



دانشگاه گواران، دانشکده مهندسی آب و خاک

نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک

جلد بیستم، شماره چهارم، ۱۳۹۲

<http://jwsc.gau.ac.ir>

## بررسی تأثیر کاربرد هم‌زمان فروزین و AQS بر کاهش زیستی آهن فریک در کانی هماتیت

\* نسرین قربان‌زاده<sup>۱</sup>، امیر لکزیان<sup>۲</sup> و غلامحسین حق‌نیا<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری گروه علوم خاک، دانشگاه فردوسی مشهد، آدانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه فردوسی مشهد،

آستاذ گروه علوم خاک، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۱۶

### چکیده

کاهش آهن در کانی‌های آهن‌دار در اصلاح زیستی مناطق آلوده به آلاینده‌های آلی و غیرآلی نقش چشم‌گیری داشته و درک عوامل مؤثر در این فرایند دارای اهمیت بسیار می‌باشد. مواد آلی مختلف با سازوکارهایی مانند انتقال الکترون و کمپلکس کردن آهن فرو، در کاهش زیستی آهن فریک مؤثر می‌باشند. به منظور بررسی تأثیر کاربرد هم‌زمان AQS (ناقل الکترون) و فروزین (کمپلکس‌کننده) بر کاهش زیستی آهن فریک موجود در کانی هماتیت آزمایشی با ۲۴ تیمار و ۳ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی در حضور باکتری *Shewanella sp.* انجام شد. تیمارهای شاهد شامل ۶ سطح فروزین (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌مولار) و ۶ سطح AQS (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکرومولار) و تیمارهای ترکیبی شامل سطوح متغیر فروزین همراه با غلظت ثابت ۵۰ میکرومولار AQS و سطوح متغیر AQS همراه با غلظت ثابت ۲ میلی‌مولار فروزین بودند. در تیمارهای ترکیبی با سطوح متغیر فروزین و غلظت ثابت AQS مقدار آهن فرو محلول و قابل استخراج با اسید با افزایش غلظت فروزین افزایش یافتند اما در تیمارهای ترکیبی با سطوح متغیر AQS و غلظت ثابت فروزین تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای در مقدار آهن فرو محلول و قابل استخراج با اسید مشاهده نشد. اثرات فروزین و AQS بر کاهش زیستی افزایشی بودند اما به نظر می‌رسد که هیچ‌کدام از این دو ترکیب به تنهایی برای افزایش فرایند کاهش زیستی آهن فریک موجود در کانی هماتیت غالب نمی‌باشند.

واژه‌های کلیدی: کاهش زیستی آهن فریک، شونلا، هماتیت

\* مسئول مکاتبه: [nasrin\\_gh908@yahoo.com](mailto:nasrin_gh908@yahoo.com)

## مقدمه

انواع اکسیدهای آهن چه به صورت اندکی (فری‌هیدرات‌ها) یا کاملاً (گئوتیت<sup>۱</sup> و هماتیت<sup>۲</sup>) کریستالی در خاک‌ها و تهنشست‌ها در محیط‌های هوازی و بی‌هوازی وجود دارند و نقش کلیدی را در چرخه آهن ایفا می‌کنند. کاهش غیرجذبی آهن فریک (DIR)<sup>۳</sup> فرایندی بسیار با اهمیت در مبحث بیورژوشیمی است و معمولاً این فرآیند در تهنشست‌های غنی از آهن و خاک‌های هیدرومورفیک رخ می‌دهد (ردن، ۲۰۰۴؛ رویر و همکاران، ۲۰۰۲a). باکتری‌های غیرجذبی کاهنده آهن (DIRB)<sup>۴</sup> در آب‌های زیرزمینی و تهنشست‌ها وجود دارند و به مقدار قابل‌ملاحظه‌ای ترکیب شیمیایی و کانی‌شناسی این محیط‌ها را در شرایط بی‌هوازی تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. این باکتری‌ها در بخشی از فرایند تنفس بی‌هوازی خود قادر به انتقال الکترون به سطوح اکسیدهای آهن بوده (کریست و روسو، ۲۰۰۶) که این امر منجر به تبدیل آهن فریک به آهن فرو می‌شود و بر واکنش‌پذیری سطوح این کانی‌ها تأثیر می‌گذارد (جیون و همکاران، ۲۰۰۱) و (لاگونا و همکاران، ۲۰۱۱). یکی از باکتری‌های مؤثر در فرآیند کاهش زیستی آهن فریک در کانی‌های آهن‌دار باکتری *Shewanella sp.* است که به دلیل توانایی‌های خاص در فرآیند کاهش زیستی و همچنین اصلاح زیستی مکان‌های آلوده به فلزات و رادیونوکلئوتیدها مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است (گو و همکاران، ۲۰۰۵؛ هانسل و همکاران، ۲۰۰۴؛ مارشال و همکاران، ۲۰۰۶؛ ژنگجی، ۲۰۱۰). این باکتری میله‌ای شکل، گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری است و در محیط‌های مختلف مانند دریاچه‌ها، تهنشست‌های دریایی، تشکیلات زیرسطحی و در اعماق متفاوتی از سیستم‌های آبی حضور دارد (استپلتون و همکاران، ۲۰۰۵). این باکتری با اکسید کردن ترکیبات آلی مانند لاکتات (دهنده الکترون) قادر به کاهش آهن فریک (گیرنده الکترون) در کانی‌های آهن‌دار با انحلال کم می‌باشد (روسو و همکاران، ۲۰۰۳). از آن‌جا که آهن فرو تولید شده در فرآیند کاهش زیستی با انجام واکنش‌های شیمیایی اکسایش و کاهش، بر توزیع، انتقال و چرخه‌های بیورژوشیمی آلاینده‌های آلی مانند ترکیبات آلیفاتیک کلردار و نیتروآروماتیک‌ها (بورگوس و همکاران، ۲۰۰۳) و غیرآلی مانند فلزات سنگین مؤثر است (جیون و همکاران، ۲۰۰۳) از این‌رو این فرایند و سازوکارهای مرتبط و عوامل مؤثر بر آن در سال‌های اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند. آهن فرو

