

中药现代化技术

## 中草药还原法制备银纳米颗粒及其抗菌性能

林源<sup>1,2,3</sup> 林丽芹<sup>2,3,4</sup> 林文爽<sup>1,2,3</sup> 黄加乐<sup>1</sup> 何宁<sup>1</sup> 王海涛<sup>1</sup>,  
孙道华<sup>1</sup> 李清彪<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1. 厦门大学 化学化工学院 化学工程与生物工程系 福建 厦门 361005; 2. 厦门大学 醇醚酯化工清洁生产国家工程实验室, 福建 厦门 361005; 3. 厦门大学 福建省化学生物学重点实验室 福建 厦门 361005; 4. 厦门大学 海洋与环境学院 环科中心, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 分别以中草药丁香、山茱萸、地榆和乌梅的提取液为还原剂和保护剂合成银纳米颗粒, 利用紫外-可见吸收光谱(UV-vis)、透射电镜(TEM)以及X射线粉末衍射(XRD)对产物进行了表征。结果表明, 所得银纳米颗粒呈近球形, 提高提取液的pH有利于获得粒径较小、分散性好、稳定性高的银纳米颗粒。进一步考察制得的银纳米颗粒的抗菌性能, 结果表明, 其对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有很强的抑制作用, 最小抑菌质量浓度(MIC)分别可达1.69和3.38 mg/L。

**关键词:** 生物还原; 银纳米颗粒; 中草药提取液; 抗菌; 中药现代化技术

**中图分类号:** TB34 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214(2011)08-0774-06

## Biosynthesis of Silver Nanoparticles from Various Medicinal Plant Extracts and Their Antibacterial Properties

LIN Yuan<sup>1,2,3</sup> , LIN Li-qin<sup>2,3,4</sup> , LIN Wen-shuang<sup>1,2,3</sup> , HUANG Jia-le<sup>1</sup> , HE Ning<sup>1</sup> , WANG Hai-tao<sup>1</sup> , SUN Dao-hua<sup>1</sup> , LI Qing-biao<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1. Department of Chemical and Biochemical Engineering, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China; 2. National Engineering Laboratory for Green Chemical Productions of Alcohols-Ethers-Esters, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China; 3. Key Lab for Chemical Biology of Fujian Province, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China; 4. Environmental Science Research Center, College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

**Abstract:** Quasi-spherical silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized from the extracts of different medicinal plants including *Syzygium aromaticum*, *Cornus officinalis*, *Prunus mume* and *Sanguisorba officinalis*, and were subsequently characterized by means of UV-visible spectroscopy, transmission electron microscopy and X-ray diffraction. When pH values of the extracts were adjusted to 10, the biosynthesized AgNPs were well-dispersed, highly stable, and relatively small in size. Thus obtained AgNPs were found to demonstrate good antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, with minimum inhibitory concentrations of 1.69 and 3.38 mg/L required, respectively.

**Key words:** biosynthesis; silver nanoparticles; medicinal plant extracts; antibacterial; modernization technology of traditional Chinese medicines

**Foundation items:** Supported by the State Key Program of National Natural Science of China (21036004), the General Program of National Natural Science of China (20976146) and the Key Project of Fujian Provincial Department of Science and Technology (2009H0041)

收稿日期: 2011-02-22; 定用日期: 2011-05-24

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(21036004); 国家自然科学基金面上项目(20976146); 福建省科技计划重点项目(2009H0041)

作者简介: 林源(1985-), 女, 硕士研究生。联系人: 李清彪(1963-), 教授, 博士生导师, 电话: 0592-2189595, E-mail: kelqb@xmu.edu.cn。

近年来,随着抗生素滥用引起的药物残留与细菌耐药性增强等问题的出现,许多研究者致力于寻找抗生素的替代物。银纳米颗粒因其优异的抗菌性能而受到广泛的关注<sup>[1-4]</sup>,已用于各种医疗器材(如导尿管、骨科内固定器材)、敷料以及抗菌织物上预防感染。银纳米颗粒的制备方法可分为物理法、化学法和生物法。物理法所得产品质量高,但对设备要求较高,生产费用昂贵<sup>[5]</sup>;化学法则由于所用的化学试剂会对人体和环境造成影响,一定程度上限制了其应用<sup>[6]</sup>。近年来出现的基于微生物或植物的生物还原法,具有绿色环保、成本低等优点<sup>[7-9]</sup>,是一种具有发展前景的制备方法。相对于微生物法繁琐的筛选与培养过程,植物法工艺简便,更适用于银纳米颗粒的制备<sup>[6,8,10]</sup>。自 Gardea-Torresdey 等<sup>[11-13]</sup>采用紫花苜蓿制备金/银纳米颗粒以来,植物法的研究受到了越来越多的重视,筛选出了多种可用于制备银纳米颗粒的植物,如天竺葵<sup>[14]</sup>、印楝<sup>[6]</sup>、甜椒<sup>[7]</sup>和芳樟<sup>[8]</sup>等。

