

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

ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра Общей физики

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

**МЁССБАУЭРОВСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ
БИОГЕННОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ АТОМОВ ЖЕЛЕЗА
В СТРУКТУРЕ ПРИРОДНОГО ГЛАУКОНИТА**

Выполнила студентка
405 группы
Пчелина Диана Игоревна

подпись студента

Научный руководитель
Кандидат ф.-м. наук доцент
Чистякова Наталия Игоревна

подпись научного руководителя

Допущена к защите «___» _____ 2016 г.
Зав. кафедрой общей физики
проф. Салецкий Александр Михайлович

подпись зав. кафедрой

Москва
2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА I. БИОГЕННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ МИНЕРАЛОВ ЖЕЛЕЗА (ПО ДАННЫМ ЛИТЕРАТУРЫ)	
§1.1 Диссимиляторные железоредуцирующие бактерии.....	5
§1.2 Особенности структуры природного глауконита.....	7
ГЛАВА II. МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА	
§2.1 Объекты исследования.....	11
§2.2 Мёссбауэровская спектроскопия, основные параметры мёссбауэровского спектра.....	14
§2.3 Мёссбауэровский спектрометр	18
ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ	
§3.1 Кинетика процессов бактериального преобразования глауконита.....	20
§3.2 Мёссбауэровские исследования процессов биогенного преобразования глауконита бактерией <i>Carboxidocella therrautotrophica</i>	22
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ	30
ЛИТЕРАТУРА	31

ВВЕДЕНИЕ

Повсеместное распространение микроорганизмов было открыто учеными еще в 17 веке и послужило огромным стимулом для исследований процессов влияния их деятельности на окружающий мир. Без многих процессов, осуществляемых микроорганизмами, невозможно было бы существование жизни на Земле, так как именно они создали живую оболочку Земли и до сих пор участвуют в круговороте веществ в природе. Проблемы брожения и гниения, изменения органических и неорганических веществ, причины самозарождения организмов и проблемы возникновения инфекционных болезней волнуют умы ученых по сей день [1].

Постоянно в научном мире происходят открытия новых микроорганизмов, различающихся по форме, размерам и свойствам. Особый интерес представляют железовосстанавливающие бактерии или железоредукторы [2]. Благодаря их участию в анаэробном разложении органического материала, происходит образование минералов в глубочайших слоях почв. Природа образованных минералов зависит от условия роста бактерий. Железоредукторы играют важную роль как потенциальные агенты для переработки синтез-газа с целью получения высокоочищенного водорода. Также бактерии этого класса являются источниками монооксида углерода в гидротермах, являющиеся аналогами древних биоценозов. Одним из представителей этой группы является бактерия *Carboxydocella thermautotrophica*.

Изучение микробиологического синтеза веществ последние годы остается одним из приоритетных научных направлений, приобретающее в последнее время особое значение в связи с интенсивными исследованиями возобновляемых источников энергии, получения информации о строении вещества и более детального исследования бактериального преобразования природных минералов.

Одним из методов, позволяющих получать информацию о формировании новых минералов является мёссбауэровская спектроскопия, которая дает возможность исследовать сверхтонкие взаимодействия, и поэтому широко используется в ядерной физике и физике твердого тела. Данный метод достаточно чувствителен к изменениям в энергии порядка 10^{-8} эВ, которые могут обеспечить уникальную информацию о ядерных и электронных поведениях атомов в материале, а также именно он обладает рекордной относительной разрешающей способностью по энергии порядка до 10^{-22} эВ. Мёссбауэровская спектроскопия значительно содействует пониманию кристаллической химии железных силикатов и распознаванию железосодержащихся фаз в неизвестных смесях, включающие силикаты, такие как осадочные породы, почвы и угольные отложения.

Настоящая работа посвящена исследованию методами мёссбауэровской спектроскопии процесса бактериального синтеза, осуществляемого термофильной карбоксидобактерией *Carboxydocella thermautotrophica*, способной преобразовывать оксиды и гидроксиды железа.

ГЛАВА I.

§1.1 Диссимиляторные железоредуцирующие бактерии

В природе постоянно осуществляется два противоположных процесса: синтез из минеральных веществ сложных органических соединений и, наоборот, разложение органических соединений до минеральных. Единство этих противоположных процессов лежит в основе биологической роли микроорганизмов в круговороте веществ в природе [3].

Экологически обособленную группу в природе представляют железоредуцирующие микроорганизмы. Диссимиляторные железовосстанавливающие микроорганизмы были открыты в конце 1980-х и сразу же вызвали огромный интерес у ученых разных профилей. В последствие, железовосстанавливающие бактерии были названы железоредукторами [2].

Группа железоредуцирующих бактерий имеет ряд биохимических и физиологических особенностей, касающихся энергетического метаболизма. Как известно, микроорганизмы черпают энергию, необходимую для поддержания их жизнедеятельности и роста за счет окислительно-восстановительных реакций органических и неорганических веществ [4]. Диссимиляционное восстановление Fe^{3+} доминирует в окислении органического вещества.

Важность биохимического восстановления Fe^{3+} в анаэробных пресноводных и морских системах были показаны в работах Лавли [5,6]. Он показал, что Fe^{3+} восстановление функционирует как завершающая ступень в анаэробной деградации материи. Процессы восстановления атомов железа бактериями используются для получения энергии и синтеза АТФ. Бактерии окисляют органические субстраты, используя Fe^{3+} в качестве акцептора электронов. При этом осуществляется восстановление оксидов и гидроксидов железа, а также его растворимых форм. Процессы микробного

восстановления Fe^{3+} сопряжены с биогеохимическими циклами углерода, кислорода, серы и др.[7].

Огромное количество бактерий участвует в анаэробном разложении органического материала, что сопровождается образованием минералов в глубочайших слоях почв. Природа образованных минералов зависит от условия роста бактерий.

В работе исследовался процесс восстановления и преобразования синтезированного глауконита, подвергнутого воздействию бактерией из рода *Carboxydocella*.

На данный момент род *Carboxydocella* находятся в стадии описания. Ближайший описанный родственник - *Carboxydocella manganica*. Описанный род *Carboxydocella* представлен тремя видами: *Carboxydocella thermotrophica*, *Carboxydocella sporoproducens*, *Carboxydocella ferrireducens*. Виды *Carboxydocella* представлены палочковидными клетками разной длины. Представители рода *Carboxydocella* - строгие анаэробы, умеренные термофилы, нейтрофилы. Все представители рода *Carboxydocella* выделены из горячих источников на Камчатке. Виды *Carboxydocella* хемолитотрофно растут на 100% СО в газовой фазе, образуя CO_2 и водород [8]

§1.2 Особенности структуры глауконита

Железо – один из самых распространенных элементов земной коры, лидирующий в способности к магнитным свойствам, выполняет функцию энергетического центра в окислительно-восстановительных реакциях в окружающем нас мире. Биогенный цикл железа совмещает в себе энзиматические и биотические опосредованные реакции [9,10]. Диссимиляторное восстановление Fe^{3+} сопряжено с биогеохимическими циклами углерода, кислорода, серы, причем процессы его восстановления в донных отложениях пресноводных и морских экосистем доминирует в окислении как органических, так и неорганических веществ. При определенных условиях процесс микробной железоредукции сопровождается образованием минералов [11].

