

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

ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ ФИЗИКИ

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

**«МЕССБАУЭРОВСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ БАКТЕРИАЛЬНОГО  
ВОССТАНОВЛЕНИЯ АТОМОВ ЖЕЛЕЗА В СТРУКТУРЕ МАГНЕТИТА»**

Выполнила студентка

405 группы:

Антонова Ангелина Владимировна

\_\_\_\_\_

подпись студента

Научный руководитель:

кандидат физико-математических наук, доцент

Чистякова Наталия Игоревна

\_\_\_\_\_

подпись научного руководителя

Допущена к защите

Зав. кафедрой \_\_\_\_\_

подпись зав. кафедрой

Москва

2015

## Оглавление

Введение .....	3
Глава 1. Различные способы биоминерализации магнетита и свойства полученных минералов (по данным литературы) .....	5
1.1. Биоминерализация магнетита.....	5
1.2. Свойства минералов магнетита полученных в результате биоминерализации .....	8
Глава 2. Параметры мессбауэровского спектра и его обработка .....	11
2.1. Параметры мессбауэровского спектра.....	11
2.2. Обработка спектров .....	12
2.3. Релаксационные процессы.....	12
Глава 3. Изучение процессов бактериального восстановления магнетита в щелочных условиях.....	15
3.1 Исследование процессов восстановления синтетического магнетита. ..	15
3.1.1 Исследование фазового состава контрольных образцов синтетического магнетита .....	16
3.1.2 Изучение формирующихся фаз в результате роста бактерии в среде в присутствии синтетического магнетита и ацетата .....	17
3.1.3 Изучение формирующихся фаз в результате роста бактерии в среде в присутствии синтетического магнетита и ацетата с добавлением атомарной серы .....	20
3.1.4 Изучения образцов, полученных в результате роста бактерии в среде в присутствии синтетического магнетита и в отсутствие ацетата .....	21
3.1.5 Исследования совместного роста <i>Geoalkalibacter ferrihydriticus</i> (штамм Z-0531) и <i>Contubernalis alkalaceticum</i> на синтетическом магнетите .....	24
3.2 Изучение процессов бактериального восстановления природного магнетита .....	28
Основные результаты и выводы.....	32
Литература.....	33

## Введение

В последнее время появляется все больше данных об активном участии микроорганизмов в формировании осадочных формаций железистых кварцитов, состоящих преимущественно из слоев кварца, гематита и магнетита. Речь идет о группе диссимиляторных железоредуцирующих бактерий, открытой 30 лет назад и с тех пор активно изучаемой. Эти микроорганизмы способны получать энергию, восстанавливая различные соединения трехвалентного железа (в частности нерастворимые минералы), используя и органические, и неорганические субстраты роста. Особый интерес к этой группе вызван тем, что в лабораторных условиях при восстановлении железоредукторами атомов железа в структуре ферригидрита (рентгеноаморфной гидроокиси железа) образуется наноразмерный магнетит – типоморфный минерал железистых кварцитов [1].

Большой интерес вызывают магнитные свойства магнетита. В настоящее время магнитные наноматериалы тщательно изучаются для возможного применения в лечении гипертермии, целевой доставке лекарств, и как контрастное вещество для магнито-резонансной томографии. Использование таких частиц для направленной доставки лекарств обеспечивает транспортировку точного количества препарата до конкретной пораженной ткани, не затрагивая здоровые ткани. Таким образом, уменьшая возможность побочных эффектов и передозировок. Магнитные наноматериалы, полученные в результате микробиологического синтеза обладают такими свойствами, как биосовместимость, низкая токсичность, химическая стабильность. Это обеспечивает расширение их области применения от биомедицины до магнито-электроники [2].

Настоящая работа посвящена обнаружению и идентификации формирующихся железосодержащих фаз в процессе роста бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) в присутствии синтетического или природного магнетита при различных условиях: без добавления в среду роста бактерии ацетата, с добавлением ацетата, с добавлением ацетата и

атомарной серы, в том числе в присутствии другой бактерии *Contubernalis alkalaceticum*.

## Глава 1. Различные способы биоминерализации магнетита и свойства полученных минералов (по данным литературы)

### 1.1. Биоминерализация магнетита

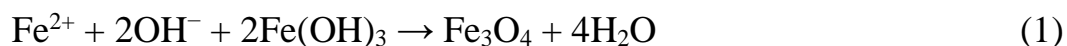
Биоминерализация – образование биоконпонентов микроорганизмами. Существуют различные механизмы данного процесса. Традиционно их разделяют на две группы: а) биологически индуцированная минерализация (БИМ) и б) биологически контролируемая минерализация (БКМ) [3].

Биологически индуцированная минерализация распространена среди диссимиляторных железоредуцирующих бактерий, относящихся к мезофильным, алкалофильным и термофильным микроорганизмам. Чаще всего процесс индуцированной биоминерализации протекает в анаэробных средах или на кислородно-бескислородных границах. В процессе БИМ магнетит образуется как побочный продукт внеклеточно, вследствие изменения физико-химических свойств, вызванных метаболической активностью бактерий. Структура и свойства минералов, образованных в результате БИМ сильно зависят от условий окружающей среды.

Главным отличием БКМ от БИМ, является то, что минералы формируются внутриклеточно, и бактерия оказывает полный контроль над всеми этапами зарождения и роста минерала. Поэтому, полученные таким образом минералы характеризуются упорядоченной структурой, все частицы чаще всего одного размера и со стойкой морфологией.

Магнетотактические бактерии – большая группа бактерий, преимущественно проживающих на дне водоемов [4]. Такие бактерии ориентируются в соответствии с магнитным полем Земли. В их клетках найдены непрозрачные частицы – магнетосомы, заполненные железом в форме кристаллов магнетита и/или сульфида железа. У магнетотактических бактерий отдельные кристаллы соединены в одну или несколько цепочек. За счет однодоменной структуры, магнитные моменты каждой частицы цепи выстраиваются параллельно друг другу вдоль цепи, таким образом цепь

имеет очень устойчивый постоянный магнитный дипольный момент. Этот механизм подобен магнитной стрелке, благодаря этому бактерии способны плавать вдоль магнитных силовых линий. Минералы, «выращенные» магнетотактическими бактериями, не имеют примесей. Они могут быть разного размера в зависимости от условий, но при этом всегда обладают гранецентрированной кубической структурой. Кристаллизация магнетита в магнетотактических бактериях происходит по реакции:



Формирование магнетита является выгодным для магнетотактических бактерий. Скорее всего, главным преимуществом является то, что бактерия способна перемещаться, сохраняя свое направление, невзирая на броуновское движение.

Диссимиляторные железоредукторы, такие как *Geobacter metallireducens* и *Shewanella putrefaciens*, наиболее изученные виды бактерий. Они формируют магнетит как побочный продукт их метаболизма (реализуется процесс БИМ). Магнетит, образованный этими бактериями, характеризуется слабой степенью кристаллизации, неоднородными формами, и размеры его частиц варьируются в диапазоне от 10-50 нм. Частицы с размерами в начале этого диапазона проявляют свойства суперпарамагнитных частиц, а частицы с диаметром  $> 30$  нм – обладают однодоменной структурой. Количество образованного магнетита при помощи железоредукторов, зависит от количества, присутствующего ферригидрита и значений pH [4].

*Shewanella oneidensis* – грамотрицательная  $\gamma$ -протеобактерия, впервые обнаруженная в озере Онейд в штате Нью Йорк (США). Дыхание данной бактерии происходит совместно с процессом восстановления нитратов ( $\text{NO}_3^-$ ), нитритов ( $\text{NO}_2^-$ ), сульфитов ( $\text{SO}_3^{2-}$ ), трисульфатов ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ). Когда в качестве электронного акцептора используется  $\text{Fe}^{3+}$ , тогда способен образовываться внеклеточный магнетит. Сформированный таким способом магнетит, идентичен магнетиту полученному неорганическим путем.

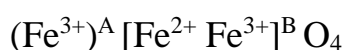
Процесс БИМ идет в две стадии опосредованного и непосредственного контакта с данной бактерией. Первый механизм заключается в изменении физико-химических условий, в результате метаболической активности бактерий; второй – в образовании минерала на стенках или мембранах бактерии, которые в свою очередь являются центрами кристаллизации. Клеточные остатки, продукты жизнедеятельности клетки также могут служить центрами кристаллизации, кроме того, обладают способностью встраиваться в саму структуру кристалла. Эти включения очень устойчивы к суровым окружающим условиям и могут оставаться в кристалле в течении очень длительного промежутка времени. Такие структурные изменения свидетельствуют в пользу биогенного происхождения природного магнетита [5].

