

ใบรับรองปัญหาพิเศษ  
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

ผลของโอโซนต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในน้ำ  
Effect of Ozone to Inhibit Aquatic Bacteria

ชื่อนักศึกษา นายสาริต เทศเสียงหวาน

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร. อัจฉรี เรืองเดช

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร. นงนุช เลาะห์วิสุทธิ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา .....

( ดร. อัจฉรี เรืองเดช )

ภาควิชารับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ



T099456

เรื่อง

ผลของโอโซนต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในน้ำ

Effect of Ozone to Inhibit Aquatic Bacteria



โดย

นายสาธิต เทศเสียวหวาน รหัสนักศึกษา 44040599

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2547

๑/๗.

๙๖๔๒๗

๒๕๔๗

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... ๙๙๔๕๖

วันเดือนปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

### เรื่อง

### ผลของโอโซนต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในน้ำ

#### Effect of Ozone to Inhibit Aquatic Bacteria

ในปัจจุบันในการเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่างๆจะพบกับปัญหาการเกิดโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตในการทำธุรกิจการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอย่างมากถึงจะมีการเลี้ยงในระบบปิดเพื่อป้องกันการแพร่ของโรคแต่ก็ยังมีอากรมาเชื้อหรือทำความสะอาดน้ำที่มีการถ่ายออกมาจากการเลี้ยงเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่โดยโอโซนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโดยการศึกษากการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียโดยใช้โอโซนในครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อเพื่อศึกษาผลของการใช้โอโซนและเปรียบเทียบระยะเวลาของการใช้โอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียชนิดต่างๆที่พบในน้ำโดยในการศึกษานี้ผลิตโอโซนด้วยวิธี Photozone เครื่องที่ใช้มีกำลังผลิตโอโซนได้ 60 มิลลิกรัมโอโซนต่อลิตรต่อชั่วโมงทดสอบกับแบคทีเรีย 3 ชนิดคือ แบคทีเรียในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร , แบคทีเรีย *Vibrio harveyi* และ แบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* โดยทำการให้โอโซนแล้วเก็บน้ำตัวอย่างมาตรวจนับจำนวนเซลล์แบคทีเรียที่ลดลงที่เวลา 1,6,12 และ 24 ชั่วโมง แล้วนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95เปอร์เซ็นต์

โดยพบว่าการใช้โอโซน 24 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรได้ 99.43 เปอร์เซ็นต์ ผลของโอโซนต่อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* พบว่าการให้โอโซน 1 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และการทดลองกับแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* พบว่าการให้โอโซน 12 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำได้เป็น 100 เปอร์เซ็นต์

ในส่วนของกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศใดๆเลยนั้นพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงทั้ง 3 การทดลอง มีปริมาณของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจากตอนเริ่มต้นทดลองเป็นอย่างมาก

จากผลการศึกษาพบว่าโอโซนสามารถช่วยในการลดปริมาณของแบคทีเรียในน้ำได้อย่างรวดเร็วโดยในการให้โอโซนเพียง 1 ชั่วโมงก็สามารถลดปริมาณแบคทีเรียในน้ำได้แล้ว แต่การใช้โอโซน ก็มีข้อควรระวังคือปริมาณโอโซนที่เข้มข้นเกินไปจะทำอันตรายต่อสัตว์น้ำได้



## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลการทดลองและวิจารณ์	11
สรุปและข้อเสนอแนะ	15
เอกสารอ้างอิง	16
ภาคผนวก	17



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรและส่วนเปียก เบนที่ได้จากการทดลอง	17
2	การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร	17
3	แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรีย <i>Vibrio harveyi</i> ที่พบในน้ำ และส่วนเปียก เบนที่ได้จากการทดลอง	18
4	การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรีย <i>Vibrio harveyi</i> ที่พบในน้ำ	19
5	แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรีย <i>Aeromonas hydrophila</i> ที่พบในน้ำ และส่วนเปียก เบนที่ได้จากการทดลอง	20
6	การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรีย <i>Aeromonas hydrophila</i> ที่ พบ ในน้ำ	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วิธีการทำลายสารชีวโมเลกุลของเชื้อจุลินทรีย์โดยโอโซน	5
2	กราฟแสดงปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างกัน	11
3	กราฟแสดงปริมาณแบคทีเรีย <i>Vibrio harveyi</i> ที่พบในน้ำหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างกัน	12
4	กราฟแสดงปริมาณแบคทีเรีย <i>Aeromonas hydrophila</i> ที่พบในน้ำหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างกัน	13



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนำ

ในปัจจุบันในการเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่างๆจะพบกับปัญหาการเกิดโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตในการทำธุรกิจการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอย่างมากถึงจะมีการเลี้ยงในระบบปิดเพื่อป้องกันการแพร่ของโรคแต่ก็ต้องมีการฆ่าเชื้อหรือทำความสะอาดน้ำที่มีการถ่ายออกมาจากการเลี้ยงเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่โดยสารเคมีที่นิยมใช้ในการฆ่าเชื้อจะได้แก่สารพวก ฟอมาลีน หรือ คลอรีน แต่สารเหล่านี้ก็จะพบกับปัญหาการตกค้างของสารหลังใช้และอาจจะทำให้เกิดปัญหาในการตกค้างในสัตว์น้ำหรือตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้

โอโซนก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ปกติโอโซนมีการใช้มานานแล้วโดยใช้เพื่อฆ่าเชื้อในธุรกิจน้ำดื่ม เคยมีการทดลองพบว่าโอโซนมีความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli* เร็วกว่าคลอรีนถึง 600-3000 เท่า ( Majumdar and Sproul . 1974 ) และด้วยการเป็นตัวออกซิไดซ์อย่างแรงจึงทำให้โอโซนตกค้างในน้ำน้อยมาก แต่ถึงโอโซนจะมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีแต่ก็ไม่นิยมในการใช้กับการเลี้ยงในฟาร์ม เนื่องจากผู้เลี้ยงยังไม่มั่นใจในผลที่ได้ ดังนั้นการทดลองนี้จึงได้ศึกษาถึงผลของโอโซนต่อปริมาณของแบคทีเรียในน้ำโดยทำการทดลองให้โอโซนในระยะเวลาต่างๆกันเพื่อหาระยะเวลาในการให้โอโซนที่เหมาะสมกับการลดปริมาณแบคทีเรียในน้ำที่นำมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการใช้โอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียชนิดต่างๆที่พบในน้ำ
2. เพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาของการใช้โอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียชนิดต่างๆที่พบในน้ำ

