

國立臺灣大學生物資源暨農學院生物機電工程學系



碩士論文

Department of Biomechatronics Engineering

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

披覆醋酸纖維薄膜之電容式感測系統應用於土壤碳源酵  
素活性之檢測

A capacitive sensing system coated with cellulose acetate to  
detect the soil carbon decomposition enzyme activity

吳鈺琳

Yu-Lin Wu

指導教授：鄭宗記 博士、侯詠德 博士

Advisor: Tzong-Jih Cheng, Ph.D., Yung-Te Hou, Ph.D.

中華民國 112 年 6 月

June, 2023

國立臺灣大學碩士學位論文  
口試委員會審定書

披覆醋酸纖維薄膜之電容式感測系統

應用於土壤碳源酵素活性之檢測

A capacitive sensing system coated with cellulose acetate to  
detect the soil carbon decomposition enzyme activity

本論文係吳鈺琳君（R10631037）在國立臺灣大學生物機電工程  
學系、所完成之碩士學位論文，於民國 112 年 6 月 26 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：鄭宗記

(簽名)

(指導教授)

陳妙珍

侯詠德

吳靖宙

李遠序

系主任、所長

彭仁貴

(簽名)

## 誌謝



能夠完成碩士的學位，首先要謝謝我的家人，在我迷失方向時給予我鼓勵和討論未來的規劃，對於我做的任何決定予以支持，適時的摻雜一些自身的意見與情緒的交流。謝謝我有一個完美中帶點不完美的家庭，使我成為了不一樣的大人，謝謝家人們對我的無限包容和支持，讓讓我能夠多面向的探索自我。再來謝謝微機電實驗室的學長和同輩，耀德和庭佑一直是我學習的榜樣，不管是為人處世還是面對研究的積極態度，你們身上總是有需多令我讚嘆的點，很感謝在碩士生涯先遇到了你們，雖然中途的我先行離席，但天下無不散的宴席，願我們在各自嚮往的路途中奮力前進，江湖再見！機緣下認識了佩珈和哲寬，因為有佩珈的引薦和討論，使我順利轉換跑道進入生醫大聯盟，在鄭老師的指導下我漸漸明白研究、學術和科學的奧妙，老師適時的給予方向以及建議，讓讓我能夠自由發揮卻又不走偏，雖然只有短短一年的切磋，卻很感激遇見了生醫大聯盟的每一位教授、同輩和學長姐，台大化工高才生雅婷姊姊和駿寧、豐原孩仔阿寬、信義區董哥、貼心鬼凱尹、維容姐姐和學弟妹們，有你們在的實驗室吵鬧卻多了溫度和氣氛。也謝謝阿鍾帶我闖蕩了生機女排，雖然永遠湊不齊六個隊員，但能夠在排球場上揮灑汗水的日子難以忘懷。也謝謝台大熱舞的各位，碩二做實驗的空間時間讓我得以重拾對跳舞的熱忱，吸收弟弟妹妹的日月精華，得以在忙碌的生活中找到一些平衡，萍水相逢，年輕即是潛力，揮灑青春填滿人生的每一刻吧！最後謝謝求學路途中遇見的每一位，或許僅一面之緣，這一路上認識的貴人們，使我收穫了靈感、感受了不一樣的人生、得到了千金難買的經驗。在這裡暫時為求學旅途劃下一筆，人生是一場永不停歇的學習，知識是無限的，願未來的自己能夠保持著此刻的真誠，持續精進自己！

吳鈺琳 謹誌

國立臺灣大學 生物機電工程研究所

中華民國 一一二年六月十九日



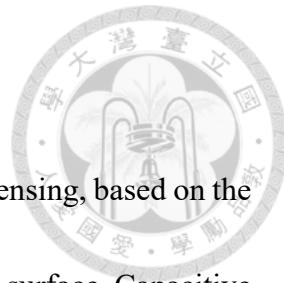
## 摘要

電容式感測器是電化學感測的方法之一，基於電極與液面之間的界面形成電容性質。電容式感測器具有成本低廉、反應快速、非侵入式、靈活性高的優點，但「絕緣性」極重要，若反應介面的絕緣不佳，將導致離子通透使感測系統短路或不穩定。網版印刷碳膠電極經常使用在電化學生物感測器系統中，其電路設計上彈性高，優點為成本低、製程簡單、一次性。現行土壤綜合能力檢測之研究利用綿狀條織物、木材、混合纖維、天然纖維等可降解材料，埋入土壤中進行長期性的降解試驗，透過機械應力的拉伸強度以及重量損失等，定義土壤的總體微生物量。為了簡化檢測土壤總體微生物量之量測方法，並且產生更有效率的量測模式，可以應用在各式理想實驗室條件下調配之溶液中，我們使用了電容式感測器並且結合網版印刷碳膠電極，藉由披覆醋酸纖維薄膜在量測點上作為降解材料，透過化學、酵素、化學加酵素的溶液中降解，並且實際在不同菌量的土壤中降解，得到電容響應和時間的關係，研究化學條件、碳循環酵素降解醋酸纖維薄膜的趨勢、速率等，研究薄膜降解後之電容響應與土壤碳源酵素的關聯性。我們提出了成熟的單層披覆薄膜製程，能夠維持一定的絕緣度，證實薄膜厚度  $53 \pm 2.23 \mu\text{m}$  在 Cap-sensor 電容量測系統量測有效範圍內，且研究披覆薄膜的製程，藉由薄膜品質管理驗證披覆薄膜的穩定度高，經長期浸泡中性緩衝液中，薄膜在第 35 天電容值變化量  $0.04 \pm 0.03\%$ 。後續在單純化學條件、化學加上酵素條件，將披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極浸泡在溶液中，依時間間隔量測其電容響應。使用全反射傅立葉紅外光譜分析醋酸纖維薄膜經過時間的降解， $\text{C}=\text{O}$  與  $\text{C}-\text{O}$  化性變化以及薄膜粗略性之厚度變化與電容響應的關係。最終展示在實際土壤中，先使用成熟的土壤微生物含量測定方法（二乙酸螢光素方法）驗證，且將披覆薄膜的網版印刷碳膠電極埋入不同菌量的土壤中，該電容式生物感測器測得的電容響應反應曲線有顯著差異，定義土壤總微生物量指標。本研究提出利用電容式感測器檢測土壤總微生物量，深入研究碳源酵素降解醋酸纖維薄膜的效力，相比於傳統有機質分解的檢測手法：使用拉伸應力、重



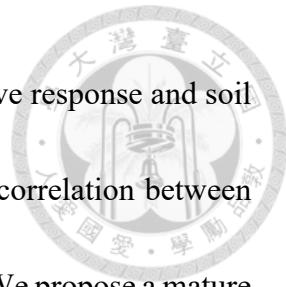
量損失等方法測定分解袋、棉織物或木材，電容式感測器結合網版印刷碳膠電極披覆薄膜整合人機介面操作，使用者可以透過特定應用場景，切換適當的量測模組，並且即時讀取資料和匯出整理。因而達成即時、有效、快速且操作容易之感測器架構，對於土壤品質的評估和其他生物學方面具有研究潛力，不論是農業、環境監測或是生醫應用後續都是此項技術可以切入的場域。

**關鍵字：** 電容式感測器、網版印刷碳膠電極、薄膜披覆製程、土壤碳源酵素檢測、全反射傅立葉紅外光分析、二乙酸螢光素方法

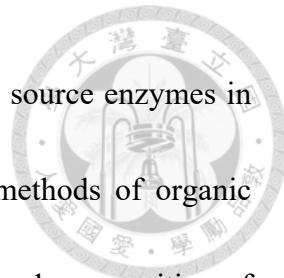


## Abstract

The capacitive sensor is one of the methods of electrochemical sensing, based on the capacitive nature of the interface between the electrode and the liquid surface. Capacitive sensors have the advantages of low cost, fast response time, non-intrusive, and high flexibility. However, insulation is crucial that poor insulation of the response interface can lead to ion penetration, short circuit, or instability of the sensing system. Screen-printed carbon electrodes are commonly used in electrochemical biosensor systems due to their high flexibility in circuit design and the advantages of low cost, simple and disposable process. In the current study, degradable materials such as cotton, wood, mixed fibers, and natural fibers are buried in the soil and subjected to long-term degradation tests to determine the total microbial load of the soil through mechanical stress, tensile strength, and weight loss. In order to simplify the method of measuring the microbial load of soil and to produce a more efficient measurement model that can be applied to various solutions prepared under ideal laboratory conditions. We used a capacitive sensor combined with screen-printed carbon electrode to study the relationship between capacitive response and time by coating cellulose acetate film as degradation material at the measurement points, degradation by chemical, enzymatic, and chemical plus enzymatic solutions, and actual degradation in soil with different amounts of bacteria to study the chemical conditions, the trend and the rate of degradation of cellulose acetate



film by carbon cycle enzymes, and the relationship between capacitive response and soil carbon cycle enzymes after cellulose acetate film degradation. The correlation between the capacitive response and soil carbon source enzymes was studied. We propose a mature single-layer cellulose acetate film process that can maintain a certain degree of insulation and confirm that the film thickness of  $53\pm2.23$   $\mu\text{m}$  is within the effective range of measurement by the Cap-sensor capacitance measurement system. 0.03 % at day 35 after long term immersion in neutral buffer solution. Subsequently, the screen-printing carbon electrode coated with cellulose acetate film were immersed in the solution under pure chemical conditions and chemical plus enzymatic conditions, and the capacitive response was measured according to the time interval, and the relationship between the degradation of cellulose acetate film over time. Attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy was used to analyze the relationship between the degradation of acetate films over time, changes in C=O and C-O chemical properties, and changes in thickness of film roughness and capacitive response. The capacitive biosensor measured significant differences in the response curves of capacitive response to define the total microbial load of the soil, which was verified in real soil using a well-established method for soil microbial content determination (fluorescein diacetate method), and the screen-printed carbon electrodes coated with cellulose acetate films were buried in soil with different bacterial load. This study proposes the use of capacitive sensors to detect the total

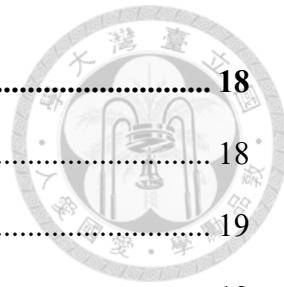


microbial load of soil and to investigate the effectiveness of carbon source enzymes in degrading cellulose acetate films. Compared with the traditional methods of organic decomposition: using tensile stress, weight loss, etc. to determine the decomposition of bags, cotton fabrics or wood. The capacitive sensors combined with screen-printed carbon electrode coated cellulose acetate film integrate human-machine interface operation, allowing users to switch between the appropriate measurement modules, and to read and export data in real time. This results in a real-time, effective, fast and easy-to-use sensor architecture with research potential for soil quality assessment and other biology applications, whether in agriculture, environmental monitoring or biomedical applications.

**Keywords:** Capacitive sensor, Screen-printed carbon electrode, Coating film process, soil carbon decomposition enzyme activity, ATR-FTIR, Fluorescein diacetate method

# 目錄

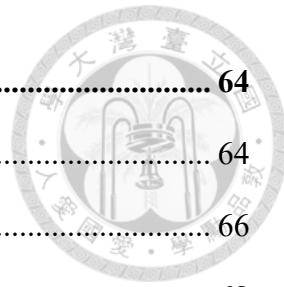
國立台灣大學碩士學位論文口試委員會審定書.....	i
誌謝.....	ii
摘要.....	iii
<i>Abstract</i> .....	v
圖目錄.....	xii
表目錄.....	xv
第一章 緒論.....	1
1.1 研究背景 .....	1
1.2 研究目的 .....	2
1.3 研究架構.....	3
第二章 文獻探討.....	5
2.1 土壤檢測 .....	5
2.1.1 物理和化學檢測 .....	7
2.1.1.1 物理檢測 .....	7
2.1.1.2 化學檢測 .....	7
2.1.2 微生物之檢測 .....	9
2.1.2.1 有機質分解檢測微生物之活性 .....	9
2.1.2.2 基礎呼吸率和土壤之代謝商數 .....	11
2.1.2.3 土壤生態系中之土壤酵素 .....	12
2.1.2.4 土壤微生物多樣性監測指標—特定量測方法 .....	14
2.1.2.5 次世代定序 .....	16
2.1.3 土壤生態系統指標對應之環境終端意義 .....	17



<b>2.2 醋酸纖維素 .....</b>	<b>18</b>
2.2.1 醋酸纖維素之歷史 .....	18
2.2.2 醋酸纖維素之物理、化學特性 .....	19
2.2.2.1 溶解度、濁度、莫耳質量 .....	19
2.2.2.2 取代度 .....	20
2.2.4 醋酸纖維素之降解 .....	21
<b>2.3 感測器 .....</b>	<b>23</b>
2.3.1 感測器之定義 .....	23
2.3.3 電容式感測器 .....	25
<b>2.4 生物感測器應用於農業 .....</b>	<b>28</b>
2.4.2.1 基於 DNA 的生物感測器.....	29
2.4.2.2 基於伏安法的 DNA 雜交檢測.....	30
2.4.2.3 基於酵素的生物感測器 .....	30
2.4.2.4 基於石英晶體微量天秤的生物感測器 .....	30
2.4.2.5 表面等離子共振技術 .....	31
<b>第三章 研究方法.....</b>	<b>32</b>
<b>3.1 測量儀器軟體及披覆製程 .....</b>	<b>32</b>
3.1.1 電化學分析方法簡介 .....	32
3.1.2 電容式感測器工作原理 .....	32
3.1.3 電容式感測器之架構 .....	35
3.1.4 電容式量測模組—CIN1 EXCB & CIN2 EXCA .....	36
3.1.5 LabView 人機介面設定 .....	38
3.1.6 旋轉塗布之披覆製程 .....	40
3.1.7 浸潤式披覆製程 .....	40
<b>3.2 實驗材料與溶液配置 .....</b>	<b>41</b>



3.2.1 實驗藥品 .....	41
3.2.2 實驗儀器 .....	42
3.2.3 實驗原理與方法 .....	42
3.2.4 實驗量測步驟 .....	43
<b>3.3 網版印刷碳膠電極披覆薄膜製備 .....</b>	<b>45</b>
3.3.1 網版印刷碳膠電極 .....	45
3.3.2 旋轉塗布披覆醋酸纖維薄膜 .....	46
3.3.2 浸潤式披覆醋酸纖維薄膜 .....	50
<b>3.4 披覆薄膜之可行性評估 .....</b>	<b>51</b>
3.4.1 披覆薄膜之品質管理 .....	51
3.4.2 披覆醋酸纖維薄膜之網版印刷碳膠電極的穩定性 .....	52
<b>3.5 醋酸纖維薄膜之物性與化性 .....</b>	<b>52</b>
3.5.1 醋酸纖維薄膜之物性分析 .....	52
3.5.2 醋酸纖維薄膜之化性分析 .....	53
<b>3.6 披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極之降解.....</b>	<b>54</b>
3.6.1 化學降解 .....	54
3.6.2 酵素降解 .....	54
3.6.3 土壤樣本降解 .....	55
3.6.4 二乙酸螢光素方法分析土壤中微生物含量 .....	57
3.6.5 包埋網版印刷碳膠電極之機構設計 .....	58
<b>第四章 結果與討論.....</b>	<b>61</b>
<b>4.1 電容式量測模組.....</b>	<b>61</b>
4.1.1 CIN1 EXCB 模組系統校正.....	61
4.1.2 CIN2 EXCA 模組系統校正 .....	62



<b>4.2 披覆製程之選擇.....</b>	<b>64</b>
4.2.1 旋轉塗布披覆 .....	64
4.2.2 浸潤式披覆 .....	66
4.2.3 醋酸纖維薄膜在中性溶液中的穩定性 .....	68
<b>4.3 化學降解.....</b>	<b>69</b>
<b>4.4 醋酸纖維薄膜降解過程的物性、化性分析.....</b>	<b>71</b>
4.4.1 物性分析：醋酸纖維薄膜厚度與電容值響應的關係 .....	71
4.4.2 物性分析：表面型態量測與醋酸纖維薄膜厚度測定 .....	73
4.4.3 化性分析：醋酸纖維薄膜降解的全反射傅立葉紅外光譜儀分析 .....	76
<b>4.5 酵素降解.....</b>	<b>78</b>
4.5.1 影響纖維酵素活性之 pH 探討 .....	78
4.5.2 特定酵素的選擇性降解 .....	81
4.5.3 纖維酵素、澱粉酵素、葡萄糖苷酵素之降解 .....	83
4.5.4 模擬土壤環境 pH 值的酵素降解 .....	87
<b>4.6 披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在土壤環境之降解.....</b>	<b>93</b>
4.6.1 二乙酸螢光素分析土壤總微生物量 .....	93
4.6.2 土壤內披覆醋酸纖維薄膜之降解 .....	96
<b>第五章 結論.....</b>	<b>100</b>
<b>5.1 結論 .....</b>	<b>100</b>
<b>5.2 未來工作 .....</b>	<b>102</b>
<b>參考文獻.....</b>	<b>103</b>

## 圖目錄



圖 1-1、研究架構圖。	4
圖 2-1、土壤健康監測之關係示意圖。	6
圖 2-2、回顧使用棉狀條織物量測土壤微生物活性之演進。	11
圖 2-3、作物與土壤中微生物、無機養分以及大氣的循環關係圖。	13
圖 2-4、土壤微生物多樣性監測之指標。	15
圖 2-5、醋酸纖維素結構式。	19
圖 2-6、不同溶劑中醋酸纖維素的濁度。	20
圖 2-7、醋酸纖維素 SEM 照片。	20
圖 2-8、脫乙酰化學式示意圖。	22
圖 2-9、感測器之運作示意圖。	24
圖 2-10、指叉式電容感測器示意圖。	26
圖 2-11、石英晶體微量天秤。	31
圖 3-1、網版印刷碳膠電極之電場分佈強度示意圖。	34
圖 3-2、整合電容式感測器之系統架構。	35
圖 3-3、CIN1 EXCB 量測電路模式和晶片示意圖。	36
圖 3-4、串聯貼片電容之量測示意圖。	36
圖 3-5、CIN2 EXCA 量測電路模式、晶片示意圖。	37
圖 3-6、電容式感測器之人機介面。	38
圖 3-7、人機介面基本操作設定。	39
圖 3-8、簡易磁碟旋轉塗布機示意圖。	40
圖 3-9、浸潤式披覆製程示意圖。	40
圖 3-10、網版印刷碳膠電極之側視圖（剖面圖）示意電極與薄膜之分佈關係	42
圖 3-11、垂直式量測架構示意圖。	43
圖 3-12、水平式量測架構示意圖。	44



圖 3-13、實驗室設計之網版印刷碳膠電極示意圖。.....	45
圖 3-14、旋轉塗布之製程步驟.....	46
圖 3-15、旋轉塗布機的轉速測定。.....	49
圖 3-16、浸潤式披覆製程步驟示意圖。.....	50
圖 3-17、披覆醋酸纖維薄膜之品質測定流程圖。.....	51
圖 3-18、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極物性分析方法。.....	53
圖 3-19、土壤環境之降解實驗設計示意圖。.....	56
圖 3-20、採樣土壤之實際照片。.....	56
圖 3-21、包埋網版印刷碳膠電極機構設計示意圖。.....	59
圖 3-22、水域驗證機構保護網版印刷碳膠電極的能力。.....	59
圖 3-23、潮濕土壤環境驗證保護網版印刷碳膠電極之機構設計。.....	60
圖 4-1、CIN1 ECXB 之校正曲線。.....	61
圖 4-2、CIN1 和 CIN2 量測模組在 10 pF 下的校正曲線比較。.....	63
圖 4-3、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在中性溶液中浸泡 35 天的電容值與時間的關係作圖 (N=3)。.....	68
圖 4-4、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在 pH 4、pH 5、pH 6 檸檬酸緩衝溶液、pH 7 三羥甲基氨基甲烷緩衝液和 pH 13 氢氧化鈉溶液中時間與電容值變動百分比的關係圖 (N=3)。.....	70
圖 4-5、醋酸纖維薄膜在 pH 5 檸檬酸緩衝溶液降解，醋酸纖維薄膜加網版印刷碳膠電極的總體厚度與電容值變動百分比的關係圖 (N≥4)。.....	72
圖 4-6、雷射顯微鏡照射披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極表徵資訊與數據疊圖。.....	74
圖 4-7、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極表徵示意圖，以及醋酸纖維膜厚的量測數據。.....	75
圖 4-8、醋酸纖維薄膜在 pH 4 檸檬酸緩衝溶液中降解 0—3 小時，醋酸纖維薄膜的全反射傅立葉紅外光譜圖與小圖：正規化乙酰因子與時間的關係圖。.....	77

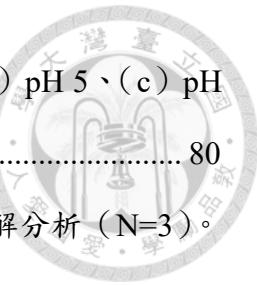


圖 4- 9、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在 (a) pH 4、(b) pH 5、(c) pH 6 檸檬酸緩衝溶液中降解的電容值變化 (N=3)。 .....	80
圖 4- 10、纖維酵素、幾丁質酵素對於醋酸纖維薄膜的選擇性降解分析 (N=3)。 .....	82
圖 4- 11、纖維酵素、澱粉酵素、葡萄糖苷酵素最佳活性條件下酵素降解的比較。 .....	85
圖 4- 12、(a) 纖維酵素、(b) 葡萄糖苷酵素、(c) 澱粉酵素三者分別加入其最佳酵素活性條件之溶劑 (N=3)。 .....	86
圖 4- 13、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在中性溶液 (pH 7) 中放置長時間的降解電容變動百分比。 .....	89
圖 4- 14、模擬土壤 pH 值條件下添加纖維酵素、葡萄糖苷酵素、澱粉酵素降解披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極 (a) pH 6, (b) pH 7, (c) pH 8 (N=3)。 .....	91
圖 4- 15、(a) 纖維酵素、(b) 葡萄糖苷酵素和 (c) 澱粉酵素綜觀降解披覆醋酸纖維薄膜之網版印刷碳膠電極 (N=3)。 .....	92
圖 4- 16、0~5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 二乙酸螢光素標準液之校準曲線 (n=3, error < 0.002)。 ..	94
圖 4- 17、原始採樣土壤、滅菌土壤、加入菌根菌肥料之原始土壤的二乙酸螢光素分析總微生物含量分析 (n=3)。 .....	95
圖 4- 18、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在原始土壤、滅菌土壤以及添加菌根菌肥料土壤中降解後的電容變動百分比與時間的關係。 .....	98
圖 4- 19、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在滅菌土壤中長時間的降解，電容變動百分比與時間的關係。 .....	99



## 表目錄

表 2- 1、傳統化學檢測方法比較。 .....	8
表 2- 2、比較傳統檢測土壤微生物含量之方式。 .....	10
表 2- 3、傳統檢測與電容式感測的優缺比較。 .....	10
表 2- 4、分類 C 循環、N 循環、P 循環、S 循環之酵素。 .....	13
表 2- 5、比較土壤微生物多樣性監測指標的優缺.....	16
表 2- 6、土壤生態系統指標對應之環境終端意義以及相應之微生物指標。 .....	17
表 2- 7、電容式感測器兩種模式比較。 .....	27
表 2- 8、生物感測器之感測方法比較。 .....	29
表 3- 1、比較電容式感測、電化學阻抗式感測、電化學電容式感測。 .....	34
表 3- 2、旋轉塗布初步設計之參數。 .....	47
表 3- 3、旋轉塗布製程的參數調整。 .....	48
表 3- 4、旋轉塗布機之可變電容與對應電壓的轉速。 .....	48
表 4- 1、旋轉塗布製程參數 5 到參數 12 的成功率。 .....	65
表 4- 2、浸潤式披覆時間影響醋酸纖維薄膜性能的平均電容值、成功率分析(N=8)。 .....	67
表 4- 3、浸潤式披覆 1 層醋酸纖維薄膜和披覆 2 層醋酸纖維薄膜的薄膜性能的平均電容值、成功率、厚度評估 (N=8)。 .....	67



## 第一章 緒論

### 1.1 研究背景

農作物生長的必要養分通過大氣（碳、氮、氧）和土壤（氮、磷、鉀、鈣、鎂、硫、鋅、氯、鉬、硼）獲得。土壤中存在的養分需要透過化學或有機肥料補充，養分對農作物是促進植物體新陳代謝的重要能量。因此，均勻供應土壤養分以維持農作物品質是重要的課題。土壤中同時存在著細菌、放線菌和真菌等各種微生物。這些微生物能夠製造植物所需的營養，並刺激植物產生生長激素，從而促進產量提升並降低植物疾病。

土壤檢測分為物理、化學和微生物三大部分。物理性質透過量測土壤的透氣、排水性評估土壤質地。化學性質評估土壤的酸鹼值、導電度、有機質含量、重金屬含量和養分含量等進行。微生物種類以檢測總菌落數、真菌、大腸桿菌和菌根菌等，也可以次世代定序法（Next Generation Sequencing, NGS）或其他方法獲得土壤中的微生物組成。此外，傳統檢測方法量測條狀棉織物的抗拉強度或根據目標物的降解情況來推測土壤的分解潛力，進一步推測土壤有機質、微生物等綜合指標。

本研究主要目的是通過有機質分解測定土壤綜合微生物能力。使用低成本、快速檢測和高靈活性的電容式感測器（Capacitive sensor），並結合披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極，相較於其他電化學量測系統，電容式感測器不需要標定、樣品前處理，可以直接測量。實驗化學和碳循環酵素降解醋酸纖維薄膜，驗證了醋酸纖維薄膜降解的可行性，並探討降解趨勢和降解速率之差異，從而實現即時、簡便、快速、易操作的系統。



## 1.2 研究目的

土壤在農業生產資源中扮演著重要角色，滿足作物的生長需求，並提供養分循環、調節氣候水文、維持生態系統和棲地多樣性，間接影響大氣平衡、土壤微生物群落、地下水、地表逕流以及動植物的健康。永續經營和保育土壤是台灣農業面臨的重要課題。定義土壤健康或土壤品質以維持生命的豐饒度並提升環境和大氣的高品質，藉由評估土壤微生物鑑定、有機質含量、農作物營養診斷、土壤酸鹼值、重金屬含量、透氣和排水性等指標。這些評估幫助我們了解農地的生產潛力和健康狀況，規劃適合種植的作物種類和栽培方式，系統化地管理農地。土壤生態系和土壤微生物群落健康度的指標眾多，例如土壤酵素活性反映土壤中的生化反應。因此，本研究針對微生物活性的變化影響有機質的分解速率，改變生態系中有機鍵結的有效性與循環，使用操作簡單、可即時量測的電容式感測系統研究有機質的分解速率與土壤微生物活性之關聯，深入探討土壤生物代謝有機和礦物成分的酵素活性以及含量，即可評估土壤的檢康度。

本研究使用電容式感測器，基於界面物理的化學變化產生電容性響應，整合電容式感測器和網版印刷碳膠電極，選擇適合的降解材料研究材料披覆製程，達成簡易的電容式感測系統。與傳統利用機械應力檢測土壤中綜合微生物含量的方法相比，本研究的電容式感測系統具有操作簡單、快速、低成本的優勢。此外，我們整合 LabView 人機介面操作電容式感測系統，披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在化學、酵素溶液，以及不同菌量的土壤環境中降解，分析各式條件與環境對於醋酸纖維薄膜降解效率之電容響應，作為評估土壤碳源酵素的活性指標。



### 1.3 研究架構

圖 1-2 為研究架構圖，使用電容式感測器作為量測工具，搭配人性化的介面系統，讓使用者能夠輕鬆上手。研究設計了兩種量測模式，以適應不同薄膜材料條件和電容量測範圍，以滿足不同的應用情境。醋酸纖維薄膜披覆於網版印刷碳膠電極的實驗方法：旋轉塗布式與浸潤式。本研究主要使用浸潤式的薄膜披覆手法，該製程簡單且定義明確，實現一次性使用的薄膜披覆。後續實驗設計確認薄膜的可靠性、重複性、再現性，緻密性和絕緣性。接著在實驗室最佳條件下調配化學和酵素溶液，進行醋酸纖維薄膜的化學降解、酵素降解，以及在土壤樣本中的降解測試，並進行相應的電容響應檢測和數據分析。

醋酸纖維薄膜的化學降解方面，我們觀察到酸鹼值的變化影響醋酸纖維薄膜的降解效率。透過全反射傅立葉紅外線光譜分析法（Attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy, ATR-FTIR），我們對薄膜的化性變化進行了精密的表面與厚度分析。在酵素降解方面，改變不同的酵素活性環境和溶液濃度，觀察醋酸纖維薄膜的降解差異。為了模擬土壤酸鹼值條件，配置相應的化學溶液並將酵素加入其中，以測試醋酸纖維薄膜在土壤環境中的降解情況。最後，我們採集了台大校園花圃的土壤樣本，實際檢測醋酸纖維薄膜在土壤環境的降解。並且使用成熟土壤總微生物量的檢測方法：二乙酸螢光素分析法(Fluorescein diacetate, FDA)驗證土壤樣本中之總微生物含量，驗證薄膜降解速率變化與土壤微生物含量之間的相關性。

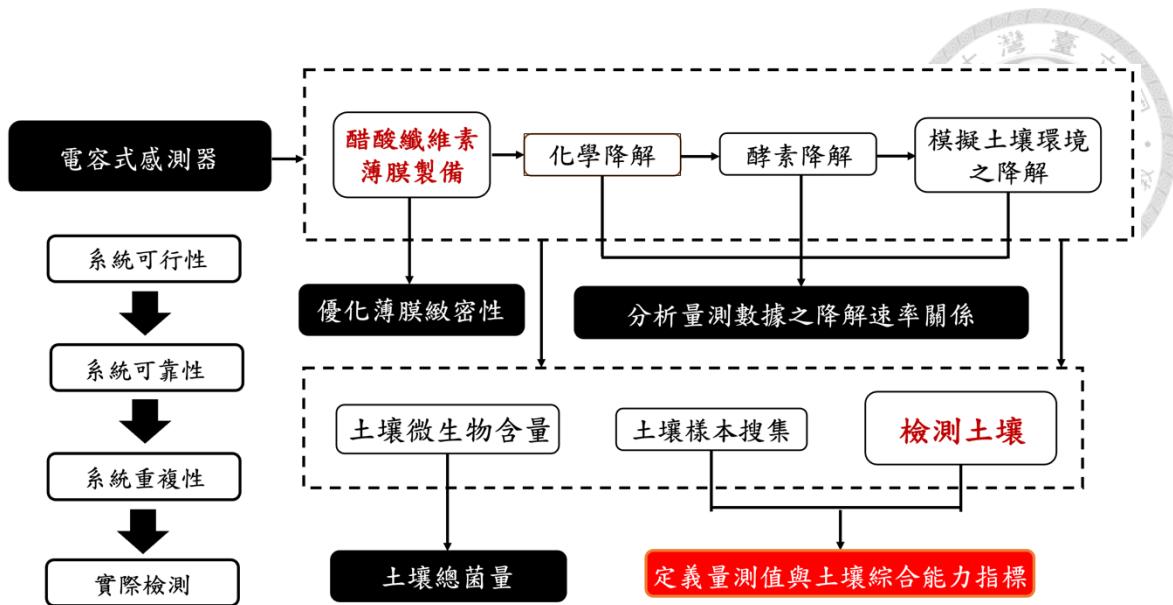


圖 1-1、研究架構圖。

電容式感測系統架構，確認系統的可行性、可靠性和重複性，研究披覆醋酸纖維薄膜在網版印刷碳膠電極上，將醋酸纖維薄膜在化學、酵素和化學加酵素的綜觀條件下降解，以品質鑑定流程確認醋酸纖維薄膜可以維持其絕緣性，最終在實際不同菌量的土壤中降解後檢測電容響應趨勢，且利用成熟總微生物含量實驗驗證土壤總微生物量，達成土壤綜合微生物能力的感測，進而定義土壤健康度（微生物含量高）。



## 第二章 文獻探討

### 2.1 土壤檢測

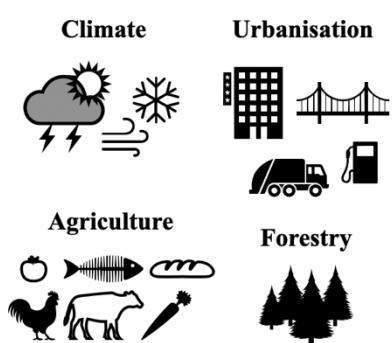
世界人口不斷的增加，每天有無數的生命誕生和消逝，糧食產量以及食品安全問題引起人們的關注。人類過度開發導致消耗能源、廢氣排放、地下和地表水資源汙染，導致土壤健康惡化、生物多樣性降低、土壤中氮源滲入表層水資源引起優養化、農藥和硝酸鹽污染地下水、農業生產力損失等問題。因此，如何善用土地資源而不過度利用，以避免不可逆的傷害，維持土壤健康促進作物生長，保護土壤品質並避免其惡化，制定有效的評估策略成為各國政府關注的焦點。

造成土壤壓力的來源有很多，例如氣候、都市化、農業行為、林業行為、自然活動、廢棄物處理等，這些因素導致土壤超過負荷量，而土壤健康受到影響。這對大氣平衡、動物和人類健康、植物生長、土壤微生物群落健康以及地下水和地下逕流等產生潛在影響（圖 2-1），土壤退化導致食品成本增加和短缺，進而導致全球經濟不穩定(Parr et al., 1992)。

