

## 研究报告

马利亚霉菌 *Mariannaea* sp. HJ 合成 TeNPs 及其抗菌和抗氧化性能

于彬, 孙璐, 杨颖, 吴炜泽, 范书伶, 荆佳维, 戴春晓, 曲媛媛\*

大连理工大学环境学院 工业生态与环境工程教育部重点实验室, 辽宁 大连 116024

于彬, 孙璐, 杨颖, 吴炜泽, 范书伶, 荆佳维, 戴春晓, 曲媛媛. 马利亚霉菌 *Mariannaea* sp. HJ 合成 TeNPs 及其抗菌和抗氧化性能[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2245-2255

Yu Bin, Sun Lu, Yang Ying, Wu Weize, Fan Shuling, Jing Jiawei, Dai Chunxiao, Qu Yuanyuan. Antibacterial and antioxidant properties of tellurium nanoparticles synthesized by *Mariannaea* sp. HJ[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2245-2255

**摘要:** 【背景】近年来, 纳米碲(tellurium nanoparticles, TeNPs)在光电、能源和医学等领域的应用增加。微生物合成 TeNPs 具有绿色低毒和条件温和等优势, 受到了广泛关注, 然而目前关于真菌合成 TeNPs 的研究较少。【目的】探究真菌 *Mariannaea* sp. HJ 合成 TeNPs 的能力及其抗菌、抗氧化性能。【方法】利用真菌 *Mariannaea* sp. HJ 合成 TeNPs 并对其合成条件进行优化, 采用扫描电子显微镜、Zeta 电位分析及 X 射线衍射仪对 TeNPs 进行表征。此外, 通过抗菌和抗氧化实验探究 TeNPs 的应用。【结果】菌株 HJ 在菌体湿重为 1.5 g 及  $\text{TeO}_3^{2-}$  浓度为 5 mmol/L 的条件下还原率最高, 合成的 TeNPs 主要为球形; X 射线衍射仪表明 TeNPs 的结构为六方晶系; FTIR 表明羟基、羧基和氨基等官能团可能参与了 TeNPs 的合成。抗菌实验表明, TeNPs 对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)具有良好的抗菌性; 抗氧化实验表明, TeNPs 对 DPPH 自由基具有抑制作用, 当 TeNPs 浓度为 500 mg/L 时抑制率可达 80%。【结论】本实验提供了一种 TeNPs 合成的真菌资源, 这为 TeNPs 的生物合成及应用提供了理论参考。

**关键词:** *Mariannaea* sp. HJ; 生物合成; TeNPs; 抗菌性能; 抗氧化性能

\*Corresponding author: E-mail: qyy@dlut.edu.cn

Received: 2021-10-20; Accepted: 2022-01-20; Published online: 2022-03-23

## Antibacterial and antioxidant properties of tellurium nanoparticles synthesized by *Mariannaea* sp. HJ

YU Bin, SUN Lu, YANG Ying, WU Weize, FAN Shuling, JING Jiawei, DAI Chunxiao, QU Yuanyuan\*

Key Laboratory of Industrial Ecology and Environmental Engineering (Ministry of Education), School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, Liaoning, China

**Abstract:** [Background] In recent years, tellurium nanoparticles (TeNPs) have been widely used in optoelectronics, energy, medicine, and other fields. Featuring mild synthesis conditions and low toxicity, biosynthetic TeNPs have attracted wide attention. However, there are few studies on the synthesis of TeNPs by fungi. [Objective] To investigate the ability of *Mariannaea* sp. HJ to synthesize TeNPs and the antibacterial and antioxidant properties of the TeNPs. [Methods] We used HJ to synthesize TeNPs and optimize the synthesis conditions. XRD, SEM, and DLS were employed to characterize the yielded TeNPs. In addition, we tested the antibacterial and antioxidant properties of TeNPs through experiments. [Results] The optimal synthesis conditions are as follows: 1.5 g (wet weight) of HJ, and  $\text{TeO}_3^{2-}$  at 5 mmol/L. The yielded TeNPs were mainly spherical with a hexagonal crystal system (XRD). FTIR showed that functional groups such as hydroxyl, carboxyl, and amino were involved in the synthesis of TeNPs. The TeNPs inhibited *Staphylococcus aureus* and DPPH (inhibition rate=80% at 500 mg/L). [Conclusion] This study provides a TeNPs-synthesizing fungal strain, which lays a theoretical basis for the biosynthesis and application of TeNPs.

**Keywords:** *Mariannaea* sp. HJ; biosynthesis; TeNPs; antibacterial properties; antioxidant properties

碲(Te)是元素周期表中 VIA 族的一种稀有非金属元素,地壳丰度较低(0.001–0.005 g/t)<sup>[1]</sup>。随着其在光电、能源和医学等领域的应用不断扩展,Te 已经成为了一种“技术关键元素”<sup>[2]</sup>。纳米碲(tellurium nanoparticles, TeNPs)作为一种新型纳米材料,在抗菌、抗氧化和抗癌等医学领域的相关应用已经有了很多报道<sup>[3–5]</sup>。由于具有较强的抗菌性,TeNPs 可被用作抗铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella*)和肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)等致病菌的抗菌药物<sup>[6]</sup>。

TeNPs 常通过化学法或生物法制备而成,化学法主要是采用如硼氢化钠、柠檬酸钠等强还原剂将  $\text{TeO}_3^{2-}$ 、 $\text{TeO}_4^{2-}$  还原成 TeNPs,这一过程往

往需要在特定条件下进行且需要加入封端剂,这些化学物质大多有毒,会对人体造成损害。生物法则通过微生物自身的代谢作用将  $\text{TeO}_3^{2-}$  还原成 TeNPs,这一过程不需要还原剂与封端剂的参与,有反应条件温和、绿色低毒和成本较低等优势<sup>[7]</sup>。目前已报道的可以合成 TeNPs 的微生物资源很多,其中大多数为细菌,如 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1<sup>[8]</sup>、*Bacillus cereus* CC-1<sup>[9]</sup>、*Shewanella baltica*<sup>[10]</sup>、*Pseudomonas* sp. MBR<sup>[11]</sup>和 *Rhodobacter capsulatus* 等<sup>[12]</sup>,具有 TeNPs 合成能力的真菌相对较少,如 *Penicillium chrysogenum* PTCC 5031<sup>[13]</sup>和 *Phanerochaete chrysosporium*<sup>[14]</sup>。

本实验室前期从反应器污泥中筛选得到一株真菌 *Mariannaea* sp. HJ,前期研究表明该菌株具有合成纳米金(gold nanoparticles, AuNPs)