1-  $\alpha$ -FeO(OH)

2-  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

3- Dissimulatory Iron Reduction

4- Dissimulatory Iron Reduction Bacteria

تولید شده در فرایند کاهش زیستی می‌تواند جذب سطوح کانی و سلول‌های باکتری شده و این سطوح را غیرفعال نموده و از ادامه کاهش زیستی آهن جلوگیری نماید (جیون و همکاران، ۲۰۰۱؛ مانفرد و همکاران، ۲۰۰۹؛ رویر و همکاران، ۲۰۰۲b؛ رویر و همکاران، ۲۰۰۳؛ تن‌وار و همکاران، ۲۰۰۸). پژوهش‌ها نشان داده که برخی ترکیبات آلی با کمپلکس نمودن آهن فرو تولید شده و حذف آن از این سطوح سبب افزایش فرایند کاهش زیستی آهن می‌شوند (رویر و همکاران، ۲۰۰۲a). فروزین<sup>۱</sup> یکی از مواد آلی کمپلکس‌کننده ویژه برای آهن فرو است که می‌تواند با توجه به ظرفیت کمپلکس‌کنندگی آن فرایند کاهش آهن فریک را افزایش دهد (رویر و همکاران، ۲۰۰۲b). برخی مواد آلی مانند مواد هومیکی و لیگاندهای آلی همچون با افزایش قابلیت دسترسی به آهن فریک موجود در ساختمان کانی قادر به افزایش فرایند کاهش زیستی می‌باشند (هانسل و همکاران، ۲۰۰۵). از طرفی از آن‌جا که در انجام این فرایند تماس مستقیم بین میکروپها و اکسیدهای آهن به‌منظور انتقال الکترون مورد نیاز می‌باشد، حضور ترکیبات آلی قابل حل خارجی فعال با وزن مولکولی پایین و فعال از نظر واکنش‌های اکسایش-کاهش مانند ترکیبات شامل کوینون نیز با کاهش نیاز به تماس مستقیم بین سطوح کانی و باکتری سبب افزایش فرایند کاهش زیستی آهن فریک می‌شوند (لیو و همکاران، ۲۰۰۱؛ رویر و همکاران، ۲۰۰۲b). در این مطالعه سعی شده است که تأثیر کاربرد هم‌زمان دو ترکیب فروزین و AQS<sup>۲</sup> بر فرایند کاهش زیستی آهن فریک در کانی هماتیت در حضور باکتری *Shewanella sp.* بررسی شود زیرا با افزایش کاهش زیستی آهن مقدمات امکان تبدیل آلاینده‌های آلی و غیرآلی به شکل غیرسمی فراهم خواهد شد که گامی بسیار مهم در اصلاح مکان‌های آلوده به‌شمار خواهد آمد (فوبو و همکاران، ۲۰۱۰؛ گو و همکاران، ۲۰۰۵؛ لوآن و همکاران، ۲۰۰۹).

### مواد و روش‌ها

**آماده‌سازی هماتیت:** هماتیت مورد استفاده در این آزمایش از شرکت کانیا مشهد تهیه که پس از آنالیز XRF<sup>۳</sup>، مقدار اکسید آهن آن ۸۱/۵۶ درصد گزارش شد (جدول ۱). ذرات این کانی با انجام عملیات خردایش و نرمایش به قطر ۱ میکرومتر رسیدند. کانی هماتیت به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کربن آلی آن حذف و از آن برای آزمایش‌های بعدی استفاده شد.

1- Ferrozine((3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-p,P'-disulfonic acid))

2- 9,10-anthraquinone-2-sodium salt

3- X-Ray Fluorescence

جدول ۱- نتایج آنالیز XRF نمونه هماتیت.

| SiO <sub>۲</sub>      | Al <sub>۲</sub> O <sub>۳</sub> | Na <sub>۲</sub> O | MgO  | K <sub>۲</sub> O | TiO <sub>۲</sub> | MnO  | CaO  | P <sub>۲</sub> O <sub>۵</sub> | Fe <sub>۲</sub> O <sub>۳</sub> | SO <sub>۳</sub> | LOI  |
|-----------------------|--------------------------------|-------------------|------|------------------|------------------|------|------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------|------|
| (درصد)                |                                |                   |      |                  |                  |      |      |                               |                                |                 |      |
| ۱۶/۵۶                 | ۰/۳۵                           | ۰/۰۱              | ۰/۰۱ | ۰/۱۱             | ۰/۰۳             | ۰/۱۲ | ۰/۰۴ | ۰/۰۳                          | ۸۱/۵۶                          | ۰/۰۰            | ۰/۸۳ |
| Ba                    | Co                             | Cr                | Cu   | Nb               | Ni               | U    | Th   | Ce                            | Cl                             |                 |      |
| (میلی‌گرم بر کیلوگرم) |                                |                   |      |                  |                  |      |      |                               |                                |                 |      |
| ۴۵۱                   | ۱۸۳                            | ۴۰۹               | ۱۵۹  | N                | ۲۰۵              | ۳    | N    | ۲۰                            | ۶۷۱                            |                 |      |
| Pb                    | Rb                             | Sr                | V    | W                | Y                | Zr   | Zn   | Mo                            |                                |                 |      |
| (میلی‌گرم بر کیلوگرم) |                                |                   |      |                  |                  |      |      |                               |                                |                 |      |
| ۱۸۹                   | ۱۵                             | ۲۷                | ۸۲۶  | ۱۲۲              | ۱۵               | ۲۷   | ۸۳   | ۱۵                            |                                |                 |      |

تهیه باکتری و شرایط کشت آن: باکتری *Shewanella* sp. از بانک میکروبی ایران (مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران- کرج) تهیه و سپس در محیط کشت مایع TSB<sup>۱</sup> بدون دکستروز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد داده شد. سلول‌های باکتری با سانتریفیوژ (۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) جمع‌آوری شدند. سپس سلول‌ها ۳ بار در بافر ۱۰ میلی‌مولار PIPES<sup>۲</sup> با pH ۶/۸ در محیط بدون اکسیژن شسته شدند. در خاتمه سوسپانسیون باکتری در ۱۵ میلی‌لیتر بافر PIPES تهیه و چگالی نوری سلول‌ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر تعیین گردید.

