

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА»

ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра общей физики

Мёссбауэровские исследования процессов восстановления
синтезированного ферригидрита диссимиляторными бактериями

Дипломная работа
студента 605 группы
Пигалёва П. А.

Научный руководитель:

доцент

/Н. И. Чистякова/

Допущен к защите « » декабря 2012 г.

Зав. кафедрой общей физики

профессор

/А.М. Салецкий/

МОСКВА – 2012г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ДИССИМИЛЯТОРНЫЕ ЖЕЛЕЗОРЕДУЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ (ПО ДАННЫМ ЛИТЕРАТУРЫ).....	4
ГЛАВА 2. МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА	9
2.1. Условия синтеза исследуемых образцов и способы их приготовления	9
2.2. Мёссбауэровские исследования	10
2.2.1. Мёссбауэровский спектрометр	10
2.2.2. Азотный криостат	11
2.2.3. Гелиевый криостат	12
2.3. Калибровка спектрометра	12
2.4. Мёссбауэровский спектр и его параметры.....	13
2.5. Обработка мёссбауэровских спектров.....	15
2.6. Магнитные исследования	16
2.6.1. Вибрационный спектрометр Lake Shore.....	16
2.6.2. Схема проведения эксперимента.....	18
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	19
3.1. Мёссбауэровские исследования	19
3.1.1. Синтезированный ферригидрит в различных минеральных средах.....	19
3.1.2. Исследование кинетики процесса железоредукции бактерией <i>Thermincola Ferracetica</i> (штамм Z-0001).....	21
3.1.3. Исследование кинетики процесса железоредукции бактерией <i>Geocalibacter ferrihydriticus</i> (штамм Z-0531)	29
3.1.4. Исследование влияния площади поверхности, доступной для бактериального восстановления синтезированного ферригидрита, на процесс железоредукции бактерией <i>Geocalibacter ferrihydriticus</i>	32
3.2. Магнитные исследования	34
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ	37
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	39

ВВЕДЕНИЕ

Открытие в 1980 годах способности микроорганизмов получать энергию, восстанавливая оксиды и гидроксиды трехвалентного железа, подтолкнуло ученых к активному изучению процессов железоредукции [1-3]. Биогенное образование минералов железа привлекает все большее внимание микробиологов, геологов и биофизиков. Одним из возможных путей образования железосодержащих минералов является внеклеточное восстановление аморфных оксидов и гидроксидов Fe(III), вызванное новой физиологической группой микроорганизмов, получивших название диссимиляторные железоредуцирующие микроорганизмы или железоредукторы, впервые описанные в [4]. Особый интерес среди диссимиляторных железоредукторов вызывают термофильные микроорганизмы, которые были открыты в 1995 г. [5].

Долгое время считалось, что процесс микробиологического восстановления железа не может происходить в щелочных условиях. Однако, из щелочного пруда, образовавшегося на месте разработки буры (США), была выделена алкалофильная диссимиляторная железовосстанавливающая бактерия [6].

Ранее методами мессбауэровской спектроскопии при комнатной температуре нами были проведены исследования процессов образования железосодержащих минералов штаммом Z-0001 [7–11]. Было показано, что восстановление СФ является результатом жизнедеятельности бактерии и невозможно в отсутствие живых клеток. Кроме того, было изучено влияние различных физико-химических условий (соотношения твердой и жидкой фаз, парциального давления углекислого газа) на процесс железоредукции [8, 9, 11]. Нами было также установлено, что количественное соотношение образованных минеральных фаз зависит от инертного органического вещества, добавленного в исходную минеральную среду [8, 10, 11].

Целью настоящей работы является детальное исследование процессов образования минералов железа термофильной нейтрофильной *Thermincola ferriacetica* (штамм Z-0001) и мезофильной алкалофильной *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) анаэробными железоредуцирующими бактериями методами мессбауэровской спектроскопии с привлечением низкотемпературных измерений.

ГЛАВА 1. ДИССИМИЛЯТОРНЫЕ ЖЕЛЕЗОРЕДУЦИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ (ПО ДАННЫМ ЛИТЕРАТУРЫ)

Железо является самым распространенным элементом на Земле и наиболее часто используемым в процессах, происходящих в биосфере, переходным металлом. Оно является компонентом многих клеточных соединений и участвует в многочисленных физиологических процессах [2].

В 80-х годах прошлого века Дерек Ловли открыл новую физиологическую группу микроорганизмов, получивших название диссимилиаторные железоредуцирующие микроорганизмы или железоредукторы. Данные микроорганизмы получают энергию, восстанавливая оксиды и гидроксиды трехвалентного железа. В качестве донора электронов могут выступать как органические (например, ацетат), так и неорганические (например, водород) субстраты [3]. В работе [4] на примере немагнитотактического микроорганизма GS-15 впервые была описана возможность микроорганизмов, восстанавливая атомы трехвалентного железа, внеклеточно формировать ультрамелкозернистый магнетит в анаэробных условиях.

Данное открытие привело к активному изучению процессов восстановления атомов железа с помощью диссимилиаторных бактерий. Диссимилиаторные железоредукторы имеют способность разрушать органические примеси в анаэробных условиях за счет окисления их в углекислый газ. Некоторые железоредукторы могут также дехлорировать хлорированные примеси. Авторами статьи [12], которые работали с микроорганизмами из рода *Geobacter*, были проведены исследования в загрязненных нефтью водах, которые показали, что железоредукторы могут быть эффективными средствами для удаления ароматических углеводородов из подземных вод в анаэробных условиях. Их лабораторные исследования выявили способность железоредукторов к удалению урана из загрязнённых грунтовых вод. В работе также говорится, что можно стимулировать действия железоредукторов некоторыми способами для повышения окисления органических загрязнителей и восстановления трехвалентного железа.

Одним из важных методов исследования процессов железоредукции является мессбауэровская спектроскопия, позволяющая получить информацию о зарядовом, спиновом, структурном состоянии атомов железа. В работе [13] авторами методами мессбауэровской спектроскопии исследовали кинетику образования биогенных минералов железа термофильными железоредуцирующими бактериями, а также изучали физико-химические факторы, влияющие на этот процесс. В результате проделанной работы было

обнаружено, что магнетит образуется в процессе роста железоредуктора, и увеличение парциального давления углекислого газа приводит к увеличению содержания сидерита (FeCO_3) в качестве конечного восстановленного продукта.

Восстановление атомов железа с помощью железоредукторов сильно зависит от условий их роста. В связи с этим важно рассмотреть классификацию групп микроорганизмов по физическим и физико-химическим факторам. Они определяют места обитания, в которых данная группа развивается. По температуре роста микроорганизмы делятся на *психрофилы* (рост в диапазоне от 0 до 20 °C), *мезофилы* (20 – 45 °C) и *термофилы* (более 45°C). По отношению к pH выделяются следующие физиологические группы: *нейтрофилы* (развиваются при нейтральном pH в диапазоне от 5 до 9, главным образом в области pH 6 ÷ 8), *ацидофилы* (pH от 2 до 6) и *алкалофилы* (pH более 8.5 с предельным значением, равным 11). Также микроорганизмы разделяются на физиологические группы по отношению к кислороду: *аэробы* нуждаются в кислороде для дыхания в отличие от *анаэробов* [14].

В настоящей работе исследовались процессы железоредукции термофильной, нейтрофильной, анаэробной бактерией *Thermincola ferriacetica* (штамм Z-0001) и мезофильной, алкалофильной анаэробной бактерией *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531).

Бактерия *Thermincola Ferriacetica* была выделена в чистую культуру из железистых осадков горячего гидротермального Столбовского источника острова Кунашир. Оптимальные условия роста этой бактерии включают в себя диапазон температур 57 ÷ 60 °C и диапазон pH 7,0 ÷ 7,2 [15].

Бактерия *Geoalkalibacter ferrihydriticus* выделена из донных осадков слабо минерализованного содового озера Хадын, которое расположено в республике Тыва. Условия роста бактерии составляют pH в диапазоне 7,8 ÷ 10,0 с оптимумом в 8,6 и температура в диапазоне 18 ÷ 39°C с оптимумом в 35 °C [16].

Хорошо раскристаллизованные оксиды и гидроксиды Fe(III) в лабораторных условиях практически не восстанавливаются по сравнению с плохо раскристаллизованными. Поэтому процесс железоредукции может быть осуществлен в лабораторных условиях для аморфных или плохо раскристаллизованных соединений [17]. Одним из широко используемых в лабораториях соединений для изучения процесса восстановления железа является плохо раскристаллизованный синтезированный ферригидрит.

Ферригидрит является биодоступным гидроксидом трехвалентного железа, который используется железоредукторами в качестве акцептора электронов. Ферригидрит, как правило, классифицируют в зависимости от количества линий в рентгеновской дифрактограмме: “двухлинейчатый ферригидрит” (“two-line ferrihydrite”) и “шестилинейчатый ферригидрит” (“six-line ferrihydrite”). Малый размер частицы ферригидрита и его относительно слабая степень кристаллизации не дают однозначно определить его кристаллическую структуру, что, в свою очередь, означает невозможность точного определения его химического состава. Недавние рентгеновские исследования показали, что структура ферригидрита близка к FeOОН типам минералов. Широко известной является номинальная формула ферригидрита $5\text{Fe}_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. Однако ферригидрит может содержать больше молекул воды, которые не вошли в структуру кристалла. Принято считать, что атомы железа в ферригидрите находятся в октаэдрическом окружении. Также существует предположение, что октаэдрические позиции атомов железа находятся внутри объема ферригидрита, а позиции атомов железа вблизи поверхности минерала имеют тетраэдрическое окружение [18].

Наличие тетраэдрических позиций атомов железа в ферригидрите является причиной серьезных споров. Согласно [19] атомы железа в ферригидрите находятся исключительно в октаэдрическом окружении, однако в [20] присутствие тетраэдрических позиций для атомов железа не исключается. Согласно [21], идеальная структура ферригидрита содержит 20 % атомов железа в тетраэдрическом и 80 % в октаэдрическом окружениях и имеет структурный мотив, тесно связанный с кластером Бейкер δ-Фиггис Кеггина. Кроме того, структура ферригидрита зависит от условий синтеза [22].

В работе [23] авторами проводились исследования процессов восстановления ферригидрита бактерией *Shewanella putrefaciens*. В результате в образцах образовывались минералы, содержащие трехвалентные (гетит, гематит и лепидокрит) и двухвалентные (сидерит и вивианит) ионы железа, а так же минералы, содержащие ионы смешанной валентности (магнетит и зеленая ржавчина). Основным интерес вызывают магнетит (Fe_3O_4), сидерит (FeCO_3) и вивианит [$\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$].

Магнетит Fe_3O_4 имеет структуру обращенной шпинели. Элементарная ячейка решетки содержит 32 иона кислорода, расположенных в гранцентрированной кубической решетке. Каждая ячейка имеет 8 ионов Fe^{3+} в тетраэдрическом окружении (А-позиция) и 8 ионов Fe^{2+} и 8 ионов Fe^{3+} октаэдрическом окружении (В-позиция) кислорода [24,25]. Размеры магнетита при бактериальном синтезе оцениваются в диапазоне наночастиц. Предполагается, что при малых размерах частиц сверхтонкие параметры парциальных

спектров атомов железа, находящихся в структуре магнетита, изменяются [24].

Авторами работы [25] проводились исследования наномангнетита (средние размеры 36 нм и 9 нм) и массивного образца магнетита. Для расшифровки мёссбауэровских спектров авторами были предложены различные модели обработки. Спектры массивного образца магнетита, измеренные при различных температурах, ниже температуры Вервея (115 К и 4,2 К), представляют собой суперпозицию пяти парциальных спектров, один из которых соответствует атомам железа в А-подрешетке и четыре других – атомам железа в В-подрешетке, из них три соответствуют атомам двухвалентного железа. Мёссбауэровские спектры наномангнетита, измеренные при температурах 77 К и 4,2 К, были расшифрованы шестью парциальными спектрами, один из которых также соответствует атомам железа в А-подрешетке и пять – атомам в железа в В-подрешетке, четыре из которых соответствуют атомам двухвалентного железа. Дополнительные неэквивалентные позиции возникают из-за искажения кристаллической решетки.

В статье [26] авторы проводили исследования магнитных свойств наночастиц магнетита разных размеров. Авторами были построены графики зависимости отношения количества катионов в А-позиции к катионам Fe^{2+} и Fe^{3+} в В-позиции, а также отношения количества катионов Fe^{3+} к катионам Fe^{2+} в В-позиции в зависимости от размера наночастиц. Подобные соотношения позволяют получить информацию о стехиометрии системы. Для массивного образца стехиометричного магнетита все подобные отношения должны быть равны единице. Отличие отношений катионов от единицы может служить подтверждением отклонения структуры исследуемого магнетита от структуры идеального стехиометрического магнетита из-за влияния поверхности, что малыми размерами частиц. Также были построены температурные зависимости поверхностной магнитной восприимчивости для наночастиц магнетита, имеющих различные диаметры. Видно, что критическая температура для наночастиц меньше, чем для массивного образца. Это может быть связано с нарушением симметрии и наличием оборванных связей на поверхности.

Автором статьи [27] изучалась температурная зависимость коэрцитивной силы H_c на стехиометрических миллиметровых кристаллах магнетита в серии из шестнадцати разных температур в диапазоне от 300 до 10 К с помощью СКВИД-магнитометра. Коэрцитивная сила H_c постепенно уменьшалась с охлаждением до температуры в 130 К, где первая константа анизотропии становится равной нулю. H_c демонстрирует резкое увеличение при температуре Вервеевского перехода ($T_v = 120$ К), где структура меняется от кубической до моноклинной. При пересечении Вервеевского перехода коэрцитивная сила увеличилась более чем на два порядка, от 0,2 Э до 24 Э.

Маггемит $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ имеет дефектную структуру шпинели. Каждая ячейка элементарной решетки имеет 8 ионов Fe^{3+} в тетраэдрическом окружении (А-позиция) и 16 ионов Fe^{3+} в октаэдрическом окружении (В-позиция) кислорода [28]. В природе маггемит, главным образом, является продуктом окисления магнетита.

