Ministry of Science, Research and Technology
Institute for Color Science & Technology

available online @ www.jcst.icrc.ac.ir
Journal of Color Science and Technology, 16, 2(2022), 147-159
Article type: Research article
Open access

Journal of Color Science and Technology
www.jcst.icrc.ac.ir

Evaluation of Decolorization Mechanism of Bicomponent Dye Wastewater During Treatment in the Microbial Fuel Cell

Mohammad Kanafchian, Babak Noroozi*, Mojtaba Akbari Dogolsar
Textile engineering department, University of Guilan, P.O. Box: 41635- 3756, Rasht, Iran

ARTICLE INFO

Article history:
Received: 15-05-2021
Accepted: 18-10-2021
Available online: 11-09-2022
Print ISSN: 1735-8779
Online ISSN: 2383-2169

DOR: 20.1001.1.17358779.1401.16.2.6.0

Keywords:
Microbial fuel cell
Decolorization mechanism
Dye
Bicomponent wastewater

ABSTRACT

The textile dyeing industries' wastewater is classified as a highly toxic composition of toxic compounds, and their release into the environment causes a severe biotic risk to the ecosystem. Microbial fuel cell (MFC) is a promising technology for treating textile wastewater and corresponding electricity generation. This work studied the decolorization mechanism of Reactive Blue 4 (RB4) and acid Red 88 (AR88) dyes in the binary mixture in an MFC using baker's yeast. The decolorization of dyes was analyzed using spectrophotometry methods: UV-Vis, FTIR, and COD measurements. The results showed that the decolorization on the first day was taken place very fast, which can be attributed to biosorption and bioaccumulation mechanisms. Analyzing the FTIR spectrum revealed that the decolorization was also caused by biological decomposition on the fourth and fifth days. The decolorization efficiency for the two dyes differed after the fifth day, and the final decolorization of AR88 and RB4 was 96 % and 85 %. The COD removal of synthetic wastewater from treatment was 87 %.

***Corresponding author**: **babaknoroozi@guilan.ac.ir**

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

نشریه علمی علوم و فناوری رنگ
Journal of Color Science and Technology
www.jcst.icrc.ac.ir

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
پژوهشگاه رنگ

دسترسی آنلاین: www.jcst.icrc.ac.ir
نشریه علمی علوم و فناوری رنگ/ ۱۶، (۱۴۰۱)۲، ۱۵۹ـ۱۴۷
نوع مقاله: پژوهشی
دسترسی آزاد

ارزیابی سازوکار رنگ‌زدایی پساب رنگی دوجزئی طی فرآیند تصفیه در پیل سوختی میکروبی

محمد کنف‌چیان[۱]، بابک نوروزی[۲*]، مجتبی اکبری دوگلسر[۳]
۱ـ دانشجوی دکترا، گروه مهندسی نساجی، دانشکده فنی، دانشگاه گیلان، صندوق پستی: ۳۷۵۶-۴۱۶۳۵
۲ـ دانشیار، گروه مهندسی نساجی، دانشکده فنی، دانشگاه گیلان، صندوق پستی: ۳۷۵۶-۴۱۶۳۵
۳ـ استادیار، گروه مهندسی نساجی، دانشکده فنی، دانشگاه گیلان، صندوق پستی: ۳۷۵۶-۴۱۶۳۵

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۲۶
در دسترس به صورت الکترونیکی: ۱۴۰۱/۶/۲۰
شاپا چاپی: ۸۷۷۹-۱۷۳۵
شاپا الکترونیکی: ۲۱۶۹-۲۳۸۳

DOR: 20.1001.1.17358779.1401.16.2.6.0

واژه‌های کلیدی:
پیل سوختی میکروبی
مکانیسم رنگزدایی
رنگزا
پساب دو جزئی

چکیده

پساب رنگی صنایع نساجی در ردیف ترکیبات سمی طبقه‌بندی می‌شود و رهاسازی آنها به طبیعت آسیب‌های شدیدی را به محیط‌زیست وارد می‌سازد. یکی از فناوری‌های جدید جهت تصفیه پساب نساجی، استفاده از پیل سوختی میکروبی می‌باشد. در این پژوهش، سازوکار رنگزدایی پساب حاوی مخلوط دوتایی از رنگزاهای ری‌اکتیو آبی ۴ و اسید قرمز ۸۸ در پیل سوختی میکروبی توسط روش‌های طیف‌سنجی چون UV-Vis، FTIR و COD بررسی شد. نتایج نشان داد که در روز اول فرآیند رنگ‌زدایی سریع انجام شد که می‌تواند به جذب سطحی زیستی توسط سلول‌های مخمر و سازوکار تجمع زیستی نسبت داده شود. همچنین با بررسی طیف FTIR، نشانه‌هایی از رنگ‌زدایی از طریق سازوکار تجزیه زیستی در روزهای چهارم و پنجم نیز مشاهده گردید. درصد رنگ‌زدایی نهایی پس از ۵ روز بین دو رنگ متفاوت بود و برای اسید قرمز ۸۸، ۹۶ و برای ری‌اکتیو آبی ۴، ۸۵ گزارش شد. درصد حذف COD نهایی پساب نیز ۸۷ به دست آمد.

