



การตัดแยก ชื่อจุลินทรีย์จากบริเวณปลายรากผักตบชวา



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2531

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolation of microorganisms from roots of Water hyacinth



A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the degree of Bachelor Science

Department of Applied Biology

Faculty of Industrial Education and Science

King Mongkut' institute of technology Ladkrabung

1988


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


หัวข้อโครงการพิเศษ การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากบริเวณปลายรากผักตบชวา  
โดย นางสาว สุนรรณี วิริยะปัญญา  
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์  
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. เรียม เตชะโสภณมณี


ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง อัญมณีให้พิมพ์โครงการพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

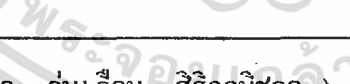
  
( ผศ. มาลินี ตันติยาภรณ์ ) หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ

  
( ผศ. มาลินี ตันติยาภรณ์ ) ประธานกรรมการ

  
( ดร. เรียม เตชะโสภณมณี ) กรรมการ

  
( ผศ. นวนรัตน์ ปานเยี่ยม ) กรรมการ

  
( อ. อุ่นเรือน ศิริวาณิชกุล ) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ	การตัดแยกเชื้อจุลินทรีย์บริเวณปลายรากผักตบชวา
นักศึกษา	นางสาวสุนรรณี วิริยะบัญชา
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. เรียม เตชะโสภณณี
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2530

#### บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างน้ำ และรากผักตบชวาจากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 7 แห่ง มาทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ ผลปรากฏว่า น้ำตัวอย่างบริเวณที่มีผักตบชวามีปริมาณจุลินทรีย์น้อยกว่าที่ปลายรากผักตบชวาในแหล่งเดียวกัน ประมาณ 100 เท่า จุลินทรีย์ที่ตรวจพบทั้งหมดมี 29 กลุ่ม เมื่อแบ่งตามลักษณะรูปร่างโคโลนี ลักษณะเซลล์ และการติดสีแกรม สามารถแยกเชื้อราได้ 9 กลุ่ม และแบคทีเรีย 20 กลุ่ม จุลินทรีย์ทั้งหมดนี้ พบว่ามีแบคทีเรีย 4 กลุ่มที่พบเฉพาะบริเวณรากผักตบชวาเท่านั้น เมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด มาศึกษาพบว่า มี 2 กลุ่มที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกันกับชื่อ Beijerinckia spp. และ Azotobacter spp. โดยมีลักษณะโคโลนีมัน ยึดบนผิวที่น้ำ รูปร่างแบนแท่ง แกรมลบ สามารถย่อยสลายน้ำตาลได้กรดและเจริญบนอาหารที่ไม่มีไนโตรเจนได้ ด้วยเหตุที่แบคทีเรีย 2 ชนิดนี้ มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ปริมาณสูง คุณสมบัติดังกล่าวอาจมีส่วนในการลดมลสารไนโตรเจนในแหล่งน้ำได้ดียิ่งขึ้น เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อม กับปริมาณแบคทีเรีย 2 กลุ่มนี้พบว่า แหล่งน้ำข้างคณะเทคโนโลยีการเกษตร และข้างตึกสมเด็จพะเทพฯ มีปริมาณแบคทีเรีย 2 กลุ่มนี้มาก โดยแหล่งน้ำทั้งสองแห่งนี้มีสภาพแวดล้อมคล้ายคลึงกันคือ ลักษณะความขุ่นของน้ำ มีปานกลาง อยู่ในแหล่งน้ำตื้น ไม่มีการเคลื่อนไหวของแหล่งน้ำ หรือเคลื่อนไหวอย่างช้า ๆ แต่อย่างไรก็ตาม ความแออัดของผักตบชวา การถ่ายเทของอากาศและปริมาณแสงแดดที่ส่องบริเวณข้างคณะเทคโนโลยีการเกษตร จะน้อยกว่าบริเวณข้างตึกสมเด็จพะเทพฯ ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ อาจมีการเสริมกันทำให้จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน บริเวณปลายรากผักตบชวา จากแหล่งน้ำทั้งสองแห่งนี้มีปริมาณมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกระใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title      Isolation of microorganisms from roots of  
Water hyacinth  
Name                              Suphannee Viriyabancha  
Special Project Advisor      Dr. Ream Taechasophonmanee  
Department                      Applied Biology  
Academic Year                  1988

#### ABSTRACT

The isolation of microorganisms from water and water hyacinth roots taken from 7 areas showed that microorganisms from water around water hyacinth were 100 times lower than microorganisms from water hyacinth roots taken from the same area. 29 groups of microorganisms were isolated and 9 groups were fungi and 20 group were bacteria . 4 groups of bacteria were found only at water hyacinth roots. When these groups of bacteria were examined, 2 groups were found to have similar characteristics as Beijerincked and Azotobacter in the forms of mucoid colonies , rod slapes , gram negative stain and an ability to 2 groups of bacteria were able to fix nitrogen in the high amount ,it might be a reason that they could reduce nitrogen pollution in natural water sources. Water sources at faculty of Agricultural Technology and Pra Thep building had the 2 groups of bacteria in high quantity. Environmental factors such as ventilation and intensity of light may enhance the ability of microorganisms at water hyainth root for the nitrogen fixation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 แนวความคิดและทฤษฎี	
- ผักตบชวา	4
- ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของผักตบชวา	4
- การขยายพันธุ์และการแพร่กระจาย	6
- ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของผักตบชวา	6
- ประโยชน์ของผักตบชวา	7
- การจำกัดน้ำเสียด้วยผักตบชวา	7
- จุลชีววิทยาของน้ำ	10
- จุลชีววิทยาบริเวณรอบบракfish	11
- ความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์กับบริเวณรอบบракfish	11
- การตรึงสารประกอบไนโตรเจน	12
- วัฏจักรไนโตรเจน	13
- ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำ	17
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย	
- การเลือกจุดเก็บตัวอย่าง	19
- การเก็บตัวอย่าง	20
- การตรวจวิเคราะห์	20
- การแยกเชื้อบริสุทธิ์	23
- การศึกษารูปร่างของจุลินทรีย์	23
- การตรวจสอบชื่อ Genus Azotobacter	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

- ผลที่ได้จากการทดลอง	28
- สรุปและข้อเสียด้าน	42
- เอกสารอ้างอิง	45
- ภาคผนวก	48
- ประวัติผู้เรียบเรียง	54



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษ เรื่อง การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากบริเวณปลายรากผักตบชวา สำเร็จ ล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับความอุปการะ ช่วยเหลือ ตลอดจนกำลังใจจากบุคคลหลายท่าน ดังนี้

1. อาจารย์ ดร. เรียม เตชะโสมณณี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ซึ่งให้ความรู้ทางวิชาการ ประสบการณ์การทำงาน การวางแผนการทดลอง และความช่วยเหลือ มาโดยตลอด

2. อาจารย์ มาลินี ตันติยาภรณ์ ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ เครื่องใช้สำหรับการทดลอง

3. อาจารย์ นวพรรณ และ อาจารย์ ดุชนิ ให้ความช่วยเหลือทางวิชาการ

4. อาจารย์ เนาวรัตน์ และ อาจารย์ อุ่นเรือน ช่วยหาคำแนะนำและตรวจทานแก้ไขรายงานฉบับนี้

5. พี่สาธิต และ โรงกำจัดน้ำเสีย นิคมอุตสาหกรรม ให้ความอนุเคราะห์ขวดบีโอดี และสารเคมี สำหรับใช้ในการตรวจวิเคราะห์น้ำเสีย

6. พี่ชัยยุทธ์, เสถียร, ทรงสิทธิ์ และสุนทรียา เพื่อน ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจ มาโดยตลอด

7. พี่หม่อง และพี่กลอย ช่วยถ่ายรูปลงรายงานและจัดหาฟิงเกอร์ไลด์สำหรับการนำเสนอรายงาน

8. เพื่อนและน้องชาวเทคโนโลยีชีวภาพ ช่วยเหลือการทดลองให้สำเร็จอย่างราบรื่น ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์, พี่และน้อง ๆ เป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วยค่ะ

ขอขอบพระคุณอย่างสูง

สุนรรณี วิริยะบัญชา

1/6/88

สารบัญตาราง

		หน้า
<u>ตารางที่ 1</u>	แสดงลักษณะสภาวะแวดล้อมในแหล่งน้ำต่าง ๆ	26
<u>ตารางที่ 2</u>	แสดงปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยทั้งหมดจากน้ำบริเวณใกล้เขื่อน ที่มีผักตบชวาในอาหารต่าง ๆ	29
<u>ตารางที่ 3</u>	แสดงปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยทั้งหมดที่รากผักตบชวาในอาหาร ชนิดต่าง ๆ	30
<u>ตารางที่ 4</u>	แสดงชนิดและปริมาณจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยระหว่างปลายราก ผักตบชวากับน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา บนอาหาร Potato Dextrose Agar	31
<u>ตารางที่ 5</u>	แสดงชนิดและปริมาณจุลินทรีย์โดยเฉลี่ยระหว่างปลายราก ผักตบชวากับน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา บนอาหาร Nutrient Agar	32
<u>ตารางที่ 6</u>	แสดงรูปร่างลักษณะ การติดสีแกรม การเรียงตัวของเซลล์ และลักษณะ โคลิไลของเชื้อแบคทีเรียที่พบที่ปลายรากผักตบชวา	34-35
<u>ตารางที่ 7</u>	แสดงรูปร่างลักษณะ การติดสีแกรม การเรียงตัวของเซลล์ และลักษณะ โคลิไลของเชื้อราที่พบที่ปลายรากผักตบชวา และน้ำรอบ ๆ ผักตบชวา	36
<u>ตารางที่ 8</u>	แสดงคุณภาพน้ำทางปิโรส และ เคมี จากแหล่งน้ำต่าง ๆ	41

## สารบัญ

	หน้า
รูปที่ 1 แสดงลักษณะความขุ่นของน้ำที่มีความขุ่นแตกต่างกัน	27
รูปที่ 2 แสดงลักษณะของผักตบชวาในแหล่งน้ำลึก	27
รูปที่ 3 แสดงลักษณะของผักตบชวาในแหล่งน้ำตื้น	27
รูปที่ 4 แสดงลักษณะ โคโลนีของแบคทีเรียเปรียบเทียบกับระหว่างรากผักตบชวา กับน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา บนอาหาร Potato dextrose agar	37
รูปที่ 5 แสดงลักษณะ โคโลนีของแบคทีเรียเปรียบเทียบกับระหว่างรากผักตบชวา กับน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา บนอาหาร Nutrient agar	38
รูปที่ 6 แสดงลักษณะ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร Nitrogen free medium	39
รูปที่ 7 แสดงลักษณะ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญในอาหาร Potato dextrose agar ที่มีลักษณะมันเยิ้ม	39

# บทที่ 1

## บทนำ

น้ำเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีความสำคัญยิ่งต่อสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ เพื่อใช้ในการอุปโภคและบริโภค โดยเฉลี่ยการใช้น้ำมีค่าประมาณ 180 - 200 ลิตรต่อคนต่อวัน ด้วยเหตุที่สังคมในปัจจุบัน การเพิ่มจำนวนประชากรเป็นไปอย่างรวดเร็ว รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงจากสังคมเกษตรกรรม เข้าสู่ขบวนการทางอุตสาหกรรม ทำให้การใช้ประโยชน์จากน้ำมีเพิ่มมากขึ้น น้ำที่ที่เหลือใช้จากการใช้ประโยชน์แล้ว ในกิจกรรม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำที่มีสิ่งปฏิกูลปะปน จะมีจำนวนมากขึ้นด้วยเช่นกัน แหล่งที่จะรับของเสียเหล่านี้อยู่ตลอดเวลา ก็คือ แม่น้ำ ลำคลอง ด้วยเหตุนี้เองทำให้สภาพแหล่งน้ำทั่วไป เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงไปที่ละน้อย จนเสื่อมโทรมกลายเป็นน้ำเสียที่เป็นอันตรายไปในที่สุด

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ผักตบชวา เป็นวัชพืชที่พบเห็นได้โดยทั่วไปตามแหล่งน้ำต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นแหล่งที่มีน้ำไหล หรือเป็นเพียงแหล่งน้ำขังตื้นๆก็ตาม ผักตบชวาสามารถเจริญได้อย่างหนาแน่นปกคลุมอยู่บริเวณที่น้ำ จนก่อให้เกิดปัญหาทั้งทางด้านคมนาคม การกสิกรรม การอุตสาหกรรม การบำบัดทางระบายน้ำ เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ยุง ตลอดจนการแพร่โรคติดต่อบางชนิด เพื่อเป็นการแก้ปัญหาเหล่านี้ ได้มีการทดลองหลายวิธีเพื่อปราบหรือกำจัดผักตบชวาให้หมดไป เช่น การใช้เครื่องจักรเก็บ การใช้สารเคมี หรือแมลงที่เป็นศัตรูของผักตบชวาควบคุม อย่างไรก็ตาม วิธีการทั้งหมดที่ใช้ยู่กันี้มีข้อจำกัด และให้ผลเพียงลดการระบาดของรักษาระดับความเสียหายให้ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจเท่านั้น ( เรียม , 2530 )

จากการที่ผักตบชวามีจำนวนมาก การแพร่กระจายเป็นไปอย่างรวดเร็ว และยากแก่การกำจัดให้หมดสิ้นไปนั้น หากพิจารณาอีกแง่หนึ่ง ถ้าสามารถนำผักตบชวาไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้ก็จะกลายเป็นสิ่งที่มีค่ายิ่ง ดังนั้นจึงมีการค้นคว้าหาวิธีการใช้ประโยชน์จากผักตบชวาในรูปแบบต่าง ๆ เนื่องจากปัญหาน้ำเสียกำลังขยายตัวอย่างรวดเร็วดังที่ได้กล่าวข้างต้น และคุณสมบัติการดูดซับธาตุอาหารอย่างมีประสิทธิภาพของผักตบชวา ทำให้ผู้ให้ความสนใจเกี่ยวกับการนำผักตบชวาไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียเพื่อลดมลสารที่มีอยู่ในน้ำ ให้มีคุณภาพที่ดีขึ้น และยังช่วยให้น้ำมีการระเหยได้เร็ว รวมทั้งป้องกันกลิ่นเหม็นของน้ำมิให้ฟุ้งกระจายออกไป ( สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ , 2525 )

จากการศึกษาพบว่า นอกจากระบบรากฝอยของผักตบชวาที่มีประสิทธิภาพสูงในการดูดซึมธาตุอาหารต่างๆที่ปะปนอยู่ในน้ำ โดยเฉพาะแคลเซียม ตะกั่ว ปรอท และนิกเกิล ได้เป็นอย่างดีแล้ว ยังพบจุลินทรีย์ที่ปลายรากผักตบชวาเป็นจำนวนมาก ซึ่งมีความสามารถที่จะใช้ธาตุอาหารในน้ำเพื่อการเจริญเติบโต เป็นเหตุให้น้ำมีความสะอาดมากขึ้น จุลินทรีย์ที่สำคัญ คือ Azotobacter spp. ซึ่งมีคุณสมบัติพิเศษสามารถตรึงไนโตรเจนได้ประมาณ 177 กิโลกรัม/เฮกตาร์/ปี ( วิทยา , 2520 ) คุณสมบัติดังกล่าวน่าที่จะมีส่วนในการลดมลสารไนโตรเจนได้ดียิ่งขึ้น

### สมมุติฐานของการวิจัย

ที่ปลายรากผักตบชวาความีจุลินทรีย์บางชนิดที่แตกต่างจากน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่าง ชนิด และ ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบที่ปลายรากผักตบชวาเปรียบเทียบกับน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา
2. คัดแยกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์กับปลายรากผักตบชวา
3. เปรียบเทียบสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สำหรับจุลินทรีย์ที่พบที่ปลายรากของผักตบชวา

