ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ **E47296**

REMOVAL OF 178-ESTRADIOL (E2) AND PHOSPHORUS USING ALTERNATING ATTACHED GROWTH FILTERS

MR. SUTTHPONG LAPANUNT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE PROGRAM IN ENVIRONMENTAL MANAGEMENT
(INTERDISCIPLINARY PROGRAM)

GRADUATE SCHOOL

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ACADEMIC YEAR 2008

COPYRIGHT OF CHULALONGKORN UNIVERSITY

600254269



Removal of 17 β -estradiol (e2) and phosphorus using alternating attached growth filters



Mr. Sutthipong Lapanunt

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Environmental Management

(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University



การกำจัด 17β-เอสตระ ใดออก (E2) และฟอสฟอรัสโดยระบบจุลชีพบนตัวกลาง

นายสุทธิพงศ์ ลาภอนันต์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา) บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2551 ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title	REMOVAL OF 17 β -ESTRADIOL (E2) AND PHOSPHORUS
	USING ALTERNATING ATTACHED GROWTH FILTERS
Ву	Mr.Sutthipong Lapanunt
Field of Study	Environmental Management
Thesis Principal Advisor	Professor Say Kee Ong, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Tawan Limpiyakorn, Ph.D.
Accepted	by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial
	ments for the Master's Degree
 (A	
THESIS COMMITTEE	. 1
	Chairman Chairman
	Chairman
(A	ssistant Professor Manaskorn Rachakornkij, Ph.D.)
 (P	Thesis Principal Advisor rofessor Say Kee Ong, Ph.D.)
	y: 24 -
	Thesis Co-advisor
(Ta	awan Limpiyakorn, Ph.D.)
	W Salstayur External Member
(W	/ilasinee Saktaywin, Ph.D.)
***	Ch Tay Member

(Chantra Tongcumpou, Ph.D.)

สุทธิพงศ์ ลาภอนันต์: การกำจัด 17eta-เอสตระไดออล (E2) และฟอสฟอรัสโดยระบบจุลชีพบนตัวกลาง (REMOVAL OF 17eta-ESTRADIOL (E2) AND PHOSPHORUS USING ALTERNATING ATTACHED GROWTH FILTERS) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: Prof. Say Kee Ong, Ph.D., อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ.ดร.ตะวัน ลิมปิยากร, 99 หน้า.

