

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

ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ ФИЗИКИ

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

**«МЕССБАУЭРОВСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОГЕННЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ
МЕТАЛЛИЧЕСКОЙ ПРОВОЛОКИ В АНАЭРОБНЫХ СРЕДАХ»**

Выполнила студентка
405 группы:
Трифорова Виктория Кирилловна

подпись студента

Научные руководители:
Кандидат физико-математических наук, доцент
Чистякова Наталия Игоревна

подпись научного руководителя

Аспирант, ведущий инженер
Антонова Ангелина Владимировна

подпись научного руководителя

Допущена к защите «__» _____ 2019 г.

Заведующий кафедрой общей физики
профессор Салецкий Александр Михайлович

подпись зав.кафедрой

МОСКВА

2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. БИОТРАНСФОРМАЦИИ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ МИКРООРГАНИЗМАМИ (ПО ДАННЫМ ЛИТЕРАТУРЫ).....	5
1.1 Экстремофильные микроорганизмы и их роль в формировании железосодержащих минералов	5
1.2 Особенности структуры минералов, полученных в результате биотрансформаций железосодержащих соединений	7
ГЛАВА 2. МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА	11
2.1 Сущность эффекта Мессбауэра	11
2.2 Основные параметры Мессбауэровского спектра	12
2.3 Мессбауэровской эксперимент	14
2.4 Рентгенофазовый анализ	15
ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МЕТАЛЛИЧЕСКУЮ ПРОВОЛОКУ В АНАЭРОБНЫХ СРЕДАХ	17
3.1 Изучение исходного образца металлической проволоки	17
3.2 Изучение биогенных трансформаций металлической проволоки в результате роста накопительной культуры	19
3.3 Изучение биогенных трансформаций металлической проволоки в результате роста бактерии <i>Geoalkalibacter ferrihydriticus</i>	21
ВЫВОДЫ	26
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	28

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время появляется все больше данных об активном участии микроорганизмов в процессе биотрансформаций железосодержащих соединений. Бактериальное преобразование минералов железа может происходить как в аэробных, так и в анаэробных условиях, в том числе в морских и пресных водах. Бактерии, способные в бескислородных средах получать энергию для жизнедеятельности за счет реакции восстановления различных соединений окисного железа, используя его в качестве акцептора электронов, были открыты в 1980-х годах. Данная бактериальная физиологическая группа получила название диссимиляторные железоредуцирующие микроорганизмы или железоредукторы [1]. Кроме того, недавние исследования подтверждают существование бактерий, имеющих способность получать энергию для роста и развития в результате окисления железосодержащих минералов, восстанавливая при этом различные органические соединения минеральной среды роста [2].

Железевосстанавливающие микроорганизмы играют важную роль в геохимическом развитии окружающей среды, и изучение минералов, образованных в результате их роста, может пролить свет на ранние этапы развития жизни на Земле. В частности, возможно построение модели микробного сообщества и воссоздание картины преобразований соединений железа в период докембрия [3-4], а также поиск аналогов этих процессов в современном биогеохимическом цикле соединений железа.

Чаще всего продуктами биотрансформации исходных железосодержащих минералов являются сидерит и оксигидроксикарбонат железа. Сидерит – минерал широко распространенный на Земле. Оксигидроксикарбонаты железа интересны для изучения, так как являются важными промежуточными соединениями в процессе коррозии железа. Кроме того, данные соединения обладают способностью восстанавливать нитраты, поэтому могут быть использованы для очищения почв, сточных и грунтовых вод [5].

Одним из основных методов исследования продуктов, полученных в результате биотрансформаций, является мессбауэровская спектроскопия, позволяющая получить ценную информацию о зарядовом, спиновом и структурном состоянии атомов железа. Эффект Мессбауэра, открытый в 1958 году, широко применяется в экспериментальных исследованиях. Благодаря своей рекордной относительной разрешающей способности мессбауэровская спектроскопия активно используется в физике, химии, геологии, минералогии, почвоведении, биологии и медицине. В настоящий момент изучены мессбауэровские переходы более чем для 99 изотопов 45 различных элементов. Наиболее удобными и эффективно используемыми являются ^{57}Fe и ^{119}Sn [6].

Данная работа посвящена мессбауэровским исследованиям биогенных преобразований металлической проволоки в анаэробных средах бактерией *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и накопительной культурой: *Ectothiorodospira sp.*, *Geolkalibacter sp.*, *Natronincola sp.* В соответствии с поставленной задачей были проведены мессбауэровские исследования с привлечением методов рентгенофазового анализа исходного образца металлической проволоки, образцов металлической проволоки, трансформированной в процессе роста бактерии *G. ferrihydriticus* и накопительной культуры, а также полученных в результате разрушения проволоки осадков, выпавших в минеральную среду.

ГЛАВА 1. БИОТРАНСФОРМАЦИИ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ МИКРООРГАНИЗМАМИ (ПО ДАННЫМ ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Экстремофильные микроорганизмы и их роль в формировании железосодержащих минералов

Железо является самым распространенным элементом на Земле. Оно входит в состав многих клеточных соединений и участвует в многочисленных физиологических процессах. В частности, в 80-х годах прошлого века была обнаружена новая группа микроорганизмов, получивших название диссимиляторные железоредуцирующие бактерии. Эти микроорганизмы способны получать энергию, восстанавливая трехвалентные атомы железа в различных соединениях (в частности в нерастворимых минералах), используя и органические, и неорганические восстановители [7]. В некоторых морских, пресноводных и почвенных экосистемах диссимиляторное восстановление атомов Fe^{3+} микроорганизмами – основной процесс, обеспечивающий окисление органического вещества.

На данный момент открыто множество групп микроорганизмов, отличающихся способом взаимодействия со внешней средой и веществом в процессе метаболизма. С одной стороны – это железоредуцирующие бактерии (*Geobacter metallireducens* и *Shewanella putrefaciens*), которые совмещают окисление органических соединений или водорода с восстановлением таких минералов как, к примеру, ферригидрит. В большинстве случаев данная реакция приводит к образованию двухвалентных атомов железа в составе сидерита ($FeCO_3$) и/или магнетита (Fe_3O_4), при этом степень восстановления окисного железа и состав сформировавшихся минеральных фаз зависят от физико-химических условий роста культуры (таких как pH, температура, наличие кислорода в среде и т.д.) Восстановление трехвалентных атомов железа микроорганизмами может осуществляться внеклеточно (также *Geobacter metallireducens* и *Shewanella putrefaciens*) и внутриклеточно (нап.

магнетотактические бактерии – *Magnetospirillum magnetotacticum*) [8]. С другой стороны – существует бактерии, способные окислять двухвалентные атомы железа. К ним относятся: *Acidovorax sp BoFeNi* (восстанавливают нитраты) [9], *Rhodospseudomonas palustris TIE-1* (окисление происходит на свету одновременно с восстановлением CO_2) [10].