和纳米银(silver nanoparticles, AgNPs)的能力<sup>[15-16]</sup>。本实验考察真菌 HJ 合成 TeNPs 的能力,探究  $\text{TeO}_3^{2-}$  的浓度及 HJ 菌体重量对  $\text{TeO}_3^{2-}$  还原效果的影响,并对还原产物 TeNPs 进行 SEM、DLS、XRD 等表征。此外,对合成的生物 TeNPs 的抗菌及抗氧化性能进行探究,以期 TeNPs 的生物合成提供新的真菌资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株来源

实验所用菌株 *Mariannaea* sp. HJ 为实验室前期从反应器活性污泥中筛选分离得到,已鉴定并保藏在中国普通微生物菌种保藏中心,保藏号为 CGMCC No. 10030<sup>[15]</sup>。菌株 HJ 的 26S rRNA 基因序列上传至 GenBank 数据库,登录号为 KP3302049<sup>[17]</sup>。

#### 1.1.2 培养基

实验采用改良马丁培养基(Martin medium, g/L)<sup>[18]</sup>:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.0,  $\text{MgSO}_4$  0.5, 葡萄糖 5.0。液体培养基在  $0.7 \times 10^5$  Pa 条件下灭菌 15 min 后使用。

#### 1.1.3 主要试剂和仪器

亚碲酸钠( $\text{Na}_2\text{TeO}_3$ , 分析纯),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;硼氢化钠( $\text{NaBH}_4$ , 分析纯),国药集团化学试剂有限公司;其他试剂均为分析纯以上。

紫外可见分光光度计(ultraviolet and visible spectrophotometer, UV-vis), JASCO 公司;高速低温冷冻离心机, Beckman 公司;X 射线衍射仪(X-ray diffractometer, XRD), Rigaku 公司;纳米粒度及 Zeta 电位分析仪(dynamic light scattering, DLS), Malvern 公司;傅里叶变换近红外光谱仪(Fourier transform near infrared spectrometer, FTIR), Bruker 公司;高分辨钨灯

丝扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM), HITACHI 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 不同湿重菌株对 $\text{TeO}_3^{2-}$ 的还原

使用改良的马丁培养基培养菌株 HJ 5 d 后,将菌液通过  $0.22\mu\text{m}$  滤膜过滤,吸干菌体表面水分。将 5 份湿重分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 和 3.0 g 的菌株 HJ 重悬在 20 mL 的磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer solution, PBS) (pH 8.0) 中,加入  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$ ,使最终浓度均为 1.0 mmol/L。将菌液置于 20 °C、150 r/min 的摇床中恒温避光培养 7 d,待反应完全后测  $\text{TeO}_3^{2-}$  的还原率。

#### 1.2.2 菌株 HJ 对不同浓度 $\text{TeO}_3^{2-}$ 的还原

取湿重 1.5 g 的菌株 HJ 重悬在 20 mL 的 PBS 缓冲液(pH 8.0)中,加入 1 mmol/L 的  $\text{TeO}_3^{2-}$ ,取样间隔为 24 h,改变加入的  $\text{TeO}_3^{2-}$  浓度,使其分别为 3、5 和 10 mmol/L,重复上述步骤,绘制不同浓度的  $\text{TeO}_3^{2-}$  还原曲线。使用一级动力学方程  $t = K \ln(C/C_0) + b$  对菌株 HJ 还原不同浓度  $\text{TeO}_3^{2-}$  的效率进行了拟合,其中  $K$  为一级动力学系数, $C$  和  $C_0$  分别表示  $\text{TeO}_3^{2-}$  的剩余浓度与初始浓度, $b$  为常数。

#### 1.2.3 不同生长时期菌株 HJ 对 $\text{TeO}_3^{2-}$ 的还原

分别取处于对数前期、对数中期及稳定期的菌株 HJ 各 4 份,每份湿重为 1.5 g,重悬在 20 mL 的 PBS (pH 8.0)中,向处于每个时期的 4 份 HJ 菌液中分别加入 1、3、5 和 10 mmol/L 的  $\text{TeO}_3^{2-}$ ,所有菌液均置于 20 °C、150 r/min 的摇床中恒温避光培养 7 d,待反应完全后测  $\text{TeO}_3^{2-}$  的还原率。

#### 1.2.4 $\text{TeO}_3^{2-}$ 还原率测定

分别取 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mmol/L 的  $\text{TeO}_3^{2-}$  2 mL,加入  $\text{NaBH}_4$  至最终浓度为 0.035 mmol/L,在 60 °C 条件下水浴加热 10 min 后常温静置 5 min,在 500 nm 处测量其吸光度

并绘制标准曲线<sup>[19]</sup>。样品在 20 °C、8 000 r/min 条件下离心 10 min, 将上清液通过 0.22  $\mu\text{m}$  孔径的滤膜以除去残留的 TeNPs。取 2 mL 滤液测样品的吸光度并根据标准曲线计算  $\text{TeO}_3^{2-}$  还原率。

### 1.2.5 TeNPs 的表征

扫描电子显微镜(SEM)观察: 将菌液在 3 500 r/min、20 °C 离心 5 min, 取 2 mL 含 TeNPs 的上清液于离心管中, 在 4 °C、8 000 r/min 条件下离心 10 min, 然后用 PBS 缓冲液清洗 2 次。弃去上清液, 将 TeNPs 沉淀重悬在 2.5% (体积分数)戊二醛溶液中, 于 4 °C 条件下放置 4 h, 之后依次用 30%、50%、75%、90%、95% (体积分数)乙醇梯度淋洗, 然后放置 5 min, 在 4 °C、8 000 r/min 条件下离心 10 min, 最后用无水乙醇保存备用。将剩余 HJ 菌体破碎后再次离心, 取 2 mL 含有 TeNPs 及少量菌丝的上清液于离心管中, 重复上述步骤。检验前将样品滴在洁净的硅片上, 自然风干后通过真空离子溅射喷镀铂金膜, 利用 SEM 观察胞外与胞内合成 TeNPs 的形态。

X 射线衍射仪(XRD)分析: 取适量 TeNPs 溶液, 在 8 000 r/min 条件下离心 10 min 后弃去上清液, 将沉淀在 70 °C 的条件下干燥 6 h, 干燥后的粉末用玛瑙研钵充分研磨, 制成 TeNPs 样品。使用 X 射线衍射仪对样品进行物相分析, 射线源为 Cu-K $\alpha$  辐射, 波长  $\lambda=0.1541\text{ nm}$ , 工作电压 12 kW,  $2\theta$  扫描区间 20°–80°, 扫描速度为每分钟 5°。

