

ผลของอายุตะกอนต่อพฤติกรรมของ *Acinetobacter* spp.

Effect of Sludge Retention Time on Behavior of the *Acinetobacter* spp.

ฉัตรลดา เพี้ยซ้าย, นิตยา บุญเทียน*, ธันย์ชนก พรดอน และ Mohamad Padri

สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

Chatlada Piasai, Nittaya Boontian*, Thunchanok Phorndon and Mohamad Padri

School of Environmental Engineering, Suranaree University of Technology,

Suranari, Muang, Nakhon Ratchasima 30000

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของอายุตะกอนต่อพฤติกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มฟอสฟอรัสสะสม (phosphorus accumulating organisms, PAOs) ในระบบกำจัดฟอสฟอรัสทางชีวภาพ (enhanced biological phosphorus removal, EBPR) ที่อาศัยสภาวะแอนแอโรบิก แอนอกซิก และแอโรบิก โดยแหล่งของคาร์บอนเป็นกรดอะซิติก กำหนดอายุตะกอน (sludge retention time, SRT) เท่ากับ 20 และ 60 วัน เมื่อระบุชนิด PAOs ในระบบ EBPR พบว่าเป็นกลุ่ม *Acinetobacter baumannii* และ *Acinetobacter* spp. พบว่าพฤติกรรมการทำงานของ PAOs ในสภาวะแอนแอโรบิกจะเกิดการคาย ortho-P และจับใช้ ortho-P ในสภาวะแอนอกซิก และแอโรบิก ที่ SRT 60 วัน สูงกว่า SRT 20 วัน เท่ากับ 1.66 และ 1.57 เท่า ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติด้วย paired-t test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัสทั้งหมด (total phosphorus, TP) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p-value = 0.00 (<0.05) โดย SRT 60 วันมีค่ามากกว่าที่ SRT 20 วัน 1.23 เท่า ประสิทธิภาพการกำจัด TP ของ SRT 60 วัน และ 20 วันมีค่าเท่ากับร้อยละ 65.69 และ 53.26 ตามลำดับ ส่วนความสามารถกำจัดไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen, TN) และซีโอดีทั้งหมด (total chemical oxygen demand, TCOD) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p-value = 0.00 (<0.05) ภายใต้อายุตะกอนที่ SRT 20 และ 60 วัน โดยประสิทธิภาพการกำจัด TN และ TCOD เฉลี่ยของทั้ง 2 สภาวะสูงกว่าร้อยละ 98.67 สรุปว่า SRT 60 วันมีประสิทธิภาพในการกำจัด TP, TN และ TCOD สูงกว่าที่ SRT 20 วัน เนื่องจากปริมาณ PAOs เพิ่มขึ้น สืบเนื่องจากค่าฟอสเฟตที่ปล่อยออกมาในสภาวะแอนแอโรบิกเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากปริมาณของ PAOs ส่งผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัส ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางเพื่อควบคุมระบบ EBPR รวมถึงนำมาประยุกต์ใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียของชุมชนได้

คำสำคัญ : ซีโอดี; ไนโตรเจน; ฟอสฟอรัส; อายุตะกอน

*ผู้รับผิดชอบบทความ : n.boontian@sut.ac.th

Abstract

The aim of this project is to study effect of sludge retention time on behavior of the phosphorus accumulating organisms (PAOs) in enhanced biological phosphorous removal (EBPR) processes. Anaerobic-anoxic-aerobic conditions were combined in the EBPR process with acetic acid as a carbon source for synthetic wastewater through 20-day and 60-day SRT. The results revealed that the PAOs in EBPR were *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* spp. in both SRT 20 and 60 days. The activity of PAOs in anaerobic conditions resulted ortho-P released and uptake of ortho-P in an anoxic and aerobic conditions at 60 days SRT was higher than that of 20 days, those equal to 1.66 and 1.57 times, respectively. The paired t-test of total phosphorus (TP) removal showed a significant difference between SRT 20 and 60 days ($p < 0.05$). The SRT of 60 days was 1.23 times higher than that of the 20-day SRT where the efficiency of total phosphorus removal was 65.69 % in SRT 60 days and 53.26 % in SRT 20 days. Total nitrogen (TN) and total chemical oxygen demand (TCOD) removals were significantly different under SRT 20 and 60 days ($p < 0.05$). The removal efficiencies of TN and TCOD reached the average more than 98.67 %. It was concluded that 60-day SRT was more effective to remove TP TN and TCOD than 20-day SRT, because the amount of PAOs increased in 60 days SRT and the observed phosphate released in anaerobic conditions. Eventually, the amount of PAOs affects the efficiency of phosphorus removal. This result can be referred as a guideline to control the EBPR system specifically in wastewater treatment systems around Thailand.

Keywords: COD; nitrogen; PAOs; phosphorus; sludge retention time

1. บทนำ

ค่า TP ในน้ำทิ้งอยู่ระหว่าง 3.01-55.73 มิลลิกรัมต่อลิตร (มก./ล.) [1] ซึ่งเกินมาตรฐานน้ำทิ้งจากระบบบำบัดชุมชนของประเทศไทยที่ได้กำหนดมาตรฐานของ TP ไว้ไม่เกิน 2 มก./ล. [2] เนื่องจากส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชันได้ ระบบ enhanced biological phosphorus removal (EBPR) จึงถูกนำมาใช้ในระบบบำบัดน้ำเสีย และได้รับการยอมรับว่าเป็นเทคโนโลยีที่ประหยัดในการกำจัดฟอสฟอรัสจากน้ำเสีย [3] ซึ่งต้องอาศัยจุลินทรีย์กลุ่มฟิเอโอ (polyphosphate accumulating organisms,

PAOs) มีความสามารถในการกำจัดฟอสฟอรัสในน้ำเสียได้มากกว่าจุลินทรีย์ทั่วไป [4-5] เป็นกลุ่มแบคทีเรียเฮเทโรโทรฟิก (heterotrophic) สามารถทำงานได้ในสภาวะแอนแอโรบิก สภาวะแอนออกซิก และสภาวะแอโรบิก โดยจะปล่อยออโธฟอสเฟต (ortho-P) จากการสลายตัวของโพลีฟอสเฟต (poly-P) เกิดพลังงานที่สามารถนำไปใช้ในการดึง ortho-P เข้ามาเก็บไว้ในเซลล์ [6] ซึ่งจะเกิดกำจัดฟอสฟอรัสในน้ำเสียให้ลดน้อยลง เมื่อน้ำเสียผ่านกระบวนการตกตะกอนจะกำจัดเซลล์จุลินทรีย์ออกจากระบบ ฟอสฟอรัสจึงถูกกำจัดออกไปด้วย [7,8] ระบบ EBPR ต้องอาศัยหลายปัจจัย

ในการเดินระบบที่เหมาะสม ในการกำจัด TP, TN และ TCOD เช่น แหล่งของสารอินทรีย์คาร์บอน อายุตะกอน (sludge retention time, SRT) [8] ซึ่งพบว่าครดอะซิติกเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ [9] เพื่อสร้างอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) ซึ่งจะถูกเก็บไว้ในเซลล์ของ PAOs เพื่อให้เกิดพลังงานที่จะดูดกลืน ortho-P ในสารละลาย โดย ortho-P ที่ถูกดูดกลืนจะมากกว่า ortho-P ถูกปล่อยออกมาในสภาวะแอนแอโรบิก

SRT เป็นหนึ่งในปัจจัยที่มีผลต่อบทบาทของ PAOs ในระบบ [10] การศึกษาของ Wentzel และคณะ (1991) พบว่า PAOs มีบทบาทสำคัญในระบบและประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสเพิ่มสูงขึ้นภายใต้สภาวะที่ SRT นาน เนื่องจากอัตราการสลายตัวของ PAOs ต่ำกว่าเชื้ออื่น [11] และการศึกษาของ Chuang (1997) พบว่า SRT มีบทบาทสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการคาย และการจับใช้ฟอสฟอรัส โดยพบว่าที่ SRT สูงจะเกิดการคายฟอสฟอรัสมากกว่าที่ SRT ต่ำ [12] แต่การศึกษาของ Puig และคณะ (2008) และ Rodrigo และคณะ (1999) พบว่าเมื่อควบคุมให้ SRT มาก จุลินทรีย์กลุ่ม glycogen accumulating organisms (GAOs) จะมีบทบาทสำคัญมากกว่า PAOs [13,14] และต่างกับการศึกษาของ Randall และคณะ (1992) ที่พบว่าการเพิ่มค่า SRT ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัสในระบบ [15] การควบคุมปัจจัยต่าง ๆ มีผลต่อจุลินทรีย์กลุ่ม PAOs ที่อยู่ในระบบ ซึ่งรวมถึง SRT ด้วย โดยการศึกษาของ Auling และคณะ (1991) ศึกษาจุลินทรีย์กลุ่ม PAOs ที่พบในระบบที่มีการใช้ครดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสสูงกว่าร้อยละ 50 กลุ่ม PAOs ที่พบเป็นชนิด *Acinetobacter* spp. [16] ส่วนการศึกษาของ Jasna และคณะ (2003) [17] เมื่อใช้ propionate เป็นแหล่งคาร์บอน จะพบจุลินทรีย์

