NCMBJ
Research article
New Cell Mol Biotech
j.13/50 , 2023

Scan online to view this article

# Optimization of Biodenitrification Using Aluminum and Calcium Based Graphene Nanostructures in Bioreactor

**Atieh Ekrami [1], Lobat Taghavi[1*], Behnam Rasekh [2], Fatemeh Yazdian[3]**

1.Department of Natural Resources and Environment, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2.Environment & Biotechnology Research Division, Research Institute of Petroleum Industry (RIPI), Tehran, Iran
3.Department of Life Science Engineering, Faculty of New Science and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran

## Abstract

**Aim and Background:** The problem of water pollution is a fundamental and influential issue for the healthy life of humans and bioorganisms. The aim of this study is to optimize aluminum and calcium-based graphene nanostructures by response surface methodology (RSM) in order to investigate their role in biodenitrification. The optimized removal conditions in the bioreactor were investigated.

**Materials and Methods:** Characterization of graphene oxide/aluminum (rGO/Al) and graphene oxide/calcium (rGO/Ca) nanostructures was determined by XRD, SEM and FTIR. The two effective operating parameters of temperature (°C) and concentration (g/L) of rGO/Al and rGO/Ca nanostructures in biodenitrification of *Thiobacillus denitrificans* microorganism in the presence of nanostructures were optimized by RSM. Chromotropic Acid method was used to measure nitrate.

**Results:** The FTIR spectrum confirmed the interaction between RGO-aluminum and rGO/Ca. By SEM analysis, the average diameters of rGO/Al and rGO/Ca nanostructures were observed in the range of 10.24-39.21 nm and 20.86-34.29 nm, respectively. In the presence of rGO/Ca and rGO/Al, with increasing temperature (35°C) and increasing nanostructured concentration (1g/L), removal was achieved for 74.0985% and 77.6905%, respectively. After determining the optimized conditions, the biodenitrification of the microorganism in the presence of nanostructures was investigated in the bioreactor. According to the results, the microorganisms in the presence of rGO/Ca and rGO/Al nanostructures had 74.0985% and 77.6905% biodenitrification, respectively.

**Conclusion:** The percentage of biodegradation in the presence of rGO/Al was higher than rGO/Ca and in the presence of rGO/Al was 98%, so this nanostructure in the bioreactor showed higher efficiency in nitrate removal.

**Keywords:** Biodenitrification, rGO/Ca and rGO/Al nanostructures, Bioreactor, Optimization

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]



**Corresponding author:**
Environment & Biotechnology Research Division, Research Institute of Petroleum Industry (RIPI), Tehran, Iran

**Email:** taghavi_lobat@yahoo.com

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۳ - شماره ۵۰ - بهار ۱۴۰۲
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

# بهینه‌سازی نیترات‌زدایی زیستی با بهره‌گیری از نانوساختارهای گرافنی پایه آلومینیوم و کلسیم در بیوراکتور

عطیه اکرامی[۱]، لعبت تقوی[۱*]، بهنام راسخ[۲]، فاطمه یزدیان[۳]

۱. گروه منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. پژوهشکده محیط زیست و بیوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران
۳. گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

## چکیده

**سابقه و هدف:** معضل آلودگی منابع آب یک موضوع اساسی و تأثیرگذار برای زندگی سالم انسان‌ها و موجودات زنده است. هدف از این پژوهش بهینه‌سازی نانو ساختارهای گرافنی پایه آلومینیوم و کلسیم توسط روش سطح پاسخ (RSM) به‌منظور بررسی نقش آن‌ها در نیترات‌زدایی زیستی است.

**مواد و روش‌ها:** شرایط بهینه حذف در بیوراکتور بررسی گردید. مشخصه‌یابی نانوساختارهای گرافن اکسید/آلومینیوم (rGO/Al) و گرافن اکسید /کلسیم (rGO/Ca) توسط XRD ، SEM وFTIR تعیین‌گردید. دو پارامتر عملیاتی مؤثر دما (°C) و غلظت (g/L) نانوساختارهای rGO/Al و rGO/Ca در نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس‌دنیتریفیکانس* توسط روش سطح پاسخ (RSM) بهینه شد. از روش Chromotropic Acid جهت سنجش نیترات استفاده شد.

**یافته‌ها:** طیف FTIR، برهم‌کنش بین rGO وآلومینیوم وrGO وکلسیم را تأیید کرد. توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) قطر متوسط نانوساختارهای rGO/Al و rGO/Ca به‌ترتیب در محدوده ۲۴/۲۱-۱۰/۳۹ نانومتر و ۸۶/۲۹-۲۰/۳۴ نانومتر مشاهده شد. درحضور rGO/Ca وrGO/Al با افزایش دما (°۳۵C) و افزایش غلظت نانوساختار (۱ g/L) حذف غیرزیستی به‌ترتیب‌برابر ٪۷۴/۰۹۸۵ و ٪۷۷/۶۹۰۵ حاصل شد. پس از تعیین شرایط بهینه، نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختارها و در بیورآکتور بررسی شد. طبق نتایج، میکروارگانیسم در حضور نانوساختارهای rGO/Ca و rGO/Al به‌ترتیب میزان ٪۷۶/۶۹۵۷ و ٪۸۵/۲۵۷۲ نیترات‌زدایی زیستی داشت.

**نتیجه‌گیری:** درصد نیترات‌زدایی زیستی در حضور rGO/Al نسبت‌به rGO/Ca بیش‌تر بوده و در حضور rGO/Alمیزان ٪۹۸ حاصل‌شد، بنابراین این نانوساختار در بیوراکتور کارایی بالاتری در حذف نیترات نشان داد.

**واژگان کلیدی:** نیترات‌زدایی‌زیستی، نانوساختار rGO/Ca، rGO/Al، بیوراکتور، بهینه‌سازی

## مقدمه

در کشورهای توسعه‌یافته و صنعتی، فعالیت‌های انسانی بیش‌ترین نقش را در تشدید کمبود آب به‌وسیله آلوده کردن منابع آب طبیعی بازی می‌کند (۱). یون نیترات از مهم‌ترین آلودگی‌های منابع آبی است. این نوع آلودگی علاوه‌بر چرخه طبیعی نیتروژن، به‌طور عمده توسط آلودگی‌های صنعتی و شهری، فعالیت‌های انسانی و کشاورزی ایجاد می‌شود. آلودگی نیتراتی پساب‌ها زمانی رخ می‌دهد که نیترات بیش‌تر از مقدار مجاز در پساب وجود داشته باشد (۲). بر اساس استاندارد اتحادیه اروپا و سازمان بهداشت جهانی حد مجاز غلظت نیترات mg/L ۱۱/۳ بوده و بیش‌تر از این مقدار برای سلامت انسان، به‌ویژه نوزادان خطرناک است (۳). با توجه‌به حلالیت بالای یون نیترات، حذف آن از آب بسیار پرهزینه است. مصرف آب‌های آلوده به نیترات باعث می‌شود نیترات وارد شده توسط باکتری‌های سامانه گوارش به نیتریت تبدیل شود.

**نویسنده مسئول:**
پژوهشکده محیط زیست و بیوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران
پست الکترونیکی: taghavi_lobat@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۴



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

نیتریت در بدن سبب اکسیداسیون هموگلوبین به متهموگلوبین می‌شود، در نتیجه اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها مختل می‌شود(۴). تجمع نیترات در بدن عامل بسیاری از عوارض از جمله متهموگلوبین و دیابت، شناخته شده است (۵). به‌دلیل این خطرها، نیاز جدی به فناوری‌های مؤثر و کارایی بالا جهت تصفیه منابع آب آلوده به نیترات مورد نیاز است. روش‌های متداول کاهش و حذف نیترات از منابع آب، روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی هستند که متداول‌ترین آن‌ها عبارتند از: جذب سطحی، اسمز معکوس، دنیتریفیکاسیون، الکترودیالیز و تبادل یونی. از میان روش‌های مذکور جذب سطحی به‌دلیل سادگی، هزینه کم و راندمان بالا کاربرد گسترده‌ای دارد (۶). روش‌های شیمیایی حذف نیترات گران هستند و مشکلاتی مثل نیاز به بازسازی مداوم و تولید محصول‌های جانبی سمی را دارند. در نیترات‌زدایی زیستی، میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه باکتری‌ها نقش اصلی را در حذف نیترات از پساب به‌عهده دارند (۷). مزیت این سیستم‌ها عملکرد خوب میکروارگانیسم‌های دنیتریفایر برای حذف نیترات، هزینه پائین و سرعت بالای دنیتریفیکاسیون است (۱۰-۸). روش زیستی حذف نیترات قادر به حذف هم‌زمان چند آلاینده است، ولی روش‌های فیزیکی و شیمیایی فقط قادر به حذف یک آلاینده خاص هستند (۱۱). دو نوع حذف بیولوژیکی نیترات به‌صورت هتروتروف و اتوتروف وجود دارد. نیترات‌زداهای هتروتروف که از ترکیب‌های آلی به‌عنوان منبع‌کربنی استفاده می‌کنند، رایج‌ترین نیترات‌زداها در طبیعت‌اند (۱۲). به‌تازگی، فناوری نانو به‌عنوان جایگزین عالی برای روش‌های مرسوم حذف نیترات در نظر گرفته شده است. نانومواد با توجه‌به اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالا، بسیار واکنش‌پذیر هستند و همین امر آن‌ها را قادر می‌سازد که به‌عنوان جاذب مورد استفاده قرار بگیرند (۱۳). استفاده از نانوساختارها توانسته بسیاری از محدودیت‌های نیترات‌زدایی زیستی را برطرف نموده و سبب بهبود این فرآیند شود. گرافن یکی از نانوساختارهای کربنی است و به‌عنوان جاذبی ایده‌آل و جذب‌کننده‌ای عالی و مؤثر در نظر گرفته شده است. یکی از کاربردهای جالب گرافن و گرافن‌اکسید، عامل‌دار کردن آن‌ها جهت استفاده در فرآیندهای حذف آلاینده‌های مختلف در منابع آبی است. طی این فرآیندها مولکول‌های آلی روی صفحات گرافن قرار می‌گیرند. برای انجام این فرایند وجود برهم‌کنش کووالانس یا غیرکووالانس گرافن با مولکول‌های آلی و خصلت آب‌دوستی آن ضروری است که باعث پخش آسان آن در آب یا مایعات زیستی می‌شود. اکسید گرافن کاهش یافته (rGO) پشتیبانی شده با نانوذرات $Fe^0$ ماده مؤثری برای حذف نیترات از آب است. با توجه‌به سطح مقطع بالای گرافن می‌توان به‌عنوان حامل زیستی استفاده کرد (۱۴). میکروارگانیسم *تیوباسیلوس‌دنیتریفیکانس* (*Thiobacillus denitrificans*)، به صورت میله‌ای و گرم‌منفی است‌که‌می‌تواند دنیتریفیکاسیون اتوتروف انجام دهد و طیف‌وسیعی از ترکیب‌های کاهش یافته گوگرد را برای به‌دست آوردن انرژی اکسید کند. به‌دلیل این‌که این میکروارگانیسم ترجیح به استفاده از اکسیژن به‌جای نیترات به‌عنوان گیرنده الکترون نهایی دارد، دنیتریفیکاسیون فقط تحت شرایط بی‌هوازی انتظار می‌رود (۱۵). باتوجه‌به یک منبع کربن جهت نیترات‌زدایی، از نانوساختارها و اندازه‌های مختلف آن‌ها به‌منظور تأثیر بر رهایش منبع کربنی استفاده می‌گردد. در میان انواع نانوذرات و نانوساختارها، برخی منجر به افزایش و برخی منجر به کاهش نیتریت‌زدایی زیستی می‌شوند. با توجه‌به مرور مطالعه‌ها، در این مطالعه از نانوذرات آلومینیوم و کلسیم با پایه‌کربنی در حذف زیستی نیترات استفاده شد.