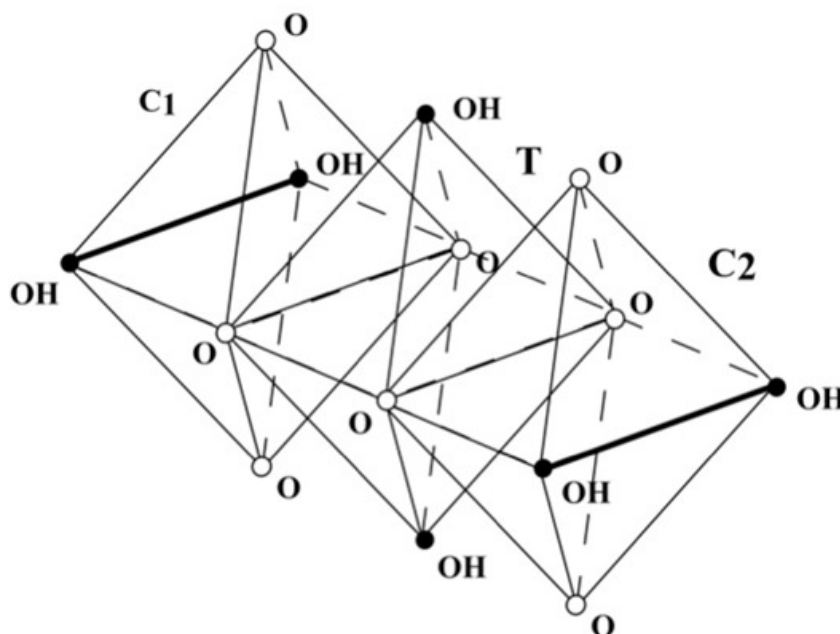
В настоящей работе исследовались процессы биогенного восстановления и преобразования синтезированного глауконита. Глауконит – железосодержащая слюда, являющаяся наиболее распространенным осадком силиката железа. Этот минерал формируется в процессе накопления морских отложений в тех местах, где количество обломочных отложений незначительно или отсутствует. Характерными условиями для образования глауконита являются низкие температуры и сильно окисленные окружающие среды. Китайскими учеными были проведены исследования по изучению влияния различных факторов среды на процесс формирования глауконита в Китайском Восточном и Желтом морях [12]. Все измерения проходили по средствам мёссбауэровской спектроскопии. В ходе эксперимента было выявлено, что относительное содержание атомов железа в породе из Желтого моря увеличиваются в структуре SiO_2 и уменьшаются в структуре Al_2O_3 . Напротив, в изучении пород из Восточного моря была выявлена другая закономерность: содержание атомов железа и магния уменьшается в структуре SiO_2 , а в структуре Al_2O_3 соответственно увеличивается. Это происходит благодаря высокому содержанию железа и магния, и маленькому

содержанию силикона. Эти изменения указывают на различное формирование глауконита в соответствующих морях, подвергшимся различным процессам, зависящим от наличия различных веществ в окружающей среде.

Глауконит – глинистый минерал переменного состава с высоким содержанием двух- и трехвалентного железа, кальция, магния и т.д. Все вышеперечисленные элементы находятся в легко извлекаемой форме сменных катионов, благодаря чему глауконит обладает высокими сорбционными и катионообменными свойствами [13]. В тоже время для него характерен низкий процент десорбции, то есть удаления из жидкости или твердых тел веществ, поглощенных при адсорбции и абсорбции. Также для глауконита свойственна кристаллизация в моноклинной сингонии. Минерал обладает значительной способностью к поглощению воды и катионному обмену. С трудом плавится, образуя пузыристую шлаковидную массу, а после черное стекло.

В природе глауконит встречается в виде отдельных изометричных зернышек - мелких кристалликов гексагональных очертаний. Глауконит образует мономинеральные землистые агрегаты, прожилки и прослойки. Размер частиц измеряется от 0,03 до 0,65 мм. Типичный глауконит принадлежит к моноклинным кристаллическим структурам с $C2/m$ пространственной группой. Глауконит определяется как диоктаэдрическая слюда с тетраэдрическим Al (или Fe^{3+}). Октаэдрическая сетка образована октаэдрами, связанными боковыми ребрами (Рис.1). В каждом октаэдре четыре вершины, представленные атомами кислорода, являются общими с вершинами примыкающих сверху и снизу тетраэдров, тогда как две другие заняты ОН-группами. В зависимости от взаимного расположения ОН-групп различают транс- и цис-октаэдры. В транс-октаэдрах ОН-группы занимают вершины, связанные телесной диагональю. В цис-октаэдрах пара ОН-групп расположена в вершинах, образованных общими боковыми ребрами. Из-за электростатического отталкивания катионов октаэдрические сетки, как

правило, искажены. Характер этих искажений зависит от способа распределения октаэдрических катионов по доступным транс- и цис-позициям. Каждый тетраэдр имеет три общие вершины со смежными тетраэдрами, а четвертой вершиной связан с октаэдрической сеткой [13].



Октаэдрическая сетка.
C₁ и C₂ соответствуют цис-позициям, T - транс позиции.
Рис.1. Кристаллическая решетка глауконита.

По мнению [11], обнаружение атомов Fe²⁺ обуславливается высокими значениями изомерного сдвига и квадрупольного расщепления. Напротив, атомы Fe³⁺ имеют меньшие значения изомерного сдвига и значительно меньшие значения квадрупольного расщепления по сравнению с атомами Fe²⁺. Из-за деформаций, катионы железа Fe³⁺ в цис- и транс- позициях имеют различные значения квадрупольного расщепления. Катионы железа Fe²⁺ занимают предпочтительно цис-конфигурацию.

По своей природной структуре глауконит представляет собой минерал зеленоватого цвета различных оттенков: от почти бесцветного сероватого до светлозеленого и темнозеленого, оливкового-зеленого и буровато-зеленого, иногда темно-зеленого, почти черного [14]. Блеск матовый до жирного в

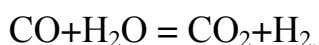
плотных разностях. Твердость: 2-3, плотность варьируется от 2,2 – 2,9 г/см³, пористость 20-25%.

ГЛАВА II. МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

§2.1 Объекты исследования

В настоящей работе были исследованы минералы, полученные в результате роста и жизнедеятельности грамположительной термофильной бактерии *Carboxydocella thermautotrophica* – представителя новой обособленной группы клостридий, выделенной из горячих источников Долины гейзеров на Камчатке. Электронная микрофотография, полученная методом негативного контрастирования, представлена на рис.2.

Характерная особенность этой бактерии состоит в том, что она относится к карбоксидотрофам, живущим за счёт анаэробного окисления СО с образованием СО₂ и водорода в соответствии с реакцией:



Чаще всего в этой реакции может быть дополнительный акцептор электронов – Fe³⁺. *C. thermautotrophica* является литогетеротрофной бактерией, то есть нуждается в дополнительном источнике углерода для осуществления анаболических реакций, которым может быть ацетат (0.2 г/л), лактат (0.2 г/л) или дрожжевой экстракт (0.2 г/л). *C. thermautotrophica* растет на СО также и в присутствии трехвалентного железа в виде гидроморфного оксида, образуя СО₂ и Н₂. Во время роста происходит восстановление трехвалентного железа до двухвалентного, которое не нарушает заметно соотношение окисленного СО и образованного Н₂. *C. thermautotrophica* органотрофно растет на глюкозе, пирувате, глицерине, мальтозе, лактозе [8].

Кроме восстановления трехвалентного железа во время роста на СО, *C. thermautotrophica* способен восстанавливать тиосульфат водородом в присутствии дрожжевого экстракта.

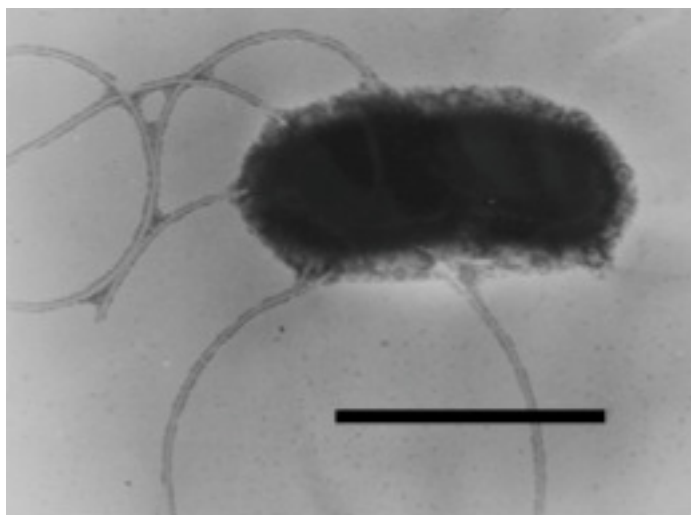


Рис.2. Морфология *C. thermautotrophica*. Шкала 1 мкм.

