

## 酵母菌还原制备纳米金颗粒

陈国宝, 杨洪英, 苟德海, 佟琳琳  
(东北大学 冶金学院, 沈阳 110819)

**摘要:** 纳米金颗粒因其独特的光学、电学和催化性质而被广泛应用于生物传感器、肿瘤治疗、重金属分析、化工催化等领域。生物制备方法具有良好的生物相容性、反应条件温和、绿色且可持续发展等优点。本文利用酵母菌制备了纳米金颗粒, 采用 UV-Vis 研究了反应条件, FESEM、EDS 及 TEM 表征了材料的形貌和成分, 并通过 FT-IR 探究酵母菌还原金颗粒的机制。结果表明, 当反应时间为 60 min、贵金属前驱体浓度为 1.0 g/L 时, 酵母菌还原所得的金纳米颗粒粒径约为 8.69 nm 且大小比较均一。红外分析结果表明酵母菌在还原贵金属前驱体时, 多羟基化合物、蛋白质类物质等起还原作用。

**关键词:** 纳米金; 酵母菌; 还原; 生物合成; 贵金属

**中图分类号:** TG146.3, TB34 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0676(2016)01-0042-05

### Biological Synthesis of Gold Nanoparticles by Saccharomyces

CHEN Guobao, YANG Hongying, GOU Dehai, TONG Linlin  
(School of Metallurgy, Northeastern University, Shenyang 110819, China)

**Abstract:** Gold nanoparticles have been widely applied in many fields, such as biological sensors, tumour treatments, analysis of heavy metals and catalytic reactions, due to their unique optional, electronic and catalytic properties. The biological synthesis method has many advantages, such as biocompatibility of products, mild reaction conditions, more green and sustainable. Gold nanoparticles were prepared by saccharomyces in this paper. The UV-Vis was used to study the reaction conditions, FESEM, EDS and TEM have been employed to determine the shape and content of gold nanoparticles. FT-IR was used to analysis the change of saccharomyces before and after reduction. It shows that when the reaction time was 60 min, the concentration of precursor was 1.0 g/L, the obtained gold particles were uniform, and their mean size was 8.69 nm. It is inferred that multiple-hydroxyl compound, proteins were involved in the reduction reaction from FT-IR results.

**Key words:** gold nanoparticles; saccharomyces; reduction; biological synthesis; precious metal

纳米金颗粒是指金粒子直径为 1~100 nm 的金粒子, 是最稳定的贵金属纳米粒子之一<sup>[1]</sup>。它属于介观粒子, 具有特殊的电子结构, 在一些特定的晶面上存在着表面电子态, 其费米能级恰好位于体能带结构沿该晶向的禁带之中。因此, 处于此表面态的电子由于功函数的束缚而不能逸出外围; 又由于

体能态的限制而不能深入内层, 形成了只能平行于表面方向运动的二维电子云。金纳米粒子由于既具有纳米微粒的特性(如量子尺寸效应、小尺寸效应、表面效应和宏观量子隧道效应等特点), 又存在由纳米结构组合引起的新的效应, 如量子耦合效应和协同效应等, 从而表现出独特的电子学、光学和催化

性质, 而且能通过自组装形成纳米结构, 在高级材料的制造上具有很广的应用前景, 并被广泛应用于生物传感器<sup>[2]</sup>、肿瘤治疗<sup>[3]</sup>、重金属分析<sup>[4]</sup>、化工催化<sup>[5-6]</sup>等领域。近年来, 其制备及应用等方面的研究已成为材料科学界研究的前沿课题。

和传统的物理化学制备方法相比, 生物制备方法具有良好的生物相容性、反应条件温和、产量高有更好的人体食用和接触的安全性、具有可持续发展等优点<sup>[7-9]</sup>。此外, 微生物廉价、易培养、繁殖快, 合成的纳米金尺寸和形貌可控, 适合大规模生产, 产量高。由于酵母菌属于简单的单细胞真核生物, 易于培养且生长迅速, 其工业应用十分广泛且较为成熟。因此本文通过采用酵母菌还原制备贵金属纳米金颗粒。通过紫外-可见光谱(UV-Vis)进行表征研究了反应时间和前驱物浓度对纳米金颗粒的影响, 通过场发射扫描显微镜(FESEM), 能谱分析(EDS)及透射电镜分析(TEM)对纳米金颗粒进行形貌和成分表征, 并通过傅里叶红外表征(FT-IR)讨论了酵母菌还原的可能机制。

