

بررسی و مقایسه کاهش زیستی آهن فریک ساختمانی در کانی‌های نانترونیت، گئوتیت و هماتیت

نسرین قربان زاده^۱ - امیر لکزیان^{۲*} - غلامحسین حق نیا^۳ - علیرضا کریمی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۵/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۲۲

چکیده

کاهش زیستی یک فرایند مهم است که بر بسیاری از ویژگی‌های کانی‌های آهن‌دار و چرخه بیوژئوشیمیایی آهن در اکوسیستم‌های طبیعی تأثیر دارد. اکسی‌هیدروکسیدها و فیلوسیلیکات‌های آهن‌دار دو منبع عمده آهن در خاکها، سنگها و ته‌نشستها بوده که توانایی کاهش زیستی را در طول زمان دارا می‌باشند. در این مطالعه به بررسی و مقایسه فرایند کاهش زیستی در دو منبع عمده آهن (اکسیدها و فیلوسیلیکاتها) در حضور باکتری *Shewanella sp.* پرداخته شد. به این منظور آزمایشی با شانزده تیمار شامل کاهش زیستی گئوتیت، هماتیت و دو نوع نانترونیت با و بدون ناقل الکترون (AQS) و تیمارهای شاهد (شامل تیمارهای فوق بدون باکتری) با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که کاهش زیستی در حضور AQS در کانی‌های گئوتیت، هماتیت و دو نوع نانترونیت افزایش یافت. درصد کاهش زیستی در حضور AQS به ترتیب در (NAu-2)، (NAu-1)، هماتیت و گئوتیت به ۲۱، ۹، ۳ و ۸/۷ درصد رسید. این نتایج حاکی از آن بود که زمانی که اکسیدهای آهن (گئوتیت و هماتیت) و سیلیکات‌های آهن‌دار شکل غالب آهن فریک قابل دسترس در خاکها و ته‌نشستهای زیرسطحی هستند، باکتری *Shewanella sp.* قادر به بقاء و تولید مقادیر چشمگیری از آهن دو می‌باشد. نتایج همچنین نشان داد که در شرایط یکسان کاهش زیستی (غلظت گیرنده و دهنده الکترون و تعداد مساوی سلول باکتری) اندازه و سطح ویژه کانی نقش کلیدی در راندمان کاهش زیستی بازی می‌کنند.

واژه‌های کلیدی: کاهش زیستی، آهن دو، *Shewanella sp.*

مقدمه

باکتری‌هایی غیرجذب‌ی کاهنده آهن^۵ (DIRB) به تعداد بیشتر از^۵ ۱۰ سلول در هر گرم وزن خشک خاکهای کشاورزی موجود هستند و نقش آنها در کنترل حالت‌های اکسایش و کاهش آهن کاملاً تشخیص داده شده است (۱). دو منبع عمده آهن در خاکها و ته‌نشستها، آهن موجود در ساختارهای آمورف و کریستالین است. اکسی‌هیدروکسیدهای آهن آمورف (فری‌هیدراتها) به عنوان شکل غالب آهن فریک قابل کاهش در خاکها و ته‌نشستها بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲۲ و ۲۶). اگرچه در بسیاری از خاکها و ته‌نشستها و مواد زیرسطحی اکسیدهای آهن کریستالی بسیار فراوان‌تر از اکسیدهای آهن آمورف بوده و دو کانی هماتیت^۶ و گئوتیت^۷ مهم‌ترین شکل از اکسیدهای آهن کریستالی موجود می‌باشند. تحقیقات در زمینه بیوژئوشیمی اهمیت بالقوه این دو کانی را به عنوان پذیرنده الکترون برای باکتری‌های کاهنده آهن مشخص نموده و در فرایند

آهن عنصری فراوان در خاکها و کانی‌های رسی است و از این رو چرخه آن در فرایندهای محیطی حائز اهمیت بسیار بوده و تحرک و پایداری این عنصر تا حدودی به وسیله حالت‌های اکسایش و کاهش آن کنترل می‌شود. لذا طیف وسیعی از تحقیقات در این زمینه صورت گرفته است. مطالعات انجام شده در رابطه با کاهش شیمیایی آهن فریک توسط دی‌تیونات سدیم و هیدرازین، اثرات این فرایند را بر روی انبساط‌پذیری، سطح ویژه، رنگ، و دیگر ویژگی‌های کانی‌های رسی مشخص نموده است (۳۳). ولی از آن‌جا که کاهنده‌های شیمیایی به مقدار بسیار اندکی در خاکها حضور دارند، نقش چشمگیری را در حالت‌های اکسایش و کاهش آهن موجود در کانی‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی دارا نمی‌باشند (۳۲). در حالی که نقش

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری، استادان و استادیار گروه علوم خاک،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: alakzian@yahoo.com)

* - نویسنده مسئول:

5- Dissimilatory Iron Reduction Bacteria

6- α -Fe₂O₃

7- α -FeO(OH)

کانی نانترونیست عمدتاً در لایه اکتاهدراال قرار دارد ولی می‌تواند مقداری از آن نیز در لایه تتراهدرال باشد. هدف دیگر این مطالعه بررسی تأثیر جایگاه آهن در ساختار نانترونیست بر فرایند کاهش زیستی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی هماتیت و گئوتیت

دو نمونه کانی هماتیتو گئوتیت از شرکت کانیان مشهد تهیه و سپس ترکیب عنصری این کانی‌ها با آنالیز^۱ XRF در آزمایشگاه شرکت کانساران بینالود تعیین شد. مقدار اکسید آهن در کانی‌های هماتیت و گئوتیت به ترتیب ۸۱/۵۶ و ۸۳/۲۲ درصد تعیین شد و ترکیبات سمی نیز در این دو اکسید آهن گزارش نشد. سپس با انجام عملیات خردایش و نرمایش ذرات این دو کانی به قطر کمتر از یک میکرومتر تهیه شدند. این دو کانی به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند تا کربن آلی آنها حذف شود (۲۷) و از این نمونه‌ها برای آزمایشات بعدی استفاده شد.

تهیه و آماده‌سازی کانی‌های رسی نانترونیست

کانی‌های رسی نانترونیست مورد نیاز برای انجام این آزمایش (NAu-1, NAu-2) از مرکز نگهداری کانی‌های رسی در کشور آمریکا^۲ تهیه شدند. مقدار کل آهن در کانی (NAu-1) ۱۶/۴ درصد است که تنها ۰/۴ درصد آن آهن دو می‌باشد و مقدار کل آهن در (NAu-2) ۲۳/۴ درصد است که ۰/۶ درصد آن آهن دو می‌باشد. (NAu-1) مقدار کمی ناخالصی گئوتیت، ایلیت، کوارتز و کلسیت را دارا می‌باشد، در حالی که (NAu-2) کاملاً خالص است. مقدار آهن فریک در (NAu-1) در حدود ۱۶ درصد (وزنی/وزنی) و در (NAu-2) در حدود ۲۳ درصد (وزنی/وزنی) می‌باشد (۱۵). مطالعات اسپکترسکوپی موس بائر نشان داده که دو نوع نانترونیست (NAu-1 و NAu-2) دارای دو جایگاه متفاوت آهن نیز می‌باشند به این ترتیب که آهن فریک در NAu-1 در لایه اکتاهدراال این کانی قرار دارد و تنها بخش اندکی از آن (۲ درصد) در لایه تتراهدرال می‌باشد ولی در کانی NAu-2، هم در لایه تتراهدرال (۸ درصد) و هم در لایه اکتاهدراال (۹۲ درصد) در دو جایگاه متفاوت سیس (Cis(M₂) و ترانس (trans(M₁)) قرار دارد (۱۵ و ۱۱). به منظور آماده‌سازی این کانی‌ها، در ابتدا این دو کانی اندکی مرطوب و کاملاً آسیاب شدند و سپس با آب اشباع شده و سوسپانسیون‌های حاصله برای جداسازی ذرات با اندازه