### ขอบเขตของการวิจัย

1. หาชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่พบที่ปลายรากผักตบชวา และน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา
2. เปรียบเทียบสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อจุลินทรีย์ที่พบที่ปลายรากผักตบชวา

## วิธีการในการดำเนินการวิจัย

1. บันทึกลักษณะสภาพแวดล้อมของตัวอย่างแหล่งน้ำที่มีผักตบชวา
2. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ( Dissolved oxygen , DO )
3. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี ( Biochemical oxygen demand , BOD )
4. วัดความเป็นกรดต่างของน้ำ ( pH )
5. เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร Nutrient agar ( NA ) , potato dextrose agar ( PDA ) และ Nitrogen free medium ( NFM )
6. ศึกษารูปร่างและลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่พบ
7. ตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่สนใจ

## ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่อยู่ใกล้ผักตบชวา
2. ทราบความแตกต่างของชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน
3. จุลินทรีย์ที่ปลายรากผักตบชวามีความสัมพันธ์กับสภาพแวดล้อม
4. เป็นแนวทางการศึกษาขั้นต่อไป เช่น นำไปปรับปรุงน้ำให้มีสภาพที่ดีขึ้น
5. ฝึกทักษะความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์ เพื่อการประยุกต์ใช้ในสภาพแวดล้อมที่เป็นจริง
6. ฝึกทักษะในการแก้ปัญหา โดยรู้จักการสร้างสมมติฐาน ทักษะการวางแผนการทดลอง และการแปรผลการทดลองที่ได้

## บทที่ 2

### แนวความคิดและทฤษฎี

#### 2.1 ผักตบชวา

ผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*) เป็นพืชพื้นเมืองของทวีปอเมริกาใต้ เข้าใจว่ามีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศบราซิล ผักตบชวาโดยบริเวณแหล่งน้ำเหล่านี้มิได้ก่อให้เกิดปัญหาใด ๆ เนื่องจากในถิ่นกำเนิดมีศัตรูธรรมชาติ เช่น แมลง โรค และศัตรูอื่น ๆ คอยควบคุมการระบาดอยู่แล้ว แต่เมื่อมีการนำออกจากถิ่นเดิมซึ่งปราศจากศัตรูธรรมชาติ ผักตบชวาจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและถึงขั้นก่อให้เกิดปัญหาต่าง ๆ ได้

สำหรับประเทศไทยได้มีการนำผักตบชวา จากประเทศอินโดนีเซีย เข้ามาปลูกในวังสระปทุมเป็นแห่งแรก ในปี พ.ศ. 2444 แต่ภายหลังเกิดน้ำท่วม ผักตบชวาได้หลุดลอยออกไปสู่ลำคลองภายนอกแล้วเริ่มระบาดไปตามที่ต่าง ๆ อย่างรวดเร็ว (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2520) ผักตบชวามีชื่อเรียกต่าง ๆ กันมากมายเช่น สวะ ผักปอด ผักตบปอง ผักบัวลอย ผักตบ ผักโป่ง ผักบ่ง ผักปอง (มธุรา, 2527) นอกจากนี้ยังมีการขนานนามของชนชาติต่าง ๆ ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงความเกลียดชัง ยกตัวอย่างเช่น รัฐเบงกอล ประเทศอินเดียเรียก Blue Devil อเมริกาเรียก Florida Devil ศรีลังกาเรียก Japanese Trouble (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2520)

#### 2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของผักตบชวา

ผักตบชวาเป็นพืชจัดอยู่ในวงศ์ Pontederiaceae (Ratchanee, 1974) เจริญอยู่บนผิวน้ำประเภทลอยน้ำ (Floating plant) ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเขตไซร์ร้อน (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2520) มีส่วนประกอบต่าง ๆ ดังนี้

##### 2.2.1 ราก

ปกติรากไม่ยึดติดกับพื้นดิน สามารถล่องลอยไปตามกระแสไปได้ แต่ถ้าน้ำตื้นแล้ว รากจะหยั่งลงติดกับพื้นดิน รากเป็นระบบรากฝอย (Fibrous root system) แยกออกจากข้อบนมีลักษณะอวบขาว อายุมากจะพบรากขนอ่อน (Root hair) ที่ปลายราก

มีสีน้ำตาลอ่อนหรือสีม่วงดำ ซึ่งเกิดจากสาร Anthocyanin ความยาวของรากประมาณ 10 - 90 เซนติเมตร ระบบรากฝอยของผักตบชวามีประสิทธิภาพสูง ในการดูดซึมธาตุอาหารต่าง ๆ ที่ปะปนอยู่ในน้ำ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต

### 2.2.2 ลำต้น

ลักษณะลำต้นประกอบด้วย กลุ่มใบเรียงกันเป็นกระจุก (Rosette) ในต้นหนึ่ง ๆ จะมีใบตั้งแต่ 2 ใบขึ้นไป ที่โคนก้านใบมีกาบใบ (Sheath) ลักษณะเป็นเยื่อบาง ๆ สีขาวแกมสีเขียวอ่อน เมื่ออายุมากจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล บริเวณของกาบใบมีสีน้ำตาลแกมม่วง เชื่อมติดต่อกันโดยมีไหล (Stolon) ซึ่งเป็นลำต้นที่ทอดไปตามผิวน้ำ ช่วยในการขยายตัวของผักตบชวาให้เพิ่มขึ้น เมื่อแตกไหลออกไปก็จะเจริญขึ้นเป็นต้นใหม่ แต่ยังคงติดกับต้นเดิมอยู่และเกิดเป็นกอขึ้นพร้อมทั้งมีรากเกิดขึ้น

### 2.2.3 ใบ

เป็นใบเดี่ยว (Simple leaf) หรือรูปหัวใจ (Cordate) มีความกว้างมากกว่าความยาว หรือเกือบจะเท่ากัน เมื่อยังอ่อนปลายใบจะมน แต่เมื่ออายุมากขึ้นปลายใบจะแหลมสีเขียวเข้ม ขอบใบเรียบ ระบบเส้นใบแบบขนาน (venation) ทำหน้าที่ลำเลียงน้ำและอาหาร ก้านใบมีลักษณะกลม เรียบ อวบน้ำ ก้านใบจะยาวหรือสั้น ขึ้นกับสภาพความพร้อมของน้ำและสภาพแวดล้อม

### 2.2.4 ดอก

ดอกออกเป็นช่อ ไม่มีก้านดอก (Spike) ออกดอกตลอดปีมีสีฟ้า หรือม่วงอ่อน ในช่อหนึ่ง ๆ จะมีจำนวนดอกแตกต่างกัน ตั้งแต่ 6 - 60 ดอก ช่อดอกจะเกิดบริเวณ กลาง ๆ ต้น ก้านช่อดอกยาวประมาณ 15 - 30 เซนติเมตร ดอกย่อยมีกลีบเลี้ยงและกลีบดอก (Perianth) ติดกับฐานเป็นรูปกรวยยาวประมาณ 5 เซนติเมตร ปลายแยกเป็นกลีบดอก 6 กลีบ มีเกสรตัวผู้ (Stamen) 6 อัน ที่มีขนาดความยาวไม่เท่ากันอยู่ติดกับรังไข่ (Ovary) รังไข่เมื่อได้รับการผสม จะเจริญขึ้นเป็นผล

### 2.2.5 ผล

มี 3 พู มีเมล็ดประมาณ 5 เมล็ด กลมสีน้ำตาลเข้ม ขนาดเล็กมาก ประมาณ 0.5 - 1 มิลลิเมตร มีอายุการพักตัวนานถึง 15 ปี การผสมเกสรมักเกิดในสภาพอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงไม่ค่อยพบในสภาพแวดล้อมภายในประเทศไทย (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ , 2520 )

## 2.3 การขยายพันธุ์และการแพร่กระจาย

ผักตบชวามีความสามารถในการแพร่กระจายได้รวดเร็ว เพราะมีกาบใบหุ้มลำต้นทำหน้าที่ป้องกันอันตรายแก่ลำต้น และมีระบบรากฝอยที่มีประสิทธิภาพ ในการดูดน้ำและธาตุอาหารได้ดี นอกจากนี้ ยังสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้อย่างรวดเร็ว จากการศึกษาพบว่า ผักตบชวา ต้นเล็ก ๆ 1 ต้น สามารถแตกไหลได้ถึง 77 ต้น ภายในเวลา 42 วัน และจะโตเต็มที่ในเวลาประมาณ 105 วัน กำลังการผลิตมีค่าเท่ากับ 20 กรัมต่อวันต่อตารางเมตร ( ประดิษฐา และ ทวีศักดิ์ , 2522 ) Boyd ( 1970 ) รายงานว่า ผักตบชวามีกำลังผลิตสูงสุด 14.6 กรัมต่อตารางเมตร ทั้งนี้กำลังการผลิตที่แตกต่างกันขึ้นกับสภาวะแวดล้อมต่างๆ ที่เอื้ออำนวยต่อการแพร่กระจายของผักตบชวา การแพร่กระจายอย่างรวดเร็วนี้ พบว่าเกิดจากการขยายพันธุ์ของผักตบชวาซึ่งมี 2 วิธี คือ

2.3.1 การแตกไหล ( Off - shoot ) ของลำต้นที่ติดกับต้นแม่ เจริญเติบโตขึ้นเป็นต้นใหญ่โดย ลำต้นยังติดอยู่กับต้นเดิม ทอดลำต้นไปยังผิวน้ำ ทำให้มีการขยายพันธุ์ต่อไปได้เรื่อย ๆ

2.3.2 เมล็ด เป็นพืชผสมตัวเองหรือข้ามต้น โดยทั่วไปจะไม่มีการสืบพันธุ์โดยเมล็ด นอกจากในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น สภาพน้ำที่นิ่งและอากาศเย็น

## 2.4 ปัจจัยที่ผลต่อการเจริญเติบโตของผักตบชวา

ผักตบชวาสามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ในเขต ไซนร้อน โดยเฉพาะในเขตที่น้ำสงบ อย่งุ่น ( Ratchanee , 1974 ) ในขณะที่เจริญเติบโตและขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วนี้ ผักตบชวาจะดูดธาตุอาหารต่างๆจากน้ำที่มีอยู่ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมขึ้นมาใช้และสะสมไว้ภายในต้น ประดิษฐา และ ทวีศักดิ์ ( 2522 ) พบว่า ผักตบชวาสามารถดูดพลังงานจากดวงอาทิตย์มาใช้ในการเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์ ให้เป็นสารอินทรีย์ โดยกระบวนการสังเคราะห์แสงได้ดีมาก สามารถสร้างอินทรีย์สารสูงถึง 20 กรัม ต่อวันต่อตารางเมตร

Balasooriya และคณะ ( 1983 ) พบว่า ความเป็นกรดต่าง ( pH ) ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของผักตบชวาอยู่ในช่วง พีเอช 6 - 7 แต่จะมีความทนทานต่อพีเอชได้ตั้งแต่ช่วงพีเอช 4.4 - 9.9 ที่อุณหภูมิ 25 - 36 องศาเซลเซียส ( ๑๕ )

## 2.5 ประโยชน์ของผักตบชวา

เนื่องจากผักตบชวามีจำนวนมาก แพร่กระจายพันธุ์อย่างรวดเร็ว และยากแก่การกำจัดให้หมดสิ้น ซ้ำยังสูญเสียค่าใช้จ่ายในการกำจัดอีกด้วย ดังนั้นถ้าสามารถนำผักตบชวาไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้ก็จะกลายเป็นสิ่งที่มีค่ายิ่ง ด้วยเหตุนี้ นักคิดเห็นว่าด้านต่างๆได้แสวงหาวิธีการใช้ประโยชน์จากผักตบชวาในรูปแบบต่างๆ กับ แนวทางการใช้ประโยชน์จากผักตบชวาได้แก่ เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตแก๊สชีวภาพ เป็นวัตถุดิบในการทำเชื้อกระดาษ ใช้ทดลองผลิตเส้นใยเพื่อสิ่งทอ เป็นอาหารสัตว์ ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ใช้เป็นวัตถุดิบประกอบสำหรับเตรียมยาฆ่าแมลง เป็นเชื้อเพลิง ใช้หมักเป็นปุ๋ยอินทรีย์ ทำเป็นวัสดุเพาะเห็ด ใช้อัดเป็นแท่งเพาะชำ ตากแห้งและตัดแปลงเป็นเครื่องใช้ และใช้บำบัดน้ำเสียเพื่อลดมลสารที่มีอยู่ในน้ำโสโครกให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้น ( เรียม , 2530 )

## 2.6 การบำบัดน้ำเสียด้วยผักตบชวา

มลสารในน้ำเสียไม่ว่าจะเป็นสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ หรือโลหะหนักก็ตามสามารถลดปริมาณให้เหลือน้อยลง หรือแปรสภาพเป็นสารไร้พิษได้ ด้วยกรรมวิธีของการบำบัดน้ำเสียซึ่งมีหลายวิธี และมีข้อได้เปรียบเสียเปรียบต่างกัน การบำบัดน้ำเสียด้วยผักตบชวาเป็นวิธีที่อาศัยคุณสมบัติต่อไปนี้ คือ ( เรียม , 2530 )

### 2.6.1 ทำหน้าที่กรอง

ผักตบชวาที่ขึ้นอย่างหนาแน่น เปรียบได้กับการบรรจุวัสดุพรุนในกรวยกรอง น้ำที่ไหลผ่านกอผักตบชวาอย่างช้า ๆ จะทำให้ของแข็งแขวนลอยต่าง ๆ ที่ปะปนอยู่ในน้ำ ถูกสกัดกั้น นอกจากนั้น ระบบรากผักตบชวาที่มีจำนวนมากตามที่ได้กล่าวข้างต้นแล้ว ยังช่วยกรองสารอินทรีย์ที่ละเอียด และอาศัยจุลินทรีย์ที่เกาะอยู่ที่รากช่วยดูดสารเหล่านั้นไว้อีกทางหนึ่ง ความ



ขึ้น สมควรที่จะต้องคอยดูแล เก็บต้นที่เจริญเต็มที่ขึ้นจากน้ำอย่างสม่ำเสมอ มิฉะนั้นผักตบชวา จะตายและเน่าอยู่ในน้ำ ทำให้น้ำเสียที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเพิ่มมากขึ้น เกิดการเน่าเหม็น และบำบัดน้ำไม่ได้ผล

### 2.6.3 การลดมลสารอื่น ๆ

นอกจากไนโตรเจนกับฟอสฟอรัสแล้วผักตบชวาสามารถลดมลสารอื่น ๆ ได้อีก ดังนี้

คาร์บอน	28.0	กรัม/ ตารางเมตร/ วัน
ไนเตรสเซียม	2.0	กรัม/ ตารางเมตร/ วัน
แคลเซียม	1.0	กรัม/ ตารางเมตร/ วัน
แมกนีเซียม	0.2	กรัม/ ตารางเมตร/ วัน
โซเดียม	2.0	กรัม/ ตารางเมตร/ วัน

ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวนี้ จึงมีทางเป็นไปได้ที่จะใช้ผักตบชวาในการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งชุมชนขนาด 5,000 คน โดยใช้บ่อบำบัดขนาดประมาณ 200 x 200 เมตร ที่บรรจุผักตบชวา ประมาณร้อยละ 80 ของบ่อบำบัดน้ำ และมีการเก็บผักตบชวาขึ้นมาทำลาย 1/3 ของพื้นที่ทุก 15 วัน

### 2.6.4 ลดมลสารโดยจุลินทรีย์ที่รากผักตบชวา

แบคทีเรียที่เกาะอยู่ที่รากของผักตบชวาชนิดหนึ่งคือ Azospirillum spp. จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบชนิดต้องการ ออกซิเจน และมีคุณสมบัติพิเศษในการตรึงไนโตรเจนได้ประมาณ 1 กิโลกรัม / เฮกตาร์-วัน คุณสมบัติดังกล่าวนี้จะทำให้มีส่วนในการลดมลสารไนโตรเจนได้ดียิ่งขึ้น ปัจจุบันได้มีการศึกษาบทบาทของแบคทีเรีย ที่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียด้วยผักตบชวา เพื่อที่จะได้นำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้ต่อไป

