

BIOLOGICZNA SYNTEZA NANOCZĄSTEK METALI

BIOLOGICAL SYNTHESIS OF METAL NANOPARTICLES

Irena Maliszewska

*Zakład Chemii Medycznej i Mikrobiologii,
Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej,
ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław
e-mail: irena.helena.maliszewska@pwr.wroc.pl*

Abstract

Wprowadzenie

1. Organizmy syntezujące nanocząstki metali

1.1. Bakterie

1.2. Drożdżaki

1.3. Grzyby

1.4. Glony i rośliny wyższe

2. Zastosowanie biomimetycznych nanocząstek metali

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane



Irena Maliszewska, dr biologii, mikrobiolog, absolwentka Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego. Pracuje w Zakładzie Chemii Medycznej i Mikrobiologii na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Zainteresowania naukowe skupiają się na zastosowaniu metabolizmu grzybów pleśniowych w procesach biotechnologicznych, obejmujących wytwarzanie zewnątrzkomórkowych enzymów (lipaz, proteaz), bioremediację i biotransformację chlorowcopochodnych oraz biosyntezę nanocząstek metali. Dorobek naukowy liczy 120 prac, z czego większość to artykuły naukowe o zasięgu międzynarodowym.

ABSTRACT

Nanotechnology has attracted a great interest in recent years due to its expected impact on many areas such as energy, medicine, electronics and space industries. One of the most important aspects in researching nanotechnology is a synthesis of metal nanoparticles of well-defined sizes, shapes and controlled monodispersity. One of the exciting methods is the production of metal nanostructures using biological systems such as microbes, yeast, fungi and several plant extracts. Biological systems provide many examples of specifically modified nanostructured molecules. Perhaps, the best known are the magnetotactic bacteria which intracellularly synthesize magnetic nanocrystals in magnetosomes. The production of many other metal and metal alloy nanoparticles by organisms is a consequence of detoxification pathways. Organisms have evolved specific mechanisms to prevent excessive accumulation of metals. There are two probable ways to capture or trap the metal ions, electrostatic interaction and/or secretion of substances that will adhere the ions. For the process of intracellular synthesis of nanoparticles, the ions are involved in a nutrient exchange and/or substance diffusion. Thereafter, the functional reducing agents (i.e. reducing sugars, fatty acids, glutathione, flavonoids, terpenoids, fitoche-latines etc.) and/or enzymes ($\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ - dependent reductases, hydrogenases, oxidases), convert the harmful ions into non-harmful matters. Finally, the nuclei grow and subsequently intracellularly or extracellularly accumulate to form nanoparticles. Despite numerous research made in this area, the mechanism of biosynthesis is not a fully understood. In this paper an overview of the use of living organisms in the biosynthesis of metal nanoparticles is given and different mechanisms leading to the formation of nanoparticles are demonstrated.

Keywords: metal nanoparticles, quantum dots, biosynthesis, bacteria, yeasts, fungi plants

Słowa kluczowe: nanocząstki metali, kropki kwantowe, biosynteza, bakterie, drożdże, grzyby, rośliny

WPROWADZENIE

Nanotechnologia jest interdyscyplinarną dziedziną nauki wykorzystującą koncepcję miniaturyzacji dla potrzeb rozwiązywania problemów natury chemicznej oraz biologicznej. Obejmuje ona różnorodne techniki tworzenia nowych materiałów bazując na osiągnięciach chemii, biologii, fizyki, mechaniki i informatyki. Pierwotna wizja budowania nanostruktur (zwana również nanotechnologią molekularną czy molekularną produkcją) zakładała podejście „bottom-up” czyli tworzenie materiałów i urządzeń w skali molekularnej za pomocą samoorganizacji atomów i cząstek. Drugi nurt tj. „top down” – zakłada, że rozmiar dużych struktur jest zredukowany i są one odtwarzane w nanoskali z zachowaniem ich oryginalnych właściwości bez kontroli na poziomie atomowym. Większość współczesnych technologii oparta jest na nanotechnologicznym filarze „top-down”. Ważnym, a zarazem ciekawym produktem nanotechnologii są nanocząstki metali. Nanocząstkami przyjęto nazywać struktury, których wielkości, przynajmniej w jednym wymiarze, nie przekraczają 100 nm. Takie twory, ze względu na swoje rozmiary, posiadają wyjątkowe właściwości, różne od tych, którymi charakteryzują się większe cząstki zbudowane z tego samego materiału. W ostatnich latach obserwuje się intensyfikację prac badawczych, poszukujących nowych, efektywnych i tanich sposobów syntezy tych cennych materiałów. Dotychczas opisano szereg chemicznych i fizycznych metod ich otrzymywania. Zebranie tych wiadomości można znaleźć w dostępnych artykułach przeglądowych [1–4]. Najbardziej powszechną metodą chemicznej syntezy nanocząstek metali jest redukcja jonów. Na drodze reakcji redoks możliwe jest otrzymanie nanocząstek różnych metali, jako stabilnych koloidów zdyspergowanych w układzie wodnym lub rozpuszczalniku organicznym. Wykazano, że rodzaj reduktora ma wpływ na wielkość otrzymywanych nanostruktur. Użycie silnego reduktora, jakim są np. borowodorki skutkuje syntezą małych, monodispersyjnych nanocząstek. Natomiast wykorzystanie np. cytrynianu, który jest słabym reduktorem, prowadzi do otrzymania nanocząstek dość sporych rozmiarów, jednak kosztem wydłużenia czasu reakcji [1]. Pomimo, iż redukcja chemiczna jest metodą z powodzeniem wykorzystywaną do syntezy nanocząstek, ze względu na występujące trudności podczas reakcji (podatność na utlenianie oraz zdolność do agregacji), istnieje konieczność zastosowania czynnika stabilizującego syntezowane cząstki [1, 2]. Ciekawym uzupełnieniem chemicznych metod otrzymywania nanocząstek metali jest synteza biologiczna. W prezentowanej pracy przedstawiono możliwość wykorzystania do syntezy i stabilizacji nanocząstek metali oraz kropek kwantowych naturalnych procesów, które ewolucyjnie wykształciły się w układach biologicznych. Biosynteza zachodzi na różnych drogach, jednak wspólną cechą, tak samo jak w przypadku syntezy chemicznej, jest redukcja jonów, skutkująca utworzeniem elementarnych cząstek metalu. Inspiracją do podjęcia badań w tym zakresie było odkrycie bakterii magnetotaktycznych (*Magnetospirillum magnetotacticum*), wytwarzających tzw. magnetosomy, będące otoczone przez pęcherzyki błonowe, pojedynczymi nanocząstkami magnetytu (Fe_3O_4).

Od tej pory opisano kilkadziesiąt organizmów zdolnych do biosyntezy nanocząstek różnych metali. Wśród nich znajdują się przedstawiciele bakterii, grzybów, alg oraz roślin wyższych. Biologiczna synteza może przebiegać zarówno zewnątrz- jak i wewnątrzkomórkowo. Synteza zewnątrzkomórkowa polega na związaniu jonów metalu na powierzchni komórki i ich redukcji. Synteza wewnątrzkomórkowa obejmuje transport jonów metalu do wnętrza komórki i ich redukcję skutkującą wytrącaniem metalu w postaci nanocząstek. O ile, w przypadku alg i roślin, wytwarzanie nanocząstek najczęściej ogranicza się do metody zewnątrzkomórkowej, to w przypadku mikroorganizmów, obie metody są możliwe i stosowane w zależności od zdolności metabolicznych drobnoustroju.