中草药是一类典型的植物资源,Huang 等的研究揭示了其在还原制备金纳米颗粒方面具有潜在应用前景<sup>[15]</sup>。但目前利用中草药制备银纳米颗粒的研究仍较少。本工作以丁香、山茱萸、地榆和乌梅4种中草药的提取液为还原剂和保护剂合成银纳米颗粒,通过改变中草药种类及其提取液 pH 进行银纳米颗粒的粒径调控,并进一步测定所得的银纳米颗粒对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌性能。由于采用的原料为中草药,所制得的银纳米颗粒具有更好的生物相容性<sup>[6]</sup>,更适用于医疗产品。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与材料

硝酸银、硝酸和氢氧化钠均为 AR,由国药集团化学试剂有限公司生产。丁香、山茱萸、地榆和乌梅购于厦门市九鼎药房。Mueller Hinton(MH)肉汤和 MH 琼脂培养基由广东环凯微生物科技有限公司生产。大肠杆菌(*Escherichia coli* CMCC(B)4410)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* CMCC(B)26003)均由厦门大学生物系提供,本实验室保存。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 植物干粉及其提取液的制备

将干燥后的中草药(丁香、山茱萸、地榆或乌梅)分别放入中药粉碎机粉碎获得干粉,密封保存备用。

准确称取 3 g 植物干粉,加入 100 mL 蒸馏水,煮沸后保持 15 min,冷却后过滤,滤液用蒸馏水定容至 100 mL,所得溶液即为中草药提取液(I)。利用

NaOH 溶液(浓度 10 mol/L)将中草药提取液(I)的 pH 调至 10,所得溶液为中草药提取液(II)。

#### 1.2.2 银纳米颗粒的制备

在 100 mL 两口圆底烧瓶中加入 30 mL 中草药提取液,而后将其置于恒温加热磁力搅拌器中进行反应,油浴反应温度为 90 °C。待烧瓶内的液体温度与油浴温度一致后,再往瓶中加入一定体积的浓度为 0.1 mol/L 的 AgNO<sub>3</sub> 溶液,使反应液中的 AgNO<sub>3</sub> 浓度为 5 mmol/L。从加入硝酸银溶液时刻开始计时,磁力搅拌条件下反应 1.5 h。

#### 1.2.3 银离子转化率的测定

反应结束后,取 2 mL 反应液于 13 000 r/min 转速下离心 20 min,使银纳米颗粒沉淀下来,而后取一定量的上清液用质量分数 5% 的 HNO<sub>3</sub> 溶液稀释适当倍数,再以 TAS-986 原子吸收光度计(北京普析通用仪器有限公司)测定残余的银离子质量浓度  $\rho_f$ 。银离子的转化率按下式计算:

$$Q/\% = \frac{c_0 \times M - N \times \rho_f}{c_0 \times M} \times 100$$

式中: $c_0$  为硝酸银初始浓度(mmol/L); $M$  为银的摩尔质量(g/mol); $N$  为稀释倍数; $\rho_f$  为稀释液中银离子的质量浓度(mg/L)。

#### 1.2.4 银纳米颗粒的表征

分别采用 TU-1900 紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)、Tecnai F 30 透射电子显微镜(荷兰 Philips 公司)、X'Pert Pro X 射线粉末衍射仪(荷兰 PANalytical B V 公司)对银纳米颗粒进行表征。

