



# 微生物细胞热分解法磁性化研究

张德远, 张文强\*, 蔡军

北京航空航天大学仿生与微纳生物制造研究中心, 北京 100191

\* E-mail: zwqzwqzwq@126.com

收稿日期: 2010-10-22; 接受日期: 2011-01-28

全国优秀博士学位论文作者专项资金(批准号: 2007B32)和国家高技术研究发展计划(批准号: 2009AA043804)资助项目

**摘要** 生物约束成型技术是把微生物学、材料学、制造学等有机紧密结合产生的一种制备具有多样形状磁性或导电微颗粒的新技术. 本文探讨热分解法生物约束成型技术的可行性, 以尺寸在微米级天然具有螺旋形体的螺旋藻的细胞为模板, 根据五羰基铁受热分解的原理, 研究在其表面包覆纯铁的工艺, 并通过光学显微镜、扫描电镜、电子能谱、透射电镜、X射线衍射对颗粒形态、表层成分、相结构进行观察与分析. 结果表明, 在螺旋藻细胞经热分解五羰基铁包覆处理后, 表面有一层铁颗粒沉积; 其螺旋形体保持良好, 得到的单体表面磁性层厚度、成分基本均匀; 文中试验条件下, 螺旋形羰基铁颗粒经 700℃ 热处理后变为  $\alpha$ -Fe; 还探讨了微生物细胞热分解法金属化工艺过程的物理化学反应机理.

**关键词**

生物制造  
生物约束成型  
空心微螺旋  
磁性颗粒  
五羰基铁  
热分解

生物约束成型技术(Bio-Limited Forming)是生物制造技术的一个重要分支, 它直接利用微生物作为模板, 通过在其表面沉积功能材质, 制造出形态、结构多样的微纳米颗粒<sup>[1]</sup>. 目前采用化学镀、电镀、溶胶凝胶等方法实现了各种形体的微生物(球形、杆形、螺旋形)的金属化<sup>[2]</sup>、磁性化<sup>[3,4]</sup>, 表现出该功能颗粒在微波吸收方面具有潜在的应用前景. 而当前的电磁吸波领域, 利用羰基金属化合物受热分解法制备的羰基铁粉、多晶铁纤维等被公认为是具有高效吸波性能的优质材料<sup>[5]</sup>. 但是这些材料在“薄、宽、轻、强”的需求面前, 性能很难取得突破. 手性材料和复合结构<sup>[6]</sup>是近来被广泛关注的新型吸波材料, 具有很好的前景. 螺旋藻具有天然的手性结构, 将其与铁磁吸波材质结合, 有可能成为一种新型优质微波吸收剂. 本文为了进一步提高微生物细胞单体的磁性, 扩展细胞磁性化的工艺范围, 对微生物细胞热分解磁性化

工艺进行探索研究.

国内外关于将五羰基铁分解制备复合材料或单颗粒的研究较多, 并有通过五羰基铁受热分解将空心微珠、四针氧化锌等表面改性, 制备具备核壳结构的磁性微粒, 但其形体单一<sup>[7-9]</sup>. 目前还未见到利用微生物形体以其细胞为成形模板进行羰基金属受热分解包覆来构造多样形体功能微颗粒的相关研究.

## 1 材料和方法

### 1.1 微生物培养、收集与前处理

本研究采用钝顶螺旋藻(*Spirulina Platensis*, Nordst. Geitl.)为成形微生物模板. 该微生物天然具有螺旋结构, 蓝绿色, 一般情况下, 螺旋宽 26~36  $\mu\text{m}$ , 螺距 43~57  $\mu\text{m}$ , 螺数 4~7, 最多可达 20 左右, 其螺旋藻丝由多细胞组成, 藻丝直径 5~8  $\mu\text{m}$ , 每个单细胞

厚度约为 4~5  $\mu\text{m}$ . 其培养是在封闭式光生物反应器中进行, 藻种、培养源来自中科院水生生物所, 培养成熟后用 250 目以上的绢筛网过滤收集. 为保持细胞原形, 在热分解处理前对收集的微生物细胞进行戊二醛固定<sup>[1]</sup>.