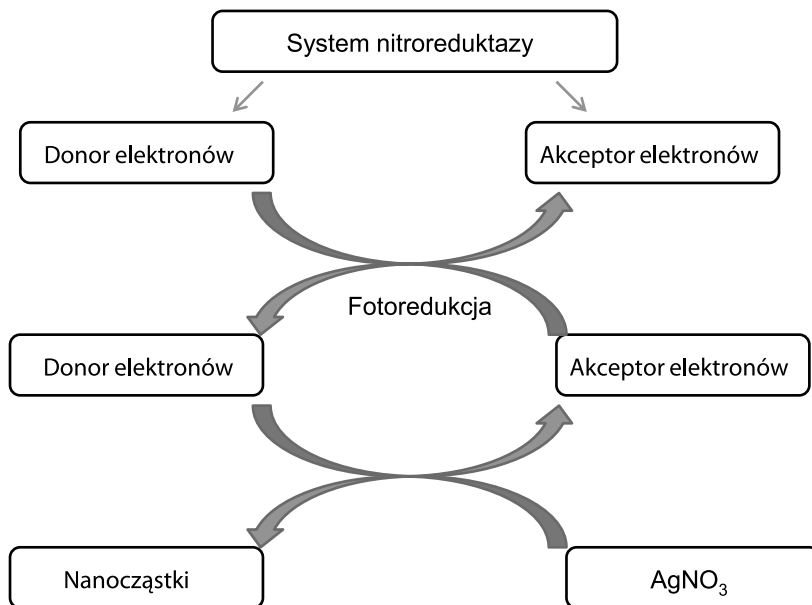
1. ORGANIZMY SYNTEZUJĄCE NANOCZĄSTKI METALI

1.1. BAKTERIE

Ze wszystkich organizmów używanych do otrzymywania nanocząstek metali, najlepiej poznаныmi są bakterie. W okresie trzydziestu lat badań, opisano kilkadziesiąt szczepów bakterii zdolnych do takiej syntezy. Wśród nich znaleźć można drobnoustroje syntezujące nanocząstki złożone z jednego rodzaju atomów lub potrafiące tworzyć układy bimetaliczne. Na liście najbardziej obiecujących „bio-producentów” znalazły się wyizolowane z kopalni srebra, bakterie *Pseudomonas stutzeri* AG259, które wewnątrz komórek gromadziły nanocząstki srebra o wielkości od 3–200 nm [5, 6]. Okazało się, że inkubacja występującego w maślanie i mleku szczepu z rodzaju *Lactobacillus* z jonami srebra lub złota również skutkuje wewnątrzkomórkową akumulacją nanocząstek tych metali lub układów bimetalicznych [7]. W przypadku biologicznej syntezy nanocząstek z wykorzystaniem *Lactobacilli* sugeruje się, że nanocząstki powstają w trakcie glikolizy. Podczas produkcji pirogronianu oraz mleczanu przez dehydrogenazę mleczanową zależną od NADH generowane są dwa protony, uczestniczące w procesie redukcji jonów (tutaj srebra) przy udziale systemu glutationu i tioredoksyny [8].

Kolejny przykład biologicznej syntezy nanocząstek, obejmuje wykorzystanie bakterii *Bacillus licheniformis* – laseczki normalnie występującej w glebie [9]. Inkubacja biomasy mikroorganizmu z azotanem srebra, prowadzi do wewnątrzkomórkowej akumulacji nanocząstek tego metalu. Autorzy sugerują, że w tym przypadku NAD-zależna reduktaza azotanowa odpowiada za proces bio-redukcji jonów. Do bakterii syntezujących nanocząstki srebra na zewnątrz komórek zaliczyć można pałeczki *Enterobacter cloacae* i *Klebsiella pneumoniae*, w przypadku których już po 5 minutach inkubacji jonów srebra z ich przesączami pochodzonymi, rozpoczyna się intensywna redukcja [10]. Autorzy przypuszczają, że w przypadku tego ostat-

niego mikroorganizmu synteza nanocząstek przebiega z udziałem nitroreduktazy oraz światła (Rys. 1) [11].



Rysunek 1. Hipotetyczny mechanizm syntezy nanocząstek srebra przez przesącz pochodzący od *Klebsiella pneumoniae* [11]

Figure 1. Hypothetical mechanisms of silver nanoparticles synthesis by culture supernatant of *Klebsiella pneumoniae* [11]

Z kolei 30 minutowa inkubacja jonów srebra z przesączem pochodzącym od *Escherichia coli* pozwala uzyskać sferyczne nanocząstki srebra wielkości 50 nm [12].

Już w 1980 roku Beveridge i Murray [13] odkryli zdolność szczepu 168 *Bacillus subtilis* do redukcji jonów Au^{+3} , skutkującej gromadzeniem we wnętrzu komórek oktaedralnych nanocząstek złota o średnicy 5–25 nm. Bakteriami zdolnymi do wewnątrzkomórkowej syntezy nanocząstek złota są też *Pseudomonas maltophilia*, *Escherichia coli* [14] oraz *Rhodopseudomonas capsulata* [15, 16]. Opierając się na wcześniejszych pracach Ahmada i in. [17, 18], wskazujących na rolę NADH i enzymów zależnych od tego koenzymu, jako ważnych czynników odpowiedzialnych za biosyntezę nanocząstek, i biorąc pod uwagę fakt, iż *Rhodopseudomonas capsulata* wydziela enzymy z tej grupy, Shying postuluje, iż za mechanizm bioredukcji jonów Au^{3+} do Au^0 odpowiada reduktaza zależna od NADPH [16]. W tym samym roku, Deplanche i Macaskie [19] opublikowali pracę, w której zaprezentowali zdolność redukcji jonów Au^{+3} do Au^0 przez *E. coli* i *Desulfovibrio desulfuricans*. Starannie przeprowadzone doświadczenia wykazały, że czynnikiem decydującym o syntezie nanostruktur, w przypadku *Desulfovibrio desulfuricans*, była obecność H_2 . Obserwacje te sugerowały, iż za biosyntezę może być odpowiedzialna hydrogenaza-en-

zym, który katalizuje odwracalne utlenienie molekularnego H_2 . W celu potwierdzenia tego przypuszczenia, dodano do podłoża jony Cu^{2+} (selektywne inhibitory niektórych hydrogenaz), co w efekcie zahamowało, ale jedynie częściowo, redukcję jonów złota. Okazało się zatem, że hydrogenazy są zaangażowane w proces syntezy, ale ich obecność nie jest konieczna. Deplanche i Macaskie w cytowanej pracy [19], nadmieniają, iż wyniki badań (niepublikowane do tej pory) z wykorzystaniem mutantów pozbawionych hydrogenaz, potwierdzają fakt, że enzymy te stanowią jedynie część mechanizmu odpowiedzialnego za biosyntezę nanocząstek złota przez *Desulfovibrio desulfuricans*. Z kolei *Pseudomonas aeruginosa* [20], *Shewanella algae* [21, 22, 23] zdolne są do zewnątrzkomórkowej biosyntezy nanocząstek tego metalu. O ile w przypadku pałeczki ropy błękitnej, mechanizm procesu nie jest poznany, to w przypadku *S. algae* wykazano, że redukcja jonów złota zależy od obecności H_2 jako dawcy elektronów. Również ekstremofilne promieniowce z rodzaju *Thermomonospora* mogą być wykorzystane do otrzymywania sferycznych nanocząstek złota o wielkości 8 nm [24].

