

以網印銀電極製備電化學式之鏡像選擇L與D-麩胺酸之感測器

李柏毅¹，蘇曉柔¹，陳文昌¹，洪添燦¹，林定松¹

¹義守大學化學工程學系

計畫編號：ISU-111-01-03A、MOST109-2221-E-214-009

Introduction

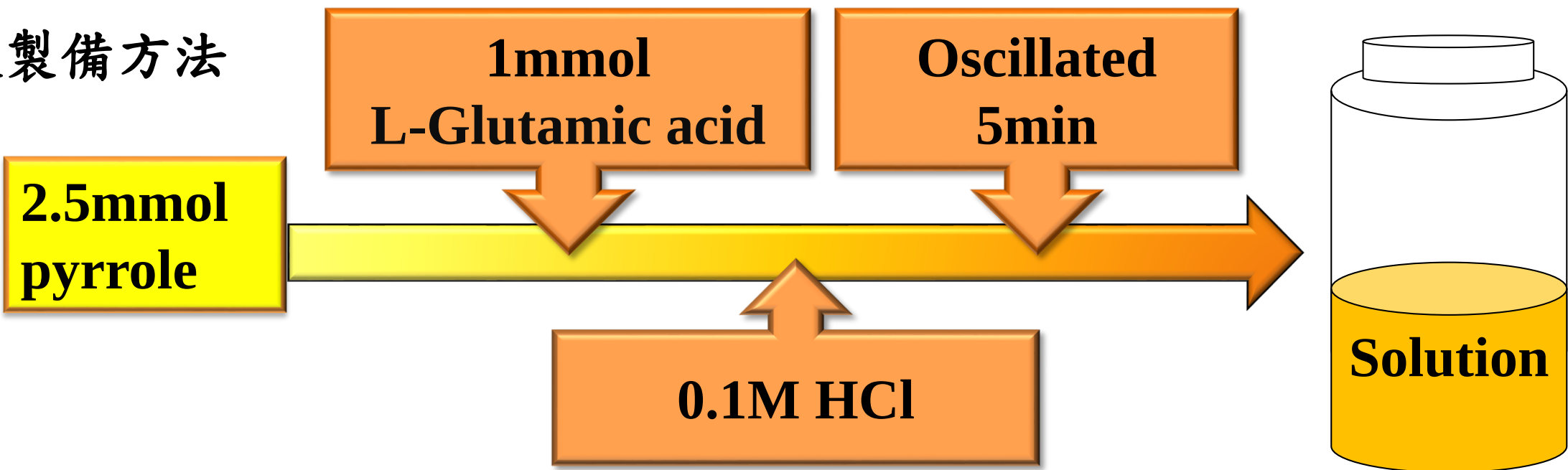
L-麩胺酸是人體內一種必需的新陳代謝物質，作為興奮性神經遞質參與信息傳遞，其中L-麩胺酸檢測在臨床醫學及食品工業方面變成一項指標，而且現今階段分析方法以成本低、分析時間短、效益高為所追求的目標。

Purpose

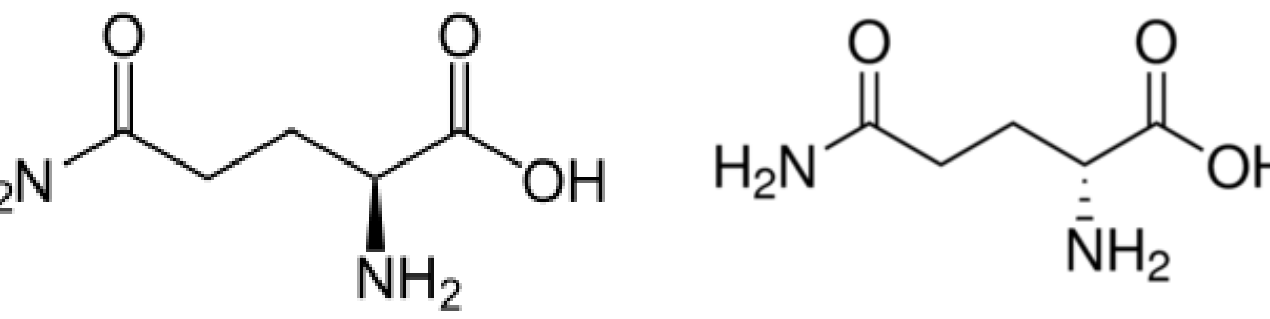
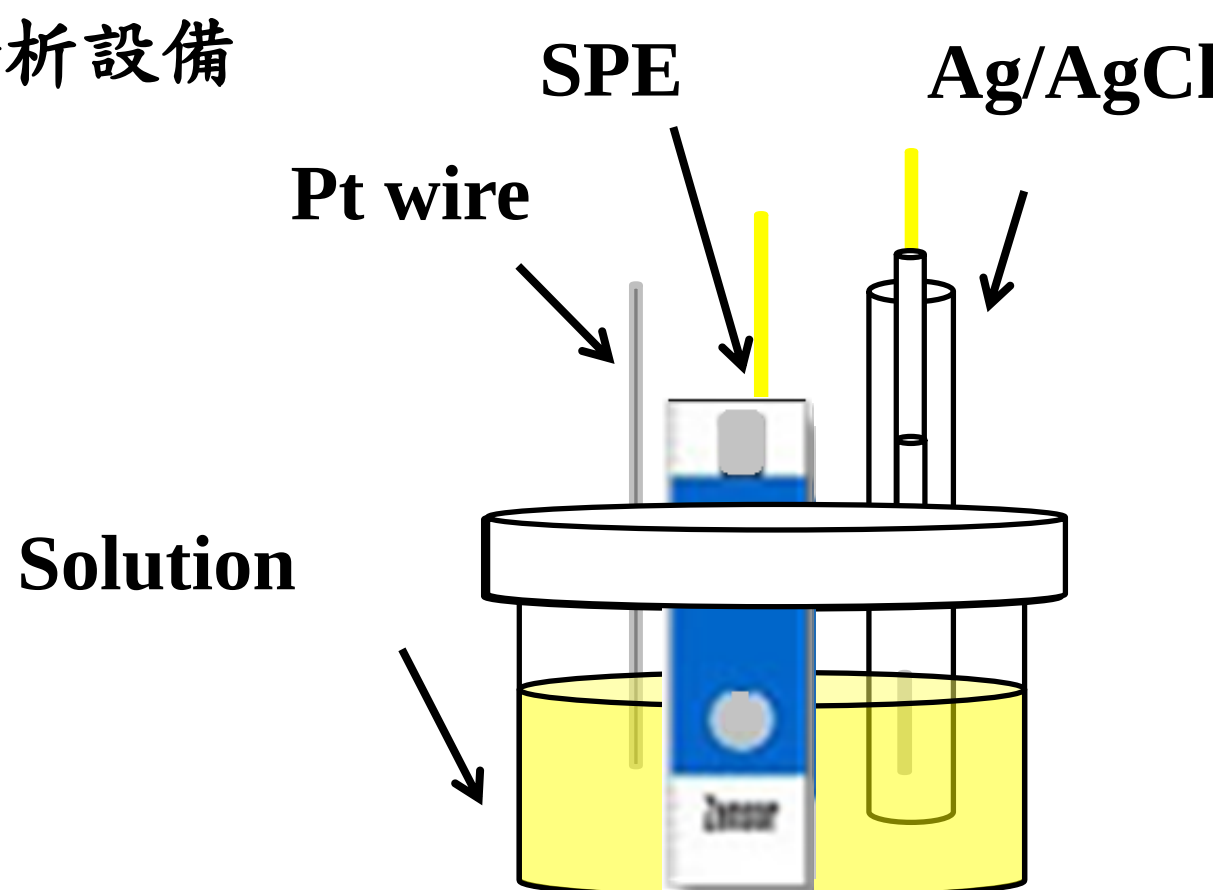
本實驗利用電聚合法將吡咯和目標物進行電聚合製備成具有鏡像辨識的分子模板，接著分別在L和D麩胺酸待測液中，以Multi-Potential Steps進行鏡像選擇性檢測。

Experimental

溶液製備方法



電化學分析設備



L-Glutamic acid

D-Glutamic acid

SPE
5mm diameter



Results and Discussion

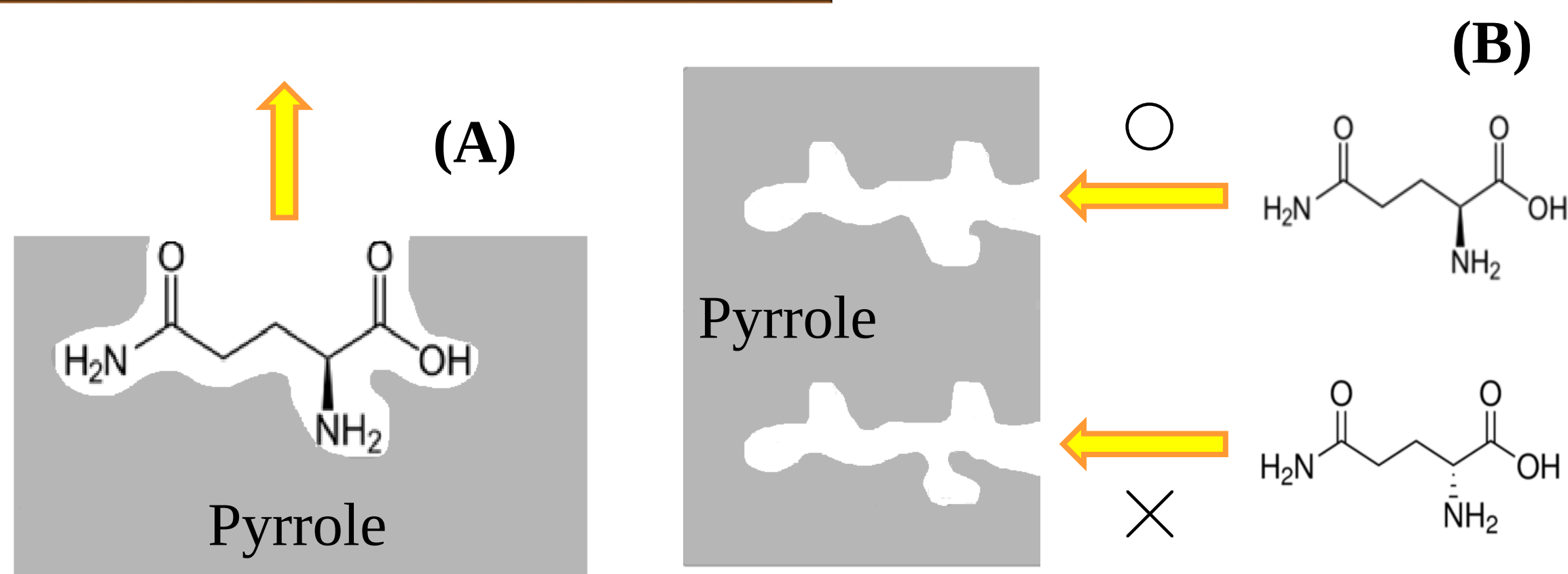


圖1 分子模板示意圖 (A)將目標物分子萃取出 (B)為進行辨識分析時目標物分子進入其孔洞

物性分析

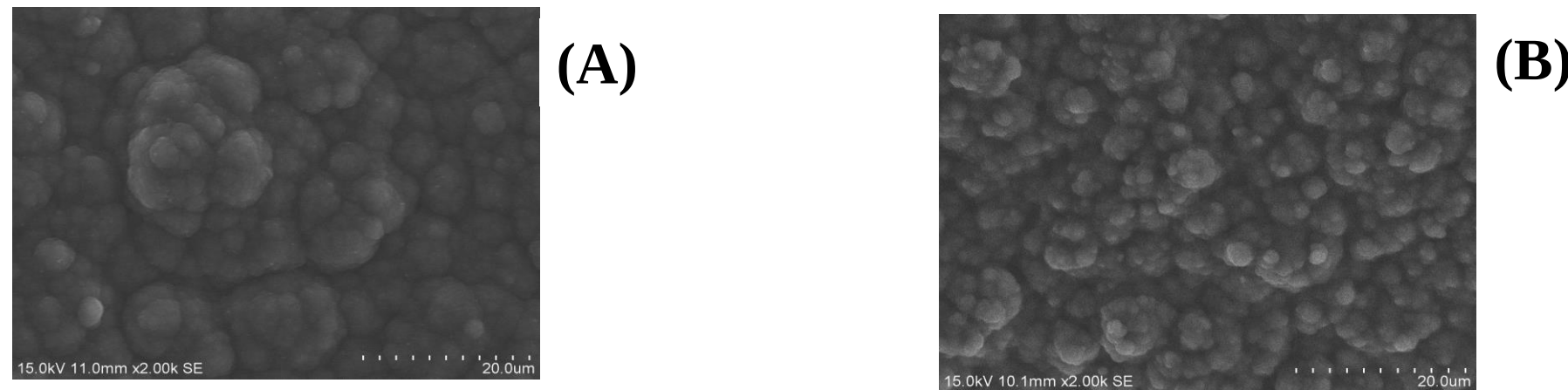


圖2-1 SEM圖 (A)NIP表面 (B)MIP L-Glu表面

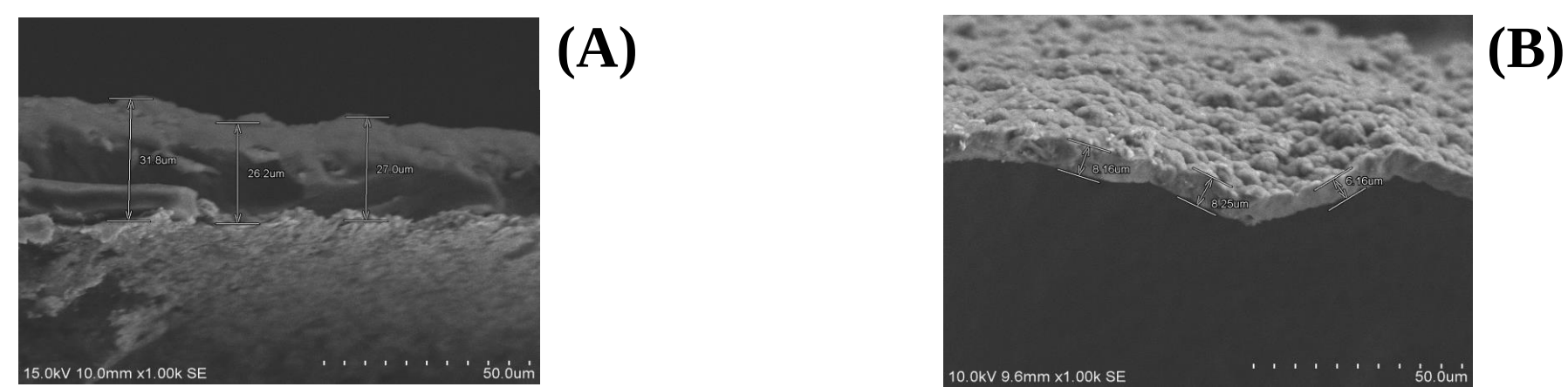


圖2-2 SEM圖 NIP與MIP鍍膜厚度的比較 (A) NIP側面之厚度(28μm)和(B)MIP側面之厚度(7.5 μm)