Путем проведения фазового анализа методами стандартной рентгеновской дифрактометрии идентифицировать магнетит и маггемит очень сложно из-за того, что оба вещества имеют одинаковую кубическую структуру, и параметры их решетки практически идентичны. Авторы статьи [29] предлагают способ оценки наличия смеси магнетит-маггемит и дальнейшего количественного анализа её фазового состава с использованием техники деконволюции пиков. Анализ дифрактограмм, полученных в результате сканирования с высоким разрешением в области характерных пиков, выявили наличие смеси фаз. Количественный анализ смеси фаз проводился с помощью построения калибровочной кривой, используя чистые порошки магнетита и маггемита. В соответствии с этим методом было рассчитано соотношение фаз маггемита и магнетита в смеси – 5,6/4,4. Измеренные авторами работы [30] спектры маггемита (средний размер частиц 4,6 нм) при температуре в 4,2 К, представляют собой суперпозицию двух парциальных спектров, которые соответствует атомам трехвалентного железа в А- и В-подрешетках.

ГЛАВА 2. МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

2.1. Условия синтеза исследуемых образцов и способы их приготовления

Данная работа проводилась совместно с лабораторией реликтовых микробных сообществ Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН (ИНМИ РАН), и все задачи, связанные с подготовкой микробиологических проб, синтезом и приготовлением твердых фаз, проводились сотрудниками этой лаборатории.

Среда для культивирования бактерии *Thermincola Ferriacetica* содержит (г/л): NH_4Cl (0,33); K_2HPO_4 (0,33); $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ (0,33); $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ (0,33); KCl (0,33); дрожжевой экстракт (0,05); NaHCO_3 (0,7); ацетат натрия (20 мМ); раствор микроэлементов по Кевбрину (1мл/л). После стерилизации pH среды был равен 7 [15].

Среда для культивирования бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus* содержит (г/л): K_2HPO_4 (0,2); MgCl_2 (0,1); NH_4Cl (0,5); KCl (0,2); NaCl (1,0); Na_2CO_3 (3,0); NaHCO_3 (10,0); дрожжевой экстракт (0,1), ацетат (1,0); раствор микроэлементов по Кевбрину (1мл/л). После стерилизации pH среды был равен 9,5 [16].

Синтезированный ферригидрит $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (СФ) был получен в результате титрования FeCl_3 10%-ным раствором NaOH . Во всех экспериментах растворы минеральных сред, содержащих бактериальные культуры, разливали во флаконы (анаэробно под током 100% N_2). Последующим шагом было инкубирование инокулированных флаконов при температуре 35°C.

Приготовление образцов к анализу. Для минимизации контакта полученных осадков с атмосферой и их окисления при вскрытии флаконов их содержимое центрифугировали при 5000 об/мин. После этого сливали надосадочную жидкость, а стаканы помещали в эксикатор с CaCl_2 , откуда откачивали воздух вакуумным насосом и заполняли N_2 . Образцы сушили в вакууме в термостате при 37 °С. Высушенные таким образом осадки не теряли своих первоначальных свойств и не подвергались окислению.

Частицы продуктов метаболизма бактерий для проведения мёссбауэровских исследований растирались в яшмовой ступке под слоем этилового спирта. Затем после того, как спирт испарился, образцы представляли собой однородный порошок. Для измерения при комнатной температуре полученные таким способом образцы спрессовывались в парафиновые таблетки, чтобы уменьшить вероятность окисления в процессе измерения. Однако нельзя использовать парафиновые таблетки в случае низкотемпературных измерений, так как при данных условиях парафин начинает

разрушаться. Для таких измерений использовались плексигласовые боксы. А в случае измерений в сильных магнитных полях образец был спрессован и завернут в фольгу. Толщина образцов выбиралась таким образом, чтобы, с одной стороны, величина видимого эффекта была достаточной для успешного проведения мёссбауэровских измерений, а с другой – чтобы на экспериментальный мёссбауэровский спектр практически не влиял так называемый “эффект насыщения” [31,32].

2.2. Мёссбауэровские исследования

Мёссбауэровские исследования проводились с использованием мёссбауэровского спектрометра 1104М при комнатной температуре, при температуре кипения жидкого азота и гелия. Для измерений применялись азотный и гелиевый криостаты.

2.2.1. Мёссбауэровский спектрометр

Функциональная схема наблюдения эффекта Мёссбауэра изображена на рис.1.

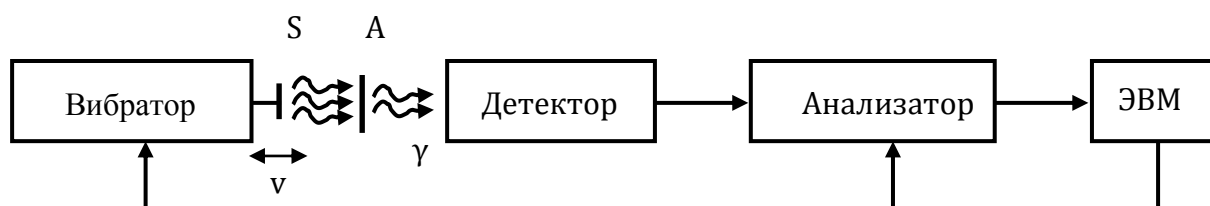


Рис. 1. Блок–схема мёссбауэровского спектрометра

S – источник γ -квантов мёссбауэровского перехода (мёссбауэровский источник);

A – поглотитель (в геометрии рассеивания – рассеиватель), как правило исследуемый образец.

Источник γ -лучей должен обладать определенными свойствами: иметь большой период полураспада материнского ядра (в случае распада которого рождается ядро резонансного изотопа в возбужденном состоянии), энергия мёссбауэровского перехода должна быть относительно малой (чтобы энергия отдачи не превысила энергию, необходимую для смещения атома и узла кристаллической решетки). Для мёссбауэровской спектроскопии сплавов железа этим требованиям материнский для изотопа ^{57}Fe изотоп ^{57}Co с периодом полураспада 270 дней. Обычно применяют источники активностью $1 \div 100$ мКи.

Гамма-излучение источника 2 проходит через свинцовый коллиматор (на рисунке не показан), попадает на поглотитель 3 – исследуемое вещество. Детектор 4 (например, сцинтилляционный кристалл с фотоумножителем или пропорциональный счётчик) регистрирует поток гамма-квантов, интенсивность которого определяется как обычным нерезонансным, так и резонансным поглощением. Настройка на резонанс и его расстройка достигаются путём соответствующего подбора величины и знака доплеровской скорости V источника, которая задается модулятором. Многоканальный анализатор импульсов даёт возможность раздельно регистрировать импульсы при различных значениях скорости V . Мёссбауэровский спектр представляет собой зависимость числа импульсов N , зарегистрированных в течение строго задаваемого времени, от доплеровской скорости V_i (i – номер точки). Энергия γ -кванта за счет эффекта Доплера изменяется на величину

$$\Delta E = \frac{V}{c} E_0 \cos \theta$$

где V – абсолютное значение скорости движения источника относительно поглотителя; c – скорость света в вакууме; θ – угол между направлением движения источника и направление испускания γ -квантов.

Поскольку в эксперименте угол θ принимает только 2 значения $\theta = 0$ и $\pi/2$, то

$$\Delta E = \pm \frac{\theta}{c}$$

(положительный знак соответствует сближению, а отрицательный – удалению источника от поглотителя) [33].

2.2.2. Азотный криостат

Малогобаритный криогенный комплекс, предназначенный для проведения гамма-резонансных (мёссбауэровских) измерений в диапазоне температур $53 \div 360$ К, точность стабилизации температуры меньше $\pm 0,1$ К. Температуры в диапазоне $78 \div 293$ К достигаются с помощью термокюча, в диапазоне $53 \div 78$ К – откачкой азота. Конструкция криостата позволяет предельно упростить процедуру смены образцов. Установка термокюча производится без развакуумирования и разборки криостата. В отличие от проточных, криостат не требует внешних коммуникаций, хотя, при желании, может эксплуатироваться в проточном режиме. Конструкция криостата минимизирует вибрации от кипения хладагентов.

2.2.3. Гелиевый криостат

Криостат замкнутого цикла (ЗЦ) фирмы Janis серии SHI обеспечивает удобное охлаждение образца до температуры ниже 4 К и может быть использовано для выполнения экспериментов в области оптики и электрики при температуре от 3,5 до 300 К. Системы ЗЦ не требуют никакого жидкого гелия или жидкого азота как источника охлаждения. Вместо этого давление замкнутой системы газообразного гелия уменьшается и увеличивается, на основании термодинамического цикла Гиффорда-МакМахона. Во время фазы расширения каждого цикла температура охлаждающего пальца, на котором установлен образец, понижается. Нагреватель и термометр установлены на охлаждающем пальце для точного управления температурой на образце.

2.3. Калибровка спектрометра

Для того чтобы на основании полученных спектров сделать выводы о строении образца, нужно сопоставить каналам спектра соответствующие доплеровские скорости, что позволит найти величину сдвига и/или расщепления ядерных уровней в атомах ^{57}Fe . Для этого используется спектр эталонного образца металлического $\alpha\text{-Fe}$, для которого эти величины уже были измерены с большой точностью.

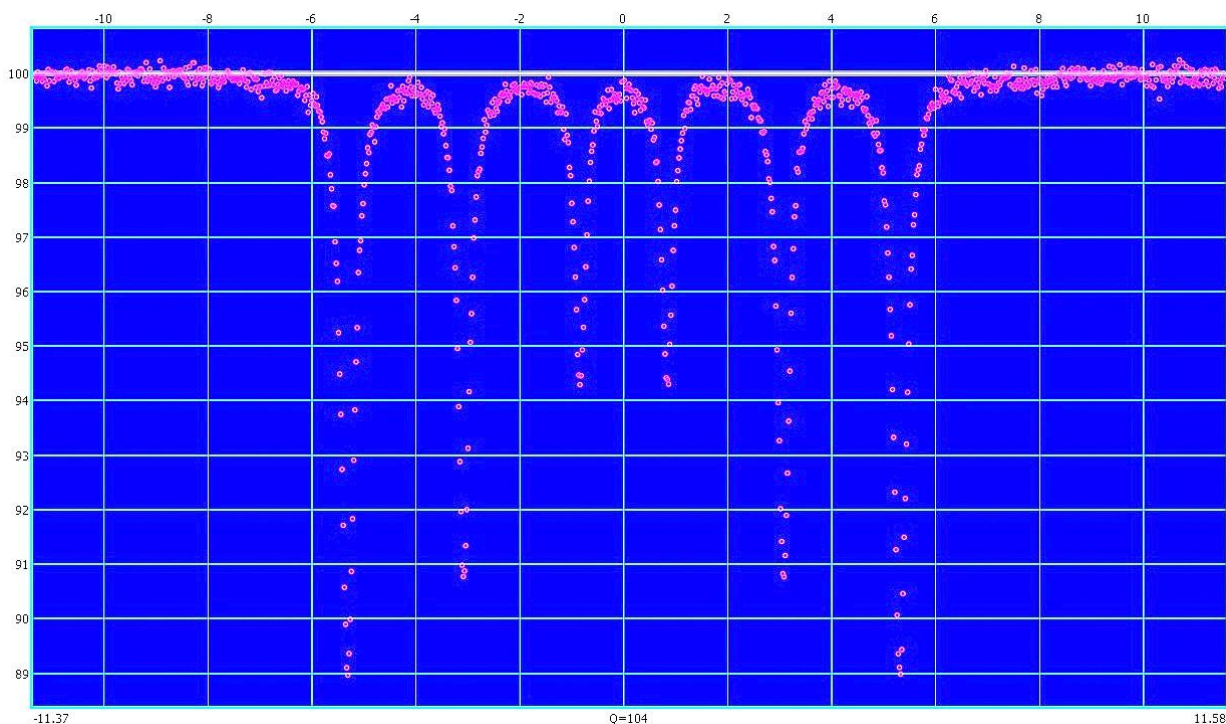


Рис. 2. Мёссбауэровский спектр эталонного образца $\alpha\text{-Fe}$

Для того чтобы извлечь из спектра полезную информацию необходимо определить его основные параметры, а именно сдвиг мёссбауэровской линии δ , квадрупольное смещение ε и сверхтонкое магнитное поле H_n . Эти параметры определяются из формы спектра, который представляет собой зависимость интенсивности от относительной скорости источника γ -квантов и приемника.

2.4. Мёссбауэровский спектр и его параметры

Одним из основных понятий при рассмотрении свойств атомов и характеристик атомного окружения является понятие локальной неоднородности, под которым понимают изменение от позиции к позиции свойств и состояния атомов одного сорта. Свойства атомов зависят в основном от его окружения. Локальную неоднородность можно классифицировать по причине ее возникновения, то есть по характеристикам атомного окружения:

- топологические характеристики (характеристики пространственного расположения окружающих позицию атомов);
- композиционные характеристики окружения – число и расположение атомов разного сорта по позициям;
- физические характеристики окружения – спин, орбитальный и магнитный моменты атома, электронная конфигурация.

Сверхтонкими параметрами мёссбауэровского спектра ядер ^{57}Fe , которые характеризуют локальную неоднородность сверхтонких взаимодействий, являются квадрупольное смещение компонент сверхтонкой структуры ε , сдвиг мёссбауэровской линии δ и эффективное магнитное поле H_n .

Квадрупольное смещение ε компонент мёссбауэровской линии определяется электрическим квадрупольным взаимодействием. Квадрупольное смещение возникает при нахождении ядра в неоднородном электрическом поле, частично снимающем вырождение по магнитному квантовому числу m_J . В общем случае в твердых телах градиент электрического поля в области расположения ядра возникает из-за локализованных зарядов ионных остовов окружающих атомов; электронов проводимости; валентных электронов мёссбауэровского атома. Квадрупольное смещение ε компонент сверхтонкой структуры дает информацию о числе неэквивалентных позиций, о симметрии ближайшего окружения мёссбауэровских ядер, об электронной конфигурации и валентности атомов.

