

2016 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 080009

參展科別 生物化學

作品名稱 不同種類與濃度的金屬奈米粒子輔佐
 NaBH_4 還原對-硝基苯胺反應速率常數的研究

得獎獎項 大會獎：四等獎

就讀學校 國立臺灣師範大學附屬高級中學

指導教師 葉怡均、黃彬峰

作者姓名 黃婕

關鍵字 黑色素、金屬奈米粒子、催化反應

作者簡介



我是黃婕，就讀師大附中高二 1381 班。因為不是數理資優班的學生，所以只能利用自己課外的時間在師大分部 C407 實驗室做研究。整個過程中，學到了各種有關分子生物學的技术，也培養了科學家鍥而不捨的研究精神。當實驗遇到瓶頸的那段時間，非常辛苦，但是有成果時，那種喜悅與興奮是沒有做過實驗的人無法體會的。這些日子，真得很感謝怡均老師、彬峰老師、家禾學長、東育學長的教導與陪伴！

摘要

L-多巴在酪氨酸酶的作用下，可以轉換成多巴醌，多巴醌繼而自發轉變為黑色素，在此實驗當中，利用帶有青枯病菌的酪氨酸酶基因片段 *pBAD-518458-bbr* 的大腸桿菌(*E. coli* DH5 α)將 L-多巴轉換成黑色素，然後將微生物去除，只保留黑色素，以避免之後的實驗受到細菌的干擾。

分別將四種金屬離子， Au^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Pd^{2+} 以 1.0 mM 的濃度加入黑色素中，使黑色素將金屬離子還原成金屬奈米粒子，形成含有黑色素與金屬奈米粒子的混合溶液。將黑色素去除，避免之後測吸收時受到干擾。再以冷凍乾燥機抽乾乾燥，去除水分以利保存。

將對-硝基苯胺與已乾燥的金屬依照一定濃度加入 96 孔盤中，再加入硼氫化鈉當作還原劑，也是提供氫陰離子的來源，將對-硝基苯胺還原成對-苯二胺，用 Multi-Mode Microplate Reader (BioTeK)測每隔 10 秒波長 385 nm 的吸收，再將數據整理成反應速率常數。在四種金屬當中，奈米金的催化速率最佳，所以選擇金屬金以濃度 0.1、0.5、1.0 mM 作濃度的探討。

Abstract

Tyrosinase, a copper-containing enzyme, can catalyze L-DOPA into dopaquinone which spontaneously transforms into melanin. In this experiment, *E. coli* DH5 α with plasmid *pBAD-518458-bbr* (carrying tyrosinase gene from *Ralstonia solanacearum*) was employed to convert L-DOPA into melanin. To minimize the background, microbes were removed and only the melanin remained.

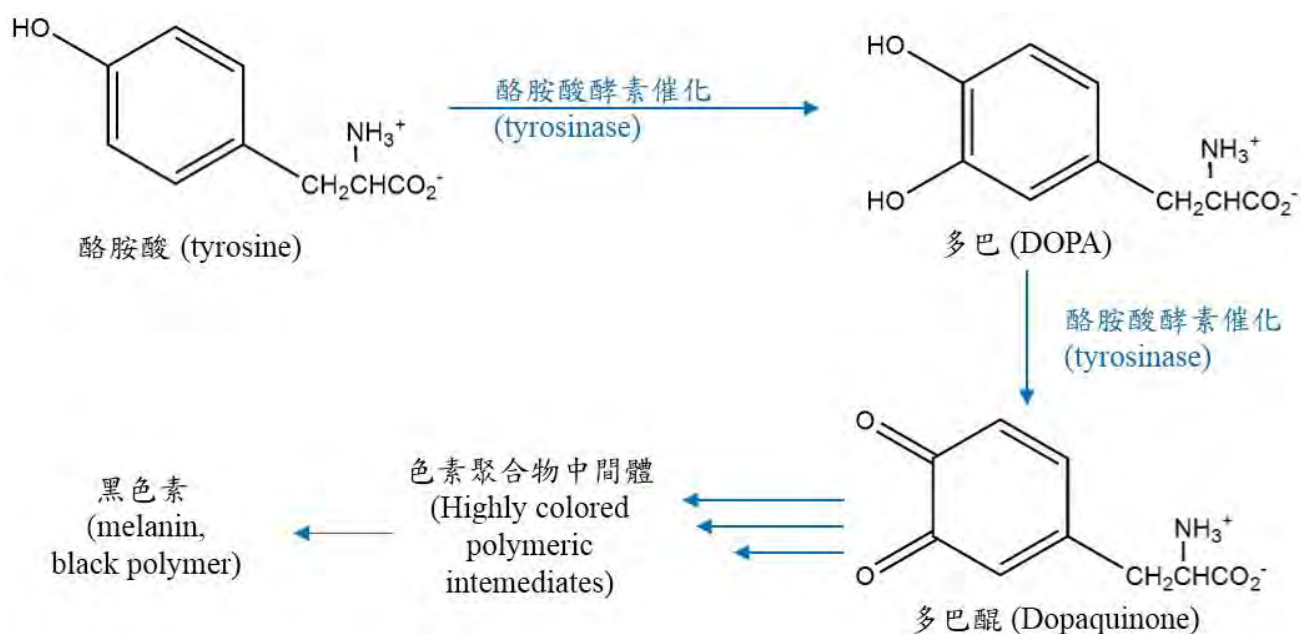
Next, four metal ions, Au³⁺, Cu²⁺, Co²⁺ and Pd²⁺, were added separately to the melanin solutions with the final concentration of 1.0 mM. Melanin reduced the metal ions and turned them into metal nanoparticles. The melanin in the mixed solutions was removed to prevent any influence on the absorption data in the later experiments. After finishing the above steps, Vacuum Freeze Drier Virtis 5SL was used to dry the metal nanoparticles to ensure permanent preservation.

Finally, the catalytic activity of nanoparticles was studied by adding *p*-Nitroaniline and NaBH₄. Sodium borohydride is the reducing agent which provides the source of hydride for the reduction of *p*-nitroaniline to *p*-phenylenediamine. We next examined with 96-well plate (Multi-Mode Microplate Reader (BioTeK)) to detect the absorption at 385 nm every 10 seconds and processed the data into the reaction rate constant. Among four metals screened, Au has the best catalytic rate. Therefore, Au nanoparticles were used for the further concentration studies.

壹、前言

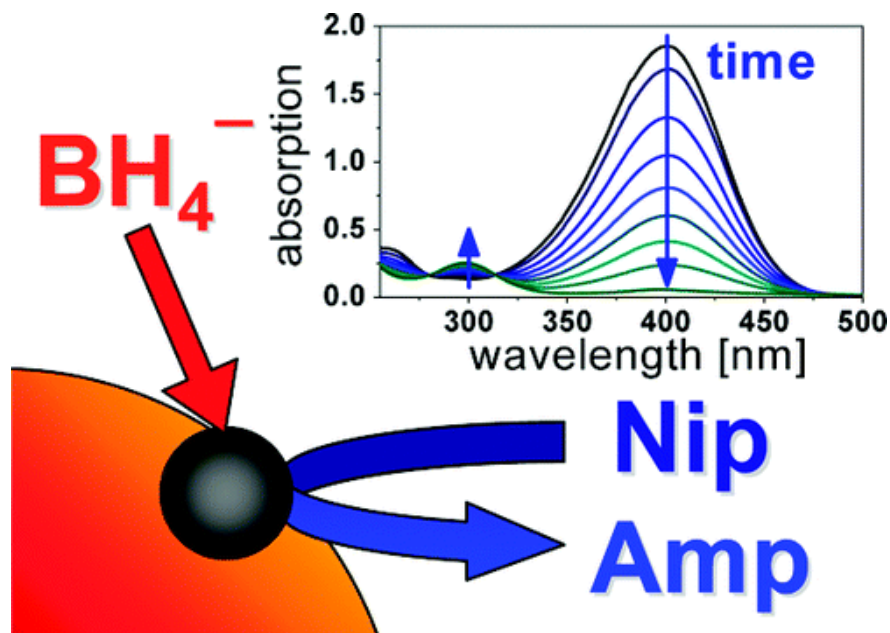
一、黑色素生成

一般黑色素生成，是酪氨酸(tyrosine)經酪氨酸酶(tyrosinase)催化成多巴(DOPA)，再氧化成多巴醌(Dopaquinone)，多巴醌再自發轉換成多巴色素，最後多巴色素聚集，而形成所謂的黑色素。在青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)中，擁有多酚氧化酶(PPOs)，其中兩種多酚氧化酶為 NP_518458 和 NP_519622，這兩種不同蛋白質序列的功能相近，只是在各階段的成效不太一樣。518458 對於單酚酶的活性比鄰苯二酚的活性大；519622 則是對於鄰苯二酚的活性比單酚酶大。而且這兩種蛋白質序列的差異，並不是由於 L-DOPA 所造成的，而是先天的，與它們的六個組氨酸有關。



二、對-硝基苯胺經過硼氫化鈉還原成對-苯二胺

對-硝基苯胺本身具有高毒性，呈黃色，可用做農藥和農藥的中間體，也可用於製造苯二胺。本實驗中，用甲醇和水(1:1)混合液作為溶劑。整個反應機制剛開始時， BH_4^- 會先攻打硝基上的氮，然後電子轉移脫去，最後形成胺基。對-硝基苯胺形成對-苯二胺為一氫化反應，通常會將有機物也就是起始物在氫氣環境下發生化學反應，在本實驗中，利用硼氫化鈉作為提供氫的來源，同時也是一種強還原劑，但是如果沒有加入金屬奈米粒子，仍不足以還原對-硝基苯胺上的硝基官能基。



上圖說明了 BH_4^- 藉由金屬奈米粒子做電子轉移的橋梁，右上圖表說明對硝基苯胺還原成對苯二胺過程中的吸收值變化。

三、反應速率常數的推導

金屬奈米粒子幫助硼氫化鈉催化對-硝基苯胺還原成對-苯二胺，屬於一級反應(first-order reaction)。假設反應速率(rate)為 R，反應物 A 的濃度為[A]，速率常數為 k，其速率方程如下：

$$R = k [A]$$

由上式可知，一級反應的反應速率與反應物濃度成正比，即：

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A] \cdots(3)$$

現將(3)式移項，整理如下：

$$\frac{d[A]}{[A]} = -kdt$$

兩邊同時積分，由 0 積至 t，時間為 0 的時候，A 的濃度寫成[A]₀，得：

$$\int_{[A]_0}^{[A]} \frac{d[A]}{[A]} = -k \int_0^t dt$$

ln[A] 和 ln[A]₀ 兩項合併，最後導出 ln(A/A₀)=-kt + c 的式子，接著以 ln(A/A₀) 對時間作圖，可得一斜率，即該反應的速率常數。

貳、研究動機

在日常生活中，黑色素讓人避之唯恐不及，但是人類卻不能沒有它。一般來說，黑色素的生成均在動物體中進行，是否可以把可幫助黑色素形成的蛋白質序列轉殖進入大腸桿菌，使整個反應機制讓細菌來處理？

