

高解析傅立葉轉換紅外光譜顯微術之原理與應用

The Principles and Applications of Ultraspatially-Resolved Fourier Transform Infrared Microspectroscopy

李耀昌、陳慶曰

Yao-Chang Lee, Ching-Iue Chen

國家同步輻射研究中心之紅外顯微術實驗站是利用同步輻射加速器偏轉磁鐵光源建立的紅外光束線實驗站，提供可達中紅外光區繞射極限 8–10 μm 之空間解析的光譜影像分析，並提供材料科學、醫學診斷及半導體製程應用的光譜影像分析。在本文中，我們利用同步輻射紅外顯微術研究包埋於石蠟之人類正常及癌化結腸切片組織的紅外吸收光譜影像。結果顯示癌化組織之 amide I 及 amide II 的紅外吸收強度高於正常組織，而 DNA 之吸收強度則相對較弱。

The infrared microspectroscopy beamline at the National Synchrotron Radiation Research Center (NSRRC) has been adapted to provide intense collimated radiation for a mid-infrared microscope. Infrared microscope with high brightness synchrotron radiation has greatly improved the spatial resolution of this technique by allowing high quality spectra to be collected from samples whose size is approaching the diffraction limit for this wavelength of light, typical 8–10 μm . In this study, the infrared spectral images of colorectal tissue showed that the absorbance of amide bands for normal tissues was much lower than that of the malignant tissue. The decrease in absorbance of phosphate of DNA was found in malignant tissue.

一、前言

光譜的紅外光區涵蓋了波數 12800–10 cm^{-1} 或波長 0.78–1000 μm 的輻射。從應用及儀器的觀點，紅外光譜可區分成近紅外 (near-infrared)、中紅外 (middle-infrared) 與遠紅外 (far-infrared) 輻射等光區。現今於分析上主要是在中紅外光區，範圍在

4000–400 cm^{-1} ，亦即 2.5–25 μm ，如表 1 所示。利用中紅外吸收光譜技術可獲得物質分子的幾何結構、鍵結種類與化學反應性，並可應用在物質成分的定性或定量分析。且由於大部分物質分子之振動基礎躍遷 (vibrational fundamental transition) 譜線落於中紅外光區，所以中紅外光吸收光譜提供了物質分子獨特的指紋 (fingerprint)，因此可藉由特徵光

譜區分所有物質分子。但對於具有相同特徵光譜之光學異構物及同核雙原子分子而言，無法藉由此技術予以辨識。

紅外光譜學是利用分子所產生的數種甚至數十種特徵吸收光譜作為判斷物種的分析方法，並採用分子本身的特徵吸收光譜所組成的頻譜資料庫作為基礎，進而達成確認化學成分的目的。傳統的紅外顯微術 (infrared microspectroscopy, IMS) 使用黑體輻射光源，其聚焦光束的大小受光學繞射極限 (diffraction limitation) 的限制，只能在數十微米尺度之空間解析 (spatial resolution) 下進行生物組織及材料微結構 (microstructure) 之化學官能基 (functional group) 的確認。反觀以高準直性及高輝度 (brightness) 之同步輻射紅外光源 (synchrotron infrared radiation) 為基礎之紅外顯微術，勢必將同步輻射紅外顯微術 (synchrotron-radiation-based infrared microspectroscopy, SR-IMS) 引領到更高空間解析及高靈敏度分析的新境界。

本紅外顯微術實驗站是結合高準直之同步輻射紅外光源、共焦紅外顯微鏡 (confocal infrared microscope)、傅立葉轉換紅外光譜儀 (Fourier transform infrared spectrometer, FTIR) 及電動二維掃描樣品平台的現代光譜影像 (spectral image) 及微量分析系統。此實驗站提供可達中紅外光區 $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$ 之繞射極限 (spatial resolution) $8 - 10 \mu\text{m}$ 的空間解析度，並提供物理、化學、醫學診斷 (medical diagnosis)、食品科學 (food science)、環境科學 (environmental science)、地質學 (geology)、鑑識科學 (forensic science)、考古學 (archaeology) 及藝術品鑑識的光譜影像分析。

台灣第一條同步輻射紅外光束線是專為中紅外顯微術實驗站 (BL14A) 來設計，並已成功地操作且開放給各界申請使用。而未來的 3 GeV 同步輻射光源將更進一步提供一座高光通量 (high flux) 且光束大小為 $3 \times 3 \mu\text{m}^2$ 的高準直紅外光源。雖然 3 GeV 同步輻射紅外光束線將被設計成主要提供中紅外光區的光束線，但亦可搭配適當的光偵測器，使得近紅外 (near-infrared) 與遠紅外 (far-infrared) 光區亦可在同一光束線上進行光譜的或光譜影像的研究。將來建造的世界級的 3 GeV 同步輻射加速器

表 1. 紅外光譜區。

區域	波長範圍 (λ) μm	波數範圍 ($\bar{\nu}$) cm^{-1}	頻率範圍 (ν) Hz
近紅外	0.78 - 2.5	12800 - 4000	$3.8 \times 10^{14} - 1.2 \times 10^{14}$
中紅外	2.5 - 50	4000 - 200	$1.2 \times 10^{14} - 6.0 \times 10^{12}$
遠紅外	50 - 1000	200 - 10	$6.0 \times 10^{12} - 3.0 \times 10^{11}$

