REMOVAL OF 17β-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

4 9 8 9 4 7 6 8 2 0

การกำจัด 17β-เอสตระไดออล (E2) และฟอสฟอรัสโดยระบบจุลชีพบนตัวกลาง

นายสุทธิพงศ์ ลาภอนันต์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2551
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

512057

Thesis Title	REMOVAL OF 17β-ESTRADIOL (E2) AND PHOSPHORUS USING ALTERNATING ATTACHED GROWTH FILTERS
By	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 Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

....Dean of the Graduate School
(Associate Professor Pornpote Piumsomboon, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

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

....Thesis Principal Advisor
(Professor Say Kee Ong, Ph.D.)

....Thesis Co-advisor
(Tawan Limpiyakorn, Ph.D.)

....External Member
(Wilasinee Saktaywin, Ph.D.)

....Member
(Chantra Tongcumpou, Ph.D.)

สุทธิพงศ์ ลาภอนันต์: การกำจัด 17β-เอสตระไดออล (E2) และฟอสฟอรัสโดยระบบจุลชีพบนตัวกลาง (REMOVAL OF 17β-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 17β-เอสตระไดออล (E2) และปัญหาการปล่อยน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอสฟอรัสได้รับความกังวลและใส่ใจมากขึ้น ระบบการบำบัดฟอสฟอรัสแบบเพิ่มพูนเป็นระบบที่ได้รับความสนใจเนื่องจากมีประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสได้เป็นอย่างดี โดยระบบบำบัดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นระบบแนวคิดใหม่ อันประกอบไปด้วยถังปฏิกรณ์ตัวกรองสองถังเชื่อมต่อกัน ถังปฏิกรณ์ตัวกรองถังที่หนึ่งไม่เติมอากาศและถังปฏิกรณ์ตัวกรองถังที่สองเติมอากาศ โดยมีการเดินระบบให้มีสภาวะไร้อากาศและเติมอากาศสลับกันไปมา ทั้งนี้เพื่อความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของฟอสฟอรัสจุลินทรีย์ในการกำจัดฟอสฟอรัส ระบบนี้สามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้สูงสุด 87.5±0.2 % ที่ระยะเวลาของการสลับระบบ 24 ชั่วโมงและระยะเวลาเก็บกักน้ำ 6 ชั่วโมง อีกทั้งระบบยังสามารถกำจัดไนโตรเจนได้ 72.1±0.6 % ที่ระยะเวลาของการสลับระบบ 3 ชั่วโมงและระยะเวลาเก็บกักน้ำ 3 ชั่วโมง จากผลการทดลองพบว่าระยะเวลาของการสลับระบบและระยะเวลากักเก็บน้ำเป็นปัจจัยที่มีผลกระทบสำคัญต่อการทำงานของจุลินทรีย์ เมื่อเดินระบบด้วยระยะเวลาของการสลับระบบที่สั้นจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัสได้โดยการลดระยะเวลากักเก็บน้ำลง อีกทั้งพบว่าอัตราส่วนของระยะเวลาของการสลับระบบและระยะเวลากักเก็บน้ำที่น้อยกว่า 4:1 เหมาะสมที่สุด นอกจากนี้เมื่อระยะเวลาเก็บกักน้ำลดลงจะมีผลต่อการกำจัดซีโอดีและฟอสฟอรัสที่ลดลง การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนและอัตราส่วนซีโอดีต่อฟอสฟอรัสของน้ำเสียเข้าระบบจะส่งผลกระทบด้านลบต่อการกำจัดฟอสฟอรัส ซึ่งตรงกันข้ามกับการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนอากาศต่อปริมาณน้ำเข้าระบบอันจะส่งผลดีต่อการกำจัดฟอสฟอรัสเมื่อดำเนินการทดลองโดยใช้ปริมาณฟอสฟอรัสเข้าในระบบเพิ่มขึ้นจาก 8 เป็น 16 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าระบบยังคงสามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้เช่นเดียวกัน ในส่วนของการกำจัด E2 ระบบนี้ยังสามารถกำจัด E2 ได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ 96.5 % ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงเมื่อระยะเวลากักเก็บน้ำและอัตราส่วนอากาศต่อน้ำเข้าระบบลดลง เมื่อพิจารณาถังปฏิกรณ์ตัวกรองสภาวะไร้อากาศสามารถกำจัด E2 ได้ลดลงเมื่อระยะเวลากักเก็บน้ำลดลง ในขณะที่ประสิทธิภาพการกำจัด E2 ในถังปฏิกรณ์ตัวกรองสภาวะเติมอากาศที่ระยะเวลากักเก็บน้ำ 3 ชั่วโมง จะให้ผลการกำจัดได้ใกล้เคียงกับเมื่อระยะเวลากักเก็บน้ำเพิ่มขึ้น การกำจัด E2 จะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนของซีโอดีต่อไนโตรเจนลดลง จากการทดลองตรวจพบเมแทบอไลต์คือ E1 ในถังปฏิกรณ์ตัวกรองทั้งสองของระบบ การทดลองการดูดซับได้ค่าฟรุนดริชซอฟชันไอโซเทอมคือ 8.43 และค่า 1/n คือ 0.664 เมื่อใช้สมดุลมวลสารพบการย่อยสลายทางชีวภาพสามารถกำจัด E2 ได้ 60 % และ 14 % โดยกระบวนการดูดซับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพอาจจะเป็นกลไกหลักในการกำจัด E2 ออกจากระบบ

สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา 2551

ลายมือชื่อนิสิต.....สุทธิพงศ์ ลาภอนันต์.....
ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

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 ($\mu g^{1-1/n}.L^{1/n}.g^{-1}$) 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....Sutthipong Lapanunt....

