

BIOFILTRATION OF XYLENE VAPOR BY SELECTED MICROORGANISMS

Miss Aimorn Prachuabmorn

**A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Environmental Management
(Interdisciplinary Program)
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2006
Copyright of Chulalongkorn University**

การย่อยสลายไอรระเหยของไซลีน โดยจุลินทรีย์ในเครื่องกรองชีวภาพ

นางสาวเอมอร ประจวบมอญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

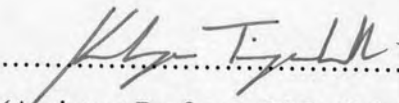
ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


492210

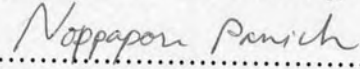
Thesis Title	BIOFILTRATION OF XYLENE VAPOR BY SELECTED MICROORGANISMS
By	Miss Aimorn Prachuabmorn
Field of Study	Environmental Management
Thesis Advisor	Associate Professor Noppaporn Panich, D.Eng.
Thesis Co-advisor	Peter Gostomski, Ph.D.

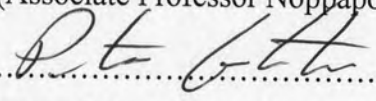
Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Doctoral Degree


.....Dean of the Graduate School
(Assistant Professor M.R. Kalaya Tingsabadh, Ph.D.)

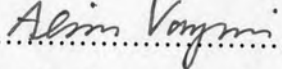
THESIS COMMITTEE

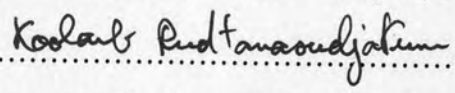
..... Chairman
(Manaskorn Rachakornkij, Ph.D.)

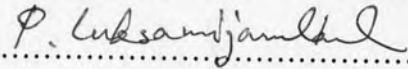
..... Thesis Advisor
(Associate Professor Noppaporn Panich, D.Eng.)

..... Thesis Co-advisor
(Peter Gostomski, Ph.D.)

..... Member
(Assistant Professor Charnwit Kositanont, Ph.D.)

..... Member
(Assistant Professor Alisa Vangnai, Ph.D.)

..... Member
(Associate Professor Koolarb Rudtanasudjatum, Dr.P.H.)

..... Member
(Associate Professor Pipat Luksamijarulkul)

เอมอร ประจวบมอญ : ย่อยสลายไอระเหยของไซลีน โดยจุลินทรีย์ในเครื่องกรองชีวภาพ. (BIOFILTRATION OF XYLENE VAPOR BY SELECTED MICROORGANISMS) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. นภาพร พานิช, อ.ที่ปรึกษาร่วม : Dr. Peter Gostomski 199 หน้า.

การศึกษาการย่อยสลายไอระเหยของไซลีนในห้องปฏิบัติการ การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ตอน ตอนที่1 เป็นการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไซลีนจากเครื่องกรองชีวภาพและคัดเลือกเชื้อจำนวน 3 ชนิดไปศึกษาประสิทธิภาพในเครื่องกรองชีวภาพในตอนที่2 ท่อทรงกระบอกที่ใช้บรรจุตัวกลางมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ความยาว 20 เซนติเมตร โดยมีช่องสำหรับเก็บตัวอย่างไอสาร การศึกษาในตอนที่1 ใช้ชุดตัวกลางซึ่งประกอบด้วยกาบมะพร้าว ร้อยละ75 ปุ๋ยคอก ร้อยละ20 และกากตะกอนน้ำเสีย ร้อยละ5 โดยปริมาตร โดยให้ไอของไซลีนเข้าสู่ระบบเครื่องกรองชีวภาพ 8 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลานาน 1 และ 2 เดือน เพื่อคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการบำบัดไอระเหยของไซลีน ผลการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากเครื่องกรองชีวภาพโดยศึกษาจากรูปร่างลักษณะของเชื้อ และ DNA Sequencing Technique พบว่าเป็นเชื้อราจำนวน 4 ชนิด คือเชื้อ *Aspergillus flavus* (M1) *Aspergillus terreus* (M2) *Penicillium glabrum* (M3) และ *Aspergillus niger* (M4)