將能夠提供次細胞解析 (sub-cellular resolution) 之疾病診斷與治療，並提供微晶體 (microcrystals) 之固態物理、觸媒化學、微米尺度下的顯微樣品碎片及薄膜材料之紅外光譜影像資訊。

二、光譜影像基本原理

何謂光譜影像？或是稱為化學影像 (chemical image, CM)，由於每個化學成分都有其特徵光譜，藉由這些特徵吸收或放光信號的強弱即可定量或定性物質分子，同時量測分布於樣品上不同區域的物質分子的特徵光譜。化學影像和一般的光學影像如白光影像及雷射影像不同，一般光學影像為物理影像，與待測物之幾何形狀、顏色及偏光有關，因此一般的光學影像無法分辨不同物質的成分。但由於不同物質具有不同的吸收或放射之特徵光譜，藉由其特徵光譜來鑑別不同物質之化學成分及其結構，因此結合光譜學和影像空間解析所產生的影像稱為光譜影像，而應用在紅外光區作為鑑別化學物種成分分析之影像則稱為紅外光譜影像。

如何擷取光譜影像？傳統方法即結合光源、光譜儀、顯微鏡及二維掃描平台，擷取待測樣品於空間上各量測面或線的光譜，再就各點光譜檢量線或校正曲線求其強度，即為影像圖中各點灰階色澤。另外一種方法為全場區影像 (full-field imaging)，即以聲光調變濾光器 (acoustic optical tunable filter, AOTF) 及液晶調變濾光器 (liquid crystal tunable filter, LCTF) 電荷耦合元件取代光譜儀中的單點偵測器。這兩種技術均可達 0.5 nm 以下的波長解析^(1,2)，並配合高感度電荷耦合元件，無需機械調校與傳動，而且可快速地量測光譜和影像，適合於可見光及近紅外光區的動態量測，但很少應用在中紅

外光區，原因在於此光區之濾光器帶通寬度過寬，導致光譜解析度較低⁽³⁻⁵⁾。

傳統的傅立葉轉換紅外光譜儀採用單點式的紅外偵測器進行光譜量測，只能對待測樣品上的小面積進行分析，並無法量測偵測區域中各化學成分於空間上的分布。而傅立葉轉換紅外光譜影像系統則是結合光譜儀、共焦紅外顯微鏡，並配合單點式偵測器及電動樣品平台執行二維掃描，並進行光譜及空間檢測，或藉由嵌入一紅外共焦面型陣列偵測器 (infrared focal plane array detector) 進行全場區影像的量測方式，亦即同時進行光譜及空間檢測，取得不同位置的空間資訊後，經過影像重組 (image reconstruction) 過程，再將光譜資訊整合後得到完整的紅外光譜影像。

此光譜影像是將影像光學技術、影像重組技術與紅外吸收光譜結合，產生三維空間的多光譜紅外光譜影像，以進行生物組織、材料缺陷及化學雜質分布的檢測，方能了解各種材料特性、成分光譜及結構狀態。前者光譜影像系統的最大優點是在於可同時量測樣品的空間及光譜分布資訊，目前的技術已達 $8\ \mu\text{m}$ 的空間解析。這一進步使得以往不易量測的樣品得以輕而易舉以傅立葉轉換紅外光譜影像系統進行量測，進而取代了早期特殊用途的量測儀器。

三、紅外光譜顯微術實驗站之組成

目前紅外光譜顯微術實驗站是由傅立葉轉換紅外光譜儀、共焦紅外顯微鏡及紅外光束線所組成，其中傅立葉轉換紅外光譜儀主要是以麥克森干涉儀 (Michelson interferometer) 作為調制光源的核心，並配合電腦系統執行傅立葉轉換及數據處理。以下即分別對麥克森干涉儀的基本原理、傅立葉轉換紅外光譜影像系統的構造及基本原理做概要的介紹。

1. 麥克森干涉儀的基本原理

麥克森干涉儀是以分光片將一平行光束分成兩束幾近強度相等的光束，一光束穿透分光片達固定鏡，另一光束則由分光片反射至一與光軸方向平行等速運動的移動鏡，此經由不同光徑之兩道光束於

分光片上重疊，並通過待測樣品，再由反射式光學鏡組聚焦至偵測器。其主要架構如圖 1(a) 所示。

若移動鏡及固定鏡分別與分光片相距 m 及 l ，則上述兩束光線之光程差為 $\delta = 2(m - l)$ (retardation)，兩光束混合時產生干涉現象。當光源為單色光時，光程差 δ 為此單色光之波長 λ 的整數倍時，則形成建設性干涉，此時混合光之強度最強；若光程差為單色光半波長 $\lambda/2$ 的奇數倍時，則產生破壞性干涉，此時混合光之強度最弱。兩束光線之光程差的大小隨著移動鏡位置的改變而變化，因此兩束混合光線亦隨著移動鏡的移動呈現週期性的建設性與破壞性干涉的變化，而使得偵測器測得之訊號大小亦隨之變強變弱，如圖 1(b) 所示。如果移動鏡以等速率移動，則兩道光束之光程差的變化隨時間變化成正比，因此可由偵測器測得一光強度隨時間變化之干涉光譜。傳統光譜是量測光強度

