

中華民國第 54 屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 化學科

佳作

040213

天長『碲』久

—碲奈米線材料之開發及其抗菌活性的探討

學校名稱：臺北市立第一女子高級中學

作者： 高二 黃昭瑄 高二 楊紫筑	指導老師： 張永佶 江慧玉
-------------------------	---------------------

關鍵詞：碲奈米線、抗菌活性、仿生物酵素活性

摘要

本研究為發展快速、簡易的方法以合成碲奈米線並作為相關研究之基礎，進而實踐綠色化學的理念，更進一步探討碲奈米線添加不同金屬離子後形成之複合/碲奈米線。在比較三種不同的碲奈米線合成方法後，選擇較符合綠色化學的方式，藉由調控碲奈米線合成反應的時間(30 至 150 分鐘)和不同的金屬離子濃度及比例，以不同變因下製備出的複合/碲奈米線，透過其吸收光譜變化，找出具有最佳過氧化活性能力的反應條件。於上述條件下探討其對於常見食品病原菌的抑菌效果。結果顯示複合/碲奈米線的抗菌能力與高濃度銀離子相似，且在價錢方面能比銀離子便宜許多。因此透過本實驗的探究，相信本研究未來有極大的潛力能夠廣泛的推廣與應用，如開發新型奈米抑菌劑。

壹、 研究動機

近年來，奈米科技成為學術界新興的研究主題，而綠色化學也是科學家追求的理想目標，不斷尋找方式以簡化各式化學製程，包含減少化學試劑的添加、能量的損耗以及提高原子使用效率，進而達到綠色化學的願景。

目前雖有眾多的奈米科技於生物領域方面進行研究，例如以銀奈米粒子進行殺菌，但微生物在金屬環境中常常能夠發展出抵抗這些有毒元素的機制。同時，也在文獻中發現碲奈米材料擁有易氧化的特性，在其表面氧化後會釋放出三氧化碲離子(TeO_3^{2-})及生成活性氧物質(O_2^- ，reactive oxygen species 的一種)，這些物質會破壞、崩解細菌的細胞壁，而使細菌內物質散逸，導致細菌死亡。

本實驗期望結合此兩種角度，以綠色化學的製程合成碲奈米材料，進而將材料置於有更大還原電位的物質如金屬離子存在的環境中，使其進行氧化還原反應，將碲奈米材料部分或全部轉換為金屬造成其性質的變化，並產生仿酵素活性以達到抑菌的效果。期望能在綠色化學的條件下，改變更多不同的變因，而探討其受氧化的程度差異及抑菌效果，以期有更廣泛的應用價值。

教學單元：基礎化學 (一) 第四章 常見的化學反應 (生活化學)

基礎化學 (二) 第四章 化學與化工 (先進材料)

基礎化學 (三) 第二章 化學反應速率

選修化學 (上) 第五章 氧化還原反應


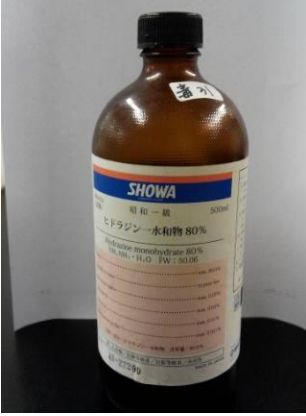
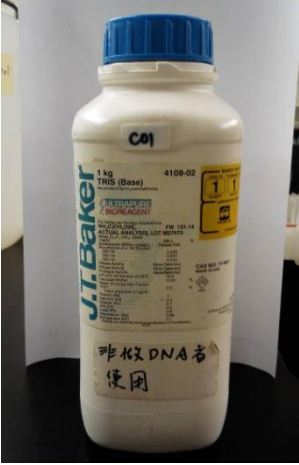
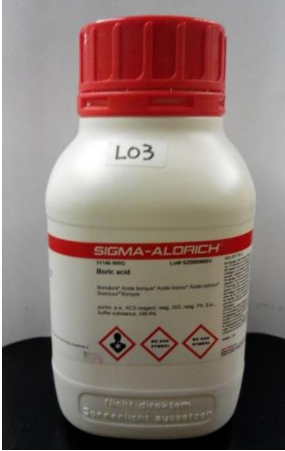


選修化學 (下) 第七章 無機化合物

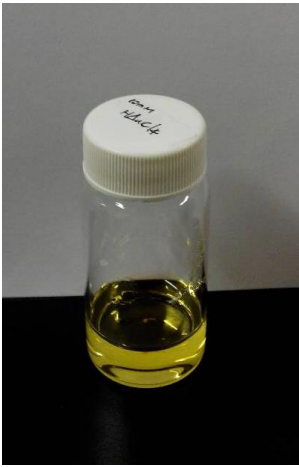
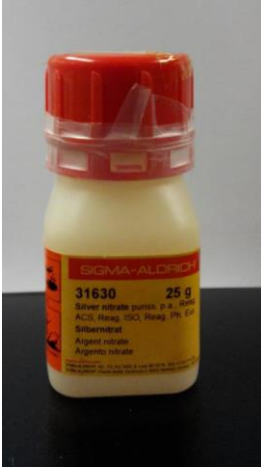

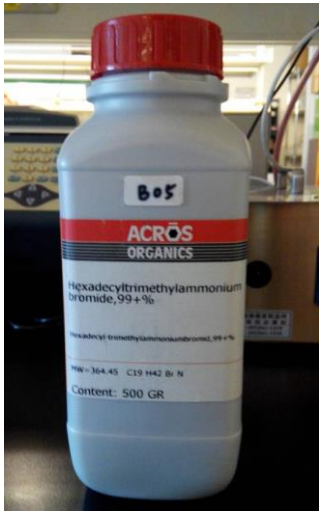
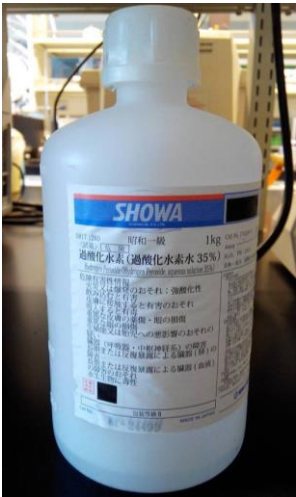

選修化學 (下) 第八章 化學的應用與發展 (先進材料)

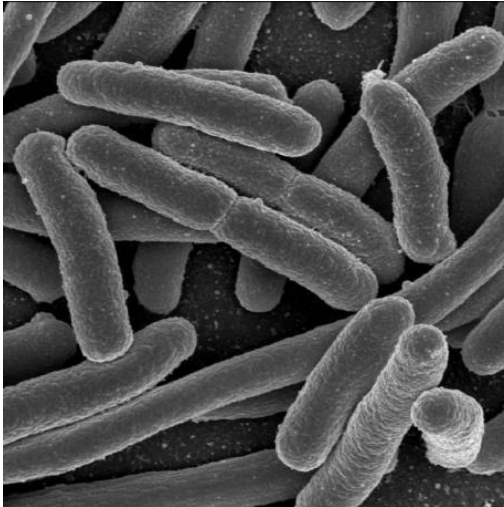
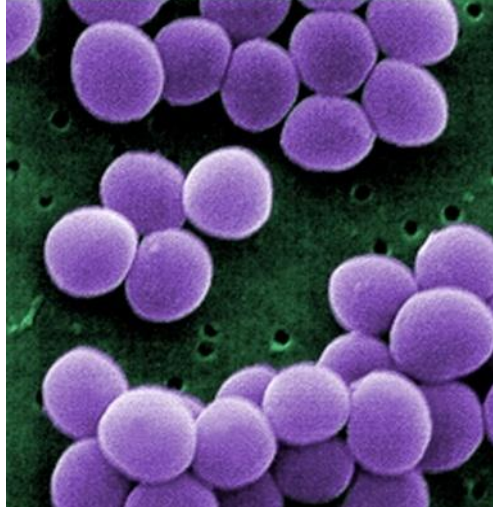

