

การตั้งไนโตรเจนออกไซด์ซึ่งแบคทีเรียบนโคโคซาน
เพื่อใช้ในการบำบัดน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ

นางสาวดวงชีวัน บุญเฟือก

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

IMMOBILIZATION OF NITRITE-OXIDIZING BACTERIA ON CHITOSAN
FOR WATER TREATMENT IN AQUACULTURE POND

Miss Duangcheewan Boonpuak

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Environmental Engineering

Department of Environmental Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรึงไนโตรเจนออกซิโดซิงแบคทีเรียบนไคโตซาน เพื่อใช้ในการบำบัดน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ
โดย	นางสาวดวงชีวัน บุญเผือก
สาขาวิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณะณ์ พึ่งรัศมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ ดร.ปราณี เลิศสุทธิวงค์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร.บุญสม เลิศธีรวัฒน์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุธา ขาวเขียว)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณะณ์ พึ่งรัศมี)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(อาจารย์ ดร.ปราณี เลิศสุทธิวงค์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ตะวัน ลิ้มปิยากร)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข)

ดวงชีวัน บุญเผือก : การตรึงไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซานเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ. (IMMOBILIZATION OF NITRITE-OXIDIZING BACTERIA ON CHITOSAN FOR WATER TREATMENT IN AQUACULTURE POND) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณะ พิ้งรัมย์, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อาจารย์ ดร.ปราณี เลิศสุทธิวงศ์, 114 หน้า.

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปัจจัยของไคโตซานและสภาวะที่มีผลต่อการตรึงเชื้อไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซาน โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการบำบัดไนไตรต์ด้วยไคโตซาน โดยปัจจัยและสภาวะที่ทำการศึกษาได้แก่ ระยะเวลาในการตรึงเชื้อพีเอสที่ใช้ในการปรับพื้นผิวของไคโตซาน ขนาดอนุภาคของไคโตซาน ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน ผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงเชื้อไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซานคือ ระยะเวลาการตรึง 24 ชม. โดยการปรับพื้นผิวของไคโตซานที่ระดับพีเอส 6.5 โดยใช้ไคโตซานที่มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 1-2 มม. และระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลมากกว่าร้อยละ 80 จากสภาวะดังกล่าวพบว่าไคโตซานที่ตรึงเชื้อแล้วมีอัตราการบำบัดไนไตรต์สูงสุดเท่ากับ 0.72 ± 0.07 มก. ไนไตรต์ในโตรเจนต่อกรัม นน.แห้งไคโตซานต่อวัน ในขณะที่น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการตรึงเชื้อ จากนั้นทำการทดลองต่อในส่วนที่สองด้วยการนำไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียตามสภาวะที่เหมาะสมในช่วงแรก ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพน้ำในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ทำการจำลองสภาวะในถังเลี้ยงกุ้งให้เหมือนกับบ่อไร้ดินกลางแจ้ง โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการควบคุมคุณภาพน้ำระหว่างถังควบคุมที่ไม่เติมไคโตซาน ถังควบคุมที่เติมไคโตซานเปล่า(ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) และถังชุดทดลองที่เติมไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วตามสภาวะที่เหมาะสม โดยทำการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 6.29 ± 0.98 กรัม ความหนาแน่น 0.6 กก.ต่อลบ.ม. ในน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู ปริมาตร 80 ลิตร ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 100 ลิตร ที่ควบคุมค่าสภาพต่างของน้ำให้เท่ากับ 150 มก.ต่อลิตร เป็นระยะเวลา 35 วัน ในสภาวะที่ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ พบว่าไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วสามารถควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพและให้ผลผลิตกุ้งที่มีอัตราการรอดสูงสุด โดยที่ไคโตซานมีอัตราการบำบัดไนไตรต์สูงสุด 1.40 ± 0.11 มก.ไนไตรต์ในโตรเจนต่อกรัมต่อวัน

ภาควิชา .วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม..	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา .วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม.	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ปีการศึกษา .2553.....	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5070554221 : MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEY WORDS : IMMOBILIZATION /CHITOSAN / NITRITE OXIDIZING BACTERIA /
AQUACULTURE POND

DUANGCHEEWAN BOONPUAK : IMMOBILIZATION OF NITRITE-OXIDIZING
BACTERIA ON CHITOSAN FOR WATER TREATMENT IN AQUACULTURE POND.

