XY 平均前後奈米顆粒背向散射光強度比較圖。(a)平均前，(b)平均後背 向散射光強度圖.....	45
圖 5.3 奈米顆粒之背向散射光強度沿著縱向位置的變化.....	45
圖 5.4 奈米顆粒之背向散射光強度變化圖.....	47
圖 5.5 為奈米顆粒之顆粒尺寸參數計算示意圖.....	48
圖 5.6 左圖為奈米顆粒背向散射光強度圖；右圖為散射光強度變化量的分布圖.....	49

圖 5.7 五組原始濃度五分之一倍之稀釋溶液散射光強度圖	49
圖 5.8 五組原始濃度十分之一倍之稀釋溶液散射光強度圖	50
圖 5.9 五組原始濃度五分之一倍之稀釋溶液散射光強度變化量統計圖	50
圖 5.10 五組原始濃度十分之一倍之稀釋溶液散射光強度變化量統計圖	51
圖 5.11 為奈米顆粒之顆粒間距示意圖	53



表目錄

表 3.1 為粗糙度 $0.1 \mu\text{m}$ 之粗糙測試板粗糙度量測結果與其訊噪比	31
表 3.2 粗糙度 $0.05 \mu\text{m}$ 之粗糙測試板粗糙度量測結果與其訊噪比	32
表 4.1 二氧化矽奈米顆粒規格[18].....	34
表 5.1 為兩種濃度各五組散射光強度變化量分布之變異係數及其平均值，與規格提供之粒徑分布的變異係數。	51
表 5.2 為平均面積與兩種濃度之稀釋溶液平均谷值間距的關係	53
表 5.3 與兩種濃度之稀釋溶液平均谷值間距與該濃度估算之奈米顆粒間距比較	53




第一章、緒論

生物體內有許多比細胞還小的生物奈米粒子(biological nanoparticles)，像是病毒(viruses)、藥物(drugs)、或生物標記(biomarker)，如外泌體(exosomes)等[1]，這些生物奈米粒子的尺寸大約在幾奈米到幾百奈米左右[2]。考量到尺寸以及介電特性，生物奈米粒子的量測會相對於相同尺寸之奈米顆粒還要困難。一般多使用螢光染色的方法量測，但染色標定的量測方法可能導致生物樣本被破壞。若能透過毋須標定(Label-free)之量測方法偵測出生物奈米粒子，對於奈米等級之生物樣本的研究將能有所進展，像是感染疾病的病毒量診斷(viral load for diagnostics of infectious disease) [3]、藥物追蹤[4]，或是生物標記外泌體的偵測[5]等。

OCT 具有毋須標定、非侵入性(non-invasive)，以及高空間解析度的特性。基於上述優勢，OCT 被廣泛應用於生醫領域的成像，其影像多用於細胞等級之生物體形貌及結構分析。OCT 基本光學原理為白光干涉術(white light interferometry)[6]，可粗分為時域式(time domain)以及頻域式(frequency domain)。本實驗系統為米繞式 FF-OCT，為時域式 OCT 的一種。FF-OCT 以二維光偵測器(CCD sensor)接收干涉訊號，具有掃描快速的優勢。而米繞式干涉儀的特殊之處在於，形成干涉的參考端與樣本端共用同一顆物鏡，相較於邁克爾森式干涉儀在樣本端與參考端各需要一顆物鏡，大幅降低了校準上的困難度[7]。

本研究將探討除了呈現高解析的三維影像之外，把米繞式 FF-OCT 的應用推廣至定位生物體中奈米等級之目標物的可行性。此種利用干涉技術做尺寸分析或定位分析的關鍵在於訊噪比[8]，以及系統之空間解析度。訊噪比越高能夠定位的尺寸越小；空間解析度越高，能夠保留越多空間頻域(Spatial frequency domain)中的高頻資訊。本實驗系統之光源為摻鈣鋁石榴石寬頻光源，中心波長為 560 nm、頻寬為 99 nm，搭配數值孔徑(Numerical aperture; NA)為 0.5 的物鏡，提供了 1 μm



左右之系統縱向解析度。搭配校準後線性位移的壓電製動器以及高速相機，本研究可藉由調整壓電製動器縱向位移速度，控制單位深度相機拍攝影像張數，達到提高訊噪比的目的。良好的縱向解析度以及訊噪比，使得本系統理論上能夠擁有偵測小於空間解析度的奈米等級特徵的能力。

上述的定性分析，肯定了本實驗系統對於偵測奈米等級特徵的可行性。因此，本研究的主旨在於定量測試本實驗系統的定位能力。本研究以直徑 100 nm 的奈米顆粒尺寸分析為目標，先以量測標準粗糙度之金屬粗糙度測試板，測試本系統之絕對定位精準度，再分析奈米顆粒水溶液之背向散射紋理，並探討量測得奈米顆粒尺寸參數。

第二章、Mirau-based 全域式光學同調斷層掃描系統及其特性



本章將依序敘述：光學同調斷層掃描原理、系統所使用的光源特性、Mirau-based FF-OCT 系統架構、以及系統的橫縱向解析度理論推導與量測。

2.1 光學同調斷層掃描理論推導

OCT 為低同調干涉技術。本小節將以高同調光源的邁克森干涉儀，進行理論推導，再進一步推導低同調光源的干涉儀，並說明全域式光學同調斷層掃描系統。圖 2.1 為邁克森干涉儀架構。單頻的雷射光源入射 50/50 分光鏡，分別進入參考端及樣本端。參考端及養本端的反射光，會再 50/50 分光鏡再度重合，並到達光偵測器。

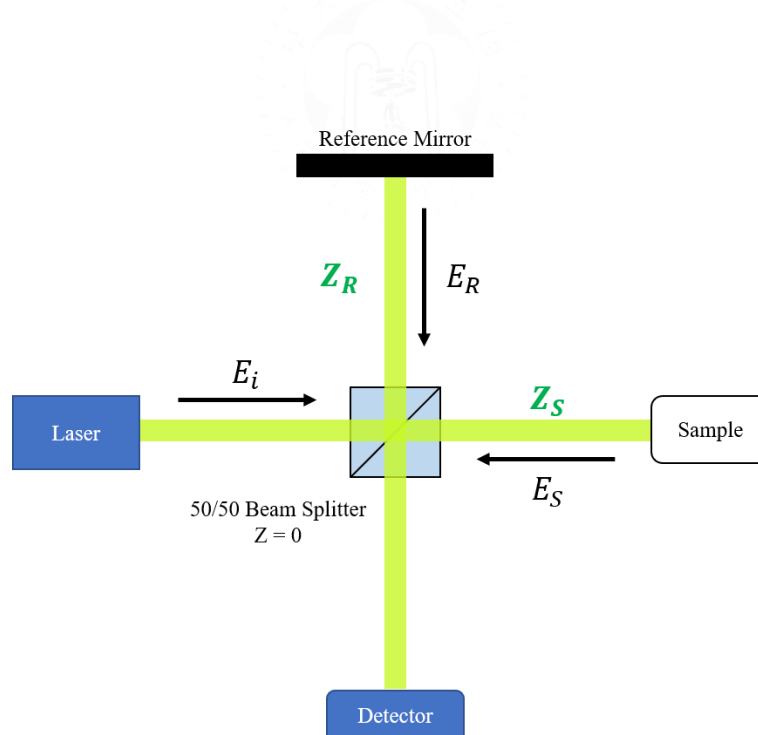


圖 2.1 邁克森干涉儀架構。 E_i 為入射光電場、 E_R 為參考端的反射電場、 E_S 為樣本端的反射電場、 Z_R 為 50/50 分光鏡至參考端的距離， Z_S 為 50/50 分光鏡至樣本端的距離。

$$E_i = E_0 e^{i(k_0 Z - \omega t)} \quad (2.1)$$

Eq. (2.1) 中， E_0 為單頻光源的電場振幅， k_0 為單頻光源的波數、 Z 為光路中的位置、 ω_0 為單頻光源的角頻率， t 為時間。將入射光以電場形式 E_i 表示。入射光進入 50/50 分光鏡，分成兩道強度相同的光，其電場強度為入射光的 $\frac{1}{\sqrt{2}}$ 倍，一道打到參考端、另一道打到樣本端。由參考端反射回來的光以 E_R 表示，樣本端以 E_S 表示。數學形式如下：

$$E_R = \frac{E_i}{\sqrt{2}} r_R e^{i(2k_0 Z_R)} \quad (2.2)$$

$$E_S = \frac{E_i}{\sqrt{2}} r_S e^{i(2k_0 Z_S)} \quad (2.3)$$

其中 r_R 為參考端的反射係數， r_S 為樣本端的反射係數。兩道光在 50/50 分光鏡的位置再次重合，並由光偵測器接收。由於再次經過分光鏡，兩道光電場強度會是原本的 $\frac{1}{\sqrt{2}}$ 倍。光偵測器接收的光強度如 Eq. (2.4) 所示：

$$I_D = \rho \left\langle \left| \frac{E_R}{\sqrt{2}} + \frac{E_S}{\sqrt{2}} \right|^2 \right\rangle = \frac{\rho}{2} \langle |E_R + E_S|^2 \rangle \quad (2.4)$$

Eq. (2.4) 中的 ρ 為光偵測器的光電轉換效率。將 Eq. (2.2) 及 Eq. (2.3) 代入可的 Eq. (2.5)：

$$I_D = \frac{\rho}{2} \left\langle \left| \frac{E_i}{\sqrt{2}} r_R e^{i(2k_0 Z_R)} + \frac{E_i}{\sqrt{2}} r_S e^{i(2k_0 Z_S)} \right|^2 \right\rangle \quad (2.5)$$

由歐拉公式(Euler's formula)，將 Eq. (2.5) 展開可得 Eq. (2.6)：

$$I_D = \frac{\rho}{4} \langle E_i^2 \rangle \langle |[r_R \cos(2k_0 Z_R) + r_S \cos(2k_0 Z_S)] + i[r_R \sin(2k_0 Z_R) + r_S \sin(2k_0 Z_S)]|^2 \rangle \quad (2.6)$$



在將 Eq. (2.6)整理後可得 Eq. (2.7)：

$$\frac{\rho}{4} \langle E_i^2 \rangle [r_R^2 + r_S^2 + 2r_R r_S \cos 2k_0(Z_R - Z_S)] \quad (2.7)$$

將 Eq. (2.7)係數，整理成與兩臂長度無關的直流項 i_{DC} ，及與兩臂長度相關的交流項 i_{AC} ，Eq. (2.8)：

$$I_D = \{i_{DC} + i_{AC} \cos[2k_0(Z_R - Z_S)]\} \quad (2.8)$$

觀察 Eq. (2.8)，可將偵測到的光電流視為一承載在直流偏壓的餘弦波。比較 Eq. (2.7)及 Eq. (2.8)發現，直流偏壓的振幅大小 i_{DC} ，由 $(r_R^2 + r_S^2)$ 決定；而交流項的振幅 i_{AC} ，則與 $(r_R r_S)$ 有關。由於入射光為單頻光， k_0 為定值，交流項的相位(Phase)僅由參考端與樣本端的光程差 $(Z_R - Z_S)$ 決定。

回顧圖 2.1，藉由改變參考端的光程，即可對樣本進行縱向掃描。上述推導假設光源為單頻光，將單頻雷射光譜視為一狄拉克 δ 函數(Dirac delta function)，當參考端與樣本端的光程差，為一半波長的整數倍時，干涉訊號會產生最大值，意即縱向上的同調長度無限長。當進行樣本縱向掃描時，一半波長整數倍的深度訊號，將會影響真實樣本深度的干涉訊號。即便現實中雷射光仍存在線寬(Line width)，干涉訊號最大值還是會出現在光程差為 0 的深度位置，但縱向上重複出現的干涉訊號，會對其他像素點(Pixel)造成串擾(Crosstalk)。

入射光若為寬頻光源，其具有更好的縱向解析度，更佳的光學切片(Optical sectioning)能力。OCT 使用低同調的寬頻光源，當光源頻寬越寬，同調長度越短，系統將具有更好縱向解析度。以下推導以寬頻光當作光源的干涉系統，並假設樣本由數個縱向上不連續的反射面組成，示意圖如圖 2.2 所示。

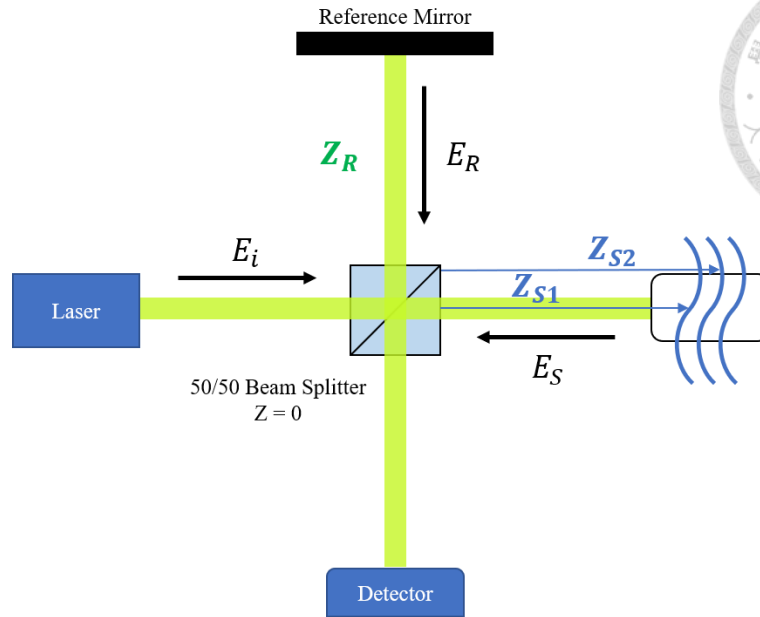


圖 2.2 為寬頻光源的干涉儀架構，樣本為縱向上多個不連續的反射面。 Z_{S1} 為 50/50 分光鏡至樣本端的第一層反射面的距離， Z_{S2} 為 50/50 分光鏡至樣本端的第二層反射面的距離。其餘參數，同圖 2.1。

入射光電場如 Eq. (2.9) 所示：

$$E_i = s(k, \omega) e^{i(kz - \omega t)} \quad (2.9)$$

Eq. (2.9) 中 $s(k, \omega)$ 為入射光電場振幅，其為一光波長 λ 的函數。 k 為波數， $(k = \frac{\lambda}{2\pi})$ ， ω 為角頻率。參考端與樣本端的電場如 Eq. (2.10) 及 Eq. (2.11) 所示：

$$E_R = \frac{E_i}{\sqrt{2}} r_R e^{i(2kZ_R)} \quad (2.10)$$

$$E_S = \frac{E_i}{\sqrt{2}} \sum_{n=1}^N r_{Sn} e^{i(2kZ_{Sn})} \quad (2.11)$$

假設樣本端由 N 個不連續的反射面組成，第 n 層的反射率為 r_{Sn} 、與分光鏡的距離為 Z_{Sn} 。

同單頻光源的推導，參考端與樣本端的反射光在分光鏡重合，並由光偵測器接收。偵測器接收到的光電流如 Eq. (2.4)，將 Eq. (2.10) 及 Eq. (2.11) 代入，此時光電



流如 Eq. (2.12)所示：

$$I_D(k, \omega) = \frac{\rho}{2} \left\langle \left| \frac{s(k, \omega)}{\sqrt{2}} r_R e^{i(2k_0 Z_R - \omega t)} + \frac{s(k, \omega)}{\sqrt{2}} \sum_{n=1}^N r_{Sn} e^{i(2k Z_{Sn} - \omega t)} \right|^2 \right\rangle \quad (2.12)$$

由於光偵測器的積分時間，遠大於光電場變化的週期，故 Eq. (2.12)中有關時間 t 的項可忽略。並由歐拉公式，將 Eq. (2.12)展開可得 Eq. (2.13)：

$$I_D = \frac{\rho}{4} \left\langle \left| \begin{array}{l} [s(k) r_R \cos(2k Z_R) + \sum_{n=1}^N r_{Sn} \cos(2k Z_{Sn})] + \\ i[r_R \sin(2k Z_R) + \sum_{n=1}^N r_{Sn} \sin(2k Z_{Sn})] \end{array} \right|^2 \right\rangle \quad (2.13)$$

將平方展開並整理係數，Eq. (2.14)：

$$I_D = \frac{\rho}{4} \left\{ \begin{array}{l} S(k)(R_R + R_{S1} + R_{S2} + \cdots + R_{SN}) \\ + S(k) \sum_{n=1}^N \sqrt{R_R R_{Sn}} [\cos 2k(Z_R - Z_{Sn})] \\ + S(k) \sum_{m=1}^N \sum_{n=1, n \neq m}^N \sqrt{R_{Sm} R_{Sn}} [\cos 2k(Z_{Sm} - Z_{Sn})] \end{array} \right\} \quad (2.14)$$

Eq. (2.14)中， $S(k)$ 定義如 Eq. (2.15)，代表光源頻譜； $R_R \equiv |r_R|^2$ ； $R_{Sn} \equiv |r_{Sn}|^2$ 。

$$S(k) = \langle |s(k, \omega)|^2 \rangle \quad (2.15)$$

觀察 Eq. (2.14)，偵測出的光電流直流項為 $S(k)(R_R + R_{S1} + R_{S2} + \cdots + R_{SN})$ ； $S(k) \sum_{n=1}^N \sqrt{R_R R_{Sn}} [\cos 2k(Z_R - Z_{Sn})]$ 為樣本背向散射光與參考端的干涉項； $S(k) \sum_{m=1}^N \sum_{n=1, n \neq m}^N \sqrt{R_{Sm} R_{Sn}} [\cos 2k(Z_{Sm} - Z_{Sn})]$ 則為樣本端各反射面的自相干涉項。由於樣本端的反射係數很小，約等於 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ [9]，故 Eq. (2.14)中的最後一項可忽略不計。簡化後的光電流強度為 Eq. (2.16)：

$$I_D = \frac{\rho}{4} \left\{ \begin{array}{l} S(k)(R_R + R_{S1} + R_{S2} + \cdots + R_{SN}) \\ + S(k) \sum_{n=1}^N \sqrt{R_R R_{Sn}} [\cos 2k(Z_R - Z_{Sn})] \end{array} \right\} \quad (2.16)$$

假設樣品僅有一個反射面，Eq. (2.16)中的 $R_{S1} = R_S$ ，光電流則改寫承 Eq. (2.17)：

$$I_D = \frac{\rho}{4} S(k) \{ R_R + R_S + \sqrt{R_R R_S} [\cos 2k(Z_R - Z_S)] \} \quad (2.17)$$

若入射光頻譜為高斯分布(Gaussian distribution)， $S(k)$ 可由 Eq. (2.18)表示。 k_0 為光源頻譜的中心波數， Δk 為光源頻譜的半高全寬(Full Width Half Maximum, FWHM)：

$$S(k) = \frac{1}{\Delta k \sqrt{\pi}} e^{-\left[\frac{k-k_0}{\Delta k}\right]^2} \quad (2.18)$$

若 ρ 、 R_R 、 R_S 皆不因 k 改變而變化，則偵測的光電流可以視為光源頻譜上連續相異 k 不同振幅的餘弦波加總而得。Eq. (2.17)將寫成 Eq. (2.19)的形式，其中 S_0 如 Eq. (2.20)所示：

$$I_D = \frac{\rho}{4} S_0 \left\{ (R_R + R_S) + \sqrt{R_R R_S} e^{-(Z_R - Z_S)^2 \Delta k^2} [\cos 2k(Z_R - Z_S)] \right\} \quad (2.19)$$

$$S_0 = \int_0^\infty S(k) dk \quad (2.20)$$

觀察 Eq. (2.18)，發現寬頻光的干涉訊號為一餘弦波承載在一直流偏壓上。相位由參考端與樣本端的光程差決定 $k(Z_R - Z_S)$ ，當兩臂的光程差為0時，可得干涉訊號的峰值，如圖 2.3 所示。

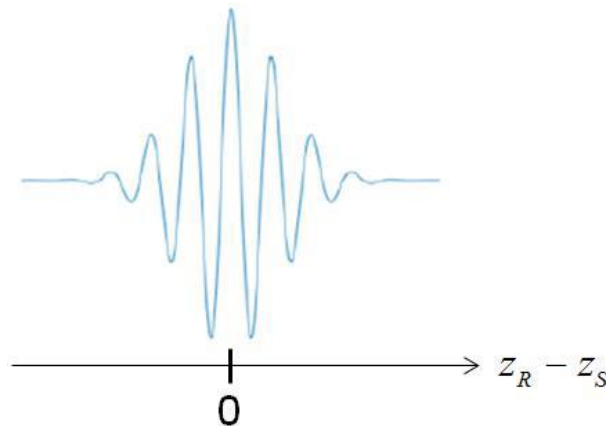


圖 2.3 縱向上一反射面的干涉訊號示意圖

當兩臂光程差($Z_R - Z_S$)越小，干涉訊號越強，可視為兩臂的光越同調。以下將量化兩臂反射光的同調程度。空間上光的同調度(Degree of coherence) $\Gamma(z)$ ，和相干函數