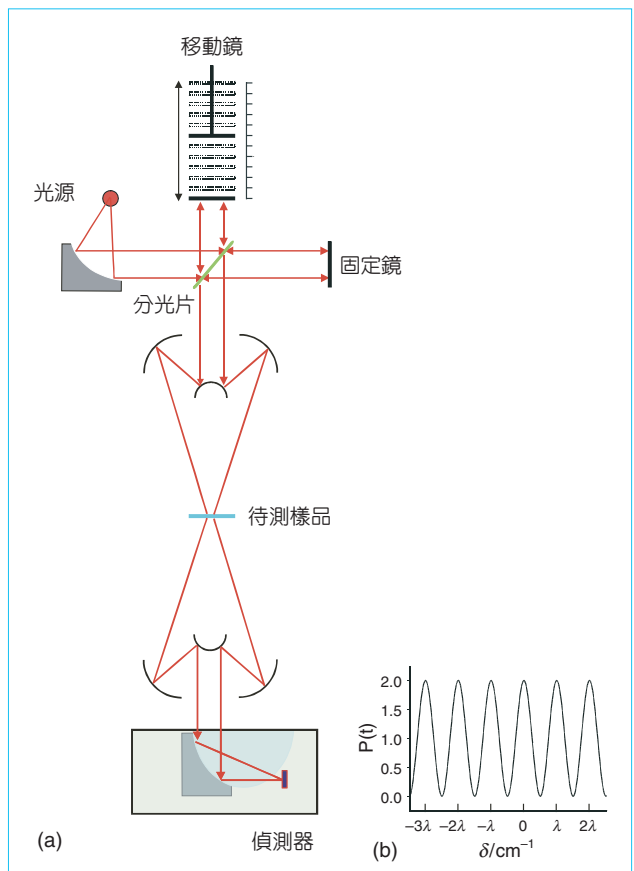


圖 1. (a) Michelson 干涉儀示意圖；(b) 光強度與移動鏡位置之關係之干涉圖譜。

隨波長或頻率之變化，而上述方法所產生的干涉光譜則是測量光強度隨光程差的變化；此一干涉光譜亦包含了傳統光譜所能得到的一切訊息，二者之間可藉由傅立葉轉換相互變換。

因此當光源為一連續波長之光源，入射光之光波電場為 $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$ ，則其光強度 I_0 可表示為：

$$I_0 = \langle \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \rangle = \frac{1}{T} \int_{-\infty}^{+\infty} \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) dt \quad (1)$$

則其光波的電場可表示為：

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = \int_{-\infty}^{+\infty} \sqrt{B(\nu)} \exp[i(\mathbf{k}\mathbf{r} - \omega t)] d\nu \quad (2)$$

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = \int_{-\infty}^{+\infty} \sqrt{B(\nu)} \exp[i(\mathbf{k}\mathbf{r} - \omega t + \phi)] d\nu \quad (3)$$

其中 $\sqrt{B(\nu)}$ 為頻率 ν 之入射光振幅； \mathbf{k} 為波向量 (wave vector)； \mathbf{r} 為位置向量 (position vector)； ω 為角頻率 (angular frequency)； ϕ 為相位差，其值為 $2\pi\delta/\lambda$ 。

入射光經分光片分成兩道光線，行不同光徑回到偵測器會合時，此兩道光之光波電場分別為 $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)/2$ 及 $\mathbf{E}(\mathbf{r} + \delta, t)/2$ 。因此會合後的電場 \mathbf{E}_{sup} 及強度 I_{sup} 可分別表示為：

$$\mathbf{E}_{\text{sup}}(\mathbf{r}, t) = \frac{\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{2} + \frac{\mathbf{E}(\mathbf{r} + \delta, t)}{2} \quad (4)$$

$$\begin{aligned} I_{\text{sup}} &= \frac{1}{T} \int_{-\frac{T}{2}}^{+\frac{T}{2}} \left[\frac{\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{2} + \frac{\mathbf{E}(\mathbf{r} + \delta, t)}{2} \right] \cdot \left[\frac{\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{2} + \frac{\mathbf{E}(\mathbf{r} + \delta, t)}{2} \right] dt \\ &= \frac{1}{T} \int_{-\frac{T}{2}}^{+\frac{T}{2}} \left[\frac{\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)^* \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{2} + \frac{\mathbf{E}(\mathbf{r} + \delta, t)^* \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r} + \delta, t)}{2} + \frac{\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)^* \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r} + \delta, t)}{2} + \frac{\mathbf{E}(\mathbf{r} + \delta, t)^* \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)}{2} \right] dt \\ &= \frac{I_0}{2} + \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{B(\nu)}{2} \cos\left(2\pi \frac{\nu}{c} \delta\right) d\nu \end{aligned} \quad (5)$$

其中 I_0 為入射光強度； $B(\nu)$ 為功率密度頻譜 (power

spectral density)。由式 (5) 可知偵測器所測得的干涉光強度包含了兩部分：不變的直流部分 (DC) 為 $I_0/2$ 及調頻的交流部分 (AC) 則為 $\int_{-\infty}^{+\infty} \frac{B(\nu)}{2} \cos\left(2\pi \frac{\nu}{c} \delta\right) d\nu$ 。

在光譜的測量上，重要的只有交流的部分，因此可將 (5) 式改寫成為干涉光譜與傳統光譜的關係表示：

$$C(\delta) = \left(I_{\text{sup}} - \frac{I_0}{2} \right) = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{B(\nu)}{2} \cos\left(2\pi \frac{\nu}{c} \delta\right) d\nu \quad (6)$$