ADVISOR : ASSISTANT. PROFESSOR WIBOONLUK PUNGRASMI; Ph.D.,

CO-ADVISOR : PRANEE LERTSUTTHIWONG, Ph.D., 114 pp.

This research involved the immobilization of nitrite-oxidizing bacteria on chitosan for water treatment in aquaculture pond. The experiment was divided into 2 parts; the first part involved the study for optimal condition in treating nitrite via chitosan including time duration for bacterial acclimation; pH value for modifying chitosan surface, size, degree of deacetylation and chitosan molecular weight. It was found that the appropriate condition for bacterial immobilization was 24 hr immobilization period using 1- 2 mm chitosan particles with the degree of deacetylation more than 80 percent and surface modification at pH 6.5. This optimized condition provided the highest nitrite removal rate of 0.72 ± 0.07 mg-NO₂-N/g-day. Chitosan molecular weight, however, had no effect on bacterial immobilization. Subsequently, the second part of the experiment involved the use of chitosan immobilized with nitrifying bacteria for nitrite treatment in aquaculture system. The experiment was conducted with simulated shrimp culture tanks resembled to the outdoor soilless pond. Nitrite oxidizing bacteria immobilized on chitosan was applied in the treatment tanks during shrimp cultivation and nitrite removal efficiency was evaluated. Control tanks, on the other hand, consisted of shrimp tanks without chitosan addition and shrimp tank with new chitosan (without bacterial immobilization). The experimental animal was 6.29 ± 0.98 g. Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), cultured at 0.6 kg/m³ for 35 days in 80-L tanks containing 30-psu seawater. Water alkalinity was adjusted to 150 mg/L and the experiment was performed without water exchange throughout the experiment. The results showed that chitosan immobilized with nitrite oxidizing bacteria could significantly reduce nitrite concentration in shrimp culture tank, as well as providing the highest shrimp survival rate. The nitrite removal rate of immobilized chitosan was 1.40 ± 0.11 mg-NO₂-N/g-day.

Department: Environmental Engineering.... Student's Signature.....

Field of Study: Environmental Engineering. Advisor's Signature.....

Academic Year: 2010..... Co-advisor's Signature.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยความอนุเคราะห์ช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณต่อผู้ที่ให้ความอนุเคราะห์ดังต่อไปนี้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณะ พิ้งรัมย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และอาจารย์ ดร.ปราณี เลิศสุทธิวงค์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางหลักการในการดำเนินงานวิจัย และแก้ไขในสิ่งที่บกพร่องมาตลอดระยะเวลาการทำงานวิจัย ซึ่งมีส่วนสำคัญมากในการทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

รองศาสตราจารย์ ดร.สุภา ขาวเขียว ที่กรุณาเป็นประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ตลอดจนอาจารย์ ดร.ตะวัน ลิ้มปิยากร กรรมการ และ ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาชี้แนะแก้ไขวิทยานิพนธ์สำเร็จได้ด้วยดี

คณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนและให้ความรู้

ขอขอบพระคุณศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ และห้องปฏิบัติการศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านสถานที่สำหรับทำการวิจัย ตลอดจนให้ความกรุณาและอำนวยความสะดวกสำหรับเครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี และคำแนะนำในการวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ด้านต่างๆ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์จากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2554 ครั้งที่ 1 และทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำวิจัย ตลอดจนจัดซื้อเครื่องมือและครุภัณฑ์ต่างๆ ที่จำเป็นจนทำให้การทดลองต่างๆ ของวิทยานิพนธ์สำเร็จได้ด้วยดี