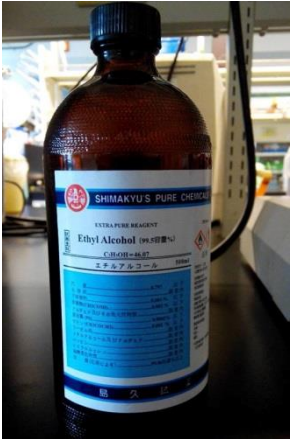
貳、 研究目的


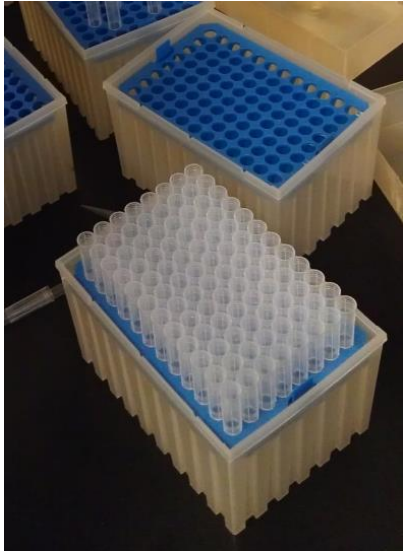
1. 比較不同的碲奈米線合成方法及其綠色化學潛力。
2. 探討不同合成條件碲奈米線長度之差異性。
3. 探討不同變因下碲奈米線被覆金屬的氧化及過氧化活性差異。
4. 探討複合/碲奈米線抑制食品病原菌(如 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*)的效果。

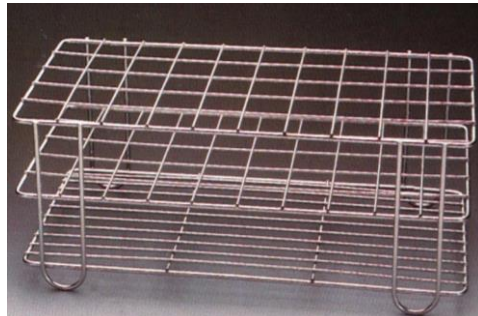
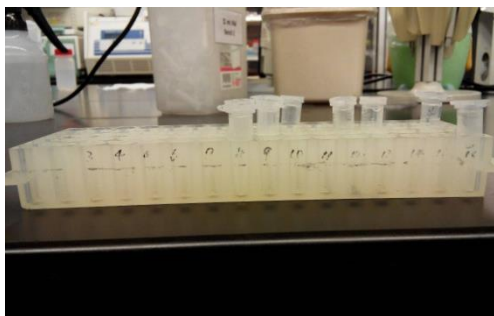
參、 實驗藥品及器材

實驗試藥	
<p>Tellurium dioxide powder (99.9%)</p> <div style="text-align: center; padding: 10px;">  </div>	<p>Hydrazine monohydrate (80%)</p> <div style="text-align: center; padding: 10px;">  </div>
<p>Tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris)</p> <div style="text-align: center; padding: 10px;">  </div>	<p>Boric acid</p> <div style="text-align: center; padding: 10px;">  </div>
<p>Sodium phosphate</p> <div style="text-align: center; padding: 10px;">  </div>	<p>Luria-Bertani (LB) media</p> <div style="text-align: center; padding: 10px;">  </div>

<p>Hydrogen tetrachloroaurate(III) trihydrate (HAuCl₄•3H₂O)</p>	<p>Silver nitrate</p>
	
<p>Sodium dodecyl sulfate (SDS)</p>	<p>Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)</p>
	
<p>Hydrogen peroxide (H₂O₂)</p>	<p>Amplex Red (AR)</p>
	
<p><i>Escherichia coli</i></p>	<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>

	
<p><i>Salmonella enterica</i></p>	<p>Alcohol (99.5%)</p>
	

實驗器材	
Vial	Tip
	
Ranker	Tube rack



Hitachi(U-3310) spectrophotometer

Laminar Flow(Bio-Hazard)