استفاده از نانوذرات آلومینیوم و کلسیم با پایه‌کربنی در حذف زیستی نیترات، بهینه‌سازی نیتریت‌زدایی زیستی بر اساس برنامه‌آماری و بررسی نیترات‌زدایی در سامانه کنترل‌شده (بیوراکتور) می‌تواند از جنبه‌های نوآورانه پژوهش حاضر باشد. Mook و همکاران نشان دادند دربیوراکتور با قرارگیری میکروارگانیسم‌های اتوهیدروژنو-تروفیک روی سطح نانوکریستال $PbO_2$، ٪۹۹ نیترات‌زدایی زیستی مشاهده گردید (۱۶). Shengyan و همکاران بهینه‌سازی حذف نیترات از محلول‌های آبی از طریق کاهش نانوذرات $Fe^0$ با پشتیبانی از گرافن اکسید ($Fe^0$@rGO) را بررسی کردند. عملکرد حذف نیترات به‌طور قابل‌توجهی با ترکیب rGO بهبود یافت (۱۴). در مطالعه Rajab Beigy و همکاران، عملکرد نانوذره $Fe^0$ پایدار شده با نشاسته در فعالیت نیترات‌زدایی زیستی *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* ارزیابی شد، نتایج نشان دادند نیترات‌زدایی‌زیستی *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضور St-$Fe^0$ در بیوراکتور ٪۹۴/۷ است (۱۷). Jiang و همکاران نشان دادند استفاده از نانوحامل‌گرافنی منجر به بهبود چشم‌گیر در کارآیی حذف نیترات و کاهش تولید نیتریت و نیترئوس‌اکسید می‌شود (۱۸). Mohammadi و همکاران، حذف هم‌زمان فسفات/نیترات از آب را با استفاده از نانوکامپوزیت Ag/rGO به‌صورت سیستماتیک بررسی کردند. در شرایط بهینه، حداکثر حذف هم‌زمان نیترات و فسفات به‌ترتیب ٪۸۸/۹۷ و ٪۹۱/۴۸ به‌دست آمد (۱۹).

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

در این تحقیق از نانوساختارهای گرافنی پایه آلومنیوم و کلسیم در حذف زیستی نیترات توسط میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* استفاده شد. بهینه‌سازی فرآیند نیترات‌زدایی توسط روش سطح پاسخ (RSM) (Response surface methodology) انجام شد. شرایط بهینه حذف در بیوراکتور بررسی گردید.

## مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* ATCC 23644 از مجموعه میکروبی DSMZ کشور آلمان تهیه شد. این میکروارگانیسم اتوتروف است و به یک منبع گوگردی (سولفیدهیدروژن، گوگرد عنصری یا تیوسولفات) به‌عنوان منبع انرژی نیازمند است. برای کشت سویه باکتریایی *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* از محیط معدنی پایه[1] استفاده شد. ترکیب‌های محیط معدنی پایه (شرکت مرک کشور آلمان) در جدول ۱ ارائه شده است. جهت تعیین خصوصیات ساختاری و مورفولوژی نانوکامپوزیت، اندازه گیری متوسط سایز ذرات از دستگاه‌های FT-IR ۱۰،۰۳،۰۶، Perkin Elmer Spectrum، میکروسکوپ الکترونی روبشی KYKY_EM ۳۲۰۰، اسپکتروفوتومتر PG Instrumentاستفاده شد.

### آزمون سنجش نیترات

از روش Chromotropic Acid جهت سنجش نیترات استفاده شد(۲۱،۲۰). در این روش در اثر واکنش Nitrate Reagent A و Nitrate Reagent B (شرکت مرک آلمان) با نیترات، محلول زرد رنگ ایجاد و در طول‌موج ۴۱۰ نانومتر میزان جذب محلول حاصل اندازه‌گیری شد. به‌منظور سنجش نیترات نمونه‌ها، سلول‌ها از محیط کشت توسط سانتریفوژ در ۵۰۰۰ دور در دقیقه مدت ۲۰ دقیقه جداسازی شدند. پس از عبور از فیلتر و عملیات رقیق سازی، ۱ میلی‌لیتر محلول به لوله حاوی Nitrate Reagent A منتقل و ۱۰ بار تکان داده شد. سپس با قیفNitrate Reagent B به لوله آزمایش اضافه شد و مجدد ۱۰ بار تکان داده شد تا رنگ زرد ظاهر شود. میزان غلظت نیترات به‌دست آمد (۴).

### اندازه‌گیری رشد سلولی

جهت اندازه‌گیری رشد سلولی سوسپانسیون باکتری به محیط معدنی پایه (BSM) منتقل شد. پتاسیم نیترات به عنوان منبع نیترات با غلظت ۳۰۰ mg/L به محیط BSM اضافه شد. محیط کشت درانکوباتور (۳۰°C) مدت ۴۸-۲۴ ساعت گرماگذاری شد. میزان رشد میکروارگانیسم با اندازه‌گیری غلظت میکروارگانیسم بر حسب ppm و اندازه-گیری نیترات حذف شده در طول‌موج۴۱۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد (۲۱).

### سنتز گرافن اکسید

جهت سنتز گرافن‌اکسید تک لایه به روش هامر، ۱ گرم گرافیت (شرکت مرک آلمان) به ۲۰mL سولفوریک‌اسید (شرکت مرک آلمان) (۹۸٪) درون حمام یخ روی استیرر، افزوده شد تا گرافیت به‌صورت کامل درون سولفوریک اسید حل شود، بعد از ۳۰ دقیقه ۳ گرم پرمنگنات‌پتاسیم (شرکت مرک آلمان) کم‌کم اضافه شد، پس از ۳۰ دقیقه ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر قطره قطره اضافه گردید، بعد از ۱۰ دقیقه، ۱۰۰mL آب مقطر یک‌جا به محلول درحال هم-زدن افزوده شد، بعد از۳۰ دقیقه ۳۵mL هیدروژن پراکسید (شرکت مرک آلمان) قطره قطره اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت محلول گرافن‌اکسید از روی هیتر استیرر برداشته شد (۲۲).

### سنتز نانوساختار گرافن اکسید/آلومینیوم

مقدار ۰/۶گرم گرافن اکسید تهیه شده از مرحله قبل در ۱۰۰mL آب مقطر حل شده و مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق، پروب سونیکیت انجام شد تا ذرات گرافن اکسید به-صورت کامل هموژن تبدیل شود. در مرحله بعد ۱ گرم سدیم بورهیدرات (شرکت مرک آلمان) کم‌کم اضافه شد و مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۰ °C به‌طور کامل خشک گردید، سپس به‌وسیله آب دِیونیزه و اتانول شستشو و سانتریفیوژ شد و رسوب در آون خلاء دمای ۸۰ °C مدت یک شبانه روز قرار داده شد تا rGO به‌دست آید. میزان ۷۵ gr rGO از مرحله قبل در ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل و مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق، پروب‌سونیکیت انجام شد، سپس ۳۰mg $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ (شرکت مرک آلمان) به محلول اضافه گردید تا به‌صورت کامل حل شود، در نهایت محلول با غلظت ۷mg/mL Al-rGO به‌دست آمد. برای پودر کردن نمونه، ابتدا نمونه سانتریفیوژ و در یخچال °C ۲۰- قرار داده شد، سپس فریزدرایر انجام شد.

### سنتز نانوساختار گرافن اکسید/کلسیم

مقدار ۰/۶گرم گرافن اکسید تهیه شده از مرحله قبل در ۱۰۰mL آب مقطر حل و مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق پروب‌سونیکیت انجام شد. در مرحله بعد ۱ گرم سدیم بورهیدرات کم‌کم اضافه شد و ۲۴ ساعت در ۱۰۰ °C به-

[1] Basal Salt Medium



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

طور کامل خشک شد، به‌وسیله آب دِیونیزه و اتانول شستشو و سانتریفیوژ شد و رسوب در آون خلاء دمای °C ۸۰ مدت یک شبانه روز قرار داده شد تا rGO به‌دست آید. میزان rGO ۷۵ میلی‌گرم از مرحله قبل در ۱۵mL آب مقطر حل و ۱۰ دقیقه در دمای اتاق، پروب سونیکیت شد. میزان $CaCl_2.4H_2O$ ۳۰mg (شرکت مرک آلمان) به محلول اضافه شد و در نهایت محلول با غلظت mg/mL ۷ Ca/rGO به‌دست آمد. برای پودر کردن نمونه، ابتدا نمونه سانتریفیوژ و در یخچال°C ۲۰- قرارگرفت، سپس فریز درایر انجام شد.

جدول ۱. ترکیب‌های محیط BSM

| فرمول شیمیایی | ترکیب | مقدار (g/L) |
|---|---|---|
| $KH_2PO_4$ | دی هیدروژن فسفات پتاسیم | ۱/۸ |
| $Na_2HPO_4$ | هیدروژن فسفات دی سدیم | ۱/۲ |
| $MgSO_4.7H_2O$ | سولفات منیزیم ۷ آبه | ۰/۱ |
| $(NH_4)_2SO_4$ | آمونیوم سولفات | ۰/۱ |
| $CaCl_2.2H_2O$ | کلریدکلسیم ۲ آبه | ۰/۰۳ |
| $Na_2S_2O_3.5H_2O$ | تیوسولفات سدیم ۵ آبه | ۱۵ |
| Trace elements solution | محلول عناصر کم‌مقدار | ۱mL |
| $FeCl_3.6H_2O$ | کلرید آهن (III) ۶ آبه | ۰/۰۲ |
| $MnSO_4$ | سولفات منگنز | ۰/۰۲ |
| $NaHCO_3$ | سدیم هیدروژن کربنات | ۰/۵ |
| $KNO_3$ | پتاسیم نیترات | ۵ |

**مشخصه‌یابی نانوساختارها**

پس از سنتز نانوساختارها به‌منظور مشخصه‌یابی از روش‌های تحلیلی مختلف استفاده شد. برای مطالعه ساختار سطحی و ریخت شناسی و اندازه نانوساختارها از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. بررسی ساختار کریستالی نانوساختارها توسط دستگاه پراش پرتو ایکس تحت‌تابش (Cu-Kα (A° 54056/1=λ، در ولتاژ ۴۰ کیلوولت و جریان ۳۰mA انجام شد. جهت تأیید پیوند و برهم‌کنش بین آلومینیوم و نانوساختار و کلسیم و نانوساختار از طیف‌سنجی مادون‌قرمز استفاده شد.

