

## 基于微生物生物合成纳米颗粒机制的研究进展

吴盛美 苏义龙 马丽雅 陈思 李姝宜 慕升君 张俊霞 严拯宇\*

(中国药科大学 理学院 江苏 南京 210009)

**摘要:** 纳米粒子的合成方法多种多样, 包括物理法、化学法和生物合成法, 其中生物合成法是以生物为基体的绿色合成方法。由于微生物易于培养、生长快、廉价易得, 已成为纳米粒子生物合成法的重要生物类群。微生物和纳米材料的多样性决定了其合成机制的多样化。本文结合国内外的科研报道, 着重介绍了目前纳米粒子生物合成机制, 并对纳米粒子微生物合成技术未来发展趋势进行了展望。

**关键词:** 生物合成机制, 纳米粒子, 量子点, 微生物

## Synthesis of nanoparticles using microorganisms: a review of its mechanism

WU Sheng-Mei SU Yi-Long MA Li-Ya CHEN Si LI Shu-Yi MU Sheng-Jun  
ZHANG Jun-Xia YAN Zheng-Yu\*

(School of Science, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu, 210009, China)

**Abstract:** A variety of physical, chemical and biological methods have been used to synthesize nanoparticles in which biological methods are green chemistry approaches, interconnecting organism with nanotechnology. Microorganisms are an important group of organism which can be used in nanoparticles synthesis, because they are growing fast, easy to culture, inexpensive and widely available. The diversity of microorganisms and nanomaterials determines the diversification of its synthetic mechanism. According to researches of home and abroad, this paper focus on summarizing mechanism of synthesis nanoparticles using microorganisms. The prospects of biosynthesis nanoparticles using microorganism have also been addressed.

**Keywords:** Biosynthesis mechanism, Nanoparticles, Quantum dots, Microorganism

随着技术的发展,越来越多的纳米材料被广泛应用于物理、化学以及生命科学领域。目前已有大量报道纳米材料的制备方法,从反应机理看,分为

化学法和物理法。利用物理方法制备的纳米材料纯度高、活性高,但是产物粒度分布比较宽,有些方法获得的纳米材料容易发生团聚。同时,往往需要

基金项目: 江苏省普通高校研究生科研创新计划项目(No. CXLX13\_312); 国家基础科学人才培养基金项目(No. J1030830); 江苏省自然科学基金青年基金项目(No. BK20140661); 江苏省普通高校学术学位研究生科研创新计划项目(No. KYZZ\_0185)

\*通讯作者: 函: yanzhengyujiang@126.com

收稿日期: 2014-03-26; 接受日期: 2014-06-17; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-06-27

较大的设备、成本较高。利用化学方法制备的纳米材料具有较好的分散性,粒径分布窄,形貌比较均匀,但是材料的表面可能会有杂质。化学制备方法中如液相沉淀法虽然操作简单、成本低,但易引入杂质,难以获得粒径小的纳米粉体,水热/溶剂热法大多需要在特殊反应器(高压釜)内在高压环境下进行,且产物生物相容性差。最近几年来,生物方法制备纳米材料方面得到了一定的发展。生物方法制备纳米材料往往具有条件温和、对环境无污染、成本低廉等优点<sup>[1]</sup>。

磁性纳米颗粒与生物有着良好的相容性,这一方面体现在磁性纳米  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  在生命科学和生物技术领域有着重要的应用价值,粒径小于 20 nm 的磁性纳米材料通常显现出超顺磁性,即在外磁场下,纳米材料被磁化产生磁相互作用力,而当撤销磁场后,纳米材料相对较大的内能会超过其畴壁能对磁矩的束缚,恢复磁“无序”的特点。这些特性使磁性纳米材料具有很强的可操控性,被广泛应用于生物活性物质的分离、生物活性物质的检测以及靶向药物传输。同时,小粒径的纳米材料具有高比表面积、高偶联容量等特性,更适合在生物医学领域的应用<sup>[2-4]</sup>。应用于生物技术的纳米颗粒需要苛刻的物理、化学以及药理学特性,包括化学组成、颗粒的均匀性、晶体结构、磁性能、表面结构、吸附性能、溶解性能及较低毒性<sup>[5-6]</sup>。合成这种超精细颗粒的主要困难是控制颗粒的纳米级尺寸。因此,研究磁性纳米颗粒的简洁合成方法,并得到预计的尺寸、合适的粒径分布且分散性良好,是研究的重点。另一方面,在关注人工合成纳米单畴  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  粒子时科学家们发现,地球上的生物早已能通过生物控制的方法在生物体内合成性能优良的磁性纳米颗粒。1975 年美国科学家 Blakemore 在美国东海岸的海洋盐沼沉积物中发现了趋磁细菌,据 Science 杂志报道,其体内含有使其产生趋磁行为的磁小体(Magnetosomes, MS)<sup>[7]</sup>。磁小体线度一般为 35–100 nm,磁小体的膜能被各种物质修饰,结合多种活性物质,使其具有独特的生物医学功能<sup>[8]</sup>。

在微生物合成纳米材料领域中,磁性纳米铁的合成研究开始最早,其合成机理的研究最为透彻,已经到达基因水平。磁性纳米铁已经能够大规模商业化生产<sup>[9]</sup>。

