

文章编号:1007-2985(2012)03-0071-05

生物法合成纳米金的研究进展*

石杰,范淑敏,吴静,康小慧,尹瑜静,王瑞勇

(郑州大学化学系,河南 郑州 450001)

摘要:纳米金以它独特的光学、电学和催化性质受到人们越来越多的关注。目前,生物合成的纳米金具有经济、无毒、环境友好等特点而成为研究热点,综述了利用细菌、真菌、放线菌、酵母菌以及各种植物材料合成纳米金的方法,并将各种方法进行了比较,讨论了每种方法的特点、尺寸和形貌的控制以及合成机理。最后,展望了生物合成纳米金的应用以及未来的发展方向。

关键词:生物合成;纳米金;研究进展

中图分类号:Q503;TN304.180

文献标志码:A

DOI:10.3969/j.issn.1007-2985.2012.03.017

纳米金是直径为1~100 nm的缔合胶体,不仅具备纳米微粒的通性,如表面效应、量子效应、小尺寸效应以及宏观量子隧道效应等^[1],还具有自己独特的物理、化学性能,在纳米器件、生物医学、信息技术、肿瘤治疗、细胞成像和药物载体等领域应用广泛。

传统的制备纳米金的方法主要是物理和化学方法,物理方法是指通过各种分散技术把金直接转变为纳米粒子,化学方法是指由金的化合物通过还原反应得到纳米粒子。物理和化学方法需要严格的条件,耗能高,使用的试剂昂贵,还污染环境^[2]。随着绿色化学概念的普及,纳米金的合成也向无毒、环境友好的方向发展,纳米金的绿色合成采用微生物和植物等生物材料进行合成,和传统的物理和化学合成方法相比,生物合成方法清洁、无毒、环境友好、可持续发展,并且反应条件温和可控,产量高,成为纳米金合成领域的研究热点。表1总结了近年来生物合成纳米金的研究进展。2种方法各有优势:微生物廉价、易培养、繁殖快,合成的纳米金尺寸和形貌可控,具有很好的生物相容性,适合大规模生产,产量高;植物反应速度快,操作简便,不需要细胞培养的过程,原料来源广,价格低,适合大规模生产。

表1 合成纳米金的微生物及植物类群

	生物物种	尺寸/nm	合成方式	文献
细菌	绿脓杆菌	15~30 nm	细胞外合成	Husseiny et al. 2007
	红假单胞菌	10~20	细胞外合成	Shiyong He et al. 2007
	乳酪短杆菌	10~50	细胞内合成	Kalimuthu Kalishwaralal et al. 2010
	沙雷菌	2~50	细胞内合成	Anil K. Suresh et al. 2011
真菌	丝状真菌	5~25	细胞外合成	Anuj Narayan Mishra et al. 2010
	轮枝菌	12~28	细胞内合	Priyabrata Mukherjee et al. 2001
	尖孢镰刀菌	20~40	细胞外合成	Priyabrata Mukherjee et al. 2002
	炭疽菌	20~40	细胞外合成	Shankar et al. 2003
	单端孢霉属真菌	10~50	细胞外/内合成	Ahmad A et al. 2005
	轮枝孢菌真菌	100	细胞内合成	Gericke and Pinches 2006
	青霉菌	45~50	细胞外/内合成	Liangwei Du et al. 2011
放线菌	红球菌	5~15	细胞内合成	Ahmad et al. 2003
	高温单胞菌	8	细胞外合成	Ahmad et al. 2003
	高温单胞菌	—	细胞外合成	Sastry et al. 2003