## การตรวจเอกสาร

### 1. โอโซน (Ozone)

1.1 การผลิตโอโซน ก๊าซโอโซนสามารถเกิดขึ้นเองได้ในธรรมชาติ จากการเกิดฟ้าแลบฟ้าคะนอง บนบรรยากาศชั้นสตราโทสเฟียร์ (โอโซนสเฟียร์) ที่ระดับความสูง 10-50 กิโลเมตร และบนพื้นผิวโลก (Smith, 1999; อนันต์ ต้นสุตะพานิช, 2541) ในธรรมชาติก๊าซโอโซนเกิดจากก๊าซออกซิเจนที่ประกอบด้วยธาตุออกซิเจน 2 อะตอม ส่วนหนึ่งยังคงอยู่ในรูป โมเลกุลของก๊าซออกซิเจนบางส่วนถูกรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) แยกสลายเป็นออกซิเจนอิสระที่มีธาตุออกซิเจน 1 อะตอม แล้วรวมกันใหม่กลายเป็นก๊าซโอโซนที่ประกอบด้วยธาตุออกซิเจน 3 อะตอม ปัจจุบันวิธีการที่ใช้ผลิตโอโซนมี 2 วิธี ก๊าซโอโซนที่ใช้ผลิตอาจใช้อากาศในธรรมชาติมีก๊าซออกซิเจน 20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรถ้าต้องการความเข้มข้นสูงและได้ก๊าซโอโซนที่บริสุทธิ์จะผลิตจากก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ที่มีออกซิเจนมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (เอกชัย จิตต์รุ่งเรืองสุข, 2538; สุรพล รักปฐม, 2543)

1.1.1 วิธี Photozone คือการแตกตัวของก๊าซออกซิเจน จากพลังงานคลื่นรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 200 นาโนเมตร ดีที่สุดอยู่ที่ 185 นาโนเมตร แล้วรวมตัวกันใหม่อยู่ในรูปก๊าซโอโซน วิธี Photozone เป็นวิธีที่ให้ความแรงของการออกซิไดซ์สูงและใช้พลังงานในการผลิตน้อยกว่าวิธีอื่นแต่มีข้อจำกัดคือปัญหาการขุ่นมัวของหลอดและอายุการใช้งานสั้นทำให้ปริมาณก๊าซที่ได้น้อยลงหรือไม่คงที่

1.1.2 วิธี Corona discharge คือการเร่งประจุไฟฟ้าแบบ Silent Spark (corona) จากไฟฟ้ากระแสลับผ่านแผ่น อิเล็กโทรด ที่มีความต่างศักย์ 4,000 - 15,000 โวลต์ วิธีนี้จะได้ปริมาณก๊าซโอโซนที่มีความเข้มข้นและปริมาณมากกว่าวิธี Photozone ก๊าซโอโซนที่ผลิตได้ค่อนข้างคงที่แต่ก๊าซออกซิเจนที่ใช้ผลิตต้องปราศจากความชื้นเนื่องจากเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดไอน้ำอยู่ภายในเครื่องก่อให้เกิดสนิมทำให้อายุการใช้งานสั้นลง

1.2 คุณสมบัติและปฏิกิริยาของก๊าซโอโซน โอโซนมีสูตรทางเคมี  $O_3$  ประกอบด้วยธาตุออกซิเจน 3 อะตอม น้ำหนักโมเลกุล 48 เป็นก๊าซสีฟ้า (bluish) ในบรรยากาศทั่วไปมีความเข้มข้นต่ำมักไม่มีสี เมื่อเป็นของเหลวมีสีน้ำเงินเข้ม (dark blue) กลิ่นฉุนคล้ายคาวปลา ความหนาแน่นในสถานะก๊าซ 2.144 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรที่อุณหภูมิและความดันปกติ ในสถานะของเหลว 1.574 กรัมต่อลูกบาศก์เซ็นติเมตร ที่อุณหภูมิ  $-183$  องศาเซลเซียส ในสถานะของแข็ง 1.728 กรัมต่อลูกบาศก์เซ็นติเมตร มีจุดเดือด  $-112$  องศาเซลเซียส ที่ความดัน 100 kPa และจุดหลอมเหลว  $-$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

196 องศาเซลเซียส ความหนืด 0.0016 และ 0.0042 Pa.s ที่อุณหภูมิ -183 และ -196 องศาเซลเซียส ตามลำดับ สามารถดูดซับรังสีอัลตราไวโอเล็ตระหว่างช่วงความยาวคลื่น 220-330 นาโนเมตร ดูดซับแสงที่มองเห็นในช่วงความยาวคลื่น 435-475 นาโนเมตร ค่าครึ่งชีวิต (half life) ประมาณ 36-120 นาที ในสภาวะก๊าซ และ 18-20 นาที เมื่อละลายน้ำ หลังจากสลายตัวได้ก๊าซออกซิเจนแล้วให้พลังงาน -140 กิโลจูลต่อโมล (สุรพล รักปทุม, 2543; กัญญาจิต โสภิญโญศิริ, 24543) การทำปฏิกิริยาเคมีกับสารต่าง ๆ จะเกิดปรากฏการณ์ที่แตกต่างกันไปตามชนิดของสารสภาพของก๊าซโอโซนที่อยู่ในอากาศหรือสารละลาย สารที่มีอิเล็กตรอนมากหรือตัวรีดิวซ์ เช่น ซัลไฟด์ (HS<sup>-</sup>) ไนไตรต์ (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) โบรไมด์ (Br<sup>-</sup>) ไอโอดีน (I<sup>-</sup>) ไซยาไนด์(CN<sup>-</sup>) ไธโอไซยาไนด์ (CNS<sup>-</sup>) และธาตุทุกชนิด ยกเว้นฟลูออไรด์ในตารางธาตุก็จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอย่างตรงไปตรงมา (สุรพล รักปทุม, 2543) สำหรับก๊าซโอโซนที่ละลายอยู่ในน้ำ ยังสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นทางอ้อมจากอนุมูลอิสระโดยโมเลกุลของน้ำบางส่วนแตกตัวออกเป็นอนุมูลไฮดรอกซี (OH<sup>•</sup>) แล้วทำปฏิกิริยากับโอโซนกลายเป็นอนุมูลอิสระพวกรูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical) และอนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical) ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงกว่าโอโซน แล้วจึงเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นอีกที่