由 (6) 式的積分得知，要將干涉光譜 $C(\delta)$ 作逆餘弦傅立葉轉換，才能得到傳統頻域光譜 $B(\nu)$ 。

$$B(\nu) = 2 \int_{-\infty}^{+\infty} C(\delta) \cos\left(2\pi \frac{\nu}{c} \delta\right) d\delta \quad (7)$$

將 (7) 式改寫成以波數 (wavenumber, $\sigma = \nu/c$) 表示功率密度頻譜對頻率的關係式，如式 (8) 所示：

$$B(\sigma) = 2 \int_{-\infty}^{+\infty} C(\delta) \cos(2\pi\sigma\delta) d\delta \quad (8)$$

2. 傅立葉轉換紅外光譜影像系統

紅外顯微術光束線 BL14A 其傅立葉轉換紅外光譜影像系統 (Thermo Nicolet, Magna-IR 860 and Continuum) 是專為中紅外光區量身訂作的紅外顯微術實驗站。此紅外光束線是由一偏轉磁鐵 (bending magnet, 強度 1.23 tesla) 引出，偏折鏡 M_1 距離，光源 1.22 m； M_1 為水冷卻平面鏡 (acceptance angle, 70 mrad \times 30 mrad)， M_2 及 M_3 分別為水平與垂直聚焦面鏡及 3.8 度之離軸拋物面鏡 (off-axis parabolic mirror) 等光學鏡所組成⁽⁶⁾。利用此四面主要鏡組將紅外同步輻射導入光束線末端的傅立葉顯微光譜影像系統，如圖 2 所示。將同步輻射紅外光源導入紅外顯微術實驗站，經由 32 倍之紅外顯微物鏡聚焦後其光點大小約為 $13 \times 10 \mu\text{m}^2$ ，相較於黑體輻射光源之大小約為 $50 \times 30 \mu\text{m}^2$ ，如圖 3 所示。

在光譜擷取方面，麥克森干涉儀主要用來調制同步輻射所產生的紅外光源，而分光片及偵測器等常依所欲偵測的光區不同而有不同的選擇。分光片是以溴化鉀 (KBr) 為主要材質，而在鏡片表面鍍一

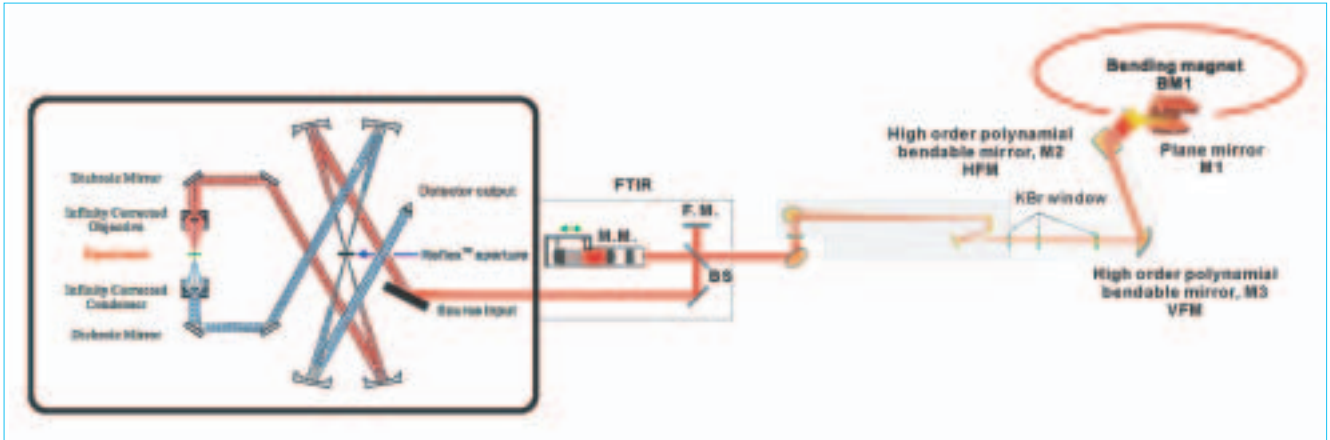


圖 2. 國家同步輻射研究中心紅外顯微術實驗站光路示意圖。

層 $\text{Ge/Sb}_2\text{S}_3$ 之分光片，並以汞鎘碲 (mercury-cadmium-telluride, MCT) 為紅外偵測器，封存於真空中以保護半導體避免大氣的干擾，並以液態氮冷卻降低熱雜訊的干擾。

在空間資訊擷取方面，由於一個時間點僅能得到空間一點的資訊，若要得到大面積的二維資訊，必須將樣品平台做二維掃描，取到不同位置的空間資訊後，經過影像重組過程，並將光譜資訊整合後，方能得到完整的紅外光譜影像。

四、紅外光譜影像的應用

有關於光譜影像在醫學、基礎科學及半導體製程上的應用，茲簡述如下。

1. 癌症篩檢

台灣的醫學研究中心、國家衛生研究院及國際上癌症研究中心的研究人員正積極在癌症篩檢 (cancer screening) 與早期的診斷方法 (early diagnosis) 做出貢獻⁽⁷⁻¹²⁾。同步輻射紅外顯微術在這一個領域的關鍵角色是：量測在 $20-3\ \mu\text{m}$ 範圍尺度的細胞及和次細胞的紅外光譜及紅外光譜影像，以及建立一個標準的紅外頻譜資料庫，以利早期識別異常細胞的目標⁽¹⁴⁾。未來台灣 3 GeV 的紅外顯微實驗站將是支持此項工作的唯一設備，紅外顯微術實驗站能同時提供高空間解析及高訊雜比 (signal to noise ratio, SNR) 的紅外光譜及紅外光譜影像，

