

# 基于铁细菌的铁氧体制备及其性能

张文强, 蔡军\*, 张德远

北京航空航天大学机械工程及自动化学院, 北京 100191

\* 联系人, E-mail: jun\_cai@buaa.edu.cn

2011-11-21 收稿, 2012-02-06 接受

国家自然科学基金(50805005)、全国优秀博士学位论文作者专项资金(2007B32)、国家高技术研究发展计划(2009AA043804)和北京航空航天大学博士创新基金资助

**摘要** 利用自分离培养的球衣菌和生盘纤发菌(ATCC43182)的生长特性, 尝试铁氧化物、铁锰氧化物的生物制造. 光学显微镜、扫描电子显微镜(SEM)、能谱分析仪(EDS)、X射线衍射仪(XRD)、振动磁强计(VSM)分别对制得样品的微观形貌、化学成分、晶相结构、静磁特性进行表征, 结果显示成功制得纤维状  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , 其平均长径比超过 50; 制得饱和磁化强度达到 25 emu/g, 矫顽力为 10 Oe 的软磁锰铁氧体.

**关键词**

铁细菌  
铁氧体  
磁性功能材料  
生物生长成形

生物方式的制造是一门新兴的交叉学科, 可以实现微纳米功能材料和器件的高效、环保制造<sup>[1,2]</sup>. 其中生物生长成形是指直接利用微生物的生长特性, 获得所需的功能材料和产品的新技术<sup>[1]</sup>, 如利用微生物发酵制药、趋磁细菌合成单畴  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  等<sup>[3,4]</sup>.

当前材料领域, 以铁氧体为代表的磁性材料研究火热, 已被广泛用于制造电磁吸波材料、磁记录材料、磁性液体、催化材料、新型涂料或颜料等高科技产品<sup>[5,6]</sup>. 研究表明铁细菌是自然界广泛存在的一种可以直接、高效的将水中  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  离子氧化沉积, 获得诸如纤维、管鞘、薄膜等多样形状复合物的微生物<sup>[7-16]</sup>, 具备直接制造铁氧体材料的潜力. 相比传统的化学合成方法<sup>[5]</sup>, 在形体控制、颗粒团聚、工业化等方面有可能取得突破.

本文借鉴已有的铁细菌沉积富集铁、锰元素机理<sup>[7-12]</sup>, 铁细菌沉积物的主要组成成分及微观特征<sup>[15]</sup>等基础研究成果, 分别利用从福建厦门污水处理厂活性污泥中分离球衣菌和从 ATCC 购置的生盘纤发菌进行铁、锰离子的沉积, 并对收集的沉积物进行高温热处理, 以求获得铁氧体, 并对产物的微观形貌、静磁特性等进行表征.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与配方

参照文献[13,14]描述的球衣菌分离方法, 从福建某水厂活性污泥中分离获得球衣菌菌株; 从美国 ATCC 购置生盘纤发菌(ATCC 43182).

### 1.2 实验方法

(i) 球衣菌生长成铁氧体. 按照表 1 分别配置 0.8 L 的尿素培养基, 高温灭菌处理后, 接种活化的球衣菌. 然后在 27℃ 恒温环境连续培养 24 h, 获得大量的球衣菌. 为了防止 pH 的大范围变化杀死细菌, 需要对称量好的铁沉积培养基进行紫外灭菌处理后分 10 次加入到培养液中, 此过程中通过滴加 1 mol/L 的氢氧化钠和 1 mol/L 盐酸溶液, 保证溶液 pH 在 6.5~7.0. 将培养液置于 27℃ 恒温箱中连续培养 50 d 后取出, 通过离心分离、反复清洗、真空干燥的方法获得沉积物, 以备观察、测试. 另外取少量粉体置于马弗炉中 900℃ 高温处理 1 h, 冷却到室温, 收集以备观察测试.