纳米金粒子作为金属纳米粒子中的一员,由于其独特的表面等离子体共振性质在生物医学等领域的广泛应用而备受关注<sup>[10]</sup>。可以通过多种化学及物理方法制备纳米金粒子,常用合成方法包含物理方法和湿化学方法<sup>[11]</sup>。而纳米银粒子具有较强的抗菌能力,广泛应用于临床医学,如外科手术以及伤口愈合等,未来有潜力用于消炎、抗肿瘤、妇科以及再生医学等方面。纳米银具有良好的催化特性,可以降解染料,改变纳米半导体材料的光催化性能。纳米银粒子的特殊性质使其在食品、电子等方面有较好的应用<sup>[12]</sup>。

量子点是一种直径小于 100 nm 的半导体荧光纳米微晶,主要由 II–VI 族或 III–V 族元素组成。与普通的荧光材料相比较,量子点具有有机荧光染料和荧光蛋白不可比拟的荧光优势<sup>[13]</sup>,已经被越来越广泛地应用在物理、生物、化学及其交叉学科中,其中在生命科学领域的应用被视为具有广阔的发展前景。广泛的用途催生出量子点的多种合成方法,总体上可分为物理法、化学法以及生物合成法。在对量子点合成方法的不断改进中,生物合成法得到了很好的发展,其中微生物以其易于培养、繁殖速度快、成本较低的优点成为生物合成的主要载体。相比较纳米金和纳米银的生物合成研究来说,生物合成量子点的研究起步较晚,研究的机理也相对较少。1989 年, Nature 首次报道了 Dameron 等<sup>[13]</sup>用光滑念珠菌合成 CdS 纳米晶。随后,不断有生物合成量子点纳米晶的文章发表。

基于此原因,纳米技术研究重点就是寻找一种环境友好型的、绿色的、经济的、简便的纳米粒子合成方法,而能够达到这一目标的一个有效途径就是开发自然界的生物资源,利用生物介导纳米粒子的合成。生物法相比于物理、化学法有以下优势:经济、简便,反应条件温和,在常温常压下就可进

行反应,合成的金属纳米粒子具有良好的生物相容性,有特定形状和形态,包括球形、六边形、三角形、杆状、扁平状、树枝状、十面体、二十面体和一些不规则形状,还能够控制粒子尺寸组成、结晶度,而且合成材料可选择范围广<sup>[1]</sup>。

## 1 细菌合成纳米粒子的机理

细菌生物合成纳米粒子具有培育周期短、操作简单等优点,被广泛应用于生物合成纳米晶中。常用来合成的细菌有大肠杆菌、乳酸菌、枯草芽孢杆菌、放线菌等。现在细菌已经可以合成的纳米粒子包括 Au、Ag、Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>、ZnS、CdS、CdTe、TiO<sub>2</sub>等。下面介绍生物合成纳米粒子的相关机理。

### 1.1 细菌合成金纳米粒子

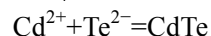
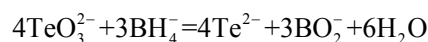
Lengke 等<sup>[10]</sup>利用丝状蓝藻(*Filamentous Cyanobacteria*)合成金纳米晶,并探讨了在细胞内合成金纳米晶的一般途径: Au<sup>3+</sup>在几分钟内被迅速还原成 Au<sup>+</sup>离子,后者聚集并被含硫的半胱氨酸和蛋氨酸包裹形成 Au<sub>2</sub>S 复合物,最后 Au(I)经过被还原形成完整的金纳米晶。Nair 等<sup>[14]</sup>利用乳酸杆菌还原 HAuCl<sub>4</sub> 制备金纳米晶,在前期工作的基础上,他们提出了机理:某些细胞壁上的酶类和糖类物质将 AuCl<sub>4</sub><sup>-</sup>还原成比较小但稳定的纳米晶,这些小尺寸的纳米晶表面带负电荷,可以透过细胞壁,由于化学基质的差异,细胞质内部的金纳米晶更易于聚合成颗粒较大的金纳米晶,细胞质外的金纳米晶不聚合保持小粒径。Sastry 等<sup>[15]</sup>利用放线菌 *Thermomonospora* sp. 合成金纳米粒子,进一步实验表明放线菌分泌的某种生物酶具有还原生成金纳米晶能力。2007 年,He 等<sup>[16]</sup>用荚膜红假单胞菌(*Rhodopseudomonas capsulata*)生物合成金纳米粒子并发现 pH 对纳米粒子形状产生影响。他们研究表明细菌内部的 NADH 依赖的还原酶将 NADH 氧化成 NAD<sup>+</sup>的同时,将电子传递给 Au<sup>3+</sup>离子,使之接受电子还原成 Au 单质。随后在细菌内部聚集、包覆,最后产生蛋白包被的直径在 540 nm 左右的金纳米粒子。