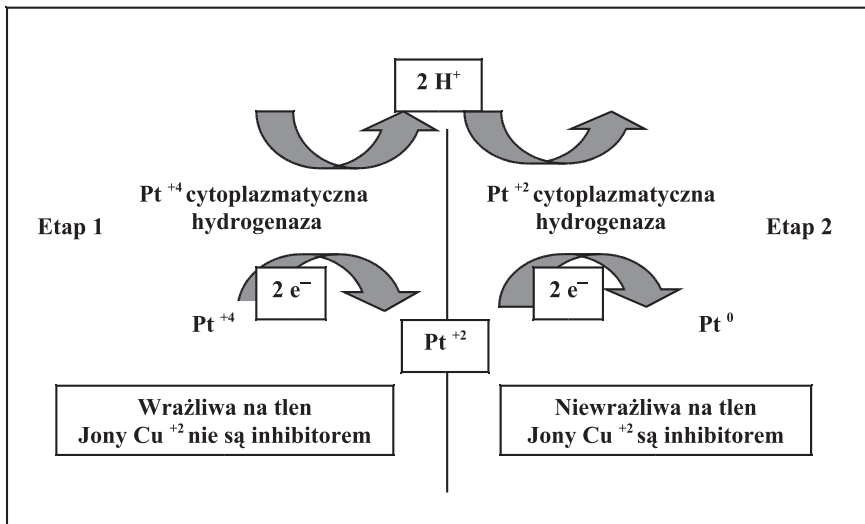
W ostatnich latach, pojawiły się prace, wskazujące na możliwość zastosowania bakterii do syntezy nanocząstek żelaza [25]. Synteza nanostruktur o właściwościach magnetycznych została potwierdzona u bakterii magnetotaktycznych, takich jak: *Thermoanaerobacter ethanolicus* i *Magnetospirillum magneticum*, które wytwarzają dwa rodzaje cząstek – część z nich wytwarza magnetyczne nanocząstki (Fe_2O_3), część zaś tworzy nanocząstki greigitu (Fe_3S_4), a niektóre z nich syntezują oba związki. Oprócz wspomnianych wcześniej magnetosomów, ciekawym podejściem do tematu jest biologiczna synteza nanocząstek magnetytu domieszkowanego innymi metalami. W 2007 roku, Moon z zespołem [26] przedstawił pracę, w której opisał prowadzoną przez bakterie *Thermoanaerobacter sp.* (TOR-39) syntezę magnetytu domieszkowanego cynkiem, kobaltem, manganem lub niklem.

Bakterie są również zdolne do syntezy półprzewodników, takich jak CdS i ZnS, nazywanych kropkami kwantowymi. Możliwość biosyntezy nanocząstek siarczku kadmu wykryto u *Clostridium thermoaceticum* [27], *Klebsiella pneumoniae* [28], *Escherichia coli* [29] i *Rhodopseudomonas palustris* [30], a zdolność do syntezy kryształów ZnS u *Desulfobacteriaceae* [31]. W większości przypadków nie opisano mechanizmu tych reakcji. Dla *Rhodopseudomonas palustris* zasugerowano udział desulfhidrazy cysteinowej w procesie [30].

Kilka lat temu zaprezentowano możliwość otrzymywania nanocząstek palladu, wykorzystując do tego Gram-ujemne, redukujące siarczany, bakterie gatunków: *D. desulfuricans*, *D. fructosivorans*, *D. vulgaris* [32, 33, 34], pałeczkę *Shewanella oneidensis* [35, 36] i tlenową laseczkę *Bacillus sphaericus* JG-A12 [37]. W przypadku *D. desulfuricans* biosynteza nanocząstek zachodziła przy udziale dostarczonego z zewnątrz H_2 , co wskazuje na udział hydrogenaz w redukcji jonów palladu [33].

Zdolne do zewnątrzkomórkowej syntezy sferycznych nanocząstek złota [38, 39] oraz platyny [40] są cyjanobakterie *Plectonema boryanum* UTEX 485. W tym przypadku wykazano, że do wnętrza komórek transportowane są jony Pt^{+4} , które redu-

powodzone są do Pt^{+2} . Tworzący się chlorek (Pt^{+2}) i/lub niskie pH oraz wysoka temperatura procesu, powodują śmierć drobnoustrojów, a uwolnione z komórek organiczne składniki, prowadzą dalszy proces redukcji Pt^{+2} do Pt^0 [40]. Ciekawy przykład otrzymywania nanocząstek platyny opisuje Riddin i wsp. [41]. W tym przypadku zostaje wykorzystana mieszana hodowla bakterii redukujących siarczany. Proces syntezy przebiega według poniższego schematu (Rys. 2) i według autorów jest katalizowany przez dwie cytoplazmatyczne hydrogenazy.



Rysunek 2. Postulowany mechanizm dwuetapowej redukcji jonów Pt^{+4} do Pt^0 [41]

Figure 2. Postulated mechanism for the double two-electron reduction of Pt^{+4} to Pt^0 [41]

1.2. DROŹDŹAKI

Do organizmów zdolnych do biosyntezy nanocząstek metali należą również przedstawiciele drożdżaków. Wśród nich należy wspomnieć o *Candida glabrata* [42] i *Schizosaccharomyces pombe* [43], które wewnątrz komórek akumulują nanocząstki siarczku kadmu. Stabilność tak uzyskiwanych nanostruktur zapewnia fitochelatylna – krótki peptyd, pokrywający ich powierzchnię. Z kolei *Torulopsis sp.* w swoich komórkach gromadzi nanokryształy siarczku ołowiu (Pbs) [44]. Wymienione powyżej mikroorganizmy syntezują nanocząstki wewnątrzkomórkowo, a z kolei oporny na srebro, drożdżak, oznaczony symbolem MKY3, zewnątrzkomórkowo redukuje jony srebra do kryształów metalicznych wielkości 2–5 nm [45].

Zupełnie niedawno opisano zdolności tropikalnego mikroorganizmu *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 do syntezy nanocząstek złota. Badania z wykorzystaniem technik mikroskopii elektronowej TEM i SEM wykazały, że powstające nanostruktury związane są ze ścianą komórkową, ale w temperaturze 20°C mogą być uwalniane do roztworu [46, 47].