Бактерии вида *Geobacteraceae*, окисляя органические соединения диоксида углерода (CO_2) восстанавливают трехвалентные атомы железа, которое является единственным акцептором электронов для этого вида бактерий. Способность разрушать органические примеси в анаэробных условиях за счет окисления их в углекислый газ может иметь практическое применение. К примеру, 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. Так же лабораторные исследования выявили способность железоредукторов к удалению урана из загрязнённых грунтовых вод [11].

Shewanella oneidensis – граммотрицательная γ -протеобактерия, впервые обнаруженная в озере Онейд в штате Нью Йорк (США). В анаэробных условиях дыхание данной бактерии происходит совместно с процессом восстановления нитратов (NO_3^-), нитритов (NO_2^-), сульфитов (SO_3^{2-}), трисульфатов ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), а также хрома Cr(4), Mn(3), U(4). Когда в качестве электронного акцептора используются атомы Fe^{3+} , в результате деятельности бактерии способен образовываться внеклеточный магнетит. Такого широкого круга веществ, используемых в качестве электронных акцепторов на данный момент не наблюдалось ни у одного другого вида бактерий [12].

В настоящее время появляются эксперименты, подтверждающие активное участие некоторых железоредуцирующих бактерий (*Geobacteraceae*, *Desulfuromonas acetoxidans*) в процессе электролиза. В работе [13] было показано,

что данные микроорганизмы, вступая в окислительно-восстановительную реакцию с веществом анода в бескислородной среде, увеличивают поток электронов к катоду, тем самым являясь источником энергии. Более того в анаэробных условиях наблюдается образование водорода, что является результатом так называемого бактериального электролиза органических соединений. Энергия, выделяемая для получения био-водорода в данном процессе, поддерживается органическими веществами, разлагаемыми бактериями.

Природа образованных минералов сильно зависит от условий роста микроорганизмов. Поэтому необходимо рассмотреть классификацию микроорганизмов на экофизиологические группы. По отношению к pH выделяются следующие физиологические группы: ацидофилы ($\text{pH} < 6$), нейтрофилы ($5 < \text{pH} < 9$, в основном $6 < \text{pH} < 8$) и алкалофилы ($\text{pH} > 8.5$). По температуре роста микроорганизмы делятся на психрофилы ($T = 0-20^\circ\text{C}$), мезофилы ($T = 20-45^\circ\text{C}$) и термофилы ($T > 45^\circ\text{C}$). Кроме того, по отношению к кислороду микроорганизмы делятся на аэробов, которые нуждаются в кислороде для дыхания, и анаэробов, способных существовать в отсутствии кислорода [14].

1.2 Особенности структуры минералов, полученных в результате биотрансформаций железосодержащих соединений

Железо – один из самых распространённых элементов на Земле. В зависимости от температуры нагрева металлическое железо может находиться в трех модификациях, характеризующихся различным строением кристаллической решетки. $\alpha\text{-Fe}$ – это кристаллическое состояние железа, в котором оно находится при температурах до 912°C . От других состояний ($\gamma\text{-Fe}$ и $\delta\text{-Fe}$) $\alpha\text{-Fe}$ отличается строением кристаллической решетки: $\alpha\text{-Fe}$ обладает объёмно-центрированной кубической решеткой (рис. 1). При температуре выше 912°C $\alpha\text{-Fe}$ переходит в $\gamma\text{-Fe}$. Ниже температуры 769°C $\alpha\text{-Fe}$ является ферромагнетиком, а выше данной температуры переходит в парамагнитное

состояние. В объёмно-центрированной кубической кристаллической решётке α -Fe период составляет $a = 0.2861$ нм при радиусе атомов Fe, равном 1.227 нм [15]. Мессбауэровский спектр ядер ^{57}Fe в структуре α -Fe представляет собой один зеемановский секстет с близкими к нулю значениями параметров сдвига мессбауэровской линии и квадрупольного расщепления, значение сверхтонкого поля в области расположения ядра $H_n \sim 330$ кЭ [16].

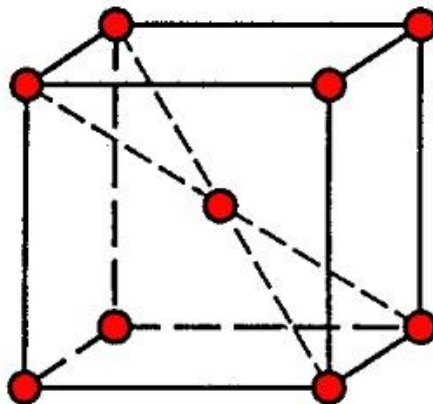


Рис. 1. Кристаллическая решетка α -Fe.

Интерес к исследованию трансформаций сидерита (FeCO_3) мезофильными микроорганизмами объясняется тем, что данный минерал в гидротермальных месторождениях образуется при сравнительно невысоких температурах. Его кристаллическая структура обладает тригональной симметрией и $R\bar{3}c$ пространственной группой, аналогично структуре кальцита (CaCO_3) (рис. 2). Сидерит, как карбонат закиси железа, может образовываться только в восстановительных условиях [11]. При комнатной температуре мессбауэровский спектр ядер ^{57}Fe в структуре сидерита представляет собой один квадрупольный дублет ($\epsilon = 1.23$, $\delta = 0.89$), что является типичным для соли Fe^{2+} [17].

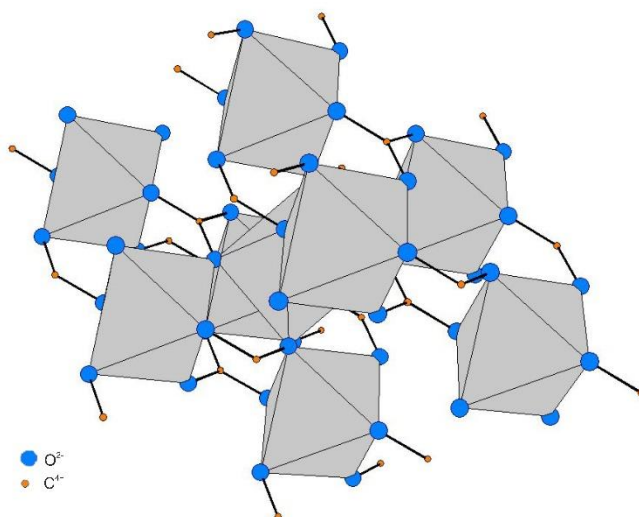


Рис. 2. Кристаллическая решетка сидерита FeCO_3 .

Оксигидроксикарбонат железа (зеленая ржавчина) является одним из минералов, формирующихся в результате биотрансформаций железосодержащих соединений в минеральных средах (рис. 3). Зеленая ржавчина принадлежит к классу слоистых двойных гидроксидов и состоит из положительно заряженных слоев, образованных ионами разно валентных металлов, и подвижных анионов и молекул воды в межслоевом пространстве.

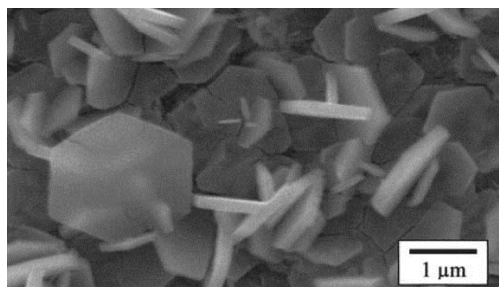


Рис. 3. Морфология кристаллов синтезированной зеленой ржавчины [18].