以精確記錄細胞內之生物化學的變化以及施以藥物治療的結果。因此以紅外光譜為基礎的癌症篩檢方法相較於傳統的細胞檢測法，提供了更快速且自動化的檢查，並降低了篩檢的醫療成本，因此紅外顯微術將是作為早期癌症篩選的最有力工具之一。

利用紅外顯微術研究病變組織最大的優點是：組織切片不需染色，亦不需去除包埋固化的石蠟 (paraffin)，即可直接進行紅外光譜影像分析，本實驗站於結腸癌 (colorectal cancer) 的紅外光譜影像研究上亦有初步的研究報告⁽¹⁵⁾。紅外光譜影像顯示癌組織有較強的 amide I 及 amide II 吸收，且在 DNA 上之磷酸根 P-O 對稱伸張振動 ($\nu_s\text{PO}_2^-$) 有較弱的吸收，如圖 4 所示。利用此兩特徵作紅外影像重建，可清楚辨識及定位病變組織的位置，如圖 5 所示。另外，亦針對新生兒血管瘤 (hemangiomas) 組織之蛋白質 (amide I 及 amide II) 及脂肪之紅外光譜影像在瘤組織中的分布有詳盡的報導⁽¹⁶⁾。

2. 病理診斷上的應用

紅外顯微影像光譜儀進行腎結石的觀測與鑑別時，由於在腎臟中發現的無機結石成分可分為兩大類，一為草酸鈣 (calcium oxalate)，而另一種則為羥磷灰石鈣 (calcium hydroxyapatite)，結石中無機成分的紅外吸收光譜均有其特有的指紋吸收，因此大幅的降低人為操作及判斷上的錯誤⁽¹⁷⁾。此外，紅外光譜影像技術更可應用於正常及病變的骨頭與軟骨的質地分析，以光譜資訊檢驗骨頭中羥磷灰石成

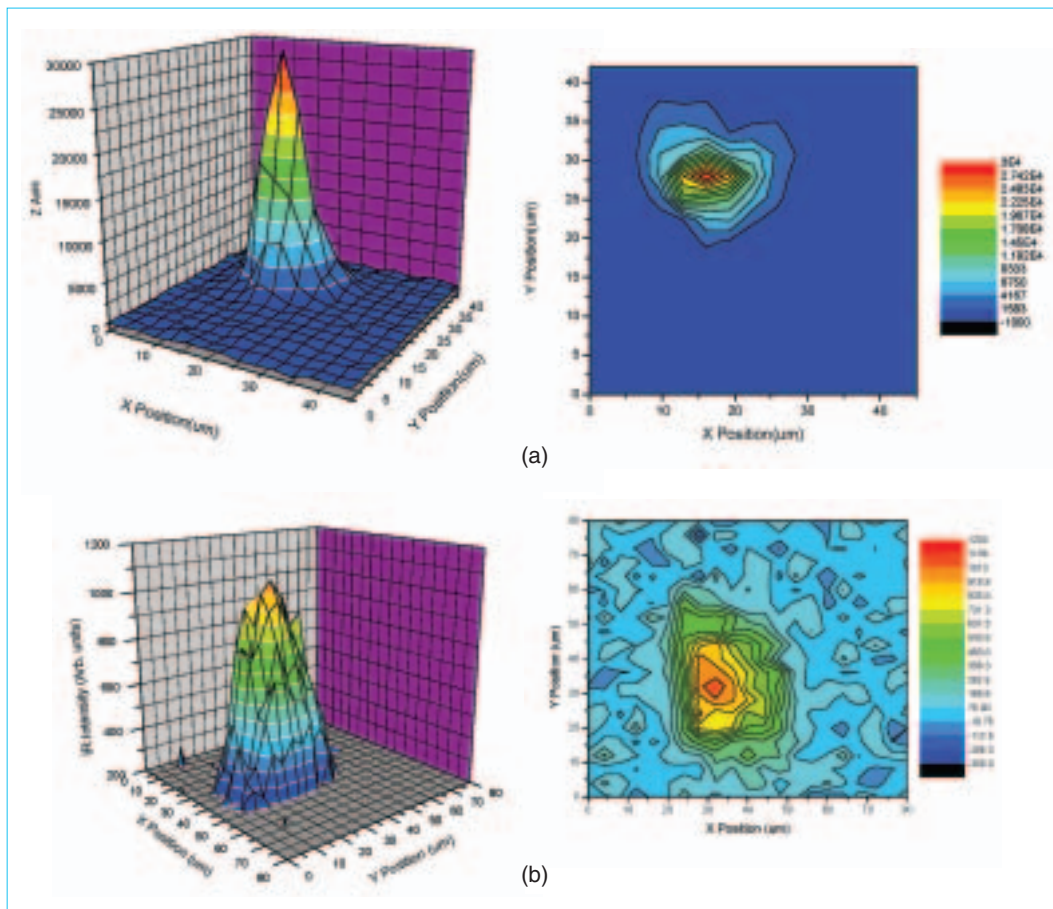


圖 3. 同步輻射紅外光源與黑體輻射光源 (1200 K) 之聚焦光典點大小比較。(a) 同步輻射光源之光點大小約為 $13 \times 10 \mu\text{m}^2$ ；(b) 黑體輻射光源之光點大小約為 $50 \times 30 \mu\text{m}^2$ 。

