

【2021 全國科學探究競賽-這樣教我就懂】

題目名稱： 銀山鐵壁 - 探討奈米銀噴霧抗菌效果之研究

一、摘要：

本研究探討自製不同粒徑、濃度奈米銀對不同材質的防霉抗菌效果及比較不同粒徑奈米銀、酒精和市售奈米銀的抗菌效果。氧化還原法還原奈米銀，製作固態培養基，劃線法接種細菌，Image J 分析色光飽和度，分光光度計檢測吸光值並用檢量曲線算菌液量。

研究結果發現，奈米銀對木頭、矽膠和不鏽鋼的防霉抗菌效果較差，對 PE、PVC、人造皮革、人造纖維、玻璃和鋁的防霉抗菌效果較佳。100%奈米銀對於不鏽鋼(菌液量 0.014057mL)、PE(0.015224)、人造纖維(0.014057)和鋁(0.014057)；80%奈米銀水溶液對於 PVC(0.016694)、人造皮革(0.015376)和矽膠(0.018342)；60%奈米銀水溶液對於木頭(為 0.014881)；40%奈米銀水溶液對於玻璃(0.019331)抗菌結合效果較佳。

二、探究題目與動機

2020 年初，新冠病毒來襲，爆發世紀流行病，而戴上口罩、消毒、保持社交距離等行為，已成日常生活中不可或缺的重要習慣。其中，消毒動作更為重要，利用化學物質來消滅大部份微生物、細菌和病毒，以保護人們的生命安全最普遍的做法。現代科技日新月異，奈米科技蓬勃發展，因奈米有好的物理化學特性，市面上出現許多奈米抗菌產品。例如，將市售矽藻土結合奈米銀、氧化鋅粉末，製作具有抗菌、防黴功效的奈米銀/氧化鋅矽藻土(鍾昊辰，2019)，但用途僅限固體，若能製作成抗菌噴霧，可用性便較大。由於銀的抗菌效果比其他抗生素高出許多若再加上奈米科技，抗菌功能便會增加(邱信嘉、陳瑞羚、吳昇勳、黃俐綺，2010)，我們很好奇奈米銀是否能比酒精和次氯酸水更具抗菌效果。因此，本研究以氧化還原法的奈米銀，測試其抗菌和殺菌能力，以做為這個科展計畫的主軸。

三、探究目的與假設

- 一、了解奈米銀基本性質及相關製備流程。
- 二、比較不同粒徑的奈米銀、市售奈米銀水溶液和酒精之防霉抗菌效果。
- 三、探討不同奈米銀粒徑大小對於不同材質的防霉抗菌效果。
- 四、探討不同奈米銀水溶液濃度對於不同材質的防霉抗菌效果。

四、探究方法與驗證步驟



(一)實驗步驟

1.了解奈米銀基本性質及相關製備流程

奈米銀是奈米尺度的金屬銀，液態黃色，在波長 410 奈米有特定光譜。當合成的奈米銀粒子粒徑小於 50 奈米時，因布朗運動的作用，在水分子力量支持下，可抗拒地球引力，而保護劑可以抑制粒子凝聚變大，可得穩定的懸浮液體。當受到光照射，金屬粒子粒徑遠小於入射光波長時，表面電子會因為受到入射光的激發，產生表面電漿共振。表面電漿共振現象會因金屬種類、粒徑形狀及分散溶劑的不同而有差異(蘇郁潔，2006)。

2.比較不同粒徑的奈米銀水溶液、市售奈米銀水溶液和酒精之防霉抗菌效果。

(1)固態培養基製作

PDA 培養基是馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基簡稱，是固體且天然培養基。優點是適合微生物、黴菌、細菌生長，營養豐富，許多人常採用。以下為固態培養基製作流程：

- a.先在鐵鍋中加入1.5公升的水。
- b.把300g 馬鈴薯切丁放入鐵鍋中用卡式爐加熱至馬鈴薯熟透，過程中須持續攪拌。
- c.用紗布過濾後，輕擠濾乾，加水1公升後繼續煮。
- d.接著加入2%的葡萄糖攪拌，加入洋菜膠，攪拌至洋菜膠完全融於馬鈴薯水溶液。
- e.在微波爐加熱5分鐘，並以無菌的狀態將馬鈴薯水溶液倒入殺菌後的培養皿。
- f.放置冰箱冷藏48小時，觀察培養皿的狀態。