(ii) 生盘纤发菌生长成铁氧体. 将购置的生盘

**引用格式:** 张文强, 蔡军, 张德远. 基于铁细菌的铁氧体制备及其性能. 科学通报, 2013, 58: 392-396

**英文版见:** Zhang W Q, Cai J, Zhang D Y. Preparation and properties of ferrite derived from iron oxidizing bacteria. Chin Sci Bull, 2012, 57: 2470-2474, doi:10.1007/s11434-012-5192-1

表 1 各种培养基配方表<sup>a)</sup>

名称	ATCC 培养基	MMS 培养基	尿素 培养基	铁沉积 培养基
蛋白胨	500 mg			
尿素			500 mg	500 mg
酵母浸粉	500 mg			
葡萄糖	500 mg		1000 mg	1000 mg
丙酮酸		240 mg		
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	600 mg	35 mg	50 mg	50 mg
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	70 mg	30 mg		
HEPES	3570 g			
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	17.0 mg			
FeSO <sub>4</sub>		0.15 mg		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		120 mg		
KNO <sub>3</sub>		15 mg		
NaHCO <sub>3</sub>		0.84 mg		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		0.70 mg		
维生素 B <sub>12</sub>		0.002 mg		
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>			100 mg	100 mg
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>				2280 mg
蒸馏水	1 L	1 L	1 L	1 L

a) 用 NaOH 调整 pH, ATCC(pH 7.3), MMS(pH 6.0), 尿素(pH 7.0), 铁沉积培养基(pH 6.5)

纤发菌接种到预先配置好的 ATCC 培养基上, 27℃, 150 r/min, 活化、富集培养 72 h, 每隔 12 h 用 NaOH 调整一次 pH(pH 7); 随后取 100 mL 富集培养液添加到预先配置好的 MMS 培养基, 调整 pH 为 6.0; 配制 FeSO<sub>4</sub> 和 MnSO<sub>4</sub> 混合溶液(Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>摩尔比为 3:1, 2:1, 1:1, Mn<sup>2+</sup>离子浓度为 1 mol/L), 过滤除菌后, 每次各取出 20 mL 分别添加到 3 份培养液中, 调整 pH 6; 每隔 24 h 添加, 连续处理 10 d; 将培养液静置与 27℃ 环境中一周, 随后离心分离、反复清洗、真空干燥获得沉积物备用; 最后将沉积物置于马弗炉中 900℃ 高温处理 1 h, 冷却到室温, 收集以备观察测试。

### 1.3 测试与表征

北京 XSY-1 型光学显微镜配合 Cannon 450 型相机进行光学观察, 英国 CamScan 公司的 CS3400 型扫描电子显微镜(SEM)和 Apollo300 场发射扫描电子显微镜进行微观形貌观察; 牛津 Oxford Link 860 型能谱分析仪进行电子能谱(EDS)成分分析; 日本 D/Max 2200 PC 型自动 X 射线衍射仪进行 X 射线衍射探测(XRD)晶相分析; 美国 LDJ Electronics 公司 LDJ9600 振动磁强计(VSM)表征样品的静磁特性。

## 2 结果与讨论

为了利用铁细菌的生长制备纤维与铁氧化物, 首先需要对球衣菌、生盘纤发菌进行富集培养. 图 1(a)和(b)是球衣菌(1.8~2.3 μm × 50~250 μm)富集培养后的结晶紫染色照片. 图 1(a)中几束细菌粘连在一起, 有假单分支, 细胞有缺位较少; 图 1(b)中单个细胞呈短杆状(0.90~1.4 μm × 1.5~5.8 μm), 两端钝圆, 衣鞘明显, 有假单分支, 细胞缺位较多. 图 2 是生盘纤发菌(0.5~1 μm)用 ATCC 培养基富集培养后的结晶紫染色照片, 图 2(a)中细菌细胞多以单个的形式出现, 有明显的团聚现象; 而图 2(b)中明显出现衣鞘和细胞缺位. 尽管购置的生盘纤发菌菌株(ATCC43182)本身不具有衣鞘<sup>[9]</sup>, 但是在后期的培养过程中细胞还是会出现变异, 进而形成衣鞘.