一般通過土壤的物理、化學以及生物參數來定義土壤的狀態，近年來，分子檢測和微生物檢測等新技術發展迅速，生物性指標比物理化學參數更敏感，能夠直接反映土壤的實際狀況。因此，土壤微生物量碳和土壤呼吸等傳統的方法結合新技術，使研究有了新的進展(Amat et al., 2020)。土壤微生物可以分成兩個角色：主要營養元素循環和有機物分解者，微生物族群的大小和微生物活性的變化比物化特性的變化更靈敏，可作為土壤劣質化的早期警訊。土壤的降解作用是物性、化性和生物性三者的平衡，因此在監測土壤過程中需要多方面的考慮，發展綜觀指標來定義和評估土壤健康度。



## 土壤的壓力來源



## 影響土壤健康

Soil Health



圖 2-1、土壤健康監測之關係示意圖。

影響土壤健康度的壓力來源有氣候、都市化、農業行為（過度放牧）、森林砍伐等，過度使用土壤會間接影響大氣平衡、動植物健康、人類健康還有土壤微生物群落的健康度。



## 2.1.1 物理和化學檢測

### 2.1.1.1 物理檢測

為了提供農業土壤管理策略和促進後續的經營規劃和農業企業化，對土壤物理質量進行可靠評估變得越來越重要。土壤物理質量與土壤退化密切相關。學者們對不同土壤樣品進行了指標分析，並定義這些指標對於土壤物理質量的意義。土壤物理品質（Soil physical quality, SPQ）的綜合評估，基於土壤功能和管理策略，用於說明特定土壤特徵或退化風險(Weninger et al., 2020)。土壤的透氣性和排水性以及土壤的質地是檢測土壤物理狀態的重要條件，土壤的質地常用於判定土壤的粒徑組成，並根據黏性、塑性和粗糙度等特性進行分類，通過機械分析來測定土壤粒徑的尺寸(Lin et al., 2009)。

### 2.1.1.2 化學檢測

土壤有機質(Soil organic matter)在化學檢測中是一個重要的土壤生產力指標。增加土壤有機質含量的增加可以提高植物養分循環，土壤有機質由礦物和有機質(碳官能團的化合物)組成，因此土壤有機碳(Soil organic carbon)也是評估土壤有機質含量的一個指標。有幾種常用於測量土壤有機質含量的方法，包括濕氧化法(Walkley black)、燒失量(Loss on ignition)、自動乾式燃燒(Automatic dry combustion)，腐殖質比色法(Human acid colorimetry)等。(Cheng et al., 2000)

表 2-1 列出傳統化學檢測方法的量測方法以及優缺點比較，乾灰化法通過高溫燃燒後殘留之灰分定義無機質的營養含量，不同樣品類型需取樣不同的量，且控制灰化的溫度非常重要，過高的溫度會導致無機物的揮發損失，此方法無法分辨有機碳和無機碳，因此當檢測含有碳酸鹽之有機質肥料時，可能會高估有機質含量。元素分析法則是透過高溫將土壤氧化產生二氧化碳，而後通過精密儀器進行分析，雖然僅需要少量樣品，但不均勻取樣會導致感測值較大的變異性，此外儀器昂貴也是缺點之一。最常使用的方法是 Walkley black 法，為濕氧化法的一種，該方法使用



重鉻酸鉀混合濃硫酸將土壤中的有機碳氧化，此方法可以測得有機碳含量，並通過加熱處理後得到接近全有機碳含量的測值。因此，濕氧化法為三種方法中最可靠的，且操作簡單不需昂貴的儀器，只需注意溫度和加熱時間的控制。(Chen et al., 2003)

表 2-1、傳統化學檢測方法比較。

	乾灰化法	元素分析法	Walkley-Black法
優點	取樣量大，取樣不均造成的誤差相對小	可測得全有機碳含量	簡便、快速測定土壤有機碳含量
缺點	高估量測值	樣品均值性較差（測值變異大）、儀器昂貴	需校正值矯正
量測方法	食品經高溫燃燒後的殘留物稱為灰分，代表食品中的礦物鹽或無機鹽類（營養素的無機值）	藉由高溫氧化土壤產生二氧化碳，再經氣體層析由熱傳導偵檢器檢測	利用重鉻酸鉀混合濃硫酸來氧化土壤的有機碳，以硫酸亞鐵銨滴定未消耗的重鉻酸鉀，估算土壤的有機碳濃度



## 2.1.2 微生物之檢測

除了 2.1.1 節介紹之物理與化學分析土壤性質，「微生物活性指標」反映土壤生態系健康與微生物群落之健康，其中土壤生態系中具有重要功能的微生物，如叢枝菌根菌、外生菌根菌、叢根菌等，參與氮循環、引起植物疾病、涉及人類健康等。微生物群落的功能多樣性，對於環境的變化極為敏感，微生物的酵素活性可反映土壤之污染，因此以下小節介紹先前學者透過有機質分解、基礎呼吸率、土壤呼吸商數、次世代定序等方法，檢測以及定義土壤中之微生物含量及種類。

### 2.1.2.1 有機質分解檢測微生物之活性

表 2-2 敘述使用天然纖維、混合纖維、可降解材料埋入土壤中進行抗拉強度測試以及折減率比較，研究分析土壤總菌量變化和材料折減率的關係，得知土壤總菌量會影響材料折減率(Su, 2012)，學者埋藏了聚酯聚氨酯（廢物）在土壤中，進行研究發現酵母提取物和聚氨酯分散劑進行生物刺激，能夠使聚酯聚氨酯在土壤中的降解增加(Cosgrove et al., 2010)，Latter 等人利用條狀棉織物插入土壤中，分析其拉伸強度損失以當作纖維素分解指標(Latter, 1988)，Smith 等人透過埋藏條狀棉織物測定土壤的分解潛力，以抗拉強度損失來衡量，發現土壤水分和肥力會影響抗拉強度的變化(Smith et al., 1993)，Slocum 等人與廠商配合使用特定類型的藝術家畫布，將材料分別在兩種溫度條件和兩種土壤類型下分解，分析土壤、溫度與測試材料間對於棉花抗拉強度損失之間的關係，發現時間和溫度之間的相互作用有顯著的影響(Slocum et al., 2009)，Tiegs 等人提出一種評估河流生態系統狀況的新指標，相較於傳統使用結構指標分析無脊椎動物群落組成的另一種策略，測量有機物分解，以條狀棉織物作為測試物評估使之腐爛的環境條件，分析其抗拉強度損失作為評估基於過程的河流生態系統指標(Tiegs et al., 2013)，Webb 等人為了評估河流生態系統的層次結構，研究多個時空尺度和區域、溪流與棲息地的相關變異，並且建立與纖維素分解異質性相關的環境驅動因素，利用拉伸損失率評估，發現空間變化



與緯度、森林覆蓋率、養分和電導率相關，解釋了時空模式下溪流中纖維素的分解，進一步作為開發採樣協議的參考(Webb et al., 2019)，Colas 等人比較了三種常用的棉材料：藝術家帆布、印花布和 Empa 纖維製作成實驗用條狀棉織物並且放置在十個溪流中，觀察三種棉材料的分解速率，分析抗張強度的損失，發現抗張強度會隨著水流溫度、溶解養分濃度或是酸鹼中和能力而增加，並且表明利用條狀棉織物有效且實現標準化的土壤微生物研究(Colas et al., 2019)，Jabiol 等人評估四種環保紡織品：有機棉、大麻和亞麻製成，透過比較在六種溪流中的化學成分和降解率，研究替代傳統條狀棉織物的紡織品，證實所有紡織品在六種溪流中的降解率相似，意味著可以利用更加環保的材料來觀測生態系統的功能性(Jabiol et al., 2020)。

表 2-2、比較傳統檢測土壤微生物含量之方式。

(Nielsen & Winding, 2002)

	<b>Litter Bags</b>	<b>Cotton Strips</b>	<b>Wood Sticks</b>
<b>材質</b>	惰性尼龍	純纖維素	木材
<b>量測方法</b>	每個時間間隔之重量 損失定義為塑料的分 解率	每個時間間隔之拉 伸強度定義為分解 速率	每個時間間隔之木 條重量損失定義為 為分解素率

表 2-3、傳統檢測與電容式感測的優缺比較。

	<b>優點</b>	<b>缺點</b>
傳統檢測手法	已有學者利用此手法 分析溫度、時間和空 間因素影響降解速率	耗時、量測手法複雜 、難以定量
電容式感測器	操作簡易、成本低、 一次性、數據可即時 收取	薄膜的絕緣度很重要



圖 2-2、回顧使用棉狀條織物量測土壤微生物活性之演進。

### 2.1.2.2 基礎呼吸率和土壤之代謝商數

呼吸作用為生物在土壤中產生二氧化碳的過程，植物的根系、微生物和動物的呼吸，在生態系統循環的過程中，碳以二氧化碳的形式在土壤中釋放，在大氣中經由光合作用轉化為有機化合物，植物或動物藉由有機化合物來提供自身需要之能量。通過使用滴定、電導率、紅外光譜和氣相色譜等方法將呼吸定義為二氧化碳的釋放速率或氧氣的消耗速率(Amat et al., 2020)。

土壤之代謝商數（Metabolic quotient,  $q\text{CO}_2$ ）定義為土壤基礎呼吸與微生物生物量碳的比值，也稱作比呼吸速率，可以依據土壤之代謝商數值作為土壤健康指標，隨著 pH 值、微生物量、黏土含量的增加而降低，但無法區分干擾和壓力（穩態條件導致）的影響，因此此方法仍有局限性(Wardle & Ghan, 1995)。



### 2.1.2.3 土壤生態系中之土壤酵素

土壤微生物在自然界中為養分循環的重要角色，土壤中的重金屬、碳、磷、硫等皆能藉由微生物轉變成不同型態，像是在根瘤上存在無數根瘤菌，將空氣中的氮氣轉變成氮提供作物所需之氮肥，而土壤酵素在土壤有機質降解和養分循環中有至關的重要性。(王明光 et al., 2009)

土壤酵素分類如表 2-3 所示，碳 (C) 循環酵素：包括纖維素酵素 (Cellulase)、澱粉酵素 (Amylase)、脂肪酵素 (Lipase)、轉化酵素 (Invertase) 以及葡萄糖苷酵素 (Glucosidase)，其中纖維素來自光合作用固定二氧化碳，為生物圈中最豐富的有機化合物，纖維素的分解涉及微生物生長所需的有效性碳；氮 (N) 循環酵素：有蛋白酵素 (Proteases)、酰氨酵素 (Amidases)、脲酵素 (Ureases) 和脫氨酵素 (Deaminases)，其中尿素為主要的氮肥之一，土壤尿素的酵素活性常用作氮循環指標，因其在微生物、植物和動物中都可測得二氧化碳和氨氣；磷 (P) 循環酵素像是磷酸酵素 (Phosphatases)，硫 (S) 循環酵素則有芳基硫酸酯酵素 (Arylsulphatases) (Amat et al., 2020)。

土壤微生物功能多樣性以多種土壤酵素活性表示，如圖 2-3 所示植物殘體與土壤中微生物作用和大氣形成能量流動以及養分循環，土壤中的生化反應皆有酵素參與，因此土壤酵素活性大小定義為生化反應過程，評估土壤健康度，酵素在土壤中促進有機質分解和礦化，而普遍定義高酵素活性則土壤健康度良好。故本研究針對碳 (C) 循環的酵素進行醋酸纖維薄膜的降解測試，模擬土壤中的條件對於醋酸纖維薄膜降解與土壤健康度之關聯性。

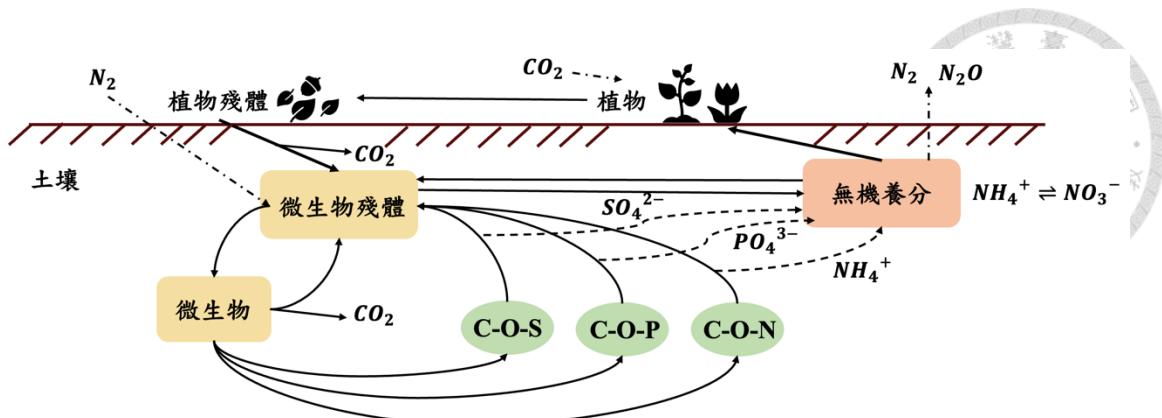


圖 2-3、作物與土壤中微生物、無機養分以及大氣的循環關係圖。

植物死亡後進入土壤和微生物作用，分別有碳、氮、磷、硫等循環，形成無機養分提供給植物或是進入大氣循環系統中。

表 2-4、分類 C 循環、N 循環、P 循環、S 循環之酵素。

<b>C cycle enzymes</b>	Cellulase, Amylase, Lipase, Invertase, Glucosidases
<b>N cycle enzymes</b>	Proteases, Amidases, Ureases, Deaminases
<b>P cycle enzymes</b>	Phosphatases
<b>S cycle enzymes</b>	Arylsulphatases



#### 2.1.2.4 土壤微生物多樣性監測指標—特定量測方法

土壤微生物多樣性監測又可分為：微生物多樣性指標、碳循環指標、氮循環指標、微生物活性以及關鍵物種（圖 2-4）(王明光 et al., 2008)，其中碳循環指標內又分為四大類：土壤呼吸、有機質分解、土壤酵素活性和甲烷生成，前文中敘述了碳、氮、磷、硫酵素在大自然中的循環過程，並且提及透過有機質分解了解土壤微生物活性的擾動，以及在生態系內重要有基建結養分的有效性循環，進而判斷微生物在土壤中的活性，學者們也常使用關鍵物種（如叢枝菌根菌、外生菌根菌、螢光假單胞菌等）在土壤生態系具有重要功能之微生物（可能引起植物疾病、涉及人類健康），評估土壤的健康度。土壤有機物含量的其他量測模式，像是氮礦化(Nitrogen Mineralization)：氮由有機形式轉化為無機形式的分解過程，礦化過程除了可以提供作物生長之養分外，進一步合成土壤腐植質，Waring SA 等學者提出土壤氮對植物的影響，推出一套厭氧的孵育技術，估計可礦化土壤氮作為常規分析土壤的方法(Woddsdalek et al., 1964)；自氧硝化(Autotrophic nitrification)：透過好氧化學營養細菌作用，硝化主要是生物利用氧氣將氨氧化為亞硝酸鹽，接著將亞硝酸鹽氧化為硝酸鹽，通常是透過硝化桿菌科的微生物進行，Anderson JPE 等人提出土壤中微生物負責了兩個主要功能：一是氧化碳物質，促進土壤中有機物以及營養物質的釋放；二是自身儲存碳和礦物元素，並且量化亞硝酸鹽產物的積累作為指標，來評斷土壤品質狀況(Anderson & Domsch, 1980)；反硝化(Denitrification)又稱為脫硝反應：細菌將硝酸鹽中的氮還原成氮氣分子的生化過程，大多數土壤細菌具有反硝化能力。利用乙炔法研究植物根系對反硝化作用的影響，研究反硝化速率推算土壤健康作為另類指標，研究表明在根際確實會影響反硝化速率，但環境中 $NO_3^-$ 的濃度會影響反硝化之速率(Smith & Tiedje, 1979)；固氮(Nitrogen fixation)：將空氣中游離態的氮氣轉化為含氮化合物的過程，在土壤中此作用發生的區域主要在根瘤處，學者在土壤中分離的細菌中特異性檢測豆科根瘤菌，在特定培養基上進行土壤中



根瘤菌的計數(Laguerre et al., 1993)，估計不同種類土壤中的根瘤菌，並且發現其多樣性，再將此評估標準作為土壤健康度的一種生物指標。

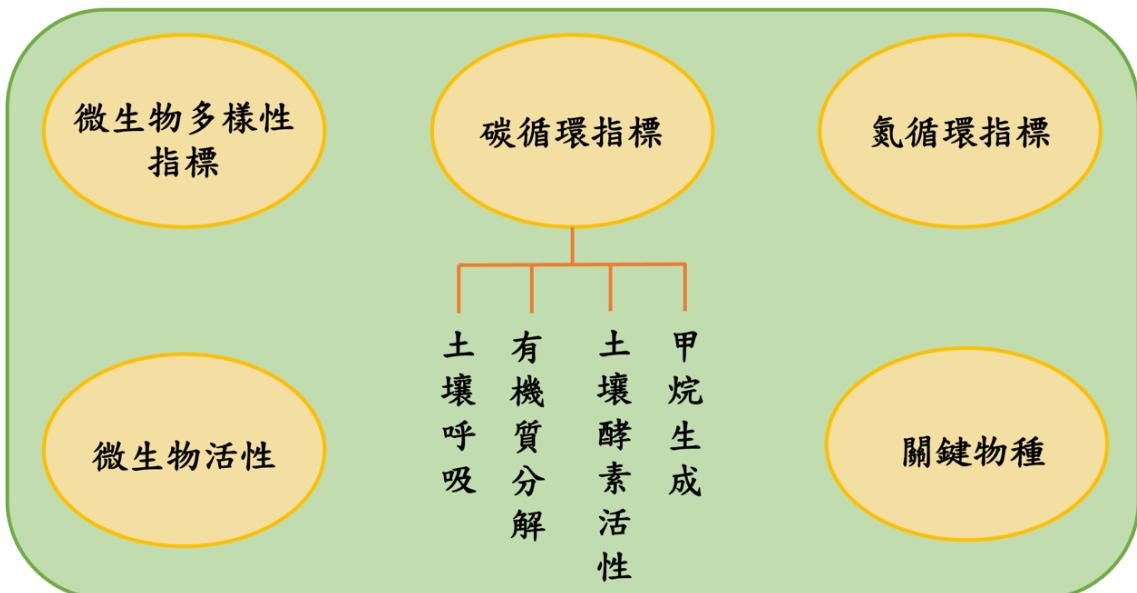


圖 2-4、土壤微生物多樣性監測之指標。

土壤微生物多樣性監測指標分成微生物多樣性指標、氮循環指標、微生物活性、關鍵物種和碳循環指標，氮循環指標：氮礦化、自氧硝化、反硝化、固氮作用，關鍵物種：叢枝菌根菌、外生菌根菌、螢光假單胞菌，酵素參與了土壤中的生化反應，促進有機質分解和礦化，且定義酵素活性與土壤的健康程度相關。而此篇研究主要利用碳循環指標中的有機質分解，定義土壤中微生物活性的不同，進而了解土壤的健康度。



### 2.1.2.5 次世代定序

次世代定序是一種生物訊息的分析方式，可以對百萬條去氧核醣核酸鍊進行高通量的核酸定序(Vischetti et al., 2020)，近年來應用在許多領域，例如臨床研究、食品科學、農業科學、毒理學，Simon, C.等人提到分析不同環境中存在的微生物群落以去氧核醣核酸或是基於 mRNA 和蛋白質的手法，大數據的分析微生物群落對環境的影響，了解複雜的環境序列導致的交互關係，可以在土壤、海洋、人體的腸道等集結更多綜合數據(Simon & Daniel, 2011)。

目前在農業上之應用場域分成六大部分：演化與生態分析、基因庫建立、作物育種與分子標記輔助、雜交技術與基因滲透、轉錄體研究和植物病理研究(邱燕欣 et al., 2018)，雖然與傳統的定序方法相比，次世代定序的產量大、速度快、價格便宜，但在分析過程中仰賴專業操作人員，且須考慮分析之序列特性等篩選條件轉換成參數。因此，在土壤微生物體學的技術發展脈絡下，由傳統型態辨識邁入高通量定序、生物資訊與大數據分析，運算資源的分析、校正，以及有效率的建立訓練集的分析方法，是提昇土壤微生物群落分析的重要歷程。(陳涵歲 et al., 2022)

表 2-5、比較土壤微生物多樣性監測指標的優缺

	優點	缺點
微生物多樣性指標	利用次世代定序等手法可獲得土壤中微生物的組成	需長期監測，未知的微生物群落定義困難
碳循環指標	可得到土壤總體微生物活性（定義酵素作用高為土壤健康度良好）	定義有機質分解指標推測微生物活性的擾動
氮循環指標	提供其他評估土壤有機物含量的方式	複雜的實驗手法和計算硝化速率
微生物活性	可獲得土壤中整個微生物群落的活性資訊	實驗手法複雜，無法有效定義綜觀土壤情形
關鍵物種	可觀察特定土壤生態系中具有重要功能的微生物	研究單一微生物，無法得知交互作用造成的影响
次世代定序	與傳統定序方法相比產量大、速度快	需專業人員操作、須將得到的序列特性做額外的處理



### 2.1.3 土壤生態系統指標對應之環境終端意義

土壤需要通過地殼底層岩石生物和化學風化後經時間的淬煉循環，因此實是有限且不可再生的能源，土壤的健康度間接影響人類、動植物的生存，空氣、水質等多數有標準的定義有害人體健康的最大允許濃度，卻未有土壤健康程度的定義，因此諸多學者開始研究土壤質量與農業生產力或是肥力等的相關性，也提出了周圍環境的交互作用，擴大定義土壤健康，考慮之生態屬性遠超過僅生產特定作物的能力，表 2-4 整理一些常見的環境終端意義，對應到土壤生態指標以及現有定義之微生物指標(Nielsen & Winding, 2002)。像是碳循環會影響大氣平衡以及土壤生態系統的健康度，其中微生物指標有：土壤基礎呼吸率、土壤之呼吸商數、有機物分解以及土壤酵素的活性，其他像是氮循環的硝化、反硝化以及根瘤菌的固氮作用等。影響微生物群落健康的生物遺傳多樣性、功能多樣性等等都會間接或直接的影響土壤之健康度。而本研究針對有機物的分解（醋酸纖維薄膜的降解），定義降解速率及趨勢對於土壤綜合微生物能力的關聯，進而和環境終端指標相對應的探討。

表 2-6、土壤生態系統指標對應之環境終端意義以及相應之微生物指標。

End Point	Soil ecosystem Parameter	Microbial Indicator
大氣平衡	C-cycling	<ol style="list-style-type: none"><li>土壤之基礎呼吸率</li><li><math>qCO_2</math> (Metabolic quotient)</li><li>有機物分解 (Litter bags, Cotton strips, Wood sticks)</li><li>土壤酶之活性</li></ol>
土壤生態系統健康度	<u>C-cycling</u>	<ol style="list-style-type: none"><li>Nitrification (硝化)</li><li>Denitrification (反硝化)</li><li>N-fixation (固氮: 根瘤菌 Rhizobium)</li></ol>
	<u>N-cycling</u>	遺傳多樣性、功能多樣性、標記脂質
土壤微生物群落健康	Biodiversity, C-cycling, Microbial Biomass, Bioavailability	
植物健康	<u>N-cycling</u> Key species	菌根、人類病原體、抑制性土壤



## 2.2 醋酸纖維素

### 2.2.1 醋酸纖維素之歷史

醋酸纖維素 (Cellulose acetate, CA) 是一種熱塑性樹酯，1865 年 Schützenberger 將棉花與醋酸酐封入玻璃管中，在高溫下反應得到醋酸纖維素(Wisniak, 2015)，1908 年柯達公司利用醋酸纖維素混合丙酮的溶液製作照相底片(West, 2000)，醋酸纖維素根據加工方式不同有多種應用，像是薄膜或是纖維，實際應用在生活中有：電影膠片、X 光片、香菸濾嘴、塑膠、清漆、複合纖維等，2020 年日本 Daicel 公司開發了提高 2 倍海洋分解性的醋酸纖維素產品，利用分子設計技術調整醋酸纖維素的分解速度，開發對於環境負荷較小的製品(Yamazaki et al., 2020)。而醋酸纖維素有諸多優點，像是黏度控制、結構特性，應用在建材方面可以降低縮孔與變形、增加金屬片定向性、消光顏料均勻性、良好的紫外線穩定性、熱穩定性與濕氣穩定性等等。生醫領域則有羅馬尼雅布加勒斯特大學的學者利用醋酸纖維素質研究人工合金骨骼的外膜，有效減緩金屬遇酸腐蝕的情形，減少了金屬離子釋放對於周圍細胞造成的不良影響。(Voicu et al., 2016)



## 2.2.2 醋酸纖維素之物理、化學特性

醋酸纖維素（圖 2-5）是化學改性的天然高聚物，為纖維素的重要酯類，經由纖維素、乙酸酐和乙酸在硫酸的環境下反應而得(Fischer et al., 2008)，取代度(Degree of substitution)決定了醋酸纖維素的溶解度，不同的酯化度影響醋酸纖維素的溶解性。

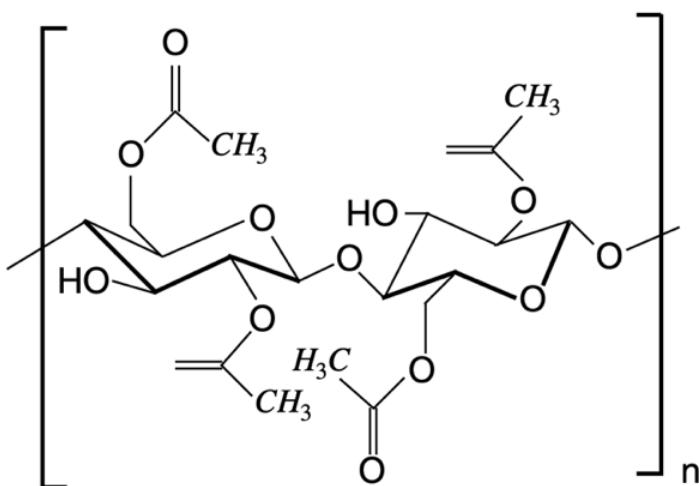
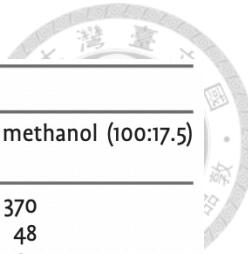


圖 2-5、醋酸纖維素結構式。

### 2.2.2.1 溶解度、濁度、莫耳質量

濁度（圖 2-6）定義為因存在未溶解物質而導致透明度不佳，經由光學評估溶解度的指標，不同的樣品存在差異。醋酸纖維素的莫耳質量使用分子篩色譜法(Size Exclusion Chromatography)測定，高分子量的 CA (100 kDA) 在製作過程中橫向收縮，撕裂後形成空隙；小分子量的 CA (30 kDA) 薄膜則無大孔結構（圖 2-4），說明 CA 的分子量會影響膜厚和結構。



Sample	Solvents			
	Acetone	Dichloromethane- methanol (80:20)	Ethyl acetate	Ethyl acetate - methanol (100:17.5)
CA 1	67.7	3.7		370
CA 2	10.7	1.4		48
CA 3	24.8	4.1	84.5	87
CA 4	43.9	6.3		294
CA 5	5.4	0.9		39
CA 6	5.8	1.2		38
CA 7	2.8	1.1		33

圖 2-6、不同溶劑中醋酸纖維素的濁度。

(Fischer et al., 2008)

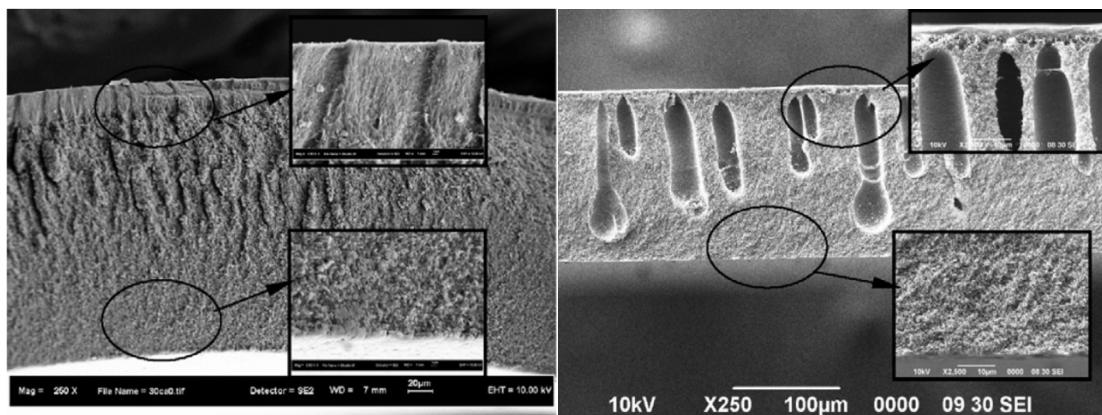


圖 2-7、醋酸纖維素 SEM 照片。

左圖：30 kDA、右圖：100 kDA (Kee & Idris, 2010)

### 2.2.2.2 取代度

取代度 (Degree of substitution) 定義為醋酸纖維素分子結構中每個脫水葡萄糖單元 (Anhydroglucose int) 的乙酰基取代基的平均數，標準測量方法使用皂化反應後進行離子色譜法與其他衍生醋酸纖維素產物進行定量 (氣解)，最後進行氣相色譜—質譜分析(Ros et al., 2021)。而乙醯基取代部分醋酸纖維素的纖維素衍生物沿著聚合物鏈的分佈，透過 SEC 進行量測(Fischer et al., 2008)，或是透過高分辨率的核磁共振準確量化 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) (Ros et al., 2021)。



## 2.2.4 醋酸纖維素之降解

生物降解之定義有兩派說法，一派學者認為微生物在生物活性的環境中將基材轉化為二氧化碳（需氧）、甲烷（厭氧）、細胞壁材料和其他生物產物，另一派學者認為降解要求一定的降解率（例如重量損失與時間的關係）(Puls et al., 2010)。而生物降解的過程通常涉及酵素的參與，酵素具有催化和加速化學反應的能力，可以分解複雜的有機化合物，轉化為較小的分子。

市面上許多消費品例如：紡織品、塑料、薄膜和香菸濾嘴的成份裡都含有醋酸纖維素，因此研究醋酸纖維素的降解途徑變成永續環境保護的一個重要關鍵。醋酸纖維素可以透過生物、化學和光化學降解，首先部分化學水解和乙酰酯酵素進行脫乙酰化（圖 2-8 示意）的步驟，隨後聚合物主鏈比較容易被生物降解。脫乙酰化過程通過量化平均取代度來研究。化學降解試驗有學者分別以三種黃麻地工織布(JG1、JG2、 JGU) 化學改質後，浸置在不同酸鹼值水溶液中觀察其變化。

早期有研究者發現將醋酸纖維素放置在潮濕的土壤中會明顯變質，放置一定的時間後會完全被破壞，也有專利文獻研究改變材料或產品增強生物降解，表明取代度低的醋酸纖維素被生物降解的速率快，或是透過添加纖維素鏈分裂酵素來提高降解率，含氮有機化合物的醋酸纖維素在微生物形成鹼性分解產物後也會增強降解(Puls et al., 2010)。

在本研究架構下，透過降解醋酸纖維薄膜，觀察在不同化學條件或是酵素環境下醋酸纖維薄膜的降解速率，在實際土壤中降解醋酸纖維薄膜，推測土壤微生物降解醋酸纖維薄膜的速率與土壤健康度之間的關係。

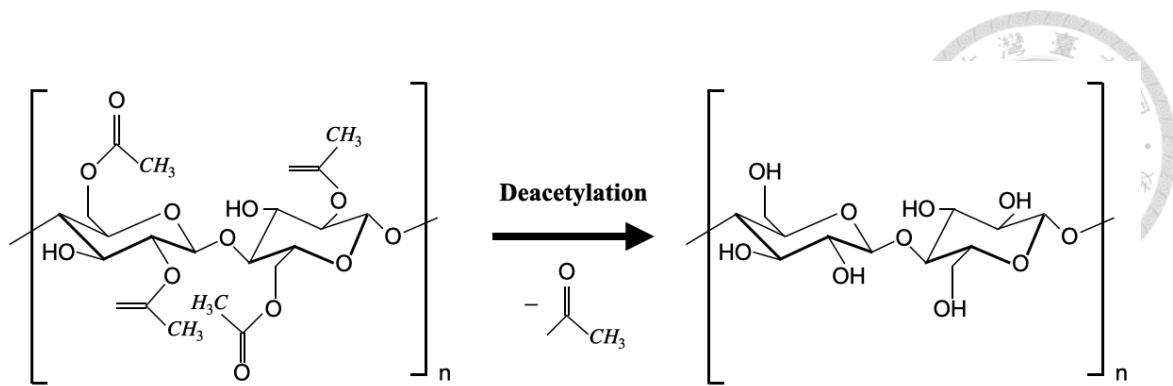


圖 2-8、脫乙酰化化學式示意圖。

醋酸纖維的降解主要由脫乙酰化主導破壞聚合物的主鏈，乙酰基經過化學反應後被移除，最終分解成水和二氧化碳。



## 2.3 感測器

### 2.3.1 感測器之定義

感測器（圖 2-9）包含辨識元件（又稱感測元件），訊號處理和轉換的單元，最後輸出訊號，訊號分析藉由連接感測器的介面程式或裝置等進行。辨識元件根據量測物不同分成：物理性的電學、力學、光學、聲學等或是化學元件，訊號處理根據辨識元件產生之反應做訊號轉換，像是放大微小電壓或是過濾不同頻率，轉換讀取訊號成可量測或可使用的輸出信號，利用像是電子電路、訊號處理器等類似的裝置，訊號輸出則是將感測值以使用者可讀取的表現方式在電腦上顯示，可能是電壓、電流、頻率或是數位訊號等形式。