กลุ่ม *Acinetobacter calcoaceticus* อยู่ภายในระบบ ซึ่งปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่ม PAOs มีผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสในระบบ ซึ่งพฤติกรรมในการทำงานของ PAOs สามารถสังเกตได้จาก การคาย ortho-P ในสภาวะแอนแอโรบิก และการจับใช้ ortho-P ในสภาวะแอนอกซิกและแอโรบิก โดยการศึกษาของ Chen และคณะ (2005) พบว่า ortho-P ถูกคายออกมา 62.48 มก./ล. เมื่อใช้ acetate และ propionate เป็นแหล่งคาร์บอน [18] และการศึกษาของ Tasli และคณะ (1997) พบว่าสภาวะแอนแอโรบิกจะเกิดการคาย ortho-P ลดลงและความเข้มข้นของ ortho-P ในน้ำทิ้งเพิ่มขึ้น หากมีสัดส่วนของกลูโคสในน้ำเสียเพิ่มสูงขึ้นจากร้อยละ 20 เป็น 50 [19] และงานของ Henze และคณะ (2000) พบว่าในสภาวะแอนแอโรบิก TCOD จะถูกใช้โดย PAOs ส่งผลให้เกิดการคาย ortho-P [20]

การศึกษาค้นคว้าของ SRT ในระบบ EBPR มีความสำคัญที่จะช่วยในสนับสนุน PAOs ให้สามารถทำงานได้ดีในระบบ ส่งผลให้การกำจัด TP, TN และ TCOD มีประสิทธิภาพ เพื่อให้ผ่านมาตรฐานน้ำทิ้งของประเทศ ไทย จึงต้องควบคุม SRT ที่เหมาะสมให้กับระบบ EBPR การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ SRT ต่อพฤติกรรมในการทำงานของจุลินทรีย์ PAOs ในระบบ EBPR และศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัด TP, TN และ TCOD เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนได้

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การศึกษาคุณลักษณะตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อใช้ในการเดินระบบ

เติมจุลินทรีย์จากบริษัท เสริมสุข จำกัด มหาชน ลงในถังปฏิกรณ์ เพื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ โดยศึกษาพารามิเตอร์ดังนี้ ค่า DO (dissolve oxygen), พีเอช

(pH), อุณหภูมิ (temperature), TCOD, ค่าซีโอดีละลาย (soluble chemical oxygen demand, SCOD), แอมโมเนียมไอออน (ammonium, NH_4^+), ของแข็งทั้งหมด (total solids, TS), ของแข็งระเหยง่ายทั้งหมด (total volatile solids, TVS), ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (total suspended solids, TSS) และ ortho-P [21]

2.2 การออกแบบชุดการทดลอง

ถังขนาด 100 ลิตร ใช้บรรจุน้ำเสียสังเคราะห์ โดยมีเครื่องสูบน้ำเสียเข้าระบบรีดสาย (peristaltic pump) ที่มีอัตราการไหลเข้าสู่ระบบ 60 ลิตรต่อวันเข้าสู่สถานะแอนแอโรบิก และสถานะแอนอกซิกที่มีเวลาเก็บกัก 2 ชั่วโมง ส่วนสถานะแอโรบิกมีเวลาเก็บกัก 8 ชั่วโมง ที่มีปริมาตร 5, 5, 20 ลิตร ตามลำดับ และถังตกตะกอน ดังรูปที่ 1 ซึ่งตะกอนจากถังตกตะกอนบางส่วนจะไหลเวียนกลับสู่สถานะแอนแอโรบิก ต่อเนื่องไปยังสถานะอื่น ๆ ตามลำดับ เพื่อรักษาปริมาณตะกอนในระบบให้สม่ำเสมอ กำหนดอัตราการ

สูบตะกอนเวียนกลับ 105 ลิตรต่อวันสังเคราะห์น้ำเสียเข้าระบบโดยมีค่า TCOD 500 มก./ล. และ TP 25 มก./ล. เพื่อให้จุลินทรีย์ในระบบเกิดการปรับตัวเนื่องจาก SRT มีผลต่อการกำจัดฟอสฟอรัสภายในระบบ [11-14] ในการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจที่จะเปรียบเทียบการทำงานของจุลินทรีย์ PAOs เมื่อใช้ SRT นาน 20 และ 60 วัน [22] ซึ่งค่าดังกล่าวอาจช่วยสนับสนุนการทำงานของจุลินทรีย์ PAOs ให้สามารถกำจัด COD, N และ TP ให้ผ่านมาตรฐานน้ำทิ้งได้ โดยการศึกษาของ Ge และคณะ (2015) พบว่าการควบคุมให้ SRT นานในระบบตะกอนเร่งส่งผลให้เกิดการปล่อย CO_2 ที่เพิ่มขึ้น [23] แสดงว่าจุลินทรีย์บางชนิดในระบบสามารถใช้สารอินทรีย์คาร์บอนได้มากขึ้น การศึกษานี้เดินระบบจนเข้าสู่สภาวะคงที่ (steady stage) และเลือกสัดส่วน TP ต่อ COD เท่ากับ 1 : 20 [24] อัตราปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์น้ำเสียอ้างอิงมาจากงานวิจัยของ Piasai และคณะ (2560) [25]

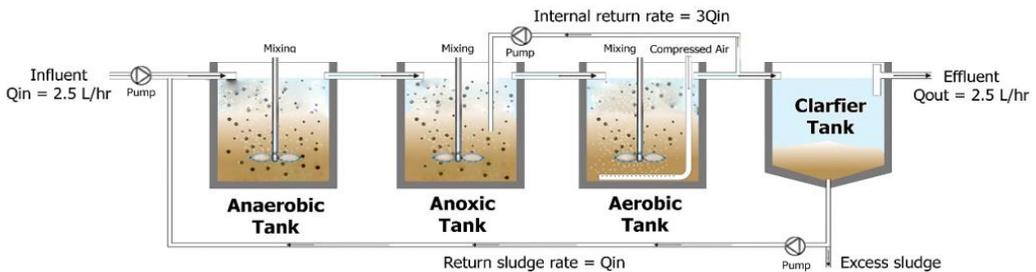


Figure 1 Diagram of TP, TN and TCOD in EBPR process [26]

2.3 การจำแนกจุลินทรีย์ในระบบ

การสังเกตลักษณะสัณฐานของจุลินทรีย์ภายในระบบ EBPR โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (scanning electron microscope, SEM) เพื่อสังเกตลักษณะของจุลินทรีย์ภายในถังปฏิกิริยา เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่ม PAOs มีขนาดเล็กมาก ทำให้ไม่สามารถ

สังเกตลักษณะสัณฐานของจุลินทรีย์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ซึ่งขนาดเล็กที่สุดของเซลล์ที่สามารถมองเห็นได้ คือ $0.2 \mu\text{m}$ แต่ SEM สามารถช่วยให้เห็นลักษณะภายนอกของเซลล์ได้ [27] มีกำลังขยายถึง 20,000 เท่า สามารถมองเห็นวัตถุขนาดเล็กถึง $0.0004 \mu\text{m}$ [28] ซึ่งทำให้สามารถสังเกตลักษณะทาง

สัณฐานของจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น

การสังเกตลักษณะสัณฐานของจุลินทรีย์เก็บตัวอย่างเชื้อแต่ละสภาวะจากระบบ EBPR จากนั้นนำมาเติม glutaraldehyde ร้อยละ 2.5 และปรับ pH ที่ 7.2 โดยใช้ phosphate buffer โดยแช่ที่ 4 °C อย่างน้อย 1 คืน นำตัวอย่างมาหมุนเหวี่ยงที่ 4,000 rpm จากนั้น dehydrating ตามวิธีของ Jung และคณะ (2011); Haberman และคณะ (2017); Bin และคณะ (2015) และนำมาส่องกล้อง SEM ที่กำลังขยาย 5,000-20,000 เท่า [29-31]

