

## 微生物介导的金纳米颗粒合成

刘紫嫣<sup>1</sup> 周豪<sup>1,2</sup> 沈娥<sup>1</sup> 王经伟<sup>1</sup> 张照婧<sup>1</sup> 沈文丽<sup>1</sup>  
马桥<sup>1</sup> 曲媛媛<sup>1\*</sup> 周集体<sup>1</sup>

(1. 大连理工大学 环境学院 辽宁 大连 116024)

(2. 大连理工大学 食品与环境学院 辽宁 盘锦 124221)

**摘要:** 金纳米颗粒凭借其独特的光学和电化学特性, 广泛应用于信息存储、化学传感、医学成像、药物传输以及生物标记等领域。近年来, 生物法合成金纳米颗粒因其环境友好、绿色低毒等特点引起研究者的广泛关注。研究表明, 多种微生物包括细菌、放线菌、真菌和病毒等均具有合成金纳米颗粒的能力。本文综述了微生物介导合成金纳米颗粒的特性、机制及应用, 并对未来发展趋势进行了展望。

**关键词:** 生物合成, 微生物, 金纳米颗粒, 合成机制

## Recent advances in microbes-mediated biosynthesis of gold nanoparticles

LIU Zi-Yan<sup>1</sup> ZHOU Hao<sup>1,2</sup> SHEN E<sup>1</sup> WANG Jing-Wei<sup>1</sup> ZHANG Zhao-Jing<sup>1</sup>  
SHEN Wen-Li<sup>1</sup> MA Qiao<sup>1</sup> QU Yuan-Yuan<sup>1\*</sup> ZHOU Ji-Ti<sup>1</sup>

(1. School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian, Liaoning 116024, China)

(2. School of Food and Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Panjin, Liaoning 124221, China)

**Abstract:** Gold nanoparticles (AuNPs) possess unique optical and electrochemical properties, thus they have been used in various fields such as information storage, chemical sensing, medical imaging, drug delivery and biological labeling. In recent years, microbes-mediated biosynthesis of AuNPs has attracted broad attention due to the nontoxic and eco-friendly nature. Various microorganisms such as bacteria, actinomycetes, fungi and viruses can produce AuNPs. The characteristics, synthesis mechanisms and potential applications of biogenic AuNPs are summarized, and the future research trends on biogenic AuNPs are also prospected.

**Keywords:** Biosynthesis, Microorganism, Gold nanoparticles, Synthesis mechanism

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(No. 21176040); 新世纪优秀人才支持计划(No. NCET-13-0077); 中央高校基本科研业务费专项项目(No. DUT14YQ107)

\*通讯作者: Tel: 86-411-84706251; 信箱: qyy007@126.com

收稿日期: 2014-11-03; 接受日期: 2015-01-09; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-01-23

与传统金属材料相比, 纳米尺度的金属粒子具有量子尺寸效应、小尺寸效应、表面效应及宏观量子隧道效应, 同时, 还表现出量子耦合效应、协同效应等纳米结构组合引起的新效应<sup>[1]</sup>。其中, 金纳米颗粒(AuNPs)具有高度的稳定性和独特的光、电、光热性能<sup>[2]</sup>, 在信息存储、化学传感、医学成像、药物传输以及生物标记等一系列领域得到广泛应用<sup>[3-4]</sup>。传统的 AuNPs 合成方法包括物理法和化学法。其中物理合成方法需要复杂的仪器及高能耗的实验条件(如真空、激光烧蚀)<sup>[2]</sup>, 化学方法中使用的封端剂和有机溶剂则不利于 AuNPs 在生物医学领域的应用<sup>[5]</sup>, 并且对环境造成负面的影响<sup>[4,6]</sup>。近年来, 研究者发现利用生物资源可以在相对温和的条件下合成 AuNPs, 其合成过程具有环境友好、绿色低毒等优点<sup>[3]</sup>。在众多生物资源中, 微生物在自然界分布广泛、生长繁殖迅速、易分离培养, 已被广泛应用于 AuNPs 的生物合成研究<sup>[3]</sup>。

微生物合成 AuNPs 的过程, 由于其执行者——微生物具有种类多样性、代谢多样性、代谢条件可控性等特点, 使得合成的 AuNPs 形貌各不相同, 如球形、三角形、六边形、纳米线等。而通过对反应过程的 pH、温度、微生物的量、底物浓度等参数进行调控, 从而实现不同形貌 AuNPs 的定向合成, 并广泛应用于生物传感、生物制药、污染物催化降解等领域。迄今, 微生物合成 AuNPs 的机制尚不明晰, 需要结合先进的化学分析手段与比较基因组、蛋白组等多组学技术共同揭示合成机理。因此, 本文主要从 AuNPs 合成的微生物资源、合成机制、微生物-AuNPs 的表征及其应用等方面进行综述, 并对未来该研究方向的发展进行展望。

## 1 AuNPs 合成的微生物资源

在长期自然进化过程中, 微生物对金属离子产生了独特的脱毒机制, 能够在细胞外部或胞内还原金属离子并合成纳米颗粒<sup>[6]</sup>, 因此微生物被称为“纳米材料加工厂”<sup>[2]</sup>。目前多种微生物, 如细菌、放线菌、真菌、病毒等均已成功应用于 AuNPs 的合成。

