

ORIGINAL RESEARCH PAPER

## Comparative Survey of Virgin and Immobilized Activated Carbon With Pseudomonas Putida PTCC In Toluene Removal From Airflow

Zahra Alaei<sup>1</sup>, Roohollah Ghasemi<sup>2</sup>, Mohammad Reza Pourmand<sup>3</sup>, Ali Karimi<sup>1</sup>, Ensieh Masoorian<sup>3</sup>, Farideh Golbabaei<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

<sup>3</sup> Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 2019-07-21

Accepted: 2019-11-17

### ABSTRACT

**Introduction:** Volatile organic compounds are the most common pollutants in the air, and among them, toluene is the most common form, which is toxic resulting in liver and kidneys damages. Regarding the fact that this compound is widely used in various chemical industries, implementing an efficient method for controlling its concentration is of great importance. The comparative survey of the capability of virgin activated carbon with the one immobilized by pseudomonas putida PTCC, and also the performance of the biofiltration system involving pseudomonas putida bacteria immobilized on activated carbon for the adsorption and degradation of toluene from the air as well as regenerating the activated carbon were aimed in the present study.

**Material and Methods:** The microbial growth process was initiated by incubation of pre-culture in a rotary shaker, at 150 rpm overnight. After 4 days, the strain pseudomonas putida, PTCC No: 1694 was immobilized on a certain amount of activated carbon. Subsequently, an airstream containing toluene was introduced into the biofilter, and the inlet and outlet concentrations of toluene were measured.

**Results:** The obtained results illustrated that the increase in the volume of the media and decrease in the gas flow rate significantly enhances efficiency. The great performance of the biofilter was confirmed by the high efficiency of the immobilized activated carbon which exhibited 89% yield during 14 hours. On the second cycle, the biofiltration system was able to adsorb toluene at an efficiency of 81%, while the virgin activated carbon exhibited far less efficiency with the value of 28%.

**Conclusion:** The provided results demonstrated the feasibility and reusability of the biofilter system for toluene removal. The proposed technique also extends the activated carbon's capacity, which could be a potential solution to re-use the activated carbon in industrial applications.

**Keywords:** Activated carbon; Biofiltration, Toluene; Bacteria; Biodegradation; VOC

### HOW TO CITE THIS ARTICLE

Alaei Z, Ghasemi R, Pourmand MR, Karimi A, Masoorian E, Golbabaei F. Comparative Survey of Virgin and Immobilized Activated Carbon With Pseudomonas Putida PTCC In Toluene Removal From Airflow. J Health Saf Work. 2022; 12(2): 274-287.

## 1. INTRODUCTION

Air pollution is one of the major causes of low quality of life in many industrialized nations. Air pollution has caused a sharp increase in a variety of respiratory diseases, skin problems, birth defects,

physical weakness, and many other diseases. Eliminating these contaminants is very costly.

Volatile organic compounds are the most common pollutants in the air, and among them, toluene is the most common compound, which

\* Corresponding Author Email: [fgolbabaei@tums.ac.ir](mailto:fgolbabaei@tums.ac.ir)

is an aromatic compound with a benzene ring and similar properties to benzene; however, with less volatility. Toluene is a liquid that is used as a solvent in the preparation of paints, polishes, adhesives, rubber, and plastics and the production of various chemical compounds in many industries. Regarding the fact that this compound is widely used in various chemical industries, implementing an efficient method for controlling its concentration is of great importance.

Activated carbon is mostly used as an adsorbent in controlling air and water pollution leads to its ability to absorb various pollutants. Biologically Active Carbon (BAC) can remove gaseous pollutants in the biofiltration system by intensifying microbiological decomposition and adsorption of activated carbon.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### *Microorganism*

*Pseudomonas putida* PTCC 1694, a gram-negative, rod-shaped bacterium, was used. First, the bacteria were cultured in isolation on an agar medium. After 24 hours and the confirmation of no contamination on the agar medium, a colony was removed from the culture medium using a sterile ring and dissolved in the liquid culture medium. It was then placed in a shaker incubator at 150 rpm for 24 hours at 30 ° C to allow bacteria to grow.

### *Activated carbon preparation*

The granular activated carbon was washed several times with deionized water to remove carbon particles and then dried in an oven at 100 ° C for 24 hrs. To sterilize, activated carbon was placed in an autoclave for 12 minutes at 121 ° C.

### *Microbial immobilization*

A specific amount of activated carbon was weighed after the bacteria reached the logarithmic phase and placed in a flask with the culture medium. During stabilization, the flask was refrigerated for four days. The biomass concentration was measured before and after stabilization by spectrophotometry at 620 nm. The difference between these two concentrations indicated the degree of stabilization.

### *Scanning Electron Microscope*

The structure of activated carbon was scanned before and after stabilization using DSM-960A scanning electron microscope.

### *Biofiltration system and conditions*

This study was performed using a laboratory-scale biofilter system consisting of two columns made of polyvinyl chloride with a total height of 70 cm and a diameter of 10 cm that were placed in parallel. This system included various parts, including input and output of nutrient solution, to maintain and grow microorganisms and prevent the substrate from drying out, impinger (gas bottle), which was used to store toluene and make the desired densities; and an airflow meter (rotameter) which was used at the start point of the system to measure the volume of airflow. A variable-speed fan was provided to supply the required air. In the humidifier column, the airflow through the humidifier column was humidified and entered the system. Finally, sampling ports were installed at the input and output of the stop. All experiments were performed at a temperature of 25-22 ° C and 70-50% humidity.

### *Test Method*

In the first cycle, two columns, one with virgin activated carbon (AC) and the other with bacterial-immobilized activated carbon (BAC) with different volumes (86, 173, and 260 ml) were filled. The virgin activated carbon was soaked in water to have the same moisture as the immobilized activated carbon and the experiments were performed under the same conditions. Different concentrations (45 and 85 ppm) of toluene with different flow rates (1, 2, and 3 liters per minute) were entered into the system. The inputs and outputs of each column were sampled regularly and injected into the gas chromatography (GC) device. Sampling was performed until the contaminant density at the outlet reached half the contaminant density at the inlet – i.e. the breaking point of 50%. The system was shut down at this stage. After shutting down the system for a specific period of time, the system was turned on again and the same tests were performed as in the first cycle. The purpose of the second cycle was to investigate the possibility of regenerating activated carbon to evaluate the efficiency of both systems in the second cycle.