傅里叶变换近红外光谱仪(FTIR)检测: 取适量 TeNPs 溶液, 在 8 000 r/min 条件下离心 10 min 后弃去上清液, 将沉淀在 70 °C 下烘干 6 h 至粉末完全干燥。另取一定量菌株 HJ 在 70 °C 下烘干 6 h 至粉末, 将干燥后的两种待测样品分别与适量溴化钾粉末混合后在玛瑙研钵中充分研磨, 将粉末经压片处理后使用傅里叶变换近红

外光谱仪在 400–4 000  $\text{cm}^{-1}$  测量其吸收光谱, 扫描速率为 5 kHz, 每 2 nm 采集一次数据。

纳米粒度及 Zeta 电位分析仪(DLS)测量: 使用 20 mL PBS 培养 1.5 g 菌株 HJ, 分别加入 1、3、5 和 10 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$ , 待完全还原后在 8 000 r/min 条件下离心 10 min, 弃去上清液, 将 TeNPs 沉淀用去离子水重新溶解, 在 20 °C 条件下超声 5 min 后经纳米粒度及 Zeta 电位分析仪测量其粒径分布及 Zeta 电位。

### 1.2.6 TeNPs 抗菌性能测试

将 *S. aureus* 和大肠杆菌(*Escherichia coli*) BL21 稀释涂布在 LB 固体培养基上, 放置 4 片滤纸片于平板上, 分别滴加 10  $\mu\text{L}$  的无菌水、0.1 mmol/L TeNPs 溶液、0.1 mmol/L  $\text{NaTeO}_3$  溶液和四环素溶液, 在 30 °C 条件下恒温培养 24 h, 观察滤纸片周围形成的抑菌圈以判断其抗菌性能<sup>[20]</sup>。

### 1.2.7 TeNPs 抗氧化性能测试

首先, 配制 0.1 mmol/L 的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)溶液(避光放置)。然后将 TeNPs 样品配成 1 g/L 的母液, 配制浓度为 50、100、200 和 500 mg/L 的 TeNPs 溶液, 向不同浓度 TeNPs 溶液中各加入 3 mL DPPH 溶液, 避光反应 30 min 后, 取 2 mL 溶液在 8 000 r/min 条件下离心 5 min, 取 1 mL 上清液在 517 nm 处测量其吸光度并计算 DPPH 抑制率<sup>[21]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株 HJ 还原 $\text{TeO}_3^{2-}$ 条件优化结果

实验考察了加入的  $\text{TeO}_3^{2-}$  浓度及 HJ 菌体重量对  $\text{TeO}_3^{2-}$  还原率的影响, 以探究菌株 HJ 合成 TeNPs 的最优条件。图 1A 表明, 菌株 HJ 对 4 种浓度的  $\text{TeO}_3^{2-}$  均具有良好的还原能力。图 1B 表明, 7 d 后菌株 HJ 对 4 种浓度  $\text{TeO}_3^{2-}$  的还原



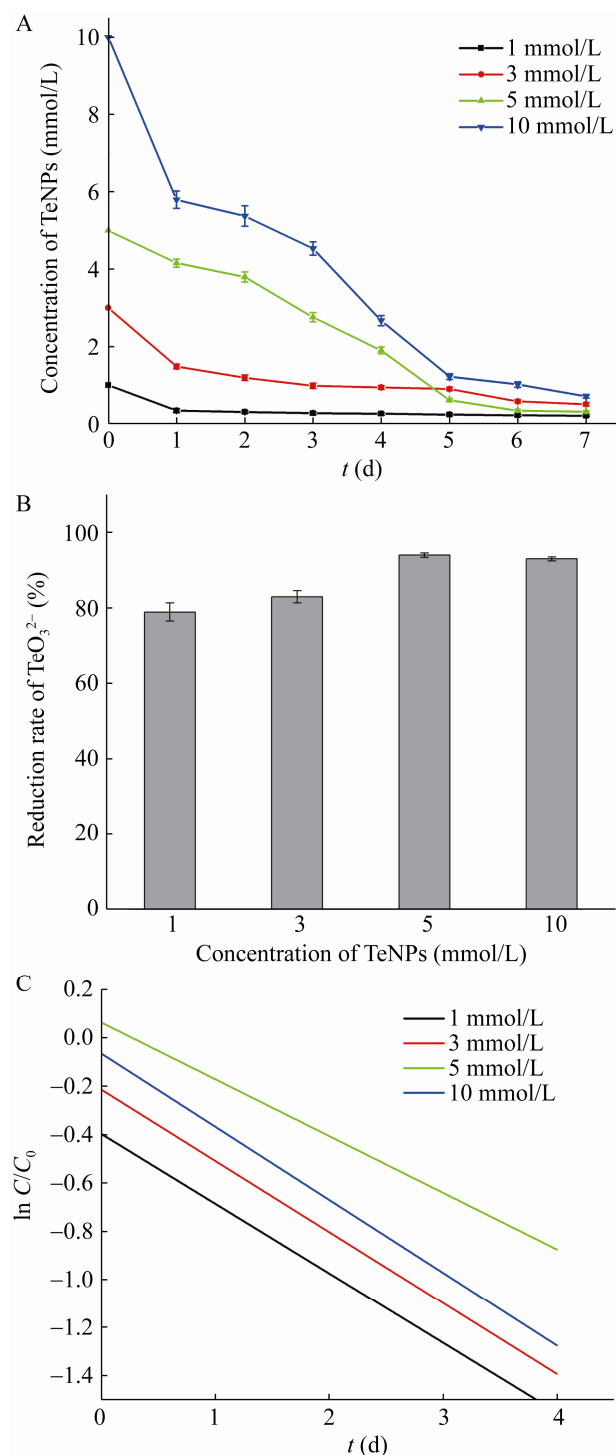


图1 菌株 HJ 对 1、3、5 和 10 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  的还原曲线(A)、还原率(B)及一级动力学曲线(C)  
Figure 1 The reduction curve of strain HJ to 1, 3, 5 and 10 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  (A) reduction rate, (B) and first order dynamic curve (C).