$\gamma(z)$ 的關係如 Eq. (2.21)，其中 α 為虛擬變數(Dummy variable)：

$$\Gamma(z) = \frac{\int_{-\infty}^{\infty} E(\alpha)^* E(\alpha+z) d\alpha}{\int_{-\infty}^{\infty} |E(\alpha)|^2 d\alpha} = \frac{Y(z)}{\int_{-\infty}^{\infty} |E(\alpha)|^2 d\alpha} \quad (2.21)$$

Eq. (2.21)中，定義參考端與樣本端距離差異為 z ，並假設 r_R 與 r_S 相等。並由此式可看出，相干函數與兩臂距離的關係，如 Eq. (2.22)：

$$Y(z) = \int_{-\infty}^{\infty} E(\alpha)^* E(\alpha+z) d\alpha \quad (2.22)$$

根據 Wiener-Khinchin theorem[10]可知，相干函數 $Y(z)$ 與光源頻譜 $S(k)$ ，為傅立葉轉換對(Transform pair)的關係，如 Eq. (2.23)及圖 2.4 所示：

$$Y(z) = FT_K[S(k)](z) = e^{-z^2 \Delta k^2} \quad (2.23)$$

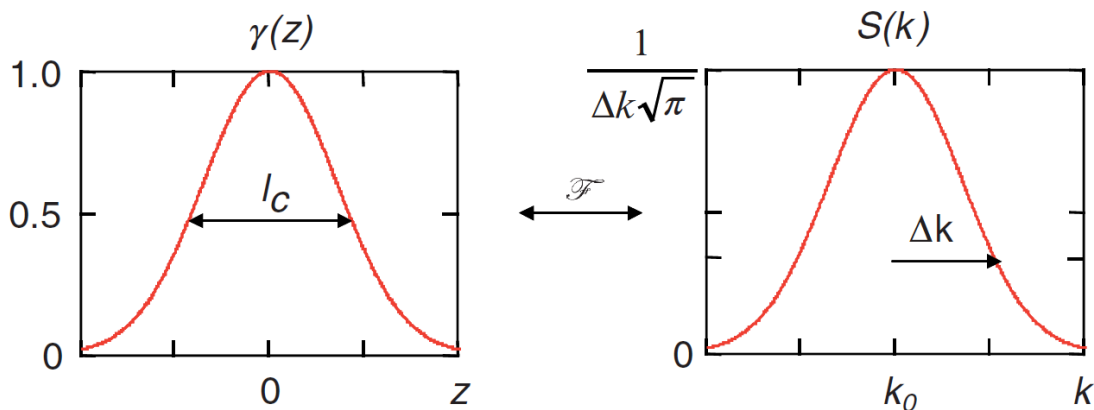


圖 2.4 相干函數與光源頻譜之傅立葉轉換對關係圖[9]

而相干函數同時為 OCT 系統縱向上的點擴散函數(Point spread function, PSF)。定義相干函數的半高全寬，即為 OCT 系統的縱向解析度，同時也是此干涉系統的同調長度 l_c ，數學式如 Eq. (2.24)，其中 λ_0 為光源中心波長、 $\Delta\lambda$ 為光源頻寬：

$$Y(z) = e^{-z^2 \Delta k^2} = \frac{1}{2}$$



$$l_c = 2z = \frac{2\sqrt{\ln 2}}{\Delta k} = \frac{2\sqrt{\ln 2} \lambda_0^2}{\pi \Delta \lambda} \quad (2.24)$$

以上為時域式光學同調斷層掃描(TD-OCT)的理論推導。本研究使用全域式光學同調斷層掃描(FF-OCT)系統。不同之處在於，FF-OCT 在參考端及樣本端放置顯微物鏡，並搭配相機與成像透鏡。如此一來參考端與樣本端分別形成兩個成像系統，並藉由相機擷取二維干涉影像。此作法優先擷取橫向上的干涉影像，並透過電壓控制壓電致動器，使壓電制動器上的顯微物鏡隨著深度線性移動，便可進行縱向掃描，得到三維影像。

2.2 摻鈰釷鋁石榴石晶體光纖寬頻光源

本系統所使用的光源為，摻鈰釷鋁石榴石之單纖衣晶體光纖 (Single-clad crystal fiber; SCF)。選用單纖衣晶體光纖的原因，主要是因為其可產生較高的自發性輻射(Spontaneous emission, SE)功率。其對應的吸收頻譜，如圖 2.5 示[11]。

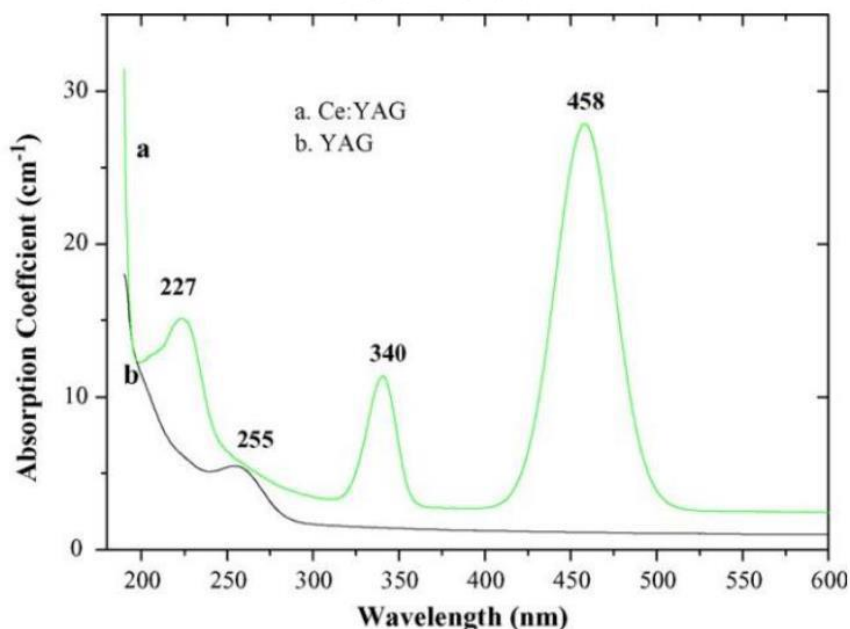


圖 2.5 $Ce^{3+}:YAG$ 晶體的吸收頻譜圖[11]

由文獻與圖 2.5 可得知，摻鈰鈮鋁石榴石($Ce^{3+}:YAG$)的吸收峰值約發生在 458 nm。因此在 Mirau-based FF-OCT 系統中，利用波長 445 nm 的藍光雷射二極體當作激發光源， $Ce^{3+}:YAG$ 晶體光纖經過激發後，產生自發性輻射。輸出光為中心波長 560 nm、半高全寬為 99 nm 之寬頻光源，如圖 2.6 所示。

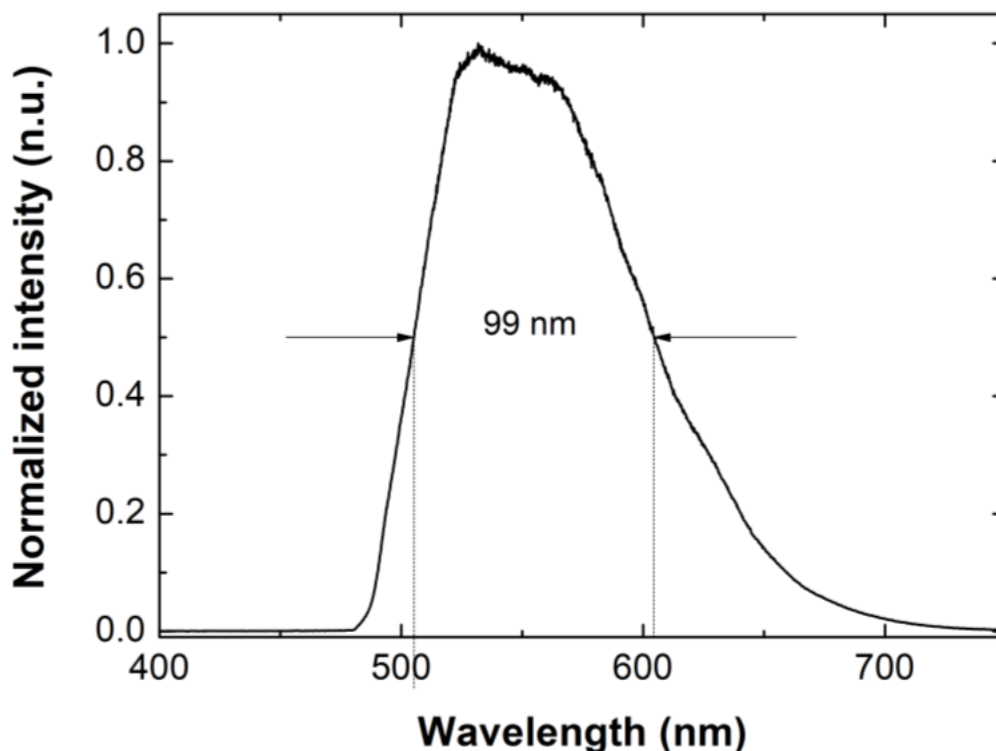


圖 2.6 $Ce^{3+}:YAG$ 晶體光纖的輸出光頻譜圖[12]

2.3 Mirau-based Full-Field OCT 系統架構

本研究使用之系統為 Mirau 全域式光學同調斷層掃描系統。本小節將依序敘述 Mirau 組件特性、整體 Mirau-based FF-OCT 架構。

Mirau 干涉儀的特點在於，Mirau 組件將干涉儀中的參考端、分光鏡以及樣本端，三者同軸整合。當環境有擾動時，三者會一起移動，因此可有效降低擾動造成的影響。將 Mirau 組件固定於顯微物鏡上，我們又稱作 Mirau 物鏡，如圖 2.7 所

示。

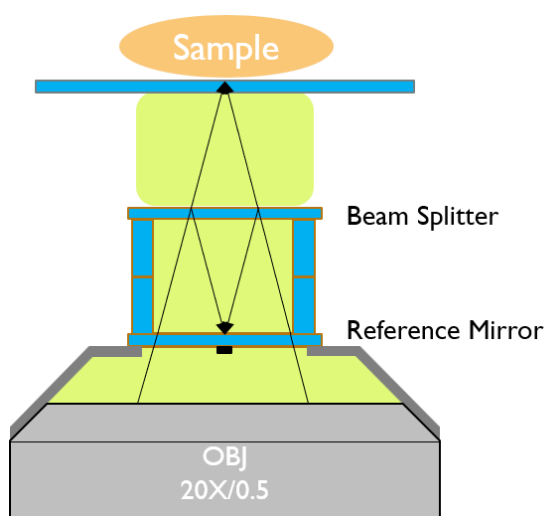


圖 2.7 Mirau 物鏡示意圖。綠色色塊為矽油，藍色方塊為 Fused silica。

Mirau 組件的另一特點為，入射光經過顯微物鏡後才分出參考光與樣本光。意即兩臂共用同一物鏡，如此一來能夠有效避免兩臂光成移動上的誤差。基於以上特性，使得 Mirau-based 干涉儀相較於 Michelson-based 的干涉儀，其具有更小的震動雜訊與兩臂間更好的色散補償，因此 Mirau-based 系統有較好的訊噪比 (Signal to noise ratio; SNR)，同時也能使光路縮短、整體架構更小。

以下介紹自製的 Mirau 組件，如圖 2.8 所示。Mirau 物鏡是由兩片有鍍膜的玻璃片(分別為 5%反射率的 GP1 與 30%反射率的 GP2)、兩片環形墊片以及 20 倍物鏡 ($f=9$ mm, Umplanfl 20X/0.5, Olympus)所組成。玻璃片材料是 fused silica，而圖中填充在這些玻璃片之間的液體為矽油。關於兩片鍍膜玻璃的反射率的設計，以及選擇使用矽油填充的考量(折射率 $n = 1.406$ ，光波長介於 380 nm 至 1100 nm)，目的是為了使參考端的反射光強度與光程盡量與樣本端(生物樣本)一致，如此可得較高的干涉信號強度，干涉影像品質會更好。在 Mirau 物鏡上放置一無鍍膜的玻璃 GP3，使樣本可放置於 GP3 上，進行深度掃描。

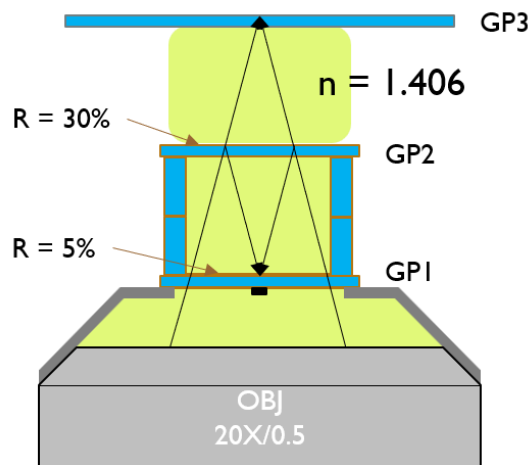


圖 2.8 自製 Mirau 物鏡示意圖。GP1 上表面有 $R = 5\%$ 鍍膜層；GP2 上表面有 $R = 30\%$ 鍍膜層；GP3 無鍍膜，樣品將放置於其上方。

Mirau-based FF-OCT 系統架構如圖 2.9。藍光雷射經過二向分光鏡 DM_1 ，並經由 OBL_1 ，將雷射光聚焦在 $Ce^{3+}:YAG$ 晶體光纖上。 $Ce^{3+}:YAG$ 晶體的自發性福射光即為 FF-OCT 系統之寬頻光源。光源通過 DM_1 與聚 OBJ_2 ，耦光進 MMF 傳輸進干涉儀系統。光源通過 L_1 後為平行準直光，再入 PBS 使 S 極化的光反射往上入射消色差四分之一波長片 (Achromatic quarter wave plate, AQWP)。此時光的極化方向由 S 極化轉變為圓偏振光。原因是圓偏振能在組織樣本中更均勻以及保持更高的光強度。圓偏振光再經過 Mirau 物鏡打在樣本上。其中 Mirau 物鏡裝在 PZT 上，透過校正後的電壓曲線給定 PZT 電壓，使其沿著深度線性移動，並完成三維影像掃描。由樣本背向散射回來的光會原路通過 Mirau 物鏡進入 AQWP，此時的圓偏振光會轉變為 P 極化光穿透 PBS，入射 45 度反射鏡，並通過 L_2 ，投影在 CCD 相機上進行影像擷取。關於光極化方向的變化，如圖 2.10 所示。

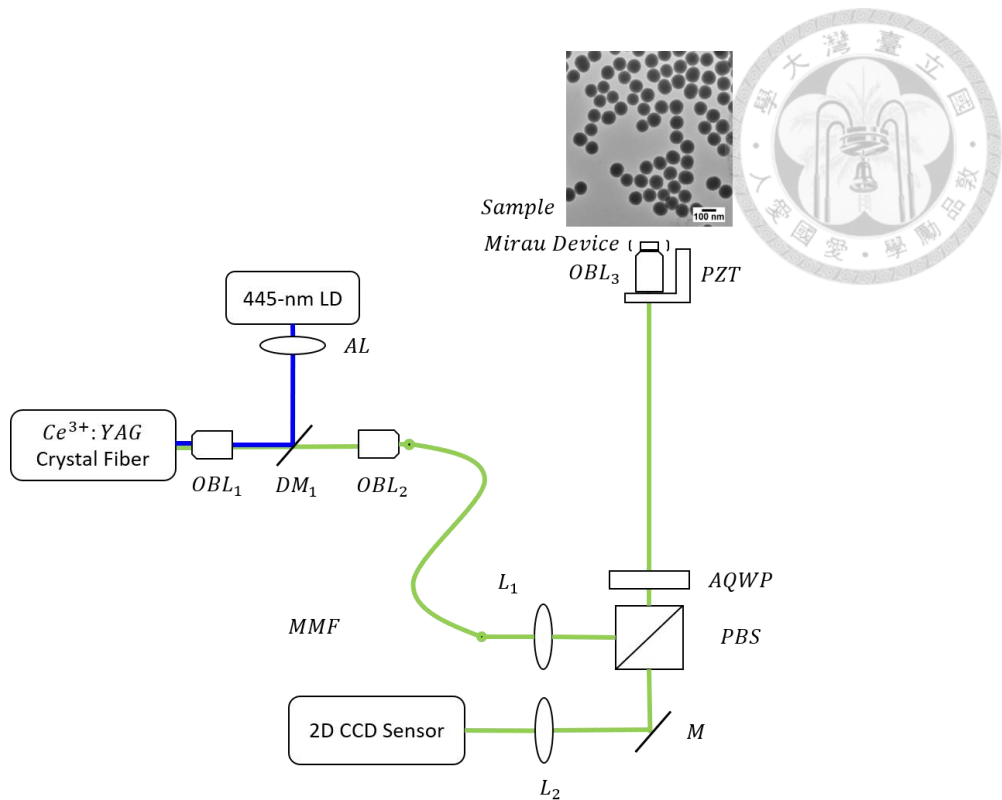


圖 2.9 為 Mirau-based FF-OCT 系統示意圖。(LD 445: 波長 445 nm 之雷射二極體、AL: 非球面透鏡、OBL₁: 40 倍物鏡、OBL₂: 20 倍物鏡、OBL₃: 20 倍水浸式顯微物鏡 (f=9 mm)、DM: 二向分光鏡、MMF: 多模光纖、L₁: 消色差聚光透鏡 (f=45.06 mm)、L₂: 投影透鏡 (f=150 mm)、PBS: 偏振分束鏡、AQWP: 消色差四分之一波長片、PZT: 壓電制動器、M: 銀鏡、CCD: 相機。註: DM₂ 放置目的成立於結合拉曼系統, 其截止波段對於 FF-OCT 光源來說沒有影響。)

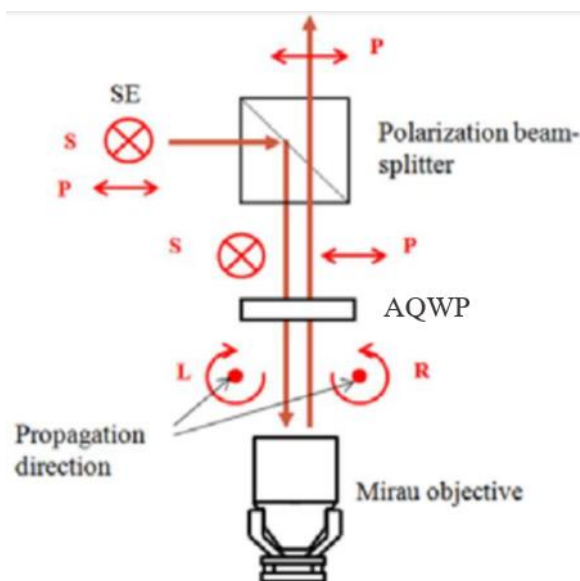


圖 2.10 光偏振示意圖[12]



2.4 系統解析度理論推導與量測結果

透過顯微鏡觀察微小物體時，若物體尺寸小於光波長尺度，物體會因為繞射現象被無限放大。若兩點距離太近時，也會因繞射現象的緣故，兩點變得無法區分。根據 Rayleigh's criterion，若兩點信號強度分布的峰值，恰好落在對方艾瑞環(Airy rings)的第一暗紋上時，稱這兩點距離恰可被解析。本節將依序推導理論橫、縱向解析度，及其量測值。

縱向解析度與量測值

縱向上兩反射面可被分辨的最短距離，即為光學系統的縱向解析度。在 2.1 小節中提到，相干函數 $Y(z)$ 即為 OCT 系統縱向上的 PSF。因此兩個距離很近的反射面，可視為兩個距離很近的 PSF，藉由兩 PSF 在 z 軸上重疊的情形，可以判斷縱向解析度，如圖 2.10。符合瑞利準則時，兩個 PSF 的半高全寬的點會剛好重合。OCT 系統的縱向解析度，即為 PSF 的半高全寬。由相干長度 Eq. (2.24) 中，可以看出其與光源頻譜的關係。而這個干涉訊號存在之位置，稱為同調閘(coherent gate)，故將此縱向解析度註記成 $\Delta z_{coherence}$ 。

$$\Delta z_{coherence} = l_c = \frac{2 \ln 2}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda} \quad (2.24)$$

