สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

อิทธิพลของโบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

นางสาวเจนจิรา กำลังมาก
นางสาวสุวรรณา ไร่ชูศรี

เลขทะเบียน 83746
วัน,เดือน,ปี 15 ก.ย. 2551
b 11983368
i

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิชาโครงงานพิเศษ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สภาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The Effect of Bromelain and Activation of Microorganism on Synthetic Waste Water Treatment

Miss Chenchira Gumlangmak

Miss Suwanna Raichusri

Special Project Summitted in Partial Fulfillment of The Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Program of Industrial Microbilogy Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง อิทธิพลของโบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

นักศึกษา นางสาวเจนจิรา กำลังมาก รหัสประจำตัว 47050507

นางสาวสุวรรณา ไร่ชูศรี รหัสประจำตัว 47050536

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระเจ้าเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.อารี ฤทธิบูรณ์	
กรรมการ ผศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์	
กรรมการ ดร.จิดาภา ทิน้อย	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)
หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง อิทธิพลของโบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์
นักศึกษา นางสาวเจนจิรา กำลังมาก
นางสาวสุวรรณา ไร่ชูศรี
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา 2550
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์

บทคัดย่อ

การศึกษาผลความเข้มข้นน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือก (ร้อยละ 10 20 และ 30) ยีสต์ร้อยละ 0.02 (ยีสต์ขนมปังและยีสต์ลูกแป้งข้าวหมาก) และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตร้อยละ 2 (P1(26) และ P2 (72)) ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ ภายใต้สภาวะอุณหภูมิห้อง (± 37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน พบว่า การเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือกร้อยละ 20 การเติมยีสต์ขนมปังร้อยละ 0.02 และการเติมแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) ร้อยละ2 พบว่าค่าซีโอดีลดลงสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 27.47 66.66 และ 85.28 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

อิทธิพลของเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบจากส่วนเปลือกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ ภายใต้สภาวะอุณหภูมิห้อง (± 37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 49 วัน พบว่า การเติมน้ำคั้นหยาบจากเปลือกสับปะรดความเข้มข้นที่เหมาะสมร้อยละ 20 ร่วมกับยีสต์ขนมปังร้อยละ 0.02 และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) ร้อยละ 2 มีผลให้ค่าซีโอดี ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนและฟอสเฟตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยค่าซีโอดีและปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนลดลงได้มากที่สุดวันที่ 28 คิดเป็นร้อยละ 91.21 และ 86.5 ตามลำดับ ปริมาณฟอสเฟตลดลงได้มากที่สุดวันที่ 35 คิดเป็นร้อยละ 86.67 จะได้ว่าการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยเติมเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับปะรดร่วมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ มีประสิทธิภาพการบำบัดมากกว่าการเติมเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับปะรดหรือหัวเชื้อจุลินทรีย์เพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special project Tiltle	The Effect of Bromelain and Activation of Microorganism on Synthetic Waste Water Treatment
Name	Miss Chenchira Gumlangmak
	Miss Suwanna Raichusri
Department	Applied Biology
Major Program	Industrial Microbiology
Academic Year	2007
Special Project Advisor	Assit. Prof. Dr. Marisa Jatupornpipat

Abstract

The study of addition concentrate juice squeezed from pineapple peel (10% 20% and 30%), 0.02% yeast (Bakery yeast and Lookpang-Khaogmak) and 2% bacteria capable of removing phosphate (P1 (26) and P2 (72)) on synthetic waste water treatment under room temperature (± 37°C) during 28 days were investigated. The results found that 20% concentrate juice squeezed from pineapple peel, 0.02% of Bakery yeast and 2% of bacteria capable of removing phosphate P2 (72) presented the highest of percentage of COD decreasing were 27.47% 66.66% and 85.28%, respectively ($p \leq 0.05$).

The effect of bromelain from Smooth Cayenne's pineapple juice squeezed and activation of microorganisms on synthetic waste water treatment under room temperature (± 37°C) during 49 days were carried out. The 20% of concentration of juice squeezed from pineapple peel supplement with 0.02% of Bakery yeast and 2% of bacteria capable of removing phosphate P2 (72) significantly decreased the COD, ammonia-nitrogen and phosphate contents ($p \leq 0.05$). The COD and ammonia-nitrogen content were reduced 91.21% and 86.5 %, respectively in 28 days. The highest of phosphate decreasing were 86.67% in 35 days. However, synthetic waste water treatment supplement with juice squeezed from pineapple peel and activation of microorganism had more effective than using them individual.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิชาโครงงานพิเศษ เรื่องอิทธิพลของโบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ โครงงานนี้จะไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี หากไม่ได้รับการช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้

ทางผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ที่ได้เสียสละเวลาให้คำแนะนำต่างๆ ที่เกี่ยวกับการทดลอง ข้อเสนอแนะ และการแก้ไขข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นในการทำการทดลอง ตลอดจนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอบพระคุณ ผศ.อารี ฤทธิบูรณ์ และ ดร.จิดาภา ทิน้อย ซึ่งเป็นกรรมการสอบหัวข้อโครงงานพิเศษที่ให้คำชี้แนะในการแก้ไขให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกและประสานงาน

ขอขอบคุณพี่ๆ ปริญญาโทและเพื่อนๆ ทุกคน ที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในเรื่องต่างๆ ทำให้การทำโครงงานพิเศษเป็นไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดาของผู้จัดทำ ที่เป็นกำลังใจสนับสนุนกำลังทรัพย์ในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานที่เกี่ยวข้องทางด้วนนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงงานพิเศษนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำต้องขออภัย ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
รายการตาราง	ช
รายการรูป	ซ
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	3
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2. ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง	5
2.2 ฟอสฟอรัส	9
2.2.1 ผลกระทบของฟอสฟอรัส	10
2.2.2 การกำจัดฟอสฟอรัส	12
2.2.3 จุลินทรีย์ที่กำจัดฟอสเฟต	13
2.3 ไนโตรเจน	15
2.4 ความเป็นพิษของสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อสิ่งมีชีวิต	17
2.4.1 ความเป็นพิษของไนเทรต	17
2.4.2 ความเป็นพิษของไนไทรต์	17
2.4.3 ความเป็นพิษของแอมโมเนีย	17
2.4.4 ความเป็นพิษของฟอสเฟต	18
2.5 จุลินทรีย์กับการเลี้ยงกุ้ง	20
2.6 สับปะรด	22
2.6.1 การผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด	24
2.6.2 การใช้ประโยชน์ของเอนไซม์โบรมิเลน	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.7 ลูกแป้ง	28
2.7.1 จุลินทรีย์ในลูกแป้ง	29
2.8 ยีสต์ขนมปัง	36
3. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	
3.1 วัสดุ	40
3.1.1 วัตถุดิบ	40
3.1.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในโครงงานพิเศษ	40
3.1.3 น้ำเสียที่ใช้ในโครงการพิเศษ	41
3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ	41
3.1.5 สารเคมี	41
3.2 อุปกรณ์	41
3.3 วิธีการทดลอง	44
3.3.1 การศึกษาน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนต่างๆ ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย	42
3.3.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์	42
3.3.3 ศึกษาการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้หัวเชื้อยีสต์	43
3.3.4 ศึกษาการเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์	43
3.3.5 ศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์โบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์	44
4. ผลการวิจัยและวิจารณ์	
4.1 ผลการศึกษาน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนต่างๆ ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย	45
4.2 ผลของความน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์	47
4.3 ผลการศึกษาการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้หัวเชื้อยีสต์	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4 ผลการศึกษาการเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์	61
4.5 ผลการศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์โบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์	67
5. สรุปผลการทดลอง	74
ข้อเสนอแนะ	75
เอกสารอ้างอิง	76
ภาคผนวก	
ก. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี	88
ข. อาหารเลี้ยงเชื้อ	96
ค. สีย้อมและน้ำยาที่ใช้ทดสอบ	100
ง. ตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ	101
จ. รูปผลการทดลอง	110

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง	7
2.	กำหนดเกณฑ์อนุโลมสูงสุดของสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจน ในแหล่งน้ำ (หน่วย : มิลลิกรัมต่อลิตร)	16
3.	คุณสมบัติและองค์ประกอบของน้ำที่สกัดได้จากลำต้นสับปะรด	24
4.	แหล่งอาหารคาร์บอนและธาตุอาหารหลักของยีสต์	38
5.	ปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนและค่าพีเอชจาก เนื้อ แกน เปลือกของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย โดยใช้ Phosphate Buffer ที่พีเอช 7.0	46
6.	ผลของความเข้มข้นของน้ำคั้นหยาบสับปะรดส่วนเปลือกพันธุ์ปัตตาเวียในน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการลดลงของค่าซีโอดี (ร้อยละ) แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) ฟอสเฟต (ร้อยละ) และพีเอช ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 21 ของการบำบัด	49
7.	ผลของการเติมยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 น้ำเสียสังเคราะห์ต่อการลดลงของพีเอช ซีโอดี (ร้อยละ) แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) และฟอสเฟต (ร้อยละ) ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 28 ของการบำบัด	56
8.	ผลของการเติมแบคทีเรีย P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการลดลงของค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน ฟอสเฟต และการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 21 ของการบำบัด	63
9.	ผลของการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดส่วนเปลือกปริมาณร้อยละ 20 ยีสต์ขนมปังปริมาณร้อยละ 0.02 และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ในน้ำ เสียสังเคราะห์ ต่อการลดลงของค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน ฟอสเฟต และการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 49 วัน	68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1.	การหมุนเวียนของสารอินทรีย์ในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้ง	6
2.	วัฏจักรการเปลี่ยนแปลงของฟอสฟอรัส	11
3.	การเปลี่ยนรูปของสารประกอบไนโตรเจนในระบบบำบัดทางชีววิทยา	15
4.	ลักษณะของลูกแป้ง	29
5.	แผนภูมิขั้นตอนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลโดยกลุ่มเอนไซม์จากเชื้อรา ในสภาพที่มีอากาศ	31
6.	ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ภายใต้การกล้องจุลทรรศน์	37
7.	Time course ของการลดลงของ (A) ค่าซีโอดี (ร้อยละ) และ (B) ค่าพีเอช โดยเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ปริมาณร้อยละ 10 20 และ 30 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน	48
8.	Time course ของการลดลงของค่า (A) แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) (B) ฟอสเฟต (ร้อยละ) โดยเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ปริมาณร้อยละ 10 , 20 และ 30 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน	51
9.	ผลของความเข้มข้นน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากเปลือกพันธุ์ปัตตาเวีย ในน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการลดลงของ (A) พีเอช (B) ซีโอดี (C) แอมโมเนียไนโตรเจน และ (D) ฟอสเฟต ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 21 ของการบำบัด	52
10.	Time course ของการลดลงของ (A) พีเอช และ (B) ค่าซีโอดี โดยเติมยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน	55
11.	Time course ของการลดลงของค่า (A) แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) (B) ฟอสเฟต (ร้อยละ) โดยเติมยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จาก ลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

12. ผลของการเติมยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมาก ปริมาณร้อยละ 0.02 ในน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการลดลงของ (A) พีเอช (B) ซีโอดี (C) แอมโมเนียไนโตรเจน และ (D) ฟอสเฟต ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 28 วัน 60

13. Time course ของการลดลงของ (A) พีเอช และ (B) ค่าซีโอดี (ร้อยละ) จากการบำบัดโดยแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน 62

14. Time course ของการลดลงของค่า (A) แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) และ ฟอสเฟต (ร้อยละ) จากการบำบัดโดยเติมแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน 64

15. ผลของการเติมแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ต่อการลดลงของซีโอดี (A) แอมโมเนียไนโตรเจน (B) ฟอสเฟต (C) และ การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (D) ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 28 ของการบำบัดน้ำเสีย 66

16. Time course ของ (A) การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (B) การลดค่าซีโอดี (ร้อยละ) โดยการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด (ร้อยละ 20) ยีสต์ขนมปัง (ร้อยละ 0.02) และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) (ร้อยละ 2) ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 49 วัน 69

17. Time course ของ (A) การลดแอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) (B) การลดฟอสเฟต (ร้อยละ) โดยการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด (ร้อยละ 20) ยีสต์ขนมปัง (ร้อยละ 0.02) และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) (ร้อยละ 2) ต่อการบำบัด น้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 49 วัน 70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งกลายเป็นอุตสาหกรรมหลักในหลายๆ ประเทศ ทำให้ผลผลิตของกุ้งมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี พบว่า ผลผลิตกุ้งทั่วโลกโดยรวมมีปริมาณถึง 810,000 เมตริกตัน (Rosenberry , 1998 อ้างโดย Burford and Williams , 2001) จากปริมาณการส่งออกกุ้งและความต้องการของตลาดโลกนี้เอง โดยในปี พ.ศ. 2540 พบว่า มีพื้นที่การเลี้ยงกุ้งเพิ่มขึ้นเป็น 457,000 ไร่ ในพื้นที่ 22 จังหวัด (กรมประมง , 2543) และมีการพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงจากการเลี้ยงแบบธรรมชาติ เป็นการเลี้ยงแบบปล่อยเสริมและแบบพัฒนาหรือแบบหนาแน่น โดยประเทศไทยมีพื้นที่การเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่การเลี้ยงทั้งหมด (Rosenberry , 1998)

การเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาซึ่งมีการปล่อยกุ้งในอัตราที่หนาแน่น และมีการให้อาหารสำเร็จรูปในปริมาณสูงก่อให้เกิดการสะสมของสารอินทรีย์ โดยเฉพาะเศษอาหารที่เหลือตกค้างอยู่บริเวณพื้นบ่อ รวมทั้งซากสิ่งมีชีวิตต่างๆ และ ตะกอนที่ติดมากับน้ำในการเพาะเลี้ยง (วัลลพ, 2532) ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งจะมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูง (Degain and Gallagher , 1985) นอกจากนี้อาหารที่เหลือตกค้างที่พื้นบ่อจะเพิ่มปริมาณตามปริมาณอาหารที่ให้ ทำให้ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในดินพื้นบ่อเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย (พุทธและคณะ, 2533) พบว่าปริมาณ 88 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนที่เข้าสู่บ่อเพาะเลี้ยงกุ้งนั้นมาจากอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้ง (Wang, 1990) ซึ่งก่อให้เกิดสารประกอบที่เป็นพิษต่อกุ้ง เช่น แอมโมเนียและไนไตรท์ ทำให้สภาพของน้ำไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยง (Taiganides , 1967) ส่งผลให้กุ้งเกิดความเครียดและอ่อนแอ โดยกุ้งจะมีการเจริญเติบโตช้า กินอาหารน้อยลง ลอกคราบช้าและเสี่ยงต่อการเกิดโรค (Briggs and Funge , 1994)

น้ำทิ้งภายหลังการเลี้ยงกุ้งจึงเป็นแหล่งสำคัญของปริมาณสารอินทรีย์ในแม่น้ำบริเวณพื้นที่ใกล้เคียง การเติบโตของอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งที่ขยายตัวอย่างรวดเร็วและความรู้เท่าไม่ถึงการณ์ของเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งที่ปล่อยน้ำทิ้งออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ อาจก่อให้เกิดปัญหาอันเนื่องมาจากปริมาณการป้อนสารอินทรีย์สูงเกินไปเกินกว่าที่การบำบัดน้ำเสียตามธรรมชาติของแหล่งน้ำจะทำงานได้ทัน และส่งผลกระทบต่อพื้นที่ทางเกษตรกรรมชนิดอื่นที่อยู่บริเวณใกล้เคียง นอกจากนี้อาจทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคหรือผู้ใช้แหล่งน้ำเหล่านั้น เมื่อปริมาณธาตุอาหารที่สะสมใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งน้ำมากเกินไป จะทำให้แพลงก์ตอนพืช มีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้มีส่วนเกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสี (RED TIDE) ส่งผลให้สัตว์น้ำตายลงเนื่องจากขาดออกซิเจน และยังส่งผลให้คุณภาพน้ำที่จะนำมาเลี้ยงกุ้งมีคุณภาพต่ำลง ซึ่งอาจโน้มนำให้เกิดโรคระบาดได้ (พุทธและคณะ, 2533)

น้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงกุ้งโดยเฉพาะในช่วงจับกุ้งเพื่อจำหน่ายมีปริมาณของเสียมากที่สุด นอกจากนี้สารออกซิเตตราซัยคลินที่ปนเปื้อนในน้ำจากการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในบ่อเลี้ยงยังมีผลทำให้ไนโตรเจนและอินทรีย์คาร์บอนของน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งสลายตัวช้าลง (พุทธและคณะ, 2533) ซึ่งการสะสมของอาหารสัตว์ที่เหลือค้างในบ่อ รวมทั้งของเสียที่เกิดจากการขับถ่ายของกุ้งและแพลงก์ตอนพืชที่ตายแล้ว (Hargraves , 1998) ตะกอนเหล่านี้จะสะสมอยู่ที่พื้นบ่อในรูปของเลน (sludge) (Briggs and Funge, 1994) การสะสมของตะกอนพื้นบ่อจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำและปริมาณผลผลิตของกุ้ง ซึ่งพบว่าบริเวณพื้นบ่อจะมีการปลดปล่อยแอมโมเนีย สารประกอบอินทรีย์ซัลไฟด์ และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Avnimelech , 1996 ; Lin , 1989)

การบำบัดน้ำเสียที่ใช้ในปัจจุบันมีด้วยกันหลายวิธี ทั้งนี้ในการเลือกใช้จะต้องคำนึงถึงปัจจัยในด้านต่างๆ เช่น ลักษณะของน้ำเสีย สภาพทั่วไปของท้องถิ่น ค่าลงทุนก่อสร้างระบบบำบัด ค่าดำเนินการดูแลบำรุงรักษา และขนาดของที่ดินที่ใช้ในการก่อสร้าง เป็นต้น เพื่อให้เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ที่แตกต่างกัน

วิธีการบำบัดน้ำเสียโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพหรือใช้จุลินทรีย์ในการกำจัดสิ่งเจือปนในน้ำเสีย โดยเฉพาะสารคาร์บอนอินทรีย์ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส โดยความสกปรกเหล่านี้จะถูกใช้เป็นอาหารและเป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์เพื่อการเจริญเติบโต ทำให้น้ำเสียมีค่าความสกปรกลดลง โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจเป็นจุลินทรีย์ใช้ออกซิเจน (Aerobic Organisms) หรือไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Organisms) ก็ได้ ซึ่งวิธีนี้กำลังได้ความสนใจและศึกษากันอย่างกว้างขวางยิ่งขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้โดยทั่วไปมีอุปกรณ์เครื่องมือที่มีราคาแพง รวมทั้งกระบวนการบำบัดในบางขั้นตอนมีความยุ่งยากซับซ้อน ทำให้มีค่าใช้จ่ายและต้นทุนเพิ่มขึ้น จึงได้มีการมุ่งเน้นเพื่อหาแนวทางใหม่เพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ง่ายและสะดวกยิ่งขึ้น โดยใช้วัตถุดิบที่หาได้ง่าย ราคาถูก ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดที่ดี และสามารถนำไปใช้งานได้

โครงงานพิเศษนี้จึงศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นสับปะรดและหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งดัดแปลงให้คล้ายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล ซึ่งจะใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* หรือที่รู้จักกันดีในชื่อ ยีสต์ขนมปัง ซึ่งมีรูปร่างเป็นรูปไข่ ค่อนข้างกลม ลักษณะเป็นเซลล์เดียว เซลล์สามารถแตกหน่อ และเจริญได้ทั้งสภาพที่มีหรือไม่มีอากาศ โดยอาจเกาะกลุ่มกันหรือต่อกันเป็นสาย มีองค์ประกอบของโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น กรดอะมิโน ดีเอ็นเอ (DNA) และ อาร์เอ็นเอ (RNA) แร่ธาตุ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร (dietary fibre) (Reed and Nagodawithana, 1991) ซึ่งเป็นแหล่งสารอาหารที่สำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ เพราะกระบวนการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ที่มีชีวิต (Autolysis) เกิดจากการกระทำของเอนไซม์กลูโคเนส (ß-1,3 gluconase) และเอนไซม์โปรติเอส (protease) ที่มีอยู่ในเซลล์ยีสต์และมีเอนไซม์ (ß-1,6 gluconase) และเอนไซม์แมนนาเนส (mannanase) มีส่วนร่วมในการละลายผนังเซลล์ ซึ่งองค์ประกอบของเซลล์จะถูกทำให้ละลาย โดยเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นสับปะรดจะช่วยเพิ่มการละลายในระหว่างการเกิดการย่อยสลายตัวเอง (Autolysis) และเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟอสเฟตด้วยแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต (มาริสาและคณะ, 2549) ในกลุ่มของเชื้อแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต 2 ไอโซเลต

อีกทั้งธาตุเหล็กที่เกิดจากการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในน้ำเสีย จำเป็นอย่างยิ่งในการทำงานต่าง ๆ ของจุลินทรีย์และสารอาหารที่เกิดขึ้นภายหลังการย่อยสลายตัวเองจะกลายเป็นอาหารให้แก่จุลินทรีย์ ซึ่งจะช่วยเร่งการทำงานของหัวเชื้อจุลินทรีย์ (activate microorganism) ในน้ำเสีย โคโลนีของจุลินทรีย์ที่อาศัยในแหล่งน้ำเสียนั้นจะฟอร์มตัวขึ้นในระยะเวลาประมาณ 1 เดือน เพื่อง่ายต่อการมีชีวิตรอดได้ในน้ำเสีย โดยจุลินทรีย์จะทำการย่อยสลายและปลดปล่อยเอนไซม์ภายในหรือภายนอกเซลล์ เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายเน่าเปื่อย และคุณภาพน้ำจะค่อยๆ ถูกปรับปรุงให้ดีขึ้น เนื่องจากเกิดการย่อยสลายสารที่เป็นพิษ (toxic substance) ให้ลดลง ทำให้ออกซิเจนละลายในน้ำมากขึ้นพืชน้ำสามารถเจริญเติบโตได้เพิ่มมากขึ้น อีกทั้งจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตและสารประกอบเชิงซ้อนของซิลิกอนจะเป็นแหล่งอาหารเพื่อการเจริญของแพลงก์ตอน ซึ่งเป็นอาหารให้แก่สัตว์น้ำขนาดเล็กในห่วงโซ่อาหารต่อไป (Patent Application Publication, 2006)

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อศึกษาน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนต่างๆ ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

1.2.2 เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

1.2.3 ศึกษาการเปรียบเทียบชนิดของยีสต์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

1.2.4 ศึกษาการเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

1.2.5 ศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์โบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาการสกัดเอนไซม์โบรมิเลน (enzyme bromelain) อย่างง่ายจากสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ซึ่งได้แก่ เนื้อ แกน และเปลือก มาทำการวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน โดยนำมาบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ และศึกษาการเปรียบเทียบชนิดของเชื้อยีสต์ระหว่าง ยีสต์ขนมปัง และยีสต์ลูกแป้งข้าวหมาก ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ รวมทั้งศึกษาการเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต (มาริสาและคณะ, 2549) ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 28 วัน วิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียสังเคราะห์ ซึ่งจะตรวจวิเคราะห์ พีเอช ค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน และฟอสเฟต ซึ่งจะศึกษาการทำงานร่วมกันในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้ น้ำคั้นหยาบสับปะรดร่วมกับการหัวเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ยีสต์และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 49 วัน วิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียสังเคราะห์ดังที่ได้กล่าวในข้างต้น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรดที่ยังคงสภาพกิจกรรม (activity) ไว้ได้

1.4.2 สามารถประยุกต์ใช้เอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นหยาบสับปะรดร่วมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ในอัตราส่วนที่พอเหมาะภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

1.4.3 สามารถนำความรู้ที่ได้มาศึกษาเพื่อปรับใช้ในการบำบัดน้ำเสียโดยวิธีทางชีวภาพกับแหล่งน้ำต่างๆ ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้ง

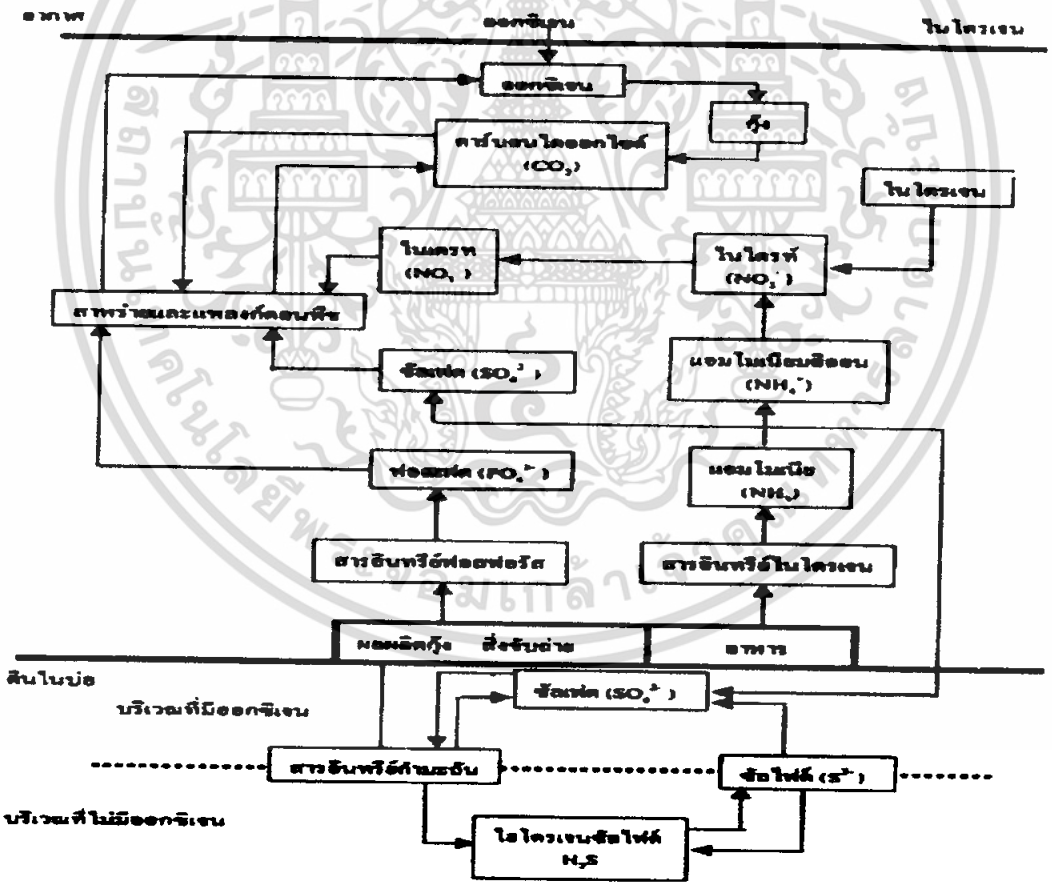
การทำนากุ้งในประเทศไทยนั้น Varikul (1985) รายงานว่า ได้เริ่มทำกันมาอย่างน้อย 30 ปี เริ่มแรกเกิดจากการที่ลูกกุ้งจากธรรมชาติเข้าไปอาศัยในนาข้าวที่อยู่บริเวณป่าชายเลน และต่อมาได้มีการทำนากุ้งควบคู่ไปกับการทำนาข้าว โดยเริ่มจากจังหวัดสมุทรปราการและขยายบริเวณไปตามจังหวัดอื่นๆ ที่อยู่ใกล้ชายทะเล ต่อมาได้มีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเลี้ยงซึ่งพอจะจำแนกได้ออกเป็น 3 แบบ คือ การเลี้ยงแบบธรรมชาติ หรือแบบดั้งเดิม (Convintional หรือ Extensive Growout System) การเลี้ยงแบบปล่อยเสริมหรือกึ่งพัฒนา (Semi-intensive Growout System) และการเลี้ยงแบบพัฒนาหรือแบบหนาแน่น (Intensive Growout System) (ประจวบ , 2531)

จากปริมาณการส่งออกกุ้งและความต้องการของตลาดโลกที่เพิ่มสูงขึ้น ทำให้การเลี้ยงกุ้งเป็นที่นิยมอย่างกว้างขวางในพื้นที่ใกล้ชายฝั่งทะเล การเลี้ยงแบบพัฒนาจึงได้รับการนิยมมากในปัจจุบันและมีการประยุกต์ใช้ความรู้ทางวิชาการและเทคโนโลยีมาใช้เพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตในการเพาะเลี้ยงกุ้ง โดยการให้อาหารสำเร็จรูปที่มีคุณภาพสูงเพื่อให้ได้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่สูงสุดภายในระยะเวลาที่สั้นเท่าที่จะทำได้ ให้อากาศโดยใช้เครื่องให้อากาศและมีการพ่นออกซิเจนใส่เข้าไปในน้ำเพื่อช่วยเพิ่มการหมุนเวียนและระดับออกซิเจนในน้ำ (ลีลา, 2530) ทำให้ผลตอบแทนที่ได้แน่นอนกว่าการเลี้ยงแบบธรรมชาติ จนสามารถผลิตกุ้งส่งออกได้มากเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยในปี พ.ศ. 2544 มีปริมาณการส่งออก 255,568 เมตริกตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออกประมาณ 98,680 ล้านบาท เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2543 ประมาณ 2.38 เปอร์เซ็นต์ (กรมประมง, 2543)

นอกจากผลผลิตที่เกิดขึ้นแล้วสิ่งที่ตามมาคือ ของเสียที่เกิดจากการเลี้ยงกุ้ง ประกอบด้วยเศษอาหารที่เหลือตกค้าง ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งจะมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูง (Degain and Gallagher , 1985) และของเสียที่กุ้งขับถ่ายตลอดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ซึ่งจะถูกปล่อยออกมาพร้อมการเปลี่ยนถ่ายน้ำ การสะสมของอาหารสัตว์ที่เหลือค้างในบ่อ รวมทั้งของเสียที่เกิดจากการขับถ่ายของกุ้ง และแพลงค์ตอนพืชที่ตายแล้ว (Hargraves , 1998) (รูปที่ 1) ตะกอนเหล่านี้จะสะสมอยู่ที่พื้นบ่อในรูปของเลน (sludge) (Briggs and Funge, 1994) ซึ่งการสะสมของตะกอนพื้นบ่อจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำและปริมาณผลผลิตของกุ้ง พบว่าบริเวณพื้นบ่อจะมีการปลดปล่อยแอมโมเนีย สารประกอบอินทรีย์ซัลไฟด์ และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Avnimelech , 1996; Lin , 1989) Hargraves (1998) รายงานว่า แอมโมเนียประมาณ 25-33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์ถูกปลดปล่อยออกมาจากตะกอนพื้นบ่อ และยังส่งผลต่อปริมาณออกซิเจนในบ่อเลี้ยง โดยพบว่าหากออกซิเจนในน้ำลดลง สัตว์น้ำจะเกิดอาการเครียดหรือตายได้ ซึ่งน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งจะมีระดับของแอมโมเนีย ไนไตรท์สูงกว่าสภาพธรรมชาติ มีค่าความเป็นกรด-ด่างไม่เหมะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ มีระดับของค่าออกซิเจนละลายต่ำ มีปริมาณของแพลงก์ตอนในน้ำสูงมาก และอาจมียาปฏิชีวนะและสารเคมีปนเปื้อนอยู่ในน้ำทิ้ง เมื่อระบายสู่แหล่งน้ำ จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมและสัตว์น้ำในธรรมชาติ (พุทธและคณะ, 2533) หากปล่อยน้ำทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติโดยไม่ได้บำบัด ทั้งนี้เนื่องจากน้ำทิ้งเหล่านี้จะประกอบไปด้วยสารอินทรีย์ในปริมาณที่สูง อาจก่อให้เกิดปัญหาอันเนื่องมาจากปริมาณการป้อนสารอินทรีย์สูงเกินไปเกินกว่าที่การบำบัดน้ำเสียตามธรรมชาติของแหล่งน้ำจะทำงานได้ทัน และส่งผลกระทบต่อพื้นที่ทางเกษตรกรรมชนิดอื่นที่อยู่บริเวณใกล้เคียง



รูปที่ 1 การหมุนเวียนของสารอินทรีย์ในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้ง

ที่มา : Ciaccio (1972)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ปริมาณของแอมโมเนียจากการย่อยสลายอาหารที่เหลือโดยจุลินทรีย์ในบ่อกุ้ง ยังเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายในกระบวนการโปรตีนแคทาโบลิซึม (protein catabolism) ซึ่งกุ้งจะขับถ่ายออกมา แอมโมเนียจะเป็นพิษต่อกุ้ง หากมีการสะสมอยู่ในระบบโดยถ้าแอมโมเนียสูงเกิน 1 พีพีดับบิว (ppw) กุ้งจะตาย นอกจากนั้นแอมโมเนียจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นไนไตรท์และไนเตรทโดยแบคทีเรียที่อยู่ในบ่อ (nitrification) ไนไตรท์ซึ่งเป็นสารตัวกลางในปฏิกิริยานี้มีความเป็นพิษมากที่สุด เนื่องจากไนไตรท์สามารถเข้าไปจับกับฮีโมโกลบิน ทำให้ความสามารถในการขนส่งออกซิเจนของกุ้งเสียไป ดังนั้นในการเลี้ยงกุ้งจำเป็นต้องมีการถ่ายน้ำเสียทิ้งอยู่เสมอ ทำให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก ปริมาณสารอินทรีย์ แอมโมเนีย และฟอสเฟตที่มีอยู่สูงในน้ำทิ้งจากบ่อกุ้ง ทำให้พืชในแหล่งน้ำทิ้งเจริญเติบโตได้ดี ในเวลากลางวันที่ไม่มีการสังเคราะห์แสง ความต้องการออกซิเจนจากการหายใจของพืชและสิ่งมีชีวิตในน้ำมีมาก การขาดออกซิเจนจะส่งผลให้สัตว์และพืชน้ำในแหล่งน้ำนั้นตายลง และถูกย่อยสลายในเวลาต่อมา เนื่องจากการย่อยสลายจะต้องใช้ออกซิเจนและได้สารอินทรีย์เป็นเหตุให้น้ำในแหล่งน้ำนั้นเน่าเสียในที่สุด ดังนั้นน้ำทิ้งจากบ่อกุ้งจำเป็นต้องได้รับการบำบัด ซึ่งกรมควบคุมมลพิษได้กำหนดค่ามาตรฐานน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ก่อนทิ้งลงสู่สิ่งแวดล้อม (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง			
ดัชนีคุณภาพน้ำ	หน่วย	ค่า มาตรฐาน	ค่ามาตรฐาน
1.ความเป็นกรดและด่าง (pH)	-	6.5-9.0	ใช้เครื่องวัดความเป็นกรดและด่างของน้ำ (pH Meter) ตามวิธีหาค่าแบบวิธีอีเล็กโตรเมตริก (Electrometric)
2.บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand)	มก./ล.	ไม่เกิน 20	ใช้วิธีอะไซด์ โมดิฟิเคชั่น (Azide Modification) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน โดยใช้ Synthetic Seawater
3.สารแขวนลอย (Suspended Soilds, SS)	มก./ล.	ไม่เกิน 70	ใช้วิธีการกรอง ผ่านกระดาษกรองใยแก้ว (Glass Fiber Filter Disc) ขนาดตากรอง 1.2 ไมโครเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง (ต่อ)

4.แอมโมเนีย (NH_3-N)	มก-N./ล.	ไม่เกิน 1.1	ใช้วิธีโมดิไฟด์ ไอโดฟีนอล บลู (Modified Idophenol Blue)
5.ฟอสฟอรัสรวม (Total Phosphorus)	มก-P./ล.	ไม่เกิน 0.4	ใช้วิธีแอสคอร์บิค แอซิด (Ascorbic Acid)
6.ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S)	มก./ล.	ไม่เกิน 0.01	ใช้วิธีเมธิลีน บลู (Methylene Blue)
7.ไนโตรเจนรวม (Total Nitrogen) คือ ผลรวมของไนโตรเจนละลาย (Total Dissolved Nitrogen) และไนโตรเจนแขวนลอย (Total Particlate Nitrogen)	มก-N./ล.	ไม่เกิน 4.0	ให้นำค่าการตรวจวัดไนโตรเจนละลายและไนโตรเจนแขวนลอยบอกรวมกัน โดยการหาค่า(ก) ไนโตรเจนละลายให้ใช้วิธีเปอร์ซัลเฟต ไดเจนชั่น (Persulfate Digestion) (ข) ไนโตรเจนแขวนลอยให้ใช้วิธีวัดค่าสารแขวนลอยบนแผ่นกรองใยแก้ว ขนาดตากรอง 0.7 ไมโครเมตร และวิเคราะห์ด้วย Nitrogen Analyzer

<u>หมายเหตุ</u> :

1. การเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งเพื่อการตรวจสอบมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ให้เก็บแบบจ้วง (Grab Sampling) จากจุดที่ระบายน้ำทิ้งออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกพื้นที่บ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง
2. วิธีการตรวจสอบมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ให้เป็นไปตามคู่มือวิเคราะห์น้ำเสียที่สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย กำหนดไว้ หรือตามวิธีการมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์น้ำและน้ำเสีย 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 (Koroleff), Determination of Ammonia in Estuary (Sasaki and Sawada) Methods of Seawater Analysis (Grasshoff K.) และ/หรือคู่มือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเคราะห์น้ำและน้ำเสียของสมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย และ WEF ร่วมกันกำหนดไว้

<u>แหล่งที่มา</u> :

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

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

2.2 ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักธาตุหนึ่ง ที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืชน้ำและสาหร่าย และเช่นเดียวกันถ้ามีฟอสฟอรัสมากเกินไปในแหล่งน้ำก็จะทำให้เกิดการเจริญเติบโตของสาหร่ายและพืชน้ำมากอย่างผิดปกติ และส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางระบบนิเวศวิทยาและเกิดน้ำเน่าเสียตามมาได้

ฟอสฟอรัสในน้ำเสียจะอยู่ในรูปต่างๆ ดังนี้คือ ออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate) ซึ่งเป็นฟอสเฟตที่ละลายน้ำและใช้บ่งบอกความเป็นมลทินของน้ำได้ (นันทนา, 2539) โดยจะมีวาเลนซ์อิเลคตรอน +5 (Fenchel and Blackburn, 1979) รูปของฟอสเฟตชนิดนี้จะถูกใช้เพื่อช่วยให้เกิดการเจริญเติบโตทางชีวภาพของจุลินทรีย์ แต่ขึ้นอยู่กับพีเอชของน้ำด้วย (เกรียงศักดิ์, 2535) ส่วนโพลีฟอสเฟต (polyphosphate) ฟอสเฟตในรูปนี้จะเป็นฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำจะอยู่ในรูปตะกอน เช่น เกลืออะลูมินัม เกลือของแมกนีเซียม เกลือของแคลเซียม เป็นต้น (Nester, 1983) โดยฟอสเฟตรูปนี้สามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส ไปอยู่ในรูปของออร์โธฟอสเฟตได้ อัตราการละลายหรือไม่ละลายน้ำของฟอสเฟตนั้นขึ้นอยู่ค่าความเป็นกรดและด่างของน้ำนั้น แต่จุลินทรีย์บางชนิดสามารถเปลี่ยนอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำเป็นฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้ จุลินทรีย์เหล่านี้ได้แก่ แบคทีเรีย เช่น *Bacillus subtilis* *Arthrobacter* sp. *Streptomyces* sp. และฟังไจ เช่น *Aspergillus* sp. *Pennicillium* sp. (Bitton, 1994) ซึ่งฟอสเฟตในรูปละลายน้ำนี้จะถูกแพลงก์ตอนพืชและสัตว์สามารถนำไปใช้เป็นอาหารต่อไปได้ เนื่องจากเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและถือว่าเป็นปัจจัยจำกัดของพืชและสาหร่าย ออร์โธฟอสเฟตในแหล่งน้ำมาจากปุ๋ย อาหารสัตว์น้ำ และของเสียจากสัตว์น้ำที่ละลายอยู่ (Wiesmann *et al.*, 1988) ซึ่งมีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