Его структура и химическая формула зависит от вида содержащихся анионов (Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-}). Для расшифровки мессбауэровских спектров, в соответствии с данными литературы предлагаются различные модели обработки, обусловленные различным соотношением содержания двух- и трехвалентных

атомов железа в структуре минерала. К примеру, в работе [19] для модельной расшифровки мессбауэровских спектров зеленой ржавчины предлагается модель, состоящая из трех квадрупольных дублетов, параметры двух из которых соответствуют атомам Fe^{2+} , а параметры третьего дублета — атомам Fe^{3+} .

Общая формула оксигидрокарбонатов железа выглядит следующим образом: $[\text{Fe}^{\text{II}}_{6(1-x)}\text{Fe}^{\text{III}}_{6x}\text{O}_{12}\text{H}_{2(7-3x)}]^{2+}$ $[\text{CO}_3^{2-} \cdot 3\text{H}_2\text{O}]^{2-}$, где параметр $x = [\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{3+} + \text{Fe}^{2+}]$ показывает отношение числа трехвалентных атомов железа к общему количеству атомов железа в минерале [20].

ГЛАВА 2. МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

2.1 Сущность эффекта Мессбауэра

Эффект Мессбауэра – явление резонансного испускания, поглощения или рассеяния γ -квантов ядрами в твердом теле без потери энергии на отдачу.

Для мессбауэровских переходов характерны очень узкие линии испускания и поглощения γ -лучей, обладающие естественной шириной $\Gamma = \hbar/\tau$ (Γ – неопределенность энергии, τ – среднее время жизни ядра в возбужденном состоянии).

В случае, когда покоящееся ядро находится в возбужденном состоянии с энергией E_0 , после испускания им γ -кванта, оно приобретает импульс $P = \frac{E_0}{c}$. Энергия, уносимая γ -квантом, будет меньше энергии ядерного перехода на величину энергии отдачи R . Исходя из закона сохранения энергии и импульса можно получить, что в данной системе энергия отдачи ядра R равна $\frac{E_0^2}{2Mc^2}$, где E_0 – энергия ядерного перехода. Потеря энергии на отдачу R излучающего ядра приводит к смещению линии испускания (поглощения) в сторону меньших (больших) энергий на R . Резонансное поглощение может иметь место только в том случае, когда энергия отдачи ядра R меньше ширины ядерного уровня.

С учетом теплового движения ядер, линии испускания и поглощения γ -кванта смещены на R и уширены [21].

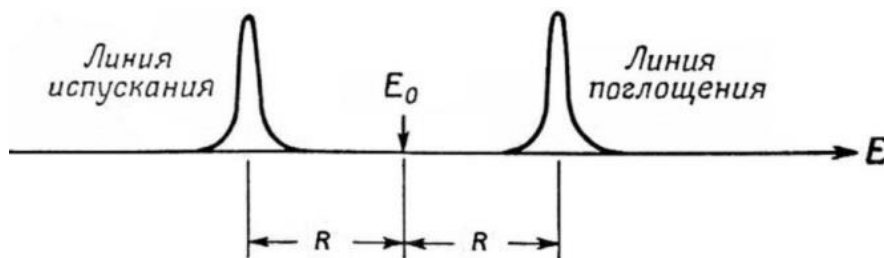


Рис. 4. Уширенные линии испускания и поглощения γ -квантов

В твердых телах энергия отдачи, при условии ее малости по отношению к энергии фононов (энергии колебаний решетки), идет на изменение энергии

трансляционного движения твердого тела как целого и изменение его внутренней энергии. Внутренняя энергия твердого тела может изменяться только на дискретную величину, кратную $\hbar\omega$. В процессе испускания и поглощения γ -квантов ядрами, связанными в твердых телах, возможна ситуация, при которой энергии отдачи R недостаточно для изменения внутреннего состояния тела.

Величина $f = 1 - \frac{R}{\hbar\omega}$ - коэффициент Мессбауэра, характеризующий вероятность процессов испускания γ -квантов без возбуждения кристаллической решетки твердого тела. В гармоническом приближении теории колебаний твердого тела $f = e^{-2W}$, где $2W = \frac{\langle x^2 \rangle}{\left(\frac{\lambda}{2\pi}\right)^2}$, x^2 - смещение ядра в направлении вылета γ -кванта. Вероятность процессов без отдачи уменьшается с ростом температуры и увеличения энергии γ -перехода.

Исключительно малая ширина резонансных линий (10^{-8} эВ) позволяет использовать эффект Мессбауэра для изучения явлений, связанных с магнитным дипольным и электрическим квадрупольным взаимодействием ядра с окружающими его электронами (т.к. эта ширина меньше характерных значений энергий данных взаимодействий).

2.2 Основные параметры Мессбауэровского спектра

Для анализа и оценки информации о состоянии атома в веществе, а также характеристик атомного окружения с использованием мессбауэровской спектроскопии вводится понятие сверхтонкого взаимодействия и локальной неоднородности. Сверхтонкие взаимодействия – это электрическое и магнитное взаимодействие ядра с его окружением, где окружение ядра – в первую очередь, электронная оболочка атома соответствующего ядра. Сверхтонкие взаимодействия приводят к расщеплению и сдвигу энергетических уровней основного и возбужденного состояний ядра, что отражается на форме спектра.

Под локальной неоднородностью (ЛН) понимают изменение свойств и состояния атомов одного сорта от позиции к позиции.

Наиболее значимые типы взаимодействий атомного ядра с внеядерными полями: *электрическое монопольное, электрическое квадрупольное и магнитное дипольное взаимодействия.*

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:

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

С учетом того, что 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:

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

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.

Квадрупольное смещение ε возникает при нахождении ядра в неоднородном электрическом поле и определяется электрическим квадрупольным взаимодействием. В общем случае в твердых телах градиент электрического поля в области расположения ядра образуется из локализованных зарядов ионных остовов окружающих атомов; электронов проводимости; валентных электронов мессбауэровского атома:

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

Магнитное дипольное взаимодействие обычно наблюдается в магнитно-упорядоченных веществах, в которых на ядра действуют сильные магнитные поля (напряженностью $\sim 10^5$ Э). Энергия магнитного дипольного взаимодействия пропорциональна произведению магнитного поля H на магнитный момент ядра и зависит от их взаимной ориентации. 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. Например, для ядра ^{57}Fe число таких переходов равно 6. Данные о величине эффективного магнитного поля в области расположения ядра H_n позволяют получить информацию об особенностях магнитной, электрической и атомной структур исследуемых соединений.