Длина клеток этой палочковидной бактерии варьируется от 1,0 до 6,0 мкм, а их диаметр от 0,5 до 0,6 мкм. *C. thermautotrophica* растет при температуре 26-70°C, при этом оптимальные условия её роста достигаются при температуре 55-58°C. Бактерия растет в среде с кислотностью pH 5.5-8.0, оптимальным является pH 6,5.

В течение роста и жизнедеятельности *Carboxydocella thermautotrophica* в лабораторных условиях было зафиксировано восстановление марганца Mn^{4+} , железа Fe^{3+} и нитратов с большим количеством органических кислот и сложными белковыми компонентами в исследуемой среде. Также известно, что бактерия восстанавливала Fe^{3+} в присутствии молекулярного водорода в качестве донора электронов. При этом CO_2 использовался бактерией в качестве акцептора электронов и источника углерода.

Образцы для исследования были получены в процессе роста бактерии *C. thermautotrophica*. Выращивание чистой и накопительной культуры бактерии вели на среде Пфеннига, имеющей следующий минеральный состав (г/л): NH_4Cl - 0,33; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ - 0,33; KCl - 0,33; KH_2PO_4 - 0,33. В качестве факторов роста добавляли 0,05 г/л дрожжевого экстракта и 1мл/л раствора витаминов по Волину (мг/л).

В качестве донора электронов в среду добавляли 1,5 г/л ацетата. В качестве акцептора электронов использовали синтезированный аморфный гидроксид Fe^{3+} [16].

В среду роста бактерии добавлялся глауконит. Исследуемый глауконит был выделен из керна породы в Эстонии (Табл.1). Время культивации варьировалось от 5,5 до 960 часов. Для минимизации контакта полученных образцов с атмосферой при вскрытии флаконов их содержимое центрифугировали при 5000 об/мин. Затем надосадочную жидкость сливали, а флаконы помещали в эксикатор с $CaCl_2$. В эксикаторе создавали вакуумное пространство вакуумным насосом и заполняли его азотом N_2 в газообразном состоянии. Образцы сушили в вакууме в термостате при $37^{\circ}C$. Высушенные таким образом осадки не теряли своих первоначальных свойств и не подвергались окислению [16].

SiO_2	Al_2O_3	FeO	Fe_2O_3	MnO	MgO	CaO	Na_2O	K_2O	TiO_2	P_2O_5	PF
50.9	7.9	5.1	16.2	0.01	3.6	0.6	<0.01	8.3	0.1	0.05	7.2

Табл.1. Элементный состав структуры исследуемого глауконита.

Кроме того, контрольным образцом являлся глауконит после его взаимодействия со средой роста бактерии в отсутствие микроорганизма. Подготовка образцов для проведения мессбауэровских исследований продуктов метаболизма бактерий заключалась в следующем: образцы растирались в яшмовой ступке под слоем этилового спирта. После испарения спирта образцы представляли собой однородный порошок. Толщина образцов выбиралась таким образом, чтобы, с одной стороны, величина видимого эффекта была достаточной для успешного проведения мессбауэровских измерений, а с другой – чтобы на экспериментальный мессбауэровский спектр практически не влиял так называемый «эффект насыщения». Для проведения измерений порошок помещался в специальные плексигласовые бюксы.

§2.2 Мёссбауэровская спектроскопия, параметры мёссбауэровского спектра

В настоящей работе изучались процессы восстановления и преобразования синтезированного глауконита, подвергнутого воздействию анаэробных диссимилияторных бактерий методами мёссбауэровской спектроскопии.

Мёссбауэровская спектроскопия – эффективный метод исследования локальных атомной, электронной и магнитной структур вещества, находящегося в твердом агрегатном состоянии.

Мёссбауэровская спектроскопия дает информацию о состоянии атома в веществе, и для нее оказывается продуктивным представлением о локальной неоднородности. Под локальной неоднородностью будем понимать изменение от позиции к позиции состояния и свойств атомов одного сорта. Очевидно, что понятие локальной неоднородности связано со свойствами атома в той или иной позиции, которые определяются его характеристиками [17]:

– топологические характеристики (характеристики пространственного расположения окружающих позицию атомов) - элементы точечной (локальной) симметрии, расстояния и углы связей между атомами, координационные числа, радиусы координационных сфер, углы сочленения полиэдров и т.д.;

- композиционные (химические) характеристики окружения - число и расположение различного сорта атомов окружения по позициям;

- физические характеристики окружения (параметры характеризуют состояние и взаимодействие атомов окружения) - электронная конфигурация, спин, орбитальный и магнитный моменты и т.д.

Каждому типу локальной неоднородности сверхтонких взаимодействий соответствует свой параметр сверхтонкого взаимодействия, так называемый сверхтонкий параметр мёссбауэровского спектра; электрическому монополю – сдвиг мёссбауэровской линии δ ;

электрическому квадрупольному – константа квадрупольного взаимодействия e^2qQ и параметр асимметрии η (или квадрупольное смещение компонент спектра ε); магнитному дипольному – сверхтонкое магнитное поле в области расположения ядра H_n .

Основными параметрами мёссбауэровского спектра являются изомерный сдвиг, квадрупольное смещение, эффективное магнитное поле, ширина спектральной линии.

Изомерный сдвиг мёссбауэровской линии

Сдвиг мёссбауэровской линии δ представляет собой сумму изомерного (химического) δ_I и температурного δ_T сдвигов:

$$\delta = \delta_I + \delta_T$$

Параметр δ позволяет идентифицировать валентное состояние атомов, получать информацию как о фазовом составе исследуемого вещества, так и об особенностях электронной и кристаллической структуры исследуемых соединений.

Квадрупольное смещение компонент спектра

Квадрупольное смещение компонент сверхтонкой структуры спектра ε возникает при нахождении ядра в неоднородном электрическом поле, которое частично снимает вырождение ядерного уровня по магнитному квантовому числу m_j .

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

eQ - квадрупольный момент ядра, характеризующий пространственное распределение заряда в ядре;

eq - главная компонента тензора градиента электрического поля G ;

η - параметр асимметрии тензора;

e^2qQ – константа квадрупольного взаимодействия;

Квадрупольное смещение компонент спектра ε чувствительно к топологической и композиционной локальным неоднородностям, причем область чувствительности в случае квадрупольного электрического взаимодействия заметно больше, чем в случае монопольного электрического взаимодействия. Этот параметр дает полезную информацию как о симметрии ближайшего окружения мёссбауэровских ядер (атомов), так и об электронной конфигурации и валентности атомов. Таким образом, квадрупольное смещение отражает особенности как электронной, так и кристаллической структуры вещества.

Сверхтонкое (эффективное) магнитное поле

В общем случае эффективное сверхтонкое магнитное поле H_n в области расположения ядра состоит из нескольких вкладов, соответствующих различным механизмам сверхтонких магнитных взаимодействий. Данные о поле H_n в магнито-упорядоченных системах дают информацию о локальных особенностях атомной, магнитной и электрической структурах исследуемого вещества.

Основными вкладами в поле H_n являются следующие микроскопические вклады:

H_{Fermi} – поле, обусловленное контактным взаимодействием Ферми с локализованными на ядре s-электронами остова собственного атома.

H_S – поле, создаваемое результирующим спином s электронов своей электронной обложки.

H_L – поле, создаваемое суммарным орбитальным моментом L электронов, принадлежащих мёссбауэровскому атому.

H_{CE} – поле, обусловленное контактным взаимодействием ядра с электронами проводимости.

Также существуют макроскопические вклады, которые учитывают роль магнитных моментов ионов, окружающих мёссбауэровский атом, и внешнее поле:

H_{dip} - поле, обусловленное диполь-дипольным взаимодействием ядра с локализованными магнитными моментами окружающих атомов.

H_{Lor} – поле Лоренца – поле, создаваемое непрерывной безграничной намагниченной средой внутри макроскопической полой сферой.

H_{dem} - размагничивающее поле, обусловленное пространственной ограниченностью образца.

H_0 - внешнее магнитное поле.