进一步采用铁沉积培养基和 MMS 培养基分别接种球衣菌、生盘纤发菌, 24 h 后, 培养液中开始有明显的黄色、黄褐色沉积物出现, 数周后沉积物基本稳定. 图 3 是从接种有球衣菌的铁沉积培养基分离所得的沉积物 SEM 照片, 沉积物主要是纤维(A)及少量杂质(B). 图 3(a)是球衣菌沉积物的低倍率 SEM 照片, 其中铁质纤维(A)在产物中比重超过 90%, 它保持了铁细菌的外形(纤维状、弯曲), 大部分铁质纤维外层不光滑; 图 3(b)是一个单独铁质纤维的高倍率 SEM 照片, 其直径 2.18 μm, 长径比约为 50; 图 3(c)是一

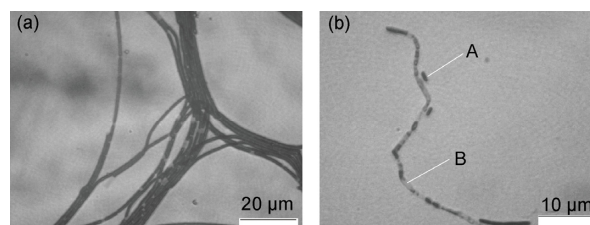


图 1 球衣菌结晶紫染色照片

(a) 富集培养 24 h; (b) 富集培养 72 h. A 为单个游离的球衣菌细胞, B 为衣鞘

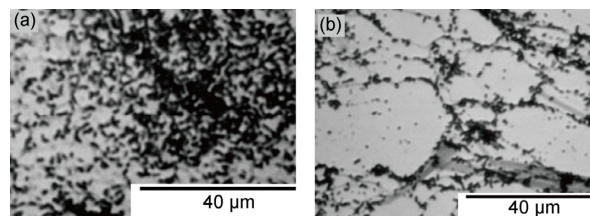


图 2 生盘纤发菌结晶紫染色光学照片

(a) 细胞游离态; (b) 细胞形成衣鞘

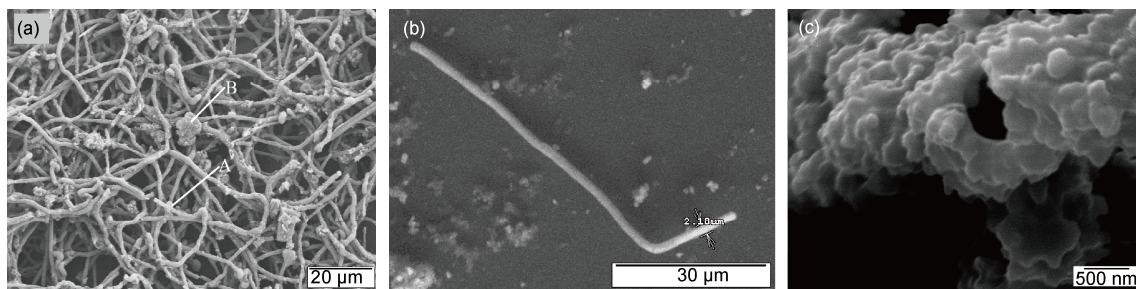


图3 球衣菌生长成形铁质纤维 SEM 照片  
(a) 团聚纤维; (b) 单个纤维; (c) 纤维断裂处

个纤维断裂处的放大照片,说明所制备的铁质纤维为空心结构,符合铁细菌的沉积原理.图4是利用生盘纤发菌沉积获得的锰、铁氧化物的 SEM 照片.图4(a)显示所制得的氧化物为几十到几百纳米的颗粒(C),明显可以观察到在纳米颗粒周围有生盘纤发菌细胞(D)的存在,进一步证实生盘纤发菌的生长导致铁、锰氧化物在其周围沉积;而图4(b)显示所获得复合氧化物仍然存在少量的空心纤维(E),其直径 1~2 μm,长径比超过 50,说明变异的具有成鞘能力的细菌可以直接形成空心锰铁氧化物纤维,而且生盘纤发菌细胞是脱鞘而出的.

利用 EDS 对 SEM 测试样品进行能谱分析,结果显示球衣菌沉积物主要是铁氧化物,而生盘纤发菌则可以实现锰铁氧化物的沉积,其中部分能谱图如图5所示.图5(a)是球衣菌生长成形铁质纤维的能谱图,主要成分是 Fe 和 O,进一步对图3(a)纤维铁氧化物样品整个区域和纤维铁氧化物上某点的成分进行统计分析发现铁氧原子比约为 0.77.由此推断球衣菌沉积所得的产物主要成分是铁氧化物,是一种铁质纤维.图5(b)和(c)是生盘纤发菌生长产生的沉积物(Fe<sup>2+</sup>:Mn<sup>2+</sup>摩尔比为 2:1 和 1:1)的平均能谱图,结果显示沉积物主要成分是 Fe, Mn, O,通过对比沉积产物中 Fe, Mn 的原子比例与添加铁、锰离子的浓度比例,发现两者基本一致(原始添加离子摩尔比为