Добавление синтетических переносчиков электронов (9,10 антрахинон- 2,6 дисульфонат (AQDS)) в бескислородную суспензию (железоредуктор – минерал Fe(III)) с подходящим донором электронов значительно повышает скорость и степень восстановления Fe(III). Процесс окисления AH<sub>2</sub>DS до AQDS заключается в переносе двух электронов и протекает совместно с гетерогенным восстановлением Fe<sup>3+</sup> до Fe<sup>2+</sup>. Предварительная обработка двулинейчатого ферригидрита фосфатом или бикарбонатом влияет на степень, скорость восстановления Fe(III).

Если в реакциях присутствуют железоредукторы, то наличие AQDS повышает скорость образования магнетита из ферригидрита или лепидокрокита. Результаты исследований показали, что высокой концентрации Fe<sup>2+</sup> и благоприятного pH не достаточно для образования магнетита. Необходима непосредственная роль железоредукторов для превращения лепидокрокита в магнетит [6].

## 1.2. Свойства минералов магнетита полученных в результате биоминерализации

Магнетит – часто встречающийся оксид железа, обнаруженный в магматических, метаморфических и осадочных горных породах. Магнетит может быть получен как в результате БИМ, так и БКМ. Выше температуры Вервея  $T_v \sim 120$  К магнетит имеет кубическую структуру и характерный параметр решетки  $a \sim 8,397$  Å. Кубическая кристаллическая решетка шпинели, формируется большими по размерам анионами кислорода  $O^{2-}$ , в междоузлиях (позициях) последних размещаются меньшие по размерам катионы  $Fe^{3+}$  и  $Fe^{2+}$ . При этом они могут быть окружены четырьмя анионами  $O^{2-}$  (тетраэдрические или А-позиции) и шестью анионами  $O^{2-}$  (октаэдрические или В-позиции) рис. (1). Установлено, что магнетит обладает кристаллической структурой так называемой обращенной шпинели:



Согласно этой структуре, в В-позициях размещается в два раза больше катионов железа, чем в А-позициях, при этом, в В-позициях половина катионов железа имеют степень окисления 2+ [ $Fe^{2+}$ ], а другая половина, – 3+ [ $Fe^{3+}$ ]. В А-позициях размещаются только катионы ( $Fe^{3+}$ ) [7]. Магнетит обладает кубической анизотропией с [1, 1, 1] и [1, 0, 0] направлениями осей легчайшего и трудного намагничивания соответственно [8]. При комнатной температуре константа магнитокристаллической анизотропии в первом порядке отрицательна  $K_1 = 1.35 \cdot 10^5$  эрг/см<sup>3</sup> и меняет знак при температуре на несколько градусов выше температуры Вервея. При охлаждении ниже  $T_v$ , переход от кубической до триклинной структуры дает изменения в одноосной анизотропии с [0, 0, 1] вдоль оси легчайшего намагничивания.



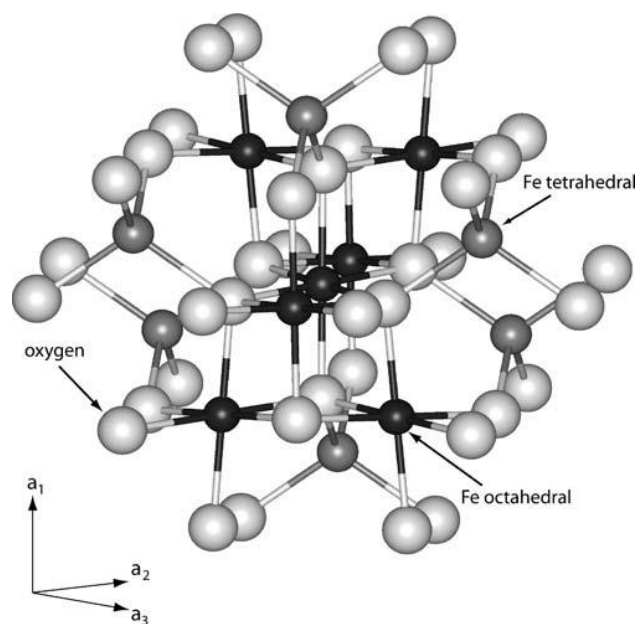


Рисунок 1 Визуализация атомов Fe в октаэдрических позициях (черные) и тетраэдрических (темно-серые), атомов O (светло-серые) в структуре магнетита [9].

Исследования мессбауэровских спектров магнетита показали, что характерной особенностью магнетита при комнатной температуре является постепенный переход от многодоменной структуры к суперпарамагнитному состоянию при уменьшении размеров частиц. При температуре 78 К у магнетита наблюдается изменение кристаллической симметрии решетки, а для образцов с диаметром от 10 до 50 нм перестают наблюдаться эффекты тепловых флуктуаций. Данная температура является температурой блокировки для частиц магнетита. Частицы с меньшим размером обладают температурой блокировки  $\sim 45$  К. Температуры Вервея и блокировки, а также коэрцитивная сила уменьшаются с уменьшением размеров частиц. Для магнетита наблюдается уменьшение намагниченности с ростом температуры, и для полученных результатов эта зависимость описывается законом Блоха, т.е.  $M_s \sim T^{3/2}$  [10]. Следует отметить, что намагниченность насыщения уменьшается и при уменьшении размера частиц. Это является следствием спиновых эффектов на поверхности частиц, что приводит к уменьшению значения суммарного магнитного момента [11].

Особый интерес вызывают магнитные наночастицы, имеющие форму полых сфер, так как они обладают низкой плотностью из-за внутренней

полости и большой эффективной площадью поверхности. Это важно при использовании описанных частиц в приборах для выявления рака на ранней стадии [2].

Для расшифровки мессбауэровских спектров малых частиц магнетита предлагаются различные модели обработки, обусловленные разными размерами частиц и степенью кристаллизации. Для спектров магнетита, измеренных при  $T = 4.2$  К, со средним размером частиц  $\langle d \rangle = 9$  нм авторами предложена модель, представляющая собой суперпозицию шести парциальных спектров. Один из парциальных спектров соответствует атомам железа в А-подрешетке и пять – атомам железа в В-подрешетке, причем три из них соответствуют атомам  $\text{Fe}^{2+}$  [12]. Для спектров магнетита ( $\langle d \rangle < 5$  нм), измеренных при комнатной температуре, предлагается модель состоящая из суперпозиции двух парциальных спектров, которые соответствуют атомам железа в А- и В-подрешетках [13,14].

## Глава 2. Параметры мессбауэровского спектра и его обработка

### 2.1. Параметры мессбауэровского спектра

Важнейшими типами взаимодействий атомного ядра с внеядерными полями является электрическое монопольное, электрическое квадрупольное и магнитное дипольное взаимодействия [15].

Электростатическое взаимодействие ядра конечных размеров с его окружением вызывает сдвиг ядерных энергетических уровней, если существует плотность электронов  $|\psi(0)|^2$  в области расположения ядра, на величину:

$$\Delta E = \frac{2}{3} \pi Z e^2 \langle r^2 \rangle |\Psi(0)|^2 \quad (2)$$

Так как в основном и в возбужденном состояниях размеры ядра значительно отличаются, а при переходе от источника к поглотителю в общем случае меняется электронная плотность в области расположения ядра, то будет наблюдаться так называемый изомерный (или химический) сдвиг мессбауэровской линии, который равен:

$$\delta = \frac{c}{E_0} \cdot \frac{2}{5} \pi Z e^2 \left( R_{\text{ex}}^2 - R_{\text{gr}}^2 \right) \left( |\Psi_a(0)|^2 - |\Psi_s(0)|^2 \right) \quad (3)$$

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. Этот параметр чувствителен к топологическим и композиционным неоднородностям.

Квадрупольное смещение  $\varepsilon$  компонент мессбауэровской линии определяется электрическим квадрупольным взаимодействием. Квадрупольное смещение возникает при нахождении ядра в неоднородном электрическом поле.

$$\varepsilon = \frac{e^2 q Q}{4} \left( 1 + \frac{\eta^2}{3} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (4)$$

Квадрупольное смещение  $\varepsilon$  компонент сверхтонкой структуры дает информацию о симметрии ближайшего окружения мессбауэровских ядер, об электронной конфигурации и валентности атомов. Параметр  $\varepsilon$  также чувствителен к топологической и композиционной локальным неоднородностям.

Магнитное дипольное взаимодействие приводит к расщеплению основного и возбужденного состояний, в результате чего в спектре поглощения проявляется несколько линий, число которых соответствует числу возможных переходов между магнитными подуровнями этих состояний [16].

## 2.2. Обработка спектров

Обработка спектров проводилась с помощью модельной расшифровки парциальных спектров в программе SpectrRelax [17]. Задача расшифровки мессбауэровских спектров связана с поиском физических параметров, которыми определяется форма огибающей спектра. Нахождение оптимальных значений параметров спектра, соответствующих выбранной модели, решается с помощью минимизации составного функционала  $\chi^2$ .