**پوشش سطح میکروارگانیسم با نانوساختارها**

جهت پوشش سطح میکروارگانیسم با نانوساختارهای Al-rGO و Ca- rGO، ۴mL سوسپانسیون باکتری در ویال‌های ۴۰mL به ۳۶mL محیط کشت BSM اضافه شد، نانوساختارها جداگانه با غلظت‌های g/L ۰/۰۵، ۰/۵، ۱ به محیط اضافه شدند.

**بهینه‌سازی آماری نیترات زدایی زیستی نانو ساختارهای Al/rGO و Ca/rGO و میکرو ارگانیسم پوشش‌یافته با نانوساختارها**

در بهینه‌سازی آماری فعالیت نیترات‌زدایی نانوساختارهای Al/rGO و Ca/rGO، هم‌چنین فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختارها، دما (A) و غلظت نانوساختارها (B) به‌عنوان دو متغیر تاثیرگذار درفعالیت نیترات‌زدایی انتخاب شدند. به منظور بهینه سازی این دو عامل، نرم‌افزار روش سطح پاسخ، و به منظور غربال‌گری و ارزیابی شاخص‌های مهم در فعالیت نیترات زدایی، نرم‌افزار Design-expert برای طراحی آزمایش (DOE) مورد استفاده قرار گرفت. محدوده سطوح متغیرها در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. سطوح متغیرها در بهینه سازی آماری فرآیند نیترات زدایی نانوساختارهای Al-rGO و Ca-rGO و فعالیت نیترات زدایی زیستی میکروارگانیسم پوشش‌یافته با نانوساختارها

| علامت | متغیر | سطح پایین (-) | سطح مرکزی (۰) | سطح بالا (+) |
|---|---|---|---|---|
| A | دما (°C) | ۲۵ | ۳۰ | ۳۵ |
| B | غلظت نانوساختار (g/L) | ۰/۰۵ | ۰/۵ | ۱ |

آزمایش در ویال‌های۴۰ میلی‌لیتر حاوی ۳۶ میلی‌لیتر محیط کشت انجام شد. محیط‌های کشت حاوی غلظت mg/L ۳۰۰ نیترات مدت ۲۰ دقیقه در دمای °۱۲۱C ستروِن شدند. ابتدا نانوساختارها جداگانه به محیط کشت اضافه شدند و میزان حذف نیترات بررسی شد. پس از تلقیح میکرو ارگانیسم‌ها و نانوساختارها تحت شرایط ستروِن، فلاسک‌ها در دمای °۳۰C مدت ۲۵ و ۳۵ ، ۴۸ -



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

ساعت در انکوباتور قرار داده شدند و فعالیت نیترات زدایی زیستی ارزیابی شد.

**بررسی فرآیند نیترات‌زدایی‌زیستی میکرو ارگانیسم**

میکروارگانیسم در محیط BSM با غلظت ۳۰۰ mg/L نیترات مدت ۴۸ ساعت در دماهای ۲۵C° و۳۰ و ۳۵ گرماگذاری شد. به‌منظور ارزیابی اثر دما در نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم، نمونه‌گیری پس از ۴۸ ساعت انجام و نتایج بررسی شد.

**بررسی فرآیند نیترات‌زدایی نانوساختارهای Al-RGO و Ca-RGO**

نانوساختارها در محیط BSM با غلظت نیترات ۳۰۰ppm، در سه غلظت g/L ۰/۰۵، ۰/۵، ۱ نانوذرات در دماهای ۲۵°C ، ۳۰ و ۳۵ مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور گرماگذاری شدند. به‌منظور بررسی اثر غلظت نانوذرات و دما بر میزان نیترات‌زدایی نانوساختارها، نمونه‌گیری پس از ۴۸ ساعت انجام و نتایج بررسی شد.

**بررسی فرآیند نیترات‌زدایی زیستی میکرو ارگانیسم پوشش یافته با نانوساختارهای Al-rGO و Ca-rGO**

میکروارگانیسم‌های پوشش‌یافته با نانوساختارهای Al-rGO و Ca-rGO درمحیط BSM با غلظت ۳۰۰ نیترات mg/L به مدت ۴۸ ساعت در غلظت‌های g/L ۰/۰۵، ۰/۵، ۱ از نانوساختارها دردماهای ۲۵°Cو ۳۰ و ۳۵ گرماگذاری شدند. به‌منظوربررسی‌اثردما و غلظت نانوساختارها برمیزان نیترات زدایی زیستی میکروارگانیسم پوشش یافته با نانو ساختارهای Al/rGO و Ca/rGO، نمونه‌گیری پس از ۴۸ ساعت انجام و نتایج از طریق کیت نیترات بررسی شد.

**بررسی فرآیند نیترات‌زدایی زیستی در بیوراکتور در حضور نانوساختارهای Al/rGO و Ca/rGO**

پس از بررسی رشد و فعالیت نیترات‌زدایی میکروارگانیسم تیوباسیلوس دنیتریفیکانس در ویال۴۰ میلی‌لیتر با ۳۶ میلی‌لیتر محیط کشت BSM در حضور و عدم حضور نانوساختارهای Al/rGO وCa/rGO، میکروارگانیسم در بیوراکتور با حجم ۱۵ mL حاوی ۱۲ mL محیط کشت BSM (سترون شده در اتوکلاو ۱۲۱° Cمدت ۱۵ دقیقه) مدت ۴۸ ساعت با فیلتر تحت جریان گاز نیتروژن جهت خروج اکسیژن و ایجاد شرایط بی‌هوازی قرار گرفت و در شرایط مشابه ویال، کشت داده شد. مایه تلقیح و ۱۰ mL سوسپانسیون نانوساختارهای Al/rGO و Ca-rGO (g/l75/0)، جداگانه به محیط کشت سترون افزوده شدند. بیوراکتور دمای ۳۵° C و pH ۷ تنظیم گردید. به‌منظور بررسی رشد و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکرو ارگانیسم، نمونه‌گیری هر ۴ ساعت تا ۵۲ ساعت انجام شد.

**روش آماری**

آزمون آماریOne-way ANOVA جهت مقایسه اختلاف معنی‌دار مقادیر به‌دست‌آمده بین گروه‌های مطالعه در سطح آماری ۵٪ و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ انجام شد. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده ها توسط نرم افزار $SPSS_{22}$ مورد تجزیه آماری قرار گرفت.

## نتایج

**مشخصه‌یابی نانوساختارهای rGO/Al وrGO/Ca**

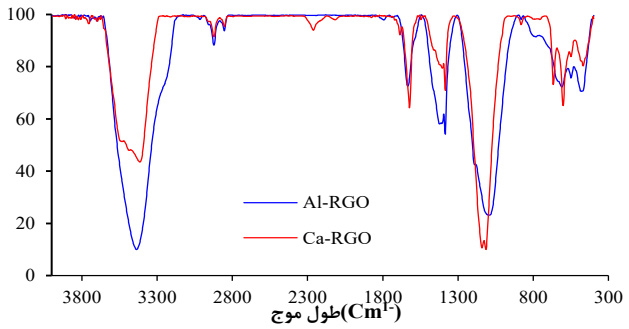
**طیف‌سنجی‌تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) نانوساختارهای rGO/Al و rGO/Ca**

آنالیز FTIR جهت بررسی پیوند بین نانوذرات گرافن - اکسید و آلومینیوم و کلسیم، هم‌چنین تعیین برهم‌کنش بین rGO و آلومینیوم وrGO و کلسیم استفاده شد. با توجه به شکل ۱ پیک جذبی شارپ در محدوده $Cm^{-1}$ ۱۱۳۴مربوط به نانوساختار rGO /Ca و پیک جذبی در$Cm^{-1}$۱۰۸۰مربوط‌به‌نانوساختار rGO/Al، به ارتعاشات کششی پیوند C-O که معرف حضور گروه اپوکسی (پیوندهای شیمیایی و گروه‌های عاملی اکسیدگرافن) است، اختصاص داده می‌شود (۲۳). پیک در $Cm^{-1}$۱۶۲۱ (rGO/Al) و(rGO/Ca) $Cm^{-1}$ ۱۶۳۹ مربوط به پیوندهای C=C است (۲۴و۲۵). پیک پهن در محدوده $Cm^{-1}$۳۴۱۹ و (rGO/Al) $Cm^{-1}$۳۴۲۷ به‌دلیل ارتعاشات کششی گروه O-H در مولکول‌های آب است. همچنین می‌توان آن را به ارتعاشات کششی گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل اختصاص داد. این گروه‌های عاملی حاوی اکسیژن، باعث آب‌دوستی صفحات اکسیدگرافن می‌شوند؛ بنابراین، منجر به پراکندگی خوب اکسیدگرافن در آب خواهد شد (۲۵). در نانوساختار rGO/Al پیک-های موجود در نواحی $Cm^{-1}$۴۷۲ ، $Cm^{-1}$ ۶۰۱ و $Cm^{-1}$ ۶۱۱ به گروه Al اشاره دارد. در نانوساختارrGO/Ca قله‌های موجود در نواحی $Cm^{-1}$۶۲۱ و $Cm^{-1}$ ۴۶۶ به‌گروه Ca اختصاص داده می‌شود. شکل ۱ برهم‌کنش rGO و آلومینیوم وrGO و کلسیم را تأیید می‌نماید.



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]




شکل ۱. طیف FTIR نانوساختارهای Al/rGO و Ca/rGO

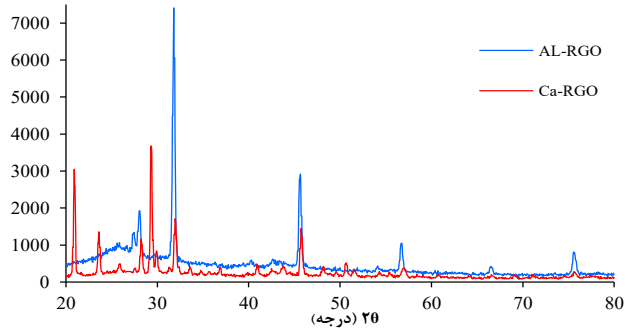
وجود قله‌های شدید در $Cm^{-1}$ ۱۶۳۶ و $Cm^{-1}$ ۱۰۴۴ مربوط به ارتعاش‌کششی C=C و ارتعاش‌کششی گروه‌های اپوکسی rGO (C-O) در نتایج پژوهش Bharath و همکاران با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد (۲۶). در تحقیق Fan و همکاران ناحیه ارتعاشی $Cm^{-1}$ ۶۰۰-۷۰۰ را می‌توان به‌حالت‌های کششی یون‌های $Al^{3+}$ اختصاص داد (۲۷).

### الگوی پراش پرتو ایکس(XRD)

طیف پراش پرتوایکس نانوساختارهای Al/rGO و Ca/rGO در شکل ۲ آورده شده است.درنواحی °۳۰-۲θ=۲۰ در شکل ۲ پیک‌های شاخص rGO قابل مشاهده است که با نتایج مطالعه Heydaryan و همکاران همراستا است (۲۸). قله‌های موجود در نواحی °۲۴=۲θ، °۳۲=۲θ، °۳۷ =۲θ، °۴۵=۲θ، °۵۱=۲θ و °۵۷=۲θ که در شکل ۲ (rGO/Al) مشاهده می‌شود به Al نسبت داده می‌شود (۲۸). پیک در نواحی °۳۳=۲θ، °۴۷=۲θ، °۵۰=۲θ و °۵۹=۲θ مشخصه وجود Ca در نانوساختار rGO/Ca می‌باشد، این پیک‌ها با نتایج تحقیق Tanpure و همکاران مبنی بر تشخیص Ca مطابقت دارد (۲۹) .