#### 1.2.5 银纳米颗粒的抗菌性能测试

采用常量稀释法<sup>[16-17]</sup>测定银纳米颗粒的抗菌性能,确定其最小抑菌质量浓度(MIC)。在各瓶 MH 肉汤培养基中加入稀释好的不同质量浓度的抗菌剂(即银纳米颗粒),再接种一定量的细菌悬液,使菌浓度为  $10^5 \sim 10^6$  CFU/mL。另取两瓶培养基,其中一瓶加入无菌水和菌液作为阳性对照组,另一瓶加入无菌水和抗菌剂作为阴性对照组。分别将实验组、阳性和阴性对照组摇匀,37 °C 下振荡培养 24 h 后观察细菌生长情况。当阳性对照组液体浑浊,阴性对照组液体澄清时,实验组中摇瓶内液体澄清的试样中最低抗菌剂质量浓度即为此抗菌剂对受试菌的 MIC。从实验组的澄清摇瓶中取 100  $\mu$ L 培养液于平板上,涂布均匀后放入 37 °C 培养箱中培养 12~18 h,无细菌生长的最低抗菌剂质量浓度为此抗菌剂的最小杀菌质量浓度(MBC)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 银纳米颗粒的表征

利用 UV-vis 吸收光谱分别对所选中草药提取液( I )和( II )还原 AgNO<sub>3</sub> 得到的产物进行表征 , 结果见图 1。

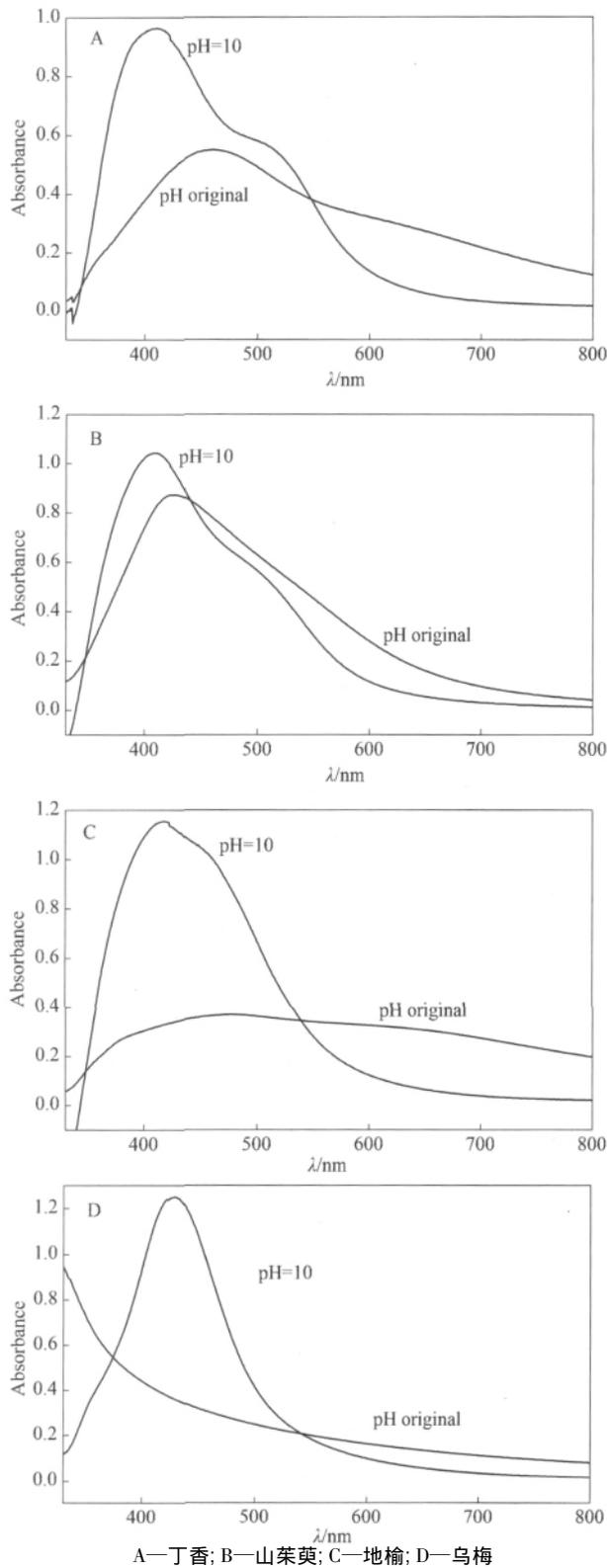


图 1 中草药提取液所制得的银纳米颗粒的 UV-vis 吸收光谱图

Fig. 1 UV-vis absorption spectra of AgNPs synthesized from various plant extracts