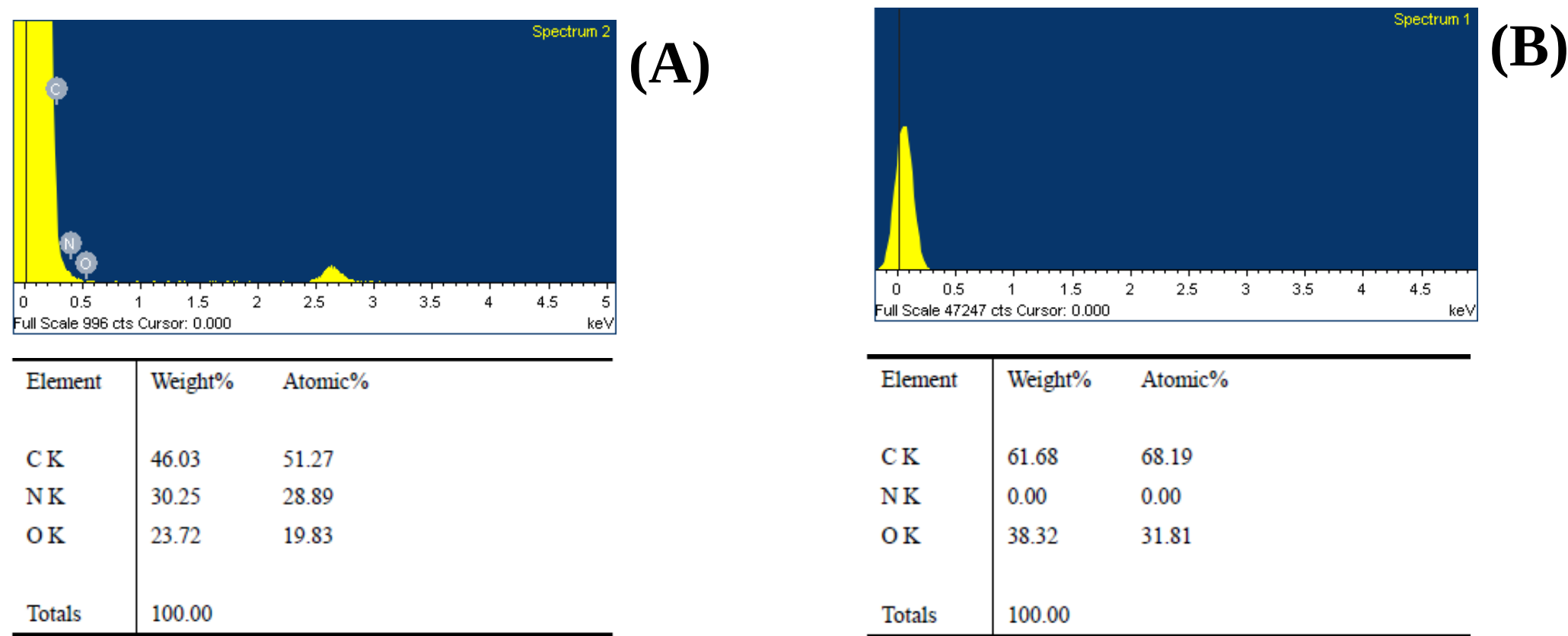


圖3 EDS 元素分析圖 (A) NIP和(B)MIP

由圖3的EDS元素分析結果可得知，MIP的含氧量比NIP高，表示麩胺酸成功被包埋進吡咯內。

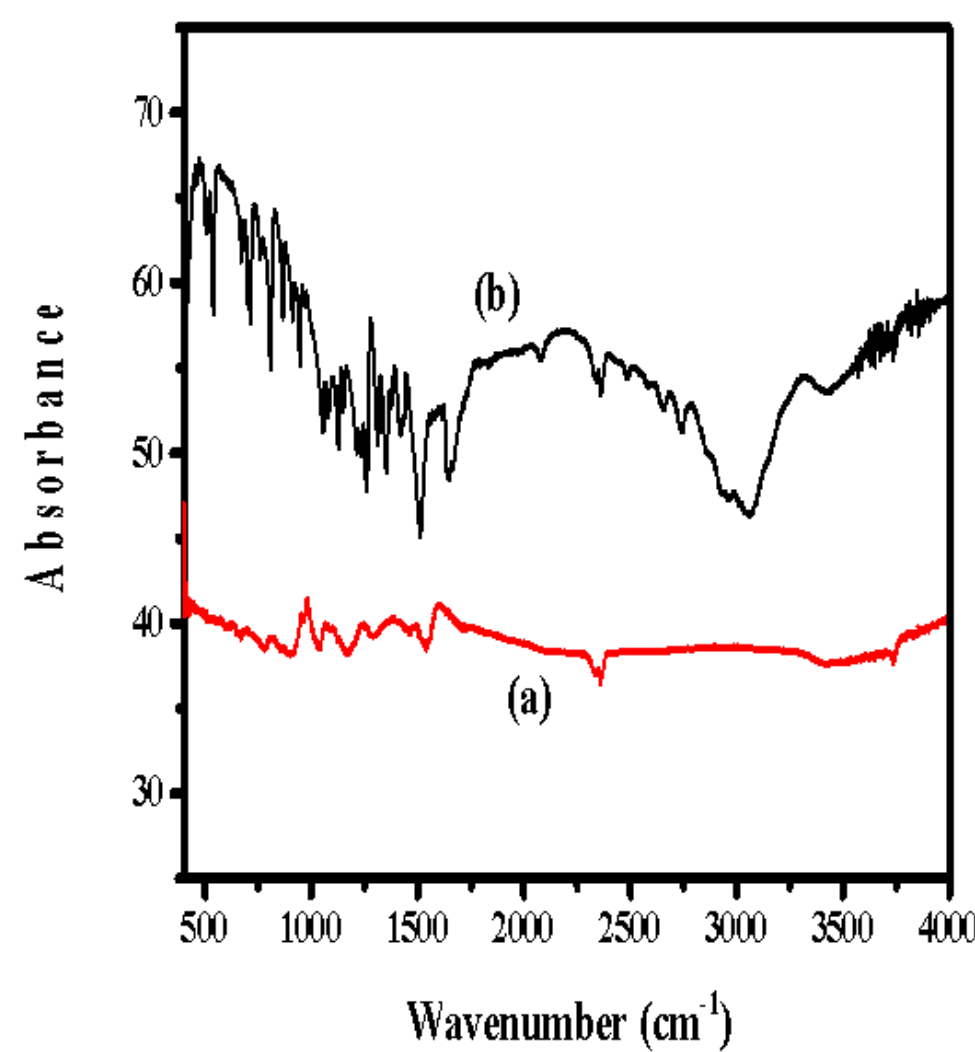


圖3-1 FTIR 分析圖譜 (a)沒有目標物之分子模板 (NIP)；(b)有L-麩胺酸為目標物之分子模板(MIP)。

由圖3-1的FTIR光譜分析的圖譜中，可以發現MIP的光譜在1725cm⁻¹的位置上比NIP多了一個特徵峰，為麩胺酸的C=O伸縮峰。

電化學分析

Multi-Potential Steps圖L-Glu、D-Glu分子模板電極分別對10m M (a) L-Glu (b) D-Glu 進行感測

L-Glu分子模板電極

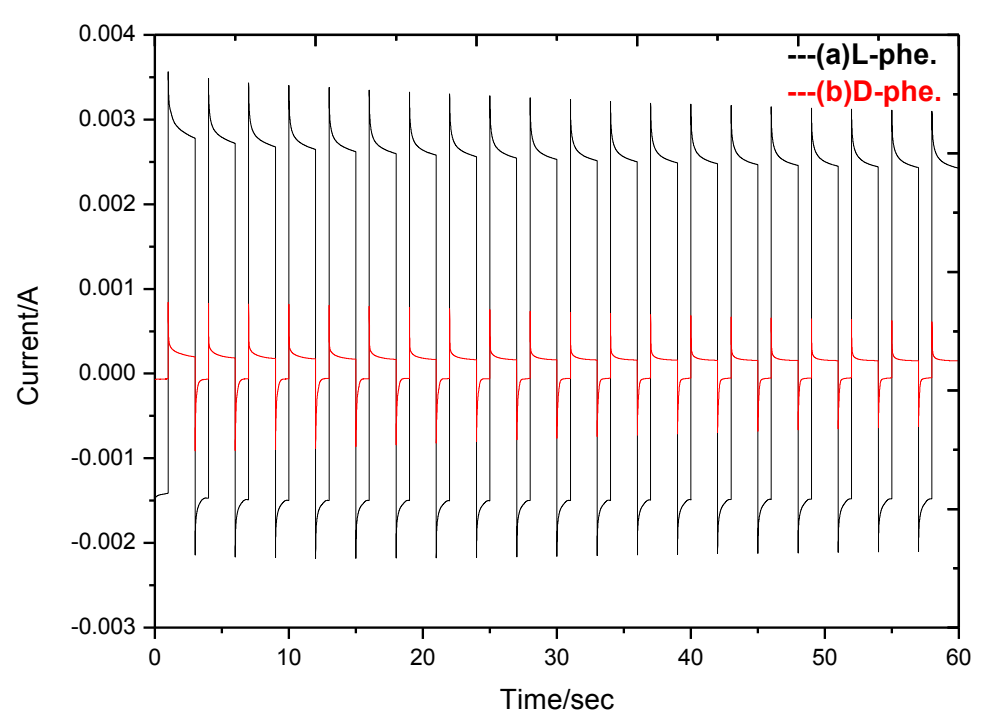


圖4 L-Glu分子模板電極分別對10mM(a)L-Glu(b)D-Glu進行Multi-Potential Steps感測圖

D-Glu分子模板電極

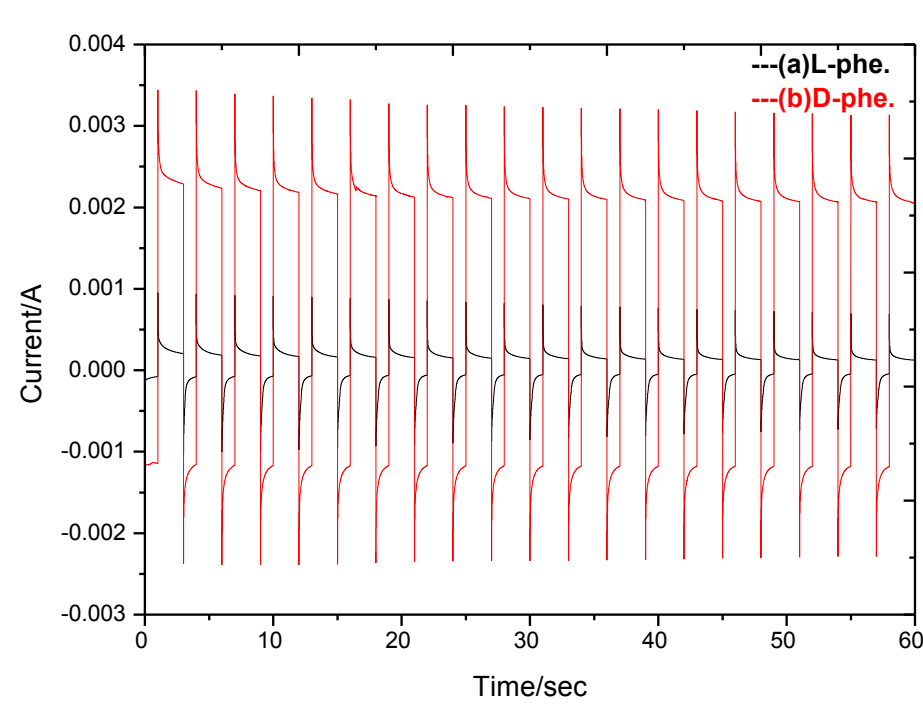


圖5 D-Glu分子模板電極分別對10mM(a)L-Glu(b)D-Glu進行Multi-Potential Steps感測圖

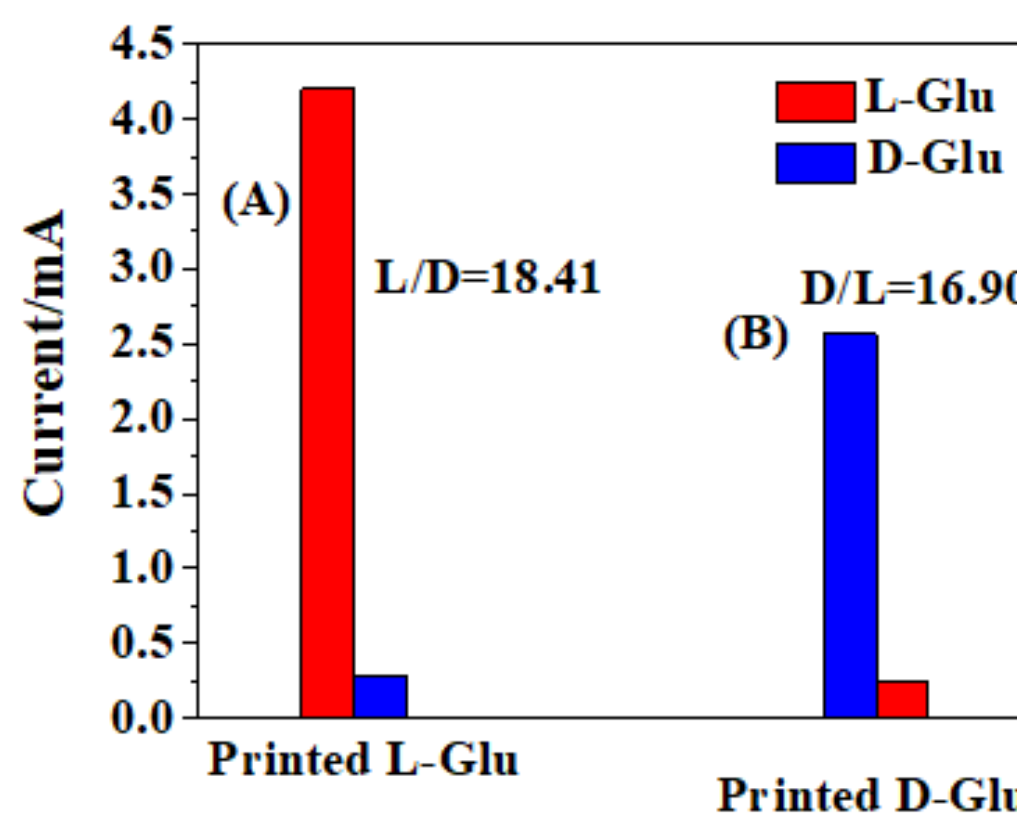


圖6 交叉測試分別對L與D-Glu (A)L-Glu分子模板 (B)D-Glu分子模板

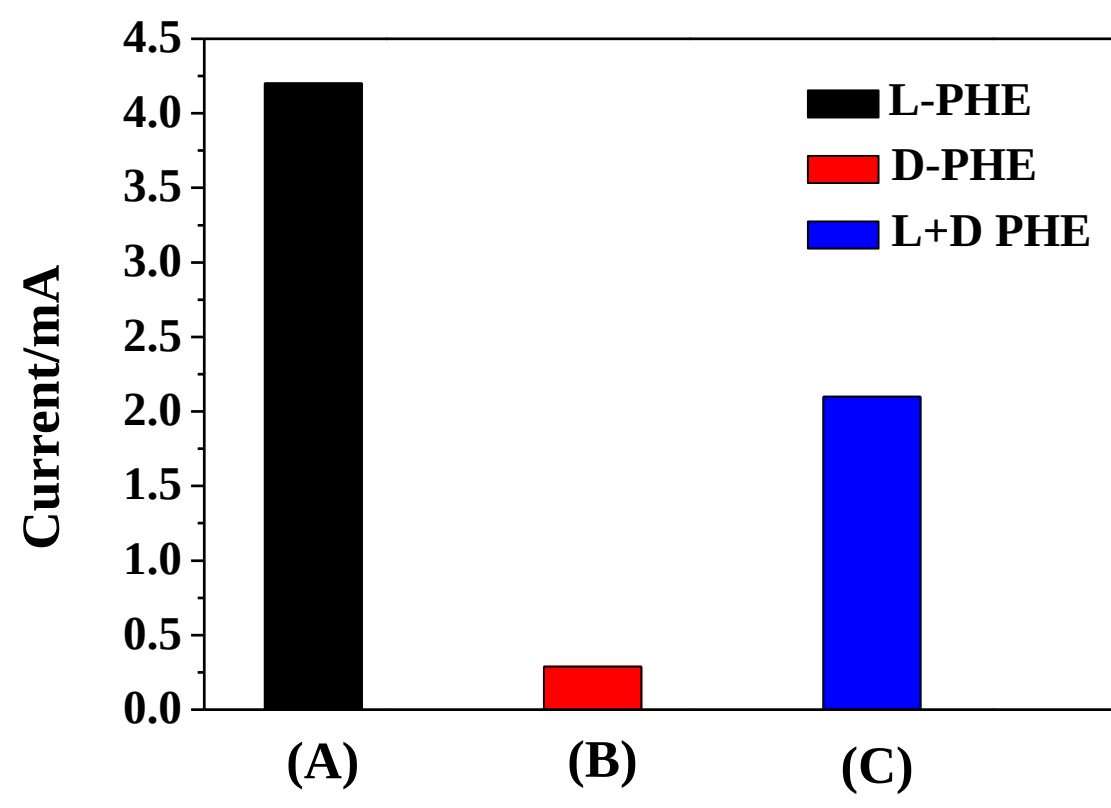


圖7 L-Glu分子模板干擾性測試 (A)L-Glu (B)D-Glu (C) L-/D-Glu混合物

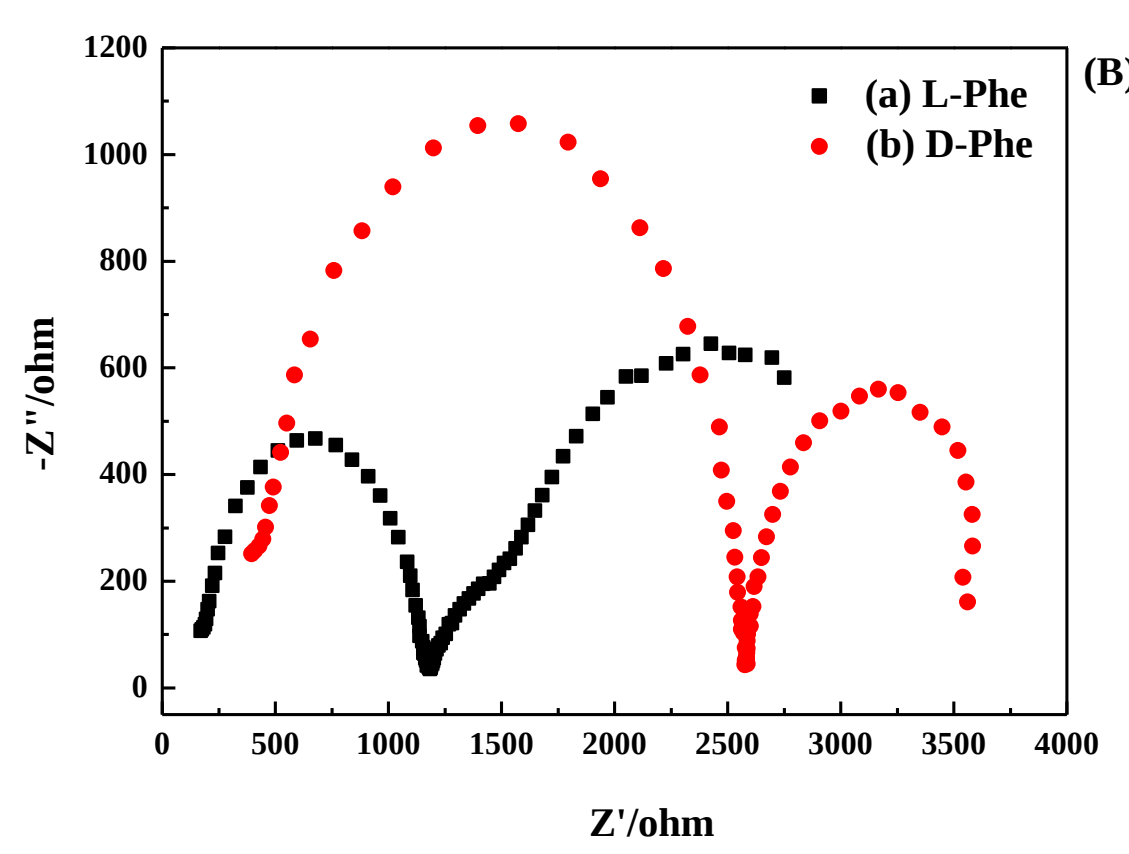


圖8 交流阻抗分析圖 (A) L-Glu分子模板在L-Glu溶液 (B) L-Glu分子模板在D-Glu溶液

1.從圖4的結果得知10mM L-Glu、D-Glu偵測電流的平均高度相差為18.41倍左右。得知本方法具有良好的辨識效果。
2.圖5的結果顯示此方法用D-Glu作為目標物也能達到辨識效果，電流的平均高度相差16.90倍左右。
3.圖7的結果顯示分子模板對L+D-Glu溶液雖然有反應，但D-Glu的關係導致電流值些微下降。
4.圖8表示分子模板在D-Glu溶液的交流阻抗比在L-Glu溶液中來的大。

