

目錄

一、中文摘要.....	3
ABSTRACT	5
二、緣由與目的.....	6
三、研究方法.....	9
3.1 生物快速檢驗試劑之視覺化檢測系統.....	9
3.2 陣列式生物晶片之晶片探針固著影像分析.....	25
3.3 晶探針固著影像分析片.....	28
3.3.1 Experimental Results and Discussions.....	29
3.4 DMD 機器視覺化 3D 特性量測系統.....	34
3.4.1 線段投影法之高度計算方式.....	35
3.5 微流體生物碟片之研究.....	37
3.6 控制電路.....	41
3.6.1 電源電路.....	41
3.6.2 閃頻器控制電路.....	42
3.6.3 伺服馬達轉速控制電路.....	44
3.7 硬體架構.....	46
3.8 實驗數據與研究成果.....	50
3.8.1 實驗數據.....	50
四、結果與討論.....	55
五、計畫成果自評.....	57
六、參考文獻.....	58
可供推廣之研發成果資料表.....	60

一、中文摘要

本研究計畫著重在應用於微光機電系統結構之視覺化檢測設計與應用之開發，強調產學合作、創新與實務並重，計畫中將推導設計許多視覺化檢測功能模組，並將其應用在光碟型生物晶片之快速檢驗視覺化檢測系統之視覺化檢測系統與光碟式微流體生物晶片之加工檢測、數位微鏡面器件(DMD)微光機電結構機器視覺化三維(3D)特性量測系統裝置上。在生物晶片與 DMD 微光機電結構 3D 特性量測這兩項應用主軸裡，可驗證本計畫之成果，茲說明如下：

第一應用場合為光碟型生物晶片之快速檢驗視覺化檢測系統之視覺化檢測系統與光碟式微流體生物晶片之加工檢測。在光碟型生物晶片之快速檢驗視覺化檢測系統之視覺化檢測系統，採用百萬畫素之 USB 2.0 PC Camera 取像，有效抑制雜訊，而不會產生誤判。此外，在光碟式微流體生物晶片雷射加工檢測的部分，評估不同之雷射加工參數對於表面品質之影響，未來將使用 AFM 取得表面相關之數據。

第二應用場合為 DMD 微光機電結構機器視覺化 3D 特性量測系統裝置。利用 DMD 元件進行 3D 量測，配合光源、透鏡組、偏光分光鏡、DMD 等件，組合成比傳統機器視覺 3D 量測更精密的 3D 特性檢測系統。

在這兩項應用場合裡，同樣使用視覺化檢測影像處理技術，同樣有許多業界的支援與協力合作，也同樣要用到光學設計技術來優化視覺化檢測設備的光學佈置，另外，DMD 機器視覺化 3D 特性量測系統可以自動評估本計畫所設計及製造之生物晶片結構，使其製程更為可靠，由這些可看出整體計畫充分的整合性。

本研究計畫為期三年，在第一年中，將開發出微光機電結構視覺化檢測功能軟體模組。在應用方面，一為完成生物晶片之檢測設備架構雛型模擬，二為進行光碟式微流體生物晶片之加工表面自動化評估作業，三為完成 DMD 微光機電結構之光學佈置模擬與理論推導。

第二年，將所開發出之視覺化檢測功能系統，致力於既有的視覺檢測裝置改良。在應用方面，一為架設生物晶片之檢測設備，整合脈衝光源、顯微鏡頭、伺服馬達之架構與控制器，二為光碟式微流體生物晶片之雷射加工參數之修正工作與資料庫建立，三為完成 DMD 之 3D 機器視覺化特性量測系統架構雛型，除了利用金屬中心微光機電視覺檢測系統進行測試外，並嘗試在逢甲大學自控系組裝簡易型之 DMD 微光機電結構機器視覺特性量測系統之微鏡片結構之 3D 檢測裝置。

第三年，以加強檢測系統穩定性為訴求。在應用方面，一為完成生物晶片檢測設備之光學設計優化，再則為加強光碟式微流體生物晶片之加工之穩定性，三為生物晶片之檢測之實施與程式改良，續則加強 DMD 微光機電結構 3D 檢測之各種問題解決方案之視覺化專家系統，並作系統校正與檢驗數據比較分析，在此也提出專利申請一至四篇。

關鍵詞：微光機電系統,視覺化檢測, 光碟型生物晶片,數位微鏡面器件

ABSTRACT

In this project we assisted an automatic system for computerizing visual measurement the MOEMS (Micro-Opto- Electro-Mechanical- Systems). This proposal consisted of the following topics:

The first year: In the bio-disc system, an algorithm is derived from a combination of least squares approximation to discrete data and error evaluation of a light field. The system also provided the desired functions of a bio-disc in laser etching process. We created the ability of high speed 3D quantitative imaging techniques.

The second year: We evaluated such bio-disc characteristics as scanning speed and classification as well as measured experimentally the resolution and compare it with the results obtained by conventional probing methods. We also developed a new 3D microscope technology by using a DMD (Digital Micro mirror Device) in the measurements of 3D profilometers for depth section image and surface structures.

The third year: Investigating the improvement of the reliability of interconnection system and developing the high-speed measurement technology for the DMD confocal microscope profilometer.

The project created research atmosphere in the Feng Chia University in accordance with mid-term development of the university. In addition, the project had promoted the research capabilities and construct the foundation of the industry for the MOEMS. We believe this work can significantly help researchers working in Micro-Opto-Electro- Mechanical- Systems fabrication.

Keyword: machine vision inspection system, MOEMS, Micro-Opto-Electro-Mechanical- Systems, bio-disc, digital micromirror device, DMD

二、緣由與目的

我國過去 20 多年半導體的蓬勃發展，建立了相當紮實的半導體設計、模擬、製程、及封裝測試之經驗與技術，因此往後發展微機電系統應該有很大的優勢。工研院綜合產官學專家意見，歸納出『輕、薄、短、小、成本低』是近代電子產品發展的趨勢，許多電子產品由於電子硬體，電腦、微處理機的大幅進步，而以驚人的變革速度在更新它們的面貌，微機電系統產品將會具有非常大的發展潛力，例如噴墨印表頭、微光學讀取頭、微冷卻器、基因晶片、微晶片連接器、微質流控制器、電子鼻、血糖劑、光纖連接器、DNA 探針、微生物分析儀等。目前國科會已在北、中、南成立三個「微機電技術中心」，而工研院每年投入兩億元經費研發微機電技術，中科院執行軍民通用計畫經費每年六千萬，民間陸續在微機電產業挹注新的投資，各領域的人才也相繼投身於微機電產業[6]，相信我國在發展半導體及光電產業開花結果之後，微機電系統必能再創一個新興的領域，並提昇現有之競爭力，而使台灣於全球高科技產業界取得一席之地。

微光機電(Micro-Opto-Electro-Mechanical- Systems)技術包括元件光罩設計、元件製程、光學設計及模組光電封裝技術。微光機電系統是新型封裝器件的重要技術之一，微光機電系統產品的複雜程度較微機電系統(MEMS)更高，將晶片置於密閉的封裝內，以防止敏感的光學器件受到外界光線影響，但是必須留出一條光通道，並在需要在封裝內設計一個導光蓋，大多採用陶瓷或金屬以確保良好的密封性能。化學晶片是實現晶片實驗室 (Lab-on-a-chip, LOC)的機電元件，可以說是將一化學實驗室完整的濃縮在一晶片，晶片本身即具備有樣品前處理、分離、偵測等功能，可望成為未來生化與醫療科技的主流。生物晶片(Biochip)可用以執行環境檢測、新藥開發、醫療檢驗、食品檢驗、基礎研究、軍事防禦、化學合成等用途。生物晶片包括去氧核糖核苷酸晶片(DNA chip)，蛋白晶片(Protein chip)，以及基因晶片(GeneChip, DNA microarray 以 DNA 所構成的高密度陣列)等。又可分為微流體（處理型晶片）、微陣列（基因晶片）兩大類。

生物晶片運用生化反應、分子生物學、分析化學等原理，以矽晶片、玻璃或是塑膠為基材，其特點是其分析結果具有很高的精確度，只使用少量的樣品及試劑，就可快速的獲得整體大量的檢驗數據。

1. 生物晶片

隨著生化科技的發展以及人類基因解碼，生物晶片正式進入我們的生活。所謂的生物晶片，是一種微型裝置，科學家利用極精密的技術，根據不同需求，把大量特定生物材料有次序的放置在一片非常微小，用紙、玻璃、矽或其他化學合成物製造的載體上，可用於各種生化實驗檢測。其應用領域極廣，包括新藥開發、血液與疾病檢測、警檢法醫鑑定、環境監測、工業食品檢驗等。然而，生物晶片最常運用在疾病了解，因為人類百分之六十以上的疾病和基因缺陷或異常有關，透過瞭解基因功能有助於了解疾病機制，找出預防或治療的方法。因此，透過抽血、分離、擊破、萃取、篩選與放大等一連串複雜

過程，從生物疾病帶原體中取得基因或蛋白質，再以這些基因或蛋白質為生物材料做成生物晶片(模擬病原體)，醫療人員便可以用這些具有模擬病原體的生物晶片進行檢測。在生物晶片檢驗方面，為便於觀察檢驗結果，生物晶片製造過程中必須在有問題的基因或蛋白質體上標記螢光劑，在檢驗過程中只要把檢驗的樣本，例如尿液或血液滴在晶片上，如果發生螢光反應，就表示檢驗樣本中的基因含有和晶片上類似的病原體，醫療人員就可以根據晶片上的反應判斷症狀。此外，隨著生物科技的發展，許多生化快速檢驗試劑之視覺化檢測系統日趨重要。在 C 型肝炎之檢驗方面，一般 C 型肝炎感染約有 70 天的空窗期，在這段期間內，以傳統的抗原-抗體檢驗方法，並無法從血液中檢出肝炎抗原。由於生化快速檢驗試劑的靈敏度遠高於傳統檢驗方式，因此可以克服此困難。另外，肝炎患者於治癒後，血液中仍含有肝炎的抗原-抗體，傳統之檢驗方法亦無法檢測出來，故生化快速檢驗試劑具有快速、高靈敏度等優點。無論是生物晶片、快速檢驗試劑或 DNA 陣列等，生化反應常利用螢光或顏色排列、組合等，配合醫學資料庫辨識檢測結果，來表示其反應之結果，故可以使用機器視覺系統辨識顏色之排列並辨識檢驗結果。

將生物晶片與機器視覺技術結合，可以形成新型態的快速檢測裝置，微化學影像可檢查每個 Pixel 的化學成分、大小、分子/聚合物特性、穩定性、型態，及反應後之反應狀態。檢定生物組織內化學成分、細胞成份分析、生物分子鑑定檢視細胞內蛋白質、核糖核酸、及其他組成的位置、濃度檢測壞細胞；觀察細胞組織與藥物間的反應。

至於光碟式微流體生物晶片之檢測系統，全血分離為血球與血清，經過微流道作生化反應試驗，反應結果將顯示在檢驗區中。

2. DMD

數位微鏡面器件(DMD, digital micromirror device)是當前最複雜的商業化 MOEMS 產品。近年來，科學家提出了幾種光交換器概念，其中大部份都採用移動微鏡陣列實現，微鏡陣列可作為單軸“通斷”開關也可用作雙軸任意方向光束重定向。這種陣列有很多種設計方案，其中大家比較熟知的是德州儀器公司(TI)的 DMD(數位微鏡器件)系統，該系統有很多微鏡模組元件和可移動元件，結構也是世界上最複雜的。這種高密度裝置裏面包含了幾百萬個移動元件，採用先進的半導體製程設計製作，其高精密複雜結構表明目前的製程已發展到了一個新的高度。

我國過去 20 多年半導體的蓬勃發展，建立了相當紮實的半導體設計、模擬、製程、及封裝測試之經驗與技術，因此往後發展微機電系統應該有很大的優勢。『輕、薄、短、小、成本低』是近代電子產品發展的趨勢，許多電子產品由於電子硬體，電腦、微處理機的大幅進步，而以驚人的變革速度在更新它們的面貌，而微光機電系統產品將會具有非常大的發展潛力，例如噴墨印表頭、微光學讀取頭、數位微鏡元件、基因晶片、光纖連接器、微生物分析儀等。微光機電系統是未來的明星產業，可使台灣於全球高科技產業界取得另一片天空。

本研究計畫著重在應用於微光機電之視覺化光場檢測系統之開發，強調產學合作、創新與實務並重，計畫中將推導設計微光機電視覺化光場檢測功能模組，並將其應用在光碟型生物晶片光場檢測、生物碟片之加工視覺化檢測系統、數位微鏡元件之光場 3D 檢測上。在光碟型生物晶片與數位微鏡元件這兩項應用主軸裡，將可驗證本計畫之成果，茲說明如下：

第一應用場合：光碟型生物晶片

肝炎患者於治癒後，血液中仍含有肝炎的抗原-抗體，傳統之檢驗方法無法檢測出來，在光碟型生物晶片之檢驗方面，由於生化快速檢驗生物晶片的靈敏度遠高於傳統檢驗方式，因此可以正確檢出，故生化快速檢驗生物晶片具有快速、高靈敏度等優點。隨著生物科技的發展，許多生化快速檢驗之視覺化檢測系統日趨重要。本研究將完成光碟型生物晶片之快速檢驗視覺化檢測系統與光碟式微流體生物碟片之加工視覺化檢測系統。

數位信號處理技術中機器視覺識別系統已經在許多工廠、醫院及家庭自動化量測方面扮演著重要的角色，機器視覺系統是一項集光學、電子、機械及材料技術整合的科技，它的應用層面包羅萬象，在一切要求自動化的前提下，在許多非接觸性的自動化檢測工作都可利用這些數位信號處理系統來完成，它也是最經濟有效的方式，很明顯地機器視覺或視覺自動化檢測系統將取代人工作業，有助於對光碟式生物晶片試驗後的檢測作業。

第二應用場合：數位微鏡元件之光場 3D 檢測

另外在數位微鏡元件方面，本計畫提出了一組微光機電結構 3D 機器視覺特性量測系統，搭配機器視覺的高精密及高準確性特性，協助 3D 機器視覺量測的提升。本計畫中數位微鏡元件 3D 之視覺檢測，利用數位微鏡元件之硬體裝置，以視窗化顯示量測項目及結果，以進行 3D 結構檢測及設計之修正工作，提高檢測速度，並降低線上檢測之誤差(誤差在 1%以內)，達成更高效率且更正確的最佳設計，為開發的主要目的。為實際瞭解光源的行經路徑與強度分配，以便於設計所需之微鏡片結構之圖形樣式。

本生物晶片及微鏡片結構 3D 技術之視覺檢測裝置之實際用途是：

- 利用電腦分析提供測試資訊，提高校正、診斷的功能。
- 提升國內產業在微光機電領域之技術能力
- 各機器視覺控制微光機電組件，完成模組細小化的工作。
- 提升用於 3D 檢測的微鏡片結構系統之功能。
- 未利用統計分析提供測試資訊及管理記錄建立專家系統，以進而提高校正、診斷的功能。

三、研究方法

3.1 生物快速檢驗試劑之視覺化檢測系統

隨著生物科技的發展，許多生物快速檢驗試劑之視覺化檢測系統日趨重要。C 型肝炎是一種由 Hepatitis C Virus (HCV) 而引起的肝臟炎症。C 型肝炎的傳染途徑主要是受 HCV 感染的血液及體液經由皮膚或黏膜進入體內，最後進入血液。HCV 感染會引起慢性肝炎。通常此種慢性肝炎無明顯症狀，通常從固定的健檢中發現。C 型肝炎會引起肝臟的嚴重併發症，於感染 15-20 年後患者常因嚴重之肝硬化或肝細胞癌而死亡。患者於感染 HCV 後體內會產生 Anti-HCV 抗體來對抗入侵之 HCV，而 Anti-HCV 抗體即是生物試劑自動檢測系統之主要偵測標的。

本生物試劑自動檢測系統所採用之試劑應用免疫分析檢驗技術及層析原理，將 HCV 之重組蛋白 (NS3、NS4、NS5、core protein) 固定在 Test Line 位置，並以 Protein G 結合膠體金作為試劑紙呈色劑，主要檢測檢體內之 Anti-HCV 抗體 (IgG、IgM、IgA)，作為快速並正確判斷人體血液是否有受 HCV 感染，以幫助個人及醫師做早期的診斷。此外，在 HCV 試劑檢測結果有三種情形：

1. 陽性反應 (Positive)：

當測試結果為 Control Line 區出現色帶，且同時 T 區亦同時或各自出現色帶時，表示受測者血清中帶有 Anti-HCV 之抗體。色帶顏色之深淺可代表血清中抗體效價 (titer) 之高低。

2. 陰性反應 (Negative)：

當測試結果為僅 Control Line 區出現色帶時，表示受測者血清中不含 Anti-HCV 之抗體。

3. 無反應 (Invalid)：

如果測試結果未出現任何色帶或是 Control Line 區未出現色帶，此時表示此試劑已失效、過期，或操作不當，需另做一次測試。

檢體形式採用血清或血漿，在抽血後經離心處理即可馬上進行測試。如需暫時儲存，須置於 2-8°C。如需長期儲存則須置於 -20°C。圖 3-1 所示為生物試劑樣本外觀圖，圖

3-2 生物試劑呈色紙之構造，圖 3-3 所示為榮睿生物科技公司所研發之生物快速檢驗試劑構造圖。

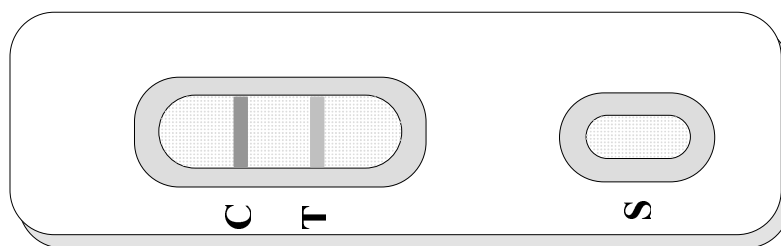


圖 3-1 生物試劑樣本外觀圖

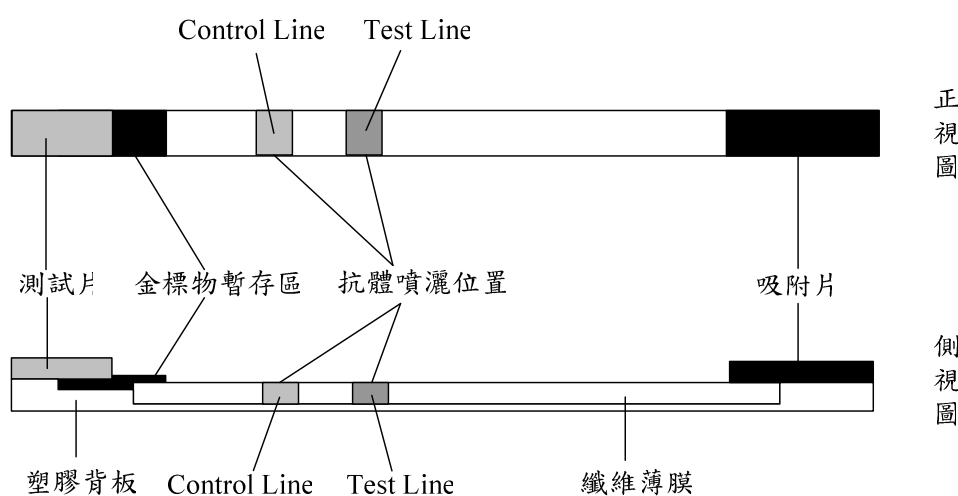


圖 3-2 生物試劑呈色紙之構造



圖 3-3 榮睿生物科技公司發展之快速檢驗試劑

一、生物試劑檢測系統之演算法則

為了能正確快速辨識生化反應之結果，本文提出一自動化視覺檢測法則，流程如下：其中如圖 3-4 為辨識 C 型肝炎快速檢驗試劑影像中各檢測區域之示意圖。

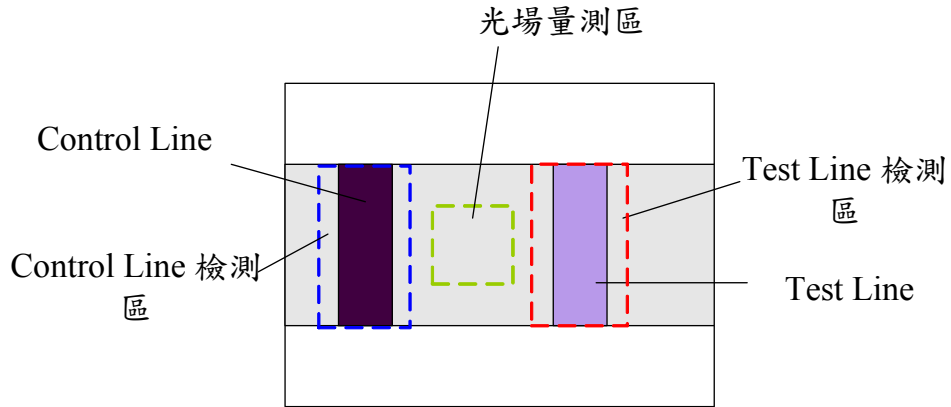


圖 3-4 : C 型肝炎快速檢驗試劑之影像檢測區域之示意圖

1. 檢測 Control Line 是否正常

將原始影像均化濾波，如圖 3-5 為原始（濾波後）之 C_Line 灰階圖，將大於 Control Line 之閾值 C_Line threshold 的部分濾掉，如圖 3-6 為過濾後之 C_Line 灰階圖。若為有效樣本，則在灰階分佈圖上將會有一明顯的凹陷處，經過濾後可以得到此凹陷處的下降點（drop_point）及上升點（rise_point）。若為無效樣本，則下降點及上升點並不會存在，可藉此判斷是否為有效樣本。