由图 1 可以看出 , 丁香、山茱萸和地榆提取液

( I ) 与 AgNO<sub>3</sub> 反应所得产物分别在 462、422 和 479 nm 处有明显吸收峰( 图 1A ~ C ) , 这与银纳米颗粒的 SPR 吸收峰一致 , 表明有银纳米颗粒形成; 而乌梅提取液( I ) 与 AgNO<sub>3</sub> 反应所得产物则没有明显的吸收峰( 图 1D ) , 表明没有形成银纳米颗粒。4 种中草药提取液( II ) 与 AgNO<sub>3</sub> 反应所得产物分别在 411、410、417 和 429 nm 处有明显吸收峰( 图 1A ~ D ) , 一般认为这是球形银纳米颗粒的 SPR 吸收峰<sup>[18]</sup>。

利用透射电镜对所制得的银纳米颗粒形貌进行表征。图 2 是由丁香和山茱萸提取液( I ) 制备的银纳米颗粒的 TEM 图。

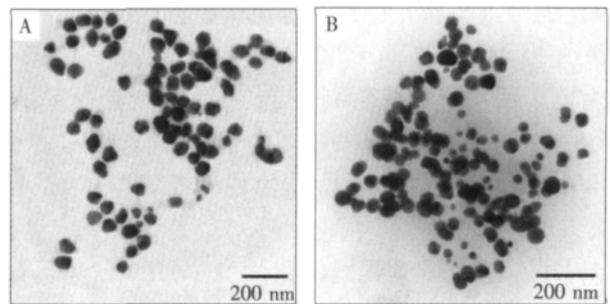
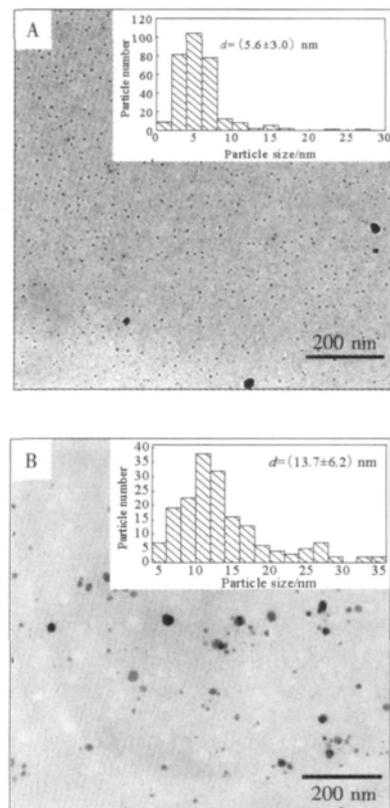
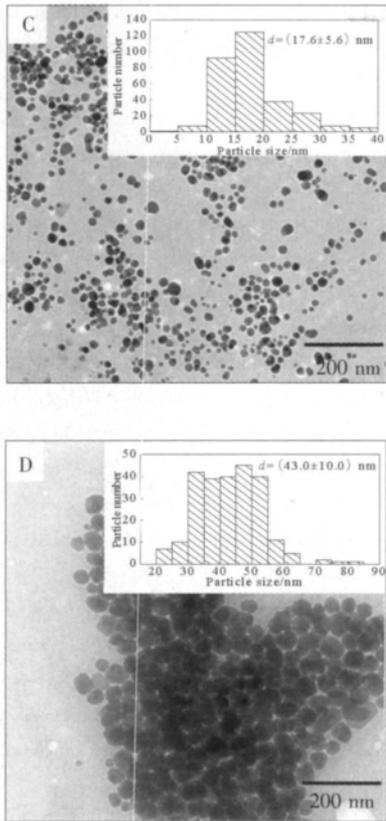


图 2 丁香( A ) 与山茱萸( B ) 提取液( I ) 所制得的银纳米颗粒的 TEM 图片

Fig. 2 TEM images of AgNPs synthesized from extracts ( I ) of *Syzygium aromaticum* ( A ) and *Cornus officinalis* ( B )

图 3 是 4 种中草药提取液( II ) 制备的银纳米颗粒的 TEM 图。





A—丁香; B—山茱萸; C—地榆; D—乌梅; 内插图是相应的粒径分布统计图

图 3 不同中草药提取液( II ) 所制得的银纳米颗粒的 TEM 照片

Fig.3 TEM images of AgNPs synthesized from various plant extracts ( II )