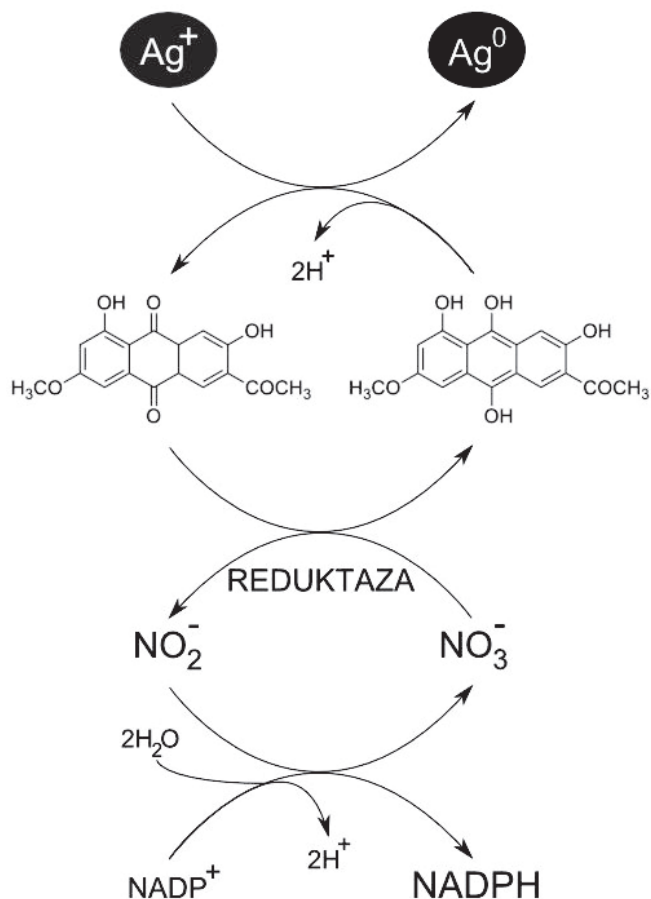
1.3. GRZYBY PLEŚNIOWE

Stosunkowo nowym podejściem do biosyntezy nanocząstek jest wykorzystanie metabolizmu grzybów pleśniowych. Ich konkurencyjność związana jest przede wszystkim z dużymi ilościami enzymów zawartych we wnętrzu komórek, wbudowanych w ścianę komórkową, ale co chyba najważniejsze, wydzielanych do środowiska, które jak się przypuszcza, są niezbędne do redukcji jonów metali do postaci metalicznej. Już w 1989 roku Pighi i in. [48], nieco później Chen i in. [49] oraz Birla i in. [50] opisali zdolność pleśni z rodzaju *Phoma* do syntezy sferycznych nanocząstek srebra. Kolejnym przykładem poznanych grzybów mikroskopowych, jest patogen roślin – *Fusarium oxysporum*, którego właściwości biosyntezy obejmują szerokie spektrum cząstek. Wśród nich znaleźć można znaleźć metale, takie jak złoto [51] i srebro [52], układy bimetaliczne Au-Ag [53], a także związki takie jak: ZrO_2 [54], $BiTiO_3$ [55] oraz CdS [56]. W 2006 roku Bharde z zespołem zaprezentował, iż zarówno *Fusarium oxysporum*, jak i *Verticillium*, potrafią zewnątrzkomórkowo syntezować nanocząstki magnetytu (Fe_2O_3) [57]. Z kolei rosnący na liściach geranium, grzyb *Colletotrichum* sp., w momencie wystawienia go na działanie jonów chlorozłocianu(III), syntezuje nanocząstki złota o kształtach pręta i graniastosłupa [58]. Kropidlaki (*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* i *A. niger*) redukują obecne w roztworze jony srebra do elementarnego metalu [59–61]. Bansal z zespołem [62] przedstawił biologiczną metodę otrzymywania tytanianu baru – ferromagnetycznego minerału wykorzystywanego w procesie produkcji materiałów piezoelektrycznych. Stosując *Fusarium oxysporum*, autorzy otrzymali nanocząstki o zdefiniowanych kształtach i rozmiarach nie przekraczających 10 nm. Cały proces był przeprowadzony w temperaturze pokojowej, co daje ekonomicznie uzasadnioną możliwość przemysłowego zastosowania tej metody. Z kolei metabolizm *Humicola* sp. zastosowano do skomplikowanej syntezy nanocząstek $CuAlO_2$ [63].

Ostatnio pojawiły się doniesienia dotyczące zewnątrzkomórkowej redukcji metali przez grzyby pleśniowe z rodzajów: *Phaenerochaete* [64], *Trichoderma* [65], *Penicillium* [66–72] i *Rhizopus* [73]. W tym ostatnim przypadku autorzy wykazali, że obecność w podłożu jonów złota indukuje syntezę dwóch tzw. białek stresu, które „włączają” system ochrony komórki przed toksycznym wpływem metalu. Dokładny mechanizm bio-redukcji jonów metali przez grzyby pleśniowe, skutkujący powstawaniem nanocząstek, nadal pozostaje niewyjaśniony. W oparciu o wyniki badań dotyczące zewnątrzkomórkowej syntezy nanocząstek srebra przez pleśń z rodzaju *Verticillium*, Mukerjee i in. [74] zaproponowali możliwe podstawy mechanizmu odpowiedzialnego za biosyntezę. Uznano, iż proces rozpoczyna się od wiązania jonów metalu na powierzchni komórek grzybów. Może to zachodzić na drodze oddziaływań elektrostatycznych pomiędzy Ag^+ , a ujemnie naładowanymi grupami karboksylowymi białek obecnych w ścianie komórkowej grzybni. Następnie jony srebra są redukowane przez enzymy obecne w ścianie komórkowej, wynikiem czego jest utworzenie zarodka, wokół którego tworzy się nanocząstka. Jest też możliwe, że

jony srebra Ag^+ dyfundują przez ścianę komórkową i są redukowane przez enzymy obecne w błonie cytoplazmatycznej lub wewnątrz komórki.

Na przykładzie *Fusarium oxysporum*, Duran z zespołem [75], również przedstawił hipotetyczny mechanizm redukcji jonów srebra (Rys. 3).



Rysunek 3. Hipotetyczny mechanizm redukcji jonów srebra przez *Fusarium oxysporum* [75]

Figure 3. Hypothetical mechanism of silver ions reduction by *Fusarium oxysporum* [75]

Opiera się on na enzymatycznej redukcji jonów Ag^+ , zachodzącej przy udziale enzymu z grupy oksydoreduktaz – reduktazy azotanowej. Wydaje się, że proces redukcji z udziałem NADP^+ zależnej reduktazy, inicjowany jest przez transfer elektronów z NADPH na przenośniki w postaci antrachinonów. Następnie przenośniki te stanowią źródło elektronów dla jonów metali, które w wyniku ich przyjęcia ulegają redukcji, tworząc nanocząstki elementarnego srebra. Zaproponowany przez Duran'a mechanizm, został w 2007 roku potwierdzony przez Kumar'a i in. [76], którzy przeprowadzili *in vitro* syntezę nanocząstek srebra, wykorzystując NADP^+ zależną reduktazę azotanową, fitochelatynę, 4-hydroksychinolinę oraz NADPH .

Autorzy sądzą, że nie jest to jedyny mechanizm i nie odnosi się do wszystkich pleśni syntezujących nanocząstki metali. W przypadku grzyba *Aspergillus niger*, dzięki elektroforezie w żelu poliakrylamidowym w warunkach denaturujących, odkryto, że płyn pochodzący zawiera oksydazę glukozową, która mogłaby wraz z glukozą, zawartą w mieszaninie, prowadzić redukcję jonów złota [77]. Wydaje się także, że obecność α -amylazy, posiadającej dwie wyeksponowane grupy tiolowe, może prowadzić do redukcji jonów metali [78, 79]. Doświadczenia wykonywane z użyciem *Coriolus versicolor*, pokazały, że w przypadku grzybów nie należy również wykluczać nieenzymatycznego mechanizmu biosyntezy nanocząstek srebra [80]. Analiza FTIR uwidoczniła pojawienie się piku przy 1735 cm^{-1} , który został zinterpretowany jako utleniona grupa hydroksylowa obecna w grzybnicy, powstała na skutek formowania się nanocząstek. Znaczenie grup $-\text{SH}$ opisał Mukherjee [80], pracując ze szczepem *Trichoderma asperillum*. Według badaczy, cysteina zawierająca grupę tiolową jest zaangażowana w redukcję jonów srebra.

1.4. GLONY I ROŚLINY WYŻSZE

Ostatnie lata pokazały, że wykorzystanie glonów i roślin wyższych w biosyntezie nanocząstek metali nie jest czystą abstrakcją, a ciekawym i konkurencyjnym przykładem zastosowania układów przyjaznych środowisku. Metabolizm popularnego glonu *Chlorella vulgaris* został wykorzystany do otrzymywania nanocząstek srebra [81]. Autorzy przypuszczają, że główną rolę w procesie redukcji jonów srebra spełniają grupy hydroksylowe tyrozyny i/lub grupy karboksylowe kwasu asparaginowego lub glutaminowego. Kolejne przykłady to alga morska *Sargassum wightii* [82] i brązowy glon *Fucus vesiculosus* [83], które prowadzą skuteczną syntezę nanocząstek złota. Ich ekstrakty inkubowane z AuCl_4^- redukują jony i w ten sposób uzyskiwane są struktury charakteryzujące się wysoką stabilnością w wodzie. W przypadku tej ostatniej algi autorzy wykazują, że to grupy hydroksylowe obecne w polisacharydach odpowiedzialne są za proces redukcji.

Do syntezy nanocząstek metali stosuje się też ekstrakty z liści roślin wyższych lub suszone rośliny. Z punktu widzenia produkcji na skalę przemysłową, to ostatnie rozwiązanie jest praktyczniejsze, gdyż eliminuje problem przygotowywania ekstraktu (powtarzalności jego składu) oraz sezonowości wzrostu roślin. Do tej pory opisano kilkanaście roślin zdolnych do syntezy nanocząstek metali. Nanocząstki złota są gromadzone przez korzenie, łodygi i liście wierzby pustynnej (*Chilopsis linearis*) [84] i sesbana pospolitego (*Sesbania sesban*) [85]. W tym ostatnim przypadku redukcja jonów metalu prawdopodobnie zachodzi przy udziale metabolitów wtórnych obecnych w komórkach. Również biomasa owsa (*Avena sativa*) w kontakcie z AuCl_4^- powoduje tworzenie nanocząstek złota o różnych kształtach [86].