率分别为 79%、83%、94% 和 93%，其中对 5 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  的还原率最高。图 1C 表明，还原时间与  $\text{TeO}_3^{2-}$  浓度变化  $\ln(C/C_0)$  呈线性相关关系，4 种浓度的一级动力学系数分别为 -0.16、-0.22、-0.40 和 -0.38， $R^2$  分别为 0.90、0.90、0.94 和 0.96。陈光玮等利用蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) CC-1 还原  $\text{TeO}_3^{2-}$ ，对 0.5 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  的 2 d 还原率为 80% 左右，对 1.0 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  的 2 d 还原率仅为 50% 左右，而对 2.0 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  的 2 d 还原率则不足 40%，这可能是由于其对高浓度  $\text{TeO}_3^{2-}$  的耐受性较差导致<sup>[9]</sup>。与其相比，菌株 HJ 对高浓度  $\text{TeO}_3^{2-}$  表现出较高的还原率，这可能是因为高浓度  $\text{TeO}_3^{2-}$  相较于低浓度  $\text{TeO}_3^{2-}$  毒性更大，对真菌 HJ 生长的胁迫作用更强，因此 HJ 细胞为了生存就会分泌更多的酶与谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 等还原性物质，使  $\text{TeO}_3^{2-}$  浓度降低至安全浓度，从而使相同质量真菌 HJ 对高浓度  $\text{TeO}_3^{2-}$  的还原率更高。

图 2 表明，当加入 HJ 湿重为 1.5 g 以下时， $\text{TeO}_3^{2-}$  还原率随加入的 HJ 湿重增大而增高。在加入菌株湿重大于 1.5 g 时， $\text{TeO}_3^{2-}$  还原率变化

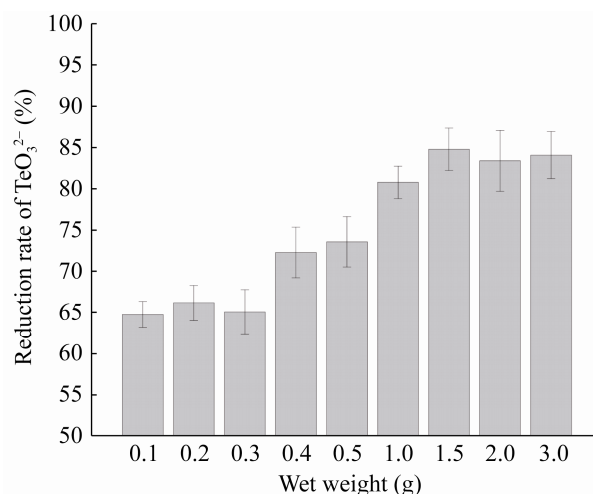


图2 不同湿重 HJ 对 1 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  的还原率  
Figure 2 The reduction rate of 1 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  with different biomass of strain HJ.

幅度较小。这可能是因为 1.5 g HJ 所分泌的还原性物质已经实现了对  $\text{TeO}_3^{2-}$  的充分还原，继续增大 HJ 湿重也不会使还原率进一步提高。

2.2 不同生长时期的菌株 HJ 还原  $\text{TeO}_3^{2-}$  能力

图 3 表明，对数前期、对数中期及稳定期的菌株 HJ 均具有还原  $\text{TeO}_3^{2-}$  的能力，稳定期 HJ 的  $\text{TeO}_3^{2-}$  7 d 还原率更高。当  $\text{TeO}_3^{2-}$  浓度增大至 10 mmol/L 时，对数中期与稳定期的菌株 HJ 均表现出较强的还原能力，而对数前期的菌株 HJ 则表现出较弱的还原能力，这可能是对数前期的 HJ 细胞分泌的还原性物质较少导致的。

2.3 TeNPs 的表征

为了观察合成 TeNPs 的尺寸和形貌，首先对菌液进行过滤，而后分别利用 SEM 对上清液、HJ 细胞破碎物及菌体表面进行表征，图 4 表明上清液、细胞破碎物及菌体表面的 TeNPs 均为球形或伪球形。Barabadi 等利用产黄青霉菌 (*Penicillium chrysogenum*) PTCC 5031 合成的 TeNPs 形态也为球形<sup>[13]</sup>，这与本实验结果相同。

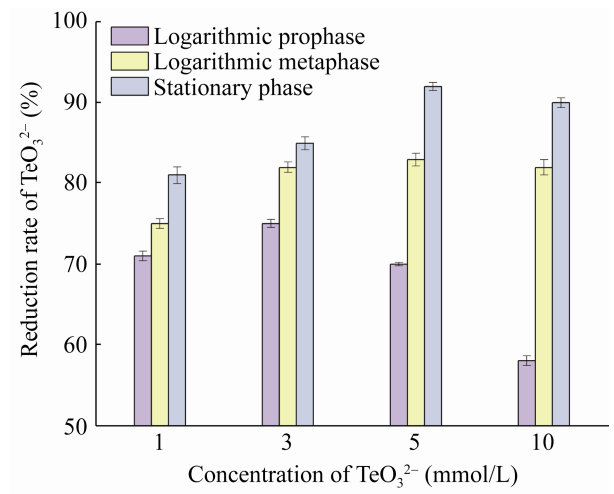


图 3 对数前期、对数中期及稳定期 HJ 对 1、3、5 和 10 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  还原率  
Figure 3 The reduction rates of 1, 3, 5 and 10 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  with HJ in logarithmic prophase, logarithmic metaphase and stationary phase.