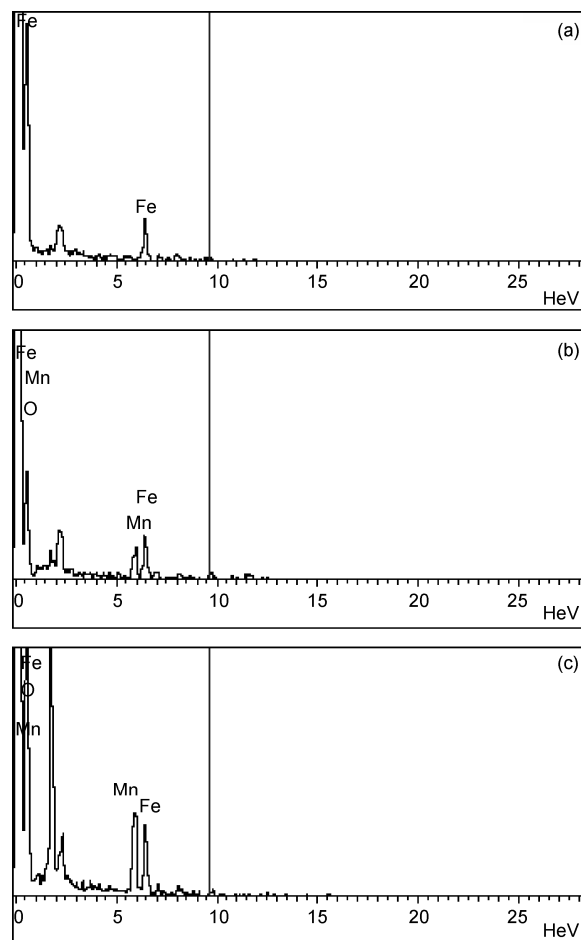


图5 铁细菌沉积物能谱图

(a) 球衣菌生长成形铁质纤维; (b), (c) 生盘纤发菌沉积铁锰氧化物

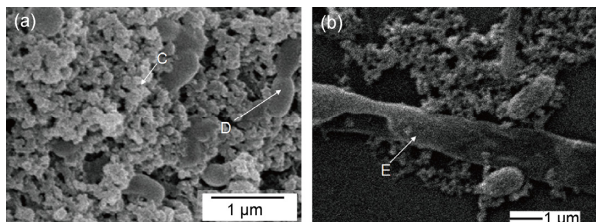


图4 生盘纤发菌生长成形锰铁氧化物 SEM 照片  
(a) 铁锰氧化物; (b) 铁锰氧化纤维及氧化物

3:1, 2:1, 1:1; 测试原子摩尔比平均为 3.1:1, 1.9:1, 1:1, 进一步证实利用生盘纤发菌不但可以实现锰氧化物的制备,而且可以控制产物中锰、铁的比例.

图6是典型铁细菌沉积物处理前后的 XRD 衍射图.从图6(a)中可以观察到在  $d=0.250$  和  $0.146$  nm 处有两个非晶峰,与 FeO(OH)的衍射峰相近,由此判断,

