

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Антонова Ангелина Владимировна

**МЕССБАУЭРОВСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МИНЕРАЛОВ
ЖЕЛЕЗА И СУРЬМЫ, ПРЕОБРАЗОВАННЫХ
АНАЭРОБНЫМИ ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫМИ
МИКРООРГАНИЗМАМИ**

01.04.07 – физика конденсированного состояния

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Москва – 2021

Работа выполнена на кафедре общей физики физического факультета
Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова

- Научный руководитель** — Чистякова Наталия Игоревна, кандидат физико-математических наук, доцент, МГУ имени М.В. Ломоносова, Физический факультет, кафедра общей физики, доцент.
- Официальные оппоненты** — Новакова Алла Андреевна, доктор физико-математических наук, профессор, МГУ имени М.В. Ломоносова, Физический факультет, кафедра физики твердого тела, профессор
- Камнев Александр Анатольевич, доктор химических наук, профессор, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, лаборатория биохимии, ведущий научный сотрудник
- Фролов Кирилл Владимирович, кандидат физико-математических наук, Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, заведующий сектором мессбауэровской спектроскопии.

Защита диссертации состоится «9» декабря 2021 г. в 17 ч. 00 мин. на заседании диссертационного совета МГУ.01.01 Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, МГУ, Физический факультет.

E-mail: laptin@polly.phys.msu.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/403795506/>

Автореферат разослан «__» ноября 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат физ.-мат. наук

Т.В. Лаптинская

Общая характеристика работы

Актуальность работы. Изучение преобразований минералов микроорганизмами вносит весомый вклад в фундаментальные знания об их жизнедеятельности и формировании минералов на Земле. Повсеместное и массовое отложение в Архее-Протерозое железистых кварцитов – осадочных руд, в которых сконцентрированы основные запасы железа и в образовании которых принимали активное участие микроорганизмы, позволяет говорить о ведущей роли биогеохимического цикла железа на протяжении существенной части истории Земли. Основными минералами железа, составляющими рудный парагенезис железистых кварцитов, являются магнетит (Fe_3O_4), гематит (Fe_2O_3) и сидерит (FeCO_3). Все эти минералы, наряду со слабокристаллическим минералом ферригидритом ($\text{Fe}^{3+}_{10}\text{O}_{14}(\text{OH})_2$), активно вовлечены в процессы хемосинтеза [1, 2, 3]. Способность к хемосинтезу – получению энергии за счет окислительно-восстановительных реакций с участием переменновалентных элементов, например, Fe и Sb, входящих в структуру минералов – является важнейшей метаболической особенностью некоторых микроорганизмов. Микроорганизмы, не способные развиваться в присутствии кислорода и выделенные из экстремальных экологических ниш, то есть местообитаний, с отличными от нормальных для дневной поверхности Земли параметрами T , pH и/или солености, называют экстремофильными анаэробами. Они хорошо адаптированы к условиям окружающей среды и широко распространены на Земле в наземных и морских гидротермах, соленых лагунах и озерах, кислых источниках, содовых озерах. В частности, к экстремофильным анаэробам относят термофилов, способных расти при температурах от 45 до 110–121°C [4], и алкалофилов, способных развиваться при высоких значениях pH ($\text{pH} > 8$) [5]. Изучение таких микроорганизмов позволит составить представление о биогенных процессах на древних материках и подтвердить или опровергнуть гипотезу о роли экстремофилов как центра возникновения наземной биоты [6, 7, 8]. К важным прикладным

аспектам, связанным со способностью экстремофильных микроорганизмов к биотрансформациям, относятся биоремедиационные технологии очистки окружающей среды [9], биоэнергетика [10] и способность замедлять процессы коррозии [11]. Часто в процессе биогенных преобразований образуются магнитные наночастицы [12, 13]. Полученные в результате биогенных трансформаций магнитные наноматериалы применяются в медицине, например, для целевой доставки лекарств, как контрастное вещество для магниторезонансной томографии [14].

Физические методы исследования играют важную роль для изучения биогеохимических процессов. Исследования физико-химических свойств исходных, подвергшихся биотрансформациям, и конечных минералов позволяют получить информацию о типе и кинетике преобразования. Такие методы как рентгеновская дифракция, рамановская спектроскопия, сканирующая электронная микроскопия, ядерное резонансное рассеяние вперед, электронный парамагнитный резонанс применяются для анализа минералов. Важным методом исследования минералов железа и сурьмы, полученных в результате биогенных трансформаций, является метод мёссбауэровской спектроскопии. Он позволяет получить информацию локального характера (структурное, валентное, зарядовое и спиновое состояния мёссбауэровских атомов). Метод мёссбауэровской спектроскопии дает возможность определить относительное содержание атомов железа или атомов сурьмы в различных фазах, что бывает необходимо в случае малого количества исследуемой фазы по отношению к общему количеству образца.

Целью работы являлось исследование процессов преобразования минералов, содержащих переменновалентные элементы (синтезированные ферригидрит, магнетит, природный гидротермальный сидерит и смешанновалентный (III/V) оксид сурьмы), подвергшихся воздействию следующих анаэробных экстремофильных микроорганизмов:

- алкалофильной бактерии *Geoalkalibacter ferrihydriticus*

- алкалофильной бактерии *Fuchsiella ferrireducens*
- синтрофной культуры алкалофильных бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus “Contubernalis alkalaceticum”*
- гипертермофильной археи *Pyrobaculum arsenaticum*

В соответствии с поставленной целью в работе решались следующие основные задачи.

1. Исследовать преобразования ферригидрита, магнетита, сидерита бактерией *Fuchsiella ferrireducens*. Зафиксировать образование и установить состав новых минеральных фаз, сформированных в результате биогенных преобразований.
2. Установить кинетику процессов преобразования синтезированного ферригидрита бактерией *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и синтрофной культурой бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus “Contubernalis alkalaceticum”*
3. Изучить преобразования гидротермального сидерита синтрофной культурой бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus “Contubernalis alkalaceticum”*
4. Установить влияние исходного количества магнетита на состав и относительное содержание сформированных железосодержащих фаз, полученных в результате преобразований этого минерала синтрофной культурой бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus “Contubernalis alkalaceticum”*.
5. Установить характерные особенности структуры и свойства сидерита, сформированного в процессе преобразования ферригидрита анаэробными экстремофильными бактериями.
6. Изучить преобразования смешанновалентного (III/V) оксида сурьмы под воздействием гипертермофильной археи *Pyrobaculum arsenaticum*.