* 收稿日期:2012-02-16

作者简介:石杰(1950-),男,河南商丘人,郑州大学化学系教授,博士,主要从事分析化学研究

通讯作者:范淑敏(1988-),女,湖南新乡人,郑州大学化学系硕士研究生,主要从事生物化学研究。

续表

	生物物种	尺寸/nm	合成方式	文献
酵母菌	杰丁汉逊酵母	100	细胞内合成	Gericke and Pinches 2006
	解脂耶氏酵母 NCIM 3589	7.5~23	细胞内合成	P. S. Pimprikar et al. 2009
植物	苜蓿	2~20	细胞内合成	J. L. Gardea-Torresday et al. 2002
	天竺葵叶子	20~40	细胞外合成	S. S. Shankar et al. 2003
	印度楝叶子	50~70	细胞外合成	S. Shiv Shankar et al. 2004
	芦荟	11~20	细胞外合成	S. Prathap Chandran et al. 2006
	香樟叶子	55~80	细胞外合成	Jiale Huang et al. 2007
	海藻	8~12	细胞外合成	G. Singaravelu et al. 2007
	胡荽叶子	6~60	细胞外合成	Narayanan KB et al. 2008
	日本辛夷和柿子叶子	5~300	细胞外合成	Jae Yong Song et al. 2009
	橄榄叶	50~100	细胞外合成	Mostafa M. H. Khalil et al. 2010
	芒果叶子	17~20	细胞外合成	Daizy Philip 2010
	艾菊果实	16	细胞外合成	Shashi Prabha Dubeya et al. 2010
	梨	12~20	细胞外合成	G. S. Ghodake et al. 2010
	香蕉皮	300	细胞外合成	Ashok Bankar et al. 2010
	玫瑰花瓣	10	细胞外合成	Masumeh Noruzia et al. 2011

1 微生物合成方法

微生物具有极强的生命力和适应性,代谢类型多,在自然界分布广,早在 1989 年就开始应用于生物法合成纳米材料的研究。目前,用来合成纳米金的微生物主要有细菌,真菌,放线菌和酵母菌等。

微生物合成方法可分为细胞内和细胞外合成。细胞内合成的纳米金主要存在于细胞壁和细胞内,需要声波降解,或和细胞溶解剂反应才能得到纳米粒子,可以进行细胞内合成纳米金的微生物有短杆菌^[3]、沙雷菌^[4]等。和细胞内合成方法相比,细胞外合成不需要复杂的处理过程,因而更加实用,可以进行细胞外合成纳米金的微生物有绿脓杆菌^[5],荚膜红假单胞菌^[6]等。

当微生物和金的化合物共同孵育时,微生物的防卫机能将试图减少或消除离子的干扰,从而改变了金的氧化还原状态,实现了纳米金的合成。在细胞外合成纳米金,微生物分泌的生物活性物质包括蛋白质、还原糖、还原性谷胱甘肽等对离子进行富集、还原,组装成典型的纳米结构粒子,生物活性物质对纳米金的稳定也起着重要作用。细胞内合成纳米金是非常复杂的生物化学过程。

与物理化学合成方法相比,微生物合成纳米金的形貌和尺寸同样可以通过控制温度、离子强度、溶液 pH、基质浓度以及孵育时间等来调控^[12]。并且微生物具有廉价、易培养、繁殖快等优点,适合大规模纳米金的合成。

1.1 细菌

细菌合成纳米金的研究较早,反应条件温和,产量高,纳米材料易纯化,因而细菌被称为“纳米材料加工厂”。

当活细菌与含金的离子共同孵育时,菌体吸收或吸附离子,利用生物活性分子自组装成金纳米粒子。Kalishwaralal 等用乳酸短杆菌合成出 10~50 nm 的金粒子,并证实合成的纳米金具有抗凝聚性,能够抑制血块的形成,有望应用于临床治疗^[3]。Suresh 等用沙雷菌还原氯金酸盐制备单分散的球形纳米金,粒径分布范围在 2~50 nm,合成的纳米金具有亲水性,并且几个月都不发生凝聚,为了研究沙雷菌的合成机理,该实验小组把细菌破坏,分成膜部分和溶剂部分,分别与氯金酸盐反应,最终在膜的部分得到了纳米金,表明细菌细胞膜上的蛋白质发挥了合成纳米金的作用,纳米金表面包裹着蛋白质和缩氨酸,这层外壳很容易除去,从而可以应用到其它方面^[4]。Nangia 等用单胞菌合成出分散良好的纳米金,并推测是 NADPH 依靠的还原酶通过电子转移将 Au^{3+} 转变成 Au^0 ,为了证实该推测,该小组将细菌和不同浓度的 NADPH 分别和氯金酸共同孵育,得到了不同颜色的纳米金,从而证实了该推测^[7]。