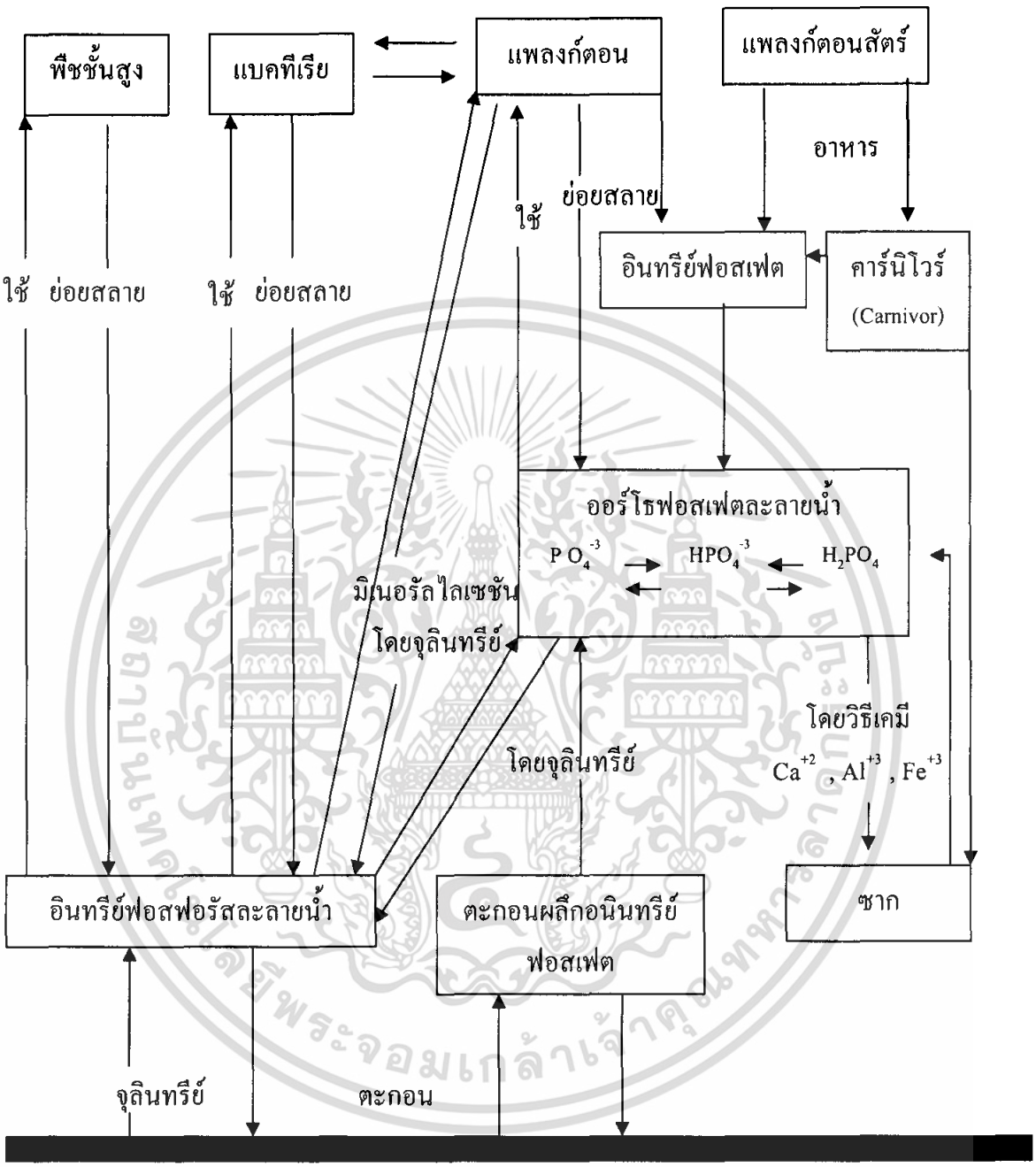
ฟอสฟอรัสถึง 51 เปอร์เซ็นต์ จากอาหารในบ่อเลี้ยงกุ้ง (Briggs and Funge, 1998) โดยฟอสฟอรัสอาจจะมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.01 ถึง มากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งหากมีในแหล่งน้ำในปริมาณสูงจะมีผลทำให้ผู้ผลิตเบื้องต้น (Primary producer) เจริญอย่างรวดเร็ว ก่อให้เกิดผลต่อคุณภาพน้ำ ได้แก่ พีเอช แอมโมเนียและไนไตรท์ เป็นต้น นอกจากนี้จุลินทรีย์บางชนิดสามารถเปลี่ยนรูปฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำที่สะสมอยู่บริเวณดินโคลนใต้น้ำ ให้กลายเป็นอินทรีย์ฟอสเฟตที่ละลายน้ำซึ่งพืชชั้นสูงสามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์เซลล์ใหม่ได้ แบคทีเรียและฟังไจถือว่าเป็นสิ่งมีชีวิตหลักที่เปลี่ยนรูปฟอสฟอรัสให้อยู่ในรูปที่พืชและจุลินทรีย์อื่นนำไปใช้ได้ โดยจะมีเอนไซม์ฟอสฟาเทส ภายในเซลล์ที่ใช้ในการย่อยอินทรีย์ฟอสเฟตจากสารประกอบฟอสฟอรัส แล้วนำอินทรีย์ฟอสเฟตไปใช้ประโยชน์ต่อ (Nester, 1983) โดยใช้เป็นแหล่งพลังงานและเป็นส่วนประกอบสำคัญของฟอสโฟลิปิด นิวคลีโอไทด์ กรดนิวคลีอิก และนำไปใช้ในการสร้างส่วนประกอบอื่นภายในเซลล์ได้ (Harold, 1966) ซึ่งฟอสฟอรัสที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมน้ำ จะมีการเปลี่ยนรูปอยู่ตลอดเวลาทำให้เกิดเป็นวัฏจักร ดังรูปที่ 2

2.2.1 ผลกระทบของฟอสเฟต

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารจำกัดสำหรับการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตในน้ำแต่ถ้ามีฟอสเฟตมากเกินไปก็จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่ายูโทรฟิเคชัน (eutrophication) ซึ่งจะทำให้สาหร่ายพืชน้ำเติบโตอย่างรวดเร็วก่อให้เกิดสภาวะขาดออกซิเจนในแหล่งน้ำ อันเกิดเนื่องมากการตายและการย่อยสลายที่เกิดขึ้นอย่างมากของพวกพืชน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสาหร่าย โดยมีจุลินทรีย์เป็นผู้ย่อยสลาย (นันทนา, 2539)

แหล่งน้ำธรรมชาติที่มีปริมาณฟอสเฟตสูงกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร จัดว่าแหล่งน้ำนั้นมีธาตุอาหารมากเกินไป แต่ถ้าแหล่งน้ำมีปริมาณฟอสเฟตสูงกว่า 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร จัดว่าแหล่งน้ำนั้นเป็นแหล่งน้ำที่มีมลภาวะ มีการกำหนดมาตรฐานไว้ว่าปริมาณฟอสฟอรัสไม่ควรเกิน 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ไมตรีและจารุวรรณ, 2538) แหล่งที่มาของสารประกอบฟอสฟอรัส พบว่ามาจาก 2 แหล่งใหญ่ คือ จากธรรมชาติได้แก่การละลายของหินฟอสฟอรัส ฝนที่พัดพาฝุ่นฟอสฟอรัสในอากาศตกสู่แหล่งน้ำ นอกจากนี้อาจมาจากมูลนกบางชนิด และเศษซากพืชซากสัตว์ที่ตายลับถมในแหล่งน้ำ อีกแห่งคือจากกิจกรรมของมนุษย์ได้แก่จากแหล่งน้ำทิ้งของแหล่งชุมชน โรงงานอุตสาหกรรม และการเกษตร ซึ่งการปนเปื้อนที่เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์จะส่งผลกระทบมากกว่าจากแหล่งธรรมชาติ เนื่องจากมีการปนเปื้อนในปริมาณที่สูงกว่า (Callery *et al.*, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 วัฏจักรการเปลี่ยนแปลงของฟอสฟอรัส

ที่มา : ทวี (2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่สามารถควบคุมระดับปริมาณการปนเปื้อนได้โดยกำจัดฟอสฟอรัสออกจากน้ำทิ้งก่อนปล่อยลงสู่แหล่งธรรมชาติ

2.2.2 การกำจัดฟอสฟอรัส

การกำจัดฟอสฟอรัสนั้นทำได้หลายวิธีแต่ที่นิยมใช้กันมีอยู่ 2 วิธีคือการกำจัดโดยใช้กระบวนการทางเคมีและการกำจัดโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพ ซึ่งการกำจัดโดยใช้กระบวนการทางเคมี ได้แก่การใช้สารเคมีทำให้ฟอสฟอรัสตกตะกอน สารเคมีที่นิยมใช้คือ สารส้ม และเฟอริกคลอไรด์ ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับฟอสฟอรัสเกิดเป็นตะกอนของโลหะฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำและแยกออกได้โดยใช้ถังตกตะกอน (ดีพร้อม, 2531) แต่มีข้อเสียคือ มีต้นทุนในการกำจัดค่อนข้างสูงและมีปัญหาทางด้านการกำจัดกากที่เป็นสารเคมี ส่วนการกำจัดโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพเป็นการกำจัดฟอสฟอรัสโดยใช้จุลินทรีย์ในการกำจัด โดยจุลินทรีย์จะใช้ฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบหนึ่งในการสร้างเซลล์ใหม่และใช้เป็นแหล่งสร้างพลังงาน นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังสามารถเก็บสะสมฟอสฟอรัสไว้ในเซลล์เป็นจำนวนมากเป็นพิเศษ (luxury uptake) ในช่วงระยะเวลาหนึ่งได้อีกด้วย เมื่อมีการกำจัดเซลล์จุลินทรีย์นั้นออกไปก็จะเป็นการกำจัดฟอสฟอรัสจากน้ำทิ้งไปด้วย (ธงชัย, 2544) ซึ่งการกำจัดฟอสฟอรัสโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพมีข้อดีคือค่าใช้จ่ายในการดำเนินการต่ำกว่ากระบวนการทางเคมีและไม่มีปัญหาในการกำจัดกากตะกอน เช่น ระบบบำบัดแบบเลี้ยงตะกอน (Activated sludge) เป็นต้น

<u>ระบบบำบัดแบบเลี้ยงตะกอน (Activated sludge)</u>

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเลี้ยงตะกอน เป็นระบบที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ในอันที่จะกำจัดมวลสารในรูปของสารอินทรีย์ออกจากน้ำเสีย ไม่ว่าน้ำเสียดังกล่าวนั้น จะมีแหล่งกำเนิดมาจากชุมชนหรือโรงงานอุตสาหกรรมก็ตาม

หลักการทำงานของระบบประกอบด้วย ถังเติมอากาศ (ถังเลี้ยงเชื้อ) และถังตกตะกอน น้ำเสียอันมีมวลสารในรูปของสารอินทรีย์จะถูกส่งเข้าไปในถังเติมอากาศ และจะถูกแบคทีเรียรวมทั้งจุลินทรีย์อื่น ๆ ในถังนั้นย่อยสลายกลายเป็นสารอนินทรีย์อันได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำรวมทั้งสารเฉื่อยอื่น ๆ เช่น ไนเตรท ฟอสเฟต ฯลฯ ดังสมการ

$$\text{CHONPS} + \text{แบคทีเรียและจุลินทรีย์} + O_2 \longrightarrow CO_2 + H_2O + NO_3^- + PO_4^{3-} + SO_4^{2-} + \text{แบคทีเรียและจุลินทรีย์ (เพิ่ม)} + \text{พลังงาน}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการย่อยสลายสารอินทรีย์นี้จะได้พลังงานออกมาให้จุลินทรีย์ดังกล่าวได้ใช้การดำรงชีพและสืบพันธุ์เจริญเติบโตต่อไป อนึ่งแบคทีเรียและจุลินทรีย์อื่น ๆ ในถังนี้มักเรียกกันติดปากว่า ตะกอนกระตุ้น หรือ Activated sludge อันทำให้ระบบนี้ได้ชื่อว่า เป็นระบบเลี้ยงตะกอน ซึ่งตะกอนพวกนี้มีคุณสมบัติพิเศษ สามารถจับตัวกันเป็นกลุ่มเรียกว่า ฟล็อก และจมตัวลงได้ในภาวะน้ำนิ่งดังนั้น เมื่อถูกส่งไปยังถังตกตะกอนมันจะจมตัวลงสู่ก้นถัง ทำให้ได้น้ำส่วนบนใสและมีมวลสารเหลืออยู่น้อย สามารถระบายออกปล่อยทิ้งได้ ส่วนตะกอนที่จมลงจะกลายเป็นลักษณะข้น ๆ คล้ายเลน ซึ่งแท้จริงโดยส่วนใหญ่ก็คือ จุลินทรีย์ต่าง ๆ นั้นเอง ตะกอนนี้ส่วนหนึ่งจะถูกสูบกลับไปยังถังเติมอากาศเพื่อใช้งานใหม่

2.2.3 จุลินทรีย์ที่กำจัดฟอสเฟต

กลุ่มสิ่งมีชีวิตพีเอโอ polyphosphate accumulating organisms (PAO) เป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่พัฒนาให้สามารถจับใช้ฟอสฟอรัสจากน้ำเสียได้มากกว่าปกติ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรีย ดังนั้นบางสถาบันอาจจะเรียกว่าพีเอบี polyphosphate accumulating bacteria (PAB) หรือ โพลี-พีแบคทีเรีย (poly-P-bacteria) ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีการปล่อยฟอสฟอรัสออกมาจากการสลายตัวของโพลีฟอสเฟตที่สะสมไว้ภายในเซลล์ (ธงชัย, 2534) ผ่านการแตกตัวของเอทีพีซึ่งให้เอดีพีและคายพลังงานออกมาพร้อม ๆ กันดังสมการ

$$ATP \longrightarrow ADP + Pi + E$$

หลังจากนั้นแบคทีเรียจะใช้พลังงานที่ได้มานี้ในการดึงเอาสารอินทรีย์โมเลกุลเล็กและย่อยง่ายโดยเฉพาะวีเอฟเอโซ่สั้น (short chained volatile fatty acid) ที่มีคาร์บอน 2 หรือ 3 อะตอม เข้าไปในเซลล์และใช้พลังงานดังกล่าวไปสังเคราะห์วีเอฟเอให้เป็นสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ที่มีชื่อเรียกว่าพีเอชเอ (poly-β-hydroxyalkanoate) สะสมไว้ในเซลล์ซึ่งขั้นตอนนี้จะอยู่ในสภาพแอโรบิก ต่อมาเมื่อน้ำเสียถูกส่งต่อไปยังขั้นตอนแอโรบิก ซึ่งมีการเติมอากาศอย่างเพียงพอออกซิเจนในอากาศทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายไปออกซิไดซ์สารอินทรีย์ (พีเอชเอ) ที่สะสมไว้ในเซลล์ได้เป็นพลังงานออกมามากมายดังสมการ

$$PHA + O_2 \longrightarrow \text{พลังงาน } E + \text{ชีวมวล} + H_2O + CO_2$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียใช้พลังงานเหล่านี้ในการดึงฟอสเฟตในน้ำที่มีอยู่มาก เพราะเกิดการปล่อยออกมาในขั้นตอนแอนแอโรบิก มาจับใช้อย่างเพิ่มพูนมากเป็นพิเศษทั้งนี้ปริมาณฟอสเฟตที่ถูกจับใช้ในสภาวะแอโรบิกมีค่ามากกว่าปริมาณฟอสเฟตที่ปล่อยออกมาในขั้นตอนแอนแอโรบิก จึงได้ผลลัพธ์สุทธิเป็นการกำจัดฟอสฟอรัสออกจากระบบบำบัดน้ำเสีย (ธงชัย, 2544) กล่าวอย่างง่าย ๆ คือ จุลินทรีย์ปล่อยฟอสฟอรัสในขั้นตอนแอนแอโรบิก และจับใช้อย่างเพิ่มพูนในขั้นตอนแอโรบิกโดยสะสมไว้ในรูปโพลฟอสเฟตแกรนูลในเซลล์ (Fuhs and Chen, 1975)

ชนิดของแบคทีเรียที่ใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียประกอบด้วย *Acinetobacter Pseudomonas Aerobacter Moraxella Escherichia coli Klebsiella Enterobacter Mycobacterium beggiatoa* (Bitton, 1994) แต่ขณะที่บางงานวิจัยรายงานว่าเป็นกลุ่มอื่นเช่น *Micrococcus* sp. Aeromonas ในกระบวนการกำจัดฟอสเฟตนั้น *Acinetobacter* เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ใช้ในการกำจัดฟอสเฟต ซึ่งขึ้นอยู่กับกรดไขมันระเหยง่าย volatile fatty acid (VFAS) เป็นสารอาหารที่สำคัญในน้ำเสีย เชื้อ *Acinetobacter* เป็นแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนและ succinate เป็นแหล่งของคาร์บอนและแหล่งพลังงาน (Fuhs and Chen, 1975) กลุ่มของแบคทีเรียจะไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับลักษณะของน้ำเสีย วิธีการบำบัดและกระบวนการที่ใช้ และในปัจจุบันนี้ยังไม่มีเชื้อบริสุทธิ์ใดที่พิสูจน์ได้ว่าเป็นแบคทีเรียเด่นในกระบวนการกำจัดฟอสเฟตในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ (ธงชัย, 2544) แต่ก็มีข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแบคทีเรียที่สามารถสะสมโพลีฟอสเฟต และโพลีดรอกซีอัลคาโนเอท ซึ่งเป็นสารโพลีเมอร์ของคาร์บอนที่เป็นแหล่งสะสมของพลังงานอย่างหนึ่งในเซลล์

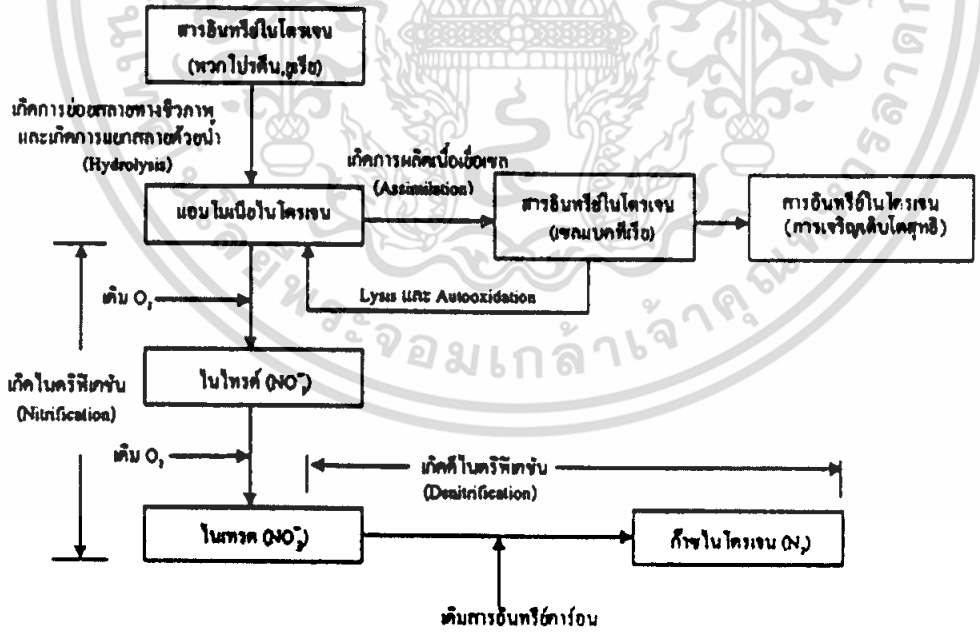
Fush (1972) พบว่า การใช้ฟอสฟอรัสของแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Bacillus* sp. จะสามารถดูดซับฟอสฟอรัสได้ดีกว่าพืชน้ำ ดังนั้นปริมาณของแบคทีเรียจะช่วยควบคุมปริมาณฟอสฟอรัสได้ดี และเป็นการควบคุมปริมาณของพืชน้ำได้ดีด้วย Ehrlich *et al* (1989) ทดลองใช้แบคทีเรีย 1 เปอร์เซ็นต์ ในบ่อเลี้ยงปลาเทราท์ จะสามารถลดปริมาณแอมโมเนียลงได้ 90 เปอร์เซ็นต์ และลดค่าฟอสเฟตลงได้ 85 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับบ่อที่ไม่ได้ใส่แบคทีเรีย

ในการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพมักจะใช้จุลินทรีย์หลากสายพันธุ์ในการย่อยสลาย เพราะจุลินทรีย์ในแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการย่อยสลายสารได้แตกต่างกัน ดังนั้นการนำจุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียหรือการย่อยสลายของเสียในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น เปรมสุดา (2539) พบว่า การใช้แบคทีเรียร่วมกัน 5 สายพันธุ์ เลี้ยงในแหล่งอาหารที่มีอาหารเลี้ยงกุ้งละลายอยู่ พบว่าสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ได้มากกว่าการใช้แบคทีเรียเพียงสายพันธุ์เดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ไนโตรเจน

สารประกอบไนโตรเจนในธรรมชาติมีอยู่หลายรูปแบบโดยสารประกอบไนโตรเจนที่เกี่ยวข้องกับน้ำเสียสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ สารไนโตรเจนอินทรีย์ได้แก่ โปรตีน กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิคซึ่งสารประเภทนี้เป็นส่วนประกอบของร่างกายพืชและสัตว์ ในอุจจาระในปุ๋ยคอกเป็นต้น ส่วนอีกประเภทหนึ่งคือ สารไนโตรเจนอนินทรีย์ได้แก่ แอมโมเนีย (NH_3) ไนไตรท์ (NO_2^-) ไนเตรท (NO_3^-) ซึ่งสารพวกนี้อาจอยู่ในรูปปุ๋ย หรือเกลือในปัสสาวะ โดยสารประกอบไนโตรเจนสามารถเปลี่ยนรูปจากสารอินทรีย์ไปเป็นสารอนินทรีย์ได้ โดยอาศัยแบคทีเรียเป็นตัวสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเช่น สารอินทรีย์ไนโตรเจนจะถูกเปลี่ยนให้กลายเป็นแอมโมเนียโดยกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) นอกจากนี้สารอนินทรีย์ในรูปต่างๆ ก็อาจเปลี่ยนกลับไปมาได้โดยแบคทีเรียเช่นกัน (ธงชัย, 2544) การเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนทั้งหมดจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาทางชีววิทยา โดยมีสภาพแวดล้อมเป็นตัวกำหนด ถ้าอยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนเพียงพอ (aerobic) ปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายของการเปลี่ยนรูปไนโตรเจนจะได้ไนเตรท (NO_3^-) เรียกว่ากระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification) แต่ถ้าอยู่ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (anaerobic) ก็จะเกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification) ซึ่งทำให้ได้ก๊าซไนโตรเจน (N_2) การเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนได้แสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 การเปลี่ยนรูปของสารประกอบไนโตรเจนในระบบบำบัดทางชีววิทยา
ที่มา : เกรียงศักดิ์ (2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานคุณภาพน้ำเสียของแอมโมเนีย

The Environment Protection Agency (U.S.EPA) ได้กำหนดเกณฑ์อนุโลมสูงสุดของสารประกอบอนินทรีย์ในโตรเจนในแหล่งน้ำต่าง ๆ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 กำหนดเกณฑ์อนุโลมสูงสุดของสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนในแหล่งน้ำ
(หน่วย : มิลลิกรัมต่อลิตร)

Inorganic N Cpd	Fresh water	Marine water	Public water supply
Ammonia-N	0.02	0.4	0.5
Nitrate-N	100	-	10
Nitrite-N	10	-	1

ที่มา : Gaudy (1980)

มีรายงานการศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียในการลดปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนในน้ำ โดยทดลองในบ่อดินขนาด 0.04 เฮกตาร์ ลึก 1 เมตร ซึ่ง ไชยวารี (1993) ได้ใช้ผลิตภัณฑ์แบคทีเรีย คือ accelobac โดยมีอัตราการใช้คือ เริ่มต้นใส่ลงไปในอัตราส่วน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ใส่ลงไป 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 เติมลงไปในอัตราส่วน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร accelobac ถูกผสมลงไปในน้ำด้วยเครื่องตีน้ำ พบว่าผลิตภัณฑ์แบคทีเรียชนิดนี้สามารถลดความเข้มข้นของแอมโมเนียได้ใน 4 วันแรกเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบกับบ่อควบคุม หลังจากนั้นการใช้แบคทีเรียไม่มีผลต่อความเข้มข้นของแอมโมเนียเลย เนื่องจากในระยะสัปดาห์หลังๆ ปริมาณแอมโมเนียในน้ำต่ำ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติมแบคทีเรียลงไปในบ่อที่มีความเข้มของแอมโมเสียต่ำจะไม่มีประโยชน์

จากรายงานของ WHO (1986) กล่าวว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียนั้นมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในวัฏจักรไนโตรเจน คือแบคทีเรียในกลุ่มแอมโมนิไฟเออร์และดีไนตริไฟเออร์ โดยแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 220 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีผลยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึม ส่วนแบคทีเรียในกลุ่มที่ย่อยสลายโปรตีน (Proteolytic) และแบคทีเรียกลุ่มไนตริไฟเออร์จะมีความไวต่อแอมโมเนียมากกว่าแบคทีเรียในกลุ่มดีไนตริไฟเออร์ที่ความเข้มข้น 13-25 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Hargreaves (1998) กล่าวว่าการลดลงของแอมโมเนียนั้นเกิดจากปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน เป็นหลัก ซึ่งดินตะกอนเป็นแหล่งสะสมของแอมโมเนียที่สำคัญและทำให้ไนเทรตและไนไทรต์ลดลง แต่ทั้งนี้การเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน และดีไนตริฟิเคชันควบคู่กันในบริเวณตะกอนนั้นเกิดได้มาก เนื่องจากปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันนั้นจะถูกกำจัดด้วยปริมาณออกซิเจนที่สามารถซึมผ่านดินตะกอนลงไปได้ด้วย

2.4 ความเป็นพิษของสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อสิ่งมีชีวิต

2.4.1 ความเป็นพิษของไนเทรต

ปริมาณไนเทรตในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจจะเพิ่มขึ้นจากปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันของสารประกอบไนโตรเจน โดยปกติไนเทรตจะมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำน้อยมาก แต่ถ้าในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน ไนเทรตจะเกิดการเปลี่ยนรูปเป็นไนไทรต์ผ่านทางปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน

2.4.2 ความเป็นพิษของไนไทรต์

ไนไทรต์เป็นสารตัวกลางที่พบได้ระหว่างปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน และปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน ผลกระทบของไนไทรต์เกิดจากการที่เฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) ซึ่งอยู่ในโมเลกุลของฮีโมโกลบินในเลือด เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและเปลี่ยนไปเป็นเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) เป็นผลให้ฮีโมโกลบินเปลี่ยนเป็นเมทีโมโกลบิน (Methemoglobin) ที่มีความสามารถในการรับออกซิเจนต่ำลง จึงทำให้เกิดสภาพที่เลือดมีออกซิเจนต่ำกว่าปกติ (Hypoxia) หรือมีชื่อเรียกว่า Brown Blood Disease ไนไทรต์ในเลือดกุ้งจะทำให้ระดับโปรตีนและพีเอชของเลือดกุ้งลดลง ซึ่งจะทำให้ชีวเคมีในเลือดกุ้งเปลี่ยนแปลงไปขบวนการเผาผลาญอาหารภายในร่างกายมีประสิทธิภาพลดลงทำให้การเจริญของกุ้งลดลง เกิดการสะสมของยูเรียในเลือดกุ้ง และมีการดูดซึมน้ำมากทำให้สมดุลเกลือแร่เปลี่ยนแปลงไป (พุทธ, 2537) พิษของไนไทรต์ทำให้การขนถ่ายออกซิเจนในเลือดลดลง ส่งผลให้ระบบหายใจของกุ้งผิดปกติ ทำให้กุ้งลอกคราบไม่ออก กุ้งเปลือกนิ่ม มีการกินกันเองขณะลอกคราบ ในน้ำที่มีไนไทรต์สูงกว่า 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้กุ้งป่วย อ่อนแอติดเชื้อโรคต่างๆ ได้ง่าย และตายในที่สุด นอกจากนี้ความเป็นพิษของไนไทรต์ขึ้นอยู่กับค่าของคลอไรด์ เท่ากับ 1 : 6 โดยน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีระดับไนไทรต์สูงกว่า 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่ควรนำมาเลี้ยงกุ้ง (กรมประมง, 2536)

83746

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 ความเป็นพิษของแอมโมเนีย

แอมโมเนียจะมีความเป็นพิษแม้ในระดับความเข้มข้นต่ำๆ โดยปกติกุ้งจะมีการขับแอมโมเนียผ่านทางเลือด ซึ่งจะนำไปปล่อยออกจากร่างกายทางเหงือกกุ้งในระหว่างที่กุ้งมีการหายใจ ถ้าในน้ำมีแอมโมเนียน้อย (0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้ง) จะทำให้กุ้งสามารถขับถ่ายแอมโมเนียได้ดี และมีการเจริญเติบโตที่ดี แต่ถ้าแอมโมเนียในน้ำมากจะเกิดการแพร่กลับเข้าไปในเลือดได้ พีเอชของเลือดสูงผิดปกติ ทำให้เอนไซม์ในเลือดกุ้งทำงานไม่แกติ กุ้งจะลดการหายใจมากขึ้นเพื่อป้องกันแอมโมเนียในน้ำเข้าสู่ร่างกาย จึงเกิดภาวะเครียดและเติบโตได้ช้าลง (พุทธ, 2537) แอมโมเนียอิสระที่ 0.1 - 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งผลให้กุ้งโตช้า ส่วนที่มากกว่า 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร กุ้งจะโตช้า กินอาหารน้อยลง เครียดหรือตาย

จากรายงานการศึกษาของ Gross (2003) พบว่าค่า LC_{50} ที่ 48-96 ชั่วโมงของแอมโมเนียประมาณ 0.2 - 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ปลอดภัยสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำควรต่ำกว่า 0.02 - 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับสัตว์น้ำอื่นๆ เช่น ปลา แอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้นต่ำจะมีผลให้การฟักไข่ลดลง ลดอัตราการเจริญ และเกิดการเปลี่ยนแปลงบริเวณเนื้อเยื่อของเหงือก ตับ ไต ทำให้เกิดโรคได้ การแพร่กระจายของแอมโมเนียจะสามารถพบได้ในเนื้อเยื่อทุกชนิดที่เกิดกระบวนการเมตาบอลิซึม จากรายงานของ WHO (1986) กล่าวว่าแอมโมเนียสามารถเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ง่าย แล้วจะถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนโดย Krebs – Henseleit Cycle ส่วนพืชจะไม่สามารถขับแอมโมเนียออกมาได้ แต่จะมีการทำลายพิษด้วยการนำเข้าไปรวมกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต

2.4.4 ความเป็นพิษของฟอสเฟต

ฟอสฟอรัสหรือฟอสเฟตเป็นสารที่มีความสำคัญต่อระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แต่ถ้ามีปริมาณมากเกินไปอาจทำให้เกิดภาวะเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำจากการเจริญเติบโตของพืชน้ำ หรือที่เรียกว่า ยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) หากแหล่งน้ำธรรมชาติมีปริมาณฟอสฟอรัสสูงเกินกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร จัดว่าแหล่งน้ำนั้นมีอาหารธรรมชาติมากเกินไป ส่วนแหล่งน้ำที่มีฟอสฟอรัสสูงกว่า 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร จัดว่ามีปัญหามลภาวะ โดยปกติแล้วฟอสฟอรัสในน้ำไม่ได้ก่อให้เกิดอันตรายแก่สัตว์น้ำ ซึ่งในการควบคุมและป้องกันปัญหาการเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำได้กำหนดมาตรฐานว่าไม่ควรมีปริมาณฟอสฟอรัสเกิน 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร

ประดิษฐ์และวราภรณ์ (2544) ตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา จำนวน 6 ฟาร์ม ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนธันวาคม พ. ศ. 2539 พบว่าทุกฟาร์มมีการเลี้ยงกุ้งในระบบกึ่งปิดหรือระบบถ่ายน้ำน้อย มีคุณภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง มีค่าความโปร่งใสอยู่ระหว่าง 35 - 70 เซนติเมตร อุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 29 – 30 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ระหว่าง 8 – 29 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรด – ด่าง อยู่ระหว่าง 7.8 – 8.4 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำมีค่า 5.4 – 6.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดีอยู่ที่ระหว่าง 3.2 – 6.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าไนเทรต – ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.001 – 0.082 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณฟอสเฟต – ฟอสฟอรัสอยู่ระหว่าง 0.019 – 0.030 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากบทความของ WHO (1986) กล่าวว่าค่าพีเอชที่สูงและแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีผลยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน เนื่องจากแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 10 – 150 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีผลยับยั้ง *Nitrosomonas* (ทำหน้าที่เปลี่ยนไนไทรต์ไปเป็นไนเทรต) จะถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นแอมโมเนีย 0.1 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงก่อให้เกิดการสะสมหรือคงทนต่อแอมโมเนีย และหรือไนไทรต์ในสิ่งแวดล้อมได้ นอกจากนี้แอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 1,100 มิลลิกรัมแอมโมเนียต่อลิตร สามารถทำลาย *Escherichia coli* ได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 78 นาที และ *Bacillus subtilis* จะถูกทำลายที่ความเข้มข้น 620 มิลลิกรัมแอมโมเนียต่อลิตรในเวลาน้อยกว่า 2 ชั่วโมง

นอกจากนี้ WHO (1986) ได้กล่าวถึงปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย ได้แก่ ออกซิเจนที่ละลายน้ำ อุณหภูมิ ค่าพีเอช ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ และความเค็ม เช่น ในน้ำจืด ค่า LC_{50} ของแอมโมเนีย ที่ 48 และ 96 ชั่วโมง ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังอยู่ที่ 1.10 – 22.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนปลา คือ 0.56 – 2.48 มิลลิกรัมต่อลิตร และสำหรับในน้ำเค็ม ค่า LC_{50} ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังอยู่ที่ 0.94 – 18.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนปลา คือ 0.32 – 1.31 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาของ Bhaskar *et al.*, (1998) พบว่าแบคทีเรียก่อโรคที่พบในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) จากการตรวจสอบในน้ำ ดินตะกอน และในตัวกุ้งได้แก่ *Salmonella, Vibrio cholerae* 01 และ *Listeria monocytogenes* ซึ่งแหล่งสำคัญของเชื้อก่อโรคเหล่านี้มาจากดินตะกอน น้ำ และแหล่งอาหารธรรมชาติ เช่น สาหร่าย แพลงก์ตอน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง อาทิเช่น แพลงก์ตอนสัตว์

Gatesoupe (1999) ศึกษาการใช้โปรไบโอติก (probiotic) กับสัตว์ในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อเป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ (Biocontrol) ต่อต้านกับเชื้อก่อโรคและเพื่อช่วยฟื้นฟูคุณภาพน้ำ โดยสายพันธุ์ของโปรไบโอติกที่คัดแยกได้นี้ ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่มไนตริไฟเออร์ และ แบคทีเรียในกลุ่ม Vibrionaceae Pseudomonads Lactic Acid Bacteria *Bacillus* spp. และยีสต์ พบว่า *Bacillus subtilis* นั้นสามารถช่วยลดจำนวนเชื้อราก่อโรคพวก *Vibrio* spp. ในดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตะกอน และ *Bacillus* sp. ที่พบในแหล่งน้ำสามารถต้านทานต่อ *Vibrio vulnificus* ซึ่งอาจจะเกิดจากการขับเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ของแบคทีเรียและการแข่งขันในการใช้สารอาหาร เพราะโพรไบโอติกที่ใช้นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่า

Thakur and Lin (2003) ได้ศึกษาความเป็นไป (Fate) ของสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจากบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ในระบบปิดซึ่งไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ จึงเป็นการรักษาคุณภาพน้ำและลดการปลดปล่อยสารอาหารออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่า อาหารที่ให้กุ้งจะมีสารประกอบไนโตรเจน 76 – 92 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัส 70 – 91 เปอร์เซ็นต์ แต่มีสารอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่กุ้งสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้เพียง 23 – 31 เปอร์เซ็นต์ และ 10 – 13 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนไนโตรเจนและฟอสฟอรัส อาหารที่เหลือจะมีการสะสมอยู่บริเวณดินตะกอน 14 – 53 เปอร์เซ็นต์ และ 12 – 29 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งฟอสฟอรัสจะดูดซับกับโคลนในบ่อเพราะมีความสามารถในการจับ (Affinity) ที่แข็งแรง ส่วนไนโตรเจนจะมีการสูญเสียออกจากระบบเพาะเลี้ยงด้วยการระเหยของแก๊สแอมโมเนียจากการเพิ่มออกซิเจน และค่าพีเอชที่สูงหรือจากการเกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันบริเวณดินตะกอน

2.5 จุลินทรีย์กับการเลี้ยงกุ้ง

จุลินทรีย์กับการเพาะเลี้ยงกุ้งมีความสัมพันธ์และสำคัญ ปรากฏในทุกรูปแบบและขั้นตอนของการเลี้ยง โดยเฉพาะในเรื่องของการควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยง หากการเลี้ยงแบบธรรมชาติเดิมหรือเลี้ยงบางมาก จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำและพื้นบ่อ ก็จะมีหน้าที่ในการย่อยสลายขี้ของกุ้งและอินทรีย์สารอื่นๆ แต่ถ้าหากมีการเลี้ยงแบบพัฒนาในสภาพที่เราเรียกว่า intensive rearing กล่าวคือ เลี้ยงแบบหนาแน่นและให้อาหารกินเต็มที่ ดังนั้นในบางสภาวะที่อากาศแปรปรวน หรือกุ้งอยู่ในสภาวะเครียดจากสาเหตุใดก็ตาม อาหารที่กุ้งกินไม่หมดก็จะเกิดการเน่าเสียจากจุลินทรีย์หลาย ๆ ชนิด มีการแย่งใช้ออกซิเจนทำให้ออกซิเจนลดลง ปัญหาที่ตามมาคือ ในสภาวะที่ไม่มีอากาศออกซิเจนผลิตภัณฑ์จากกระบวนการสันดาปที่จุลินทรีย์ปล่อยออกมาเป็นพวกก๊าซพิษ ได้แก่ ก๊าซแอมโมเนีย ก๊าซไข่เน่า (ไฮโดรเจนซัลไฟด์) ก๊าซมีเทน และก๊าซอื่น ๆ อีก

Jacques (1989) ได้อธิบายกระบวนการเกิดก๊าซพิษจากการย่อยสลายสิ่งปฏิกูลมูลสัตว์ จึงส่งผลกระทบอย่างรุ่นแรงต่อกุ้ง หากเกิดสภาวะนี้กับน้ำในบ่อเลี้ยง ดังนั้นจะเห็นได้ว่าในระยะที่มีการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ตามมาและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายคือ จุลินทรีย์ที่ใช้ควบคุมคุณภาพน้ำในแง่ของการใช้จุลินทรีย์หรือผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์เป็นสารเสริมชีวนะ (โพรไบโอติค) นั้นยังมีข้อมูลในเชิงวิชาการสนับสนุนน้อยมาก จากการสืบค้นจากระบบ CABI (ห้องสมุดคณะสัตวแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) มีเพียง 10 เรื่องเท่านั้นที่มีการทดลองเกี่ยวข้องกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเสริมชีวนะ ส่วนใหญ่เป็นข้อมูลจากการทดลองในห้องปฏิบัติการเท่านั้น เช่น ศิริรัตน์และคณะ (2543) ได้ทำการทดลองให้กุ้งกินเชื้อ *Bacillus* S11 พบว่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อวิบริโอ ฮาวิไอได้ Suralikar and Sahu (2001) ทำการทดลองเชื้อ *Lactobacillus Cremoris* ในการเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกราม (post lava)