黑色素除了可以維持人類身體正常的機能運作，還可以擔任還原劑的角色，將這個想法運用在實驗上，已合成出的黑色素是否會讓金屬離子還原成金屬，引發我的興趣。這樣受重金屬污染的河川，經過黑色素的還原，就可以化腐朽為神奇，還原成有價值的奈米級金屬粒子。

已還原成的金屬，是否還可以幫助或加快硼氫化鈉催化對-硝基苯胺還原成對-苯二胺的反應速率，作為一個電子轉移得跳板或橋梁，讓具有高毒性的對-硝基苯胺轉換成毒性較小的對-苯二胺。

參、研究目的

- 一、將帶有基因片段 *pBAD-518458-bbr* 的 *E. coli* DH5 α ，用 L-DOPA 誘發，使之產生黑色素。
- 二、利用黑色素誘發各類金屬離子還原成金屬奈米粒子
- 三、以硼氫化鈉最為還原劑，利用金屬奈米粒子做為橋梁，使對-硝基苯胺還原成對-苯二胺，並求出反應速率常數。
- 四、找出催化效率最佳之金屬，對此金屬做濃度探討，利用不同濃度的金屬離子合成出不同尺寸大小的奈米粒子，將對-硝基苯胺加入還原劑硼氫化鈉，使之還原成對-苯二胺，並求出反應速率常數。

肆、研究設備及器材

一、本實驗中所使用的基本器材:

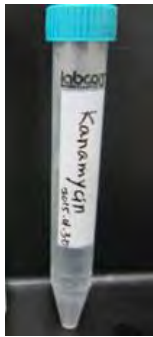
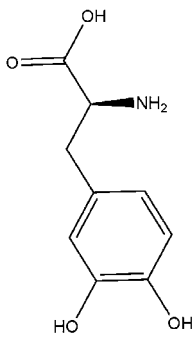
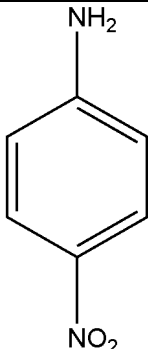
錐形瓶、微量滴管(pipette)、實驗手套、50 mL 離心管、15 mL 離心管、1.5 mL 微量離心管、0.6 mL 微量離心管、試管架、桌上型離心機(轉速 13500 rpm)、去離子蒸餾水(ddH₂O)、酒精、電子天平、恆溫水浴槽、無菌操作台、營養液(Luria-Bertani broth)、M9 medium、37 °C incubator、Multi-Mode Microplate Reader、96 孔盤、液態氮、真空冷凍乾燥機(Vacuum Freeze Drier Virtis 5SL)

二、本實驗中所使用的微生物

菌種	所含的基因序列	生長溫度
<i>E. coli</i> DH5 α	<i>pBAD-518458-bbr</i>	37 °C (310 K)

三、本實驗中所使用的化學藥品

三水合四氯金酸 (HAuCl₄ · 3H₂O)、氯化銅 (CuCl₂)、六水合氯化鈷 (CoCl₂ · 6H₂O)、四氯鉍酸鈉水合物 (Cl₄Na₂Pd · H₂O)、硼氫化鈉 (NaBH₄)

抗生素 Kanamycin	L-DOPA	對-硝基苯胺
		

伍、研究過程與方法

一、生成黑色素實驗

- **長菌:** 將滅菌試管裝入 3mL 的 LB 營養液、3 μ L 的 Kanamycin 抗生素，加入培養盤上的 *E. coli* DH5 α ，放入 37°C incubator 中生長 overnight。
- **Re-dilute:** 將 M9 medium 100 mL 裝入錐形瓶中，滅菌、冷卻後加入 100 μ L 的 Kanamycin 抗生素、2 mL 20% Arabinose、2 mL 菌液，放入 37°C incubator 中生長 8hr。
- **加 inducer:** 8hr 後，加入 L-DOPA，使其最終濃度達 1 mM，放入 37°C incubator 中生長 24hr，產生黑色素。
- **分離黑色素與細菌:** 將摻雜黑色素與細菌的液體，裝入離心管離心，取上清液(只包含黑色素)，裝入 15 mL 離心管，共加入 4 根離心管。

二、合成金屬奈米粒子實驗

- **加金屬:** 分別將 4 根離心管加入四種 Au³⁺、Cu²⁺、Co²⁺、Pd²⁺ 不同的金屬，最終濃度均為 1 mM (在 Au 濃度探討實驗中，最終濃度分別為 0.1、0.5、1 mM)，放入 37°C incubator 中搖晃 16 hr。
- **洗淨黑色素:** 將裝有黑色素與金屬奈米粒子的 15 mL 離心管離心，使金屬奈米粒子沉積在底部，拋棄上清液，用去離子蒸餾水(ddH₂O) 1 mL 清洗，置入 1.5 mL 離心管中，重複步驟，洗淨三次。
- **抽乾備用:** 將裝有金屬奈米粒子 1.5 mL 離心管，用液態氮急速冷凍，再利用真空冷凍乾燥機(Vacuum Freeze Drier Virtis 5SL)將水份抽離乾燥備用。

三、還原對-硝基苯胺實驗

- **秤重溶解:**將已抽乾的金屬奈米粒子秤重後，並配置成 $0.1 \text{ mg}/\mu\text{L}$ 的金屬奈米粒子溶液。
- **測反應速率:**取含有奈米粒子的溶液 $40 \mu\text{L}$ 、 $50 \mu\text{L}$ 的對-硝基苯胺(最終濃度 0.9mM)加入 96 孔盤中，放在 Multi-Mode Microplate Reader (BioTeK)上，加入硼氫化鈉 $10 \mu\text{L}$ (最終濃度 90mM)的瞬間，反應開始，每隔 10 秒測一次波長 385 nm 時吸收。持續測 10 分鐘，再將數據做成 $\ln(A/A_0)$ 對時間的圖表。



四、穿透式電子顯微鏡 (TEM) 照片

- 取 $3\sim 5 \mu\text{L}$ 不同濃度的已去除黑色素的金屬金奈米粒子溶液於鍍碳銅網之暗面
- 放置 $2\sim 3$ 分鐘後，以濾紙尖處輕觸銅網，將多餘溶液分離。
- 利用穿透式電子顯微鏡拍照 (TEM 照片)。

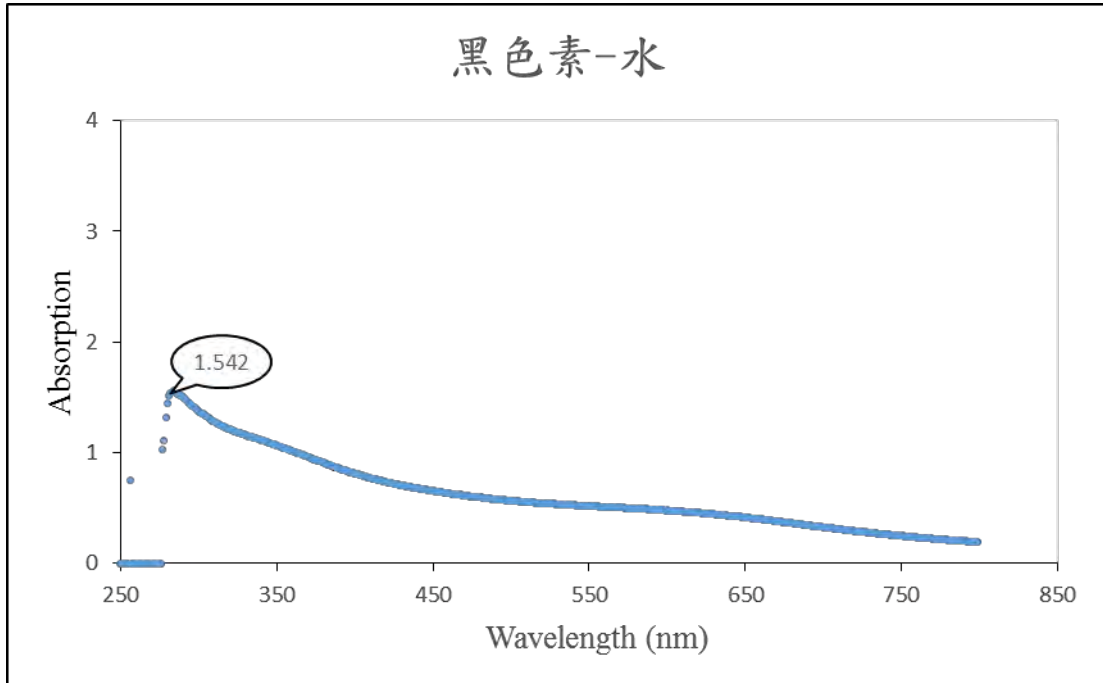
五、粒徑分析

- 將 TEM 照片匯入軟體 image J 做計算。
- 先設定該圖像原先之 scale bar
- 裁切出要計算的部分，再利用” Threshold” 功能，將不要的背景移除，只留下金屬奈米粒子。
- 在以” Analyze particles” 功能得到奈米粒子之尺寸。
- 再利用公式計算出奈米粒子之直徑。(d= diameter，A= area)

$$d = 2 \sqrt{A/\pi}$$

陸、研究結果與討論

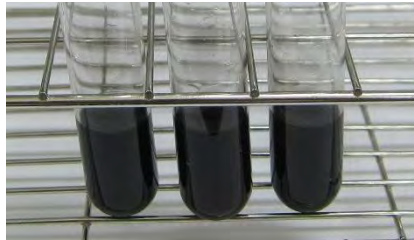
一、合成黑色素



表一



圖一-1



圖一-2

由表一可知，波長 250~350 nm 間，吸收值有高峰，代表黑色素有生成。圖一-1 試管中的溶液，還未加 L-DOPA，呈現清澈的狀態；圖一-2 試管中的溶液，已加 L-DOPA 經過 24 小時，可以明顯看出，已有黑色素生成。

