

硅藻纳米技术

夏 嵩 张成武*

(暨南大学水生生物研究中心 广州 510632)

摘要 硅藻是一类微小的单细胞藻类,具有由无定形氧化硅组成的坚硬细胞壁(硅壳)。硅壳具有精致的形态和结构,且随硅藻种类和生长条件不同而千变万化。目前估算的硅藻种类超过200 000种,其独特的纳米结构对光子结构、化学生物传感器、新纳米材料和器件的开发具有启发意义。同时硅藻形态形成学和分子生物学的研究,可以推动硅质材料的仿生合成、化学转化及模板技术的发展。因此设计和生产特殊形态的硅壳,在纳米技术领域具有广泛应用前景。

关键词 硅藻 生物材料 生物光子结构 化学/生物传感 纳米器件

中图分类号 TB34

近年来人们对设计和制造纳米大小的器件给予了极大关注,从而催生出一个新的产业——纳米技术(nanotechnology)。具有电子、光学及机械特性的纳米器件,在齿轮、发动机和晶体管方面的应用报道屡见不鲜^[1]。目前纳米器件制作多采用光刻方法(微机电系统 micro electro mechanical system, MEMS),操作困难、制作成本高。硅藻是一类微小的单细胞藻类,具有由无定形氧化硅组成的坚硬细胞壁(硅壳)。硅壳具有精致的纳米形态和结构,因此通过单细胞硅藻的培养,利用其直接自组装系统,可为设计和制造纳米材料提供一条新的途径。近年来硅藻纳米技术已经成为一个研究的热点,尤其在国外已经作了大量研究,本文旨在对硅藻纳米技术研究进展作一综述。

1 硅藻及其结构

硅藻是一类微小的($1 \sim 500 \mu\text{m}$ ^[1])的单细胞藻类,具有由无定形氧化硅组成的坚硬细胞壁,或称硅壳(frustule)。硅藻生境分布广泛,地球上有机物净初级生产量中的约25%来自硅藻^[2]。根据其独特的形态,目前估算的硅藻种类超过200 000种^[3]。

如图1(a)所示,硅藻细胞壁由两个套合的半片组成,称上壳(epitheca)(在外)、下壳(hypotheca)(在内),上下壳均有一凸起的面称壳面(valve)。根据壳面

的对称性通常将硅藻分成两大类:羽纹硅藻纲(Pennatae),壳面长形,通常为两侧对称;中心硅藻纲(Centricae)壳面为辐射对称。侧面或壳边是两个瓣套合的地方,环绕一周称环带(girdle band)。壳面由氧化硅平板分隔的堆叠的六边形腔室组成。平板上有均一的孔,直径由外向内增加或减少。通过孔的组合达到结构的多样性,硅质平板则具有提供机械保护和捕光等作用^[4]。不同种类硅藻在孔的大小、形状、组织方式和密度上的差异性为满足不同的材料要求提供了有利条件。

如图1(b)所示,硅藻复制时,两壳面分离,新的壳面和环带在细胞内合成。对于大多数硅藻而言,在连续分裂后子细胞的大小会缩小,然后通过形成复大孢子的形式恢复原初的细胞大小。有趣的是细胞整体大小的缩小导致勒纹(costae)的数量减少,它们的距离仍保持恒定^[1]。

高分辨率的原子力显微镜(atomic force microscopy, AFM)为研究硅藻结构和形态形成提供了有利工具^[5-6]。Hildebrand等^[5]利用AFM对多种硅藻的壳面、环带、勒纹等结构进行了研究,发现了多种纳米级和中尺度的氧化硅形态,甚至是在相同结构的不同部分。这有利于我们更好的理解生物氧化硅和壳面形态的形成。

2 硅藻形态形成

硅壳由无定形氧化硅构成,它们是如何形成如此

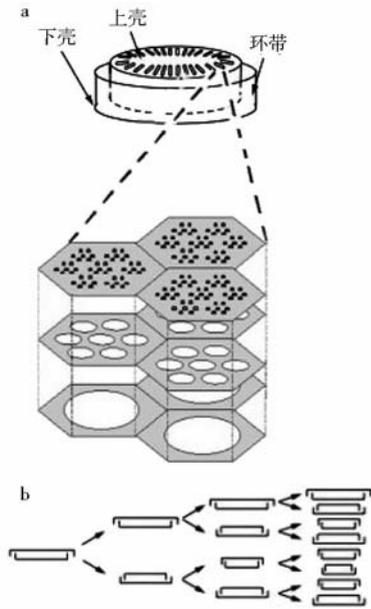


图1 硅藻形态学

Fig. 1 Schematic diagram of diatom morphology

a Schematic diagram of a diatom frustule modified from reference[4]; b Successive replication of a diatom

