

中華民國第 52 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高中組 生物（生命科學）科

040716

雷霆萬菌

—不同脈衝頻率之高壓電場抑菌能力探討

學校名稱：臺北市私立開南高級商工職業學校

作者：	指導老師：
職二 陳志宏	江明岳
職二 杜明軒	徐 冰
職一 曾昱翔	

關鍵詞：高壓電場、抑菌、頻率

不同脈衝頻率之抑菌效果探討

摘要

因此本研究希望能探討不同的高壓脈衝條件下，抑菌的情形並推論抑菌機制。本研究中，我們成功建置可調頻高壓脈衝產生器，將 110V 電壓轉換至 7742V 並能夠輸出直流電與 10ms、20ms、30ms、40ms 四種周期的直流脈衝。本研究分析菌落數並探討不同電場與脈衝抑菌效果。本研究雙因子變異數分析結果顯示，**直流脈衝頻率對抑菌效果的影響大於電場強度**。另外，單因子變異數分析直流電與不同頻率直流脈衝頻率抑菌效果顯示，**持續給與直流電的抑菌效果遠較給與不同頻率直流脈衝效果好**，藉此推論本高壓脈衝裝置的抑菌原理也許是藉由抑制細胞膜透來達成。未來期盼能藉此發展具有簡單、成本低廉、耗能小、保鮮效果好、不會留餘毒、不會造成二次污染等優點的抑菌裝置。

壹、 研究動機

一、 緣起:

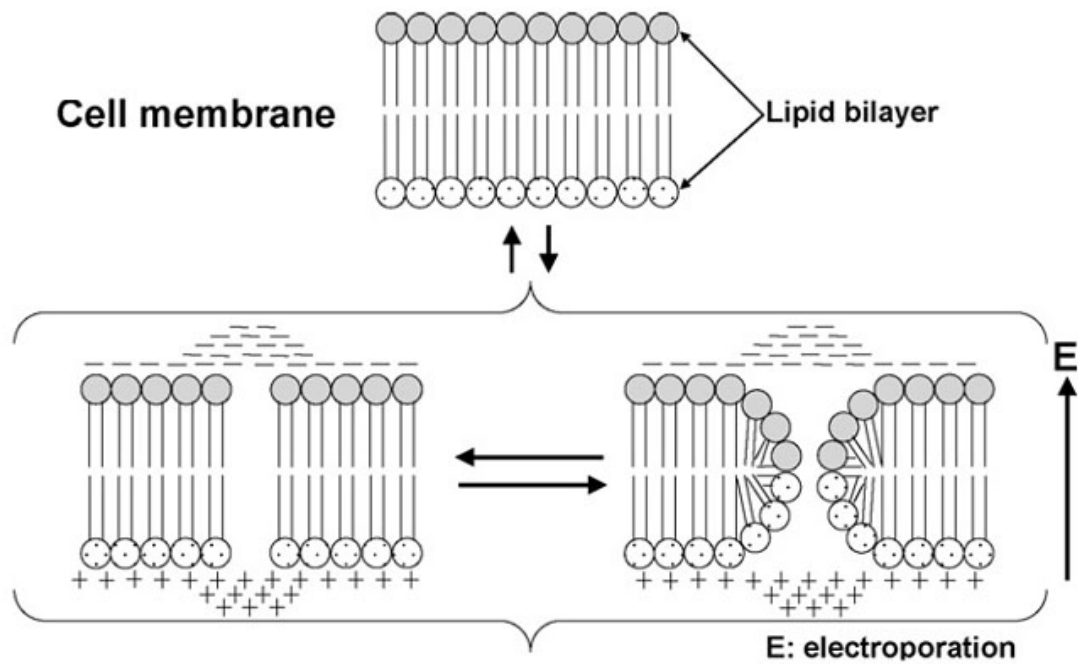
在家庭中常見的殺菌方法就是加熱或是加鹽脫水，可是這兩種方法都不能拿來幫牛奶滅菌，因此就好奇究竟每次喝牛奶的時候，看到包裝上面寫本產品經低溫滅菌處理的處理法到底是什麼方式。因此就上網查資料發現原來還有很多種滅菌的方式。其中高壓脈衝滅菌的方法目前雖然被證實有效，但是並不清楚真正的機制，而且有些報導指出高壓脈衝也可以幫助植物生長。綜合這些報導後，發現高壓脈衝既然可以滅菌而且也可以幫助植物生長。如果這兩個報導都屬正確，那麼在現有眾多的高壓脈衝作用假說中，影響細胞膜通透最為可能造成此兩種效果。因此想藉由研究不同電場與脈衝抑菌效果來驗證細胞膜通透抑菌機制。

二、 現存高壓脈衝抑菌機制假說:

食品本身提供微生物一個良好的生長環境，但不是所有的細菌都對人體有益。因此為了能夠安全的保存並使用食品，就必須採取各類的滅菌方法。在各大類的方法中，高壓脈衝殺菌擁有設備簡單、成本低廉、耗能小、保鮮效果好、不會留餘毒、不會造成二次污染等優點。然而高壓脈衝能夠殺菌的機制，科學界還沒有明確的定論，目前主要有 (1)細胞膜穿孔效應、(2)電磁機制模型、(3)粘彈極性形成模型、(4)電解產物效應、(5)臭氧效應、(6)細胞膜通透模型等這幾種假說。

(一)、 細胞膜穿孔效應假說：

細胞膜內外帶有一定的電荷，具有一定的通透性和強度。膜的外表面與內表面之間具有一定的電勢差。當細胞上加一個外加電場時，這個電場將使膜內外的電勢差增大。此時，細胞膜的通透性也隨著增加，當電場強度增大到一個臨界值時，細胞膜的通透性會劇增，膜上會出現許多小孔，使膜的強度降低。此外當所加電場為一脈波電場時，電壓會在瞬間劇烈波動，在膜上產生振蕩效應。孔的加大和振蕩效應的共同作用會使細胞發生崩潰，藉此達到殺菌目的(周平。2004, Yanga, et al. 2008)。



圖一、細胞膜穿孔效應假說示意圖。上圖為細胞膜一般狀態，下圖為高壓脈衝造成的細胞膜穿孔(本圖修自 Yanga, et al. 2008)。

(二)、 電磁機製理論：

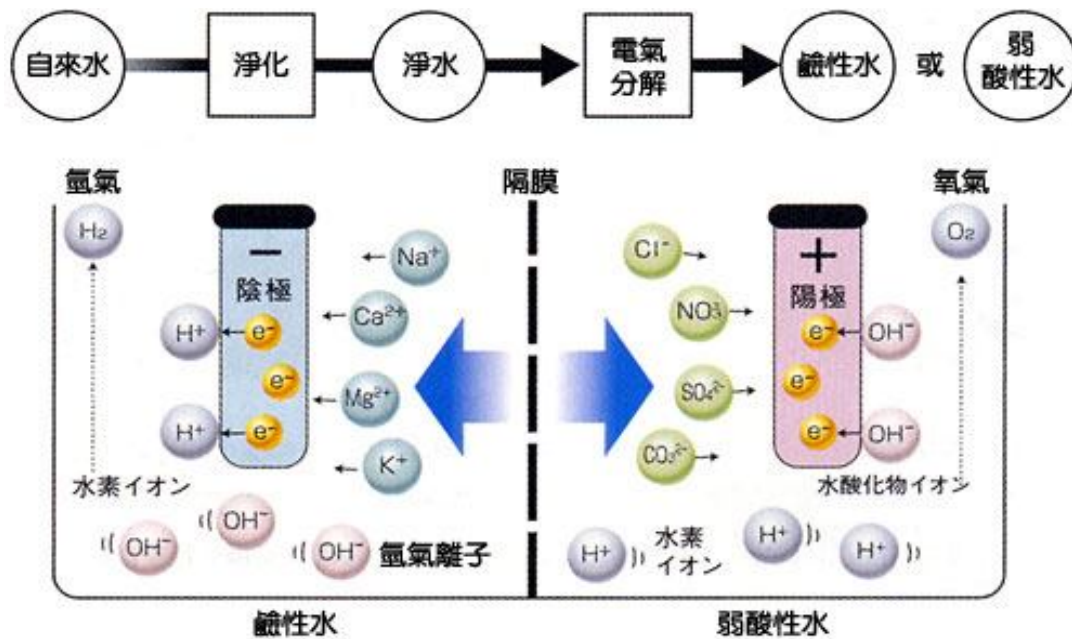
電場能量與磁場能量是能相互轉換的，在兩個電極反覆充電與放電的過程中，造成細胞內磁場混亂，進而抑制細菌生理作用 (張佰清。2005)。