分的微晶體完整性及其膠原成分間之連接擴展程度，以監控因鈣質流失所造成的骨骼強度降低，而無法與壓力及扭力對抗而引起骨折或無法挽救的併發症，藉此檢驗骨質疏鬆症 (osteoporosis)。近年來 Mendelsonhn 等人⁽¹⁸⁾ 利用紅外光譜影像技術研究轉

化生長因子 -1 基因剔除小鼠 (transforming growth factor, TGF-1, knockout mice) 之骨骼中的無機成分及蛋白質的分布，並監測以雌激素療法 (estrogen therapy) 對於受損骨質的復原狀況有詳盡的報導。

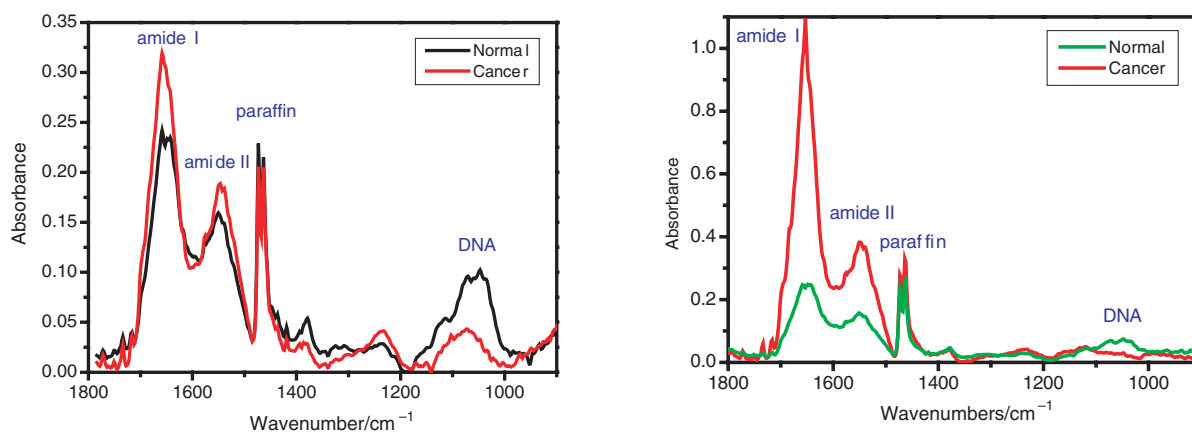


圖 4. 人類正常與病變結腸組織之紅外吸收光譜。

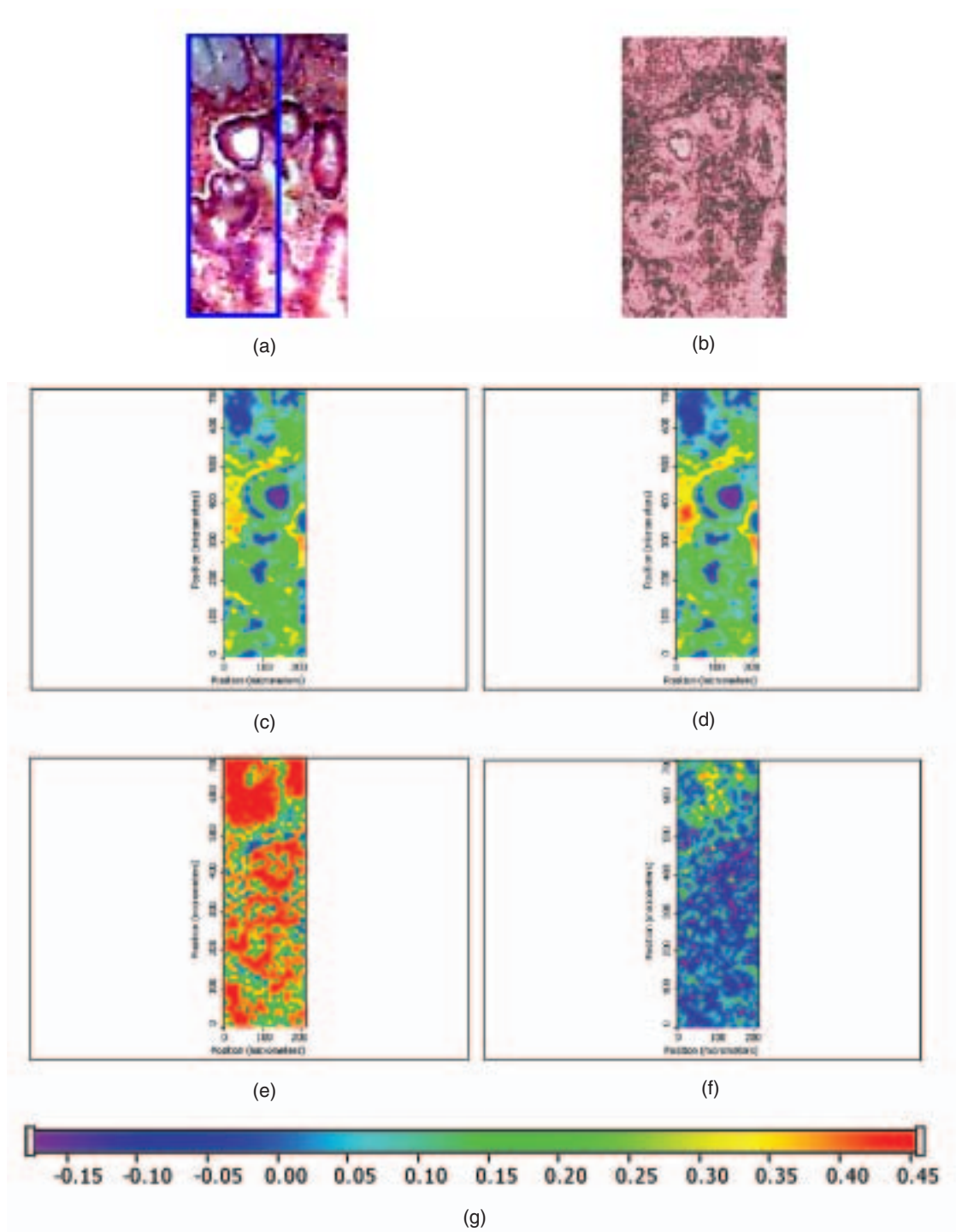