Сумму последних трех вкладов называют макроскопическим внутренним полем или локальным полем.

$$H_n = H_{\text{Fermi}} + H_L + H_S + H_{\text{CE}} + H_{\text{dip}} + H_{\text{Lor}} + H_{\text{dem}} + H_0$$

Данные о сверхтонком (эффективном) магнитном поле H_n в магнитоупорядоченных системах могут дать информацию о локальных особенностях атомной, магнитной и электрической структурах исследуемого вещества.

Ширина линии

Для ядер с относительно большим временем жизни τ в возбужденном состоянии естественная ширина линии Γ_τ , определяемая соотношением

$$\Gamma_\tau = h/2\pi\tau,$$

оказывается чрезвычайно малой по сравнению с энергией γ -перехода E_0 . Благодаря этому обстоятельству в эффекте Мёссбауэра достигается разрешающая способность, недоступная для других методов исследования ($10^{-16} \div 10^{-10}$). В свою очередь, это обеспечивает уникальные условия для наблюдения ничтожно малых смещений спектральной линии и изменений ее сверхтонкой структуры.

§2.3 Мёссбауэровский спектрометр

Мёссбауэровский спектр представляет собой зависимость интенсивности счета импульсов (числа электрических импульсов N_i , сформированных в течение строго заданного интервала времени) от доплеровской скорости v_i (i – номер канала) движения источника относительно поглотителя N_i .

Измерения мёссбауэровских спектров образцов проводятся на спектрометре. Спектрометр работает в геометрии поглощения в режиме постоянных ускорений в достаточно широком диапазоне: от температуры кипения жидкого гелия 4,8 К до комнатной температуры 300 К. На Рис.3 представлена функциональная схема мёссбауэровского спектрометра.

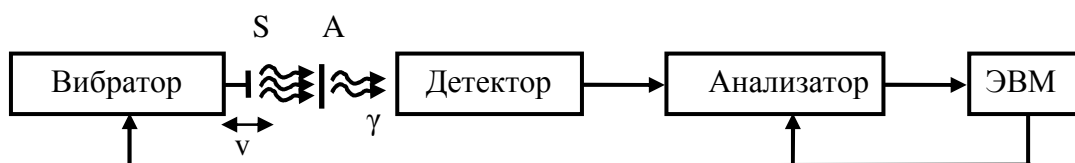


Рис.3. Функциональная схема спектрометра

Здесь **S** – источник γ -квантов мёссбауэровского перехода (мёссбауэровский источник), **A** – поглотитель (в геометрии рассеяния – рассеиватель), как правило исследуемый образец.

Исследуемый образец, содержащий материнские ядра, может выступать в качестве источника. В этом случае поглотитель – эталонный образец.

Составные части мёссбауэровского спектрометра и их функции:

- вибратор обеспечивает заданную форму временной зависимости доплеровской скорости движения источника относительно поглотителя (обратная связь с ЭВМ);

- детектор фиксирует акты резонансного поглощения (рассеяния, испускания) γ -квантов или испускания электронов конверсии (вторичных рентгеновских квантов) и формирует электрические импульсов;

- модулятор приводит в движение плексигласовую бюксу

-анализатор обеспечивает дискриминацию, сортировку и накопление электрических импульсов, то есть регистрирует акты поглощения γ -квантов, сформированные спектром.

-ЭВМ осуществляет сбор информации и управление электронными блоками мессбауэровского спектрометра.

Регистрация производится такими устройствами, как сцинтиляционным, полупроводниковым, резонансным детекторами или же газовыми пропорциональными счетчиками [18].

В результате регистрации формируется временная последовательность электрических импульсов, соответствующих различным доплеровским скоростям в соответствии с законом изменения скорости движения источника относительно поглотителя.

Измерения мессбауэровских спектров проводились на спектрометре МС-1101Э в геометрии поглощения в режиме постоянных ускорений с треугольной формой временной зависимости доплеровской скорости движения поглотителя относительно источника при комнатной температуре. В качестве источника γ -квантов использовался мессбауэровский источник был ^{57}Co в матрице Rh, калибровка проводилась с помощью эталонного образца $\alpha\text{-Fe}$. [19]

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

§3.1 Кинетика процессов бактериального преобразования глауконита

Были проведены исследования образцов, полученных в результате восстановления природного глауконита бактерией *Carboxydocella thermautotrophica* для различных времен культивации. Информация о полученных образцах представлена в Табл. 2. Для каждого образца было измерено содержание двухвалентных атомов железа в растворе. Кроме того измерялась концентрация бактериальных клеток в среде роста микроорганизма. В качестве контрольного образца был взят глауконит после его взаимодействия с минеральной средой роста бактериальной культуры.

Табл. 2. Информация об исследуемых образцах

Информация об исследуемых образцах				
Время, ч.	Fe(II), мМ	Клетки, *10(6)/мл	СО мМ	H ₂ мМ
0.00	0.50±0.19	0.5±0.05	216.97±17.84	1.62±0.16
5.50	0.29±0.03	8.0±0.80	178.37±19.37	14.69±1.47
22.50	0.49±0.22	51.0±5.10	176.91±20.97	53.58±5.36
53.50	1.24±0.32	215.0±21.50	4.03±0.40	170.51±12.93
78.00	1.11±0.26	345.0±34.50	3.32±0.33	228.62±22.67
121.50	2.11±0.64	378.0±37.80	0.00	288.94±28.89
166.00	2.02±0.60	133.7±40.10	0.00	269.40±25.44
200.00	2.30±0.69	0.00	0.00	257.00±25.44

После начала активного роста *C. thermautotrophica* на первом этапе, длившемся около 50 часов, наблюдалось окисление СО и выделение H₂. В этот период не было зафиксировано существенных изменений концентрации

закисного железа (Табл. 2, рис. 5.). Через 50 часов после начала эксперимента бактерией *C. therrnautotrophica* наблюдалось полное окисление CO и двукратное увеличение концентрации экстрагируемого из глауконита закисного железа (рис. 4.). После 120 часов инкубации клетки *C. therrnautotrophica* начали лизироваться, а концентрация закисного железа более существенно не менялась.