### *Gas chromatography and sample analysis*

To analyze toluene-containing gas samples, the GC model -FID (CP-3800 model-VARIAN company) was used. The amounts of toluene adsorption and decomposition were calculated by

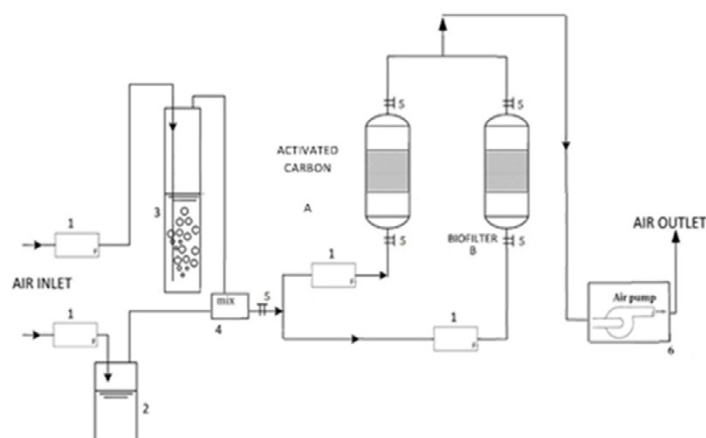


Fig. 1. Biofiltration System

sampling the inputs and outputs of both columns and injecting them into a gas chromatographic device equipped with a detector.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

The results of the study showed that there was a significant difference between the average efficiency of the two systems in the first cycle. As shown in the SEM images, the bacteria reduce the adsorption level of toluene by binding to the activated carbon surface, thereby reducing the efficiency of the biofilter system. According to the results, the amount of toluene output increased in immobilized activated carbon after about 3.5 hours, which could be due to the adaptation of bacteria. At this point, the slow release of toluene to the activated carbon level increases the concentration of toluene in the system output. Then environmentally friendly bacteria broke down toluene and reduced the density of toluene output. The next step was the result of the adsorption and decomposition of toluene. The results of the study showed that there was a significant difference between the average efficiency of the two systems in the second cycle. Virgin activated carbon had some adsorption in the second cycle due to unsaturation in the first cycle, but in immobilized activated carbon, the bacteria in the activated carbon decomposed toluene, so, it had a higher adsorption in the second cycle. The present study showed that the efficiency of the second cycle for immobilized activated carbon was lower compared to the first cycle. This may be because part of the contaminant was still present in the

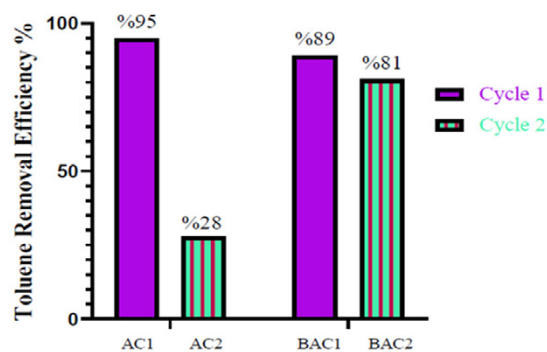


Fig. 2. Toluene adsorption efficiency in both systems in the first and second cycles

activated carbon. The results of this study showed that the efficiency increased with increasing the volume of the bed. In addition, system efficiency decreased with increasing airflow.

### 4. CONCLUSIONS

Activated carbon immobilized by pseudomonas putida had an excellent efficiency in removing toluene. Pseudomonas was successfully attached to the activated carbon surface. Activated carbon did not require thermal or chemical recycling for reuse and could be regenerated by existing bacteria. The biofilm structure protected microorganisms from harsh environmental conditions and kept the biomass in the process, even if the conditions were not conducive to its growth. In addition, due to the significant difference in the average efficiency, the best efficiency of the system was seen with the airflow of 1 lit/min, inlet density of 45 ppm, and bed volume of 260 ml.

## بررسی مقایسه ای نقش کربن فعال دست نخورده و تثبیت شده با باکتری سودوموناس پوتیدا PTCC در حذف تولوئن از جریان هوا در یک سیستم بیوفیلتراسیون

زهرا اعلائی<sup>۱</sup>، روح اله قاسمی<sup>۲</sup>، محمدرضا پورمند<sup>۳</sup>، علی کریمی<sup>۱</sup>، انسیه ماسوریان<sup>۲</sup>، فریده گلبابایی<sup>۱\*</sup>

<sup>۱</sup> گروه مهندسی بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران  
<sup>۲</sup> گروه مهندسی بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران  
<sup>۳</sup> گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۳۰، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۲۶

### مکیده

**مقدمه:** تولوئن از رایجترین نوع ترکیبات آلی فرار است که سمی بوده و سبب آسیب کبد و کلیه می شود. این ترکیب در بسیاری از صنایع شیمیایی به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد. از این رو حذف تولوئن از جریان هوای خروجی صنایع دارای اهمیت است. بنابراین هدف از انجام این مطالعه، بررسی مقایسه ای نقش کربن فعال دست نخورده و تثبیت شده با باکتری سودوموناس پوتیدا و همچنین بررسی عملکرد سیستم بیوفیلتراسیون باکتری سودوموناس پوتیدا تثبیت شده بر کربن فعال به منظور جذب و تجزیه تولوئن از جریان هوا در یک سیستم بیوفیلتراسیون و احیا کربن فعال است.

**روش کار:** ابتدا به منظور رشد باکتری، پیش کشت به مدت ۲۴ ساعت بر روی انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۵۰ rpm در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و سپس باکتری ها بر روی کربن فعال قرار داده شدند و عمل تثبیت صورت گرفت. در ادامه ۲ ستون با کربن فعال دست نخورده و کربن فعال تثبیت شده با باکتری پر شد. کارایی هر کدام از سیستم ها با حجم بستر، گذر حجمی گاز و تراکم های مختلف از آلاینده در دو سیکل مورد بررسی قرار گرفت. سیکل اول به منظور بررسی میزان کارایی دو سیستم در حذف تولوئن و سیکل دوم به منظور بررسی احیای کربن فعال بعد از خاموشی سیستم صورت گرفت. به منظور بدست آوردن مقدار جذب تولوئن در سیستم بیوفیلتراسیون، تراکم های مختلفی از تولوئن ساخته و به سیستم وارد شد. با نمونه برداری از ورودی و خروجی ستون ها و تزریق نمونه ها به دستگاه گاز کروماتوگرافی مقدار کارایی حذف تولوئن در شرایط مختلف مطالعه بدست آمد.

**یافته ها:** نتایج تست های آماری نشان داد که افزایش حجم بستر و کاهش گذر حجمی گاز کارایی حذف تولوئن را به طور چشمگیری افزایش می دهد. نتایج عملکرد بیوفیلتر نشان داد که حداکثر کارایی کربن فعال دست نخورده و تثبیت شده در سیکل اول به ترتیب معادل ۹۵٪ و ۸۹٪ در مدت زمان ۱۴ ساعت بود. کربن فعال تثبیت شده در سیکل دوم توانایی جذب تولوئن را با کارایی ۸۱٪ داشته در حالی که کربن فعال دست نخورده به مراتب کارایی خیلی کمتری از خود نشان داد و این مقدار تقریباً ۲۸٪ بود. همچنین با توجه به معنی داری در اختلاف میانگین کارایی ها می توان بهترین عملکرد سیستم را در جریان هوای ۱ لیتر بر دقیقه، تراکم ورودی ۴۵ پی پی ام و حجم بستر ۲۶۰ میلی لیتر مشاهده نمود.