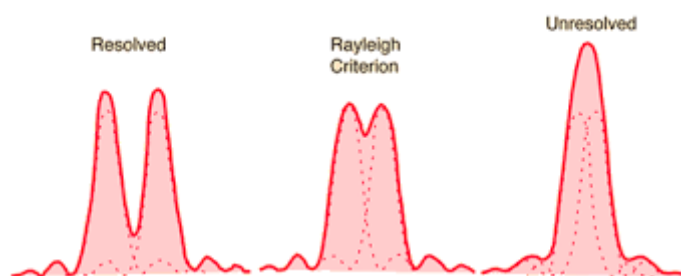


圖 2.11 兩點 PSF 重疊情形的示意圖[13]

而全域式 OCT 系統之縱向解析度 Δz ，除了跟相干長度有關之外，還跟物鏡的

數值孔徑(Numerical aperture; NA)有關。因為物鏡聚焦的關係，使得縱向上可觀察的範圍更小。物鏡提供的縱向上可觀察的位置，即為物鏡的共焦閘(Confocal gate)；而物鏡的縱向解析度，註記成 $\Delta z_{confocal}$ ，如 Eq. (2.25)所示 [14]，其中 n 為折射率， α 為數值孔徑公式中 $NA = n \sin \alpha$ 的 α ：

$$\Delta z_{confocal} = \frac{\lambda}{2n(1-\cos \alpha)} \quad (2.25)$$

考慮相干長度與物鏡的貢獻，將 Eq. (2.24)及 Eq. (2.25)整合為 Eq. (2.26)，即為系統理論縱向解析度 Δz 。

$$\Delta z = \left[\frac{1}{\Delta z_{confocal}} + \frac{1}{\Delta z_{coherence}} \right]^{-1} = \left[\frac{2n(1-\cos \alpha)}{\lambda} + \frac{n\pi}{2 \ln 2} \left(\frac{\Delta \lambda}{\lambda_0^2} \right) \right]^{-1} \quad (2.26)$$

實驗上我們藉由量測 GP3 與空氣介面之干涉訊號，定義其半高全寬(FWHM)即為 Mirau-based FF-OCT 系統之縱向解析度。由圖 2.11 可看到量測之縱向解析度為 1.2 μm 。

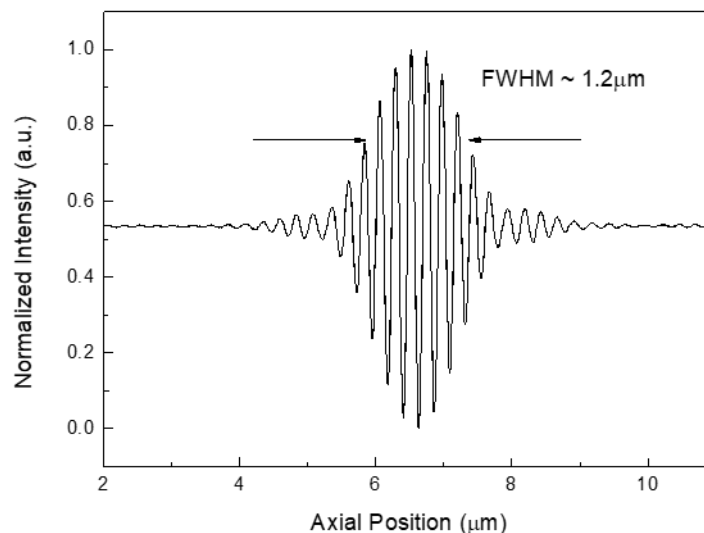


圖 2.12 GP3 與空氣介面之干涉訊號量測值



橫向解析度與量測值

光學橫向解析度，定義為橫向上最短恰可解析的距離。光通過物鏡聚焦在樣本上，而一個透鏡的效果，相當於圓孔的遠場繞射(Fraunhofer diffraction)。圖 2.11 為圓孔遠場繞射示意圖。由圖 2.11 (b)可知，第一貝索函數(Bessel function of the first kind)為零時，可算出恰可解析的距離 q_1 ，見 Eq. (2.27)。其中 k 為波數、 a 為圓孔孔徑、 R 為圓孔中心制第一暗紋的距離。

$$J_1\left(\frac{kaq_1}{R}\right) = 0 \quad (2.27)$$

由圖 2.12 (b)可得 Eq. (2.28)，並移項求出 q_1 ，如 Eq. (2.29)所示：

$$\frac{kaq_1}{R} = 3.83 \quad (2.28)$$

$$q_1 = 1.22 \frac{R\lambda}{2a} \quad (2.28)$$

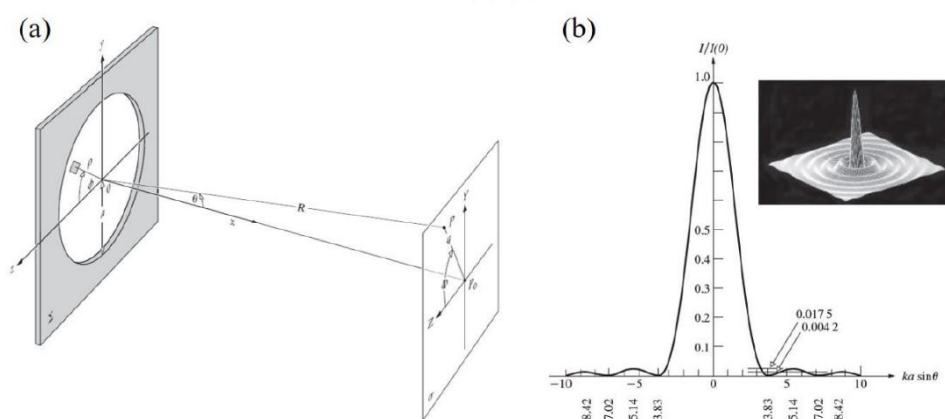


圖 2.13 圓孔繞射示意圖[15]

對透鏡而言， $R = f$ ； $2a = D$ ，其中 f 為透鏡焦距、 D 為透鏡孔徑。將 Eq. (2.28)改寫參數後寫成 Eq. (2.29)：



$$q_1 = 1.22 \frac{f\lambda}{D} \quad (2.51)$$

光學橫向解析度 Δr ，定義兩點可解析的最短距離，根據 Rayleigh's criterion，此距離即為一光點的 PSF 中心極大值，至另一光點 PSF 第一暗紋的距離。也就是 $\Delta r = q_1$ 。

將 Eq. (2.51)代換為與 NA 有關的 Eq. (2.52)：

$$\Delta r = q_1 = 1.22 \frac{f\lambda}{D} = 0.61 \frac{\lambda}{NA} \quad (2.51)$$

而系統的橫向解析度，還需考慮光偵測器，也就是相機的貢獻。系統的橫向解析度如 Eq. (2.52)所示：

$$R_{system} = \sqrt{R_{optical}^2 + R_{sensor}^2} \quad (2.52)$$

其中 R_{system} 、 $R_{optical}$ 以及 R_{sensor} 個別代表系統、光學以及光偵測器，也就是相機的取樣解析度(Sampling resolution)。而相機之取樣解析度，等於畫素大小(Pixel size)除以光學系統的放大倍率。

實驗上我們藉由量測解析度測試片中刻紋之亮暗邊界，定義歸一化訊號強度 90% 至 10%之橫向距離，即為系統量測之橫向解析度。量測得系統之橫向解析度約為 1 μm 。

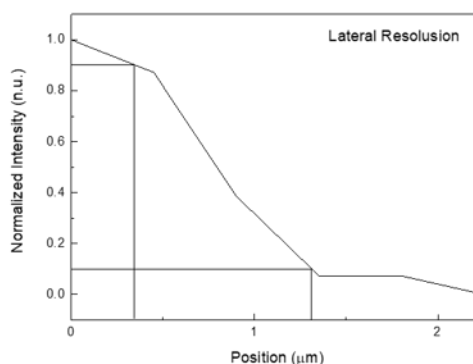


圖 2.14 左圖為解析度測試片，右圖為數字 1 刻紋亮暗邊界之歸一化訊號強度。

第三章、金屬粗糙度測試板之背向散射紋理分析

本章將透過金屬粗糙度測試板實驗，測試系統之絕對精準度。將依序說明：實驗目的、實驗流程、訊號處理方法，以及實驗量測之粗糙度結果。

3.1 實驗目的

FF-OCT 是利用同調干涉達到良好空間解析度的三維成像技術，空間解析度可精細至微米等級。本 FF-OCT 系統的空間解析度為一微米左右，而本論文意圖量測樣品為：二氧化矽奈米顆粒水溶液。奈米顆粒直徑大約為 100 nm 左右，其尺寸小於系統解析度($\sim 1 \mu\text{m}$)。若要量測奈米顆粒，因為受到解析度的限制，從影像上無法解析奈米顆粒尺寸。但從分析 FF-OCT 取得之背向散射訊號，有機會能夠捕捉小於系統解析度等級的微小特徵，並從中得到奈米顆粒尺寸的資訊。此種能力，可以透過定位精準度(Localization accuracy)來衡量[h]。FF-OCT 系統能夠量測之定位精準度極限，與背向散射信號之訊噪比有關。本章將以量測金屬粗糙測試標準片，並透過背向散射訊號分析，驗證本系統能夠提供將近 $0.05 \mu\text{m}$ 的絕對定位精準度。

3.2 實驗流程

3.2.1 實驗流程概述

實驗流程概述如圖 3.1 所示：以金屬粗糙測試板(Surface Roughness Standards Set 16008, FLEXBAR)為待測樣本，在 Mirau 物鏡樣本臂，也就是 GP3 上，滴水並放上粗糙測試板，進行深度掃描。

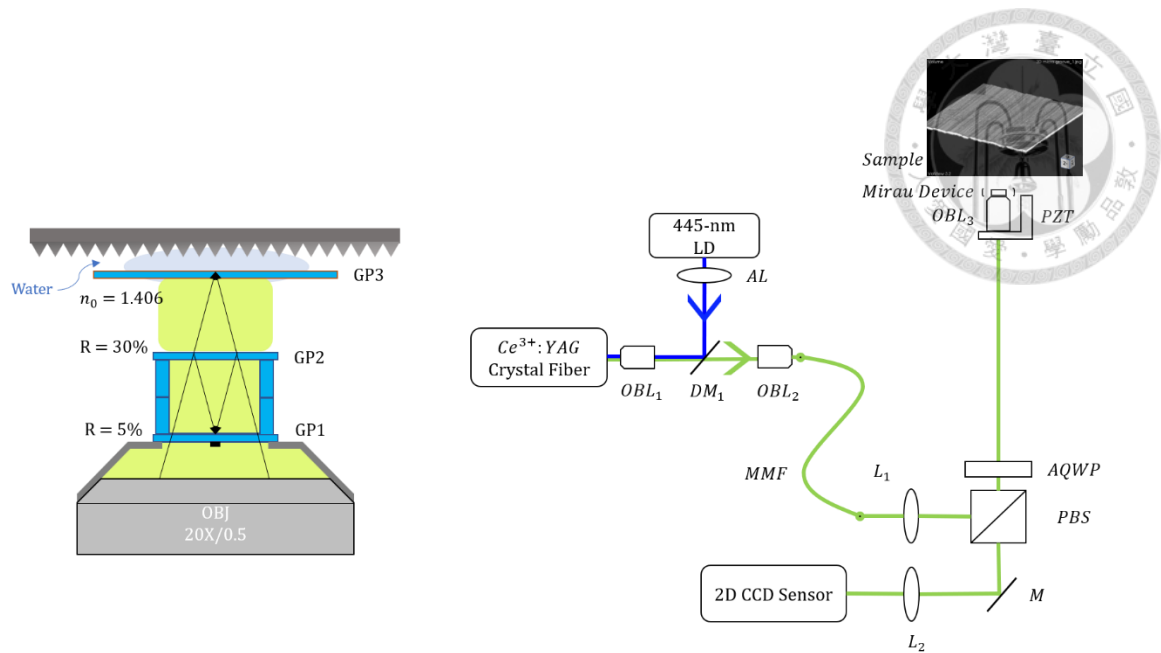


圖 3.1 圖左為金屬粗糙測試板放置於 Mirau 物鏡示意圖。圖右為 FF-OCT 系統架構圖，樣本為金屬粗糙測試版照片。

掃描完成後的三維影像，先作移動平均，使橫向上雜訊降低。再將此三維影像拆解成多個二維橫截面(Cross-section)影像。再針對每個橫截面影像，依序作訊號處理：扣除背景趨勢光，如圖 3.2 (b)所示，並找出金屬粗糙測試板界面的干涉訊號點擴散函數(PSF)，該點擴散函數之存在深度，即為粗糙板界面之同調閘(Coherent gate)。針對此點擴散函數作振幅調變(Amplitude modulation, AM)，也就是希爾伯特轉換(Hilbert transform)，提取出該干涉訊號波包(Envelope)並通過低通濾波器(Lowpass filter, LPF)。處理前後的背向散射訊號如圖 3.2 (c)所示。此波包峰值深度，其物理意義即為該像素粗糙版深度。將峰值深度沿著橫向位置連成界面輪廓，並計算這個輪廓上下起伏幅度之標準差，該標準差即為系統量測之粗糙度。細節將在 3.3 小節詳述。

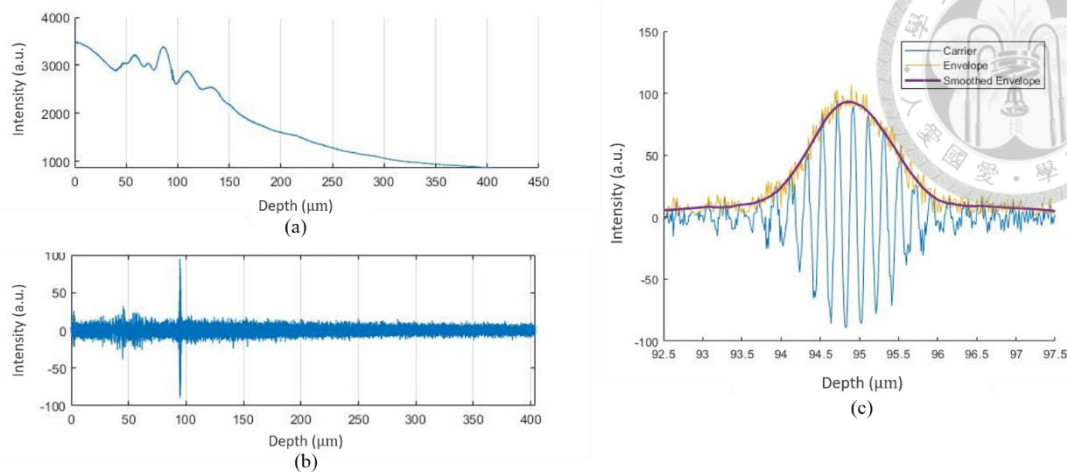


圖 3.2 (a)為原始背向散射訊號；(b)為扣除背景趨勢光的背向散射訊號；(c)為振幅調變並通過低通濾波器後的背向散射訊號，黃色實線為波包訊號、紫色實線為通過低通濾波器之波包訊號。

3.2.2 樣品與玻片間隙介質填充

滴水原因如下述。若 GP3 與樣本間無間隙，或是樣本臂與參考臂兩端介質相同，當 PZT 開始移動物鏡進行深度掃描時，樣本端的共焦閘與同調閘在任何時都幾乎重合。由背向散射信號來看，同調閘會乘載在較寬且信號強度較強的共焦閘上，且兩者峰值發生位置會幾乎重合。然而粗糙板量測實驗皆不符合上述兩種情況：粗糙版放置於 GP3 上時，會有無可避免的間隙，如圖 3.3 右圖中的 d。若這個間隙是空氣，會因為樣本臂($n = 1$)與參考臂($n = 1.406$)兩端的介質折射率差異，粗糙版界面之共焦閘與同調閘不重合，造成 walk-off effect，如圖 3.4 所示。兩臂介質折射率差異越大，walk-off effect 越嚴重，能夠掃描到的干涉訊號深度範圍越淺。但若間隙以矽油填充，雖然就不會有 walk-off effect，但會造成實驗上粗糙版表面不易清洗的問題，有破壞粗糙版表面的疑慮。故以水當作樣本端介質，其折射率($n = 1.33$)與矽油差異較小，也方便清理。

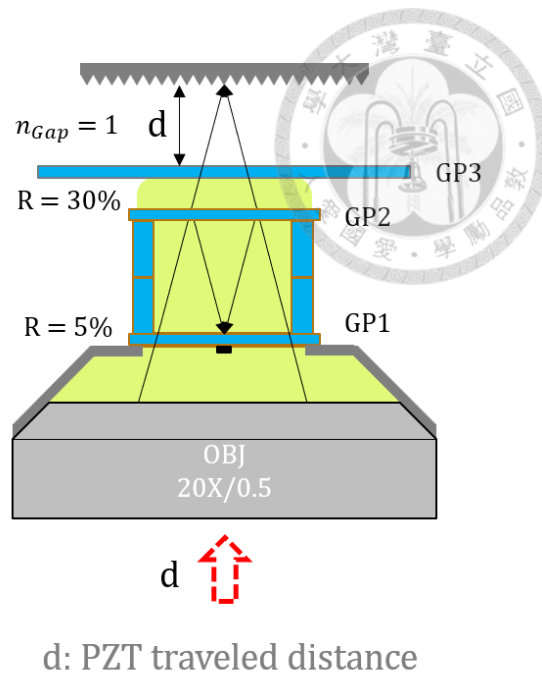
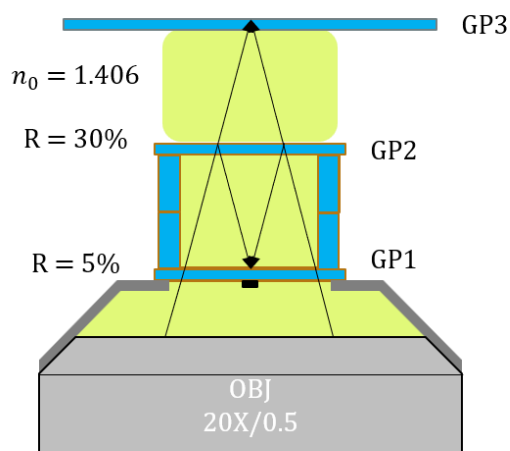


圖 3.3 左圖為 PZT 尚未移動之 Mirau 物鏡。右圖為當 PZT 向上移動了 d ，到達粗糙板表面。

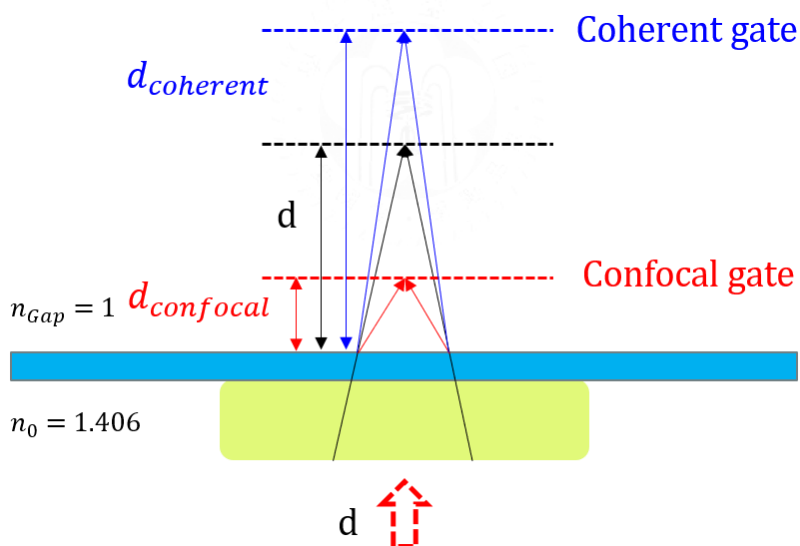


圖 3.4 d 為粗糙版與 GP3 的間隙； $d_{confocal}$ 為粗糙版界面之共焦閾，即物鏡聚焦位置； $d_{coherent}$ 為粗糙版界面之同調閾，即界面干涉訊號 PSF 發生位置。

