



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อประเมินผลกระทบของ
สารอะคริลาไมด์ที่มีต่อจลนศาสตร์ของการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหาร
ไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ

รองศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย ศรีวิริยรัตน์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558
มหาวิทยาลัยบูรพา

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อประเมินผลกระทบของ
สารอะคริลาไมด์ที่มีต่อจลนศาสตร์ของการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหาร
ไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ

รองศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย ศรีวิริยรัตน์
คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 122/2558

บทคัดย่อ

โครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลกระทบของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียในไนโตรเจนที่มีต่อประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพที่มีแบคทีเรียผสมแบบระยะเวลาเฉียบพลันและแบบระยะยาว และประมาณค่าพารามิเตอร์ทางจลนศาสตร์ตลอดจนพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการทำนายการย่อยสลายอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ การทดลองดำเนินการโดยใช้ระบบบำบัดน้ำเสีย SBR จำลองจำนวน 1 ระบบ ที่มีการควบคุมอายุสลัดจ์ที่ 9 วันและทำงานที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 28 °C และใช้การประเมินด้วยการวัดอัตราหายใจบ่งชี้ด้วยอัตราการใช้ออกซิเจนด้วยชุดอุปกรณ์ OxiTop ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียผสมที่ไม่คุ้นเคยกับอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกต้องใช้เวลานาน 1 ชั่วโมงและ 2 ชั่วโมง สำหรับการปรับสภาพกับกรดอะคริลิกและอะคริลาไมด์ ตามลำดับ ผลการทดลองไม่พบผลกระทบของแอมโมเนียในไนโตรเจนต่อระยะเวลาการปรับสภาพของแบคทีเรียผสม แต่มีผลกระทบต่ออัตราการหายใจบ่งชี้ด้วยอัตราการใช้ออกซิเจนของแบคทีเรียผสม ทำให้อัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์ลดลง หลังจากแบคทีเรียผสมสามารถปรับสภาพกับอะคริลาไมด์ที่ความเข้มข้น 200, 300, และ 400 mg AM/L แล้ว แบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายอะคริลาไมด์ทันที โดยพบว่าอัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์และอัตราการใช้ออกซิเจนเพิ่มสูงขึ้นตามความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ อย่างไรก็ตาม การมีอะคริลาไมด์ในน้ำเสียดลประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์บ่งชี้ด้วยซีไอดีเพราะมีการตกค้างของอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกในระบบ การทดลองพบว่า แอมโมเนียที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ถูกเปลื้องออกจากรบบน้ำเสีย จึงไม่ได้สะสมในระบบ ส่งผลประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์สูงขึ้น สำหรับการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ของแบคทีเรียผสมที่ย่อยสลายอะคริลาไมด์นั้น การเปรียบเทียบแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ต่างๆ คือ แบบจำลอง Monod (No Growth), แบบจำลองปฏิกิริยาอันดับศูนย์ และแบบจำลองปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง กับชุดข้อมูลที่ได้จากการทดลองโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ AQUASIM และ Microsoft Excel พบว่า แบบจำลองจลนศาสตร์แบบ Monod นั้นสามารถนำมาใช้ในการทำนายการย่อยสลายสารอินทรีย์และไนโตรฟิกเคชันของแบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพแบบ SBR ได้ แต่เมื่อเพิ่มอะคริลาไมด์ลงในน้ำเสีย ปรากฏว่า ความชอบสารอินทรีย์ของแบคทีเรียผสมเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าคงที่กึ่งอิ่มตัว (K_s) ลดลง และสามารถทำนายการย่อยสลายได้ด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบ Monod แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นอะคริลาไมด์สูงขึ้น ทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนียในไนโตรเจนที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะมิเดสแล้ว แบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบ Monod ไม่สามารถใช้ในการทำนายได้อย่างถูกต้อง โดยแบบจำลองมีการปรับรูปเป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเพราะ K_s เพิ่มขึ้น

Abstract

The objectives of this study were to evaluate the acute and chronic effects of acrylamide (AM), acrylic acid (AA), and ammonium nitrogen on the organic removal efficiency and nitrification of biological wastewater treatment system containing mixed culture bacteria. In addition, the mathematical model for acrylamide biodegradation in the biological treatment systems including the estimations of kinetic parameters were also developed. The experiments were conducted with a Sequencing Batch Reactor (SBR) wastewater treatment system operated at the sludge age of 9 days and at the operating temperature of 28 °C. The respirometric activities indicated by the oxygen uptake rate (OUR) were determined by using the respirometer of OxiTop system. The experimental results indicated that unacclimatized mixed culture bacteria required 1 hour and 2 hours to acclimatize with acrylic acid and acrylamide. The effect of ammonium nitrogen on the acclimation period of mixed culture bacteria was not found; however, it was clearly found that ammonium decreased the acrylamide biodegradation rates. After the acrylamide additions in the synthetic wastewater and mixed culture bacteria acclimatized with acrylamide at the concentrations of 200, 300, and 400 mg AM/L, mixed culture bacteria could immediately biodegrade acrylamide in the SBR system. The acrylamide biodegradation rates and oxygen uptake rates increased with acrylamide concentrations because ammonia resulting from the acrylamide biodegradation was not accumulated in the system as a result of ammonia stripping. However, acrylamide increased the organic loadings on the system as a result of remaining acrylamide and acrylic acid. To estimate the kinetic parameters, AQUASIM and Microsoft Excel were employed to fit the experimental data with various kinetic models including Monod (no growth), first-order, and zero-order kinetic models. It appears that Monod kinetic model could be used to predict COD biodegradation and nitrification. The acrylamide additions of 100 and 200 mg AM/L decreased the substrate affinity for COD, decreasing the half saturation coefficient (K_s); thereby, the Monod kinetic model was applicable. At higher acrylamide dosage, ammonia was accumulated in the SBR systems resulting in the inhibition of amidase; therefore, Monod model could not accurately describe the acrylamide biodegradation. The Monod kinetic model was transformed to the first-order kinetic model because K_s increased considerably.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อ	ง
Abstract	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฉ
บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	4
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	5
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
วิธีการดำเนินการวิจัย	6
2.1 การประเมินผลกระทบระยะเฉียบพลันและระยะยาวของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียมไนโตรเจนที่มีต่อระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ	6
2.2 การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ของแบคทีเรียในการกำจัดอะคริลาไมด์	11
2.4 การพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีอะคริลาไมด์	13
2.5 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสีย	14
ผลการวิจัยและอภิปราย	16
3.1 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียในการกำจัดสารอินทรีย์และไนตริฟิเคชัน	16
3.2 ผลกระทบระยะเฉียบพลันของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียมไนโตรเจนต่ออัตราการหายใจของแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสีย	18
3.3 ความสามารถในการย่อยสลายอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกโดยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียในระยะเฉียบพลัน	21
3.4 ผลกระทบระยะยาวของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียมไนโตรเจนที่มีต่อประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ	26
3.5 การประมาณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์และการพัฒนาแบบจำลองสำหรับการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพของแบคทีเรียผสม	36
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	45
4.1 สรุปผลการทดลอง	45
4.2 ข้อเสนอแนะ	45
ผลผลิต	46

รายงานสรุปการเงิน	47
บรรณานุกรม	48
ภาคผนวก	52
ภาคผนวก 1 สำเนาบทความวิจัยบทที่ 1 ที่ได้รับการตอบรับให้ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการ ระดับนานาชาติในฐานข้อมูลสากล	53
ภาคผนวก 2 สำเนาบทความวิจัยบทที่ 2 ที่ได้รับการตอบรับให้ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการ ระดับนานาชาติในฐานข้อมูลสากล	64
ประวัตินักวิจัย	74

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลอง.....	7
ตารางที่ 3.1 อัตราการใช้ออกซิเจนและอัตราการใช้ออกซิเจนจำเพาะของแบคทีเรียผสม	20
ตารางที่ 3.2 อัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์และประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์โดยแบคทีเรียผสมที่ ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนเท่ากับ 50 และ 500 mg N/L	24
ตารางที่ 3.3 ค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์สำหรับแบบจำลอง Monod สำหรับการกำจัดสารอินทรีย์และไน ตริไฟเคชัน.....	37
ตารางที่ 3.4 พารามิเตอร์ของแบบจำลอง Monod สำหรับการย่อยสลายอะคริลาไมด์และสารอินทรีย์ทั้งหมด บ่งชี้ด้วยซีไอดีในระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR.....	40
ตารางที่ 3.5 อัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์และสารอินทรีย์ทั้งหมดบ่งชี้ด้วยซีไอดีของแบบจำลองแบบ ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง.....	43
ตารางที่ 3.6 กระบวนการย่อยสลายอะคริลาไมด์ในเมทริกซ์ของแบบจำลองระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์รุ่นที่ 1.44	

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1	เมทริกซ์ที่ใช้ในแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ASM1 สำหรับกระบวนการกำจัดสารอินทรีย์ ไนโตร ฟิเคชั่นและดีไนโตรฟิเคชั่น	3
ภาพที่ 2.1	ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR ที่มีแบคทีเรียผสม (mixed culture bacteria).....	6
ภาพที่ 2.2	รูปแบบของการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR ที่มีแบคทีเรียผสม	7
ภาพที่ 2.3	ชุดอุปกรณ์ OxiTop	8
ภาพที่ 2.4	การเปลี่ยนแปลงความดันภายในขวด OxiTop	9
ภาพที่ 2.5	ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR AM และ Control ที่มีแบคทีเรียผสม.....	12
ภาพที่ 3.1	ความเข้มข้น COD ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมที่อายุสัปดาห์ 9 วัน.....	16
ภาพที่ 3.2	ความเข้มข้นแอมโมเนียมไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมที่อายุสัปดาห์ 9 วัน	17
ภาพที่ 3.3	ความเข้มข้นไนโตรที่ไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมที่อายุสัปดาห์ 9 วัน...17	17
ภาพที่ 3.4	ความเข้มข้นไนเตรทไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมที่อายุสัปดาห์ 9 วัน...18	18
ภาพที่ 3.5	สมดุลของมวลไนโตรเจนภายในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR แบบ AS	19
ภาพที่ 3.6	การเปลี่ยนแปลงความดันภายใน OxiTop ที่มีแบคทีเรียผสมที่ย่อยสลายสารต่างๆ ในระยะ เฉียบพลัน	20
ภาพที่ 3.7	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นกรดอะคริลิกโดยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ย่อยสลาย อะคริลาไมด์ในระยะเฉียบพลัน.....	22
ภาพที่ 3.8	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกโดยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำ เสียที่ย่อยสลายอะคริลาไมด์ในระยะเฉียบพลัน	23
ภาพที่ 3.9	การเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ย่อยสลายสารต่างๆ ใน ระยะเฉียบพลัน.....	25
ภาพที่ 3.10	ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์โดยแบคทีเรียผสมจาก ระบบบำบัดน้ำเสียที่ย่อยสลายสารต่างๆ ในระยะเฉียบพลัน โดยมีความเข้มข้นแอมโมเนียม เท่ากับ 50 mg N/L	25
ภาพที่ 3.11	ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์โดยแบคทีเรียผสมจาก ระบบบำบัดน้ำเสียที่ย่อยสลายสารต่างๆ ในระยะเฉียบพลัน โดยมีความเข้มข้นแอมโมเนียม เท่ากับ 500 mg N/L.....	26
ภาพที่ 3.12	ความเข้มข้นสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์ เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L.....	27
ภาพที่ 3.13	ความเข้มข้นอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์ เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L.....	28
ภาพที่ 3.14	ความเข้มข้นกรดอะคริลิกในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์ เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L.....	28

ภาพที่ 3.15 ความเข้มข้นแอมโมเนียมไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L	29
ภาพที่ 3.16 ความเข้มข้นไนเตรทไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L	29
ภาพที่ 3.17 ความเข้มข้นไนเตรทไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L	30
ภาพที่ 3.18 การเปลี่ยนแปลงความดันภายใน OxiTop ที่มีแบคทีเรียผสมที่ย่อยสลายอะคริลาไมด์เข้มข้น 200 mg AM/L	31
ภาพที่ 3.19 ความเข้มข้นสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 300 mg AM/L	32
ภาพที่ 3.20 ความเข้มข้นอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 300 mg AM/L	32
ภาพที่ 3.21 ความเข้มข้นกรดอะคริลิกในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 300 mg AM/L	33
ภาพที่ 3.22 การเปลี่ยนแปลงความดันภายใน OxiTop ที่มีแบคทีเรียผสมที่ย่อยสลายอะคริลาไมด์เข้มข้น 300 mg AM/L	34
ภาพที่ 3.23 ความเข้มข้นอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 400 mg AM/L	35
ภาพที่ 3.24 การเปลี่ยนแปลงความดันภายใน OxiTop ที่มีแบคทีเรียผสมที่ย่อยสลายอะคริลาไมด์เข้มข้น 400 mg AM/L	36
ภาพที่ 3.25 ผลการวิเคราะห์ความอ่อนไหวของพารามิเตอร์แบบ Absolute-relative Sensitivity ของสารอินทรีย์บ่งชี้ด้วยซีไอทีในระบบ Control	38
ภาพที่ 3.26 ผลการวิเคราะห์ความอ่อนไหวของพารามิเตอร์แบบ Absolute-relative Sensitivity ของแอมโมเนียมไนโตรเจนในระบบ Control	38
ภาพที่ 3.27 การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นของแบบจำลองทางจลนศาสตร์แบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์และปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของสารอินทรีย์และแอมโมเนียมไนโตรเจนในระบบ Control	39
ภาพที่ 3.28 การเปลี่ยนแปลงค่า k_2 และ K_s ของแบบจำลอง Monod และความเข้มข้นแอมโมเนียมไนโตรเจนในระบบ AM ที่มีการป้อนอะคริลาไมด์เท่ากับ 100, 200, 300 และ 400 mg AM/L	42
ภาพที่ 3.29 การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นของแบบจำลองทางจลนศาสตร์แบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์และปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของสารอินทรีย์และแอมโมเนียมไนโตรเจนในระบบ AM ที่มีการป้อนอะคริลาไมด์เท่ากับ 100, 200, 300 และ 400 mg AM/L	43

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สารอะคริลาไมด์ (Acrylamide, AM) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ถูกนำมาใช้เป็นสารโมโนเมอร์ (Monomer) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการผลิตต่างๆ ได้แก่ การสังเคราะห์สีย้อม การสังเคราะห์โพลีเมอร์ กาว กระจก หรือสารปรับสภาพดิน หรือแม้แต่นำมาผลิตเป็นสารโพลีอะคริลาไมด์ที่ใช้ในการรวมตะกอนของบำบัดน้ำเสียและผลิตน้ำประปา เป็นต้น หากมนุษย์ได้รับสารอะคริลาไมด์นี้เกินมาตรฐานแบบเฉียบพลันก็จะทำให้เกิดความเสียหายต่อระบบประสาทส่วนกลางและส่วนอื่นๆ ส่งผลให้กล้ามเนื้ออ่อนแรง ทำงานไม่ประสานกัน หากได้รับสารอะคริลาไมด์นี้เกินมาตรฐานแบบเรื้อรังก็จะทำให้กลายเป็นอัมพาตได้อีกด้วย นอกจากนี้ อะคริลาไมด์ยังเป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย (DeWoskin et al., 2010; Junqua, et al., 2015) โดย Dentel et al. (2000) ระบุว่า อะคริลาไมด์ในสารโพลีอะคริลาไมด์ถูกจำกัดไว้เพียงร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนัก เท่านั้นสำหรับการใช้สารโพลีอะคริลาไมด์ ส่วน U.S. Environmental Protection Agency หรือ US EPA (1995) ระบุว่าอุตสาหกรรมที่มีการใช้สารอะคริลาไมด์สูงสุด คือ การนำสารอะคริลาไมด์มาใช้ในการบำบัดน้ำ โดยมีอัตราส่วนสูงสุดร้อยละ 45 รองลงมาคือ นำมาใช้ในการขุดเจาะน้ำมันและโรงงานกระจกที่มีอัตราส่วนการใช้สารอะคริลาไมด์เท่ากับร้อยละ 20 จากการศึกษาพบว่า สารอะคริลาไมด์ถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมทั้งในดิน (ร้อยละ 15) และน้ำ (ร้อยละ 85) โดยระหว่างปี ค.ศ. 1987 ถึง 1993 มีปริมาณสูงถึง 40,000 ปอนด์

อะคริลาไมด์นั้นสามารถถูกย่อยสลายทางชีวภาพได้ในดินและน้ำผิวดิน (Abdelmagid & Tabatabai, 1982; Habermann, 2002; WHO, 2003; US. EPA, 2006) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพภายใต้สภาวะมือออกซิเจนและไร้ออกซิเจน คือ แอมโมเนียไนโตรเจน (Abdelmagid & Tabatabai, 1982) นอกจากนี้ US EPA ยังรายงานผลการประเมินการกำจัดสารอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสียที่มีการเติมสารอะคริลาไมด์อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานกว่า 4 เท่าของระยะเวลาเก็บกักทางพลศาสตร์ของระบบบำบัดน้ำเสีย พบว่า การตกตะกอนขั้นต้นและขั้นสุดท้ายนั้นไม่สามารถกำจัดสารอะคริลาไมด์ได้ ส่วนแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบระบบตะกอนเร่ง (Activated Sludge) นั้นสามารถกำจัดสารอะคริลาไมด์ได้เพียง 50-70% เท่านั้น ทั้งนี้ ไม่มีการระบุปริมาณสารอะคริลาไมด์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียหรือรายละเอียดอื่นๆ ที่เกี่ยวกับการกำจัดสารอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ข้อมูลเกี่ยวกับการกำจัดสารอะคริลาไมด์โดยแบคทีเรียผสม (Mixed Culture) ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้นโดยเฉพาะผลกระทบทั้งในระยะเฉียบพลัน (Acute Effects) และระยะยาว (Chronic Effects) ที่มีต่อจุลนาศาสตร์ของการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนโดยแบคทีเรียผสมที่อยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ รายงานวิจัยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาการประยุกต์ใช้แบคทีเรียชนิดต่างๆ สำหรับการกำจัดสารอะคริลาไมด์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus cereus* (Shukor et al., 2009a), *Pseudomonas* sp. (Shukor et al., 2009b), *Pseudomonas stutzeri* (Wang and Lee, 2001), และ *Ralstonia eutropha* (Wang and Lee, 2007), *Enterobacter aerogenes* (Buranasilp and Charoenpanich, 2011) นอกจากนี้ การกำจัดสารอะคริลาไมด์โดยวิธีการทางชีวภาพจะได้สารผลิตภัณฑ์ คือ แอมโมเนียไนโตรเจนและกรดอะคริลิก ($C_3H_4O_2$) (Wang and Lee, 2001; Buranasilp and Charoenpanich, 2011) ซึ่งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องคือ อะมิเดส (Amidase) (Nawaz et al., 1994) ทั้งนี้ แบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียนั้นสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจนตามลำดับสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ได้เช่นเดียวกัน ดังนั้น จึงเป็นการเพิ่มภาระสารอินทรีย์และภาระไนโตรเจนต่อระบบบำบัด

น้ำเสียอีกด้วย อย่างไรก็ตาม Jangkorn et al. (2018) ได้ทดลองนำแบคทีเรีย *E. aerogenes* ไปใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพจำลองแบบ Sequencing Batch Reactor (SBR) ที่มีการบ่อน้ำเสียสังเคราะห์บนเบ็ดด้วยอะคริลาไมด์เข้มข้นต่างๆ กันและควบคุมให้มีอายุสลัดจ์เท่ากับ 10 วัน ผลการทดลอง พบว่า แบคทีเรีย *E. aerogenes* ไม่สามารถย่อยสลายอะคริลาไมด์ให้มีประสิทธิภาพเหมือนกับการย่อยสลายในอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการได้ โดยพบว่า แบคทีเรีย *E. aerogenes* สามารถย่อยสลายอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพสูงสุดได้เท่ากับ 200 mg AM/L เท่านั้น นอกจากนี้ ยังพบว่า แอมโมเนียไนโตรเจนที่เป็นผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพด้วยเอนไซม์อะมิเดสเกิดการสะสมภายในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพแบบ SBR ผลการทดลองจึงระบุว่า แอมโมเนียมีฤทธิ์ยับยั้งการย่อยสลายอะคริลาไมด์ นอกจากนี้ แอมโมเนียที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้เกิดภาวะบรรทุคโนโตรเจนต่อระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบ SBR ทำให้ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพไม่สามารถกำจัดแอมโมเนียไนโตรเจนได้ทั้งหมด อีกทั้ง แอมโมเนียไนโตรเจนยังยับยั้งปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันของออโททรอฟิกอีกด้วย (Wu et al., 2016) นอกเหนือจากผลกระทบของแอมโมเนียไนโตรเจนที่มีต่อการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพ กรดอะคริลิกก็เป็นอีกผลิตภัณฑ์ที่จะทำให้เกิดภาวะบรรทุกลินทรีย์ต่อระบบเพิ่มสูงขึ้นอีกด้วย ดังนั้น การย่อยสลายอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพนั้นจึงทำให้เกิดภาวะบรรทุคโนโตรเจนและสารอินทรีย์สูงขึ้นไป ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพโดยทั่วไปอาจไม่สามารถกำจัดแอมโมเนียและสารอินทรีย์จากการย่อยสลายอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกได้ทั้งหมด ส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์ทางชีวภาพลดลงในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพอีกด้วย

ปัจจุบัน แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพนั้นนิยมนำมาใช้เป็นเครื่องมือที่สำคัญในการศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง ได้แก่ Activated Sludge Model หมายเลข 1 (ASM1) ที่ถูกพัฒนาโดยกลุ่มนักวิจัยจากหลายๆ ประเทศ ที่เรียกว่า International Association on Water Pollution Research and Control (IAWPRC) ปัจจุบันเปลี่ยนชื่อเป็น International Association on Water Quality (IAWQ) (Henze et al., 2002) แบบจำลอง ASM1 รวมกระบวนการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนทางชีวภาพเท่านั้น ต่อมา มีการพัฒนาเป็น ASM2 เพื่อให้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ดังกล่าวสามารถจำลองกระบวนการกำจัดธาตุอาหารฟอสฟอรัสที่เกิดขึ้นในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพได้ หลังจากนั้น ก็มีการพัฒนาต่อมาเป็น ASM2d เพื่อให้แบบจำลองสามารถใช้ทำนายการใช้สารอินทรีย์ที่สะสมภายในเซลล์ของแบคทีเรียเพื่อการเจริญของแบคทีเรียที่กำจัดธาตุอาหารฟอสฟอรัสภายใต้สภาวะแอนน็อกซิก (Anoxic Conditions) โดยใช้สารไนโตรเจนไนโตรเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายอีกด้วย ส่วนพัฒนาการล่าสุดคือ แบบจำลอง ASM3 ที่มีรวมสมการทางคณิตศาสตร์ที่สามารถนำมาใช้ในการทำนายการเก็บสะสมสารอินทรีย์ไว้ในเซลล์อีกด้วย แบบจำลองเหล่านี้มีโครงสร้างในรูปแบบของเมตริก ดังภาพที่ 1.1 ทำให้การสร้างแบบจำลองสำหรับการศึกษาจลนศาสตร์ทางชีวภาพสามารถทำได้ง่ายขึ้น (Henze et al., 2002) อย่างไรก็ตาม แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ASM เหล่านี้ใช้สำหรับการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพโดยทั่วไปที่มักพบในน้ำเสียชุมชน หากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพได้รับน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ประกอบไปด้วยสารเคมีอื่นๆ จำเป็นต้องมีการศึกษาค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์และปริมาณสารสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องด้วย อีกทั้งยังต้องมีการพัฒนาสมการคณิตศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีเพื่อจำลองการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับสารเคมีต่างๆ ที่มีอยู่ในน้ำเสีย สำหรับข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสารอะคริลาไมด์โดยแบคทีเรียผสม (Mixed Culture) ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้ ยังไม่มีการรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลกระทบของสารอะคริลาไมด์ที่มีต่อแบคทีเรียแต่ละกลุ่มในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพทั้งผลกระทบในระยะ

เขียนปล้นและระยะยาวรวมถึงข้อมูลด้านจลนศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง เพื่อศึกษาจลนศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสารอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียมไนโตรเจน จำเป็นต้องศึกษาอัตราการใช้ออกซิเจน (OUR) ของแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ หลังจากทราบโปรไฟล์ของอัตราการใช้ออกซิเจน จำเป็นต้องใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อเปรียบเทียบส่งผลทำให้ทราบพารามิเตอร์ทางจลนศาสตร์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องได้ หลังจากทราบ พารามิเตอร์ต่างๆ ที่มีความถูกต้องแล้ว แบบจำลองทางคณิตศาสตร์นั้นจะสามารถนำมาใช้ในการออกแบบและเดินระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่ใช้ในการกำจัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่สารอะคริลาไมด์เป็นองค์ประกอบได้

Component → j	Process ↓	i													Process Rate, ρ_j [$ML^{-3}T^{-1}$]	
		1 S_1	2 S_2	3 X_1	4 X_2	5 X_{RH}	6 X_{RA}	7 X_P	8 S_O	9 S_{NO}	10 S_{NH}	11 S_{ND}	12 X_{ND}	13 S_{ALK}		
1	Aerobic growth of heterotrophs		$\frac{1}{Y_H}$			1			$\frac{1-Y_H}{Y_H}$						$-\frac{i_{XB}}{14}$	$\mu_H \left(\frac{S_2}{K_S + S_2} \right) \left(\frac{S_O}{K_{O,H} + S_O} \right) X_{R,H}$
2	Anoxic growth of heterotrophs		$-\frac{1}{Y_H}$			1			$-\frac{1-Y_H}{2.86 Y_H}$						$-\frac{i_{XB}}{14}$	$\mu_H \left(\frac{S_2}{K_S + S_2} \right) \left(\frac{K_{O,H}}{K_{O,H} + S_O} \right) \times \left(\frac{S_{NO}}{K_{NO} + S_{NO}} \right) \eta_H X_{R,H}$
3	Aerobic growth of autotrophs						1		$\frac{4.57 - Y_A}{Y_A}$	$\frac{1}{Y_A}$					$-\frac{i_{XB}}{14} \frac{1}{7 Y_A}$	$\mu_A \left(\frac{S_{NH}}{K_{N,H} + S_{NH}} \right) \left(\frac{S_O}{K_{O,A} + S_O} \right) X_{R,A}$
4	'Decay' of heterotrophs				$1-f_P$	-1										$b_H X_{R,H}$
5	'Decay' of autotrophs				$1-f_P$		-1									$b_A X_{R,A}$
6	Ammonification of soluble organic nitrogen										1	-1		$\frac{1}{14}$		$k_2 S_{ND} X_{R,H}$
7	'Hydrolysis' of entrapped organics		1		-1											$k_h \frac{X_P/X_{R,H}}{K_N + (X_P/X_{R,H})} \left[\left(\frac{S_O}{K_{O,H} + S_O} \right) + \eta_H \left(\frac{K_{O,H}}{K_{O,H} + S_O} \right) \left(\frac{S_{NO}}{K_{NO} + S_{NO}} \right) \right] X_{R,H}$
8	'Hydrolysis' of entrapped organic nitrogen											1	-1			$\rho_A (X_{ND}/X_2)$
Observed Conversion Rates [$ML^{-3}T^{-1}$]		$r_i = \sum_j v_{ij} \rho_j$														
Stoichiometric Parameters: Heterotrophic yield: Y_H Autotrophic yield: Y_A Fraction of biomass yielding particulate products: f_P Mass N/Mass COD in biomass: i_{XB} Mass N/Mass COD in products from biomass: i_{XP}		Soluble inert organic matter [$MCODL^{-1}$]	Readily biodegradable substrate [$MCODL^{-1}$]	Particulate inert organic matter [$MCODL^{-1}$]	Slowly biodegradable substrate [$MCODL^{-1}$]	Active heterotrophic biomass [$MCODL^{-1}$]	Active autotrophic biomass [$MCODL^{-1}$]	Particulate products arising from biomass decay [$MCODL^{-1}$]	Oxygen (negative COD) [$M(-COD)L^{-1}$]	Nitrate and nitrite nitrogen [$M(N)L^{-1}$]	NH_4^+ and nitrite nitrogen [$M(N)L^{-1}$]	Soluble biodegradable organic nitrogen [$M(N)L^{-1}$]	Particulate biodegradable organic nitrogen [$M(N)L^{-1}$]	Alkalinity - Molar units	Kinetic Parameters: Heterotrophic growth and decay: $\mu_H, K_S, K_{O,H}, K_{NO}, b_H$ Autotrophic growth and decay: $\mu_A, K_{N,H}, K_{O,A}, b_A$ Correction factor for anoxic growth of heterotrophs: η_H Ammonification: k_2 Hydrolysis: k_h, K_N Correction factor for anoxic hydrolysis: η_h	

Source: (Henze et al., 2002)

ภาพที่ 1.1 เมทริกซ์ที่ใช้ในแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ASM1 สำหรับกระบวนการกำจัดสารอินทรีย์ ไนตริฟิเคชันและดีไนตริฟิเคชัน

จากภาพที่ 1.1 พบว่า สมการที่ใช้ในกระบวนการต่างๆ ของแบบจำลอง ASM1 ประกอบไปด้วยตัวแปร (State Variables) ต่าง ๆ รวมถึงค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ที่เกี่ยวข้องจำนวนมาก นอกจากนั้นภายในตารางเองก็ยังประกอบไปด้วยตัวแปรที่เป็นปริมาณสารสัมพันธ์อีกจำนวนหนึ่ง วิธีการเพื่อทราบพารามิเตอร์ต่างๆ และองค์ประกอบต่างๆ ของแบบจำลอง ASM1 สามารถทำได้ 2 วิธี คือ วิธี Direct Methods ซึ่งโดยการประเมินค่าต่างๆ เหล่านี้ด้วยการวัดอัตราการใช้ออกซิเจน (Oxygen Uptake Rate, OUR) แล้วนำข้อมูลมาปรับเทียบแบบจำลอง (Model Calibration) และวิธี Optimization Methods ซึ่งเป็นการใช้เทคนิคทางตัวเลข (Numerical Techniques) โดยทำการเปรียบเทียบข้อมูลที่ศึกษาได้จากการทดลอง

และข้อมูลที่ได้จากการทำนายของแบบจำลองเพื่อให้ข้อมูลทั้งสองชุดมีความแตกต่างกันน้อยที่สุด ก็จะได้พารามิเตอร์ เช่น ค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์และปริมาณสารสัมพันธ์ที่มีความเหมาะสมสำหรับแบบจำลองนั้นที่สุด อย่างไรก็ตาม วิธีการแรกเป็นที่นิยมใช้มากที่สุดในการศึกษาความสัมพันธ์ทางจลนศาสตร์ ปริมาณสารสัมพันธ์ และความเข้มข้นขององค์ประกอบของน้ำเสีย (Vanrolleghem et al., 1999) นอกจากนี้ Insel et al. (2006) ยังได้พัฒนาเทคนิคในการใช้ข้อมูลที่ได้จากการวัด OUR ด้วยวิธีการ Respirometry เพื่อประเมินความสามารถในการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งโดยสารเคมีที่เป็นพิษต่างๆ อีกด้วย เทคนิคประเมินความเป็นพิษของสารเคมีต่อแบคทีเรียโดยการใช้แบบจำลองที่มีการปรับเทียบกับข้อมูล OUR ที่วัดได้จากการทดลอง โดยได้มีการนำวิธีการที่ใช้ OUR และการประเมินด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์นี้ไปประเมินการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียของสารเคมีต่างๆ เช่น Acetone, Phenol หรือ 2,6-Dihydroxybenzoic Acid (Contreras et al., 2008; Cokgor et al., 2011; Kaelin et al., 2009).

ดังนั้น หากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนได้รับน้ำเสียอุตสาหกรรมที่ปนเปื้อนสารอะคริลาไมด์ในปริมาณสูงอาจทำให้เกิดผลกระทบต่อการทำงานของสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนของแบคทีเรียผสมทั้งในระยะเฉียบพลันและระยะยาวจากสารอะคริลาไมด์ที่เป็นสารตั้งต้น ตลอดจนกรดอะคริลิกและแอมโมเนียมไนโตรเจนซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะจลนศาสตร์ของการเจริญของแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ หากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์นี้ได้ถูกพัฒนาขึ้นและมีการป้อนข้อมูลทางจลนศาสตร์ ปริมาณสารสัมพันธ์ และตัวแปรต่างๆ ที่ถูกต้อง ก็จะทำให้ได้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่สามารถนำมาใช้ในการออกแบบหรือเดินระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่ใช้ในการกำจัดสารอะคริลาไมด์ได้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

สำหรับโครงการศึกษาวิจัยนี้พัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ในการประเมินผลกระทบของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิกและแอมโมเนียมไนโตรเจนซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการกำจัดอะคริลาไมด์ที่มีต่อจลนศาสตร์ของแบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ทั้งนี้ การศึกษามีวัตถุประสงค์จำเพาะ คือ

1. เพื่อศึกษาผลกระทบระยะเฉียบพลันและระยะยาวของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียมไนโตรเจนที่มีต่อประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ
2. เพื่อศึกษาอัตราการใช้ออกซิเจน (Oxygen Uptake Rate, OUR) ของแบคทีเรียภายในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีและไม่มีการเติมอะคริลาไมด์เป็นองค์ประกอบด้วยวิธี Respirometry
3. เพื่อคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ของแบคทีเรียด้วยวิธีการปรับเทียบแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่พัฒนาขึ้นกับชุดข้อมูลที่ได้จากการทดลอง
4. เพื่อพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่ใช้บำบัดน้ำเสียที่มีอะคริลาไมด์เป็นองค์ประกอบโดยใช้แบบจำลอง Monod ที่เป็นพื้นฐานของโครงสร้างแบบจำลอง ASM1 ที่ครอบคลุมการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจน

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. โครงการวิจัยนี้ศึกษาโดยใช้ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบ Sequencing Batch Reactor จำลองระดับห้องปฏิบัติการ ทำการเดินระบบในห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อุณหภูมิห้อง (~28 °C)
2. แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพนั้นถูกพัฒนาขึ้นโดยใช้แบบจำลอง Monod โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ AQUASIM (Reichert, et al., 1998)
3. น้ำเสียที่ใช้เป็นน้ำเสียสังเคราะห์จากการเตรียมโดยใช้น้ำตาลทรายและอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนหลักและแอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับแบคทีเรีย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลงานวิจัยจากโครงการวิจัยฯ นี้สามารถนำไปตีพิมพ์เผยแพร่ในงานประชุมวิชาการหรือวารสารวิจัยระดับชาติและนานาชาติ และแบบจำลองทางคณิตศาสตร์นี้สามารถนำไปใช้ในการออกแบบและการเดินระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพทั่วไปและระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพเพื่อการกำจัดสารอะคริลาไมด์

วิธีการดำเนินการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ดำเนินการในห้องปฏิบัติการวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมของภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยมีการออกแบบและเดินระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพจำลอง Sequencing Batch Reactor (SBR) ที่อุณหภูมิห้อง (28 °C) ที่มีการป้อนน้ำเสียเข้าสู่ระบบ SBR แบบกะ การทดลองสามารถจำแนกได้เป็น 2 ระยะ ดังนี้

2.1 การประเมินผลกระทบระยะเฉียบพลันและระยะยาวของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียมไนโตรเจนที่มีต่อระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ

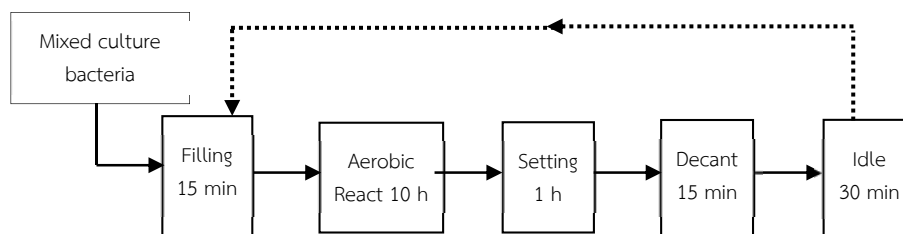
2.1.1 การประเมินผลกระทบระยะเฉียบพลันของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียมไนโตรเจน

การประเมินผลกระทบของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียมไนโตรเจนที่มีต่อประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพดำเนินการโดยใช้ระบบบำบัดน้ำเสีย SBR จำลองที่มีปริมาณรวม 10 ลิตร ดังภาพที่ 2.1 ระบบบำบัดน้ำเสียเริ่มต้นด้วยการเติมด้วยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียแอกทิเวเต็ดสลัดจ์จำลองที่ทำงานอยู่ในห้องปฏิบัติการวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมของคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยระบบบำบัดน้ำเสียถูกป้อนน้ำเสียสังเคราะห์ 2 กะต่อวัน แต่ละกะมีระยะเวลา 12 ชั่วโมง ประกอบด้วย 5 ช่วงระยะเวลา กล่าวคือ 15 นาที สำหรับการเติมน้ำเสียเข้าสู่ระบบ (Fill), 10 ชั่วโมง สำหรับระยะเวลาการเติมอากาศ (React), 1 ชั่วโมง สำหรับระยะเวลาดกตะกอน (Settle), 15 นาที สำหรับระยะเวลาสูบน้ำใสทิ้ง (Decant) ให้เหลือกากตะกอน ปริมาณเพียง 5 ลิตร และ 30 นาที สำหรับการปล่อยระบบนิ่ง (Idle) ดังภาพที่ 2.2 จากการสูบน้ำทิ้ง 5 ลิตรต่อกะ ทำให้มีอัตราแลกเปลี่ยนปริมาตร (Exchange Volume Ratio) เท่ากับ 50% และมีระยะเวลากักเก็บทางชลศาสตร์ เท่ากับ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 2.1 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR ที่มีแบคทีเรียผสม (mixed culture bacteria)

นอกจากนั้น ระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพจำลองทั้งสองระบบมีการติดตั้งหัวทรายขนาดเล็กจำนวน 3 หัว ที่ต่อจากเครื่องเติมอากาศที่สามารถเติมอากาศ 60 L/min ในแต่ละระบบ การทดลองมีการควบคุมค่าออกซิเจนละลายน้ำในช่วงเวลาเติมอากาศเท่ากับ 6-7 mg O₂/L



ภาพที่ 2.2 รูปแบบของการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR ที่มีแบคทีเรียผสม

