

# 生物合成纳米晶的研究进展

付云芝<sup>1,2</sup>, 张永强<sup>1</sup>

(1. 海南大学材料与化工学院, 海南 海口 570228)

(2. 中国科学院化学研究所 胶体与界面国家重点实验室 北京 100082)



付云芝

中图分类号: O648

**摘要:** 生物合成纳米材料具有独特的生物光、电、光化学等性质, 为纳米材料的应用开辟了新的应用领域。生物合成主要是利用生物分子、微生物、植物及其提取物的还原特性参与纳米晶的合成, 具有原料来源广, 反应条件温和, 产物纳米颗粒不易团聚, 以及过程加入的化学试剂和产生的有毒副产物少等特点。生物合成纳米材料, 就是在纳米颗粒的生长环境中加入生物分子化合物(微生物如真菌、酵母菌、细菌、放线菌和植物及其提取物), 该化合物一般用作保护剂吸附在纳米颗粒的周围, 以防止纳米颗粒的团聚, 同样, 又赋予生物纳米颗粒生物相容性, 增加纳米颗粒在生物医学、食品检测等上面的应用。通过对国内外有关生物纳米晶的合成研究文献的查阅与归纳, 本文对微生物、植物及其提取物等生物合成纳米晶的方法进行了综述, 并对不同生物还原法所合成的纳米晶的特性进行了归纳和展望, 以期对生物合成纳米晶的研究提供参考。

**关键词:** 生物合成纳米晶; 微生物; 植物及其提取物

文献标识码: A 文章编号: 1674-3962(2011)03-0047-07

## Research Progress on Biosynthesis of Nano-Crystal

FU Yunzhi<sup>1,2</sup>, ZHANG Yongqiang<sup>1</sup>

(1. College of Materials Science and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China)

(2. Key Laboratory of Colloids and Surfaces, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100082, China)

**Abstract:** Bio-synthesis of nano-crystal has particular characters such as bio-optical, electrical, photochemical and other properties, which have opened up new fields in application of nanomaterials. Bio-synthesis of nano-crystals mainly uses biological molecules, microbes, plants and their extracts as coat in the reduction system. There are more advantages of bio-synthetic nanoparticles such as a wide source of raw materials, mild reaction conditions, non-agglomerated nanoparticles, and less toxic by-products. Biosynthesis of nano-crystal is to add biological molecules (microbes such as fungi, microzyme, actinomyceto, bacterium, plants and their extracts) as coat into the synthesis system, as the biological molecules can absorb on the surface of the nanoparticles to keep off congregation, and can endow them with biocompatibility for application in bio-medicine and foodstuff detection. Methods for biosynthesis of nano-crystal using microorganism, plants and their extracts have been reviewed, and features of nano-crystals synthesized by different biological reduction processes have been summarized and forecasted, based on domestic and foreign research literature on nano-crystal synthesis, in the hope of giving references to study on biosynthesis of nano-crystal.

**Key words:** biosynthesis of nano-crystal; microorganism; plants and their extracts

### 1 前言

纳米技术开辟了材料和科学领域中新的研究前沿, 物理和化学方法合成纳米晶的工艺技术都比较成熟, 但此类方法在合成纳米晶的同时也伴随着对环境的污染、

破坏等问题, 开发有效的纳米晶绿色合成路线已成为纳米技术领域的挑战性课题之一。近几年来, 生物合成纳米晶作为一种新颖且属于绿色化学范畴的方法已经受到了人们的广泛重视。生物合成主要是利用生物分子、微生物、植物及其提取物的还原特性参与纳米晶的合成, 具有原料来源广, 反应条件温和, 产物纳米颗粒不易团聚, 以及合成过程加入的化学试剂和产生的有毒副产物少等特点。

Krolkowska 等<sup>[1-2]</sup>在 2003 年就指出利用生物体合成纳米晶具有广阔的前景, 因为合成的纳米晶具有不寻常

收稿日期: 2010-05-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(90207026); 海南省教育厅基金项目(Hjkj2009-13)

通信作者: 付云芝, 女, 1966年生, 副教授, 硕士生导师

的光学、化学、光电、电子属性。各种纳米和微米长度的无机材料的合成工艺,使基于生物合成的纳米无机材料得以快速发展。纳米晶的合成和组装将从“绿色化学”角度——清洁、无毒和环保来考虑,涉及细菌、真菌等微生物,甚至是植物<sup>[2]</sup>。因此,可以利用单细胞或多细胞生物在细胞内或细胞外生产无机材料<sup>[3]</sup>。Senapati<sup>[4]</sup>用真菌生物与硝酸银的水溶液接触培养发现:黄萎病菌藻在细胞内形成银纳米晶,而枯萎病生物在细胞外生成银纳米晶。微生物中细菌、酵母、真菌和放线菌都已经被用来制作纳米晶,这些微生物近年来被认为是可能的环境友好型“纳米工厂”。细胞内纳米晶的形成率和大小,在一定程度上受 pH、温度、底物浓度和在基板曝光时间等参数控制<sup>[5]</sup>。此外, Gericke M, Pinches A<sup>[6]</sup>在微生物细胞外通过改变细胞增长的主要参数来控制金纳米晶形状和大小,现在正努力寻求合成不同化学组成和晶大小,可控单分散性纳米晶的方法,例如:通过控制具