## 2.3. Релаксационные процессы

Магнитное состояние, возникающее благодаря существованию спонтанных магнитных моментов в твердом теле, является результатом совместного действия ряда факторов. Внешнее магнитное поле способствует упорядочиванию магнитных моментов, а тепловое движение напротив стремится дезориентировать их [18].

Полная энергия ферромагнитной частицы есть сумма вкладов от магнитной анизотропии и внешнего по отношению к частице магнитного поля:

$$E = -KV\cos^2\vartheta - HM_s\cos\vartheta \quad (5)$$

где  $K$  – константа магнитной анизотропии,  $V$  – объём частицы,  $H$  – внешнее магнитное поле,  $M_s$  – магнитный момент частицы. Магнитный момент отдельного атома определяется в основном спинами электронов. Тогда  $\cos\vartheta = S_z/S$ , где  $S, S_z$ , спин и его проекция на ось легчайшего намагничивания соответственно (рис. 2).

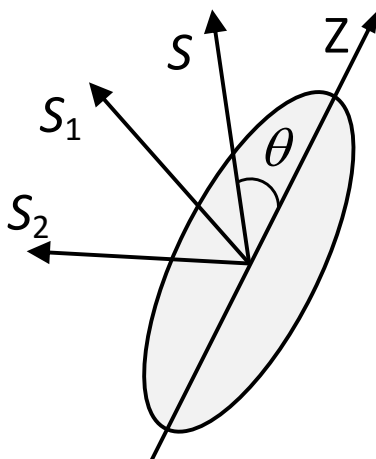


Рисунок 2 Суперпарамагнитная частица.

Если объём ферромагнетика меньше некоторого критического значения, то в этом случае частица становится однодоменной и все ее моменты ориентированы вдоль одного и того же направления. На микроскопическом уровне существуют тепловые флуктуации моментов, но для изменения направления однодоменной намагниченности требуется энергия  $\Delta E$ , превышающая энергию магнитной анизотропии. Уменьшение размера частиц освобождает магнитные моменты от удерживающих сил и позволяет намагниченности однодоменной частицы флуктуировать от одного направления к другому. Переход из одного состояния в другое происходит за так называемое время релаксации  $\tau_{\text{рел.}}$ . Если  $\tau_{\text{рел.}}$  меньше характерного времени измерения в мессбауэровском эксперименте  $\tau_{\text{mess}}$ , то будет наблюдаться дублет с уширенными линиями, если  $\tau_{\text{рел.}}$  больше  $\tau_{\text{mess}}$  – секстет. При  $\tau_{\text{рел.}} \sim \tau_{\text{mess}}$  имеем суперпозицию секстета и дублета с уширенными линиями.

Описанное выше явление отличается от обычного парамагнетизма тем, что эффективный момент однодоменной частицы представляет собой сумму магнитных моментов входящих в нее атомов, а их может быть в частице несколько тысяч. В связи с этим для описания указанного явления применяется термин «суперпарамагнетизм».

Суперпарамагнетизм можно разрушить путем охлаждения. Это следует из того, что характерное время флуктуаций момента частицы экспоненциально меняется с температурой, и направление намагниченности быстро приходит в устойчивое состояние при понижении температуры. Температура, при которой это происходит, называется температурой блокировки. Она линейно зависит от объема образца и от величины анизотропии [19].

## Глава 3. Изучение процессов бактериального восстановления магнетита в щелочных условиях.

### 3.1 Исследование процессов восстановления синтетического магнетита.

Для проведения исследований был синтезирован магнетит, и затем добавлен в среду роста алкалофильной диссимиляторной бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) (рис. 3). Данная бактерия способна восстанавливать аморфный гидроксид Fe(III), антрахинон-2,6-дисульфонат (синтетический аналог гуминовых кислот), Mn(VI) и S<sup>0</sup>, окисляя ацетат [20].

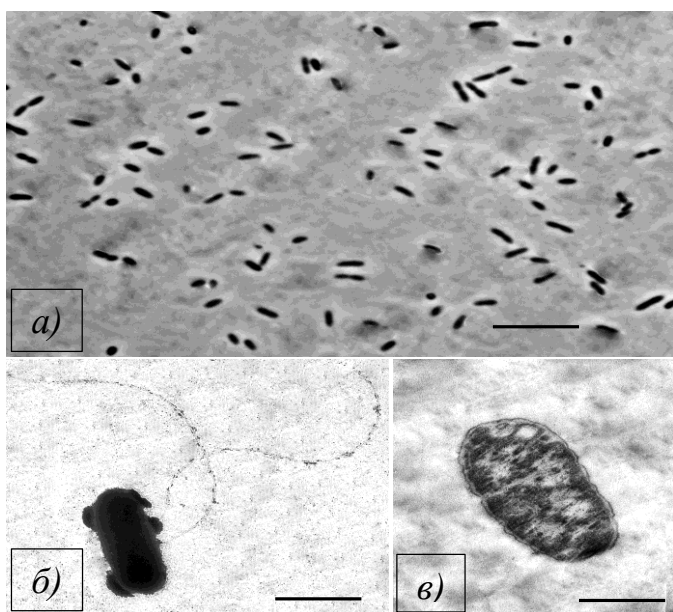


Рисунок 3 *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) а) фотография, сделанная с помощью оптического микроскопа, масштаб шкалы – 10 мкм б) изображение клетки с боковыми жгутиками, масштаб шкалы – 1.0 мкм в) изображение продольного среза клетки, масштаб шкалы – 0.5 мкм, полученные при помощи электронной микроскопии [20].

В ряде экспериментов в среду роста культуры добавлялись ацетат и атомарная сера. Также была изучена возможность осуществления реакции диспропорционирования с участием атомов железа в магнетите за счет роста бактерии. Кроме того, были проведены исследования совместного роста бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) и *Contubernalis alkalaceticum*.

Мессбауэровские исследования проводились при комнатной температуре без поля, во внешнем магнитном поле  $B = 1,03$  Тл, приложенном перпендикулярно направлению пролета  $\gamma$ -квантов, а также при  $T=81$ К. Для обработки мессбауэровских спектров была использована модель, состоящая из трех зеемановских секстетов в модели многоуровневой суперпарамагнитной релаксации и двух квадрупольных дублетов. Секстеты  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$  относятся к трем различным

позициям атомов железа в структуре нестехиометрического магнетита:  $S_1, S_2$  – атомам  $Fe^{3+}$  в тетраэдрическом и октаэдрическом кислородных окружениях соответственно, а  $S_3$  – атомам  $Fe^{2,5+}$  в октаэдрическом окружении; дублет  $D_1$  соответствует атомам  $Fe^{3+}$ , а  $D_2$  – атомам  $Fe^{2+}$ .

### 3.1.1 Исследование фазового состава контрольных образцов синтетического магнетита

Контрольные образцы для серии с синтетическим магнетитом были получены после взаимодействия магнетита со средой роста бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) в отсутствие самой бактерии.

Параметры мёссбауэровского спектра контрольного образца, измеренного при комнатной температуре (рис. 4 а), представлены в Таблице 1. Секстеты  $S_1, S_2, S_3$  относятся к позициям атомов железа в структуре магнетита. Квадрупольный дублет  $D_1$  – может соответствовать атомам  $Fe^{3+}$  как в структуре гидроксида железа, так и в структуре малых частиц (диаметр частиц составляет примерно 13 нм) магнетита или маггемита [21,22].

Таблица 1 Параметры спектра контрольного образца ( $T=300$  К)

Парц. спектр	I, %	$\delta$ , мм/с	$\varepsilon$ , мм/с	H, кЭ	d, нм
$S_1$	$27,1 \pm 1,8$	$0,24 \pm 0,18$	$0,07 \pm 0,18$	$492 \pm 2$	$13,2 \pm 0,4$
$S_2$	$33,8 \pm 1,7$	$0,37 \pm 0,15$	$-0,06 \pm 0,15$	$491 \pm 2$	
$S_3$	$32,2 \pm 0,7$	$0,68 \pm 0,02$	$-0,04 \pm 0,02$	$464 \pm 2$	
$D_1$	$6,9 \pm 0,4$	$0,34 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,02$	-	-

Для определения формирующейся фазы, содержащей атомы  $Fe^{3+}$ , был измерен спектр при  $T = 81$  К (рис. 4 б). Относительная интенсивность парциального спектра в случае контрольного образца равна  $I_{D_1} = 7,3 \pm 0,4\%$ . Так как значение данной интенсивности практически не изменяется с уменьшением температуры измерения, можно сделать вывод о том, что парциальный спектр  $D_1$  не является парциальным спектром суперпарамагнитных частиц магнитоупорядоченной фазы, а соответствует



трехвалентным атомам железа по-видимому в структуре гидроксида железа Fe(III), образовавшегося при синтезе магнетита.