2.3 Мессбауэровской эксперимент

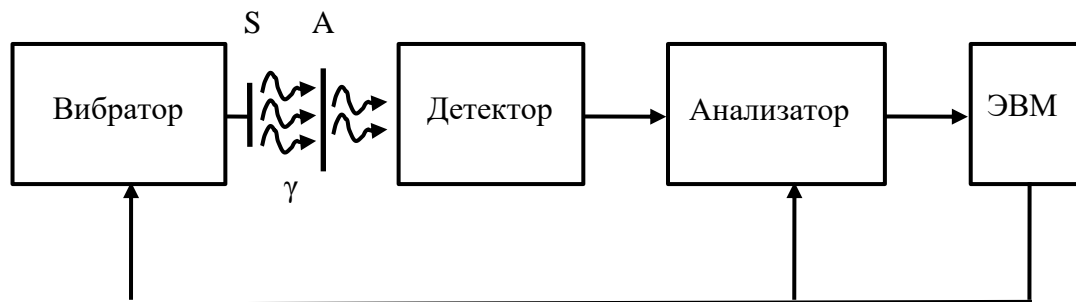


Рис. 5. Схема мессбауэровского спектрометра

На рис. 5 представлена функциональная схема мессбауэровского спектрометра в наиболее часто используемой геометрии – геометрии пропускания (поглощения, рассеяния).

Составные части мессбауэровского спектрометра и их функции:

1) Вибратор– обеспечивает заданную форму временной зависимости доплеровской скорости движения источника относительно поглотителя (обратная связь с ЭВМ);

2) Детектор– регистрирует акты резонансного поглощения или испускания γ -квантов, испускания электронов конверсии или вторичных рентгеновских квантов и формирует электрические импульсы;

3) Анализатор– сортирует и накапливает электрические импульсы;

4) ЭВМ– централизует информацию и управляет электронными блоками мессбауэровского спектрометра

Сам мессбауэровский спектр представляет собой зависимость интенсивности счета электрических импульсов N_i , сформированных за строго заданный промежуток времени, от доплеровской скорости V_i движения источника относительно поглотителя (i - номер канала). Скорость счета в детекторе будет падать каждый раз, когда сообщаемая источнику доплеровская скорость приводит к совпадению энергии γ -квантов, испускаемых источником, с энергией, поглощаемой ядрами поглотителя.

Мессбауэровские спектры для данной работы были получены при комнатной температуре на спектрометре MS1104Em, работающем в режиме постоянных ускорений с треугольной формой временной зависимости доплеровской скорости движения источника относительно поглотителя, в геометрии на прохождение. Источником γ -излучения являлся Co^{57} в матрице Rh. Обработка спектров проводилась с помощью модельной расшифровки парциальных спектров в программе SpectrRelax [22].

2.4 Рентгенофазовый анализ

Определение фазового состава исследуемых образцов проводилось на дифрактометре Empyrean Panalytical (Нидерланды) ($\text{CuK}\alpha$, $\lambda = 1.5405 \text{ \AA}$) в

геометрии Брега-Брентано (рис. 6), при напряжении $U = 40$ кВ и силе тока $I = 40$ мА.

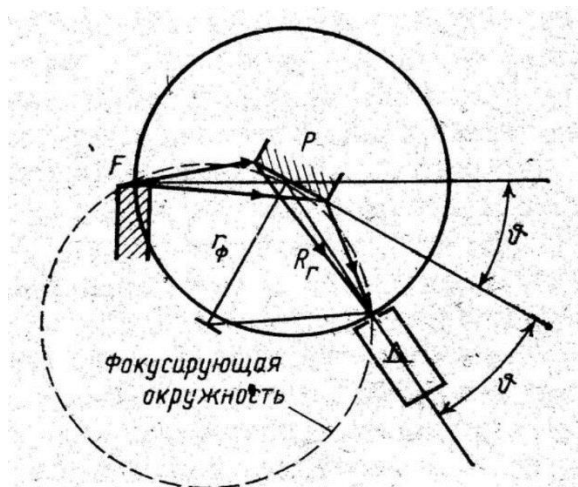


Рис. 6. Схема регистрации по Брэггу–Брентано

Схема регистрации по Брэггу-Брентано (рис. 6) основана на равенстве вписанных углов, опирающихся на одну и ту же дугу. Съемка осуществлялась с использованием двухкоординатного детектора Pixel3D без монохроматора, с Ni фильтром на дифрагированном пучке. Обработка дифрактограмм проводилась с использованием программы HighScore Plus и базы данных ICDD PDF4.

Рентгеновские дифракционные измерения были проведены на кафедре физики твердого тела доктором физ.-мат. наук доц. Киселевой Т.Ю.

ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МЕТАЛЛИЧЕСКУЮ ПРОВОЛОКУ В АНАЭРОБНЫХ СРЕДАХ

Целью данной работы было исследование преобразования металлической проволоки в процессе развития анаэробных бактерий в щелочных условиях. До недавнего времени было известно два процесса окисления атомов Fe^{2+} в бескислородной среде – фототрофное и нитрат-зависимое. Открытие возможности окисления железа за счет восстановления карбонатов, сопровождающееся образованием ацетата [23] выявило процесс, не ограниченный по ресурсам (свет, нитраты). Для окончательного подтверждения способности бактерии *G. ferrihydriticus* и накопительной культуры, состоящей из представителей родов *Ectothiorodospira*, *Geolkalibacter.*, *Natronincola*, окислять железо были проведены эксперименты, в которых данные бактерии росли в присутствии металлической проволоки в минеральных средах.

3.1 Изучение исходного образца металлической проволоки

С целью изучения роста бактерий на металлической проволоке были проведены мессбауэровские исследования исходной металлической проволоки при комнатной температуре. Для обработки мессбауэровского спектра (рис. 7) была использована модель, состоящая из двух зеемановских секстетов S1 и S2. Параметры мессбауэровского спектра исходного образца, полученного при комнатной температуре, представлены в Таблице 1.

Параметры наиболее интенсивного секстета S1 ($I_1 = 86.2 \pm 0.4\%$) соответствуют параметрам мессбауэровского спектра ядер ^{57}Fe в структуре металлического железа ($\alpha\text{-Fe}$). Относительная интенсивность второго секстета меньше и составляет $I_2 = 13.8 \pm 0.4\%$. Исследуемая металлическая проволока сделана из сплава, который, скорее всего, является сплавом железа и никеля. Предположительно химическая формула этого сплава – $\text{Fe}_{1-x}\text{Ni}_x$. Наличие двух

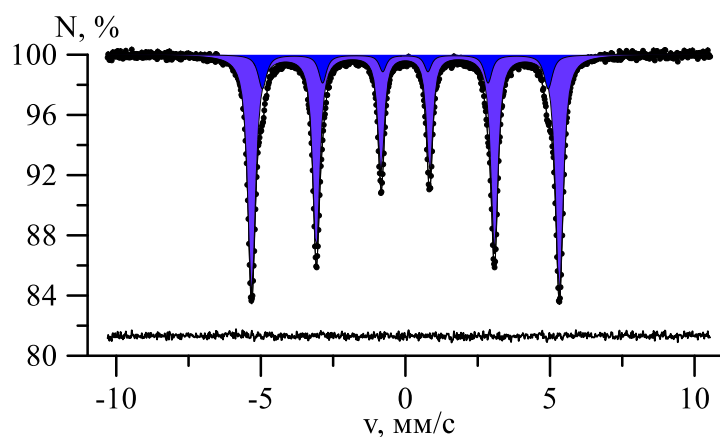


Рис. 7. Мессбауэровский спектр контрольного образца исходной металлической проволоки.