และสุดท้ายขอขอบคุณเพื่อนๆ และพี่ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ ให้คำปรึกษา และดูแลกันและกันในระหว่างการทำวิจัยมาโดยตลอด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง.....	4
2.2 การบำบัดไนโตรเจนทางชีวภาพ	6
2.2.1 กระบวนการแอมโมเนียเฟิเคชัน.....	6
2.2.2 กระบวนการไนทริฟิเคชัน.....	7
2.2.3 กระบวนการดีไนทริฟิเคชัน	8
2.3 การควบคุมคุณภาพน้ำโดยใช้ตัวกรองชีวภาพ	9
2.4 การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในประเทศไทย	10
2.4.1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไม	10
2.4.2 อนุกรมวิธานกุ้งขาวแวนนาไม.....	10
2.5 คุณภาพน้ำที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม	11
2.5.1 ความเค็ม	11
2.5.2 อุณหภูมิ	11
2.5.3 ความโปร่งแสงของน้ำ.....	11
2.5.4 ปริมาณของสารแขวนลอย	12

2.5.5 ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำ	12
2.5.6 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ	12
2.5.7 ความเป็นกรดต่าง	13
2.5.8 ความเป็นต่าง	13
2.5.9 สารประกอบไนโตรเจน.....	13
2.5.10 ไฮโดรเจนซัลไฟด์.....	14
2.6 ไคโตซาน	15
2.6.1 ลักษณะทั่วไปของไคตินและไคโตซาน	15
2.6.2 สมบัติของไคตินและไคโตซาน	16
2.6.3 การใช้ประโยชน์จากไคโตซาน.....	18
2.7 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
2.7.1 ปัจจัยของไคโตซานต่อการตรึงเชื้อ	19
2.7.2 การใช้ไคโตซานในการบำบัดคุณภาพน้ำ	20
2.7.3 การบำบัดน้ำเสียจากการเลี้ยงกุ้ง	21
2.7.4 การใช้ตัวกรองชีวภาพในการบำบัดของเสียไนโตรเจน	22
บทที่ 3 แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย	25
3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	25
3.1.1 อุปกรณ์สำหรับการทดลอง	25
3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ.....	25
3.1.3 สารเคมี	26
3.2 การดำเนินการทดลอง.....	27
การทดลองส่วนที่ 1 การเตรียมและการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของไคโตซาน	29
การทดลองส่วนที่ 2 ปัจจัยและสภาวะที่มีผลต่อการตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบน ไคโตซาน.....	31
การทดลองส่วนที่ 3 ประสิทธิภาพของไคโตซานที่ผ่านตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย ในการควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งที่จำลองสภาวะเหมือนจริงของ ระบบบ่อไร่นากลางแจ้ง	38

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	45
4.1 การเตรียมและวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของโคโตซาน	45
4.1.1 ระยะเวลาในการตรึงเชื้อ	49
4.1.2 ผลของการปรับพื้นผิวของโคโตซาน.....	53
4.1.3 ขนาดอนุภาคของโคโตซาน.....	55
4.1.4 ระดับการกำจัดหมู่อะซิทธิลของโคโตซาน	57
4.1.5 น้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน.....	59
4.2 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำในถังเลี้ยงกุ้งระบบบ่อไร้ดินกลางแจ้งด้วยโคโตซานที่ผ่าน การตรึงเชื้อไนโตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย.....	61
4.2.1 คุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้ง	61
4.2.2 อัตราการบำบัดไนโตรต์ของโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรต์ ออกซิไดซิงแบคทีเรีย	70
4.2.3 การเลี้ยงกุ้งและอัตราการเจริญเติบโตของกุ้ง.....	75
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	79
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	79
5.2 ข้อเสนอแนะ	80
รายการอ้างอิง	81
ภาคผนวก	90
ภาคผนวก ก	91
ภาคผนวก ข	95
ภาคผนวก ค	99
ภาคผนวก ง.....	105
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	114

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณการส่งออกกุ้งแช่เย็นแช่แข็งของไทยในช่วงปี พ.ศ. 2546-2550.....	4
3.1 ตัวอย่างโคโตซานทั้งหมดที่ใช้ในงานวิจัย.....	29
3.2 การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของโคโตซานและเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์.....	30
3.3 ตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในการทดลองส่วนที่ 1	31
3.4 ตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในการทดลองส่วนที่ 2.....	33
3.5 ตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในการทดลองส่วนที่ 3	39
3.6 คุณภาพน้ำและวิธีวิเคราะห์สำหรับตรวจวัดคุณภาพน้ำภายในถังเลี้ยงกุ้ง	44
4.1 สมบัติจำเพาะของโคโตซาน	45
4.2 คุณภาพน้ำในถังปฏิกรณ์ที่ทำการศึกษาคัดเลือกเชื้อ NOB.....	48
4.3 คุณภาพน้ำในถังปฏิกรณ์ที่ทำการศึกษาตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโตรเจนของตัวกรองชีวภาพ ที่ผ่านการคัดเลือกหัวเชื้อ NOB แล้ว.....	49
4.4 พารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้ง 3 ถัง เมื่อทำการทดลองเป็นเวลา 35 วัน.....	68
4.5 ผลการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมจาก 3 ชุดการทดลองตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 35 วัน	78