Параметр ε чувствителен к топологической и композиционной локальным неоднородностям.

Сдвиг мёссбауэровской линии δ является параметром электрического монополюсного сверхтонкого взаимодействия и представляет собой сумму изомерного δ_I и температурного δ_T сдвигов: $\delta = \delta_I + \delta_T$. Температурный сдвиг δ_T обусловлен эффектом Доплера, который возникает благодаря тепловому движению ядер. Изомерный сдвиг δ_I определяется различием электронной плотности в области расположения ядра для источника $e|\psi_s(0)|^2$ и поглотителя $e|\psi_a(0)|^2$:

$$\delta_I = \alpha(|\psi_s(0)|^2 - |\psi_a(0)|^2),$$

α – калибровочная константа связи.

Электронная плотность на ядре непосредственно связана с электронной конфигурацией атома. Измерения изомерных химических сдвигов для различных химических соединений позволяют получить информацию об изменении электронной плотности на ядре, отражающем изменения в характере химической связи или в электронной структуре системы. Сдвиг мёссбауэровской линии δ определяется в основном ближайшим атомным окружением. Этот параметр чувствителен к топологическим и композиционным неоднородностям.

Эффективное магнитное поле в области расположения ядра \mathbf{H}_n характеризует магнитное дипольное взаимодействие. Его появление на ядре определяется как самим атомом, так и его окружением. Его появление на ядре определяется как самим атомом, так и его окружением. Поле \mathbf{H}_n можно записать в виде: $\mathbf{H}_n = \mathbf{H}_{Fermi} + \mathbf{H}_L + \mathbf{H}_S + \mathbf{H}_{dip} + \mathbf{H}_c + \mathbf{H}_{Lor} + \mathbf{H}_{dem}$. Основными вкладами являются: \mathbf{H}_{Fermi} – поле, обусловленное контактным взаимодействием Ферми локализованных на атоме s электронов с ядром, \mathbf{H}_L , \mathbf{H}_S – поля, создаваемые орбитальным моментом L и спином S электронной оболочки данного атома, \mathbf{H}_{dip} – вклад от диполь-дипольного взаимодействия ядра с окружающими атомами, \mathbf{H}_c – вклад от контактного взаимодействия электронов проводимости с ядром, \mathbf{H}_{Lor} , \mathbf{H}_{dem} – лоренцевское и размагничивающие поля.

Данные о величине эффективного магнитного поля в области расположения ядра \mathbf{H}_n позволяют получить информацию об особенностях магнитной, электрической и атомной структур исследуемых соединений [33].

2.5. Обработка мёссбауэровских спектров

Для обработки спектров использовалась программа SpectrRelax, входящая в состав программного комплекса MsTools, которая позволяет восстанавливать несколько независимых функций распределения сверхтонких параметров парциальных спектров, а так же проводить модельную расшифровку [33,34,35].

Модельная расшифровка спектра. Огибающая мёссбауэровского спектра в программе задается в виде суперпозиции любого количества парциальных спектров из доступного набора моделей. В качестве варьируемых параметров моделей используются величины, имеющие непосредственный физический смысл: сдвиг мёссбауэровской линии, квадрупольное смещение компонент спектра, сверхтонкое магнитное поле, площадь спектра, площади и ширины компонента спектра, скорости релаксации. В основе метода лежит минимизация функционала

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^n \left(\frac{F_j - f(x_j, b)}{s_j} \right)^2 = \sum_{j=1}^n w_j \cdot (F_j - f(x_j, b))^2,$$

где $\{F_j\}$ ($j = 1, \dots, n$; n – число экспериментальных точек) – набор экспериментальных значений физической величины F ; $f(x_j, b)$ – теоретическое значение величины F , которое соответствует значению аргумента x_j , и согласно выбранной модели определяется $b \equiv \{b_k\}$ (2) ($k = 1, \dots, m$; m – полное число параметров); s_j – стандартное отклонение и $w_j \equiv \frac{1}{s_j^2}$ (3) – «вес» экспериментальной величины F_j . Поиск оптимальных значений параметров модели осуществляется в соответствии с критерием максимального правдоподобия (критерий χ^2) методом Левенберга – Марквардта [35].

Восстановление распределений параметров спектра.

В основу метода положен так называемый обобщенный метод регуляризации - минимизация функционала χ^2 вида:

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^n \left(\frac{N_j - (N_{\infty}^j - \sum_{s=1}^t \sum_{k=1}^{r^s} D_{jk}(a^s) \cdot p_k^s)}{\Delta N_j} \right)^2 + \sum_{s=1}^t u^s \sum_{k=1}^{r^s} \left(\frac{\sum_{l=1}^{r^s} T_{kl}^s \cdot p_k^s}{\sigma_k^s} \right)^2 + \sum_{s=1}^t w^s \sum_{k=1}^{r^s} \left(\frac{P_k^s - p_k^s}{\sigma_k^s} \right)^2$$

Здесь:

- $\{N_j\}$ – исходный экспериментальный спектр ($j=1, \dots, n$; n – число экспериментальных точек);
- $\{\Delta N_j\}$ – стандартные отклонения статистических ошибок в спектре;
- $\{p_k^s\}$ – искомая функция распределения параметров для s -го ядра ($k=1, \dots, r_s$; r_s – размерность s -ой функции распределения; $s=1, \dots, S$, S – число реставрируемых распределений);
- $\{D_{jk}^s\}$ – матрица, описывающая для s -ого ядра парциальный спектр, который соответствует k -ому набору параметров $\delta, \varepsilon, \mathbf{H}_n$ и $\delta\Gamma$;
- $\{T_{kl}^s\}$ – матрица конечных разностей, определяемая степенью производной, по которой осуществляется процесс регуляризации;
- $\{P_k^s\}$ – предполагаемое в соответствии с априорно имеющейся информацией распределение параметров, в области которого осуществляется поиск функции распределения;
- u^2, w^s – параметры регуляризации для s -ой функции распределения;
- $\{\sigma_k^s\}$ – "жесткость" регуляризации в точках представления функции распределения, имеющая смысл стандартного отклонения.

Программа позволяет осуществить поиск возможных линейных корреляций между параметрами спектра в рамках каждого из распределений. Это обстоятельство особенно важно при обработке мёссбауэровских спектров сложных объектов [33].

2.6. Магнитные исследования

Магнитные исследования проводились исследование на кафедре магнетизма с использованием вибрационного спектрометра Lake Shore.

2.6.1. Вибрационный спектрометр Lake Shore

Магнитные измерения одного из образцов бактерии *Thermincola Ferriacetica* были произведены на вибрационном магнитометре фирмы Lake Shore. Данная установка является полностью автоматизированной и обеспечивает высокую стабилизацию

температуры и магнитного поля и позволяет проводить измерения в широком диапазоне температур и магнитных полей.

Образец крепился на кварцевый штوك при помощи специального клея, который позволяет работать в широких диапазонах температур. Для получения достоверных результатов измерений образец располагался между полюсными наконечниками, равноудалено от каждого из них.

В данной установке предусмотрена возможность гибкой регулировки «головы» генератора механических колебаний для центровки и корректировки положения образца в горизонтальной плоскости. Для более точной юстировки положения образца предусмотрена специальная программа, входящая в состав системы управления.

Под действием генератора механических колебаний с частотой 60 Гц шток с образцом приводился в движение. В силу колебаний образца изменяется магнитный поток, пронизывающий измерительные катушки, что приводит к возникновению ЭДС индукции в катушках. Четыре катушки соединены последовательно и расположены навстречу друг к другу. Сигнал ЭДС усиливается, а попадая на аналого-цифровой преобразователь (АЦП), сигнал преобразовывается в цифровой, и записывается в память ЭВМ. Данный сигнал пропорционален магнитному моменту образца.

Создаваемое электромагнитом поле измеряется при помощи датчика Холла, который помещен в непосредственной близости от образца. Ток, проходящий через датчик Холла, равен 90 мА. С помощью АЦП считывается напряжение на датчике и передается в компьютер. Блок питания электромагнита может выдавать ток до 50 А. Управление блоком питания осуществляется с помощью цифро-аналогового преобразователя (ЦАП).

Для проведения низкотемпературных измерений установка имеет специальную низкотемпературную вставку, принцип действия которой основан на продуве хладагента (гелия или азота) через объем, где находится образец.

Шахта, в которой расположен образец, изолирована от окружающей среды вакуумной рубашкой. Для повышения температуры в данной шахте предусмотрен нагревательный элемент. Мощность этого элемента регулируется для стабилизации необходимой температуры, что позволяет изменять температуру измерений от температуры жидкого гелия до 400 К.

Датчик Холла, измерительные катушки, источник питания электромагнита, генератор механических колебаний и температурные вставки соединены напрямую с компьютером посредством АЦП, ЦАП и высокоточных измерительных приборов. Таким

образом, для считывания каких-либо параметров эксперимента или их изменения достаточно обратиться только к программе управления.

Основные параметры установки:

1. Максимальное поле, достижимое на установке, равно 16000 Э.
2. Точность измерения поля – 0.5 Э.
3. Дискретность изменения поля – 10 Э.
4. Точность измерения величины магнитного момента - 10^{-5} Гс*см³ (emu)
5. Стабильность температуры выбирается программно от 0,001 до 1 К (определяется из соотношения: необходимая точность / длительность измерений).

2.6.2. Схема проведения эксперимента

Температурные измерения

Зависимость намагниченности от температуры в магнитном поле 10 кЭ была измерена в режимах ZFC (zero field cooled) и FC (field cooled). Схема измерения температурного хода намагниченности в режиме ZFC была следующей: сначала образец охлаждался до температуры 80 К без поля, а далее уже включалось магнитное поле 10 кЭ. После этого проводилось измерение намагниченности во время нагревания образца до 300 К. Измерение длилось примерно 2 часа. После того, как образец нагрелся до температуры 300 К, проводилось измерение намагниченности в режиме FC при охлаждении до температуры 80 К, не выключая магнитное поле.

Измерения полевых зависимостей намагниченности

После охлаждения в магнитном поле 10 кЭ при 80 К измерялась зависимость величины магнитного момента от поля – M(H). После этого образец нагревался до 300 К, затем охлаждался до 80 К и петли гистерезиса последовательно измерялись при температурах 80 К, 190 К и 300 К.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1. Мёссбауэровские исследования

3.1.1. Синтезированный ферригидрит в различных минеральных средах

В данной работе исследовались процессы восстановления синтезированного ферригидрита (СФ) двумя диссимиляторными железоредуцирующими бактериями (*Thermincola Ferriacetica* и *Geocalibacter ferrihydriticus*). Для изучения влияния минеральных сред на СФ, он был добавлен в среды культивации обеих бактерий. СФ представляет собой рентгеноаморфное вещество, как методами рентгеновской дифрактометрии было показано ранее. Мёссбауэровские исследования полученных образцов были проведены при комнатной температуре, при температуре $T = 4,2$ К, а также при $T = 4,2$ К во внешнем магнитном поле $B_{\text{ext}} = 6$ Тл.

Мёссбауэровские спектры образцов, полученных в результате взаимодействия СФ со средой культивации бактерий, представлены на рис. 3.

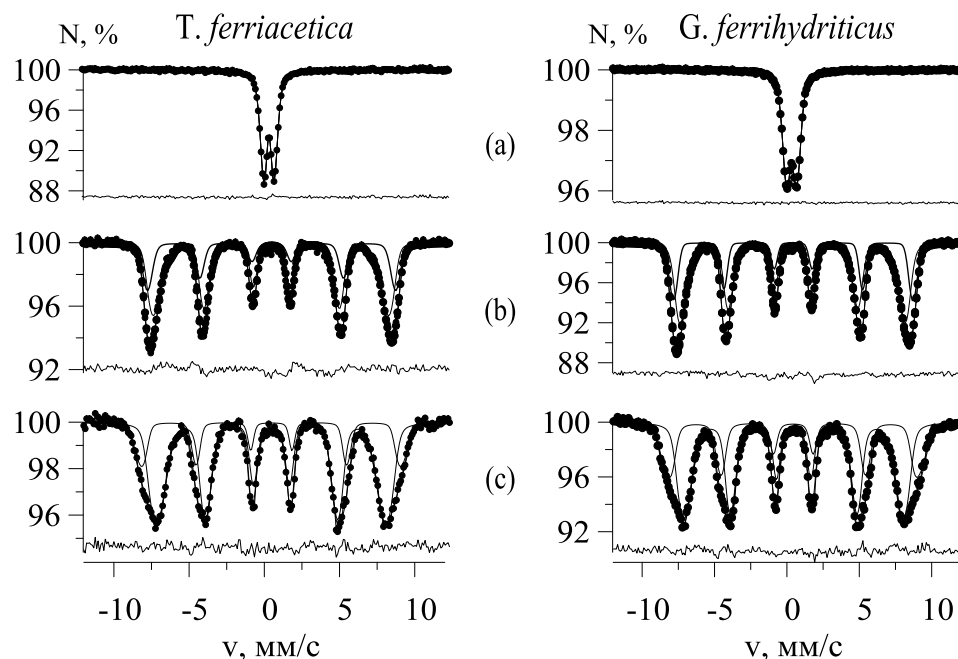


Рис. 3. Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в структуре СФ после его взаимодействия со средами культивации *T. ferriacetica* и *G. ferrihydriticus*, измеренные при температурах $T = 300$ К (а), $T = 4,2$ К (б) и $T = 4,2$ К во внешнем магнитном поле $B_{\text{ext}} = 6$ Тл, ориентированном перпендикулярно направлению пролета γ -квантов (с)

Мёссбауэровские спектры СФ в обеих средах при комнатной температуре представляют собой квадрупольные дублеты со средним значением изомерного сдвига

мёссбауэровской линии $\bar{\delta} = 0,37 \pm 0,01$ мм/с и квадрупольного расщепления $\bar{D} = 0,72 \pm 0,01$ мм/с. При температуре $T = 4,2$ К оба мёссбауэровских спектра СФ имеют вид ассиметричных секстетов с широкими спектральными линиями. Среднее значение квадрупольного смещения равно $\bar{\epsilon} = 0,00 \pm 0,01$ мм/с. Сверхтонкие параметры обоих спектров практически не отличаются друг от друга. Мёссбауэровские спектры СФ в обеих средах, измеренные при температуре $T = 4,2$ К во внешнем магнитном поле $B_{\text{ext}} = 6$ Тл, которое было ориентировано перпендикулярно направлению пролета γ -квантов, демонстрируют уширение спектральных линий со слабым расщеплением внешних линий секстета. Модель для обработки спектров данных образцов состояла из двух распределений сверхтонкого магнитного поля в области расположения ядра. Анализ параметров этих спектров показал, что два распределения сверхтонкого магнитного поля соответствуют двум неэквивалентным позициям атомов Fe^{3+} , интенсивности которых для обоих спектров практически одинаковы – $\sim 65\%$ и 35% . Эти позиции могут соответствовать положению атомов Fe^{3+} в тетраэдрическом и октаэдрическом окружениях атомов кислорода, соответственно.

