การบำบัดน้ำอัดลมหมดอายุด้วยจุลินทรีย์คัดแยกและหัวเชื้ออีเอ็ม

Treatment of Expired Carbonated Soft Drink by Isolated Microorganisms and Effective Microoganisms

พิชามญช์ โป๊ะบุญชื่น

Pichamon Poboonchern

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Environmental Management Prince of Songkla University

2552

ว 2552 ฉ.1
สาขาหมู่ TP630 W62 ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
51ว958
18 S.A. 25521

ชื่อวิทยานิพนธ์ การบำบัดน้ำอัดลมหมดอายุด้วยจุลินทรีย์คัดแยกและหัวเชื้ออีเอ็ม
ผู้เขียน นางสาวพิชามญช์ โป๊ะบุญชื่น
สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....ธันวดี เตชะภัททวรกุล.....
(ดร.ธันวดี เตชะภัททวรกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....ดวงพร คันธโชติ.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร คันธโชติ)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิทย์ สุวรรณโณ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นุกูล อินทระสังขา)

.....ธันวดี เตชะภัททวรกุล.....กรรมการ
(ดร.ธันวดี เตชะภัททวรกุล)

.....ดวงพร คันธโชติ.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร คันธโชติ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	การบำบัดน้ำอัดลมหมดอายุด้วยจุลินทรีย์คัดแยกและหัวเชื้ออีเอ็ม
ผู้เขียน	นางสาวพิชามญช์ โป๊ะบุญชื่น
สาขาวิชา	การจัดการสิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา	2552

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการบำบัดน้ำอัดลมหมดอายุซึ่งเป็นของเสียจากกระบวนการผลิตน้ำอัดลมที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลในปริมาณสูงโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดเบื้องต้นสำหรับน้ำอัดลมหมดอายุด้วยจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากถังบำบัดน้ำอัดลมหมดอายุขั้นต้นของบริษัทผู้ผลิตและน้ำหมักอีเอ็ม โดยจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้มีจำนวนทั้งหมด 29 สายพันธุ์ ประกอบด้วยแบคทีเรีย (B) 10 สายพันธุ์ ยีสต์ (Y) 15 สายพันธุ์ เชื้อรา (F) 2 สายพันธุ์ และแอคติโนมัยสีท (A) 2 สายพันธุ์ ผลจากการคัดเลือกโดยพิจารณาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ของจุลินทรีย์แต่ละกลุ่ม พบว่า แบคทีเรียที่มีค่า μ_{max} สูงสุดคือ B_6 มีค่าเท่ากับ 0.025 ต่อนาที สำหรับยีสต์ที่มีค่า μ_{max} สูงสุดคือ Y_{14} มีค่าเท่ากับ 0.692 ต่อชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ภายในกลุ่มเดียวกัน และทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ในขั้นที่ 2 โดยพิจารณาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำตาล พบว่า แบคทีเรีย B_6 และยีสต์ Y_{14} สามารถกำจัดปริมาณน้ำตาลในน้ำอัดลมหมดอายุได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำตาลเท่ากับ 66.27 ± 1.04 และ 69.90 ± 0.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจากการพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรีย B_6 และยีสต์ Y_{14} โดยใช้ลำดับเบสของ 16s rRNA gene และ 26s rRNA gene ประมาณ 500 เบสในการเปรียบเทียบ พบว่า B_6 คือ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis serovar israelensis* และ Y_{14} คือยีสต์ *Pichia galeiformis partial* จากนั้นศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำตาลของจุลินทรีย์คัดแยก พบว่า การเลี้ยงยีสต์ Y_{14} และเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรีย B_6 กับยีสต์ Y_{14} (ผสมในอัตราส่วน 1:1) ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำอัดลมหมดอายุที่มีการเติม $(NH_4)_2SO_4$ เท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำตาลสูงสุดเท่ากับ 85.96 ± 0.49 และ 87.02 ± 1.16 เปอร์เซ็นต์ เมื่อปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 4 และ 5 ตามลำดับ ภายใต้สภาวะที่มีการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน

นอกจากนี้ยังได้เตรียมน้ำหมักอีเอ็ม 3 สูตร เพื่อนำมาศึกษาประสิทธิภาพในการ

บำบัดน้ำอัดลมหมดอายุเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์คัดแยก ผลการคัดเลือกสูตรของน้ำหมักอีเอ็มในขั้นที่ 1 โดยพิจารณาจากปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำหมักอีเอ็ม พบว่า น้ำหมักอีเอ็มสูตร 1 ซึ่งใช้กากน้ำตาลเป็นส่วนผสมมีปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างทางสถิติจากน้ำหมักอีเอ็มสูตร 3 ที่เตรียมจากน้ำอัดลมหมดอายุ ($p > 0.05$) และการคัดเลือกน้ำหมักอีเอ็มในขั้นที่ 2 โดยพิจารณาประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำตาล พบว่า น้ำหมักอีเอ็มสูตร 1 มีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำตาลสูงกว่าน้ำหมักสูตร 3 แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยสามารถกำจัดน้ำตาลได้เท่ากับ 77.10 ± 1.91 และ 75.65 ± 1.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการกำจัดน้ำตาลในน้ำอัดลมหมดอายุของน้ำหมักอีเอ็มสูตร 3 พบว่า น้ำหมักอีเอ็มสูตร 3 มีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำตาลสูงสุดเท่ากับ 85.25 ± 2.99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ปริมาณน้ำหมักอีเอ็มเท่ากับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ และเลี้ยงในสภาวะที่เขย่าด้วยความเร็วรอบเท่ากับ 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำอัดลมหมดอายุในระดับห้องปฏิบัติการของยีสต์ Y_{14} เชื้อผสมระหว่างแบคทีเรีย B_6 กับยีสต์ Y_{14} และน้ำหมักอีเอ็มสูตร 3 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อจุลินทรีย์แต่ละกลุ่ม พบว่า น้ำหมักอีเอ็มสูตร 3 มีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำตาล ซีโอดีและบีโอดีสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีประสิทธิภาพเท่ากับ 84.03 ± 0.54 80.16 ± 0.37 และ 84.14 ± 0.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจากการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำอัดลมหมดอายุด้วยน้ำหมักอีเอ็มสูตร 3 ในถังบำบัดขั้นต้นของบริษัทผู้ผลิต พบว่า การเติมน้ำหมักอีเอ็มในถังบำบัดขั้นต้นทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำตาล ซีโอดีและบีโอดีสูงกว่าชุดควบคุม (ไม่เติมน้ำหมักอีเอ็ม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งมีประสิทธิภาพเท่ากับ 44.97 ± 0.42 34.04 ± 0.27 และ 38.73 ± 1.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่มีประสิทธิภาพในการลดค่าความเข้มสีได้เพียงเล็กน้อย

นอกจากนี้ ได้ศึกษาผลพลอยได้ในรูปของเอทานอลที่เกิดขึ้นหลังจากการบำบัดน้ำอัดลมหมดอายุเป็นเวลา 7 วัน พบว่า การบำบัดน้ำอัดลมหมดอายุในระดับห้องปฏิบัติการด้วยยีสต์ Y_{14} ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 4.92 ± 1.14 กรัมต่อลิตร เมื่อมีการปรับค่าพีเอชเริ่มต้นและเติม $(NH_4)_2SO_4$ โดยไม่มีการกวนผสม และการบำบัดน้ำอัดลมหมดอายุในระดับอุตสาหกรรมโดยการเติม น้ำหมักอีเอ็มสูตร 3 ในถังบำบัดขั้นต้น พบว่า มีเอทานอลเกิดขึ้นภายหลังจากการบำบัดมากกว่าชุดควบคุม (ไม่เติมน้ำหมักอีเอ็ม) ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 5.62 ± 0.09 กรัมต่อลิตร