(三)、 粘彈極性形成模型：

細菌的細胞膜受到強烈的電場作用產生劇烈振蕩，同時介質中產生等離子體，並且劇烈膨脹，產生強烈的衝擊波，超出細菌細胞膜的可塑性範圍而將細菌擊碎(崔寶欣。1998)。

(四)、 電解產物理論：

在電極點施加電場時，電極附近介質會電離產生陰離子與陽離子，這些陰陽離子在強電場作用下非常活躍，穿過在電場作用下通透性提升的細胞膜，與細胞內物質如：蛋白質、核糖核酸結合使之變性，進而影響細胞生理作用。(王奕程和方煒。2006)



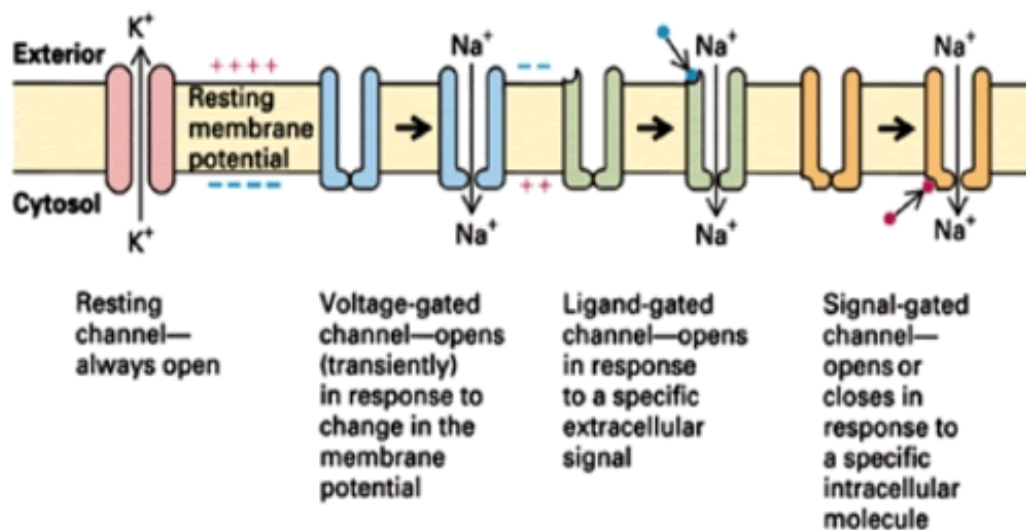
圖二、 電解水機制示意圖。電極造成介質中的電解質電解產生陰/陽離子的作用與電解水的機是=是一樣的。(本圖引用自 Comoto 電解水機專賣網)。

(五)、 臭氧效應理論：

在電場作用下液體介質電解會產生臭氧，臭氧具有強烈的殺菌消毒作用，還可破壞乙烯的催熟作用且可產生與負離子作用類似的作用。在低濃度下臭氧已能有效殺滅細菌。(王奕程和方煒。2006)

(六)、細胞膜通透模型：

生物體內的水溶液離子受到細胞膜內外兩側的濃度梯度和膜電位梯度兩種驅動力的作用，以此決定其運動方向及對細胞膜的穿透力。若外加電場與膜電位梯度正方向一致，膜電位梯度差增大，反之則減少。膜電位梯度差的改變影響膜兩邊帶電粒子的定向轉動，進而產生生物電流，帶動生化反應 (王奕程和方煒，2006, Y.C. Wang, et al. 2008)。



圖三、細胞膜離子通道造成細胞膜電位梯度差。(本圖引用自360教育網)。

上述的各種理論都能解釋部分的高壓脈衝殺菌現象，但是無法全面解釋所有的現象，也缺乏能提供詳盡解釋的的實驗平台，因此關於高壓脈衝殺/抑菌的作用機制，尚有待釐清。

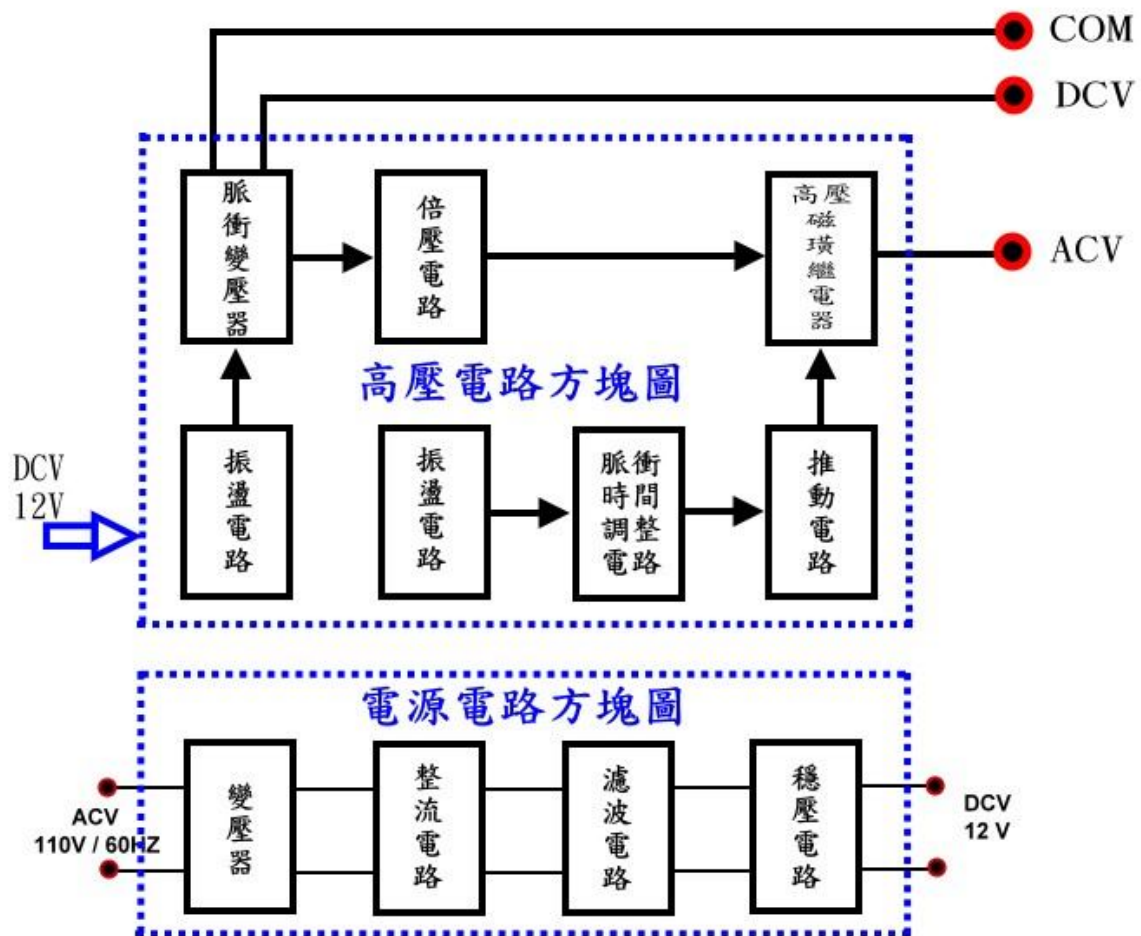
貳、 研究目的

- 一、 分析不同電場強度的抑菌效果
- 二、 分析直流電場以及不同頻率直流脈衝的抑菌效果
- 三、 分析本研究高壓脈衝產生器的抑菌機制

參、 研究過程及材料方法

一、 可調頻式高壓脈衝產生器的建置與測試

由於一般市售的高壓脈衝產生器不但購買不易，也無法符合我們的實驗需求，因此我們請教電子電機的專業教師協助我們設計可調頻式高壓脈衝產生器，並教導我們組裝用以實驗。整體的電路設計方塊圖如圖四。