### 1.2 热分解五羰基铁包覆处理

根据工艺路线(图 1)和实验试剂配方(表 1), 搭建实验装置. 然后按照下列步骤进行试验:

①检查整个实验装置的气密性;

②称量螺旋藻, 并用无水乙醇系列脱水, 然后将其转移到三口烧瓶中, 插上通气管, 用来反复进行抽真空和通  $\text{N}_2$ , 直至密闭体系中的空气全部置换为  $\text{N}_2$ ;

③向三口烧瓶内加入  $\text{Fe}(\text{CO})_5$ , 搅拌(300 r/min)半小时后加入 N, N-二甲基甲酰胺(DMF), 并开始加热;

④当温度升至  $60^\circ\text{C}$  时, 即可观察到有气体缓慢冒出. 升温至  $110^\circ\text{C}$  反应两小时, 然后升温到  $146^\circ\text{C}$  以加速  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  分解; 当尾气出口不再有气泡冒出时, 停止加热;

⑤将混合物离心分离, 然后磁选并真空烘干;

⑥将干燥样品置于气氛马弗炉( $\text{N}_2$ )中,  $700^\circ\text{C}$  处理 1 h 后随炉冷却, 室温取出待用;

### 1.3 性能表征

用 XSY-1 型光学显微镜配合 Cannon 450 型相机进行光学观察, 用 CS3400 型扫描电镜进行微观形貌观察, 用牛津 Oxford Link 860 型能谱分析仪进行电子能谱成分分析, 用日本 JEM-1230 Electron

Microscope 型的透射电镜进行截面观察, 用日本 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.

## 2 实验结果

对热分解五羰基铁包覆的螺旋藻进行观察和分析, 有如下结果: 通过光学显微镜可观察到原来绿色透明的螺旋藻体(见图 2(a))变为黑色不透明(见图 2(b)), 并且表层黑色物质附着较牢, 大量去离子水冲洗难以冲去; 使用 NdFeB 柱状永磁铁对其进行磁场操作, 藻体可随外加磁场方向变化而旋转, 具有一定磁性, 另可观察到藻体烘干后形体保持良好.

图 3 是不同浓度五羰基铁包覆螺旋藻的 SEM 显微照片. 实验发现, 五羰基铁液体添加比例不同, 螺旋形微粒的表面光滑程度、磁性、和包覆厚度都有差别. 随着五羰基铁液体浓度的增加, 实验制备的螺旋形微粒的表面变得粗糙、磁性提高、表面铁的包覆厚度增加.

对热分解包覆处理后形体保持良好的螺旋藻体进行进一步观察和分析, 结果如下: ①制造超薄切片并进行透镜观察, 可观察到细胞表面黑色物质基本连续, 表层厚度较为均匀(图 4(a), (c), (e)); 随着反应混合液中五羰基铁液体浓度增加, 表面颗粒包覆厚度增加, 连续性变好, 其中 0.5 mL 五羰基铁对应包覆平均厚度为 0.3  $\mu\text{m}$ (图 4(b)), 1 mL 五羰基铁对应包覆平均厚度为 0.5  $\mu\text{m}$ (图 4(d)), 2 mL 五羰基铁对应包覆平均厚度为 0.8  $\mu\text{m}$ (图 4(f)), 同时发现细胞内部出现纳米颗粒(图 4(a), (c), (e)). ②成分分析表明, 细胞表面主要成分仍为 Fe, O, C 元素, 其中 C, O 元素主要来自生物自身, Fe 是羰基铁热分解生成的产物. 为观察表面成分是否均匀, 随机对不同藻上不同点的成分进行分析, 表明藻体表面成分较为均匀. ③对表层物质进行 XRD 相结构分析(见图 6), 细胞表层物质主要晶体结构的其晶面间距  $d$ -value 值与  $\alpha$ -Fe 的晶面间

表 1 热分解五羰基铁包覆螺旋藻实验配方

Bio-template	Reagent	Dispersant
Spirulina (g)	$\text{Fe}(\text{CO})_5$ (mL)	N, N-dimethylformamide (DMF) (mL)
1	1	40
1	0.5	40
1	2	40