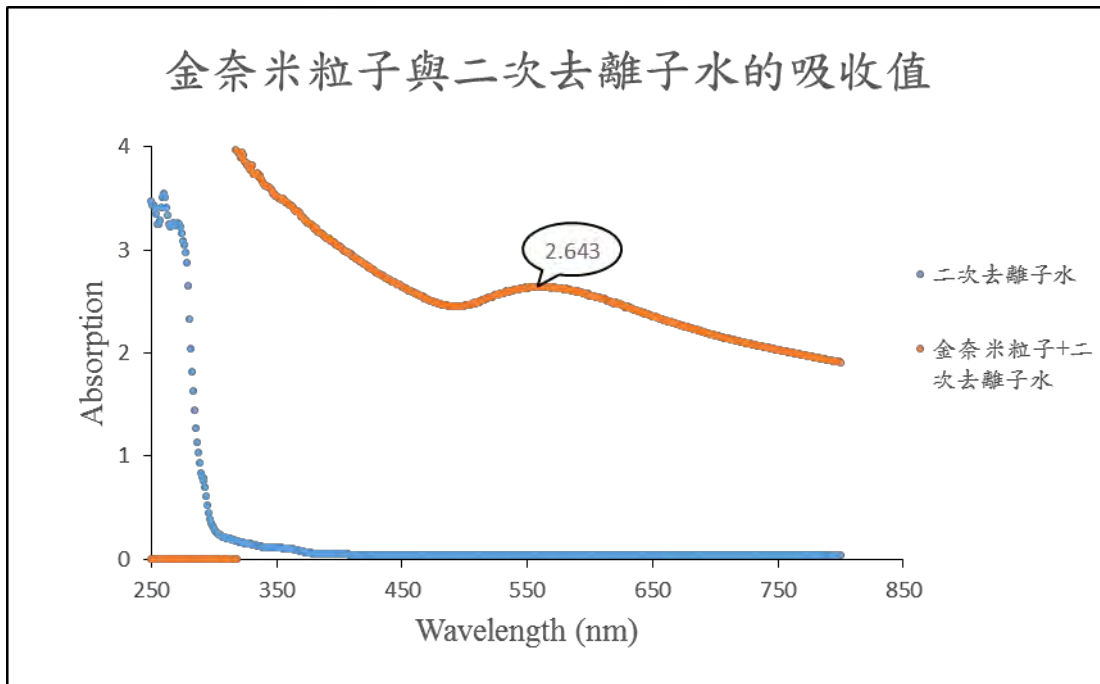
二、金屬離子還原成金屬奈米粒子



圖二-1



圖二-2



表二

圖二-1 左邊的離心管為純黑色素，右邊的離心管為金離子剛加入黑色素時的狀態，可明顯看到紅棕色的金奈米粒子正在生成。

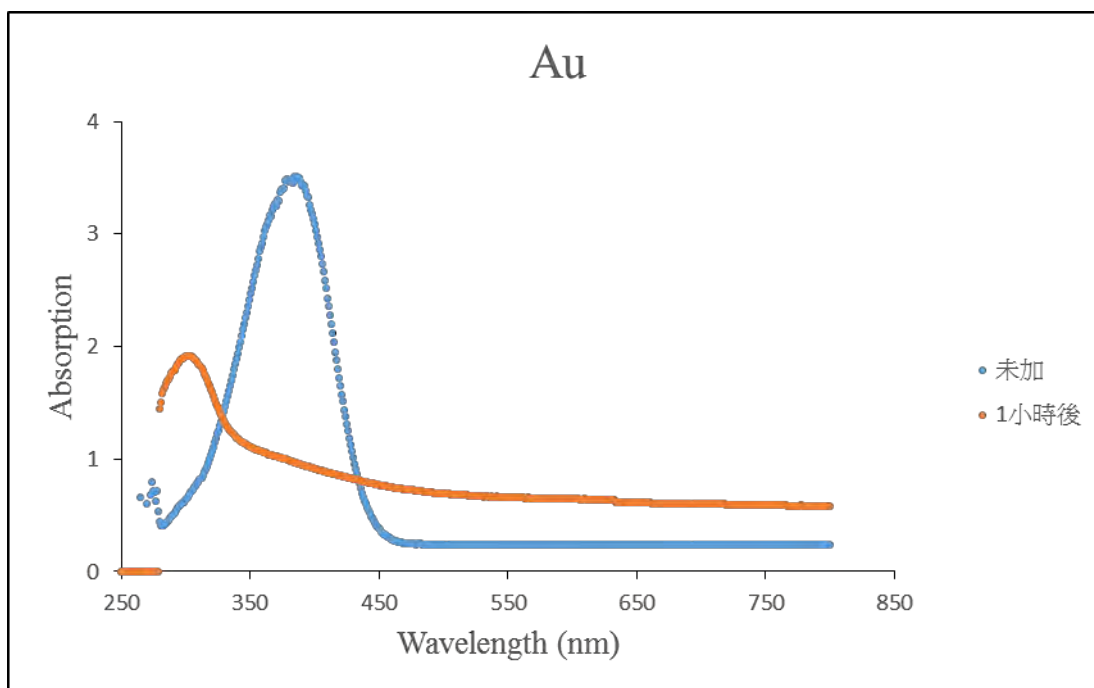
圖二-2 左邊的離心管為純黑色素，右邊的離心管為加入金離子 16 小時後的狀況，在離心管底部可看到些微黑點，即為金奈米粒子。