### 1.2 细菌合成银纳米粒子

与金离子相比,银离子对于细菌具有一定的毒性。Lengke 等<sup>[17]</sup>利用丝状蓝藻(*Filamentous Cyanobacteria*)制备银纳米晶,结果表明 Ag<sup>+</sup>会导致细菌在几个小时内死亡,Ag<sup>+</sup>开始在细菌细胞基质中被还原形成纳米晶,而在死亡后释放出来;同时,细菌细胞死亡的过程中释放出某种有机物(如蛋白质等)将 Ag<sup>+</sup>进一步沉淀和凝集,最后形成含有磷、硫与铁的银纳米晶。Shahverdi 等<sup>[18]</sup>通过外加薄荷酮证明了细菌释放的多种化合物对 Ag<sup>+</sup>具有还原作用及硝酸还原酶的存在。传统观点认为生物合成的纳米银是 Ag<sup>+</sup>被硝酸还原酶还原形成的 Ag 纳米粒子,人们一般在细菌中加入 AgNO<sub>3</sub>,而 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>会诱导 NADH 依赖的硝酸还原酶发生作用,将 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>还原成 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>的,将 Ag<sup>+</sup>还原成 Ag<sup>[19]</sup>。然而,Motesshafi 等<sup>[20]</sup>研究表明,当环境中存在硝酸盐还原酶抑制剂时,微生物合成纳米银的机理与传统的合成机理不同。Lin 等<sup>[21]</sup>发现当银离子附着在乳酸菌表面后,溶液 pH 降低,证明了质子和金属离子对带负电荷的结合位点存在竞争。随后,Sintubin 等<sup>[22]</sup>提出了关于乳酸菌合成银纳米粒子的机理:质子和金属银离子之间存在竞争,当 pH 升高时,质子离去暴露了带负电荷的官能团,该官能团随即吸附了银离子,同时,受 pH 影响,还原性的单糖打开暴露了醛基;随后,醛基可以还原金属银离子 Ag<sup>+</sup>成为单质 Ag<sup>0</sup>,同时自身被氧化形成相应的羧基。

### 1.3 细菌合成量子点纳米晶(量子点)

相比较于纳米金和纳米银的生物合成研究来说,生物合成量子点的研究起步较晚,研究的机理也相对较少。2010 年,Bao 等<sup>[23]</sup>在用大肠杆菌做了大量实验之后,根据已有的现象,提出了细菌合成 CdTe 纳米晶(量子点)的合成过程:



其中,实验中 Bao 等<sup>[23]</sup>向大肠杆菌中添加了 CdCl<sub>2</sub>、NaTeO<sub>3</sub>、二水合柠檬酸三钠、巯基丁二酸

和  $\text{NaBH}_4$ 。Bao 等<sup>[23]</sup>认为,  $\text{CdTe}$  在细胞外成核, 形成具有结晶度的  $\text{CdTe}$ , 随后细菌分泌出蛋白质并捆绑在  $\text{CdTe}$  上, 聚集形成大型的纳米晶, 最后蛋白质包覆在纳米晶表面, 产生包覆层, 形成 2–3 nm 左右的量子点纳米晶。

Yan 等<sup>[24]</sup>使用大肠杆菌合成了  $\text{CdSe}$  量子点, 结果表明, 要实现生物合成荧光强度高的量子点, 最重要的是把握加入镉源和硒源的时机, 这是 Cui 等<sup>[25]</sup>提出来的, 并称为“时空耦合”。Cui 等<sup>[25]</sup>认为, 微生物代谢镉和硒的过程本来是相互无关的独立过程, 代谢的过程涉及到  $\text{Cd}$  和  $\text{Se}$  的价态变化和元素在细胞内细胞基质和细胞器的迁移, 想要  $\text{Cd}^{2+}$  于合适的时间在细胞基质中遇到合适价态的有机硒 {如硒代半胱氨酸  $[(\text{Cys-Se})_2]$  和硒代甲硫氨酸  $(\text{Se-Met})$ } 合成荧光量子点需要精心的设计实验。Yan 等<sup>[24]</sup>认为在使用大肠杆菌合成  $\text{CdSe}$  时, 只有在大肠杆菌生长的稳定期加硒才可以获得高质量的量子点, 而且调整与硒共培养的时间可以调整量子点的粒径和发射波长。

#### 1.4 细菌合成磁介质纳米粒子

Dennis 等<sup>[8]</sup>综述了趋磁细菌合成磁介质纳米粒子的机制。 $\text{Fe}^{3+}$  及含有三价铁离子的化合物和  $\text{Fe}^{2+}$  均可通过膜上的几种特异的蛋白质进入磁小体囊泡内, 研究表明, 细菌 *Magnetospirillum magneticum* 具有 MagA 铁转运体<sup>[26-27]</sup>, *Magnetospirillum gryphiswaldense* 细菌具有 MamB 和 MamM 两个铁转运体<sup>[28]</sup>, 这些转运体具有将铁转运进入磁小体囊泡内的能力。转运体中的铁元素将在小体内形成一个高密度的直径在 10–20 nm 左右的含水  $\text{Fe}^{3+}$  的氧化物(水铁矿,  $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ )。三价铁离子形成水合铁化物核后, 随着 pH 的改变, 经过一系列的吸附作用吸附  $\text{Fe}^{2+}$  紧紧的包裹在核周围, 直径增大至 100 nm 左右, 接着三价铁晶体迅速脱水并与二价铁结合, 生成四氧化三铁纳米粒子前驱体。经过后期的进一步反应, 产生成熟的铁纳米粒子。

杨靖等<sup>[29]</sup>总结了趋磁细菌磁小体合成机制,

他们发现研究者们曾先后提出了 5 个磁小体合成机制的模型。他们认为磁小体的生物合成可以大致分为 4 步: (1) 细胞内膜的内陷; (2) 磁小体膜蛋白的定位; (3) 磁小体在细胞中的定位; (4) 磁铁矿的逐渐形成。

#### 1.5 细菌合成的其他纳米晶

Baesman 等<sup>[30]</sup>使用了两种厌氧菌 *B. selenitireducens* 和 *S. barnesii* 合成  $\text{Te}$  纳米晶。他们发现  $\text{Te(IV)}$  和  $\text{Te(VI)}$  在 *B. selenitireducens* 内部最初形成 125–260 nm 长度不等的纳米棒, 然后聚集成直径约为 1 000 nm 玫瑰花型的晶体。而在 *S. barnesii* 细胞内形成了 20 nm 的形状不规则的类似球状体, 最后这些球状体结合形成 500–1 000 nm 的纳米团簇。