## 1 实验方法

### 1.1 实验原料

试验用菌株为酵母菌, 由中国科学院微生物研究所菌种保藏中心提供。微生物培养基为无氨基酵母菌 YNB 培养基, 采用标准细菌培养方法培养酵母菌。取 OD<sub>600</sub>(培养液在 600 nm 处的吸光值)为 2 的菌液, 制备得浓度为 20 g/L 的微生物质液。其余主要试剂为氯金酸、盐酸和氢氧化钠(均为分析纯)。

### 1.2 酵母菌还原试验

取一定体积的酵母菌菌液于 250 mL 锥形瓶中, 放在恒温(25℃)遮光的小型振荡器(150 r/min)中振荡 20 min, 迅速加入氯金酸溶液并使其加入后的浓度为 0.5 g/L, 在不同的反应时间间隔(3、5、10、30 和 60 min)进行取样分析。采用类似的试验方法, 改变氯金酸的浓度(0.10、0.25、0.50、0.75 和 1.00 g/L), 反应 60 min 后对各不同的试验进行取样分析。

### 1.3 纳米金颗粒的表征

采用 TU-1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)进行 400~600 nm 扫描, 观测纳米金颗粒的表面等离子共振吸收峰变化; JSM-7100F 场发射扫描显微镜(FESEM+EDS)研究纳米金颗粒的形貌与成分; JEM-1200EX 透射电子显微镜(JEOL)观测金颗粒粒径特征; AVATAR370

傅立叶变换红外光谱仪(Thermo Nicolet)研究还原前后酵母菌溶液的变化。

## 2 结果与讨论

### 2.1 反应时间对纳米金产品的影响

分别对不同反应时间所制备的纳米金样品进行 UV-Vis 光谱扫描, 结果如图 1 所示。

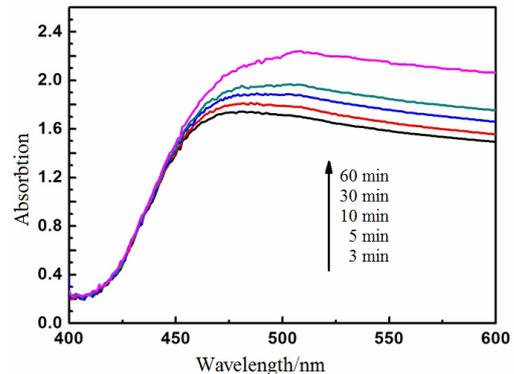


图 1 反应时间对酵母菌还原制备纳米金颗粒的影响

Fig.1 The UV absorption spectra of gold nanoparticles synthesized by saccharomyces at different time

由图 1 可知, 反应溶液在 480 nm 后出现峰值。在长波方向持续小幅下降, 其下降的幅度与金属颗粒的大小相关。纳米金颗粒越小, 下降的幅度越大。紫外可见光谱曲线出现的这个峰对应的是金纳米颗粒的表面等离子共振(SPR)能带<sup>[10]</sup>。因为 SPR 能带只能由金属颗粒形成, 因此 UV-Vis 的表征可用于确认金属颗粒的生成。由图 1 可以看出, 当反应时间为 3 min 时, 就能形成金纳米颗粒的 SPR 能带峰, 说明酵母菌还原速度很快。随着反应时间的延长, 纳米金的 SPR 峰出现规律的红移且峰值逐渐升高。当反应时间为 60 min 时, 纳米金的 SPR 峰值稳定在 517 nm 处且峰值最高。这表明随着时间的推移, 酵母菌还原制备的纳米金颗粒的产率逐渐提高。

### 2.2 贵金属前驱体浓度对纳米金产品的影响

在生物法还原制备纳米金材料中, 生物质往往起到还原剂和吸附剂的作用, 贵金属的前驱体物质是氯金酸。分别对不同前驱体浓度所制备的纳米金颗粒样品进行 UV-Vis 光谱扫描, 结果如图 2 所示。

由图 2 可知, 随着浓度的增加, 纳米金颗粒的 SPR 峰值不断增大。当浓度为 1.00 g/L 时, 纳米金颗粒的 SPR 峰值达到最大。由此可知金的前驱体氯金酸的浓度越高, 纳米金颗粒的产率也越高。