کاهش زیستی مورد توجه بسیار قرار گرفته‌اند (۲۴ و ۲۶). باکتریهای کاهنده آهن، قادر به کاهش کانی‌های آهن کریستالین شامل کانی‌هایی مانند اکسیدهای آهن (۲۶) و فیلوسیلیکاتها (۱۸) برای تولید انرژی هستند که در این میان فیلوسیلیکاتها در خاکهای کشاورزی بسیار فراوان هستند (۵). در مطالعه‌ای که توسط ردن و همکاران (۲۶) انجام گرفت، مشخص شد که باکتری *Shewanella alga* بخش قابل توجهی (۱۸-۸ درصد) از آهن فریک موجود در اکسیدهای آهن کریستالین ته‌نشستها را کاهش می‌دهد. در میان فیلوسیلیکاتهای آهن دار، کانی اسمکتیت به عنوان بخش عمده‌ای از آهن کریستالین که در مدت زمان کوتاه دستخوش فرایندهای اکسایش و کاهش می‌شود بسیار مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۷). در مطالعه‌ای که توسط لاولی و همکاران (۲۳) انجام گرفت، مشخص شد که برخی از باکتریهای خاک قادر به کاهش ۹۰ درصدی آهن فریک ساختمانی در کانی‌های رسی اسمکتیت می‌باشند که این فرایند بر طیف گسترده‌ای از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک تأثیر دارد. تغییر ویژگی‌هایی از کانی رسی بر اثر فرایند کاهش زیستی مانند ظرفیت تبادل کاتیونی و انبساط‌پذیری بر ویژگی‌هایی همچون ساختمان (۹ و ۳۲) نفوذپذیری (۱۲) و حاصلخیزی خاک (۲۰) اثرگذار است. فرایند کاهش زیستی منجر به کاهش انبساط‌پذیری رس و در نتیجه کاهش سطح ویژه آن و افزایش چگالی بار سطحی می‌شود که خود سبب افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی در اسمکتیت‌ها شده و لذا در ویژگی‌های بیولوژیسمی خاکهای غنی از کانی‌ها نقش حیاتی دارد (۱۹). سازوکاری که به وسیله آن کانی‌ها به وسیله، باکتریها کاهش می‌یابند تنفس غیرهوازی آهن فریک ساختمانی همراه با اکسایش کربن است که در برخی گونه‌های باکتری مانند *Geobacter* به منظور انجام این فرایند، تماس مستقیم با منبع آهن فریک مورد نیاز است و اما در برخی دیگر مانند *Shewanella* نیاز به تماس مستقیم نبوده و این باکتری توان تولید کلات‌کننده‌های آهن فریک و محلول کردن آن را از فاز جامد دارا بوده و از طرفی ترکیبات ناقل الکترون را نیز تولید می‌کند (۳۰) که باعث شده این باکتری در مطالعات کاهش زیستی بسیار مورد توجه محققین قرار گیرد. لذا با توجه به این که اکسی‌هیدروکسیدها و فیلوسیلیکاتهای آهن دار دو بخش عمده و مهم آهن در خاک‌ها و ته‌نشست‌ها هستند که باکتریها قادر به رشد و فعالیت در حضور آنها بوده و همچنین کانی‌های کاهش یافته عوامل مهمی در اصلاح آلاینده‌های آلی و غیرآلی در خاک و سیستم‌های آب زیرزمینی می‌باشند، بررسی و مطالعه فرایند کاهش آهن فریک ساختمانی در این دو منبع از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و به عنوان یک فرایند نوید بخش برای اصلاح زیستی فلزات سنگین و رادیونوکلئوتیدها در درون سفره‌های آب زیرزمینی تشخیص داده شده است (۸ و ۱۵). در این مطالعه هدف بررسی و مقایسه کاهش زیستی در دو کانی اکسید آهن هماتیت و گئوتیت و دو نوع نانترونیست (NAu-1 و NAu-2) در حضور باکتری *Shewanella sp.* می‌باشد. از سوی دیگر، آهن در

1- X-Ray Fluorescence

2- Source Clays Repository of the Clay Minerals Society

(CFU)^۵ انجام گرفت. در حدود ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون رس-باکتری از ظروف شیشه‌ای آزمایش با یک سرنگ سترون نمونه برداری و تا ۸ برابر رقیق شد. رقت‌های انتخابی بر روی محیط کشت (TSA) پخش و کشت انجام گرفت و تعداد واحدهای کلونی تشکیل شده که با چشم قابل شمارش بودند بعد از گذشت مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون شمارش شدند (۲).

شرایط آزمایش‌های کاهش زیستی

به طور کلی در انجام آزمایش‌های کاهش زیستی، آهن فریک در کانی‌های رسی به عنوان پذیرنده الکترون، لاکتات به عنوان دهنده الکترون، سلولهای باکتری به عنوان واسطه و AQS^۶ به عنوان ناقل الکترون مورد استفاده قرار گرفتند و همواره در فرایند کاهش زیستی حضور داشتند. تمامی محلولهای آزمایشی در کاهش زیستی دو نوع نانترویت در بافر بی‌کربنات با اسیدیته ۷-۸/۶ و در کاهش زیستی هماتیت و گنوتیت در بافر PIPES با pH ۶/۸ تهیه شدند. برای انجام این آزمایش‌ها از ظروف شیشه‌ای با حجم ۲۵ میلی لیتر استفاده شد. یک میلی لیتر از سوسپانسیون کانی‌های رسی (غلظت نهایی ۲۵ میلی مولار آهن فریک) و ۹ میلی لیتر بافر بی‌کربنات با PIPES به ظروف شیشه‌ای اضافه و سپس این ظروف با گاز نیتروژن پر و درب پلاستیکی آنها کاملاً محکم و درزگیری شد. ۱۰ میلی لیتر لاکتات با غلظت ۲۰ میلی مولار، یک میلی لیتر AQS با غلظت ۵۰۰ میکرومولار و یک میلی لیتر از سوسپانسیون سلولهای باکتری (۲×۱۰^۸ سلول در میلی لیتر از طریق شمارش بر روی پلیت) با استفاده از سرنگ سترون به ظروف شیشه‌ای اضافه شدند که در تیمارهای شاهد از بافر به جای باکتری استفاده شد. سپس ظروف بر روی شیکر (۶۰ دور در دقیقه) و در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۳۰ روز نگهداری شدند (۱۵). آزمایش با شانزده تیمار شامل کاهش زیستی برای چهار کانی هماتیت، گنوتیت و دو نوع نانترویت (با و بدون ناقل الکترون AQS) و تیمارهای شاهد (بدون باکتری و همراه با باکتری غیر زنده) و سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت (جدول ۱).

تمامی مراحل انجام آزمایش و نمونه‌برداری‌های بعدی در شرایط کاملاً استریل و اتمسفر بی‌هوای در اتاقک حاوی گاز نیتروژن انجام گرفت. لازم به ذکر است که در این مطالعه به منظور بررسی قابلیت کاهش زیستی AQS در عدم حضور رس تیماری با شرایط مشابه سایر تیمارها بدون حضور رس اعمال شد که در این تیمار راندمان کاهش زیستی صفر بود و لذا در مقایسه با سایر تیمارها لحاظ نشد.