Edinburgh(FS920) fluorimeter

Pipettes



Centrifuge

Ultrasonic oscillator



Shaker



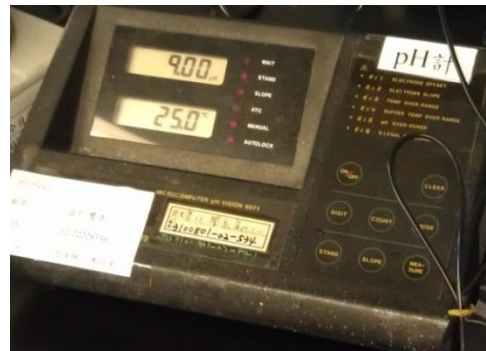
Hood



Microbalance

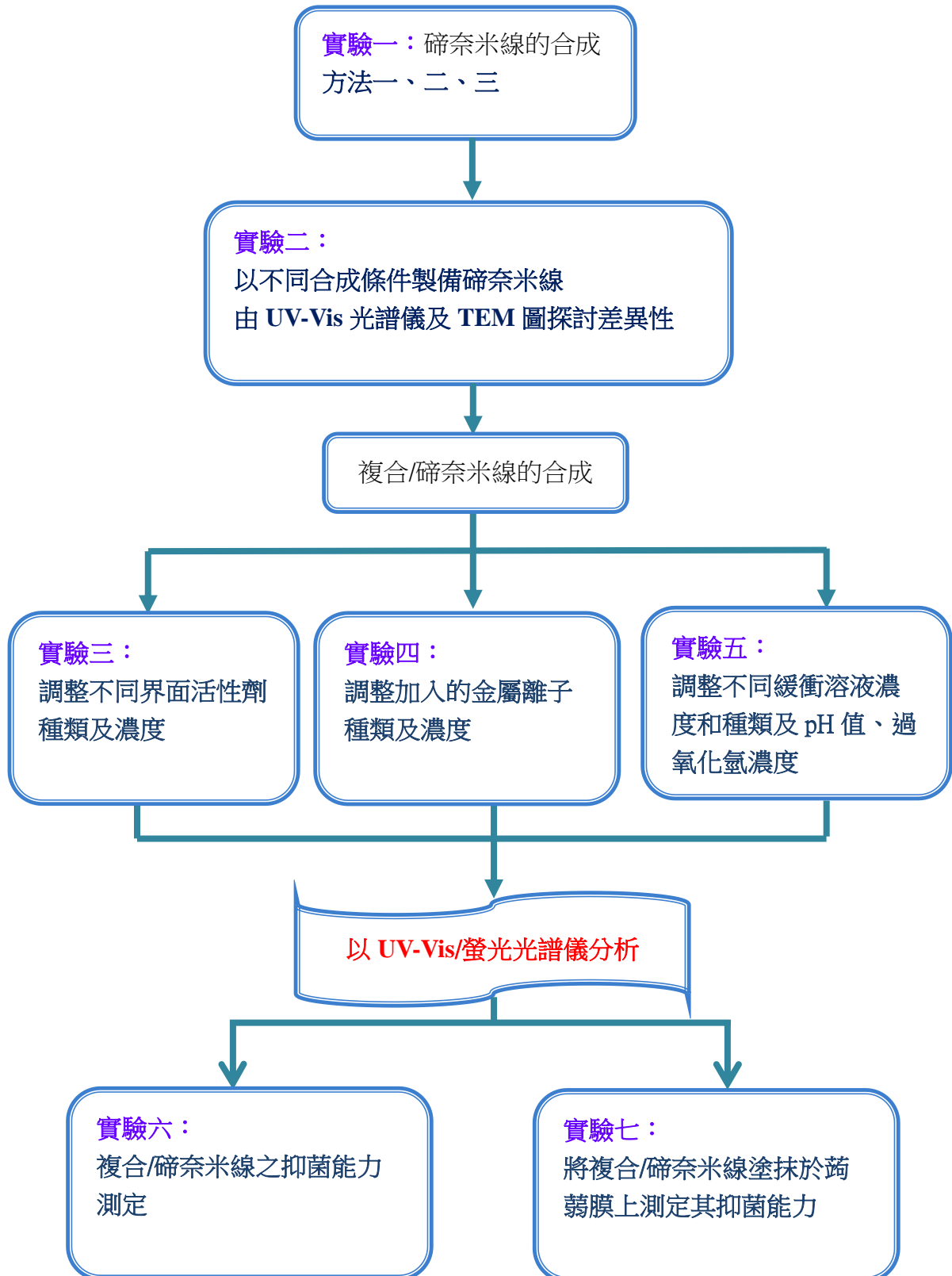


pH Meter



肆、 研究過程或方法

一、 實驗流程圖



二、 實驗方法

(一) 碲奈米線的合成

<方法一>

1. 取二氧化碲溶於 200 mM 的氫氧化鈉形成 100 mM 的二氧化碲氫氧化鈉溶液。
2. 取 0.5 毫升的二氧化碲氫氧化鈉溶液加入 100 mM 的 SDS 2 毫升和 2.5 毫升的 DI water。
3. 以 90°C 攪拌加熱反應。
4. 以高速離心機離心純化。

<方法二>

1. 加入 0.15 克的 H_2TeO_4 、0.15 克的澱粉和 10 毫升蒸餾水於不銹鋼高壓釜中。
2. 將高壓釜保持在 160°C 下 15 小時，接著冷卻至室溫。
3. 以高速離心機離心純化，並且收集固體產物，以蒸餾水和酒精洗滌數次，隨後在室溫中乾燥。

<方法三>

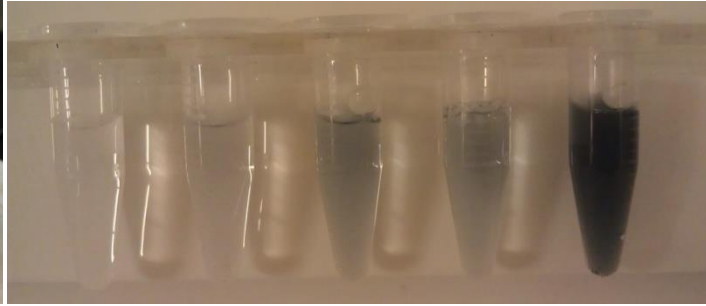
1. 取 16 毫克的二氧化碲和 10 毫升的聯胺置於玻璃樣品瓶中，並轉緊蓋子，避免氧氣進入干擾反應，以磁攪拌子攪拌進行合成反應一定時間。
2. 將(1)溶液倒入 90 毫升 10 mM 的十二烷基硫酸鈉終止反應，並靜置 30 分鐘。
3. 以高速離心機離心 20 分鐘。
4. 將下層液體轉至 1.5 毫升塑膠試管，以 12,000 rpm 離心 20 分鐘。
5. 取出上層液，再將其回溶至 100 毫升 DI water。

(二) 調整碲奈米線的合成時間

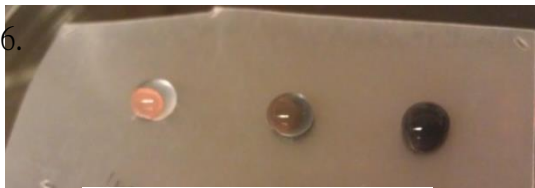
1. 本研究以上述實驗(方法三)作為實驗基礎。
2. 分別改變碲奈米線生成的時間為 30、60、90、120、150 分鐘。
3. 以 UV-Vis 光譜儀測定其吸收光譜。



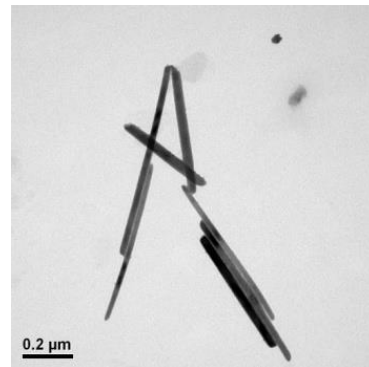
(圖 1) Te NW



(圖 2) 由左至右分別為 30、60、90、120、150 分鐘



(圖 3) 製備 TEM 樣品



(圖 4) 碲奈米線之 TEM 影像

(三) 調整不同界面活性劑種類及濃度

1. 將碲奈米線溶液，使用不同界面活性劑(SDS、CTAB)及不同的濃度(10 μ M、100 μ M、1 mM、10 mM)，進行保護與終止反應，搖晃反應 1 小時。
2. 待反應時間終止時，以 12,000 rpm 離心 20 分鐘，約 2-3 次。

(四) 調整加入的金屬離子種類及濃度

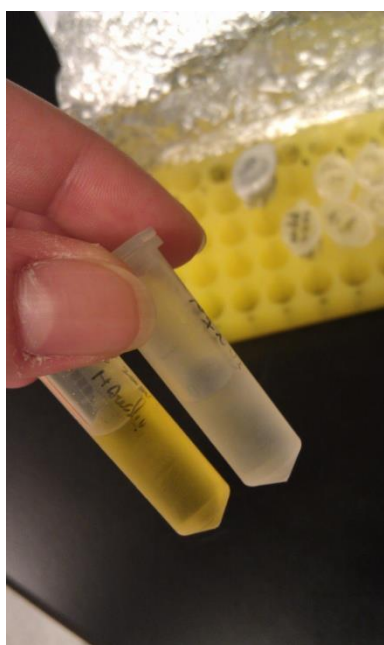
1. 於碲奈米線溶液，加入 0.1 毫升的 Tris-borate 溶液 (50 mM，pH 7.0)，

以及添加入不同種類(Ag^+ 、 Au^{3+})；濃度為 0-1 mM。

2. 加 DI water 至 1.0 毫升，置於 shaker 上搖晃反應 1 小時。
3. 待反應時間終止，以 12,000 rpm 離心 20 分鐘，約 2-3 次。