Conclusion

- 經由FTIR光譜圖中可得知MIP在1725cm⁻¹有胺基酸的C=O伸縮峰存在，並且從EDS分析知MIP的含氧量比NIP高，表示目標物有成功被吡咯包埋住。
- 電化學分析部分，得知L/D選擇性為18.41倍，D/L選擇性為16.90倍。
- 在交叉分析部分，混合干擾物電流值雖然對L-Glu有反應，但D-Glu的關係導致電流值些微下降。
- 在交流阻抗分析部分，可以發現L-Glu分子模板在D-Glu溶液中的阻抗比L-Glu溶液中大，表示分子模板在D-Glu中的阻力比在L-Glu溶液高。

Acknowledgement

本實驗感謝義守大學研發處(研究編號ISU-111-01-03A)與科技部(MOST 109-2221-E-214-009-)在經費上的支助。

養殖飼料添加之益生菌抑菌活性探討

Discussion of inhibition to the bacterium of probiotics isolated from livestock feed

Ya-Hui Tien (田亞卉), Chin-Hsin Hung (洪志勳)*
Department of Chemical Engineering, I-Shou University, Kaohsiung 84001, Taiwan
*Email: chhung@isu.edu.tw

在動物養殖市場中，抗生素是一個重要的添加物，在動物養殖方面，抗生素添加於飼料上，可促進動物的生長跟動物腸道疾病預防及治療。近年來對於抗生素的使用限制愈來愈嚴格，因此開發出許多益生菌的產品，協助維持動物腸道健康及抵抗疾病等問題。益生菌的應用，除了對人體在臨床上針對防治感染性疾病、改變腸道菌向外，也有抑制癌的報導，而益生菌在農漁牧產業上也有不少的应用。由於養豬場添加於豬隻飼料中之益生菌，經豬隻食用後發現效果降低，可能是發酵過程當中有抑菌的成分減少，因此從商業性飼料中進行益生菌分離，純化出三株效果較好之益生菌菌株，對其中兩株益生菌進行 12 小時之生長曲線測試，並使用培養 8 小時和 10 小時之益生菌菌液，對病原菌進行抑菌能力測試。再將益生菌額外添加不同含量之冬蟲夏草和靈芝，進行 12 小時之生長曲線測試，觀察其是否能促進益生菌生長之速度與濃度，並進行抑菌能力測試。

簡介

自 1945 年青黴素首次成功應用以來，抗生素已廣泛使用於預防和治療疾病 (Allen et al., 2013)。然而，抗生素在人類、牲畜及飼料上的過度使用造，成抗藥性的增加，因此極需要開發新的抑菌方式，降低抗生素之使用，降低抗藥性菌株的肆虐。

世界衛生組織將益生菌 (Probiotics) 描述為，當提供足量活體時，可為宿主提供健康益處之微生物，稱為益生菌。可幫助促進腸道健康環境，抑制壞菌，進而維持正常的腸道機能，改善脹氣、消化不良、便秘等腸胃道問題之功效。基於益生菌的效益和可當作牲畜和魚類的生長促進劑，益生菌被認為是抗生素的最佳替代品之一。常見的益生菌可大略區分為細菌及酵母菌兩大類，其中細菌類又可再細分為乳酸桿菌 (Lactobacilli) 及雙歧桿菌 (Bifidobacterium) 二種，牠們來自於健康人類的腸道菌種，或發酵乳製品。

目前常應用於動物的益生菌有芽孢桿菌 (Bacillus)、乳酸菌 (Lactobacillus)、腸球菌 (Enterococcus)、雙歧桿菌 (Bifidobacterium)、酵母菌類 (Sacharomyces)、梭菌 (Clostridium) 和葡萄球菌 (Streptococcus) 等。

本實驗使用之益生菌為從商業性飼料中分離出的三株菌株，以 16s rRNA 定序比對後，初步判定為貝萊斯芽孢桿菌 (Bacillus velezensis)。

本實驗室從廠商提供的豬飼料中分離出多株具有抗菌效果之菌株，本實驗取其中兩株抑菌效果較佳之兩株進行分析。主要測試兩株益生菌抑菌效果及添加冬蟲夏草及靈芝萃取液，對於益生菌生長及抑菌效果提升程度的分析。分別將濃度為 0%、2.5%、5% 和 10% 之冬蟲夏草或靈芝萃取液加入培養基中，進行 12 小時之生長曲線測試，觀察其是否能促進益生菌之生長。並取生長點達到最高濃度時，測試此時的菌株對病原菌抑菌能力，以了解冬蟲夏草及靈芝萃取液對益生菌生長及抑菌的有最佳添加濃度。

材料與方法

生長曲線測定

首先沾取益生菌之單一菌落接種於 5 ml 的 BHI 液態培養基中，於 37°C，200 rpm/min 的培養箱中培養約 16 小時。取培養後之菌液接種至裝有 30 ml BHI 液態培養液的 250 ml 錐形瓶內，使初始 OD600 值約等於 0.1，於 37°C，200 rpm/min 的培養箱中培養。每隔 1 小時取出 100 µl 錐形瓶中的菌液作序列稀釋塗盤，共取 12 小時，待菌落長出後計算其總菌數。

益生菌菌種鑑定方法

聚合酶連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR)

用牙籤沾取一顆單一菌落，溶於 100 µl 的滅菌過的 dd H₂O，於沸水中煮 10 分鐘，再置於冰上 3 分鐘。使用的 primer 為 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') 及 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3')，在 PCR tube 中，先加入 22 µl 滅菌過的 dd H₂O，再加入 2 µl 的 DNA 作為模板，接著依序加入 0.5 µl 10x 稀釋的 forward primer，0.5 µl 10x 稀釋的 reverse primer 和 25 µl 的 premix Taq pfu DNA Polymerase，總體積共 50 µl，用微量離心機離心數秒後，放入聚合酶連鎖反應器中進行反應。反應條件：第一階段升溫至 94°C 作用 5 分鐘，使雙股 DNA 變性 (Denature)，接著將溫度降至 56°C 作用 30 秒，使 dNTP 與引子黏合 (annealing)，再將溫度設定至 72°C 作用 30 秒，進行延長反應 (Extension) 合成新的 DNA 股，反應共 29 個週期，再將溫度維持在 72°C 作用 7 分鐘，最後將溫度降至 4°C 保存。實驗所用之引子 (primer) 訂購於基隆米克斯生物科技股份有限公司。

抑制病原菌能力測試-孔洞擴散抑菌法

將待測之病原菌養在 5 ml 的 LB 液態培養基內，於 37°C，200 rpm/min 的震盪培養箱中培養 12 hr。將滅菌過之不鏽鋼培養環置於固態培養基上，取 100 µl 的待測菌液，加入 10 ml 的半固態培養基內，用震盪器強烈震盪使之混合均勻後，均勻得倒在固態培養基上。待其凝固後拔除培養環，此時會形成圓柱狀孔洞，再取 30 µl 的益生菌培養液加入孔洞內，於 37°C 的震盪培養箱中培養 24 hr 及 48 hr，觀察兩種培養時間之抑菌圈大小。

結果與討論

生長曲線測定

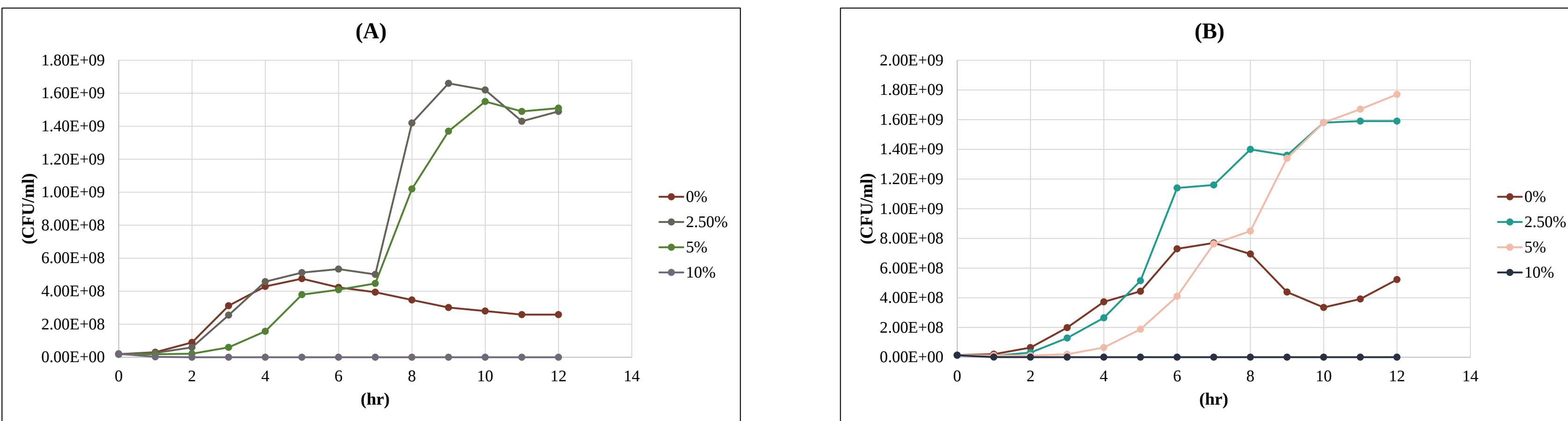


Fig. 1. 添加冬蟲夏草對 BV1、BV2 之生長曲線測試。添加冬蟲夏草濃度 0%、2.5%、5% 和 10% 之生長曲線分析，濃度以 CFU/ml 表示。(A) 為 BV1。(B) 為 BV2。

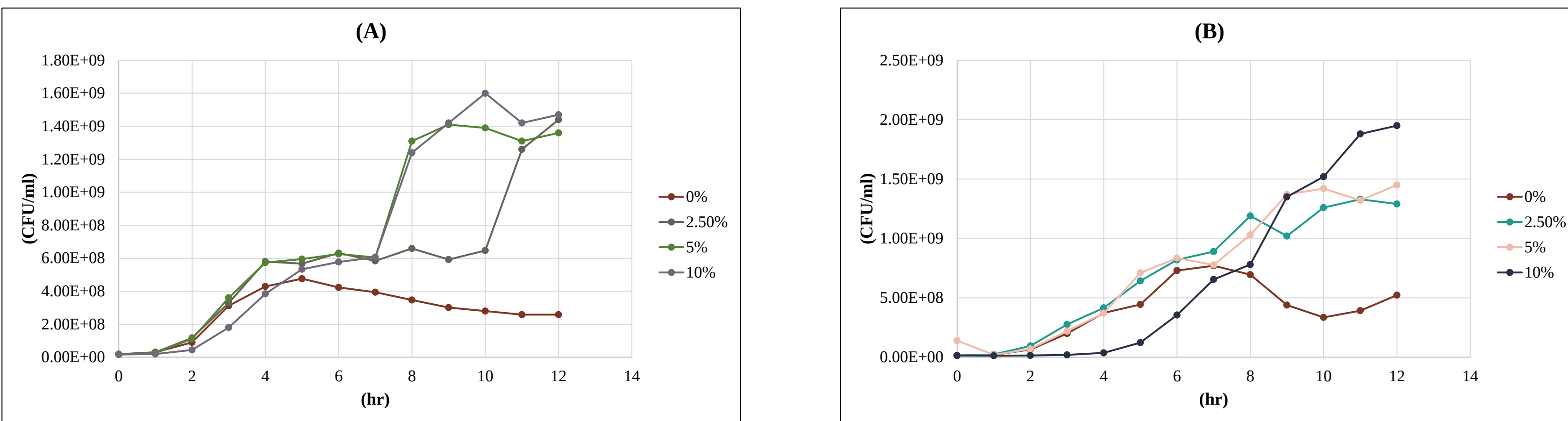


Fig. 2. 添加靈芝對 BV1、BV2 之生長曲線測試。添加靈芝濃度 0%、2.5%、5% 和 10% 之對生長曲線分析，濃度以 CFU/ml 表示。(A) 為 BV1。(B) 為 BV2。

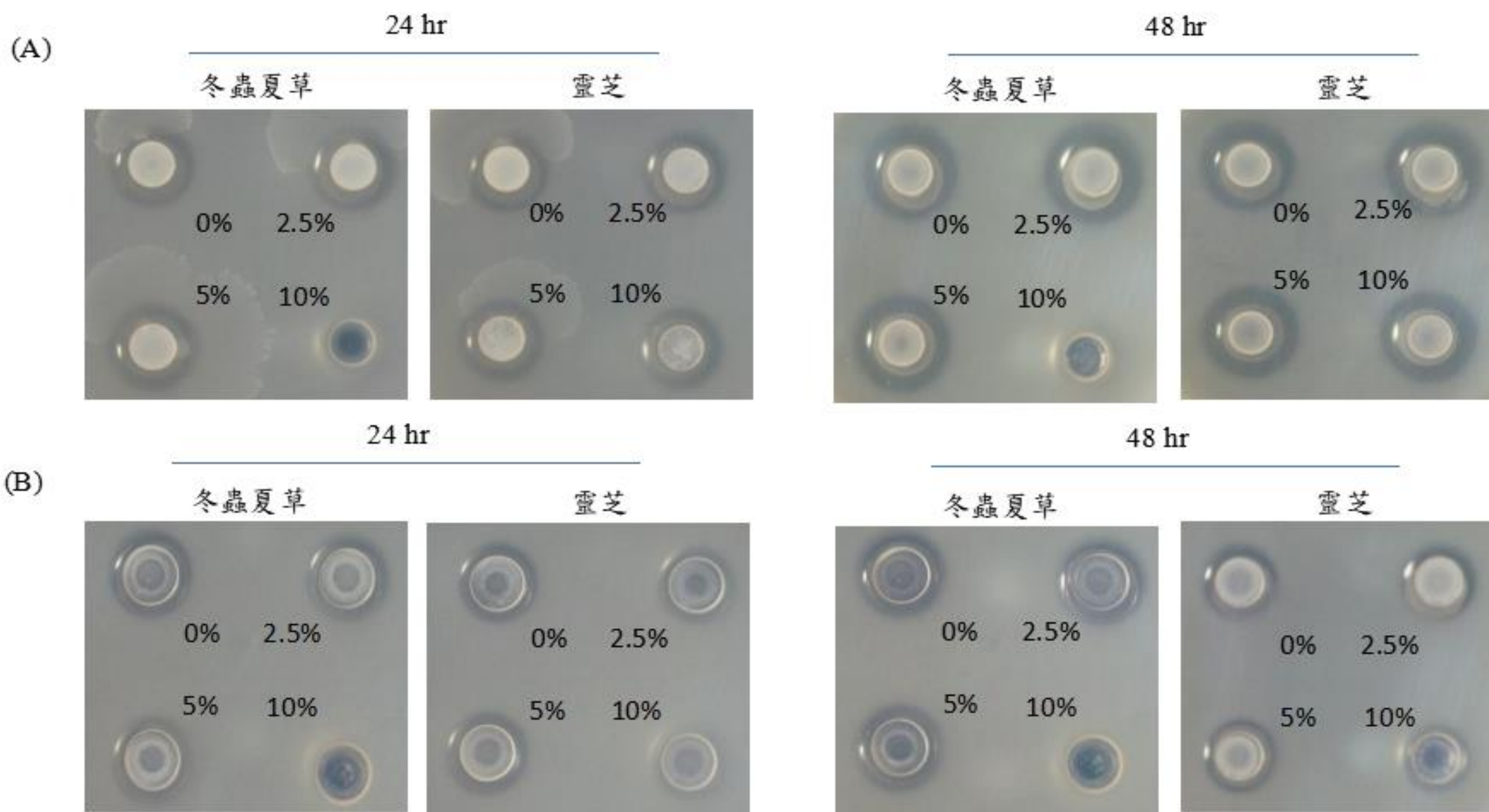


Fig. 3. 益生菌添加 0, 2.5, 5, 10% 之冬蟲夏草和靈芝培養 8 小時，對大腸桿菌 S12 及 D2-2 抑菌能力測試。(A) 以 S12 為宿主，(B) 以 D2-2 為宿主之抑菌圈。

Table 1. 益生菌添加冬蟲夏草萃取液進行培養對 *E. coli* S12、D2-2 之抑菌效果。

		Conc. of cordyceps extract			
		0%	2.5%	5%	10%
<i>E. coli</i>	Time	Inhibition zone (nm)			
S12	24 hr	13.98	13.98	14.95	-
	48 hr	16.65	16.65	17.55	-
D2-2	24 hr	10.02	10.02	10.25	-
	48 hr	10.32	10.32	10.40	-

結論

本實驗使用之兩株益生菌是豬飼料添加劑中所分離出來，經 16s rRNA 定序比對後，判定為貝萊斯芽孢桿菌 (Bacillus velezensis)。在添加冬蟲夏草之益生菌生長曲線測試中，由結果觀察到添加 2.5% 和 5% 之冬蟲夏草能促進益生菌生長，但是添加過量之冬蟲夏草可能導致益生菌死亡。在添加靈芝之益生菌生長曲線測試中，由結果觀察到添加 2.5%、5% 和 10% 之靈芝皆可促進益生菌生長。益生菌抑制病原菌能力測試中，使用兩株益生菌 BV1、BV2 原液，以及添加冬蟲夏草和靈芝培養後之菌液作為對照組，對病原菌進行抑菌能力測試，觀察到單獨冬蟲夏草和靈芝添加劑對病原菌並不具有抑制功能。添加冬蟲夏草進行抑菌能力測試中，BV1 在添加 5% 之冬蟲夏草時有較好的抑菌效果，BV2 則在添加 2.5% 之冬蟲夏草時有較好的抑菌效果。BV1 和 BV2 在添加 2.5% 之靈芝時有較好的抑菌效果。