کوچکتر از ۰/۵ میکرومتر سانتیفریوژ و پس از آن ذرات حاصل از سانتیفریوژ در دمای ۸۰°C خشک^۱ شدند (۸ و ۱۵). به منظور از بین بردن هرگونه آلودگی میکروبی، ذرات رس با اندازه کوچکتر از ۰/۵ میکرومتر در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت (سه بار) با فاصله زمانی یک ساعت پاستوریزه شدند. لازم به ذکر است که پاستوریزه کردن هیچ تغییری را در ساختمان این کانی‌ها ایجاد نمی‌کند. سپس ذرات رس با اندازه کوچکتر از ۰/۵ میکرومتر در بافر بی‌کربنات استریل با اسیدیته ۷ (۰/۱ گرم بر لیتر کلرید پتاسیم و ۲ گرم بر لیتر بی‌کربنات سدیم) در شرایط بی‌هوای و زیر فشار گاز نیتروژن آماده و برای مراحل بعدی انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند (۲). تعیین سطح ویژه کانی‌های هماتیت، گنوتیت و دو نوع نانترویت نیز با روش^۲ (BET) که جذب سطحی مولکولهای گاز نیتروژن مایع را بر روی سطوح جامد به منظور اندازه‌گیری سطح ویژه لحاظ می‌کند (۱۳) در آزمایشگاه تحقیقاتی مهندسی شیمی دانشکده مهندسی دانشگاه فردوسی انجام گرفت.

تهیه و بازکشت باکتری *Shewanella sp.*

باکتری *Shewanella sp.* از بانک میکروبی ایران (مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران - کرج) تهیه و پس از بازکشت در محیط کشت مایع^۳ (TSB) بدون دکستروز با غلظت ۳۰ گرم بر لیتر در گلیسرول ۴۰٪ در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و برای انجام مراحل بعدی استفاده شد (۱۵). به منظور استفاده از باکتری در آزمایش‌های کاهش زیستی ابتدا باکتری به‌طور هوای در محیط کشت مایع (TSB) بدون دکستروز کشت داده شد و به منظور رسیدن به مرحله رشدی متوسط تا نهایی فاز لگاریتمی، به مدت ۱۶ ساعت بر روی شیکر (۱۱۰ دور در دقیقه) قرار گرفت. سپس سلول‌های باکتری برای کاهش زیستی نانترویت، هماتیت و گنوتیت به ترتیب با محلول بافر بی‌کربنات (۰/۱ گرم بر لیتر کلرید پتاسیم و ۲ گرم بر لیتر بی‌کربنات سدیم) و بافر PIPES^۴ (۱۰ میلی مولار با اسیدیته ۶/۸) سه بار سانتیفریوژ (۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۴ دقیقه) و شستشو داده شدند و نهایتاً سلولهای باکتری برای آزمایش‌های کاهش زیستی مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور تهیه باکتری غیر زنده قبل از تلقیح باکتری به مدت یک ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت (۱۵). اندازه‌گیری قابلیت زنده ماندن سلولهای باکتری در محیط کشت نیز به روش شمارش سلول زنده

- 1- Freeze Drying
- 2- Stephen Brunauer, Paul Hugh Emmett, and Edward Teller
- 3- Tryptic Soy Broth
- 4- 1,4-piperazinediethanesulfonic acid

5- Colony Forming Unit
6- 9,10-anthraquinone-2-sodium salt

جدول ۱- تیمارهای آزمایشی اعمال شده در دو نوع نانترونیت، گئوتیت و هماتیت

تیمار کانی	بدون باکتری	همراه باکتری غیر زنده	همراه باکتری در حضور AQS	همراه باکتری بدون AQS
NAu-1	NAu-1	NAu-1+PSh	NAu-1+Sh+AQS	NAu-1+Sh-AQS
NAu-2	NAu-2	NAu-2+PSh	NAu-2+Sh+AQS	NAu-2+Sh-AQS
Goethite	G	G+PSh	G+Sh+AQS	G+Sh-AQS
Hematite	H	H+PSh	H+Sh+AQS	H+Sh-AQS

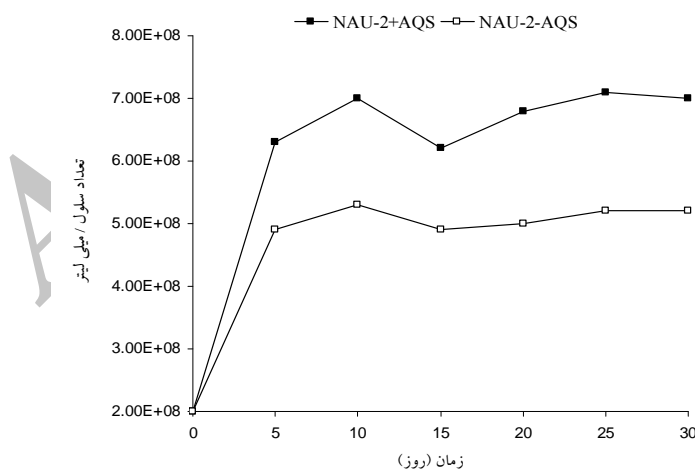
نتایج و بحث

اندازه‌گیری آهن دو محلول و قابل استخراج با اسید

مقدار کاهش آهن فریک ساختمانی در کانی‌های رسی با اندازه‌گیری آهن دو در زمانهای تعیین شده و پایش آن مشخص شد. لذا نمونه‌برداری در زمانهای مشخص (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ روز) از تیمارهای آزمایشی به منظور اندازه‌گیری آهن دو محلول و قابل استخراج با اسید صورت گرفت. ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون کانی رسی - باکتری با یک سرنگ سترون از درون ظروف شیشه‌ای برداشته و به میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری دارای ۰/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال (نسبت ۱:۱) افزوده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت و باقی ماندن نمونه‌ها در این حالت، آهن دو قابل استخراج با اسید به روش فروزین اندازه‌گیری شد (۳۱). به منظور اندازه‌گیری آهن دو محلول سوسپانسیون کانی رسی - باکتری سانتریفیوژ شد تا تمام رس کاملاً ته‌نشین شود و سپس غلظت آهن دو محلول رویی نیز به روش فروزین اندازه‌گیری شد (۳۱).

کاهش زیستی آهن در نانترونیت

نتایج حاصل از بررسی زنده ماندن باکتری‌ها در کانی NAu-2 در طول فرایند کاهش زیستی نشان داد که حضور AQS در تیمارها منجر به تداوم رشد سلول باکتری بیشتری نسبت به تیمارهای بدون AQS شد (شکل ۱). در آزمایشاتی که AQS به عنوان سل پذیرنده الکترون (در عدم حضور رس) انتخاب شد، تعداد سلولها پس از گذشت ۵ روز به حدود 1×10^7 رسید که پس از آن با گذشت زمان در پایان زمان ۳۰ روز از انجام آزمایش به حدود 1×10^6 سلول زنده رسید. این نتایج با گزارشهای ارائه شده توسط جی‌سی و همکاران (۱۵) مطابقت دارد. آنها بیان نمودند که حضور کربن، نیتروژن، فسفر و همچنین فلزات کم مصرف در رسهای نانترونیتی رشد سلولهای باکتری را حمایت می‌کند که در عدم حضور رسها این امر میسر نمی‌شود. نتایج حاصل از کاهش زیستی آهن در دو نمونه نانترونیت آزمایش نشان داد که گستره و مقدار کاهش زیستی بین دو نانترونیت متفاوت بود (شکل ۲).