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากระบบ EBPR โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya's broth บ่มที่อุณหภูมิ 30±2 °C นาน 2 วัน [29] ในการคัดแยกใช้วิธี streak-plate technique บน Pikovskaya's agar บ่มที่อุณหภูมิ 30±2 °C นาน 2 วัน จากนั้นนำโคลนี่ที่เกิดขึ้นมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยใช้วิธี streak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar เป็น difference media เพื่อคัดแยกเชื้อที่เป็นแกรมลบยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่เป็นแกรมบวก *Acinetobacter* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบสามารถเจริญเติบโตในอาหารชนิดนี้ และเพาะเลี้ยงใน sheep blood agar เนื่องจากเป็น selective media [32] ซึ่งการศึกษาของ Ajao และคณะ (2011) พบว่า sheep blood agar ตรวจพบ *Acinetobacter* spp. ได้ 100 % [33]

จากนั้นนำโคลนี่ที่เกิดขึ้นมา streak บน agar slant เพื่อนำส่งตรวจ *Acinetobacter* spp. ที่ศูนย์ตรวจวินิจฉัยทางการแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งใช้เทคนิค PCR (polymerase chain reaction) [34] และ DNA sequencing และนำมาระบุชนิดของจุลินทรีย์โดย NCBI data base

2.4 วิธีการวิเคราะห์ที่ใช้ในการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาสมมูลมวลของ TP

TN และ TCOD ของระบบ EBPR และศึกษาประสิทธิภาพกำจัดฟอสฟอรัส การเก็บตัวอย่างที่จะนำไปวิเคราะห์ทุกวัน โดยวิธีการวิเคราะห์ที่นำมาใช้ในงานวิจัย อ้างอิงจาก Standard method for examination of water and wastewater (APHA) [35] โดยสูตรคำนวณการหาค่า COD, TKN และ Ortho-P แสดงดังสมการที่ 1 ถึง 3

$$\text{สูตรคำนวณหา COD (มก./ล.)} = \frac{(A-B) \times M \times 8,000}{\text{มล.ของตัวอย่าง}} \quad (1)$$

$$\text{สูตรคำนวณหา TKN (มก./ล.)} = \frac{(C-D) \times N \times 14,000}{\text{มล.ของตัวอย่าง}} \quad (2)$$

$$\text{สูตรคำนวณหา Ortho-P (มก./ล.)} = \frac{\text{มก. P} \times 1,000}{\text{มล.ของตัวอย่าง}} \quad (3)$$

เมื่อ A = มิลลิลิตรของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรต blank; B = มิลลิลิตรของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง; M = ความเข้มข้นของสารละลาย FAS หน่วยเป็นโมลาร์; C = มิลลิลิตรของ H₂SO₄ ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง; D = มิลลิลิตรของ H₂SO₄ ที่ใช้ในการไทเทรต blank; N = Normality ของสารละลายมาตรฐาน H₂SO₄

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ประสิทธิภาพในการกำจัด TP ของระบบ

ประสิทธิภาพการกำจัด TP ที่ SRT 20 และ 60 วัน เท่ากับร้อยละ 53.26 และ 65.69 ตามลำดับแสดงในรูปที่ 2 เมื่อใช้อัตราส่วน TCOD:P เท่ากับ 20 และใช้กรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอนร้อยละ 100 เมื่อทดสอบทางสถิติด้วย paired-t test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด TP แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p-value = 0.00 (<0.05) โดยที่ประสิทธิภาพการกำจัด TP ที่ SRT 60 วันมีค่ามากกว่า SRT 20 วัน 1.23 เท่า โดยพบว่ามีปริมาณของ ortho-P เพิ่มขึ้นเมื่อน้ำเสียเข้าสู่สภาวะ

แอนแอโรบิก เนื่องจากกลไกการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่ม PAOs ซึ่งมีความสามารถในการกำจัดฟอสฟอรัส แต่จำเป็นต้องเกิด 2 กลไก คือ การคายฟอสฟอรัส และการจับใช้ฟอสฟอรัส โดยการคายฟอสฟอรัสจะเกิดขึ้นได้ในสภาวะแอนแอโรบิก เนื่องจากกลุ่ม PAOs จะเกิดการสลายโมเลกุล poly-P ภายในเซลล์ ได้ผลิตภัณฑ์เป็น ortho-P และพลังงาน ซึ่งส่งผลให้ปริมาณของ ortho-P ในสภาวะนี้เพิ่มสูงขึ้น โดยพลังงานที่ได้จะนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของเซลล์ และนำไปใช้ในการดึงกรดอะซิติกในน้ำเสียเข้ามาเก็บไว้ในรูปของพอลิเมอร์ภายในเซลล์ PAOs ที่เรียกว่าพีเอชเอ (PHAs, polyhydroxyalkanoates,) ซึ่งเป็นรูปแบบหลักที่เกิด

จากพีเอชบี (PHB, poly-beta-hydroxybutyrate) และพีเอชวี (PHV, poly-beta-hydroxyvalerate) แสดงดังรูปที่ 3 โดยผลการทดลองพบว่าเกิดการคาย ortho-P ในสภาวะแอนแอโรบิกเท่ากับ 57.96 และ 82.02 มก./ล. ที่ SRT 20 และ 60 วัน ตามลำดับ ดังรูปที่ 4 ส่วนกลไกการจับใช้ฟอสฟอรัสเกิดจาก PAOs สลายโพลีเมอร์ภายในเซลล์ในรูปของ PHA เกิดเป็นพลังงานที่นำไปใช้ในการเจริญเติบโต และเป็นพลังงานในการจับใช้ ortho-P ในน้ำเสีย เข้ามาเก็บไว้ในเซลล์ของ PAOs ในรูปของ poly-P ซึ่งกระบวนการนี้จะทำให้เกิดการกำจัด ortho-P ออกจากน้ำเสีย

การสะสมฟอสฟอรัสไว้ในเซลล์ของ PAOs

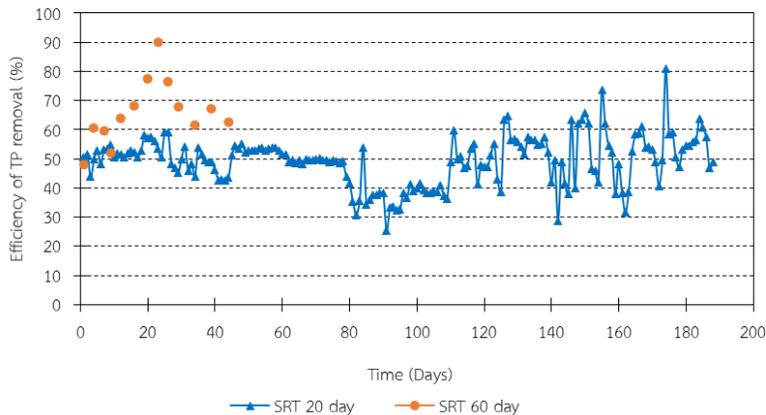


Figure 2 TP removal efficiency calculated from aerobic tanks and in the effluent of the EBPR system on SRT 20 and 60 days.

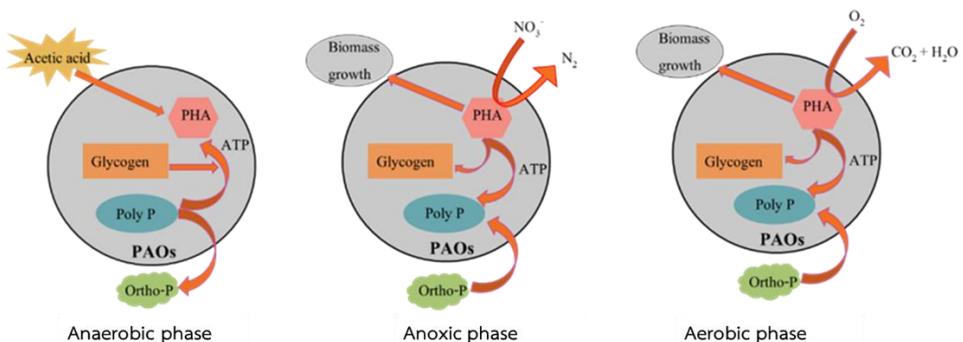


Figure 3 Mechanism of release and uptake ortho-P of PAOs in anaerobic, anoxic and aerobic conditions. [36]

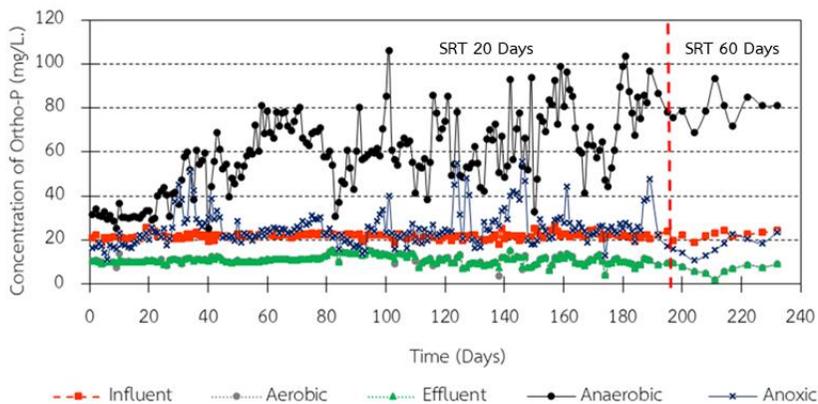


Figure 4 The concentration of ortho-P in anaerobic, anoxic, aerobic and effluent conditions.