Prasad 等<sup>[31]</sup>在室温下从乳酸杆菌中过滤出了耐腐蚀性更好、应用前景更佳的  $\text{Ti}$  纳米晶。 $\text{Ti}$  纳米晶直径较小, 在 35 nm 左右, 较其他量子点具有质量更轻、耐腐蚀性更好的优点, 不但在手机、电池、导弹、航空航天、潜艇制造、高速电子管领域有广阔的应用前景, 而且在癌症的化疗和基因传递的研究上有巨大的发展空间。

## 2 酵母菌合成的机理

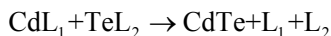
据相关文献可知, 酵母菌是可合成纳米材料的真核生物中最为重要的一种。

#### 2.1 酵母菌胞外合成纳米晶机理

酵母可以在细胞外合成  $\text{CdTe}$  纳米晶。Bao 等<sup>[32]</sup>将  $\text{CdCl}_2$  和  $\text{NaTeO}_3$  加入酵母细胞培养基中, 在温和的条件下在胞外合成了  $\text{CdTe}$  纳米晶, 粒径为 2.0–3.6 nm。 $\text{Te}^{2-}$  的形成按照如下方程式:



当将  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Te}^{2-}$  加到培养基中与酵母菌一起培养后, 酵母菌细胞在这种极端的环境条件下被迫发起一种特殊的防卫机制, 产生蛋白质并与镉、碲离子结合, 从而降低这些金属离子的毒性<sup>[33-34]</sup>, 在这个生物化学过程中, 酵母分泌蛋白会结合并包裹  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Te}^{2-}$  离子, 并最终在纳米晶表面形成覆盖层<sup>[32]</sup>。



式中  $\text{L}_1$ 、 $\text{L}_2$  代表酵母分泌蛋白。

这些分泌蛋白包被的纳米晶可以提高纳米晶的生物相容性,还赋予其较高的荧光强度。酵母细胞产生的 CdTe 依照奥斯特瓦尔德熟化过程在培养基中继续生长,从而产生被蛋白包被的、大小合适并且具有很好结晶度的 CdTe<sup>[32]</sup>。由于蛋白质的包被和限制,使得产生的纳米晶大小均一、高分散度并且无任何聚集现象。通过体外生长方法获得的 CdTe 通过离心很容易从酵母细胞中分离,与细胞内生物合成 CdS<sup>[35]</sup>、CdSe<sup>[25]</sup>相比体现出明显的优势<sup>[32]</sup>。

研究发现,酵母细胞中蛋白质包被 CdTe 的形成可能在细胞外生长,通过静电相互作用黏附到细胞膜上,再通过细胞膜的变形和内吞作用逐渐进入细胞,裂解内膜从核内体释放到细胞质中并在细胞质内彻底分散,最后甚至有部分通过核转运进入细胞核。表面无结合的纳米晶由于无内吞途径而不能被转运到细菌中<sup>[32,36]</sup>。

## 2.2 酵母菌胞内合成纳米晶机理

Cui 等<sup>[25]</sup>研究了活酵母细胞合成 CdSe 纳米晶机理,利用 HPLC-ICP-MS 确证了合成 CdSe 纳米晶的关键的中间产物,进而推断出胞内合成过程:当  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  添加到酵母细胞悬浮液中时, $\text{SeO}_3^{2-}$ 与还原性谷胱甘肽(GSH)反应形成 GSSeSG。GSSeSG 是 GSH 相关酶的底物,通过 GSH 相关酶(硫氧蛋白还原酶和谷胱甘肽还原酶)的催化,GSSeSG 被还原产生低价态的有机硒,如硒代半胱氨酸 $[(\text{Cys-Se})_2]$ 和硒代甲硫氨酸 $(\text{Se-Met})$ <sup>[25]</sup>。硒代半胱氨酸易与  $\text{Cd}(\text{SG})_2$  反应,在合适的时间加入  $\text{Cd}^{2+}$ 后便反应形成的 CdSe 纳米晶。该纳米晶的粒径为 2.69–6.34 nm。

## 3 真菌合成纳米粒子的机理

许多学者选择采用真菌这种环境友好微生物基体来制备纳米材料<sup>[37]</sup>,真菌的优势是可以提供成核中心,并且通过减缓粒子聚合和形成黏性介质获得高度分散的纳米颗粒系统<sup>[38]</sup>。

## 3.1 制备纳米银

纳米银具有独特的物理和化学性质,其生物制备方法被许多科学家探索。

**3.1.1 胞内合成法:** Mukherjee 等<sup>[39]</sup>将棉花黄萎病真菌 *Verticillium* (AAT-TS-4)与  $\text{AgNO}_3$  溶液作用合成  $25 \pm 12$  nm 的银纳米粒子。根据实验结果推测银纳米粒子合成机理:第一步是将  $\text{Ag}^+$ 固定于细胞表面,该固定可能是通过  $\text{Ag}^+$ 正离子和菌丝细胞壁上羧化物的负电荷之间静电作用实现的;第二步是细胞壁上的酶使  $\text{Ag}^+$ 离子转化成银纳米粒子。