(圖 5) 配置不同濃度的金和銀離子



(圖 6) 金和銀離子

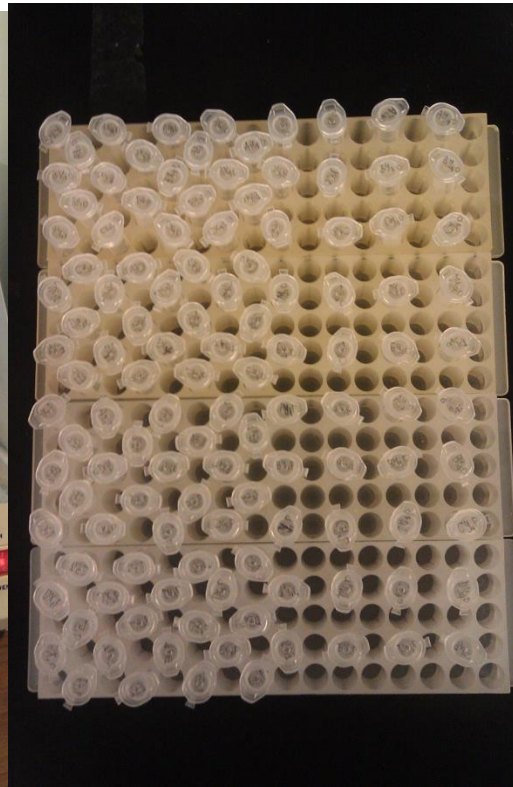
(五) 調整不同緩衝溶液濃度、種類及 pH 值

1. 將碲奈米線溶液，添加入 Ag^+ 和 Au^{3+} 時，使用 Tris-borate 和 Sodium phosphate 兩種不同的緩衝溶液，置於 shaker 上搖晃反應 1 小時。
2. 於 Ag^+ 和 Au^{3+} 中加入碲奈米線溶液時，調整緩衝溶液濃度為 5、10、15、20、25 mM，置於 shaker 上搖晃反應 1 小時。
3. 添加碲奈米線溶液入 Ag^+ 和 Au^{3+} 時，改變緩衝溶液溶液 pH 值為 7-9，置於 shaker 上搖晃反應 1 小時。

- 待反應時間終止時，以 12,000 rpm 離心 20 分鐘，約 2-3 次。

(六) 調整過氧化氫濃度

- 再另取兩組新的 vials，分為測定 oxidase 的活性和測定 peroxidase 的活性，在測定 oxidase 的 vial 中依序加入 Tris-borate 溶液、DI water、複合/碲奈米線、10 μM Amplex Red (10-acetyl-3,7-dihydroxyphenoxazine)，而在測定 peroxidase 的 vial 中，除了需加入上述物品外，還需在加入 Amplex Red 之前加入 H_2O_2 ，之後置於 shaker 上搖晃反應 2 小時。
- 調整不同過氧化氫溶液的濃度 (50 μM 、100 μM 、250 μM 、500 μM)。
- 以激發波長(475nm)激發，如生成 resorufin 可於 584 nm 偵測其螢光訊號。



(圖 7) 在 shaker 上搖晃反應 2 小時 (圖 8) 上方兩個 ranker 為 oxidase 下方的則為 peroxidase

(七) 複合/碲奈米線之抑菌能力測定

- 於 Tris-borate 溶液(15 mM, pH 7)中，將碲奈米線溶液分為加入 Ag^+ 和 Au^{3+} 與無添加兩組，並置於 shaker 上搖晃反應 1 小時。
- 待反應終止後，以 12,000 rpm 離心 3 次，各 20 分鐘。

3. 將上述之溶液分別加入 10^4 cells/mL 的 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* 菌液，反應 1 小時後，添加入 LB media 於 37°C 培養箱中培養 16 小時。
4. 待培養時間終止後，以 OD_{600} 測定其菌數。



(圖 9) 抑菌實驗須於無菌操作臺中完成

(八) 將複合/碇奈米線塗抹於蒟蒻膜上測定其抑菌能力

1. 蒟蒻膜的製備：
 - (1) 將 1.6 公克蒟蒻粉加入 75 mL 的 DI water 中，加熱攪拌 20 分鐘。(圖 10)
 - (2) 加入含 0.04 克 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 的 25 mL 氫氧化鈣水溶液，迅速攪拌均勻。(圖 11)
 - (3) 以 5000 rpm 離心 3 分鐘以減少氣泡。(圖 12)
 - (4) 取 25 克的(3)均勻塗抹於培養皿上，乾燥靜置 48 小時，可得 2.5 % 的蒟蒻膜。(圖 13)
 - (5) 將蒟蒻膜浸泡於 DI water 中 1 小時。(圖 14)
 - (6) 將蒟蒻膜切為直徑 8 mm 的圓片。(圖 15)
2. 將蒟蒻膜浸泡於材料中結合為抗菌薄膜。(圖 16)
3. 再將抗菌薄膜置於已均勻塗抹菌液的培養基上。