(2)噴奈米銀水溶液至材質

為了定量奈米銀水溶液在每種材質上的量相同，我們使用了 CURA 軟體繪製銅錢型圓柱體，並用 3D 列印機器將此銅錢形圓柱體列印出來。

- a.用3D 列印做一半徑8.6cm、高度2cm 的圓柱，切一個邊長5cm、高度2cm 的正方形柱體。
- b.將此模型放置在材質上，在此正方形中的四個角落和正中間噴奈米銀水溶液。

(3)以紙錠擴散法比較不同粒徑的奈米銀、市售奈米銀和酒精的抗菌率

紙錠擴散法是一種簡單又快速的計算抗菌率的方法，亦是最常見的抑菌效果檢測法，其擴散距離愈遠，濃度越低，若此試樣有效，浸泡於奈米銀之紙錠會形成一個抑菌圈，可經由測量抑菌圈來探討奈米銀水溶液的抗菌效果。以下為紙錠擴散法的實驗步驟：

- a.用打洞機將濾紙打成紙錠(一組實驗七個紙錠)，將紙錠放入乾淨的培養皿中。
- b.用微量吸管，設定0.1mL，吸取不同的溶液，將溶液均勻滴在紙錠上，放置三分鐘等待濾紙吸收溶液。
- c.用微量吸管，設定成0.1mL，吸取培養出的乳白色菌液，將菌液平均滴在培養基上。
- d.先環境消毒，鑷子用酒精燈殺菌，用培養基降溫，夾已泡過溶液的紙錠放在培養基上，用石蠟帶將培養基封住後放入恆溫培養箱(30度)並放24小時後觀察並記錄。

3.探討奈米銀粒徑大小對於不同材質的抗菌效果

本目的探討不同粒徑大小奈米銀對自行培養的菌液的抗菌效果，會製作一條菌檢量曲線，在材質上噴不同粒徑的奈米銀，等 12 小時後用接種環和接種棒將菌刮至培養基，再等 12、24、48 小時，比色管滴入 5mL 的純水，用接種環和接種棒接細菌、黴菌刮至比色管中，檢測吸光值後將數值帶入到檢量曲線中，即可得知何種粒徑的奈米銀效果較佳。

(1)噴奈米銀水溶液至材質

為定量奈米銀量相同，用 CURA 軟體繪製銅錢型圓柱體，並用 3D 列印機列印出來。

- a. 本實驗使用 3D 列印機器製作一個半徑 8.6cm、高度 2cm 的圓柱，並在此圓柱中間裁切一個邊長 5cm、高度 2cm 的柱體。
- b. 將此模型放置在材質上，在此正方形中的四個角落和正中間噴奈米銀水溶液。

(2)以劃線法接種細菌

接種環沾少許待分離的材料，在培養基表面進行連續劃線，微生物細胞數量將隨著劃線次數的增加而減少，並逐步分散開來，如果劃線適宜的話，微生物能一一分散。優點為可以觀察菌落特徵，對混合菌進行分離 (台灣實驗室網，2010)。

表一、不同接種方法的優缺點

接種方法	優點	缺點
劃線法	可以觀察菌落特徵	不能用於菌落計數
塗佈法	可計數、觀察菌落特徵	接種前需梯度稀釋，吸收量較少
傾倒法	可以計數	接種前梯度稀釋，不能觀察菌落特徵
螺旋接種法	自動化接種，效率高	產品成本高

以下為劃線法接種細菌的實驗步驟：

- a. 將酒精燈點燃，放置在無菌的培養基旁邊。
- b. 消毒接種棒和接種環，放到培養基上冷卻。
- c. 將接種環在有噴奈米銀的材質刮五下。在培養基用接種環以直、橫、斜的方向將菌刮至培養基，完成一個方向，接種環就用酒精燈殺菌，用石蠟帶將培養皿封好。

(3)分光光度計檢量曲線實驗步驟

通常培養液內細菌數目的測量，以量測液體之混濁度為準。一般而論，此混濁度的測定，樣品於波長 660nm 處的吸光值(OD 值)來決定(國立中興大學物理系，2006)。