辨識元件目的是根據檢測物的特徵或條件，對目標物進行識別、分類或是確認，常見的辨識元件有：光學、生物、溫度、濕度、音頻、運動等感測器。本研究應用於生物方面，生物感測器是一種將生物元件和感測技術結合的整合系統，其中感測器的組成為：生物元件、轉換元件、訊號處理和顯示，生物元件上通常進行像是親和性和特異性吸附產生物理化學性質的變化，或是透過電子傳遞、質量變化、熱傳遞、特定離子的吸收或釋放等等，透過感測器結合的特定分析物濃度成比例上的改變、頻率形成正比的電子信號變化。

本研究使用電容式感測器結合披覆一層醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極，並非生物感測器，而是將感測器應用於生物降解之領域，感測元件上不會進行特定分子間的吸附及親和，而是基於成熟醋酸纖維薄膜披覆後在不同條件（化學、酵素）之溶液中降解，使其厚度與化學性質改變進而產生電容訊號響應之不同，目標為應用於土壤之綜合微生物能力之檢測。

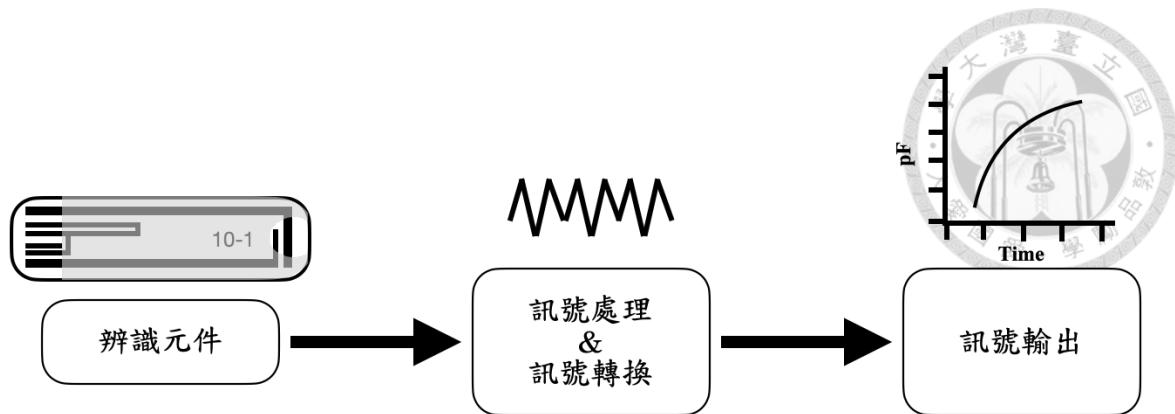


圖 2-9、感測器之運作示意圖。

辨識元件根據檢測物的不同設計對應的機制，本研究披覆材料在辨識元件上，透過在電解液體中材料降解後物化性質的改變，產生電容訊號的變化，進行訊號處理和轉換，之後將電容訊號轉換成數位訊號輸出，並以清晰的人機介面接收資料和匯出數據處理。



### 2.3.3 電容式感測器

電容式感測器本質上基於界面物理、化學變化產生電容的電性響應，優勢上有反應快速、非侵入性（減少對檢測物體的干擾）、靈活性高（應用於多種場景）、成本低並且無輻射危害等。電容式感測器檢測原理建構於分析物與辨識物反應時在電極表面形成導電性、電荷分佈、介電性、結構等電性變化。而電極介面之電容響應以式 2-1 所示，依據電極披覆薄膜後的絕緣性與其反應介面架構之設計分成如表 2-5 所示水平面與垂直面兩種模式，水平面是指感測物與電極平行排列，垂直面則是感測物和電極垂直排列，通常水平面感測可以提供較大的接觸面積增強感測信號，因此有較高的靈敏度。

而電容式感測器的絕緣性很重要，避免法拉第電流響應造成電容變化影響量測之訊號或是短路，法拉第電流指當電極與電解質或測量環境間存在電位差時，由於氧化還原反應引起的電流，降低法拉第電流對於電容變化的影響確保感測器的準確性和穩定性，除此之外電極設計和電解質的選擇也能減少法拉第電流的產生。

本實驗使用指叉式電極如圖 2-10 所示，藉由特殊塗層在電極間的間隙進行感測(Mazlan et al., 2017)，檢測的靈敏度和電極間距 (d) 成反比，和電極面積 (A) 成正比，電容性質如式 2-2，n 值是電極的數量，參數 2 表示每個電極近似於兩個電容元件。(Kung et al., 2014) 使用指叉式電極之優點為感測物具有高靈敏度，並且可以即時監測變化，通常指叉式電極使用特殊塗層或保護層，提高電極的穩定性和耐久性，減少環境對電極的干擾；相對來說也存在缺點，若有多個指叉式電極 (2 個以上)，電極間會引起交叉干擾，影響感測信號的準確性和可靠性。但本實驗使用之電極僅有 2 個碳電極，故沒有交叉干擾之問題，且可調整披覆薄膜的厚度，控制電容響應範圍，並且即時監測降解過程中產生的電性變化等，應用場域在不同條件的溶液中，樣品與液面間形成電容性質即可產生對應的訊號而後處理訊號以及分析，提供有效之訊息。



$$C = \varepsilon \varepsilon_0 \frac{A}{d} \quad (2-1)$$

$\varepsilon$ : 介電系數 (Dielectric constant)

$\varepsilon_0$ : 真空狀態下之介電系數 (Permittivity of free space, 8.85 pF/m)

A: 電極面積

d: 電極間距

$$C = 2n\varepsilon \varepsilon_0 \frac{A}{d} \quad (2-2)$$

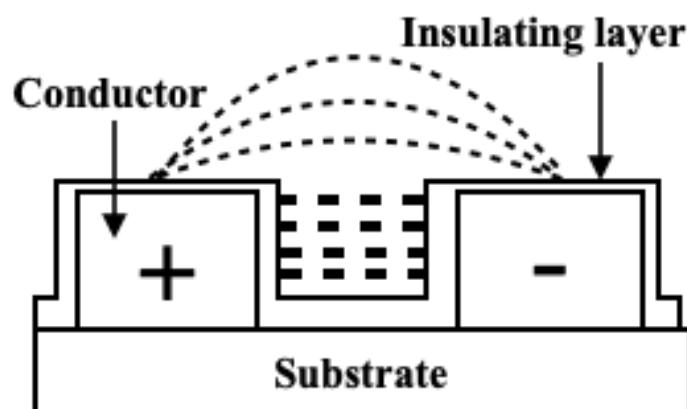


圖 2-10、指叉式電容感測器示意圖。

電極分成正負兩極，披覆一層絕緣材料後，造成電極介電性的改變，因此產生電容訊號，直接量測披覆絕緣層後的電極與待測液之間的界面電容變化。



表 2-7、電容式感測器兩種模式比較。

	水平面（指叉式電極）	垂直面（電雙層）
優點	應用面廣泛：非破壞性檢測、為機電系統、化學感測、壓電聲學	可利用數個電容元件串聯，結合阻抗頻譜分析法
缺點	製程複雜、耗時、高成本、表面電場分佈不均勻	最小電容值會影響整體系統，絕緣層電容要盡量提高
原理	電場通過待側物質或特殊塗層所產生的電容響應變化	電極表面與離子濃度產生之電位差



## 2.4 生物感測器應用於農業

傳統生物感測器依照不同的信號傳導分成：電學、光學、溫度、壓電或磁性。(Velasco-Garcia & Mottram, 2003)生物感測器應用在生物化學、材料科學、電化學等，2.3.1 節中提到依照不同的轉換能量方式，分為電化學式、壓電晶體式、熱感式、光學式等（表 2-6）。其中電化學感測器方法包括電位法、安培法、電化學阻抗法等感測器，根據不同代測物的性質以及應用需求，挑選適當的方法方能發揮最大的優勢。

電化學感測器優點為具有高靈敏度、高選擇性、快速響應和即時監測，應用領域有生物醫學、食品安全、環境監測、能源儲存等；壓電晶體式是一種常見的電化學感測器配置，當施加壓力或力量時能夠電荷或電位差，常應用於流體檢測、壓力感測、氣體檢測、生醫檢測等，優勢為對於微小變化敏感，且結構簡單，操作容易，可在各式環境條件下運作；熱感式顧名思義為透過熱敏元件檢測生物分子或生物過程的感測器，此感測器表面有一層特定的生物分子，可與待測分子結合或相互作用，而在過程中產生熱效應（吸熱或放熱），接著熱敏元件檢測到溫度變化後轉換成電信號，優勢是可作無標記檢測；光學式生物感測器基於光的相互作用與生物分子間的結合，透過待測生物分子發生特定的結合或相互作用（吸收、散射、反射、折射），測量吸收光的強度、散射光的散射角度或偏振狀態的改變，測量光信號並且分析待測生物分子的存在、濃度或其他特性。

欲應用特定感測器且善用其優勢，須先了解系統的本質：準確性、精密性（利用平均值與標準差），定義誤差值（多次量測之差異值），可追溯性，不確定度（結合統計學變異性之概念），模式設計（對系統之行能加以量化）；化學感測是針對感測訊號與量測對象之間關係，須建立校正方程式所以相比物理感測更複雜。而在辨識元件、訊號轉換處理、訊號輸出器這三者中，若是架構彼此間銜接有問題，即影響生物感測器的檢測能力，關鍵是開發有效且穩定的修飾技術(Chang & Chang, 2006)。



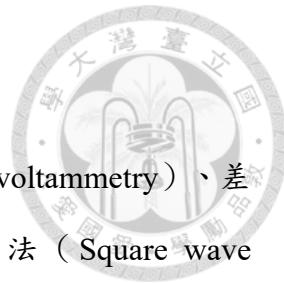
表 2-8、生物感測器之感測方法比較。

	電化學	壓電晶體	熱感式	光學式
優點	最廣泛應用，反應靈敏、低成本、操作容易	可偵測到極微小的質量變化	大部分生物反應都會產生或消耗部分熱，結合有機溶劑測定之酵素生物感測器，提高溫度變化	靈敏度較高、可用作體內生物質量測、吸收光譜可建立不同蛋白質之光譜
缺點	偵測勿因電而解離便無法量測，且待側物需具備電化學活性、及擴散至電極表面	成本相對較高，系統缺乏特異性、敏感性，轉換能量時的校準	環境溫度若有些微改變即會造成系統相當程度的誤差，無法偵測不產生熱的反應物質，無法分辨分析物或干擾物所產生之熱	額外光源需求、精密光路設計
原理	電能和化學能之間能量和質量的轉換，當生物元件產生生化反應時，偵測其增加或消耗的電化學物質，利用儀器量測電化學訊號	施加力或質量在具有壓電性質的材料，質量變化正比於頻率震盪的改變	偵測系統中生物元件的生化反應所產生的熱量，造成環境中溫度的變化	將生物元件固定在光學元件的尖端，環境若產生光學變化反應，利用元件內的光敏感指示劑（螢光、化學發光）產生光學訊號

#### 2.4.2.1 基於 DNA 的生物感測器

原理是透過 DNA 序列和固定探針之間存在互補序列雜交，基於目標獲取的 DNA 序列設計對應的探針序列。DNA 分子帶負電，在電極間透過電子轉移，以及阻抗、電導度和電流的變化，設計量測系統(Ali et al., 2021)。

DNA 生物感測器的靈敏度是傳統 PCR 的 10000 倍以上，在難以擴增的生物樣本中（例如：成年樹木的葉子和汁液）獲得可擴增的植物和微生物的 DNA、RNA，並且不會抑制擴增反應(Zou et al., 2017)。但相對局限性在於提取核酸的挑戰性，並且存在著降解、污染風險和難以擴增等問題，容易受到環境中的酸鹼值影響，恆定靈敏度和可重複性是關鍵課題，其他像是在 DNA 與界面結合時改變半導體的平帶電壓或大分子結合影響固有的靜電荷導致分子間交替電荷分佈(McAuley et al., 2009)都是此技術需要克服的難題。



#### 2.4.2.2 基於伏安法的 DNA 雜交檢測

可觀測無標記 DNA 雜交系統的技術有循環伏安法（Cyclic voltammetry）、差分脈衝伏安法（Differential pulse voltammetry）、方波伏安法（Square wave voltammetry）、電流法、和阻抗檢測。伏安法有助於分析移動的電子數量而改變的雜交響應，此方法提高了測試 DNA 對照樣品的效率、生物相容性和電化學電導率。經由最佳條件觀測特異性雜交信號與 DNA 靶濃度之間的關係，而農業上曾有學者透過響應曲線擬合分析甘蔗白葉病，區分花葉病毒感染和健康的甘蔗(Wongkaew & Poosittisak, 2014)。但特異性雜交有其困難性，雖能提高檢測 DNA 的效率，但相對製程手法上需要嚴謹的前處理，以及定義轉換後電導率對於樣品效率之關聯。

#### 2.4.2.3 基於酵素的生物感測器

酵素結合免疫分析法（Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）是實驗室中常用的一種分子生物檢測技術，原理是透過抗體和抗原的專一性結合，配合顏色呈現，定量樣品中目標蛋白質的含量。而酵素結合免疫分析法和血清學方法廣泛用於檢測植物和臨床，結合電化學檢測方法提高靈敏度和選擇性診斷臨床與植物傳染病，像是利用重組細胞素（高度多樣化的酵素家族組成），透過氧化還原或水解毒素催化生物轉化過程，影響結構與功能表徵，進一步優化固定化過程(Paternolfi et al., 2004)。此方法的局限性在於酵素的低可用性，不受控制的抗體固定會阻礙有效的生物感測信號，電解質溶液的酸鹼值影響酵素產物(Khater et al., 2017)。

#### 2.4.2.4 基於石英晶體微量天秤的生物感測器

用於無標記檢測的石英晶體微量天秤（Quartz crystal microbalance）感測器（如圖 2-7）有高靈敏度，原理是當質量附著於石英晶體微量天秤上時，因為共振頻率產生飄移變化便可以對照質量的多寡，主要是利用反壓電效應（Converse piezoelectric effect）。實際可以應用在植物病原體以及臨床和環境分析，檢測大花



蕙蘭花葉病毒和齒舌環斑煙草病毒，利用純化的方法將受感染蘭花的汁液與固定化病毒抗體結合後質量增加導致共振頻率降低，此檢測的靈敏、特異性提供了可行的替代方案，也是第一份利用石英晶體微量天秤檢測植物病毒的研究(Eun et al., 2001)。但製程複雜且樣品容易受到水分以及雜質影響，還有高頻干擾問題。

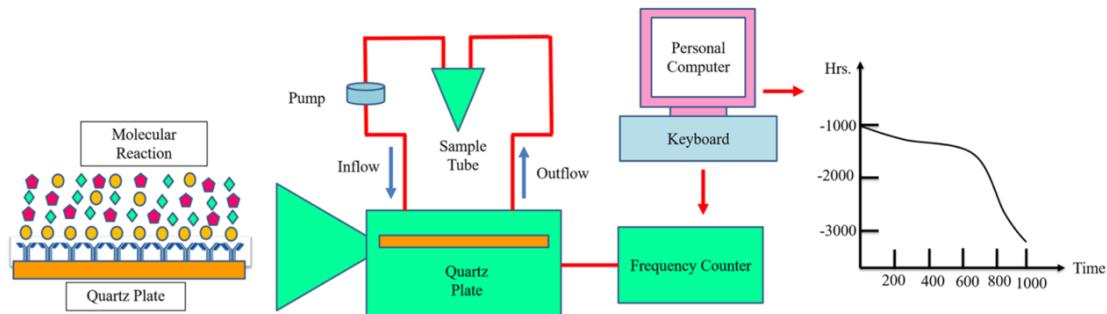


圖 2-11、石英晶體微量天秤。

(Ali et al., 2021)

#### 2.4.2.5 表面等離子共振技術

首先表面電漿共振現象發生在材料介面上，因為電導率正負不同，入射光刺激而發生共振。當適配體和生物分子相互作用時生物感測器表面折射率的變化，能夠有效追蹤和測量蛋白質生物親和力反應的能力，常用於開發基因探針、適體和抗體跟追蹤植物病原體，反之，局限性是要控制表面檢測之非特異性吸附。且研究物體的尺寸不能超過 100 nm。而植物病毒體積小於是符合表面等離子共振技術的限制，第一個利用表面等離子共振鑑定煙草花葉病毒，未經修飾的金屬膜可能會對受體分子產生破壞性影響導致分子變性，因此需要在金屬表面和蛋白質間行程緩衝夾層（硫醇）(Boltovets et al., 2002)。



### 第三章 研究方法

#### 3.1 測量儀器軟體及披覆製程

##### 3.1.1 電化學分析方法簡介

電化學是介面化學的一種，使用特定電極當作訊號轉換器，當生物元件在系統中產生生化反應時，藉由儀器偵測電化學物質的變化，分析電化學訊號，依照訊號輸出方式可以分為：導電度式（Conductometric）、電位式（Potentiometric）、電流式（Amperometric）(Wang, 2007)。

##### 3.1.2 電容式感測器工作原理

電容式生物感測器的檢測原理建構於目標物與抗原、抗體鍵結，反應時在電極表面生成空間結構、介電性、電荷分佈、導電性等電容響應變化(Kung et al., 2014)。根據對電極施加恆電位，獲得瞬態電流響應來評估電容的變化(Berggren & Joghansson, 1997)，電容式感測器要求絕緣性，環境的背景雜訊、絕緣不良導致離子通透會造成系統短路、不穩定，因而響應訊號不準確或無法測量。電容式生物感測器分成電化學阻抗頻譜分析、步階壓差量測法（Potentiostatic step measurements）與交換式電容量測法（Switched capacitor technology）。本研究之方法為披覆醋酸纖維薄膜，依據其在不同溶液環境中的降解情形，醋酸纖維薄膜和溶液產生電容響應之變化，量測後續分析電容響應與時間的關係。

網版印刷碳膠電極表面電場的大小與分佈取決於電極的幾何形狀、尺寸、電解質溶液中物質的氧化還原電位、溶液中離子濃度和遷移率，網版印刷碳膠電極之表面電場如圖 3-1 所示電場在電極邊緣電荷密度最高，邊緣處電化學反應增強（稱之為邊緣效應），電場隨著與電極表面距離漸遠而迅速衰減，使電化學量測的空間分辨率有限。表 3-1 比較了電容式感測、電化學阻抗式感測和電化學電容式感測之差異，絕緣度要求：電容式感測 > 電化學電容式感測 > 電化學阻抗式

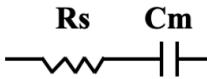
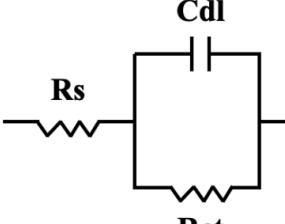
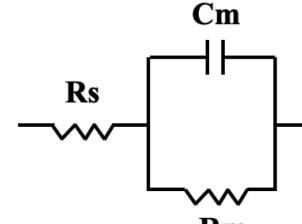


感測。其中電容式感測施予電極充放電，經由計算得知介電層電容，電化學阻抗式感測則是在絕緣不佳的情況下，觀察溶液中的離子和電極在介電層間的交換效率，電化學電容式感測是在絕緣尚可的情形下，不需使用介面電荷轉移電阻作為定量參數，可觀察離子與絕緣層表面的交換情形，計算出介電層電容。(Cheng et al., 2023)

本研究使用電容式感測，藉由系統內部計算充放電後的電容表現，相較於電化學阻抗式和電化學電容式感測，需要絕緣度高的絕緣層。電化學阻抗式感測是由等效電路元件模擬介面電子傳遞狀況如圖表 3-1 所示，但實際界面與理想有差距，故計算出的電容值並不精準。而使用電容式感測不需先驗電模型和複雜的計算模型即可得到電容值，相較於半定量的電化學感測，優勢為彈性的電極設計和電極修飾，具有免標定、量測簡易等。

表 3-1、比較電容式感測、電化學阻抗式感測、電化學電容式感測。



Capacitive sensor	Electrochemical impedance spectroscopy	Electrochemical capacitance spectroscopy
		
絕緣最佳	絕緣不佳	絕緣尚可

$R_s$ : 溶液阻抗

$R_{CT}$ : 界面電荷轉移電阻

$R_m$ : 介電層電阻

$C_{dl}$ : 電雙層電容

$C_m$ : 介電層電容

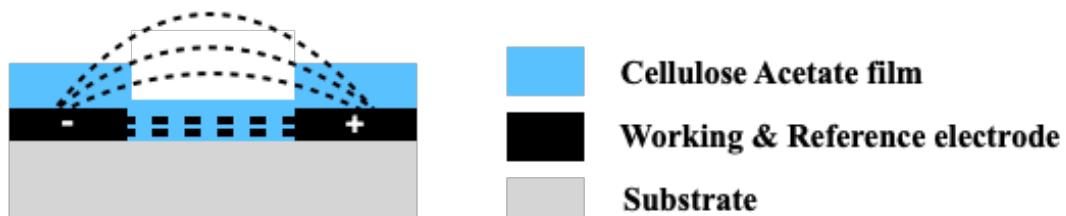


圖 3-1、網版印刷碳膠電極之電場分佈強度示意圖。

電場在碳電極的邊緣電荷密度最高，電化學反應增強，而隨著電場與電極表面距離越遠而迅速衰減。



### 3.1.3 電容式感測器之架構

研究使用實驗室設計之 Cap-Sensor，透過成熟的 LabVIEW 軟體，介面操作對於使用者友善，圖 3-2 示意整體儀器架構，紅色瓶子作用為簡易固定感測器，接上自製晶片後插入披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極，並將其插入欲感測之溶液中量測。

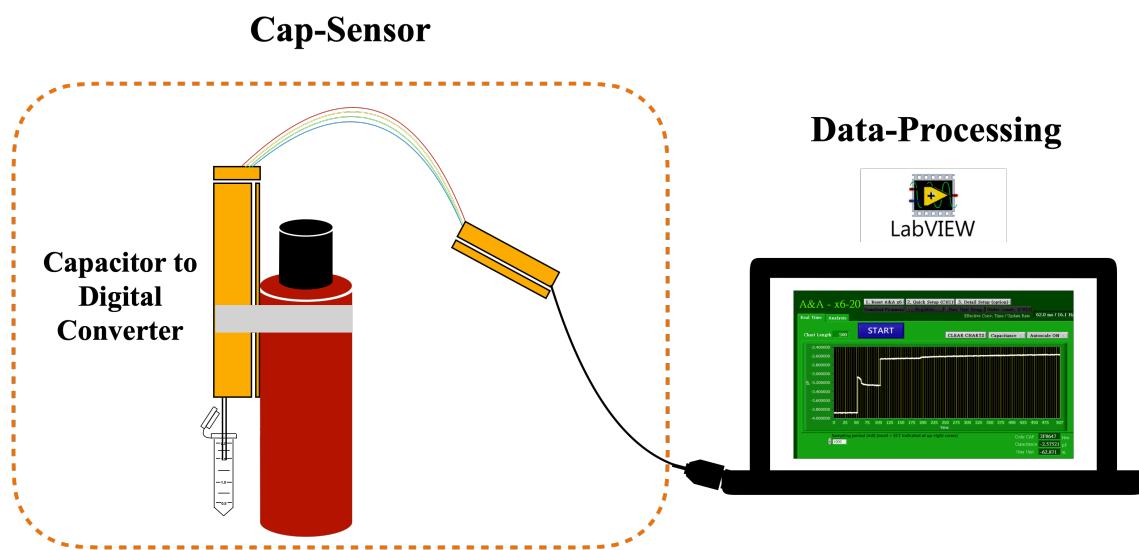


圖 3-2、整合電容式感測器之系統架構。

固定電容式感測器，包含電容值轉數位的模組和整合電路板設計，使用 USB 連接電腦，即可透過 LabView 人機介面系統操作測量。



### 3.1.4 電容式量測模組—CIN1 EXCB & CIN2 EXCA

本研究使用的電容式量測模組：CIN1 EXCB 和 CIN2 EXCA。如圖 3-3 所示串聯 5 pF 電容的模組(CIN1 EXCB)和圖 3-5 所示未串聯電容的模組(CIN2 EXCA)，實際量測值如圖 3-4 所示利用市售的貼片式電容串聯網版印刷碳膠電極，繪出兩種量測模式之校正曲線，數據分析套入校正曲線得到的線性公式計算實際電容值，後續結果與討論會一一說明。CIN1 EXCB 系統串聯 5 pF 電容為了在絕緣層崩解或是產生孔洞時，使電子傳遞形成通路後仍能量測到電容值，可以觀測絕緣層崩解的動態響應，但得到的數據不等於絕緣層實際電容值，故若要得到準確的電容響應應使用 CIN2 EXCA 之模組系統較合適。

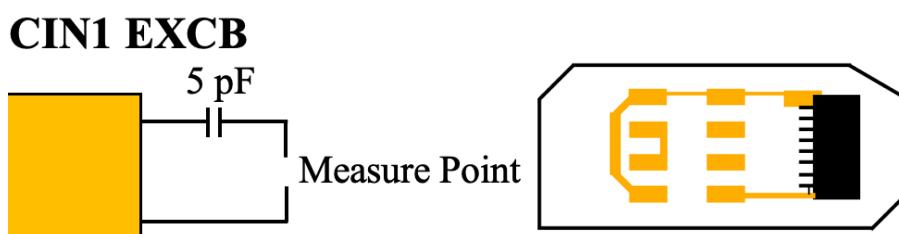


圖 3-3、CIN1 EXCB 量測電路模式和晶片示意圖。

左圖：電路模式、右圖：晶片

示意簡單的電子電路設計，內部原始電子電路串聯了 5pF 的電容。

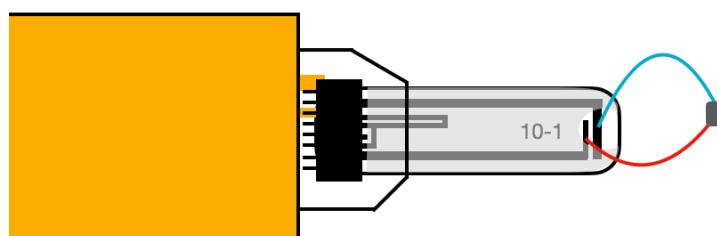
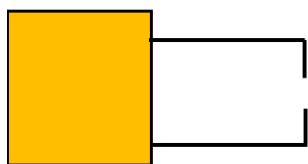


圖 3-4、串聯貼片電容之量測示意圖。

將市售貼片電容串聯在網版印刷碳膠電極的參考與工作電極兩端。

## CIN2 EXCA



Measure Point

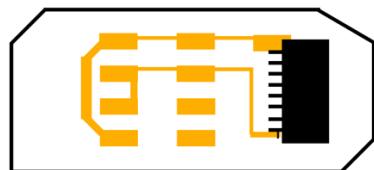


圖 3-5、CIN2 EXCA 量測電路模式、晶片示意圖。

左圖：電路模式、右圖：晶片

簡易電子電路示意圖，內部原始晶片設計未串聯 5 pF 電容。



### 3.1.5 LabView 人機介面設定

本研究的整合式電容量測系統使用 NI LabView 程式撰寫操控介面，透過積體電路板整合量測系統，使用 USB 連接電腦，圖 3-6 為整體人機介面設計，經由調整量測的時間間隔、量測時間長度、以及欲觀測的數據表現形式設定（電容值），再透過圖 3-7 之操作細節設定量測模式，分別有前文中提到的 CIN1 ECXB 和 CIN2 EXCA 兩種量測模式選定，輸入值之設定為連續或是單一點，以及量測時欲扣除之電容值，以利視窗的電容數值讀取，設計視窗範圍為 -4 到 4.09 pF，最大扣除值為 16.87 pF，透過清晰的介面設計，逐一設定合適的量測模式，配合不同的量測需求達成彈性化的操作。

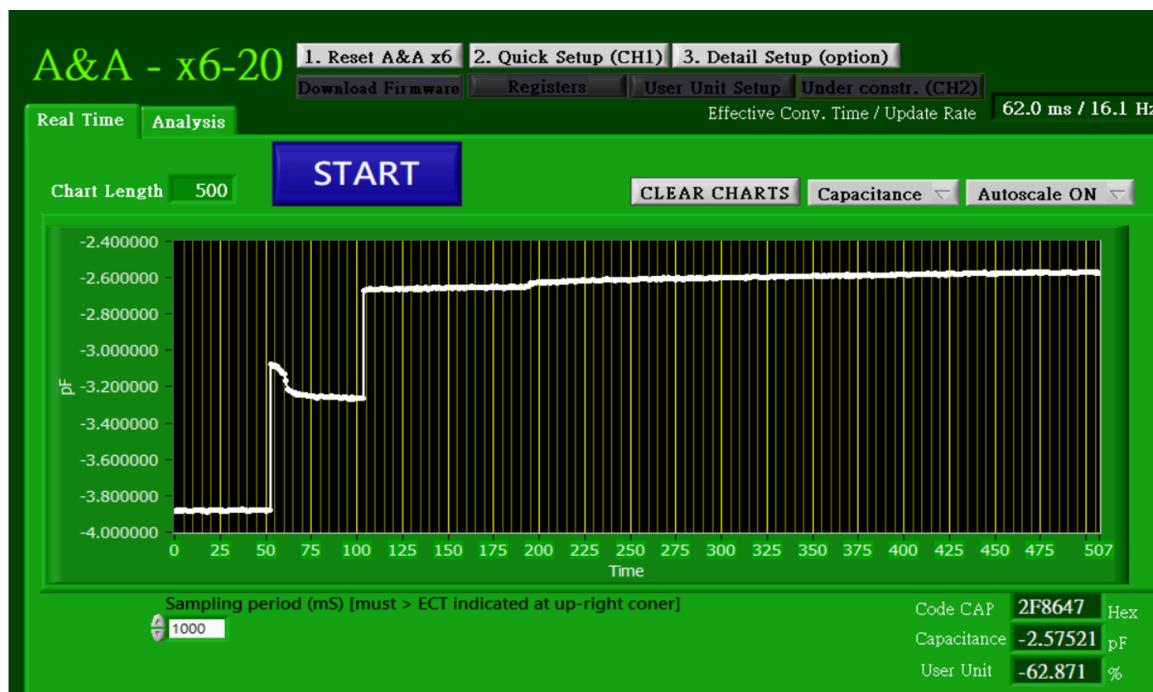


圖 3-6、電容式感測器之人機介面。

使用 LabView 設計的操作介面，設定量測的模式、頻率和擷取項目等，並且在量測過程中同步觀察數據，開始/暫停鍵控制量測的時間點，並且設計直接匯出數據至 excel。

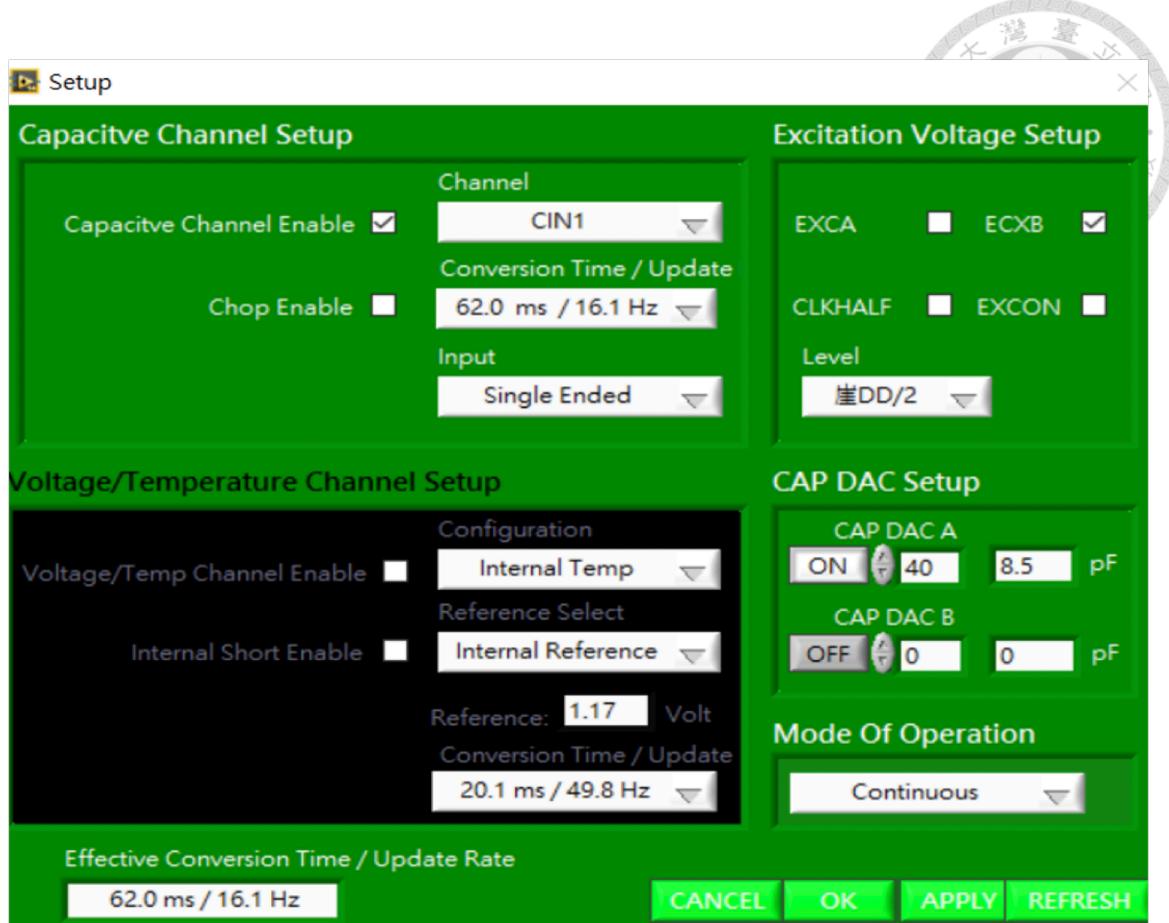


圖 3-7、人機介面基本操作設定。

選擇量測模式（CIN1 EXCB, CIN2 EXCA）、單點量測（Single Ended）、頻率（定頻 62.0 ms / 16.1 Hz）、扣除值（CAP DAC A）等。