由表二可知，含有金奈米粒子的二次去離子水，在波長 500~600 nm 之間，吸收值有高峰，證實有金奈米粒子生成。

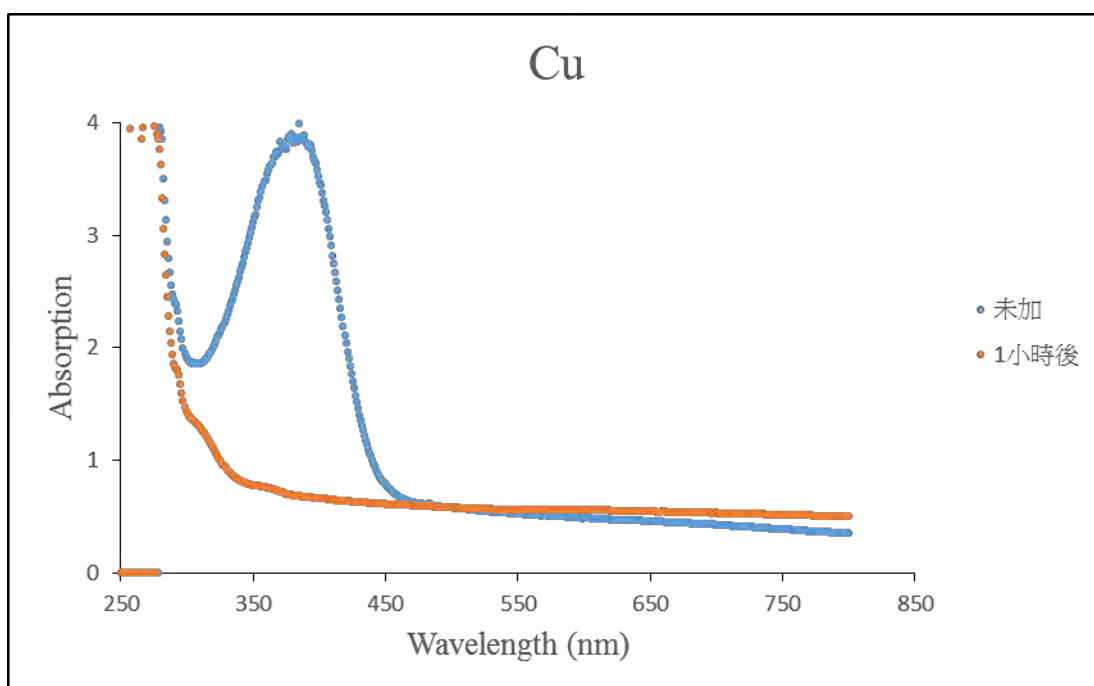
三、硼氫化鈉催化對-硝基苯胺反應前後的吸收圖譜

藍色線條為未加入硼氫化鈉的數據；
橘色線條為加入硼氫化鈉 1 小時後的數據

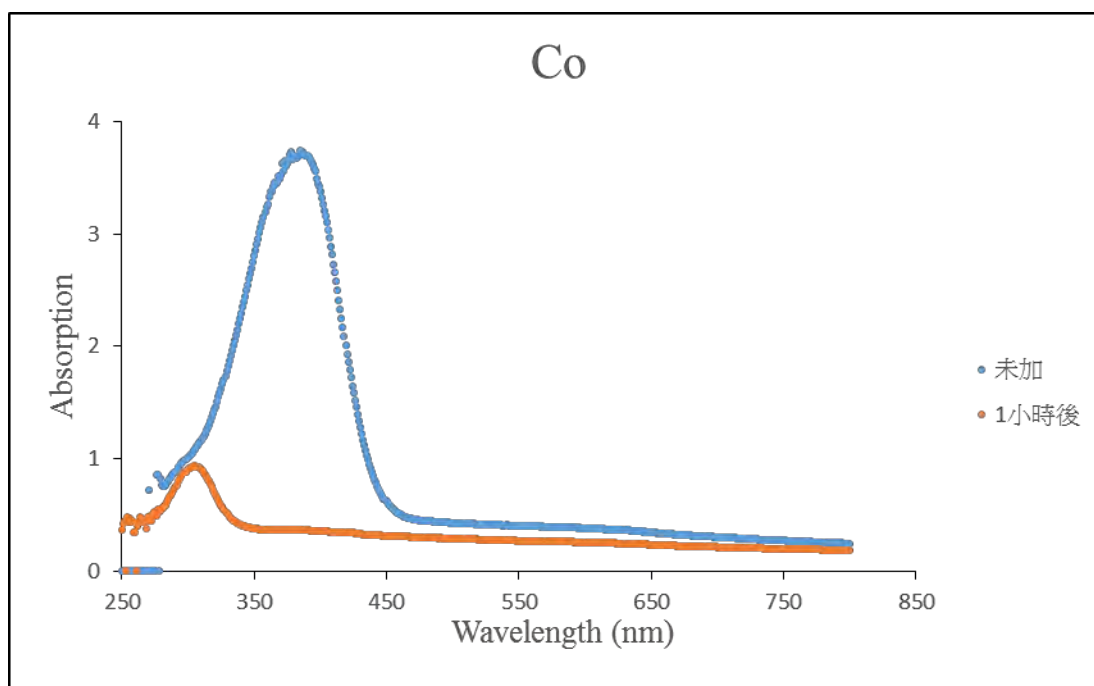
(一)、 Au^{3+}



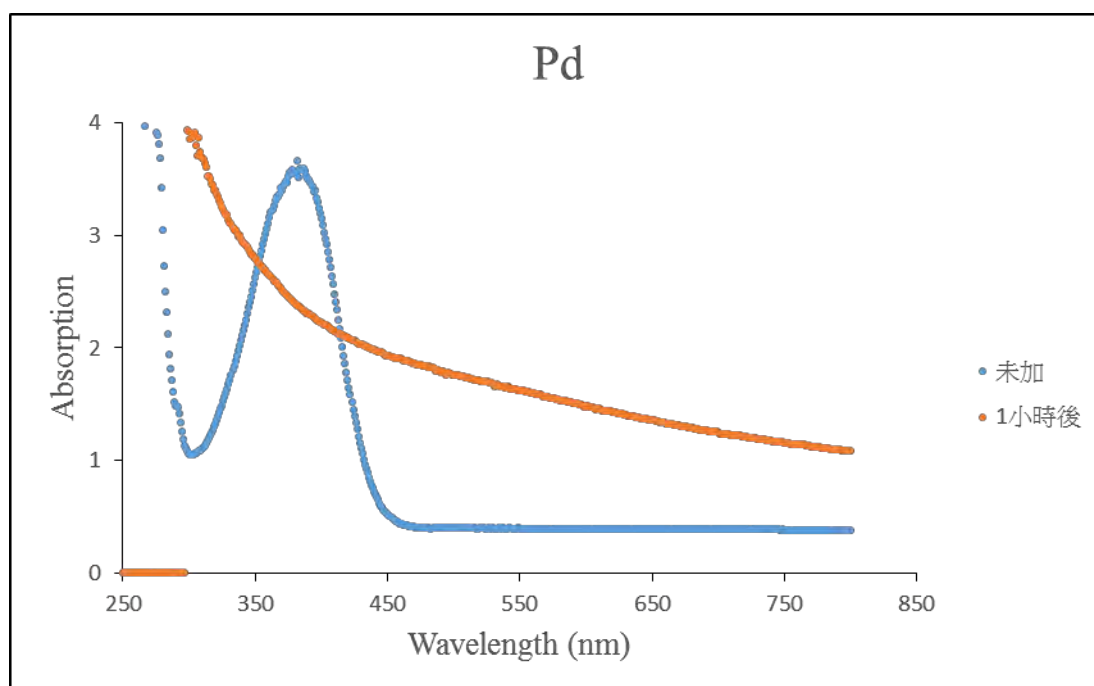
(二)、 Cu^{2+}



(三)、 Co^{2+}



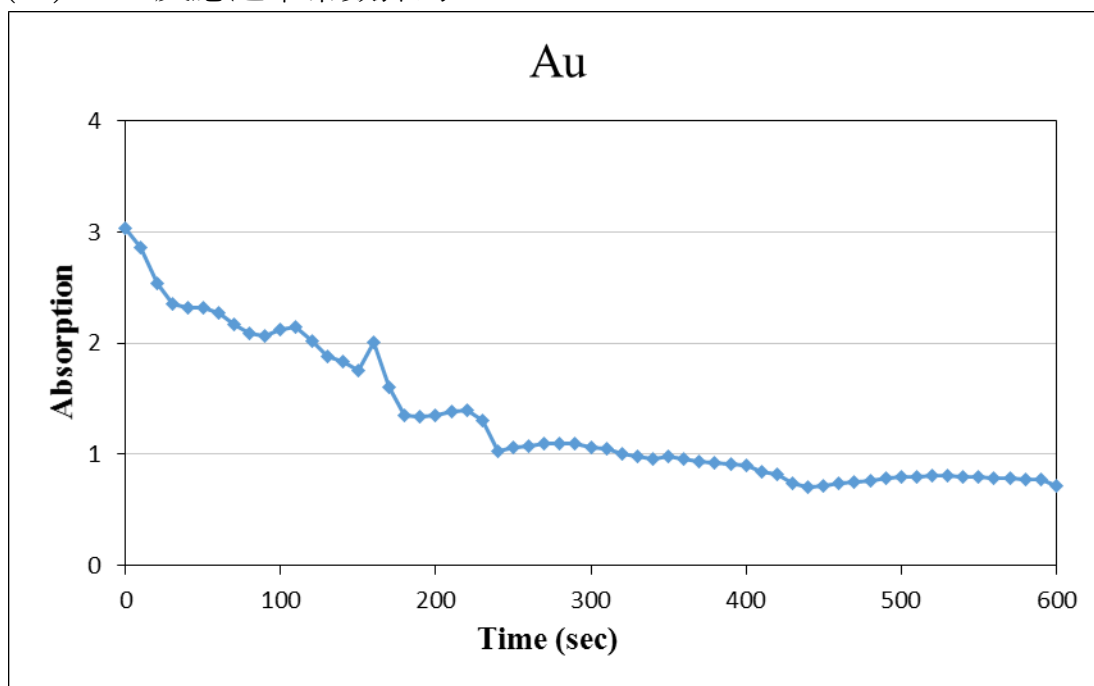
(四)、 Pd^{2+}



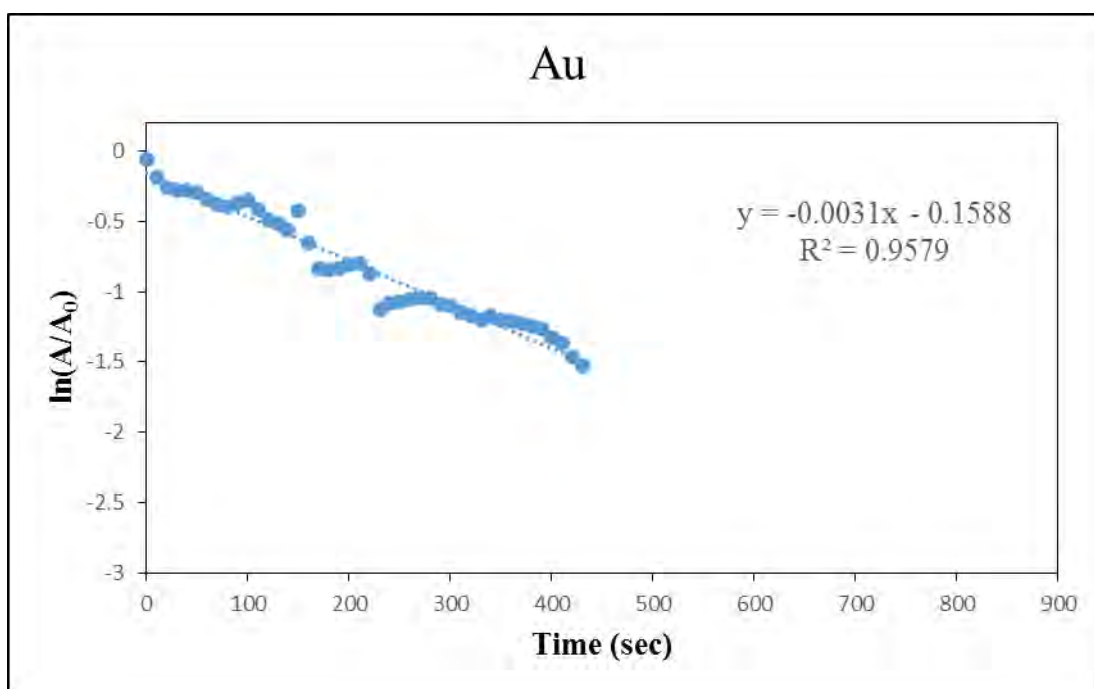
波長 385 nm 的高峰代表的是對-硝基苯胺的吸收值，由以上 4 張圖可以看出，加入硼氫化鈉一小時後，波長 385 nm 的高峰消失，而在波長 305 nm 會有一新的高峰產生，意味著對-硝基苯胺已經還原成對-苯二胺了。

四、不同金屬間的反應速率常數探討

(一)、Au 反應速率常數探討



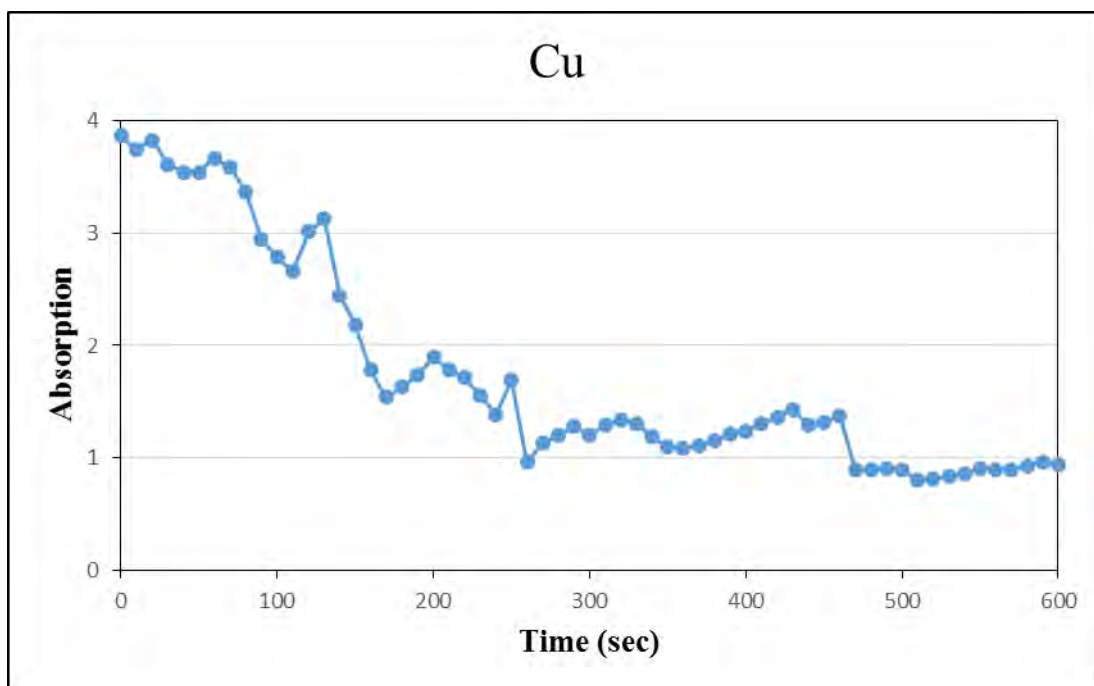
表四-(一)-1



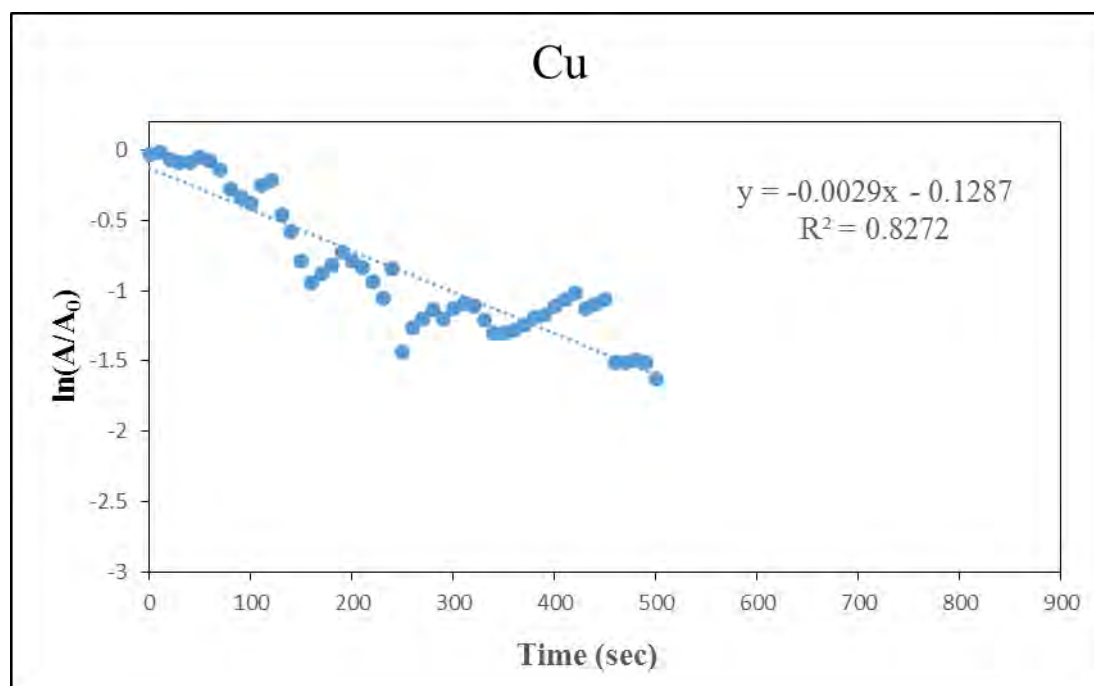
表四-(一)-2

由表四-(一)-1 可知，波長 385 nm 的吸收值持續在降低，表示催化反應正在進行。由表四-(一)-2 可知，反應速率常數為 0.0031 秒^{-1} 。而 $R^2 = 0.9579$ ，非常接近 1，表示誤差極小。