紧凑的结构呢? 关于硅藻形态形成途径主要有两种理论。①有限扩散凝聚模型(diffusion limited aggregation, DLA), 氧化硅通过有限扩散凝聚自发形成^[7-8]。Parkinson等^[8]建立的中心硅藻形态形成就是基于DLA模型, 氧化硅颗粒经由氧化硅转运囊泡(silica transport vesicles, STVs)进入氧化硅沉积囊泡(silica deposition vesicle, SDV)后, 释放出来的颗粒自由扩散直至碰到其附着的聚合部位, 再经过进一步烧结使表面光滑。同时他们还证实了微管在形态形成中的重要作用。②预置模型(prepattern), 氧化硅在已经预置的模型格式上沉淀。Tesson等^[9]利用高分辨率的扫描电镜、原子力显微镜和荧光显微镜对硅藻隐形小环藻(*Cyclotella cryptica*)的细胞壁结构(壳面和环带)的形成进行了研究。通过对一些过渡结构的拍摄, 明确鉴定了壳面形成的不同阶段。结果表明在完全硅化之前壳面亚结构似乎已经定位, 用于这些结构的有机物也预先组装和定位完成。和DLA模型一样, 他们也发现了微管和微丝肌动蛋白在定位过程中的重要作用。

Gordon等^[10]将氧化硅沉淀过程分成5个阶段:(i)形成30~50nm直径的氧化硅小球体, 其可能位于膜包裹的STVs里;(ii)囊泡转运到硅质囊膜(silica lemma, SL)的外表面, 氧化硅球体释放进入SL;(iii)从成核结

构开始, 球体进行二维沉淀形成壳面, 这个过程只有几分钟;(iv)孔形成;(v)壳面加厚, 通常伴随三维结构形成, 这个过程有数小时。随着硅藻形态形成过程中的一些重要媒物, 包括一些重要的蛋白质如silaffin蛋白和长链多胺等的发现, 以及一些硅藻完整基因组序列测定的完成, 大量研究也把目光投向了硅藻分子生物学和基因工程领域^[11-13]。硅藻形态形成和氧化硅生物转化的分子机制研究已经不仅是一个重要的生物学课题, 其在材料工程领域也有重要意义。

3 硅藻纳米技术应用

3.1 生物光子结构

从信号分子的检测到光子晶体中的光复用技术, 纳米结构的光学器件应用范围越来越广泛, 而制作这种器件需要在低于10nm的误差范围内进行^[14]。硅藻在其长期的进化过程中形成了精致的结构特征可用来解决复杂的光学问题。

Butcher等^[15]对三株人工培养的单种硅藻(*Cyclotella meneghiniana*、*Seminavis robusta*、*Achnanthes subsessilis*)、三株野外采集的硅藻, 以及硅藻土的多孔氧化硅壳的阴极射线致发光(cathodoluminescence)和光致发光(photoluminescence)特性进行了研究, 结果发现酸处理的硅壳在紫外激发时, 450nm处具有蓝光峰; 在25kV电子束激发时, 640nm和580nm有阴极射线激发峰; 荧光峰存在种间差异。硅藻的光致发光取决于硅藻的形态, 特别是硅壳的孔结构^[16]。

Stefano等^[14]测量了威氏圆筛藻(*Coscinodiscus walesii*)的电磁场横磁(transverse magnetic, TM)和横电(transverse electric, TE)偏振发现: 在测量光频范围内都没有光学带隙存在, 用高折射率的氧化钛替换氧化硅后却出现了完整的光学带隙。更有趣的是电磁场的传播方向垂直于硅藻壳面, 这与人造光晶纤维十分相似。通过测量硅藻壳面的场分布和硅壳的能量传递发现: 能量集中在对应硅藻缺陷结构的狭小区域。由于硅藻的这种聚集效应, 其在光纤束准直仪方面具有应用前景。

3.2 化学和生物传感器

硅藻作为一种天然、中孔、高比表面积和具有诸多光学特性的生物, 利用其生产化学和生物传感器材料具有潜在的应用前景。

Stefano等^[14]测量了威氏圆筛藻在540nm对二氧化氮(NO₂)的光致发光敏感性: 当通入30ppm的NO₂

气体时,光致发光(photoluminescence, PL)强度降低17%,响应时间约2s,通过减少反应室的体积响应时间还会降低,此效应是完全可逆的。由于硅壳纳米孔吸收了气体物质导致折射率增加,主PL峰向长波方向移动5.1nm,这与多孔硅光学器件类似。由于形态和孔隙度的差异,不同种类的硅藻对二氧化氮、甲烷和一氧化碳的特征响应也不同^[16]。同时由于这种发光强度和带峰位置的改变,可能利用硅藻这一天然材料来获得一种具备双重参数的光学传感器^[14]。