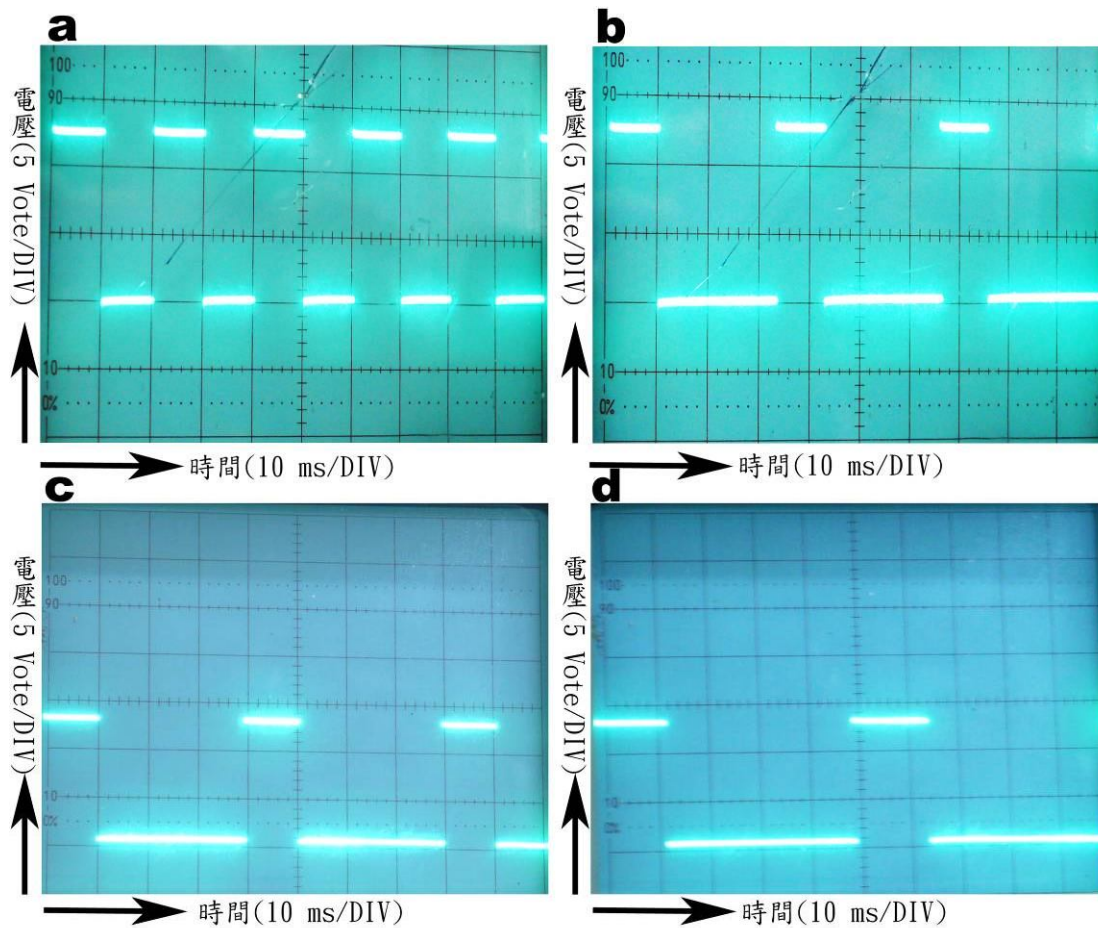
圖四、高壓脈衝產生器設計方塊圖。

由於此高壓脈衝產生器總電壓極高，無法以現有儀器直接測量。因此我們改用三用電錶測量變壓器中，每一變壓器單一變壓零件電壓，將所有零件電壓的總和即為此高壓脈衝產生器之電壓。根據我們測量的結果(表一)，此產生器可將 110V 電壓轉換成 7742V 的高壓脈衝，使我們得以使用此高壓脈衝產生器進行高壓脈衝抑菌實驗。

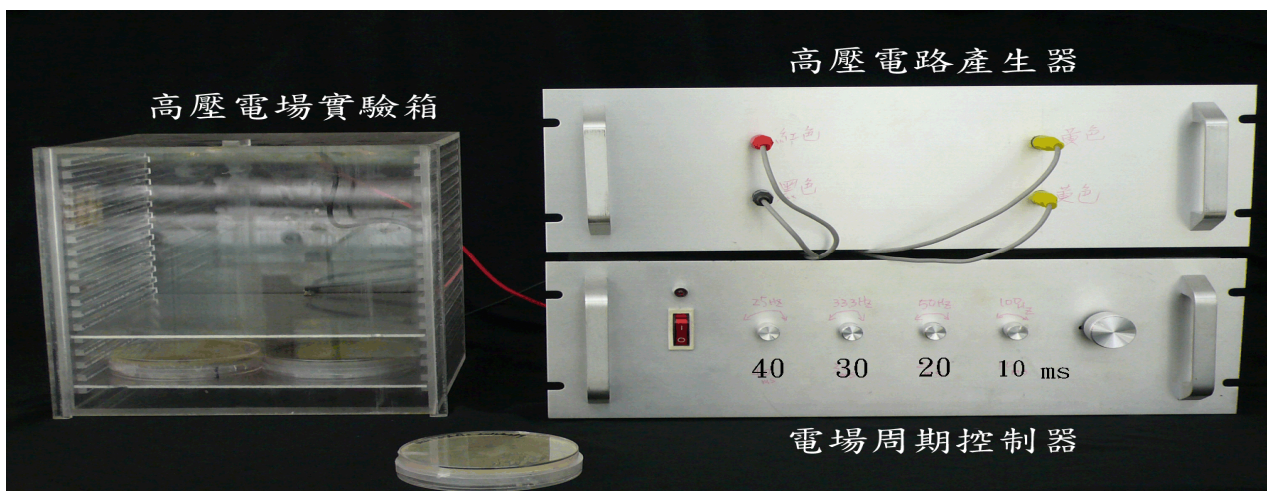
此外，因為我們希望可以產生不同周期的直流高壓脈衝，因此加入脈衝時間調整電路設計。因為電壓過高，示波器無法負荷，因此我們先將可調頻式高壓脈衝產生器接上降壓器後，再利用示波器測量每個高壓脈衝周期。圖五顯示示波器所測得的高壓脈衝周期。縱軸表示接上降壓器後的電壓；每一個方格= 1DIV，橫軸表示時間；每一個方格= 1 DIV。為了能清楚照下示波器的資料，故將刻度調整為縱軸每 DIV=5 Volt，橫軸每 DIV=10ms。在圖五 a.顯示此高壓脈衝周期/頻率=10ms /100Hz。圖五 b. 顯示此高壓脈衝周期/頻率= 20ms /50Hz。圖五 c. 顯示此高壓脈衝周期/頻率=30ms /33.3Hz。圖五 d. 顯示此高壓脈衝周期/頻率= 40ms /25Hz。每個周期電場的作用的時間為 10ms (圖五)。建置完成的可調頻式高壓脈衝產生器外觀如圖六。

表一、 三用電表測得之單一變壓器電壓值，所有之總和電壓為 7742 Volt。

變壓器編號	1	2	3	4	5
電壓	312	314	319	319	323
6	7	8	9	10	11
318	321	325	316	324	329
12	13	14	15	16	17
331	336	340	344	346	352
18	19	20	21	22	23
356	360	361	362	364	370