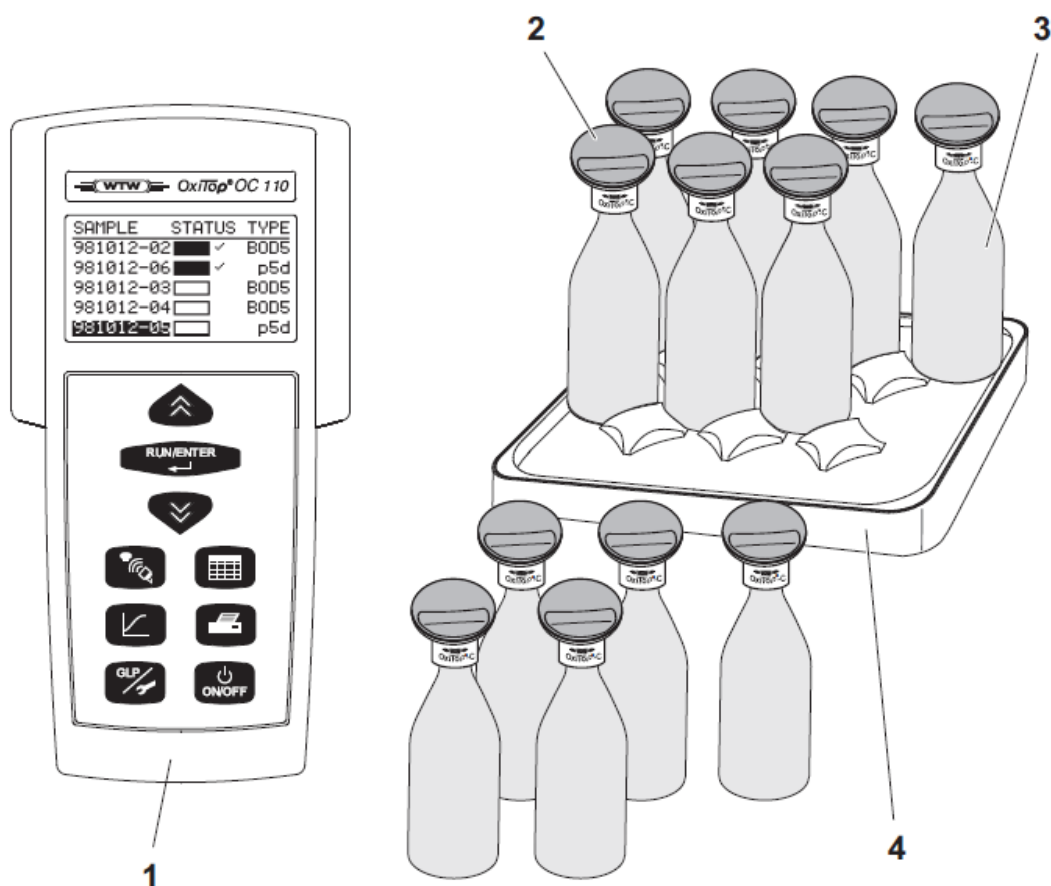
ระบบบำบัดน้ำเสียถูกป้อนด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมสดใหม่ทุกวันด้วยการผสมสารเคมีต่างๆ ดังตารางที่ 2.1 ในน้ำประปาปริมาตร 40 ลิตร โดยมีแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และธาตุอาหารรองอื่นๆ อีกด้วย หลังจากนั้น จะมีการปรับค่าความเป็นกรดเบสของน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยกรดซัลฟิวริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์จนมีค่าความเป็นกรดเบส เท่ากับ 7.2 พบว่า น้ำเสียมีความเข้มข้นสารอินทรีย์บ่งชี้ด้วยค่าซีโอดี (Chemical Oxygen Demand, COD) เท่ากับ 400 mg COD/L ไนโตรเจนเท่ากับ 40 mg N/L และของแข็งแขวนลอยทั้งหมดประมาณ 80 mg SS/L หลังจากเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลสำหรับการประเมินประสิทธิภาพของระบบก่อนการเติมอะคริลาไมด์แล้ว จึงมีการเติมอะคริลาไมด์ลงในน้ำเสียสังเคราะห์เท่ากับ 200, 300, และ 400 mg AM/L โดยอะคริลาไมด์ไปแทนที่สารอินทรีย์ในน้ำเสียในสัดส่วน 0.50, 0.75, และ 1.00 ทั้งนี้ ที่อัตราส่วน 1.0 นั้นมีเพียงอะคริลาไมด์เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว หลังจากนั้น จึงมีการเพิ่มความเข้มข้นของอะคริลาไมด์เท่ากับ 600 และ 800 mg AM/L ตามลำดับ

ตารางที่ 2.1 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลอง

Chemicals	Chemical Grades and Sources	Amount
Sucrose	Commercial Grade, Wangkanai, Thailand	12.0 g
CH ₃ COONa	Industrial Grade of 58.8%, Sinoway International, China	24.0 g
K ₂ HPO ₄	Food Grade of 99.2%, Young Jin Chemical, South Korea	2.0 g
KH ₂ PO ₄	ACS Grade, VWR Chemicals, EC	4.0 g
NaHCO ₃	Food Grade of 99.5%, Tianjin Soda Plant, China	20.0 g
NH ₄ Cl	Industrial Grade of 99.5%, Tianjin Soda Plant, China	9.0 g
MgCl ₂	Industrial Grade of 47%, Dead Sea Works, Ltd., Israel	2.8 g
CaCl ₂	Food Grade of 74.0%, Young Jin Chemical, South Korea	1.6 g

ทั้งนี้ มีการประเมินผลกระทบของอะคริลาไมด์ต่อแบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียระยะเฉียบพลันและระยะยาวด้วยการประเมินประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์และการกำจัดแอมโมเนียไนโตรเจน (ไนตริฟิเคชัน) และการศึกษาหายใจของแบคทีเรียด้วยการวัดอัตราการใช้ออกซิเจน (Oxygen Uptake Rate, OUR) ของแบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่กำจัดอะคริลาไมด์ วิธีการอัตราการใช้ออกซิเจนดำเนินการด้วยวิธี Respirometry

สำหรับวิธีการประเมินกิจกรรมการหายใจ (Respirometric Activities) ของแบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพดำเนินการหลังจากระบบบำบัดน้ำเสียเข้าสู่สภาวะคงตัวแล้วโดยใช้ชุดอุปกรณ์ OxiTop (WTW, Weiheim, Germany) ซึ่งเป็นชุดอุปกรณ์ที่วัดอัตราการหายใจของแบคทีเรียผสมด้วยการวัดความดันของแก๊สที่ลดลงในระบบปิดที่อุณหภูมิคงที่ซึ่งเป็นหลักการวัดอัตราการใช้ออกซิเจนแบบวิธีมานอเมทริก

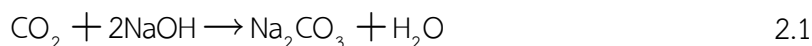


- 1 Controller OxiTop[®] Control OC 110
- 2 Measuring head OxiTop[®]-C
- 3 Sample bottle
- 4 Inductive Stirring system

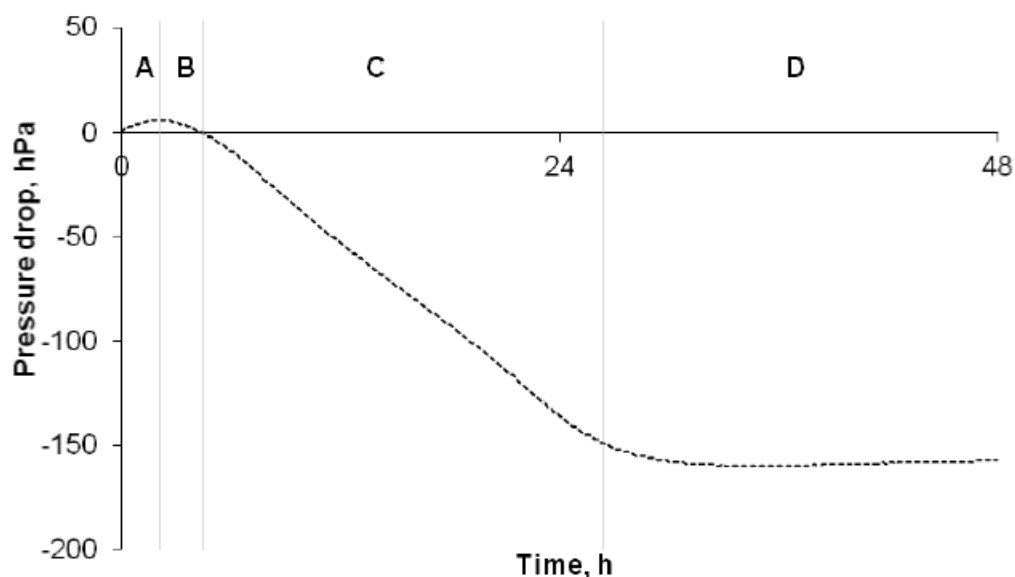
Source: WTW (2012)

ภาพที่ 2.3 ชุดอุปกรณ์ OxiTop

โดยชุดอุปกรณ์ OxiTop นั้นประกอบด้วย Respirometer ที่เป็นขวดขนาด 1 L ติดตั้งหัววัดความดันที่สามารถตรวจวัดความดันและบันทึกข้อมูลในหัววัดได้ และตัวรีโมทที่ใช้ในการควบคุม Respirometer ภายในหัววัดความดันยังบรรจุเม็ด NaOH ที่ใช้ในการดูดซับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์อิสระหมดไป ส่งผลให้ความดันของแก๊สลดลง มีปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ดังปฏิกิริยาที่ 2.1 ทำให้เกิดเป็นโซเดียมคาร์บอเนตขึ้น



สำหรับหลักการวัดอัตราการใช้ออกซิเจนแบบมานอเมทริกของชุดอุปกรณ์ OxiTop นั้นเป็นการวัดปริมาณออกซิเจนที่ถูกใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรีย ทำให้เกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้น ซึ่งปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกผลิตขึ้นนั้นเป็นสัดส่วนเท่ากับออกซิเจนที่ถูกใช้ไป เมื่อแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ถูกดูดซับจึงทำให้ความดันย่อยของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง ซึ่งทำให้เกิดสภาวะความตึงเครียดขึ้น ทั้งนี้ รูปแบบการเปลี่ยนแปลงความดันภายในขวด OxiTop แสดงดังภาพที่ 2.4 พบว่า เริ่มแรก (ช่วง A) อากาศภายในขวด OxiTop ประกอบด้วยแก๊สต่างๆ มีความดันเท่ากับความดันบรรยากาศ การแปรผันความดันภายในขวดจึงเกิดจากความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของตัวอย่างและอุณหภูมิของตู้บ่มเชื้อ ต่อมา เป็นช่วงที่แบคทีเรียมีการปรับตัวเข้ากับสภาวะแวดล้อมใหม่ (ช่วง B) หลังจากที่เกิดสภาวะสมดุลของอุณหภูมิแล้ว ความดันของแก๊สลดลงเป็นเส้นตรง (ช่วง C) เนื่องจากแบคทีเรียใช้ออกซิเจนสำหรับการย่อยสลายสารอินทรีย์ คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นถูกดูดซับบนเม็ดของ NaOH ซึ่งความดันที่ลดลงในช่วงนี้มีความสัมพันธ์โดยตรงต่ออัตราการใช้ออกซิเจน (Oxygen Uptake Rate, OUR) หลังจากออกซิเจนในขวด OxiTop ไม่เพียงพอต่อการย่อยสลายของแบคทีเรีย ความดันของแก๊สเริ่มคงที่ดังแสดงในช่วง D ของภาพที่ 2.4



Source: Malinska, 2016

ภาพที่ 2.4 การเปลี่ยนแปลงความดันภายในขวด OxiTop

ความดันที่ลดลงในช่วง D นั้นสามารถนำไปคำนวณ OUR ได้จากความสัมพันธ์ของจำนวนโมลของแก๊สออกซิเจนและความดันตามกฎของแก๊สอุดมคติ (Ideal Gas) ดังสมการที่ 2.1

$$\Delta n = \frac{\Delta m}{M} = \frac{\Delta P \cdot V}{R \cdot T} \quad 2.1$$

โดยที่ Δn คือ การเปลี่ยนแปลงจำนวนโมลของออกซิเจน, Δm คือ การเปลี่ยนแปลงมวลของออกซิเจน, V คือ ปริมาตรของแก๊ส, M คือ มวลโมเลกุลของแก๊สออกซิเจน (32 g/mol), R คือ ค่าคงที่ของแก๊ส (8.314 J/mol \cdot °K), T คือ อุณหภูมิของแก๊สในหน่วยเคลวิน (°K) โดยสมการที่ 2.1 สามารถเขียนได้ในรูปของสมการที่ 2.2 เพื่อใช้คำนวณอัตราการใช้ออกซิเจน (OUR) ได้ในหน่วยของ mg O₂/L-h (Ahn et al., 2008; Malinska, 2016)

$$\text{OUR} \left(\frac{\text{mg O}_2}{\text{L} \cdot \text{h}} \right) = \frac{\left(\frac{\Delta P \text{ hPa}}{\text{t h}} \right) \cdot \left(\frac{100 \text{ Pa}}{\text{hPa}} \right) \cdot \left(\frac{1 \text{ N}}{\text{m}^2} \right) \cdot \left(\frac{32 \text{ g}}{\text{mol}} \right) \cdot \left(\frac{1000 \text{ mg}}{\text{g}} \right)}{\left(\frac{8.314 \text{ J}}{\text{mol} \cdot \text{°K}} \right) \cdot \left(\frac{1 \text{ N} \cdot \text{m}}{\text{J}} \right) \cdot T (\text{°K}) \cdot \left(\frac{1000 \text{ L}}{\text{m}^3} \right)} \quad 2.2$$

โดยที่ t คือ ระยะเวลาที่อยู่ในตู้บ่มเชื้อมีหน่วยเป็นชั่วโมง, ΔP คือ ความดันลดลงของแก๊สมิหน่วยเป็น hPa

เพื่อศึกษาผลกระทบการหายใจของแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพแบบ SBR ดังภาพที่ 2.1 ที่มีต่อน้ำเสียสังเคราะห์ อะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก แอมโมเนียมไนโตรเจนระยะเฉียบพลันนั้น ตัวอย่างสลัดจ์ที่มีแบคทีเรียผสมปริมาณ 1 L ถูกนำมาจากระบบบำบัดน้ำเสียตอนท้ายของการเติมอากาศ ตัวอย่างสลัดจ์ถูกล้างด้วยน้ำกลั่นอย่างน้อย 3 ครั้งเพื่อล้างสารต่างๆ ที่ตกค้างอยู่ในตัวอย่างสลัดจ์ หลังจากนั้น จึงนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาณของสลัดจ์เป็น 2 L (50% Dilution Factor) หลังจากนั้น สลัดจ์ถูกนำมาแบ่งออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆ กันใส่ลงในขวด OxiTop จำนวน 4 ขวด (0.5 ลิตรต่อขวด) ต่อมา จึงเติมน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้อปนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียลงในขวด OxiTop ที่ 1 เติมอะคริลาไมด์ (Acrylamide PAGE, GE Healthcare Bio-Sciences, USA) ลงในขวด OxiTop ที่ 2 เติมกรดอะคริลิก (ACS Grade 99%, Sigma-Aldrich, Netherlands) ลงในขวด OxiTop ที่ 3 และ 4 โดยความแตกต่างของขวด OxiTop ที่ 3 และ 4 คือ ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในขวดที่ 3 และ 4 คือ 50 และ 500 mg N/L ตามลำดับ ส่วนขวดที่ 1 และ 2 นั้นมีการเติมแอมโมเนียมไนโตรเจนเท่ากัน คือ 50 mg N/L หลังจากนั้น จึงเติม N-Allylthiourea (C₄H₈N₂S) (98%, Alfa Aesar, UK) ที่มีความเข้มข้น 5 g/L ปริมาตร 2 mL ลงในขวด OxiTop ทุกขวดเพื่อยับยั้งปฏิกิริยานาตริฟิเคชัน หลังจากนั้น จึงนำเข้าไปอบในตู้บ่มเชื้อนาน 5 วัน ที่อุณหภูมิ 28 °C หลังจากครบ 5 วัน แล้วจึงใช้รีโมทดึงข้อมูลออกมาจากหัววัด OxiTop และนำเข้าสู่เครื่องคอมพิวเตอร์เพื่อวิเคราะห์ต่อไปด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ Achat OC (version 2.03)

นอกจากนั้น ยังมีศึกษาแบบกะ (Batch Studies) เพื่อศึกษาอัตราการย่อยสลายน้ำเสียสังเคราะห์อะคริลาไมด์ และกรดอะคริลิก โดยใช้ขวดที่มีลักษณะเดียวกันภายในตู้บ่มเชื้อเดียวกันที่อุณหภูมิเท่ากับขวด

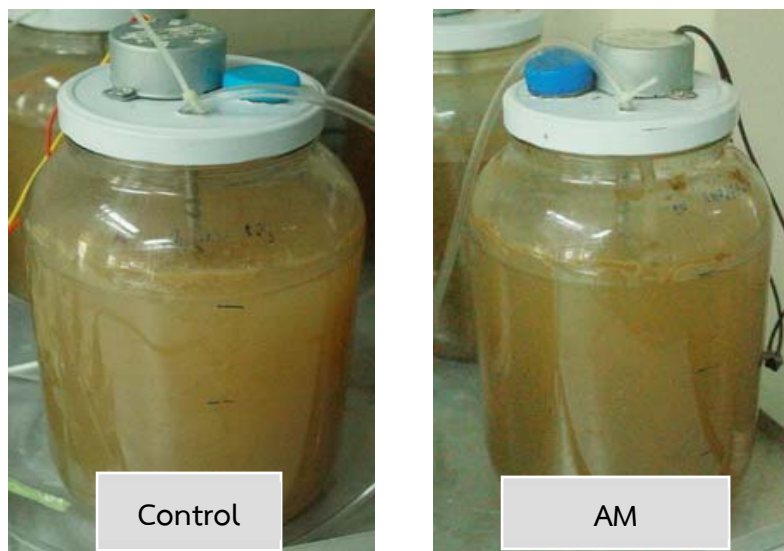
OxiTop โดยใช้แบคทีเรียผสมชุดเดียวกัน ตลอดจนมีการเก็บตัวอย่างเป็นระยะๆ คือ เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 ชั่วโมง ในช่วง 10 ชั่วโมงแรก และทุกๆ 5 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 40 ชั่วโมง หลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมงเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ เช่น COD, อะคริลาไมด์, กรดอะคริลิก, แอมโมเนีย, ไนโตรท, ไนเตรท, MLSS และ MLVSS เป็นต้น

2.1.2 การประเมินผลกระทบระยะยาวของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียไนโตรเจน

หลังจากทราบผลกระทบระยะเวลาเฉียบพลันของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียไนโตรเจนที่มีต่อแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียแล้ว จึงมีการเติมอะคริลาไมด์ลงในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ความเข้มข้น 200, 300, และ 400 mg AM/L โดยมีการเติมควบคู่ไปกับสารอินทรีย์อื่นที่ใช้ในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยค่อยๆ เพิ่มอะคริลาไมด์ลงในน้ำเสียและลดปริมาณสารอินทรีย์อื่นลง ทำให้สัดส่วนของอะคริลาไมด์ในน้ำเสียสูงขึ้นตามลำดับ การทดลองช่วงนี้มีการควบคุมให้ปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมดบ่งชี้ด้วยค่าซีโอดี (Chemical Oxygen Demand, COD) เท่ากับ 400 mg COD/L เพื่อให้แบคทีเรียผสมสามารถปรับตัวเข้ากับอะคริลาไมด์ได้ โดยที่ความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ 400 mg AM/L มีเพียงอะคริลาไมด์เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวเท่านั้น หลังจากนั้น จึงเพิ่มปริมาณของอะคริลาไมด์ให้เท่ากับ 600 และ 800 mg AM/L การทดลองมีการเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วัน กล่าวคือ 0, 3, 5 และ 7 วัน หลังจากการเติมอะคริลาไมด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยหลังจากครบระยะเวลาการเติมอะคริลาไมด์แล้ว 7 วัน จึงมีการนำแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียไปประเมินกิจกรรมการหายใจงัดด้วยค่า OUR

2.3 การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ของแบคทีเรียในการกำจัดอะคริลาไมด์

การพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ในการทำนายผลกระทบของอะคริลาไมด์ต่อแบคทีเรียที่มีต่อการย่อยสลายอะคริลาไมด์ดำเนินการโดยใช้ข้อมูลการทดลองของ Jangkorn et al. (2018) ข้อมูลดังกล่าวถูกนำมาใช้ในการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ของแบบจำลอง ASM ที่ความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ต่างๆ กัน กล่าวโดยสรุป การศึกษาใช้ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR จำนวน 2 ระบบ เรียกว่าระบบ AM และ Control ดังภาพที่ 2.5 โดยระบบ AM นั้นป้อนด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ที่ค่อยๆ แทนที่สารอินทรีย์ด้วยอะคริลาไมด์เข้มข้น 0, 100, 200, 300, และ 400 mg AM/L ส่วนระบบ Control นั้นมีน้ำเสียสังเคราะห์ป้อนเข้าสู่ระบบเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ไม่มีการเติมอะคริลาไมด์แต่อย่างใด ระบบทั้งสองเริ่มต้นระบบด้วยการเติมด้วยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียแอกทิเวเตดสลัดจ์จำลองที่ทำงานอยู่ในห้องปฏิบัติการวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมของคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ระบบบำบัดน้ำเสียทั้งสองระบบนั้นมีปริมาตร 3.0 L ถูกป้อนน้ำเสียสังเคราะห์ 2 กะต่อวัน แต่ละกะมีระยะเวลา 12 ชั่วโมง ประกอบด้วย 5 ช่วงระยะเวลา กล่าวคือ 15 นาที สำหรับการเติมน้ำเสียเข้าสู่ระบบ (Fill), 10 ชั่วโมง สำหรับระยะเวลาการเติมอากาศ (React), 1 ชั่วโมง สำหรับระยะเวลาตกตะกอน (Settle), 15 นาที สำหรับระยะเวลาสูบน้ำใส่ทิ้ง (Decant) ให้เหลือกากตะกอน ปริมาณเพียง 5 ลิตร และ 30 นาที สำหรับการปล่อยระบบนิ่ง (Idle) ดังภาพที่ 2.2 จากการสูบน้ำทิ้ง 1.5 ลิตรต่อกะ ทำให้มีอัตราการแลกเปลี่ยนปริมาตร (Exchange Volume Ratio) เท่ากับ 50% และมีระยะเวลากักเก็บทางชลศาสตร์ เท่ากับ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 2.5 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR AM และ Control ที่มีแบคทีเรียผสม

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองถูกนำมาใช้ในการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ที่สำคัญสำหรับแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ASM คือ k_2 และ K_S ซึ่งเป็นอัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์สูงสุด (mg AM/L-h) และค่าคงที่กึ่งอิ่มตัว (mg AM/L) เพื่อการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ การประมาณพารามิเตอร์ (Parameter Estimation) และวิเคราะห์ความอ่อนไหว (Sensitivity Analysis) ของโปรแกรมคอมพิวเตอร์ AQUASIM (Reichert, et al., 1998) ถูกนำมาใช้ในการประมาณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ ซึ่งโปรแกรม AQUASIM ใช้วิธีการทางคณิตศาสตร์ Secant เพื่อประมาณพารามิเตอร์จลนศาสตร์และวิเคราะห์ความอ่อนไหวของพารามิเตอร์ทั้งสองที่ทำให้ค่าไคสแควร์ (Chi-square, χ^2) มีค่าต่ำสุด ซึ่งค่าไคสแควร์นั้นเป็นผลรวมของการเบี่ยงเบนโดยน้ำหนักกำลังสองระหว่างข้อมูลจากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนายของแบบจำลอง ซึ่งค่าไคสแควร์เป็นค่าบ่งชี้การทดสอบภาวะการปรับพอดี (Goodness of fit) ของโปรแกรมคอมพิวเตอร์ AQUASIM นอกจากนี้ ค่า R^2 จากเมทริกซ์ของสหสัมพันธ์ระหว่าง k_2 และ K_S ซึ่งประมาณได้จากโปรแกรมคอมพิวเตอร์ AQUASIM นั้นถูกนำมาใช้ในการระบุความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างพารามิเตอร์ทั้งสอง ส่วนค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรผัน (Coefficient of Variance) นั้นถูกนำมาใช้ในการประเมินความไม่แน่นอน (Uncertainty) ซึ่งคำนวณจากความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของพารามิเตอร์ (Standard Error of Parameters, σ_x) หารด้วยค่าพารามิเตอร์นั้นแล้วจึงคูณด้วย 100 ได้เป็นหน่วยร้อยละ (%) ส่วนความอ่อนไหวของความเข้มข้นแอมโมเนียม COD และอะคริลาไมด์ที่มีต่อพารามิเตอร์ k_2 และ K_S ประเมินได้จากฟังก์ชัน Absolute-Relative Sensitivity ของ AQUASIM ดังสมการที่ 2.3 (Ni & Yu, 2008)

$$\delta_{y,p}^{a,r} = p \cdot \partial y / \partial p \quad 2.3$$

โดยที่ $\delta_{y,p}^{a,r}$ เป็นผลลัพธ์ของฟังก์ชัน Absolute-Relative Sensitivity, p คือ พารามิเตอร์ทางจลนศาสตร์ ได้แก่ k_2 และ K_S และ y คือ ความเข้มข้นที่คำนวณได้จากโปรแกรมคอมพิวเตอร์ AQUASIM

2.4 การพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีอะคริลาไมด์

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่สามารถนำมาใช้ในการพัฒนาเป็นแบบจำลองสำหรับการย่อยสลายอะคริลาไมด์มีหลายแบบจำลอง เช่น แบบจำลองทางจลนศาสตร์แบบอันดับหนึ่ง (First-order Kinetic Model) แบบจำลองทางจลนศาสตร์แบบอันดับศูนย์ (Zero-order Kinetic Model) แบบจำลองทางจลนศาสตร์แบบ Monod (Battersby, 1990) อย่างไรก็ตาม แบบจำลองแบบ Monod ดังสมการที่ 2.4 นั้น นิยมนำมาใช้ในการทำนายการย่อยสลายของซัสเตรตเพียงชนิดเดียวและแบคทีเรียเพียงชนิดเดียวเท่านั้น ทำให้เกิดการเจริญเติบโตดังสมการที่ 2.5 และ 2.6 ตามลำดับ

$$\mu = \mu_{\max} \cdot S / (K_s + S) \quad 2.4$$

$$dX / dt = \mu \cdot X \quad 2.5$$

$$dX / dt = \mu_{\max} \cdot S \cdot X / (K_s + S) \quad 2.6$$

โดยที่ μ คือ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย, μ_{\max} คืออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดของแบคทีเรีย, K_s คือ ค่าคงที่กึ่งอิ่มตัว, t คือ เวลา, X คือ ความเข้มข้นของแบคทีเรีย และ Y คือ สัมประสิทธิ์ปริมาณผลิต ทั้งนี้ ปริมาณของแบคทีเรียมีความสัมพันธ์กับการย่อยสลายสารซัสเตรตดังสมการที่ 2.7

$$dS / dt = -(1 / Y) \cdot dX / dt \quad 2.7$$

หลังจากแทนที่สมการที่ 2.6 ในสมการที่ 2.7 แล้ว อัตราการย่อยสลายสารซัสเตรตสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.8

$$dS / dt = -q_{\max} \cdot S \cdot X / (K_s + S) \quad 2.8$$

โดยที่ q_{\max} คือ อัตราการย่อยสลายสารซัสเตรตสูงสุดและเท่ากับ μ_{\max}/Y

สำหรับแบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบ Monod ดังสมการที่ 2.8 นั้น พบว่า อัตราการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นซัสเตรต S เพิ่มสูงขึ้น โดยอัตราการย่อยสลายสูงสุดซึ่งคำนวณได้จาก $q_{\max}X$ นั้น เกิดขึ้นเมื่อ S มากกว่า K_s มากๆ ($S \gg K_s$) ทำให้สมการที่ 2.8 ลดรูปเหลือดังสมการที่ 2.9 ซึ่งเป็นสมการที่อยู่ในรูปของแบบจำลองปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (Zero-order Model) ทำให้อัตราการย่อยสลายขึ้นอยู่กับปริมาณของแบคทีเรียและอัตราการย่อยสลายสูงสุด

$$dS / dt = -q_{\max} X \quad 2.9$$

แต่หาก S น้อยกว่า K_s มากๆ ($S \ll K_s$) แล้วสมการที่ 2.8 สามารถเขียนได้ในรูปของสมการที่ 2.10

$$dS / dt = -(q_{\max} X / K_s) S \quad 2.10$$

ซึ่งสมการดังกล่าวเป็นแบบจำลองที่เป็นแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First-order Model)

Alexander (1999) นำเสนอแบบจำลอง Monod ที่ถูกปริพันธ์ (Integration) แล้วได้ 6 รูปแบบสำหรับการย่อยสลายซึบสเตรททางชีวภาพ โดยจำแนกเป็น 3 แบบจำลองสำหรับแบคทีเรียที่ไม่ได้อยู่ในช่วงเจริญเติบโต (No Growth Model) ดังสมการที่ 2.11, 2.12, และ 2.13 และอีกแบบ 3 จำลองสำหรับแบคทีเรียที่กำลังเจริญเติบโตอยู่ (Growth Model) สำหรับแบบจำลองแบบ No Growth Model เหมาะสำหรับงานวิจัยนี้เพราะระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR ถูกควบคุมอายุสลัดจ์ให้เท่ากับ 10 วัน ดังนั้น อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียนั้นถูกควบคุมให้คงที่ ส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียในระบบคงที่

$$dS / dt = -k_2 \quad 2.11$$

$$dS / dt = -k_1 \cdot S \quad 2.12$$

$$dS / dt = -k_2 \cdot S / (K_s + S) \quad 2.13$$

โดยที่ k_1 คือ ค่าคงที่ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ซึ่งเท่ากับ $q_{\max}X/K_S$ ในสมการที่ 2.10 มีหน่วยเป็น h^{-1} , k_2 เป็นค่าคงที่ของปฏิกิริยาอันดับศูนย์และเท่ากับอัตราการย่อยสลายสูงสุด ซึ่งเท่ากับ $q_{\max}X$ มีหน่วยเป็น $mg/L-h$

สำหรับการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับระบบบำบัดน้ำเสียที่กำจัดอะคริลาไมด์นั้น ดำเนินการโดยใช้วิธีการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression Analysis) ของโปรแกรมคอมพิวเตอร์ Microsoft Excel เพื่อใช้ในการพัฒนาแบบจำลองคณิตศาสตร์ทางจลนศาสตร์แบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (Zero-order Kinetic Model) หรือแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (First-order Kinetic Model) ซึ่งแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ถูกต้องถูกคัดเลือกโดยใช้ค่า R-square (R^2) การพัฒนาแบบจำลองดำเนินการโดยใช้เขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นสารและเวลา และระหว่างลอการิทึมธรรมชาติ (Natural logarithms) ของสารและเวลาตามสมการที่ 2.14 และ 2.15

$$S = S_0 - k_2 \cdot t \quad 2.14$$

$$S = S_0 \exp(-k_1 \cdot t) \quad 2.15$$

โดยที่ k_1 คือ ค่าคงที่ของอัตราอันดับหนึ่ง (First-order Rate Constant) มีหน่วยเป็น h^{-1} , k_2 คือ ค่าคงที่ของอัตราอันดับสอง (Second-order Rate Constant) มีหน่วยเป็น $mg/L-h$, S คือ ความเข้มข้นของสารในหน่วยของ mg/L , S_0 คือ ความเข้มข้นของสารเริ่มต้นในหน่วยของ mg/L และ t คือ เวลาในหน่วยของ h

2.5 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสีย

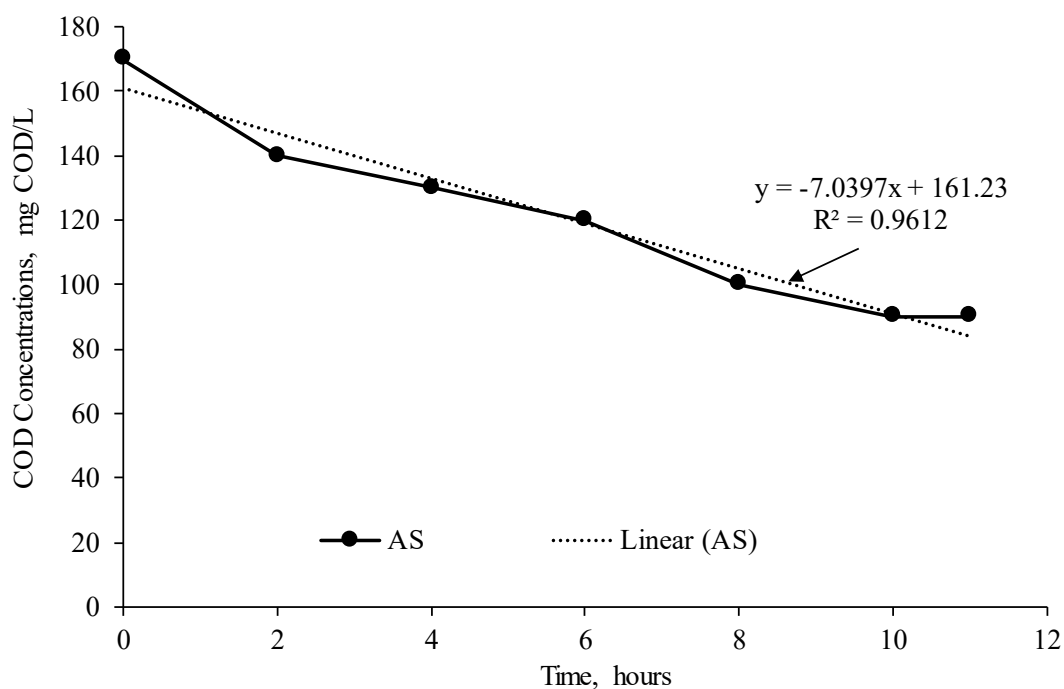
หลังจากระบบบำบัดน้ำเสียเข้าสู่สภาวะคงตัวแล้ว จึงมีการเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ Mixed Liquor Suspended Solids (MLSS), Mixed Liquor Volatile

Suspended Solids (MLVSS), สารอินทรีย์ทั้งหมดบ่งชี้ด้วยค่าซีโอดีทั้งหมด (Total COD, TCOD) และ สารอินทรีย์ละลายน้ำบ่งชี้ด้วยค่าซีโอดีละลายน้ำ (Soluble COD, SCOD) วิเคราะห์ด้วยวิธีการ Closed Reflux, Titrimetric Method ไนโตรเจนทั้งหมดบ่งชี้ด้วยค่าที่เคเอ็น (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN) วิเคราะห์ด้วยวิธี Semi-Micro-Kjeldahl Method แอมโมเนียมไนโตรเจน ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) วิเคราะห์ด้วยวิธีการ Phenate Method ไนโตรที่ไนโตรเจน ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) วิเคราะห์ด้วยวิธีการ Colorimetric Method ไนเตรท ไนโตรเจน ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) วิเคราะห์ด้วยวิธีการ Brucine Method ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตรวจวัดด้วยเครื่อง Cyberscan รุ่น pH510 (Eutech Instruments) และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO) ตรวจวัดด้วยเครื่อง Cyberscan รุ่น DO110 (Eutech Instruments) ทั้งนี้ วิธีการวิเคราะห์ทั้งหมดเป็นไปตาม วิธีการวิเคราะห์ของ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, AWWA & WEF, 1998) สำหรับการวิเคราะห์สารอินทรีย์ละลายน้ำ (SCOD) แอมโมเนียมไนโตรเจน ไนไตรท์ และไนเตรทไนโตรเจน ตัวอย่างถูกกรองด้วยกระดาษกรองที่มีความพรุน 0.45 ไมครอน หลังจากปั่นเหวี่ยง ตัวอย่างด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที (rpm) นาน 10 นาที สำหรับการตรวจวัดอะคริลาไมด์และกรด อะคริลิกนั้นใช้เครื่องมือ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ที่มีการเชื่อมต่อกับ UV Spectrophotometer Detector (JENWAY 6305) ที่ทำงานที่ 254 nm และมีการใช้คอลัมน์ Nova-Pack C_{18} (4 μm 60 A°) guard pak insert column (Waters, Ireland) สำหรับการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ อะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกนั้นใช้ Standard Curve ที่เตรียมจากอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกที่ทราบ ความเข้มข้นแล้ว

ผลการวิจัยและอภิปราย

3.1 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียนการกำจัดสารอินทรีย์และไนโตรฟิเคชัน

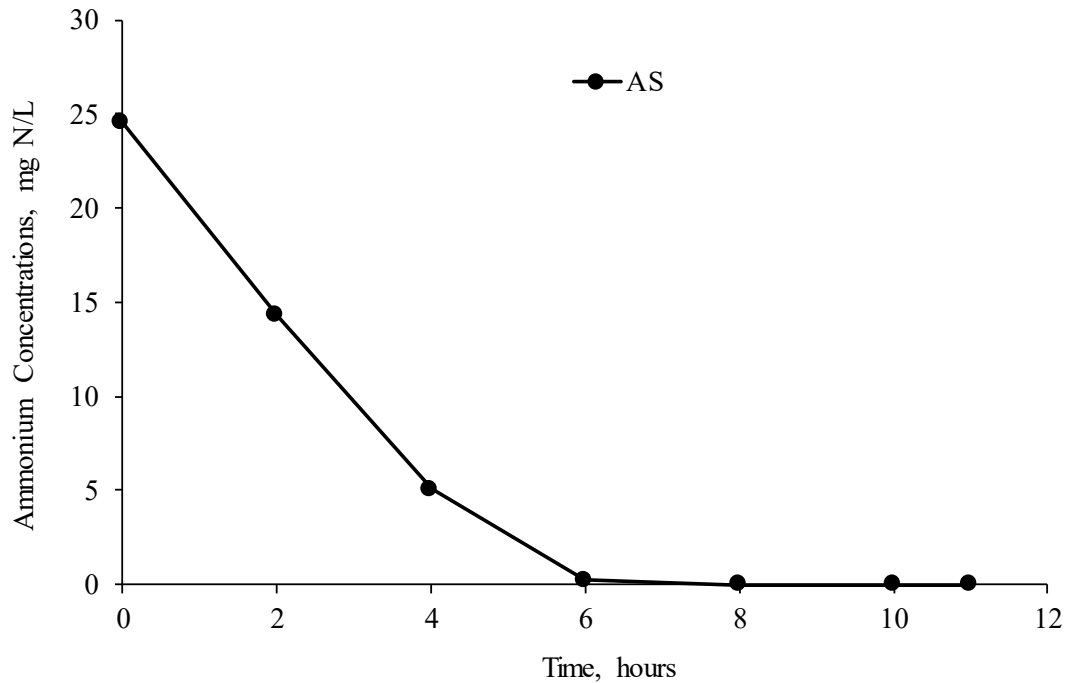
หลังจากเดินระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบ AS จนระบบเข้าสู่สภาวะคงตัว (Quasi Steady State Conditions) มาเป็นระยะเวลาหลายเดือน ซึ่งสามารถระบุการเข้าสู่สภาวะคงตัวได้จากการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแบคทีเรียและซับสเตรตเมื่อเทียบกับเวลา พบว่า ความเข้มข้น MLVSS และ MLSS ในถังเติมอากาศ เท่ากับ 845 ± 42 mg VSS/L และ 855 ± 42 mg SS/L ตามลำดับ คิดเป็นอัตราส่วน MLVSS/MLSS เท่ากับ 0.99 พบว่า ความเข้มข้นของแบคทีเรียมานั้นไม่มากเท่าที่ควรเมื่อระบบที่ควบคุมอายุสลัดจ์เท่ากับ 9 วัน และความเข้มข้นของน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์ทั้งหมดบ่งชี้ด้วยซีโอดีเท่ากับ 400 mg COD/L ทั้งนี้ อาจเป็นไปได้ว่า คุณลักษณะน้ำเสียสังเคราะห์อาจไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียผสม และเป็นไปไม่ได้ว่าแบคทีเรียหลุดไปกับน้ำทิ้งของระบบเนื่องจากความเข้มข้นของแขวนลอยในน้ำทิ้งเท่ากับ 13.2 ± 9.9 mg TSS/L โดยระบบมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์บ่งชี้ด้วยค่าซีโอดีเท่ากับ 77.5% ทำให้เหลือสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งเท่ากับ 90 mg COD/L เมื่อพิจารณาภาพที่ 3.1 พบว่า สารอินทรีย์ลดลงอย่างเป็นเส้นตรงเมื่อเทียบกับเวลาตามลำดับ ดังนั้น จึงสามารถคำนวณอัตราการกำจัดสารอินทรีย์ได้เท่ากับ 7.0 mg COD/L-h ทั้งนี้ ความเข้มข้นเริ่มต้นนั้นเป็นความเข้มข้นหลังจากการเจือจางระหว่างน้ำเสียสังเคราะห์และน้ำทิ้งที่ค้างอยู่ในระบบด้วยอัตราการแลกเปลี่ยนปริมาตรเท่ากับ 50%



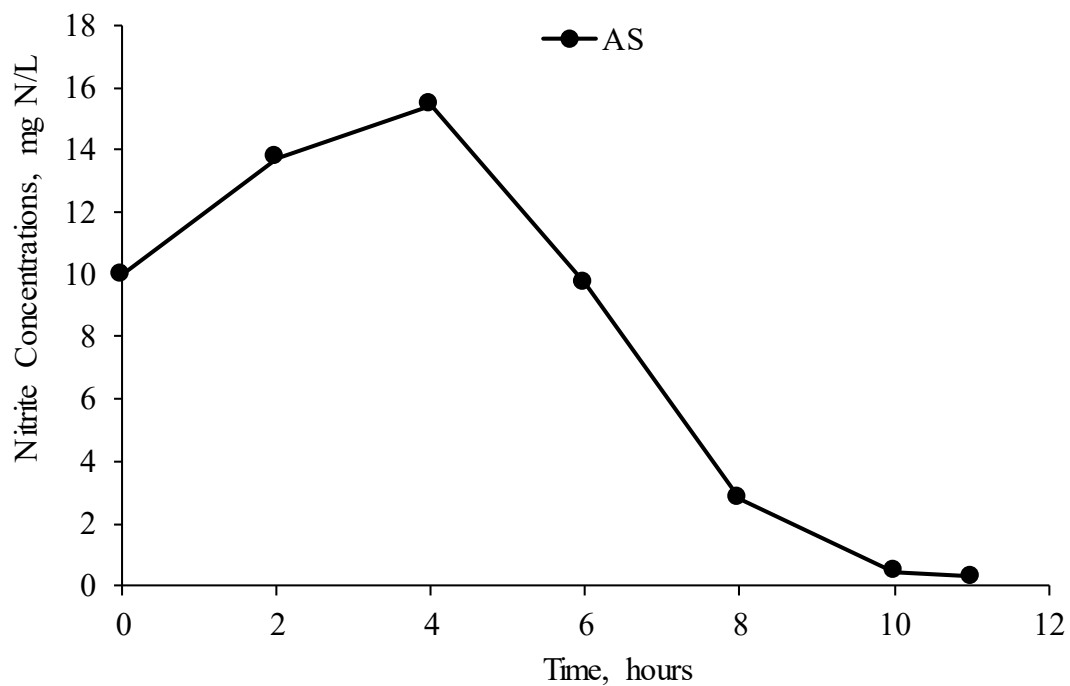
ภาพที่ 3.1 ความเข้มข้น COD ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมที่อายุสลัดจ์ 9 วัน