1.3 ประสิทธิภาพในการละลายน้ำของโอโซน ปัจจัยที่ส่งผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของโอโซน (นิรชา วงษ์จินดา, 2534)

1.3.1 อุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณโอโซนที่ละลายในน้ำลดลง เนื่องจากโอโซนสลายตัวได้เร็วขึ้น ความคงตัวของโอโซนรวมทั้งความเข้มข้นเริ่มต้นของโอโซนขึ้นกับอัตราการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความสัมพันธ์อื่น

1.3.2 ค่าความเป็นกรด - ด่างของสารละลาย (pH) pH มีความสำคัญในการทำปฏิกิริยาของโอโซนต่ออินทรีย์สารต่าง ๆ ในสภาวะที่ pH น้อยกว่า 7 โอโซนจะทำปฏิกิริยากับอินทรีย์สารต่าง ๆ ได้ช้า แต่ที่ pH มากกว่า 8 ปฏิกิริยาจะเกิดอย่างรวดเร็ว เนื่องจากโอโซนสลายตัวให้ไฮดรอกซีแรดดิคัล (OH<sup>•</sup>) ที่เป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรง อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของความสามารถในการละลายของโอโซนที่ pH ของน้ำเท่ากับ 5-9 เมื่อความเข้มข้นของโอโซนตกค้าง (ROC) อยู่ในช่วง 0.60-0.70 พีพีเอ็ม ในน้ำที่ความเค็ม 31 พีพีที

1.3.3 ความเค็มของน้ำ เมื่อน้ำทะเลมีค่าความเค็มเพิ่มสูงขึ้น จะทำให้โอโซนละลายลดน้อยลง ถ้าตัวแปรอื่น ๆ ได้แก่ อุณหภูมิ และค่า pH ของน้ำทะเลคงที่

1.3.4 คุณสมบัติของสารละลาย ปริมาณของสารประกอบ และอนุภาคแขวนลอยต่าง ๆ ในน้ำมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการละลายของก๊าซโอโซน กล่าวคือถ้ามีสารประกอบและอนุภาคต่าง ๆ ในปริมาณมาก จะทำให้ปริมาณโอโซนละลายลดลง

1.3.5 ขนาดของฟองก๊าซโอโซน จำนวนและขนาดช่องของหัวทรายที่ใช้พ่นก๊าซโอโซนมีผลต่อขนาดของฟองก๊าซโอโซน ฟองก๊าซขนาดใหญ่ ทำให้การผสมผสานระหว่างก๊าซโอโซนกับน้ำไม่สมบูรณ์ ปริมาณโอโซนละลายจึงมีค่าน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณโอโซนละลายที่ได้จากฟองก๊าซขนาดเล็ก นอกจากนี้ความดันอากาศในการผลิตก๊าซโอโซนยังมีผลต่อขนาดฟองก๊าซ เนื่องจากที่ความดันสูง จะทำให้ฟองก๊าซมีขนาดใหญ่ ทำให้โอโซนละลายน้ำได้น้อย

1.3.6 วิธีการที่โอโซนสัมผัสกับสารละลาย การเป่าพ่นก๊าซโอโซนและน้ำไปพร้อม ๆ กัน ทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างก๊าซและของเหลวอย่างชัดเจน ปริมาณโอโซนละลายที่ได้จึงมีค่าน้อย แต่การเป่าพ่นโอโซนลงในน้ำที่ตั้งอยู่ในคอลัมน์จะทำให้โอโซนผสมกับของเหลวได้ดีกว่า ปริมาณโอโซนละลายที่ได้จึงปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

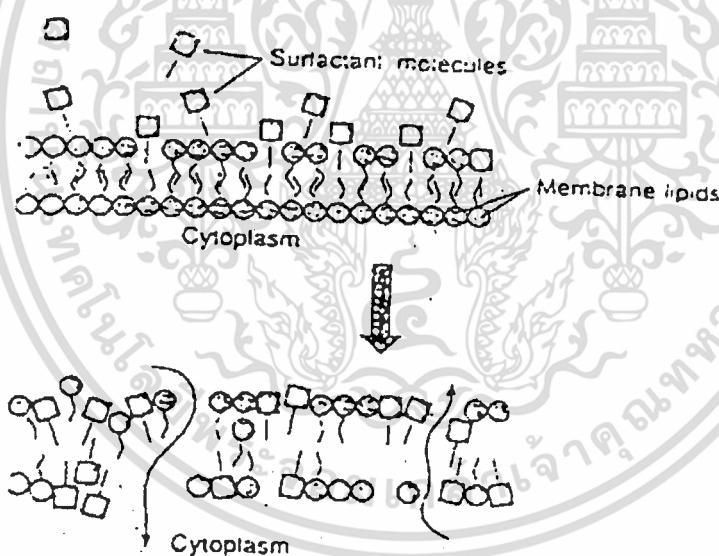
1.4 การตรวจวัดปริมาณก๊าซโอโซน ความเข้มข้นของโอโซนมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา นับตั้งแต่มีการผลิตจากเครื่องให้กำเนิดโอโซน จึงต้องมีการตรวจวัดความเข้มข้นที่แท้จริงของโอโซน ซึ่งจำแนกได้ดังนี้

1.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนผลิตสุทธิ (Total Ozone Output, TOO) การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนแบบนี้จะใช้วิธีการวิเคราะห์ด้วยวิธี Iodometric titration (APHA, 1976) เป็นการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซโอโซนที่เข้าไปสู่ระบบต่อหน่วยเวลา โดยใช้สารโปแตสเซียมไอโอไดด์เป็นตัวดูดจับก๊าซโอโซนในน้ำทำให้เกิดสารโปแตสเซียมไอโอเดต ซึ่งทำปฏิกิริยากับน้ำแบ่งให้สีน้ำเงิน แม้วิธีนี้จะไม่คำนึงถึงการระเหยออกจากระบบของโอโซนในภายหลัง แต่เป็นวิธีการที่นักวิจัยหลายกลุ่มเลือกใช้ เนื่องจากไม่มีวิธีใดที่สามารถวัดความเข้มข้นของโอโซนในน้ำได้อย่างถูกต้องแน่นอน (Yang and Chen, 1979; Liltved et al, 1995)