Thesis Title	Treatment of Expired Carbonated Soft Drink by Isolated Microorganisms and Effective Microoganisms
Author	Miss Pichamon Poboonchern
Major Program	Environmental Management
Academic Year	2009

ABSTRACT

This research is to study of expired carbonated soft drink, a waste from carbonated soft drink process which contains high sugar concentration, COD and BOD. The objective of this study was to increase the efficiency of expired carbonated soft drink pretreatment by isolated microorganisms from pretreatment unit of carbonated soft drink manufacturing and effective microorganisms (EM) cultures. The microorganisms isolated consisted of 29 isolates including 10 isolates of bacteria (B), 15 isolates of yeast (Y), 2 isolates of fungi (F) and 2 isolates of actinomyces (A). The result of 1st screening which considered their maximum specific growth rate (μ_{max}) showed bacteria B_6 and yeast Y_{14} had highly μ_{max} than other strains by 0.025 min^{-1} and 0.692 h^{-1}, respectively. Then two strains were tested their sugar biodegradability in 2nd screening. It was found that B_6 and Y_{14} yielded significantly highest efficiencies ($p \leq 0.05$) (66.27 ± 1.04 and 69.90 ± 0.83 %, respectively. Both two isolated strains (B_6 and Y_{14}) were further identified using 16s and 26s rRNA-PCR technique, respectively. The results showed that B_6 and Y_{14} were *Bacillus thuringiensis serovar israelensis* and *Pichia galeiformis partial*, respectively. Afterthat the appropriate condition for their sugar biodegradability were studied. Under optimum conditions, using 5 % inoculum of mixed culture (B_6 mixed with Y_{14} by ratio 1:1) and Y_{14} into expired carbonated soft drink which was added 1 g/L of $(NH_4)_2SO_4$ showed the highest efficiency of sugar biodegradability with 85.96 ± 0.49 and 87.02 ± 1.16 % when adjusted initial pH to be 4 and 5, respectively under agitating condition (100 rpm) for 5 days.

In addition, the EM cultures were also determined their sugar biodegradability efficiencies in comparing with the isolated microorganisms. The 1st screening of EM cultures was

the total number of microorganisms counted from spread plate and pour plate method. The results showed that the EM culture formular I which used molasses had the highest of total microorganisms number but is was not significantly different ($p > 0.05$) from the formular III which used expired carbonated soft drink instead of molasses. Then these two formular were tested their sugar biodegradability. It was found that the EM culture formular I had slightly higher efficiency than formular III but they were not significantly different ($p > 0.05$) with 77.10 ± 1.91 and 75.65 ± 1.47 %, respectively. Under optimum conditions, the EM cultures formular III showed the highest efficiency of sugar biodegradability with 89.25 ± 2.99 % when using 0.4 % (v/v) inoculum and incubated with an agitation rate of 50 rpm for 5 days

The yeast (Y_{14}), mixed culture (B_6 and Y_{14}) and EM culture formular III were compared their efficiencies for expired carbonated soft drink treatment under optimal conditions in labolatory scale. The EM culture formular III showed the significantly highest sugar, COD and BOD removal efficiencies with 84.03 ± 0.54 , 80.16 ± 0.37 and 84.14 ± 0.96 %, respectively ($p \leq 0.05$). Furthermore, the EM culture (formular III) was also used to treat expired carbonated soft drink at manufacturing. It was found that the addition of EM culture formular III in the primary wastewater treatment unit of the manufacturing yielded higher sugar, COD and BOD removal efficiencies than control of treatment (no adding EM culture) with 44.97 ± 0.42, 34.04 ± 0.27 and 38.73 ± 1.05 %, respectively but resulting in low color removal efficiency.

Moreover, the by-product (ethanol) production in samples were measured, the highest ethanol production obtained was 4.92 ± 1.14 g/L from Y_{14} culture in expired carbonated soft drink adjusted initial pH and added with $(NH_4)_2SO_4$ without agitation. For the ethanol production in primary treatment unit at the manufacturing, the ethanol produced was 5.62 ± 0.09 g/L which was increased by adding EM culture into the treatment unit.