Szerzej poznaną metodą otrzymywania nanocząstek jest zastosowanie ekstraktów roślinnych. Ekstrakty z liści geranium (*Pelargonium graveolens*) [87] i lucerny siewnej (*Medicago sativa*) [88] redukują jony odpowiednio srebra lub złota do

postaci elementarnych nanocząstek. Również ekstrakty z ciecierzycy pospolitej (*Cicer arietinum*) [89], czy palczatki pogiętej, częściej nazywanej trawą cytrynową (*Cymbopogon flexuosus*) [90], poddane działaniu jonów złota, redukują je do metalicznych nanostruktur. Niezwykłe właściwości posiadają liścienne ekstrakty z miodly indyjskiej (*Azadirachta indica*) [91], tamaryndowca indyjskiego (*Tamarindus indica*) [92], aloesu (*Aloe vera*) [93], cynamonowca kamforowego (*Cinnamomum camphora*) [94] i kolendry (*Coriandrum sativum*) [95]. W zależności od obecnego w podłożu jonu metalu, powstają stabilne nanocząstki złota, srebra, a w przypadku obecności obu jonów, ekstrakt z miodly indyjskiej syntezuje bimetaliczne układy Au/Ag. Z kolei ekstrakty z owoców amly czyli agrestu indyjskiego (*Emblica officinalis*) [96] wystawione na działanie jonów AuCl_4^- lub Ag^+ również tworzą nanocząstki tych metali. Ekstrakt z kapusty sitowatej (*Brassica juncea*) oprócz biosyntezy nanocząstek srebra i złota, prowadzi redukcję jonów miedzi [97]. Interesującym rozwiązaniem syntezy nanocząstek złota jest zastosowanie roślinnych materiałów odpadowych, np. skórek banana.

W przypadku biosyntezy nanocząstek przez rośliny, mechanizm reakcji również pozostaje nie znany. Przypuszcza się, że u ich podstaw leżą procesy przełamujące toksyczny wpływ metali obecnych w środowisku. O zdolność do redukcji jonów metali, podejrzewa się obecne w komórkach roślin flawonoidy, terpenoidy oraz polisacharydy. Ponadto udział w syntezie znajdują fitochelatyny (PC) – peptydy, których prekursorem jest glutation (GSH). Są one elementem szeroko rozpowszechnionego mechanizmu detoksyfikacji rozwiniętego u roślin, alg oraz grzybów. Fitochelatyny mają zdolność wiązania jonów metali, takich jak: Cd, Pb, Zn i Cu. Tworząc stabilne kompleksy, efektywnie obniżają wewnątrzkomórkowe stężenie jonów metali. Rola fitochelatyn w biosyntezie nanocząstek sprowadza się prawdopodobnie do stabilizacji i zapobiegania ich agregacji, a tym samym jest ważnym czynnikiem odpowiedzialnym za rozmiar i kształt powstających nanostruktur. Zwrócono również uwagę na rolę peptydów cyklicznych (kurkacykliny A i B), jako roślinnych czynników redukujących jony srebra i ochraniających powstałe nanocząstki. Ich znaczenie tłumaczone jest w dwojaki sposób. Zespół Bara [98] wysnuł przypuszczenie, że w początkowej fazie jony srebra zbliżają się do rdzeniowej struktury cyklicznego peptydu, gdzie po reakcji redukcji są stabilizowane przez grupy amidowe peptydu. Swoje podejrzenia tłumaczył faktem, że rozmiar uzyskanych nanocząstek był podobny do promienia „kieszni” wiążącej cykliczny peptyd. Nieco inne wytłumaczenie znaleźli Takano i Nakamura [99]. Według badaczy na początku ma miejsce stabilizacja jonów srebra. Podczas tautomeryzacji enolowo-ketonowej w wiązaniu peptydowym, grupa alkoholowa w serynie-3 w peptydzie cyklicznym A bądź treonina-5 w peptydzie cyklicznym B może działać jako reduktor dla jonów srebra. Opis ten nie uwzględniał roli grupy amidowej, o znaczeniu której pisał Bar [98]. Inny mechanizm syntezy nanocząstek z wykorzystaniem ekstraktów, zaproponowany został przez zespół Jha`ego [100]. Znając szlak metaboliczny mezofitów, badacze stwierdzili, że otrzymywanie nanocząstek srebra z ich udziałem może zajść na drodze tautomeryzacji chinonów. W przypadku kserofitów odnotowano znacze-

nie tautomeryzacji antrachinonów. Dodatkowo wykazano istotę dekarboksylacji oksydacyjnej kwasu jabłkowego w obecności enzymu zależnego od $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$.

2. ZASTOSOWANIE BIOMIMETYCZNYCH NANOCZĄSTEK METALI

Dzięki niezwyklej własnościom fizycznym, chemicznym i biologicznym, nanocząstki metali wytwarzane przez żywe organizmy mogą znaleźć zastosowanie w wielu dziedzinach życia. Najintensywniejsze badania prowadzone są w kierunku użycia tych struktur w medycynie i naukach pokrewnych. Stosowanie nanocząstek metali w terapii przeciwnowotworowej obejmuje dwie strategie działania. Pierwsza to bezpośrednie oddziaływanie nanocząstek z komórkami nowotworowymi, skutkiem czego jest hamowanie rozwoju choroby. Takie właściwości opisano dla nanocząstek srebra, które są inhibitorami aktywności kaspazy-3 i procesu angiogenezy [101]. Druga strategia polega na wykorzystaniu nanocząstek jako nośnika dostarczającego lek bezpośrednio do komórek rakowych. Okazało się, że magnetosomy izolowane z magnetotaktycznych bakterii są dobrym kandydatem na nośnik dla różnorodnych struktur, poczynając od cząsteczek chemicznych (doksorubicyna) [102], poprzez białka (enzymy, przeciwciała), aż do łańcuchów DNA i RNA [103]. Ułatwiają one transport przez błonę komórkową, zapewniają doskonałą stabilność, zwiększają rozpuszczalność, a także pozwalają na uwolnienie związanej struktury w ściśle określonym miejscu. Ciekawym podejściem do problemu jest wykorzystanie komórek magnetotaktycznych bakterii jako nośnika plazmidowego DNA w terapii genowej [104]. Wykazano, że taki układ jest niezwykle skuteczny i nietoksyczny. Drugim ważnym problemem współczesnej medycyny jest terapia zakażeń i związana z nią systematycznie rosnąca liczba szczepów opornych na klasyczne antybiotyki. Wiadomo jest, że nanocząstki srebra wykazują silne przeciwdrobnoustrojowe właściwości, a oporność na srebro wśród bakterii, pojawia się znacznie rzadziej [105]. Sąd Duran i wsp. [106] zaproponowali użycie nanocząstek srebra syntezowanych przez *Fusarium oxysporum* do produkcji odzieży i powłok antibakteryjnych. Inną koncepcją przezwyciężania lekooporności bakterii jest łączne stosowanie nanocząstek srebra i klasycznych antybiotyków [107].

Nanocząstki metali mogą być również wykorzystane jako narzędzie służące do szybkiej, wydajnej i precyzyjnej detekcji czynników chemicznych i biologicznych. Jednym z ciekawych przykładów jest użycie sferycznych nanocząstek selenu, syntezowanych przez *Bacillus subtilis*, w detekcji H_2O_2 [108]. Z kolei B. Zheng i współpracownicy opisali zastosowanie stopu Au-Ag w elektrochemicznych biosensorach wykrywających niezwykle niskie stężenia waniliny [109], a zespół kierowany przez D. Zheng'a pokazał znaczenie nanocząstek złota w czujnikach służących do pomiaru stężenia glukozy [110]. Wyniki badań przewodnictwa nanocząstek złota syntezowanych przez ekstrakt z liści tamaryndowca jednoznacznie wskazują na możliwość ich użycia do konstrukcji sensorów chemicznych [111]. Dzięki funkcjonalizacji nanocząstek magnetycznych przy pomocy przeciwciał otrzymano bardzo dokładne

znaczniki biologiczne używane do wykrywania ksenoestrogenów w środowisku naturalnym [112].