圖 5. 空間解析度為 $10\ \mu\text{m}$ 之人類結腸組織的白光影像及紅外吸收光譜影像。(a) 經 HE 染色後之切片組織；(b) 未經染色之切片組織；(c) amide I；(d) amide II；(e) paraffin；(f) DNA；(g) 紅外吸收強度分布圖。

3. 基礎生物學應用

紅外影像光譜除了可提供待測物光譜外，並可提供其週遭成分分布，有助於進一步了解生物組織成長機制，因此可應用於活體生物光譜影像，了解

細胞組織活動情形。而在顯微系統的嵌入，更可量測細胞分裂過程中蛋白質及脂肪酸等化學成分分布的情形。圖 6 為本研究室將人類乳房細胞培養於紅外專用載玻片 (low-e slide) 上之紅外光譜影像，從

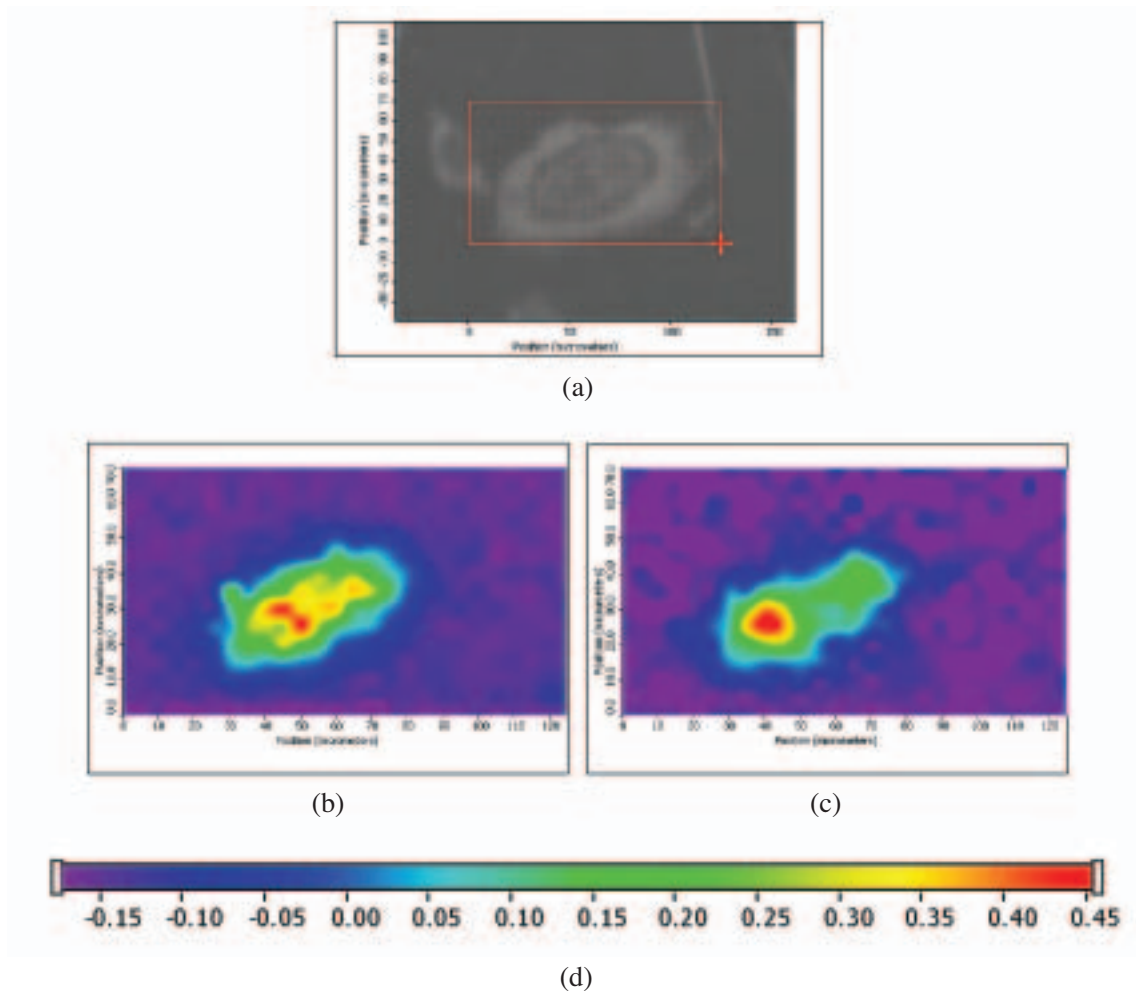


圖 6. 人類乳房單細胞影像。(a) 黑白影像；(b) 細胞內蛋白質分布之紅外吸收光譜影像；(c) 細胞內脂肪分布之紅外吸收光譜影像；(d) 紅外吸收強度分布圖。