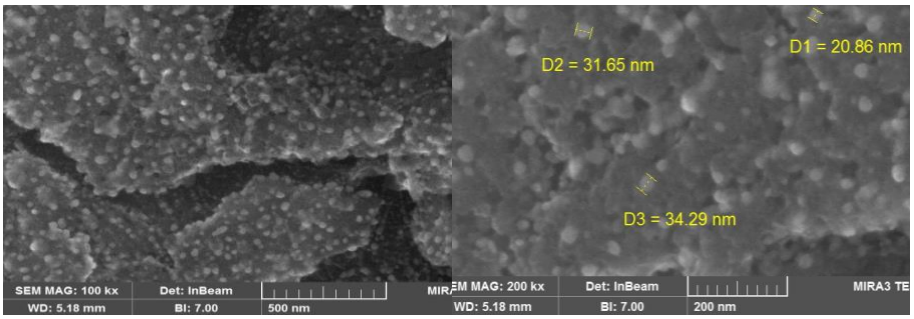
### مورفولوژی نانوساختارهای Al/rGO و Ca/rGO

مورفولوژی نانوساختارها توسط تصویر SEM تعیین گردید (شکل۳ الف وب). مطابق شکل ۳ الف، قطر متوسط نانوساختار rGO/Ca در محدوده ۳۴/۲۹-۲۰/۸۶ نانومتر است. تصویر SEM به‌طور مشخص نشان می‌دهد نانوذرات کلسیم روی صفحات‌گرافن‌اکسیدپخش شده‌اند، برهمکنش خوب بین گرافن‌اکسید و کلسیم را نشان می‌دهد. با توجه-به شکل ۳ ب، قطر متوسط نانوساختار rGO/Al درمحدوده ۳۹/۲۱-۱۰/۲۴ نانومتر مشاهده شد. طبق تصاویر، ذرات سفید موجود در سطح که به صورت پراکنده روی گرافن‌اکسید قابل مشاهده هستند، نانوذرات آلومینیوم هستند و دارای ساختار یکنواخت و اشکال‌کروی بوده و سطح نانوساختار همگن به‌نظر می‌رسد که - نشان‌دهنده سازگاری خوب بین گرافن اکسید و آلومینیوم است.

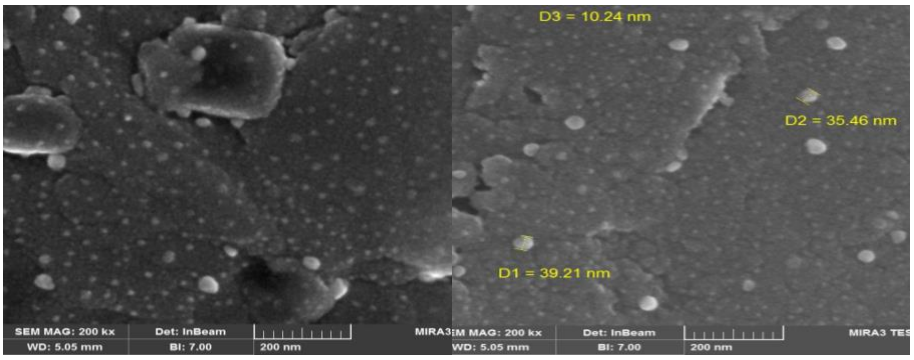



شکل ۲- طیف XRD نانوساختارهای Al/rGO و Ca/rGO

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]




الف

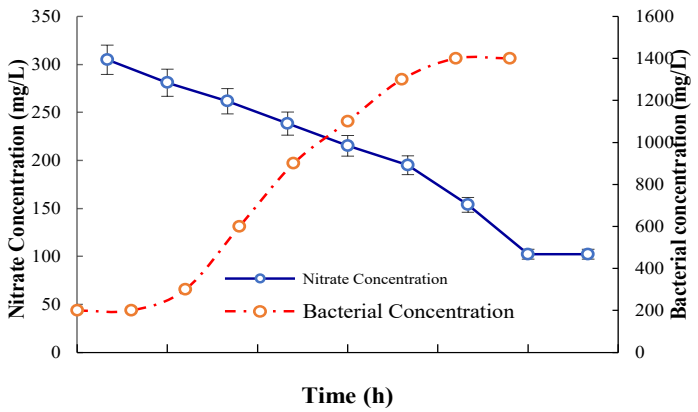



ب

شکل ۳- تصاویر (SEM) الف) نانوساختار Ca/rGOو ب) Al/rGO

## تعیین منحنی رشد میکروارگانیسم به روش اندازه‌گیری غلظت میکروارگانیسم و میزان حذف نیترات

میزان رشد در محیط BSM حاوی پتاسیم نیترات به عنوان تنها منبع نیترات از طریق میزان حذف نیترات و اندازه‌گیری میزان جذب نوری در طول‌موج ۴۱۰ نانومتر با استفاده از کیت نیترات مشخص شد. جهت رسم منحنی رشد، پس از تلقیح میکروارگانیسم در ویال‌های۴۰mL و قرار دادن آن‌ها در انکوباتور دمای ۳۰ °C، نمونه‌گیری در فاصله زمانی ۶ ساعت یک بار انجام شد و تا۶۰ ساعت ادامه یافت و غلظت میکروارگانیسم محاسبه شد. منحنی استاندارد نیترات با استفاده از رقت‌هایی از نیترات با محدوده غلظت mg/L ۰-۱۳۰ تهیه شد و بر حسب میزان جذب هر یک از غلظت ها منحنی استاندارد رسم شد. همچنین میزان حذف نیترات توسط میکروارگانیسم در طول موج ۴۱۰ نانومتر خوانده شد. نتایج در شکل ۴ آمده است.




شکل ۴. منحنی رشد میکروارگانیسم به روش اندازه‌گیری غلظت میکروارگانیسم و حذف نیترات توسط میکروارگانیسم

## بررسی میزان حذف نیترات توسط میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس*

جهت بررسی اثر دما بر رشد و فعالیت حذف نیترات توسط میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در عدم حضور نانوساختار فلزی، میکروارگانیسم در غلظت ۳۰۰mg/L نیترات و pH ۷ دردماهای مختلف C °۲۵، ۳۰و ۳۵ در



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

انکوباتور قرار داده شد. نتایج حاصل از حذف نیترات در دماهای مختلف پس از ۴۸ ساعت، با روش کروموتروپیک اسید، با استفاده از کیت نیترات بررسی شد (جدول۳).

نتایج حاصل از جدول ۳ نشان می‌دهد با افزایش دما، رشد و فعالیت نیترات‌زدایی‌زیستی میکروارگانیسم افزایش می‌یابد.

جدول ۳. بررسی فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در دماهای مختلف

| آزمایش | دما (°C) | مقدار اولیه نیترات (mg/L) | حذف نیترات (٪) |
|---|---|---|---|
| ۱ | ۳۵ | ۳۰۰ | ۴۰/۴۵٪ |
| ۲ | ۳۰ | ۳۰۰ | ۳۷/۱٪ |
| ۳ | ۲۵ | ۳۰۰ | ۱۶/۳۶٪ |

**بهینه‌سازی آماری شاخص‌های عملیاتی مؤثر در افزایش نیترات‌زدایی نانوذرات rGO/Ca و rGO/Al با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)**

دو متغیر A معرف دما (°C) و B معرف غلظت نانوذرات rGO/Ca و rGO/Al (g/L) برای بهینه‌سازی فعالیت نیترات‌زدایی نانوذرات در محیط کشت BSM با غلظت ۳۰۰ mg/L نیترات و pH ۷ درنظر گرفته شد. بهینه‌سازی این دو عامل توسط روش سطح پاسخ انجام شد. پاسخ $R_1$ برای بررسی درصد حذف نیترات است. آزمایش‌ها برای نمونه شاهد (بدون حضور نانوساختار فلزی) برای همه نمونه‌ها انجام شد. همه آزمایش‌ها با سه تکرار و میانگین آن‌ها ارائه شد. طبق طراحی آزمایش برای ۲ متغیر، ۱۳ آزمایش (۹ آزمایش و ۴ تکرار) برای نانوساختارها (جدول ۴) مشخص شد. پاسخ $R_1$ مربوط به درصد حذف نیترات است. جداول ۵ و ۶ به‌ترتیب پاسخ $R_1$ نانوذرات rGO/Ca و rGO/Al را نشان می‌دهند. در این نرم افزار $p<0/05$ به‌عنوان سطح اطمینان از مؤثر بودن ضریب در نظر گرفته می‌شود. با توجه‌به جداول ۵ و ۶، مقدار p-value برای ترم‌های دما (A) و غلظت نانوذرات (B) کم‌تر از ۰/۰۵ است، لذا این ترم‌ها برای نانوذرات rGO/Ca وrGO/Al ، هم‌چنین برهم‌کنش پارامترهای A و B، بردرصد حذف نیترات (پاسخ$R_1$)، اثرگذار هستند. معادلهٔ نهایی فعالیت نیترات‌زدایی نانوذرات با عبارت‌های کد شده، برای‌نانوذرات rGO/Ca (رابطه ۱) وrGO/Al (رابطه ۲) است:

$$R1= +35/29+ 55/16A+32/19B+40/9A\times B$$

رابطه ۱

$$R1= +28/64+17/15 A+33/10B+50/3A\times B-87/4A2 - 37/15 B2$$

رابطه ۲

هم‌چنین شرایط بهینه پاسخ $R_1$ برای نانوذرات rGO/Ca وrGO/Al در جدول ۷ ارائه شده است. شکل‌های ۵ و ۶ تصویر دوبعدی تأثیر برهم‌کنش پارامترهای A (دما °C) و B (غلظت نانوساختار) را نشان می‌دهند. مطابق شکل ۵ و۶ با افزایش دما (°C) (پارامتر A) به‌سمت (۱+) ۳۵ °C و افزایش غلظت نانوذرات rGO/Ca و rGO/Al (پارامتر B) به سمت (۱+) ۰/۱g، درصد حذف نیترات افزایش می‌یابد.

در پژوهش حاضر، حذف غیرزیستی توسط نانوساختار rGO/Ca برابر ۷۴/۰۹۸۵٪ نیترات در ۳۵ °C و ۲/۵٪ در دمای ۲۵C° طی ۴۸ ساعت مشاهده شد، حذف غیرزیستی توسط نانوساختار rGO/Al برابر ۷۷/۶۹۰۵٪ نیترات در ۳۵ °C مشاهده شد (جدول۶). نتایج به خوبی نشان می‌دهد احیا غیرزیستی به‌شدت تحت تأثیر درجه حرارت بوده و دردماهای بالاتر با سرعت بالاتر انجام می‌شود.