การศึกษาในตอนที่2 ได้นำเชื้อราจำนวน 3 ชนิด (M1 M2และ M3) ที่คัดเลือกจากตอนที่ 1 ไปทดสอบประสิทธิภาพในตัวกลางปราศจากเชื้อที่ประกอบด้วยกาบมะพร้าวและปุ๋ยคอกในสัดส่วน70:30 โดยปริมาตร เป็นเวลา 95 วัน โดยมีค่าความชื้นเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 50 ของน้ำหนักตัวกลางแห้ง ในการศึกษาพบวาระบบมีค่าความดันลด 0.25-1 เซนติเมตรน้ำ pH 5.5-8.5 และอุณหภูมิ 28-33 เซลเซียส โดยทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องกรองชีวภาพที่ระดับความเข้มข้นของไซลีน 0.01-6.3 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร ระยะเวลาที่ไอระเหยสัมผัสตัวกลางเป็น 705 วินาที 280 วินาที และ 140 วินาที พบว่าความสามารถสูงสุดในการบำบัดไอระเหยของไซลีน (Maximum Elimination Capacity)ของเชื้อ M1 และ M2 มี ค่า 88 และ 91 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรต่อชั่วโมง ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน โดยเชื้อ M3 สามารถบำบัดไอระเหยของไซลีนได้สูงสุดที่ค่า 115 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่า เชื้อ M1 และ M2

สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม.....ลายมือชื่อ.....

ปีการศึกษา 2549.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....


ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4589694920 : MAJOR ENVIRONMENTAL MANAGEMENT
 KEY WORD: BIOFILTRATION / BIOFILTER / MICROORGANISMS / XYLENE
 / REMOVAL EFFICIENCY / ELIMINATION CAPACITY.

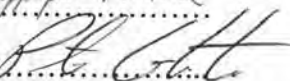
AIMORN PRACHUABMORN: BIOFILTRATION OF XYLENE VAPOR
 BY SELECTED MICROORGANISMS. ADVISOR: ASSOC. PROF.
 NOPPAPORN PANICH, D.Eng. THESIS CO-ADVISOR: PETER
 GOSTOMSKI, Ph.D., 199 pp.

Biofiltration of an air stream containing xylene vapor has been studied in a laboratory. The experimental study consisted of two parts. In the first part, xylene-degrading microorganisms were isolated from biofiltration system and performance study of selected microorganisms was completed in the second part. The biofilter column was 5.0 cm diameter and 200 cm long with gas sampling ports. For the first part, the biofilter medium in the experiment consisted of coconut husk 75%, manure compost 20% and wastewater sludge 5% v/v. Xylene-degrading microorganisms were isolated from the biofilter, which operated under a continuous loading of xylene vapor 8 h/day for 1 and 2 months. Four dominant species of xylene-degrading fungi in biofilter were identified. These dominant species were identified by phenotype and DNA sequencing techniques as *Aspergillus flavus* (M1), *Aspergillus terreus* (M2), *Penicillium glabrum* (M3) and *Aspergillus niger* (M4).

For the second part, three microorganisms (M1, M2 and M3) were selected to individually inoculate biofilters for a performance study using a sterilized biofilter medium consisting of coconut husk and manure at a ratio of 70:30 v/v. Biofiltration of xylene vapor was carried out for 95 days at various concentrations and flow rate conditions. The initial moisture content of the biofilter medium was adjusted to 50% of dry weight. The pressure drop across the bed was 0.25 – 1 cm of H₂O. The pH and temperature were 5.5 to 8.5 and 28 – 33° C, respectively. The various inlet xylene concentrations (0.01 – 6.3 g.m⁻³) were tested with empty bed retention times of 705s, 280s and 140s. The maximum elimination capacities of M1 and M2 (88 and 91 gm⁻³h⁻¹ respectively) were nearly the same, whereas M3 showed a better performance (115 gm⁻³h⁻¹).