**نتیجه گیری:** کارایی حذف تولوئن در کربن فعال دست نخورده در سیکل اول بالاتر از کربن فعال تثبیت شده بود اما در سیکل دوم کارایی حذف کربن فعال تثبیت شده به مراتب بالاتر از کربن فعال دست نخورده بود. که می توان نتیجه گرفت، کربن فعال تثبیت شده توسط باکتری های موجود احیا شده و این عمل طول عمر و ظرفیت کربن فعال را افزایش می دهد.

**کلمات کلیدی:** بیوفیلتراسیون، تولوئن، کربن فعال، احیا کربن فعال، باکتری سودوموناس

\* پست الکترونیکی نویسنده مسئول مکاتبه: [fgolbabaei@tums.ac.ir](mailto:fgolbabaei@tums.ac.ir)

## مقدمه

تهوع مشاهده شده است (۳، ۴).

در منابع مختلف چندین رویکرد بمنظور کنترل آلاینده های گازی و بخارات معرفی شده اند مانند: اسکرابرها، اینسینراتورها، جاذبهای سطحی<sup>۴</sup>، که بعبارت کلی هیچ یک را نمی توان بعنوان کنترل نهایی آلاینده بحساب آورد و هر یک دارای محدودیت هستند و تنها آلاینده را از فازی به فاز دیگر منتقل می کنند (۱۴، ۱۵).

از آنجائیکه فرایندهای بیوتکنولوژی از طریق فعالیت میکروبی آلاینده ها را به ترکیبات بی ضرر تبدیل می کنند و نیز بدلیل عدم تولید محصولات جانبی و آلاینده های ثانویه و همچنین کارایی بالا و سازگاری با محیط زیست، رواج گسترده ای پیدا کرده اند. فرایند بیولوژیکی را می توان کنترل نهایی آلاینده بحساب آورد (۱۶).

مواد پرکننده مختلفی در بیوفیلتراسیون بعنوان مدیای حمایتی برای تثبیت بیومس مانند کربن فعال، خاک، خاک اره (تراشه های چوب)، کود گیاهی، کمپوست و سرامیک مورد استفاده قرار میگیرند (۱۵).

کربن فعال، بیشترین استفاده را بعنوان جاذب در کنترل آلودگی هوا و آب دارد و آن بدلیل قابلیت جذب آلاینده های مختلف است (۶، ۷). کربن فعال بیولوژیکی (BAC)<sup>۵</sup> قابلیت حذف آلاینده های گازی را در سیستم بیوفیلتراسیون با تشدید تجزیه میکروبیولوژیکی و نیز جذب کربن فعال را دارا می باشد (۸، ۹، ۱۷).

لذا ترکیب فرایندهای جذب و بیوفیلتراسیون یک روش بسیار اثربخش برای تصفیه VOCs می باشد. مطالعات کمی در زمینه احیای مجدد کربن فعال توسط باکتری ها صورت گرفته است که در این مطالعات نیز از تاثیر متغیرهایی مانند مقدار کربن فعال، تغییرات گذر حجمی هوا و تراکم ورودی آلاینده چشم پوشی شده است. لذا هدف از این مطالعه بررسی روشی بهینه برای حذف تولوئن از جریان هوا و مطالعه امکان احیای کربن فعال به منظور استفاده مجدد است.

آلودگی هوا امروزه به صورت یکی از مشکلات بزرگ زیست محیطی و اقتصادی در سراسر جهان مطرح شده و این مساله به ویژه در شهرهای بزرگ صنعتی، به صورت مشکل حادثتری مطرح می شود. آلودگی هوا سبب افزایش شدید انواع بیماری های تنفسی، پوستی، نقص های مادرزادی، ضعف جسمانی و بسیاری امراض دیگر شده، همچنین سبب افزایش بی رویه هزینه ها به منظور حذف این آلودگی ها می شود (۱، ۲).

ترکیبات آلی فرار<sup>۱</sup> (VOCs) به دلیل تأثیر مستقیم آنها بر سلامت انسان و محیط زیست توجه زیادی را به خود جلب کرده اند (۱۰). ترکیبات آلی فرار گروه عمده ای از آلاینده ها را تشکیل می دهند که از منابع مختلفی در هوا منتشر می شوند. حضور این آلاینده ها در هوا، اتمسفر سمی ایجاد کرده که امکان بروز بسیاری از بیماری ها و سرطان ها را فراهم می سازد (۱۱، ۱۲).

در بین ترکیبات آلی فرار، تولوئن معمولترین و رایجترین ترکیب بوده که ترکیبی آروماتیک با حلقه بنزنی است و دارای خواصی مشابه خواص بنزن ولی با فراریت کمتر از آن می باشد. تولوئن مایعی است که به عنوان حلال در تهیه رنگ ها، جلاها، انواع چسب، لاستیک و پلاستیک، تولید ترکیبات شیمیایی مختلف و در سایر صنایع کاربرد دارد (۳-۵).

تماس های مزمن با تولوئن موجب اثر بر روی سیستم اعصاب مرکزی<sup>۲</sup> (CNS) و محیطی<sup>۳</sup> (PNS) به صورت تحریک همراه با حالت سرخوشی و مستی، بر هم خوردن تعادل، لرزش اندام ها، تار شدن دید، عدم کنترل عضلات، تشنج، تحریک چشم ها و مخاط بینی، احساس ضعف و خستگی و بالاخره آسیب به کلیه ها و کبد می باشد (۴، ۱۱-۱۳).

در مواجهه حاد با بخارات تولوئن در هوا، علائم و نشانه های اختلال در عملکرد روی سیستم اعصاب مرکزی، ضعف و خستگی، خواب آلودگی، سردرد و حالت

1- Volatile Organic Compounds

2- Central Nervous System

3- Peripheral Nervous System

4- Adsorption

5- Biologically Activated Carbon

جدول ۱. ویژگی کربن فعال مورد استفاده در مطالعه

BET ناحیه سطحی (m <sup>2</sup> /g)	% منافذ در واحد سطح	حجم کل منافذ (cm <sup>3</sup> /g)	% منافذ در واحد حجم	اندازه دانه (mm) (مش)	اندازه منافذ (nm)	چگالی (g/mL)	منشا (Origin)
۹۹۸/۶۷	۷۵/۹۹	۰/۴۳۸۹	۶۵/۵۴	(۱۲)۱/۵	۱/۷۵۸۱	۰/۷۵	<b>Charcoal Merck</b>

درون یخچال نگهداری شد. غلظت زیست توده<sup>۵</sup> قبل و بعد از عمل تثبیت توسط دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه گیری شد (۱۸). اختلاف این دو غلظت نشان دهنده ی میزان تثبیت بود.

#### میکروسکوپ الکترونی روبشی

ساختار کربن فعال قبل و بعد از عمل تثبیت توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل DSM-960A اسکن شد.