**بهینه‌سازی آماری شاخص‌های عملیاتی موثر در افزایش نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم تیوباسیلوس دنیتریفیکانس در حضور نانوذرات rGO/Ca و rGO/Al**

دو عامل دما (A) (°C) و غلظت نانوساختار (B) (g/L) جهت بهینه‌سازی فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم درحضور نانوساختار در محیط کشت BSM با غلظت نیترات ۳۰۰ mg/L و pH ۷ در نظر گرفته شد. برای تحلیل بهتر مدل متغیر R- ($R_2$) Square ارائه می‌شود. پاسخ $R_2$ بررسی درصد حذف نیترات به‌وسیله میکروارگانیسم درحضور نانوساختار است. جدول ۸ بهینه‌سازی عوامل موردنظر برای میکروارگانیسم *تیوباسیلوس‌دنیتریفیکانس* به‌ترتیب درحضور نانوساختارهای rGO/Ca و rGO/Al را نشان می‌دهد.

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

جدول ۴. بهینه‌سازی عوامل برای نانوذرات فلزی rGO/Ca و rGO/Al در حذف نیترات

| آزمایش | دما (°C) | غلظت نانوذرات ( g/L) | درصد حذف نیترات(٪) (rGO/Ca) | درصد حذف نیترات(٪) (rGO/Al) |
|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۲۵ | ۰/۰۵ | ۲/۴ | ۲۲ |
| ۲ | ۲۵ | ۱ | ۱۲/۷ | ۴۱ |
| ۳ | ۳۵ | ۰/۰۵ | ۲۵/۴ | ۳۷ |
| ۴ | ۳۵ | ۱ | ۷۴/۰۹ | ۷۰ |
| ۵ | ۳۰ | ۰/۰۵ | ۱۳ | ۴۳ |
| ۶ | ۳۰ | ۱ | ۵۴/۱ | ۸۲ |
| ۷ | ۲۵ | ۰/۵ | ۸/۷ | ۴۳ |
| ۸ | ۳۵ | ۰/۵ | ۴۱ | ۶۱ |
| ۹ | ۳۰ | ۰/۵ | ۳۰/۶ | ۶۳ |
| ۱۰ | ۳۰ | ۰/۵ | ۳۰/۱ | ۶۳/۲ |
| ۱۱ | ۳۰ | ۰/۵ | ۳۰/۲ | ۶۳ |
| ۱۲ | ۳۰ | ۰/۵ | ۳۰ | ۶۳/۱ |
| ۱۳ | ۳۰ | ۰/۵ | ۳۰ | ۶۲/۹ |

جدول ۵. شاخص‌های نرم‌افزاری بهینه‌سازی فعالیت نیترات‌زدایی نانوذرات rGO/Ca

| عبارت | مجموع مربعات | درجه آزادی | مربع میانگین | F value | p-value Probe> F |
|---|---|---|---|---|---|
| | ۳۴۸۶/۳۵ | ۵ | ۶۹۷/۲۷ | ۴۱/۰۵ | <۰,۰۰۰۱ |
| A-A | ۱۶۳۴/۴۲ | ۱ | ۱۶۳۴/۴۲ | ۹۱/۹۸ | <۰,۰۰۰۱ |
| B-B | ۲۲۳۸/۸۰ | ۱ | ۲۲۳۸/۸۰ | ۱۲۵/۳۱ | <۰,۰۰۰۱ |
| AB | ۳۵۳/۴۴ | ۱ | ۳۵۳/۴۴ | ۱۹/۷۸ | ۰,۰۰۱۶ |
| باقیمانده | ۱۶۰/۸۰ | ۹ | ۱۷/۷۸ | | |

R-Squared = ۰/۹۶۳۴

جدول ۶. شاخص‌های نرم‌افزاری بهینه‌سازی فعالیت نیترات‌زدایی نانوذرات rGO/Al

| عبارت | مجموع مربعات | درجه آزادی | مربع میانگین | F value | p-value Probe> F |
|---|---|---|---|---|---|
| | ۱۳۰۹۳/۱۳ | ۵ | ۶۱۸/۶۳ | ۳۶/۹۸ | <۰/۰۰۰۱ |
| A-A | ۱۳۸۰/۱۷ | ۱ | ۱۳۸۰/۱۷ | ۸۲/۵۱ | <۰/۰۰۰۱ |
| B-B | ۶۴۰/۶۷ | ۱ | ۶۴۰/۶۷ | ۳۸/۳۰ | ۰/۰۰۰۵ |
| A-B | ۴۹/۰۰ | ۱ | ۴۹/۰۰ | ۲/۹۳ | ۰/۱۳۰۷ |
| $A^۲$ | ۶۵/۳۸ | ۱ | ۶۵/۳۸ | ۳/۹۱ | ۰/۰۸۸۶ |
| $B^۲$ | ۶۵۲/۰۸ | ۱ | ۶۵۲/۰۸ | ۳۸/۹۹ | ۰/۰۰۰۴ |

R-Squared = ۰/۹۶۳۵

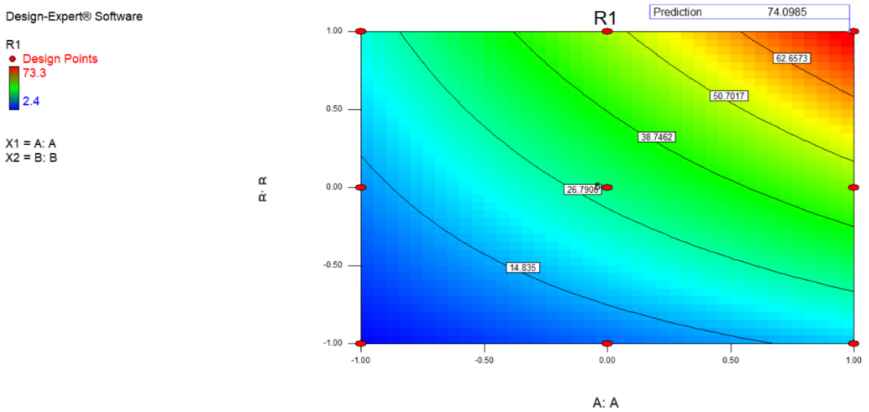
جدول ۷. شرایط بهینه پاسخ $R_۱$ برای نانوذرات rGO/Ca و rGO/Al (حجم ۱۰۰mL)

| نانوذرات | $R_۱$ | B (g/L) | A(°C) |
|---|---|---|---|
| rGO/Ca | ۷۴/۰۹۸۵ | ۱/۰۰ | ۰/۹۸ |
| rGO/Al | ۷۷/۶۹۰۵ | ۰/۴۵ | ۱/۰ |

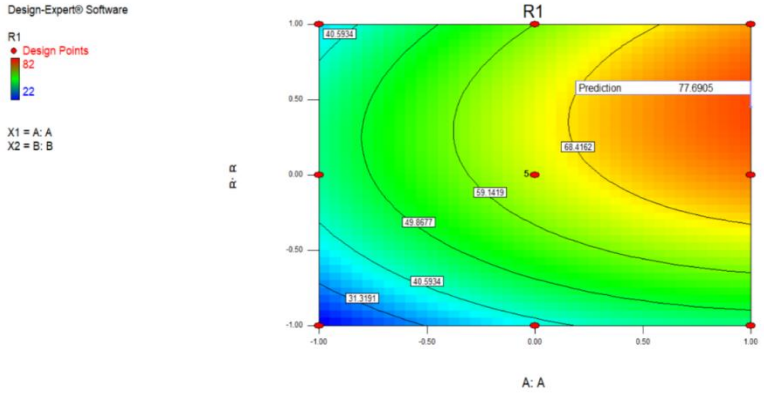


[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]




شکل ۵. تصویر دو بعدی تأثیر برهم‌کنش پارامترهای A (دما °C) و B (غلظتrGO/Ca) برمیزان درصد حذف نیترات برای نانوذرات rGO/Ca




شکل ۶. تصویر دو بعدی تأثیر برهم‌کنش پارامترهای A (دما °C) و B (غلظتrGO/Al) برمیزان درصدحذف نیترات نانوذرات rGO/Al

جدول ۸. بهینه‌سازی عوامل برای میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضور نانوساختارهای rGO/Ca و rGO/Al

| آزمایش | غلظت نانوذرات (g/L) | دما (°C) | حذف نیترات (٪) (rGO/Ca) | حذف نیترات (٪) (rGO/Al) |
|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۰/۰۵ | ۲۵ | ۱۷ | ۲۵ |
| ۲ | ۱ | ۲۵ | ۳۹ | ۵۵ |
| ۳ | ۰/۰۵ | ۳۵ | ۳۵ | ۳۹ |
| ۴ | ۱ | ۳۵ | ۶۸/۳ | ۸۵ |
| ۵ | ۰/۰۵ | ۳۰ | ۴۰/۲ | ۴۳ |
| ۶ | ۱ | ۳۰ | ۸۰/۵ | ۸۲ |
| ۷ | ۰/۵ | ۲۵ | ۳۷/۳ | ۴۴ |
| ۸ | ۰/۵ | ۳۵ | ۶۰ | ۶۵ |
| ۹ | ۰/۵ | ۳۰ | ۶۵ | ۶۶ |
| ۱۰ | ۰/۵ | ۳۰ | ۶۰ | ۶۶/۱ |
| ۱۱ | ۰/۵ | ۳۰ | ۶۰ | ۶۶/۲ |
| ۱۲ | ۰/۵ | ۳۰ | ۶۰/۲ | ۶۶ |
| ۱۳ | ۰/۵ | ۳۰ | ۶۰ | ۶۶ |

جدول ۹. شاخص‌های نرم‌افزاری بهینه‌سازی افزایش نیترات‌زدایی زیستی *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* درحضورrGO/Ca

| عبارت | مجموع مربعات | درجه آزادی | مربع میانگین | F value | p-value Probe> F |
|---|---|---|---|---|---|
| | ۱۳۴۸۶/۳۵ | ۵ | ۶۹۷/۲۷ | ۴۱/۰۵ | <۰/۰۰۰۱ |
| A-A | ۱۵۲۳/۲۳ | ۱ | ۱۵۲۳/۲۳ | ۸۹/۶۷ | <۰/۰۰۰۱ |
| B-B | ۸۱۶/۶۷ | ۱ | ۸۱۶/۶۷ | ۴۸/۰۷ | ۰/۰۰۰۲ |
| AB | ۳۱/۹۲ | ۱ | ۳۱/۹۲ | ۱/۸۸ | ۰/۲۱۲۸ |
| $A^2$ | ۵۸/۸۸ | ۱ | ۵۸/۸۸ | ۳/۴۷ | ۰/۱۰۴۹ |
| $B^2$ | ۷۳۵/۳۶ | ۱ | ۷۳۵/۳۶ | ۴۳/۲۹ | ۰/۰۰۰۳ |

R-Squared = ۰/۹۶۷۰



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

جدول ۱۰. شاخص‌های نرم‌افزاری بهینه‌سازی افزایش نیترات‌زدایی زیستی *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* درحضور rGO/Al

| عبارت | مجموع مربعات | درجه آزادی | مربع میانگین | F value | p-value Probe> F |
|---|---|---|---|---|---|
| | ۱۳۵۴۲/۴۲ | ۵ | ۷۰۸/۴۸ | ۷۰۷۳/۲۲ | <۰/۰۰۰۱ |
| A-A | ۲۲۰۴/۱۷ | ۱ | ۲۲۰۴/۱۷ | ۲۲۰۰۵/۵۳ | <۰/۰۰۰۱ |
| B-B | ۷۰۴/۱۷ | ۱ | ۷۰۴/۱۷ | ۷۰۳۰/۱۲ | <۰/۰۰۰۱ |
| AB | ۶۴/۰۰ | ۱ | ۶۴/۰۰ | ۶۳۸/۹۵ | <۰/۰۰۰۱ |
| $A^2$ | ۳۴/۴۴ | ۱ | ۳۴/۴۴ | ۳۴۳/۸۰ | <۰/۰۰۰۱ |
| $B^2$ | ۳۶۷/۲۴ | ۱ | ۳۶۷/۲۴ | ۳۶۶۶/۳۴ | <۰/۰۰۰۱ |

R-Squared = ۰/۹۹۹۸

**یز داده‌ها به روش RSM برای میکروارگانیسم**
**باسیلوس‌دنیتریفیکانس درحضور نانوساختارهای**
**rGO/C و rGO/Al**

اول ۸ و ۹ شاخص‌های نرم‌افزاری بهینه‌سازی افزایش
رات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختار
شان می‌دهد.