Исследования проводилось методами мёссбауэровской спектроскопии на ядрах ^{57}Fe и ^{121}Sb с привлечением данных рентгенофазового анализа, ядерного резонансного рассеяния вперед, сканирующей электронной микроскопии, электронного парамагнитного резонанса и рамановской спектроскопии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Результаты преобразования ферригидрита, магнетита и сидерита анаэробной алкалофильной бактерией *Fuchsiella ferrireducens*.
2. Влияние времени инкубации на состав и относительное содержание железосодержащих фаз, сформированных в процессе преобразования синтезированного ферригидрита анаэробной алкалофильной бактерией *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и синтрофной культурой анаэробных алкалофильных бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus "Contubernalis alkalaceticum"*.
3. Результаты преобразования гидротермального сидерита синтрофной культурой анаэробных алкалофильных бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus "Contubernalis alkalaceticum"*.
4. Влияние исходного количества синтезированного магнетита и времени инкубации синтрофной культуры анаэробных алкалофильных бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus "Contubernalis alkalaceticum"* на состав и относительное содержание формирующихся минеральных фаз.
5. Результат сравнения сидеритов, сформированных в результате преобразования синтезированного ферригидрита анаэробными алкалофильными железоредуцирующими бактериями, с природными сидеритами гидротермального и осадочного происхождения.
6. Результат преобразования смешанновалентного (III/V) оксида сурьмы гипертермофильной археей *Pyrobaculum sp.* штамм 2319х2.

Научная новизна. Научная новизна работы определяется в первую очередь выбором ранее неизученных процессов биотрансформации минералов и объектов исследования – продуктов преобразования ферригидрита, магнетита, сидерита и оксида сурьмы новыми анаэробными экстремофильными микроорганизмами: *Fuchsiella ferrireducens*, *Geoalkalibacter ferrihydriticus*, *Candidatus "Contubernalis alkalaceticum"*, *Pyrobaculum arsenaticum*. Впервые для таких образцов проведены

мессбауэровские исследования. Предложена модель обработки измеренных ниже температуры блокировки мессбауэровских спектров образцов, представляющих смесь наночастиц магнетита и маггемита. Данная модель позволяет оценить трудноразличимое соотношение фаз магнетита и маггемита в образце.

В результате проведенных исследований впервые получен ряд важных результатов:

1. Зафиксировано образование и установлен состав новых минеральных фаз, сформированных в результате преобразования синтезированных ферригидрита, магнетита и природного гидротермального сидерита бактерией *Fuchsiella ferrireducens*.
2. Установлено влияние времени инкубации чистой культуры *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и синтрофной культуры *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus "Contubernalis alkalaceticum"* на состав и относительное содержание, сформированных железосодержащих минеральных фаз, полученных в результате преобразований синтезированного ферригидрита.
3. Зафиксировано образование и установлен состав новых минеральных фаз, сформированных в результате преобразования гидротермального сидерита синтрофной культурой бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus "Contubernalis alkalaceticum"*.
4. Установлено влияние исходного количества магнетита на состав и относительное содержание, сформированных железосодержащих минеральных фаз, полученных в результате преобразований этого минерала синтрофной культурой бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus "Contubernalis alkalaceticum"*.
5. Установлены характерные особенности структуры и свойств сидерита, сформированного в процессе преобразования синтезированного ферригидрита анаэробными экстремофильными бактериями.
6. Зафиксировано восстановление атомов сурьмы (V) в смешанновалентном (III/V) оксиде сурьмы под влиянием гипертермофильной археи *Pyrobaculum arsenaticum*.

Научная и практическая значимость. Полученные в работе данные о типе и кинетике биотрансформаций минералов железа анаэробными экстремофильными микроорганизмами дополняют информацию о механизмах биогеохимических трансформаций минералов, происходящих в естественных условиях донных отложений содовых озер, которые возможно являлись очагами первоначального формирования континентальных микробных сообществ Протерозоя. Результаты изучения продуктов преобразования минералов железа в результате роста микроорганизмов расширяют представления о возможных биогенных процессах, происходящих на Земле в Архее-Протерозое.

Полученные данные о формировании частиц магнетита позволяют предложить способ биогенного создания магнитных проводящих микро- и наночастиц, использующий различные экстремофильные микроорганизмы и их минеральные среды.

Установленный процесс восстановления токсичных оксидов сурьмы гипертермофильной археей *Pyrobaculum arsenaticum* открывает перспективы для дальнейшего изучения такого процесса и возможного применения его при разработке методов очистки почв и подземных вод.

Достоверность и обоснованность. Результаты, представленные в работе, были получены на современном оборудовании. Обработка и анализ мессбауэровских данных проводились с использованием современной программы SpectrRelax, которая в существенной степени расширяет возможности мессбауэровской спектроскопии. Достоверность и обоснованность представленных результатов обусловлена хорошей воспроизводимостью экспериментальных данных. Они хорошо согласуются с данными, полученными другими методами. Результаты, изложенные в диссертационной работе, многократно докладывались на всероссийских и международных конференциях и опубликованы в высокорейтинговых научных журналах.

Апробация работы. Основные результаты работы докладывались на 7 научных конференциях: XIV Международная конференция «Мессбауэровская спектроскопия и ее применения» (Казань, Россия, 2016); 2nd Mediterranean Conference on the Applications of the Mössbauer Effect MECAME 2016, (Cavtat, Croatia 2016); XXIV Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов – 2017" (Москва, Россия, 2017); International conference on the applications of the Mossbauer effect ICAME 2017 (Санкт Петербург, Россия, 2017); Mossbauer Spectroscopy in Materials Science (Prague, Czech Republic, 2018); XV Международная конференция «Мессбауэровская спектроскопия и ее применения» (Сочи, Россия, 2018); 5th Mediterranean Conference on the Applications of the Mossbauer Effect and 41st Workshop of the French speaking Group of Mossbauer Spectroscopy (Монпелье, Франция, 2019).

Публикации. Результаты работы опубликованы в 5 статьях в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, SCOPUS, RSCI, и в 12 тезисах докладов на конференциях.

Личный вклад. Автором совместно с научным руководителем сформулированы цель и задачи исследований. Все изложенные в диссертационной работе основные результаты исследований преобразованных и новообразованных минералов получены автором лично, либо при его непосредственном участии. Автор непосредственно участвовал в обсуждениях полученных данных, подготовке научных докладов и статей по результатам исследований.

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, списка публикаций автора по теме диссертационной работы, списка литературы из 255 наименований. Работа изложена на 154 страницах, включает 58 рисунков и 21 таблицу.

Краткое содержание работы

Во введении обоснована актуальность выбранной темы диссертационной работы, сформулированы цель и задачи работы, основные положения, выносимые на защиту, ее научная новизна и практическая значимость.