**3.1.2 胞外合成法:** Shaligram 等<sup>[40]</sup>使用短密青霉菌(*P. brevicompactum* WA 2315)生物合成银纳米粒子。研发该菌本来用于生产美伐他汀。研究发现,经过 72 h 的适当处理,能够合成  $58.35 \pm 17.88$  nm 的纳米银。合成的机制看似简单却包含很多生物化学过程。实验人员推测该过程得益于真菌细胞膜上的还原酶和醌类物质的胞外运输<sup>[41]</sup>,还原酶可能作为电子供体释放电子将  $\text{Ag}^+$ 还原成金属银,被还原的银可以与其他金属发生合成反应,得到研究人员所期望的纳米粒子。

Philip 等<sup>[42]</sup>利用可食用草菇 *Volvariella volvace* 提取物在水溶液中合成 20–150 nm Au、Ag (~15 nm)、Au-Ag 纳米粒子,SAED 和 XRD 的实验结果图像表明合成的纳米粒子有光致发光性和高度透明性。草菇提取液作为还原助剂和保护剂来合成纳米粒子<sup>[43]</sup>。草菇提取液中含有多聚糖,可以把游离的金属离子转化成金属纳米粒子,可能是提取液中的蛋白质和酶通过氧化苯甲醛的醛基提供电子<sup>[44-45]</sup>。实验中所用草菇提取物应稍稍过量,即可利用生物大分子对产品的保护作用<sup>[43]</sup>,使产品更加稳定、纳米粒子更趋向于球形结构。

Bhainsa 等<sup>[46]</sup>将烟曲霉菌(*Aspergillus fumigatus*)培养滤液与  $\text{Ag}^+$ 混合,在短短数分钟内便可以得到银纳米粒子(5–25 nm)。烟曲霉菌是一种丝状真菌,适合于纳米粒子的胞外合成,而且其生物量容易处理。分析实验得到的吸收光谱,Bhainsa 等推测合成的机理可能是真菌分泌到胞外的一些蛋白质成

分对金属离子的还原起到了关键作用<sup>[46]</sup>。这些物质还可以覆盖在纳米粒子表面,增加其稳定性。由于合成是在胞外进行,且合成迅速,是一种简便快速的生物合成银纳米粒子的方法。

### 3.2 制备钛酸钡 BaTiO<sub>3</sub> 纳米粒子

钛酸钡是一种强介电材料,是电子陶瓷中应用最广泛的材料之一,被誉为“电子陶瓷工业的支柱”。它具有高介电常数、低介电损耗、优良的铁电、压电、耐压和绝缘等性能,应用广泛,是一种很有潜力的材料<sup>[47]</sup>。Bansal 等<sup>[48]</sup>在室温下向尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)中加入氟钛酸钾(K<sub>2</sub>TiF<sub>6</sub>)和醋酸钡(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Ba 的混合溶液,最终获得 4±1 nm 的四方晶系钛酸钡(BaTiO<sub>3</sub>)纳米粒子。

研究结果表明带正电荷的蛋白质可能与氧化物纳米粒子的生物合成有密切关系<sup>[49-52]</sup>。Bansal 等<sup>[52]</sup>认为真菌生成的胞外蛋白质提供了水解模板,从而有利于氟钛酸钾和醋酸钡进行反应,生成钛酸钡(BaTiO<sub>3</sub>)纳米粒子。

### 3.3 制备纳米金

纳米金具有良好的生物相容性,广泛应用于生物医学领域。Narayanan 等<sup>[53]</sup>将白绢病菌(*Sclerotium rolfii*)的培养滤液与氯金酸溶液在室温下混合,大约 10–15 min 后,即可得到金纳米粒子(~25 nm)。而且,合成出的纳米金的形态是可控的。相对来说,浓度高的滤液合成出的纳米粒子大多为球形,浓度低的滤液合成出的纳米粒子更多为各向异性的形态,如三角形、六角形等。

实验证明,在最适条件下,白绢病菌在胞外介质中分泌的蛋白质含量可高于 30 g/L<sup>[53]</sup>,在基因的调控下,白绢病菌过度分泌 NADPH 依赖酶,促进了纳米金的胞外合成,但是更加具体的合成机理还不甚清楚,仍在探究当中。

### 3.4 制备 CdS

利用真菌的解毒能力,可以合成 CdS。Sanghi 等<sup>[54]</sup>利用固定化真菌在胞外合成 CdS 纳米粒子,这是一种安全、方便、低成本的方法,它不需要特殊的仪器,不产生有毒的中间体,并且生长速率容

易控制。暴露在镉离子中的真菌将分泌稳定性高并具有相应催化特性的酶,具备生物治理的潜力。连续地暴露在有毒的金属离子中并且不需要任何外源的硫的情况下,云芝(*Coriolus versicolor*)能够将 Cd<sup>2+</sup>转化为 CdS 纳米粒子(8–15 nm),快速地把有毒的环境转变成无毒的环境。从机理上看,云芝中半胱氨酸的巯基(SH)在结合和封存 Cd<sup>2+</sup>以及减少 CdS 的反应中起着至关重要的作用。

Sanghi 等<sup>[54]</sup>根据红外光谱推断,CdS 的形成以二硫化物(胱氨酸)为桥梁,通过 S–H 键的断裂和 S–Cd 新键的生成在纳米粒子表面形成复合物。Cd–S–CH<sub>2</sub>–COOH 复合物中的–COOH 不直接与蛋白质中的氨基(–NH<sub>2</sub>)反应而是通过氢键与蛋白质相互作用。因此,硫化镉纳米粒子通过氢键与蛋白质结合到一起<sup>[55]</sup>。同时,羧基(–COOH)中的氧原子还能够与镉离子形成配位键<sup>[56]</sup>,与–SH 竞争结合并组装到 CdS 纳米粒子的表面上。总之,这些分子通过氢键、配位键和静电相互作用封闭包裹 CdS 纳米粒子。