***Corresponding author**: **babaknoroozi@guilan.ac.ir**

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

۱ـ مقدمه

رنگزاهای آزویی و ری‌اکتیو دسته بزرگی از رنگزاهای مصنوعی مورد استفاده در صنایع نساجی و رنگ‌سازی هستندکه متاسفانه به مقدار زیاد در پساب خروجی این کارخانجات وجود دارند. حذف این مواد قبل از ورود آنها به آبهای آزاد از آنجا حائز اهمیت است که می‌توانند با کدر کردن آب، از یک طرف مانع از رسیدن نور به جانداران آبزی و از طرف دیگر با واکنش با اکسیژن محلول (DO) در آب سبب کاهش سطح اکسیژن محلول محیط آبی و به خطر افتادن زندگی آبزیان گردد. همچنین این مواد به دلیل سمی و خطرناک بودنشان می‌توانند از طریق ورود مستقیم به بدن جانداران بر زنجیره غذایی انسان نیز تأثیر منفی بگذارند. روش‌های مختلف شیمیایی و فیزیکی مانند انعقاد- لخته‌سازی، اکسید کردن، اسمز معکوس، نانو فیلتراسیون و اولترا فیلتراسیون برای تصفیه پساب‌های رنگی در صنایع نساجی استفاده شده است اما به کارگیری این روش‌ها حتی در کشورهای در حال توسعه نیز توجیه اقتصادی ندارد [۱، ۲]. پیل سوختی میکروبی یکی از فناوری‌های امیدوارکننده جهت تصفیه انواع پساب‌ها به همراه تولید الکتریسیته معرفی شده است. این فناوری از میکروارگانیسم‌ها به عنوان کاتالیزور برای اکسید کردن ترکیبات آلی و تبدیل انرژی شیمیایی آنها به انرژی الکتریکی استفاده می‌کند. یک پیل استاندارد شامل دو بخش اصلی آند و کاتد است که توسط غشای تبادل آنیونی یا کاتیونی از یکدیگر جدا می‌شود. در محفظه آند، که تحت شرایط بی‌هوازی کار می‌کند، میکروارگانیسم‌ها ترکیبات آلی را اکسید کرده و دی‌اکسید کربن، الکترون و پروتون آزاد می‌کنند. الکترون‌ها سپس توسط الکترود آند جمع شده و از مدار خارجی به الکترود کاتد منتقل می‌شوند و پروتون‌ها نیز از طریق غشا به محفظه کاتد مهاجرت می‌کنند. در محفظه کاتد، که تحت شرایط هوازی کار می‌کند، الکترون‌ها و پروتون‌ها با اکسیژن ترکیب می‌شوند و این واکنش کاهشی، سبب کامل شدن مدار الکتریکی پیل می‌گردد [۳]. استفاده از پیل سوختی میکروبی برای تصفیه پساب‌های رنگی مورد توجه بسیاری از محققان در سرتاسر جهان قرار گرفته و مقالات زیادی در این زمینه منتشر شده است. محققان دریافتند که با وارد نمودن رنگزا به محفظه آند و یا کاتد پیل، بیش از ۸۰ درصد رنگزا حذف می‌شود [۴، ۵]. استفاده از مخمر نانوایی به عنوان میکروارگانیسم جهت از بین بردن موفقیت‌آمیز رنگزاها نیز مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. از مزایای مهم به کارگیری مخمر جهت تصفیه پساب‌های رنگی نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها، ارزانی، فراوانی و در دسترس بودن و سازگاری در شرایط سخت محیطی مانند مقادیر پایین pH، تغییرات شدید دما و امکان رشد و تکثیر آنها در پساب‌های با غلظت آلایندگی بالا می‌باشد [۶، ۷]. رنگزدایی از پساب توسط مخمر به عنوان یک فرآیند متابولیسمی در نظر گرفته می‌شود و بطورکلی از طریق سه سازوکار اتفاق می‌افتد. جذب سطحی زیستی، تجمع زیستی و تجزیه زیستی. اتصال رنگزا به مخمر از طریق گروه‌های فعال موجود در سطح سلول (مانند پلی‌ساکاریدهای اسیدی، لیپیدها، اسیدهای آمینه و سایر اجزای سلول) را جذب سطحی زیستی گویند که می‌تواند توسط سلول مخمر زنده و یا مرده انجام شود. جذب از طریق دیواره سلولی مخمر به عنوان سازوکار اصلی حذف رنگزا می‌باشد و به پارامترهای مختلفی مانند pH، غلظت اولیه رنگزا، مقدار مخمر و دما بستگی دارد [۸]. تجمع زیستی سازوکار دیگری است که در آن رنگزاها از طریق میکروارگانیسم‌های فعال در حال رشد حذف می‌شوند. برخی از محققان دریافتند که اگر در محیط رشد میکروارگانیسم‌ها مقدار کافی از منابع کربن و نیتروژن موجود باشد، سازوکار تجمع زیستی سازوکار غالب برای حذف انواع رنگ‌های نساجی خواهد بود. به عبارت دیگر، اصلی‌ترین محدودیت جهت عدم وقوع سازوکار تجمع زیستی در حذف رنگزا، فراهم نبودن شرایط رشد میکروارگانیسم و یا غلظت بیش از حد رنگزا در پساب است که سبب محدود و یا متوقف شدن فعالیت میکروارگانیسم‌ها می‌گردد [۹]. سازوکار تجزیه زیستی، سازوکار دیگری است که وابسته به انرژی است و در آن آنزیم‌های موجود در میکروارگانیسم زنده، زنجیره مولکولی رنگزاها را به قطعات کوچک‌تر تجزیه کرده و منابع کربنی حاصله را جهت رشد بیشتر خود مصرف می‌کند. اگر این تجزیه ساختار مولکولی تا تخریب کامل پیش رود، محصولات ساده و غیرسمی مانند CO_2، H_2O، NH_3، CH_4 و PO_3 تولید خواهد شد که این فرآیند را کانی‌سازی می‌نامند [۱۰، ۱۱]. به طورکلی بیشتر پژوهش‌های صورت پذیرفته در این حوزه به بررسی رنگزدایی از پساب حاوی یک یا چند نوع رنگزا می‌پردازد و درصد حذف آنها را در پایان فرآیند مدنظر قرارداده است. به عبارت دیگر اینکه در حین فرآیند رنگزدایی چه تغییراتی در غلظت روزانه هریک از رنگزاها رخ می‌دهد و درصد و سرعت حذف روزانه هر کدام از رنگزاها چگونه و به چه علت است، مواردی است که در این پژوهش، با بررسی سازوکار رنگ‌زدایی پساب دوجزئی شامل دو نوع رنگزا با ساختار مولکولی مختلف، به آن پرداخته شده است.

۲ـ تجربی

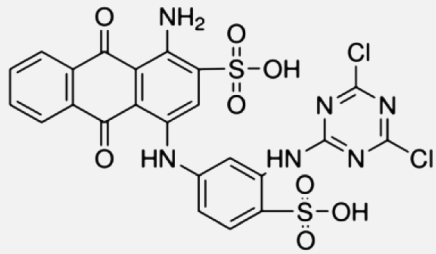
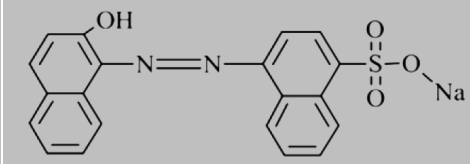
۲ـ۱ـ مواد

۲ـ۱ـ۱ـ رنگزا

در این پژوهش از دو رنگزا ری‌اکتیو آبی ۴ و اسید قرمز ۸۸ به دلیل ساختار متفاوت و کاربرد زیاد آنها در صنایع نساجی استفاده شد. رنگزاها محصول شرکت سیگما آلدریچ (ساخت آمریکا) بود و بدون هرگونه خالص‌سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت. ساختار و خصوصیات شیمیایی رنگزاها در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: ساختار شیمیایی رنگزاها.

Table1: chemical structures of the dyes.

Dye	Molecular structure	Molecular weight (g/mol)	Maximum absorption (nm)
Reactive Blue 4		637.43	595
Acid Red 88		400.38	505

۲ـ۱ـ۲ـ میکروارگانیسم

در این پژوهش از مخمر نانوایی (شرکت خمیرمایه و الکل رازی، ایران) به عنوان میکروارگانیسم استفاده شد که از گروه قارچ‌های تک‌سلولی و از گونه ساکارومایسس سرویزیه محسوب می‌شود و برای رشد و تکثیر نیاز به ترکیبات آلی دارد. این میکروارگانیسم در بافر فسفات با غلظت ۰٫۲ مولار و pH = ۶ که شامل ۲٫۰۰ گرم بر لیتر گلوکز، ۱٫۰۰ گرم بر لیتر مخمر خشک، ۰٫۰۸ گرم بر لیتر اوره بود، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. سپس، این محلول در سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و سلول‌های مخمر جداسازی شد و دو بار با آب مقطر شستشو گردید. این سلول‌ها دوباره در ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰٫۲ مولار سوسپانسیون شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بعنوان بانک سلولی نگهداری شد. این سوسپانسیون قبل از استفاده در پیل سوختی میکروبی باید به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد فعال‌سازی شود.