Таблица 1. Параметры спектра контрольного образца

Парц. спектр	δ , мм/с	ϵ , мм/с	H , кЭ	I , %
S1	0.000 ± 0.001	0.000 ± 0.001	330.1 ± 0.1	86.2 ± 0.4
S2	-0.003 ± 0.002	-0.001 ± 0.002	306.5 ± 0.2	13.8 ± 0.4

секстетов в мессбауэровском спектре различной относительной интенсивности можно объяснить различным ближайшим окружением атомов железа в структуре данного сплава. Для S1 в ближайшем окружении атома железа отсутствуют атомы примеси, и поэтому его параметры близки к параметрам спектра для α -Fe. Для секстета S2 в ближайшем окружении атома железа находится один атом примеси. Вероятность такого события определяется с помощью биномиального распределения. Используя значение относительной интенсивности I_2 и биномиальное распределение, можно оценить концентрацию примесных атомов в сплаве. Для данного случая она составила приблизительно $2.0 \pm 0.1\%$. Таким образом, химическая формула сплава может быть записана в общем случае, как $\text{Fe}_{0.98}\square_{0.02}$.

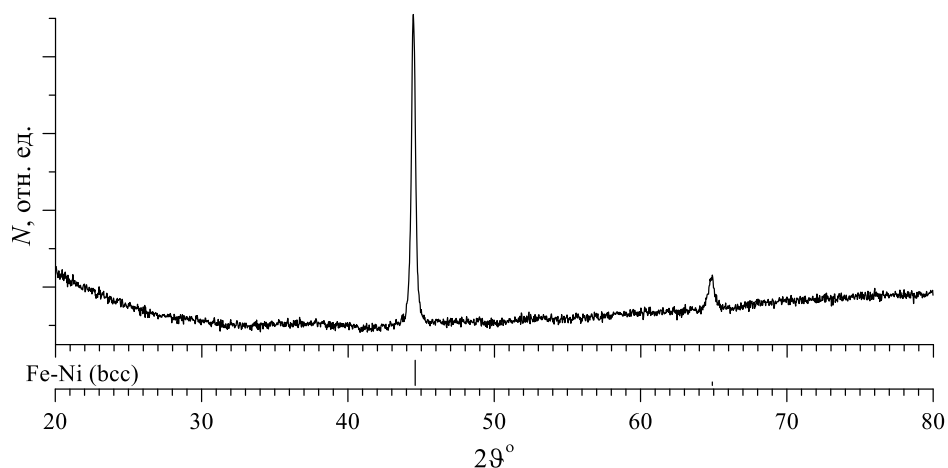


Рис. 8. Дифрактограмма контрольного образца металлической проволоки.

Для идентификации химического состава был проведен рентгенофазовый анализ исходного образца металлической проволоки (рис. 8). Анализ дифрактограммы показал наличие α -Fe и Ni в образце, кроме того рассчитан параметр решетки $a = 2,8814 \pm 0,0044 \text{ \AA}$.

Таким образом, исследуемая металлическая проволока представляет собой сплав $\text{Fe}_{0.98}\text{Ni}_{0.02}$, степень окисления атомов железа в этом сплаве равна нулю. Это дает возможность использовать проволоку для роста железooksисляющих бактерий.

3.2 Изучение биогенных трансформаций металлической проволоки в результате роста накопительной культуры

С целью изучения совместного роста бактерий *Ectothiorodospira sp.*, *Geotkalibacter sp.* и *Natronincola sp.* (накопительная культура) были проведены мессбауэровские исследования минералов, полученных при добавлении исходной металлической проволоки в минеральную среду этих бактерий. Данная минеральная среда содержит (г/л): NaCl (1.0); Na_2CO_3 (3.0); NaHCO_3 (10.0); KH_2PO_4 (0.2); $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.1); KCl (0.2); NH_4Cl (0.5). В результате биотрансформации образца, как и в случае *G. ferrihydriticus*, в минеральную среду бактерий выпал осадок бурого цвета в твердой фазе. Для обработки

мессбауэровского спектра опытного образца проволоки N3 (рис. 9а), полученного при комнатной температуре, была использована модель, состоящая

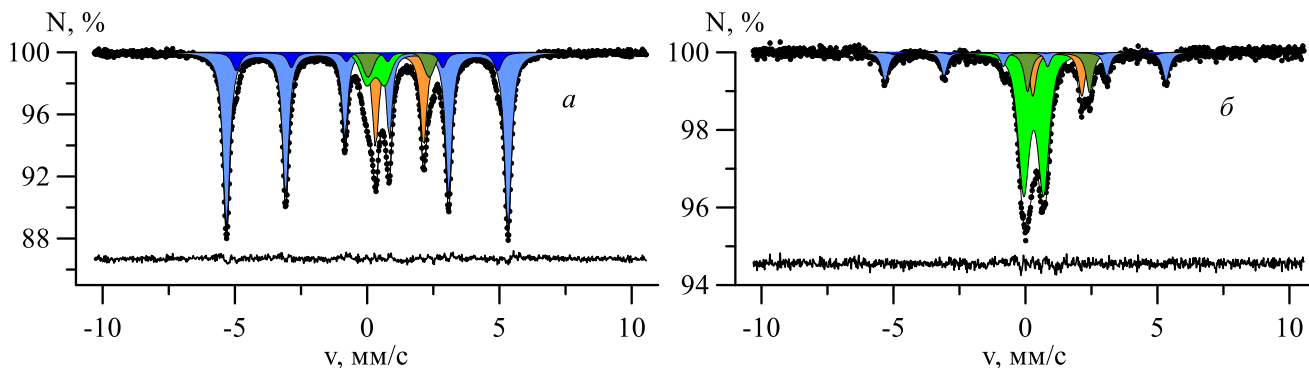


Рис. 9. Мессбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в структуре контрольного образца (а), образца, полученного в результате роста накопительной культуры (б)

из двух зеемановских секстетов S1 и S2, как и в контрольном образце, и трех квадрупольных дублетов D1-D3. Параметры дублетов D1 и D2 (на рисунке отмечены разными оттенками зеленого) можно отнести к двух- и трехвалентным атомам железа в структуре оксигидроксикарбоната, а параметры D3 (на рисунке отмечен рыжим) – к двухвалентным атомам железа в структуре сидерита. Обработка спектра образца осадка N4 (рис. 9б) проводилась в рамках модели, состоящей из одного секстета S1 ($\alpha\text{-Fe}$) и трех квадрупольных дублетов D1-D3, параметры которых соответствуют атомам железа в тех же соединениях, что и в спектре образца N3. Параметры спектров представлены в Таблице 4 и Таблице 5.