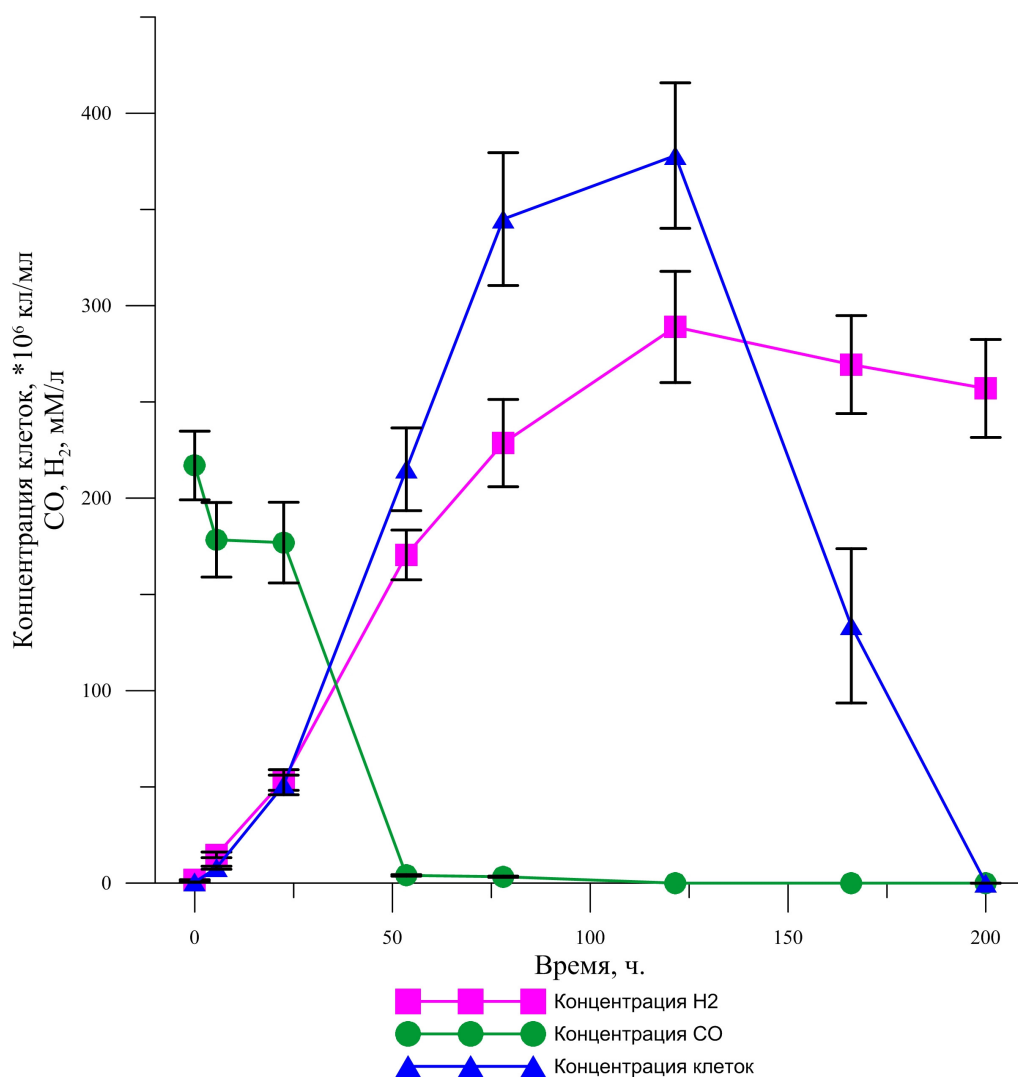


Рис. 4. Зависимость концентрации бактериальных клеток, водорода и монооксида углерода в среде роста микроорганизма в течение времени культивации бактерии *C. therrnautotrophica*.

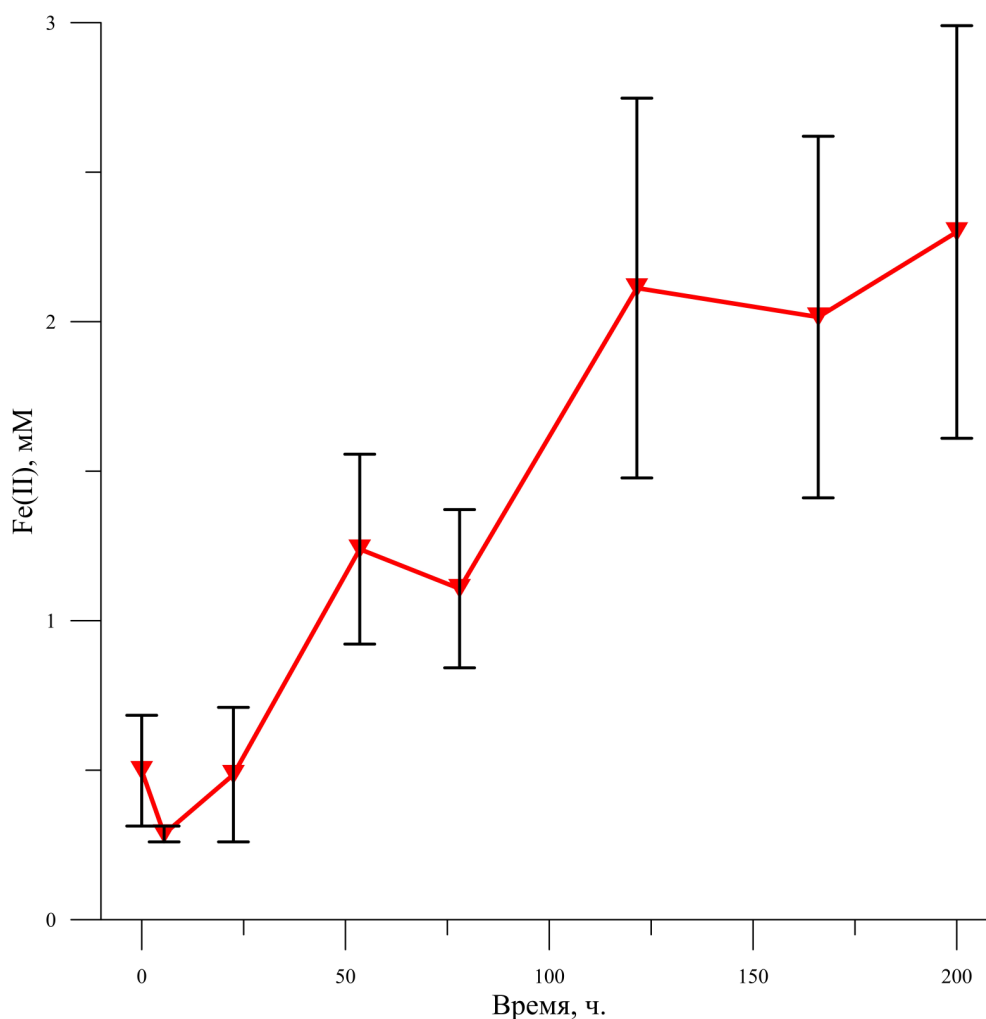


Рис.5. Зависимость концентрации двухвалентных атомов железа в среде роста микроорганизма в течение времени культивации бактерии *C. thermautotrophica*.

§3.2 Мёссбауэровские исследования процессов биогенного преобразования глауконита бактерией *Carboxidocella thermautotrophica*.

Мёссбауэровские исследования проводились при комнатной температуре. Мёссбауэровские спектры были измерены для двух разных диапазонов скоростей. Спектры, измеренные в более широком интервале скоростей, показаны на рис. 6. Полученные спектры представляют собой суперпозицию квадрупольных дублетов. Анализ спектров показал, что в процессе роста бактерии не наблюдалось формирование магнитоупорядоченной фазы (отсутствуют секстеты). В связи с этим были проведены измерения спектров при комнатной температуре в более узком диапазоне скоростей.

На рис. 7 и рис. 8 представлены мёссбауэровские спектры образцов, измеренных в более узком диапазоне скоростей (-3.9÷+4.1 мм/с). Поскольку в структуре глауконита атомы железа могут занимать четыре неэквивалентные позиции – транс- и цис-позиции (определяемые положением ОН-группы) для

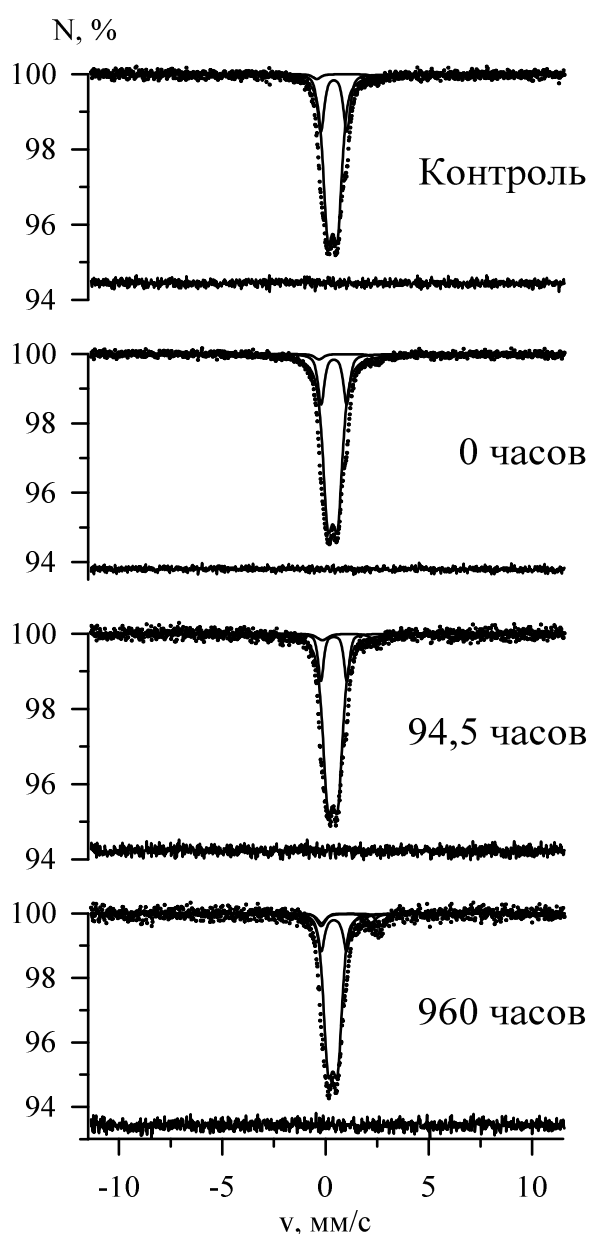


Рис. 6. Мёссбауэровские спектры исходного глауконита (контрольный образец), образцов, полученных в результате роста бактерии *S. thermotrophica* на глауконите, измеренные в широком диапазоне скоростей.

ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} , для обработки спектров использовалась модель, представляющая собой суперпозицию четырех квадрупольных дублетов. В работе [20] были проведены исследования исходного глауконита, измеренные для двух различных углов между направлением пролета γ -квантов и нормали к плоскости образца. Было показано, что образец является слабо текстурированным. Поэтому при обработке спектров исходного образца и образцов, полученных при росте бактерии, считалось, что отношение интенсивностей спектральных линий в дублете равно единице.

Для модельной расшифровки мёссбауэровских спектров была использована модель, представляющая собой суперпозицию четырех парциальных спектров: четырёх квадрупольных дублетов с одинаковыми ширинами спектральных линий, соответствующих атомам Fe^{3+} и Fe^{2+} .

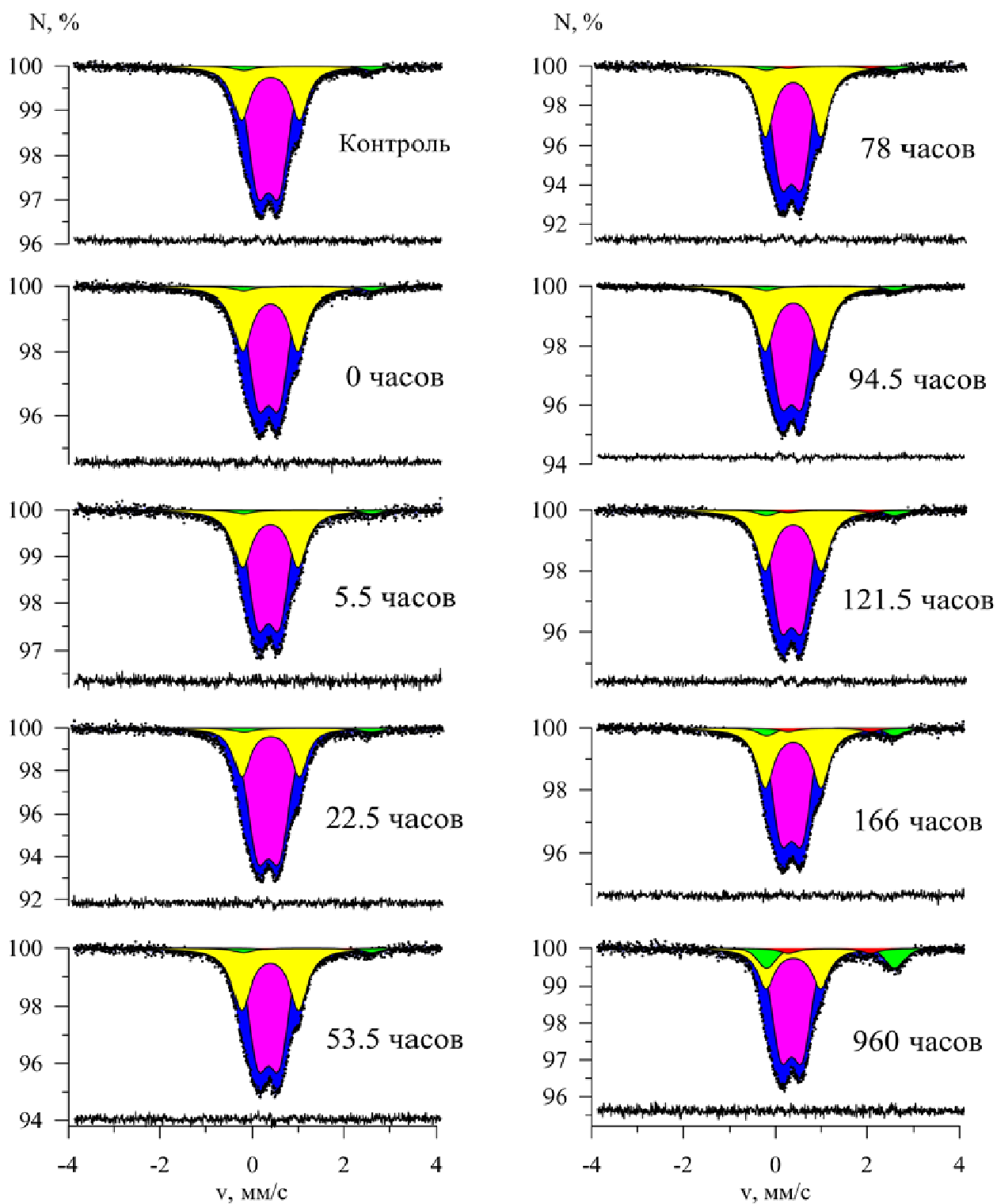


Рис. 7 и 8. Мёссбауэровские спектры исходного глауконита (контрольный образец) и образцов, полученных в результате роста бактерии *S. thermotrophica* на глауконите, измеренные в узком диапазоне скоростей.

На рис. 9 и рис. 10 показаны зависимости сдвига мёссбауэровской линии и квадрупольного смещения парциальных спектров образцов, полученных для различных времен культивирования бактерии. Как видно на рисунках, параметры парциальных спектров практически не меняются, что свидетельствует о корректной обработке спектров.

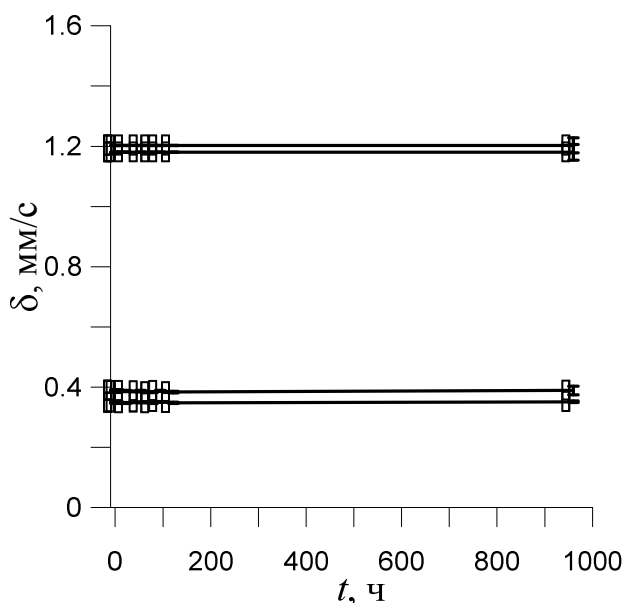


Рис. 9. Зависимость сдвига мёссбауэровской линии парциальных спектров образцов, полученных для различных времен культивирования бактерии *C. thermautotrophica*.

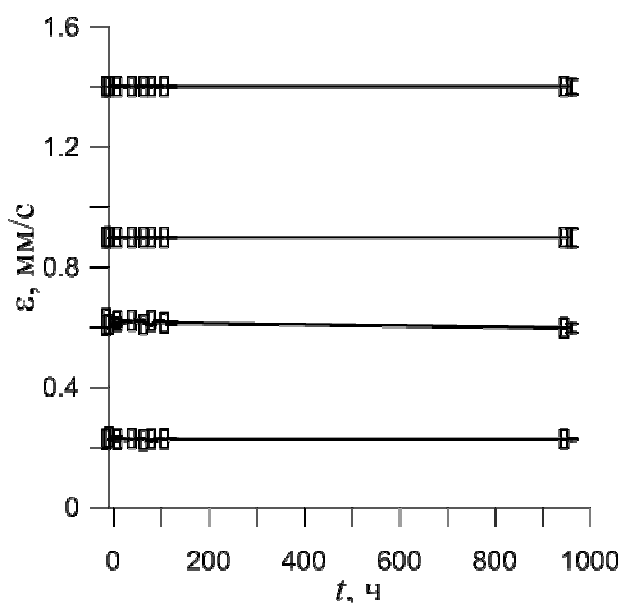


Рис. 10. Зависимость квадрупольного смещения парциальных спектров образцов, полученных для различных времен культивирования бактерии *C. thermautotrophica*.