لور معمول $R_2$ بالای ۰/۷، بیانگر ضریب هم‌بستگی به‌
بتـ خوب بوده و هر مقدار این ضریب به یک نزدیک‌تر
ـد، انطباق داده‌هـای تجـربی و مدل حاصـل از
رسیون بیـشتر و مـدل از دقت بالاتری برخـوردار
ت. p-value <۰/۰۵ به‌عنوان سطح اطمیـنان از مؤثر
دن ضریب در نظر گرفته شده است. طبق جدول ۸،
ار p-value برای ترم‌های دما (A) و غلظت نانوساختار
) کم‌تر از ۰/۰۵ است، لذا شرایط بهینه بر درصد حذف
رات (پاسخ $R_2$)، تحت تاثیر پارامترهای A و B، برای
کروارگانیسم *تیوباسیلوس‌دنیتریفیکانس* در حضور
ساختار است. براساس جدول ۱۰، مقدار p-value برای
ه ترم‌ها (دما (A) و غلظت نانوساختارها (B) و
برهم‌کنش این‌دو پارامتر) کم‌تر از ۰/۰۵ است، لذا شرایط بهینه بر درصد حذف نیترات (پاسخ $R_2$)، تحت تأثیر پارامترهای A و B، هم‌چنین برهم‌کنش این‌دو پارامتر برای میکروارگانیسم *تیوباسیلوس‌دنیتریفیکانس* در حضور نانوساختار است. معادلهٔ نهایی جهت بهینه‌سازی فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختارهای rGO/Ca و rGO/Al با عبارت‌های کد شده، به‌ترتیب مطابق رابطه ۳ و۴ است:

$$R_2 = 13/62 + 93/15\times A + 67/11\times B + 83/2\times AB - 60/4\times A_2 - 30/16\times B2$$

رابطه۳

$$R_2 = 05/66\ 17/19 + \times A + 83/10\times B + 00/4\times AB - 53/3\times A_2 - 53/11\times B2$$

رابطه ۴

شرایط بهینه پاسخ $R_2$ برای میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* درحضور نانوساختارهای rGO/Ca و rGO/Al در جدول ۱۱ ارائه شد.

جدول ۱۱. شرایط بهینه پاسخ $R_2$ برای میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* درحضور نانوساختارهای rGO/Ca و rGO/Al (حجم ۴۰mL)

| نانوذرات | $R_2$ | غلظت نانوذرات (gr) | دما (°C) |
|---|---|---|---|
| rGO/Ca | ۷۶/۶۹۵۷ | ۰/۴۴ | ۱/۰ |
| rGO/Al | ۸۵/۲۵۷۲ | ۰/۶۲ | ۰/۹۲ |

ج، در شرایط بهینه، میکروارگانیسم در حضور
ساختار طبق rGO/Ca به میـزان ٪۷۶/۶۹۵۷ و در
ـور rGO/Al مقدار ٪۸۵/۲۵۷۲ نیترات‌زدایی زیستی
د. با توجه به نتایج، مشاهده می‌شود درصد
رات‌زدایی زیستی‌درحضور نانوساختار rGO/Al نسبت
rGO/Ca بیش‌تر بوده و نقش مؤثر rGO/Al را در
ف زیستی نیترات نشان می‌دهد. دراین تحقیق، احیا
ـتی نیترات درحضور نانوساختارها تحت تأثیر دما است.
یش دما سبب افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و
افزایش فعالیت نیترات‌زدایی‌زیستی میکروارگانیسم می‌گردد.

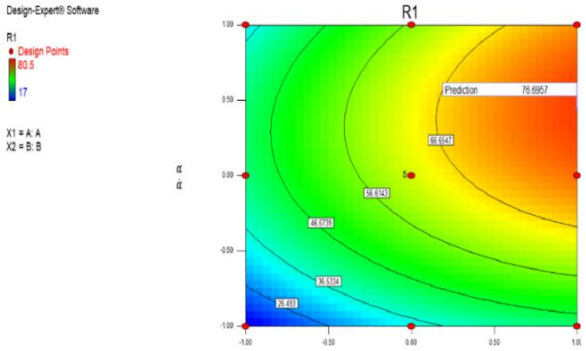
شکل‌های ۷ و ۸ تصویر دو بعدی تأثیر برهم‌کنش پارامتر A (دما °C) و B (غلظت نانوساختار) بر درصد حذف نیترات میکروارگانیسم *تیوباسیلوس‌دنیتریفیکانس* در حضور نانو ساختارهای rGO/Ca وrGO/Al رانشان‌می‌دهد. مطابق شکل‌ها با افزایش پارامتر A (دما °C) به‌سمت۱+ (۳۵°C) وافزایش‌پارامترB (غلظتrGO/Ca و rGO/Al) به سمت کد مرکزی (۰/۵ g/L) مقدار $R_2$ افزایش می‌یابد که معادل افزایش درصد حذف نیترات



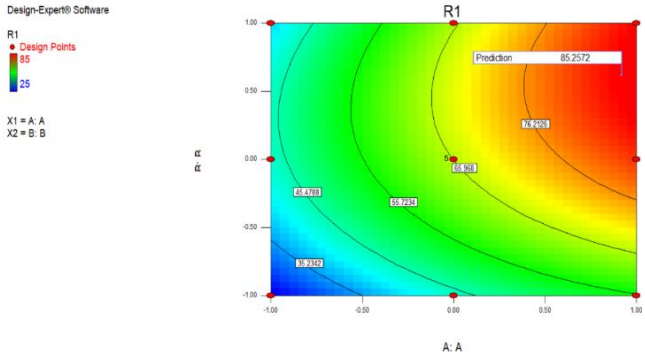
[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

است و این افزایش درصد حذف نیترات در نانوساختار rGO/Al به‌مراتب بیش‌تر از حذف در حضور rGO/Ca است.




شکل ۷. تصویر دو بعدی تأثیر برهم‌کنش پارامتر A (دما °C) و B (غلظتrGO/Ca) بر درصدحذف نیترات میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضورنانوساختار rGO/Ca




شکل۸. تصویر دو بعدی تأثیر برهم‌کنش پارامتر A (دما °C) و B (غلظتrGO/Al) بر درصدحذف نیترات میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضورنانوساختار rGO/Al

## مقایسه نیترات‌زدایی نانوساختارها و نیترات زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور rGO/Ca و rGO/Al

پس‌از بررسی‌میزان‌نیترات‌زدایی‌نانوساختارهای rGO/Ca وrGO/Al، هم‌چنین نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم درحضورنانوساختارها، نتایج حذف ودرصداختلاف در میزان نیترات حذف‌شده در جداول ۱۱ و ۱۲ ارائه شده است.

جدول ۱۲. مقایسه نیترات‌زدایی نانوساختار و نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختار rGO/Ca

| آزمایش | دما (°C) | غلظت نانوذرات (g/L) | نیترات زدایی نانوساختار (٪) | نیترات زدایی زیستی در حضور نانوساختار(٪) | اختلاف حذف (٪) |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۲۵ | ۰/۰۵ | ۲/۴ | ۱۷ | ۱۴/۶ |
| ۲ | ۲۵ | ۱ | ۱۲/۷ | ۳۹ | ۲۶/۳ |
| ۳ | ۳۵ | ۰/۰۵ | ۲۵/۴ | ۳۵ | ۹/۶ |
| ۴ | ۳۵ | ۱ | ۷۴/۰۹۸ | ۶۸/۳ | ۵ |
| ۵ | ۳۰ | ۰/۰۵ | ۱۳ | ۴۰/۲ | ۲۷/۲ |
| ۶ | ۳۰ | ۱ | ۵۴/۱ | ۸۰/۵ | ۲۶/۴ |
| ۷ | ۲۵ | ۰/۵ | ۸/۷ | ۳۷/۳ | ۲۸/۶ |
| ۸ | ۳۰ | ۱ | ۴۱ | ۶۰ | ۱۹ |
| ۹ | ۳۰ | ۰/۵ | ۳۰/۶ | ۶۵ | ۳۴/۴ |
| ۱۰ | ۳۰ | ۰/۵ | ۳۰/۱ | ۶۰ | ۲۹/۹ |
| ۱۱ | ۳۰ | ۰/۵ | ۳۰/۲ | ۶۰ | ۲۹/۸ |
| ۱۲ | ۳۰ | ۰/۵ | ۳۰ | ۶۰/۲ | ۳۰/۲ |
| ۱۳ | ۳۰ | ۰/۵ | ۳۰ | ۶۰ | ۳۰ |



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

جدول ۱۳. مقایسه نیترات‌زدایی نانوساختار و نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختار rGO/Al

| آزمایش | دما (°C) | غلظت نانوساختار(g/L) | نیترات‌زدایی نانوساختار (٪) | نیترات‌زدایی زیستی در حضور نانوساختار(٪) | اختلاف حذف (٪) |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۲۵ | ۰/۰۵ | ۲۲ | ۲۵ | ۳ |
| ۲ | ۳۵ | ۰/۰۵ | ۴۱ | ۵۵ | ۱۴ |
| ۳ | ۲۵ | ۱ | ۳۷ | ۳۹ | ۲ |
| ۴ | ۳۵ | ۱ | ۷۰ | ۸۵ | ۱۵ |
| ۵ | ۲۵ | ۰/۵ | ۴۳ | ۴۳ | ۰ |
| ۶ | ۳۵ | ۰/۵ | ۸۲ | ۸۲ | ۰ |
| ۷ | ۳۰ | ۰/۰۵ | ۴۳ | ۴۴ | ۱ |
| ۸ | ۳۰ | ۱ | ۶۱ | ۶۵ | ۴ |
| ۹ | ۳۰ | ۰/۵ | ۶۳ | ۶۶ | ۱ |
| ۱۰ | ۳۰ | ۰/۵ | ۶۳/۲ | ۶۶/۱ | ۲/۹ |
| ۱۱ | ۳۰ | ۰/۵ | ۶۳ | ۶۶/۲ | ۳/۲ |
| ۱۲ | ۳۰ | ۰/۵ | ۶۳/۱ | ۶۶ | ۲/۹ |
| ۱۳ | ۳۰ | ۰/۵ | ۶۲/۹ | ۶۶ | ۳/۱ |

در جدول ۱۱ حذف ٪۸۰/۵ نیترات طی ۴۸ ساعت در نمونه حاوی rGO/Ca و میکروارگانیسم مشاهده شد. طی ۴۸ ساعت ٪۷۴/۰۹۸ از مقدار اولیه نیترات در نمونه حاوی نانوساختارحذف شد. در جدول ۱۲ طی ۴۸ ساعت حذف ٪۸۵ نیترات‌در نمونه حاوی rGO/Al قابل مشاهده است. درنمونه‌های‌کنترل حاوی محیط کشت، حذف قابل‌ملاحظه از نیترات مشاهده نشد. نتایج آماری اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۱$) را نشان می‌دهد، طوری که بهترین شرایط مربوط‌به‌نمونه‌های‌حاوی‌نانوساختارو میکروارگانیسم است. در این پژوهش نیترات‌زدایی اتوتروفیک با یون $Al^{۳+}$ تولیدشده توسط‌نانوساختارها،قادربه‌کاهش نیترات است.