#### سیستم بیوفیلتراسیون و شرایط آن

این مطالعه با استفاده از یک سیستم بیوفیلتر در مقیاس آزمایشگاهی که شامل ۲ ستون از جنس پلی وینیل کلراید با ارتفاع کلی ۷۰ سانتی متر و قطر ۱۰ سانتی متر که به صورت موازی قرار گرفته بودند، صورت گرفت. این سیستم شامل بخش های مختلفی از جمله: ورودی و خروجی محلول مغذی، به منظور حفظ و رشد میکروارگانیسم ها و جلوگیری از خشک شدن بستر، ایمپینجر (بطری گازشوی)، که از آن برای ذخیره تولوئن و ساخت تراکم های مورد نظر استفاده شد، فلومتر هوا (روتامتر) که در ابتدای سیستم و برای اندازه گیری میزان جریان هوا مورد استفاده قرار گرفت. یک فن دور متغیر جهت تامین هوای مورد نیاز در نظر گرفته شد. ستون رطوبت ساز، جریان هوا با عبور از ستون رطوبت ساز، مرطوب شده و به سیستم وارد می شد. در نهایت پورت های نمونه برداری در ورودی و خروجی ستاپ تعبیه شده بود (شکل ۱). تمامی آزمایشات در دمای ۲۵±۲ درجه

### روش کار

#### میکروارگانیسم

در این مطالعه از باکتری سودوموناس پوتیدا PTCC<sup>۱</sup> 1694 که یک باکتری گرم منفی و میله ای شکل است استفاده گردید. ابتدا باکتری به صورت ایزوله روی محیط کشت آگار<sup>۲</sup> کشت داده شد. بعد از ۲۴ ساعت و تایید عدم آلودگی روی محیط کشت آگار، یک کلونی با استفاده از حلقه<sup>۳</sup> استریل از روی محیط کشت برداشته و روی محیط کشت مایع<sup>۴</sup> حل شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد روی انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۵۰ rpm قرار داده شد تا باکتری رشد کند.

#### آماده سازی کربن فعال

کربن فعال گرانوله چندین بار با آب دیونیزه به منظور حذف ریزه های کربنی شستشو داده شد و سپس در اجاق با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. به منظور استریل کردن، کربن فعال به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد قرار داده شد (۱۵). خصوصیات فیزیکی کربن فعال در جدول ۱ آورده شده است.

#### تثبیت میکروبی

پس از رسیدن باکتری به فاز لگاریتمی، مقدار معینی از کربن فعال وزن شده و به همراه محیط کشت درون فلاسک قرار داده شد. طی تثبیت، فلاسک به مدت ۴ روز

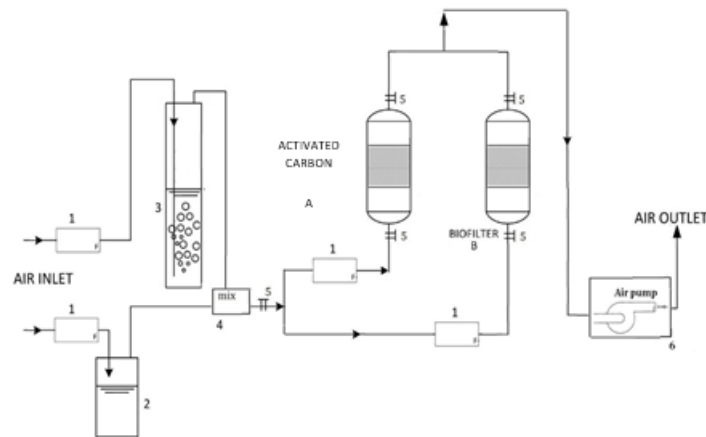
1- Pseudomonas Putida, PTCC No: 1694

2- Nutrient Agar

3- Loop

4- Nutrient Broth

5- Biomass



شکل ۱. شماتیکی از سیستم آزمایش؛ ۱- روتامتر، ۲- ایمپینجر، ۳- ستون رطوبت ساز، ۴- اتافک اختلاط، ۵- پورت های نمونه برداری از جریان هوا، ستون A- کربن فعال دست نخورده، ستون B- کربن فعال تثبیت شده با باکتری، ۶- پمپ

۵۰٪. در این زمان، سیستم خاموش شد. بعد از خاموشی سیستم در مدت زمان مشخص، سیستم دوباره روشن شده و همانند سیکل اول و با همان شرایط آزمایشات انجام گرفتند. هدف از انجام سیکل دوم بررسی امکان احیا کربن فعال بود تا بررسی گردد میزان کارایی هر دو سیستم در سیکل دوم چه مقدار است.

$$RE = \frac{(C_{in} - C_{out})}{C_{in}} \times 100 \quad \text{رابطه ۲-۱:}$$

RE: کارایی حذف<sup>۵</sup> برحسب %

$C_{in}$ : تراکم ورودی تولوئن برحسب  $(g/m^3)$

$C_{out}$ : تراکم خروجی تولوئن برحسب  $(g/m^3)$

#### گازکروماتوگرافی و آنالیز نمونه ها

به منظور آنالیز نمونه های گازی حاوی تولوئن، از دستگاه  $(GC^7 - FID^6)$  مدل CP-3800 ساخت کمپانی VARIAN استفاده شد. دستگاه گازکروماتوگرافی مجهز به ستون ۲۵ m با قطر درونی ۰/۲۵ mm و ضخامت پوشش ۰/۲۵  $\mu m$  بود. دبی گاز حامل ۱/۸ ml/min، دمای بخش تزریق (اینجکتور) برابر با ۲۰۰ درجه سانتی گراد، دمای ستون ۱۳۰ درجه سانتی گراد و دمای دتکتور

سانتی گراد و رطوبت ۷۰-۵۰٪ انجام شدند. سیستم طی پروژه مصوب دانشگاه با شماره طرح ۹۶-۰۳-۲۷-۳۵۹۶۰ ساخته و در آزمایشگاه گروه بهداشت حرفه ای دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران مستقر گردیده بود.

#### روش آزمایش

در سیکل اول دو ستون یکی با کربن فعال دست نخورده (AC)<sup>۱</sup> و دیگری با کربن فعال تثبیت شده با باکتری (BAC)<sup>۲</sup> با حجم های مختلف (۸۶، ۱۷۳ و ۲۶۰ میلی لیتر)، پر شدند. کربن فعال دست نخورده در آب خیسانده شد تا مشابه کربن فعال تثبیت شده دارای رطوبت باشد و آزمایشات در شرایط یکسان انجام گیرند. تراکم هایی (۴۵ و ۸۵ پی پی ام) از تولوئن با دبی های (۱، ۲ و ۳ لیتر بر دقیقه) مختلف به سیستم وارد می شد. نمونه برداری از ورودی و خروجی هر ستون با زمان های منظم صورت می گرفت و به دستگاه گازکروماتوگرافی ( $GC^3$ ) تزریق می شد. در این سیکل کارایی حذف تولوئن در ۲ ستون از طریق رابطه ۲-۱ بدست آمد. نمونه برداری تا زمانی انجام گرفت که تراکم آلاینده در خروجی به نصف تراکم آلاینده در ورودی می رسید؛ یعنی نقطه شکست<sup>۴</sup>