۲ـ۲ـ روش کار

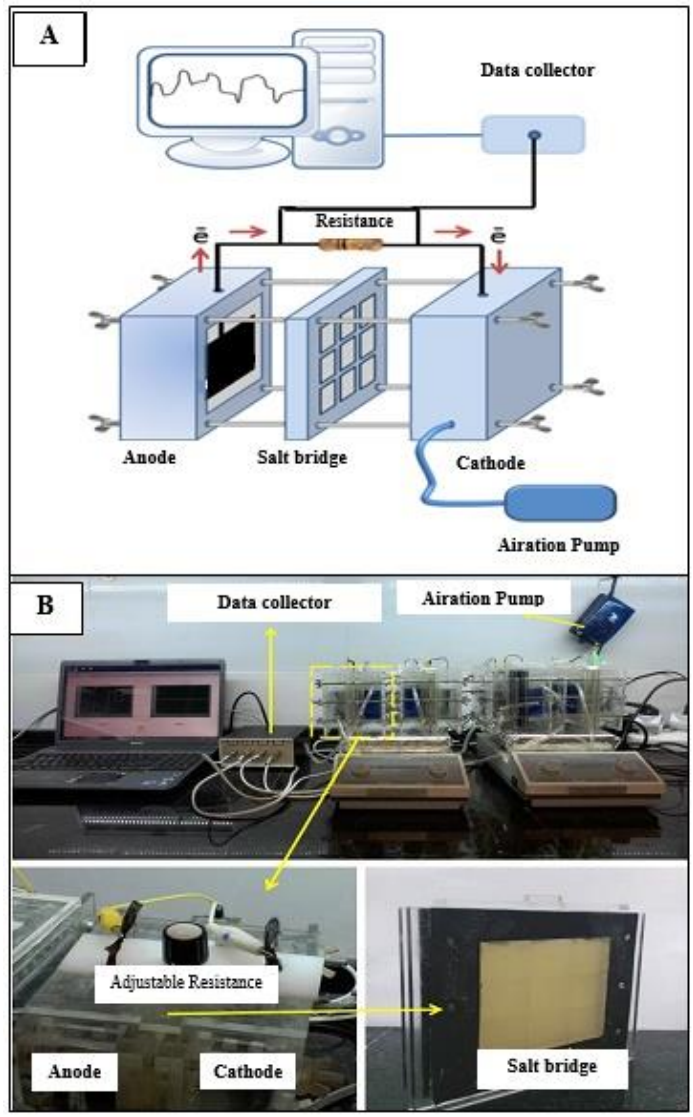
۲ـ۲ـ۱ـ ساختار پیل سوختی میکروبی

پیل سوختی میکروبی از دو محفظه مستطیل شکل (آند و کاتد) از جنس پلکسی گلاس ساخته شد که حجم موثر هر محفظه ۲۵۰ میلی‌لیتر و ابعاد آن ۴ cm × ۱۰ cm × ۱۰ cm بود . بین این دو محفظه پل نمکی ژله مانندی از جنس آگار، به عنوان غشای تبادل یونی، به ابعاد ۱٫۵ cm × ۸ × ۸ قرار داده شد. روش ساخت این پل نمکی بدین صورت است که ۵ درصد (وزنی/حجمی) پودر آگار-آگار دی‌هیدراته (QUELAB، ساخت کانادا) در محلول ۱ مولار KCl با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد حل شد تا محلول کاملا همگن و شفاف و بدون حبابی تهیه گردد. سپس این ترکیب گرم در محفظه مشبکی که جهت شکل‌دهی پل نمکی ساخته شده بود تزریق شد تا پس از سرد شدن کاملا سفت و ژله‌ای شود. از پارچه کربن در ابعاد ۵×۸ cm نیز به عنوان الکترود در محفظه آند و کاتد استفاده شد و توسط میله گرافیتی به ابعاد ۱۲۰ mm× ۲ به مقاومت بیرونی متصل شد. قبل از استفاده، برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب، تمامی قطعات پیل به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ پاسکال در دستگاه اتوکلاو (شرکت ایران طب زعیم، ساخت ایران) استریل شد. تصویر شمایی و حقیقی پیل ساخته شده در تصویر ۱ نشان داده شده است.

۲ـ۲ـ۲ـ راه‌اندازی پیل

محفظه آند با ۲۰۰ میلی‌لیتر پساب مصنوعی ساخته شده حاوی ۱٫۰۰ گرم بر لیتر NH_4Cl؛ ۰٫۱۰ گرم بر لیتر KCl؛ ۰٫۱۰ گرم بر لیتر $CaCl_2$؛ ۱٫۰۰ گرم بر لیتر NaCl؛ ۰٫۰۱ گرم بر لیتر $CuSO_4.5H_2O$؛ ۰٫۱۰ گرم بر لیتر $ZnCl_2$؛ ۰٫۳۰ گرم بر لیتر $MgSO_4.6H_2O$؛ ۱٫۰۰ گرم بر لیتر گلوکز مونوهیدرات؛ ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگزای ری‌اکتیو آبی ۴ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر رنگزای اسید قرمز ۸۸ پر شد. این پساب مشابه پساب مصنوعی ساخته شده توسط فریره و همکارانش است؛ با این تفاوت که نوع رنگزاها در اینجا متفاوت است [۱۱].

محفظه کاتد با ۲۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰٫۲ مولار با pH = ۶ پر شد و برای تأمین اکسیژن به عنوان یک گیرنده الکترون در محفظه کاتد، هوای محیط توسط پمپ هوای آکواریومی با شارش ۱۰ میلی‌لیتر در دقیقه به طور مداوم به داخل این محفظه دمیده شد. جهت راه‌اندازی پیل، ۵۰ میلی لیتر از سوسپانسیون مخمر فعال شده به محفظه آند (۲۰ درصد از حجم آند) اضافه شد و پیل سوختی میکروبی در حالت مدار باز شروع به کار کرد تا به بیشینه ولتاژ برسد و مخمر بدون هیچگونه تنش ناشی از مقاومت خارجی، با محیط پساب سازگار شود. جهت فراهم آمدن شرایط بی‌هوازی در محفظه آند نیز، گاز نیتروژن قبل از راه‌اندازی پیل به مدت ۱۵ دقیقه در آنولیت (محلول محفظه آند) دمیده شد و سپس درپوش آند بسته و کاملاً با گریس سیلیکونی آب‌بندی گردید. تمامی آزمایشات به مدت ۱۲۰ ساعت (۵ شبانه روز) در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و مقاومت خارجی ۱ کیلو اهم انجام پذیرفت. از هم‌زن مغناطیسی با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه نیز جهت اختلاط مناسب آنولیت در طول آزمایش استفاده شد. بجز رنگزا و آگار- آگار که در بالا ذکر گردید، سایر مواد شیمیایی از شرکت مرک (ساخت آلمان) خریداری شدند.



تصویر ۱: تصویر شمایی (a) و تصویر حقیقی (b) پیل سوختی میکروبی ساخته شده.

Picture 1: Schematic (a) and real (b) picture of constructed MFC.

۲ـ۲ـ۳ـ اندازه‌گیری ولتاژ پیل

جهت ثبت لحظه‌ای ولتاژ پیل‌ها، دستگاهی ۴ کاناله طراحی و ساخته شد که در محیط نرم افزار labview کار می‌کرد و به صورت هم‌زمان داده‌های خروجی چهار پیل را بصورت برخط ثبت و ذخیره می‌نمود. این دستگاه قادر بود در فواصل زمانی مختلف داده‌های اندازه‌گیری شده لحظه‌ای را میانگین بگیرد و در رایانه ذخیره کند.

۲ـ۲ـ۴ـ ارزیابی سازوکار رنگزدایی

۲ـ۲ـ۴ـ۱ـ UV-Vis

رنگزای موجود در آنولیت قبل و بعد از رنگ‌زدایی روزانه با استفاده از روش‌های مختلف مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در ابتدا ارزیابی رنگزدایی توسط دستگاه طیف‌سنج UV-Vis مدل Jenway (ساخت انگلستان) صورت پذیرفت. جهت انجام این سنجش، ۲ میلی‌لیتر آنولیت توسط سرنگ از محفظه آند بیرون کشیده شد و جهت حذف زیست توده معلق از آن از صافی سر سرنگی ضدعفونی شده با اندازه منافذ ۰,۲۲ میکرومتر استفاده شد.

۲ـ۲ـ۴ـ۲ـ FTIR

جهت درک بیشتر سازوکار رنگ‌زدایی، اندازه‌گیری روزانه طیف FTIR از آنولیت بدون هیچگونه آماده‌سازی نمونه انجام شد. این سنجش در ناحیه عدد موج cm^{-1} ۴۰۰۰-۴۰۰ و با سرعت اسکن ۱۶ و توسط دستگاه Varian (ساخت آمریکا) انجام شد.