许多研究通过在硅壳上固定生物分子,探索硅藻在生物传感器领域的应用前景^[17-20]。Tounley等^[17]和Stefano等^[18-19]利用威氏圆筛藻为材料,将抗体连接到硅壳上。Stefano等^[18]将有机硅烷 APTES (aminopropyltriethoxysilane)连接到硅壳,再通过戊二醛 GA (glutaraldehyde) 交联连接老鼠单抗 (MoAb) UN1,从而成功对硅壳表面进行了化学修饰,通过荧光检测证明共价连接的抗体具有活性,可识别特异性抗原。Gale等^[20]通过硅醇胺化作用 (silanol amination) 和交联反应 (crosslinking) 将模式抗体兔子的免疫球蛋白 G (IgG) 共价连接到小环藻 (*Cyclotella* sp.) 硅壳表面,使抗体点密度达 $(3\ 948 \pm 499)$ IgG 分子/ μm^2 。通过连接亲核性的 IgG 使硅藻生物氧化硅的蓝光致发光增加 6 倍,而与互补抗原抗兔子免疫球蛋白 G (complimentary antigen anti-rabbit IgG) 形成免疫复合物还会使 PL 强度至少再增加 2 倍,非互补抗原 (goat anti-human IgG) 则无此效应。PL 发射的增强还与抗原浓度相关 (goat anti-rabbit IgG), 免疫复合物的连接常数 (binding constant) 为 $(2.8 \pm 0.7) \times 10^{-7}$ mol/L。这些研究结果表明或许可以将硅藻的生物氧化硅壳开发为一种基于 PL 的、具有选择性的、免标记的检测免疫复合物形成的微型生物传感器。

3.3 新材料纳米工程

通过材料化学修饰生产新纳米材料,不但保持硅藻的纳米结构,又赋予其新的化学性质,使其应用范围更加广泛。Sandhage^[21]设计了一种方法 BaSIC (bioclastic and shape preserving inorganic conversion) 来将硅壳的化学组分转换成其他非天然的化学物质,而不改变三维形态。BaSIC 包括气体/氧化硅取代反应、保形涂敷或两者的结合。气体/氧化硅取代是用活性元素气体和卤化气体反应剂分别通过氧化/还原反应和复分解反应将氧化硅质硅壳转化成 MgO 和 TiO₂。

Bao 等^[22]设计了一种将二氧化硅 (SiO₂) 还原成硅 (Si) 的低温方法,在 650℃ 就将二氧化硅转换成硅。该方法保留了原始二氧化硅的架构,并在产生的硅中复制这种架构。像这样的硅结构在传感器、电子、光学和生物医学等领域都有应用前景。

Toster 等^[23]利用硅藻壳微模板,通过聚乙烯吡啶树脂 PVP (poly vinylpyridine) 连接,将纳米颗粒金区域专一性结合到硅壳上,形成了三维的颗粒金阵列。Losic 等^[24]以两株中心纲硅藻圆筛藻 (*Coscinodiscus* sp.) 和偏心海链藻 (*Thalassiosira eccentrica*) 为模板,通过软模板途径利用聚二甲基硅氧烷和聚氨基甲酸乙酯将多孔硅藻结构复制成聚合物。通过这些方法都获得了实际应用范围更广的新纳米材料。

多孔碳具有极好的催化和吸收特性,广泛应用于水和空气的净化、气体分离、色谱分析及能源储藏等领域。有研究就利用硅藻来开发这种用途广泛的材料。Perez-Cabero 等^[25]通过糠醇渗透作为碳源前体,利用假女神海链藻 (*Thalassiosira pseudonana*) 为生物模板制备了新型多孔富碳材料。

硅藻生长速度快、营养需求低、遗传性状稳定,因此可以利用培养硅藻来大量生产纳米材料。同时可以通过培养基的改变来实现对硅藻结构、化学组分及孔径大小的改变。例如,向培养基中添加锗酸来合成硅-锗纳米复合物^[26-28]。这种复合物具有典型的半导体和光电特性,在微电子器械领域具有应用前景^[29]。通过添加不同的化学物质到培养基中来改变硅藻形态、孔径及化学组分,以满足不同的应用要求^[30]。