1- Activate Carbon

2- Biological Activated Carbon

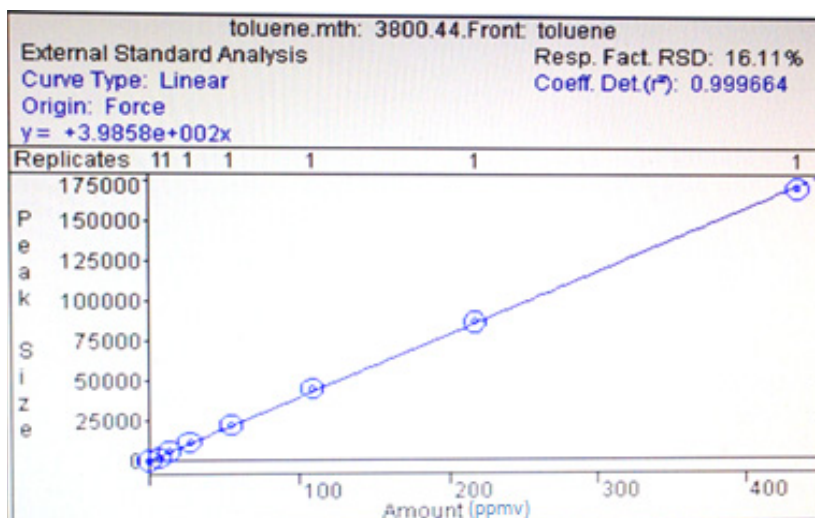
3- Gas chromatography

4- Breakthrough

5- Removal efficiency

6- Flame Ionization Detector

7- Gas chromatography



شکل ۲. منحنی کالیبراسیون برای محدوده تراکم آلاینده مورد مطالعه

#### مقایسه کارایی سیستم ها

##### مقایسه کارایی سیستم ها در سیکل اول

با توجه به نتایج بدست آمده بین میانگین کارایی در کربن فعال تثبیت شده و کربن فعال دست نخورده اختلاف معنی داری وجود دارد ( $p\text{-value} = 0,014$ ), هر چند این اختلاف بسیار کم است اما میانگین کارایی در کربن فعال دست نخورده بیشتر از کربن فعال تثبیت شده با باکتری است. کربن فعال دست نخورده در مدت زمان ۱۴ ساعت، حداکثر کارایی ۹۵٪ درصد را از خود نشان داد. این میزان در کربن فعال تثبیت شده با باکتری مقداری افت داشت و به ۸۹٪ رسید.

##### مقایسه کارایی سیستم ها در سیکل دوم

نتایج آماری نشان داد که بین میانگین کارایی در کربن فعال تثبیت شده و کربن فعال دست نخورده اختلاف معنی داری وجود دارد ( $p\text{-value} = 0,000$ ). و میانگین کارایی در کربن فعال تثبیت شده بالاتر از کربن فعال دست نخورده است. در سیکل دوم حداکثر کارایی حذف تولوئن در کربن فعال تثبیت شده ۸۱٪ در مدت زمان ۱۴ ساعت بدست آمد، در حالی که این میزان برای کربن فعال دست نخورده ۲۸٪ برای مدت زمان ۲ ساعت بود.

۲۴۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد. منحنی کالیبراسیون برای محدوده غلظتی صفر تا ۴۵۰ پی پی ام نیز ترسیم شد ( $R^2 = 0.999$ ). در زمان های مشخص با نمونه برداری از ورودی و خروجی هر دو ستون و تزریق به دستگاه گازکروماتوگرافی مجهز به دتکتور میزان جذب و تجزیه تولوئن محاسبه شد.

### یافته ها

#### آنالیز ساختار کربن فعال

به منظور اطمینان از تثبیت باکتری بر روی کربن فعال، تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM<sup>۱</sup> از هر دو نوع کربن فعال دست نخورده و تثبیت شده تهیه شد. تصویر ۲، ساختار کربن فعال را قبل و بعد از تثبیت میکروبی در ۲ بزرگنمایی مختلف نشان می دهد. همان طور که در تصاویر مشاهده می شود، ساختار کربن فعال متخلخل بوده و دارای منافذ بزرگ و کوچک است. نتایج نشان می دهد که باکتری سودوموناس پوتیدا هم به طور مستقیم به سطح کربن فعال متصل شده و هم با گیر افتادن در منافذ کربن فعال سایت های جذب تولوئن را کاهش داده اند.

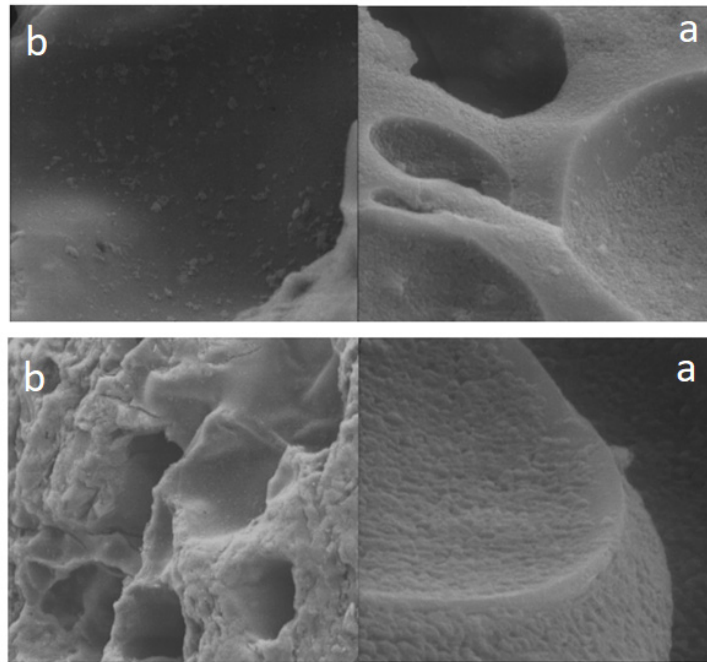
1- Scanning Electron Microscope

مقایسه کارایی کربن فعال دست نخورده در سیکل اول و دوم

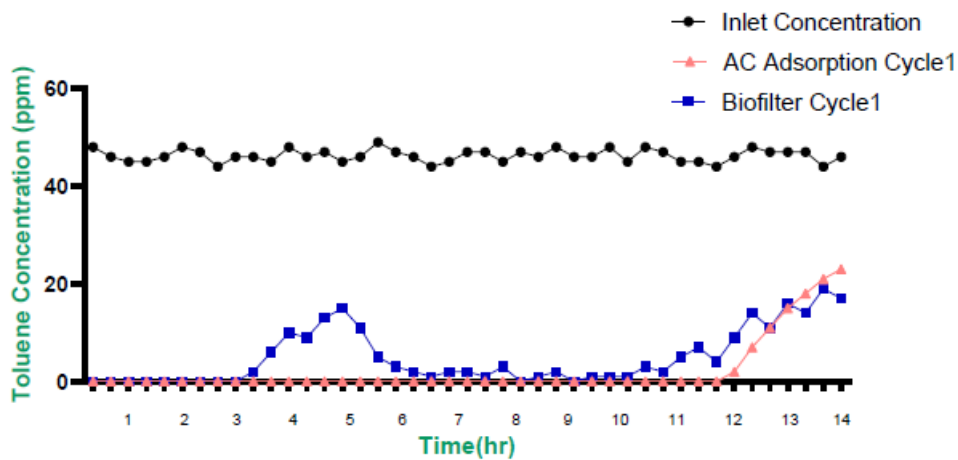
نتایج آماری نشان داد بین میانگین کارایی ها در سیکل اول و دوم در کربن فعال دست نخورده اختلاف معنی داری وجود دارد ( $p\text{-value} = 0,000$ ). همان طور که در نمودار ۱ مشاهده می شود در سیکل دوم مقدار

