New Cell Mol Biotech
j.13/51 , 2023

Research article

Scan online to view this article

Investigating the molecular mechanism of Bio denitrification by *thiobacillus denitrificans* in the presence of metal nanostructure in bioreactor

Elahe Hamdi[1], Behnam Rasekh[2*], Elahe Tajbakhsh[1], Fatemeh Yazdian[3], Maryam Ghobeh[4]

1.Department of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

2. Department of Microbiology, Research Institute of Petroleum Industry, Environment & Biotechnology Research Division, Tehran, Iran

3.Department of Life ScienceEngineering, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran

4.Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Aim and Background: Nitrate is one of the inorganic anions derived from the oxidation of elemental nitrogen. Nitrate contamination of groundwater and surface water has become a critical problem. Therefore, achieving the new technologies for nitrate removal is necessary. The aim of this study was to investigate the molecular mechanism of bio denitrification by *thiobacillus denitrificans* in the presence of quantum dot metal-carbon nanoparticles (CQD-Fe^0) in a bioreactor.

Materials and Methods: Fe^0 nanoparticles were synthesized by the liquid-phase reduction method, also called the borohydride reduction method and for biocompatibility, uniform distribution, and non agglomeration, Fe^0 was coated with carbon quantum-dot. Characterization of nanoparticles was determined by XRD, TEM, FESEM, and FTIR. The biological process of nitrate removal was investigated in the presence and absence of nanoparticles. The expression of *nirS*, *narH* and *recA* genes was also assessed using real-time PCR.

Results: The FTIR spectrum confirmed the formation of CQD-Fe^0 bonds. The average diameter of CQD-Fe^0 nanoparticles was in the range of 29.31 to 38.32 nm. Denitrification in the presence of CQD-Fe^0, with increasing temperature (35C°) was 73.43%. In discontinuous conditions, bio denitrification was obtained for CQD-Fe0 nanoparticles 79.8312%. In the bioreactor, biodenitrification, in the presence of CQD-Fe^0 nanoparticles, 95% was obtained. Examination of gene expression showed that the expression of all three genes *nirS, narH* and *recA* in cells treated with nanoparticles significantly increased compared to the control group, which indicates the high impact of these nanoparticles on the bio denitrification of this microorganism.

Conclusion: Therefore, with further experiments, it is hoped that removing nitrate with Nanoparticles Zero Iron (nZVI) from water resources would be possible.

Keywords: Bio denitrification**,** *Thiobacillus denitrificans***,** nanostructure, bioreactor, Iau Science.

Corresponding author:
Department of Microbiology, Research Institute of Petroleum Industry, Environment & Biotechnology Research Division, Tehran, Iran

Email:b.rasekh@gmail.com

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۳ - شماره۵۱ - تابستان ۱۴۰۲
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

بررسی مکانیسم مولکولی نیتراتزدایی زیستی توسط *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضور نانوساختار فلزی در بیوراکتور

الهه حمدی[۱]، بهنام راسخ[۲*]، الهه تاجبخش[۱]، فاطمه یزدیان[۳]، مریم قبه[۴]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. پژوهشکده محیط زیست و بیوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران
۳. گروه علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۴. گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: نیترات یکی از آنیون‌های معدنی است که در نتیجه اکسیداسیون نیتروژن عنصری حاصل می‌شود. آلودگی آب‌های زیرزمینی و سطحی به نیترات در بسیاری از مناطق دنیا به یک مشکل مهم تبدیل شده است. بنابراین دست‌یابی به تکنولوژی‌های جدید برای حذف نیترات ضروری می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی مکانیسم مولکولی نیتراتزدایی زیستی توسط *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضور نانوذره فلزی کربن کوانتوم دات ($CQD\text{-}Fe^0$) در بیوراکتور است.

مواد و روش‌ها: نانوذره Fe^0 به‌روش کاهش در فاز مایع که روش کاهش بوروهیدرید نیز نامیده می‌شود، سنتز شده است و به‌منظور زیست سازگاری، توزیع یکنواخت و عدم کلوخه شدن، Fe^0 با کربن کوانتوم‌دات پوشش‌دار شد. مشخصه‌یابی نانوذرات توسط XRD،TEM، FESEM و FTIR تعیین‌گردید. فرآیند زیستی حذف نیترات در حضور و عدم حضور نانوذره بررسی شد. بیان ژن‌های *nirS*، *narH* و *recA* با استفاده از real-time PCR نیز بررسی شد.

یافته‌ها: طیف FTIR، تشکیل پیوند CQD و Fe^0 را تأیید کرد. قطر متوسط نانوذرات $CQD\text{-}Fe^0$ درمحدوده ۳۸/۳۲-۲۹/۳۱ نانومتر مشاهده شد. نیتراتزدایی درحضور نانوذره $CQD\text{-}Fe^0$ با افزایش دما (۳۵ درجه سلسیوس) ۷۳/۴۳ ٪ بود. در شرایط ناپیوسته نیتراتزدایی زیستی برای نانوذرات $CQD\text{-}Fe^0$ برابر ۷۹/۸۳۱۲٪ حاصل شد. در بیوراکتور نیتراتزدایی زیستی در حضور نانوذره $CQD\text{-}Fe^0$ مقدار ۹۵٪ حاصل شد. بررسی بیان ژن نشان داد، بیان هر سه ژن *nirS*، *narH* و *recA* در سلول‌های تیمار شده با نانوذره نسبت به گروه کنترل افزایش قابل توجهی داشته، که نشان‌دهنده تأثیر بالای نانوذرات در نیتراتزدایی زیستی میکروارگانیسم می‌باشد.

نتیجه‌گیری: بنابراین با آزمایش‌های بیشتر می‌توان امیدوار به حذف زیستی نیترات در حضور نانوذرات آهن صفر ظرفیتی از منابع آب بود.

واژگان کلیدی: نیتراتزدایی زیستی، *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس*، نانو ساختار، بیوراکتور، Iau Science

مقدمه

یون نیترات از جمله مهم‌ترین آلاینده‌های منابع آب‌های زیرزمینی است و با توجه به حلالیت بالای آن، زدودن آن از آب آشامیدنی بسیار پرهزینه است. نیترات علاوه‌بر چرخه طبیعی ازت دراثر ورود فاضلاب انسانی، مواد زائد شهری و صنعتی و همچنین فعالیت‌های کشاورزی وارد منابع آب و

نویسنده مسئول:
پژوهشکده محیط زیست و بیوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت، تهران، ایران
پست الکترونیکی: b.rasekh@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۱