Параметры спектров ядер ^{57}Fe в структуре синтезированного ферригидрита после его взаимодействия со средами культивации обеих бактерий практически не отличаются. Следовательно, можно сделать вывод, что минеральные среды оказывают одинаковое влияние на СФ.

Хорошо известно, что во внешнем магнитном поле B_{ext} , ориентированном перпендикулярно направлению распространения γ -квантов, в случае строгой коллинеарности магнитных моментов полю B_{ext} , отношение интенсивностей спектральных линий, соответствующих переходу $\Delta m_I = 0$ (вторая и пятая линии секстета) равно $4/3$. При обработке мёссбауэровских спектров СФ после их взаимодействия со средами было получено $A_{2,5}/A_{1,6} = 0,70 \pm 0,02$, что позволяет сделать вывод о том, что магнитные моменты ионов Fe^{3+} в магнитоупорядоченной фазе направлены не строго коллинеарно внешнему магнитному полю B_{ext} , а составляют с ним некий угол. Используя отношение $A_{2,5}/A_{1,6}$, были оценены значения углов, которые примерно равны $52^\circ - 53^\circ$ для А- и В- позиций в обеих средах.

Таким образом, магнитная структура СФ при рассмотрении мёссбауэровских спектров в магнитном поле может быть представлена как суперпозиция магнитных моментов, ориентированных как по полю, так и против него внутри двух пространственных конусов. В отсутствии внешнего магнитного поля, магнитные моменты ориентированы в пространстве хаотично.

3.1.2. Исследование кинетики процесса железоредукции бактерией *Thermincola Ferracetica* (штамм Z-0001)

Были проведены исследования кинетики образования минералов железа термофильной бактерией *Thermincola ferriacetica* (штамм Z-0001) методами мёссбауэровской спектроскопии. Для проведения исследований в приготовленную в анаэробных условиях минеральную среду добавлялись синтезированный аморфный гидроксид железа Fe(III) в качестве акцептора и ацетат CH_3COO^- в качестве донора электронов. СФ готовили путем добавления 10% раствора NaOH в FeCl_3 так, чтобы конечное количество СФ в пересчете на Fe(III) в литре среды составляло 90 ммоль. Далее минеральная среда с синтезированным аморфным гидроксидом железа Fe(III) (ферригидритом) и ацетатом разливалась во флаконы под током газа. Процентное содержание CO_2 и N_2 в газовой фазе составляло для этой серии образцов соответственно 20 % и 80 %. Время культивирования бактерии изменилось в промежутке от 24 до 236 часов (см. таблицу 1).

N	Fe ²⁺ , мМ	Время культивирования (час)	Номер спектра 300К	Номер спектра 77К	Номер спектра 4,8К
1	5,2	24	100291024	100311024	10115+10116_256
2	4,8	48,20	100651024	100691024	-
3	12,3	96	100701024	100711024	-
4	7,9	115	100671024	100661024	-
5	9,6	123	100371024	100461024	-
6	15,7	138,30	100591024	100491024	-
7	13	168,30	100641024	100631024	-
8	20,5	192	100471024	100611024	-
9	27,3	236,30	100271024	100281024	10111+10114_256

Таблица 1. Исследуемые образцы, полученные в процессе культивации бактерии *Thermincola Ferriacetica*

Мёссбауэровские спектры ядер ⁵⁷Fe в твердых фазах, полученных при росте бактерии Z-0001, измеренные при комнатной температуре и температуре кипения жидкого азота представлены на рис. 4 (а, б, в).

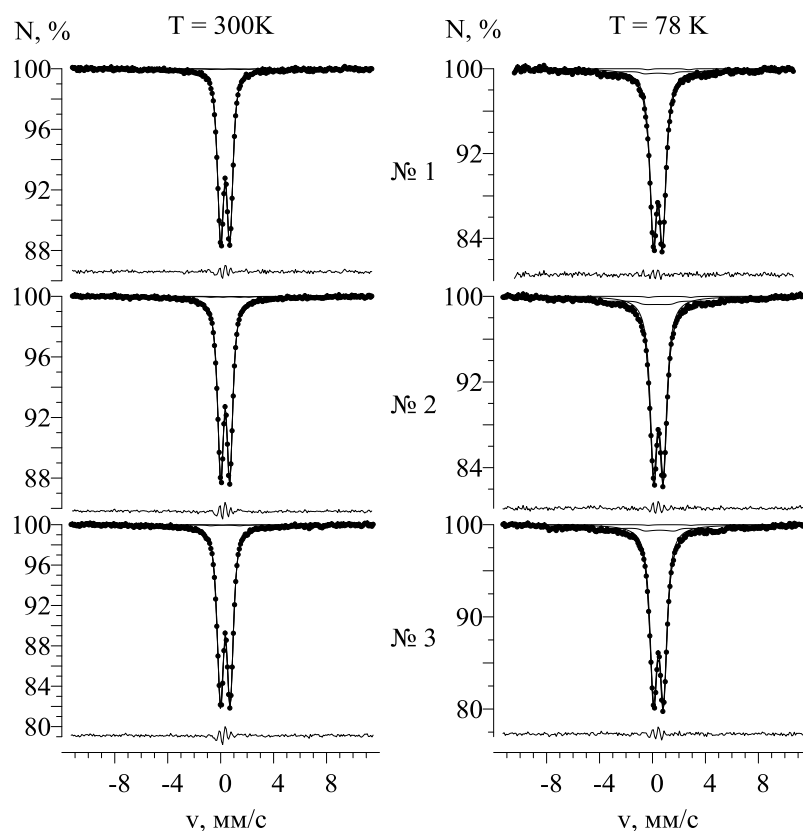


Рис. 4.а. Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в твердой фазе, образующейся в процессе железоредукции бактерией *Thermincola ferriacetica*, измеренные при комнатной температуре и при $T = 78\text{K}$

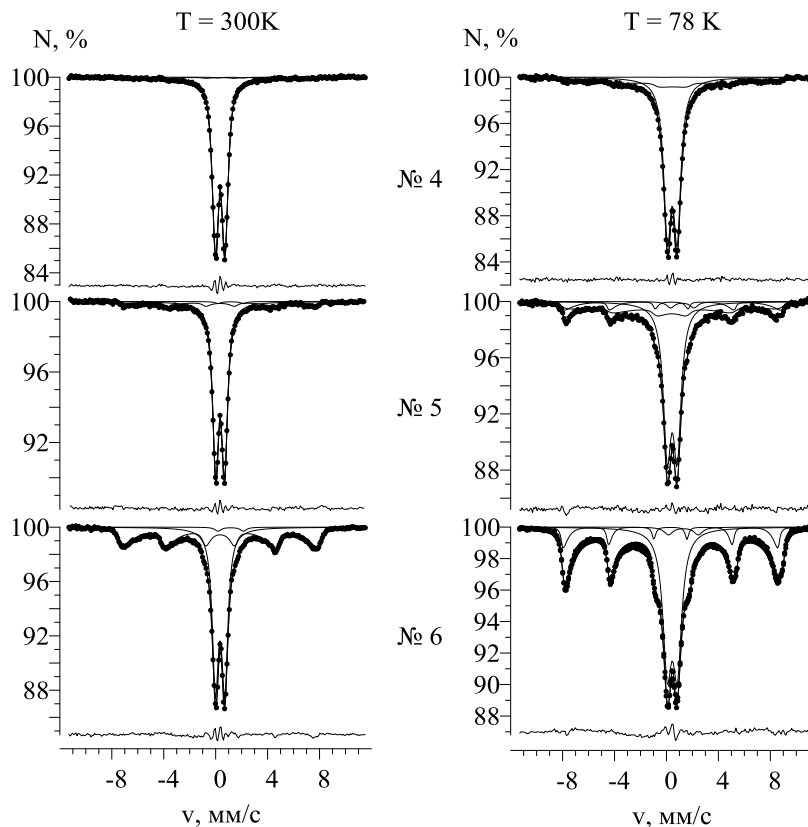


Рис. 4.б. Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в твердой фазе, образующейся в процессе железоредукции бактерией *Thermincola ferriacetica*, измеренные при комнатной температуре и при $T = 78\text{K}$

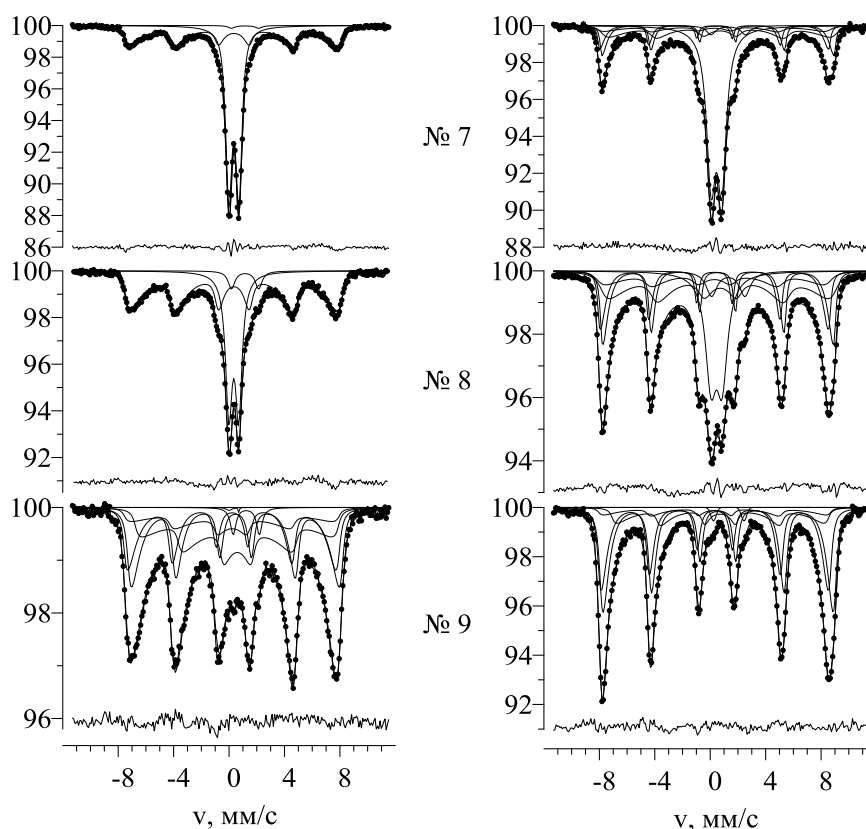


Рис. 4.в. Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в твердой фазе, образующейся в процессе железоредукции бактерией *Thermincola ferriacetica*, измеренные при комнатной температуре и при $T = 78 \text{ K}$

Для обработки мёссбауэровских спектров исходного СФ и проб, полученных на начальной стадии роста микроорганизма, была использована модель, представляющая собой суперпозицию трёх парциальных спектров, два из которых соответствуют дублетам и один представляет собой зеемановский секстет в модели суперпарамагнитной релаксации.

Модель обработки мёссбауэровского спектров образца № 9, измеренных при комнатной температуре и температуре кипения жидкого азота, включала в себя четыре зеемановских секстета и квадрупольный дублет. Секстеты соответствуют неэквивалентным позициям атомов железа в структуре маггемита и магнетита. Квадрупольный дублет соответствует атомам железа в структуре сидерита.

На стадии экспоненциального роста штамма происходило формирование магнитоупорядоченной фазы за счет постепенного уменьшения ферригидрита. С увеличением времени инкубации наблюдается увеличение относительной интенсивности парциального спектра, соответствующего магнитоупорядоченной фазе. В предположении о равенстве вероятности эффекта Мёссбауэра для ядер ^{57}Fe в различных позициях исследуемых фаз интенсивности парциальных спектров можно считать равными

относительному содержанию соответствующих фаз. Во всех образцах присутствует небольшое количество сидерита FeCO_3 , относительное содержание которого не превышает 2 %.

Мёссбауэровские исследования, проведенные при температуре $T = 78 \text{ K}$, выявили заметное увеличение относительной интенсивности парциального спектра магнитоупорядоченного типа по сравнению с комнатной температурой. Такое поведение спектров позволяет сделать вывод о наличии суперпарамагнитной релаксации магнитных моментов атомов железа. В этом случае наблюдаемый интенсивный квадрупольный дублет соответствует не только исходному аморфному ферригидриту, но и мелким частицам магнитоупорядоченных фаз, которые проявляют суперпарамагнитные свойства. При этом с ростом времени инкубации происходят два процесса: бактериальное преобразование СФ в магнитоупорядоченную фазу и укрупнение мелких частиц.

Для более подробного анализа полученной в процессе роста бактерии твердой фазы были проведены измерения двух мёссбауэровских спектров образцов № 1 и № 9 при температуре $T = 4,8 \text{ K}$. Мёссбауэровские спектры этих образцов, снятые при различных температурах представлены на рис. 5.