4. 於培養箱中培養後，即可以肉眼觀察其抑菌能力。



(圖 10) 將蒟蒻粉加入水中加熱攪拌



(圖 11) 加入氫氧化鈣水溶液迅速攪拌



(圖 12) 離心以減少氣泡



(圖 13) 塗抹於培養皿上乾燥靜置



(圖 14) 將蒟蒻膜浸泡於水中



(圖 15) 蒟蒻膜成品

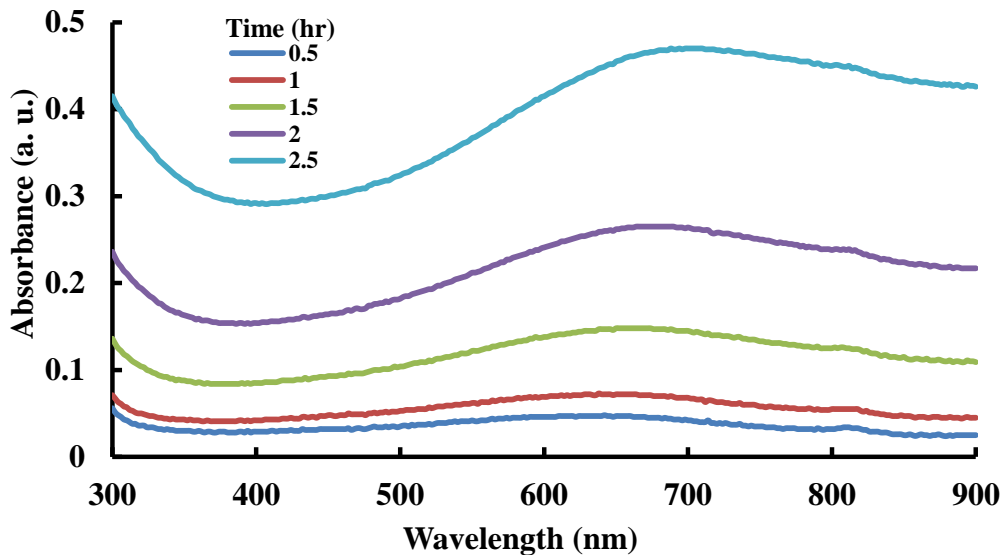


(圖 16) 將蒟蒻膜浸泡於碇奈米線結合為抗菌薄膜

伍、研究結果

一、 碲奈米線的合成

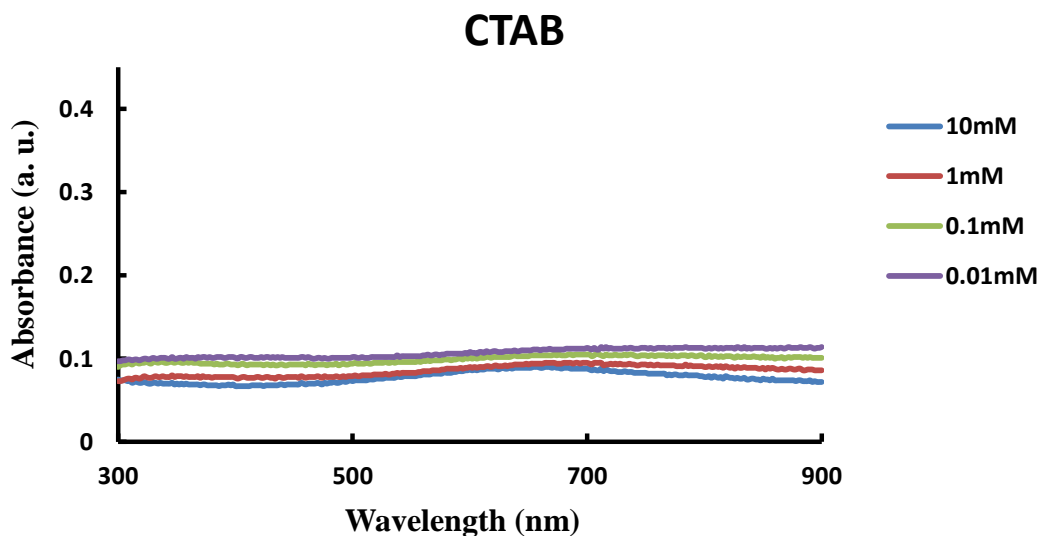
(圖 17) 為方法三經由吸收圖譜顯示不同時間下合成之碲奈米線有不同的吸收度，其中以 2.5 hr 有較高吸收度，表示其合成之碲奈米線含量及濃度較多，故後續實驗皆以 2.5 hr 合成之碲奈米線為基礎。



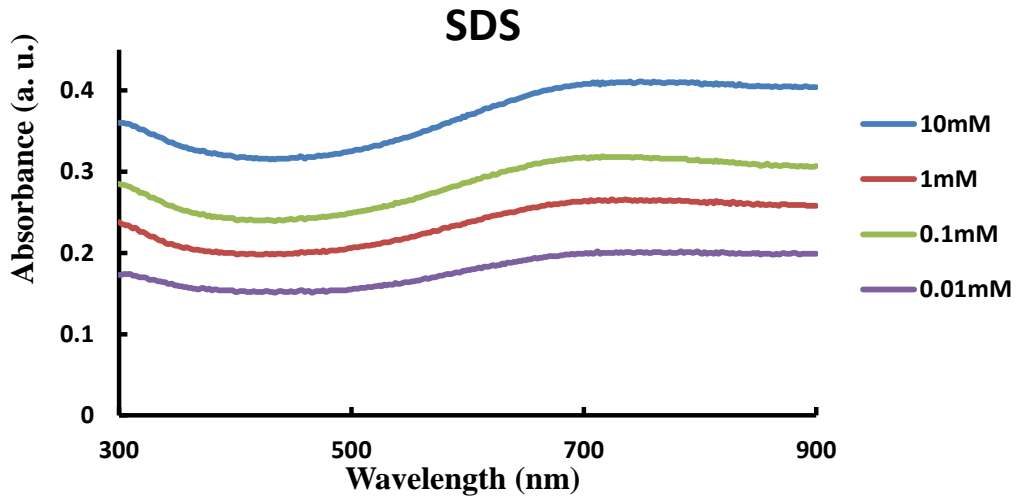
(圖 17)

二、 探討不同界面活性劑種類及濃度

(圖 18、19) 中，經由吸收圖譜顯示不同界面活性劑(SDS、CTAB)與不同濃度(0.1-10 mM)下進行保護之碲奈米線具有很大的差異性，其中以使用 CTAB 部分光譜均無吸收度，表示其碲奈米線結構已被破壞，故後續實驗皆以 SDS 進行保護碲奈米線為主。



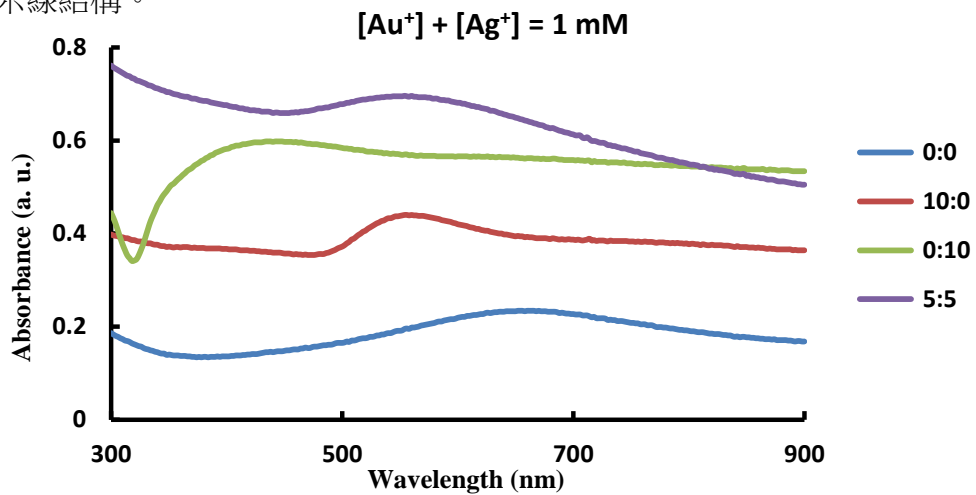
(圖 18)



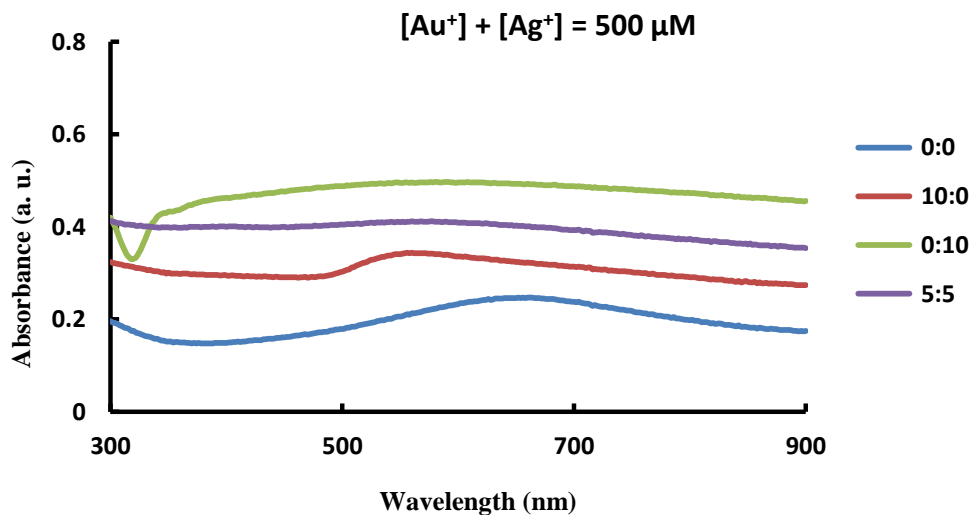
(圖 19)