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

خاک شده و اثرات نامطلوبی بر سلامتی مصرف‌کنندگان برجا می‌گذارد (۱). طبق استاندارد اتحادیه اروپا[24] و سازمان بهداشت جهانی[25] چنان‌چه غلظت نیترات بیشتر از ۱۱/۳ میلی‌گرم/لیتر باشد برای سلامت انسان، به‌ویژه نوزادان خطرناک است (۲). در کشور ایران نیز حد استاندارد برای نیترات در آب شرب ۱۰ میلی‌گرم/لیتر است (۳). طی سال‌های گذشته، تغییرات قابل توجهی در چرخه نیتروژن جهانی به‌وجود آمده است. بنابراین، نیاز جدی به فناوری‌های مؤثر با کارایی بالا جهت پالایش منابع آب آلوده به نیترات احساس می‌شود. روش‌های متداول حذف نیترات از آب شامل روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی می‌باشد. دنیتریفیکاسیون زیستی فرآیندی است که در آن ترکیبات اکسید شده نیتروژن به‌عنوان پذیرنده الکترون برای تولید انرژی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴). این روش می‌تواند هم‌زمان چند آلاینده را حذف کند در حالی‌که روش‌های فیزیکی و شیمیایی تنها یک آلاینده خاص را حذف می‌کنند (۵). اخیراً با ورود فناوری‌های نوین مانند روش‌های ترکیبی استفاده از میکروارگانیسم‌ها و نانوساختارها، راهکارهای جدید جهت تصفیه فاضلاب‌های صنعتی و کشاورزی و آب شرب ایجاد شده و سبب بهبود کیفیت فرآیندهای حذف آلاینده نیترات از آب شده است. فرآیند جذب به‌وسیله نانوذرات فلزی یکی از فناوری‌های سازگار با محیط زیست است که جهت حذف آلاینده‌ها از آب استفاده می‌شود(۶). نیترات‌زدایی زیستی یا احیا نیترات (توسط میکروارگانیسم‌های نیترات‌زدا)، روشی مناسب برای حذف زیستی نیترات از منابع آبی می‌باشد. جهت کاربرد صنعتی نیترات‌زدایی زیستی، نیاز به افزایش میزان فعالیت میکروارگانیسم و جداسازی آن‌ها می‌باشد. نانوذرات مبتنی بر آهن مانند Fe/Ni, Fe/Cu و Fe/Pd از تراکم آلاینده‌هایی مثل نیترات در سفره‌های آب زیرزمینی جلوگیری می‌کنند (۷). در بین نانوذرات صفر ظرفیتی، نانوذرات فلزی آهن صفرظرفیتی (Fe^0) علاوه‌بر افزایش میزان فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم، جداسازی مغناطیسی بیوکاتالیست را سبب می‌شود (۸). Fe^0 یک عامل احیاکننده قوی است که از پتانسیل احیاکنندگی آن برای تصفیه و تجزیه آلاینده‌ها در آب و فاضلاب استفاده می‌شود و تهیه آن آسان و ارزان است (۹). بررسی واکنش‌های احیای Fe^0 در محلول‌های آبی نشان می‌دهد آهن فلزی، Fe^{2+} و هیدروژن، احیاکننده‌های اصلی در محیط هستند (۱۰). اگر نانوذرات Fe^0 به‌طور مستقیم درمحیط بیولوژیکی استفاده شوند، به‌دلیل خواص مغناطیسی و مساحت سطح بالا، تمایل به لخته شدن و اکسیداسیون در آن‌ها وجود دارد. برای جلوگیری از این مشکل، فرآیند پوشش‌دار کردن نانوذرات به‌وسیله عوامل حفاظتی ضروری است (۱۱). اگرچه بیشتر مطالعات روی توسعه پوشش‌های محافظ پلیمر یا سیلیکا بوده است، اخیراً، نانوذرات مغناطیسی پوشیده شده با کربن کوانتوم دات (CQD) به‌دلیل این که مواد بر پایه CQD مزایای بیشتری دارند، مورد توجه قرار گرفته است. خواص شگفت انگیز CQD مانند بی‌اثری شیمیایی، سمیت پائین، زیست‌سازگاری بسیار عالی نسبت به رنگ‌های آلی معمولی و نقاط کوانتومی نیمه هادی معدنی، پایداری فوق العاده در برابر فوتوبلیچینگ و حلالیت آلی بالا بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱۲). *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* (*Thiobacillus denitrificans*)، یک میکروارگانیسم میله‌ای، گرم منفی، متحرک است که اسپور تشکیل نمی‌دهد. این میکروارگانیسم کمولیتواتوتروف است که دنیتریفیکاسیون اتوتروف انجام می‌دهد و می‌تواند طیف‌وسیعی از ترکیبات کاهش یافته گوگرد را برای به‌دست آوردن انرژی اکسید کند. اکسیژن، نیتریت، نیترات، اکسید نیتریک و اکسید نیتروژن می‌توانند به‌عنوان گیرنده نهایی الکترون برای اکسیداسیون گوگرد به‌کار روند. از آن‌جایی که این میکروارگانیسم ترجیح به استفاده از اکسیژن به‌جای نیترات به‌عنوان یک گیرنده الکترون نهایی دارد، دنیتریفیکاسیون فقط تحت شرایط بی‌هوازی انتظار می‌رود. محدوده pH برای رشد این‌میکروارگانیسم ۸-۶ pH است (۱۳). از آن‌جایی که برای نیتراتزدایی نیاز به یک منبع کربن است، از نانوذرات مختلف و اندازه‌های متفاوت به‌منظور تأثیر آن‌ها بر روی رهایش منبع کربنی استفاده شده است. مفردنیا و همکاران کارآیی استفاده از نانوساختار St-Fe^0 برای حذف نیترات را مورد بررسی قرار دادند. اثر نانوذرات آهن/ نشاسته صفر ظرفیتی در حضور *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* برای حذف نیترات با استفاده از نرم افزار Material Studio شبیه‌سازی شد. هم‌زمان با حضور نانوذرات آهن/ نشاسته صفر

24. European Union

25. World Health Organization (WHO)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

ظرفیتی و *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس*، راندمان حذف نیترات به ۹۱٪ و در غیاب نانوذره به ۴۴/۴۴٪ رسید. (۱۴) درک مکانیسم‌های مولکولی کاهش دهنده نیترات در اکوسیستم-های طبیعی بسیار مهم است. توالی ژن‌های مرتبط با آنزیم-های درگیر در دنیتریفیکاسیون و DNRA (*napA*، *narH*،*narG*، *nirS* و *nrfA*) از این سیستم‌ها جدا شده و به‌طور قابل‌توجهی از توالی‌هایی که قبلاً ثبت شده‌اند متمایز هستند. ردوکتاز متصل به غشا اولین مرحله در کاهش نیترات را کاتالیز می‌کند. تجزیه و تحلیل دقیق ساختار ثانویه *narH* نشان داد این ژن (در مقایسه با *narG*، *napA*، *nirS* و *nirK*) به ژن ترجیحی برای مطالعات تنوع زیستی تبدیل شده است. علی‌رغم اهمیت اکولوژیکی، تحقیقات کمی در مورد چگونگی دنیتریفیکاسیون و ژن‌های مرتبط با آن انجام شده است. از این‌رو بیان ژن‌های درگیر در مسیر نیترات ردوکتاز در نیترات-زدایی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* مؤثر هستند. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی مکانیسم مولکولی نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضور نانوذره آهن صفر ظرفیتی پوشیده شده با کربن کوانتوم دات ($CQD\text{-}Fe^0$) در بیوراکتور انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* ATCC 23644 استفاده شد. میکروارگانیسم مورد استفاده در پژوهش از مجموعه میکروبی DSMZ آلمان تهیه شد. برای کشت سویه باکتریایی *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* از محیط کشت معدنی پایه استفاده شد. پژوهش حاضر در پژوهشکده محیط زیست، پژوهشگاه صنعت نفت تهران انجام شده است.