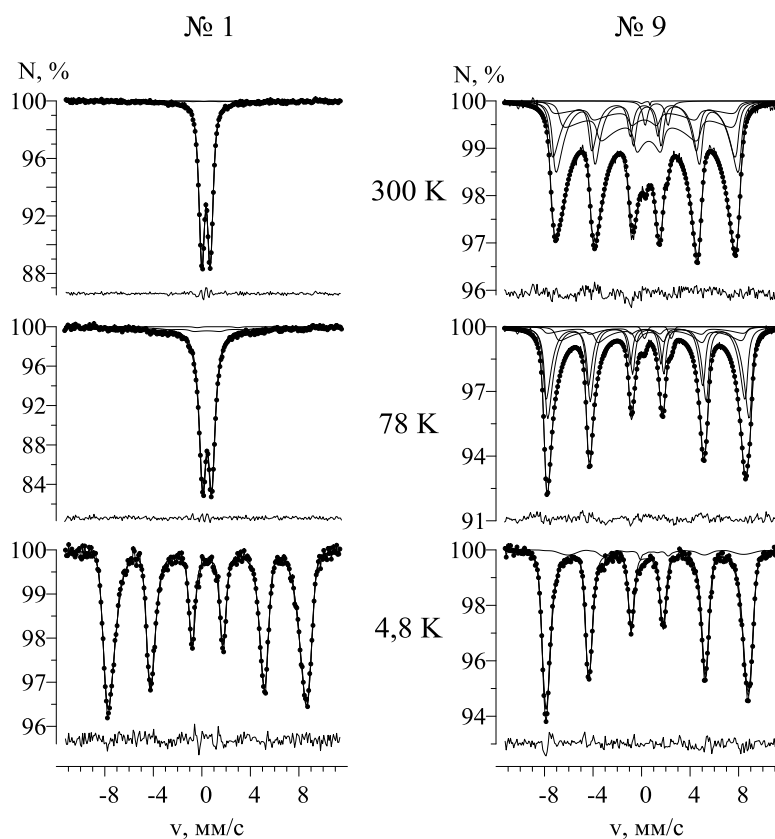


Рис. 5. Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в твердой фазе образцов № 1 и № 9, полученных в ходе роста бактерии *Thermincola ferriacetica*, измеренные при комнатной температуре, при $T = 78 \text{ K}$ и при $T = 4,8 \text{ K}$

Анализ спектров позволяет сделать вывод о том, что в мёссбауэровском спектре образца № 9, полученного на десятый день эксперимента, интенсивность квадрупольного дублета, соответствующего атомам Fe^{3+} , мала, что обусловлено полным преобразованием СФ в процессе бактериального синтеза. Наличие дублета с малой интенсивностью связано с присутствием в образце небольшого количества мелких частиц.

На рис. 6 представлены спектры образцов № 1 и № 9, измеренные при температуре $T = 4,8$ К, а также соответствующие им восстановленные распределения сверхтонкого магнитного поля в области расположения ядра. Как видно на рисунке, в случае образца № 9 корректная обработка возможна лишь путём восстановления двух распределений сверхтонкого магнитного поля. Анализ второго распределения позволяет сделать вывод о наличии в образце атомов двухвалентного железа. Это, а также параметры спектра дают возможность утверждать, что магнитоупорядоченная фаза является, по-видимому, смесью нестехиометрического магнетита и маггемита.

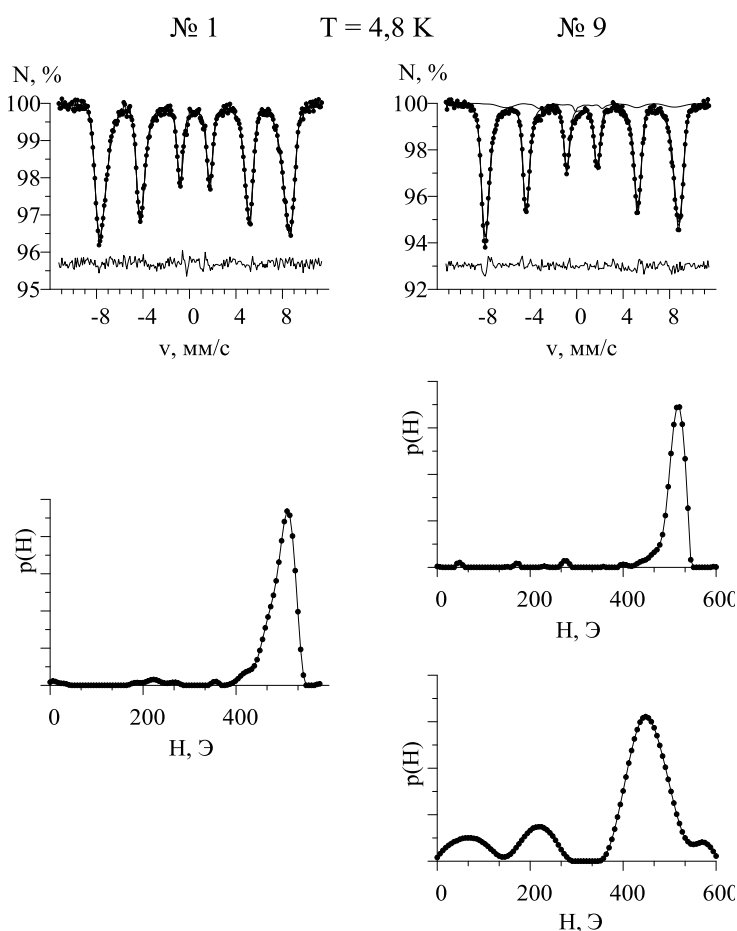


Рис. 6. Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в твердой фазе образцов № 1 и № 9, полученных в ходе роста бактерии *Thermincola ferriacetica*, и соответствующие им распределения сверхтонкого магнитного поля в области расположения ядра при $T = 4,8$ К

Также были проведены отдельные мёссбауэровские измерения образцов № 2 и № 8 во внешнем магнитном поле, величиной 1,03 Тл, для подтверждения суперпарамагнитной природы частиц. Мёссбауэровские спектры, полученные после данных измерений, представлены на рис. 7.

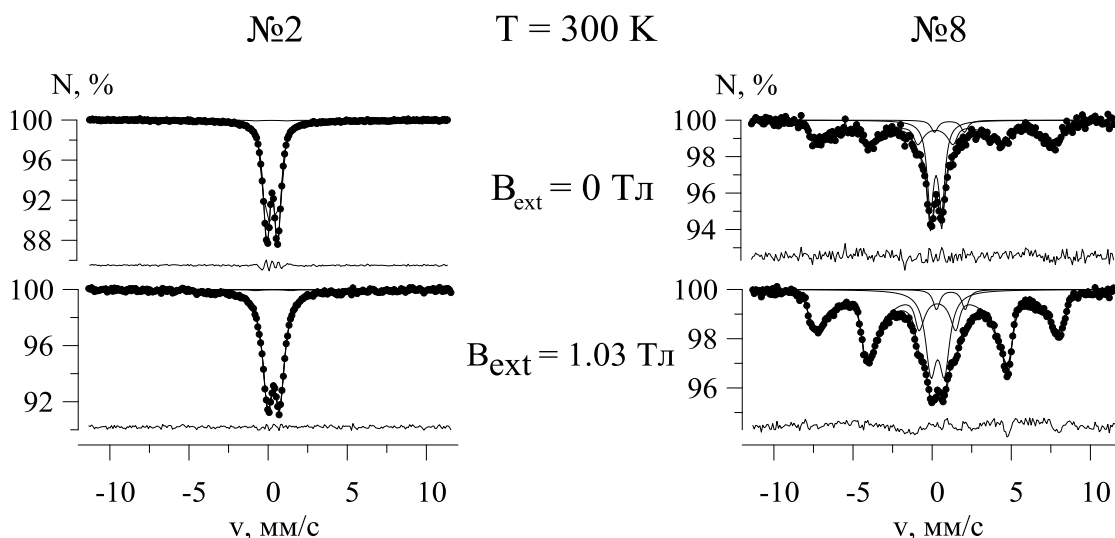


Рис. 7. Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в твердой фазе образцов № 2 и № 8, полученных в ходе роста бактерии *Thermincola ferriacetica*, измеренные при комнатной температуре в отсутствии поля и во внешнем магнитном поле $B_{\text{ext}} = 1,03$ Тл, ориентированном перпендикулярно пролету γ -квантов

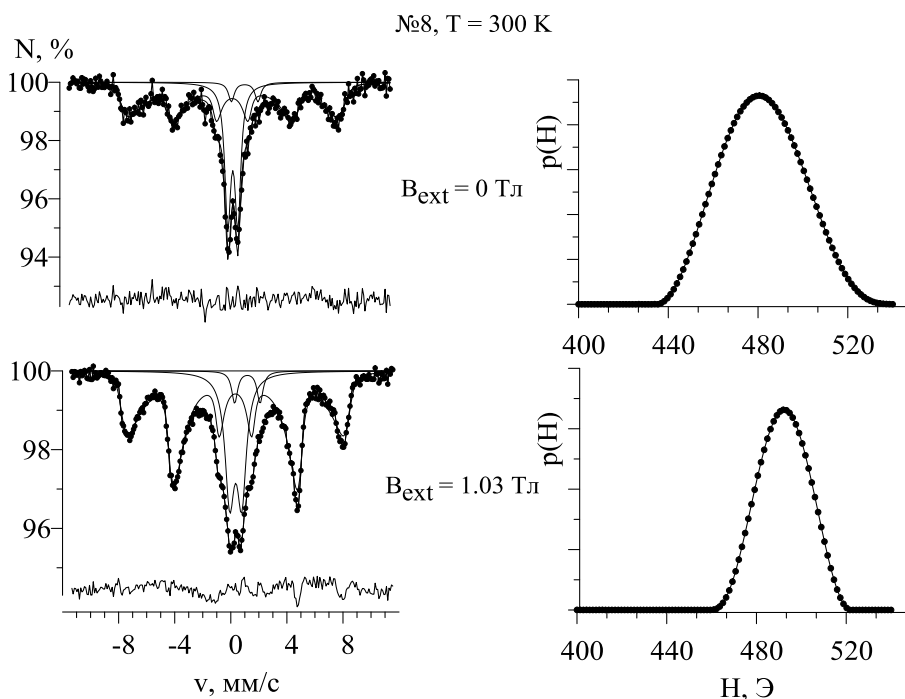


Рис. 8. Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в твердой фазе образцов № 2 и № 8, полученных в ходе роста бактерии *Thermincola ferriacetica*, и соответствующие им распределения сверхтонкого магнитного поля в области расположения ядра при комнатной температуре в отсутствии поля и во внешнем магнитном поле $B_{\text{ext}} = 1,03$ Тл, ориентированном перпендикулярно пролету γ -квантов

Заметно, что в обоих случаях внешнее магнитное поле в 1,02 Тл приводит к модификации мёссбауэровских спектров как образца № 2, так и № 8 (рис. 7). Для образца № 2, для которого произошло только частичное преобразование СФ в магнитоупорядоченную фазу, наблюдается лишь небольшое увеличение относительной интенсивности секстета, а для образца № 8 эти изменения являются существенными.

Секстет в мессбауэровском спектре образца № 8, снятом в отсутствии внешнего магнитного поля, соответствует крупным частицам магнитоупорядоченной фазы, а дублет соответствует частицам СФ и мелким частицам магнитоупорядоченной фазы (рис. 8). После приложения внешнего магнитного поля увеличивается относительная интенсивность парциального спектра магнитоупорядоченного типа и уменьшается интенсивность дублета, что подтверждает релаксационный характер мёссбауэровского спектра и наличие суперпарамагнитных частиц в образце (таблица 2).

B_{ext} , Тл	I_d , %	I_H , %	H_{max} , кЭ
0	$32,0 \pm 1,9$	$63,5 \pm 2,0$	$480,0 \pm 5,9$
1,03	$25,2 \pm 1,4$	$70,6 \pm 1,4$	$490,6 \pm 2,3$

Таблица 2. Параметры мёссбауэровских спектров образца № 8 полученных при приложении внешнего магнитного поля

Как было сказано ранее, хорошо известно, что во внешнем магнитном поле, ориентированном перпендикулярно направлению распространения γ -квантов, в случае строгой коллинеарности магнитных моментов полю, отношение интенсивностей спектральных линий, соответствующих переходу $\Delta m_l = 0$ (вторая и пятая линии секстета) равно 4/3. При обработке спектра образца 8 было получено $A_{2,5}/A_{1,6} = 1,21 \pm 0,02$. Этот результат позволяет сделать вывод о том, что магнитные моменты ионов Fe^{3+} в магнитоупорядоченной фазе направлены практически коллинеарно внешнему магнитному полю B_{ext} , то есть поле B_{ext} практически полностью поворачивает магнитные моменты суперпарамагнитных частиц. Таким образом, внешнее магнитное поле в 1,03 Тл приводит к замораживанию магнитных моментов и уменьшению частоты релаксации.

На рис. 9 показана зависимость содержания Fe^{2+} , полученная химическим методом, в зависимости от времени культивирования бактерии. Видно, что с ростом времени культивации наблюдается рост концентрации двухвалентного железа, связанный с восстановлением исходного синтезированного ферригидрита.