三、 探討加入金屬離子種類及濃度

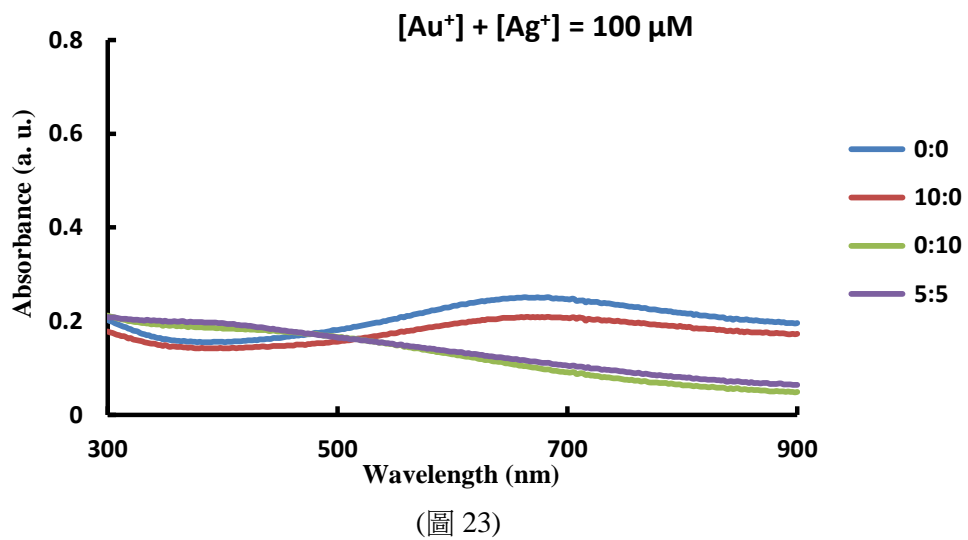
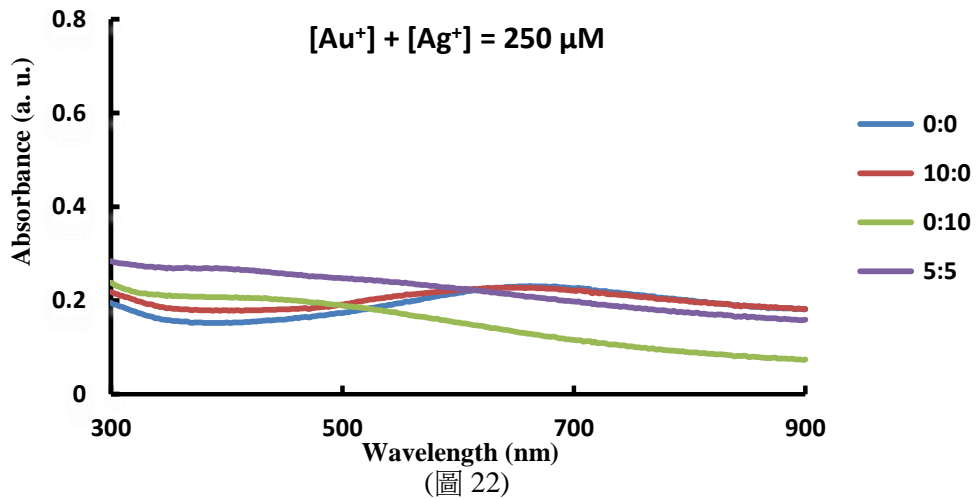
(圖 20、21、22、23) 中可以發現，加入不同濃度的金銀離子後，其碲奈米線的吸收圖譜有明顯的差異，顯示其碲奈米線結構產生改變，進而形成複合/碲奈米線結構。



(圖 20)

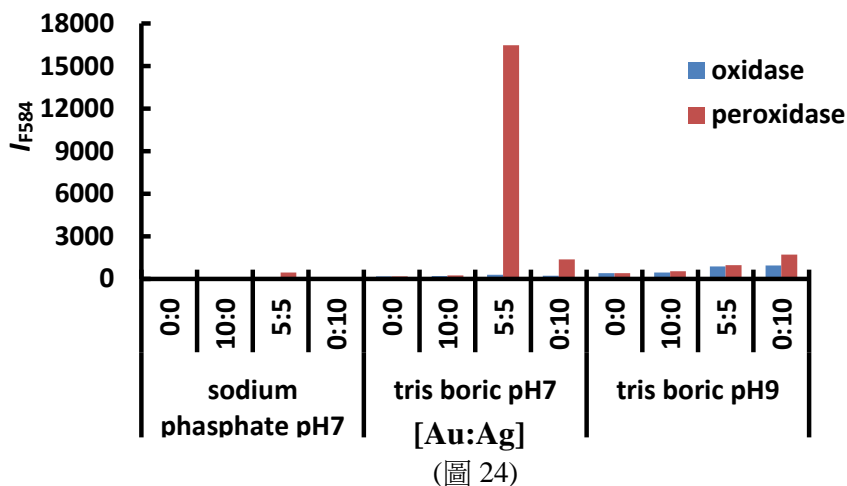


(圖 21)

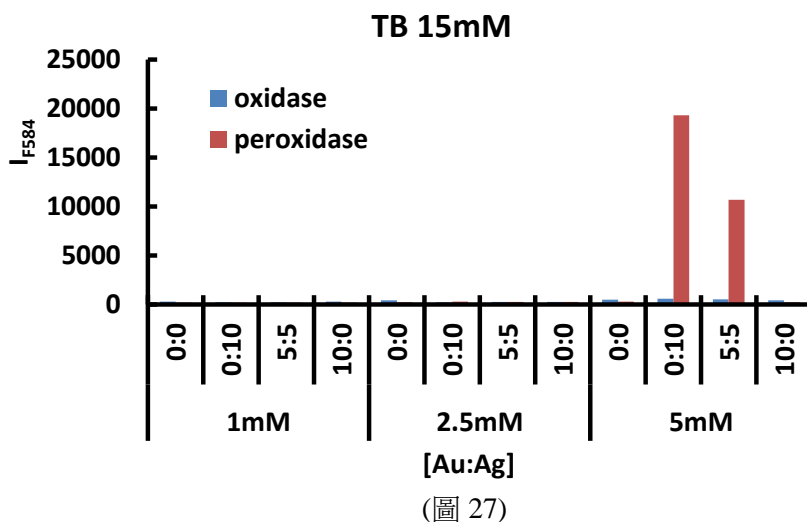
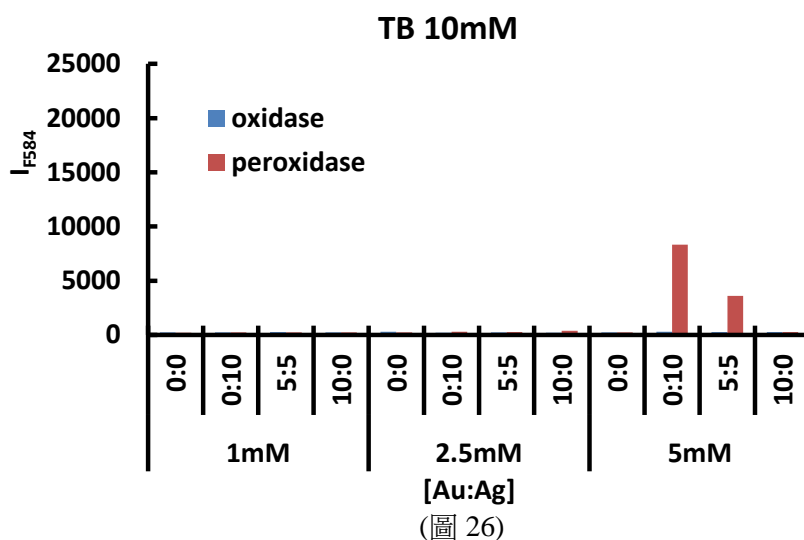
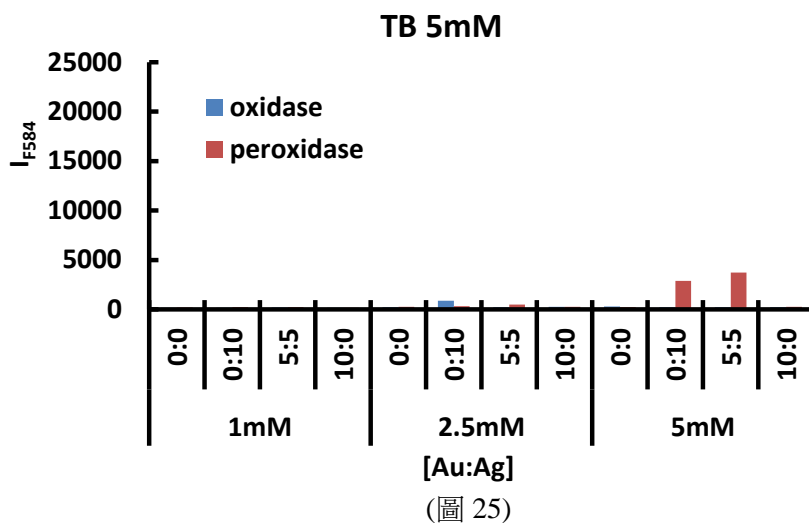