有无机化合物形态的有机基质(蛋白质、脂肪或多糖)和无机成分组成的生物物质来合成纳米晶。本文综述了国内外在金属纳米晶合成中使用微生物如真菌、酵母菌、细菌、放线菌和植物及其提取物的研究成果。

## 2 生物合成纳米晶进展

生物合成纳米晶主要包括微生物如真菌、酵母菌、细菌、放线菌和植物及其提取物合成金属纳米晶等。

### 2.1 微生物合成纳米晶

各种微生物的活体可以用来制备纳米材料,其中起主要作用的是各种蛋白质、还原酶、萘醌和蒽醌等物质。如 Mukherjee 等<sup>[7]</sup>用黄萎病菌还原  $\text{AuCl}_4^-$  水溶液制备出尺寸大小明确、单分散性良好的金纳米晶,推其机理,起还原作用的是黄萎病菌细胞里的酶。该结果报道后,越来越多的微生物合成纳米晶的报道层出不穷,见表 1 所示<sup>[8]</sup>。

表 1 不同微生物合成的纳米晶  
Table 1 Nanoparticles synthesized by different microorganisms

Microorganisms	Type of nano-crystal	Microorganisms	Type of nano-crystal
Bacillus subtilis	Au	Rhodo coccus	Au
Shewanella algae	Au	Micrococci	Au
Lactobacillaceae	Au, Ag, Au - Ag alloy	F. oxysporum	Au, Ag, Au - Ag alloy, CdS, ZrO <sub>2</sub> CdS
Pseudomonas stutzeri	Ag	Candida glabrata	CdS
Thermomonospora	Magnetite	Schizosaccharomyces pombe	CdS
Klebsiella aerogenes	CdS	Yeast strain MKY3	Ag
Escherichia coli	CdS	Verticillium	Au, Ag
Torulopsis	PbS	Heat resistant acetic acid clostridium	CdS

#### 2.1.1 真菌的使用

真菌合成纳米晶直到最近几年才被发现,使用真菌的好处在于其能分泌大量的酶,该酶被鉴定为可用于纳米材料的合成,而且合成与后处理分离过程简单。利用真菌不但可以实现单分散性纳米晶的制备,而且可以实现对晶形貌的较好的控制。Ahmad 等<sup>[9]</sup>利用尖孢镰刀菌的这一性质制备了稳定存在的不同形貌的 Ag 的水溶胶,利用嗜酸性黄萎病菌跟  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{AuCl}_4^-$  一起进行培养可以生成 Ag 和 Au 纳米晶,这些晶的大小均在 2 ~ 50 nm 之间。Vigneshwaran 等<sup>[10]</sup>的研究表明,当黄曲霉菌与硝酸银一起培养时,在真菌表面可以生成 Ag 纳米晶。Kumar 等<sup>[11]</sup>的研究表明,真菌分泌的蛋白质和还原酶可以稳定在细胞外生成的纳米晶。Shankar 等<sup>[12]</sup>利用在天竺葵中生长的内生菌实现了各种形貌 Au 纳米晶的控制生长,结果表明,这种真菌分泌的还原剂也是多肽或者酶。Bansal 等<sup>[13-14]</sup>不使用真菌培养液而使用从尖孢镰刀菌分泌出来

的类似于海绵硅聚合酶的阳离子蛋白质,来水解  $\text{ZrF}_6^{2-}$  离子溶液制备了氧化锆纳米晶,利用尖孢镰刀菌分别和  $\text{SiF}_6^{2-}$ ,  $\text{TiF}_6^{2-}$  阴离子溶液混合,制备二氧化硅和二氧化钛纳米颗粒。更有趣的是, Ahmad 等<sup>[15]</sup>利用单端孢属菌藻和  $\text{AuCl}_4^-$  离子制备了 Au 纳米晶,而且澄清了生长条件对 Au 纳米晶的形成方式起着重要的作用,当反应溶液静置不动形成稳定体系时、在细胞内生成 Au 纳米晶,而在不稳定体系中、则在细胞外生成 Au 纳米晶。推测可能是因为蛋白质和酶作为还原剂和稳定剂,在稳定体系中不向细胞外分泌,而在动态体系中会向细胞外分泌。Bharde 等<sup>[16]</sup>利用尖孢镰刀菌和轮枝孢酶制备磁性纳米晶,研究表明 2 种真菌都可以分泌蛋白质,并在细胞外水解铁前体生成  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米晶。Bhainsa 和 D'Souza<sup>[17]</sup>利用烟曲霉菌在 10 min 内得到了单分散性的银纳米晶,这是首次实现利用真菌快速合成银纳米晶的报道,与某些物理、化学方法相比,这种生产更加快速,非常适合大批

量连续合成纳米晶, 具有广阔的发展前景。Bhainsa<sup>[18]</sup>认为利用镰刀菌制备大于 10 nm 的四方晶相钛酸钡(Ba-TiO<sub>3</sub>)纳米晶, 是一个相当有技术含量的环保、经济可行的方法。此外, Kumar<sup>[19]</sup>等实验证明, 室温下用真菌、尖孢镰刀菌在 CdCl<sub>2</sub> 和 SeCl<sub>4</sub> 混合物中培养可以制备高发光的 CdSe(硒化镉)量子点。总之, 利用真菌分泌的酶可以实现单分散性纳米晶的制备, 而且可以实现对晶形貌的控制, 但是利用这些单分散、规整形貌的纳米晶组装成为长程有序膜, 进而制备各种功能器件还需要一个漫长的过程, 实验室正在朝这个方向努力。

