

อิทธิพลของโบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์  
ต่อการบำบัดน้ำเสียจากบ่อกุ้ง

The Effect of Bromelain and Activated Microorganism on Prawn Farm  
Waste Water Treatment



T104404



ฐิตาพร มั่นจิ้น  
วณิชยา ผดุงฮะ

2/4  
2/329 2  
2551

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน...104404  
วัน,เดือน,ปี.....

1213932A

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ  
คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2551

**The Effect of Bromelain and Activated Microorganism on Prawn Farm  
Waste Water Treatment**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE  
REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
IN BIOTECHNOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2008**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

อิทธิพลของโบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสีย  
จากบ่อกุ้ง

The Effect of Bromelain and Activated Microorganism  
on Prawn Farm Waste Water Treatment

ชื่อนักศึกษา

นางสาวจิตาพร มั่นจิน

นางสาววณิชยา ผดุงชะ

ปริญญา

วิทยาศาสตรบัณฑิต

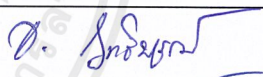
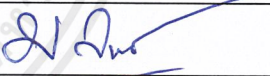
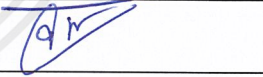
สาขาวิชา


เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ

ผศ.ดร.มาริสา จาคูพรพิพัฒน์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา  
เทคโนโลยีชีวภาพประจำปีการศึกษา 2551

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.อารี ฤทธิบุรณ์	
กรรมการ ผศ.ดร.มาริสา จาคูพรพิพัฒน์	
กรรมการ ดร.จิตาภา ทิน้อย	

  
.....  
(ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม)

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

อิทธิพลของโบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสีย  
จากบ่อกุ้ง

The Effect of Bromelain and Activated Microorganism  
on Prawn Farm Waste Water Treatment

ชื่อนักศึกษา

นางสาวจิตาพร มั่นจิน

นางสาววณิชยา ผดุงชะ

ปริญญา

วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา

เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ

ผศ.ดร.มารีสา จาคูพรพิพัฒน์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา  
เทคโนโลยีชีวภาพประจำปีการศึกษา 2551

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.อารี ฤทธิบุรณ์	
กรรมการ ผศ.ดร. มารีสา จาคูพรพิพัฒน์	
กรรมการ ดร.จิตาภา ทิน้อย	

.....  
(ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เยี่ยม)

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	อิทธิพลของโบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียจากบ่อกึ่ง	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวฐิตาพร มั่นจิน	รหัส 48050678
	นางสาววณิชยา ผดุงชะ	รหัส 48050695
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต	
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ	
ปีการศึกษา	2551	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.มาริสสา จาคูพรพิพัฒน์	

### บทคัดย่อ

อิทธิพลของเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบจากส่วนเปลือกสับประรดพันธุ์ปัตตาเวียและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มกึ่ง ภายใต้สภาวะอุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน พบว่า การเติมน้ำคั้นหยาบจากส่วนเปลือกสับประรดความเข้มข้นที่เหมาะสมร้อยละ 20 ร่วมกับยีสต์ขนมปังร้อยละ 0.02 และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต ร้อยละ 2 มีผลให้ค่าซีโอดีปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน และปริมาณฟอสเฟต ลดลงได้มากที่สุดในวันที่ 21 คิดเป็นร้อยละ 81.93 73.40 75.82 ตามลำดับ

<b>Title</b>	The Effect of Bromelain and Activation of Microorganism on Prawn Farm Waste Water Treatment
<b>Students</b>	Miss Thitapon Manjeen student ID 48050678 Miss Wanitchaya padungha student ID 48050695
<b>Degree</b>	Bachelor of science
<b>Major</b>	Biotechnology
<b>Academic year</b>	2008
<b>Advisor</b>	Assist. Prof. Dr. Marisa Jatupornpipat

### Abstract

The effect of bromelain from Smooth Cayenne's pineapple juice squeezed and activation of microorganisms on prawn farm waste water treatment under room temperature during 28 days were carried out. The 20% of concentration of juice squeezed from pineapple peel supplement with 0.02 % of *Saccharomyces cerevisiae* and 2 % bacteria capable of removing phosphate significantly decreased the COD, ammonia-nitrogen and phosphate contents ( $p \leq 0.05$ ). The COD ammonia-nitrogen content and phosphate decreasing were reduced 81.93% 73.40 % and 75.82% in 28 days.

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้สำเร็จเสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ.ดร. มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ที่ให้ความรู้ ข้อคิดเห็นในด้านต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ตลอดจนให้ความช่วยเหลือ ชี้แนะและแก้ไขข้อผิดพลาด ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

กราบขอบพระคุณ ผศ. อารี ฤทธิบุรณ์ และ ดร. จิคาภา ทิน้อย ซึ่งเป็นประธานกรรมการและกรรมการ การสอบโครงการพิเศษและให้คำชี้แนะแก้ไข

กราบขอบพระคุณ คุณประทีป มั่นจิน ที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำเสียเพื่อใช้ในการทดลอง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์และสารเคมี และให้คำแนะนำ

ขอบคุณคุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัว มั่นจินและ ผดุงชะ ที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่คอยเอื้ออำนวยในเรื่องต่างๆ ในการทำโครงการพิเศษนี้

สำหรับคุณประโยชน์ที่เกิดจากรายงานฉบับนี้ ผู้จัดทำขอมอบให้กับคุณพ่อ คุณแม่ และอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่าน

จิตาพร มั่นจิน  
วณิชยา ผดุงชะ

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของ โครงการพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของ โครงการพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2. ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ประวัติการเลี้ยงกุ้ง	4
2.2 น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง	5
2.3 ฟอสฟอรัส	8
2.3.1 ผลกระทบของฟอสเฟต	9
2.3.2 การกำจัดฟอสฟอรัส	10
2.3.3 จุลินทรีย์ที่สะสมฟอสฟอรัส	12
2.3.4 จุลินทรีย์ที่กำจัดฟอสเฟต	15
2.4 ไนโตรเจน	15
2.4.1 วัฏจักร ไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงกุ้ง	17
2.5 ความเป็นพิษของสารประกอบไนโตรเจนต่อสิ่งมีชีวิต	18
2.5.1 ความเป็นพิษของไนเตรท	18
2.5.2 ความเป็นพิษของไนไตรท์	18
2.5.3 ความเป็นพิษของแอมโมเนีย	18
2.6 จุลินทรีย์กับการเลี้ยงกุ้ง	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6.1 การศึกษาจุลินทรีย์ที่พบในสภาพแวดล้อมของการเลี้ยงกุ้ง	19
2.6.2 การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงกุ้ง	20
2.6.2.1 ใช้ในการปรับปรุงสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงกุ้ง	20
2.6.2.2 ใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสัตว์น้ำ	22
2.7 ยีสต์ขนมปัง	22
2.8 สับปะรด	24
2.8.1 การผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด	25
3. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	
3.1 วัสดุ	26
3.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในโครงการพิเศษ	26
3.1.2 น้ำเสียที่ใช้ในโครงการนี้	26
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ	26
3.1.4 สารเคมี	26
3.1.5 เอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับปะรด	26
3.2 อุปกรณ์	27
3.3 วิธีการทดลอง	27
3.3.1 การศึกษาอิทธิพลร่วมของเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบ สับปะรด ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> และแบคทีเรียย่อย ฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มกุ้ง	27
3.3.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง	28
4. ผลการวิจัยและวิจารณ์	
4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง	29
4.2 ผลการศึกษาอิทธิพลร่วมของเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบ สับปะรด ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> และแบคทีเรียย่อย ฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยง	30

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5. สรุปผลการทดลอง	
5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง	35
5.2 ผลของอิทธิพลร่วมระหว่างเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับประรด	35
แบคทีเรียย่อยฟอสเฟตสายพันธุ์ P2 และยีสต์ <i>S. cerevisiae</i>	
ต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง	
เอกสารอ้างอิง	36
ภาคผนวก	
ก. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี	38
ข. อาหารเลี้ยงเชื้อ	43
ค. สรุปผลการทดลอง	44
ง. ตารางองค์ประกอบทางเคมีและการวิเคราะห์ทางสถิติ	45
ในการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง	

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	7
2.2	14
2.3	25
4.1	32
4.2	32

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 วัฏจักรฟอสเฟต	9
2.2 แผนภูมิแบบง่ายแสดงวัฏจักรไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงกุ้ง	17
2.3 ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	23
4.1 Timecourse ของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ฟอสเฟต(มิลลิกรัมต่อลิตร) และแอมโมเนียใน ไตรเจน(มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง โดยใช้น้ำคั้นหยาบสับประคจากส่วนเปลือก ร้อยละ 20 แบบที่เรียวย่อยฟอสเฟต P2 ร้อยละ 2 และเชื้อยีสต์ <i>S. cerevisiae</i> ร้อยละ 0.02 ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ที่เวลาต่าง ๆ เป็นเวลา 28 วัน	33

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการพิเศษ

กุ้งนับว่าเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศไทยอย่างมาก ในปัจจุบันได้มีการเพาะเลี้ยงกุ้งหลายชนิดและเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายแต่ที่นิยมเลี้ยงคือกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำ แต่กุ้งกุลาดำจะมีปัญหามากกว่าการเลี้ยงกุ้งขาว ซึ่งถ้าไม่มีประสบการณ์ในการเลี้ยงมากพอก็อาจจะไม่ได้กำไร เนื่องจากต้องดูแลยากกว่ากุ้งขาวและกุ้งขาวสามารถเลี้ยงรวมกับปลาได้ทำให้ไม่ต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมากนัก ส่วนกุ้งกุลาดำเลี้ยงรวมกับปลาไม่ได้แต่ถ้ามีความรู้ความเชี่ยวชาญในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำก็อาจจะได้ผลผลิตดีและทำกำไรได้มากเนื่องจากราคากุ้งกุลาดำสูงกว่ากุ้งขาว

การเพาะเลี้ยงกุ้งต้องใช้งบประมาณในการเพาะเลี้ยงค่อนข้างสูงซึ่งถ้ามีการผิดพลาดอาจทำให้ขาดทุนได้ แต่ถ้าเลี้ยงกุ้งแล้วได้ผลผลิตดีจะสามารถทำรายได้ได้อย่างมากเนื่องจากราคากุ้งตามท้องตลาดยังขายได้ในราคาสูงอยู่ แต่การเพาะเลี้ยงกุ้งยังคงมีปัญหาสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งและพื้นที่ข้างเคียงอยู่ ปัญหาส่วนใหญ่ซึ่งหนีไม่พ้นเรื่องน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งซึ่งเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งจะระบายน้ำเสียที่เกิดจากการเลี้ยงกุ้งออกสู่ภายนอก ซึ่งยังไม่ได้มีการปรับปรุงน้ำให้อยู่ในสภาพที่สามารถปล่อยลงสู่แม่น้ำธรรมชาติได้

น้ำเสียที่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งได้ปล่อยออกจากบ่อเลี้ยงกุ้งนั้นจะมีปริมาณของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสค่อนข้างสูงซึ่งเกิดจากการสะสมของอาหารเลี้ยงกุ้งที่กุ้งกินไม่หมดรวมถึงจุลินทรีย์ต่างๆ ที่เกิดขึ้นด้วย ส่งผลให้กุ้งในบ่อเกิดความเครียดและมีการเจริญเติบโตช้าลงและเสี่ยงต่อการเกิดโรคเมื่อน้ำเสียได้ถูกปล่อยลงสู่แม่น้ำธรรมชาติแล้วทำให้มลภาวะทางน้ำและทางอากาศเสียได้

ฟอสเฟตเป็นธาตุอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชและสัตว์เนื่องจากเป็นธาตุประกอบของสารพันธุกรรม DNA และ ส่วนประกอบในสารให้พลังงานของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในพืชจะเป็นสารอาหารหลักหนึ่งในสามอันประกอบด้วย ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม (NPK) แต่ถ้ามีปริมาณมากก็จะส่งผลต่อสภาพแวดล้อมและสัตว์น้ำในธรรมชาติส่วนมากจะมาจากการปล่อยน้ำเสีย พบว่าฟาร์มเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยมีฟอสเฟตจำนวนมาก ซึ่งจะถูกระบายออกมาพร้อมกับน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ส่วนใหญ่จะพบฟอสเฟตจากบ่อเลี้ยงกุ้งแบบเกษตรกรรมเนื่องจากทางฟาร์มอาจจะไม่มีอุปกรณ์หรือความรู้ที่แท้จริงรวมถึงงบประมาณที่จะลดปริมาณฟอสเฟตก่อนจะปล่อยออกมาพร้อมกับน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำประกอบด้วย ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ควรอยู่ในช่วง 6.5-9.0 รวมถึง

ค่าบีโอดี กำหนดให้มีค่าได้ไม่เกินกว่า 20 มก./ล และสารแขวนลอย ไม่เกินกว่า 70 มก./ล. ส่วนเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนักผู้ใดนำไปใช้ประโยชน์ใดๆ ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอมโมเนียในโตรเจน กำหนด ไม่เกินกว่า 1.1 มก./ล. ในโตรเจนรวม มีได้ไม่เกินกว่า 4 มก./ล. ฟอสฟอรัสรวม มีได้ไม่เกิน 0.4 มก./ล. สุกท้ายไฮโตรเจนซัลไฟด์ มีค่าได้ไม่เกิน 0.01 มก./ล. (เกรียงศักดิ์, 2535)

การบำบัดน้ำเสียที่ใช้ในปัจจุบันมีด้วยกันหลายวิธีในการเลือกใช้จะต้องคำนึงถึงลักษณะของน้ำเสีย ระดับการบำบัดน้ำเสียที่ต้องการ สภาพทั่วไปของท้องถิ่น ค่าลงทุนก่อสร้าง ค่าดำเนินการดูแลบำรุงรักษา และขนาดของที่ดินที่ใช้ในการก่อสร้าง เป็นต้น เพื่อให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ที่แตกต่างกัน วิธีการบำบัดน้ำเสียโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพหรือใช้จุลินทรีย์ ในการกำจัดสิ่งเจือปนในน้ำเสียโดยเฉพาะสารคาร์บอนอินทรีย์ ในโตรเจน และฟอสฟอรัส โดยความสกปรกเหล่านี้จะถูกใช้เป็นอาหารและเป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์เพื่อการเจริญเติบโต ทำให้น้ำเสียมีค่าความสกปรกตกลง โดยจุลินทรีย์เหล่านี้จะเป็นแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic Organisms) หรือไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Organisms) ก็ได้ ซึ่งวิธีนี้กำลังได้รับความสนใจและศึกษากันอย่างกว้างขวางยิ่งขึ้นทั้งนี้เนื่องจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้โดยทั่วไปมีอุปกรณ์เครื่องมือที่มีราคาแพงรวมทั้งกระบวนการบำบัดในบางขั้นตอนมีความยุ่งยากซับซ้อนทำให้ค่าใช้จ่ายและต้นทุนเพิ่มขึ้นจึงได้มีการมุ่งเน้นเพื่อหาแนวทางใหม่เพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ง่ายและสะดวกยิ่งขึ้น โดยใช้วัตถุดิบที่หาได้ง่าย ราคาถูก และให้ประสิทธิภาพในการบำบัดที่ดี โดยใช้เอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด หัวเชื้อจุลินทรีย์และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (เจนจิราและสุวรรณ, 2550) มาประยุกต์บำบัดน้ำเสียจากฟาร์มกุ้งแทนน้ำเสียสังเคราะห์

ดังนั้นโครงการพิเศษนี้จึงมีความสนใจที่จะนำหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ทำการแยกมาแล้วเพื่อจะทำการบำบัดน้ำเสียมาประยุกต์ใช้ลดปริมาณฟอสเฟตจากฟาร์มเลี้ยงกุ้ง เพื่อลดต้นทุนให้กับทางเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งแทนการใช้สารเคมีที่มีต้นทุนสูงในการบำบัดน้ำเสีย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1.2.1 เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วมของน้ำคั้นหยาบสับปะรด ยีสต์ และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

## 1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

ศึกษาอิทธิพลร่วมของเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ยีสต์ขนมปัง (*Saccharomyces cerevisiae*) ร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนักแห้ง และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต ร้อยละ 2 โดยปริมาตร (เจนจิราและสุวรรณ, 2550) ต่อการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งในพื้นที่ตำบลบางบัว จังหวัดฉะเชิงเทรา เพื่อวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีเป็นระยะเวลา 28 วัน โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทุกๆ 7 วัน

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 สามารถบำบัดน้ำเสียโดยใช้จุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟต
- 1.4.2 สามารถลดค่า ซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และ ความคุมพีเอช ของน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งก่อนระบายออกสู่น้ำได้
- 1.4.3 สามารถเป็นส่วนหนึ่งของการรักษาสิ่งแวดล้อมทางน้ำ และทางอากาศได้
- 1.1.4 สามารถช่วยเกษตรกรลดต้นทุนในการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งได้



## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ประวัติการเลี้ยงกุ้ง

ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตตะวันออกของโลก การเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีผลผลิตสูงสุดเป็นอันดับหนึ่งของโลกติดต่อกันมาหลายปี ผลผลิตเคยสูงสุด 240,000 เมตริกตัน ในปี ค.ศ. 1994-1995 และผลผลิตเริ่มลดลงมีจำนวนประมาณ 200,000 เมตริกตันในปี 1999 จำนวนฟาร์ม (บ่อดิน) เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในพื้นที่ 500,000 ไร่ มากกว่า 20,000 ฟาร์ม ต้องใช้คนงานมากกว่า 100,000 คน (Tavarutmanakeel and Tookwinas, 2001)