進行深度掃描時，光由密介質(矽油 $n = 1.406$)入射疏介質(水 $n = 1.33$)，共焦閾會先聚焦。為確保同調閾發生於有效深度內，也就是 PZT 移動全行程 $404 \mu\text{m}$ ，共焦閾最晚出現深度應為 $361 \mu\text{m}$ ，否則粗糙板界面之點擴散函數，將會超出量測範圍。下述將定量計算共焦閾與同調閾位置隨深度變化。共焦閾定義為焦點位置，



可由司乃耳定律(Snell's Law)計算得知：

$$n_0 \sin \theta_0 = n_{Gap} \sin \theta_{Gap} \quad (3.1)$$

由圖 3.4，從幾何關係可寫出下式：

$$d \tan \theta_0 = d_{confocal} \tan \theta_{Gap} \quad (3.2)$$

$$d_{confocal} = d \frac{\tan \theta_0}{\tan \theta_{Gap}} \approx d \frac{\sin \theta_0}{\sin \theta_{Gap}} \quad (3.3)$$

將 Eq. (3.1) 帶入 Eq. (3.3) 可得出共焦閘位置：

$$d_{confocal} = d \frac{n_{Gap}}{n_0} \quad (3.4)$$

而同調閘定義為焦點的光路徑(Optical path)。由於本系統採用 Mirau 物鏡，觀察圖 3.5，樣本臂焦點之光路，可藉由參考臂算出：

$$n_0 d (\text{Reference Arm}) = n_{Gap} d_{coherent} (\text{Sample Arm}) \quad (3.5)$$

$$d_{coherent} = d \frac{n_0}{n_{Gap}} \quad (3.6)$$

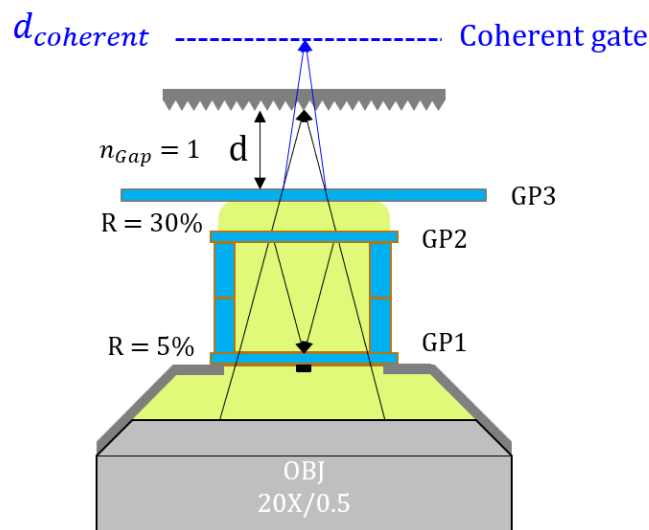


圖 3.5 同調閘與實際深度位置示意圖

由 Eq. (3.4)與 Eq. (3.6)發現，共焦閘與同調閘發生位置為間距距離 d 的直線函數，且此直線斜率與 n_{Gap} 有關。圖 3.6 為共焦閘與同調閘發生位置的關係圖。 n_{Gap} 影響直線斜率，若 n_{Gap} 越接近 $n_0 = 1.406$ ，斜率越趨近 1。也可從此圖發現，若樣本臂介質為水，共焦閘為 $361 \mu\text{m}$ 時，同調閘將達到 $404 \mu\text{m}$ 。故相機畫面中粗糙版聚焦面出現位置，若超過 $361 \mu\text{m}$ ，此組掃描影像將看不到粗糙版界面干涉訊號，將無法做後續粗糙度分析。

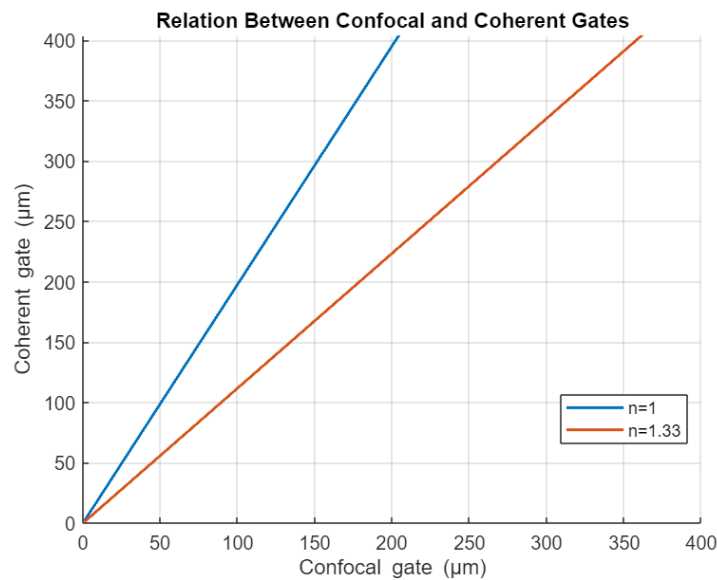


圖 3.6 共焦閘與同調閘關係圖。藍線表示樣本端介質為空氣；紅線表示樣本端介質為水。

3.3 背向散射訊號處理步驟

相機擷取之每張當面影像(*en face*)視域(Field of view; FOV)大小，可根據相機橫向，也就是 XY 平面方向取樣範圍($648 \times 488 \text{ pixel}^2$)，及其像素大小($0.45 \mu\text{m}/\text{pixel}$)，計算得 $291.6 \times 219.6 \mu\text{m}^2$ 。我們先將它做大小為 $N \times N \text{ pixel}^2$ 的移動平均。此步驟的目的為降低橫向上的雜訊，並期望能提升訊噪比。接著，我們把此三維背向散射訊號，拆解成 648 個 XZ 橫截面(cross section)，做後續的運算。此步驟的目的是為了加速計算時間，多個二維訊號的計算時間，會比一個三維訊號的計算

時間少許多。針對二維訊號的後續訊號處理步驟依序如下：利用多項式擬合法，擬合出背景趨勢光並扣除；再利用希爾伯特轉換，從原始干涉載波訊號中提取出波包訊號，此時的一維縱向波包訊號我們通常稱之為 A-scan；最後再通過低通濾波器，將每一 A-scan 中的高頻雜訊濾除。此時從橫截面影像中，可以定位出金屬粗糙測試板表面同調閘深度，也就是每一 A-scan 最大值發生之深度。訊號處理之流程圖如圖 3.7 所示。

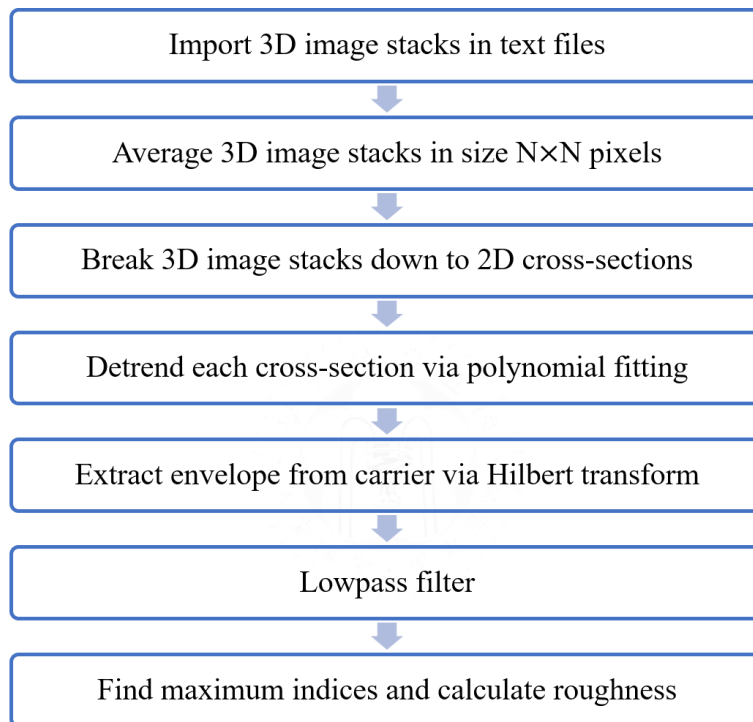


圖 3.7 為背向散射訊號處理流程圖

3.3.1 移動平均

在三維背向散射訊號中，選取欲分析區域(Region of interest; ROI)，並 3×3 、 5×5 、 10×10 及 $20 \times 20 \text{ pixel}^2$ 為單位，做移動平均。圖 3.8 為三維影像移動平均示意圖。紅色框為欲平均之橫向範圍(ROI)。假設選定 y 位置，ROI 將沿著 x 軸移動，每移動一個 pixel 做一次平均。平均後的當面影像大小，將變成 $[648 - (N - 1)] \times [488 - (N - 1)] \text{ pixel}^2$ 。

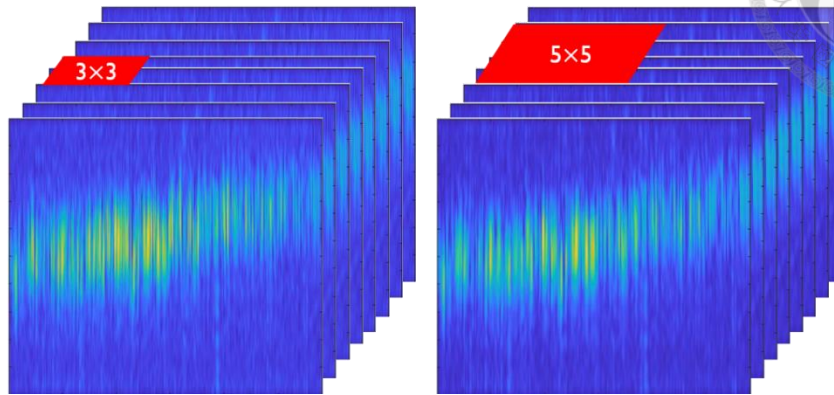
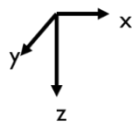


圖 3.8 三維影像移動平均示意圖

3.3.2 去除背景散射光趨勢—多項式擬合法

由於背景散射光趨勢會影響到找極大值，故要先扣除散射光趨勢。利用多項式擬合法，擬合出背景散射光趨勢並扣除。圖 3.9 左圖為一維原始背向散射訊號及多項式擬合出的背景趨勢，右圖為扣除背景趨勢後的一維背向散射訊號。

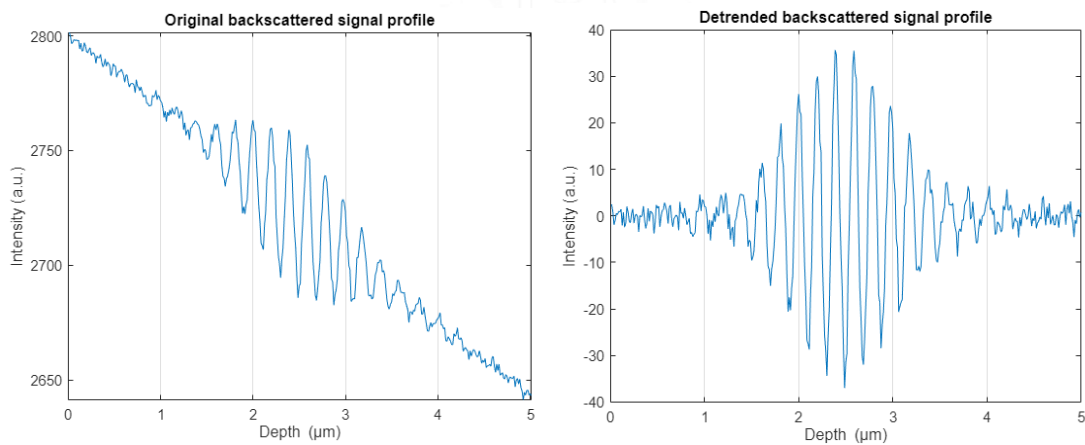


圖 3.9 左圖為原始背向散射訊號，右圖為扣除背景趨勢後的向散射訊號。

3.3.3 希爾伯轉換

要從原始載波訊號中擷取出波包，必須做希爾伯轉換。以往 FF-OCT 影像處理過程，從載波訊號提取波包的方法為四點運算法。四點運算法係將一周期的載波訊



號以 $\frac{\pi}{2}$ 的相位間隔取四點，已 Eq. (3.7)~Eq. (3.10) 所示。並藉由 Eq. (3.11)，換算出波包訊號強度。

$$I_{N'} = I_0 \sin\theta = aI_0 \quad (3.7)$$

$$I_{N+1}' = I_0 \cos\theta = bI_0 \quad (3.8)$$

$$I_{N+2}' = -I_0 \sin\theta = -aI_0 \quad (3.9)$$

$$I_{N+3}' = -I_0 \cos\theta = -bI_0 \quad (3.10)$$

$$\begin{aligned} & \frac{\sqrt{2}}{4} \left[\sum_{i>j=1}^4 (I_i - I_j)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \\ &= \sqrt{\frac{(-b-a)^2 + (-b-b)^2 + (-b+a)^2 + (-a-a)^2 + (-a-b)^2 + (b-a)^2}{8}} I_0 \\ &= \sqrt{\frac{8(a^2+b^2)}{8}} I_0 = I_0 \end{aligned} \quad (3.11)$$

以四點運算法擷取波包訊號，縱向上兩波包訊號間隔為 $0.2 \mu\text{m}$ ，如 Eq. (3.12) 所示：

$$\text{一個載波週期的光程} = \frac{\lambda_0}{2n} = \frac{0.56}{2 \times 1.4} = 0.2 (\mu\text{m}) \quad (3.12)$$

明顯地，利用四點運算法擷取波包訊號，縱向點數不足以提供 $0.1 \mu\text{m}$ 的定位精準度。為了取樣點數夠密，本論文不採用四點運算法，而是使用希爾伯轉換擷取波包訊號。使用希爾伯轉換法，單位長度取樣點數並不會受光源波長及介質折射率的限制。在記憶體容許的範圍內，取樣點數間隔可以小到將近 10 nm 。

希爾伯轉換原理如下[16, 17]：在時域量測到的實數訊號(Real-valued signal，以 $s(t)$ 表示)，也就是我們光偵測器量測到的干涉訊號，並無相位資訊。當我們對這個干涉訊號做希爾伯轉換，以 $H[s(t)]$ 表示，干涉訊號及其希爾伯轉換，兩者組成解



析訊號(Aalytic signal) $s_a(t)$ ，分別為此解析訊號的實部 $s(t)$ 與虛部 $H[s(t)]$ 。而此解析訊號可整理成振幅項乘以相位項，如 Eq. (3.13)所示：

$$s_a(t) = s(t) + i H[s(t)] = A(t)e^{i\phi(t)} \quad (3.13)$$

而波包訊號(A-scan，以 $s_{env}(t)$ 表示)，即為此解析訊號的絕對值，也就是振幅項：

$$s_{env}(t) = |s_a(t)| = A(t) \quad (3.14)$$

將原始量測載波訊號作希爾伯轉換，積分型式如下：

$$H[s(t)] = -\frac{1}{\pi} \lim_{\epsilon \rightarrow 0} \int_{\epsilon}^{\infty} \frac{s(t+\tau) - s(t-\tau)}{\tau} d\tau = s(t) * \frac{1}{\pi t} \quad (3.15)$$

又根據摺積定理(Convolution Theorem)：

$$g(t) * h(t) = \mathcal{F}^{-1}[G(f) \cdot H(f)]$$

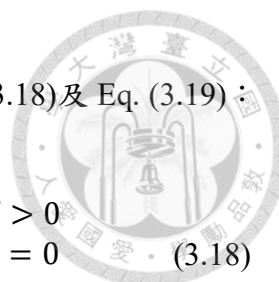
$$\text{where } G(f) = \mathcal{F}[g(t)]; H(f) = \mathcal{F}[h(t)] \quad (3.16)$$

將希爾伯轉換的積分型式，代換成頻域中兩函數相乘：

$$H[s(t)] = s(t) * \frac{1}{\pi t} = \mathcal{F}^{-1}\{S(f) \cdot (-i \operatorname{sgn}(f))\}$$

$$\text{where } S(f) = \mathcal{F}[s(t)]; -i \operatorname{sgn}(f) = \mathcal{F}\left[\frac{1}{\pi t}\right] = \begin{cases} -i & f > 0 \\ 0 & f = 0 \\ i & f < 0 \end{cases} \quad (3.17)$$

希爾伯轉換子時域函數為 $\frac{1}{\pi t}$ ，此時域函數經由傅立葉轉換，為一符號函數乘以複數 $-i$ 。在正頻率區間，函數值為 $-i$ ；在負頻率區間，函數值為 i ；而頻率為零時，函數值亦為零。意即當頻率為正時，希爾伯轉換後的訊號會有 $-\frac{\pi}{2}$ 的相移；當頻率為



負時，則有 $\frac{\pi}{2}$ 的相移。再將 Eq. (3.17)帶回 Eq. (3.13)，可得 Eq. (3.18)及 Eq. (3.19)：

$$S_a(f) = S(f) + S(f) \cdot [-i \operatorname{sgn}(f)] = \begin{cases} 2S(f) & f > 0 \\ S(f) & f = 0 \\ 0 & f < 0 \end{cases} \quad (3.18)$$

$$s_{env}(t) = |s_a(t)| = |\mathcal{F}^{-1}[S_a(f)]| \quad (3.19)$$

由上式可知，藉由對量測之載波訊號作傅立葉轉換，根據 Eq. (3.18)，轉換後的正頻率訊號為原始兩倍、頻率為零時訊號不變，負頻率訊號為零，最後再作反傅立葉轉換，可得解析訊號。並且將此解析訊號取絕對值，即為波包訊號(A-scan)，如圖 3.10 所示。

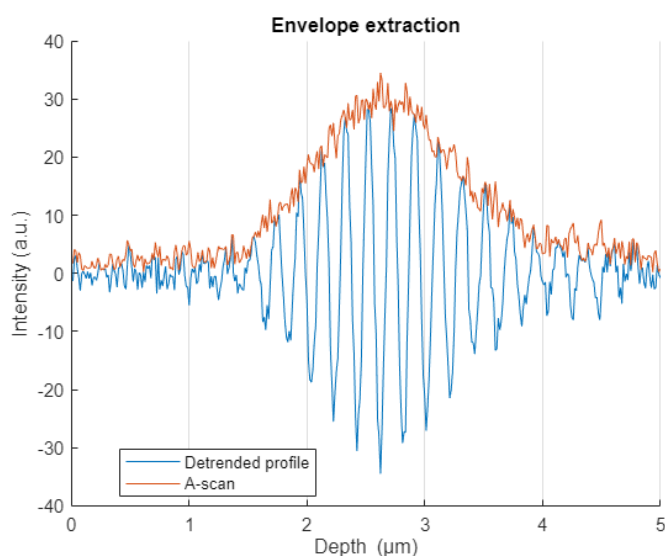


圖 3.10 藍線代表去背景之一維背向散射訊號；橘線代表振幅調變後的 A-scan。

3.3.4 低通濾波器

利用低通濾波器濾掉縱向上的雜訊。圖 3.11 為一維背向散射訊號做快速傅立葉轉換後的頻譜，可以發現空間頻率中，大於 $5 \mu\text{m}^{-1}$ 的頻域沒有顯著影響的資訊。避免後續計算波包峰值時被高頻雜訊影響，故以 $5 \mu\text{m}^{-1}$ 為界，設計一個低通濾波器，斜度(Steepness)為 0.95，讓大於 $5 \mu\text{m}^{-1}$ 的頻率強度被抑制。斜度為 0.95，也就

是讓抑制的過渡頻寬 w (transition width)，為 $w = (1 - 0.95) \times (f_{Nyquist} - f_{pass})$ 。