### 3.1.6 旋轉塗布之披覆製程

利用廢棄的舊磁碟機，製作出如圖 3-8 所示，模擬旋轉塗佈的簡易磁碟式旋轉塗布機，相較於市售應用於微影製程之旋轉塗佈儀器，經由簡易的電路設計，使用可變電容改變電路的電壓值控制磁碟機之轉速，利用雙面膠固定網版印刷碳膠電極在旋轉塗布機上，即可披覆醋酸纖維薄膜在網版印刷碳膠電極上。

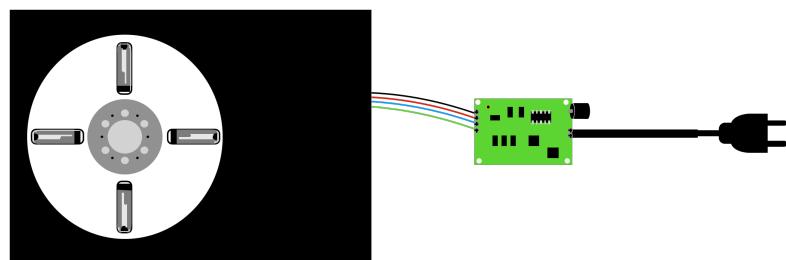


圖 3-8、簡易磁碟旋轉塗布機示意圖。

廢棄光碟機接上可變電容改變其轉速，黏貼網版印刷碳膠電極在光碟機表面即可透過旋轉將液體甩出後形成薄膜。

### 3.1.7 浸潤式披覆製程

提高醋酸纖維素之濃度至 100 mg/ml，因披覆之液體材料濃稠度上升，網版印刷電極可直接浸入液體中，並待其固化形成薄膜。（如圖 3-9 示）

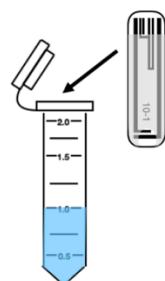


圖 3-9、浸潤式披覆製程示意圖。

分裝披覆材料溶液再一次性使用的微量試管中，將網版印刷碳膠電極浸入液體中即可形成薄膜。



## 3.2 實驗材料與溶液配置

### 3.2.1 實驗藥品

Acetone、Methanol、DI water

Nacalai Tesque (保盈有限公司) :

1. Cellulose Acetate: Code 077-11, 500 g
2. Sodium Dihydrogenphosphate, Anhydrous: Code 31720-65, 500 g  
 $(Na_2HPO_4)$
3. di-Sodium Hydrogenphosphate: Code 31801-05, 500 g  $(KH_2PO_4)$
4. Tris (hydroxymethyl) aminomethane: Code 35409-45, 500 g

Wako (亞旭生物科技股份有限公司) :

1.  $\alpha$ -Amylase: 013-03732, 25 g
2. Citric Acid Monohydrate ( $HOOCCH_2C(OH)(COOH)CH_2COOH \cdot H_2O$ ) : 035-03495, 500 g
3. Trisodium Citrate Dihydrate (Sodium Citrate) ( $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ ) : 191-01785, 500 g

SIGMA-ALDRICH:

1. Potassium chloride solution: PCode 102041522, CAS 7447-40-7
2. Cellulase: C-1794, 5000 units
3. Hydrochloric acid: 30721-1L-GL
4. Chitinase from Streptomyces griseus: CAS-No 9001 -06-3 5UN
5.  $\alpha$ -Glucosidase: G5003-100UN
6. Fluorescein diacetate: F7378-5G
7. Chloroform 372978-100ML



8. Fluorescein sodium salt F6377-100G

### 3.2.2 實驗儀器

1. 傅立葉紅外光譜儀 (Spectrum 100, Perkin Elmer, US)
2. 分光光度機 (V-730, JASCO, Japan)
3. 高溫高壓蒸氣消毒鍋 (EZ SS-50E, EZmedica Co, Taiwan)
4. 離心機 (Centrifuge 5810R, Eppendorf, US)
5. 烘箱 (Incubator DBL45, Deng YNG, Taiwan)
6. 雷射顯微鏡 (VK9510, Keyence, Japan)

### 3.2.3 實驗原理與方法

透過在網版印刷碳膠電極上披覆一層醋酸纖維素薄膜（如圖 3-10 示意），分別從化學降解、酵素降解、土壤降解三個面向，逐步探討醋酸纖維薄膜相較於傳統條狀棉織物的抗拉程度等測定模式之優缺，醋酸纖維薄膜之降解導致薄膜物性及化性改變，進而造成電容值的響應變化，定義目標綜合土壤微生物含量之關聯性。

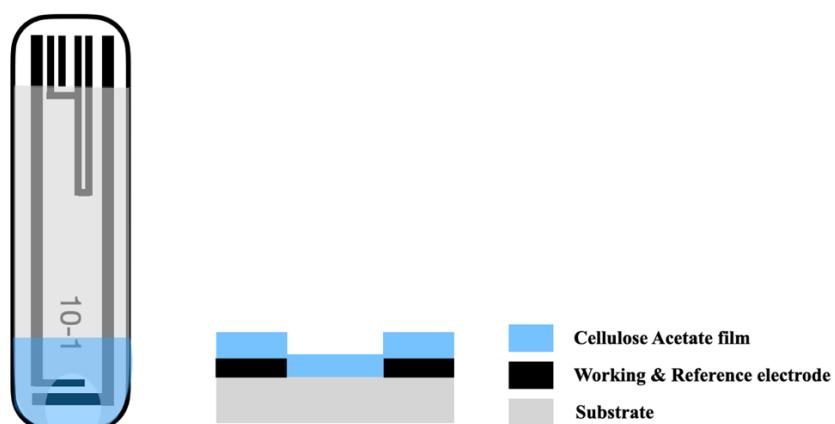


圖 3-10、網版印刷碳膠電極之側視圖（剖面圖）示意電極與薄膜之分佈關係



### 3.2.4 實驗量測步驟

實驗量測步驟如圖示，安裝實驗室開發的 LabView program 後進行人機介面的基本設定，調整電容感測模式以及設定扣除值，透過 USB 連接上整合電容式感測器，接著安裝晶片便可量測初始值，確認系統穩定後插入披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極，浸泡至實驗溶液中進行測量（垂直式）或使用微量吸管吸取適當溶液滴至量測點上進行量測（水平式）（如圖 3-11, 3-12 示）。

圖 3-12 為結果與討論的主要量測模式，垂直式插入量測相對於圖 3-11 微量吸管滴溶液至量測點上不會有溶液蒸發問題，且垂直式測量可固定網版印刷碳膠電極在相同的高度上，晶片不會因為在量測過程中不斷地移動導致接觸不良等問題。若披覆薄膜均勻度不佳會造成滴在量測點上的溶液有流動的問題，但製程薄膜穩定度提升後，若是要測試單價較高之酵素降解條件，可以考慮使用水平式量測方法作為電容響應變化的量測方法。

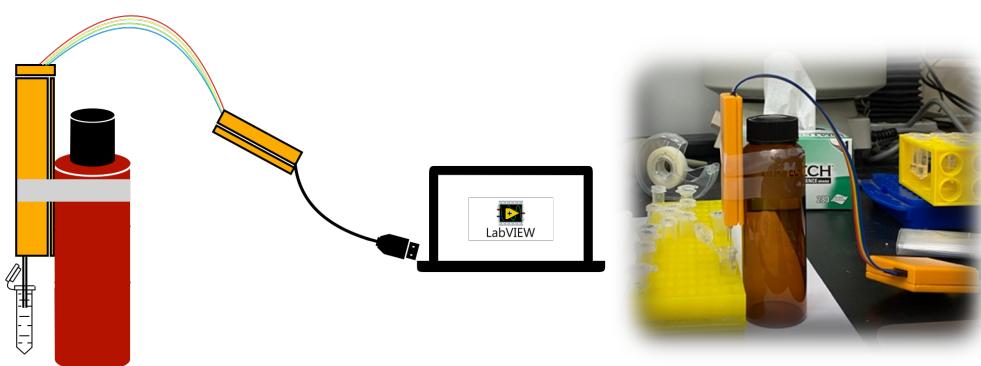


圖 3-11、垂直式量測架構示意圖。

垂直式插入量測，電容式感測器與電腦程式連接，再將披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極浸入微量離心管中。左圖：示意圖，右圖：實際量測照片。



## LabView Program

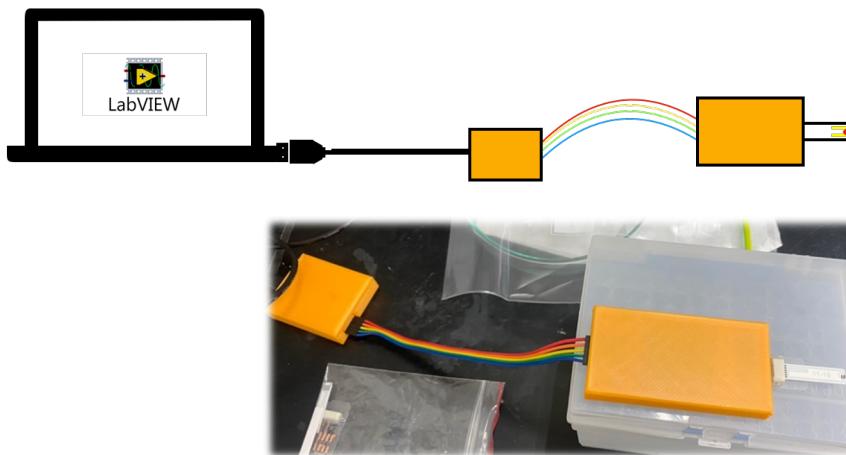


圖 3-12、水平式量測架構示意圖。

將電容式感測器平放並連接電腦程式，使用微量吸管將溶液滴至網版印刷碳膠電極的量測點。上圖：示意圖，下圖：示意操作照片。



### 3.3 網版印刷碳膠電極披覆薄膜製備

製備醋酸纖維薄膜前，首先須測定旋轉塗布機之轉速以及定義製程參數，達到最佳披覆薄膜條件，因此測試不同溶液的濃度、轉速和時間參數製作的醋酸纖維薄膜，評估絕緣條件適合後續量測，且定薄膜品質鑑定流程確認薄膜的緻密性、平坦度等，避免薄膜的不穩定影響後續實驗量測結果。

#### 3.3.1 網版印刷碳膠電極

網版印刷碳膠電極在工業上可以大量製造、自行設計印刷墨層的厚度，在電路設計上較彈性，在電化學生物感測系統中，經常使用網版印刷碳膠電極（圖 3-13 示意）作為量測端，因其成本低、製程簡單、一次性等，在可拋棄式感測系統中方便應用。而本研究使用配合 Cap-senosr 整合式電容感測器系統設計的電極圖案，後續在網版印刷碳膠電極的量測點上披覆醋酸纖維薄膜。



圖 3-13、實驗室設計之網版印刷碳膠電極示意圖。



### 3.3.2 旋轉塗布披覆醋酸纖維薄膜

本實驗利用旋轉塗布的模式，透過磁碟轉盤高速旋轉的離心力，將基材上的液狀材料進行厚度均勻化。影響旋轉塗布的參數分成三個面相：基材、塗料、製程參數，首先基材的尺寸、形狀、表面輪廓影響後續塗布塗料旋塗的均勻度，而塗料的黏度、揮發速度、固含量、表面張力等性質，影響旋塗後的厚薄度，製程參數：轉速、旋轉時間、加速度等是關鍵影響塗布結果的參數。（如圖 3-14 示）

### 旋轉塗布流程圖

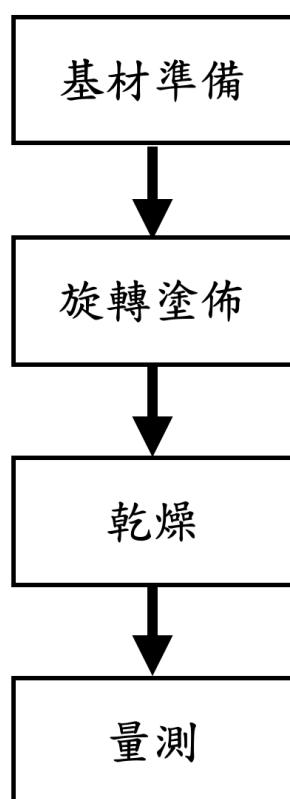


圖 3-14、旋轉塗布之製程步驟

確認電極表面乾淨後，使用旋轉塗布機進行旋塗後風乾，即可測試披覆後的薄膜品質。



製備 50 mg/ml 醋酸纖維素溶液和 25 mg/ml 醋酸纖維素溶液(溶劑為丙酮)，將配置之醋酸纖維素溶液分裝在微量離心管中，依據每次欲使用的量，避免重複開啟容器造成丙酮之揮發，影響每次實驗溶液的黏稠度。而自製旋轉塗布機之轉速測定如圖 3-15 所示，利用轉速計定量可變電容對應之圈數以及其電壓值與轉速的關係（如表 3-3 所示）。

表 3-1 為初步定義之製程參數，第一步取微量吸管滴 5  $\mu\text{l}$  50 mg/ml 醋酸纖維素溶液，覆蓋在黏在自製旋轉塗布機（如圖 3-8 所示）的網版印刷碳膠電極的量測點上，套用表 3-1 之轉速與旋轉秒數，參數 2 為增加滴在量測點上的溶液量。

表 3-2 之參數 3 和參數 4 欲堆疊多層薄膜使厚度增加並延長薄膜的降解時間，且改變磁碟之旋轉方向欲達到旋塗過程薄膜的均勻度。參數 5、參數 6、參數 7 實驗設計 50 mg/ml 醋酸纖維素溶液和 100 mg/ml 醋酸纖維素溶液與順逆時針的旋轉調整製程參數。實驗設計概念：第一次的旋塗滲入網版印刷碳膠電極之縫隙（孔洞）中，第二、三次旋塗形成完整的薄膜，參數 8、參數 9、參數 10、參數 11 為固定旋轉參數，控制變因為醋酸纖維素溶液濃度，結果與討論將深入講解各參數披覆後薄膜的成功率、厚度和電容響應。

表 3-2、旋轉塗布初步設計之參數。

	<b>First Drop</b>	<b>Second Drop</b>
Parameter 1 (5 $\mu\text{l}$ )	1900 rpm, 40sec	3750 rpm, 60 sec
Parameter 2 (6 $\mu\text{l}$ )	1900 rpm, 40 sec	3750 rpm, 60 sec

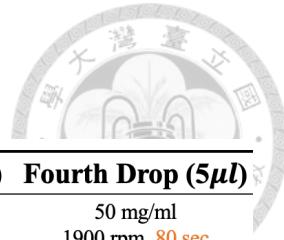


表 3-3、旋轉塗布製程的參數調整。

	<b>First Drop (6<math>\mu</math>l)</b>	<b>Second Drop (6<math>\mu</math>l)</b>	<b>Third Drop (5<math>\mu</math>l)</b>	<b>Fourth Drop (5<math>\mu</math>l)</b>
Parameter 3	50 mg/ml 1650 rpm, 20 sec	50 mg/ml 1650 rpm, 40 sec	50 mg/ml 1900 rpm, 60 sec	50 mg/ml 1900 rpm, 80 sec
Parameter 4	50 mg/ml 1650 rpm, 30 sec 順	50 mg/ml 1650 rpm, 30 sec 逆	50 mg/ml 1900 rpm, 60 sec 順	50 mg/ml 1650 rpm, 60 sec 逆
Parameter 5	50 mg/ml 1650 rpm, 30 sec 順	50 mg/ml 1650 rpm, 30 sec 逆	50 mg/ml, 1900 rpm, 60 sec 順	
Parameter 6	100 mg/ml 1650 rpm, 40 sec 逆	100 mg/ml 1650 rpm, 40 sec 順	100 mg/ml 1900 rpm, 60 sec 順	
Parameter 7	50 mg/ml 1900 rpm, 40 sec 順	100 mg/ml 3750 rpm, 60 sec 順		
Parameter 8	50 mg/ml, 1650 rpm, 40sec	70 mg/ml, 1900 rpm, 60sec		
Parameter 9	70 mg/ml, 1650 rpm, 40sec	70 mg/ml, 1900 rpm, 60sec		
Parameter 10	70 mg/ml, 1650 rpm, 40sec	100 mg/ml, 1900 rpm, 60sec		
Parameter 11	50 mg/ml, 1650 rpm, 40sec	50 mg/ml, 1900 rpm, 60sec		

表 3-4、旋轉塗布機之可變電容與對應電壓的轉速。

<b>Voltage</b>	<b>RPM</b>
0.2 V	852.4
0.5 V	1654
1.2 V $\frac{1}{2}$ loop	1932
2.3 V $\frac{3}{4}$ loop	3740
4 V	9239

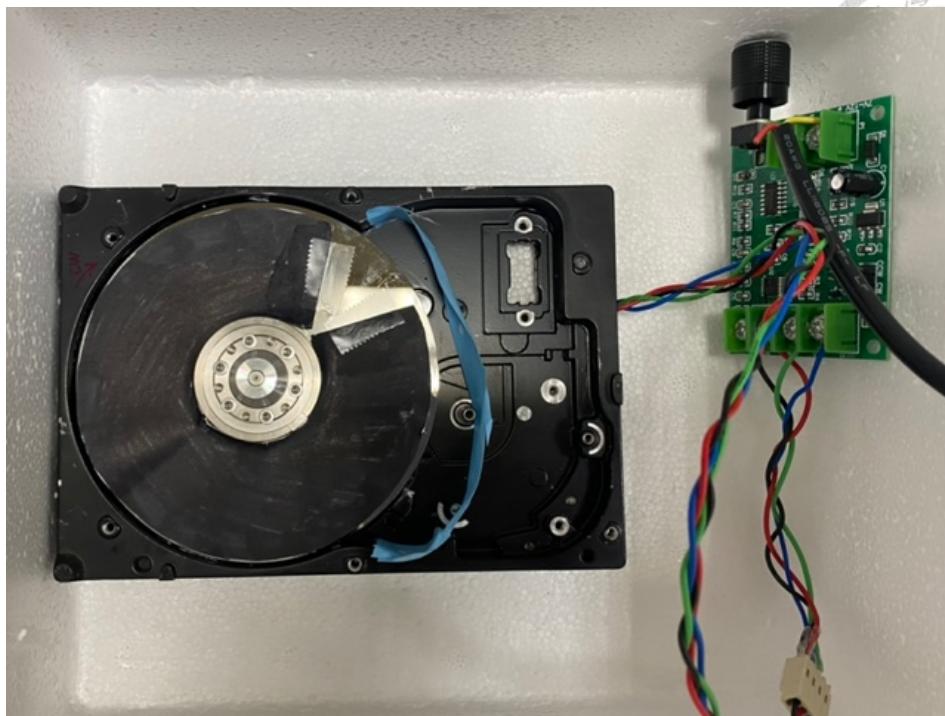


圖 3-15、旋轉塗布機的轉速測定。

利用轉速計（Digital Tachometer AS926）測量自製旋轉塗布機之轉速，上圖將反光面貼住留下一固定形狀，下圖利用保麗龍盒遮光。



### 3.3.2 浸潤式披覆醋酸纖維薄膜

如圖 3-16 所示將 100 mg/ml 醋酸纖維素溶液分裝在微量離心管中，計算網版印刷碳膠電極浸潤於溶液中的秒數，取出在實驗室流通環境下風乾便完成製程。影響製程之實驗條件為浸泡於溶液中的時間，結果與討論將時間對於薄膜厚度的分析詳盡解釋，而此浸潤式披覆製程為後續實驗降解醋酸纖維薄膜使用的製程手法。

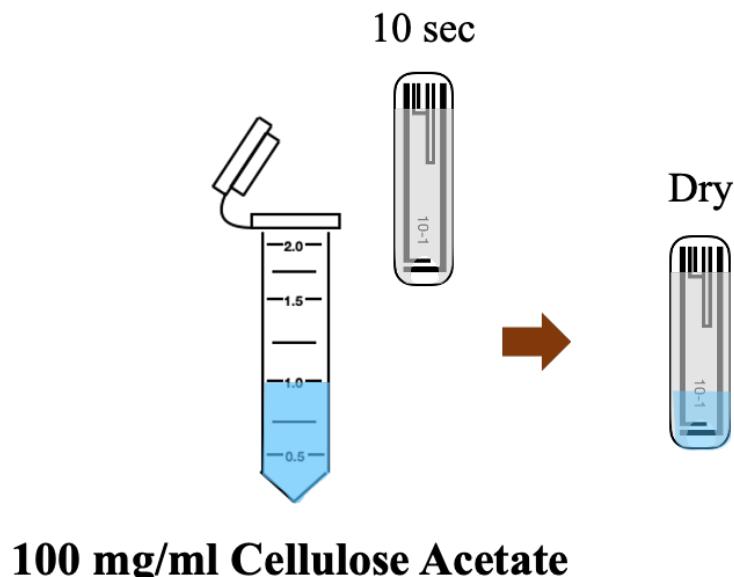


圖 3-16、浸潤式披覆製程步驟示意圖。

調配醋酸纖維素溶液分裝進一次性的微量離心管，將網版印刷碳膠電極浸入溶液中後風乾並進行品質管理檢測披覆薄膜的穩定性。



## 3.4 披覆薄膜之可行性評估

### 3.4.1 披覆薄膜之品質管理

披覆醋酸纖維薄膜之網版印刷碳膠電極需透過品質管理流程，確認每次披覆之薄膜的穩定性和一致性，確認薄膜可行性的品質管理流程如圖 3-17 所示，披覆醋酸纖維薄膜後在室溫下風乾，隨後浸泡在中性緩衝液（pH 7 磷酸緩衝液）中 1 小時，確認薄膜完整黏附在網版印刷碳膠電極上，維持薄膜的絕緣性，以免因長期浸泡在溶液中薄膜產生不穩間接影響電容值響應，以此確認後續實驗過程中，欲降解的醋酸纖維薄膜電容值變化之可信度。

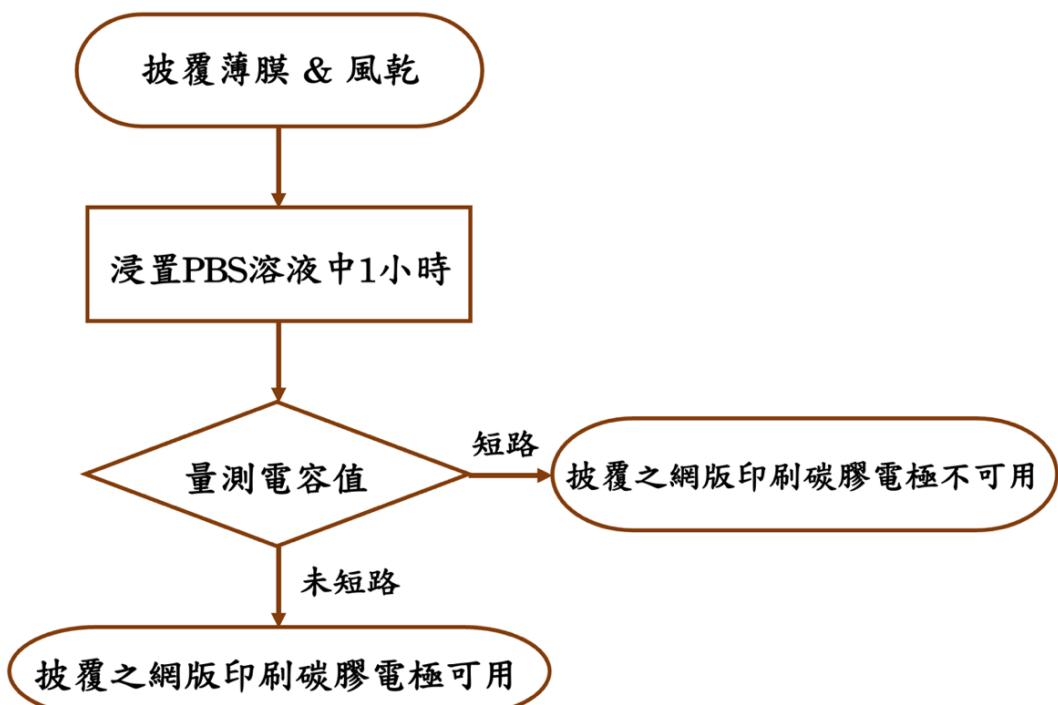


圖 3-17、披覆醋酸纖維薄膜之品質測定流程圖。

披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極風乾後，浸泡在中性磷酸緩衝液中 1 小時，測試薄膜絕緣性，若是量測到的電容值穩定即通過品質管理流程。



### 3.4.2 披覆醋酸纖維薄膜之網版印刷碳膠電極的穩定性

利用浸潤方法披覆醋酸纖維薄膜在網版印刷碳膠電極上，並且依照品質測定流程確認披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極之可行性，再經由浸置在中性 pH 7 溶液中 35 天觀測醋酸纖維薄膜的電容值變化，確認醋酸纖維薄膜長期在中性溶液中維持穩定性。因此實驗設計將披覆醋酸纖維薄膜之網版印刷碳膠電極浸置在溶液中每 7 天為一個量測點，持續放置 1 個月之電容值變化作圖，此圖電容值的計算為儀器初始值加上量測到之電容值（沒有進行實際電容值的計算）

## 3.5 醋酸纖維薄膜之物性與化性

本實驗選擇披覆醋酸纖維薄膜作為降解材料，欲透過醋酸纖維薄膜在不同降解條件下的物性與化性變化，披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在電解溶液中產生電容響應後電容值改變。因此，以下實驗設計分為物性與化性，分別探討醋酸纖維薄膜降解過程中之變化，深入探究影響電容響應之可能原因。

### 3.5.1 醋酸纖維薄膜之物性分析

實驗過程中發現，醋酸纖維薄膜厚度因浸泡在溶液中降解時間不同而產生變化而影響電容響應。因此，實驗設計挑選浸潤式披覆醋酸纖維薄膜厚度表現一致之網版印刷碳膠電極做三重複實驗，並且記錄其在 pH 5 檸檬酸緩衝液的環境下降解後的電容值和厚度，如圖 3-18 利用游標卡尺：精準度為單位毫米之小數點後兩位，粗略量測醋酸纖維薄膜厚度變化與電容值變動百分比的關係。另外使用超深度 3D 深度測定顯微鏡 VK-9510，透過雷射掃描方式照射網版印刷碳膠電極的表徵資訊，以及做個細節的薄膜厚度和薄膜表面分佈情形的觀察，結果與討論會詳細說明之。

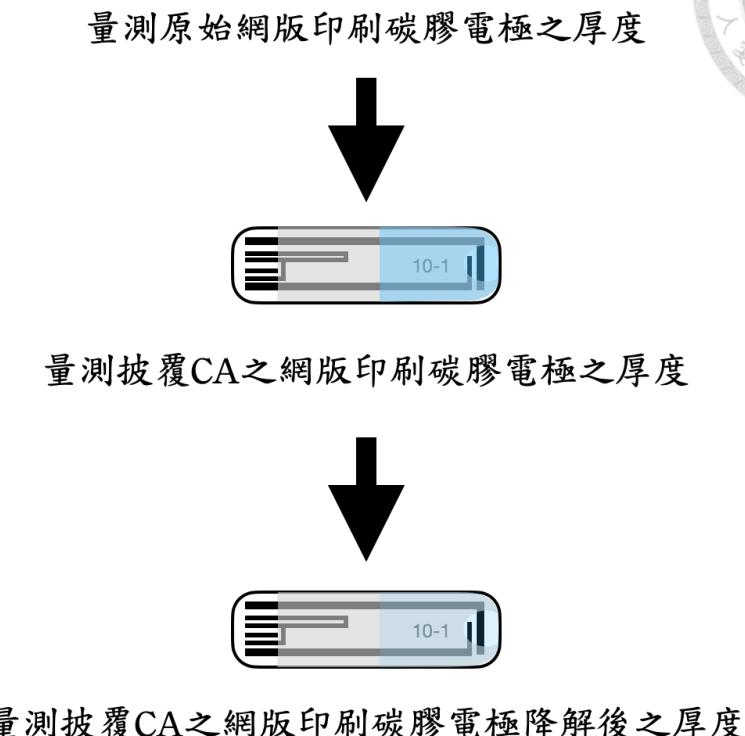


圖 3-18、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極物性分析方法。

在固定化學條件 (pH5 檸檬酸緩衝溶液) 下降解醋酸纖維薄膜，並且量測電容值，作醋酸纖維薄膜厚度與電容響應的關係圖。

### 3.5.2 醋酸纖維薄膜之化性分析

醋酸纖維薄膜降解的化學過程為脫乙酰化，文獻回顧脫乙酰化過程中透過傅立葉轉換紅外光譜或全反射傅立葉紅外光譜照射醋酸纖維薄膜之化學鍵變化 (Tulos et al., 2019)。因此實驗設計在 pH 4 檸檬酸緩衝液中降解披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極，分別取 0、1、2、3 小時降解後的網版印刷碳膠電極量測。



### 3.6 披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極之降解

為了驗證醋酸纖維薄膜在化學、酵素、微生物環境中能夠被有效降解，實驗設計逐步探討理想條件下醋酸纖維薄膜降解速率，分別在化學條件、酵素條件或是綜觀下化學加上酵素的溶液中，根據量測披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極電容值之變化，逐一分析其呈現的訊息。

#### 3.6.1 化學降解

配置高酸鹼度溶液模擬極性的環境，本實驗使用 1M NaOH (pH 13)，檸檬酸緩衝液 (pH 4、pH 5、pH 6)，中性三羥甲基胺基甲烷緩衝液 (pH 7) 和中性磷酸緩衝液 (pH 7)，觀察披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在酸鹼環境中化學降解情形，作為酵素溶液的降解電容響應背景值之探討，了解在極端與理想單純的化學溶液條件下，醋酸纖維薄膜的降解表現。

#### 3.6.2 酵素降解

利用實驗室現有化學物質：纖維酵素、澱粉酵素、幾丁質酵素和葡萄糖苷酵素調配適當溶劑製作有效活性的酵素溶液。首先，探討纖維酵素對醋酸纖維薄膜的降解，依據文獻回顧 pH 5 檸檬酸緩衝溶液為纖維酵素的最佳活性條件，為了深入討論 pH 值影響纖維酵素的活性表現，分別調配 pH 4 和 pH 6 檸檬酸緩衝溶液進一步探討前後 pH 條件下纖維酵素降解醋酸纖維薄膜的效率。接著討論纖維酵素、澱粉酵素、葡萄糖苷酵素三種酵素，分別在各自活性表現最佳的化學緩衝液條件下降解醋酸纖維薄膜。文獻回顧 pH 7 三羥甲基胺基甲烷緩衝液為澱粉酵素最佳活性表現之環境，pH 6 檸檬酸緩衝溶液為葡萄糖苷酵素最佳活性表現之環境，圖 4-6 (上) 為各自理想環境之緩衝液中添加酵素，在此環境下降解披覆醋酸纖維薄膜之網版印刷碳膠電極，三種酵素之濃度皆為 2 units/ml。



最後在實際採樣土壤降解前，模擬實際土壤的 pH 值，分別在 pH 6、pH 7、pH 8 磷酸緩衝溶液中分開配置三種酵素：纖維酵素、澱粉酵素、葡萄糖苷酵素，作為實際不同菌量土壤降解的前置模擬。

### 3.6.3 土壤樣本降解

採樣台大農場周邊 ( $25^{\circ}00'57.3''N$   $121^{\circ}32'28.4''E$ ) 花圃之土壤，並且將實驗分為滅菌、未滅菌組以及加入菌根菌肥料組如圖 3-19 所示，探討土壤中綜合微生物降解披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極的電容響應變化，並且利用現行二乙酸螢光分析方法驗證土壤中總微生物含量。初步做出整合電容式感測器系統實際應用上的結果與討論。圖 3-20 為實際包埋網版印刷碳膠電極入土壤之外部照片，將土壤分成三組，第一組是未經前處理之原始採樣土壤，第二組則是裝進乾淨的空盒裡並且用高壓蒸氣消毒鍋 (EZ SS-50E) 機滅菌後密封保存之土壤，第三組為添加菌根菌肥料 (叢枝菌根菌 8-06, Advanced Green Biotechnology Inc, 台灣屏東縣) 的土壤，原始土壤和菌根菌肥料的比例為 10 : 1，將菌根菌肥料和土壤混均勻後續使用二乙酸螢光分析法分析土壤總微生物含量。