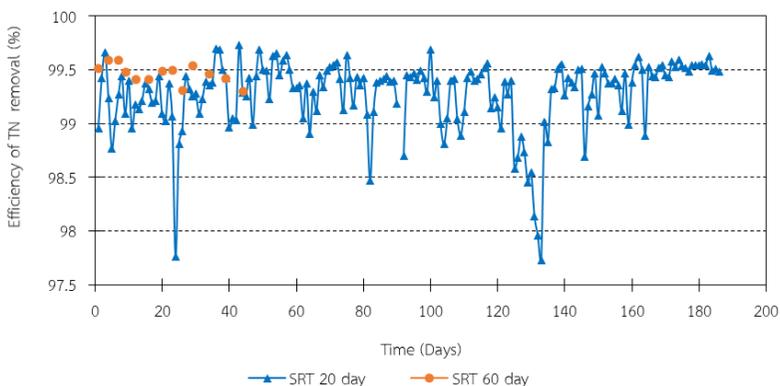


Figure 5 The efficiency of TN (TKN + nitrite + nitrate) removal (%) and the efficiency of TKN removal in EBPR processes

ซึ่งจะถูกกำจัดออกจากระบบผ่านการทิ้งตะกอนส่วนเกิน [37] โดยจะเห็นว่าปริมาณ ortho-P ในสภาวะแอนอโรบิกลดลงเฉลี่ย 35.27 มก./ล. ที่ SRT 20 และ 60 วัน ตามลำดับ และสภาวะแอโรบิกมีค่าลดลงเฉลี่ยเท่ากับ 14.39 มก./ล. เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัด ortho-P พบว่าที่ SRT 60 วัน ส่งผลให้เกิดการคาย และจับใช้ ortho-P สูงกว่าที่ SRT 20 วัน เนื่องจาก PAOs สามารถทำงานได้ดีกว่าที่ SRT สูง สอดคล้องกับการศึกษาของ Li และคณะ (2016) ที่พบว่า SRT มากกว่า (20 วัน) จะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสสูงที่สุด [8] พบว่าปริมาณของ

ortho-P ในสภาวะแอนอโรบิกมีค่าสูงขึ้น 63.08 ± 13.34 มก./ล. ซึ่งคิดเป็น 2.88 เท่าของ ortho-P ที่เข้าสู่ระบบ

ประสิทธิภาพการกำจัด TN เมื่อ SRT 60 วัน เท่ากับร้อยละ 99.49 ± 0.09 ส่วนที่ SRT 20 วัน ที่พบว่า TN ที่เข้าระบบเฉลี่ย 14.38 มก./ล. และความเข้มข้นน้ำทิ้งของ TN เฉลี่ย 0.12 มก./ล. และมีประสิทธิภาพการกำจัด TN เฉลี่ยร้อยละ 99.20 (รูปที่ 5) เมื่อทดสอบด้วย paired-t test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด TN และ TKN ของระบบเมื่อควบคุม SRT ที่ 20 วัน และ 60 วัน

มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p=0.00$ เนื่องจาก SRT 60 วัน มากเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่ม autotroph และ heterotroph ซึ่งเป็นกลุ่มที่สามารถเกิดปฏิกิริยา ammonification, nitrification และ denitrification รวมถึงการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในระบบ EBPR โดยเกิดการปฏิกิริยา nitrification ทำให้ NH_4^+ เปลี่ยนรูปเป็นไนไตรท์และไนเตรทในสภาวะที่มี O_2 ของถังเดิมอากาศซึ่งผลการทดลองแสดงถึงปริมาณของ O_2 เพียงพอต่อการบำบัด NH_4^+ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yu (2011) ที่พบว่าเมื่อควบคุมระบบโดยใช้ SRT มาก จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัด TN ดีกว่า โดยเมื่อใช้ SRT 11 วัน สามารถกำจัด TN ได้ร้อยละ 85.4 [37] และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Li และคณะ (2014) ที่ศึกษาผลของ SRT ในระบบกำจัดสารอาหารทางชีวภาพ โดยกำหนดที่ SRT 5, 10, 20 และ 40 วัน พบว่า SRT มีผลต่อการกำจัด TN เมื่อ SRT ต่ำ จะส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์กลุ่ม Nitrifier [38]

3.3 ไนไตรท์และไนเตรท

ปริมาณของไนไตรท์ และไนเตรทในน้ำทิ้งเท่ากับ 2.56×10^{-3} และ $6.71 \times 10^{-2} \pm 0.01$ มก./ล. ที่ SRT 60 วัน ส่วนที่ SRT 20 วัน พบปริมาณของ

ไนไตรท์และไนเตรทในน้ำทิ้งเท่ากับ 0.01 และ 0.08 มก./ล. ซึ่งปริมาณไนเตรทที่เกิดขึ้นในสภาวะแอโรบิกเท่ากับ 0.122 ± 0.03 มก./ล. และถูกกำจัดด้วยปฏิกิริยา denitrification ในถังแอนอ็อกซิก เหลือไนเตรทเท่ากับ 0.05 ± 0.01 มก./ล. ดังรูปที่ 6 ซึ่งเกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่ม denitrifying phosphate accumulating organism (DNPAOs) การทดลองนี้จะมีการหมุนเวียนน้ำเสีย และจุลินทรีย์ในถังแอโรบิกไปยังถังแอนอ็อกซิกเพื่อกำจัดไนเตรท โดยใช้อัตราส่วนการหมุนเวียนกลับเป็น 3 เท่าของอัตราการไหลของน้ำเสียเข้าระบบ ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัด TN โดยเฉพาะไนเตรท ซึ่งจะถูกผลิตขึ้นในถังแอโรบิก จากการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่ม *Nitrosomonas* sp. และ *Nitrobacter* sp. เรียกว่าปฏิกิริยา nitrification [39] และจะถูกกำจัดเป็น N_2 ที่ถังแอนอ็อกซิกด้วยปฏิกิริยา denitrification ซึ่งจะมีการใช้ SCOD โดยจุลินทรีย์กลุ่ม heterotroph ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chuang และคณะ (1997) ที่ได้ศึกษา SRT ที่ 5, 10, 12 และ 15 วัน พบว่า SRT มีนัยสำคัญต่อประสิทธิภาพการกำจัด TN หาก SRT มากกว่า 10 วัน จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัด TN เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งงานวิจัยนี้ควบคุม SRT ที่ 20 และ 60 วัน [12]

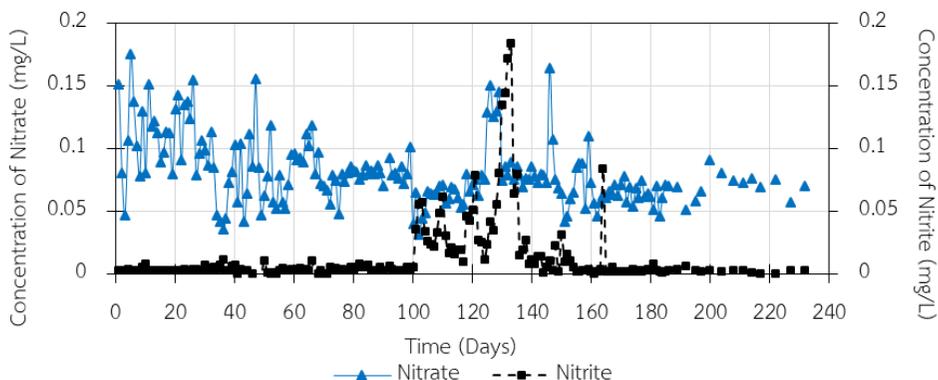


Figure 6 The concentrations of nitrate and nitrite in effluent when operated the EBPR processes at 20 and 60 days of SRT.