۲ـ۲ـ۴ـ۳ـ سنجش COD

جهت بررسی تغییرات COD در طول انجام فرآیند تصفیه، ۲ میلی‌لیتر آنولیت توسط سرنگ از محفظه آند بیرون کشیده شد و جهت حذف زیست توده معلق از آن، از صافی سر سرنگی ضد عفونی شده با اندازه منافذ ۰,۲۲ میکرومتر استفاده شد. مقدار COD بصورت روزانه و با استفاده از ترمورآکتور AQUALYTIC مدل AL125 (ساخت آلمان) و فتومتر AQUALYTIC مدل AL250 (ساخت آلمان) و براساس روش استاندارد APHA اندازه‌گیری شد [۱۲]. بازده حذف COD پساب توسط پیل نیز با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

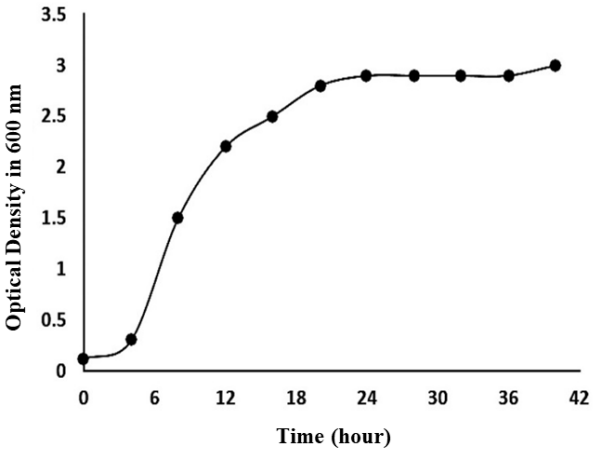
$$\text{بازده حذف COD} = ((COD_{int} - COD_{out}) / COD_{int}) \times 100 \quad (۱)$$

که در اینجا COD_{int} غلظت COD اولیه پساب بر حسب میلی‌گرم بر لیتر، قبل از افزودن مخمر فعال و آغاز بکار پیل است و COD_{out} نشان‌دهنده غلظت COD پساب بر حسب میلی‌گرم بر لیتر پس از پایان فرآیند تصفیه توسط پیل سوختی میکروبی است. تمامی آزمایشات با سه تکرار انجام شده و نتایج سنجش‌ها به صورت میانگین گزارش شده است.

۳ـ نتایج و بحث

۳ـ۱ـ بررسی ولتاژ پیل

پس از راه‌اندازی پیل با ورود مخمر به آن، ولتاژ پیل شروع به افزایش کرد و در مدت زمان ۲ ساعت تا مقدار ۵۴۸ میلی‌ولت بالا رفت. این افزایش ولتاژ نشان از فعال بودن مخمر و سازگار شدن آن در محیط پساب است بنابراین پیل از حالت مدار باز خارج شد و به مقاومت خارجی ۱ کیلو اهم متصل شد. با اتصال مقاومت، ولتاژ به یکباره افت کرد و پیل به اصطلاح تخلیه گردید. پس از گذشت مدت زمان کوتاهی دوباره افزایش ولتاژ مشاهده شد و ولتاژ پیل پس از گذشت یک شبانه روز به مقدار ۲۴۲ میلی‌ولت رسید و ثابت ماند. این مقدار تقریبا به مدت ۳ روز ثابت ماند و پس از آن به تدریج کاهش یافت. اما علت اینکه در شبانه روز اول افزایش ولتاژ مشاهده شد اینست که مخمر به دلیل وجود گلوگز فراوان در فاز لگاریتمی رشد قرار دارد بنابراین میزان الکترون آزاد شده در اثر شکستن پیوندهای مولکول گلوکز رو به افزایش است که منجر به بالا رفتن ولتاژ می‌گردد (شکل ۱). پس از یک روز از فعالیت پیل و پس از رسیدن به مرحله ثابت رشد که در آن میزان زایش و مرگ و میر مخمر با هم برابر می‌شود ولتاژ نیز همواره ثابت می‌ماند. پس از ۳ روز که فاز مرگ مخمر آغاز می‌شود ولتاژ تولیدی نیز رو به کاهش می‌رود [۳].



شکل ۱: منحنی رشد مخمر.

Figure 1: Yeast growth curve.

۳ـ۲ـ تجزیه و تحلیل UV-Vis

برای محاسبه غلظت رنگزاها در محیط مخلوط، از روش نسبت جذب استفاده شد. در این روش نسبت جذب مخلوط در دو طول موج معین را به عنوان شاخصی جدید معرفی می‌کنند. یکی از این طول موج‌ها، طول موجی است که بیشینه جذب یکی از دو رنگزا در آن اتفاق افتاده و دیگری طول موجی است که هر دو رنگزا در آن مقدار جذب یکسانی داشته و بعبارت دیگر محل تلاقی دو نمودار جذب می‌باشد و نقطه هم جذب نام دارد [۱۳]. همان‌طورکه در شکل ۲ نشان داده شده از هم‌پوشانی نمودار جذب دو رنگزا در محدوده طول موج ۷۰۰-۴۰۰ نانومتر مشخص است که ری اکتیو بلو ۴ (X) در طول موج ۵۹۵ نانومتر و اسید قرمز ۸۸ (Y) در ۵۰۵ نانومتر بیشینه جذب را دارند و نقطه هم جذب آن‌ها نیز در ۵۶۵ نانومتر رخ داده است. بنابراین اگر نقطه هم جذب نقطه اول و طول موج بیشینه جذب برای ری‌اکتیو آبی ۴ نیز نقطه دوم درنظر گرفته شود، غلظت دو رنگزا در مخلوط را می‌توان با استفاده از رابطه‌های ۲ و ۳ محاسبه کرد.

$$C_X = [(Q_M - Q_Y) / (Q_X - Q_Y)] \times A_1 / ax_1 \quad (۲)$$

$$C_Y = [(Q_M - Q_X) / (Q_Y - Q_X)] \times A_1 / ay_1 \quad (۳)$$

در اینجا C_X غلظت نهایی رنگزای ری‌اکتیو آبی ۴، C_Y غلظت نهایی رنگزای اسید قرمز ۸۸، A_1 و A_2 به ترتیب مقدار جذب مخلوط در ۵۶۵ نانومتر و ۵۹۵ نانومتر، ax_1 و ay_1 به ترتیب مقدار جذب ری‌اکتیو آبی ۴ و اسید قرمز ۸۸ در ۵۶۵ نانومتر، ax_2 و ay_2 به ترتیب مقدار جذب ری‌اکتیو آبی ۴ و اسید قرمز ۸۸ در ۵۹۵ نانومتر، $Q_M = A_2 / A_1$ نسبت جذب، $Q_X = ax_2 / ax_1$ و $Q_Y = ay_2 / ay_1$ می‌باشد.

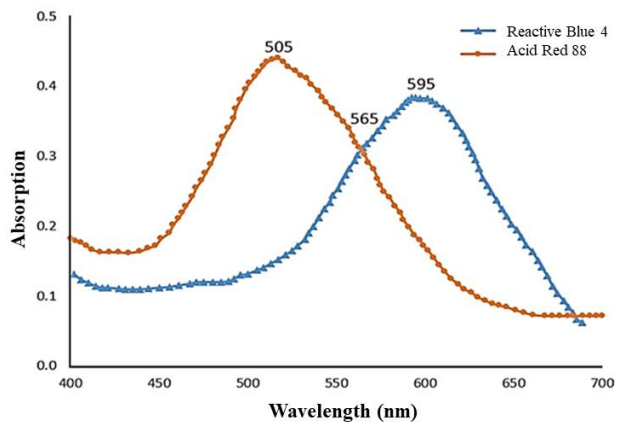
بازده رنگ‌زدایی پیل برای هر رنگزا نیز توسط رابطه ۴ به دست می‌آید:

$$\text{بازده رنگزدایی} = ((C_0 - C_t) / C_0) \times 100 \quad (۴)$$

که C_0 غلظت اولیه رنگزا در آنولیت قبل از راه‌اندازی پیل و C_t غلظت رنگزا در زمان t است.