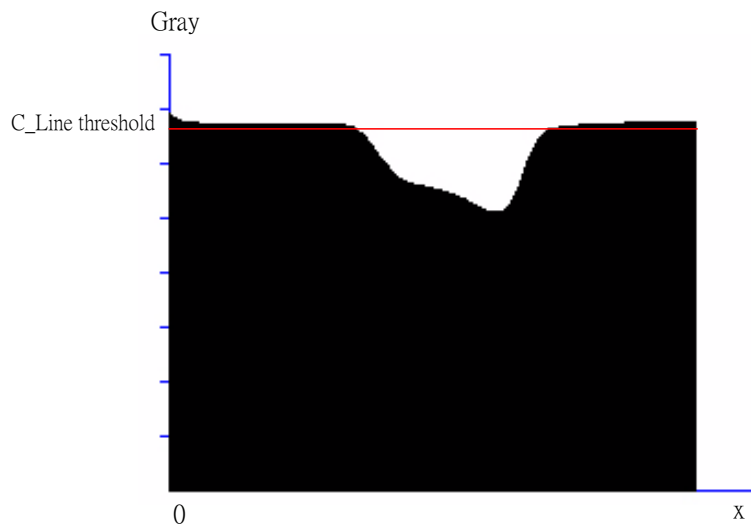


圖 3-5 原始（濾波後）之 C_Line 灰階圖

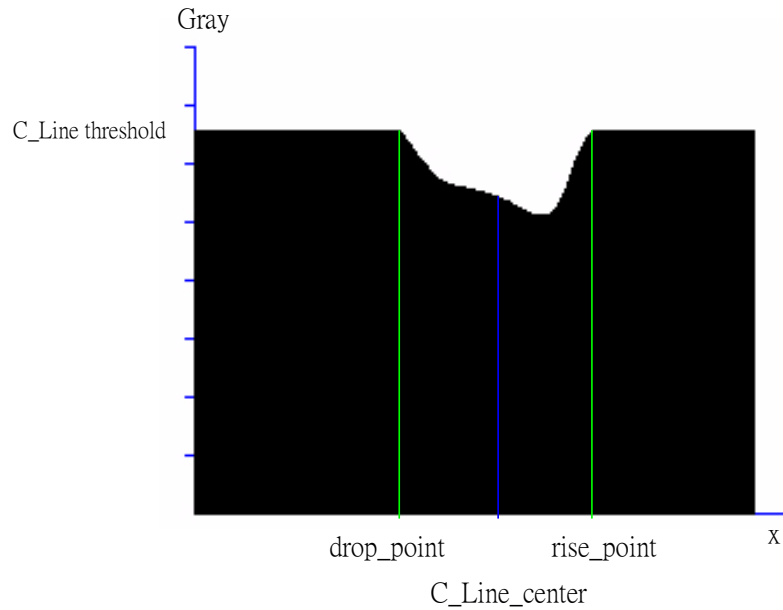


圖 3-6 過濾後之 C_Line 灰階圖

2. 尋找 Control Line 中心

如圖 3-6 所示，若為有效樣本，則可以找到下降點及上升點，而 Control Line 中心則如公式(1)所示：

$$C_Line_center = (drop_point + rise_point) / 2 \quad (3-1)$$

3. 尋找理論上的 Test Line 中心

理論上 Test Line 中心與 Control Line 中心相差 375 個單位 (pixel)，但經實驗測試的結果並不一定是 375 個單位，雖然如此，但尋找理論上的 Test Line 中心仍然有其重要的意義：可先尋找此一理論上的 Test Line 中心，以此中心劃出一個稍大的區域，在此區域內重新尋找實際的 Test Line 中心。

4. 尋找實際上的 Test Line 中心

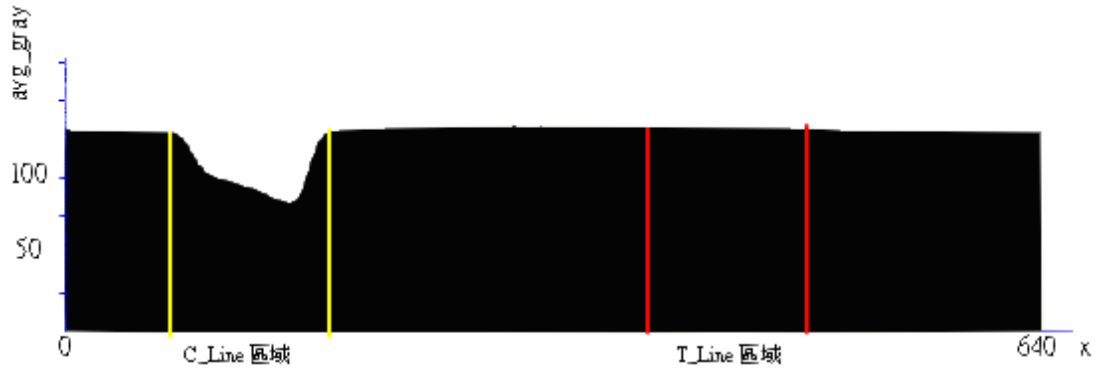


圖 3-7 : NC 之樣本灰階分佈圖

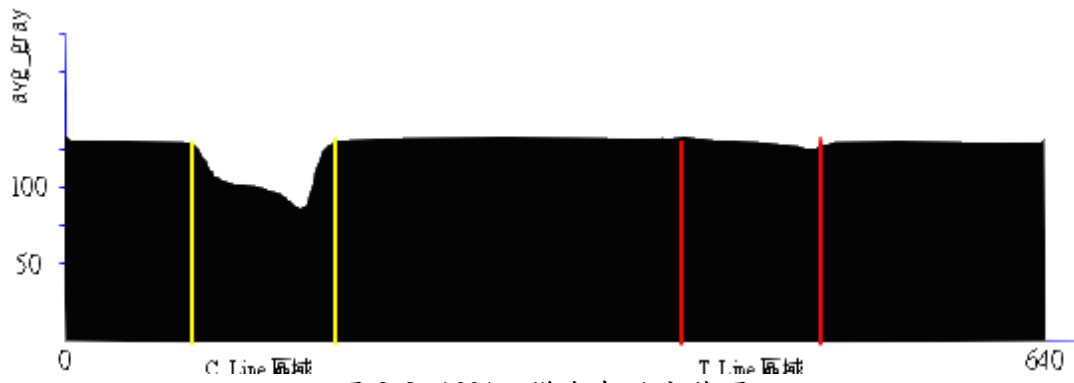


圖 3-8 :10%之樣本灰階分佈圖



圖 3-9 :100%之樣本灰階分佈圖

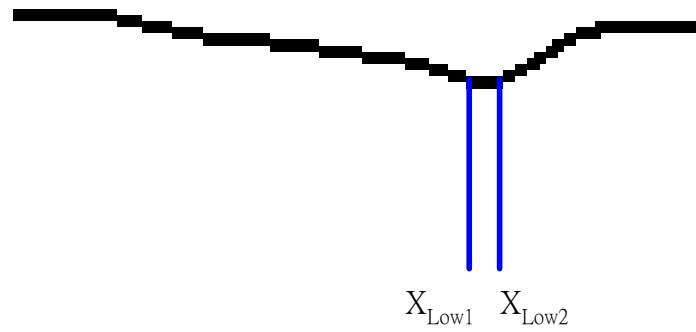


圖 3-10 : Test Line 反應區之局部放大圖

如圖3-7為NC之樣本灰階分佈圖，圖3-8為10%之樣本灰階分佈圖，圖3-9為100%之樣本灰階分佈圖，圖3-10為Test Line反應區之局部放大圖。圖3-7~圖3-9說明了若樣本上沒有任何反應（C_Line、T_Line），則整體的灰階值將是一致的（近乎水平），因此，只要不是陰性反應（NC），都可以找到一個Test Line的凹陷處，由此凹陷處的第2個最低點 X_{Low2} 減去34個pixel（經驗值）即為實際的T_Line中心。

【邊緣下降檢測法】

$$\begin{cases} \text{令 } X_{Low1}, X_{Low2} \text{ 為反應區的最低點, } X_{Low2} \geq X_{Low1} \\ \text{if } X_{Low2} = X_{Low1} \Rightarrow \text{最低點只有一點} \\ \text{if } X_{Low2} > X_{Low1} \Rightarrow \text{最低點不只一點} \Rightarrow \text{最低點為一直線} \end{cases} \quad (3-2)$$

$$\text{令 } \begin{cases} (x_1, y_1) < (X_{Low1}, y) \\ (x_2, y_2) > (X_{Low2}, y) \end{cases} \quad (3-3)$$

$$\text{計算兩端斜率 } \frac{y_1 - y}{x_1 - X_{Low1}} \text{ 及 } \frac{y_2 - y}{x_2 - X_{Low2}} \quad (3-4)$$

$$\text{if } \frac{y_1 - y}{x_1 - X_{Low1}} < 0 \quad \text{且} \quad \frac{y_2 - y}{x_2 - X_{Low2}} > 0 \quad (3-5)$$

⇒ 則表示找到 T_Line 的凹陷處

⇒ 由第2個最低點 (X_{Low2}, y) 減去34後即可得到實際的 T_Line 中心

5. 光場量測

為了確保每次檢驗時，外在環境因素均保持固定，降低干擾所產生之誤差，故需對 Control Line 至 Test Line 間的光場做光強度量測，以掌握檢驗環境之變化程度。假設光場量測區之平均灰度值為 $Gray_{standard}$ ，並以此值作為 Test Line 檢驗區閾值之基準。光場量測的區域並不是固定的，而是根據每一樣本中的 Control Line 位置（每一樣本的位置均不同）而得到的。其中在 $x = x1, 0 \leq x1 < 640$ 時其平均灰階值的求法如公式(3-6)所示：

$$Gray_{standard} = \left(\sum_{y=y1}^{y2} gray[y] \right) / (y2 - y1), 170 \leq y \leq 380 \quad (3-6)$$

6. 尋找 Test Line 反應區

由實際的 Test Line 中心加減 40 個 pixel（經驗值）後即可得到實際的 Test Line 反應區，此反應區約可將整個 Test Line 反應區涵蓋住。

7. 計算 Test Line 反應區與 NC 的最大差異量

計算 Test Line 反應區內所有 pixel 之灰階值與 $Gray_{standard}$ 的最大差異量。NC 為 0，其餘陽性反應則如公式(3-7)所示：

$$\Delta f = \frac{\sum_{y=y1}^{y2} \sum_{x=x1}^{x2} (Gray_p[x][y] - Gray_{standard})}{(x2 - x1)(y2 - y1)} \quad (3-7)$$

其中 Δf 為最大差異量， $Gray_p[x][y]$ 為點(x, y)處陽性反應的灰階值。

8. 判斷反應結果

將最大差異量分隔成幾個區域，以判別 Level 等級。如表 3.1 的一個例子：

表 3.1 最大差異量與 Level 等級

最大差異量	Level 等級
0	NC
1~14	Level 10
15~22	Level 25
23~52	Level 50
53~81	Level 75
82~	Level 100

生物快速檢驗試劑之自動化視覺檢測演算法則如圖 3-11 所示。

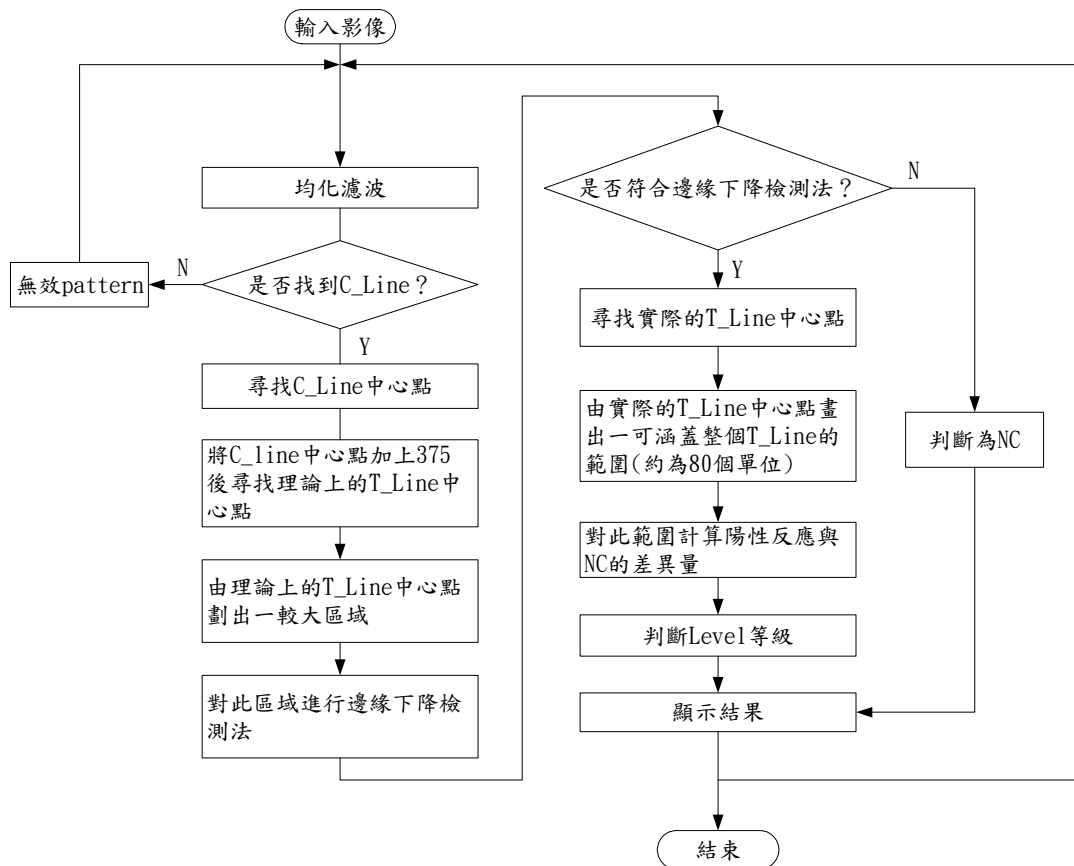


圖 3-11 生物快速檢驗試劑之自動化視覺檢測演算法則

二、軟硬體架構

在系統硬體方面，採用 USB2.0 介面百萬像素之攝影機擷取 C 型肝炎快速檢驗試劑之影像，使用綠光 550nm 之背光板對稱式斜向打光。系統架構如圖 3-12 所示，光源系統架構如圖 3-13 所示。

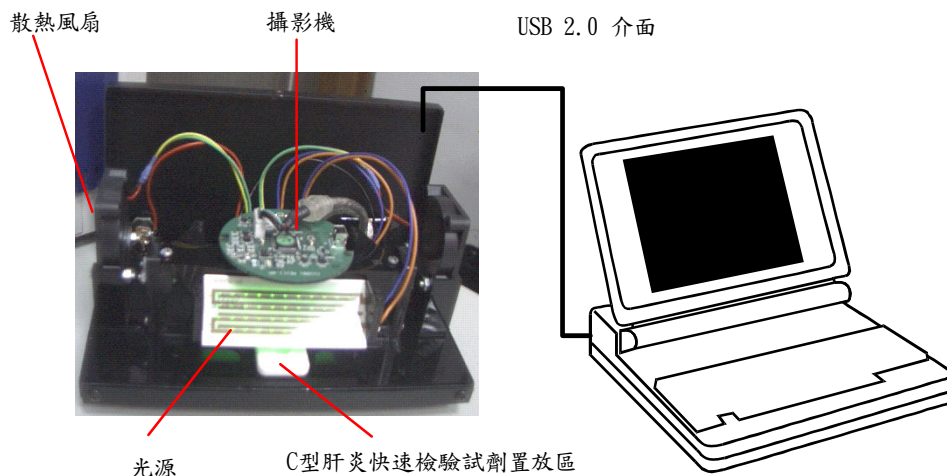


圖 3-12 生物試劑自動化檢測系統架構圖

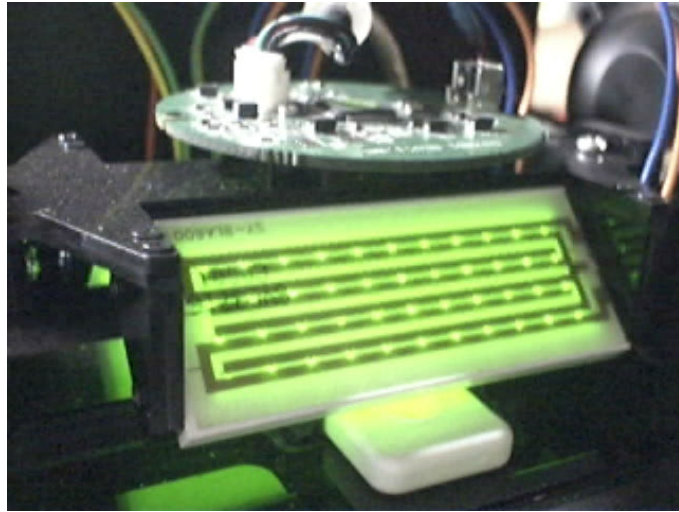


圖 3-13 光源系統架構圖

在系統軟體方面，影像透過 USB2.0 傳輸介面（傳輸速率高達 480Mbps）接收至電腦，利用本文提出之自動化視覺檢測法則，可即時辨識生化反應，判斷是否為陽性反應或陰性反應。若為陽性反應，則進而計算反應濃度之等級，提供客觀、精準之數據，以作為醫護人員診斷 C 型肝炎時之重要依據。在操作方面，使用者只需將待測之 C 型肝炎快速檢驗試劑置於檢測機台中，按下視窗軟體中開始檢測之按鈕，系統會自動辨識生化反應，並將結果輸出至表格中，且在影像中標示出陽性反應之區域位置。圖 3-14 所示為生物試劑自動化檢測系統軟體架構圖。圖 3-15 所示為軟體功能；圖 3-16 所示為軟體操作之動態模式；圖 3-17 所示為軟體操作之靜態模式；圖 3-18 所示為軟體操作之參數設定。