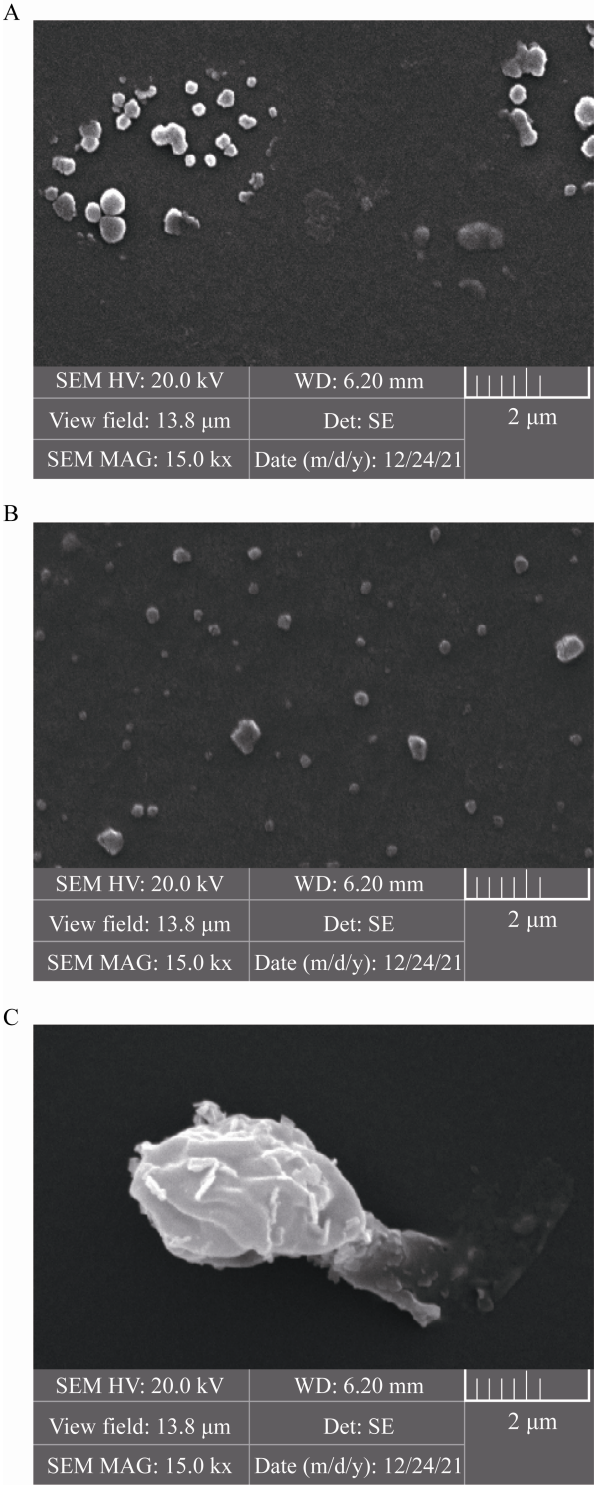


图 4 TeNPs 的 SEM 图 A: 上清液; B: 细胞破碎物; C: 菌体表面  
Figure 4 SEM images of TeNPs. A: Supernatant; B: Cell fragments; C: Cell surface.

使用 DLS 分别测量加入 1、3、5 和 10 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  合成 4、5、6、7 和 8 d 后产物 TeNPs 的粒径。图 5A 表明, 随着合成时间的增加, TeNPs 的粒径逐渐增大。图 5B 表明, 当合成时间达到 5 d 以后, TeNPs 表面 Zeta 电位处在  $-25 \sim -40$  mV, 稳定性较好<sup>[22]</sup>。Barabadi 等利用青霉菌 PTCC 5031 合成的 TeNPs 平均粒径为 50.16 nm, 与本实验合成的 TeNPs 相比粒径较小, 但表面 Zeta 电位仅为  $-17.4$  mV, 稳定性较差<sup>[13]</sup>。

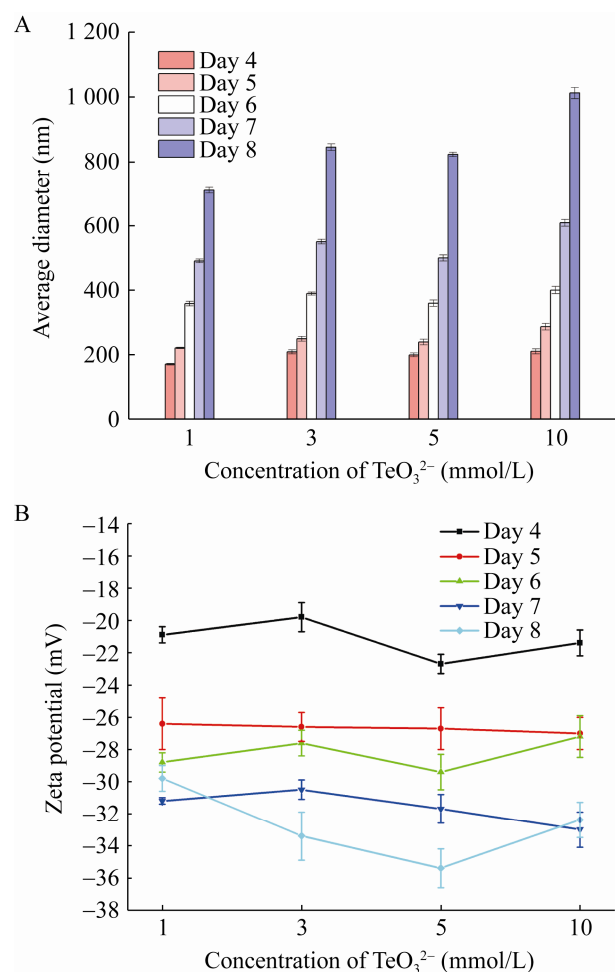


图 5 加入不同浓度  $\text{TeO}_3^{2-}$  合成 TeNPs DLS 图 (A) 和 Zeta 电位图 (B)

Figure 5 DLS graph of adding different concentrations of  $\text{TeO}_3^{2-}$  to synthesize TeNPs (A) and Zeta potential (B).

对合成的 TeNPs 进行 XRD 分析, 结果如图 6 所示, 与 Te 的 JCPDS 标准卡进行比对后发现,  $2\theta$  在  $23.02^\circ$ 、 $27.55^\circ$ 、 $38.25^\circ$ 、 $40.44^\circ$ 、 $49.63^\circ$ 、 $56.88^\circ$  和  $62.79^\circ$  处出现的 7 个衍射峰均为碲的特征衍射峰, 分别对应着六方晶系结构的 (100)、(101)、(012)、(110)、(021)、(202) 和 (113) 晶面, 以 (101) 晶面为主导, 可以确定合成了 Te 单质。Vaigankar 等利用波罗的海希瓦氏菌 (*Shewanella baltica*) 合成了 TeNPs, XRD 分析结果表明其晶型与本实验合成的 TeNPs 相同<sup>[23]</sup>。

为了探究菌株 HJ 合成 TeNPs 的机理, 对菌株 HJ 及合成的 TeNPs 进行 FTIR 表征, 结果如图 7 所示, 二者在  $\sim 3258$ 、 $\sim 2926$ 、 $\sim 2851$ 、 $\sim 1743$ 、 $\sim 1668$ 、 $\sim 1548$ 、 $\sim 1412$  和  $\sim 1115$   $\text{cm}^{-1}$  等波长均存在特征吸收峰。查阅相关文献得知,  $\sim 3258$   $\text{cm}^{-1}$  为 O-H 伸缩振动峰;  $\sim 2926$   $\text{cm}^{-1}$  和  $\sim 2851$   $\text{cm}^{-1}$  为 C-H 伸缩振动产生的特征吸收峰;  $\sim 1743$   $\text{cm}^{-1}$  为  $-\text{COOH}$  特征吸收峰;  $\sim 1668$   $\text{cm}^{-1}$  和  $\sim 1548$   $\text{cm}^{-1}$  分别为氨基 I 与氨基 II 的特征吸收峰;  $\sim 1412$   $\text{cm}^{-1}$  处可能为 C-H 变形振动产生的特征峰;  $\sim 1115$   $\text{cm}^{-1}$  可能为  $-\text{CN}$  伸缩振

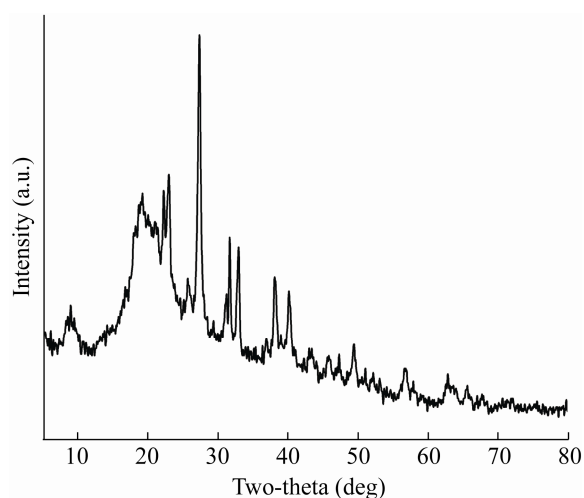


图 6 合成 TeNPs 的 XRD 分析

Figure 6 XRD analysis of synthesized TeNPs.