การเลี้ยงกุ้งแบบธรรมชาติ (extensive) หมายถึงการเลี้ยงกุ้งเพื่อให้ได้ผลผลิตมาก โดยการขยายพื้นที่ตามบริเวณชายฝั่งของประเทศไทย ที่มีน้ำขึ้น-ลงถึง มีมานานหลายสิบปี เนื่องจากชายฝั่งทะเลของประเทศไทยที่มีความยาว 2,760 กิโลเมตร เป็นบริเวณที่มีแหล่งกำบังคลื่นลมอุณหภูมิลมอบอุ่น ไม่เย็นหรือร้อนจัดเกินไป คลื่นลมทั่วไปสงบ ยกเว้นในฤดูที่มีลมมรสุม เริ่มทำการเลี้ยงกุ้งในบริเวณนาข้าวเมื่อถึงฤดูน้ำหลาก น้ำทะเลท่วมถึงพร้อมทั้งนำเอาลูกพันธุ์กุ้ง-ปลาเข้ามาด้วยเมื่อน้ำลด กุ้งปลาที่ตกค้างอยู่ในนาที่เจริญเติบโตดี เจ้าของสามารถนำมาบริโภคและจับขายได้มากขึ้น จึงมีการปรับปรุงพื้นที่นาเดิมให้ลึกและเหมาะสมสำหรับเลี้ยง และจับลูกพันธุ์จากธรรมชาติมาเพิ่มมากขึ้น เรียกว่า การเลี้ยงกุ้งแบบกึ่งธรรมชาติ (sem intensive) ชนิดของกุ้งที่เลี้ยงในขณะนั้นคือกุ้งขาว (*Penaeus merguensis* and *Penaeus indicus*) กุ้งตะกาด (*Metapenaeus monoceros* and *W. ensis*) เป็นหลัก

ต่อมาปี พ.ศ. 2525 กรมประมงเริ่มมีการเพาะฟักกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ได้สำเร็จ ได้แนะนำส่งเสริมให้เกษตรกรทั่วไปสามารถทำได้ จึงเกิดการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนา (intensive) ขึ้นมาประมาณปี พ.ศ. 2527 การเลี้ยงแบบพัฒนาเพื่อเพิ่มผลผลิตโดยไม่มีการขยายพื้นที่แต่เพียงอย่างเดียว ด้วยการนำลูกพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงได้ไปปล่อยในบ่อดิน จำนวนตัวต่อตารางเมตรหนาแน่นมากขึ้น สมัยแรก ๆ ปล่อยกุ้งในอัตรา 30 ตัวต่อตารางเมตร มีการเตรียมน้ำ ตัดตั้งใบพัดเพื่อให้ น้ำหมุนเวียนก่อนปล่อยกุ้ง และเมื่อปล่อยกุ้งมีการให้อาหารวันละ 3-4 ครั้ง ไม่ใช่ปล่อยธรรมชาติเหมือนเดิม หลักการต่าง ๆ นำมาจากไต้หวัน ซึ่งรับวิธีการเลี้ยงกุ้งจากรูมา จากประเทศญี่ปุ่น ประเทศญี่ปุ่นเป็นประเทศแรกในโลกที่สามารถเลี้ยงกุ้งจากรูมา (*Penaeus japonicus*) เพื่อการค้าได้ โดย ดร.ฟูจิ นากา ตั้งแต่ก่อนปี พ.ศ. 2513

การเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาเริ่มขึ้นในปี 2528-2529 ในภาคกลางบริเวณ 3 สมุทรของไทย คือ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และสมุทรปราการ พื้นที่ของ 3 จังหวัดมีอาณาเขตติดต่อกับอ่าวไทย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนบน บริเวณนี้เดิมเคยเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงกุ้งตามธรรมชาติและการทำนาเกลืออยู่ก่อน การปรับเปลี่ยนพื้นที่เป็นนากุ้งแบบพัฒนาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วด้วยการนำวิธีการสร้างบ่อ ประตูละบาย น้ำเข้าออกและวิธีการเลี้ยงแบบได้หวั่นได้ผลผลิตสูง กุ้งราคาดี เกิดเศรษฐกิจใหม่ขึ้นมากมายภายในระยะเวลา 6 เดือน จึงเป็นสาเหตุจูงใจให้มีการขยายพื้นที่การเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาอย่างรวดเร็ว โดยไม่มีการวางแผนและจัดระบบการใช้น้ำล่วงหน้า ใครมีเงินมากก็จัดหาอุปกรณ์ที่มีกำลังสูงสูบน้ำเข้านาตัวเองให้มากที่สุด และปล่อยน้ำจากนาทิ้งลงแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยไม่มีการบำบัดน้ำก่อนทิ้ง และมีการใช้ยาปฏิชีวนะตามการเลี้ยงสัตว์บกทั่วไป โดยไม่มีเวลาศึกษาเกี่ยวกับสัตว์น้ำมาก่อน และสัณนิษฐานถึงว่ายาเมื่อลงน้ำจะเสียไปให้ออกฤทธิ์รักษากุ้งได้หรือไม่ นอกจากนั้นยังมีการใช้สารเคมีทุกประเภทเพียงเพื่อบำบัดน้ำให้มีคุณภาพดี เพราะพูดกันว่า การเลี้ยงกุ้ง คือ การเลี้ยงน้ำ ใส่สารเคมีลงน้ำโดยลืมหูลืมตา ผลที่เกิดขึ้นในปี 2532 ภายหลังจากการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาได้เพียง 3 ปี ก็คือการล่มสลายของนากุ้งบริเวณ 3 สมุทร การเลี้ยงก็เคลื่อนย้ายไปทางภาคตะวันออก จังหวัดจันทบุรี ระยอง ตราด และมากขึ้น มีการใช้วิชาการและขบวนการเลี้ยงพัฒนากว่าเดิม ทำให้การเลี้ยงมีผลผลิตสูงและต่อเนื่องยาวนาน พร้อม ๆ กับการเลี้ยงในเขตตะวันออก ได้มีการขยายพื้นที่การเลี้ยงลงมาทางภาคใต้ ที่มีพื้นที่ติดต่อกับชายทะเลเป็นระยะทางยาว ทั้งทางฝั่งอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน จนปัจจุบันนี้ พ.ศ. 2543 คาดว่าพื้นที่การเลี้ยงกุ้งของไทยจะกำหนดอยู่ที่ 500,000 ไร่ (สถิติกรมประมง) และพื้นที่อาจจะเพิ่มมากขึ้น เมื่อมีการเปลี่ยนพื้นที่นาข้าวเป็นนากุ้งกันมากขึ้น ผลผลิตกุ้งจากการเลี้ยงปี พ.ศ. 2542 อยู่ที่ 200,000 ตัน มีมูลค่าประมาณ 70,000 ล้านบาท

## 2.2 น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เป็นกิจกรรมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเลี้ยงกุ้งทะเล โดยในปี 2541 ผลผลิตกุ้งทะเลมีมูลค่าถึง 67,000 ล้านบาท แต่ในขณะเดียวกันกิจกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลได้ก่อให้เกิดน้ำเสีย ซึ่งประกอบด้วยของเสียต่างๆ เช่น ของเสียจากการขับถ่ายของกุ้ง อาหารที่กุ้งกินไม่หมด สารอินทรีย์ สารแขวนลอย และแพลงก์ตอนพืชที่ตายแล้ว (Hargraves, 2000) เป็นปริมาณมากในแต่ละปี ซึ่งก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและปัญหาต่างๆ ตามมาเช่น ปัญหาคูณภาพน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติเสื่อมโทรมลง จนไม่สามารถนำมาใช้เลี้ยงกุ้งได้ ปัญหาการเกิดโรคระบาดจนทำให้บางพื้นที่ไม่สามารถเลี้ยงกุ้งได้ ผลกระทบที่ตามมาคือ การขยายตัวของ การเลี้ยงกุ้งทะเลเข้าไปในเขตน้ำจืด ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งมีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสค่อนข้างสูง (Degain and Gallagher, 2000) มีการพบว่าบริเวณพื้นที่บ่อจะมีการปลดปล่อยแอมโมเนีย สารประกอบอินทรีย์ซัลไฟด์ และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Avnimelech, 1996 และ Lin, 1989) Hargraves (1998) รายงานว่าแอมโมเนียประมาณ 25-33 เปอร์เซ็นต์ถูกปล่อยมาจากตะกอนพื้นบ่อ พบว่าปริมาณออกซิเจนในน้ำเลี้ยงกุ้งลดลงซึ่งทำให้กุ้งเกิดอาการเครียดหรือตายได้ ซึ่งน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งไม่อยู่ในสภาพที่สามารถปล่อยระบายลงสู่แม่น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธรรมได้ เนื่องจากมีปริมาณแอมโมเนีย ไนโตรที่ ความเป็นกรด – ด่าง ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ไม่เหมาะสม และอาจมียาปฏิชีวนะรวมถึงสารเคมีปนเปื้อนอยู่ในน้ำทิ้ง เมื่อระบายน้ำทิ้งลงสู่แม่น้ำ ธรรมชาติโดยไม่มี การบำบัดน้ำเสียให้อยู่ในสภาพที่สามารถระบายน้ำทิ้งลงสู่แม่น้ำธรรมชาติจะทำให้เกิดมลภาวะทางน้ำ และสิ่งแวดล้อมใกล้เคียงเป็นพิษ

แนวทางหนึ่งในการจัดการน้ำเสียจากการเลี้ยงกุ้งทะเล ได้แก่ การกำหนดมาตรฐานน้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำเสียให้อยู่ในระดับที่แหล่งน้ำธรรมชาติรองรับได้ และเพื่อการแก้ไขปัญหาความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม แต่การจัดการน้ำทิ้งให้มีค่าเป็นไปตามมาตรฐานนั้นจำเป็นต้องมีการศึกษาหา รูปแบบการจัดการหรือการบำบัดน้ำเสียที่เหมาะสม และมีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์เพื่อให้เกษตรกรสามารถนำผลการศึกษาที่ได้ไปใช้ในการจัดการบำบัดน้ำเสียจากการเพาะเลี้ยงกุ้ง

ในปัจจุบันการศึกษาระบบบำบัดน้ำเสียจากการเลี้ยงกุ้งทะเลที่มีอยู่เป็นเพียงการทดลองเบื้องต้นเท่านั้นและบางระบบยังมีประสิทธิภาพไม่แน่นอนดังนั้นจึงต้องพัฒนาหา รูปแบบการจัดการและรูปแบบของระบบบำบัดน้ำเสียที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งทะเล เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำทิ้งและลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และให้การเลี้ยงกุ้งทะเลเป็นกิจกรรมที่ยั่งยืนตลอดไป

กรมควบคุมมลพิษ (2544) เป็นหน่วยงานรับผิดชอบด้านการกำหนดนโยบาย และแผนการรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมด้านการควบคุมมลพิษ คณะประมงมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2544) ได้ดำเนินการ โครงการพัฒนาระบบน้ำเสียที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง โดยแนวคิดหลักในการพัฒนาระบบบำบัดน้ำเสีย จากการเลี้ยงกุ้งต้องเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพได้มาตรฐานและมีต้นทุนค่าใช้จ่ายเป็นที่ยอมรับได้ของผู้ประกอบการจะต้องสามารถบำบัดน้ำทิ้งให้มีคุณสมบัติ ตามมาตรฐานได้ส่วนใหญ่หรือทั้งหมดภายในระยะเวลาไม่นานเกินไป เพื่อลดปัญหาที่ต้องใช้พื้นที่ขนาดใหญ่ในการบำบัดหรือเก็บกักน้ำทิ้งการออกแบบระบบบำบัดต้นแบบได้อาศัยการวิเคราะห์ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทั้งหมดโดยทั่วไปพบว่า ปริมาณการระบายน้ำทิ้งจะมีมากในช่วงการจับกุ้ง เนื่องจากต้องระบายน้ำให้แห้งทั้งบ่อ การศึกษาเบื้องต้นพบว่าคุณสมบัติ 2 ประการของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาค่า สามารถนำมาพัฒนาระบบบำบัดน้ำทิ้งได้คือ อัตราการตกตะกอนที่เร็วตามธรรมชาติ และสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งสามารถสลายตัวได้ค่อนข้างเร็ว

ตารางที่ 2.1 มาตรฐานการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

ดัชนีคุณภาพน้ำ	หน่วย	ค่ามาตรฐาน	วิธีการ
1.ความเป็นกรดและด่าง (pH)	-	6.5-9.0	ใช้เครื่องมือวัดความเป็นกรดและด่างของน้ำ (pH Meter) ตามวิธีอิตเล็กโตรเมตริก
2.บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand)	มก./ล.	ไม่เกิน20	ใช้วิธีอะไซด์ โมดิฟิเคชัน(Azide Modification)ที่อุณหภูมิ20องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน โดยใช้ Synthetic Seawater
3.สารแขวนลอย (Suspended Solids,SS)	มก./ล.	ไม่เกิน70	ใช้วิธีการกรองผ่านกระดาษกรองใยแก้ว (Glass Fiber Filter Disc) ขนาดตากรอง 1.2 ไมโครเมตร
4.แอมโมเนีย (NH <sub>3</sub> -N)	มก.-N./ล.	ไม่เกิน1.1	ใช้วิธีโมดิไฟด์ ไอโดฟินอล บูล
5.ฟอสฟอรัสรวม (Total Phosphorus)	มก.-P./ล.	ไม่เกิน4.0	ใช้วิธีแอสคอร์บิก แอซิด (Ascorbic Acid)
6.ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H <sub>2</sub> S)	มก./ล.	ไม่เกิน0.01	ใช้วิธีเมธิลีน บลู (Methylene Blue)
7.ไนโตรเจนรวม (Total Nitrogen) คือ ผลรวมของไนโตรเจนละลาย (Total Dissolved Nitrogen) และไนโตรเจนแขวน (Total Particulate Nitrogen)	มก.-N./ล.	ไม่เกิน4.0	ให้นำค่าการตรวจวัดไนโตรเจนละลายและไนโตรเจนแขวนลอยบอกรวมกัน โดยการหาค่า(ก)ไนโตรเจนละลายให้ใช้วิธีเปอร์ซัลเฟต ไดเจชัน (Persulfate Digestion) (ข)ไนโตรเจนแขวนลอยให้ใช้วิธีวัดค่าสารแขวนลอยบนแผ่นกรองใยแก้ว ขนาดตากรอง 0.7ไมโครเมตรและวิเคราะห์ด้วยNitrogen Analyzer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## หมายเหตุ :

1. การเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งเพื่อการตรวจสอบมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ให้เก็บจ้วง (Grab sampling) จากจุดที่ระบายน้ำทิ้งสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกพื้นที่บ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง
2. วิธีการตรวจสอบมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ให้เป็นไปตามคู่มือวิเคราะห์น้ำเสียที่สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทยกำหนดไว้ หรือตามวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์น้ำและน้ำเสีย Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, AWWA and WEF), Practical Handbook of Seawater Analysis (Stickland and Parsons), Methods of Seawater Analysis (Koroleft), Determination of Ammonia in Estuary (Sasaki and Sawada) Methods of Seawater Analysis (Grasshoff K.) และ/หรือคู่มือวิเคราะห์น้ำและน้ำเสียของสมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทยและ WEF ร่วมกันกำหนดไว้

## แหล่งที่มา

ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 121 ตอนที่ 49 ง ลงวันที่ 1 พฤษภาคม 2547

ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดให้บ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเป็นแหล่งกำเนิดมลพิษที่จะต้องถูกควบคุมการปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ หรือออกสู่สิ่งแวดล้อม ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 122 ตอนที่ พิเศษ 129 ง ลงวันที่ 14 พฤศจิกายน 2548

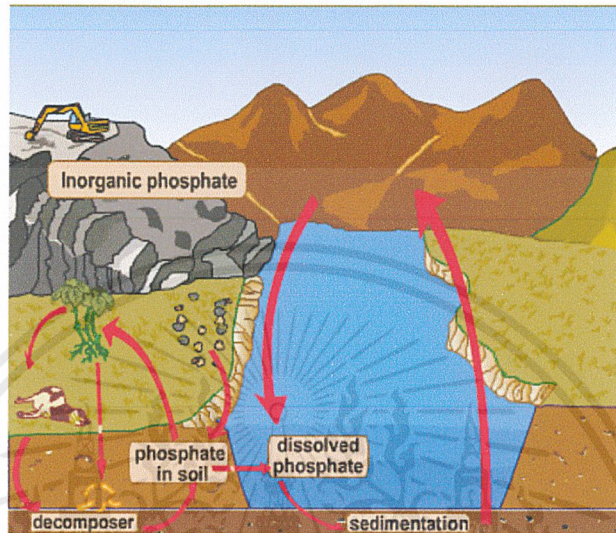
## 2.3 ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืชน้ำและสาหร่ายแต่ถ้ามีมากเกินไปก็จะส่งผลให้ผิดปกติทางระบบนิเวศน์วิทยาซึ่งจะทำให้ปัญหาน้ำเสียตามมาทีหลัง

ฟอสฟอรัสตามธรรมชาติส่วนใหญ่อยู่ในรูปฟอสเฟต ( $PO_4^{3-}$  หรือ  $HPO_4^{2-}$ ) ทั้งที่เป็นสารอินทรีย์และอนินทรีย์ ทั้งที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำการกักตร่อนโดยกระแสน้ำและลมตามธรรมชาติที่เกิดในหินจะทำให้ธาตุฟอสฟอรัส (P) กลับคืนสู่ธรรมชาติทั้งในดินและมหาสมุทรซึ่งพืชสามารถนำกลับมาใช้ได้และในขณะเดียวกันการเสื่อมสลายของซากสิ่งมีชีวิตพืชโดยกลุ่มผู้ย่อยสลายจะทำให้ฟอสฟอรัสกลับคืนสู่ระบบนิเวศ

ฟอสฟอรัสในน้ำเสียจะอยู่ในรูป ออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate) สามารถละลายน้ำและบอกลมทินของน้ำได้ ส่วนรูป โพลีฟอสเฟต (polyphosphate) ไม่สามารถละลายน้ำได้อยู่ในรูปตะกอน เช่น เกลืออะลูมิเนียม เกลือแมกนีเซียม เกลือแคลเซียม เป็นต้น โดยจะเกิดปฏิกิริยาเอกสสารนี้เป็นเอกสสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฮโดรไลซิส ไปอยู่ในรูปของออร์โธฟอสเฟตได้ จุลินทรีย์บางชนิดสามารถเปลี่ยนอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำเป็นฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้ ได้แก่ แบคทีเรีย เช่น *Bacillus subtilis* *Arthrobacter* sp. *Streptomyces* sp. และฟังไจ เช่น *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. ( Bitton , 1994) ซึ่งฟอสเฟตในรูปละลายน้ำนี้จะถูกแปลงก่อดอนพืชและสัตว์น้ำสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้



รูปที่ 2.1 วัฏจักรฟอสเฟต

ที่มา : [www.rmutphysics.com/.../bio2/chapter5/eco5.htm](http://www.rmutphysics.com/.../bio2/chapter5/eco5.htm)