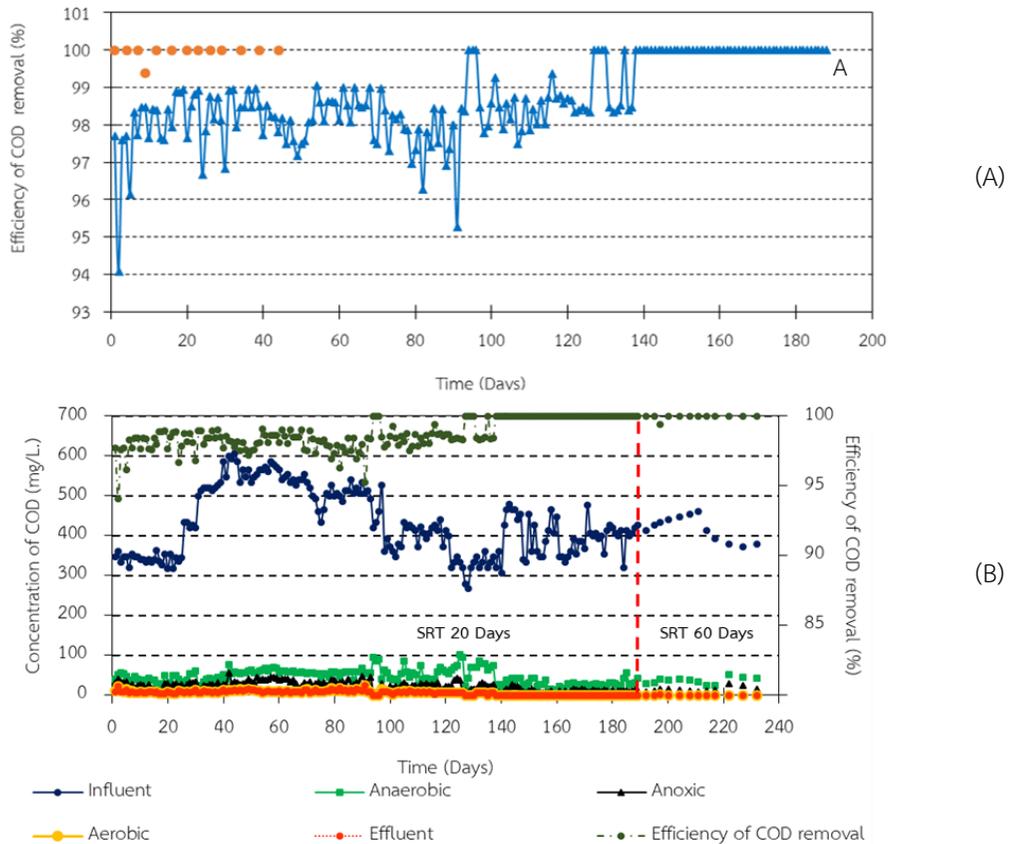


Figure 7 The efficiency of SCOD (A) and concentration of SCOD (B) in EBPR process. Microorganisms are used carbon sources in SCOD form.

3.4 ประสิทธิภาพในการกำจัด TCOD ของระบบ

ประสิทธิภาพการกำจัด TCOD เฉลี่ยที่ SRT 20 และ 60 วัน เท่ากับร้อยละ 98.67 และ 99.97 ตามลำดับดังรูปที่ 7 (A) ซึ่งมีค่าไม่ต่างกับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Li และคณะ (2016) ที่ได้ศึกษาผลของ SRT ต่อประสิทธิภาพการกำจัด TCOD พบว่าที่ SRT 30 วัน ประสิทธิภาพการกำจัด TCOD ดีที่สุด การศึกษานี้ใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากกรดอะซิติกที่ละลายน้ำ ทำให้ค่า TCOD เท่ากับ SCOD ในน้ำที่เข้าระบบมีค่าเท่ากัน เฉลี่ย 430.20 มก./ล. โดยพบว่ามีความเข้มข้น SCOD ในน้ำทิ้งเฉลี่ยเท่ากับ 5.38

มก./ล. ดังรูปที่ 7 (B) ซึ่งผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้ง (TCOD ไม่เกิน 120 มก./ล.) [2] ทั้งหมด แสดงว่าจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์คาร์บอนอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งแต่ละถังปฏิกิริยาจุลินทรีย์มีการใช้สารอาหารในการเจริญเติบโต จึงทำให้ SCOD ที่เป็นแหล่งคาร์บอนลดลง โดยเฉพาะสารอินทรีย์ที่ย่อยง่าย เช่น กรดอะซิติกจะทำให้ PAOs สามารถใช้สารอินทรีย์คาร์บอนได้ง่ายขึ้น ระบบจึงสามารถกำจัด TCOD สอดคล้องกับงานวิจัยของ Piasai และคณะ (2017) ที่ศึกษาการใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนในระบบ EBPR พบว่ามีความเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่ม PAOs [40]

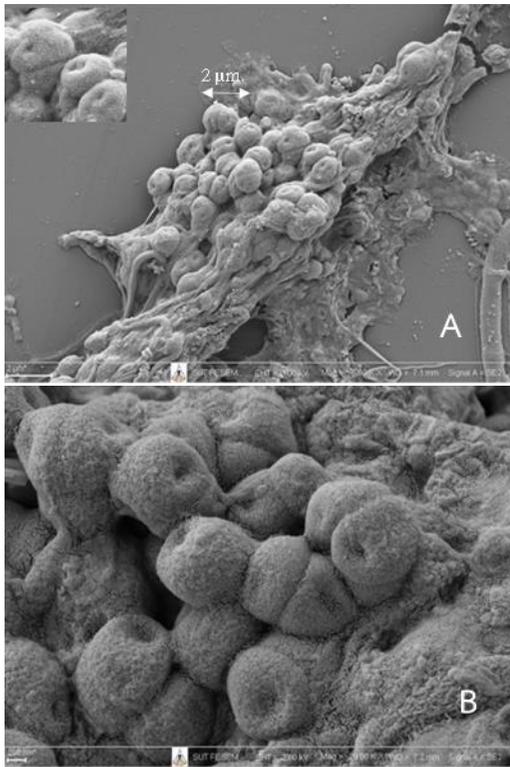


Figure 8 *Acinetobacter buamanii* microorganism (small image) in the EBPR processes (5,000x), collected at 20-day SRT (A) , and 60- day SRT (20,000x) (B).

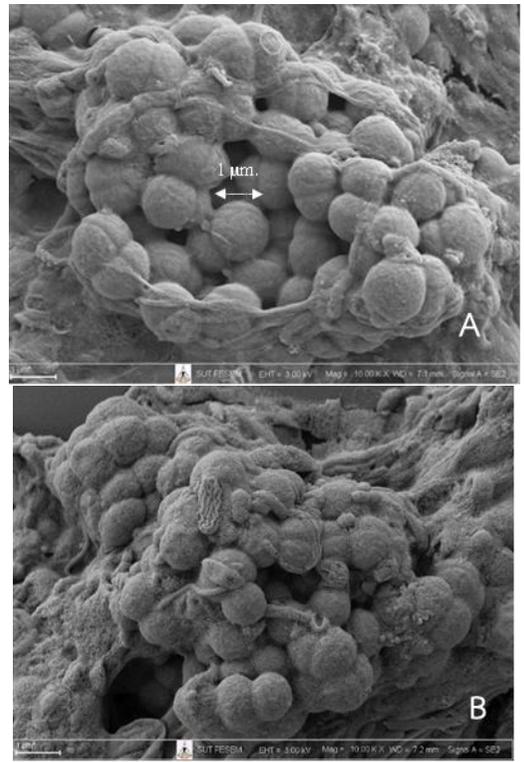


Figure 9 Microorganisms found in the EBPR system using a SEM (10,000x), collected at 20-day SRT (A) and 60-day SRT (B).

ปริมาณของ COD ลดลงในสภาวะแอนแอโรบิก แอนอกซิก และแอโรบิก ซึ่งสภาวะแอนแอโรบิก พบว่า ปริมาณของ SCOD หายไปมากที่สุด ดังรูปที่ 7 เกิดจากกลไกการหมักของ heterotroph และกรดไขมันสายสั้น (short-chain fatty acids, SCFAs) ถูกใช้โดย PAOs หลังจากสลาย poly-P จนได้พลังงาน เมื่อสารอินทรีย์คาร์บอนเข้าสู่ถังแอนแอโรบิกจะเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกาศ โดยจุลินทรีย์กลุ่ม heterotroph เกิดผลิตภัณฑ์เป็น CO_2 , H_2O และ CH_4 และกรดอะซิติกจะถูกจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งคือ PAOs นำไปใช้ผลิตเป็นพลังงานเก็บไว้ในเซลล์ในรูปแบบ

ของ PHA ซึ่งในถังแอนแอโรบิกจะมีความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์คาร์บอนได้สูงที่สุด จากนั้นสารอินทรีย์ที่เหลือเมื่อเข้าสู่ถังแอนอกซิกจะเกิดปฏิกิริยา denitrification เกิดการกำจัดไนเตรท โดยเปลี่ยนเป็น N_2 จะเกิดการกำจัดสารอินทรีย์คาร์บอนด้วย และ

สุดท้ายสารอินทรีย์ที่เหลือจะถูกกำจัดด้วยปฏิกิริยาการย่อยสลายแบบใช้ออกาศ โดยใช้ O_2 ในการเปลี่ยนสารอินทรีย์คาร์บอนเป็น CO_2 , H_2O และพลังงานในการเจริญเติบโต และเนื่องจากระบบอยู่ในสภาวะคงที่ จึงไม่เกิดปฏิกิริยาในถังตกตะกอน ซึ่งจะทำให้ปริมาณ SCOD ในถังแอนแอโรบิกและน้ำทิ้งมีค่าเท่ากัน

Table 1 Types of microorganisms that can eliminate phosphorus in the biological system of each study.