## بررسی فرآیند نیترات زدایی زیستی در بیوراکتور در حضور نانوساختارهای rGO/Al

جدول ۱۳ نتایج نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم درحضور نانوساختار rGO/Al در بیوراکتور و نمودار ۱ میزان حذف نیترات توسط میکروارگانیسم در حضور rGO/Al در بیوراکتوردر زمان‌های مختلف را نشان‌می‌دهد. طبق نتایج نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور rGO/Al در بیوراکتور کارایی بالاتری در حذف نیترات دارد. در بیوراکتور جهت ایجاد شرایط بی‌هوازی به‌منظور اکسایش نانوذرات و تولید الکترون، جریان گاز نیتروژن توسط کپسول نیتروژن ۴۸ ساعت ایجاد شد. طی انجام نیترات‌زدایی در فرمانتور به‌منظور ایجاد pH ۷، اسید و باز اتوکلاو شده وارد سامانه و pH سامانه کامل کنترل گردید. در شرایط ناپیوسته نیترات‌زدایی زیستی‌میکروارگانیسم در حضور نانوساختار در بهترین شرایط پس‌از ۴۸ ساعت برای rGO/Al برابر ٪۸۵ حاصل شد. در سامانه بیوراکتور نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختار، تسریع شد. طبق نتایج،پس از ۴۴ساعت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور rGO/Al٪۹۷ است و پس‌از ۴۸ ساعت نیترات‌زدایی‌زیستی‌افزایش‌یافت و به ٪۹۸ رسید.

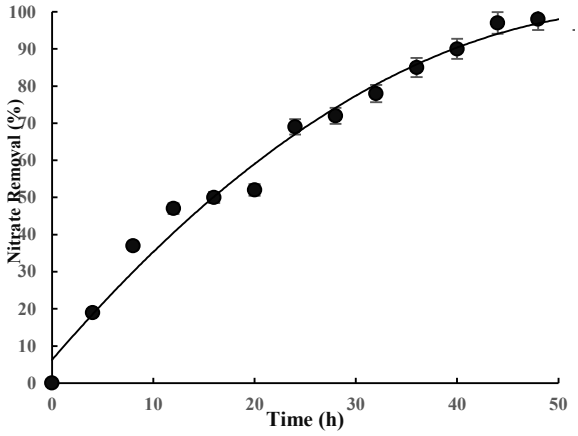
جدول ۱۴. نیترات زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختار rGO/Al در بیوراکتور

| آزمایش | زمان (ساعت) | نیترات زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختار rGO/Al (٪) |
|---|---|---|
| ۱ | ۰ | ۰ |
| ۲ | ۴ | ۱۹ |
| ۳ | ۸ | ۳۷ |
| ۴ | ۱۲ | ۴۷ |
| ۵ | ۱۶ | ۵۰ |
| ۶ | ۲۰ | ۵۲ |
| ۷ | ۲۴ | ۶۹ |
| ۸ | ۲۸ | ۷۲ |
| ۹ | ۳۲ | ۷۸ |
| ۱۰ | ۳۶ | ۸۵ |
| ۱۱ | ۴۰ | ۹۰ |
| ۱۲ | ۴۴ | ۹۷ |
| ۱۳ | ۴۸ | ۹۸ |
| ۱۴ | ۵۲ | ۹۸ |



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]




نمودار ۱. نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم

### *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضور rGO/Al در بیوراکتور

بررسی نتایج مشخص می‌کند نیترات زدایی زیستی میکرو ارگانیسم درحضور نانوساختار rGO/Al در بیوراکتور کارایی بالاتری در حذف نیترات دارد. در بیوراکتور جهت ایجاد شرایط بی‌هوازی به‌منظور اکسایش نانوذرات و تولید الکترون، جریان گاز نیتروژن توسط کپسول نیتروژن مدت ۴۸ ساعت ایجاد شد. طی انجام فرآیند نیترات‌زدایی در فرمانتور به‌منظور ایجاد pH ۷، اسید و باز اتوکلاو شده وارد سامانه و pH سامانه به‌طور کامل کنترل گردید. در شرایط ناپیوسته نیترات‌زدایی‌زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختار در بهترین شرایط پس از ۴۸ ساعت برای rGO/Al برابر ٪۸۵ حاصل شد. در سامانه بیوراکتور نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختار، تسریع شد. طبق نتایج، پس از ۴۴ ساعت میزان نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختار rGO/Al برابر ٪۹۷ است و پس از ۴۸ ساعت نیترات‌زدایی زیستی افزایش یافته و به ٪۹۸ رسید.

## بحث

در این پژوهش نیترات‌زدایی زیستی بهینه در حضور نانوساختارهای گرافنی پایه آلومینیوم وکلسیم در شرایط ناپیوسته و سامانه بیوراکتور مورد مطالعه قرار گرفت.

به‌دلیل بازده پایین حذف نیترات در فرآیندهای زیستی و پایین بودن فعالیت نیترات‌زدایی زیستی، استفاده از نانوذرات فلزی پیشنهاد شده که توانسته است بسیاری از محدودیت‌های نیترات زدایی زیستی را برطرف نموده و سبب افزایش نیترات‌زدایی زیستی شود (۴).

در پژوهش حاضر دو پارامتر دما (°C) و غلظت (g/L) نانوساختارهای rGO/Ca و rGO/Al از پارامترهای تأثیرگذار بر فعالیت نیترات‌زدایی هستند. برای بهینه کردن غلظت نانوساختارها سه سطح، مقدار کمینه (کد ۱-) ۰/۰۵ g/L، مقدار بیشینه (کد ۱+) ۱ g/L و حدوسط این دو (کد ۰) ۰/۵ g/Lدر نظر گرفته شد. برای این دو پارامتر، ۱۳ آزمایش طراحی شد و یک پاسخ $R_1$ (درصد حذف نیترات mg/L) مشخص شد. با روش سطح پاسخ مقدار بهینه پارامترها تعیین شد. طبق نتایج درحضور نانوساختارهای rGO/Ca و rGO/Al با افزایش پارامتر A (دماC°) به سمت بیشینه (۳۵°C) و افزایش پارامتر B به سمت بیشینه (۱ g/L) مقدار کاهش نیترات به ترتیب ۷۴/۰۹۸۵ و ٪۷۷/۶۹ حاصل شد. درنیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس‌دنیتریفیکانس* در حضور نانوساختارهای rGO/Ca و rGO/Al، با افزایش پارامتر A (دماC°) به سمت بیشینه (°۳۵C) و تغییر پارامتر B به سمت کد مرکزی (۰/۵ g/L) پاسخ $R_2$ (درصد حذف نیترات) افزایش یافت. طبق نتایج این نانوساختارها در غلظت معین نه تنها اثر سمی بر رشد و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم ندارد بلکه با تحریک رشد و تأمین منبع الکترون اضافه، سبب افزایش فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم به‌میزان٪۷۶/۶۹۵۷ درحضور نانوساختار rGO/Ca و به‌میزان ٪۸۵/۲۵۷ درحضور rGO/Al شد. با بررسی غلظت‌های مختلف نانوساختارها (۰/۰۵ g/L، ۰/۵و۱) و اندازه‌گیری میزان نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم مشخص شد غلظت مناسب نانوساختارهای rGO/Ca و rGO/Al برابر g/L ۰/۵است. در غلظت‌های بالاتر از ۰/۵ g/L نانوساختارها، اثرهای سمی حاصل از اکسیدهای فلزی نانوساختارها برسلول ایجاد می‌شود و رشد و فعالیت نیترات‌زدایی‌زیستی میکروارگانیسم را کاهش می‌دهد (۳۰).

در این پژوهش نیترات‌زدایی اتوتروفیک با استفاده از یون$Al^{3+}$ تولید شده توسط نانوساختارها، قادر به کاهش نیترات است. در این راستا Zhang و همکاران اثرات یون$Al^{3+}$ را برکارایی حذف آلاینده‌های آب بررسی نمودند.

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

طبق نتایج غلظت کم $Al^{3+}$ (mg/L>۱۰) می‌تواند فعالیت لجن، لخته شدن و آب‌گریزی را بهبود بخشد و در نهایت راندمان حذف آلاینده‌ها را افزایش دهد. با این حال، غلظت بالای $Al^{3+}$ (۴۰ mg/L) مانع لخته شدن میکروب ها شده و کارایی حذف آلاینده ها کاهش می‌یابد (۳۱).

Tyagiو همکاران بیان کردند نانوآلومینا به شکل نانو پودر می‌تواند برای حذف نیترات از آب مورد استفاده قرار گیرد. طی مطالعه‌های آن‌ها نانوآلومینا با غلظت mg/L ۱۰-۲۰، جذب بهتر نیترات را نشان داد. حداکثر حذف نیترات در ۴/۴pH رخ داد. ظرفیت جذب نیترات توسط نانوآلومینا در دمای ۲۵°C برابر ۴mg بود (۱۳).

در این پژوهش شرایط بهینه فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس‌دنیتریفیکانس* در حضور نانوساختارهای rGO/Ca وrGO/Al در بیوراکتور حاوی محیط BSM و mg/L ۳۰۰ نیترات و pH ۷ مورد بررسی قرار گرفت. بررسی نتایج مشخص می‌کند نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختار rGO/Al در بیوراکتور کارایی بالاتری در حذف نیترات دارد. در بیوراکتور جهت ایجاد شرایط بی‌هوازی به‌منظور اکسایش نانوساختارها و تولید الکترون، جریان گاز نیتروژن توسط کپسول نیتروژن مدت ۴۸ ساعت ایجاد شد. طی انجام فرآیند نیترات‌زدایی در فرمانتور به منظور ایجاد pH ۷، اسید و باز اتوکلاو شده وارد سامانه و pH سامانه به‌طور کامل کنترل گردید. در شرایط ناپیوسته نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوساختارها در بهترین شرایط پس از ۴۸ ساعت برای نانوساختار rGO/Al برابر ٪۸۵ حاصل شد. در سامانه بیوراکتور نیترات‌زدایی‌زیستی-میکروارگانیسم در حضور نانوساختارها، تسریع شد. طبق نتایج، پس از ۴۴ ساعت میزان نیترات‌زدایی زیستی در حضور نانوساختار rGO/Al برابر ٪۹۷ و پس از ۴۸ ساعت نیترات‌زدایی زیستی افزایش یافته و به ٪۹۸ رسید.