เมื่อพิจารณากระบวนการไนโตรฟิเคชันของระบบเพื่อกำจัดแอมโมเนียไนโตรเจน พบว่า แอมโมเนียไนโตรเจนนั้นถูกกำจัดภายในระยะเวลาการทำปฏิกิริยานาน 6 ชั่วโมงเท่านั้น หลังจากนั้น แอมโมเนียไม่เหลือ

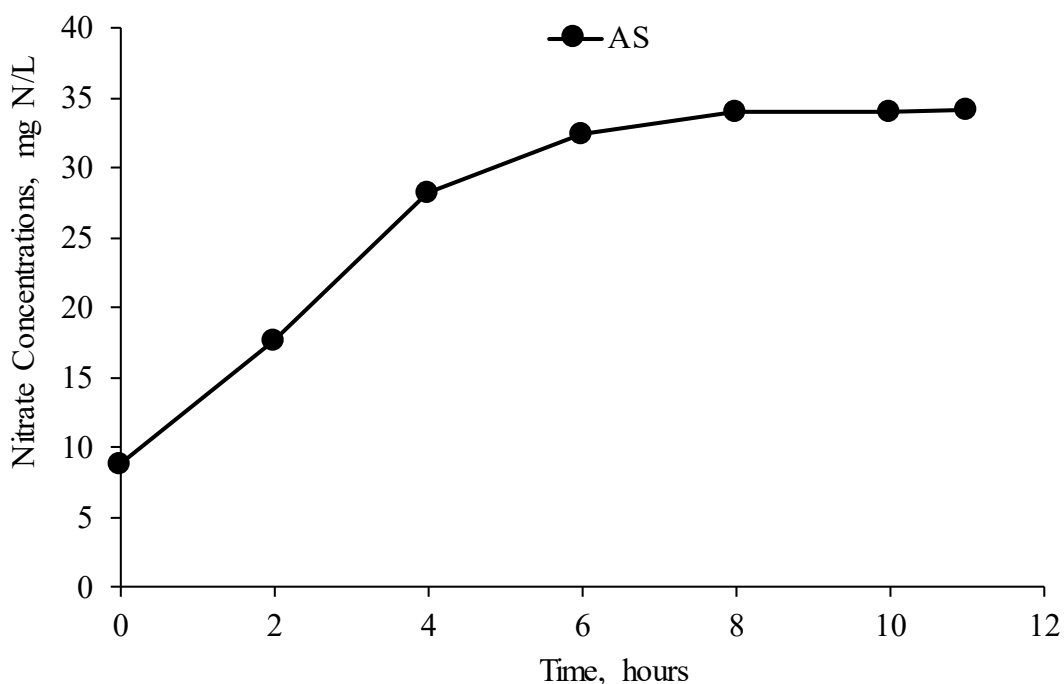
ค้างอยู่ในกายระบบ ดังภาพที่ 3.2 ทำให้มีประสิทธิภาพของไนตริฟิเคชันเท่ากับ 100% ซึ่งเป็นการกำจัดแอมโมเนียมไนโตรเจนโดยสมบูรณ์ ซึ่งการเกิดไนตริฟิเคชันทำให้เกิดไนเตรทไนโตรเจน ดังภาพที่ 3.3 และไนเตรทไนโตรเจน ดังภาพที่ 3.4 ตามลำดับ



ภาพที่ 3.2 ความเข้มข้นแอมโมเนียมไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมที่อายุสัปดาห์ 9 วัน



ภาพที่ 3.3 ความเข้มข้นไนเตรทไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมที่อายุสัปดาห์ 9 วัน



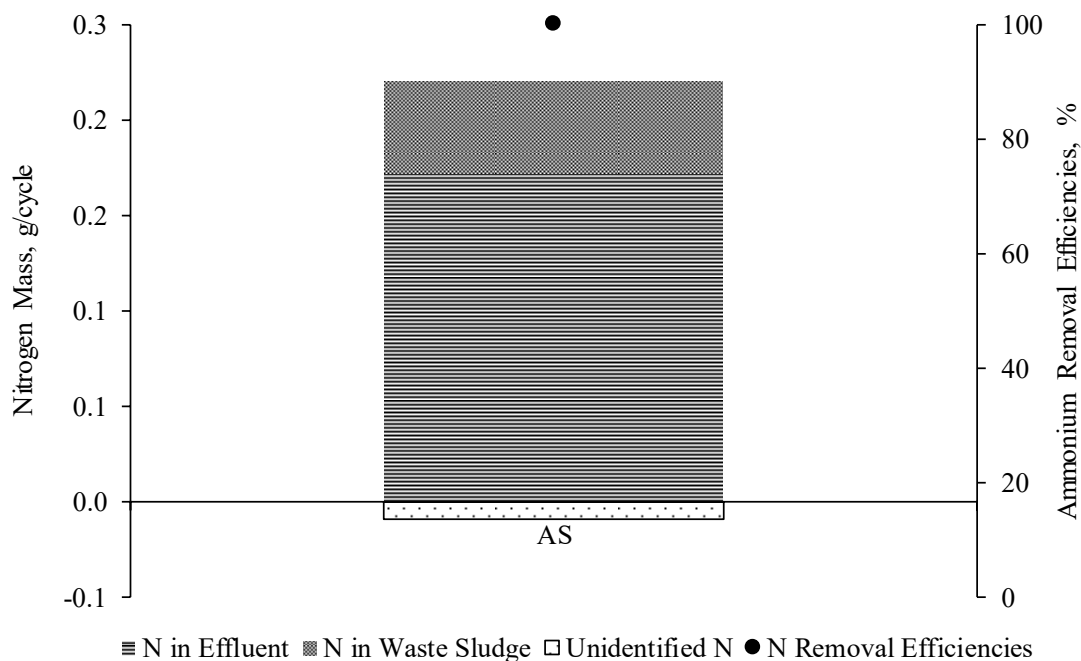
ภาพที่ 3.4 ความเข้มข้นไนเตรทไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมที่อายุสัปดาห์ 9 วัน

จากภาพที่ 3.3 สังเกตได้ว่า ไนโตรทสะสมเพิ่มสูงในระบบในช่วงแรกหลังจากนั้นจึงลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนไนโตรทเป็นไนเตรทไนโตรเจน ดังภาพที่ 3.4 เพื่อยืนยันผลการทดลองที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการไนตริฟิเคชัน การทำสมดุลของมวลไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR ซึ่งสามารถคำนวณได้จากวิธีการของ Lee et al. (2008) พบว่า มวลของไนโตรเจนของระบบมีความสมดุลเท่ากับ 104.2% โดยมีมวลของแอมโมเนียไนโตรเจนถูกไนตริไฟไปเท่ากับ 0.163 g/cycle โดยมีมวลของไนโตรเจนที่ออกไปกับน้ำทิ้งเท่ากับ 0.172 g N/cycle และถูกใช้ไปในการสร้างเซลล์สำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียผสมเท่ากับ 0.048 g N/cycle โดยมีมวลของไนโตรเจนส่วนใหญ่ออกไปกับน้ำทิ้ง ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลของไนโตรทและไนเตรทไนโตรเจนดังภาพที่ 3.3 และ 3.4

3.2 ผลกระทบระยะเฉียบพลันของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียไนโตรเจนต่ออัตราการหายใจของแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสีย

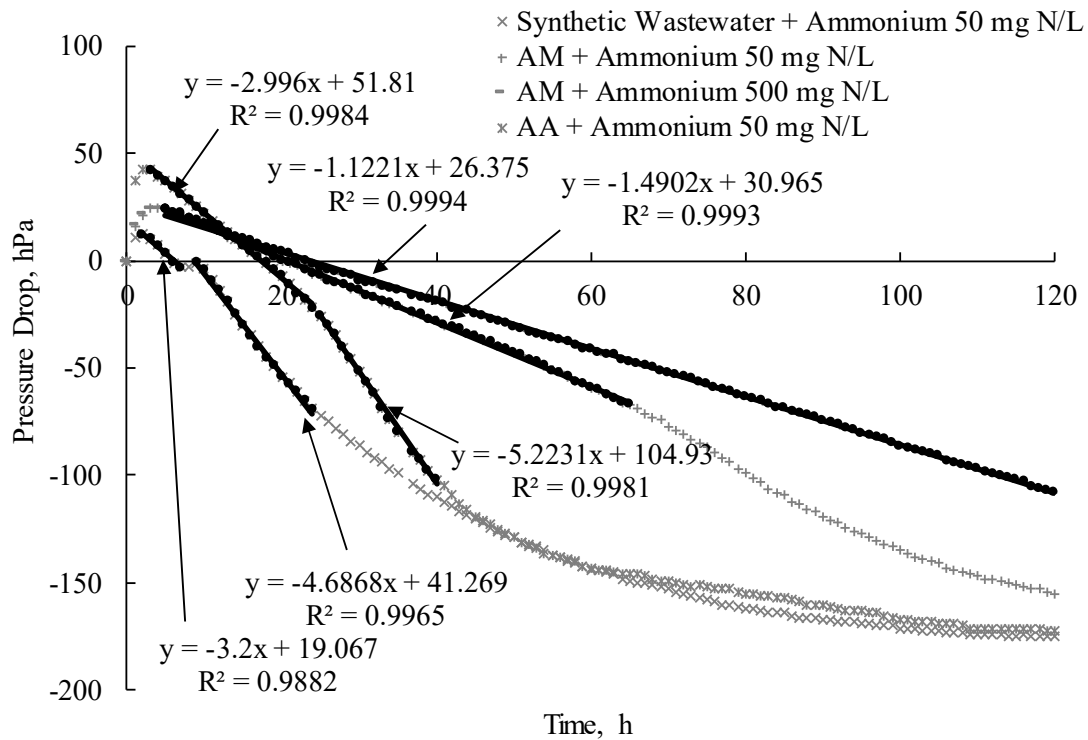
ผลกระทบของอะคริลาไมด์และผลผลิตจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพด้วยเอนไซม์อะมิเดส ได้แก่ แอมโมเนียและกรดอะคริลิก ที่มีต่ออัตราการหายใจของแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพ ซึ่งไม่เคยสัมผัสกับสารเหล่านี้มาก่อน ถูกนำไปประเมินด้วยชุดอุปกรณ์ OxiTop ที่มีการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 5 วัน โดยการทดลองมีการเติมน้ำเสียสังเคราะห์ อะคริลาไมด์ และกรดอะคริลิก ลงในสัปดาห์ที่มีแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสีย AS ทำงานในสภาวะคงตัวแล้ว โดยน้ำเสียสังเคราะห์เป็นน้ำเสียใช้ป้อนระบบ AS ซึ่งแบคทีเรียผสมมีความคุ้นเคยอยู่แล้วเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิง ส่วนอะคริลาไมด์มีการเติมแอมโมเนียไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 50 และ 500 mg N/L เพื่อประเมินผลกระทบของอะคริลาไมด์และ

แอมโมเนียมไนโตรเจน สำหรับกรดอะคริลิกนั้นมีการเติมแอมโมเนียมไนโตรเจนเท่ากับ 50 mg N/L เท่ากับน้ำเสียสังเคราะห์



ภาพที่ 3.5 สมดุลของมวลไนโตรเจนภายในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR แบบ AS

ภาพที่ 3.6 แสดงการเปลี่ยนแปลงความดันแก๊สภายในขวด OxiTop ที่ระยะเวลาบ่มเชื้อนาน 5 วัน ผลการทดลอง พบว่า ความดันของแก๊สภายในขวด OxiTop เพิ่มขึ้นในช่วง 2-3 ชั่วโมงแรก โดยมีความดันสูงสุดเท่ากับ 12, 24, 24, และ 42 hPa สำหรับการย่อยสลายน้ำเสียสังเคราะห์ อะคริลาไมด์ (50 mg N/L) อะคริลาไมด์ (500 mg N/L) และกรดอะคริลิก ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิตัวอย่างและอุณหภูมิในตู้บ่มเชื้อ หลังจากนั้น ความดันแก๊สของขวด OxiTop ที่บ่อน้ำเสียสังเคราะห์ลดลงทันทีอย่างรวดเร็ว แสดงว่า ไม่ต้องการปรับสภาพของแบคทีเรียผสมกับน้ำเสียสังเคราะห์ อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียผสมต้องการเวลา 1 ชั่วโมง สำหรับการปรับสภาพกับกรดอะคริลิก และระยะเวลา 2 ชั่วโมง สำหรับการปรับสภาพกับอะคริลาไมด์ที่มีแอมโมเนียม 50 และ 500 mg N/L ดังนั้น แสดงว่า แบคทีเรียผสมต้องการระยะเวลาปรับสภาพกับอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกหากน้ำเสียมีสารเหล่านี้ปนเปื้อน หลังแบคทีเรียผสมปรับสภาพแล้ว ความดันแก๊สลดลงต่อเนื่องเป็นเส้นตรง เมื่อนำความชันของเส้นตรงมาคำนวณตามสมการที่ 2.2 ได้อัตราการใช้ออกซิเจน (Oxygen Uptake Rate, OUR) และอัตราการใช้ออกซิเจนจำเพาะ (Specific Oxygen Uptake Rate, SOUR) เมื่อนำอัตราการใช้ออกซิเจนมาหารด้วยความเข้มข้นของแบคทีเรียผสม ดังตารางที่ 3.1 จากภาพที่ 3.6 ปรากฏว่ามี 2 ความชันของเส้นตรงสำหรับน้ำเสียสังเคราะห์ ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่า แบคทีเรียผสมมีการย่อยสลายสารอินทรีย์จำนวน 2 ประเภท คือ น้ำตาลทรายและโซเดียมอะซิเตต ทั้งนี้ มีความดันแก๊สคงที่อยู่ที่ 10-12 hPa เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ช่วงรอยต่อระหว่าง 2 เส้นตรง ทำให้ระบุได้ว่าการหยุดชะงักของการใช้ออกซิเจนในช่วงเวลาดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า มีรูปแบบการเจริญเติบโตแบบ Diauxic Growth กับแหล่งคาร์บอน 2 ประเภท (Chu & Barnes, 2016)



ภาพที่ 3.6 การเปลี่ยนแปลงความดันภายใน OxiTop ที่มีแบคทีเรียผสมที่ย่อยสลายสารต่างๆ ในระยะเฉื่อยพลัน

ตารางที่ 3.1 อัตราการใช้ออกซิเจนและอัตราการใช้ออกซิเจนจำเพาะของแบคทีเรียผสม

Experiments	OUR		SOUR	
	(mg O ₂ /L-h)		(mg O ₂ /g VSS-h)	
	1	2	1	2
Synthetic Wastewater*	4.09	5.99	7.05	10.33
Acrylamide*	1.90	-	3.28	-
Acrylamide **	1.56	-	2.69	-
Acrylic Acid*	3.83	6.68	6.60	11.51

* Ammonium as a nitrogen source at the concentration of about 50 mg N/L; ** Ammonium as a nitrogen source at the concentration of about 500 mg N/L; 1 and 2 indicated the first and second OUR and SOUR rates

สำหรับอะคริลาไมด์ พบว่า หลังจากการปรับสภาพกับอะคริลาไมด์แล้ว แบคทีเรียผสมสำหรับย่อยสลายอะคริลาไมด์ด้วยอัตราการใช้ออกซิเจนเท่ากับ 1.90 mg O₂/L-h ซึ่งแสดงว่าแบคทีเรียผสมย่อยสลายอะคริลาไมด์ช้ากว่าการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียสังเคราะห์ จากภาพที่ 3.6 ไม่ปรากฏรูปแบบการเจริญเติบโตแบบ Diauxic Growth ทั้งนี้ เมื่อเพิ่มปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนให้สูงขึ้น พบว่า อัตราการใช้

ออกซิเจนของแบคทีเรียสำหรับการย่อยสลายอะคริลาไมด์ลดลง แสดงให้เห็นว่า แอมโมเนียไนโตรเจนสามารถยับยั้งเอนไซม์อะมิเดสในการย่อยสลายอะคริลาไมด์ (Jangkorn et al., 2018)

จากภาพที่ 3.6 และอัตราการใช้ออกซิเจนสำหรับการย่อยสลายกรดอะคริลิกในตารางที่ 3.1 พบว่าแบคทีเรียผสมย่อยสลายกรดอะคริลิกจนแก่ได้เป็น 2 ช่วง โดยอัตราการย่อยสลายกรดอะคริลิกเพิ่มขึ้นหลังจากระยะเวลาผ่านไป 18 ชั่วโมง แบคทีเรียผสมย่อยสลายกรดอะคริลิกได้ดีกว่าอะคริลาไมด์ แต่ช้ากว่าการย่อยสลายน้ำเสียสังเคราะห์ หลังจากนั้น อัตราการย่อยสลายกรดอะคริลิกนั้นเพิ่มสูงขึ้นกว่าการย่อยสลายน้ำเสียสังเคราะห์ ทั้งนี้ มีรายงานว่า แบคทีเรียผสมที่มีการปรับสภาพกับกรดอะคริลิกในน้ำเสียแล้วสามารถย่อยสลายกรดอะคริลิกประเภทมอนอเมอร์และไดเมอร์ได้อย่างสมบูรณ์ อย่างไรก็ตาม หากมวลโมเลกุลของกรดอะคริลิกเพิ่มสูงขึ้น อัตราการย่อยสลายกรดอะคริลิกลดลงตามลำดับ (Larson et al., 1997) แสดงให้เห็นว่า ช่วงแรกกรดอะคริลิกในน้ำเสียมีมวลโมเลกุลสูงเนื่องจากเกิดการพอลิเมอไรซ์ของกรดอะคริลิกทำให้กรดอะคริลิกมีมวลโมเลกุลสูงขึ้นทำให้อัตราการย่อยสลายต่ำ ทั้งนี้ กรดอะคริลิกสามารถเกิดกระบวนการพอลิเมอไรซ์ได้ง่าย จึงต้องมีการเติมสาร Hydroquinone Monomethyl Ether (MEHQ) หรือ Methoxyphenol เข้มข้น 180-200 ppm เพื่อยับยั้งการเกิดกระบวนการพอลิเมอไรซ์ หลังจากนั้น อาจมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดอะคริลิกทำให้ได้กรดอะคริลิกที่มีมวลโมเลกุลต่ำลง ส่งผลให้แบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายกรดอะคริลิกได้ดีขึ้น

ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่า แบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ทั่วไปเมื่อได้รับอะคริลาไมด์แล้ว มีผลกระทบในระยะเฉียบพลันเพราะต้องให้แบคทีเรียมีการปรับสภาพให้คุ้นเคยกับอะคริลาไมด์เสียก่อน และการย่อยสลายอะคริลาไมด์ด้วยแบคทีเรียผสมนั้นทำได้ยากกว่าน้ำเสียสังเคราะห์ที่แบคทีเรียคุ้นเคย ทั้งนี้เพราะอะคริลาไมด์นั้นปกติมีความเป็นพิษต่อแบคทีเรีย (Charoenpanich & Tani, 2014; Joshi & Abed, 2017) นอกจากนี้ แอมโมเนียไนโตรเจนที่ได้จากการย่อยสลายอะคริลาไมด์นั้น หากมีความเข้มข้นสูง ทำให้เกิดการยับยั้งการย่อยสลายอะคริลาไมด์ ส่วนกรดอะคริลิกที่ได้จากการย่อยสลายอะคริลาไมด์นั้น แบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายได้ทันทีหลังจากการปรับสภาพกับกรดอะคริลิกแล้ว โดยอัตราการย่อยสลายกรดอะคริลิกทางชีวภาพของแบคทีเรียผสมนั้นสูงกว่าการย่อยสลายอะคริลาไมด์ หากมวลโมเลกุลของอะคริลาไมด์ไม่สูงมากนัก

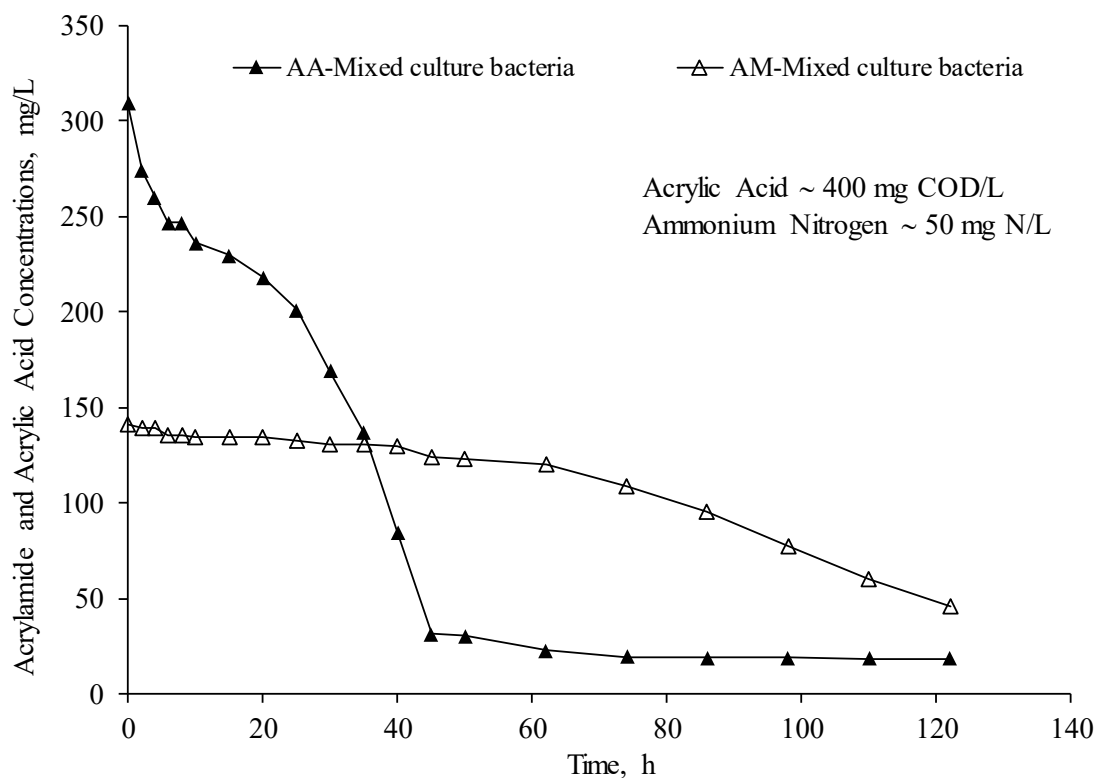
3.3 ความสามารถในการย่อยสลายอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกโดยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียในระยะเฉียบพลัน

การทดลองเพื่อประเมินความสามารถของแบคทีเรียผสมในการย่อยสลายอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกเป็นแหล่งคาร์บอนโดยที่แบคทีเรียผสมไม่เคยสัมผัสกับอะคริลาไมด์หรือกรดอะคริลิกมาก่อนเลย การศึกษาดำเนินการในขวดขนาด 1 ลิตร ที่มีลักษณะคล้ายกับขวด OxiTop และการทดลองดำเนินการคู่ขนานกับการทดลองวัดอัตราการหายใจของแบคทีเรียผสม ผลการทดลองเป็นดังนี้

3.3.1 การย่อยสลายกรดอะคริลิก

การศึกษาค้างนี้เป็นเพราะว่าแบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียสามารถใช้กรดอะคริลิกที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ไปเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตได้ ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 3.7 พบว่า แบคทีเรียผสมสามารถใช้กรดอะคริลิกเพื่อการเจริญเติบโตได้ทันที โดยพบว่า กรดอะคริลิกถูกกำจัดไปภายใน 2-3 นาทีแรกหลังจากการเติมกรดอะคริลิกด้วยประสิทธิภาพการกำจัดเท่ากับ 22.7% ทั้งนี้ กรดอะคริลิกเริ่มต้นดังภาพที่ 3.7 นั้น เท่ากับ 400 mg AA/L หรือ 5.6 mM (MW = 72.06 g

AA/mole) จากผลการประเมินอัตราการหายใจด้วยชุดอุปกรณ์ OxiTop ที่พบว่าความดันเพิ่มสูงขึ้น และกรดอะคริลิกที่ถูกกำจัดไปตอนเริ่มต้นยืนยันได้ว่า กรดอะคริลิกเกิดกระบวนการพอลิเมอไรเซชันได้เป็นพอลีอะคริลิกขึ้น เป็นที่น่าสังเกตว่า หลังจากเติมกรดอะคริลิกแล้วพบว่ามียะคริลลาไมด์ปรากฏขึ้นในระบบด้วยความเข้มข้นเท่ากับ 1.99 mM ทั้งนี้ Yasuhara et al. (2003) รายงานว่า กรดอะคริลิกสามารถทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียแล้วทำให้เกิดอะคริลลาไมด์ขึ้น ทั้งนี้ ปริมาณสารสัมพันธ์ระหว่างกรดอะคริลิกและอะคริลลาไมด์ คือ 1:1 (Nawaz et al., 1993) ดังนั้น ปริมาณกรดอะคริลิกที่ถูกใช้ไปในการผลิตอะคริลลาไมด์ต้องเท่ากับปริมาณอะคริลลาไมด์ที่ถูกผลิตขึ้น หลังจากการกำจัดกรดอะคริลิกในช่วงต้นเพื่อผลิตอะคริลลาไมด์แล้ว กรดอะคริลลาไมด์ถูกกำจัดอย่างต่อเนื่องตลอดช่วงระยะเวลาบ่มเขื่อนาน 50 ชั่วโมง ด้วยอัตราการกำจัดกรดอะคริลิกเท่ากับ 5.11 mg AA/L-h ($R^2 = 0.95$) คล้ายกับการกำจัดเท่ากับน้ำเสียสังเคราะห์เนื่องจากกรดอะคริลิกนั้นเป็นสารอินทรีย์ที่พร้อมถูกย่อยสลายด้วยแบคทีเรียที่เหมาะสมภายใต้สภาวะเดิมอากาศ (Staples et al., 2000) เมื่อพ้นระยะการบ่มเขื่อนาน 50 ชั่วโมง พบว่า กรดอะคริลิกในระบบมีความเข้มข้นต่ำและไม่สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียผสมอีกต่อไป

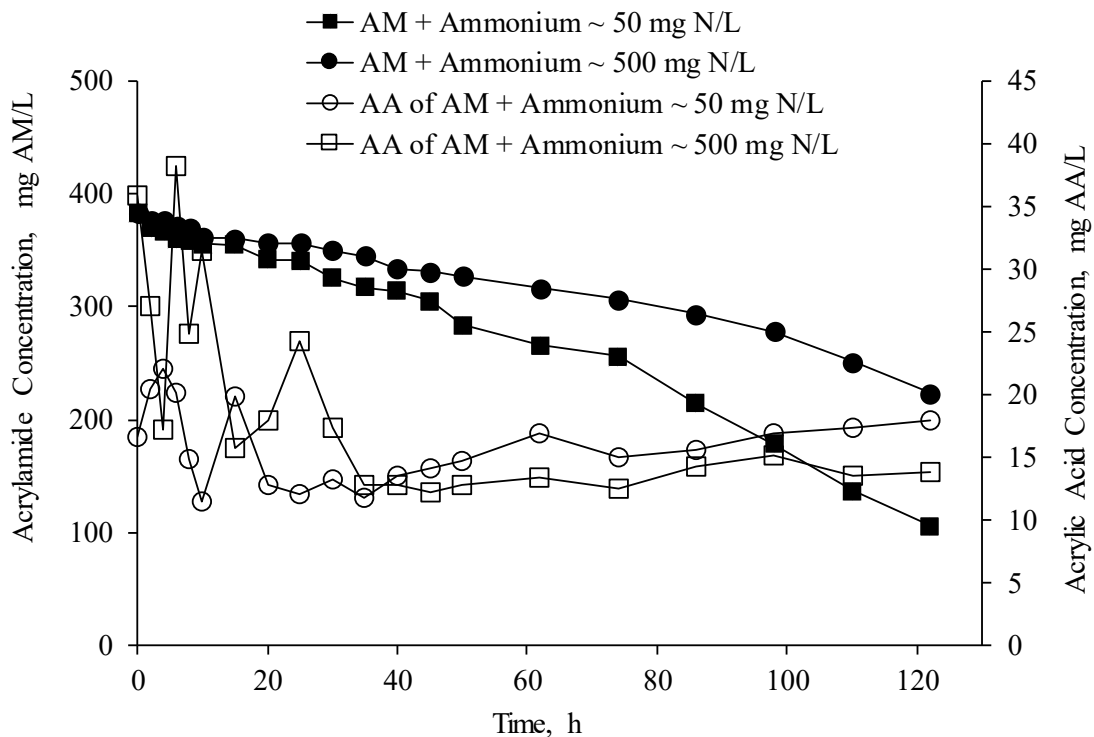


ภาพที่ 3.7 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นกรดอะคริลิกโดยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ย่อยสลายอะคริลลาไมด์ในระยะเฉียบพลัน

จากภาพที่ 3.7 พบว่า ความเข้มข้นของอะคริลลาไมด์ที่เกิดขึ้นค่อนข้างเสถียรในช่วงต้น แต่หลังจากความเข้มข้นของกรดอะคริลิกเริ่มน้อยลง อะคริลลาไมด์จึงเริ่มถูกย่อยสลายส่งผลทำให้ความเข้มข้นของอะคริลลาไมด์ลดลง ทำให้เห็นได้ว่า แบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายกรดอะคริลิกได้ดีกว่าอะคริลลาไมด์ เนื่องจากความเป็นพิษของอะคริลลาไมด์ (Charoenpanich & Tani, 2014; Joshi & Abed, 2017) และกรดอะคริลิกเป็นสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ง่ายโดยแบคทีเรียผสม (Staples et al., 2000)

3.3.2 การย่อยสลายอะคริลาไมด์

การทดลองแบบกะเพื่อประเมินความสามารถในการย่อยสลายอะคริลาไมด์เป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีความเข้มข้นแอมโมเนียมไนโตรเจน 50 และ 500 mg N/L ผลการทดลองแสดง ดังภาพที่ 3.8 พบว่า แบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสีย AS ย่อยสลายอะคริลาไมด์อย่างช้าๆ ในช่วงระยะเวลา 15 ชั่วโมงแรก ที่ความเข้มข้นแอมโมเนียมไนโตรเจนทั้งสองความเข้มข้น เนื่องจากแบคทีเรียผสมต้องปรับสภาพกับน้ำเสีย ผลการทดลองยืนยันผลการประเมินกิจกรรมการหายใจว่า แบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสีย AS ต้องการเวลา 2-3 ชั่วโมงในการปรับสภาพกับอะคริลาไมด์ เมื่อคำนวณอัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์ ดังตารางที่ 3.2 พบว่า แบคทีเรียผสมย่อยสลายอะคริลาไมด์ด้วยอัตรา 2.09 mg AM/L-h ทำให้มีประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์เท่ากับ 72.3% เมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมเท่ากับ 50 mg N/L แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนเท่ากับ 500 mg N/L พบว่า อัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์ลดน้อยลงอย่างมาก โดยมีอัตราการย่อยสลายเพียง 1.14 mg AM/L เท่านั้น ทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์เท่ากับ 41.7% แสดงให้เห็นว่าแอมโมเนียมไนโตรเจนมีผลกระทบอย่างชัดเจนต่อการย่อยสลายอะคริลาไมด์ Jangkorn et al. (2018) รายงานว่า แอมโมเนียไนโตรเจนมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะมิเดสในการย่อยสลายอะคริลาไมด์ เมื่อความเข้มข้นแอมโมเนียมเพิ่มสูงขึ้น ทำให้สัดส่วนของแอมโมเนียไนโตรเจนโดยเฉพาะที่ความเป็นกรดต่ำและอุณหภูมิสูง



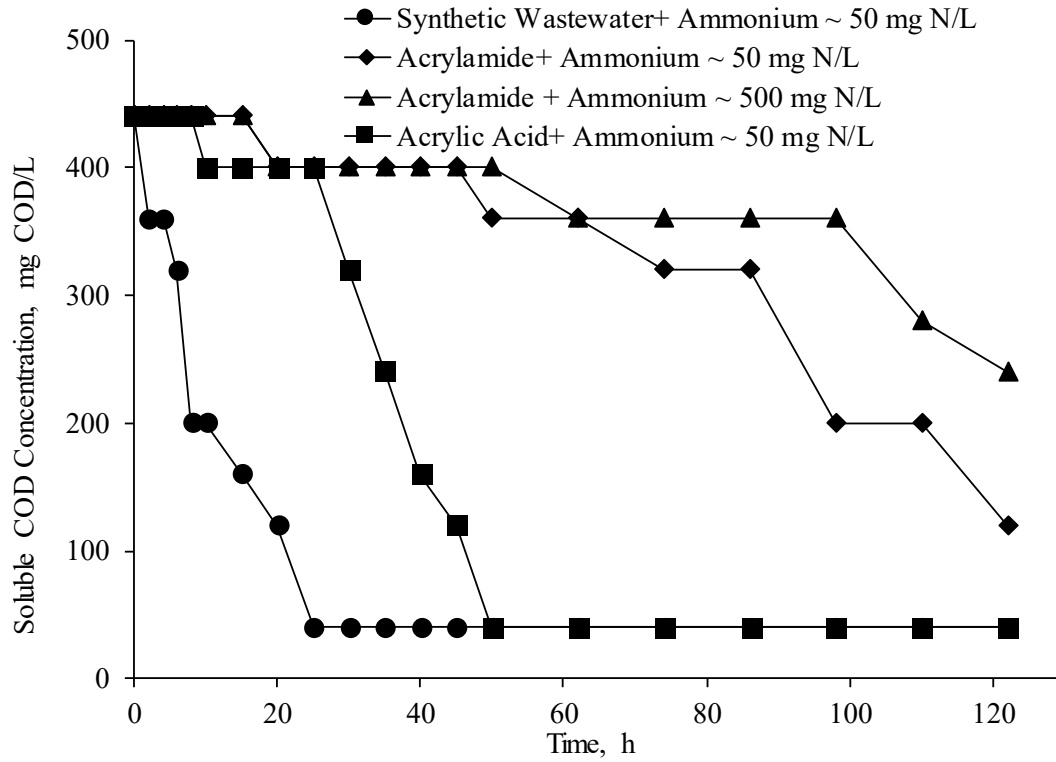
ภาพที่ 3.8 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกโดยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ย่อยสลายอะคริลาไมด์ในระยะเฉียบพลัน

ตารางที่ 3.2 อัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์และประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์โดยแบคทีเรียผสมที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนเท่ากับ 50 และ 500 mg N/L

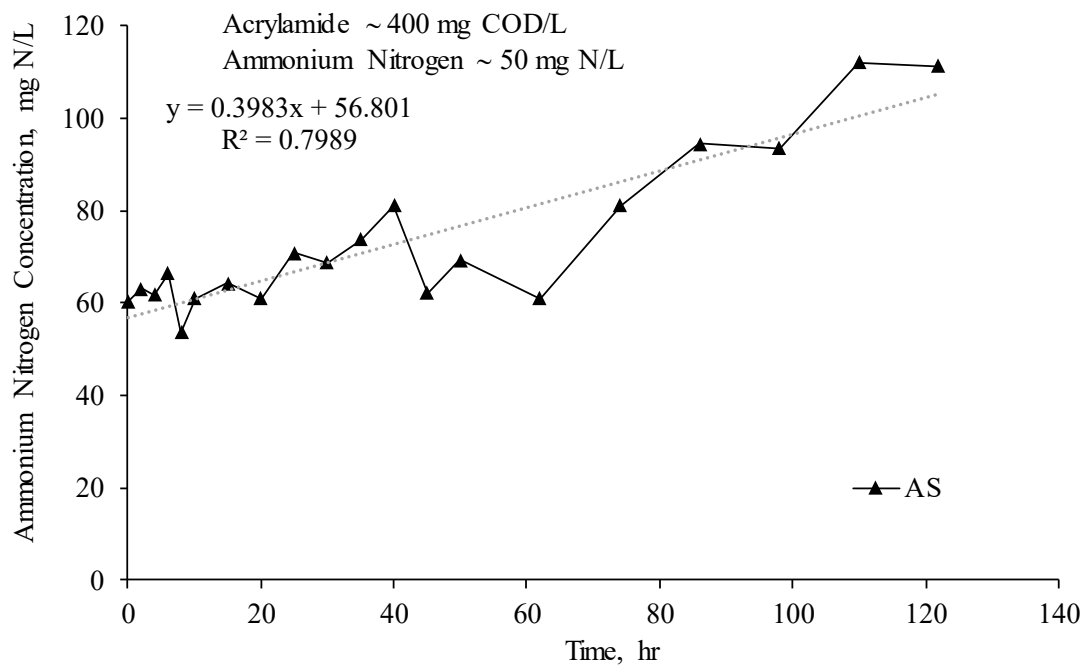
NH ₄ ⁺ (mg N/L)	AM Removal Efficiency (%)	AM biodegradation rate (mg AM/L-h)	R ²
50	72.3	2.09	0.978
500	41.7	1.14	0.977

ภาพที่ 3.9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบเมื่อมีการป้อนน้ำเสียที่เป็นน้ำเสียสังเคราะห์ อะคริลาไมด์ที่มีแอมโมเนียม 50 mg N/L อะคริลาไมด์ที่มีแอมโมเนียม 500 mg N/L และกรดอะคริลิก พบว่า แบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ทันที เนื่องจากแบคทีเรียผสมมีความคุ้นเคยกับน้ำเสียนี้อยู่แล้ว นอกจากนี้ แบคทีเรียผสมนี้สามารถย่อยสลายกรดอะคริลิกได้ทันที หลังจากการปรับสภาพขอบแบคทีเรียผสมกับกรดอะคริลิกแล้ว โดยกรดอะคริลิกถูกกำจัดหมดสิ้นหลังจากการบ่มเชื้อนาน 50 ชั่วโมง ส่วนอะคริลาไมด์นั้นเมื่อถูกกำจัดแล้ว พบว่า ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ดังภาพที่ 3.9 ระบุว่า แบคทีเรียต้องใช้เวลาในการปรับสภาพกับอะคริลาไมด์ จากค่าอัตราการใช้ออกซิเจนของแบคทีเรียผสมเมื่อย่อยสลายอะคริลาไมด์ (1.79 mg AM/L-h) และอัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์ในการทดลองแบบกะ (1.90 mg O₂/L-h) ทำให้สามารถระบุได้ว่า กรดอะคริลิกที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ถูกย่อยสลายน้อยมาก จึงทำให้ค่าซีโอดีของสารอินทรีย์จึงไม่เพิ่มสูงขึ้นจากกรดอะคริลิกในช่วง 65 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้น จึงพบว่า เมื่ออัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์เพิ่มสูงขึ้นดังภาพที่ 3.8 เท่ากับ 2.85 mg AM/L-h (R² = 0.984) แล้วจึงพบว่า ความเข้มข้นสารอินทรีย์จึงลดลง ภาพที่ 3.10 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนที่สะสมในระบบจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ ความเข้มข้นของอะคริลาไมด์เพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่า กรดอะคริลิกที่เกิดขึ้นมิได้ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียมไนโตรเจนในน้ำเสียกลายเป็นอะคริลาไมด์ใหม่อีกครั้งหนึ่ง