圖五、可調頻式高壓脈衝產生器接上降壓器後測得的高壓脈衝周期。縱軸表示接上降壓器後的電壓；橫軸表示時間；每一個方格= 1 DIV。a. 高壓脈衝周期/頻率=10ms /100Hz。b.高壓脈衝周期/頻率=20ms /50Hz。c.高壓脈衝周期/頻率=30ms /33.3Hz。d.高壓脈衝周期/頻率= 40ms /25Hz。



圖六、建置完成的可調頻式高壓脈衝產生器以及高壓電場實驗箱外觀。

二、 實驗菌株選殖

為了要能夠降低外界影響，再加上各研究都顯示不同的菌種對高壓脈衝的承受力各不相同。因此本研究在實驗設計上決定培養特定菌種 *DH5 α* 並轉入具有硫酸卡那霉素(Kanamycin) 抗性質體 pCAMBIA2300 來探討高壓脈衝抑菌的能力。

1. Kanamycin plate 製作 (Ausubel,1987)

1. LB (Luria broth)配製:

- (1). 在一升的燒杯中將表二中各材料混合均勻後，調整溶液pH值至7.0。之後將溶液置入1L的血清瓶(紫外光)並加入1.5g的 AgarA(禾欣)。
- (2). 置入高壓滅菌釜中以 121°C，1.2 kg / cm²滅菌 15 分鐘後移至 65°C烘箱。

2. Plate 製作:

- (1). 滅菌後的 LB 溶液靜置至溫度降到約 65°C 後，在無菌操作台中加入 Kanamycin(禾欣)最後濃度達 50 mg/L，並混和均勻。
- (2). 將適量 LB 溶液到入 9cm 養菌培養皿(γ 滅菌，紫外光)，高約 0.5cm 後靜置於無菌操作台冷卻凝固後收納於 4°C 備用。

表二、 LB (Luria broth)配製成分

成分	每 升
Tryptone (禾欣)	10 g
NaCl(禾欣)	10 g
Yeast extract(禾欣)	5 g
H2O	補到一公升

2. 質體之轉形 (Ausubel,1987)

細菌質體需藉由轉形 (transformation) 的技術，將引介入細菌體中，之後再藉由寄主細菌的系統來達成複製或進行基因表現的目的。寄主細菌的選擇，須視質體的種類及實驗的目的而定。本實驗的目的在加入一個質體，使 DH5 α 大腸桿菌可以在含有 50 mg/L 的 LB/Kan plate 上生長。因此我們選用 pCAMBIA2300 質體進行熱轉形，pCAMBIA2300 的質體基因如圖七，可以看見其具有抗 Kanamycin 基因。

1. 先裝質體 pCAMBIA2300 1 μ L 於 1.5mL 微量離心管中，置冰浴中預冷。
2. 加入 200 μ L DH5 α competent cells 菌液，震盪混合後，置冰浴中 20 分鐘。
3. 42°C 水浴加熱 50 秒。
4. 置冰浴中 2 分鐘。
5. 加入 800 μ L 的 LB，混合後，於 37°C 震盪培養 30~60 分鐘。
6. 取 20 μ L 菌液塗佈於 LB/Kan plate。
7. 待培養基表面之菌液完全被吸收後，倒置培養皿於 37°C 培養 16~20 hr 後，取單一菌落劃菌至新的 LB/Kan plate。
8. 取單一菌落置於 LB/Kan 培養基 37°C 培養，後抽取質體以 SpeI 酵素(R1033 New England Biolabs) 截切後利用水平 DNA 電泳確認質體。

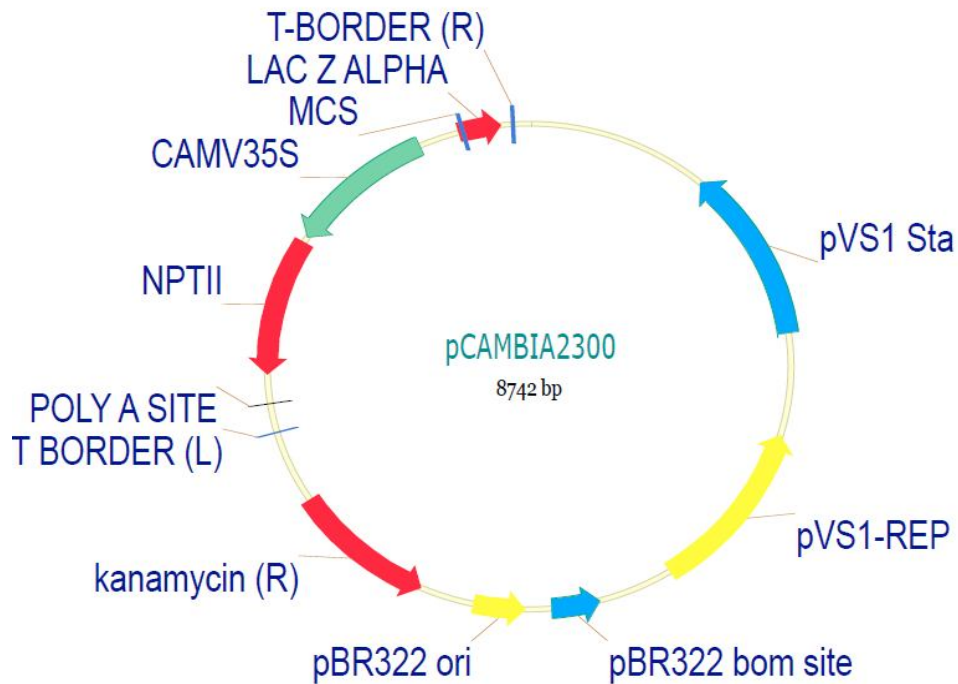
3. DH5 α (含 pCAMBIA2300)培養

將 DH5 α (含 pCAMBIA2300)置於 LB/Kan 培養基 37°C 培養到菌數約為 10^5 /mL 時，在乾淨的環境下取 20 μ L 菌液塗佈於 LB/Kan plate 後置於不同高壓脈衝條件環境下培養 24hr。

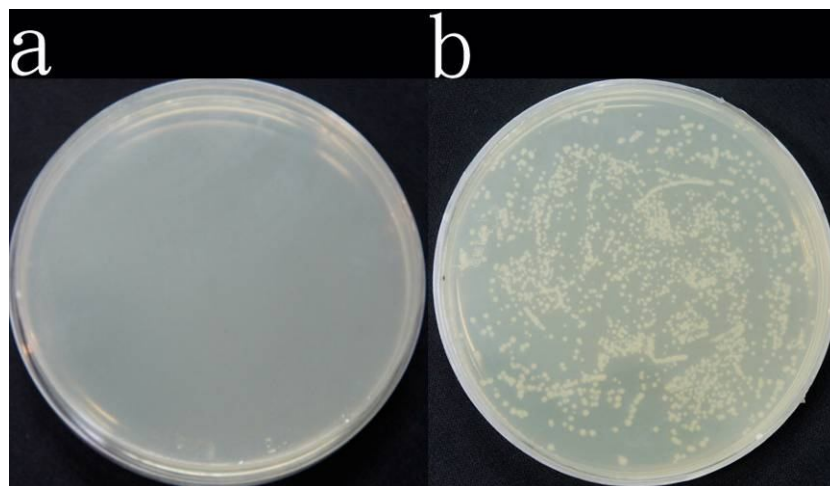
4. 預先試驗: LB/Kan plate 功能測試

由於高壓電場實驗箱無法放置於培養箱中，因此我們將培養環境架設在室溫下培養。且因為 DH5 α 並非在最適合的環境下生長，因此我們預先測試 LB/Kan plate 在室溫下靜置 48hr 之後是否還有抗菌的效果。我們將自來水靜置於室內 24hr 後取 20 μ L 塗佈於 LB/Kan plate。在室溫下靜置 48hr 之後結果如圖八 a，並沒有產生菌落，且繼續培養 72hr 後有菌落產生。取 20 μ L DH5 α (含 pCAMBIA2300)菌液塗佈於 LB/Kan plate。在室溫下靜置 48hr