(二)、Cu 反應速率常數探討



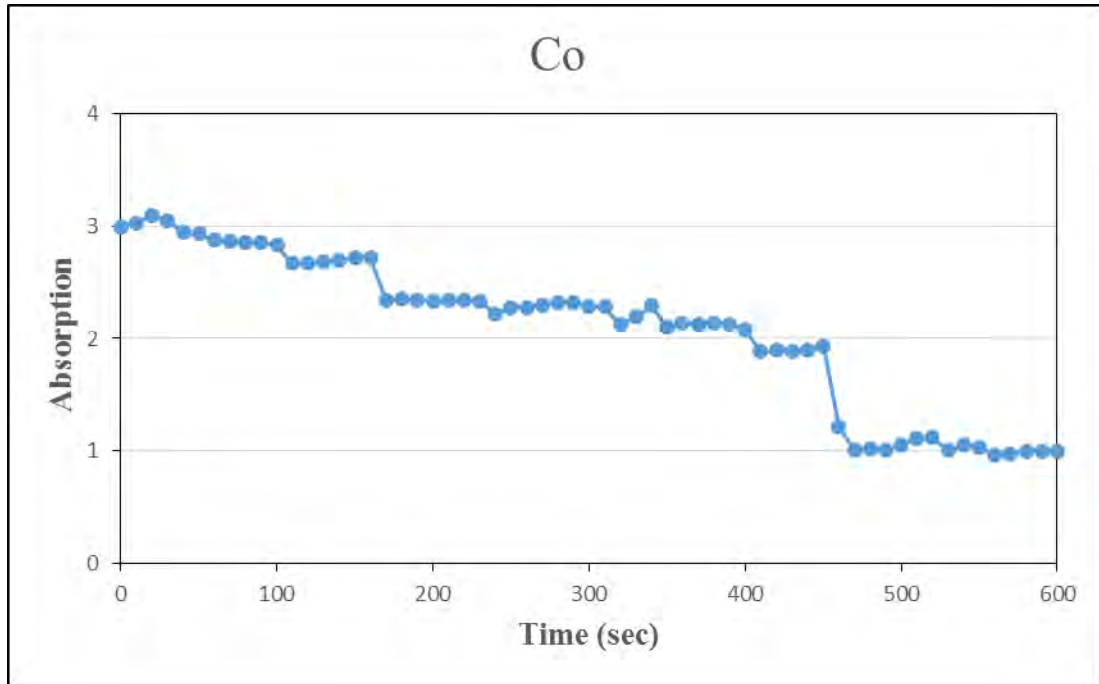
表四-(二)-1



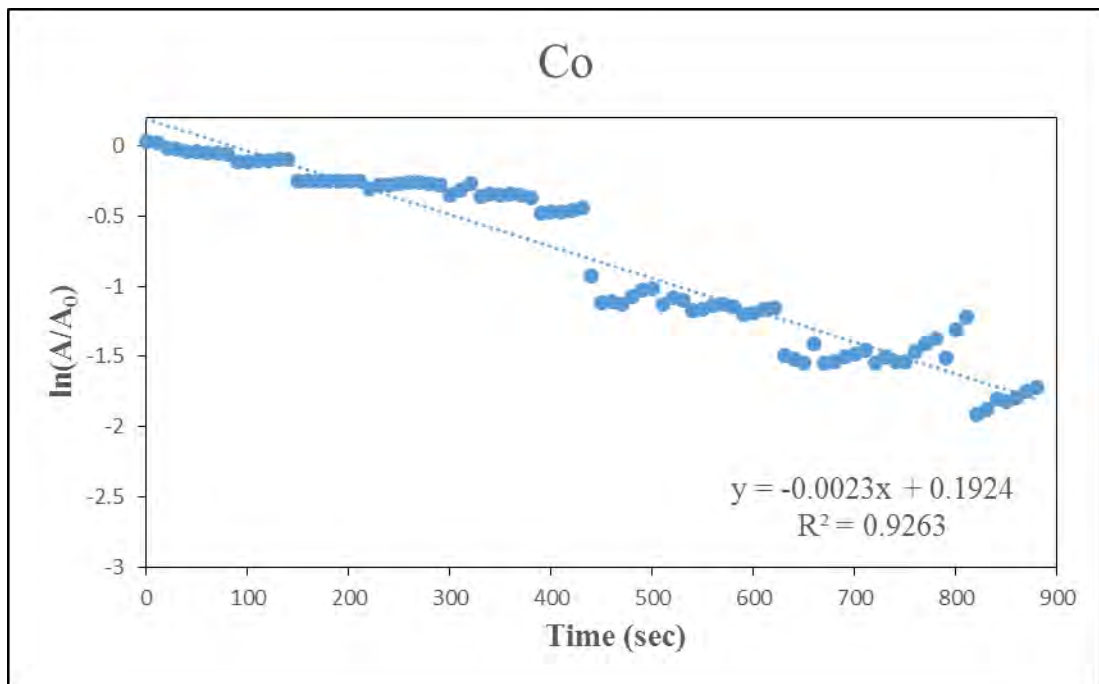
表四-(二)-2

由表四-(二)-1 可知，波長 385 nm 的吸收值持續在降低，表示催化反應正在進行。由表四-(二)-2 可知，Cu 的反應速率常數為 0.0029 秒^{-1} ， $R^2 = 0.8272$ 。Au 的功函數為 5.1 eV，Cu 的功函數為 4.65 eV。理論上，功函數越小，催化效果應該越好，但是催化效果也與粒徑大小有關。

(三)、Co 反應速率常數探討



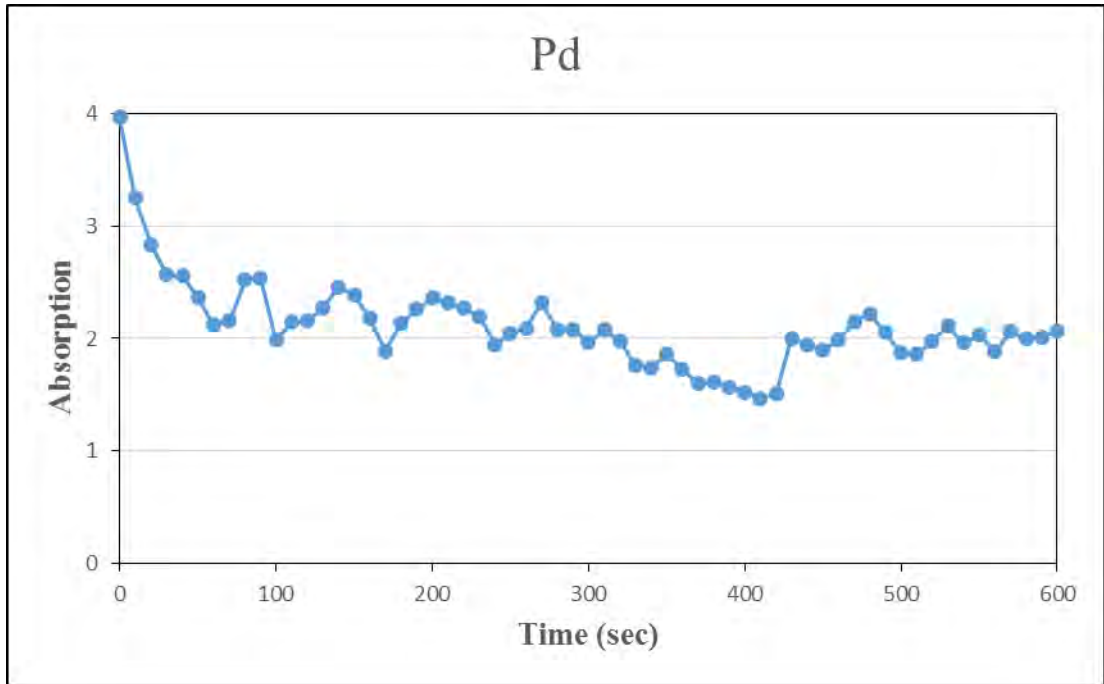
表四-(三)-1



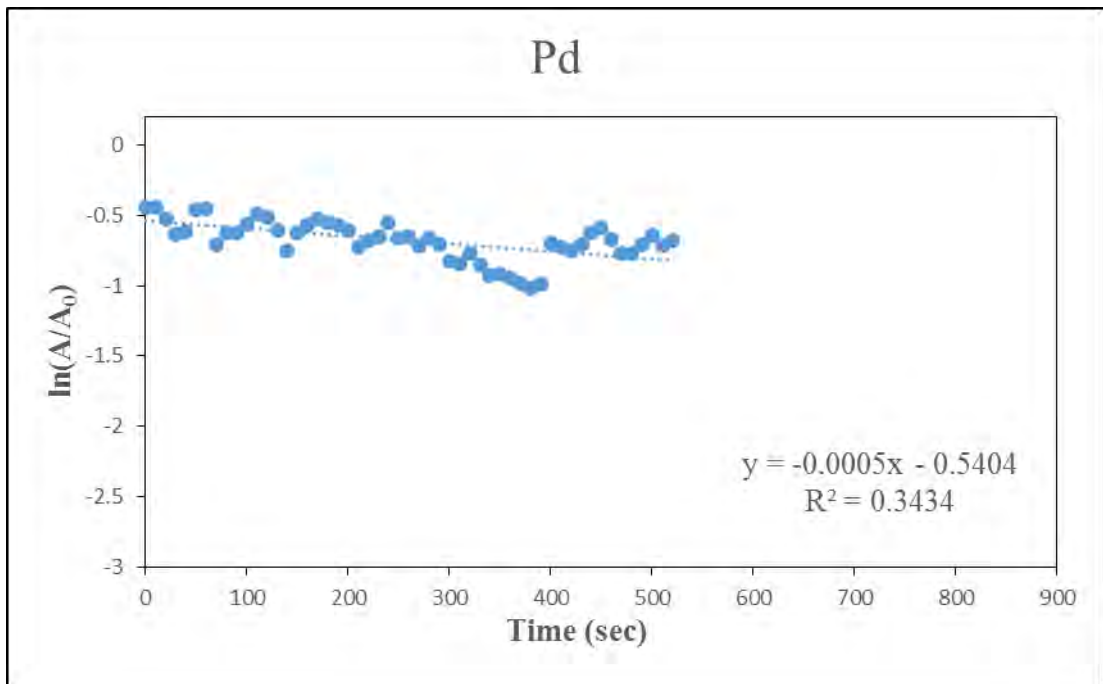
表四-(三)-2

由表四-(三)-1 可知，波長 385 nm 的吸收值持續在降低，表示催化反應正在進行。由表四-(三)-2 可知，Co 的反應速率常數為 0.0023 秒^{-1} ， $R^2 = 0.9263$ ，數值趨近於 1，表示誤差極小。Co 的功函數為 5 eV，比 Cu 大，所以 Co 的反應速率常數較 Cu 小，符合理論上所推測的結果。