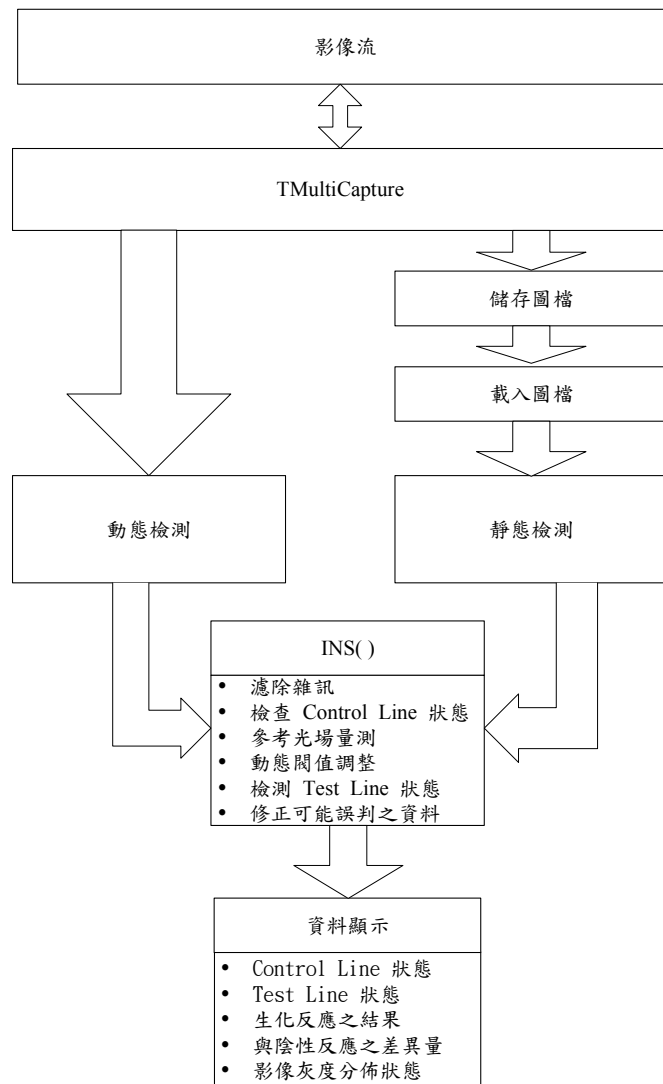


圖 3-14 生物試劑自動化檢測系統軟體架構圖

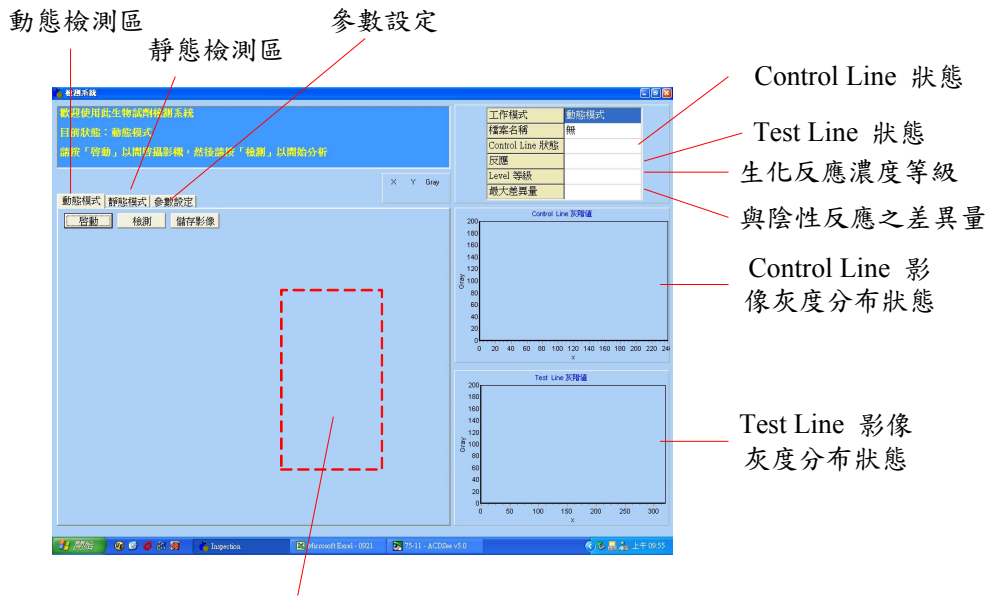


圖 3-15 生物試劑之自動化檢測系統軟體

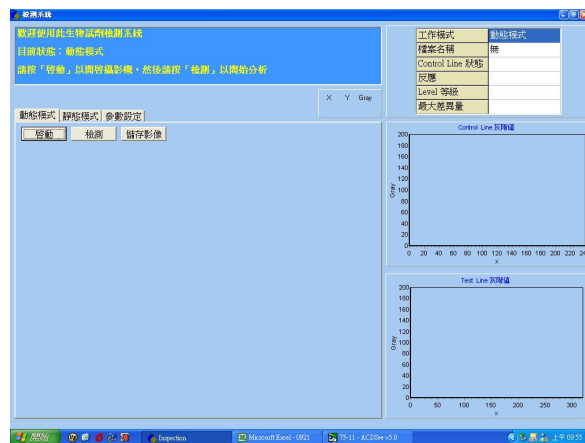


圖 3-16 動態模式

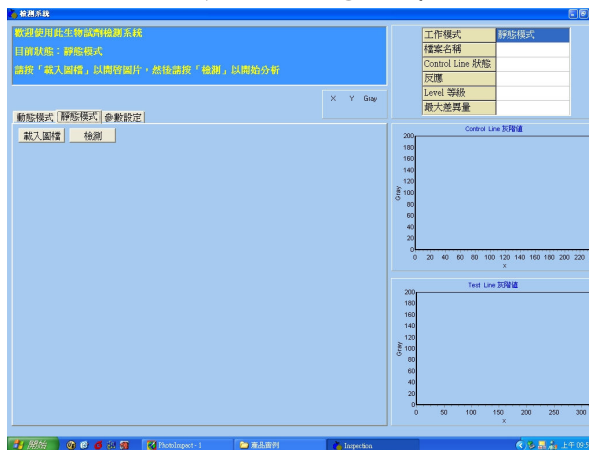


圖 3-17 靜態模式

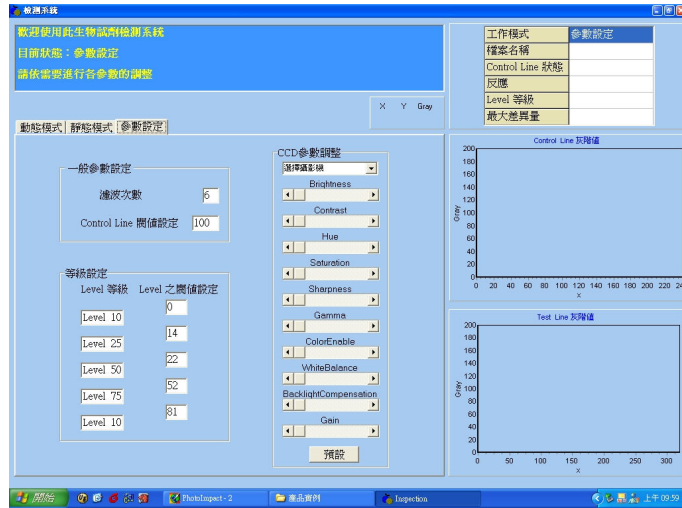


圖 3-18 參數設定

三、 實驗數據與研究成果

圖 3-19、21、23、25、27、29 所示為 NC 及 Level 10~100 由檢測機台所擷取出來的影像；圖 3-20、22、24、26、28、30 所示為系統分析後的結果，其中黃色區域代表反應的濃度深淺；圖 3-31 所示為檢測 Level 10-13 影像的結果放大圖。

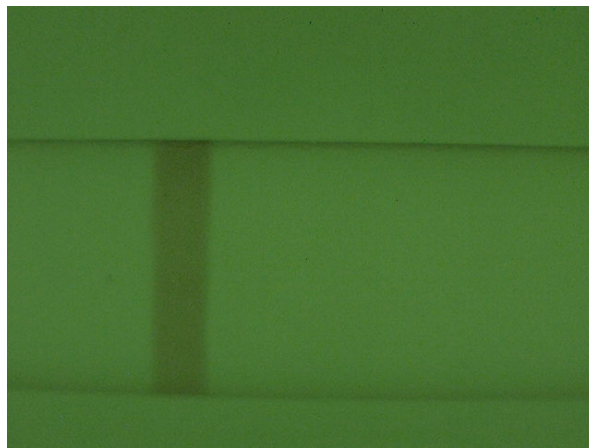


圖 3-19 陰性反應 (NC) 的樣本

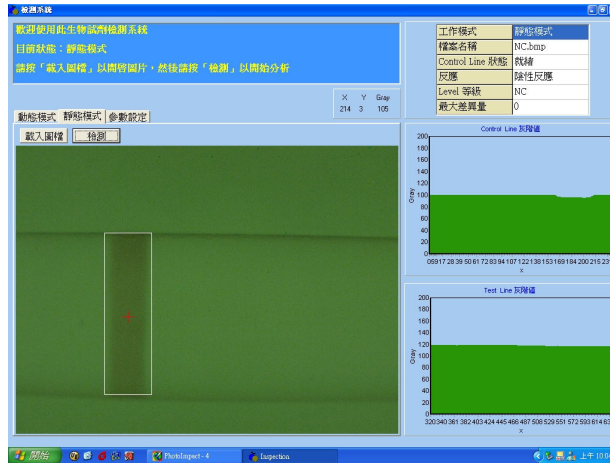


圖 3-20 系統檢測出陰性反應 (NC)

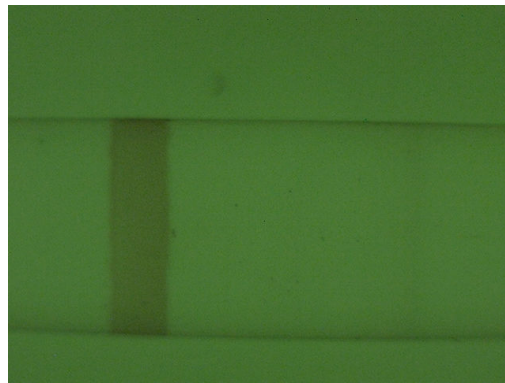


圖 3-21 Level 10 的樣本

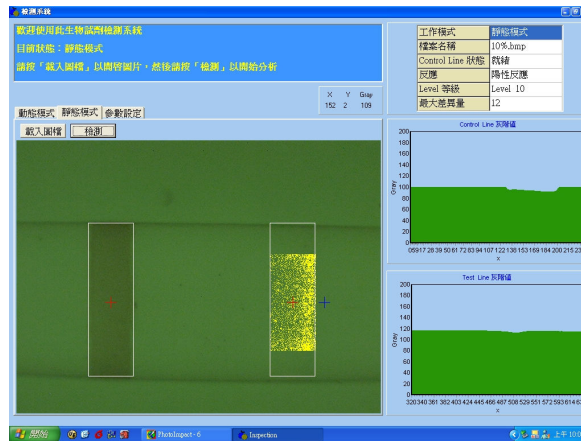


圖 3-22 系統檢測出陽性反應 (Level 10)

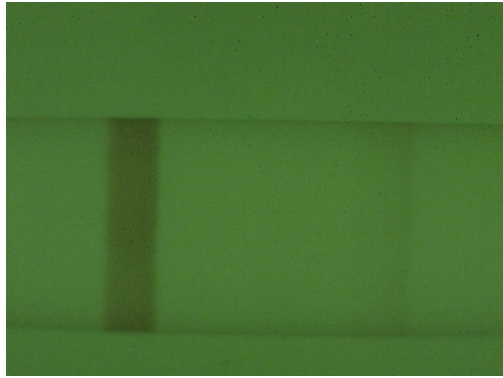


圖 3-23 Level 25 的樣本

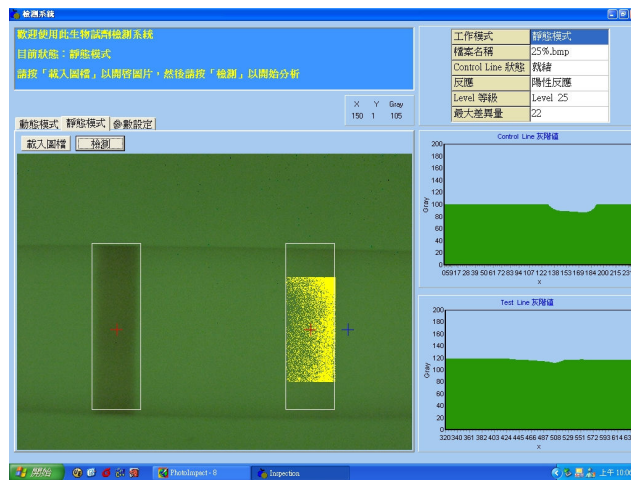


圖 3-24 系統檢測出陽性反應 (Level 25)

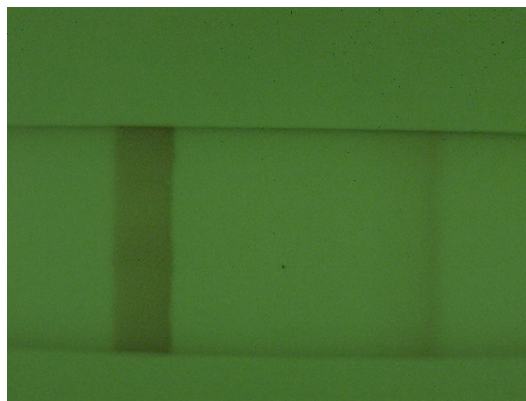


圖 3-25 Level 50 的樣本

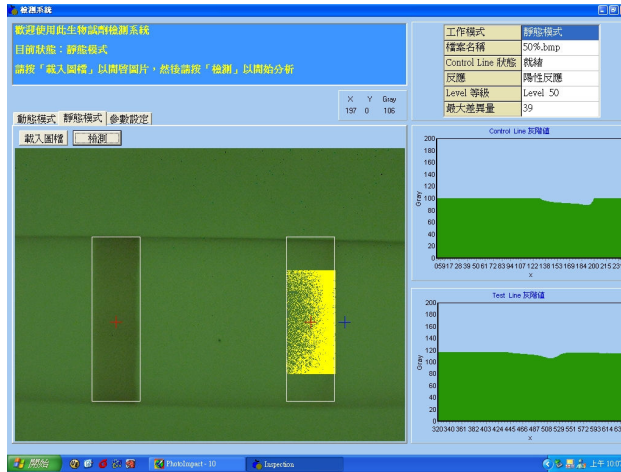


圖 3-26 系統檢測出陽性反應 (Level 50)

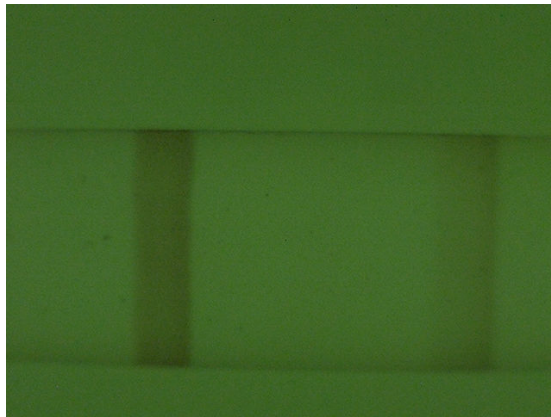


圖 3-27 Level 75 的樣本

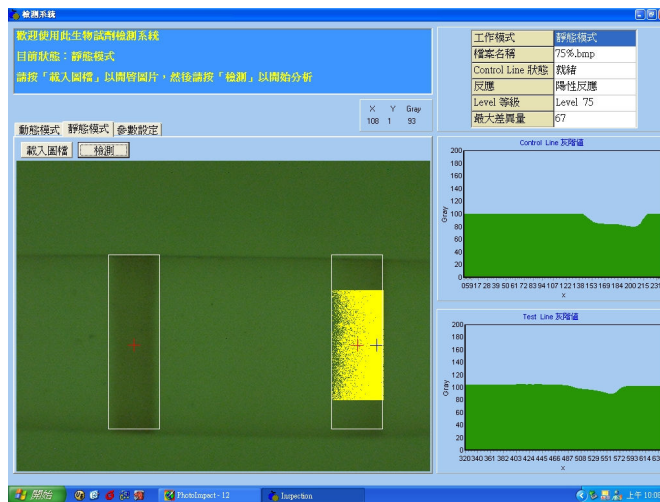


圖 3-28 系統檢測出陽性反應 (Level 75)

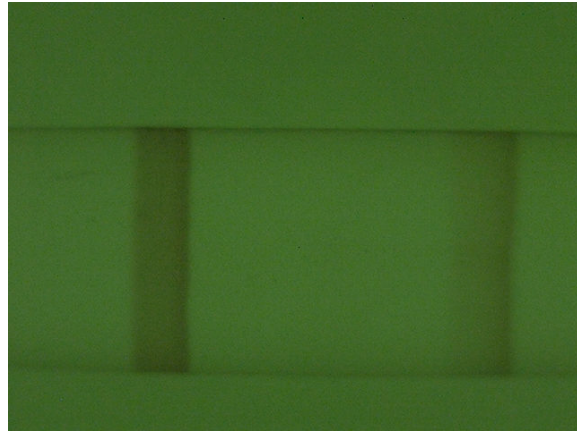


圖 3-29 Level 100 的樣本

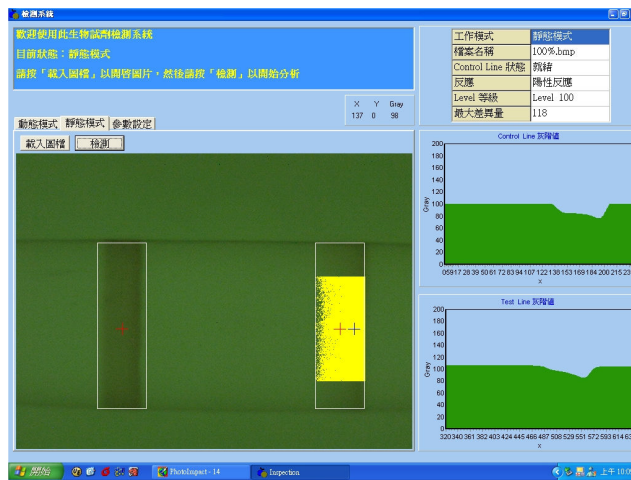


圖 3-30 系統檢測陽性反應 (Level 100)

工作模式	靜態模式
檔案名稱	10-13.bmp
Control Line 狀態	就緒
反應	陽性反應
Level 等級	Level 10
最大差異量	8

圖 3-31 檢測 Level 10-13 影像的結果

3.2 陣列式生物晶片之晶片探針固著影像分析

陣列式生物晶片之製作必須先將要檢測多種病原菌的每個生物探針設計好，然後經過聚合酶鏈鎖反應增殖，將增殖並濃縮好的 DNA 探針製作成生物晶片，本論文以陣列式點樣系統進行製作。生物檢驗晶片操作上主要分成三個步驟：

1. DNA 萃取：取定量的樣品進行核酸萃取，樣品必需經過細胞破壞、核酸片段截斷、緩衝液清洗、去除雜質、核酸萃取...等步驟才算取得目標樣品的核酸。核酸萃取大部份使用現成的核酸萃取套件進行，較常搭配的操作工具為離心及抽氣(Vacuum)方式，此兩種方法皆為各類核酸萃取套件的操作建議方式，實際操作流程需參考各類核酸萃取套件之核酸萃取步驟。
2. 聚合酶鏈鎖反應(PCR)：利用目標基因的特異性核酸引子界定複製目標，經由設計後進行最佳化測試，可將微生物特異核酸片段大量擴增。
3. 雜合反應與呈色判讀：將上述之核酸放大反應之產物與陣列式生物晶片上核酸探針進行生物晶片雜合反應，將檢體中經過放大的核酸與晶片上具有互補序列之生物探針產生專一性結合，如圖 3-32 所示，再經過不同程度的洗滌，將未雜合或非專一性雜合之核酸片段去除後，以設計的呈色方式呈現反應結果。雜合成功的核酸分子，會在晶片表面產生反應，利用影像處理與辨識的方法分析取得的影像，依據晶片影像的呈色結果可以判斷病原體的種類與含量比例。

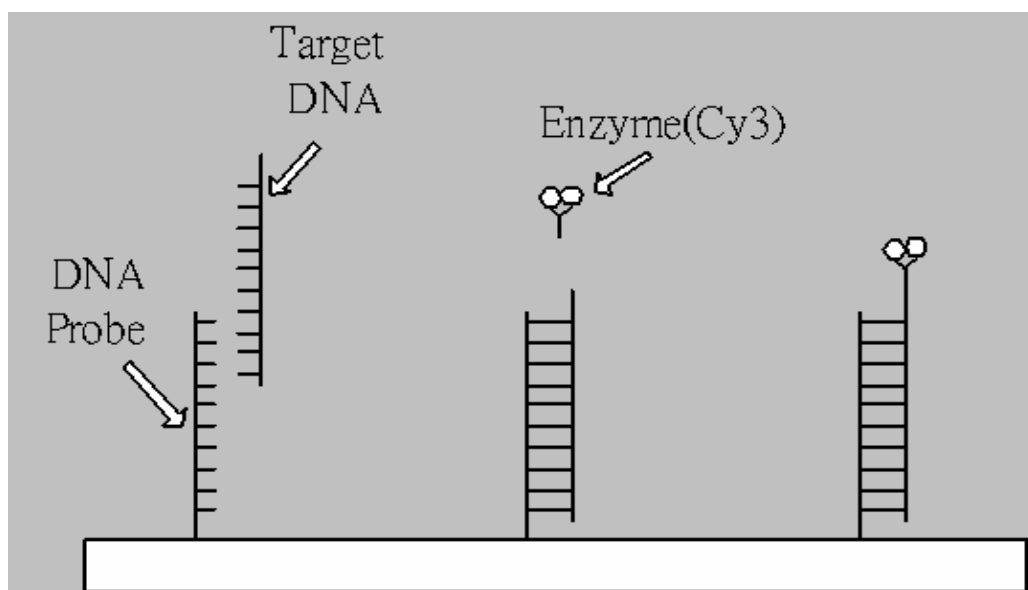


圖 3-32 雜合反應與呈色

為了使影像中各種雜訊能夠較為合理的扣除，採用逐點定義其背景大小的方法，如圖 3-33 所示，假設為陣列晶片呈色中的某一點，中央黑色十字為影像辨識中心點，紅色圓圈為呈色像素強度辨識範圍，黃色方形扣除紅色圓圈為背景像素強度範圍。