Vasechram and Ramasamy (2003) ได้ทดลองเชื้อ *Bacillius subtilis* BT 23 ในกุ้งกุลาดำ นอกจากนี้ก็มีการทดลองให้เชื้อ *V. alginolyticus* ของนักวิชาการจากประเทศเม็กซิโก จะเห็นได้ว่าข้อมูลส่วนใหญ่จะมาจากกลุ่มประเทศที่เพาะและเลี้ยงกุ้งเท่านั้นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์สำหรับใช้ในการผลิตกุ้งกุลาดำ (Microbail Product for Shrimp production) เมื่อกล่าวถึงจุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์ที่เตรียม หรือสกัดจากจุลินทรีย์ในวงการเลี้ยงสัตว์แล้ว เป็นที่น่าสนใจเมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุตสาหกรรมการเลี้ยงปศุสัตว์ (ไก่และสุกร) กับอุตสาหกรรมการเพาะและเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ถึงแม้ว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำจะมีการเริ่มต้นเลี้ยงอย่างจริงจังในประเทศไทยมาประมาณ 18 ปี เท่านั้น (2528) ส่วนการเลี้ยงสัตว์อุตสาหกรรม (ไก่) เริ่มจริงจังประมาณปี พ.ศ. 2514 (32 ปี) แต่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งได้รู้จักและใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในรูปแบบต่างๆ กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่ใช้ย่อยสลายอินทรีย์สาร เพื่อปรับสภาพน้ำและควบคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยง ซึ่งเกิดจากการแนะนำให้ใช้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2538 (ชั่วระยะ 8 ปี ล่วงมานี้) เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีในการบำบัดน้ำตามแนวความเชื่อเดิม ในทางตรงกันข้ามจุลินทรีย์ที่ใช้ในการควบคุมย่อยสลายสิ่งปฏิกูลมูลสัตว์ เพิ่มจะเริ่มมีการยอมรับและนำไปใช้กันบ้าง ประมาณปี พ.ศ. 2542 นี้

Bird and Kalff (1984) พบว่า การย่อยสลายของเสียในทะเลสาบตามธรรมชาติจะเกิดช้ามากและไม่สามารถสร้างความอุดมสมบูรณ์หรือทำให้เกิดสิ่งมีชีวิตมากมายได้ ดังนั้น การเติมจุลินทรีย์เข้าไปในสภาพแวดล้อมที่มีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ย่อมมีส่วนช่วยให้คุณภาพน้ำในบ่อดีขึ้น

เปรมสุดา (2539) ได้ทำการศึกษาการแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างตะกอน และน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งจากจังหวัดสงขลา จังหวัดนครศรีธรรมราช และจังหวัดฉะเชิงเทรา เพื่อคัดเลือกหาแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีน แป้งและไขมัน สามารถคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดีที่สุด 5 สายพันธุ์ คือ S25 สามารถย่อยสลายโปรตีน S22 และ P3 สามารถย่อยสลายโปรตีนและแป้ง P1 และ P4 สามารถย่อยสลายโปรตีน แป้ง และไขมัน ในการตรวจวัดการเจริญและเอนไซม์แอคติวิตี ภายหลังที่เลี้ยงแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ ให้อยู่ในระยะการเจริญแบบทวีคูณ ตรวจวัดแอคติวิตีของโปรตีเอสพบว่าสายพันธุ์ P4 ผลิตโปรตีเอสได้มากที่สุด รองลงมาคือ P1 > P3 > S22 และ S25 ตามลำดับ เมื่อวัดแอคติวิตีของอะไมเลสพบว่าสายพันธุ์ P1 ผลิตอะไมเลสได้มากที่สุด รองลงมาคือ P4 > P3 และ P3 ตามลำดับ และเมื่อวัดแอคติวิตีของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไลเปสพบว่าสายพันธุ์ P4 ผลิตไลเปสได้มากกว่า P1 ทุกสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน สร้างสปอร์ สามารถทนต่อภาวะความชื้นต่ำได้ดี สายพันธุ์ S25 สามารถทนเค็มได้สูงจาก 10-100 ส่วนในพันส่วน เมื่อทดสอบทางชีวเคมีเพื่อจำแนกสายพันธุ์พบว่า P1 P3 P4 S22 และ S25 คือ *Bacillus subtilis B. megaterium V. firmus B. lentus* และ *B . marinus* ตามลำดับ จากการทดสอบการอยู่ร่วมกัน พบว่าทั้ง 5 สายพันธุ์ไม่ยับยั้งการเจริญซึ่งกันและกัน เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอินทรีย์พบว่าการใช้แบคทีเรียผสม 5 สายพันธุ์ ในอัตราส่วน 1:1:1:1:1 ลดปริมาณสารอินทรีย์ได้มากกว่าการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์เดี่ยว และยังสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ของอาหารเลี้ยงกุ้งความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ 1 เปอร์เซ็นต์ 2 เปอร์เซ็นต์และ 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ได้ 97 เปอร์เซ็นต์ 88 เปอร์เซ็นต์ 88 เปอร์เซ็นต์และ 84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายในเวลา 7 วัน การศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลสามารถใช้เป็นตัวควบคุมชีวภาพในการบำบัดน้ำเสียที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงกุ้งได้

การศึกษาคุณสมบัติน้ำทะเล บริเวณชายฝั่งที่มีการเลี้ยงกุ้งจาก อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช ถึง อ.ระโนด จ.สงขลา ได้ทำการสำรวจผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมของน้ำจากการเลี้ยงกุ้งที่ลงสู่ชายฝั่งทะเลก่อนและหลังการสร้างระบบน้ำทิ้งที่ ต.ปากระวะ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาชายฝั่งทะเล โดยเก็บตัวอย่างทุกเดือนตั้งแต่เดือนมีนาคม 2536 ถึงพฤษภาคม 2537 เพื่อตรวจลักษณะทางกายภาพและเคมี ได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ ความโปร่งใส ความเป็นกรดด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ ปริมาณสารแขวนลอย ปริมาณไนเตรท ปริมาณไนไตรท์ ปริมาณแอมโมเนีย ปริมาณฟอสเฟตและความลึก ผลการสำรวจมีดังนี้คือ ความเค็มมีค่าอยู่ระหว่าง 0-35 พีพีที อุณหภูมิมีค่าอยู่ระหว่าง 26.0-32.9 องศาเซลเซียส ความโปร่งใสมีค่าอยู่ระหว่าง 0-370 เซนติเมตร ความเป็นกรดด่างมีค่าอยู่ระหว่าง 6.60-8.78 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 0.02-6.695 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณสารแขวนลอยมีค่าอยู่ระหว่าง 7.20-386.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนเตรทมีค่าอยู่ระหว่าง ND-0.0900 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียมีค่าอยู่ระหว่าง ND-2.5034 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณฟอสเฟตมีค่าอยู่ระหว่าง ND-0.6161 มิลลิกรัมต่อลิตร และความลึกมีค่าอยู่ระหว่าง 0.40 - 12.5 เมตร

2.6 สับปะรด

สับปะรด (pineapple) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวประเภทล้มลุก จำพวกไม้เนื้ออ่อนที่มีอายุหลายปี ลำต้นสั้นและแข็ง ใบออกสลับโดยรอบต้น ใบเรียวยาว ปลายแหลม ดอกออกเป็นช่อสี ช่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดอกมีก้านยาวผลรูปร่างเป็นรูปไข่หรือทรงกระบอก สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี ปลูกได้ในดินแทบทุกแห่งในประเทศไทย มีช่อดอกที่ส่วนยอดของลำต้น ซึ่งเมื่อเจริญเป็นผลแล้วจะเจริญต่อไปโดยตาที่ลำต้น จะเติบโตเป็นต้นใหม่ได้ สามารถเก็บน้ำไว้ตามซอกใบได้เล็กน้อยมีเซลล์พิเศษสำหรับเก็บน้ำเอาไว้ในใบ ทำให้ทนทานในช่วงแล้งได้ สับปะรดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ananas Comosus* อยู่ใน Order Bromeliales ใน Family Bromeliaceae เชื่อกันว่าถิ่นกำเนิดของสับปะรดมาจากทางเหนือของอเมริกาใต้ และได้นำกลับมาปลูกครั้งแรกที่ยุโรปในศตวรรษ์ที่ 16และได้มีการขยายการปลูกไปที่ Hawaii Brazil ทิศตะวันตกของประเทศอินเดีย มาเลเซีย ประเทสไทย อเมริกาใต้และประเทศจีน เป็นพืชพื้นเมืองที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกา ได้ค้นพบครั้งแรกโดยคริสโตเฟอร์ โคลัมบัส ในปี ค.ศ. 1493 พบว่ามีการปลูกสับปะรดในบริเวณอัสสัม พม่า และไทยมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2223 – 2243 (Collins , 1968) สับปะรดปลูกได้ในดินแทบทุกชนิด แต่ขึ้นได้ในดินร่วนปนทรายที่มีสภาพค่อนข้างเป็นกรด พันธุ์สับปะรดที่ปลุกกันเป็นการค้านั้นพอจะแยกออกได้เป็น 3 กลุ่ม ด้วยกันคือ

1) กลุ่ม Queen เป็นสับปะรดที่มีผลค่อนข้างเล็ก แต่มีรสหวานเนื้อละเอียดใช้ปลูกเพื่อบริโภคสดได้ดี สับปะรดในกลุ่มนี้ได้แก่ พันธุ์ภูเก็ต หรือ สิงค์โปร์

2) กลุ่ม Spanish เป็นสับปะรดที่มีผลขนาดเล็กถึงขนาดกลาง สีแสดปนส้มมีรสเปรี้ยวและเส้นใยมาก เปอร์เซ็นต์กรดและน้ำตาลค่อนข้างต่ำ ส่วนใหญ่ใช้บริโภคสด ได้แก่ พันธุ์อินทรชิต (เทพรส) และพันธุ์ขาว

3) กลุ่ม Cayenne เป็นสับปะรดกลุ่มที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอุตสาหกรรมกระป๋อง เนื่องจากผลมีเปอร์เซ็นต์กรดและน้ำตาลค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับสับปะรดในกลุ่มอื่น ๆ สับปะรดในกลุ่มนี้ ได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวีย (Smooth Cayenne) หรือที่เรียกกันทั่วไปว่า พันธุ์ศรีราชา หรือพันธุ์ปราณบุรี

พันธุ์สับปะรดที่ปลูกเพื่อเป็นการค้า ซึ่งจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศไทย ได้แก่พันธุ์ปัตตาเวีย ซึ่งสามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย หลังจากเก็บผลไปแล้วทำให้วัสดุเหลือทิ้งจากไร่สับปะรดมากได้แก่ ใบและลำต้น โดยส่วนใบสามารถนำมาผลิตเป็นเส้นใย (fibers) และเยื่อกระดาษ (paper products) ได้ ส่วนลำต้นสับปะรดซึ่งนับว่าเป็นส่วนเหลือทิ้งจากไร่ที่มีปริมาณมาก นับว่าเป็นล้านตันต่อไปขึ้นไปนั้น เป็นแหล่งที่มีเอนไซม์โบรมิเลนอยู่สูง สามารถนำมาผลิตเอนไซม์ดังกล่าวได้ (Collins, 1968)

เนื่องจากในสับปะรดนั้นมีน้ำตาลฟรุกโตสในปริมาณสูง ร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ได้ทันที มีวิตามินซี และกรดผลไม้ นอกจากนั้นยังมีเกลือแร่ชนิดต่าง ๆ เช่น แคลเซียม ส่วนของลำต้นและผลมีเอนไซม์ธรรมชาติที่สามารถย่อยโปรตีนได้ คือ โบรมิเลน (bromelain) พบว่าเศษวัสดุที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหลือจากการบริโภคหรือการแปรรูปในอุตสาหกรรม เช่น แกนกลาง (the core) เปลือก หรือเนื้อของสับปะรดจะมีปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนแตกต่างกันออกไป

2.6.1 การผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด

นิยมใช้ลำต้นสับปะรดที่แก่จัดเป็นวัตถุดิบในการผลิตเนื่องจากเป็นส่วนเหลือทิ้งจากไร่ ซึ่งมีปริมาณมากและเป็นส่วนที่มีปริมาณเอนไซม์อยู่สูงสุดด้วยเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่นๆ (Heinicke, 1961; อรวินทร์, 2527) ในกระบวนการผลิตเอนไซม์นี้ มีรายงานว่า ควรมีการปลิดใบ ราก และปอกเปลือกลำต้นออกก่อนการสกัดจะทำให้น้ำสกัดจากลำ-ต้นสับปะรดมีปริมาณเอนไซม์สูง (Heinicke, 1961) ซึ่งการปอกเปลือกอาจใช้วิธีทางฟิสิกส์ หรือวิธีทางเคมี เช่น ใช้สารเคมีช่วยในการปอกเปลือกด้วยก็ได้ ลำต้นที่ปอกเปลือกแล้วจะนำมาสกัดเพื่อแยกน้ำสกัดเอนไซม์ แต่เนื่องจากลำต้นสับปะรดมีแป้ง กาก และปริมาณของแข็ง (solid content) อยู่สูง ประกอบกับเอนไซม์นี้เป็นเอนไซม์ส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ ดังนั้นการสกัดเอนไซม์ออกจากส่วนของลำต้นจึงทำได้ยากวิธีสกัดเอนไซม์ส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ การสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากเศษสับปะรดมีวิธีการเตรียมโดยง่าย คือนำเศษเหลือจากสับปะรด คือ แกน เปลือก เนื้อ มาปั่นรวมกับน้ำกลั่น ในอัตราส่วน สับปะรด 1 กิโลกรัม ต่อ น้ำกลั่น 5 ลิตร จะได้เอนไซม์ โบรมิเลนจากน้ำสับปะรด (Patent Application Publication, 2005)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติและองค์ประกอบของน้ำที่สกัดได้จากลำต้นสับปะรด

ความถ่วงจำเพาะ	1.02-1.03
ของแข็งที่ละลายได้ (กรัม/100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	5.2-2.4
ปริมาณไนโตรเจน (กรัม/100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	0.27
โปรตีนไนโตรเจน (กรัม/100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	0.14
น้ำตาล (ส่วนใหญ่เป็นโมโนแซคคาไลด์)(กรัม/100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	3.2-3.6
คาร์โบไฮเดรต (กรัม/100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	1.8-2.8
เถ้า (กรัม/100 มิลลิลิตร ของน้ำสกัด)	0.7
pH ของน้ำสกัด	4.9-5.7

ที่มา: Heinike *et al.*, (1975)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วราพันธุ์และคณะ (2546) ได้ทำการศึกษาปริมาณเอนไซม์โบรมิเลน องค์ประกอบทางเคมีจากน้ำคั้นสับปะรด พบว่าจากการศึกษาปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนในสับปะรด พบว่าสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมีปริมาณของเอนไซม์โบรมิเลนสูงกว่าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย การหาปริมาณเอนไซม์โบรมิเลน ในส่วนต่าง ๆ ของผลสับปะรด พบว่าส่วนเนื้อสับปะรดมีปริมาณเอนไซม์อยู่มากที่สุด รองลงมาคือ สับปะรดทั้งผล เปลือก และแกน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของอรวินทร์ (2527) ได้รายงานว่าเอนไซม์โบรมิเลนในผลสับปะรดพบมากในส่วนเนื้อ เปลือก แกน และจุกตามลำดับ เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์และส่วนต่าง ๆ พบว่าในส่วนเนื้อของสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมีปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนสูงที่สุด และปริมาณเอนไซม์ที่พบว่ามีน้อยที่สุดคือแกนของสับปะรดทั้งพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต

จากการศึกษาปริมาณกรดซิตริกที่ไตเตรทได้ในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างทั้งสองพันธุ์ สำหรับในการศึกษาปริมาณกรดซิตริกในส่วนต่าง ๆ ของผลสับปะรดพบว่าในส่วนของแกนจะมีปริมาณของกรดซิตริกต่ำที่สุดและพบว่ามีกรดซิตริกอยู่มากในส่วนเนื้อและในสับปะรดทั้งผล สำหรับอิทธิพลของพันธุ์และส่วนต่างๆ ของสับปะรด พบว่าส่วนแกนในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต มีปริมาณของกรดซิตริกน้อยที่สุด สำหรับค่าพีเอช สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมีค่าพีเอชต่ำกว่าสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต โดยมีค่าเท่ากับ 3.51 และ 3.7 ตามลำดับ สำหรับในส่วนต่าง ๆ ของผลสับปะรดพบว่าแต่ละส่วนของผลสับปะรดนั้นไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสับปะรดทั้งผล พบว่าสับปะรดทั้งผลมีค่าพีเอชต่ำกว่าส่วนเนื้อ เปลือก และแกน ซึ่งปรากฏการณ์ดังกล่าวอาจเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในส่วนต่าง ๆ ของสับปะรด ขณะทำการปอกเปลือก และแยกเอาเนื้อและแกนออก แต่ยังไม่สามารถอธิบายเหตุผลได้ ส่วนอิทธิพลของพันธุ์และส่วนต่าง ๆ ของสับปะรด พบว่าสับปะรดส่วนเปลือกและแกนของพันธุ์ปัตตาเวียมีค่าพีเอชต่ำที่สุด

Chadha. (1972) ได้รายงานว่าปริมาณของกรดในสับปะรดนั้นอาจมีความแปรผันได้จากปัจจัยต่างๆ เช่น ความหนาแน่นของการปลูกสับปะรดระยะเวลาการเก็บสับปะรด และปริมาณกรดในผลสับปะรดนั้นจะมีปริมาณสูงขึ้นตามระยะของผลใกล้สุกแก่ ซึ่งส่วนเนื้อบริเวณใกล้แกนจะมีปริมาณกรดน้อยกว่าเนื้อบริเวณใกล้เปลือก (จินดารัตน์, 2541) การที่สับปะรดมีปริมาณกรดสูงทำให้ค่าพีเอช ลดต่ำลง โดยสับปะรดสุกมีค่าพีเอชประมาณ 3.4 (Gortner, 1967)

มนตรี (2534) พบว่า สับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมีรสชาติหวานกว่าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย เมื่อเปรียบเทียบดูปริมาณของแข็งทั้งหมด (TSS) ในส่วนต่าง ๆ พบว่า สับปะรดทั้งผลจะมีปริมาณของแข็ง (TSS) สูงกว่าส่วนเนื้อ แกน และส่วนเปลือกตามลำดับ ซึ่งปรากฏการณ์ดังกล่าวไม่สามารถอธิบายเหตุผลได้ และจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป สำหรับอิทธิพลของพันธุ์และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนต่างๆ ของสับปะรด พบว่าในส่วนของสับปะรดทั้งผลของพันธุ์ภูเก็ตจะมีปริมาณของแข็ง (TSS) สูงที่สุด และในส่วนเปลือกและแกนของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย พบว่ามีปริมาณของแข็ง (TSS) ต่ำที่สุด เมื่อทำการศึกษาเอนไซม์โบรมิเลน ซึ่งมีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารประกอบโปรตีน เปปไทด์ เอมีด และเอสเทอร์ของกรดอะมิโน และเปปไทด์ (Hagihara *et al.*, 1958; Inagami and Murachi, 1963) และยังสามารถเร่งปฏิกิริยาจับตัวในนม (milk clotting activity) (Heinicke, 1953) ดังนั้นในการตรวจสอบปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์อาศัยหลักการของคุณสมบัติการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว

Grassman and Heyde (1929) ตรวจสอบปฏิกิริยาของเอนไซม์โบรมิเลนโดยให้เอนไซม์ย่อยเจลาตินที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส แล้วไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อหาปริมาณของกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยในช่วงเวลาหนึ่งๆ และรายงานปฏิกิริยาการทำงานของงเอนไซม์เป็นหน่วย GDU (Gelatin Digestion Unit)

Heinicke (1953) ตรวจสอบปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์โบรมิเลนทำปฏิกิริยากับโปรตีนในสารละลายพร่องไขมัน (skin milk solution) ในสภาพที่มีพีเอชเท่ากับ 3.5 แล้วจับเวลาจนกระทั้งโปรตีนในน้ำนมเริ่มแข็งตัวเกาะเป็นก้อน (clot) ซึ่งจะรายงานเป็นหน่วย MCU (Milk Clotting Unit)

นอกจากนี้ จากการรวบรวมของ Murachi (1970) รายงานว่ายังมีวิธีการตรวจสอบปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยวิธีการอื่น ๆ โดยใช้สารตั้งต้นที่แตกต่างกันออกไปกล่าวคือ การใช้ฮีโมโกลบินที่ทำให้เสียสภาพธรรมชาติแล้วเป็นสารตั้งต้นแล้ววัดปริมาณของโอลิโกเปปไทด์ที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์ โดยทำให้ปฏิกิริยากับสารละลายโฟลิน (folin reagent) ยิ่งไปกว่านั้นยังสามารถใช้สารตั้งต้นสังเคราะห์ต่าง ๆ ที่เอนไซม์โบรมิเลนสามารถย่อยสลายได้ในการตรวจสอบปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ ได้แก่ a-N-benaoyl-L-arginine ethyl ester (Base) เป็นสารตั้งต้นในการตรวจสอบความสามารถในการย่อยพันธะเอสเทอร์ (esterase activity) ของเอนไซม์ซึ่งติดตามการย่อยสลายโดยการใช้เครื่องไตเทรตอัตโนมัติ (pH-sat) การใช้ a-N-banaoyl-L-arginine amide (BAA) เป็นสารตั้งต้นในการตรวจสอบความสามารถในการย่อยพันธะเอมีด (amidase activity) ของเอนไซม์โดยการตรวจสอบปริมาณของแอมโมเนียมที่ได้จากการย่อยบีเอเอ (BAA) โดยทำปฏิกิริยากับนินไฮดริลหรือใช้เทคนิคร่วมกันระหว่าง microdiffusion technique และการให้ปฏิกิริยากับอินโดฟีนอล โดยใช้โซเดียมไนโตรปรัสไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 การใช้ประโยชน์ของเอนไซม์โบรมิเลน

เนื่องจากเอนไซม์โบรมิเลนมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสารประเภทโปรตีน เช่นเดียวกับเอนไซม์ปาเปน และโปรตีนอื่นๆ จึงมีการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่นเดียวกัน ในอุตสาหกรรมมีการนำเอนไซม์นี้ไปใช้ในการผลิตเบียร์เพื่อช่วยป้องกันการเกิดความขุ่นของเบียร์ในขณะเก็บรักษา (Henry, 1937; Heinicke and Gorter, 1957) ช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นและปริมาตรของขนมปัง (Reed, 1966) ทำให้เนื้อนุ่มขึ้น (Hogan, 1962) ช่วยเร่งกระบวนการหมักน้ำปลาไส้ตัน (ประเสริฐ, 2508) ยิ่งไปกว่านั้นเอนไซม์โบรมิเลนยังสามารถในการตกตะกอนโปรตีนในน้ำนมได้ ดังนั้น อาจนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตเนยแข็งแทนเอนไซม์เรนเนทได้ (Heinicke, 1953)

นอกจากนี้พบด้วยว่า ด้วยฤทธิ์ย่อยโปรตีนอย่างเป็นธรรมชาติของโบรมิเลน ที่ทำให้โบรมิ-เลนดูดซึมเข้ากระแสเลือด อาจช่วยลดการเกาะกันเป็นลิ่มเลือดของเกล็ดเลือดในหลอดเลือดแดง ซึ่งจะมีส่วนช่วยลดความเสี่ยงจากโรคหัวใจและหลอดเลือดได้อีกหลายชนิด หลายประเทศมีการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรดไปใช้เพื่อช่วยให้แผลผ่าตัดทุเลาเร็วขึ้น รวมทั้งลดอาการอักเสบ แผลบวมหรืออาการบาดเจ็บจากการเล่นกีฬา รวมทั้งมีการทดลองใช้บรรเทาอาการอักเสบจากริดสีดวงทวาร อาการเกี่ยวกับเส้นเลือดดำ โรคกระดูก และข้ออักเสบ รูมาตอยด์ เก๊าท์ และอาการปวดประจำเดือน ในอุตสาหกรรมยามีการใช้เอนไซม์โบรมิเลนในตัวยาช่วยย่อยอาหาร ยาถ่ายพยาธิ (Hwang, 1951) ใช้ช่วยละลายเมือกก่อนเอ็กซเรย์มดลูก ใช้เป็นยาแก้อักเสบ และยังใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น อุตสาหกรรมฟอกหนัง เพื่อทำให้พองและนุ่มขึ้น (Langlykke *et al.*, 1952; Heinicke and Gortner, 1957) อุตสาหกรรมสีเพื่อใช้เพิ่มความคงตัวและความหนืดของโปรตีนที่ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในสีลาเทกซ์ (Ronai and Weisberg, 1954)

จากการศึกษาประโยชน์ต่างๆ ของเอนไซม์โบรมิเลน นอกจากประโยชน์ดังขั้นต้น ยังสามารถนำเอนไซม์โบรมิเลนมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียร่วมกับเซลล์ยีสต์ (Patent, 2006) โดยการทำงานของเอนไซม์โบรมิเลนในน้ำสับปะรด มีองค์ประกอบของโปรตีน เช่น กรดอะมิโน ดีเอ็นเอ (DNA) และ อาร์เอ็นเอ (RNA) แร่ธาตุ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร (dietary fibre) (Reed and Nagodawithana, 1991) ซึ่งเป็นแหล่งสารอาหารที่สำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำเสีย เพราะจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียเกิดกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (Autolysis) เกิดจากการกระทำของเอนไซม์ B (1,3) กลูโคเนส และ โปรตีเอสที่มีอยู่ในเซลล์จุลินทรีย์และมีเอนไซม์ ß (1-6) กลูโคเนส และ แมนนาเนส มีส่วนร่วมในการละลายผนังเซลล์ ซึ่งองค์ประกอบของเซลล์จะถูกทำให้ละลาย และเอนไซม์โบรมิเลนจะช่วยเพิ่มการละลายในระหว่างการเกิดกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (Autolysis)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำสารละลายผสมระหว่างน้ำสับปะรดที่มีส่วนประกอบของเอนไซม์โบรมิเลนและเซลล์ยีสต์ที่ได้นี้ นำมาใช้ในเป็นสารทำความสะอาด (cleaner) น้ำเสีย (contaminate water) เช่น น้ำในแม่น้ำ เพื่อปรับปรุงคุณภาพของน้ำ โดยสารละลายผสมเกิดจากการผสมรวมระหว่างยีสต์มีชีวิตและสารละลายน้ำคั้นหยาบสับปะรด ซึ่งสารนี้จะไปช่วยเร่งการทำงานของจุลินทรีย์ในน้ำเสีย เมื่อใส่ลงไปในน้ำเสีย โคโลนีของจุลินทรีย์ที่อาศัยในแหล่งน้ำเสียนั้นจะฟอร์มตัวขึ้นในระยะเวลาประมาณ 3 เดือน โดยจุลินทรีย์จะทำการย่อยสลายสารต่างๆ ที่อยู่ในอยู่ในน้ำ คุณภาพของน้ำเมื่อผ่านการบำบัดจะค่อยๆ ดีขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์ในน้ำเสียจะเจริญเติบโตภายใต้การควบคุมให้มีปริมาณในระบบที่สมดุล เมื่อจุลินทรีย์ย่อยสลายสารต่างๆ เปลี่ยนเป็นตัวเซลล์เมื่อมีขนาดใหญ่ขึ้นจะเกิดการรวมกลุ่มและตกตะกอนลง ทำให้น้ำใสขึ้น กรดนิวคลิอิกที่อยู่ในสารละลายก็จะสามารถเร่งการทำงาน เช่น แพลงค์ตอน จะเป็นที่ต้องการในระบบห่วงโซ่อาหาร ธาตุเหล็กที่เกิดจากการกำจัดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในน้ำเสีย จำเป็นอย่างยิ่งในการทำงานต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ ซึ่งจะเป็นการช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำให้ดีขึ้น (Patent, 2006)

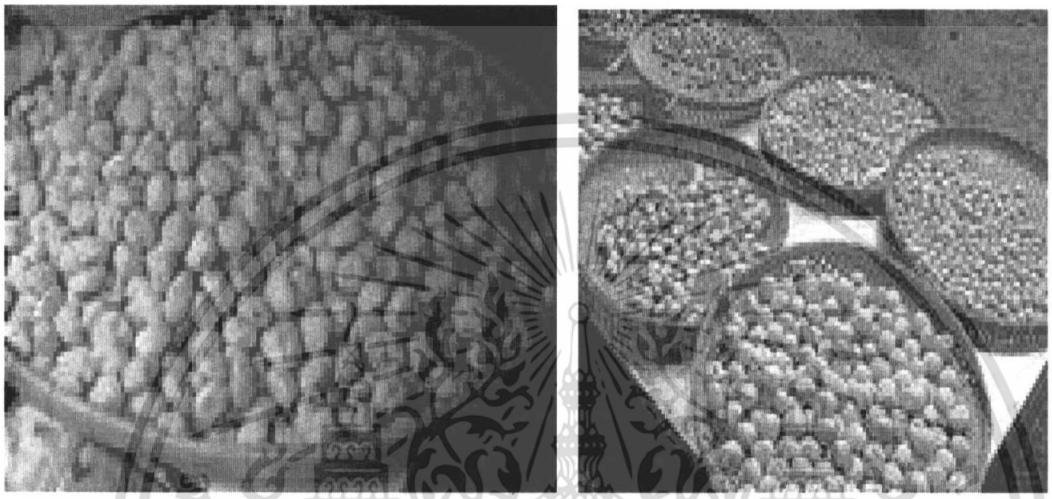
2.7 ลูกแป้ง

ลูกแป้ง คือ กล้าเชื้อจุลินทรีย์ (inoculum) ที่เก็บในรูปเชื้อแห้งเพื่อใช้ในการผลิตอาหารหมักหลายชนิดในประเทศแถบเอเชีย เทคโนโลยีการผลิตและการใช้ลูกแป้งมีมาแต่โบราณก่อนที่มนุษย์ จะเข้าใจถึงศาสตร์ทางจุลชีววิทยา เข้าใจกันว่ามีต้นกำเนิดจากประเทศจีนและถ่ายทอดไปยังประเทศเพื่อนบ้าน เช่น ทิเบต สิขิม อินเดีย เกาหลีและกลุ่มประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมทั้งประเทศไทย กล้าเชื้อในลักษณะนี้มีชื่อเรียกตามภาษาท้องถิ่นของแต่ละประเทศ ส่วนใหญ่การใช้ประโยชน์จะคล้ายคลึงกัน คือใช้ในการหมักที่มีกิจกรรมการเปลี่ยนแป้งวัตถุดิบประเภทธัญพืชและพืชหัวให้เป็นน้ำตาล (saccharification) และแอลกอฮอล์ เพื่อผลิตอาหารประเภทข้าว-หมาก สุราและเมรัย เช่น กระแช่ สาโท ยกเว้นราจิเทมเป้ของอินโดนีเซียที่ใช้ในการผลิตเทมเป้ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองซึ่งกิจกรรมของกล้าเชื้อจะเป็นการย่อยสลายโปรตีน ในประเทศไทยมีลูกแป้งที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบพวกธัญพืชซึ่งเรียกว่า ส่าน้ำส้ม ชาวตะวันตกเรียกลูกแป้งรวมๆ กันว่า chiness yeast โดยสรุปแล้วจะแบ่งลูกแป้งได้เป็นชนิดใหญ่ๆ คือ ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งน้ำส้มสายชู และลูกแป้งเทมเป้

บัญญัติ (2527) ได้รายงานปริมาณการใช้และผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องเทศสมุนไพรไทยไว้หลายชนิด เช่น กานพลู ปริมาณที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแลคติกและเชื้อราหลายชนิดให้ได้ผลนั้นจะต้องใช้ถึงร้อยละ 30 ซึ่งในความเป็นจริงผู้ผลิตลูกแป้งจะไม่ใช้เครื่องเทศสมุนไพรอย่างใดอย่างหนึ่งเพียงชนิดเดียวในปริมาณมากๆ แต่จะใช้หลายๆ ชนิดอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละนิดอย่างละหน่อยผสมกันเพื่อเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน (synergistic effect) ดังนั้นการเก็บลูกแป้งไว้นานๆ อาจทำให้สารเหล่านี้สูญเสียคุณสมบัติ เนื่องจากระเหยจนหมดไปได้ เมื่อผสมข้าวกับเครื่องเทศแล้วก็ปั้นเป็นก้อนโรยด้วยผงลูกแป้งเก่า บ่มในบรรยากาศที่ควบคุมระดับความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิ เป็นเวลา 2 วัน จะสังเกตเห็นการเจริญของเส้นใยราปกคลุมทั่วเห็น



รูปที่ 4 แสดงลักษณะของลูกแป้ง
ที่มา: http://www.surathai.net

เป็นสีขาว จากนั้นลดระดับความชื้นสัมพัทธ์ ช่วงนี้ยีสต์จะใช้น้ำตาลและสร้างก๊าซออกมา หลักการเดียวกับการขึ้นฟูของโดขนมปัง (ชาวบ้านจะเปิดผ้าที่คลุมออกและ ตากลมต่ออีก 1-2 วัน จากนั้นนำออกตากแดด 1-2 แดด) จนลูกแป้งแห้งและมีน้ำหนักเบา วัดค่าความชื้นสุดท้ายได้น้อยกว่าร้อยละ 20 หรือ มีค่าปริมาณน้ำอิสระ (aw) ไม่เกิน 0.85

ลูกแป้งที่เก็บไว้ใช้ในระยะเวลานาน ควรจะต้องแห้ง หรือมีความชื้นต่ำกว่า 12 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อราปนเปื้อนบางชนิดและควรเก็บในภาชนะปิดสนิททันที โดยที่แน่ใจว่าแมลงจะไม่สามารถเจาะผ่านไปทำลายได้ ลูกแป้งที่เก็บโดยขาดความระมัดระวังจะมีปัญหาจากแมลงพวกมอด และมวลต่างๆ การเก็บลูกแป้งในตู้เย็นในภาชนะปิดจะลดปัญหาการถูกทำลายโดยแมลงและทำให้จุลินทรีย์ในลูกแป้งลดจำนวนลง (นภา, 2535)

2.7.1 จุลินทรีย์ในลูกแป้ง

บทบาทของจุลินทรีย์ในลูกแป้งต่อกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มนตรี (2521) กล่าวว่า ถึงแม้ว่าจะพบจุลินทรีย์มากมายหลายชนิด แต่จากการศึกษาพบว่ามีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่มีบทบาทเด่นๆ ในกระบวนการหมัก เช่นลูกแป้งข้าวหมากจะมีจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพย่อยแป้งเป็นน้ำตาลและพวกที่ผลิตสารซึ่งให้กลิ่นหอมบางชนิดเท่านั้นที่มีบทบาทสำคัญ ส่วนลูกแป้งเหล้านอกจากจะต้องประกอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยแป้งได้ดีแล้ว ยีสต์ที่มีบทบาทที่แท้จริงจะต้องสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

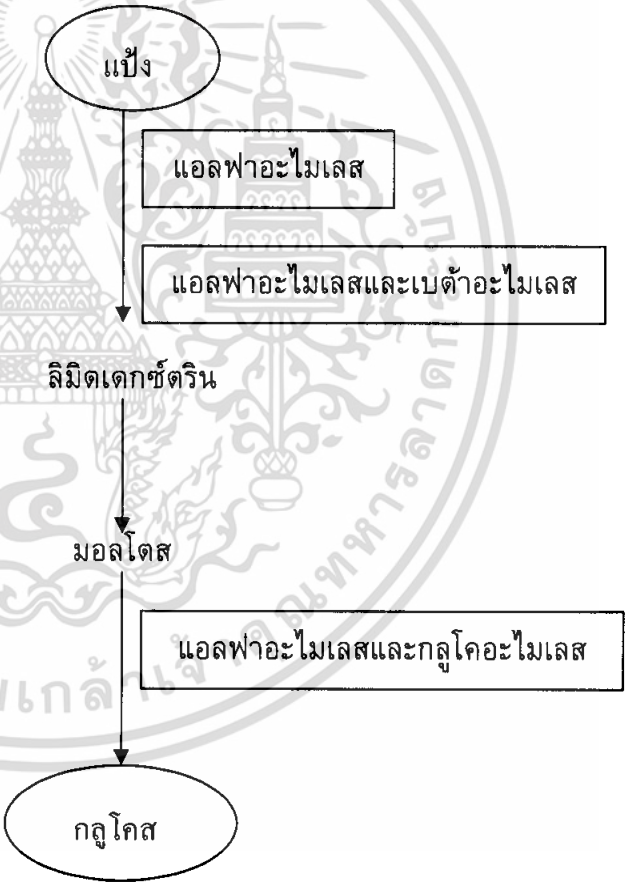
จากความเข้าใจพื้นฐานนี้จึงได้มีการศึกษาบทบาทของจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่แยกได้จากลูกแป้ง เช่น การหมักข้าวหมากด้วยเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากโดยมนตรี (2521) ทดลองหมักข้าวหมากด้วยเชื้อ *Amylomyces* ในลักษณะของเชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าข้าวหมากที่ได้มีกลิ่นรสใกล้เคียงกับข้าวหมากที่ได้จากการหมักด้วยลูกแป้งเป็นอย่างมากและทดลองหมักสาโทโดยใช้เชื้อที่คัดเลือกคือ เชื้อ *Amylomyces rouxii.* MM26 และ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่ามีอัตราการหมักเร็วกว่า ได้เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์สูงกว่าและปริมาณกรดต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักโดยใช้ลูกแป้งในทุกหน่วยทดลอง ที่น่าสนใจคือ ได้กลิ่นรสที่ดีโดยเฉพาะอย่างยิ่งมีรสเปรี้ยวน้อย

จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดที่อยู่ในลูกแป้งคือ เชื้อราและยีสต์ซึ่งพบว่ามีกิจกรรมคล้ายกันคือ ใช้ในการหมักที่มีกิจกรรมการเปลี่ยนแปลงแป้งในวัตถุดิบประเภทธัญพืชและพืชหัวให้เป็นน้ำตาล กระบวนการหมักมีหลายปฏิกิริยาและจะเกิดขึ้นพร้อมๆกัน ซึ่งแบ่งเป็นสองขั้นตอนหลักตามสภาวะของการหมักและประเภทของจุลินทรีย์

เริ่มจากขั้นตอนที่หนึ่ง เป็นกระบวนการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล (saccharification) โดยเชื้อราสร้างเอนไซม์กลุ่มอะไมเลส ประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส เบต้าอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ย่อยโครงสร้างแอลฟาฟอร์มในโมเลกุลของเม็ดแป้งให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ น้ำตาลโมเลกุลคู่และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวตามลำดับ สภาวะการหมักต้องการอากาศสำหรับการเจริญของเชื้อรา เชื้อรากลุ่มที่มีความสำคัญและมีบทบาทในการสร้างเอนไซม์ปริมาณมาก (ลักขณา, 2546) ได้แก่ เชื้อราใน Class Zygomycetes Order Mucorales Family Mucoraceae ได้แก่ จีนัสสำคัญ คือ *Rhizopus* sp. *Mucor* sp. และ *Amylomyces* sp และราในClass Deuteromycetes Order Moniliales Family Moniaceae ได้แก่ จีนัสสำคัญคือ *Aspergillus* sp. คุณสมบัติของราในคลาสแรกคือ สร้างเอนไซม์ที่มีแอคทิวิตี้สูงพร้อมกับสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟูมาลิค กรดซิตริค และกรดแลคติค ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในสาโทแต่การไฮโดรไลส์แป้งเกิดไม่สมบูรณ์คือ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์น้อยกว่าเมื่อเทียบกับเชื้อราในคลาสหลัง ซึ่งไม่ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในสาโท เป็นที่น่าสังเกตว่ากรดที่เกิดขึ้น นี้จะเป็นตัวช่วยยับยั้งพวกจุลินทรีย์อื่นที่เป็นสาเหตุของการปนเปื้อนได้ ที่เรียกว่า protected fermentation เชื้อราจะสร้างเส้นใยจำนวนมากแผ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระจายปกคลุมบนผิวเมล็ดข้าวและแทรกตัวเข้าไปในช่องว่างระหว่างเมล็ดข้าวบางส่วนแทงทะลุเข้าไปในเมล็ดข้าว เชื้อราจะสร้างเอนไซม์จำนวนมากออกมาย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล สร้างกรดอินทรีย์และยังได้สารอาหารและวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของยีสต์ สำหรับยีสต์ในระยะแรกที่มีอากาศนี้จะยังไม่เกิดกระบวนการหมัก แต่จะมีการแตกหน่อเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วจนมีปริมาณที่มากพอ ประกอบกับสภาวะความเป็นกรดที่เชื้อราสร้างให้ร่วมกับเป็นระยะที่ผู้ผลิตจะเติมน้ำลงไปทำให้เป็นสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เชื้อราซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ (strictly aerobe) ในการเจริญจะหยุดกิจกรรม ส่วนยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ทั้งสองสภาวะ (facultative anaerobe) ก็จะเปลี่ยนรูปแบบการสร้างพลังงานจากการหายใจที่ใช้ออกซิเจน (aerobic respiration) มาเป็นกระบวนการหมัก (alcoholic fermentation) (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 แสดงแผนภูมิขั้นตอนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลโดยกลุ่มเอนไซม์จากเชื้อรา
ในสภาพที่มีอากาศ

ที่มา : มนตรี (2521)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่สอง ที่เป็นกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวส์ให้เป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์ในกลุ่ม Ascomycetous yeast Class Ascomycetes Subclass Hemiascomycetidae Order Endomycetales Family Saccharomyceideae ได้แก่จีนัส *Saccharomyces* sp., *Endomycopsis* sp., *Hensenula* sp. และยีสต์ที่จัดอยู่ใน Class Blastomycetes Family Cryptococcaceae ได้แก่ จีนัสสำคัญ *Torulopsis* sp. ซึ่งมีคุณสมบัติเหมาะสมในการหมักสาโทเพราะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วทนต่อความเป็นกรด ทนต่อความเข้มข้นของน้ำตาลและทนต่อระดับแอลกอฮอล์ได้ดี เมื่อต้องการให้ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์จะต้องปรับสภาวะให้อยู่ในสภาพไร้อากาศ

มนตรี (2521) กล่าวว่า เชื้อราที่ใช้ใน amylo process ได้แก่ *Mucor rouxii* (Amylomyces) *Rhizopus japonicus* (Amylomyces) *R.tonkinensis* (Amylomyces) และเชื้อที่ใช้กันมากใน amylo process คือ *R. delemar* ซึ่งมีประสิทธิภาพในการ saccharify ได้ดีมากและสร้างกรดน้อย นอกจากนี้ ยังได้อ้างถึงรายงานการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากลูกแป้งและไวน์ข้าวต่างๆ ที่ได้รวบรวมไว้ระหว่างปี ค.ศ. 1959-1977 มีดังนี้

1. พบเชื้อราสกุลไรโซปัส หลายชนิด ได้แก่ *Rhizopus niveus* ,*R. delemar* , *R. formosaensis var. multiplicisporus, R. japonicus* , *R.chinensis* , *R. pseudochinensis* , *R. chlamydomucor* , *R. rhizopodifermis* , *R. microsporus* , *R.arrhizus* , *R. cambodja* ,*R. oryzae,*

2. พบราสกุลคลามัยโดมิวคอร์ 4-5 ชนิด ได้แก่ *Chlamydomucor rouxii* , *Ch. oryzae* , *Ch. rouxianus* , *Ch. japonicus* , *Ch. chlamydosporus*

3. พบราสกุลมิวคอร์ 2-3 ชนิดได้แก่ *Mucor rouxii* , *M. fragillis* , *M. javanicus*

4. พบราสกุลแอสเพอร์จิลลัส 1-2 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus oryzae* , *A. niger*

5. พบราสกุลเพนนิซิเลียม ได้แก่ *Penicillium* sp.