Rajab Beigy و همکاران نیز عملکرد نانوذرات $Fe^0$/St را جهت فعالیت نیترات‌زدایی زیستی *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* آزمودند، نتایج نشان داد نیترات‌زدایی زیستی این میکروارگانیسم در حضور $Fe^0$/St در بیوراکتور برابر با ٪۹۴/۷ است (۱۷).

در مطالعه Chen و همکاران یک بیوراکتور کارآمد برای نیتروژن زدایی فاضلاب با نسبت C/N کم طراحی شد. در این مطالعه با استفاده از سویه *Pseudomonas* یک بیوراکتور ایجاد شد. روش سطح پاسخ نشان داد در نیترات‌زدایی زیستی بیوراکتور، شرایط بهینه شامل pH ۷، زمان احتباس هیدرولیکی (HRT)۶ ساعت و غلظت اولیه نیترات mg/L ۲۵ است. در شرایط بهینه حذف نیترات به حداکثر ٪۹۹/۱۹ در بیوراکتور رسید (۳۲). در پژوهش اخیر اختلاف نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور rGO/Al در ارلن و بیوراکتور نشان داد، شرایط بهینه (غلظت اکسیژن حل شده (صفر)، دمای ۳۵°C و pH ۷)، به خوبی در بیوراکتور ایجاد شده و رشد میکروارگانیسم تسهیل یافته و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم تسریع گردید. برای ادامه تحقیقات مواردی مانند تشخیص واسطه‌ها در نیترات‌زدایی زیستی در حضور نانوساختارهای rGO/Al و rGO/Ca و سایر عوامل مؤثر مانند pH و زمان ماند هیدرولیکی لازم است بررسی شود. هم‌چنین اثرگذاری rGO/Al و rGO/Ca بر سایر میکروارگانیسم‌ها و عملکرد سایر نانوساختارها در فرآیند نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در آینده پیشنهاد می‌شود.

## نتیجه‌گیری

نیترات‌زدایی زیستی با احیا نیترات (توسط میکروارگانیسم های نیترات زدا)، روشی مناسب برای حذف زیستی نیترات از منابع آبی است. طی مسیر احیا، نیترات از طریق واکنش‌های احیا به گاز بی خطر نیتروژن تبدیل می‌شود. جهت کاربرد صنعتی نیترات‌زدایی زیستی، نیاز به افزایش میزان فعالیت میکروارگانیسم و هم‌چنین جداسازی آن‌ها است. در این پژوهش برای نخستین بار از نانوساختارهای rGO/Ca وrGO/Al جهت بررسی نقش آن‌ها در نیترات‌زدایی زیستی استفاده شد. پارامترهای عملیاتی مؤثر دما (°C) و غلظت نانوساختارها درنیترات‌زدایی و نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم درحضور نانوساختارها توسط روش RSM بهینه شد. طبق نتایج در حضور نانوساختار rGO/Al میزان ٪۹۸ نیترات‌زدایی زیستی حاصل‌شد و این نانوساختار در بیوراکتور کارایی بالاتری در حذف نیترات نشان داد. یافته‌ها نشان داد، با افزودن نانوذرات فلزی $Al^{3+}$ در ضدعفونی و حذف آلاینده‌ها، نیتریت‌زدایی زیستی تقویت شده و برای توسعه فرآیندهای حذف آلاینده مقرون به صرفه مفید خواهد بود.



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

## منابع


1. Qu X, Brame J, Li Q, Alvarez P.J.J. Nanotechnology for safe and sustainable water supply: enabling integrated water treatment and reuse, Acc Chem Res. 2013; 46: 834–843.

2. Mehrabinia P, Kermannezhad J. Investigation of Nitrate Absorption Methods from Contaminated Waters Using Biochar. J Water Sustain Dev. 2020; 7: 79–90.

3. Eslami H, Tajik R, Esmaeili M, Esmaeili A, Mobini M. Assessment of the quality of Rafsanjan drinking water resources using Water Quality Index (WQI) model in 2018: A descriptive study, JRUMS. 2020; 18: 985–996.

4. Liu Y, Li S, Chen Z, Megharaj M, Naidu R. Influence of zero-valent iron nanoparticles on nitrate removal by Paracoccus sp. Chemosphere. 2014;108: 426-432. doi. /10.1016/j.chemosphere.2014.02.045.

5. Takai K. The nitrogen cycle: A large, fast, and mystifying cycle. Microbes Environ. 2019;34: 223–225.

6. Milmile S.N, Pande J.V, Karmakar S, Bansiwal A, Chakrabarti T, Biniwale R.B. Equilibrium isotherm and kinetic modeling of the adsorption of nitrates by anion exchange Indion NSSR resin. Desalination. 2011; 276: 38–44.

7. Kim J.Y, Park H.-J, Lee C, Nelson K.L, Sedlak D.L, Yoon J. Inactivation of Escherichia coli by nanoparticulate zerovalent iron and ferrous ion. Appl Environ Microbiol. 2010; 76: 7668-7670.

8. Mohammadi M, Sedighi M, Alimohammadi V. Modeling and optimization of Nitrate and total Iron removal from wastewater by TiO2/SiO2 nanocomposites. Int J Nano Dimens. 2019;10: 195–208.

9. Sedighi M, Mohammadi M. Application of green novel NiO/ZSM-5 for removal of lead and mercury ions from aqueous solution: investigation of adsorption parameters. J Water Environ Nanotechnol. 2018; 3: 301–310.

10. Alimohammadi V, Sedighi M, Jabbari E. Response surface modeling and optimization of nitrate removal from aqueous solutions using magnetic multi-walled carbon nanotubes. J. Environ Chem Eng. 2016; 4: 4525–4535.

11. Hemmes K., Luimes P, Giesen A, Hammenga A, Aravind P.V, Spanjers H. Ammonium and phosphate recovery from wastewater to produce energy in a fuel cell. Water Pract Technol. 2011. https://doi.org/10.2166/wpt.2011.071.

12. Sedighi M, Aljlil S.A, Alsubei M.D, Ghasemi M, Mohammadi M. Performance optimisation of microbial fuel cell for wastewater treatment and sustainable clean energy generation using response surface methodology. Alexandria Eng J. 2018; 57: 4243–4253.

13. Tyagi S, Rawtani D, Khatri N, Tharmavaram M. Strategies for nitrate removal from aqueous environment using nanotechnology: a review. J Water Process Eng. 2018; 21: 84–95.

14. Pu S, Deng D, Wang K, Wang M, Zhang Y, Shangguan L, Chu W. Optimizing the removal of nitrate from aqueous solutions via reduced graphite oxide–supported nZVI: synthesis, characterization, kinetics, and reduction mechanism. Environ Sci Pollut Res. 2019; 26: 3932–3945.

15. Chen M, Zhou X, Chen X, Cai Q, Zeng R.J, Zhou S. Mechanisms of nitrous oxide emission during photoelectrotrophic denitrification by self-photosensitized Thiobacillus denitrificans. Water Res. 2020; 172: 115501.

16. Mook W.T, Aroua M.K, Chakrabarti M.H, Low C.T.J, Aravind P.V, Brandon N.P. The application of nano-crystalline $PbO_2$ as an anode for the simultaneous bio-electrochemical denitrification and organic matter removal in an up-flow undivided reactor. Electrochem Acta. 2013. doi/10.1016/j.electacta.2013.02.001.


[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]

17. Rajab Beigy M, Rasekh B, Yazdian F, Aminzadeh B, Shekarriz M. High nitrate removal by starch-stabilized Fe0 nanoparticles in aqueous solution in a controlled system. Eng Life Sci. 2018.doi /10.1002/elsc.201700127.

18. Jiang M, Feng L, Zheng X, Chen Y. Bio-denitrification performance enhanced by graphene-facilitated iron acquisition. Water Res. 2020. doi /10.1016/j.watres.2020.115916.

19. Mohammadi M, Sedighi M, Ghasemi M. Systematic investigation of simultaneous removal of phosphate/nitrate from water using Ag/rGO nanocomposite:Development, characterization, performance and mechanism. Res Chem Intermed.2021; 47:1377–1395.

20. APHA AWWA W. Standard methods for the examination of water and wastewater 20th edition, Am. Public Heal. Assoc. Am. Water Work Assoc. Water Environ. Fed. Washington. DC. 1998.

21. Krishna N.D.V.N.S.M, Philip L.,Thiobacillus denitrificans immobilized biotrickling filter for $NO_2$ removal, Clean Technol. Environ Policy.2005.doi/10.1007/s10098-005-0003x.

22. Hummers WS, Offeman RE. Preparation of Graphitic Oxide. J. Am. Chem Soc. 1958; 80(6): 1339.

23. Sun X, Liu Z, Welsher K, Robinson J.T, Goodwin A, Zaric S, Dai H. Nano-graphene oxide for cellular imaging and drug delivery. Nano Res. 2008; 1: 203–212.

24. Torre L.A, Bray F, Siegel R.L, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin. 2015; 65: 87–108.

25. Wang X, Wang C, Qu K, Song Y, Ren J, Miyoshi D, Sugimoto N, Qu X. Ultrasensitive and Selective Detection of a Prognostic Indicator in Early-Stage Cancer Using Graphene Oxide and Carbon Nanotubes. Adv Funct Mater. 20; 2010: 3967–3971.

26. Bharath G, Anwer S, Mangalaraja R.V, Alhseinat E, Banat F, Ponpandian N. Sunlight-Induced photochemical synthesis of Au nanodots on α-$Fe_2O_3$@ Reduced graphene oxide nanocomposite and their enhanced heterogeneous catalytic properties. Sci Rep. 2018; 8: 1–14.

27. Fan B, Guo H, Shi J, Shi C, Jia Y, Wang H, Chen D, Yang Y, Lu H, Xu H. Facile one-pot preparation of silver/reduced graphene oxide nanocomposite for cancer photo dynamic and photothermal therapy. J NanosciNanotech.2016;16:7049-7054.

28. Heydaryan K, Almasi Kashi M, Sharifi N. Reduced Graphene Oxide/Magnetite Nanocomposites: Synthesis and Characterization, Nanoscale. 2019; 6: 49–54.

29. Tanpure S, Ghanwat V, Shinde B, Tanpure K, Lawande S. The Eggshell Waste Transformed Green and Efficient Synthesis of K-Ca $(OH)_2$ Catalyst for Room Temperature Synthesis of Chalcones. Polycycl Aromat Compd. 2020: 1–19.

30. Kim J.Y, Park H.J, Lee C, Nelson K.L, Sedlak D.L, Yoon J. Inactivation of escherichia coli by nanoparticulate zerovalent iron and ferrous ion. Appl Environ Microbiol. 2010. doi. /10.1128/AEM.01009-10.

31. Zhang L, Zheng J, Tian S, Zhang H, Guan X, Zhu S, Zhang X, Bai Y, Xu P, Zhang J. Effects of $Al^{3+}$ on the microstructure and bioflocculation of anoxic sludge. J Environ Sci. 2020;91: 212–221.

32. Chen C, Ali A, Su J. An Efficient Bioaggregate Reactor for Enhanced Denitrification of Sewage with Low Carbon/Nitrogen Ratio. Chem Eng Technol. 2021; 44: 1631–1640.





[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-13 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.50.5.5 ]