總結以上的結果，益生菌單獨以 BHI 培養基培養時，生長速度較慢，且菌量只到 10⁸ CFU/ml，但若添加冬蟲夏草及靈芝萃取液後菌量可提升到 10⁹ CFU/ml，此兩種萃取液確實可增加菌量。此外在抑菌能力上更證明添加冬蟲夏草或靈芝萃取液後，推測此兩中萃取液中之物質可能改變益生菌某些代謝路徑，產生不同之二次代謝物，進而提升益生菌之抑菌能力。而廠商提供之冬蟲夏草或靈芝萃取液成本相當低廉，且可提升菌的生長速度及菌量，對於益生菌量產應用具有很大的幫助。



氣凝膠水性塗料之隔熱性能分析



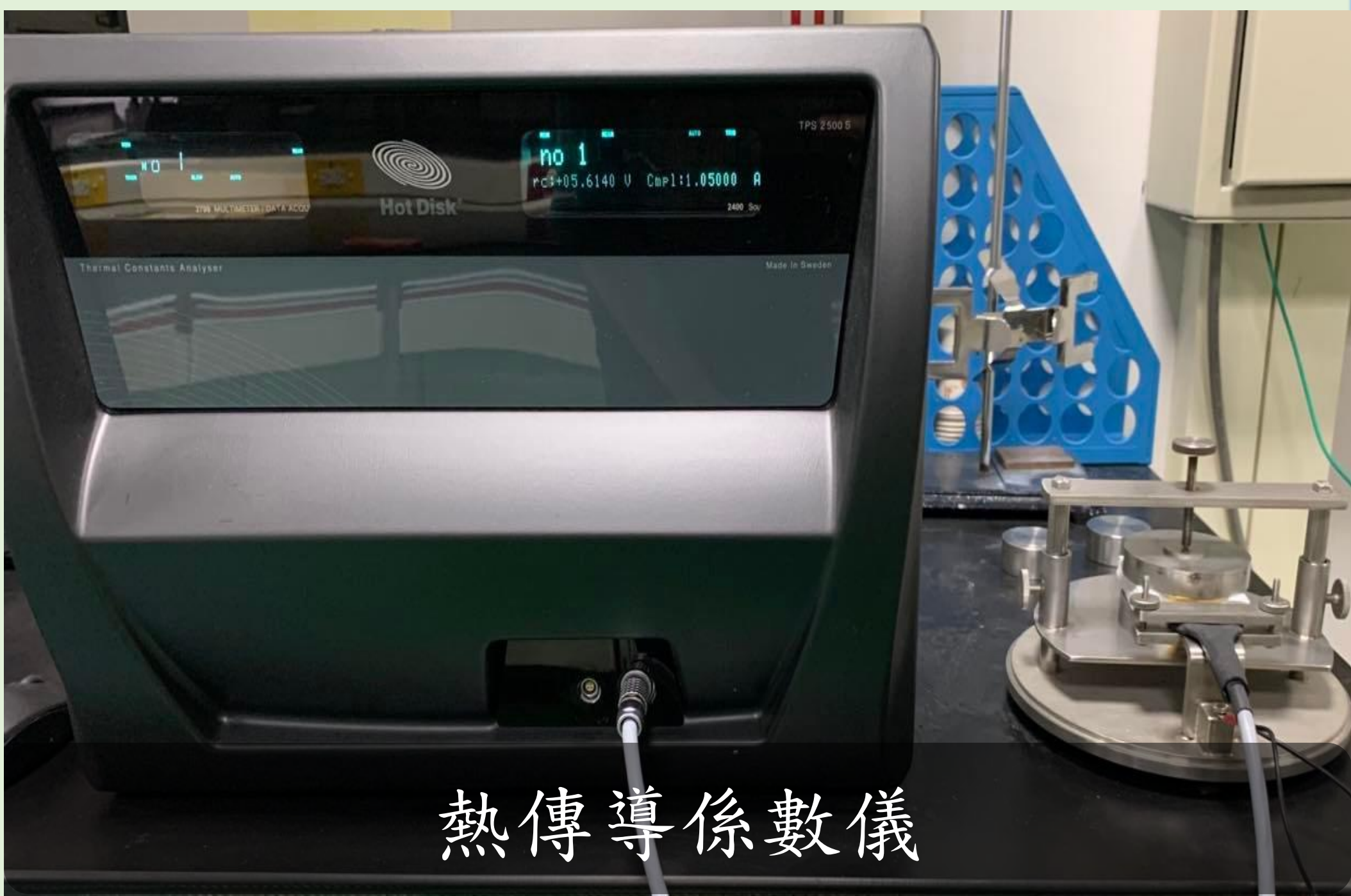
義守大學化學工程學系
余沛珍、顏正維、游育誠、洪錫勳

摘要

水性丙烯酸塗料為重要之建築塗料，本研究利用氣凝膠獨特的奈米結構為主要填料，加入白漆及水性丙烯酸樹脂而達成。設計合適的穩定劑將氣凝膠分散均勻製成漿料，再與其他助劑混合製得水性透明隔熱塗料。此製備方法簡單易行，環保節能。將含3~15%氣凝膠漆料塗佈在拋光鋼板與深色鋼板上，利用熱箱測量隔熱效果，白漆在深色鋼板上最佳的是添加氣凝膠5%，鋼板上下溫差從無添加氣凝膠之白漆的原本溫差11.4℃提升到24.4℃，而丙烯酸在拋光鋼板最佳的是添加5%氣凝膠，鋼板上下溫差從無添加氣凝膠之丙烯酸原本的溫差4.8℃提升到18.9℃；同時鋼板表面溫度降低很多尤其白漆，顯示表面吸熱能力也降低。本研究在漆中摻配氣凝膠提升油漆隔熱並降低吸熱能力，是具競爭力的水性隔熱塗料。



實驗設備



實驗步驟

混合

- 將助劑、水、氣凝膠均勻攪拌混合

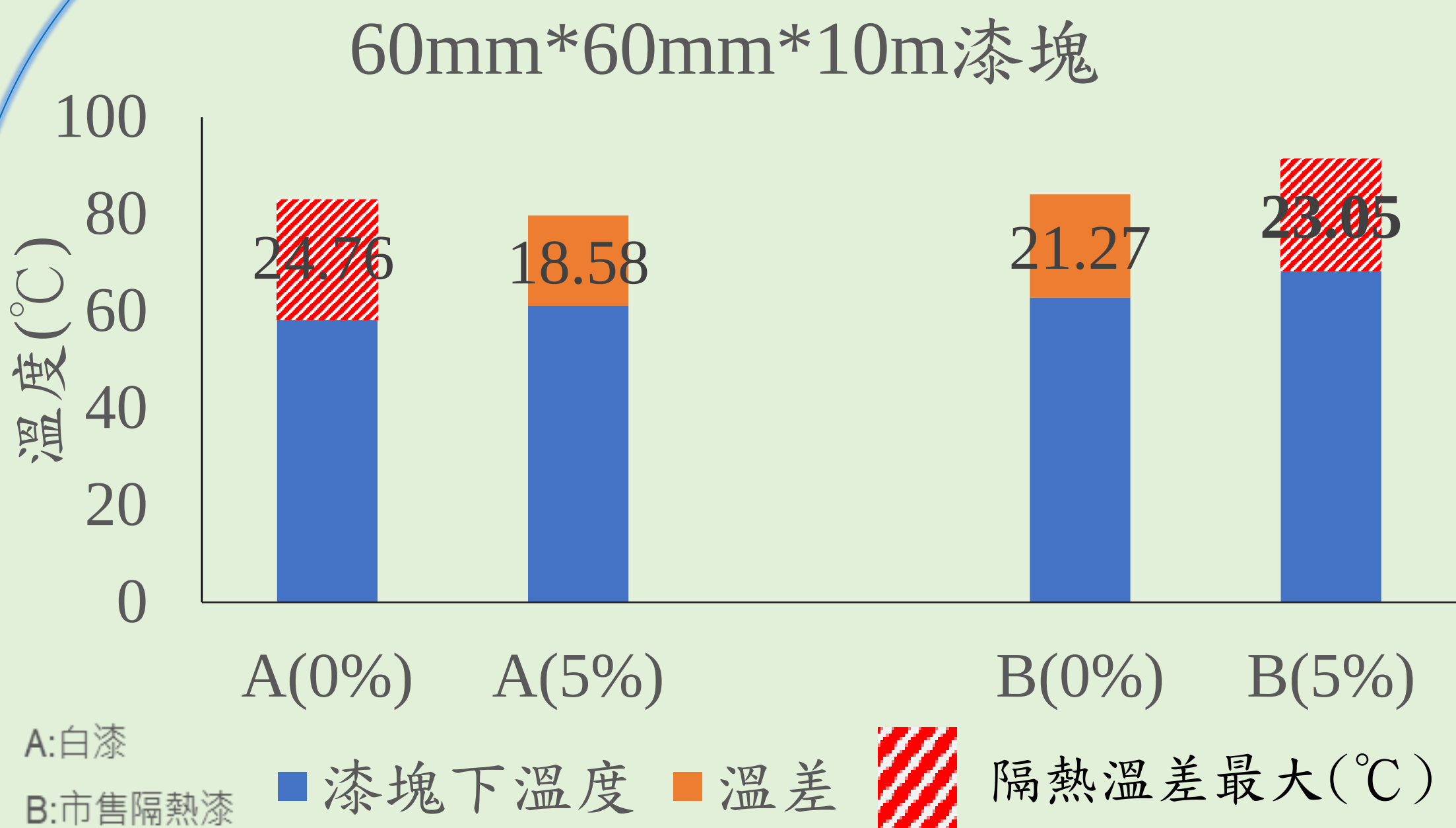
塗佈

- 將攪拌完成之氣凝膠漿液塗佈於鋼板並將其烘乾

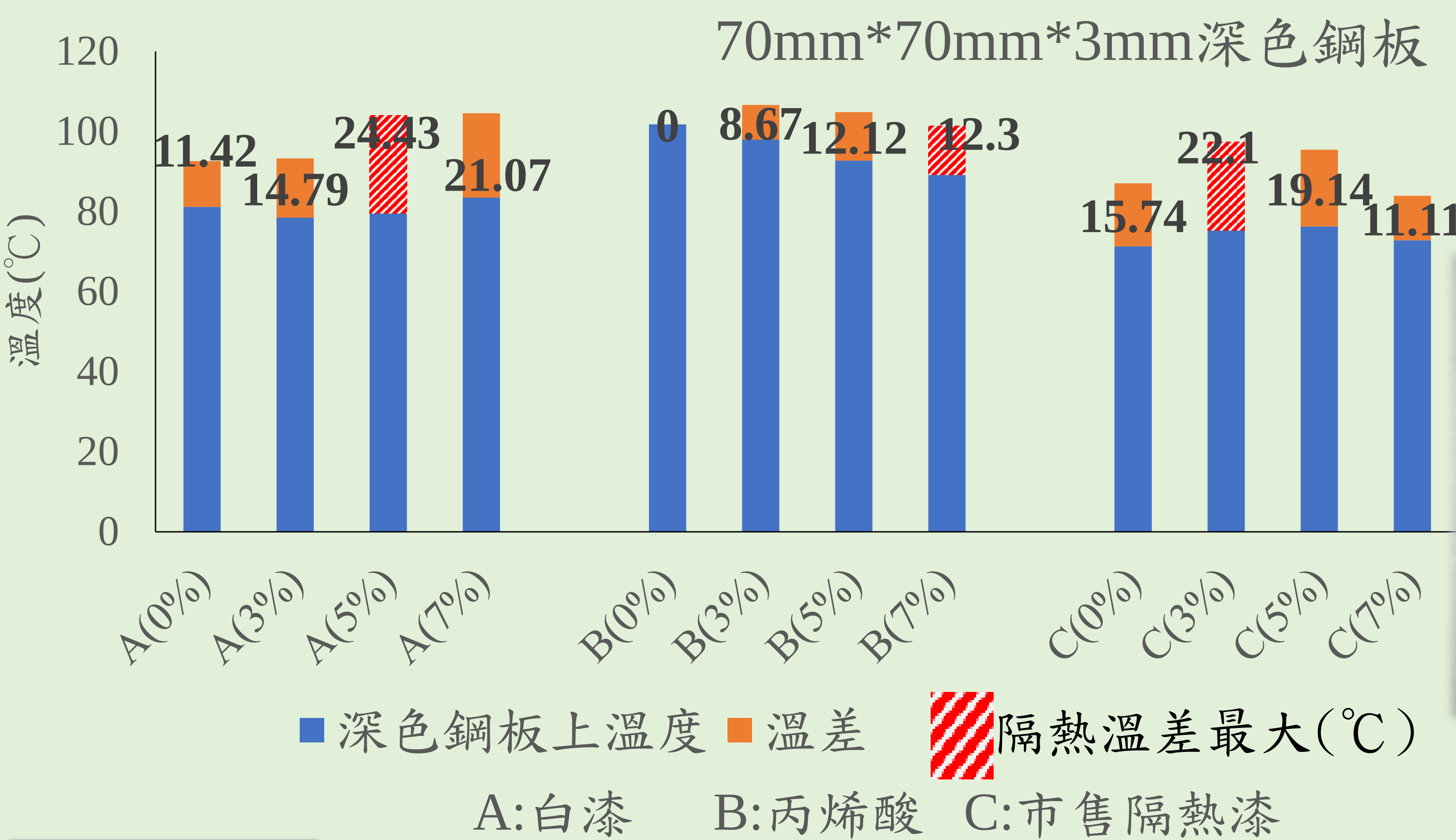
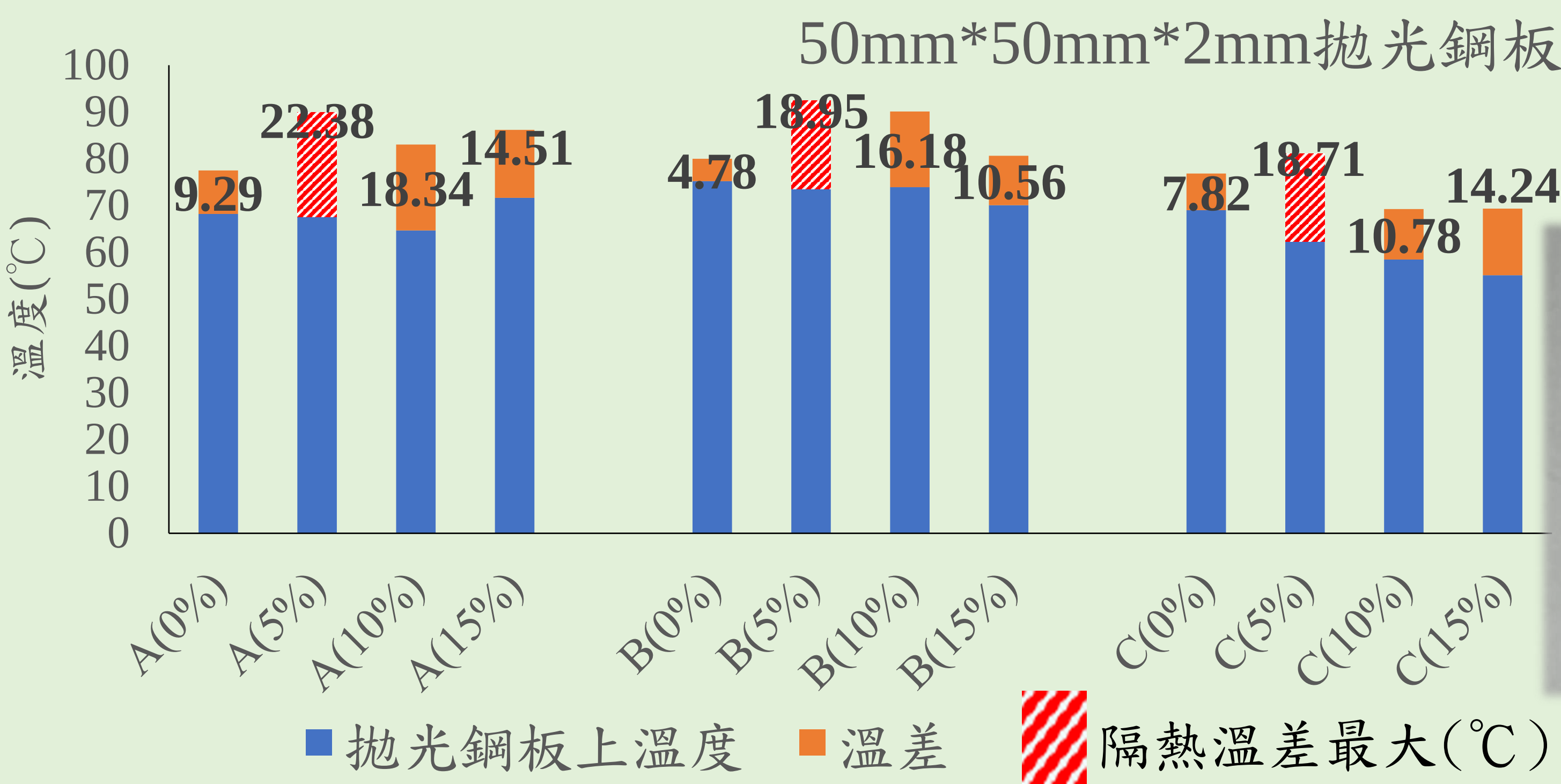
測量

- 將烘乾完成之鋼板即可測量鋼板上下溫差及熱傳導值

實驗結果



漆塊	熱傳導係數
純白漆	1.659 W/mK
純白漆 + 5%氣凝膠	0.7303 W/mK
市售隔熱漆	1.824 W/mK
市售隔熱漆 + 5%氣凝膠	0.5218 W/mK



結論

將氣凝膠粉體加於丙烯酸漆及白漆，製成漆塊時，熱箱測得白漆上下溫差以24.76℃(無氣凝膠)最佳，而市售隔熱漆上下溫差以23.05℃(5%氣凝膠)最佳，測量熱傳導係數觀察，如表所示，純白漆與市售隔熱漆降低56%及71.4%，最低為0.5218 W/mK。

結論

選用SiO₂氣凝膠，透過漆塊熱傳導係數量測與塗佈於拋光鋼板與深色鋼板，利用熱箱實務測量隔熱。當含量達5%時，塗膜隔熱性能較好，顯示有優良之隔熱效果，可以在工業上廣為應用。

Antibiotic resistance and biofilm formation capacity of *Staphylococcus aureus* from a teaching hospital in Taiwan

Jing-Chen Qiu 1, Cheng Hong Yang2, Li-Yeh Chuang1,*

1Department of Chemical Engineering, I-Shou University, Kaohsiung, 84001Taiwan

2Department of Electronic Engineering, National Kaohsiung University of Science and Technology, Kaohsiung, 807 Taiwan

INTRODUCTION

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is a very common human pathogenic microorganism that can trigger a variety of infectious diseases. In recent decades, due to the evolution of bacteria and the overuse of antibiotics, the drug resistance of *S. aureus* has gradually increased worldwide, resulting in the decline in effectiveness of clinical anti-infective treatments. Furthermore, the clinical antibiotic resistant isolates have not been sufficiently characterized with regard to their capacity for antibiotic resistance and biofilm formation.