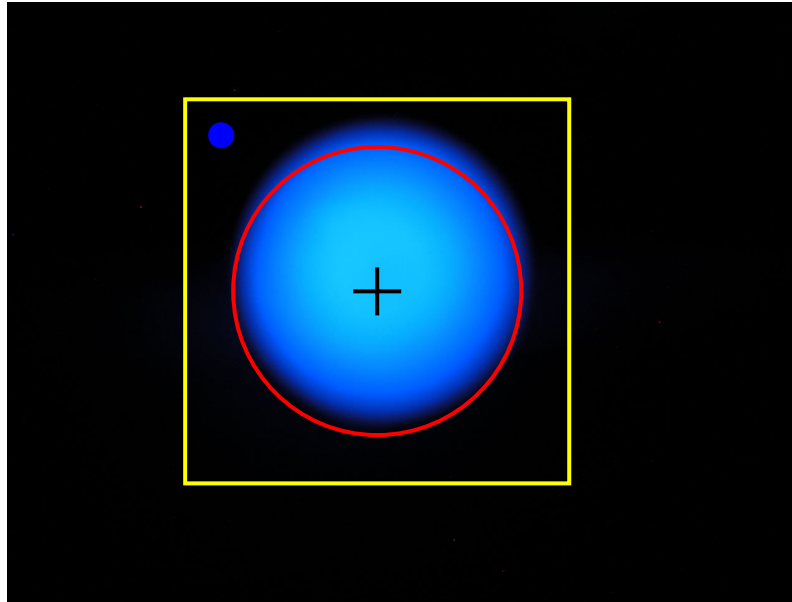


圖 3-33 影像辨識範圍模擬示意圖

一般要決定背景強度時，取背景像素強度的平均值其實很合理，但是實際影像可能會有其他小斑點在背景像素區域隨機出現，如圖 3-33 左上方藍色小點，這將會影響到背景強度的平均值，這些斑點可能是晶片製程產生的，也有可能是在實驗操作過程產生的。於非隨機分佈雜訊處理之方法，本實驗採用 2×2 均化濾波遮罩濾除雜訊，此濾波器會使影像訊號變得較平緩，去除高頻訊號成份。每一次濾波之後，雜訊能量將會減少 4 倍，但也會降低影像之銳利度，其主要目的在抑制非隨機雜訊並適度保持影像高頻特徵之平衡。

假設 $f(x,y)$ 含有非隨機雜訊 $n(x,y)$ 。

$$\text{則 } f(x,y) = f'(x,y) + n(x,y) \quad (3-8)$$

其中 $f'(x,y)$ 為未干擾前之影像，經過均化濾波後如下式：

$$g(x,y) = \frac{1}{4} \sum_{k=0}^1 \sum_{l=0}^1 f'(x-k, y-l) + \frac{1}{4} \sum_{k=0}^1 \sum_{l=0}^1 n(x-k, y-l) \quad (3-9)$$

其中 $g(x,y)$ 為濾波後之影像。

於圖 3-34 紅色圓圈為呈色訊號像素強度辨識範圍，在這個範圍內的呈色會有不均勻的問題存在，呈色像素強度是生物晶片反應結果的重要訊息，這也是晶片實驗要分析的主要訊號，因此取這個範圍的像素強度平均值當作呈色訊號的表現程度，為了讓圈選的範圍更為接近實際需要辨識的區域，本實驗採用輪廓編碼的方式進行，其輪廓編碼計算公式如下：

$$\text{Contour Encoding} = \frac{\text{area}[I_A(r,c) \otimes I_B(r,c)]}{\text{area}[I_A(r,c)]} \quad (3-10)$$

其中 \otimes 為 XOR 運算

$I_A(r,c)$ 為實際邊緣描繪值

$I_B(r,c)$ 為輪廓邊緣描繪值

將實際邊緣影像與輪廓邊緣影像重疊，若值為 0 則為影像辨識範圍，若值為 1 則視為背景區域，透過此方式可以取得生物晶片中呈色訊號像素強度辨識範圍，也就是中心的圓圈區域。

於生物晶片中同類型不同濃度的目標 DNA 會使生物探針表現出不同程度的螢光強度訊號，如圖 3-34 所示。

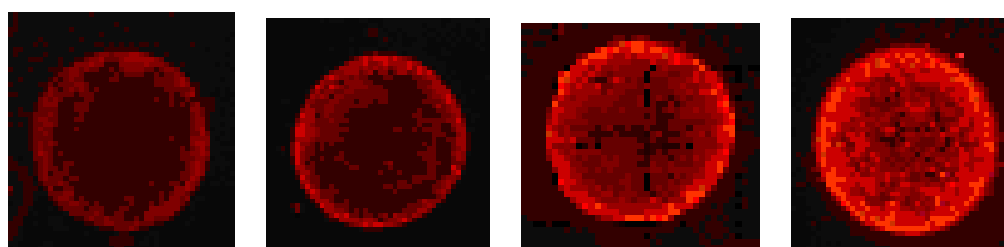


圖 3-34 螢光呈色實驗影像

同類型不同濃度的螢光強度與生物探針的關係可以寫成下式：

$$A_1 f(x_1, y_1) + A_2 f(x_2, y_2) + A_3 f(x_3, y_3) + \cdots + A_n f(x_n, y_n) \quad (3-11)$$

式(3-11)中 A_n 為不同濃度的螢光呈色訊號， $A_1, A_2, A_3, \dots, A_n$ 之間有一係數對應關係。 $f(x_n, y_n)$ 為探針訊號點 (x_i, y_i) 對應的螢光影像呈色強度。

$$\text{因此 } (x_i, y_i) \in R_i - R_{i-1}, R_0 = \phi \quad (3-12)$$

式(3-12)中 R_i 為螢光影像第 i 濃度之呈色訊號， (x_i, y_i) 為螢光訊號介於 R_i-R_{i-1} 之濃度影像區域。

因此設計完成之生物晶片中，每一類型之生物探針均有其一特性曲線，若是為 7×7 陣列之生物晶片，於一次實驗數據中即可同時分析 49 種目標 DNA，將微陣列中每個生物探針的訊息帶入所屬於的相關係數中，即可得到各個目標 DNA 含量的資訊，因此可以達到一次實驗架構規劃，同時取得定性、定量、多類型的目標 DNA 資訊。

3.3 晶探針固著影像分析片

生物探針固著於高分子聚合物表面時，猶如透明水滴乾燥於物體表面，因此在尚未進行晶片呈色操作之前，要進行觀測其實並不容易，必須透過打光的技巧，將其特徵顯現出來，經過實驗發現使用同軸光源可以將特徵明顯表現出來，其原理為有生物探針附著的區域，會有較不平整的表面，因此同軸光源反射回 CCD 時，入射光方向與生物晶片表面法線方向之間可以如下形式表示：

$$I = \left(\frac{k_d I_p}{d + d_0} \right) (N \cdot L) \quad (3-13)$$

$$\cos \theta = N \cdot L \quad (3-14)$$

其中， N 為沿生物晶片表面法線方向之基本向量。

L 為沿入射光方向之基本向量。

θ 為入射光與生物晶片表面法線方向之夾角。

I_p 為光源之亮度， d 為光源至晶片表面之距離， d_0 為一補償值，避免當 d 很小時分母趨近於零。

在點光源反射並加上背景光場 I_a 的情形，當我們將色彩也考慮進來時，反射係數 k_d 可依三原色 RGB 取其分量，成為 $k_{dr} k_{dg} k_{db}$ ，例如只考慮綠光時，則使用綠光之反射係數 k_{dg} 來進行計算，所反射的光場亮度可以合併寫成如下形式

$$I_g = k_{dg} I_{ag} + \left(\frac{k_{dg} I_{pg}}{d + d_0} \right) (N \cdot L) \quad (3-15)$$

其中，背景光場 I_{ag} 為綠色背景光場之亮度， I_{ps} 為綠色光源之亮度。

當我們一併考慮鏡反射效應時，晶片表面在點光源鏡反射，漫射並加上背景光場的情形，如圖 3-35 所示，所反射的光場亮度可以合併寫成如下形式：

$$I = k_d I_a + \left(\frac{I_p}{d + d_o} \right) [k_d (N \cdot L) + w(\theta) \cos^n \phi] \quad (3-16)$$

其中， ϕ 為反射光與觀察者視角方向之夾角。

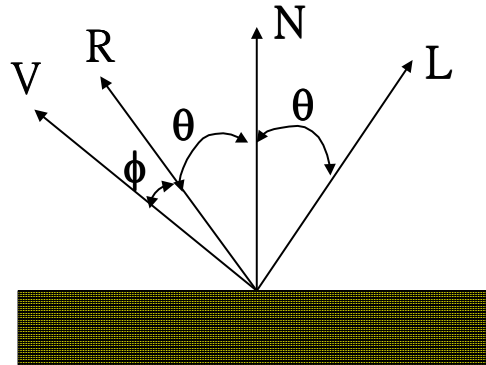
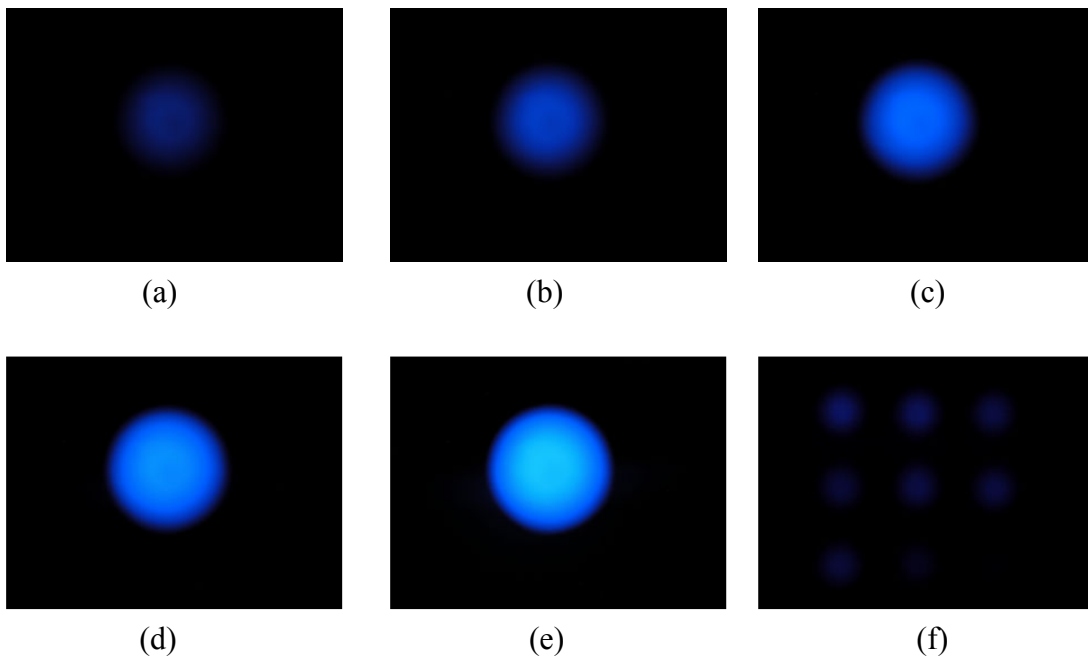
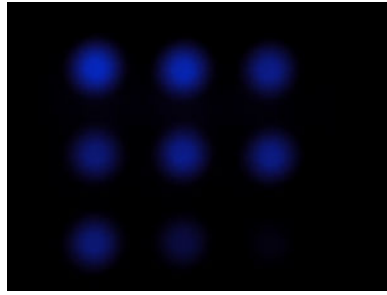


圖 3-35 入射光、反射光與晶片表面之幾何關係

3.3.1 Experimental Results and Discussions

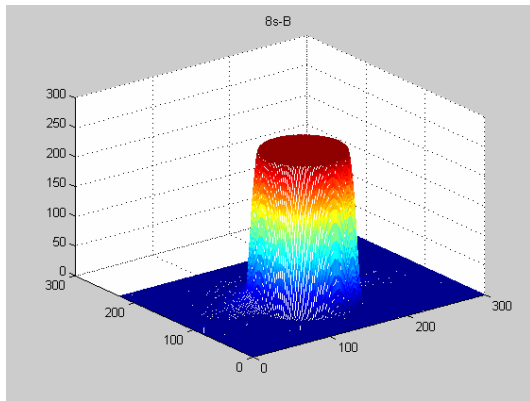
冷光呈色影像擷取實驗的曝光時間分別設定為 0.5s, 1s, 2s, 4s, 8s，所擷取的影像如圖 3-36 所示。將這些影像用影像處理軟體進行一連串的影響處理，所得到的影像分別取 RGB 顏色分量進行量測與分析，如圖 3-37。



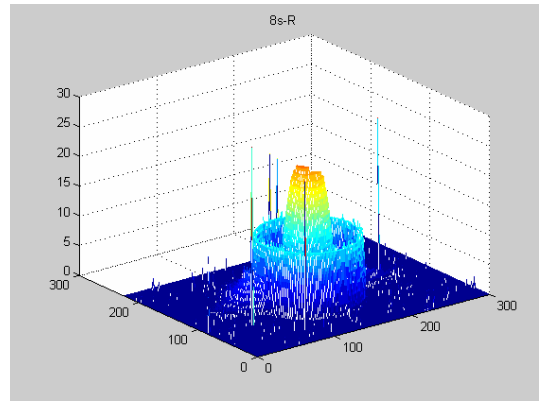


(g)

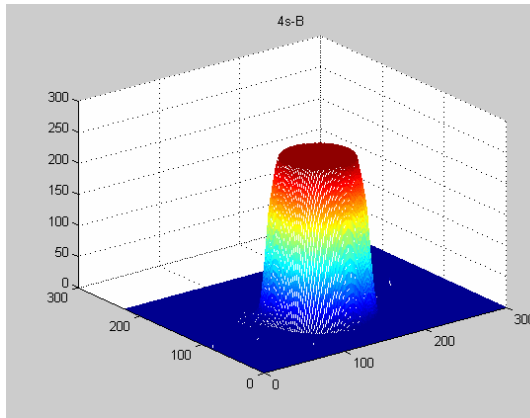
圖 3.36 冷光呈色影像擷取實驗的曝光時間分別設定為(a)0.5s,(b)1s,
(c)2s,(d)4s,(e)8s,(f)1-4s,(g)1-8s 所擷取的影像。



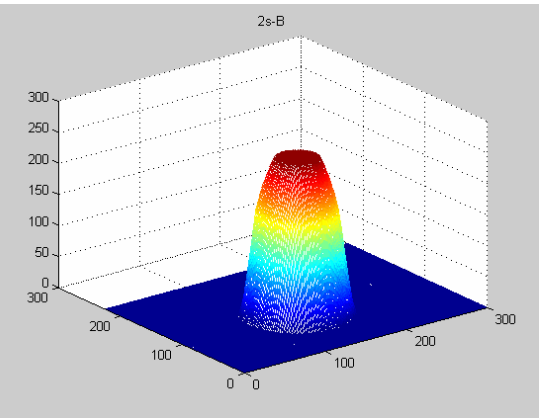
(a)



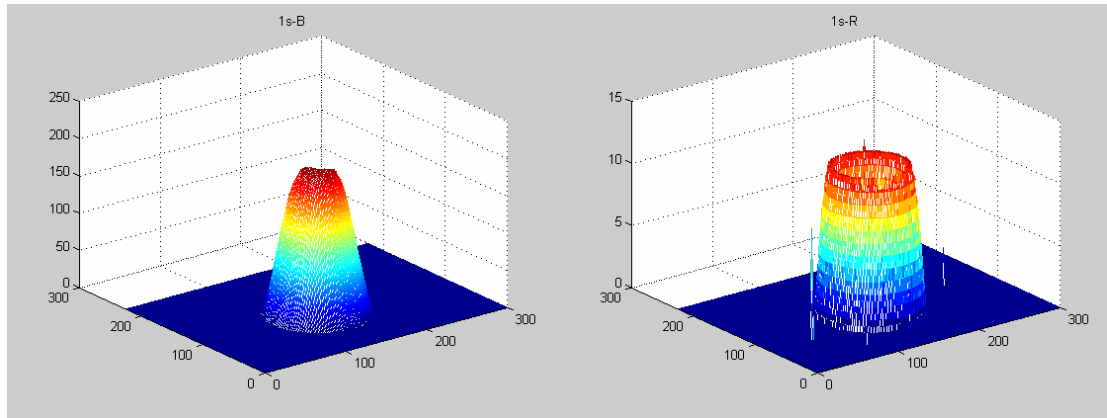
(b)



(c)

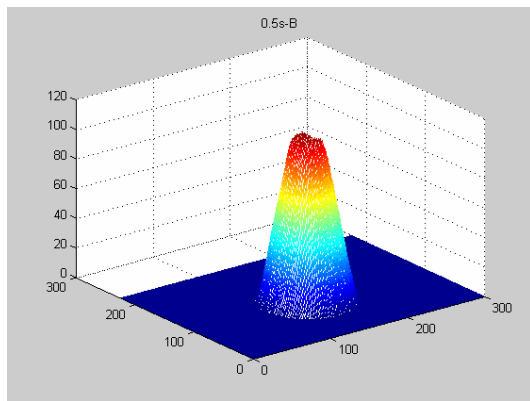


(d)

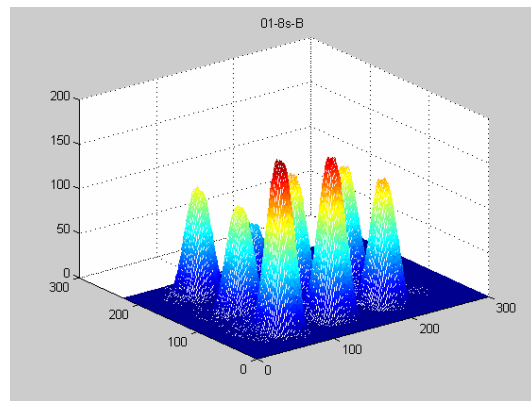


(e)

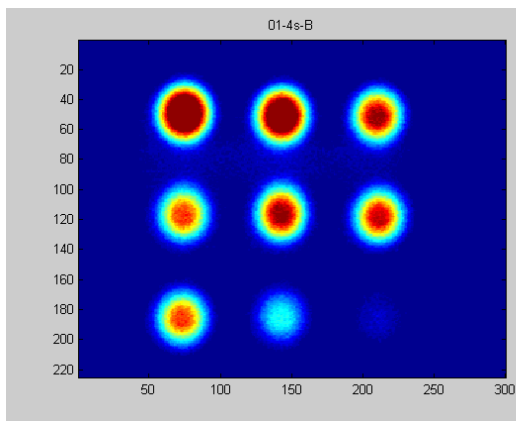
(f)



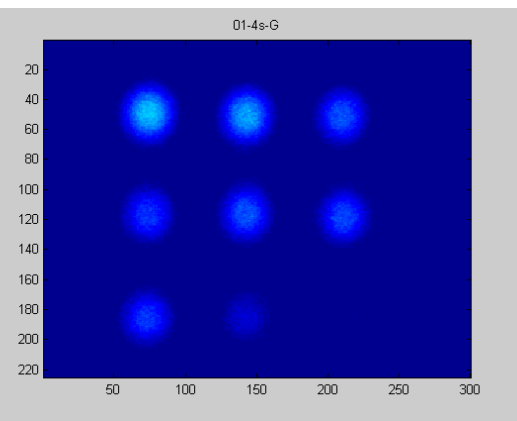
(g)



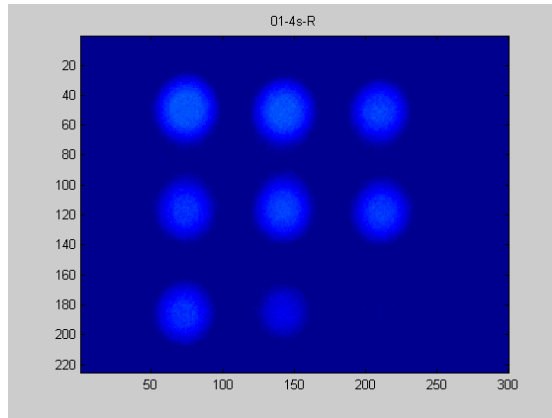
(h)



(i)



(j)



(k)

圖 3-37 將這些影像分別取 RGB 顏色分量進行量測與分析之結果

- (a) 曝光時間 8s 後 B 顏色分量之 3D 分佈圖
- (b) 曝光時間 8s 後 R 顏色分量之 3D 分佈圖
- (c) 曝光時間 4s 後 B 顏色分量之 3D 分佈圖
- (d) 曝光時間 2s 後 B 顏色分量之 3D 分佈圖
- (e) 曝光時間 1s 後 B 顏色分量之 3D 分佈圖
- (f) 曝光時間 1s 後 R 顏色分量之 3D 分佈圖
- (g) 曝光時間 0.5s 後 B 顏色分量 3D 之分佈圖
- (h) 曝光時間 1-4s 後 B 顏色分量 3D 之分佈圖
- (i) 曝光時間 1-4s 後 B 顏色分量之假色運算圖
- (j) 曝光時間 1-4s 後 G 顏色分量之假色運算圖
- (k) 曝光時間 1-4s 後 R 顏色分量之假色運算圖

由圖 3-37 可以分析出曝光時間於 8s 後呈現飽和平緩的曲線，因此在 1/2s~1s 之間為影像擷取與處理中較佳的曝光時間，因此後續要進行的微陣列生物晶片冷光呈色實驗，可以由這個實驗知道將曝光時間設定在 1/2s~1s 之間，並且是後續實驗進行 B 顏色分量呈色比對的參考依據。

依照生物探針區域分析方法進行螢光數值分析，並重複進行三次實驗取每個濃度的平均數值畫出反應關係曲線，生物探針濃度分析的實驗結果如圖 3-38 所示，由圖 3-38 之分析曲線可以看出螢光強度與生物探針濃度呈現正相關曲線，為了盡量提升生物探針的靈敏度，因此決定將生物探針濃度定為 20 μm 。