1.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนตกค้าง (Residual Ozone Concentration, ROC) วิธี Indigo Colorimetric เป็นการวัดค่าโอโซนที่ยังหลงเหลืออยู่ในน้ำขณะทำการตรวจวัด วิธีนี้ได้รับการรับรองจาก Standard Methods Committee (APHA, 1976) มีหลักการคือ โอโซนทำปฏิกิริยากับ diethy-p-phenylenediamine (DPD) โดยมี iodide ion เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้สารละลายสีแดงม่วง ซึ่งตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Merck Ltd., 1998) อย่างไรก็ตามโบรมีนและคลอรีนในน้ำทะเล สามารถทำให้เกิดความผิดพลาดในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ผลของไอโซนที่มีต่อเชื้อแบคทีเรีย ปฏิกริยาการเข้าทำลายเซลล์สิ่งมีชีวิตของไอโซน เริ่มจากการที่ไอโซนจะออกซิไดซ์เยื่อหุ้มเซลล์ที่บริเวณพันธะคู่ของกรดไขมัน (นิรชา วงษ์จินดา, 2537; Smith, 1999; Arturo and Tapas, 1988 อ้างถึงใน กัญญาจิต โสภิญโญศิริ, 2543) จนเกิดการเสียหายและแยกออกจากกัน (Trukhacheva et al, 1993 อ้างถึงใน นิรชา วงษ์จินดา, 2537) จากนั้นไอโซนจะเข้าไปออกซิไดซ์สารชีวโมเลกุลอื่นๆภายในเซลล์ ทำให้การสร้างโปรตีนที่ทำหน้าทีเป็นเอนไซม์ และโครงสร้างของโมเลกุลหยุดชะงัก (Paulesu et al, 1991 อ้างถึงใน กัญญาจิต โสภิญโญศิริ, 2543) เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ DNA และ RNA หรือเกิดพันธะกับ RNA ทำให้กระบวนการสังเคราะห์ DNA และ RNA เกิดขึ้นได้อย่างไม่สมบูรณ์ (ศิริรักษ์ เนตรรัตน์, 2539 อ้างถึงใน กัญญาจิต โสภิญโญศิริ, 2543)(ภาพที่ 1) เมื่อออกแกแนลส์ต่างๆในเซลล์ถูกทำลายจะทำให้ตายในที่สุด (นันทริกา อิศรศักดิ์ ณ ออยุธยา และคณะ, 2532 อ้างถึงใน กัญญาจิต โสภิญโญศิริ, 2543) อย่างไรก็ตามถ้าเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ถูกทำลายจนแตกแยกออกจากกัน เซลล์จะสามารถฟื้นกลับมาใช้ชีวิตใหม่ได้ (Arturo and Tapas, 1988 อ้างถึงใน กัญญาจิต โสภิญโญศิริ, 2543 )



ภาพที่ 1 วิธีการทำลายสารชีวโมเลกุลของเชื้อจุลินทรีย์โดยไอโซน  
ที่มา : ศิริรักษ์ เนตรรัตน์ (2539)

## 2. เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดลอง

### 2.1 เชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi*

แบคทีเรียชนิดนี้จัดอยู่ในแบคทีเรียประเภทรูปร่างเป็นแท่งโค้งสั้น ขนาดเซลล์ประมาณ 1.5-4.0  $\mu\text{m}$  เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram – negative) เคลื่อนที่ได้มี Polar flagella ไม่สร้างสปอร์ และไม่สร้างซีสต์ (Cyst) เป็นพวก Facultative anaerobes สร้างสารสีเขียวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS (Thiosulfate-citrate-bile-sulf-sucrose) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต 20-30  $^{\circ}\text{C}$  ค่า pH 7-9 ความเค็มระหว่าง 10-40 ppt ลักษณะเด่นที่สำคัญคือเมื่อส่องดูได้แสง Fluorescent เซลล์จะเรืองแสงขึ้นมา โดยแบคทีเรียชนิดนี้เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในการเลี้ยงสัตว์น้ำจำพวกกุ้งและปู

### 2.2 เชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*

เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีคล้ายกับแบคทีเรียบางชนิดใน Order Pseudomonas. Family Enterobacteraceae รูปร่างแบบแท่ง ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้เพราะมีแฟลเจลลัม (Flagellum) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ โคโลนีขึ้นบนอาหารเลี้ยงธรรมดา โดยโคโลนีมีลักษณะกลมและผิวเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 – 0.8  $\mu\text{m}$  X 1.0 – 1.5  $\mu\text{m}$  โดยส่วนมากแบคทีเรียชนิดนี้จะทำอันตรายกับปลาน้ำจืด ปลาที่มีเชื้อนี้จะทำให้ผิวหนังสีดำ ขนาดใหญ่อาจไม่สม่าเสมอกันซึ่งเกิดมาจากการตกเลือด (Haemorrhage) ทำให้เกิดการตายของกล้ามเนื้อ ผิวหนังชั้นนอกเกิดเป็นแผลเปื่อย ไตและม้ามบวม น้ำ มีน้ำของเหลวไหลอยู่ในช่องท้อง โดยจุดสำคัญที่มีการตายของกล้ามเนื้อ ได้แก่ ตับ หัวใจ กล้ามเนื้อ gonad และตับอ่อน

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. Volumetric Flask ขนาด 6 ลิตร
2. เครื่องผลิตไอโซน
3. เครื่อง Air Pump
4. หัวทราย,ท่อลม,ข้อต่อปรับแรงลม
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA)
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate-citrate-bile salts-sucrose (TCBS)
7. Pipett ขนาด 10 ml
8. Micropipett ขนาด 10 ml,5ml,1ml,20µl
9. Plate
10. หลอดทดลองขนาดเล็ก,ที่วางหลอดทดลอง
11. ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ
12. บีกเกอร์ ขนาด 1L,2L
13. Cylinder
14. แท่งแก้วคนสาร
15. กระจบอกรอบ Plate
16. ตู้อบความร้อน (Oven)
17. เครื่อง Auto Clave
18. ตู้บ่มเชื้อ
19. ตู้ Laminar Flow
20. Vortex mixture
21. Loop,needle
22. น้ำกลั่น
23. NaCl
24. น้ำเกลือ 0.85%
25. ช้อนตักสาร
26. เครื่องชั่งแบบจุดทศนิยม 2 ตำแหน่ง
27. แอลกอฮอล์ 70%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีการ

### แผนการทดลอง

มีแผนการทดลองแบบ แฟคเตอร์ 2 X 4 ปัจจัย โดยปัจจัยที่ 1 คือการใช้ไอโซน มี 2 ระดับ ได้แก่ ใช้ไอโซน กับ ไม่ใช้ไอโซน ปัจจัยที่ 2 คือระยะเวลาในการให้ไอโซน มี 4 ระดับ ได้แก่ 0 , 1 , 6 , 12 , 24 ชั่วโมง แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ผลของไอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร

การทดลองที่ 2 ผลของไอโซนต่อเชื้อ *Vibrio harveyi*

การทดลองที่ 3 ผลของไอโซนต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

### วิธีการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

#### 1. การศึกษาผลของไอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร

วิธีการมีดังนี้

##### 1.1 การเตรียมชุดการทดลอง

1.1.1 เก็บน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรในเขตลาดกระบังซึ่งเลี้ยงหมูป่าทุกวัยด้วยอาหารตามธรรมชาติ นำน้ำทิ้งมาใส่ใน Volumetric flask ขนาด 6 L โดยใส่น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรลงไป 2 L

1.1.2 แบ่ง Volumetric flask ขนาด 6 L เป็น 3 ชุดแต่ละชุดมี 3 ซ้ำโดยชุดที่ 1 นำไปต่อเข้ากับเครื่องผลิตไอโซนแบบ photozone ที่มีกำลังผลิตไอโซนได้ 60 mg ไอโซน/L/ชั่วโมง 1 ชุด ชุดที่ 2 ต่อเข้ากับเครื่องให้อากาศ 1 ชุด โดยชุดที่มีการให้อากาศทั้ง 2 ชุดปรับให้มีอัตราการไหลของอากาศเท่าๆกัน และชุดที่ 3 เป็น control โดยไม่มีการให้อากาศ

1.1.3 เปิดเครื่องให้อากาศและเครื่องผลิตไอโซนจากนั้นเก็บน้ำที่ 0, 1, 6, 12, 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย

##### 1.2 การเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรีย

1.2.1 เตรียมน้ำเกลือ 0.85% โดยชั่ง NaCl 8.5g ละลายในน้ำ 1 L จากนั้นนำไปอบใน Auto Clave ที่ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อฆ่าเชื้อ

1.2.2 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA โดยชั่งอาหาร PCA 22.5g/น้ำ 1L จากนั้นนำไปอุ่นบนเตาแก๊สจนอุ่นละลายหมด เทอาหารใส่ในขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปอบใน Auto Clave ที่ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

1.2.3 นำ plate ไปอบฆ่าเชื้อในตู้ Hot Air Oven ที่อุณหภูมิ 180 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.4 นำอาหารที่อบใน Auto Clave ที่ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที แล้วมาเทลงใน plate ภายในตู้ Laminar Flow โดยเทอาหารประมาณ 20ml ต่อ 1 plate

### 1.3. การตรวจลอบปริมาณเชื้อ

1.3.1 เก็บน้ำจากชุดทดลองโดยใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดน้ำมา 5ml ใส่ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

1.3.2 จากนั้นนำน้ำที่ได้มาเจือจางในน้ำเกลือปลอดเชื้อโดยเจือจางที่ 5 ระดับความเข้มข้นตั้งแต่  $10^{-1}$  –  $10^{-5}$  โดยดูดน้ำตัวอย่างมา 1ml ใส่ลงในน้ำเกลือ 9ml เขย่าให้เข้ากันด้วย Vortex mixture จะได้น้ำตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่  $10^{-1}$  แล้วจากนั้นดูด ได้น้ำตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่  $10^{-1}$  มา 1ml ใส่ในน้ำเกลือ 9ml เขย่าให้เข้ากันด้วย Vortex mixture จะได้น้ำตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่  $10^{-2}$  แล้วจากนั้นทำแบบนี้เรื่อยไปจนกระทั่งได้น้ำตัวอย่างที่มีความเข้มข้น  $10^{-5}$  (10 fold dilution)

1.3.3 เมื่อได้น้ำตัวอย่างครบทุกระดับความเข้มข้นแล้วทำการตรวจนับโคโลนีโดยใช้วิธี Drop Plate โดยดูดน้ำตัวอย่างมา 10  $\mu$ l หยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 plate จะทำการหยด 5 ตำแหน่ง

1.3.4 เมื่อทำการ Drop Plate เสร็จแล้วนำอาหารไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 16 – 18 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมานับจำนวนโคโลนีที่เกิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกนับเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีขึ้นอยู่ในช่วง 30 – 300 โคโลนี

## 2. ผลของไอโซนต่อเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi*

### วิธีการมีดังนี้

2.1 นำเชื้อ *Vibrio harveyi* บริสุทธิ์ที่ได้จากภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มาเลี้ยงด้วยสูตรอาหารดังนี้ อาหาร NB 8g/l, NaCl 15g/l และ Agar 15g/l

2.2 ขยายเชื้อลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 200ml ที่บรรจุอาหารเหลว 120ml จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.3 เมื่อได้จำนวนเชื้อที่มากพอนำเชื้อใส่ใน Volumetric flask ขนาด 6 L ที่บรรจุน้ำเกลือที่มีความเค็ม 10 ส่วนใน 1000 ส่วน อยู่ 2L โดยแต่ละ flask จะใส่เชื้อในปริมาณที่เท่าๆกันประมาณ 10ml จากนั้นทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงเพื่อให้เชื้อเพิ่มจำนวน

2.4 เปิดเครื่องให้อากาศและเครื่องผลิตไอโซนจากนั้นเก็บน้ำที่ 0, 1, 6, 12, 24 ชั่วโมงเพื่อนำมาตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย

2.5 จากนั้นทำตามขั้นตอนที่ 1.3

### 3. ผลของไอโซนต่อเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*

วิธีการมีดังนี้

ทำตามการทดลองที่ 2 แต่เปลี่ยนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้เป็น *Aeromonas hydrophila*

#### การบันทึกข้อมูล

##### 1. บันทึกปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังจากให้อากาศและไอโซน

โดยใช้วิธี Drop plate แล้วนับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงโดยเลือกนับเฉพาะอาหารที่มีโคโลนีขึ้นอยู่ในช่วง 30 – 300 โคโลนี

#### การวิเคราะห์ข้อมูล

##### 1. การหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำ

#### การคำนวณ

จำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้น  $10^{-x} = Y$  โคโลนี

ปริมาณน้ำตัวอย่างที่หยดในอาหารเลี้ยงเชื้อ =  $10\mu\text{l}$  แต่  $1\text{ml} = 1000\mu\text{l}$

ดังนั้นในน้ำตัวอย่าง  $1\text{ml}$  มีปริมาณเชื้อ =  $Y \times 1000 \times 10^x$  โคโลนี

#### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณเชื้อแบคทีเรียในแต่ละการทดลองโดยใช้โปรแกรม Spss version 10.0 for Window

#### สถานที่ทำการทดลอง

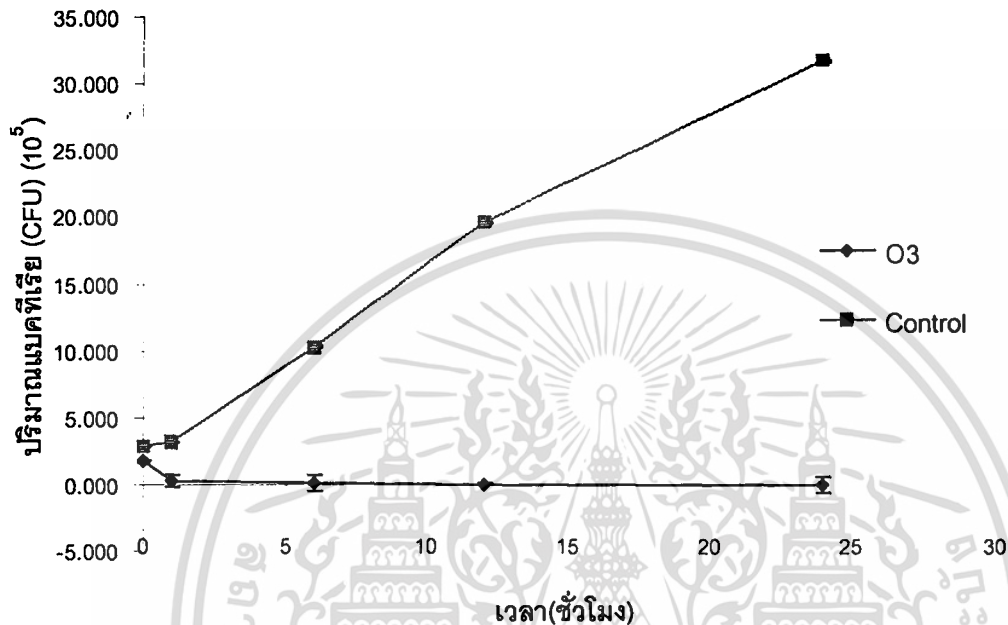
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

#### ระยะเวลาการทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่วันที่ 1 กุมภาพันธ์ สิ้นสุดการทดลองวันที่ 31 มีนาคม 2548

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 1. ผลของโอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร

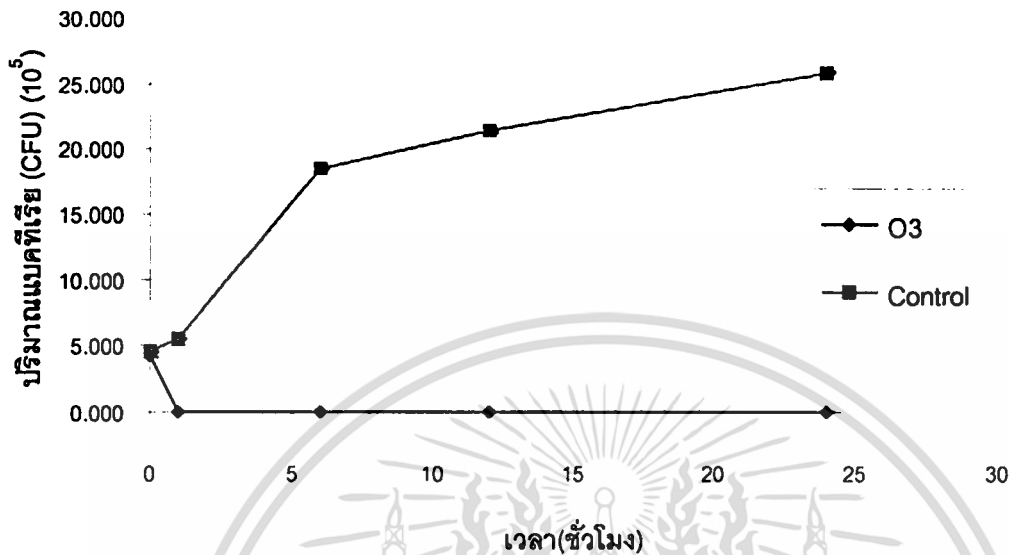


ภาพที่ 2 แสดงปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างๆ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณแบคทีเรียในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจากชนิดของอากาศที่เป่าพ่นในน้ำตัวอย่างเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อากาศจากบรรยากาศและโอโซนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเทียบกับระยะเวลาแล้ว ระยะเวลาที่ 1 , 6 , 12 และ 24 ชั่วโมง ก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากภาพที่ 2 การให้โอโซน 24 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจาก 176,300 CFU เหลือ 1,000 CFU หรือคิดเป็น 99.43 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการให้อากาศธรรมดาพบว่า การให้อากาศธรรมดา 24 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจาก 161,700 CFU เหลือ 25,600 CFU หรือคิดเป็น 84.17 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศใดๆพบปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรเพิ่มขึ้นจาก 282,700 C F U เป็น 3,176,700 C F U