Field of study: Environmental Management. Student's signature..... 

Academic year: 2006..... Advisor's signature..... 

Co-advisor's signature..... 

ACKNOWLEDGEMENTS

This dissertation would not have been possible without the guidance of my advisor, co-advisor, committee members, friends and family.

The author wishes to express sincere gratitude to my advisor, Associate Professor Dr. Noppaporn Panich, for her excellent guidance, caring, generous time and commitment. Throughout my doctoral work she encouraged me to develop independent thinking and research skills. Her words of encouragement, quiet urgings and careful reading of all of my writing will never be forgotten. She is one of the rare advisors that students dream that they will find.

I am grateful to Dr. Peter Gostomski, my thesis co-advisor, for his valuable suggestions in publication. His comments and suggestions not merely provided valuable knowledge but broaden perspective in practical applications as well.

I would like to take this opportunity to thank Dr. Manaskorn Rachakornkij, Chairman of the committee, Assistant Professor Dr. Charnwit Kositanont, Assistant Professor Dr. Alisa Vangnai, Associate Professor Dr. Koolarb Rudtanasudjatam, and Associate Professor Pipat Luksamijarulkul, member of thesis committee for valuable suggestions.

I would like to thanks NRC-EHWM, Graduated School Chulalongkorn University and the Faculty of Public Health Burapha, University, Thailand for funding this research.

The special thanks for Miss Nanthawan Mekha from National Institute of Health of Department of Medical Sciences for her support and assistance in fungal identification. Many thanks for Mr. Moustafa Galal for his encouragement and supporting me writing. Thanks for Mr. Teerawet Titseesang and Mr.Somkiat Thoumsang for their support value information for this research. I would like to thanks many friends that cannot mention all names here for their helps and support.

Finally I feel proud to dedicate this dissertation to my parents, siblings and their families for their wholehearted understanding, encouragement, and patient support throughout my entire study.

CONTENTS

	Page
ABSTRACT (IN THAI).....	iv
ABSTRACT (IN ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	x
LIST OF FIGURES.....	xi
NOMENCLATURE.....	xiii
CHAPTER I INTRODUCTION.....	1
1.1 Statement of the Problem.....	1
1.2 Objectives of the Study.....	5
1.3 Scope of this Study.....	5
1.4 Conceptual Framework.....	6
1.5 Benefits of this Study.....	6
CHAPTER II BACKGROUND AND LITERATURE REVIEW.....	7
2.1 Properties of Xylene.....	7
2.2 Source of Xylene	9
2.3 Health Effect of Xylene.....	9
2.3.1 Workplace and Emission Standards of Xylene.....	9
2.3.2 Exposure Routes.....	10
2.3.3 Signs and Symptoms.....	10
2.3.4 Carcinogenicity.....	12
2.3.5 Mutagenicity.....	12
2.3.6 Biological Monitoring of Xylene Exposure.....	12
2.4 The Biodegradation of Xylene	13
2.5 Overview of Biofiltration.....	19
2.6 Basic Types of Waste Gas Treatment.....	22
2.6.1 Bioscrubber.....	24

2.6.2 Biotrickling Filter.....	25
2.6.3 Biofilter.....	27
2.7 Internal Mechanisms in Biofilter.....	27
2.8 Biofilter Terminology.....	29
2.8.1 Empty Bed Residence Time and True Residence Time.....	29
2.8.2 Surface (or Volumetric) and Mass Loading Rate.....	29
2.9 Operation and Biofiltration Performance.....	29
2.9.1 Packing Material	32
2.9.2 Nutrient.....	35
2.9.3 pH.....	37
2.9.4 Moisture Content.....	37
2.9.5 Temperature.....	39
2.9.6 Microorganisms.....	41
2.10 The Relevant Research Studies.....	45
 CHAPTER III METHODOLOGY.....	 60
3.1 Methodology Outline.....	60
3.2 Culture Media.....	60
3.3 Chemicals and Instruments.....	62
3.4 Microorganisms Preparation.....	62
3.5 Isolation and Identification.....	64
3.6 Biofiltration Experiments.....	69
3.7 Monitoring on Microorganisms.....	72
3.8 Analytical Methods.....	72
 CHAPTER IV RESULTS AND DISCUSSIONS.....	 76
4.1 Biofilter Media Moisture Content.....	76
4.2 Operation Control Condition.....	76
4.3 Isolation and Identification of Xylene Degrading Microorganisms.....	77