آزمون سنجش نیترات

جهت سنجش میزان نیترات از روش کروماتروپیک اسید استفاده شد (دامنه برای نیترات برحسب ازت میلی‌گرم/لیتر ۲-۰/۳۰). در این روش در اثر واکنش معرف نیترات A و معرف نیترات B با نیترات محلول زرد رنگ ایجاد می‌شود. از طریق اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۱۰ نانومتر میزان جذب محلول حاصل اندازه‌گیری می‌شود. برای تهیه منحنی استاندارد نیترات، محلول نیترات با غلظت‌های مختلف با استفاده از نیترات پتاسیم تهیه شد. به هر یک از لوله‌های آزمایش حاوی معرف نیترات A، ۱ میلی‌لیتر محلول نیترات اضافه شد و لوله ۱۰ بار تکان داده شدند، سپس با قیف معرف نیترات B به هر یک از لوله‌ها اضافه شد و لوله‌ها دوباره ۱۰ بار تکان داده شدند. پس از ظهور کامل رنگ زرد، جذب هر یک از لوله‌ها در طول‌موج ۴۱۰ نانومتر خوانده شد و منحنی استاندارد نیترات به‌دست آمد (۱۵).

اندازه‌گیری رشد سلولی و میزان نیترات‌زدایی میکروارگانیسم

به‌منظور اندازه‌گیری رشد سلولی ۴ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری به ویال‌های ۴۰ میلی‌لیتر حاوی ۳۶ میلی‌لیتر محیط معدنی پایه[1] منتقل شد. پتاسیم نیترات به‌عنوان منبع نیترات با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر به محیط BSM اضافه شد. محیط کشت در انکوباتور (۳۰ درجه سلسیوس) مدت ۴۸-۲۴ ساعت همراه ویال شاهد بدون سلول باکتری گرماگذاری شدند. نمونه‌گیری با فاصله زمانی ۶ ساعت انجام شد. میزان رشد میکروارگانیسم میزان رشد میکروارگانیسم با خواندن جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. همچنین، به‌منظور مطالعه و بررسی میزان فرآیند نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم جذب نوری نیترات محلول در طول موج ۴۱۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و غلظت نیترات محلول در نهایت از روی نمودار استاندارد و با داشتن میزان جذب، غلظت مجهول به‌دست خواهد آورده شد (۱۶).

تهیه نانوذرات فلزی Fe^0 و بهبود سطح نانوذرات با کربن کوانتوم دات ($CQD\text{-}Fe^0$)

روش‌های متعددی برای ساخت نانوذرات Fe^0 وجود دارد. در این میان، روش کاهش در فاز مایع (روش کاهش بوروهیدرید) مورد توجه می‌باشد، که شامل افزودن کاهنده قوی به محلول حاوی یون‌های آهن و کاهش آن‌ها به نانوذرات فلزی می باشد (۱۷). کربن کوانتوم دات با استفاده از روش هیدروترمال سنتز شد (۱۸). به‌طور خلاصه، ۲ گرم دی‌آمونیوم سیترات هیدروژن در ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر دمای ۲۵ درجه سلسیوس حل شد. این مخلوط در یک بمب هیدروترمال مدت ۱۸ ساعت دردمای ۱۵۰ درجه سلسیوس به‌منظور تولید ۲۶/۶ میلی‌گرم/میلی‌لیتر

[1] Basal Salt Medium

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

محلول CQD حرارت داده شد، متعاقباً، ۵۱/۶ میلی‌گرم نانوذره Fe^0 به محلول افزوده شد و جهت همگن شدن، ده دقیقه هم‌زده شد. پس از ۳۰ دقیقه به محلول، ۵/۴ گرم پتاسیم بوروهیدرید در ۲۰ میلی‌لیتر آب و ۳۰ میلی‌لیتر اتانول از طریق قیف جدا کننده با نرخ ۲-۱ قطره در ثانیه به محتویات بالن اضافه شد. با اضافه شدن قطرات این محلول ذرات سیاه رنگ Fe^0 شروع به تشکیل کرد. مخلوط سیاه رنگ مدت یک ساعت در دمای محیط هم‌زده شد. سپس مخلوط صاف و دو بار با آب مقطر، یک بار با اتانول و جهت خشک شدن سریع با استون شستشو داده شد و به مدت یک شبانه روز در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید (۱۹).

مشخصه‌یابی نانوذرات Fe^0 پایدار شده با نشاسته (St-Fe^0) و کربن کوانتوم دات (CQD-Fe^0)

بعد از سنتز نانوذرات، با استفاده از روش‌های تحلیلی مختلف، مشخصه‌یابی انجام شد. آزمون XRD برای نانوذره (CQD-Fe^0) با استفاده از دستگاه پراش پرتو ایکس مدل PW 1730، تحت تابش Cu-Kα (λ°=A۵۴۰۵۶/۱)، در ولتاژ ۴۰ کیلوولت و جریان ۳۰ میلی‌آمپر انجام گرفت. محدوده اسکن 2θ از ۸۰-۱۰درجه قرار داده شد. تحلیل و بررسی نتایج حاصل از این آزمون توسط نرم‌افزار XPERT high score plus نسخه ۳,۰,۵ انجام شد. تأیید پیوند و برهم‌کنش بین کربن کوانتوم دات و نانوذه فلزی با استفاده از دستگاه FT-IR Spectrophotometer (مدلBRUKRE کشور آلمان) درمحدوده Cm^{-1} ۴۰۰۰-۴۰۰ انجام شد. جهت مطالعه ساختار سطحی و ریخت‌شناسی و اندازه نانوذرات از تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) استفاده شد. همچنین آنالیز FESEM نیز برای نانوذرات CQD-Fe0 انجام شد.

پوشش سطح میکروارگانیسم با نانوذرات فلزی

جهت پوشش سطح میکروارگانیسم با نانوذرات St-Fe^0 و CQD-Fe^0، ۴ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری در ویال‌های ۴۰ میلی‌لیتر به ۳۶ میلی‌لیتر محیط کشت BSM اضافه شد، نانوذرات جداگانه با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۵ و۱ گرم/لیتر به محیط اضافه شدند.

بررسی فرآیند نیترات‌زدایی گروه‌های آزمایشی مختلف

گروه اول: میکروارگانیسم در محیط BSM با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم/میلی لیتر نیترات مدت ۴۸ ساعت در دماهای ۲۵ و ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس گرماگذاری شد. به‌منظور ارزیابی اثر دما در نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم ، نمونه‌گیری پس از ۴۸ ساعت انجام و نتایج با استفاده از کیت نیترات بررسی شد.

گروه دوم: نانوذرات فلزی CQD-Fe^0 در محیط BSM با غلظت نیترات ۳۰۰ میلی‌گرم/میلی لیتر در سه غلظت ۰/۰۵، ۰/۵ و ۱ گرم/لیتر نانوذرات در دماهای ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور گرماگذاری شدند. به‌منظور بررسی اثر غلظت نانوذرات و دما بر میزان نیترات-زدایی نانوذرات فلزی، نمونه‌گیری پس از ۴۸ ساعت انجام و نتایج با استفاده از کیت نیترات بررسی شد.

گروه سوم: میکروارگانیسم‌های پوشش یافته با نانوذره CQD-Fe^0 در محیط BSM با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر نیترات مدت ۴۸ ساعت در سه غلظت ۰/۰۵، ۰/۵ و ۱ گرم/لیتر نانوذرات دردماهای۲۵ و ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. به‌منظور بررسی اثر دما و غلظت نانوذرات بر میزان نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم پوشش یافته با نانوذره CQD-Fe^0 نمونه‌گیری پس از ۴۸ ساعت انجام و نتایج با استفاده از کیت نیترات بررسی شد.