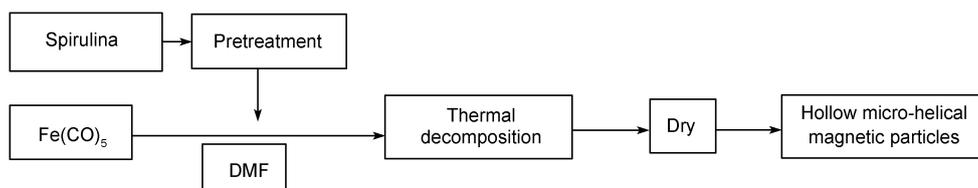


图 1 羰基铁热分解生物约束成形工艺路线

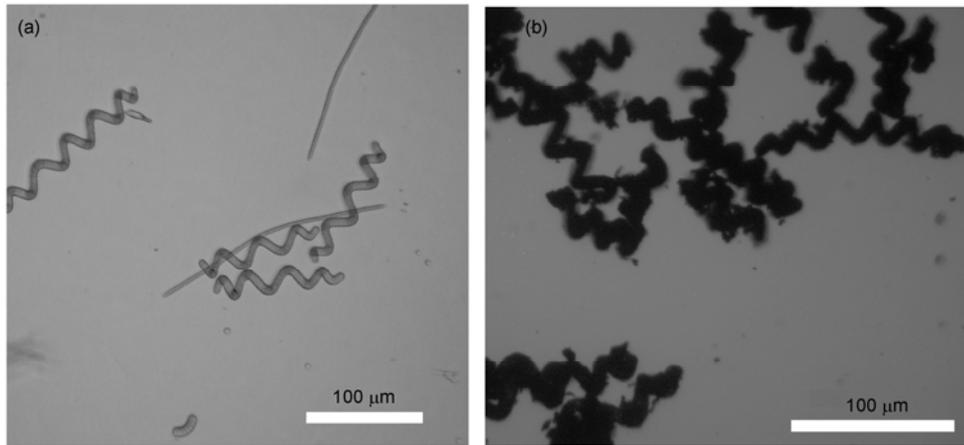


图2 不同阶段的螺旋藻光学照片

(a) 热分解包覆前螺旋藻; (b) 热分解包覆后螺旋藻

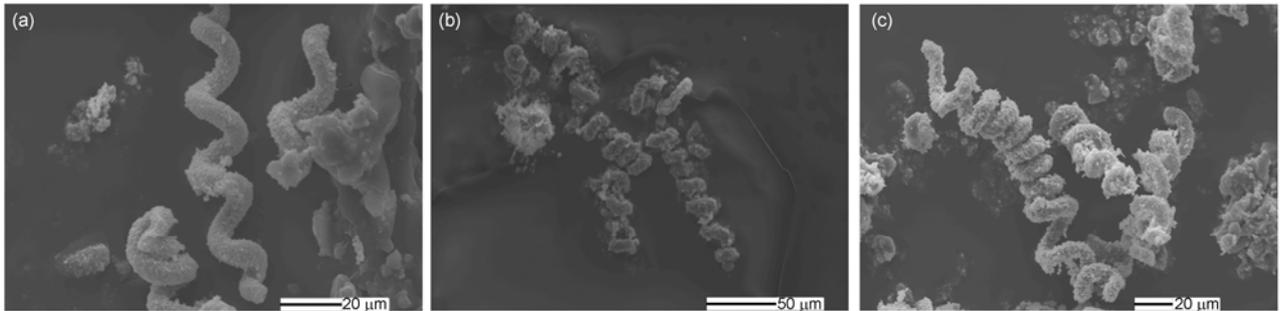


图3 热分解不同浓度五羰基铁包覆螺旋藻 SEM 照片

(a) 0.5 mL 五羰基铁; (b) 1 mL 五羰基铁; (c) 2 mL 五羰基铁

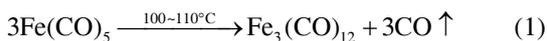
表2 表面覆盖层成分分析(Atom Fraction, %)

Concentration of iron pentacarbonyl (mL)	O	Fe	C
0.5	39.24	11.24	49.52
1	31.28	39.10	29.63
2	19.10	52.81	28.09

距理论值  $d$  数据符合很好(JCPDS No. 06-0696), 说明热分解沉积  $\alpha$ -Fe 工艺可行.

### 3 机理分析

#### ① Fe 粒子的生成过程



$\text{Fe}(\text{CO})_5$  逐步升温液相热分解分两步进行: 第一步分解温度为  $103^\circ\text{C}$  左右, 发生的分解反应是

$\text{Fe}(\text{CO})_5$  失去部分羰基生成多核羰基合铁; 第二步分解温度为  $140\sim 150^\circ\text{C}$ , 发生的分解反应为多核羰基合铁生成金属铁粒子.