- a. 用滴管吸純水，滴到比色管體積的 3/4。
- b. 將比色管放在酒精燈旁，用微量吸管吸取菌液(0.001~0.18 毫升)，滴到比色管中。
- c. 將分光光度計波長設在 660，用純水歸零，將比色管放入分光光度計，數據紀錄。
- d. 用 Excel 將數據繪製成檢量曲線。

(4)比較奈米銀粒徑大小對於不同材質的抗菌效果實驗步驟：

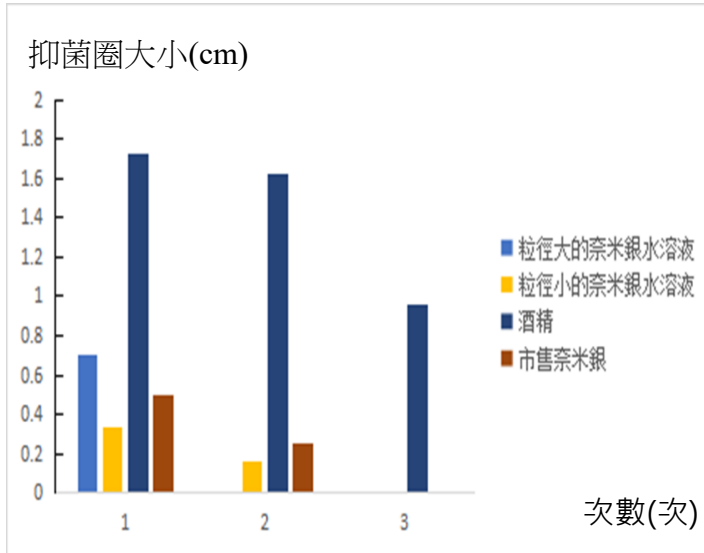
- a. 材質噴不同粒徑奈米銀，等 12hr 用接種環接種棒刮至培養基，觀察 12、24、48hr。
- b. 將菌液刮至比色管，將分光光度計波長設在 660，用純水歸零，將含有菌液的比色管放入分光光度計，將數據紀錄帶入檢量曲線。

4.探討不同奈米銀濃度對於不同材質的防霉抗菌效果

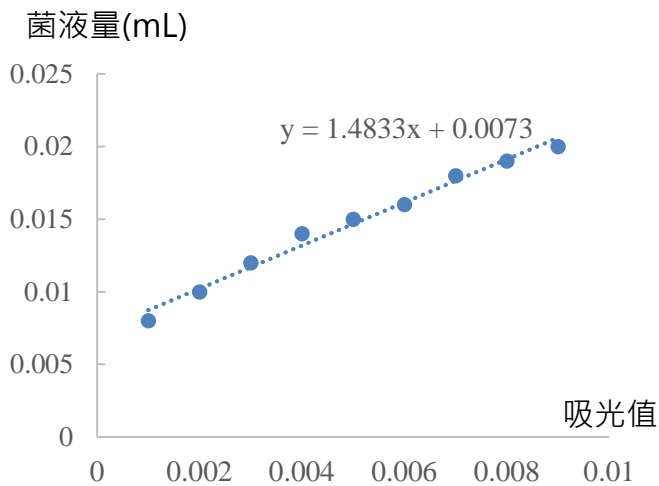
本目的探討不同濃度奈米銀水溶液對不同材質的防霉抗菌效果，材質上噴不同濃度奈米銀水溶液，等 12 小時後用接種環和接種棒將菌刮至培養基，再等 12、24、48 小時，用接種環和接種棒接材質的表面細菌、黴菌刮至比色管中，檢測吸光值後將數值帶入到檢量曲線中，即可算出菌生長的情況，並得知何種濃度的奈米銀水溶液抗菌效果較佳。

- (1)將奈米銀和純水調製成體積百分濃度分別為 20%、40%、60%、80%、100%。
- (2)在九種不同的材質分別噴奈米銀 5x5cm，並等待 12 小時後，用接種環和接種棒將此範圍刮到培養基上，並觀察 12、24、48 小時。
- (3)在相對應的時間將菌液刮至比色管中，將分光光度計的波長設定在 660，用純水歸零，將含有菌液的比色管放入分光光度計，將數據紀錄與比較範本比對。