(四)、Pd 反應速率常數探討



表四-(四)-1

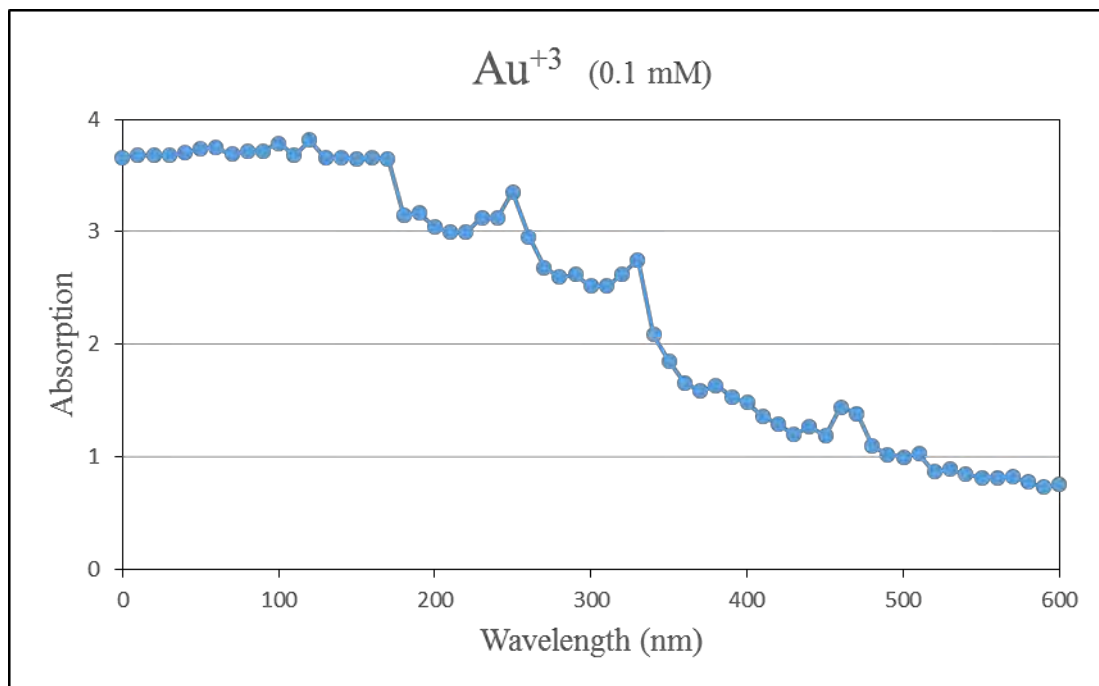


表四-(四)-2

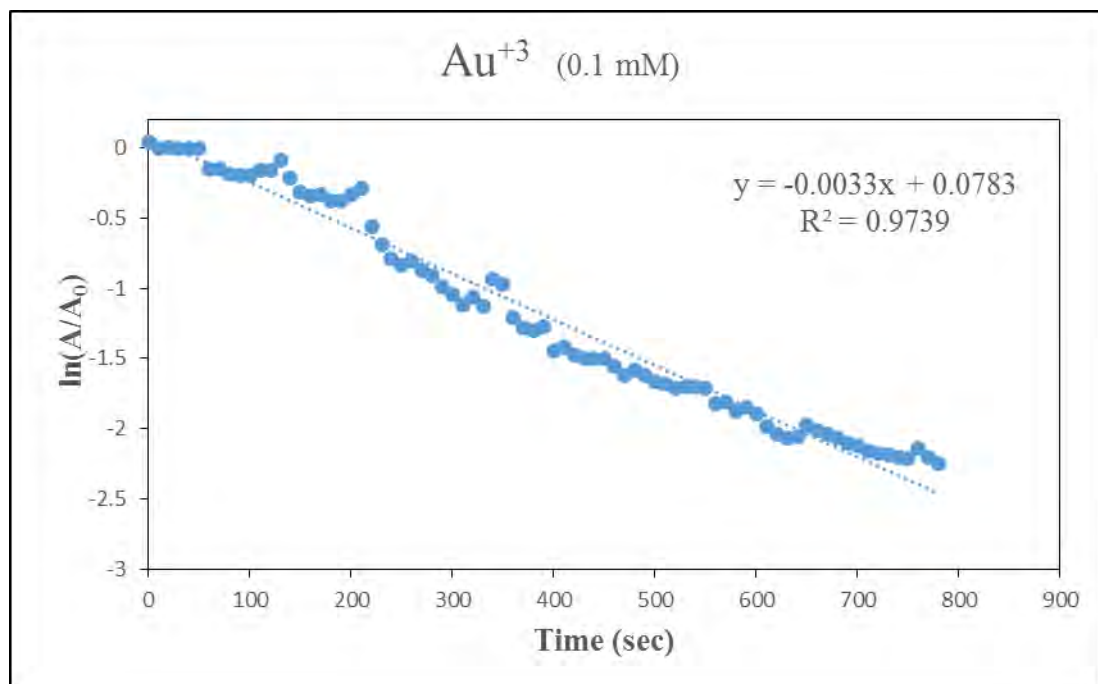
由表四-(四)-1 可知，波長 385 nm 的吸收值雖然起伏不定，但是大致呈現下降的趨勢，表示催化反應持續進行。由表四-(四)-2 可知，Pd 的反應速率常數為 0.0005 秒^{-1} ， $R^2 = 0.3434$ 。Pd 的功函數 5.12 eV，是四種金屬中，數值最大的，所以其反應速率常數為四種中最小，效果最弱的。

五、金屬金的濃度探討

(一)、 Au^{+3} 濃度 0.1 mM



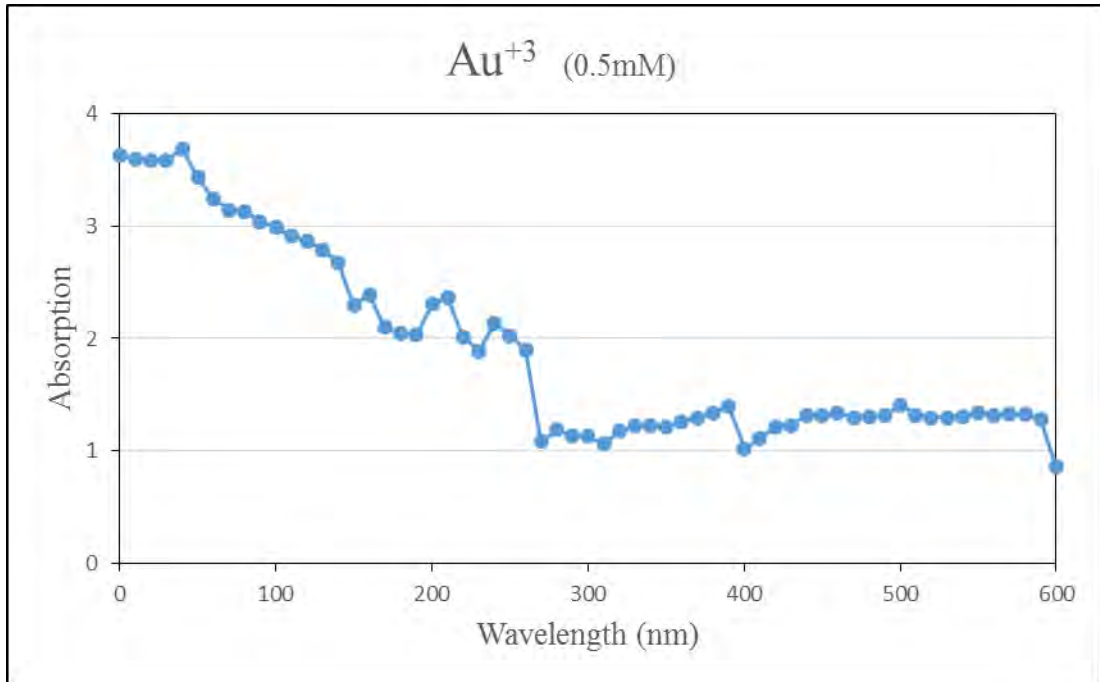
表五-(一)-1



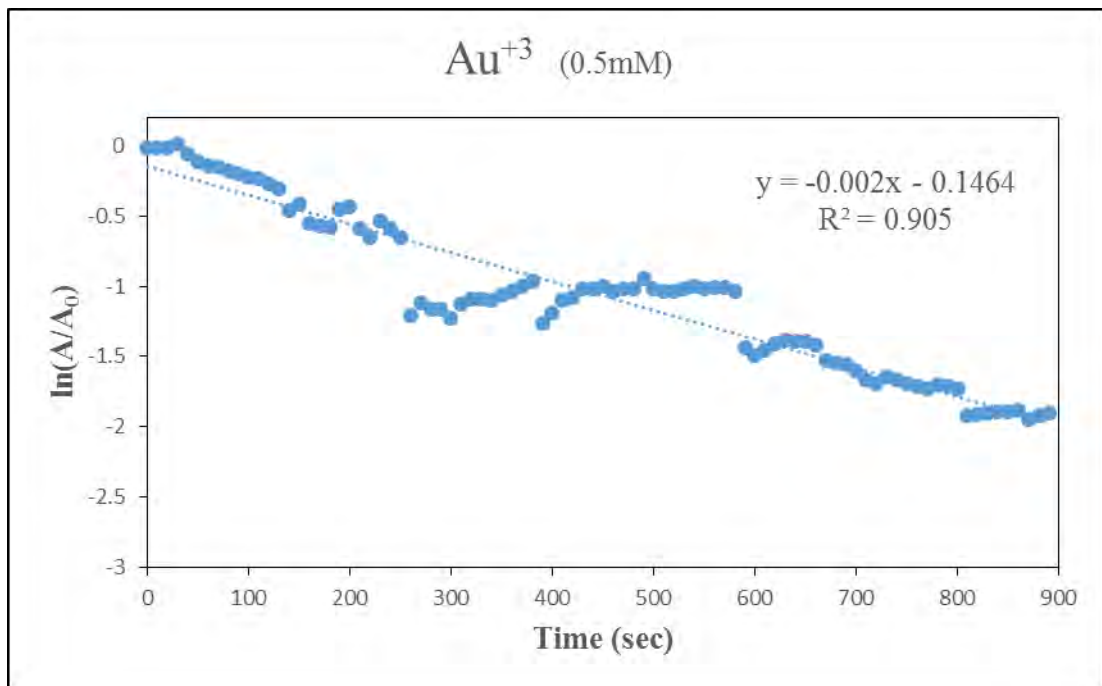
表五-(一)-2

由表五-(一)-1 可知，波長 385 nm 的吸收值持續在降低，表示催化反應持續進行。由表五-(一)-2 可知，反應速率常數為 0.0033 秒^{-1} ， $R^2 = 0.9739$ ，趨近於 1，表示誤差極小。0.1 mM 的反應速率常數較高，推測粒徑大小也是影響反應速率常數的其中一種原因。