На рис. 11 представлена зависимость ширины спектральной линии дублетов от времени культивирования бактерии. Ширина линии мёссбауэровского спектра отражает степень упорядоченности кристаллической решетки железосодержащих минералов: чем она уже, тем более упорядочена структура минерала. Ширина спектральной линии практически не меняется до $t = 78$ час времени инкубации, при $t = 78$ час наблюдается резкое уменьшение (скачок) ширины линии.

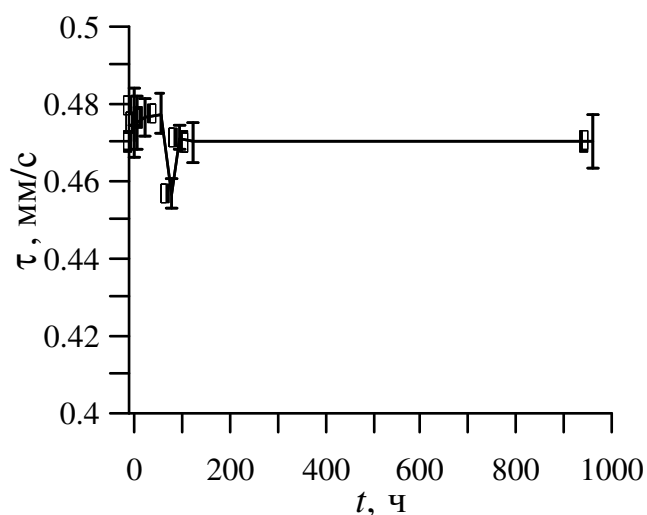


Рис. 11. Зависимость ширины спектральных линий от времени культивирования бактерии *C. thermautotrophica*.

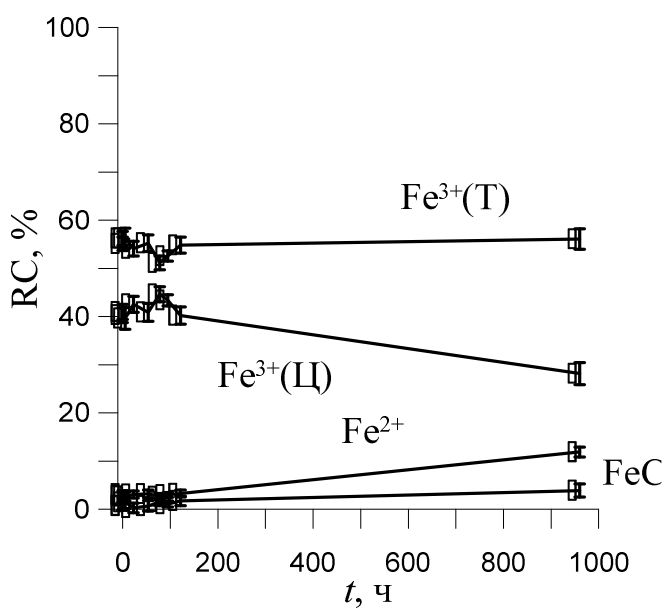


Рис. 13. Зависимости относительных интенсивностей парциальных спектров образцов, полученных для различных времен культивирования бактерии *C. thermautotrophica*

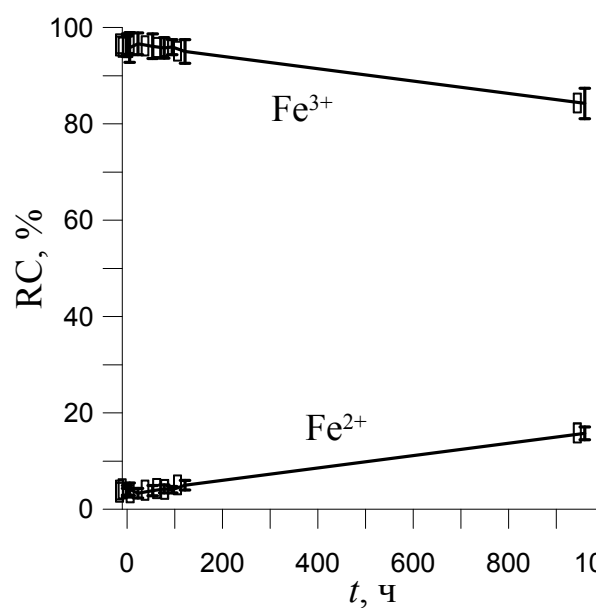


Рис. 14. Зависимости относительного содержания атомов образцов, полученных для различных времен культивирования бактерии *C. thermautotrophica*

На рис. 12 представлены спектры контрольного образца и образца глауконита после его взаимодействия с бактерией в течение 960 часов. Анализ спектров показывает, что в результате роста бактерии наблюдается формирование новой фазы, содержащей атомы Fe^{2+} в октаэдрическом окружении кислорода. Кристаллохимическая идентификация показала, что данная фаза является сидеритом $FeCO_3$, относительное содержание которой мало. Так, например, для образца, полученного в результате культивации бактерии в течение 960 ч., относительное содержание сидерита составило $RC = 3,9 \pm 1,3\%$. Кроме того, наблюдается также увеличение относительной интенсивности парциального спектра, относящегося к позициям атомов Fe^{2+} в структуре самого глауконита.

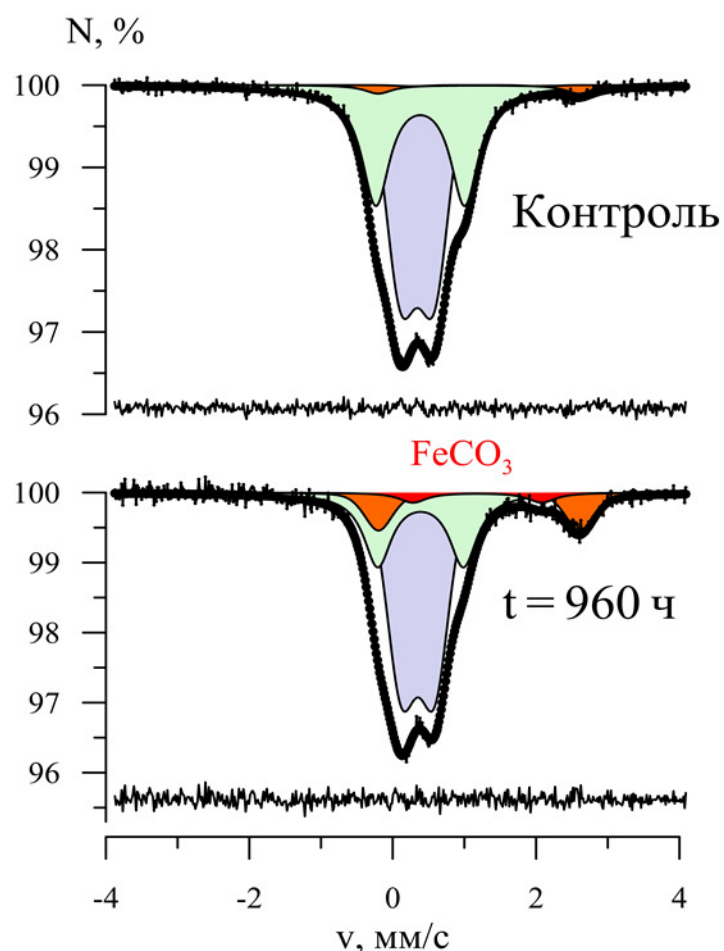


Рис. 12. Мёссбауэровские спектры исходного глауконита (контрольный образец) и образца, полученного в результате роста бактерии *S. thermotrophica* на глауконите в течение 960 часов.