### 2.1.2 酵母菌的使用

酵母菌一直被认为是合成半导体材料的主要真核生物。研究表明, 将光滑假丝酵母菌置于含 Cd<sup>2+</sup> 的培养基中, 在胞内会形成 CdS 量子点, 在 Cd<sup>2+</sup> 存在下, 植物络合素的合成被激活, 植物络合素的结构中含有 Y-谷氨酰半胱氨酸对的重复序列, 其多肽的形式为(Y-Glu-Cys)<sub>n</sub>Gly, 其中 n 为 2~6, PC 结合 Cd<sup>2+</sup> 离子形成 Cd-PC 复合物, 并被运输到液泡中, 然后, 该复合物被降解并形成纳米晶<sup>[20]</sup>。目前, 化学合成和生物质所保护的纳米晶均已被用于制作电子元件。Kowslika 等研

究表明, 粟酒裂殖酵母菌胞内合成 CdS 量子点显示了理想的二极管特性, 大小为 1~1.5 nm 的生物源 CdS 纳米晶已经被用作制造聚对苯乙烯的异质界面, 这样的二极管在正向偏置模式 10 V 的电压下电流为 75 mA/cm<sup>2</sup>, 但在 15 V 的反相电压下被击穿。其做成的电子器件具有稳定性好、效率高、颜色可调节等优异性能。

酵母菌已被用于胞内合成纳米晶多年。近年来, 银耐发酵菌株 MKY3 于胞外合成了银纳米晶, 其在对数生长期形成大小为 2~5 nm 的纳半晶<sup>[21]</sup>。Gerike<sup>[22]</sup>和 Huang<sup>[23]</sup>利用酵母菌制备了 Au 纳米晶, 并通过控制酵母菌的生长状况和活性实现了对 Au 纳米晶形貌的控制。其它真菌和酵母菌在纳米晶制备中的应用见表 2<sup>[23]</sup>。从表 2 可以看出, 真菌和酵母菌在纳米晶制备中的应用是在近几年刚刚起步的。实验室准备利用海南特有植物(如芦荟、黄秋葵、地不容、香蕉皮等)的提取液来制备纳米 Au, Ag, TiO<sub>2</sub>, CdS, 并利用其有序组装膜来实现长程有序纳米 Au 在芯片上的应用, 纳米 Ag 在医用杀菌的应用, 长程有序纳米 TiO<sub>2</sub> 在污水处理、光催化降解有机物上的应用, 以及长程有序纳米 CdS 在医用荧光探针上的应用。

表 2 真菌和酵母菌在纳米晶制备中的应用

Table 2 The applied of nano-crystal prepared by epiphyte and microzyme

Researchers	Strains	Nano-crystal	Years
Kumar et al.	<i>F. oxysporum</i>	CdSe	2007
Krumov et al.	<i>S. pombe</i>	CdS	2007
Basavaraja et al.	<i>F. semitectum</i>	Ag	2008
Ingle et al.	<i>F. acuminatum</i>	Ag	2008
Sadowski et al.	<i>Penicillium</i>	Ag	2008
Balaji et al.	<i>C. cladosporioides</i>	Ag	2008
Gade et al.	<i>A. niger</i>	Ag	2008
Uddin et al.	<i>F. oxysporum</i>	Bi <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	2008
Sanghi et al.	<i>C. versicolor</i>	Ag	2009
Govender et al.	<i>F. oxysporum</i>	Pt	2009
Jha et al.	<i>S. cerevisiae</i>	Sb <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , TiO <sub>2</sub>	2009
Kathiresan et al.	<i>Penicillium fellutanum</i>	Ag	2009

### 2.1.3 细菌的使用

早期的研究发现, 枯草芽孢杆菌 168 在常温常压下培养, 能将 AuCl<sub>4</sub><sup>-</sup> 中的 Au<sup>3+</sup> 还原而产生纳米级(5~25 nm)的八面体金晶, 其中有机磷酸盐可能是细菌-金的络合剂, 对细菌体外形形成八面体金晶起了一定的促进作用。Fe<sup>3+</sup> 还原菌——海藻希瓦菌(*Shewanella Algae*)在厌氧环境中能还原 Au<sup>3+</sup>, 且在海藻希瓦菌和氢气并存的情况下, Au<sup>3+</sup> 能被完全还原并形成 10~20 nm 的金纳米晶<sup>[8]</sup>。