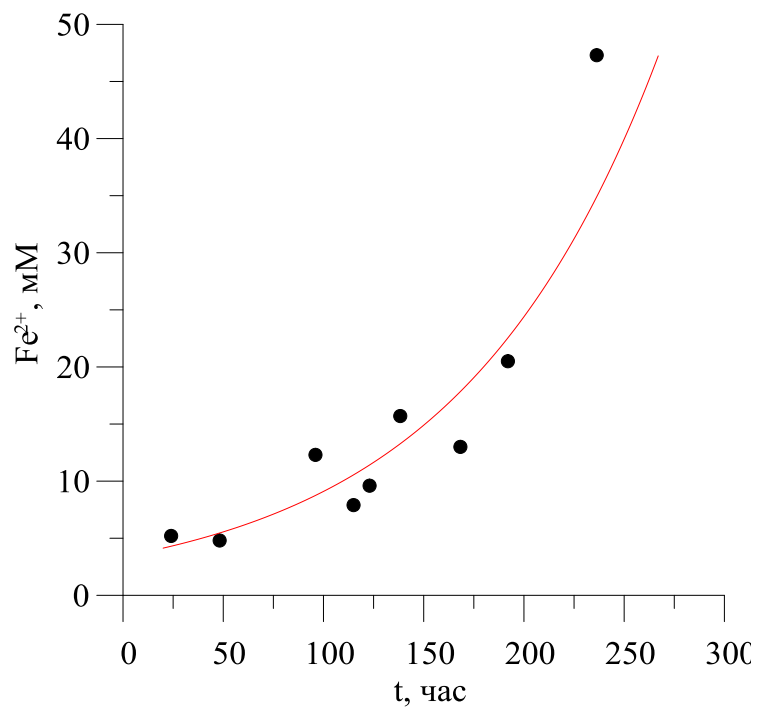


Рис. 9. Зависимость содержания Fe^{2+} , полученная химическим методом, в зависимости от времени культивации бактерии *Thermincola ferriacetica*

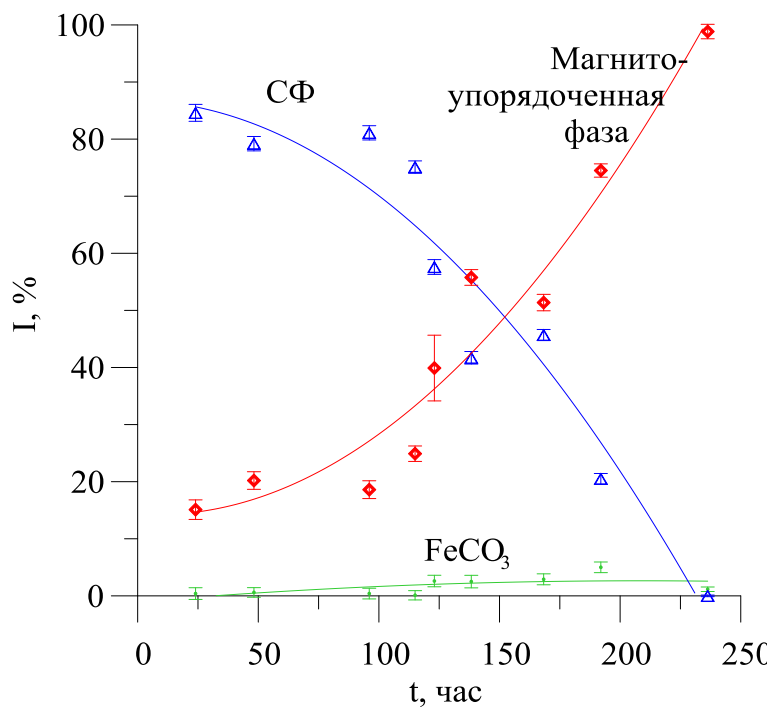


Рис. 10. Зависимость относительной интенсивности парциальных спектров, соответствующих атомам железа в структурах: СФ, сидерита (FeCO_3), и магнитоупорядоченной фазы, образованных в процессе роста бактерии *Thermincola ferriacetica*, в зависимости от времени культивации

Как видно на рис. 10, с ростом времени культивирования штамма Z-0001 наблюдается возрастание относительного содержания магнитоупорядоченной фазы за счет уменьшения относительного содержания гидроксида железа. При этом относительное содержание сидерита практически не меняется. Кроме того, кривая роста относительного содержания магнитоупорядоченной фазы коррелирует с кривой роста содержания Fe^{2+} , полученной химическими методами и представленной на рис. 9.

3.1.3. Исследование кинетики процесса железоредукции бактерией *Geocalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531)

Были проведены исследования кинетики образования минералов железа алкалофильной мезофильной бактерией *Geocalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) методами мёссбауэровской спектроскопии.

В среду культивации штамма Z-0531 помимо синтезированного ферригидрита в качестве дополнительного акцептора электронов добавлялся антрахинон-2, 6-дисульфонат (хинон). Концентрация СФ – $n_{Fe(III)} = 100\text{мМ}$, концентрация хинона – 0,05 г/л. Время культивирования изменялось от одного до тридцати месяцев.

Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в твердых фазах, полученных при росте бактерии Z-0531, измеренные при комнатной температуре, представлены на рис. 11. Для обработки полученных спектров использовалась модель, состоящая из четырёх зеемановских секстетов и квадрупольного дублета. Секстеты соответствуют неэквивалентным позициям атомов железа в структурах маггемита и магнетита. Дублет соответствует атомам железа в структуре сидерита.

Анализ мёссбауэровских спектров показал, что относительная интенсивность квадрупольного дублета, соответствующего сидериту, практически не менялась с увеличением времени культивации.

Проведенная обработка мёссбауэровских спектров образцов, полученных в процессе восстановления синтезированного ферригидрита данной бактерией, при различных временах культивации позволила определить относительные содержания различных фаз в образцах (рис. 12.a) и относительное содержание маггемита и магнетита в синтезированной магнитоупорядоченной фазе (рис. 12.b). На интервале времени культивации до девяти месяцев наблюдается небольшой рост относительного содержания магнетита в магнитоупорядоченной фазе, которое в дальнейшем практически не меняется.

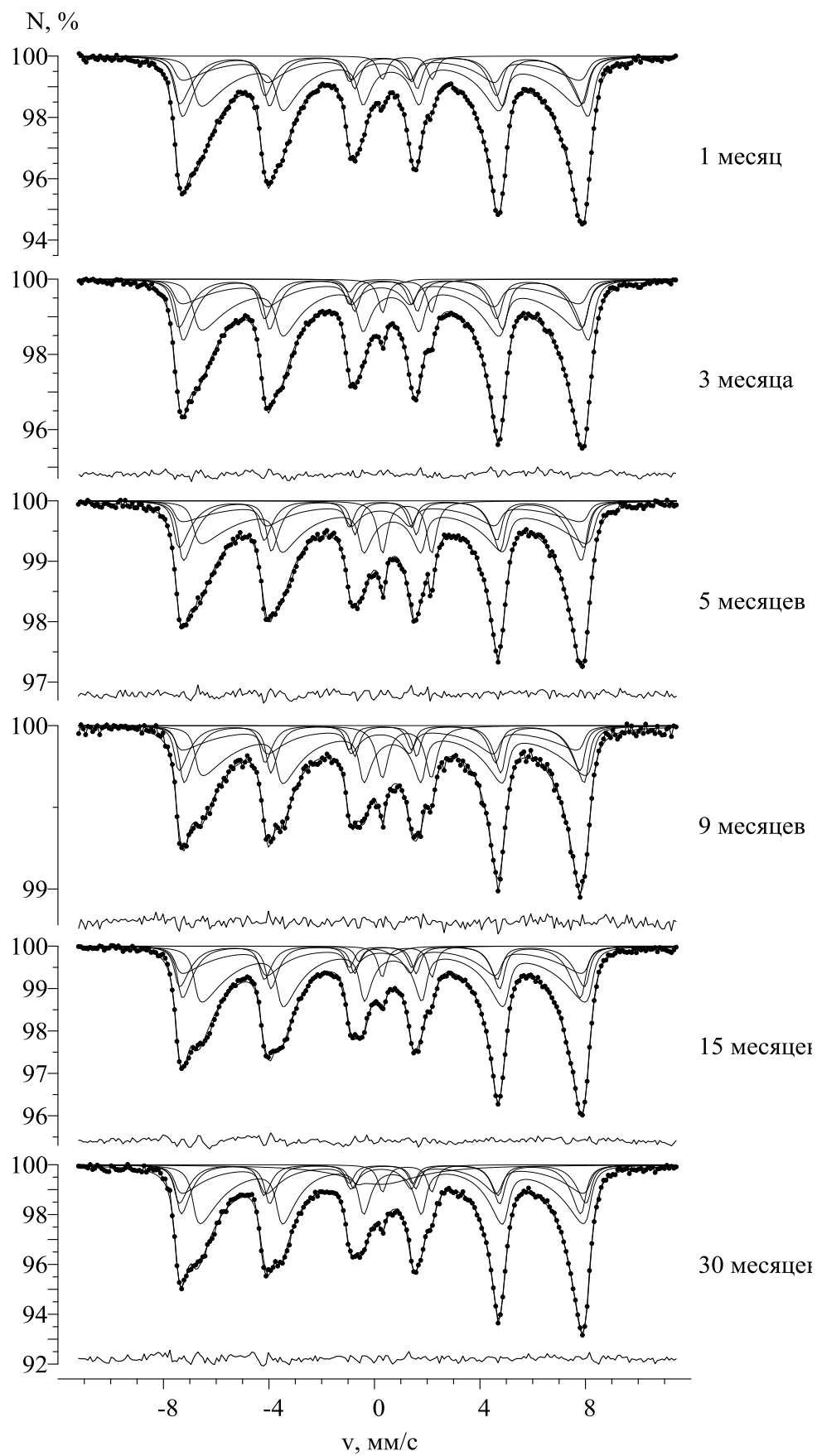


Рис. 11. Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в твердой фазе, образующейся в процессе железоредукции бактерией *Geocalibacter ferrihydriticus*, измеренные при комнатной температуре

Также были получены значения сверхтонкого параметра α , равного отношению энергии магнито-кристаллографической анизотропии к энергии тепловых колебаний магнитного момента $\alpha = \frac{K_a V}{k_B T}$, где K_a – константа магнито-кристаллографической анизотропии, V – объем частицы, k_B – константа Больцмана, T – температура. Этот параметр пропорционален объёму частиц. Из зависимости, изображенной на рис. 13, видно, что параметр α практически не меняется с ростом времени культивации бактерии, из чего можно сделать утверждение, что и размеры частиц магнитоупорядоченной фазы практически не меняются с ростом времени культивации (рис. 13).

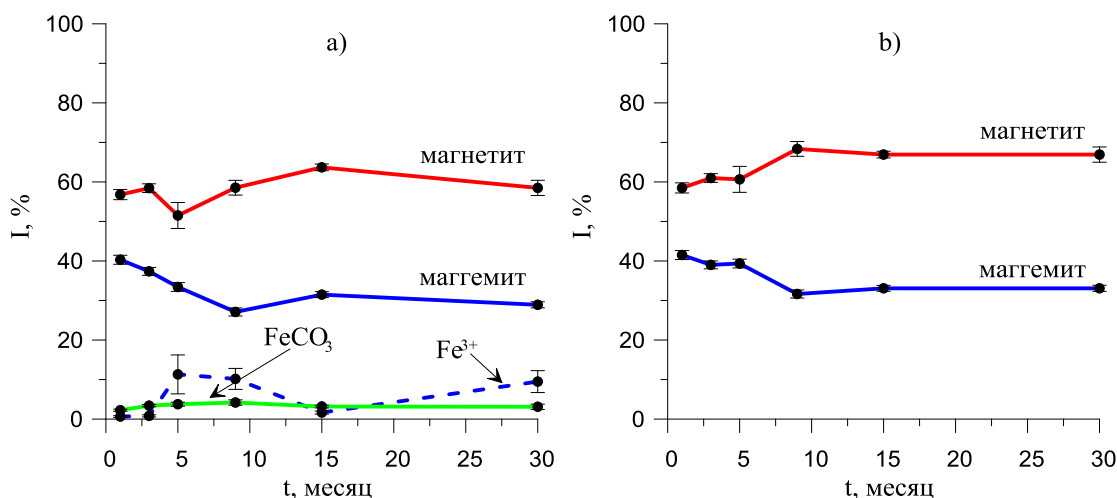


Рис. 12. Зависимость относительного содержания различных фаз в образцах, полученных в результате роста бактерии *G. ferrihydriticus*, от времени культивации (а), а также относительного содержания магнетита и маггемита в магнитоупорядоченной фазе от времени культивации (б)

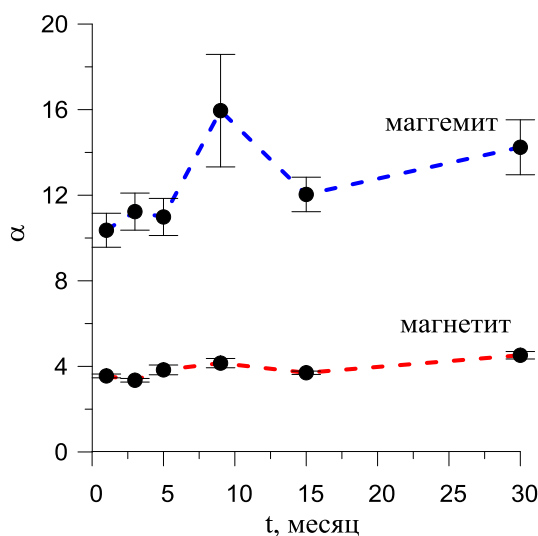


Рис. 13. Зависимость параметра α парциальных спектров, соответствующих атомам железа в структурах магнетита и маггемита, образованных в процессе роста бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus*, от времени культивации

3.1.4. Исследование влияния площади поверхности, доступной для бактериального восстановления синтезированного ферригидрита, на процесс железоредукции бактерией *Geocalibacter ferrihydriticus*

Ранее в работе [36] были обнаружены области нестабильного фазообразования при росте бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus*. Наличие этих областей связывалось с чувствительностью процесса железоредукции к флуктуациям числа клеток этой бактерии при определённых концентрациях СФ и хинона. В связи с этим, возникла необходимость экспериментальной проверки этого утверждения. Предполагая, что основное взаимодействие бактерии с гидроксидом железа происходит на поверхности этого минерала, появилась идея проверить опытным путем влияние площади поверхности, доступной для бактериального восстановления СФ, на процесс железоредукции. Мы предполагали, что при увеличении площади этой поверхности возрастает объем гидроксида железа, доступного для восстановления. Следовательно, при больших площадях поверхности должно наблюдаться формирование магнитоупорядоченной фазы, а при малых – формирование более раскристаллизованной фазы – сидерита.