Types of Microorganisms	Carbon sources	Methods	Efficiency of ortho-P removal	References
<i>A. baumannii</i>	acetate	DNA sequencing and NCBI data base	50-70 %	this study
<i>Acinetobacter</i> spp.				
<i>Accumulibacter</i> spp.	-	Fluorescence <i>in situ</i> hybridization (FISH)	-	Nielsen <i>et al.</i> (2012) [47]
<i>C. accumulibacter</i>	-	-	sampling from aerobic tank	Koichi <i>et al.</i> (2008) [54]
<i>C. accumulibacter</i>	acetate	The GenBank accession numbers	-	He <i>et al.</i> (2007) [55]
<i>A. calcoaceticus</i>	Na-propionate and peptone	CFU	-	Jasna <i>et al.</i> (2003) [17]
<i>Acinetobacter</i> spp.	acetate	API 20 E	sampling from aerobic tank	Valter <i>et al.</i> (1998) [49]
<i>Acinetobacter</i> spp.	acetate	API 20NE and polyamine patterns	>50 %	Auling <i>et al.</i> (1991) [16]
<i>Acinetobacter</i> spp.	acetate, lactate and glucose	Gram stain and transmission electron microscopy (TEM)	50-70 %	Marlies <i>et al.</i> (1990) [51]
<i>A. calcoaceticus</i>	acetate	-	ortho-P was released about 4-8 % of phosphorus in anaerobic tank	Ohtake <i>et al.</i> (1984) [53]

3.5 การคัดแยกจุลินทรีย์ในระบบ EBPR

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียภายใต้กล้อง SEM พบว่าในถังปฏิกรณ์ที่ควบคุม SRT เท่ากับ 20 และ 60 วัน พบกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นวงกลมรี (coccobacillus) ดังรูปที่ 8 (A) และ 8 (B) ซึ่งลักษณะคล้ายกับการศึกษาของ Espinal และคณะ (2012); Nait และคณะ (2014) และ Pour และคณะ (2011) [41-43] นอกจากนี้ PAOs ยังพบจุลินทรีย์อื่นที่อาศัยในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งทั่วไป พบว่าจุลินทรีย์มีลักษณะกลมใหญ่ เกาะกันเป็นกลุ่ม เมื่อควบคุม SRT เท่ากับ 20 และ 60 ดังรูปที่ 9 (A) และ 9 (B) ตามลำดับ ซึ่งมีลักษณะคล้าย

กับจุลินทรีย์ระบบตะกอนเร่งในการศึกษาของ Bin และคณะ (2015) และมีรูปร่างเป็นทรงแท่ง [44] คล้ายกับการศึกษาของ Cole และคณะ (2014) [45] และคล้ายกับการศึกษาของ Jianlong และ Jing (2005) [46] โดยน่าจะมีแนวโน้มเป็นกลุ่ม heterotroph ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถกำจัดได้ทั้ง SCOD TN และ TP จะเห็นว่ากลุ่มของจุลินทรีย์เมื่อควบคุม SRT 20 และ 60 วัน มีลักษณะที่คล้ายกัน

การคัดแยกและวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค PCR และ DNA sequencing จากนั้นระบุชนิดของจุลินทรีย์โดย NCBI data base พบว่าในระบบ EBPR ที่ SRT 20 และ 60 วัน มีจุลินทรีย์กลุ่ม

PAOs ชนิด *Acinetobacter* spp. และ *Acinetobacter baumannii* โดยพบจุลินทรีย์แกรมลบชนิดอื่นที่ไม่ใช่จุลินทรีย์กลุ่ม PAOs ในตัวอย่างที่ควบคุม SRT 20 วัน คือ *Stenotrophomonas maltophilia* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jasna และคณะ (2003); Nielsen และคณะ (2011); Kortstee และคณะ (1999); Valter และคณะ (1998); Georg และคณะ (1991); Marlies และคณะ (1990); Deinema และคณะ (1985); Ohtake และคณะ (1984) ซึ่งทดลองโดยใช้กรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอนทั้งหมด และพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถกำจัดฟอสฟอรัสเป็นกลุ่ม *Acinetobacter* spp. [17,47-53] ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Koichi และคณะ (2008) และ He และคณะ (2007) ที่พบว่าการใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนทั้งหมด จะพบจุลินทรีย์กลุ่ม *Candidatus accumulibacter* ที่สามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้ [54,55] แสดงดังตารางที่ 1

SRT เป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่ส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่ม PAOs และ GAOs โดยหลายงานวิจัยได้กำหนด SRT ที่ต่างกัน แสดงดังตารางที่ 2 การศึกษาของ Li และคณะ (2014) พบว่า SRT ที่

ต่างกัน (5, 10, 20 และ 40 วัน) ส่งผลต่อประสิทธิภาพการกำจัด TN แต่ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัด TCOD และ TP เนื่องจากที่ SRT ต่ำ จะส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่ม nitrifier [38] ส่วนการศึกษาของ Chan และคณะ (2017) พบว่าที่ SRT ต่ำ ๆ (3 วัน) จะส่งผลให้ PAOs ถูกชะล้างออกไป เนื่องจากปริมาณ ortho-P ที่คาย และถูกจับใช้ในระบมมีค่าลดลง โดยพบจุลินทรีย์กลุ่ม *accumulibacter* [56]

การศึกษามผลของ SRT ที่มีผลต่อการกำจัดฟอสฟอรัสของจุลินทรีย์กลุ่ม PAOs ในระบบ EBPR พบว่าเมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็น acetate และ SRT 60 วัน เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดฟอสฟอรัส โดยจะเห็นว่าจุลินทรีย์ PAOs พบทั้งระบบที่มีการควบคุม SRT เท่ากับ 20 และ 60 วัน แต่จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่ SRT 60 วัน เมื่อเปรียบเทียบจากประสิทธิภาพในการกำจัด ortho-P TN และ TCOD เนื่องจากพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p=0.00 (<0.05)$ ที่ SRT 20 และ 60 วัน สรุปได้ว่า *Acinetobacter* spp. สามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้ดีที่ SRT สูง และส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกำจัด TN และ TCOD สูงด้วย

Table 2 Suitable sludge retention time (SRT) for phosphorus removal of each study.

SRT (Days)	Efficiency of P removal (%)	Temperature (°C)	Microorganism	System	References
20	53.26	30±5	<i>Acinetobacter baumannii</i> and <i>Acinetobacter</i> spp.	continuous	this study
60	65.69	30±5			
8	99	16-19	-	continuous	Valverde-Perez <i>et al.</i> (2016) [57]
20	highest	22±3	-	continuous	Li <i>et al.</i> (2016) [8]
2-2.5	>90	20-22	<i>Comamonadaceae</i>	semi-batch	Ge <i>et al.</i> (2015) [23]
11	74.9	30	-	continuous	Yu <i>et al.</i> (2011) [37]
20	93	20±2	-	continuous	Lee <i>et al.</i> (2007) [58]
10	>90	20±1	-	continuous	Chuang <i>et al.</i> (1997) [12]

Table 3 Characteristics of Influent and effluent in EBPR processes with 20- and 60-day SRT.