Таблица 4. Параметры спектра опытного образца

Парц. спектр	δ , мм/с	ε , мм/с	I ,%
D1	1.19 ± 0.01	1.156 ± 0.015	5.1 ± 0.5
D2	0.32 ± 0.01	0.34 ± 0.01	7.99 ± 0.13
D3	1.23 ± 0.02	0.907 ± 0.001	15.5 ± 0.5

Таблица 5. Параметры спектра образца осадка

Парц. спектр	δ , мм/с	ε , мм/с	I , %
D1	1.26±0.02	1.176±0.002	11.6±1.0
D2	0.31±0.01	0.38±0.01	57.1±0.9
D3	1.21±0.02	0.93±0.01	12.3±1.2

Таким образом, было установлено, что рост бактерий накопительной культуры приводит к образованию зеленой ржавчины и, в отличие от случая *G. ferrihydriticus*, в образце металлической проволоки наблюдается образование сидерита. Анализ спектра образца осадка показал, что в этом случае также происходит формирование зеленой ржавчины и сидерита. Кроме того, окисление исходных атомов железа Fe(0), входящих в состав металлической проволоки, до атомов Fe²⁺ и Fe³⁺ подтверждает способность бактерий накопительной культуры: *Ectothiorodospira sp.*, *Geokalibacter sp.*, *Natronincola sp.* к окислению атомов железа.

3.3 Изучение биогенных трансформаций металлической проволоки в результате роста бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus*

Для изучения минералов, полученных в результате роста бактерии *G. ferrihydriticus* исходный образец металлической проволоки был добавлен в анаэробную минеральную среду алкалофильной диссимиляторной бактерии *G. ferrihydriticus* [7] (штамм Z-0531). Данная минеральная среда содержит (г/л): NaCl (1.0); Na₂CO₃ (3.0); NaHCO₃ (10.0); KH₂PO₄ (0.2); MgCl₂*6H₂O (0.1); KCl (0.2); NH₄Cl (0.5). Биогенная трансформация образца привела к тому, что в минеральную среду бактерии выпал осадок бурого цвета в твердой фазе. Мессбауэровские исследования опытных образцов (N1 – образец трансформированной металлической проволоки, полученной в результате роста бактерии, и N2 – образец отделившегося осадка) проводились при комнатной температуре (рис. 10а и 10б).

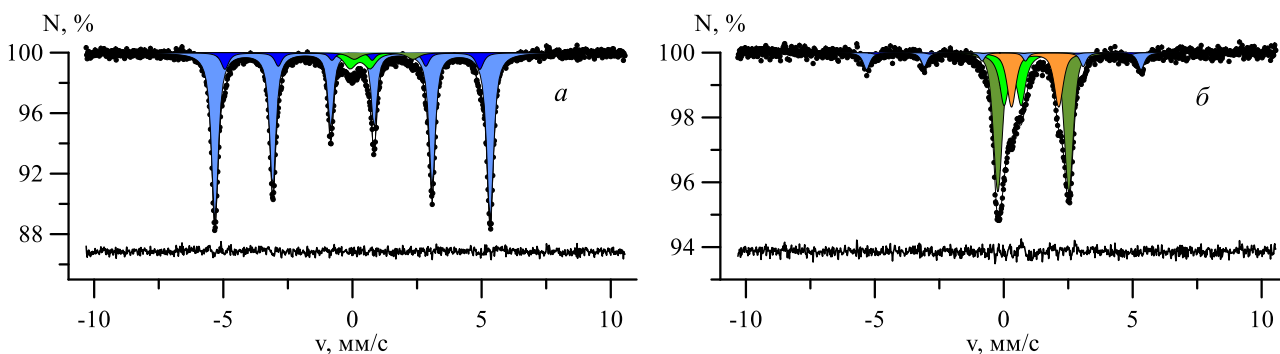


Рис. 10. Мессбауэровские спектры опытного образца, полученного в результате роста *G. Ferrihydriticus* в присутствии металлической проволоки (а) и образца осадка (б).

Для обработки мессбауэровского спектра опытного образца N1 была использована модель, состоящая из двух зеемановских секстетов S1 и S2. Интерпретация данных парциальных спектров аналогична той, что использовалась в случае спектра контрольного образца. Для улучшения качества обработки спектра в модель были добавлены два квадрупольных дублета D1 и D2 (на рисунке отмечены разными оттенками зеленого). Параметры D1 соответствуют двухвалентным атомам железа, а параметры D2 соответствуют трехвалентным атомам железа. Согласно данным литературы, подобные значения параметров дублетов можно отнести к атомам железа в структуре оксигидрооксикарбоната (рис. 11) [24].

Обработка спектра образца N2 проводилась в рамках модели, состоящей из секстета S1, параметры которого соответствуют атомам железа в структуре α -Fe, и трех дублетов D1-D3. Параметры D1 и D2 соответствуют атомам железа в тех же соединениях, что и в спектре образца N1, а параметры дополнительного дублета D3 (на рисунке отмечен рыжим) соответствуют двухвалентным атомам железа в структуре сидерита. Таким образом, анализ спектра образца N2 показал, что помимо формирования зеленой ржавчины, наблюдается образование сидерита. Параметры спектров представлены в Таблице 2 и Таблице 3.

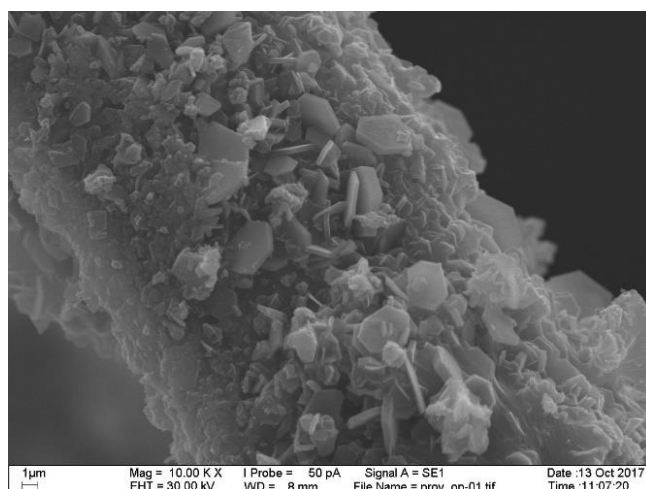


Рис. 11. Сформированные фазы оксигидрокарбоната железа на поверхности опытного образца трансформированной проволоки, СЭМ. Снимок предоставлен с.н.с. Заварзиной Д.Г.