#### ② 微生物细胞表面 Fe 覆盖层的形成机理

脱水的微生物细胞与五羰基铁溶液混合并搅拌均匀后, 细胞内部和表面均有  $\text{Fe}(\text{CO})_5$ , 当向混合溶液中加入适量的  $\text{N,N}$  二甲基甲酰胺, 再经激烈的机械搅拌后, 吸附有  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  的螺旋藻均匀分散在  $\text{N,N}$  二甲基甲酰胺溶液中. 当温度升到  $110^\circ\text{C}$  时, 细胞内部和表面的  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  开始受热分解变为多核羰基合铁(尺寸为纳米级, 具有极大的比表面积), 优先在细胞表面吸附、成核、沉积. 当温度进一步升高到  $146^\circ\text{C}$  时, 多核羰基合铁开始分解为铁原子和  $\text{CO}$ , 由于细胞表面在微观是很多空洞与凸凹不平的分子构成的, 因此与微生物细胞离得最近的反应物在其表面容易发生非均匀成核, 成为微生物细胞表面晶体的形

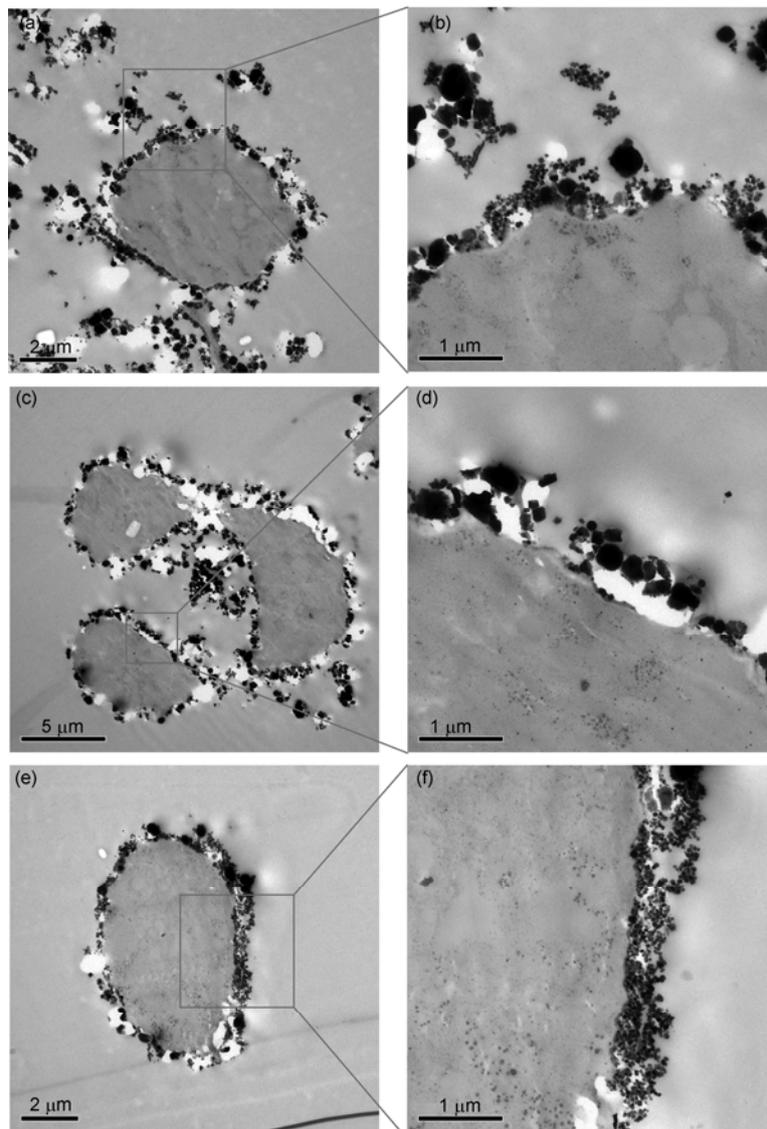


图 4 不同浓度五羰基铁热分解包覆螺旋藻透射电镜图

(a) 包覆层形貌(0.5 mL); (b) 包覆层放大照片(0.5 mL); (c) 包覆层形貌(1 mL); (d) 包覆层放大照片(1 mL); (e) 包覆层形貌(2 mL); (f) 包覆层放大照片(2 mL)