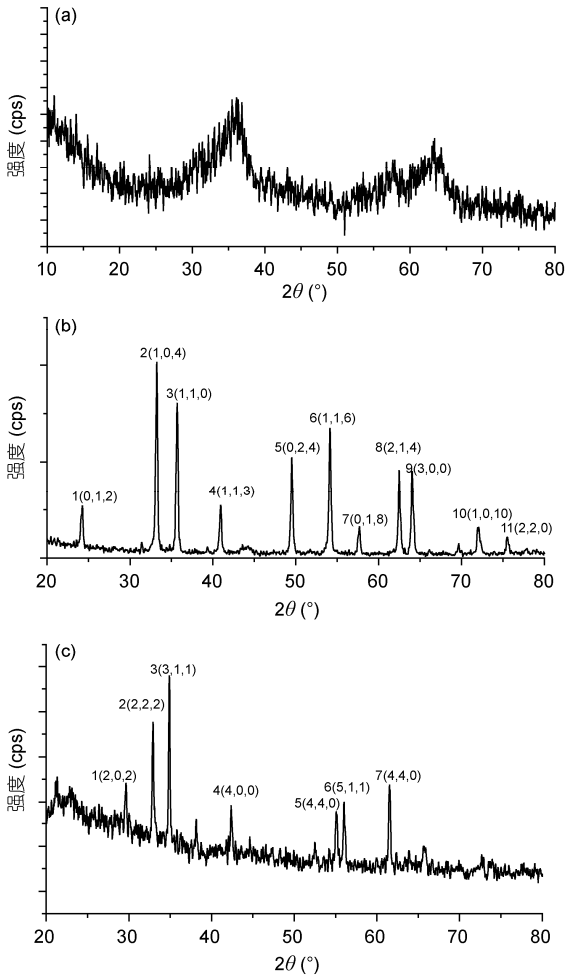


图 6 铁细菌沉积物 XRD 衍射曲线

(a) 球衣菌生长铁质纤维; (b) 高温热处理后的铁质纤维; (c) 高温热处理后的锰铁氧化物

所制备的铁纤维为由非晶相铁氧化物; 图 6(b)是对非晶纤维铁氧化物 900℃高温处理 1 h 所得样品的 XRD 衍射图, 有明显的铁氧体结晶特征衍射峰, 峰的强度很高, 说明高温处理导致非晶态的铁纤维转变为晶态且结晶度高. 该高温处理后的产物与  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  (JCPDS No. 79-1741)一致, 根据谢乐公式计算得出平均晶粒大小为 41 nm, 表明实现了铁氧体性纤维制备<sup>[12]</sup>; 图 6(c)是对生盘纤发菌生长沉积的锰铁氧化物 900℃高温处理 1 h 所得样品的 XRD 衍射图, 有明显的锰铁氧体晶体特征衍射峰出现, 说明结晶较好. 进一步分析, 此铁质纤维铁高温处理后的产物与  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  (JCPDS No. 38-0430)一致, 根据谢乐公式计算得出平均晶粒大小为 45 nm, 说明利用铁细菌的沉积物制备尖晶石型锰铁氧体可行.

利用振动磁强计分别对热处理后得到的氧化铁纤维、锰铁氧体的静磁特性进行表征. 图 7(a)显示氧化铁纤维饱和磁化强度为 0.4 emu/g, 而矫顽力则为 1492 Oe, 属于反铁磁材料; 而图 7(b)则显示制备的锰铁氧体饱和磁化强度达到 24 emu/g, 矫顽力为 10 Oe, 具有较好的软磁特性. 初步分析认为铁细菌沉积的氧化铁纤维、锰铁氧体的性能区别, 主要归因于所得的氧化铁没有磁性的体心立方  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ , 而随着 Mn 离子的沉积, 整体的晶格形式变为尖晶石型, 从而导致软磁特性的产生, 与 XRD 表征结果一致, 且与报道的锰铁氧体特性吻合<sup>[5]</sup>, 证明利用锰铁氧化细菌, 共沉积制备锰铁氧体可行.

### 3 结论

通过培养鞘铁细菌, 获得直径 1~3  $\mu\text{m}$ , 长径比超过 50, Fe/O 原子比为 0.77 的非晶纤维状铁氧化物. 经过高温处理后, 纤维主要成分变为铁氧体,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , 晶粒平均直径为 41 nm. 利用购置的具有锰、铁氧化能力的生盘纤发菌, 成功实现可控锰铁含量的复合氧化物