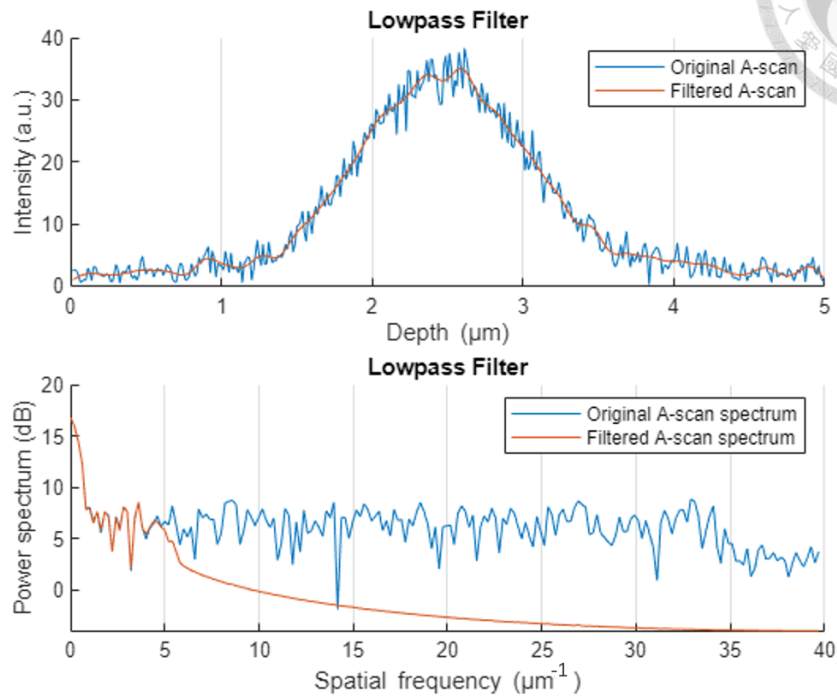


圖 3.11 A-scan 訊號及其頻譜。藍線代表原始 A-scan 訊號；橘線代表通過低通濾波器之 A-scan。

3.3.5 金屬粗糙測試版之同調閘深度—A-scan 最大值的深度

針對處理好的二維橫截面影像，以一個像素($0.45 \mu\text{m}$)為單位，沿著深度找波包訊號的最大值。而最大值發生之深度，即為樣品表面干涉訊號之同調閘，也就是背向散射光瞬時振幅最大的位置，也就是波包訊號強度的最大值。以一個 $291.6 \times 5 \mu\text{m}^2$ 大小的橫截面來說明， $291.6 \mu\text{m}$ 為橫向寬度、 $5 \mu\text{m}$ 為深度，故此橫截面總共有 648 個長度為 $5 \mu\text{m}$ 的 A-scan。每個 A-scan 都能找到最大值的深度，並計算此 648 個深度位置的標準差，即為量測得粗糙度。

圖 3.12 為 $R_a = 0.1 \mu\text{m}$ 之樣品，取兩像素點之背向散射訊號及其 A-scan。此圖目的是為了比較載波訊號最大值，與波包訊號最大值的差異。左右兩圖的藍線皆代表一維背向散射訊號；橘線皆代表經過希爾伯轉換後，提取的 A-scan。兩圖中的兩個小倒三角形分別標註出載波以及 A-scan 最大值發生位置。左圖為比較清晰的

點擴散函數，兩三角形距離較接近，但誤差仍有 $0.1 \mu\text{m}$ ；而右圖為比較不整齊的點擴散函數，原因可能是該像素點取樣之樣品表面有破損，可觀察出兩三角形距離接近 $0.2 \mu\text{m}$ ，是待測之粗糙度的兩倍。由此圖直接說明了希爾伯轉換在此訊號處理過程中的必要性。

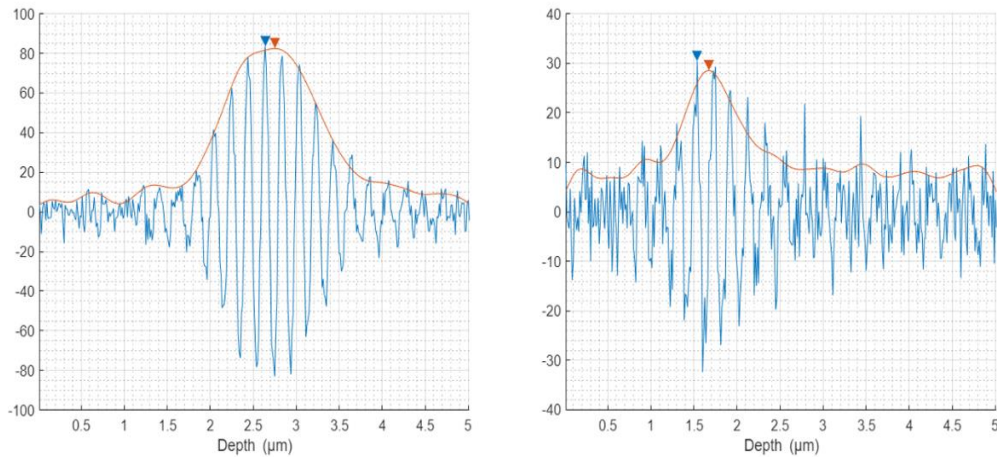


圖 3.12 左右兩圖為兩像素點之背向散射訊號載波及其波包。藍線為載波訊號、藍色倒三角形標註其最大值；橘線為波包訊號、橘色倒三角形標註其最大值。

3.4 粗糙度量測結果—系統定位精準度

表 (3.1)、表 (3.2)分別為為粗糙度 $R_a = 0.1 \mu\text{m}$ 及 $R_a = 0.05 \mu\text{m}$ 的量測結果與對應之縱向上的訊噪比(SNR, linear scale)；訊噪比定義為：取波包峰值除以一段雜訊之標準差，如 Eq. (3.20)及圖 3.13 所示：

表 3.1 為粗糙度 $0.1 \mu\text{m}$ 之粗糙測試板粗糙度量測結果與其訊噪比

Averaging size (pixel^2)	STD (μm)	SNR
3×3	0.13	29.59
5×5	0.12	35.35
10×10	0.10	54.99
20×20	0.07	68.94

表 3.2 粗糙度 0.05 μm 之粗糙測試板粗糙度量測結果與其訊噪比

Averaging size (pixel^2)	STD (μm)	SNR
3 × 3	0.10	27.87
5 × 5	0.10	33.44
10 × 10	0.06	49.97
20 × 20	0.03	64.21

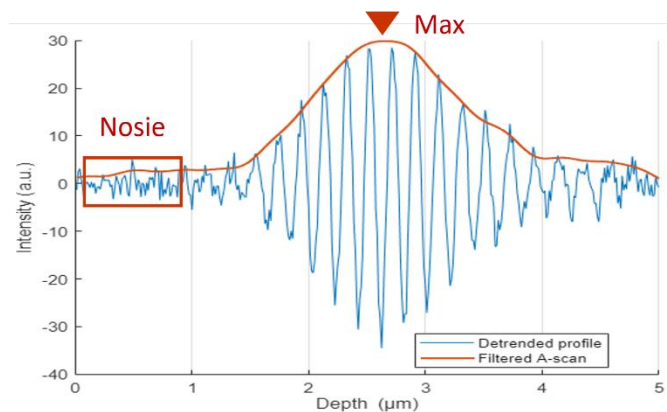


圖 3.13 SNR 計算示意圖。藍線為干涉訊號；橘線為波包訊號。

$$\text{SNR (linear scale)} = \frac{I_{\text{max}}}{\text{std}(I_{\text{noise}})} \quad (3.20)$$

Ra = 0.1 μm 及 Ra = 0.05 μm 有相同的趨勢：隨著移動平均的範圍越大，縱向上的訊噪比越高，量測得粗糙度與理論值越接近，誤差越小。可以看到以 3×3 及 5×5 的面積做平均，雜訊造成的誤差還是太大，同調閘附近的波包峰值定位不夠精確，影響到了表面粗糙度的計算結果。但平均面積也存在上限，觀察 20×20 面積平均的結果，也有不小的誤差，粗糙度比理論值還小。因為以過大的面積作橫向上平均，會造成橫向上的微小特徵被平均掉，影像有失真的問題。實驗結果來看，以 10×10 面積作移動平均最合適，並且也證實了在訊噪比夠高的情況下，本 FF-OCT 系統有 0.05 μm 的絕對定位精準度。

除了訊噪比可以當作定位精準度的指標之外，定位精準度的極限也會受到系

統縱向解析度的限制。縱向解析度越好，定位精準度越精細。圖 3.14 為不同縱向解析度之數值模擬。分別為 5, 3, 和 1.2 μm 。其中 1.2 μm 為本系統之縱向解析度。圖 3.15 上圖為不同解析度的空間分布(Spatial domain)，下圖為傅立葉轉換後，不同解析度在空間頻域(Spatial frequency domain)上的分布。可以看到解析度越好，能夠保留越多空間頻域中的高頻成分，也就是能夠保留縱向上更小、更精細的特徵。

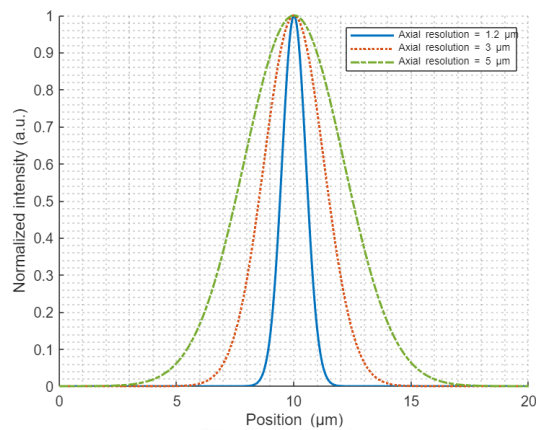


圖 3.14 空間中縱向解析度的數值模擬

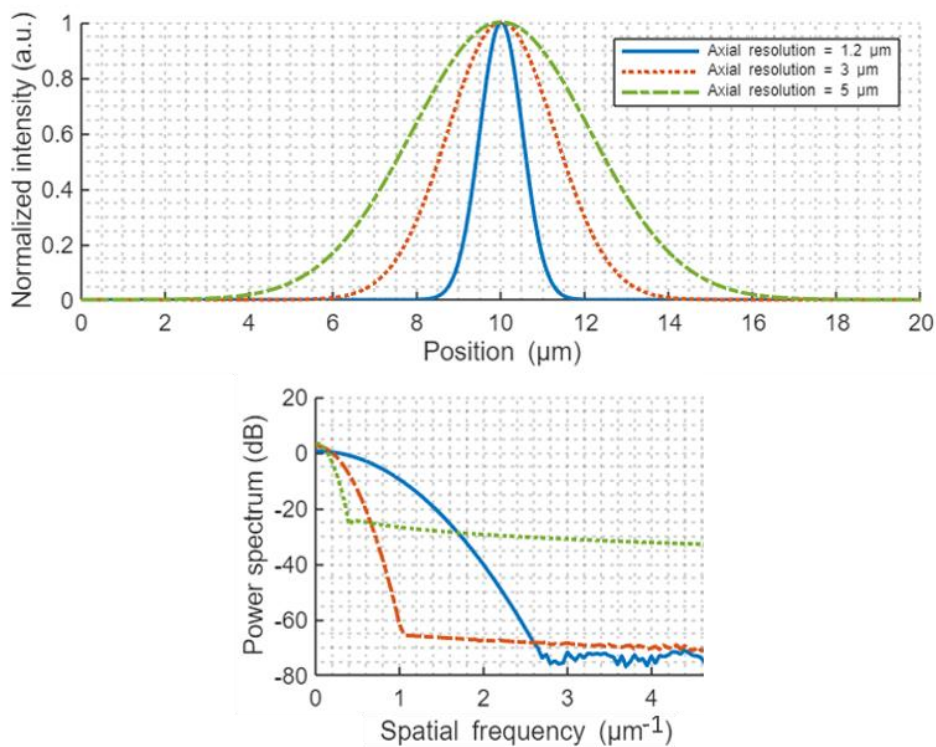


圖 3.15 上圖為縱向解析度的空間分布；下圖為其空間頻域分布。



第四章、奈米顆粒樣本

本章將依序介紹：奈米顆粒樣本，及其適合用於實驗之濃度；以及奈米顆粒之光散射特性。

4.1 奈米顆粒樣本

本論文研究之奈米顆粒，為二氧化矽奈米顆粒 (Silica nanoparticles, nanoComposix, Inc.)水溶液。規格如表 (4.1)所示。穿透式電子顯微鏡(Transmission electron microscope; TEM)影像如圖 (4.1)所示，由穿透式電子顯微鏡影像，可觀察出此奈米顆粒接近球型，並且以影像量測得平均粒徑為 104 nm，標準差為 9 nm。算得變異係數(Coefficient of variation; CV)為 8.6%，如 Eq. (4.1)所示。

$$CV \equiv \frac{\sigma}{\mu} = \frac{9}{104} \cong 8.6\% \quad (4.1)$$

表 4.1 二氧化矽奈米顆粒規格表 [18]

Diameter	104±9 nm
Coefficient of variation	8.6%
Mass concentration (SiO ₂)	10.5 mg/mL
Particle concentration	8.1×10 ¹² particles/mL

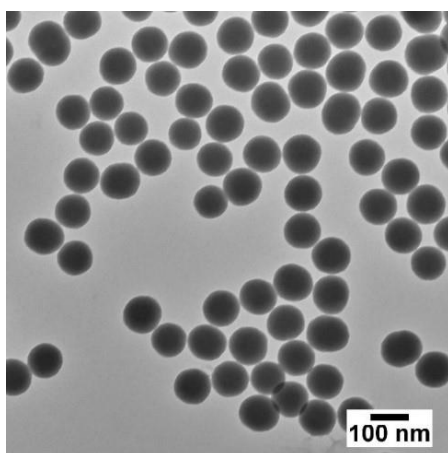


圖 4.1 為二氧化矽奈米顆粒水溶液之穿透式電子顯微鏡影像 [19]

若以表 (4.1) 給定之原始濃度作深度掃描，樣本溶液濃度太高，相鄰之奈米顆粒距離太靠近，會使訊號分析變得困難。以下將以一個簡化的均勻分布模型，估算溶液濃度與奈米顆粒間距的關係。假設粒子濃度為 n particles/mL 的二氧化矽奈米顆粒水溶液，顆粒在水溶液中均勻分布。我們將這個情形，想像成把一立方公分的體積，平均分成 n 等份，每一等份內將放一顆二氧化矽奈米顆粒，如圖 (4.2) 所示。

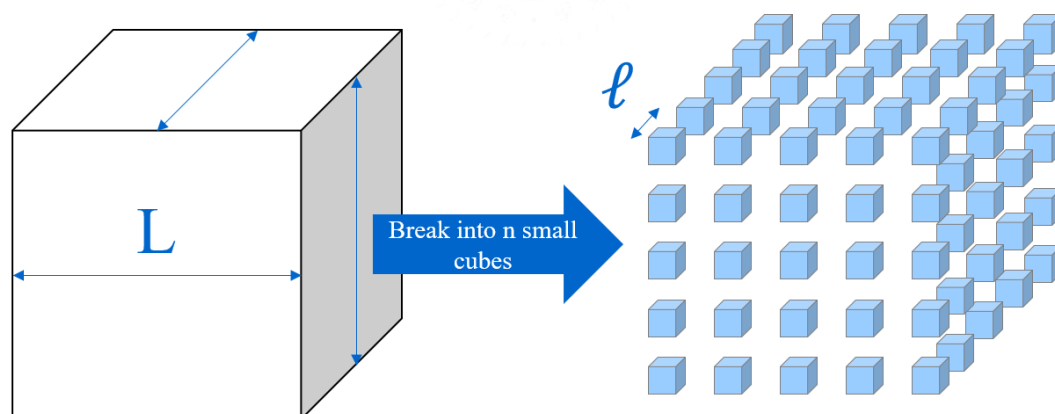


圖 4.2 將一邊長為 L 的大方塊均分成 n 個邊長為 l 的小方塊，其中 $l = \frac{L}{\sqrt[3]{n}}$ 。

由表 (4.1) 知，樣本溶液的粒子濃度 (particle concentration) 為 8.1×10^{12} particles/mL。也就是說，在一立方公分的大方塊，要被等分成 8.1×10^{12} 個小方塊，並且每個小方塊要放進 1 個二氧化矽奈米顆粒。此時 $n = 8.1 \times 10^{12}$; $L = 1$ cm。



小方塊之邊長，如 Eq. (4.1)所示：

$$\ell = \frac{L}{\sqrt[3]{n}} = \frac{10^7}{\sqrt[3]{8.1 \times 10^{12}}} \cong 497.9 \text{ nm} \quad (4.1)$$

由 Eq. (4.1)得知，相鄰兩奈米顆粒間距的尺度，大約在 500 nm 左右。這個邊長 500 nm 的方塊，要容納直徑為 104 ± 9 nm 的奈米顆粒。若奈米顆粒靜止不動，兩相鄰奈米顆粒的最短間距約為 400 nm。但真實情況而言，奈米顆粒會受溶液黏滯力及擴散作用的影響，進行隨機軌跡的運動，也就是布朗運動(Brownian motion)。在考慮原始粒子濃度及布朗運動的情況下，奈米顆粒之間高機率的碰撞，會使得量測之背向散射訊號雜訊太大，將造成後續分析奈米顆粒尺寸的困難。

為了解決這個困境，我們稀釋了樣品濃度後再進行量測，並期望能透過稀釋後的樣品溶液，分析出顆粒尺寸的資訊。我們以純淨的去離子水(Deionized water; DI water)，稀釋二氧化矽奈米顆粒水溶液。方法如下：首先將配置稀釋溶液的試管，以三道步驟依序震洗：丙酮、甲醇、去離子水。並重複此震洗步驟三次，確保容器內盡量沒有灰塵或雜質。原始二氧化矽顆粒水溶液也需要經過震洗，確保原始奈米顆粒溶液混和均勻。接著分別調配原始粒子濃度的五分之一倍，及十分之一倍的稀釋溶液，並以此二種稀釋濃度之溶液，做後續背向散射訊號之分析。樣品製備流程如圖 4.3 所示。第一道步驟是將原始奈米顆粒溶液的瓶蓋密封後，整瓶溶液放入震洗機(Ultrasonic cleaner with timer, heater, temperature monitor; Antylia Scientific)震洗。接下來利用最小刻度為 0.01 mL 之注射器定量取出奈米顆粒溶液以及去離子水，並將二者加入震洗過的試管中。再將試管密封後震洗，以確保稀釋溶液混和均勻。震洗後之稀釋溶液再利用全新之注射器自試管中取出，並滴在挖洞並黏貼 GP3 之玻片上，做後續背向散射訊號量測。

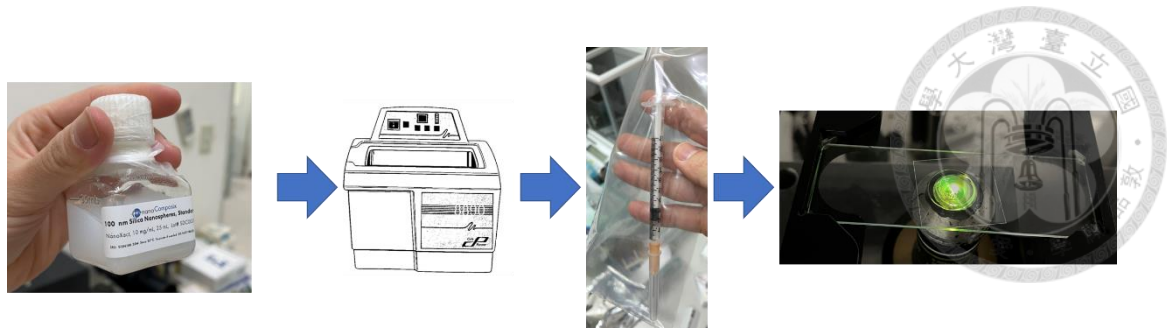


圖 4.3 為稀釋之奈米顆粒溶液製備流程圖

本實驗定義一參數：稀釋參數(Dilution factor, n)，以描述稀釋之溶液濃度。一稀釋溶液，其稀釋參數 n ，代表此稀釋溶液之濃度，為原始溶液濃度除以 n 。以本實驗樣本為例，五分之一與十分之一倍原始濃度之稀釋溶液，其稀釋參數分別為 $n = 5$ 以及 $n = 10$ 。

4.2 奈米顆粒之光散射特性

本節將介紹奈米顆粒樣本的光散射特性，以利於後續樣本之背向散射訊號分析。當光入射介質顆粒上，光會部分吸收(Absorption)、部分穿透(Transmission)，以及散射(Scattering)。光的散射是指，當光子經過介質顆粒時，由於在介質顆粒中經歷了不同的位能，導致其前進方向的改變。而散射現象包含：反射(Reflection)、折射(Refraction)，與繞射(Diffraction)，如圖 4.3 所示。光的散射現象又分成彈性散射(Elastic scattering)以及非彈性散射(Inelastic scattering)。若散射之光子動能不守恆，也就是散射光之波長與入射光波長不同，此為非彈性散射。非彈性散射包括布里元散射(Brillouin scattering)、拉曼散射(Raman scattering)、康普頓散射(Compton effect)等。