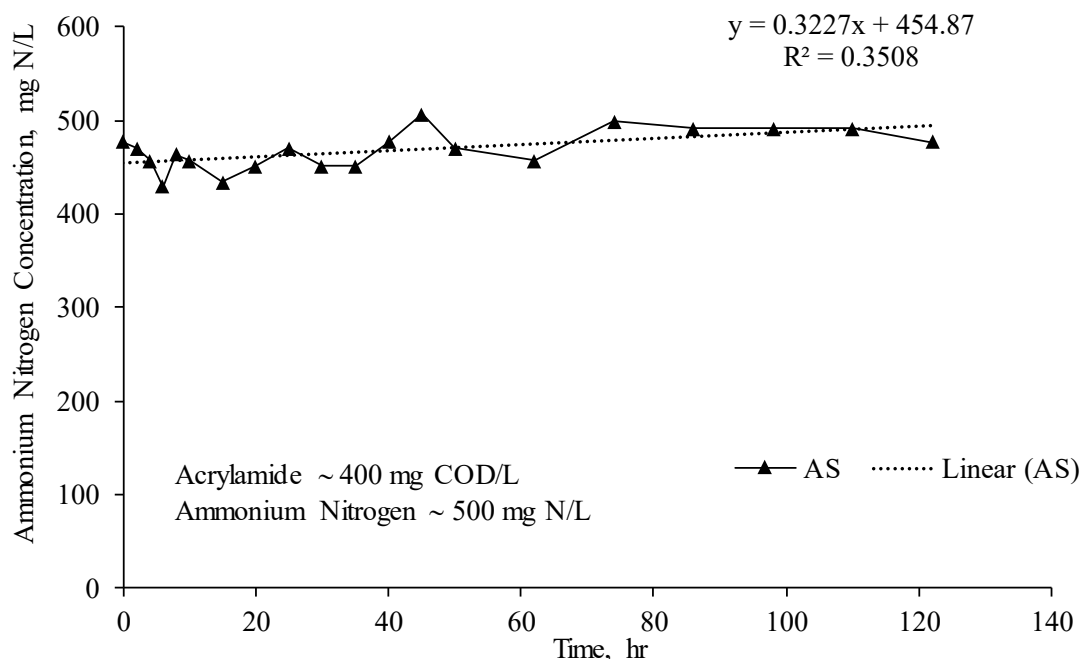
นอกจากนี้ จากผลการทดลองทั้งหมดในภาพที่ 3.9 และ 3.11 และตารางที่ 3.2 พบว่า แบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR ที่คุ้นเคยกับน้ำเสียทั่วไป ถูกยับยั้งด้วยแอมโมเนียมไนโตรเจนที่ความเข้มข้นสูง เพราะทำให้เกิดแอมโมเนียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะมิเนสที่ที่ใช้ในการย่อยสลายอะคริลาไมด์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Jangkorn et al. (2018)



ภาพที่ 3.9 การเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ย่อยสลายสารต่างๆ ในระยะเฉียบพลัน



ภาพที่ 3.10 ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์โดยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ย่อยสลายสารต่างๆ ในระยะเฉียบพลัน โดยมีความเข้มข้นแอมโมเนียมเท่ากับ 50 mg N/L

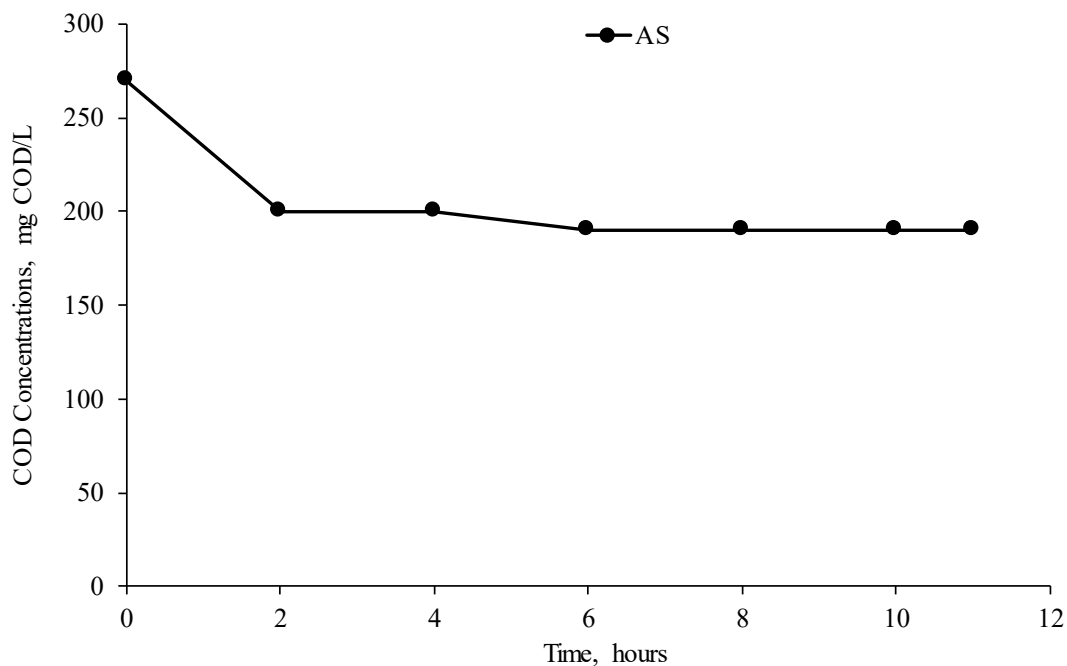


ภาพที่ 3.11 ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์โดยแบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ย่อยสลายสารต่างๆ ในระยะเฉียบพลัน โดยมีความเข้มข้นแอมโมเนียมเท่ากับ 500 mg N/L

3.4 ผลกระทบระยะยาวของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียมไนโตรเจนที่มีต่อประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ

การทดลองในช่วงต่อมา ดำเนินการโดยค่อยๆ เติมอะคริลาไมด์ลงในน้ำเสียที่สังเคราะห์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR เพื่อให้แบคทีเรียผสมมีความคุ้นเคยกับอะคริลาไมด์แล้วประเมินผลกระทบของอะคริลาไมด์ที่มีต่อการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนของระบบ ตลอดจนประเมินศักยภาพของระบบในการกำจัดอะคริลาไมด์หากมีความคุ้นเคยกับอะคริลาไมด์แล้ว โดยความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ที่เติมลงในน้ำเสียเท่ากับ 200, 300 และ 400 mg AM/L ตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้นของอะคริลาไมด์เท่ากับ 400 mg AM/L นั้นอะคริลาไมด์เป็นเพียงแหล่งคาร์บอนและพลังงานเดียวที่แบคทีเรียผสมใช้ในการเจริญเติบโต

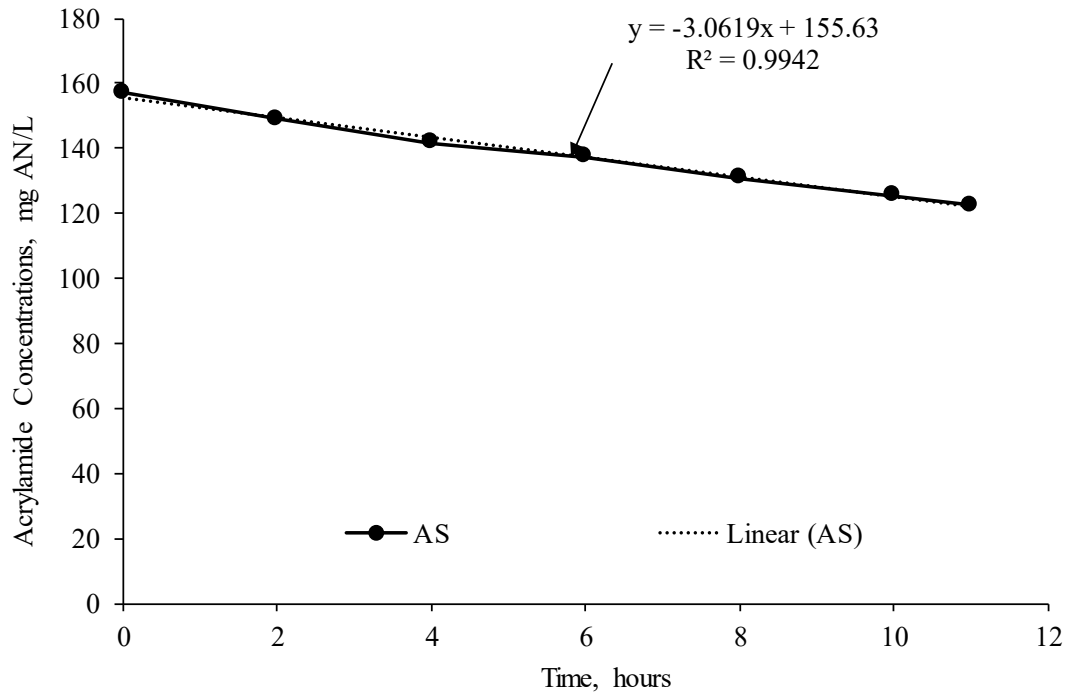
ผลการทดลองเมื่อเติมอะคริลาไมด์ลงในระบบบำบัดน้ำเสียแล้วนาน 7 วัน ผลการทดลองดังภาพที่ 3.12 พบว่า แบคทีเรียผสมไม่สามารถกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพ พบว่า ประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์เท่ากับ 55.8% เท่านั้น ทั้งนี้เป็นไปได้ว่า ความเป็นพิษของอะคริลาไมด์ในน้ำเสียสังเคราะห์ทำให้แบคทีเรียผสมไม่สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพได้ โดยทำให้น้ำเสียมีสารอินทรีย์หลุดไปกับน้ำทิ้งเข้มข้น 190 mg COD/L ถึงแม้ว่า ความเข้มข้นของแบคทีเรียในระบบเพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 1188 ± 151 mg VSS/L และระบบถูกควบคุมให้ทำงานที่อายุสลัดจ์เท่ากับ 9 วัน ก็ตาม



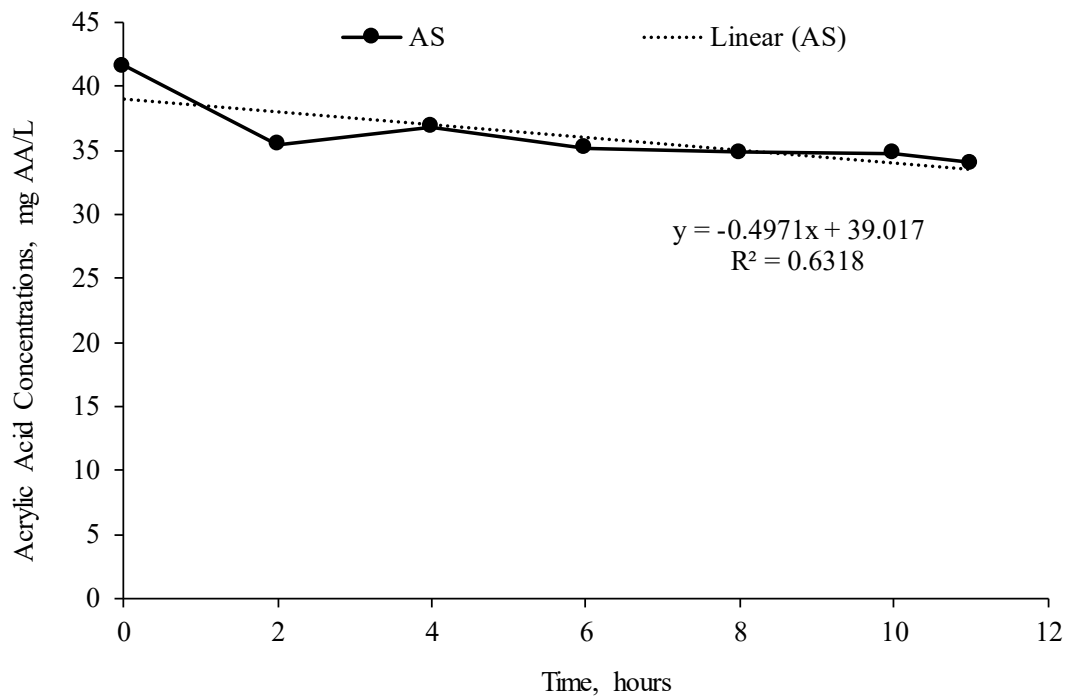
ภาพที่ 3.12 ความเข้มข้นสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L

เมื่อตรวจวัดความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ในระบบ พบว่า ความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ลดลงตามระยะเวลาที่ทำการปฏิบัติเป็นเส้นตรง ดังภาพที่ 3.13 ทำให้สามารถคำนวณอัตราการกำจัดอะคริลาไมด์ได้เท่ากับ 3.06 mg AM/L-h โดยมีประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์เท่ากับ 36.3% เหลืออะคริลาไมด์ในน้ำทิ้งเท่ากับ 122.5 mg AM/L ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์ของแบคทีเรียผสมในระยะเวลาเฉียบพลันเท่ากับ 2.09 mg AM/L-h พบว่า อัตราการย่อยสลายเพิ่มสูงขึ้นอย่างมากหลังจากได้มีเวลาการปรับสภาพนาน 7 วัน นอกจากนี้ อาจเป็นได้ว่า ความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ในน้ำเสียเท่ากับ 200 mg AM/L ซึ่งน้อยกว่าการทดลองครั้งที่ผ่านมาที่ใช้อะคริลาไมด์เท่ากับ 400 mg AM/L ทำให้ความเป็นพิษของอะคริลาไมด์น้อยลงจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L ทำให้เกิดการตะกอนคริสิกขึ้นในระบบ ผลการตรวจวัดความเข้มข้นของกรดอะคริสิกในระบบหลังจากร่อยสลายอะคริลาไมด์นาน 7 วัน ดังภาพที่ 3.14 พบว่า กรดอะคริสิกในระบบบำบัดน้ำเสีย AS นั้นมีความเข้มข้นลดลงเล็กน้อยด้วยอัตรา 0.50 mg AA/L-h ซึ่งเชื่อได้ว่า กรดอะคริสิกถูกนำไปใช้ในการเจริญของแบคทีเรียผสมด้วยเหมือนกัน อย่างไรก็ตาม ยังมีกรดอะคริสิกค้างอยู่ในระบบ ทำให้ผลรวมของน้ำเสียสังเคราะห์ อะคริลาไมด์ และกรดอะคริสิกที่เหลืออยู่ ซึ่งเป็นแหล่งสารอินทรีย์ทั้งหมดในน้ำเสียมีความเข้มข้นสูง ส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ลดลง ดังภาพที่ 3.12

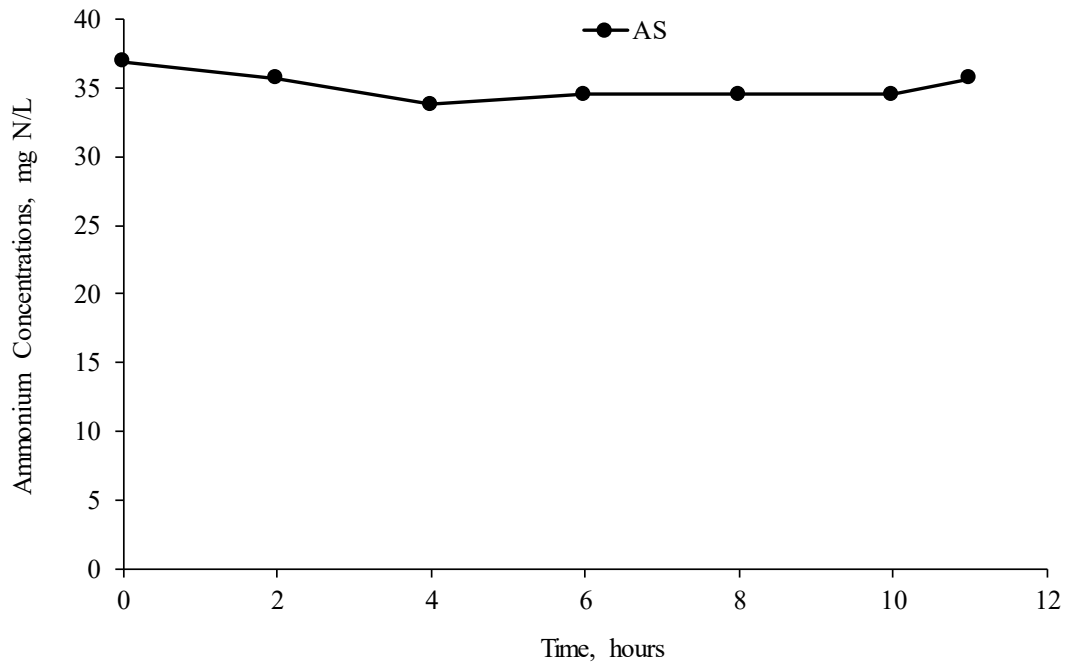
สำหรับผลกระทบของอะคริลาไมด์ที่มีต่อประสิทธิภาพการกำจัดแอมโมเนียไนโตรเจนหรือกระบวนการไนตริฟิเคชันนั้น จากภาพที่ 3.15 พบว่า ความเข้มข้นของแอมโมเนียไนโตรเจนไม่ลดลงเลย มีความเข้มข้นค่อนข้างคงที่และใกล้เคียงกับความเข้มข้นของแอมโมเนียในน้ำเสีย แสดงให้เห็นว่า ไนตริฟิเคชันไม่เกิดขึ้นในระหว่างการทดลองนี้ ซึ่งยืนยันได้จากความเข้มข้นของไนโตรทและไนเตรทในภาพที่ 3.16 และ 3.17 ตามลำดับ พบว่า ไนโตรทและไนเตรทมีการสะสมน้อยมากในระบบ แสดงว่า ไนตริฟิเคชันล้มเหลวโดยสมบูรณ์



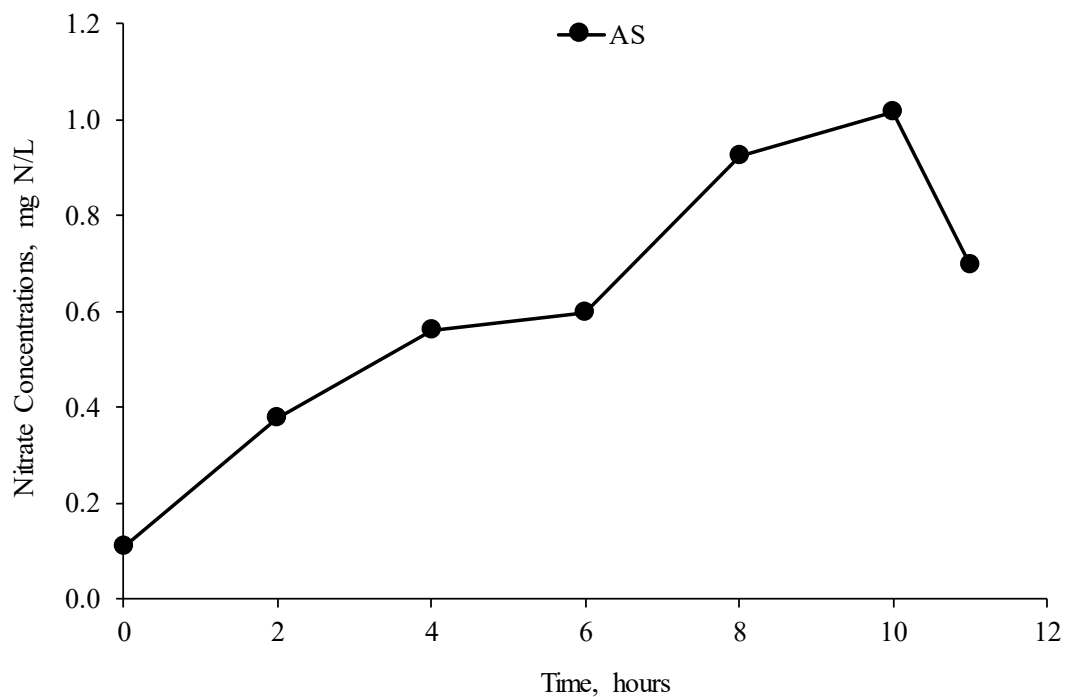
ภาพที่ 3.13 ความเข้มข้นอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L



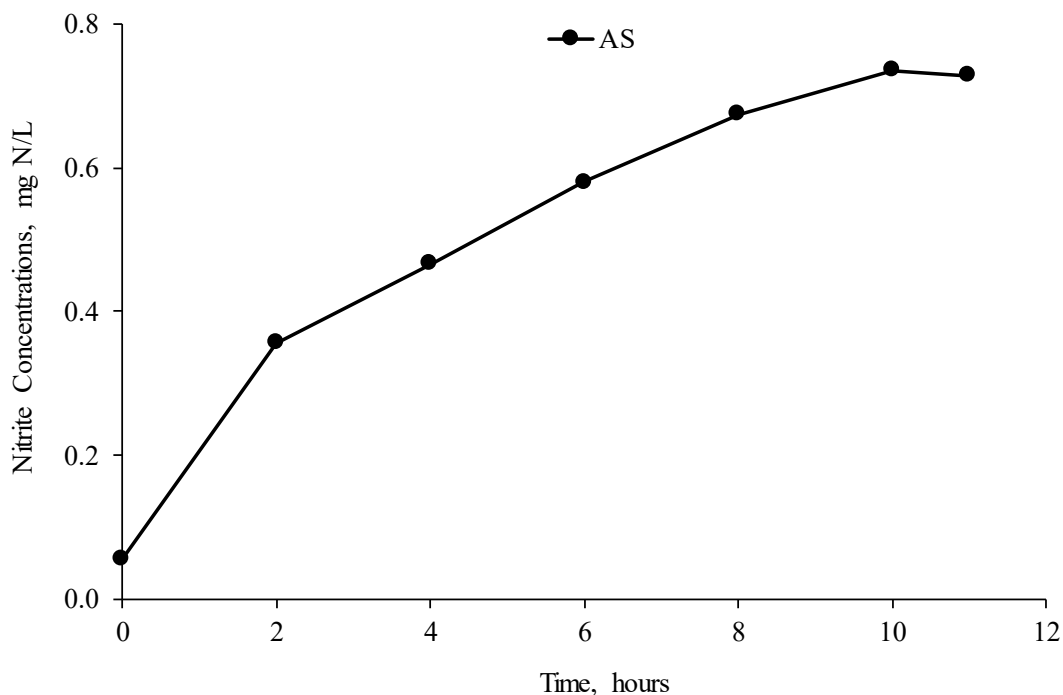
ภาพที่ 3.14 ความเข้มข้นกรดอะคริลิกในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L



ภาพที่ 3.15 ความเข้มข้นแอมโมเนียมไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L



ภาพที่ 3.16 ความเข้มข้นไนเตรทไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L



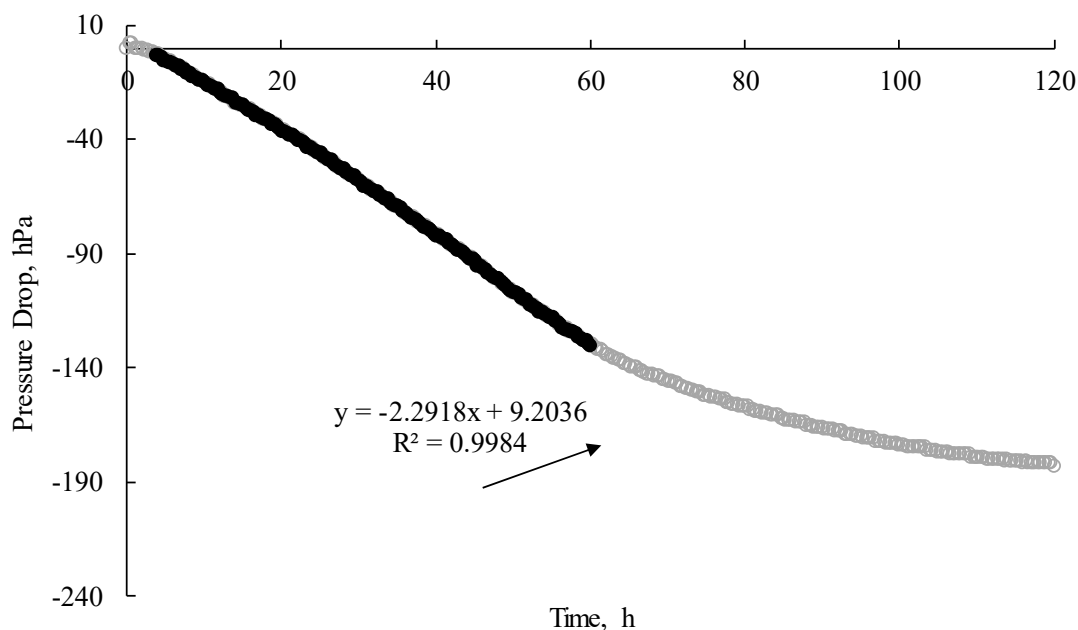
ภาพที่ 3.17 ความเข้มข้นไนไตรท์ไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 200 mg AM/L

จากผลการทดลอง ทำให้มีสมมติฐานได้ว่า การเติมอะคริลาไมด์นั้นอาจมีผลกระทบต่อกระบวนการไนไตรฟิเคชันได้ การทำสมดุลมวลไนโตรเจนโดยใช้วิธีการของ Lee et al. (2008) พบว่า สมดุลมวลไนโตรเจนของระบบบำบัดน้ำเสียเท่ากับ 104.5% โดยมีมวลของแอมโมเนียมที่ถูกไนไตรฟายเท่ากับ 0.0 g N/cycle แสดงว่า ไม่มีแอมโมเนียมถูกเปลี่ยนไปเป็นไนไตรท์และไนเตรทเลย และมีมวลของไนโตรเจนทั้งหมดที่ออกไปกับน้ำทิ้งเท่ากับ 0.19 g N/cycle และที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.06 g N/cycle ทั้งนี้ มวลของไนโตรเจนที่เข้าสู่ระบบและออกจากระบบเท่ากับ 0.23 g N/cycle และ 0.24 g N/cycle ตามลำดับ ซึ่งมวลค่อนข้างสมดุล แต่เมื่อพิจารณาอะคริลาไมด์ที่ถูกกำจัดด้วยแบคทีเรียผสมแล้ว จำเป็นต้องมีมวลของไนโตรเจนเกิดขึ้น แต่ปรากฏว่า ไม่ได้อยู่ในระบบ ดังนั้น มวลของแอมโมเนียมที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพ จึงต้องออกไปจากระบบด้วยวิธีการอื่น

จากผลการทดลอง จึงมีสมมติฐานเพิ่มเติมว่าแอมโมเนียไนโตรเจนอาจถูกกำจัดออกจากระบบบำบัดน้ำเสีย AS โดยวิธีการปลี้อแก๊สแอมโมเนีย (Ammonia Stripping) โดย U.S. EPA (1979) รายงานว่า แอมโมเนียไนโตรเจนมีอยู่ในสัดส่วน 10.01% ของแอมโมเนียไนโตรเจนทั้งหมดซึ่งประกอบด้วยแอมโมเนียและแอมโมเนียมไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 28 °C และความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8.2. การเพิ่มขึ้นของความเป็นกรดต่างจาก 7.20 ในน้ำเสียสังเคราะห์มาเป็น 8.2 เนื่องจากความล้มเหลวของกระบวนการไนไตรฟิเคชันในระบบ ทำให้ไม่มีการผลิตกรดจากกระบวนการดังกล่าว และเกิดจากการปลี้อแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากระบบตามที่ได้กล่าวมาข้างต้นซึ่งสามารถแสดงด้วยค่าคงที่ของเฮนรี่สำหรับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และแอมโมเนียนั้น พบว่า แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สามารถหลุดออกจากน้ำได้เร็วกว่าแก๊สแอมโมเนีย (Campos et al., 2013) ทำให้ความเป็นกรดต่างเพิ่มสูงขึ้นก่อน จึงทำให้มีการเพิ่มสัดส่วนของแอมโมเนียไนโตรเจนในน้ำเสียนอกจากความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิที่ส่งเสริมให้แอมโมเนียถูกปลี้อออกจากน้ำเสียแล้ว การกวนผสมด้วย

หัวทรายจึงทำให้เกิดสถานะความปั่นป่วนของน้ำ จึงช่วยเร่งให้เกิดการปล่อยแก๊สแอมโมเนียได้อย่างรวดเร็วอีกด้วย (Guštin & Logar, 2011; Campos et al., 2013)

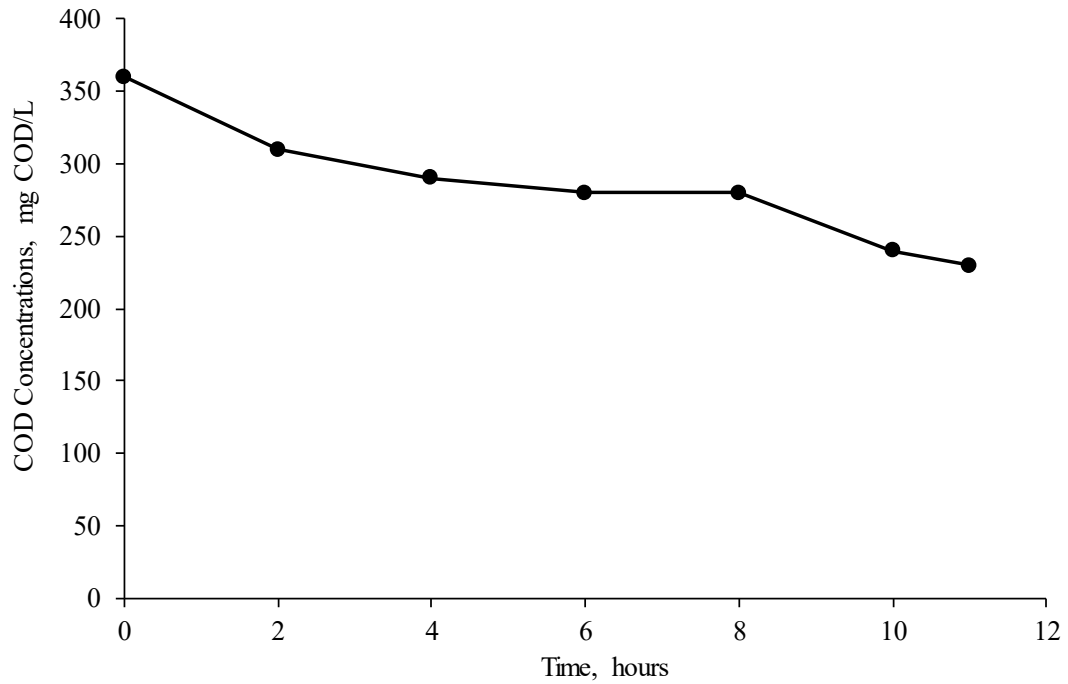
หลังจากบ่อน้ำเสียที่มีอะคริลาไมด์เข้มข้น 200 mg AM/L เข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียนาน 7 วัน แล้วจึงนำแบคทีเรียมาวัดอัตราการหายใจด้วยชุด OxiTop อีกครั้ง ผลการตรวจวัดความดันแก๊สภายในขวด OxiTop แสดงดังภาพที่ 3.18



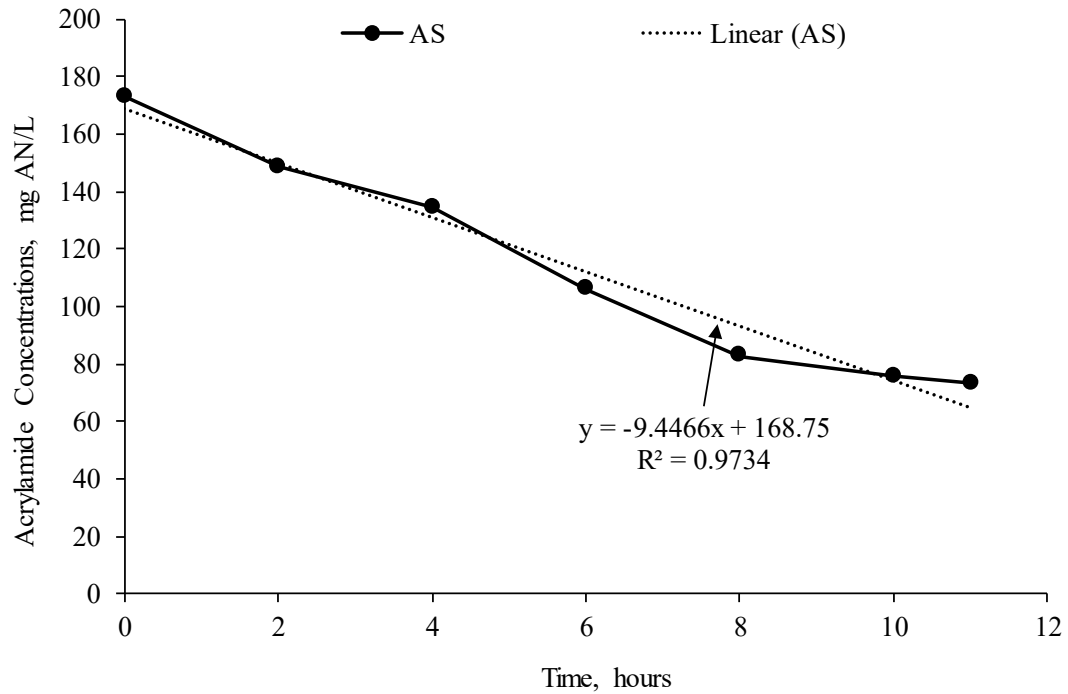
ภาพที่ 3.18 การเปลี่ยนแปลงความดันภายใน OxiTop ที่มีแบคทีเรียผสมที่ย่อยสลายอะคริลาไมด์เข้มข้น 200 mg AM/L

ผลการวิเคราะห์ความดันแก๊ส พบว่า หลังจากการปรับอุณหภูมิระหว่างตัวอย่างและตู้ปมเชื้อแล้ว แบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ทันที ไม่ต้องมีระยะเวลาการปรับสภาพ ดังภาพที่ 3.18 เมื่อนำความชันของเส้นตรงมาคำนวณอัตราการใช้ออกซิเจนและอัตราการใช้ออกซิเจนจำเพาะได้เท่ากับ 2.93 mg O₂/L-h และ 2.55 mg O₂/g VSS-h ตามลำดับ ซึ่งอัตราการหายใจหลังจากแบคทีเรียผสมคุ้นเคยกับอะคริลาไมด์แล้ว สูงขึ้นกว่าแบคทีเรียที่ไม่ได้ปรับสภาพกับอะคริลาไมด์ (1.90 mg O₂/L-h)

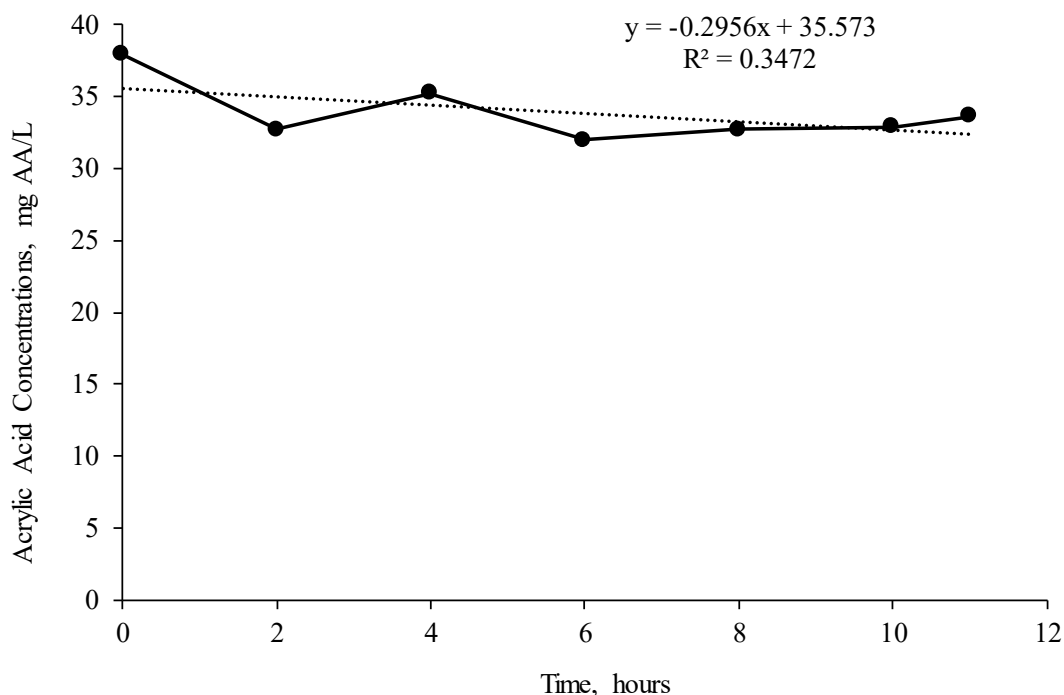
การทดลองระยะต่อมา ได้มีการเพิ่มความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ในน้ำเสียสังเคราะห์เท่ากับ 300 mg AM/L โดยลดปริมาณสารอินทรีย์อื่นลง แต่ยังคงความเข้มข้นสารอินทรีย์ทั้งหมดบ่งชี้ด้วยค่าซีโอดีเท่ากับ 400 mg COD/L ผลการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ลดลงเหลือ 47.7% แสดงดังภาพที่ 3.19 ทำให้น้ำทิ้งมีสารอินทรีย์ตกค้างเท่ากับ 230 mg COD/L อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพกำจัดอะคริลาไมด์ พบว่า ประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์เพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 75.2% เหลืออะคริลาไมด์ในน้ำทิ้งเท่ากับ 73.2 mg AM/L โดยมีอัตราการกำจัดอะคริลาไมด์เท่ากับ 9.45 mg AM/L-h เห็นได้ว่า อะคริลาไมด์หลังจากการปรับสภาพให้คุ้นเคยแล้วสามารถกำจัดอะคริลาไมด์ได้เพิ่มขึ้น แต่สารอินทรีย์ยังคงตกค้างอยู่จำนวนมาก เนื่องจากการสะสมของกรดอะคริลิกที่ได้จากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ดังภาพที่ 3.21 อะคริลาไมด์และสารอินทรีย์อื่นตกค้าง



ภาพที่ 3.19 ความเข้มข้นสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 300 mg AM/L



ภาพที่ 3.20 ความเข้มข้นอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 300 mg AM/L

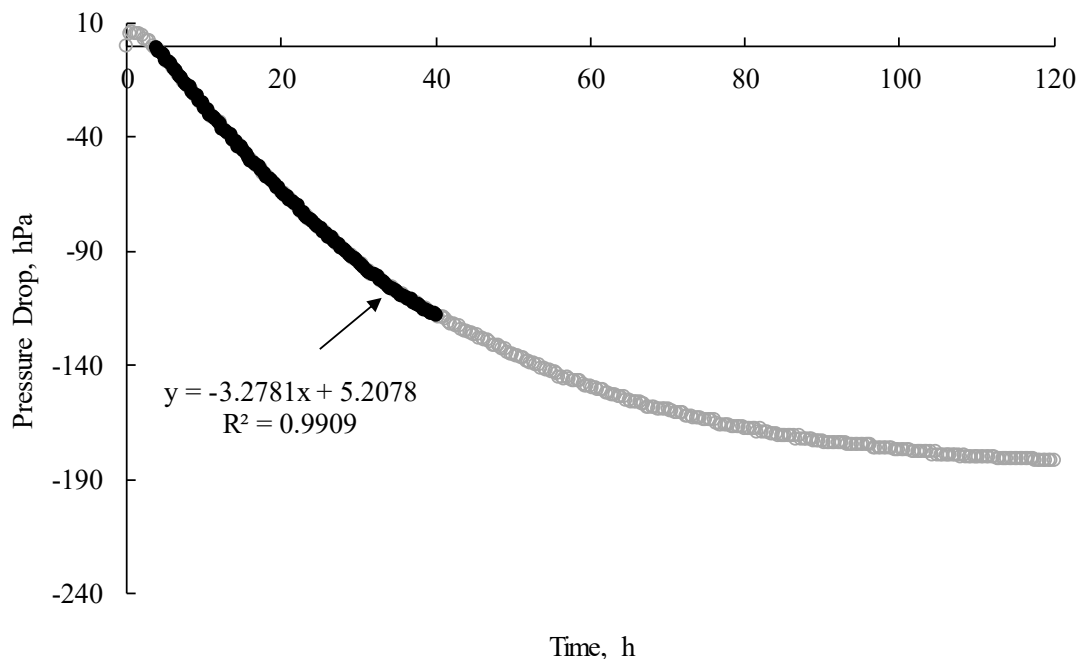


ภาพที่ 3.21 ความเข้มข้นกรดอะคริลิกในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 300 mg AM/L