การกระจายตัวของสารรบกวนฮอร์โมนในน้ำเสียชุมชนและน้ำเสียจากการปศุสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร 17eta-เอสตระได ออล (E2) และปัญหาการปล่อยน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอสฟอรัสได้รับความกังวลและใส่ใจมากขึ้น ระบบการบำบัดฟอสฟอรัสแบบเพิ่มพน เป็นระบบที่ได้รับความสนใจเนื่องจากมีประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสได้เป็นอย่างดี โดยระบบบำบัดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ เป็นระบบแนวคิดใหม่ อันประกอบไปด้วยถังปฏิกรณ์ตัวกรองสองถังเชื่อมต่อกัน ถังปฏิกรณ์ตัวกรองถังที่หนึ่งไม่เติมอากาศและถัง ปฏิกรณ์ตัวกรองถังที่สองเดิมอากาศ โดยมีการเดินระบบให้มีสภาวะไร้อากาศและเติมอากาศสลับกันไปมา ทั้งนี้เพื่อความเหมาะสม ต่อการเจริญเติบโตของฟอสฟอรัสจุลินทรีย์ในการกำจัดฟอสฟอรัส ระบบนี้สามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้สูงสุด 87.5±0.2 % ที่ระยะ เวลาของการสลับระบบ 24 ชั่วโมงและระยะเวลาเก็บกับน้ำ 6 ชั่วโมง อีกทั้งระบบยังสามารถกำจัดในโตรเจนได้ 72.1±0.6 % ที่ ระยะเวลาของการสลับระบบ 3 ชั่วโมงและระยะเวลาเก็บกับน้ำ 3 ชั่วโมง จากผลการทดลองพบว่าระยะเวลาของการสลับระบบและ ระยะเวลากักเก็บน้ำเป็นปัจจัยที่มีผลกระทบสำคัญต่อการทำงานของจุลินทรีย์ เมื่อเดินระบบด้วยระยะเวลาของการสลับระบบที่สั้นจะ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัสได้โดยการลดระยะเวลากักเก็บน้ำลง อีกทั้งพบว่าอัตราส่วนของระยะเวลาของการสลับ ระบบและระยะเวลากักเก็บน้ำที่น้อยกว่า 4:1 เหมาะสมที่สุด นอกจากนี้เมื่อระยะเวลาเก็บกักน้ำลดลงจะมีผลต่อการกำจัดชีโอดีและ ฟอสฟอรัสที่ลดลง การเพิ่มขึ้นของอัตราสวนซีโอดีต่อไนโตรเจนและอัตราสวนซีโอดีต่อฟอสฟอรัสของน้ำเสียเข้าระบบจะส่งผลกระทบ ด้านลบต่อการกำจัดฟอสฟอรัส ซึ่งตรงกันข้ามกับการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนอากาศต่อปริมาณน้ำเข้าระบบอันจะส่งผลดีต่อการกำจัด ฟอสฟอรัสเมื่อดำเนินการทดลองโดยใช้ปริมาณฟอสฟอรัสเข้าในระบบเพิ่มขึ้นจาก 8 เป็น 16 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าระบบยังคง สามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้เช่นเดียวกัน ในส่วนของการกำจัด E2 ระบบนี้ยังสามารถกำจัด E2 ได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ 96.5 % ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงเมื่อระยะเวลากักเก็บน้ำและอัตราส่วนอากาศต่อน้ำเข้าระบบลดลง เมื่อพิจารณาถังปฏิกรณ์ตัวกรอง สภาวะไร้อากาศสามารถกำจัด E2 ได้ลดลงเมื่อระยะเวลากักเก็บน้ำลดลง ในขณะที่ประสิทธิภาพการกำจัด E2 ในถังปฏิกรณ์ตัวกรอง สภาวะเติมอากาศที่ระยะเวลากักเก็บน้ำ 3 ชั่วโมง จะให้ผลการกำจัดได้ใกล้เคียงกับเมื่อระยะเวลากักเก็บน้ำเพิ่มขึ้น การกำจัด E2 จะ เพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของซีโอดีต่อในโตรเจนลดลง จากการทดลองตรวจพบเมแทบอไลด์คือ E1 ในถังปฏิกรณ์ตัวกรองทั้งสองของ ระบบ การทดลองการดูดซับได้ค่าฟรุนดริชซอฟซันไอโซเทอมคือ 8.43 และค่า 1/ก คือ 0.664 เมื่อใช้สมดลมวลสารพบการย่อยสลาย ทางชีวภาพสามารถกำจัด E2 ได้ 60 % และ 14 % โดยกระบวนการดูดชับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากระบวนการย่อยสลาย ทางชีวภาพอาจจะเป็นกลไลหลักในการกำจัด E2 ออกจากระบบ

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม ปีการศึกษา 2551 ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก (Ly Sayllee) ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

498 94768 20: MAJOR ENVIRONMENTAL MANAGEMENT KEY WORD: 17β-ESTRADIOL/ E2/ PHOSPHORUS/ ATTACHED GROWTH FILTERS/ EBPR/ ADSORPTION TEST

SUTTHIPONG LAPANUNT: REMOVAL OF 17β-ESTRADIOL (E2) AND PHOSPHORUS IN ALTERNATING ATTACHED GROWTH FILTERS. THESIS PRINCIPAL ADVISOR: PROF. SAY KEE ONG, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR: TAWAN LIMPIYAKORN, Ph.D., 99 pp.

The widespread presence of endocrine-disrupting chemicals (EDCs) in municipal and livestock wastewaters, especially E2, and the problem of excess phosphorus discharge have raised extensive concerns. Enhanced biological phosphorus removal (EBPR) is an effective method for the removal of phosphorus. An innovative approach is to use continuous flow alternating biological filter operated with two biofilters in series. The condition of each biofilter was alternated between anaerobic and aerobic conditions and vice versa. The highest phosphorus removal was 87.5±0.2 % for a cycle duration (CD) of 24 hours and HRT of 6 hours. Maximum nitrogen removal was 72.1±0.6 % for a CD of 3 hours and HRT of 3 hours. The results of the experiments indicate that CD and HRT had a significant impact on the biological activity. The overall impact of the CD was to create the environmental conditions for enhanced or inhibited phosphorus release and uptake. For short CD, a shorter HRT would favor higher phosphorus percent removal and vice versa. The experimental results show that a CD:HRT ratio of less than 4:1 should be used. In addition, for a given CD, the lower the HRT the worse off is the COD and TP removal (increasing ratios of CD:HRT). Increasing the COD:N and COD:P of the influent wastewater negatively affected phosphorus uptake as opposed to an increase of air:water ratio which was found to positively affect phosphorus removal. Experiment conducted at a low TP influent concentrations of 8 mgP/L indicated that percent removal was similar to that for an influent concentration of 16 mgP/L. The alternating biofilters were found to be effective in the removal of E2 with an overall removal of 96.5 %. For E2 removal, the efficiency declined for a decrease in the HRT of the system and air:water ratio. For the anaerobic biofilter, the percent removal of E2 was found to decrease with shorter HRTs. In the case of aerobic biofilter, an HRT of 3 hours gave similar percent removal as for higher HRTs. E2 removal was found to increase with a decrease in COD:N. In all studies, the metabolite, E1, was found which subsequently degrade within the column. For batch sorption experiments, the sorption coefficient, K_F, of the Freundlich model 8.43 (µg^{1-1/n}.L^{1/n}.g⁻¹) while the 1/n value was 0.664. Using mass balance, about 60 % of E2 was found to biodegrade and 14 % was adsorbed indicating that biodegradation may be the dominant removal mechanism.