Rozważając możliwe zastosowania biomimetycznych nanocząstek metali, nie sposób pominąć ich roli w ochronie środowiska. Nanostruktury związków żelaza (Fe_3O_4 , Fe_3S_4) i krzemu, izolowane z bakterii i okrzemek, mogą być z powodzeniem stosowane w bateriach słonecznych i elektrycznych [113]. Usuwanie uranu (w postaci nanocząstek) ze ścieków radioaktywnych przez komórki *Bacillus sphaericus* to kolejny przykład możliwości aplikacyjnych [114].

Właściwości paramagnetyczne Fe_2O_3 zostały wykorzystane w procesach separacji i oczyszczania DNA [115]. Do próbki dodawane są sfunkcjonalizowane za pomocą aminosilanu, nanocząstki magnetytu, które łączą się ze swoim „celem” i pod wpływem przyłożonego pola magnetycznego wydziela się „produkt” tego postępowania.

Warto podkreślić możliwość wykorzystania nanocząstek magnetytu immobilizowanych na powierzchni komórek *Pseudomonas delafieldii* w procesie odsiarczania dibenzotiofenu [116].

PODSUMOWANIE

Organizmy żywe, od prostej bakterii po zorganizowane struktury *Eucaryota*, mogą być zastosowane jako aktywne składniki w syntezie i stabilizacji nanocząstek metali i kropek kwantowych o określonym kształcie i rozmiarze. Już od pierwszego zastosowania układów biologicznych wiadomo było, że nanocząstki syntezowane przez organizmy żywe mają specyficzną właściwość, która powoduje, że nie łączą się ze sobą, a w konsekwencji nie wykazują tendencji do sedymentacji. Obecnie tę cechę tłumaczy się powstającymi kompleksami nanocząstek metali z peptydami/białkami, wytwarzanymi przez żywe organizmy. Szczególną rolę w stabilizacji nanocząstek znajdują fitochelatyny. Uważa się, iż u podstaw syntezy nanocząstek metali leżą mechanizmy przełamujące toksyczny wpływ metali obecnych w środowisku. Innymi słowy, wytrącanie metali (nieważne, czy w formie nanocząstek), jest zasadniczym elementem chroniącym komórkę przed śmiercią. U wielu organizmów zdolność redukcji jonów metali opiera się na wykorzystaniu aparatu enzymatycznego. Do tej pory w biosyntezie nanocząstek metali opisano udział co najmniej trzech grup enzymów. Są to azotanowe i żelazowe reduktazy, zależne od $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$, a także hydrogenazy i oksydazy. Rola enzymów sprowadza się do uzyskiwania elektronów i dalszego ich przenoszenia, co skutkuje późniejszą redukcją jonów do elementarnej postaci metalu. U roślin wyższych o zdolność do redukcji jonów metali, podejrzewa się obecne w dużych ilościach flawonoidy, terpenoidy, polisacharydy i aminokwasy.

Mam nadzieję, że poznanie mechanizmów bioredukcji jonów metali w połączeniu z narzędziami oferowanymi przez inżynierię genetyczną, w niedługim czasie, znajdzie praktyczne zastosowanie w przemysłowym otrzymywaniu dobrej jakości nanocząstek metali i kropek kwantowych, i poszerzy ich możliwości aplikacyjne.

PODZIĘKOWANIE

Prezentowana praca powstała w ramach projektu badawczego numer N507 515 038. Serdecznie dziękuję za współpracę Michałowi Witkowskiemu, który pod moim kierunkiem wykonywał pracę magisterską.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Y.A. Krutyakv, A.A. Kudrinskiy, A.Y. Olenin, G.V. Lisichkin, *Rus. Chem. Rev.*, 2008, **77**, 233.
- [2] E. Boisselier, D. Astruc, *Chem. Soc. Rev.*, 2009, **38**, 1759.
- [3] J. Zhou, J. Ralston, R. Sedev, D.A. Beattie, *J. Coll. Int. Sci.*, 2009, **331**, 251.
- [4] S. Guo, E.Wang, *Nano Today*, 2011, **6**, 240.
- [5] T. Klaus, R. Joerger, E. Olsson, C.G. Granqvist, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, **96**, 13611.
- [6] R. Joerger, T. Klaus, C.G. Granqvist, *Adv. Mater.*, 2000, **12**, 407.
- [7] B. Nair, T. Pradeep, *Cryst. Growth Des.*, 2002, **2**, 293.
- [8] A.K. Jha, K. Prasad, *Biotechnol. J.*, 2010, **5**, 285.
- [9] K. Kalimuthu, R.S. Babu, D. Venkataraman, M. Bilal, S. Gurunathan, *Coll. Surf. B*, 2008, **65**, 150.
- [10] A.R. Shahverdi, S. Minaeian, H.R. Shahverdi, H. Jamalifar, A.A. Nohi, *Proc. Biochem.*, 2007, **42**, 919.
- [11] N. Mokhari, S. Daneshpajouh, S. Seyedbagheri, R. Atashdehghan, K. Abdi, S. Sarkar, S. Minaian, H.R. Shahverdi, A.R. Shahverdi, *Mat. Res. Bull.*, 2009, **6**, 1415.
- [12] S. Gurunathan, K. Kalishwaralal, R.Vaidyanathan, V. Deepak, S.R.K. Pandian, J. Muniyandi, N. Hariharan, S.H. Eom, *Coll. Surf. B*, 2009, **74**, 328.
- [13] T.J. Beveridge, R.G.E. Murray, *J. Bacteriol.*, 1980, **141**, 876.
- [14] A. Nakajima, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2003, **19**, 369.
- [15] H. Shiyong, Z. Guo, Y. Zhang, S. Zhang, J. Wang, N. Gu, *Mat. Lett.*, 2007, **61**, 3984.
- [16] H. Shiyong, Y. Zhang, Z. Guo, N. Gu, *Biotechnol. Prog.*, 2008, **24**, 476.
- [17] A. Ahmad, P. Mukherjee, D. Mandal, S. Senapati, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 12108.
- [18] A. Ahmad, P. Mukherjee, S. Senapati, D. Mandal, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *Coll. Surf. B*, 2003, **28**, 313.
- [19] K. Deplanche, L.E. Macaskie, *Biotechnol. Bioeng.*, 2008, **99**, 1055.
- [20] M.I. Husseiny, M.A. El-Aziz, Y. Badr, M.A. Mahmoud, *Spectrochim. Acta Part A*, 2007, **67**, 1003.
- [21] Y. Konishi, T. Tsukiyama, K. Ohno, N. Saitoh, T. Nomura, S. Nagamine, *Hydrometallurgy*, 2006, **81**, 24.
- [22] Y. Konishi, K. Ohno, N. Saitoh, T. Nomura, S. Nagamine, Y. Takahashi, T. Uruga, *J. Biotechnol.*, 2007, **128**, 648.
- [23] Y. Konishi, T. Tsukiyama, T. Tachimi, N. Saitoh, T. Nomura, S. Nagamine, *Electrochim. Acta*, 2007, **53**, 186.
- [24] A. Ahmad, S. Senapati, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *Langmuir*, 2003, **19**, 3550.
- [25] C. Lang, D. Schüler, D. Faivre, *Macromol. Biosci.*, 2007, **7**, 144.
- [26] I.W. Moon, Y. Roh, R.J. Lauf, H.V. Vali, L.W. Yeary, T. Phelps, *J. Microbiol. Methods.*, 2007, **70**, 150.
- [27] D.P. Cunningham, L.L. Lundie, L. Leon Jr, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, **59**, 7.