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ปริมาณไนโตรเจนที่เติมเข้าไปและสะสมอยู่ในส่วนต่างๆ ของบ่อเลี้ยงกุ้งระบบปิด.....	5
2.2 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส ไคติน และไคโตซาน	15
3.1 แผนผังสรุปขั้นตอนทั้งหมดของงานวิจัย	28
3.2 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองส่วนที่ 1	30
3.3 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองส่วนที่ 2	32
3.4 วัสดุพลาสติกโพลีเอธิลีน รุ่น BCN-009.....	34
3.5 ชุดปฏิกรณ์ที่ใช้ในการคัดเลือกไนทริฟายอิงแบคทีเรียกลุ่ม NOB บนตัวกลางพลาสติก ..	34
3.6 การติดตั้งอุปกรณ์สำหรับการตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโตรต์ของตัวกลางพลาสติก ที่ผ่านการตรึงเชื้อและคัดเลือกให้เหลือเฉพาะแบคทีเรียกลุ่ม NOB	35
3.7 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองส่วนที่ 3	38
3.8 ชุดปฏิกรณ์ที่ใช้ในการตรึงเชื้อไนโตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซานเพื่อใช้กับบ่อ เลี้ยงกุ้ง.....	41
3.9 การติดตั้งอุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงกุ้งที่มีการจำลองสภาวะเหมือนจริงในระบบบ่อไร้ดิน กลางแจ้ง (แสดงรายละเอียดต่อ 1 ถึงการทดลอง)	42
3.10 การศึกษาอัตราการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมโดยการวัดความยาวและชั่งน้ำหนักกุ้ง ..	43
4.1 การแช่ตัวกรองชีวภาพในบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิด เป็นเวลา 45 วัน.....	46
4.2 การเปลี่ยนแปลงของแอมโมเนีย ไนโตรต์ และไนเตรต ของตัวกรองชีวภาพไนทริฟิเคชัน ในถังคัดเลือกเชื้อ NOB	47
4.3 การเปลี่ยนแปลงของแอมโมเนีย ไนโตรต์ และไนเตรต ระหว่างการทดสอบประสิทธิภาพ ของตัวกรองชีวภาพไนทริฟิเคชันที่ทำการคัดเลือกให้เหลือแต่เชื้อ NOB	48
4.4 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรต์ด้วยไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรต์ ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 3 6 12 24 และ 72 ชม. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ตรึงเชื้อ)	50
4.5 อัตราการบำบัดไนโตรต์ของไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียเป็น เวลา 3 6 12 24 และ 72 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ตรึงเชื้อ)	51