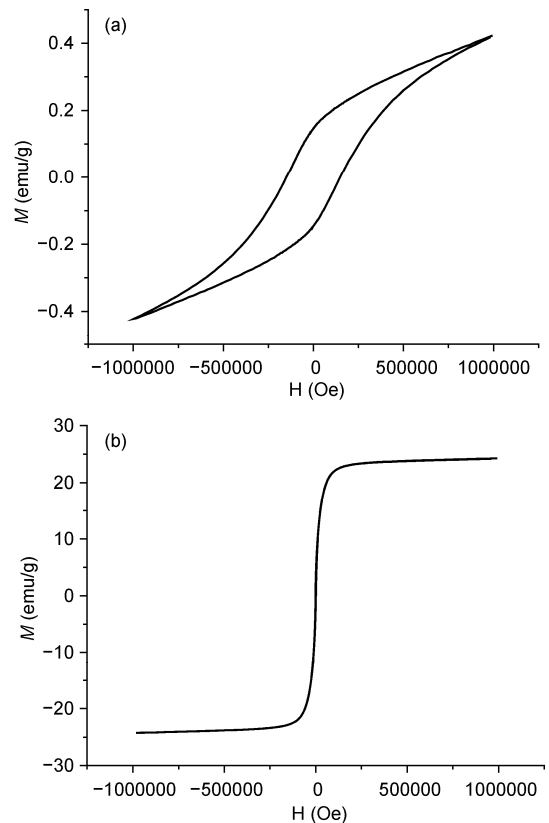


图 7 铁细菌沉积物静磁特性曲线

(a) 氧化铁纤维; (b) 锰铁氧体

的生物制造, 热处理后获得饱和磁化强度为 25 emu/g, 矫顽力为 10 Oe 的软磁锰铁氧体. 本文拓展了铁细菌的应用领域, 为轻质、异形铁氧体的制备提供新的方

法, 下一步将深入研究锰铁含量的控制与静磁特性、动磁特性的关系, 并尝试利用铁细菌制造软磁铁氧体纤维和空心管鞘.

## 参考文献

- 1 张德远, 蔡军, 李翔, 等. 仿生制造的生物成形方法. 机械工程学报, 2010, 46: 88-92
- 2 张德远, 张文强, 蔡军. 微生物细胞热分解法磁性化研究. 中国科学: 技术科学, 2011, 41: 1115-1120
- 3 孙秀兰, 刘伟伟, 张银志, 等. 趋磁细菌研究进展. 中国微生态学杂志, 2011, 23: 570-573
- 4 Schüler D. Genetics and cell biology of magnetosome formation in magnetotactic bacteria. Fems Microbiol Rev, 2008, 32: 654-672
- 5 张平萍, 韩沉花, 程继鹏, 等. 铜掺杂对大洋锰结核制备铁氧体磁性的影响. 无机化学学报, 2008, 24: 307-310
- 6 王小红, 李晓杰, 张越举, 等. 爆轰法制备纳米  $MnFe_2O_4$  粉体的实验研究. 高压物理学报, 2007, 21: 173-177
- 7 Learman D R, Wankel S D, Webb S M, et al. Coupled biotic-abiotic Mn(II) oxidation pathway mediates the formation and structural evolution of biogenic Mn oxides. Geochim Cosmochim Acta, 2011, 75: 6048-6063
- 8 Sawayama M, Suzuki T, Hashimoto H, et al. Isolation of a Leptothrix strain, OUMS1, from ochreous deposits in groundwater. Curr Microbiol, 2011, 63: 173-180
- 9 El Gheriany I A, Bocioaga D, Hay A G, et al. An uncertain role for Cu(II) in stimulating Mn(II) oxidation by Leptothrix discophora SS-1. Arch Microbiol, 2011, 193: 89-93
- 10 Gheriany I A E, Bocioaga D, Hay A G, et al. Iron requirement for Mn(II) oxidation by Leptothrix discophora SS-1. Appl Environ Microbiol, 2009, 75: 1229-1235
- 11 Spring S, Dworkin M, Falkow S, et al. The genera Leptothrix and Sphaerotilus. Prokaryotes, 2006, 5: 758-777
- 12 David E, William C G. Isolation, cultural maintenance, and taxonomy of a sheath-forming strain of Leptothrix discophora and characterization of manganese-oxidizing activity associated with the sheath. Appl Environ Microbiol, 1992, 58: 4001-4010
- 13 许旭萍, 余晨兴, 林跃鑫, 等. 水体中氧化铁鞘细菌的分离鉴定及保藏. 应用与环境生物学报, 2003, 9: 313-317
- 14 Van Veen W L, Mulder E G, Deinema M H. The Sphaerotilus-Leptothrix group of bacteria. Microbiol Rev, 1978, 42: 329-356
- 15 Hashimoto H, Yokoyama S, Asaoka H, et al. Characteristics of hollow microtubes consisting of amorphous iron oxide nanoparticles produced by iron oxidizing bacteria, Leptothrix ochracea. J Magn Magn Mater, 2007, 310: 2405-2407
- 16 杨宏, 纪娟, 钟洁, 等. 生物除锰技术研究进展与应用. 环境科学与技术, 2008, 8: 38-43