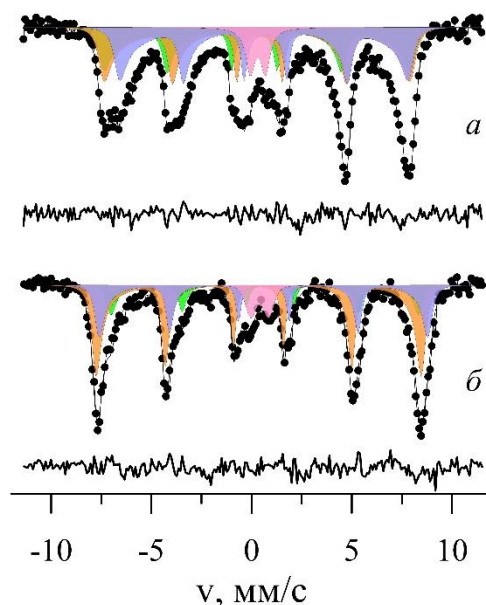


Рисунок 4 Мессбауэровские спектры ядер  $^{57}\text{Fe}$  в структуре минералов контрольного образца при а) комнатной температуре, б)  $T = 81$  К.

### 3.1.2 Изучение формирующихся фаз в результате роста бактерии в среде в присутствии синтетического магнетита и ацетата

В процессе биоминерализации при росте бактерии в щелочной среде в присутствии гидроксида железа Fe(III) возможно образование сидерита и магнетита [23]. Если концентрация ферригидрита в среде роста избыточна, то основной формирующейся фазой является магнетит. Такой процесс возможен за счет окисления ацетата, благодаря чему высвобождается электрон, который бактерия переносит на трехвалентный атом железа, таким образом, восстанавливая его.

Для изучения формирующихся фаз в результате роста бактерии в среде в присутствии синтетического магнетита и ацетата были проведены мессбауэровские исследования образцов, полученных в результате двух пересевов (Рис.5 б,в).

В отличие от спектра контрольного образца спектры образцов, полученных в результате роста бактерии, не являются релаксационными, что,

по-видимому, связано с укрупнением частиц магнетита. Наблюдается существенное уменьшение ширины резонансных линий в спектре по сравнению со спектром контрольного образца. В связи с этим для обработки этих спектров не использовалась модель многоуровневой суперпарамагнитной релаксации. Обработка проводилась с помощью модельной расшифровки тремя зеемановскими секстетам и двумя квадрупольными дублетами.

Анализ спектров показал, что в спектре образцов, полученных в результате роста бактерии, наблюдается появление дублета  $D_2$ , параметры которого ( $\delta = 1,16 \pm 0,02$  мм/с;  $\Delta = 2\varepsilon = 2,06 \pm 0,03$  мм/с) характерны для атомов  $Fe^{2+}$ , более того они близки к параметрам дублета, соответствующего атомам железа в структуре сидерита. Кроме того, наблюдается возрастание относительной интенсивности дублета  $D_1$  и уменьшение интенсивности компоненты  $S_2$  (Рис. 6). При этом увеличивается интенсивность компоненты  $S_3$ , относящейся к атомам  $Fe^{2.5+}$  в В-позициях магнетита. Рост интенсивности компоненты  $S_3$  может быть обусловлен увеличением количества двухвалентных атомов железа в В-позиции магнетита, что приводит к увеличению степени стехиометрии магнетита. Таким образом, рост бактерии приводит к формированию новой фазы (сидерита), а также к укрупнению частиц магнетита, который становится более стехиометричным.

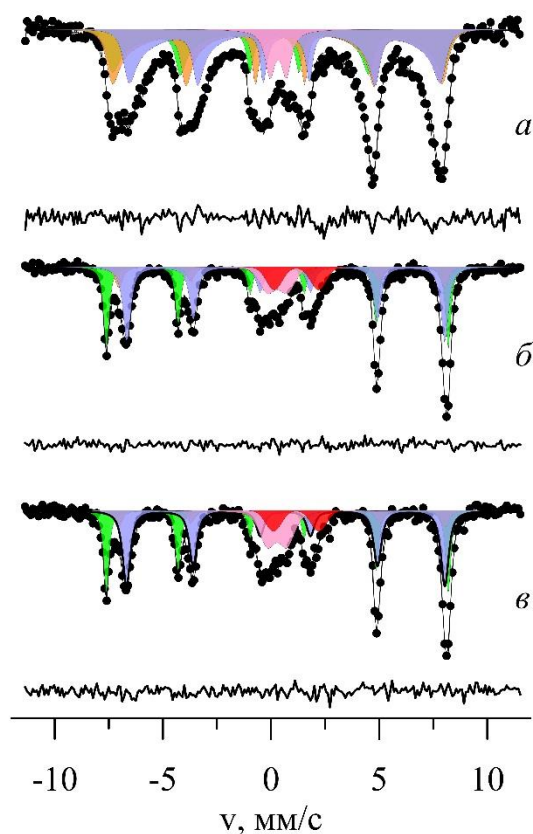


Рисунок 5 Мессбауэровские спектры ядер  $^{57}\text{Fe}$  в структуре минералов, полученных в присутствии синтетического магнетита и ацетата в среде роста бактерии для а) контрольного образца б) образца, полученного в результате первого пересева, в) второго пересева.

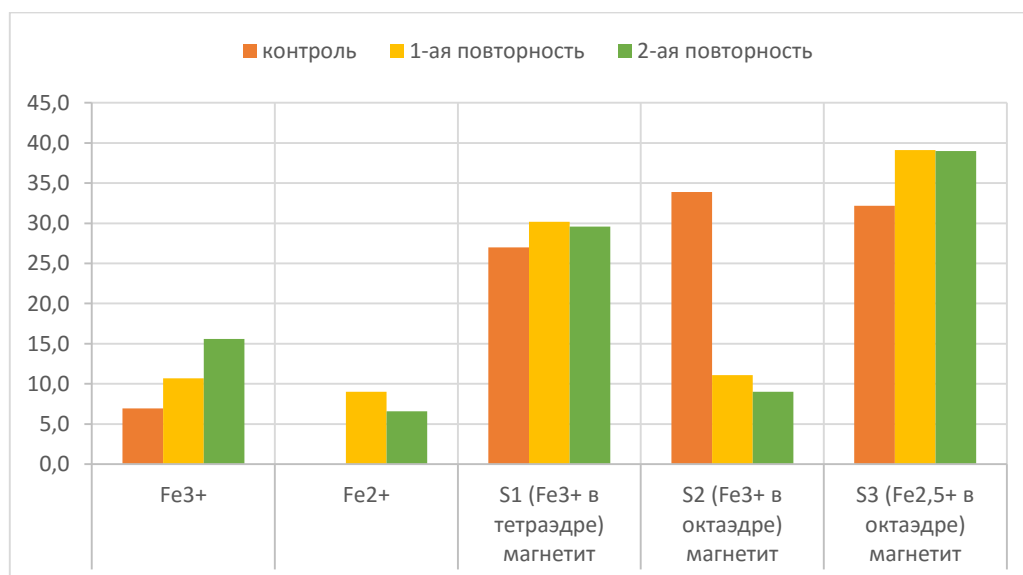


Рисунок 6 Относительные интенсивности парциальных спектров серии образцов, полученных при росте бактерии в присутствии ацетата.

### 3.1.3 Изучение формирующихся фаз в результате роста бактерии в среде в присутствии синтетического магнетита и ацетата с добавлением атомарной серы

В работе были исследованы образцы, полученные в результате роста бактерии в присутствии синтетического магнетита и ацетата с добавлением атомарной серы. В мёссбауэровском спектре образца, измеренном при комнатной температуре (рис. 7 б), обнаружено появление дополнительного по сравнению с контрольным образцом (рис. 7 а) парциального спектра  $D_2$ , соответствующего атомам  $Fe^{2+}$ . По значениям сверхтонких параметров квадрупольный дублет  $D_2$  соответствует сидериту. Квадрупольный дублет  $D_1$  может соответствовать атомам  $Fe^{3+}$  как в структуре пирита, так и в структуре гидроксида железа Fe(III). Обработка спектров проводилась в рамках той же модели, как в случае контрольного образца, при этом не наблюдалось заметного изменения значений сверхтонких параметров парциальных спектров. В связи с этим квадрупольный дублет  $D_1$ , относится к гидроксиду, а не к пириту. Можно сделать вывод о том, что в процессе роста бактерии не наблюдается формирование сульфидов железа. Это, по-видимому, связано с тем, что атомарная сера не участвует в процессах формирования новых железосодержащих фаз при росте бактерии.