شکل ۱- رشد سلول باکتری در آزمایشهای کاهش زیستی در کانی NAu-2 در طول ۳۰ روز انجام آزمایش

کاهش زیستی در آزمایشهای انجام شده با غلظت ثابت رس (۲۵ میلی‌مولار آهن فریک) برای NAu-1 در پایان ۱۵ روز در حضور

تکنیک‌های پراش اشعه ایکس^۱ تعیین شده بود. این نتایج دلالت می‌کنند که آهن فریک در مکان تتراهدرال تنها آهنی است که در فقدان تسهیل کننده ناقل الکترون کاهش می‌یابد و زمانی که ناقل الکترون برای تسهیل انتقال الکترون حضور دارد و فعالیت متابولیک باکتریها را ارتقاء می‌دهد، آهن فریک در مکان اکتاهدرال نیز قابلیت کاهش زیستی پیدا می‌کند. این نتایج با مطالعات اولیه بر روی کاهش نانترونیت به وسیله کاهنده‌های شیمیایی مانند دی‌تیونات و هیدرازین نیز مشابه بودند.

راسل و همکاران (۲۸) گزارش نمودند که نانترونیت‌هایی که دارای آهن در لایه تتراهدرال بودند نسبت به آنهایی که در ساختار خود فاقد آهن در این لایه بودند به مقدار بیشتری به وسیله دی‌تیونات کاهش یافتند. آنها همچنین بیان نمودند که این آهن ترجیحاً بعد از کاهش حل می‌شود. لذا تفاوت در این دو کانی در فرایند کاهش زیستی در درجه اول به ساختار کریستالی و جایگاه آهن موجود در ساختمان آنها (توزیع آهن فریک در مکانهای ساختمانی متفاوت) و در درجه دوم به بار لایه‌ای آنها مربوط می‌باشد. بار لایه‌ای در کانی NAu-1 و NAu-2 به ترتیب (۱/۰۵) و (۰/۷۲) توسط گیتس و همکاران (۱۱) گزارش شده است. مطالعات توسط دانگ و همکاران (۸) نشان داد که بار لایه‌ای بیشتر، منجر به کاهش زیستی کمتر می‌شود. در مواردی مانند کانی ایلیت که بار لایه‌ای نزدیک به ۲ دارند، گستره کاهش زیستی بسیار اندک و با سرعت پایین گزارش شده است. از طرفی، در این مطالعه سطح ویژه و بزرگی نانترونیت NAu-2 بسیار بیشتر از NAu-1 گزارش شد (جدول ۲) که خود دلیلی مبنی بر افزایش گستره و راندمان کاهش زیستی در کانی NAu-2 می‌باشد.

جدول ۲- نتایج آنالیز سطح ویژه نمونه‌های هماتیت، گنویت و دو

نوع نانترونیت	سطح ویژه (m ² /g)	
	NAu-1	NAu-2
هماتیت	۱۰/۴۰۵	۵۰/۰۹۳
گنویت	۲۰/۰۲۸	۱/۳۱۸

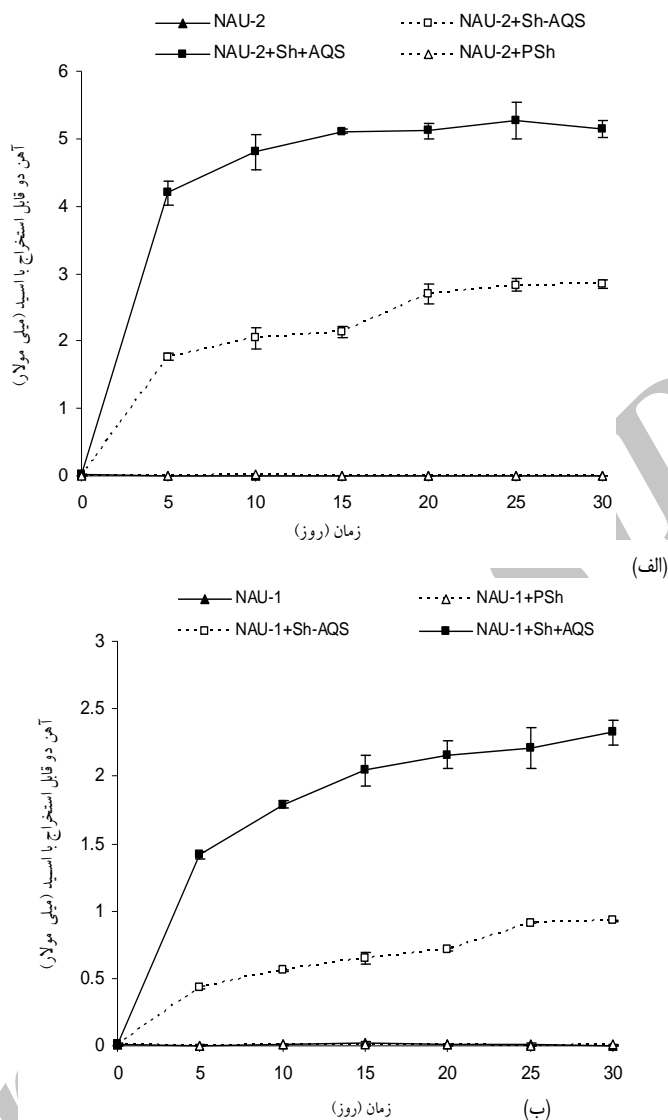
کاهش زیستی آهن در هماتیت و گنویت

آزمایشهای انجام شده با غلظت ثابت رس (۲۵ میلی‌مولار) نشان داد که گستره کاهش زیستی در پایان ۱۵ روز انجام آزمایش در حضور AQS در هماتیت و گنویت به ترتیب به ۰/۶۹ و ۱/۷۲ میلی‌مولار معادل با ۲/۷ و ۶/۸ درصد از مقدار اولیه آهن فریک رسید و در همین شرایط گستره کاهش در حضور AQS در ۳۰ روز انجام آزمایش برای هماتیت و گنویت به ترتیب به ۳ و ۸/۷ درصد از مقدار اولیه آهن فریک رسید (شکل ۳).