Таблица 2. Параметры спектра опытного образца

Парц. спектр	δ , мм/с	ε , мм/с	I , %
D1	1.21 ± 0.04	1.139 ± 0.034	2.8 ± 0.5
D2	0.295 ± 0.014	0.389 ± 0.016	6.1 ± 0.5

Таблица 3. Параметры спектра образца осадка

Парц. спектр	δ , мм/с	ε , мм/с	I , %
D1	1.147 ± 0.002	1.376 ± 0.002	47.8 ± 1.0
D2	0.345 ± 0.006	0.335 ± 0.005	20.0 ± 0.5
D3	1.217 ± 0.004	0.916 ± 0.005	20.0 ± 1.0

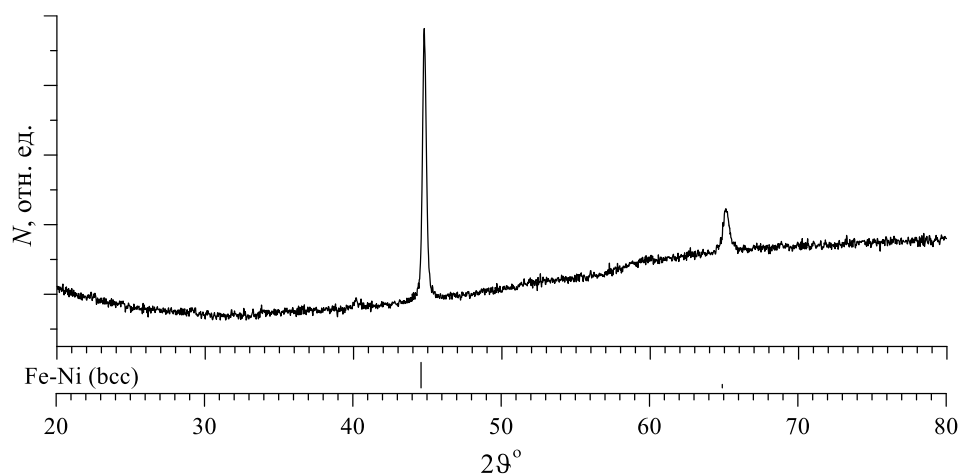


Рис. 12. Дифрактограмма опытного образца трансформированной металлической проволоки.

Для идентификации химического состава был проведен рентгенофазовый анализ опытного образца трансформированной металлической проволоки (рис. 12). Обработка полученной дифрактограммы выявила наличие α -Fe и Ni в образце. Однако анализ дифрактограммы показал изменение параметра решетки, который для данного образца составил $a = 2,8625 \pm 0,0043 \text{ \AA}$, что обусловлено биотрансформацией исходной металлической проволоки.

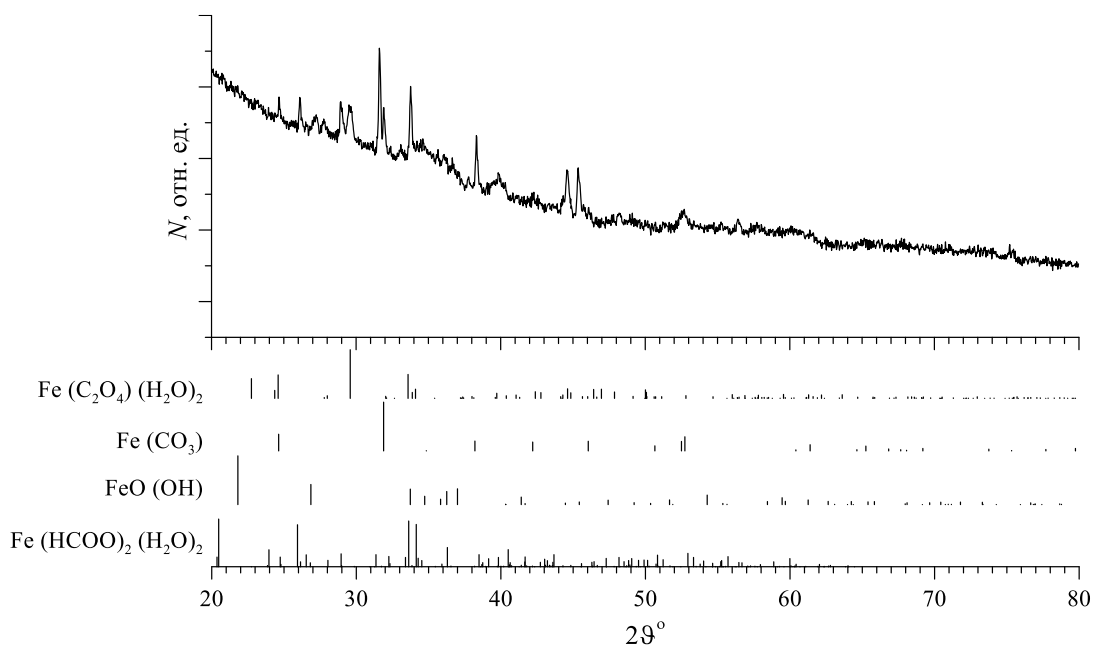


Рис. 13. Дифрактограмма опытного образца отделившегося осадка.

Анализ дифрактограммы образца отделившегося осадка (рис. 13) показал наличие сидерита ($\text{Fe}(\text{CO}_3)$) и трех минералов: $\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Fe}(\text{HCOO})_2(\text{H}_2\text{O})_2$, $\text{FeO}(\text{OH})$. В совокупности химический состав этих минералов можно отнести к химическому составу оксигидроксикарбоната железа (зеленой ржавчины). Данные рентгенофазового анализа хорошо коррелируют с данными, полученными с помощью мессбауэровской спектроскопии.

Таким образом, в результате биотрансформации металлической проволоки бактерией *G. ferrihydriticus* происходит преобразование металлической проволоки с формированием окси-гидроксикарбоната железа, в то время, как отделившейся осадок представляет собой смесь минералов оксигидроксикарбоната железа и сидерита.

Однако в любом случае, в бескислородных условиях бактерия играет разрушающую роль в случае металлической проволоки. Окисление исходных атомов железа $\text{Fe}(0)$, входящих в состав металлической проволоки, до атомов Fe^{2+} и Fe^{3+} подтверждает способность бактерии *G. ferrihydriticus* к окислению атомов железа.

ВЫВОДЫ

Проведены мессбауэровские исследования с привлечением методов рентгенофазового анализа образцов, представляющих собой трансформированную часть металлической проволоки и отделившийся осадок, полученных в результате роста бактерии *Geokalibacter ferrihydriticus* и накопительной культуры (*Ectothiorodospira sp.*, *Geokalibacter sp.*, *Natronincola sp.*) в анаэробных средах, содержащих образец металлической проволоки. В результате проведенных исследований установлено:

1. Исследуемая металлическая проволока представляет собой сплав $Fe_{0.98}Ni_{0.02}$ степень окисления атомов железа в котором равна нулю, что позволяет использовать проволоку для роста железоокисляющих бактерий.

2. Подтверждена способность бактерии *G. ferrihydriticus* и накопительной культуры (*Ectothiorodospira sp.*, *Geokalibacter sp.*, *Natronincola sp.*) к окислению атомов железа.

3. В результате роста как бактерии *G. ferrihydriticus*, так и накопительной культуры (*Ectothiorodospira sp.*, *Geokalibacter sp.*, *Natronincola sp.*) наблюдается процесс окисления исходных атомов железа $Fe(0)$, входящих в состав металлической проволоки, до атомов Fe^{2+} и Fe^{3+} , входящих в состав оксигидрокарбоната железа и/или сидерита.

4. В образце металлической проволоки, трансформированной бактерией *G. ferrihydriticus*, наблюдается образование окси-гидрооксикарбоната железа, в то время, как отделившейся осадок представляет собой смесь минералов окси-гидрооксикарбоната железа и сидерита.