	Page
4.3.1 Selected Degrading Xylene Microorganisms.....	81
4.3.2 Identification.....	82
4.4 DNA Sequencing.....	84
4.5 Biofiltration Performance.....	88
4.5.1 Influence of Gas Flow Rate	90
4.5.2 Influence of Inlet Concentration.....	94
4.5.3 Elimination Capacity	95
4.5.4 Carbon dioxide Production.....	96
4.6 Monitor on Intermediate Species of Xylene.....	100
4.7 Monitor on Microorganisms.....	100
CHAPTER V CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS.....	102
5.1 Conclusions.....	102
5.1.1 Isolation and Identification of Xylene Degrading Microorganisms.	102
5.1.2 Biofiltration Performance.....	103
5.1.3 Intermediate Species of Xylene.....	106
5.1.4 Monitoring on Microorganisms	107
5.2 Recommendation for Future Work	108
REFERENCES	109
APPENDICES	129
BIOGRAPHY	199

LIST OF TABLES

	Page
Table 2-1 Properties of Xylene.....	8
Table 2-2 Industries using Biofiltration.....	21
Table 2-3 List of Chemicals Treatable by Biofiltration.....	21
Table 2-4 The Technical Characteristics of Bioscrubbers, Biotrickling Filters and Biofilters.....	22
Table 2-5 Comparison of Waste Gas Control Technologies.....	23
Table 4-1 Biofilter Media Moisture Content.....	76
Table 4-2 Operation Conditions.....	77
Table 4-3 Microorganisms from Biofilter.....	78
Table 4-4 Type of Microorganisms in Biofilter.....	81
Table 4-5 Operational Sequence and Conditions for Biofilter.....	91
Table 4-6 Performance of Microorganisms 1 (M1).....	91
Table 4-7 Performance of Microorganisms 2 (M2).....	92
Table 4-8 Performance of Microorganisms 3 (M3).....	92
Table 4-9 Performance of Control Column.....	92
Table 4-10 Monitor on Intermediate Species from Biofilters.....	100
Table 4-11 Total Plate Count of Microorganisms.....	101
Table A-1 Inlet Concentration and Outlet Concentration for M1.....	130
Table A-2 Inlet Concentration and Outlet Concentration for M2.....	130
Table A-2 Inlet Concentration and Outlet Concentration for M3.....	131
Table A-4 Inlet Concentration and Outlet Concentration for Control.....	131
Table A-5 Xylene Inlet Load and Elimination Capacity for M1.....	132
Table A-6 Xylene Inlet Load and Elimination Capacity for M2.....	132
Table A-7 Xylene Inlet Load and Elimination Capacity for M3.....	133
Table A-8 Xylene Inlet Load and Elimination Capacity for Control.....	133
Table A-9 Carbon dioxide Production (PCO ₂) for M1, M2, and M3.....	134
Table A-10 Carbon dioxide Production Rate Ratio for M1, M2, and M3.....	134