В первой главе приводится обзор литературы по теме диссертации. В ней проанализированы известные к настоящему моменту данные о преобразованиях минералов микроорганизмами. **В разделе 1.1** описаны механизмы биогенных преобразований минералов железа и наиболее изученные бактерии, относящиеся к родам *Geobacter* и *Shewanella*, участвующие в биотрансформации минералов железа. Кроме того, представлена информация, которая к настоящему времени носит характер отдельных сообщений, о преобразованиях минералов термофильными и алкалофильными микроорганизмами. Описан процесс межвидового переноса электронов, осуществляемый микроорганизмами в результате синтрофных взаимодействий. **Раздел 1.2** посвящен микроорганизмам, участвующим в трансформации минералов сурьмы. **В разделе 1.3** описаны физико-химические свойства и особенности структуры минералов, содержащих переменновалентные элементы Fe и Sb, активно вовлеченные в процессы хемосинтеза. В конце главы на основе проведенного анализа литературных данных сформулирована цель диссертационного исследования.

Вторая глава посвящена описанию способов получения исследуемых образцов и использованных методов исследования. **Раздел 2.1** содержит описание методик синтеза исходных минералов (**пункт 2.1.1**), краткую характеристику исследуемых микроорганизмов, а также описание условий эксперимента (**пункт 2.1.2**). **В разделе 2.2** перечислены использованные методы исследования. **В пункте 2.2.1** изложено описание метода мессбауэровской спектроскопии. Описание параметров мессбауэровского спектра (**пункт 2.2.1.1**), мессбауэровского спектрометра и дополнительного оборудования (**пункт 2.2.2.2**). **В пункте 2.2.2.3** описаны примененные методы обработки и анализа мессбауэровских спектров – восстановление

распределения сверхтонких параметров спектра и модельная расшифровка, в том числе с использованием статической модели Гамильтона, учитывающей сверхтонкое комбинированное (магнитное дипольное и электрическое квадрупольное) взаимодействие, модель многоуровневой магнитной релаксации. Кратко описаны другие методы исследования и использованное оборудование: ядерное резонансное рассеяние вперед (пункт 2.2.2), порошковая рентгеновская дифракция (пункт 2.2.3), рамановская спектроскопия (пункт 2.2.4), спектроскопия электронного магнитного резонанса (пункт 2.2.5).

В третьей главе представлены результаты исследований процессов преобразования минералов, содержащих переменновалентные элементы (синтезированные ферригидрит, магнетит, природный гидротермальный сидерит, смешанновалентный (III/V) оксид сурьмы), подвергшихся воздействию анаэробных экстремофильных микроорганизмов.

Раздел 3.1 посвящен исследованиям образца исходного синтезированного магнетита, который был получен для проведения экспериментов по биотрансформации. Методами рентгеновской дифракции и сканирующей электронной микроскопии оценен средний размер частиц $d = 17 \pm 3$ нм и параметр элементарной решетки $a = 8.356(5)$ Å. Анализ мессбауэровских спектров, измеренных при комнатной температуре, позволил оценить размер частиц исследуемого образца $d_1 = 19.3 \pm 0.7$ нм и $d_2 = 12.6 \pm 0.3$ нм в предположении двумодального распределения. Проведена оценка нестехиометрии магнетита и относительного содержания маггемита в образце. Предложена модель обработки измеренных ниже температуры блокировки мессбауэровских спектров образцов, представляющих смесь наночастиц магнетита и маггемита. Данная модель, учитывающая общее количество вакансий в структуре шпинели и метод соотношения интенсивностей, позволяет оценить трудноразличимое соотношение фаз магнетита и маггемита в образце.

В разделе 3.2 продемонстрировано применение модели обработки, описанной в разделе 3.1 на примере мессбауэровских спектров, измеренных при температуре $T = 4.2$ К в отсутствии и в присутствии внешнего магнитного поля $B = 6$ Т, приложенного перпендикулярно пролету γ -квантов, образцов, содержащих малые (менее 5 нм) частицы магнетита и маггемита. Анализ низкотемпературных мессбауэровских спектров позволил установить относительное содержание сформированных минеральных фаз, в том числе магнетита и маггемита в образцах, полученных в результате роста анаэробной алкалофильной бактерии *G. ferrihydriticus* на ферригидрите.

Раздел 3.3 посвящен исследованиям преобразований минералов железа *F. ferrireducens* в щелочных анаэробных условиях. В пункте 3.3.1 описаны результаты мессбауэровских исследований, проведенных при комнатной температуре и при $T = 82$ К, образцов, полученных в результате биотрансформаций ферригидрита (см. рисунок 1). Установлено, что бактерия *F. ferrireducens* способна, окисляя этанол, восстанавливать ионы Fe^{3+} в структуре ферригидрита. Вследствие этого процесса формируется сидерит и магнитоупорядоченная фаза. Сформировавшаяся магнитоупорядоченная фаза является смесью крупных (более 100 нм) и более мелких частиц гематита и маггемита.

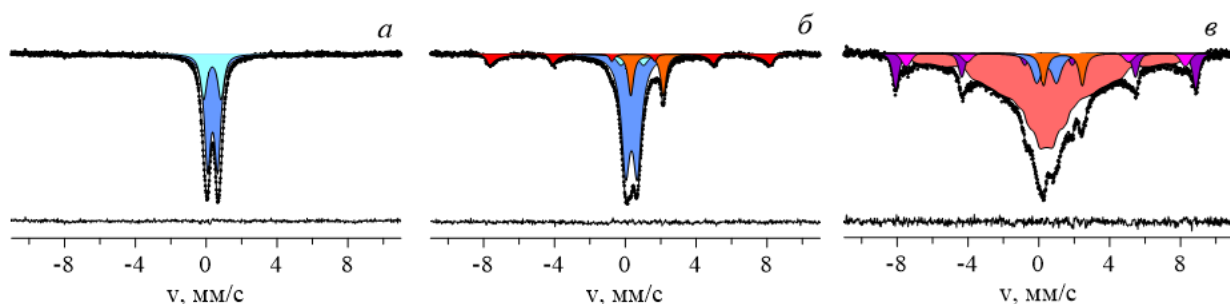


Рисунок 1. Мессбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в структуре минералов а) контрольного образца ферригидрита ($T = 295$ К), образца, полученного в результате роста бактерии *F. ferrireducens*, б) ($T = 295$ К), в) ($T = 82$ К).

Пункт 3.3.2 посвящен исследованиям способности бактерии *F. ferrireducens* трансформировать магнетит. Проведенные мессбауэровские исследования показали, что магнетит не трансформируется бактерией. Магнетит является стабильной фазой в условиях исследуемого эксперимента

(низкий Eh и высокий pH), и его превращение термодинамически не выгодно. В пункте 3.3.3 представлены результаты биогенной трансформации сидерита бактерией *F. ferrireducens*. Зафиксировано образование небольшого количества (3.4 ± 0.7 ат. % Fe) новой фазы, содержащей ионы Fe^{2+} .