สำหรับผลกระทบของการเพิ่มอะคริลาไมด์ที่มีต่อการกระบวนการไนตริฟิเคชันนั้น พบว่า ระบบยังล้มเหลวในส่วนของกระบวนการไนตริฟิเคชัน จากการทำสมดุลของมวลไนโตรเจนที่มีความสมดุลเท่ากับ 97.1% พบว่าแอมโมเนียมไนโตรเจนถูกไนตริไฟไปเท่ากับ 0.01 g N/cycle ซึ่งน้อยมาก พบการสะสมของไนโตรทและไนเตรทไนโตรเจนน้อยมากในระบบ ไนโตรเจนออกไปจากระบบกับน้ำทิ้งเท่ากับ 0.16 g N/cycle และใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเท่ากับ 0.04 g N/cycle โดยมีมวลไนโตรเจนเข้าสู่ระบบทั้งหมด 0.21 g N/cycle จึงทำให้สรุปได้ว่า ระบบล้มเหลวในส่วนของไนตริฟิเคชัน แต่สันนิษฐานได้ว่า ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกำการเพิ่มอะคริลาไมด์ในน้ำเสีย แอมโมเนียจำนวนมากที่เกิดจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์นั้น ถูกกำจัดด้วยวิธีการเป่าแก๊สแอมโมเนีย

เมื่อนำแบคทีเรียผสมจากระบบหลังจากย่อยสลายอะคริลาไมด์เข้มข้น 300 mg AM/L นาน 7 วัน มาประเมินอัตราการหายใจด้วยชุดอุปกรณ์ OxiTop ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 3.22 พบว่า แบคทีเรียผสมที่ปรับสภาพกับอะคริลาไมด์แล้วสามารถย่อยสลายอะคริลาไมด์ได้ทันที เมื่อนำความชันของเส้นตรงมาคำนวณอัตราการหายใจ พบว่า อัตราการใช้ออกซิเจนและอัตราการใช้ออกซิเจนจำเพาะเท่ากับ 4.19 mg O₂/L-h และ 4.84 mg O₂/g MLVSS-h ตามลำดับ ซึ่งพบว่า อัตราการใช้ออกซิเจนเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากอัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์เพิ่มสูงขึ้นตามลำดับ

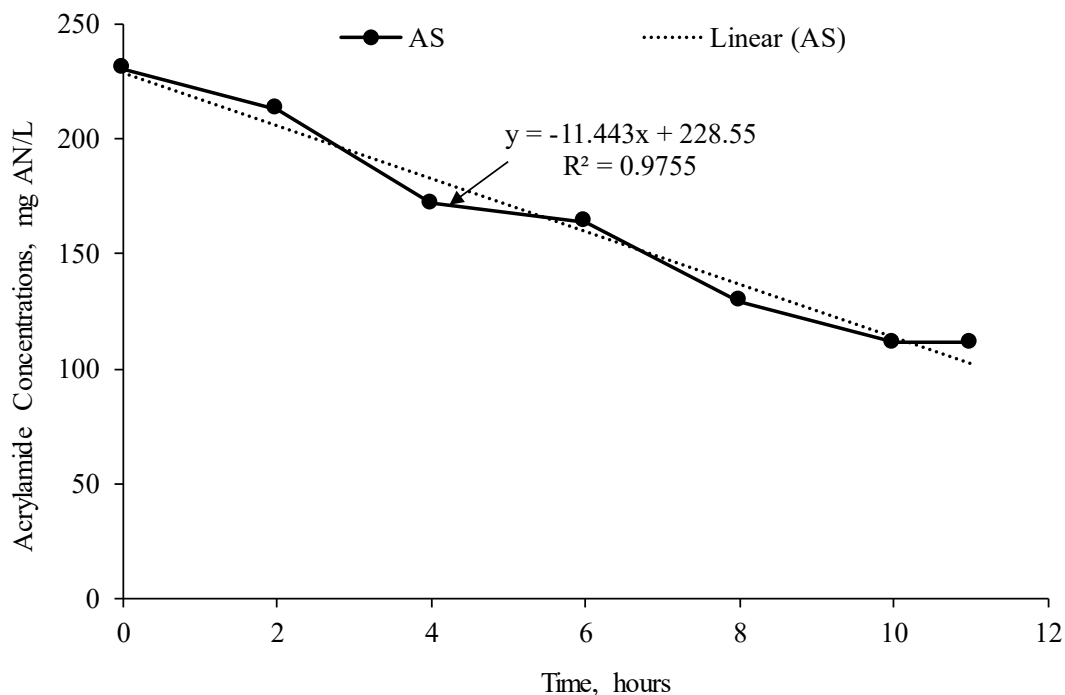
เป็นที่น่าสังเกตว่า ปริมาณแบคทีเรียในระบบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณแบคทีเรียในระยะการทดลองนี้เท่ากับ 865±26 mg VSS/L ทั้งนี้ เป็นไปได้ว่า การเพิ่มอะคริลาไมด์มีความเป็นพิษต่อแบคทีเรียทำให้อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียลดลง



ภาพที่ 3.22 การเปลี่ยนแปลงความดันภายใน OxiTop ที่มีแบคทีเรียผสมที่ย่อยสลายอะคริลาไมด์เข้มข้น 300 mg AM/L

การทดลองระยะต่อมา ได้มีการเพิ่มความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ในน้ำเสียสังเคราะห์เท่ากับ 400 mg AM/L โดยการทดลองนี้มีอะคริลาไมด์เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานเพียงอย่างเดียว โดยมีความเข้มข้นสารอินทรีย์ทั้งหมดขี้ด้วยค่าซีโอดีเท่ากับ 400 mg COD/L ผลการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ลดลงเหลือ 45.8% ทำให้น้ำทิ้งมีสารอินทรีย์ตกค้างเท่ากับ 240 mg COD/L อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพกำจัดอะคริลาไมด์ ดังภาพที่ 3.23 พบว่า ประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์เท่ากับ 71.9% เหลืออะคริลาไมด์ในน้ำทิ้งเท่ากับ 111.3 mg AM/L โดยมีอัตราการกำจัดอะคริลาไมด์เท่ากับ 11.4 mg AM/L-h เห็นได้ว่า อะคริลาไมด์หลังจากการปรับสภาพให้คุ้นเคยแล้วสามารถกำจัดอะคริลาไมด์ได้เพิ่มขึ้น แต่สารอินทรีย์ยังคงตกค้างอยู่เนื่องจากการสะสมของกรดอะคริลิกที่ได้จากการย่อยสลายอะคริลาไมด์เหมือน การทดลองช่วงที่ผ่านมา และยังคงมีอะคริลาไมด์และสารอินทรีย์อื่นตกค้างจำนวนมาก

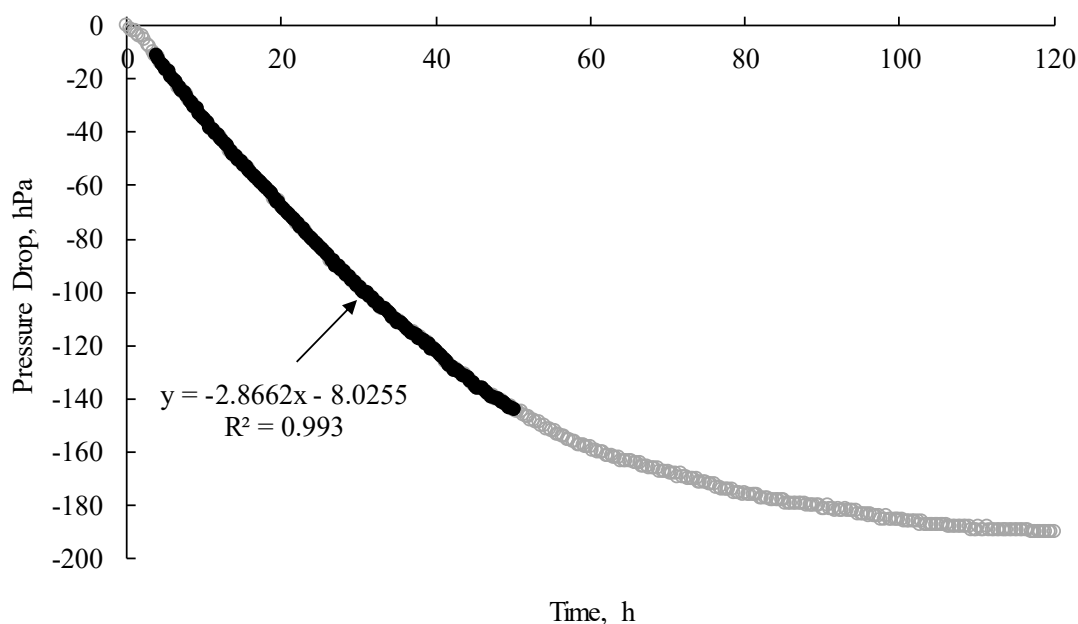
ส่วนผลกระทบของอะคริลาไมด์ที่มีต่อการกำจัดแอมโมเนียไนโตรเจนยังคงทำให้ระบบล้มเหลว สำหรับกระบวนการไนตริฟิเคชัน โดยพบว่า ประสิทธิภาพการกำจัดแอมโมเนียไนโตรเจนเท่ากับ 23.0% ไม่พบการสะสมของไนไตรท์และไนเตรทไนโตรเจน จากการทำสมดุลของมวลไนโตรเจนที่มีความสมดุลเท่ากับ 99.2% พบว่า แอมโมเนียไนโตรเจนถูกไนตริไฟไปเท่ากับ 0.01 g N/cycle ซึ่งน้อยมาก พบการสะสมของไนไตรท์และไนเตรทไนโตรเจนน้อยมากในระบบ ไนโตรเจนออกไปจากระบบกับน้ำทิ้งเท่ากับ 0.17 g N/cycle และใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเท่ากับ 0.04 g N/cycle โดยมีมวลไนโตรเจนเข้าสู่ระบบทั้งหมด 0.21 g N/cycle จึงทำให้สรุปได้ว่า ระบบล้มเหลวในส่วนของไนตริฟิเคชัน แต่สันนิษฐานได้ว่า ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเพิ่มอะคริลาไมด์ในน้ำเสีย แอมโมเนียจำนวนมากที่เกิดจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์นั้นถูกกำจัดด้วยวิธีการเป่าแก๊สแอมโมเนีย



ภาพที่ 3.23 ความเข้มข้นอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสีย SBR ที่มีแบคทีเรียผสมโดยน้ำเสียมีอะคริลาไมด์เข้มข้นเท่ากับ 400 mg AM/L

เมื่อนำแบคทีเรียผสมจากระบบหลังจากย่อยสลายอะคริลาไมด์เข้มข้น 400 mg AM/L นาน 7 วัน มาประเมินอัตราการหายใจด้วยชุดอุปกรณ์ OxiTop ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 3.24 พบว่า แบคทีเรียผสมที่ปรับสภาพกับอะคริลาไมด์แล้วสามารถย่อยสลายอะคริลาไมด์ได้ทันที เมื่อนำความชันของเส้นตรงมาคำนวณอัตราการหายใจ พบว่า อัตราการใช้ออกซิเจนและอัตราการใช้ออกซิเจนจำเพาะเท่ากับ 3.66 mg O₂/L-h และ 4.74 mg O₂/g MLVSS-h ตามลำดับ ซึ่งพบว่า อัตราการใช้ออกซิเจนลดต่ำลง แต่เมื่อพิจารณาอัตราการใช้ออกซิเจนจำเพาะ พบว่า มีค่าใกล้เคียงกับช่วงการทดลองที่ป้อนอะคริลาไมด์เท่ากับ 300 mg AM/L เป็นเพราะว่าแบคทีเรียผสมมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณแบคทีเรียในระยะการทดลองนี้เท่ากับ 773±62 mg VSS/L ทั้งนี้ เป็นไปได้ว่า การเพิ่มอะคริลาไมด์มีความเป็นพิษต่อแบคทีเรียทำให้อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียลดลง

กล่าวโดยสรุปจากผลการทดลอง พบว่า หลังจากแบคทีเรียคุ้นเคยกับน้ำเสียที่มีอะคริลาไมด์เป็นองค์ประกอบแล้ว แบคทีเรียสามารถย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพได้ทันที อัตราการย่อยสลายและอัตราการใช้ออกซิเจนเพิ่มสูงขึ้นตามความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ โดยอะคริลาไมด์มีผลกระทบต่อการกำจัดสารอินทรีย์ในระบบ เนื่องจากการตกค้างของอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกในระบบ ส่วนผลกระทบของอะคริลาไมด์ที่มีต่อกระบวนการไนตริฟิเคชันนั้นไม่สามารถประเมินได้เนื่องจากระบบล้มเหลวในการเกิดไนตริฟิเคชัน อย่างไรก็ตาม พบว่า แอมโมเนียไม่ได้สะสมในระบบจำนวนมากถึงแม้ว่าประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์สูงขึ้น เป็นเพราะว่า แอมโมเนียที่เกิดจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพนั้นถูกปล่อยออกจากน้ำเสียด้วยวิธีการเปลื้องแก๊สแอมโมเนีย (Ammonia Stripping) ทำให้ความเป็นพิษของแอมโมเนียในการยับยั้งเอนไซม์อะมิเดสที่ใช้ในการย่อยสลายอะคริลาไมด์ลดลง



ภาพที่ 3.24 การเปลี่ยนแปลงความดันภายใน OxiTop ที่มีแบคทีเรียผสมที่ย่อยสลายอะคริลาไมด์เข้มข้น 400 mg AM/L

3.5 การประมาณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์และการพัฒนาแบบจำลองสำหรับการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพของแบคทีเรียผสม

การประเมินค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ของแบคทีเรียผสมในการกำจัดอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบ SBR ดำเนินการโดยใช้ชุดข้อมูลของ Jangkorn et al. (2018) ที่มีการใช้ระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR เช่นเดียวกันและแบคทีเรียผสมในการกำจัดสารอินทรีย์และไนตริฟิเคชัน รวมถึงการกำจัดอะคริลาไมด์ ซึ่งพบว่า แบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียสามารถไนตริฟายแอมโมเนียได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีประสิทธิภาพการกำจัดเท่ากับ $98.4 \pm 0.6\%$ และสามารถกำจัดสารอินทรีย์ด้วยประสิทธิภาพเท่ากับ $89.1 \pm 0.9\%$ เนื่องจากระบบถูกควบคุมที่อายุสลัดจ์เท่ากับ 10 วัน และอุณหภูมิปานกลางเท่ากับ $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ อย่างไรก็ตาม พบว่า ระบบน้ำเสียสามารถกำจัดอะคริลาไมด์อย่างสมบูรณ์ เมื่อความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ไม่เกิน 200 mg AM/L เนื่องจากการสะสมของแอมโมเนียในไนโตรเจนเมื่อความเข้มข้นของอะคริลาไมด์เพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 300 และ 400 mg AM/L ทำให้มีปริมาณแอมโมเนียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ การประเมินค่าสัมประสิทธิ์สำคัญจำนวน 2 พารามิเตอร์ของแบบจำลอง Monod คือ k_2 และ K_5 ซึ่งเป็นอัตราการใช้อะคริลาไมด์จำเพาะและค่าคงที่ของการอิ่มตัวสำหรับกระบวนการไนตริฟิเคชันและการกำจัดสารอินทรีย์ การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ทั้งสองดำเนินการโดยใช้ฟังก์ชัน Parameter Estimation และ Sensitivity Analysis ของโปรแกรมคอมพิวเตอร์ AQUASIM นอกจากนี้ โปรแกรมคอมพิวเตอร์ยังคำนวณความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของพารามิเตอร์และค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรผัน (Coefficient of Variation, CV) อีกด้วย ผลการคำนวณแสดงดังตารางที่ 3.3 ส่วนผลจากการวิเคราะห์ความอ่อนไหวของพารามิเตอร์ทั้งสองสำหรับการกำจัดสารอินทรีย์และไนตริฟิเคชันแสดงดังภาพที่ 3.25 และ 3.26 ตามลำดับ

จากภาพที่ 3.25(a) และ 3.26(a) พบว่า ความเข้มข้นของสารอินทรีย์และแอมโมเนียในไนโตรเจนที่ทำนายด้วยแบบจำลองที่ใช้พารามิเตอร์ K_5 เพิ่มขึ้นตามค่าของพารามิเตอร์ K_5 ที่เพิ่มขึ้น แต่ความเข้มข้นลดลง

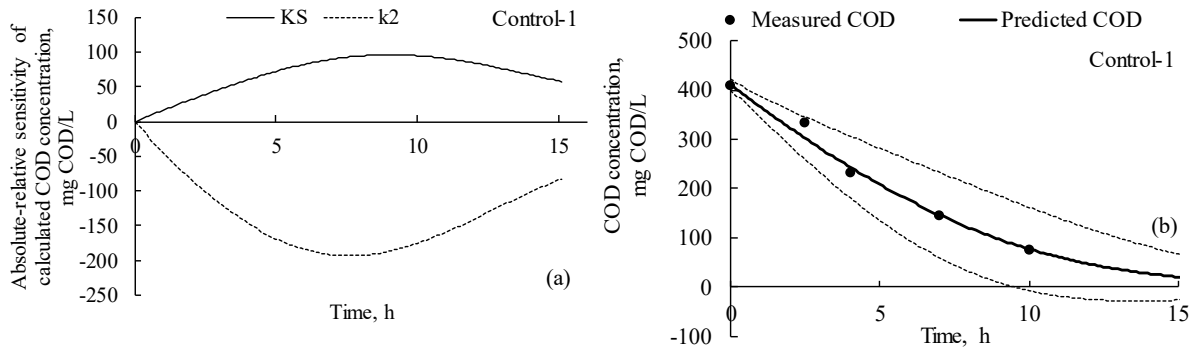
เมื่อค่าพารามิเตอร์ k_2 เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งหมายความว่า ความเข้มข้นของสารอินทรีย์และแอมโมเนียไนโตรเจนที่ทำนายจากแบบจำลอง Monod นั้นที่เกิดจากพารามิเตอร์ K_S นั้นถูกชดเชยด้วยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ k_2 แสดงให้เห็นได้จากความเข้มข้นของสารอินทรีย์และแอมโมเนียไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้นจากศูนย์จนถึงค่าสูงสุดและกลับลดลงเป็นศูนย์อีกครั้งหนึ่งของพารามิเตอร์ K_S ซึ่งมีลักษณะที่คล้ายกับการเปลี่ยนแปลงของสารอินทรีย์และแอมโมเนียไนโตรเจนที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ k_2 เพียงแต่มีทิศทางตรงกันข้ามและขนาดแตกต่างกัน ทำให้สามารถสรุปได้ว่า การระบุพารามิเตอร์ทั้งสองนั้นไม่สามารถทำได้ (Non-identifiable Parameters) นอกจากนี้ ยังพบว่า ความอ่อนไหวของความเข้มข้นแอมโมเนียไนโตรเจนที่คำนวณได้จาก K_S มีค่าน้อยกว่าความอ่อนไหวที่คำนวณได้จาก k_2 ซึ่งทำให้เกิดความไม่แน่นอนในการประมาณค่า K_S มากกว่า k_2 โดยตารางที่ 3.3 สนับสนุนบทสรุปนี้ด้วยค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรผันของ K_S มากกว่า k_2 ซึ่งความไม่แน่นอนในการประมาณค่าของพารามิเตอร์ของแบบจำลอง Monod นี้ นำไปสู่ความไม่แน่นอนของการทำนายค่าของแบบจำลอง Monod ได้ ดังแสดงในรูป 3.25(b) และ 3.26(b)

ตารางที่ 3.3 ค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์สำหรับแบบจำลอง Monod สำหรับการกำจัดสารอินทรีย์และไนโตรฟิเคชัน

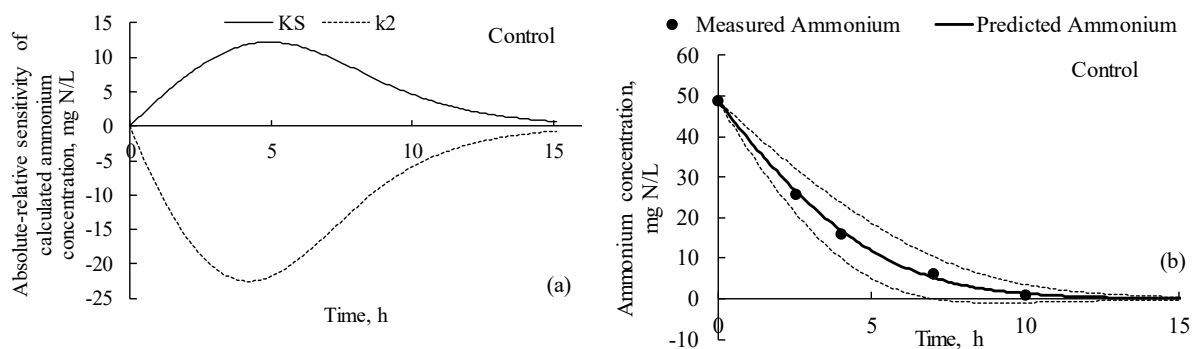
Reactions	Parameter	Value	σ_x	CV	R^2	χ^2
Nitrification	k_2	16.8	4.0	23.8	0.993	27.0
	K_S	33.2	12.3	37.1		
COD	k_2	71.6	23.8	33.2	0.997	14.4
	K_S	230.3	148.5	64.5		

* indicates unidentified kinetic parameters; COD is Chemical Oxygen Demand; k_2 is the maximum rate constant with a unit of mg/L-h; K_S is the half saturation coefficient with a unit of mg/L; CV is the coefficient of variance, %; σ_x is the standard errors of parameters

นอกจากนี้ ค่าของ R^2 ในตารางที่ 3.3 ยังระบุว่า พารามิเตอร์ทั้งสองที่ประมาณได้นั้นมีความสัมพันธ์กันแบบเป็นเส้นตรง จึงทำให้การระบุพารามิเตอร์ทั้งสองนั้นไม่สามารถทำได้ ซึ่ง Huang et al. (2014) รายงานว่า หากต้องการให้สามารถระบุพารามิเตอร์ได้ต้องใช้อัตราส่วน S_0/K_S มากกว่าหรือเท่ากับ 4.0 เพื่อลดความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงระหว่างพารามิเตอร์ทั้งสองนี้ โดยที่ S_0 เป็นความเข้มข้นสารเริ่มต้น การทดลองครั้งนี้พบว่า อัตราส่วน S_0/K_S สำหรับไนโตรฟิเคชันเท่ากับ 1.47 เท่านั้น ซึ่งต่ำกว่า 4.0 สำหรับอัตราส่วน S_0/K_S สำหรับการกำจัดสารอินทรีย์นั้นเท่ากับ 1.78 จึงทำให้พารามิเตอร์ทั้งสองมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงได้ นอกจากนี้ อัตราส่วนระหว่าง S_0 และ X_0 (S_0/X_0) ต้องมีค่าสูงกว่า 0.025 โดยที่ X_0 เป็นความเข้มข้นแบคทีเรียเริ่มต้น สำหรับอัตราส่วน ในการทดลองนี้เท่ากับ 0.11 [$400/(1.42 \times 2648) = 0.11$] โดยที่มีอัตราส่วน COD/VSS เท่ากับ 1.42 ความเข้มข้น COD ในน้ำเสียเท่ากับ 400 mg COD/L และความเข้มข้นของแบคทีเรียเท่ากับ 2648 mg VSS/L

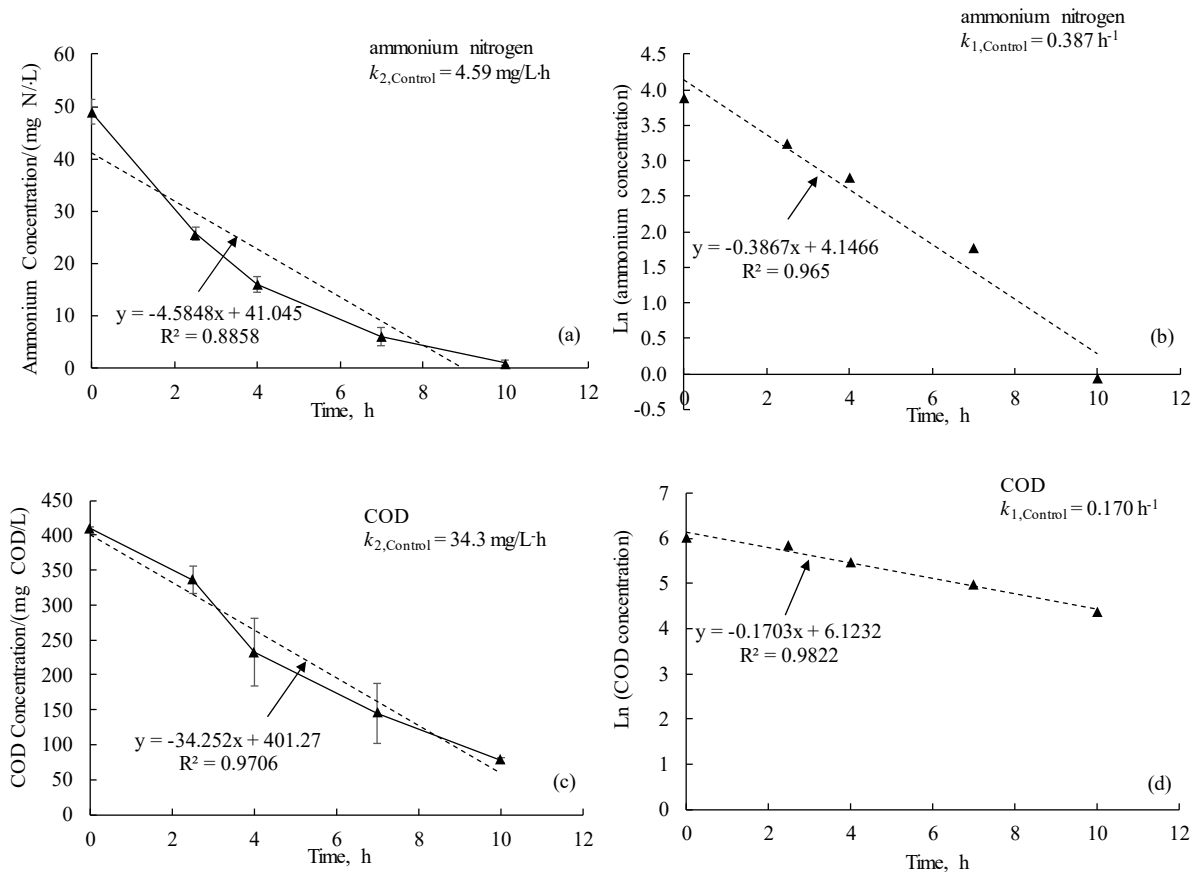


ภาพที่ 3.25 ผลการวิเคราะห์ความอ่อนไหวของพารามิเตอร์แบบ Absolute-relative Sensitivity ของสารอินทรีย์บ่งชี้ด้วยซีโอดีในระบบ Control



ภาพที่ 3.26 ผลการวิเคราะห์ความอ่อนไหวของพารามิเตอร์แบบ Absolute-relative Sensitivity ของแอมโมเนียมไนโตรเจนในระบบ Control

ตารางที่ 3.3 พบว่า อัตราไนตริฟิเคชันสูงสุดของแบคทีเรียผสม คือ 16.8 mg N/L-h ส่วนพารามิเตอร์ K_S ซึ่งเท่ากับ 33.2 mg N/L นั้น พบว่า สูงกว่าค่าทั่วไปของ K_S สำหรับกระบวนการออกโททรอฟิกไนตริฟิเคชันซึ่งมักน้อยกว่า 1.0 mg N/L อย่างไรก็ตาม มีรายงานวิจัยระบุว่าค่าของ K_S นั้นสามารถแปรผันได้ระหว่าง 1-100 mg N/L ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย (Kayee et al., 2016) ดังนั้น หากเมื่อพิจารณาประเด็นด้านความไม่แน่นอนในการประมาณค่าพารามิเตอร์ทั้งสองแล้ว การรวมเอาค่า q_{max}/K_S ให้เป็นแบบจำลองแบบอันดับหนึ่งจึงเหมาะสมสำหรับค่า K_S สูง และพารามิเตอร์แบบที่ไม่สามารถระบุได้ (Huang et al., 2014; Kovárová-Kovar & Egli, 1998) ดังนั้น สมการที่ 2.14 และ 2.15 จึงนำมาใช้ในการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อประมาณค่าพารามิเตอร์ ผลการประเมินด้วยการเขียนกราฟแสดงดังภาพที่ 3.27 ซึ่งพบว่า ชุดข้อมูลไม่อยู่บนสมการเส้นตรงของการประมาณแบบอันดับศูนย์ ($R^2 = 0.886$) ดังภาพที่ 3.27(a) แต่สามารถเรียงตัวบนเส้นตรงได้ดีเมื่อเขียนกราฟแบบอันดับหนึ่ง ($R^2 = 0.965$) ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่าไนตริฟิเคชันของแบคทีเรียผสมนั้นต้องใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่งที่มีอัตราการย่อยสลายเท่ากับ 0.39 h^{-1}



ภาพที่ 3.27 การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นของแบบจำลองทางจลนศาสตร์แบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์และปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของสารอินทรีย์และแอมโมเนียไนโตรเจนในระบบ Control

สำหรับการย่อยสลายสารอินทรีย์ของแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR นั้น พบว่า มีความไม่แน่นอนในการประมาณค่าพารามิเตอร์ด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบ Monod โดยค่า K_s เท่ากับ 230.3 mg COD/L ดังตารางที่ 3.3 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานทั่วไปที่ระบุว่า ค่า K_s ในรูปของ COD มักมีค่าสูง (van Niel et al., 1993) เนื่องจากความไม่แน่นอนจากการประมาณพารามิเตอร์ด้วยแบบจำลอง Monod แบบจำลองที่เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่งถูกนำมาใช้ในการประมาณพารามิเตอร์ได้ดีแสดงด้วยค่า R^2 (0.982) ของภาพที่ 3.27(d) พบว่า แบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยอัตราการย่อยสลายแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเท่ากับ 0.17 h^{-1}

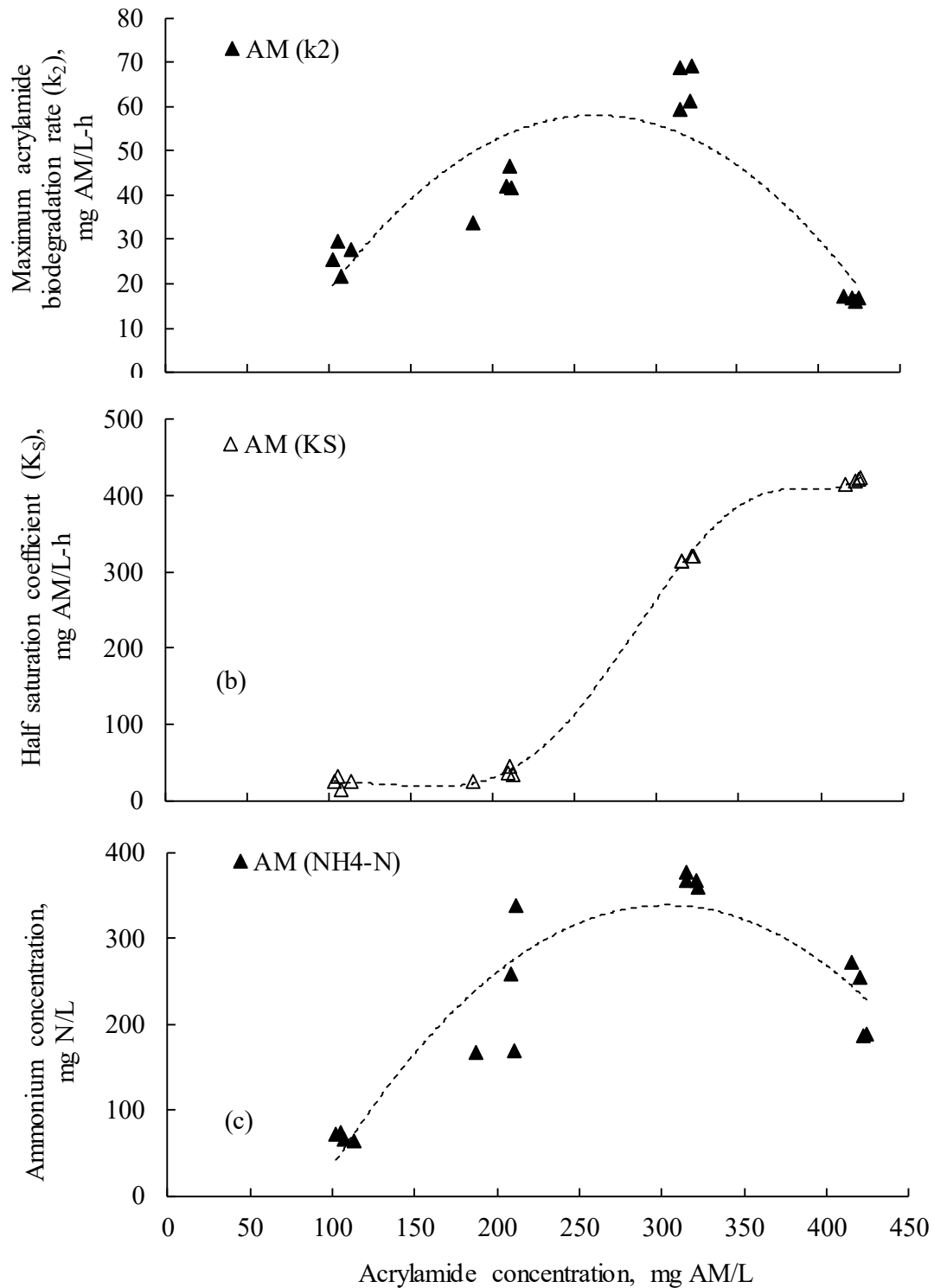
การทดลองช่วงต่อมาดำเนินการโดยการป้อนอะคริลาไมด์ลงในน้ำเสียที่มีความเข้มข้น 100, 200, 300 และ 400 mg AM/L และป้อนเข้าสู่ระบบน้ำเสียแบบ SBR ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายอะคริลาไมด์ได้อย่างสมบูรณ์เมื่อความเข้มข้นอะคริลาไมด์เท่ากับ 100 และ 200 mg AM/L เท่านั้น เมื่อความเข้มข้นอะคริลาไมด์เพิ่มสูงขึ้น พบว่า ประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์ลดลงอย่างมาก เนื่องจากการสะสมของแอมโมเนียไนโตรเจน ซึ่งแอมโมเนียไนโตรเจนเป็นผลผลิตที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพด้วยเอนไซม์อะมิเดสเอง นอกจากนี้ แอมโมเนียไนโตรเจนยังยับยั้งการเกิดไนตริฟิเคชันของแบคทีเรียผสมอีกด้วย การประมาณพารามิเตอร์และการวิเคราะห์ความอ่อนไหว ตลอดจนการพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพได้ดำเนินการโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ AQUASIM และ Microsoft Excel ผลการประมาณพารามิเตอร์แสดงดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 พารามิเตอร์ของแบบจำลอง Monod สำหรับการย่อยสลายอะคริลาไมด์และสารอินทรีย์ทั้งหมดบ่งชี้ด้วยซีโอดีในระบบบำบัดน้ำเสียแบบ SBR

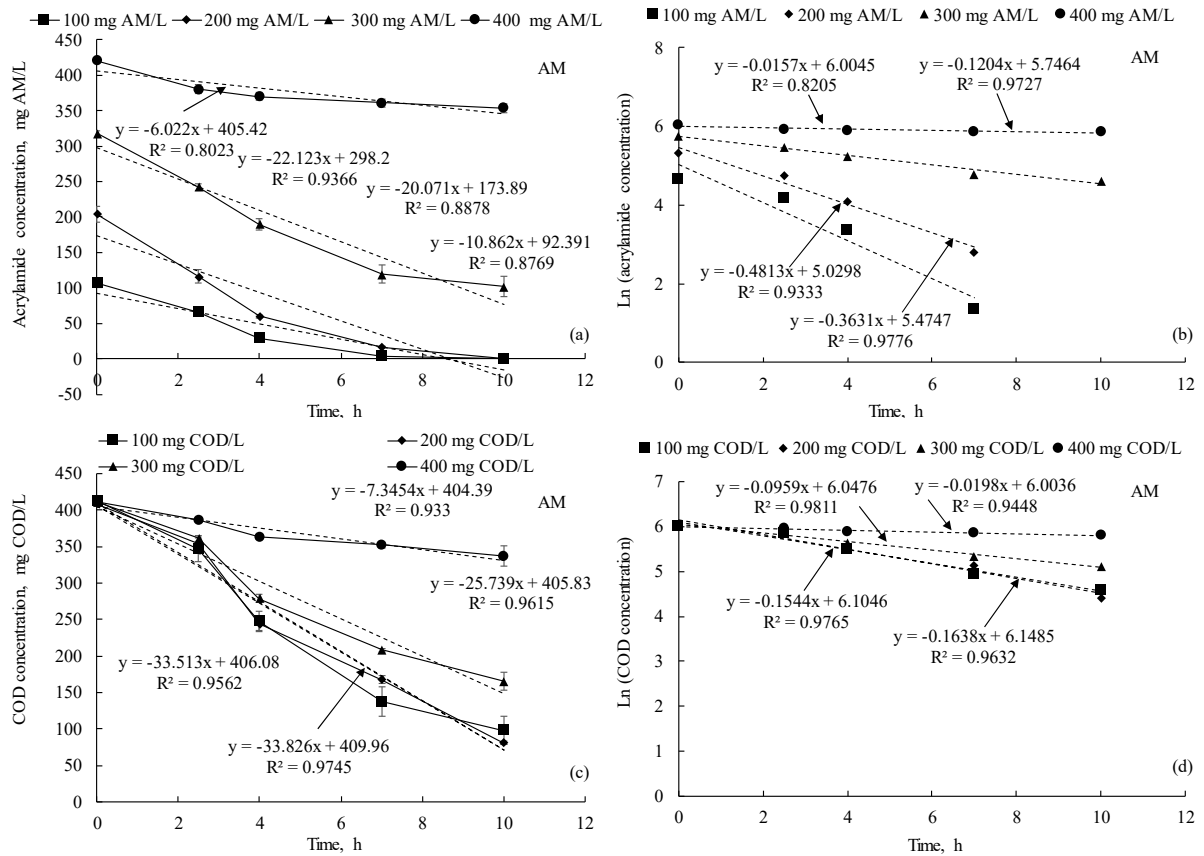
AM (mg AM/L)	Acrylamide						COD					
	Parameters	Value	σ_x	CV %	Correlation R^2	χ^2	Parameters	Value	σ_x	CV %	Correlation R^2	χ^2
100	k_2	25.9	3.0	11.6	0.989	28.5	*	-	-	-	-	-
	K_S	23.4	6.6	28.2								
200	k_2	40.8	7.2	17.7	0.975	150.2	k_2	43.9	10.9	24.8	0.996	19.1
	K_S	34.9	17.6	50.4			K_S	68.4	69.7	101.9		
300	*	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-
400	*	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-

จากตารางที่ 3.4 พบว่า ค่า K_S เพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อความเข้มข้นของอะคริลาไมด์เท่ากับ 300 และ 400 mg AM/L ตามลำดับ ทำให้สามารถสรุปได้ว่า แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ Monod ไม่สามารถนำมาใช้ในการทำนายการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพได้ โดยชุดข้อมูลสอดคล้องกับแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ส่วนการย่อยสลายอินทรีย์บ่งชี้ด้วยซีโอตินั้น พบว่า แบบจำลองที่เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่งนั้นเหมาะสมสำหรับการทำนายการย่อยสลายอะคริลาไมด์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 mg AM/L เท่านั้น แต่เมื่ออะคริลาไมด์มีสัดส่วนเพิ่มขึ้นในน้ำเสียเท่ากับ 200 mg AM/L หรือประมาณกึ่งหนึ่งของสารอินทรีย์ทั้งหมด พบว่า ค่า K_S ลดลงเมื่อเทียบกับระบบควบคุม (Control) ($k_2 = 43.9$ mg COD/L-h, $K_S = 68.4$ mg COD/L) แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียผสมมีความชอบน้ำเสีย (Affinity) ที่มีองค์ประกอบเป็นอะคริลาไมด์ อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นอะคริลาไมด์เพิ่มสูงขึ้นเป็น 300 และ 400 mg AM/L แล้วพบว่าความชอบน้ำเสียลดลงอย่างมาก ทำให้ค่า K_S เพิ่มสูงขึ้นจนไม่สามารถประเมินค่า K_S ได้ ซึ่งคาดว่าเป็นผลมาจากฤทธิ์การยับยั้งของแอมโมเนียที่มีต่อเอนไซม์อะมิเดส ภาพที่ 3.28 แสดงการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ทางจลนศาสตร์ k_2 และ K_S ที่ความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ต่างๆ กัน เนื่องจากระบบมีการสะสมแอมโมเนียไนโตรเจนจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์เป็นระยะเวลานาน จากภาพที่ 3.28 พบว่า ที่ความเข้มข้นอะคริลาไมด์สูงๆ เช่น 300 mg AM/L พารามิเตอร์ k_2 และ K_S มีค่าเพิ่มสูงขึ้น ทำให้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เปลี่ยนรูปแบบจากแบบจำลอง Monod ไม่สามารถนำมาใช้ในการประมาณพารามิเตอร์สำหรับการย่อยสลายอะคริลาไมด์และสารอินทรีย์ในระบบที่มีการบ่อนอะคริลาไมด์สูงๆ ได้ การทำนายการย่อยสลายอะคริลาไมด์และสารอินทรีย์บ่งชี้ด้วยซีโอติโดยใช้แบบจำลองแบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์และอันดับหนึ่งที่มีความเข้มข้นอะคริลาไมด์ต่างๆ กัน แสดงดังภาพที่ 3.29