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

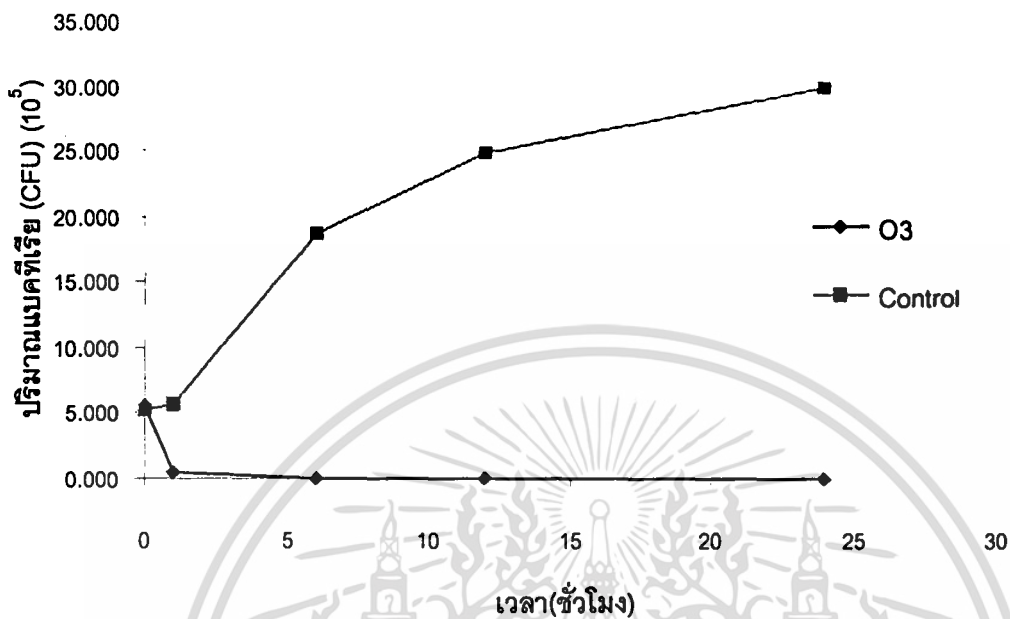
## 2. ผลของโอโซนต่อปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi*



ภาพที่ 3 แสดงปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างๆ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ในน้ำจากชนิดของอากาศที่เป่าพ่นในน้ำตัวอย่างเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อากาศจากบรรยากาศและโอโซนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเทียบกับระยะเวลาแล้ว ระยะเวลาที่ 1 , 6 , 12 และ 24 ชั่วโมง ก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากภาพที่ 3 การให้โอโซน 1 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำจาก 428,000 CFU เหลือ 0 CFU หรือคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการให้อากาศธรรมดาพบว่าการให้อากาศธรรมดา 1 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำจาก 510,700 CFU เหลือ 159,300 CFU หรือคิดเป็น 68.8 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศใดๆเป็นเวลา 1 ชั่วโมงพบว่าปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำเพิ่มขึ้นจาก 457,700 C F U เป็น 550,300 C F U

### 3. ผลของไอโซนต่อปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*



ภาพที่ 4 แสดงปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำหลังจากให้อากาศและไอโซนที่เวลาต่างๆ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ในน้ำจากชนิดของอากาศที่เป่าพ่นในน้ำตัวอย่างเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อากาศจากบรรยากาศและไอโซนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเทียบกับระยะเวลาแล้ว ระยะเวลาที่ 1 , 6 , 12 และ 24 ชั่วโมง ก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากภาพที่ 4 การให้ไอโซน 12 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจาก 559,000 CFU เหลือ 0 CFU หรือคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการให้อากาศธรรมดาพบว่าการให้อากาศธรรมดา 12 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจาก 536,300CFU เหลือ 16,500CFU หรือคิดเป็น 96.9 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศใดๆเป็นเวลา 12 ชั่วโมงพบว่าปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำเพิ่มขึ้นจาก 527,700CFU เป็น 2,480,000CFU

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่า การให้ไอโซนสามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้ซึ่งสาเหตุที่ปริมาณแบคทีเรียลดลงมาจากไอโซนไปอ็อกซิไดซ์เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียบริเวณพันธะคู่ของกรดไขมันจนเยื่อหุ้มเซลล์เกิดการเสียหายและแยกออกจากกันจากนั้นไอโซนจะเข้าไปอ็อกซิไดซ์สารชีวโมเลกุลอื่นๆภายในเซลล์ทำให้การสร้างโปรตีนที่เป็นโครงสร้างหลักของโมเลกุลหยุดชะงักและทำให้โครงสร้างของ DNA และ RNA เปลี่ยนแปลงไปทำให้แบคทีเรียตายในที่สุด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สรุป

การให้โอโซน 24 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจาก 176,300 CFU เหลือ 1,000 CFU หรือคิดเป็น 99.43 เปอร์เซ็นต์ การให้โอโซน 1 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำจาก 428,000 CFU เหลือ 0 CFU หรือคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ และการให้โอโซน 12 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจาก 559,000 CFU เหลือ 0 CFU หรือคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

การให้อากาศธรรมชาติพบว่าการให้อากาศธรรมชาติ 24 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจาก 161,700 CFU เหลือ 25,600 CFU หรือคิดเป็น 84.17 เปอร์เซ็นต์ การให้อากาศธรรมชาติ 1 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำจาก 510,700 CFU เหลือ 159,300 CFU หรือคิดเป็น 68.8 เปอร์เซ็นต์ และการให้อากาศธรรมชาติ 12 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจาก 536,300 CFU เหลือ 16,500 CFU หรือคิดเป็น 96.9 เปอร์เซ็นต์

## ข้อเสนอแนะ

ในการทดลองเป็นการหาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้โอโซนลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำโดยไม่ได้มีการทดลองถึงความเหมาะสมของความเข้มข้นและระยะเวลาที่มีต่อสัตว์น้ำดังนั้นในการนำโอโซนไปใช้ผู้ใช้ควรปรับระยะเวลาและความเข้มข้นของโอโซนให้เหมาะสมชนิดของสัตว์น้ำหรือใช้โอโซนในการฆ่าแบคทีเรียในน้ำทิ้งที่ต้องการนำกลับมาใช้ใหม่ น่าจะเป็นการปลอดภัยกับสัตว์น้ำที่เลี้ยงมากกว่า