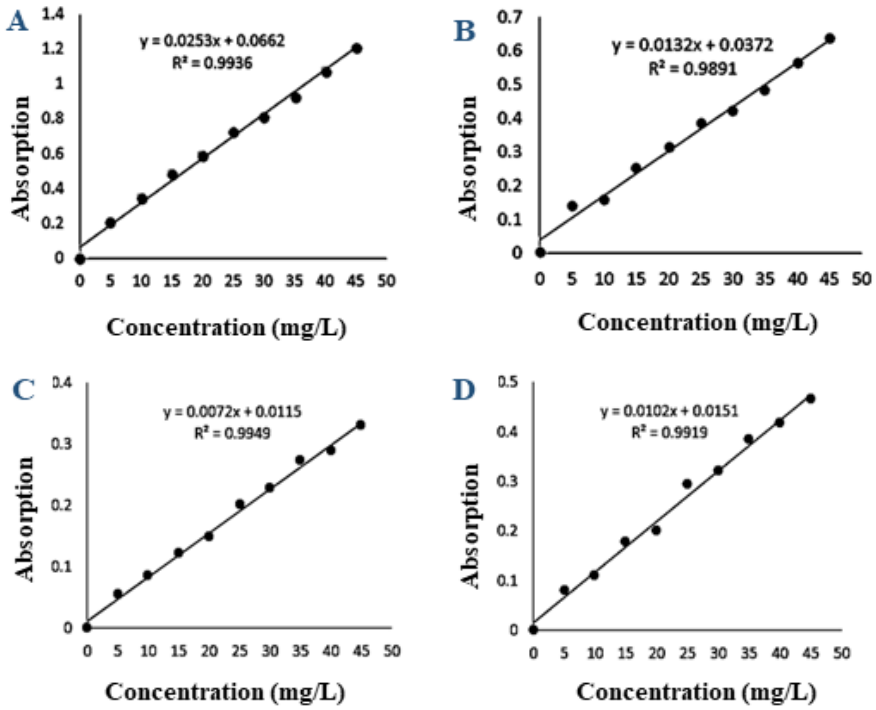
جهت بررسی خطی بودن روش، محلول‌های استانداردی در محدوده غلظت‌های ۴۵-۵ میلی‌گرم بر لیتر برای رنگزاها تهیه شد و میزان جذب آنها در طول موج بیشینه جذب برای هر غلظت رنگزا اندازه‌گیری گردید و در نهایت رابطه‌های رگرسیون و ضرایب جذب با استفاده از منحنی‌های کالیبراسیون به دست آمد (شکل ۴).

مرحله حذف رنگزا را می‌توان با بررسی روزانه رنگ آنولیت مشاهده کرد. همان‌طورکه در تصویر ۲ a نشان داده شده، رنگ بنفش آنولیت در روز اول تقریباً ناپدید شد و در اواسط فرآیند به آبی و در روز آخر به رنگ زرد تغییر یافت. در اولین روز، رنگ‌زدایی بسیار سریع صورت گرفت که می‌توان آنرا به سازوکار جذب سطحی زیستی رنگزا توسط مخمر نسبت داد. لازم به توضیح است که اسید قرمز ۸۸ و ری اکتیو آبی ۴ به دلیل وجود گروه‌های سولفوناتی ($-SO_3^-$) که جهت بهبود خاصیت حلالیت در آب به رنگزا اضافه می‌شود، دارای بار منفی هستند. همچنین، سطح سلول مخمر نیز دارای ۳ گروه عاملی کربوکسیل، فسفونات و آمین است. در pH = ۶، گروه‌های آمینو بار مثبت می‌گیرند بنابراین وجود جاذبه الکترواستاتیک بین رنگزاهای منفی و سلول‌های مثبت مخمر می‌تواند سبب مهاجرت رنگزا از فاز مایع پساب به فاز جامد مخمر شود و در نهایت منجر به تصفیه پساب گردد. نکته مهم اینست که این رخداد سریع و مستقل از متابولیسم مخمر است و توسط سلول‌های زنده و مرده مخمر انجام می‌گیرد [۸]. از سوی دیگر، به علت غلظت بالای گلوکز در روز اول، مخمر در مرحله رشد قرار دارد (شکل ۱)، بنابراین حذف رنگزا می‌تواند از طریق سازوکار تجمع زیستی پیش رود [۹]. شکل ۲ b که تشکیل فیلم زیستی روی الکترود آند را نشان می‌دهد نیز می‌تواند مهر تأییدی بر رشد مخمر باشد. اگرچه هرگونه تغییر رنگ در فرآیند تصفیه زیستی نشان دهنده تجزیه و تغییر ساختار مولکولی رنگزاست اما بدلیل وجود دو نوع رنگزا در آنولیت، قضاوت در مورد این پدیده درست نیست (شکل ۲ a) زیرا این تغییر رنگ ممکن است به دلیل تفاوت در میزان حذف دو رنگزا توسط مخمر و تغییر نسبت غلظت آنها در آنولیت و صرفاً یک پدیده فیزیک رنگی باشد.



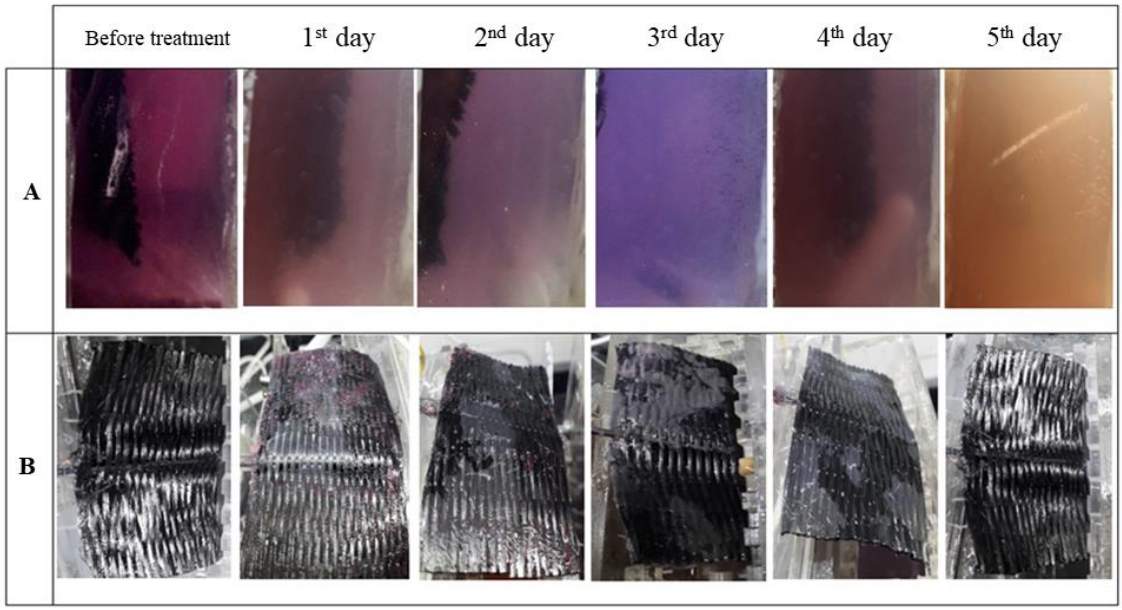
شکل ۲: نمودار طیف جذبی در ناحیه مرئی برای دو رنگزا.

Figure 2: Absorption spectra of the dyes in the visible region.



شکل ۳: نمودار کالیبراسیون اسید قرمز ۸۸ در طول موج ۵۰۵ نانومتر (a)، اسید قرمز ۸۸ در طول موج ۵۶۵ نانومتر (b)، ری‌اکتیو آبی ۴ در طول موج ۵۹۵ نانومتر (c) و ری‌اکتیو آبی ۴ در طول موج ۵۶۵ نانومتر (d)

Figure3: Calibration curve for AR88 in 505 nm (a), AR88 in 565 nm (b), RB4 in 595 nm (c), and RB4 in 565 nm (d).