Field of study: Environmental Management

Academic year 2008

Student's signature..

rincipal Advisor's signature.

Co-advisor's signature.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my appreciation and thanks to those who gave me valuable advice and help. This thesis would have not been possible without Professor Say Kee Ong who is gratefully acknowledged for handing me a great opportunity to be a part of his project team. He contributed, guided, and provided many helpful advice plus his sincerely big smile throughout the project. My sincere thanks go to Dr. Tawan Limpiyakorn who has provided, with kindness, his insight and suggestions. I would like to gratefully thank US EPA for financial support of this project. Many thanks to Dr. Qing Tian from China and Dan Fleege, an awesome dude, who provided great support and assistance on conducting the experiments.

Many thanks to the National Center of Excellence for Environmental and Hazardous Waste Management (NCE-EHWM) for providing the full scholarship and providing all the facilities throughout my study.

Most importantly, I would like to give special thanks to my parents and brothers for the love, care, and encouragement to get through all the difficulties during the experiments.

CONTENTS

	Pa
ABSTRACT IN THAI	iv
ABSTRACT IN ENGLISH	١
ACKNOWLEDGEMENTS	v
CONTENTS	V
LIST OF FIGURES	X
LIST OF TABLES	XI
ABBREVIATIONS	X
CHAPTER I INTRODUCTION AND OBJECTIVES	j
1.1 Background and motivation.	
1.2 Objectives	2
1.3 Hypotheses	3
1.4 Scope of study	3
1.5 Organization of Thesis	á
CHAPTER II LITERATURE REVIEWS	4
2.1 Introduction	4
2.2 Natural Estrogens.	2
2.3 Sources of E2	
2.4 Adverse effects of E2	
2.5 Level of E2 in wastewater treatment system	8
2.6 Fate of E2 in wastewater treatment system	9
2.6.1 Sorption	(
2.6.2 Degradation	1
2.7 Removal of E2 by attached growth system	1
2.8 Measurement of E2 by GC-MS	1

2.9 Enhanced biological phosphorus removal (EBPR)
2.9.1 Process occurring in the anaerobic zone
2.9.2 Process occurring in the aerobic zone
2.10 Effect of phosphorus and nitrogen
2.11 Removal of phosphorus by attached growth system
2.12 Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus
removal
2.12.1 Process occurring in anoxic zone
CHAPTER III METHODOLOGY AND MATERIALS
3.1 Experimental framework
3.2 Material and apparatus
3.2.1 Chemicals
3.2.2 Equipment
3.2.3 Media
3.2.4 Enrichment
3.2.5 Wastewater
3.3 Sample preparation.
3.3.1 Solid phase extraction (SPE)
3.3.2 Derivatization (Silylation of hydroxyl groups)
3.3.3 Internal standard
3.4 Analytical methods
3.4.1 Measurement of Water Quality Parameters
3.4.2 Measurement of phosphorus content in biomass
3.4.3 Measurement of COD using closed reflux, colorimetric
method
3.4.4 Measurement of E2 by GC-MS
3.4.5 Measurement of E2 in sludge
3.5 Methodology
3.5.1 Operating conditions