AQS به ۲ میلی‌مولار معادل با ۸٪ از مقدار اولیه آهن فریک در حالی که برای NAu-2 به ۵ میلی‌مولار معادل ۲۰ درصد از مقدار آهن فریک اولیه رسید. در همین شرایط کاهش زیستی در حضور AQS در ۳۰ روز انجام آزمایش به ترتیب در NAu-1 و NAu-2 حدود ۹ و ۲۱ درصد بود که نشان دهنده این است که فرایند کاهش در ۱۵ روز اول با راندمان بیشتری انجام شده است. در فقدان AQS کاهش در NAu-1 و NAu-2 به ترتیب به ۳/۵ و ۱۱ درصد از مقدار اولیه آهن فریک محدود شد (شکل ۲). لذا این نتایج نشان می‌دهد که باکتری *Shewanella sp* بدون ناقل الکترون نیز به دلیل عدم نیاز به تماس مستقیم با منبع آهن فریک به منظور کاهش زیستی توانایی انجام این فرایند را دارد و اما حضور AQS (که مواد آلی موجود در اکوسیستم‌های طبیعی مانند اسید هومیک نیز دارای بخش‌هایی حاوی ترکیبات کوینون می‌باشد) منجر به افزایش راندمان کاهش زیستی شد که با نتایج شی و همکاران (۳۰) مطابقت دارد. نتایج همچنین نشان داد که سرعت اولیه کاهش زیستی آهن به طور معنی‌داری در NAu-2 بالاتر از NAu-1 بود. به عنوان مثال، در رس NAu-1 در حضور AQS تقریباً ۶۲ درصد از کل کاهش (که در ۳۰ روز اتفاق افتاد) پس از گذشت ۵ روز مشاهده شد. اما برای NAu-2، در مدت زمان مشابه مقدار کاهش به ۷۸ درصد از کل کاهش رسید (شکل ۲). اما در طول مدت زمان یکسان در این دو رس، کاهش در عدم حضور AQS تنها به ۴۷ و ۶۴ درصد از کل گستره کاهش از مقدار اولیه آهن فریک به ترتیب در NAu-1 و NAu-2 رسید. گستره کاهش در تیمارهای شاهد با سلولهای باکتری غیر زنده و بدون سلول باکتری همیشه کمتر از ۱ درصد بود. روند آهن دو قابل استخراج با اسید در تیمارهای رس (NAu-1 و NAu-2) بدون باکتری و همراه با باکتری غیرزنده بر محور زمان منطبق شده است (شکل ۲).

جی‌سی و همکاران (۱۵) که به بررسی تأثیر جایگاههای آهن در کاهش زیستی دو نانترونیت (NAu-1 و NAu-2) توسط آنالیزهای موس بائر اسپکتروسکوپی پرداختند، به این نتیجه رسیدند که کاهش زیستی در NAu-1 در ابتدا در ناخالصی گنویت آن اتفاق می‌افتد و آهن فریک سیس (Cis) در مکان اکتاهدرال تنها به مقدار اندکی کاهش می‌یابد ولی در کانی NAu-2، کاهش زیستی از ترکیبی از آهن فریک در جایگاه تتراهدرال و آهن فریک ترنس (trans) در لایه اکتاهدرال حاصل می‌شود و آهن فریک در جایگاه سیس (Cis) به مقدار اندکی کاهش می‌یابد. لی و همکاران (۲۱) گزارش نمودند، هنگامی که آهن فریک در NAu-2 به عنوان سل پذیرنده الکترون استفاده شد، گستره کاهش زیستی در این کانی ۱۰ درصد بود که این گستره کاهش با بخشی از آهن فریک کل در مکان تتراهدرال (۹ درصد) مشابه بود که به وسیله گیتس و همکاران (۱۱) با استفاده از

1- X-ray Absorption fine-Structure Spectroscopy



شکل ۲- مقایسه میانگین‌های آهن دو قابل استخراج با اسید در تیمارهای الف (NAU-1) ب (NAU-2) در مدت زمان ۳۰ روز

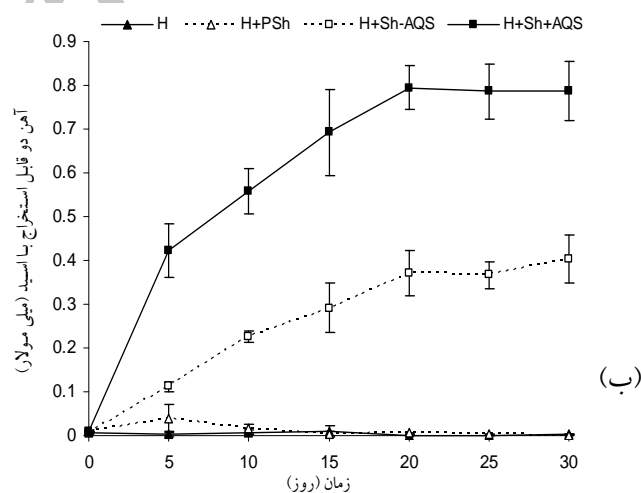
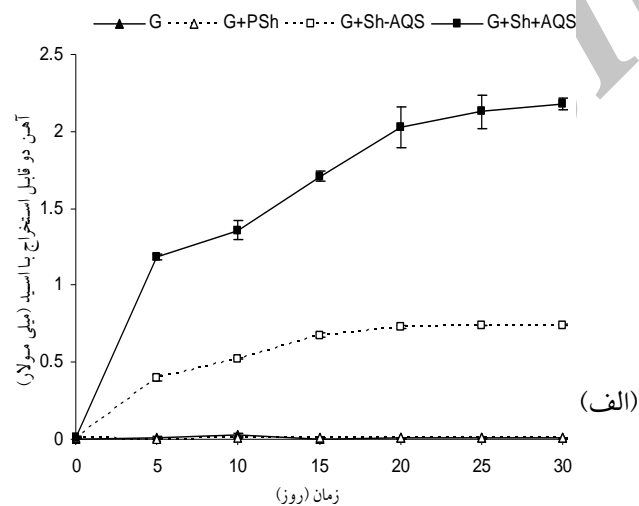
باکتری غیر زنده و بدون سلول باکتری همیشه کمتر از ۱ درصد بود. مقدار آهن دو محلول اندازه‌گیری شده در کاهش زیستی دو نوع کانی نانو زینت (NAU-1 و NAU-2)، هماتیت و گنوتیت اندک بود که به همین دلیل روند آزادسازی آهن دو در محلول در این فرایند تنها در تیمارهایی که AQS را دریافت کرده بودند در شکل ۴ نشان داده شده است.

به طور کلی تفاوت در حلالیت اکسی‌هیدروکسیدها منجر به اختلاف در کاهش زیستی آنها می‌شود که این تفاوت در حلالیت‌ها نیز در صورت یکسان بودن اندازه ذرات ناشی از اختلافات در سطح