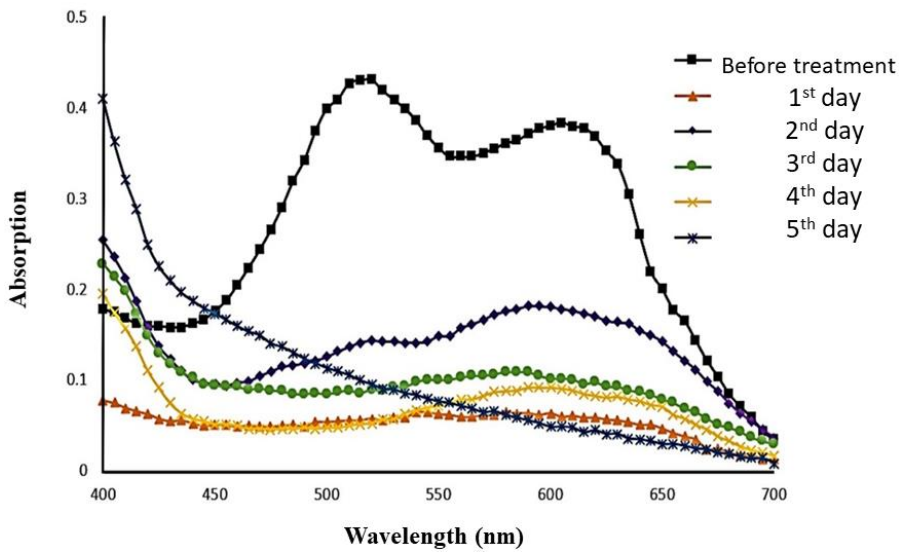


تصویر ۲: تصویر روزانه از ظاهر آنولیت (a) و الکترود آند (b).

Picture 2: Daily image of anolyte (a) and anode (b) electrode appearance.

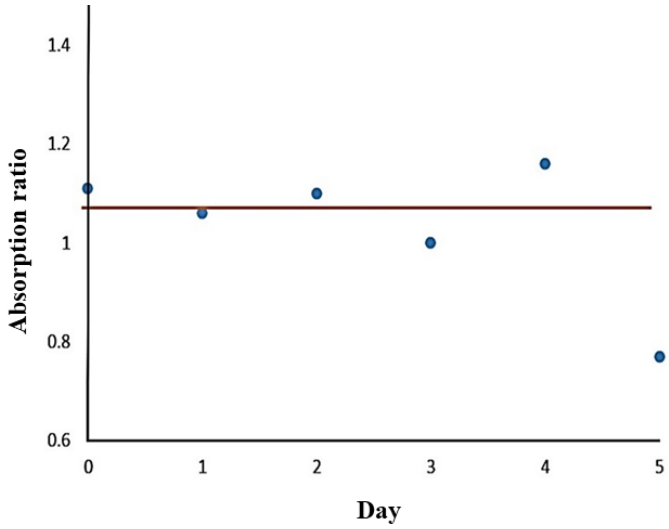
بر این اساس، جهت درک بهتر سازوکار رنگزدایی، طیف‌سنجی UV-Vis انجام شد. شکل ۴ طیف جذبی آنولیت را در طول مدت ۵ روز نشان می‌دهد. همان‌طورکه مشاهده می‌شود، در روز اول، کاهش شدیدی در دو قله مشاهده شد اما در روز دوم، مقدار جذب در قله‌ها افزایش قابل‌توجهی پیدا کرد. این رفتار را می‌توان به رشد سریع مخمر در روز اول (شکل ۱) و به دام افتادن رنگزاها در هنگام تشکیل فیلم زیستی بر روی الکترود نسبت داد (شکل ۲ b روز اول). بنابراین، مقداری از رنگزا توسط فیلم زیستی از آنولیت حذف می‌شود. در روز دوم، رشد مخمر وارد فاز ثابت می‌شود یعنی سرعت زایش و مرگ سلول مخمر با هم برابر می‌شود بنابراین احتمال جداشدن فیلم زیستی از الکترود و تشکیل دوباره آن وجود دارد. درنتیجه رنگزای به دام افتاده دوباره به آنولیت باز می‌گردد و سبب افزایش غلظت رنگزا در روز دوم می‌شود. همان‌طورکه در شکل ۲ b روز دوم نیز مشاهده می‌شود مقدار ظاهری رنگزا روی الکترود کاهش چشم‌گیری یافت. نکته دیگری که از شکل ۴ برداشت می شود اینست که از روز دوم تا پایان فرآیند، غلظت رنگزا بتدریج کاهش می‌یابد و تا ناپدید شدن کامل دو قله پیش می‌رود. همچنین این شکل نشان می‌دهد که قله‌ها تقریباً متناسب با یکدیگر و بدون جابجایی محسوسی کاهش یافته‌اند. این رفتار نشان می‌دهد که تجزیه زیستی، سازوکار رنگزدایی غالب در این پژوهش نیست اما نمی‌توان صرفا با مشاهده ظاهر نمودار به این نتیجه رسید [۱۴]. یکی از روش‌هایی که می‌تواند شناسایی سازوکار تجزیه زیستی را در طول فرآیند تصفیه ممکن سازد، بررسی نسبت جذب حاصله از داده‌های طیف‌سنجی UV-Vis می‌باشد. این روش بیان می‌دارد اگر مقدار نسبت جذب در طول فرآیند تصفیه ثابت بماند، یعنی سازوکار غالب رنگزدایی از طریق جذب زیستی صورت گرفته و غلظت رنگزا در پساب بدون تغییر در ساختار مولکولی آن کاهش می‌یابد. اما اگر اختلاف زیادی بین مقدار نسبت جذب پساب قبل از فرآیند تصفیه و نسبت جذب پساب پس از تصفیه مشاهده شود نشانه‌ای از تخریب ساختار رنگزا و پیدایش سازوکار تخریب زیستی است. مقدار نسبت جذب در این پژوهش یعنی مقدار جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر (یکی از قله‌ها در نمودار جذب) تقسیم بر مقدار جذب در طول موج ۵۶۵ نانومتر (نقطه تلاقی دو نمودار جذب) [۱۵].

شکل ۵ مقادیر نسبت جذب پساب را به صورت روزانه نشان می‌دهد. همان‌طورکه مشاهده می‌شود این نسبت تقریبا به مدت ۴ روز ثابت مانده و پس از آن انحراف شدیدی از این مقدار مشاهده شد. بنابراین می‌توان گفت که احتمال وقوع سازوکار تجزیه زیستی از روز چهارم به بعد بیشتر است. همان‌طورکه بیان شد طبق فرمول ۱ و ۲ که از روش نسبت جذب به دست آمد، می‌توان مقدار باقی‌مانده هر رنگزا در پساب را پس از هر مرحله تصفیه محاسبه نمود و سپس طبق رابطه ۴ بازده رنگزدایی برای هر رنگزا را به دست آورد. شکل ۶ بازده رنگ‌زدایی روزانه پیل جهت حذف هر رنگزا را نشان می‌دهد. همان‌طورکه مشاهده می‌شود میزان رنگزدایی بین رنگزاها متفاوت است و راندمان رنگ‌زدایی پیل برای اسید قرمز ۸۸ بیشتر از ری‌اکتیو آبی ۴ است. این موضوع می‌تواند به علت تفاوت در اندازه مولکولی و ساختار شیمیایی رنگزاها باشد؛ بدین صورت که چون اندازه مولکولی اسید قرمز ۸۸ کوچک‌تر از ری‌اکتیو آبی ۴ است بنابراین راحت‌تر به درون منافذ مخمر نفوذ می‌کند و از فاز مایع پساب خارج می‌شود.



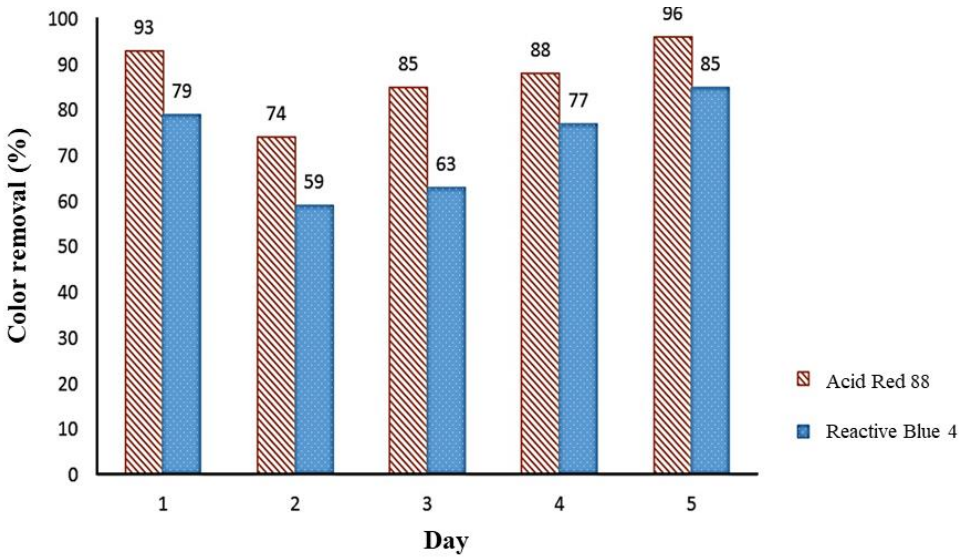
شکل ۴. طیف‌های UV-Vis روزانه از آنولیت در طول فرآیند رنگزدایی

Figure 4: Daily UV-vis spectra of anolyte during decolorization.