之後結果如圖八 b，長出 DH5 α 菌落。確認 LB/Kan plate 在室溫下靜置 48hr 之後依然還有抗菌的效果。



圖七、 pCAMBIA2300 的基因圖譜。由此圖可知此質體帶有 Kan 抗藥性基因，故選用此質體。



圖八、 a. LB/Kan plate 在室溫下靜置 48hr 之後依然沒有細菌孳生，b. 取 20 μ LDH5 α (含 pCAMBIA2300) 菌液塗佈於 LB/Kan plate 在室溫下靜置 48hr 之後長出 DH5 α 菌落。確認 LB/Kan plate 在室溫下靜置 48hr 之後依然還有抗菌的效果。

三、 雙因子變異數分析(Two- Way ANOVA)

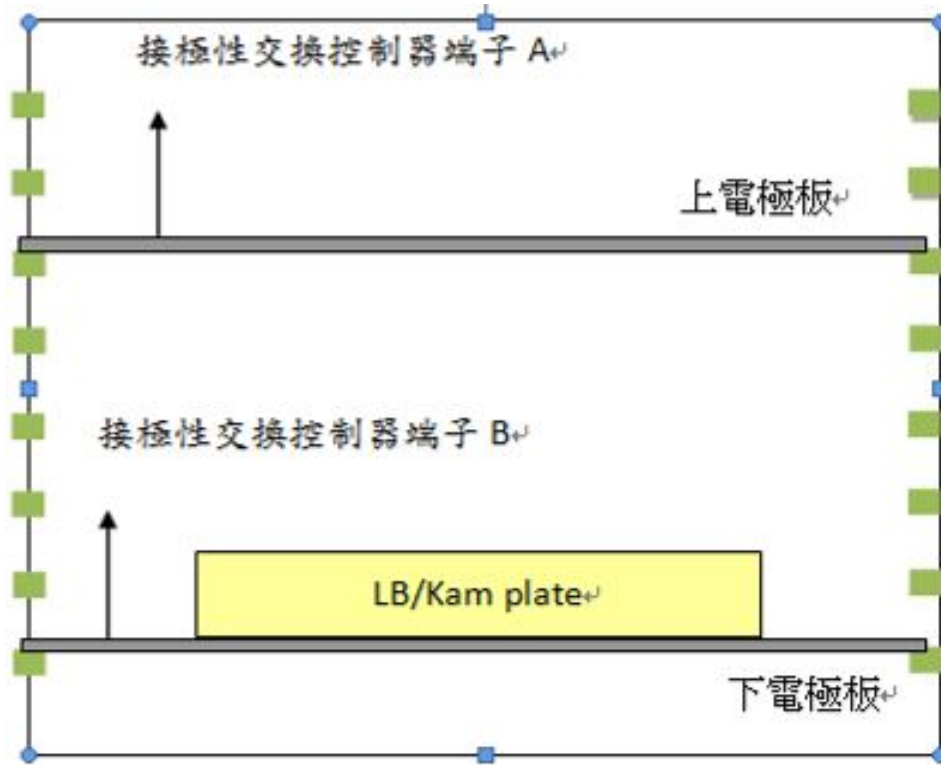
為了能夠了解不同電場強度與不同直流電脈衝對抑菌作用的交互影響，所以採用雙因子變異數分析(Two- Way ANOVA)來分析抑菌率。另外，為了降低因室溫不同而造成的誤差，因此將同一天不同電場菌落數除以未加任何電場(NON)菌落數來做數據標準化(data normalization)。並計算抑菌率。

1. 數據標準化(data normalization)公式 = 電場菌落數(平均值)/未處理(Non)菌落數(平均值)

2. 抑菌率公式 = { 1-[電場菌落數(平均值)/未處理菌落數(平均值)] } x 100%

肆、 研究結果

在確認 LB/Kan plate 在室溫下靜置 48hr 還有抗菌的效果後，本研究將 $DH5\alpha 10^5/mL$ 菌液，在乾淨的環境下取 $20\ \mu L$ 塗佈於 LB/Kan plate 後置於未加任何電力的實驗箱之以及不同高壓脈衝實驗箱(圖九)下培養 48hr。



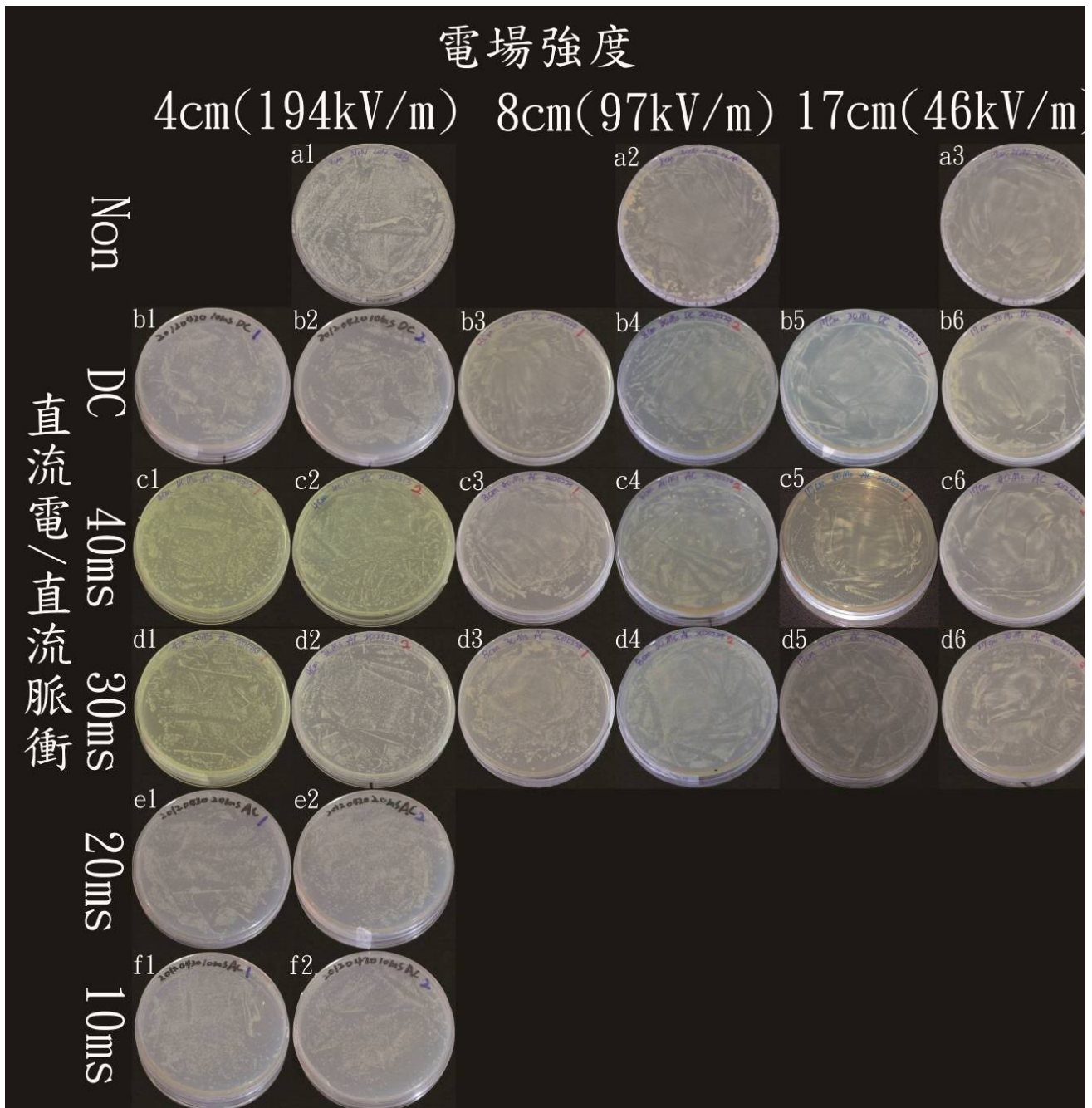
圖九、 高壓電場實驗箱裝置示意圖。

一、 預先定性測試

因為不清楚抑菌效果如何，因此預先採用了 $DH5\alpha 10^7/mL$ 菌液，在乾淨的環境下取 $20\ \mu L$ 塗佈於 LB/Kan plate 後置於未加任何電力的實驗箱之以及不同電場(距離 17cm、8cm、4cm)條件下培養 48hr。結果如圖十，發現原始液菌數過高造成菌落數不易計數，因此調整成 $10^5/mL$ ，且因為電場強度距離 17cm 的結果與未加入電場差異不大，因此在定量實驗中移除此條件。