Раздел 3.4 посвящен исследованиям синтрофного роста алкалофильных бактерий: *G. ferrihydriticus* и *C. "C. alkalaceticum"* в присутствии минералов железа и этанола. *C. "C. alkalaceticum"* – облигатно синтрофная бактерия, не способная расти в отсутствии партнера, осуществляющего окисление водорода, образующегося при ображивании этанола. Эту функцию в эксперименте осуществляла бактерия *G. ferrihydriticus*, способная к использованию водорода в качестве донора электронов, а синтезированный ферригидрит в качестве акцептора электронов. **Пункт 3.4.1** посвящен исследованиям кинетике преобразований ферригидрита исследуемыми бактериями. Мессбауэровские спектры контрольного абиогенного образца и опытных образцов, полученные на 5-й день и 34-й день инкубации бактерий, измеряли при комнатной температуре, при $T = 82 \text{ K}$ и 5.5 K . Анализ спектров исследуемых образцов позволил установить, что в течение 5 дней инкубации бактерий формируются небольшое количество фазы, содержащей ионы Fe^{2+} , и малые частицы (менее 10 нм) смеси магнетита и маггемита (S), относительное содержание которых к 56 дням инкубации бактерий уменьшается, при этом наблюдается формирование сидерита (D_2) и зеленой ржавчины (D_3, D_4, D_5) (см. рисунок 2, таблица 1).

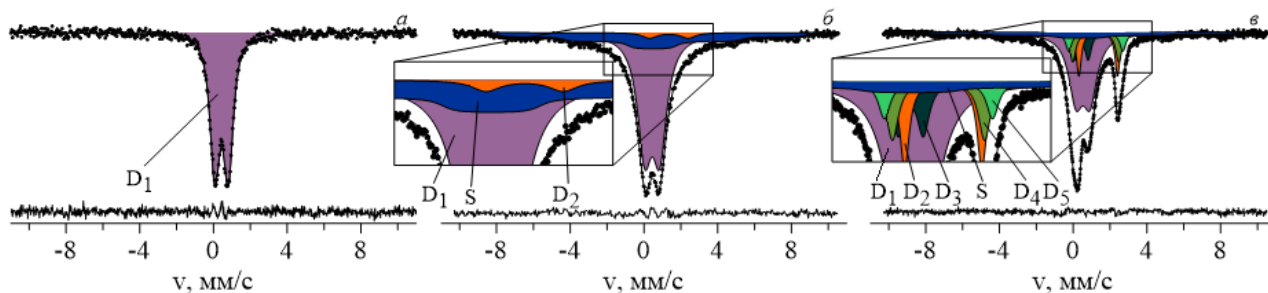


Рисунок 2. Мессбауэровские спектры, измеренные при температуре $T = 82 \text{ K}$: (a) контрольного абиогенного образца ферригидрита; опытных образцов, полученных на (б) 5-й день; (в) 34-й день инкубации синтрофной культуры на ферригидрите.

Таблица 1. Параметры измеренных при температуре $T = 82$ К мессбауэровских спектров контрольного образца и опытных образцов, полученных на 5-й и 34-й дни инкубации синтрофной культуры на ферригидрите.

Образец	Парц. спектр	I , %	δ , мм/с	ε , мм/с	H , кЭ	Γ , мм/с
контроль	D ₁	100	0.438±0.002	0.363±0.001	—	0.629±0.004
E ₁	D ₁	66.9±1.1	0.444±0.002	0.408±0.002	—	0.937±0.008
	D ₂	3.3±0.4	1.355*	1.048*	—	= Γ_{D1}
	S	29.8±1.2	0.454±0.040	0.000*	513±6	0.680±0.140
E2	D ₁	49.7±1.5	0.531±0.005	0.382±0.008	—	0.937*
	D ₂	11.6±1.9	1.355±0.005	1.048±0.005	—	0.308±0.015
	D ₃	8.8±1.1	0.474±0.020	0.339±0.020	—	0.393±0.021
	D ₄	10.0±1.7	1.225±0.004	1.249±0.016	—	= Γ_{D3}
	D ₅	6.3±0.6	= δ_{D4}	1.468±0.012	—	= Γ_{D3}
	S	13.6±0.8	0.454*	0.000*	513*	0.680*

* фиксированные значения параметров.

Пункт 3.4.2 посвящен исследованиям влияния исходного количества ($n_{\text{Fe(II)}} = 5, 10, 25$ мМ) магнетита и времени роста бактерий на степень биотрансформации магнетита и формирование, в ходе данного процесса, новых минеральных фаз. Анализ опытных образцов проводили на 29, 64 и 94 день инкубации синтрофной культуры. Мессбауэровские исследования данных образцов проводили при комнатной температуре и при низких температурах. Измеренные при температурах 220 К и 150 К мессбауэровские спектры образцов, полученных в результате биотрансформаций магнетита синтрофной культурой, были обработаны в модели многоуровневой суперпарамагнитной релаксации. Данная модель содержит релаксационный параметр $\alpha = KV/(k_B T)$, где K – константа магнитной анизотропии, V – объём частицы, k_B – постоянная Больцмана, T – температура измерений. Зависимости релаксационного параметра α от обратной температуры и рассчитанные коэффициенты наклона экспериментальной прямой позволили оценить размер частиц магнитоупорядоченной фазы (в предположении двумодального распределения) в образцах: для серии $n_{\text{Fe(II)}} = 10$ мМ – $d_1 = 9$ нм и $d_2 = 18.5$ нм, $n_{\text{Fe(II)}} = 25$ мМ – $d_1 = 8.5$ нм и $d_2 = 17$ нм. Полученные значения хорошо согласуются с таковыми, полученными из рентгеновского анализа. Проведенные исследования позволили установить, что в результате преобразований магнетита синтрофной культурой алкалофильных

анаэробных бактерий *C. “C. alkalaceticum”* и *G. ferrihydriticus* в присутствии этанола происходит несколько последовательных процессов (см. рисунок 3, таблица 2). На начальном этапе роста бактерий зафиксировано восстановление атомов железа в структуре исходного минерала с образованием новой фазы – сидерита. Данные рентгеновской дифракции подтвердили присутствие сидерита в образцах и позволили оценить средний размер частиц магнетита. В ходе последующей инкубации происходит окисление атомов железа в структуре исходного минерала и образование мелких частиц смеси магнетита и маггемита (не более 10 нм).