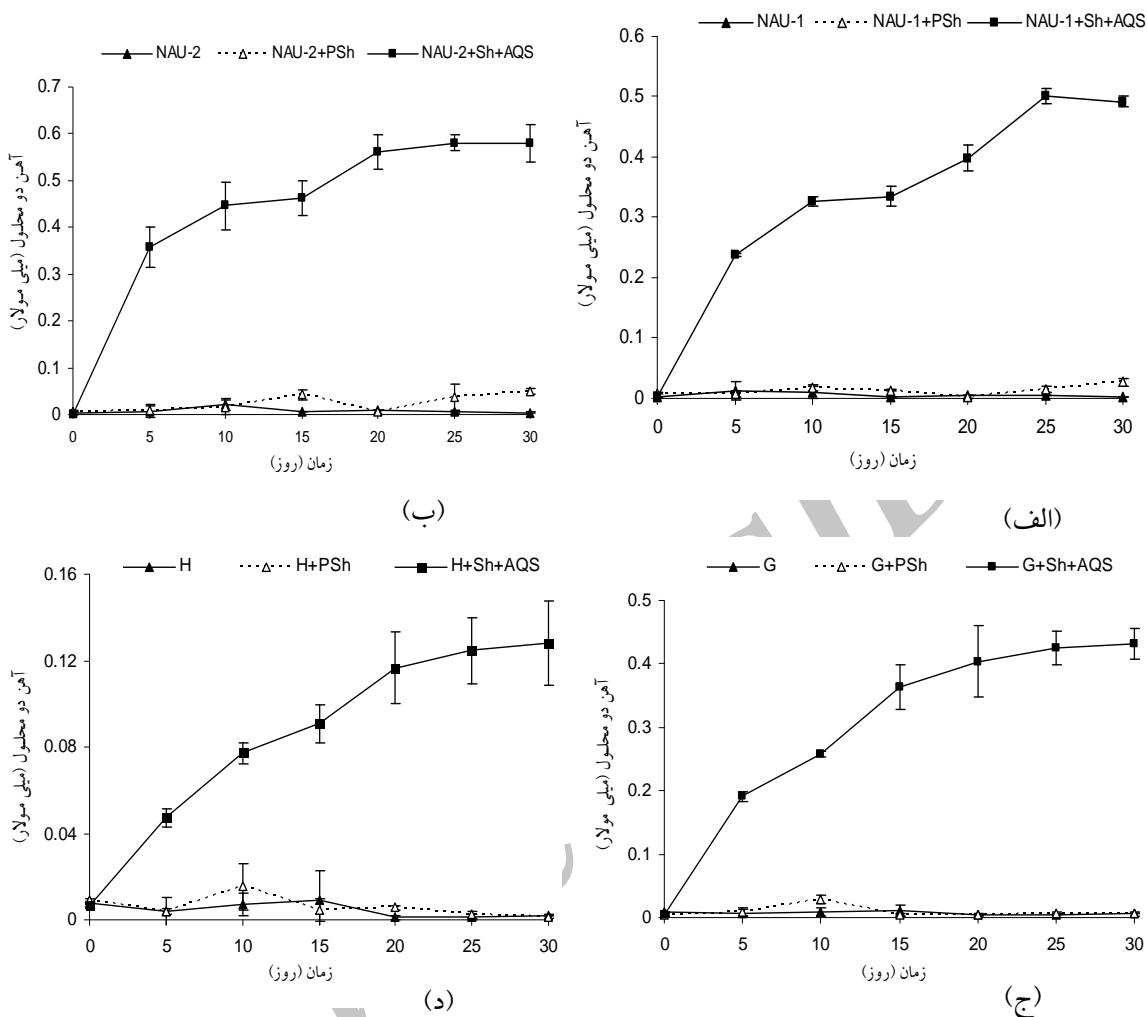
این مقادیر در فقدان AQS به ترتیب به ۱/۶ و ۳ درصد برای هماتیت و گنوتیت محدود شد. سرعت اولیه کاهش در هماتیت بالاتر از گنوتیت بود. به عنوان مثال، در اکسید آهن هماتیت در حضور AQS تقریباً ۸۵ درصد از کل کاهش (که در ۳۰ روز اتفاق افتاد) پس از گذشت حدود ۵ روز بود اما برای گنوتیت در مدت زمان مشابه مقدار کاهش به ۵۳ درصد از کل کاهش از مقدار اولیه آهن فریک رسید با این تفاوت که راندمان کاهش زیستی در گنوتیت بیشتر از هماتیت و با سرعت کمتر ولی تداوم بیشتری در طول زمان ادامه یافت (شکل ۳). در این دو کانی نیز گستره کاهش در تیمارهای شاهد با سلولهای

سرعت و گستره کاهش زیستی اکسی‌هیدروکسیدهای آهن فریک تحت تأثیر عوامل زیادی شامل زیست توده و ساختمان جامعه میکروبی، نوع و فراوانی آنها و تمایل جذب بین فازهای اکسید و باکتریها نیز می‌باشد (۳ و ۴). نسبت‌های اولیه کاهش اکسیدهای آهن فریک توسط باکتریها در ابتدای فاز کاهش به وسیله ویژگیهای ترمودینامیکی کریستال اکسید کنترل نمی‌شوند (۱۰). فیچر و همکاران (۱۰) بیان کردند که اگر پتانسیل اکسایش - کاهش سلولهای باکتری (یعنی سیتوکرومهای نوع c غشاء خارجی) به مقدار زیادی منفی باشد در کاهش فازهای اکسید کریستالی (مانند هماتیت یا گنوتیت) هر برخوردی که یک سلول باکتری کاهنده با یک ذره اکسید انجام دهد منجر به کاهش آهن فریک در سطح اکسید می‌شود.

ویژه، تبلور و مقدار ناخالصی آنهاست (۳). در مطالعه‌ای که توسط بنویل و همکاران (۳) در رابطه با کاهش زیستی اکسی‌هیدروکسیدهای آهن فریک در حضور باکتری *Shewanella putrefaciens* انجام گرفت مقدار کاهش زیستی را به شکل فری‌هیدرات < لپیدوکروسایت > گنوتیت < هماتیت > گزارش کردند که این نتایج در رابطه با هماتیت و گنوتیت با نتایج حاصله در این مطالعه مشابه است. آنها همچنین اختلاف در کاهش زیستی را به تفاوت در حلالیت اولیه اکسی‌هیدروکسیدهای آهن نسبت دادند که برای اکسی‌هیدروکسیدهای آهن آمورف بیشترین و برای هماتیت کمترین گزارش شده است. حلالیت اکسی‌هیدروکسیدهای آهن معمولاً از فری‌هیدرات به مقدار ($K_{SO}=10^{-39}$) به گنوتیت ($K_{SO}=10^{-41}$) و هماتیت ($K_{SO}=10^{-43}$) در اسیدیته محیط کاهش می‌یابد (۶ و ۱۴).



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های آهن دو قابل استخراج با اسید در تیمارهای الف) گنوتیت و ب) هماتیت در مدت زمان ۳۰ روز



شکل ۴- مقایسه میانگین‌های آهن دو محلول در کانی‌های الف) NAU-1، ب) NAU-2، ج) گنوتیت و د) هماتیت در تیمارهای مختلف در مدت زمان ۳۰ روز

و همکاران (۲۶) بر روی مقایسه کاهش زیستی اکسید آهن آمورف، گنوتیت و هماتیت به وسیله باکتری *Shewanella alga* انجام گرفت، مشخص شد که آهن فریک در اکسید آمورف ۲۰ برابر گنوتیت و در گنوتیت ۵۰ برابر بیشتر از هماتیت در طول یک دوره ۵ روزه از آنکوباسیون کاهش یافت که دلیل این نتایج را کاهش اندازه ذره و افزایش یافتن سطح ویژه این اکسیدها بیان نمودند. لذا فاکتورهایی مانند ساختمان بلور، مورفولوژی، انرژی آزاد و تراکم ذرات اثری مهم بر روی گستره کاهش اکسید فلزی دارند که در این میان اندازه ذرات و سطح ویژه به عنوان فاکتورهایی عمده در کنترل قابلیت اکسیدهای آهن برای کاهش زیستی می‌باشند (۲۴ و ۲۶). نتایج مطالعات نشان داده است که در دسترس بودن سطح فازهای جامد اکسیدها که در

نتایج حاصل از آزمایش همچنین حاکی از آن بود که بیشترین مقدار کاهش در ۵ روز اول دوره کاهش زیستی صورت گرفت زیرا نسبت‌های اولیه کاهش تحت کنترل عوامل سینتیکی بوده و احتمالاً به وسیله نسبت انتقال الکترون از سلولهای باکتری به اکسید کنترل می‌شود، در حالی که گستره طولانی مدت کاهش به وسیله آهن دو جذب سطحی شده بر روی سطوح اکسید و سلولهای باکتری محدود می‌شود (۲۶). این نتایج به روشنی ثابت کرده‌اند که نسبت و گستره کاهش زیستی اکسیدهای آهن فریک به وسیله سطح ویژه آنها کنترل می‌شود. در این مطالعه سطح ویژه گنوتیت نسبت به هماتیت بسیار بیشتر بود (جدول ۲) که منجر به افزایش راندمان و گستره کاهش زیستی در گنوتیت نسبت به هماتیت شد. در مطالعه‌ای که توسط ردن