На рис. 7 в представлен спектр образца, измеренный при  $T = 81$  К. Анализ спектра показал, что с понижением температуры измерений линии секстетов становятся более узкими. Это обусловлено влиянием суперпарамагнитной релаксации на форму линии спектра. Интенсивность дублета  $D_1$  с понижением температуры практически не изменяется. Можно утверждать, что квадрупольный дублет действительно соответствует атомам  $Fe^{3+}$  в структуре гидроксида железа Fe(III), а не в структуре малых частиц магнетита или маггемита.

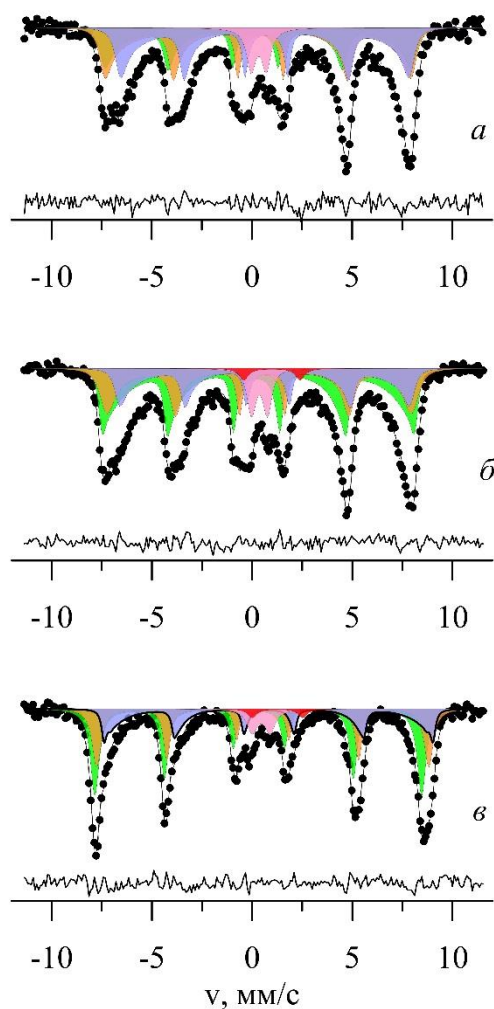


Рисунок 7 Мессбауэровские спектры ядер  $^{57}\text{Fe}$  в структуре минералов контрольного образца (а); образца, полученного в присутствии синтетического магнетита, с добавлением атомарной серы в среду роста бактерии при б) комнатной температуре, в)  $T = 81 \text{ K}$ .

### 3.1.4 Изучения образцов, полученных в результате роста бактерии в среде в присутствии синтетического магнетита и в отсутствие ацетата

Поскольку в современных содовых озерах доминирует цикл серы, соединения с серой углубленно изучались [1]. Было обнаружено, что в щелочных условиях для этих соединений возможна реакция диспропорционирования. Поэтому были попытки найти аналогичные процессы в случае соединений с железом.

В данной работе в качестве донора и акцептора электронов выступает магнетит. В этом случае осуществляется перенос электрона с двухвалентного атома железа на трехвалентный атом в структуре магнетита (рис.8).

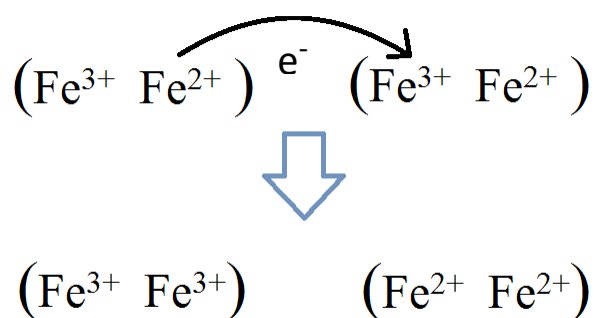


Рисунок 8 Схематичное изображение реакция диспропорционирования с участием атомов железа в магнетите.

Для проверки данной гипотезы были синтезированы образцы. Они были получены в результате роста бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) в минеральной среде с добавлением синтезированного магнетита. Для удаления остатков ацетата из среды магнетит пересеивали 6 раз.

При сравнении спектров контрольного образца и образца, полученного в случае роста бактерии, в последнем наблюдается появление квадрупольного дублета D<sub>2</sub>. Параметры этого квадрупольного дублета соответствуют атомам Fe<sup>2+</sup> в структуре сидерита (см. табл. 2). Анализ спектров показал, что размер частиц магнетита не меняется. Для определения формирующейся фазы, содержащий атомы Fe<sup>3+</sup>, были измерены спектры при T = 81 К (рис. 9).

Таблица 2 Параметры спектра образца, полученного в результате роста бактерии (T=300 К)

Парц. спектр	I, %	δ, мм/с	ε, мм/с	H, кЭ	d, нм
S <sub>1</sub>	27,8±3,9	0,24±0,03	0,04±0,03	493±2	13,1±0,4
S <sub>2</sub>	27,2±3,7	0,38±0,04	-0,05±0,03	488±3	
S <sub>3</sub>	30,3±1,8	0,66±0,02	-0,03±0,02	466±3	
D <sub>1</sub>	7,1±0,5	0,33±0,01	0,32±0,01		
D <sub>2</sub>	7,9±0,7	1,24±0,01	0,95±0,01		

Относительная интенсивность парциального спектра в случае опытного образца равна  $I_{D_1} = 8.9 \pm 0.6\%$ . Так как значение интенсивности практически не изменяется при изменении температуры измерения, можно сделать вывод о том, что парциальный спектр  $D_1$  соответствует трехвалентным атомам железа в структуре гидроксида, аналогично контрольному образцу.

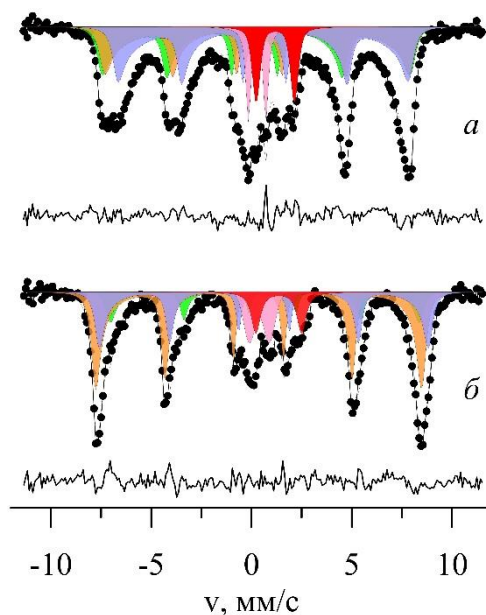


Рисунок 9 Мессбауэровские спектры ядер  $^{57}\text{Fe}$  в структуре минералов, полученных в результате роста бактерии, измеренные при а) комнатной температуре, б)  $T = 81 \text{ K}$ .

Изучение спектров опытных образцов полученных при различных пересевах (рис. 10) показало, что интенсивность квадрупольного дублета  $D_2$  уменьшается. Это связано с тем, что в первом пересеве появление  $D_2$  было обусловлено процессом восстановления железа, который протекал в присутствии «внешнего» донора электрона (остатки ацетата в среде). Не наблюдается образования новых фаз, содержащих двух валентные атомы железа, также не наблюдается перераспределения относительных вкладов в интенсивность от парциальных спектров в структуре магнетита. То есть магнетит не может являться как донором, так и акцептором электронов одновременно.

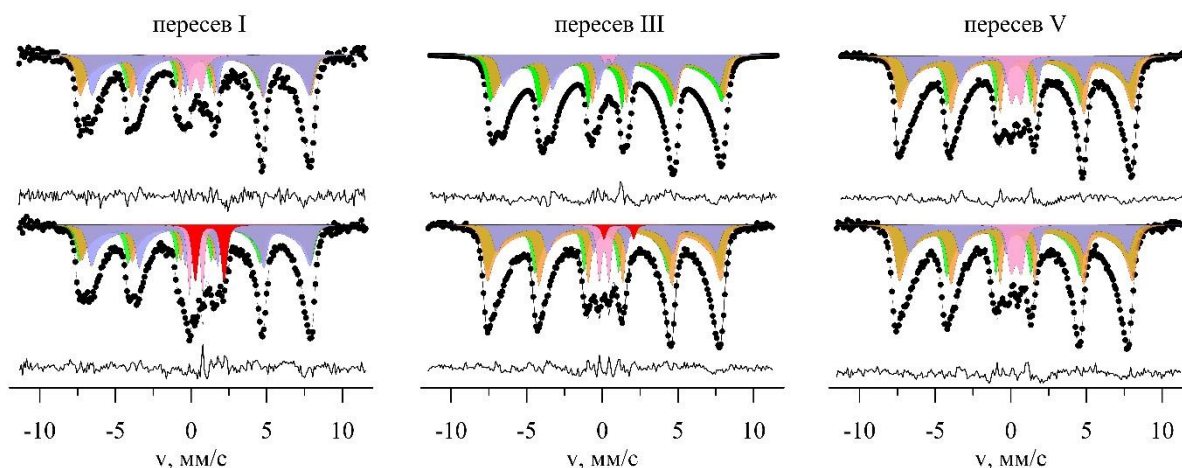


Рисунок 10 Мессбауэровские спектры контрольных образцов (верхняя строка) и образцов, полученных в результате роста бактерии в среде в присутствии синтетического магнетита и в отсутствие ацетата (нижняя строка).