METHODS

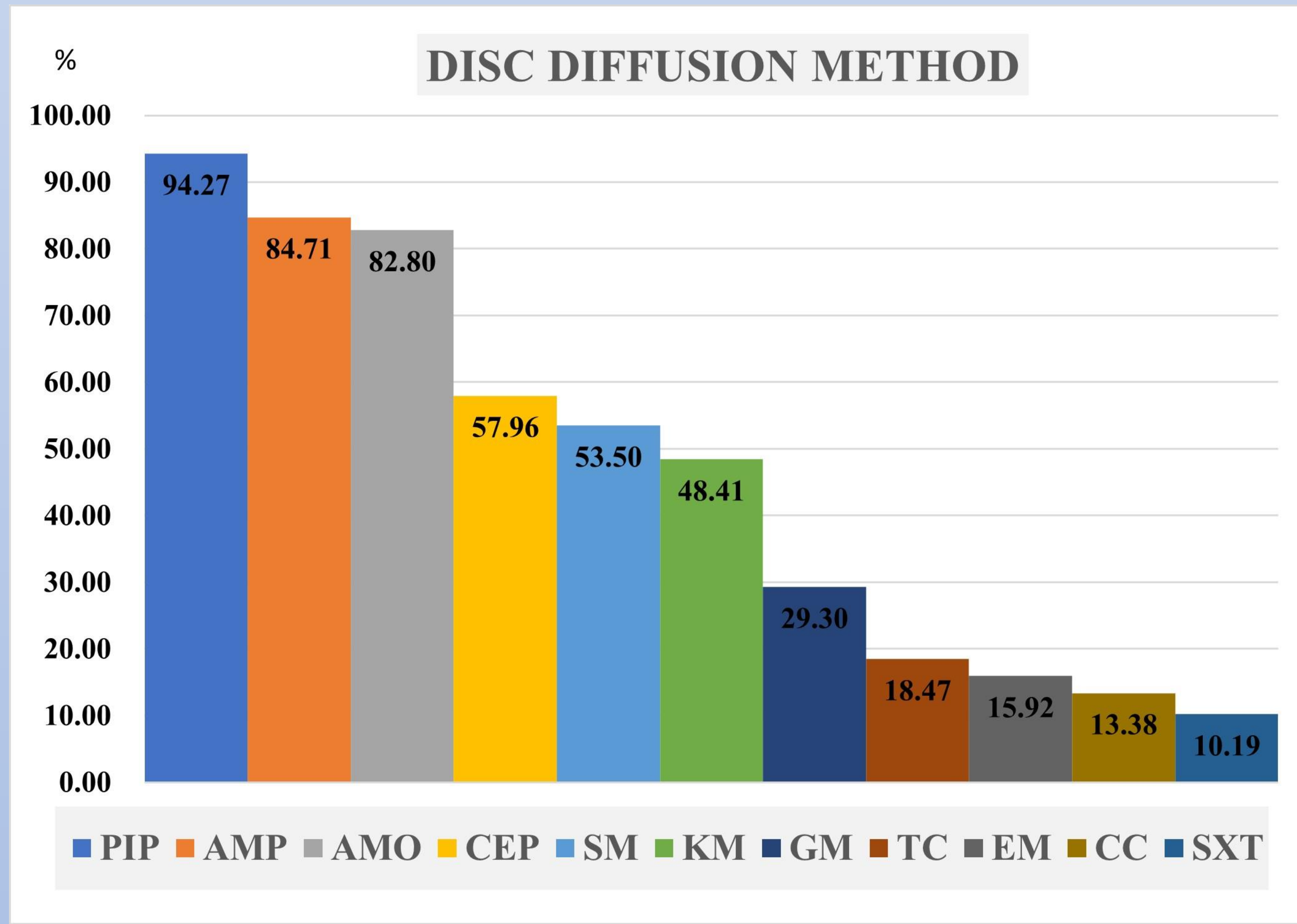
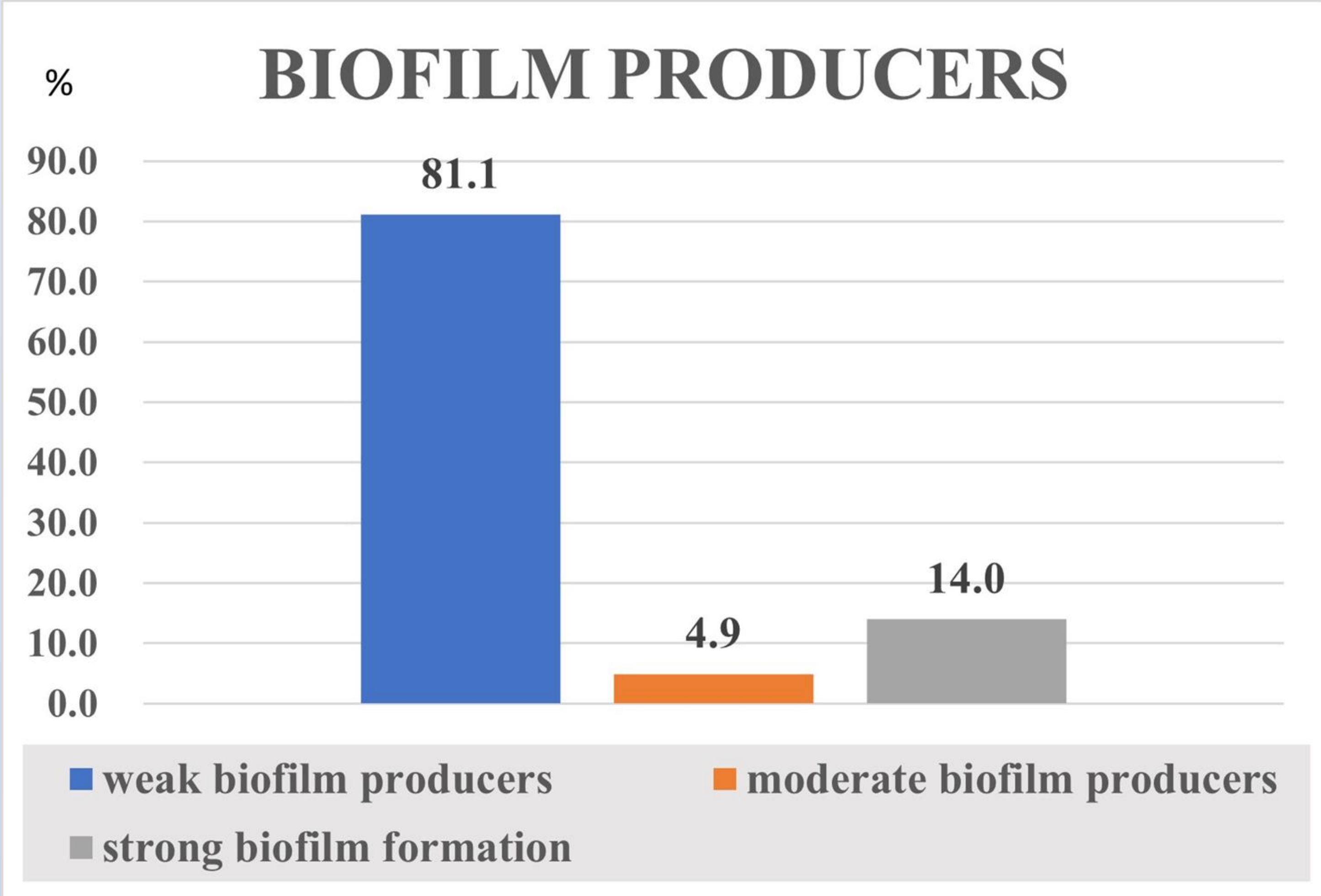
DISC DIFFUSION METHOD

1. According to the standards of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI; <http://clsi.org/>)
2. Pick a single colony and inoculate it into the culture solution and incubate at 37°C for 16 hours
3. Dilute the bacterial solution with double distilled water to OD600=0.5
4. Take 50μL of bacterial solution and add 5 mL of uncoagulated Soft agar at 55°C, mix it evenly and pour it into the solid medium to form a double layer
5. After solidification and cooling, attach the antibiotic-containing paper ingot (diameter 6 mm), each paper ingot with 20μL of antibiotics added to the double layer, and do not move it after attaching (to avoid affecting the interpretation result)
6. After placing the petri dish at 37°C for 16 hours, observe the size of the inhibition zone

SPECTROPHOTOMETRY ANALYSIS

1. Pick a single colony and inoculate it into 5 mL of LB broth broth, and incubate at 37°C for 16 hours
2. Dilute the bacterial solution with double distilled water to OD600=0.5
3. Add 200 μL of sterilized double distilled water to the three holes
4. Add 200 μL of bacterial solution with OD600=0.5 to the remaining nine holes. After 48 hours incubation at 37°C
5. Pour out the bacterial solution and wash twice with 1xPBS solution
6. Add 0.5% crystal violet solution to dye for 20 minutes
7. Pour out the crystal violet and wash twice with distilled water
8. Add 95% alcohol to dissolve the crystal violet
9. Use a spectrophotometer (CMAX) to measure its absorbance at a wavelength of 595 nm

RESULTS



CONCLUSIONS

1. disc diffusion method representlarge proportion (50%–100%) of the isolates was resistant to AMO, PIP, AMP, CEP and KM.
2. Among the 143 test isolates, 81.1% weak biofilm producers, 4.9% moderate biofilm producers, 14.0% strong biofilm formation.
3. Integrating the results of the first two experiments, we can know that for strong biofilm formation, its antibiotic sensitivity is generally poor.



Investigation of the Biological Activities of Fruit Peels from *Chrysophyllum cainito*

Liang-Yun Chen[†], Emirlyn Cheng Yang[‡], and Li-Yeh Chuang^{†,*}

[†] Department of Chemical Engineering, I-Shou University, Kaohsiung, 84001, Taiwan
[‡] Department of Biochemistry, The University of Hong Kong, Pok Fu Lam, 109, Hong Kong
*Corresponding author. Tel.: 886-07-6577711 ext 3402; Fax: 886-07-6578945.
E-mail address: chuang@isu.edu.tw

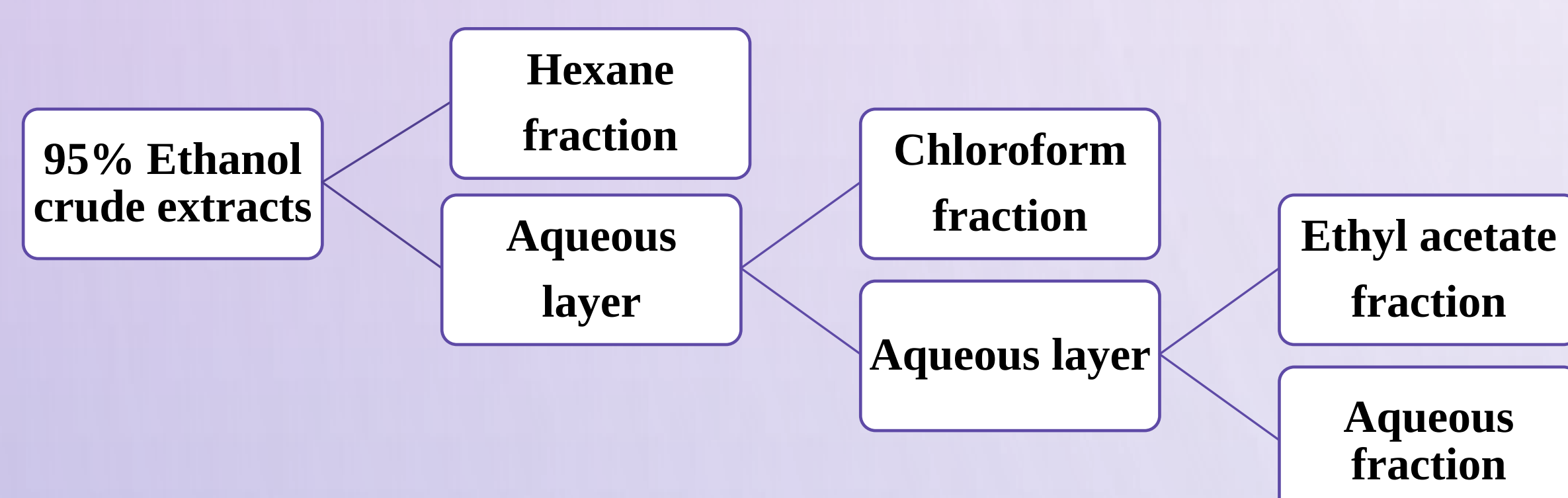
INTRODUCTION

Multiple studies have revealed that biological activities within the natural components of fruit peels are beneficial to human health. In this study, the fruit peels of *Chrysophyllum cainito*, a fruit renowned for being an effective folk medicine in curing many diseases, were investigated for the antioxidant and antibacterial activities. The results indicates that the ethyl acetate fraction of *Chrysophyllum cainito* peel has the potential value to be developed as natural antioxidants or antibacterial agents in the future.



Key words: *Chrysophyllum cainito*, Antioxidant activity, Antibacterial activity

EXTRACTION CONDITIONS



METHODS

1. Scavenging activity against DPPH radical :

The various extracts were diluted with methanol and then reacted with the DPPH solution. The mixture was shaken vigorously and left to stand at room temperature for 30 min in the dark.

2. Reduction Capacity :

The extract solution with different concentrations was used to provide electrons to reduce the Fe^{3+} in the reagent to Fe^{2+} .

3. Total Phenolic Contents :

Using gallic acid as the standard, the total phenol content was calculated using the absorbance values of different extracts to the calibration curve of standard gallic acid.

4. Total Flavonoids Contents :

The measured absorbance values of different extract solutions to the calibration curve of the standard quercetin was used to determine the content of total flavonoids.

5. Trolox equivalent antioxidant capacity :

Antioxidant capacity of the natural herbal extracts were determined based on the calibration curve of the different concentrations of trolox.

6. Disc diffusion method

Using disc diffusion method to determine the inhibitory ability of the natural herbs against the various bacterial strains.

7. Minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC)

Using broth dilution method to test antibacterial activity of the extracts against the drug-resistant isolates.

RESULTS

Extracts	DPPH IC ₅₀ (ppm)	reduction capacity (abs/10 ⁻³ ppm)	total phenolic contents (g/100g DW)	flavonoid contents (g/100g DW)	trolox equivalent antioxidant capacity (g/100g DW)
Crude	107.05±0.032	0.30±0	2.52±0.003	0.38±0.001	13.37±0.004
n-Hexane	418.04±0.425	0.40±0.141	6.39±0.006	0.44±0.001	10.63±0.013
Chloroform	73.08±0.185	0.55±0.070	8.24±0.006	1.11±0.001	26.70±0.005
Ethyl acetate	35.60±0.076	2.10±0.283	16.93±0.009	10.21±0.001	49.47±0.001
Aqueous	128.70±0.803	0.40±0.141	2.15±0.003	0.26±0.076	24.98±0.012

Antioxidant Activity :