### 2.3.1 ผลกระทบของฟอสเฟต

ฟอสเฟตเป็นธาตุที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชและสัตว์ เช่นเดียวกับไนโตรเจน ถ้ามีปริมาณมากจะส่งผลกระทบต่อระบบสิ่งแวดล้อม ทำให้วัชพืชน้ำเติบโตเร็ว และช่วยในการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินซึ่งหากบริโภคน้ำที่มีสาหร่ายเหล่านี้จะมีผลเสียต่อสุขภาพ ส่วนมากจะมาจากการปล่อยน้ำเสีย น้ำซักล้างลงแหล่งน้ำในแม่น้ำ โดยทั่วไปจะมีค่าอยู่ในช่วง 0.01-0.1 พีพีเอ็มฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร) เมื่อมีปริมาณฟอสเฟตจำนวนมากจะทำให้เกิดปัญหา ยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) (กรรณกและอุษา, 2542) ยูโทรฟิเคชัน เกิดโดยสาหร่ายในแหล่งน้ำเหล่านี้ใช้ฟอสฟอรัสเป็นสารอาหาร และเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนทำให้มีสีเขียวคล้ำ ไม่อาจใช้ประโยชน์ได้อย่างเหมาะสม นอกจากนี้ยังอาจเกิดสารพิษจากสาหร่าย ซึ่งถ้ามีปริมาณมากอาจทำให้สัตว์น้ำอาจตายได้ รวมทั้งทำให้น้ำมีรสและกลิ่น เมื่อนำไปผลิตเป็นน้ำใช้ ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นในการบำบัดน้ำเพื่อขจัดกลิ่นและรสดังกล่าว และนำมาซึ่งความไม่แน่นอน เกิดผลกระทบต่อกิจการการท่องเที่ยว สถานที่พักผ่อนหย่อนใจ หรือกีฬาทางน้ำ ปัจจุบันพบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดยูโทรฟิเคชันไม่ใช่จะเกิดเฉพาะในทะเลสาบหรือหนองน้ำ แต่สามารถเกิดในแม่น้ำ ชายฝั่งทะเล และทะเลได้

ประดิษฐ์และวารภรณ์ (2544) ตรวจสอบติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา จำนวน 6 ฟาร์ม ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2539 พบว่าทุกฟาร์มมีการเลี้ยงกุ้งในระบบกึ่งปิดหรือระบบถายน้ำน้อยมีคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง มีค่าความโปร่งใสอยู่ระหว่าง 35 – 70 เซนติเมตร อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 29 – 30 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ระหว่าง 8 – 29 ส่วนในพันล้านส่วน ความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 7.8–8.4 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำมีค่า 5.4–6.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดีอยู่ระหว่าง 3.2 – 6.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าไนเตรด-ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.001 – 0.082 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณฟอสเฟต – ฟอสฟอรัสอยู่ระหว่าง 0.019 – 0.030 มิลลิกรัมต่อลิตร

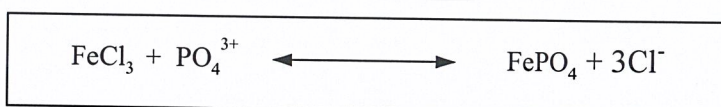
### 2.3.2 การกำจัดฟอสฟอรัส

การกำจัดฟอสฟอรัสนั้นทำได้หลายวิธีที่นิยมทำ คือ การบำบัดโดยใช้กระบวนการทางเคมี และการบำบัดโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพ การกำจัดฟอสฟอรัสด้วยกระบวนการทางเคมีทำได้โดยการตกตะกอนฟอสเฟตด้วยสารเคมี ที่นิยมใช้ คือ สารส้มและเพอริกคลอไรด์ ซึ่งกำจัดฟอสฟอรัสได้ 70-79% (จารุรัตน์ และคณะ, 2536) โดยกระบวนการทางเคมี เช่น aluminium , เพอริกคลอไรด์ ซึ่งสารเคมีเหล่านี้เมื่อเติมลงไปในการบำบัด จะทำปฏิกิริยากับฟอสฟอรัสเกิดเป็นตะกอนของโลหะฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำ เช่น

Aluminium ทำปฏิกิริยากับฟอสฟอรัสเป็น aluminium phosphate



เพอริกคลอไรด์ ทำปฏิกิริยากับฟอสฟอรัสเกิดเป็นเพอริกฟอสเฟต



ตะกอนของโลหะฟอสเฟตที่เกิดขึ้นแยกออกได้โดยใช้ถังตกตะกอน (Bitton, 1994) แต่มีข้อเสียคือราคาแพง ส่วนการบำบัดโดยกระบวนการชีวภาพ เป็นการกำจัดฟอสฟอรัสโดยใช้จุลินทรีย์ ซึ่งจะใช้ฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบหนึ่งในการสร้างเซลล์ใหม่ และเป็นแหล่งพลังงาน

ธงชัย (2544) รายงานว่า อุณหภูมิต่ำอาจมีผลต่อกระบวนการชีวเคมีต่างๆ ทำให้แบคทีเรียต้องการพลังงานมากขึ้น จึงมีการดึงเอาพลังงานจากโพลีฟอสเฟสไปและเกิดการแตกตัวของ ATP มากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการปล่อยฟอสเฟตออกนอกเซลล์ซึ่งมีข้อสังเกตว่าถ้ามีพลังงานเกิดขึ้นมาก แบคทีเรียสามารถนำพลังงานนั้นไปใช้ในการสร้าง PHA และใช้ในการตรึงฟอสเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้าเซลล์ได้ แต่ในความเป็นจริงพบว่าอุณหภูมิค่าสภาวะของแหล่งน้ำนั้นจะเย็น ซึ่งจุลินทรีย์ต้องการปรับสมดุลโดยจะมีการใช้พลังงานที่จะทำให้มีอุณหภูมิสูงขึ้น แบคทีเรียจึงสูญเสียพลังงานให้แหล่งน้ำ ทำให้พลังงานของแบคทีเรียลดลง การผลิต PHA จึงลดลง ดังนั้นที่อุณหภูมิค่าแบคทีเรียจึงมีความสามารถในการดั่งฟอสฟอรัสลดลง

Henze *et al.*(1997) Panswad *et al.* (1998) รายงานว่า ในเตรตในน้ำเสียสามารถกำจัดสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายง่ายออกจากน้ำเสียได้ โดยใช้กระบวนการดีไนตริฟิเคชัน ทำให้อินทรีย์คาร์บอนลดลง การกำจัดฟอสเฟตในสภาวะที่มีออกซิเจนของแบคทีเรียลดลงเพราะอินทรีย์คาร์บอนที่ลดลงมีผลต่อการสะสม PHA ของเซลล์ และในสภาวะแอนน็อกซิก คือ สภาวะที่ไม่มีการเติมอากาศแต่เป็นสภาวะที่ไนเตรตอยู่จุลินทรีย์จะสามารถดึงเอาออกซิเจนจากไนเตรตมาใช้เป็นตัวรับอิเล็กตรอนได้ จึงเปลี่ยนจากไนเตรตเป็นไนโตรเจนสภาวะนี้มีการใช้แหล่งคาร์บอนมากขึ้น เพราะต้องการพลังงานมาใช้ในการเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนโตรเจน ทำให้การกำจัดฟอสเฟตลดลง ดังนั้นไนเตรตจึงมีผลต่อกระบวนการทางชีวเคมีของแบคทีเรียทำให้การสะสมของฟอสเฟตเกิดขึ้นน้อยหรือไม่เกิดเลย

Liu *et al.*(1996) รายงานว่า pH ที่เหมาะสมต่อการกำจัดฟอสเฟตของแบคทีเรียในขณะที่ไม่ใช้ออกซิเจนจะมีความเหมาะสมที่ pH 7.0 และไม่ควรเกิน pH 8.0 และ ปริมาณออกซิเจนในระบบกำจัดน้ำเสียต้องมีปริมาณออกซิเจนเพียงพอจึงทำให้การกำจัดฟอสเฟตออกจากน้ำเสียได้ดี

ประติพันธ์ (2544) ได้กล่าวถึงระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกติแอกติเวทเต็ดสลัดจ์ (activated sludge) ว่าเป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน โดยระบบบำบัดนี้จะมีการกำจัดมลสารในรูปสารอินทรีย์ออกจากน้ำเสีย ไม่ว่าจะเป็นน้ำเสียที่มีแหล่งที่มาจากชุมชน หรือโรงงานอุตสาหกรรม โดยระบบแอกติเวทเต็ดสลัดจ์ได้รวมเอากระบวนการทางกายภาพ กระบวนการทางชีวภาพเข้าไว้ด้วยกัน ในระบบประกอบด้วย ถังเติมอากาศ และถังตกตะกอน โดยปกติพบว่าระบบบำบัดนี้มีประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสได้เพียง 10-30% เนื่องจากว่าจุลินทรีย์ในระบบบำบัดนี้มีความต้องการฟอสฟอรัสไม่มากนัก

Mener and Jendines (1968) ได้สรุปว่า การกำจัดฟอสฟอรัสโดยระบบบำบัดแบบแอกติเวทเต็ดสลัดจ์ ในน้ำเสียที่เป็นน้ำกระด้างนั้นเกิดจากการตกตะกอนของแคลเซียมฟอสเฟต (calcium phosphate) แล้วตามด้วยการรวมตัวของตะกอนเข้ากับกลุ่มตะกอนแอกติเวทเต็ดสลัดจ์ (activated sludge flow) ความสามารถของการตกตะกอนของแคลเซียมฟอสเฟตในแอกติเวทเต็ดสลัดจ์จะถูกควบคุมโดยพีเอช สำหรับความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในตะกอน (mixed liquor) หรือในชั้นตะกอนในถังตกตะกอนที่สอง ไม่มีผลต่อการตกตะกอนของแคลเซียมฟอสเฟต และไม่ได้ช่วยในการกำจัดฟอสฟอรัสขึ้น

### 2.3.3 จุลินทรีย์ที่สะสมฟอสฟอรัส

การสะสมของฟอสฟอรัสจำนวนมากของจุลินทรีย์ สังเกตพบครั้งแรกในโพลีฟอสเฟตแบคทีเรีย โดย Vaker *et al.* (1967) แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถสะสมฟอสฟอรัสในเซลล์เกินความจำเป็นของเซลล์ ตัวอย่างของโพลีฟอสเฟตแบคทีเรีย ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Acitobactor*, *Pseudomonas*, *Aerobacter*, *Moraxella* รวมทั้ง *Escherichia coli* ในขณะที่บางรายก็รายงานว่าเป็นกลุ่มอื่น เช่น *micrococcus* NM-1 (Nakamura *et al.*, 1991) *Pseudomonas* (lotter, 1985) และ *Aeromonas* (Brodisch and Joyner, 1983) โดยกลุ่มของแบคทีเรียจะไม่แน่นอนขึ้นกับลักษณะของน้ำเสีย วิธีการบำบัด และกระบวนการที่ใช้ แต่ก็มีข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแบคทีเรียที่สามารถสะสมโพลีฟอสเฟต และโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอท (polyhydroxyalkanoate, PHA) ซึ่งเป็นสารโพลีเมอร์ของคาร์บอน ที่เป็นแหล่งสะสมพลังงานอย่างหนึ่งในเซลล์ ดังตารางที่ 2 โพลีฟอสเฟตแบคทีเรียเหล่านี้ สามารถสะสมฟอสฟอรัสได้มากกว่าปริมาณที่เซลล์ปกติจำเป็นต้องใช้ในการเจริญ เซลล์ปกติจะใช้ฟอสฟอรัสระหว่าง 1-3% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ฟอสฟอรัสที่สะสมในเซลล์จะอยู่ในรูปเม็ดโพลีฟอสเฟต (polyphosphate granules) เม็ดโพลีฟอสเฟต (polyphosphate granules) จัดเป็นสารอนินทรีย์ฟอสเฟตซึ่งเรียกว่า metachromatic aranules หรือ volutin gramules เป็นสารอาหารที่แบคทีเรียสะสมไว้เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งฟอสเฟต สังเกตพบครั้งแรกใน *Corynebacterium diphtgeriae* และ *Corynebacterium xerosis* นอกจากนี้ยังพบการสะสม volutin gramules ในยีสต์รา และสาหร่ายอีกด้วย (Dugrid *et al.*, 1954)

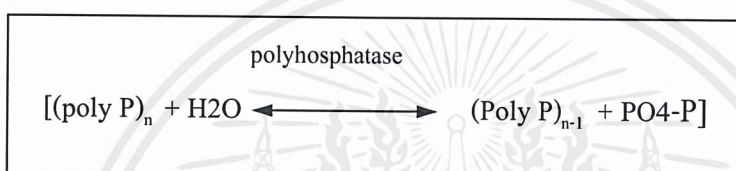
Fuhs and Chen (1975) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่สะสมฟอสฟอรัสเป็นกลุ่ม *Acinetobacter* sp. เป็นจุลินทรีย์ที่ดูดซึมและปลดปล่อยฟอสฟอรัส มีการเจริญในสภาวะไร้อากาศ สลับกับสภาวะให้อากาศ โดยในสภาวะไร้อากาศจะสามารถใช้เอธานอลและอะซิเตต ซึ่งผลิตจากแบคทีเรียกลุ่มแพคัลเทททิพเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากตะกอนสลัดจ์ (sludge) มักพบ *Acinetobacter* sp ซึ่งมี poly- $\beta$ -hydroxybutyrate (PHB) สะสมในเซลล์ PHB เป็นสารประเภทกรดไขมัน พบประมาณ 7-30% ของน้ำหนักเซลล์ จะสะสมในสภาวะไร้อากาศและนำมาใช้เป็นพลังงานสำหรับการสะสมสารประกอบโพลีฟอสเฟตในขั้นตอนการให้อากาศพบได้ในแบคทีเรียหลายสกุลเช่น *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter* และ *Acinetobacter*

Nicholles and Osbom (1979) และ Seslak (1991) กล่าวว่า เมื่อมีความเครียดในสภาพไร้อากาศของระบบแอกติเวเตดสลัดจ์ แบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน (Obligate Aerobic Bacteria) จะอาศัยแหล่งพลังงานที่สร้างไว้ในเซลล์ และจะมีการใช้ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปโพลีฟอสเฟต เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเคลื่อนย้ายแหล่งคาร์บอนไปสู่เซลล์ และจะมีการใช้ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปโพลีฟอสเฟต เป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเคลื่อนย้ายแหล่งคาร์บอนไปสู่เซลล์เพื่อสร้างเป็น PHB นอกจากนี้ยังได้สรุปว่าในสภาพไร้อากาศ โพลีฟอสเฟตเป็นเหมือนแหล่งของฟอสฟอรัสที่ใช้ในการสร้าง ATP ส่วน PHB เป็นเสมือนแหล่งพลังงานและแหล่ง

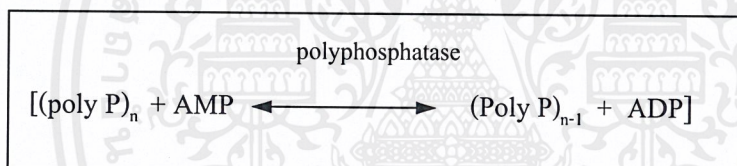
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับผูกพันให้มาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์บอนสำหรับการทำน้ำที่ของเซลล์ และยังเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเกิดโพลีฟอสเฟต และกักเก็บโพลีฟอสเฟตโดยการมีสภาพไร้อากาศก่อนมีสภาพที่มีการเติมอากาศในระบบเป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากว่าในสภาพไร้อากาศจะมีการปลดปล่อยฟอสฟอรัส ซึ่งจำเป็นต้องมีก่อนการดูดซึมฟอสฟอรัสในสภาพที่มีการเติมอากาศ โดยฟอสฟอรัสที่ถูกดูดซึมในสภาพไร้อากาศ เพื่อใช้สำหรับเคลื่อนย้ายดูดซึมและเก็บกักสารอาหารในรูปของ PHB อีกทั้งยังใช้ในการบำรุงรักษาเซลล์ โดยจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟอสเฟตจึงได้เปรียบจุลินทรีย์ชนิดอื่นในการสะสมอาหารไว้ใช้ในสภาพไร้อากาศ (Fuhs and Chen, 1975 และ Nicholls and Osborn, 1979)

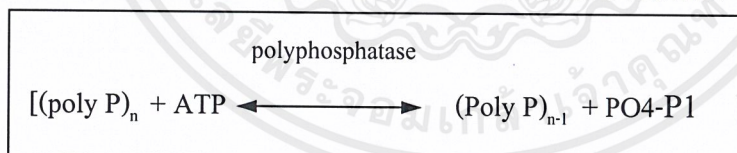
Toerien *et al.* (1990) รายงานว่าในสภาพไร้อากาศจะเกิดการหมัก เกิดกรดไขมันจำนวนมาก จุลินทรีย์ที่สะสมสารประกอบโพลีฟอสเฟตไว้เป็นแหล่งพลังงานจะปลดปล่อยฟอสเฟตออกมาโดยมีเอนไซม์หลักคือ polyphosphates



AMP Phosphotransferase



หลังจากจุลินทรีย์เข้าสู่ขั้นตอนการให้อากาศ จุลินทรีย์จะปรับสภาพให้เหมาะสมกับฟอสฟอรัสในรูปโพลีฟอสเฟตในเซลล์ในปริมาณที่มากกว่าปกติ โดยอาศัยเอนไซม์หลัก คือ polyphosphate



kinase และ ATP โดยการตกตะกอนจุลินทรีย์ออกจากระบบจึงเป็นการนำฟอสเฟตออกจากน้ำทิ้งด้วย (ธงชัย, 2544)

ตารางที่ 2.2 จุลินทรีย์ชนิดที่มีความสามารถในการสะสมโพลีฟอสเฟต และ PHA

Polyphosphate	Polyhydroxyalkanoate
<i>Aerobacter aerogenes</i>	<i>Bacillus</i>
<i>Azotobacter agilis</i>	<i>Beijerinckia</i>
<i>Azotobacter vinelandii</i>	<i>Chlorogloea</i>
<i>Chlorella spp.</i>	<i>Chromobacterium</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Ferrobacillus</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Hydrogenomonas</i>
<i>Euglena gracilis</i>	<i>Hyphomicrobium</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Lamprppaedia</i>
<i>Hydrogenomonas eutropha</i>	<i>Micrococcus</i>
<i>Micrococcus lysodelkticus</i>	<i>Nocardia</i>
<i>Mycobacterium chelonae</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Mycobacterium phlei</i>	<i>Rhizobium</i>
<i>Mycobacterium phanopheos</i>	<i>Rhodopseudomonas</i>
<i>Micrococcus Xanthus</i>	<i>Rhodospirillum</i>
<i>Nitrosomonas europaeae</i>	<i>Sphaerotilus</i>
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	<i>Spirillum</i>
<i>Streptococcus SL-1</i>	<i>Streptomyces</i>
	<i>Tetrahymena</i>
	<i>Zoolegia</i>
	<i>Alcaligenes eutrophus</i>
	<i>Halobacterium mediterranei</i>