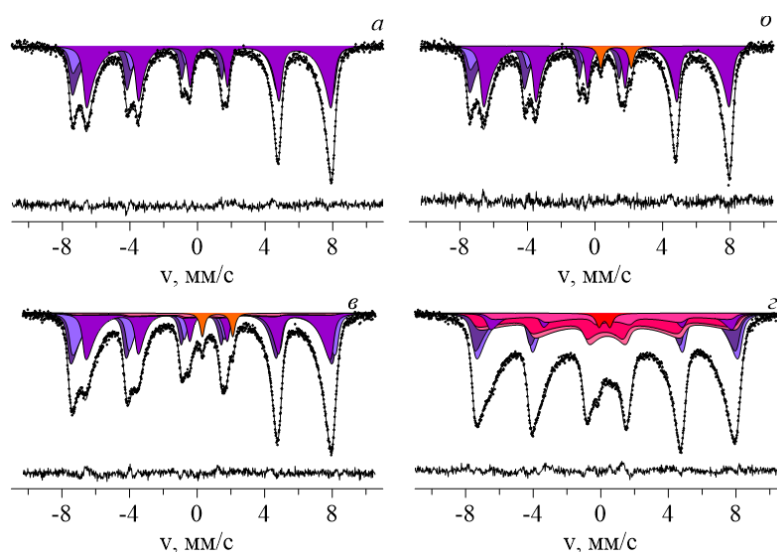


Рисунок 3. Измеренные при комнатной температуре мессбауэровские спектры а) контрольного образца и опытных образцов, полученных в результате роста синтрофной культуры в присутствии 10 мМ Fe(II), содержащихся в магнетите, на б) 29 день в) 64 день з) 94 день.

Таблица 2. Значения параметров, рассчитанные для мессбауэровских спектров опытных образцов, полученных в результате инкубации синтрофной культуры в присутствии 10 мМ Fe(II), содержащихся в магнетите. Значения среднего сдвига $\bar{\delta}$, параметра заселенности a , доли атомов железа в структуре маггемита: β_{δ} – рассчитано, используя значение среднего сдвига, β_a – рассчитано, используя значение параметра заселенности

Образец	$\bar{\delta}$, мм/с	a (параметр заселенности)	β_{δ}	β_a
контроль	0.465 ± 0.001	0.648 ± 0.005	0.323 ± 0.006	0.326 ± 0.005
29 дней	0.469 ± 0.002	0.633 ± 0.009	0.303 ± 0.009	0.340 ± 0.009
64 дня	0.437 ± 0.001	0.469 ± 0.005	0.454 ± 0.004	0.501 ± 0.005
94 дня	0.388 ± 0.001	0.226 ± 0.006	0.6841 ± 0.0032	0.753 ± 0.006

В случае наибольшего количества исходного магнетита ($n_{\text{Fe(II)}} = 25 \text{ mM}$) на начальных этапах роста бактерий сидерит не был обнаружен, хотя процессы образования мелких частиц смеси магнетита/маггемита и окисления исходного минерала при продолжительном росте также происходили, как и в случае с меньшим количеством исходного магнетита ($n_{\text{Fe(II)}} = 5, 10 \text{ mM}$). Отсутствие сидерита в эксперименте с максимальным количеством магнетита, скорее всего, связано с тем, что относительное содержание образовавшегося сидерита по отношению к общему количеству образца в этом случае было мало, что не позволило детектировать его методом мессбауэровской спектроскопии.

В пункте 3.4.3 описаны результаты исследования преобразований сидерита синтрофной культурой. Анализ мессбауэровских спектров полученных образцов позволил установить, что формируется зеленая ржавчина и небольшое количество магнитоупорядоченной фазы, которая является смесью частиц магнетита и маггемита. Данные ЭПР спектроскопии и исследованный гистерезис микроволнового поглощения в нулевом поле подтвердили наличие частиц смеси магнетита и маггемита в опытных образцах и их отсутствие в контрольном абиогенном образце (рисунок 4).

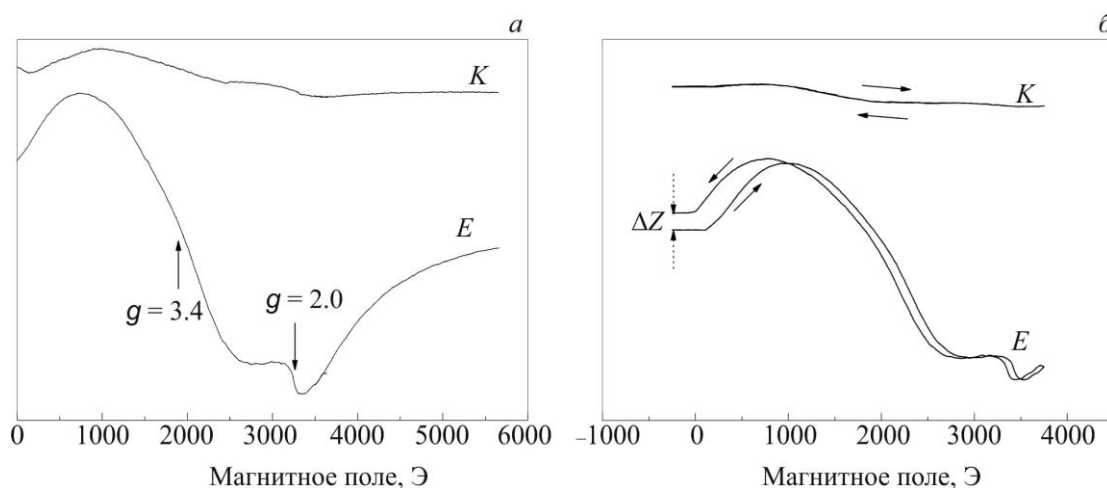


Рисунок 4. а) Спектры контрольного (K) и опытного (E) образцов, представляющие собой сигнал ЭПР, делённый на массу образца. б) Спектры гистерезиса микроволнового поглощения образцов K , E . Стрелки указывают направление сканирования магнитного поля.

В разделе 3.5 приведено сравнительное исследование сидеритов, образованных в результате гидротермальных, осадочных и

микробиологических процессов. Установлено, что образцы природных сидеритов текстурированы (спонтанно ориентированными). Для обработки мессбауэровских спектров восстанавливалось распределение квадрупольного смещения для ионов Fe^{2+} . Ширина полученного распределения для спектров биогенных сидеритов оказалась вдвое больше по сравнению с таковой для спектров природных сидеритов (рисунок 5).