### 3.1.5 Исследования совместного роста *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) и *Contubernalis alkalaceticum* на синтетическом магнетите

С целью изучения совместного роста бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) и *Contubernalis alkalaceticum* [24] были проведены мессбауэровские исследования минералов, полученных при добавлении синтетического магнетита в среды роста *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531), *Contubernalis alkalaceticum*, а также в среду совместного роста этих бактерий. Кроме того, был измерен мессбауэровский спектр контрольного образца.

При сравнении мессбауэровских спектров контрольного образца и образца, полученного при росте *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) (рис. 11) не наблюдается изменения интенсивности парциального спектра, соответствующего атомам железа  $Fe^{2,5+}$ . Данный эксперимент еще раз подтверждает, что эта бактерия без ацетата (в отсутствии донора электронов) не восстанавливает железо в структуре магнетита.



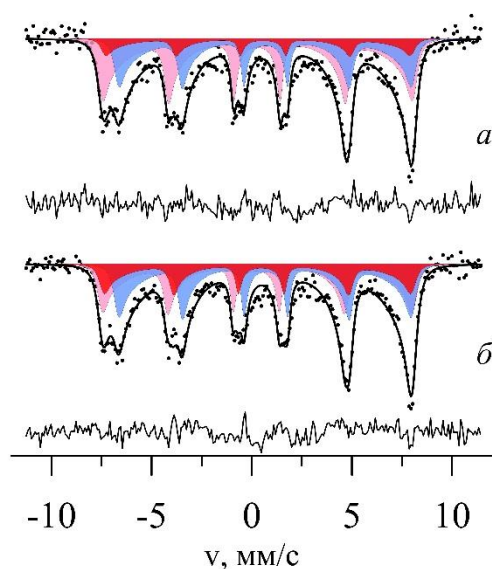


Рисунок 11 Мессбауэровские спектры ядер  $^{57}\text{Fe}$  в структуре *a)* контрольного образца, *б)* образца, полученного в результате роста бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531).

Изучение мессбауэровских спектров минералов, полученных при добавлении синтетического магнетита в среду роста бактерии *Contubernalis alkalaceticum* (рис. 12), показало, что наблюдается уменьшение относительной интенсивности парциального спектра  $S_3$  и увеличение интенсивности  $S_2$  (рис. 13). Можно предположить, что при росте *Contubernalis alkalaceticum* в присутствии синтетического магнетита происходит процесс окисления железа.

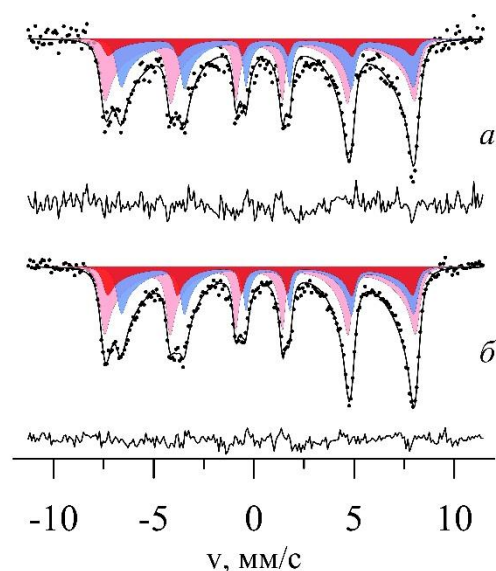


Рисунок 12 Мессбауэровские спектры ядер  $^{57}\text{Fe}$  в структуре а) контрольного образца, б) образца, полученного в результате роста бактерии *Contubernalis alkalacetium*.

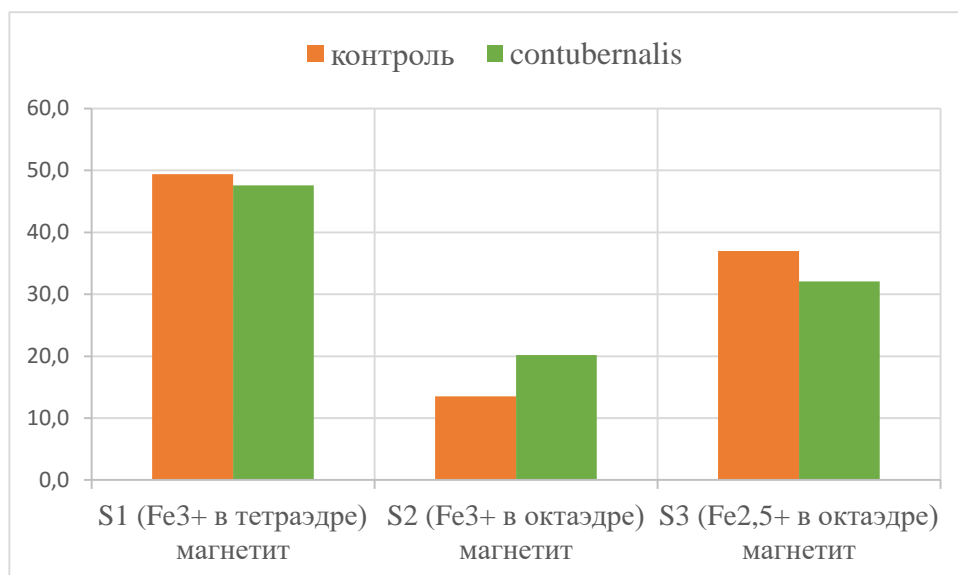


Рисунок 13 Относительные интенсивности парциальных спектров контрольного образца и образца, полученного в результате роста бактерии *Contubernalis alkalacetium*.

При совместном росте указанных бактерий не наблюдалось существенных изменений в интенсивностях парциальных спектров. Можно предположить, что одновременно происходят два процесса: *Contubernalis alkalacetium* окисляет атомы железа в структуре магнетита, а *Geoalkalibacter ferrihydriticus* восстанавливает их до степени окисления 2+. Поэтому мы не

наблюдаем уменьшение относительной интенсивности парциального спектра S2, а наоборот, даже небольшое увеличение этой интенсивности (рис. 14,15).

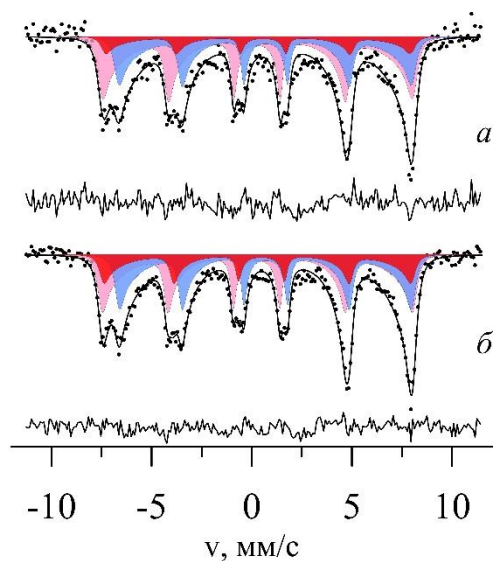


Рисунок 14 Мессбауэровские спектры ядер  $^{57}\text{Fe}$  в структуре а) контрольного образца, б) образца, полученного в результате роста бактерий *Contubernalis alkalaceticum* и *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531).