Parameters	SRT 20 days			SRT 60 days			Standard effluent [2]
	Influent	Effluent	Efficiency	Influent	Effluent	Efficiency	
SCOD (mg/L)	430.20±84	5.38±5	98.67±1.06	417.78±30.40	0.22±0.84	99.97±0.77	< 120
TN (mg/L)	14.38±0.12	1.10±1.18	99.20±0.33	13.53±1.93	0.07±0.01	99.49±0.10	< 20
nitrate (mg/L)	0	8.00×10 ⁻²		0	6.71×10 ⁻²		-
TP (mg/L)	21.91±1.31	11.09±1.88	53.26±8.34	22.45±1.75	7.30±2.23	65.69±9.71	< 2

4. สรุป

PAOs เป็นกลุ่มที่มีบทบาทสำคัญและต้องอาศัยสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต เมื่อทดสอบชนิดของ PAOs ที่พบในระบบ EBPR พบว่าเป็นกลุ่ม *A. baumannii* และ *Acinetobacter* spp. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด TP, TN และ TCOD ที่ SRT 20 วัน เท่ากับร้อยละ 53.26, 98.67 และ 99.20 ตามลำดับ เมื่อควบคุม SRT เป็น 60 วัน พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด TP, TN และ TCOD เท่ากับร้อยละ 65.69, 99.49 และ 99.97 ซึ่งคุณลักษณะของน้ำเสียและน้ำทิ้งของระบบ EBPR แสดงดังตารางที่ 3 จะเห็นว่า SCOD และ TKN ในน้ำทิ้งของการเดินระบบที่ SRT 20 และ 60 วัน ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน แต่ TP ของทั้ง 2 SRT มีค่าสูงกว่า 2 มก./ล. ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน โดยจะเห็นว่าประสิทธิภาพการกำจัด TN และ TCOD ไม่ต่างกัน ส่วนประสิทธิภาพการกำจัด TP ที่ SRT 60 วัน พบว่ามีค่ามากกว่าที่ SRT 20 วัน ถึง 1.23 เท่า พบว่าพฤติกรรมในการทำงานของ PAOs ในสภาวะแอนแอโรบิกจะเกิดการคาย ortho-P ที่ SRT 60 วัน สูงกว่า SRT 20 วัน เท่ากับ 1.66 เท่า และเกิดการจับใช้ ortho-P ในสภาวะแอนอกซิก และแอโรบิกที่ SRT 60 วัน สูงกว่า SRT 20 วัน เท่ากับ 1.57 เท่า เมื่อทดสอบทางสถิติด้วย paired-t test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด TP TN และ TCOD แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่

p-value = 0.00 (<0.05) ที่ SRT 20 และ 60 วัน โดยที่ SRT ที่ต่างกันส่งผลต่อประสิทธิภาพการกำจัด TP อธิบายได้ว่าที่ SRT ที่สูงกว่า ทำให้ PAOs มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น สังเกตจากปริมาณ ortho-P ที่ถูกปล่อยในสภาวะแอนแอโรบิกเพิ่มสูงขึ้น และปริมาณ ortho-P ที่ถูกจับใช้ในสภาวะแอนอกซิกและแอโรบิก จะเห็นว่า การควบคุม SRT ของระบบให้เหมาะสมสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการควบคุมระบบ EBPR รวมถึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน

5. References

[1] Ministry of Natural Resource and Environment, Domestic Wastewater Treatment System, Available Source: <http://mews.onep.go.th/default.aspx>, March 16, 2016. (in Thai)

[2] Pollution Control Department, 2010, Announcement of the Pollution Control Department: Design Criteria of Wastewater Collection and Integrated Wastewater System of Domestic, Ministry of Natural Resources and Environment, Bangkok. (in Thai)

[3] Guerrero, J., Guisasola, A. and Baeza, J.A., 2015, Controlled crude glycerol dosage to

- prevent EBPR failures in C/N/P removal WWTPs, Chem. Eng. J. 271: 114-127.
- [4] Wei, Y., Wang, S., Ma, B., Li, X., Yuan, Z., He, Y. and Peng, Y., 2014, The effect of poly- β hydroxyalkanoates degradation rate on nitrous oxide production in a denitrifying phosphorus removal system, Bioresour. Technol. 170: 175-182.
- [5] Wang, R., Peng, Y., Cheng, Z. and Ren, N., 2014, Understanding the role of extracellular polymeric substances in an enhanced biological phosphorus removal granular sludge system, Bioresour. Technol. 169: 307-312.
- [6] Chaiyaphan, W., 2007, Study of microbial community and the possibility on saline enhanced biological phosphorus removal using sequencing batch reactor system, Proceedings of 45th Kasetsart University Annual Conference, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- [7] Guerrero, J., Tayà, C., Guisasola, A. and Baeza, J.A., 2012, Glycerol as a sole carbon source for enhanced biological, Water. Res. 46: 2983-2991.
- [8] Li, D., Lv, Y., Zeng, H. and Zhang, J., 2016, Effect of sludge retention time on continuous-flow system with enhanced biological phosphorus removal granules at different COD loading, Bioresour. Technol. 219: 14-20.
- [9] Piasai, C., Boontian, N., Yingchon, U., Phondon, T. and Padri, M., 2020, Optimum conditions to produce acetic acid from various excess sludge for using in biological phosphorus removal processes, Thai Sci. Technol. J. 28(2): 277-296. (in Thai).
- [10] Piasai, C., Boontian, N., Phondon, T. and Padri, M., 2020, Mass balances of biological nutrient removal with extended sludge retention time, Thai Sci. Technol. J. 28(9): 1683-1702. (in Thai)
- [11] Wentzel, M.C., Ekama, G.A. and van Marais, G.R., 1992, Processes and modelling of nitrification denitrification biological excess phosphorus removal systems: A review, Water Sci. Technol. 25: 59-82.
- [12] Chuang, S.H., Ouyang, C.F., Yuang, H.C. and You, S.J., 1997, Effects of SRT and do on nutrient removal in a combined as-biofilm process, Water Sci. Technol. 36: 19-27.
- [13] Puig, S., Coma, M., Monclús, H., van Loosdrecht, M.C.M., Colprim, J. and Balaguer, M.D., 2008, Selection between alcohols and volatile fatty acids as external carbon sources for EBPR, Water Res. 42: 557-566.
- [14] Rodrigo, M.A., Seco, A., Ferrer, J. and Penya-Roja, J.M., 1999, The effect of the sludge age on the deterioration of the enhanced biological phosphorus removal process, Environ. Tech. 20: 1055-1063.
- [15] Randall, C., Brannan, K., McClintock, S. and

- Pattarkine, V. , 1992, The case for anaerobic reduction of oxygen requirements in biological phosphorus removal systems, *Water Environ. Res.* 64: 824-833.
- [16] Auling, G., Pilz, F., Busse, H.J., Karrasch, S., Streichan, M. and Schön, G., 1991, Analysis of the polyphosphate- accumulating microflora in phosphorus- eliminating, anaerobic- aerobic activated sludge systems by using diaminopropane as a biomarker for rapid estimation of *Acinetobacter* spp., *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 3585-3592.
- [17] Jasna, H., Darko, T., Hanife, B. and Yüksel, O. , 2003, Influence of support materials on phosphate removal by the pure culture of *Acinetobacter calcoaceticus*, *Food Technol. Biotechnol.* 41: 331-338.
- [18] Chen, Y., Liu, Y., Zhou, Q. and Gu, G., 2005, Enhanced phosphorus biological removal from wastewater: Effect of microorganism acclimatization with different ratios of short-chain fatty acids mixture, *Biochem. Eng. J.* 27: 24-32.
- [19] Tasli, R., Artan, N. and Orhon, D. , 1997, The influence of different substrates on enhanced biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor, *Water Sci. Technol.* 35: 75-80.
- [20] Henze, M., Gujer, W., Mino, T., van Loosdrecht, M.C.M., 2000, Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3, Reprint Ed., IWA Publishing, London, 121 p.
- [21] Piasai, C., Boontian, N., Phondon, T. and Padri, M., 2020, Mass balances of cod nitrogen and phosphorus in enhanced biological nutrient removal processes, *Thai Sci. Technol. J.* 28(6): 1029-1048. (in Thai)
- [22] Warodomrungsimun, C., Patthanaissara nukool, W., Buayoungyuen, S. and Fongsatitkul, P., 2019, Performance and kinetics of the treating slaughterhouses wastewater using sequencing batch reactor, *NUJST* 27: 87-97.
- [23] Ge, H., Batstone, D.J. and Keller, J., 2015, Biological phosphorus removal from abattoir wastewater at very short sludge ages mediated by novel pao clade comamonadaceae, *Water Res.* 69: 173-182.
- [24] Chuang, S.H. , Chang, W.C. , Huang, Y.H., Tseng, C.C. and Tai, C.C., 2011, Effects of different carbon supplements on phosphorus removal in low C/ P ratio industrial wastewater, *Bioresour. Technol.* 102: 5461-5465.
- [25] Piasai, C., Boontian, N., Yingchon, U. and Pyae, H.A., 2017, Efficiency enhancement of biological phosphorus removal with difference carbon sources, *EIT Eng. J. Res. Develop.* 28(2): 41-52. (in Thai)
- [26] Boontian, N., 2012, Using the Activated Sludge Model 2d (ASM2d) to Understand