شکل ۵: نمودار نسبت جذب روزانه.

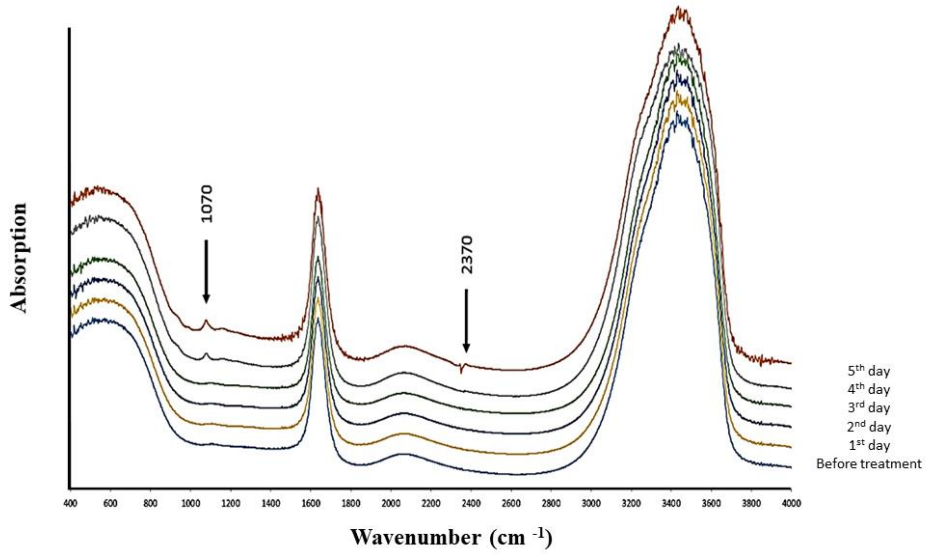
Figure 5: Daily Adsorption ratio.



شکل ۶: درصد رنگزدایی رنگزاهای مورد مطالعه.

Figure 6: Decolorization of the studied dyes.

از سوی دیگر هر چه تعداد گروه‌های سولفوناتی در مولکول رنگزایی بالاتر باشد حلالیت آن رنگزا نیز بالاتر است [۱۶]. بنابراین چون اسید قرمز ۸۸ تعداد گروه سولفوناتی کمتری نسبت به ری‌اکتیو آبی ۴ دارد آبگریزتر بوده و تمایل بیشتری به خروج از فاز مایع و ورود به فاز جامد سلول‌های مخمر دارد. از سوی دیگر، ری‌اکتیو آبی ۴ حلالیت بیشتری داشته و تمایل به ماندن در فاز آبی آنولیت در آن بالاتر است. اتصال رنگزا به سلول‌های مخمر نیز می‌تواند از طرق مختلفی انجام گیرد و شامل برهم‌کنش‌های مختلف بین مولکولی مانند نیروهای الکترواستاتیکی بین گروه‌های با بار منفی سولفوناتی در رنگزا و گروه‌های با بار مثبت آمینه ($-NH^{+3}$) در سلول مخمر، پیوندهای هیدروژنی و نیروهای واندروالسی باشد [۱۷، ۱۸]. این نوع بررسی جزء به جزء رنگزاهای موجود در پساب و چگونگی و سرعت حذف آنها که در پژوهش حاضر مطرح شده تاکنون در پژوهشی گزارش نشده است.



شکل ۷: طیف FTIR روزانه مربوط به پساب.

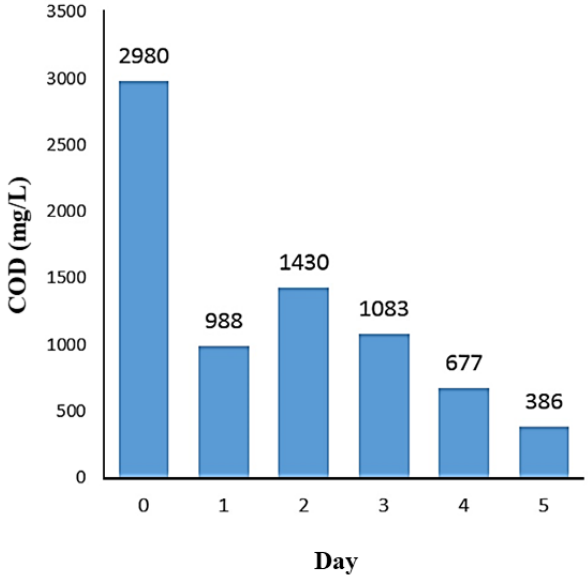
Figure 7: Daily FTIR Spectra of the wastewater.

۳ـ۳ـ بررسی طیف FTIR

جهت درک بهتر وقوع سازوکار تجزیه زیستی در پیل، بررسی طیف FTIR پساب بصورت روزانه انجام شد (شکل ۷). پیک‌های پهن در محدوده $3445\ cm^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی O – H و N – H و پیک $1630\ cm^{-1}$ مربوط به پیوندهای آزو –N=N– می‌باشد. این دو پیک در تمام روزها مشاهده شد اما در روز چهارم پیکی جدید در محدوده $1070\ cm^{-1}$ ظاهر گردید که مربوط به ارتعاشات کششی CN- یا C–O- است [۱۹، ۱۱، ۱۰]. به همین ترتیب، پیک ظاهر شده در $2370\ cm^{-1}$ در روز پنجم بنظر می‌رسد مربوط به CO_2 محلول در آنولیت باشد و نشانه‌ای از تخریب ساختار رنگزا باشد [۲۱، ۲۰]. تمامی این مشاهدات و تفاوت‌ها در طیف FTIR روزانه نشان می‌دهد که در این پژوهش سازوکار تجزیه زیستی برای حذف رنگزاها ممکن است پس از گذشت ۴ روز از فعالیت پیل اتفاق افتد بنابراین نتایج این ارزیابی، نتایج به دست آمده از روش نسبت جذب را نیز تأیید می‌کند.

۳ـ۴ـ بررسی تغییرات COD

اندازه‌گیری COD روش استانداردی است که میزان اکسیژن مصرف شده جهت تجزیه شیمیایی آلاینده‌های آلی و غیرآلی موجود در آب را برحسب میلی‌گرم بر لیتر بیان می‌کند. بر این اساس هر چقدر مقدار COD پسابی بالاتر باشد میزان آلایندگی آن نیز بیشتر است. در این پژوهش میزان COD پساب مصنوعی ساخته شده قبل از آغاز بکار پیل، ۲۹۸۰ میلی‌گرم بر لیتر بود و پس از گذشت ۵ روز تصفیه در پیل به مقدار ۳۸۶ میلی‌گرم بر لیتر رسید بنابراین ۸۷ درصد کاهش COD مشاهده شد. همان‌طور که در شکل ۸ نشان داده شده پس از گذشت یک روز از فعالیت پیل COD به شدت کاهش یافته و در روز دوم افزایش COD مشاهده شده است. از روز دوم تا انتهای فرآیند نیز از مقدار COD بتدریج کاسته شده است. این مشاهدات به نوعی تحلیل‌های صورت گرفته در مورد رشد سریع مخمر در روز اول و تشکیل بیوفیلم و جذب موقت رنگزاها روی آن را که در بالا توضیح داده شد است، تایید می‌کند [۲۲].