表 1 总结了近年来用于 AuNPs 合成的典型微生物资源和相应 AuNPs 的特性。

### 1.1 合成 AuNPs 的细菌

原核生物用于 AuNPs 合成已有诸多报道, 其中细菌催化 AuNPs 形成的条件及还原位点是生物介导 AuNPs 合成的研究热点。早在 1980 年, Beveridge 等就利用 *Bacillus subtilis* 168 在细胞壁上合成 AuNPs, 并利用官能团特异性修饰的方法确定 Au(III)还原位点为细胞壁上的羧基<sup>[10]</sup>。He 等证实 *Rhodopseudomonas capsulata* 能够合成纳米球、纳米片以及纳米线<sup>[14-15]</sup>。Lengke 等利用蓝藻细菌 *Plectonema boryanum* UTEX485 分别与  $\text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$  和  $\text{AuCl}_4^-$  水溶液反应, 合成了具有立方体结构的 AuNPs 以及八面体纳米片, 并且合成方法适用的温度范围较广, 可在 25–100 °C 下进行<sup>[13]</sup>。进一步利用 X 射线吸收近边结构(X-ray absorption near edge structure, XANES)分析表明, 反应过程中 Au(III)-氯化物首先在细菌的代谢下形成 Au(I)-硫化物, 随后 Au(I)-硫化物被进一步还原为 AuNPs, 这一研究首次从化学角度关注了 AuNPs 合成过程中金物种的变化情况<sup>[30]</sup>。本实验室前期从重金属污染土壤中筛选分离得到一株贪铜菌 *Cupriavidus* sp. SHE, 可还原氯金酸合成 AuNPs<sup>[31]</sup>。

### 1.2 合成 AuNPs 的放线菌

放线菌是一类具有丝状分支的细菌, 相对于其他细菌而言, 菌丝比表面积大, 从菌体中分离纳米颗粒的下游处理过程更加简单<sup>[32]</sup>。但是目前关于放线菌合成 AuNPs 的报道相对较少。Ahmad 等利用 *Thermomonospora* sp. 合成平均粒径在 8 nm 左右的 AuNPs, 这是最早利用原核微生物在胞外合成金属纳米颗粒的报道<sup>[17]</sup>。随后, 该研究组还发现 *Rhodococcus* sp. 可以在细胞壁以及细胞质膜上合成粒度 5–15 nm 的 AuNPs, 并且在纳米颗粒形成之后细胞仍在继续繁殖<sup>[18]</sup>。Kalabegishvili 等将 *Arthrobacter* sp. 61B 和 *Arthrobacter globiformis* 151B 培养 36–48 h 后观察到胞外形成球形 AuNPs<sup>[19]</sup>。

表 1 金纳米颗粒(AuNPs)合成典型微生物资源  
Table 1 Typical microorganisms for gold nanoparticles (AuNPs) synthesis

微生物分类 Microorganism	尺寸 Size (nm)	形状 Shape	合成位点 Localization	参考文献 Reference
细菌 Bacteria				
<i>Spirulina platensis</i>	6–10	–	Extracellular	[7]
Sulfate-reducing bacteria	<10 <25	–	Intracellular Extracellular	[8]
<i>Shewanella algae</i>	10–350	Triangular, hexagonal	Periplasmic extracellular	space, [9]
<i>Bacillus subtilis</i> 168	–	–	–	[10]
<i>Bacillus licheniformis</i>	10–100	Cubic	Extracellular	[11]
<i>Escherichia coli</i> K12	Around 50	Nanoplates	Extracellular	[6]
<i>Rhodobacter capsulatus</i>	–	–	Plasma membrane	[12]
<i>Plectonema boryanum</i> UTEX485	<10–25 <10	Cubic Octahedral platelets	Membrane vesicles Intracellular	[13]
<i>Rhodospseudomonas capsulata</i>	10–400 10–30, 50–60	Spherical, triangular, nanoplates Spherical, nanowire	Extracellular –	[14] [15]
<i>Bacillus megatherium</i> D01	1.9±0.8	Spherical	Extracellular	[16]
放线菌 Actinomycetes				
<i>Thermonospora</i> sp.	7–12	Spherical	Extracellular	[17]
<i>Rhodococcus</i> sp.	5–15	–	Cell wall, cytoplasmic membrane	[18]
<i>Arthrobacter</i> sp.	8–40	Spherical	Extracellular	[19]
<i>Streptomyces viridogens</i>	18–20	Spherical, rod shaped	Intracellular	[20]
<i>Saccharomonospora</i> sp.	40–100, 6–8	Triangular, thick	–	[21]
真菌 Fungi				
<i>Neurospora crassa</i>	3–100	Mainly spherical	Intracellular Extracellular	[22]
<i>Colletotrichum</i> sp.	8–40	Spherical	Extracellular	[23]
<i>Schizosaccharomyces cerevisiae</i>	>100	–	Cell wall	[24]
<i>Pichia jadinii</i>	<100	Spherical, triangular, hexagonal	Cytoplasm	[25]
<i>Yarrowia lipolytica</i> NCIM 3589	15	Triangular, hexagonal	Cell wall	[26]
<i>Penicillium</i> sp.	30–50 50	Spherical Spherical	Extracellular Intracellular	[27]
<i>Candida albicans</i>	20–40 60–80	Spherical Nonspherical	– –	[28]
病毒 Virus				
Cowpea chlorotic mottle viruses	9.2±3.9, 23.8±14.5	Spheroidal	Viral surface	[29]

注: –: 未报道.

Note: -: Not reported.