由图 2 和图 3 可见,所制得的银纳米颗粒主要为近球形。分别比较图 2A 和图 3A、图 2B 和图 3B 可知,提高中草药提取液的 pH 后制得的银纳米颗粒平均粒径减小。这可能是因为 pH 影响中草药提取液中起还原作用的功能基团的解离状态,提高提取液的 pH 后功能基团如羟基等通过去质子化带负电荷,其与 Ag<sup>+</sup> 的静电作用增强,还原速率增大,反应体系中成核速率大于生长速率,因此,最终形成的银纳米颗粒粒径较小<sup>[19-22]</sup>。pH 除了影响银纳米颗粒的粒径,还影响其稳定性。提高提取液的 pH 后所制得的银纳米颗粒更稳定,存放时间更长,不易出现沉淀。Sadowski 等认为 pH 较高时,由于静电排斥力大,银纳米颗粒间不易团聚<sup>[23]</sup>。Dubey 等利用玫瑰叶提取液制备银纳米颗粒时发现纳米颗粒在 pH = 5 ~ 10 的溶胶中比较稳定,且随着 pH 升高,溶胶体系的 Zeta 电位绝对值变大,颗粒稳定性增强<sup>[24]</sup>。

由图 3B 可见,山茱萸提取液( II ) 所制备的银纳米颗粒的粒径分布较宽,大部分颗粒粒径分布在 7 ~ 17 nm,还有小部分颗粒粒径分布在 20 ~ 35 nm。

这可能是由于中草药提取液的组分复杂,不同组分还原银离子的速率不同,最终导致了形貌和粒度的多样性。Moulton 等利用茶叶提取液还原 AgNO<sub>3</sub> 时也观察到类似现象<sup>[25]</sup>。目前生物法制备银纳米颗粒的机理仍不明确,一般认为植物中的多羟基化合物如黄酮类、萜类与多糖等物质及蛋白质起还原和保护作用<sup>[6-8, 26]</sup>。植物中含有的化合物,如没食子酸、芹实苷、单宁酸、表儿茶素,已被证实能够还原制备金属纳米颗粒<sup>[25, 27-29]</sup>。而本实验所选取的丁香、山茱萸、地榆和乌梅中含有丰富的生物碱、甙类、黄酮和单宁等物质<sup>[30]</sup>,这些物质可能在银纳米颗粒形成过程中起重要作用。

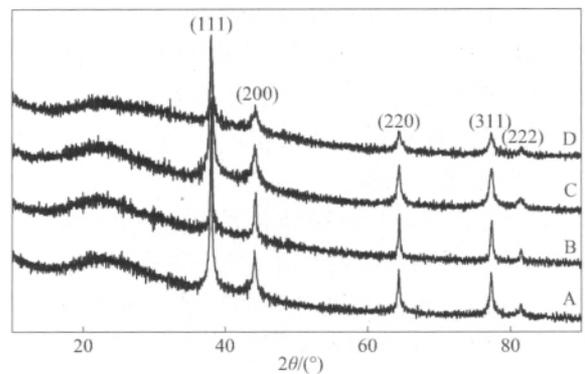
表 1 是不同中草药提取液( II ) 与 AgNO<sub>3</sub> 反应后 Ag<sup>+</sup> 的转化率。

表 1 中草药提取液( II ) 与 AgNO<sub>3</sub> 反应后银离子的转化率  
Table 1 Conversion of the Ag<sup>+</sup> by reducing Ag<sup>+</sup> with various plant extracts( II )

	中草药提取液( II )			
	丁香	山茱萸	地榆	乌梅
Ag <sup>+</sup> 转化率 / %	99.7	100	98.4	99.9

由表 1 可知 4 种中草药提取液( II ) 与 AgNO<sub>3</sub> 在 90 °C 下反应 1.5 h 后,Ag<sup>+</sup> 的转化率都接近或达到 100%。因此,在后续抗菌实验中可以排除银纳米颗粒中残存的 Ag<sup>+</sup> 的抗菌作用。