實際包埋披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極進土壤中，利用 3.6.5 節討論保護網版印刷碳膠電極不受潮的機構設計，保護網版印刷碳膠電極的裸露碳線路，以免其毀損造成量測的困難。為了確保每次測量的背景值相同，量測手法：在中性磷酸鹽緩衝液中 (pH7)，測量披覆醋酸纖維薄膜之網版印刷碳膠電極的電容響應，設計在不同菌量的土壤中，包埋長時間觀察醋酸纖維薄膜降解情形，蒐集相對應的電容響應與時間做圖後討論降解速率和土壤菌量的關係。

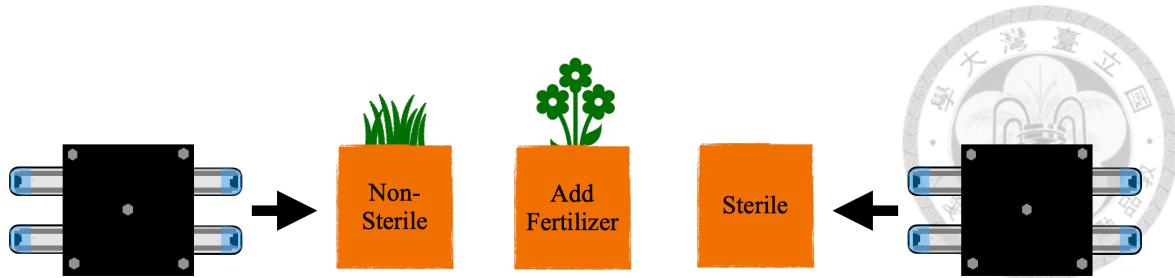


圖 3-19、土壤環境之降解實驗設計示意圖。

分別為未滅菌的原始土壤、添加菌根菌肥料的土壤與滅菌的土壤。



圖 3-20、採樣土壤之實際照片。

未滅菌土壤（左）放置在實驗室通風環境與滅菌土壤（右）經過高溫高壓滅菌機滅菌之土壤以盒裝密封。



### 3.6.4 二乙酸螢光素方法分析土壤中微生物含量

現行學者常用二乙酸螢光素方法(後續簡稱FDA)檢測土壤中總微生物含量，以此方法驗證土壤菌量，在不同菌量環境下降解醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極，其電容響應有不同的趨勢，作法參考(Patle et al., 2018)文獻中的實驗流程，並且根據實驗室現有儀器做調整。

事先調配試劑：

60 mM PBS (pH 7.6)、氯仿(chloroform) / 甲醇(methanol) (2:1)、 $1000 \mu\text{g}/\text{ml}$  FDA stock solution (儲存在-20 °C)

實驗操作流程：

1. 採樣 2.5 g 的土壤(未作過濾等處理)
2. 加入 15 ml 的 60 mM PBS (pH 7.6)
3. 0.2 ml 的  $1000 \mu\text{g}/\text{ml}$  FDA (啟動反應)
4. 放置在 30 °C 烘箱 for 30 min (每十分鐘取出搖晃)
5. 從烘箱取出加入 15 ml 氯仿/甲醇(終止反應)
6. 將試管搖晃均勻
7. 2000 rev/min 離心 3 min
8. 過濾上清液後，利用分光光度計量測 (490 nm)



### 3.6.5 包埋網版印刷碳膠電極之機構設計

為防止網版印刷碳膠電極包埋在潮濕土壤環境中，裸露電極處被土壤侵蝕造成電極連接晶片接觸不良，因此設計能夠同時保護電極裸線處也同時能夠順利降解醋酸纖維薄膜的機構。

設計理念為插槽，使網版印刷碳膠電極之電路處能夠緊密插入機構內，使用矽膠墊在電極周圍增加其緊密度，上下板件與電極能夠緊密地貼合，經過極端環境測試不同材料的密封性，最終使用底盒為塑膠（使用 3D 列印印製），上蓋則是透明壓克力材料（雷射雕刻加工），並設計孔洞可鎖上螺絲螺帽（3 mm），為了給予上下板壓力，使兩板能夠上下緊密貼合。（如圖 3-21 所示）

為驗證機構的保護效能，定義機構若在水域中浸泡 24 小時後水未滲入機構中則設計成功，如圖 3-22 所示，在網版印刷碳膠電極銜接晶片處（裸線）放入吸血紙以利清楚的觀察到水是否慎入（吸血紙吸水後變色），實驗後得到在極端的水域環境中此設計之成功率為 1/2。實驗過程中發現水滲入原因為矽膠墊之緊密度不佳，因此製作密合機構與網版印刷碳膠電極的矽膠墊，圖 3-23 模擬潮濕土壤環境包埋機構與網版印刷碳膠電極，測試機構防止水分滲入造成電極損毀。實驗設計將插有網版印刷碳膠電極之機構放入土壤中，澆水使土壤表面呈現濕潤狀態，包埋超過 2 天後確認機構內未有水份滲入，因此確認此機構設計可以完善的保護網版印刷碳膠電極，後續使用此設計進行土壤降解披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極實驗。

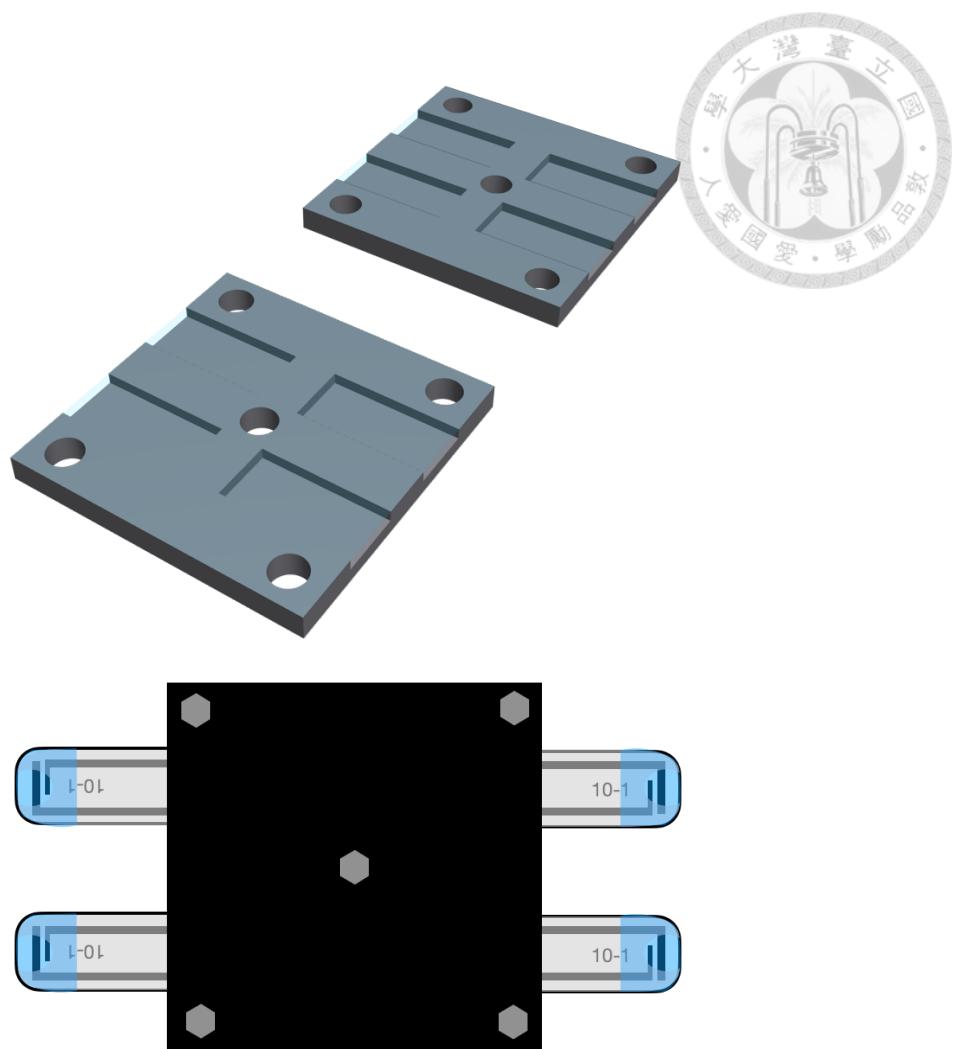


圖 3-21、包埋網版印刷碳膠電極機構設計示意圖。

(長寬 3.5 公分) 底板：使用 3D 列印加工，材料為 PLA，頂板：使用雷射雕刻機加工，材料為透明壓克力。

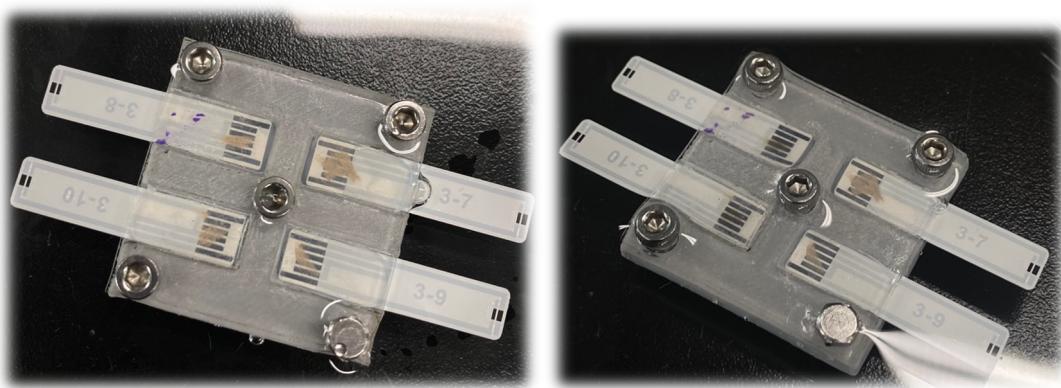


圖 3-22、水域驗證機構保護網版印刷碳膠電極的能力。

左圖：放入水域 0 小時、右圖：放入水域超過 24 小時。



圖 3-23、潮濕土壤環境驗證保護網版印刷碳膠電極之機構設計。

放入潮濕土壤環境中 2 天驗證機構設計是否能夠防止水份滲入，保護網版印刷碳膠電極之裸露電極不受破壞。

## 第四章 結果與討論



### 4.1 電容式量測模組

#### 4.1.1 CIN1 EXCB 模組系統校正

CIN1 EXCB 量測模式串聯 5 pF 的電容在系統中，由串聯市售貼片電容給予系統已知的電容值，繪製校正曲線圖 4-1，得知此量測系統在 0 到 100 pF 的量測範圍內可以讀取到電容值，但 20 到 100 pF 的輸入電容量測曲線呈現對數函數的趨勢，犧牲了測量的準確度但量測範圍較廣，因此能夠量測到較大範圍的電容值，但無法準確的讀取到實際值。而設計此模式原因為薄膜在絕緣度不良（即將崩解）的情形下，因系統串聯 5 pF 電容可以主導系統電容值，讀值不會直接呈現錯誤，可以觀測在特定情形（薄膜崩解、短路）或是絕緣層產生變化時之電容數值變化。

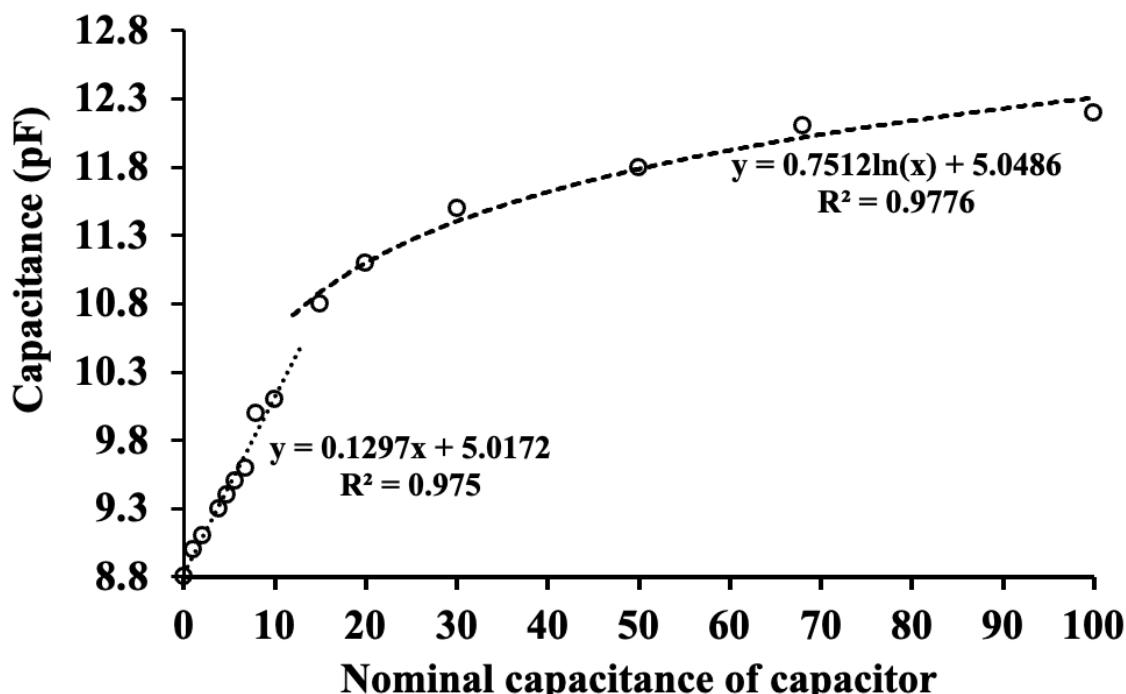


圖 4-1、CIN1 ECXB 之校正曲線。

圓形量測點 x 軸為系統串聯市售貼片電容（已知電容值），y 軸為 Cap-sensor 系統讀取值，繪製出的 CIN1 EXCB 模組校正曲線圖。



#### 4.1.2 CIN2 EXCA 模組系統校正

CIN2 EXCA 的量測模式為未串聯直接量測，由圖 4-2 之 0 到 10 pF 校正曲線圖可得知，CIN2 EXCA 的量測模式雖然可偵測之電容值範圍較小，偵測極限落在 10 pF 附近，相較於 CIN1 EXCB 的量測模式斜率較大，在低電容的量測範圍內可以得到較準確的電容值，敏感度： $CIN2\text{ EXCA} > CIN1\text{ EXCB}$ ，而 CIN1 EXCB 在低電容的偵測範圍內變化量極小，難以準確得知披覆後的網版印刷碳膠電極之準確電容值，相對 CIN2 EXCA 的感測模式解析度較差，因此在本研究中的數值量測傾向使用 CIN2 EXCA 的模組量測。由實驗結果得知，披覆後的網版印刷碳膠電極之電容值會落在量測電容值 10 pF 左右，是 CIN2 EXCA 系統的有效偵測範圍，故使用 CIN2 EXCA 的量測結果對於本實驗較有利於分析實際電容值的變化。

後續實際電容值之運算，套用 CIN2 EXCA 之校準曲線計算之函數  $x=(y-5.1153)*1.04$ ，如圖 4-2 所示，其中  $y$  為儀器量測到之值加上儀器初始值， $x$  則為實際電容值。電容值變動百分比 (Variable Percentage) 之計算則是將量測到之電容響應之數據經過計算成實際電容值後，第一筆資料也就是初始值 (0 小時)，做變動百分比計算  $(B_i-A)/B_i$ ，其中  $B_i$  為每筆量測到的數據， $A$  為初始值數據，進行變動百分比之計算原因為避免每片網版印刷碳膠電極之披覆情形不同造成誤差。

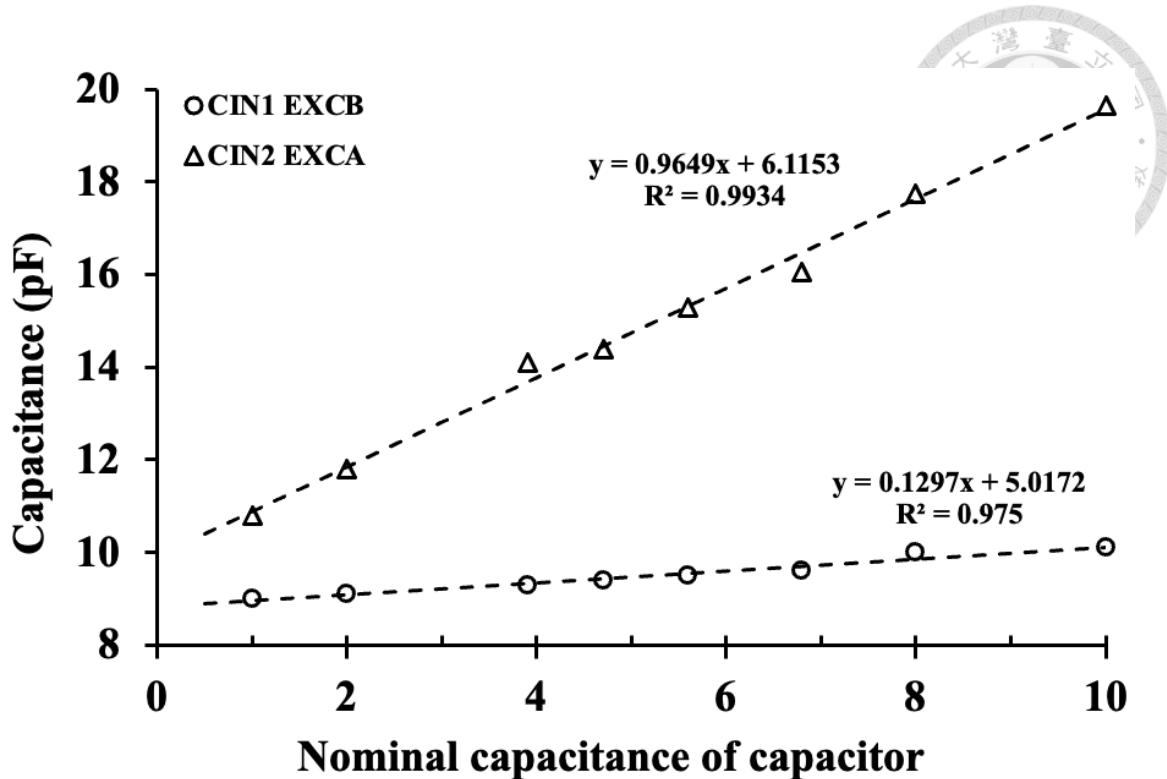


圖 4-2、CIN1 和 CIN2 量測模組在 10 pF 下的校正曲線比較。

圓形量測點為 CIN1 EXCB，三角形量測點為 CIN2 EXCA，兩者分別串聯市售貼片電容（x 軸），y 軸則為 Cap-sensor 讀取到的電容值，將數據整理後得到的校準曲線圖。



## 4.2 披覆製程之選擇

丙酮為溶劑調配醋酸纖維溶液進行網版印刷碳膠電極上的薄膜披覆，本實驗披覆製程經歷旋轉塗布技術到浸潤技術，欲使用旋塗定義製程參數且固定溶液黏度製作相近厚度並維持穩定性的醋酸纖維薄膜，後續發展手法更簡潔的浸潤技術。浸潤披覆的醋酸纖維薄膜穩定度高，故作為後續實驗之披覆製程選擇，以下會分別探討兩種披覆手法的製程參數調整過程，以及定義最終選用之製程參數。

### 4.2.1 旋轉塗布披覆

表 3-1 所示之參數 1、參數 2 的旋轉塗布製程參數，兩種參數製作的薄膜穩定度皆不高，經過圖 3-17 的薄膜品質控管流程驗證後皆失敗，無法提供後續的實驗量測。後續嘗試使用稀釋一倍的 25 mg/ml 醋酸纖維溶液旋塗，由肉眼可見醋酸纖維溶液風乾後並未完整黏附在網版印刷碳膠電極上形成完整的薄膜。

表 3-2 所示參數 3、參數 4 結果顯示，在四層的披覆過程中薄膜的不穩定性提高，後續決定提高溶液的黏稠度，期望能夠使醋酸纖維溶液的流動性降低達到披覆的完整性。參數 5、參數 6、參數 7 理想上披覆後的醋酸纖維薄膜應平坦的黏附在量測點上，實際卻因 100 mg/ml 醋酸纖維溶液對於旋轉塗布製程來說過於黏稠，旋轉的過程醋酸纖維溶液在量測點表面形成塊狀，而非完整的薄膜。50 mg/ml 醋酸纖維溶液披覆三層（參數 5）後的穩定性依舊不佳，成功率為 4/8，參數 7 使用 50 mg/ml 醋酸纖維溶液、100 mg/ml 醋酸纖維溶液溶液披覆，經過薄膜品質流程鑑定僅有 3/8 之成功率。（如表 4-1 所示）

在先前的製程參數中發現 50 mg/ml 醋酸纖維溶液和 100 mg/ml 醋酸纖維溶液是相對極端的溶液濃度，於是調配 70 mg/ml 醋酸纖維溶液，並且設計實驗（參數 8、參數 9、參數 10、參數 11）欲測試溶液黏稠度對於披覆醋酸纖維薄膜之影響。結果顯示參數 8、參數 9 之成功率僅有 3/8，而參數 10、參數 11 之成功率為 1/4，且薄膜之電容值量測過程中表現不穩，表示薄膜之緻密度、平坦度等不佳。



旋轉塗布機之轉速參數調控、溶液的配方皆可能影響薄膜的品質，塗料的黏度、表面張力、流動性等皆會影響薄膜的形成，黏度過高或是表面張力過大可能會造成塗層不均勻或造成薄膜缺陷，轉速過快也可能導致塗層不均勻或是產生氣泡。欲透過旋轉塗布得到完整且均勻的薄膜，製程手法調整可朝向溶液配方思考，適當的旋轉時間、基版的表面處理、以及其他塗料濃度等參數進行調整，在微小量測點上完整的披覆薄膜。

表 4-1、旋轉塗布製程參數 5 到參數 12 的成功率。

成功率定義為通過圖 3-17 的薄膜品質測定流程。旋轉塗布的製程手法仍不穩定，欲提升良率需考量溶液配方調整，以及旋轉塗佈機的轉速應考慮加速度的變化量造成的影响。

Parameter	Successful Rate
5	4/8
6	7/8
7	1/8
8	2/8
9	3/8
10	3/8
11	2/8
12	2/8



#### 4.2.2 浸潤式披覆

為了解決旋轉塗布披覆醋酸纖維薄膜再現性、穩定性、成功率低的問題，設計新的披覆製程為首要任務，過程中決定利用 100 mg/ml 醋酸纖維溶液披覆，濃度 100 mg/ml 的醋酸纖維溶液因為黏稠度較高，液體流動性低，相較於旋轉塗佈靜態的手法，以浸潤手法取代旋轉塗布。

浸潤製程是將整片網版印刷碳膠電極浸入欲披覆的醋酸纖維溶液中（如圖 3-16 示），使整個網版印刷碳膠電極的量測點被醋酸纖維完整的包覆，使量測點與側邊保護膠之高低差不會產生縫隙。不會造成降解過程中醋酸纖維薄膜因液體滲入側邊縫隙導致薄膜剝離，影響電容響應變化導致無法觀察單純因降解產生之薄膜物化特性改變。

表 4-2 為近潤披覆製程參數的選擇（浸潤時間），最終選擇 10 秒作為後續的披覆製程參數。10 秒的成功率表現最高，平均電容值在儀器可量測範圍內，視為合適的絕緣厚度，且厚度之標準差相對較小，觀察厚度的差異，超過 30 秒後披覆厚度不增反減，誤差值變大。推測長時間浸潤不會增加醋酸纖維薄膜披覆的穩定性，電容值表現則是相對應於厚度，最終選擇 10 秒作為後續實驗之披覆參數。

接著探討披覆一層及兩層之醋酸纖維薄膜的穩定性及再現性，根據表 4-3 的薄膜性能評估，實驗醋酸纖維薄膜的堆疊影響後續電容響應以及在溶液中的長期量測的穩定性。從表格中的成功率得知披覆兩層醋酸纖維薄膜在網版印刷碳膠電極上會造成薄膜不穩定度上升。薄膜間層與層需更緊密地鍵結，但在此浸潤手法下回溶第二層使整體披覆在網版印刷碳膠電極上的醋酸纖維薄膜失敗率上升（薄膜不穩定提高）。故若要增加初始降解醋酸纖維薄膜的厚度，增加不同的添加劑提高多層薄膜黏附性和穩定性，而本實驗最終選擇浸潤一層醋酸纖維薄膜在網版印刷碳膠電極上，作為後續實驗用的醋酸纖維薄膜披覆電極之製備條件。



表 4-2、浸潤式披覆時間影響醋酸纖維薄膜性能的平均電容值、成功率分析

(N=8)。

底色黃色：強調最佳製程參數之選擇。

超過 30 秒後醋酸纖維薄膜厚度下降，推測浸潤時間增長不會使薄膜厚度增加，因此選擇成功率最高的製程參數（10 秒），且其厚度表現相對穩定，作為最佳製程參數。

	Average Capacitance	Successful Rate	Thickness
5 sec	7.1±0.41 pF	6/8	42.5±5 μm
10 sec	6.4±1.25 pF	7/8	50±8 μm
30 sec	6.08±0.27 pF	6/8	62.5±26.3 μm
60 sec	7.4±1.6 pF	6/8	32.5±17.1 μm

表 4-3、浸潤式披覆 1 層醋酸纖維薄膜和披覆 2 層醋酸纖維薄膜的薄膜性能的平均電容值、成功率、厚度評估 (N=8)。

底色黃色：強調最終選擇披覆 1 層為最佳製程參數。

披覆 2 層醋酸纖維薄膜的製程手法將第一層薄膜風乾後第二次浸潤，為了得到厚度更厚的醋酸纖維薄膜，但實驗證實 2 層醋酸纖維薄膜披覆使薄膜整體不穩定度提高，崩解率上升，層與層間的鍵結需要更緻密的實驗設計。

	Average Capacitance	Successful Rate	Thickness
1 Layer	6.4 ± 1.25 pF	7/8	50 ± 8 μm
2 Layer	5.75 ± 0.85 pF	3/8	150 ± 26 μm



#### 4.2.3 醋酸纖維薄膜在中性溶液中的穩定性

探討披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在中性溶液 (pH7 磷酸緩衝液) 中，長期浸置後醋酸纖維薄膜的穩定度，討論醋酸纖維薄膜結構的穩定性。整體實驗架構下，醋酸纖維薄膜需在不同濃度、pH 值、酵素溶液中長期浸泡，觀測其降解後物化性值變化產生的電容值響應。因此醋酸纖維薄膜的強健度很重要，間接影響後續不同條件的實驗的數據可信度，若是在實驗的過程中醋酸纖維薄膜的結構崩解，或是披覆的不平整會影響電容值響應（額外因素）。

圖 4-3 顯示 0 到 35 天的浸置，量測數據之時間間隔為 7 天，醋酸纖維薄膜的電容值變化極小，電容響應僅有些微的浮動，參考圖 4-22 在第 35 天電容值變化量為  $0.04 \pm 0.03\%$ ，證實浸潤披覆手法製作出的醋酸纖維薄膜品質可以供後續做化學、酵素及土壤降解實驗。

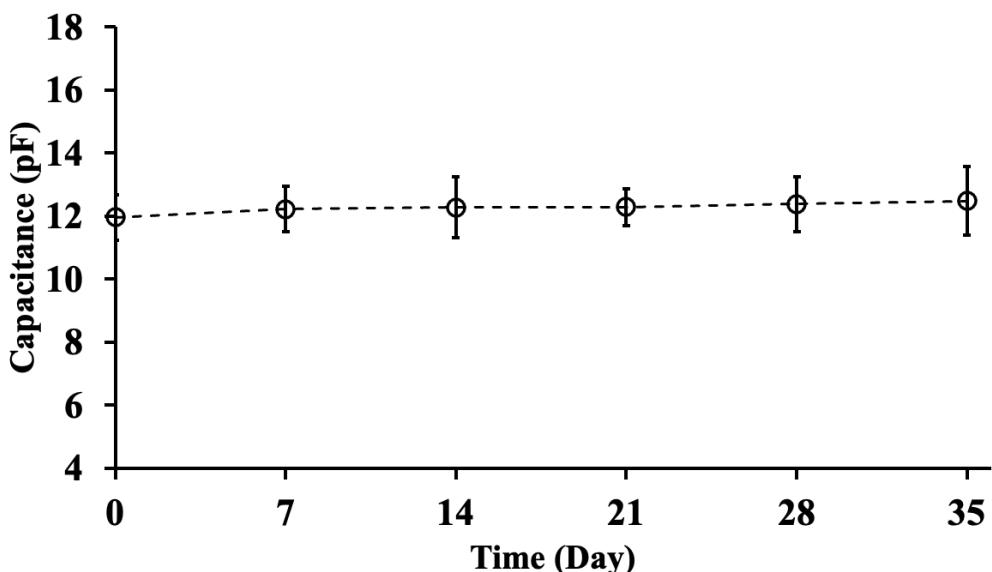


圖 4-3、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在中性溶液中浸泡 35 天的電容值與時間的關係作圖 ( $N=3$ )。

圓形量測點：三組網版印刷碳膠電極長期浸泡在中性溶液 (pH 7 磷酸緩衝液) 中，每隔 7 天取出量測醋酸纖維薄膜的電容響應，繪製時間與醋酸纖維薄膜電容響應之關係圖。



### 4.3 化學降解

醋酸纖維薄膜（降解材）在土壤中受到化學作用影響，故初步實驗設計為了解醋酸纖維薄膜在理想的實驗室環境下，控制變因為單純 pH 值不同的化學溶液，將披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極浸泡在溶液中觀測醋酸纖維薄膜的降解情形，探討在液相化學條件對於醋酸纖維薄膜降解的影響。

研究結果顯示，最終披覆製程 1 層醋酸纖維薄膜條件下，薄膜在極鹼溶液 (pH 13) 中經過 1.5 小時後便降解至短路，且在 pH 條件較中性的環境下降解趨勢與文獻回顧醋酸纖維素的降解呈現一致(VOS et al., 1966)，證實醋酸纖維薄膜的穩定性和緻密性足以在化學溶液中逐步降解。（如圖 4-4 所示）

因為醋酸纖維薄膜材料浸泡在液相環境中，相較於固態環境不穩定，所以降解過程電容值的變異誤差大。文獻回顧纖維酵素在 pH 5 條件下酵素活性表現最佳，而實驗結果發現在 pH 5 條件下降解的誤差值最小，隨著溶液 pH 條件遠離 pH 5 誤差值上升，表示環境影響降解故電容值響應變化劇烈，導致披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在 N=3 的情形下重現性差。觀察薄膜降解過程中電容響應之變化，降解過程後段變化量趨近於飽和，若是要探討更長時間的薄膜變化，首要須將披覆薄膜厚度以及強健度提升，薄膜厚度提升可能使薄膜有更高強度，增加薄膜和溶液間的質量傳輸距離，導致降解速率變化的不同，厚度變化也會影響電場分佈和內部電子遷移情況，因此薄膜製程控制除了使薄膜能夠在液相環境中維持其絕緣性及穩定度，確保薄膜的一致性和重現性也是有一定的重要性。

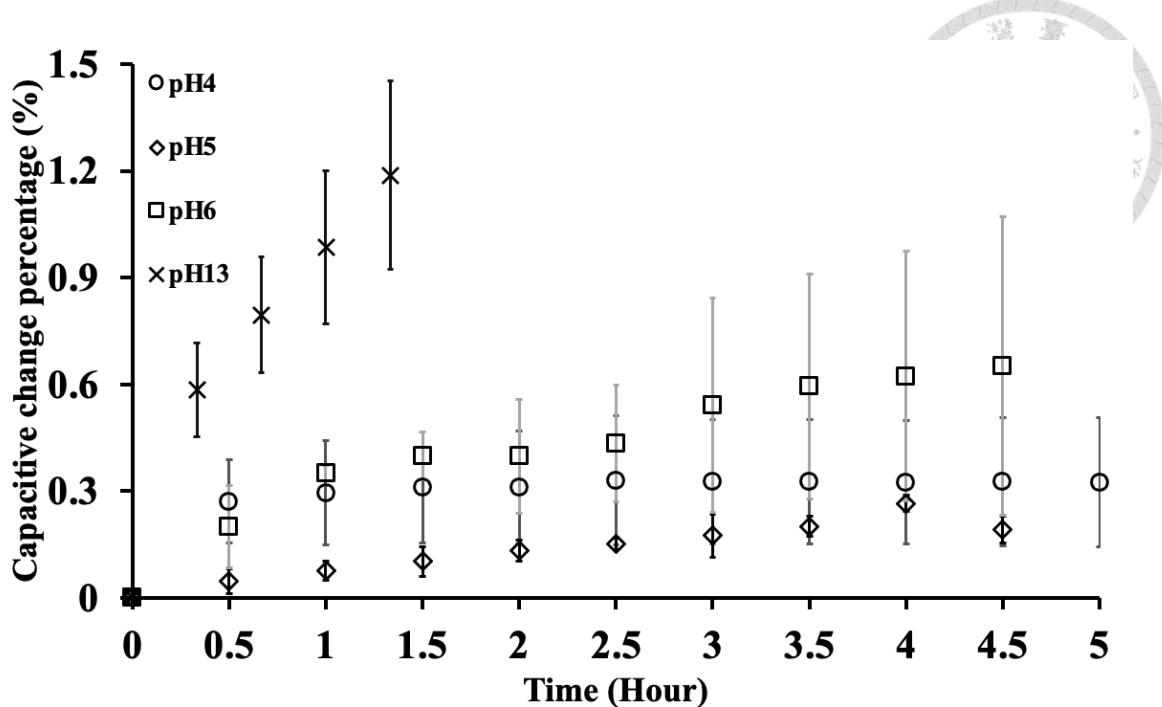


圖 4-4、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在 pH 4、pH 5、pH 6 檸檬酸緩衝溶液、pH 7 三羥甲基氨基甲烷緩衝液和 pH 13 氢氧化鈉溶液中時間與電容值變動百分比的關係圖 (N=3)。