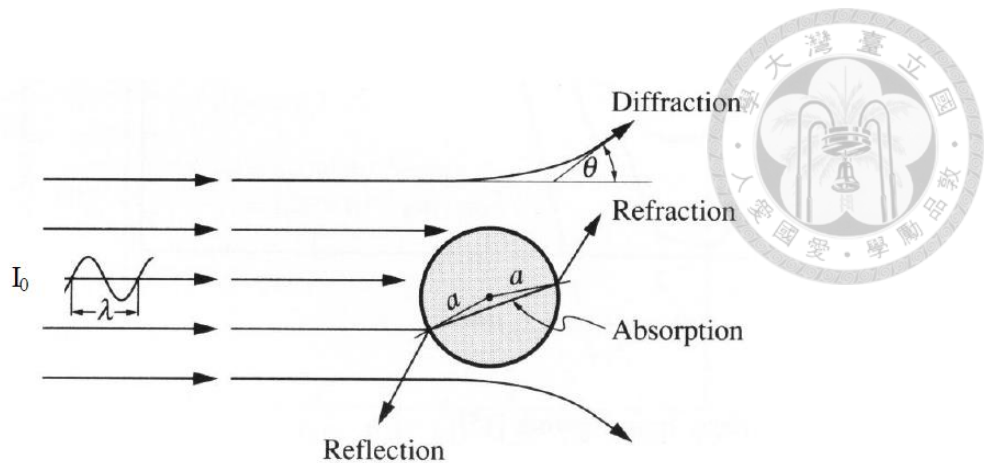


圖 4.4 波長為 λ 、強度為 I_0 的光入射進半徑為 a 的顆粒。光會發生吸收、反射、折射，及繞射等現象。[20]

若散射之光子動能守恆，也就是散射光波長等於入射光波長，此為彈性散射。彈性散射之散射光分析，又可依據入射之介質顆粒大小、形狀，分為米氏散射(Mie scattering)，以及瑞利散射(Rayleigh scattering)。米氏散射理論，係針對當介質顆粒為均勻介電質圓球(Dielectric sphere)時，此理論可提供馬克士威方程組(Maxwell's equations)之散射光電場的解析解(Analytical solution)。而此解析解將以無窮級數的形式表達。以下將簡述米氏散射理論之散射光電場函數之推導。

米氏散射理論[21, 22, 23]，給出平面電磁波入射於一個半徑為 a 之均勻介電質圓球時馬克士威方程組的解析解。平面電磁波入射於均勻球型顆粒時，散射光之電場可用 Eq. (4.2)及 Eq. (4.3)表示：

$$E_s = S_1(\theta) \frac{e^{-ikr+ikz}}{ikr} E_{s0} \quad (4.2)$$

$$E_l = S_2(\theta) \frac{e^{-ikr+ikz}}{ikr} E_{l0} \quad (4.3)$$

其中 E_s 、 E_l 分別為垂直於和平行於散射平面(即入射方向和散射方向所構成之平面)之電場； E_{s0} 、 E_{l0} 分別為相應之入射光電場； θ 為散射角，即入射光方向與散射光方向之夾角。 r 為從介質顆粒中心(圖 4.5 中的原點 O)至散射光波面上之一觀測點 P 的距離； z 為從介質顆粒中心，至入射光波面上一點之距離。 k 為波數($k = \frac{2\pi}{\lambda}$)，



$-ikr + ikz$ 表示從入射光看到的散射光的相位延遲(Phase delay)， λ 為入射光之光波長。上述如圖 4.5 所示：

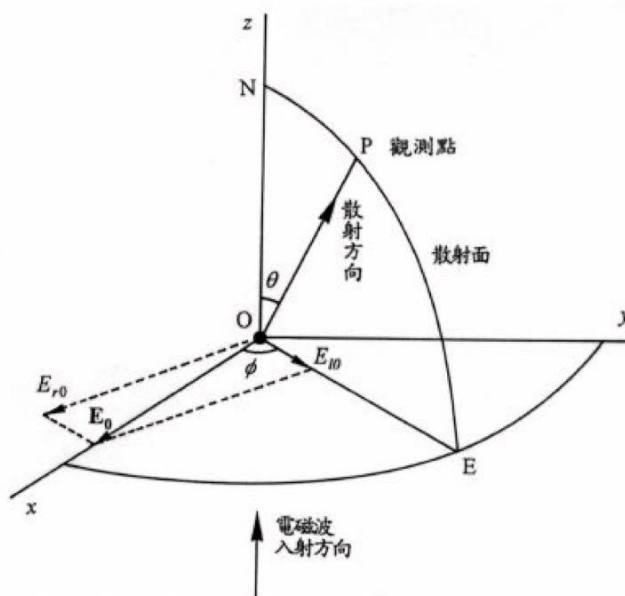


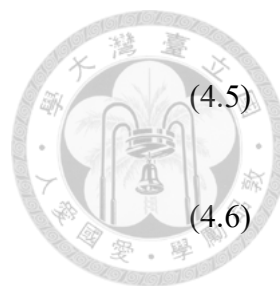
圖 4.5 為散射幾何圖形。介質顆粒位於原點 O ，入射光沿著 z 軸傳播，電場 E_0 在 x 方向振動， OP 為散射方向， θ 為散射角， ϕ 為方位角， $NPEO$ 所構成平面為散射平面；散射平面所畫之弧形為散射光波面。 E_{s0} 、 E_{l0} 分別為垂直和平行於散射面之入射電場分量。[23]

S_1 及 S_2 稱為振幅函數(Amplitude function)，根據米氏散射理論，可由 Eq. (4.4a) 及 Eq. (4.4b) 表示：

$$S_1(\theta) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} [a_n(x, m)\pi_n(\theta) + b_n(x, m)\tau_n(\theta)] \quad (4.4a)$$

$$S_2(\theta) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} [a_n(x, m)\pi_n(\theta) + b_n(x, m)\tau_n(\theta)] \quad (4.4b)$$

其中 m 為介質顆粒折射率與周圍環境之折射率的比值； x 為尺寸參數(Size parameter)，如 Eq. (4.5) 所示； $a_n(x, m)$ 、 $b_n(x, m)$ 、 $\pi_n(\theta)$ 及 $\tau_n(\theta)$ 如 Eq. (4.6) ~ Eq. (4.9) 所示：



$$x = \frac{2\pi a}{\lambda} \quad (4.5)$$

$$a_n(x, m) = \frac{\psi'_n(mx)\psi_n(x) - m\psi_n(mx)\psi'_n(x)}{\psi'_n(mx)\xi_n(x) - m\psi_n(mx)\xi'_n(x)} \quad (4.6)$$

$$b_n(x, m) = \frac{m\psi'_n(mx)\psi_n(x) - m\psi_n(mx)\psi'_n(x)}{m\psi'_n(mx)\xi_n(x) - m\psi_n(mx)\xi'_n(x)} \quad (4.7)$$

$$\pi_n(\theta) = \frac{P_n^{(1)}(\cos\theta)}{\sin\theta} \quad (4.8)$$

$$\tau_n(\theta) = \frac{d}{d\theta} P_n^{(1)}(\cos\theta) \quad (4.9)$$

ψ_n 及 ξ_n 為貝索函數(Riccati-Bessel function)， ψ'_n 及 ξ'_n 為其一次微分式； $P_n^{(1)}$ 為伴隨勒讓得函數(Associated Legendre polynomials)。 ψ_n 及 ξ_n 的表示式如 Eq. (4.10) 及 Eq. (4.11)：

$$\psi_n(x) = \sqrt{\pi \frac{x}{2}} J_{n+1/2}(x) \quad (4.10)$$

$$\xi_n(x) = \sqrt{\pi \frac{x}{2}} H_{n+1/2}^{(2)}(x) \quad (4.11)$$

其中 $J_{n+1/2}$ 為第一類貝索函數(Bessel function of the first kind)； $H_{n+1/2}^{(2)}$ 為第二類漢克爾函數(Hankel function of the second kind)。

事實上，米氏散射提供的解析解，包含了介質顆粒很小的瑞利散射，以及介質顆粒很大的幾何光學。以下將簡述瑞利散射，以及其透過近似，推導出的散射光強度公式。瑞利散射經典的例子，就是解釋為何天空是藍色的。在太陽發射出的電磁波中，可見光波段穿過空氣時，由於氧氣、氮氣、二氧化碳等空氣分子尺寸，相較於可見光波長很小，此時根據瑞利散射，散射光強度會與波長的四次方成反比關係，短波長的藍光散射強度最強，所以我們看到的天空是藍色的。至於顆粒大小與入射光的關係，我們可以用尺寸參數來界定。當 $x \ll 1$ 時，即為瑞利散射之散射光強度

公式適用之條件。瑞利散射之散射光強度公式，如 Eq. (4.12)所示[24]：

$$I = I_0 \left(\frac{1 + \cos^2 \theta}{2r^2} \right) \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right)^4 \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) \left(\frac{d}{2} \right)^6 \quad (4.12)$$

其中 I 為散射光強度； I_0 為入射光強度； θ 為散射角； n 為介質顆粒之折射率； λ 為入射光波長； r 為觀測點至介質顆粒之距離； d 為介質顆粒直徑。由 Eq. (4.12)可得知，瑞利散射之散射光強度，與入射光波長的四次方成反比關係，並且與介質顆粒半徑的六次方成正比關係。

總結彈性散射的散射光特性：若介質顆粒相較於入射光波長很小的情況，我們可以用瑞利散射的公式來描述。瑞利散射之散射光強度，與入射光波長的四次方成反比，並且與介質顆粒半徑的六次方成正比關係。散射光與顆粒尺寸的關係，說明了當介質顆粒很小時，瑞利散射光強度對介質顆粒尺寸很敏感。瑞利散射的散射光方向具有空間等向性，光會朝四面八方散射，如圖 4.6 中的左圖所示。若介質顆粒大小與入射光波長相近時，可由米氏散射理論，得到散射光的解析解，此解析解將散射光的角度分佈以無窮級數表達。當介質顆粒尺寸越大時，根據米氏散射理論，散射光會傾向依照入射光的入射方向散射，也就是前向散射的散射光強度越強，如圖 4.6 中的中圖與右圖所示。本實驗光源中心波長為 560 nm，光源頻寬約為 99 nm；待分析之奈米顆粒樣本，直徑約為 100 nm。根據本實驗的實驗條件，應適用於瑞利散射。並且，根據瑞利散射光強度對介質顆粒尺寸敏感的特性，藉由分析奈米顆粒背向散射光之變化，我們預期可以獲取奈米顆粒樣本之尺寸資訊。

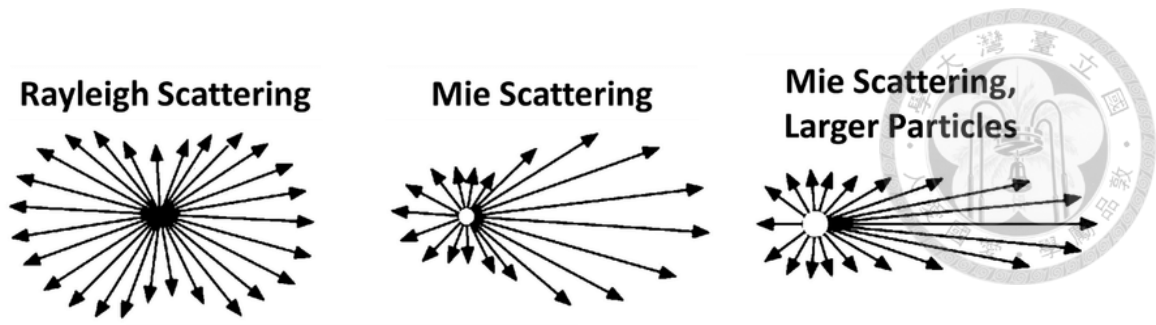


圖 4.6 比較不同介質顆粒大小散射光方向的差異[25]。圖中入射光方向為由左至右。

第五章、奈米顆粒之背向散射紋理分析



根據第三章「金屬粗糙度測試版之背向散射紋理分析」，驗證了本實驗系統 FF-OCT，在縱向量測上具有足以鑑定 50 nm 等級特徵的訊噪比。以此為基礎，本章將敘述使用此系統，量測直徑約為 100 nm 之二氧化矽奈米顆粒的背向散射紋理，並以與第三章相似的訊號處理方法，分析出奈米顆粒的尺寸資訊。本章將依序介紹：奈米顆粒之背向散射訊號處理、顆粒尺寸分布參數之計算及其結果分析，以及顆粒間距之計算及其結果分析。

5.1 奈米顆粒之背向散射訊號處理及初步分析

5.1.1 背向散射訊號處理

奈米顆粒之背向散射訊號處理，將借鏡 3.3 小節中提及之訊號處理方法。根據 FF-OCT 系統相機取樣範圍以及壓電致動器之行程，量測的影像尺寸為 $291.6 \times 219.6 \times 404 \mu\text{m}^3$ 。為了加速數據處理流程以及運算速度，我們將量測的影像以 $10 \mu\text{m}$ 的厚度，避開第 $0 \sim 4 \mu\text{m}$ 樣本與 GP3 之交界面，裁切成 40 個大小為 $291.6 \times 219.6 \times 10 \mu\text{m}^3$ 的影像，並將裁切後的三維影像，以一個像素為單位，拆解成 648 個大小為 $219.6 \times 10 \mu\text{m}^2$ 的橫截面。後續將以二維橫截面影像作數據處理。針對每一個二維橫截面影像，首先我們將以多項式擬合法，擬合出量測影像中的背景趨勢訊號並扣除。接著我們使用希爾伯轉換法，從量測的散射包絡訊號中，擷取出波包訊號。最後再將 648 個處理過後的二維橫截面影像，合併成原始大小之三維波包訊號 ($291.6 \times 219.6 \times 10 \mu\text{m}^3$)。流程圖如圖 5.1 所示。

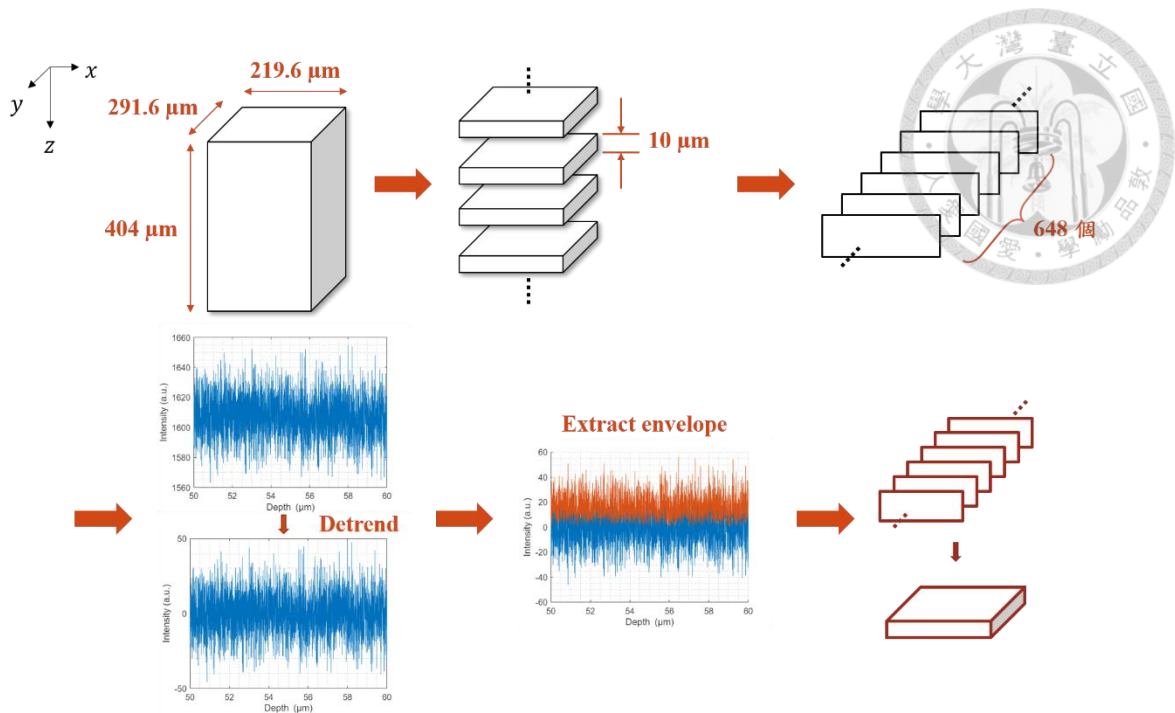


圖 5.1 為奈米顆粒之背向散射訊號處理流程圖。Z 為深度方向。示意圖依序為：奈米顆粒背向散射之三維訊號，以圖上方左一的長型立方體表示；將原始三維訊號裁切成厚度為 $10\ \mu\text{m}$ 的三維訊號，以圖上方左二的數個扁形立方體表示；裁切後的三維訊號再以一個像素為單位，拆解成 648 個二維橫截面(XZ cross-section)，以圖上方右一的數張平面表示；將二維橫截面之縱向背景趨勢光，以多項式擬合並加以扣除，如圖下方左一所示；扣除背景趨勢光的訊號再做希爾伯特轉換，截取波包訊號，如圖下方左二所示，藍線代表包絡訊號、橘線代表波包訊號；最後再將 648 個二維波包訊號合併，如圖下方右一所示。

若以此三維波包訊號做後續分析計算，訊噪比不夠大，很難分析出與奈米顆粒背向散射有關的資訊，如圖 5.2 中的左圖所示。因此本研究透過在 XY 平面上平均的方式提升訊噪比，再進一步做後續的顆粒尺寸分析。平均前的背向散射光強度如圖 5.2 (a) 所示；在 XY 平面以 $100 \times 100\ (\text{pixel}^2)$ 平均後的被向散射光強度如圖 5.2 (b) 所示。

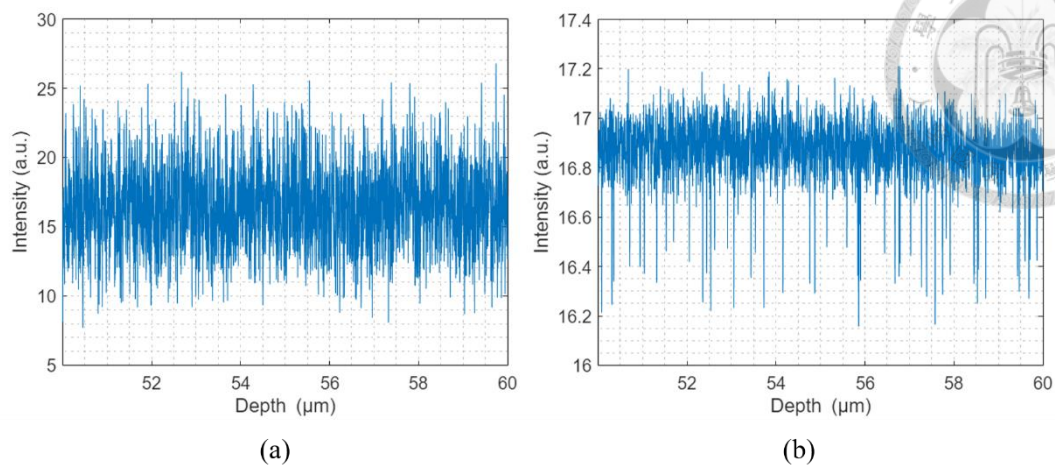


圖 5.2 為 XY 平均前後奈米顆粒背向散射光強度比較圖。(a)平均前，(b)平均後背向散射光強度圖。

5.1.2 散射光強度局部極小值—閾值界定

經過前一小節 5.1.1 提及之訊號處理，三維波包訊號在 XY 方向上平均後會得到隨著深度的散射光強度變化，如圖 5.3 所示：

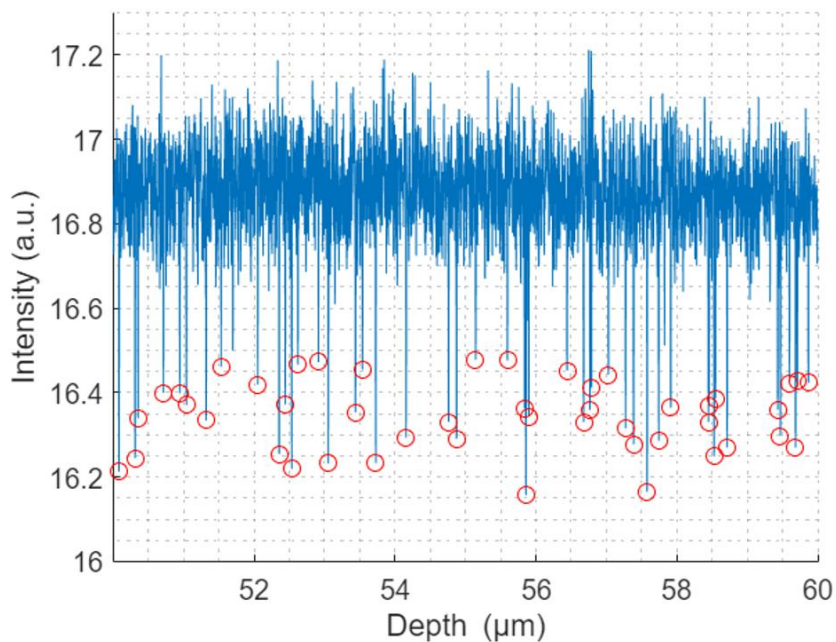


圖 5.3 奈米顆粒之背向散射光強度沿著縱向位置的變化，圖中的紅色圓圈代表散射光強度的極值(Extremum)。

觀察圖 5.3，可以發現背向散射光強度在一個平均值區間，此現象是水的散射造成。而在一些深度位置散射光強度出現局部極小值，以下以谷值(Valley value)稱之，這些谷值是由奈米顆粒造成的結果。推測可能的原因如下：由於本研究分析的是背向散射的干涉波包訊號，光源入射奈米顆粒時會有相位變化，此相位變化會使奈米顆粒的樣本端，與 Mirau 物鏡中的參考端的光存在相位差，因而造成干涉效率下降，干涉訊號減弱。