众所周知, Ag 对大多数微生物细胞有很强的毒害作

用, 然而有几种细菌菌株不但对银有抗性, 甚至能在细胞壁上积聚银, 利用这一特性可以在矿石生产中回收 Ag。Klaus 等<sup>[24]</sup>在较高 Ag<sup>+</sup> 浓度下(0.05 mol/L)培养斯氏假单胞菌(*P. stutzeri* AG259)细胞 48 h, 发现菌体细胞在周质空间内积累了大量的银, 粒度从几纳米到几百纳米。银纳米晶形成的主要原因是该菌种对 Ag<sup>+</sup> 的抵御能力, 以往的关于 *P. stutzeri* AG259 的研究表明, 该菌种对 Ag<sup>+</sup> 的抵御能力主要是通过累积单质银, 降低 Ag<sup>+</sup> 的浓度实现的, 所沉积的银颗粒粒度很小, 只有 35~46 nm<sup>[25]</sup>。Klaus<sup>[24]</sup>等还

认为所得的银纳米颗粒粒度的不同,可能是由于菌体细胞培养和生物还原条件的差异所造成的。Roh 等<sup>[25]</sup>利用趋磁性细菌如磁螺菌制备了磁性  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米晶。同样,在外源电子供体存在下,硫酸盐还原菌——脱硫弧菌(NCIMB 8307)已经被证明可以合成纳米钯<sup>[26]</sup>。Nair 和 Pradeep<sup>[27]</sup>在从牛奶中分离出来的普通乳酸菌菌株的辅助下,制备了粒度在微米尺寸的 Au, Ag 和不同类型的 Au - Ag 合金,他们认为乳酸菌上的蛋白质与银纳米晶结合形成银颗粒,银颗粒不断增长以降低银纳米颗粒的比表面积,从而降低  $\text{Ag}^+$  和银纳米晶对乳酸杆菌的毒害,才能使乳酸杆菌源源不断地生产银纳米晶。

最近, Husseiny 等<sup>[28]</sup>发现可以用绿脓杆菌细胞上清液作为还原剂,在细胞外合成 Au 纳米晶,这将有助于理解纳米材料合成的生物化学和分子机理。该细胞滤液有助于实现对纳米晶尺寸和分散度的更好的控制。此外,该实验结果也表明,使用细胞滤液在细胞外更有利于纳米晶的合成<sup>[28]</sup>。Lengke 等<sup>[29]</sup>利用鲍氏织线藻还原制备银纳米晶,认为  $\text{AgNO}_3$  最终将杀死菌体细胞,在细菌细胞死亡过程中,  $\text{Ag}^+$  被代谢产物还原为单质 Ag, Ag 纳米晶通过细胞膜进入溶液中,甚至已经死亡的菌体细胞亦能释放出一些有机物质将  $\text{Ag}^+$  还原。Shahverdi 等<sup>[30]</sup>通过对比实验证明了多种细菌释放出的物质均对  $\text{Ag}^+$  起还原作用,认为含硝基的还原酶可能参与了  $\text{Ag}^+$  的还原。

与  $\text{Ag}^+$  所不同的是,  $\text{AuCl}_4^-$  对细菌的毒害作用较低,从而可以用于细菌还原制备金纳米晶。一些细菌能够直接还原  $\text{AuCl}_4^-$  获得金纳米晶,例如 Nair 等<sup>[30]</sup>利用乳酸杆菌还原  $\text{HAuCl}_4$  制备的金纳米晶,成为活细菌还原制备金纳米颗粒较早的一个典范,他认为细胞壁上的糖和酶可能为还原  $\text{AuCl}_4^-$  的物质,菌体细胞外绝大多数为粒度较小的金纳米颗粒,比较稳定,而菌体细胞内的金纳米晶易于粗化成粒度较大的金颗粒。Ahmad 等<sup>[31]</sup>利用红球菌(Rhodococcus Sp.)在细胞内制备了粒度为 5 ~ 15 nm 的金纳米晶,利用 TEM 观察菌体的微切片发现,细胞质膜和细胞壁上分布着大量高分散度的金颗粒,且金纳米晶更多地分布在细胞质膜上。细胞膜和细胞壁上的酶对  $\text{AuCl}_4^-$  起还原作用,还原后的菌体细胞能够进一步繁殖,证明  $\text{AuCl}_4^-$  对该菌体细胞的毒害程度较低。He 等<sup>[32]</sup>利用荚膜红细菌(R. capsulata)的代谢产物制备金纳米带,制得的金纳米带较为卷曲,且其直径和长度分布较宽,此方法为纳米带由实验室走向大规模工业生产提供了一条可行的新途径,对制备高性能金纳米器件并探索其在光电、光催化、传感器、水处理等几个方面的应用具有重大意义。

除了合成金和银的纳米晶之外,开发合成半导体材

料(所谓的量子点, Quantum Dots)也引起了很大的关注。如 CdS, ZnS 和 PbS 等。这些发光的量子点正作为生物检测和细胞成像的新材料出现,并建立在半导体量子点和生物识别分子连接的基础上。在含有  $\text{CdCl}_2$  和半胱氨酸盐的生长培养基中,耐热醋酸梭状芽孢杆菌(Clostridium Thermoaceticum)在其表面生成 CdS 沉淀,半胱氨酸盐极可能充当硫源。产气克雷伯氏菌(Klebsiella aerogenes)在含  $\text{Cd}^{2+}$  的培养基表面形成 20 ~ 200 nm 的 CdS, 该 CdS 可通过定量能量分散型 X 射线分析得到证实。生长培养基中的缓冲组成部分对形成 CdS 晶体发挥了重要的作用。将大肠杆菌接种在含  $\text{CdCl}_2$  和  $\text{Na}_2\text{S}$  的培养基中可形成胞内 CdS 纳米晶体<sup>[8]</sup>。在细胞生长的不同阶段纳米晶体的形成有显著不同,大肠杆菌在稳定期产生的晶体比在对数生长期的末期产生的晶体增加 20 倍。Labrenz 等<sup>[8]</sup>研究得到了直径为 2 ~ 5 nm 的 ZnS 球状聚集体,这些纳米晶是在降硫细菌属的还原硫细菌的天然生物膜内形成的。总之,近几年越来越多的细菌在纳米晶合成中得到应用,见表 3<sup>[23]</sup>。