بررسی فرآیند نیترات‌زدایی زیستی در بیوراکتور در حضور نانوذره CQD-Fe^0

پس از بررسی رشد و فعالیت نیترات‌زدایی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در ویال ۴۰ میلی‌لیتر با ۳۶ میلی-لیتر محیط کشت BSM در حضور و عدم حضور نانوذره CQD-Fe^0، میکروارگانیسم در بیوراکتور با حجم ۵ لیتر حاوی ۲ لیتر محیط کشت BSM (سترون شده در اتوکلاو ۱۲۱ درجه سلسیوس مدت 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 میلی‌لیتر سوسپانسیون نانوذره CQD-Fe^0 (۰/۷۵ گرم لیتر)، به محیط کشت سترون افزوده شدند. بیوراکتور در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و pH ۷ تنظیم گردید. به‌منظور بررسی رشد و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم، نمونه‌گیری هر ۴ ساعت تا ۵۲ ساعت انجام شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

بررسی بیان ژن با استفاده از تکنیک Real time-PCR

روش بررسی بیان ژن

جهت واکنش بیان ژن، RNA از سلول‌ها (میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس*)، با استفاده از روش RNX-PLUS و طبق پروتکل شرکت سازنده RNJia استخراج شد. غلظت RNA به‌دست آمده با استفاده از دستگاه Nano drop با روش تعیین دانسیته نوری اندازه‌گیری شد. RNA در طول-موج‌های ۲۸۰ و ۲۶۰ نانومتر ارزیابی شد. جهت سنتز cDNA از پروتکل سازنده از یک کیت bioFact (bio Fact, Korea) استفاده شد. واکنش qPCR به روش سایبرگرین با استفاده از دستگاه Corbett انجام گرفت. مواد مورد نیاز انجام واکنش qPCR شامل: نمونه‌های cDNA، DNA ase و RNA ase free Water، Taq DNA Polymerase Master Mix، RED(Amplicon)، Primer Forward، Reverse Primer و cDNA الگو استفاده شد. طراحی پرایمر به کمک Primer3 انجام شد. خصوصیات ترمودینامیکی و شکل سه‌بعدی پرایمرها با نرم‌افزار Gene runner بررسی شد. پرایمرهای طراحی شده برای ژن‌های مورد نظر مطابق جدول ۱ است:

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای بررسی ژن‌های *nirS*، *narH* و *recA* در *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس*

عملکرد	توالی (´3 → ´5)	ژن
مؤثر در مسیر نیتریت ردوکتاز	F: CAC CCG GAG TTC ATC GTC R: ACC TTG TTG GAC TGG TGG G	***nirS***
مؤثر در مسیر نیترات ردوکتاز	F: GCC AAA ATT CGT TCA CAA GTC GG R: CCT GGA TGC GGC TCC GTT TTG CT	***narH***
کنترل داخلی	F: GCG TGC CTT GAA GTT TTA TTC TTC R:TGT TCC CCG GTT CCTT AAA TT	***recA***

انجام واکنش Real-Time PCR برای ژن‌های *nirS*، *narH* و *recA*

برنامه دمایی و زمانی PCR برای ژن *narH* شامل: واسرشت-سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، مرحله باز شدن دو رشته در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگرها در دمای اتصال ۵۲ درجه سلسیوس به مدت ۱دقیقه، پلیمریزاسیون در دمای ۷۲ درجه سلسیوس مدت ۹۰ ثانیه و طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه، برنامه دمایی و زمانی PCR برای ژن *nirS* شامل: واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه، مرحله باز شدن دو رشته در دمای۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای اتصال۶۱ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، پلیمریزاسیون در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه. برنامه دمایی و زمانی PCR برای ژن *recA* شامل: واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ ثانیه، مرحله باز شدن دو رشته در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای اتصال ۵۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ ثانیه، پلیمریزاسیون در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ ثانیه و طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۱ ثانیه. جهت تست cDNA، از پرایمر کنترلی تعبیه شده در کیت استفاده شد (۲۰).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

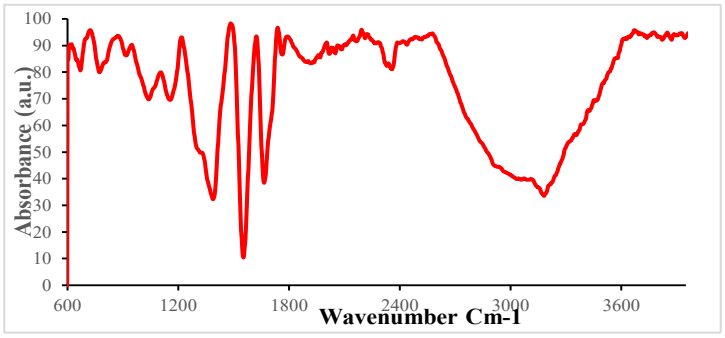
[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

یافته‌ها

مشخصه یابی نانوذرات $St\text{-}Fe^0$ و $CQD\text{-}Fe^0$

طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

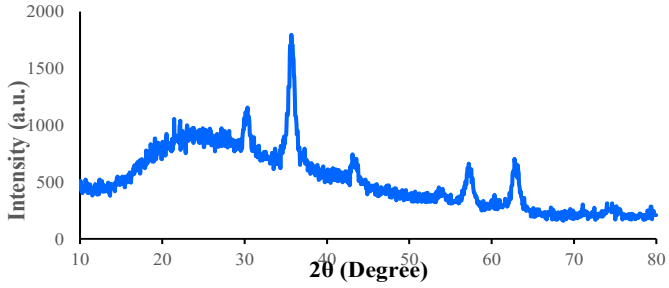
در طیف FTIR نانوذرات $CQD\text{-}Fe^0$، چندین پیک مشاهده شد که طیف‌های مربوط به گروه های عاملی CQD موجود برسطح نانوذرات می‌باشند. براساس شکل ۱، پیک درمحدوده $3182\ Cm^{-1}$ به ارتعاشات کششی گروه O-H اشاره دارد. پیک در ناحیه $2050Cm^{-1}$ می‌تواند مربوط به پیوند کششی N=Cباشد، همچنین نوار جذبی درمحدوده $1665Cm^{-1}$ به حالت ارتعاشات کششی گروه‌های C=C و C=O کربن کوانتوم دات و Fe نسبت داده می‌شود. پیک در ناحیه Cm^{-1} ۱۵۵۶ به ارتعاش کششی گروهNH اشاره دارد. پیک در ناحیه $1394Cm^{-1}$به پیوند C=C و در محدوده $1155Cm^{-1}$به ارتعاش کششی پیوند C-O-C اشاره دارد. پیک موجود درمحدوده $772Cm^{-1}$ مربوط به گروه‌های C-H و N-H موجود در آلکن و آمین می‌باشد. نوار جذبی موجود در Cm^{-1} ۶۷۱ به گروه C–H = اشاره دارد. پیک جذبی Fe–O در ناحیه Cm^{-1} ۶۰۱ ظاهر شده است. طیف FTIR حاصله، تشکیل پیوند CQD وFe^0 را تأیید کرد.



شکل ۱- طیف FTIR نانوذرات $CQD\text{-}Fe^0$

الگوی پراش پرتو ایکس[1]

پیک‌های شاخص این ترکیب در نواحی °۲۳= ۲θ، °۳۰= ۲θ، °۳۵= ۲θ، °۴۴= ۲θ، °۵۷= ۲θ و °۶۳= ۲θ مشاهده می‌شود که پیک پهن در نواحی °۲۳-۲۲= ۲θ نشان‌دهنده CQD است. پیک در نواحی °۴۴= ۲θ، °۵۷= ۲θ و °۶۳= ۲θ مشخصه وجود Fe^0 در نانوذرات می‌باشد. اما قله‌هایی در نواحی °۳۵-۳۰= ۲θو °۵۷= ۲θ دیده می‌شود که دلالت بر وجود اکسیدها و هیدروکسیدهای آهن در محصول نهایی است.