مقایسه کارایی کربن فعال تثبیت شده با باکتری در سیکل اول و دوم

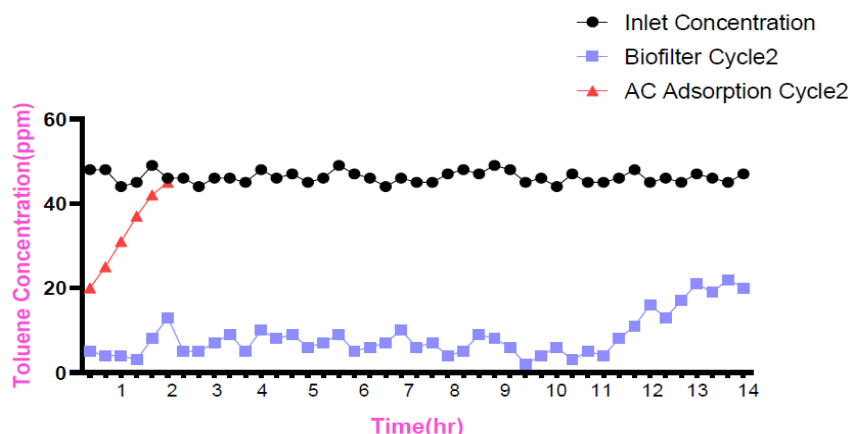
در بررسی نتایج آماری بین میانگین کارایی در سیکل اول و دوم در کربن فعال تثبیت شده اختلاف معنی داری بدست آمد ( $p\text{-value} = 0,000$ ). در سیکل دوم کارایی سیستم مقداری کاهش داشت.



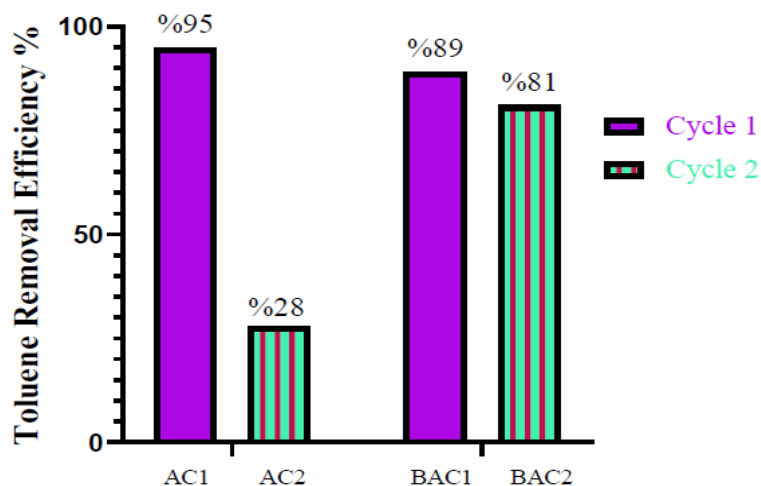
شکل ۳. تصاویر SEM از کربن فعال تثبیت شده (a) و کربن فعال دست نخورده (b) در ۲ بزرگنمایی 2000X و 5000X



نمودار ۱. مقایسه کارایی جذب تولوئن در کربن فعال دست نخورده و تثبیت شده با باکتری در سیکل اول



نمودار ۲. مقایسه کارایی جذب تولوئن در کربن فعال دست نخورده و تثبیت شده با باکتری در سیکل دوم



نمودار ۳. کارایی جذب تولوئن در دو سیستم در سیکل اول و دوم

معنی داری بالاتر از حجم ۸۶ میلی لیتر (معادل ۶۴/۵ گرم کربن فعال) می باشد (p-value= ۰,۰۰۰).

تعیین تاثیر تراکم ورودی آلاینده (تولوئن) بر عملکرد سیستم در حذف تولوئن  
بررسی تراکم ورودی آلاینده نشان داد، میانگین کارایی حذف تولوئن در سیستم در تراکم ۴۵ پی پی ام به مراتب بیشتر از تراکم ۸۵ پی پی ام است و اختلاف بین میانگین ها معنی دار است (p-value= ۰,۰۰۰).

کارایی به مقدار قابل توجهی کاهش پیدا کرده است.

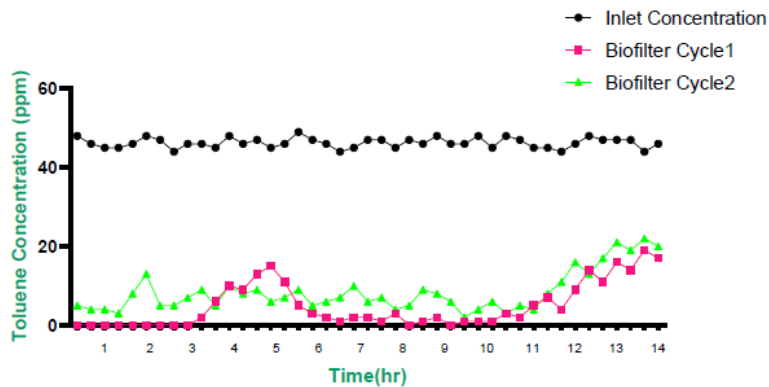
تعیین تاثیر حجم بستر (مقدار ماده پرکننده) بر عملکرد سیستم در حذف تولوئن

در رابطه با تاثیر حجم مواد پرکننده بر کارایی حذف تولوئن از جریان هوا مشخص شد میانگین کارایی حذف با حجم بستر ۲۶۰ میلی لیتر (معادل ۱۹۵ گرم کربن فعال) به طور معنی داری بالاتر از دو حجم دیگر است و میانگین کارایی در حجم بستر ۱۷۳ میلی لیتر (معادل ۱۳۰ گرم کربن فعال) به طور