#### 2.1.4 放线菌的使用

Sastry 等<sup>[33]</sup>发现当极端放线菌——高温单孢菌和金离子接触时,会还原金离子生成 Au 纳米晶。为了进一步研究其机理,又利用极性放线菌——高温单孢菌的生物物质还原  $[\text{AuCl}_4]^-$  生成了单分散的 Au 纳米晶,结果表明, Au 纳米晶的生成和稳定归功于放线菌所分泌的生物酶。Ahmad 等<sup>[9]</sup>将其与镰霉菌(Oxysporum)合成的多分散 Au 纳米晶相比较得出,由于碱性和较高温度等极端条件的存在,促使了单分散金纳米晶的生成。

#### 2.2 植物活株及其提取物的应用

植物活株及其提取物也能制备纳米晶。和微生物类相比较,植物不用花费大量的时间来培养细菌、酵母菌等微生物并保持其生理活性,制备纳米晶更为简单易行,且具有原料来源广泛、反应条件温和、纳米晶稳定性高的特点,尤其是在海南,因地理位置得天独厚,使活株植物常年不断。在植物还原金属离子制备纳米晶的过程中起关键作用的是其中的多糖、氨基酸和多肽等物质,这些物质的浓度、酸碱度等都会影响到纳米晶的性质。

Gardea-Torresdey 等<sup>[34]</sup>利用紫花苜蓿草生物质制备了金纳米晶,观察并统计了所得金纳米晶的形貌和粒度分布,这是用植物还原法制备纳米晶的首次报道。之后, Gardea-Torresdey 等<sup>[35]</sup>又研究发现活的紫花苜蓿内也能生成具有面心立方结构的金纳米颗粒,用 X 射线近边结构光谱(XANES)、扩展 X 射线吸收精细结构光谱(EXAFS)等分析方法研究了紫花苜蓿从土壤中吸附

$\text{KAuCl}_4$  或  $\text{AgNO}_3$  以及生成金纳米晶或银纳米晶的过程, 该研究对于利用植物解决土壤重金属污染具有重要意义。马尾草类海藻的提取液作还原剂兼软模板, 可诱导合成棱形 Au 纳米晶。芦荟的提取物做还原剂, 可制备 Au, Ag 纳米颗粒。Shankar 等用柠檬草提取液与  $\text{AuCl}_4^-$

反应制备了三角状金纳米晶, 通过简单地改变反应介质柠檬草提取液的浓度可调控三角状金纳米晶的尺寸, 后来又研究了温度、卤离子浓度的加入对金纳米晶形貌尺寸的影响<sup>[36]</sup>。因而, 对于三角球金纳米颗粒的制备, 相对于化学方法来说, 植物合成法具有较强的竞争优势。

表3 细菌在纳米晶合成中的应用

Table 3 The applied of nano-crystal synthesized by bacterium

Researchers	Strains	Nano-crystal	Years
Rajwade et al.	<i>P. mendocina</i> MCM B - 180	Te	2003
Sweeney et al.	<i>E. coli</i> ABLEC. STEM	CdS	2004
Yeary et al.	<i>T. ethanolicus</i> TOP - 39	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	2005
Windt et al.	<i>S. oneidensis</i> MR - 1	Pd	2005 ~ 2006
Creamer et al.	<i>D. desulfuricans</i> ATCC29577	Au, Pd	2006
Gericke et al.	<i>B. subtilis</i> DSM 10 et al	Au	2006
Lengke et al.	Sulfate-reducing bacteria	Au	2006
Macaskie et al.	<i>K. pneumoniae</i> M426	Au, Pd, Ag	2006
Pollmann et al.	<i>B. sphaericus</i> JG - A12	Pd	2006
Konishi et al.	<i>S. algae</i> ATCC	Au, Pt	2006 ~ 2007
Lengke et al.	<i>P. boryanum</i> UTEX458	Au, Ag	2006 ~ 2007
Humphries et al.	<i>D. vulgaris</i> NCIMB	Pd	2007
Du et al.	<i>E. coli</i> DH5a	Au	2007
Shahverdi et al.	<i>K. pneumoniae</i> et al	Au	2007
Husseiny et al.	<i>P. aeruginosa</i>	Au	2007
Prasad et al.	<i>Lactobacillus</i>	Ti	2007
Jha et al.	<i>Lactobacillus</i>	Cd	2007
He et al.	<i>R. capsulata</i>	Au	2007 ~ 2008
Singh et al.	<i>Actinobacter</i> sp.	Si/SiO <sub>2</sub>	2008
Bharde et al.	<i>Actinobacter</i> sp.	Au, Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , Fe <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	2008
Parikh et al.	<i>Morganella</i> sp.	Au	2008
Kang et al.	GE-E coli.	CdS	2008