	Pag
3.6 Operational Parameters	32
3.6.1 Cycle duration (CD)	32
3.6.2 Hydraulic retention time (HRT)	33
3.6.3 Air water ratio	33
3.6.4 COD:N ratio	33
3.6.5 COD:P ratio	34
3.7 Sorption test	34
3.7.1 Adsorption kinetics	34
3.7.1.1 Batch adsorption experiment	35
3.7.2 Adsorption isotherm	35
3.8 Mass balance of E2	36
CHAPTER IV RESULTS AND DISCUSSION	38
4.1 Phosphorus removal in alternating biofilters	38
4.1.1 Influence of CD and HRT	38
4.1.2 Concentration changes within media depth	44
4.1.3 Influence of air:water ratio	49
4.1.4 Influence of COD:N ratio	51
4.1.5 Influence of COD:P ratio	53
4.1.6 Influence of TP at 16 mg/L	55
4.1.7 Recirculation of effluent to enhance TN removal	55
4.1.8 Phosphorus content in biomass	56
4.2 E2 removal	57
4.2.1 Batch adsorption experiments.	57
4.2.1.1 Sorption kinetics	57
4.2.1.2 Sorption isotherms	57
4.2.2 Influence of HRT	59
4.2.3 Influence of air:water ratio	61
4.2.4 Influence of COD:N ratio	63

	Page
4.2.5 Performance of aeration condition on E2 removal	65
4.2.6 Mass balance of E2	67
CHAPTER V CONCLUSIONS AND SUGGESTIONS FOR FUTURE WORK	69
5.1 Conclusions	69
5.2 Suggestions for future work	70
REFERENCES	71
APPENDICES	76
BIOGRAPHY	99

LIST OF FIGURES

Figure	
2.1 Basic structure of estrogens	5
2.2 Structure of E1, E2, and E3	5
2.3 De-conjugation of E2	6
2.4 The oxidation of E2 to E1	10
2.5 E2 biodegradation pathway by sewage bacteria	11
2.6 Model of biological degradation and sorption of E2	12
2.7 Typical A/O process for phosphorus removal	15
2.8 Simplified biochemical diagram of PAOs.	17
2.9 Fate of soluble BOD and phosphorus	17
2.10 Details of attached growth biofilm	21
2.11 A2/O process for phosphorus removal	22
3.1 Experimental framework	24
3.2 Flow diagram of the alternating attached growth filters with biofilters 1	26
and 2 (a) anaerobic/aerobic conditions and (b) aerobic/anaerobic	
conditions	
3.3 Mass balance of E2	36
4.1 Overall percent removal of TP, TN, and COD for a given HRT and	40
various CDs	
4.2 Overall percent removals of TP, TN, and COD for a CDs and various	41
HRTs	
4.3 Effect of CD of 24 hrs under different HRTs on (a) phosphorus release	45
and uptake, (b) TN removal, (c) changes in ammonia and nitrate	
concentrations, (d) nitrate and ORP changes, (e) pH changes and COD	
removal, and (f) changes in temperature and DO with media depth	
4.4 Effect of CD of 12 hrs under different HRTs on (a) phosphorus release	46
and uptake, (b) TN removal, (c) changes in ammonia and nitrate	
concentrations, (d) nitrate and ORP changes, (e) pH changes and COD	
removal, and (f) changes in temperature and DO with media depth	

Figure	Page
4.5 Effect of CD of 6 hrs under different HRTs on (a) phosphorus release	47
	4/
and uptake, (b) TN removal, (c) changes in ammonia and nitrate	
concentrations, (d) nitrate and ORP changes, (e) pH changes and COD	
removal, and (f) changes in temperature and DO with media depth	
4.6 Effect of CD of 3 hrs under different HRTs on (a) phosphorus release	48
and uptake, (b) TN removal, (c) changes in ammonia and nitrate	
concentrations, (d) nitrate and ORP changes, (e) pH changes and COD	
removal, and (f) changes in temperature and DO with media depth	
4.7 Effect of air:water under different HRTs on (a) phosphorus release and	50
uptake, (b) TN removal, (c) changes in ammonia and nitrate	
concentrations, (d) nitrate and ORP changes, (e) pH changes and COD	
removal, and (f) changes in temperature and DO with media depth	
4.8 Effect of COD:N under different HRTs on (a) phosphorus release and	52
uptake, (b) TN removal, (c) changes in ammonia and nitrate	
concentrations, (d) nitrate and ORP changes, (e) pH changes and COD	
removal, and (f) changes in temperature and DO with media depth	
4.9 Effect of COD:P under different HRTs on (a) phosphorus release and	54
uptake, (b) TN removal, (c) changes in ammonia and nitrate	
concentrations, (d) nitrate and ORP changes, (e) pH changes and COD	
removal, and (f) changes in temperature and DO with media depth	
4.10 TP removal with influent P concentrations of 8 and 16 mgP/L	55
4.11 (a) Sorption of E2 onto biofilter backwashed biomass with Freundlich	58
isotherm (b) normalized Freundlich isotherm	
4.12 Anaerobic, aerobic, and total removal of E2 under different HRTs	60
4.13 E2 removals under different HRTs under anaerobic and aerobic	60
conditions by media depth	00
4.14 Impact of air:water ratio on E2 removal under anaerobic and aerobic	62
conditions	02
	6.1
4.15 Impact of COD:N ratio on E2 removal under anaerobic and aerobic	64
conditions	