### 1.3 合成 AuNPs 的真菌

真菌是另一类重要的微生物资源,近年来被用于合成不同种类的纳米颗粒,而且相对细菌更具应用潜力。真菌可以分泌大量合成纳米颗粒相关的胞外酶、多肽类物质及次级代谢产物,纳米颗粒产量高且易与真菌分离<sup>[33-34]</sup>。同时,真菌在实验室以及放大的工艺条件下都比较容易生长,具有更好的扩大化应用前景<sup>[35]</sup>。除此之外,真菌合成的 AuNPs 尺寸范围较小、单分散性较好。真菌 *Neurospora crassa* 能够还原  $\text{Au}^{3+}$ , 在细胞内外形成尺寸外形较为均一的 AuNPs<sup>[22]</sup>。酵母菌 *Candida guilliermondii* 能够合成分散性良好的近球状 AuNPs<sup>[25]</sup>。*Penicillium* sp. 细胞滤出液在与氯金酸反应仅 1 min 就能在细胞外合成 AuNPs, 全细胞反应生成胞内 AuNPs 也仅需 8 h, 这说明真菌与细菌、放线菌相比, 在 AuNPs 合成速度上具有很大优势<sup>[27]</sup>。与细菌类似, 反应体系的 pH 也可以显著影响真菌合成 AuNPs 的形貌和尺寸。*Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 在 pH 7.0 和 pH 9.0 下合成的 AuNPs 约为 15 nm 且形状不规则, 而在 pH 2.0 条件下颗粒尺寸增大并在胞外不断聚集, 最终形成规则的三角形和六边形结构<sup>[26]</sup>。

### 1.4 合成 AuNPs 的病毒

病毒属于非细胞生物, 表面凹凸, 具有一定极性和剩余电荷, 这种独特的蛋白表面拓扑结构比较适合分子生物学操作<sup>[29]</sup>。病毒已被报道可以利用脂肪酸、氨基酸等生物小分子作为模板合成量子点材料<sup>[2,36-37]</sup>, 而近年来的研究表明病毒同样是一类新颖的合成 AuNPs 的生物资源。Slocik 等利用 Cowpea chlorotic mottle 病毒的衣壳蛋白 SubE 作为模板合成 AuNPs,  $\text{Au}^{3+}$  的还原过程通过病毒衣壳蛋白表面酪氨酸残基介导的电子传递实现。由于衣壳蛋白的宿主不同, 合成的纳米颗粒尺寸不一致, 在酵母菌 *Pichia pastoris* 中表达的 SubE 和野生型 SubE 合成的 AuNPs 粒径分别为  $9.2 \pm 3.9$  nm 以及  $23.8 \pm 14.5$  nm<sup>[29]</sup>。

在合成 AuNPs 的微生物资源中, 细菌及放线菌

合成 AuNPs 的场所并不固定, 若在胞内形成 AuNPs 还需要通过高温灭菌、差速离心等手段进行分离。而真菌合成 AuNPs 的尺寸比较均一、合成速度快, 适合 AuNPs 的大规模生产并有利于其在生物医学等领域的应用。此外, 病毒作为一类新颖的 AuNPs 生物合成资源尚未得到广泛的研究, 值得研究者深入关注和探索。

## 2 AuNPs 的微生物合成机制

微生物合成金属纳米粒子是复杂的生物化学过程, 其合成机理仍不明晰。通常认为, 微生物为了抵抗外界金属离子的毒性, 能够将金属离子还原成较低价态或形成不溶于水的复合物, 以减轻金属离子对自身的影响<sup>[32]</sup>。在微生物与含金化合物相互作用的研究中, 已有的研究主要针对还原产物 AuNPs 的合成场所、 $\text{Au}^{3+}$  还原的分子基础, 以及调控基因等方面对这种脱毒机制进行探讨和研究, 相关的原理示意图见图 1。

微生物可以在胞内外或细胞膜上还原  $\text{Au}^{3+}$  并形成 AuNPs, 合成位点可能取决于参与还原的酶的亚细胞定位。真菌 *Penicillium* sp. 可在胞外或胞内合成球形 AuNPs<sup>[27]</sup>。放线菌 *Rhodococcus* sp. 合成的 AuNPs 则更多位于细胞膜上, 研究者推测还原过程中涉及到的酶位于细胞壁内侧或位于细胞膜上<sup>[18]</sup>。除了还原  $\text{Au}^{3+}$  过程中酶的亚细胞定位外, pH 也是影响还原场所和合成位置的重要因素<sup>[9]</sup>, 可能是由于 pH 变化使得细胞膜通透性改变, 从而影响  $\text{Au}^{3+}$  进入细胞以及 AuNPs 外排的过程。

研究表明参与还原  $\text{Au}^{3+}$  并稳定 AuNPs 的物质可以是蛋白质、多糖以及小分子物质。Sastry 等发现放线菌 *Thermomonospora* sp. 与氯金酸反应 120 h 之后, 菌体释放出 4 种分子量在 10–80 kD 的蛋白质, 这些蛋白质可能是还原氯金酸或参与包被 AuNPs 的酶<sup>[32]</sup>。酵母菌 *Hansenula anomala* 利用乳酸进行厌氧发酵, 产生的辅酶 NADH 可以调控  $\text{Au}^{3+}$  的还原<sup>[5]</sup>。细胞壁肽聚糖层中多糖的水解产物, 在酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 还原  $\text{Au}^{3+}$  过程中起到重要作用<sup>[24]</sup>。Feng 等观察到光合细菌 *Rhodobacter*