### 2.6.5 การดูดโลหะหนัก

คุณสมบัติที่สำคัญประการหนึ่ง ที่สามารถทำให้ผักตบชวาสามารถอำนวยความสะดวกแก่มนุษย์ ได้คืมูลค่าคือ คุณสมบัติในการดูดสารพิษ และโลหะหนักที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมบางประเภท หรือจากยาฆ่าแมลง ที่ปะปนในแหล่งน้ำทั่วไป จากการศึกษาศักยภาพของผักตบชวา ในการดูดโลหะหนักจากน้ำทิ้ง ปรากฏว่า ผักตบชวาสามารถกำจัดโลหะพวก แคดเมียม ตะกั่ว นิกเกิล เงิน ฟีนอล ได้เท่ากับ 0.397 0.104

0.090 0.230 53.3 กิโลกรัม/ เฮกตาร์-วัน ตามลำดับ

นอกจากนี้ ได้มีผู้ศึกษาถึงปริมาณสารตกค้าง ในต้นผักตบชวาที่เก็บขึ้นมาจากบ่อน้ำบาดาล น้ำเสียที่มีโลหะหนัก พบว่า มีโลหะปะปน เช่นกันกับน้ำทิ้ง ในปริมาณที่มากพอสมควร ที่อาจทำให้เกิดอันตราย ได้ถ้ามีการนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์

การนำผักตบชวาไปใช้ประโยชน์ จำเป็นต้องระมัดระวัง และหาทางทำลายด้วยวิธีที่ปลอดภัย เช่นการนำไปเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตแก๊สชีวภาพ เป็นต้น

## 2.7 จุลชีววิทยาของน้ำ

จุลินทรีย์ที่พบในแหล่งน้ำมี ชนิด และ ปริมาณแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ และสารอาหารที่ละลายปะปนอยู่ในน้ำ จุลินทรีย์ที่พบในน้ำมีทั้ง แบคทีเรีย ยีสต์ รา สาหร่าย โปรโตซัว และไวรัส ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้แบคทีเรียจะมีจำนวนมากที่สุด แบคทีเรียที่พบมาก ได้แก่ Acromonas , Alcaligenes , Bacillus , Chromabacter , Clostridium , Desulfovibrio , Escherichia , Klebsilla และ Sphaerotilus ส่วนราและยีสต์ที่พบได้แก่ Penicillium , Glancum และ Torula Yeast ( ภัณฑิลา , 2525 ) บทบาทของจุลินทรีย์ ในน้ำที่ลำคุดูมี ดังนี้

### 2.7.1 ย่อยสารอินทรีย์ และอินทรีย์

จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถย่อยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ที่มีอยู่ในแหล่งน้ำได้ เช่น Alginomas , Pseudomonas และ Cytophaga จะย่อยเซลล์โลส ที่ได้จาก การตายของพืช สำหรับ Gallionella และ Sphaerotilus จะใช้สารประกอบของเหล็กในการเจริญเติบโต Desulfovibrio จะเปลี่ยนซัลเฟตให้เป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้น้ำมีกลิ่นเหม็น

### 2.7.2 ทำให้คุณสมบัติของน้ำเปลี่ยนไป

แอกทีโมมายซีท เป็นแบคทีเรียที่ทำให้น้ำมีกลิ่นและรสแปลก ๆ โดยที่สารประเภทไขมันออกมา จะเจริญในแหล่งที่มี ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสมาก ดังนั้นจึงพบมากในแหล่งน้ำที่มีการระบายจากบริเวณที่มีการกลีกรวม

## 2.8 จุลชีววิทยาบริเวณรอบรากพืช

บริเวณรอบ ๆ รากพืช ( Rhizosphere ) พบว่า มีสารบางชนิดที่รากพืชปลดปล่อยออกมา ( Root exudates ) ซึ่งเป็นสารพวก น้ำตาล กรดอะมิโน กรดอะมิโน กรดอะซิติก ไบโอดีล ไทอามีน ยูรีดีน อะดีนีน กวาโนน เป็นต้น ( วิทยา , 2526 ) สารเหล่านี้ มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งที่จะเอื้ออำนวยให้จุลินทรีย์บางชนิดเจริญอยู่ได้ หรือเจริญได้ดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ โดยบริเวณใกล้เคียง ดังนี้บริเวณรอบรากพืชนี้จะเป็นส่วนที่มีจุลินทรีย์อยู่มากที่สุดเมื่อเทียบกับบริเวณอื่น ซึ่งสามารถก่อให้เกิดปรากฏการณ์ Symbiotic and Mycorrhizol Association ( สมศักดิ์ , 2528 ) อิทธิพลของบริเวณรากพืชที่มีต่อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นพวก แบคทีเรีย สำหรับราและแอคทีโนมัยซีท พบโดยปริมาณที่น้อย และโปรโตซัวจะพบได้น้อยมาก โดยจะพบในฟิล์มของน้ำ บริเวณรากพืช และส่วนของเนื้อเยื่อภายนอก ( ศุภมาศ , 2529 ) แต่ทั้งนี้จุลินทรีย์ชนิดใดจะมียู่มากหรือเอย ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ อีก Hale และ Moore กล่าวว่า สารที่ขับจากรากจะอยู่ภายใต้อิทธิพลของปัจจัยต่อไปนี้ คือ ปัจจัยทางพืช สภาพแวดล้อม การดีดปล่อยสารเคมีทางใบ และปัจจัยทางชีวภาพ

## 2.9 ความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์กับบริเวณรากพืช

จุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในเขตรากพืชได้มีขึ้น เป็นการคัดเลือกโดยอิทธิพลของรากพืชเอง โดยสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด หรือสร้างสารกระตุ้นจุลินทรีย์บางชนิด ในกรณีของแบคทีเรียซึ่งเป็นจุลินทรีย์ส่วนมากในเขตรากพืชนั้น ชนิดที่เจริญได้ดีจะเป็นชนิดแกรมลบ รูปร่างแบบแท่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกที่สามารถย่อยสลาย สารคาร์โบไฮเดรต เซลลูโลส ได้ดี ( ศุภมาศ , 2529 )

การหายใจของรากพืช จะปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ซึ่งจะมีผลกระทบต่อจุลินทรีย์ในบริเวณนั้นคือ จะทำให้ความเป็นกรดสูงขึ้น การละลายของธาตุอาหารที่ละลายได้ยาก เช่น ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม มีการละลายดีขึ้น ( วิทยา , 2526 )

ในส่วนที่เกี่ยวกับธาตุไนโตรเจน พบว่า จะเกิดปรากฏการณ์ แอมโมนิฟิเคชัน ( Ammonification ) โดยการย่อยสลายกรดอะมิโน หรือ โปรตีน ในบริเวณรากพืชได้อย่างรวดเร็ว และเนื่องจากปริมาณ ดีไนตริไฟเออร์ ( Denitrifiers ) ในเขตรากพืชโดยทั่วไปมีปริมาณสูง ดังนั้น ไนเตรตจะถูกรีดิวส์ให้กลายเป็น ไนโตรเจนในรูปแบบต่าง ๆ ได้ง่าย เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า ดีไนตริฟิเคชัน ( Denitrification ) ลักษณะเช่นนี้จะเกิดได้ดีในสภาพที่มีการระบายอากาศอย่างทั่วถึง และ ที่ที่มีความชื้นสูง ( ศุภมาศ , 2529 ) นอกจากนี้ยังเกิดปรากฏการณ์ตรึงไนโตรเจนในปริมาณสูง ได้แก่ พวก Aerobe เช่น Azotomonas Beijerinckia , Derxia , Spirillum พวก Facultative Anaerobe เช่น Bacillus , Enterobacter , Klebsiella และ Anaerobe เช่น Clostridium เป็นต้น

## 2.10 การตรึงสารประกอบไนโตรเจน

แหล่งน้ำ โดยทั่วไป จะมีสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ปะปนอยู่ ปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับบริเวณที่น้ำไหลผ่าน ถ้าน้ำไหลผ่านแหล่งชุมชน หรือแหล่งที่ได้รับของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมจะมีสารอินทรีย์ปะปนอยู่เป็นจำนวนมาก หากน้ำไหลบริเวณที่มีการกลีกรวม จะชะล้างแร่ธาตุที่เป็นส่วนประกอบของปุ๋ยเป็นส่วนใหญ่ น้ำที่มีสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่อยู่ในปริมาณมากเกินไปจะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดน้ำเสีย โดยเฉพาะสารประกอบของไนโตรเจน จากการศึกษพบว่า แบคทีเรียที่เจริญได้ดีในภาวะที่ไม่มีออกซิเจน สามารถย่อยโปรตีน หรือสารประกอบไนโตรเจน แล้วให้สารอื่น ๆ ออกมา เช่น Skacol Indole Mercaptans และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ทำให้น้ำมีกลิ่นเหม็น ( บัญญัติ , 2525 )

จุลินทรีย์บางชนิดในแหล่งน้ำมีบทบาทช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ ให้กลายเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารได้ใหม่ หรือเปลี่ยนแปลงรูปของสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนให้มีโมเลกุลเล็กลง หรือให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายขึ้น ซึ่งบทบาทของจุลินทรีย์เปรียบเสมือนเป็นตัวควบคุมธาตุอาหารต่าง ๆ ในน้ำให้มีการหมุนเวียนอยู่ตลอดเวลา ( Wood , 1967 )

ปัจจุบันพบว่า มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ ( Non Symbiotic Nitrogen Fixation ) โดยตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศเปลี่ยนเป็นสารประกอบไนโตรเจนให้แก่พืช เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ในทางตรงข้ามหากบริเวณรอบพืชมีสารประกอบไนโตรเจนอยู่ จุลินทรีย์เหล่านี้จะไม่ตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศ แต่จะใช้สารประกอบไนโตรเจนที่มีอยู่ในน้ำแทน ( วิทยา , 2521 ) Mishustin , E.N. และ Shilnikova , V.K. ( 1971 ) รายงานว่า Azotobacter ไม่สามารถดูดซับไนเตรตและไนไตรต์ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตแต่สามารถเปลี่ยนไนเตรตให้เป็นก๊าซไนโตรเจนได้ ส่วน Beijerinckia spp. สามารถใช้ไนเตรต และเกลือแอมโมเนียมได้ดี แต่ไม่สามารถใช้ยูเรีย และกรดอะมิโนพวกไกลซีน และไทโรซีน ( Becking, J.S. , 1950 ) นอกจากนี้ยังมีรายงานเพิ่มเติมอีกว่า ยีสต์และราบางชนิด เช่น Aspergillus , Botrytis , Penicillium , Mucor สามารถตรึงและใช้ไนโตรเจนได้อีกด้วย ( วิทยา , 2526 )

## 2.11 วัฏจักรไนโตรเจน

เนื่องจาก ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย ซึ่งโดยเฉลี่ยแล้วมีไนโตรเจนประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ่งมีชีวิตตายสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนอยู่ด้วยก็จะถูกเปลี่ยนแปลงย่อยสลายโดยลำดับดังนี้

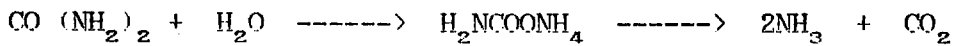
### 2.11.1 Proteolysis

เป็นขบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ โดย Proteolytic Enzyme ซึ่งผลิตโดยจุลินทรีย์ สำหรับการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจน แบ่งได้ดังนี้

ก. การย่อยสลายกรดนิวคลีอิก กรดนิวคลีอิกจะถูกย่อยสลายโดยน้ำย่อย ribonuclease ย่อย RNA และ deoxyribonuclease ย่อย DNA ให้เป็นสารโมเลกุลเล็ก ๆ จนผลสุดท้ายได้เป็นน้ำตาล purine base และ pyrimidine base จากขั้น purine และ pyrimidine จะถูกย่อยสลายต่อไป จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายกรดนิวคลีอิกได้ มีดังนี้ Aspergillus , Penicillium , Bacillus , Clostridium

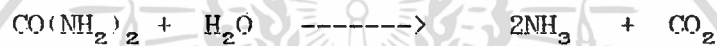
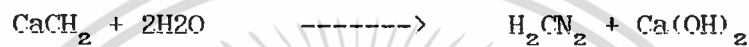
ข. การย่อยสลายยูเรีย ยูเรียเป็นผลิตภัณฑ์ได้จากการย่อยสลายกรดนิวคลีอิก และ โปรตีน ยูเรียจะถูกย่อยสลายต่อไปเป็นแอมโมเนีย โดยน้ำย่อย urease ซึ่งผลิต

โดยจุลินทรีย์ ดังสมการ



จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายยูเรีย ได้แก่ Bacillus , Micrococcus และ Sarcina นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียพวก Actinomyces

ค. การย่อยสลายไซยาไนด์ ที่พบในรูปของ Calcium Cyanamide เป็นสารที่มีความสำคัญใน Nitrogenous Fertilizer ทั้งนี้เพราะพืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ แต่สารนี้จะสลายตัวในดินอย่างรวดเร็ว การย่อยสลาย Calcium Cyanamide เป็นดังสมการ



จุลินทรีย์ที่สามารถใช้ Cyanamide เป็นแหล่งพลังงานได้แก่ Aspergillus niger

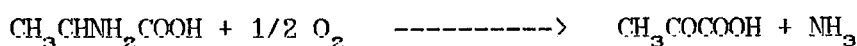
ง. การย่อยสลายโปรตีน โดยจุลินทรีย์จะให้ผลผลิตที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีในที่มีออกซิเจนจะให้ผลผลิตเป็นพวกคาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย แอมโมเนียมซัลเฟต และ น้ำ ส่วนพวกที่เจริญได้ดีในที่ไม่มีออกซิเจนจะให้แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ กรดอินทรีย์ indole, skatole, mercaptans และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นผลผลิตจากการย่อยสลายโปรตีน ดังนั้นการย่อยสลายโปรตีนของจุลินทรีย์พวกหนึ่งจะเกิดกลิ่นเหม็นเน่า การย่อยสลายโปรตีนมีดังนี้



จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายโปรตีนมีดังนี้ Clostridium , Pseudomonas , Bacillus , Aspergillus

### 2.11.2 Ammonification

กรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนบางส่วน จุลินทรีย์จะนำไปใช้ประโยชน์ในการสังเคราะห์โปรตีนในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ ดังสมการ



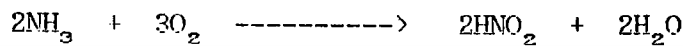
แอมโมเนียที่ได้บางส่วนจะถูกพืชและจุลินทรีย์นำไปใช้ บางส่วนถูกจุลินทรีย์เปลี่ยนเป็น

สารพวกไนเตรต

### 2.11.3 Nitrification

เป็นขบวนการเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียเป็นไนเตรตโดยใช้วิธี Oxidation ของจุลินทรีย์พวก autotrophic bacteria ไนเตรตที่ได้มีจะนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ก. Nitrosification เป็นการเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียเป็นไนเตรต ดังสมการ



จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ได้แก่ Nitrosococcus , Nitrosomonas และ Vibrio

ข. Nitrification เป็นการเปลี่ยนแปลงไนไตรต์เป็นไนเตรตดังสมการ

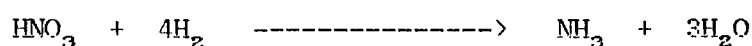


จุลินทรีย์ที่เปลี่ยนแปลงไนไตรต์เป็นไนเตรตนี้ได้แก่ Nitrobacter , Nitrospira และ Nitrosococcus