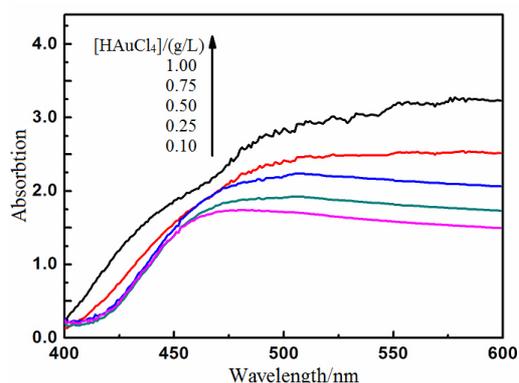


图 2 氯金酸浓度对酵母菌还原制备纳米金颗粒的影响

Fig.2 UV absorption spectra of gold nanoparticles synthesized by saccharomyces at different concentration of chloroauric acid

从图 2 还可得知酵母菌的还原活性较强, 浓度低至 0.10 g/L 的氯金酸也可被还原。

### 2.3 纳米金颗粒的形貌和成分表征

对在反应时间为 60 min、前驱体浓度为 1.0 g/L 下还原制备的纳米金颗粒进行了 FESEM 分析, FESEM 条件为高电压(EHT)15.00 kV, 放大倍数为 10000 倍, 结果如图 3 所示。

由图 3 可见, 酵母菌还原的金颗粒均匀地分散在酵母菌表面, 且所得的金的尺寸大多在 100 nm

以内。从整体来看, 还原的金产品均一性较好, 无明显的枝状或絮状物产生。

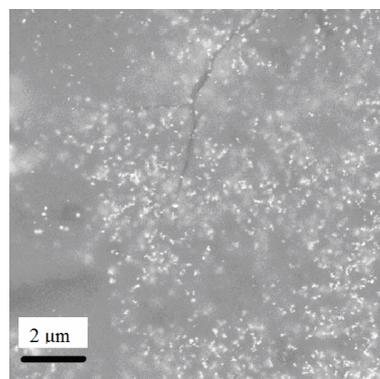


图 3 酵母菌还原制备的金颗粒的 FESEM 照片

Fig.3 FESEM image of gold nanoparticles synthesized by saccharomyces

为研究纳米金颗粒的形貌, 对其进行了 TEM 分析, TEM 测试条件为 EHT=200.00 kV, 放大倍数为 120000 倍。并用图像分析软件 Nano Measure 1.2.5 对纳米金颗粒的粒径尺寸进行统计和分析, 结果如图 4 所示。

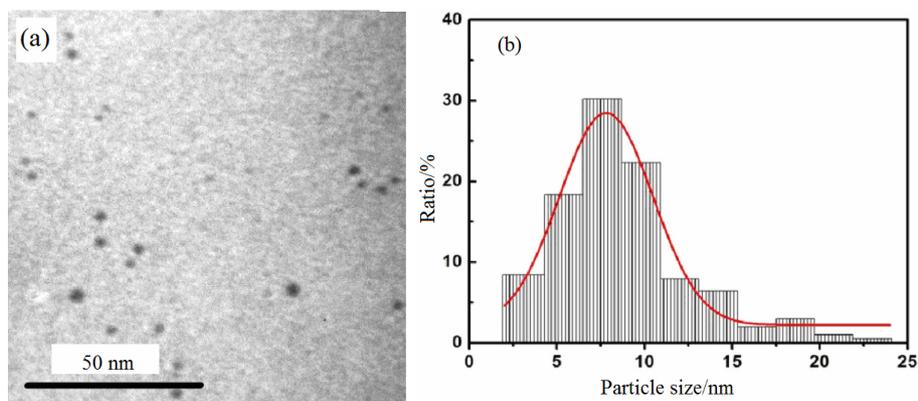


图 4 酵母菌还原的纳米金颗粒的 TEM 照片(a)及粒径分布图(b)

Fig.4 TEM image (a) and diameter distribution curve(b) of gold nanoparticles synthesized by saccharomyces

由图 4 可知, 酵母菌还原的纳米金颗粒粒径小而均一, 分散性好, 粒径大小在 2~25 nm 之间且集中分布在 8 nm 左右。经计算, 酵母菌还原的纳米金颗粒平均粒径为 8.69 nm。

对 FESEM 获得的显微图像中的特定区域进行

能谱分析, 能谱分析结果如图 5 所示, 元素分析结果如表 1 所列。图表中的氧元素部分来自于基底导电玻璃, 大部分是有机物中所含有的; 硅元素也来自于基底导电玻璃。