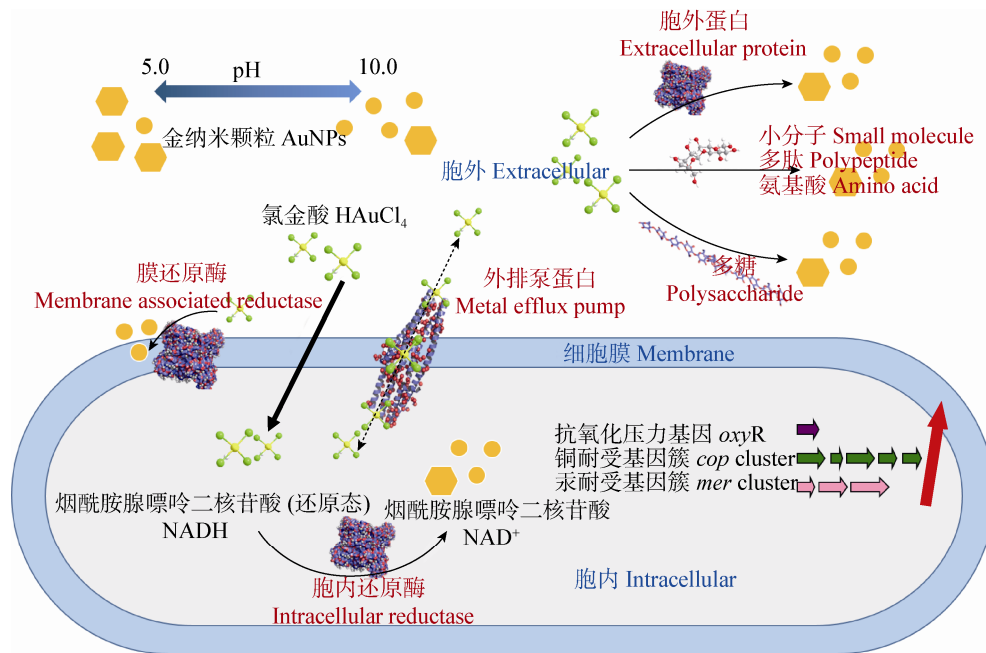


图1 微生物合成 AuNPs 机制

Figure 1 Microbial synthesis mechanism of AuNPs

*capsulatus* 在还原  $\text{Au}^{3+}$  的过程中细胞变为绿色, 推测可能是细胞内的类胡萝卜素参与还原过程, 使原来被掩蔽的叶绿素颜色显现出来。因此, 利用类胡萝卜素参与还原  $\text{Au}^{3+}$  并生成 AuNPs 的过程可能是光合细菌的自我保护机制<sup>[12]</sup>。

在微生物还原  $\text{Au}^{3+}$  形成 AuNPs 的分子机制层面, Reith 等首次对耐金属贫铜杆菌 *Cupriavidus metallidurans* CH34 的金矿化机制进行深入分析。除了采用同步辐射 X 射线荧光成像技术 (Microfocused synchrotron based X-ray fluorescence,  $\mu\text{XRF}$ ) 和 XANES 研究 Au 元素的含量、位置、价态以及复合状态的变化, 研究者还对菌株 CH34 的基因组和转录组进行分析。 $\text{Au}^{3+}$  和菌体孵育一定时间后, 基因簇中特定功能基因上调表达, 如调控耐受氧化压力的基因 *oxyR*、铜耐受基因簇 *cop*、汞耐受基因簇 *mer* 等, 表明菌体耐受  $\text{Au}^{3+}$  受多种响应机制调控。同时,  $\text{Au}^{3+}$  的矿化可能包含外排、还原和甲基化等多个过程<sup>[38]</sup>。Das 等探究真菌 *Rhizopus oryzae* 的金耐受机制发现,  $\text{Au}(\text{III})$  既可以通过静电相互作用与细胞壁结合, 也可以进入胞内并通过共价作用与

胞内蛋白结合, 这两种情况下  $\text{Au}(\text{III})$  在形成 AuNPs 之前均先被还原为  $\text{Au}(\text{I})$ <sup>[39]</sup>, 这与菌株 CH34 还原  $\text{Au}^{3+}$  的机制类似<sup>[38]</sup>。Pontel 等发现菌株 *Salmonella* sp. 中存在  $\text{Au}^{3+}$  特异性诱导的外排泵系统 *gesABC*, 这一外排泵系统属于典型的 CBA 外排泵系统。其中 *gesB* 编码的关键蛋白 GesB (RND 型蛋白) 具有与  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Ag}^+$  转运蛋白完全不同的底物结合基序, 控制胞内  $\text{Au}^{3+}$  浓度不致于对菌株产生致命毒性。这一结果表明  $\text{Au}^{3+}$  可以通过菌株 *Salmonella* sp. 的分子通道进入和排出细胞<sup>[40]</sup>。然而, 关于胞内合成的 AuNPs 是否可以通过外排泵系统排出仍不明确。Kyriacou 等对转运  $\text{Ag}^+$  的 MexA-MexB-OprM 系统进行基因敲除研究, 发现胞内积累 AgNPs 的量显著增加, 表明 AgNPs 的排出可以借助外排泵系统实现<sup>[41]</sup>, 为研究者探索 AuNPs 的外排途径提供借鉴。

有些微生物由于自身的生长和代谢特点, 其合成 AuNPs 的过程比较特殊。例如, 硫酸盐还原菌通过硫代谢途径, 可以利用  $\text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$  中的硫代硫酸根, 使得  $\text{Au}(\text{I})$  在细胞内还原形成 AuNPs, 最终 AuNPs 释放到溶液中形成微米级别的金颗粒<sup>[8]</sup>。

Konishi 等发现厌氧菌 *Shewanella algae* 还原  $\text{Au}^{3+}$  依赖于特殊电子供体  $\text{H}_2$  的存在, 并由此推测氢化酶参与了  $\text{Au}^{3+}$  的生物还原过程<sup>[9]</sup>。