ที่มา: Glazer A.N. and Nikaida H. Microbial Biotechnology : Fundamentals of Applied Microbiology New York : Freeman

### 2.3.4 จุลินทรีย์ที่กำจัดฟอสเฟต

Comeau *et al.* (1985) พบว่า *Acinetobacter* เป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทในกำจัดฟอสเฟตในระบบบำบัดน้ำเสียในสภาวะไร้อากาศและสภาวะให้อากาศ เนื่องจากมีการกักเก็บโพลีฟอสเฟตไว้ในเซลล์ โดยในสภาวะไร้ออกซิเจน *Acinetobacter* จะดูดซึมแหล่งคาร์บอน ซึ่งเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลต่ำ เช่น กรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acid) ซึ่งเกิดจากจุลินทรีย์ทำให้เกิดการหมักในขั้นแรก สารเหล่านี้จะถูกนำเข้าสู่เซลล์เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม และส่วนหนึ่งจะเก็บไว้เป็นอาหารสำรองในรูป PHB เมื่อเข้าสู่สภาวะที่มีออกซิเจน PHB ที่เก็บสะสมภายในเซลล์ก่อนหน้านี้จะถูกย่อยสลายโดยการดึงออกซิเจนจากภายนอกมาใช้ทำให้ได้เซลล์ใหม่และพลังงานที่เกิดขึ้นเรื่อยๆ กับปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาด้วย พลังงานใหม่จะถูกใช้ในการดึงออร์โธฟอสเฟตจากภายนอกเซลล์มารวมกับ ADP ภายในเซลล์ได้ ATP เป็นพลังงานสะสมไว้ใช้ในโอกาสต่อไป โดยการตกตะกอนจุลินทรีย์ออกจากระบบจึงเป็นการนำฟอสเฟตออกจากน้ำทิ้งด้วย (ธงชัย, 2544)

### 2.4. ไนโตรเจน

ไนโตรเจนมีความสำคัญต่อระบบนิเวศวิทยาของแหล่งน้ำมาก เพราะเป็นส่วนประกอบของอินทรีย์สารหลายชนิดที่มีความสำคัญต่อความเป็นอยู่ของพืชและสัตว์ เช่น เป็นส่วนประกอบของโปรตีน และไขมันบางชนิด ฉะนั้นสารประกอบไนโตรเจนจึงเป็นสิ่งจำกัดอย่างหนึ่งของความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำ

น้ำเสียจากกระบวนการผลิตส่วนใหญ่เป็นสิ่งเจือปนที่ละลายน้ำได้ (Dissolved solid) และเกลือ ซึ่งบำบัดโดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เพื่อให้อยู่ในค่าที่เหมาะสมกับการตกตะกอน และแยกตะกอนสารเจือปนด้วยวิธีที่เหมาะสม เช่น อาจใช้เรซินเป็นตัวดูดซับสารเจือปนเหล่านี้ ซึ่งเป็นการใช้หลักการของการดูดซับสิ่งเจือปนในตัวกลาง ตัวดูดซับอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้คือถ่านกัมมันต์ (Activated carbon) เพราะสามารถดูดซับสารอินทรีย์และโลหะหนักหลายชนิด แต่ถ่านกัมมันต์มีประสิทธิภาพต่ำในการดักจับสารอนินทรีย์ที่มีขี้ เนื่องจากถ่านกัมมันต์เป็นสารที่ไม่มีขี้ ดังนั้นในการบำบัดสารประกอบอนินทรีย์ที่มีขี้ที่ละลายน้ำควรใช้สารประกอบโพลีเมอร์หรือเรซิน ที่มีสมบัติของขี้ประจุตรงข้ามกับสารประกอบที่ต้องการกำจัด น้ำเสียอาจเจือปนด้วยสารประกอบไนโตรเจนในปริมาณสูง ซึ่งสามารถบำบัดได้ 2 วิธี โดยใช้สารเคมี เช่น การใช้ออกซิไดซ์ประเภทคลอรีน โอโซนหรือสารประกอบไฮโปคลอไรต์เพื่อเปลี่ยนสภาพสารประกอบไนโตรเจนในน้ำเสียให้กลายเป็นก๊าซไนโตรเจน หรือบำบัดโดยวิธีทางชีวภาพซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้มากกว่าเพราะค่าใช้จ่ายน้อยกว่า โดยการบำบัดทางชีวภาพจะเป็นกระบวนการผสมระหว่างกระบวนการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ที่ใช้ก๊าซออกซิเจน (Nitrification) และกระบวนการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ก๊าซออกซิเจน (Denitrification) ซึ่งจะได้ผลเดียวกับกระบวนการทางเคมี คือ สารประกอบไนโตรเจนใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นการฝ่าฝืน  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

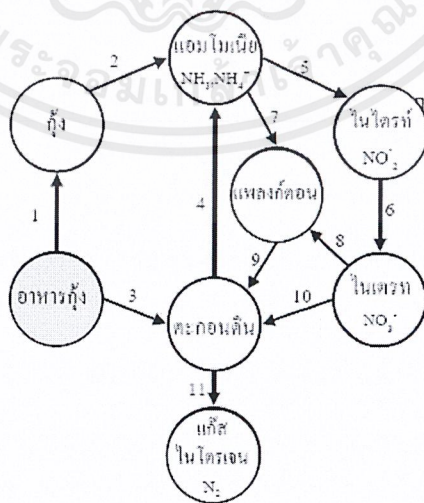
น้ำเสียจะเปลี่ยนสภาพเป็นก๊าซไนโตรเจน ซึ่งมีชีวิตที่ตรึงไนโตรเจนได้มี 2 กลุ่มใหญ่ๆคือ จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนได้อย่างเป็นอิสระ ในดินจะเป็นกิจกรรมของจุลินทรีย์ เช่น *Azotobactor*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas*, *Rlebsiella* และแอกติโนมัยสิตบางตัว โดยทั่วไปอัตราการตรึงไนโตรเจนจะต่ำ เว้นแต่เมื่อเข้าไปอยู่ในไรโซสเฟียร์และได้รับสารอินทรีย์จากรากพืช อัตราการตรึงไนโตรเจนจะสูงขึ้น ในน้ำจะเป็นกิจกรรมของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น *Anabeana*, *Nostoc*, *Aphanizomehon*, *Gloeotrichia*, *Calothrix* และจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนเมื่ออยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น มีหลายกลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรีย *Frankia* เป็นการเกิดปมระหว่าง Actinorhizea (*Frankia*) กับพืชใบเลี้ยงคู่ที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว ส่วนใหญ่เป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้น พบในเขตอบอุ่น แต่ก็มีหลายชนิดพบในเขตร้อนด้วย เช่น *Purshia tridentata* ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจในแอฟริกา หรือสนประติพัทธ์และสนทะเล (*Casuarina*) ที่ปลูกได้ในประเทศไทย *Frankia* เป็นแบคทีเรียที่พบในปมของพืชที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว เป็นสกุลที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับแอกติโนมัยสิต แบ่งได้เป็นกลุ่มที่สร้างสปอแรงเจียภายในปม ซึ่งเจริญได้ช้า ตรึงไนโตรเจนได้น้อย คัดแยกให้บริสุทธิ์ได้ยาก กับกลุ่มที่ไม่สร้างสปอแรงเจีย ที่เจริญได้เร็วกว่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่อยู่ร่วมกับพืช ที่สำคัญคือ *Anabeana* ที่อยู่ร่วมกับแห่นแดง และ *Nostoc* ซึ่งอยู่ร่วมกับปรอง และไลเคน อย่างไรก็ตาม สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีแหล่งอาศัยที่หลากหลายกว่าระบบการตรึงไนโตรเจนอื่นๆ และที่น่าสังเกตคือในขณะที่ ไรโซเบียม และ *Frankia* อยู่ร่วมกับพืชชั้นสูง แต่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจะอยู่ร่วมกับพืชที่มีวิวัฒนาการต่ำกว่า เช่น ไลเคน ลิเวอร์เวิร์ด เฟิน จิมโนสเปิร์ม เป็นต้น ไรโซเบียมที่อยู่ในปมของพืชตระกูลถั่ว เป็นระบบที่มีประสิทธิภาพมากเมื่อเทียบกับระบบอื่นๆ

มีรายงานการศึกษาถึงนำสาหร่ายช่อพริกไทย และสาหร่ายหนามมาใช้ในการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีสารประกอบไนโตรเจนอยู่สูง เนื่องจากสาหร่ายสามารถนำไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียม และไนเตรทเข้าสู่เซลล์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้โดยตรง งานวิจัยนี้ได้ศึกษาอัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย โดยวัดจากปริมาณออกซิเจนในน้ำที่สาหร่ายปลดปล่อยออกมาจากกระบวนการสังเคราะห์แสงเมื่อให้แสงที่ความเข้มระดับต่างๆ ภายใต้สภาพแสงธรรมชาติและแสงจากโคมฮาโลเจน ผลการทดลองพบว่าสาหร่ายช่อพริกไทย และสาหร่ายหนามมีจุดอิ่มตัวที่ระดับความเข้มแสงประมาณ 15,000-20,000 ลักซ์ ต่อมาได้ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการนำแอมโมเนียมและไนเตรท เข้าสู่เซลล์ของสาหร่ายทั้งสองชนิดพบว่า ในส่วนของการนำแอมโมเนียมเข้าสู่เซลล์สาหร่ายช่อพริกไทยมีค่า  $V_{max} = 0.0897 \text{ mgNH}_4^+ \text{ -N/g(fw)/hr}$ ,  $K_m = 18.5822 \text{ mgNH}_4^+ \text{ -N/l}$  ส่วนในสาหร่ายหนามมีค่า  $V_{max} = 0.3406 \text{ mgNH}_4^+ \text{ -N/g(fw)/hr}$ ,  $K_m = 50.9554 \text{ mgNH}_4^+ \text{ -N/l}$  ในขณะที่การนำไนเตรทเข้าสู่เซลล์ของสาหร่ายช่อพริกไทยมีค่า  $V_{max} = 0.0157 \text{ mgNO}_3^- \text{ -N/g(fw)/hr}$ ,  $K_m = 40.1094 \text{ mgNO}_3^- \text{ -N/l}$  ส่วนในสาหร่ายหนามมีค่า  $V_{max} = 0.0425 \text{ mgNO}_3^- \text{ -N/g(fw)/hr}$ ,  $K_m = 90.0509 \text{ mgNO}_3^- \text{ -N/l}$  จากข้อมูลดังกล่าวสรุปได้ว่าสาหร่ายหนามมีประสิทธิภาพ ในการนำแอมโมเนียมและไนเตรทเข้าสู่เซลล์ได้ดีกว่า สาหร่ายช่อพริกไทยและผลการทดลองยังแสดงให้เห็นเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญตให้มาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อีกว่า สาหร่ายทั้งสองชนิดจะเลือกใช้สารประกอบไนโตรเจน ที่อยู่ในรูปของแอมโมเนียมก่อนใน เทรทเสมอ โดยไนเตรทมีความเข้มข้นสูงไม่มีผลยับยั้งการนำแอมโมเนียม เข้าสู่เซลล์ของสาหร่าย ทั้งสองชนิด และเมื่อทดลองใช้สาหร่ายทั้งสองชนิด ในการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนในน้ำจาก บ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่าสาหร่ายทั้งสองชนิดจะลดปริมาณแอมโมเนียมในน้ำลงได้อย่างรวดเร็ว โดยชุด ทดลองที่ให้แสงต่อเนื่องที่ระดับ 15,000 ลักซ์ จะได้ผลดีกว่าชุดทดลองที่ได้รับแสงธรรมชาติ และ สาหร่ายหนามจะมีประสิทธิภาพในการบำบัดแอมโมเนียม ได้ดีกว่าสาหร่ายช่อพริกไทย ซึ่ง สอดคล้องกับการศึกษาจนพลาศาสตร์ข้างต้น (เปี่ยมศักดิ์, 2543)

2.4.1 วัฏจักรไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงกุ้ง

ไนโตรเจนในอาหารกุ้งที่มีการหว่านลงในบ่อ จะถูกนำไปใช้ในการเติบโตของกุ้ง และส่วนหนึ่งจะถูกขับถ่ายออกมาในรูปแอมโมเนีย ในขณะที่อาหารบางส่วนที่เหลือตกค้างตามพื้น บ่อก็จะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียกลายเป็นแอมโมเนีย กระบวนการที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับ แอมโมเนียในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมีสองกระบวนการ ได้แก่ กระบวนการไนตริฟิเคชัน (nitrification) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแอมโมเนียให้เป็นไนไตรต์ และไนเตรทภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และการนำ แอมโมเนียเข้าสู่เซลล์ของแพลงก์ตอนพืชเพื่อใช้ในการเติบโต ในขณะที่แพลงก์ตอนพืชก็สามารถ ใช้ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเติบโตได้เช่นกัน ซึ่งหลังจากที่แพลงก์ตอนเพิ่มจำนวน มากในที่สุดก็จะตายจมลงสู่ก้นบ่อ การเกิดปฏิกิริยาดิไนตริฟิเคชัน (denitrification) ที่ตะกอนก้นบ่อ ซึ่งอยู่ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำจะเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นแก๊สไนโตรเจน ดังนั้นการเกิด กระบวนการดิไนตริฟิเคชันจึงเป็นการกำจัดไนโตรเจนออกจากระบบบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังแสดงใน รูปที่ 2.2 (ประจวบและคณะ, 2547)



รูปที่ 2.2 แผนภูมิแบบง่ายแสดงวัฏจักรไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงกุ้ง

ที่มา: ประจวบและคณะ (2547)

## 2.5 ความเป็นพิษของสารประกอบไนโตรเจนต่อสิ่งมีชีวิต

### 2.5.1 ความเป็นพิษของไนเตรต

เป็นสารที่เกิดจากการย่อยสลายสารไนไตรต์ ซึ่งเกิดมาจากสารแอมโมเนีย ถ้าพบว่ามีสารไนเตรตในน้ำแสดงว่าสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำได้ถูกย่อยสลายจนเสร็จสิ้นสมบูรณ์ และโดยทั่วไปจะไม่มีผลอันตรายต่อสัตว์น้ำถ้าในน้ำมีสารไนเตรตอยู่เกินกว่า 45 มิลลิกรัมต่อลิตร ของ  $\text{NO}_3$  หรือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรของไนโตรเจนหรือในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน ไนเตรตจะเกิดการเปลี่ยนรูปเป็นไนไตรต์ผ่านทางปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน

### 2.5.2 ความเป็นพิษของไนไตรต์

ไนไตรต์ เป็นสารที่เกิดจากการย่อยสลายสารแอมโมเนียถ้าพบว่ามีไนไตรต์แสดงว่าการย่อยสลายสารอินทรีย์ยังไม่เสร็จสิ้นสมบูรณ์ ไนไตรต์เป็นสารตัวกลางที่พบได้ระหว่างปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน และปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน ไนไตรต์ในเลือดกึ่งจะทำให้ระดับโปรตีนและพีเอชในเลือดกึ่งลดลง ซึ่งทำให้ชีวเคมีในเลือดกึ่งเปลี่ยนไปขบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกายมีประสิทธิภาพลดลงทำให้การเจริญของกึ่งลดลง เกิดการสะสมของยูเรียในเลือดกึ่ง และมีการดูดซึมน้ำมากทำให้สมดุลเกลือแร่เปลี่ยนแปลงไป พิษของไนไตรต์ทำให้การขนถ่ายออกซิเจนในเลือดลดลง ส่งผลให้ระบบการหายใจกึ่งผิดปกติ ทำให้กึ่งลอกกราบไม่ออก กึ่งเปลี้ยซึม น้ำที่มีไนไตรต์สูงกว่า 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้กึ่งป่วย อ่อนแอ ติดเชื้อโรคได้ง่าย และตายในที่สุด (กรมประมง , 2536)

### 2.5.3 ความเป็นพิษของแอมโมเนีย

เป็นสารที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ไนโตรเจนด้วยแบคทีเรียจนกลายเป็นแอมโมเนีย ปกติกึ่งจะมีการขับถ่ายแอมโมเนียทางเลือด และปล่อยออกทางเหงือกกึ่งในระหว่างกึ่งมีการหายใจ ถ้าในน้ำมีแอมโมเนียน้อย จะทำให้กึ่งสามารถขับถ่ายแอมโมเนียได้ดี และมีการเจริญเติบโตที่ดี แต่ถ้ามีแอมโมเนียมากเกินไปจะเกิดการแพร่กลับเข้าไปในเลือดได้ พีเอชของเลือดสูงผิดปกติ ทำให้เอนไซม์ในเลือดกึ่งทำงานไม่ปกติ กึ่งจะลดการหายใจเพื่อป้องกันแอมโมเนียในน้ำเข้าสู่ร่างกาย จึงเกิดความเครียดและเติบโตได้ช้า แอมโมเนียมากกว่า 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร กึ่งจะโตช้าและกินอาหารน้อยลงเป็นผลให้กึ่งเครียดหรือตาย

## 2.6 จุลินทรีย์กับการเลี้ยงกึ่ง

จุลินทรีย์ส่วนมากมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการแปรสภาพในสิ่งแวดล้อม โดยทำให้เกิดวงจรการหมุนเวียนของแร่ธาตุ (cycle of elements) ขึ้น ประกอบด้วยกระบวนการ มีนเนอราไรเซชัน (mineralization) คือการที่จุลินทรีย์ย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นโมเลกุลใหญ่ให้เป็นโมเลกุลเล็กลง ผลสุดท้ายกลายเป็นแร่ธาตุอนินทรีย์ เช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โปแตสเซียม ที่มีประโยชน์ต่อการดำรงชีวิตของพืช และกระบวนการที่พืชสามารถ

เอกสารเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำสารอินทรีย์มาสร้างอาหารได้เองด้วยการสังเคราะห์แสง หรือเป็นการทำให้แร่ธาตุต่าง ๆ กลับเข้าไปอยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่มีโมเลกุลใหญ่ขึ้น ทำให้เกิดความซับซ้อนในระบบนิเวศน์มากขึ้น แบคทีเรียในแหล่งน้ำที่มีบทบาทต่อการเพาะเลี้ยง คือ ไซโมจีนัสแบคทีเรีย (zymogenous หรือ fermentation producing bacteria) เป็นแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโธปที่อยู่ในสภาวะปกติจะมีปริมาณน้อย แต่เมื่อมีซากอินทรีย์หรืออาหารมากขึ้นจะสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว แบคทีเรียกลุ่มนี้มีปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมที่มันอาศัยอยู่ ซึ่งจะช่วยย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ในสภาพแวดล้อม วงจรของแร่ธาตุในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีแหล่งกักตุนพืชและสาหร่ายเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดอินทรีย์สาร และเป็นห่วงโซ่อาหารห่วงแรก ซึ่งต่อไปจะถูกกินโดยแหล่งกักตุนสัตว์ และสัตว์ที่มีระดับการกินสูงขึ้น ทำให้เกิดอินทรีย์สารที่ซับซ้อนขึ้นเรื่อย ๆ อินทรีย์สารเหล่านี้ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน แป้ง น้ำตาล เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพ็คติน วุ้น ไคติน ลิกนิน ฯลฯ ซึ่งจะถูกระดมไว้ในดินตะกอน ดังนั้น สารประกอบเหล่านี้จึงจำเป็นต้องได้รับการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ ตามลำดับ ( เปี่ยมศักดิ์ และคณะ, 2547)

### 2.6.1 การศึกษาจุลินทรีย์ที่พบในสภาพแวดล้อมของการเลี้ยงกุ้ง

จุลินทรีย์ที่พบในบริเวณที่มีการเลี้ยงกุ้งมีทั้งกลุ่มที่ก่อโรคและกลุ่มที่เป็นประโยชน์ ซึ่งส่วนใหญ่จะอาศัยอยู่ในบริเวณเดียวกัน ในตัวของจุลินทรีย์เอง อาจจะไม่ได้เป็นตัวก่อให้เกิดโรค แต่เป็นตัวที่ไปขัดขวางกิจกรรมของกุ้ง ทำให้กุ้งเกิดความเครียด ไม่สบาย จึงทำให้สามารถติดโรคได้ง่าย ในการศึกษาจึงจำเป็นต้องทำความเข้าใจกับจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคมักจะอาศัยอยู่ใกล้หรืออยู่ที่ตัวของสิ่งมีชีวิต เช่น แบคทีเรียชนิด *Vibrio harveyi* ที่ก่อโรคเรืองแสงในกุ้งจะอาศัยอยู่ที่เปลือกตามเหงือก ตามลำตัว และภายในทางเดินอาหาร ทำให้เห็นตัวกุ้งสามารถเรืองแสงได้ในที่มืด แบคทีเรียที่พบมากที่สุดคือกลุ่ม *Vibrios* มีหลายสายพันธุ์ ได้แก่ *Vibrio alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. cholerae*, *V. damsela*, *V. harveyi*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus*, *Fusarium* จะเกาะอยู่ตามเหงือกกุ้งทำให้เหงือกเน่า *Microsporidium* ทำให้กุ้งมีลักษณะหลังขาว กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคมามากที่สุดคือไวรัสโดยปกติไวรัสไม่สามารถอยู่ได้โดยลำพัง จะต้องมีการเข้าไปในไขมันอาศัยซึ่งจะเป็นสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่มีความเหมาะสมกับตัวมัน อาจจะเป็นแบคทีเรียพืชและสัตว์ทุกชนิด เชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดปัญหาในการเลี้ยงกุ้ง ได้แก่ โรคหัวเหลือง (yellow head virus, YHV) โรคตัวแดงดวงขาว (white spot syndrome virus, WSSV) โรคไวรัสเอ็มบีวี (monodon baculo virus, MBV) และ โรคไวรัสเฮพาทิติส (hepato-pancreatic parvo virus, HPV) และโปรโตซัวกลุ่ม *Acineta*, *Epistylis* และ *Zoothamnium* จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยง เช่น แบคทีเรียในสกุล *Aeromonas*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Coryneforms*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Ammonia oxidizing bacteria*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*, *Plesiomonas*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Vibrio* ฯลฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการเกิดโรคระบาดในการเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่น ทำให้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับจุลินทรีย์อย่างจริงจังทั้งในบริเวณที่มีการเลี้ยงกุ้ง ในบ่อเลี้ยงกุ้งทั้งในดินตะกอนที่ก้นบ่อและในน้ำ รวมถึงสภาพแวดล้อมบริเวณใกล้เคียง สิ่งสำคัญที่ควรศึกษา ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียรวม (Total Plate Count, TPC) ปริมาณของเชื้อไวรัสรวม (Vibrio Count, VC) และจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่อาศัยในบ่อเลี้ยงกุ้งและบริเวณใกล้เคียงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยทางสภาพแวดล้อม ได้แก่ คุณสมบัติของน้ำ อุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรดต่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ปริมาณสารแขวนลอย บีโอดีจำนวนห้าวัน ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ปริมาณไนโตรเจนรวม ปริมาณแอมโมเนียรวมไนไตรต์ ไนเตรต ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ปริมาณฟอสฟอรัสรวม รวมทั้งปริมาณยาปฏิชีวนะ เพื่อนำมาปรับปรุง

## 2.6.2 การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงกุ้ง

การนำจุลินทรีย์ที่เอื้อประโยชน์มาแทนที่จุลินทรีย์ที่ก่อโรค เพื่อให้เกิดการแก่งแย่งอาหารและที่อยู่ของมันเนื่องจากต้องใช้สภาพแวดล้อมแบบเดียวกัน ในความเป็นจริงจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งมีตามธรรมชาติอยู่แล้ว ดังนั้นการนำจุลินทรีย์มาเพิ่มเติมลงในบ่อเลี้ยง ยังคงเป็นปัญหาว่าจะได้รับผลดีหรือผลเสียอย่างไร จึงได้มีการศึกษาทั้งในห้องปฏิบัติการและในภาคสนามจริง แบ่งการใช้ประโยชน์ออกได้ ดังนี้

### 2.6.2.1 ใช้ในการปรับปรุงสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงกุ้ง โดยการปรับปรุงคุณภาพน้ำและลดปริมาณตะกอน ซึ่งอาจใช้วิธี เติมน้ำลงในบ่อเลี้ยงโดยตรง หรือ ใช้ในระบบกรองชีวภาพ จุลินทรีย์กลุ่มเฮเทอโรโทรฟจำเป็นต้องอาศัยซากสิ่งมีชีวิตในกระบวนการสร้างอาหารของมัน โดยการย่อยสลายซากอินทรีย์ในบริเวณที่มันอาศัยอยู่ จากกิจกรรมอันนี้จะเป็นประโยชน์ในการบำบัดน้ำในบ่อเลี้ยงที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์จากการตายของแพลงก์ตอน อาหารที่เหลือจากการกินของกุ้ง และของเสียที่กุ้งถ่ายออกมา สารอินทรีย์เหล่านี้ประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรตไขมัน ฯลฯ จำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ โดยเฉพาะแบคทีเรียเพื่อช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์เหล่านี้เริ่มจากสารประกอบที่ย่อยง่ายก่อน เช่น โปรตีนถูกย่อยโดยโปรติโอไลติกแบคทีเรีย (proteolytic bacteria) จากนั้นจะเป็นน้ำตาลและแป้งถูกย่อยโดยกลุ่มชูโดโมแนดส์ (*Pseudomonads*) บาซิลลัส (*Bacillus*) แอคติโนไมซีตีส (*Actinomycetes*) และฟังไจชั้นสูง (higher fungi) ต่อไปคือไขมันถูกย่อยโดยกลุ่มลิโปไลติกแบคทีเรีย (lipolytic bacteria) ซึ่งได้แก่ *Pseudomonas, Vibrio, Sarcina, Serratia* และ *Bacillus* และจากนั้นจะเป็นสารที่มีโมเลกุลสูงๆ เช่น ไคตินซึ่งเป็นสารพวกโพลีอะซิติกกลูโคซามีน (poly acetyl glucosamin) ได้จากซากและการลอกคราบของสิ่งมีชีวิตที่มีเปลือกในกลุ่มครัสเตเชียถูกย่อยโดยแบคทีเรียกลุ่มชูโดโมแนดส์และ วิบริโอ สารพวกเซลลูโลสถูกย่อยโดยแบคทีเรียกลุ่มชูโดโมแนดส์ (*Vibrio, Cellvibrio*) และฟังไจ แต่ซากที่อยู่ในตะกอนดินซึ่งอับอากาศจะถูกย่อยโดย *Clostridium* ในระหว่างกระบวนการจะได้กรดอินทรีย์ ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลผลิตสุดท้าย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และลักษณะจากเนื้อไม้ซึ่งเป็นสารประกอบซับซ้อนมากที่สุดได้จากพืชชั้นสูงถูกย่อยโดยฟังไจชั้นสูงร่วมกับเซลล์โลสไลต์ซึ่งแบคทีเรีย (celluloselysing bacteria) เป็นต้น

ในการคัดเลือกสายพันธุ์และความสามารถของจุลินทรีย์ ลำดับแรกที่ต้องมีการศึกษาคือการคัดแยกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์แต่ละชนิดจากบริเวณที่มีการเลี้ยง ปรียานุช (2541) ได้แยกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างดิน ตัวอย่างน้ำของบ่อเลี้ยงกุ้งและของบ่อน้ำทิ้งในจังหวัดสงขลาและปัตตานีพบแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนและแป้งได้ดีที่สุด เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่ง สร้างสปอร์ เจริญได้ดีในที่ไม่มีเกลือ มีความเป็นกรดค้างอยู่ระหว่าง 5 ถึง 6 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แต่ไม่ได้สรุปว่าเป็นเชื้อกลุ่มใดศิริโหม (2536) ได้ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างน้ำและดินตะกอนจากนาทุ่งกุลาคำ ที่จังหวัดจันทบุรีและจังหวัดฉะเชิงเทราพบเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยโปรตีนจำนวน 24 สายพันธุ์ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียในสกุล *Bacillus*, *Aeromonas* และ *Pseudomonas* แต่ที่ย่อยสลายได้ดีจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้จากสกุล *Pseudomonas* และ *Aeromonas* ส่วนจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยไขมันนั้นแยกได้จำนวน 22 สายพันธุ์ เป็นแบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas* และ *Aeromonas* นอกจากนี้ ยังพบจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยแป้งได้ดีจำนวน 13 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นแบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas*, *Bacillus* และกลุ่ม *Coryneforms* แต่ไม่พบจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยเซลลูโลส เกวลี (2545) ที่ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลาย โปรตีน แป้ง และไขมัน จากตัวอย่างน้ำและตะกอนดินจากบ่อบำบัดน้ำของหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเลจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และในบ่อเลี้ยงกุ้งจากจังหวัดพังงา พบว่าเป็นแบคทีเรียชนิด *Bacillus cereus* ทั้งหมดโดยต่างกันว่าสายพันธุ์เท่านั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* S1 ที่คัดเลือกได้จากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งให้กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (protease) สูงสุด (หมายถึงสามารถย่อยโปรตีนได้สูงสุด) แบคทีเรียชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (gluco-amylase) ได้ดีที่สุดคือ *Bacillus subtilis* รองลงมาได้แก่ สายพันธุ์ *Bacillus licheniformis* FK14 และสายพันธุ์ *Bacillus cereus* S1 ตามลำดับ และแบคทีเรียที่ให้กิจกรรมของไลเปส (lypase) สูงสุดคือ สายพันธุ์ *Bacillus cereus* S4 และสายพันธุ์ *Bacillus cereus* PW1 สุทธิณี และคณะ (2544) ได้เก็บตัวอย่างแอมโมเนียออกซิไดซ์แบคทีเรียในดินบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาคำที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์พบว่า ปริมาณแอมโมเนียออกซิไดซ์แบคทีเรียมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ปริมาณสารอินทรีย์ และชอบอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีความเป็นด่าง (7.5-8.5) แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับความเค็มแสดงว่ามันสามารถอยู่ได้ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม และพบว่าการเติมสารปฏิชีวนะและสารเคมีในบ่อเลี้ยงมีผลต่อกระบวนการไนตริฟิเคชัน ทำให้ลดการเจริญและการแพร่พันธุ์ของแบคทีเรียนอกจากนี้ยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอมโมเนียออกซิไดซ์แบคทีเรียและปริมาณแอมโมเนียในน้ำเนื่องจากกระบวนการไนตริฟิเคชันไม่ได้ขึ้นกับปริมาณแอมโมเนียออกซิไดซ์แบคทีเรียเพียงอย่างเดียว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2.2 ใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสัตว์น้ำ โดยปกติอาหารสัตว์น้ำประกอบด้วย สารอาหารที่มีคุณสมบัติเหมาะแก่การเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ แต่ในขณะเดียวกันก็จำเป็นต้องมีการจับถ่ายของเสียซึ่งเป็นปัญหาในการกำจัด ได้มีการศึกษาวิธีการกำจัดที่ได้มีการทดลองติดต่อกันมา จึงมีความคิดว่าถ้ามีการใช้จุลินทรีย์ผสมในอาหารให้สัตว์เลี้ยงกิน น่าจะทำให้สิ่งจับถ่ายที่มันต้องถ่ายออกมาไม่เป็นปัญหากับสิ่งแวดล้อม และน่าจะทำให้สัตว์ที่เลี้ยงมีการเจริญเติบโตดีและปราศจากโรคด้วย จันทสิงห์(2544) ได้ทดลองเสริมแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11 ลงในอาหารเลี้ยงกุ้ง และทดลองใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิดในบ่อดิน พบว่ากุ้งมีอัตราการเติบโตสูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้เสริมแบคทีเรีย นอกจากนี้การเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11 ในบ่อเลี้ยงกุ้ง ยังทำให้กุ้งกุลาดำมีอัตราการรอดสูงกว่าการไม่เติมแบคทีเรียและการเติมแบคทีเรียชนิด *Bacillus subtilis* และ *Bacillus firmus* ร่วมด้วยในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิดในบ่อดิน พบว่าสามารถลดค่าบีโอดี แอมโมเนียทั้งหมดใน ไตรต์ ไนเตรต ออกซิฟอสเฟต และสารอินทรีย์ในตะกอนดินลงได้ แสดงว่าการใช้แบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำร่วมกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิด ส่งผลให้น้ำมีคุณภาพเหมาะสมต่อการเติบโตของกุ้งและน้ำเลี้ยงกุ้งที่ผ่านการบำบัดสามารถนำกลับมาใช้ในการเลี้ยงกุ้งได้ใหม่โดยไม่ต้องปล่อยน้ำทิ้งออกสู่ภายนอก ทำให้ไม่ส่งผลต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11, *Bacillus subtilis* และ *Bacillus firmus* สามารถใช้ร่วมกันในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยไม่ส่งผลกระทบต่อในเชิงลบต่อกุ้งจากการเลี้ยงกุ้งในนาุ้งและในบ่อดินที่ประกอบด้วยโคลนทำให้กุ้งมีกลิ่นโคลนซึ่งไม่น่ารับประทานนั้น จิราพรและคณะ (2535) ได้ทดลองโดยการนำตัวอย่างโคลนและกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงจำนวน 12 บ่อในจังหวัด นครศรีธรรมราช สงขลา และปัตตานี มาแยกเชื้อกลุ่ม *Actinomycetes* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคดินเป็นส่วนประกอบสังเกตุ ลักษณะการเจริญของเชื้อดูลักษณะของเส้นสายและโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงพบว่าเป็นเชื้อ *Streptomyces* โดยเชื้อนี้สามารถใช้โคดินในอาหารเป็นแหล่งคาร์บอนด้วย จากการนำกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จชนิดเม็ดผสม arthrospore ของเชื้อ *Streptomyces* มาต้มและตรวจโดยใช้การดมกลิ่นจากผู้ชำนาญการ พบว่ามีกลิ่นโคลนเล็กน้อย พร้อมกันนี้ได้ศึกษาปัจจัยทางสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรด่าง ควบคู่กันไปด้วย ( ประจบ และคณะ ,2547)

## 2.7 ยีสต์ขนมปัง

ยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Saccharomyces cerevisiae* จัดอยู่ใน Phylum Eumycetes, Class Avcetomycetes, Family Saccharomycetaseae Sub family Sacharomycetoidae Genus Sacharomyces Species cerevesiae (Fruzier, 1973) เชลลียีสต์ขนมปังมีขนาดความกว้าง 2.5-10.5 ไมครอน มีความยาว 4.5 - 21 ไมครอน (Reed และ Peppler, 1973) มี

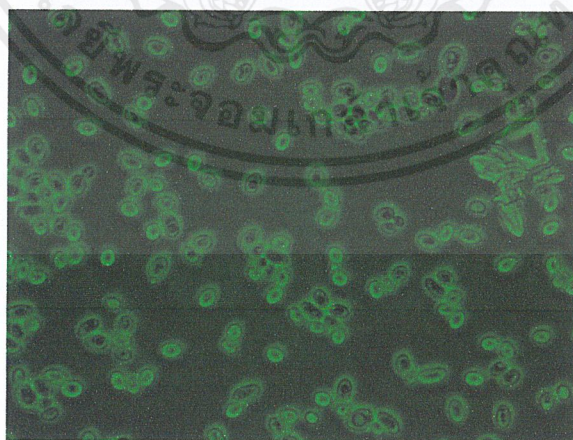
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ คือการสร้างแอสโคสปอร์ และแบบไม่อาศัยเพศ คือการแตกหน่อหรือการแบ่งตัว (Dziezak, 1987)

ภายในเซลล์ยีสต์มีองค์ประกอบซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญ ได้แก่ โปรตีน วิตามินบีรวม กลีเซอรอล ไขมัน เส้นใย โปรตีนจากยีสต์มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายอย่างครบถ้วน โดยเฉพาะไลซีน มีปริมาณสูง (Reed and Nagodawithana, 1991) จึงเหมาะสำหรับใช้เป็นแหล่งโปรตีนเสริมผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากธัญญาพืชซึ่งมีไลซีนต่ำ (Shy and Weguer, 1985)