动产生的特征吸收峰<sup>[24-25]</sup>。相对于 HJ 而言,合成的 TeNPs 在 $\sim 1\,308\text{ cm}^{-1}$ 、 $\sim 1\,240\text{ cm}^{-1}$ 处存在特征峰,可能存在环氧基中 C-O 的伸缩振动和环氧键的对称伸缩振动。然而 $\sim 1\,161\text{ cm}^{-1}$ 处存在的特征峰可能为环氧基 C 骨架振动产生的特征吸收峰<sup>[26]</sup>。推测含有 -CH、-CO、-OH、-COOH、氨基 I、氨基 II 和 -CN 等官能团的生物分子附着在 TeNPs 表面,这些生物分子可能参与了 TeNPs 的合成及稳定过程。TeNPs 表面可能存在有环氧键,由此推断 TeNPs 的合成过程可能伴随着环氧基的形成。Raghavendra 等<sup>[4]</sup>利用芦荟提取物合成了 TeNPs,并对合成的 TeNPs 进行 FTIR 表征,结果表明, -OH、-COOH、-CH 等官能团参与了 TeNPs 的合成,这与本实验结果相似。

## 2.4 TeNPs 的抗菌性能

纳米颗粒的抗菌性能与其粒径大小相关,纳米颗粒的粒径越小,其展现出的抗菌能力越强<sup>[8,27]</sup>。本实验对生物法合成的 TeNPs 抗菌性能进行探索,针对 *S. aureus* 和 *E. coli* BL21 进行了抗菌性能测试,实验所用 TeNPs 为加入

5 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  合成 5 d 得到,其粒径平均值为 239.4 nm,结果如图 8 所示。

两组实验均采用无菌水、 $\text{Na}_2\text{TeO}_3$  及四环素进行对比,对生物合成的 TeNPs 抗菌性能进行考察。根据抗菌实验标准测试方法(SNV 195920—1992),当平板上的滤纸片周围出现直径大于 1 mm 的抑菌圈时即可认为该样品具有明显的抑菌能力<sup>[28]</sup>。图 8A 中 TeNPs 对 *S. aureus* 的抑菌圈大于 1 mm,表现出良好的抗菌性,其效果与 5 mg/L 四环素相当,而图 8B 中几乎未观

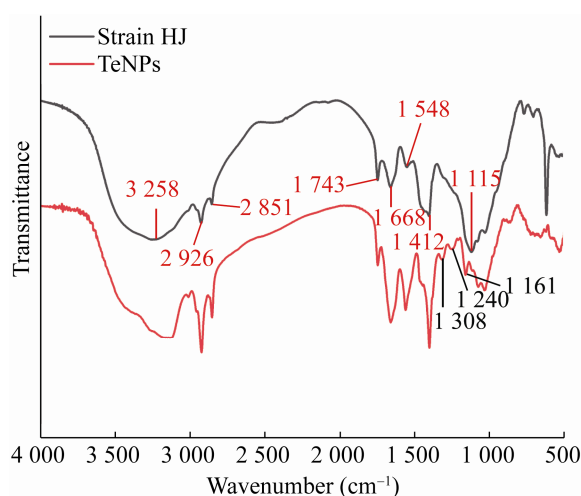


图 7 合成 TeNPs 的 FTIR 分析

Figure 7 FTIR analysis of TeNPs.

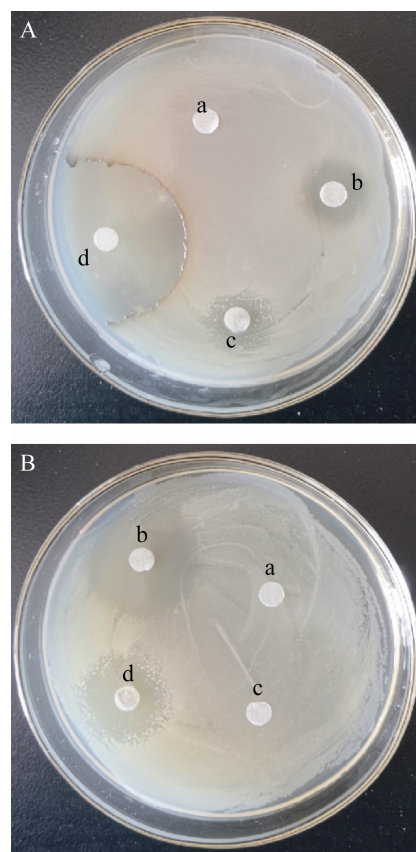


图 8 TeNPs 对 *S. aureus* (A)和 *E. coli* BL21 (B) 的抗菌性 a、b、c、d 分别滴加 10  $\mu\text{L}$  无菌水、四环素、0.1 mmol/L TeNPs 和 0.1 mmol/L  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$   
Figure 8 Antibacterial activity of TeNPs against *S. aureus* (A) and *E. coli* BL21 (B). a, b, c and d are respectively added 10  $\mu\text{L}$  sterile water, tetracycline, 0.1 mmol/L TeNPs and 0.1 mmol/L  $\text{Na}_2\text{TeO}_3$ .