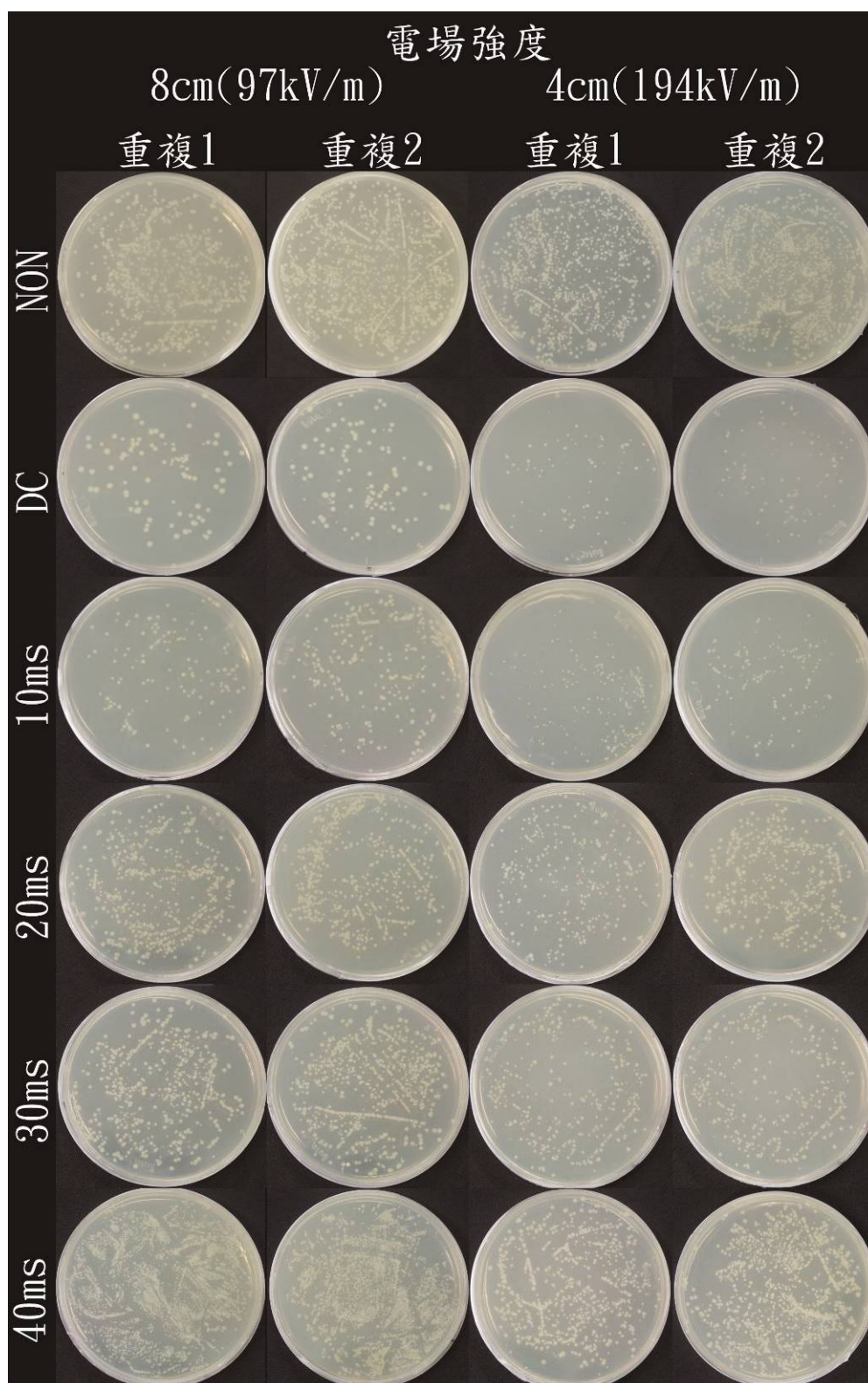
表三、 上下電極板距離與電場強度換算結果。

電極距離(cm)	17cm	8cm	4cm
電場強度(kV/m)	46 kV/m	97kV/m	194 kV/m



圖十、預先定性測試中不同脈衝條件下菌落生長情形。a1~3 分別為沒有加任何電場菌落生長情形。b1~6 是直流電(DC)下不同電場強度菌落生長情形，c1~6 是直流脈衝 40ms 下不同電場強度菌落生長情形，d1~6 是直流脈衝 30ms 下不同電場強度菌落生長情形，e1~2 是直流脈衝 20ms 下不同電場強度菌落生長情形，f1~2 是直流脈衝 10ms 下不同電場強度菌落生長情形，(DC:直流電；AC:直流脈衝)。電場強度 46kV/m(17cm)下幾乎沒有作用，194kV/m(4cm)抑菌效果最強。直流電 DC 抑菌效果較所有直流脈衝好。在直流脈衝周期低於 10ms 下抑菌較好。本次定性實驗因為原始菌數為 10^7 /mL 故菌落數過高無法計數。

二、不同電場強度測試



圖十一、不同電場強度與不同頻率直流脈衝下細菌生長情形。Non 為沒有加任何電場條件下細菌生長情形。DC 為持續的高壓直流電。10ms、20ms、30ms、40ms 分別為不同高壓脈衝周期下細菌生長情形。每一實驗條件重複數為二。

電場強度定義為空間中電場向量的大小值，其單位為伏特每公尺(V/m, kV/m)。

本研究建置的高壓脈衝產生器會穩定輸出 7,742 Volt 的電壓，因此我們可以調整高壓電場實驗箱中上下電極板的距離來調整電場強度。本研究測試的電極板距離與電場強度分別為電場強度 8cm(97kV/m)與 4cm(194kV/m)，抑菌結果如圖十一，電場強度 8cm(97kV/m)菌落計數的結果如表四，4cm(194kV/m)菌落計數的結果如表五。因為電場強度電場強度 8cm(97kV/m)與 4cm(194kV/m)的各種不同脈衝條件研究，是分別在兩個不同室內氣候條件下，因此利用未加入任何電場(Non)作為數據標準化(Data normalization)基礎。Normalization 代表數據標準化，目的在降低因不同時間的實驗中人為以及環境的誤差。標準化公式 = 電場菌落數(平均值)/未處理菌落數(平均值)。抑菌率(%)計算公式 = { 1-[電場菌落數(平均值)/未處理菌落數(平均值)] } x 100%。 ，兩電場與不同直流脈衝頻率的抑菌率如圖十二。