شکل ۲- الگوی پراش پرتو ایکس نانوذرات $CQD\text{-}Fe^0$

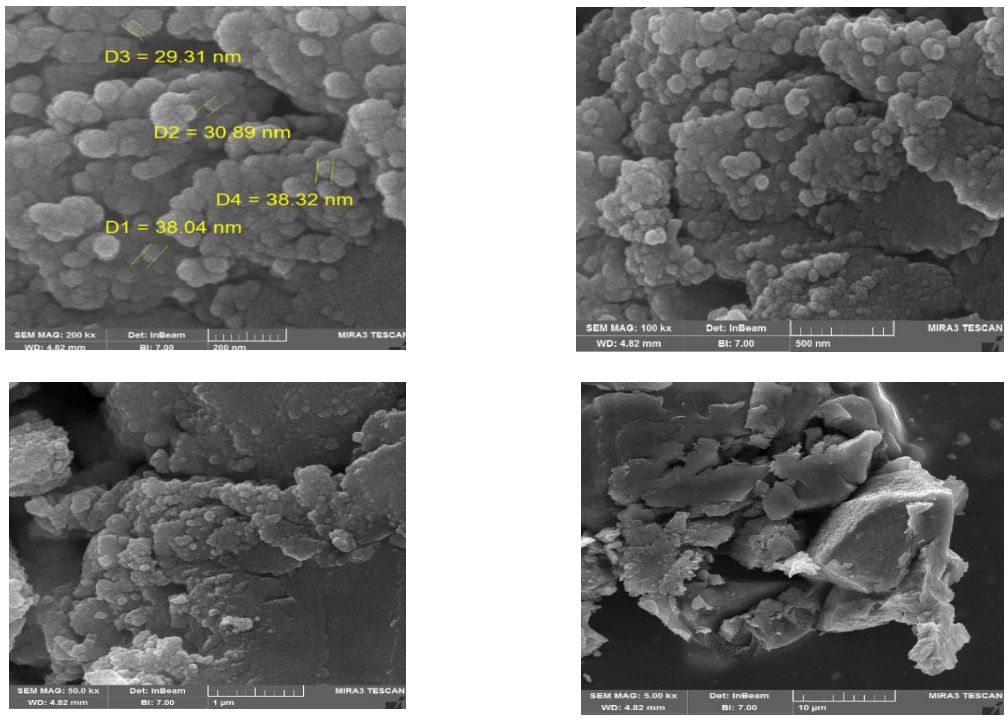
[1] X- Ray Diffraction (XRD)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

آنالیز FESEM

دستگاه FESEM مجهز به آشکارساز EDS، علاوه‌بر تصویربرداری از سطح نمونه، داده‌های مربوط به عناصر تشکیل دهنده نمونه نیز قابل استخراج می‌باشد. طبق تصاویر FESEMشکل۳، نانوذرات فلزی$CQD-Fe^0$ دارای اشکال کروی و ساختار یکنواخت بوده، سطح نانوسامانه همگن به‌نظر می‌رسد که نشان‌دهنده سازگاری خوب بینFe^0 وCQD می‌باشد. قطرمتوسط نانوذرات فلزی $CQD-Fe^0$ درمحدوده ۲۹/۳۱-۳۸/۳۲ نانومتر مشاهده شد.



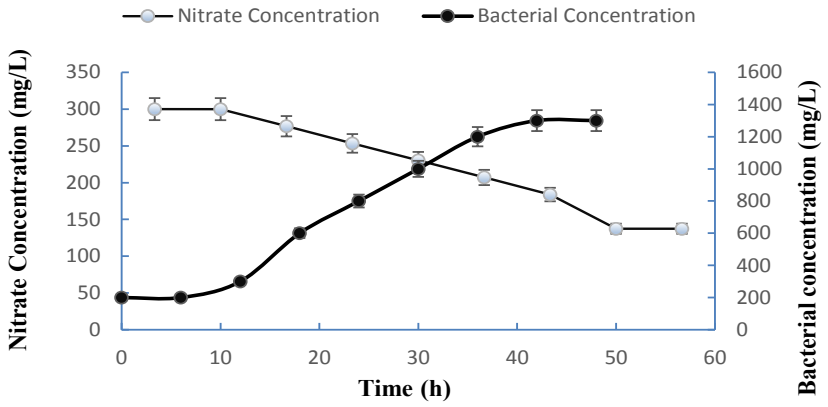
شکل۳- تصاویر FESEM نانوذرات فلزی $CQD-Fe^0$ به روش کاهش در فاز مایع

میزان رشد و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم

میزان رشد و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم از طریق میزان حذف نیترات و اندازه‌گیری میزان جذب نوری در طول موج ۴۱۰ نانومتر با استفاده از کیت نیترات مشخص شد. منحنی استاندارد نیترات با استفاده از رقت‌هایی از نیترات با محدوده غلظت ۳۰۰-۰ میلی‌گرم/لیتر تهیه و بر حسب میزان جذب هر یک از غلظت‌ها منحنی استاندارد رسم شد. میزان فعالیت نیترات‌زدایی میکروارگانیسم و میزان حذف نیترات، متناسب با رشد باکتری می‌باشد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]



نمودار۱- منحنی رشد میکروارگانیسم به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری غلظت میکروارگانیسم و حذف نیترات توسط میکروارگانیسم

بررسی فرآیند نیترات‌زدایی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس*

نتایج حاصل از جدول ۲ نشان می‌دهد با افزایش دما، رشد و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم افزایش می‌یابد.

جدول۲- بررسی فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در دماهای مختلف

آزمایش	دما (سلسیوس)	مقدار اولیه نیترات (میلی- گرم/لیتر)	حذف نیترات (٪)
۱	۳۵	۳۰۰	۴۰,۴۵
۲	۳۰	۳۰۰	۳۷,۱
۳	۲۵	۳۰۰	۱۶,۳۶

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

بررسی فرآیند نیتراتزدایی نانوذرات فلزی

حذف غیرزیستی توسط نانوذرات $CQD\text{-}Fe^0$ برابر ۷۳/۴۳٪ نیترات در ۳۵ درجه سلسیوس و ۳/۵٪ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در طی ۴۸ ساعت مشاهده شد. نتایج به‌خوبی نشان می‌دهد احیا غیرزیستی به‌شدت تحت تأثیر درجه حرارت بوده و در دماهای بالاتر با سرعت بالاتر انجام می‌شود. در واقع، با افزایش غلظت نانوذرات میزان حذف نیترات افزایش می‌یابد. با افزایش غلظت نانوذرات فلزی امکان برخورد بیش‌تر بین نیترات و نانوذرات و واکنش‌های احیا ایجاد می‌شوند (۲۱).

بررسی فرآیند نیتراتزدایی زیستی میکروارگانیسم پوشش یافته با نانوذرات

طبق نتایج، میکروارگانیسم در حضور نانوذرات $CQD\text{-}Fe^0$مقدار ۷۹/۸۳۱۲٪ نیتراتزدایی زیستی دارد. احیا زیستی نیترات در حضور نانوذرات تحت تأثیر دما می‌باشد. افزایش دما سبب افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و افزایش فعالیت نیتراتزدایی زیستی میکروارگانیسم می‌شود.