ในการใช้โอโซนถ้าต้องการเพิ่มความเข้มข้นของโอโซนก็สามารถนำก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (ออกซิเจน 95 เปอร์เซ็นต์) มาเป็นแหล่งผลิตโอโซนแทนอากาศธรรมชาติได้

### เอกสารอ้างอิง

- กัญญาจิต โลภิญโญศิริ. 2548. การใช้โอโซนในการควบคุมคุณภาพน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. สาขา  
วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 4-5 น, 12-15 น, 56 น
- จันทิมา ดำรงวุฒิ. 2543. การทดสอบประสิทธิภาพและค่า MIC ของ Acriflavin ต่อ *Aeromonas hydrophila* และ *Pseudomonas fluorescense*. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง,  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 4-5 น.
- สันติ ปานนุสา. 2547. อัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากระพงขาว ที่ได้รับเชื้อ  
*Vibrio sp.* ในระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกัน. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง,  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 2-3 น.
- Martin S. Tango, Graham A. Gagnon. 2003. Impact of ozonation on water quality in  
marine recirculation systems. *Aquacultural engineering*, 29:125-137 p.
- Oraporn Meunpol, Kanyajit Lopinyosiri, Piamsak Menasveta. 2003. The effect of ozone  
and probiotics on the survival of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*).  
*Aquaculture*. 220:437-448 p.
- Valdis Krumins, James Ebeling, Fred Wheaton. 2001. Part-day ozonation for nitrogen  
and organic carbon control in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural  
engineering*, 24: 231-241 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรและสวน  
เบียงเบนมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง

ปริมาณแบคทีเรีย (CFU) ( $10^5$ )	ควบคุม	อากาศธรรมดา	ไอโซน
1 ชั่วโมง	$3.137 \pm 0.057$	$1.257 \pm 0.277$	$0.270 \pm 0.458$
6 ชั่วโมง	$10.303 \pm 0.063$	$0.773 \pm 0.169$	$0.070 \pm 0.613$
12 ชั่วโมง	$19.567 \pm 0.083$	$0.593 \pm 0.039$	$0.032 \pm 0.125$
24 ชั่วโมง	$31.767 \pm 0.05$	$0.256 \pm 0.05$	$0.010 \pm 0.6$

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรียในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร

Tests of Between-Subjects  
Effects

Dependent Variable

Source	SS	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.47E+13	14	2.48E+12	624.779	0E+00
Intercept	1.10E+13	1	1.10E+13	2778.783	0E+00
TREAT	1.65E+13	2	8.27E+12	2084.689	0E+00
HOUR	5.16E+12	4	1.29E+12	325.092	0E+00
TREAT * HOUR	1.30E+13	8	1.63E+12	409.644	0E+00
Error	1.19E+11	30	3.97E+09		
Total	4.59E+13	45			
Corrected Total	3.48E+13	44			

A R Squared = 0.997 (Adjusted R Squared = 0.995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรียในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจากชนิดของอากาศที่ต่างกัน

Treat	ควบคุม	อากาศธรรมดา	ไอโซน
Mean	16.193a	0.720b	0.095c

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรียในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจากระยะเวลาที่ให้อากาศต่างกัน

Treat	1 ชั่วโมง	6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Mean	1.555a	3.715b	6.731c	10.678d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงถึงการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harvey* ที่พบในน้ำและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง

ปริมาณแบคทีเรีย (CFU) ( $10^5$ )	ควบคุม	อากาศธรรมดา	ไอโซน
1 ชั่วโมง	5.503±0.057	1.593±0.377	0.000±0
6 ชั่วโมง	18.533±0.038	0.252±0.356	0.000±0
12 ชั่วโมง	21.400±0.080	0.042±0.407	0.000±0
24 ชั่วโมง	25.900±0.064	0.014±0.869	0.000±0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harvey* ที่พบในน้ำ

##### Tests of Between-Subjects Effects

##### Dependent Variable

Source	SS	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.20E+13	14	2.30E+12	454.526	0E+00
Intercept	1.50E+13	1	1.50E+13	3033.082	0E+00
TREAT	2.00E+13	2	9.90E+12	1971.788	0E+00
HOUR	2.10E+12	4	5.20E+11	104.06	0E+00
TREAT * HOUR	1.00E+13	8	1.30E+12	250.444	0E+00
Error	1.50E+11	30	5.00E+09		
Total	4.70E+13	45			
Corrected Total	3.20E+13	44			

A R Squared = 0.995 (Adjusted R Squared = 0.993)

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harvey* ที่พบในน้ำจากชนิดของอากาศที่ต่างกัน

Treat	ควบคุม	อากาศธรรมดา	โอโซน
Mean	17.834a	0.475b	0c

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harvey* ที่พบในน้ำจากระยะเวลาที่ให้อากาศต่างกัน

Treat	1 ชั่วโมง	6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Mean	2.366a	6.262b	7.147c	8.638d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงถึงการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำและ  
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง

ปริมาณแบคทีเรีย (CFU) ( $10^5$ )	ควมคุม	อากาศธรรมดา	ไอโซน
1 ชั่วโมง	5.737	2.053	0.401
6 ชั่วโมง	18.700	0.373	0.039
12 ชั่วโมง	24.800	0.165	0.000
24 ชั่วโมง	29.900	0.075	0.000

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบใน  
น้ำ

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable

Source	SS	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.00E+13	14	2.90E+12	423.386	0E+00
Intercept	1.90E+13	1	1.90E+13	2864.843	0E+00
TREAT	2.40E+13	2	1.20E+13	1769.951	0E+00
HOUR	2.80E+12	4	7.00E+11	102.715	0E+00
TREAT * HOUR	1.30E+13	8	1.70E+12	247.081	0E+00
Error	2.00E+11	30	6.80E+09		
Total	6.00E+13	45			
Corrected Total	4.00E+13	44			

A

R Squared = 0.995 (Adjusted R Squared = 0.993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจากชนิดของอากาศที่ต่างกัน

Treat	ควบคุม	อากาศธรรมดา	ไอโซน
Mean	19.784a	0.667b	0.110c

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจากระยะเวลาที่ให้อากาศต่างกัน

Treat	1 ชั่วโมง	6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Mean	2.730a	6.371b	8.322c	9.992d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงถึงการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