สภาพต่าง ๆ ที่มีผลต่อขบวนการ Nitrification

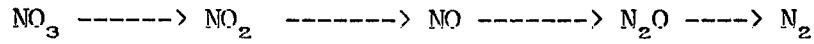
1. การถ่ายเทอากาศ เนื่องจากขบวนการ Nitrification เป็นขบวนการ Oxidation และแบคทีเรียที่ช่วยในการเกิดขบวนการจะเป็น Aerobic bacteria
2. อุณหภูมิ เนื่องจากแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิต โดยช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 27 - 32 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงถึง 50 องศาเซลเซียส ขบวนการ nitrification จะหยุดยั้ง หรือถ้าอุณหภูมิลดลงเป็น 0 องศาเซลเซียส ขบวนการนี้จะหยุดเช่นเดียวกัน
3. ความเป็นกรดต่างโมลน้ำ เนื่องจากแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิต ดังนั้นสภาพความเป็นกรดต่างจึงมีผลต่อกิจกรรมของเซลล์ด้วย โดยทั่วไปค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียอยู่ระหว่าง 5.6 - 7.5 และถ้าสูงกว่า 7.5 หรือต่ำกว่า 4.5 ขบวนการนี้จะเกิดในอัตราช้าลง จนกระทั่งไม่เกิดปฏิกิริยา

2.11.4 Reduction ของไนเตรตเป็นแอมโมเนีย ในขบวนการที่ไนเตรตจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรต์ และแอมโมเนีย ตามลำดับ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดดังสมการ



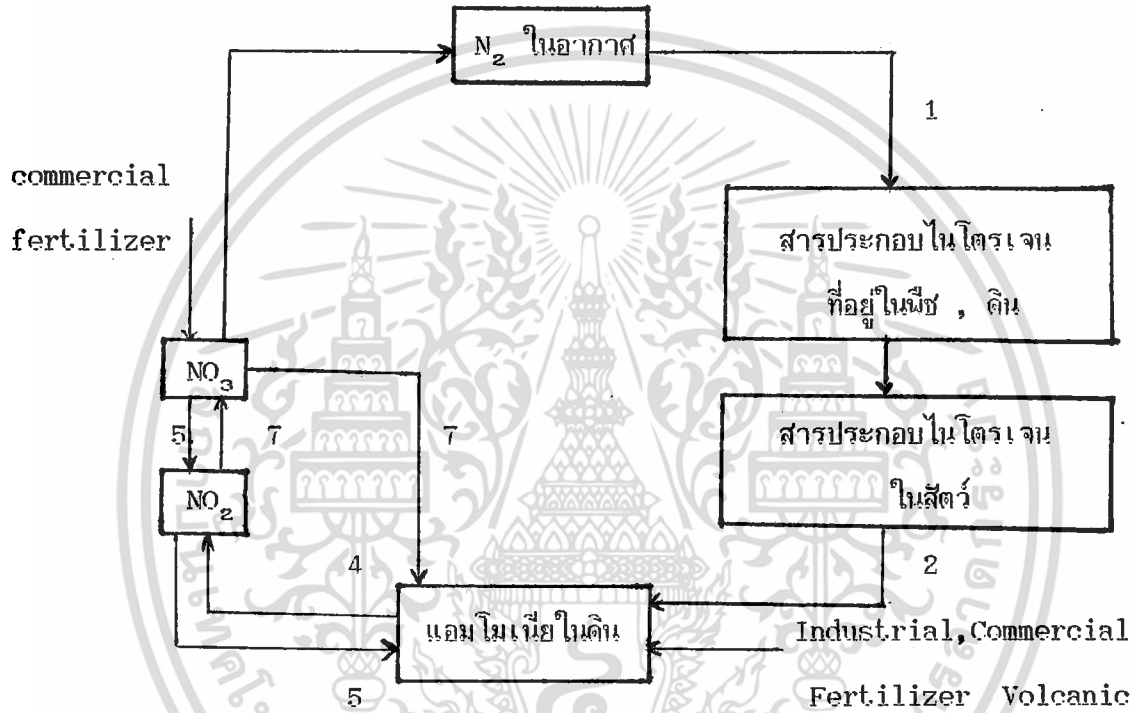
2.11.5 Denitrification ขบวนการนี้เป็นการเปลี่ยนแปลงไนเตรต เป็นก๊าซไนโตรเจน ซึ่งเป็นการเพิ่มก๊าซไนโตรเจนในอากาศ โดยแบคทีเรียพวก Denitrifying

bacteria ตั้งสมการ



2.11.6 Nitrogen fixation เป็นการเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนในสภาวะที่เป็นก๊าซซึ่งอยู่ในบรรยากาศ ไปเป็นไนโตรเจนในรูปของสารอินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากจุลินทรีย์ในดินสองกลุ่ม คือ Symbiotic Nitrogen Organism เช่น Rhizobium และ Nonsymbiotic Nitrogen Organism เช่น Azotobacter

แผนผังวัฏจักรไนโตรเจนสามารถแสดงได้ดังนี้



1. Nitrogen fixation (Nonsymbiotic & Symbiotic Microorganism)
2. Ammonification
3. Denitrosification
4. Nitrosification
5. Nitrification
6. Denitrification
7. Nitrate reduction

### N - CYCLE



## 2.12 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำ

ปัจจัยสำคัญบางประการที่มีผลต่อ ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำมีดังนี้  
( บุญสม , 2523 )

### 2.11.1 ลักษณะของแหล่งน้ำ

จำนวนจุลินทรีย์จะเปลี่ยนแปลงไปตามแหล่งน้ำ สภาพแวดล้อม และบริเวณที่แหล่งน้ำไหลผ่าน แหล่งน้ำที่มีการถ่ายเทได้ดี ห่างไกลจากแหล่งชุมชนและโรงงานอุตสาหกรรมพบว่า จะมีจุลินทรีย์ในปริมาณน้อยกว่าในแหล่งน้ำที่มีการถ่ายเทได้น้อย หรือใกล้แหล่งชุมชนและโรงงานอุตสาหกรรม

### 2.11.2 ปริมาณและชนิดของธาตุอาหาร

สารอินทรีย์ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนและ ไนโตรเจน จะมีผลกระทบโดยตรงต่อการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำ ถ้ามีสารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ชนิดใดใช้ได้ดี จุลินทรีย์กลุ่มนั้นก็จะเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว ส่วนสารอินทรีย์ซึ่งได้แก่ เกลือแร่ต่างๆ จะเป็นแหล่งสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด เช่น โมลิบดีนัม เป็นธาตุที่มีความจำเป็นต่อจุลินทรีย์พวกที่สามารถตรึงไนโตรเจนอิสระ ( Becking , J.H. , 1933 )

### 2.11.3 ความเค็มหรือความเป็นด่างของน้ำ (พีเอช)

เนื่องจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ต่างก็ถูกควบคุมโดยขบวนการเมตาโบลิซึม ซึ่งมี เอนไซม์ เป็นตัวการสำคัญ และการทำงานของเอนไซม์จะถูกควบคุมโดย พีเอช ค่าพีเอช จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่จะเจริญในช่วงพีเอชที่เหมาะสมแตกต่างกัน ค่าพีเอชในแหล่งน้ำธรรมชาติอาจแปรเปลี่ยนไปได้โดยขึ้นอยู่กับสาเหตุหลายประการ เช่น การละลายของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปะปนมากับน้ำฝนทำให้เกิดกรดคาร์บอนิก พีเอชของน้ำจะลดต่ำลง สำหรับค่าพีเอชมาตรฐานของแหล่งน้ำทั่ว ๆ ไปจะอยู่ระหว่าง 6.0 - 8.0 ( WHO , 1971 )

### 2.11.4 อุณหภูมิของน้ำ

อุณหภูมิ เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อุณหภูมิที่จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้อยู่ในช่วงกว้าง คือ 25 - 45 องศาเซลเซียส ซึ่งโดยทั่วไปอุณหภูมิของน้ำตามธรรมชาติไม่มีปัญหาต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ยกเว้นการปล่อยน้ำ

รื้อนจากโรงงานอุตสาหกรรมบางชนิด

#### 2.11.5 ฤดูกาล

ฤดูกาลจะมีผลกระทบโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้น ความแห้งแล้งและปริมาณน้ำฝน โดยในช่วงฤดูฝน น้ำที่ไหลผ่านผิวดินจะชะล้างเอาธาตุอาหาร และจุลินทรีย์บริเวณผิวดินลงสู่แหล่งน้ำ แต่ภายหลังที่มีฝนตกติดต่อกันเป็นประจํา จะมีผลให้จุลินทรีย์ลดน้อยลง

#### 2.11.6 การเกิดขบวนการฟอกตัวเองในน้ำ

การเก็บกักน้ำไว้ชั่วระยะเวลาหนึ่งจะทำให้เกิดการตกตะกอน หากแหล่งน้ำนั้นไม่ได้รับการปนเปื้อนอีก จะมีผลให้จุลินทรีย์ในน้ำลดน้อยลง เช่น ที่จุดเริ่มต้นของลำน้ำ ที่ได้รับความสกปรกจะมีปริมาณจุลินทรีย์อยู่สูงมาก แต่เมื่อไหลไปถึงปลายลำน้ำโดยไม่ได้รับการปนเปื้อนอีกปริมาณจุลินทรีย์จะลดลง

#### 2.11.7 ปัจจัยอื่น ๆ

ดินที่มีความสามารถในการซึมน้ำได้ดี จะสามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำได้ส่วนหนึ่งที่แน่นอนตัว มีการซึมผ่านของน้ำโดยจะพบจุลินทรีย์ต่าง ๆ ทั้ง แบคทีเรีย แอคทีโนมัยซีท สาหร่าย เห็ดรา และ โปรโตซัวอยู่เป็นจำนวนมาก น้ำมีบริเวณผิวดินแหล่งน้ำเนื่องจากภาวการณ์ระเหย จะเป็นตัวกลางที่ลดอัตราการละลายของออกซิเจนลงสู่ผิวน้ำ ทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนลดจำนวนลง

## บทที่ 3

### การดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 การเลือกจุดเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำที่มีฝักตบชวา ทำมาตรฐานหาความขุ่นของน้ำจากการนำตัวอย่างน้ำที่มีความแตกต่างกัน จากแหล่งน้ำต่าง ๆ 15 แหล่ง มาใช้ในการเปรียบเทียบ สามารถจัดแบ่งน้ำออกได้เป็น 3 ระดับ คือ น้ำที่มีความใสพอสมควร น้ำที่มีความขุ่นปานกลาง และน้ำที่มีความขุ่นมาก

การเลือกจุดเก็บตัวอย่าง จากแหล่งน้ำที่มีฝักตบชวา เลือกตัวอย่างอย่างจงใจ ( Purposive Sampling ) ( ชัยวัฒน์ , 2522 ) โดยคำนึงถึงการคมนาคม ความปลอดภัย ความสะดวกสบายที่ผู้อำนวย สามารถเก็บตัวอย่างเพื่อทำการวิจัย จากแหล่งต่าง ๆ รอบ ๆ บริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้ 7 แห่ง คือ

- 3.1.1 แหล่งน้ำจากคลองประเวศน์ เป็นตัวแทนน้ำที่มีความใสพอสมควร
- 3.1.2 แหล่งน้ำจากคลองข้างวัดปลุกศรีภักษา เป็นตัวแทนน้ำที่มีความใสพอสมควร
- 3.1.3 แหล่งน้ำจากคลองข้างสถานีรถไฟหัวตะเข้ เป็นตัวแทนน้ำที่มีความใสพอสมควร
- 3.1.4 แหล่งน้ำจากคลองข้างคณะเทคโนโลยีการเกษตร เป็นตัวแทนน้ำที่มีความขุ่นปานกลาง
- 3.1.5 แหล่งน้ำจากข้างตึกสมเด็จระเทพรัตนราชสุดาฯ เป็นตัวแทนน้ำที่มีความขุ่นปานกลาง
- 3.1.6 แหล่งน้ำจากข้างหอพักนักศึกษาสถาบัน เป็นตัวแทนน้ำที่มีความขุ่นมาก
- 3.1.7 แหล่งน้ำจากร่องแปลงปลูกฝักตบชวา เทคโนโลยีการเกษตร เป็นตัวแทนน้ำที่มีความขุ่นมาก

### 3.2 การเก็บตัวอย่าง

#### 3.2.1 การเก็บตัวอย่างน้ำสำหรับการตรวจวิเคราะห์ทางฟิสิกส์ เคมี และ การเก็บข้อมูลในสนาม

ก. วิธีเก็บน้ำตัวอย่าง เพื่อหาค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ ( Dissolved Oxygen , DO ) ใช้ขวดบีโอดี เก็บน้ำโดยมิให้เกิดฟองอากาศในขวด ตีวงปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ในน้ำด้วยสารละลาย แมงกานีสซัลเฟต ( ภาคผนวก ค. ข้อ 1.1 ) และสารละลาย อัลคาไล-ไฮไดรด์-ฮาไซด์ ( AIA ) ( ภาคผนวก ค. ข้อ 1.2 ) อย่างละ 2 มิลลิลิตร ตามลำดับ นำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ

ข. วิธีเก็บน้ำตัวอย่าง เพื่อหาค่าความต้องการออกซิเจน ทางชีวเคมี ( Biochemical Oxygen Demand , BOD ) ใช้ขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เก็บน้ำให้เต็มขวด โดยมิให้เกิดฟองอากาศปิดฝาให้สนิท เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดเวลาจนกว่าจะนำมาทดลอง

#### 3.2.2 การเก็บตัวอย่างผักตบชวาเพื่อตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ใช้ขวดแก้ว ไพเรกซ์ ( Pyrex ) ปากกว้าง ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทำการเก็บตัวอย่าง โดยเลือกตัวอย่างแบบบังเอิญ ( Accidental Sampling ) ( ชัยวัฒน์ , 2522 ) ตัดเฉพาะปลายรากผักตบชวาที่มีขนาดต่าง ๆ กัน แห้งละ 5 ต้น ใส่ในขวดเก็บตัวอย่างขวดละ 1 ต้น ปิดปากขวดนำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

### 3.3 การตรวจวิเคราะห์

#### 3.3.1 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางฟิสิกส์ และ เคมี

ก. การหาปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ( Dissolve Oxygen , DO ) โดยใช้วิธี Azide Modification Method ( APHA , 1971 )

#### วิธีการหา

1. นำน้ำตัวอย่างใส่ในขวด บีโอดี ( BOD ) ปริมาตร 300 มิลลิลิตร
2. บีเบตสารละลาย  $MnSO_4$  2 มิลลิลิตร ใส่ลงไปใต้ผิวน้ำ

3. บีเบตสารละลาย AIA 2 มิลลิลิตร ใส่ลงไปได้ผิวน้ำ จะเกิดตะกอนสีน้ำตาลขึ้น ถ้าในน้ำมีออกซิเจนละลายอยู่
4. ปิดจุก และพลิกขวดกลับไปกลับมาประมาณ 15 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้ตะกอนนอนก้น
5. รอจนได้ส่วนใสส่วนบนประมาณ 100 มิลลิลิตร ค่อย ๆ เปิดจุก เติมกรดเข้มข้น ลงไปที่ 2 มิลลิลิตร ให้กรดไหลลงไปตามคอขวด
6. ปิดจุก เขย่าจนกระทั่งตะกอนละลายหมด จะได้สารละลายเป็นสีเหลืองส้ม
7. ตวงสารละลายที่ได้ 203 มิลลิลิตร ใส่ในฟลากลัส ขนาด 500 มิลลิลิตร ไตเตรต ด้วย 0.025 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  ( ภาคผนวก ค ข้อ 1.5 ) จนกระทั่งได้สีเหลืองอ่อน
8. เติมน้ำแปป ( ภาคผนวก ค ข้อ 1.7 ) 1 - 2 มิลลิลิตร ไตเตรตจนกระทั่งสี น้ำเงินหายไป