بررسی فرآیند نیتراتزدایی زیستی در بیوراکتور در حضور نانوذره $CQD\text{-}Fe^0$

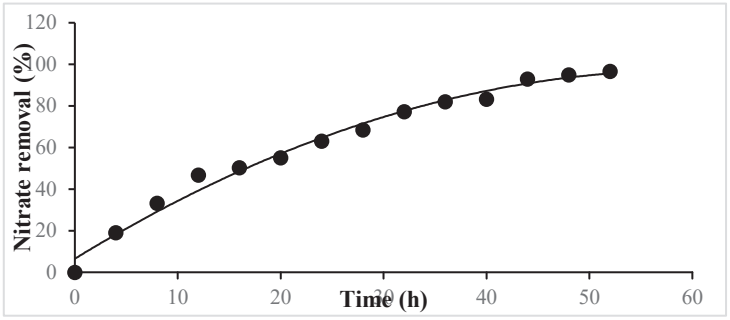
جدول ۳ نتایج حاصل از نیتراتزدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوذره $CQD\text{-}Fe^0$را نشان می‌دهد. همچنین در نمودار ۲ میزان حذف نیترات توسط میکروارگانیسم درحضور نانوذره $CQD\text{-}Fe^0$ در زمان‌های مختلف نشان داده شده است.

جدول۳ –نیتراتزدایی زیستی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضور نانوذرات $St\text{-}Fe^0$ و$CQD\text{-}Fe^0$ در بیوراکتور

آزمایش	زمان (ساعت)	نیتراتزدایی زیستی ریزسازواره در حضور نانوذرات $CQD\text{-}Fe^0$ (٪)
۱	۰	۰
۲	۴	۱۹
۳	۸	۳۳/۲
۴	۱۲	۴۶/۷
۵	۱۶	۵۰/۳
۶	۲۰	۵۵
۷	۲۴	۶۳
۸	۲۸	۶۸/۴
۹	۳۲	۷۷/۳
۱۰	۳۶	۸۲
۱۱	۴۰	۸۳/۲
۱۲	۴۴	۹۳
۱۳	۴۸	۹۵
۱۴	۵۲	۹۶/۷

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

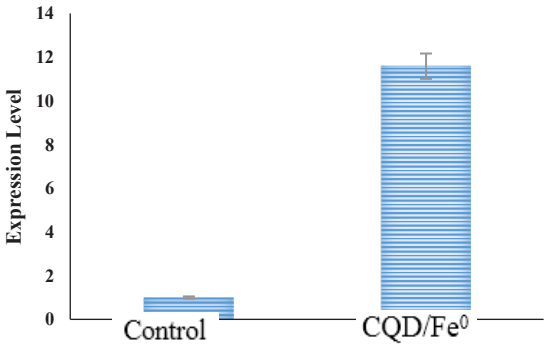


نمودار۲- میزان نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضور نانوذرات $CQD\text{-}Fe^0$ در بیوراکتور

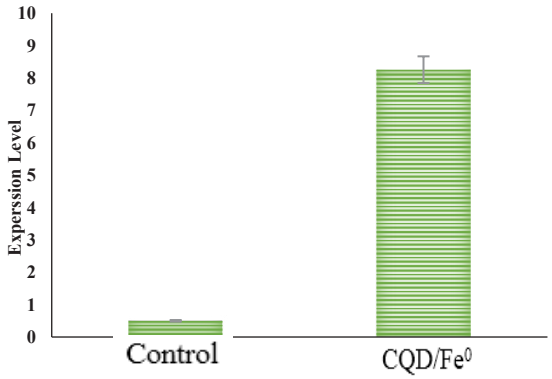
بررسی نتایج مشخص می‌کند نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوذرات فلزی در بیوراکتور در مقایسه با سامانه ناپیوسته (ویال) کارایی بالاتری در حذف نیترات دارد. در بیوراکتور جهت ایجاد شرایط بی‌هوازی به‌منظور اکسایش نانوذرات و تولید الکترون، جریان گاز نیتروژن توسط کپسول نیتروژن به مدت ۴۸ ساعت ایجاد شد. طی انجام فرآیند نیترات‌زدایی در فرمانتور به‌منظور ایجاد pH ۷، اسید و باز اتوکلاو شده وارد سامانه و pH سامانه به‌طور کامل کنترل شد. در شرایط ناپیوسته نیترات‌زدایی‌زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوذره در بهترین شرایط پس از ۴۸ ساعت برابر با ۷۹/۸۳۱۲٪ حاصل شد. در سامانه بیوراکتور نیترات زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوذره فلزی، تسریع شد. پس از ۴۸ ساعت نیترات‌زدایی زیستی ۹۵٪ حاصل شد و پس از گذشت ۵۲ ساعت نیترات‌زدایی زیستی افزایش یافته و ۹۶/۷٪ می‌باشد.

آنالیز و ارزیابی کمی ژن‌ها با استفاده از تکنیک Real time-PCR

مطابق شکل ۴، آنالیزداده‌ها نشان داد، بیان هر سه ژن *nirS*، *narH* و *recA* درسلول‌های تیمارشده با نانوذره $CQD\text{-}Fe^0$ نسبت به گروه کنترل افزایش قابل توجهی داشته است، که نشان‌دهنده تأثیر بالای این نانوذرات در نیترات‌زدایی زیستی سلول‌های میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* تیمارشده با این نانوذره می‌باشد.



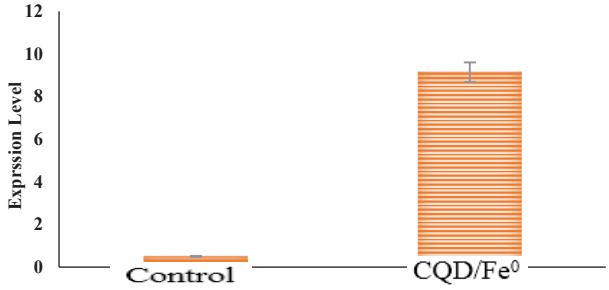
(الف)



(ب)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]



(ج)