圓形為 pH 4 條件、菱形為 pH 5 條件、方形為 pH 6 條件、叉叉為 pH 13 條件下降解披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極，繪製時間和電容變動百分比之間的關係圖。pH 5 條件降解最平緩且穩定，pH 13 條件最極端，電容響應上升速率最高。



## 4.4 醋酸纖維薄膜降解過程的物性、化性分析

### 4.4.1 物性分析：醋酸纖維薄膜厚度與電容值響應的關係

醋酸纖維薄膜在降解過程中，厚度為電容值響應變化質觀原因。醋酸纖維薄膜披覆在網版印刷碳膠電極上會形成一層薄薄的膜，而不同的降解條件下，薄膜的降解除了材料化性上的變化外，物性上會產生材料的結構以及厚度的變化，因此透過量測整體厚度（醋酸纖維薄膜加上網版印刷碳膠電極），利用游標卡尺（精度為毫米小數點後兩位），整理數據後可得知醋酸纖維薄膜厚度與電容變動百分比的關係圖（圖 4-5 所示），淺談醋酸纖維薄膜的物性與電容變化之相關性。

透過挑選同樣厚度的醋酸纖維薄膜，整體厚度約為 0.33 mm（醋酸纖維薄膜加上網版印刷碳膠電極），將其放在 pH 5 檸檬酸緩衝液中降解，選擇 pH 5 檸檬酸緩衝液的原因如前述，在化學降解的數據呈現上，pH 5 檸檬酸緩衝溶液條件下，醋酸纖維薄膜的降解較平緩（誤差值相對小），於是選擇在較緩和的環境下降解，影響醋酸纖維薄膜厚度的變化以及電容值響應之關係相對其他 pH 值條件下影響較不劇烈。下圖數據為在單一化學條件下降解之粗略性的厚度與電容值變化之關係，呈現電容值變化與厚度之間的相關性  $R^2=0.9855$ 。

醋酸纖維薄膜的降解過程導致材料結構和厚度的變化影響電容響應，薄膜的厚度增加可能使其有更高的強度，但相對也會增加薄膜和溶液間的質量傳輸距離，導致降解速率變化的不同。較厚的薄膜具有較大的表面積和介電質，厚度變化也會影響電場分佈和內部電子的遷移情況。因此薄膜的控制在製程中具有一定的重要性，確保薄膜的一致性和重現性，且開發可靠的方法和技術，是未來需持續研究的重要課題。另外醋酸纖維薄膜的透明度、熱穩定性、機械強度等都和厚度有關，此處我們僅提供粗略性探討厚度和電容響應的關聯，具體醋酸纖維薄膜厚度和電容性能應用等的其他影響，有待通過更多實驗和數據闡述。

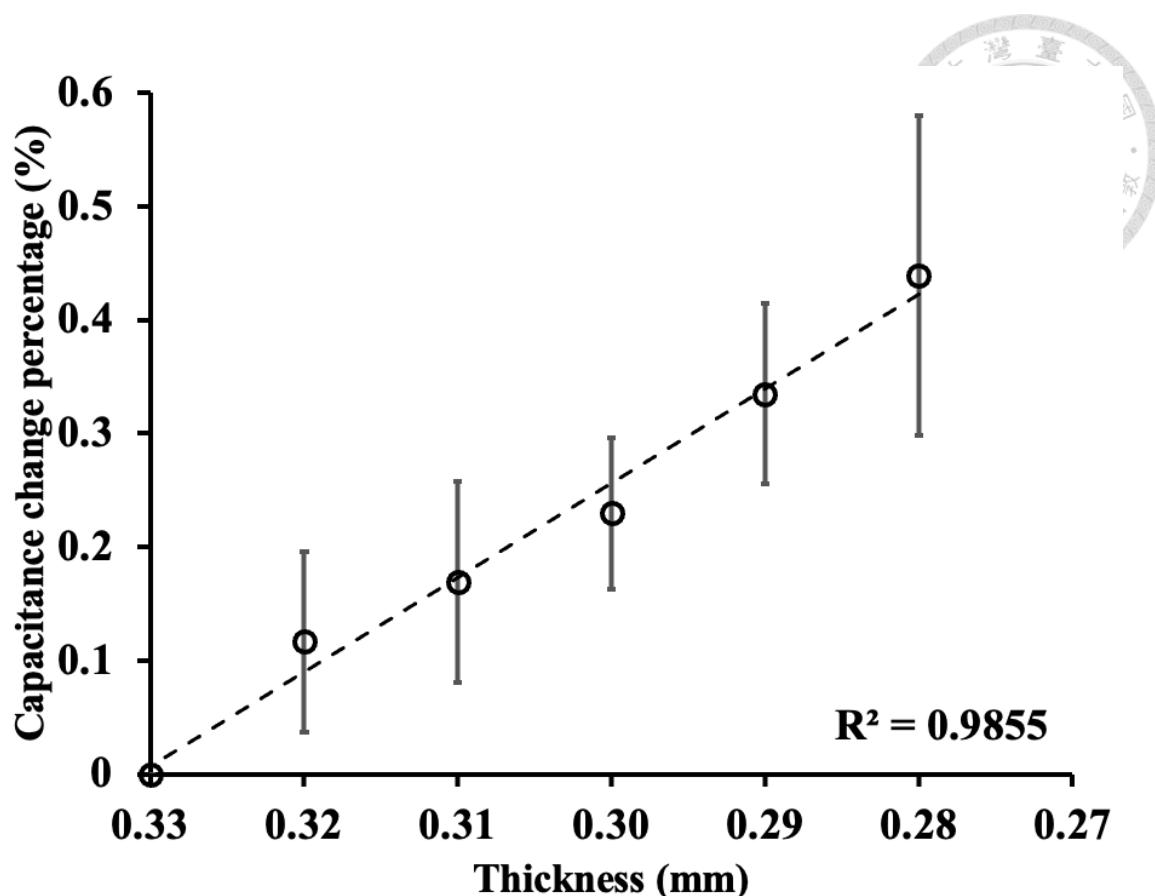


圖 4-5、醋酸纖維薄膜在 pH 5 檸檬酸緩衝溶液降解，醋酸纖維薄膜加網版印刷

碳膠電極的總體厚度與電容值變動百分比的關係圖 ( $N \geq 4$ )。

挑選三組初始披覆醋酸纖維膜厚相同（網版印刷碳膠電極加上醋酸纖維薄膜之總厚度：0.33 mm）的網版印刷碳膠電極，在 pH 5 溶液中降解，間隔 30 分種量測電容值和整體厚度，整理數據後繪製電極整體厚度（醋酸纖維薄膜加上網版印刷碳膠電極）和電容電動百分比之間的關係圖。



#### 4.4.2 物性分析：表面型態量測與醋酸纖維薄膜厚度測定

使用超深度 3D 深度測定顯微鏡（VK-9510），透過雷射掃描照射披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極表徵，圖 4-6 為照射網版印刷碳膠電極的參考電極與工作碳電極和基材的表徵數據與 3D 圖。空白電極的表面較粗糙由圖 4-6 左上圖之數據可觀察到數據雜訊較大，經過計算取 20 到 200 數據點的平均值： $38.68 \pm 3.82 \mu\text{m}$ ，400 到 700 的數據點區平均值： $27.02 \pm 1.6 \mu\text{m}$ ，相對高度差為  $11.66 \mu\text{m}$ ，視為碳電極的原始高度。

圖 4-6 右上圖為醋酸纖維薄膜披覆於網版印刷碳膠電極後照射表面特徵，由數據可得知表面變得相對平整（數據點雜訊降低），經計算 0 到 250 的數據點（去除奇異點）平均值為  $107.68 \pm 0.52 \mu\text{m}$ ，低點取 450 到 700 的數據點（去除奇異點）平均值為  $98.27 \pm 0.69 \mu\text{m}$ ，相對高度差約為  $9.41 \mu\text{m}$ 。披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極左右的高度差不同，推測因右側電極與 PET 保護膜產生凹陷（如圖 4-7 右上示意），經過計算左側的高度差與原始的網版印刷碳膠電極相近且表面特徵與空白電極相同（凹陷處），但醋酸纖維薄膜填充不平整區域使表面更加均勻，薄膜緊密貼附在電極與基材上提高了絕緣度和薄膜的穩定性與附著性。

另外量測醋酸纖維薄膜厚度如圖 4-7 左上示意量測範圍，將網版印刷碳膠電極後端割除（產生水平切線），4-7 的圖表為照射水平切線的高度差數據，分別為三片網版印刷碳膠電極各自水平切線測量三組相對高度差數據，得出醋酸纖維薄膜厚度約為  $53.85 \pm 2.23 \mu\text{m}$ 。薄膜厚度比碳高約厚 3.6 倍（利用醋酸纖維薄膜扣除碳電極高度後除以碳電極高度的估計值），能夠提供電容感測器適當的絕緣性且在電容感測器的量測範圍內。基於利用 VK-9510 雷射顯微鏡得到的表徵資訊粗略提供醋酸纖維薄膜披覆在網版印刷碳膠電極的形態，其他測量誤差可能影響資料的解讀，不同批次製作的網版印刷碳膠電極有些微差異，故本次實驗推斷醋酸纖維薄膜的絕緣度適當且成功使電極的表面平整，搭配醋酸纖維薄膜長期浸泡於中性溶液的實驗（4.2.3 節），驗證醋酸纖維薄膜的可靠性。

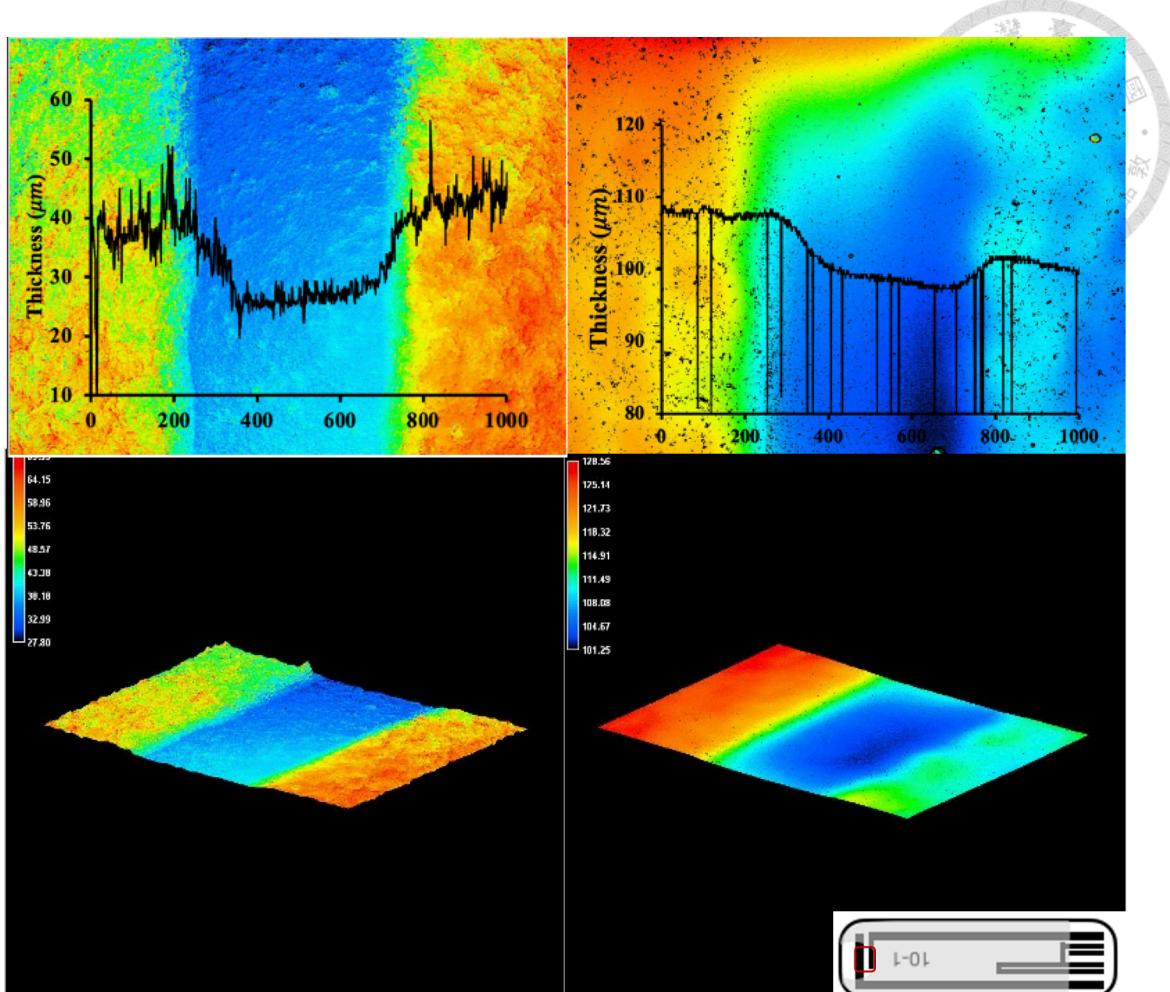
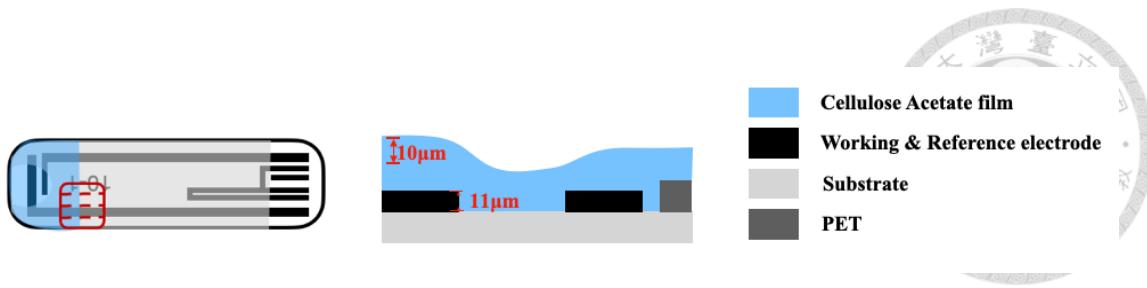


圖 4-6、雷射顯微鏡照射披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極表徵資訊與數據疊圖。

左上圖為空白網版印刷碳膠電極，右上圖為披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極，下兩張圖為雷射顯微鏡照射網版印刷碳膠電極表面結構的 3D 示意圖，對照上圖左下圖為空白電極，右下圖為披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極，白色圖片區域為雷射顯微鏡照射網版印刷碳膠電極的區域示意圖。



<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>Average</b>
$59.4 \mu m$	$51.4 \mu m$	$50.73 \mu m$	$53.84 \mu m$
$52.07 \mu m$	$51.4 \mu m$	$51.4 \mu m$	$51.62 \mu m$
$56.75 \mu m$	$54.75 \mu m$	$56.75 \mu m$	$56.08 \mu m$

圖 4-7、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極表徵示意圖，以及醋酸纖維膜厚的量測數據。

左上圖：量測醋酸纖維薄膜厚度的範圍示意圖，右上圖：將雷射顯微鏡的照射資訊以圖說表示（披覆醋酸纖維薄膜、碳電極和基材之剖面示意圖）。

圖表：醋酸纖維薄膜厚度量測數據 ( $n=3$ ,  $N=3$ )，1、2、3 為三片不同的網版印刷碳膠電極披覆醋酸纖維薄膜。



#### 4.4.3 化性分析：醋酸纖維薄膜降解的全反射傅立葉紅外光譜儀分析

醋酸纖維薄膜降解通過脫乙酰化如圖 2-8 所示，將乙酰基從分子中移除，而文獻回顧中提及醋酸纖維素可以被化學、酵素或是通過加熱的過程產生脫乙酰化反應。為了深入探討醋酸纖維薄膜降解過程中表面產生的化學鍵變化，因此實驗設計使用全反射傅立葉紅外光譜儀，作為薄膜化性分析的工具，圖 4-8 醋酸纖維薄膜的吸收度圖顯示，醋酸纖維薄膜在 pH 4 檸檬酸緩衝液中降解 3 小時中的化性變化，分別看  $1740\text{ cm}^{-1}$  以及  $1732\text{ cm}^{-1}$  附近之波峰，前者對應到的是 C=O 後者則是 C-O，而根據文獻回顧(Tulos et al., 2019)正規化乙酰因子（Normalized AF）計算方式如式 4-1 所示，

$$AF = \frac{\text{absorption intensity of } C=O}{\text{absorption intensity of } C-O}$$
$$\text{Normalized } AF = \frac{AF}{AF_0} \quad (4-1)$$

醋酸纖維薄膜是一種由纖維素衍生物製成的材料，乙酰基基團通常與纖維素的羥基反應，而醋酸纖維薄膜的脫乙酰化過程是將乙酰基基團移除。官能團 C=O 代表的是酮和醛基，酮基的碳原子部分帶有正電荷，使酮具有較強的極性，在羥胺反應和羥基還原等反應中具有特殊化學活性，C-O 為醇和醚基，醇為 C-OH 具有明顯的極性，由於羥基的高電負性，使得醇具有氫鍵形成的能力，醚基是 C-O-C 在有機化學中具有良好的穩定性，通常作為溶劑或反應中的保護基團。總之，不同的官能團具有不同特性，影響有機分子的物理性質、化學反應和反應活性。

全反射傅立葉紅外光譜僅能測量纖維表面，若是要量測整個纖維的橫斷面需使用傅立葉紅外光譜，且全反射傅立葉紅外光譜可以節省分析時間、不需破壞原始的樣品，在 pH 4 檸檬酸緩衝液裡醋酸纖維薄膜降解速率相對強鹼環境緩慢，但仍能從官能基團變化觀察脫乙酰化過程，降解時間愈長官能基團吸收度下降，經由正



規化乙酰因子與時間的關係作圖，得知隨著時間醋酸纖維薄膜脫乙酰化後之結構變化。

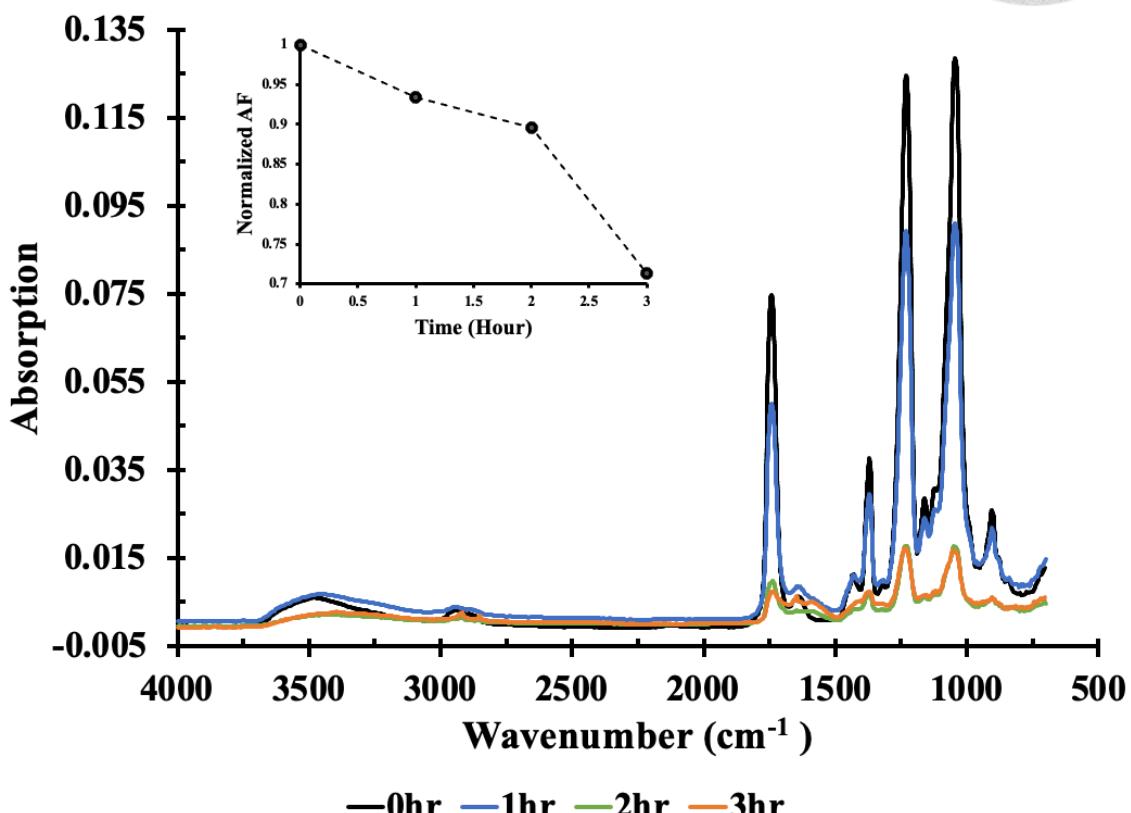


圖 4-8、醋酸纖維薄膜在 pH 4 檸檬酸緩衝溶液中降解 0—3 小時，醋酸纖維薄膜的全反射傅立葉紅外光譜圖與小圖：正規化乙酰因子與時間的關係圖。

黑線：未經降解、藍線：在 pH 4 溶液中降解 1 小時後、綠線：在 pH 4 溶液中降解 2 小時、橘線：在 pH 4 溶液中降解 3 小時後的醋酸纖維薄膜的吸收光譜圖分析，左上圖的正規化數據：將 C=O、C-O 的吸收光度套入乙酰因子計算公式後與時間作圖。



## 4.5 酵素降解

### 4.5.1 影響纖維酵素活性之 pH 探討

醋酸纖維薄膜在土壤中受到酵素作用，影響醋酸纖維薄膜降解，探討背景溶液對於醋酸纖維薄膜降解，以及將酵素加入背景溶液中之綜觀對於醋酸纖維薄膜降解。3.4.2 節提及 pH 5 檸檬酸緩衝液為纖維酵素最佳活性的緩衝液條件，為了了解纖維酵素對於醋酸纖維薄膜降解影響為何，討論不同 pH 值對纖維酵素的影響，討論降解醋酸纖維薄膜效力的關聯。

圖 4-9 顯示在最佳活性條件 pH 5 檸檬酸緩衝液環境下，纖維酵素對於醋酸纖維薄膜有顯著性降解；pH 4 檸檬酸緩衝液中加入纖維酵素，綜觀降解下酵素對於醋酸纖維薄膜無顯著性降解，且誤差值明顯大於 pH 5 條件下降解，且量測在 2.5 小時後短路，推測在 pH 4 實驗條件下加入纖維酵素對於醋酸纖維薄膜降解比起 pH 5 檸檬酸緩衝液環境降解更劇烈；而在 pH 6 檸檬酸緩衝液中加入纖維酵素綜觀降解得知其單純化學溶液降解電容值變動表現重疊，推測在 pH 6 檸檬酸緩衝液環境下纖維酵素對於醋酸纖維薄膜降解之效果不顯著。

此章節探討在不同 pH 值對於纖維酵素的活性影響，產生醋酸纖維薄膜降解的速率變化，透過圖 4-9 整理三種不同 pH 環境下，比較單純化學降解和加入酵素降解醋酸纖維薄膜的電容值變動百分比與時間的關係，清晰地顯示 pH 5 檸檬酸緩衝液環境下，纖維酵素活性表現穩定，降解後電容響應曲線在化學降解和綜觀降解的比較下產生顯著差異。細部觀察數值變化，pH 4 檸檬酸緩衝液加入酵素後的 30 分鐘內，醋酸纖維薄膜的電容值變化響應即趨近飽和，pH 5 檸檬酸緩衝液中加入酵素後，在 1.5 小時前降解之電容值變化呈現穩定上升，1.5 小時後趨近於飽和狀態，pH 6 檸檬酸緩衝液中加入酵素，在 1 小時內上升趨勢穩定，整體降解速率呈現二階式上升而後趨於飽和。

因此論述 pH 4 檸檬酸緩衝液中加入纖維酵素對降解醋酸纖維薄電容值響應影響較劇烈，推測纖維酵素在更酸性的環境中不穩定性高，且在化學溶液的加成效果

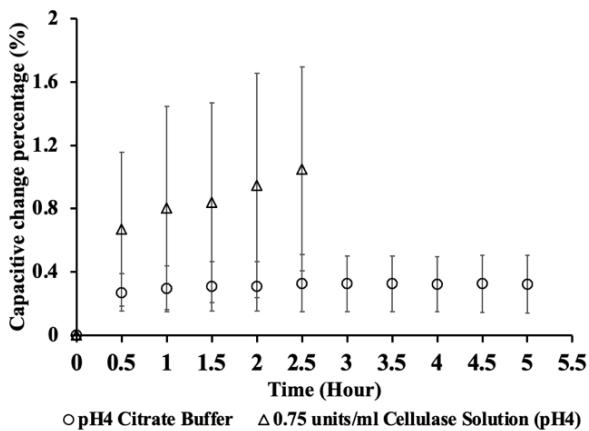


下，整體環境對於醋酸纖維薄膜降解更劇烈；在 pH 5 檸檬酸緩衝液環境，纖維酵素活性表現最為穩定，且可區分與背景化學緩衝液降解醋酸纖維薄膜的電容值變化關係，計算纖維酵素在 pH 5 條件下酵素的活性大小；pH 6 檸檬酸緩衝液環境，綜觀纖維酵素沒有發揮酵素降解醋酸纖維薄膜的效力，相比於背景化學緩衝液對於醋酸纖維薄膜降解，沒有顯著性的電容響應變化，因此推斷在越靠近中性溶液的背景條件下，纖維酵素對於醋酸纖維薄膜降解效果不佳。

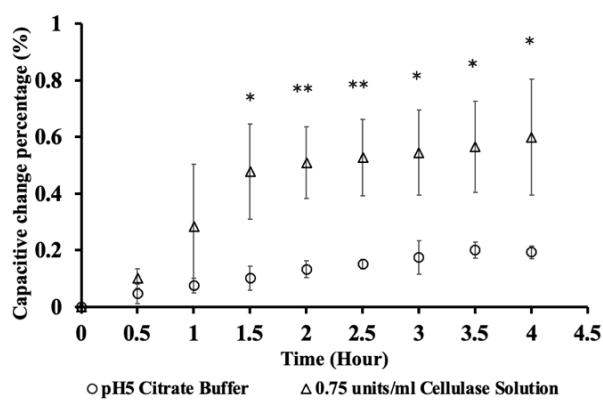
故經過以上討論，透過降解醋酸纖維薄膜，我們得知纖維酵素在不同 pH 值會影響酵素的活性表現，酸性條件影響酵素之結構或是催化活性中心，且纖維酵素對於背景溶液的酸鹼度敏感，影響醋酸纖維薄膜的穩定度和耐久性。推斷若是在一般土壤環境下（pH 6 到 pH 8），纖維酵素在土壤中的活性表現會受到影響。總體來說土壤是複雜的環境，包含有機物、微生物、礦物質等成分，對於纖維酵素的活性和穩定性會產生影響，以實驗室理想條件下的降解結果，觀察在此特定應用環境下對於醋酸纖維薄膜材料的降解，證實纖維酵素為具有降解功能之生物催化劑。



(a)



(b)



(c)

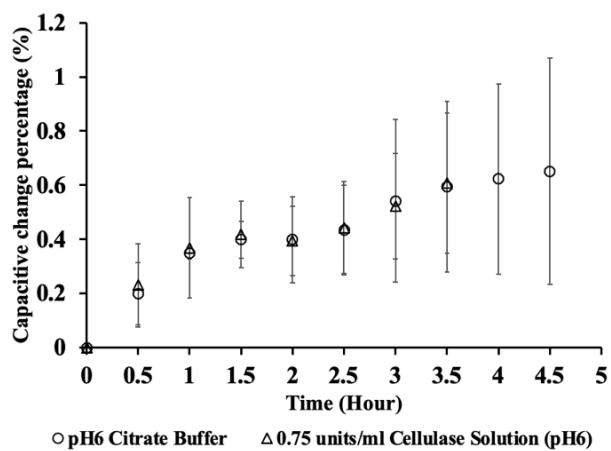


圖 4-9、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在 (a) pH 4、(b) pH 5、(c) pH 6 檸檬酸緩衝溶液中降解的電容值變化 ( $N=3$ )。

圓形：單純化學降解醋酸纖維薄膜的電容變動百分比和時間的關係，三角形：加入纖維酵素後綜觀降解電容變動百分比和時間的關係圖。



#### 4.5.2 特定酵素的選擇性降解

2.1.2.3 節提及土壤中微生物對養分循環的重要角色，影響有機質降解和養分循環。酵素具有選擇性催化特定基質，進行選擇性降解和轉化。2.1.2.3 節提及土壤中的酵素可以分成碳、氮、磷、硫（C、N、P、S）四種微生物循環，本研究探討了碳循環中的纖維酵素、澱粉酵素、葡萄糖苷酵素降解醋酸纖維薄膜的影響。

本章節討論的是纖維酵素對於醋酸纖維薄膜具選則性的降解作用。在實驗中，對照組使用幾丁質酵素。圖 4-10 顯示，纖維酵素在最佳活性條件（pH 5 檸檬酸緩衝液）下與化學降解相比，在溶液中降解 1.5 小時後電容響應產生顯著差異。然而，幾丁質酵素在最佳條件（pH 6 檸檬酸緩衝液）下的降解與化學降解無顯著差異。

醋酸纖維薄膜在添加幾丁質酵素的 pH 6 檸檬酸緩衝液中，3 小時後薄膜直接降解至短路。而在添加纖維酵素的 pH 5 檸檬酸緩衝液中，醋酸纖維薄膜在 1.5 小時後趨於穩定。這表明幾丁質酵素能夠更快速地降解醋酸纖維薄膜，可能是因為在此 pH 條件下，幾丁質酵素導致醋酸纖維薄膜結構破壞或溶解。幾丁質酵素專門降解幾丁質，可以切斷幾丁質分子中的糖苷鍵，這可能導致醋酸纖維薄膜的分子結構破壞，使其失去絕緣性能導致短路。此外也可推測幾丁質酵素可能具有更高的活性和效能，加速降解過程，但具體原因仍需進一步做實驗設計來確定，溫度、酵素濃度和來源等都可能影響幾丁質酵素的活性和穩定性，而影響降解醋酸纖維薄膜的能力，或是醋酸纖維薄膜本身的特性像是薄膜的結構、組成和纖維的排列方式等等，都可能影響酵素和薄膜之間的作用和接觸效率。

本實驗架構下，幾丁質酵素和纖維酵素對醋酸纖維薄膜的降解能力沒有顯著差異，只有在特定的化學降解條件下：0.75 units/ml 纖維酵素溶液、0.008 units/ml 幾丁質酵素溶液，纖維酵素表現出顯著的降解效果，因此可以推斷在特定條件下，纖維酵素對醋酸纖維薄膜具有選擇性降解的能力。