#### การคำนวณ

เนื่องจาก 1 มิลลิลิตรของ 0.025 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  ที่ใช้ไตเตรตจะเท่ากับปริมาณ DO 0.200 มิลลิกรัม เพราะฉะนั้น 1 มิลลิลิตรของ 0.250 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  จะเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อ ลิตร เมื่อใช้ปริมาตรของตัวอย่าง 200 มิลลิลิตรในการไตเตรต

ข. การวิเคราะห์หาความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี ( Biochemical Oxygen Demand , BOD ) โดยใช้วิธี Azide Modification Method ( APHA , 1971 )

#### วิธีการหา

1. เลือกเปอร์เซ็นต์ตัวอย่าง ในการเจือจางที่คาดว่าจะให้ค่า บีโอดี ในช่วงที่กำหนด
2. ค่อย ๆ รินตัวอย่างน้ำแต่ละแห่งใส่ในขวด บีโอดี 3 ขวด โดยใส่ น้ำที่มีสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ มักนีเซียมซัลเฟต คัลเซียมคลอไรด์ เฟอริคคลอไรด์ ( ภาคผนวก ค ข้อ 2 ) ทำความเจือจางให้อยู่ในช่วงที่กำหนด รินโดยไม่ให้เกิดฟอง
3. ขวดที่ 1 นำไปหาค่า DO ที่แท้ ( เป็นค่า DO1 ) ส่วน 2 ขวดที่เหลือ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เมื่อครบกำหนดนำมาหาค่า DO ที่เหลืออยู่ ( DO5 ) ตามวิธีการหา DO ที่ได้กล่าวมาแล้ว

## การคำนวณ

มิลลิกรัม ต่อ ลิตร BOD =  $(DO_1 - DO_5)/F$

เมื่อ  $DO_1$  เป็นค่า DO ของตัวอย่างหลังจากการเก็บตัวอย่างน้ำ 15 นาที

$DO_5$  เป็นค่า DO ของตัวอย่างหลังจากการบ่มเป็นเวลานาน 5 วัน

F เป็นเปอร์เซ็นต์ความเจือจางที่ใช้ในการทดสอบ

ค. การวัดความเป็นกรดต่างของน้ำ (pH) โดยใช้เครื่องมือ

Precision pH/Meter , edt. Research , Model ECM 201 , Japan

### 3.3.2 การตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ก. นำตัวอย่างน้ำมาทำความเจือจาง ในน้ำกลั่นที่มีโซเดียมคลอไรด์เจือจาง 0.85 เปอร์เซ็นต์ ให้มีความเจือจาง  $10^{-1} - 10^{-3}$  นำความเจือจางที่  $10^{-2}$  และ  $10^{-3}$  มาใช้ในการตรวจสอบ

ข. นำปลายรากผักตบชวามาซึ่งให้น้ำหนัก 5 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นที่มีโซเดียมคลอไรด์เจือจาง 0.85 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าในเครื่องเขย่า (Shaker) ( Mitamura Riken Kogyo , Japan ) ด้วยความเร็วรอบ 100 - 120 รอบต่อนาที นาน 30 นาที หลังจากนั้น ทำความเจือจาง  $10^{-1} - 10^{-5}$  นำความเจือจางที่  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  มาใช้ในการตรวจสอบ

ค. การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีการ Pour Plate ในอาหาร Nitrogen free agar ( Lapage , S.P. and Shelton , Jean E. , 1970 ) Nutrient agar ( NA ) และ Potato dextrose agar ( PDA ) (ภาคผนวก ก. ข้อ 1,2,3) บีบตัวอย่างที่เจือจางลงในจานเพาะเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ละชนิดลงในแต่ละจาน หมุนจานเพาะเชื้อไปมาเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์ แพร่กระจายอย่างทั่วถึง อาหาร NA และ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24 - 48 ชั่วโมง อาหาร Nitrogen free agar บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง จนเชื้อเจริญ เลือกจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี บันทึกลักษณะเชื้อและจำนวนโคโลนีทั้งหมด คำนวณเทียบกับความเจือจาง

### 3.4 การแยกเชื้อบริสุทธิ์

เชื้อที่ได้จากข้อ 3.3.2 ทำให้บริสุทธิ์ได้โดยใช้ลวดเย็บเย็บ และเชื้อที่ต้องการแยกนำไปขีด ( Streak ) บนอาหารชนิดเดิมที่จุลินทรีย์ชนิดนั้นเจริญอีกครั้ง โดยวิธี Cross Streak นำอาหาร NA และ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24 - 48 ชั่วโมง อาหาร NFM บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง เก็บเชื้อจุลินทรีย์โคโลนีเดี่ยว ๆ ไว้ใน Nitrogen free agar slant , Nutrient agar slant. และ Potato agar slant. เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

### 3.5 การศึกษารูปร่างของจุลินทรีย์

#### 3.5.1 การศึกษารูปร่างของแบคทีเรีย

นำเชื้อที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ผสมหยดน้ำแล้วสเมียร์ ( smear ) เชื้อให้แผ่ กระจายเป็นฟิล์มบาง ๆ บนแผ่นสไลด์ ทั้งให้รอยสเมียร์แห้งในอากาศ นำมาทำให้เชื้อติดแน่นกับแผ่นสไลด์ โดยการผ่านเปลวไฟ 2 - 3 ครั้ง นำไปย้อมสีแบบแกรม ( Gram's Stain ) โดยหยด สี Crystal Violet ( ภาคผนวก ข. ข้อ 1 ) ให้ทั่วรอยสเมียร์ทิ้งไว้ 1 นาที โอสีออกด้วยสารละลายไอโอดีน ( ภาคผนวก ข. ข้อ 2 ) แล้วหยดไอโอดีนให้ทั่วรอยสเมียร์ ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างสีออกด้วย แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ จนไม่มีสีม่วงละลายออกมา แต่ไม่ควรเกิน 20 วินาที แล้วล้างน้ำทันที ย้อมทับด้วยสี Safranin - O ( ภาคผนวก ข. ข้อ 3 ) หลังจากทิ้งล้างน้ำ แล้วซับด้วยกระดาษซับวางไว้ให้แห้งแล้วนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ( Nikon , Alphaphot. YS , Japan )

#### 3.5.2 การศึกษารูปร่างของเชื้อรา

หยด Lactophenol - Cotton Blue ( ภาคผนวก ข. ข้อ 4 ) ลงบนสไลด์ เชื้อเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ผสมกับสี เกลี่ยให้กระจายปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ นำมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

### 3.6 การตรวจสอบเชื้อ GENUS Azotobacter

#### 3.6.1 ลักษณะโคโลนี รูปร่างและการติดสี

ตรวจดูลักษณะการเจริญของเชื้อ Azotobacter ซึ่งมีลักษณะการเจริญเป็นเยื่อหรือเมือกสีขาว หรือ สีน้ำตาล ที่ผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ นำมาย้อมสีติดเชื้อที่ติดสีแกรมลบ เซลล์รูปไข่ หรือรูปสี่เหลี่ยม เก็บไว้เพื่อศึกษาต่อไป

#### 3.6.2 การเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคส

เชื้อเชื้อที่ได้จากข้อ 3.6.1 ลงในอาหาร Nitrogen Free Medium Broth ที่มี Brom Thymol Blue 1.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นอินดิเคเตอร์ ( ภาคผนวก ข ข้อ 8 ) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง ตรวจดูการเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคส หากเป็นกลุ่มเชื้อ Azotobacter จะเฟอร์เมนต์ น้ำตาลกลูโคสได้กรด เปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์จากสีเขียวไปเป็นสีเหลือง และเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส ( Durham Tube )

#### 3.6.3 ดูการเคลื่อนที่

เชื้อเชื้อที่ได้จากข้อ 3.6.1 ลงในอาหาร Motility Test Medium ( Difco ) ( ภาคผนวก ก. ข้อ 4 ) ดูการแพร่กระจายของเชื้อ Azotobacter จะกระจายแทรกผ่านอาหารวุ้นเป็นแฉก

#### 3.6.4 เลี้ยงใน Nitrogen Free Agar

ถ้าทดสอบแล้วพบว่า มีการทำปฏิกิริยาตามขั้นตอน นำมาเลี้ยงในอาหาร Nitrogen Free Agar อีกครั้ง หากมีการเจริญเติบโตเป็นโคโลนีสีขาวใส ลักษณะมันเยิ้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ แสดงว่า เป็นเชื้อกลุ่ม Azotobacter

ผลการทดลองและวิจารณ์

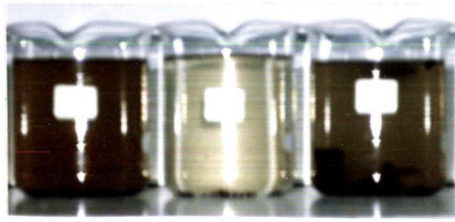
4.1 ผลที่ได้จากการทดลอง

โครงการวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนของผักตบชวา ที่ขึ้นอยู่ในแหล่งน้ำ 2 ประเภทคือ แหล่งน้ำลึก และแหล่งน้ำตื้น ซึ่งเป็นการแข่งขันเพื่อให้เกิดความสมดุลแก่การเก็บตัวอย่างศึกษา โดยอาศัยลักษณะกำหนดขึ้นมาเฉพาะโครงการวิจัยนี้เท่านั้นคือ แหล่งน้ำลึก หมายถึง แหล่งน้ำที่มีความลึกวัดได้โดยใช้ไม้วัดเป็นระยะมากกว่า 0.75 เมตร และแหล่งน้ำตื้น หมายถึง แหล่งน้ำที่มีระดับความลึกน้อยกว่า 0.75 เมตร ด้วยหลักการดังกล่าวสามารถจัดตัวอย่างที่ได้จากแหล่งน้ำลึกได้แก่ แหล่งน้ำบริเวณคลองประเวศน์ คลองข้างวัดปลูกศรัทธา คลองข้างสถานีรถไฟหัวตะเข้ และแหล่งน้ำตื้นได้แก่ บริเวณข้างคณะเทคโนโลยีการเกษตร ร่องแปลงปลูกผักคะน้าเทคโนโลยีการเกษตร ข้างตึกสมเด็จพระเทพฯ และหอพักนักศึกษา

แหล่งน้ำตัวอย่างที่จัดให้อยู่ในแหล่งน้ำลึก จะมีการเคลื่อนไหวของน้ำอยู่ตลอดเวลา ทำให้บริเวณผิวหน้าของน้ำมีการสัมผัสกับอากาศได้เป็นอย่างดี ลักษณะของน้ำที่พบค่อนข้างใสไม่มีกลิ่นเหม็น เมื่อตักน้ำมาตั้งทิ้งไว้จะมีสารแขวนลอย ( Suspension Solid ) ตกตะกอนในปริมาณเพียงเล็กน้อย ส่วนแหล่งน้ำตื้นมีลักษณะเป็นแอ่งที่ไม่มีการเคลื่อนไหว หรือมีการเคลื่อนไหวเพียงเล็กน้อย ลักษณะน้ำสีคล้ำ เข้ม มีกลิ่นเหม็น พบสารแขวนลอยในปริมาณมาก สภาพแวดล้อม และ ลักษณะน้ำ แสดงให้เห็นในตารางที่ 1 และรูปที่ 1 ปริมาณของแข็งแขวนลอยมีความสำคัญยิ่ง ในการควบคุมคุณภาพของแหล่งน้ำธรรมชาติ เนื่องจากสารแขวนลอยนี้จะกั้นแสงแดดที่ส่งลงมายังน้ำ ซึ่งมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำ ดังที่แท้จริงเป็นสาเหตุหนึ่งซึ่งเป็นการลดปริมาณออกซิเจนในน้ำได้อีกทางหนึ่ง ( เสริมพล และ ชัยยุทธ , 2524 )

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะสภาพแวดล้อมในแหล่งน้ำต่าง ๆ

ลักษณะ สถานที่	ความขุ่น ของน้ำ	ระดับความลึก ของน้ำ	การไหลเวียน ของน้ำ	การถ่ายเท ของอากาศ	ปริมาณแสง- แดดที่ส่องถึง	ความแออัด ของผักตบชวา	สถานที่อยู่ ข้างเคียง
คลองประเวศน์	น้ำใส	ลึก	มี	ดี	ทั่วถึง	เกาะกลุ่มขนาดเล็ก	บ้านพัก
คลองข้างวัดปลุกศรัทธา	น้ำใส	ลึก	มี	ดี	ทั่วถึง	เกาะกลุ่มขนาดเล็ก	สถานศึกษา
คลองข้างหัวตะเฒ่า	น้ำใส	ลึก	มี	ดี	ทั่วถึง	พอสมควรวขนาดกลาง	ตลาด
ข้างคณะเกษตร	ขุ่น	ตื้น	ไม่มี	น้อย	น้อย	พอสมควรวขนาดกลาง	เกษตร
ข้างตึกสมเด็จฯ	ขุ่น	ตื้น	ไม่มี	ดี	ทั่วถึง	พอสมควรวขนาดกลาง	สถานศึกษา
ร่องผักตบชวา	ขุ่นมาก	ตื้น	ไม่มี	ดี	ทั่วถึง	หนาแน่นขนาดใหญ่	เกษตร
หอนักศึกษา	ขุ่นมาก	ตื้น	ไม่มี	ดี	น้อย	หนาแน่นขนาดใหญ่	บ้านพัก



รูปที่ 1

แสดงลักษณะความขุ่นของน้ำที่มีความขุ่นแตกต่างกัน

จากซ้าย : ขุ่นมาก น้ำใส ขุ่น



รูปที่ 2

แสดงลักษณะของผักตบชวา ใบแหล่งน้ำจืด



รูปที่ 3

แสดงลักษณะผักตบชวา ใบแหล่งน้ำเค็ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับลักษณะผักตบชวาที่ขึ้นในแหล่งน้ำลึกพบว่า ลักษณะลำต้นมีขนาดเล็ก สั้น ใบค่อนข้างกลม เกาะเป็นกลุ่มเล็ก ๆ อยู่กระจัดกระจายห่าง ๆ ประมาณ 100 ต้นต่อตารางเมตร แตกต่างจากบริเวณน้ำตื้นซึ่งมีลักษณะเป็นกอใหญ่ ต้นสูงเรียว อยู่อย่างแออัดประมาณ 150 ต้นต่อตารางเมตร ( รูปที่ 2 และ 3 ) สาเหตุที่ทำให้ผักตบชวามีลักษณะแตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากธาตุอาหารในแหล่งน้ำลึกมีปริมาณน้อย ในขณะที่ปริมาณน้ำตื้นที่มาก ความสามารถพิเศษของผักตบชวาในการเปลี่ยนโครงสร้างซึ่งประกอบด้วยน้ำถึง 19 ส่วน ต่อน้ำหนักแห้งเพียง 1 ส่วน หรือมีโครงสร้างที่ประกอบไปด้วยน้ำถึง 95 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ลำต้นของผักตบชวา มีขนาดพอง อวบว้า แต่เตี้ยสั้น ( สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ , 2520 ) เพื่อปรับสภาพตัวเองให้ได้สัดส่วน มีลำต้นที่คง ไม่ค้ำว้างในแหล่งน้ำที่มีการเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลาได้ดีอีกด้วย ( ประดิษฐา และ ทวีศักดิ์ , 2522 ) ส่วนแหล่งน้ำตื้นมีสภาพพื้นที่ที่ค่อนข้างจำกัด ในขณะที่มีความสมบูรณ์ของธาตุอาหารตื้นที่มาก ทำให้มีการขยายตัวทางด้านส่วนสูงแทน

สาเหตุสำคัญที่ทำให้สภาพน้ำบริเวณนี้ ๆ แตกต่างกันคือ แหล่งชุมชนบริเวณใกล้เคียงปล่อยของเสียลงสู่แหล่งน้ำนี้ ซึ่งจะกลายเป็นธาตุอาหารที่สำคัญของพืช และจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในน้ำ