آزمایش کاهش زیستی: آزمایش با ۲۴ تیمار و ۳ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ۱۲ تیمار که به‌عنوان تیمارهای شاهد در نظر گرفته شدند شامل ۶ سطح متغیر فروزین (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ میلی‌مولار) و ۶ سطح متغیر AQS (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکرومولار) بودند. ۱۲ تیمار دیگر نیز به شکل ترکیبی انتخاب شدند که ۶ تیمار دارای غلظت ثابت ۵۰ میکرومولار AQS و سطوح متغیر فروزین (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی‌مولار) و ۶ تیمار دیگر دارای غلظت ثابت ۲ میلی‌مولار فروزین و سطوح متغیر AQS (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکرومولار) بودند. ابتدا سوسپانسیون هماتیت (۲ گرم بر لیتر در بافر PIPES با غلظت ۱۰ میلی‌مولار) به ظروف شیشه‌ای با گنجایش ۲۵ میلی‌لیتر اضافه و سپس با تزریق گاز نیتروژن به ظروف اکسیژن آن‌ها کاملاً خارج و درب پلاستیکی ظروف به‌طور کامل درزگیری شد و به‌منظور آب‌پوشی هماتیت به مدت حداقل ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد (رویر و همکاران، ۲۰۰۲a). سپس ۱ میلی‌لیتر

1- Tryptic Soy Broth

2- 1,4-piperazinediethanesulfonic acid

سوسپانسیون باکتری شونلا ( $10^8$  سلول در میلی‌لیتر)، لاکتات با غلظت ۳۰ میلی‌مولار و فروزین و یا AQS برای به‌دست آوردن تیمارهای موردنظر با غلظت‌های مناسب ثابت و متغیر به کمک سرنگ سترون شده در زیر اتاقک شامل گاز نیتروژن به ظروف شیشه‌ای اضافه شد تا از حضور نداشتن اکسیژن اطمینان به‌دست آید. در طول مدت زمان انجام آزمایش (۵ روز) نمونه‌ها در تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر مداری (۱۵۰ دور در دقیقه) نگهداری شدند (جیسی و همکاران، ۲۰۰۷). لازم به ذکر است که تیمارهای بدون باکتری نیز در این آزمایش در نظر گرفته شد ولی از آنجا که مقدار آهن (II) اندازه‌گیری شده در این شرایط بسیار ناچیز بود از مقایسه آن با سایر تیمارها صرف‌نظر شد. اندازه‌گیری قابلیت زنده ماندن سلول‌های باکتری در محیط کشت نیز به روش شمارش سلول زنده (CFU)<sup>۱</sup> انجام گرفت و از زنده ماندن سلول‌ها در طول دوره آزمایش اطمینان به‌دست آمد.

**اندازه‌گیری آهن (II) محلول و استخراج شده با اسید:** به‌منظور اندازه‌گیری آهن (II) محلول ابتدا ۶۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هماتیت- باکتری با سرنگ سترون برداشته و از میکروفیلتر (۰/۴۵ میکرومتر) عبور داده و سپس ۶۰۰ میکرولیتر فروزین (۱ گرم بر لیتر فروزین در ۵۰ میلی‌مولار بافر Hepes<sup>۱</sup> در pH ۷) اضافه و رنگ کمپلکس ایجاد شده  $[Fe(Fz)^3]^{+2}$  در طول موج ۵۶۲ نانومتر قرائت شد (استوکی، ۱۹۷۰). برای اندازه‌گیری آهن (II) قابل استخراج با اسید سوسپانسیون هماتیت- باکتری در اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال (نسبت ۱:۱) به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و سپس فیلتر شده و با روش فروزین مانند آهن (II) محلول اندازه‌گیری گردید. در مطالعه‌ای که توسط (رویر و همکاران، ۲۰۰۲a) انجام گرفت مشخص شد که فروزین پس از ۵ روز و ترکیبات ناقل الکترون پس از یک روز از انجام آزمایش بیش‌ترین تأثیر را بر کاهش زیستی هماتیت دارند. به همین دلیل روزهای اول و پنجم به‌منظور بررسی در این آزمایش انتخاب شدند. نتایج به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌های آزمایشی با یکدیگر با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