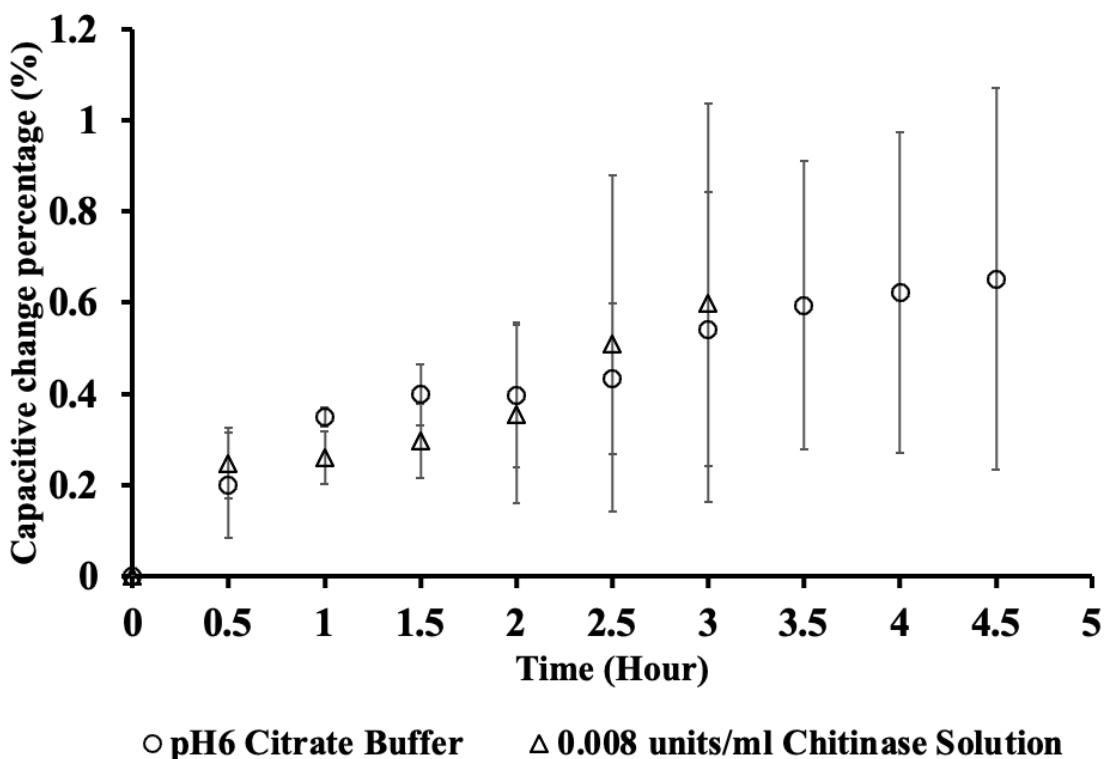
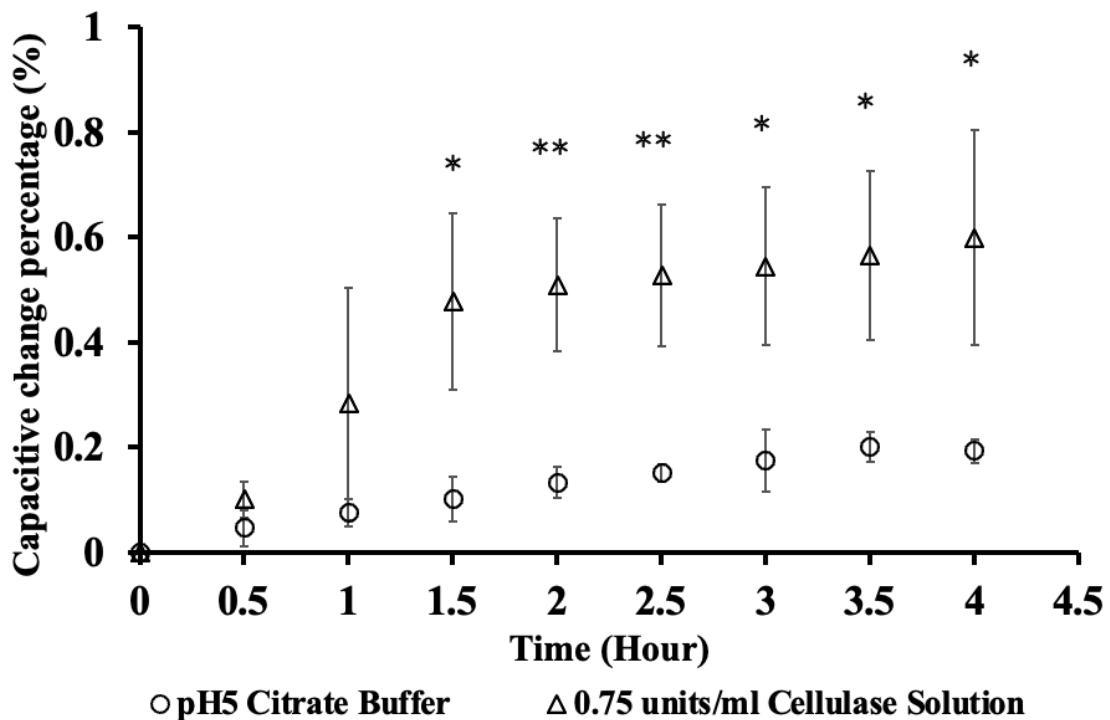
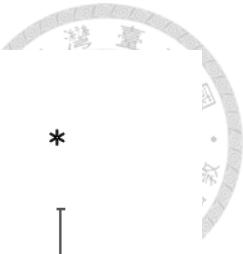


圖 4-10、纖維酵素、幾丁質酵素對於醋酸纖維薄膜的選擇性降解分析 (N=3)。

圓形：調配酵素溶液的背景化學溶液降解醋酸纖維薄膜，三角形：加入酵素後的溶液綜觀降解醋酸纖維薄膜，電容變動百分比與時間的關係圖。



### 4.5.3 纖維酵素、澱粉酵素、葡萄糖苷酵素之降解

4.4.1 節討論了不同 pH 值下影響纖維酵素的活性，接著對於醋酸纖維薄膜降解速率差異，4.4.2 節則是解釋了纖維酵素對於醋酸纖維薄膜特定條件下的選擇性降解。本節接著討論土壤中可能存在的其他酵素，此處將針對纖維酵素、澱粉酵素和葡萄糖苷酵素，調配三種酵素於各自最佳活性條件緩衝液下，比較其降解醋酸纖維薄膜的速率，探討電容響應數據與時間之關係。

圖 4-11 (a) 為綜觀降解（理想活性表現之緩衝液分別加入纖維酵素、澱粉酵素、葡萄糖苷酵素）醋酸纖維薄膜電容響應變化與時間的關係，酵素在化學溶液中對醋酸纖維薄膜的降解呈現斜直線上升的趨勢。圖 4-11 (b) 顯示了單純化學降解醋酸纖維薄膜趨勢與綜觀降解相同。圖 4-12 分別討論每一種酵素相對於背景化學降解的效力，結果顯示僅在 pH 5 檸檬酸緩衝液加上纖維酵素的溶液中有顯著性差異，葡萄糖苷酵素與澱粉酵素在各自理想的化學緩衝液中降解醋酸纖維薄膜時無顯著差異。葡萄糖苷酵素在 pH 6 檸檬酸緩衝液中的降解趨勢與化學降解重疊，可能是基質影響酵素的活性發揮。澱粉酵素在 pH 7 三羥甲基胺基甲烷緩衝液緩衝條件下降解醋酸纖維薄膜的趨勢與單純化學溶液的變化一致，且無顯著性差異，與葡萄糖苷酵素的情況相同，且發現醋酸纖維薄膜同樣在 pH 7 條件，但是不同的緩衝液（磷酸緩衝液、三羥甲基胺基甲烷緩衝液）造成不同的電容響應，表示溶液中的離子和電性作用也會影響電容響應。

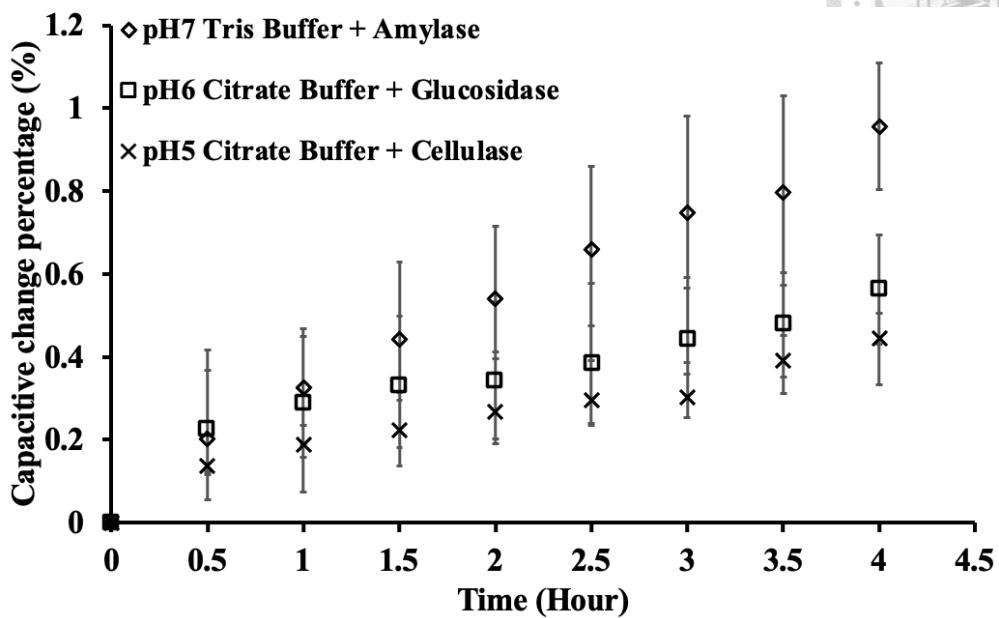
葡萄糖苷酵素與澱粉酵素雖然活性高，但對醋酸纖維薄膜沒有顯著性降解的原因可能是因為酵素對特定的基質具有高度的特異性，醋酸纖維薄膜並不是這兩種酵素的理想基質，因此降解效果受到限制，無法有效結合於醋酸纖維薄膜的結構中，所以沒有顯著降解反應。然而，在特定的條件下酵素具有協同作用，例如澱粉酵素和葡萄糖苷酵素的組合。此外，酵素反應的時間長短和濃度效應影響醋酸纖維薄膜的降解效果。需要進一步的研究來了解酵素的熱穩定性、催化機制以及其他可能影響降解醋酸纖維薄膜的反應條件。



此章節探討了相同濃度的三種酵素在不同的背景化學溶液中（各自活性發揮最理想之條件），降解醋酸纖維薄膜的效果，通過評估不同酵素對醋酸纖維薄膜的降解情況，了解酵素的活性表現和對生物降解材料的可行性。基質特性影響酵素活性，如果深入討論基質特性和酵素的交互作用機制，可以優化酵素反應的系統。



(a)



(b)

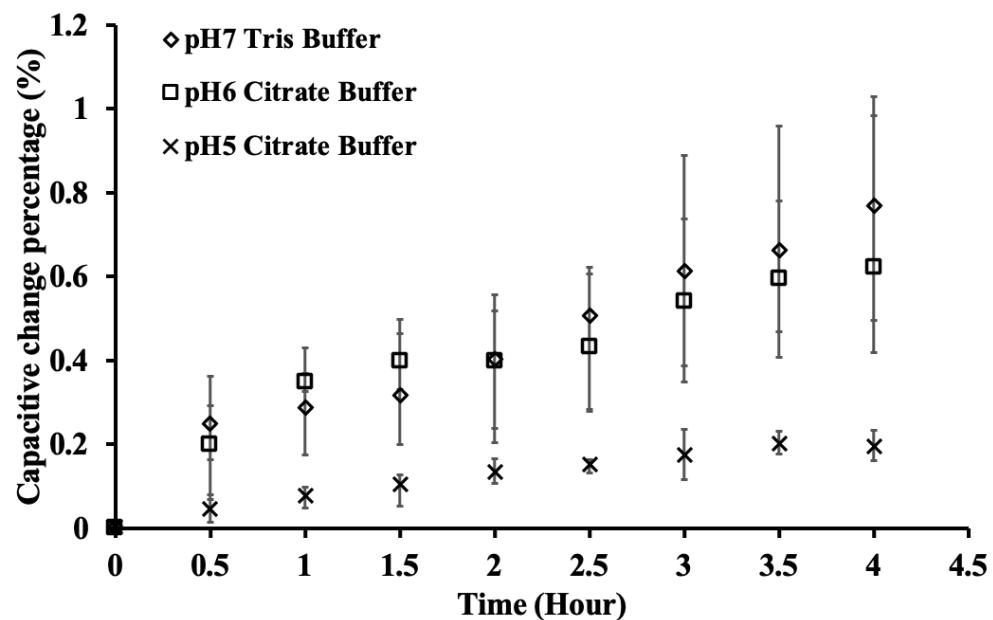


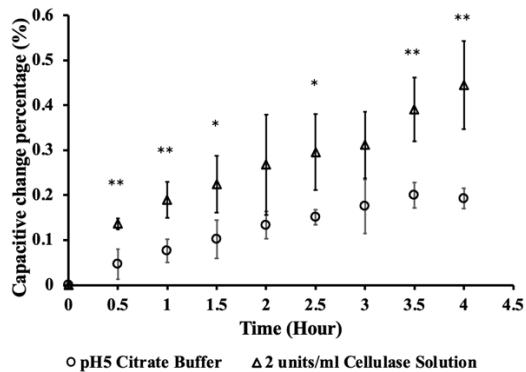
圖 4-11、纖維酵素、澱粉酵素、葡萄糖苷酵素最佳活性條件下酵素降解的比較。

圖(a)為酵素加化學降解，菱形：pH 7 條件下的澱粉酵素、方形：pH 6 條件下的葡萄糖苷酵素、叉叉：pH 5 條件下的纖維酵素。

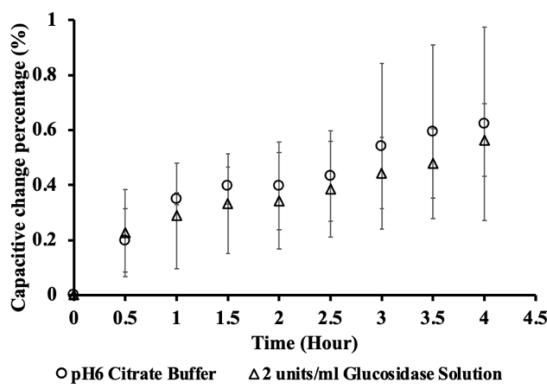
圖(b)為酵素溶劑單純化學降解 ( $N=3$ )、菱形：pH 7 單純化學降解、方形：pH 6 單純化學降解、叉叉：pH 5 單純化學降解。



(a)



(b)



(c)

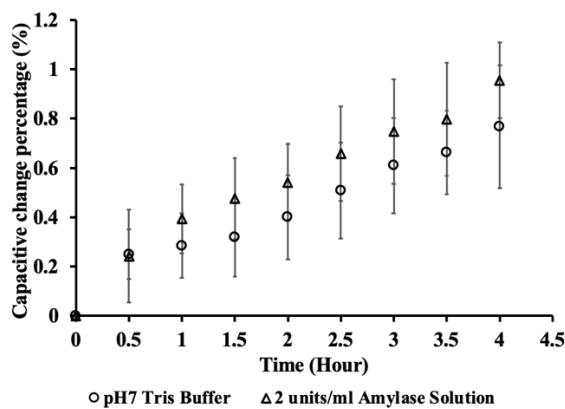


圖 4-12、(a) 纖維酵素、(b) 葡萄糖苷酵素、(c) 澱粉酵素三者分別加入其最佳酵素活性條件之溶劑 ( $N=3$ )。

比較酵素加化學降解與單純化學降解，圓形：單純化學溶液降解醋酸纖維薄膜、三角形：酵素加入背景溶液綜觀降解醋酸纖維薄膜。



#### 4.5.4 模擬土壤環境 pH 值的酵素降解

在土壤中降解醋酸纖維薄膜前，討論不同土壤 pH 值條件降解醋酸纖維薄膜的效率。調配 pH 6、pH 7、pH 8 的磷酸緩衝溶液，加入纖維酵素、葡萄糖苷酵素和澱粉酵素，觀察在相同酵素濃度 (2 units/ml) 下降解醋酸纖維薄膜的差異。圖 4-17 顯示了三種 pH 值加入酵素後，醋酸纖維薄膜降解的電容變動百分比與時間的關係。

圖 4-13 展示了醋酸纖維薄膜在中性溶液中 (pH 7 磷酸緩衝液) 長期浸泡後的電容值變動百分比。在 4.2.3 節中討論醋酸纖維薄膜的穩定性，指出在 pH 7 的磷酸緩衝液中，醋酸纖維薄膜可以維持穩定的電容值約一個月，計算在第 35 天時電容值變化為  $0.04 \pm 0.03\%$ 。圖 4-14 (a) 顯示在略酸環境 (pH 6) 中三種酵素的降解趨勢，觀察在降解 1 小時後，纖維酵素、葡萄糖苷酵素和澱粉酵素對醋酸纖維薄膜的降解效果有顯著差異，降解速率為澱粉酵素 > 葡萄糖苷酵素 > 纖維酵素。加入單純化學溶液 (pH 6 檸檬酸緩衝液) 的降解數據後發現，在 1 小時後葡萄糖苷酵素和澱粉酵素降解醋酸纖維薄膜的效果大於單純化學溶液，而纖維酵素溶液降解醋酸纖維薄膜的效果則在 1.5 小時後大於單純化學溶液。隨著降解時間的增長，薄膜在溶液中的穩定性下降，誤差值也增大。

圖 4-14 (b) 和 (c) 分別展示了在中性 (pH 7) 和略鹼性 (pH 8) 溶液中三種酵素的降解趨勢。圖 4-15 將纖維酵素、葡萄糖苷酵素和澱粉酵素分開作圖，控制變因為 pH 值，比較三種酵素在不同 pH 值下降解醋酸纖維薄膜的速率差異。在 pH 6 條件下，酵素對醋酸纖維薄膜的降解效果與 pH 7 和 pH 8 有顯著差異，數據顯示在中性 (pH 7) 和略鹼性 (pH 8) 條件下，酵素對醋酸纖維薄膜的降解效果相似。圖 4-16 將醋酸纖維薄膜在中性溶液 (pH 7) 中的降解結果與圖 4-14 (b) 疊圖，推測在 pH 7 和 pH 8 的條件下，酵素對醋酸纖維薄膜的降解效果顯著。

圖 4-15 細部探討了纖維酵素、葡萄糖苷酵素和澱粉酵素在 pH 6、pH 7、pH 8 溶液中的降解情況。在 pH 6 時，三種酵素降解醋酸纖維薄膜的效果較大，因此推



測在弱酸環境下它們的活性較好。在降解程度較劇烈的環境下，薄膜的結構穩定性較差，因此電容值測量的誤差較大。纖維酵素在 1.5 小時後的降解趨勢逐漸平緩，在中性 (pH 7) 和略鹼性 (pH 8) 溶液中的降解趨勢相似且無顯著差異；葡萄糖苷酵素在弱酸 (pH 6) 溶液中 1 小時後與中性 (pH 7) 和略鹼性 (pH 8) 溶液相比有顯著的電容值響應差異並趨於平緩；澱粉酵素在不同 pH 值溶液中浸泡 0.5 小時後電容值變化有顯著差異，並且在經過 2 小時後降解速率趨於平緩。

這節的實驗設計主要是為了模擬土壤微生物降解醋酸纖維薄膜的效率，在 pH 值方面提供初步討論。然而，實際土壤環境非常複雜，不同土壤中的微生物群落結構和活性會有差異，影響其降解醋酸纖維薄膜。土壤中的其他因素，如溫度、水分含量、氧氣濃度和組成，對醋酸纖維薄膜的降解都具有相關性。甚至土壤的類型（質地、有機質含量和營養狀態）也是影響降解的因素。因此，電容值變化百分比衡量醋酸纖維薄膜的降解程度，透過模擬酵素降解醋酸纖維薄膜，推估總體微生物在土壤中的綜合能力。而若要進一步討論化學組成的變化、重量損失或結構變化等方面，則需要提供更全面的評估。

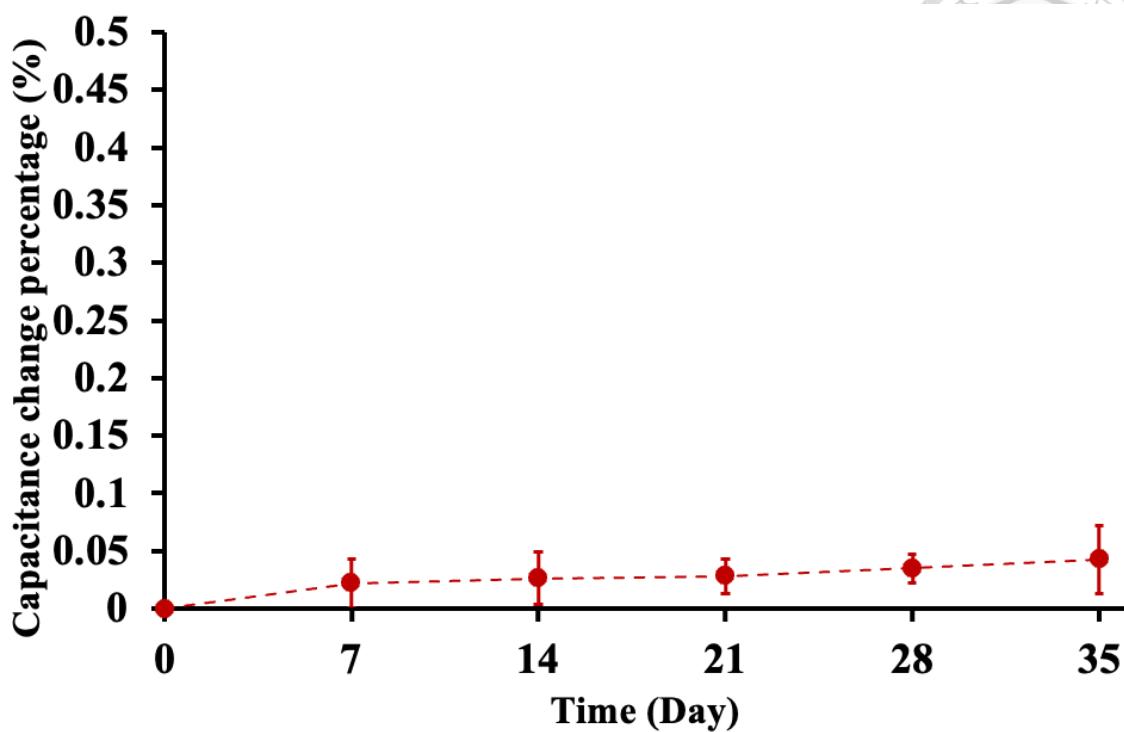
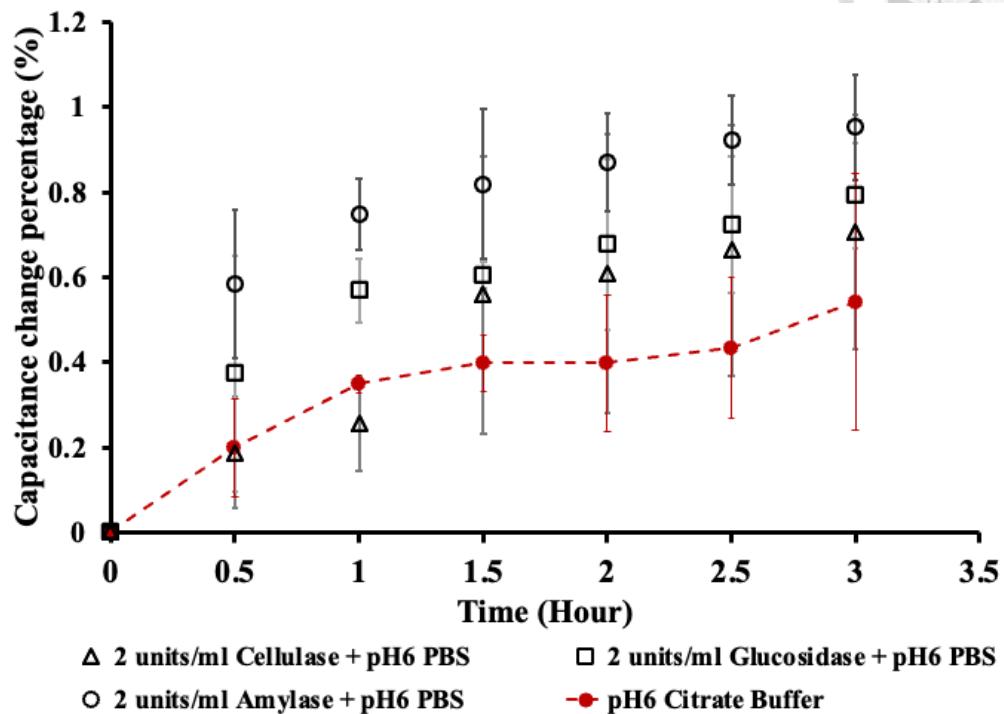


圖 4-13、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在中性溶液 (pH 7) 中放置長時間的降解電容變動百分比。

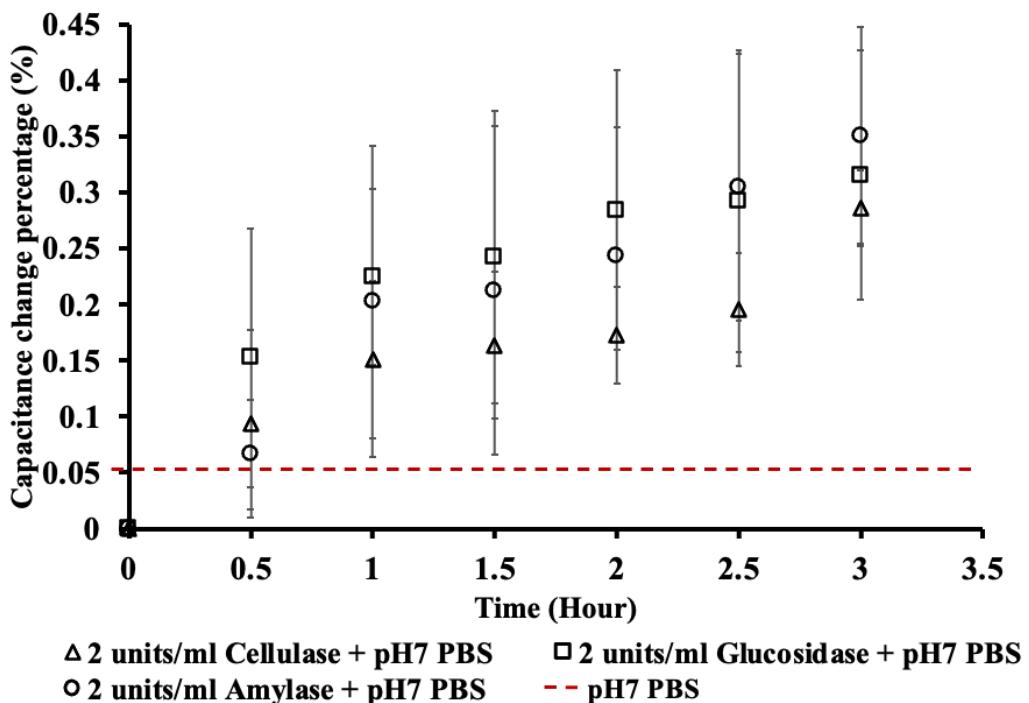
紅色圓形：根據圖 4-3 醋酸纖維薄膜在中性溶液中長期降解之數據，經過電容變動百分比之計算繪製出與時間的關係圖，和後續圖 4-14 之數據做整理（紅色虛線表示）。



(a)



(b)





(c)

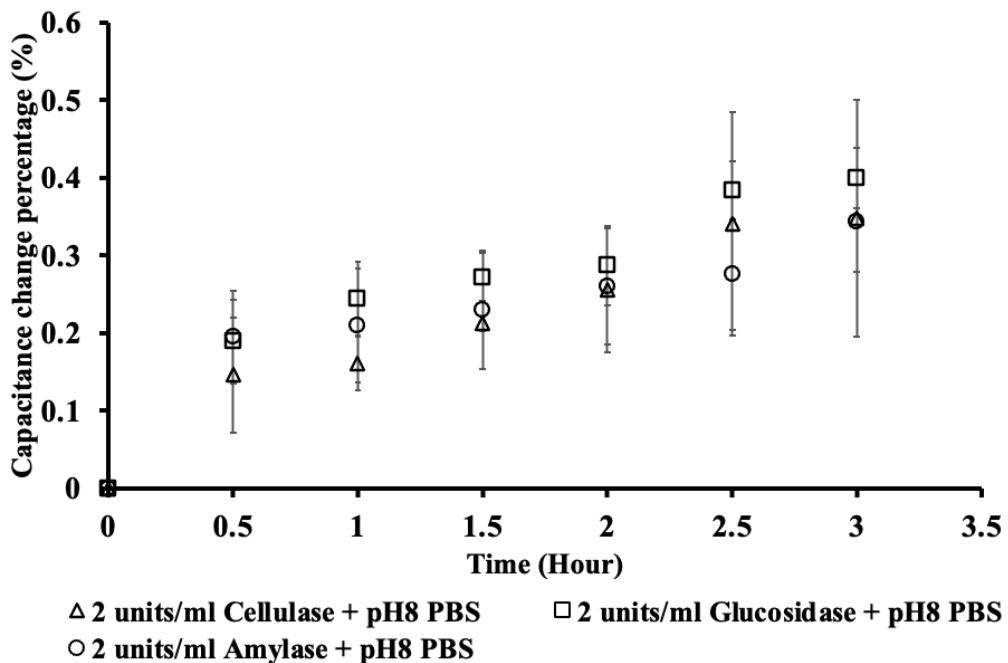
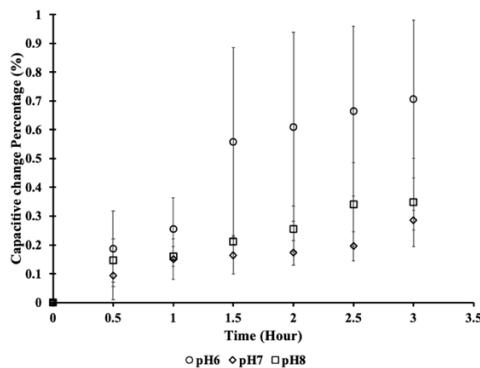


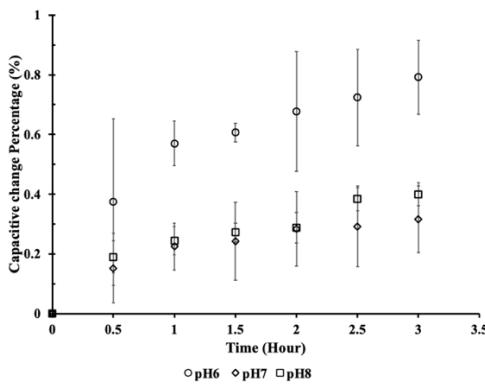
圖 4-14、模擬土壤 pH 值條件下添加纖維酵素、葡萄糖苷酵素、澱粉酵素降解披  
覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極 (a) pH 6, (b) pH 7, (c) pH 8 (N=3)。  
三角形：纖維酵素、方形：葡萄糖苷酵素、圓形：澱粉酵素，加入三種 pH 值的磷  
酸緩衝液中，降解醋酸纖維薄膜的電容變動百分比和時間的關係圖，控制變因為  
pH 值。



(a)



(b)



(c)

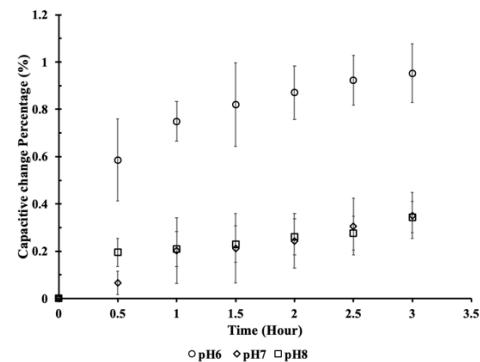


圖 4-15、(a) 纖維酵素、(b) 葡萄糖苷酵素和 (c) 澱粉酵素綜觀降解披覆醋酸

纖維薄膜之網版印刷碳膠電極 ( $N=3$ )。

由圖 4-14 得到的數據利用 pH 值作圖，圓形：pH 6、菱形：pH 7、方形：pH 8，比較不同酵素在不同 pH 條件下降解醋酸纖維薄膜的電容變動百分比與時間的關係。



## 4.6 披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在土壤環境之降解

採樣台大校內土壤，作為初步土壤中降解實驗測試，土壤中有枯枝、小石子以及植物殘體，以下小節將會從已知成熟二乙酸螢光素分析法，先行驗證土壤中總微生物含量，接著將披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極埋入土壤中，長期觀測醋酸纖維薄膜在不同菌量土壤中的降解情形。

### 4.6.1 二乙酸螢光素分析土壤總微生物量

包埋披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極入土壤降解的實驗前，須先使用現行量測土壤中總微生物量手法驗證土壤中的微生物總量。本研究採用二乙酸螢光素分析方法進行實際分析土壤中微生物含量，使用螢光素鈉（Fluorescein sodium salt）調配標準  $0 \mu\text{g}/\text{ml}$  到  $5 \mu\text{g}/\text{ml}$  之溶液，照射分光光度計進行吸收光譜分析獲得吸收度與標準溶液之校準圖（如圖 4-16 所示）。圖 4-17 顯示採樣土壤的二乙酸螢光素分析結果，包括滅菌土壤、原始土壤以及加入菌根菌肥料的土壤。原始土壤之吸收光度為  $0.295 \pm 4.4444\text{E-}5$ ，滅菌土壤之吸收光度為  $0.2883 \pm 0.0002$ ，兩者相差極小，增加實驗組數為加入菌根菌肥料的原始土壤，得到的吸收光度為  $0.486 \pm 0.002$ 。

根據本次實驗設計，我們得知滅菌土壤和原始採樣土壤間的微生物活性差異微小，這可能因為測量方法的靈敏度不足，或是實際土壤中的微生物活性變化不敏感（受到土壤組成、環境條件或其他因素）。評估土壤中微生物活性的方法存在著限制，單一方法可能無法捕捉到土壤微生物的全部活性，可能在特定情況下產生誤差。根據實驗結果，加入菌根菌肥料後的對照組明顯有較高的微生物活性，可能為肥料促進了微生物生長，若在後續研究之中進行採樣土壤區域規劃（海拔高度、取樣土壤的含菌量等）和尋找有效滅菌的方法，將有助於進一步探索這一現象。