- and Predict the Phosphorus Accumulating Organisms Mechanism in Enhanced Biological Phosphorus Removal in Relation to Disintegrated Sludge as a Carbon Source, Doctoral Dissertation, Cranfield University, Cranfield, 267 p.
- [27] Djeribi, R., Bouchloukh, W., Jouenne, T. and Mena, B., 2012, Characterization of bacterial biofilms formed on urinary catheters, *Am. J. Infect. Control.* 40: 854-859.
- [28] Biswas, D., Tiwari, M. and Tiwari, V., 2019, Molecular mechanism of anti microbial activity of chlorhexidine against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *PLoS ONE*, 14(10): 1-17.
- [29] Jung, M.Y., Park, S.J., Min, D., Kim, J.S., Rijpstra, W.I.C., Sinninghe Damsté, J.S. and Rhee, S.K., 2011, Enrichment and characterization of an autotrophic ammonia-oxidizing archaeon of mesophilic crenarchaeal group I.1a from an agricultural soil, *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 8635-8647.
- [30] Haberman, A., Zelinger, E. and Samach, A., 2017, Scanning electron microscope (SEM) imaging to determine inflorescence initiation and development in olive, *Bio-Protocol* 7(19): 7 p.
- [31] Bin, Z., Bin, X., Zhigang, Q., Zhiqiang, C., Junwen, L., Taishi, G. and Jingfeng, W., 2015, Denitrifying capability and community dynamics of glycogen accumulating organisms during sludge granulation in an anaerobic-aerobic sequencing batch reactor, *Sci. Rep.* 5: Article No. 12904.
- [32] Siau, H., Yuen, K., Ho, P., Wong, S.S.Y. and Woo, P.C.Y., 1999, *Acinetobacter bacteremia* in Hong Kong: Prospective study and review, *Clin. Infect. Dis.* 28: 26-30.
- [33] Ajao, A.O., Robinson, G., Lee, M.S., Ranke, T.D., Venezia, R.A., Furuno, J.P., Harris, A.D. and Johnson, J.K., 2011, Comparison of culture media for detection of *Acinetobacter baumannii* in surveillance cultures of critically-ill patients, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 30: 1425-1430.
- [34] Higgins, P.G., Wisplinghoff, H., Krut, O. and Seifert, H., 2007, A PCR-based method to differentiate between *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomic species 13TU, *Clin. Microbiol. Infect.* 13: 1199-1201.
- [35] Rice, E.W., Baird, R.B. and Eaton, A.D. (Eds.), 2005, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th Ed., American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation, Washington, DC.
- [36] Yuan, Z., Pratt, S. and Batstone, D.J., 2012, Phosphorus recovery from waste water through microbial processes, *Curr. Opin. Biotechnol.* 23: 878-883.

- [37] Yu, L., 2011, Effect of SRT on nitrogen and phosphorus removal in modified carousel oxidation ditch process, *Adv. Mat. Res.* 396-398: 1995-2001.
- [38] Li, B. and Wu, G., 2014, Effects of sludge retention times on nutrient removal and nitrous oxide emission in biological nutrient removal processes, *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 11: 3553-3569.
- [39] Zheng, X., Sun, P., Lou, J., Cai, J., Song, Y., Yu, S. and Lu, X., 2013, Inhibition of free ammonia to the granule-based enhanced biological phosphorus removal system and the recoverability, *Bioresour. Technol.* 148: 343-351.
- [40] Piasai, C., Boontian, N., Yingchon, U. and Pyae, H.A., 2017, Effect of acetate as a sole carbon source for enhance biological phosphorus removal, oral presentations, Renewable Energy Sources - Research and Business (RESRB) 2017 Conference, Wrocław.
- [41] Espinal, P., Martí, S. and Vila, J., 2012, Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces, *J. Hosp. Infect.* 80: 56-60.
- [42] Nait, C.Y., Mlouka, M., Alexandre, S., Nicol, M., Marti, S., Pestel-Caron, M., Vila, J., Jouenne, T. and Dé, E., 2014, Virstatin inhibits biofilm formation and motility of *Acinetobacter baumannii*, *BMC Microbiol.* 14(1): 62.
- [43] Pour, N.K., Dusane, D.H., Dhakephalkar, P.K., Zamin, F.R., Zinjarde, S.S. and Chopade, B.A., 2011, Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* strains isolated from urinary tract infection and urinary catheters, *FEMS. Immunol. Med. Microbiol.* 62: 328-338.
- [44] Bin, Z., Bin, X., Zhigang, Q., Zhiqiang, C., Junwen, L., Taishi, G. and Jingfeng, W., 2015, Denitrifying capability and community dynamics of glycogen accumulating organisms during sludge granulation in an anaerobic- aerobic sequencing batch reactor, *Sci. Rep.* 5: Article No. 12904.
- [45] Cole, J.K., Hutchison, J.R., Renslow, R.S., Kim, Y.M., Chrisler, W.B., Engelmann, H.E. and Lindemann, S.R., 2014, Phototrophic biofilm assembly in microbial- mat-derived unicyanobacterial consortia: Model systems for the study of autotroph- heterotroph interactions, *Front. Microbiol.* 7(5): 109.
- [46] Jianlong, W. and Jing, K., 2005, The characteristics of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) by granular sludge from an EGSB reactor, *Proc. Biochem.* 40: 1973-1978.
- [47] Nielsen, P.H., Saunders, A.M., Hansen, A.A., Larsen, P. and Nielsen, J.L., 2012, Microbial communities involved in enhanced biological phosphorus removal from wastewater: A model system in environmental biotechnology, *Curr. Opin.*

- Biotechnol. 23: 452-459.
- [48] Kortstee, G.J.J., Appeldoorn, K.J., Bonting, C.F.C., van Niel, E.W.J. and van Veen, H.W., 2000, Recent developments in the biochemistry and ecology of enhanced biological phosphorus removal, Biochemistry (Moscow) 65: 332-340.
- [49] Valter, T., Mauro, M., John, M. and Roberto, R., 1998. The behavior of polyphosphate accumulating Acinetobacter isolates in an anaerobic-aerobic chemostat, Water Res. 32: 2903-2912.
- [50] Georg, A., Frank, P., Hans, J.B., Simone, K., Marlies, S. and Georg, S., 1991, Analysis of the polyphosphate- accumulating microflora in phosphorus- eliminating, anaerobic- aerobic activated sludge systems by using diaminopropane as a biomarker for rapid estimation of *Acinetobacter* spp., Appl. Environ. Microbiol. 57: 3585-3592.
- [51] Marlies, S., Jochen, R.G. and Georg, S., 1990, Polyphosphate- accumulating bacteria from sewage plants with different processes for biological phosphorus removal, FEMS Microbiol. Ecol. 73: 113-124.
- [52] Deinema, M.H., van Loosdrecht, M. and Scholten, A., 1985, Some physiological characteristics of *Acinetobacter* spp. accumulating large amounts of phosphate, Water Sci. Tech. 17: 119-125.
- [53] Ohtake, H., Takahashi, K., Tsuzuki, Y. and Toda, K. 1984, Phosphorus release from a pure culture of *Acinetobacter calcoacetivus* under anaerobic conditions, Environ. Sci. Technol. Lett. 5: 417-424.
- [54] Koichi, S., Shinya, M., Satoshi, O., Kensuke, N., Akihiko, T., Satoshi, T. and Akira, H., 2008, Modeling and experimental study on the anaerobic/aerobic/anoxic process for simultaneous nitrogen and phosphorus removal: The effect of acetate addition, Process. Biochem. 43: 605-614.
- [55] He, S., Gall, D. L. and McMahan, K.D., 2007, "*Candidatus accumulibacter*" Population structure in enhanced biological phosphorus removal sludges as revealed by polyphosphate kinase genes, Appl. Environ. Microbiol. 5865-5874
- [56] Chan, C., Guisasola, A. and Baeza, J. A., 2017, Enhanced biological phosphorus removal at low sludge retention time in view of its integration in a-stage systems, Water Res. 118: 217-226.
- [57] Valverde-Pérez, B., Wágner, D. S., Lóránt, B., Gülay, A., Smets, B.F. and Plósz, B.G., 2016, Short- sludge age ebpr process: Microbial and biochemical process characterization during reactor start- up and operation, Water Res. 104: 320-329.
- [58] Lee, D., Kim, M. and Chung, J., 2007, Relationship between solid retention time and phosphorus removal in anaerobic-intermittent aeration process, J. Biosci. Bioeng. 103: 338-344.