### 3.5 制备 CdTe 量子点

CdTe 是波尔半径较大的绝缘材料,可以广泛应用于 LED 技术、荧光共振能量转移技术和生物医学领域<sup>[57]</sup>。Syed 等<sup>[58]</sup>利用尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)与 CdCl<sub>2</sub>、TeCl<sub>4</sub> 的混合物反应胞外生成 CdTe 量子点(15–20 nm)。真菌与原料共培养后,滤液中可以检测到 CdTe 量子点的生成。反应混合物中真菌分泌的蛋白质不仅促进元素价态的转化而且覆盖在生成的量子点上,防止其凝结,使之更稳定。但是更加具体的反应机制尚不清楚,还有待进一步探索。

## 4 总结

本文主要阐述了三大类微生物合成纳米晶的机理。合成纳米晶的过程主要利用了微生物自身的大分子物质,如蛋白质、多糖、酶类等,以微生物的酶体系为基础,通过氧化还原作用,使金属离子解毒并产生相应纳米晶。随后,纳米晶通过陈化、

蛋白包裹等作用并定位于细胞内外。总结上述的合成机理,合成过程主要包含以下步骤:(1)金属离子通过静电作用固定于细胞表面;(2)各类还原酶对金属离子进行胞内、胞外还原;(3)通过细胞能量消耗,将蛋白包裹至纳米晶表面并产生包覆层,增加纳米晶稳定性;(4)需要不同的酶系,还原助剂和保护剂的参与,合成条件温和等。笔者的实验室在进行微生物合成荧光量子点的过程中,发现多种酵母和细菌<sup>[24]</sup>都可以合成 CdSe 量子点,合成的技术路线是一致的。由于不同微生物的培养条件和生长状况不同,加入镉源和硒源的量有差异,但是经过优化,都可以获得稳定的荧光量子点。综合文献,我们发现微生物合成的荧光量子点一般局限于 ZnS、CdS、PbS<sup>[59]</sup>、CdSe 和 CdTe 五种,其中 CdS 的最多最全面。但是,其他一些具有独特光学性能的、毒性较小的量子点尚未有微生物合成方法的介绍(包括 ZnSe、InP、InAs、In<sub>2</sub>S<sub>3</sub>),同时,尚缺乏掺杂的量子点(CuInS<sub>2</sub> 和 AgInS<sub>2</sub>)、上转换发光材料的微生物合成方法的报道,而上述材料在生物大分子标记、生物成像、太阳能电池、激光技术和光信息储存和显示等领域已有应用。

微生物在合成纳米粒子的过程中存在一些问题,比如通过微生物合成的纳米粒子的尺寸、形状和结晶性等不能很好的控制,微生物在自身生长过程中合成的某些物质可能会对合成效率、荧光强度、物理性状等产生影响等。这就需要对微生物的培养方法、下游处理技术等加以改进<sup>[60]</sup>,改善微生物合成纳米粒子的速率,提高纳米粒子的单分散性能,以对微生物合成纳米粒子的机制进行更深层次的研究。在此基础上,制备可控性高、性能优越的纳米粒子仍然是未来的发展趋势之一。

近年来,微生物合成的磁性纳米材料、纳米金和纳米银已得到巨大的关注和应用,随着生物合成方法研究的不断深入,全面揭示微生物合成纳米粒子的机制和实现纳米粒子的可控合成将成为今后研究的重点。

## 参 考 文 献

- [1] 陈平. 生物方法控制合成纳米材料的应用研究与进展[J]. 池州学院学报, 2008, 22(5): 51-54.
- [2] 王琳, 李宏照, 李安, 等. 铁氧体磁性纳米材料的生物制备及研究进展[J]. 材料导报, 2010, 24(19): 18-21.
- [3] 李文兵, 周蓬蓬, 余龙江, 等. 生物相容 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>磁性纳米颗粒的合成及应用[J]. 现代化工, 2006(21): 322-326.
- [4] 余靓, 刘飞, Yousaf MZ, 等. 磁性纳米材料: 化学合成、功能化与生物医学应用[J]. 生物化学与生物物理进展, 2013(10): 903-917.
- [5] Tartaj P, Morales M, Gonzalez-Carreño T, et al. Advances in magnetic nanoparticles for biotechnology applications[J]. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2005, 290: 28-34.
- [6] Berry CC, Curtis AS. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine[J]. Journal of Physics D: Applied physics, 2003, 36(13): R198.
- [7] DeLong EF, Frankel RB, Bazylinski DA. Multiple evolutionary origins of magnetotaxis in bacteria[J]. Science, 1993, 259(5096): 803-806.
- [8] Bazylinski DA, Frankel RB. Magnetosome formation in prokaryotes[J]. Nature Reviews Microbiology, 2004, 2(3): 217-230.
- [9] Moon JW, Rawn CJ, Rondinone AJ, et al. Large-scale production of magnetic nanoparticles using bacterial fermentation[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2010, 37(10): 1023-1031.
- [10] Lengke MF, Ravel B, Fleet ME, et al. Mechanisms of gold bioaccumulation by filamentous cyanobacteria from gold (III)-chloride complex[J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(20): 6304-6309.
- [11] 张立德, 牟季美. 纳米材料与纳米结构[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 51-67.
- [12] 张青山, 岳秀萍. 纳米银粒子的生物制备及应用研究进展[J]. 材料导报, 2014(1): 53-58.
- [13] Dameron C, Reese R, Mehra R, et al. Biosynthesis of cadmium sulphide quantum semiconductor crystallites[J]. Nature, 1989, 338(6216): 596-597.
- [14] Nair B, Pradeep T. Coalescence of nanoclusters and formation of submicron crystallites assisted by *Lactobacillus* strains[J]. Crystal Growth & Design, 2002, 2(4): 293-298.
- [15] Sastry M, Ahmad A, Islam Khan M, et al. Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete[J]. Current Science, 2003, 85(2): 162-170.
- [16] He S, Guo Z, Zhang Y, et al. Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodospseudomonas capsulata*[J]. Materials Letters, 2007, 61(18): 3984-3987.
- [17] Lengke MF, Fleet ME, Southam G. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Filamentous cyanobacteria* from a silver (I) nitrate complex[J]. Langmuir, 2007, 23(5): 2694-2699.
- [18] Shahverdi AR, Minaeian S, Shahverdi HR, et al. Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of *Enterobacteria*: a novel biological approach[J]. Process Biochemistry, 2007, 42(5): 919-923.
- [19] 柴春镜, 白红娟, 沼泽红假单胞菌生物合成银纳米粒子及其抗菌作用[J]. 微生物学通报, 2010, 37(12): 1798-1804.
- [20] Motesafi H, Mousavi S, Shojaosadati S. The possible mechanisms involved in nanoparticles biosynthesis[J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2012,