LIST OF FIGURES

	Page
Figure 1 -1 Conceptual Framework.....	6
Figure 2-1 Xylene Isomers.....	7
Figure 2-2 Aerobic Degradation of the BTEX Chemicals.....	14
Figure 2-3 Anaerobic Degradation of the BTEX Chemicals.....	14
Figure 2-4 o-Xylene Pathway Map.....	16
Figure 2-5 m-Xylene Pathway Map.....	17
Figure 2-6 p-Xylene Pathway Map.....	18
Figure 2-7 Process Diagram for a Biofilter System.....	20
Figure 2-8 Schematic Diagram of a Bioscrubber.....	25
Figure 2-9 Schematic Diagram of a Biotrickling Filter.....	26
Figure 2-10 Schematic Diagram of a Biofilter.....	27
Figure 2-11 Internal Mechanisms of Biofilter.....	28
Figure 3-1 Mixing Chamber.....	64
Figure 3-2 Bacterial Isolation and Identification.....	66
Figure 3-3 Fungal Isolation and Identification.....	66
Figure 3-4 Inoculation of Biofilter Media in Liquid Medium.....	67
Figure 3-5 Biochemical Test.....	67
Figure 3-6 Schematic of Four-Columns Biofiltration System.....	70
Figure 3-7 The Protocol of DNA Sequencing Method for Fungal Identification.....	75
Figure 4-1 <i>Aspergillus flavus</i>	78
Figure 4-2 <i>Aspergillus terreus</i>	79
Figure 4-3 <i>Penicillium glabrum</i>	79
Figure 4-4 <i>Aspergillus niger</i>	80
Figure 4-5 Colonies of Glucose Non Fermentative Bacteria.....	80
Figure 4-6 Removal Efficiency and Times at Different Flow Rate.....	93
Figure 4-7 Trendline of Removal Efficiency and Times.....	94
Figure 4-8 % Removal Efficiency and Inlet Concentration.....	95

	Page
Figure 4-9 Elimination Capacity and Loading Rate.....	96
Figure 4-10 Carbon dioxide Production and Loading Rate.....	98
Figure 4-12 Carbon Dioxide Production and Elimination Capacity.....	99
Figure 4-13 % Removal Efficiency and Carbon Dioxide Production.....	99
Figure B-1 Balance.....	136
Figure B-2 Descicator.....	136
Figure B-3 Autoclave.....	136
Figure B-4 Hot Air Oven.....	136
Figure B-5 Shaker	137
Figure B-6 Laminar Flow.....	137
Figure B-7 Gas Chromatography Mass Spectrometry.....	137
Figure B-8 Gas Chromatography (FID).....	138
Figure B-9 Gas Chromatography (TCD).....	138
Figure B-10 DNA Sequencer.....	139
Figure B-11 Four Column of Biofilters.....	139
Figure B-12 Biofilter Compartment.....	140
Figure B-13 Biofilter Media.....	141
Figure B-14 Materials for Microorganisms Preparation.....	141

NOMENCLATURE

T	= Temperature, °C
t	= Time, s
C _{in}	= Inlet Concentration of the Xylene in the Gas Phase (g m ⁻³)
C _{out}	= Outlet Concentration of the Xylene in the Gas Phase (g m ⁻³),
EC	= Elimination Capacity of Xylene (g m ⁻³ h ⁻¹)
IL	= Inlet Load of Xylene (g m ⁻³ h ⁻¹)
CFU	= Colony Forming Units
Q	= Gas Flow Rate (L/m, m ³ h ⁻¹)
V	= Volume of the Filter Bed (m ³)
RE	= Removal Efficiency of Pollutant (%)
C _{CO₂,in}	= Inlet Concentration of Carbon dioxide in the Gas Phase (g m ⁻³)
C _{CO₂,out}	= Outlet Concentration of Carbon dioxide in the Gas Phase (g m ⁻³)
ΔCO ₂	= Carbon dioxide Production (g m ⁻³)
P _{CO₂}	= Carbon dioxide Production rate (g m ⁻³ h ⁻¹)
MEA	= Malt Extract Agar
PDA	= Potato Dextrose Agar
CCT	= Coconut Charcoal Sorbent Sample Tube
BTEX	= Benzene, Toluene, Ethylbenzene and Xylene
EBRT	= Empty Bed Residence Time

- M1 = Microorganism Type 1 (*Aspergillus flavus*)
- M2 = Microorganism Type 2 (*Aspergillus terreus*)
- M1 = Microorganism Type 1 (*Penicillium glabrum*)
- M4 = Microorganism Type 4 (*Aspergillus niger*)