(二)、 Au^{+3} 濃度 0.5 mM



表五-(二)-1



表五-(二)-2

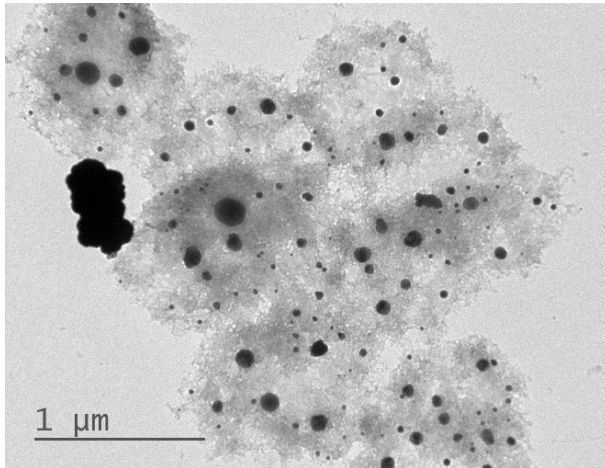
由表五-(二)-1 可知，波長 385 nm 的吸收值持續在降低，表示催化反應正在進行。由表五-(二)-2 可知，反應速率常數為 0.002 秒⁻¹， $R^2 = 0.905$ ，趨近於 1，表示誤差小。

(三)、 Au^{+3} 濃度 1 mM

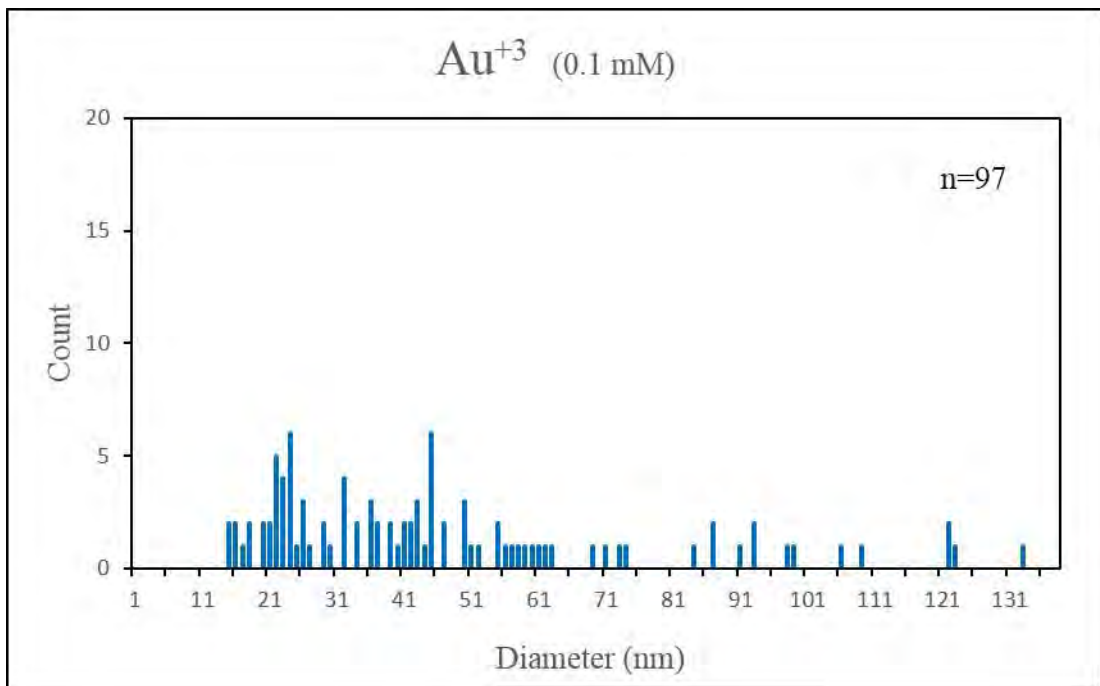
同第 12 頁的數據和圖表。

六、粒徑分析

(一)、 Au^{+3} 0.1 mM



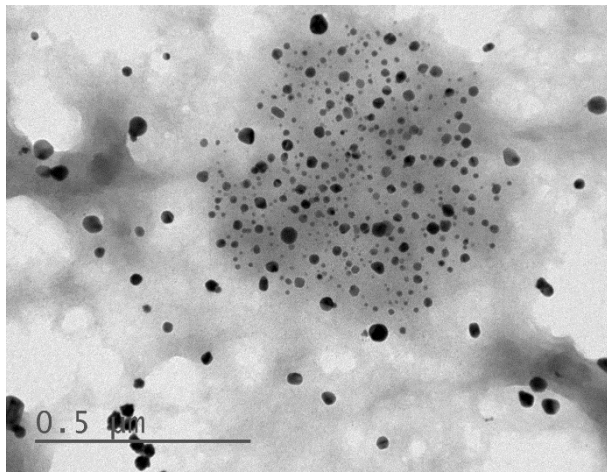
圖六-(一)



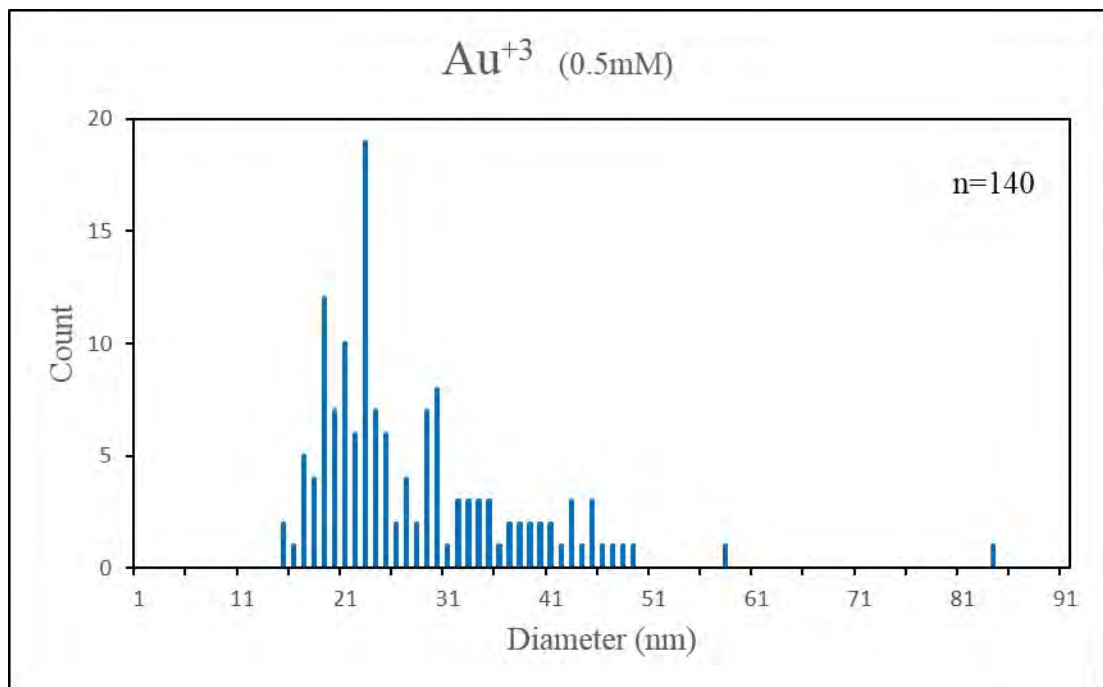
表六-(一)

由表六-(一)可知，濃度 0.1 mM 時，平均粒徑為 45.2 ± 30 nm，大概在 10 ~ 60 nm 之間，範圍有點大。

(二)、 Au⁺³ 0.5 mM



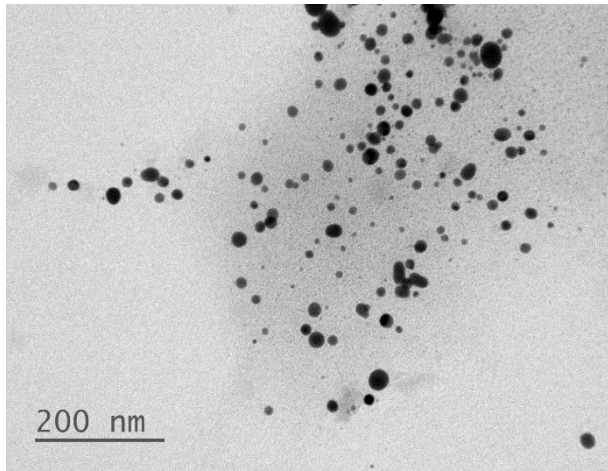
圖六-(二)



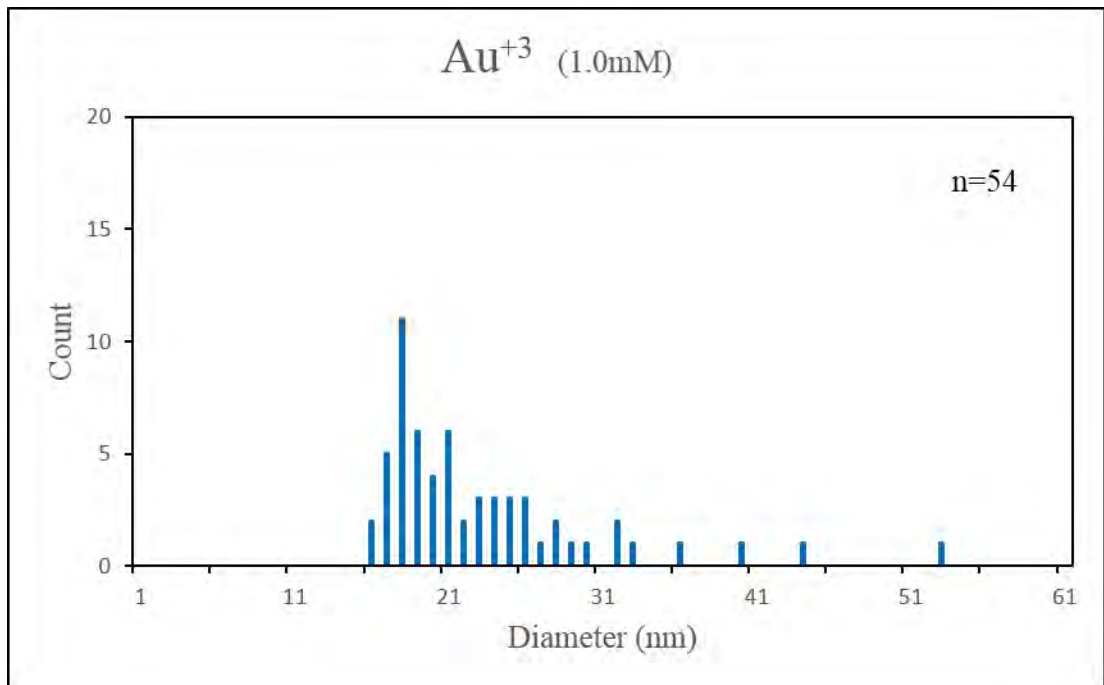
表六-(二)

由表六-(二)可知，濃度 0.5 mM 時，平均粒徑為 26.1 ± 10 nm。理論上，前驅物濃度越高，奈米粒子的粒徑會越大。但是濃度 0.5 mM 比濃度 0.1 mM 的平均粒徑小，範圍較集中，且其反應速率常數是三種濃度中之最小的。