Principal 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

	Page
ABSTRACT IN THAI	iv
ABSTRACT IN ENGLISH	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
CONTENTS	vii
LIST OF FIGURES	xi
LIST OF TABLES	xiv
ABBREVIATIONS	xv
CHAPTER I INTRODUCTION AND OBJECTIVES	1
1.1 Background and motivation	1
1.2 Objectives	2
1.3 Hypotheses	3
1.4 Scope of study	3
1.5 Organization of Thesis	3
CHAPTER II LITERATURE REVIEWS	4
2.1 Introduction	4
2.2 Natural Estrogens	4
2.3 Sources of E2	7
2.4 Adverse effects of E2	7
2.5 Level of E2 in wastewater treatment system	8
2.6 Fate of E2 in wastewater treatment system	9
2.6.1 Sorption	9
2.6.2 Degradation	10
2.7 Removal of E2 by attached growth system	14
2.8 Measurement of E2 by GC-MS	14

	Page
2.9 Enhanced biological phosphorus removal (EBPR)...................	15
2.9.1 Process occurring in the anaerobic zone......................	16
2.9.2 Process occurring in the aerobic zone.........................	16
2.10 Effect of phosphorus and nitrogen...................................	18
2.11 Removal of phosphorus by attached growth system..............	18
2.12 Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal..	21
2.12.1 Process occurring in anoxic zone..........................	22
CHAPTER III METHODOLOGY AND MATERIALS......................	24
3.1 Experimental framework..	24
3.2 Material and apparatus..	25
3.2.1 Chemicals...	25
3.2.2 Equipment...	25
3.2.3 Media...	26
3.2.4 Enrichment..	27
3.2.5 Wastewater..	27
3.3 Sample preparation..	28
3.3.1 Solid phase extraction (SPE)..................................	28
3.3.2 Derivatization (Silylation of hydroxyl groups)...............	28
3.3.3 Internal standard..	28
3.4 Analytical methods..	29
3.4.1 Measurement of Water Quality Parameters.....................	29
3.4.2 Measurement of phosphorus content in biomass..............	29
3.4.3 Measurement of COD using closed reflux, colorimetric method...	30
3.4.4 Measurement of E2 by GC-MS..................................	30
3.4.5 Measurement of E2 in sludge....................................	30
3.5 Methodology..	31
3.5.1 Operating conditions..	32

Page

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 **Page**

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 and 2 (a) anaerobic/aerobic conditions and (b) aerobic/anaerobic conditions.. 26

3.3 Mass balance of E2.. 36

4.1 Overall percent removal of TP, TN, and COD for a given HRT and various CDs.. 40

4.2 Overall percent removals of TP, TN, and COD for a CDs and various HRTs.. 41

4.3 Effect of CD of 24 hrs under different HRTs on (a) phosphorus release 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....... 45

4.4 Effect of CD of 12 hrs under different HRTs on (a) phosphorus release 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....... 46

Figure **Page**

4.5 Effect of CD of 6 hrs under different HRTs on (a) phosphorus release 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....... 47

4.6 Effect of CD of 3 hrs under different HRTs on (a) phosphorus release 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....... 48

4.7 Effect of air:water under different HRTs on (a) phosphorus release 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....... 50

4.8 Effect of COD:N under different HRTs on (a) phosphorus release 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....... 52

4.9 Effect of COD:P under different HRTs on (a) phosphorus release 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....... 54

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 isotherm (b) normalized Freundlich isotherm.............................. 58

4.12 Anaerobic, aerobic, and total removal of E2 under different HRTs...... 60

4.13 E2 removals under different HRTs under anaerobic and aerobic conditions by media depth.. 60

4.14 Impact of air:water ratio on E2 removal under anaerobic and aerobic conditions.. 62

4.15 Impact of COD:N ratio on E2 removal under anaerobic and aerobic conditions.. 64

Figure **Page**

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 biofilters for TP, TN, and COD for various CD and HRT.............. 39

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 processes.. 56

4.5 Concentrations and percent removals of E2 and E1 for different air:water ratios... 62

4.6 Concentrations and percent removals of E2 and E1 for different COD:N ratios.. 64

4.7 Concentrations and percent removals of E2 and E1 in aerobic biofilter for different HRTs... 66

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_w	=	bulk soluble concentration
C_s	=	sorbed concentration
$K_{d,ss}$	=	estrogen partition coefficient
K_D	=	sorption coefficient
K_F	=	Freundlich sorption isotherm
GC	=	gas chromatography
LC	=	liquid chromatography
MS	=	mass spectrometry

LOD	=	limit of detection
μg/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	=	N,O-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