1- Colony Forming Unit

2- N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid

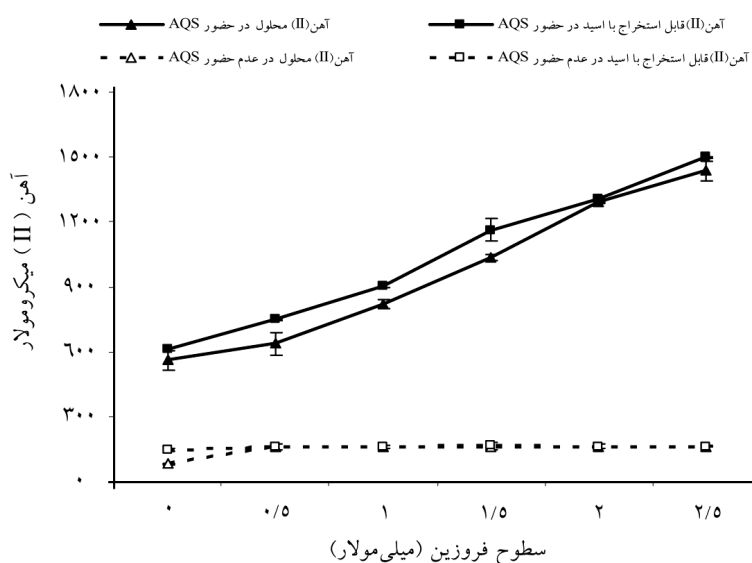
## نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از انجام آزمایش نشان داد که مقدار آهن (II) محلول و قابل استخراج با اسید پس از گذشت یک روز در تیمارهای شاهدی که دارای سطوح متغیر فروزین و بدون AQS بودند اختلاف معنی داری را نشان ندادند (شکل ۱). بنابراین افزایش غلظت فروزین پس از گذشت ۱ روز اثری بر کاهش زیستی هماتیت نداشته است. اما در تیمارهای ترکیبی با غلظت ثابت AQS (۵۰ میکرومولار) و سطوح متغیر فروزین، مقدار تولید آهن (II) در شکل محلول و قابل استخراج با اسید پس از گذشت ۱ روز به طور خطی افزایش و وابسته به غلظت فروزین بود و در تیمار ترکیبی با غلظت ۲/۵ میلی مولار فروزین و ۵۰ میکرومولار AQS مقدار آهن (II) اختلاف افزایشی معنی داری را با سایر تیمارها نشان داد. بنابراین فروزین با خاصیت کمپلکس‌کنندگی آهن (II) در حضور AQS پس از گذشت ۲۴ ساعت در کاهش زیستی هماتیت مؤثر واقع شد. از طرفی مقایسه تیمار ترکیبی سطح صفر میلی مولار فروزین به همراه ۵۰ میکرومولار AQS نسبت به تیمار شاهد با سطح صفر میلی مولار فروزین در حضور نداشتن AQS نشان داد که مقدار آهن (II) محلول تقریباً ۶/۵ برابر و آهن (II) قابل استخراج با اسید ۴ برابر در تیمار ترکیبی افزایش داشت که بیانگر این است که AQS به تنهایی پس از گذشت ۱ روز منجر به افزایش فرایند کاهش زیستی شده است (شکل ۱). نتایج به دست آمده از این بخش با نتایج (بوس و همکاران، ۲۰۰۹) و (رویر و همکاران، ۲۰۰۲b) که اثر غلظت ثابت ترکیب کوینون‌دار AQDS<sup>۱</sup> به عنوان ناقل الکترون و سطوح متغیر فروزین را بر کاهش زیستی هماتیت مورد بررسی قرار دادند، مشابه است. این پژوهشگران بیان نمودند که این ترکیب کوینون‌دار پس از گذشت ۲۴ ساعت بیشترین تأثیر را بر کاهش زیستی هماتیت دارد. نتایج همچنین نشان داد که مقدار آهن (II) محلول در این تیمارهای ترکیبی پس از گذشت ۱ روز اختلافی را با آهن (II) قابل استخراج با اسید نشان نداد (شکل ۲). از این رو آهن (II) تولید شده در فرایند کاهش زیستی پس از ۱ روز منحصراً به شکل محلول است. کاهش زیستی هماتیت پس از گذشت اولین روز از انجام آزمایش ادامه یافت و غلظت‌های آهن (II) محلول و قابل استخراج با اسید در روز پنجم نسبت به روز اول افزایش یافت (شکل ۳) که تأثیر خاصیت کمپلکس‌کنندگی آهن (II) را توسط فروزین نشان می‌دهد. زیرا فروزین زمانی در سیستم تأثیرگذار است که آهن (II) به اندازه کافی تولید شده باشد (رویر و همکاران، ۲۰۰۲a؛ رویر و همکاران، ۲۰۰۳). اما افزایش در فرایند کاهش زیستی هماتیت بین روزهای

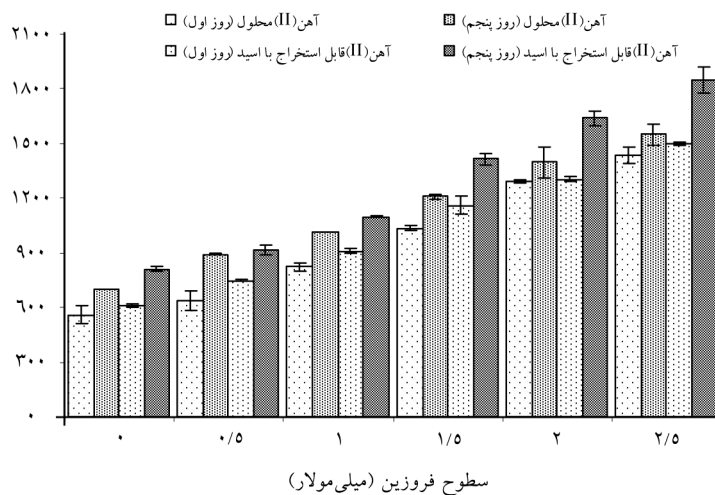
1- 9,10-anthraquinone-2,6-disulfonic acid

اول و پنجم تنها بخش اندکی از کل کاهش زیستی هماتیت را نشان داد که بیانگر این است که بیش تر افزایش در مقدار آهن (II) به دلیل حضور AQS در ابتدای دوره انکوباسیون صورت گرفته است. (مانفرد و همکاران، ۲۰۰۹) نیز که به بررسی اثر ترکیبات متفاوت کوبینون به عنوان ناقل الکترون بر کاهش زیستی فری هیدرات ها در حضور باکتری جنوباکتر پرداختند، نیز تأثیر این ترکیبات را در ۲۴ ساعت اولیه کاهش زیستی گزارش نمودند. با توجه به نتایج آزمایش به نظر می رسد که فروزین در نبود و حضور AQS به یک اندازه در این فرایند مؤثر واقع شده است.