ยีสต์สกัดเป็นผลิตภัณฑ์ประกอบด้วยโปรตีน และองค์ประกอบชนิดอื่นๆ ภายในเซลล์ที่แยกได้จากเซลล์ยีสต์ด้วยกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของยีสต์ (Hough and Maddox, 1970) หรือได้จากการย่อยคอกซ์สารเคมี และเอนไซม์ ยีสต์สกัดได้จากการย่อยสลายตัวเองของยีสต์มีชื่อเรียกว่า “ยีสต์ออกโตไลเสท” (Yeast autolysate) ดังนั้นยีสต์สกัดบางครั้งอาจเรียกเป็นยีสต์ออกโตไลเสท ซึ่งหมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยเซลล์ที่ย่อยสลาย (insoluble cell wall) ออกด้วยวิธีการกรอง เรียกผลิตภัณฑ์ที่ได้ว่า “autolysed yeast extract” (Dziezak, 1987)

ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติก หมายถึง อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถให้ประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย (Fuller, 2532) เหมือนเดือน (2547) ได้ศึกษาการนำน้ำกากส่าจากกระบวนการหมักเอทานอลจากกากน้ำตาลไปใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเป็นการบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมการหมักเอทานอล เนื่องจากน้ำหมักประกอบด้วยสารอินทรีย์ในปริมาณสูงจากทั้งเซลล์ยีสต์และน้ำตาลที่เหลือจากการหมักก่อนปล่อยน้ำทิ้งสู่สิ่งแวดล้อม



รูปที่ 2.4 ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ที่มา: [www.science.cmu.ac.th](http://www.science.cmu.ac.th)

## 2.8 สับปะรด

สับปะรด (Pineapple) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจำพวกไม้เนื้ออ่อน อยู่ในตระกูล Bromeliaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ananas comosus* (L.) Merr. มีอายุหลายปี ทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี มีหลายสายพันธุ์ เช่น ปัตตาเวีย ภูเก็ต อินทรีชิตขาว สวีนางแล ไทนาน 41 (เพชรบุรีเบอร์ 1) และ ไวท์จีเวล (เพชรบุรีเบอร์ 2) แหล่งปลูกสับปะรดที่สำคัญของไทยอยู่บริเวณพื้นที่ที่อยู่ใกล้ทะเล ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี ฉะเชิงเทรา จันทบุรี และตราด รวมถึงจังหวัดต่างๆ ในภาคใต้ เช่น ภูเก็ต พังงา และชุมพร ซึ่งนิยมปลูกในสวนยาง ปัจจุบันมีการปลูกสับปะรดในจังหวัดต่างๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือบริเวณแม่น้ำโขง และอีกหลายจังหวัดในภาคเหนือ การปลูกสับปะรดในพื้นที่ที่อยู่ใกล้ทะเลนี้ จะต้องคำนึงถึงความชื้นในอากาศเป็นสำคัญเพราะจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของสับปะรด ดังนั้นควรเลือกปลูกในบริเวณที่มีความชื้นในอากาศสูง เช่น ที่ราบระหว่างภูเขา ที่ลาดเชิงเขา บริเวณใกล้ป่าหรือแหล่งน้ำ

สำหรับสับปะรดที่มีคุณสมบัติ และนิยมปลูกเป็นการค้าสำหรับส่งโรงงาน มีเพียง 1 พันธุ์คือ ปัตตาเวีย จัดอยู่ในกลุ่มพันธุ์ Smooth cayenne เป็นพันธุ์ที่ใช้ปลูกเพื่ออุตสาหกรรมเป็นหลักเพียงพันธุ์เดียวมาโดยตลอด เนื่องจากยังไม่มีการพัฒนาหรือปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมาใหม่ ในปัจจุบันยังคงใช้สับปะรดพันธุ์นี้เป็นหลัก เป็นพันธุ์ที่ชอบใบไม่มีหนาม หรือมีหนามเพียงเล็กน้อยบริเวณปลายใบ ผลรูปทรงกระบอก ตาดัน และมีจุดเดียว สับปะรดพันธุ์นี้รู้จักแพร่หลายในนามสับปะรดศรีราชา ปราณบุรี หรือสามร้อยยอด ปลูกกันมากเพื่อส่งโรงงานอุตสาหกรรม แหล่งปลูกที่สำคัญคือ ประจวบคีรีขันธ์ ชลบุรี เพชรบุรี ลำปาง และการปลูกกันทั่วไปเพื่อขายผลสด เนื่องจากมีรสหวาน น้ำมีน้ำมาก ลักษณะทั่วไปของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย จะมีใบสีเขียวเข้ม และเป็นร่องตรงกลางผิวใบด้านบนเป็นมันเงา ส่วนใต้ใบจะมีสีออกเทาเงิน ตรงบริเวณกลางใบมักมีสีแดงอมน้ำตาล ขอบใบเรียบมีหนามเล็กน้อยบริเวณปลายใบ กลีบดอกสีม่วงอมน้ำเงิน ผลมีขนาดและรูปทรงต่างกันไป มีน้ำหนักผลอยู่ระหว่าง 2-6 กิโลกรัม แต่โดยปกติทั่วไปประมาณ 2.5 กิโลกรัม เปลือกผลเมื่อดิบสีเขียวคล้ำ เมื่อแก่จัดจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองส้มทางด้านล่างของผลประมาณครึ่งผล ก้านผลสั้นมีใ้ใหญ่เนื้อเหลืองอ่อนแต่จะเปลี่ยนเป็นสีเข้มในฤดูร้อน รสชาติดี ไม่พบตะกิ้ง ทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดี แต่ไม่ทนต่อโรครากเน่า และโรคผลแกน สับปะรดพันธุ์นี้จะมีปริมาณกรดและน้ำตาลสูงเมื่อเปรียบเทียบกับสับปะรดพันธุ์อื่น โดยมีปริมาณระหว่าง 0.3-0.7 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณน้ำตาลระหว่าง 12-16 เปอร์เซ็นต์

สับปะรดมีน้ำตาลฟรุกโตสในปริมาณสูง ร่างกายสามารถดูดซึมนำไปใช้ได้ทันที มีวิตามินซีและกรดผลไม้ และเกลือแร่ เช่น แคลเซียม ส่วนของลำต้นและผลมีเอนไซม์ธรรมชาติที่ช่วยโปรตีนได้ คือ เอนไซม์โบรมิเลน (bromelain)

### 2.8.1 การเตรียมเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด

ส่วนการผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรดนั้นจะใช้ส่วนลำต้นที่แก่จัดซึ่งจะมีปริมาณเอนไซม์สูงสุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่น (อรวิินทร์ , 2527 ) ลำต้นที่ปอกเปลือกแล้วจะนำมาสกัดเพื่อแยกน้ำสกัดเอนไซม์ แต่ลำต้นสับปะรดมีแข็ง กาก และปริมาณของแข็ง ( solid content) อยู่สูง ประกอบกับเอนไซม์โบรมิเลนเป็นเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ การสกัดจึงทำได้ยาก การสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรดมีวิธีการเตรียมแบบง่ายคือ นำเศษที่เหลือจากสับปะรด เช่น แขน เปลือก เนื้อมาปั่นรวมกันกับน้ำกลั่น ในอัตราส่วน สับปะรด 1 กิโลกรัม ต่อ น้ำกลั่น 5 ลิตร จะได้เอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด ( Patent Application Publication , 2005) หรืออาจจะทำน้ำเอนไซม์ดื่มทานเองก็ได้เตรียมโดยนำเศษสับปะรดดังกล่าว มาคั้นแยกกากโดยเครื่องแยกกากจากนั้นนำกากมาคั้นบีบด้วยผ้าขาวบางจะได้เอนไซม์ดื่มเพื่อสุขภาพ ( สงวน , 2543)

### ตารางที่ 2.5 คุณสมบัติและองค์ประกอบของน้ำที่สกัดได้จากลำต้นสับปะรด

องค์ประกอบของน้ำคั้นสับปะรดที่สกัดได้	ปริมาณองค์ประกอบ
ความถ่วงจำเพาะ	1.02 – 1.03
ของแข็งที่ละลายได้ (กรัม /100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	5.2 – 5.4
ปริมาณไนโตรเจน (กรัม/100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	0.27
โปรตีนโรโตรเจน (กรัม/ 100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	0.14
น้ำตาล (โมโนแซคคาไรด์) (กรัม/100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	3.2 – 3.6
คาร์โบไฮเดรต (กรัม/ 100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	1.8 – 2.8
เถ้า (กรัม/100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	0.7
พีเอชของน้ำสกัด	4.9 – 5.7

ที่มา : Heinike *et al.*, (1975)

## บทที่ 3

### วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

#### 3.1 วัสดุ

##### 3.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในโครงการพิเศษ

3.1.1.1 แบคทีเรียย่อยยพอสเฟต (เจนจิราและสุวรรณา, 2550) โดยได้รับความอนุเคราะห์จาก (Marisa, et., al., 2008) เก็บรักษาเชื้อบนอาหารวุ้นเยียงสูตร Nutrient agar (Ronald, 1993) เก็บเชื้อในตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส)

3.1.1.2 พงยีสต์ขนมปัง เป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่เก็บในรูปแบบเชื้อแห้ง ภายใต้เครื่องหมายการค้าเพอร์เฟค (PERFECT)

##### 3.1.2 น้ำเสียที่ใช้ในโครงการพิเศษ

น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งจากชุมชนประทีป มั่นจัน ตำบล บางบ่อ จังหวัด ฉะเชิงเทรา

##### 3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองซึ่งประกอบด้วย เชื้อยีสต์ขนมปัง อาหาร Nutrient broth และแบคทีเรียย่อยยพอสเฟต (เจนจิราและสุวรรณา, 2550) อาหาร Nutrient agar แสดงในภาคผนวก ข

##### 3.1.4 สารเคมี

สารเคมีและวิธีการเตรียมที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าซีโอดี (APHA.AWWA. WPCE. 1992). ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ปริมาณฟอสเฟต (มันสิน, 2542) ดังภาคผนวก ก

##### 3.1.5 เอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับประรด

##### วิธีการเตรียม

3.1.5.1 ล้างสับประรดพันธุ์ปัตตาเวีย 1-2 ลูกให้สะอาด จากนั้นปลอกเปลือกสับประรดโดยให้มีความหนาเท่ากัน และตัดเนื้อสับประรดน้อยที่สุด

3.1.5.2 นำเปลือกสับประรดมาหั่นหรือสับให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำไปปั่นให้ละเอียด

3.1.5.3 จะได้น้ำคั้นสับประรดพร้อมเปลือก กรองเอาแต่น้ำด้วยผ้าขางบางที่สะอาด

3.1.5.4 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ ความเร็ว 10000 รอบเป็นเวลา 30 นาที

3.1.5.5 เทส่วนใสเก็บไว้ในบีกเกอร์ระวังอย่าให้เนื้อสับประรดหล่นลงไป ในบีกเกอร์

### 3.2 อุปกรณ์

- 3.2.1 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
- 3.2.2 เครื่องนึ่งความดันไอ (Autoclave)
- 3.2.3 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
- 3.2.4 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 3.2.5 ตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส
- 3.2.6 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- 3.2.7 เครื่องอบรวมลมร้อน
- 3.2.8 ตู้บ่มปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
- 3.2.9 ตู้เขี่ยเชื้อ (Lamina Air flow)
- 3.2.10 เครื่องเขย่า (centrifuge)
- 3.2.11 หลอดทดลอง (test tube)
- 3.2.12 ครอบกวดวง (cylinder)
- 3.2.13 ปีกเกอร์ (beaker)
- 3.2.14 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- 3.2.15 ปิเปต (pipet)
- 3.2.16 ครอบหรือขวดปากกว้างสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำเสีย / ขวดบีโอดี
- 3.2.17 ผ้าปิดจมูก
- 3.2.18 ถุงมือ
- 3.2.19 ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)
- 3.2.20 คิวเวต
- 3.2.21 แท่งแก้วสามเหลี่ยมมีด้าม (spreader)
- 3.2.22 ขวดปรับปริมาตร
- 3.2.23 บิวเรตต์

### 3.3 วิธีการทดลอง

#### 3.3.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

วิเคราะห์ ค่า พีเอช ซีโอดี ปริมาณฟอสเฟต และปริมาณแอมโมเนีย ของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง โดยแสดงวิธีในภาคผนวก ก ดังนี้ ตวงน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งใส่ในพลาสติกๆละ 50 มิลลิลิตร บ้างจยละ 3 พลาสติก โดยวิเคราะห์ทุกๆ 7 วัน ตั้งแต่วันที่ 0 ถึง วันที่ 28 จดบันทึกค่าที่ได้

### 3.3.2 ศึกษาอิทธิพลร่วมของ เอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับประด ยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อกั่ง

เตรียมตัวอย่างเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับประด แบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ที่เหมาะสมอ้างอิงจากเจนจิราและสุวรรณ (2550) ร้อยละ 20, 0.02 และ 2 ตามลำดับ เพื่อใช้บำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ภายได้สภาวะพีเอชเริ่มต้น 3.51 อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่าง ทุก ๆ 7 วัน จนครบ 28 วัน วิเคราะห์ ค่า พีเอช ซีโอดี ปริมาณฟอสเฟต ปริมาณแอมโมเนีย ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับประด เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) โดยวางแผนการทดลองแบบ complete Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วยวิธี Duncan's New Multiples Range Test



## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งของ คุณประทีป มั่นจิน ตำบลบางบ่อ จังหวัด ฉะเชิงเทรา

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งของ คุณประทีป มั่นจิน ตำบลบางบ่อ จังหวัด ฉะเชิงเทรา แสดงในตารางที่ 3 พบว่าน้ำทิ้งมีค่าพีเอช 7.64 ส่วนค่าซีโอดี ฟอสเฟต และแอมโมเนียไนโตรเจนมีค่าเท่ากับ 333.31 8.82 และ 6.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งของ คุณประทีป มั่นจิน ตำบลบางบ่อ จังหวัด ฉะเชิงเทรา

องค์ประกอบ	น้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง
พีเอช	7.64
ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	333.31
ฟอสเฟต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	8.82
แอมโมเนียไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	6.74

ซึ่งค่าที่ได้มีค่าสอดคล้องกับค่าน้ำเสียสังเคราะห์ของ เจนจิราและสุวรรณ (2550) (พีเอช 8.15 ซีโอดี ฟอสเฟต และแอมโมเนียไนโตรเจน เท่ากับ 360 8.25 และ 8.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) ซึ่งเนื่องจากสถานะในน้ำเสียสังเคราะห์ถูกจำลองให้มีความใกล้เคียงกับน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง จึงมีความใกล้เคียงกันขององค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่เจนจิราและสุวรรณ (2550) นำมาใช้ในการบำบัดกับน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งของ คุณประทีป มั่นจิน ซึ่งปริมาณของซีโอดี ฟอสเฟต และแอมโมเนียไนโตรเจน ในน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งมีผลมาจากปัจจัยต่างๆ เช่น ความหนาแน่นของกุ้งในบ่อเลี้ยงกุ้ง ปริมาณอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง และคุณภาพของอาหารเลี้ยงกุ้ง ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพน้ำ รวมถึงค่า พีเอช ซีโอดี ฟอสเฟต แอมโมเนียไนโตรเจนในน้ำ ซึ่งจะนำไปบำบัดในขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2 ผลของอิทธิพลร่วมระหว่างเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับประรด แแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต สายพันธุ์ P2 และยีสต์ *S. cerevisiae* ต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

จากการศึกษาของเจนจิราและสุวรรณ (2550) ได้ใช้น้ำคั้นหยาบสับประรดจากส่วนเปลือก แแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (มาริสและคณะ, 2549) และ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* บำบัดน้ำเสีย สังกะหร่วมกันโดยใช้น้ำคั้นหยาบสับประรดปริมาณร้อยละ 20 แแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 ปริมาณร้อยละ 2 และเชื้อ *S. cerevisiae* ร้อยละ 0.02 ในการบำบัดน้ำเสียสังกะหร่วมที่มีค่า พีเอช 8.15 ซีโอดี ฟอสเฟต และ แอมโมเนียไนโตรเจน เท่ากับ 360 8.25 และ 8.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 1 เดือนที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ซึ่งสามารถลดลงของค่าซีโอดี ฟอสเฟต และแอมโมเนียไนโตรเจนได้อย่างดี จึงนำสภาวะที่เหมาะสมนี้ มาใช้ในการบำบัดน้ำทิ้ง จากบ่อเลี้ยงกุ้งของ คุณประทีป มั่นจิน ตำบลบางบ่อ จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยมีการเก็บตัวอย่าง ทุกๆ 7 วันเป็นเวลา 28 วัน