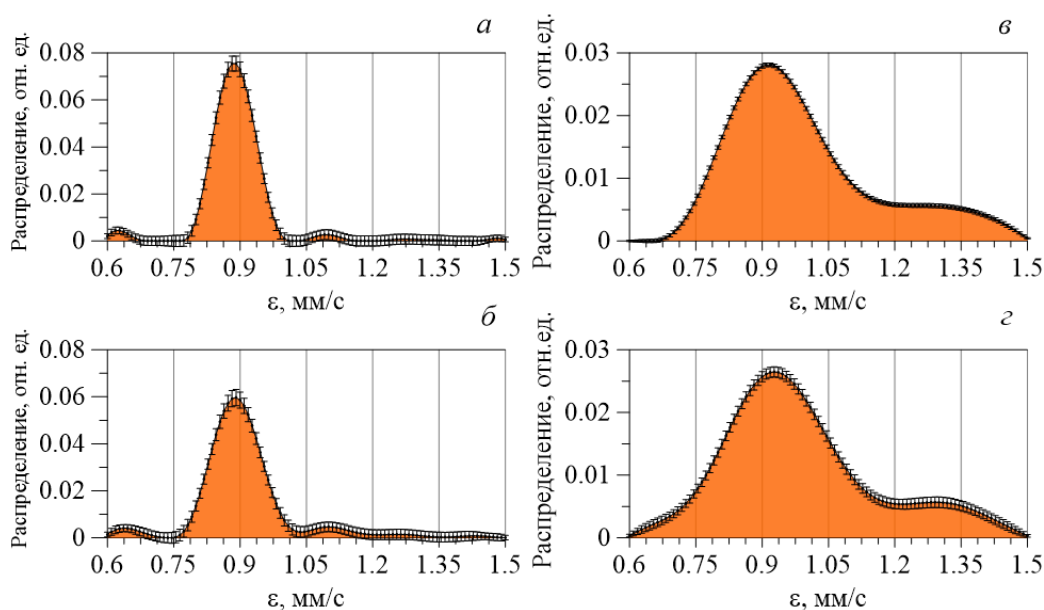


Рисунок 5. Распределения квадрупольного смещения, соответствующие ионам Fe^{2+} , полученные в результате обработки мессбауэровских спектров образцов а) гидротермального сидерита, б) осадочного сидерита, и сидеритов, полученных в результате преобразований ферригидрита бактериями в) *T. ferriacetica*, з) *F. ferrireducens*.

Таким образом, сидерит, сформированный в результате преобразования синтезированного ферригидрита анаэробными экстремофильными бактериями, в отличие от природных сидеритов гидротермального и осадочного происхождения обладает высокой степенью локальной неоднородности ближайшего окружения атомов железа в кристаллической структуре. Кроме того, биогенный сидерит подвержен окислению при хранении на воздухе. Анализ изображений СЭМ позволил установить, что для сидеритов, образованных бактериями, характерны иная морфология кристаллов и меньший размер частиц по сравнению с природными сидеритами.

В разделе 3.6 приведено описание исследования преобразований смешанновалентного оксида сурьмы (III/V), под влиянием гипертермофильной археи *Pyrobaculum* sp. штамм 2319х2. Исследования проводились тремя различными методами: мессбауэровской спектроскопии, ядерного резонансного рассеяния вперед и рамановской спектроскопией. Проведено сравнение эффективности этих методов с целью определения количественного соотношения Sb (III) и Sb(V) в образцах.

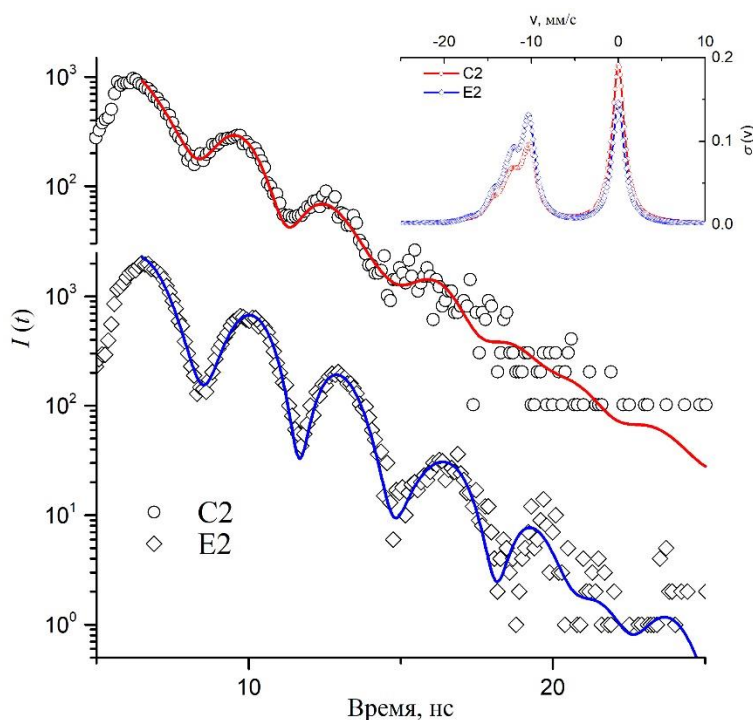


Рисунок 6. Спектры ядерного резонансного рассеяния контрольного образца (C₂) и экспериментального образца (E₂). На вставке показаны результаты моделирования мёссбауэровского сечения в соответствии с параметрами, полученными при обработке.

Метод мессбауэровской спектроскопии с высокой точность позволил установить, что восстанавливается 11.0 ± 1.2 ат. % Sb^{5+} в исходном оксиде. Аналогичный результат получен методом ядерного резонансного рассеяния вперед (рисунок 6). Хотя этот метод позволил получить количественно менее точную информацию о восстановлении Sb^{5+} , для проведения исследований потребовалось в 10–20 раз меньшее количество образца и существенно меньшее время измерений. В отличие от первых двух методов рамановская спектроскопия не позволила количественно оценить относительный вклад Sb(III) и Sb(V). Однако наблюдаемое увеличение интенсивности пиков в

рамановском спектре опытного образца, полученного в результате роста археи, соответствующее $\alpha\text{-Sb}_2\text{O}_3$, подтверждает биологически обусловленное восстановление Sb(V) . Таким образом, все три метода показали, что в результате роста гипертермофильной археи *Pyrobaculum* sp. происходит восстановление Sb^{5+} .

В заключении сформулированы основные результаты и выводы настоящей диссертационной работы.

Заключение. Основные результаты и выводы

Впервые методами мессбауэровской спектроскопии на ядрах ^{57}Fe и ^{121}Sb с привлечением данных рентгенофазового анализа, электронного парамагнитного резонанса, сканирующей электронной микроскопии, ядерного резонансного рассеяния вперед и рамановской спектроскопии исследованы процессы преобразования минералов железа и сурьмы анаэробными экстремофильными микроорганизмами. Установлено следующее.

1. Относительное содержание магнетита и маггемита, сформированных в процессе преобразования синтезированного ферригидрита бактерией *Geoalkalibacter ferrihydriticus*, зависит от времени ее инкубации.

2. В результате роста алкалофильной бактерии *Fuchsiella ferrireducens* в присутствии этанола наблюдается

- формирование сидерита, гематита и маггемита в процессе преобразования синтезированного ферригидрита;
- отсутствие новых сформированных фаз при наличии синтезированного магнетита в минеральной среде;
- образование новой фазы, содержащей атомы Fe^{2+} , являющейся сидеритом с высокой степенью локальной неоднородности, полученным в результате преобразования гидротермального сидерита.