จากภาพที่ 3.29(a) และ 3.29(c) พบว่า แบบจำลองแบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์ไม่สามารถนำมาใช้ในการทำนายการย่อยสลายอะคริลาไมด์และสารอินทรีย์บ่งชี้ด้วยซีโอติได้ สำหรับการทำนายด้วยแบบจำลองแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่งนั้น พบว่า สามารถทำนายการย่อยสลายอะคริลาไมด์ได้เฉพาะเมื่ออะคริลาไมด์เท่ากับ 300 และ 400 mg AM/L เท่านั้น ข้อมูลไม่เรียงตัวเป็นเส้นตรงสำหรับการย่อยสลายอะคริลาไมด์ที่มีความเข้มข้นอะคริลาไมด์เท่ากับ 100 และ 200 mg AM/L หากความเข้มข้นของอะคริลาไมด์เท่ากับ 100 และ 200 mg AM/L นั้นแบบจำลองแบบ Monod นั้นสามารถนำมาใช้ในการทำนายได้ดีกว่าดังที่แสดงในตารางที่ 3.4 สำหรับผลการประมาณพารามิเตอร์ด้วยแบบจำลองแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง แสดงดังตารางที่ 3.5 พบว่า ค่าคงที่ของอัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์แบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่งนั้นลดลงเมื่อความเข้มข้นอะคริลาไมด์เพิ่มสูงขึ้นในน้ำเสีย โดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นอะคริลาไมด์มากกว่า 200 mg AM/L เนื่องจากการสะสมของแอมโมเนียไนโตรเจนในระบบ สำหรับแบบจำลองเพื่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ทั้งหมดนั้นมีลักษณะเหมือนกันกับการย่อยสลายอะคริลาไมด์ แต่ค่าคงที่ของอัตราการย่อยสลายแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่งนั้นน้อยกว่าค่าคงที่ของการย่อยสลายอะคริลาไมด์เนื่องจากค่าซีโอติเป็นพารามิเตอร์ที่ไม่เฉพาะเจาะจง (Non-specific Parameter) ซึ่งเป็นตัวแทนของซบสเตรตผสมในน้ำเสีย



ภาพที่ 3.28 การเปลี่ยนแปลงค่า k_2 และ K_s ของแบบจำลอง Monod และความเข้มข้นแอมโมเนียมไนโตรเจน ในระบบ AM ที่มีการป้อนอะคริลาไมด์เท่ากับ 100, 200, 300 และ 400 mg AM/L



ภาพที่ 3.29 การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นของแบบจำลองทางจลนศาสตร์แบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์และปฏิกิริยาอันดับหนึ่งของสารอินทรีย์และแอมโมเนียไนโตรเจนในระบบ AM ที่มีการบ่อนอะคริลาไมด์เท่ากับ 100, 200, 300 และ 400 mg AM/L

ตารางที่ 3.5 อัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์และสารอินทรีย์ทั้งหมดบ่งชี้ด้วยซีโอดีของแบบจำลองแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

Substances	AM Concentration (mg AM/L)	Mixed culture bacteria	
		k_1 (h^{-1})	R^2
Acrylamide	100	0.48	0.933
	200	0.36	0.978
	300	0.12	0.973
	400	0.02	0.820
COD	100	0.15	0.976
	200	0.16	0.963
	300	0.10	0.981
	400	0.02	0.945

ทั้งนี้ เมื่อนำผลการทดลองและแบบจำลองมาบรรจุลงในเมทริกซ์ของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ASM1 ได้ดังตารางที่ 3.6 โดยสามารถนำค่าพารามิเตอร์ทางจลนศาสตร์ในตารางที่ 3.4 มาใช้ในตารางที่ 3.6 ตามความสัมพันธ์ในหัวข้อที่ 2.4 โดยต้องมีการแปลงหน่วยของ mg AM/L ให้เป็น mg COD/L และหน่วยเวลาจากชั่วโมงเป็นวันสำหรับความต่อเนื่องของหน่วยในเมทริกซ์ของแบบจำลองแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ โดยมีอัตราส่วนระหว่าง AM:COD เท่ากับ 1:1 หากความเข้มข้นของอะคริลาไมด์สูงและมีการสะสมของแอมโมเนียในระบบจนยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะมิเตส ข้อมูลของค่าพารามิเตอร์ทางจลนศาสตร์ซึ่งเป็นแบบจำลองแบบปฏิกริยาอันดับหนึ่งในตารางที่ 3.5 มาใช้แทน

ตารางที่ 3.6 กระบวนการย่อยสลายอะคริลาไมด์ในเมทริกซ์ของแบบจำลองระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์รุ่นที่ 1

ความต่อเนื่อง (Continuity)		→			
สมดุลมวล (Mass Balance)	ส่วนประกอบ (Component) i →	1	2	3	อัตราการแปลงผันของ กระบวนการ ρ_j [$\text{M L}^{-3} \text{T}^{-1}$]
	j กระบวนการ (Process) ↓	S_{AM}	S_{AA}	S_{NH}	
	1. การย่อยสลายอะคริลาไมด์	$-\frac{1}{Y}$	$\frac{1}{Y}$	$\frac{1}{Y}$	$\frac{\mu_{max} S_{AM}}{K_{S,AM} + S_{AM}} X_{B,H}$
	อัตราการแปลงผัน (Conversion Rate) [$\text{M L}^{-3} \text{T}^{-1}$]	$r_i = \sum_j v_{ij} = \sum_j v_{ij} \rho_j$			พารามิเตอร์ทางจลนศาสตร์ (Kinetic Parameters):
พารามิเตอร์ทางปริมาณสัมพันธ์ (Stoichiometric Parameters): - สัมประสิทธิ์ปริมาณผลิตภัณฑ์จริง (True Yield (Y))	อะคริลาไมด์ [M (COD) L^{-3}]	กรดอะคริลิก [M (COD) L^{-3}]	แอมโมเนีย [M (N) L^{-3}]	<ul style="list-style-type: none"> - อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) - ค่าคงที่กึ่งอิ่มตัว (K_S) - อัตราการเสื่อมสลายจำเพาะ (b) 	

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการทดลอง

การประเมินผลกระทบของอะคริลาไมด์ กรดอะคริลิก และแอมโมเนียไนโตรเจนที่มีต่อประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพที่มีแบคทีเรียผสมแบบระยะเวลาเฉียบพลันและแบบระยะยาวดำเนินการโดยใช้ระบบบำบัดน้ำเสีย SBR จำลองที่มีการควบคุมอายุสัปดาห์ที่ 9 วันและทำงานที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 28 °C และใช้การประเมินด้วยการวัดอัตราหายใจซึ่งใช้อัตราการใช้ ออกซิเจนด้วยชุดอุปกรณ์ OxiTop ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ไม่คุ้นเคยกับอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกต้องรอเวลาปรับสภาพให้เข้ากับกรดอะคริลิกและอะคริลาไมด์นาน 1 ชั่วโมง และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ เนื่องจากความเป็นพิษของอะคริลาไมด์และการเกิดกระบวนการพอลิเมอร์ไรซ์ของกรดอะคริลิกทำให้ขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น ไม่พบผลกระทบของแอมโมเนียไนโตรเจนต่อระยะเวลาการปรับสภาพของแบคทีเรียผสม แต่มีลดอัตราการใช้ออกซิเจนของแบคทีเรียผสม ส่งผลให้อัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์ลดลง หลังจากป้อนอะคริลาไมด์ลงในน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียโดยการเพิ่มความเข้มข้นอะคริลาไมด์สูงขึ้นเรื่อยๆ เพื่อให้แบคทีเรียผสมสามารถปรับสภาพกับอะคริลาไมด์แล้ว พบว่า หลังจากแบคทีเรียผสมปรับสภาพกับอะคริลาไมด์เรียบร้อยแล้ว แบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายอะคริลาไมด์ทันที ทำให้อัตราการย่อยสลายอะคริลาไมด์และอัตราการใช้ออกซิเจนเพิ่มสูงขึ้นตามความเข้มข้นของอะคริลาไมด์ อย่างไรก็ตาม พบว่า อะคริลาไมด์มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียจากการตกค้างของอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกในระบบ ส่วนผลกระทบของอะคริลาไมด์ที่มีต่อกระบวนการไนตริฟิเคชันนั้นไม่สามารถประเมินได้เนื่องจากระบบล้มเหลวในการเกิดไนตริฟิเคชัน แต่แอมโมเนียจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ทางชีวภาพถูกกำจัดออกจากระบบทั้งหมดโดยวิธีการเป่าแก๊สแอมโมเนีย จึงไม่ได้สะสมในระบบทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดอะคริลาไมด์สูงขึ้น

การประมาณค่าสัมประสิทธิ์ทางจลนศาสตร์ของแบคทีเรียผสมที่ย่อยสลายอะคริลาไมด์ด้วยการเปรียบเทียบแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ต่างๆ ได้แก่ แบบจำลอง Monod (No Growth) แบบจำลองแบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์ และแบบจำลองแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง กับชุดข้อมูลที่ได้จากการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ AQUASIM และ Microsoft Excel พบว่า แบบจำลองจลนศาสตร์แบบ Monod นั้นสามารถนำมาใช้ในการทำงานการย่อยสลายสารอินทรีย์และไนตริฟิเคชันของแบคทีเรียผสมในระบบบำบัดน้ำเสียชีวภาพแบบ SBR ได้ แต่เมื่อเพิ่มอะคริลาไมด์ลงในน้ำเสีย ปรากฏว่า ความชอบสารอินทรีย์ของแบคทีเรียผสมเพิ่มขึ้น ทำให้ค่าคงที่กึ่งอิ่มตัว (K_S) ลดลงและสามารถทำนายการย่อยสลายได้ด้วยแบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบ Monod แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นอะคริลาไมด์สูงขึ้น ทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนียไนโตรเจนที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะมิเดสแล้ว แบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบ Monod ไม่สามารถใช้ในการทำนายได้อย่างถูกต้อง โดยแบบจำลองมีการปรับรูปเป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เพราะแอมโมเนียไปเพิ่ม K_S อย่างมาก

4.2 ข้อเสนอแนะ

ผลผลิตจากการย่อยสลายอะคริลาไมด์ คือ กรดอะคริลิกและแอมโมเนียไนโตรเจน ซึ่งยังไม่มีการศึกษาด้านจลนศาสตร์ของการย่อยสลายอะคริลาไมด์ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ตลอดจนการพัฒนาแบบจำลองของการย่อยสลายกรดอะคริลิก โดยเฉพาะขณะที่มีอะคริลาไมด์และกรดอะคริลิกพร้อมกัน

ผลผลิต

โครงการวิจัยนี้ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติที่อยู่ในฐานข้อมูลสากล ISI และ SCIMAGO ที่มีการจัดอันดับ SCIMAGO ควอไทล์ 1 และ 3 โดยมีรายละเอียดดังนี้และภาคผนวก 1 และ 2

1. Madmanang, R., He, Z., Sriwiryarat, T. (2018). Respirometric Activities of Unacclimatized *Enterobacter aerogenes* and Mixed Culture Bacteria in Sequencing Batch Reactor Systems in Response to Acrylamide and its Biodegradation Products, *RSC Advances*, 8(61), 34911-34920, <https://doi.org/10.1039/C8RA06668J>.
2. Madmanang, R., Jangkorn, S., Charoenpanich, J. & Sriwiryarat, T. (2019). Kinetics of nitrification and acrylamide biodegradation by *Enterobacter aerogenes* and mixed culture bacteria in sequencing batch reactor wastewater treatment systems, *Environmental Engineering Research*, 24(2), 309-317, <https://doi.org/10.4491/eer.2018.196>.

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย (NRMS 13 หลัก) 2558A10802294 สัญญาเลขที่ 122/2558

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อประเมินผลกระทบของสารอะคริลไมด์ที่มีต่อ
จลนศาสตร์ของการกำจัดสารอินทรีย์และธาตุอาหารไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน รองศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย ศรีวิริยรัตน์

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2557 ถึงวันที่ 31 มกราคม พ.ศ. 2562

ระยะเวลาดำเนินการ 4 ปี 4 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2557

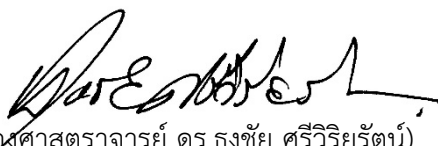
รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50%)	391,600 บาท	เมื่อวันที่ 6 พฤศจิกายน พ.ศ. 2557
งวดที่ 2 (40%)	313,280 บาท	เมื่อวันที่ 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2558
งวดที่ 3 (10%)	78,320 บาท	เมื่อวันที่ 15 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2562
รวม	783,200 บาท	

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าตอบแทน	30,000.00	30,000.00	-
2. ค่าจ้าง	90,000.00	90,000.00	-
3. ค่าวัสดุ	115,000.00	115,593.28	-593.28
4. ค่าใช้สอย	59,880.00	60,167.34	-287.34
5. ค่าครุภัณฑ์	410,000.00	410,272.00	-100.10
6. ค่าใช้จ่ายอื่นๆ			
6.1 ค่าธรรมเนียมที่จ่ายแก่ มหาวิทยาลัยบูรพา (10%)	78,320.00	78,320.00	-
รวม	783,200.00	784,352.62	-1,152.62


(รองศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย ศรีวิริยรัตน์)
หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

บรรณานุกรม

1. Abdelmagid H.M. & Tabatabai M.A. (1982). Decomposition of acrylamide in soils. *Journal of Environmental Quality*, 11(4), 701-704.
2. Ahn. H.K., Richard, T.L., Glanville, T.D. (2008), Optimum moisture levels for biodegradation of mortality composting envelope materials. *Waste Management*, 28(8), 1411-1416.
3. Alexander, M. (1999). *Biodegradation and Bioremediation*, 2nd. Academic Press, California, pp. 73-90.
4. APHA, AWWA, and WEF, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th ed. Washington D.C., 1998.
5. Battersby, N.S. (1990). A review of biodegradation kinetics in the aquatic environment. *Chemosphere*, 21, 1243-1284
6. Buranasilp, K. & Charoenpanich. J. (2011). Biodegradation of acrylamide by *Enterobacter aerogenes* isolated from wastewater in Thailand. *Journal of Environmental Science-China*. 23(3), 396-403.
7. Campos, J.C., Moura, D., Costa, A.P., Yokoyama, L., Araujo, F.V., Cammarota, M.C. & Cardillo, L. (2013). Evaluation of pH, alkalinity and temperature during air stripping process for ammonia removal from landfill leachate. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 48(9), 1105-13.
8. Charoenpanich, J. & Tani, A. (2014). Proteome analysis of acrylamide-induced proteins in a novel acrylamide-degrader *Enterobacter aerogenes* by 2D electrophoresis and MALDI-TOF-MS. *Chiang Mai University Journal of Natural of Sciences*, 13(1), 11-22.
9. Chu, D. & Barnes, D.J. (2016). The lag-phase during diauxic growth is a trade-off between fast adaptation and high growth rate. *Scientific Report*, 6, 25191.
10. Cokgor, E.U., Insel, G., Katipoglu, T. & Orhon, D., (2011). Biodegradation kinetics of peptone and 2,6-dihydroxybenzoic acid by acclimated dual microbial culture. *Bioresources Technology*, 102, 567-575.
11. Contreras, E.M., Albertario, M.E., Bertola, N.C. & Zaritzky, N.E. (2008). Modelling phenol biodegradation by activated sludges evaluated through respirometric techniques. *Journal of Hazardous Materials*. 158, 366-374.
12. Dentel, S. K., Chang, L.L., Raudenbush, D.L., Junnier III R.W., & Abu-Orf, M.M. (2000). *Analysis and fate of polymer in wastewater treatment*. Water Environment Research Foundation, Alexandria, Virginia.

13. DeWoskin, R.S., Hogan, K.D., Wohlers, W., McClure, P.R., Rhoades, J., Salinas, K., & Teeguarden, J.G. (2010). Toxicological Review of Acrylamide, EPA/635/R-07/009F; U.S. Environmental Protection Agency: Washington DC.
14. Guštin, S. & Logar, R.M. (2011). Effect of pH, temperature and air flow rate on the continuous ammonia stripping of the anaerobic digestion effluent. *Process Safety and Environmental Protection*, 89(1), 61-66.
15. Habermann, C.E. (2002). *Acrylamide*. In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, vol. 1. Online edition. New York: John Wiley & Sons.
16. Henze, M., Gujer, W., Mino, T., & van Loosdrecht, M. (2002). *Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d, and ASM3*. IWA Publishing, London, UK.
17. Huang, D. Lai, Y.J. & Becker, J.G. (2014). Impact of initial conditions on extant microbial kinetic parameter estimates: application to chlorinated ethene dehalorespiration. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(5), 2279-2288.
18. Insel G., Karahan O., Ozdemir S., Pala L., Katipoğlu T., Cokgör, E.U. & Orhon, D. (2006). Unified basis for the respirometric evaluation of inhibition for activated sludge. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 41(9), 1763-1780.
19. Jangkorn, S., Charoenpanich, J. & Sriwiryarat, T (2018). Comparative Study between *Enterobacter aerogenes* and Mixed-culture Bacteria for Acrylamide Biodegradation in Sequencing Batch Reactor (SBR) wastewater-treatment systems, *Journal of Environmental Engineering*, 144(3), 04017112
20. Kayee, P. Rongsayamamont, C. Kunapongkiti, P. & Limpiyakorn T. (2016). Ammonia half-saturation constants of sludge with different community compositions of ammonia-oxidizing bacteria. *Environmental Engineering Research*, 21(2), 140-144.
21. Kovárová-Kovar, K. & Egli, T. (1998). Growth kinetics of suspended microbial cells: from single-substrate-controlled growth to mixed-substrate kinetics. *Microbiology and Molecular Biology Review*. 62(3), 646-66.
22. Joshi, S.J. & Abed, R.M.M. (2017). Biodegradation of polyacrylamide and its derivatives. *Environmental Processes*, 4(2), 463-476.
23. Junqua, G., Spinelli, S. & Gonzalez, C. (2015). Occurrence and fate of acrylamide in water-recycling systems and sludge in aggregate industries, *Environmental Science and Pollution Research*. 22(9), 6452-6460.
24. Kaelin, D., Manser, R., Rieger, L., Eugster, J., Rottermann, K. & Siegrist, H. (2009). Extension of ASM3 for two-step nitrification and denitrification and its calibration and validation with batch tests and pilot scale data. *Water Research*, 43, 1680–1692.
25. Larson, R.J., Bookland, E.A., Williams, R.T., Yocom, K.M., Saucy, D.A., Freeman, M.B. & Swift, G. (1997). Biodegradation of acrylic acid polymers and oligomers by mixed

- microbial communities in activated sludge. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 5(1), 41-48.
26. Lee, J.K., Choi, C.K., Lee, K.H. & Yim, S.B. (2008). Mass balance of nitrogen, and estimates of COD, nitrogen and phosphorus used in microbial synthesis as a function of sludge retention time in a sequencing batch reactor system. *Bioresources Technology*, 99, 7788-7796.
 27. Malinska, K. (2016). Application of a modified OxiTop® respirometer for laboratory composting studies. *Archives of Environmental Protection*, 42(1), 56-62.
 28. Nawaz, M.S., Franklin, W. & Cerniglia, C.E. (1993). Degradation of acrylamide by immobilized cells of a *Pseudomonas* sp. and *Xanthomonas maltophilia*. *Canadian Journal of Microbiology*, 39(2), 207-212.
 29. Nawaz, M.S., Khan, A.A., Seng, J.E., Leakey, J.E., Siitonen, P.H., & Cerniglia, C.E. (1994). Purification and characterization of an amidase from an acrylamide-degrading *Rhodococcus* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(9), 3343-3348.
 30. Ni, B.J. & Yu, H.Q. (2008). Simulation of heterotrophic storage and growth processes in activated sludge under aerobic conditions. *Chemical Engineering Journal*, 140(1-3), 101-109.
 31. Reichert, P., Ruchti, J. & Simon, W.. (1998). *AQUASIM 2.0*. Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology (EAWAG), CH-8600 Duebendorf, Switzerland.
 32. Shukor, M. Y., Gusmanizar, N., Azmi, N. A., Hamid, M., Ramli, J., Shamaan, N. A., & Syed, M. A. (2009a). Isolation and characterization of an acrylamide-degrading *Bacillus cereus*. *Journal of Environmental Biology*. 30(1), 57-64.
 33. Shukor, M.Y., Gusmanizar, N., Ramli, J., Shamaan, N. A., MacCormack, W. P., & Syed, M. A. (2009b). Isolation and characterization of an acrylamide-degrading Antarctic bacterium. *Journal of Environmental Biology*. 30(1), 107-112.
 34. Staples, C.A., Murphy, S.R., McLaughlin, J.E., Leung, H.W., Cascieri, T.C. & Farr, C.H. (2000). Determination of selected fate and aquatic toxicity characteristics of acrylic acid and a series of acrylic esters. *Chemosphere*, 40(1), 29-38.
 35. U.S. Environmental Protection Agency (US. EPA). (1979). *Aqueous Ammonia Equilibrium-Tabulation of Percent Un-Ionized Ammonia*. EPA-600/3-79-091, Washington D.C..
 36. U.S. Environmental Protection Agency (US. EPA). (1995). *Acrylamide In National primary drinking water regulations*. EPA 811-F-95-004a-T, Washington D.C.
 37. U.S. Environmental Protection Agency (US. EPA). (2006). *Permit Compliance System (PCS) Database*. Retrieved from <http://www.epa.gov/enviro/html/pcs/adhoc.html>
 38. Vanrolleghem, P.A., Spanjers, H., Petersen, B., Ginestet, P. & Takacs, I. (1999). Estimating (combinations of) activated sludge model No. 1 parameters and components by respirometry. *Water Science and Technology*, 39(1), 195-214.

39. Wang, C. & Lee, C. (2001). Denitrification with acrylamide by pure culture of bacteria isolated from acrylonitrile-butadiene-styrene resin manufactured wastewater treatment system. *Chemosphere*. 44(5), 1047-1053.
40. Wang, C. C. & Lee, C. (2007). Isolation of the acrylamide denitrifying bacteria from a wastewater treatment system manufactured with polyacrylonitrile fiber. *Current Microbiology*. 55(3), 339-343.
41. WTW. (2012). *OxiTop Operating Manual*. WTW GmbH, Germany.
42. World Health Organization (WHO). (2003). *Acrylamide in drinking water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality*. Geneva, World Health Organization.
43. Wu, J., He, C., van Loosdrecht, M.C.M. & Pérez, J. (2016). Selection of ammonium oxidizing bacteria (AOB) over nitrite oxidizing bacteria (NOB) based on conversion rates. *Chemical Engineering Journal*. 304(15), 393-961.
44. Yasuhara, A., Tanaka, Y., Hengel, M. & Shibamoto, T. (2003). Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(14), 3999-4003.
45. van Niel, E.W.J., Arts, P.A.M., Wesselink, B.J., Robertson, L.A. & Kuenen, J.G. (1993). Competition between heterotrophic and autotrophic nitrifiers for ammonia in chemostat cultures. *FEMS Microbiology Letters*, 102(2), 109-118.

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1 สำเนาบทความวิจัยบทที่ 1 ที่ได้รับการตอบรับให้ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติในฐานข้อมูลสากล

Cite this: *RSC Adv.*, 2018, 8, 34911

Respirometric activities of unacclimatized *Enterobacter aerogenes* and mixed culture bacteria in sequencing batch reactor systems in response to acrylamide and its biodegradation products

Romsan Madmanang,^a Zhen He ^b and Tongchai Sriwiriyarat ^{*c}

The acute effects of acrylamide and its biodegradation products on the respiration activities of microbes during wastewater treatment are not well understood. Herein, unacclimatized mixed culture bacteria and *Enterobacter aerogenes* from two aerobic treatment systems, Activated Sludge (AS) and Integrated Fixed Film Activated Sludge (IFAS) both of which were sequencing batch reactors (SBR), were studied for their response to acrylamide. Respiration activities and biodegradation rates were determined by both the OxiTop respirometer and batch studies. The experimental results revealed that *E. aerogenes* in the AS system quickly removed both acrylamide and acrylic acid without the need of an acclimation period, but required two hours for removing acrylic acid in the IFAS system. The mixed culture bacteria in both AS and IFAS systems required 2 hours to acclimatize with acrylamide and 1 hour for acrylic acid, respectively. Acrylic acid was initially polymerized to produce acrylic acid polymer or reacted with ammonia to form acrylamide, resulting in the reduced acrylamide biodegradation rate. Both *E. aerogenes* and mixed culture bacteria from the AS systems could simultaneously biodegrade acrylamide and acrylic acid whereas only acrylamide was biodegraded by both cultures in the IFAS systems due to the limitation of acrylic acid diffusion. The results also indicated that ammonia inhibited the acrylamide biodegradation by both *E. aerogenes* and mixed culture bacteria from the AS systems. The unacclimatized *E. aerogenes* and mixed culture bacteria from the AS systems showed superior performances compared to the ones from the IFAS systems.

Received 8th August 2018
Accepted 7th October 2018

DOI: 10.1039/c8ra06668j

rsc.li/rsc-advances

1. Introduction

Acrylamide monomer (AM) is primarily used in the production of polyacrylamides (PAMs) for various industrial applications. It is also known as a carcinogenic, neurotoxicant, and hazardous substance.^{1,2} Acrylamide can be released to the receiving water during its production or use in the PAMs or other polymer productions.² Even though PAMs are not directly identified as a hazardous compound, their degradation processes including heat and ultraviolet radiation could possibly hydrolyze PAMs to AM, resulting in the releases of AM to the environment.³

It has been reported that acrylamide is lethal to most microorganisms due to its inhibitory effect on sulfhydryl proteins.^{3,4} However, several laboratory studies have reported the success of using several microbial genera including *Arthrobacter* sp., *Nocardia* sp., *Bacillus* sp., *Xanthomonas* sp.,

Rhodopseudomonas sp., *Ralstonia* sp., *Geobacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhodococcus* sp., *K. georgiana*, and *E. aerogenes*^{5–9} to degrade acrylamide in aquatic and soil environment. Among them, *E. aerogenes* was reported to be capable of degrading acrylamide at a concentration as high as 5000 mg AM L⁻¹ in the culture media.⁵ *E. aerogenes* could adapt their metabolisms including the evolution of genes for encoding the amidase and other synthesis proteins for the deamination of acrylamide during the acclimation period.⁴ Some of these studies compared the acrylamide biodegradation efficiencies between microorganisms cultured as free cells and immobilized cells. It was found that the free cells of *Pseudomonas aeruginosa* began to degrade acrylamide after an incubation period of 24 h, but the immobilized cells removed acrylamide within 24 h.⁸ Another study found that the immobilized cells of *Rhodococcus* sp. could degrade 64 mM of acrylamide within 3 h, but free cells needed a longer period than 24 h to remove it.⁷ On the other hands, Buranasilp and Charoenpanich⁵ reported that free cells of *E. aerogenes* degraded acrylamide within 1 h after incubation, but immobilized cells of *E. aerogenes* took over 6 h after cultivation to degrade acrylamide. It appears that immobilized cells and free cells of bacteria in the culture media required different

^aEnvironmental Science Program, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi, Thailand^bDepartment of Civil and Environmental Engineering, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA 24061, USA^cDepartment of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Burapha University, Chonburi, Thailand. E-mail: sriwiri@buu.ac.th

acclimation time for adapting them with acrylamide and this warrants further investigation.

As a result of acrylamide biodegradation, ammonia and acrylic acid (AA) are produced by the deamination reaction with amidase as a catalyst.^{6,8–10} For wastewater treatment practices, additional carbon oxidation of acrylic acid and biological nitrogen removal (BNR) of ammonia would be required to meet the effluent standards. Jangkorn *et al.*¹¹ studied the acrylamide biodegradation by *E. aerogenes* and mixed culture bacteria in the SBR activated sludge (AS) treatment system. They found that both *E. aerogenes* and mixed bacteria culture could completely mineralize acrylamide at 200 mg AM L⁻¹. Free ammonia nitrogen (FAN) from the acrylamide biodegradation accumulated in the SBR systems and inhibited the acrylamide biodegradation and nitrification. Acrylic acid from the acrylamide biodegradation is typically considered as a readily biodegradable substrate and can be rapidly oxidized by various microorganisms under an aerobic condition.¹² Larson *et al.*¹³ reported that mixed culture bacteria that were acclimatized with a mixture of acrylic acid polymers in the AS system degraded completely both acrylic acid monomer and dimer. However, the biodegradability of acrylic acid decreases proportionally with the increase of molecular weight of acrylic acid polymer. These previous findings suggest that both acrylamide biodegradation products including ammonia and acrylic acid are possible to interfere with the acrylamide biodegradation.

To implement the acrylamide biodegradation successfully in the biological wastewater treatment system, it is necessary to increase the capacity of systems and to minimize the amount of ammonia. Integrated Fixed Film Activated Sludge (IFAS), a hybrid system of both suspended growth (free cells) and attached growth (immobilized cells), has widely been accepted as an alternative method to sustain nitrification at low temperatures^{14,15} and to enhance the capacity and stability of an activated sludge system.¹⁶ With effective nitrification, the FAN inhibition can be minimized, resulting in the enhancement of acrylamide biodegradation. Nevertheless, as reported previously, the acclimation periods were required differently between free cells and immobilized cells of unacclimatized microorganisms in the culture media. It is important to investigate the acclimation period of unacclimatized bacteria in both AS and IFAS for acrylamide biodegradation. In this study, the acute effects of acrylamide and its biodegradation products including ammonium and acrylic acid on the unacclimatized *E. aerogenes* and mixed culture bacteria in the conventional AS and IFAS sequencing batch reactor (SBR) wastewater treatment systems were evaluated with the respirometric activities and biodegradation studies. Specifically, the acclimation periods, respirometric activities and biodegradation rates of both unacclimatized bacteria from both biological wastewater treatment processes were reported.

2. Materials and methods

2.1 Reactor setup and operation

Four bench-scale SBR wastewater treatment systems named as AS-1, AS-2, IFAS-1 and IFAS-2 as illustrated in Fig. 1 were

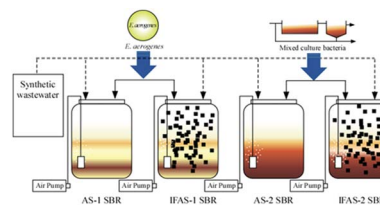


Fig. 1 The setup of four biological treatment systems for the biodegradations of synthetic wastewater: in the AS-1 and IFAS-1 contained *E. aerogenes*, and the AS-2 and IFAS-2 had mixed culture bacteria in the AS-2 and IFAS-2 systems.

set up and operated in the laboratory of Burapha University (Thailand) at the room temperature of ~ 28 °C. Both AS-1 and IFAS-1 were inoculated with pure culture of *E. aerogenes* cultured from the Department of Biochemistry (Burapha University). The mixed culture bacteria taken from a pilot-scale AS wastewater treatment system operated for biological nitrogen removal (BNR) in the same laboratory were seeded to the AS-2 and IFAS-2 systems. Each SBR system was operated with two cycles (12 h per cycle) per day with a working volume of 10 L. Each operating cycle consisted of five operating periods including 15 min filling, 10 h aerobic reacting, 1 h settling, 15 min decanting, and 30 min idling. The pure culture of *E. aerogenes* was cultured according to the procedures described by Jangkorn *et al.*¹¹ Both IFAS-1 and IFAS-2 systems were installed with BioPortz (ENTEX Technologies, Inc., USA) moving media at the filling media fraction of 30% (3 L, 510 BioPortz) resulting in the specific surface area of 1.73 m². BioPortz is the high-density polyethylene (HDPE) media with the specific surface area of 576 m² m⁻³ (ref. 17) and the specific gravity of 0.96. The bulk volume displacement of BioPortz media with biomass and without biomass were 12.75% and 5.10%, respectively. With the decant volume of 5.0 L, all IFAS and AS systems were operated at the nominal hydraulic retention times (HRTs) of 21 and 24 h, respectively. Furthermore, the suspended biomass was wasted directly from the reactor at the end of reacting period to obtain the operating solids retention time (SRT) of 9.0 ± 0.4 days. The dissolved oxygen (DO) was maintained at 6.0–7.0 mg O₂ L⁻¹ in each system with air stone diffusers connected with the air pump.

All four SBR systems were fed with synthetic wastewater containing total chemical oxygen demand (TCOD) of 445 ± 30 mg COD L⁻¹ and total Kjeldahl nitrogen (TKN) of 42.3 ± 2.5 mg N L⁻¹ resulting in the carbon to nitrogen ratio (C/N ratio) of 10.5. The synthetic wastewater was prepared with 12 g of sucrose (Commercial Grade, Wangkanai, Thailand), 24 g of CH₃COONa (Industrial Grade of 58.8%, Sinoway International, China), 2.0 g of K₂HPO₄ (Food Grade of 99.2%, Young Jin Chemical, South Korea), 4 g of KH₂PO₄ (ACS Grade, VWR Chemicals, EC), 20 g of NaHCO₃ (Food Grade of 99.5%, Tianjin Soda Plant, China), 9 g of NH₄Cl (Industrial Grade of 99.5%, Tianjin Soda Plant, China), 2.8 g of MgCl₂ (Industrial Grade of 47%, Dead Sea Works, Ltd., Israel), and 1.6 g of CaCl₂ (Food Grade of 74.0%, Young Jin Chemical, South Korea) in a 40 L tap water. The total suspended solids (TSS)

concentrations and pH values of the synthetic wastewater were $83.8 \pm 9.2 \text{ mg S L}^{-1}$ and 7.2 ± 2.7 , respectively.

2.2 Enrichment of *E. aerogenes*

Freeze-dried *E. aerogenes* was taken from the Biochemistry department of Burapha University and then resuscitated in the W-minimal medium to develop the pure culture of *E. aerogenes*.¹⁸ *E. aerogenes* colonies were subsequently transferred to sterile liquid culture of W-minimal medium after the incubation period of 48 h. The medium solution was mixed for 24 h at the temperature of 30 °C and at the mixing speed of 200 rpm. A 0.5 McFarland standard was used to adjust the bacterial suspension.¹⁹ The bacterial suspension was enriched in a 3 L reactor fed with synthetic wastewater. Finally, *E. aerogenes* was transferred to AS-1 and IFAS-1 SBR systems.

2.3 Respirometric activities evaluation and biodegradation studies

The respirometric activities of sludge were evaluated by the manometric respirometric BOD OxiTop Control apparatus (OC 110, WTW, Germany). The OxiTop is a highly reliable equipment for measuring a pressure drop in gaseous phase of the closed vessels at a constant temperature.²⁰ Typically, the pressure in the vessel increases during the first 2–3 hours as a result of the temperature difference between sample and incubator.^{21,22} After the sample has equilibrated with temperature in the incubator, it requires an acclimation period for microorganisms to adapt themselves to new conditions causing nonlinear reduction of pressure. Finally, the pressure decreases linearly due to the steady microbial oxygen consumption.²² The slope of linear pressure drop determined by linear regression was used to indicate the pressure drop per unit time ($\Delta P/t$), which subsequently was used to determine the oxygen uptake rate (OUR). The OUR was derived from the relationship between the number of moles based on the mass of oxygen and pressure drop according to the ideal gas law as follows:

$$\Delta n = \frac{\Delta m}{M} = \frac{\Delta PV}{RT} \quad (1)$$

where Δn is the change in mole of oxygen, Δm is the change in mass of oxygen, V is the gas volume, M is the oxygen molecular weight (32 g mol^{-1}), R is the general gas constant ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T is the temperature in kelvin (K), t is the incubation time in hour, and ΔP is the pressure drop in hPa. Eqn (1) can be written as eqn (2),^{21,22} but was modified in this study to apply the slope of linear pressure drop determined from the linear regression for the calculation of OUR ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). The OUR was subsequently divided by the MLVSS concentration to obtain

the specific oxygen uptake rate (SOUR) in the unit of $\text{mg O}_2 (\text{mg VSS})^{-1} \text{ d}^{-1}$.

To determine the respirometric activities of *E. aerogenes* and mixed culture bacteria in response to the synthetic wastewater, acrylamide, and acrylic acid additions, both *E. aerogenes* and mixed culture bacteria were collected from the AS-1, AS-2, IFAS-1, and IFAS-2 SBR systems at the end of reacting period in each cycle to obtain the total sludge volume of 1 L after achieving the steady state conditions. Each type of sludge was washed three times with distilled water to remove remaining substrates and subsequently was diluted with distilled water to obtain 2 L sludge samples (50% dilution factor). The sludge was transferred into four 1 L OxiTop bottles (0.5 L each). Subsequently, all OxiTop bottles were injected with three different substrates including synthetic wastewater that was fed to the SBR systems, acrylamide (Acrylamide PAGE, GE Healthcare Bio-Sciences, USA), and acrylic acid (ACS Grade 99%, Sigma-Aldrich, Netherlands) at the concentrations of $400 \text{ mg COD L}^{-1}$, 400 mg AM L^{-1} (5.63 mM), and 400 mg AA L^{-1} (5.55 mM), respectively. Acrylic acid contained 180–200 ppm of hydroquinone monomethyl ether (MEHQ) or methoxyphenol as a polymerization inhibitor. Ammonium at a concentration of about 50 mg N L^{-1} was added as a nitrogen source for synthetic wastewater and acrylic acid. Two different ammonium concentrations of 50 and 500 mg N L^{-1} were added with acrylamide to evaluate the inhibitory effects of ammonia on the acrylamide biodegradation as reported by Jangkorn *et al.*¹¹ Furthermore, 20 BioPortz media containing the sludge were randomly taken from the IFAS-1 and IFAS-2 SBR systems and added into the OxiTop bottles. Other nutrients similar to the synthetic wastewater were also supplemented for acrylamide and acrylic acid. Two mL of *N*-allylthiourea ($\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{S}$) (98%, Alfa Aesar, UK) at a concentration of 5 g L^{-1} were added to each bottle to inhibit nitrification; therefore, the effects of ammonia on acrylamide biodegradation could be evaluated. To minimize the difference in temperature between sample and incubator, all chemicals and sludge samples were allowed to acclimatize with the room temperature of $\sim 28 \text{ }^\circ\text{C}$. The OxiTop system was incubated in the incubator controlled at the temperature of $28 \text{ }^\circ\text{C}$, which was the same operating temperature of SBR systems, for a time period of 5 days. The pressure data were recorded at 20 min time interval by a handheld remote controller and then were transferred to the personal computer (PC) via a cable and a software called Achat OC (version 2.03).

The biodegradations of acrylamide and its products including ammonia and acrylic acid were also conducted in parallel with the respirometric evaluations in four closed and stirred bottles for each type of microorganisms from the AS-1, AS-2, IFAS-1, and IFAS-2 systems. Each sludge was prepared

$$\text{OUR} (\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}) = \frac{\left(\frac{\Delta P}{t} \text{ hPa h}^{-1}\right) (100 \text{ Pa hPa}^{-1}) (1 \text{ N (m}^2\text{Pa}^{-1})^{-1}) (32 \text{ g mol}^{-1}) (1000 \text{ mg g}^{-1})}{(8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}) (1 \text{ N m J}^{-1}) T(\text{K}) (1000 \text{ L m}^{-3})} \quad (2)$$

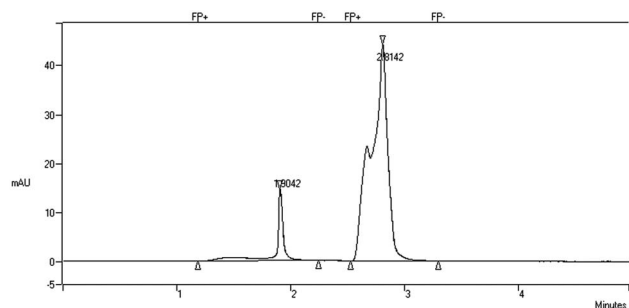


Fig. 2 HPLC chromatogram of acrylamide and acrylic acid.

according to the procedures described above and then transferred to the bottles. The experiments were setup in similar to the OxiTop bottles and were run in the same incubator as the OxiTop system at the temperature of 28 °C. The samples were collected at different time intervals from the bottles for parameter analyses including COD, acrylamide, acrylic acid, ammonium, nitrite, nitrate, pH, MLSS, and MLVSS.