Armendariz 等(2004年)报道了  $\text{AuCl}_4^-$  与 pH 依赖型燕麦生物质结合, 通过取代反应生成可控大小的金纳米颗粒。研究表明, 在中性 pH 值条件下生成杆状金属纳米晶, 在 pH 为 2 时生成小批量较大颗粒的金属纳米晶(25 ~ 85 nm), 大批量较小颗粒的金属纳米晶(5 ~ 20 nm)需在 pH 为 3 或 4 时才能形成。同时, 极性氨基和巯基基团在低 pH 值条件下, 能使  $\text{AuCl}_4^-$  成键, 把  $\text{Au}^{3+}$  还原为  $\text{Au}^{[37]}$ 。因此, 通过改变反应条件中的 pH 值可控制纳米晶的大小。

类似真菌, 在植物细胞外也可以制备纳米晶。Shankar 等<sup>[38]</sup>用老鹳草(香叶天竺葵)叶提取液还原银离子合成银纳米晶, 这些 Ag 纳米晶具有高度稳定性并在溶液中结晶。除了纯 Au 和纯 Ag 外, 复合银/金纳米材料(50 ~ 100 nm)都可以在印楝叶液植物细胞外合成<sup>[39]</sup>。在溶液中  $\text{Au}^{3+}$  和  $\text{Ag}^+$  离子同时暴露在印楝叶液中时, 可以合成复合金核银壳纳米颗粒(如图 1)。研究发现, 金属离子在印楝叶提取物中的还原速度远远比在

微生物中快, 所以相对于真菌中的高分子蛋白质, 叶液中黄酮和萜类成分也是表面活性分子, 能使形成的纳米颗粒稳定存在。

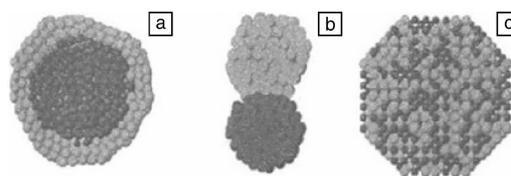


图1 三种不同结构的纳米颗粒

Fig. 1 Three different structures of nanotechnology particles: (a) core-shell structure, (b) Heterostructure, and (c) alloy structure

随着余甘果巴戟提取物作为还原剂的广泛使用, 现在已经能在植物细胞外合成高稳定性的 Au, Ag 纳米晶<sup>[40]</sup>。Ankamwar 等<sup>[41]</sup>用罗望子叶提取物作为还原剂快速合成高浓度的稳定金纳米晶。值得一提的是, Chandran 等<sup>[42]</sup>将  $\text{Au}^{3+}$  水溶液和植物提取物混合, 通过改变反

应媒介中提取物的用量, 调节合成的三角形金纳米晶和球形金纳米颗粒的百分比, 控制三角形金纳米晶的大小为 50 ~ 350 nm, 进而有效控制纳米晶溶液的光学性能, 溶液为棕红色。用芦荟提取物催化 AgNO<sub>3</sub> 水溶液合成球形银纳米晶, 合成液变为淡黄色, 这种棕红色和淡黄色的显色变化分别表明了金、银纳米晶的形成<sup>[37]</sup>。最近, 在国际“纳米晶生产潜力的植物”列表中, 新增了樟树叶提取物, Huang 等<sup>[43]</sup>认为其非常有利于单分散纳米金和纳米银的合成。

虽然目前利用植物及其提取液来制备金属纳米晶的研究已经获得了一定的成果, 但是迄今为止, 仍然缺乏系统的且具有导向的研究, 需要加大研究力度。

### 3 总结和展望

利用各种微生物、菌类、植物及其提取物等可控制性制备纳米晶的方法已经成熟, 随着近年来高、精、尖材料的迫切需要, 继纳米级测试手段的出现, 如扫描隧道显微镜(Scanning Tunneling Microscope, 简称 STM)和原子力显微镜(Atomic Force Microscope, 简称 AFM), 生物合成制备出的纳米晶以及长程有序组装膜的使用将会帮助我们揭示生命过程中更准确更微小生命单元中的微小变化, 纳米生物器件将会凭借其独特的优异性能越来越多地取代普通的生物器件, 未来纳米晶的合成将会向低成本、低消耗、低污染的方向发展。

微生物、植物等生物体具有合成纳米晶的巨大潜力。在合成过程中, 通过使用从简单的细菌到高度复杂的真核微生物, 再到植物等宏观的有机体, 得到可以控制的形貌、单分散不同大小的具有生物大分子保护的纳米晶。虽然纳米生物合成技术已经成熟, 但按照“绿色化学”的标准, 还需要更简便更环保的操作方法, 这将引起人们越来越广泛的关注。在已经获得的研究成果中, 有些成果表明生物机体不同种类的还原酶可能参与到纳米晶的生产合成中, 且赋予它们不同的形状和大小。然而, 要阐明运用生物体制备纳米晶的确切机理, 还需要展开更多的研究。