3. В результате роста синтрофной культуры алкалофильных бактерий *Geoalkalibacter ferrihydriticus* и *Candidatus "Contubernalis alkalaceticum"* при добавлении этанола показано, что

- время инкубации синтрофной культуры влияет на состав и относительное содержание железосодержащих минеральных фаз,

сформированных в процессе преобразования синтезированного ферригидрита (в течение 5 дней инкубации формируются небольшое количество фазы, содержащей атомы Fe^{2+} и малые частицы (менее 10 нм) смеси магнетита и маггемита, относительное содержание которой к 34 дням инкубации синтрофной культуры уменьшается, при этом наблюдается формирование сидерита и оксигидрооксикарбоната железа);

- преобразование гидротермального сидерита синтрофной культурой приводит к формированию оксигидрооксикарбоната железа и смеси частиц магнетита и маггемита;
- на состав и относительное содержание сформированных железосодержащих фаз, полученных в процессе преобразования синтезированного магнетита, влияют его исходное количество $n_{\text{Fe(II)}} = 5, 10, 25 \text{ mM}$ и время инкубации синтрофной культуры:
 - в случае $n_{\text{Fe(II)}} = 5, 10 \text{ mM}$ на начальном этапе наблюдается формирование сидерита, с увеличением времени роста образуются мелкие частицы (размером не более 10 нм) смеси магнетита и маггемита;
 - в случае $n_{\text{Fe(II)}} = 25 \text{ mM}$ сидерит не формируется, а на 94 день инкубации наблюдается образование мелких частиц магнетита и маггемита.

4. Сидерит, сформированный в результате преобразования синтезированного ферригидрита анаэробными экстремофильными бактериями, в отличие от сидеритов гидротермального и осадочного происхождения, обладает высокой степенью локальной неоднородности ближайшего окружения атомов железа в кристаллической структуре, и подвержен окислению при хранении на воздухе.

5. Рост гипертермофильной археи *Pyrobaculum* sp. штамм 2319x2 в присутствии смешанновалентного оксида сурьмы (III/V) приводит к восстановлению $11.0 \pm 1.2 \text{ ат. \% Sb}^{5+}$ до Sb^{3+} .

Таким образом, в щелочных анаэробных условиях исследованные алкалофильные бактерии используют минерал ферригидрит как акцептор электронов для реакции анаэробного восстановления, а минерал сидерит как

донор электронов для реакции анаэробного окисления. Магнетит является основным продуктом восстановления ферригидрита и окисления сидерита. Являясь термодинамически устойчивой минеральной фазой в условиях проведенных экспериментов, магнетит не используется как акцептор или донор электронов, но в случае синтрофных взаимодействий служит минералом-посредником, способствующим межвидовому переносу электронов.

Публикации автора по теме диссертации

Статьи в рецензируемых журналах:

- A1. Н.И. Чистякова, А.В. Антонова, М.А. Грачева, А.А. Шапкин, Д.Г. Заварзина, Т.Н. Жилина, В.С. Русаков // Мессбауэровские исследования процессов восстановления синтезированного ферригидрита алкалофильной железоредуцирующей бактерией *Fuchsiella Ferrireducens*. // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2017. – Т.81. – № 7. – С.988–993. DOI: 10.7868/S0367676517070043, IF 0.546 (РИНЦ), (вклад автора 0.5)
- A2. Gracheva M.A., Chistyakova, N.I., Antonova, A.V., Rusakov, V.S., Zhilina, T.N., Zavarzina, D.G., Mössbauer study of iron minerals transformations by *Fuchsiella ferrireducens* // Hyperfine Interactions. – 2017. – Т. 238. – №. 1. – С. 84. DOI: 10.1007/s10751-017-1460-4, IF 0.209 (Web of Science), (вклад автора 0.4)
- A3. Zavarzina D.G., Gavrilov S.N., Chistyakova N.I., Antonova A.V., Gracheva M.A., Merkel A.Yu., Perevalova A.A., Chernov M.S, Zhilina T.N., Bychkov A.Yu., Bonch-Osmolovskaya E.A. Syntrophic growth of alkaliphilic anaerobes controlled by ferric and ferrous minerals transformation coupled to acetogenesis // ISME Journal. – 2020. – Т. 14. – №. 2. – С. 425-436. DOI: 10.1038/s41396-019-0527-4, IF 10.302 (Web of Science), (вклад автора 0.2)
- A4. Antonova A., Chistyakova N., Gracheva M., Rusakov V., Koksharov Y., Zhilina T., & Zavarzina D. Mössbauer and EPR study of ferrihydrite and siderite biotransformations by a syntrophic culture of alkaliphilic bacteria // Journal of Molecular Structure. – 2020. – Т. 1206. – С. 127606.

DOI:10.1016/j.molstruc.2019.127606, IF 3.196 (Web of Science), (вклад автора 0.6)

- A5. Chistyakova N., Antonova A., Elizarov I., Fabritchnyi P., Afanasov M., Korolenko M., ... & Rusakov V. Mössbauer, Nuclear Forward Scattering, and Raman Spectroscopic Approaches in the Investigation of Bioinduced Transformations of Mixed-Valence Antimony Oxide //The Journal of Physical Chemistry A. – 2021. – Т. 125. – №. 1. – С. 139-145. DOI:10.1021/acs.jpca.0c08865, IF 2.6 (Web of Science), (вклад автора 0.6)

Тезисы докладов конференций:

- A6. Чистякова Н.И., Грачева М.А., Антонова А.В., Шапкин А.А., Заварзина Д.Г., Жилина Т.Н., Русаков В.С. Мессбауэровские исследования процессов восстановления атомов железа в ферригидрите алколофильной бактерией // Материалы докладов XIV Международной конференции "Мессбауэровская спектроскопия и ее применения". Казань, Россия – 2016 – С.158
- A7. Чистякова Н.И., Шапкин А.А., Антонова А.В., Медвецкая И.Ю., Пчелина Д.И., Грачева М.А., Киселева Т.Ю., Жилина Т.Н., Гаврилов С.Н., Заварзина Д.Г., Русаков В.С. Биогенные преобразования железосодержащих минералов в щелочных условиях // Материалы докладов XIV Международной конференции "Мессбауэровская спектроскопия и ее применения". Казань, Россия – 2016 – С.152
- A8. Chistyakova N.I., Shapkin A.A., Antonova A.V., Gracheva M.A., Pchelina D.I., Kiseleva T.Yu, Zavarzina D.G., Zhilina T.N., Gavrilov S.N., Rusakov V.S. Mössbauer Spectroscopy in Microbial Transformations of Iron-Containing Minerals // Book of abstracts 2nd Mediterranean Conference on the Applications of the Mössbauer Effect (MECAME 2016), Cavtat, Croatia – 2016 – С.7
- A9. Антонова А. Мессбауэровские исследования биогенных преобразований магнетита и ферригидрита // Сборник: XXIV Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам "Ломоносов-2017". Секция "Физика". ISBN 978-5-8279-0125-9. Москва, Россия – 2017 – С.662-663