จากการทดลองการใช้เอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับประรด แแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต และยีสต์ *S. cerevisiae* ร้อยละ 20 2 และ 0.02 ตามลำดับต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 1 เดือน โดยเก็บตัวอย่างทุก ๆ 7 วัน พบว่าในวันที่ 7 , 14 , 21 , 28 มีการลดลงของซีโอดี 294.25 , 184.88 , 69.16 และ 89.51 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) (คิดเป็นร้อยละ 12.37 27.8 76.95 และ 72.21 ตามลำดับ) ซึ่งค่าซีโอดีเริ่มต้น คือ 333.31 มิลลิกรัม ต่อลิตร (ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ) พบว่าค่าซีโอดีมีการลดลงสูงสุดในวันที่ 21 โดยมีค่าซีโอดี เท่ากับ 69.16 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 76.95 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของเจนจิรา และสุวรรณ (2550) ซึ่งพบว่าการลดลงของซีโอดีคิดเป็นร้อยละ 91.21 ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก จุลินทรีย์มีการใช้สารอาหารที่มีอยู่ในน้ำคั้นหยาบสับประรด และสารอาหารที่เป็นองค์ประกอบของ น้ำเสียในการเจริญเติบโตจึงมีการลดลงของซีโอดีอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 21 ซึ่งมีการลดลงของซี โอดีมากที่สุดหลังจากนั้นพบว่าการเพิ่มขึ้นของซีโอดีเนื่องเมื่อจุลินทรีย์ใช้สารอาหารในการ เจริญเติบโตเมื่อสารอาหารลดน้อยลงจึงมีการตายของจุลินทรีย์ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของค่าซีโอดี (ดัง แสดงในรูปที่ 4.1) การเติมน้ำคั้นสับประรดในน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งในวันที่ 0 ทำให้พีเอชเปลี่ยนจาก 7.64 เป็น 3.51 ซึ่งทำให้น้ำทิ้งดังกล่าวมีพีเอชเริ่มต้นเป็นกรด แสดงดังรูปที่ 4 เนื่องจากในสับประรด มีกรดซิตริกเป็นองค์ประกอบจึงมีผลทำให้พีเอชในน้ำเสียนั้นต่ำลง และในระหว่างการบำบัด พีเอช มีการเปลี่ยนแปลง เท่ากับ 4.78 6.25 7.14 และ 7.25 ที่เวลา 7 14 21 และ 28 วัน ตามลำดับ ค่าที่ได้ แตกต่างอย่างมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) จนถึงวันที่ 21 ส่วนในวันที่ 21 และ 28 นั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดยการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชใน น้ำเสียนั้นเนื่องมาจากจุลินทรีย์ได้นำสารอาหารในน้ำมาใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างตัวเซลล์ เมื่อเวลาผ่านไปจึงทำให้ค่าพีเอชของน้ำเสียเพิ่มขึ้น โดยในวันที่ 28 มีพีเอช เท่ากับ 7.25 ซึ่งค่าพีเอช ในการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง นั้นอยู่ในช่วงพีเอช 3.5-7.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าการลดลงของฟอสเฟต แอมโมเนียในโตรเจน มีแนวโน้มการลดเหมือนกัน โดยพบว่าการลดลงของฟอสเฟตในวันที่ 7 14 21 และ 28 มีค่าเป็น 7.72 6.36 2.13 และ 2.58 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ (คิดเป็นร้อยละ 12.37 27.80 75.82 และ 70.71 ตามลำดับ) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ส่วนแอมโมเนียในโตรเจนมีการลดลงเป็น 5.74 5.15 1.83 และ 2.26 ในวันที่ 7 14 21 และ 28 ตามลำดับ (คิดเป็นร้อยละ 19.86 25.14 73.40 และ 67.51 ตามลำดับ) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) พบว่าค่าการลดลงของฟอสฟอรัสที่เวลา 7 14 และ 21 วัน มีค่าเท่ากับเป็น 7.72 , 6.36 และ 2.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยหลังจากนั้นพบว่าการเพิ่มขึ้นของฟอสฟอรัส โดยในวันที่ 28 มีฟอสฟอรัส เท่ากับ 2.58 (ฟอสเฟตเริ่มต้นคือ 8.82 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยพบว่าการลดลงของฟอสเฟตสูงสุดในวันที่ 21 ของการบำบัดมีการลดลงจากวันที่ 0 คิดเป็นร้อยละ 75.82 โดยมีฟอสเฟตอยู่ที่ 2.13 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการลดลงของแอมโมเนียนั้นเนื่องมาจากการเปลี่ยนฟอสเฟตในรูปออร์โธฟอสเฟตให้อยู่ในรูปโพลีฟอสเฟตซึ่งทำให้แพลงก์ตอน และจุลินทรีย์ในน้ำสามารถนำไปใช้ได้จึงทำให้ฟอสเฟตในน้ำลดลง และค่าฟอสฟอรัสต่อการบำบัดน้ำที่จากบ่อกึ่งนั้นอยู่ในช่วง 1-9 มิลลิกรัมต่อลิตร

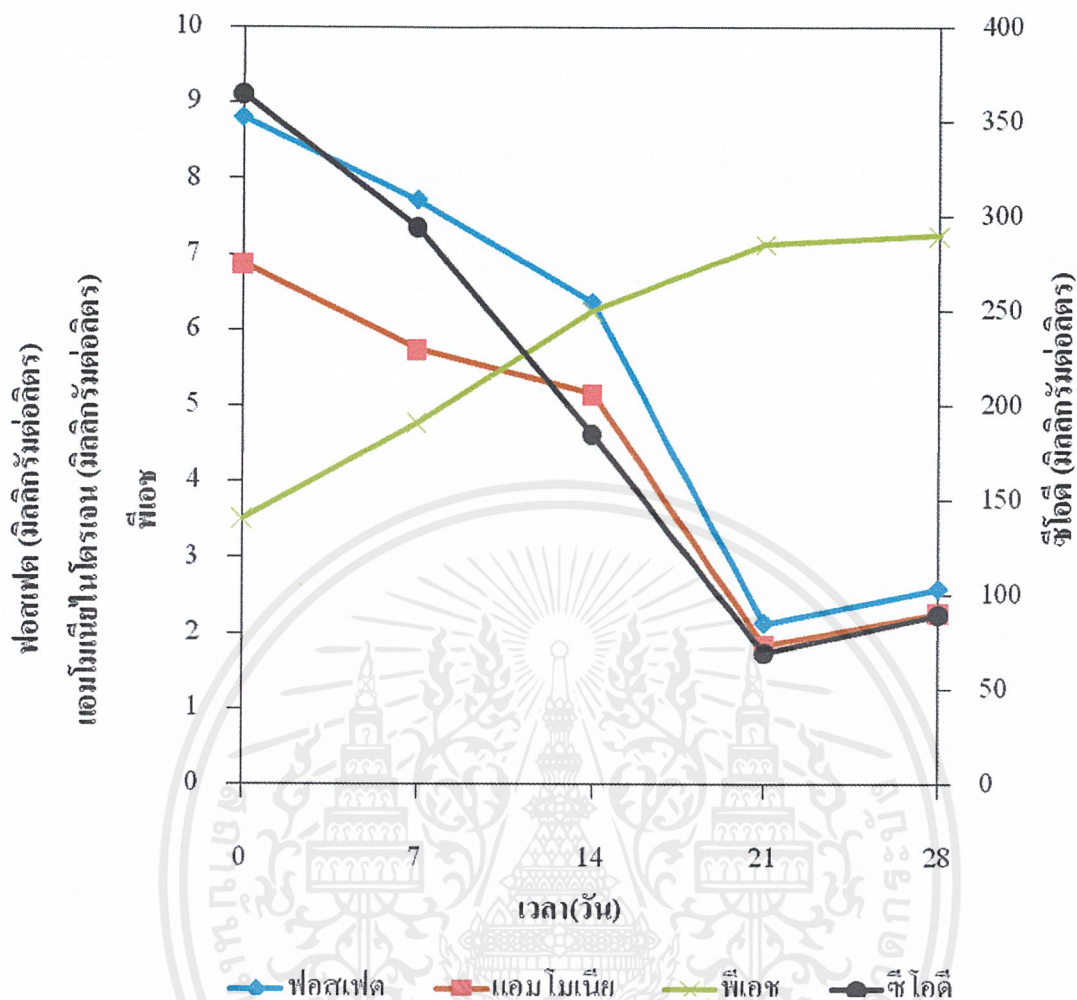
ส่วนค่าแอมโมเนียในโตรเจนพบว่ามีแนวโน้มลดลงจนถึงวันที่ 21 ดังในตารางที่ 3 และรูปที่ 5 จะเห็นว่าในวันที่ 7 , 14 , 21 มีแอมโมเนียในโตรเจนเป็น 74 5.15 2.04 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.0$ ) โดยมีการลดลงจากวันที่ 0 คิดเป็นร้อยละ 19.86 25.14 และ 73.40 ตามลำดับโดยแอมโมเนียเริ่มต้นคือ 6.74 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นจึงเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียในโตรเจน โดยพบว่ามีแอมโมเนียในโตรเจน 2.40 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละ 67.51) ในวันที่ 28 ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) การลดลงของแอมโมเนียในโตรเจนนั้นมีความสอดคล้องกับการทดลองของเจนจิราและสุวรรณ (2550) ซึ่งพบว่าสามารถลดค่าฟอสเฟต และ แอมโมเนียในโตรเจน คิดเป็นร้อยละ 86.67 และ 86.50 ตามลำดับ

ซึ่งทั้งค่าการลดลงของฟอสเฟต แอมโมเนียในโตรเจน มีแนวโน้มการลดเหมือนกัน นั่นคือในน้ำที่จากบ่อเลี้ยงกุ้งมีปริมาณสารอาหารฟอสฟอรัสและไนโตรเจนที่เหลือตกค้างจากการให้อาหารกุ้งและของเสียของกุ้งในบ่อเลี้ยงกุ้งและสารฟอสเฟตและแอมโมเนียในโตรเจนที่เหลือดังกล่าวจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ จึงทำให้ปริมาณสารฟอสเฟตและแอมโมเนียในโตรเจนลดลง นอกจากนี้ผลจากการย่อยสลายแอมโมเนีย/ฟอสเฟตทำให้ได้ผลิตภัณฑ์กลุ่มพลังงานเช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ เป็นต้น จึงทำให้พีเอชของน้ำที่จากการบำบัดมีพีเอชเป็นค่าอย่างอ่อน

ตารางที่ 4.2 ผลของการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งโดยใช้น้ำคั้นหยาบสับประดจากส่วนเปลือกแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ร้อยละ 20 2 และ 0.02 ต่อการลดลงของค่าซีไออดี แอมโมเนียไนโตรเจน ปริมาณฟอสเฟต และการเปลี่ยนแปลงพีเอช ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ที่เวลาต่าง ๆ เป็นเวลา 30 วัน

การวิเคราะห์ ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ ซีไออดี (มก./ล)	ซีไออดีที่ ลดลง (ร้อยละ)	ปริมาณ ฟอสเฟต (มก./ล)	ฟอสเฟต ที่ ลดลง (ร้อยละ)	ปริมาณ แอมโมเนีย ไนโตรเจน (มก./ล)	แอมโมเนีย ไนโตรเจน ที่ ลดลง (ร้อยละ)	พีเอช
0	382.78 <sup>a</sup>	0	8.81 <sup>a</sup>	0	6.88 <sup>a</sup>	0	3.51 <sup>d</sup>
7	294.25 <sup>b</sup>	19.33	7.72 <sup>b</sup>	12.37	5.74 <sup>b</sup>	19.86	4.78 <sup>c</sup>
14	184.88 <sup>c</sup>	49.31	6.36 <sup>c</sup>	27.80	5.15 <sup>c</sup>	25.14	6.25 <sup>b</sup>
21	69.16 <sup>d</sup>	81.93	2.13 <sup>c</sup>	75.82	1.83 <sup>c</sup>	73.40	7.14 <sup>a</sup>
28	89.51 <sup>d</sup>	76.61	2.58 <sup>d</sup>	70.71	2.26 <sup>d</sup>	67.51	7.25 <sup>a</sup>

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ตัวอักษรในคอลัมน์เดียวกันที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )



รูปที่ 4.1 Timecourse ของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ซีไอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร) ฟอสเฟต(มิลลิกรัมต่อลิตร) และแอมโมเนียในโตรเจน(มิลลิกรัมต่อลิตร) จากการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง โดยใช้น้ำคั้นหยาบสับประรดจากส่วนเปลือก ร้อยละ 20 แบกที่เรี่ยย่อยฟอสเฟต P2 ร้อยละ 2 และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ร้อยละ 0.02 ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ที่เวลาต่างๆ เป็นเวลา 28 วัน

จากผลการทดลองข้างต้นนั้นพบว่าการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งโดยใช้น้ำคั้นหยาบ สับปะรด ปริมาณ ร้อยละ 20 ร่วมกับ แบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 ร้อยละ 2 และ เชื้อ *S. cerevisiae* ร้อยละ 0.02 นั้นพบว่าสามารถลดค่า ซีโอดี ฟอสเฟต และแอม โมเนียไนโตรเจนได้อย่างดีมาจากการทำงานร่วมกันของน้ำคั้นหยาบ สับปะรด แบคทีเรียย่อยฟอสเฟต สายพันธุ์ P2 และเชื้อ *S. cerevisiae* ตามลำดับ ในการเติมน้ำคั้นหยาบ สับปะรดยังทำให้พีเอชต่ำลง และยังช่วยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด และเอนไซม์โบรมิเลนในน้ำ สับปะรดยังสามารถย่อยสลายโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบของน้ำเสีย นอกจากนี้ น้ำตาลในน้ำคั้นหยาบ สับปะรดจะเป็นแหล่งคาร์บอนให้เชื้อ *S. cerevisiae* แล้วเมื่อเชื้อ *S. cerevisiae* สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะใหม่ก็จะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วเนื่องจากยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ในพีเอชที่ต่ำโดยสามารถใช้สารอาหารที่มีอยู่ในน้ำเสีย และยังสามารถใช้แหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลในน้ำคั้นหยาบ สับปะรดการเจริญเติบโตนอกจากยีสต์จะช่วยให้ค่าซีโอดี และแอม โมเนียไนโตรเจนในน้ำเสียลดลงแล้ว เซลล์ยีสต์ยังอุดมไปด้วยสารอาหารเมื่อยีสต์ตายลงสารอาหารในเซลล์ยีสต์ยังเป็นอาหารจุลินทรีย์อื่นต่อไป และหน้าที่ที่สำคัญของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตคือเปลี่ยนอนินทรีย์ฟอสเฟตให้อยู่ในรูปของฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้ เพื่อให้จุลินทรีย์และแพลงก์ตอนพืชในน้ำสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ นอกจากนี้การลดลงของแอม โมเนียไนโตรเจนนั้นอันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน(Nitrification) เปลี่ยนแอม โมเนียให้เป็นไนไตรท์และไนเตรทซึ่งจุลินทรีย์ และแพลงก์ตอนพืชสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้

นอกจากนี้เชื้อ *S. cerevisiae* และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตบางชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ยังถูกนำมาใช้เป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติกโดยใช้ผสมในอาหารเลี้ยงกุ้งจากการทดลองของจันทสิงห์ (2544) ผลจากการผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกในอาหารกุ้งพบว่ากุ้งมีอัตราการรอดสูงกว่าการให้อาหารที่ไม่ได้เติมเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่าการเติม *Bacillus subtilis* ร่วมด้วยกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อดิน พบว่าสามารถลดค่าซีโอดี แอมโมเนียทั้งหมด ไนโตรเจน ไนไตรท์ ไนเตรท ออร์โทฟอสเฟต และสารละลายอินทรีย์ในตะกอนดินลงได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้แบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำร่วมกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบปิด นั้นส่งผลทำให้คุณภาพน้ำเหมาะสมกับการเติบโตของกุ้งและน้ำเลี้ยงกุ้งที่ผ่านการบำบัดสามารถนำมาใช้เลี้ยงกุ้งได้ใหม่โดยไม่ต้องปล่อยน้ำทิ้งออกสู่ภายนอก ซึ่งทำให้ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ดังนั้นในการการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งจากผลข้างต้น โดยใช้ น้ำคั้นหยาบ สับปะรด ร่วมกับ แบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 และเชื้อ *S. cerevisiae* อาจนำไปประยุกต์ใช้ในบ่อเลี้ยงกุ้งจริง เพื่อช่วยบำบัดน้ำให้มีคุณภาพดีขึ้นก่อนถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำต่อไป

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

#### 5.1 การวิเคราะห์ห่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งของ คุณประทีป มั่นจีน ตำบลบางบ่อ จังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่าน้ำทิ้งมีค่าพีเอช 7.64 ส่วนค่าซีโอดี ฟอสเฟต และแอมโมเนียไนโตรเจนมีค่าเท่ากับ 333.31 8.82 และ 6.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

#### 5.2 ผลของอิทธิพลร่วมระหว่างเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับประรด แแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตสายพันธุ์ P2 และยีสต์ *S. cerevisiae* ต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

จากการทดลองการใช้เอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับประรด แแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต และยีสต์ *S. cerevisiae* ร้อยละ 20 2 และ 0.02 ตามลำดับต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 1 เดือน โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วัน พบว่าในวันที่ 7 14 21 และ 28 มีการลดลงของซีโอดี 294.25 184.88 69.16 และ 89.51 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) (คิดเป็นร้อยละ 12.37 27.8 76.95 และ 72.21 ตามลำดับ) พีเอชมีการเปลี่ยนแปลง เท่ากับ 4.78 6.25 และ 7.14 ที่เวลา 7 14 21 วันค่าที่ได้แตกต่างอย่างมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) และมีการเพิ่มขึ้นของพีเอชในวันที่ 28 โดยมีพีเอชเท่ากับ 7.25 แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) กับค่าพีเอชในวันที่ 21 ในการบำบัดมีช่วงของการเปลี่ยนแปลงพีเอชระหว่าง 3.5-7.5

ค่าการลดลงของฟอสเฟต แอมโมเนียไนโตรเจน มีแนวโน้มการลดเหมือนกัน โดยพบว่าการลดลงของฟอสเฟตในวันที่ 7 14 21 และ 28 มีค่าเป็น 7.72 6.36 2.13 และ 2.58 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ (คิดเป็นร้อยละ 12.37 27.80 75.82 และ 70.71 ตามลำดับ) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ส่วนแอมโมเนียไนโตรเจนมีการลดลงเป็น 5.74 5.15 1.83 และ 2.26 ในวันที่ 7 14 21 และ 28 ตามลำดับ (คิดเป็นร้อยละ 19.86 25.14 73.40 และ 67.51 ตามลำดับ) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ในการลดลงของซีโอดี ฟอสเฟต และแอมโมเนียไนโตรเจนในน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งโดยการบำบัดด้วยน้ำคั้นหยาบสับประรด แแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต และยีสต์ *S. cerevisiae* ร้อยละ 2 และ 0.02 ตามลำดับ เป็นเวลา 28 วันพบว่า ในวันที่ 21 มีการลดลงของซีโอดี ฟอสเฟต และแอมโมเนียไนโตรเจนสูงสุดคือ 69.16 2.13 และ 1.83 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับวันที่ 0 พบว่ามีการลดลงของซีโอดี ฟอสเฟต และแอมโมเนียไนโตรเจนร้อยละ 76.95 75.82 และ 73.40 ตามลำดับ

## เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ พูนสุข 2535 ก. ผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อมจากการเลี้ยงสัตว์, จุลสารสภาวะแวดล้อมปีที่ 11 ฉบับที่ 6 หน้า 20-23

เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์ 2539 กรุงเทพฯ : มิตรนราการพิมพ์ การบำบัดน้ำเสีย

การควบคุมดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย. คณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2537

ข้อมูลจากหนังสือน้ำสมุนไพรเพื่อสุขภาพ โดย ปตท.น้ำมัน การปิโตรเลียมแห่งประเทศไทย ร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน กระทรวงสาธารณสุข 2546

เจนจิราและสุวรรณา 2550 อิทธิพลของไบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2544. การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ. สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมประเทศไทย. กรุงเทพฯ

นฤมล ศรีชัย. 2546. การแยกและการคัดเลือกจุลินทรีย์ในดินที่สามารถย่อยฟอสเฟต. วิทยานิพนธ์ วท.ม. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่

ประติพันธ์ ผ่องแผ้ว 2544 เอกสารประกอบการทัศนศึกษาระบบน้ำเสีย. หน้า 14-15

ศนิชา คงสุวรรณ, ศิริพร ปรีชา, สนชัย ธนพงศ์พิพัฒน์. 2540. การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางเคมี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง หน้า 60-61

มะลิ บุญยรัตผลิน. 2531. อาหารและการให้อาหารกุ้งกุลาดำ. การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ กรมประมง. หน้า 80-103

มันสิน ตัณฑุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา. 2536 การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสีย ในบ่อเลี้ยงปลา และสัตว์น้ำอื่นๆ. หน้า 146-153

มันสิน ตัณฑุลเวศม์ 2542 เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม. เล่มที่ 1. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 121-130

ลีลา เรืองแป้น. 2530. โรคกุ้งทะเล โรคที่มีสาเหตุมาจากปรสิตและตัวเกาะอาศัยอยู่นอก. ในเอกสารประกอบการสัมมนา การเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลครั้งที่ 1 เรื่อง โรคกุ้งทะเลและการใช้เคมีภัณฑ์. กรุงเทพฯ

ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์. 2543. จุลินทรีย์กับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วารสารวาริชศาสตร์. 3(1): 42-51.