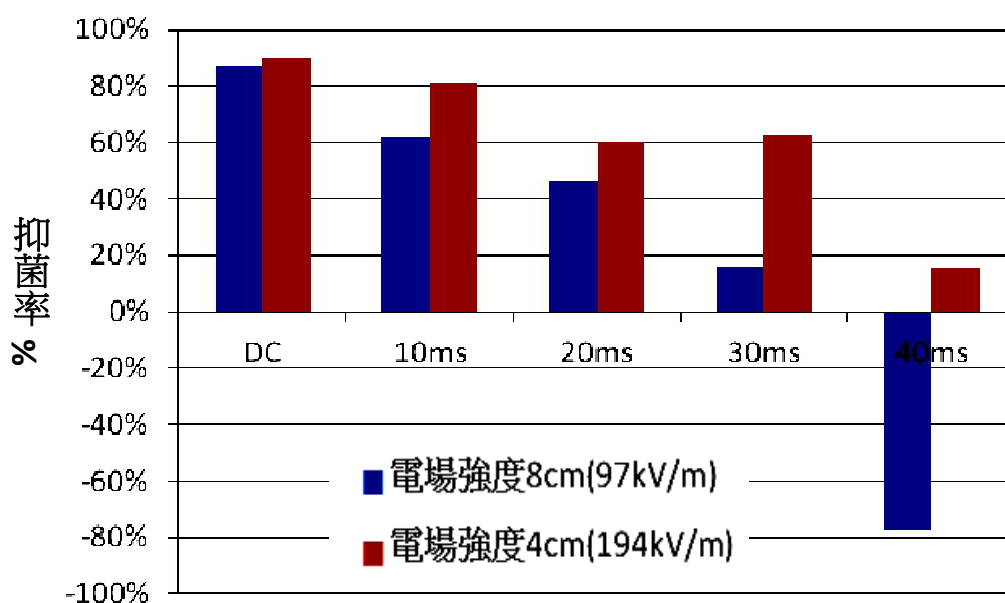
根據表四以及表五的菌落數計數結果，我們利用兩不同電場強度抑菌率進行雙因子變異數分析(Two-Way ANOVA)來比較電場強度以及不同脈衝頻率對抑菌效果的交互作用強度。

表四、電場強度 8cm(97kV/m)菌落計數的結果。

電場強度 8cm(97kV/m)	直流電		直流電周期			
	DC	10ms	20ms	30ms	40ms	Non
重複 1	77	128	322	506	1258	615
重複 2	88	238	338	553	965	639
平均值	82.5	238	338	529.5	1111.5	627
Normalization	0.13158	0.37959	0.53907	0.8445	1.77273	1
抑菌率(%)	87%	62%	46%	16%	-77%	0

表五、電場強度 4cm(194kV/m)菌落計數的結果。

電場強度 4cm(194kV/m)	直流電		直流電周期			
	DC	10ms	20ms	30ms	40ms	Non
重複 1	80	197	287	308	717	890
重複 2	99	134	397	336	744	832
平均值	89.5	165.5	342	322	730.5	861
Normalization	0.10395	0.19222	0.39721	0.37398	0.84843	1
抑菌率(%)	90%	81%	60%	63%	15%	0



圖十二、不同電場強度與不同頻率直流脈衝下抑菌率。

兩電場與不同直流脈衝頻率的抑菌率雙變因分析結果如表六。根據圖十一、十二與表四、五，電場強度 8cm(97kV/m)與 4cm(194kV/m)兩組比較結果，當電場強度越弱，plate 上細菌的菌落數有較多的趨勢。且根據表六雙因字變異數分析結果顯示，不同的脈衝周期對抑菌效果影響較大($p=0.04 < 0.05$)而不同電場強度對抑菌效果的影響較不顯著($p=0.09 > 0.05$)。

表六、兩電場與不同直流脈衝頻率的抑菌率雙變因分析結果。

摘要	個數	總和	平均	變異數
電場強度 8cm (97kV/m)	5	1.33254	0.26651	0.40442
電場強度 4cm (194kV/m)	5	3.0842	0.61684	0.08279
DC	2	1.76447	0.88224	0.00038
10ms	2	1.4282	0.7141	0.01755
20ms	2	1.06371	0.53186	0.01006
30ms	2	0.78152	0.39076	0.11069
40ms	2	-0.6212	-0.3106	0.42716

ANOVA

變源	SS	自由度	MS	F	P-值	臨界值
電場強度	0.30683	1	0.30683	4.73847	0.09508	7.70865
直流脈衝頻率	1.68984	4	0.42246	6.52409	0.0483	6.38823
錯誤	0.25902	4	0.06475			
總和	2.25569	9				

三、 直流電與直流脈衝測試

根據圖十一、十二，直流電 (DC) 下的菌落數有較直流脈衝下少的趨勢。在過去並不曾有研究探討直流電與直流脈衝的抑菌差異。因此本研究是首次觀察到直流電與直流脈衝抑菌效果的差異。直流電與直流脈衝都是維持相同的電場強度，最大的差異是脈衝周期。根據表七與表八電場頻率單因子變異數分析結果在電場強度 8cm(97kV/m) 時， $p = 0.00086 < 0.05$ 。在電場強度 4cm(194kV/m) 時， $p = 0.00015 < 0.05$ ，顯示不同電場頻率對抑菌效果有顯著影響。

表七、電場強度 8cm(97kV/m) 電場頻率單因子變異數分析結果。

摘要						
組	個數	總和	平均	變異數		
DC	2	165	82.5	60.5		
10ms	2	366	183	6050		
20ms	2	660	330	128		
30ms	2	1059	529.5	1104.5		
40ms	2	2223	1111.5	42924.5		
ANOVA						
變源	SS	自由度	MS	F	P-值	臨界值
組間	1329223	4	332306	33.0537	0.00086	5.19217
組內	50267.5	5	10053.5			
總和	1379490	9				

表八、電場強度 4cm(194kV/m) 電場頻率單因子變異數分析結果。

摘要				
組	個數	總和	平均	變異數
DC	2	179	89.5	180.5
10ms	2	331	165.5	1984.5
20ms	2	684	342	6050
30ms	2	644	322	392
40ms	2	1461	730.5	364.5

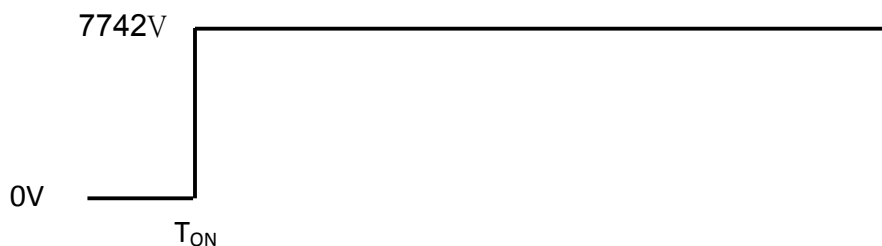
ANOVA

變源	SS	自由度	MS	F	P-值	臨界值
組間	491017	4	122754	68.4135	0.00015	5.19217
組內	8971.5	5	1794.3			
總和	499989	9				

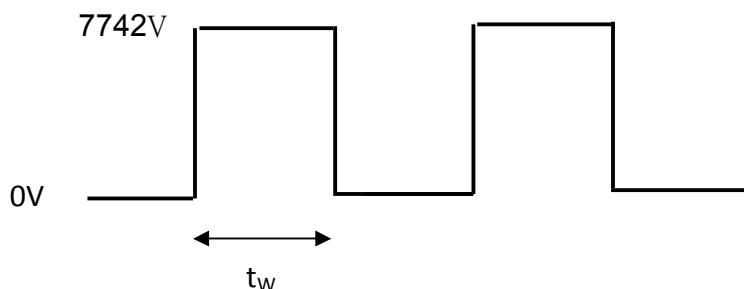
伍、 討論

一、 直流電與直流脈衝測試結果

直流電與直流脈衝測試結果顯示直流電 (DC) 下的菌落數有較直流脈衝下少的趨勢，因此我們推論應該是因為直流電會持續給予細胞膜穩定作用力讓離子無法順利通透，使細菌存活率降低(如圖十三)；而直流脈衝雖會干擾離子通透，但因為對細菌細胞膜內外離子僅在 t_w 有作用力(如圖十四)，使得細菌離子有較高的機會通過細胞膜因此細菌存活率較高。



圖十三 直流高壓對細菌細胞膜內外離子在 T_{ON} 後，持續有作用力($F=qE$)， q 是細菌細胞膜內外離子帶電量， E 是電場強度($E=7742V/\text{高壓箱極板間距}$)。