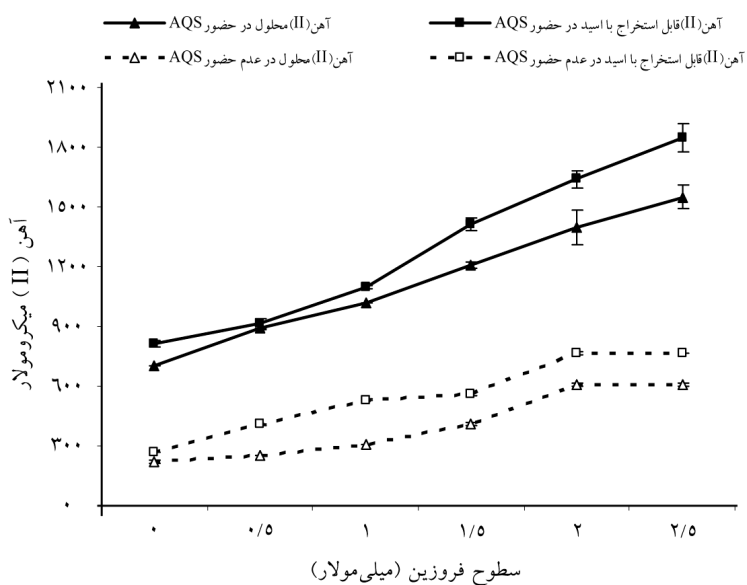
نتایج به دست آمده از انجام آزمایش در تیمارهای شاهد با سطوح متغیر AQS در حضور نداشتن فروزین نشان داد که مقدار آهن (II) محلول و قابل استخراج با اسید در ۱ گذشت روز نسبت به تیمار سطح صفر آن اختلاف افزایشی معنی داری را نشان داد که اثر AQS را پس از گذشت ۲۴ ساعت مشخص می کند (شکل ۴). همچنین مقدار آهن (II) محلول و قابل استخراج با اسید تولید شده در تیمارهای ترکیبی با غلظت ثابت فروزین (۲ میلی مولار) و سطوح متغیر AQS نسبت به تیمارهای شاهد که تنها سطوح AQS را دریافت کرده بودند پس از گذشت ۱ روز افزایش نشان داد (شکل ۴).



شکل ۱- مقدار آهن (II) محلول و قابل استخراج با اسید در سطوح مختلف فروزین پس از گذشت ۱ روز.

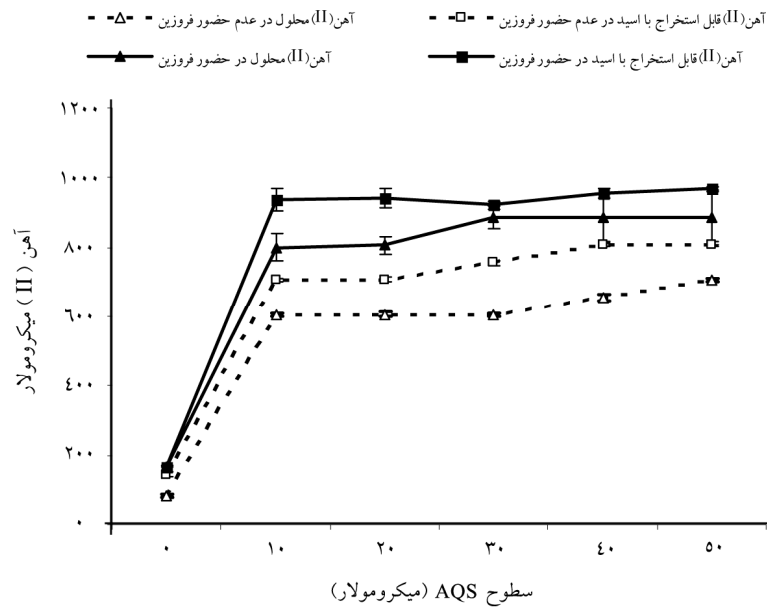


شکل ۲- مقایسه میانگین‌های مقدار آهن (II) در غلظت ثابت ۵۰ میکرومولار AQS و سطوح متغیر فروریز پس از گذشت ۱ و ۵ روز.



شکل ۳- مقدار آهن (II) محلول و قابل استخراج با اسید در سطوح مختلف فروریز پس از گذشت ۵ روز.



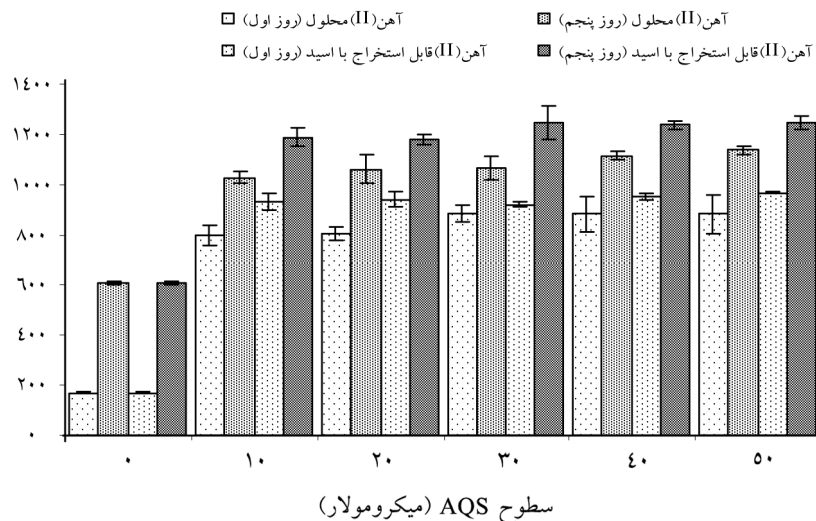


شکل ۴- مقدار آهن (II) محلول و قابل استخراج با اسید در سطوح مختلف AQS پس از گذشت ۱ روز.