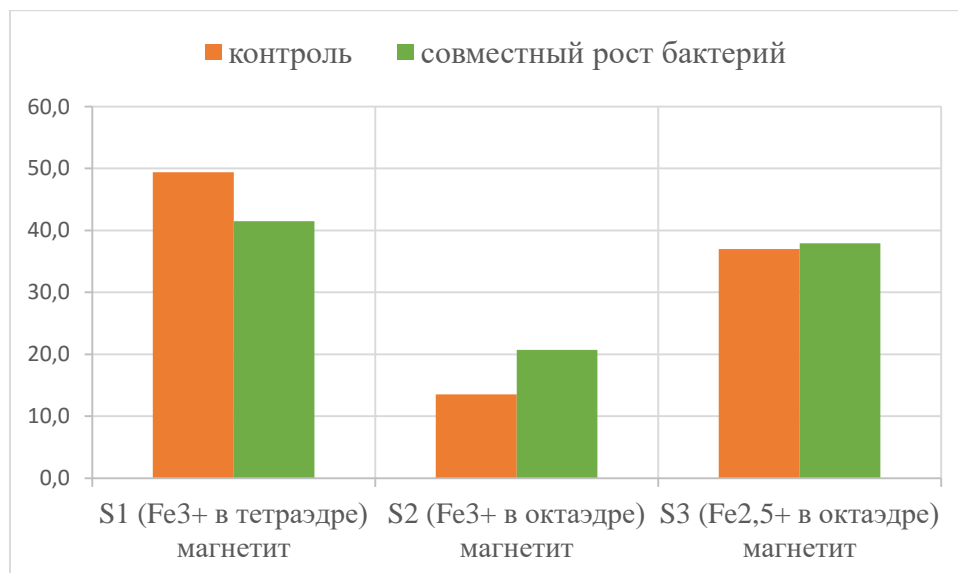


Рисунок 15 Относительные интенсивности парциальных спектров контрольного образца и образца, полученного в результате роста бактерии *Contubernalis alkalaceticum* и *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531).

### 3.2 Изучение процессов бактериального восстановления природного магнетита

Для изучения роста бактерии в присутствии природного магнетита необходимо было провести исследование влияния среды роста бактерии на магнетит в отсутствие самой бактерии. Для этого были измерены мессбауэровские спектры исходного образца и контрольного образца, находившегося в среде роста бактерии (рис. 16). Так как параметры парциальных спектров, используемых для обработки данных спектров, мало изменяются, можно сделать вывод, что среда не влияет на изменение структуры минерала магнетита.

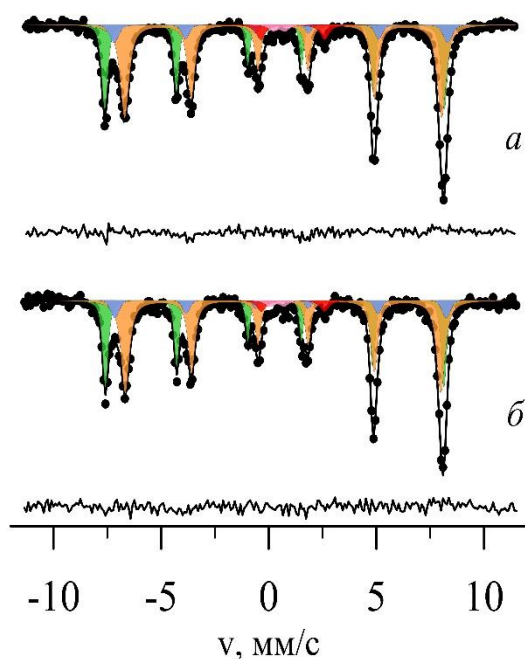


Рисунок 16 Мессбауэровские спектры ядер  $^{57}\text{Fe}$  в структуре а) исходного образца и б) контрольного образца.

Исходный магнетит исследовался также и во внешнем магнитном поле  $B = 1,03$  Тл., приложенном перпендикулярно направлению пролета  $\gamma$ -квантов (рис.17). Сравнение мессбауэровских спектров исходного образца и исходного образца в поле показало, что суперпарамагнитные частицы отсутствуют в образце.

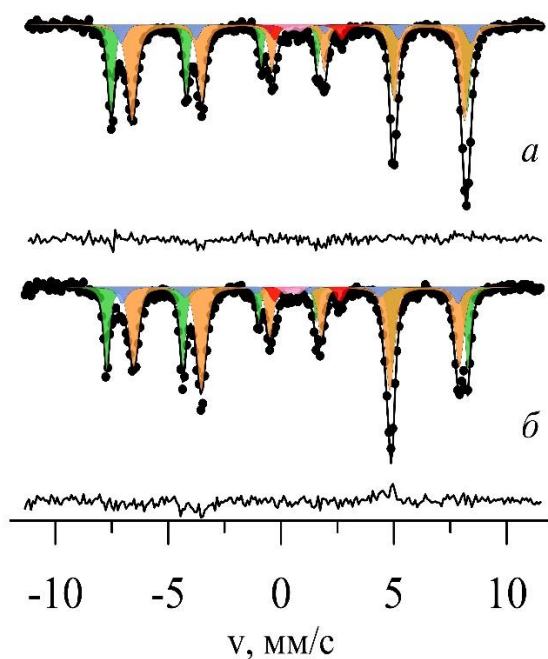


Рисунок 17 Мессбауэровские спектры ядер  $^{57}\text{Fe}$  в структуре минералов а) исходного образца и б) исходного образца в поле.

В отличие от синтетического магнетита в спектре природного магнетита присутствует квадрупольный дублет ( $\delta = 1,12 \pm 0,02$  мм/с;  $\Delta = 2\varepsilon = 2,98 \pm 0,03$  мм/с), соответствующий двухвалентным атомам железа в кислородном октаэдрическом окружении. Относительная интенсивность этого дублета составляет  $I_{D2} = 4,3 \pm 0,4\%$ . Значение квадрупольного расщепления этого дублета не дает возможность сделать утверждение, что этот парциальный спектр соответствует сидериту.

В результате изучения спектров образцов, полученных при росте бактерии (рис. 18), было обнаружено, что возрастает относительная интенсивность дублетов  $D_1$  и  $D_2$ , однако изменения интенсивности дублета  $D_2$  незначительны (рис. 19). Кроме того, уменьшаются интенсивности компонент  $S_1$  и  $S_3$ . Таким образом, наблюдается два одновременных процесса: как восстановление атомов железа, так и их окисление.

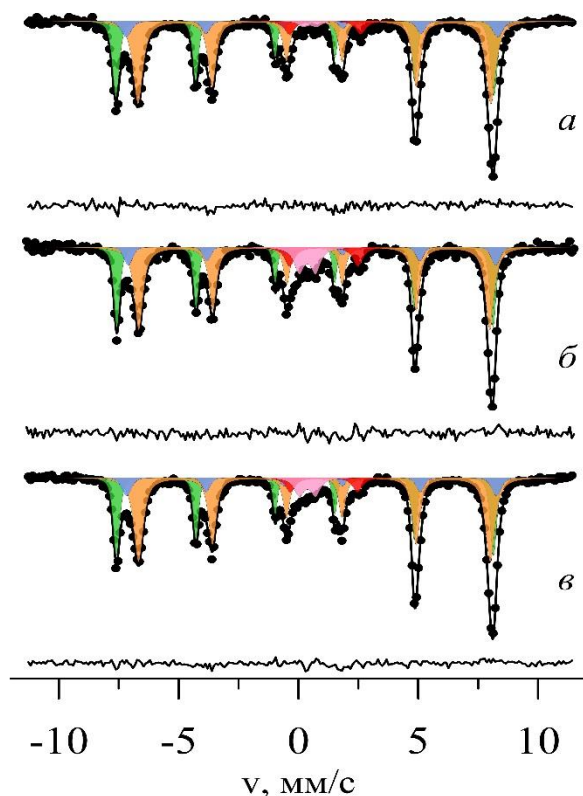


Рисунок 18 Мессбауэровские спектры ядер  $^{57}\text{Fe}$  в структуре минералов а) исходного образца; образцов, полученных в результате роста бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) б) первая повторность в) вторая повторность.

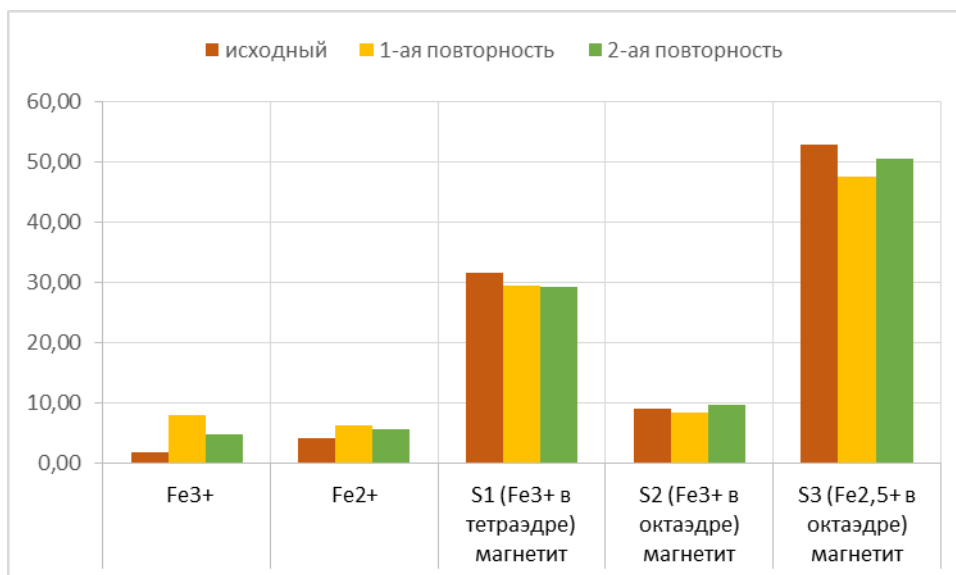
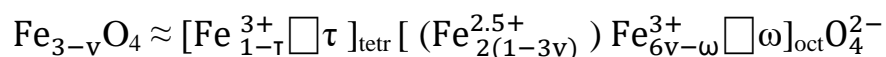


Рисунок 19 Относительные интенсивности парциальных спектров контрольного образца и образцов, полученных в результате роста бактерии.