เมื่อเก็บตัวอย่างน้ำรอบ ๆ ผักตบชวา และรากผักตบชวาในแหล่งเดียวกันจากแหล่งต่าง ๆ มาทำการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์พบว่า จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้บนอาหาร Nutrient Agar Potato Dextrose Agar และ Nitrogen Free Medium โดยเฉลี่ยจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างน้ำมีน้อยกว่าจุลินทรีย์ที่รากผักตบชวาประมาณ 100 เท่า ( ตารางที่ 2 และ 3 ) ชนิด และ ปริมาณจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำต่าง ๆ จะมีความแตกต่างกัน ( ตารางที่ 4 และ 5 ) สามารถแยกจุลินทรีย์ได้ถึง 29 ชนิด ทั้งนี้อาศัยหลักการแยกเชื้อตามลักษณะของ สีและโคโลนี รูปร่างการติดสีแกรม และการเรียงตัวของจุลินทรีย์ดังนี้ ลักษณะโคโลนีจะพิจารณา สี ขนาด โคโลนี โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนี รูปร่างโคโลนีซึ่งมีทั้งโคโลนีกลมขนาดเท่ากัน ( circular ) โคโลนีกลมขนาดไม่เท่ากัน ( punciiform ) โคโลนีมีขนาดไม่แน่นอน ( irregular ) โคโลนีมีเส้นใยแตกออกมา ( rhizoid ) ฟูเป็นเส้นใย ( filamentous )

ตารางที่ 2

แสดงปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยทั้งหมดจากน้ำบริเวณใกล้เคียงที่มีผักตบชวาในอาหารต่าง ๆ

อาหาร สถานที่	Nutrient Agar ( โคโลนี $\times 10^4$ /มล.)	Potato Dextrose Agar ( โคโลนี $\times 10^4$ /มล.)	Nitrogen Free Medium ( โคโลนี $\times 10^4$ /มล.)
คลองประเวศน์	2.25	3.60	--
คลองข้างวัดปลุกศรีราชา	0.30	0.59	--
คลองข้างหัวตะเข้	3.00	4.15	--
ข้างคณะเกษตร	2.05	19.45	0.03
ข้างตึกสมเด็จ	3.00	32.00	0.04
ร่องผักคณะเกษตร	3.00	30.00	0.01
หอให้นักศึกษา	0.85	3.15	--

**ตารางที่ 3**

แสดงปริมาณจุลินทรีย์และยีสทั้งหมดที่รากผักตบชวาในอาหารชนิดต่าง ๆ

อาหาร สถานที่	Nutrient Agar ( โคโลนีx10 <sup>4</sup> /มล.)	Potato Dextrose Agar ( โคโลนีx10 <sup>4</sup> /มล.)	Nitrogen Free Medium ( โคโลนีx10 <sup>4</sup> /มล.)
คลองประเวศน์	177.00	158.00	29.20
คลองข้างวัดปลุกศรีรักษา	119.00	81.00	13.20
คลองข้างหัวตะเข้	157.00	115.00	24.10
ข้างคณะเกษตร	314.00	1896.00	151.80
ข้างตึกสมเด็จ	944.00	2120.00	149.00
ร่องผักคณะเกษตร	1122.00	764.00	704.00
หอพักนักศึกษา	396.00	222.00	125.00

**ตารางที่ 4**

แสดงชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ โดยเฉลี่ยระหว่างปลายรากผักตบชวากับน้ำตัวอย่าง

รอบ ๆ ผักตบชวา บนอาหาร Potato dextrose agar

ชนิด	ลักษณะ สถานที่	คลอง		คลองข้าง		คลองข้าง		ข้าง		ข้างตึก		ร่องผัก		หลุมผัก	
		ประเวศน์		วัดปลูก		หัวตะเข้		คณะเกษตร		สมเด็จพระ		คณะเกษตร		นักศึกษา	
		ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ
M2			+		+		+++		+	+	+++	.	++++	+	+
M3												+			
M4		+			+	+		+	+++	+	+	+	++++		
M5		+	+		+									+	
M6		+	++					+	+						
M7						+	++	+		+		+	+		
M8						+		+							
Ca1						+						+		+	
Ca2										+				+	
Ca4										+	+	+++	++		
Ca5		++				+++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	
Cb1								+	+	+	+	+	+		
Ra1						+		+	+	++	+++	+	+		
Ra3								+	+	+	+				
Ra6		+++	+++					+++	++++				+		
Ra8		+	+	+		+			++						
Ra9		+				+		+		+			++		
Rb3		++	+	++	++	+++					+++	+++			
Rc1		++	+					++	+	++	+		++	+	
Rc2		++		+		++		+++		+++	+	+	++		

หมายเหตุ

1) + = 1-5 , ++ = 10-30 , +++ = 50-100 , ++++ = 100 ขึ้นไป

2) น้ำ = จำนวนโคโลนี x 10<sup>2</sup> , ผักตบชวา = จำนวนโคโลนี x 10<sup>5</sup>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิด	ลักษณะ สถานที่	คลอง		คลองข้าง		คลองข้าง		ข้าง		ข้างตึก		ร่องผัก		หนังก	
		ประเวศน์		วัดปลูก		หัวตะเข้		คณะเกษตร		สมเด็จพระ		คณะเกษตร		นักศึกษา	
		ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ	ผักตบ	น้ำ
Ca1		+++	+++	++++	+	++	++++	++	++	++	++	++	+++	++	++
Ca2												++	++++		
Ca3		+	+++		+			++	+			++	+++	+++	+
Ca4		+++	+++	++		+		++++	++++	+++	++++	+	++++	++	+
Ca5		+++	+			+++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++	+++	++++
Cb1		+	+			+		+	+	+	+	+++			
Ra1						++	+++	+		+		+	++	+	
Ra2		++	++++	+	+	++		+	++	+	++++	+	++++	+++	++
Ra3														+	+
Ra4			+								+				
Ra5								+							
Ra6		+			+	+		++++	++++	++	++++		++++	++	+
Ra7		+++	++++	+	+			+		+				++	++++
Ra8		+		+		+		+	+	+		+	+	++	+
Ra9					+	+		+				+		+	
Rb1										++					
Rb2		+				+		+		+		+			
Rb3		++		++++		+		++	++++	++		+++	++++	+++	+++
Rc1		+		+				+	+	++	++	+	+	+	

หมายเหตุ 1) + = 1-5 , ++ = 10-30 , +++ = 50-100 , ++++ = 100 ขึ้นไป  
 2) น้ำ = จำนวนโคโลนี x 10<sup>4</sup> , ผักตบชวา = จำนวนโคโลนี x 10<sup>5</sup>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับโคโลนิที่มีแบนราบ ( flat ) หนูนูนเล็กน้อยแต่แบนราบ ( raised ) โค้งนูนเล็กน้อย ( convex ) โค้งนูนมากเป็นครึ่งวงกลม ( pulvinate ) หนุมบริเวณกลางโคโลนิจะแหลมขึ้นมา ( umbonate ) หนุมบริเวณกลางโคโลนิเว้าลง ( umbilicate ) และโคโลนิแผ่บาง ๆ ( effuse ) ขอบโคโลนิโค้งเรียบเท่ากัน ( entire ) ริมเป็นคลื่น ( undulate ) เป็นริ้ว ( lobate ) เป็นแฉก ( erose ) เป็นเส้นใย ( filament) และซ้อนเป็นชั้น ๆ ( curled ) ผิวหน้าของโคโลนิเกลี้ยงเกลา ( smooth ) ขรุขระ ( rough ) ซ้อนเป็นวงแหวน ( concentrically rings ) หรือผิวเป็นรอยย่น ( rugose ) ลักษณะเกี่ยวกับแสงมีทั้งทึบ ( opaque ) โปร่งแสง ( translucent ) สะท้อนแสง ( iridescent ) ทุนไม่ขึ้นเงา ( dull ) เนื้อในโคโลนิมีลักษณะละ ( butylous ) เป็นเมือกเหนียวหุ้ม ( viscid ) แข็งแข็งเปราะ ( brittle ) ลักษณะเซลล์ใช้วิธีการย้อมสีแบบแกรม หากติดสีม่วงของ Crystal Violet เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ถ้าติดสีแดงของ Safranin - O แสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเซลล์มีทั้งแบบกลม ( cocci ) แท่ง ( rod ) และแบบแท่งปลายข้างหนึ่งโค้งงอคล้ายลูกน้ำ ( comma ) การกระจายหรือการเรียงตัวของเซลล์เป็นแบบเดี่ยว ( single ) คู่ ( pair ) 4 เซลล์ ( tetrate ) กระจาย ( irregular ) เป็นกลุ่ม ( stap ) หรือเป็นโซ่สายยาว ( strep ) จุลินทรีย์ทั้ง 29 ชนิดนี้ พบว่ามีเชื้อรา 9 กลุ่ม และเชื้อแบคทีเรีย 20 กลุ่ม ( ตารางที่ 6 และ 7 ) ซึ่งจุลินทรีย์ทั้งหมดนี้มีแบคทีเรีย 4 กลุ่ม ที่พบเฉพาะที่รากของผักตบชวา แต่ไม่พบหรือพบน้อยมากในน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา ( รูปที่ 4 และ 5 )

เนื่องจากโครงการนี้มุ่งศึกษาจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนบริเวณรากผักตบชวา เพราะคาดว่าน่าจะจะมีบทบาทในการดูดซึมไนโตรเจนจากน้ำได้ดี ผลปรากฏว่า มีจุลินทรีย์เพียง 2 กลุ่มเท่านั้น คือ Rc1 และ Rc2 ที่ให้คุณสมบัติคล้ายคลึงกับ Beijerinckia และ Azotobacter ( รูปที่ 6 และ 7 ) คือลักษณะโคโลนิสีชาวุ้นและใส ( ขึ้นกับลักษณะอาหารแต่ละชนิด ) มีเมเย็มเป็นเมือกบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อย้อมสีติดแกรมลบ หรือย้อมติดทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ( Gram's variable ) รูปร่างแบบแท่งปลายมนคล้ายรูปไข่ย่อยสลายกลูโคสให้กรด และสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไนโตรเจนได้ ( Becking , J.H. , 1933 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงรูปร่างลักษณะ การติดสีแกรม การเรียงตัวของเซลล์ และลักษณะ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย  
ที่พบที่ปลายรากผักตบชวา และน้ำรอบ ๆ ผักตบชวา

ชนิด	ลักษณะ เซลล์					ลักษณะ โคโลนี							
	รูปร่างแกรม	การเรียงตัว	สปอร์	อาหาร	ขนาด (cm)	รูปร่าง	ระดับ	ขอบ	สี	ผิว	ความทึบใส	ความเหนียว	
Ca1	กลม	+	คู่ กลุ่ม	-	NA	1-2	circular	raised	entire	ส้มเข้ม	smooth	opaque	butyrous
Ca2	กลม	+	โซ่ กระจาย	-	NA	1-2	circular	raised	entire	เหลืองเข้ม	smooth	opaque	butyrous
Ca3	กลม	+	กลุ่ม	-	NA	1-2	circular	raised	entire	เหลืองสด	smooth	opaque	butyrous
Ca4	กลม	+	เดี่ยว กลุ่ม	-	NA	3-5	irregular	flat	lobate	เหลืองใส	smooth	translucent	butyrous
Ca5	กลม	+	โซ่ กระจาย	-	NA	1-5	punciform	raised	entire	ครีม	smooth	opaque	butyrous
Cb1	กลม	-	กระจาย	-	NA	1-2	circular	convex	entire	แดง	smooth	opaque	butyrous
Ra1	แท่ง	+	โซ่ กระจาย	-	NA	5-10	punciform	convex	entire	ส้มเข้ม	smooth	translucent	mucous
Ra2	แท่ง	+	โซ่ กระจาย	-	NA	3-5	punciform	raised	entire	ส้มอ่อน	smooth	opaque	butyrous
Ra3	แท่ง	+	กระจาย	-	NA	3	circular	umbonate	entire	ชมพู	rugose	dull	viscid
Ra4	แท่ง	+	กระจาย	-	NA	5-7	irregular	pulvinate	curled	เหลืองเข้ม	rugose	dull	viscid

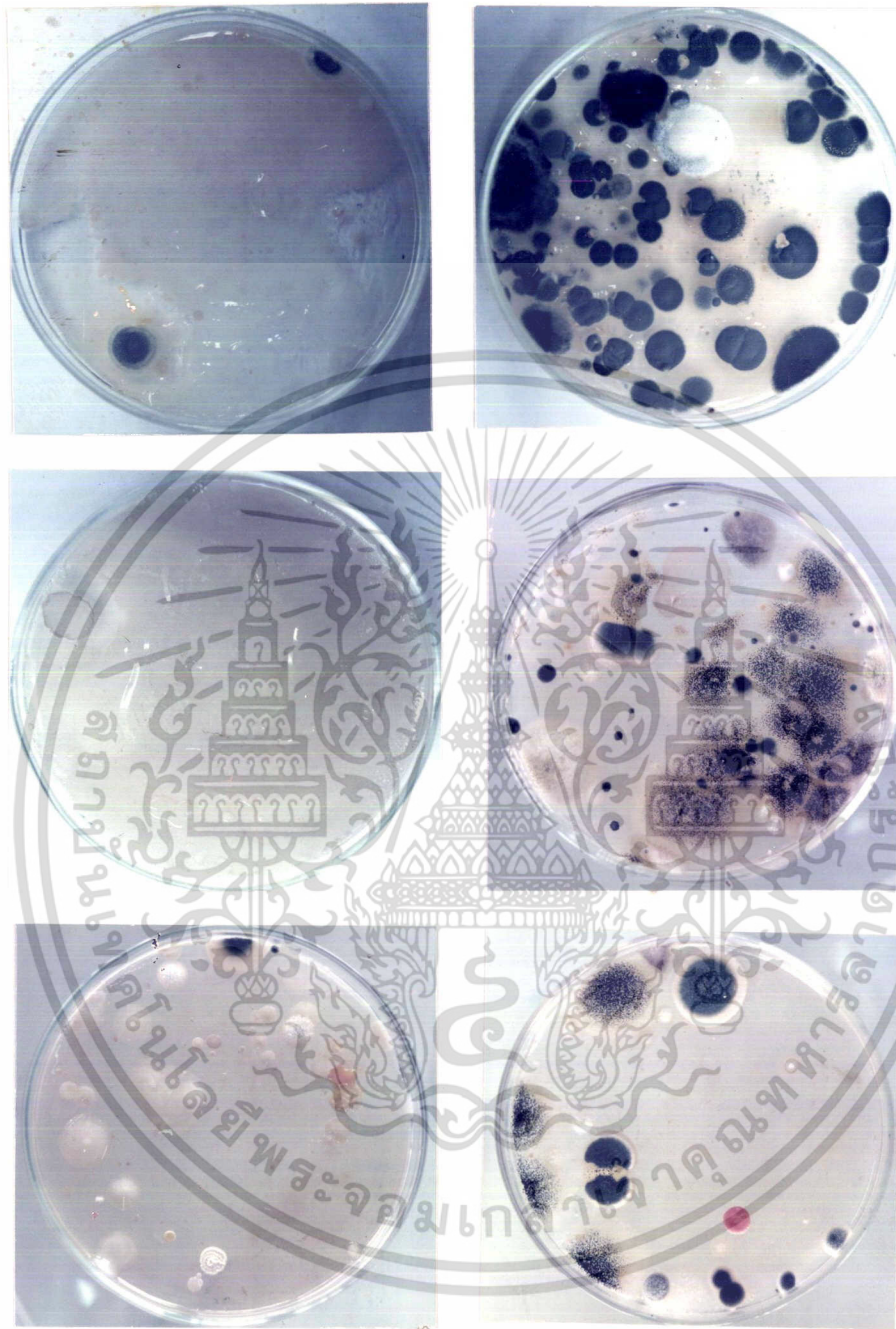
ตารางที่ 6 ( ต่อ ) แสดงรูปร่างลักษณะ การติดสีแกรม การเรียงตัวของเซลล์ และลักษณะ โคไลนของเชื้อแบคทีเรีย  
ที่พบที่ปลายรากผักตบชวา และน้ำรอบ ๆ ผักตบชวา