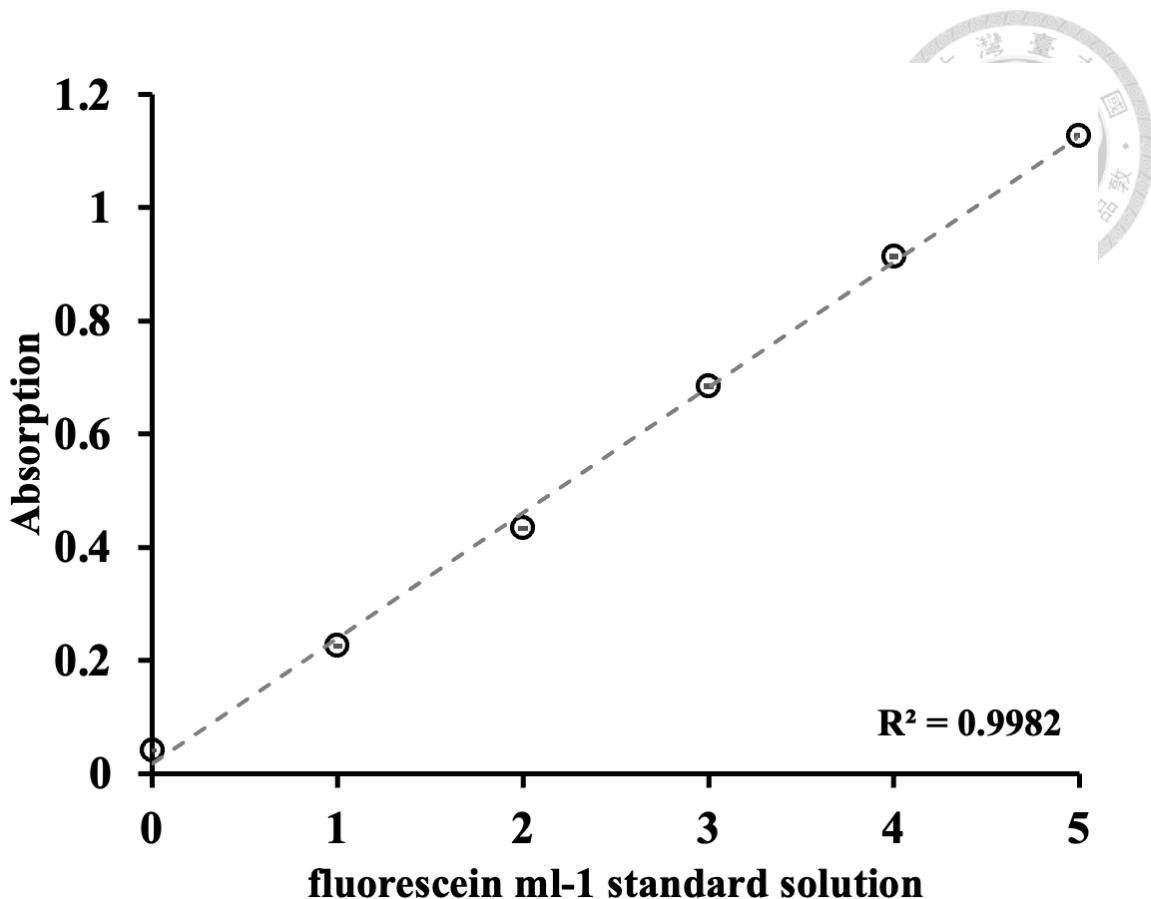


圖 4-16、 $0\sim 5 \mu g/ml$  二乙酸螢光素標準液之校準曲線 ( $n=3$ , error < 0.002)。

透過標準條件調配二乙酸螢光素標準液 ( $0\sim 5 \mu g/ml$ )，利用分光光度計量測吸收光度，得到圓形數據點，並且每個樣品溶液取三重複。

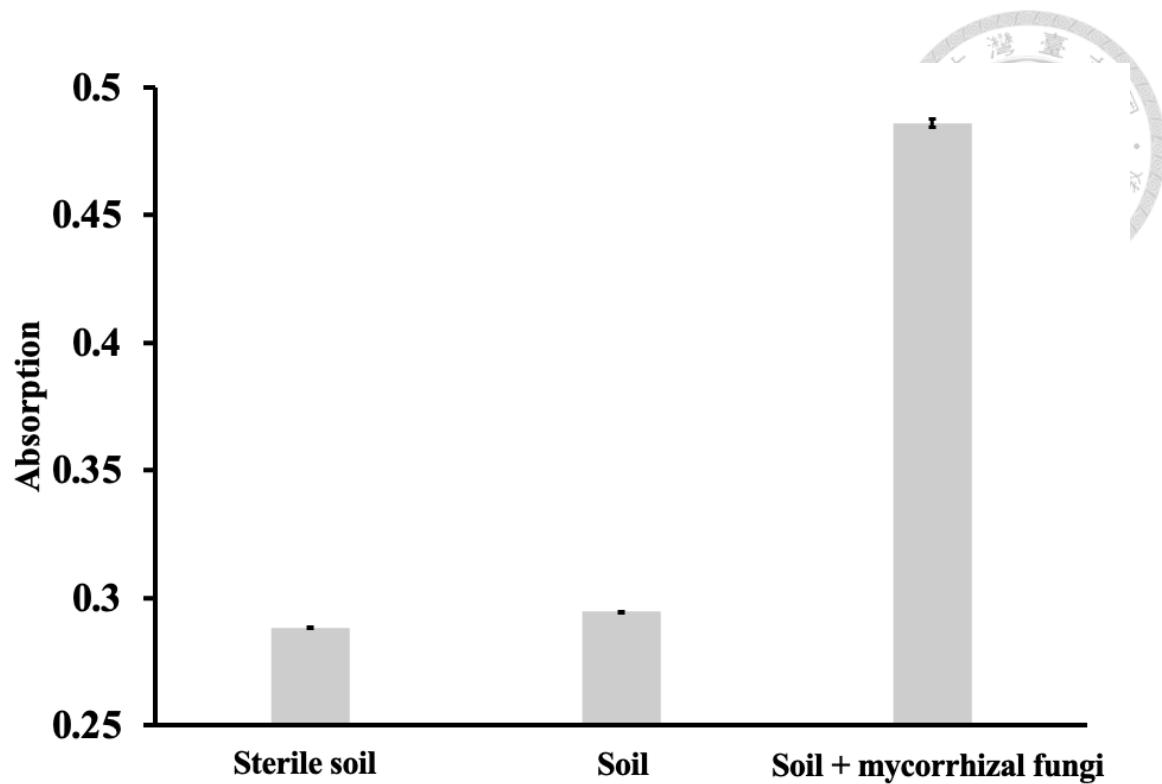


圖 4- 17、原始採樣土壤、滅菌土壤、加入菌根菌肥料之原始土壤的二乙酸螢光素

分析總微生物含量分析 ( $n=3$ )。

採樣台大校園內土壤，將土壤分成三個組數：原始土壤、高溫高壓滅菌土壤、原始土壤加入菌根菌肥料，根據 3.6.4 節提及之操作流程，進行樣品液配置後量測吸收光度圖，每組樣品皆取三重複。



#### 4.6.2 土壤內披覆醋酸纖維薄膜之降解

圖 4-18 為披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在不同菌量的土壤中隨時間降解後的電容響應。觀察醋酸纖維薄膜在原始土壤中的降解穩定上升，但與滅菌土壤降解相比 0 到 8 天內醋酸纖維薄膜降解後的電容值變動百分比無顯著性差異，如同圖 4-17 所示土壤總微生物含量二乙酸螢光素分析手法，滅菌後土壤的總菌量與原始土壤的差異不大。但因二乙酸螢光素分析的滅菌土壤菌量為經過長時間檢測後的滅菌土壤，推測滅菌後土壤在經過長時間的量測後土壤中的菌量會增加。因此，不是最原始的菌量資訊，滅菌土壤相對原始土壤的水分稀少，且是裝在密閉盒子中缺乏空氣對流，推測其他因素（溫度、水分）會影響降解之效力。

圖 4-18 為醋酸纖維薄膜在不同菌量土壤中降解後的電容值變化表現，菌量豐沛的肥料土壤（加入菌根菌肥料）降解醋酸纖維薄膜快速，且在第 10 天時因降解劇烈，披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極幾乎全數短路，電容值趨近飽和。原因是接近電容式感測器的量測極限。在第 16 天後，滅菌土壤與原始土壤之電容變動百分比有顯著差異。從重複組數的數量可得知，在降解的過程中，原始土壤中的降解與滅菌土壤相比較劇烈，一開始降解之組數為  $N=8$  隨著埋入土壤的時間拉長，最終剩下  $1/2$  的網版印刷碳膠電極可量測到電容響應，而在 20 天左右原始土壤中的網版印刷碳膠電極近乎全數短路。

圖 4-19 為長時間包埋在滅菌土壤中的披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極的電容表現，前量測系統的晶片毀損連接不穩，故前 4 天數據不可信，但後續醋酸纖維薄膜的量測依舊保有可靠度，因此仍採用其數據並以第 4 天包埋數據做為起始值計算電容變動百分比。埋在滅菌土壤中的醋酸纖維薄膜經過 30 天後薄膜全數短路，數據呈現兩階段式的降解，分別為 4 到 16 天以及 19 到 30 天，整體之降解電容變動百分比未超過 0.5%，整體網版印刷碳膠電極組數為 4，而經過 22 天左右其中一片網版印刷碳膠電極短路，持續埋在土壤中 30 天後全數短路。



根據實驗結果，表明滅菌土壤的環境對於降解速度有所抑制，並使其能夠保持較長的穩定性，第一階段的降解可能受到土壤中主要微生物的影響，第二階段則是涉及其他微生物，若要探索不同微生物種類和菌量對醋酸纖維薄膜降解的影響，可以更加理解微生物對材料降解的行為和調節機制，有助於開發更有效力的土壤修復和環境監測方法。

微生物在土壤中扮演著關鍵角色，對於土壤生態系統的功能和健康有重要作用，因此評估土壤微生物綜合能力有助於研究土壤生物活性和健康程度。電容值變動百分比在特定情境中與土壤微生物的綜合能力相關，當土壤中存在活躍的微生物群落，對有機物進行分解和代謝，並產生一系列的化學變化。這些化學變化會導致土壤的電導率發生變化，進而影響電容值，實驗設計中，降解的醋酸纖維薄膜取出在中性溶液 (pH 7) 中進行量測。若是要更全面地了解土壤微生物的生態功能和對於土壤生態系統的貢獻，需要結合其他相關的微生物指標和方法進行評估，以更全面地了解土壤的健康程度。本研究針對醋酸纖維薄膜在土壤環境中降解，展示了在不同菌量土壤中醋酸纖維薄膜降解的差異，這些差異是土壤中的微生物活動對降解過程產生不同影響所導致的，對於土壤長期監測的有潛在的應用價值。

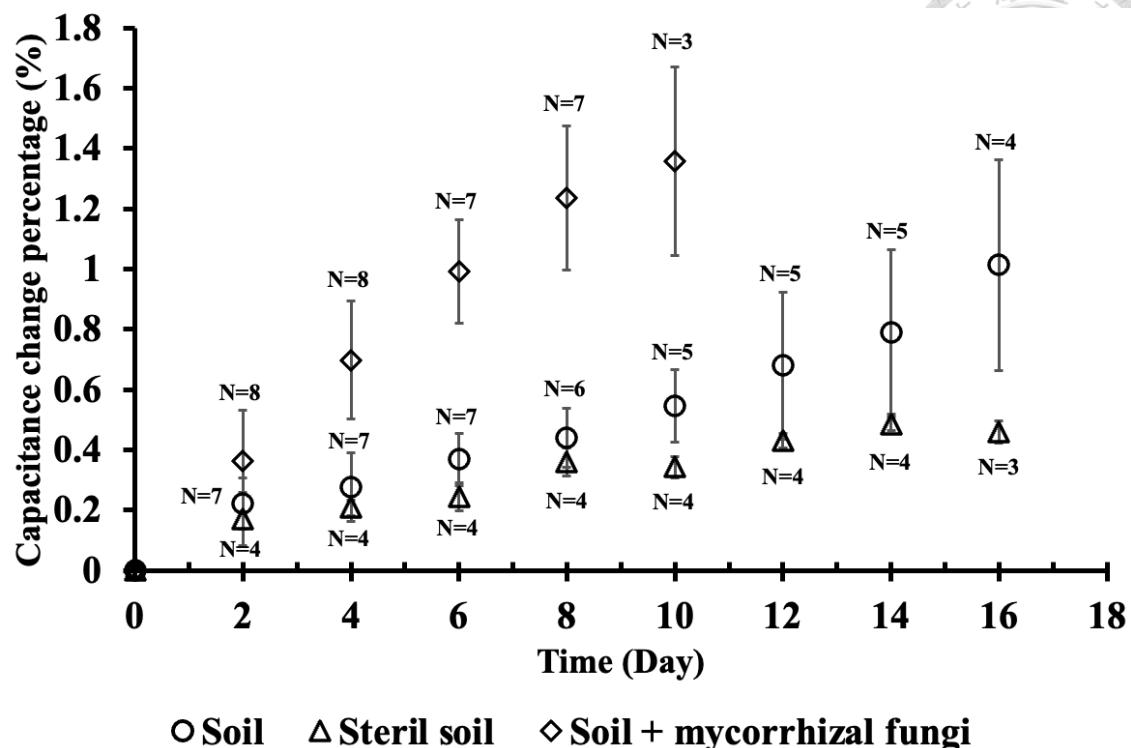
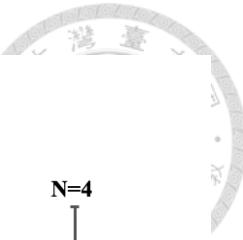


圖 4- 18、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在原始土壤、滅菌土壤以及添加菌根菌肥料土壤中降解後的電容變動百分比與時間的關係。

圓形：原始土壤、三角形：滅菌土壤、菱形：加入菌根菌肥料的土壤，原始土壤和加入菌根菌肥料之土壤初始包埋網版印刷膠電極的數量為 8 組，滅菌土壤的初始包埋組數為 4 組，經過在土壤中的降解觀察包埋時間與電容變動百分比之間的關係圖，進而得知不同菌量對於醋酸纖維薄膜的降解速率不同，造成電容的響應曲線差異。

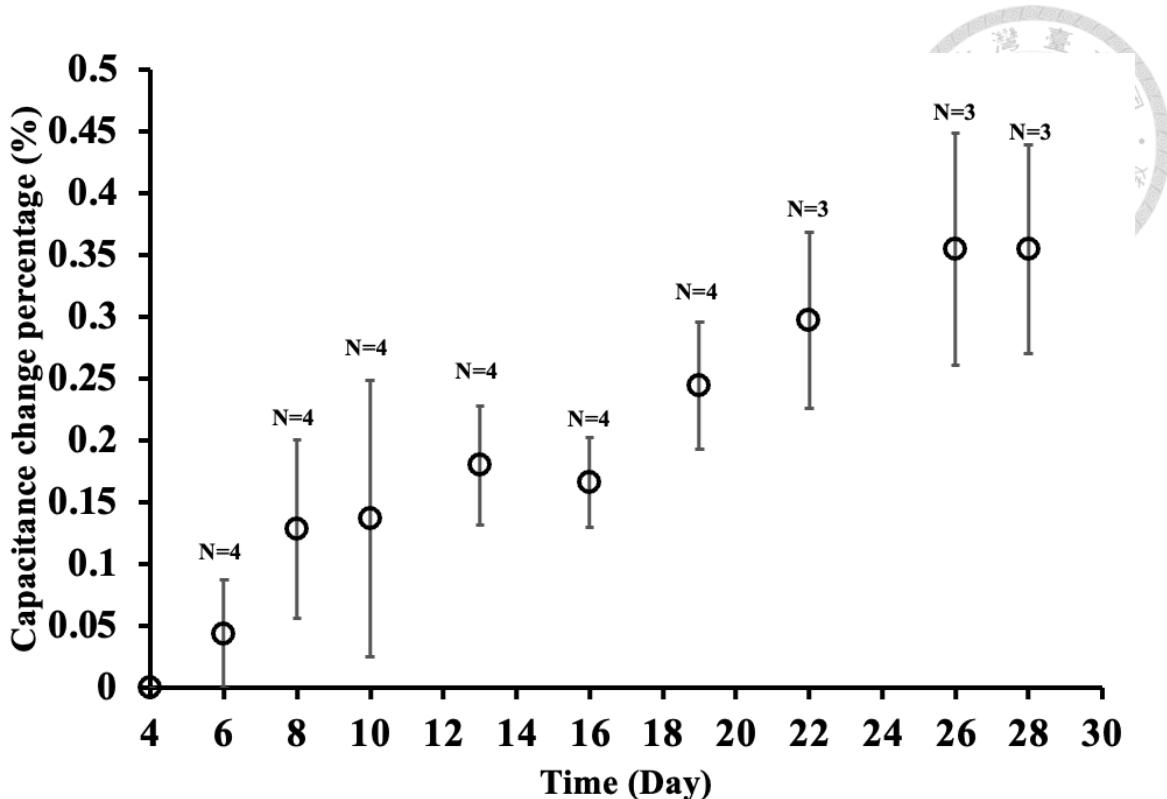


圖 4- 19、披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極在滅菌土壤中長時間的降解，電容變動百分比與時間的關係。

圓形數據點為 4 組網版印刷碳膠電極在最原始滅菌土壤中的長期降解觀察，前面 0~4 天之數據因為晶片毀損故量測之數據不可採用，後續從降解第 4 天為基準點降解約 30 天，可得知在滅菌土壤中披覆醋酸纖維薄膜的網版印刷碳膠電極的降解趨勢（天數與電容變動百分比間的關係）。



## 第五章 結論

### 5.1 結論

本研究開發了一電容式感測器結合網版印刷碳膠電極，應用在土壤碳源酵素活性檢測，研究旋轉塗布和浸潤式的披覆技術，實現成熟的薄膜製程，醋酸纖維薄膜厚度約為  $53.85 \pm 2.23 \mu\text{m}$ ，並且在中性溶液（pH 7 磷酸緩衝液）中長期浸泡，降解第 35 天醋酸纖維薄膜電容變動百分比為  $0.04 \pm 0.03 \%$ ，電容值變化微小，證實醋酸纖維薄膜長期在溶液中的穩定性和可靠度。接著，驗證醋酸纖維薄膜經過降解後的物性、化性，物性透過游標卡尺粗略量測網版印刷碳膠電極和醋酸纖維薄膜之整體厚度（在 pH 5 化學溶液中降解），並且照射雷射顯微鏡觀察醋酸纖維薄膜在網版印刷碳膠電極上的披覆情形，確認薄膜與碳電極緊密貼附；化性透過全反射傅立葉紅外光譜儀分析醋酸纖維薄膜的吸收光譜圖，發現官能團 C=O 和 C-O 在化學溶液中降解過程中，隨著降解時間拉長吸收度降低，可得知降解過程醋酸纖維薄膜脫乙酰化的結構變化。

醋酸纖維薄膜在單純化學溶液中降解，薄膜在極鹼溶液中（pH 13）降解最為快速，在纖維酵素最佳活性條件（pH 5）中薄膜降解最緩慢。酵素降解的部分，研究纖維酵素在不同 pH 值下降解醋酸纖維薄膜的活性差異，僅 pH 5 條件下纖維酵素發揮最佳活性，pH 4 和 pH 6 條件下纖維酵素與化學溶液的綜觀降解與單純化學降解相比無顯著性差異，得知纖維酵素對於背景溶液的酸鹼度敏感；而透過陰性對照組幾丁質酵素溶液降解醋酸纖維薄膜，驗證纖維酵素對於醋酸纖維薄膜的選擇性降解。

在土壤微生物中，碳氮磷硫四種循環酵素起重要作用。研究選擇碳循環中的纖維酵素、葡萄糖苷酵素和澱粉酵素作為有機質分解的指標，三種酵素在各自最佳活性條件的溶液配置，整體綜觀降解趨勢和背景化學溶液的降解趨勢相同，僅纖維酵素對於醋酸纖維薄膜降解有顯著差異。葡萄糖苷酵素和澱粉酵素具有高度特異性，



對特定基質發揮作用。進一步研究基質特性和酵素的交互作用機制和濃度效應，可以更深入探討碳源酵素降解醋酸纖維薄膜的關係。

模擬土壤環境之實驗，根據土壤的 pH 值（pH 6、pH 7、pH 8）分別加入纖維酵素、葡萄糖苷酵素和澱粉酵素，發現在 pH 6 條件下酵素活性：澱粉酵素 > 葡萄糖苷酵素 > 纖維酵素。通過與單純化學溶液下降解醋酸纖維薄膜比較，三種酵素在 pH 6 條件下皆有發揮作用，pH 7 和 pH 8 磷酸緩衝液的條件下降解醋酸纖維薄膜之電容響應趨勢幾乎重疊，因此假設在這兩個 pH 條件下酵素的作用相似，而與單純化學降解相比，三種酵素在 pH 7 和 pH 8 條件下降解醋酸纖維薄膜發揮作用。

進行土壤中的實際降解實驗，使用原始土壤進行採樣，其中一組利用高壓蒸氣消毒鍋滅菌，另外一組則是加入菌根菌肥料。實驗分成三組土壤樣本：原始土壤、滅菌土壤、加入菌根菌的土壤，在不同菌量條件下降解醋酸纖維薄膜觀察其電容響應趨勢。在菌量豐沛的環境下，醋纖維薄膜之降解速率高於原始土壤和滅菌土壤，除了菌量，土壤中的水分、空氣循環和溫度等其他因素也會影響降解過程。

我們建立了一套完整的電容式感測架構，針對不同微生物量的土壤進行測試，以觀察電容響應趨勢，相比於傳統有機質降解後透過機械應力的量測方式，電容式感測更加快速、簡便、且可以定量數據加以定義土壤健康度。然而，實際土壤環境非常複雜，不同土壤的微生物群落結構和活性存在差異，土壤的溫度、水分含量、氧氣濃度也與醋酸纖維薄膜的降解有關。本研究中，我們著重討論土壤的 pH 值和碳源酵素影響醋酸纖維薄膜降解，評估土壤微生物綜合能力有助於研究土壤的生物活性和健康狀況，對農業、工業或是林木業領域的土地使用行為進行長期監測和環境評估。進一步深入了解土壤中微生物的降解機制，有助於設計可調控的電容式感測系統，以滿足不同應用場景的需求。



## 5.2 未來工作

1. 薄膜披覆改良：基於目前已知的醋酸纖維薄膜降解行為，開發新型材料或改進薄膜製程，調整材料結構和成分，以調節薄膜在土壤中的降解速率和穩定性，實現更佳的性能和可控的降解過程。
2. 微生物研究：透過分析土壤中的實際微生物組成，比較更多微生物條件下降解速率和電容變化數據，全面探索微生物在土壤中的降解能力以及其對醋酸纖維薄膜降解的影響。
3. 降解機制：設計實驗以深入探究醋酸纖維薄膜在土壤中的降解機制，瞭解更多生物和化學的細節，並分析薄膜降解的主要因素和反應機制，有助於後續設計具有特定降解特性的材料。
4. 應用開發：利用此降解機制，開發其他應用領域，例如文中提到的土壤修復和環境監測。研究醋酸纖維薄膜降解在特定應用場景下的降解效能和可行性。此外，可將其應用於醫療材料的研發設計，通過研究材料在生物體內的降解速率、代謝產物和體內反應過程，優化醫療材料，以滿足特定使用要求（例如：植入手術、藥物載體、生物可降解支架、可吸收的縫合線等）。設計相關實驗流程驗證，理解降解行為和相關的生物反應，從而設計可控的醫材提高治療效果。



## 參考文獻

- 王明光, 汪碧涵, 賴朝明, & 田志仁. (2008). 台灣土壤微生物多樣性監測規劃建議書. 國家科學委員會永續會生物多樣性組行動計畫(NSC 96-2621-B-002-017).
- 王明光, 汪碧涵, 賴朝明, 趙維良, & 田志仁. (2009). 土壤微生物多樣性監測. 台灣大學農業化學系與東海大學生態與生物多樣性研究中心.
- 邱燕欣, 蘇士閔, 張勝智, 文紀鑾, & 林詩舜. (2018). 次世代定序.
- 陳涵歲, 林美君, 林素禎, 曾清山, & 杜元凱. (2022). 土壤微生物擴增子定序物種分類指派策略之研究.
- Ali, Q., Ahmar, S., Sohail, M. A., Kamran, M., Ali, M., Saleem, M. H., Rizwan, M., Ahmed, A. M., Mora-Poblete, F., do Amaral Junior, A. T., Mubeen, M., & Ali, S. (2021). Research advances and applications of biosensing technology for the diagnosis of pathogens in sustainable agriculture. *Environ Sci Pollut Res Int*, 28(8), 9002-9019.
- Amat, D., Thakur, J. K., Mandal, A., Patra, A. K., & Reddy, K. K. K. (2020). Microbial Indicator of Soil Health: Conventional to Modern Approaches. In *Rhizosphere Microbes* (pp. 213-233).
- Anderson, J. P. E., & Domsch, K. H. (1980). Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils.



Berggren, C., & Joghansson, G. (1997). Capacitance Measurements of Antibody-Antigen Interactions in a Flow System.

Boltovets, P. M., Boyko, V. R., Kostikov, I. Y., Dyachenko, N. S., Snopok, B. A., & Shirshov, Y. M. (2002). Simple method for plant virus detection: effect of antibody immobilization technique.

Chang, C.-Y., & Chang, H.-C. (2006). Micro/Nano Biosensing System and Its Application on Biomedicine.

Chen, J.-H., Hui-FangTsai, & Lin, Y.-W. (2003). Evaluation of the Suitability of Three Analvis Methods for Determining Organic Matter Contents in Fertilizers.

Cheng, C.-H., Chien, S.-Y., Lee, Y.-C., & Chang, A.-H. (2000). Relationships Between Total Organic Carbon, Oxidable Carbon, and Organic Matter in Compost.

Cheng, T.-J., Hsiao, H.-Y., Tsai, P.-C., & Chen, R. L. C. (2023). Redoxless Electrochemical Capacitance Spectroscopy for Investigating Surfactant Adsorption on Screen-Printed Carbon Electrodes. *Chemosensors*, 11(6).

Colas, F., Woodward, G., Burdon, F. J., Guérol, F., Chauvet, E., Cornut, J., Cébron, A., Clivot, H., Danger, M., Danner, M. C., Pagnout, C., & Tiegs, S. D. (2019).



Towards a simple global-standard bioassay for a key ecosystem process: organic-matter decomposition using cotton strips. *Ecological Indicators*, 106.

Cosgrove, L., McGeechan, P. L., Handley, P. S., & Robson, G. D. (2010). Effect of biostimulation and bioaugmentation on degradation of polyurethane buried in soil. *Appl Environ Microbiol*, 76(3), 810-819.

Eun, A. J.-C., Huang, L., Chew, F.-T., Li, S. F.-Y., & a, S.-M. W. (2001). Detection of two orchid viruses using quartz crystal microbalance (QCM) immunosensors.

Fischer, S., Thümmler, K., Volkert, B., Hettrich, K., Schmidt, I., & Fischer, K. (2008). Properties and Applications of Cellulose Acetate. *Macromolecular Symposia*, 262(1), 89-96.

Jabiol, J., Colas, F., & Guerold, F. (2020). Cotton-strip assays: Let's move on to eco-friendly biomonitoring! *Water Res*, 170, 115295

Kee, C. M., & Idris, A. (2010). Permeability performance of different molecular weight cellulose acetate hemodialysis membrane. *Separation and Purification Technology*, 75(2), 102-113.

Khater, M., de la Escosura-Muniz, A., & Merkoci, A. (2017). Biosensors for plant pathogen detection. *Biosens Bioelectron*, 93, 72-86.



Kung, Y., Chen, H.-J., Chen, R. R. L., & Cheng, T.-J. (2014). Analysis of Capacitive Biosensors.

Laguerre, G., Bardin, M., & Amarger, N. (1993). Isolation from soil of symbiotic and nonsymbiotic Rhizobium leguminosarum by DNA hybridization.

Latter, P. M. (1988). Technical Aspects of the Cotton Strip Assay in Soils.

Lin, C.-Y., Tsai, Y.-Z., & Lin, L.-L. (2009). Comparison of the soil particle size analysis experiment method.

Mazlan, N. S., Ramli, M. M., Abdullah, M. M. A. B., Halin, D. S. C., Isa, S. S. M., Talip, L. F. A., Danial, N. S., & Murad, S. A. Z. (2017). *Interdigitated electrodes as impedance and capacitance biosensors: A review*

McAuley, Wildgoose, G. G., & Compton, R. G. (2009). The physicochemical aspects of DNA sensing using electrochemical methods. *Biosens Bioelectron*, 24(11), 3183-3190.

Nielsen, M. N., & Winding, A. (2002). Microorganisms as Indicators of Soil Health.

Parr, J. F., Papendick, R. I., Hornick, S. B., & Meyer, R. E. (1992). Soil quality: Attributes and relationship to alternative and sustainable agriculture.



Paternolli, C., Antonini, M., Ghisellini, P., & Nicolini, C. (2004). Recombinant Cytochrome P450 Immobilization for Biosensor Applications.

Patle, P. N., Navnage, N. P., & Barange, P. K. (2018). Fluorescein Diacetate (FDA): Measure of Total Microbial Activity and as Indicator of Soil Quality. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(06), 2103-2107.

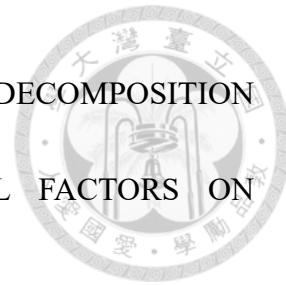
Puls, J., Wilson, S. A., & Höltner, D. (2010). Degradation of Cellulose Acetate-Based Materials: A Review. *Journal of Polymers and the Environment*, 19(1), 152-165.

Ros, S. D., Aliev, A. E., del Gaudio, I., King, R., Pokorska, A., Kearney, M., & Curran, K. (2021). Characterising plasticised cellulose acetate-based historic artefacts by NMR spectroscopy: A new approach for quantifying the degree of substitution and diethyl phthalate contents. *Polymer Degradation and Stability*, 183.

Simon, C., & Daniel, R. (2011). Metagenomic analyses: past and future trends. *Appl Environ Microbiol*, 77(4), 1153-1161.

Slocum, M. G., Roberts, J., & Mendelssohn, I. A. (2009). Artist canvas as a new standard for the cotton-strip assay. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172(1), 71-74.

Smith, M. s., & Tiedje, J. M. (1979). The effect of roots on soil denitrification.



Smith, V. R., Steenkamp, M., & French, D. D. (1993). SOIL DECOMPOSITION  
POTENTIAL IN RELATION TO ENVIRONMENTAL FACTORS ON  
MARION ISLAND.

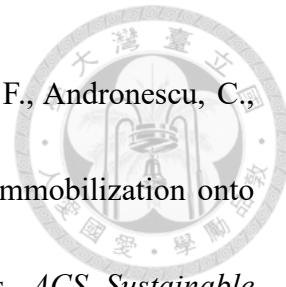
Su, S. (2012). Microbiological Resistance Properties of Geosynthetics and a Jute Fabric.

Tiegs, S. D., Clapcott, J. E., Griffiths, N. A., & Boulton, A. J. (2013). A standardized cotton-strip assay for measuring organic-matter decomposition in streams.  
*Ecological Indicators*, 32, 131-139.

Tulos, N., Harbottle, D., Hebden, A., Goswami, P., & Blackburn, R. S. (2019). Kinetic Analysis of Cellulose Acetate/Cellulose II Hybrid Fiber Formation by Alkaline Hydrolysis. *ACS Omega*, 4(3), 4936-4942.

Velasco-Garcia, M. N., & Mottram, T. (2003). Biosensor Technology addressing Agricultural Problems. *Biosystems Engineering*, 84(1), 1-12

Vischetti, C., Casucci, C., De Bernardi, A., Monaci, E., Tiano, L., Marcheggiani, F., Ciani, M., Comitini, F., Marini, E., Taskin, E., & Puglisi, E. (2020). Sub-Lethal Effects of Pesticides on the DNA of Soil Organisms as Early Ecotoxicological Biomarkers. *Front Microbiol*, 11, 1892.



Voicu, S. I., Condruz, R. M., Mitran, V., Cimpean, A., Miculescu, F., Andronescu, C.,

Miculescu, M., & Thakur, V. K. (2016). Sericin Covalent Immobilization onto Cellulose Acetate Membrane for Biomedical Applications. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(3), 1765-1774.

VOS, K. D., O.BURRIS, F., JR., & RILEY, R. L. (1966). Kinetic Study of the Hydrolysis of Cellulose Acetate in the pH Range of 2-10.

Wang, Y.-C. (2007). Effect of Surface Modification on the Electrochemical Properties of Screen-printed Carbon Paste Electrode.

Wardle, D. A., & Ghan, A. (1995). CRITIQUE OF THE MICROBIAL METABOLIC QUOTIENT (qC02) AS A BIOINDICATOR OF DISTURBANCE AND ECOSYSTEM DEVELOPMENT.

Webb, J. R., Pearce, N. J. T., Painter, K. J., & Yates, A. G. (2019). Hierarchical variation in cellulose decomposition in least-disturbed reference streams: a multi-season study using the cotton strip assay. *Landscape Ecology*, 34(10), 2353-2369.

Weninger, T., Kamptner, E., Dostal, T., Spiegel, A., & Strauss, P. (2020). Detection of physical hazards in soil profiles using quantitative soil physical quality assessment in the Pannonian basin, Eastern Austria. *International Agrophysics*, 34(4), 463-471.



West, N. M. (2000). *Kodak and the Lens of Nostalgia*. University of virginia Press.

Wisniak, J. (2015). Paul Schützenberger. *Educación Química*, 26(1), 57-65.

Wodsedalek, J. E., Andres, A. H., Makino, S., & Lande, O. (1964). Ammonium production in soil under waterlogged conditions as an index of nitrogen availability.

Wongkaew, P., & Poosittisak, S. (2014). Diagnosis of Sugarcane White Leaf Disease Using the Highly Sensitive DNA Based Voltammetric Electrochemical Determination. *American Journal of Plant Sciences*, 05(15), 2256-2268.

Yamazaki, S., Isoyama, K., & Shimizu, D. (2020). Visualization of ultraviolet irradiation using WO<sub>3</sub>-cellulose derivatives composite film. *Optical Materials*, 106.

Zou, Y., Mason, M. G., Wang, Y., Wee, E., Turni, C., Blackall, P. J., Trau, M., & Botella, J. R. (2017). Nucleic acid purification from plants, animals and microbes in under 30 seconds. *PLoS Biol*, 15(11), e2003916.