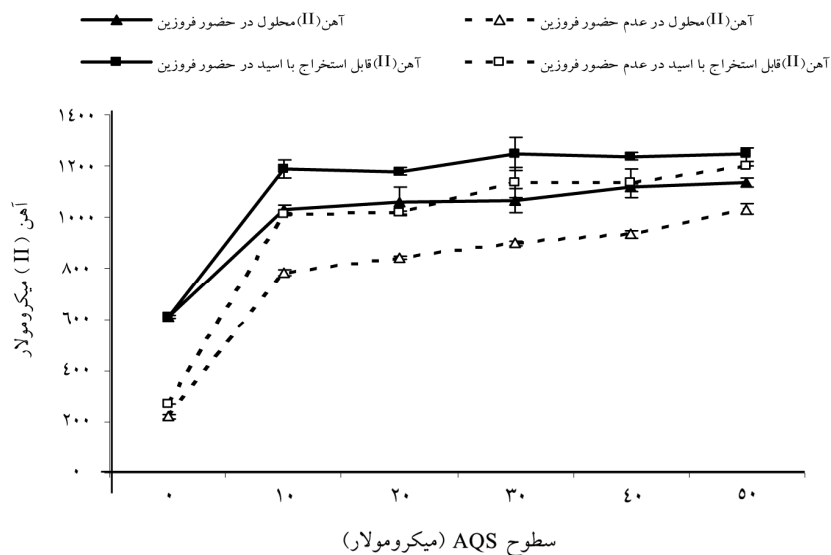
افزایش مقدار آهن (II) محلول در تیمار ترکیبی با سطح صفر AQS به همراه غلظت ثابت فروزین نسبت به تیمار شاهد آن در حضور نداشتن فروزین به خوبی اثر فروزین را بر کاهش زیستی هماتیت نشان می‌دهد (شکل ۴). تیمارهای ترکیبی در تمامی سطوح AQS مقدار آهن (II) بسیار مشابهی را تولید نمودند و اختلاف آماری معنی‌داری بین سطوح مختلف AQS در حضور غلظت ثابت فروزین مشاهده نشد در صورتی که در تیمارهای شاهد که تنها دارای سطوح متغیر AQS بودند افزایش آهن (II) به مقدار یکسان صورت نگرفت و با افزایش غلظت AQS مقدار آهن (II) تولید شده افزایش یافت. این نتایج در تیمارهای ترکیبی می‌تواند با اثر کمپلکس‌کنندگی آهن (II) تولید شده در فرایند کاهش زیستی توسط فروزین نسبت به تیمارهای شاهد مرتبط باشد (مانفرد و همکاران، ۲۰۰۹). پژوهشگرانی که به مطالعه اثر ناقل الکترون (AQDS) بر کاهش زیستی هماتیت پرداختند، گزارش نمودند زمانی که ناقل الکترون AQDS با غلظت نهایی ۵۰ میکرومولار در شرایط آزمایشی استاندارد به سیستم اضافه می‌شود در روز اول به سرعت کاهش یافته و به هیدروکینون تبدیل می‌شود (بوس و

همکاران، ۲۰۰۹؛ مانفرد و همکاران، ۲۰۰۹؛ رویر و همکاران، ۲۰۰۲b). بنابراین مرحله اول انجام واکنش که انتقال الکترون از سلول‌های باکتری به ناقل الکترون می‌باشد به سرعت انجام می‌گیرد و عامل محدودکننده انجام واکنش کاهش زیستی مدت زمان واکنش انتقال الکترون از هیدروکوینون به اکسید آهن فریک بوده و کاهش ترکیبات کوینون عامل محدودکننده نخواهد بود (رویر و همکاران، ۲۰۰۳؛ مانفرد و همکاران، ۲۰۰۹). از آن‌جا که آهن (II) تولید شده در فرایند کاهش زیستی بر روی سطوح قرار گرفته و ممکن است در واکنش انتقال الکترون از هیدروکوینون به آهن فریک در اکسید آهن هماتیت اختلال ایجاد کند، در چنین شرایطی غلظت‌های افزایش یافته هیدروکوینون با کاربرد غلظت‌های بیش‌تر ترکیبات کوینون نسبت به غلظت‌های پایین‌تر آن‌ها می‌تواند به‌طور مؤثرتری با آهن (II) برای مکان‌های سطحی اکسید آهن رقابت کنند و از طرفی نیروی ترمودینامیکی سیستم نیز به‌دلیل تجمع آهن (II) در سطح اکسید آهن کاهش می‌یابد (رویر و همکاران، ۲۰۰۲a؛ هانسل و همکاران، ۲۰۰۴). بنابراین به همین دلیل است که زمانی که AQS در آزمایش شاهد به تنهایی و بدون فروزین به‌کار برده می‌شود با افزایش غلظت آن آهن (II) به مقدار بیش‌تری تولید می‌شود. این محدودیت یا رقابت بیان شده به‌وسیله فعالیت فروزین در تیمارهای ترکیبی برطرف می‌شود و با کاربرد فروزین به همراه AQS با آهن (II) تولید شده کمپلکس داده و از جذب سطحی آن بر روی سطوح جلوگیری می‌کند و بنابراین غلظت‌های پایین از ترکیب AQS نیز می‌توانند در حضور عامل کمپلکس‌کننده آهن (II) مؤثر عمل نمایند و تفاوتی را با غلظت‌های بیش‌تر AQS نشان ندهند. نتایج همچنین نشان داد که بیش‌ترین مقدار آهن (II) محلول تولید شده پس از گذشت ۵ روز از انجام آزمایش در تیمارهای با غلظت ثابت ۲ میلی‌مولار فروزین و سطوح (۴۰ و ۵۰ میکرومولار) AQS بدون اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر مشاهده شد و نیز آهن (II) قابل استخراج با اسید نیز در تیمارهای ترکیبی با غلظت ثابت ۲ میلی‌مولار فروزین و سطوح (۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکرومولار) AQS مشابه بود (شکل ۵). نتایج به‌دست آمده از این بخش با نتایج مطالعات مانفرد و همکاران (۲۰۰۹) که اثر ناقلین متفاوت را بر کاهش زیستی فری‌هیدرات‌ها بررسی نمودند، مطابقت دارد. بنابراین پس از گذشت ۵ روز نیز تأثیر سطوح غلظتی متفاوت AQS در حضور فروزین یکسان است. افزایش در مقدار آهن (II) در تمامی تیمارها تا زمان ۵ روز از انجام آزمایش ادامه داشت و در مقایسه با تیمارهای شاهد نیز افزایش قابل توجهی را نشان داد (شکل ۶). از این‌رو به‌نظر می‌رسد که هر دو سازوکار به تنهایی و در ترکیب با