6. พบราสกุลโมนิเลีย ได้แก่ *Monilia* sp.

ส่วนยีสต์ในลูกแป้ง พบเป็นสองกลุ่มใหญ่ คือ ยีสต์หมักแป้ง กับยีสต์ไม่หมักแป้ง

1. ยีสต์หมักแป้ง จัดอยู่ในกลุ่ม filamentous type ได้แก่ ยีสต์ในสกุลแซคคาโรมัยคอปซิส (*Saccharomycopsis* sp.) หรือ เอนโอมัยคอปซิส (*Endomycopsis* sp.) ได้แก่ *Endomycopsis fibuligera* , *E. burtonii* , *E. hordei* , *E. lindneri* และ *E. javanensis*

2. ยีสต์ที่ไม่สามารถหมักแป้งได้จัดอยู่ใน Saccharomyces type ใน Family Saccharomycetaceae ได้แก่ ยีสต์ ในสกุล *Saccharomyces cerevisiae* , *S.diastaticus* (ย่อยเด็กซ์ทรินได้) , *Pichia acaciae* , *Pichia farinosa*, *Pichia* sp. และ *Hansenula* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ยีสต์ไม่หมักแป้งใน Family Cryptococcaceae ได้แก่ยีสต์ในสกุล *Candida* sp., *Torulopsis magjii* , *Torulopsis* sp., *T. norvegica* , *Kloeckera* sp., *Rhodotorula* sp., *Trichosporon variable, Trichosporon* sp.

4. ยีสต์ไม่หมักแป้งใน Family Sporobolemcetaceae ได้แก่ ยีสต์ในสกุล *Sporobolemyces* sp.

กรองแก้ว (2516) ได้ทำการแยกเชื้อจากลูกแป้ง 11 แหล่ง ส่วนมากเป็นเชื้อราในจีนัส *Mucor* และ *Rhizopus* เมื่อนำเชื้อบริสุทธิ์มาตรวจหาความสามารถในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล หลังจากปลูกเชื้อ (inoculate) ภายใน 4-5 วัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์น้ำตาลสูงถึง 8 องศาบริกซ์

จิราภรณ์ (2518) ได้แยกและคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถ สร้างเอนไซม์ย่อยแป้งได้ จากลูกแป้งที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ 10 แหล่ง โดยแยกจุลินทรีย์ได้ 26 ไอโซเลท เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยแป้ง โดยวิธีวัด dextrinizing value พบเชื้อจุลินทรีย์ 23 ไอโซเลท ที่ให้เอนไซม์ย่อยแป้ง ได้แก่ ยีสต์ 7 ไอโซเลท เชื้อรา 15 ไอโซเลท และแบคทีเรีย 1 ไอโซเลท จุลินทรีย์ที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดคือ ราพวก *Aspergillus niger* และยีสต์ *Endomycopsis fibuligera* Y1 ซึ่งต่อมาพบว่ายีสต์นี้มีเอนไซม์อะไมเลสที่มีกิจกรรมสูงและเอนไซม์นี้ที่เชื้อสร้างขึ้นเป็นเอนไซม์ชนิดกลูโคอะไมเลทที่พบเช่นกันกับในยีสต์ *Endomycopsis fibuligera* IFO 0111 ของญี่ปุ่น (Sukhumavasi *et al.*, 1975)

ชัยวัฒน์ (2520) ได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตข้าวหมาก โดยแยกเชื้อราและยีสต์จากลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งข้าวหมากและข้าวหมาก เชื้อราที่แยกได้จำแนก ได้เป็น 5 จีนัส ได้แก่ *Rhizopus Mucor Chlamydomucor Penicillium* และ *Aspergillus* ส่วนยีสต์ที่จำแนกได้มี 3 จีนัส ได้แก่ *Endomycopsis Hansenula* และ *Saccharomyces* และพบว่าเชื้อราในจีนัส *Chlamydomucor* เมื่อนำมารวมกับยีสต์จีนัส *Hansenula* จะให้ข้าวหมากที่มีลักษณะดีทั้งกลิ่นและรสชาติ มีรสหวานปนเปรี้ยวเล็กน้อยและมีกลิ่นหอมของเอสเทอร์โดยมีปริมาณน้ำตาลสูงสุดวัดได้ 34.47 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดแลคติก 0.91 เปอร์เซ็นต์

มนตรี (2521) ได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และเชื้อราเพื่อใช้ ผลิตไวน์ข้าว พบว่าในลูกแป้งเหล้าและลูกแป้งข้าวหมากพบ เชื้อราส่วนใหญ่เป็น *Rhizopus Amylomyce Aspergillus Mucor* และ *Penicillium* และพบยีสต์พวก *Endomycopsis Hansenula Saccharomyces* film yeast และแบคทีเรียพวก *Bacillus Lactic acidbacteria* และ *Acetic acidbacteria* จากการคัดเลือกเชื้อราที่ย่อยแป้งได้ดี พบว่ามี *Amylomyces rouxii Rhizopus delemar* มีอยู่ในลูกแป้งข้าวหมากเป็นจำนวนมาก ส่วนยีสต์ที่ย่อยแป้งได้ดีคือ *Endomycopsis fibuligera* และยีสต์ที่ย่อยน้ำตาลให้แอลกอฮอล์ที่พบ คือ ยีสต์สกุล *Saccharomyces cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จตุรพร (2527) ได้ศึกษาเอนไซม์ย่อยแป้งดิบจากเชื้ออะไมโลไมซีส 18 สายพันธุ์ จากแหล่งต่าง ๆ ทั่วประเทศ พบว่า เชื้ออะไมโลไมซีสที่แยกได้จากลูกแป้งสุราของจังหวัดชัยภูมิ มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งได้ดี ซึ่งเป็นเอนไซม์ชนิดกลูโคอะไมเลสสามารถย่อยแป้งสุก ไกลโคเจนและแป้งดิบได้

ชิดชม (2528) ได้ศึกษาสายพันธุ์และสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์กลูโคอะ-ไมเลสโดยเชื้อ *Amylomyces* จากลูกแป้ง เพื่อคัดเลือกเชื้อราและหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอ็นไซม์ พบว่า *Amylomyces* จำนวน 7 สายพันธุ์ คือ AH3 AK2 AL3 AS AC M-182 และ MM-136 มีความสามารถในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ในปริมาณสูงภายใน 5 วัน

บรรจงจิตร (2529) ได้ศึกษาการผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูและอิทธิพลของสมุนไพรต่อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง โดยใช้สมุนไพร 29 ชนิด พบว่าสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้ดี คือ กานพลู ดอกจันทร์ ดีปลี พริกไทยขาว ลูกจันทน์ และอบเชย สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus* sp. และ *A. niger* ได้ในปริมาณที่เหมาะสมโดยไม่มีผลต่อเชื้อที่ต้องการในลูก-แป้งและนอกจากนี้การใช้กรดโพรพิโอนิคในปริมาณร้อยละ 0.2 ร่วมกับสมุนไพรจะให้ผลดีกว่าการใช้สมุนไพรผสมหรือกรดโพรพิโอนิคเพียงอย่างเดียว

Suzuki *et al.*, (1987) ได้แยกยีสต์ได้ 28 ไอโซเลต จากวัสดุและอาหารหมักประเภทธัญพืช 6 ตัวอย่าง ส่วนใหญ่เป็น *Candida krusei* ส่วนยีสต์อื่น ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* แยกได้จากข้าวหมาก ลูกแป้ง และน้ำส้มสายชู สำหรับ *Saccharomyces fibuligera* แยกได้จากลูกแป้ง นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *S. fibuligera* ที่แยกได้จากลูกแป้งสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสที่มีกิจกรรมสูง โดยยีสต์สปีชีย์นี้แสดงกิจกรรม การย่อยแป้งเป็นหลักและอาจเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทหลักในลูกแป้ง

บุญเทียม และคณะ (2531) ได้ทำการแยกเชื้อราจากลูกแป้งสุรา ได้เชื้อราดำ *Aspergillus* No. 367 เป็นเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งได้อย่างมีประสิทธิภาพในสภาพการเลี้ยงที่เป็นกรด แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ที่เชื้อรานี้สร้างขึ้นมีความสามารถในการทนกรดและอุณหภูมิได้ดี จะทำให้ลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการผลิต

Kanlayakrit *et al.*, (1989) ได้ศึกษาเอนไซม์ glucoamylase I และ glucoamylase II ผลิตจากเชื้อ *Amylomyces* sp. 4-2 ซึ่งแยกได้จากลูกแป้งข้าวหมาก เอนไซม์ทั้งสองนี้ผลิตได้บนอาหารแข็งที่ประกอบด้วยรำข้าวสาลี สามารถย่อยแป้งข้าวเจ้าได้อย่างสมบูรณ์แต่ย่อยแป้งมันฝรั่งได้เพียง 60 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น พีเอชที่เหมาะสมในการย่อยแป้งดิบอยู่ระหว่าง 3.5-4.5

สำรวย (2536) ได้ทำการแยกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในอุณหภูมิสูงจากลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้า พบว่า ได้เชื้อรา 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Rhizopus* sp. No.1 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rhizopus. No.2 ซึ่งมีกิจกรรมสูงสุด คือ 1.36 หน่วยต่อมิลลิลิตรเอนไซม์ ที่ 25 ชั่วโมง แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมคือ Soluble starch

Suresh *et al.*, (1999) ได้ศึกษาการใช้ประโยชน์เม็ดข้าวฟ่างและข้าวเพื่อใช้ผลิตแอลกอฮอล์โดยให้เกิดกระบวนการย่อยแป้งและการหมักแอลกอฮอล์เกิดขึ้นไปพร้อมๆ กันซึ่งใช้เชื้อเริ่มต้นเป็น *Aspergillus niger* (NCMI 1248) และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* VSJ1 พบว่าสามารถหมักแอลกอฮอล์ (22.4 กรัมต่อ100 กรัม) สูงกว่าสายพันธุ์มาตรฐาน MTCC (19.32 กรัมต่อ100 กรัม) ภายใต้สภาวะการหมักที่เหมาะสม

บุษกร (2543) ได้ศึกษาและจำแนกจุลินทรีย์ในลูกแป้งเหล้าและลูกแป้งข้าวหมากในจังหวัดมหาสารคาม พบว่า สามารถจำแนกเชื้อราจากลูกแป้งเหล้า 15 ตัวอย่าง ได้เชื้อรา 4 จีนัส คือ *Aspergillus Mucor Rhizopus* และ *Penicillium* ยีสต์ 3 จีนัส ได้แก่ *Saccharomyces Endomycopsis* และ *Hensenula* และแบคทีเรีย 1 จีนัส คือ *Bacillus* ส่วนลูกแป้งข้าวหมากจำแนกเชื้อราได้ 3 จีนัส คือ *Aspergillus Mucor* และ *Rhizopus* ยีสต์ 1 จีนัส ได้แก่ *Endomycopsis* และแบคทีเรีย 2 จีนัส คือ *Bacillus* และ *Staphylococcus* และจากการตรวจสอบคุณภาพของสาโทที่ได้จากการหมักลูกแป้งเหล้า พบว่า ตัวอย่างที่ 15 ซึ่งเป็นลูกแป้งจากอำเภอบรบือ จังหวัดมหาสารคาม ให้กลิ่นและรสชาติดีที่สุดซึ่งเป็นลูกแป้งที่พบเชื้อ *Rhizopus, Saccharomyces Mucor Hensenula* และ *Bacillus*

ศิริลักษณ์ (2544) ได้ศึกษาการคัดเลือกจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงเพื่อใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวกล้องโดยแยกจุลินทรีย์จากดิน น้ำ อาหารหมัก และลูกแป้งจากแหล่งต่าง ๆ พบว่า ได้ทั้งหมด 192 ไอโซเลท และจากการทดสอบความสามารถในการย่อยข้าวกล้องและผลิตเอนไซม์อะไมเลส พบว่า *Bacillus* SB29 ที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากจากตลาดสด อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ให้ผลดีที่สุด เมื่อนำไปหมักร่วมกับ *S. cerevisiae* TISTR 5094 พบว่าเมื่อสิ้นสุดการหมักได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 6.2 เปอร์เซ็นต์ กรดทั้งหมด 4.46 เปอร์เซ็นต์

สมพร (2544) ได้ทำการแยก การจัดจำแนกและการเก็บรักษาเชื้อราและยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าในประเทศไทยพบว่ามียีสต์จำนวน 10^4-10^7 ซีเอฟยูต่อกรัม เป็น *Saccharomyces fibuligera* เป็นส่วนใหญ่และเชื้อรา 10^3-10^6 ซีเอฟยูต่อกรัม เป็น *Amylomyces* และ *Rhizopus* เป็นส่วนใหญ่ วิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสมคือการเก็บรักษาโดยวิธีการทำแห้งบนเมล็ดข้าวแล้วเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

อรธิดา (2544) ได้ศึกษาการแยกและจำแนกจุลินทรีย์จากลูกแป้งเหล้าและลูกแป้งข้าวหมากในเขตภาคอีสานตอนใต้ พบว่าจำแนกราได้ 4 จีนัส คือ *Rhizopus* 4 ไอโซเลท *Aspergillus* 10 ไอโซเลท *Mucor* 8 ไอโซเลท *Penicillium* 2 ไอโซเลท และจำแนกยีสต์ได้ 2 จีนัสคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saccharomyces และ *Hensenula* นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียซึ่งสัณนิษฐานว่าปนเปื้อนมากับสมุนไพรที่ใช้ทำลูกแป้งคือ *Bacillus* และ *Staphylococcus* และเมื่อตรวจคุณภาพสาโทที่ได้จากลูกแป้ง อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ มีคุณภาพด้านกลิ่นและรสชาติดีที่สุด

2.8 ยีสต์ขนมปัง

ยีสต์เป็นมีการดำรงชีวิตเป็นเซลล์เดี่ยว ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์หลายประเภท ยีสต์ที่มนุษย์รู้จักและนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีค่าทางเศรษฐกิจ เป็นจุลินทรีย์ที่พบได้กว้างขวางในธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำ ใบไม้ ดอกไม้ ผลไม้ ธัญพืช เห็ด สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นก และในแมลง โดยเฉพาะแมลงหวี่ซึ่งเป็นตัวแพร่กระจายยีสต์ไปในที่ต่างๆ ยีสต์มีความสำคัญด้านอาหารทั้งในแง่ประโยชน์และทำให้เกิดความเสียหายแก่อาหาร โดยยีสต์มีบทบาทสำคัญในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเภท เช่น ขนมปัง ไวน์ เบียร์ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์อื่นๆ น้ำส้มสายชู หมัก อาหารหมักพื้นเมือง นอกจากนี้ยังใช้ในการผลิตเอนไซม์ กรดอินทรีย์และผลิตเป็นอาหารโปรตีนโดยตรง ขณะเดียวกันยีสต์ทำให้อาหารต่างๆ เช่น น้ำผลไม้ น้ำเชื่อม น้ำผึ้ง แยม ผักดอง ไวน์ เบียร์ เนื้อสัตว์ และอาหารอื่นๆ เกิดการเน่าเสียได้เช่นกัน (วราพร , 2538)

นอกจากการประยุกต์ใช้ยีสต์ในอุตสาหกรรมอาหารแล้ว ยังมีรายงานการวิจัยหลายฉบับที่ศึกษาคุณสมบัติของยีสต์ในด้านอื่น เช่น

คนึงนิจและชุติมา (2538) ได้ศึกษาทดลองผลิตเอทานอลจากเปลือกสับปะรดโดยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 โดยการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อยีสต์ในอาหารน้ำตาลสังเคราะห์ (กลูโคส ฟรุค โคส และซูโครส) ชนิดผสม ที่มีสัดส่วนคล้ายคลึงกับ องค์ประกอบของน้ำตาลในเปลือกสับปะรดพบว่ายีสต์เจริญได้ดี

Cuiying *et al.*, (2006) และคณะได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตผงชูรส พบว่ามีประสิทธิภาพในการลดค่าซีโอดี (chemical oxygen demand) ได้ดีในสภาวะที่พีเอชต่ำ และมีประสิทธิภาพในการฟอกจางสีน้ำเสียเล็กน้อย

Saccharomyces cerevisiae หรือที่เรารู้จักกันดีในชื่อ ยีสต์ขนมปังหรือยีสต์ที่ใช้ผลิตไวน์ มีลักษณะเซลล์รูปกลม รูปรีทรงกระบอก หรือยาว สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อ รอบเซลล์ อาจสร้างซูโดไมซีเลียม แต่ไม่พบไมซีเลียมจริง สร้างแอสโครสปอร์รูปกลมหรือรูปไข่ ส่วนใหญ่ผนังเรียบมีบางชนิดที่ผนังสปอร์อาจมีปุ่ม โดยปกติมีจำนวน 1-4 สปอร์ต่อแอสคัส สปอร์หลุดออกจากแอสคัสได้ยากทุกชนิดหมักได้รวดเร็ว ไม่ใช้ไนเตรต ซึ่งสามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พร้อมๆ กับการผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ๆ เช่น กรดซัคซินิค กรดมาลิค ฯลฯ โดยการหมักของเชื้อยีสต์ในสกุล *Saccharomyces* sp. ตามทฤษฎีนั้นเชื้อยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ 51.1 เปอร์เซ็นต์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 48.9 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของน้ำตาล ดังสมการ

$$(C_6H_{10}O_5)n + nH_2O \xrightarrow[\text{or acid}]{\text{enzyme}} nC_6H_{12}O_6 \xrightarrow[\text{or bacteria}]{\text{yeast}} 2nC_2H_5OH + 2nCO_2$$

แต่ในทางปฏิบัติน้ำตาลประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้นที่ถูกเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ นอกนั้นยีสต์ใช้สำหรับการเจริญและเปลี่ยนเป็นผลพลอยได้อื่นๆ

รูปที่ 6 ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ภายใต้การกล้องจุลทรรศน์
ที่มา: http://www.icbm.de/pmbio/mikrobiologischer-garten/eng/enhef01.htm

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์แบบเฟคัลเททีฟ ซึ่งมีความสามารถในการผลิตพลังงานได้ด้วยตัวเองจากสารประกอบอินทรีย์ที่เหมาะสมภายใต้ทั้งสภาวะมีอากาศและไร้อากาศ ภายในของเซลล์ยีสต์นั้นน้ำตาลจะถูกเมตาโบไลต์ไปเป็นคาร์บอนและน้ำ สำหรับใช้ในการผลิตพลังงาน ณ ภายใต้สภาวะมีอากาศ โมเลกุลของน้ำตาลจะให้พลังงานสูงสุดแก่เซลล์ ถ้าไม่มีออกซิเจนเหลืออยู่ พลังงานที่ได้จากน้ำตาลก็จะต่ำ และภายใต้สภาวะไร้อากาศจะเกิดการหมักของน้ำตาลนำไปสู่การเกิดเอทานอล และอาจจะเกิดขึ้นได้ในกรณีมีอากาศถ้ามีปริมาณน้ำตาลมากเกินความต้องการ และยีสต์สามารถนำสารอาหารไปใช้ได้ดังสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์

คาร์บอนอินทรีย์ + ไนโตรเจน + เกลือแร่ + ออกซิเจน ⟶ โปรตีนเซลล์เดียว + คาร์บอนไดออกไซด์ + น้ำ + ความร้อน

ยีสต์สามารถเติบโตได้ดีบนสารอาหาร (ตารางที่ 4) ทั้งที่เป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน อันได้แก่ แป้งข้าวโพด แป้ง มันสำปะหลัง และแป้งมันฝรั่ง เป็นต้น และสารอาหารคาร์โบไฮเดรตเชิงเดี่ยว เช่น น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส และน้ำตาลแลกโตส เป็นต้น นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถเจริญเติบโตได้โดยใช้ของเสียที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ชานอ้อย และน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตสุรา น้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมัน หางนมจากโรงงานนมและผลิตภัณฑ์นม น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตกระดาษ และจากผลพลอยได้ในอุตสาหกรรม ปิโตร-เคมี เช่น มีเทน อัลเคน เอทานอล และเมทานอล (Elizabeth, 1996 ; Elmaleh *et al.*, 2000 ; Fowell, 1989)

ตารางที่ 4 แหล่งอาหารคาร์บอนและธาตุอาหารหลักของยีสต์

สารอาหาร	แหล่งที่มา
คาร์บอน	คาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน คาร์โบไฮเดรตเชิงเดี่ยว
ไนโตรเจน	โปรตีน แอมโมเนีย ยูเรีย
ฟอสฟอรัส	กรดฟอสฟอริก (รูปอิออน)
แร่ธาตุหลัก	โพแทสเซียม แมกนีเซียม ซัลเฟอร์
แร่ธาตุรองหลัก	แมงกานีส โมลิบนัม สังกะสี โคบอลต์ นิเกิล โบรอน คลอไรด์ โซเดียม
วิตามิน	ไทอะมีน ไรโบฟลาวิน กรดพารา-อะมิโนเบนโซอิก กรดโฟลิก

ที่มา : สาโรจน์ (2000)

และในปัจจุบันยีสต์ได้รับความสนใจในการนำมาทำเป็นโพรไบโอติกและผสมอาหารในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เพราะเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีสมบัติหลายประการที่สามารถนำมาทำเป็นอาหารเสริมได้ดีในการเลี้ยงกุ้ง เช่น ยีสต์อุดมไปด้วยวิตามินและกรดอะมิโนหลายชนิด ซึ่งทำให้เพิ่มผลผลิตและกำไรให้กับเกษตรกร ดังนั้นถ้าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารก็จะสามารถลดต้นทุนในส่วนนี้ลง ทำให้เราสามารถผลิตกุ้งคุณภาพสูได้ด้วยต้นทุนต่ำ ทำให้คุณภาพกุ้งไทยสามารถแข่งขันตลาดโลกได้ (มะลิ, 2531) นอกจากนี้ยังช่วยย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหาร และใส่ลงไปในบ่อเพื่อการย่อยสลายสารอินทรีย์จากอาหารที่เหลือ รวมทั้งของเสียจากการขับถ่ายของกุ้งตามพื้นบ่อ เพื่อลดการเน่าเสียของพื้นบ่อ ซึ่งการเติมจุลินทรีย์ลงในน้ำ ต้องแน่ใจว่าบ่อนั้นมีปริมาณออกซิเจนบริเวณพื้นบ่อที่เพียงพอต่อการทำงานย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ (กรมประมง, 2545) การนำยีสต์ที่มีคุณสมบัติโพรไบโอติก มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น

Scholz (1999) พบว่า ความสามารถของกุ้งในการกำจัด *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ BPOS ออกจากเลือดกุ้ง โดยให้กินอาหารที่ผสมยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* *Phaffia rhodozyma* HPPRI และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับยีสต์ ผลปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

Lara *et al.*, (2003) ได้ศึกษาผลของยีสต์ที่มีคุณสมบัติโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตของปลาหมอเทศ โดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 0.1 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมยีสต์ โดยให้อาหารวันละ 4 ครั้ง เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่ผสมโบรไบโอติกจะให้การเจริญเติบโตที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม โดยพบว่าอาหารที่ผสมยีสต์ 40 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร จะให้การเจริญเติบโตและเพิ่มประสิทธิภาพการกินอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุ

3.1.1 วัตถุดิบ

น้ำคั้นสับปะรดจากสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย 1 ผล น้ำหนัก 1 กิโลกรัม (แหล่งที่มาวัตถุดิบ : ร้านคุณฉัตรชัย มณีทิพย์สกุล ตลาดสำโรงเหนือ จังหวัดสมุทรปราการ) ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง ทำการแบ่งเป็นส่วนๆ ซึ่งประกอบด้วย เนื้อ แกนกลาง และเปลือก พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักในแต่ละส่วน บีบคั้นน้ำออกด้วยเครื่องแยกกากน้ำผลไม้ (Moulinex domestic juicer) และกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อเอาตะกอนขนาดใหญ่ออก เก็บรักษาในตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) จนกว่านำมาใช้งานต่อไป โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 14.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่ศึกษาโดยวิธี Ducans New Multiple Range Test (DMRT)

สามารถคำนวณหาปริมาณเอนไซม์ต่อราคาต้นทุนต่อหน่วย (ยูนิตต่อมิลลิลิตรต่อหน่วย) ได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณเอนไซม์ต่อราคาต้นทุนต่อหน่วย (ยูนิตต่อมิลลิลิตรต่อบาท)} = \frac{\text{ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)}}{\text{ราคาต้นทุน (บาท)}}$$

3.1.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในโครงงานพิเศษ

1. แบคทีเรียย่อยฟอสเฟต (มาริสาและคณะ, 2549) เป็นเชื้อที่แยกได้จากดินบริเวณรากต้นกอไผ่ ณ เขื่อนวชิราลงกรณ์ อำเภอสังขละบุรี จังหวัดกาญจนบุรี โดยได้รับความอนุเคราะห์จาก คุณชลิต นพรัตน์ เก็บรักษาเชื้อบนอาหารวุ้นเอียงสูตร Nutrient agar (Ronald, 1993) เก็บเชื้อในตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) และถ่ายเชื้อทุก 2 เดือน

2. ผงยีสต์ขนมปังผง เป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์ ที่เก็บในรูปเชื้อแห้ง ภายใต้เครื่องหมายการค้าเพอร์เฟค (PERFECT)

3. ยีสต์ลูกแป้งข้าวหมาก เป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์ (inoculum) ที่เก็บในรูปเชื้อแห้ง ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก คุณจิรพรรณ สถิรสถาพร (จังหวัด สมุทรปราการ) เก็บเชื้อในตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 น้ำเสียที่ใช้ในโครงงานพิเศษ

1. น้ำเสียสังเคราะห์และวิธีการเตรียม ดัดแปลงมาจากสูตรน้ำเสียสังเคราะห์ (Chamchoi, 2000) และน้ำทะเลสังเคราะห์ แสดงในภาคผนวก ข

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย เชื้อยีสต์ขนมปัง ยีสต์ลูกแป้งข้าวหมาก และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต (มาริสาและคณะ, 2549) แสดงในภาคผนวก ข

3.1.5 สารเคมี

สารเคมีและวิธีการเตรียมที่ใช้ในการวิเคราะห์ ซีโอดี ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ปริมาณฟอสเฟต (มั่นสิน, 2542) และกิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน (Bromelain activity) (Wang and Hesseltine, 1995) แสดงในภาคผนวก ก

3.2 อุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ของบริษัท HACH รุ่น DR/4000
2. เครื่องนึ่งความดันไอ(Autoclave) ของบริษัท Hirayama รุ่น HA-300 HIV
3. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ของบริษัท SHIMAZU รุ่น LIBROR EB-40000H
4. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ของบริษัท Sartorius analytic รุ่น A 200S
5. ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ของบริษัท SANYO
6. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ของบริษัท Denver Instrument รุ่น Model 215
7. เครื่องอบรมลมร้อน ของบริษัท Binder
8. ตู้บ่มปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ของบริษัท Gallenkamp
9. ตู้เขี่ยเชื้อ (Lamina flow) ของบริษัท ISSCO รุ่น BVT123
10. เครื่องเขย่าของบริษัท Gallenkamp
11. หลอดทดลอง (test tube) ของบริษัท PYREX^{R}
12. กระบอกตวง (cylinder) ของบริษัท PYREX^{R}
13. บีกเกอร์ (beaker)ของบริษัท PYREX^{R}
14. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ของบริษัท PYREX^{R}
15. ปิเปตต์ (pipette)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16. ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)
17. คิวเวต
18. แท่งแก้วสามเหลี่ยมมีด้าม (spreader)
19. ขวดปรับปริมาตร
20. บิวเรตต์

3.3 วิธีการทดลอง

1. ศึกษาน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนต่างๆ ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

นำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียน้ำหนัก 1 กิโลกรัม มาตัดแบ่งเป็นชิ้นเล็กๆ ตามส่วนต่างๆ ของสับปะรด ได้แก่ เปลือก เนื้อ และแกนกลาง ชั่งน้ำหนักแต่ละส่วนๆ ของสับปะรด บีบคั้นน้ำออกด้วยเครื่องแยกกากน้ำผลไม้ (Moulinex domestic juicer) และกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อเอาตะกอนขนาดใหญ่ออก (ทำซ้ำ 3 ครั้งๆ ละ 3 ลูก) จากนั้นจึงนำน้ำคั้นสับปะรดแต่ละส่วนมาวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ คือ กิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนดัดแปลงจากวิธีของ Wang and Hesseltine (1995) และการวัดค่าพีเอช ทำการเปรียบเทียบน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากทั้งสามส่วนดังกล่าว โดยพิจารณาความเหมาะสมของกิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนต่อราคาต้นทุนในการจัดหาวัตถุดิบ และนำมาใช้ในการทดลองต่อไป โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 14.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่ศึกษาโดยวิธี Ducans New Multiple Range Test (DMRT)

2. ศึกษาความเข้มข้นของน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

เปรียบเทียบการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้น้ำคั้นหยาบสับปะรดจากสับปะรดตามขั้นตอนข้างต้น ในความเข้มข้นของน้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 10 20 และ30 ตามลำดับต่อน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำซ้ำแต่ละตัวอย่าง 3 ซ้ำ (Patent, 2005) เก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) วิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ โดยตรวจวัดค่าซีโอดีแบบ open reflux ค่าพีเอช ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนด้วยวิธีเนสเลอไรเซชั่น ปริมาณฟอสเฟตด้วยวิธีเทียบสี (Vanadomolybdophosphoric acid) และวัดกิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนดัดแปลงจากวิธีของ Wang and Hesseltine (1995) โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด หาปริมาณความเข้มข้นของน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 14.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่ศึกษาโดยวิธี Ducans New Multiple Range Test (DMRT)

3 ศึกษาการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้หัวเชื้อยีสต์

ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ยีสต์ในแต่ละชนิด ด้วยเทคนิค Wet mount และเปรียบเทียบการบำบัดน้ำเสียโดยใช้หัวเชื้อยีสต์ปริมาณร้อยละ 0.02 (Patent, 2005) ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยมีการเก็บตัวอย่างทุกๆ 7 วันเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) วิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ โดยตรวจวัดค่าซีโอดีแบบ open reflux ค่าพีเอช ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนด้วยวิธีเนสเลอไรเซชั่น ปริมาณฟอสเฟตด้วยวิธีเทียบสี (Vanadomolybdophosphoric acid) โดยมีการเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใส่หัวเชื้อยีสต์ หาชนิดของยีสต์ที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 14.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่ศึกษาโดยวิธี Ducans New Multiple Range Test (DMRT)

4 ศึกษาการเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

นำเชื้อแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตที่ได้จากดิน (มาริสาและคณะ, 2549) 2 ไอโซเลตจำแนกโดยพิจารณาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา ซึ่งยึดแนวทางของ Bergery ' Manual of Determinative Bacteriology นำเชื้อแต่ละไอโซเลตมาเพาะเลี้ยงบน Pikovskaya ' s medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วย้อมสีแบบแกรม เพื่อตรวจสอบรูปร่างและการจัดเรียงตัวของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ในปริมาณร้อยละ 2 (นฤมล , 2546) ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยจะเก็บตัวอย่างทุก ๆ 7 วัน เป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) วิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ โดยตรวจวัดค่าซีโอดีแบบ open reflux ค่าพีเอช ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนด้วยวิธีเนสเลอไรเซชั่น ปริมาณฟอสเฟตด้วยวิธีเทียบสี (Vanadomolybdophosphoric acid) โดยมีการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม หาชนิดของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 14.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่ศึกษาโดยวิธี Ducans New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 ศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์โบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

เปรียบเทียบการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์เมื่อเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดส่วนเปลือก การเติมหัวเชื้อยีสต์ และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต ดังที่กล่าวในข้างต้น ที่มีประสิทธิภาพต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยจะสุ่มตัวอย่างทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 49 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) วิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ โดยตรวจวัดค่าซีโอดีแบบ open reflux ค่าพีเอช ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนด้วยวิธีเนสเลอไรเซชั่น ปริมาณฟอสเฟตด้วยวิธีเทียบสี (Vanadomolybdophosphoric acid) ทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 14.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรที่ศึกษาโดยวิธี Ducans New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์การทดลอง

4.1 ผลการศึกษาน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนต่างๆ ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนจากส่วนต่างๆ ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (ตารางที่ 5) พบว่า บริเวณส่วนของเนื้อสับปะรดมีปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนมากที่สุดเท่ากับ 1.34 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ เปลือก และแกน ซึ่งมีปริมาณเอนไซม์โบรมิเลน 0.96 และ 0.46 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า พีเอชในส่วนต่างๆ ของสับปะรด พบว่าบริเวณที่มีค่าพีเอชมากที่สุดคือ เนื้อ เปลือก และ แกน ซึ่งมีค่าพีเอชเท่ากับ 3.68 3.55 และ 3.51 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ปรากฏการณ์ดังกล่าวอาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในส่วนต่างๆ ของสับปะรด ขณะทำการปอกเปลือก และแยกเอาเนื้อและแกนออก ซึ่ง Chadha *et al.* (1972) ได้รายงานว่าปริมาณของกรดในสับปะรดนั้นอาจมีความแปรผันได้จากปัจจัยต่างๆ เช่น ความหนาแน่นของการปลูกสับปะรด ระยะเวลาการเก็บสับปะรด และปริมาณกรดในผลสับปะรดนั้นจะมีปริมาณสูงขึ้นตามระยะของผลใกล้สุกแก่ ซึ่งส่วนเนื้อบริเวณใกล้แกนจะมีปริมาณกรดน้อยกว่าเนื้อบริเวณใกล้เปลือก (จินดารัตน์, 2541) โดยการที่สับปะรดมีปริมาณกรดสูงทำให้ค่าพีเอชลดต่ำลง โดยสับปะรดสุกมีค่าพีเอช 3.4 (Gortner *et al.*, 1967)

จากการวิเคราะห์ข้างต้นพบว่า ส่วนเนื้อมีปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนมากที่สุด แต่เมื่อคิดเป็นปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนต่อหน่วย (ตาราง 5) พบว่า สับปะรดหนึ่งกิโลกรัม คิดเป็นน้ำหนักร้อยละของเนื้อ แกน เปลือก คือ 70.4 17.8 และ 11.8 ตามลำดับ สามารถวัดปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนต่อราคาต้นทุนต่อหน่วย ในส่วนของแกน และ เนื้อ คือ 0.08 และ 0.05 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับส่วนเปลือกวิเคราะห์หาเอนไซม์โบรมิเลนต่อราคาต้นทุนต่อหน่วย ได้ 0.23 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกใช้น้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ได้จากส่วนเปลือกในการทดลองขั้นต่อไป เพื่อเป็นการลดต้นทุนและเป็นการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือทิ้งของโรงงานสับปะรดกระป๋อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนและค่าพีเอชจากส่วน เนื้อ แกน และเปลือกของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย โดยใช้ Phosphate Buffer ที่พีเอช 7.0

ส่วนของสับปะรด	สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (หนึ่งผลต่อกิโลกรัม) ราคา 35 บาท					
	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนัก (ร้อยละ)	ราคาต้นทุน (บาท)	ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณเอนไซม์ต่อราคาต้นทุนต่อหน่วย(ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	พีเอช
เนื้อ	704	70.4	24.64	1.34^{a}	0.05^{b}	3.68^{a}
แกน	170.8	17.8	5.98	0.46^{c}	0.08^{b}	3.51^{b}
เปลือก	118	11.8	4.13	0.96^{b}	0.23^{a}	3.55^{b}

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

(unit / ml) = ปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเคซีนให้ได้สารใหม่ ซึ่งอยู่ในอัตราเท่ากับไทโรซีน 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พีเอชเท่ากับ 7.2

$$\text{ราคาต้นทุน} = \frac{\text{น้ำหนัก (ร้อยละ) } \times \text{ ราคาที่ซื้อ}}{100}$$

$$\text{ปริมาณเอนไซม์ต่อราคาต้นทุนต่อหน่วย (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{ปริมาณเอนไซม์ที่วัดได้}}{\text{ราคาต้นทุน}}$$

ทำการวิเคราะห์โดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย 3 ซ้ำๆ ละ 3 ลูก (ตลาดสำโรง จ. สมุทรปราการ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิเคราะห์น้ำคั้นหยาบสับปะรด พบว่า ในน้ำคั้นหยาบซึ่งมีเอนไซม์โบรมิเลนเป็นองค์ประกอบ สามารถย่อยโปรตีนได้เช่นเดียวกับปาเปน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานคือ 63–65 องศาเซลเซียส (Ota *et al.*, 1961 ; Inagami and Murachi, 1963; Reed, 1966; Glazer and Smith, 1971; Whitaker, 1972; Lener, 1974; กัลยา, 2520) เอนไซม์นี้สามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส และมีความคงตัวในช่วงพีเอชเท่ากับ 3.0–3.5 ซึ่งเมื่อพีเอชต่ำกว่า 2.5 พบว่าเอนไซม์จะไม่มีความคงตัว เอนไซม์โบรมิเลนเป็นเอนไซม์ที่นิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อช่วยย่อยสลายโปรตีนให้เป็นเปปไทด์สายสั้นๆ และกรดอะมิโนบางส่วน