2.4 Measurement and analysis

The SBR systems were operated for over a year to achieve the steady state conditions during which samples were collected periodically for analyzing several parameter including mixed liquor suspended solids (MLSS), mixed liquor volatile suspended solids (MLVSS), TCOD (Closed Reflux, Titrimetric Method), ammonium nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) (Phenate Method), nitrite nitrogen ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) (Colorimetric Method), and nitrate nitrogen ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) (Brucine Method), according to Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.²³ For soluble COD (SCOD), ammonium, nitrite and nitrate, particulates in the samples were filtered out with 0.45 μm membrane after centrifuging at 10 000 rpm for 10 min. Dissolved oxygen (DO) and pH were measured with DO (Cyberscan DO110, Eutech Instruments) and pH meters (Cyberscan pH510, Eutech Instruments), respectively.

For the determination of attached biomass in the BioPortz media, two BioPortz media were randomly sampling from the IFAS systems. The biomass was removed out from the media with a high-pressurized water jet produced from a syringe into a beaker. After mixing the samples to achieve homogenous liquid, the samples were collected for further MLSS and MLVSS analyses. The MLSS and MLVSS concentrations were calculated to determine the attached biomass per BioPortz media so that the biomass residing in the 510-BioPortz media of IFAS SBR

systems could be determined. Equivalent MLSS and MLVSS concentrations of attached biomass were then calculated by dividing the amount of biomass by the volume of reactors. The combination of both suspended and attached biomass indicated the total MLSS and MLVSS in this study. A high performance liquid chromatography (HPLC) (Varian 9050) was used to quantitatively determine acrylamide and acrylic acid. The HPLC was equipped with a UV spectrophotometric detector (JENWAY 6305) operating at 254 nm and a Nova-Pack C18 (4 μm 60 Å) guard pak insert column (Waters, Ireland) in a reversed system using 50% deionized water and 50% acetonitrile as a mobile phase. A 60 μL injection loop of filtered sample was injected into the HPLC system to deliver 20 μL volume to obtain the peak areas as shown in Fig. 2 with a run time of 5 min. at room temperature under a constant flowrate of 1 mL min^{-1} . Acrylamide and acrylic acid standards were used to determine both acrylamide and acrylic acid concentrations. The first and second peaks were identified as acrylic acid and acrylamide, respectively.

3. Results and discussion

3.1 SBR system performances

At the steady state conditions, it was found that MLSS and MLVSS concentrations of the AS-1 and AS-2 SBR systems containing *E. aerogenes* and mixed culture bacteria, respectively, as listed in Table 1 were considerably lower than those of the IFAS systems. This can be explained that the effective volume of the IFAS system was greatly smaller than that of the AS systems due to the volume replacement by BioPortz media. Integration of BioPortz had enhanced the amount of biomass in the IFAS systems without any increase of SRT. The biofilm densities of the IFAS-1 and IFAS-2 systems were 10.9 and 15.0 g m^{-2} , respectively. It was found that the MLVSS/MLSS ratios were very low for the attached biomass of BioPortz, indicating that inorganic compound was accumulated in the media. The accumulation of calcium carbonate precipitates inside the BioPortz was a result of a hardness concentration of about 120 $\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$ in the synthetic wastewater at the relative high operating temperature of 28 °C.

All four SBR systems achieved the similar COD removal efficiencies of about 80% within the reacting period of 10 h, resulting in the effluent COD concentrations of about 80 mg COD L^{-1} . With regarding to nitrification, all four systems could completely nitrify ammonium resulting in the ammonium removal efficiencies of nearly 100%. Nitrite was not detectable

Table 1 The MLSS and MLVSS concentrations of suspended and attached biomass in the AS and IFAS SBR systems

System	Inocula	MLSS mg L^{-1}	MLVSS mg L^{-1}	Equivalent MLSS mg L^{-1}	Equivalent MLVSS mg L^{-1}	Total MLSS mg L^{-1}	Total MLVSS mg L^{-1}
AS-1	<i>E. aerogenes</i>	913 ± 54	903 ± 54	—	—	913 ± 54	903 ± 54
IFAS-1	<i>E. aerogenes</i>	1233 ± 60	1223 ± 60	3188	1887	4420 ± 60	3110 ± 60
AS-2	Mixed culture	855 ± 42	845 ± 42	—	—	855 ± 42	845 ± 42
IFAS-2	Mixed culture	1668 ± 127	1613 ± 97	4361	2601	6028 ± 127	4214 ± 97

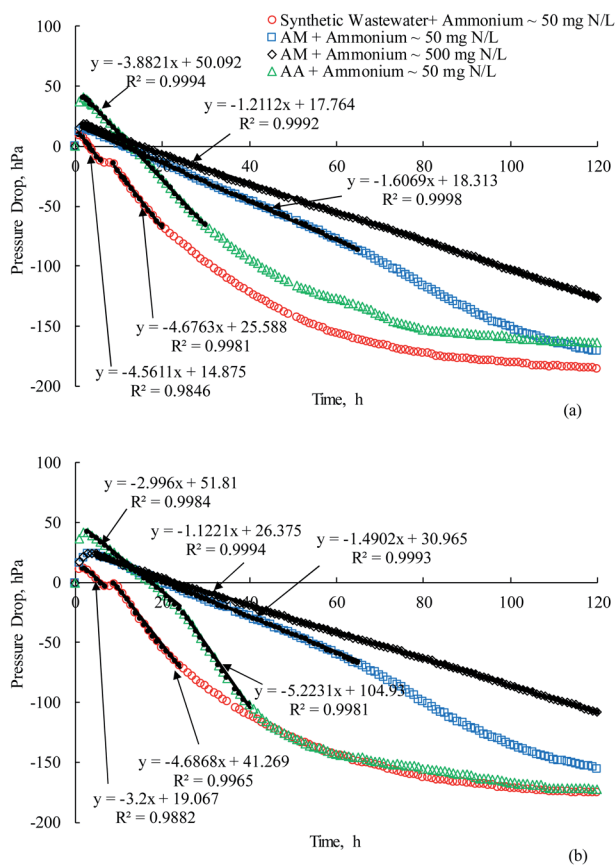


Fig. 3 Pressure drops during 5 day incubation period of (a) *E. aerogenes* (AS-1) and (b) mixed culture bacteria (AS-2).

in all SBR systems, indicating that nitrite was rapidly converted to nitrate nitrogen. The effluent nitrate concentrations of AS-1, IFAS-1, AS-2, and IFAS-2 were 33.2 ± 8.3 , 29.6 ± 7.0 , 34.1 ± 5.9 , and 29.3 ± 7.4 mg N L⁻¹, respectively. *E. aerogenes* in both the AS-1 and IFAS-1 systems could heterotrophically nitrify the ammonium nitrogen.^{11,24} Mixed culture bacteria in the AS-2 and IFAS-2 systems contained nitrifiers that autotrophically removed the ammonium nitrogen.

3.2 Respirometric activities of microbes from the AS systems

The effects of acrylamide and its biodegradation products *i.e.*, ammonia and acrylic acid on the respirometric activities were evaluated by using the OxiTop system (Fig. 3 and 4). Fig. 3(a) illustrates the pressure drops in the OxiTop systems resulted from the biodegradation of synthetic wastewater, acrylamide, and acrylic acid by pure culture of *E. aerogenes* sampled from the AS-1 system.

It appears that the pressures in four OxiTop bottles initially increased with time during the first 1–2 hours, reaching different maximum pressures depending on the substrates. The maximum pressure of 9 hPa was observed after the incubation period of 1 h for synthetic wastewater. It is expected that *E. aerogenes* had already been acclimatized with synthetic wastewater in the AS-1 system because the systems reached the steady state condition; therefore, it is likely that the increase in

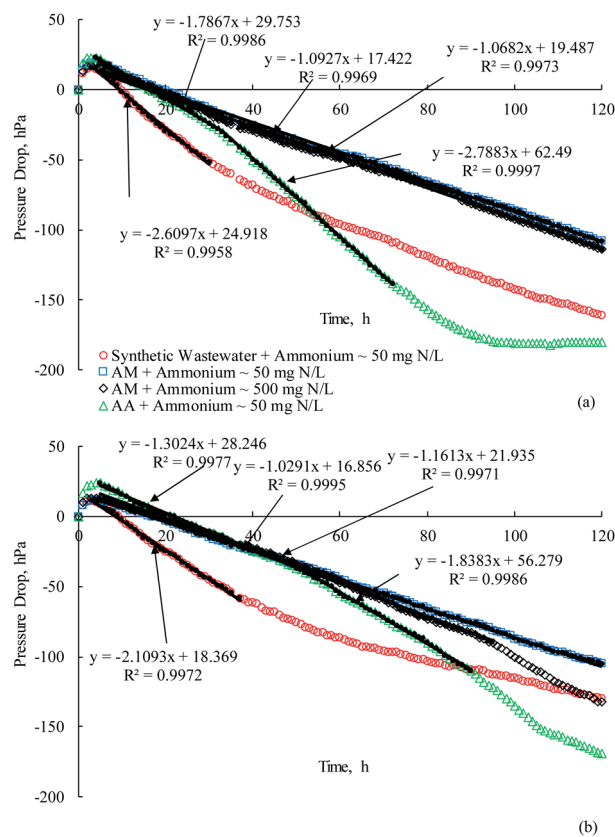


Fig. 4 Pressure drops during 5 days incubation period of (a) *E. aerogenes* (IFAS-1) and (b) mixed culture bacteria from the IFAS-2 systems.

pressure was resulted from the temperature. After the temperature equilibrium, there was a linear decrease in pressure with time due to the microbial metabolism consuming oxygen and producing carbon dioxide. *E. aerogenes* required no acclimation period to synthetic wastewater. The results from the linear regression analyses revealed that there were two different slopes on the straight line, likely related to the degradation of acetate and sucrose as carbon sources in the synthetic wastewater. It was observed that the negative pressure of 14 hPa remained constant for one hour during the 7th and 8th hour after the addition of synthetic wastewater, indicating a short lag phase in this period. It is evident that *E. aerogenes* exhibited the diauxic growth pattern with the presence of two carbon sources.²⁵ After the linear decrease of pressure, it appears that *E. aerogenes* consumed oxygen at a slower rate, suggesting that less biodegradable substrate was available or endogenous respiration occurred. It is expected that oxygen in the gaseous phase was not depleted; otherwise, the pressure drop must remain constant over a period of time. Table 2 lists the oxygen uptake rates (OURs) and the specific oxygen uptake rates (SOURs) of *E. aerogenes* for biodegrading the synthetic wastewater.

According to the results in Fig. 3(a), the highest pressure was detected for acrylic acid at 40 hPa during the first two hours of incubation period, which was much higher than the maximum pressure as a result of temperature difference in the OxiTop bottle containing synthetic wastewater (9 hPa). It is noted that acrylic acid can be easily polymerized and then a large amount

Table 2 Oxygen uptake rate (OUR) and specific oxygen uptake rates (SOUR) of *E. aerogenes* and mixed culture bacteria from the AS and IFAS systems

Experiments	SBR system	<i>E. aerogenes</i>				Mixed culture bacteria			
		OUR mg O ₂ L ⁻¹ h ⁻¹		SOUR mg O ₂ (g VSS) ⁻¹ h ⁻¹		OUR mg O ₂ L ⁻¹ h ⁻¹		SOUR mg O ₂ (g VSS) ⁻¹ h ⁻¹	
		1	2	1	2	1	2	1	2
Synthetic wastewater ^a	AS	5.81	5.97	10.75	11.05	4.09	5.99	7.05	10.33
Acrylamide ^a		2.05	—	3.80	—	1.90	—	3.28	—
Acrylamide ^b		1.54	—	2.86	—	1.56	—	2.69	—
Acrylic acid ^a		4.97	—	9.21	—	3.83	6.68	6.60	11.51
Synthetic wastewater ^a	IFAS	3.34	—	0.94	—	2.70	—	1.13	—
Acrylamide ^a		1.37	—	0.38	—	1.32	—	0.55	—
Acrylamide ^b		1.40	—	0.39	—	1.48	—	0.62	—
Acrylic acid ^a		2.28	3.56	0.64	1.00	1.66	2.35	0.70	0.98

^a Ammonium as a nitrogen source at the concentration of about 50 mg N L⁻¹. ^b Ammonium as a nitrogen source at the concentration of about 500 mg N L⁻¹; 1 and 2 indicated the first and second OUR and SOUR rates.

of heat can be generated due to the exothermic polymerization of acrylic acid. Even though the MEHQ as a polymerization inhibitor was added into acrylic acid to prevent polymerization, some contamination or excessive heat can cause polymerization.²⁶ The results indicate that pressure in the OxiTop bottle containing acrylic acid increased tremendously as compared with synthetic wastewater; therefore, the acrylic acid must have been polymerized. After the temperature equilibrium, the pressures decreased linearly in the similar fashion to the synthetic wastewater. It can be interpreted that *E. aerogenes* did not require any acclimation time for acrylic acid biodegradation. However, the OUR and SOUR of acrylic acid by *E. aerogenes* in Table 2 suggest that the rates were slightly lower than the synthetic wastewater.

Acrylamide was reported as a toxic compound to most microorganisms;^{3,4} therefore, the experiments spiked acrylamide to two OxiTop bottles with different ammonium concentrations for evaluating the respirometric activities. The maximum pressures of 15 hPa and 18 hPa were found at the incubation period of 2 hours for acrylamide with ammonium concentrations of about 50 and 500 (mg N) L⁻¹, respectively. Higher increases in pressure of acrylamide than synthetic wastewater indicate that a certain process occurred in the systems in addition to the temperature difference; otherwise, the increases in pressure must be the same as the synthetic wastewater. It is possible that acrylamide was biodegraded and then acrylic acid was produced and polymerized. A linear reduction in pressure with time was found during a period between 2nd hour and 65th hour as a result of microbial oxygen consumption. It appears that *E. aerogenes* from the AS-1 system did not require the acclimation period to acrylamide. The calculated OUR and SOUR in Table 2 indicate that the rates were considerably lower than the rates of *E. aerogenes* for biodegrading the synthetic wastewater or acrylic acid. It was evident that the FAN reduced the OUR and SOUR of *E. aerogenes* as compared with acrylamide supplemented with lower ammonium concentration. However, the inhibition effects of

ammonia on the acclimation period of *E. aerogenes* was not found in this experiment.

Fig. 3(b) shows the respirometric activities of mixed culture bacteria from the AS-2 system degrading different substrates in the OxiTop bottles. The pressures increased during the initial incubation time of 2–3 hours to 12, 24, 24, and 42 hPa when degrading synthetic wastewater, acrylamide with ammonium concentration of 50 mg N L⁻¹, acrylamide with ammonium concentration of 500 mg N L⁻¹, and acrylic acid, respectively. The pressure dropped immediately after the temperature equilibrium, suggesting that the acclimation period was not required for mixed culture bacteria to degrade synthetic wastewater. The results revealed that the pressures remained constant for 1 hour for the acrylic acid biodegradation and for 2 hours to degrade acrylamide with both ammonium concentrations of 50 and 500 mg N L⁻¹. Thus, the mixed culture bacteria required an acclimation period to biodegrade acrylamide or acrylic acid. The FAN inhibited the acrylamide biodegradation of mixed culture bacteria, resulting in lower biodegradation rates. There was no difference in terms of the inhibition effects of the FAN on the acclimation period. The OUR of mixed culture bacteria for the acrylic acid biodegradation was less than that of *E. aerogenes* during the first 25 hours, but subsequently the rate greatly increased. It was reported that acclimatized mixed culture bacteria completely biodegraded both acrylic acid monomer and dimer, and the biodegradability of acrylic acid decreased as the molecular weight increased.¹³ Therefore, it is suggested that the unacclimatized mixed culture bacteria required time to reduce the polymerized acrylic acid.

3.3 Respirometric activities of microbes from the IFAS systems

Investigations were extended to evaluate the effects of acrylamide and its biodegradation products on the respirometric activities of the hybrid process between suspended systems and attached growth of *E. aerogenes* from the IFAS SBR systems (Fig. 4). Fig. 4(a) shows that the pressures in the OxiTop

systems increased during the first 2–3 hours for the synthetic wastewater and acrylic acid biodegradations; however, the acrylamide biodegradation required 4 hours to reach the temperature equilibrium. In general, *E. aerogenes* from the IFAS-1 system required longer time to reach temperature equilibrium than the suspended growth of *E. aerogenes*, possibly as the results of mass transport resistance in the fixed film media. After achieving the temperature equilibrium, the pressures decreased linearly due to the microbial oxygen consumptions in all substrates except for acrylic acid; therefore, it required little acclimation period to the synthetic wastewater and acrylamide. The acclimation period of 2 hours was needed for the removal of acrylic acid, which was in contrast with *E. aerogenes* from the AS-1 system. It could be explained that acrylic acid was polymerized and the diffusion of polymerized acrylic acid into the fixed film media was limited. It is apparent that the OUR increased considerably after the 33th hour, possibly because that the composition of wastewater was changed. In general, the OURs of *E. aerogenes* from the IFAS-1 system for biodegrading synthetic wastewater, acrylamide and acrylic acid were lower than those of the AS-1 system (Table 2). The inhibition effect of ammonia on the acrylamide biodegradation by *E. aerogenes* from the IFAS-1 system was not different from *E. aerogenes* from the AS-1 system.

When the mixed culture bacteria was immobilized in the BioPortz media (IFAS-2 system), the time to reach temperature equilibrium was longer than the suspended growth of mixed culture bacteria (AS-2 system) (Fig. 4b). After reaching temperature equilibrium, the mixed culture bacteria from the IFAS-2 system required 1 hour to acclimatize with acrylic acid and acrylamide with ammonium concentration of 50 mg N L⁻¹. The FAN resulted in longer acclimatization period of 3 hours for the mixed culture bacteria from the IFAS-2 system to biodegrade the acrylamide. It appears from the OURs and SOURs (Table 2) that the inclusion of the attached growth of mixed culture bacteria into the suspended biomass was not superior to biodegrade the synthetic wastewater, acrylamide, and acrylic acid over the suspended growth system.

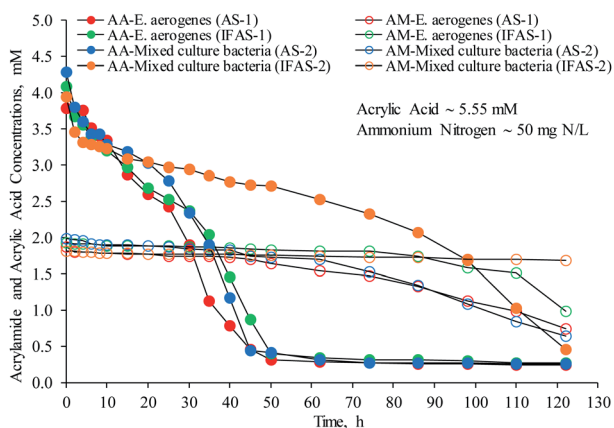


Fig. 5 Acrylic acid and acrylamide concentrations in the batch reactors containing *E. aerogenes* and mixed culture bacteria from the AS and IFAS systems (AA: acrylic acid and AM: acrylamide).

3.4 Biodegradation of acrylic acid

Acrylic acid produced from the acrylamide biodegradation can possibly be used as carbon and energy sources for microorganisms. It is evident from Fig. 5 that degradation of acrylic acid started quickly in a few minutes after addition. About 31.7% and 26.5% of acrylic acid in the batch reactors containing *E. aerogenes* from the AS-1 and IFAS-1 systems, respectively, were removed. The mixed culture bacteria from the AS-2 and IFAS-2 systems removed 22.7 and 28.8% of acrylic acid, respectively. It should be noted that the initial acrylic acid concentration used in this study was 400 mg AA L⁻¹ or 5.55 mM [72.06 g AA mol⁻¹ for molecular weight]. Both the pressure increase in the OxiTop systems and the amounts of acrylic acid removed initially suggest that acrylic acid was polymerized. Interestingly, acrylamide appeared after the addition of acrylic acid, likely as a result of the reaction between acrylic acid and ammonia, at the concentrations of 1.88, 1.93, 1.99, and 1.82 mM in the solutions of AS-1, IFAS-1, AS-2, and IFAS-2 batch reactors. Yasuhara *et al.*²⁷ reported that acrylic acid can react with ammonia to produce acrylamide. The stoichiometric molar ratio of acrylamide to acrylic acid is 1 : 1;¹⁰ therefore, acrylic acid must be used to produce acrylamide at the same concentrations as those of acrylamide. It appears from Fig. 5 that the acrylamide concentrations were relatively stable. In addition, there was little change in the ammonium concentration during the incubation period of 5 days. Thus, it is possible that acrylic acid was used to form acrylamide only at the beginning of the tests.

After the initial removal of acrylic acid due to the acrylamide formation, acrylic acid was continuously removed during the incubation period of 50 hours at the biodegradation rates of 5.47 ($R^2 = 0.99$) and 4.54 ($R^2 = 0.96$) mg AA L⁻¹ h⁻¹ by *E. aerogenes* from the AS-1 and IFAS-1 systems, respectively. The mixed culture bacteria from the AS-2 system had a biodegradation rate of 5.11 ($R^2 = 0.95$) mg AA L⁻¹ h⁻¹ in a similar fashion to the synthetic wastewater, because acrylic acid is a readily biodegradable organic compound and can be rapidly oxidized under an aerobic condition.¹² The mixed culture bacteria in the IFAS-2 reactor could not degrade acrylic acid efficiently as compared with other systems, this result is in good agreement with the respirometric activity of mixed culture bacteria from the IFAS-2 system. The OUR of IFAS-2 for acrylic acid biodegradation was much less than other systems (Table 2). As shown in Fig. 5, acrylamide began to decrease at the 50th hour, after the depletion of acrylic acid. In contrast, acrylamide was not consumed by the mixed culture bacteria from the IFAS-2 system because acrylic acid was still available in the solution. Thus, acrylic acid is a preferable substrate than acrylamide for biodegradation by both *E. aerogenes* and mixed culture bacteria because acrylamide can be toxic to microorganisms^{3,4} and acrylic acid is a readily biodegradable organic compound.¹²

3.5 Effects of acrylamide

The respirometric activities indicated that acrylamide could be degraded without any acclimation periods by *E. aerogenes* from the AS-1 and IFAS-1 systems when acrylamide was added as a primary substrate, but the OUR was greatly lower than the

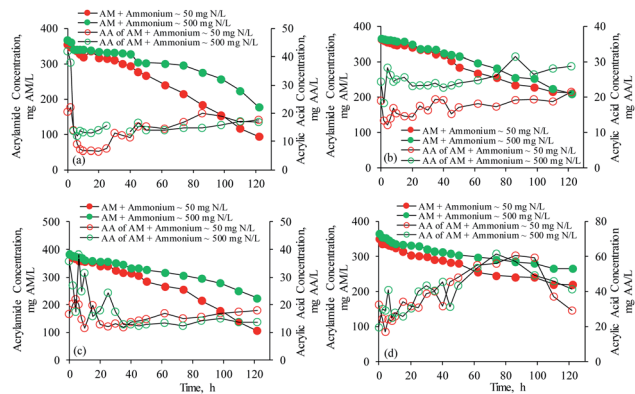


Fig. 6 Time courses of residual acrylamide and acrylic acid concentrations during 5 days incubation period of (a) *E. aerogenes* (AS-1), (b) *E. aerogenes* (IFAS-1), (c) mixed culture bacteria (AS-2), and (d) mixed culture bacteria (IFAS-2) (AA: acrylic acid and AM: acrylamide).

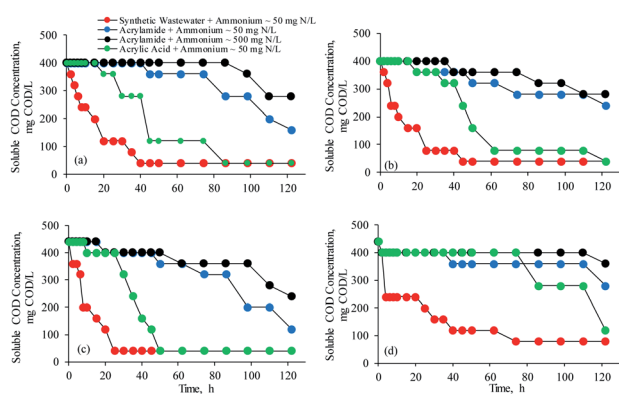


Fig. 7 Time courses of residual COD concentrations of (a) *E. aerogenes* (AS-1), (b) *E. aerogenes* (IFAS-1), (c) mixed culture bacteria (AS-2), and (d) mixed culture bacteria (IFAS-2).

synthetic wastewater. The batch studies in Fig. 6(a) reveal that the acrylamide biodegradation by *E. aerogenes* from the AS-1 system occurred quickly in a few minutes after the acrylamide injection, resulting in acrylic acid and ammonia as biodegradation products. Acrylic acid was produced rapidly; however, its concentration decreased immediately soon after it was produced because acrylic acid was polymerized and the result was in good agreement with the initial increase of pressures in the OxiTop bottle during the first two hours due to the

exothermic polymerization. It should be noted that only acrylamide was added as a substrate in this test. Furthermore, ammonium was also produced quickly at the accumulation rate of $0.44 \text{ mg N L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($R^2 = 0.950$) during the incubation period of 5 days, suggesting that acrylamide is a biodegradable substrate for *E. aerogenes*. According to the respirometric activities as shown in Fig. 3(a), the steady microbial oxygen consumption occurred during the first 65 hours; therefore, the acrylamide biodegradation rate of $1.57 \text{ mg AM L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($R^2 = 0.942$) was determined by the linear regression during this period. The subsequent biodegradation rate increased considerably to $2.54 \text{ mg AM L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($R^2 = 0.996$). It appears from Fig. 7(a) that the SCOD concentration of acrylamide did not decrease while acrylamide was being degraded during first 40 hours of the incubation period. It was found from the measurements in this study that the COD values of acrylamide and acrylic acid were about $1.00 \text{ g COD (g AM)}^{-1}$ and $1.45 \text{ g COD (g AA)}^{-1}$, respectively. The amount of COD oxidized in the purely aerobic system can be determined by the OUR.²⁸ With the information listed above, it is possible to approximate the COD of acrylic acid produced in the solution. According to the stoichiometric molar ratio of acrylamide to acrylic acid (1 : 1), the acrylamide biodegradation rate of $1.57 \text{ mg AM L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ would produce acrylic acid at the production rate of $1.59 \text{ mg AA L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ [$(1.57 \text{ mg AM L}^{-1} \text{ h}^{-1} / 71.08 \text{ mg AM mmol}^{-1}) \times 72.06 \text{ mg AA mmol}^{-1}$], which was equivalent to $2.31 \text{ mg COD L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ [$1.59 \text{ mg AA L}^{-1} \text{ h}^{-1} \times 1.45 \text{ mg COD (mg AA)}^{-1}$]. The OUR of $2.05 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ obtained from the respirometric evaluation indicated that the COD was oxidized at the rate of $2.05 \text{ mg COD L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. As compared with the acrylamide biodegradation rate of $1.57 \text{ mg AM L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($\sim 1.57 \text{ mg COD L}^{-1} \text{ h}^{-1}$), the OUR was greater than the acrylamide biodegradation rate, suggesting that acrylic acid produced from the acrylamide biodegradation was degraded. The remaining acrylic acid caused the COD to sustain in the solution. As discussed in the previous section, acrylamide could be formed from the reaction between acrylic acid and ammonia in the solution. In this experiment, acrylamide was not generated from this reaction because the ammonium increased in the solution.

It is evident from Fig. 6(b) that *E. aerogenes* immobilized in the BioPortz media did not degrade acrylamide at the same rate as the suspended growth of *E. aerogenes*. The diffusion of substrates could be limited due to the mass transfer resistance

Table 3 Acrylamide biodegradation rates and removal efficiencies of *E. aerogenes* and mixed culture bacteria from the AS and IFAS systems feeding with acrylamide and ammonium concentrations of 50 and 500 mg N L^{-1}

Experiments	SBR system	NH_4^+ mg N L^{-1}	AM removal efficiency (%)	AM biodegradation rate $\text{mg AM L}^{-1} \text{ h}^{-1}$	R^2
<i>E. aerogenes</i>	AS-1	50	73.7	2.05	0.978
Mixed culture bacteria	AS-2		72.3	2.09	0.978
<i>E. aerogenes</i>	IFAS-1		41.6	1.36	0.981
Mixed culture bacteria	IFAS-2		31.2	1.06	0.982
<i>E. aerogenes</i>	AS-1	500	51.7	1.18	0.909
Mixed culture bacteria	AS-2		41.7	1.14	0.977
<i>E. aerogenes</i>	IFAS-1		42.5	1.28	0.988
Mixed culture bacteria	IFAS-2		22.4	0.88	0.975

in the media. As shown in Table 3, the acrylamide biodegradation rate and removal efficiency were $1.36 \text{ mg AM L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($R^2 = 0.981$) and 41.6%, respectively. It is obvious that *E. aerogenes* from the IFAS-1 system did not enhance the acrylamide biodegradation. The OUR obtained from the respirometric evaluation was $1.37 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, which was approximately the same as the acrylamide biodegradation rate, suggesting that only acrylamide was degraded. In addition, it was found that about 31.3% of ammonium was removed during the first incubation period of 6 hours, suggesting that acrylic acid produced from the acrylamide biodegradation was used to form acrylamide, resulting in the reduced acrylamide biodegradation rate. As acrylamide was not considerably degraded, less amount of acrylic acid was accumulated in the system; thereby, the acrylic acid concentrations remained constant at the average concentration of $16.9 \pm 2.47 \text{ mg AA L}^{-1}$. Fig. 7(b) confirms the explanations, as the SCOD concentrations did not decrease during the first 45 hours of incubation period.

The unacclimatized mixed culture bacteria from the AS-2 system biodegraded acrylamide slowly during the first incubation period of 15 hours (Fig. 6(c)). The results supported the respirometric evaluation that the suspended growth of mixed culture bacteria required a few hours to acclimatize with acrylamide. The acrylamide biodegradation rate during the first 65 hours was $1.79 \text{ mg AM L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($R^2 = 0.978$), which was approximately equal to the OUR of $1.90 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ as listed in Table 2. This implied that minimal acrylic acid was degraded; thus, the SCOD concentrations did not decrease as illustrated by Fig. 7(c). Subsequently, the acrylamide biodegradation rate was increased to $2.85 \text{ mg AM L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($R^2 = 0.984$). Ammonium increased gradually as a result of acrylamide biodegradation; thereby, the acrylamide formation from the reaction between acrylic acid and ammonia did not occur.

Fig. 6(d) shows that acrylamide concentrations decreased linearly with time due to the acrylamide biodegradation by the mixed culture bacteria from the IFAS-2 system with the biodegradation rate of $1.06 \text{ mg AM L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($R^2 = 0.982$). According to the OUR of $1.32 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ in Table 2, it is implied that acrylic acid was minimally degraded. A minimal amount of ammonium decreased during the first 4 hours, indicating that acrylamide was formed from the reaction of acrylic acid and ammonia during this period. The respirometric activities indicated that the acrylic acid produced from the acrylamide biodegradation was polymerized. Therefore, acrylic acid from the acrylamide biodegradation in this test was polymerized and used to form acrylamide. Subsequently, ammonium increased in the solution at the production rate of $0.34 \text{ mg N L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($R^2 = 0.932$), indicating that acrylamide was not produced from the reaction of acrylic acid and ammonia. Acrylic acid was slowly degraded by the mixed culture bacteria from the IFAS-2 system as illustrated by Fig. 5; therefore, acrylic acid was accumulated over a period of 86 hours. Thus, the SCOD concentrations as shown in Fig. 6(d) remained constant for a period of about 5 days. Afterward, acrylic acid was gradually biodegraded at the slow biodegradation rate resulting in the reductions of SCOD concentrations.

The experimental results in Fig. 6(a) and (c), the OURs and SOURs in Table 2, and the acrylamide biodegradation rates in Table 3 support the conclusion that the acrylamide biodegradations by *E. aerogenes* and the mixed culture bacteria from the AS-1 and AS-2 systems were inhibited by the high concentration of ammonium. The experimental results were in good agreement with the previous findings from Jangkorn *et al.*¹¹ The effects of ammonia inhibition on the acrylamide biodegradation by *E. aerogenes* and the mixed culture bacteria from the IFAS-1 and IFAS-2 systems were minimized. It is possible that the diffusion of acrylamide and other substrates into the BioPortz media were limited in the IFAS systems as a result of mass transfer resistances.

4. Conclusions

The experiments were conducted to evaluate the acute effects of acrylamide and its biodegradation products on the unacclimatized *E. aerogenes* and the mixed culture bacteria from the AS systems and the IFAS systems. *E. aerogenes* from the AS-1 system did not require the acclimation period to degrade acrylamide and acrylic acid, but required the acclimation period for acrylic acid when bacteria were immobilized in the media because of limited substrate diffusion into the biofilm. The mixed culture bacteria from both AS-2 and IFAS-2 systems required 1 hour to acclimatize with acrylic acid and 2 hours for acrylamide. Inhibition effect of ammonia on the acclimation periods of *E. aerogenes* and the mixed culture bacteria was not observed. However, the respirometric activities and biodegradation studies confirmed that ammonia had inhibited the acrylamide biodegradation. The experiments revealed that acrylic acid in the wastewater or from the acrylamide biodegradation could be initially polymerized or reacted with ammonia nitrogen in the wastewater to form acrylamide, reducing the acrylamide biodegradation rate. Both *E. aerogenes* and mixed culture bacteria from the AS systems could simultaneously degrade both acrylamide and acrylic acid, whereas both *E. aerogenes* and mixed culture bacteria from the IFAS systems could remove only acrylamide because the diffusion of acrylic acid into the biofilm was limited.

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

Acknowledgements

This work is supported by the Research Funds of Burapha University through National Research Council of Thailand [grant number 122/2558] to Tongchai Sriwiriyarat and the Office of the Higher Education Commission (OHEC), Ministry of Education, Thailand through a PhD scholarship to Romsan Madmanang.

Notes and references

- 1 G. Junqua, S. Spinelli and C. Gonzalez, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2015, **22**, 6452–6460.
- 2 R. S. DeWoskin, K. Hogan, D. W. Wohlers, P. R. McClure, J. Rhoades, K. Salinas and J. G. Teeguarden, *Toxicological Review of Acrylamide*, US Environmental Protection Agency, 2010.
- 3 S. J. Joshi and R. M. M. Abed, *Environ. Processes*, 2017, **4**, 463–476.
- 4 J. Charoenpanich and A. Tani, *CMU Journal of Natural of Sciences*, 2014, **13**, 11–22.
- 5 K. Buranasilp and J. Charoenpanich, *J. Environ. Sci.*, 2011, **23**, 396–403.
- 6 J. Charoenpanich, *Applied Bioremediation-Active and Passive Approaches*, InTech Open Science Online Publishers, 2013.
- 7 M. S. Nawaz, S. M. Billedeau and C. E. Cerniglia, *Biodegradation*, 1998, **9**, 381–387.
- 8 C. S. Prabu and A. J. Thatheyus, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2007, **60**, 69–73.
- 9 R. Shanker, C. Ramakrishna and P. K. Seth, *Arch. Microbiol.*, 1990, **154**, 192–198.
- 10 M. S. Nawaz, W. Franklin and C. E. Cerniglia, *Can. J. Microbiol.*, 1993, **39**, 207–212.
- 11 S. Jangkorn, J. Charoenpanich and T. Sriwiryarat, *J. Environ. Eng. Div. (Am. Soc. Civ. Eng.)*, 2018, **144**, 04017112.
- 12 C. A. Staples, S. R. Murphy, J. E. McLaughlin, H. W. Leung, T. C. Cascieri and C. H. Farr, *Chemosphere*, 2000, **40**, 29–38.
- 13 R. J. Larson, E. A. Bookland, R. T. Williams, K. M. Yocom, D. A. Saucy, M. B. Freeman and G. Swift, *J. Environ. Polym. Degrad.*, 1997, **5**, 41–48.
- 14 D. Sen, P. Mitta and C. W. Randall, *Water Sci. Technol.*, 1994, **30**, 13–24.
- 15 C. W. Randall and D. Sen, *Water Sci. Technol.*, 1996, **33**, 155–161.
- 16 T. Sriwiryarat, K. Pittayakool, P. Fongsatitkul and S. Chinwetkitvanich, *J. Environ. Sci. Heal. A*, 2011, **43**, 1318–1324.
- 17 H. Kim, A. J. Schuler, C. K. Gunsch, R. Pei, J. Gellner, J. P. Boltz, R. G. Freudenberg and R. Dodson, *Water Environ. Res.*, 2011, **83**, 627–635.
- 18 K. Kimbara, T. Hashimoto, M. Fukuda, T. Koana, M. Takagi, M. Oishi and K. Yano, *J. Bacteriol.*, 1989, **171**, 2740–2747.
- 19 J. McFarland, *JAMA, J. Am. Med. Assoc.*, 1907, **14**, 1176–1178.
- 20 P. Reuschenbach, U. Pagga and U. Strotmann, *Water Res.*, 2003, **37**, 1571–1582.
- 21 H. K. Ahn, T. L. Richard and T. D. Glanville, *Waste Management.*, 2008, **28**, 1411–1416.
- 22 K. Malińska, *Arch. Environ. Prot.*, 2016, **42**, 56–62.
- 23 L. S. Clesceri, A. E. Greenberg and A. D. Eaton, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association, 20th edn, 1998.
- 24 G. P. Robertson and P. M. Groffman, *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*, Academic Press, 2007.
- 25 D. Chu and D. J. Barnes, *Sci. Rep.*, 2016, **6**, 25191.
- 26 EBAM, *Safety Handling and Storage of Acrylic Acid*, European Basic Acrylic Monomer Group, 3rd edn, 2013.
- 27 A. Yasuhara, Y. Tanaka, M. Hengel and T. Shibamoto, *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 3999–4003.
- 28 P. S. Barker and P. L. Dold, *Water Res.*, 1995, **29**, 633–643.

ภาคผนวก 2 สำเนาบทความวิจัยบทที่ 2 ที่ได้รับการตอบรับให้ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับ
นานาชาติในฐานข้อมูลสากล



Kinetics of nitrification and acrylamide biodegradation by *Enterobacter aerogenes* and mixed culture bacteria in sequencing batch reactor wastewater treatment systems

Romsan Madmanang¹, Siriprapha Jangkorn², Jittima Charoenpanich³, Tongchai Sriwiriyarat^{4†}

¹Environmental Science Program, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

²Division of Natural Resources and Environment, Faculty of Science and Social Sciences, Burapha University, Sakaeo 27160, Thailand

³Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

⁴Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

ABSTRACT

This study evaluated the kinetics of acrylamide (AM) biodegradation by mixed culture bacteria and *Enterobacter aerogenes* (*E. aerogenes*) in sequencing batch reactor (SBR) systems with AQUASIM and linear regression. The zero-order, first-order, and Monod kinetic models were used to evaluate the kinetic parameters of both autotrophic and heterotrophic nitrifications and both AM and chemical oxygen demand (COD) removals at different AM concentrations of 100, 200, 300, and 400 mg AM/L. The results revealed that both autotrophic and heterotrophic nitrifications and both AM and COD removals followed the Monod kinetics. High AM loadings resulted in the transformation of Monod kinetics to the first-order reaction for AM and COD removals as the results of the compositions of mixed substrates and the inhibition of the free ammonia nitrogen (FAN). The kinetic parameters indicated that *E. aerogenes* degraded AM and COD at higher rates than mixed culture bacteria. The FAN from the AM biodegradation increased both heterotrophic and autotrophic nitrification rates at the AM concentrations of 100-300 mg AM/L. At higher AM concentrations, the FAN accumulated in the SBR system inhibited the autotrophic nitrification of mixed culture bacteria. The accumulation of intracellular polyphosphate caused the heterotrophic nitrification of *E. aerogenes* to follow the first-order approximation.