1.2 真菌

印度普纳国家化学实验室最早研究了真核生物在纳米材料合成中的应用,发现 2 种真菌能够合成纳米粒子-轮枝菌属和镰刀菌属^[8]。和细菌相比,真菌合成纳米金有更高的产量并且能够分泌更多的蛋白质,更适合用来合成纳米金。

Mishra 等用丝状真菌瑞氏木霉细胞外合成稳定的纳米金,平均直径为 5~25 nm^[8]。Liangwei Du 等用青霉菌的细胞滤液和 $AuCl_4^-$ 反应,在 1min 内进行细胞外合成,合成出平均粒径为 45 nm 的球形纳米金。又用含有 $AuCl_4^-$ 的溶液来孵育青霉菌 8h,合成的纳米金很好的分散在细胞壁和细胞内,平均粒径为 50 nm。这是目前报道中最快的微生物合成纳米金的方

法,并且使用同一种真菌进行细胞内和细胞外合成,准确的机理尚不清楚,推测原因可能是在细胞外合成中,由真菌释放到溶液中的特殊的酶或媒介物发挥了作用,而在细胞内合成中,是细胞内的某种酶发挥了作用^[9]。真菌的生长条件能够影响纳米粒子的合成,当单端孢霉属真菌和金离子在稳定的条件下孵育时,能够细胞外合成纳米金,而在震动的条件下,则发生细胞内合成。可能是对合成纳米金起作用的酶或蛋白质产生了作用,在稳定条件下,这些酶和蛋白质由真菌分泌到基质当中,因此纳米粒子出现在细胞外,而在震动的情况下,真菌不分泌这些物质,不能进行细胞外合成^[11]。

真菌合成纳米金的过程非常复杂,真菌释放出来的还原糖、蛋白质或酶在还原 AuCl_4^- 的过程中发挥了重要作用,不同真菌利用的还原物质不同。青霉菌主要利用细胞还原糖为活性物质细胞内合成纳米金,镰刀菌利用细胞蛋白质为活性组分细胞内合成组装纳米金,溶液同时存在 AuCl_4^- 及 Ag^+ 时,枯萎病菌分泌以 NADH 为辅酶的蛋白酶还原 AuCl_4^- 及 Ag^+ ,并细胞外组装 Au-Ag 复合纳米颗粒^[11]。酶上含有氨基,巯基和羧基, AuCl_4^- 依靠这些官能团和酶结合。研究表明,真菌分泌的 NADH 和 NADH 依赖的酶可能起到把 Au^{3+} 转化为 Au^0 并形成纳米粒子的作用^[12-13]。

1.3 放线菌

目前,放线菌中只有红球菌和高温单孢菌用于纳米金的合成。在碱性、高温的极端条件下,高温单孢菌与氯金酸溶液孵育后可以合成出单分散的纳米金,金离子的还原及稳定可能依靠某种酶发挥作用^[14]。同样,在极端条件下红球菌也可以合成出单分散性良好的纳米金,并且主要集中在细胞膜和细胞壁上,这可能是由于起还原作用的酶主要存在于细胞膜和细胞壁上。

1.4 酵母菌

酵母菌主要用来合成量子点纳米材料,但也有少数文献报道了纳米金的合成,Pimprikar 等利用热带海洋酵母菌合成出纳米金,并通过改变细胞数目和金盐的浓度来实现纳米金形貌和尺寸的控制,合成的纳米金主要存在细胞壁上,通过低温孵育的方式可以将纳米金释放到水相中,红外光谱分析显示细胞表面的羧基、羟基和酰胺基可能在纳米金的形成中起到关键作用^[15]。