以下分析兩種濃度奈米顆粒溶液的背向散射紋理，進一步驗證上述。本研究藉由以下兩個參數，量化分析背向散射紋理的特徵。第一為谷值的平均間距。對於特定濃度的溶液，其谷值的間距應該與該濃度下相鄰奈米顆粒的間距相同，如同 4.1 小節以均勻分布模型估算之奈米顆粒間距。第二為谷值對應之光強度變化量分布，此分布會與樣品粒徑大小有關，因此相同奈米顆粒的兩種濃度的溶液，算得之光強度變化量分布理論上會很接近。並且 4.2 小節中提及，瑞利散射光強度與散射顆粒半徑成六次方正比，也就是說散射光強度的變化量會對散射顆粒尺寸很敏感。因此可以預期計算出的分布會比規格提供之粒徑分布還寬。

由於兩種參數皆與與谷值的界定有關，本研究將建立一套標準流程計算閾值(Threshold)，閾值以下的極值及為目標的谷值。並期望以此方法找出的谷值是由奈米顆粒造成，而非水的散射訊號中的雜訊。計算方法為：排除極端值後計算散射光強度的平均值 μ 以及標準差 σ ，並以平均值為中心向下平移三倍標準差的寬度即為閾值，預期谷值的分布位置會如同常態分布的極端值，在三倍標準差以外。如 Eq. (5.1)、Eq. (5.2)、圖 5.4 所示。

$$\mu = \frac{\sum I(z)}{n} \quad (5.1)$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (I(z) - \mu)^2}{n}} \quad (5.2)$$

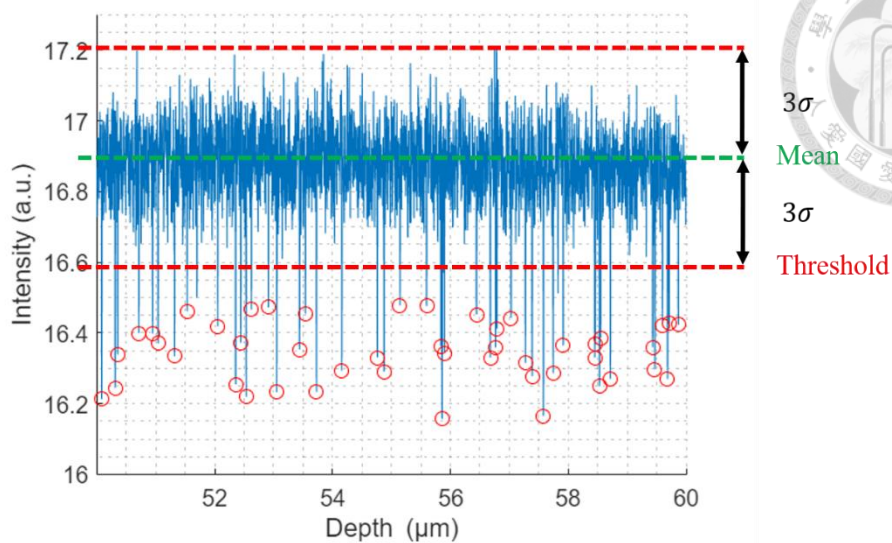


圖 5.4 奈米顆粒之背向散射光強度變化圖。圖中綠色虛線為背向散射光強度之平均值；下方紅色虛線為設定之閾值；黑色雙箭頭為光強度標準差的三倍；紅色圓圈標註閾值以下的谷值。

5.2 顆粒尺寸分布參數計算及其結果分析

找出目標谷值後即可計算谷值對應之光強度變化量 ΔI_i 分布。 ΔI_i 為第 i 個谷值對應之散射光強度變化量，計算如 Eq. (5.3) 所示，谷值對應之光強度扣除平均值後取絕對值。計算示意圖如圖 5.5 所示：

$$\Delta I_i = |I(z_i) - \mu| \quad (5.3)$$

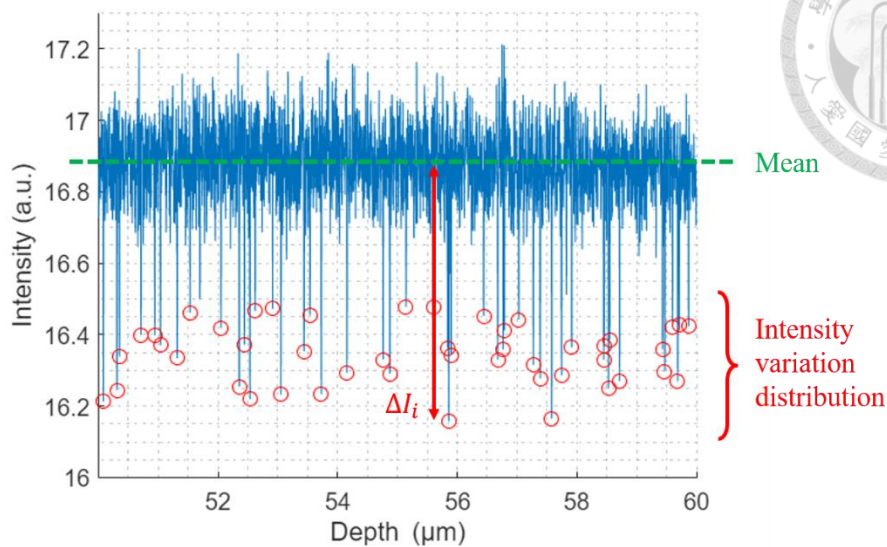


圖 5.5 為奈米顆粒之顆粒尺寸參數計算示意圖。垂直紅色雙箭頭標示第 i 個谷值之散射光強度變化量。

將 ΔI_i 依照強度變化程度統計，並將 ΔI_i 統計後的分布與規格提供之粒徑分布做比較。規格提供之粒徑分布參數為變異係數，變異係數的定義為統計數據之標準差 σ 除以期望值 μ 再乘以 100%，如 Eq. (5.4) 所示。本研究將 ΔI_i 的統計數據以高斯分布擬合，如 Eq. (5.5) 所示[26]，並將擬合之高斯函數的標準差，除以高斯函數的期望值，獲得量測之變異係數。其中 a 為常數。如圖 5.6 所示。圖 5.6 中的右圖，為光強度變化量的統計結果，圖中紅色曲線為擬合之高斯曲線。

$$CV = \frac{\sigma}{\mu} \times 100\% \quad (5.4)$$

$$f(\Delta I_i) = a \times e^{-\frac{(\Delta I_i - \mu)^2}{2\sigma^2}} \quad (5.5)$$

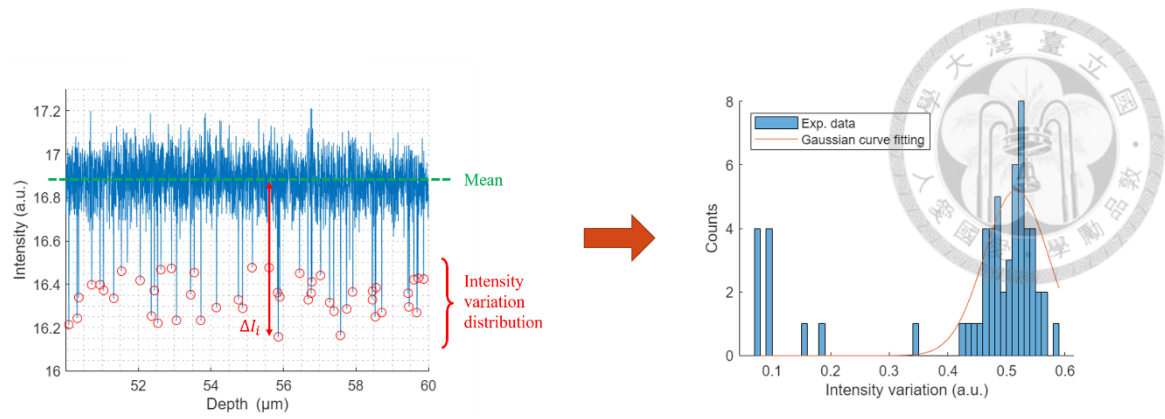


圖 5.6 左圖為奈米顆粒背向散射光強度圖；右圖為散射光強度變化量的分布圖，其中橫軸為散射光強度變化量 ΔI 、縱軸為對應之統計數量，紅線為擬合之高斯曲線。

變異係數可以代表谷值對應之光強度變化量分布情形，此分布情形應與溶液中的奈米顆粒粒徑分布情形有關。圖 5.7、圖 5.8 為分別為五組五分之一倍、十分之一倍之原始濃度的稀釋溶液的散射光強度圖。圖 5.9、圖 5.10 為分別為五組五分之一倍、十分之一倍之稀釋溶液的散射光強度變化量統計圖。

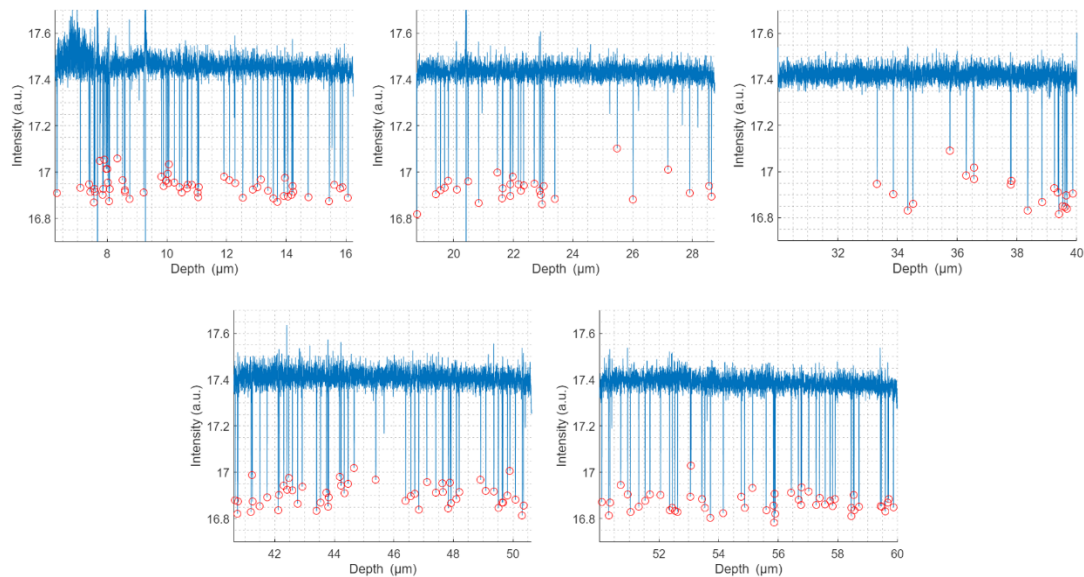


圖 5.7 五組原始濃度五分之一倍之稀釋溶液散射光強度圖

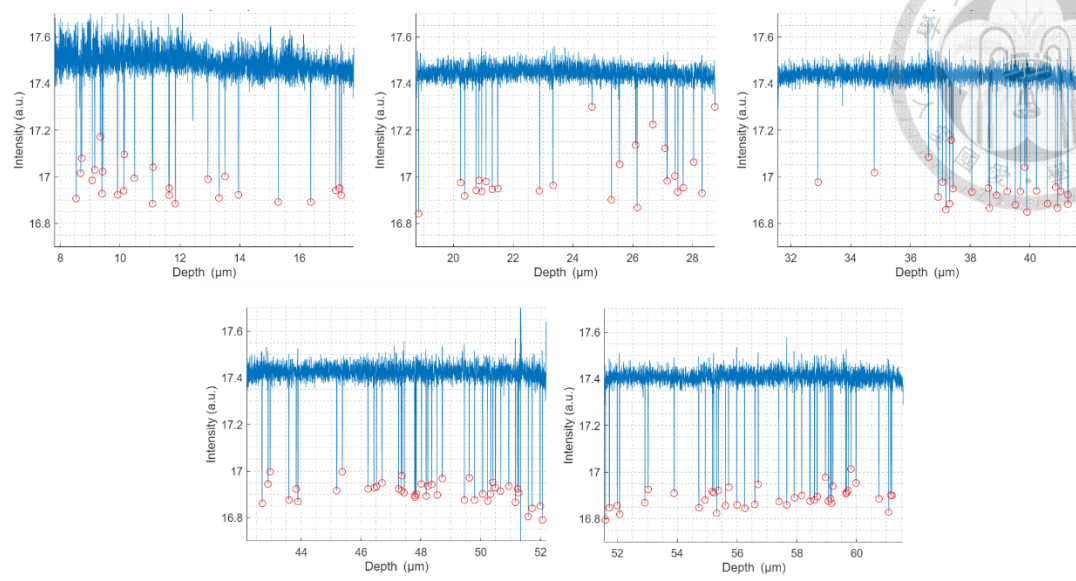


圖 5.8 五組原始濃度十分之一倍之稀釋溶液散射光強度圖

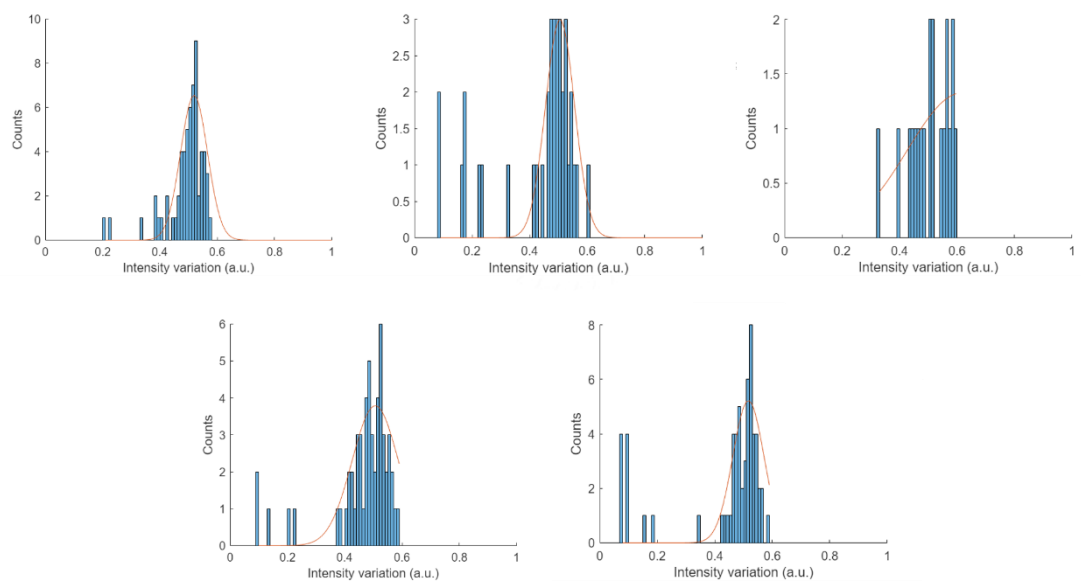


圖 5.9 五組原始濃度五分之一倍之稀釋溶液散射光強度變化量統計圖

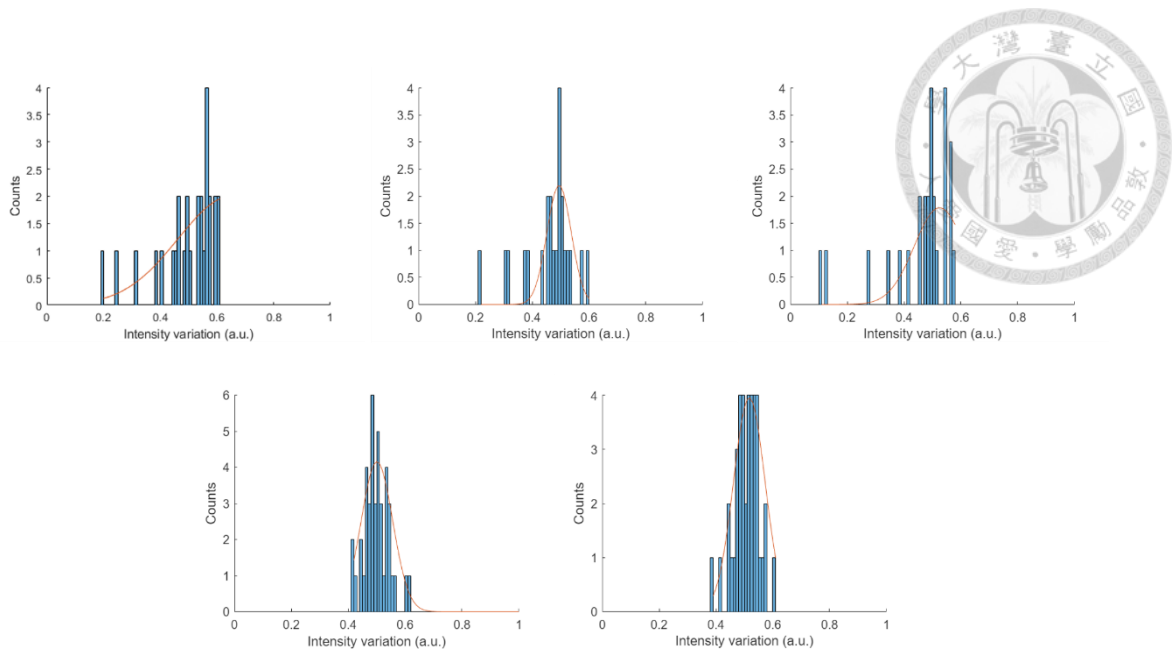


圖 5.10 五組原始濃度十分之一倍之稀釋溶液散射光強度變化量統計圖

表 5.1 整理了兩種濃度，各五組散射光強度變化量分布的變異係數，與其平均值；並列出規格提供之粒徑分布的變異係數與量測結果比較：

表 5.1 為兩種濃度各五組散射光強度變化量分布之變異係數及其平均值，與規格提供之粒徑分布的變異係數。

Dilution factor (n)	No.	CV for ΔI (%)	Mean CV for ΔI (%)	CV for Dia. (%)
5	1	9.04	15.24	8.65
	2	9.98		
	3	30.72		
	4	15.95		
	5	10.51		
10	1	29.36	15.34	
	2	8.63		
	3	16.88		
	4	11.05		
	5	10.78		

由表 5.2 發現，不同濃度量測得光強度變化量之變異係數並無存在顯著差異，說明散射光強度變化量分布，與奈米顆粒粒徑分布有關。因為此兩種濃度皆由相同規格

之奈米顆粒溶液配置而成，其量測之粒徑分布的平均值理論上會幾乎相同。而分布的量測值與規格提供之粒徑分布比較，發現量測得變異係數約為粒徑之變異係數的兩倍。此為量測方法造成的差異。規格提供之粒徑分布，為使用穿透式電子顯微鏡(Transmission electron microscopy, TEM)量測得結果；而本研究則為量測奈米顆粒之背向散射紋理，並統計光強度變化量分布。由瑞利散射可知，散射光強度對於顆粒尺寸十分敏感，因此背向散射訊號的量測結果，其分布會比粒徑分布範圍還要寬。而瑞利散射描述散射光強度正比於散射顆粒半徑的六次方，本實驗結果量測得變異係數僅為粒徑分布之變異係數的兩倍，推測可能的原因為：在分析背向散射光強度前，為了提升訊噪比而做了 XY 方向上的平均，訊噪比提升的同時不可避免的會將細緻的特徵平均掉。