รูปที่	หน้า
4.6 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงพื้นผิวของโคโตซานที่ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ (ชุดควบคุม) และโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 3 และ 24 ชม. (กำลังขยาย 5,000 เท่า)	52
4.7 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนไตรต์ด้วยโคโตซานที่ทำการปรับพื้นผิวด้วยบัฟเฟอร์ที่พีเอช 5.5 6.5 และ 7.5 หลังนำไปตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชม. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (แช่น้ำกลั่น).....	54
4.8 อัตราการบำบัดไนไตรต์ของโคโตซานที่ทำการปรับพื้นผิวด้วยบัฟเฟอร์ที่ พีเอช 5.5 6.5 และ 7.5 หลังนำไปตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชม. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (แช่น้ำกลั่น).....	54
4.9 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนไตรต์ด้วยโคโตซาน 3 ขนาด ภายหลังจากนำไปตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชม.	56
4.10 อัตราการบำบัดไนไตรต์ของโคโตซาน 3 ขนาด ภายหลังจากนำไปตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชม.....	56
4.11 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนไตรต์ด้วยโคตินและโคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล 2 ระดับ ภายหลังจากนำไปตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชม.....	58
4.12 อัตราการบำบัดไนไตรต์ของโคตินและโคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล 2 ระดับ ภายหลังจากนำไปตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชม.....	58
4.13 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนไตรต์ด้วยโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 3 ระดับ ภายหลังจากนำไปตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชม.....	59
4.14 อัตราการบำบัดไนไตรต์ของโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 3 ระดับ ภายหลังจากนำไปตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชม.	60
4.15 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนของตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งปริมาตร 80 ลิตร ทั้ง 3 ชุดการทดลอง	62
4.16 ค่าสภาพต่างในมวลงน้ำของถังเลี้ยงกุ้งทุกชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้ง 35 วัน.....	66
4.17 ปริมาณของแข็งแขวนลอยในมวลงน้ำของถังเลี้ยงกุ้งทุกชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้ง 35 วัน	67
4.18 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนไตรต์และไนเตรตโดยโคโตซานจากถังชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (ยังไม่ผ่านการใช้งาน) เมื่อทำการเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 27 วัน	70

รูปที่	หน้า
4.19 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรเจนและไนเตรตของตัวอย่างน้ำในถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลอง เมื่อเติมโคโคซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วลงไปในวันแรก (วันที่ 15 ของการทดลอง) และหลังการเพาะเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (วันที่ 27 ของการทดลอง).....	71
4.20 อัตราการบำบัดไนโตรเจนของโคโคซานที่สู่มตัวอย่างมาจากถังชุดควบคุมที่เติมโคโคซานเปล่า (ที่ยังไม่ผ่านการใช้งาน) และจากถังชุดทดลองที่เติมโคโคซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วในวันที่ 15 และ 27 ของการทดลอง	72
4.21 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงพื้นผิวของโคโคซานจากถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมและชุดทดลองก่อนเติมลงในบ่อเลี้ยงกุ้งและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กำลังขยาย 3,500 เท่า).....	74
4.22 ภาพถ่ายกุ้งในระบบทดลองเมื่อทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 35 วัน	75
4.23 น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไม และความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมในถังชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโคซาน ถังชุดควบคุมที่เติมโคโคซานเปล่า(ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) และถังชุดทดลองที่เติมโคโคซานที่ตรึงเชื้อแล้ว ในวันที่ 0 และ 35 ของการทดลอง.....	76

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเฉพาะกุ้งมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทยเป็นอย่างมาก ในแต่ละปีสามารถนํารายได้เข้าสู่ประเทศเป็นมูลค่าหลายหมื่นล้านบาท และยังเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมยุทธศาสตร์ของประเทศที่ถือว่ามีความสำคัญภาพในการส่งออก โดยผลผลิตกุ้งประมาณร้อยละ 87 ของทั้งหมดถูกส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศในรูปของกุ้งสดแช่เย็นแช่แข็ง กุ้งแปรรูป และกุ้งกระป๋อง (กรมศุลกากร, 2551(a)) และเพื่อให้ประเทศของเราสามารถรักษาตำแหน่งหนึ่งในผู้นำการส่งออกกุ้ง ประเทศไทยจึงต้องมียุทธศาสตร์การค้าระหว่างประเทศที่ดีควบคู่กับการรักษาคุณภาพกุ้งให้เป็นที่ต้องการของตลาดโลก ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อสุขภาพและผลผลิตกุ้ง คือ การควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งนั่นเอง