สุรศักดิ์ ดิลกเกียรติ. 2544. การใช้จุลินทรีย์ในฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. เอกสารประมวลข้อมูลภาคสนามสำหรับเกษตรกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- อภิญา พลโกมล.2535. แบบที่เรีย.ภาควิชาชีววิทยา.คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- APHA.AWWA. WPCE. 1992. Standard Method for examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington DC.
- Avnimelech,Y.1996. Shrimp pond bottom soils: Processes and management. In book of Abstract, 1996 Annual Meeting of the world Aquaculture Society. Bangkok ; Thailand
- Bhasker, N.,Sett, T.M.,Mondal, M.A.,Raju, C.V.,Raghunath, B.S., &Anantha, C.S. (1998). Prevalence of bacteria of public health significance in the cultured shrimp (*Penaeus monodon*). Food Microbiology, 15:5111-519
- Bitton, G. 1994 Wastewater Microbiology.Wiley-Liss, New York.
- Hargreaves, J.A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds.
- Heinike *et al.*, 1975. Process of the preparation of pineapple stem bromelain U.S.
- Maurer HR. 2001. Bromelain. Biochemistry ,Pharmacology and medical USE. Cel Mol LifeSci.
- Heinike *et al.*, 1975. Properties of juice squeezed from pineapple.
- Reed และ Pepler, 1973. Microbial Physiology.

## ภาคผนวก ก

### การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

#### การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

1. การวิเคราะห์ออร์โธฟอสเฟตด้วยวิธีเทียบสี ( Vanadomolybdophosphoric acid ) (อ้างโดย มั่นสิน , 2542 )

#### วัสดุอุปกรณ์

1. Spectrophotometer ความยาวคลื่นระหว่าง 400-600 นาโนเมตร
2. เครื่องแก้วที่สะอาด ห้ามใช้ผงซักฟอกล้างเพราะผงซักฟอกมีฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบอยู่แล้ว
3. ฟลาสก์ ขนาด 250 มิลลิลิตร

#### สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
2. กรดไนตริกเข้มข้น (Conc.HNO<sub>3</sub>)
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 นอร์มอล
4. Vanadate-Molybdate reagent) เตรียมไว้ดังนี้  
 สารละลาย A ละลาย Ammonium molybdate 25 กรัม ในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร  
 สารละลาย B ละลาย 1.25 กรัม Ammonium metavanadate ในน้ำเดือด 300 มิลลิลิตรเมื่อเย็นแล้วเติมซัลฟูริกเข้มข้น 330 มิลลิลิตร
5. Standard phosphate solution ละลาย anhydrous KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 219.5 มิลลิกรัมในน้ำกลั่น เจือจางให้ปริมาตรเป็น 1 ลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายนี้ 1 มิลลิลิตร = ฟอสเฟต 50.0 µgP

#### วิธีการวิเคราะห์

1. ย่อยตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร ด้วยกำมะถันเข้มข้น 1 มิลลิลิตร และกรดไนตริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร กระทำในตู้ดูดควัน
2. เติมสารละลายแวนนาเดต-โมลิบเดต 10 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เตรียมเบงค์น้ำกลั่น 35 มิลลิลิตร และกระทำเช่นเดียวกัน
3. ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที หรือนานกว่าได้สีเหลืองเกิดขึ้น วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับเบงค์น้ำกลั่น

4. เตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตด้วยวิธีข้างต้นเป็นตัวอย่าง

ปีเปตสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต ตั้งแต่ 0-12 มิลลิลิตร แต่ละอันในแต่ละขวด เติม Vanadate-Molybdate reagent 10 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที นำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นเป็นไมโครกรัมกับค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้กราฟ

## 5. การคำนวณ

ฟอสเฟต (มิลลิลิตรฟอสเฟตต่อลิตร) =  $\frac{\text{ไมโครกรัมฟอสเฟตที่อ่านค่าได้จากกราฟ}}{\text{ปริมาณสารตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$

## 2. การวิเคราะห์หาซีโอดี (อ้างโดย APHA.AWWA. WPCE. 1992)

### 2.1 วัสดุอุปกรณ์

1. ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เครื่องควบแน่น
3. เต้าไฟฟ้า
4. บิวเรตต์ขนาด 50 มิลลิลิตร

### 2.2 สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นละลายซิลเวอร์ซัลเฟต ( $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ) 5.5 กรัม ในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 กิโลกรัม (ใช้เวลาประมาณ 1-2 วัน)
2. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 0.0417 M ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 12.259 กรัม (อบที่ 103 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
3. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.25 M ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ชนิดเออาร์ 98 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ลงไป ทำให้เย็นแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร (สารละลายนี้จะต้องหาความเข้มข้นที่แน่นอนโดยไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 0.0417 M)

การหาความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต

นำสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 30 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำมาไทเทรตด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตโดยใช้เฟอโรอินเป็นอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด

มอลาริตี (M) =  $\frac{\text{มล.ของ} 0.0417 \text{ M โพแทสเซียมไดโครเมต} \times 0.25}{\text{มล.ของเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต}}$

มล. ของเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับนักเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สารละลายเฟอโรอิน
5. เมอร์คิวรีซัลเฟต ชนิดผง ใช้กำจัดหมู่คลอไรด์
6. กรดซัลฟามิกชนิด เอ.อาร์ ใช้กำจัดไนไตรต์

#### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งเมอร์คิวรีซัลเฟต 0.4 กรัม ใส่ในขวดก้นกลม
2. เติมตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆเติมกรดเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นที่มีซิลเวอร์ซัลเฟตเจือปนอยู่ลงไป 30 มิลลิลิตร
4. เขย่าสารละลายให้เข้ากันนำขวดต่อเข้าเครื่องควมแน่นกลั่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ล้างเครื่องควมแน่นด้วยน้ำกลั่นก่อนที่จะถอดออกจากเครื่อง
5. เติมน้ำกลั่นลงในขวดก้นกลมจนได้ปริมาตรประมาณ 150 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
6. ไทเทรตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหลือด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตโดยใช้เฟอโรอินเป็นอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ไทเทรตจากสีน้ำเงินเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ
7. ทำแบงค์โดยใช้ น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง โคนกระทำเช่นเดียวกัน

#### คำนวณ

$$\text{ซีไอดี (มก./ลิตร)} = (A-B) \times C \times 8000$$

มล. ของน้ำตัวอย่าง

เมื่อ A = มล. ของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้กับแบงค์

B = มล. ของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้กับตัวอย่างน้ำ

C = โมลาริตี (M) ของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต

หมายเหตุ ในขณะที่กลั่นตัวอย่างน้ำกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ถ้าสารละลายในขวดเปลี่ยนจากสีส้มเป็นสีเขียวแสดงว่าใช้น้ำตัวอย่างมากเกินไปต้องนำมาทำใหม่ โดยใช้ปริมาตรน้ำน้อยกว่าเดิมหรือมาทำให้เจือจางอีก

### 3. การวิเคราะห์แอมโมเนียโดยวิธีของเนสเลอร์ (Nesslerization Method)

#### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Spectrophotometer meter
2. กระจกทึบ
3. บีกเกอร์ (Beaker)
4. กระจกบอกลวง (Cylinder) ขนาด 50 มิลลิลิตร

#### สารเคมี

##### 1. สารละลายซิงค์ซัลเฟต (Zinc sulfate solution)

ละลายซิงค์ซัลเฟต ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) 20 กรัม ในน้ำกลั่นและเจือจางให้เป็น 200 มิลลิลิตร

##### 2. สารละลายอีดีทีเอ (EDTA solution)

ละลายโซเดียมเอทิลีนไดอะมีน เตตระอะซิเตตไดไฮเดรต (Disodium ethylenediamine Tetraacetate Dihydrate) 50 กรัม ในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร ที่มีโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 10 กรัม ละลายอยู่ ถ้าจำเป็นก็ให้อุ่นเพื่อให้ละลายอย่างสมบูรณ์ ปล่อยให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

##### 3. น้ำยานเนสเลอร์ (Nessler reagent)

ละลาย  $HgI_2$  25 กรัม และ KI 17.5 กรัม ในน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร และเติมของผสมนี้เข้า พร้อมคนลงในสารละลายที่เย็นของ NaOH 40 กรัม ในน้ำกลั่น 125 มิลลิลิตร เจือจางให้เป็น 250 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

##### 4. สารละลายสต็อกแอมโมเนีย (Stock Ammonia Solution)

ละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ ( $NH_4Cl$ ) ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จำนวน 3.819 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร (สารละลายสต็อกนี้มีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร แอมโมเนียในโตรเจน)

##### 5. สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียในโตรเจน

ปิเปตสารละลายสต็อกแอมโมเนียในโตรเจน 5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร (สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร)

## การวิเคราะห์

1. ตวงตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 150 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายซิงค์ซัลเฟต 1 มิลลิลิตร และปรับ pH เป็น 10.5 ด้วย NaOH 6 N
3. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 2 – 3 นาที เพื่อให้ตกตะกอน
4. รินน้ำส่วนใสด้านบน 50 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Flask 125 มิลลิลิตร
5. เติมน้ำยาอีดีทีเอ 1 – 2 หยด (เพื่อยับยั้งการตกตะกอนของแคลเซียมและแมกนีเซียม)
6. เติมน้ำยาเนสเลอร์ 2 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ 15 นาที
7. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร นำไปตัดกับกราฟมาตรฐาน
8. การเตรียมกราฟมาตรฐานแอมโมเนีย เตรียมอนุกรมของสารละลายแอมโมเนียมาตรฐาน ให้มีความเข้มข้นของแอมโมเนียในโตรเจน 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 และ 2.4 มิลลิกรัม/ลิตร โดยการปิเปต 0 2 4 6 8, 10 และ 12 มิลลิลิตร ของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียลงใน ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วเติมน้ำ ถังจนได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) เช่นเดียวกับตัวอย่าง พล็อตกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของแอมโมเนีย (มิลลิกรัม/ลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)
9. นำอนุกรมของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียในโตรเจน มาทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4 – 7 จะได้กราฟมาตรฐานออกมา ให้เจือจางอีก

ภาคผนวก ข  
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Nutrient agar (อ้างโดยเจนจิราและ สุวรรณมา 2547)

Beef extract	3.0 กรัม
Peptone	5.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร
พีเอช	7.0

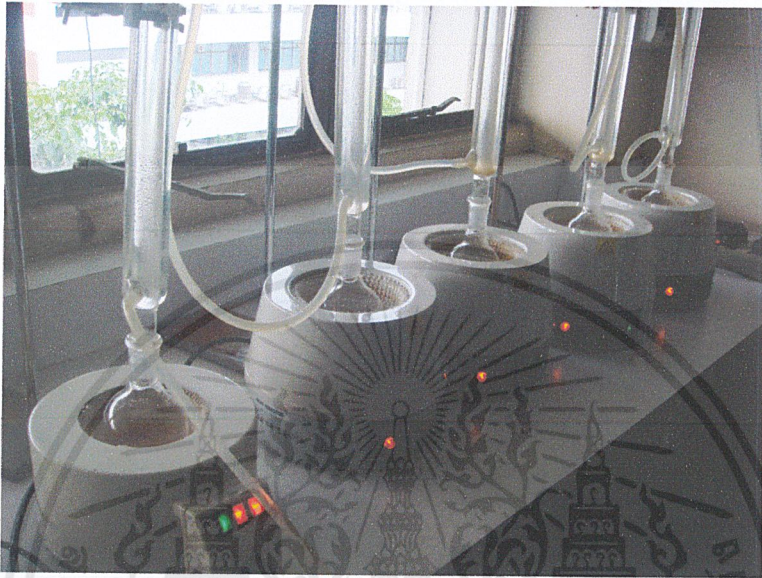
ผสมส่วนผสมทั้งหมดในภาชนะ ต้มและคนไปด้วยให้ละลาย จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อนิ่งเสร็จแล้วนำออกจากหม้อนึ่งอัตโนมัติ รอให้อุณหภูมิลดถึง 50-55 องศาเซลเซียส จากนั้นเทลงในจานอาหาร ปริมาณ 20 มิลลิลิตร

2. Nutrient broth

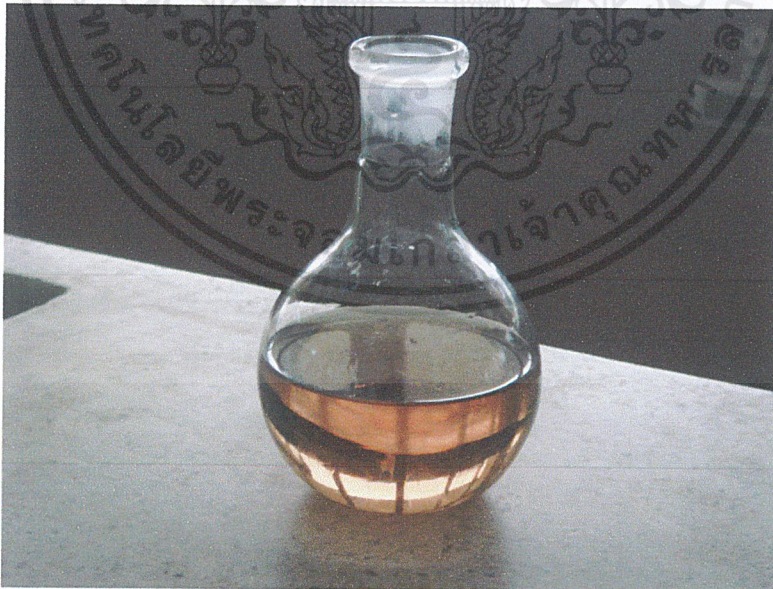
Beef extract	3.0 กรัม
Peptone	5.0 กรัม
Sodium chloride	5.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ละลาย peptone และ Beef extract โดยใช้ความร้อนช่วย จากนั้นเติม Sodium chloride นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ค  
รูปผลการทดลอง



A. การวิเคราะห์หีสไอโอดี



B. การวิเคราะห์หีสไอโอดีเมื่อสร้งสีนจะมีสีน้ำตาลโดยการไทเทรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

ตารางองค์ประกอบทางเคมีและการวิเคราะห์ทางสถิติ  
ในการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

ตารางที่ภาคผนวก ง.1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งของ คุณประทีป มั่นจิน  
ตำบลบางบ่อ จังหวัด ฉะเชิงเทรา

องค์ประกอบ	น้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง
พีเอช	7.64
ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	333.31
ฟอสเฟต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	8.82
แอมโมเนียไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	6.74

ตารางที่ภาคผนวก ง.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเสียสังเคราะห์จากบ่อเลี้ยงกุ้ง

องค์ประกอบ	น้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้ง
พีเอช	8.15
ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	360
ฟอสเฟต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	8.25
แอมโมเนียไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	8.00

ตารางที่ภาคผนวก ง.3 ผลของการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งโดยใช้น้ำคั้นหยาดสับประรดจาก ส่วนเปลือก แแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ร้อยละ 20 2 และ 0.02 ต่อการลดลงของค่าซีไอดี แอมโมเนียไนโตรเจน ปริมาณ ฟอสเฟต และการเปลี่ยนแปลงพีเอช ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ที่เวลาต่าง ๆ เป็นเวลา 30 วัน

การวิเคราะห์ ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณซี ไอดี (มก./ล)	ซีไอดีที่ ลดลง (ร้อยละ)	ปริมาณ ฟอสเฟต (มก./ล)	ฟอสเฟต ที่ ลดลง (ร้อยละ)	ปริมาณ แอมโมเนีย ไนโตรเจน (มก./ล)	แอมโมเนีย ไนโตรเจน ที่ ลดลง (ร้อยละ)	พีเอช
0	382.78 <sup>a</sup>	0	8.81 <sup>a</sup>	0	6.88 <sup>a</sup>	0	3.51 <sup>d</sup>
7	294.25 <sup>b</sup>	19.33	7.72 <sup>b</sup>	12.37	5.74 <sup>b</sup>	19.86	4.78 <sup>c</sup>
14	184.88 <sup>c</sup>	49.31	6.36 <sup>c</sup>	27.80	5.15 <sup>c</sup>	25.14	6.25 <sup>b</sup>
21	69.16 <sup>d</sup>	81.93	2.13 <sup>c</sup>	75.82	1.83 <sup>c</sup>	73.40	7.14 <sup>a</sup>
28	89.51 <sup>d</sup>	76.61	2.58 <sup>d</sup>	70.71	2.26 <sup>d</sup>	67.51	7.25 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ตัวอักษรในคอลัมน์เดียวกันที่ต่างกันมีความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

ตารางที่ภาคผนวก ง.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว(One Way ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรด้วยวิธี Duncan's New Multiples Range Test

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
P	Between Groups	109.596	4	27.399	673.492	.000
	Within Groups	.407	10	.041		
	Total	110.002	14			
NH3	Between Groups	59.063	4	14.766	989.107	.000
	Within Groups	.149	10	.015		
	Total	59.212	14			
COD	Between Groups	217674.262	4	54418.565	266.407	.000
	Within Groups	2042.689	10	204.269		
	Total	219716.950	14			
pH	Between Groups	31.125	4	7.781	218.777	.000
	Within Groups	.356	10	.036		
	Total	31.480	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้