察到 TeNPs 对 *E. coli* BL21 的抑菌圈, 表明本实验生物合成的 TeNPs 对革兰氏阳性菌具有较强的抗菌作用, 而对革兰氏阴性菌的抗菌作用不明显。Raghavendra 等<sup>[4]</sup>研究发现, 利用芦荟提取物还原  $\text{TeO}_3^{2-}$  合成的 TeNPs 对 *S. aureus* 具有抗菌性, 这与本实验结果一致。Srivastava 等探究了盐矿盐球菌(*Halococcus salifodinae*) BK<sub>3</sub> 合成 TeNPs 的抗菌性能, 发现其对革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌均具有抗菌性<sup>[27]</sup>, 这可能是由于真菌与古菌合成 TeNPs 的粒径及形状存在差异。

### 2.5 TeNPs 抗氧化性能

DPPH 是一种结晶形态的物质, 在溶液中呈深紫色, 能够产生游离的自由基。一旦游离的自由基被氧化, DPPH 溶液的颜色就会由紫色变为黄色或橙色, 这一特性常被用来评估抗氧化活性<sup>[29]</sup>。本实验对 TeNPs 的抗氧化性能进行了考察, 使用的 TeNPs 为加入 5 mmol/L  $\text{TeO}_3^{2-}$  合成 5 d 得到, 其粒径平均值为 239.4 nm, 结果如图 9 所示。TeNPs 对于 DPPH 的抗氧化性能良好, 在加入 TeNPs 浓度为 200 mg/L 时开始观察到颜色变化, 当浓度达到 500 mg/L 时由紫色变为橙色, DPPH 抑制率达到 80%。Vahidi 等

考察了生物源 TeNPs 的抗氧化性能, 当加入 TeNPs 浓度为 500 mg/L 时 DPPH 抑制率达 66%<sup>[29]</sup>。相比而言, 本实验合成的 TeNPs 抗氧化性能更强。

## 3 讨论与结论

本实验考察了菌株 *Mariannaea* sp. HJ TeNPs 的合成能力并探究其最优合成条件, 对该条件下的产物进行了 XRD、DLS、FTIR 和 SEM 表征, 考察了其对于革兰氏阳性菌 *S. aureus* 和革兰氏阴性菌 *E. coli* BL21 的抗菌性及对自由基 DPPH 的抗氧化性, 具体结论如下:

(1) 真菌 HJ 具有良好的 TeNPs 合成能力, 在菌株 HJ 湿重为 1.5 g 及  $\text{TeO}_3^{2-}$  浓度为 5 mmol/L 条件下还原速率最快, 还原率达到了 94%。

(2) 真菌 HJ 合成的 TeNPs 为球形, 粒径随合成时间增加而增大, 晶体结构为六方晶系, 以(101)晶面为主导, -CH、-CO、-OH、-COOH、氨基 I、氨基 II 和 -CN 等官能团可能参与了 TeNPs 的合成及稳定过程, 同时过程中可能伴随有环氧基的产生。

(3) 真菌 HJ 合成的 TeNPs 对革兰氏阳性菌 *S. aureus* 具有抗菌性及良好的抗氧化性, 当 TeNPs 浓度为 500 mg/L 时, 其对自由基 DPPH 的抑制率可达到 80%以上。

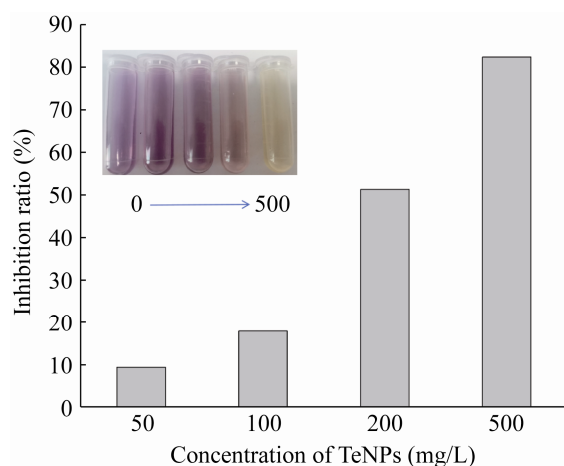


图 9 TeNPs 抗氧化实验

Figure 9 Antioxidant experiment of TeNPs.

## REFERENCES

- [1] Makuei FM, Senanayake G. Extraction of tellurium from lead and copper bearing feed materials and interim metallurgical products: a short review[J]. Minerals Engineering, 2018, 115: 79-87
- [2] Zambonino MC, Quizhpe EM, Jaramillo FE, Rahman A, Santiago Vispo N, Jeffryes C, Dahoumane SA. Green synthesis of selenium and tellurium nanoparticles: current trends, biological properties and biomedical applications[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(3): 989
- [3] Duan LQ, Liu T, Chen TF. Near-infrared