การเลี้ยงกุ้งส่วนใหญ่จะใช้ระบบบ่อดินกลางแจ้งซึ่งมีปัญหาสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมไม่ว่าจะเป็นปัญหาสภาพดิน การปนเปื้อนของเชื้อโรคที่ไม่พึงประสงค์จากดิน และการรั่วซึมของน้ำในบ่อ ในปัจจุบันจึงมีการปรับปรุงระบบการเลี้ยงกุ้งไปสู่ระบบบ่อไร้อินกลางแจ้ง โดยจะเป็นบ่อที่ปูพื้นด้วยผ้าใบทั้งหมดทำให้ไม่มีตะกอนดินที่ก้นบ่อจึงสามารถลดปัญหาดังกล่าวลงได้ อย่างไรก็ตามระบบบ่อไร้อินกลางแจ้งมักประสบปัญหาการสะสมของสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจน โดยเฉพาะไนไตรต์อยู่เสมอ สืบเนื่องมาจากระบบนิเวศน์ภายในบ่อไม่เอื้ออำนวยต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดปฏิกริยาไนตริฟิเคชันได้อย่างสมบูรณ์ (มะลิวัลย์ คุตะโค และคณะ, 2550) โดยบางครั้งพบความเข้มข้นของไนไตรต์สูงกว่า 10 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ซึ่งเป็นระดับที่อันตราย อาจทำให้กุ้งที่เลี้ยงบางส่วนตายเนื่องจากพิษของไนไตรต์ และบางส่วนเกิดความเครียด อ่อนแอและตายจากการเกิดโรค ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องหาแนวทางเพื่อกำจัดสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนออกจากระบบ โดยการประยุกต์ใช้ระบบตัวกรองชีวภาพไนตริฟิเคชันเข้ากับระบบบ่อไร้อิน ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสม การบำบัดผ่านกระบวนการไนตริฟิเคชันในลักษณะนี้จะเกิดขึ้นที่บริเวณพื้นผิวของตัวกรองด้วยกลไกทางชีวภาพของแบคทีเรียกลุ่มแอมโมเนียออกซิไดซิงแบคทีเรีย (Ammonia-oxidizing Bacteria; AOB) จะออกซิไดซ์แอมโมเนียไปเป็นไนไตรต์ และไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย (Nitrite-oxidizing Bacteria; NOB) จะออกซิไดซ์ไนไตรต์ไปเป็นไนเตรตตามลำดับ เนื่องจากแบคทีเรียในกระบวนการนี้มีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้ามากและมีความอ่อนไหวต่อสิ่งแวดล้อมสูง ดังนั้นการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้ให้มีปริมาณมากและคงอยู่ใน

ระบบด้วยการตรึงบนวัสดุตัวกลาง จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยในการบำบัดคุณภาพน้ำได้ อย่างไรก็ตามวัสดุส่วนใหญ่ที่ใช้ในการตรึงเชื้อมักทำจากพลาสติกหรือโพลีเอทิลีนที่มีขนาดใหญ่ ย่อยสลายได้ยากในธรรมชาติและมีราคาสูง จึงต้องมีการจัดการพื้นที่บำบัดแยกออกจากบ่อเลี้ยง กุ้งทำให้ต้องสูญเสียพลังงานในการขับเคลื่อนมวลน้ำออกมาผ่านระบบบำบัด และสิ้นเปลืองเงินลงทุนจากค่าวัสดุตัวกลางเหล่านั้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการนำวัสดุชีวภาพที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมาใช้ในการตรึงเชื้อ โดยเชื้อที่ตรึงบนวัสดุดังกล่าวสามารถนำมาใช้ได้โดยตรงใน บ่อเลี้ยงกุ้ง ซึ่งจะเป็นการลดต้นทุนในการสร้างระบบบำบัดแยกออกจากบ่อเลี้ยงกุ้งดังที่ใช้ ในปัจจุบัน

จากสมบัติที่โดดเด่นของไคโตซาน ได้แก่ สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ เป็นมิตรกับ สิ่งแวดล้อม มีความเป็นประจุบวกในสภาวะกรดอ่อน และสามารถสร้างพันธะกับประจุลบที่อยู่บน ผังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ ทำให้มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นตัวกลางชีวภาพเพื่อตรึงเชื้อ แบคทีเรียสำหรับการบำบัดคุณภาพน้ำในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ โดยงานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมาย เพื่อพัฒนาระบบการตรึงเชื้อในทริฟายอิงแบคทีเรียกลุ่มไนโตรดีออกซิไดซิงแบคทีเรียบน ไคโตซาน เพื่อประยุกต์ใช้งานในระบบบำบัดคุณภาพน้ำสำหรับบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยทำการทดลอง ภายใต้สภาวะจำลองของบ่อเลี้ยงกุ้งที่ดำเนินการเหมือนจริง ด้วยระบบการเลี้ยงแบบบ่อไรดิ นกลางแจ้ง เพื่อเป็นต้นแบบของการศึกษาโดยมุ่งเน้นประโยชน์การนำไปสู่การใช้งานได้จริง ไม่ซับซ้อน และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรึงเชื้อไนโตรดีออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซาน
- 1.2.2 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรดีออกซิไดซิงแบคทีเรียในการควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งที่มีการจำลองสภาวะเหมือนจริง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยในระดับทดลอง (Pilot scale) ดำเนินการ ณ อุณหภูมิห้อง ที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ และห้องปฏิบัติการศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีการกำหนดขอบเขตของงานวิจัยดังนี้