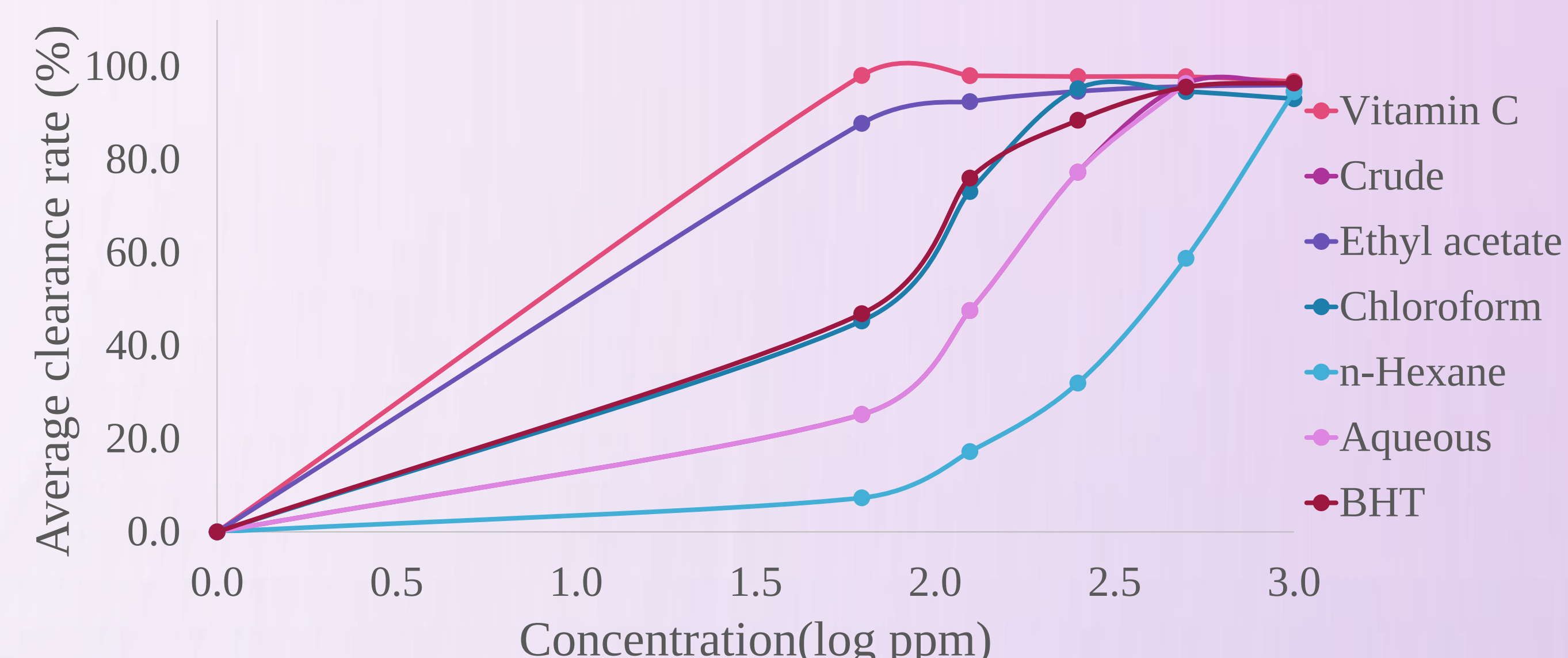


Figure 1. DPPH free radical scavenging activity of *Chrysophyllum cainito* peels

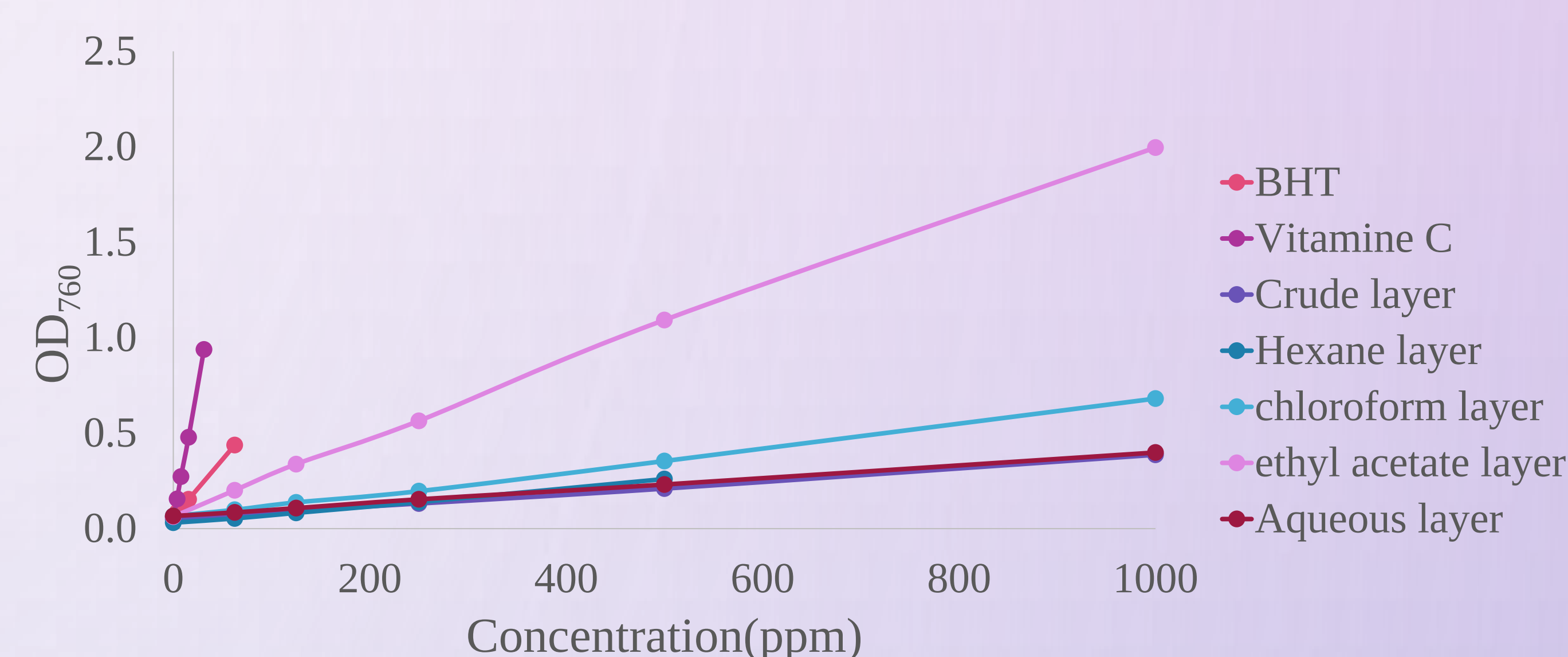


Figure 2. Reduction capacity of *Chrysophyllum cainito* peels

Antimicrobial Activity :

Disc inhibitory zone (mm) of the antimicrobial activity test

Strains	DMSO	TC	EA
Sa6538p	0±0	26.0±0.3	10.7±0.7
Ab19606	0±0	21.3±0.6	12.8±0.6
Ec25257	0±0	20.4±0.1	12.4±0.3
Pa4016	0±0	14.5±0.1	14.8±0.5
Pa717	0±0	16.1±0.2	13.3±0.3
Ab814	0±0	19.3±0.1	11.1±0.5
Ab2344	0±0	22.6±0.2	13.4±0.1
ORSa220	0±0	11.4±0.2	13.0±0.3
MRSa2118	0±0	11.0±0.3	12.6±0
Sa2803	0±0	21.4±0.5	15.3±0

Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) determination

Strains	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
Sa6538p	2.0±1.414	4.0±0
Ab19606	>8.0	>8.0
Ec25257	8.0±2.828	>8.0
Pa4016	2.0±1.414	4.0±0
Pa717	2.0±1.414	4.0±0
Ab814	>8.0	>8.0
Ab2344	2.0±0.707	2.0±0
ORSa220	2.0±0.707	2.0±0
MRSa2118	2.0±0.707	2.0±0
Sa2803	2.0±0.707	2.0±0

CONCLUSIONS

1. Among the various extracts, the ethyl acetate (EA) fraction showed a better of the DPPH free radical scavenging activity and reduction capacity.
2. Based on the analysis of total phenolic and total flavonoids contents, the highest contents was found in the EA extracts.
3. According to the results of antimicrobial activity assay, the EA extract showed broad antimicrobial activity against all the test strains.
4. Further purification of the active ingredients from the EA fraction of *Chrysophyllum cainito* has the valuable to develop as an alternative antibiotic and antioxidant.

The Study of Reaction of Isoprene with Ozone

異戊二烯與臭氧反應之探討

許晴晴(Ching-Ching Hsu)，黃美利(Mei-Lee Hwang)

義守大學 化學工程學系

E-mail : mlhwang@isu.edu.tw

Abstract

異戊二烯為生物排放之揮發性有機化合物最大宗，為橡膠工業中重要的原料之一，其生產來源是由石油烴高溫裂解製備乙烯過程中的副產物，再經由C5餾分而出。臭氧具有高氧化能力的特性，可有效分解有機物質。本研究將利用臭氧氧化法探討異戊二烯與臭氧之反應，以FTIR及GC/MS分析異戊二烯氧化後的中間產物與產物，並推導其可能產生的反應機制。於IR圖譜中發現新吸收峰C=O、C-O之振動頻率，分析比對GC/MS圖譜，推測產物為Methacrolein (MAC)與Methyl Vinyl Ketone (MVK)，比對臭氧與異戊二烯反應可能路徑之產物，顯示Scheme I的臭氧與異戊二烯反應的兩種路徑皆會產生。

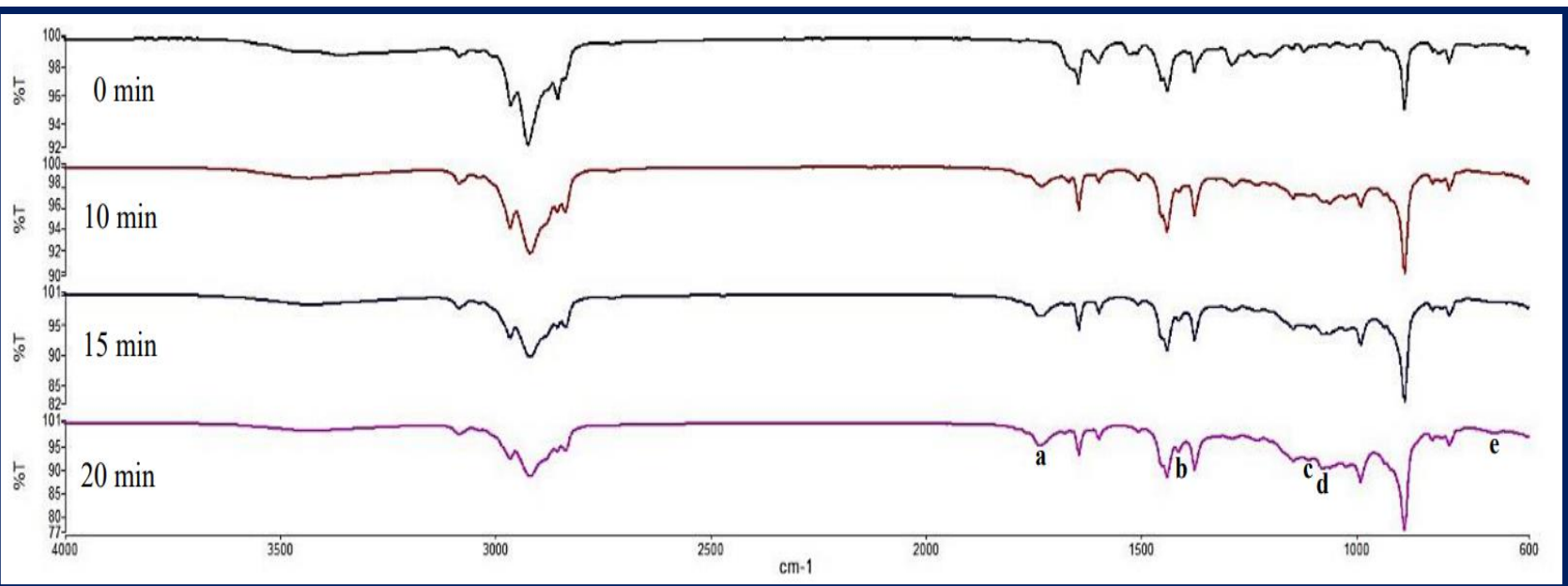
Introduction

揮發性有機化合物(Volatile Organic Compounds，VOCs)，因其具有強揮發性會揮發至空氣中造成空氣汙染，不僅對環境造成極大的影響，更進而危害到我們人體的健康。異戊二烯(Isoprene，IPM)用於合成芳樟醇（Linalool）、角鯊烯（Squalene）等，這些是進一步合成香料、藥品、農藥等的中間體。異戊二烯的液體及蒸氣皆會引起眼睛、鼻子和喉嚨的刺激感，此物質可能會致癌，且對人類生殖細胞造成遺傳性損傷。

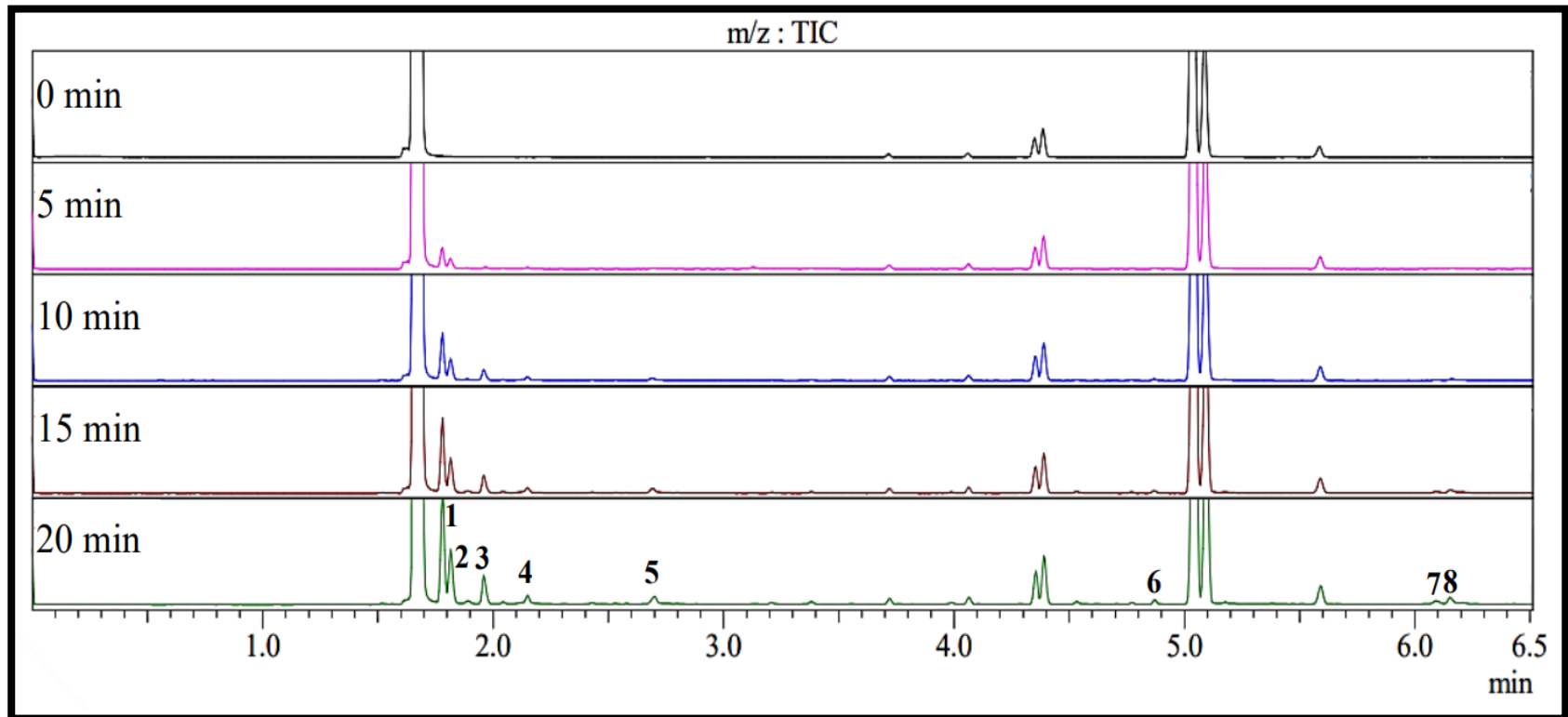
因臭氧擁有電雙極結構，易與不飽和鍵進行電偶極加成反應，生成臭氧化物^{1,2}，進而分解成小分子。因此本研究將探討含官能基烯烴（異戊二烯）與臭氧之反應，分析IPM與臭氧反應生成之產物，進而瞭解其可能之反應機制。

Results and Discussion

異戊二烯之IR吸收頻率與文獻³符合並整理於表一。臭氧通過IPM10分鐘後，IR圖譜(如圖一)陸續觀察到一些新的波峰，包括1733 cm⁻¹、1410 cm⁻¹、1160 cm⁻¹、1080 cm⁻¹及680 cm⁻¹，對應之官能基整理於表二，新波峰吸收強度隨著反應時間增加而變強，新生成的產物應含有C=O及C-O的官能基。臭氧通過IPM 20分鐘後，GC共出現8支新波峰，對應之GC圖如圖二，新波峰之滯留時間及其對應之MS圖如圖三所示，對應荷質比(m/z)分別為70、70、84、84、86、124、138、138，波峰強度隨臭氧通入時間增加而增加。針對r.t = 1.780 min與r.t = 1.816 min進行分析，經比對質譜碎片分析其分子量後，產物可能為MAC與MVK，其波峰面積隨時間變化如圖四，顯示產物穩定存在。



圖一 臭氧與IPM反應後不同時間之IR光譜圖



圖二 臭氧與IPM反應後不同時間之GC圖

表一 IPM的IR吸收峰(cm⁻¹)

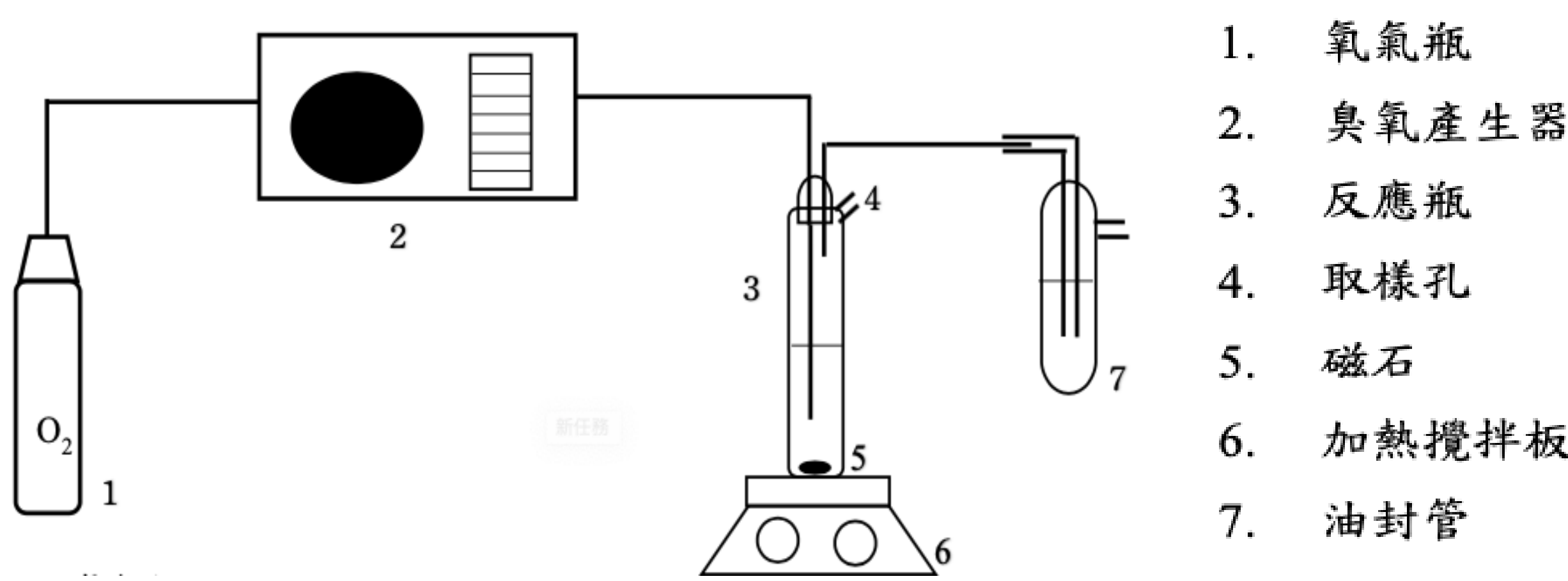
Observed frequency(cm ⁻¹)		Calculated frequency(cm ⁻¹)*		Assignment
This work	literature			
3085	3101	3104	asy =CH ₂	str
3075	3091	3093	asy =CH ₂	str
—	—	3018	asy CH ₃	str
—	—	3012	sy =CH ₂	str
—	3017	3001	CH	str
—	—	2996	sy =CH ₂	str
2965	2985	2988	asy CH ₃	str
2920	—	2913	sy CH ₃	str
1645	—	1646	C=C	str
1598	1604	1600	asy C=C	str
—	1467	1478	CH ₃	def
1455	1444	1454	asy CH ₃	def
1439	1428	1435	=CH ₂	sci
—	1417	1407	=CH ₂	sci
1376	1384	1371	sy =CH ₂	def
—	1303	1312	C-C	str
1289	—	1288	C-C	def
—	1071	1075	sy CH ₃	rock
1061	1069	1066	asy CH ₃	rock
—	1003	1003	=CH ₂	rock
990	992	984	CH	wag
—	—	954	=CH ₂	rock
—	906	902	CH ₂	wag
888	894	898	CH ₂	wag
—	—	777	C-CH ₃	str
—	—	764	=C-CH ₂	twist
—	—	625	=C-CH ₃	twist