ชนิด	ลักษณะ เซลล์				ลักษณะ โคไลน							
	รูปร่าง	แกรม	การเรียงตัว	สปอร์อาหารขนาด	รูปร่าง	ระดับ	ขอบ	สี	ผิว	ความทึบใส	ความเหนียว	
Ra5	แท่ง	+	กระจาย	+ NA	15-20	irregular	pulvinate	undulate	ครีม	smooth	opaque	butyrous
Ra6	แท่ง	+	โซ่	+ NA	12-15	irregular	raised	lobate	ครีม	smooth	opaque	butyrous
Ra7	แท่ง	+	กระจาย	- NA	5-10	irregular	raised	undulate	ครีม	smooth	opaque	butyrous
Ra8	แท่ง	+	คู่ กลุ่ม	- NA	2-3	circular	pulvinate	entire	ขาว	rough	dull	brittle
Ra9	แท่ง	+	กระจาย	- NA	1-2	circular	convex	entire	ขาว	smooth	opaque	butyrous
Rb1	แท่ง	-	กระจาย	- NA	3-5	circular	raised	entire	เหลืองสด	smooth	translucent	mucous
Rb2	แท่ง	-	กระจาย กลุ่ม	- NA	1-2	circular	convex	entire	โอรส	smooth	opaque	butyrous
Rb3	แท่ง	-	คู่ กระจาย	- NA	3-5	circular	raised	entire	เหลืองทึบ	smooth	opaque	butyrous
Rc1	แท่ง	-	คู่กลุ่มกระจาย	- NA	5-10	punciform	convex	entire	ใส	rough	translucent	mucous
Rc2	แท่ง	-	คู่กลุ่มกระจาย	- PDA	-	irregular	convex	undulate	ครีม, ใส	rough	opaque	mucous

ตารางที่ 7

แสดงรูปร่างลักษณะ การติดสีแกรม การเรียงตัวของเซลล์ และลักษณะ โคโลนีของเชื้อรา  
ที่พบที่ปลายรากผักตบชวา และน้ำรอบ ๆ ผักตบชวา

ชนิด	รูปร่างเซลล์	สปอร์	อาหาร	ลักษณะ โคโลนี				
				ขนาด	รูปร่าง	ระดับ	ขอบ	สี
M1	เส้นใย	-	PDA	8-10	irregular	unbonate	curled	ส้มอ่อน
M2	เส้นใย	-	PDA	10-20	filamentous	กลาง	filamentous	ขาว
M3	เส้นใย	-	PDA	1-5	rhizoid	สีส้ม	filamentous	ขาว
M4	เส้นใย	เขี้ยว	PDA	8-10	rhizoid	สีส้ม	filamentous	ขาว
M5	เส้นใย	เขี้ยว	PDA	8-10	rhizoid	สีส้ม	filamentous	ชมพู
M6	เส้นใย	ตุ้ม	PDA	10-20	filamentous	กลาง	filamentous	ขาว+เหลือง
M7	เส้นใย	ตุ้ม	PDA	3-5	rhizoid	สีส้ม	filamentous	ขาว
M8	เส้นใย	ส้ม	PDA	10-20	filamentous	ขาว	filamentous	ส้ม
M9	เส้นใย	เขี้ยว	PDA	10-20	rhizoid	สีส้ม	filamentous	ชมพู+ส้ม



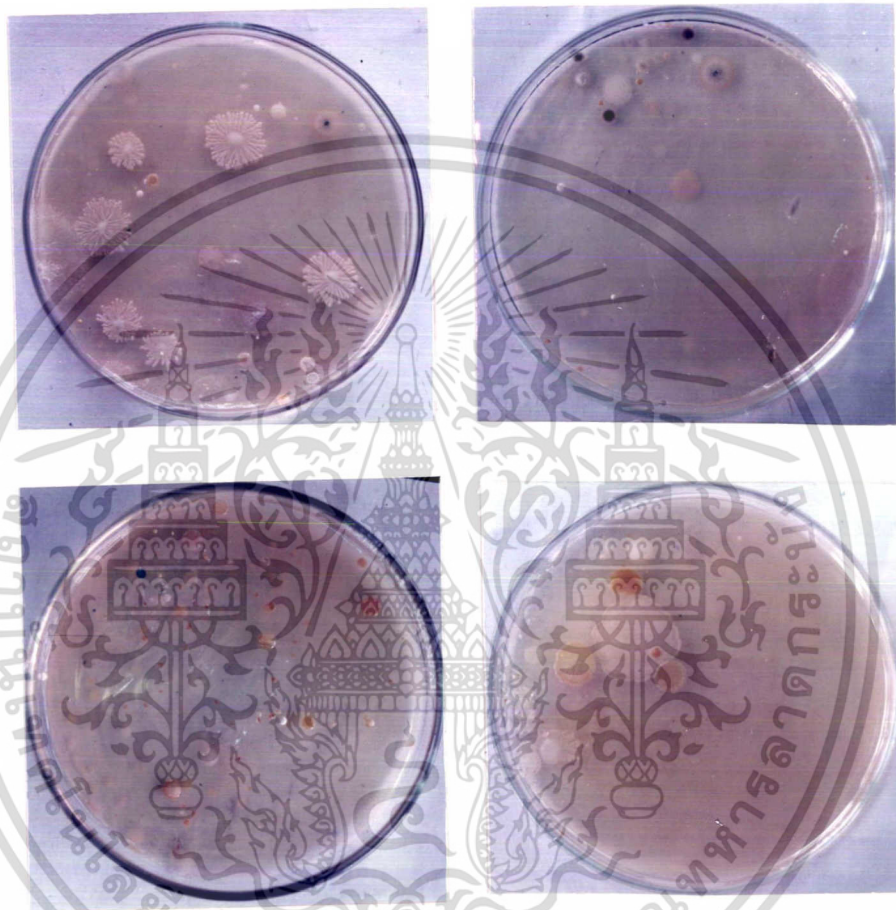
รูปที่ 4

แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียเปรียบเทียบกับรากลักตบชวา กับ  
น้ำตัวอย่างรอบ ๆ ลักตบชวา บนอาหาร Potato Dextrose Agar

ซ้าย : เชื้ออากิแบคทีเรียจากรากลักตบชวา

ขวา : เชื้ออากิแบคทีเรียจากน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ลักตบชวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ 5**

แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียเปรียบเทียบกับรากลักษณะชวา กับ  
 น้ำตัวอย่างรอบ ๆ ลักษณะชวา บนอาหาร Nutrient Agar  
 ซ้าย : เชื้อจุลินทรีย์จากรากลักษณะชวา  
 ขวา : เชื้อจุลินทรีย์จากน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ลักษณะชวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 6 แสดงลักษณะ โต โคลีของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร Nitrogen free medium



รูปที่ 7 แสดงลักษณะ โต โคลีของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญในอาหาร Potato dextrose agar ที่มีลักษณะกึ่งแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อศึกษาคุณภาพน้ำจะเห็นได้ว่า ความเป็นกรดต่างของน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา ที่เก็บได้จากแต่ละแหล่ง ( ตั้งแต่เดือน ตุลาคม ถึง เดือน มกราคม ) พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน คือ อยู่ในช่วงพีเอช 6.5 - 7.0 ( ตารางที่ 8 ) ซึ่งอยู่ในสภาพความเป็นกรดเล็กน้อย เนื่องจากค่าพีเอชที่ได้มาจากค่าเฉลี่ย จากการเก็บตัวอย่างน้ำ 3 ช่วง คือ เดือน ตุลาคม เดือน ธันวาคม และเดือน มกราคม ซึ่งค่าพีเอชนี้มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ดังนั้น ช่วงระยะเวลาที่มีการเก็บผักตบชวามาทำการวิจัย จะไม่มีความคลาดเคลื่อนเนื่องมาจากพีเอช เข้ามาเกี่ยวข้อง จากการหาปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ และ ค่าความต้องการออกซิเจน ( ตารางที่ 8 ) พบว่า มีค่าแปรผกผันกัน การไหลเวียนของน้ำมีส่วนทำให้ ผิวหน้าน้ำสัมผัส กับอากาศได้มาก ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่ง ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าสูงขึ้น น้ำที่มีค่าบีโอดีสูง แสดงว่า มีปริมาณออกซิเจนในน้ำที่น้อยทำให้จุลินทรีย์พวกที่ไม่ใช้อากาศเจริญ เติบโตโดยใช้สารอาหารที่มีอยู่ในน้ำ และ ปลดปล่อยสารที่หนักแน่นเหนียว และตะกอนสีดำอีกด้วย จากตารางที่ 8 แหล่งน้ำบริเวณคลองประเวศน์ คลองข้างวัดปลูกศรัทธา และคลองข้างสถานี รถไฟหัวตะเภา มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำสูง และค่าบีโอดีต่ำกว่าแหล่งน้ำอื่น แต่น้ำเหล่านี้ ยังจัดอยู่ในชั้นอันตรายไม่เหมาะแก่การนำมาใช้ในภาครูปโภค และบริโภคโดยตรง เนื่องจาก ยังจัดอยู่ในน้ำที่มีคุณภาพเลว คือ มีบีโอดีสูงกว่า 12 มิลลิกรัม / ลิตร ( เรียม , 2530 ) ดังนั้นหากจำเป็นที่จะต้องนำน้ำเหล่านี้มาใช้ ควรปรับสภาพน้ำเบื้องต้นเสียก่อนเช่น กรอง หรือ ตกตะกอนด้วยสารส้ม ฯลฯ ส่วนแหล่งน้ำบริเวณข้างคณะเทคโนโลยีการเกษตร ข้างตึกสมเด็จพระเทพฯ ร่องแปลงปลูกผักคณะเทคโนโลยีการเกษตร และ หอพักนักศึกษาสถาบัน พบว่า ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ มีค่าต่ำ และบีโอดีสูงมาก ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานที่กระทรวงอุตสาหกรรมกำหนดไว้ คือ 20 มิลลิกรัม/ลิตร ดังนั้น น้ำจากแหล่งตัวอย่างนี้ไม่เหมาะแก่การนำไปใช้อุปโภค และบริโภค ก่อนที่จะได้รับการบำบัดน้ำทั้งอย่างถูกวิธีเสียก่อน

เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ RC 1 และ RC 2 ที่มีอยู่ใน แหล่งน้ำกับสภาพแวดล้อมพบว่า แหล่งน้ำคณะเทคโนโลยีการเกษตร และข้างตึกสมเด็จพระเทพฯ มีจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด อยู่ในปริมาณมากกว่าแหล่งน้ำอื่น โดยลักษณะสภาพทั้ง 2 แห่งนี้ มีลักษณะที่ คล้ายคลึงกัน คือ เป็นแหล่งน้ำตื้นที่ไม่มีการเคลื่อนไหวของน้ำ หรือ เคลื่อนไหวอย่างช้า ๆ มีความขุ่นของน้ำปานกลาง แต่มีข้อแตกต่างกันบ้างเล็กน้อย คือ ปริมาณแสงแดดส่อง การถ่าย

ตารางที่ 8 แสดงคุณภาพน้ำทางนิลิกส์ และ เคมี จากแหล่งน้ำต่าง ๆ

ลักษณะคุณภาพน้ำ สถานที่	ความเป็นกรดเป็นด่าง ( pH )	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ( DO )	ความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี ( BOD )
คลองประเวศน์	6.57	5.5	13
คลองข้างวัดปลุกศรีรักษา	6.76	4.9	13
คลองข้างหัวตะเข้	6.93	4.8	15
ข้างคณะเกษตร	6.98	3.9	24
ข้างตึกสมเด็จ	6.60	1.5	24
ร่องฝักคณะเกษตร	6.78	1.2	34
หอให้นักศึกษา	6.70	1.2	36

เทพของอากาศ และความแออัดของผักตบชวา อาจมีความสัมพันธ์ในลักษณะเสริมกัน ทำให้ปริมาณ Rc 1 และ Rc 2 มีปริมาณมากขึ้นที่ปลายรากผักตบชวา

## 6.2 สรุปและข้อเสนอนะ

จากการคัดเลือกแหล่งน้ำที่มีผักตบชวา เพื่อทำการวิจัยในครั้งมีทั้งหมด 7 แห่ง คือ คลองประเวศน์ คลองวัดปลูกศรัทธา คลองข้างสถานีรถไฟหัวตะเข้ ซ้างคณะเทคโนโลยี การเกษตร ร่องแปลงปลูกผักคะเทโน โลยีการเกษตร ซ้างตึกสมเด็จพระเทพฯ และหอพัก นักศึกษา ซึ่งแหล่งน้ำแต่ละแห่ง มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันและแตกต่างกัน โดยสรุปแหล่งน้ำที่ใช้ในการวิจัย สามารถจำแนกลักษณะต่าง ๆ ได้ดังนี้ ระดับความลึกของน้ำ แบ่งเป็น แหล่งน้ำตื้น มีระดับความลึกของน้ำน้อยกว่า 0.75 เมตร และแหล่งน้ำลึก มีระดับความลึกของน้ำมากกว่า 0.75 เมตร ความขุ่นของน้ำ แบ่งเป็น น้ำใส ไม่มีตะกอนหรือมีเพียงเล็กน้อย โปร่งแสง น้ำขุ่นปานกลาง มีตะกอนปานกลาง น้ำสีน้ำตาลอ่อน น้ำขุ่นมาก มีตะกอนมาก น้ำสีน้ำตาลเข้ม ทึบแสง กลิ่นของน้ำ ไม่มีกลิ่น มีกลิ่นเหม็น และ มีกลิ่นเหม็นมาก การไหลเวียนของน้ำ มีการเคลื่อนไหว และไม่มีการเคลื่อนไหว ( หรือเคลื่อนไหวเพียงเล็กน้อย ) การถ่ายเทของ อากาศ ถ่ายเทดี เป็นที่โล่ง และถ่ายเทน้อย มีอาคารปิดกั้น ปริมาณแสงแดดที่ส่องถึง ทัวถึง และ น้อย ลักษณะความแออัด เกาะกลุ่มประมาณ 100 ต้นต่อตารางเมตร ลำต้นสั้น ประมาณ 20 - 30 เซนติเมตร แออัดปานกลางประมาณ 100 - 150 ต้นต่อตารางเมตร ลำต้นเรียวสูงประมาณ 30 - 50 เซนติเมตร หนาแน่นประมาณ 150 ต้นต่อตารางเมตร ลำต้นเรียวสูงตั้งแต่ 50 เซนติเมตรขึ้นไป

เมื่อศึกษาคูณภาพน้ำ จะเห็นได้ว่า ความเป็นกรดเป็นด่างโดยเฉลี่ยของน้ำจากแหล่ง ต่าง ๆ อยู่ในช่วง 6.5 - 7.0 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ และค่าความต้องการออกซิเจน ทางชีวเคมี มีการแปรผกผันคือ หากปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำสูง ค่าความต้องการออกซิเจน ทางชีวเคมีจะต่ำ แต่ถ้าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีน้อย ค่าความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี จะสูง

จากการตรวจหาชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญในอาหาร Nutrient Agar , Potato Dextrose Agar และ Nitrogen Free Medium พบว่า ที่ปลายรากผักตบชวามีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่าน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา ในแหล่งเดียวกัน ประมาณ 100 เท่า เมื่อนำรากผักตบชวาและน้ำรอบ ๆ ผักตบชวาจากแหล่งต่าง ๆ นี้มาตรวจหาชนิดของจุลินทรีย์ พบว่า มีจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันทั้งหมด 29 ชนิด ทั้งนี้เอาดียหลักการแยกเชื้อตามลักษณะของสีและโคโลนี สามารถแบ่งจุลินทรีย์ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ แบคทีเรีย 20 กลุ่ม และเชื้อรา 9 กลุ่ม เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการบำบัดน้ำเสีย คือ แบคทีเรีย ดังนั้นจึงศึกษารูปร่างลักษณะเซลล์ การติดสีแกรม และการเรียงตัวของแบคทีเรียแยกชนิดแบคทีเรีย ได้เป็น 4 พวกคือ พวกรูปร่างกลม แกรมบวก 5 กลุ่ม รูปร่างกลม แกรมลบ 1 กลุ่ม รูปร่างแบบแท่ง แกรมบวก ซึ่งมีมากที่สุดมีถึง 9 กลุ่ม และรูปร่างแบบแท่ง แกรมลบ 5 กลุ่ม โดยรูปร่างแบบแท่งแกรมลบนี้จะมี 2 กลุ่ม เป็นแบคทีเรียที่สามารถติดสีได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ( แกรมแปรเปลี่ยน )

เมื่อพิจารณา ชนิด และจำนวนของจุลินทรีย์พบว่า มีแบคทีเรีย 4 กลุ่มที่พบที่ปลายรากผักตบชวาแต่ไม่พบหรือพบเพียงเล็กน้อยในน้ำตัวอย่างรอบ ๆ ผักตบชวา แบคทีเรียทั้ง 4 กลุ่มนี้ ได้แก่ Ra8 , Rb2 , Rc1 และ Rc2 เนื่องจากโครงการวิจัยครั้งนี้มุ่งศึกษาจุลินทรีย์ที่สอดคล้องการดูดซึมไนโตรเจนได้เป็นอย่างดี เพื่อประโยชน์ในการบำบัดน้ำเสีย ดังนั้นจึงนำมาตรวจสอบโดยเลี้ยงใน Nitrogen Free Medium พบว่า แบคทีเรียกลุ่ม Rc1 และ Rc2 สามารถตรึงไนโตรเจนจากในบรรยากาศได้เมื่อนำมาตรวจคุณสมบัติของเชื้อพบว่า Rc1 และ Rc2 มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ Azotobacter และ Beijerinckia โดยมีลักษณะต่อไปนี้คือ ลักษณะโคโลนีสีขาวขุ่น และใส ( ขึ้นกับชนิดของอาหาร ) มันเข้มเป็นเมือกบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อย้อมสีติดสีแดงของ Safranin - O รูปร่างแบบแท่งปลายมนคล้ายรูปไข่ ย่อยสลายกลูโคสให้กรดเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์ในอาหาร Nitrogen Free Medium Broth สามารถเคลื่อนที่ได้ในอาหาร Motility Test Medium แสดงว่ามีแฟลกเจลลา เมื่อนำมาเลี้ยงใน Nitrogen Free Medium อีกครั้งเพื่อเป็นการยืนยันพบว่าเจริญในอาหาร ไม่มีไนโตรเจนได้จริง

เมื่อพิจารณาปริมาณ Rc1 และ Rc2 ที่มีอยู่ในแหล่งน้ำ พบว่า แหล่งน้ำข้างคณะ  
เทคโนโลยีการเกษตร และข้างตึกสมเด็จพระเทพฯ มีปริมาณ Rc1 และ Rc2 และมีค่า  
บีโอดีต่ำกว่าแหล่งน้ำบริเวณร่องแปลงปลูกผักคณะเทคโนโลยีการเกษตร และข้างหอพักนักศึกษา  
ถึงแม้ว่าจะมีสภาพบางประการใกล้เคียงกัน คือเป็นแหล่งน้ำตื้น ที่ไม่มีการเคลื่อนไหว หรือ  
เคลื่อนไหวอย่างช้า ๆ แต่ลักษณะอื่น ๆ เช่นปริมาณแสงแดดที่ส่องถึง การถ่ายเทของอากาศ  
ขนาดและจำนวนของผักตบชวา ซึ่งมีจำนวนที่แตกต่างกัน เป็นส่วนที่เสริมกันทำให้จุลินทรีย์ชนิด  
นี้ในปริมาณมาก และอาจมีส่วนลดค่า บีโอดีให้ต่ำลงได้ แต่ที่นี้ เนื่องจากไม่ได้ทำการวิจัยต่อ  
ว่า ผักตบชวาที่มีปริมาณจุลินทรีย์มากในบริเวณนี้ สามารถลดค่าบีโอดีได้มากน้อยอย่างไร  
ซึ่งจะเป็นแนวทางสำคัญที่นำไปสู่การพิสูจน์ว่า จุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนเช่น Rc1 และ  
Rc2 มีความสัมพันธ์กับการบำบัดน้ำ อย่างไรก็ตาม การลดมลสารในน้ำยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ  
อีก เช่น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ธาตุอาหารที่มีปะปนอยู่ในแหล่งน้ำนั้น ๆ นอกจากนี้  
หากจุลินทรีย์ 2 ชนิดนี้มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนในน้ำได้สูง ซึ่งช่วยในการลดม  
ลสารในน้ำได้มากแล้ว แนวทางที่ควรศึกษาต่อไปคือ หาวิธีการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์บริเวณปลาย  
รากผักตบชวา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียให้ดียิ่งขึ้น ทั้งนี้สถานแวดล้อมที่  
เหมาะสม จะมีผลต่อการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ Rc1 และ Rc2 หรือไม่ จำเป็นต้อง  
ศึกษาต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

1. ชัยวัฒน์ ปัญงษ์ การรวบรวมข้อมูล ชีวสถิติ ตอนที่ 1 สถิติภาคพรรณนา กรุงเทพฯ 2522
2. บุญยติ สุขศรีงาม จุลชีววิทยาของน้ำ จุลชีววิทยาทั่วไป พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ 2525
3. บุญสม ลีวงศ์วิไล การศึกษาคณะภาพน้ำทางแบคทีเรียวิทยาของแหล่งน้ำจากพื้นที่ป่าดิบแล้ง และพื้นที่ป่าผสมเกษตรกรรม หมู่บ้านโนนบริเวณป่าสะแกราช วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 2523
4. ประดิษฐา อินทรโรจนิต และทิวศักดิ์ ตักดีนิมิตร กำลังการผลิตของผักตบชวา วารสารวิทยาศาสตร์ ปีที่ 33 ฉบับที่ 12 ธันวาคม 2522
5. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และคณะอักษรศาสตร์ คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา พิมพ์ครั้งที่ 3 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 2525
6. พิไลพรรณ พงษ์พุด และ บุญยติ สุขศรีงาม จุลชีววิทยา เล่ม 2 ภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒบางแสน 2522
7. มยุรา ภูริพันธ์ภิญโญ เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผักตบชวา และศักยภาพในการควบคุม โดยชีววิธี วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 2527
8. เรียม เตชะ โสภณมณี ผักตบชวาและประโยชน์ในการบำบัดน้ำเสีย จุลสารสภาวะแวดล้อม ปีที่ 6 ฉบับที่ 5 กันยายน-ตุลาคม 2530
9. วิทยา มะเสาะ จุลชีววิทยาของอาณาเขตบริเวณรากพืช จุลชีววิทยาทางดิน ภาคปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 2526
10. ศุภมาศ นนธิศักดิ์พัฒนา จุลินทรีย์ และ เขตรากพืช จุลชีววิทยาเพื่อผลิตผลทางการเกษตร พิมพ์ครั้งที่ 2 ภาคปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 2529
11. สมศักดิ์ วังโน จุลชีววิทยาระบบรอบรากพืช จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน ภาคปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 2528
12. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เอกสารวิชาการเรื่องผักตบชวา กรุงเทพฯ 2520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. American Public Health. "Standard Method for the Examination of water and waste water ." American Public Health Association Inc., Washington D.C., 1975
14. Balasooriya ,I., Paulraj ,P.J., Wardhena ,S.I.A. Nanayakkara ,C. " Water Hyacinth " UNEP Reports and Proc. Series 7 , ed. G. T. Rajan, 1983
15. \_\_\_\_\_ . Biology of nitrogen fixation , PP. 86 - 120 , A Quacspel ed. North Holland , Amsterdam , 1974
16. Becking ,J.S. and Holt,J.G. , The shorter Bergey's Manual of Determination Bacteriology , 8<sup>th</sup> edition. PP. 84 - 89 . Williams & Wilking Company/Baltimore , USA , 1979.
17. Boyed, C.E. " Vascular aquatic plants for mineral nutrient removal form polluted water " Econ. Bot. 24 (1970)
18. Hale and Moore. Adv. Agron , 31 : PP 93 - 124 , 1979 .
19. Lapage ,S.P. and Shelton ,Jean E. Media or the Maintanace and Preservation of bacteria in Method in Biology , (Norris, J.R. and ribbons , D.W.) Vol. 3 A pp. 18 , 115 . Acedemic press, London and New York, 1970.
20. Mishustin , E.N. and Shilnikova , V.K. Structure and Development of Azotobacter in Biological Fixing of Atomospheric Nitrogen , pp. 184-250 first published , 1971
21. Ratchannomai , ratchanee. " Water Hyainth Abstracts " ABSTR Bibliographical Series No.4 (Applied Scienific Reserch Cooperation of Thailand , Bangkok , 1974.)
22. Sirokin and Cullinare . Identification of Microorganisms in Practrical Microbiology , pp. 71-85 ,1969.

23. Mood , E.J.F. Microbiology of oceans and Estuaries. Elsevier Publishing Company , New York , 1967.
24. World health organization " International Standard for Drinking water. " WHO., Geneva., 1971.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาคผนวก**  
**ภาคผนวก ก.**  
**สูตรและอาหารเลี้ยงเชื้อ**

1. Nitrogen Free Agar (Norris , 1959)

PART I

$K_2HPO_4$	1	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2	กรัม
$CaCO_3$	1	กรัม
NaCl	0.2	กรัม
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1	กรัม
$Na_2MnO_4 \cdot 2H_2O$	0.005	กรัม
Agar Powder	15	กรัม
Distilled Water	1000	มิลลิลิตร

PART II

D-Glucose, anhydrous	10	กรัม
Distilled Water	50	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสม PART I ในน้ำ ปรับ pH ให้มีค่าประมาณ 7.0 ละลายกลูโคส (PART II) แยกเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีการกรองด้วย Filter Membrane เติมน้ำละลายกลูโคสในสารละลาย PART I ก่อนนำมาเลี้ยงเชื้อ

2. Nitrogen Agar (NA)

Beef Extrac	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled Water	1000	ลิตร
pH	7.0	

### 3. Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato	200	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled Water	1000	มิลลิลิตร
pH	7.0	

ผสมสูตรอาหารแต่ละชนิดในน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ นาน 15 นาที ยกเว้นกลูโคสในข้อ 1 ใช้วิธีการกรองแยกเพื่อจุลินทรีย์ออก

### 4. Motility Test Medium (Difco)

Bacto Tryptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Bacto Agar	5.0	กรัม
pH	7.2	

ถ้าจะให้เชื้อเจริญดีขึ้นควรมี Beef Extract 0.1 - 0.3 เปอร์เซ็นต์

## สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์

1. Crystal Violet

## Solution A

Crystal Violet	2.0	กรัม
95 % Ethanol	20.0	มิลลิลิตร

## Solution B

Ammonium Oxalate	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	80.0	มิลลิลิตร

ผสม Solution A และ Solution B ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาใช้ กรองผ่านกระดาษกรอง เก็บในขวดสีชา

2. Iodine (Gram ' s)

Iodine	1.0	กรัม
Potassium Iodide	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300.0	มิลลิลิตร

3. Safranin-O

Safranin-O	0.25	กรัม
95 % Ethanol	10.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	90.0	มิลลิลิตร

เตรียมสารละลาย Safranin-O ในเอทานอลมีความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วเติมน้ำให้มีปริมาตร ครบ 100 มิลลิลิตร

4. Lactophenol-Cotton Blue

Lactic acid	20	กรัม
Phenol	20	กรัม
Glycerin	40	กรัม
น้ำกลั่น	20	มิลลิลิตร

5. Bromthymol Blue 1.6 %

Bromthymol Blue	1.6	กรัม
Ethanol Alcohol	100.0	มิลลิลิตร



สารเคมีที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์น้ำ

1. สารเคมีที่ใช้ตรวจหาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved Oxygen , DO)

1.1 สารละลายแมงกานีสซัลเฟต

$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	480	กรัม
หรือ $MnSO_4 \cdot 2H_2O$	400	กรัม
หรือ $MnSO_4 \cdot H_2O$	364	กรัม

ละลายในน้ำกลั่น เติมน้ำให้มีปริมาตร 1 ลิตร

1.2 สารละลายอัลคาไล-ไอโอดีน-อาไซด์ (AIA)

NaOH	500	กรัม
NaI	135	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 1 ลิตร

เติม  $NaN_3$  10 กรัม ต่อน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร

1.3 น้ำแข็ง

น้ำแข็ง 5 กรัม ต่อน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ในน้ำร้อน 800 มิลลิลิตร คนให้

เข้ากัน เติมน้ำกลั่นจนครบลิตร ต้มให้เดือด 5 นาที ทิ้งให้เย็นเติมกรด Salicylic 1.25 กรัม หรือ Toluene 2 - 3 หยด เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์

1.4 กรดซัลฟูริกเข้มข้น (36 N)

1.5 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮโคซัลเฟต 0.0250 N

ละลาย  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$  6.025 กรัม ในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่ ๆ ที่ทำให้เย็นแล้ว 1 ลิตร เติม NaOH 0.4 กรัม ต่อลิตร เก็บสารละลายไว้ในขวดสีชา

## 2. สารเคมีที่ใช้ในการทำความเจือจาง

### 2.1 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	8.5	กรัม
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	21.75	กรัม
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	34.4	กรัม
$\text{NH}_4\text{Cl}$	1.7	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นเต็มจนครบ 1 ลิตร

### 2.2 สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	22.5	กรัม
---	------	------

ละลายในน้ำกลั่นเต็มจนครบ 1 ลิตร

### 2.3 สารละลายแคลเซียมคลอไรด์

$\text{CaCl}_2$ ที่อบแห้ง	27.5	กรัม
---------------------------	------	------

ละลายในน้ำกลั่นเต็มจนครบ 1 ลิตร

### 2.4 สารละลายเฟอร์ริคคลอไรด์

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.25	กรัม
---	------	------

ละลายในน้ำกลั่นเต็มจนครบ 1 ลิตร

ประวัติผู้เรียบเรียง

นางสาวสุนรรณี วิริยะบัญชา เกิดเมื่อวันที่ 20 พฤศจิกายน พ.ศ. 2508 อาศัยอยู่บ้านเลขที่ 166 ซอยมหาสิน ถนนรามคำแหง แขวงหัวหมาก เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ 10240 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมจากโรงเรียนสตรีวิทยา เขตพระนคร กรุงเทพฯ เมื่อปี พ.ศ. 2527 หลังจากนั้น ได้เข้าศึกษาในสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง จนสำเร็จการศึกษา ได้รับวุฒิปริญญาตรีบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 2) ระหว่างศึกษาได้เข้าร่วมกิจกรรมต่าง ๆ ดังนี้

ปี พ.ศ. 2528 หัวหน้าฝ่ายสัมพันธการโครงการรับที่องคณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์

ปี พ.ศ. 2529 นักศึกษาสัมพันธ์ องค์การนักศึกษา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

ปี พ.ศ. 2530 หัวหน้าฝ่ายเวที งานลาดกระบังนิทรรศน์ '80

ปี พ.ศ. 2527 - 2529 นักกีฬาทางเทตบอล สถาบันฯ

ปี พ.ศ. 2527 - 2530 ผู้นำเยาวชน ฝ่าย Y.M.C.A. และ Y.P.D.C.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้