(二)研究結果



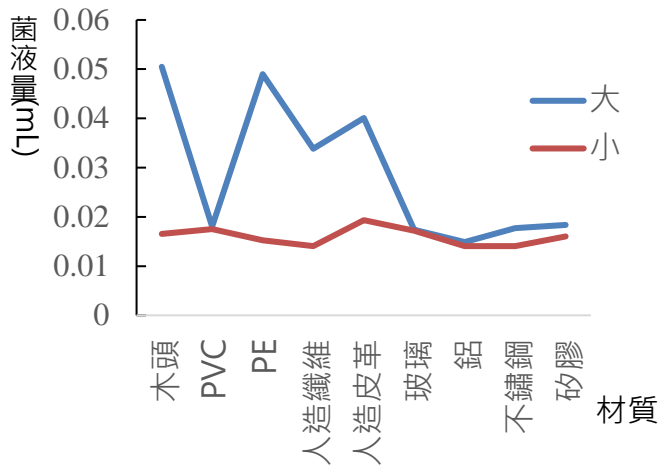
圖二、紙錠擴散法比較不同粒徑的奈米銀水溶液、酒精和市售奈米銀的防霉抗菌效果的數據



圖三、分光光度計數據檢量曲線

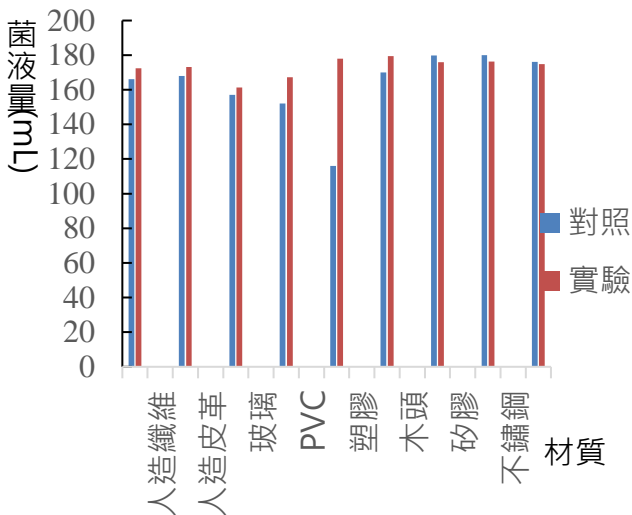
實驗數據得知酒精的抗菌時效最長，依序為粒徑小奈米銀、市售奈米銀和粒徑大的奈米銀水溶液。酒精的抗菌範圍最廣，依序為市售奈米銀、粒徑小奈米銀和粒徑大的奈米銀。

由九種菌液濃度的吸光值，製作檢量曲線，得知 $y = 1.4833x + 0.0073$ 為檢量曲線之方程式，代入材質上的菌液之吸光值數據，可得知奈米銀抗菌後的材質表面之菌液濃度。



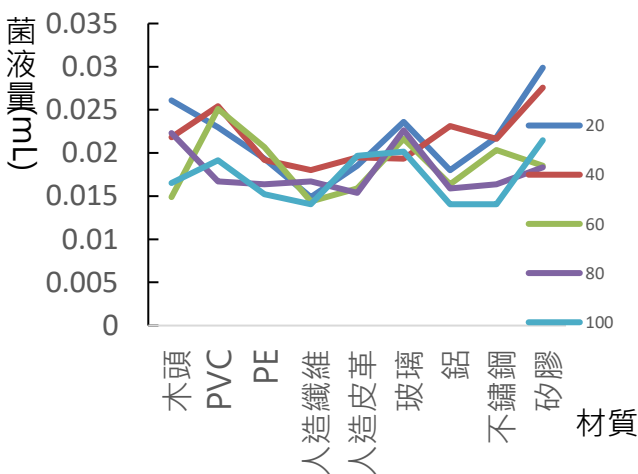
圖四為奈米銀對於不同材質的防霉抗菌效果，將吸光值代入檢量曲線，即可算出菌生吸光值菌液量(mL)的濃度。由圖四可知，粒徑小的奈米銀對於不同材質的防霉抗菌效果比粒徑大的奈米銀對於不同材質的防霉抗菌效果顯著。