紅外光譜影像可清楚辨識蛋白質及脂肪成分在細胞內不同位置的分布。

五、未來的發展

由於紅外光譜與拉曼散射光譜法的彼此互補，因此只用單一光譜法無法獲得樣品所有分子結構的資訊，未來計畫將拉曼顯微術建構在紅外顯微光束線上，以提供更完整的振動光譜分析。另外提昇系統自動化、影像處理以及將現有的點掃描式的量測方法升級至大面積之紅外共焦面陣列量測以縮短取樣時間，為未來發展的重要指標。

未來的 3 GeV 同步輻射紅外顯微工作站將進一步提供一個高光通量且高準直的紅外光源。未

來建造的 3 GeV 同步輻射加速器將能夠提供次細胞解析之疾病診斷與治療，並提供微晶體 (microcrystals) 之固態物理、觸媒化學、奈米尺度下的顯微樣品碎片及薄膜材料之紅外光譜影像資訊。更重要的是，藉由這些科學的研究將帶動並繁榮台灣的生活品質以及國際間的研究合作與交流。

誌謝

特別感謝花蓮慈濟醫院病理科許永祥醫師及慈濟技術學院羅文瑞教授在製備組織樣品上的協助。感謝國家同步輻射研究中心及國科會的支持與補助。

參考文獻

1. N. Gat, Imaging Spectrometry, *Proc. SPIE*, **4056**, 50 (2000).
 2. A. M. Title and W. J. Rosenberg, *Imaging Spectrometry, Proc. SPIE*, **268**, 178 (1981).
 3. P. Yeh and J. Tracy, Imaging Spectrometry, *Proc. SPIE*, **268**, 171 (1981).
 4. L. J. Denes, M. S. Gottlieb, and B. Kaminsky, *Opt. Eng.*, **37**, 4, 1262 (1998).
 5. S. E. Harris and R.W. Wallace, *J. Opt. Soc. Amer.*, **59**, 6, 744 (1969).
 6. 羅一中, 陳慶日, 張劍虹, 科儀新知, **23** (4), 63 (2002).
 7. C.-C. Yuan, P.-H. Wang, H.-T. Ng, Y.-F. Li, T.-S. Huang, C.-Y. Chen, L.-C. Tsai, and W.-Y. Shyong, *Gynecol. Oncol.*, **85**, 148, (2002).
 8. C.-C. Yuan, H.-C. Huang, L.-C. Tsai, H.-T. Ng, and T.-S. Huang, *Apoptosis*, **2**, 101 (1997).
 9. S. Neviliappan, L.-F. Kan, T. T. L. Walter, S. Arulkumaran, and P. T. T. Wong, *Gynaecologic Oncology*, **85** (1), 170 (2002).
 10. L. Chiriboga, P. Xie, H. Yee, V. Vigorita, D. Zarou, D. Zakim, and M. Diem, *Biospectroscopy*, **4**, 47 (1998).
 11. B. Rigas, S. Morgello, I.-S. Goldman, and P. T. T. Wong, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 8140 (1990).
 12. M. J. Romeo, M. A. Quinn, F. R. Burden, and D. McNaughton, *Biopolymers*, **67** (4-5), 362 (2002).
 14. L. M. Miller, C. S. Carlson, G. L. Carr, and M. R. Chance, *Cellular and Molecular Biology*, **44** (1), 117 (1998).
 15. Y.-C. Lee and C.-I. Chen, *Proceedings of the 8th International Conference on X-ray Microscopy* (2005)
 16. Y.-C. Lee, C.-I. Chen, *Proceedings of the Keihanna Conference on Molecular Biophysics* (2005).
 17. A. J. Sommer, J. L. Dellomo, L. G. Tisinger, A. P. Evan, J. C. William, and S. Bledsoe, *Proceedings of the 29th Annual Meeting of Federation of Analytical Chemistry and Spectroscopy Societies*, 85 (2002).
 18. R. Mendelsonhn, *Proceedings of the 29th Annual Meeting of Federation of Analytical Chemistry and Spectroscopy Societies*, October, 157 (2002).
-
- 李耀昌先生為國立清華大學化學博士，現任國家同步輻射研究中心助理研究員。
 - 陳慶日先生為國立台灣師範大學物理碩士，現任國家同步輻射研究中心副研究員。
 - Yao-Chang Lee received his Ph.D. in chemistry from National Tsing Hua University. He is currently an assistant scientist at National Synchrotron Radiation Research Center.
 - Ching-Iue Chen received his M.S. in physics from National Taiwan Normal University. He is currently an associate scientist at National Synchrotron Radiation Research Center.