- laser-triggered drug release in a tellurium nanosystem for simultaneous chemo-photothermal cancer therapy[J]. *Biomaterials Science*, 2021, 9(5): 1767-1778
- [4] Raghavendra GM, Jayaramudu T, Varaprasad K, Sadiku R, Ray SS, Mohana Raju K. Cellulose-polymer-Ag nanocomposite fibers for antibacterial fabrics/skin scaffolds[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 93(2): 553-560
- [5] Castro L, Li J, González F, Muñoz JA, Blázquez ML. Green synthesis of tellurium nanoparticles by tellurate and tellurite reduction using *Aeromonas hydrophila* under different aeration conditions[J]. *Hydrometallurgy*, 2020, 196: 105415
- [6] Wu SJ, Li TF, Xia X, Zhou ZJ, Zheng SX, Wang GJ. Reduction of tellurite in *Shinella* sp. WSJ-2 and adsorption removal of multiple dyes and metals by biogenic tellurium nanorods[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2019, 144: 104751
- [7] 杨婧, 林宇星, 刘莘轶, 张珩琳, 裴晓芳, 曲媛媛. 利用 *Mariannaea* sp. HJ 菌株胞内提取物合成纳米银及其抗菌特性研究[J]. *微生物学报*, 2020, 60(4): 749-758
- Yang J, Lin YX, Liu YL, Zhang HL, Pei XF, Qu YY. Biosynthesis of silver nanoparticles by the cell-free extracts of *Mariannaea* sp. HJ and their antimicrobial characteristics research[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(4): 749-758 (in Chinese)
- [8] Zonaro E, Lampis S, Turner RJ, Qazi SJS, Vallini G. Biogenic selenium and tellurium nanoparticles synthesized by environmental microbial isolates efficaciously inhibit bacterial planktonic cultures and biofilms[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 584
- [9] 陈光玮, 张雷, 杨重, 周豪. *Bacillus cereus* CC-1 的亚碲酸盐还原特性及产物表征[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(10): 3151-3160
- Chen GW, Zhang L, Yang Z, Zhou H. Tellurite reduction characteristics of *Bacillus cereus* CC-1 and product characterization[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(10): 3151-3160 (in Chinese)
- [10] 张伟宏, 宋圆圆, 张燕, 赵蕊, 何月, 郭建博. 还原型谷胱甘肽调控 *Shewanella oneidensis* MR-1 降解亚碲酸盐[J]. *中国环境科学*, 2019, 39(6): 2437-2443
- Zhang WH, Song YY, Zhang Y, Zhao R, He Y, Guo JB. The regulated characteristics and mechanism of tellurite bio-reduction by reduced glutathione (GSH) with *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *China Environmental Science*, 2019, 39(6): 2437-2443 (in Chinese)
- [11] 张亮, 何晓红, 张礼霞, 陶勇, 王晓梅, 占国强, 李大平. 一株假单胞菌 MBR 对亚碲酸盐的好氧还原特征[J]. *应用与环境生物学报*, 2011, 17(1): 126-129
- Zhang L, He XH, Zhang LX, Tao Y, Wang XM, Zhan GQ, Li DP. Characterization of aerobic reduction of tellurite by *Pseudomonas* sp. MBR[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2011, 17(1): 126-129 (in Chinese)
- [12] Borghese R, Brucale M, Fortunato G, Lanzi M, Mezzi A, Valle F, Cavallini M, Zannoni D. Extracellular production of tellurium nanoparticles by the photosynthetic bacterium *Rhodobacter capsulatus*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 309: 202-209
- [13] Barabadi H, Kobarfard F, Vahidi H. Biosynthesis and characterization of biogenic tellurium nanoparticles by using *Penicillium chrysogenum* PTCC 5031: a novel approach in gold biotechnology[J]. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 2018, 17(Suppl2): 87-97
- [14] Espinosa-Ortiz EJ, Rene ER, Guyot F, Van Hullebusch ED, Lens PNL. Biomineralization of tellurium and selenium-tellurium nanoparticles by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 124: 258-266
- [15] 曲媛媛, 李会杰, 张旭旺, 沈文丽, 厉舒祯, 王经纬, 张照婧, 马桥, 刘紫嫣, 李端行, 等. 一株马利亚霉菌及其在金纳米材料合成中的应用: CN104673679B[P]. 2017-07-21
- Qu YY, Li HJ, Zhang XW, Shen WL, Li SZ, Wang JW, Zhang ZJ, Ma Q, Liu ZY, Li DX, et al. *Mariannaea* sp. HJ strain and application thereof in synthesis of gold nano material: CN104673679B[P]. 2017-07-21 (in Chinese)
- [16] 房皓, 闫永全, 居子逸, 廉昇阳, 裴晓芳, 马桥, 曲媛媛. *Mariannaea* sp. HJ 合成纳米金银合金的特性考察[J]. *生物工程学报*, 2019, 35(11): 2061-2068
- Fang H, Yan YQ, Ju ZY, Lian SY, Pei XF, Ma Q, Qu YY. Characterization of Au-Ag nanoparticles biosynthesized by fungus *Mariannaea* sp. HJ[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2019, 35(11): 2061-2068 (in Chinese)
- [17] 厉舒祯, 沈文丽, 刘洋英, 邓晔, 由胜男, 裴晓芳, 李会杰, 张照婧, 曲媛媛. 真菌介导的纳米金合成及其应用研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2016, 39(9): 82-87, 158
- Li SZ, Shen WL, Liu YY, Deng Y, You SN, Pei XF, Li HJ, Zhang ZJ, Qu YY. Research advances in fungi-mediated biosynthesis of gold nano-particle and its application[J]. *Environmental Science &*

- Technology, 2016, 39(9): 82-87, 158 (in Chinese)
- [18] Molina RC, Burra R, Pérez-Donoso JM, Elías AO, Muñoz C, Montes RA, Chasteen TG, Vásquez CC. Simple, fast, and sensitive method for quantification of tellurite in culture media[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(14): 4901-4904
- [19] 沈文丽. 不同真菌合成纳米金的特性及其调控[D]. 大连: 大连理工大学博士学位论文, 2018
- Shen WL. Characteristics and morphology regulation of gold nanoparticles synthesized by different fungi[D]. Dalian: Doctoral Dissertation of Dalian University of Technology, 2018 (in Chinese)
- [20] Raghavendra GM, Jayaramudu T, Varaprasad K, Sadiku R, Ray SS, Mohana Raju K. Cellulose-polymer-Ag nanocomposite fibers for antibacterial fabrics/skin scaffolds[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 93(2): 553-560
- [21] Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2004, 3(1): 21-33
- [22] 李严. 细菌共培养合成纳米硒的特性研究[D]. 大连: 大连理工大学硕士学位论文, 2018
- Li Y. Study of the characteristics of bacterial co-culture to synthesize selenium nanoparticles. Dalian: Master's thesis of Dalian University of Technology, 2018 (in Chinese)
- [23] Vaigankar DC, Dubey SK, Mujawar SY, D'Costa A, Shyama SK. Tellurite biotransformation and detoxification by *Shewanella baltica* with simultaneous synthesis of tellurium nanorods exhibiting photo-catalytic and anti-biofilm activity[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 165: 516-526
- [24] Zare B, Faramarzi MA, Sepehrizadeh Z, Shakibaie M, Rezaie S, Shahverdi AR. Biosynthesis and recovery of rod-shaped tellurium nanoparticles and their bactericidal activities[J]. Materials Research Bulletin, 2012, 47(11): 3719-3725
- [25] Mirjani R, Faramarzi MA, Sharifzadeh M, Setayesh N, Khoshayand MR, Shahverdi AR. Biosynthesis of tellurium nanoparticles by *Lactobacillus plantarum* and the effect of nanoparticle-enriched probiotics on the lipid profiles of mice[J]. IET Nanobiotechnology, 2015, 9(5): 300-305
- [26] Gómez-Gómez B, Sanz-Landaluce J, Pérez-Corona MT, Madrid Y. Fate and effect of in-house synthesized tellurium based nanoparticles on bacterial biofilm biomass and architecture. Challenges for nanoparticles characterization in living systems[J]. Science of the Total Environment, 2020, 719: 137501
- [27] Srivastava P, Nikhil EVR, Bragança JM, Kowshik M. Anti-bacterial TeNPs biosynthesized by haloarchaeon *Halococcus salifodinae* BK<sub>3</sub>[J]. Extremophiles: Life Under Extreme Conditions, 2015, 19(4): 875-884
- [28] Park DH, Gautam M, Park SJ, Hwang J, Yong CS, Kim JO, Byeon JH. Plug-and-play safe-by-design production of metal-doped tellurium nanoparticles with safer antimicrobial activities[J]. Environmental Science: Nano, 2019, 6(7): 2074-2083
- [29] Vahidi H, Kobarfard F, Alizadeh A, Saravanan M, Barabadi H. Green nanotechnology-based tellurium nanoparticles: exploration of their antioxidant, antibacterial, antifungal and cytotoxic potentials against cancerous and normal cells compared to potassium tellurite[J]. Inorganic Chemistry Communications, 2021, 124: 108385