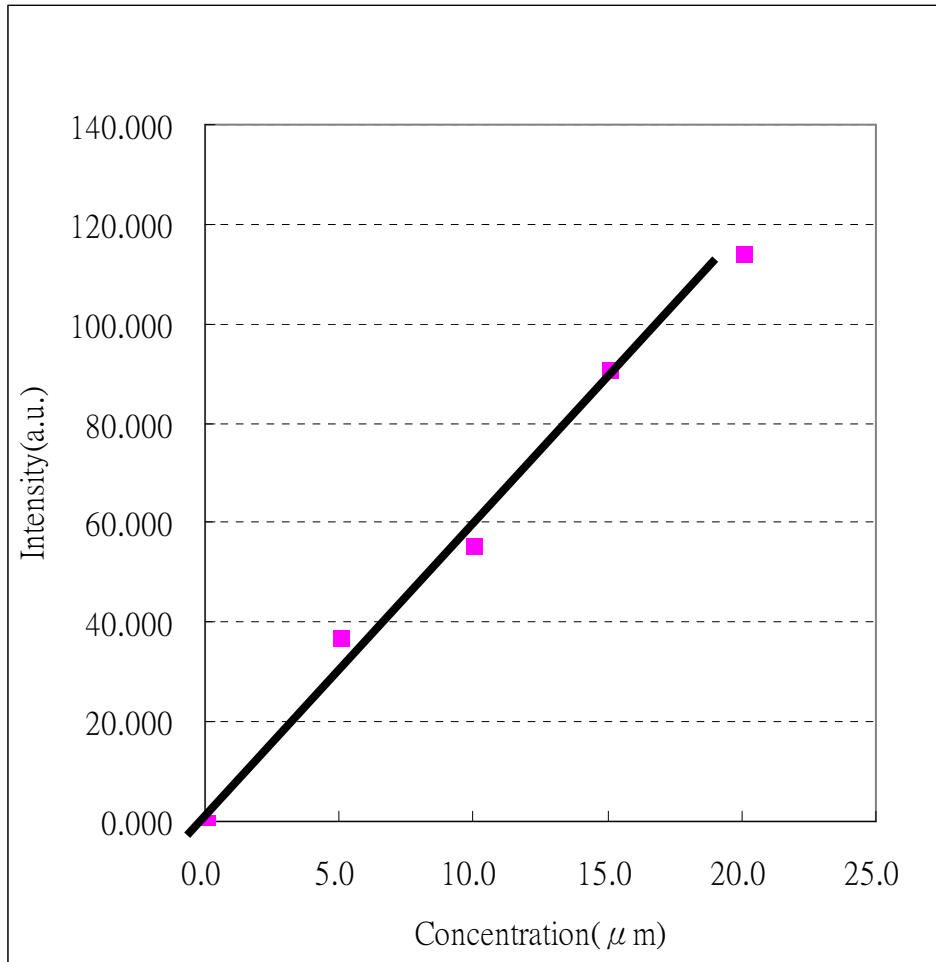


圖 3-38 生物探針濃度分析曲線

每一濃度經過 8~16 次之實驗操作分析其平均結果如圖 3-39 所示，由圖 3-39 之分析曲線可以看出在濃度 10nM 以後螢光呈色達到飽和，此結果顯示本方法可以找出濃度與螢光強度之關係曲線，且呈現正相關的趨勢，因此本方法可以使用在聚合物基材之微陣列生物晶片螢光定量分析。

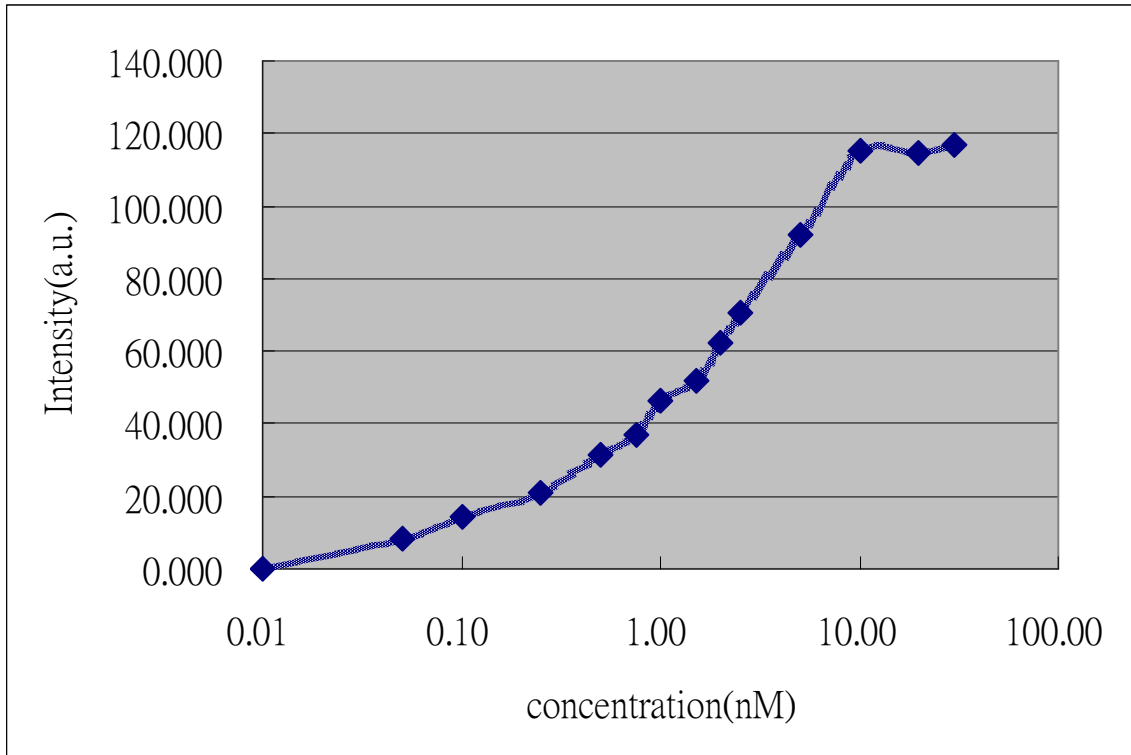


圖 3-39 生物晶片螢光定量分析曲線

在操作上如何有效克服不同批次實驗產生的誤差現象？會造成此問題可以分成兩大部份進行分析，第一部份在於實驗進行時的人為操作及時間掌控因素，因此在實驗操作過程盡量使用自動化機器及半自動化操作可以有效改善人為因素及時間因素，因此在這一方面也做了許多努力與改善，第二部份在於晶片製程技術，表面塗層技術及生物探針固著技術都有很明顯的影響存在，使用螢光呈色定量分析影像處理後，可以很明顯發現不同一批製造的生物晶片其影像背景值有很明顯的差異，另外探針固著的情況若是有缺陷，對於螢光影像數據分析也有一定的影響。

目前本方法證明微陣列生物檢驗晶片除了定性分析外，單一檢測點的生物探針資訊也有提供定量分析數據的潛力，使用生物檢驗晶片只需要操作一次實驗的時間，即可透過影像辨識與處理的方式，取得多類型之定性與定量的生物晶片分析資訊。

3.4 DMD 機器視覺化 3D 特性量測系統

本研究中將利用 DMD 投影光柵條紋至待測物體上，再由 CCD 擷取物體上的變形條紋分佈狀況，如圖 3-40 所示為線段投影法之示意圖，其中 α 為投影光柵與法線的夾

角， β 為 CCD 與法線的夾角， d 為光柵條紋的間距，則物體高度 w 可利用以下關係式求得：

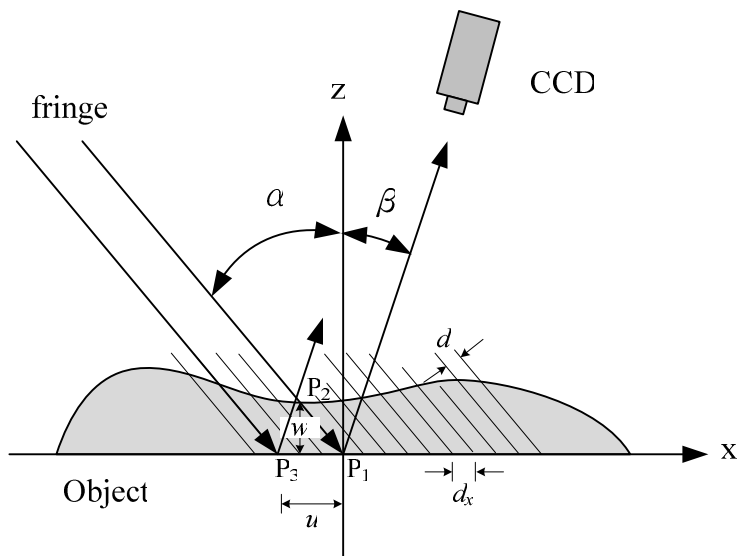


圖 3-40 線段投影法之示意圖

假設 d 為光柵條紋的間距，則光柵投影至平面上的間距 d_x 為

$$d_x = \frac{d}{\cos \alpha} \quad (3-17)$$

物體上某一點 P_2 的高度可以表示為

$$w = \frac{u}{\tan \alpha + \tan \beta} \quad (3-18)$$

其中 u 為 P_1 至 P_3 的距離。又 u 可以表示成

$$u = Nd_x = \frac{Nd}{\cos \alpha} \quad (3-19)$$

其中 N 為 P_1 至 P_3 的光柵條紋序號差。則物體的高度可以改寫成

$$w = \frac{Nd}{\cos \alpha (\tan \alpha + \tan \beta)} \quad (3-20)$$

3.4.1 線段投影法之高度計算方式

由陰影疊紋法及線段投影法可以延伸出用來計算物體高度的技巧，此技術是利用光柵條紋在物體表面上產生的位移量來計算物體的高度，光柵條紋在物體表面上的位移量多寡即為物體的表面高度，如圖 3-41 所示為線段投影法之高度計算方式之示意圖。

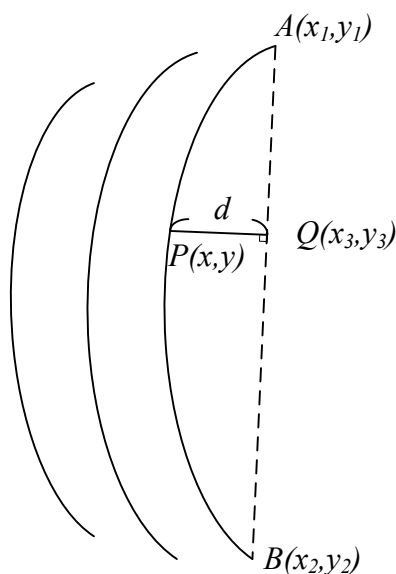


圖 3-41 高度計算方式之示意圖

已知物體上某一條條紋（取出骨架後）的兩個端點 $A(x_1, y_1)$ ， $B(x_2, y_2)$ ，則其斜率 m_1 為

$$m_1 = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \quad (3-21)$$

欲計算線段上每一點之物體高度 d ，則須由線段上之任意點 $P(x, y)$ 對直線 AB 做垂直線，線段 PQ 即為所求之物體高度，而直線 PQ 的斜率為

$$m_2 = -\frac{1}{m_1} \quad (3-22)$$

利用直線 AB 及直線 PQ 的聯立方程式，可求出兩直線方程式的交點 $Q(x_3, y_3)$ 為

$$\begin{cases} y = m_1 x + c_1 \\ y = m_2 x + c_2 \end{cases} \quad (3-23)$$

$$\begin{cases} x_3 = \frac{c_2 - c_1}{m_1 - m_2} \\ y_3 = m_1 \cdot \frac{c_2 - c_1}{m_1 - m_2} + c_1 \end{cases} \quad (3-24)$$

計算 P 、 Q 兩點間的距離即可求得物體高度 d 為

$$d = \overline{PQ} = \sqrt{(x_3 - x)^2 + (y_3 - y)^2} \quad (3-25)$$

利用改裝過的 DLP 投影機投射出各種不同對比度、亮度差及條紋數目的黑白條紋光柵，當光柵投射到我們所要分析的物體或是微元件上之後，光源投射條紋將會因為待

測物表面的高度變化而產生變形，此時便可透過 CCD 攝影機擷取物體影像，利用 CCD 攝影機擷取到的影像中每一像素點均可經由三維輪廓重建系統求得相對應點的高度值，進而計算出透鏡表面條紋的變化來得知透鏡的相關參數，並重建出待測物的表面輪廓。如圖 3-42 所示為三維輪廓量測系統架構圖，圖中包含了改裝後之 DMD 投影機、攝影機及待測物。

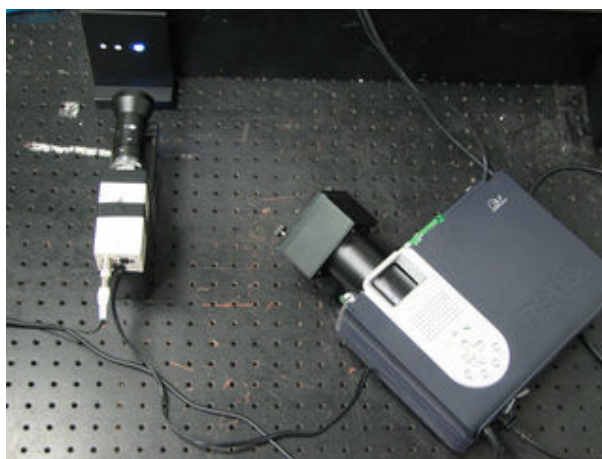


圖 3-42 三維輪廓量測系統架構圖

3.5 微流體生物碟片之研究

在製作生物碟片的旋轉機台時，馬達的軸心製作是一個重要的關鍵，有以下幾個原因：

1. 生物碟片的厚度大約是 3~4 倍一般 CD 的厚度，所以不能直接取用光碟機或是 CD 音響的馬達軸心，必須重新製作。
 2. 馬達在運轉時，不能讓生物碟片產生相對運動，否則將影響測量的結果，因此如何固定生物碟片，使生物碟片與轉軸不會產生相對運動是很重要的。
 3. 所製作出來的軸心必須能夠很平穩的轉動，不能上下晃動，否則將會直接或間接的影響到生物碟片的反應。
 4. 固定生物碟片的壓環不能影響到生物碟片的反應區，同時也不能夠毀損生物碟片。
- 因此根據這些問題，本研究的解決方法如下：

1. 將軸心設計成如圖 3-43 為改良後的馬達軸心樣子，圖 3-44 為軸心的實際照片：

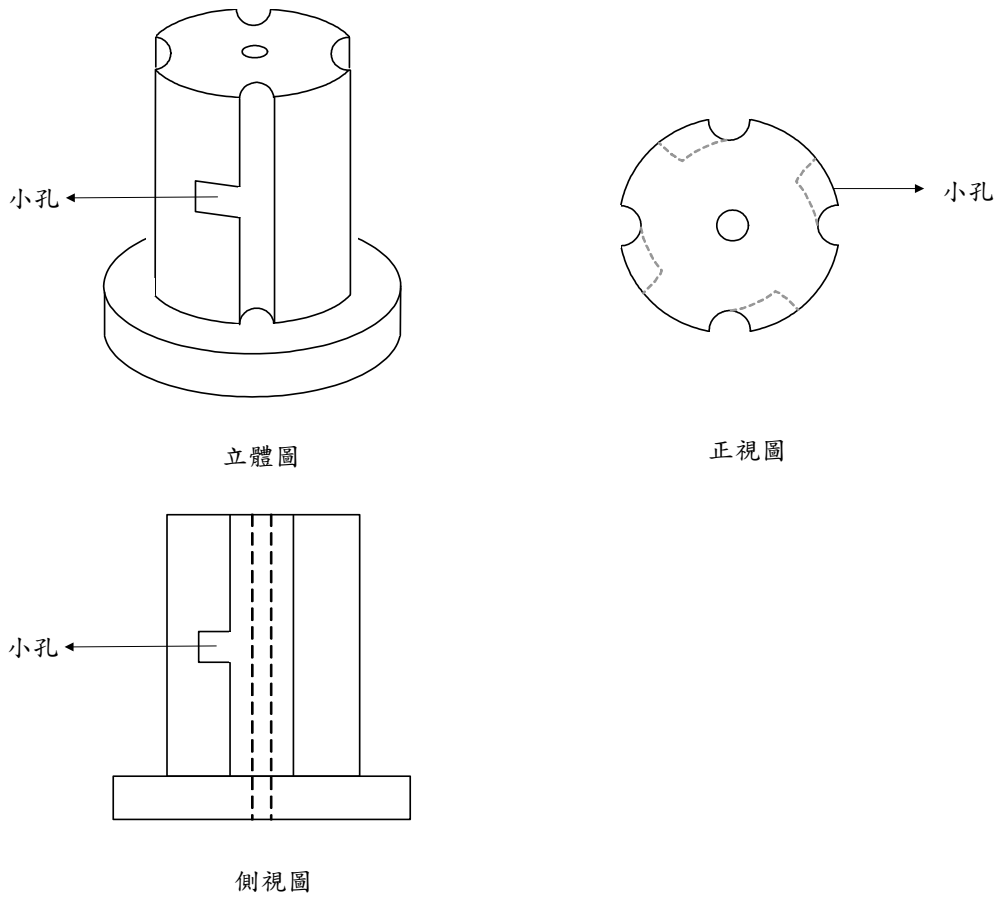


圖 3-43 改良後的馬達軸心



圖 3-44 軸心實際照片

其中灰色線條所包含的區域為小孔。在軸心上刻有四個內凹的半圓形圓柱，而每個半圓形圓柱的旁邊還另外刻有四個孔。

全部的構造如圖 3-45 為旋轉機構組裝圖：

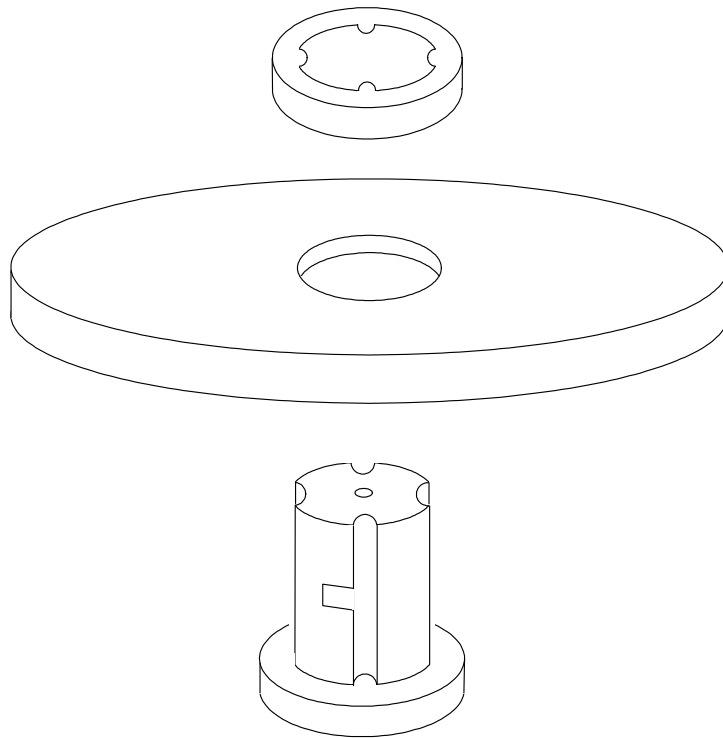


圖 3-45 旋轉機構組裝圖

壓環的設計是一個圓環，裡面刻有四個凸出的半圓形圓柱。當生物碟片放入後，壓環只需要順著軸心的四個孔放入，再逆時針旋轉，使壓環上的四個凸出半圓形，能夠卡在半圓形圓柱旁的小孔內。

在製作上，壓環不能夠做的太鬆，否則在馬達旋轉時，壓環也會跟著旋轉，甚至會因為機台的震動而被彈出來，進而造成生物碟片產生相對運動。因此壓環必須做的有點緊，使得壓環與生物碟片皆不會隨著馬達的轉動而產生相對運動。但也不能製做的太緊，否則將很難把壓環旋轉卡在小孔裡，要更換生物碟片時也會因為太緊而無法旋轉出來。

2. 在軸心的中央有一個垂直貫穿的小孔，這個小孔是用來插入馬達的轉軸。因此這個小孔也佔有決定性的地位，如果設計不良，會使得馬達的轉軸太緊或太鬆，這都不是符合我們所需要的。而且更重要的是，如果這個小孔有歪掉，那麼生物碟片在旋轉時將會呈現上下的晃動，進而造成量測上的誤差，甚至可能影響到生物碟片的反應。