2 植物合成方法

植物合成技术是近几年来新发展起来的纳米合成技术,和微生物合成相同,它也可以分为细胞内和细胞外合成。Gardea-Torresday 等研究发现 Au^{3+} 在琼脂中还原为 Au^0 ,然后能被苜蓿的根吸收,并转移到其它部位,成核最后形成金纳米粒子^[16]。应用比较广泛的是细胞外合成方法,一般采用植物的叶子、花瓣、果实等的提取物作为还原剂来进行纳米金的合成。

植物合成纳米金的方法和微生物合成相比优点在于不需要花费大量时间来培养微生物,并且反应速率快,可以和化学合成方法相媲美,甚至比化学合成方法更快。该方法无污染,原料来源广,价格低,并且产量大,更适合大规模的生产。

2.1 植物叶子、花瓣

目前,采用植物的叶子、花瓣来合成纳米金的研究比较广泛。主要是依靠其中含有的能产生还原作用的物质,通过调节反应的 pH、温度以及提取物的浓度可以控制合成的粒径大小,纳米金上包裹的生物分子起到稳定的作用,并且使纳米金具有很好的生物相容性,有望应用于医药,化妆,食品和生活消费等各个方面。

Song 等人采用日本辛夷和柿子的叶子成功合成了形状可控的纳米金,反应温度为 95°C 时,几分钟就使 90% 以上的金离子转化为球形的纳米粒子,而在低温、低的叶子提取物浓度时,合成出混合形状的纳米粒子,包含三角形、五角形、六角形和球形。红外光谱显示合成的纳米金被蛋白质和一些萜类化合物包裹着,含有胺类,醇类,酮类,醛类和羧酸类等官能团^[17]。Khalil 等采用橄榄叶子在室温下 20 分钟合成了不同形状的纳米金,在较高 pH 和较低提取物浓度条件下,形成混合形状(三角形,六角形和球形)的纳米结构,而在较低 pH 和较高提取物浓度条件下形成较小的球形结构^[18]。Noruzia 等用玫瑰花瓣的提取物合成了纳米金,反应速度很快,在 5min 内完成反应,可能是花瓣中的蛋白质和一些糖类物质发挥了还原作用,红外光谱显示金纳米颗粒上包裹着生物分子^[19]。目前天竺葵^[20],印度楝^[21],樟树^[22],胡荽^[23],芒果树^[24]等叶子的提取物都可以细胞外合成纳米金。

2.2 其他合成方法

目前利用植物的叶子或花瓣来合成纳米金的研究比较成熟,也有少量文献报道其它的合成方法。Dubey 等用菊蒿果实的提取物还原氯金酸盐合成出平均粒径为 16 nm 的金粒子,红外光谱分析显示其中所含萜类物质的羰基官能团可能发挥了还原作用^[25]。另外,梨的提取物也可以合成纳米金^[26]。Bankar 等利用香蕉皮合成出平均粒径为 300 nm 的金粒子,通过改变 pH、浓度以及温度可以控制粒径大小,实验证明合成出的纳米金具有抗真菌和抗细菌活性。香蕉皮主要是由果胶、纤维素和半纤维素组成,这些高分子物质可能起到了还原金盐和稳定纳米金的作用^[27]。

海藻也可以用来合成纳米金,Singaravelu 等第一次报道了利用马尾藻的提取物细胞外合成 8~12 nm 的金粒子,并且分散好,十分稳定,在海藻中占 35% 的多糖可能起到了还原氯金酸盐和稳定纳米金的作用^[28]。目前,利用藻类植物合成纳

米金的报道还比较少,有待科研工作者进一步研究.

3 展望

重点阐述了几种纳米金的生物合成技术,近年来,利用不同生物合成纳米金的研究已经取得初步的进展,应用前景广泛.然而准确的合成机理目前还不能确定,有关还原的酶或蛋白质及纳米金的形成、稳定机制,需要进一步探索.另外通过改变合成条件来合成多种形貌的纳米金仍是今后的研究重点.随着研究工作的进行,相信今后会有更多的物种用于纳米金的合成,从而建立更多的生物合成新方法,使合成出来的纳米金更好地应用在生物物质分离、生物医学、疾病检测和预防以及环境问题处理等方面,更好地帮助及改善人类的生活.