- 1.3.1 หัวเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลองเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมจากระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดสำหรับใช้เลี้ยงกุ้งแบบความหนาแน่นสูง ณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 1.3.2 ตัวกรองที่ใช้ในการทดลองเป็นตัวกลางพลาสติกโพลีเอทิลีนชนิดช่วยกระจายการไหลของน้ำให้ทั่วทั้งพื้นผิว (Random Flow Plastic Media) รุ่น BCN-009 (2H, Germany)
- 1.3.3 น้ำทะเลที่ใช้ในการทดลองมีค่าความเค็มเท่ากับ 30 พีเอสยู
- 1.3.4 สัตว์ที่ใช้ในการทดลองคือ กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 6.29 ± 0.98 กรัม ซึ่งจะทำการเพาะเลี้ยงที่ความหนาแน่น 0.6 กก.ต่อลบ.ม. ด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีขายตามท้องตลาด
- 1.3.5 สภาวะจำลองของการเลี้ยงกุ้งในระบบบ่อไร่นากลางแจ้งคือ การเลี้ยงในถังพลาสติกขนาด 100 ลิตร ที่บรรจุน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู และตั้งไว้บริเวณภายนอกอาคารที่มีอากาศถ่ายเทและแสงแดดส่องถึง โดยทำการเพาะเลี้ยงต่อเนื่องเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 1 เดือน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ได้เทคโนโลยีในการตรึงไนโตรเจนออกซิโดซิงแบคทีเรียบนตัวกลางแขวนลอยที่ย่อยสลายได้ตามธรรมชาติสำหรับใช้ควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ
- 1.4.2 เป็นต้นแบบผลิตภัณฑ์ตัวกลางชีวภาพที่ตรึงไนโตรเจนออกซิโดซิงแบคทีเรียพร้อมใช้งาน สามารถใช้งานได้จริง ไม่ซับซ้อน และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เพื่อเป็นทางเลือกในการบำบัดคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากสถานการณ์การส่งออกกุ้งแช่เย็นแช่แข็งของไทยในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา พบว่า มีปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในปี พ.ศ. 2550 มีปริมาณการส่งออกกุ้งแช่เย็นแช่แข็งเท่ากับ 196,997 ตัน ซึ่งมากกว่าในปี พ.ศ. 2546 ถึงร้อยละ 65 ดังแสดงในตารางที่ 2.1 โดยตลาดส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ ประเทศสหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น (กรมศุลกากร, 2551(b))

ตารางที่ 2.1 ปริมาณการส่งออกกุ้งแช่เย็นแช่แข็งของไทยในช่วงปี พ.ศ. 2546-2550

ปี พ.ศ.	ปริมาณ (ตัน)
2546	118,921
2547	135,952
2548	157,985
2549	178,246
2550	196,997

จากตารางที่ 2.1 แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของประเทศไทยในการผลิตกุ้งเพื่อการส่งออกที่มีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับของตลาดโลกซึ่งปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพกุ้งก็คือการควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง