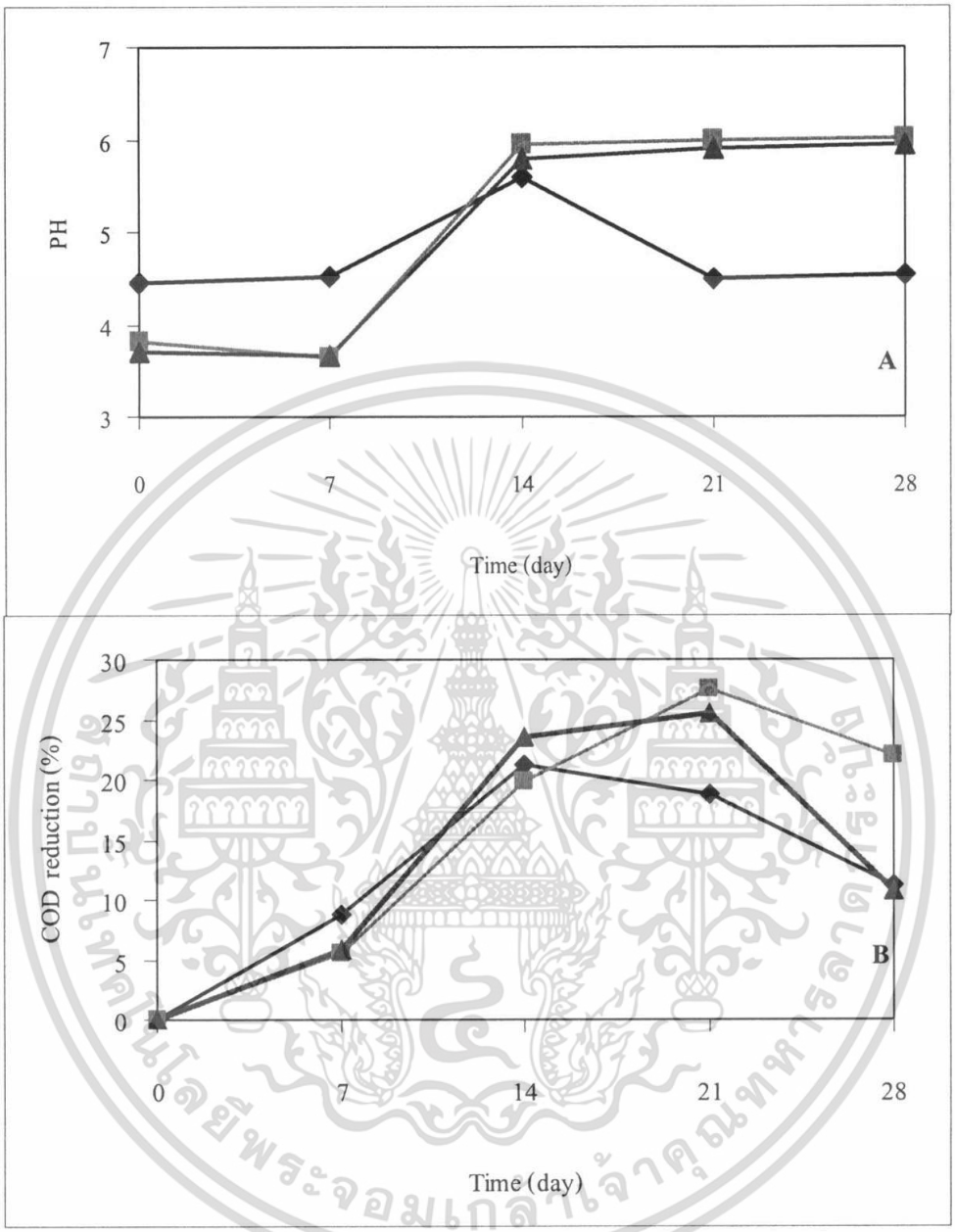
4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นของน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำเสียสังเคราะห์ (ตารางภาคผนวก ง17) พบว่า ในน้ำเสียสังเคราะห์มีค่าพีเอชเท่ากับ 8.15 ค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน และค่าฟอสเฟต คือ 360 8.0 และ 8.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นำน้ำเสียสังเคราะห์มาใช้ในการทดลอง เพื่อคัดเลือกประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียด้วยน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือกที่ปริมาณร้อยละ 10 20 และ 30 ต่อการลดค่าซีโอดี แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และฟอสเฟต เป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)

จากการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนในน้ำคั้นหยาบสับปะรด (วันที่ 0) ที่ปริมาณร้อยละ 10 20 และ 30 (ตารางภาคผนวก ง13) เมื่อเติมลงในน้ำเสียสังเคราะห์ พบว่าน้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 30 ให้กิจกรรมเอนไซม์โบรมิเลนสูงสุดคือ 0.34 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด ปริมาณร้อยละ 20 และ 10 โดยวัดกิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนได้ 0.21 และ 0.12 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เนื่องจาก ปริมาณความเข้มข้นที่เติมลงไปในน้ำเสียสังเคราะห์ในปริมาณที่ต่างกัน มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์โบรมิเลนในปริมาณที่ต่างกัน และเมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนในวันที่ 28 พบว่า ไม่สามารถตรวจพบได้ทั้งสามระดับความเข้มข้น เนื่องจาก ระยะเวลาและพีเอชที่เกิดการเปลี่ยนแปลงมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพ (ปรีชาและนงลักษณ์, 2539)

ซึ่งผลของกิจกรรมเอนไซม์โบรมิเลนปริมาณร้อยละ 10 20 และ 30 เติมลงไปในน้ำเสียสังเคราะห์ ต่อการลดค่าซีโอดี (ตารางที่ 6 และรูปที่ 7) พบว่า ความเข้มข้นน้ำคั้นหยาบสับปะรดร้อยละ 20 สามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุด (ร้อยละ 27.47) ในวันที่ 21 ของการบำบัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 Time course ของการลดลงของ (A) ค่าซีโอดี (ร้อยละ) และ (B) ค่าพีเอช โดยเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ปริมาณร้อยละ 10 20 และ 30 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

น้ำคั้นหยาบสับปะรดร้อยละ 10 น้ำคั้นหยาบสับปะรดร้อยละ 30

น้ำคั้นหยาบสับปะรดร้อยละ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 6 ผลของความเข้มข้นของน้ำคั้นหยาบสับปะรดส่วนเปลือกพันธุ์ปัตตาเวียในน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการลดลงของค่าซีโอดี (ร้อยละ) แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) ฟอสเฟต (ร้อยละ) และพีเอช ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 21 ของการบำบัด

ความเข้มข้นน้ำคั้นหยาบ (ร้อยละ)	ซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)	แอมโมเนียไนโตรเจนที่ลดลง (ร้อยละ)	ฟอสเฟตที่ลดลง (ร้อยละ)	พีเอช
ชุดควบคุม	0	0	0	8.15[a]
10	18.75[c]	17.38[a]	1.45[a]	4.49[c]
20	27.47[a]	18.13[a]	1..58[a]	5.99[b]
30	25.49[b]	13.63[b]	1.21[a]	5.91[b]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

น้ำเสีย ซึ่งเป็นค่าที่สูงกว่าความเข้มข้นน้ำคั้นหยาบสับปะรดร้อยละ 10 และ 30 (21.25 และ 25.49 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ผลของการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือกต่อปริมาณการลดลงของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน และค่าฟอสเฟต (ตารางที่ 6 และรูปที่ 8) พบว่า เมื่อเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 20 สามารถลดค่าแอมโมเนียไนโตรเจนสูงสุดร้อยละ 18.13 หลังจากการบำบัดเป็นระยะเวลา 21 วัน โดยมีค่าการลดลงสูงกว่าการใช้น้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 30 ซึ่งลดค่าแอมโมเนียไนโตรเจน คิดเป็นร้อยละ 13.63 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ค่าการลดลงของแอมโมเนียไนโตรเจนจะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ใช้น้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ปริมาณร้อยละ 10 ซึ่งมีค่าการลดลงคิดเป็นร้อยละ 17.75 สำหรับการลดลงของฟอสเฟตนั้น พบว่า น้ำคั้นหยาบสับปะรดไม่สามารถลดค่าฟอสเฟตลงได้ โดยเมื่อเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณ

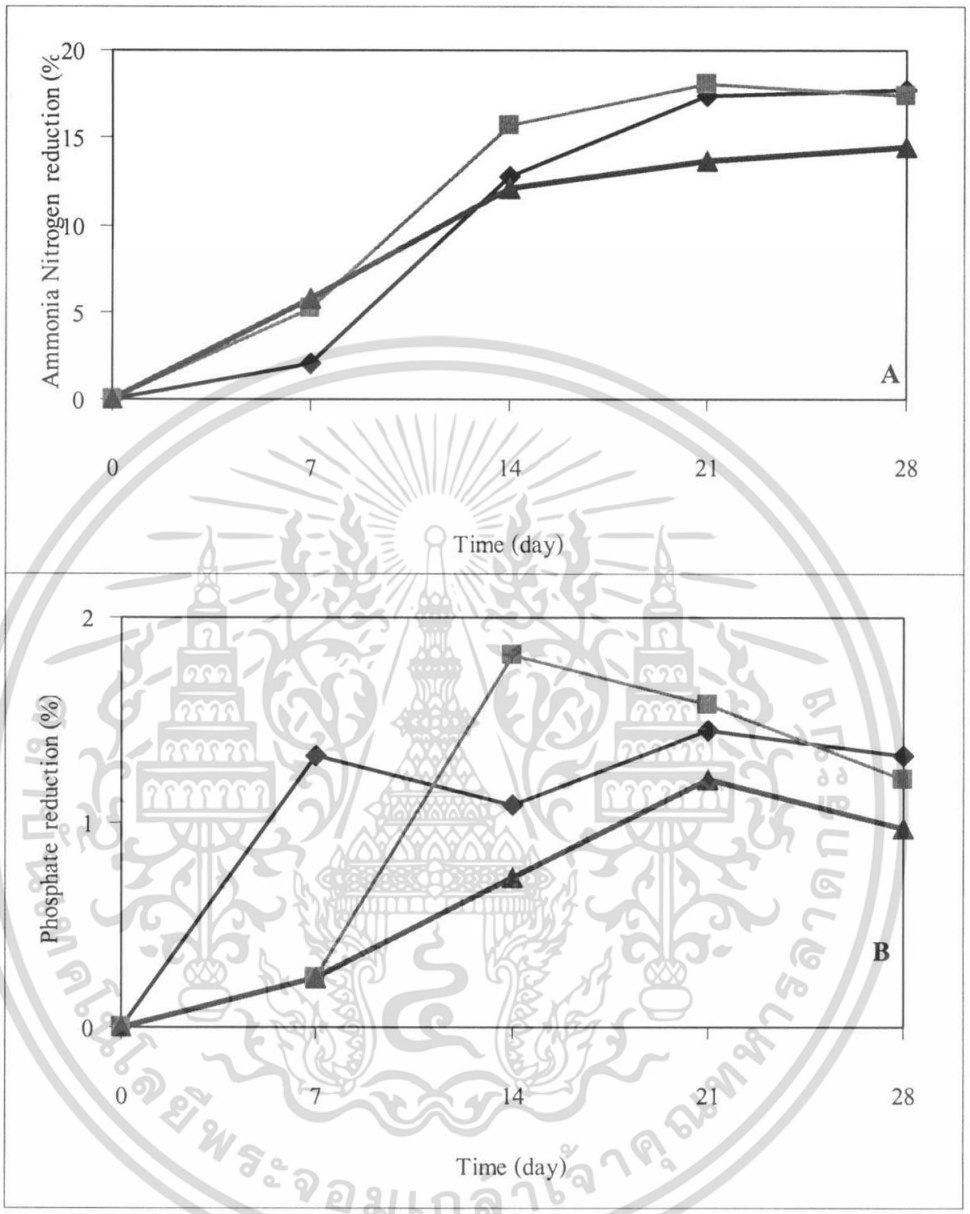
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 10 20 และ 30 จะมีการเปลี่ยนแปลงค่าของฟอสเฟตคิดเป็นร้อยละ 1.45 1.58 และ 1.21 ตามลำดับ อย่างไม่มีนัยสำคัญ (รูปที่ 8)

และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชระหว่างการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด (รูปที่ 7) พบว่า น้ำเสียสังเคราะห์เริ่มต้นมีค่าพีเอช 8.15 เมื่อเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือกลงในน้ำเสียสังเคราะห์ (วันที่ 0) พบว่า ในน้ำเสียสังเคราะห์มีค่าพีเอชลดต่ำลง เนื่องจากในน้ำคั้นหยาบเอนไซม์โบรมิเลนมีกรดซิตริกเป็นองค์ประกอบ มีผลทำให้ค่าพีเอชของน้ำเสียสังเคราะห์ลดต่ำลง และเมื่อระยะเวลาการบำบัดนานขึ้น มีผลทำให้ค่าของ พีเอชสูงขึ้น เนื่องจาก มีจุลินทรีย์ที่อยู่ตามธรรมชาติสามารถใช้สารอาหารในน้ำเสียสังเคราะห์โดยการย่อยสลายสารอาหารต่างๆ เพื่อเปลี่ยนเป็นตัวเซลล์ ทำให้มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และสามารถเปลี่ยนเป็นผลผลิตอื่นๆ ตามชนิดของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่สามารถเจริญได้ดีที่พีเอชค่อนข้างเป็นกรด คือ ยีสต์และรา เมื่อระยะเวลาการบำบัดนานขึ้นมีผลทำให้ค่าพีเอชสูงขึ้นเล็กน้อย โดยที่พีเอชของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยการเติมน้ำสกัดหยาบเอนไซม์โบรมิเลนจะมีพีเอชอยู่ในช่วง 4-6

จากการทดลองข้างต้นพบว่า การเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือกของสับปะรดที่ปริมาณร้อยละ 10 20 และ 30 ลงในน้ำเสียสังเคราห์ (รูปที่ 9) มีผลต่อการลดค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน แต่ไม่มีผลต่อการลดลงของฟอสเฟต เนื่องจาก ในน้ำสับปะรดจะมีเอนไซม์โบรมิเลนซึ่งมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสารประเภทโปรตีนได้เช่นเดียวกับเอนไซม์ปาเปน ฟีซิน ซึ่งจัดเป็นเอนไซม์ที่มีกลุ่มซัลไฟดริลในบริเวณเร่งโดยการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสารตั้งต้นนั้นจะใช้กลุ่มไธออล (thiol group) ที่บริเวณเร่ง ทำให้เกิดการย่อยพันธะของสารตั้งต้น นอกจากเอนไซม์โบรมิเลนจะสามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสารพวกโปรตีนแล้ว ยังสามารถย่อยพวกเปปไทด์ เอมีล เอสเทอร์ของกรดอะมิโนและเปปไทด์ได้ด้วย เช่น เบนซิล-แอล-อาจีนิน อีธิลเอสเทอร์ benzoyl – L arginine ethyl ester (BAEE) เบนซิล-แอล-อาจีนินเอมีด benzoyl – L arginine amide (BAA) และแอลไทโรซีนอีธิลเอสเทอร์ L–tyrosine ethyl ester (Murachi and Neurath, 1964) โดยเอนไซม์โบรมิเลนมีคุณสมบัติในการย่อยสารตั้งต้นต่างจากเอนไซม์ ฟีซิน และปาเปปตรงตำแหน่งที่เข้าย่อย ซึ่งเอนไซม์โบรมิเลนเข้าย่อยพันธะระหว่าง Arg–Ala และ Ala–Glu แต่ไม่สามารถเข้าย่อยพันธะที่เชื่อมระหว่าง Arg–Arg และ Lys–Tyr (Murachi and Neurath, 1964) สภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์นั้นจะมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 เมื่อใช้เคซีนเป็นสารตั้งต้น และพีเอชเท่ากับ 5.0 เมื่อใช้เจลาตินเป็นสารตั้งต้น ซึ่งอุณหภูมิที่ เหมาะสม

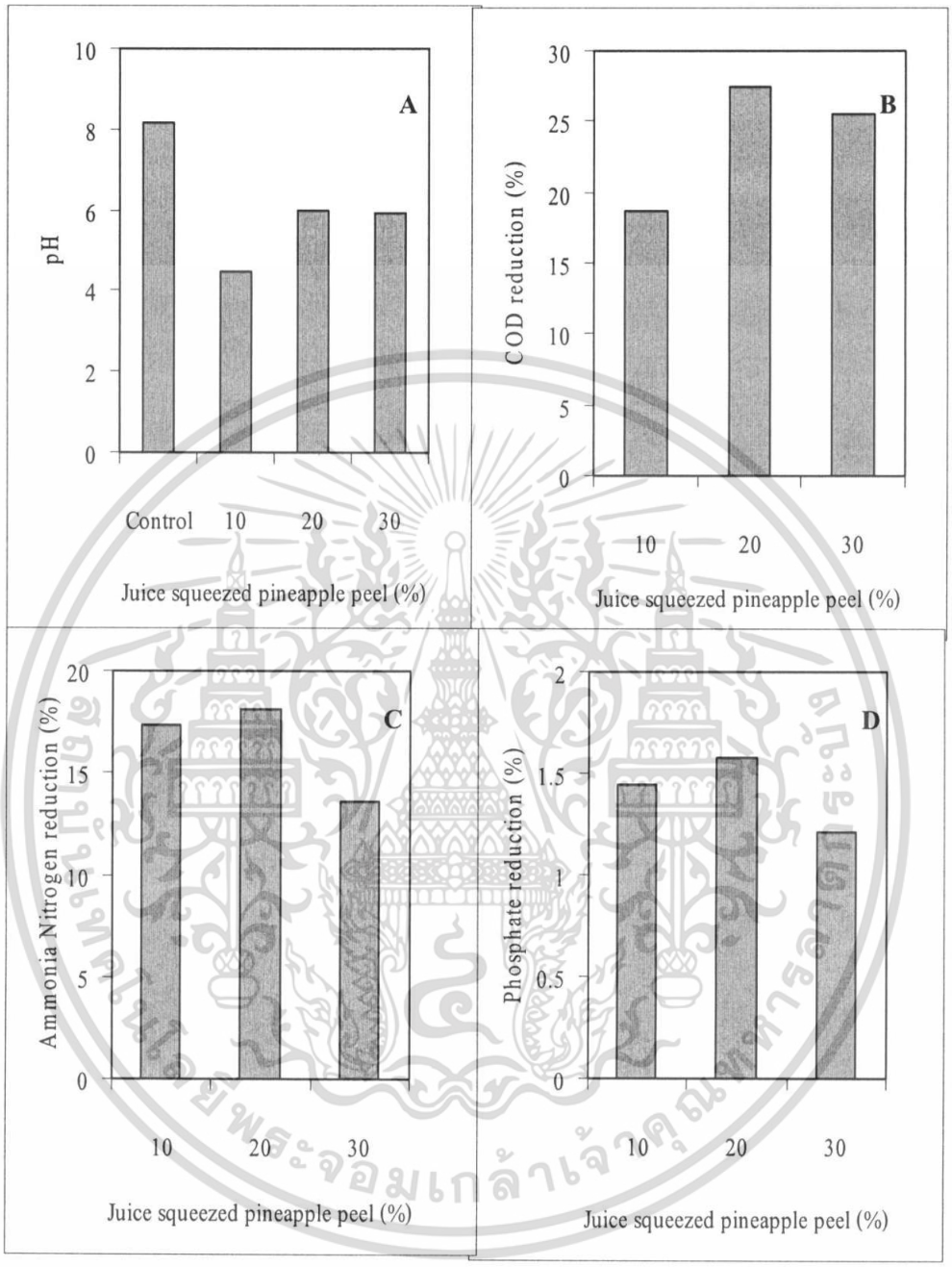
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 8 Time course ของการลดลงของค่า (A) แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) (B) ฟอสเฟต (ร้อยละ) โดยเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ปริมาณร้อยละ 10, 20 และ 30 ใน น้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

น้ำคั้นหยาบสับปะรดร้อยละ 10
น้ำคั้นหยาบสับปะรดร้อยละ 20
น้ำคั้นหยาบสับปะรดร้อยละ 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9 ผลของความเข้มข้นน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากเปลือกพันธุ์ปัตตาเวียในน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการลดลงของ (A) พีเอช (B) ซีโอดี (C) แอมโมเนียไนโตรเจน และ (D) ฟอสเฟต ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 21 ของการบำบัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประมาณ 63–65 องศาเซลเซียส (Ota *et al.*, 1961 ; Inagami and Murachi, 1963; Reed, 1966; Glazer and Smith, 1971; Whitaker, 1972; Lener, 1974; กัลยา, 2520) เอนไซม์โบรมิเลนสามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส มีความคงตัวในช่วงพีเอชเท่ากับ 3.0–3.5 เมื่อพีเอชต่ำกว่า 2.5 เอนไซม์จะไม่มีความคงตัว

นอกจากน้ำคั้นหยาบสับปะรดจะมีเอนไซม์โบรมิเลนอยู่ ยังอุดมไปด้วยสารอาหารต่างๆ ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น ปริมาณไนโตรเจน โปรตีนไนโตรเจน คาร์โบไฮเดรต เป็นต้น โดยมีปริมาณไนโตรเจน โปรตีนไนโตรเจน น้ำตาล คาร์โบไฮเดรต เท่ากับ 0.27 0.14 3.2-3.6 และ 1.8-2.8 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นแหล่งของสารอาหารให้กับจุลินทรีย์ สามารถใช้เป็นสารอาหารทำให้เกิดการเจริญเติบโตได้ ดังนั้นนอกจากจะใช้เอนไซม์โบรมิเลนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียสังเคราะห์แล้ว ยังมีผลช่วยเพิ่มการทำงานของจุลินทรีย์ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด โดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียสังเคราะห์จะเกิดการปนเปื้อนในช่วงของการคั้น ทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ตามธรรมชาติมีการเจริญเติบโตโดยใช้สารอาหารที่อยู่ในน้ำเสียสังเคราะห์ พบว่าในน้ำสับปะรดมีน้ำตาลฟรุกโทส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส โดยปริมาณของน้ำตาลซูโครสที่วิเคราะห์ได้สูงถึง 71 เปอร์เซ็นต์ของน้ำตาลทั้งหมดในน้ำสับปะรด จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่เจริญเติบโตในน้ำสับปะรด เช่น ยีสต์ และรา ตามธรรมชาติ ทำให้เกิดการหมักเปลี่ยนสารอาหารมาเป็นตัวเซลล์ เกิดการฟอร์มตัวเป็นเยื่อเมือกทางชีวภาพอยู่บนผิวหน้าของน้ำเสีย และยังช่วยเพิ่มการละลายของออกซิเจนในน้ำให้มีมากขึ้น ซึ่งมีผลยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคที่ใช้อากาศไม่ให้มีการเจริญเติบโตขึ้น ทำให้เกิดการบำบัดและสามารถลดค่าซีโอดีได้ นอกจากนี้ในน้ำสับปะรดยังเป็นแหล่งของกรดซิตริก พบว่ามีปริมาณร้อยละ 0.54 (อรวินทร์, 2527) การที่สับปะรดมีปริมาณกรดซิตริกสูงทำให้ค่าพีเอชลดต่ำลง โดยสับปะรดสุกมีค่าพีเอชประมาณ 3.4 (Gortner *et al.*, 1967)

จากการทดลองการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ปริมาณร้อยละ 20 สามารถลดค่าซีโอดีได้มากกว่าการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ปริมาณร้อยละ 10 เพราะปริมาณของน้ำสับปะรดที่เติมลงไปมีผลทำให้สารอาหารเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าซีโอดีเพิ่มขึ้น โดยที่การเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ปริมาณร้อยละ 10 ลงในน้ำเสียสังเคราะห์ นอกจากจะมีเอนไซม์โบรมิเลนน้อยประกอบกับปริมาณสารอาหารยังมีในปริมาณ ค่าซีโอดีน้อย มีผลทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จึงไม่มากนัก ดังนั้นการลดลงของค่าซีโอดีจึงน้อยลงไป และการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 20 ให้ประสิทธิภาพการลดลงของค่าซีโอดีมากกว่าการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ปริมาณร้อยละ 30 เนื่องจาก ปริมาณน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่เติมลงไปมีปริมาณมาก ทำให้สารอาหารมาก ประกอบกับจุลินทรีย์ตามธรรมชาติเจริญเติบโตในน้ำเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

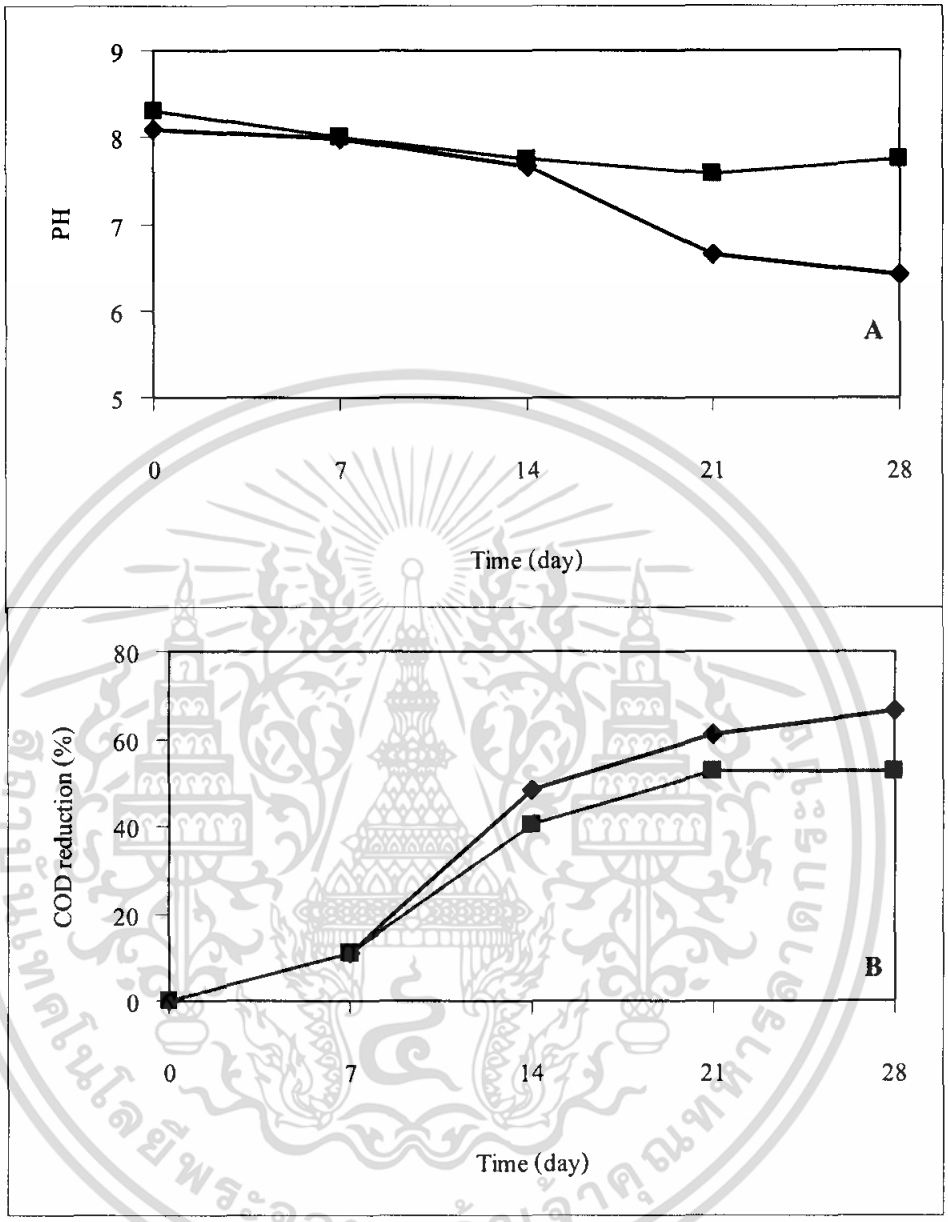
สังเคราะห์ทำให้เกิดการบำบัด และเมื่อจุลินทรีย์มีการย่อยสลายสารอาหารก็มีการเจริญและก็เกิดการตาย มีผลทำให้ค่าซีโอดีมีการลดลงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 20 ซึ่งเป็นปริมาณการเติมที่เหมาะสมทั้งต่อการบำบัดโดยใช้เอนไซม์โบรมิเลนและการใช้น้ำสับปะรดเพื่อเป็นสารอาหารให้กับจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ นอกจากเอนไซม์โบรมิเลนในน้ำสับปะรดจะสามารถย่อยสลายโปรตีนแล้ว ยังมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนเปปซิโนเจนไปเป็นเปปซิน และมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ โดยเฉพาะ *E. coli* ทำให้ชั้นน้ำที่มีออกซิเจนเพิ่มขึ้น แสงแดดสามารถส่องผ่านลงได้มากขึ้น ทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อแหล่งน้ำมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น (จินดารัตน์ , 2541) โดยพบว่าผลการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Takata *et al.* (2005) ซึ่งได้ทำการทดลองบำบัดน้ำเสีย โดยการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 ร่วมกับยีสต์ขนมปัง ลงในน้ำเสีย เพื่อเป็นการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศโดยทำให้พื้นที่ที่แสงแดดส่องถึงมีความลึกขึ้น และยังสามารถใช้เป็นอาหารให้กับจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในน้ำเสีย โดยเริ่มแรกก่อนการบำบัด น้ำมีลักษณะเป็นสีดำเข้ม แต่เมื่อผ่านการบำบัดเป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าน้ำใสขึ้น คือเปลี่ยนจากสีดำเป็นสีน้ำตาลและกลิ่นเน่าเหม็นลดลง โดยสามารถลดค่าซีโอดีลงได้ร้อยละ 40.19 ซึ่งค่าจากการทดลองของ Takata *et al.* (2005) มีค่าการลดลงของซีโอดีมากกว่าค่าจากการทดลอง เนื่องจาก น้ำเสียที่ทำการวิเคราะห์เติมเพียงน้ำคั้นหยาบสับปะรดซึ่งเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์โบรมิเลนเพียงอย่างเดียว จึงมีผลทำให้การลดของค่าซีโอดีมีประสิทธิภาพน้อยกว่า

ถึงแม้ว่าที่ระดับปริมาณร้อยละ 20 ของน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่มีเอนไซม์โบรมิเลนอยู่สามารถบำบัดน้ำเสียโดยลดค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน และฟอสเฟตได้สูงกว่าที่ปริมาณร้อยละ 10 และ 30 จุดประสงค์ของการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดลงในน้ำเสียสังเคราะห์เพื่อเป็นแหล่งอาหารให้กับเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าการบำบัดน้ำเสียด้วยเอนไซม์โบรมิเลนเพียงอย่างเดียว ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจะใช้น้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 20 ในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ในขั้นต่อไป

4.3 ผลของการศึกษาการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้หัวเชื้อยีสต์

จากการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 (Takata *et al.*, 2006) ในน้ำเสียสังเคราะห์ (ค่าซีโอดีเท่ากับ 360 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า การเติมยีสต์ขนมปังมีผลทำให้ค่าซีโอดีลดลงสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 66.66 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 Time course ของการลดลงของ (A) พีเอช และ (B) ค่าซีโอดี โดยเติมยีสต์ขนมปัง และจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ยีสต์ขนมปัง จุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากทำให้ค่าซีโอดีลดลงสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 52.78 ในวันที่ 28 ของการบำบัดน้ำเสีย อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq .05$) (รูปที่ 10 และตารางที่ 7)

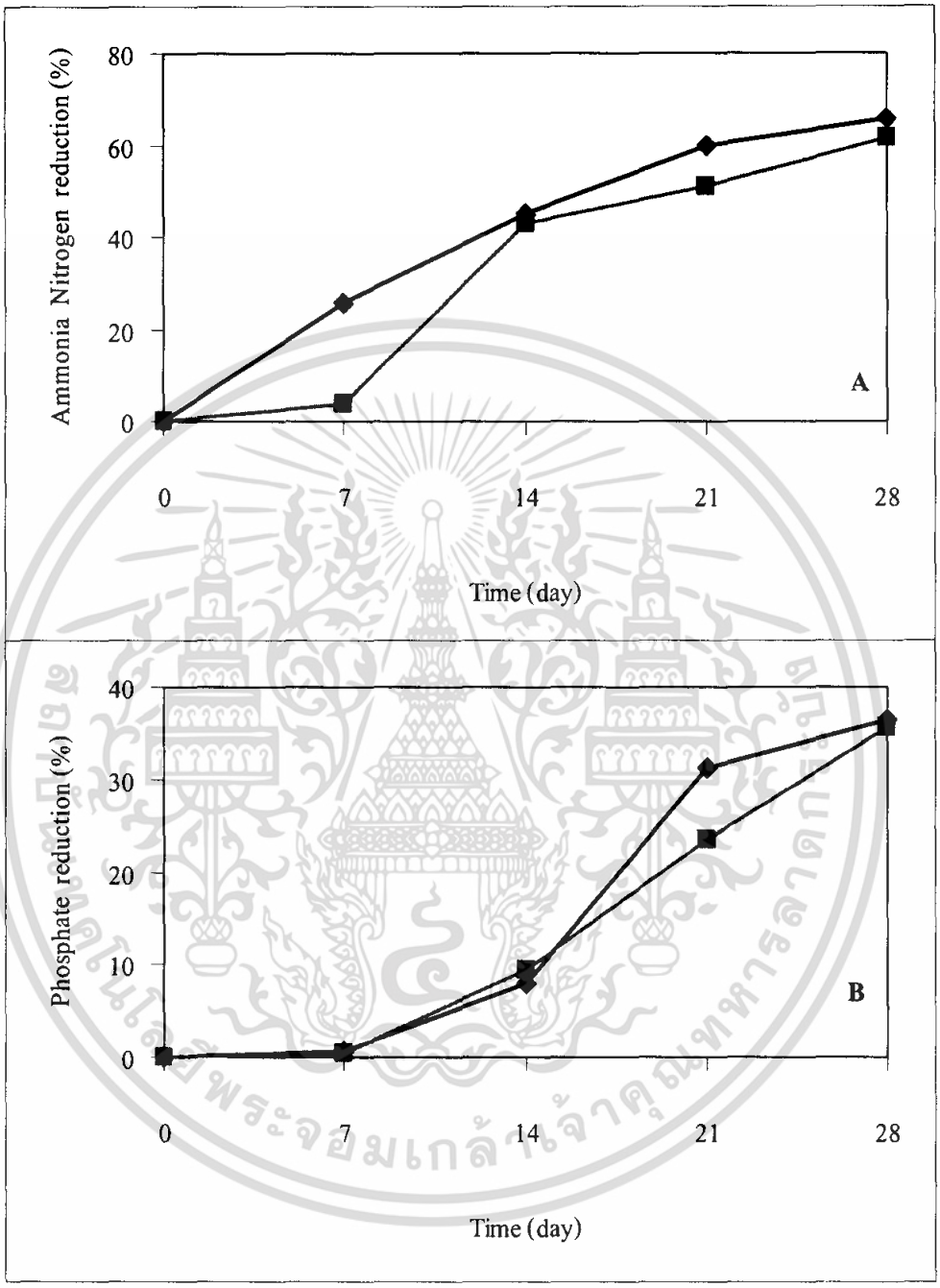
ผลของชนิดยีสต์ที่เติมปริมาณร้อยละ 0.02 ต่อการลดลงของค่าแอมโมเนียไนโตรเจนและฟอสเฟต (ตารางที่ 7 และรูปที่ 11) เป็นเวลา 28 วัน ในน้ำเสียสังเคราะห์ (ซีโอดี 360 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า เมื่อเติมยีสต์ขนมปัง สามารถลดปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนคิดเป็นร้อยละ 65.63 หลังจากการบำบัดเป็นเวลา 28 วัน ซึ่งสูงกว่าการเติมจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมาก ซึ่งทำให้การลดลงของแอมโมเนียไนโตรเจนคิดเป็นร้อยละ 61.50 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สำหรับการลดลงของค่าฟอสเฟต พบว่า เมื่อเติมยีสต์ขนมปังสามารถลดค่าฟอสเฟตได้สูงสุดคิดเป็นร้อยละ 36.36 หลังจารการบำบัดเป็นเวลา 28 วัน โดยค่าการลดลงของฟอสเฟตไม่มีความแตกต่างกับการเติมจุลินทรีย์ลูกแป้งข้าวหมาก ที่สามารถลดค่าฟอสเฟตได้คิดเป็นร้อยละ 35.64

ตารางที่ 7 ผลของการเติมยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 น้ำเสียสังเคราะห์ต่อการลดลงของพีเอช ซีโอดี (ร้อยละ) แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) และฟอสเฟต (ร้อยละ) ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 28 ของการบำบัด

ชนิดของยีสต์ ปริมาณร้อยละ 0.02	ซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)	แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ)	ฟอสเฟต (ร้อยละ)	พีเอช
ชุดควบคุม	0	0	0	8.15^{a}
ยีสต์ขนมปัง	66.66^{a}	65.63^{a}	36.36^{a}	6.42^{c}
จุลินทรีย์ลูกแป้ง	52.78^{b}	61.50^{b}	35.64^{a}	7.75^{b}

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 11 Time course ของการลดลงของค่า (A) แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) (B) ฟอสเฟต (ร้อยละ) โดยเติมยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ยีสต์ขนมปัง จุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลจากการศึกษาจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากโดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วนำผลในการศึกษาเทียบกับ taxonomic key (ARX, 1978; Ingold,1987 ; Watanabe, 1994; Hawksworth *et al.*, 1995; Alexopoulos *et al.*, 1996 และ Hanlin , 1998) (รูปภาคผนวก จ1) พบว่า ลักษณะของโคโลนีเมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) พบว่าเส้นใยสีขาว ยาวแต่ไม่ฟูมากโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เส้นใยไม่มีผนังกั้นขวาง สร้าง chlamydospore จากลักษณะที่กล่าวมาจัดเป็นราในสกุล Amylomyces ซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองของ กฤติกานต์ (2523); สิรินทรเทพ (2523); นภา (2537); สมพร (2546) และ Ellis *et al.* (1974) นอกจากนี้ ยังสามารถพบราสกุลนี้ในลูกแป้งของประเทศจีน มาเลเซีย และอินโดนีเซีย (Haord *et al.*, 1999) เช่นเดียวกับการทดลองของ มนตรี (2521) ได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และเชื้อราเพื่อใช้ ผลิตไวน์ข้าว พบว่าในลูกแป้งเหล้าและลูกแป้งข้าวหมากพบ เชื้อราส่วนใหญ่เป็น *Rhizopus Amylomyce Aspergillus Mucor* และ *Penicillium* และพบยีสต์พวก *Endomycopsis Hansenula Saccharomyces* film yeast และแบคทีเรียพวก *Bacillus Lactic acidbacteria* และ *Acetic acidbacteria* จากการคัดเลือกเชื้อราที่ ย่อยแป้งได้ดี พบว่ามี *Amylomyces rouxii Rhizopus delemar* มีอยู่ในลูกแป้งข้าวหมากเป็นจำนวนมาก ส่วนยีสต์ที่ย่อยแป้งได้ดีคือ *Endomycopsis fibuligera* และยีสต์ที่ย่อยน้ำตาลให้แอลกอฮอล์ที่พบ คือ ยีสต์สกุล *Saccharomyces cerevisiae*