(三)、 Au^{+3} 1.0 mM



圖六-(二)



表六-(三)

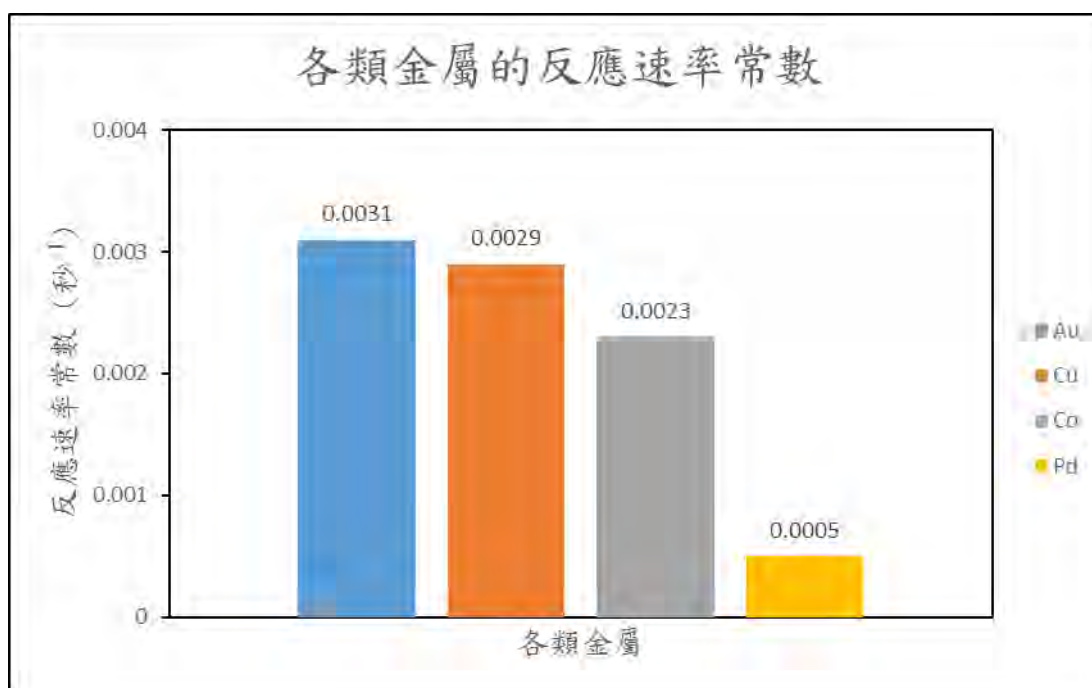
由表六-(三)可知，濃度 1.0 mM 時，平均粒徑為 21.6 ± 7.1 nm。粒徑大小並沒有和濃度 0.5 mM 的差很多，而且理論上，濃度越高，粒徑應該要越大。不過加入的金屬離子非常微量，有可能會有殘留的情形發生，導致濃度上出現了些許誤差。

柒、結論

一、4種金屬均會幫助硼氫化鈉催化對-硝基苯胺還原成對-苯二胺。只是反應速率常數會有所差異。

金屬	功函數大小(eV)	反應速率常數大小排序(最大)	R ²
Au	5.10	1	0.9579
Cu	4.65	2	0.8272
Co	5.00	3	0.9263
Pd	5.12	4	0.3434

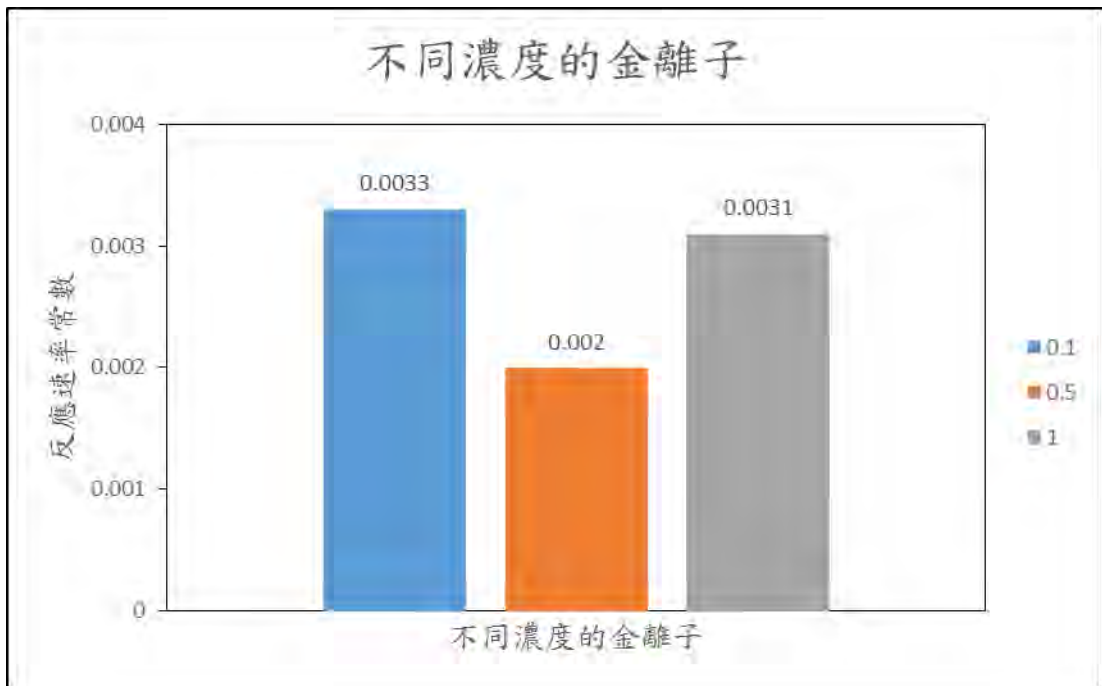
表七-1



表七-2

理論上，功函數越大，電子越不易離開，所以反應速率常數應較小，效果較差。依照功函數推測出以下四種金屬反應速率常數的大小關係，應為 $Cu > Co > Au > Pd$ 。但實際情況為， $Au > Cu > Co > Pd$ ，可能與奈米粒子粒徑大小有關。粒徑小，反應表面積越大，反應速率也會越大，這可能是造成金奈米粒子反應速率常數較好的原因。

二、金離子在濃度 0.1、0.5、1.0 mM 時，還原出的金屬金奈米粒子的反應速率常數不同。在濃度 0.1 mM 時，反應速率常數最高。



表七-二

三、粒徑分析的結果是金離子濃度 0.1 mM 時，粒徑最大，與理論相違背，而且反應速率常數也是濃度 0.1 mM 時最大。推測可能的原因是：

- (一)、TEM 照片只是某一局部的觀察。
- (二)、濃度較低的金離子溶液，理論上應該產生較小的奈米粒子，但又因為沒有界面活性劑的吸附去穩定粒子顆粒，造成互相聚集的現象，所以才會導致顆粒粒徑大小的數值範圍很廣。
- (三)、在加入金離子溶液時，濃度越低所需要的量越少，當所要取的溶液量越少，所造成的誤差也會相對較高。

金濃度 (mM)	粒徑大小 (nm)	反應速率常數 (秒 ⁻¹)	誤差值 R ²
0.1	45.2 ± 30	0.0033	0.9739
0.5	26.1 ± 10	0.0020	0.9050
1.0	21.6 ± 7.1	0.0031	0.9579

表七-三

捌、未來展望

本研究採用的反應機制具有連貫性與創新性。在實驗中，所運用之金屬離子，總共只有 4 種，分別是 Au^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Pd^{2+} 。還有很多金屬離子，或許也會在此機制中，擁有良好的效果，在未來可以加廣運用範疇。有些被重金屬污染的河川，含有金屬離子，希望在未來可以運用在實驗上。至於反應最終生成物:對-苯二胺，主要應用於聚合物和複合材料的生產過程，作為當中的一項組件，同時也是染髮劑的一種成分。芳香聚醯胺，簡稱芳綸，是耐熱性及絕緣性能很好的纖維，對於弱酸，弱鹼及大部分有機溶劑有很好的抵抗性。其中一種芳香聚醯胺叫做克維拉，經由對-苯二胺和對-苯二甲酸所組成的。克維拉被廣泛運用在船體、飛機、自行車輪胎、軍用鋼盔、防彈背心等，未來希望本研究所合成之對-苯二胺可運用在此方面。

玖、參考文獻

- 一、Apte, M.; Girme, G.; Bankar, A.; Ravikumar, A.; Zinjarde, S., (2013) *3, 4-dihydroxy-L-phenylalanine-derived melanin from Yarrowia lipolytica mediates the synthesis of silver and gold nanostructures*. J Nanobiotechnology, **11**, 2.
- 二、Molloy, S.; Nikodinovic-Runic, J.; Martin, L. B.; Hartmann, H.; Solano, F.; Decker, H.; O'Connor, K. E., (2013) *Engineering of a bacterial tyrosinase for improved catalytic efficiency towards D-tyrosine using random and site directed mutagenesis approaches*. Biotechnol Bioeng, **110** (7), 1849-57.
- 三、Apte, M.; Sambre, D.; Gaikawad, S.; Joshi, S.; Bankar, A.; Kumar, A. R.; Zinjarde, S., (2013) *Psychrotrophic yeast Yarrowia lipolytica NCYC 789 mediates the synthesis of antimicrobial silver nanoparticles via cell-associated melanin*. AMB Express, **3** (1), 32.
- 四、DeLoache, W. C.; Russ, Z. N.; Narcross, L.; Gonzales, A. M.; Martin, V. J.; Dueber, J. E., (2015) *An enzyme-coupled biosensor enables (S)-reticuline production in yeast from glucose*. Nat Chem Biol, **11** (7), 465-71.
- 五、Hernandez-Romero, D.; Sanchez-Amat, A.; Solano, F., (2006) *A tyrosinase with an abnormally high tyrosine hydroxylase/dopa oxidase ratio*. FEBS J, **273** (2), 257-70.
- 六、Singh, H. P.; Sharma, S.; Sharma, S. K.; Sharma, R. K., (2014) *Biogenic synthesis of metal nanocatalysts using Mimosa pudica leaves for efficient reduction of aromatic nitrocompounds*. RSC Advances, **4** (71), 37816-37825.
- 七、Aditya, T.; Pal, A.; Pal, T., (2015) *Nitroarene reduction: a trusted model reaction to test nanoparticle catalysts*. Chemical communications (Cambridge, England), **51** (46), 9410-31.
- 八、Maity, I.; Rasale, D. B.; Das, A. K., (2012) *Sonication induced peptide-appended bolaamphiphile hydrogels for in situ generation and catalytic activity of Pt nanoparticles*. Soft Matter, **8** (19), 5301-5308.
- 九、吳佩靜 黃雅琦 詹揚翔 (2013) *奈米粒子之合成與應用* 化學 **71**(2):119-129
- 十、郭清癸 黃俊傑 牟中原 (2001) *金屬奈米粒子的製造* 物理雙月刊 **23**(6):614-

【評語】 080009

利用大腸桿菌製造黑色素，再利用黑色素的還原能力將金屬離子還原成金屬奈米粒子，在奈米粒子的製備上有獨特性，後續應用可再深入。