- 18(6): 2046-2050.
- [21] Lin Z, Zhou C, Wu J, et al. A further insight into the mechanism of  $\text{Ag}^+$  biosorption by *Lactobacillus* sp. strain A09[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2005, 61(6): 1195-1200.
- [22] Sintubin L, De Windt W, Dick J, et al. Lactic acid bacteria as reducing and capping agent for the fast and efficient production of silver nanoparticles[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 84(4): 741-749.
- [23] Bao H, Lu Z, Cui X, et al. Extracellular microbial synthesis of biocompatible CdTe quantum dots[J]. Acta Biomaterialia, 2010, 6(9): 3534-3541.
- [24] Yan Z, Qian J, Gu Y, et al. Green biosynthesis of biocompatible CdSe quantum dots in living *Escherichia coli* cells[J]. Materials Research Express, 2014, 1(1): 015401.
- [25] Cui R, Liu HH, Xie HY, et al. Living yeast cells as a controllable biosynthesizer for fluorescent quantum dots[J]. Advanced Functional Materials, 2009, 19(15): 2359-2364.
- [26] Nakamura C, Burgess JG, Sode K, et al. An iron-regulated gene, *magA*, encoding an iron transport protein of *Magnetospirillum* sp. strain AMB-1[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(47): 28392-28396.
- [27] Nakamura C, Kikuchi T, Burgess JG, et al. Iron-regulated expression and membrane localization of the *magA* protein in *Magnetospirillum* sp. strain AMB-1[J]. The Journal of Biochemistry, 1995, 118(1): 23-27.
- [28] Schubbe S, Kube M, Scheffel A, et al. Characterization of a spontaneous nonmagnetic mutant of *Magnetospirillum gryphiswaldense* reveals a large deletion comprising a putative magnetosome island[J]. Journal of Bacteriology, 2003, 185(19): 5779-5790.
- [29] 杨靖, 张同伟, 黄修良, 等. 趋磁细菌磁小体合成机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2011, 38(8): 1262-1269.
- [30] Baesman SM, Bullen TD, Dewald J, et al. Formation of tellurium nanocrystals during anaerobic growth of bacteria that use Te oxyanions as respiratory electron acceptors[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(7): 2135-2143.
- [31] Prasad K, Jha AK, Kulkarni A. *Lactobacillus* assisted synthesis of titanium nanoparticles[J]. Nanoscale Research Letters, 2007, 2(5): 248-250.
- [32] Bao H, Hao N, Yang Y, et al. Biosynthesis of biocompatible cadmium telluride quantum dots using yeast cells[J]. Nano Research, 2010, 3(7): 481-489.
- [33] Vido K, Spector D, Lagniel G, et al. A proteome analysis of the cadmium response in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(11): 8469-8474.
- [34] Massardo DR, Pontieri P, Maddaluno L, et al. Effects of tellurite on growth of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. BioMetals, 2009, 22(6): 1089-1094.
- [35] Kang SH, Bozhilov KN, Myung NV, et al. Microbial synthesis of CdS nanocrystals in genetically engineered *E. coli*[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2008, 47(28): 5186-5189.
- [36] Kloepper J, Mielke R, Nadeau J. Uptake of CdSe and CdSe/ZnS quantum dots into bacteria via purine-dependent mechanisms[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(5): 2548-2557.
- [37] Vigneshwaran N, Ashtaputre N, Varadarajan P, et al. Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*[J]. Materials Letters, 2007, 61(6): 1413-1418.
- [38] Sun Y, Xia Y. Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles[J]. Science, 2002, 298(5601): 2176-2179.
- [39] Mukherjee P, Ahmad A, Mandal D, et al. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: a novel biological approach to nanoparticle synthesis[J]. Nano Letters, 2001, 1(10): 515-519.
- [40] Shaligram NS, Bule M, Bhambure R, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract from the compactin producing fungal strain[J]. Process Biochemistry, 2009, 44(8): 939-943.
- [41] Durán N, Marcato PD, Alves OL, et al. Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2005, 3(8): 1-7.
- [42] Philip D. Biosynthesis of Au, Ag and Au-Ag nanoparticles using edible mushroom extract[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2009, 73(2): 374-381.
- [43] Huang J, Li Q, Sun D, et al. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf[J]. Nanotechnology, 2007, 18(10): 105104.
- [44] Shankar SS, Rai A, Ahmad A, 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.
- [45] Mandal D, Bolander ME, Mukhopadhyay D, et al. The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 69(5): 485-492.
- [46] Bhainsa KC, D'souza S. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2006, 47(2): 160-164.
- [47] Teresa BM, Harnagea C, Dapiaggi M, et al. Ferroelectric BaTiO<sub>3</sub> nanowires by a topochemical solid-state reaction[J]. Chemistry of Materials, 2009, 21(21): 5058-5065.
- [48] Bansal V, Poddar P, Ahmad A, et al. Room-temperature biosynthesis of ferroelectric barium titanate nanoparticles[J]. Journal of the American Chemical Society, 2006, 128(36): 11958-11963.
- [49] Shimizu K, Cha J, Stucky GD, et al. Silicatein alpha: cathepsin L-like protein in sponge biosilica[J]. Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America, 1998, 95(11): 6234-6238.
- [50] Kroger N, Deutzmann R, Bergsdorf C, et al. Species-specific polyamines from diatoms control silica morphology[J]. Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America, 2000, 97(26): 14133-14138.
- [51] Patwardhan SV, Mukherjee N, Steinitz-Kannan M, et al. Bioinspired synthesis of new silica structures[J]. Chemical Communications, 2003(10): 1122-1123.
- [52] Bansal V, Sanyal A, Rautaray D, et al. Bioleaching of sand by the fungus *Fusarium oxysporum* as a means of producing extracellular silica nanoparticles[J]. Advanced Materials, 2005, 17(7): 889-892.
- [53] Narayanan KB, Sakthivel N. Facile green synthesis of gold