Figure	
4.16 E2 removals in aerobic biofilter with media depth	66
4.17 Mass balance of E2	67

LIST OF TABLES

Table	Page
2.1 Physical-chemical of natural estrogens.	6
2.2 Daily excretion of estrogenic steroids by humans	7
2.3 Some equilibrium adsorption coefficients of E2 and EE2	9
2.4 Comparison of P content of sludge in different processes	17
3.1 Composition of synthetic wastewater	27
3.2 Hach test kit measurements	29
3.3 Retention times (RT), MS detection parameters	31
4.1 Overall percent removals, percent removal in anaerobic and aerobic	39
biofilters for TP, TN, and COD for various CD and HRT	
4.2 Percent removal of TN and TP with and without recirculation	55
4.3 Percent phosphorus contents in biomass for different CDs and HRTs	56
4.4 Comparison of percent phosphorus contents in biomass in different	56
processes	
4.5 Concentrations and percent removals of E2 and E1 for different	62
air:water ratios	
4.6 Concentrations and percent removals of E2 and E1 for different	64
COD:N ratios	
4.7 Concentrations and percent removals of E2 and E1 in aerobic	66
biofilter for different HRTs	
4.8 Input data for mass balance	68
4.9 Estimated masses for various components	68

ABBREVIATIONS

EDCs = endocrine-disrupting chemicals

E1 = estrone

E2 = 17β-estradiol

E3 = estriol

 F_{sp} = female-specific protein

OHOs = ordinary heterotrophic organisms

PAOs = phosphorus accumulating organisms

dPAOs = denitrifying phosphorus accumulating organisms

dGAOs = denitrifying glycogen accumulating organisms

AOs = autotrophic organisms

E.Coli = Eschericia coli

EPA = environmental protection agency

PCBs = polychlorinated biphenyls

PAHs = polycyclic aromatic hydrocarbons

WWTP = wastewater treatment plant

EBPR = enhanced biological phosphorus removal

BNR = biological nutrient removal

UASB = upflow anaerobic sludge blanket

SBR = sequencing batch reator

 K_{ow} = octanol-water partitioning coefficient

 K_{bio} = biodegradation rate constant

 K_{sorb} = sorption rate constant

 $C_{\rm w}$ = bulk soluble concentration

 C_s = sorbed concentration

 K_{dss} = estrogen partition coefficient

 K_D = sorption coefficient

 $K_{\rm F}$ = Freundlich sorption isotherm

GC = gas chromatography

LC = liquid chromatography

MS = mass spectrometry

LOD = limit of detection

 μ g/L = microgram per liter

ng/L = nanogram per liter

mm = millimeter

MW = molecular weight
NA = data not available

SPE = solid phase extraction

MTBSTFA = N-methyl-N-(tert-butyldimethylsilyl) trifluoroacetamide

BSTFA = N₂O-bis (trimethylsilyl) trifluroacetamide

TMCS = trimethylchlorosilane

VFA = volatile fatty acid

PHA = polyhydroxyalkanoate

PHB = poly-β-hydroxybutyrate

HSCoA = acetyl coenzyme A

NADH2 = nicotinamide adenine dinucleotide

ATP = adenosine triphosphate

TCA = tricarboxylic acid PVC = polyvinylchloride

SRT = solid retention time

MLSS = mixed liquor suspended solids

VSS = volatile suspended solid

SS = suspended solid

CD = cycle duration

HRT = hydraulic retention time

ORP = oxidation-reduction potential

rbCOD = readily biodegradable chemical oxygen demand

sCOD = soluble chemical oxygen demand

DO = dissolved oxygen

TN = total nitrogen

TP = total phosphorus

KHP = potassium hydrogen phthalate

RT = retention time

m/Z = quantification ion

SIM = select ion monitoring