شکل ۴- نمودار بیان ژن الف) *narH* ، ب) *nirS* و ج) *recA* با روش q-PCR

بحث

یکی از مشکلات فرآیندهای زیستی بازده پایین حذف نیترات بوده و میزان فعالیت نیتراتزدایی زیستی، برای فرآیندهای صنعتی و تجاری پایین می‌باشد (۲۲). سرعت پایین واکنش، فعالیت کم آنزیم‌ها، پایداری کم بیوکاتالیست و مشکلات جداسازی بیوکاتالیست از جمله عوامل مؤثر در کاهش نیتراتزدایی زیستی می‌باشند. Krishna و همکاران در سال ۲۰۰۵ فعالیت نیتراتزدایی زیستی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* را بررسی نمودند، نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد، در ۴۸ ساعت و ۳۴ درجه سلسیوس میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* بیشترین میزان رشد و حذف نیترات را دارد (۱۶) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد میزان فعالیت نیتراتزدایی میکروارگانیسم و میزان حذف نیترات، متناسب با رشد باکتری می‌باشد. زیرا میزان حذف نیترات در مرحله تأخیر میکروارگانیسم به میزان کم می‌باشد و در مرحله لگاریتمی رشد، میزان حذف نیترات افزایش می‌یابد و بیشترین میزان حذف در ۴۸ ساعت می‌باشد. تغییرات رنگ محلول نیترات و ایجاد رنگ زرد نتیجه برهم‌کنش بین نیترات و کروموتروپیک اسید می‌باشد. در مطالعه Chen و همکاران با استفاده از نانوذرات Fe^0 برسطح میکروارگانیسم *پاراکوکوس دنیتریفیکانس*، میزان ۷۶/۱۶٪ نیتراتزدایی‌زیستی‌گزارش شد (۱۷). Montalvo و همکاران در بیوراکتور دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، با استفاده از جمعیت میکروارگانیسم‌های اتوتروف و هتروتروف تثبیت شده بر بستر زئولیت ۹۵٪ نیتراتزدایی مشاهده گردید (۲۳). Rajab Beigyو همکاران نیز عملکرد نانوذرات $St\text{-}Fe^0$ را جهت فعالیت نیتراتزدایی زیستی *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* بررسی کردند، طبق نتایج نیتراتزدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوذرات $St\text{-}Fe^0$ در بیوراکتور ۹۴/۷٪ به‌دست آمد (۲۴). در مطالعه Blažková فرآیند دنیتریفیکاسیون اتوتروفیک مبتنی بر گوگرد با استفاده از *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* به عنوان یک روش جایگزین حذف نیترات از فاضلاب صنعتی مطالعه گردید. هدف از مطالعه آن‌ها بررسی تاثیر افزودن Fe^{3+} به مخلوط واکنش و تعیین دوز بهینه برای شرایط خاص بود. نتایج نشان داد افزودن Fe^{3+} افزایش قابل توجهی در حذف نیترات برابر با ۰/۱ میلی‌گرم/لیتر ایجاد می‌کند (۲۵). با توجه به مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر استفاده از نانوذرات فلزی صفر ظرفیتی به‌ویژه Fe^0 توانسته است بسیاری از محدودیت‌های نیترات-زدایی زیستی را برطرف نموده و سبب افزایش نیتراتزدایی زیستی شود (۲۲). با کاهش غلظت نیترات انتقال یون نیترات بر سطح نانوذرات با بازده بالاتری صورت می‌گیرد. طبق نتایج مطالعه اخیر، کارایی حذف نیترات توسط نانوذرات با افزایش غلظت نیترات کاهش می‌یابد که این نتایج با پژوهش Sun و همکاران (۲۶) و Anotai و همکاران (۲۷) مطابقت دارد. با افزایش غلظت نیترات سرعت اکسید شدن نانوذرات فلزی در محیط آبی شتاب کم‌تری داشته، در نتیجه نیترات کم‌تری حذف می‌گردد (۲۸). همچنین با افزایش غلظت نیترات اولیه، میزان یون فروس به سرعت کاهش پیدا کرده و به پایین‌ترین سطح می‌رسد که این امر سبب کاهش کارایی حذف نیترات می‌گردد (۲۷). در پژوهشی مشابه، اثر غلظت‌های مختلف نیترات (۶۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ پی پی ام) بر رشد و فعالیت نیتراتزدایی‌زیستی ریزسازواره *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* ارزیابی شد. طبق نتایج با افزایش غلظت نیترات

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

به‌عنوان سوبسترای محدودکننده، سرعت رشد و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم افزایش می‌یابد که با نتایج حاصل از این پژوهش هم‌خوانی دارد (۱۹). با بررسی غلظت‌های مختلف نانوذرات (۰/۰۵، ۰/۵و۱ گرم/لیتر) و اندازه گیری میزان نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم مشخص شد غلظت مناسب نانوذرات $St\text{-}Fe^0$و$CQD\text{-}Fe^0$ برابر ۰/۵ گرم/لیتر می‌باشد. در غلظت‌های بالاتر از ۰/۵ گرم/لیتر از نانوذرات، اثرات سمی حاصل از اکسیدهای فلزی نانوذرات بر سلول ایجاد می‌شود و رشد و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم را کاهش می‌دهد. یون‌هایFe^{2+} و هیدروژن در غلظت مناسب می‌توانند به‌عنوان منبع الکترون اضافه در اختیار میکروارگانیسم قرار گرفته و فرآیند نیترات‌زدایی زیستی را تسهیل بخشند. ازدیاد محصولات سمی حاصل از اکسیداسیون نانوذره $CQD\text{-}Fe^0$ سبب فروپاشی غشا میکروارگانیسم و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود و از این طریق میکروارگانیسم را غیرفعال کرده و سبب کاهش فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم می‌شود (۲۸).

در این پژوهش فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* در حضور نانوذره $CQD\text{-}Fe^0$ در بیوراکتور بستر متحرک حاوی محیط BSM و ۳۰۰ میلی‌گرم/میلی لیتر نیترات و در pH ۷ مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج میزان رشد و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در بیوراکتور درحضور $CQD\text{-}Fe^0$ برابر ۹۶/۷٪ به‌دست آمد. اختلاف نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم در حضور نانوذرات فلزی در سامانه ناپیوسته و سامانه بیوراکتور نشان داد شرایط بهینه شامل غلظت اکسیژن حل شده (برابر با صفر)، دمای ۳۵ درجه سلسیوس و pH که از جمله عوامل مهم در افزایش نیترات‌زدایی زیستی می‌باشند، به‌خوبی در سامانه بیوراکتور بستر متحرک ایجاد شده است و رشد میکروارگانیسم تسهیل و فعالیت نیترات‌زدایی زیستی میکروارگانیسم تسریع گردید. به‌طور کلی، *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* به‌عنوان باکتری عملکردی در سیستم نیترات‌زدایی مبتنی بر گوگرد شناسایی می‌شود. مسیر نیترات‌زدایی به‌طور کامل برای این باکتری با تجزیه و تحلیل ژنوم نشان داده شده است. انواع مختلفی از نیترات ردوکتاز شامل نیترات ردوکتاز متصل به غشاء که توسط ژن‌های Nar کدگذاری می‌شوند شناسایی شده است (۲۹). در بررسی بیان مشخص شد در سلول‌های تیمارشده با نانوذره $CQD\text{-}Fe^0$ بیان هر سه ژن *nirS*، *narH* و *recA* نسبت به گروه کنترل افزایش قابل توجهی داشته، که نشان‌دهنده تأثیر بالای این نانوذره در نیترات‌زدایی‌زیستی سلول‌های میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* تیمارشده با این نانوذرات می‌باشد. در مطالعه Hang و همکاران، مبنی بر حذف هم‌زمان فسفر و نیترات‌زدایی هتروتروفیک توسط Fe (II)، مشخص شد بیان ژن‌های نیترات‌زدایی *narG*، *nirS*، *norB*و *nosZ* افزایش یافتند. چنین افزایشی نباید به‌دلیل اکسیداسیون آهن وابسته به نیترات که در محیط‌های کمبود آلی غالب است، باشد. در محیطی با تأمین مداوم Fe (II) و منابع کربن فراوان، چرخه افزایش فعالیت آنزیم نیترات‌زدایی در حضور Fe (II) با تسهیل استفاده از بستر نیتروژن، تصور بر این بود تحریک متابولیسم و رشد نیترات‌زدایی، بالا بردن فراوانی ژن‌های نیترات‌زدا و افزایش بیان آنزیم‌های نیترات‌زدا مسئول نیترات‌زدایی هتروتروفیک افزایش یافته توسط Fe (II) است (۳۰).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش برای نخستین بار از نانوذرات فلزی $CQD\text{-}Fe^0$ جهت بررسی نقش آن در نیترات‌زدایی زیستی استفاده شد. طبق نتایج می‌توان گفت درصد نیترات‌زدایی‌زیستی میکروارگانیسم در بیوراکتور بستر متحرک در حضور نانوذرات $CQD\text{-}Fe^0$ نسبت به سامانه ناپیوسته درصد بیشتری است. در این پژوهش، بیان هر سه ژن *nirS*، *narH* و *recA* در سلول‌های تیمارشده با $CQD\text{-}Fe^0$ نسبت به گروه کنترل افزایش قابل توجهی داشته، که نشان‌دهنده تأثیر بالای این‌نانوذرات در نیترات‌زدایی‌زیستی میکروارگانیسم *تیوباسیلوس دنیتریفیکانس* می‌باشد. یافته‌های این مطالعه نشان داد، با افزودن نانوذرات فلزیFe^0 در ضدعفونی و حذف آلاینده‌ها، نیتریت‌زدایی‌زیستی تقویت شده و برای توسعه فرآیندهای حذف آلاینده مقرون به‌صرفه مفید خواهد بود.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