此外, 为获得光电特性和物理化学性质良好的纳米颗粒, AuNPs 的尺寸和形貌的调控机制也是研究热点<sup>[14]</sup>。较低的 pH 使微生物表面的氨基、羧基、巯基等官能团携带更多正电荷, 导致细胞还原能力减弱, 反应速率下降, 而  $\text{AuCl}_4^-$  与微生物表面官能团静电相互作用增强,  $\text{AuCl}_4^-$  可以更接近这些结合位点, 因此  $\text{AuCl}_4^-$  被还原为 Au 原子后大量聚集形成纳米片; 而较高的 pH 使微生物的还原能力增强、还原速率加快, 相应地生成热力学更稳定的球形纳米颗粒<sup>[14]</sup>。He 等利用细胞提取物与较低浓度 (250  $\mu\text{mol/L}$ )  $\text{Au}^{3+}$  反应, 得到 10–20 nm 的球形 AuNPs, 高浓度 (500  $\mu\text{mol/L}$ )  $\text{Au}^{3+}$  下得到网状结构的金纳米线<sup>[15]</sup>。此外, 生物有机分子也可以对 AuNPs 的形貌调控起到作用。*Bacillus megatherium* D01 成功合成硫醇包被的单分散球形 AuNPs, 粒径为  $1.9 \pm 0.8 \text{ nm}$ <sup>[16]</sup>; 香茅醇和香叶醇则可以作为 AuNPs 的稳定剂<sup>[23]</sup>。但小分子对 AuNPs 的具体调控机制还有待进一步研究。因此, pH<sup>[9,14]</sup>、 $\text{Au}^{3+}$  浓度<sup>[15]</sup> 以及外源小分子<sup>[16,23]</sup> 均可作为调控生物合成 AuNPs 特性的重要因素。

### 3 微生物合成 AuNPs 的特性表征

多种技术可以应用于微生物合成 AuNPs 的特性表征及合成场所的亚细胞定位。实际分析过程中, 通常需要将不同表征手段进行结合<sup>[3]</sup>。在常用的表征手段中, 紫外-可见光谱 (UV-vis spectroscopy, UV-vis) 应用最为广泛。由于微生物合成 AuNPs 尺寸存在差异, 导致 AuNPs 表面等离子体共振 (Surface plasmon resonance, SPR) 不同, 反应体系呈现出宝石红色<sup>[15]</sup>、粉色<sup>[26]</sup> 或紫色<sup>[26,30,42]</sup> 等不同颜色, 可以通过 UV-vis 进行分析<sup>[43]</sup>。多数 AuNPs 在 500–550 nm 范围内出现特征吸收谱带, 其最大吸收波长可反映粒径大小<sup>[3]</sup>。本实验室对菌株 *Cupriavidus* sp. SHE 合成的 AuNPs 进行紫外全波表征, AuNPs 的最大吸收峰在 550 nm 左右<sup>[31]</sup>, 这与

其他细菌合成的 AuNPs 类似。傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 被用于分析微生物还原  $\text{Au}^{3+}$  过程中官能团变化情况。*Thermomonospora* sp. 还原氯金酸 120 h 后, FTIR 图谱中出现蛋白质酰胺 I ( $1660 \text{ cm}^{-1}$ ) 和 II ( $1530 \text{ cm}^{-1}$ ) 的吸收峰<sup>[32]</sup>, *Rhodospseudomonas capsulata* 细胞提取物合成的 AuNPs 在  $1450 \text{ cm}^{-1}$  处出现对应蛋白质分子亚甲基剪切振动的吸收峰<sup>[15]</sup>, 这些研究表明蛋白质很可能起到结合并稳定 AuNPs 的作用。X 射线衍射光谱 (X-ray diffraction spectroscopy, XRD) 可以对生物合成的 AuNPs 的晶相、相组成及平均尺寸进行分析。*Yarrowia lipolytica* 还原  $\text{Au}^{3+}$  的产物 XRD 图谱中出现了典型的 [111] 面心立方金晶面结构衍射峰, 证明 AuNPs 以金纳米晶的形态存在, 并根据 Scherrer 公式估测出纳米颗粒尺寸为  $15 \text{ nm}$ <sup>[26]</sup>。X 射线光电子能谱技术 (X-ray photoelectron spectral techniques, XPS)、能量色散 X 射线光谱仪 (Energy dispersive X-ray, EDX/Energy dispersive spectrum, EDS)、XANES 能够对微生物的合成产物进行元素和价态分析。Wen 等对 *Bacillus megatherium* D01 合成 AuNPs 的 XPS 谱图进行分析, 两个结合能为 84.0 eV 和 87.7 eV 的峰分别归属于 Au  $4f_{7/2}$  和 Au  $4f_{5/2}$ <sup>[16]</sup>。真菌 *Rhizopus oryzae* 还原氯金酸后形成的 AuNPs-生物共轭体材料可以对有机磷农药进行吸附, EDX 分析表明这种 AuNPs-生物共轭体材料表面有 S 和 P 元素的吸收峰, 表明有机磷农药分子吸附在材料表面<sup>[42]</sup>。XANES 谱图说明 *Shewanella algae* 休眠细胞可以将溶液中的 Au(III) 还原为金单质<sup>[9]</sup>。 $\mu\text{XRF}$  可用于高精度、小面积的元素分析。Reith 等利用  $\mu\text{XRF}$  分析发现, 随着反应时间增长, Au 元素首先在 *Cupriavidus metallidurans* CH34 细胞质中逐渐积累, 随后部分迁移至细胞周质并形成 AuNPs<sup>[38]</sup>。