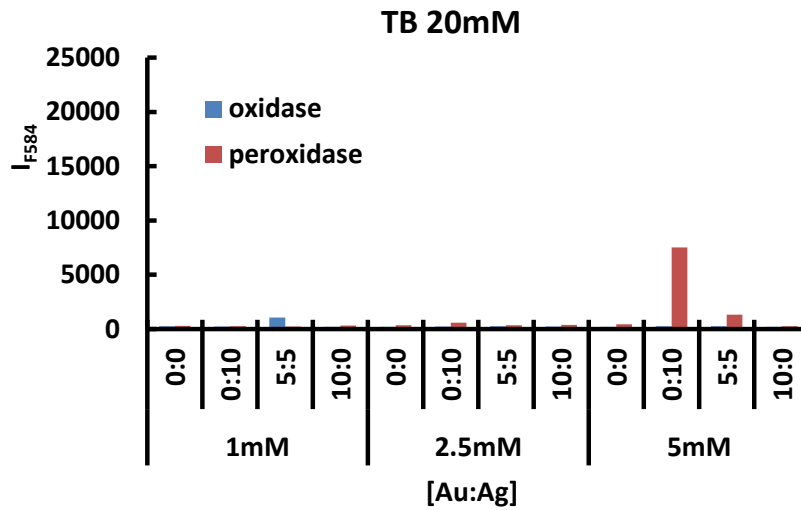
四、緩衝溶液濃度和種類及 pH 值

(圖 24) 中，藉由形成的複合/碲奈米線進行測定 oxidase 和 peroxidase 活性，並且於不同種類緩衝溶液及 pH 值反應後，藉由觀察螢光強度值的差異性以比較分析其顯示的活性，結果顯示以 tris-borate 溶液(pH 7.0)中有較好的 peroxidase 活性效果。



(圖 25、26、27、28) 中，藉由改變 Tris-borate 溶液的濃度以進行測定 oxidase 和 peroxidase 活性，其結果顯示以在 15 mM 情況下有較好之 peroxidase 活性效果。

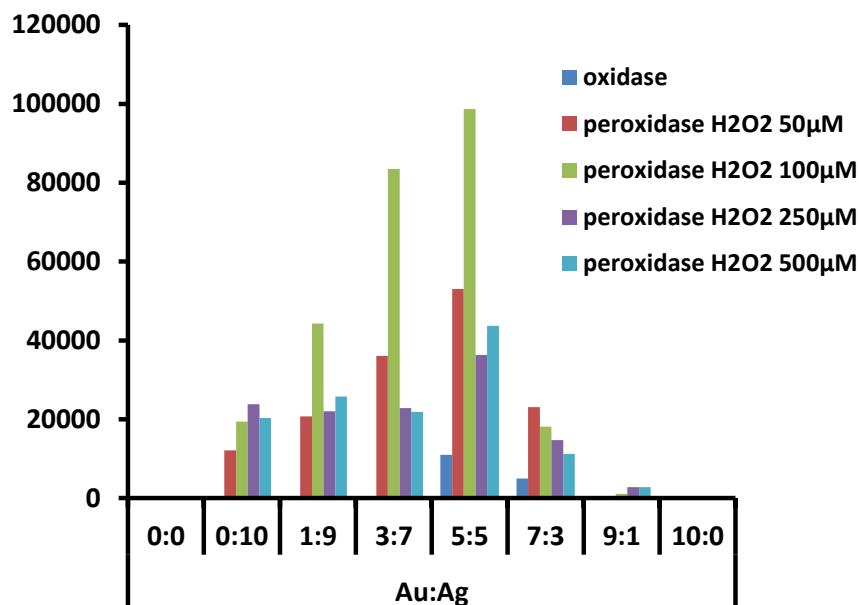




(圖 28)

五、 探討不同濃度的過氧化氫

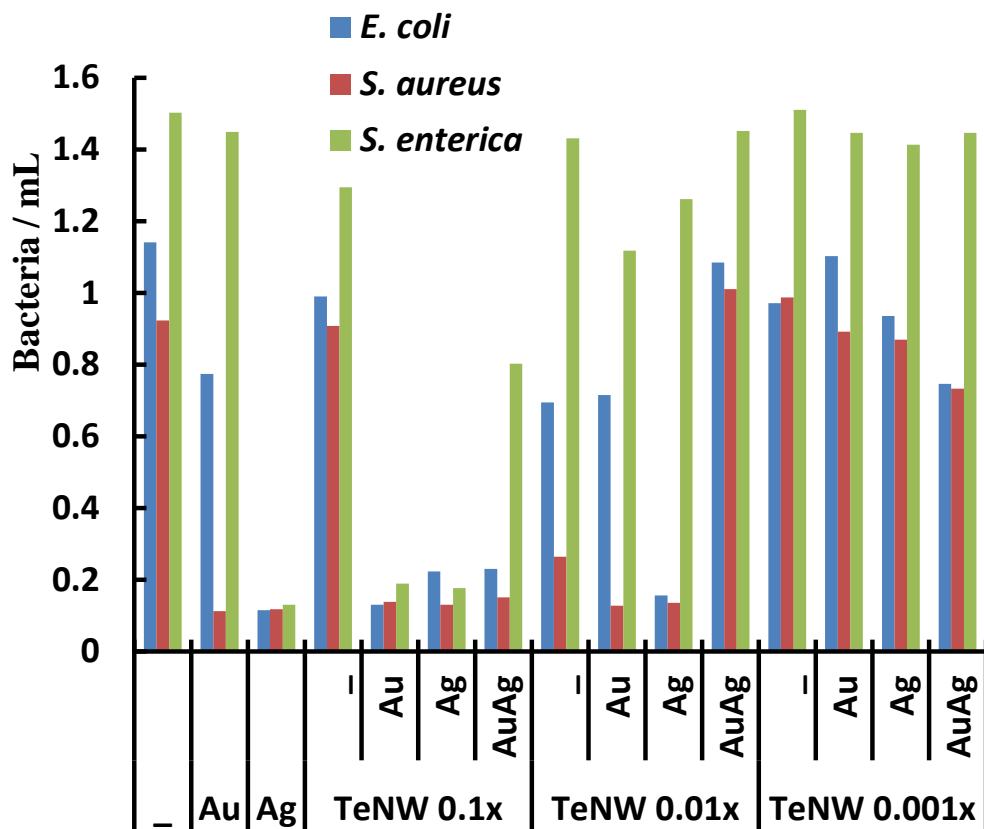
(圖 29) 中，藉由改變過氧化氫溶液的濃度以進行測定 peroxidase 活性，其結果顯示以在 100 μ M 情況下有較好之 peroxidase 活性效果。



(圖 29)