3.4 纳米器件开发

随着硅壳的一些特性如光、电致发光和抗体功能化的发现,急需研究出一些扩展工艺来将这些微结构组装成特定器件,从而将其应用于光电子及纳米工程领域。Wang 等^[31]利用聚电解质多层沉积 (polyelectrolyte multilayer deposition) 和喷墨打印 (inkjet printing) 技术将硅藻壳自组装到设定阵列中。他们利用玻璃表面带负电的羟基基团,将带正电的聚烯丙基胺盐酸盐 PAH (poly allylamine hydrochloride) 沉降到玻璃表面,再将带负电的 PSS (poly sodium4-styrene sulfonate) 吸附到第一层 PAH 上,连续吸附形成 8 层聚电子层,最后将 PAH 通过 dimatix printer 喷印到带负电的 PSS 表面。将硅壳悬浮液直接吸取到膜上,由于硅藻表面有带负电的羟基,因此会特异性吸附到 PAH 上

从而形成预定模式的阵列。Umamura 等^[32]则利用烘烤 (baking) 将硅壳制备到云母表面。

4 结 论

在硅藻结构、物理和光学特征的研究上我们已经取得了显著进步,同时制备了许多基于硅藻氧化硅的新材料和器件,硅藻研究已经从冷僻的分类学领域延伸到高端的纳米技术行业。但目前从材料观点来研究的硅藻只有少数几种,所运用的技术手段也十分有限,主要是 AFM。因此通过更多硅藻种类的研究和技术手段的应用(如 compustat 技术),获取更多有价值的信息,将是未来的研究方向之一。同时,通过生物化学方面的研究,进一步阐明硅藻细胞壁生物矿化的分子基础也是今后工作的重点。因为只有当硅藻细胞中氧化硅转运和沉积的途径明确后,才能进一步拓展硅藻材料的应用范围,使其应用前景更光明。

参考文献

- [1] Parkinson J, Gordon R. Beyond micromachining: the potential of diatoms. *Nanotechnology*, 1999, 17: 190-196.
- [2] Werner D, *The Biology of Diatom*. University of California Press: 1977.
- [3] Mann D G, Droop S J M, Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms. *Hydrobiologia*, 1996, 336: 19-32.
- [4] Losic D, James G, Mitchell, et al. Diatomaceous lessons in nanotechnology and advanced materials. *Adv Mater*, 2009, 21: 2947-2958.
- [5] Hildebrand M, Doktycz M J, Allison D P. Application of AFM in understanding biomineral formation in diatoms. *Pflügers Arch - Eur J Physiol*, 2008, 456: 127-137.
- [6] Gebeshuber I C, Kindt J H, Thompson J B, et al. Atomic force microscopy study of living diatoms in ambient conditions. *Journal of Microscopy*, 2003, 212: 292-299.
- [7] Gordon R, Drum R W. The chemical basis for diatom morphogenesis. *Int Rev Cytol*, 1994, 150: 243-372.
- [8] Parkinson J, Brechet Y, Gordon R. Centric diatom morphogenesis: a model based on a DLA algorithm investigating the potential role of microtubules. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, 1452: 89-102.
- [9] Tesson B, Hildebrand M. Dynamics of silica cell wall morphogenesis in the diatom *Cyclotella cryptica*: Substructure formation and the role of microfilaments. *J Struct Bio*, 2010, 169 (1): 62-74.
- [10] Gordon R, Losic D, Tiffany M A, et al. The glass menagerie: diatoms for novel applications in nanotechnology. *Trends in Biotechnology*. 2008, 27(2): 116-127.
- [11] Scala S, Bowler C. Molecular insights into the novel aspects of diatom biology. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2001, 58: 1666-1673.
- [12] Kroger N. Prescribing diatom morphology: toward genetic engineering of biological nanomaterials. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2007, 11: 662-669.
- [13] Frigeri L G, Radabaugh T R, Haynes P A, et al. Identification of proteins from a cell wall fraction of the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Molecular and Cellular Proteomics*. 2006, 5: 182-193.
- [14] Stefano L D, Maddalena P, Moretti L, et al. Nano-biosilica from marine diatoms: A brand new material for photonic applications. *Superlattices and Microstructures*, 2009, 46: 84-89.
- [15] Butcher K S A, Ferris J M, Phillips M R, et al. A luminescence study of porous diatoms. *Materials Science and Engineering C*, 2005, 25: 658-663.
- [16] Setaro A, Lettieri S, Maddalena P, et al. Highly sensitive optochemical gas detection by luminescent marine diatoms. *Appl Phys Lett*, 2007, 91: 051921.
- [17] Townley H E, Parker A R, Helen W C. Exploitation of diatom frustules for nanotechnology: tethering active biomolecules. *Adv Funct Mater*, 2008, 18: 369-374.
- [18] Stefano L D, Lamberti A, Rotiroti L, et al. Interfacing the nanostructured biosilica microshells of the marine diatom *Coscinodiscus wailesii* with biological matter. *Acta Biomaterialia*, 2008, 4: 126-130.
- [19] Stefano L D, Rotiroti L, Stefano M D, et al. Marine diatoms as optical biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009, 24: 1580-1584.
- [20] Gale D K, Gutu T, Jiao J, et al. Photoluminescence detection of biomolecules by antibody-functionalized diatom biosilica. *Adv Funct Mater*, 2009, 19: 926-933.
- [21] Sandhage K H, Dickerson M B, Huseman P M, et al. Novel, bioclastic route to self-assembled, 3D, chemically tailored meso/nanostructures: shape-preserving reactive conversion of biosilica (diatom) microshells. *Adv Mater*, 2002, 14(6): 429-433.
- [22] Bao Z H, Weatherspoon M R, Shian S, et al. Chemical reduction of three-dimensional silica micro-assemblies into microporous silicon replicas. *Nature*, 2007, 446(8): 172-175.
- [23] Toster J, Iyer K S, Burtovyy R, et al. Regiospecific assembly of gold nanoparticles around the pores of diatoms: toward three-dimensional nanoarrays. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 8356-8357.
- [24] Losic D, Mitchell J G, Lal R, et al. Rapid fabrication of micro- and nanoscale patterns by replica molding from diatom biosilica.