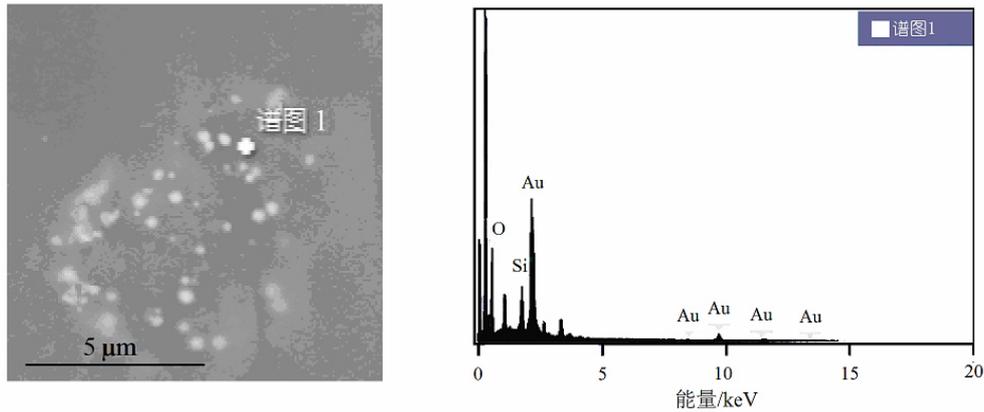


图 5 酵母菌还原纳米金颗粒的 EDS 分析

Fig.5 The EDS analysis of gold nanoparticles synthesized by saccharomyces

表 1 酵母菌还原纳米金产品的元素分析结果

Tab.1 The elementary analysis of gold nanoparticles synthesized by saccharomyces

元素	质量分数/%	摩尔分数/%
O	29.93	78.31
Si	5.32	7.93
Au	64.76	13.76
总量	100.00	100.00

图 5、表 1 的结果表明，酵母菌还原后的产品中除了金以外没有其他金属元素，证实了所得的产品为纳米金颗粒，同时也证实了 UV-Vis 光谱中所出现的 SPR 峰对应于金元素的可靠性。

### 2.4 酵母菌还原金纳米颗粒的反应机理

微生物还原制备方法可分为细胞内和细胞外还原。细胞内还原的纳米金主要存在于细胞壁和细胞内，需要声波降解，或与细胞溶解剂反应才能得到纳米粒子。细胞外还原则不需要复杂的处理过程，因而更加实用。在细胞外还原纳米金，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和还原，并形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。细胞内合成纳米金则是非常复杂的生物化学过程<sup>[1]</sup>。

为研究酵母菌还原金纳米颗粒的反应机理，对还原前后的菌液做了红外光谱分析。图 6 为酵母菌还原反应前后的菌液在 500~4000 cm<sup>-1</sup> 范围内的 FT-IR 谱图。

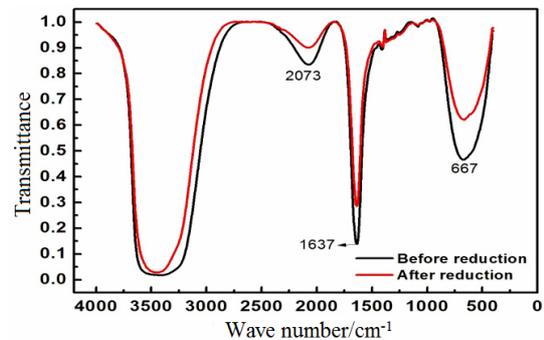


图 6 还原前后酵母菌溶液的 FT-IR 图谱

Fig.6 The FT-IR spectrum of solution before and after reduction

由图 6 可知，酵母菌原液在 3100~3700 cm<sup>-1</sup> 范围内出现强而宽的吸收带、在 1637 cm<sup>-1</sup> 处有强而窄的吸收峰，分别对应羟基的伸缩振动和碳氧双键的伸缩振动，表明还原后的金对羟基和羰基有削弱作用。在 667 cm<sup>-1</sup> 处的吸收峰是氮氢键的面外弯曲振动，在 2073 cm<sup>-1</sup> 处的吸收峰是碳氮键(氨基)的伸缩振动，在还原反应发生后，各峰值均有明显下降。说明在酵母菌还原制备贵金属纳米金颗粒的反应过程中，多羟基化合物、蛋白类物质参与了还原反应过程。由此推测酵母菌还原纳米金颗粒的过程主要发生于细胞壁上，细胞表面的羟基、酰胺基等功能基团对氯金酸进行了还原。而酵母菌自身的吸附性对金颗粒的团聚有一定的阻碍作用，防止了纳米金的长大，因此粒径较小且比较均一。