*:References³

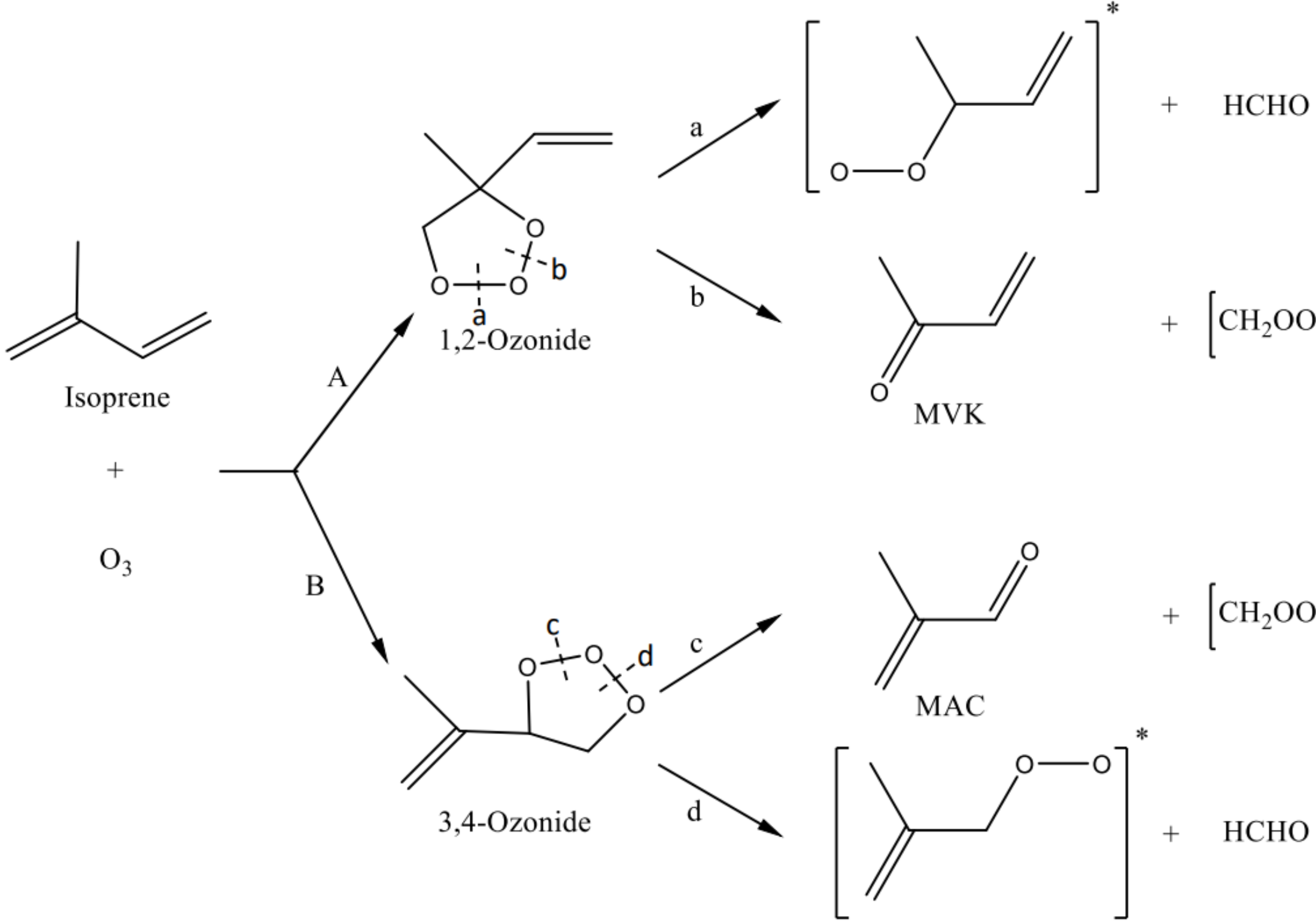
表二 臭氧與IPM反應後新增的IR吸收峰(cm⁻¹)

	frequency(cm ⁻¹)	assignment
a	1733	C=O
b	1410	C-H ₃
c	1160	C-O
d	1080	C-O
e	680	C-H ₂

Experimental Device



參考文獻⁴臭氧與異戊二烯之反應機制如Scheme I，臭氧加入IPM的位置有兩種可能，如路徑A和B。走路徑A時會生成1,2-Ozonide，斷裂的方式分為a或b，a會產生甲醛，b會產生MVK。路徑B時會生成3,4-Ozonide，斷裂的方式則為c或d，c會產生MAC，d會產生甲醛。綜合IR及GC/MS之資訊，反應路徑a與d會生成甲醛，但在GC/MS圖譜中並未偵測到，因此先將a、d路徑排除。路徑b與c的產物分別為MVK與MAC，於IR及GC/MS中皆有偵測到，因此反應路徑為路徑b與c。反應最後於GC/MS中測得許多高分子量的產物，顯示IPM與臭氧反應後可能有聚合反應。



Scheme I 臭氧與異戊二烯直接反應之反應路徑

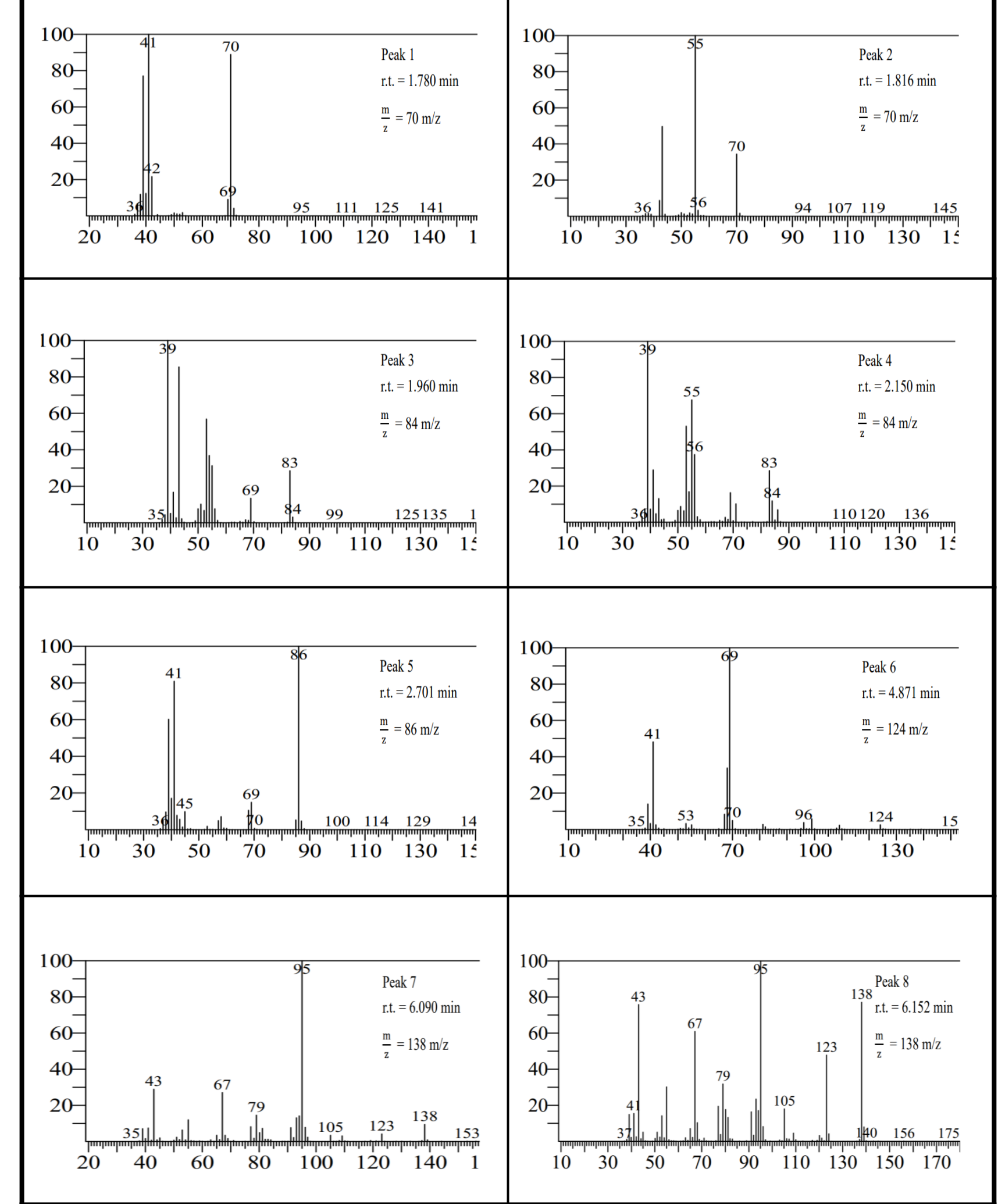
Conclusion

本實驗利用IR及GC/MS分析探討臭氧與IPM之反應。臭氧通入IPM溶液在不同時間後，IR光譜偵測到新的C=O、C-O震動吸收波峰，GC/MS也偵測到許多新的波峰，依MS圖碎片分析m/z，產物為MAC與MVK。由IR與GC/MS分析，反應路徑為臭氧與IPM反應生成臭氧化物，再經由路徑b與c分別生成MVK與MAC。測得的高分子量產物，表示IPM與臭氧反應後可能有聚合反應發生。因為A與B路徑皆有可能發生，若要了解兩種路徑發生的機率，尚待進一步分析探討以確定其反應機制。

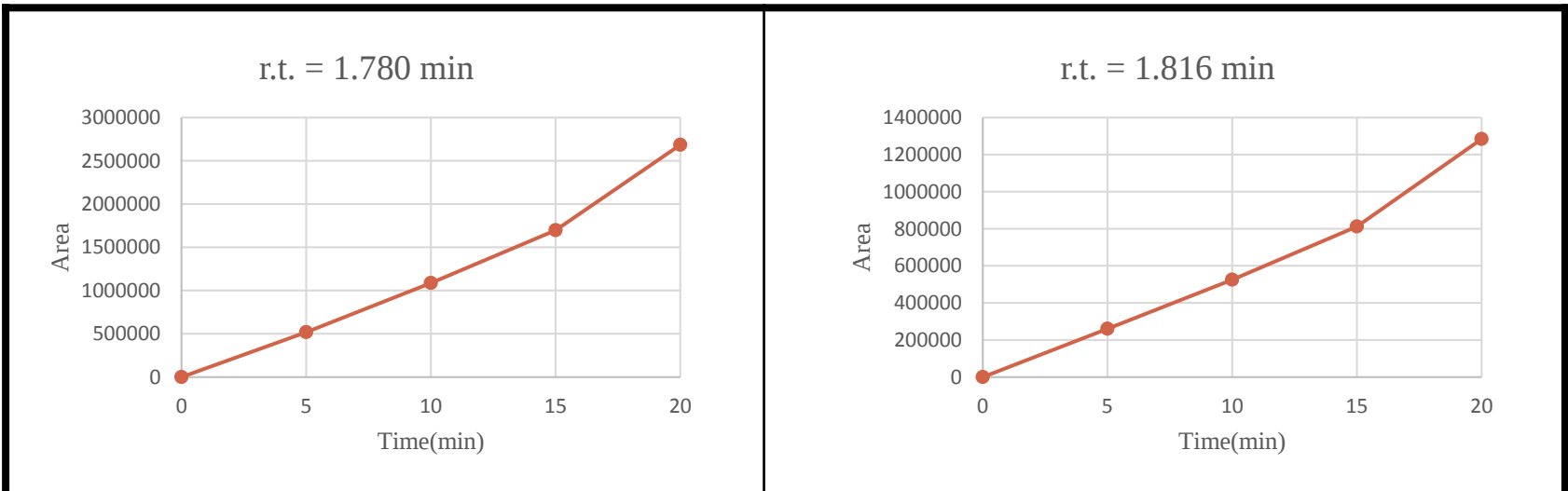
References

- Kumar, M., et al. (2020). "Multiple Stable Isoprene-Ozone Complexes Reveal Complex Entrance Channel Dynamics in the Isoprene + Ozone Reaction." 142(24): 10806-10813.
- Deng, J. G., et al. (2012). "The overall reaction process of ozone with methacrolein and isoprene in the condensed phase." J Phys Chem A 116(7): 1710-1716
- Brauer, C. S., et al. (2014). "Quantitative infrared absorption cross sections of isoprene for atmospheric measurements." 3839-3847.
- Frank Sauer, et al. (1999). "Formation of hydrogen peroxide in the ozonolysis of isoprene and simple alkenes under humid conditions." Atmospheric Environment: 229-241.

感謝撥冗觀看，敬請指教。



圖三 臭氧與IPM反應後GC新波峰對應之MS圖



圖四 IPM與臭氧反應後，GC新波峰(r.t = 1.780 min、r.t = 1.816 min)之波峰面積與時間變化圖



利用大王仙丹花葉的水提取液綠色合成奈米銀粒子及光催化降解反應研究

Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Ixora duffii* cv. leaves and their catalytic application in photocalytic activity

黃家妤、楊志馮*

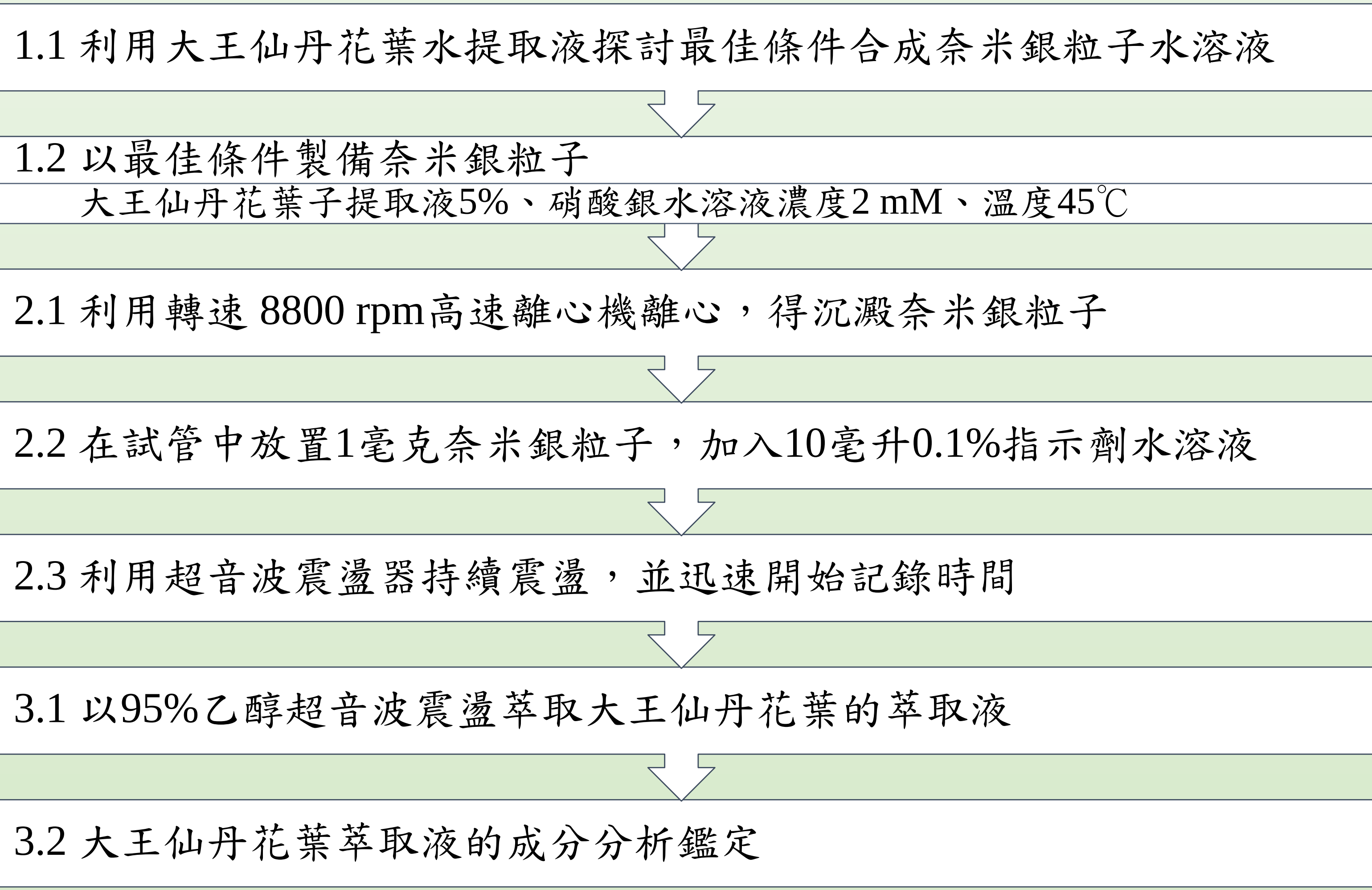
義守大學化學工程學系、E-mail:jfyang@isu.edu.tw

關鍵字:綠色和成法、大王仙丹花葉水提取液、奈米銀粒子、紫外光可見光光譜儀

摘要

本實驗在探討大王仙丹花葉的水提取液用於合成奈米銀粒子後，進一步用於探討奈米銀粒子(Silver nanoparticles，AgNPs)應用於染料降解的研究[1]。光催化降解反應利用綠色合成奈米銀粒子在指示劑(甲基紅、甲基橙和亞甲基藍)降解的實驗中。從紫外光可見光光譜儀中吸光度的降低得知，本實驗證明了奈米銀粒子可做為降解指示劑的極好催化劑。此外利用氣相層析質譜儀分析，進行大王仙丹花葉95%乙醇萃取物化學成分的分析鑑定。