图 4 为 4 种中草药提取液( II ) 还原 AgNO<sub>3</sub> 溶液所得银纳米颗粒的 XRD 谱图。图 4A ~ D 曲线上各有 5 个明显的衍射峰,分别对应于面心立方结构单质银的 (111)、(200)、(220)、(311) 和 (222) 晶面,其峰位置与 JCPDS 卡 04 - 0783 上数据一致。进一步证实了 4 种中草药提取液( II ) 还原 AgNO<sub>3</sub> 制得了单质银纳米颗粒。



A—丁香; B—山茱萸; C—地榆; D—乌梅

图 4 不同中草药提取液( II ) 所制得的银纳米颗粒的 XRD 谱图

Fig.4 X-ray diffraction patterns of AgNPs synthesized from various plant extracts ( II )

## 2.2 银纳米颗粒的抗菌性能

实验采用常量稀释法测定银纳米颗粒的抗菌性能。不同中草药提取液( II ) 所制备的银纳米颗粒对 *E. coli* 和 *S. aureus* 的 MIC 和 MBC 如表 2 所示。

表 2 不同中草药提取液( II ) 所制得的银纳米颗粒对 *E. coli* 和 *S. aureus* 的抗菌性能

Table 2 Minimum inhibitory concentrations and minimum bactericidal concentrations of AgNPs synthesized from various plant extracts( II )

	MIC/( mg/L)		MBC/( mg/L)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
丁香	1.69	3.38	1.69	6.75
山茱萸	3.38	6.75	3.38	13.50
地榆	3.38	3.38	6.75	6.75
乌梅	13.50	13.50	—	—

注: “—”表示待测银纳米颗粒的 MBC > 27 mg/L。

由表 2 可知,中草药提取液( II ) 制得的银纳米颗粒对 *E. coli* 和 *S. aureus* 均有良好的抑制作用。其中,丁香提取液( II ) 制得的银纳米颗粒对 *E. coli* 和 *S. aureus* 的抗菌性能最好, MIC 分别为 1.69 和 3.38 mg/L; 乌梅提取液( II ) 制得的银纳米颗粒对两种菌的抗菌性能最差, MIC 均为 13.5 mg/L。Martinez-Castanon 等利用没食子酸合成的银纳米颗粒( 平均粒径为 7 nm ) 对 *E. coli* 和 *S. aureus* 的 MIC 分别为 6.25 和 7.5 mg/L<sup>[27]</sup>。与其相比,利用丁香提取液制得的银纳米颗粒( 平均粒径为( 5.6 ± 3.0 ) nm ) 抗菌性能更好。

## 3 结论

( 1 ) 采用丁香、山茱萸、地榆和乌梅 4 种中草药的提取液制备了不同粒径和粒径分布的近球形银纳米颗粒。

( 2 ) 中草药的种类及其提取液的 pH 对银纳米颗粒的粒径有重要影响: 丁香提取液( II ) 制得的银纳米颗粒粒径最小, 平均粒径为( 5.6 ± 3.0 ) nm; 提高提取液的 pH 有利于获得粒径较小、分散性好、稳定性高的银纳米颗粒。

( 3 ) 制得的银纳米颗粒对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有很强的抑制作用, 其中丁香提取液制得的银纳米颗粒对上述两种菌的抗菌性能最好, MIC 分别为 1.69 和 3.38 mg/L。

## 参考文献:

[1] Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria [J]. *Journal of Colloid and Interface Science* 2004, 275( 1 ): 177 - 182.

[2] Morones J R, Elechiguerra J L, Camacho A, *et al.* The bactericidal effect of silver nanoparticles [J]. *Nanotechnology* 2005, 16( 10 ): 2346 - 2353.

[3] Kim J S, Kuk E, Yu K N, *et al.* Antimicrobial effects of silver nanoparticles [J]. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine* 2007, 3( 1 ): 95 - 101.

[4] Tripathi A, Chandrasekaran N, Raichur A M, *et al.* Antibacterial applications of silver nanoparticles synthesized by aqueous extract of *Azadirachta indica* (Neem) leaves [J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology* 2009, 5( 1 ): 93 - 98.

[5] Yin B, Ma H, Wang S, *et al.* Electrochemical synthesis of silver nanoparticles under protection of poly( *N*-vinylpyrrolidone ) [J]. *Journal of Physical Chemistry B* 2003, 107( 34 ): 8898 - 8904.