- [28] J.D. Holmes, D.J. Richardson, S. Saed, R. Evans-Gowing, D.A. Russell, J.R. Sodeau, *Microbiology*, 1997, **143**, 2521.
- [29] R.Y. Sweeney, C. Mao, X. Gao, J.L. Burt, A.M. Belcher, G. Georgiou, B.L. Iverson, *Chem. Biol.*, 2004, **11**, 1553.
- [30] H.J. Bai, Z.M. Zhang, Y. Guo, G.E. Yang, *Coll. Surf. B: Biointerfaces*, 2009, **70**, 142.
- [31] M. Labrenz, G.K. Druschel, T. Thomsen-Ebert, B. Gilbert, S.A. Welch, K.M. Kemner, G.A. Logan, R.E. Summons, G.D. Stasio, P.L. Bond, B. Lai, S.D. Kelly, J.F. Banfield, *Science*, 2000, **290**, 1744.
- [32] P. Yong, N.A. Rowson, J.P.G. Farr, I.R. Harris, L.E. Macaskie *Biotechnol. Bioeng.*, 2002, **20**, 369.
- [33] P. Yong, N.A. Rowson, J.P.G. Farr, I.R. Harris, L.E. Macaskie, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2002, **77**, 593.
- [34] V.S. Baxter-Plant, I.P. Mikhreeenko, L.E. Macaskie, *Biodegradation*, 2003, **14**, 83.
- [35] W. de Windt, P. Aelterman, W. Verstraete, *Environ. Microbiol.*, 2005, **7**, 314.
- [36] W. de Windt, N. Boon, J. van den Bulcke, L. Rubberecht, F. Prata, J. Mast, T. Hennebel, W. Verstraete, *Antonie van Leeuwenhoek*, 2006, **90**, 377.
- [37] K. Pollmann, M. Merroun, J. Raff, C. Hennig, S. Selenska-Pobell, *Lett. Appl. Microbiol.*, 2006, **43**, 39.
- [38] M.F. Lengke, M.E. Fleet, G. Southam, *Langmuir*, 2006, **22**, 2780.
- [39] M.F. Lengke, B. Ravel, M.E. Fleet, G. Wanger, R.A. Gordon, G. Southam, *Environ. Sci. Technol.*, 2006, **40**, 6304.
- [40] M.F. Lengke, M.E. Fleet, G. Southam, *Langmuir*, 2006, **22**, 7318.
- [41] T.L. Riddin, Y. Govender, M. Gericke, C.G. Whiteley, *Enzyme Microbiol. Technol.*, 2009, **45**, 267.
- [42] M. Kowshik, N. Dashmukh, W. Vogel, J. Urban, S.K. Kulkarni, K.M. Paknikar, *Biotechnol. Bioeng.*, 2002, **78**, 583.
- [43] R.N. Reese, D.R. Winge, *J. Biol. Chem.*, 1998, **263**, 12832.
- [44] M. Kowshik, W. Vogel, J. Urban, S.K. Kulkarni, K.M. Pacnikar, *Adv. Mater.*, 2002, **14**, 815.
- [45] M. Kowshik, S. Ashtaputre, S. Kharrazi, W. Vogel, J. Urban, S.K. Kulkarni, K.M. Paknikar, *Nanotechnology*, 2003, **14**, 95.
- [46] M. Agnihotri, S. Joshi, A.R. Kumar, S. Zinjarde, S. Kulkarni, *Mat. Lett.*, 2009, **63**, 1231.
- [47] P.S. Pimpricar, S.S. Joshi, A.R. Kumar, S.S. Zinjarde, S.K. Kulkarni *Coll. Surf. B*, 2009, **74**, 309.
- [48] L. Pighi, T. Pumbel, F. Schinner, *Biotechnol. Lett.*, 1989, **11**, 275.
- [49] J.C. Chen, Z.H. Lin, X.X. Ma, *Lett. Appl. Microbiol.*, 2003, **37**, 105.
- [50] S.S. Birla, V.V. Tiwari, A.K. Gade, A.P. Ingle, A.P. Yadav, M.K. Rai, *Lett. Appl. Microbiol.*, 2009, **48**, 173.
- [51] P. Mukherjee, S. Senapati, D. Mandal, A. Ahmad, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *ChemBioChem*, 2002, **5**, 461.
- [52] A. Ahmad, P. Mukherjee, S. Senapati, D. Mandal, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *Coll. Surf. B*, 2003, **28**, 313.
- [53] S. Senapati, A. Ahmad, M.I. Khan, M. Sastry, R. Kumar, *Small*, 2005, **1**, 517.
- [54] V. Bansal, D. Rautaray, A. Ahmad, M. Sastry, *J. Mater. Chem.*, 2004, **14**, 3303.
- [55] V. Bansal, D. Rautaray, A. Bharde, K. Ahire, A. Sanyal, A. Ahmad, M. Sastry, *J. Mater. Chem.*, 2005, **15**, 2583.
- [56] A. Ahmad, P. Mukherjee, D. Mandal, S. Senapati, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 12108.
- [57] A. Bharde, D. Rautaray, V. Bansal, A. Ahmad, I. Sarkar, S.M. Yusuf, M. Sanyal, M. Sastry, *Small*, 2006, **2**, 135.
- [58] S.S. Shankar, A. Ahmad, S. Parischa, M. Sastry, *J. Mater. Chem.*, 2003, **13**, 1822.
- [59] N. Vigneshwaran, N.M. Ashtaputre, P.V. Varadarajan, R.P. Nachane, K.M. Paralikar, R.H. Balasubramanya, *Mat. Lett.*, 2007, **61**, 1413.