شکل ۸: تغییرات روزانه COD پساب در طول فرآیند.

Figure 8: Daily changes in wastewater COD during treatment.

۴ـ نتیجه‌گیری

در این پژوهش، فرآیند رنگ‌زدایی پساب حاوی مخلوط دوتایی از رنگزاهای ری‌اکتیو آبی ۴ و اسید قرمز ۸۸ در پیل سوختی میکروبی توسط روش‌های طیف‌سنجی چون UV-Vis، FTIR و COD بررسی شد. نتایج نشان داد که در روز اول فرآیند تصفیه، رنگ‌زدایی به سرعت انجام شد که به وقوع سازوکار جذب سطحی زیستی توسط سلول‌های مخمر و سازوکار تجمع زیستی نسبت داده شد. نتیجه دیگر پژوهش این بود که در پساب‌های شامل دو نوع ماده رنگزا نمی‌توان هرگونه تغییر فام رنگ پساب را نشانه‌ای از وقوع سازوکار تجزیه زیستی دانست زیرا ممکن است تفاوت در مقدار سرعت رنگ‌زدایی هر یک از رنگزاها سبب بروز تغییر فام در پساب گردد. این موضوع با بررسی طیف FTIR به درستی نشان داده شد که با وجود اینکه بصورت روزانه تغییر فام رنگ در پساب مشاهده گردید اما از روز چهارم به بعد نشانه‌هایی از رنگ‌زدایی از طریق سازوکار تجزیه زیستی پدیدار شد. همچنین درصد رنگ‌زدایی روزانه بین دو رنگزا متفاوت بود و پس از گذشت ۵ روز از فرآیند تصفیه ۹۶ درصد از اسید قرمز ۸۸ و ۸۵ درصد از ری‌اکتیو آبی ۴ از پساب حذف شدند. درصد حذف COD نهایی پساب نیز ۸۷ به دست آمد.

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت‌های سازمان حفاظت محیط زیست استان گیلان قدردانی می‌گردد.

۵ـ مراجع

1. E. Jalilnejad, M. Alizadeh, S. Fakhraddin fakhriazar, Application of biological methods in decolorization of azo dye containing wastewaters. *J. Stud. Color World.* 8(2018), 27-40.
2. T. Khodadadi, E. Solgi, S. Mortazavi, H. Nourmoradi, Comparison of advanced oxidation methods (AOPs) of persulfate in removal of color in municipal wastewater. *J. Color Sci. Tech.* 15(2021), 215-223.
3. Y. Cao, H. Mu, W. Liu, R. Zhang, J. Guo, M. Xian, H. Liu, Electricigens in the anode of microbial fuel cells: pure cultures versus mixed communities. *Microb. Cell. Fact.* 18(2019), 1-4.
4. S. Prajapati, P. S. Yelamarthi, Microbial fuel cell-assisted Congo red dye decolorization using biowaste-derived anode material. *Asia-Pac. J. Chem. Eng.* 15(2020), e2558.
5. S. Mishra, J. K. Nayak, A. Maiti, Bacteria-mediated bio-degradation of reactive azo dyes coupled with bio-energy generation from model wastewater. *Clean Technol. Envirn.* 21(2020), 1-7.
6. A. H. de Oliveira, J. J. Alcaraz-Espinoza, M. M. da Costa, M. L. Nascimento, T. M. Swager, H. P. de Oliveira, Improvement of Baker's yeast-based fuel cell power output by electrodes and proton exchange membrane modification. *Mater. Sci. Eng. C.* 105(2019), 110082.
7. Z. Kiayi, T. B. Lotfabad, A. Heidarinasab, F. Shahcheraghi, Microbial degradation of azo dye carmoisine in aqueous medium using Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763. *J. Hazard. Mater.* 373(2019), 608-19.
8. I. P. Sari, K. Simarani, Decolorization of selected azo dye by Lysinibacillus fusiformis W1B6: Biodegradation optimization, isotherm, and kinetic study biosorption mechanism. *Adsorp. Sci. Technol.* 37(2019), 492-508.
9. M. Taskin, S. Erdal, Reactive dye bioaccumulation by fungus Aspergillus niger isolated from the effluent of sugar fabric-contaminated soil. *Toxicol. Ind. Health*. 26(2010), 239-47.
10. E. J. de Almeida, A. R. de Andrade, C. R.Corso, Evaluation of the Acid Blue 161 dye degradation through electrochemical oxidation combined with microbiological systems. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 16(2019), 8185-8196.
11. F. B. Freire, E. C. Pires, J. T. Freire, Influência da imobilização de biomassa e do tamanho da partícula na fluidodinâmica de um reator anaeróbio de leito fluidizado. *Acta Sci. Technol.* 30(2008), 73-81.
12. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd ed. Washington, USA: American Public Health Association (APHA), 2012.
13. R. C. Hirt, F. T. King, R. G.Schmitt, Graphical absorbance-ratio method for rapid two-component spectrophotometric analysis. *Anal. Chem.* 26(1954), 1270-3.
14. P. Saravanan, S. Kumaran, S. Bharathi, P. Sivakumar, P. Sivakumar, S. R Pugazhvendan., W. Aruni, S. Renganathan, Bioremediation of synthetic textile dyes using live yeast Pichia pastoris. *Environ. Technol. Innov.* 22(202),101442.
15. M. Z. Khan, S. Singh, S. Sultana, T. R. Sreekrishnan, S. Z. Ahammad, Studies on the biodegradation of two different azo dyes in bioelectrochemical systems. *New J. Chem.* 39(2015), 5597-604.
16. L. Zhou, J. Jin, Z. Liu, X. Liang, C. Shang, Adsorption of acid dyes from aqueous solutions by the ethylenediamine-modified magnetic chitosan nanoparticles. *J. Hazard. Mater.* 185(2011), 1045-52.
17. W. E. Thung, S. A. Ong, L. N. Ho, Y. S. Wong, F. Ridwan, H. K. Lehl, Y. L. Oon, Y. S. Oon, Biodegradation of Acid Orange 7 in a combined anaerobic-aerobic up-flow membrane-less microbial fuel cell: Mechanism of biodegradation and electron transfer. *Chem. Eng. J.* 336(2018), 397-405.
18. G. Kyazze, P. Mani, K. Bowman, N. Farahmand, M. Breheny, T. Keshavarz, Degradation of azo dye (Acid orange 7) in a microbial fuel cell: comparison between anodic microbial-mediated reduction and cathodic laccase-mediated oxidation. *Front. Energy Res.* 7(2019), 101.
19. S. Varjani, P. Rakholiya, H. Y. Ng, S. You, J. A.Teixeira,

Microbial degradation of dyes: an overview. *Bioresour. Technol*. 314(2020), 123728.
20. S. K. Sen, P. Patra, C. R. Das, S. Raut, S. Raut, Pilot-scale evaluation of bio-decolorization and biodegradation of reactive textile wastewater: an impact on its use in irrigation of wheat crop. *Water Res. Ind*. 21(2019), 100106.
21. P. D. Shah, S. R. Dave, M. S. Rao, Enzymatic degradation of textile dye Reactive Orange 13 by newly isolated bacterial strain *Alcaligenes faecalis* PMS-1. *Int. Biodeterior. Biodegrad*. 69(2012), 41–50.
22. S. Khalid, F. Alvi, Fatima M, Aslam M, Riaz S, Farooq R, Zhang Y. Dye degradation and electricity generation using microbial fuel cell with graphene oxide modified anode. *Mater. Lett*. 220(2018), 272-276.

How to cite this article:

M. Kanafchiana, B. Noroozi, M. Akbari Dogolsara, Evaluation of Decolorization Mechanism of Bicomponent Dye Wastewater During Treatment in the Microbial Fuel Cell. *J. Color Sci. Tech.* 16, 2(2022), 147-159.
DOR: 20.1001.1.17358779.1401.16.2.6.0