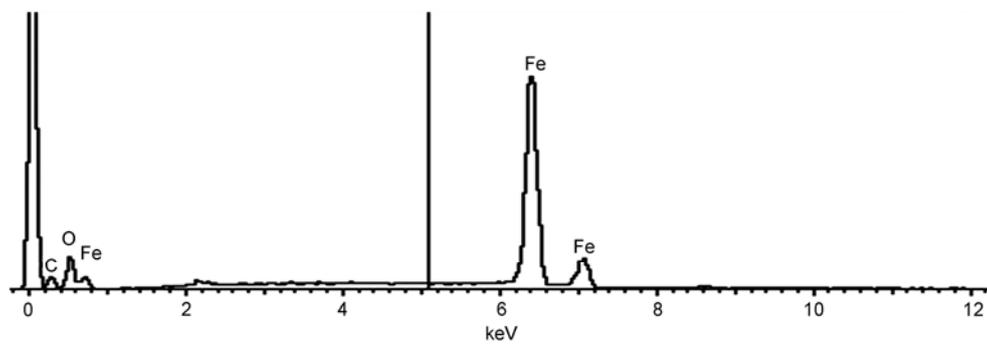


图 5 羰基铁液相沉积包覆样品 EDS 分析结果

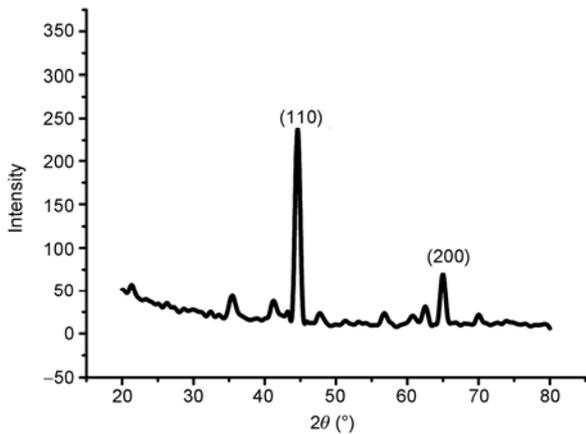


图6 XRD 晶相结构衍射曲线

核中心. 形成的晶核按各自方向吸附周围原子继续长大, 在长大的同时又有新晶核出现、长大, 与此同时, 反应液中的初级粒子(多核羰基合铁分解产生的铁原子)和二级粒子(以液体中自由铁原子为核长大的纳米级Fe粒子)也因为小尺寸极易吸附在微生物细胞表面, 而且由于细胞的吸附包覆, 激烈的搅拌, 阻碍了粒子与CO结合, 从而可以制备较纯的铁. 细胞表面的晶体逐渐长大, 其周围的粒子也逐渐积累, 并更多的吸附在微生物细胞表面, 并继续长大. 当细胞表面相邻晶体彼此接触时, 晶体被迫停止长大, 而向

垂直于细胞表面的方向伸展, 直至全部结晶完毕, 从而形成连续的包覆层, 其原理示意图如图7所示.

其中形成晶核的速率对颗粒表面质量将会产生明显的影响, 形核速率快则使晶体细小、粒度分布范围宽、颗粒质量下降, 形核速率慢则颗粒粒度分布范围窄, 表面质量提高. 但由于形核速率受到反应液浓度、配比、搅拌速率、升温速率等多种因素的影响, 因此要控制羰基铁热分解生物约束成形颗粒的表面质量, 还需要进一步实验优化.

总的来说, 微生物细胞表面Fe包覆层的形成过程可分为: 1)细胞周围形成五羰基铁反应环境; 2)金属Fe在微生物细胞表面非均匀成核及周围金属Fe初级粒子的形成; 3)细胞表面以晶核为中心生长, 并吸聚周围已形成的初级粒子及二级粒子, 吸附的粒子与已有的晶核共同在细胞表面长大.