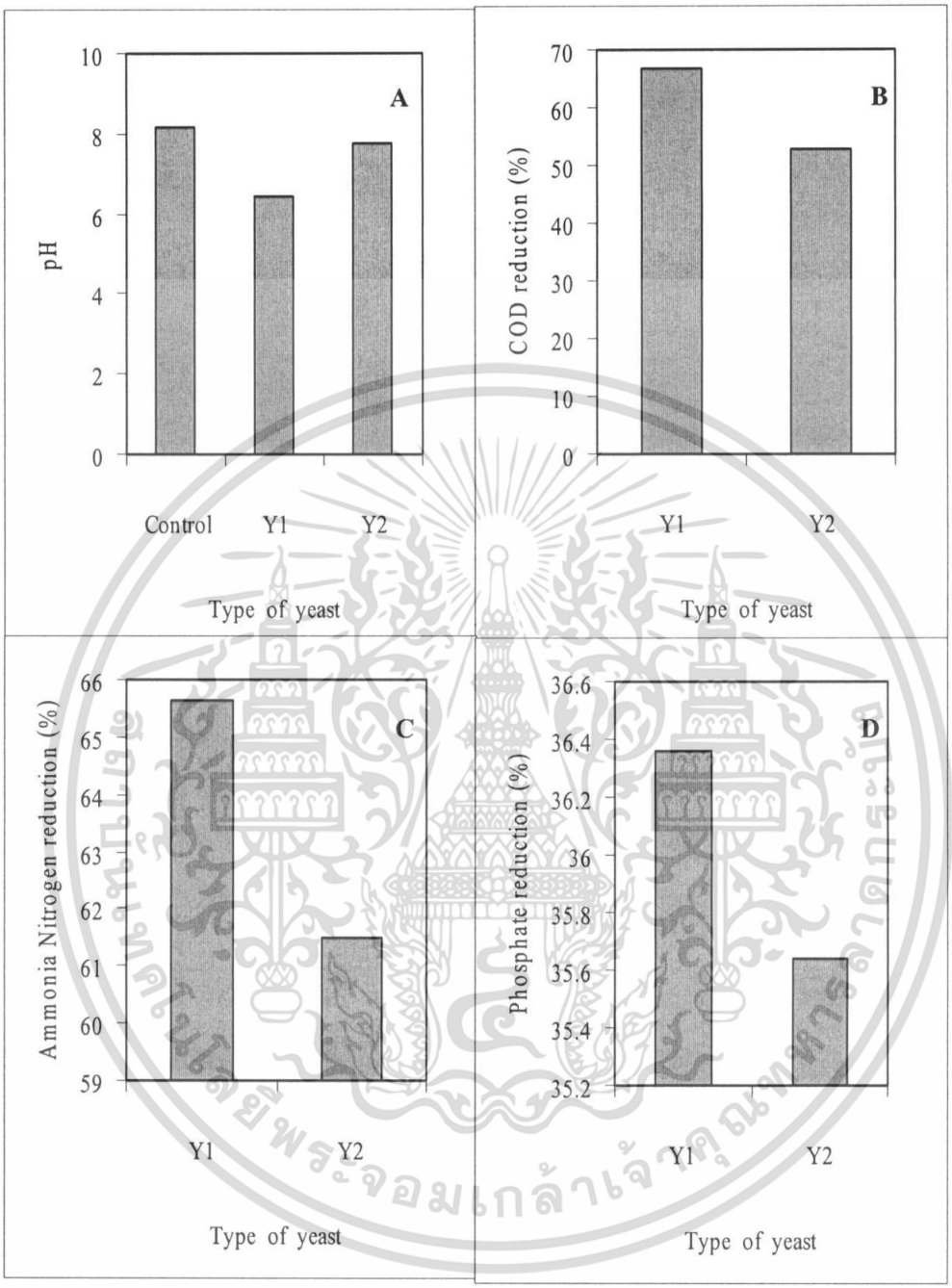
ผลจากการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (รูปที่ 10) โดยการเติมยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมาก เป็นเวลา 28 วัน พบว่า วันที่ 0 ของการบำบัด (พีเอช 8.10) หลังผ่านการบำบัดเป็นเวลา 28 วัน พบว่าค่าพีเอชลดต่ำลง โดยที่การเติมยีสต์ขนมปังมีผลทำให้ค่าพีเอชของน้ำเสียสังเคราะห์การลดลงมากกว่าการเติมจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมาก การเติมยีสต์ขนมปังทำให้ค่าพีเอชลดลง เท่ากับ 7.42 หลังจากการบำบัดเป็นเวลา 28 วัน และการเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำเสียสังเคราะห์จากการเติมจุลินทรีย์จากลูกแป้ง เท่ากับ 7.75 หลังจากการบำบัดเป็นเวลา 28 วัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อาจเนื่องมาจากกระบวนการสลายสารอาหารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ โดยจุลินทรีย์จะสลายสารอาหารแล้วเปลี่ยนเป็นตัวเซลล์ทำให้มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ซึ่งในน้ำเสียสังเคราะห์จะมีองค์ประกอบของ น้ำตาล ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เป็นหลัก โดยที่จุลินทรีย์ที่เติมลงไป เปลี่ยนสารอาหาร มีการเจริญเติบโต และมีการขับถ่ายของเสียออกมา เมื่อการเจริญเติบโตกับสารอาหารมีความเท่ากัน จะมีผลทำให้เกิดการลดสารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำลงทำให้ค่าซีโอดีลดลง และมีผลทำให้ค่าพีเอชลดลง นอกจากนี้ยีสต์ขนมปังยังสามารถรับไนโตรเจน จากสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ไนโตรเจน เพื่อนำไปสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนและยังสามารถใช้แอมโมเนียมอิออน ไนเตรตและไนไตรต์ได้ นอกจากนี้ยังสามารถดึงหมู่อะมิโนออกจากกรดอะมิโนได้ ซึ่งเมทาบอลิซึมของยีสต์ขนมปังจะมีการใช้สารอาหารที่เป็นองค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่อยู่ในน้ำ เปลี่ยนเป็นตัวเซลล์ โดยที่ยีสต์ขนมปังจะเปลี่ยนสารอาหารจากน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ จึงมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าของพีเอชให้ลดต่ำลง และแมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์จากลูกแป้งจะเป็นจุลินทรีย์พวกรา มีกลไกการเปลี่ยนคือ จากแป้งเป็นน้ำตาล จึงมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าของพีเอชเช่นกัน (สมพร, 2546) ซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองของ Takata *et al.* (2005) ที่ใช้ยีสต์ขนมปังช่วยในการบำบัดน้ำเสีย มีผลทำให้น้ำใสขึ้น พืชน้ำและสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศดำรงอยู่ได้ และช่วยลดกลิ่นเหม็น โดยหลังผ่านการบำบัด 1 เดือน สามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 40.91 และมีการลดลงของค่าแอมโมเนียไนโตรเจนและการลดลงของค่าฟอสเฟตคิดเป็นร้อยละ 37.84 และ 11.95 ตามลำดับ พบว่าการลดลงของฟอสเฟตไม่ดีเท่าที่ควร และมีความสอดคล้องกับการทดลองของ Cuiying Jia *et al,* (2006) ซึ่งได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตผงชูรส ร่วมกับ *Coriolus versicolor* เป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีประสิทธิภาพในการลดค่าซีโอดีและแอมโมเนียไนโตรเจนคิดเป็นร้อยละ 76.6 และ 7.99 ตามลำดับ ซึ่งสามารถบำบัดน้ำเสียได้ดีในสภาวะที่พีเอชต่ำ และมีประสิทธิภาพในการทำให้น้ำใสขึ้น โดยที่น้ำเสียจากโรงงานผลิตผงชูรสจะเกิดผลพลอยได้ คือสารกลูตามิกมาเธอร์ลิคัว (Glutamic mother liquor) ในปริมาณมาก ซึ่งเป็นแหล่งของ โพแทสเซียมและไนโตรเจน โดยสารอินทรีย์จะถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ ถ้าในน้ำมีออกซิเจนไม่เพียงพอ จะเกิดการย่อยสลายในสภาพไร้ออกซิเจน ทำให้เกิดการเน่าเสียขึ้นและสารอินทรีย์ที่ปะปนอยู่อาจจะเกิดอันตรายต่อแหล่งน้ำหากปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติโดยไม่ผ่านการบำบัด (Sabine *et al.*, 2001)

จากการบำบัดน้ำเสียด้วยยีสต์ (รูปที่ 12) พบว่า สามารถลดค่าซีโอดี แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และฟอสเฟตได้ เนื่องจากยีสต์สามารถกำจัดสารอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยส่วนใหญ่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาวะที่ค่อนข้างเป็นกรด เหมาะสมกับน้ำเสียที่มีปริมาณสารอาหารมาก และมีประสิทธิภาพในการบำบัดที่ดี โดยยีสต์สามารถใช้แบคทีเรียและสารอินทรีย์หรือพวกกรดอินทรีย์ต่างๆ เป็นอาหาร เพราะเซลล์ยีสต์มีขนาดค่อนข้างใหญ่กว่าเซลล์แบคทีเรียทั่วไป จึงทำให้สามารถย่อยสลายสารอาหารและสะสมไว้ได้มากกว่าแบคทีเรียและยังทำให้ลดปัญหาตะกอนลอยได้อีกด้วย นอกจากนี้ยีสต์ยังมีความสามารถในการย่อยสลายและดูดซึมสารอาหารประเภทอินทรีย์สารและไขมันในปริมาณมากได้เป็นอย่างดี ทั้งตัวยีสต์ยังเป็นแหล่งสะสมของสารอาหารต่าง ๆ เช่นโปรตีน วิตามิน กรดอะมิโน ดีเอ็นเอ (DNA) และ อาร์เอ็นเอ (RNA) แร่ธาตุ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร (Reed and Nagodawithana, 1991) ซึ่งเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 12 ผลของการเติมยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 ในน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการลดลงของ (A) พีเอช (B) ซีโอดี (C) แอมโมเนียไนโตรเจน และ (D) ฟอสเฟต ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 28 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งของสารอาหารที่สำคัญต่อจุลินทรีย์ เพราะยีสต์สามารถเกิดกระบวนการย่อยสลายตัวเองได้ (Autolysis) เกิดจากการกระทำของเอนไซม์กลูโคเนส (ß-1,3 gluconase) และเอนไซม์โปรติเอส (protease) ที่มีอยู่ในเซลล์ยีสต์และมี เอนไซม์ (ß-1,6 gluconase) และเอนไซม์แมนนาเนส (mannanase) มีส่วนร่วมในการละลายผนังเซลล์ ซึ่งองค์ประกอบของเซลล์จะถูกทำให้ละลาย จึงเป็นการง่ายต่อการกำจัดและสามารถนำกลับไปใช้ประโยชน์ได้

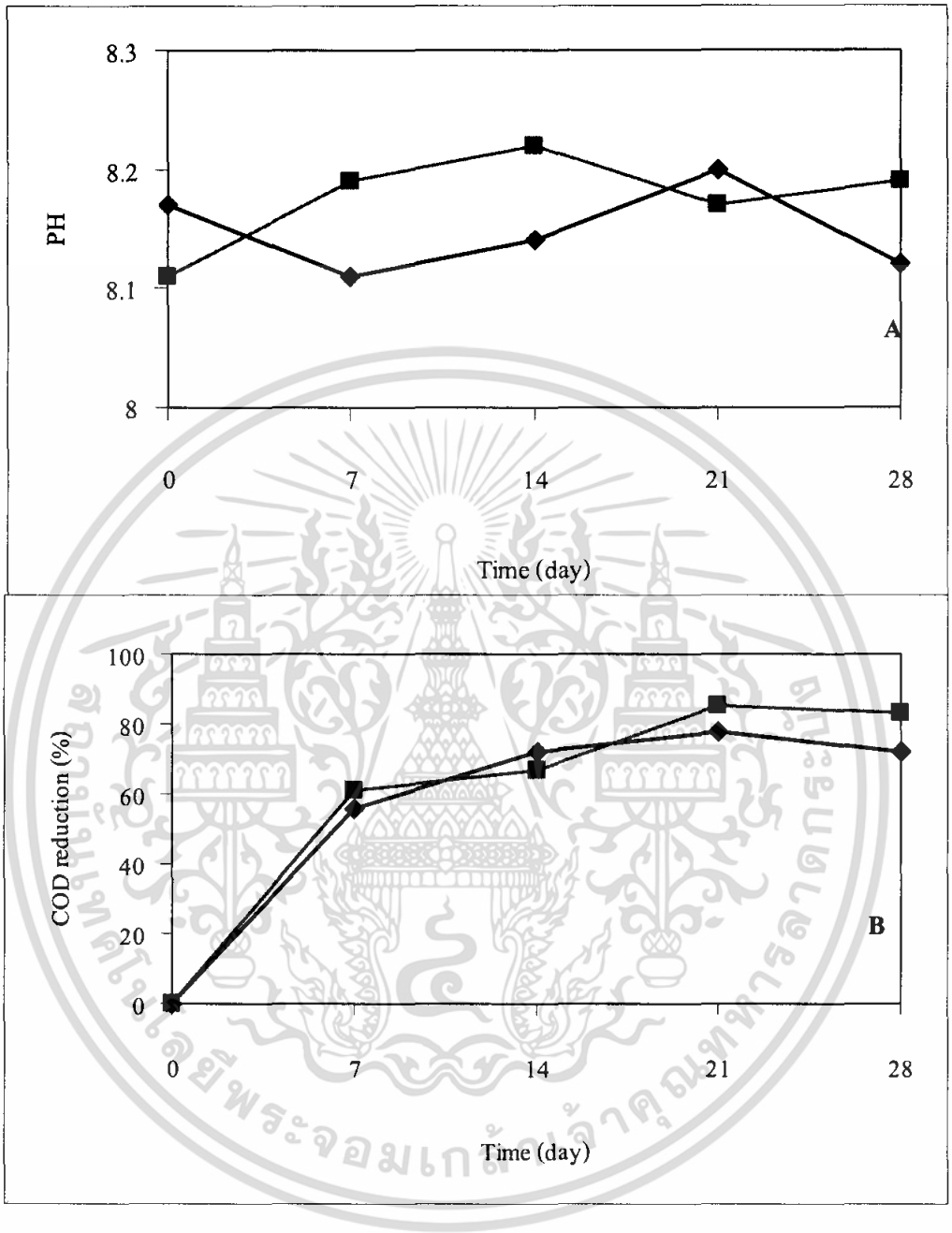
ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไป นำยีสต์ขนมปังปริมาณร้อยละ 0.02 ใช้ในในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

4.4 ผลการศึกษาการเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

ผลการทดลองการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้แบคทีเรียย่อยฟอสเฟต 2 ไอโซเลต (มาริสาและคณะ, 2549) เมื่อนำมาศึกษาเปรียบเทียบลักษณะรูปร่าง สี ขนาด และลักษณะการเจริญของโคโลนีของจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารและย้อมสีแกรมดูรูปร่าง และการจัดเรียงของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (รูปภาคผนวก จ2 และตารางภาคผนวก ง16) พบว่า แบคทีเรียไอโซเลต P1 (26) มีลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร กลม นูน ขอบของโคโลนีเรียบ ทึบแสง ผิวหน้าของโคโลนีเรียบ สีครีม เมื่อนำมาดูลักษณะการจัดเรียงตัวภายใต้กล้อง พบว่า ติดสีน้ำเงิน แกรมบวก รูปร่างกลม และแบคทีเรียไอโซเลต P2 (72) มีลักษณะของโคโลนี เป็นสีหลืองครีม กลม นูน ผิวเรียบ ทึบแสง ผิวหน้าโคโลนีเรียบ ติดสีน้ำเงินแกรมบวก รูปท่อน

ผลของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต 2 ไอโซเลต คือ P1 (26) และ P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ต่อการลดค่าซีโอดี (รูปที่ 13 และตารางที่ 8) พบว่า การเติมแบคทีเรีย P2 (72) สามารถลดค่าซีโอดีสูงสุดร้อยละ 85.28 ในวันที่ 21 ของการบำบัด และการเติมแบคทีเรีย P1 (26) สามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 77.58 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งการลดลงของค่าซีโอดีมีความสัมพันธ์กับการลดลงของค่าแอมโมเนียไนโตรเจนและค่าของฟอสเฟต เนื่องจากการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์เป็นแบบแบตช์ซึ่งเป็นการเจริญในระบบปิด มีการให้อาหารเพียงครั้งเดียว โดยในระยะแรกของการเจริญ เมื่อเติมแบคทีเรียลงไปจะมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมและสารอาหารใหม่ที่ได้รับ จำนวนเซลล์จะคงที่ในขณะที่ภายในเซลล์มีการสร้าง สารต่างๆ และเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเจริญ หลังจากเวลาผ่านไปจุลินทรีย์จะมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีสารอาหารในปริมาณสูง อัตราการเจริญของจุลินทรีย์และกิจกรรมในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียสูงสุด เมื่อการเพิ่มขึ้นของเซลล์มากขึ้นมีผลทำให้สารอาหารที่อยู่ ลดจำนวนคง แต่มีเพียงพอสำหรับการเจริญของเซลล์ ในช่วงนี้การเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 13 Time course ของการลดลงของ (A) พีเอช และ (B) ค่าซีโอดี (ร้อยละ) จากการบำบัดโดยแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซสเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ผลของการเติมแบคทีเรีย P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์ต่อการลดลงของค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน ฟอสเฟต และการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ณ วันที่ 21 ของการบำบัด

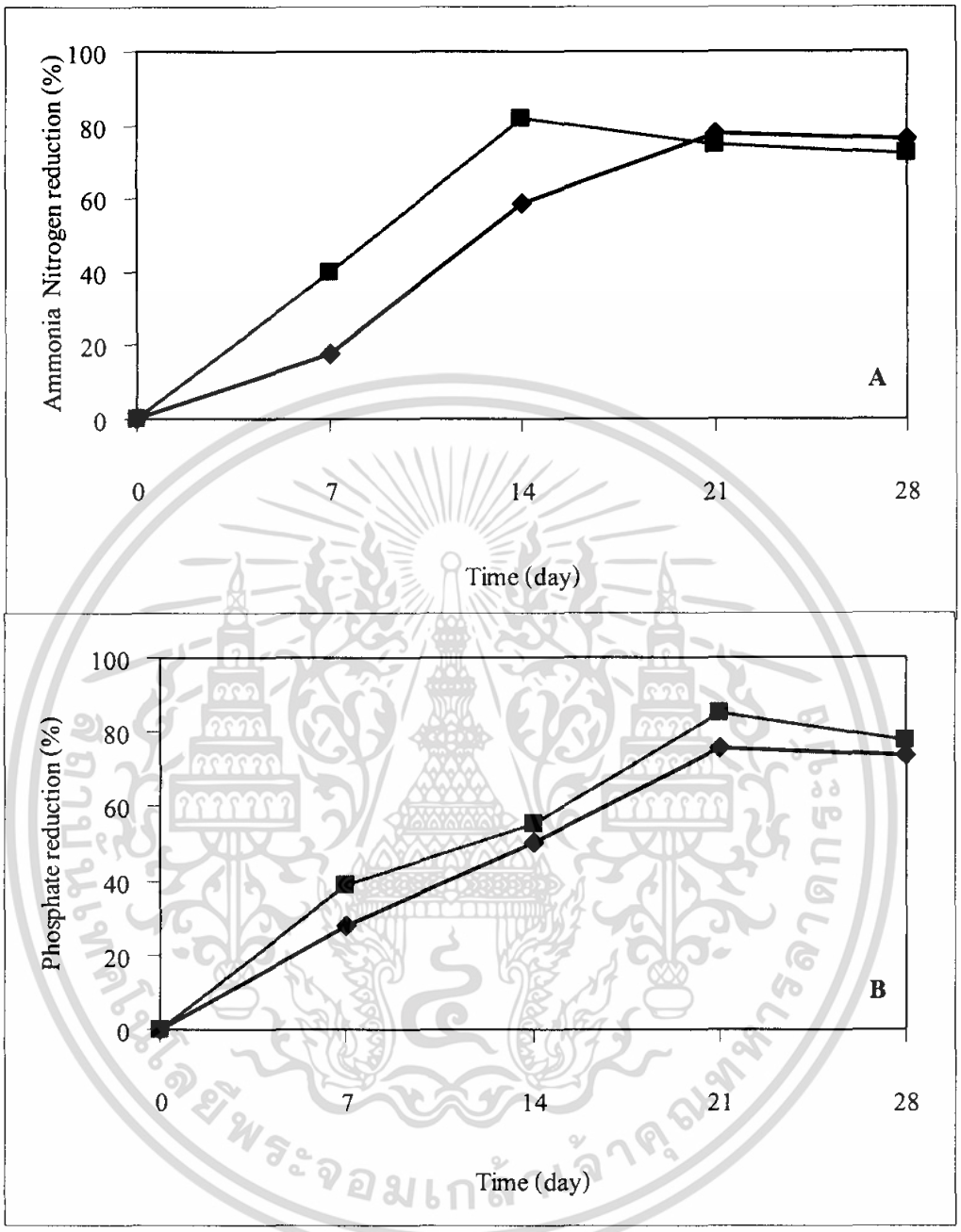
ชนิดของแบคทีเรียปริมาณร้อยละ 2	ซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)	แอมโมเนียไนโตรเจนที่ลดลง (ร้อยละ)	ฟอสเฟตที่ลดลง (ร้อยละ)	พีเอช
ชุดควบคุม	0	0	0	8.15[a]
แบคทีเรีย P1	77.77[b]	77.63[a]	75.64[b]	8.20[a]
แบคทีเรีย P2	85.28[a]	74.88[b]	84.97[a]	8.17[a]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

แบคทีเรียจะลดน้อยลง เมื่อจำนวนจุลินทรีย์มีการที่สุด สารอาหารต่างๆ จะลดน้อยลงในขณะเดียวกันก็เกิดของเสียจากการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นอัตราการเจริญจะเป็นศูนย์และสารอาหารเหลือน้อยลงไปอีก อัตราการตายสูงกว่าการเจริญ ทำให้เกิดของเสีย ค่าซีโอดีจึงเพิ่มขึ้น (ทวี, 2538)

ผลของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต 2 ไอโซเลตต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ เป็นเวลา 28 วัน ต่อการลดลงของค่าแอมโมเนียไนโตรเจนและฟอสเฟต (ตารางที่ 8 และรูปที่ 14) พบว่าการเติมแบคทีเรีย P1 (26) และ แบคทีเรีย P2 (72) สามารถลดค่าแอมโมเนียไนโตรเจนได้สูงสุดร้อยละ 77.63 และ 74.88 ตามลำดับ ภายหลังการบำบัดเป็นเวลา 21 วัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สำหรับการลดลงของฟอสเฟต (รูปที่ 15) พบว่า แบคทีเรีย P2 (72) สามารถลดค่าฟอสเฟตได้สูงสุดคิดเป็นร้อยละ 84.97 หลังจากการบำบัดเป็นระยะเวลา 21 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 14 Time course ของการลดลงของค่า (A) แอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) และฟอสเฟต (ร้อยละ) จากการบำบัดโดยเติมแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

แบคทีเรีย P1 แบคทีเรีย P2

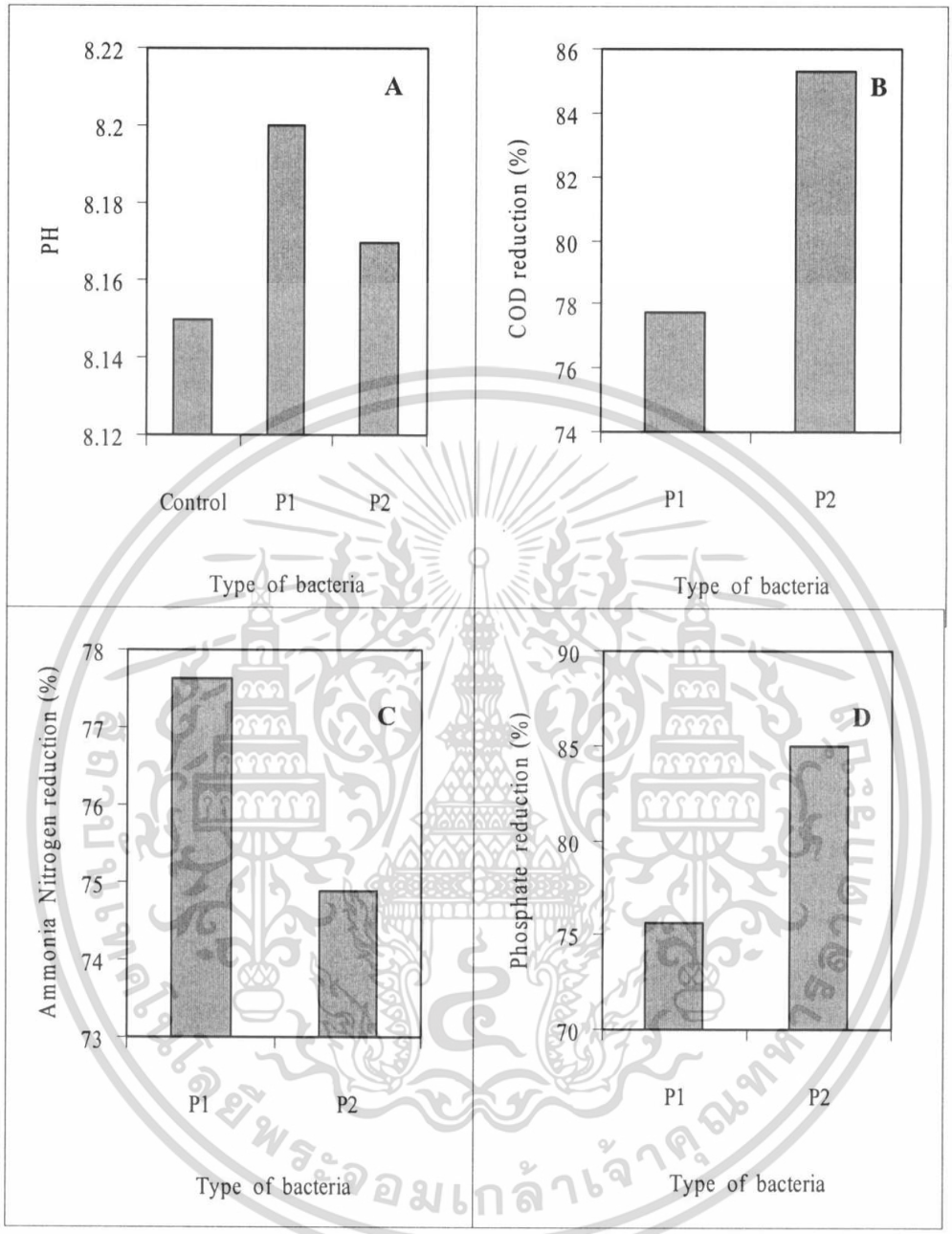
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งมีค่าการลดลงสูงกว่าแบคทีเรีย P1 (26) โดยที่สามารถลดลงร้อยละ 75.64 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งจากการทดลองมีความสอดคล้องกับการทดลองของ ชลิต (2535) ซึ่งได้ศึกษาผลของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus subtilis* ในการย่อยสลายสารอินทรีย์จากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยเลี้ยงกุ้งในบ่อซีเมนต์ที่มีพื้นที่มีพื้นเป็นดินเหนียว ปล่อยกุ้งความหนาแน่น 40 ตัวต่อตารางเมตร พบว่า จากการเติมแบคทีเรียในอัตรา 1 กิโลกรัมต่อไร่ทุกๆ 2 สัปดาห์ ทำให้กุ้งมีอัตรารอดสูง แต่มีความยาวและน้ำหนักเฉลี่ยไม่แตกต่างกับชุดควบคุม สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในการเลี้ยงระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า สามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ได้ 69 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณแอมโมเนีย ไนเตรทและค่าบีโอดีต่ำกว่าการทดลองที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย และมีความสอดคล้องกับการทดลองของ นฤมล (2546) ซึ่งได้ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากดินทั้งหมด 30 ไอโซเลต พบว่าเป็น *Bacillus* sp. 14 ไอโซเลต *Neisseria* sp. 5 ไอโซเลต *Acinetobacter* sp. 5 ไอโซเลต *Staphylococcus* sp. 1 ไอโซเลต *Enterobacter* 4 ไอโซเลต *Proteus* 1 ไอโซเลต และ *Micrococcus* sp. 1 ไอโซเลต โดยนำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบกับน้ำเสียสังเคราะห์ เป็นเวลา 3 วัน พบว่า เชื้อ *Bacillus* sp. ให้ค่าการลดลงของฟอสเฟตได้สูงสุดคิดเป็นร้อยละ 91.67 และการลดลงของฟอสเฟตโดยใช้ *Micrococcus* sp. มีค่าการลดลงคิดเป็นร้อยละ 62.3 การที่แบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลตสามารถลดค่าฟอสเฟตได้ดี เนื่องจาก แบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลตสามารถสร้างเอนไซม์ฟอสฟาเทส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยนฟอสฟอรัสให้กลายเป็นฟอสเฟตที่สามารถละลายน้ำ จุลินทรีย์ที่อยู่ในแหล่งน้ำสามารถที่จะนำไปใช้ในการสร้างองค์ประกอบของเซลล์ จึงมีผลทำให้ปริมาณฟอสเฟตลดน้อยลง

ผลจากการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (รูปที่ 13 และตารางที่ 8) โดยการเติมแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต 2 ไอโซเลต พบว่า ระยะเวลาการบำบัด (28 วัน) ค่าพีเอชของทั้ง 2 ไอโซเลต ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ค่าพีเอชของทั้ง 2 ไอโซเลตจะอยู่ในช่วง 8 — 8.5

จากการผลการทดลองข้างต้น (รูปที่ 15) พบว่า การใช้แบคทีเรียย่อยฟอสเฟต 2 ไอโซ-เลตคือ แบคทีเรีย P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ สามารถลดค่าต่างๆ ในน้ำเสียสังเคราะห์ ได้แก่ การลดค่าซีโอดี การลดลงของแอมโมเนียไนโตรเจน และฟอสเฟตลดลง เนื่องจากการบำบัดน้ำเสียส่วนใหญ่ 85 เปอร์เซ็นต์จะเป็นแบคทีเรียในการช่วยบำบัด โดยแบคทีเรียสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ สิ่งปฏิกูลที่มีแป้ง และโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบ สามารถย่อยสลายฟีนอลได้ (สุวลี, 2536) สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ ได้ดี สารอินทรีย์ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ จะถูกย่อยสลายให้เป็นแร่ธาตุต่างๆ ส่วนอีก 40 เปอร์เซ็นต์ จะถูกเปลี่ยนไปเป็นส่วนประกอบของเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 15 ผลของการเติมแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ต่อการลดลงของซีโอดี (A) แอมโมเนียไนโตรเจน (B) ฟอสเฟต (C) และการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (D) ในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง ณ วันที่ 28 ของการบำบัดน้ำเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรีย (บัญญัติ, 2532) ในบ่อเลี้ยงกุ้งจะใช้จุลินทรีย์พวก *Bacillus* เพื่อย่อยสลายอินทรีย์การสังเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์ และย่อยสลายเศษอาหารที่ตกค้างจากกุ้ง
ให้เป็นแอมโมเนีย - ไนเตรท ซึ่งอยู่ในรูปที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำมากนัก ในการใช้จุลินทรีย์ในบ่อกุ้งเป็นการ ประหยัดปุ๋ย และไม่ต้องควบคุมสีน้ำเมื่อมีอาหารเหลือ หรือของเสียจากขี้กุ้งตกค้างในบ่อ เมื่อใช้จุลินทรีย์ลงไปย่อยจะ ได้แอมโมเนีย ไนเตรท และไนโตรเจนออกมาซึ่งพืชก็สามารถนำไปใช้ได้ ช่วยเพิ่มปริมาณแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ด้วย ส่วนจุลินทรีย์บางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในความเค็มต่ำ บางชนิดเจริญเติบโตได้ดีในความเค็มปานกลางประมาณ 20 ส่วนในพัน หรือ สูงประมาณ 30-35 ส่วนในพัน และการที่แบคทีเรียสามารถย่อยสลายฟอสเฟตลงได้ เนื่องจากแบคทีเรียสามารถผลิตเอนไซม์ฟอสฟาเทส ที่ย่อยฟอสฟอรัสให้กลายเป็นฟอสเฟตที่ละลายน้ำ จุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำสามารถให้ฟอสเฟตได้ มีผลทำให้ฟอสเฟตลดลง (ทวี , 2539)

แบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) มีประโยชน์ต่อการบำบัดน้ำเสีย เนื่องจากสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ โดยเข้าไปแย่งพื้นที่ แย่งอาหารรวมทั้งปัจจัยอื่นๆ จากแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เพื่อสร้างตัวเองให้โดดเด่นขึ้นมา หรือมีปริมาณมากกว่าแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคตลอดจนสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiotic) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้โดย *Bacillus. subtilis* จะสร้างสาร Mycobacillin Subtilin Bacilysin Bacillin และ Subsprorin ส่วน *Bacillus licheniformis* สามารถสร้างสาร Bacitraciin Proticin และ Licheniformin (Edward and Amold, 1977)

ดังนั้นจึงนำแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) ในปริมาณร้อยละ 2 มาใช้การบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ต่อไปในขั้นต่อไป

4.5 ผลการศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์โบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์

ผลจากการศึกษาการหาประสิทธิภาพของน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือกพันธุ์ปัตตาเวีย หัวเชื้อยีสต์ และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต (มาริสาและคณะ, 2549) ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน พบว่า จากการคัดเลือกจะใช้น้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 20 เชื้อยีสต์ขนมปังปริมาณร้อยละ 0.02 และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 เพื่อเติมลงในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 49 วัน ต่อการลดค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน ฟอสเฟต และพีเอช (ตารางที่ 9)

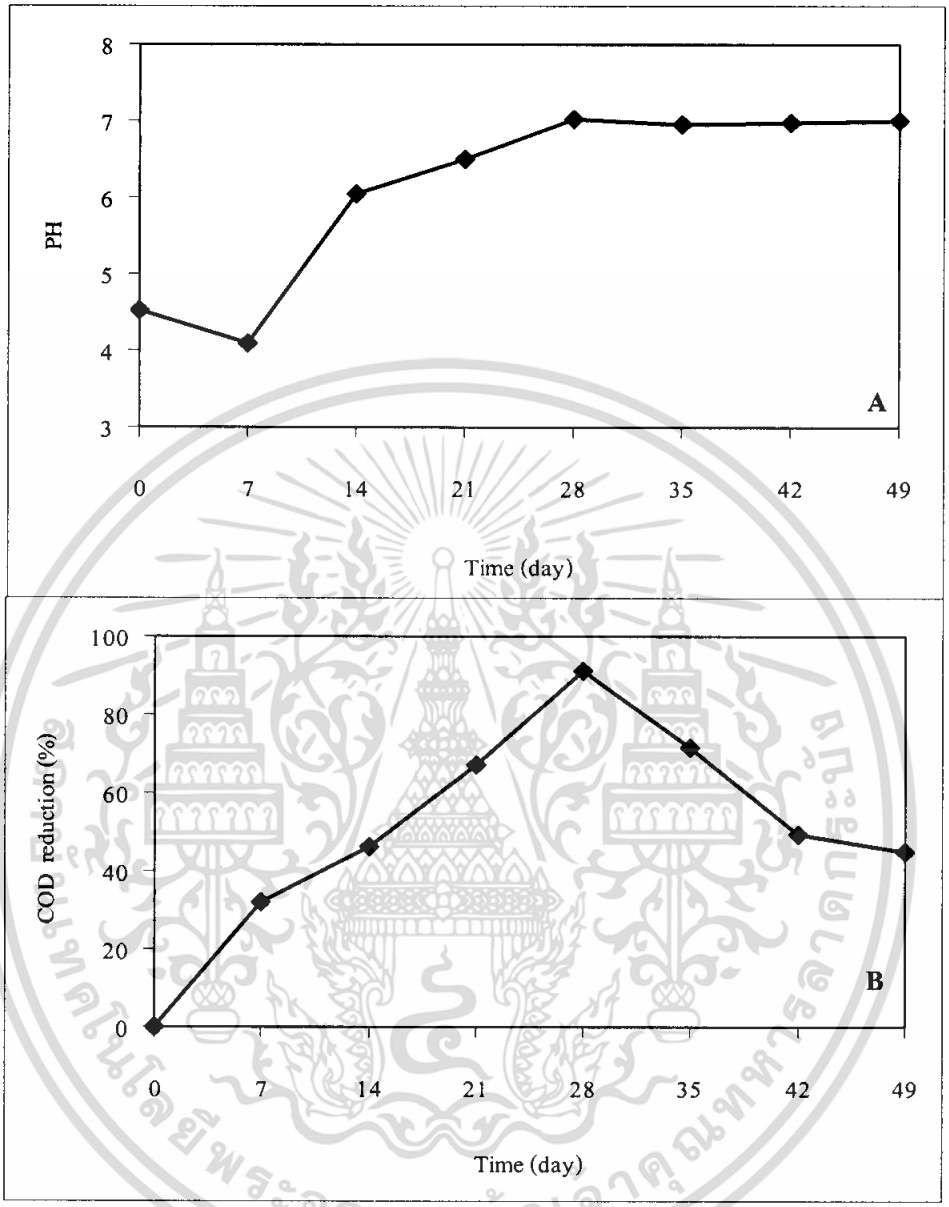
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ผลของการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดส่วนเปลือกปริมาณร้อยละ 20 ยีสต์ขนมปัง ปริมาณร้อยละ 0.02 และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์ ต่อการลดลงของค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน ฟอสเฟต และการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 49 วัน

ชนิดของน้ำเสีย	ซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)	แอมโมเนียไนโตรเจนที่ลดลง (ร้อยละ)	ฟอสเฟตที่ลดลง (ร้อยละ)	พีเอช
ชุดควบคุมน้ำเสียสังเคราะห์	0	0	0	8.15
น้ำเสียสังเคราะห์	91.21	86.50	84.12	7.02

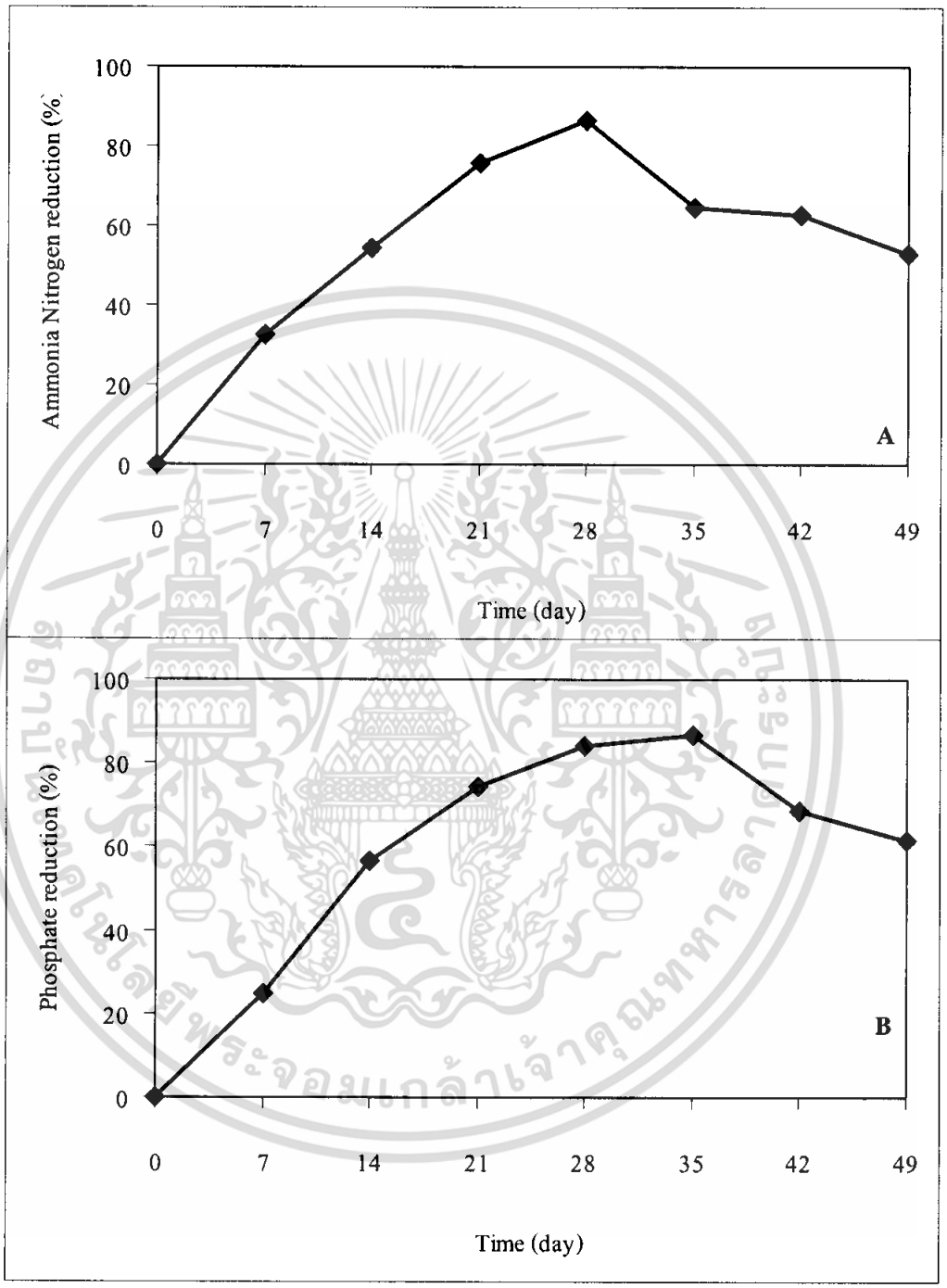
พบว่า การบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ โดยเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด (ร้อยละ 20) ยีสต์ขนมปัง (ร้อยละ 0.02) และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) (ร้อยละ 2) ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 49 วัน (รูปที่ 16) พบว่า สามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 91.21 ในวันที่ 28 ของการบำบัดน้ำเสีย และหลังจากวันที่ 28 พบว่า ค่าซีโอดีมีการเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 49 ซึ่งผลของการลดลงของค่าซีโอดี มีผลต่อการลดลงของค่าแอมโมเนียไนโตรเจน และค่าฟอสเฟต (รูปที่ 17) โดยที่การลดลงของค่าแอมโมเนียไนโตรเจนและฟอสเฟตลดลงสูงสุด คิดเป็นร้อยละ 86.5 และ 84.12 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Takata *et al.* (2005) ที่ใช้น้ำคั้นสับปะรดจากส่วนเปลือกปริมาณร้อยละ 20 ต่อการบำบัดน้ำเสียร่วมกับยีสต์ที่มีชีวิต โดยพบว่า น้ำเสียเริ่มต้น (ซีโอดีเท่ากับ 63.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะมีกลิ่นเน่าเหม็น เป็นสีดำ หลังผ่านการบำบัดเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า มีการลดลงของค่าซีโอดีคิดเป็นร้อยละ 40.91 การลดลงของแอมโมเนียไนโตรเจนและการลดลงของฟอสเฟตคิดเป็นร้อยละ 37.84 และ 11.95 ตามลำดับ แต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 16 Time course ของ (A) การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (B) การลดค่าซีโอดี (ร้อยละ) โดยการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด (ร้อยละ 20) ยีสต์ขนมปัง (ร้อยละ 0.02) และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) (ร้อยละ 2) ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 49 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 17 Time course ของ (A) การลดแอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) (B) การลดฟอสเฟต (ร้อยละ) โดยการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด (ร้อยละ 20) ยีสต์ขนมปัง (ร้อยละ 0.02) และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) (ร้อยละ 2) ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 49 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าที่ได้จากการทดลองพบว่ามีการลดลงของค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน และฟอสเฟตมากกว่า คือ ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 91.21 แอมโมเนียไนโตรเจนและการลดลงของฟอสเฟตคิดเป็นร้อยละ 86.5 และ 86.67 ตามลำดับ เนื่องจากประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต ซึ่งทำให้มีการย่อยสลายฟอสเฟตได้ดีกว่า จึงส่งผลให้ค่าซีโอดีลดต่ำลงมากกว่าการทดลองของ Takata *et al.* (2005)

ผลจากการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชระหว่างการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ (พีเอช 8.15) (รูปที่ 16) พบว่า การเติมเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด (ร้อยละ 20) ยีสต์ขนมปัง (ร้อยละ 0.02) และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) (ร้อยละ 2) มีผลทำให้ค่าพีเอชของน้ำเสียสังเคราะห์ลดต่ำลง (พีเอช 4.52) ในวันที่ 0 ของการบำบัด และเมื่อเวลาผ่านไป พบว่า ค่าพีเอชจะเพิ่มสูงขึ้นมากที่สุดในวันที่ 28 (พีเอช 7.02) ซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และเมื่อระยะเวลาการบำบัดผ่านไปจนถึงวันที่ 49 พบว่าค่าของพีเอช ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์จะมีช่วงของพีเอชอยู่ที่ 4 – 8.5

การตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนในน้ำเสียสังเคราะห์ พบว่ามีปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนเริ่มต้น 0.22 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (ตารางภาคผนวก ง17) และเมื่อทำการวัดกิจกรรมเอนไซม์โบรมิเลนในวันที่ 49 พบว่าไม่สามารถตรวจพบเอนไซม์โบรมิเลน เพราะเอนไซม์เกิดการเสียสภาพ เมื่ออยู่ในสภาะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม

จากผลการทดลองข้างต้น พบว่าการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรด (ร้อยละ 20) ร่วมกับยีสต์ขนมปัง (ร้อยละ 0.02) และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) ต่อการลดค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน และฟอสเฟต ในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยพบว่าสามารถลดค่าต่างๆ ได้ เนื่องจาก กลไกการบำบัดน้ำเสียจะเริ่มต้นจากการเติมชนิดของการบำบัดทั้งสามโดยจะมีผลทำให้เกิดการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในน้ำเสีย ซึ่งในน้ำเพาะเลี้ยงกุ้งจะมี จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และจุลินทรีย์ที่ก่อโรค เมื่อเกิดการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดประโยชน์จะส่งผลทำให้ออกซิเจนในน้ำมีเพิ่มมากขึ้น ประกอบกับการเพิ่มพื้นที่ที่แสงแดดส่องถึง ให้มีบริเวณกว้างและยาวขึ้นทำให้สาหร่ายและแพลงก์ตอนเกิดอย่างเหมาะสม ซึ่งเป็นแหล่งของการผลิตออกซิเจนที่ละลายน้ำให้เพิ่มมากขึ้น ผลของการทำการของน้ำคั้นหยาบสับปะรดจะส่งผลทำให้กระตุ้นแบคทีเรียในกลุ่ม Nitrifying bacteria, Sulfur bacteria และ Denitrifying bacteria และการทำงานของยีสต์ขนมปังในการบำบัดน้ำเสีย โดยที่ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีโครงสร้างใหญ่ ค่อนข้างกลม เจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ ซึ่งยีสต์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของน้ำคั้นหยาบสับปะรดและการบำบัดให้มากขึ้น เนื่องจากโครงสร้างของยีสต์มีองค์ประกอบเป็นโปรตีน เช่น กรดอะมิโน ดีเอ็นเอ (DNA) และ อาร์เอ็นเอ (RNA) แร่ธาตุ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และใยอาหาร (dietary fibre) (Reed and

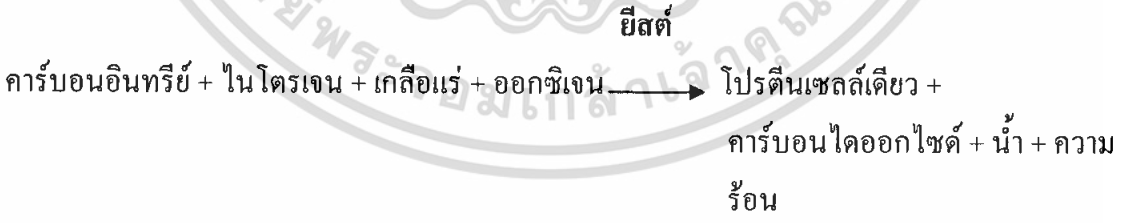
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nagodawithana, 1991) ซึ่งเป็นแหล่งสารอาหารที่สำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ เพราะกระบวนการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ที่มีชีวิต (Autolysis) เกิดจากการกระทำของเอนไซม์กลูโคเนส (ß-1,3 gluconase) และเอนไซม์โปรติเอส (protease) ที่มีอยู่ในเซลล์ยีสต์และมีเอนไซม์ (ß-1,6 gluconase) และเอนไซม์แมนนาเนส (mannanase) มีส่วนร่วมในการละลายผนังเซลล์ ซึ่งองค์ประกอบของเซลล์จะถูกทำให้ละลาย โดยเอนไซม์โบรมิเลนจากน้ำคั้นสับปะรดจะช่วยเพิ่มการละลายในระหว่างการเกิดการย่อยสลายตัวเอง (Autolysis) และเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟอสเฟตด้วยแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต ในกลุ่มของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต โดยจุลินทรีย์จะช่วยย่อยสลายเศษอาหารเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียให้อยู่ในรูปไนเตรทที่ไม่เป็นอันตราย และควบคุมสีน้ำ เมื่อใช้จุลินทรีย์ลงไปย่อยจะได้แอมโมเนีย ไนเตรท และไนโตรเจนออกมา (พืชสามารถนำไปใช้ได้ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ และบทบาทของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต สามารถเปลี่ยนฟอสฟอรัสให้กลายเป็นฟอสเฟตที่ละลายน้ำ เพื่อให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียสามารถนำไปใช้ประโยชน์ (มะลิ, 2531) ซึ่งมีสอดคล้องกับการวิจัยของ เกรียงศักดิ์ (2545) ที่พบว่า แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* sp. ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารเสริมชีวนะหรือจุลินทรีย์ โพรไบโอติก ช่วยเป็นตัวข่มหรือแข่ง (Competitive Exclusion, CE) โดยจะช่วยทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค อีกทั้งยังช่วยปรับสภาพน้ำและควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง ทั้งนี้การปรับปรุงคุณภาพน้ำจากการเพาะเลี้ยง โดยการเพิ่มจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่า มีความแตกต่างของคุณภาพน้ำในเรื่องความขุ่นใส ออกซิเจนละลายน้ำ แอมโมเนีย และพีเอช อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ระหว่างบ่อเลี้ยงที่ใช้ และไม่ได้ใช้จุลินทรีย์

จากการทดลองข้างต้น พบว่า กระบวนการบำบัดน้ำเสียจะมีประสิทธิภาพดีขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น สารอาหารในน้ำน้ำเสีย พีเอช อุณหภูมิ เป็นต้น (สมสุข, 2524) การบำบัดที่ให้ประสิทธิภาพดีจะต้องทำการบำบัดร่วมกัน คือเมื่อใช้บำบัดร่วมกันของน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากเปลือกสับปะรด เชื้อยีสต์ขนมปัง และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต มีผลทำให้สามารถลดค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน และฟอสเฟตลงได้มากกว่าการบำบัดเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง ซึ่งกลไกการทำงานร่วมกันของทั้งสามชนิดพบว่า น้ำสับปะรดส่วนใหญ่จะมีน้ำตาลองค์ประกอบ โดยมีน้ำตาลฟรุกโทส น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส ซึ่งปริมาณของน้ำตาลซูโครสที่วิเคราะห์ได้สูงถึง 71 เปอร์เซ็นต์ของน้ำตาลทั้งหมดในน้ำสับปะรด (Krueger *et al.*, 1992) จุลินทรีย์สามารถใช้น้ำตาลเหล่านี้เป็นอาหารในการเจริญ โดยในช่วงแรกของการบำบัดทั้งยีสต์ขนมปังและแบคทีเรีย P2 (72) จะปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่สารอาหารใหม่ จำนวนเซลล์จะคงที่ในขณะที่ภายในเซลล์มีการสร้างสารต่างๆ ระยะต่อมาจะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว โดยการบำบัดในช่วงแรกส่วนใหญ่จะเป็นการทำงานของยีสต์ขนมปัง เพราะผลของน้ำสับปะรดที่เติมลงไป ทำให้ค่าพีเอชลด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่ำลง พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์คือ พีเอชต่ำกว่า 6 (ธงชัย, 2538) ยีสต์จะใช้สารอาหารในน้ำเสียและสารอาหารจากน้ำสับปะรด ในสภาพใช้อากาศเกิดเป็นกระบวนการหายใจได้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์และคาร์บอนไดออกไซด์ และผลผลิตอื่นๆ (ธีระ, 2539) ซึ่งระยะเวลาผ่านไปค่าของพีเอชจะเพิ่มขึ้น (พีเอช 7) จุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการเจริญคือแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้ดี เมื่อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเสียจะย่อยสลายสารอาหารมีการเจริญเติบโต หลังจากนั้นจะตายลง แบคทีเรียจะสามารถใช้สารอาหารจากยีสต์ได้ เนื่องจาก องค์ประกอบที่อยู่ในตัวยีสต์โดยทั่วไปเซลล์ยีสต์ประกอบด้วยโปรตีน 45-55 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่สำคัญหลายชนิด นอกจากนี้เซลล์ยีสต์ยังประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 30-35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีองค์ประกอบของไกลโคเจนที่เป็นแหล่งพลังงาน อีกทั้งยังมีกลูแคนและแมนแนน ซึ่งเป็นแหล่งของเส้นใยละลายอยู่ด้วย ทั้งนี้ยีสต์ยังมีองค์ประกอบของไนโตรเจน 7.5-9 เปอร์เซ็นต์ กรดนิวคลีอิก 6-12 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 5-9.5 เปอร์เซ็นต์ และองค์ประกอบที่เป็นไขมันอยู่ 2-6 เปอร์เซ็นต์ และวิตามินบีรวม ซึ่งเมื่อยีสต์ตายแบคทีเรียสามารถใช้ได้ กระบวนการย่อยสลายสารอาหารของยีสต์ขนมปัง ซึ่งยีสต์ขนมปังเป็นจุลินทรีย์แบบเฟคัลเททีฟ ซึ่งมีความสามารถในการผลิตพลังงานได้ด้วยตัวเองจากสารประกอบอินทรีย์ที่เหมาะสมภายใต้ทั้งสภาวะมีอากาศและไร้อากาศ ภายในของเซลล์ยีสต์น้ำตาลจะถูกเมตาโบไลต์ไปเป็นคาร์บอนและน้ำ สำหรับใช้ในการผลิตพลังงานที่ภายใต้สภาวะมีอากาศโมเลกุลของน้ำตาลจะให้พลังงานสูงสุดแก่เซลล์ ถ้าไม่มีออกซิเจนเหลืออยู่ พลังงานที่ได้จากน้ำตาลก็จะต่ำ และภายใต้สภาวะไร้อากาศจะเกิดการหมักของน้ำตาลนำไปสู่การเกิดเอทานอล และอาจจะเกิดขึ้นได้ในกรณีมีอากาศถ้ามีปริมาณน้ำตาลมากเกินความต้องการ และยีสต์สามารถนำสารอาหารไปใช้ได้ดังสมการ



ดังนั้นจากการทดลองการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ พบว่าเป็นวิธีการบำบัดทางชีววิทยาและเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการบำบัดสูงสุด จำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์หลายชนิดร่วมกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์โบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ โดยใช้น้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือกของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ยีสต์ขนมปัง (*Saccharomyces cerevisiae*) ยีสต์ลูกแป้งข้าวหมาก และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต 2 ไอโซเลต (มาริสาและคณะ, 2549) โดยศึกษาในเรื่องต่างๆ ได้แก่ การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนจากส่วนต่างๆ ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ผลของความเข้มข้นเอนไซม์โบรมิเลนที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ ผลการศึกษาการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้หัวเชื้อยีสต์ และผลการศึกษาการเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน สามารถสรุปได้ดังนี้ คือ

1. การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โบรมิเลนจากส่วนต่างๆ ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย พบว่า ในส่วนของเนื้อมีปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนมากที่สุด รองลงมาคือ เปลือก แกน วัดกิจกรรมได้ 1.34 0.96 และ 0.46 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาจากจุดคุ้มทุนในด้านการจัดหา พบว่าในส่วนเปลือกมีเอนไซม์ต่อหน่วยมากที่สุดรองลงมาคือ แกน และเนื้อ วัดกิจกรรมเอนไซม์โบรมิเลนได้ 0.23 0.08 และ 0.05 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังนั้นน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือก จึงมีความเหมาะสมในการเลือกนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียในขั้นตอนต่อไป ทั้งนี้เนื่องจาก ส่วนเปลือกเป็นเศษเหลือทิ้ง ที่ไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมและการบริโภค หาง่าย ต้นทุนต่ำ และยังมีค่าพีเอชใกล้เคียงกับส่วนเนื้อและทั้งผล จึงเป็นการเพิ่มประโยชน์และลดปัญหาขยะอันเกิดจากเศษเหลือทิ้งจากภาคการเกษตร

2. การศึกษาผลของความเข้มข้นน้ำคั้นหยาบสับปะรดที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ โดยการเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือกที่ปริมาณร้อยละ 10 , 20 และ 30 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 28 วัน ตามสภาวะการทดลองดังที่กล่าวในข้างต้นนั้น โดยทำการวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ พบว่า น้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 20 มีผลต่อการลดลงของค่าซีโอดีได้มากที่สุดรองลงมาคือความเข้มข้นร้อยละ 30 และ 10 สามารถลดลงคิดเป็นร้อยละ 27.47 25.49 และ 18.75 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) น้ำคั้นหยาบสับปะรดจากส่วนเปลือกความเข้มข้นร้อยละ 20 มีผลต่อการลดลงของค่าแอมโมเนียไนโตรเจนได้มากที่สุด รองลงมาคือความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 30 ลดได้ร้อยละ 18.13 17.38 และ 13.63 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่น้ำคั้นหยาบสับปะรดร้อยละ 10 20 และ 30 ไม่มีผลต่อการลดลงของค่าฟอสเฟต (ร้อยละ 1.45 1.58 และ 1.21 ตามลำดับ) พีเอชของการบำบัดอยู่ใน ช่วง 4-6

3. ผลการศึกษาการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้หัวเชื้อยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า ยีสต์ขนมปังสามารถลดค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจนและฟอสเฟตได้สูงสุดร้อยละ 66.66 65.63 และ 36.36 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าการลดลงมากกว่าจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากซึ่งสามารถลดได้ร้อยละ 52.78 61.50 และ 35.64 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในวันที่ 28 ของการบำบัด อีกทั้งยีสต์ขนมปังยังช่วยทำให้น้ำใสขึ้น ทำให้เกิดการบำบัดน้ำเสีย พืชน้ำและสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศดำรงอยู่ได้ และช่วยลดกลิ่นเหม็น พีเอชของการบำบัดอยู่ในช่วง 6 - 8.5

4. ผลการศึกษาการเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ พบว่า การบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้แบคทีเรียย่อยฟอสเฟตทั้ง 2 ไอโซเลต (มาริสาและคณะ, 2549) ปริมาณร้อยละ 2 ซึ่งแบคทีเรียไอโซเลต P1 (26) และไอโซเลต P2 (72) พบว่า แบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72) มีผลต่อการลดลงของค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน และฟอสเฟตได้สูงสุดคิดเป็นร้อยละ 85.28 74.88 และ 84.97 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าการลดลงมากกว่าการเติมแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) ที่สามารถลดลงได้สูงสุด คิดเป็นร้อยละ 77.77 77.76 และ 75.64 ตามลำดับ ในวันที่ 21 ของการบำบัด อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) พีเอชในการบำบัดอยู่ในช่วง 8-8.5

5. การศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์โบรมิเลนและหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ ด้วยน้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 20 ยีสต์ขนมปังปริมาณร้อยละ 0.02 และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตไอโซเลต P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) ระยะเวลานาน 49 วัน พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดีและแอมโมเนียไนโตรเจนสูงสุดในวันที่ 28 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งสามารถลดค่าซีโอดี แอมโมเนียไนโตรเจน และฟอสเฟตได้ร้อยละ 91.21 86.50 และ 84.12 ตามลำดับ ในวันที่ 35 ของการบำบัดน้ำเสีย โดยที่พีเอชในการบำบัดอยู่ในช่วง 4 – 8.5

ข้อเสนอแนะ :

- เนื่องจากยีสต์ขนมปังที่นำมาใช้ในการทดลองเป็นยีสต์ผงแห้ง ซึ่งจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาด ทำให้มีหัวเชื้อยีสต์อยู่ในปริมาณน้อย มีผลทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการบำบัดไม่ดีเท่าที่ควร ดังนั้นจึงควรใช้ยีสต์ที่มีชีวิตที่เก็บรักษาโดยการแช่แข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2536. คู่มือการเลี้ยงกุ้งทะเล. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ

กรมประมง. 2543. สถิติการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลปี 2540. กองเศรษฐกิจการประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมประมง. 2545. วารสารการประมง. 55 (4): 334 - 335

กระทรวงอุตสาหกรรม. 2546. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช.๓/๒๕๔๖) สาโท. ไทยเจริญการพิมพ์. กรุงเทพฯ

กฤษณามรวิสิฐ. ขุน 2490. ข้าวหมาก. สามิตสาร 7 (2)

กฤติกานต์ มหาวรรณ. 2523. การคัดเลือกสายพันธุ์ราที่มีความสามารถในการย่อยแป้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เกรียงศักดิ์ พูนสุข 2535ก.ผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อมจากการเลี้ยงสัตว์,จุลสารสภาวะแวดล้อมปีที่ 11 ฉบับที่ 6 หน้า 20-33.

เกรียงศักดิ์ พูนสุขและสุภาพ กำลังแพทย์ 2541.จำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ในน้ำและดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (ข้อมูลส่วนตัว)

เกรียงศักดิ์ พูนสุข 2535 ข.เทคโนโลยีชีวภาพกับการเลี้ยงสัตว์.จุลสารยาและเคมีภัณฑ์สำหรับเลี้ยงสัตว์:ปีที่ 2 ฉบับที่ 3 ธันวาคม 2535 หน้า 1-13.

เกรียงศักดิ์ พูนสุข 2535ก. ผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อมจากการเลี้ยงสัตว์ , จุลสารสภาวะแวดล้อม ปีที่ 11 ฉบับที่ 6 หน้า 20-33. ศิริโฉม เหลืองอ่อน. 2536. จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ในนากุ้งกุลาดำ. รายงานการวิจัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 65 น.

เกรียงศักดิ์ พูนสุขและสุภาพ กำลังแพทย์ (2544) : เทคโนโลยีชีวภาพกับการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ: การสัมมนางานวันกุ้งสุราษฎร์ธานี กุมภาพันธ์ 2544

เกรียงศักดิ์ พูนสุข 2545.การผลิตสินค้าเกษตรในยุคต้นคริสศตวรรษที่ 21.ประมวลผลงานการประชุมวิชาการเรื่อง เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการพัฒนาเกษตรกรรมไทย จัดโดยสถาบันราชมงคล

กัลยา วงศ์สินอุดม. 2520. การแยกและการศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์จากลำต้นสับปะรดที่สามารถย่อยโปรตีนได้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กำเนิด สุกัณวงษ์. 2534. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรองแก้ว พูนสวัสดิ์. 2516. การศึกษาจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมาก. ปัญหาพิเศษ วท.บ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

คนึงนิจ โพธิสุวรณ และชุดิมา สินธนาวีวงศ์. 2539. การศึกษษการผลิตเอทานอลจากเปลือกสับปะรดโดยเชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae TISTR 5339. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

จตุรพร พรศิลปทิพย์. 2527. เอนไซม์ย่อยแป้งดิบจากเชื้ออะไมโลไมซีส. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ

จารุพันธ์ ทองแถม. มล. 2526. สัปปะรดและอุตสาหกรรมสับปะรดในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญโท. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จิดารัตน์ วีระวุฒิ. 2541. สับปะรดและสรีรวิทยาการเจริญเติบโตของสับปะรด. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จีราภรณ์ สุขุมาวาสี. 2518. การศึกษาทางชีววิทยาของลูกแป้งข้าวหมาก. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการเกษตรและชีววิทยา ครั้งที่ 14 สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

เจริญ เจริญชัย และคณะ. 2545. หลักสูตรการผลิตสุราพื้นบ้านสำหรับผู้ประกอบการ. เอกสารประกอบการอบรม ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2531. ระบบน้ำและของเสียในบ่อกุ้ง. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ชิดชม วิทวัสวงศ์. 2528. สายพันธุ์และสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอ็นไซม์กลูโคอะไมเลส. วิทยานิพนธ์ วท.ม. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

ชัยวัตน์ จาติเสถียร. 2520. การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราและยีสต์ในลูกแป้งสำหรับการหมักข้าวหมาก. วิทยานิพนธ์ วท.ม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ชลิต โนระดี. 2535. ผลของแบคทีเรียต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ในบ่อกุ้งกุลาดำที่มีพื้นเป็นดินเหนียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ และ พรเลิศ จันทร์รัชชกุล. 2547. อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย. สนับสนุนการจัดการพิมพ์สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เพื่อเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุยเดช เนื่องในวโรกาสพระราชพิธีมหามงคลเฉลิมพระชนพรรษา 5 ธันวาคม พ.ศ. 2547. บริษัทเมจิค พับบลิเคชั่น จำกัด. 206 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดวงพร คันธโชติ. 2533. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม/ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ

ณัฐศิษฎ์ ไทยตระกูล. 2528. บทบาทของแบคทีเรียในการหมักแอลกอฮอล์ทางอุตสาหกรรม. วิทยานิพนธ์ วท.ม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ทวี จิตไมตรี. 2538. จุลชีววิทยาของระบบบำบัดน้ำเสีย, น. 115 – 138. ใน เพ็ชรพร เชาวกิจเจริญ (บรรณาธิการ). การควบคุมดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2, โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

ธงชัย มาลา. 2534. การใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถละลายหินฟอสเฟตเพื่อเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสเฟตและผลผลิตของพืช. โครงการวิจัยรหัส พ- ต.1.33 ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2544. การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ. สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมประเทศไทย. กรุงเทพฯ

นภา โล่ห์ทอง. 2535. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. ฟันนี่ พับบลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ

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

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2544 จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 3.

นันทนา คชเสนี. 2539. คู่มือปฏิบัติการนิเวศวิทยาน้ำจืด. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ

นุชจรา แซ่ตั้ง. 2544. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและการใช้ประโยชน์ของแป้งข้าวเหนียว. วิทยานิพนธ์ วท.ม. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น

บรรจงจิตร มหินทรเทพ. 2529. การผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูและอิทธิพลของสมุนไพรต่อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง. วิทยานิพนธ์ วท.ม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่ม 2. อมรการพิมพ์. กรุงเทพฯ

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2532. จุลชีววิทยา (เล่ม 2). โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ, 396.

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง และคณะ. 2531. เอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากราดำ *Aspergillus* สายพันธุ์ทน กรด. รายงานค้นคว้าวิจัยประจำปี 2526-2530 สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

บุษกร สายมณี. 2543. การแยกและจำแนกจุลินทรีย์ในลูกแป้งเหล้าและลูกแป้งข้าวหมากในจังหวัดมหาสารคาม. ปัญหาพิเศษ วท.บ. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. มหาสารคาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 2 (พ.ศ.2539) ออกตามความในพระราชบัญญัติโรงงาน พ.ศ. 2535 ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 113 ตอนที่ 52 ง (ฉบับประกาศทั่วไป) ลงวันที่ 27 มิถุนายน 2539

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

ประจวบ หลำอุบล. 2531. การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในการทำนากุ้งกุลาดำ. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ประดิษฐ์ ครุวัณณา. สาโทและสาเก. 2543. เอกสารการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่องเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผลิตผลเกษตร จัดโดยสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์. 2533. การศึกษายีสต์ในน้ำตาลสด น้ำตาลเมา และการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อการหมักแอลกอฮอล์. วิทยานิพนธ์ วท.ม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

เปรมสุดา สมาน. 2539. จุลินทรีย์สำหรับบำบัดน้ำเสียจากการเลี้ยงกุ้งทะเล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 101 น.

พุทธ ส่องแสงจินดา, 2537. ผลของแอมโมเนียที่ระดับต่างๆต่อการบริโภคออกซิเจนของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*). เอกสารวิชาการฉบับที่ 23/2537. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. กรมประมง. สงขลา.

พุทธ ส่องแสงจินดา, ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร, ศุภโยค สุวรรณมณี และวิชาญ ชูสุวรรณ. 2533. ข้อสังเกตเกี่ยวกับคุณภาพดินบางประการในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 12/2533. สถาบันวิจัยเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

พรชัย รุ่งศรี. 2545. การใช้สารประกอบจุลินทรีย์ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำและประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียสกุลวิบริโอ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตร์. 88 น.

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

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2542, “เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม, เล่มที่1, โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 4/35, 4/39-43, 4/61-62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มณจันทร์ เมฆธน และ กมลพร มาแสวง. 2543. ศักยภาพของแบคทีเรียที่มีประโยชน์บางชนิดในการยับยั้งแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้ง, น. 259-268. *ใน* การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 สาขาประมงและสาขาวิทยาศาสตร์ 1-4 กุมภาพันธ์ 2543.

มนตรี เชาวสังเกตุ. 2521. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และราเพื่อหมักไวน์ข้าว. วิทยานิพนธ์ วท.ม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ. 2528. คุณสมบัติของน้ำและวิธีวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางประมง. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร

ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีระกุล. 2544. ไวน์ข้าวภูมิปัญญาไทย สู่การผลิตเชิงพานิชย์, วารสารจาร์พา. 7(58) : 21-24 ; มกราคม-กุมภาพันธ์

ลีลา เรืองแป้น. 2530. โรคกุ้งทะเล โรคที่มีสาเหตุมาจากปรสิตและตัวเกาะอาศัยอยู่ภายนอก. ในเอกสารประกอบสัมมนา การเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลครั้งที่ 1 เรื่องโรคกุ้งทะเลและการใช้เคมีภัณฑ์. กรุงเทพฯ

วิชัย ลาภจตุพร. 2535. เจาะลึกจุลินทรีย์ในสถานการณ์มลพิษ. สัตว์น้ำ 29: 18-35.

วราพร ลักษณลม้าย. 2538. สาเก. เอกสารประกอบการเรียนการสอนวิชาเมรัยวิทยา คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต

วราวุฒิ ครูส่ง. 2528. การย่อยแป้งมันสำปะหลังดิบเป็นน้ำตาลโดยเชื้อ *Aspergillus* และ *Rhizopus* สายพันธุ์พื้นบ้าน. วิทยานิพนธ์ วท.ม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

วรรณนิภา เพี้ยนพิภักตร์. 2539. การใช้แบคทีเรียเป็นโปรไบโอติกเสริมในอาหารกุ้ง. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วรรณสิริ แสงแก้ว. 2537. การผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในสภาพอาหารแข็งที่อุณหภูมิสูงโดยเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้ง. ปัญหาพิเศษ วท.บ. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. มหาสารคาม

วรรัตน์ โชติวรรณพร. 2539. การผลิตไวน์ข้าวเหนียวดำโดยการหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์. วิทยานิพนธ์ วท.ม. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ

วัลลพ คงเพิ่มพูน. 2532. กุ้งกุลาดำ. กรุงเทพมหานคร : โครงการหนังสือเกษตรชุมชน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2530. โภชนาศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

ศิริลักษณ์ สันพา. 2544. การคัดเลือกจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงเพื่อใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าว กล้อง. วิทยานิพนธ์ วท.ม. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล และนันทพร พึ่งสังวร, 2000, โปรตีนชีวภาพจากจุลินทรีย์, Technology, Vol. 26, No. 148, หน้า 143-149.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2540. ยีสต์และยีสต์เทคโนโลยี. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาหรี่ บุญประสพ. 2543. การศึกษาจุลินทรีย์ที่อยู่ประจำในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สายพิณ ไชยนันท์. 2534. จุลินทรีย์ดิน. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ.

สนธิ แดงสกุล และ ลิลา เรืองแป้น. 2541. ประสิทธิภาพของโปรไบโอติกที่ผลิตจาก *Bacillus* เพื่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ว. การประมง. 51 : 446 – 456.

สมพร สินธารา. 2546. การแยก การจัดจำแนก และเก็บรักษายีสต์และราที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมาก และลูกแป้งเหล้าในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำรวย นางทะราช. 2536. การคัดเลือกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในอุณหภูมิสูงจากลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้า. ปริญญานิพนธ์ วท.บ. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม. มหาสารคาม

สุนันทา วงศ์ปิยชน. 2538. การใช้ประโยชน์จากข้าวสำหรับการผลิตไวน์ข้าวและวิสกี้. วิทยานิพนธ์ วท.ม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

สุรศักดิ์ ดิลกเกียรติ. 2544. การใช้จุลินทรีย์ในฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. เอกสารประมวลข้อมูลภาคสนามสำหรับเกษตรกร.

สุวดี สุภเวชย์, 2536. แบคทีเรียพื้นฐาน. โรงพิมพ์ศิริยอด, กรุงเทพฯ, 248.

ส่งศรี กุลปรีชา. 2521. อิทธิพลของอาหารสูตรต่าง ๆ ที่มีต่อการสร้างสปอร์ของรา *Rhizopus* sp. ในลูกแป้ง. วิทยานิพนธ์ วท.ม. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ

สิรินทรเทพ ภักดีศุภผล. 2523. การหมักข้าวหมากด้วยเชื้อบริสุทธิ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

หทัยชนก อินทรกำแหง และสุพัฒน์ กุมพิทักษ์. เหล้าพื้นบ้านภูมิปัญญาการพึ่งพาตนเองของชุมชน. นนทบุรี : มูลนิธิเกษตรยั่งยืน (ประเทศไทย), 2547.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หทัยทิพย์ ใครบุตร. 2539. คุณภาพน้ำและการกระจายของแพลงก์ตอนพืชในอ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

อรธิดา ดีดวงแก้ว. การแยกและจำแนกจุลินทรีย์จากลูกแป้งเหล้าและลูกแป้งข้าวหมากในเขตภาคอีสานตอนใต้. ปัญหาพิเศษ วท.บ.มหาสารคาม : มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 2544.

อรวินทร์ วงศ์มีเกียรติ. 2527. การผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากส่วนเหลือทิ้งของสับปะรด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อภิญญา ผลีโกมล. 2535. แบคทีเรีย. ภาควิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อุทัย คันโธ. 2535. หลักการโปรไบโอติกในเชิงอาหารสัตว์. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ. ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 11-16.

อนันต์ ตันสุตะพานิช. 2538. เลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิดหรือระบบรีไซเคิล. สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดเพชรบุรี. ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสมุทรสาคร กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.

APHA. AWWA. WPCE. 1992. Standard Method for examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington DC.

ARX, J.A.-von. 1974. The Genera of Fungi Sporulation in Pure Culture. 2nd ed., J. Cramer Published,Printed in Germany.

Atthapol Suriyawongha. 2002. Sarin Hatchery goes Disease-free: Aquaculture Magazine Jul/Aug, 2002. pp 14-17.

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: 511-519.

Bird, D. F., & Kalf, J. 1984. Empirical relationships between bacteria abundance and chlorophyll Concentration in fresh and marine water. Can. J. Fish. Aqua. Sci., 41, 1015-1023.

Bitton , G. 1994. Wastewater Microbiology. Wiley – Liss , New York.

Briggs, M.R.P. and Funge-Smith, S. J. 1994. A nutrient budget of some intensive marine shrimp pond in Thailand. Aquacult. Fisheries Manage. 25: 789-811.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Burford, M. A. and William, K. C. 2001. The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. Aquaculture 198: 79-93.

Chadha, K. L., K.R. Melanta, S. B. Lodh, and Y. Selvarag. 1972. Biochemical changes associated with growth and development of pineapple variety Kew. I. changes in physico-chemical constituents Indian. J. Hort.

Chamchoi N. 2000. Comarison of BOD reduction efficiency by using bacteria from different surface waters in Chiang Mai province , Graduate School Chaing Mai University.

Ciaccio, L.L. 1972. Water and water pollution. New York: Mercel Dekker, Inc.

Collins, J.L. 1968. The Pineapple, 2 nd id., Leonard Hill, London. pp 54-56.

Cuiying J, Ruijuan K , Yuhui Z , Wei C, Zhaoling C. 2006. Synergic treatment for monosodium glutamate wastewater by *Saccharomyces cerevisiae* and *Coriolus versicolor* , Biochemical Engineering , pp. 967 - 970

Degain. G. and Gallagher, M. L. 1985. The relationship between growth. Food corversion and oxygen consumption in developed and undeveloped Americaneels (*Arguille rostrete L.*). J. Fish Biol. 27: 635-641

Edward, K. and L.D. Amold. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*. Chemistry Biogenesis and Possible Function. 41:449-473

Ehrlich, K. F., Cantin, M. C. and Horsfall, F. L. 1989. Inst. Chem. Eng. U.K. Symp. 1: 329-341.

Elizabeth M. L., 1996, Fundamentals of the Fungi, Fourth edition, Prentice hall international editions, pp. 279-310, 519-551.

Ellis, J.J., L.J. Rhodes and C.W. Hesseltum. 1976. The genus Amylomyces. Mycologia. 68 : 131 – 143

Elmaleh S., Defrance M.B., and Ghommidh C., 2000, Organic acids oxidation by *Candida utilis*: application to industrial waste water treatment, Process biochemistry.

Fenchel, T and Blackburn, T.H. 1979. Bacteria and cycling. Academic Press, London.

Fowell R. R., 1969, Life Cycles in Yeasts, The Yeasts, Vol. 1, Anthony H. R., J. S. Harrison, Academic Press.

Fush, G.W., Chen M. 1975. Microbiological basis of phosphate removal in the activated

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

sludge process for the treatment of wastewater. Microbiol. Ecology, Vol:119 – 138.

Gaudy A.F., Gaudy ET. 1980. *Microbiology for Environment Scienctist and Engineer.* McGraw-Hill Inc.

Glazer, A.N. and E.L.Smith. 1971. Papain and Other plant sulfhydryl proteytic enzyme, The enzyemic, Academic Press, New York

Glider , W.V. and M.S.Hargrove. 2002. Using bromelain in pineapple juide to investigate enzymefunction. Pagges 275 – 279 , in Tested studies for laboratoly teaching ,Volume 23 (M.A.O Donnell, Editor) Prodeedings of the 23rd Workshop / Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE) . pp 372.

Gobat, B.P. 1998. Diagonostic Microbiology Laboratory. Manual. Mosby Publishing. St. Louis, Baltimore,Boaton, Carisbad, Chicago, Minneapolis, New York, Philadelphia, Portland, London, Milan,Sydney, Tokyo and Tornoto. pp 300.

Gortner, W.A., G.G. Dull, and B.H. Krauss. 1967. Fruit development, maturation, ripening and senescence : A biochemical basis for horticultural terminology. Hort Sci.

Gross, A., Nemirovski, A., Zilberg, D., Khaimov, A., Snir, E., Ronen, Z., & Nejidat, A. (2003). Soil nitrifying enrichment as biofilter starters in intensive recirculation saline water aquaculture. Aquaculture, 223, 51-62.

Hargreaves, J. A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. Aquaculture 166: 181-212

Harland,H.; Y. William; D. Warner and J.K. 1956. Mc Anelly. Process of purifying bromelain U.S. Pat 2,442,764

Harold. 1966. Inorganic Polyphosphate in Biology, Structure. Metabolism and Function Biol. Rev., 30(1) : 772 – 794

Hatch Company. 1991. Spectrophotometer DR/ 2010 Procedures Manual. U.S.A.

Heinike, R.M. 1956. Process of the preparation of pineapple stem bromelain U.S. Pat 2,442,7764

Heinike, R.M. and W.A.Gortnor. 1957. Stem bromelain a new protease preparation from pineapple plane Economic botany , 11: 25-28

Henry. E. 1937. Chillproofing compound U.S. Pat 2,008,712

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hagihara , B. ; H. Matsubara; M.Nakari and L.Okunuki. 1958. Crystalline bacteria proteinase. I. Preperation of crystalline protinase of Bacillus subtilis. J.Biochem.

Hogan, J. M. 1962. Meat tenderization process U.S. Pat 3,052,851

Hunter, P.G. and S.W. 1955. Henry. Cerotokysterocaeping graphy Fertility and Sterility.

Hwang, K. and A.C. Ivy. 1951. A review of literature on the potential therapeutic significance of papain Ann. N. Y. Acad. Sci.

Kucey R. M. N. 1983. Phosphate – solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soil. Can. J. Soil Sci., 63, 671-678.

Inagami, T. and T. 1963. Murachi . Kinetic studies of cromelain catalysis, biochemistry, No.2. pp.14-39.

Langlykke, A.E.; C.V. Smith and D. 1952. Perlman. Enzyme technology, The enzyme (J.B. and K.Myrball.ed.), Academic press, N.Y.

Kurtzman, C.P. and J. W. Fell. 1998. The Yeast : A Taxonomic study. 4th ed. Elsevier Science Publisher, Amsterdam.

Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzman-Mendez, B. E. and Lopez-Madrid, W. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus farcium* and *Lactobacillus acidrphilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as geowth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. 216: 193-201.

Lin, C. K. 1989. Prawn culture in Taiwan. What went wrong?. World Aquaculture 20(2): 19-20

Lim, G. 1991. Indigenous Fermented Foods in South East Asia, ASEAN Food Journal. 6(12) : 3-8.

Linear, I. E. 1974. The sulfhydrl protease, Food releated enzyme (Whitaker,J.R.ed.) , American Chemical Society, Whashington, D.C.

Madenjian, C. P., Roger, G. L. and Fast, A. W. 1987. Impact of farming intensity and water management on nitrogen dynamics in intensive pond culture: a mathematical model applied to Thai commercial shrimp farms. Aquaculture Res. 28: 493-507.

Maurer HR. 2001. Bromelain. Biochemistry , pharmacology and medical USE. Cel Mol LifeSci; 58:1234-45.

Meltling F.B. 1983. Soil Microbial Ecology. Washingtion, Marcel Dekker Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Murachi, T. 1964. Amino acid composition of stem bromelain , Biochemistry,3rd

Murachi, T. and M. Yasui. 1956. Alkylphospholylation of stem bromelain by diisopropylpnos phofluoridate without inhibition on protenase activity , Biochemistry, 4th ed.