[6] Shankar S S, Rai A, Ahmad A, *et al.* Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth [J]. *Journal of Colloid and Interface Science* 2004, 275( 2 ): 496 - 502.

[7] Li S K, Shen Y H, Xie A J, *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annum L.* extract [J]. *Green Chemistry* 2007, 9( 8 ): 852 - 858.

[8] Huang J L, Li Q B, Sun D H, *et al.* Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf [J]. *Nanotechnology* 2007, 18( 10 ): 105104.

[9] Kumar V, Yadav S K. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications [J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 2009, 84( 2 ): 151 - 157.

[10] Chandran S P, Chaudhary M, Pasricha R, *et al.* Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract [J]. *Biotechnology Progress* 2006, 22( 2 ): 577 - 583.

[11] Gardea-Torresdey J L, Tiemann K J, Gamez G, *et al.* Gold nanoparticles obtained by bio-precipitation from gold( III ) solutions [J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 1999, 1( 3 ): 397 - 404.

[12] Gardea-Torresdey J L, Parsons J G, Gomez E, *et al.* Formation and growth of Au nanoparticles inside live alfalfa plants [J]. *Nano Letters* 2002, 2( 4 ): 397 - 401.

[13] Gardea-Torresdey J L, Gomez E, Peralta-Videa J R, *et al.* Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles [J]. *Langmuir* 2003, 19( 4 ): 1357 - 1361.

[14] Shankar S S, Ahmad A, Sastry M. Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles [J]. *Biotechnology Progress*, 2003, 19( 6 ): 1627 - 1631.

[15] Huang J L, Wang W T, Lin L Q, *et al.* A general strategy for the biosynthesis of gold nanoparticles by traditional Chinese medicines and their potential application as catalysts [J]. *Chemistry-An Asian Journal* 2009, 4( 7 ): 1050 - 1054.

[16] Panacek A, Kvitk L, Pucek R, *et al.* Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity [J]. *Journal of Physical Chemistry B* 2006, 110( 33 ): 16248 - 16253.

[17] Wei D, Sun W, Qian W, *et al.* The synthesis of chitosan-based silver nanoparticles and their antibacterial activity [J]. *Carbohydrate Research* 2009, 344( 17 ): 2375 - 2382.

[18] Mulvaney P. Surface plasmon spectroscopy of nanosized metal particles [J]. *Langmuir*, 1996, 12( 3 ): 788 - 800.

- [19] Armendariz V ,Herrera I ,Peralta-videa J R *et al.* Size controlled gold nanoparticle formation by *Avena sativa* biomass: use of plants in nanobiotechnology [J]. *Journal of Nanoparticle Research* , 2004 6( 4) : 377 – 382.
- [20] Lee G J ,Shin S I ,Kim Y C *et al.* Preparation of silver nanorods through the control of temperature and pH of reaction medium [J]. *Materials Chemistry and Physics* ,2004 ,84( 2/3) : 197 – 204.
- [21] Andreescu D ,Eastman C ,Balantrapti K *et al.* A simple route for manufacturing highly dispersed silver nanoparticles [J]. *Journal of Materials Research* 2007 22( 9) : 2488 – 2496.
- [22] Song J Y ,Kim B S. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts [J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 2009 32( 1) : 79 – 84.
- [23] Sadowski Z ,Maliszewska I ,Grochowalska B *et al.* Synthesis of silver nanoparticles using microorganisms [J]. *Materials Science: Poland* 2008 26( 2) : 419 – 424.
- [24] Dubey S P ,Lahtinen M ,Sillanpää M. Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of *Rosa rugosa* [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2010 364( 1/2/3) : 34 – 41.
- [25] Moulton M ,Braydich-Stolle L ,Nadagouda M *et al.* Synthesis , characterization and biocompatibility of green synthesized silver nanoparticles using tea polyphenols [J]. *Nanoscale* 2010 2( 5) : 763 – 770.
- [26] Singh A ,Talat M ,Singh D *et al.* Biosynthesis of gold and silver nanoparticles by natural precursor clove and their functionalization with amine group [J]. *Journal of Nanoparticle Research* 2010 12( 5) : 1667 – 1675.
- [27] Martinez-Castanon G A ,Nino-Martinez N ,Martinez-Gutierrez F *et al.* Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes [J]. *Journal of Nanoparticle Research* ,2008 ,10( 8) : 1343 – 1348.
- [28] Kasthuri J ,Veerapandian S ,Rajendiran N. Biological synthesis of silver and gold nanoparticles using apiin as reducing agent [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2009 68( 1) : 55 – 60.
- [29] Sivaraman S K ,Elango I ,Kumar S *et al.* A green protocol for room temperature synthesis of silver nanoparticles in seconds [J]. *Current Science* 2009 97( 7) : 1055 – 1059.
- [30] 周家驹 ,谢桂荣 ,严新建. 中药原植物化学成分手册 [J]. 北京: 化学工业出版社 2004.