В процессе роста бактерии *G. ferrihydriticus* при концентрации СФ $n_{\text{Fe(III)}} = 90 \text{ мМ}$ были получены образцы для различных площадей поверхности СФ, доступной для бактериального восстановления. Площади поверхностей были равны, соответственно, $12,5 \text{ см}^2$, $19,5 \text{ см}^2$, 25 см^2 , 50 см^2 .

Методами мёссбауэровской спектроскопии были получены спектры ядер ^{57}Fe в твердой фазе, образующейся в процессе железоредукции бактерии *G. Ferrihydriticus*, для различных макроповерхностей СФ, доступных для бактериального восстановления, при комнатной температуре и температуре $T = 80 \text{ К}$ (рис.14). Как видно, мёссбауэровские спектры являются спектрами релаксационного типа. Обработка спектров проводилась путем одновременной модельной расшифровки квадрупольного дублета и восстановления распределения сверхтонкого магнитного поля в области расположения ядра в рамках модели многоуровневой суперпарамагнитной релаксации [37].

Анализ мёссбауэровских спектров всех образцов показал, что сверхтонкие параметры парциальных спектров и их относительные интенсивности близки. Таким образом, спектры всех образцов практически идентичны. Это позволяет утверждать, что для исследуемой концентрации СФ в диапазоне изученных площадей поверхности не обнаружено никаких существенных изменений в мёссбауэровских спектрах образцов.

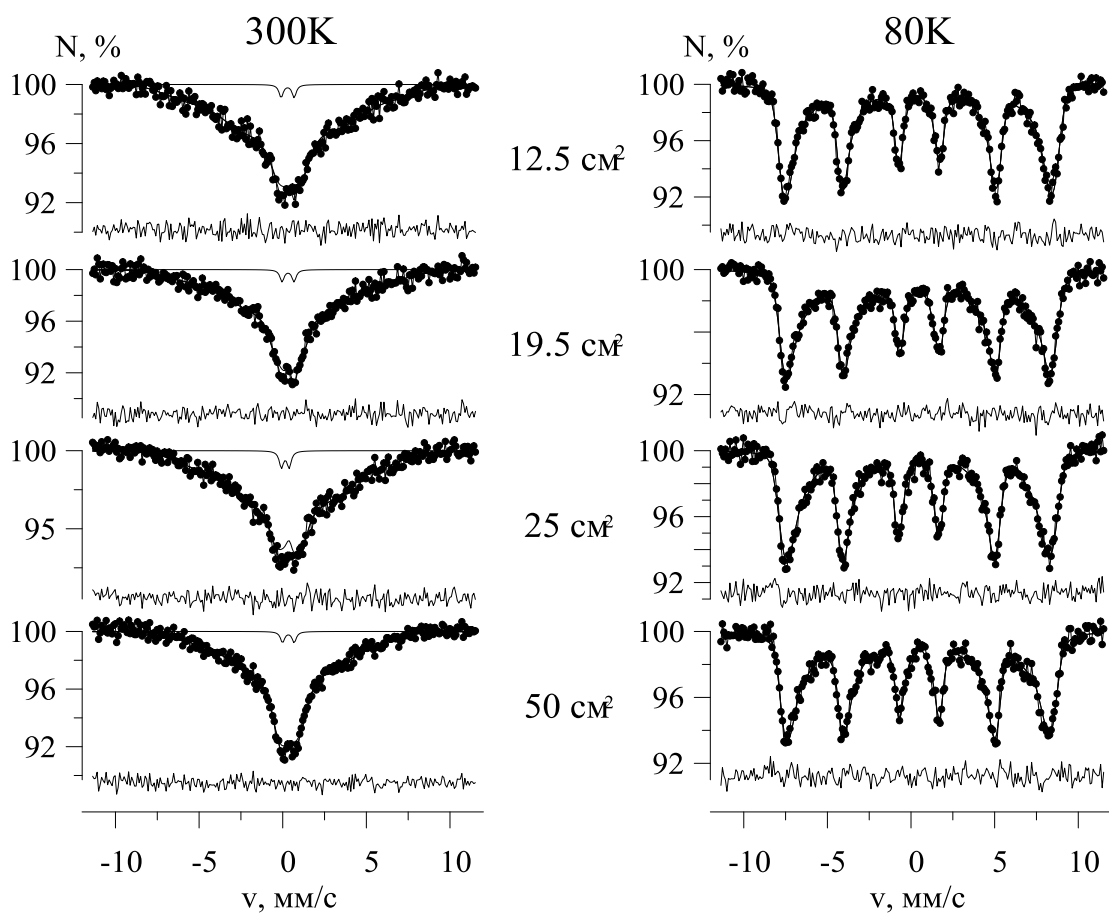


Рис. 14. Мёссбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в твердой фазе, образующейся в процессе железоредукции бактерией *Geocalibacter ferrihydriticus*, измеренные при комнатной температуре и температуре $T = 80\text{ K}$ для различных площадей поверхности СФ, доступных для бактериального восстановления

3.2. Магнитные исследования

Магнитные измерения были проведены для образцов № 1 (первый день роста) и № 9 (десятый день роста) бактерии *Thermincola Ferriacetica* (штамм Z-0001). На рис. 15 и 16 представлены зависимости намагниченности от температуры, измеренные в режимах ZFC и FC, для образцов № 1 и № 9, соответственно. Образец № 1 снимался во внешнем магнитном поле 5 кЭ, а образец № 9 – во внешнем магнитном поле 10 кЭ. Образцы охлаждались до температуры 80 К и нагревались до температуры 300 К.

Небольшая разница между FC и ZFC кривыми объясняется температурным гистерезисом. Кривые для обоих образцов могут быть описаны законом Кюри-Вейса выше и ниже температуры Кюри. Магнитные измерения образцов не показывают суперпарамагнитного поведения. В соответствии с мёсбауэровскими исследованиями относительное количество суперпарамагнитных частиц магнитоупорядоченной фазы в образце № 1 составляет около 1%. Кроме того, температура блокировки ниже (< 80 К) диапазона температур, в котором произведены магнитные измерения. Для образца № 9, для которого исходный ферригидрит практически преобразовался в магнитоупорядоченную фазу, намагниченность насыщения существенно больше, чем для образца № 1, и частицы магнитоупорядоченной фазы крупнее.

На рис. 17 и рис. 18 представлены петли гистерезиса, которые последовательно измерялись при температурах 80 К и 300 К для образцов № 1 и № 9. Проведенные измерения показали, что для образца № 1 значения коэрцитивных сил при температурах 80 К и 300 К в режиме FC равны 33 Э и 5 Э, соответственно. Для образца № 9 значения коэрцитивной силы составили 90 Э и 25 Э при температурах 80 К и 300 К, соответственно. Измерения показали, что значения намагниченности насыщения существенно выше для образца № 9, для которого исходный ферригидрит практически преобразовался в магнитоупорядоченную фазу.

Проведенные магнитные исследования позволяют сделать вывод о том, что магнитоупорядоченные частицы в образце № 9, образующиеся в результате бактериального синтеза, достаточно крупные, и поэтому не демонстрируют суперпарамагнитное поведение. Однако, поскольку с понижением температуры происходит возрастание коэрцитивной силы, можно утверждать, что небольшое количество мелких частиц присутствует в образце.

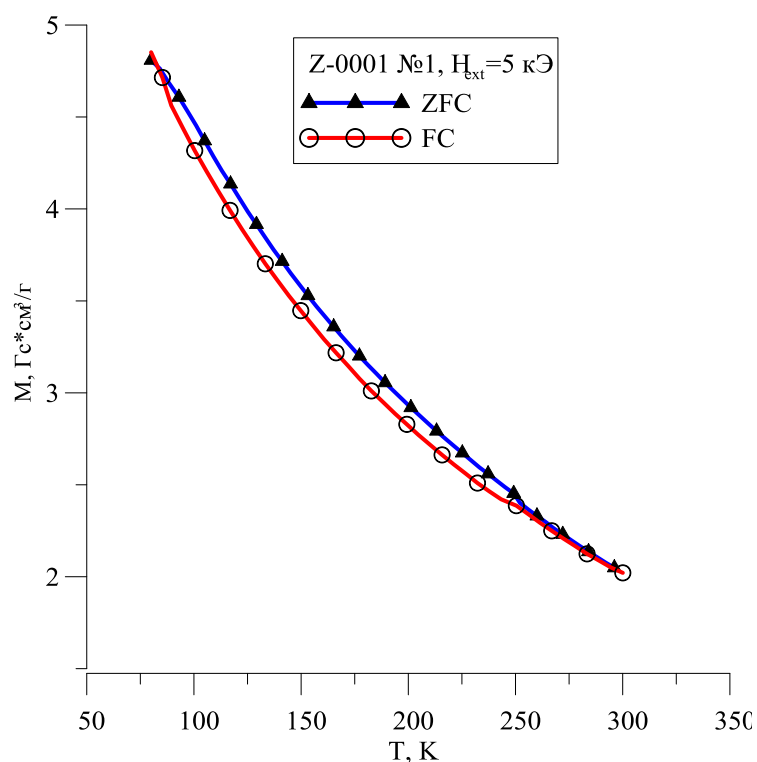


Рис. 15. Температурный ход намагниченности в режиме ZFC и FC, измеренный при нагреве-охлаждении (80-300-80К) образца №1, синтезированного бактерией *Thermincola ferriacetica*, во внешнем магнитном поле 5 кЭ

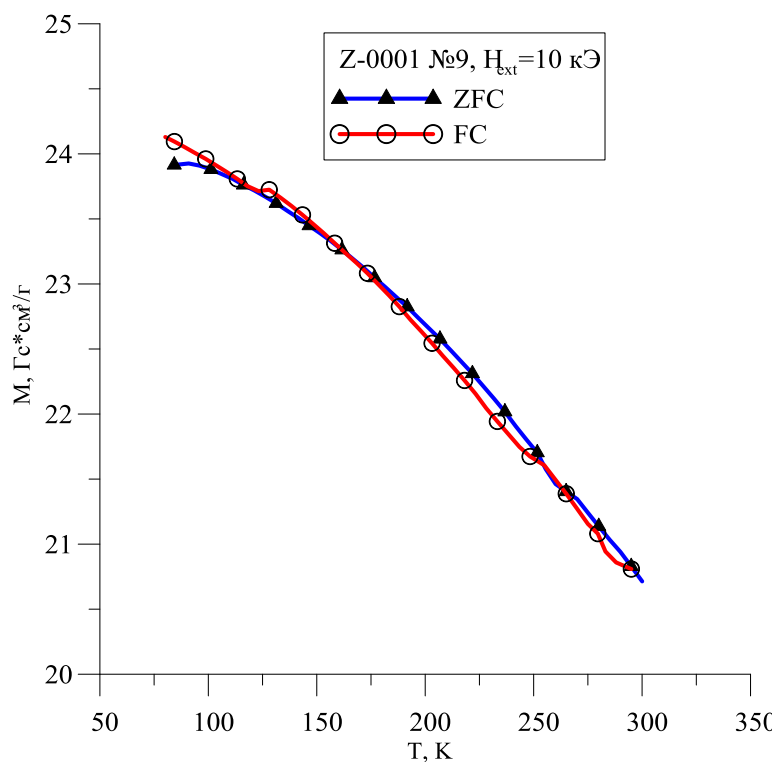


Рис. 16. Температурный ход намагниченности в режиме ZFC и FC, измеренный при нагреве-охлаждении (80-300-80К) образца №9, синтезированного бактерией *Thermincola ferriacetica*, во внешнем магнитном поле 10 кЭ

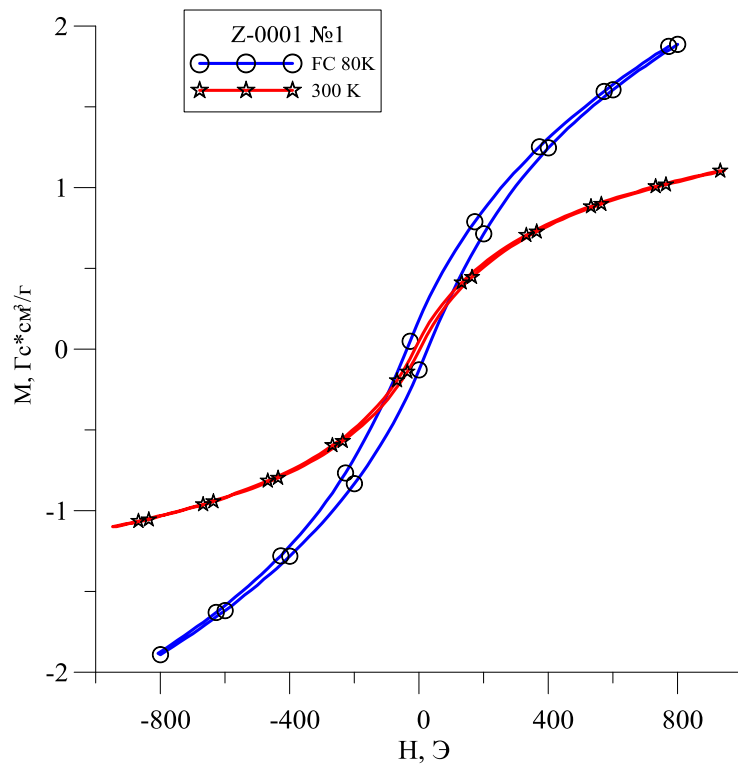


Рис. 17. Петли гистерезиса, измеренные при температуре 80К и 300К, для образца № 1

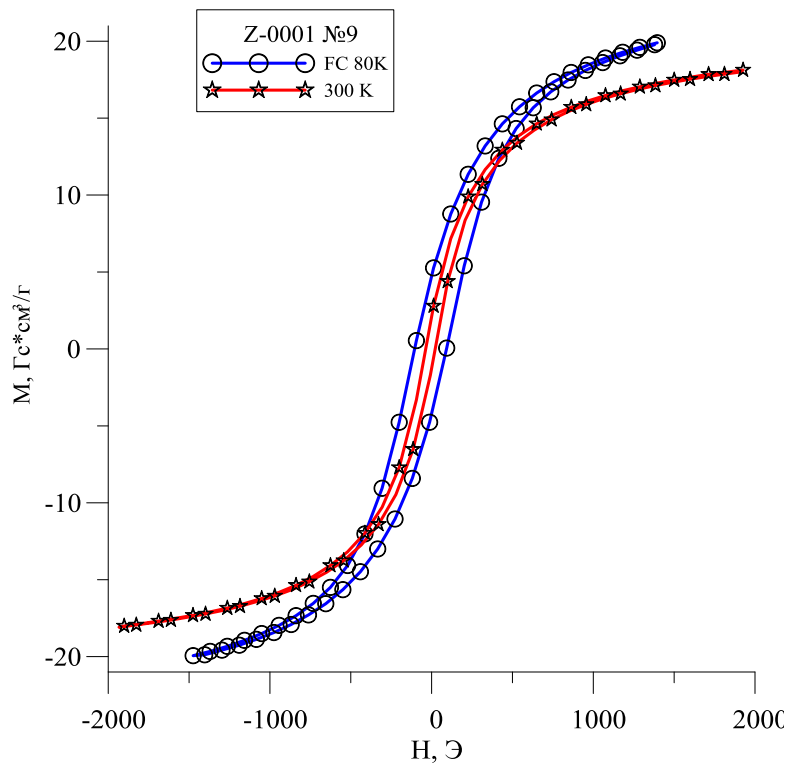


Рис. 18. Петли гистерезиса, измеренные при температуре 80К и 300К, для образца № 9

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

Проведены мёссбауэровские исследования синтезированного ферригидрита (СФ), добавленного в среды культивации бактерий *Thermincola ferriacetica* (штамм Z-0001) и *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531). В результате проведенных исследований установлено следующее.