Murachi, T. and H. Neurath. 1961. Fractionation and Specificity studies on stem bromelain J. Biol. Chem.

Nester , E.W. 1983. Microbiology. 3rd ed. Hold – Saunders, Japan.

Ota, S. ; K. Norie and F. Hagio. 1961. Heterogenisty of bromelain of the pineapple stalk J. of Biochemistry .

Ota , S. ; T . Fu and R . 1961. Hirohata. Studies on bromelain its activation and fractionation J. of Biochemistry .

Reed, G. , and Nagodawithana, T. W. 1991. Yeast technology. 2nd ed. New York : AVI

Reed , G. 1966. Enzyme in food processing , Academic Press, N. Y.

Ronai , U . S . and M.W. Smull. 1954. Modified proteins for stabilitzing latex paints , 1nd . Eng . Chem .

Ronal M. 1983. Handbook of Microbiological Media. Lawrence. Parks, London.

Rosenberry. B. (ed.). 1998. World shrimp farming. Shrimp news international vol. 12.

Salinas, I., A. Cuesta, M.A. Esteban and J. Meseguer. 2005. Dietary administration of *Lactobacillus delbr_eckii* lactis and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses. Fish & shellfish immunology 19: 67-77.

Sawano Y Muramatsu T , Hatano K , Nagata K , Tanokura M. 2002. Characterization of genomic Sequence coding for bromrlain inhibitors in pineapple and expression of its recombinant Isoform. J Biol Chem , 272:28222 – 28227

Scholz, U., Diaz, G. G., Ricque, D., Suarez, L. E. C., Albores, F. V. and Latchford, J. 1999. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile Penaeus vannamei by supplementation of diets with different yeast product. Aquaculture. 176 : 271-283.

Stanton, W.R. 1972. Fermented Food Process, Process Biochemistry. 4(27) : 45-51 ; March-April.

Taiganides. E. P. 1967. The Animal Waste Disposol. In Nyle C. Brady (ed.) Agriculture and the quality of our environment. Washington D. C. : American Association for the Advancement of Science. pp. 385-394.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thakur, D. P., & Lin, C. K. (2003). Water quality and nutrient budget in closed shrimp ZPenaeus monodon) culture systems. Aquacultural Engineering, 27, 159-176.

Varikul, V. 1985. Shrimp Culture. SAFIS manual NO. 19. SEAFDEC, Thailand.

Vaseeharan, B., and Ramasamy, P. (2003) Control of Pathogenic Vibrio spp. By *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic Treatment for black tiger shrimp P. monodon Letters in Applied Microbiology . 36 : 83-87

Veen, A.G. Fermented Rice Foods. USA . 1972. American Association of Cereal Chemiste Inc.

Wang, J. K. 1990. Managing shrimp pond water to reduce discharge problems. Aquacultural Eng. 9: 61-73.

Wiseman, A. 1978. Topic in enzyme and fermentation biotechnology , Biddles of Guideford, Great Britain

Whitaker , J . R . Principle of enzymology for the food ccience , Marvell Dekker , N . Y. , 1972 World Health Organization., 1978. *Nitrate, Nitrite and N-Nitroso Compounds.* United Kingdom.

World Health Organization. 1986. Environment health criteria 54 Ammonia. Retrieved 11 November, 2003, from http://www.inchem.org/documents/ehc/ech/ehc54.html.

Yasda , Y. ; N. Takahashi and T. Murachi . The composition and structure of carbohydrate moiety of stem bromelain , Biochemistry , 1970

US2006/0177543A1 8/2006 TAHAKA……426/60

US2005/0173340A1 8/2005 TANAKA ETAL…..210/610;210/632;210/209

699001 10/1972 SOONG……195-66R

300289110/1961 Heinicke……..195-66

36586514/1972 Golding……195-66R

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

1. การหากิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน (Bromelain activity) (อ้างโดย Wang and Hesseltine, 1995)

1.1 วัสดุอุปกรณ์

1. อุปกรณ์ให้ความร้อน (Heating mentel)
2. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
3. อ่างน้ำร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (Waterbath)
4. กระดาษกรองเบอร์ 1
5. บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
6. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

1.2 สารเคมี

1. สารละลายเคซีน 1 เปอร์เซ็นต์

ละลายเคซีน 1.0 กรัม ในบัฟเฟอร์ 0.1 โมล พีเอช 7 ปริมาตร 50.0 มิลลิลิตร ต้มด้วยไฟอ่อนจนเคซีนละลาย เมื่อสารละลายเย็น ปรับความเป็นกรดด่างตามต้องการ จากนั้นปรับปริมาตรทั้งหมดให้ได้ 100.0 มิลลิลิตร ด้วนบัฟเฟอร์ชนิดเดียวกัน สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกสัปดาห์และควรเก็บไว้ในตู้เย็น

2. สารละลาย Trichloroacetic acid (TCA) 5 เปอร์เซ็นต์

ละลาย TCA 5.0 กรัม ในน้ำกลั่น คนจนละลายหมด ปรับปริมาตรให้ได้ 100.0 มิลลิลิตร

3. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 0.4 โมล

ละลายโซเดียมคาร์บอเนต 42.396 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4. Folin – Ciocalteu reagent 1 นอร์มัล

นำ Folin – Ciocalteu reagent 2 นอร์มัล มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 1 (สารละลายนี้ ควรเตรียมเมื่อต้องการใช้เท่านั้น)

5. สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนไทโรซีน

ละลายไทโรซีน 0.1 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100.0 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร สารละลายนี้มีความเข้มข้นของไทโรซีน 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. น้ำคั้นสับปะรด

1.3 <u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ใส่สารละลายเอนไซม์โบรมิเลน (ที่มีความเจือจางที่เหมาะสม) 1.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายเคซีนที่อุ่นที่ 40 องศาเซลเซียส ลงในหลอดทดลองหลอดละ 1.0 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันทันที

2. นำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3. หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ ด้วยการเติมสารละลาย TCA (5 เปอร์เซ็นต์) 3.0 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที กรองตะกอนโปรตีนด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

4. นำน้ำส่วนใส 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.4 โมล 5.0 มิลลิลิตร เติม Folin – Ciocalteu reagent 0.5 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

5. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปหาปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน

6. ทำหลอดคุม โดยการเติมสารละลาย TCA 3.0 มิลลิลิตร ก่อน จากนั้นเติมสารละลายเคซีน 1.0 มิลลิลิตร สำหรับทำแบงค์ใช้น้ำกลั่น 1.0 มิลลิลิตร แทนสารละลายเอนไซม์

7. ทำกราฟมาตรฐานกรดอะมิโนไทโรซีน โดยใช้สารละลายไทโรซีนความเข้มข้น 0 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายความเข้มข้นต่าง ๆ มา 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง ดำเนินการเช่นเดียวกับ ข้อ 4 – 5 เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของไทโรซีน

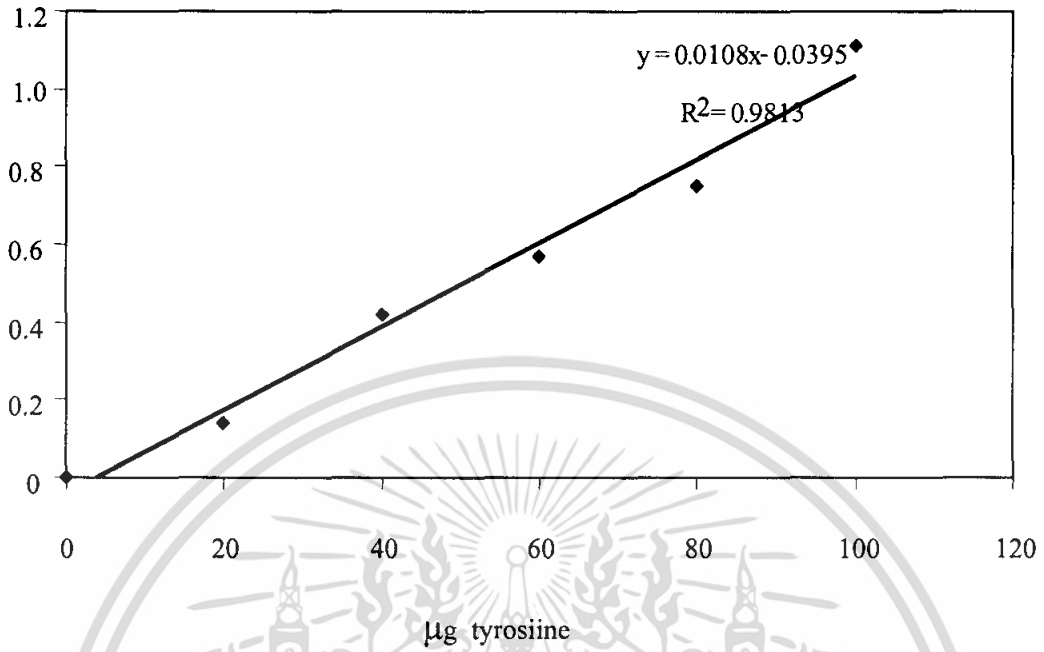
8. การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน หน่วย (unit) / มิลลิลิตร)} = \frac{\text{x (ug / ml) } \times \text{ ปริมาตรทั้งหมด } \times \text{ ความเจือจาง}}{\text{MN (tyrosine) } \times \text{ เวลา}}$$

$$= \text{ หน่วย (unit)ต่อมิลลิลิตร}$$

9. รายงานผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ก1 กราฟมาตรฐานไทโรซีน (100 ไมโครกรัมต่อลิตร)

2. วิธีวิเคราะห์แอมโมเนียไนโตรเจนด้วย วิธีเนสเลอไรเซชัน (Nesslerization) (อ้างโดย มั่นสิน , 2542)

2.1 <u>วัสดุอุปกรณ์</u>

1. สเปกโทรโฟโตมิเตอร์
2. เครื่องวัดพีเอช
3. หลอดเนสเลอร์ ขนาด 100 และ 50 มิลลิลิตร
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง

2.2 <u>สารเคมี</u>

1. สารละลายซิงค์ซัลเฟต (Zine Sulfate Solution)
2. สารละลายอีดีทีเอ (EDTA Reagent)

ละลายไดโซเดียมเอทธิลีนไดอะมีน เตตระอะเซเตตไดไฮเดรต (Disodium Ethylenediamine Tetraacetate Dihydrate) 50 กรัม ในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร ที่มีโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ละลายอยู่ ถ้าจำเป็นให้อุ่นเพื่อให้ละลายอย่างสมบูรณ์ ปล่อยให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. น้ำยาเนสเลอร์ (Nessler Reagent)

ละลาย HgI_2 100 กรัม และ KI 70 กรัมในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และเติมของผสมนี้ช้า ๆ พร้อมคนลงในสารละลายที่เย็นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 160 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เจือจางให้เป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีชา ปิดด้วยจุกยางอย่าให้ถูกแสงเพื่อรักษาสภาพของน้ำยาให้คงสภาพอยู่เป็นปี ตรวจสอบน้ำยาเพื่อให้แน่ใจว่าจะให้สีกับแอมโมเนียไนโตรเจน 0.1 มิลลิกรัม ภายในเวลา 10 นาที หลังจากเติมน้ำยาและไม่เกิดตะกอนกับแอมโมเนียจำนวนเล็กน้อยใน 2 ชั่วโมง (ระวัง มีพิษอย่าให้เข้าปาก)

4. สารละลายสต๊อกแอมโมเนีย (Stock Ammonium Solution)

ละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ปราศจากน้ำ (NH_4Cl) ที่อบแห้ง ณ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แล้วละลาย 3.819 กรัม ในน้ำกลั่นและเจือจางให้เป็น 1 ลิตร

สารละลายนี้ 1.00 มิลลิลิตร = 1.00 มิลลิกรัม N = 1.22 มิลลิกรัม NH_3

5. สารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย

ตวงสต๊อกแอมโมเนีย 10. 0 มิลลิลิตร ลงในขวดตวงและทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

สารละลายนี้ 1.00 มิลลิลิตร = 10.00 ไมโครกรัม N = 12.2 ไมโครกรัม NH_3

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการกลั่น ถ้าตัวอย่างน้ำมีคลอรีนต้องกำจัดออกก่อนตามหัวข้อ ค. ข้อ 2 ตวงตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร ใส่หลอดเนสเลอร์ เติมสารละลายซิงค์ซัลเฟต 1 มิลลิลิตร และละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 นอร์มัล 0.5 มิลลิลิตร เพื่อปรับให้ได้พีเอช 10.5 คนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 2 – 3 นาทีเพื่อให้ตะกอนตกลงมาจะได้น้ำใสและไม่มีสีอยู่ข้างบน แยกน้ำใสออกมาโดยใช้เครื่องเหวี่ยง (Centrifuge)

1.2 ตัวอย่างที่ผ่านการกลั่น ปรับพีเอชของกรดบอริคที่ใช้เป็นสารละลายจับแอมโมเนียให้เป็นกลางก่อนโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 นอร์มัล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การทำให้เกิดสี

ตวงตัวอย่างน้ำที่ผ่านการเตรียมแล้ว 50 มิลลิลิตรหรือน้อยกว่าแล้วเติมน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร ใส่หลอดเนสเลอร์ ถ้าส่วนที่ไม่กลั่นมีแคดเมียม แมกนีเซียมหรืออิออนตัวอื่นที่ทำให้เกิดความขุ่นกับน้ำยาเนสเลอร์ในปริมาณมาก ให้เติมน้ำยาอีดีทีเอ 1 - 2 หยด เติมน้ำยาเนสเลอร์ 2 .0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้หลอดยาปิดหลอดเนสเลอร์ เขย่าหลอดกลับไปกลับมา 5 - 6 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา 10 นาที แบลงค์ใช้น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วทำเช่นเดียวกับตัวอย่างในขั้นทำให้เกิดสีเลย เมื่อครบเวลานำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร อ่านค่าจากกราฟมาตรฐาน

3. การเตรียมกราฟมาตรฐาน

เตรียมอนุกรมสารละลายแอมโมเนียไนโตรเจน ให้มีความเข้มข้น 20 40 60 80 100 และ 120 ไมโครกรัม โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย (ในหัวข้อ ข. ข้อ 5) มา 2 4 6 8 10 และ 12 มิลลิลิตรใส่ในหลอดเนสเลอร์ เติมน้ำให้ครบ 50.0 มิลลิลิตร แล้วทำให้เกิดสีเช่นเดียวกับตัวอย่าง พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นเป็นไมโครกรัมกับค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้กราฟธรรมดา

4. การคำนวณ

$$\text{แอมโมเนียไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{ไมโครกรัมแอมโมเนียที่อ่านจากกราฟ}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

<u>หมายเหตุ</u>

1. อุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยาของการทำแบงค์ ตัวอย่าง และกราฟมาตรฐานควรรักษาให้อยู่ในสภาวะเดียวกัน

2. เมื่อเตรียมน้ำยาเนสเลอร์ใหม่ ควรทำกราฟมาตรฐานใหม่ด้วยทุกครั้ง

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

3.1 <u>วัสดุอุปกรณ์</u>

1. Spectrophotometer ความยาวคลื่นระหว่าง 400-600 นาโนเมตร

2. เครื่องแก้วที่ทำความสะอาดด้วย cleaning solution หรือ acid washed ห้ามใช้ผงซักฟอกล้าง เพราะผงซักฟอกมีฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบอยู่ด้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ขวด Kjehldahl ขนาดเล็กหรือขวดเออร์เลนเมเยอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2 สารเคมี

1. กรดซัลฟุริคเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)

2. กรดไนตริกเข้มข้น (Conc. HNO_3)

3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 นอร์มอล (6 N NaOH)

4. Vanadate-Molybdate reagent เตรียมได้ดังนี้

สารละลาย A ละลาย Ammonium molybdate $(NH_4)_6Mo_7O_{24} . 4H_2O$ 25 กรัม ในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร

สารละลาย B ละลาย 1.25 กรัม Ammonium metavanadate (NH_4VO_3) ในน้ำเดือด 300 มิลลิลิตร เมื่อเย็นแล้ว จึงเติมซัลฟุริคเข้มข้น 330 มิลลิลิตร

เมื่อ สารละลาย B เย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้ว จึงเท Solution A ไปยัง Solution B แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 1 ลิตร

5. Standard phosphate solution ละลาย anhydrous KH_2PO_4 219.5 มิลลิกรัมในน้ำกลั่น เจือจางให้มีปริมาตรเป็น 1 ลิตรในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

สารละลายนี้ 1 มิลลิลิตร = ฟอสเฟต 50.0 μg P

3.3 วิธีการวิเคราะห์

1. ย่อยตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร หรือน้อยกว่าด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น 1 มิลลิลิตร และกรดไนตริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร กระทำในตู้ดูดควันหรือในชุดย่อย TKN

2. เติมสารละลายแวนนาเดต-โมลิบเดต 10 มิลลิลิตร และเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เตรียมแบลงค์น้ำกลั่น 35 มิลลิลิตร และกระทำเช่นเดียวกัน

3. ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที หรือนานกว่าจะได้สีเหลืองเกิดขึ้น วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับแบลงค์น้ำกลั่น

4. เตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต ด้วยวิธีข้างต้น เป็นตัวอย่างของกราฟมาตรฐานฟอสเฟต

ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต ตั้งแต่ 0-12 มิลลิลิตร (หรือ 0-600 μg PO_4^{-3}- P) ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร แต่ละอันในแต่ละขวดเติม Vanadate-Molybdate reagent 10 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นเป็นไมโครกรัมกับค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้กราฟธรรมดา

5. การคำนวณ

ฟอสเฟต (มิลลิลิตรฟอสเฟตต่อลิตร) = $\frac{\text{ไมโครกรัมฟอสเฟตที่อ่านได้จากกราฟ}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$

4. การวิเคราะห์หาซีโอดี แบบ Open Reflux (อ้างโดย มั่นสิน , 2542)

4.1 วัสดุอุปกรณ์

1. อุปกรณ์กลั่นไหลกลับ (Reflux apparatus)
   - ขวดรูปชมพู่ก้นแบนขนาด 250-500 มิลลิลิตร
   - เครื่องควบแน่น
   - เตาให้ความร้อน (Hot plate)
2. บิวเรตต์ขนาด 50 มิลลิลิตร

4.2 สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 0.25 นอร์มัล

ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 12.259 กรัม ซึ่งอบแห้งที่ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

2. กรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่ผสม Ag_2SO_4 (Sulfuric Acid reagent)

ละลาย Ag_2SO_4 22 กรัม ในซัลฟุริคเข้มข้นซึ่งมีน้ำหนัก 4.1 กิโลกรัม (2.5 ลิตร) แล้วตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน เพื่อให้สารละลาย

3. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.1 นอร์มัล

ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$) 39 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วเติมซัลฟุริคเข้มข้นลงไป 20 มิลลิลิตร ทำให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 1 ลิตร

สารละลายนี้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ 0.25 นอร์มัล ดังนี้คือ นำสารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ 0.25 นอร์มัล 10 มิลลิลิตรมาเติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตรแล้วเติมซัลฟุริคเข้มข้นลงไป 30 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาไทเทรตกับสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) โดยใช้เฟอโรอีนจำนวน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็น สีฟ้าอมเขียวและเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ

$$\text{ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต} = \frac{\text{มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต} \times 0.25}{\text{มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต}}$$

4. สารละลาย ferroin อินดิเคเตอร์

ละลาย 1-10 phenantroline monohydrat 1.485 กรัม และ $FeSO_4.7H_2O$ 695 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

5. Mercuric sulfate ($HgSO_4$)

6. Silver sulfate ($AgSO_4$)

4.3 <u>วิธีการวิเคราะห์</u>

น้ำทิ้งบางชนิดมีค่าซีโอดีสูงมาก ถ้าไม่ได้ทำการทดลองหาปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสมแล้ว การวิเคราะห์ซีโอดีอาจล้มเหลว เนื่องจากอัตราส่วน $K_2Cr_2O_7$: conc. H_2SO_4 with $AgSO_4$ ที่ใช้เพื่อให้เกิดการออกซิไดส์ได้ดีที่สุดคือ 1 : 3 และปริมาณของตัวอย่างน้ำรวมกับ $K_2Cr_2O_7$: conc. H_2SO_4 with $AgSO_4$ จะเป็น 1 : 1 ในการทดลองเพื่อไม่ให้สิ้นเปลืองมาก มักใช้ตัวอย่างน้ำ 20 มิลลิลิตร + $K_2Cr_2O_7$: conc. H_2SO_4 with $AgSO_4$ 30 มิลลิลิตร ดังนั้นถ้าตัวอย่างเข้มข้นมากเกินไปก็สามารถทำการเจือจางตัวอย่างน้ำก่อนด้วยอัตราส่วนหนึ่ง แล้วจึงนำน้ำมาไม่เกิน 20 มิลลิลิตรมาใช้ในการวิเคราะห์

1. ใส่ $HgSO_4$ ประมาณ 0.4 กรัม ลงในขวดรีฟลักซ์พร้อมด้วย glass bead 2-3 เม็ด จากนั้นเติมตัวอย่างน้ำที่ได้หาปริมาณที่เหมาะสมแล้วลงในขวด ปิเปตสารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ 10 มิลลิลิตร เติมลงไปเขย่าให้เข้ากัน

2. ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟุริคเข้มข้นที่ผสม $AgSO_4$ ลงไป 30 มิลลิลิตร (ไม่ต้องเขย่า)

3. นำขวดรีฟลักซ์นี้ไปต่อกับเครื่องควบแน่น ค่อย ๆ หมุนขวดให้ส่วนผสมเข้ากันดีก่อน แล้วจึงทำการรีฟลักซ์หรือต้มให้เดือดเป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างเครื่องควบแน่นก่อนที่จะถอดขวดรีฟลักซ์ออกไปไทเทรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ทำ Blank โดยใช้น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตรและน้ำยาเคมีต่าง ๆ เหมือนที่ใช้วิเคราะห์น้ำตัวอย่าง แล้วทำการ รีฟลักซ์ไปพร้อมกับตัวอย่าง

5. ไทเทรตหาปริมาณโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหลือ หรือมากเกินพอด้วยสารละลาย $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ โดยใช้สารละลายเฟอโรอีนเป็นอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด จะมีการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียวและเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ อ่านปริมาตรที่ไทเทรตตอนเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแดงทันที

6. การคำนวณ

$$\text{ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(A - B) \times N \times 8000}{\text{ปริมาณตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

A คือ ml ของ $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ที่ใช้ไทเทรต Blank

B คือ ml ของ $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ที่ใช้ไทเทรต น้ำตัวอย่าง

N คือ Normality ของ $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ ที่ใช้

ภาคผนวก ข
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สูตรน้ำเสียสังเคราะห์ (อ้างโดยChamchoi , 2000)

Glucose	358	มิลลิกรัม
KH_2PO_4	33.5	มิลลิกรัม
$(NH_4)_2SO_4$	188.6	มิลลิกรัม
$MgSO_4.7H_2O$	135	มิลลิกรัม
$NaHCO_3$	325	มิลลิกรัม
$CaCl_2$	8.5	มิลลิกรัม
$CaSO_4$	50.0	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

2. สูตรน้ำทะเลสังเคราะห์

น้ำ	96.4	เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกลือธรรมดา (NaCl)	2.8	เปอร์เซ็นต์
แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl)	0.4	เปอร์เซ็นต์
แมกนีเซียมซัลเฟต($MgSO_4$)	0.2	เปอร์เซ็นต์
แคลเซียมซัลเฟต ($CaSO_4$)	0.1	เปอร์เซ็นต์
โพแตสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.1	เปอร์เซ็นต์

ซึ่งในการทดลองได้ดัดแปลงสูตรน้ำเสียสังเคราะห์ (อ้างโดยน้ำเสียสังเคราะห์ (Chamchoi , 2000) และน้ำทะเลสังเคราะห์) โดยดัดแปลงและใช้สูตรน้ำเสียสังเคราะห์ ดังนี้

Glucose	358	มิลลิกรัม
KH_2PO_4	33.5	มิลลิกรัม
$(NH_4)_2SO_4$	188.6	มิลลิกรัม
$MgSO_4.7H_2O$	135	มิลลิกรัม
$NaHCO_3$	325	มิลลิกรัม
$CaCl_2$	8.5	มิลลิกรัม
$CaSO_4$	50.0	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
$NaCl_2$	28.0	กรัม

ผสมส่วนผสมทั้งหมดกับน้ำกลั่นแล้วเอาส่วนผสมลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml. ปิดปากขวดด้วยจุกสำลี จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อนำออกจากเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อแล้วรอให้อาหารเย็นก่อนที่จะเพาะเชื้อ

3. Nutrient agar (อ้างโดย Ronald,1993)

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
พีเอช	7.0	

ผสมส่วนผสมทั้งหมดกับน้ำกลั่น แล้วนำไปต้มให้สารละลายจนหมด จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อนำออกจากเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อแล้วรอให้อาหารเย็น ประมาณ 50 - 55 องศาเซลเซียส แล้วเทลงบนจานอาหาร ปริมาณ 20 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Pikovskaya's medium (อ้างโดย Kucey,1963)

Glucose	1.0	กรัม
$Ca_3(PO)_4$	5.0	กรัม
$(NH)_4SO_4$	0.5	กรัม
KCL	0.2	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.1	กรัม
$MnSO_4$	trace	
$FeSO_4$	trace	
Yeast extract	0.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

นำไปต้มให้สารละลายจนหมด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. Nutrient broth

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลาย peptone และ beef extract โดยใช้ความร้อนช่วย จากนั้นเติม Sodium Chloride ลงไป นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6. Potato dextrose agar (PDA)

Potato	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชเป็น 5.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปอกเปลือกมันฝรั่งและหั่นเป็นลูกบาศก์ ขนาดด้านละประมาณ 1 เซนติเมตร นำมาชั่งให้ได้ 200 กรัม นำไปต้มในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ให้เดือดประมาณ 20 นาที แล้วกรองเอาแต่น้ำ

ชั่งน้ำตาลกลูโคส 20 กรัม และวุ้น 15 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ให้ความร้อน จนกระทั่งวุ้นละลาย นำส่วนผสมในข้อ 1 และ 2 มารวม เติมน้ำจนครบ 1 ลิตร

บรรจุอาหาร PDA ลงในขวดบรรจุอาหารประมาณครึ่งขวด ปิดปากขวดด้วยฝาเกลียวหรืออุดด้วยจุกสำลี แยกขวดอาหาร PDA เก็บไว้ 1 ขวด ที่เหลือนำไปกำจัดเชื้อที่ระดับความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ ในการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็น Selective media สำหรับเลี้ยงเชื้อราและยีสต์ จะต้องปรับพีเอช ของ PDA ให้ได้ 3.5 - 4.5 ด้วยกรดทาร์ทาริค (ความเข้มข้น 10 เปอร์เซนต์) เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยจะต้องปรับพีเอช ก่อนเทอาหาร PDA ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (หลังจากกำจัดเชื้อแล้ว)

7. Yeast extract peptone dextrose agar (YPD)

Yeast extract	5	กรัม
Peptone	10	กรัม
glucose	10	กรัม
agar	20	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

* หมายเหตุ : ปรับความเป็นกรดด่างประมาณ 5.5

8. Ammonium sulfate broth

$(NH_4)_2SO_4$	2	กรัม
K_2HPO_4	1	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.5	กรัม
$FeSO_4$	0.4	กรัม
$CaCO_3$	5	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

* หมายเหตุ : อาหารชนิดนี้ไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
สีย้อมและน้ำยาที่ใช้ทดสอบ

1. สารละลายแกรมไอโอดีน (Gram's iodine solution)

ไอโอดีนคริสตอล	1.0	กรัม
โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300	มล.

สาระลายไอโอดีนและโพแทสเซียมไอโอไดด์ในน้ำกลั่นปริมาณน้อยๆก่อน แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ เก็บไว้ในขวดสีชา

2. สารละลายแอมโมเนียมออกซาเลตคริสตอลไวโอเลต (Ammonium oxalate crystal violet solution)

สารละลาย ก

คริสตอลไวโอเลต (Crystal violet)	3.0	กรัม
เอธิลแอลกอฮอล 95%	20.0	มิลลิลิตร

สารละลาย ข

แอมโมเนียมออกซาเลต (Ammonium oxalate)	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย ก และ ข เข้าด้วยกัน กรองก่อนนำไปใช้

3. สารละลายอะซีโตนแอลกอฮอลล์ (Acetone alcohol solution)

เอธิลแอลกอฮอลล์ 95%	400.0	มิลลิลิตร
อะซิโตน (Acetone)	300.0	มิลลิลิตร

4. สารละลายซาฟรานิน (Safranin solution)

ซาฟรานิน (Safranin)	0.25	กรัม
เอธิลแอกอฮอลล์ 95%	10.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

ละลายซาฟรานินด้วยเอธิลแอลกอฮอลล์ เติมน้ำกลั่นลงไปผสมให้เข้ากัน กรองก่อนนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
ตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวก ง1 ผลของพีเอชในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยเติมน้ำคั้นหยาบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียส่วนเปลือกปริมาณร้อยละ 10, 20 และ 30 ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ความเข้มข้นของน้ำสับปะรด (ร้อยละ)	พีเอช ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	8.15[a]	8.15[a]	8.14[a]	8.15[a]	8.15[a]
10	4.45[b]	4.51[b]	5.59[b]	5.49[b]	5.53[b]
20	3.81[c]	3.64[c]	5.95[b]	5.99[b]	6.01[b]
30	3.71[c]	3.65[c]	5.79[b]	5.91[b]	5.94[b]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ง2 ผลของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยน้ำคั้นหยาบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียจากส่วนเปลือกปริมาณร้อยละ 10, 20 และ 30 เพื่อลดค่าซีโอดี (ร้อยละ) ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ความเข้มข้นของน้ำสับปะรด (ร้อยละ)	ซีโอดีลดลง (ร้อยละ) ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0
10	0	8.75[a]	21.25[b]	18.75[c]	11.25[b]
20	0	5.49[b]	19.78[c]	27.47[a]	21.98[a]
30	0	5.88[b]	23.53[a]	25.49[b]	10.78[b]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง3 ผลของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยน้ำคั้นหยาบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย จากส่วนเปลือกปริมาณร้อยละ 10, 20 และ 30 เพื่อลดค่าแอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ความเข้มข้นของน้ำสับปะรด (ร้อยละ)	แอมโมเนียไนโตรเจนลดลง (ร้อยละ) ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0
10	0	2.00[b]	12.75[b]	17.38[a]	17.75[a]
20	0	5.25[a]	15.75[a]	18.13[a]	17.38[a]
30	0	5.75[a]	12.13[b]	13.63[b]	14.50[b]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ง4 ผลของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยน้ำคั้นหยาบสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย จากส่วนเปลือกปริมาณร้อยละ 10, 20 และ 30 เพื่อลดค่าฟอสเฟต (ร้อยละ) อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ความเข้มข้นของน้ำสับปะรด (ร้อยละ)	ฟอสเฟตลดลง (ร้อยละ) ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0
10	0	1.33[a]	1.09[b]	1.45[a]	1.33[a]
20	0	0.24[b]	1.82[ab]	1.58[a]	1.21[a]
30	0	0.24[b]	0.73[b]	1.21[a]	0.97[a]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง5 ผลของเปลี่ยนแปลงพีเอชในการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมาก ปริมาณร้อยละ 0.02 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 28 วัน

ชนิดของยีสต์	พีเอช				
ปริมาณร้อยละ	ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
0.02	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	8.15[a]	8.15[a]	8.15[a]	8.15[a]	8.15[a]
ยีสต์ขนมปัง	8.10[a]	7.98[a]	7.67[b]	7.65[b]	7.42[b]
จุลินทรีย์ลูกแป้ง	8.31[a]	8.01[a]	7.75[b]	7.58[b]	7.75[ab]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ง6 ผลของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 เพื่อลดค่าซีโอดี (ร้อยละ) ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ชนิดของยีสต์	ซีโอดีลดลง (ร้อยละ)				
ปริมาณร้อยละ	ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
0.02	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	11.11[a]	48.61[a]	61.11[a]	66.67[a]
ยีสต์ขนมปัง	0	11.11[a]	40.28[b]	52.78[b]	52.78[b]
จุลินทรีย์ลูกแป้ง	0	11.11[a]	48.61[a]	61.11[a]	66.67[a]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง7 ผลของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 เพื่อลดแอมโมเนียไนโตรเจน (ร้อยละ) ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ชนิดของยีสต์ ปริมาณร้อยละ	แอมโมเนียไนโตรเจนลดลง (ร้อยละ) ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
0.02	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0
ยีสต์ขนมปัง	0	25.88[a]	45.25[a]	60.00[a]	65.63[a]
จุลินทรีย์ลูกแป้ง	0	3.88[b]	43.13[b]	51.13[b]	61.50[b]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ง8 ผลของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยยีสต์ขนมปังและจุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากปริมาณร้อยละ 0.02 เพื่อลดฟอสเฟต (ร้อยละ) ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ชนิดของยีสต์ ปริมาณร้อยละ	ฟอสเฟตลดลง (ร้อยละ) ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
0.02	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0
ยีสต์ขนมปัง	0	0.73[a]	8.00[a]	31.15[a]	36.36[a]
จุลินทรีย์ลูกแป้ง	0	0.48[a]	9.45[b]	23.52[b]	35.64[a]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง9 ผลของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ชนิดของแบคทีเรีย	พีเอช ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
ปริมาณร้อยละ 2	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	8.15[a]	8.15[a]	8.15[a]	8.15[a]	8.15[a]
แบคทีเรีย P1 (26)	8.17[a]	8.11[a]	8.14[a]	8.20[a]	8.12[a]
แบคทีเรีย P2 (72)	8.11[a]	8.19[a]	8.22[a]	8.17[a]	8.19[a]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ง10 ผลของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 เพื่อลดค่าซีโอดี ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ชนิดของแบคทีเรีย	ซีโอดีลดลง (ร้อยละ) ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
ปริมาณร้อยละ 2	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0
แบคทีเรีย P1 (26)	0	55.56[b]	72.22[a]	77.77[b]	72.22[b]
แบคทีเรีย P2 (72)	0	61.11[a]	66.67[b]	85.28[a]	83.33[a]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง11 ผลของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 เพื่อลดค่าแอมโมเนียไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ชนิดของแบคทีเรีย ปริมาณร้อยละ 2	แอมโมเนียไนโตรเจนลดลง (ร้อยละ) ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0
แบคทีเรีย P1 (26)	0	25.88[a]	45.25[a]	60.00[a]	65.63[a]
แบคทีเรีย P2 (72)	0	3.88[b]	43.13[b]	51.13[b]	61.50[b]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ง12 ผลของการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์โดยแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรีย P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 เพื่อลดค่าฟอสเฟต ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน

ชนิดของแบคทีเรีย ปริมาณร้อยละ 2	ฟอสเฟตลดลง (ร้อยละ) ระยะเวลาการบำบัด (วัน)				
	0	7	14	21	28
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0
แบคทีเรีย P1 (26)	0	27.64[b]	50.06[b]	75.64[b]	73.70[b]
แบคทีเรีย P2 (72)	0	38.79[a]	55.39[a]	84.97[a]	77.70[a]

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง13 การวัดกิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนในน้ำเสียสังเคราะห์ (วัดวันที่ 0 และ 28) จากน้ำคั้นสับปะรดในส่วนเปลือกพันธุ์ปัตตาเวียปริมาณร้อยละ 10, 20 และ 30 ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)

ความเข้มข้นของน้ำคั้นหยาบสับปะรด (ร้อยละ)	ปริมาณเอนไซม์โบรมิเลน (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ระยะเวลาการบำบัด (วัน)	
ชุดควบคุม	0	28
10	0.12^{c}	0
20	0.21^{ab}	0
30	0.34^{a}	0

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ง14 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเสียสังเคราะห์ (Chamchoi, 2000)

องค์ประกอบ	น้ำเสียสังเคราะห์
พีเอช	8.15
ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	360
แอมโมเนียไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร	8.00
ฟอสเฟต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	8.25
ความเค็ม (พีพีที)	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง15 การบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยน้ำคั้นหยาบสับปะรดปริมาณร้อยละ 20 ยีสต์ขนมปังปริมาณร้อยละ 0.02 และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตไอโซเลต P2 (72) ปริมาณร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 49 วัน

เวลา (วัน)	องค์ประกอบทางเคมีในน้ำเสียสังเคราะห์			
	พีเอช	ซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)	แอมโมเนียไนโตรเจนที่ลดลง (ร้อยละ)	ฟอสเฟตที่ลดลง (ร้อยละ)
0	4.52^{c}	0	0	0
7	4.09^{c}	31.87^{g}	32.38^{g}	24.73^{g}
14	6.04^{b}	46.15^{e}	54.50^{e}	56.73^{f}
21	6.51^{ab}	67.03^{c}	75.88^{b}	74.18^{c}
28	7.02^{a}	91.21^{a}	86.50^{a}	84.12^{b}
35	6.95^{a}	71.43^{b}	64.88^{c}	86.67^{a}
42	6.98^{a}	49.45^{d}	62.88^{d}	68.61^{d}
49	7.01^{a}	45.05^{f}	53.25^{f}	61.58^{e}

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์ ตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการวิเคราะห์ด้วย DMRT จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง16 ลักษณะโคโลนี การติดสีแกรม และรูปร่างเซลล์ของแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P1 (26) และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต P2 (72)

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	สี	แกรม	รูปร่าง
P1 (26)	กลม นูน ของเรียบ ทึบแสง ผิวหน้าของโคโลนีเรียบ	ครีม	+	กลม
P2 (72)	กลม นูน ผิวเรียบ ทึบแสง ผิวหน้าโคโลนีเรียบ	เหลืองครีม	+	ท่อน

ตารางภาคผนวก ง17 กิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลนในน้ำเสียสังเคราะห์

	กิจกรรมของเอนไซม์โบรมิเลน (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) เวลา (วัน)	
	0	49
น้ำเสียสังเคราะห์	0.22	0

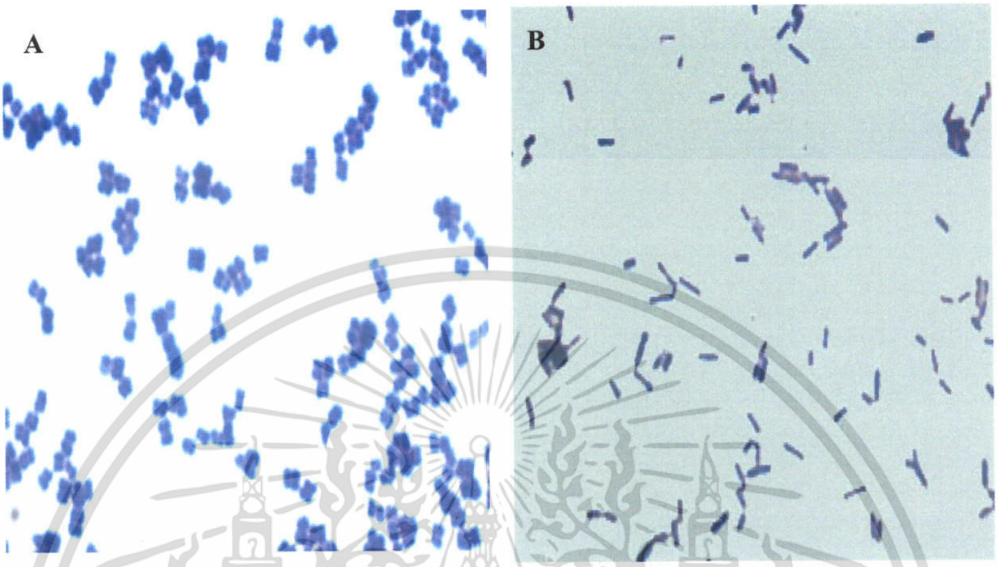
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

รูปผลการทดลอง

รูปภาคผนวก จ1 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ยีสต์ขนมปังบนอาหาร YM (A) การจัดเรียงตัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (B) จุลินทรีย์จากลูกแป้งข้าวหมากบนอาหาร PDA (C) การจัดเรียงตัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (D)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก จ2 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แบคทีเรีย P1 บนอาหาร (A) การจัดเรียงตัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ P1 (B) แบคทีเรีย P2 บนอาหาร (C) การจัดเรียงตัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ P2 (D)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้