## ( 上接第 750 页)

- [3] Sindto ,Ganthier C ,Hamaide T *et al.* Reactive surfactants in heterophase polymerization. XVI. Emulsion copolymerization of styrene-butyl acrylate-acrylic acid in the presence of simple maleate reactive surfactants [J]. *J Appl Polym Sci* 2000 77( 12) : 2768 – 2776.
- [4] Guyota ,Goux A. Styrene emulsion polymerization in the presence of a maleate-functional surfactant [J]. *J Appl Polym Sci* ,1997 ,65( 12) : 2289 – 2296.
- [5] Ida Yoshimi ,Yamauchi Sunao ,Yamashita Seiji. Preparation of maleate and/or fumarate diesters having different acyl groups with low discoloration as materials for emulsifying agents [P]. JP: 1993 340083 ,1993 – 12 – 06.
- [6] 张振华 ,刘 长. 十二烷基烯丙基马来酸酯的合成 [J]. 邵阳学院学报: 自然科学版 2005 2( 1) : 73 – 74 84.
- [7] 胡艾希 ,陈学伟 ,姚志钢. 琥珀酸双酯磺酸钠类反应型表面活性剂的合成 [J]. 精细化工 2006 23( 3) : 234 – 237.
- [8] Hu Aixi ,Yao Zhigang ,Yu Xi *et al.* Phase behavior of a sodium dodecanol allyl sulfosuccinic diester/*n*-pentanol/methyl acrylate/butyl acrylate/water microemulsion system and preparation of acrylate latexes by microemulsion polymerization [J]. *J Appl Polym Sci* 2009 113( 4) : 2202 – 2208.
- [9] 张黎明 ,姜 威 ,辛秀兰. 十二烷基烯丙基琥珀酸酯磺酸钠的合成 [J]. 大连工业大学学报 2010 29( 6) : 449 – 451.

## ( 上接第 754 页)

- [5] 曾 伟 ,曾贵玉 ,秦圣英. 异羟肟酸的合成与应用研究新进展 [J]. 有机化学 2003( 11) : 31 – 33.
- [6] 李 梅 ,钟 宏 ,郭 艳. 羟肟酸的合成方法及其在浮选中的应用 [J]. 广州化工 2009( 5) : 23 – 24.
- [7] 范小英 ,戴子林. 异羟肟酸的合成方法 [J]. 广东有色金属学报 1997 7( 2) : 100 – 106.
- [8] 罗家珂. 异羟肟酸的合成及其在浮选中的应用 [J]. 国外金属矿选矿 1983( 2) : 7 – 17.
- [9] 互动百科. 椰子油 [DB/OL] <http://www.hudong.com/wiki/%E6%A4%B0%E5%AD%90%E6%B2%B9/2011-1-29/2011-2-20>.
- [10] 高伯良 ,聂开立 ,王 芳 ,等. 椰子油为原料酶法制备脂肪酸甲酯 [J]. 北京化工大学学报: 自然科学版 2010 37( 1) : 93 – 97.
- [11] 费九光. 影响羟肟酸合成质量指标主要因素的分析 [J]. 有色矿冶 1999( 3) : 17 – 19.
- [12] 符剑刚 ,钟 宏 ,张正国 ,等. 以猪油为原料合成羟肟酸 [J]. 中南大学学报: 自然科学版 2004( 4) : 13 – 14.
- [13] 姬俊梅. 烷基羟肟酸盐与铈铁金红石的作用机理研究 [J]. 有色金属: 选矿部分 2004( 4) : 42 – 44.
- [14] YS/T 383—1994. 烷基羟肟酸( 钠) [S].
- [15] 荆煦瑛 ,陈式棣 ,么思云. 红外光谱实用指南 [M]. 天津: 天津科学技术出版社 ,1992.