5. В случае роста накопительной культуры в образце трансформированной проволоки помимо образования окси-гидрооксикарбоната железа наблюдается формирование сидерита. Отделившейся осадок является смесью минералов окси-гидрооксикарбоната железа и сидерита.

6. Относительное содержание частей исходной проволоки в осадке в результате роста накопительной культуры ($19\pm 1\%$) несколько больше, чем в случае *G. ferrihydriticus* ($12\pm 1\%$).

7. Суммарное относительное содержание двухвалентных атомов железа в осадке больше в случае роста *G. ferrihydriticus* ($68\pm 1\%$), чем в случае накопительной культуры ($24\pm 1\%$).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Lovley D.R., Holmes D.E., Nevin K.P. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) Reduction – 2004. – 49. – P. 219.
2. Byrne J. M. et al. Size dependent microbial oxidation and reduction of magnetite nano- and micro-particles //Scientific reports. – 2016. – Т. 6. – С. 30969.
3. Заварзина Д. Г. Железоредукторы содовых озер—реликты «железного века» //Природа. – 2013. – №. 9. – С. 59-67.
4. Konhauser K. O. et al. Could bacteria have formed the Precambrian banded iron formations //Geology. – 2002. – Т. 30. – №. 12. – С. 1079-1082.
5. Etique M. et al. Nitrate reduction by mixed iron (II-III) hydroxycarbonate green rust in the presence of phosphate anions: The key parameters influencing the ammonium selectivity //Water research. – 2014. – Т. 62. – С. 29-39.
6. Русаков В. С. Основы мессбауэровской спектроскопии. – 2011.
7. Lovley D. R. Dissimilatory Fe (III) and Mn (IV) reduction //Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 1991. – Т. 55. – №. 2. – С. 259-287.
8. Coker V. S. et al. Formation of magnetic minerals by non-magnetotactic prokaryotes //Magnetoreception and magnetosomes in bacteria. – Springer, Berlin, Heidelberg, 2006. – С. 275-300.
9. Pantke C. et al. Green rust formation during Fe (II) oxidation by the nitrate-reducing *Acidovorax* sp. strain BoFeN1 //Environmental science & technology. – 2012. – Т. 46. – №. 3. – С. 1439-1446.
10. Jiao Y., Newman D. K. The *pio* operon is essential for phototrophic Fe (II) oxidation in *Rhodospseudomonas palustris* TIE-1 //Journal of bacteriology. – 2007. – Т. 189. – №. 5. – С. 1765-1773.
11. Lovley D. R. et al. Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism //Nature. – 1987. – Т. 330. – №. 6145. – С. 252.

- 12.** Heidelberg J. F. et al. Genome sequence of the dissimilatory metal ion-reducing bacterium *Shewanella oneidensis* //Nature biotechnology. – 2002. – Т. 20. – №. 11. – С. 1118.
- 13.** Bond D. R. et al. Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments //Science. – 2002. – Т. 295. – №. 5554. – С. 483-485
- 14.** Заварзин Г. А., Колотилова Н. Н. Введение в природоведческую микробиологию. – М. : Книж. дом " Университет", 2001.
- 15.** Урусов В. С., Ерёмин Н. Н. Кристаллохимия. Краткий курс. Учебник. – 2010.
- 16.** Johnson C. E., Ridout M. S., Cranshaw T. E. The Mössbauer effect in iron alloys //Proceedings of the Physical Society. – 1963. – Т. 81. – №. 6. – С. 1079.
- 17.** Ristić M. et al. ⁵⁷Fe Mössbauer, XRD, FT-IR, FE SEM Analyses of Natural Goethite, Hematite and Siderite //Croatica Chemica Acta. – 2017. – Т. 90. – №. 3. – С. 499-507.
- 18.** Legrand L., Mazerolles L., Chaussé A. The oxidation of carbonate green rust into ferric phases: solid-state reaction or transformation via solution //Geochimica et Cosmochimica Acta. – 2004. – Т. 68. – №. 17. – С. 3497-3507.
- 19.** Génin J. M. R. et al. Structure and occurrences of « green rust » related new minerals of the « fougérite » group, trébeurdenite and mössbauerite, belonging to the « hydrotalcite » supergroup; how Mössbauer spectroscopy helps XRD //Hyperfine Interactions. – 2014. – Т. 226. – №. 1-3. – С. 459-482.
- 20.** Rusch B. et al. Ferrimagnetic properties in FeII–III (oxy) hydroxycarbonate green rusts //Solid State Sciences. – 2008. – Т. 10. – №. 1. – С. 40-49.
- 21.** Вертхейм Г. Эффект Мёссбауэра., перевод с английского А.М.Афанасьева, М.: Мир, 1966.

22. Matsnev M. E., Rusakov V. S. SpectrRelax: an application for Mössbauer spectra modeling and fitting //AIP Conference Proceedings. – AIP, 2012. – T. 1489. – №. 1. – C. 178-185.

23. Zavarzina D. G. et al. Oxidative biotransformation of biotite and glauconite by alkaliphilic anaerobes: the effect of Fe oxidation on the weathering of phyllosilicates //Chemical Geology. – 2016. – T. 439. – C. 98-109.

24. Génin J. M. R. et al. Structure and occurrences of « green rust » related new minerals of the « fougérite » group, trébeurdenite and mössbauerite, belonging to the « hydrotalcite » supergroup; how Mössbauer spectroscopy helps XRD //Hyperfine Interactions. – 2014. – T. 226. – №. 1-3. – C. 459-482.

В заключении хочу выразить искреннюю благодарность своему научному руководителю кандидату физико-математических наук, доценту кафедры общей физики Наталии Игоревне Чистяковой за постановку интересной задачи, помощь и руководство, а также отзывчивость и понимание в течение всего периода моей работы в лаборатории.

Выражаю глубокую благодарность доктору физико-математических наук профессору Вячеславу Серафимовичу Русакову за помощь, ценные замечания и поддержку в процессе подготовки курсовых и дипломной работ в возглавляемой им научной группе.

Благодарю своего рецензента, доктора физико-математических наук, профессор кафедры физики твердого тела Аллу Андреевну Новакову за конструктивную критику и рекомендации к работе.

Хочу выразить признательность аспиранту кафедры общей физики, ведущему инженеру Ангелине Владимировне Антоновой за консультации и помощь при снятии и обработке мессбауэровских спектров, своевременные и полезные советы к научной работе и теплое отношение на всех этапах подготовки. Отдельно хочу поблагодарить м.н.с. Ярославцева Сергея Андреевича за помощь в возникающих вопросах и ценные замечания.

Благодарю сотрудников Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН: кандидата геологоминералогических наук Дарью Георгиевну Заварзину и доктора биологических наук Татьяну Николаевну Жилину за предоставленные образцы и их снимки, а также научные консультации. Хочу выразить отдельную благодарность доктору физико-математических наук, доценту кафедры физики твердого тела Татьяне Юрьевне Киселевой за помощь в проведении рентгеновских дифракционных измерений и обработке полученных дифрактограмм, в том числе в нерабочее время.