- nanostructures by NADPH-dependent enzyme from the extract of *Sclerotium rolfsii*[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2011, 380(1): 156-161.
- [54] Sanghi R, Verma P. A facile green extracellular biosynthesis of CdS nanoparticles by immobilized fungus[J]. Chemical Engineering Journal, 2009, 155(3): 886-891.
- [55] Tang H, Yan M, Zhang H, et al. Preparation and characterization of water-soluble CdS nanocrystals by surface modification of ethylene diamine[J]. Materials Letters, 2005, 59(8): 1024-1027.
- [56] Løver T, Henderson W, Bowmaker GA, et al. Functionalization and capping of a CdS nanocluster: a study of ligand exchange by electrospray mass spectrometry[J]. Chemistry of Materials, 1997, 9(8): 1878-1886.
- [57] Yang YJ, Tao X, Hou Q, et al. Fluorescent mesoporous silica nanotubes incorporating CdS quantum dots for controlled release of ibuprofen[J]. Acta Biomaterialia, 2009, 5(9): 3488-3496.
- [58] Syed A, Ahmad A. Extracellular biosynthesis of CdTe quantum dots by the fungus *Fusarium oxysporum* and their anti-bacterial activity[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2013, 106: 41-47.
- [59] Kowshik M, Vogel W, Urban J, et al. Microbial synthesis of semiconductor PbS nanocrystallites[J]. Advanced Materials, 2002, 14(11): 815-818.
- [60] 徐灿灿, 肖翔, 杜道林. 微生物合成纳米材料及其在环境修复中的应用[J]. 工业安全与环保, 2012, 38(10): 17-19.

## 征 稿 简 则

### 1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、病毒学、酶工程、发酵工程、代谢工程等领域的最新研究成果,产业化新技术和新进展,以及微生物学教学研究和改革等。设置的栏目有:研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、名课讲堂、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会讯等。

### 2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>, 点击作者投稿区,第一次投稿请先注册,获得用户名和密码,然后依照提示提交稿件,详见主页“投稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿,凡不符合(投稿须知)要求的文稿,本部恕不受理。

### 3 写作要求

来稿要求论点明确,数据可靠,简明通顺,重点突出。

#### 3.1 图表

文中的图表须清晰简明,文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm (占半栏),大图的宽度应小于 17 cm (通栏)。

#### 3.2 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码,未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出,多于 3 人时列出前 3 人,后加“等”或“et al.”,作者姓前、名后,名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名必须写完整,不用缩写,不用斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

- [1] Marcella C, Claudia E, Pier GR, et al. Oxidation of cystine to cysteic acid in proteins by peroxyacids as monitored by immobilized pH gradients[J]. Electrophoresis, 1991, 12(5): 376-377
- [2] Bai G, Li Y, Yu YS, et al. Cloning and expression of L-cysteine desulfhydrase from *Pseudomonas* sp. TS1138[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis, 2006, 39(3): 12-15 (in Chinese)  
白钢, 李洋, 余养盛, 等. 假单胞菌 TS1138 L-半胱氨酸脱巯基酶基因的克隆与表达[J]. 南开大学学报: 自然科学版, 2006, 39(3): 12-15
- [3] Shen T, Wang JY. Biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 1990: 87 (in Chinese)  
沈同, 王镜岩. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990: 87
- [4] Liu X. Diversity and temporal-spatial variability of sediment bacterial communities in Jiaozhou Bay[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2010 (in Chinese)
- [5] 刘欣. 胶州湾沉积物细菌多样性及菌群时空分布规律[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2010

脚注(正文首页下方):

基金项目: 基金项目(No. )

\*通讯作者: Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 2015-00-00; 接受日期: 2015-00-00; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-00-00

(下转 p.2546)