3. 生物碟片的圖形如圖 3-46 為生物碟片壓環的區域圖：

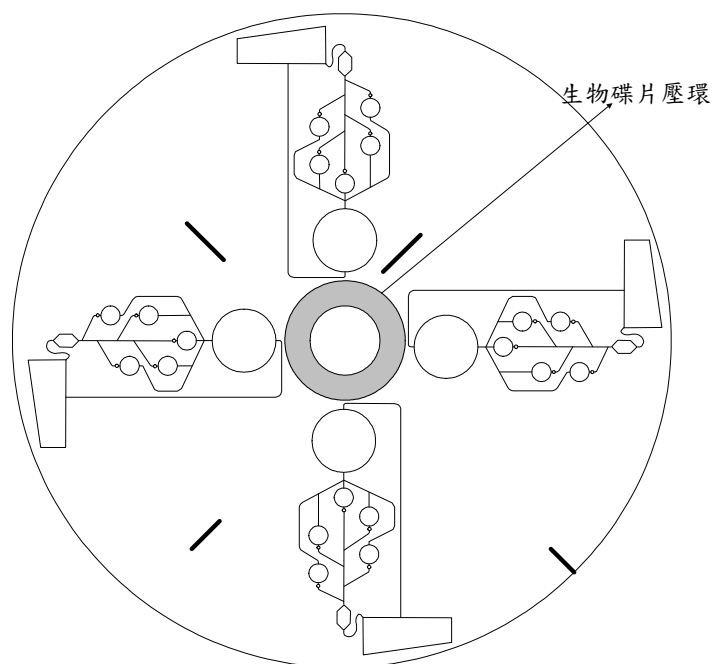


圖 3-46 生物碟片壓環的區域圖

因為受到生物碟片反應區的限制，所以本研究所設計的壓環，最多只能在圖 3-46 中的灰色區域內。在一般的 CD 音響內，壓環通常都做的較大，把磁鐵黏在裡面，這樣做有一個好處，那就是壓環的面積較大，能使 CD 轉的更平穩。但在這裡就有受到限制，不能做的過大，而且要能使生物碟片平穩的轉動，基於這些原因，因此本研究發展出了如圖 3-45 的機構，整體性能不錯，而且使用這種方式亦不會毀損到生物碟片。至此，整個旋轉機構包含馬達、軸心、生物碟片、壓環等元件已經大致完成。

3.6 控制電路

在控制電路方面，主要分成電源電路、閃頻器控制電路以及伺服馬達轉速控制電路等三部分。

3.6.1 電源電路

電源電路如圖 3-47 所示為電源電路。分別提供+5V、+12V 及+15V 的直流電，以供後級電路、步進馬達及伺服馬達使用。電力分配如表 3.2 所示為電源電力分配表所示：

表 3.2 電源電力分配表

電壓	用途
+5V	提供後級之所有電路使用，額定電流 1.2 A
+12V	提供步進馬達（電感性負載）使用，額定電流 2.0 A
+15V	提供伺服馬達（電感性負載）使用，額定電流 2.0 A

附註：後級電路中所需的-5V 電壓將由 IC（ICL7660）轉換完成

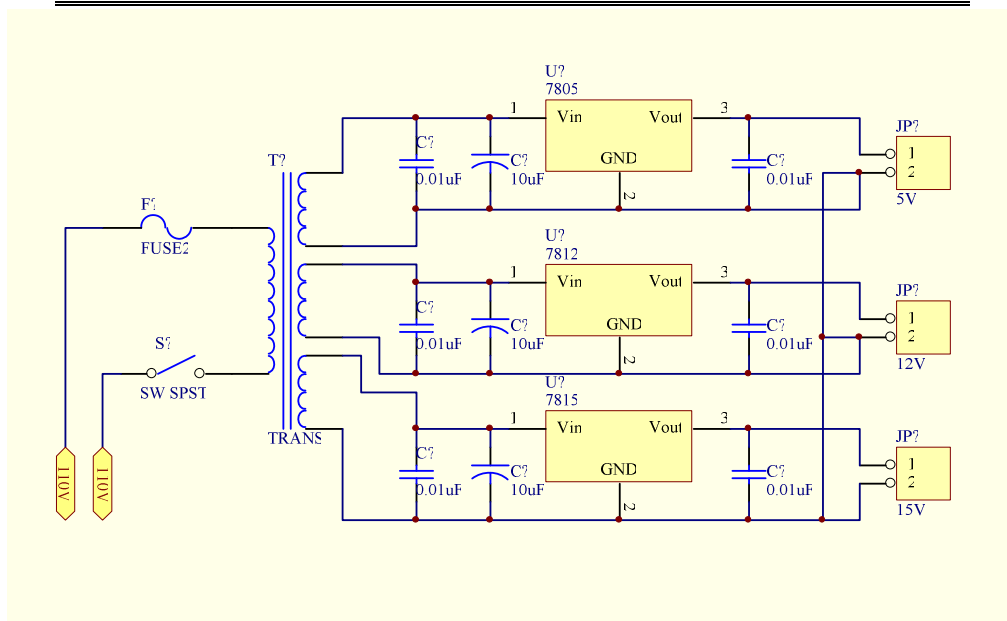


圖 3-47 電源電路

3.6.2 閃頻器控制電路

控制電路如圖 3-48 所示為閃頻器之控制流程圖，主要參數說明如表 3.3 所示為閃頻器控制電路之參數說明，圖 3-49 所示為閃頻器之控制電路。

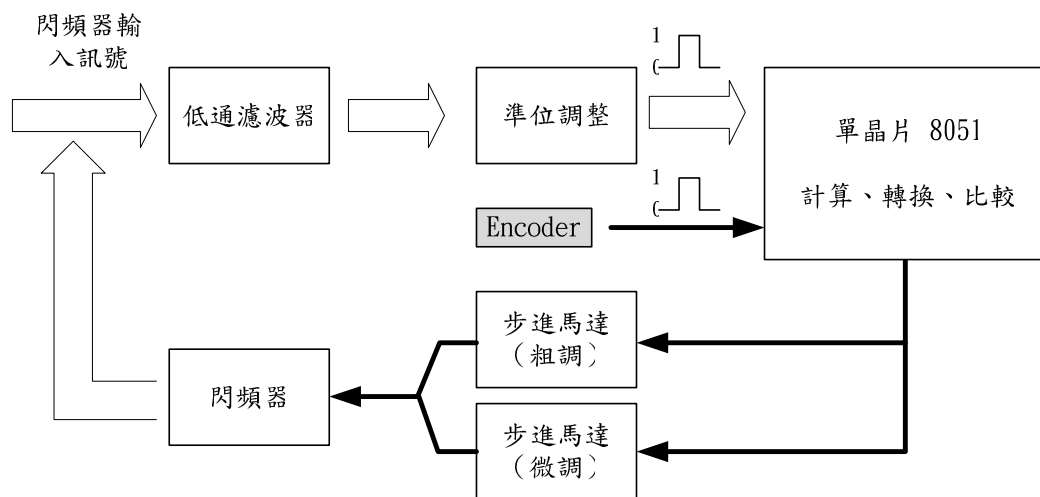


圖 3-48 閃頻器之控制流程圖

表 3.3 閃頻器控制電路之參數說明

輸入電壓 (VCC)	5V
signal input	由閃頻器而得的控制信號輸入
step1	閃頻器粗調用之步進馬達
step2	閃頻器微調用之步進馬達
Encoder	伺服馬達之編碼器訊號輸入

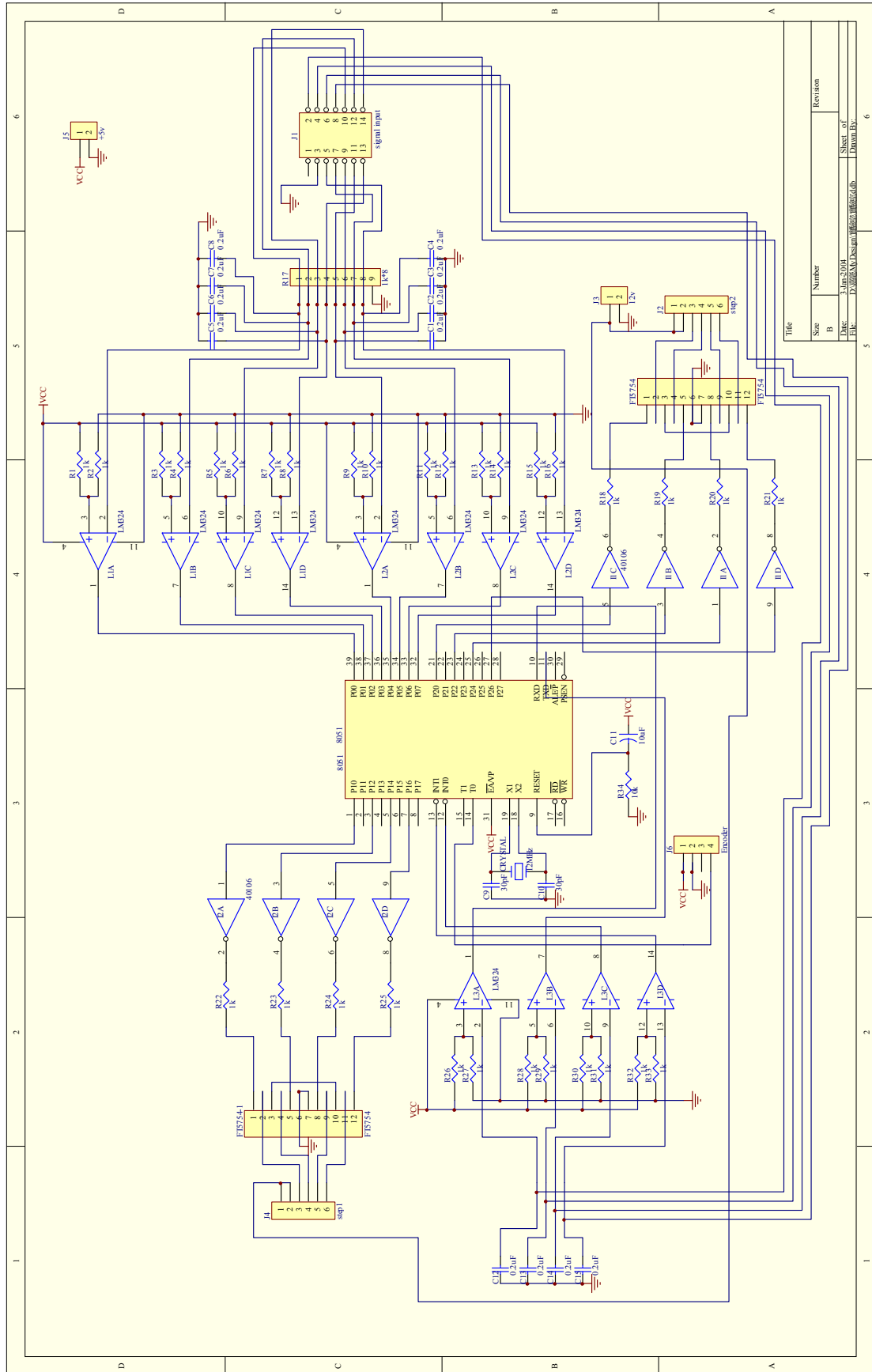


圖 3-49 閃頻器之控制電路

3.6.3 伺服馬達轉速控制電路

控制電路如圖 3-50 所示為伺服馬達之轉速控制流程圖，主要參數說明如表

3.4 所示為閃頻器控制電路之參數說明，圖 3-51 所示為伺服馬達之轉速控制電路。

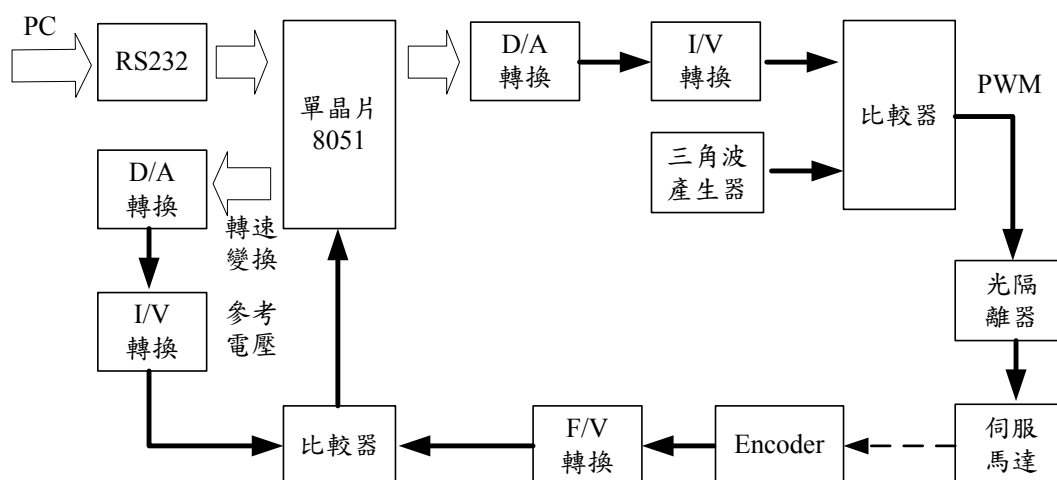
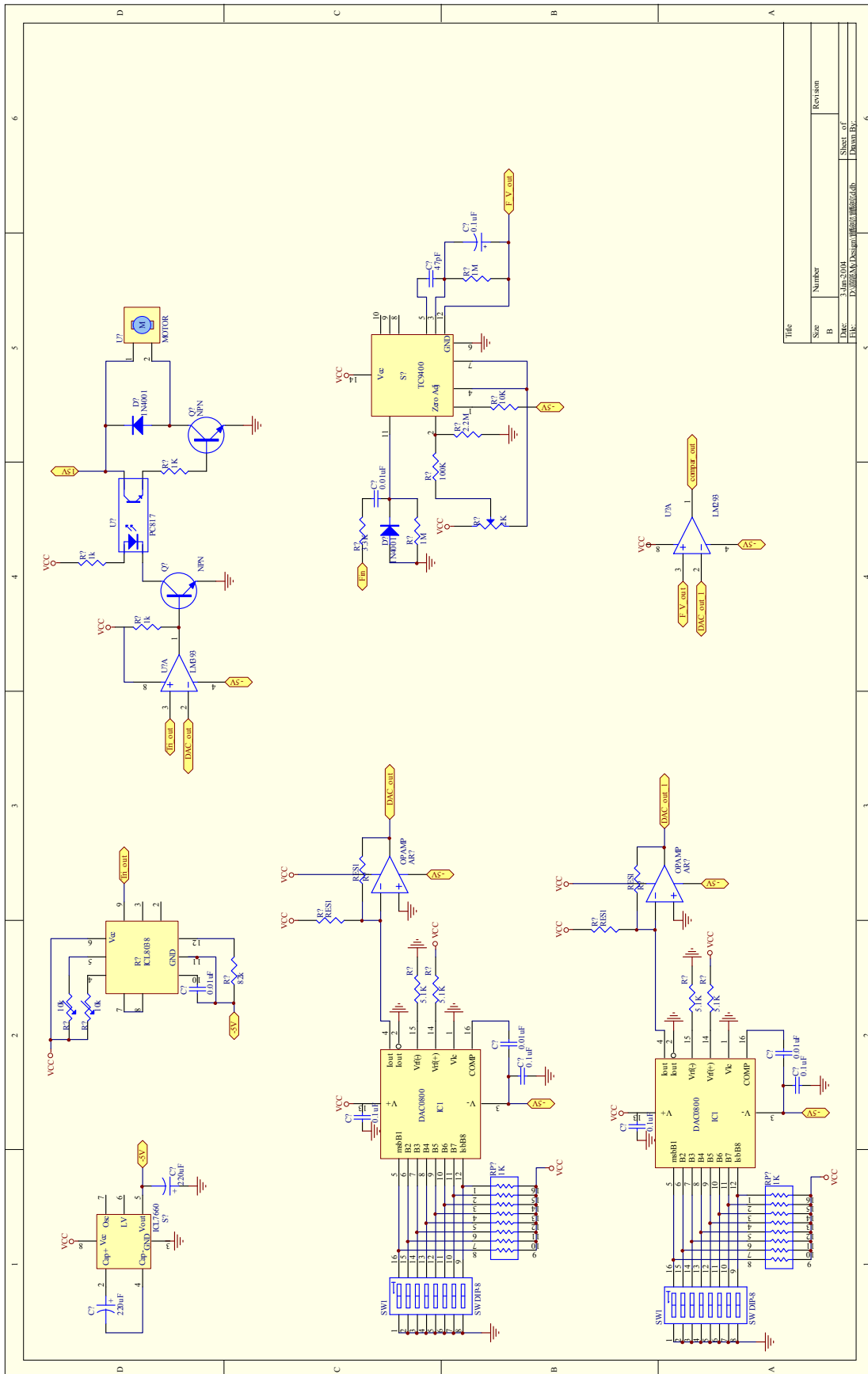


圖 3-50 伺服馬達之轉速控制流程圖

表 3.4 伺服馬達轉速控制電路之參數說明

輸入電壓 (VCC)	5V
DAC_out	調變轉速用之電壓
DAC_out_1	變換段速用之參考電壓
Tri_out	產生三角波
Fin	Encoder 的訊號輸入
F_V_out	F/V 轉換後得到的電壓
compare_out	比較電壓，以提供 8051 做回授



Title		Revision	
Size	Number		
B			
Date:	3/15/2018	Sheet	4 of 6
File:	D:\課程\3\Assignment\圖紙\圖紙\圖紙.dwg	Drawn By:	