#### 参考文献 References

- [1] Krolikowska A, Kudelski A, Michota A, *et al.* SERS Studies on the Structure of Thioglycolic Acid Monolayers on Silver and Gold [J]. *Surf Sci*, 2003, 532: 227 - 232.
- [2] Bhattacharya D, Rajinder G. Nanotechnology and Potential of Microorganisms[J]. *Crit Rev Biotechnol*, 2005, 25: 199 - 204.
- [3] Mann S. *Biomimetic Materials Chemistry*[M]. New York: VCH Published, 1996.
- [4] Senapati S, Mandal D, Ahmad A, *et al.* Fungusmediated Syn-

- thesis of Silver Nano-Crystal: a Novel Biological Approach [J]. *Indian J Phys*, 2004, 78A: 101 - 105.
- [5] Gericke M, Pinches A. Biological Synthesis of Metal Nano-Crystal [J]. *Hydrometallurgy*, 2006, 83: 132 - 140.
- [6] Gericke M, Pinches A. Microbial Production of Gold Nano-Crystal [J]. *Gold Bull*, 2006, 39: 22 - 28.
- [7] Mukherjee P, Ahmad A, Mandal D, *et al.* Fungus-Mediated Synthesis of Silver Nano-Crystal and Their Immobilization in the Mycelial Matrix: a Novel Biological Approach to Nanoparticle Synthesis [J]. *Nano Lett*, 2001(1): 515 - 519.
- [8] Shu Guowei(舒国伟), Chen He(陈合), Lü Jiali(吕嘉莉). *Microbial Synthesis of Nanocrystalline Metal Progress*(微生物合成金属纳米晶研究进展)[C]//*The Sixth China Functional Materials and Applications Conference Theses*(第六届中国功能材料及其应用学术会议论文集). Wuhan: The Sixth China Functional Materials and Applications Conference, 2007.
- [9] Ahmad A, Senapati S, Khan M I, *et al.* Intracellular Synthesis of Gold Nano-Crystal by a Novel Alkalotolerant Actinomycete, *Rhodococcus* Species [J]. *Nanotechnology*, 2003, 14: 824 - 828.
- [10] Vigneshwaran N, Ashtaputre N M, Varadarajan P V, *et al.* Biological Synthesis of Silver Nano-Crystal Using the Fungus *Aspergillus Flavus* [J]. *Mat Lett*, 2007, 61: 1 413 - 1 418.
- [11] Kumar C V, McLendon G L. Nanoencapsulation of Cytochrome c and Horseradish Peroxidase at the Galleries of A-Zirconium Phosphate [J]. *Chem Mater*, 1997(9): 863 - 870.
- [12] Shankar S S, Ahmad A, Pasricha R, *et al.* Biore-Duction of Chloroaurate Ions by Geranium Leaves and Its Endophytic Fungus Yields Gold Nano-Crystal of Different Shapes [J]. *J Mater Chem*, 2003, 13: 1 822 - 1 826.
- [13] Bansal V, Rautaray D, Ahmad A, *et al.* Biosyn-thesis of Zirconia Nano-Crystal Using the Fungus *Fusarium Oxysporum* [J]. *J Materials Chem*, 2004, 14: 3 303 - 3 305.
- [14] Bansal V, Rautaray D, Bharde A, *et al.* Fungus-Mediated Biosynthesis of Silica and Titanium Particles [J]. *J Mater Chem*, 2005, 15: 2 583 - 2 589.
- [15] Ahmad A, Senapati S, Khan M I, *et al.* Extra-/Intracellular, Biosynthesis of Gold Nano-Crystal by an Alkalotolerant Fungus, *Trichothecium Sp* [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2005(1): 47 - 53.
- [16] Bharde A, Rautaray D, Bansal V, *et al.* Extracellular Biosynthesis of Magnetite Using Fungi [J]. *Small*, 2006(2): 135 - 141.
- [17] Bhainsa K C, D'Souza S F. Extracellular Biosynthesis of Silver Nano-Crystal Using the Fungus *Aspergillus Fumiga-Tus* [J]. *Colloids Surf B: Biointerf*, 2006, 47: 160 - 164.
- [18] Bansal V, Poddar P, Ahmad A, *et al.* Room-Temperature Biosynthesis of Ferroelectric Barium Titanate Nano-Crystal [J]. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 11 958 - 11 963.