参考文献:

- [1] 张敬畅,刘 慷,曹维良.纳米粒子的特性、应用及制备方法 [J].石油化工高等学校学报,2001,14(2):21-26.
- [2] CASTRO-LONGORIA E, ALFREDO R VILCHIS-NESTOR, AVALOS-BORJA M. Biosynthesis of Silver, Gold and Bimetallic Nanoparticles Using the Filamentous Fungus *Neurospora Crassa* [J]. *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces*, 2011, 83(1): 42-48.
- [3] KALIMUTHU KALISHWARALAL, VENKATARAMAN DEEPAK, SURESHBABU RAM KUMAR PANDIAN, et al. Biosynthesis of Silver and Gold Nanoparticles Using *Brevibacterium Casei* [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2010, 77(2): 257-262.
- [4] ANIL K SURESH, DALE A PELLETIER, WEI Wang, et al. Biofabrication of Discrete Spherical Gold Nanoparticles Using the Metal-Reducing Bacterium *Shewanella Oneidensis* [J]. *Acta Biomaterialia*, 2011, 7(5): 2148-2152.
- [5] HUSSEINY M I, EL-AZIZ, et al. Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using *Pseudomonas Aeruginosa* [J]. *Spectrochimica Acta Part A*, 2007, 67(3): 1003-1006.
- [6] HE Shi-ying, GUO Zhi-rui, ZHANG Yu, et al. Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using the Bacteria *Rhodospseudomonas Capsulata* [J]. *Materials Letters*, 2007, 61(18): 3984-3987.
- [7] GERICKE M, PINCHES A. Biological Synthesis of Metal Nanoparticles [J]. *Hydrometallurgy*, 2006, 83(1-4): 132-140.
- [8] ANUJ NARAYAN MISHRA, SEEMA BHADAURIA, MULAYAM SINGH GAUR, RENU PASRICHA. Extracellular Microbial Synthesis of Gold Nanoparticles Using Fungus *Hormoconis Resinae* [J]. *JOM Journal of the Minerals, Metals and Materials Society*, 2010, 62(11): 45-48.
- [9] DU Liang-wei, XIAN Liang, FENG Jia-xun. Rapid Extra-/Intracellular Biosynthesis of Gold Nanoparticles by the Fungus *Penicillium Sp.* [J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2011, 13(3): 921-930.
- [10] AHMAD A, SENAPATI S, KHAN M I, et al. Extra-/Intracellular Biosynthesis of Gold Nanoparticles by an Alkalotolerant Fungus, *Trichothecium Sp.* [J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2005, 5(1): 47-53.
- [11] SENAPATI S, AHMAD A, KHAN M I. Extracellular Biosynthesis of Bimetallic Au-Ag Alloy Nanoparticles [J]. *Small*, 2005, 1(5): 517-520.
- [12] ABSAR AHMAD, PRIYABRATA MUKHERJEE, SATYAJYOTI SENAPATI, et al. Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using the Fungus *Fusarium Oxysporum* [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2003, 28(4): 313-318.
- [13] SATYAJYOTI SENAPATI, ABSAR AHMAD, MOHAMMAD I KHAN, et al. Extracellular Biosynthesis of Bimetallic Au-Ag Alloy Nanoparticles [J]. *Small*, 2005, 1(5): 517-520.
- [14] AHMAD A, SENAPATI S, KHAN M I, et al. Extracellular Biosynthesis of Monodisperse Gold Nanoparticles by a Novel Extremophilic Actinomycete, *Thermomonospora Sp.* [J]. *Langmuir*, 2003, 19(8): 3550-3553.
- [15] PIMPRIKAR P S, JOSHI S S, KUMAR A R, et al. Influence of Biomass and Gold Salt Concentration on Nanoparticle Synthesis by the Tropical Marine Yeast *Yarrowia Lipolytica* Ncim 3589 [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2009, 74(1): 309-316.
- [16] GARDEA-TORRESDAY J L, PARSONS J G, GOMEZ E, et al. Formation and Growth of Au Nanoparticles Inside Live Alfalfa Plants [J]. *Nano Letters*, 2002, 2(4): 397-401.
- [17] JAE YONG SONG, HYEON-KYEONG JANG, BEOM SOO KIM. Biological Synthesis of Gold Nanoparticles Using *Magnolia Kobus* and *Diopyros Kaki* Leaf Extracts [J]. *Process Biochemistry*, 2009, 10(4): 1133-1138