یکدیگر به طور یکسانی عمل می‌کنند. گستره ۵ روزه کاهش زیستی هماتیت در ابتدا به وسیله انتقال الکترون توسط ناقل شتاب گرفت و سپس به وسیله کمپلکس کردن آهن (II) به وسیله عامل کمپلکس کننده منجر به ایجاد یک وابستگی غلظتی خطی بین سطوح فروزین و آهن (II) تولید شده گردید. کاربرد هم‌زمان فروزین و AQS منجر شد که فروزین گستره ۵ روزه کاهش آهن را کنترل کند در حالی که AQS اساساً سرعت و گستره کاهش زیستی را در ۲۴ ساعت اولیه این فرایند زیر تأثیر قرار می‌دهد. بنابراین به نظر می‌رسد که براساس آزمایش‌های انجام شده اثرات فروزین و AQS هر دو افزایشی بودند. هر دو سازوکار انتقال الکترون و کمپلکس کردن آهن (II) کاهش زیستی آهن فریک هماتیت را افزایش داده و هیچ‌یک از این دو سازوکار به تنهایی برای افزایش فرایند کاهش زیستی غالب نبودند.



شکل ۵- مقایسه میانگین‌های مقدار آهن (II) در غلظت ثابت ۲ میلی‌مولار فروزین و سطوح متغیر AQS پس از گذشت ۱ و ۵ روز.



شکل ۶- مقدار آهن (II) محلول و قابل استخراج با اسید در سطوح مختلف AQS پس از گذشت ۵ روز.

### نتیجه‌گیری

فرایند کاهش آهن دارای پتانسیلی است که در اصلاح زیستی آلاینده‌های غیرآلی مانند کروم، اورانیوم، تکنسیوم، ترکیبات رادیونوکلئوتید و آلاینده‌های آلی مانند ترکیبات آلیفاتیک کلردار و نیتروآروماتیک بسیار مفید می‌باشد. آهن (II) تولید شده در این فرایند قادر به انجام واکنش‌های شیمیایی با آلاینده‌ها بوده که این امر منجر به تغییراتی در پتانسیل اکسایش و کاهش آلاینده‌ها، غیرمتحرک کردن و کاهش سمیت آن‌ها خواهد شد. بنابراین پس از بررسی عوامل مؤثر بر فرایند کاهش آهن فریک، مطالعه تأثیر این فرایند بر کاهش اثرات سوء زیست‌محیطی و سمیت آلاینده‌های آلی و غیرآلی پیشنهاد می‌شود.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد که امکان این پژوهش را فراهم کردند تشکر می‌کنیم.

منابع

1. Bose, S., Michael, F., Hochella, J., Yuri, A., David, W., Kennedy, D.E., McCready, A.S., and Madden, B.H.L. 2009. Bioreduction of hematite nanoparticles by the dissimilatory iron reducing bacterium *Shewanella oneidensis* MR-1. *J. Geochimica et Cosmochimica Acta*. 73: 962-976.
2. Burgos, W.D., Fang, Y., Royer, R.A., Yeh, G.T., Stone, J.J., Jeon, B.H., and Dempsey, B.A. 2003. Reaction-based modeling of quinone-mediated bacterial iron(III) reduction. *J. Geochimica et Cosmochimica Acta*. 67: 2735-2748.
3. Fubo, L., Burgos, W., Xie, L., and Zhou, Q. 2010. Bioreduction of nitrobenzene, natural organic matter and hematite by *Shewanella putrefaciens* CN32. *J. Environ. Sci. Technol*. 44: 184-190.
4. Gu, B., Yan, H., Zhou, P., and Watson, D.B. 2005. Natural humics impact uranium bioreduction and oxidation. *J. Environ. Sci. Technol*. 39: 5268-5275.
5. 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). *J. Geochimica et Cosmochimica Acta*. 68: 3217-3229.
6. Jaisi, D.P., Dong, H., and Chongxuan, L. 2007. Influence of biogenic Fe(II) on the extent of microbial reduction of Fe(III) in clay minerals nontronite, illite, and chlorite. *J. Geochimica et Cosmochimica Acta*. 71: 1145-1158.
7. Jeon, B.H., Dempsey, B.A., Burgos, W.D., and Royer, R.A. 2001. Reactions of ferrous iron with hematite. *J. Colloids and Surface*. 191: 41-55.
8. Jeon, B.H., Dempsey, B.A., Burgos, W.D., and Royer, R.A. 2003. Sorption kinetics of Fe(II), Zn(II), Co(II), Ni(II), Cd(II) and Fe(II)/Me(II) onto hematite. *J. Water Res*. 37: 4135-4142.
9. Kerisit, S., and Rosso, K.M. 2006. Computer simulation of electron transfer at hematite surfaces. *J. Geochimica et Cosmochimica Acta*. 70: 1888-1903.
10. Laguna, C., González, F., García-Balboa, C., Ballester, A., Blázquez, M.L., and Muñoz, J.A. 2011. Bioreduction of iron compounds as a possible clean environmental alternative for metal recovery. *J. Min. Engine*. 24: 10-18.
11. Liu, C., Zachara, J.M., Gorby, Y.A., Zecsody, J.S., and Brown, C.F. 2001. Microbial Reduction of Fe(III) and Sorption/Precipitation of Fe(II) on *Shewanella putrefaciens* Strain CN32. *J. Environ. Sci. Technol*. 35: 1385-1393.
12. Luan, F.B., Xie, L., Li, J., and Zhou, Q. 2009. Reduction of nitrobenzene by iron oxides bound Fe(II) system at different pH. *J. Environ. Sci. Technol*. 7: 1937-41.
13. Manfred, W., Andeask, J., and Raineru, M. 2009. Effects of humic substances and quinones at low concentrations on ferrihydrite reduction by *Geobacter metallireducens*. *J. Environ. Sci. Technol*. 43: 5679-5685.