- [19] Kumar S A, Ayoobul A A, Absar A. Extra-Cellular Biosynthesis of CdSe Quantum Dots by the Fungus, *Fusarium Oxysporum* [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2007(3): 190 – 194.
- [20] Williams P, Keshavarz Moore E, Dunnyl P. Production of Cadmium Sulphide Microcrystallites in Batchcultivation by *Saccharomyces Pombe*[J]. *J Biotechnol*, 1996, 48: 259 – 267.
- [21] Kowshik M, Ashtaputre S, Kharrazi S. Extracellular Synthesis of Silver Nano-Crystal by a Silver-Tolerant Yeast Strain MKY3 [J]. *Nanotechnology*, 2003, 14: 95 – 100.
- [22] Gericke M, Pinches A. Biological Synthesis of Metal Nano-Crystal[J]. *Hydrometallurgy*, 2006, 83: 132 – 140.
- [23] Huang Jiale(黄加乐). *The Primary Exploration of Silver and Gold Nano-Materials that the Material Preparation and Application to Plants Biomass(银纳米材料和金纳米材料的植物生物质还原制备及应用初探)*[D]. Xiamen: Xiamen University, 2009.
- [24] Klaus T, Joerger Ra, Olsson E, *et al.* Silver Based Crystalline Nano-Crystal, Microbially Fabricated [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 13 611 – 13 614.
- [25] Roh Y, Lauf R J, McMillan A D, *et al.* Microbial Synthesis and the Characterization of Metal-Substituted Magnetites [J]. *Solid State Commun*, 2001, 118: 529 – 534.
- [26] Yong P, Rowsen N A, Farr J P G, *et al.* Bioreduction and Biocrystallization of Palladium by *Desulfovibrio Desulfuricans* NCIMB 8307[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2002, 80: 369 – 379.
- [27] Nair B, Pradeep T. Coalescence of Nanoclusters and Formation of Submicron Crystallites Assisted by *Lactoba-Cillus* Strains[J]. *Crystal Growth Design*, 2002, 4: 295 – 298.
- [28] Husseiny M I, ELAziz M A, Badr Y, *et al.* Biosynthesis of Gold Nano-Crystal Using *Pseudomonas Aeruginosa*[J]. *Spectrochim Acta A: Mol Biomol Spectrosc*, 2007, 67: 1 003 – 1 006.
- [29] Lengke M F, Fleet M E, Southam G. Biosynthesis of Silver Nano-Crystal by Filamentous Cyanobacteria from Silver (I) Nitrate Complexes[J]. *Langmuir*, 2007, 23: 2 694 – 2 699.
- [30] Shahverdi A R, Minaeian S, Shahverdi H R, *et al.* Rapid Synthesis of Silver Nano-Crystal Using Culture Supematants of Enterobacteria: a Novel Biological Approach[J]. *Process Biochem*, 2007, 42: 919 – 923.
- [31] Ahmad A, Mukherjee P, Senapati S, *et al.* Extracellular Biosynthesis of Silver Nano-Crystal Using the Fungus *Fusarium Oxysporum*[J]. *Colloids Surf B Biointerf*, 2003, 28: 313 – 318.
- [32] He S, Zhang Y, Guo Z, *et al.* Biological Synthesis of Gold Nanowires Using Extract of *Rhodospseudomonas Capsulata* [J]. *Biotechnol Prog*, 2008, 24: 476 – 479.
- [33] Sastry M, Ahmad A, Khan M I, *et al.* Biosynthesis of Metal Nano-Crystal Using Fungi and Actinomycete [J]. *Curr Sci*, 2003, 85: 162 – 170.
- [34] Gardea Torresdey J L, Tiemann K J, Parsons J G, *et al.* Gold Nano-Crystal Obtained by Bio-Precipitation from Gold(III) Solutions[J]. *J Nanopart Res*, 1999(1): 397 – 404.
- [35] Gardea Torresdey J L, Gomez E, Peralta Videa J R, *et al.* Alfalfa Sprouts: A Natural Source for the Synthesis of Silver Nano-Crystal[J]. *Langmuir*, 2003, 19: 1 357 – 1 361.
- [36] Shankar S S, Rai A, Ahmad A, *et al.* Controlling the Optical Properties of Lemongrass Extract Synthesized Gold Nanotriangles and Potential Application in Infrared-Absorbing Optical Coatings [J], *Chem Mater*, 2005, 17: 566 – 572.
- [37] Prashant Mohanpuria, A E Nisha K, Rana A E Sudesh, *et al.* Biosynthesis of Nano-Crystal: Technological Concepts and Future Applications[J]. *J Nanopart Res*, 2008, 10: 507 – 517.
- [38] Shankar S S, Absar A, Murali S. Geranium Leaf Assisted Biosynthesis of Silver Nano-Crystal [J]. *Biotechnol Prog*, 2003, 19: 1 627 – 1 630.
- [39] Shankar S S, Rai A, Ahmad A, *et al.* Rapidsynthesis of Au, Ag, and Bimetallic Au Core – Ag Shell Nano-Crystal Using Neem (*Azadirachta Indica*), Leaf Broth [J]. *J Colloid Interf Sci*, 2004, 275: 496 – 502.
- [40] Ankamwar B, Damle C, Absar A, *et al.* Biosynthesis of Gold and Silver Nano-Crystal Using *Emblica Officinalis* Fruit Extract, Their Phase Transfer and Trans-Metallation in an Organic Solution [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2005(10): 1 665 – 1 671.
- [41] Ankamwar B, Chaudhary M, Murali S. Gold Nanotri-Angles Biologically Synthesized Using Tamarind Leaf Extract and Potential Application in Vapor Sensing[J]. *Synth React Inorg Metal-Org Nanometal Chem*, 2005, 35: 19 – 26.
- [42] Chandran S P, Chaudhary M, Pasricha R, *et al.* Synthesis of Gold Nanotriangles and Silver Nano-Particles Using Aloe Vera Plant Extract[J]. *Biotechnol Prog*, 2006, 22: 577 – 583.
- [43] Huang J, Li Q, Sun D, *et al.* Biosynthesis of Silver and Gold Nano-Crystal by Novel Sundried Cinna-Momum Camphora Leaf [J]. *Nanotechnology*, 2007, 18: 105 104 – 105 114.