- 1) Мёссбауэровские спектры образцов, полученных в результате взаимодействия СФ с минеральными средами культивации обеих бактерий, практически не отличаются.
- 2) Наиболее вероятной магнитной структурой СФ после его взаимодействия с минеральными средами является случайное распределение по направлению магнитных моментов ферримагнитных кластеров, в которых атомы железа находятся в тетраэдрических и октаэдрических позициях. Во внешнем магнитном поле 6 Тл магнитные моменты атомов железа ориентируются как по направлению поля, так и против него в пределах пространственного конуса с углом при вершине $\sim 52^\circ$.

Проведены мёссбауэровские и магнитные исследования образцов, полученных в результате роста бактерии *Thermincola ferriacetica* (штамм Z-0001) и бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) в процессе восстановления синтезированного ферригидрита (СФ). В результате проведенных исследований установлено следующее.

- 1) Магнитоупорядоченная фаза, которая образуется в процессе восстановления СФ обеими диссимиляторными бактериями представляет собой смесь нестехиометричного магнетита (Fe_3O_4) и маггемита ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$).
- 2) При восстановлении СФ бактериальной культурой *T. ferriacetica* формируются мелкие частицы магнитоупорядоченной фазы, которые проявляют суперпарамагнитные свойства.
- 3) Для образцов, синтезированных бактерией *T. ferriacetica*, наблюдается увеличение коэрцитивной силы и намагниченности насыщения с увеличением времени культивации.
- 4) На интервале времени культивации алкалофильной бактерии *G. ferrihydriticus* до 9 месяцев наблюдается небольшой рост относительного содержания магнетита в магнитоупорядоченной фазе, которое в дальнейшем практически не меняется.
- 5) Размеры частиц магнитоупорядоченной фазы также практически не меняются с ростом времени культивации бактерии *G. ferrihydriticus*.

- б) Для концентрации СФ $n_{\text{Fe(III)}} = 90$ мМ не наблюдается влияние площади поверхности синтезированного ферригидрита, доступной для его восстановления бактерией *G. ferrihydriticus*, на процесс железоредукции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. D.R. Lovley, S.J. Giovannoni, D.C. White, J.E. Champine, E.J. Phillips, Y.A. Gorby, S. Goodwin – *Geobacter metallireducens* gen. nov. sp. nov., a microorganism capable of coupling the complete oxidation of organic compounds to the reduction of iron and other metals // *Archives of Microbiology* 159 (1993), pp. 336-344.
2. A. Kappler, K.L. Straub – Geomicrobiological Cycling of Iron // *Reviews in Mineralogy & Geochemistry* V.59 (2005) pp. 85 – 108
3. В.В. Балашов, Г.А. Заварзин – Анаэробное восстановление окисного железа водородной бактерией // *Микробиология* Т.48 (1980) с. 635-639
4. D.R. Lovley, J.F. Stolz, L.N. Gordon Jr., E.J.P. Phillips – Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism // *Nature* V.330 (1987) pp.396-402
5. А.И. Слободкин, В.А. Ерощев-Шак, Н.А. Кострикина, В.Ю. Лаврушин, Л.Г. Дайняк – Образование магнетита анаэробными микроорганизмами // *Доклады РАН*, том 345, №5 (1995) с. 694-697
6. Q. Ye, Y. Roh, S.L. Carrol, B. Blair, J. Zhou, C.L. Zhang, M.W. Fields – Alkaline anaerobic respiration: isolation and characterization of a novel alkaliphilic and metal-reducing bacterium // *Applied and environmental microbiology* V. 70 (2004) pp. 595-602
7. N.I. Chistyakova, V.S. Rusakov, D.G. Zavarzina, S.V. Kozerenko – Formation of the magneto-ordering phase by thermophilic Fe(III)-reducing bacteria: Mössbauer study // *The Physics of Metals and Metallography, Suppl. 1, 92* (2001) pp. 138-142
8. Н.И. Чистякова, Д.Г. Заварзина, В.С. Русаков – Мессбауэровские исследования процессов образования минералов термофильными железоредуцирующими бактериями // *Известия РАН. Серия физическая*, т.67 №9 (2003) с.1354-1358
9. N.I Chistyakova, V.S. Rusakov, D.G. Zavarzina – Mössbauer investigation of biologically-induced mineralization processes. // *Нур. Int. (C)*, v.5 (2002) p.397-400
10. N.I Chistyakova, V.S. Rusakov, D.G. Zavarzina, A.I. Slobodkin, T.V. Gorohova – Mossbauer study of magnetite formation by iron- and sulfate-reducing bacteria // *Нур. Int.* 156-157(1-4) (2004) pp. 411-415
11. N.I. Chistyakova, V.S. Rusakov, D.G. Zavarzina, A.I. Slobodkin, T.V. Gorohova – Mossbauer spectroscopy in studying magnetite formed by iron- and sulfite-reducing bacteria // *Czechoslovak J. of Physics. Papers of the International Colloquium. "Mossbauer Spectroscopy in Materials Science"*, MSMS'4 V.50 (2005) p. 781
12. Z. Gibbs-Eggar, B. Jude, J. Dominik, J.-L. Loizeau, F. Oldfield – Possible evidence for

- dissimilatory bacterial magnetite dominating the magnetic properties of recent lake sediments // *Earth and Planetary Science Letters* 168 (1999) pp. 1-6
13. D.R. Lovley, R.T. Anderson – Influence of dissimilatory metal reduction on fate of organic and metal contaminants in the subsurface // *Hydrogeology Journal* 8 (2000) pp. 77-88
 14. Г.А. Заварзин, Н.Н. Колотилова – Введение в природоведческую микробиологию: Учебное пособие — М.: Книжный дом «Университет», 2001 — 256 с.
 15. D.G. Zavarzina, T.G. Sokolova, T.P. Tourova, N.A. Chernyh, N.A. Kostrikhina, E.A. Bonch-Osmolovskaya – *Thermincola ferriacetica* sp. nov., a new anaerobic, thermophilic, facultatively chemolithoautotrophic bacterium capable of dissimilatory Fe(III) reduction // *Extremophiles* (2006)
 16. D. G. Zavarzina, T. V. Kolganova, E. S. Boulygina, N. A. Kostrikina, T. P. Tourova, and G. A. Zavarzin – *Geoalkalibacter ferrihydriticus* gen. nov. sp. nov., the First Alkaliphilic Representative of the Family Geobacteraceae, Isolated from a Soda Lake // *Microbiology*, Vol. 75, No. 6 (2006), pp. 673-682
 17. D.R. Lovley, E.J.P. Phillips – Availability of ferric iron for microbial reduction in bottom sediments of the freshwater tidal Potomac river // *Applied and environmental microbiology* (1986) pp.751-757
 18. J.L. Jambor, J.E. Dutrizac – Occurrence and Constitution of Natural and Synthetic Ferrihydrite, a Widespread Iron Oxyhydroxide // *Chem. Rev.* 98 (1998) pp. 2549-2585
 19. Q. A. Pankhurst and R. J. Pollard – Structural and Magnetic Properties of Ferrihydrite // *Clays and Clay Minerals* V.40 (1992) pp. 268-272.
 20. J. Zhao, F. E. Huggins, Z. Feng, G. P. Huffman – Ferrihydrite: surface structure and its effects on phase transformation // *Clays and Clay Minerals*, Vol. 42, No. 6 (1994), pp. 737-746
 21. F.M. Michel, L. Ehm, S.M. Antao, P. L. Lee, P.J. Chupas, G. Liu, D.R. Strongin, M.A.A. Schoonen, B.L. Phillips, J.B. Parise – The Structure of Ferrihydrite, a Nanocrystalline Material // *Science* 316 (2007), 1726
 22. A. Manceau – Evaluation of the structural model for ferrihydrite derived from real-space modelling of high-energy X-ray diffraction data // *Clay Minerals* v. 44 (2009), pp. 19-34
 23. J.M. Zachara, R.K.Kukkadapu, J.K. Fredrickson, Y. Gorby, S.C. Smith – Biomineralization of poorly crystalline Fe(III) oxides by dissimilatory metal reducing bacteria // *Geomicrobiology Journal* 19 (2002), pp. 179-207
 24. С. Крупи́чка – Физика ферритов и родственных им магнитных окислов // Т. 1, «Мир» (1976)
 25. I. Dézsi, Cs. Fetzter, Á. Gombkötő, I. Szűcs, J. Gubicza, and T. Ungár – Phase transition in

- nanomagnetite // Journal of applied Physics 103, 104312 (2008)
26. J. Mazo-Zuluaga, J. Restrepo, J. Mejía-López – Magnetic Behavior and Stoichiometry on Magnetite Nanoparticles // Revista Colombiana de Física, vol. 41, No. 2 (2009), pp.301-303
 27. Ö. Özdemir – Coercive force of single crystals of magnetite at low temperatures // Geophys. J. Int. 141 (2000), pp. 351–356
 28. G.M. da Costa, E. De Graveb, R.E. – Vandenberghe Mössbauer studies of magnetite and Al-substituted maghemites // Hyperfine Interactions 117 (1998), pp. 207–243
 29. W. Kim, C.-Y. Suh, S.-W. Cho, K.-M. Roh, H. Kwon, K. Song, I.-J. Shon – A new method for the identification and quantification of magnetite-maghemite mixture using conventional X-ray diffraction technique // Talanta 94 (2012) pp. 348– 352
 30. E. Tronc, A. Ezzir, R. Cherkaoui, C. Chane-Nac, M. Nogues, H. Kachkachi, D. Fiorani, A.M. Testa, J.M. Greneche, J.P. Jolivet – Surface-related properties of γ -Fe₂O₃ nanoparticles // Journal of Magnetism and Magnetic Materials 221 (2000) pp. 63-79
 31. В.С. Русаков – Физические основы мёссбауэровской спектроскопии // Институт ядерной физики республики Казахстан (2001)
 32. В.И. Николаев, В.С. Русаков – Мёссбауэровские исследования ферритов // Московский университет (1985)
 33. В.С. Русаков – Основы мёссбауэровской спектроскопии. Учебное пособие // М.:Физический факультет МГУ (2011) с. 292
 34. V.S. Rusakov, N.I. Chistyakova – Mossbauer Program Complex MSTools - LAKAME'92, Buenos Aires, Argentina, № 7-3 (1992)
 35. М.Е. Мацнев, В.С. Русаков – Программа модельной расшифровки мёссбауэровских спектров – SpectrRelax // Mössbauer spectroscopy and its applications. Тезисы докладов с. 181 (2009)
 36. N.I. Chistyakova, V.S. Rusakov, K.A. Nazarova, A.A. Shapkin, T.N. Zhilina and D.G. Zavarzina – Mössbauer study of formation of iron oxides and carbonate by dissimilatory alkaliphilic bacterium // Journal of Physics: Conference Series 217 (2010) 012055
 37. D.H. Jones, K.K.P. Srivastava – Many-state relaxation model for the Mossbauer spectra of superparamagnets, Physical Review B, V. 34, N. 11 (1986)

В заключение я хотел бы выразить глубочайшую благодарность и признательность моему научному руководителю, кандидату физико-математических наук доценту Наталии Игоревне Чистяковой за поддержку, понимание, теплое отношение и безграничное терпение в течение всего периода моего обучения, а также за предложенную интересную тему исследований и помощь на всех этапах работы над курсовыми работами и дипломом.

Хочу выразить глубокую благодарность доктору физико-математических наук профессору Вячеславу Серафимовичу Русакову за поддержку и помощь в течение всего периода моего обучения в лаборатории.

Хочу поблагодарить научных сотрудников института микробиологии РАН доктора биологических наук Жилину Татьяну Николаевну и кандидата геолого-минералогических наук Дарью Георгиевну Заварзину за предоставление экспериментального материала.

А также хотел бы отдельно поблагодарить Шапкина Алексея Андреевича за помощь и отзывчивость во время всей моей работы над дипломом.

Благодарю за теплый приём и дружелюбную атмосферу всех сотрудников научной группы «Мёссбауэровская спектроскопия локально неоднородных систем» кафедры общей физики физического факультета МГУ.