實驗方法



結果與討論

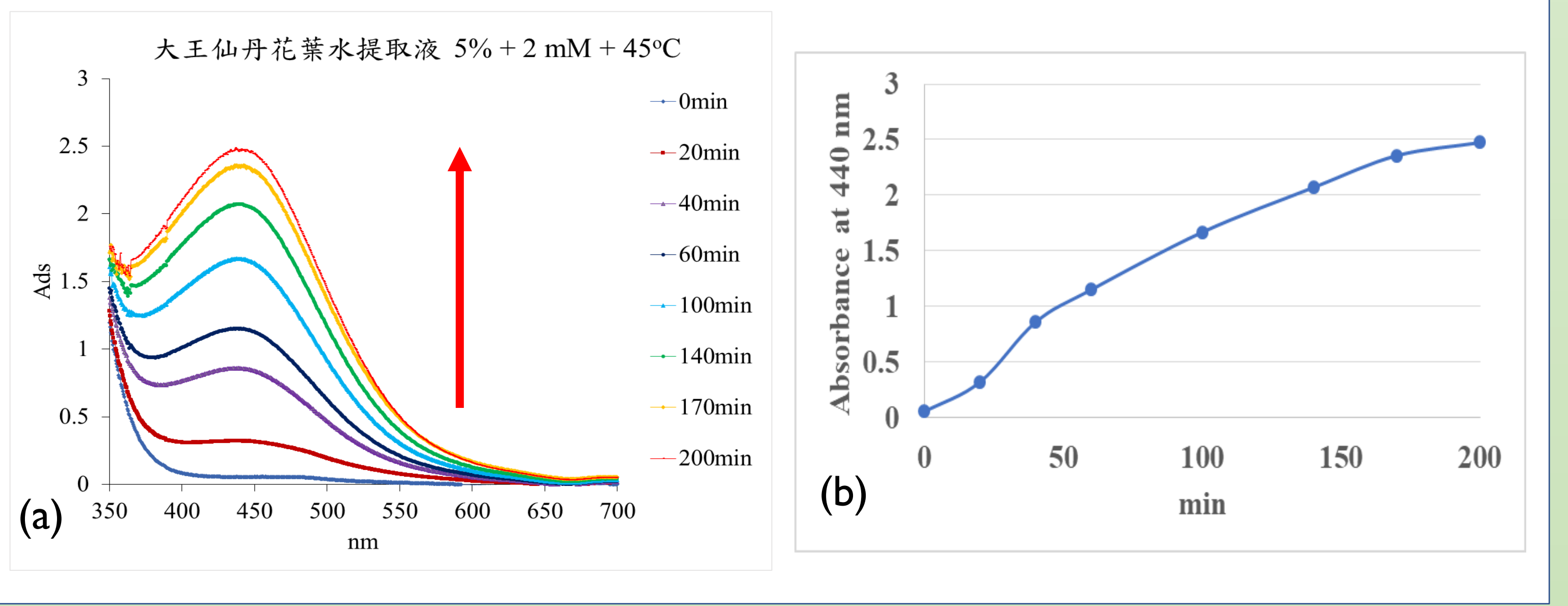


圖1-最佳化條件合成 奈米銀粒子吸收度之紫外光可見光光譜圖(a)大王仙丹花葉子提取液5%、硝酸銀水溶液濃度2 mM、溫度45℃，(b)最佳化條件下合成奈米銀粒子從最大吸收度440 nm之反應速率。

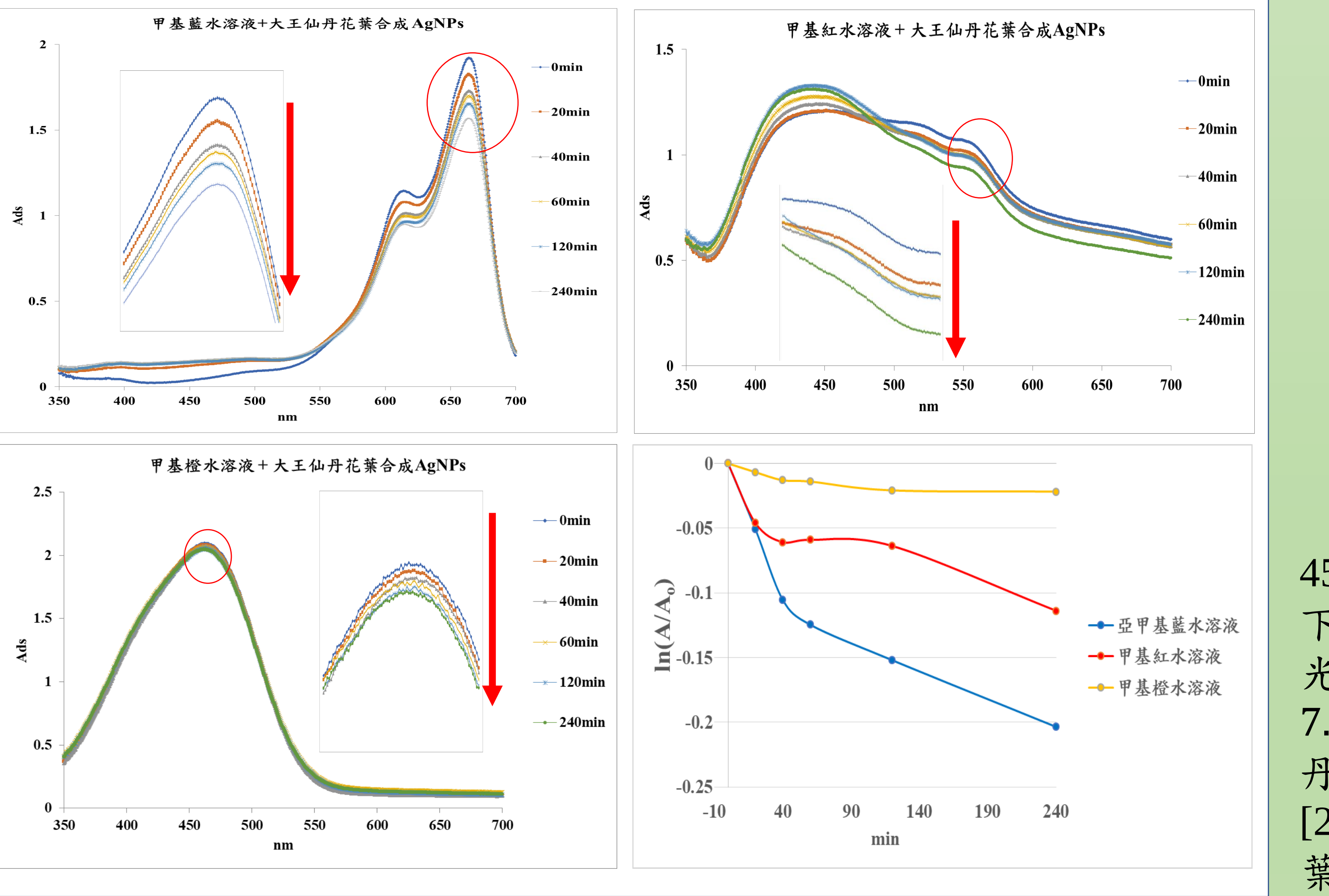


圖2-使用大王仙丹花葉合成 AgNPs 對指示劑水溶液光催化降解反應的UV-Vis圖譜 (a) 亞甲基藍、(b) 甲基紅、(c) 甲基橙水溶液之吸收度，(d) ln(A/A₀)對時間的不同指示劑水溶液光催化降解反應速率比較。

參考文獻

[1]劉家興, " 二氧化氯對染料廢水降解及其反應機制之研究",元智大學化學工程學類碩士論文, **2012**.
[2] Jyoti, K., Singh, A., " Green synthesis of nanostructured silver particles and their catalytic application in dye degradation, " *J Genet Eng Biotechnol*, **2016**, 14(2), pp. 331-317.
[3]朱淑美," 化學溶液法中檸檬酸及醇還原法合成奈米銀線應用於觸控薄膜",機電光工程研究所碩士論文, **2014**.

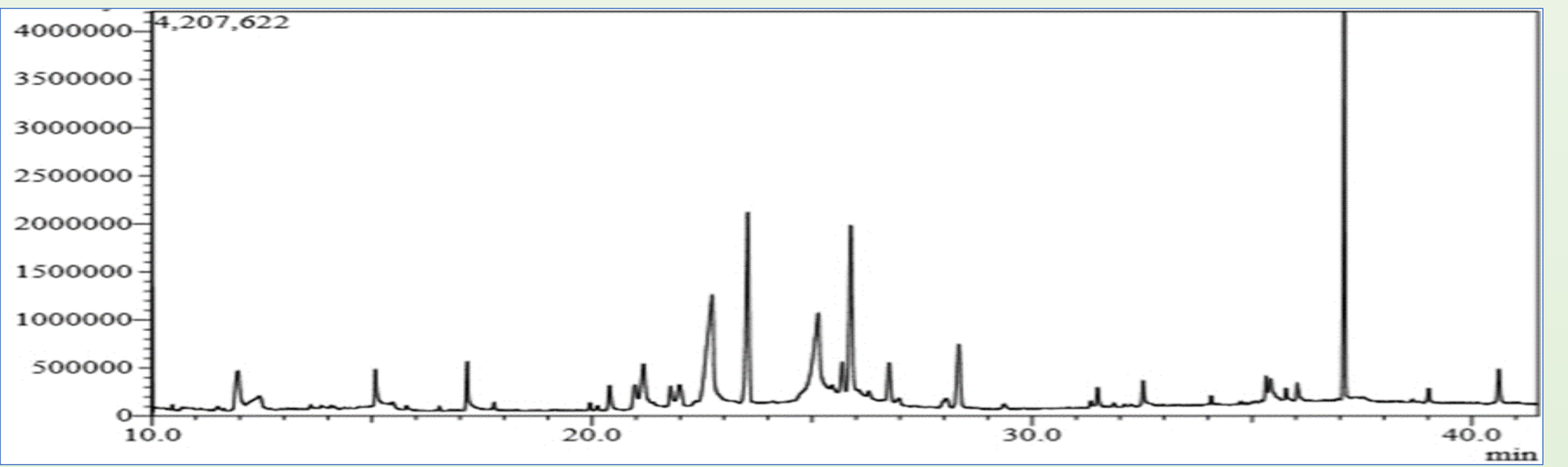


圖3-利用氣相層析質譜儀 進行大王仙丹花葉95%乙醇萃取物的成分分析

表1-大王仙丹花新鮮葉子95%乙醇萃取液的成分分析資料

Peak	Ret. Time ¹	Area%	SI ²	Mol. Weight ³	Mol. Form ⁴	Name
		95.84				Total
		37.23				Esters
1	16.531	0.11	94	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Hexadecanoic acid, methyl ester
2	17.782	0.21	96	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Hexadecanoic acid, ethyl ester
3	19.954	0.29	96	294	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester
4	20.13	0.2	96	296	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-
5	21.41	0.21	86	292	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	9-Octadecen-12-ynoic acid, methyl ester
6	21.79	1.07	96	308	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	Linoleic acid ethyl ester
7	21.993	1.89	90	310	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	Ethyl Oleate
8	23.541	10.79	88	306	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-
9	25.692	2.44	90	290	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	Methyl octadec-6,9-dien-12-ynoate
10	25.88	10.82	84	330	C ₂₂ H ₃₄ O ₂	Ethyl 5,8,11,14,17-icosapentaenoate
11	26.085	0.84	82	344	C ₂₃ H ₃₆ O ₂	Docosapentaenoic Acid methyl ester
12	26.29	0.47	85	330	C ₂₂ H ₃₄ O ₂	Ethyl 5,8,11,14,17-icosapentaenoate
13	26.75	2.11	83	330	C ₂₂ H ₃₄ O ₂	Ethyl 5,8,11,14,17-icosapentaenoate
14	26.973	0.25	83	330	C ₂₂ H ₃₄ O ₂	Ethyl 5,8,11,14,17-icosapentaenoate
15	31.338	0.27	91	353	C ₂₂ H ₄₃ NO ₂	2-(Dimethylamino)ethyl vaccenoate
16	31.493	0.88	90	213	C ₁₂ H ₂₃ NO ₂	3-Cyclopentylpropionic acid, 2-dimethylaminoethyl ester
17	32.524	0.94	95	330	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester
18	34.074	0.26	80	318	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	Methyl (Z)-5,11,14,17-eicosatetraenoate
19	35.319	0.88	90	354	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester
20	35.423	1.21	87	318	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	Methyl (Z)-5,11,14,17-eicosatetraenoate
21	35.773	0.41	92	358	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	Octadecanoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester
22	36.028	0.68	85	320	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	cis-5,8,11-Eicosatrienoic acid, methyl ester
		32.21				Acids
23	17.167	1.97	96	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	n-Hexadecanoic acid
24	20.98	1.65	95	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
25	22.731	13.27	90	306	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	8,11,14-Eicosatrienoic acid, (Z,Z,Z)-
26	25.143	13.69	85	328	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	Doconexent
27	25.462	1.63	85	328	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	Doconexent
		5.25				Alcohols
28	13.611	0.09	91	180	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	(E)-4-(3-Hydroxyprop-1-en-1-yl)-2-methoxyphenol
29	20.401	1.25	96	296	C ₂₀ H ₄₀ O	Phytol
30	21.175	3.91	87	224	C ₁₅ H ₂₈ O	(Z)6,(Z)9-Pentadecadien-1-ol
		0.25				Ketones
31	11.485	0.25	88	162	C ₈ H ₁₀ O ₅	3-Deoxy-d-mannonic lactone
		2.11				Ethers
31	39.016	0.57	88	444	C ₂₉ H ₄₈ O ₃	.delta.-Tocopherol, O-acetyl-
32	40.607	1.54	91	416	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	.delta.-Tocopherol, O-methyl-
		14.42				Alkenes
33	10.469	0.11	94	220	C ₁₅ H ₂₄ O	Butylated Hydroxytoluene
34	15.081	1.54	95	278	C ₂₀ H ₃₈	Neophytadiene
35	15.787	0.15	92	278	C ₂₀ H ₃₈	Neophytadiene
36	37.096	12.62	95	410	C ₃₀ H ₅₀	Squalene
		4.26				Amides
38	28.336	4.04	94	253	C ₁₆ H ₃₁ NO	Palmitoleamide
37	29.372	0.22	94	283	C ₁₈ H ₃₇ NO	Octadecanamide
		0.11				Alkanes
40	11.645	0.04	92	240	C ₁₇ H ₃₆	Heptadecane
41	38.654	0.07	87	412	C ₂₉ H ₄₈ O	2,2-Dimethyl-3-(3,7,16,20-tetramethyl-heneicosa-3,7,11,15,19-pentae

結論

實驗結果得出大王仙丹花葉提取液5%、硝酸銀濃度2 mM和反應溫度45℃下，能製備 AgNPs 之最佳條件如圖1。同時在超音波震盪及可見光照射下，將分離出的 AgNPs 用於研究有機染料(亞甲基藍、甲基紅和甲基橙)的光催化降解反應。亞甲基藍、甲基紅和甲基橙的光催化降解速率分別是 $7.5 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ 、 $4 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ 和 $0.9 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ ，此結果(圖2)指出大王仙丹花植物水提取液綠色合成的銀奈米粒子是具有光催化降解有機染料的效果[2]。此外，利用氣相層析質譜儀進行經由超音波震盪器所得到的大王仙丹花葉95%乙醇萃取液的化學成分組成的分析鑑定。大王仙丹花葉95%乙醇萃取液的氣相層析質譜儀圖結果如圖3所示，且95%乙醇萃取液化學成分的分析是利用 National Institute of Standards and Technology (NIST) 17資料庫進行比對(大於或等於80%)。比對結果如表1，植物葉子分別有41個化學成分被分析鑑定，占95%乙醇萃取液的95.84%。在大王仙丹花植物葉子95%乙醇萃取液的三個主成分分別是 Doconexent (13.69%)、Ethyl 5,8,11,14,17-icosapentaenoate (13.65%) 和 8,11,14-Eicosatrienoic acid, (Z,Z,Z)- (13.27%)。由表4-3得知大王仙丹花葉子化學種類中，主要的三大種類分別是酯類(37.23%)、酸類(32.21%)和醇類(5.25%)。且文獻指出檸檬酸還原法和多元醇還原法可製備 AgNPs [3]，同時根據圖1的結果得知大王仙丹花葉子提取液能在最佳化條件下合成 AgNPs，所以大王仙丹花葉子萃取液中的酸類和醇類化學成分也能還原製備 AgNPs。