Относительные интенсивности парциальных спектров образцов, полученных для различных времен культивирования бактерии, представлены на рис. 13. В предположении о равной вероятности эффекта Мёссбауэра для ядер ^{57}Fe в различных позициях исследуемых фаз, относительные интенсивности парциальных спектров можно считать равными относительному содержанию соответствующих фаз. На рис. 14 представлена зависимость суммарного относительного содержания двух- и трехвалентных атомов железа в образцах от времени культивирования бактерии. Видно, что, относительное содержание атомов Fe^{2+} и Fe^{3+} в образцах оставалось практически неизменным вплоть до времени культивирования $t = 78$ час.

С ростом времени культивирования относительное содержание атомов Fe^{2+} возрастает и уменьшается относительное содержание атомов Fe^{3+} . Возрастание относительного содержания атомов Fe^{2+} в образцах обусловлено не только увеличением относительного содержания сидерита, но также и возрастанием относительного содержания атомов Fe^{2+} в структуре самого глауконита. Предположительно, в процесс восстановления вовлечены атомы Fe^{3+} , находящиеся в цис-октаэдрах структуры глауконита.

В процессе роста бактерии *C. therrautotrophica* в присутствии глауконита и СО можно выделить 3 фазы. На первом этапе роста бактерия окисляла СО, что для нее является энергетически более выгодным, чем восстановление железа, входящего в кристаллическую решетку глауконита. На этом не наблюдались изменения в структуре глауконита по сравнению с абиогенным контролем. На втором этапе после полного использования СО клетки бактерии начали воздействовать на частицы глауконита, что привело к резкому уменьшению ширины спектральных линий мёссбауровских спектров. По-видимому, это скорее всего было обусловлено тем, что бактериальные клетки атаковали прежде всего атомы Fe^{3+} , расположенные на поверхности минерала. Поскольку эти атомы не имели идеального окружения, то их удаление из структуры могло способствовать упорядочению структуры глауконита, а значит, отразилось на уменьшении

ширины линии мессбауэровских спектров. Далее наблюдалось увеличение ширины линии, связанное с формированием новой кристаллической фазы – сидерита и увеличением относительного содержания атомов Fe^{2+} в кристаллической решетке глауконита. На третьем этапе, после прекращения роста *C. thermautotrophica* и лизиса клеток, происходило увеличение относительного содержания новообразованного сидерита. Этот этап соответствовал постбиогенному преобразованию глауконита.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

Впервые проведены мёссбауэровские исследования твердых фаз, полученных в результате роста бактерии *C. thermautotrophica* в среде, содержащей природный глауконит и СО. В результате проведённых исследований установлено следующее.

1. Процесс роста бактерии *C. thermautotrophica* разделяется на три этапа.
2. На первом этапе не наблюдаются изменения в структуре глауконита, что обусловлено ростом *C. thermautotrophica* за счет окисления СО.
3. На втором этапе роста после полного исчерпания СО бактерией, наблюдается формирование новой фазы, сидерита FeCO_3 , за счет процесса восстановления атомов Fe^{3+} в структуре природного глауконита
4. На третьем этапе происходит абиогенное увеличение относительного содержания сидерита.
5. На втором и третьем этапах роста бактерии с увеличением времени культивирования, в структуре глауконита возрастает относительное содержание атомов Fe^{2+} при уменьшении относительного содержания атомов Fe^{3+} в цис-октаэдрах его структуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология – М. издательство МГУ, 2004
2. Балашов В.В., Заварзин Г.А. – Анаэробное восстановление окисного железа водородной бактерией // Микробиология, 1979. Т. 48. Вып. 5. С. 773-778.
3. Биология наших дней – М.: Знание, 1987.
4. Жизнь растений: в 6-ти томах. — М.: Просвещение. Под редакцией А. Л. Тахтаджяна, главный редактор чл.-кор. АН СССР, проф. А.А. Федоров, 1974.
5. Lovley D.R., Stolz J.F., Nord G.L.Jr., Phillips E.J.P. Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism. Nature V. 330, pp. 252-254 (1987).
6. D R. Lovley – Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) Reduction. Microbiological Reviews, p. 159-287 (1991).
7. Шерышева Н.Г., Осипов Г.А. — Трансформация структуры микробного сообщества в восстановительном процессе в донных отложениях озера Серебрянка (Самарская лука) / Самарская Лука: Проблемы региональной и глобальной экологии, 2013
8. Соколова Т.Г. – Термофильные гидрогеногенные карбоксидотрофные прокариоты, 2008
9. Lovley D.R., Phillips E.J.P. – Organic matter mineralization with reduction of ferric iron in anaerobic sediments // Appl. Environ. Microbiol. 1986. V. 51. P. 683-6896.
10. Lovley D.R. – Magnetite formation during microbial dissimilatory iron reduction // Iron biominerals. - New York: Plenum press, 1990. P. 151-166.
11. Кузнецов С.И. – Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность. Л.: Наука, 1970. 440 с.

12. Abdelilah Musa Ali, Yuanfu Hsia, Rongchuan Liu, Jinrong Zhang, Weimin Duan, Lirong Chen. – A Mossbauer study of evolution of glauconite from chinese seas, Spectroscopy letters, 34(6), 701-708 (2001).
13. Дистанов У.Г. – Глаукониты / Природные сорбенты СССР. – М., 1990, с. 132-146.
14. Архипенко Д.К. – Проблемы определения реальной структуры глауконитов и родственных тонкодисперсных филлосиликатов. – ВО «Наука», 1993. – Т. 802.
15. Андронов С.А. – Глауконит – минерал будущего / С.А.Андронов, В.И.Быков // Мат. первой Международ. конф. "Значение промышленных минералов в мировой экономике: месторождения, технология, экономическая оценка". – М.: ГЕОС, 2006, с. 79-83.
16. Жилина Т.Н., Кевбрин В.В., Турова Т.П., Лысенко А.М., Кострикина Н.А., Заварзин Г.А. *Clostridium Alkalicellulosi* sp. nov. – облигатно алкалофильный целлюлозолитик из содового озера прибайкалья //Микробиология. – 2005 – Т.74. – №. 5. – С. 642.
17. Русаков В.С. — Основы мёссбауэровской спектроскопии. Учебное пособие. Физический факультет. 292с., 2011
18. Русаков В.С., Губайдулина Т.В. — Специальный физический практикум. Мёссбауэровская спектроскопия. Учебное пособие. Физический факультет. 83с., 2009
19. M. E. Matsnev and V. S. Rusakov, AIP Conf. Proc. 1489, 178 (2012).
20. Шапкин А.А., Чистякова Н.И., Русаков В.С., Жилина Т.Н., Заварзина Д.Г. – Мёссбауэровские исследования процесса бактериального восстановления железа в природных биотите и глауконите. Известия РАН. Серия физическая, том 77, № 6, с. 812-817, 2013

БЛАГОДАРНОСТИ

В заключение, хочу посвятить эту главу своему научному руководителю, преподавателям, коллегам и моей семье, которые помогли мне на протяжении всего процесса обучения на физическом факультете.

Прежде всего, я хотела бы выразить глубочайшую благодарность и признательность своему научному руководителю кандидату физико-математических наук, доценту Н.И.Чистяковой. Огромное спасибо за Вашу безграничную заботу, помощь, терпение, поддержку и внимательное отношение на всех этапах работы над дипломом и курсовыми работами, а также в течение всего моего обучения на физическом факультете. Спасибо за интересную предложенную тему исследований и безразмерный вклад в мое развитие.

Хочу поблагодарить доктора физико-математических наук, профессора В.С.Русакова за помощь и ценные советы в течение обучения в лаборатории.

Также хочу выразить благодарность кандидату геолого-минералогических наук Д.Г.Заварзину и кандидату биологических наук С.Н.Гаврилову за предоставленные образцы и обсуждение результатов.

Выражаю благодарность всем сотрудникам лаборатории «Мёссбауэровской спектроскопии локально неоднородных систем» кафедры Общей физики физического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова за дружелюбную атмосферу и поддержку в течение всего периода обучения.