5.3 顆粒間距計算及其結果分析

谷值間距 Δd_j 為第 j 個谷值間距，其為第 i 個谷值與第 $i + 1$ 個谷值對應之深度 z_{i+1} 以及 z_i 的間距，如 Eq. (5.6)、圖 5.11 所示：

$$\Delta d_j = z_{i+1} - z_i \quad (5.6)$$

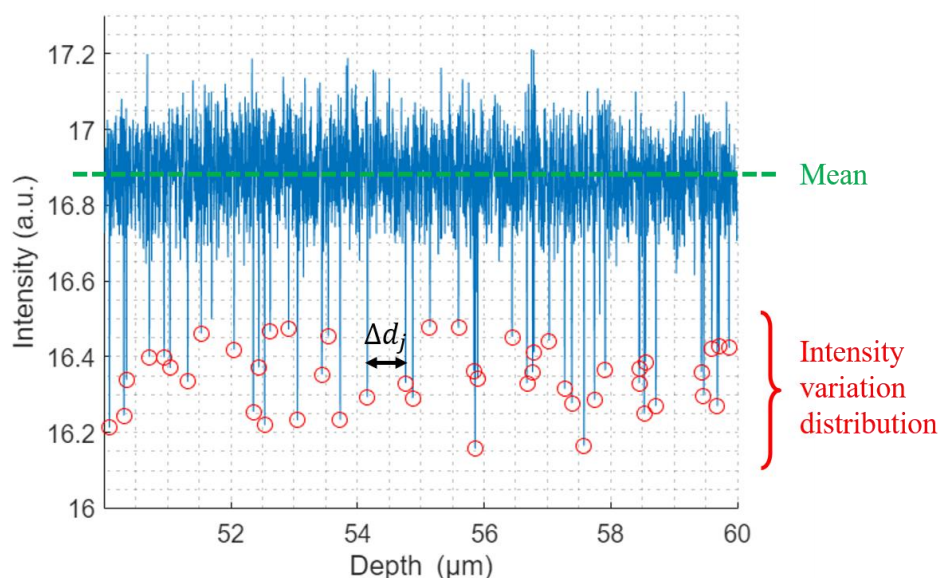


圖 5.11 為奈米顆粒之顆粒間距示意圖。水平黑色雙箭頭標示第 i 個與第 $i+1$ 個谷值之間距。

由於以不同面積在 XY 上作平均，算的谷值間距會有所差異，以下以表 5.2 呈現：

表 5.2 為平均面積與兩種濃度之稀釋溶液平均谷值間距的關係


Averaging size ($pixel^2$)	Mean Δd ($n = 5$)	Mean Δd ($n = 10$)
50 × 50	0.59	0.72
60 × 60	0.45	0.61
70 × 70	0.36	0.50
80 × 80	0.32	0.44
90 × 90	0.31	0.44
100 × 100	0.28	0.35
648 × 488	0.24	0.31

由表 5.2 可看出 XY 上平均面積越大，統計的谷值間距越小。此說明平均面積變大時，三維訊號經二維面積平均後沿著深度的背向散射光強度谷值越多，可以想像隨機分布在空間中的奈米顆粒，越多被投影在此一維被向散射光強度中。本研究在期望平均面積越小越好以及訊噪比權衡取捨下，最後以 50 × 50 ($pixel^2$) 的平均面積計算平均谷值間距，並以表 5.3 呈現。表 5.3 整理了兩種濃度的平均谷值間距，與該濃度下的奈米顆粒間距做比較：

表 5.3 與兩種濃度之稀釋溶液平均谷值間距與該濃度估算之奈米顆粒間距比較

Dilution factor (n)	Mean valleys' distance (μm)	Estimated particles' distance (μm)	Error (%)
5	0.59	0.85	30.1
10	0.72	1.07	32.7

由表 5.3 得知，奈米顆粒溶液濃度越高，顆粒間距越小，平均谷值間距也越小。而



兩濃度之谷值間距，皆比估算之奈米顆粒間距還小，可能的原因有二：一是 50×50 ($pixel^2$) 的平均面積對於一維奈米顆粒間距的估算來說還是稍大；二是奈米顆粒空間上分布不均導致。原因一在表 5.2 的分析中已提及，若以更小的平均面積計算，訊噪比不夠高會導致閾值界定的困難，難以區分谷值與雜訊。而原因二，回顧 4.1 小節中的估算，是以奈米顆粒在空間中均勻分布為前提，然而現實中奈米顆粒不可能完全均勻分布，因為重力的關係，縱向上奈米顆粒的分布應該越靠近地面的位置越密集。而本實驗系統為直立式量測，由靠近地面的深度位置沿著遠離地面的方向進行縱向掃描，掃描深度為 $404 \mu m$ 。而樣品載台的厚度為 $1 mm$ ，以本實驗掃描之深度來看，取樣範圍較集中於樣品載台的底部，因此量測得間距會比理論估算之間距還要小。

第六章、 研究結論與未來展望



6.1 研究結論

本米繞式 FF-OCT 系統使用自製之摻鉍釷鋁石榴石晶體光纖寬頻光源，光源中心波長 560 nm 頻寬 99 nm，於空氣中的橫向與縱向解析度分別為 1 μm 及 1.2 μm 。本系統之高解析度的優勢，使得量測訊號能保留較高頻之空間頻率資訊，也就是較微小尺寸的特徵。本研究目的為驗證本系統偵測奈米等級尺寸之樣品的能力，有鑑於生物奈米粒子的尺寸範圍在數奈米至數百奈米之間，故以量測直徑約為 100 nm 之二氧化矽顆粒並分析其尺寸資訊驗證之。

本研究設計先以量測背向散射訊號較強之金屬標準粗糙度測試板，測試本系統之絕對定位精準度是否能夠達到 100 nm 的尺度。本研究量測測試板最小的兩個粗糙度，也就是 100 nm 及 50 nm，其量測之結果誤差分別為 1.4% 及 20%，說明本系統至少能夠達到 50 nm 之絕對定位精準度。

接著量測兩種濃度之 100 nm 奈米顆粒水溶液，分析其背向散射紋理，並藉由兩參數：粒徑分布與相鄰顆粒間距，說明本系統得以做出 100 nm 之奈米顆粒尺寸分析。根據瑞利散射敘述之散射光強度對顆粒尺寸敏感的特性，本研究以散射光強度變化量的分布，統計量測得奈米顆粒粒徑分布。量測得粒徑分布範圍為規格的兩倍，若以瑞利散射的散射光強度公式來看，散射光強度與散射顆粒半徑成六次方正比關係，但量測結果僅為規格之兩倍，比瑞利散射預期的分布還要窄。此現象為訊號處理時為了提升訊噪比做了 XY 上平均的結果。而相鄰奈米間距，兩種濃度以均勻模型估算之間距分別為 0.85 μm 以及 1.07 μm ；量測間距則為 0.59 μm 以及 0.72 μm ，誤差分別為 30.1% 及 32.7%。此誤差說明奈米顆粒在水溶液中分布不均，靠近容器底部的位置分布較密，因此量測得間距較小。並且兩種濃度的誤差值接近，說

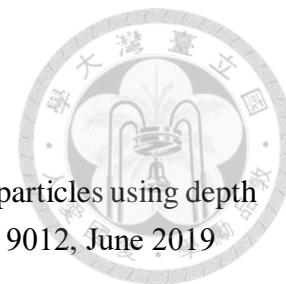
明此 100 nm 二氧化矽奈米顆粒分布不均的情形在不同濃度具有一致性，驗證本實驗架構及分析方法的穩定性及可重複性。



6.2 未來展望

根據本研究的結果證實，本實驗系統米繞式 FF-OCT 能夠以非侵入式的光學量測方法，做出奈米等級的表面粗糙度量測以及奈米顆粒尺寸分析。以下探討未來可以改善以及應用的地方。本系統之量測方法為以 0.81 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 的做深度掃描，未來可以透過降低掃描速度，使得單位厚度的量測時間增加的方式提升訊噪比，使本系統能夠達到更精細尺寸之量測。而本系統未來能夠結合不同的光學量測以實現多模態性(multimodality)。FF-OCT 因其為非侵入式、毋須標定且相對快速的量測手段，於生醫領域之活體(*in vivo*)量測有重要的貢獻。而本實驗系統驗證其對於奈米尺寸顆粒之定位能力，若能結合拉曼光譜量測獲取分子等級的資訊，未來在活體掃描的應用，如第一章提及之病毒量診斷、藥物追蹤，或是外泌體的偵測等，將能夠有所進展。

參考文獻



- [1] U. Aygun, H. Urey, A.Y. Ozkumur, “Label-free detection of nanoparticles using depth scanning correlation interferometric microscopy,” *Scientific reports*, 9012, June 2019
- [2] S. Stanley, “Biological nanoparticles and their influence on organisms,” *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 28, 69–74, August 2014
- [3] M. Cretich, G. G. Daaboul, L. Sola, M. S. Unlu, M. Chiari “Digital detection of biomarkers assisted by nanoparticles: Application to diagnostics,” *Trends Biotechnol.* 33, 343–351, 2015
- [4] W. H. De Jong, P. J. A. Borm, “Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards,” *Int. J. Nanomedicine* 3, 133–49, 2008
- [5] P. R. Srinivas, B. S. Kramer, S. Srivastava, “Trends in biomarker research for cancer detection,” *Lancet Oncol.* 2, 698–704, 2001
- [6] D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito, and J. G. Fujimoto, “Optical coherence tomography,” *Science*, 254, 1178, 1991
- [7] G. S. Kino and S. S. C. Chim, “Mirau correlation microscope,” *Applied Optics*, Vol. 29, Issue 26, pp. 3775-3783, 1990
- [8] A. Tarkiainen, M. Liljeström, M. Seppä, R. Salmelin, “The 3D topography of MEG source localization accuracy: effects of conductor model and noise,” *Clinical Neurophysiology*, Vol. 114, Issue 10, pp. 1977-1992, October 2003
- [9] W. Drexler and J. G. Fujimoto, “Optical Coherence Tomography: Technology and Applications,” 2nd Edition, Springer Inc., 2015.
- [10] M. V. Klein and T. E. Furtak, *Optics*. Wiley New York, 1990.
- [11] Y. Dong, G. Zhou, X. Jun *et al.*, “Luminescence studies of Ce:YAG using vacuum ultraviolet synchrotron radiation,” *Materials Research Bulletin*, vol. 41, no. 10, pp. 1959-1963, 2006.
- [12] C. You, “Analysis of Image and Spectrum Properties on Skin Cells by Mirau-based Full-field Optical Coherence Tomography Combined with Near-Infrared Raman Spectroscopy,” National Taiwan University, 2018.
- [13] “The Rayleigh Criterion.” [Online]. Available:



<http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/phyopt/Raylei.html>

[14] A. Dubois, L. Vabre, A. C. Boccara *et al.*, “High-resolution full-field optical coherence tomography with a Linnik microscope,” *Applied Optics*, vol. 41, no. 4, pp. 805-812, 2002.

[15] E. Hecht, “*Optics*,” 5th Edition, Pearson Inc., 2016.

[16] Hahn Stefan L., *Hilbert transforms in signal processing*, Artech House, Inc., Boston, 1996.

[17] S. L. Hahn, “*Hilbert transforms in signal processing*,” Artech House, Inc., Boston, 1996.

[18] Nanocomposix, “100 nm Non-Functionalized NanoXact™ Silica.” [Online]. Available:

<https://tools.nanocomposix.com:48/cdn/coa/Silica/Silica-100nm-JEA0234.pdf?1231653>

[19] Nanocomposix, “NanoXact Silica Nanospheres.” [Online]. Available:

https://nanocomposix.com/products/nanoxact-silica-nanospheres?_pos=3&_sid=f0067c6ff&_ss=r&variant=15906838544473

[20] M.F. Modest, “*Radiative Heat Transfer*,” 1993, New York: Mc Graw Hill.

[21] Z. Ye, “Measurements of Particle Size Distribution Based

on Mie Scattering Theory and Markov Chain Inversion Algorithm,” *Journal of software*, vol. 7, no. 10, October 2012

[22] 中央研究院, “米氏散射.” [Online]. Available:

<https://idv.sinica.edu.tw/cytseng/lecture/Miescattering/Mie.pdf>

[23] Wikipedia, “Mie scattering.” [Online]. Available:

https://en.wikipedia.org/wiki/Mie_scattering

[24] Wikipedia, “Rayleigh scattering.” [Online]. Available:

https://en.wikipedia.org/wiki/Rayleigh_scattering

[25] J.H. Seinfeld and S.N. Pandis “*Atmospheric Chemistry and Physics*,” 2nd Edition, John Wiley and Sons, New Jersey, Chapter 15.1.1, 2006

[26] Wikipedia, “Gaussian function.” [Online]. Available:

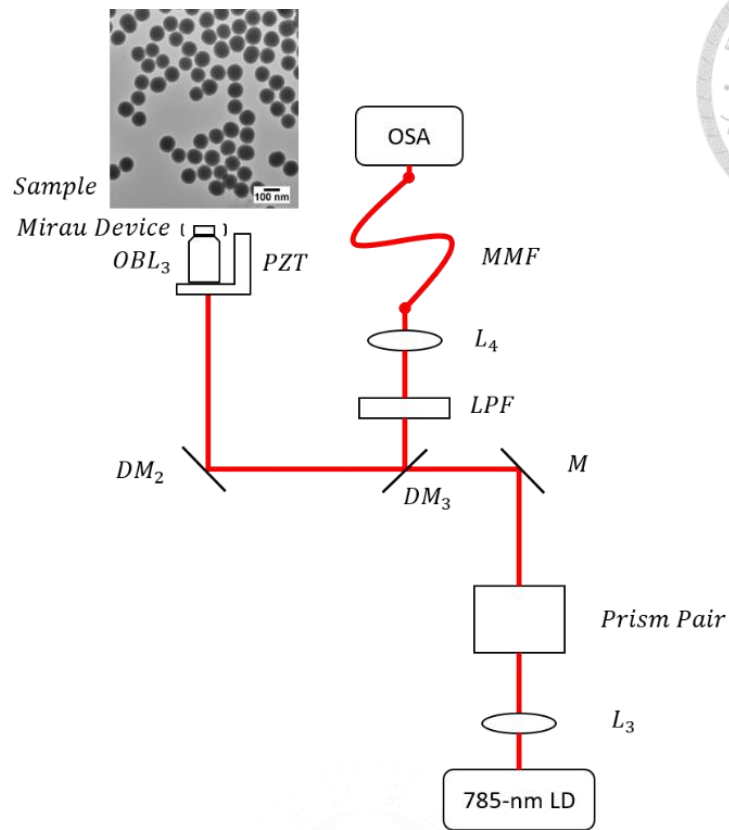
https://en.wikipedia.org/wiki/Gaussian_function



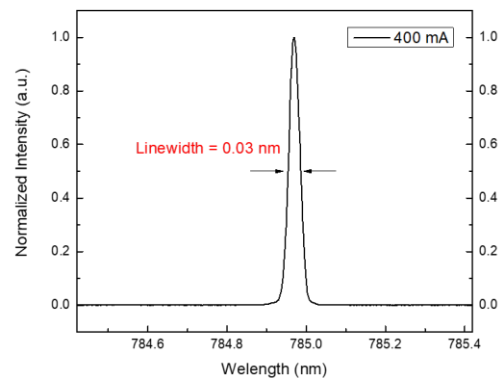
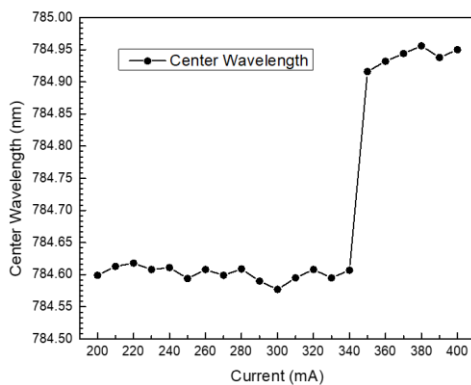
附錄一 近紅外光拉曼系統

拉曼散射(Raman scattering)為非彈性散射的一種，光子與待測樣品進行非彈性碰撞，進而造成散射光的能量變化。此能量變化量會對應到特定的分子鍵結，因此藉由量測拉曼散射光譜，可以獲期待測樣品分子級的資訊。結合 FF-OCT 以及近紅外光拉曼系統，將能透過量測得背向散射紋理以及拉曼散射頻譜獲取奈米顆粒的尺寸以及結構資訊。

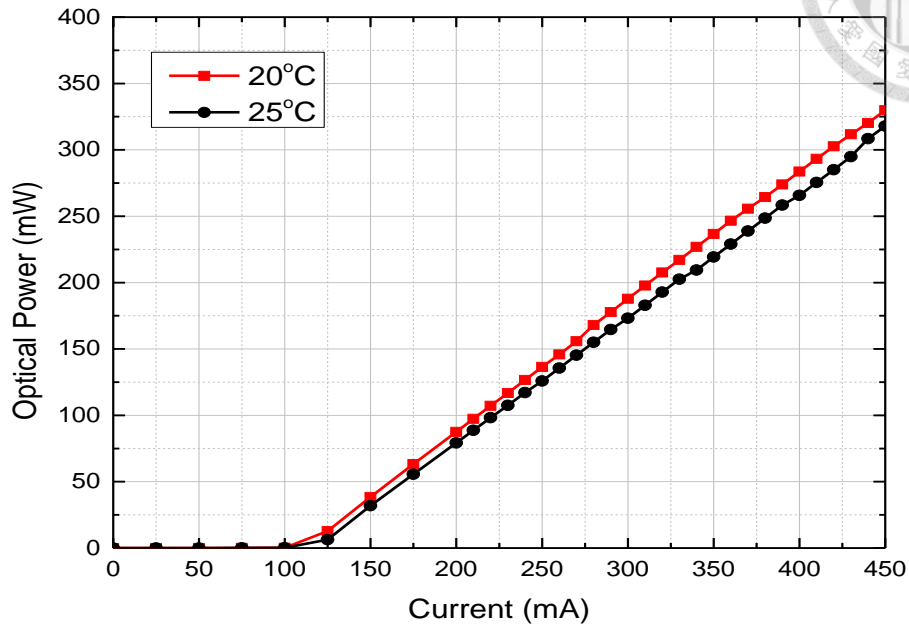
下圖為近紅外光拉曼系統之架構圖。窄線寬之雷射二極體(Laser diode, LD785-SEV300, Thorlabs)當作光源，通過準直透鏡 L_3 後進入一稜鏡組 *Prism pair*，此稜鏡組會將雷射二極體之橢圓光斑修正為正圓光斑。並通過波長選擇的分光鏡 DM_3 (DMSP805, Thorlabs) 穿透，以及 DM_2 (DMSP650R, Thorlabs) 反射入射 Mirau 物鏡並聚焦於樣本上。 DM_2 存在之必要建立於結合 FF-OCT 系統的前提下。 DM_2 放置目的在於使得 FF-OCT 的光源以及其背向散射的干涉訊號皆能穿透。從樣本背向散射回物鏡的拉曼光，通過 DM_2 以及 DM_3 反射後再通過 *LPF* (Long pass filter, LP02-785RS-25, Semrock)，進一步濾掉殘存之泵浦光以及背向散射之瑞利散射光，並進入耦光透鏡 L_4 耦光進多模光纖 *MMF* 輸入頻譜分析儀(Optical spectrum analyzer, WP785, Wasatch Photonics)分析拉曼光譜。此頻譜分析儀解析度為 6 cm^{-1} ，收取波長範圍為 802 ~ 932 nm。



拉曼散射光譜需要精準得知激發光源之波長，故此雷射二極體由頻譜分析儀 (Optical spectrum analyzer, MS9740A, Anritsu) 量測其中心波長以及線寬。下圖為量測得雷射二極體頻譜圖。左圖為量測不同驅動電流值對應之輸出中心波長；右圖為在 400 mA 的驅動電流下所量測得中心波長以及線寬，中心波長為 784.95 nm，線寬為 0.03 nm。



下圖為雷射二極體分別在室溫 20°C 及 25°C 量測得輸出功率圖。



拉曼頻譜訊號處理方法依序為：利用分段式多項式擬合法擬合出螢光訊號並加以扣除；接著利用線性映射(mapping)拆解出來自 Mirau 物鏡的拉曼訊號之線性組合並還原原始頻譜，最後便可分析出來自樣本的拉曼訊號。