14. Marshall, M.J., Beliaev, A.S., Dohnalkova, A.C., Kennedy, D.W., Shi, L., Wang, Z.M., Boyanov, M.I., Lai, B., Kemner, K.M., Mclean, J.S., Reed, S.B., Culley, D.E., Bailey, V.L., Simonson, C.J., Saffarini, D.A., Romine, M.F., Zachara, J.M., and Fredrickson, J.K. 2006. C-type cytochrome-dependent formation of U(IV) nanoparticles by *Shewanella oneidensis*. *J. Plos. Biol.* 4: 1324-1333.
15. Roden, E.E. 2004. Analysis of long-term bacterial vs. chemical Fe(III) oxide reduction kinetics. *J. Geochimica et Cosmochimica Acta.* 68: 3205-3216.
16. Rosso, K.M., Zachara, J.M., Fredrickson, J.K., Gorby, Y., and Smith, S. 2003. Nonlocal bacterial electron transfer to hematite surfaces. *J. Geochimica et Cosmochimica Acta.* 67: 1081-1087.
17. Royer, R.A., Burgos, W.D., Fisher, A.S., Hunjeon, B., Unzrich, R., and Dempsey, I. 2002a. Enhancement of hematite bioreduction by natural organic matter. *J. Environ. Sci. Technol.* Page Est: 7.5.
18. Royer, R.A., Burgos, W.D., Fisher, A.S., Unz, R.F., and Dempsey, B.R. 2002b. Enhancement of biological reduction of hematite by electron shuttling and Fe(II) complexation. *J. Environ. Sci. Technol.* Page Est: 7.9.
19. Royer, R.A., Burgos, W.D., Hunjeon, B., and Burgos, W. 2003. Inhibition of biological reductive dissolution of hematite by ferrous iron. *J. Environ. Sci. Technol.* Page Est: 6.5.
20. Stapleton, Jr. R.D., Sabree, Z.L., Palumbo, A.V., Moyer, C.L., Devol, A.L., Roh, Y., and Zhou, J. 2005. Metal reduction at cold temperatures by *Shewanella* isolates from various marine environments. *J. Aquat. Microb. Ecol.* 38: 81-91.
21. Stookey, L.L. 1970. Ferrozine-a new spectrophotometric reagent for iron. *J. Anal. Chem.* 42: 779-781.
22. Tanwar, K.S., Petitto, S.C., Ghose, S.K., Eng, P.J., and Trainor, T.P. 2008. Structural study of Fe(II) adsorption on hematite (1102). *J. Geochimica et Cosmochimica Acta.* 72: 3311-3325.
23. Zhengji, Y. 2010. Microbial removal of uranyl by sulfate reducing bacteria in the presence of Fe (III) (hydr)oxides. *J. Environ. Radioact.* 101: 700-705.



Gorgan University of Agricultural  
Sciences and Natural Resources

*J. of Water and Soil Conservation, Vol. 20(4), 2013*  
<http://jwsc.gau.ac.ir>

## **Effect of simultaneous use of ferrozine and AQS in bioreduction of ferric iron in hematite**

**\*N. Ghorbanzadeh<sup>1</sup>, A. Lakzian<sup>2</sup> and Gh.H. Haghnia<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Ph.D. Student, Dept. of Soil Science, Ferdowsi University of Mashhad,

<sup>2</sup>Associate Prof., Dept. of Soil Science, Ferdowsi University of Mashhad,

<sup>3</sup>Professor, Dept. of Soil Science, Ferdowsi University of Mashhad

Received: 06/25/2012; Accepted: 10/07/2012

### **Abstract**

Iron reduction in ferric minerals has an impressive role in bioremediation of organic and nonorganic contaminants and understanding the efficient factors in this process will be important. Organic matters are effective in bioreduction of ferric iron with different mechanisms such as electron shuttling and complexation. In order to examine the effect of simultaneous use of AQS (as an electron shuttling) and ferrozine (as a complexing agent) in bioreduction of ferric iron in hematite an experiment was conducted under laboratory conditions in the form of a completely randomized design with 24 treatments and 3 replications in the presence of *Shewanella* spp. Control treatments included 6 variable concentration of ferrozine (0, 0.5, 1, 1.5, 2 and 2.5 mM) and 6 variable concentration of AQS (0, 10, 20, 30, 40 and 50  $\mu$ M) and compound treatments included variable concentrations of ferrozine with fix concentration of AQS (50 $\mu$ M) and variable concentrations of AQS and constant concentration of ferrozine (2mM). Produced soluble and acid extractable Fe(II) in compound treatments with variable ferrozine levels and constant concentration of AQS increased with increasing concentrations of ferrozine but in treatments with different levels of AQS and constant concentration of ferrozine didn't show significant difference. Therefore, effects of both ferrozine and AQS were additive on bioreduction. However, none of these two compounds were solely dominant for increasing ferric iron bioreduction process in hematite.

**Keywords:** Bioreduction of ferric iron, *Shewanella* sp., Hematite

---

\* Corresponding Author; Email: nasrin\_gh908@yahoo.com