圖四、不同奈米銀粒徑大小對於不同材質的抗菌狀況



當色光顏色越飽和，培養基愈無菌。亦可推論出對照組色光飽和度小於實驗組色光飽和度，表示奈米銀抗菌效果程度佳。由圖五實驗數據中得知，自製的奈米銀水溶液對於木頭、矽膠和不鏽鋼的防霉抗菌效果較差，對於塑膠(PE)、塑膠(PVC)、人造皮革、人造纖維、玻璃和鋁的防霉抗菌效果較佳，尤其 PVC 的實驗組和對照組的防霉抗菌效果的差異最為明顯。

圖五、探討奈米銀對不同材質的防霉抗菌效果



100%的奈米銀對 PE(菌液量 0.015224mL)、人造纖維 (0.014057)、不鏽鋼(0.014057)、鋁(0.014057)；80%的奈米銀對矽膠 (0.018342)、PVC(0.018342)、人造皮革(0.015376)；60%的奈米銀對木頭(0.014881)；40%的奈米銀對玻璃(0.019331)的防霉抗菌結合效果較佳。

圖六、不同濃度奈米銀對於不同材質的抗菌效果之菌液濃度

五、結論與生活應用

本研究旨在探討自製不同粒徑、濃度奈米銀水溶液對於不同材質 的防霉抗菌效果及比較不同粒徑的奈米銀、酒精和市售奈米銀的抗菌 效果。研究結果如下：

(一)酒精的抗菌時效最長，依序為粒徑小的奈米銀和市售奈米銀和粒徑大的奈米銀。酒精的抗菌範圍最廣，其次是市售奈米銀、粒徑小的奈米銀和粒徑大的奈米銀。

(二)粒徑小的奈米銀抗菌效果較粒徑大的奈米銀抗菌效果佳。

(三)奈米銀水溶液對於木頭、矽膠和不鏽鋼的防霉抗菌效果較差，對 PE、PVC、人造皮革、人造纖維、玻璃和鋁的防霉抗菌效果較佳，尤其 PVC 的實驗組和對照組的防霉抗菌效果的差異最為明顯。100%奈米銀對 PE、人造纖維、不鏽鋼、鋁；80%奈米銀水溶液對 矽膠、PVC、人造皮革；60%奈米銀對於木頭；40%奈米銀對於玻璃的防霉抗菌結合效果較佳。

綜合上述結果得知，不同粒徑、濃度奈米銀對於不同材質有不同防霉抗菌效果。未來可針對奈米銀對不同菌種和與不同化合物結合後的水溶液，以提升奈米銀的運用價值。

參考資料

- 一、鍾昊辰(2019)。「銀」「鋅」送舊-矽藻土添加奈米銀/氧化鋅防黴抗菌大作戰。桃園市立中壢國民中學，中華民國第 59 屆中小學科學展覽會。
- 二、邱信嘉、陳瑞羚、吳昇勳、黃俐綺(2010)。鏡中銀 - 奈米銀之抗菌。國立溪湖高級中學，中華民國第 50 屆中小學科學展覽會。
- 三、蘇郁潔(2006)。奈米銀離子的特性與其在衣料上之抗菌應用。國立台灣大學。
- 四、國立中興大學物理系(2006)，實驗四生長曲線測量。國立中興大學物理系。
- 五、郭怡琳(2012)。不同消毒劑於非生物性固體表面消毒效能評估。嘉南藥理科技大學環境資源管理系，大專學生參與專題研究計畫。
- 六、張仁豪(2015)。抗菌不銹鋼於廚房設備之應用研究(未出版之碩士論文)。義守大學，高雄市。
- 七、王奕翔、何旭川、蕭健男、陳宏彬(2008)。金屬薄膜之光學與機械性質研究。科學與工程技術期刊，4(1)，81-88。
- 八、管彥廷、周盈安、李嘉祐、鄭榮泉(2009)。尿布變黃金--PAA 螯合離子及製備奈米銀。國立嘉義高級中學，中華民國第 49 屆中小學科學展覽會。