### 3 结论

本实验采用酵母菌还原制备了金纳米颗粒。紫外-可见光谱分析结果表明采用酵母菌还原方法制备金纳米颗粒反应速度快,而且随着反应时间和前驱体浓度的增加,金纳米颗粒的产率逐渐增加。通过成分表征,验证了所制备的为金纳米颗粒;形貌分析结果表明,通过酵母菌还原制备的金纳米颗粒大小较均一,平均粒径为 8.9 nm。红外光谱分析结果表明酵母菌还原制备金纳米颗粒过程中,多羟基化合物、蛋白质类物质参与了还原过程。

#### 参考文献:

- [1] 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: 自然科学版, 2012, 33(3): 71-75.  
SHI J, FAN S M, WU J, et al. Research progress in biosynthesis of gold nanoparticles[J]. Journal of Jishou university: Natural science edition, 2012, 33(3): 71-75.
- [2] 黄闪闪, 李忠海, 李继烈, 等. 纳米金在电化学生物传感器中的应用研究进展[J]. 化工新型材料, 2014, 42(6): 219-221.  
HUANG S S, LI Z H, LI J L, et al. Research progress of gold nanoparticles applied in electrochemical biosensors [J]. New chemical materials, 2014, 42(6): 219-221.
- [3] 刘意, 刘纯洁, 李健乐, 等. 纳米金应用于肿瘤诊疗的研究进展[J]. 广东药学院学报, 2014(3): 379-384.  
LIU Y, LIU J C, LI J L, et al. Progress of gold nanoparticles used in tumor diagnosis and treatment[J]. Journal of Guangdong pharmaceutical university, 2014(3): 379-384.
- [4] 张付强, 刘丽, 赵一曼. 基于功能化金纳米粒子灵敏检测水溶液中的镉离子[J]. 广州化工, 2013, 41(23): 53-55.  
ZHANG F Q, LIU L, ZHAO Y M, et al. Selection determination of  $Cd^{2+}$  in aqueous solution based on functionalized gold nanoparticle[J]. Guangzhou chemical industry, 2013, 41(23): 53-55.
- [5] 王明月, 牛瑞, 黄敏, 等. 单层组装纳米金表面结构变化与催化性能调控[J]. 中国科学: 化学, 2015, 45(1): 76-89.  
WANG M Y, NIU R, HUANG M, et al. The surface structural changes of self-assembly monolayer Au nanoparticles and their regulated catalytic activity[J]. Scientia sinica: chimica, 2015, 45(1): 76-89.
- [6] 鲁继青, 罗孟飞, 辛勤. 纳米金催化剂在 CO 低温氧化和选择性氧化中的研究进展[J]. 化工进展, 2007, 26(3): 306-309.  
LU J Q, LUO M F, XIN Q. Nano-sized gold catalysts for CO low-temperature oxidation and selective oxidation[J]. Chemical industry and engineering progress, 2007, 26(3): 306-309.
- [7] 付云芝, 张永强. 生物合成纳米晶的研究进展[J]. 中国材料进展, 2011, 30(3): 47-53.  
FU Y Z, ZHANG Y Q. Research progress on biosynthesis of nano-crystal[J]. Materials China, 2011, 30(3): 47-53.
- [8] SARKAR J, ROY S K, LASKAR A, et al. Bioreduction of chloroaurate ions to gold nanoparticles by culture filtrate of *Pleurotus sapidus* Quel[J]. Materials letters, 2013, 92: 313-316.
- [9] SURESH A K, PELLETIER D A, WANG W, et al. Bio-fabrication of discrete spherical gold nanoparticles using the metal-reducing bacterium *Shewanella oneidensis*[J]. Acta biomaterialia, 2011, 7(5): 2148-2152.
- [10] VIJAYARAGHAVAN K, MAHADEVAN A, SATHISH-KUMAR M. Biosynthesis of Au(0) from Au(III) via biosorption and bioreduction using brown marine alga *Turbinaria conoides*[J]. Chemical engineering journal, 2011, 167(1): 223-227.