- [60] K.C. Bhainsa KC, S.F. D'Souza, *Coll. Surf. B*, 2006, **47**, 160.
- [61] Z. Sadowski, I. Maliszewska, B. Grochowalska, I. Polowczyk, T. Koźlecki, *Mat. Sci. Pol.*, 2008, **26**, 419.
- [62] V. Bansal, D. Rautaray, A. Bharde, K. Ahire, A. Ahmad, M. Sastry, *J. Mater. Chem.*, 2005, **15**, 2583.
- [63] A. Ahmad, T. Jagadale, V. Dhas, S. Khan, S. Patil, R. Paricha, V. Ravi, S. Ogale, *Adv. Mater.*, 2007, **19**, 3295.
- [64] N. Vigneshwaran, A.A. Kathe, P.V. Varadajan, R.P. Nachane, R.H. Balasubramanya, *Coll. Surf. B*, 2006, **53**, 55.
- [65] A.M. Fayaz, K. Balaji, P.T. Kalaichelvan, R. Venkatesan, *Coll. Surf. B*, 2009, **74**, 123.
- [66] I. Maliszewska, Ł. Aniszkiewicz, Z. Sadowski, *Acta Phys. Pol. A*, 2009, **116**, 160.
- [67] Z. Sadowski, I. Maliszewska, I. Polowczyk, T. Koźlecki, B. Grochowalska, *Pol. J. Chem.*, 2008, **82**, 377.
- [68] Z. Sadowski, I.H. Maliszewska, B. Grochowalska, I. Polowczyk, T. Koźlecki, *Mat. Sci. Pol.* 2009, **26**, 419.
- [69] K. Kathiresan, S. Manivannan, M.A. Nabeel, B. Dhivya, *Coll. Surf. B*, 2009, **71**, 133.
- [70] I. Maliszewska, Z. Sadowski, *J. Phys. Confer. Series*, 2009, doi: 10.1088/1742-6596/146/1/0112024
- [71] I. Maliszewska, M. Puzio, *Acta Phys. Pol. A*, 2009, **116**, 160.
- [72] I. Maliszewska, K. Szewczyk, K. Waszak, *J. Phys. Confer Series*, 2009, doi: 10.1088/1742-6596/146/1/012025
- [73] S.K. Das, A.R. Das, A.K. Guha, *Langmuir*, 2009, **25**, 8192.
- [74] P. Mukherjee, A. Ahmad, D. Mandal, S. Senapati, S.R. Sainkar, M.I. Khan, R. Parischa, P.V. Ajayakumar, M. Alam, R. Kumar, M. Sastry, *Nano Lett.*, 2001, **1**, 515.
- [75] N. Duran, P.D. Marcato, O.L. Alves, G.H.I. De Souza, E. Esposito, *J. Nanobiotechnol.*, 2005, **3**, doi: 10.1186/1477-3155-3-8.
- [76] S.A. Kumar, M.K. Abyaneh, S.W. Gosavi, S.K. Kulkarni, R. Paricha, A. Ahmad, M.I. Khan, *Bio-technol. Lett.*, 2007, **29**, 439.
- [77] J. Xie, J.Y. Lee, D.I.C. Wang, Y.P. Ting, *J. Phys. Chem. C*, 2007, **111**, 16858.
- [78] A. Rangnekar, T.K. Sarma, A.K. Singh, J. Deka, A. Ramesh, A. Chattopadhyay, *Langmuir*, 2007, **23**, 5700.
- [79] K. Kalishwaralal, S. Gopalram, R. Vaidyanathan, V. Deepak, S.R.K. Pandian, S. Gurunathan, *Coll. Surf. B*, 2010, **77**, 174.
- [80] P. Mukherjee, M. Roy, B.P. Mandal, G.K. Dey, P.K. Mukherjee, J. Ghatak, A.K. Tyagi, S.P. Kale, *Nanotechnology*, 2008, **19**, 1.
- [81] J. Xie, J.Y. Lee, D.I.C. Wang, Y.P. Ting, *ACS Nano*, 2007, **1**, 429.
- [82] G. Singaravelu, J. Arockiamary, K. Ganesh, K. Govindaraju, *Coll. Surf. B*, 2007, **57**, 97.
- [83] Y.N. Mata, E. Torres, M.L. Blázquez, A. Ballester, F. Gonzalez, J.A. Munoz, *J. Hazar. Mat.*, 2009, **166**, 612.
- [84] E. Rodriguez, J.G. Parsons, J.R. Peralta-Videa, G. Cruz-Jimenez, J. Romero-Gonzalez, B.E. Sanchez-Salcido, G.B. Saupe, M. Duarte-Gardea, J.L. Gardea-Torresdey, *Int. J. Phytoremed.*, 2007, **9**, 133.
- [85] N.C. Sharma, S.V. Sahi, S. Nath, J.G. Persons, J.L. Gardea-Torresdey, T. Pal, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, **41**, 5137.
- [86] V. Armendariz, I. Herrera, J.R. Peralta-Videa, M. Jose-Yacaman, H. Troiani H.P. Santiago, J.L. Gardea-Torresdey, *J. Nanoparticles Res.*, 2004, **6**, 377.
- [87] S.S. Shankar, A. Ahmad, M. Sastry, *Biotechnol. Prog.*, 2003, **19**, 1627.
- [88] J.L. Gardea-Torresdey, K.J. Tiemann, G. Gamez, K. Dokken, S. Tehuacanero, M. José-Yacamán, *J. Nano. Res.*, 1999, **1**, 397.

- [89] K. Ghule, A.V. Ghule, J.Y. Liu, Y.C. Ling, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2006, **6**, 3746.
- [90] S.S. Shankar, A. Rai, A. Ahmad, M. Sastry, *Chem. Mater.*, 2005, **17**, 566.
- [91] S.S. Shankar, A. Rai, A. Ahmad, M. Sastry, *J. Colloid. Interf. Sci.*, 2004, **275**, 496.
- [92] B. Ankamwar, M. Chaudhary, M. Sastry, *Synth. React. Inorg. Metal. Org. Nano. Metal Chem.*, 2005, **35**, 19.
- [93] S.P. Chandran, M. Chaudhary, R. Pasricha, A. Ahmad, M. Sastry, *Biotechnol. Prog.* 2006, **22**, 577.
- [94] J. Huang, Q. Li, D. Sun, Y. Lu, Y. Su, X. Yang, *Nanotechnology*, 2007, **18**: 105104.
- [95] K.B. Narayanan, N. Sakthivel, *Mat. Lett.*, 2008, **62**, 4588.
- [96] B. Ankamwar, C. Damle, A. Absar, S. Mural, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2005, **10**, 1665.
- [97] R.G. Haverkamp, A.T. Marshall, D. van Agterveld, *J. Nanopart. Res.*, 2007, **9**, 697.
- [98] H. Bar, D.K. Bhui, Sahoo G.P., P. Sarkar, S.P. De, A. Misra, *Coll. Surf. A Physicochem Eng. Asp.*, 2009, **339**, 134.
- [99] Y. Takano, H. Nakamura, *Chem. Phys. Lett.*, 2006, **430**, 149.
- [100] A.K. Jha, K. Prasad, K. Prasad, A.R. Kulkarni, *Coll. Surf. B Biointerfaces*, 2009, **73**, 219.
- [101] K. Kalishwaralal, E. Banumathi, S.R.K. Pandian, V. Deepak, J. Muniyandi, S. H. Eom, S. Gurnathan, *Coll. Surf. B Biointerfaces*, 2009, **73**, 51.
- [102] J. B. Sun, J. H. Duan, S. L. Dai, J. Ren, Y. D. Zhang, J. S. Tian, Y. Li, *Cancer Lett.*, 2007, **258**, 109.
- [103] T. Matsunaga, S. Kamiya, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1987, **26**, 328.
- [104] J. Xie, K. Chen, X. Chen, *Nano Res.*, 2009, **2**, 261.
- [105] S. Silver, L.T. Phung, G. Silver, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, **33**, 627.
- [106] N. Durán, P.D. Marcato, G.I.H. De Souza, O.L. Alves, E. Esposito, *J. Biomed. Nanotechnol.*, 2007, **3**, 203.
- [107] A.M. Fayaz, K. Balaji, M. Girilal, R. Yadav, P.T. Kalaichelvan, R. Venketesan, *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.*, 2010, **6**, e103.
- [108] T. Wang, L. Yang, B. Zhang, J. Liu, *Coll. Surf. B Biointerfaces*, 2010, **80**, 94.
- [109] D. Zheng, C. Hu, T. Gan, X. Dang, S. Hu, *Sensors and Actuators B*, 2010, **148**, 247.
- [110] B. Zheng, L. Qian, H. Yuan, D. Xiao, X. Yang, M.C. Paa, M.M.F. Choi, *Talanta*, 2010, **82**, 177.
- [111] B. Ankamwar, M. Chaudhary, S. Mural, *Synth. React. Inorg. Metal-Org. Nanometal. Chem.*, 2005, **35**, 19.
- [112] T. Tanaka, H. Takeda, F. Ueki, K. Obata, H. Tajima, H. Takeyama, Y. Goda, S. Fujimoto, T. Matsunaga, *J. Biotechnol.*, 2004, **108**, 153.
- [113] R. Joerger, T. Klaus, E. Olsson, C.G. Granqvist, *Proc. Soc. Photo-Opt. Instrum. Eng.*, 1999, **3789**, 2.
- [114] M.L. Merroun, J. Raff, A. Rossberg, Ch. Hennig, T. Reich, S. Selenska-Pobell, *Appl. Environm. Microb.*, 2005, **71**, 5532.
- [115] M.E. Park, J.H. Chang, *Mat. Sci. Eng. C.*, 2007, **27**, 1232.
- [116] G. Shan, J. Xing, H. Zhang, H. Liu, *Appl. Environm. Microb.*, 2005, **71**, 4497.

Praca wpłynęła do Redakcji 15 sierpnia 2012