Keywords: Acrylamide biodegradation, Ammonia inhibition, Biodegradation kinetics, *Enterobacter aerogenes*

1. Introduction

Acrylamide (AM, C₃H₅NO) monomer is a chemical compound that is used for synthesizing various polymers such as polyacrylamides (PAMs), which have been used widely as flocculants for water and sewage treatments, adhesives, and others. However, it has been documented that AM is a neurotoxicant, carcinogen, and hazardous substance, causing irritation and toxicity in human. Thus, the AM concentration is limited to 0.05% (w/w) in the commercial PAMs, and the PAMs application dosage of less than 1.0 mg/L is only allowed [1]. The production and application of AM such as in the production of PAMs could contaminate the environment [1-2]. Due to its adverse effects, the contamination of AM in the wastewater must be eliminated. Most of the previous

studies have focused on microbial isolation and AM biodegradation with pure culture of bacteria in the laboratory including *Arthrobacter* sp., *Nocardia* sp., *Bacillus* sp., *Xanthomonas* sp., *Rhodopseudomonas* sp., *Rastonia* sp., *Geobacillus* sp., *Pseudomonas* sp., and *Rhodococcus* sp. [2-4]. Recently, *Enterobacter aerogenes* (*E. aerogenes*) was reported as a bacterium with high capability to biodegrade AM in the culture media at a concentration as high as 5,000 mg AM/L [5]. *E. aerogenes*, formerly known as *Aerobacter aerogenes* [6], is a facultative and mesophilic bacterium [7] and is capable to heterotrophically nitrify ammonium nitrogen under aerobic condition [8]. Jangkorn et al. [9] conducted the experiments to compare AM biodegradations of *E. aerogenes*, mixed culture bacteria, and a mixture of both bacteria in the biological wastewater treatment sequencing batch reactor (SBR)



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2019 Korean Society of Environmental Engineers

Received May 30, 2018 Accepted August 7, 2018

† Corresponding author

Email: sriwiri@buu.ac.th

Tel: +66-3810-3352

ORCID: 0000-0001-7348-6847

systems operating at the solids retention time (SRT) of 10 d and hydraulic retention time (HRT) of 24 h. It was found that *E. aerogenes*, which was reported to biodegrade the AM substantially in the laboratory [5], did not biodegrade AM efficiently in the SBR wastewater treatment systems.

With amidase as a catalyst of the deamination reaction for the AM biodegradation, both ammonia nitrogen and acrylic acid (AA) as the biodegradation products were produced [2-4]. Both AA and ammonia would potentially contribute organic matter and nitrogen to the wastewater, respectively; therefore, carbon oxidation of AA and nitrification would be required to meet the effluent standards. Jangkorn *et al.* [9] found that both ammonia and AA were considerably accumulated in the SBR activated sludge (AS) treatment systems containing *E. aerogenes* and mixed culture bacteria under aerobic condition. They also reported that ammonia inhibited the AM biodegradation and nitrification in the SBR systems. These findings suggest that AM and its biodegradation products are possible to interfere with the carbon removal and nitrification in the biological wastewater treatment process.

The knowledge of kinetics is essential to evaluate the biological degradation of substrates in the biological wastewater treatment system. The kinetics of hydrolyzed polyacrylamide (HPAM) biodegradation, carried out in the batch experiments containing different initial HPAM concentrations and both *Bacillus cereus* and *Bacillus sp.* obtained from a sequencing batch biofilm reactor (SBBR) under the aerobic condition, revealed that the maximum HPAM biodegradation rate (V_{max}) and Michaelis-Menten constant (K_m) were 16.4 mg/L-day and 579 mg HPAM/L, respectively [10]. However, the kinetics could not be applied to the AM biodegradation due to differences in microorganisms, substrate types and concentrations, and biological wastewater treatment systems. The kinetics of AM biodegradation under aerobic condition by the mixed culture bacteria and *E. aerogenes* in the biological wastewater treatment systems have not yet been reported. In addition, the effects of AM on the chemical oxygen demand (COD) removal and nitrification kinetics as a result of the AM biodegradation have not been addressed. This study reported the effects of AM on the COD removal and nitrification kinetics of both mixed culture bacteria and *E. aerogenes* in the SBR systems.

2. Materials and Methods

2.1. Experimental Data of AM Biodegradation Studies in SBR Systems

Substrate removal data from the AM biodegradation studies during the reacting periods of the SBR systems [9] were used to evaluate the COD removal and nitrification kinetics, the AM biodegradation kinetics, and effects of AM on the both COD removal and nitrification kinetics. Two SBR biological wastewater treatment systems containing mixed culture bacteria and *E. aerogenes* called as AM-1 and AM-2 were used for degrading AM in the synthetic wastewater containing organic matters indicated as total chemical oxygen demand (TCOD) of about 400 mg COD/L, ammonium nitrogen of about 43.5 mg N/L, and phosphorus of about 7-8

mg P/L [9]. *E. aerogenes* was isolated and cultured from the Department of Biochemistry (Burapha University, Thailand) and mixed culture bacteria was taken from a pilot-scale Modified Ludzack-Ettinger (MLE) wastewater treatment system running in the Department of Chemical Engineering (Burapha University) for biological nitrogen removal. AM was fed to the AM-1 and AM-2 systems at the concentrations of 100, 200, 300, and 400 mg AM/L along with other carbon sources to obtain the TCOD of 400 mg COD/L during the first, second, third, and fourth weeks of experiments, respectively. AM was used as a sole carbon source during the AM feeding concentration of 400 mg AM/L. The total nitrogen of synthetic wastewater containing both AM and ammonium nitrogen was not measured in this study, but could be calculated from the stoichiometric relationship between AM and ammonia. According to the stoichiometric molar ratio of AM to ammonia (1:1), complete AM biodegradation could contribute nitrogen in the wastewater at the concentrations of 19.7 [(100 mg AM/L / 71.08 mg AM/mole) \times 14 mg N/mole], 39.4, 59.1, and 78.7 mg N/L when AM was added the concentrations of 100, 200, 300, and 400 mg AM/L, respectively. Other two SBR systems referred to as Control-1 and Control-2 systems containing mixed culture bacteria and *E. aerogenes*, respectively, were used as the control systems, feeding with only synthetic wastewater without any AM substitution. Each SBR system, with a working volume of 3.0 L, was operated with two cycles per day at the nominal HRT of 24 h, the operating SRT of 10 d, and the temperature of about 28°C. Upon achieving the quasi-steady state conditions, the biomass concentrations in the Control-1, Control-2, AM-1, and AM-2 systems were about $2,648 \pm 172$, 266 ± 8 , $2,663 \pm 139$, and 295 ± 30 mg VSS/L, respectively.

2.2. Determination of Kinetic Parameters

Several mathematical expressions are available including first-order, Monod growth, co-metabolisms, second-order, and Michaelis-Menten kinetics to describe the kinetics of biodegradation in aquatic environment [11]. However, the Monod model is widely used for a single bacterial species growing on a single limiting substrate resulting in the microbial growth. When substrate concentration (S) is several times greater than the half saturation coefficient (K_s), the Monod equation is simplified to the zero-order rate expression. However, when the substrate concentration is much less than the K_s , the biodegradation rate can be approximated by the first-order equation. In the wastewater treatment practices, wastewater typically contains a mixture of several organic substrates and is measured as the nonspecific substrate parameter such as COD or BOD. Monod model is still applicable to evaluating the biodegradation kinetics of nonspecific substrate parameters for the mixed culture bacteria [12]. Alexander [13] proposed the integrated Monod equations consisting of six biodegradation kinetic models; among them, three biodegradation models are used for non-growing microorganisms including zero-order, first-order, and Monod (no growth) models as shown in Eq. (1)-(3), respectively. Monod kinetic model for non-growing microorganisms was appropriate for this study because the SBR systems were controlled at the SRT of 10 d; thus, approximate constant biomass concentrations were obtained. It is known that

the net daily sludge production or bacterial growth is limited to about the one tenth of total biomass because of the controlled operating SRT of 10 d.

$$dS/dt = -k_2 \quad (1)$$

$$dS/dt = -k_1 \cdot S \quad (2)$$

$$dS/dt = -k_2 \cdot S / (K_s + S) \quad (3)$$

The k_2 in both Eq. (1) and (3) is the zero-order rate constant and maximum biodegradation rate constant with a unit of mg/L-h. In Eq. (2), k_1 is the first-order rate constant with a unit of h^{-1} .

Microsoft Excel with linear regression analysis was used to analyze for the zero-order and first-order kinetic models and the fitness was indicated by the coefficient of determination or R-squared (R^2) value. The graphical plots of substrate concentration versus time and the natural logarithm of substrate concentration versus time according to the integral forms of zero-order and first-order approximations as listed in Eq. (4)-(5), respectively, were used to evaluate the zero-order and first-order kinetics, respectively.

$$S = S_0 - k_2 \cdot t \quad (4)$$

$$S = S_0 \exp(-k_1 \cdot t) \quad (5)$$

In Eq. (4) and (5), S_0 is the initial substrate concentration (mg/L).

The Monod kinetic parameters of K_s and k_2 according to Eq. (3) were estimated by the parameter estimation method of a computer software AQUASIM with the version of 2.1 g [14], which is widely used simulation and identification of aquatic system. The secant method of AQUASIM estimated the k_2 and K_s by minimizing the Chi-square (χ^2) value, which is the sum of the squares of the weighted deviations between each experimental data point and the corresponding model prediction. The χ^2 was used as a value to indicate the goodness of fit in AQUASIM. The substrate concentrations predicted at different time from estimated parameters were compared with the experimental substrate concentrations. The accuracy of prediction was indicated by the R^2 -square value.

3. Results and Discussion

3.1. Nitrification and COD Removal in Control SBR Systems

The experimental results at the quasi-steady state conditions from Jangkorn et al. [9] revealed that the autotrophic nitrification in the Control-1 system was almost completed at the removal efficiency of $98.4 \pm 0.6\%$ as the results of existing nitrifiers at the SRT of 10 d and operating at the relative high temperature of about 28°C . *E. aerogenes* in the Control-2 system nitrified heterotrophically ammonium nitrogen at the removal efficiency of $65.8 \pm 26.5\%$. The heterotrophic nitrification is typically conducted by heterotrophic bacteria; however, energy for ATP production

could not be conserved for cell growth [15]. However, a large variation of ammonium concentrations in the Control-2 system was found; therefore, the quasi-steady state conditions with respect to the nitrification could not be achieved. Nitrification in the Control-2 system reduced significantly during the third and fourth weeks of experiments. It was presumed that less energy was available for heterotrophic nitrification due to the accumulation of inorganic polyphosphate in the cells of *E. aerogenes*. Harold [16] reported that the accumulation of inorganic phosphate was resulted from the competition between polyphosphate and nucleic acid pools for intracellular phosphorus in non-growing cells. Jangkorn et al. [9] explained that the growth of *E. aerogenes* in the Control-2 system was limited as a result of operating SRT of 10 d; thus, only one-tenth of total biomass was replaced each day with the new growth. Limited growth conditions of *E. aerogenes* possibly resulted in the accumulation of intracellular polyphosphate granules. The experimental results also indicated that both Control-1 and Control-2 systems had approximately the same COD removal efficiencies of 81.1 ± 0.9 and $79.3 \pm 1.6\%$, respectively.

3.1.1. Kinetics of nitrification

Both k_2 and K_s Monod kinetic parameters including Chi-squared and R-squared values were obtained from the parameter estimation of AQUASIM and are listed in Table 1. It was found that the k_2 of 16.8 mg N/L-h and K_s of 33.2 mg N/L were obtained with the R^2 of 0.999 for the autotrophic nitrification of mixed culture bacteria in the Control-1 system. The maximum specific nitrification rate of mixed culture bacteria, calculated by dividing k_2 by the biomass concentration, was 0.15 mg N/mg VSS-day. The K_s was significantly higher than the typical values of half saturation coefficient (less than 1.0 mg N/L) [17]. It was reported that the K_s of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) could be in the range of 1-100 mg N/L, depending on the dominant group of microorganisms in the system [18]. However, the phylogenetic group of the mixed culture bacteria has not been identified in this study.

Table 1 indicates that the k_2 of *E. aerogenes* in the Control-2 system was approximately the same as the mixed culture bacteria. However, the maximum specific nitrification rate of *E. aerogenes* was 1.53 mg N/mg VSS-day, suggesting that *E. aerogenes* nitrified at a higher rate than mixed culture bacteria. Furthermore, the K_s of *E. aerogenes* was much higher than the mixed culture bacteria, indicating that *E. aerogenes* has low affinity for heterotrophic nitrification [19]. It could be implied that the first-order reaction should provide the best goodness of fit for heterotrophic nitrification in the Control-2 system. The first-order reaction rate calculated from the slope of the linear regression of natural logarithm transformed ammonium concentrations values over time was $0.099 h^{-1}$ with R^2 value of 0.988. It appears that the ammonium concentrations were best fitted with the first-order reaction. As reported by the experimental results that the quasi-steady state condition with respect to the nitrification in the Control-2 system was not achieved due to the accumulation of intracellular polyphosphate granules. Further biodegradation kinetic evaluations for each week of experiments in the Control-2 system with Monod (no-growth) and first-order kinetics as listed in Table 2 reveal

Table 1. Monod (no-growth) Kinetic Models for Nitrification and COD Removal of Control-1 and Control-2 Systems

Reactions	SBR System	Parameter	Value	R ²	Chi-squared (χ^2)
Nitrification	Control-1	k ₂	16.8	0.999	27.0
		K _S	33.2		
	Control-2	k ₂	16.9	0.998	7.3
		K _S	142.6		
COD	Control-1	k ₂	71.6	0.996	14.4
		K _S	230.3		
	Control-2	k ₂	84.4	0.996	22.8
		K _S	324.7		

Table 2. Monod No-growth, Zero-, and First-order Kinetic Models for Nitrification in the Control-2 System during Each Week of Experiments

Types	Week No.	Parameter	Value	R ²	Chi-squared (χ^2)	
Monod (no-growth)	1	k ₂	5.3	0.999	2.5	
		K _S	8.6			
	2	k ₂	8.9	0.996	17.5	
		K _S	23.3			
	3	*	-	-	-	
	4	*	-	-	-	
	First-order	1		0.18	0.968	-
		2		0.20	0.977	-
3		k ₁	0.08	0.966	-	
4			0.03	0.944	-	

* indicates unidentified kinetic parameters.

that the Monod (no-growth) model kinetic parameters could be identified only during the first two weeks of experiments. Subsequently, it appears that the K_S increased considerably with time from the simulations during the last two weeks of experiments, suggesting that the affinity of *E. aerogenes* for the ammonium decreased significantly with time due to the accumulation of polyphosphate granules in the cells and less energy was available for heterotrophic nitrification. The first-order approximation is better for the kinetic model. The heterotrophic nitrification during the last two weeks was inhibited as shown by the decrease of first-order rates as shown in Table 2.

3.1.2. Kinetics of COD removal

Table 1 reveals that the K_S values of Monod kinetic model for the COD removal in the Control-1 and Control-2 systems were significantly high. It is noted that the unit of K_S for COD removal is mg COD/L and is typically high [20]. Furthermore, the influent COD concentration of 400 mg COD/L was not significantly greater and lesser than the K_S; thus, the Monod model was best to describe the kinetics of COD removal in the Control-1 and Control-2 systems. It is notable that *E. aerogenes* was capable to degrade the organic matters at a slightly higher k₂ than the mixed culture bacteria although the concentration of *E. aerogenes* (~ 266 mg VSS/L) was considerably less than the concentration of mixed culture bacteria (~ 2,648 mg VSS/L). The maximum specific COD biodegradation rates of mixed culture bacteria and *E. aerogenes*

were 0.65 and 7.62 mg COD/mg VSS-day, respectively. It is suggested that *E. aerogenes* degraded COD at a higher rate than the mixed culture bacteria. However, the K_S values in Table 1 indicate that *E. aerogenes* had lower affinity for the synthetic wastewater than the mixed culture bacteria from the Control-2 system.

3.2. Kinetics of Nitrification, AM and COD Removals in Experimental SBR Systems

Jangkorn et al. [9] reported that both AM-1 and AM-2 SBR systems completely removed the AM only at the dosages of 100 and 200 mg AM/L. However, the COD removal efficiencies in the AM-1 system decreased considerably after the AM addition as compared with the Control-1 system because amidase was required for mixed culture bacteria to degrade AM. The efficiencies subsequently increased with time in the AM-1 system after mixed culture bacteria were acclimatized with AM. As the AM concentrations increased to 300 and 400 mg AM/L, the AM removal efficiencies decreased considerably due to the inhibition of the free ammonia nitrogen (FAN). The FAN as one of the AM biodegradation products was accumulated in the SBR systems due to the failures of autotrophic and heterotrophic nitrifications in the AM-1 and AM-2 systems, respectively. The FAN also inhibited autotrophic nitrification of mixed culture bacteria. The accumulation of intracellular polyphosphate inhibited the heterotrophic nitrification of *E. aerogenes*. The FAN was reported as an inhibitor of amidase [21].

Table 3. Parameters of Monod No-growth Model for Acrylamide and COD Removals in the AM-1 and AM-2 Systems

System	A	Acrylamide				COD			
		B	Value	R ²	χ^2	B	Value	R ²	χ^2
AM-1	100	k ₂	25.9	1.000	28.5	*	-	-	-
		K _S	23.4						
	200	k ₂	40.8	1.000	150.2	k ₂	43.9	1.000	19.1
		K _S	34.9			K _S	68.4		
300	*	-	-	-	*	-	-	-	
400	*	-	-	-	*	-	-	-	
AM-2	100	k ₂	30.9	1.000	4.1	*	-	-	-
		K _S	28.4						
	200	k ₂	49.6	1.000	100.2	*	-	-	-
		K _S	50.3						
300	*	-	-	-	*	-	-	-	
400	*	-	-	-	*	-	-	-	

* indicates unidentified kinetic parameters; A is acrylamide concentration (mg AM/L); B is Monod kinetic parameters.

3.2.1. Kinetics of AM biodegradation

It can be seen from Table 3 that the AM biodegradations of mixed culture bacteria and *E. aerogenes* followed the Monod no-growth model at the AM concentrations of 100 and 200 mg AM/L. From the Monod kinetic parameters in Table 3, it was found that the maximum AM biodegradation rate (k_2) and half saturation coefficient (K_S) of *E. aerogenes* were higher than the mixed culture bacteria. The maximum specific AM biodegradation rates of mixed culture bacteria and *E. aerogenes* were 0.23 and 2.51 mg AM/mg VSS-day, respectively, at the AM feeding concentration of 100 mg AM/L. At the AM concentration of 200 mg AM/L, the maximum specific AM biodegradation rates of mixed culture bacteria and *E. aerogenes* increased to 0.37 and 4.04 mg AM/mg VSS-day, respectively. It appears that *E. aerogenes* degraded AM at a greater rate than mixed culture bacteria. Furthermore, *E. aerogenes* had less affinity for AM than mixed culture bacteria, suggesting a binding strength between amidase and AM of mixed culture bacteria was greater than *E. aerogenes*. Furthermore, both k_2 and K_S parameters in both AM-1 and AM-2 systems increased as the AM concentrations increased in the wastewater from 100 to 200 mg AM/L; in other words, the fraction of AM to other carbon sources increased in the synthetic wastewater. Subsequent addition of AM at higher dosages, the Monod no-growth kinetic parameters could not be identified in the AM-1 and AM-2 systems at the AM feeding concentrations of 300 and 400 mg AM/L. To compare the Monod kinetic parameters between different AM concentrations, the initial AM concentrations during the AM feeding concentrations of 300 and 400 mg AM/L were used as upper constraints for the parameter estimations of AQUASIM. It was found that the K_S values of all SBR systems were equal to the upper constraint concentrations used during the estimations. Fig. 1 summarizes the changes of Monod kinetic parameters (K_S and k_2) and the ammonium concentrations obtained at the end of reacting period of 10 h with different AM feeding concentrations. The results of parameter estimation as shown in Fig.1 indicate

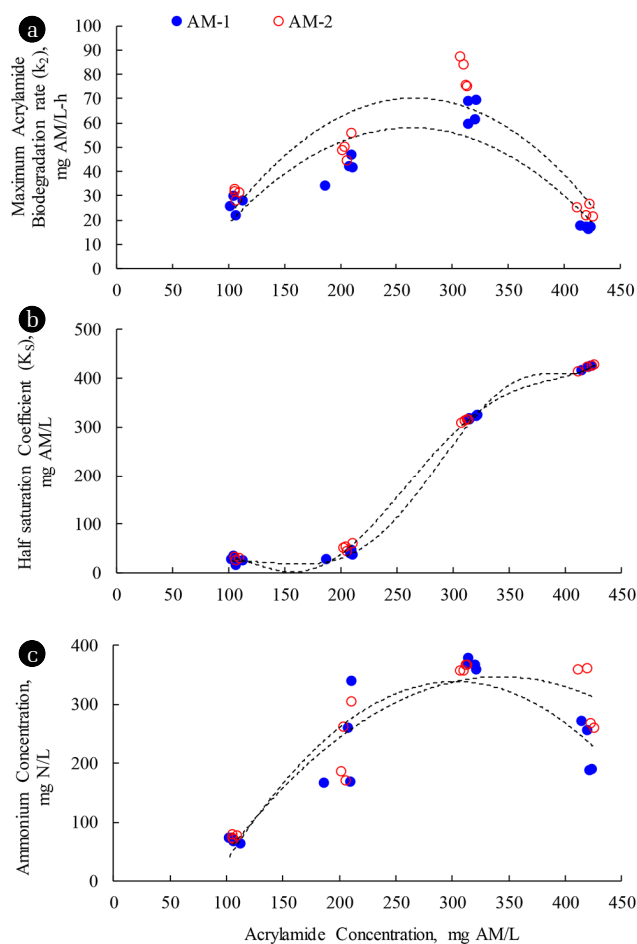


Fig. 1. Changes of (a) k_2 and (b) K_S Monod kinetic parameters and (c) ammonium concentrations at the end reacting period with different acrylamide concentrations.

that both k_2 and K_S increased with the AM concentrations in all SBR systems during the AM feeding concentrations of 100-300 mg AM/L. It possibly explains that the addition of AA from the AM biodegradation into the wastewater produced a more complex nature of mixed substrates, which the microbes had low affinity (high K_S) with these mixed substrates [19]. Furthermore, when the proportion of AM increased in the synthetic wastewater, the amount of amidase increased accordingly so higher values of k_2 for AM utilization were achieved. However, when AM was fed at the concentration of 400 mg AM/L in the AM-1 and AM-2 systems, the K_S tremendously increased with the significant decreases of k_2 , suggesting that the AM biodegradation was inhibited.

The experimental results revealed that the ammonium considerably accumulated during the AM feeding concentration of 300 mg AM/L in the AM-1 and AM-2 systems, resulting in the FAN remaining in the systems. It was explained from the experiments that the small fraction of the FAN in the solutions reduced the affinity of microorganisms for AM. It is unlikely that the AM biodegradation was inhibited due to the toxicity of AM as substrate inhibition. It was evident from the batch studies [9] that both the mixed culture bacteria and *E. aerogenes* without AM acclimatization could remove AM at the removal efficiencies of 65.2 and 73.7%, respectively, at the AM concentration of 400 mg AM/L without any other carbon sources. Also, it was reported that *E. aerogenes* could be cultured in the media with the AM concentration of 5,000 mg AM/L without any inhibition [5]. However, the accumulation of ammonium has not been reported in any AM biodegradation studies in the culture media. For the parameter estimations of both k_2 and K_S during the AM feeding concentrations of 300 and 400 mg AM/L, Table 3 indicates that both parameters could not be identified because K_S increased tremendously. It suggests that the AM biodegradation rate approaches the first-order approximation.

The first-order approximations by the linear regressions of graphical plots between AM concentrations and time for the AM biodegradations of AM-1 and AM-2 systems feeding with different AM feeding concentrations of 100, 200, 300 and 400 mg AM/L were evaluated and are illustrated in Fig. 2(a) and 3(a), respectively. The graphical plots of first-order approximation for the AM biodegradation at the AM concentrations of 100 and 200 mg AM/L reveal the failures of fitting data points to the linear lines. The concave-down profile between natural logarithm of concentration and time generally indicates that the Monod kinetics was applied. As listed in Table 3 at the AM feeding concentrations of 300 and 400 mg AM/L, the Monod kinetic parameters could not be identified and the first-order reaction was suggested for the AM biodegradation as the K_S increased considerably due to the FAN inhibition. The first-order rates for AM biodegradation at the AM feeding concentrations of 100, 200, 300, and 400 mg AM/L of the AM-1 and AM-2 systems could be obtained from the slopes of straight lines in Fig. 2(a) and 3(a), respectively. It is noted that the R^2 values of lower than 0.90 were obtained from the first-order approximations of AM-1 and AM-2 systems at the AM concentration of 400 mg AM/L because the linear lines were approaching horizontal level, indicating that very low biodegradation was obtained. The data points lied exactly on the linear lines. Furthermore, it is confirmed that the FAN inhibited the AM biodegradation because the first-order

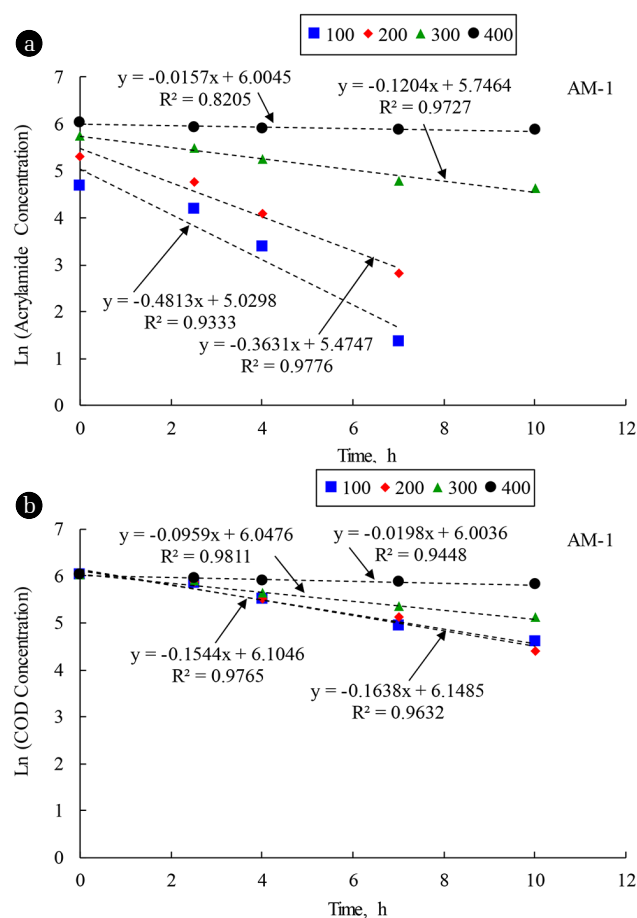


Fig. 2. Natural logarithm of concentration versus time of first-order reactions for (a) acrylamide and (b) COD removals in the AM-1 system at the acrylamide concentrations of 100, 200, 300, and 400 mg AM/L.

rates decreased significantly as the AM concentration increased in the synthetic wastewater more than 200 mg AM/L in the AM-1 and AM-2 systems.

In summary, Monod no-growth model could describe the kinetics of AM biodegradation by mixed culture bacteria and *E. aerogenes* at low AM concentrations of 100 and 200 mg AM/L. Higher AM in the synthetic wastewater resulted in the transformation of kinetic model from the Monod no-growth model to first-order approximation due to the FAN inhibition. The kinetic evaluations of first-order approximation for AM biodegradation indicate that *E. aerogenes* was superior to the mixed culture bacteria for the AM biodegradation.

3.2.2. Effects of AM on the kinetics of COD removal

The kinetics of COD removal by different microorganisms were evaluated at different fractions of AM in the synthetic wastewater. The results of Monod kinetic parameter estimations are listed in Table 3. For the AM-1 system containing mixed culture bacteria, it indicates that Monod kinetic parameters at the AM feeding concentration of 100 mg AM/L could not be identified because the K_S was considerably high, indicating very low affinity of mixed

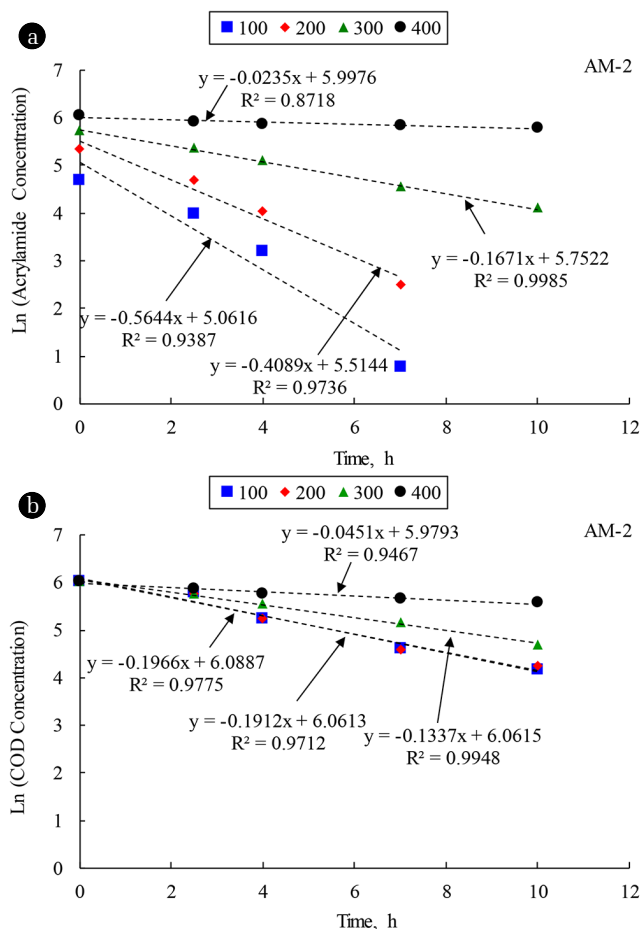


Fig. 3. Natural logarithm of concentration versus time of first-order reactions for (a) acrylamide and (b) COD removals in the AM-2 system at the acrylamide concentrations of 100, 200, 300, and 400 mg AM/L.

culture bacteria for COD as a result of AM addition. It was found from the experimental results [9] that the COD removal efficiencies increased with time because the acclimatization of mixed culture bacteria to the AM addition was required. Amidase was required for the mixed culture bacteria to biodegrade the AM. After the mixed culture bacteria was acclimatized with AM, the COD removal kinetics could be best described by the Monod no-growth model during the AM feeding concentration of 200 mg AM/L ($k_2 = 43.9$ mg COD/L-h, $K_S = 68.4$ mg COD/L). Significant reductions of both k_2 and K_S were obtained as compared with the Monod kinetic parameters for the COD removal in the Control-1 system ($k_2 = 71.6$ mg COD/L-h, $K_S = 230.3$ mg COD/L). It appears that the ability of mixed culture bacteria to scavenge the COD was improved as indicated by the reductions of both K_S and k_2 [19]. However, when the AM concentrations increased in the synthetic wastewater to 300 and 400 mg AM/L, respectively, the substrate affinity of the mixed culture bacteria decreased significantly again. It explains that the additions of both AM and AA from the AM biodegradation in the wastewater at higher loadings, creating a different composition of mixed substrates, reduced

the affinity of mixed culture bacteria for the mixed substrates. In addition, the FAN began to inhibit the AM biodegradation at the AM concentration of 400 mg AM/L. The Monod kinetic parameters could not be identified, indicating that the first-order model was best described for the COD removal in the AM-1 system.

In contrast to the AM-1 system, the substrate affinity of *E. aerogenes* for COD decreased suddenly as both AM and AA increased in the synthetic wastewater. It means that there were some changes in the physiological states of *E. aerogenes* cells when the AM and AA increased in the synthetic wastewater [19]. As the AM concentration increased incrementally to 400 mg AM/L, the K_S increased considerably, resulting in the transformation of Monod kinetic model to the first-order model as the effects of FAN inhibition began to inhibit the AM biodegradation.

The first-order approximations of the COD removal in the AM-1 and AM-2 systems were evaluated from the slopes of straight lines in Fig. 2(b) and 3(b), respectively. It was found that the COD removal rates were much lower than the AM biodegradation rates because the COD is a non-specific parameters to represent the mixed substrates in the synthetic wastewater. The first-order rates also indicate that *E. aerogenes* could remove the COD at faster rate than the mixed culture bacteria as a result of less interactions among microorganisms in the pure culture.

3.2.3. Effects of AM on the nitrification kinetics

The experimental results revealed that ammonium was accumulated in both AM-1 and AM-2 systems due to the AM biodegradation [9]; thereby, nitrification kinetics could not be determined because both nitrification and ammonium production occurred simultaneously. To evaluate the effects of AM loadings on the nitrification kinetics indirectly, Jangkorn et al. [9] proposed to employ the nitrate production rates to represent the heterotrophic and autotrophic nitrifications of *E. aerogenes* and mixed culture bacteria, respectively. It is noted that the studies were conducted in purely aerobic systems so that denitrification was negligible and nitrite and nitrate were remained constant in the solution. They found that the nitrate and nitrite productions of both mixed culture bacteria and *E. aerogenes* followed the zero-order kinetics as indicated by the average R^2 value of 0.97.

Table 4 lists the zero-order nitrite and nitrate production rates of both mixed culture bacteria in the Control-1 and AM-1 systems and *E. aerogenes* in the Control-2 and AM-2 systems. It could be interpreted from the nitrite and nitrate production rates in Table 4 that the nitrification rates in the AM-1 and AM-2 systems were greater than the nitrifications in the Control-1 and Control-2 systems. It explains that both microbes increased ammonium in the solution from the AM biodegradation, increasing the nitrification rates of both bacteria as compared with the control systems. However, when the AM concentrations increased from 100 mg N/L to 300 mg N/L, the ammonium nitrogen concentration increased dramatically, but the nitrite and nitrate production rates of the mixed culture bacteria in the AM-1 system decreased gradually. In contrast, the nitrate production rates of *E. aerogenes* in the AM-2 system increased. It was explained by Jangkorn et al. [9] that nitrification in the AM-1 system was inhibited by the FAN, but heterotrophic nitrification of *E. aerogenes* in the AM-2 system was not affected by this inhibitor. At the AM concentration

Table 4. Average Zero-order Nitrite and Nitrate Production Rates in the AM-1 and AM-2 Systems

Substance	AM Concentration (mg AM/L)	Control-1 (mg N/L-h)	AM-1 (mg N/L-h)	Control-2 (mg N/L-h)	AM-2 (mg N/L-h)
Nitrate	100	1.09 (0.968)	1.44 (0.931)	0.57 (0.993)	1.41 (0.976)
	200		1.23 (0.982)		1.76 (0.976)
	300		1.32 (0.985)		1.63 (0.978)
	400		0.57 (0.924)		0.40 (0.955)
Nitrite	100	0.16 (0.941)	0.58 (0.988)	0.20 (0.907)	0.70 (0.969)
	200		0.42 (0.987)		0.43 (0.941)
	300		0.29 (0.973)		0.44 (0.931)
	400		0.23 (0.975)		0.28 (0.970)

Number in the parenthesis is the R² values

of 400 mg AM/L, both AM biodegradation and autotrophic nitrification were inhibited by the FAN, reducing the nitrification rates in the AM-1 system. The accumulation of intracellular polyphosphate of *E. aerogenes* reduced the nitrite and nitrate production rates in the AM-2 system.

4. Conclusions

Three biodegradation models including Monod no-growth, zero-order and first-order kinetic models were employed to evaluate the effects of AM loadings on the AM and COD removals and nitrification kinetics of the mixed culture bacteria and *E. aerogenes* in the biological wastewater treatment systems. The nitrification, AM biodegradation, and COD removal of both mixed culture bacteria and *E. aerogenes* were best described by the Monod kinetic model. The first-order expression was selected for the heterotrophic nitrification of *E. aerogenes* with the accumulation of intracellular polyphosphate granules. The transformation of Monod kinetics for AM and COD removals to the first-order kinetics due to the FAN inhibition occurred at high AM concentration 400 mg AM/L. The kinetics indicated that *E. aerogenes* biodegraded the AM and COD at higher rate than the mixed culture bacteria. At the AM concentrations of 100-300 mg AM/L, both heterotrophic and autotrophic nitrification rates increased due to the addition of ammonia from the AM biodegradation. At higher AM loading, the FAN inhibited the autotrophic nitrification and reduced the nitrification rates. On the other hand, the accumulation of intracellular polyphosphate reduced the heterotrophic nitrification rates.

Acknowledgments

The authors are grateful for all financial supports from the Research Funds of Burapha University through National Research Council of Thailand [grant number 122/2558] to Tongchai Sriwiriyarat and the Office of the Higher Education Commission (OHEC), Ministry of Education, Thailand through a Ph.D. scholarship to Romsan Madmanang.

References

1. US EPA. Toxicological review of acrylamide. Washington D.C.: U.S. Environmental Protection Agency; 2010. p. 5.
2. Charoenpanich J. Removal of acrylamide by microorganisms. In: Patil YB, Rao P, eds. Applied bioremediation-active and passive approaches. Croatia: InTech Open Science Online Publishers; 2013. p. 101-121.
3. Prabu CS, Thatheyus AJ. Biodegradation of acrylamide employing free and immobilized cells of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int. Biodeter. Biodegr.* 2007;60:69-73.
4. Shanker R, Ramakrishna C, Seth PK. Microbial degradation of acrylamide monomer. *Arch. Microbiol.* 1990;154:192-198.
5. Buranasilp K, Charoenpanich J. Biodegradation of acrylamide by *Enterobacter aerogenes* isolated from wastewater in Thailand. *J. Environ. Sci.-China.* 2011;23:396-403.
6. Hormaeche E, Edwards PR. A proposed genus *Enterobacter*. *Int. Bull. Bacteriol. Nomenclature Taxonomy* 1960;10:71-74.
7. Asadi N, Zilouei H. Optimization of organosolv pretreatment of rice straw for enhanced biohydrogen production using *Enterobacter aerogenes*. *Bioresour. Technol.* 2017;227:335-344.
8. Robertson GP, Groffman PM. Nitrogen transformations. In: Paul EA, ed. Soil microbiology, ecology and biochemistry. Massachusetts: Academic Press; 2007. p. 352.
9. Jangkorn J, Charoenpanich J, Sriwiriyarat T. Comparative study between *Enterobacter aerogenes* and mixed culture bacteria for acrylamide biodegradation in sequencing batch reactor (SBR) wastewater treatment systems. *J. Environ. Eng.* 2018;144: 04017112.
10. Zhao L, Bao M, Yan M, Lu J. Kinetics and thermodynamics of biodegradation of hydrolyzed polyacrylamide under anaerobic and aerobic conditions. *Bioresour. Technol.* 2016;216:95-104.
11. Battersby NS. A review of biodegradation kinetics in the aquatic environment. *Chemosphere* 1990;21:1243-1284.
12. Orhon D, Artan N. Reactor kinetics of microbial processes. In: Orhon D, Artan N, eds. Modelling of activated sludge systems. Pennsylvania: Technomic Publishing; 1994. p. 121-122.
13. Alexander M. Kinetics. In: Alexander M, ed. Biodegradation and bioremediation. California: Academic Press; 1999. p.

- 81-83.
14. Reichert P. AQUASIM – A tool for simulation and data analysis of aquatic systems. *Water Sci. Technol.* 1994;30:21-30.
 15. Lin YM, Tay JH, Liu Y, Hung YT. Biological nitrification and denitrification process. In: Wang LK, Pereira NC, Hung YT, eds. *Biological treatment processes*. New York: Humana Press; 2009. p. 569-570.
 16. Harold FM. Accumulation of inorganic polyphosphate in *Aerobacter aerogenes*. I. Relationship to growth and nucleic acid synthesis. *J. Bacteriol.* 1963;86:216-221.
 17. Henze M, Grady CPL, Gujer W, Marais GVR, Matsuo T. A general model for single sludge wastewater treatment systems. *Water Res.* 1987;21:505-515.
 18. Kayee P, Rongsayamanont C, Kunapongkiti P, Limpiyakorn T. Ammonia half-saturation constants of sludge with different community compositions of ammonia-oxidizing bacteria. *Environ. Eng. Res.* 2016;21:140-144.
 19. Kovárová-Kovar K, Egli T. Growth kinetics of suspended microbial cells: From single-substrate-controlled growth to mixed-substrate kinetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1998;62:646-666.
 20. van Niel EWJ, Arts PAM, Wesselink BJ, Robertson LA, Kuenen JG. Competition between heterotrophic and autotrophic nitrifiers for ammonia in chemostat cultures. *FEMS Microbiol. Ecol.* 1993;102:109-118.
 21. Schomburg D, Salzmänn M. Amidase. In: Schomburg D, Salzmänn M, eds. *Enzyme handbook 4, class 3: hydrolases*. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH; 1991. p. 667-671.