六、 探討複合/碲奈米線於之抗菌能力

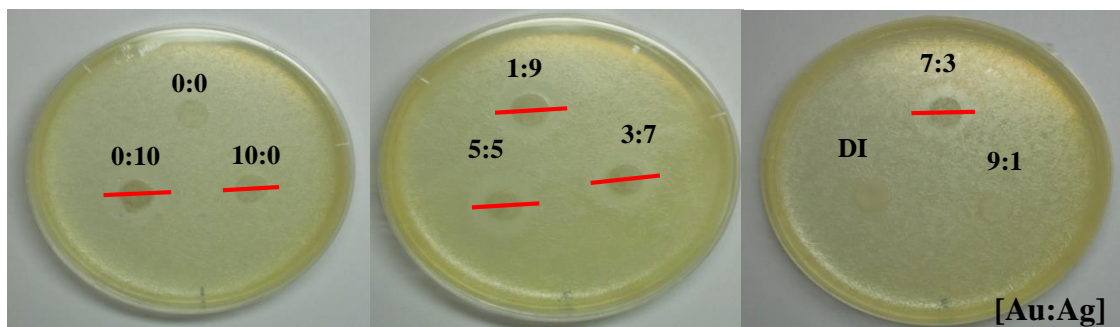
(圖 30) 中，抑菌結果顯示碲奈米線並無明顯的抑菌能力，然而，以複合/碲奈米線進行抑菌，則可以獲得與高濃度銀離子相似的抑菌效果，此部分實驗未來將進一步深入研究其可行性，並期許可發展為新型奈米抗菌劑。



(圖 30)

七、將複合/碲奈米線塗抹於蒟蒻膜上測定其抑菌能力

(圖 31) 中，其抑菌效果和上述碲奈米線的抑菌相當吻合，證實此抑菌材料可以藉由不同的載體而有更廣的應用範圍，未來可以將其廣泛應用於醫療保健上。



(圖 31)

陸、研究討論

1. 在製備碲奈米線的過程中，為了要達到綠色化學的目標，本實驗嘗試了各種不同的合成方法，例如以二氧化碲的氫氧化鈉溶液型態作為基礎，並以加熱的方式和加入澱粉作為定向模板的方式合成碲奈米線，但其合成效果皆不盡理想，還必須浪費額外的化學試劑，甚或以高溫高壓的耗能方式進行。本研究也曾嘗試在合成碲奈米線的同時加入金銀離子使其生長，卻因聯胺和金屬離子直接反應而失敗，因此本實驗室自行開發出一種不需加熱也不需額外加入化學試劑的合成方式，可以有效提高原子使用效率，並減少對於環境的破壞以及能源的損耗浪費，故本研究皆以方法三的製程方式所合成的碲奈米線為基礎，不但符合實驗效率，更可以有效達到綠色化學的目的。(表 1)

(表 1) 三種製備碲奈米線方法之優劣比較

	方法一	方法二	方法三
溫度	90°C	160°C	室溫
時間	2~3 小時	15 小時	2.5 小時
其他			加入金和銀離子時不需要額外加入化學試劑

2. 本研究碲奈米線的合成方式，選用上述之方法三，其化學反應式：



3. 方法三中，以合成碲奈米線時間為 2.5 hr 時有較高的吸收度，表示其合成之碲奈米線含量及濃度較多，而其高峰約值為 680 奈米，可作為碲奈米線初步的辨識方式。

4. 試改變不同界面活性劑時，使用 CTAB 會使材料聚集為肉眼可見的碲元素顆粒，認定其奈米結構已被破壞，故光譜均無特定吸收峰，因此後續皆以 SDS 進行實驗。其中，CTAB 為陽離子界面活性劑，SDS 為陰離子界面活性劑，因此認定終止碲奈米線的合成反應時，應以陰離子界面活性劑包覆之。
5. 加入不同濃度之金和銀離子反應，進而離心純化後，碲奈米線的吸收光譜有極明顯的差異，顯示其奈米結構產生改變，有部分奈米線上的碲元素被氧化，而金和銀離子被還原為金屬，進而形成複合/碲奈米線結構。
6. 藉由形成之複合/碲奈米線進行測定 oxidase 和 peroxidase 活性，並且與不同種類及 pH 值的緩衝溶液反應後，藉由觀察螢光強度值的差異性比較分析其顯示之活性，結果顯示以 pH 7 的 tris-borate 溶液作為製成複合碲奈米線的緩衝溶液，可使碲奈米線有較好的 peroxidase 活性效果。
7. 改變 Tris-borate 溶液的濃度以進行測定 oxidase 和 peroxidase 活性，結果顯示以 Tris-borate 溶液在 15 mM 情況下作為製成複合碲奈米線的緩衝溶液，可使碲奈米線有較好之仿酵素活性效果。
8. 改變過氧化氫溶液的濃度以進行 peroxidase 活性的測定，結果顯示過氧化氫溶液的濃度在 100 μ M 情況可測得較高的 peroxidase 活性。
9. 抑菌結果顯示，碲奈米線並無明顯具有抑菌之能力，然而複合/碲奈米線則可以擁有與高濃度銀離子相似的抑菌效果，因此複合碲奈米線在未來極有潛力發展為低成本高效能的新型奈米抑菌劑。
10. 將材料塗抹於蒟蒻膜的實驗中，其抑菌效果和上述碲奈米線的抑菌相當吻合，證實此抑菌材料可以藉由不同的載體而有更廣的應用範圍，未來可以將其廣泛應用於醫療保健上。

柒、結論

製備碲奈米線時，實驗方法三因為不必消耗過多的能量，也不必加入過多的化學試劑，有較佳的原子使用效率，故以此法發展為極佳的合成方式，達到本實驗追求的綠色化學目標。

實驗中調控其合成反應時間於 2.5 小時，並使用 SDS 進行保護，以有效提高碲奈米線之穩定度。合成複合/碲奈米線時，調控金和銀離子濃度比例於 5:5，藉由催化螢光強度可得知其具有最佳 peroxidase 活性。

在抗菌能力之測定方面，複合/碲奈米線具有與高濃度銀離子相似之抗菌效果，且在價錢方面能比銀離子便宜許多，未來有進一步發展成新型奈米抗菌劑之可行性。

未來期望於碲奈米線上被覆較少的金屬離子而達到最好的抑菌加乘效果，進而開發出減少化學試劑使用及成本較低的抑菌劑。本研究將材料和蒟蒻薄膜做結合而製成效果佳的抗菌薄膜，未來有極大的潛力將碲奈米線的抑菌能力運用在醫療保健上，例如高效能且無害的抑菌劑或是有較強抑菌功能的 OK 蹦。

捌、參考資料及其他

1. Zong-Hong Lin, Chia-Hsin Lee, Hsin-Yun Chang and Huan-Tsung Chang, 2012, Antibacterial Activities of Tellurium Nanomaterials, *Chem. Eur. J.* 7, 930-934.
2. Zong-Hong Lin, Zih-Yu Shih, Prathik Roy and Huan-Tsung Chang, 2012 Preparation of Photocatalytic Au-Ag₂Te Nanomaterials, *Chemistry* 18,12330-12336.
3. Xiang-Yu Chang and Huan-Tsung Chang, 2012, Preparation and electrochemical applications of tellurium-based nanomaterials
4. Zong-Hong Lin and Huan-Tsung Chang, 2009, Synthesis and Applications of Tellurium Nanowires

【評語】 040213

題目分成綠色化學的碲奈米線新合成法與複合碲奈米線之抑制食品病原菌兩部分。兩部分皆有適度的成果，未來宜加強複合材料之分析及抑制病菌機制之解釋。