AuNPs 的形貌也是研究者们关注的重点。透射电子显微镜 (Transmission electron microscopy, TEM) 可以观察 AuNPs 的形貌并分析粒径大小。Konishi 等利用 TEM 图像得到 AuNPs 在 *Shewanella algae*

细胞中的合成位置及其形状尺寸<sup>[9]</sup>, Lengke 等观察到 AuNPs 附着在 *Plectonema boryanum* UTEX 485 膜囊表面<sup>[13]</sup>。图 2 展示了微生物合成 AuNPs 的几种形貌<sup>[13-15]</sup>。*Cupriavidus* sp. SHE 合成的 AuNPs 大多为球状形貌, 尺寸大约为 20 nm<sup>[31]</sup>。原子力显微镜(Atomic force microscopy, AFM)则可以从三维角度呈现 AuNPs 表面微观形貌。例如 Das 等通过 AFM 图像直观立体的呈现吸附不同农药分子后 AuNPs-生物共轭体结构和表面形态变化<sup>[42]</sup>。其他常用的显微表征技术包括扫描电子显微镜(Scanning electron microscopy, SEM)、场发射扫描电子显微镜(Field emission scanning electron microscopy, FESEM)、高分辨透射电镜(High resonance transmission electron microscopy, HRTEM), 均可对 AuNPs 形貌进行表征<sup>[3,11]</sup>。

#### 4 微生物合成 AuNPs 的应用与展望

AuNPs 凭借优越的光学、电学和热学特性, 在生物技术、工业、电气、药物、医学和农业领域具有广泛的应用前景<sup>[3]</sup>。目前关于微生物合成 AuNPs

的应用报道主要集中于生物医学、生物催化以及污染物检测领域, 并且绝大多数都是由真菌合成的 AuNPs。相比于其他微生物, 真菌合成的 AuNPs 产量大、尺寸较为均一、分散性好、易于分离, 奠定了其在 AuNPs 合成应用方面的基础。Mishra 等考察了真菌 *Penicillium brevicompactum* 合成的 AuNPs 对小鼠胚胎成肌细胞株 C<sub>2</sub>C<sub>12</sub> 癌细胞的毒性效应。随着 Au<sup>3+</sup>浓度和反应时间的增加, C<sub>2</sub>C<sub>12</sub> 癌细胞死亡率随之增加。但是, 这种有效的毒性作用能否应用于抗癌剂的开发还需要深入研究<sup>[44]</sup>。Chauhan 等将酵母菌 *Candida albicans* 细胞质提取物合成的 AuNPs 与肝癌抗体结合, 得到的抗体-AuNPs 复合物可以与肝癌细胞表面抗原进行特异性结合, 成功从正常细胞群体中区分出癌细胞, 证明微生物合成的 AuNPs 在生物医学检测上具有应用潜力<sup>[28]</sup>。同时, 研究表明生物合成的 AuNPs 具有特定催化功能。*Escherichia coli* K12、*Trichoderma viride* 以及 *Hypocrea lixii* 合成的 AuNPs 能够催化对硝基酚降解生成对氨基酚<sup>[6,34]</sup>。*Trichoderma viride* 和 *Hypocrea lixii* 合成的 AuNPs 同时还具有杀灭致病微生物 *Pseudomonas syringae*、*Escherichia coli* 和 *Shigella sonnei* 的性能<sup>[34]</sup>。在有痕量 Hg<sup>2+</sup> (低至 2.6 nmol/L)存在下, *Trichoderma harzianum* 合成的 AuNPs 由于结合 Hg<sup>2+</sup> 从而发生聚合使得粒径增大, 反应体系很快从宝石红色变为灰蓝色, SPR 吸收峰从 532 nm 红移至 540 nm, 并在 720 nm 处出现第二个吸收峰, 通过依赖于 Hg<sup>2+</sup> 浓度的吸光度及吸收波长的变化实现了生物合成 AuNPs 对溶液中 Hg<sup>2+</sup> 简单、灵敏、快速的检测<sup>[45]</sup>。

尽管微生物合成 AuNPs 具有安全、生态友好、经济高效等优点, 但是目前还处于实验研究阶段, 尚存在拟解决的关键技术问题。例如, 微生物合成的 AuNPs 大小形貌相对不均一、合成效率低、不易于扩大化应用等。因此, 在今后的研究中应进一步开展如下工作, 以期早日实现微生物合成 AuNPs 的工业化应用。(1) 纳米颗粒的形貌对其光学性质影响很大<sup>[23]</sup>, 明确微生物还原 Au<sup>3+</sup> 合成特定形貌

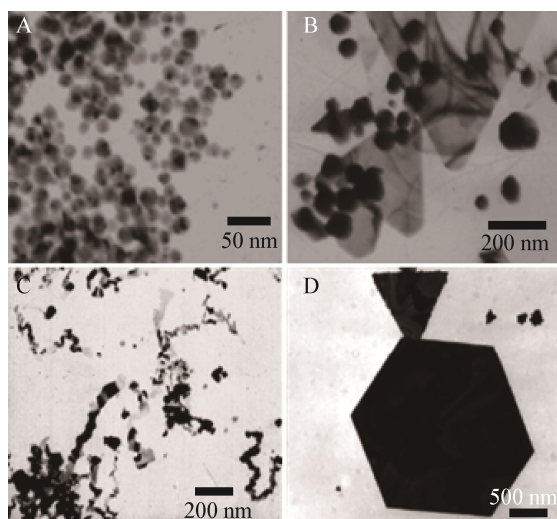


图 2 微生物合成的金纳米颗粒典型形貌

Figure 2 Typical morphologies for biogenic gold nanoparticles

注: A: 球形<sup>[14]</sup>; B: 三角形和球形<sup>[14]</sup>; C: 纳米线<sup>[15]</sup>; D: 六边形和三角形<sup>[13]</sup>。