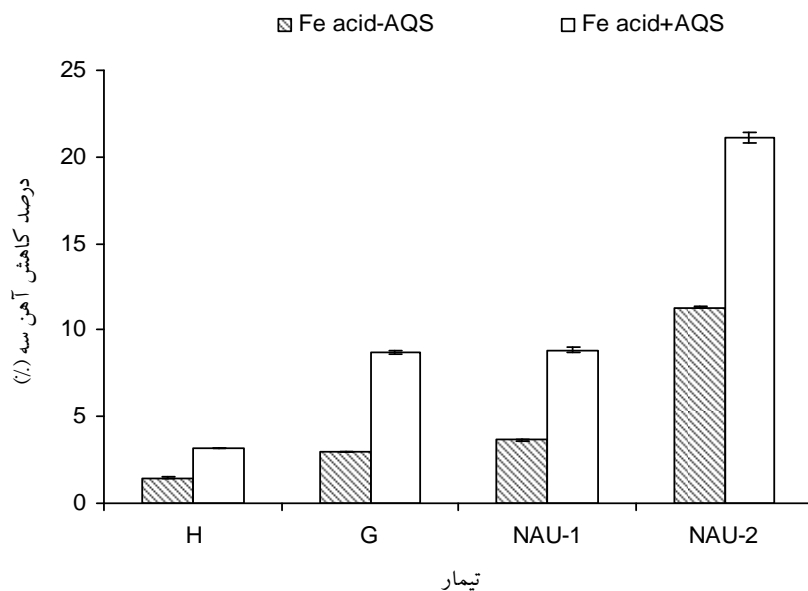
انتقال دهنده الکترون بر روی کاهش زیستی آهن فریک در گئوتیت و ایلیت به طور هم‌زمان به وسیله باکتری *Shewanella putrefaciens* انجام گرفت، ایلیت کاهش بیشتری را نسبت به گئوتیت به دلیل سطح تماس بیشتر ایلیت با باکتری نشان داد. در مطالعه‌ای دیگر نیز ایلیت در فقدان ناقل الکترون به دلیل تماس سطحی بیشتر بین ایلیت و سلولهای باکتری کاهش بیشتری را نسبت به گئوتیت نشان داد (۲۹). اگرچه در این مطالعات در حضور یک ناقل انتقال دهنده الکترون (AQDS)، گئوتیت مقدار کاهش بیشتری را به دلیل دسترسی بیشتر سلولهای باکتریایی به آن نشان داد (۸ و ۲۹). کاهش‌پذیری بیشتر ایلیت نسبت به گئوتیت در مطالعات دیگر نیز ثابت شده است (۱۶).

پژوهشگرانی که در تهنشستهای شامل اکسیدها و فیلوسیلیکاتهای آهن فریک ساختمانی فرایند کاهش زیستی را مورد بررسی قرار دادند، گزارش نمودند که غالباً فرایند کاهش زیستی در آهن فریک موجود در سیلیکاتها رخ می‌دهد. آنها گزارش نمودند که احتمالاً تماس سطحی بین سلولهای باکتری و کانی‌ها نقش مهمی را در این مورد ایفاء می‌کند (۷). مطالعات همچنین نشان داده که در تهنشستهای طبیعی و خاکها، آهن فریک ساختمانی اکسیدهای آهن (مانند گئوتیت) و فیلوسیلیکاتها (مانند اسمکتیت، ایلیت و ...) پذیرنده‌های الکترون مهمی برای کاهش زیستی می‌باشند (۷، ۱۶ و ۳۴) که با توجه به اهمیت چشمگیر این فرایند در خاکها و تهنشستها نیاز به مطالعه بیشتر در این زمینه امری ضروری می‌باشد.

ارتباط مستقیم با سطح ویژه آنهاست مهمترین فاکتور در کاهش زیستی آنها محسوب می‌شود. انرژی آزاد تشکیل یک اکسید آهن (ΔG) نیز بر روی قابلیت کاهش‌پذیری زیستی آن به وسیله کنترل کردن حالیت اکسید و دیگر ویژگی‌های سطحی آن مانند انرژی انتقال الکترون، قدرت جذب سطحی آهن دو و جداسازی آهن دو اثر می‌گذارد و بنابراین (ΔG) اکسیدها نیز دارای اهمیت ثانویه در کنترل کاهش زیستی می‌باشد (۲۶). لذا سطح ویژه و ویژگی‌های ترمودینامیکی اکسید (پتانسیل اکسایش-کاهش) بر روی گستره کاهش کانی‌های دارای آهن فریک توسط باکتریها اثر می‌گذارد (۲۵).

مقایسه درصد کاهش زیستی در اکسیدهای آهن و نانترونیت

نتایج حاصل از انجام آزمایش نشان می‌دهد که درصد کاهش زیستی در این کانی‌ها به ترتیب $2 < \text{NAu-1} < \text{NAu-2}$ گئوتیت $<$ هماتیت می‌باشد (شکل ۵) که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه‌ای توسط بنویل و همکاران (۳) مطابقت دارد. آنها قابلیت کاهش زیستی را در فیلوسیلیکاتهای دارای آهن فریک (اسمکتیت، نانترونیت و ایلیت) بیشتر از اکسیدهای آهن فریک کریستالین گزارش نمودند و اندازه ذرات، سطح ویژه و ساختار تبلور کانی را در این نتایج تأثیرگذار دانستند. از آنجا که در اکوسیستم‌های طبیعی اغلب کانی‌های رسی و اکسیدهای آهن همراه با هم حضور دارند، سطح تماس بین سلولهای باکتری و کانی نقش کلیدی در اولویت آنها برای کاهش زیستی دارد. در مطالعه‌ای که توسط دانگ و همکاران (۸) در فقدان یک ناقل