圖 3-51 伺服馬達之轉速控制電路

3.7 硬體架構

系統的硬體架構如圖 3-52~3-58 所示。

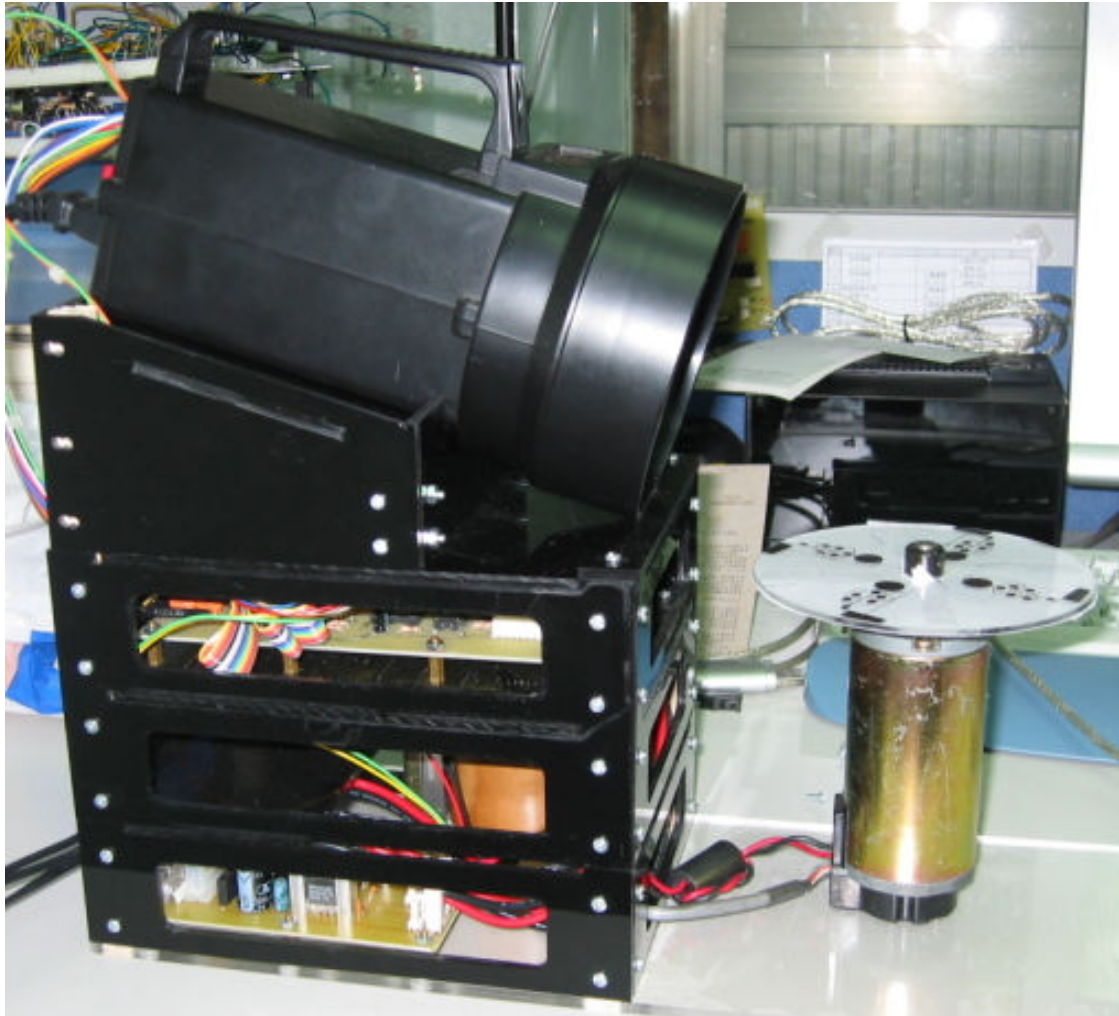


圖 3-52 完成之系統圖



圖 3-53 脈衝光源（閃頻器）

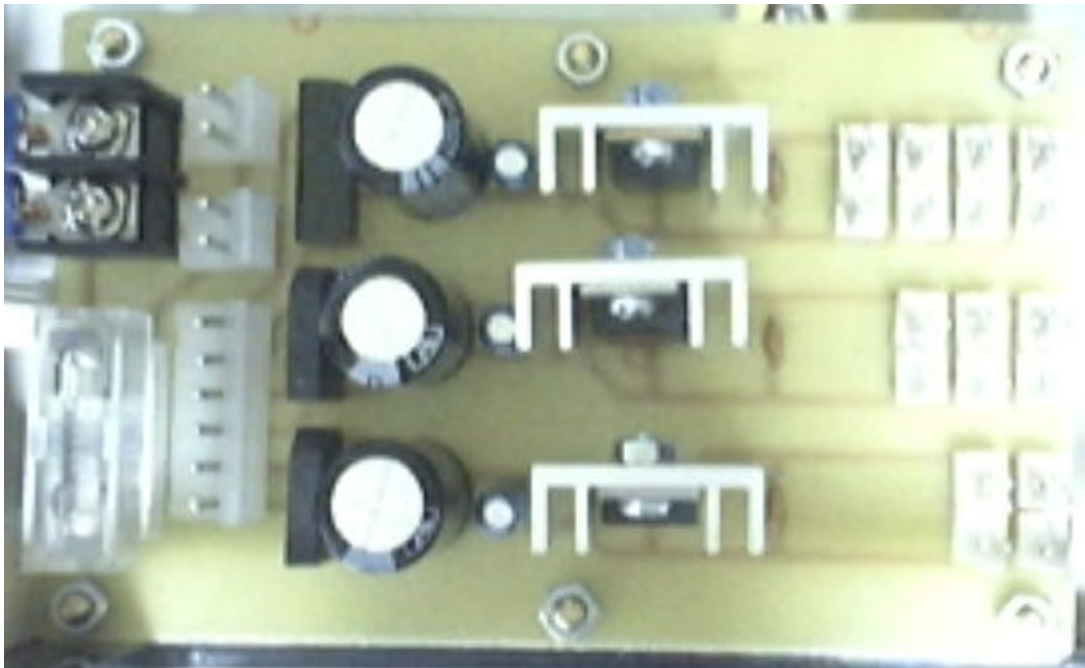


圖 3-54 電源電路



圖 3-55 電源電路所使用之變壓器

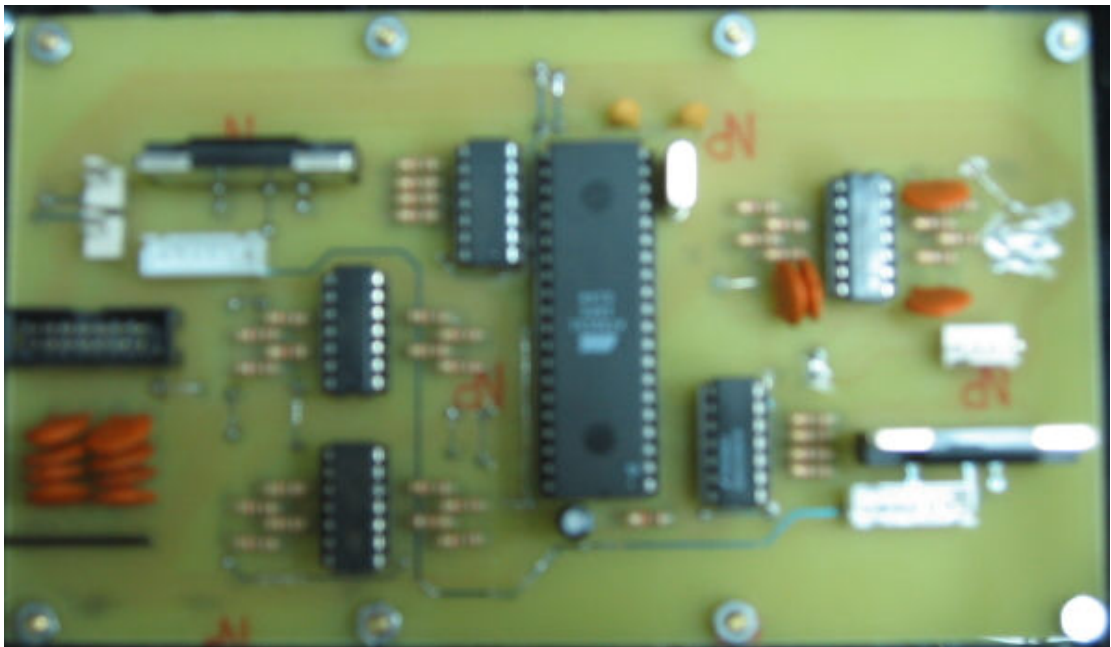


圖 3-56 控制電路



圖 3-57 伺服馬達

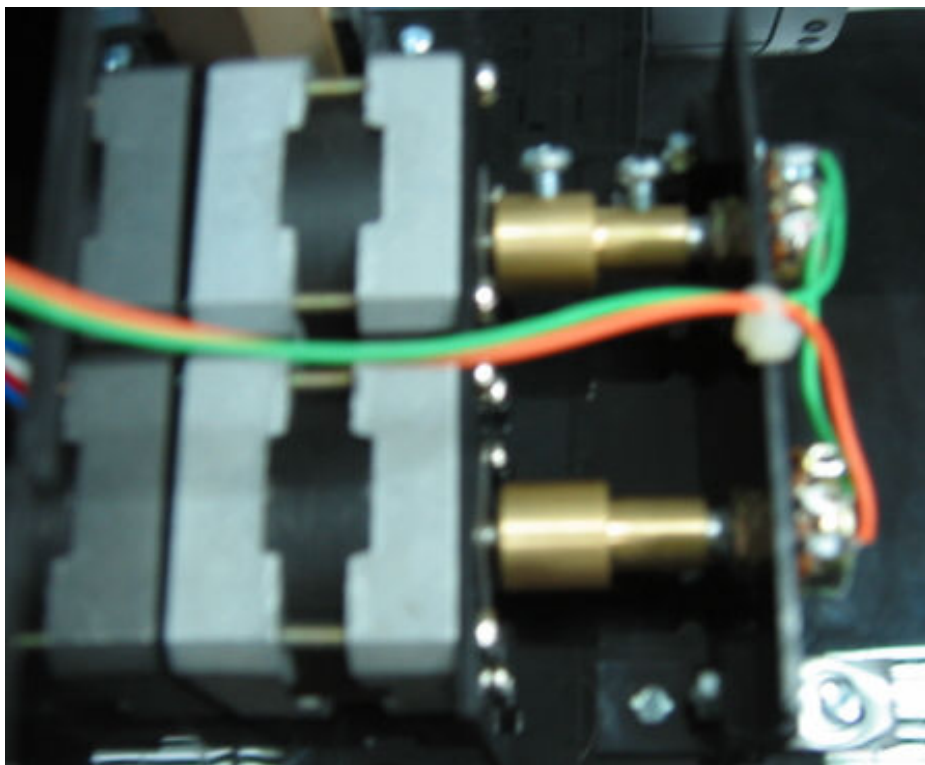


圖 3-58 步進馬達

3.8 實驗數據與研究成果

3.8.1 實驗數據

圖 3-59 為靜止之生物碟片影像（於日光燈照射下）

圖 3-60 為旋轉中之生物碟片影像（於日光燈照射下，未加脈衝光）

圖 3-61~3-62 為旋轉中之生物碟片影像（未同步，造成影像重疊），於暗室中攝得

圖 3-63~3-65 為旋轉中之生物碟片影像（同步，影像呈現靜止），於暗室中攝得

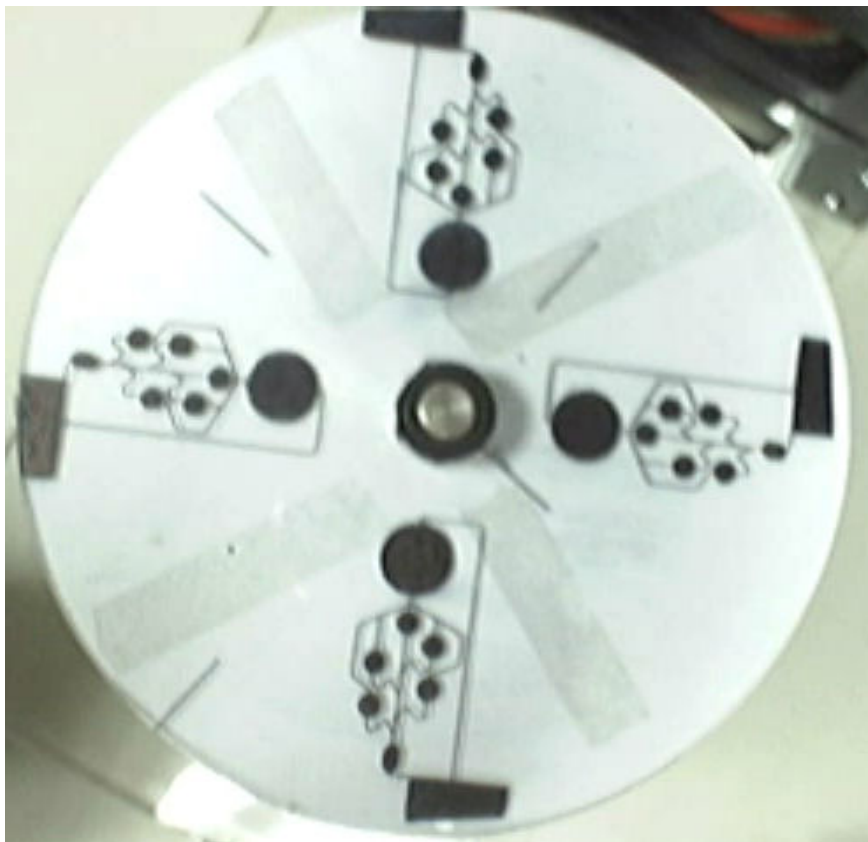


圖 3-59 靜止之生物碟片影像（於日光燈照射下）



圖 3-60 旋轉中之生物碟片影像-1 (於日光燈照射下，未加脈衝光)

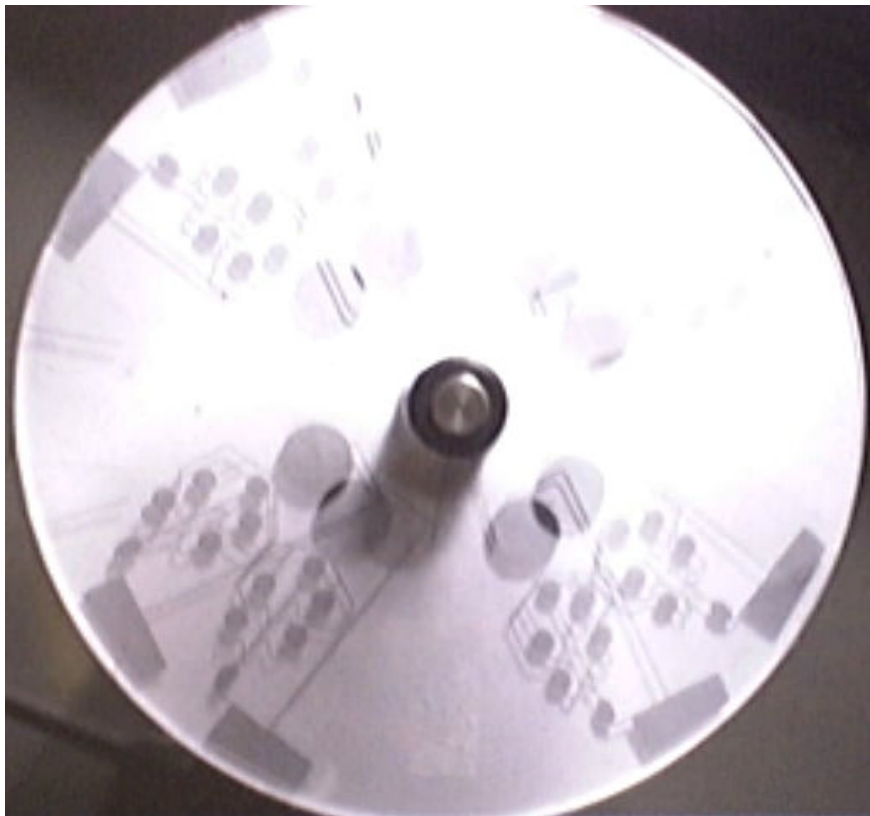


圖 3-61 旋轉中之生物碟片影像-2 (未同步，造成影像重疊)

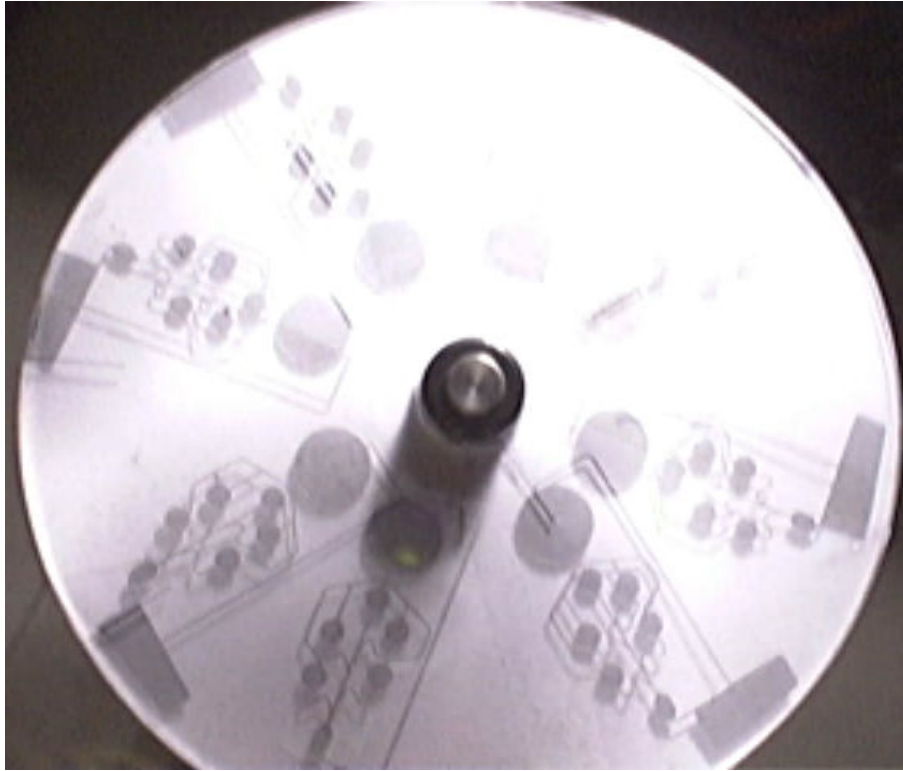


圖 3-62 旋轉中之生物碟片影像-3 (未同步，造成影像重疊)

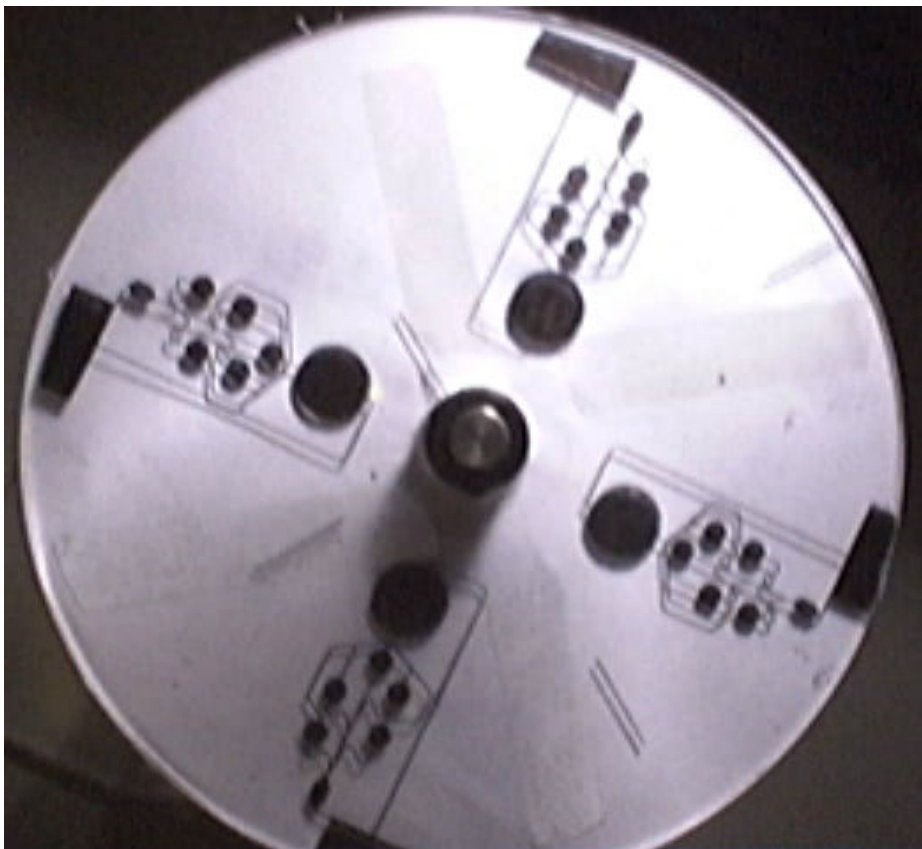


圖 3-63 旋轉中之生物碟片影像-4 (同步，影像呈現靜止)

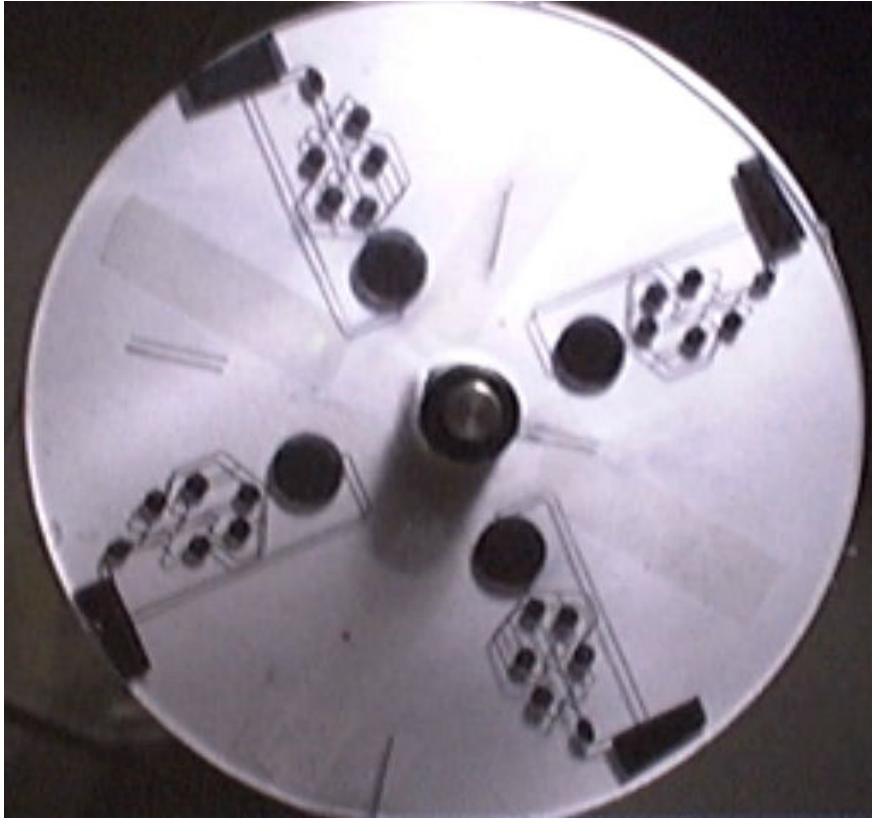


圖 3-64 旋轉中之生物碟片影像-5 (同步, 影像呈現靜止)

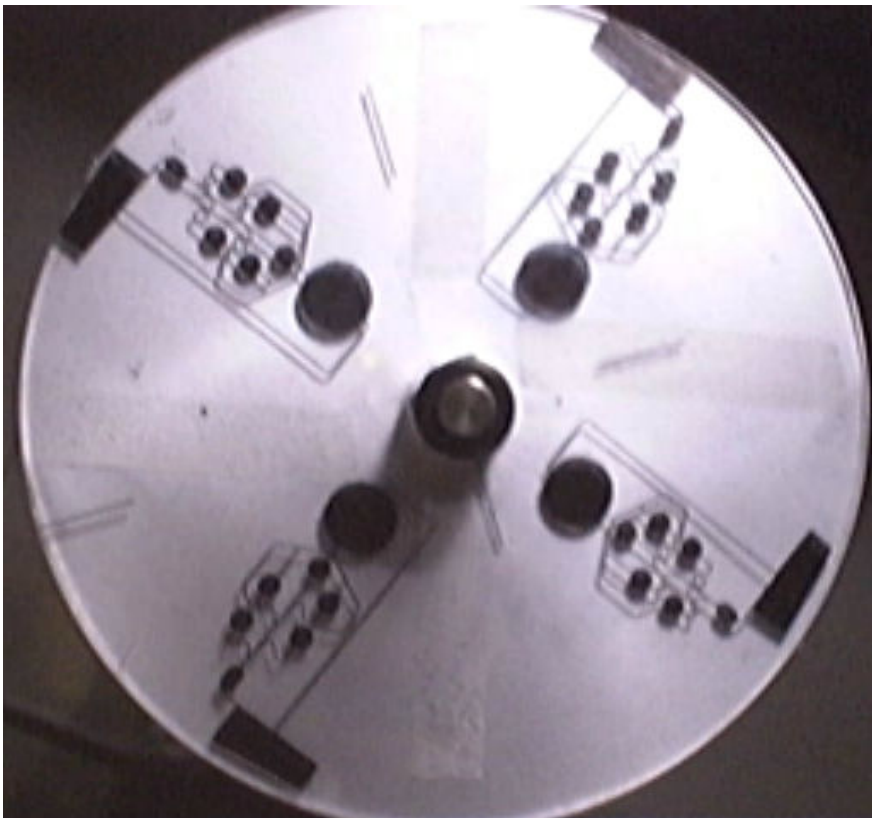


圖 3-65 旋轉中之生物碟片影像-6 (同步, 影像呈現靜止)