- Adv Funct Mater, 2007, 17: 2439-2446.
- [25] Perez-Cabero M, Puchol V, Beltran D, et al. *Thalassiosira pseudonana* diatom as biotemplate to produce a macroporous ordered carbon-rich material. Carbon, 2008, 46: 297-304.
- [26] Qin T, Gutu T, Jiao J, et al. Biological fabrication of photoluminescent nanocomb structures by metabolic incorporation of germanium into the biosilica of the diatom *Nitzschia frustulum*. ACS Nano, 2008, 2(6): 1296-1304.
- [27] Jeffryes C, Gutu T, Jiao J, et al. Two-stage photobioreactor process for the metabolic insertion of nanostructured germanium into the silica microstructure of the diatom *Pinnularia* sp. Materials Science and Engineering C, 2008, 28: 107-118.
- [28] Safonava T A, Annenkov V V, Chebykin E P, et al. Aberration of morphogenesis of siliceous frustule elements of the diatom *Synedra acus* in the presence of Germanic acid. Biochemistry (Moscow), 2007, 72: 1261-1269.
- [29] Jeffryes C, Solanki R, Rangineni Y, et al. Electroluminescence and photoluminescence from nanostructured diatom frustules containing metabolically inserted germanium. Adv Mater, 2008, 20: 2633-2637.
- [30] Jeffryes C, Gutu T, Jiao J, et al. Metabolic insertion of nanostructured TiO₂ into the patterned biosilica of the diatom *Pinnularia* sp. by a two-stage bioreactor cultivation process. ACS Nano, 2008, 2(10): 2103-2112.
- [31] Wang W, Gutu T, Gale D K, et al. Self-assembly of nanostructured diatom microshells into patterned arrays assisted by polyelectrolyte multilayer deposition and inkjet printing. J Am Chem Soc, 2009, 131(12): 4178-4179.
- [32] Umemura K, Noguchi Y, Ichinose T, et al. Diatom cells grown and baked on a functionalized mica surface. J Biol Phys, 2008, 34: 189-196.

Diatom Nanotechnology

XIA Song ZHANG Cheng-wu

(Institute of Hydrobiology, Ji'nan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract Diatoms are microscopic, single-celled algae that possess rigid cell walls (frustules) composed of amorphous silica. The intact diatom frustules possess intricate nanoscale features. Depending on the species of diatom and the growth conditions, the frustules can display different morphologies. The almost 200 000 different diatom species feature unique frustule architectures that are instructive for construction of photonic structures, chemo/biosensing and new nano-devices. The researches of diatom molecular biology and frustule formation are instructive for development of biomimetic synthesis of silica-based materials, chemical transformations and templating techniques. It is possible to design and produce specific frustules that have a wide rang of applications in nanotechnology.

Key words Diatom Biomaterials Biophotonic structures Chemo/biosensing Nano-device