圖十四 直流脈衝對細菌細胞膜內外離子僅在 t_w 才有高壓電場也就在此期間才作用力($F=qE$)， q 是細菌細胞膜內外離子帶電量， E 是電場強度($E=7742V/\text{高壓箱極板間距}$)。

二、 不同高壓脈衝周期測試

此次的定性實驗中，我們測試 10ms、20ms、30ms、40ms 四種不同的周期，發現 30ms、40ms 並無差異，20ms 與 10ms 抑菌效果較好，其中尤以 10ms 的效果最好。與先前的推論一致，周期越短，直流脈衝給予細胞的作用力時間越長，因此抑菌效果越好。支持本研究使用的高壓脈衝可能是藉由「細胞膜通透模型」的方式抑菌。且前人的研究裡也提出過若使用適當強度的靜電高壓電場則可幫助植物種子發芽以及鳥類的卵孵化(王奕程和方煒，2006)。表示高壓電場並不止能干擾細菌生存，還能幫助生物發育。若要能夠達到此兩種功

能，則只有「細胞膜通透模型」符合此現象。而且根據此理論，若能夠外加一個適當頻率的電場，甚至能促進細胞生長。

三、 我們組裝的可調頻式高壓脈衝產生器是藉由干擾細胞膜通透達到抑菌

效果:

六種假說的分析及討論

(1)細胞膜穿孔效應：當有一高壓電場時，細胞膜會膨脹，這時細胞膜上會產生許多小孔，如果給予一脈衝電場，細胞膜上的孔和脈衝產生震盪效應，使細胞崩潰，但是脈衝的震盪會比直流的震盪來的多，照此假說脈衝的抑菌效果會比直流的抑菌效果來的好，但是結果顯示，直流的抑菌效果卻比脈衝的抑菌效果來的好，因此，我們才會說此效應並不適用在我們的實驗中。

(2)電磁機製模型：在一電場中，電壓的變動，會產生磁場，這個磁場會干擾細胞內原有的磁場，細胞受到了外界的磁場干擾，而無法進行他所需要進行的生理反應，而達到抑菌的效果，直流脈衝改變電壓的次數較直流來的多，直流脈衝磁場的轉變也會較於直流多，若照此假說來看結果的話，直流脈衝的抑菌效果要會比直流來的好，但是，我們的實驗結果卻是直流比直流脈衝的抑菌效果來的好，因此，我們能說此假說並不適用在我們的實驗中。

(3)粘彈極性形成模型：細胞在一電場中，會產生等離子體以及震盪，而這些等離子體會去附著在其他的細胞上，持續的受到電場作用，持續的膨脹和震盪，達到一定值時，會使細胞破裂，而達到抑菌的效果，此假說也是說直流脈衝會比直流的抑菌效果來的好，但是我們的實驗結果卻是直流電的抑菌效果比直流脈衝的抑菌效果來的好，因此我們可以說此假說也不適用在我們的實驗中。

(4)電解產物效應：此假說必須在液態培養下才能驗證，我們的實驗室使用固態培養，所以這個假說並沒有在我們的實驗中被驗證。

(5)臭氧效應：此假說必須在液態培養下才能驗證，我們的實驗是使用固態培養，所以這個假

說並沒有在我們的實驗中被驗證。

(6)細胞膜通透模型：細胞膜上有許多離子通道，今天在穩定高壓電場的情況下，這個電場就像是一堵牆把離子通到擋住了，讓外面的離子無法進到細胞內，也讓細胞內的離子無法排出去外面，進而無法進行細胞所需的生理反應，達到抑菌的效果，而直流電是一個持續不斷的電場，就像是一堵堅硬的牆，離子無法通透，直流脈衝則是一有周期性的電場，就像是一下有牆一下子沒有牆，而離子可以在沒有牆的時候，通透到細胞內外，直流脈衝能存活下來的機率會提高許多，這種假說的結果和我們的實驗結果相吻合，所以我們可以說我們實驗是利用細胞膜通透假說來達到抑菌的效果。

四、 高壓脈衝產生器抑菌法可進一步發展為高度環境親和的保鮮方式：

功率公式： $P(W) = I \text{ 電流}(A) \times V \text{ 電壓}(V)$ 。

電力換算：1 度電=1000W × 1hr。 本研究所使用的高壓脈衝產生器電壓雖高，但因電流極低(即尖端不放電)故其功率為 $P = 15V \times 0.017A = 0.255W$ 。因此一天耗費的電力為： $0.000255 \times 24 = 0.00612$ 度，每個月用電： $0.00612 \times 30 = 0.1836$ 度。一台普通冰箱一個月耗電量大約 40 度，相較之下高壓脈衝產生器所消耗的能源較少，且不需冷媒，因此不會造成二次污染，可進一步發展為環境親和保鮮工具。

陸、 結論

不同脈衝頻率之高壓電場抑菌能力探討研究中，我們至目前為止確立了以下幾個事項：

- 一、 **成功建置可調頻式高壓脈衝產生器**：我們經由設計組裝與測試確定，我們組裝的高壓脈衝產生器可將 110V 家用電轉換輸出為穩的 7742V。可產生直流電以及 10ms、20ms、30ms、40ms 四種周期直流脈衝，每種周期的電場作用時間均為 10ms。讓我們首次可以探討直流電與直流脈衝抑菌的差異。
- 二、 **首次觀測到直流電較直流電脈衝抑菌效果佳**：在所有周期以及 97kV/m、194kV/m 電場強度下，均觀測到直流電高壓脈衝的抑菌效果較交流電高壓脈衝的抑菌效果。推論是因為直流電會持續給予細胞膜穩定作用力讓離子無法順利通透，使細菌存活率降低；而**直流脈衝雖會干擾離子通透，但因為對細菌細胞膜內外離子僅在短時間有作用力，使得細菌離子有較高的機會通過細胞膜因此細菌存活率較高。**
- 三、 **可調頻式高壓脈衝產生器可能是藉由干擾細胞膜通透達到抑菌效果**：單因子變異數分析直流電與不同頻率直流脈衝的抑菌頻率抑菌效果顯示，**持續給與直流電的抑菌效果遠較給與不同頻率直流脈衝效果好**，藉此推論出本高壓脈衝裝置的抑菌原理也許是藉由抑制細胞膜透來達成。

柒、 參考資料

F.M. Ausubel, R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, K Struhl (1987) Current Protocols in Molecular Biology, Vol 1. John Wiley & Sons, Inc, New York

Y.C. Wang , W. Fang (2009). The application of High-voltage electrostatic field to the Bio-industry Dept. of Bio-Industrial Mechatronics Engineering, National Taiwan University.5.1.1.

S.C. Yanga, K.S. Huanga, H.Y. Chena, Y.C. Lin. (2008). Determination of optimum gene transfection conditions using the Taguchi method for an electroporation microchip. Sensors and Actuators B, Vol. 132, pp. 551-557.

周平。2004。脈衝靜電按摩綜合療法治療腰椎間盤突出症 80 例報告。中國民族民間醫藥雜誌 2005(75):221-222。

崔寶欣。1998。靜電生物效應的研究和進展。靜電季刊 13 卷 2 期:35-37。

張佰清。2005。高壓靜電場殺菌效果研究。保鮮研究 2005(5):39-41。

王奕程、方煒。2006。高壓靜電場於生物產業的應用。生機學會論文發表會。嘉義。中華民國。

Cambia 2012 年 2 月 15 日 <http://www.cambia.org/>

Comoto 電解水機專賣網 2012 年 3 月 18 日 <http://comoto.com.tw/index07-1.html>

360 教育網 2012 年 3 月 18 日 <http://360edu.com/tongbu/gaoer/7827-28/G2SWF824.htm>

【評語】 040716

1. 此作品欲探討在不同的高壓脈衝條件下，抑制細菌生長的情形並推論其機制。其結果顯示直流高壓電場的抑菌效果最佳。
2. 於推論其作用機轉時，建議進行驗證假設的實驗，會較有說服力。
3. 亦建議可與現行其他的抑菌方法進行比較，以提升此方法的應用性。