完成光碟式微流體生物碟片之旋轉機台與脈衝光之原型機硬體架構如圖 3-66、3-67。

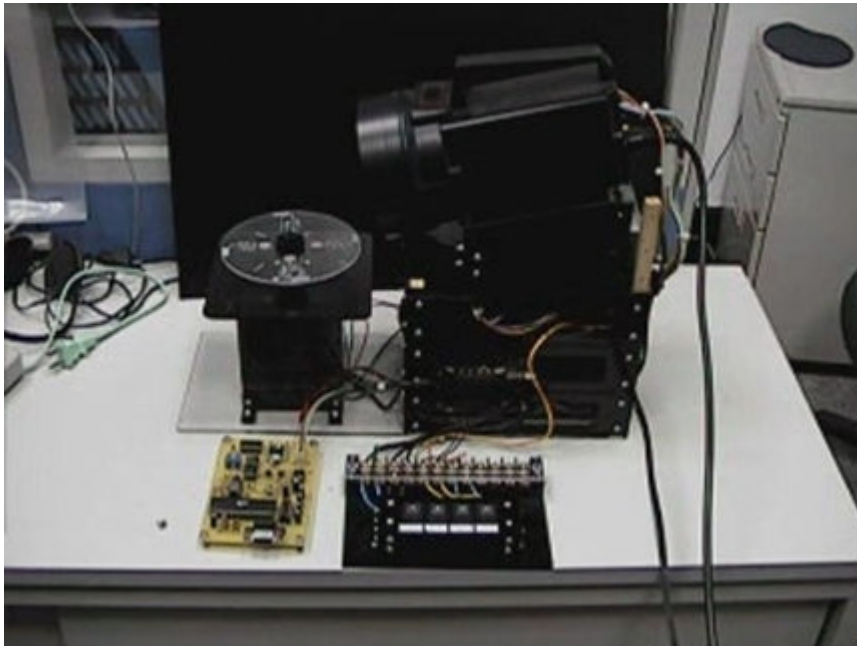


圖 3-66 完成之系統圖

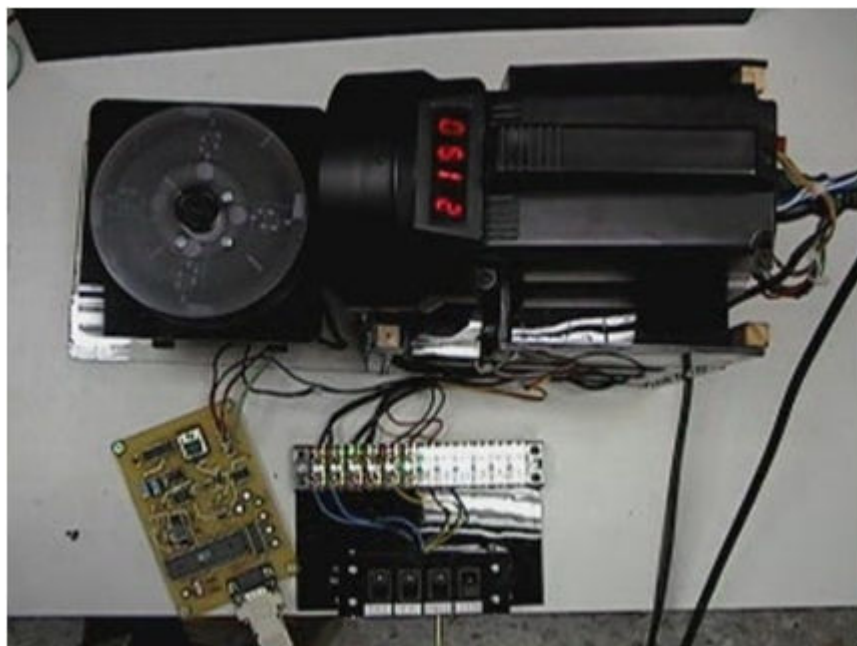


圖 3-67 系統運轉狀態圖

四、結果與討論

1. 生物快速檢驗試劑之自動化視覺檢測系統

在 C 型肝炎之檢驗方面，一般 C 型肝炎感染約有 70 天的空窗期，在這段期間內，以傳統的抗原-抗體檢驗方法，並無法從血液中檢出肝炎抗原。此外，肝炎患者於治癒後，血液中仍含有肝炎的抗原-抗體，傳統之檢驗方法亦無法檢測出來。由於生化快速檢驗試劑的靈敏度遠高於傳統檢驗方式，因此可以克服此困難，故生化快速檢驗試劑具有快速、高靈敏度等優點。然而生化反應常利用螢光或顏色排列、組合等，配合醫學資料庫辨識檢測結果，來表示其反應之結果，故可以使用機器視覺系統辨識顏色之排列並辨識檢驗結果。在本研究中，此檢測系統克服了雜訊干擾且具備極高之靈敏度，也曾對於生物試劑作過數百次之測試與參數調校，得到一個穩定的檢測系統。希望能在未來運用在各式生物試劑的檢測，為醫療人員帶來便利。

在本研究中，完成了一套低成本之生物快速檢驗試劑之自動化視覺檢測系統，其具備以下幾點特性：

- (1) 快速檢測：檢體上升至於 Test Line 位置 10-15 分鐘，經電腦取像判讀，0.3 秒內即可知檢測結果。
- (2) 靈敏度高。
- (3) 以視覺化檢測系統進行顏色判斷，簡易操作。
- (4) 操作簡便。

2. 生物晶片影像辨識方法

主要是研究如何設置一個能夠快速而準確得到多類型的定性與定量之生物晶片影像辨識方法。本方法主要是研究如何將螢光呈色方式應用於高分子聚合物基材之檢測用微陣列生物晶片上，使生物晶片除了原本的定性功能外還能提供定量的資訊，透過實驗證明螢光呈色技術可以達到單一檢測探針除了定性資訊外還可以分析定量資訊。

以現階段生物晶片之設計與操作其實相當繁瑣，尤其在進行實驗規劃與設計初期有許多實驗數據都出現非預期之結果，然而從生物晶片製作到操作，影響實驗結果之因素眾多，經常遇到不知從何處著手分析問題之困擾，因此生物晶片製程自動化技術及生物晶

片操作自動化技術，仍有相當大的發展空間，如何盡量排除影響實驗操作的變因，其實是相當重要之關鍵因素，希望本研究成果，能夠對生物檢驗晶片之未來發展有所貢獻。

3. DMD 之 3D 機器視覺化特性量測系統架

在 DMD 之 3D 機器視覺化三維輪廓量測與重建系統方面，應用 DMD 光柵投影技術投影一組光柵至待測的物體上，量測待測物體的表面三維輪廓資訊，再利用重建系統重建出物體的曲面，並計算物體的曲率。本系統具有快速、高靈敏度等優點，非常適用於量測應用於微小物體三維輪廓特性。

4. 生物碟片檢測系統

在本研究中，目前已完成了檢測生物碟片所需之系統，包含控制器、伺服馬達、步進馬達及閃頻器間的控制。經由閃頻器的照射，再配合 CCD 擷取微流體生物碟片之影像後，便能夠很容易地使旋轉中之影像呈現靜止，再依照先前的理論完成程式分析，並將結果顯示出來。未來若能加入血液樣本及生化反應試劑的實際測試，則將使本系統更趨於完備，加快應用於醫療上的腳步。

未來希望能將本系統的控制器改良的更穩定，並且加入 RS232 的控制，使能夠由個人電腦直接控制伺服馬達做 8 段位轉速變更並且更改控制器的輸入。同時也希望能儘早將本系統做完測試，並應用於醫療體系上，為患者帶來福利。

五、計畫成果自評

本計畫已完成之成果如下：

1. 完成架設生物晶片之檢測設備，整合脈衝光源、顯微鏡頭、伺服馬達之架構與控制器。
2. 完成光碟式微流體生物晶片之雷射加工參數之修正工作與資料庫建立。
3. 完成 DMD 之 3D 機器視覺化特性量測系統架構雛型。
4. 除了利用金屬中心微光機電視覺檢測系統進行測試外，並嘗試在逢甲大學自控系組裝簡易型之 DMD 微光機電結構機器視覺特性量測系統之微鏡片結構之 3D 檢測裝置。
5. 完成設計及製造之生物碟片結構，包含六個微幫浦深腔及兩個儲槽做為血液流體輸入及混合輸出之用，以及六個微流量控制流道及流體混合流道。
6. 利用 DMD 微機電結構 3D 檢測設備自動評估，使微小物件其製程更為可靠，
7. 完成生物試劑之檢測設備。
8. 共發表十篇期刊論文[1-10]。
9. 共發表三篇會議論文 [11-18]。
10. 提出專利五項，通過專利四項[19-23]。
11. 完成一項業界廠商專利技術移轉二十萬元[24]。

在產學合作、理論創新與智慧財產方面，本計畫成果都能互相交融，而有所斬獲，如此也驗證本計畫之成功。

六、參考文獻

1. Chern-Sheng Lin, Chien-Wa Ho, Chao-Ying Wu, Luo-Hwa Miao, Lisa Lin, Automatic inspection device for HCV antibody rapid test strips for the production line, Journal of Scientific & Industrial Research (JSIR), 2004, Vol.63(3), 251-258 (SCI)
2. C S.Lin, K. C. Yu, I. C. Lue, S. S. Hung, L. C. Chan, A Study on CCD Positioning System for LCD Manufacturing Process (in Chinese), Image and Recognition, 2004, Vol. 10, No. 2, 84-98
3. C. H. Lin, C S.Lin, M. C. Lee, C. C. Lay, I. C. Wu, The Inspection System for Biostrips (in Chinese), Image and Recognition, 2004, Vol. 10, No. 2, 111-127
4. Chern-Sheng Lin, Chao-Ying Wu, Hung-Chun Hsu, Kevin-Min-Chen Li, Lisa Lin, Rapid Bio-Test Strips Reader with Image Processing Technology, Optik, (SCI) 2004, Vol. 115, No. 8, 363-369
5. Chern-Sheng Lin, The Design and Applications of Automatic Optical Inspection System in the LCD production line (in Chinese), INSTRUMENT DODAY, vol.26, No.2, P.27-39
6. Chern-Sheng Lin, Yun-Long Lay, Shi-Xiang Chan, Chien-Wa Ho, Yih-Chih Chiou, The High-Speed Measurement of Partial Area Imaging system Applied to Development processing, The Journal of the Chinese Institute of Engineers (SCI) 2005
7. Jason Cho, Chern-Sheng Lin, Ben Jamin Jan, Chia-Hau Lin, Nin-Chun Chang, An Opto-Electrical Method for Measuring the Gap of LCD Glass Plates, Optics and Laser Technology, vol. 37 (8) pp. 623-630, 2005, (SCI).
8. Chern-Sheng Lin, Jason Cho, Yun-Long Lay, Chia-Hau Lin, Nanjou Lin, The auto-measurement of the gap of LCD glass plates using sub-pixel accuracy estimation, Optik, 2006, Vol. 117, No.8, 349-354 (SCI).
9. Chern-Sheng Lin, Chia-Hau Lin, Chao-Ying Wu, Hong Zong Shieh and Chi-Chih Lay, The Rotation Rate Measurement of Microfluidic Biodisk Spinner and Automatic Adjustment for Pulsed Light Source, Optics and Laser Technology, 2007, (SCI).
10. Chern-Sheng Lin, Chia-Wen Tsai, Ying-Cherng Lu, Chingfu Tsou, Su-Chi Chang, Automatic inspection of the width and gap of etching transistors in TFT-LCD panels using sub-pixel accuracy estimation, International Journal of Advanced Manufacturing Technology, 2006 (SCI).
11. 林嘉毫、林宸生、李名正、賴啟智、吳穎強，生物試劑自動化檢測系統，2004 第十三屆全國自動化科技研討會·中華民國 93 年 6 月·台北國立台北科技大學。
12. 湯孟喬，林宸生，林嘉柏，白家瑄，陳欣孝，林巽偉，王涵威，李立凱，高分子聚合物基材之微陣列生物晶片螢光定量分析方法，OPT 2004 研討會，生醫光電類組，F2N-54759，中華民國九十三年十二月十一、十二日，國立中央大學
13. 蔡嘉文、林宸生、曾健明、張寧群，TFT-LCD 面板蝕刻電晶體之自動化檢測·「AOI Forum & Show 2004」·中華民國九十三年 10 月 28 日·工研院量測中心
14. 黃國紘，吳國彰，林宸生，吳穎強，林志敏，ACF 之導電粒子破裂變形狀況之自動量測判定，第 13 屆非破壞測技術研討會，非破壞測協會，2006 年 4 月 28 日，石門水庫
15. 廖耀璋，林宸生，高速 TFT LCD 瑕疵檢測系統，2006 自動化科技研討會，彰化市，建國科技大學，九十五年 6 月
16. 蔡嘉文，張書綺，林宸生，呂英誠，TFL-LCD 蝕刻電晶體線寬與線距量測之自動化線上檢測，AOI Forum & Show 2005，新竹市，2005 年 9 月

17. 劉碩茸，張書綺，林宸生，李志法，葉茂勳，透鏡之像質調製函數與畸變量之自動化量測，AOI Forum & Show 2006，新竹市，交通大學，2006年10月
18. 林嘉毫，張書綺，林宸生，李志法，葉茂勳，應用於手機鏡頭之輪廓量測研究，AOI Forum & Show 2006，新竹市，交通大學，2006年10月
19. 林宸生、吳昭穎、林秀樺、王元欽、李名正，「生物試劑自動檢測系統」，中華民國發明專利，2004公告編號：569010號。
20. 林宸生，林嘉毫，游承峰，林添根，蔡嘉文，林秀樺，生物試劑自動生產系統之監控裝置及其檢測與控制方法，中華民國發明專利，2005編號：233485號。
21. 林宸生、曾健明、蔡嘉文、張朝棋、王郁文、呂英誠，物體辨別定位之方法，中華民國發明專利，2006，專利證書：253021號。
22. 林宸生、卓家軒，多量測用途光點間距之次像素精度估測系統，中華民國發明專利，2006年核准。
23. 林宸生，吳昭穎，林嘉毫，林秀樺，王元欽，“碟型生物晶片檢測系統及其檢測方法”，中華民國發明專利，公開號：200417727
24. 生物試劑自動生產系統之光機電整合監控裝置，中華民國93年經由逢甲大學技術授權中心（國科會補助）技術移轉逢智科技公司。

可供推廣之研發成果資料表

可申請專利

可技術移轉

日期：95年8月26日

國科會補助計畫	計畫名稱：應用於微光機電系統結構之視覺化檢測設計與應用 計畫主持人：林宸生 計畫編號：NSC 93-2212-E-035-002 學門領域：自動化
技術/創作名稱	多量測用途光點間距之次像素精度估測系統
發明人/創作人	林宸生、卓家軒
技術說明	中文：本發明係有關一種光點間距之次像素精度估測方法及裝置，特別是指一種利用相關近似函數之光點間距之次像素精度估測方法及裝置，兼具不必事先建立樣本圖樣或光點模型、計算簡單快速又精確與應用範圍廣之優點及功效。
	英文：An automatic measurement of the gap of LCD glass plates includes a laser light source, lens module, image capturing system and the algorithm for calculation of the position of light spots. To complete the development of the opto-electrical measurement system and to verify the accuracy for the hardware architecture, we use a novel mechanism of multi-track and concentricity, laser light source, lens module, and image capturing system.
可利用之產業及可開發之產品	不必事先建立樣本圖樣或光點模型。因此，可以直接進行兩光點間距之次像素精度估測，特別是應用於兩片液晶顯示(LCD) 面板間之問隙之量測，對光電產業有極大的助益。
技術特點	計算簡單快速又精確。本發明不像習知之傅利葉相位偏移法需要煩瑣的數學轉換，也比傳統之重心估算法精確，實務上，本發明之精確度已可高達 0.05 個像素的程度，整體而言，計算簡單、快速又準確。特別是若搭配重覆 N 次及遞迴運算步驟，即可利用卡曼濾波器之原理，將估測之精確性再提高。
推廣及運用的價值	應用範圍廣。有於本發明之裝置，不只可以用來估測光點間距，再反推出二待測透光片體之間隙。也可修改成光學應變規，利用估測光點間距，再反推出光學應變規之間隙及其代表之物理意義。當然，若將間隙設為已知項目，則可反推出一雷射光束之波長，因此，應用之範圍極廣。

※ 1.每項研發成果請填寫一式二份，一份隨成果報告送繳本會，一份送貴單位研發成果推廣單位（如技術移轉中心）。

可申請專利

可技術移轉

日期：95年8月25日

<p>國科會補助計畫</p>	<p>計畫名稱：應用於微光機電系統結構之視覺化檢測設計與應用 計畫主持人：林宸生 計畫編號：NSC 92-2212-E-035-006 學門領域：自動化</p>
<p>技術/創作名稱</p>	<p>生物試劑自動生產系統之光機電整合監控裝置</p>
<p>發明人/創作人</p>	<p>林宸生、林嘉毫、游承峰、林添根、蔡嘉文</p>
<p>技術說明</p>	<p>中文：本創作係有關一種生物試劑自動生產系統之光機電整合監控裝置及其檢測方法，尤指一種以 CCD 攝影機來攝取生物試劑之影像，並由電腦進行影像之灰階值的分佈判讀，據以判斷引發不良狀況之原因，以供作為調整生物試劑自動生產系統依憑之監控裝置及其檢測方法。 英文：An automatic inspection system for the antibody rapid test strip, uses computer vision device and new image processing algorithm. When specimen dilution rises to the T line position the system makes a colour judgment by digital CCD in a computer vision inspection system, without using human vision. This system can provide accurate measurement data in inspection within few minutes, and quality verification for the production line of rapid test strip is more convenient.</p>
<p>可利用之產業 及 可開發之產品</p>	<p>生物試劑自動生產系統之光機電整合監控裝置及其檢測方法，確保能將生物試劑成品之品質控制到最佳狀態。</p>
<p>技術特點</p>	<p>本創作係有關一種生物試劑自動生產系統之光機電整合監控裝置及其檢測方法，其主要係以一 CCD 攝影機來攝取生物試劑之影像，並將所攝得的生物試劑影像傳送到電腦進行影像處理，並於螢幕上呈象顯示，而經過影像處理的資料會由電腦進行灰階值的分佈判讀</p>
<p>推廣及運用的價值</p>	<p>分析出生物試劑上之控制線與測試線之位置正確度、試劑溶液的噴灑濃度是否適合等，從而判斷引發不良狀況之原因，以供作為調整生物試劑自動生產系統之依憑。</p>

※ 1.每項研發成果請填寫一式二份，一份隨成果報告送繳本會，一份送 貴單位研發成果推廣單位（如技術移轉中心）。

可申請專利

可技術移轉

日期：93年5月25日

國科會補助計畫	計畫名稱：應用於微光機電系統結構之視覺化檢測設計與應用 計畫主持人： 林宸生 計畫編號： NSC 92-2212-E-035-006 學門領域：自動化
技術/創作名稱	生物試劑自動生產系統之光機電整合監控裝置
發明人/創作人	林宸生、林嘉毫、游承峰、林添根、蔡嘉文
技術說明	<p>中文：本創作係有關一種生物試劑自動生產系統之光機電整合監控裝置及其檢測方法，尤指一種以 CCD 攝影機來攝取生物試劑之影像，並由電腦進行影像之灰階值的分佈判讀，據以判斷引發不良狀況之原因，以供作為調整生物試劑自動生產系統依憑之監控裝置及其檢測方法。</p> <p>英文：An automatic inspection system for the antibody rapid test strip, uses computer vision device and new image processing algorithm. When specimen dilution rises to the T line position the system makes a colour judgment by digital CCD in a computer vision inspection system, without using human vision. This system can provide accurate measurement data in inspection within few minutes, and quality verification for the production line of rapid test strip is more convenient.</p>
可利用之產業及可開發之產品	生物試劑自動生產系統之光機電整合監控裝置及其檢測方法，確保能將生物試劑成品之品質控制到最佳狀態。
技術特點	本創作係有關一種生物試劑自動生產系統之光機電整合監控裝置及其檢測方法，其主要係以一 CCD 攝影機來攝取生物試劑之影像，並將所攝得的生物試劑影像傳送到電腦進行影像處理，並於螢幕上呈象顯示，而經過影像處理的資料會由電腦進行灰階值的分佈判讀
推廣及運用的價值	分析出生物試劑上之控制線與測試線之位置正確度、試劑溶液的噴灑濃度是否適合等，從而判斷引發不良狀況之原因，以供作為調整生物試劑自動生產系統之依憑。

※ 1.每項研發成果請填寫一式二份，一份隨成果報告送繳本會，一份送 貴單位研發成果推廣單位（如技術移轉中心）。