#### 4 结论与展望

1)通过热分解五羰基铁处理能够在微生物细胞表面包覆铁磁性层. 2)热分解五羰基铁处理后的微生物细胞干燥后形体保持良好, 得到的单体表面磁性层厚度、成分基本均匀, 细胞内部也有纳米颗粒产生. 3)文中实验条件下的微生物细胞表面包覆层为 $\alpha$ -Fe. 4)所提出的微生物细胞热分解法磁性化工工艺有望推

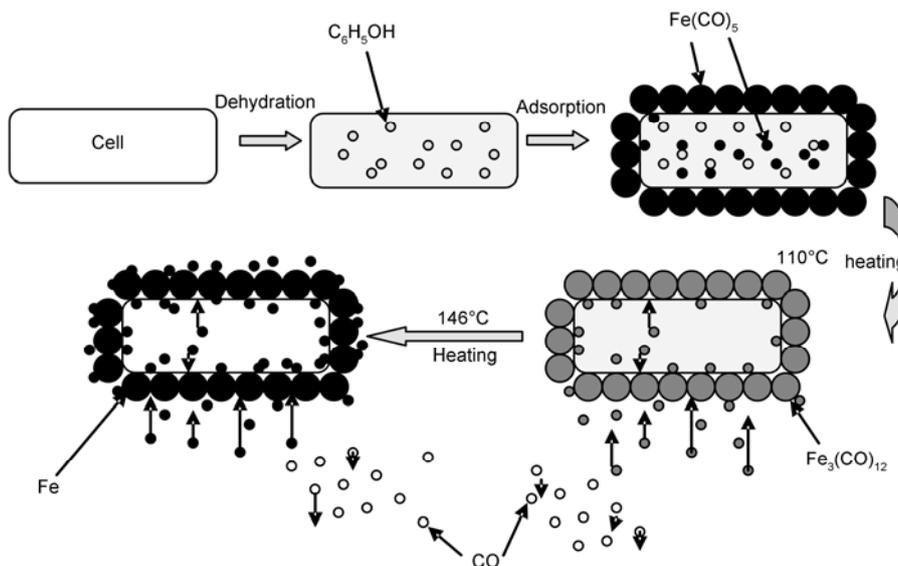


图7 热分解五羰基铁包覆细胞原理图

广到其他生理特征和形态特征的微生物细胞, 采用类似的工艺并借鉴其机理有望将更多种类的羰基金属材料包覆在微生物细胞表面。

自然界微生物天然具有采用其他方法难以制造出的多样形体, 特殊形体加上表面合适材质对微波吸收可产生特殊的效果, 其实验研究和理论研究都

尚待完善和发展, 本文采用热分解法, 探索实现在微波领域中应用广泛的羰基铁材料对具有多样形体的微生物细胞的包覆, 不仅为进一步提高微波吸收剂的吸收效果提供了新的手段, 也为形体对微波吸收的影响的相关理论发展提供了试验考证的新途径, 具有良好的应用前景和研究价值。

---

## 参考文献

- 1 黎向锋, 李雅芹, 蔡军, 等. 微生物细胞金属化工艺研究. 中国科学 E 辑: 技术科学, 2002, 32(3): 338-342
- 2 黎向锋, 李雅芹, 蔡军, 等. 微生物细胞磁性金属化研究. 科学通报, 2003, 48(2): 145-148
- 3 陈博, 詹天卓, 连志阳, 等. 微生物细胞溶胶-凝胶法磁性化研究. 中国科学 E 辑: 技术科学, 2008, 38(7): 1055-1060
- 4 Chen B, Cai J, Lian Z Y, et al. A study on machining quality of a kind of functional hollow lightweight metallic micro-helices by bio-limited forming. Mater Sci Forum, 2006, 532-533: 317-320
- 5 邓龙江, 周佩珩, 翁小龙. 磁性电磁吸波材料的研究现状与进展. 功能材料, 2005, 2(增刊 1): 8-10
- 6 郭小芳, 王长征, 吴世洋. 吸波材料的研究现状与发展趋势. 甘肃冶金, 2010, 32(4): 47-52
- 7 李亨成, 龚荣洲, 何华辉, 等. 羰基铁镍纤维的结构控制及微波磁学性能研究. 稀有金属材料与工程, 2007, 36(增刊): 222-224
- 8 Kim J C, Lee J W, Park B Y, et al. Characteristics of Fe/SiO<sub>2</sub> nanocomposite powders by the chemical vapor condensation process. J Alloys Compd, 2008, 449(1-2): 258-260
- 9 夏宁博, 邢欣, 司亚凯, 等. 四针状氧化锌晶须吸波性能的改进. 安全与电磁兼容, 2009, 1: 57-59