منابع:

1. Mehrabinia P, Kermannezhad J. Investigation of Nitrate Absorption Methods from Contaminated Waters Using Biochar. J of Water and Sustainable Development, 2020; 7(1): 79-90. doi: 10.22067/jwsd.v7i1.81367
2. 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 (10) :996-985.
3. Krishan G, Singh S, Kumar C, Garg P, Suman G. Assessment of Groundwater Quality for Drinking Purpose by Using Water Quality Index (WQI) in Muzaffarnagar and Shamli Districts, Uttar Pradesh, India. Hydrol Current Res. 2016; 7(227): 1-4.
4. Chu L.B, Wang J.L. Denitrification of groundwater using PHBV blends in packed bed reactors and the microbial diversity. Chemosphere. 2016;155 (3): 463–470.
5. 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. WPT J. 2011; 6: 1-2.
6. Su J, Lin S, Chen Z.L, Megharaj M, Naidu R. Dechlorination of p-chlorophenol from aqueous solution using bentonite supported Fe/Pd nanoparticles: synthesis, characterization and kinetics. Desalination. 2011; 280:167–173.
7. Cundy A.B, Hopkinson L, Whitby R.L.D. Use of iron-based technologies in contaminated land and groundwater remediation: a review. Sci. Total Environ.2008; 400: 42–51.
8. Kamali M, Costa M.E.V, Otero-Irurueta G, Capela I, Capela I. Ultrasonic irradiation as a green productionroute for coupling crystallinity and high specific surface area in iron nanomaterials. J. Clean. Prod. 2019; 211:185–197.
9. Machado S, Pacheco J.G. Nanoremediation with zero-valent iron nanoparticles. In From Soil Remediation,1st ed.; Albergaria, J.T., Nouws, H.P.A., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2016; 108–120.
10. Zhang Y, Kohler N, Zhang M. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake. Biomaterials. 2002;23(7):1553-61.
11. Farshbaf M, Davaran S, Rahimi F, Annabi N, Salehi R, Akbarzadeh A. Carbon quantum dots: recent progresses on synthesis, surface modification and applications. Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.2018; 46:7, 1331-1348.
12. Lim SY, Shen W, Gao Z. Carbon quantum dots and their applications. Chem Soc Rev. 2015; 44(1):362-81.
13. Chenghong J, Xuping X, Mallavarapu M, Ravendra N, Zuliang Ch. Inhibition or promotion of biodegradation of nitrate by Paracoccus sp. In the presence of nanoscale zero-valent iron. Sci. Total Environ. 2015; 530–531: 241–246.
14. Mofradnia SR, Ashouri R, Tavakoli Z, Shahmoradi F, Rashedi H, Yazdian F. Effect of zero-valent iron/starch nanoparticle on nitrate removal using MD simulation. Int J Biol Macromol.2019; 121:727–33.
15. APHA 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. American Public Health Association. Washington. DC. 80
16. Krishna M, Philip L. Thiobacillus denitrificans immobilized biotrickling filter for NO2 removal. Clean Technol. Environ. Policy.2005; 7: 285- 293.
17. Chen M, Zhou X, Chen X, Cai Q, Zeng R. J. Mechanisms of nitrous oxide emission during photoelectrotrophic denitrification by self-photosensitized Thiobacillus denitrificans. Water Res. 2020; 172, 115501.
18. Lee C, Kim J.Y, Lee W.I, Nelson K.L, Yoon J, Sedlak D.L. Bactericidal effect of zero- valent iron nanoparticles on Eschrichia coli. Environ. Sci. Technol.2008; 42: 4927- 4933.
19. Navaee M, Yazdian F, Hamedi J, Pourmadadi M, Karbalaei A, Malmir S. Antibacterial properties of a bacterial cellulose CQD-TiO2 nanocomposite. Carbohydr. Polym. 2020; 234: 115835.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

20. Chon, K., & Cho, J. (2015). Abundance and expression of denitrifying genes (narG, nirS, norB, and nosZ) in sediments of wastewater stabilizing constructed wetlands. *Environmental Engineering Research*, *20*(1), 51-57.
21. Kanel S.R, Manning B, Charlet L, and Choi H. Removal of arsenic (III) from groundwater by nanoscale zerovalent iron. Environ. Sci. Technol. 2005; 39: 1291–1298.
22. Zhang X, Lin S, Chen Z, Megharaj M, Naidu R. Kaolinite-supported nanoscale zero-valent iron for removal of Pb2D from aqueous solution: Reactivity, characterization and mechanism. Water Res. 2011;45: 3481-3488.
23. Montalvo S, Huilinir C, Galvez D, Roca N, Guerrero L. Autotrophic denitrification with sulfide as electron donor: Effect of zeolite, organic matter and temperature in batch and continuous UASB reactors. Int Biodeterior Biodegradation. 2016; 108:158-165.
24. 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 in Lif Science. 2018;18(3):187-195.
25. Z. BlaŢková V, Trousil E, Slehová J, Palarčík M, Slezák J. Influence of Fe3+ Ions on Nitrate Removal by Autotrophic Denitrification Using Thiobacillus denitrificans, Chem. Biochem. Eng.2017; 31 (2) :167–172.
26. Sun Y.P, Li X.Q, Zhang W.X. A method for the preparation of stable dispersion of zero valent iron nanoparticles. Colloids Surf. 2007;308: 60-66.
27. Anotai J, Liao CH, Ruangchanikom C. Nitrate removal by Fe0/Co2 process using an innovative continuous flow reactor. EEMJ. 2010; 20: 77-84.
28. Hsu JC, Liao CH, Wei1 YL. Nitrate removal by synthetic nanoscale zero-valent iron in aqueous recirculated reactor. SER. 2011; 21: 353-359.
29. Beller, H. R., Chain, P. S., Letain, T. E., Chakicherla, A., Larimer, F. W., Richardson, P. M., Coleman, M. A., Wood, A. P., & Kelly, D. P. (2006). The genome sequence of the obligately chemolithoautotrophic, facultatively anaerobic bacterium Thiobacillus denitrificans. *Journal of bacteriology*, *188*(4), 1473–1488.
30. Hang M, Xinlei G, Yihua Ch, Jiaxin Zh, Tongzhou L. Fe (II) enhances simultaneous phosphorus removal and denitrification in heterotrophic denitrification by chemical precipitation and stimulating denitrifiers activity. Environ. Pollut. 2021; 287: 117668.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1402.13.51.11.3]
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]