Для оценки степени стехиометрии природного магнетита, как исходного, так и преобразованного в процессе роста бактерии, было

рассчитано полное число вакансий (параметр  $v$ ) в соответствии с формулой [25]:



( $\tau$  – доля вакансий в тетрапозициях решетки,  $\omega$  – часть вакансий приходящаяся на октаэдрические места,  $v = \tau + \omega$ ). Для исходного образца и образца полученного в результате роста бактерии этот параметр мало изменяется и равен  $v \approx 0,28$ . Это означает, что рост *Geoalkalibacter ferrihydriticus* на природном магнетите не влияет на степень стехиометрии частиц магнетита.

## Основные результаты и выводы

Проведены мессбауэровские исследования образцов, полученных в результате роста бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus* (штамм Z-0531) в среде, содержащей синтетический и природный магнетит при добавлении ацетата, атомарной серы, а также при совместном росте с бактерией *Contubernalis alkalaceticum*. В результате проведенных исследований установлено следующее:

1. В присутствии синтетического магнетита и ацетата в среде роста бактерии формируется новая фаза, содержащая атомы  $Fe^{2+}$ , которая может быть идентифицирована как сидерит  $FeCO_3$ .
2. Добавление атомарной серы в среду роста бактерии в присутствии синтетического магнетита не приводит к образованию сульфидов железа.
3. В отсутствие ацетата в среде роста бактерии реакция диспропорционирования с участием атомов железа в синтетическом магнетите не обнаружена.
4. При совместном росте *Contubernalis alkalaceticum* и *Geoalkalibacter ferrihydriticus* в отсутствие ацетата предположительно происходят два одновременных процесса: окисление атомов железа в структуре магнетита первой бактерией и их восстановление второй.
5. Рост бактерии приводит к восстановлению атомов  $Fe^{3+}$  в структуре природного магнетита с образованием новых фаз, содержащих атомы как  $Fe^{2+}$ , так и  $Fe^{3+}$ .



## Литература.

1. Заварзина Д.Г. Железоредукторы содовых озер – реликты «железного века». *Природа* 9 (2013).
2. Debasish Sarkar, Madhuri Mandal, and Kalyan Mandal Domain controlled magnetic and electric properties of variable sized magnetite nano-hollow sphere (2012).
3. D.A. Bazylinski, R.B. Frankel, K.O. Konhauser Modes of Biomineralization of Magnetite by Microbes (2007).
4. Frankel RB, Bazylinski DA, Johnson M, Taylor BL. 1997. Magneto-aerotaxis in marine, coccoid bacteria. *Biophys J* 73:994–1000.
5. Perez-Gonzalez, Jimenez-Lopez, Neal, Rull-Perez, Rodriguez-Navarro, Fernandez-Vivas, Ianez-Pareja Magnetite biomineralization induced by *Shewanella oneidensis* (2010).
6. J.M. Zachara, R.K. Kukkadapu, T. Peretyazhko et. all. The mineralogic transformation of ferrihydrite induced by heterogeneous reaction with bio-reduced anthraquinone disulfonate (AQDS) and the role of phosphate (2011).
7. К.П. Белов Загадки магнетита СОЖ, том 6, №4, (2000)
8. Victoria S. Coker, Richard A.D. Patrick Gerrit van der Laan ,Jonathan R. Lloyd Formation of Magnetic Minerals by Non-Magnetotactic Prokaryotes 2006.
9. Richard A. D. Patrick et al. Cation site occupancy in spinel ferrites studied by X-ray magnetic circular dichroism: developing a method for mineralogists , (2002).
10. C. Cannas, G. Concas, D. Gatteschi, A. Falqui, A. Musinu, G. Piccaluga, C. Sangregorio and G. Spano Superparamagnetic behaviour of  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles dispersed in a silica matrix 2001.
11. F.G. Goya, T.S. Berquo, F.C. Fonseca, P.M. Morales Static and dynamic magnetic properties of spherical magnetite nanoparticles (2003)
12. Dézsi I., Fetzler Cs., Gombkötő Á., Szűcs I, Gubicza J., Ungár T. Phase transition in nanomagnetite //Journal of applied physics. (2008)– T. 103. – №. 10.
13. Yi-Liang Li • San-Yuan Zhu • Kun Deng Mossbauer hyperfine parameters of iron species in the course of *Geobacter*-mediated magnetite mineralization (2011).
14. G.M. da Costa and et. all. Mossbauer studies of magnetite and Al-substituted maghemites. *Hyperfine Interactions* 117 (1998).

15. Русаков В.С. Основы мессбауэровской спектроскопии. Учебное пособие. М.: Физический факультет МГУ, 2011.
16. Вертгейм Г. Эффект Мёссбауэра., перевод с английского А.М.Афанасьева, М.: Мир, 1966.
17. М.Е. Matsnev and V.S.Rusakov. SpectrRelax: An Application for Mössbauer Spectra Modeling and Fitting AIP Conference Proceedings, 1489 (2012), 178-185.
18. Крупицка С. Физика ферритов и родственных им магнитных окислов. Т. 1, «Мир» (1976).
19. Херд К.М. Многообразие видов магнитного упорядочения в твердых телах. Успехи физических наук, Т. 142. Вып. 2. (1984).
20. Zavarzina D. G., Kolganova T. V., Boulygina E. S., Kostrikina N.A., Tourova T. P., Zhilina T. N. *Geoalkalibacter ferrihydriticus* gen. nov. sp. nov., the first alkaliphilic representative of the family *Geobacteraceae*, isolated from a soda lake // Microbiology. (2006) T. 75. – №. 6. – С. 673.
21. Reiff W. M. Mixed oxidation states and averaged electronic environments in iron compounds // Mössbauer Effect Methodology. – Springer US, 1973. – С. 89.
22. Jones D.H., Srivastava K.K.P. Many-state relaxation model for the Mossbauer spectra of superparamagnets // Physical Review B. – 1986. – Т. 34. – №. 11. – С. 7542.
23. Чистякова Н.И., Русаков В.С., Назарова К.А. Шапкин А.А., Жилина Т. Н., Заварзина Д.Г. Исследования процессов образования минералов железа диссимиляторной алкалофильной бактерией *Geoalkalibacter ferrihydriticus* методами мёссбауэровской спектроскопии // Известия РАН, Серия физическая. – 2010. – Т. 74. – №. 3. – С. 433.
24. Д.Г. Заварзина, Т.Н. Жилина Анаэробные сообщества содовых озер как аналоги палеоконтинентальной микробиоты докебрия, 2012.
25. С.И. Новиков, Е.М. Лебедева и др. Распределение катионов в механосинтезированном магнетите, Физика твердого тела, том 44, вып. 1, 2002.

В заключение хотелось бы выразить глубокую благодарность доктору физико-математических наук профессору Вячеславу Серафимовичу Русакову за помощь в подготовке курсовых и дипломной работ, за поддержку и ценные советы в течение всего периода моей работы в возглавляемой им научной группе.

Выражаю искреннюю благодарность научному руководителю кандидату физико-математических наук, доценту Наталии Игоревне Чистяковой за предложенную интересную тему, постановку задачи, помощь, внимательное и теплое отношение в течение всего периода моей работы в лаборатории. Благодаря педагогическому таланту и научному опыту Наталии Игоревны работа была интересной, творческой и плодотворной.

Благодарю кандидата физико-математических наук Алексея Андреевича Шапкина за конструктивное руководство и поддержку на начальных этапах работы в лаборатории, а также за терпение и понимание, проявленное в проведении научных экспериментов, обработки и обсуждении полученных результатов, и написании курсовых работ.

Хочу поблагодарить сотрудников Института Микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН: кандидата геолого-минералогических наук Заварзину Д.Г. и доктора биологических наук Жилину Т.Н. за предоставленные образцы и научные консультации.