- [18] MOSTAFA M H KHALIL, EMAN H ISMAIL, FATMA EL-MAGDOUB. Biosynthesis of Au Nanoparticles Using Olive Leaf Extract [J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2010, 11(11): 1 - 7.
- [19] MASUMEH NORUZIA, DAVOOD ZAREA, KAMYAR KHOSHNEVISANA, et al. Rapid Greensynthesis of Gold-nanoparticles Using Rosa Hybrida Petal Extract at Room Temperature [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011, 79(5): 1 461 - 1 465.
- [20] SHANKAR S S, AHMAD A, PASRICHA R, et al. Bioreduction of Chloroaurate Ions by Geranium Leaves and Its Endophytic Fungus Yields Gold Nanoparticles of Different Shapes [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2003, 13(7): 1 822 - 1 826.
- [21] S SHIV SHANKAR, AKHILESH RAI, ABSAR AHMAD, et al. Rapid Synthesis of Au, Ag, and Bimetallic Au Core-Ag Shell Nanoparticles Using Neem (Azadirachta Indica) Leaf Broth [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2004, 275(2): 496 - 502.
- [22] HUANG Jia-le, LI Qing-biao, SUN Dao-hua, et al. Biosynthesis of Silver and Gold Nanoparticles by Novel Sundried Cinnamomum Camphora Leaf [J]. *Nanotechnology*, 2007, 18(10): 105 104 - 105 114
- [23] NARAYANAN K B, SAKTHIVEL N. Coriander Leaf Mediated Biosynthesis of Gold Nanoparticles [J]. *Materials Letters*, 2008, 62(30): 4 588 - 4 590.
- [24] DAIZY PHILIP. Rapid Green Synthesis of Spherical Gold Nanoparticles Using Mangifera Indica Leaf [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2010, 77(4): 807 - 810.
- [25] SHASHI PRABHA DUBEYA, MANU LAHTINEN, MIKA SILLANPAA. Tansy Fruit Mediated Greener Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles [J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(7): 1 065 - 1 071.
- [26] GHODAKE G S, DESHPANDE N G, LE Y P, et al. Pear Fruit Extract-Assisted Room-Temperature Biosynthesis of Gold Nanoplates [J]. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 2010, 75(2): 584 - 589.
- [27] ASHOK BANKAR, BHAGYASHREE JOSHI, AMEETA RAVI KUMAR, et al. Banana Peel Extract Mediated Synthesis of Gold Nanoparticles [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2010, 80(1): 45 - 50.
- [28] SINGARAVELU G, AROCKIAMARY J S, GANESH KUMAR V, et al. A Novel Extracellular Synthesis of Monodisperse Gold Nanoparticles Using Marine Alga, Sargassum Wightii Greville [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2007, 57(1): 97 - 101.

Research Progress in Biosynthesis of Gold Nanoparticles

SHI Jie, FAN Shu-min, WU Jing, KANG Xiao-hui, YIN Yu-jing, WANG Rui-yong

(Department of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Gold nanoparticles are attracting great attention due to their unique optical, electronic and catalytic properties. Recently, biosynthesis of gold nanoparticles has become a research hotspot due to its economic, non-toxic and eco-friendly characteristics. This article provides an overview of current research methods of biosynthesis of gold nanoparticles using bacteria, fungi, actinomycetes, yeast and various plant materials. Different methods are compared, and the characteristics, control of size and shape, and the synthesis mechanisms are discussed. Finally, the application of biosynthesis of gold nanoparticles and the developing trend in the future are also prospected.

Key words: biological synthesis; gold nanoparticles; research progress

(责任编辑 陈炳权)