Note: A: Sphere<sup>[14]</sup>; B: Triangle and sphere<sup>[14]</sup>; C: Nanowire<sup>[15]</sup>; D: Hexagon and triangle<sup>[13]</sup>。

AuNPs 的条件可以使 AuNPs 在相应领域得到更好的应用。通过系统解析 pH、生物小分子以及蛋白浓度对于 AuNPs 形貌的影响机制,将有助于合成功能可控,性能优良的 AuNPs。(2) 微生物合成 AuNPs 的分子层面相关机制还不明晰,有待于从微生物的基因和相关酶入手,利用微生物全基因组测序以及基因敲除等手段挖掘更深层次的机制。(3) 合金纳米颗粒通常比纯金属纳米颗粒具有更优越的物理稳定性、磁性和催化性能<sup>[3]</sup>,而目前微生物合成合金纳米颗粒的相关文献相对较少,因此合金纳米颗粒的微生物合成是一个值得关注的领域。(4) 目前研究涉及的微生物资源绝大多数为纯培养微生物,而近来有报道表明天然存在的厌氧活性污泥可以合成 AuNPs,并在没有任何外加能源的情况下实现原位产氢<sup>[46]</sup>,这一研究表明天然微生物群落合成 AuNPs 的性能及其应用是潜在的研究热点。

## 参 考 文 献

- [1] Yang R, Pan Y, Wang T, et al. Preparation of nanogold and investigation of shape control[J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University, 2014, 31(2): 171-174 (in Chinese)  
杨荣, 潘月, 王驹, 等. 纳米金的制备及形态控制研究[J]. 浙江理工大学学报, 2014, 31(2): 171-174
- [2] Narayanan KB, Sakthivel N. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2010, 156(1/2): 1-13
- [3] Shedbalkar U, Singh R, Wadhvani S, et al. Microbial synthesis of gold nanoparticles: current status and future prospects[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2014, 209: 40-48
- [4] Das SK, Das AR, Guha AK. Microbial synthesis of multishaped gold nanostructures[J]. Small, 2010, 6(9): 1012-1021
- [5] K SK, RA, Arumugam P, et al. Synthesis of gold nanoparticles: an ecofriendly approach using *Hansenula anomala*[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2011, 3(5): 1418-1425
- [6] Srivastava SK, Yamada R, Ogino C, et al. Biogenic synthesis and characterization of gold nanoparticles by *Escherichia coli* K12 and its heterogeneous catalysis in degradation of 4-nitrophenol[J]. Nanoscale Research Letters, 2013, 8(1): 70-78
- [7] Govindaraju K, Basha SK, Kumar VG, et al. Silver, gold and bimetallic nanoparticles production using single-cell protein (*Spirulina platensis*) Geitler[J]. Journal of Materials Science, 2008, 43(15): 5115-5122
- [8] Lengke M, Southam G. Bioaccumulation of gold by sulfate-reducing bacteria cultured in the presence of gold(I)-thiosulfate complex[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2006, 70(14): 3646-3661
- [9] Konishi Y, Tsukiyama T, Tachimi T, et al. Microbial deposition of gold nanoparticles by the metal-reducing bacterium *Shewanella algae*[J]. Electrochimica Acta, 2007, 53(1): 186-192
- [10] Beveridge TJ, Murray RG. Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Bacteriology, 1980, 141(2): 876-887
- [11] Kalishwaralal K, Deepak V, Ram Kumar Pandian S, et al. Biological synthesis of gold nanocubes from *Bacillus licheniformis*[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(21): 5356-5358
- [12] Feng Y, Yu Y, Wang Y, et al. Biosorption and bioreduction of trivalent aurum by photosynthetic bacteria *Rhodobacter capsulatus*[J]. Current Microbiology, 2007, 55(5): 402-408
- [13] Lengke MF, Fleet ME, Southam G. Morphology of gold nanoparticles synthesized by filamentous cyanobacteria from gold(I)-thiosulfate and gold(III)-chloride complexes[J]. Langmuir, 2006, 22(6): 2780-2787
- [14] 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
- [15] He S, Zhang Y, Guo Z, et al. Biological synthesis of gold nanowires using extract of *Rhodospseudomonas capsulata*[J]. Biotechnology Progress, 2008, 24(2): 476-480
- [16] Wen L, Lin Z, Gu P, et al. Extracellular biosynthesis of monodispersed gold nanoparticles by a SAM capping route[J]. Journal of Nanoparticle Research, 2009, 11(2): 279-288
- [17] Ahmad A, Senapati S, Khan MI, et al. Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, *Thermomonospora* sp.[J]. Langmuir, 2003, 19(8): 3550-3553
- [18] Ahmad A, Senapati S, Khan MI, et al. Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete, *Rhodococcus* species[J]. Nanotechnology, 2003, 14(7): 824-828
- [19] Kalabegishvili TL, Kirkesali EI, Rcheulishvili AN, et al. Synthesis of gold nanoparticles by some strains of *Arthrobacter genera*[J]. Journal of Materials Science and Engineering A, 2012, 2(2): 164-173
- [20] Balagurunathan R, Radhakrishnan M, Rajendran RB, et al. Biosynthesis of gold nanoparticles by actinomycete *Streptomyces viridogens* strain HM10[J]. Indian Journal of Biochemistry & Biophysics, 2011, 48(5): 331-335
- [21] Verma VC, Anand S, Ulrichs C, et al. Biogenic gold nanotriangles from *Saccharomonospora* sp., an endophytic actinomycetes of *Azadirachta indica* A. Juss[J]. International Nano Letters, 2013, 3: 21-27
- [22] Castro-Longoria E, Vilchis-Nestor AR, Avalos-Borja M. Biosynthesis of silver, gold and bimetallic nanoparticles using the filamentous fungus *Neurospora crassa*[J]. Colloids and Surfaces B, 2011, 83(1): 42-48
- [23] Shankar SS, 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): 1822-1826
- [24] Lin Z, Wu J, Xue R, et al. Spectroscopic characterization of Au<sup>3+</sup> biosorption by waste biomass of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Spectrochimica Acta A, 2005, 61(4): 761-765
- [25] Mishra A, Tripathy SK, Yun SI. Bio-synthesis of gold and silver