- A10. Антонова А.В., Чистякова Н.И., Грачева М.А., Заварзина Д.Г., Жилина Т.Н., Русаков В.С. Study of Iron Compounds Transformations by Syntrophic Culture: *Contubernalis Alkalaceticum* and *Geoalkalibacter Ferrihydriticus* // Сборник тезисов: International Conference on the Applications of the Mössbauer Effect – ICAME 2017. Conference Programme and Book of Abstracts, Санкт-Петербург, Россия – 2017 – С.258
- A11. Чистякова Н.И., Грачева М.А., Антонова А.В., Русаков В.С., Заварзина Д.Г., Жилина Т.Н. Mössbauer Study of Iron Minerals Transformations by Species of the Genus *Fuchsiella* // Сборник тезисов: International Conference on the Applications of the Mössbauer Effect - ICAME 2017. Conference Programme and Book of Abstracts Санкт-Петербург, Россия – 2017 – С.266
- A12. Антонова А.В., Чистякова Н.И., Грачева М.А., Пчелина Д.И., Заварзина Д.Г., Жилина Т.Н., Русаков В.С. Мессбауэровские исследования преобразований магнетита, сидерита, ферригидрита в результате синтрофного роста *Contubernalis alkalaceticum* и *Geoalkalibacter ferrihydriticus* // Сборник: XV International Conference Mossbauer Spectroscopy and Applications. Book of Abstracts. Сочи, Россия – 2018 – С.141
- A13. Чистякова Н.И., Антонова А.В., Грачева М.А., Жилина Т.Н., Заварзина Д.Г., Гаврилов С.Н., Воронина Е.В., Чумаков А.И., Киселева Т.Ю., Русаков В.С. Спектроскопические методы в решении задач микробиологического синтеза железосодержащих минералов // Сборник: XV International Conference Mossbauer Spectroscopy and Applications. Book of Abstracts. Сочи, Россия – 2018 – С.138
- A14. Antonova A.V., Chistyakova N.I., Gracheva M.A., Rusakov V.S., Zavarzina D.G., Zhilina T.N. Investigations of iron compounds transformations by syntrophic culture // Mossbauer Spectroscopy in Materials Science 2018. Book of Abstracts. Prague, Czech Republic – 2018 – С.33
- A15. Chistyakova N.I., Antonova A.V., Gracheva M.A., Pchelina D.I., Kiseleva T.Yu, Zavarzina D.G., Zhilina T.N., Gavrilo S.N., Voronina E.V., Chumakov A.I., Rusakov V.S. Mossbauer spectroscopy in microbial transformation of iron-containing minerals in alkaline conditions // Mossbauer Spectroscopy in

Materials Science 2018. Book of Abstracts. Prague, Czech Republic – 2018 – C.19

- A16. Antonova A., Chistyakova N., Gracheva M., Ermolaev N., Koksharov Yu, Rusakov V., Zavarzina D., J-M Greneche Investigations of siderite, magnetite and ferrihydrite transformations by syntrophic culture // 5th Mediterranean Conference on the Applications of the Mossbauer Effect and 41st Workshop of the French speaking Group of Mossbauer Spectroscopy. Montpellier, France – 2019 – C.107
- A17. Chistyakova N.I., Gracheva M.A., Antonova A.V., Gontarev I.Yu, Zavarzina D.G., Cesnek M., Kubániová D., Kohout J., Kmječ T., Rusakov V.S. The influence of ferrihydrite quantity accessible for bacterium on biotransformation // 5th Mediterranean Conference on the Applications of the Mossbauer Effect and 41st Workshop of the French speaking Group of Mossbauer Spectroscopy. Montpellier, France – 2019 – C.143

Список литературы

- [1] Bekker A. et al. Iron formations: Their origins and implications for ancient seawater chemistry //Treatise on geochemistry. – Elsevier, 2014. – Т. 12. – С. 561-628..
- [2] Klein C. Some Precambrian banded iron-formations (BIFs) from around the world: Their age, geologic setting, mineralogy, metamorphism, geochemistry, and origins //American Mineralogist. – 2005. – Т. 90. – №. 10. – С. 1473-1499..
- [3] Koehler I., Konhauser K., Kappler A. Role of microorganisms in banded iron formations //Geomicrobiology: molecular and environmental perspective. – Springer, Dordrecht, 2010. – С. 309-324..
- [4] Бонч-Осмоловская Е. А. Термофильные микроорганизмы: общий взгляд // Труды Института микробиологии им. С.Н. Виноградского. — Т. 16. — Наука Москва, 2011. — С. 5–14..
- [5] Заварзин Г. А. Алкалофильное микробное сообщество //Алкалофильные микробные сообщества//Труды ИНМИ. – 2007. – Т. 1. – С. 58-87..
- [6] Gold T. The deep, hot biosphere //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1992. – Т. 89. – №. 13. – С. 6045-6049..
- [7] Заварзин Г. А. Алкалофильное микробное сообщество как аналог наземной биоты протерозоя //В сб. Эволюция биосферы и биоразнообразие. К. – 2006. – С. 97-119..

- [8] Заварзин Г. А. Эпиконтинентальные содовые водоемы как предполагаемые реликтовые биотопы формирования наземной биоты //Микробиология. – 1993. – Т. 62. – №. 5. – С. 789-800..
- [9] Kunapuli U., Lueders T., Meckenstock R. U. The use of stable isotope probing to identify key iron-reducing microorganisms involved in anaerobic benzene degradation //The ISME journal. – 2007. – Т. 1. – №. 7. – С. 643-653..
- [10] Bond D. R., Lovley D. R. Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes //Applied and environmental microbiology. – 2003. – Т. 69. – №. 3. – С. 1548-1555..
- [11] Dubiel M. et al. Microbial iron respiration can protect steel from corrosion //Applied and environmental microbiology. – 2002. – Т. 68. – №. 3. – С. 1440-1445..
- [12] Заварзина Д.Г. Железоредукторы содовых озер—реликты «железного века»? //Природа. – 2013. – №. 9. – С. 59-67..
- [13] Райхер Ю.Л. и др. Магнитные свойства биоминеральных наночастиц, продуцируемых бактериями *Klebsiella oxytoca* //Физика твердого тела. – 2010. – Т. 52. – №. 2. – С. 277-284..
- [14] Cao S. W. et al. Hierarchically nanostructured magnetic hollow spheres of Fe_3O_4 and $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$: preparation and potential application in drug delivery //The Journal of Physical Chemistry C. – 2008. – Т. 112. – №. 6. – С. 1851-1856..
- [15] Gay P. Garrels and (CL) Christ. Solutions, minerals and equilibria. New York //Mineralogical magazine and journal of the Mineralogical Society. – 1966. – Т. 35. – №. 275. – С. 1024-1025..
- [16] Shapkin, A. A., Chistyakova, N. I., Zavarzina, D. G., Zhilina, T. N., & Rusakov, V. S. (2015). Mössbauer Study of Microbial Synthesis of Iron-Containing Nanoparticles. In Solid State Phenomena (Vol. 233, pp. 766-770). Trans Tech Publications Ltd..