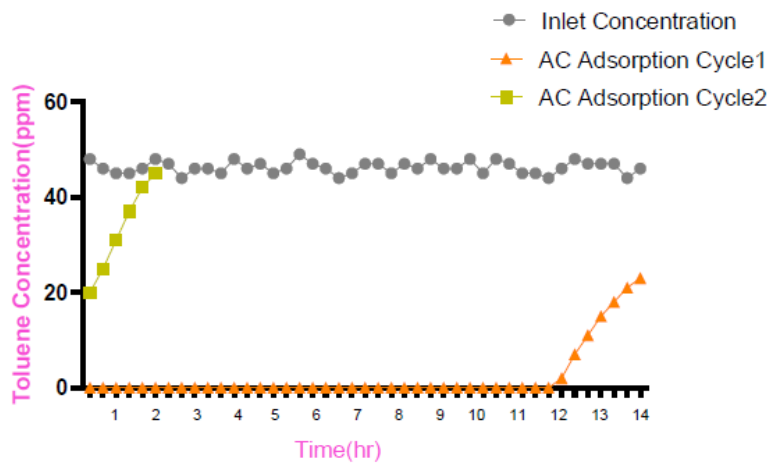
تعیین تاثیر گذر حجمی گاز بر عملکرد سیستم در حذف آلاینده تولوئن در بررسی تاثیر میزان جریان هوا بر کارایی، اختلاف معنی داری بین میانگین کارایی حذف در گذرهای حجمی مختلف گاز (۱، ۲ و ۳ لیتر بر دقیقه) مشاهده شد

بطوریکه میانگین کارایی حذف در جریان ۱ لیتر بر دقیقه بیشترین مقدار و حداقل کارایی ها در جریان ۳ لیتر بر دقیقه می باشد و مشاهده شد که با افزایش جریان از میانگین کارایی کاسته می شود. در جدول ۲ میانگین کارایی سیستم ها در گذرهای

تعیین تاثیر گذر حجمی گاز بر عملکرد سیستم در حذف آلاینده تولوئن در بررسی تاثیر میزان جریان هوا بر کارایی، اختلاف معنی داری بین میانگین کارایی حذف در گذرهای حجمی مختلف گاز (۱، ۲ و ۳ لیتر بر دقیقه) مشاهده شد



نمودار ۴. مقایسه کارایی جذب و تجزیه تولوئن در کربن فعال تثبیت شده با باکتری در سیکل اول و دوم



نمودار ۵. کارایی جذب تولوئن در کربن فعال دست نخورده در سیکل اول و دوم

جدول ۲. میانگین کارایی سیستم ها در گذرهای حجمی مختلف در سیکل اول

تراکم آلاینده	۴۵ پی پی ام		۸۵ پی پی ام	
	بیوفیلتر	کربن فعال دست نخورده	بیوفیلتر	کربن فعال دست نخورده
۱ Lit/min	٪۸۳/۳	٪۸۹	٪۷۶/۶	٪۸۲
۲ Lit/min	٪۸۱	٪۸۶/۳	٪۷۴	٪۷۹/۳
۳ Lit/min	٪۷۸/۳	٪۸۴	٪۷۱	٪۷۷

سیکل دوم بین میانگین کارایی در دو سیستم اختلاف معنی داری وجود دارد. کربن فعال دست نخورده به دلیل اشباع نشدن در سیکل اول، در سیکل دوم مقداری جذب دارد ولی در کربن فعال تثبیت شده، باکتری های موجود در کربن فعال تولوئن را تجزیه کرده به همین علت در سیکل دوم جذب بالاتری دارد. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه Mohamed و همکاران در سال ۲۰۱۵ و Duan و همکاران در سال ۲۰۰۶ مطابقت دارد (۱۵، ۲۰). آن ها در مطالعات خود بیان کردند که سیستم بیوفیلتر عملکرد خوبی در حذف آلاینده های گازی دارد و علاوه بر این کربن فعال مصرف شده قابلیت استفاده مجدد و بازسازی دوباره توسط میکروارگانیسم های تثبیت شده را دارد.

مطالعه حاضر نشان داد که میزان کارایی سیکل دوم برای کربن فعال تثبیت شده در مقایسه با سیکل اول کمتر بود. این ممکن است به این علت باشد که بخشی از آلاینده همچنان در کربن فعال وجود دارد. این نتایج با نتایج مطالعات Moe و Li در سال ۲۰۰۵ مطابقت دارد (۲۱). آن ها دریافتند که میزان کارایی کربن فعال تثبیت شده در سیکل دوم و سوم تقریباً برابر ولی کمتر از سیکل اول است.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که با افزایش حجم بستر میزان کارایی افزایش می یابد. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه موسوی و همکاران در سال ۲۰۱۷ مطابقت دارد (۲۲). با افزایش عمق بستر، اشباع بستر دیرتر اتفاق می افتد، دلیل این امر افزایش زمان ماند آلاینده درون بستر و زمان رسیدن به نقطه شکست است. همان طور که در نتایج مطالعه حاضر مشاهده می شود، بیشترین کارایی در تراکم پایین مشاهده شد که این نتایج با نتایج مطالعه Manohar و همکاران در سال ۲۰۰۱، Elnaas و همکاران در سال ۲۰۰۹ و sodha و همکاران در سال ۲۰۱۲ مطابقت دارد (۱۷، ۲۳، ۲۴). آن ها در مطالعات خود بیان کردند که تجزیه کامل آلاینده ها در تراکم های پایین آلودگی رخ می دهد، زیرا تراکم های بالاتر بیومس را مهار می کند و همچنین در تراکم های بالاتر به دلیل کاهش سایت های فعال، فرایند جذب کاهش می یابد.

حجمی مختلف آورده شده است. همان طور که مشاهده می شود با افزایش گذر حجمی و تراکم آلاینده میزان کارایی کاهش یافته است.

## بحث

هدف از این مطالعه بررسی مقایسه ای نقش کربن فعال دست نخورده و تثبیت شده با باکتری و همچنین بررسی عملکرد سیستم بیوفیلتر جدید ترکیب شده با باکتری و امکان احیای مجدد کربن فعال به منظور استفاده چندین باره از آن است.

نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که در سیکل اول بین میانگین کارایی در دو سیستم اختلاف معنی داری وجود دارد. همان طور که در تصاویر SEM نشان داده شد، باکتری ها با اتصال به سطح کربن فعال، سطح جذبی تولوئن را کاهش داده و همین سبب کاهش کارایی سیستم بیوفیلتر شده است. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه Ehrhardt و Rehm در سال ۱۹۸۹ هم خوانی دارد (۱۹). آن ها در مطالعات خود بیان کردند که جذب کربن فعال تثبیت شده با باکتری به دلیل اثرات فیزیکی بین سلول ها و کربن فعال کاهش می یابد.

با توجه به نتایج بدست آمده، در کربن فعال تثبیت شده بعد از گذشت حدود ۳/۵ ساعت میزان خروجی تولوئن افزایش پیدا کرد که این می تواند به دلیل آداپته شدن باکتری ها باشد. در این زمان انتشار آهسته تولوئن به سطح کربن فعال موجب افزایش تراکم تولوئن در خروجی سیستم می شود. در ادامه باکتری های سازگار شده با محیط، تولوئن را تجزیه کرده و سبب کاهش تراکم خروجی تولوئن می شوند. در واقع مرحله بعدی برآیندی از فرایند جذب و تجزیه تولوئن است. این نتایج با نتایج مطالعه Dabhade و همکاران در سال ۲۰۰۹ هم خوانی داشت (۸). نتایج مطالعات آن ها نشان داد که در مرحله نخست جذب فنول غالب بوده که با مرحله رشد میکروارگانیسم ها و افزایش غلظت فنول دنبال می شود و در مرحله آخر فرایند جذب و تجزیه صورت می گیرد. در نتایج حاصل از مطالعه مشاهده می شود که در

عملکرد عالی در حذف تولوئن دارد. باکتری سودوموناس به طور موفقیت آمیزی بر سطح کربن فعال متصل شد. کربن فعال برای استفاده مجدد نیاز به بازیافت حرارتی و شیمیایی ندارد و توسط باکتری های موجود قابلیت احیا شدن را دارد. ساختار بیوفیلم میکروارگانیسم ها را از شرایط محیطی سخت محافظت می کند و بیومس را در داخل فرایند حفظ می کند، حتی اگر شرایط برای رشد آن مناسب نباشد. همچنین با توجه به معنی داری در اختلاف میانگین کارایی ها می توان بهترین عملکرد سیستم را در جریان هوای ۱ لیتر بر دقیقه، تراکم ورودی ۴۵ پی پی ام و حجم بستر ۲۶۰ میلی لیتر مشاهده نمود.

نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که با افزایش جریان هوا کارایی سیستم کاهش می یابد. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات kizito و همکاران در سال ۲۰۱۶ همخوانی دارد (۲۵). آن ها بیان داشتند در جریان هوای کمتر به دلیل سرعت جریان هوای پایین تر و زمان ماند بیشتر، آلاینده برای جذب فرصت بیشتری داشته و کارایی سیستم افزایش می یابد.

### نتیجه گیری

با توجه با نتایج مطالعه حاضر چنین استنباط می شود که کربن فعال تثبیت شده با باکتری سودوموناس پوتیدا

### REFERENCES

- Mishra S, Rout A. Biotechniques for Air Pollution Control. Environ Biotechnol. 2007;457.
- Rohani Y, Panjehshahi M, Dabir B. Developing The Application Of Pinch Technology For Air Pollution. Nashrieh Shimi & Mohandesi Shimi IRAN. 2006;25:87-94.
- Filley CM, Halliday W, Kleinschmidt-DeMasters B. The effects of toluene on the central nervous system. J Neuropathol Exp Neurol. 2004;63(1):1-12.
- Mathur AK, Majumder C, Chatterjee S. Combined removal of BTEX in air stream by using mixture of sugar cane bagasse, compost and GAC as biofilter media. J Hazard Mater. 2007;148(1-2):64-74.
- Li Y, Rao T, Iu Z. Effect of granular activated carbon on the enhancement of cometabolic biodegradation of phenol and 4-chlorophenol. Atmos Environ. 2010;15(5):580-5.
- Prabu CS, Thatheyus A. Biodegradation of acrylamide employing free and immobilized cells of Pseudomonas aeruginosa. J Neuropathol Exp Neurol. 2007;60(2):69-73.
- Konvalova VV, Dmytrenko GM, Nigmatullin RR, Bryk MT, Gvozdyak PI. Chromium (VI) reduction in a membrane bioreactor with immobilized Pseudomonas cells. Enzyme and Microbial Technology. 2003;33(7):899-907.
- Dabhade M, Saidutta M, Murthy D. Continuous phenol removal using Nocardia hydrocarbonoxydants in spouted bed contactor: Shock load study. Afr J Biotechnol. 2009;8(4).
- Del Castillo I, Hernández P, Lafuente A, Rodríguez-Llorente I, Caviedes M, Pajuelo E. Self-bioremediation of cork-processing wastewaters by (chloro) phenol-degrading bacteria immobilised onto residual cork particles. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. 2012;46(6):1723-34.
- Gao M, Li L, Liu J. Simultaneous removal of hydrogen sulfide and toluene in a bioreactor: Performance and characteristics of microbial community. Journal of Environmental Sciences. 2011;23(3):353-9.
- Barzegar A, Mortazavi B, Asilian H, Kazemian H. Catalytic degradation of toluene by manganese oxide catalyst loaded on a natural zeolite support. Scientific Journal of Review. 2014;3:345-52.
- Auvinen J, Wirtanen L. The influence of photocatalytic interior paints on indoor air quality. Atmospheric Environment. 2008;42(18):4101-12.
- Moro AM, Brucker N, Charão M, Bulcão R, Freitas F, Baierle M, et al. Evaluation of genotoxicity and oxidative damage in painters exposed to low levels of toluene. Int Biodeterior Biodegradation. 2012;746(1):42-8.
- Estrada Pérez JM. Biotechnologies for air pollution control: overcoming design and operational limitations. Enzyme Microb Technol. 2014.

15. Mohamed EF, Awad G, Andriantsiferana C, El-Diwany AI. Biofiltration technology for the removal of toluene from polluted air using *Streptomyces griseus*. *Environmental technology*. 2016;37(10):1197-207.
16. Álvarez-Hornos FJ, Sempere F, Izquierdo M, Gabaldón C. Lab-scale evaluation of two biotechnologies to treat VOC air emissions: comparison with a pilot unit installed in the plastic coating sector. *Chemistry, Emission Control, Radioactive Pollution and Indoor Air Quality: IntechOpen; Water Res*. 2011.
17. Sodha K, Panchani SC, Nath K. Feasibility study of microbial regeneration of spent activated carbon sorbed with phenol using mixed bacterial culture. *Afr J Biotechnol*. 2013.
18. Estrada JM, Bernal OI, Flickinger MC, Muñoz R, Deshusses MA. Biocatalytic coatings for air pollution control: A proof of concept study on VOC biodegradation. *Biotechnol Bioeng*. 2015;112(2):263-71.
19. Ehrhardt H, Rehm H. Semicontinuous and continuous degradation of phenol by *Pseudomonas putida* P8 adsorbed on activated carbon. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1989;30(3):312-7.
20. Duan H, Koe LC, Yan R, Chen X. Biological treatment of H<sub>2</sub>S using pellet activated carbon as a carrier of microorganisms in a biofilter. *Water Res*. 2006;40(14):2629-36.
21. Moe WM, Li C. A design methodology for activated carbon load equalization systems applied to biofilters treating intermittent toluene loading. *Chem Eng J*. 2005;113(2-3):175-85.
22. Rahmanzadeh E, Golbabaie F, Faghihi Zarandi A, Moussavi SG, Baneshi M. Investigation of activated carbon efficiency in hexavalent chromium adsorption from airflow. *Journal of Health and Safety at Work*. 2017;7(3):191-202.[persian]
23. Manohar S, Kim C, Karegoudar T. Enhanced degradation of naphthalene by immobilization of *Pseudomonas* sp. strain NGK1 in polyurethane foam. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2001;55(3):311-6.
24. El-Naas MH, Al-Muhtaseb SA, Makhlof S. Biodegradation of phenol by *Pseudomonas putida* immobilized in polyvinyl alcohol (PVA) gel. *J Hazard Mater*. 2009;164.5-720:(3-2)
25. Kizito S, Wu S, Wandera SM, Guo L, Dong R. Evaluation of ammonium adsorption in biochar-fixed beds for treatment of anaerobically digested swine slurry: experimental optimization and modeling. *Sci Total Environ*. 2016;563:1095-104.