- nanoparticles from *Canadia guilliermondii* and their antimicrobial effect against pathogenic bacteria[J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2011, 11(1): 243-248
- [26] Agnihotri M, Joshi S, Kumar AR, et al. Biosynthesis of gold nanoparticles by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589[J]. Materials Letters, 2009, 63(15): 1231-1234
- [27] Du L, Xian L, Feng JX. Rapid extra-/intracellular biosynthesis of gold nanoparticles by the fungus *Penicillium* sp.[J]. Journal of Nanoparticle Research, 2011, 13(3): 921-930
- [28] Chauhan A, Zubair S, Tufail S, et al. Fungus-mediated biological synthesis of gold nanoparticles: potential in detection of liver cancer[J]. International Journal of Nanomedicine, 2011, 6: 2305-2319
- [29] Slocik JM, Naik RR, Stone MO, et al. Viral templates for gold nanoparticle synthesis[J]. Journal of Materials Chemistry, 2005, 15(7): 749-753
- [30] 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
- [31] Qu YY, Shen E, Ma Q, et al. A strain of *Cupriavidus* sp. and its application in gold synthesis: China, 201410352091.5[P]. 2014-07-24 (in Chinese)  
曲媛媛, 沈娥, 马桥, 等. 一株贪铜菌及其在金合成中的应用: 中国, 201410352091.5[P]. 2014-07-24
- [32] Sastry M, Ahmad A, Khan MI, et al. Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete[J]. Current Science, 2003, 85(2): 162-170
- [33] Shi J, Fan SM, Wu J, et al. Research progress in biosynthesis of gold nanoparticles[J]. Journal of Jishou University, 2012, 33(3): 71-75 (in Chinese)  
石杰, 范淑敏, 吴静, 等. 生物法合成纳米金的研究进展[J]. 吉首大学学报, 2012, 33(3): 71-75
- [34] Mishra A, Kumari M, Pandey S, et al. Biocatalytic and antimicrobial activities of gold nanoparticles synthesized by *Trichoderma* sp.[J]. Bioresource Technology, 2014, 166: 235-242
- [35] Das SK, Marsili E. A green chemical approach for the synthesis of gold nanoparticles: characterization and mechanistic aspect[J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2010, 9(3): 199-204
- [36] Shenton W, Douglas T, Young M, et al. Inorganic-organic nanotube composites from template mineralization of tobacco mosaic virus[J]. Advanced Materials, 1999, 11(3): 253-256
- [37] Ober CK. Persistence pays off[J]. Science, 2002, 296(5569): 859-861
- [38] Reith F, Etschmann B, Grosse C, et al. Mechanisms of gold biomineralization in the bacterium *Cupriavidus metallidurans*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(42): 17757-17762
- [39] Das SK, Liang J, Schmidt M, et al. Biomineralization mechanism of gold by zygomycete fungi *Rhizopus oryzae*[J]. ACS Nano, 2012, 6(7): 6165-6173
- [40] Pontel LB, Audero ME, Espariz M, et al. GolS controls the response to gold by the hierarchical induction of *Salmonella*-specific genes that include a CBA efflux-coding operon[J]. Molecular Microbiology, 2007, 66(3): 814-825
- [41] Kyriacou SV, Brownlow WJ, Xu XH. Using nanoparticle optics assay for direct observation of the function of antimicrobial agents in single live bacterial cells[J]. Biochemistry, 2004, 43(1): 140-147
- [42] Das SK, Das AR, Guha AK. Gold nanoparticles: microbial synthesis and application in water hygiene management[J]. Langmuir, 2009, 25(14): 8192-8199
- [43] Yang YD, Xu JH, Yang LM, et al. Optical properties of gold nanorod and its application in biological imaging and photothermal therapy[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2010(7): 55-62 (in Chinese)  
杨玉东, 徐菁华, 杨林梅, 等. 金纳米棒的光学性质及其在生物医学成像和光热疗法中的应用[J]. 激光与光电子学进展, 2010(7): 55-62
- [44] Mishra A, Tripathy SK, Wahab R, et al. Microbial synthesis of gold nanoparticles using the fungus *Penicillium brevicompactum* and their cytotoxic effects against mouse mayo blast cancer C<sub>2</sub>C<sub>12</sub> cells[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 92(3): 617-630
- [45] Tripathi RM, Gupta R, Singh P, et al. Ultra-sensitive detection of mercury(II) ions in water sample using gold nanoparticles synthesized by *Trichoderma harzianum* and their mechanistic approach[J]. Sensors and Actuators B, 2014, 204: 637-646
- [46] Khan MM, Lee J, Cho MH. Electrochemically active biofilm mediated bio-hydrogen production catalyzed by positively charged gold nanoparticles[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2013, 38(13): 5243-5250