شکل ۵- گستره کاهش زیستی آهن سه در ۴ کانی آزمایشی در مدت زمان ۳۰ روز

منابع

- 1- Achtnich C., Schuhmann A., Wind T., and Conrad R. 1995. Role of interspecies H_2 transfer to sulfate and ferric iron-reducing bacteria in acetate consumption in anoxic paddy soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 16: 61–70.
- 2- Bishop M.E., Dong H., Kukkadapu R.K., Liu C., Edelmann R.E. 2011. Bioreduction of Fe-bearing clay minerals and their reactivity toward pertechnetate (Tc-99). *Geochimica et Cosmochimica Acta* 75: 5229–5246.
- 3- Bonneville S., Cappellen P.V., Behrends T. 2004. Microbial reduction of iron(III) oxyhydroxides—effects of mineral solubility and availability, *Chem. Geol.* 212: 255–268.
- 4- Caccavo Jr.F., Blakemore R.P., and Lovley D.R. 1992. A hydrogenoxidizing, iron(III)-reducing microorganism from the Great Bay estuary, New Hampshire. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3211–3216.
- 5- Chao T.T., and Zhou L. 1983. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47: 225–232.
- 6- Cornell R.M., and Schwertmann U. 1996. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses.* VCH.
- 7- Dong H., Jaisi D.P., Kim J., and Zhang G. 2009. Microbe-clay mineral interactions. *American Mineralogist.* 94: 1505–1519.
- 8- Dong H., Kukkadapu R., Fredricjson J., Zachara J., Kennedy D., and Kostandarithes H. 2003. Microbial reduction of structural Fe(III) in illite and goethite. *Environ. Sci. Technol.* 37: 1268–1276.
- 9- Egashira K., and Ohtsubo M. 1983. Swelling and mineralogy of smectites in paddy soils derived from marine alluvium. *Japan Geoderma* 29: 119–127.
- 10- Fischer W.R. 1988. Microbiological reactions of iron in soils, in: Stucki, J. W., Goodman, B.A., and Schwertmann, U (Eds.), *Iron in Soils and Clay Minerals*, D. Reidel Publ. Co., Dordrecht, The Netherlands, pp: 715–748.
- 11- Gates W.P., Slade P.G., Manceau A., Lanson B. 2002. Site occupancies by iron in nontronites. *Clays and Clay Minerals* 50: 223–239.
- 12- Gates W.P., Wilkinson H.T., Stucki J.W. 1993. Swelling properties of microbially reduced ferruginous smectite, *Clays Clay Miner.* 41: 360–364.
- 13- Gregg S.J., and Sing K.W. 1982. *Adsorption, Surface Area and Porosity.* Harcourt Brace Jovanovich, London.
- 14- Hansel C.M., Benner S.G., Nico P., and Fendorf S. 2004. Structural constraints of ferric (hydr)oxides on dissimilatory iron reduction and the fate of Fe(II). *Geochim. Cosmochim. Acta* 68: 3217–3229.
- 15- Jaisi D.P., Kukkadapu R.K., Eberl D.D., and Dong H. 2005. Control of Fe(III) site occupancy on the rate and extent of microbial reduction of Fe(III) in nontronite. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 69: 5429–5440.
- 16- Komlosa J., Kukkadapu R.K., Zachara J.M., and Jaffe P.R. 2007. Biostimulation of iron reduction and subsequent oxidation of sediment containing Fe-silicates and Fe-oxides: Effect of redox cycling on Fe(III) bioreduction. *Water Research.* 41: 2996 – 3004.
- 17- Kostka J.E., Haefele E., Viehweger R., and Stucki J.W. 1999. Respiration and dissolution of Fe(III)-containing clay minerals by bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 33: 3127–3133.
- 18- Kostka J.E., Stucki J.W., Nealson K.H., Wu J. 1996. Reduction of structural Fe(III) in smectite by a pure culture of the Fe-reducing bacterium *Shewanella putrefaciens* strain MR-1. *Clays and Clay Minerals* 44: 522–529.
- 19- Kostka J.E., Wu J., Nealson K.H., and Stucki J.W. 1999. The impact of structural Fe(III) reduction by bacteria on the surface chemistry of smectite clay minerals. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* 63: 3705–3713. No. 22.
- 20- Lamb C.A., and Grady R.I. 1963. A study of soil heaving with frost. *Ohio Farm and Home Research* 48: 43–47.
- 21- Li Y.L., Vali H., Sears S.K., Yang J., Deng B., and Zhang C. 2004. Iron reduction and alteration of nontronite N Au-2 by a sulfate reducing bacterium. *Geochim. Cosmochim. Acta* 68: 3251–3260.
- 22- Lovley D.R. 1991. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Microbiol. Rev.* 55: 259–287.
- 23- Lovley D.R., Holmes D.E., and Nevin K.P. 2004. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Advances in Microbial Physiology* 49: 219–286.
- 24- Lovley D.R., and Phillips E.J.P. 1986. Availability of ferric iron for microbial reduction in bottom sediments of the freshwater tidal Potomac river. *Applied and Environmental Microbiology* 52: 751–757.
- 25- Roden E.E. 2006. Geochemical and microbiological controls on dissimilatory iron reduction. *Comptes Rendus Geoscience* 338: 456–467.
- 26- Roden E.E., and Zachara J.M. 1996. Microbial reduction of crystalline iron(III) oxides influence of oxide surface

- area and potential for cell growth, Environ. Sci. Technol. 30: 1618–1628.
- 27- Royer R.A., William D., Burgos A., Fisher A.S., and Dempsey B.R. 2002. Enhancement of biological reduction of hematite by electron shuttling and Fe(II) complexation. Environ. Sci. and Technol. Page Est:7.9.
- 28- Russell J.D., Goodman B.A., and Fraser A.R. 1979. Infrared and Mössbauer studies of reduced nontronites. Clays Clay Mineral. 27: 63–71.
- 29- Seabaugh J.L., Dong H., Kukkadapu R.K., Eberl D.D., Morton J.P., and Kim J.W. 2006. Microbial reduction of Fe(III) in the Fithian and Muloorinaillites: Contrasting extents and rates of bioreduction. Clays and Clay Minerals, 54: 67–79.
- 30- Shi L., Richardson D.J., Wang Z., Kerisit S.N., Rosso K.M., Zachara J.M., and Fredrickson J.K. 2009. The roles of outer membrane cytochromes of *Shewanella* and *Geobacter* in extracellular electron transfer. Environmental Microbiology Reports. 1(4): 220–227.
- 31- Stookey L.L. 1970. Ferrozine- a new spectrophotometric reagent for iron. Anal Chem. 42:779-781.
- 32- Stucki J.W. 1988. Iron in smectites. In: Stucki, J.W., Goodman, B.A., Schwertmann, U. (Eds.), Iron in Soils and Clay Minerals. D. Reidel, Dordrecht, pp. 625–675.
- 33- Stucki J.W. 2005. Iron redox processes in smectites. In Handbook of Clay Science (eds. F. Bergaya, B. K. G. Theng and G. Lagaly). Elsevier, Amsterdam (Draft Version).
- 34- Stucki J.W., Lee K., Goodman B.A., and Kostka J.E. 2007. Effects of in situ biostimulation on iron mineral speciation in a sub-surface soil. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 71: 835–843.

Archive of SID



Study and Comparison of Microbial Reduction of Structural Fe (III) in Nontronite, Goethite and Hematite

N. Ghorbanzadeh¹ - A. Lakzian^{2*} - Gh. Haghnia³ - A. Karimi⁴

Received: 13-08-2012

Accepted: 12-03-2013

Abstract

Microbial reduction is an important process that affects properties of ferric clay minerals and iron biogeochemical cycling in natural environments. Oxyhydroxides and phyllosilicates are two major sources of iron in soils, rocks and sediments that potentially have ability to be bioreduced over the time. In this study, comparison of bioreduction in two main sources of iron (oxides and phyllosilicates) in the presence of *Shewanella* sp was carried out. For this purpose an experiment was conducted under laboratory conditions in the form of a completely randomized design with 16 treatments and 3 replications. Treatments included bioreduction of goethite, hematite and two types of nontronite with and without electron transfer (AQS) and controls (all mentioned treatments in the absence of *Shewanella* sp). The results revealed that bioreduction in goethite, hematite and two types of nontronite increased in the presence of AQS. The extent of reduction in the presence of AQS was 21%, 9%, 3% and 8.7% in NAu-2, NAu-1, hematite and goethite respectively. These results have shown when iron oxides (goethite and hematite) and iron silicates are the dominant form of ferric iron in soils and subsurface sediments, *Shewanella* sp can survive and produce significant amounts of Fe(II). In the identical conditions of bioreduction (concentration of electron donor and acceptor and equal number of bacterial cell) size and surface area of mineral play an important role in efficiency of bioreduction.

Keywords: Bioreduction, Ferrous iron, *Shewanella* sp.

1,2,3,4- PhD Student, Professors and Assistant Professor of Soil Science Department, Agricultural College, Ferdowsi University of Mashhad, Respectively

(* - Corresponding Author Email: alakzian@yahoo.com)