2.1 คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง

การสะสมของไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงกุ้งระบบปิด โดยไนโตรเจนเกือบทั้งหมดที่เข้าสู่บ่อเลี้ยงกุ้งมาจากอาหารที่ให้กุ้งกิน (พุทธ สองแสงจินดา ,2549) ซึ่งกุ้งสามารถเก็บไนโตรเจนไว้ในเนื้อกุ้งได้ประมาณร้อยละ 21.8 ส่วนที่เหลือประมาณร้อยละ 80 นั้นจะตกค้างอยู่ในบ่อในรูปของเศษอาหารและสิ่งขับถ่ายของกุ้งที่บริเวณก้นบ่อ โดยไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในบ่อจะเปลี่ยนแปลงจากรูปสารอินทรีย์ไนโตรเจนซึ่งเป็นอาหารของแบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กไปอยู่ในรูปแอมโมเนียและไนไตรต์ที่เป็นพิษต่อกุ้ง โดยสารประกอบไนโตรเจนรูปต่างๆ จะเกิดการหมุนเวียนไปในระบบนิเวศน์ของบ่อเลี้ยงกุ้งซึ่งบางส่วนจะถูกเปลี่ยนเป็นแก๊สไนโตรเจน ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ปริมาณไนโตรเจนที่เติมเข้าไปและสะสมอยู่ในส่วนต่างๆ ของบ่อเลี้ยงกุ้งระบบปิด (พุทธ ส่องแสงจินดา, 2549)

เป็นที่ทราบกันดีว่าบ่อไร้ดินกลางแจ้งเป็นบ่อที่ได้รับความนิยมสำหรับการเลี้ยงกุ้งแบบความหนาแน่นสูง ซึ่งลักษณะของบ่อเป็นบ่อซีเมนต์หรือบ่อดินที่มีการปูพื้นด้วยผ้าพลาสติก ระบบนี้จะไม่มีการกวนดินก้นบ่อซึ่งจะพบปัญหาการสะสมของไนโตรเจนที่เกิดขึ้นในระหว่างการเลี้ยงกุ้ง เนื่องจากเกิดกระบวนการไนตริฟิเคชันที่ไม่สมบูรณ์ภายในบ่อ (มะลิวัลย์ คุตะโค และคณะ, 2550) แต่การได้รับแสงตามธรรมชาติจะทำให้เกิดแพลงก์ตอนพืชซึ่งสามารถช่วยควบคุมคุณภาพน้ำภายในบ่อได้ โดยแพลงก์ตอนพืชจะใช้สารอนินทรีย์ไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตทั้งในรูปของแอมโมเนียและไนเตรต แต่เมื่อแพลงก์ตอนมีจำนวนมากขึ้นจะทำให้เกิดการบดบังแสงกันเองและตายในที่สุด

จากการสืบค้นข้อมูลพบว่า มีการศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวางในการบำบัดน้ำเพื่อกำจัดของเสียไนโตรเจนดังกล่าว ตัวอย่างเช่นการใช้สาหร่ายเซลล์เดียวในการกำจัดของเสียไนโตรเจน โดยสาหร่ายเซลล์เดี่ยวนี้อาจใช้ของเสียดังกล่าวเป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโต ดังนั้นการแยกสาหร่ายเซลล์เดียวออกจากระบบน้ำเลี้ยงกุ้งจึงเป็นการกำจัดของเสียไนโตรเจนออกจากระบบด้วย โดยข้อดีของการใช้สาหร่ายเซลล์เดียวคือกระบวนการไม่ยุ่งยากซับซ้อน แต่ข้อเสียก็คือสาหร่ายเซลล์เดียวจะมีขนาดเล็กมากซึ่งยากแก่การกำจัดออกจากระบบน้ำด้วยวิธีการกรองทั่วไป และหากในระบบมีสาหร่ายมากเกินไปจะทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง อันเนื่องมาจากการหายใจของสาหร่ายในเวลากลางวัน และเมื่อสาหร่ายตายลงก็จะย่อยสลายและปลดปล่อยสารประกอบไนโตรเจนกลับคืนมาอยู่ในน้ำ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอีกมากมายที่พยายามศึกษาถึง

วิธีการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนออกจากน้ำด้วยวิธีการอื่นๆ เช่น การใช้สารช่วยในการตกตะกอนชนิดต่างๆ (Pan และคณะ, 2006) และการใช้แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายของเสียไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ (Liu และคณะ, 2000)

2.2 การบำบัดไนโตรเจนทางชีวภาพ

การบำบัดสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนในน้ำซึ่งสามารถทำได้โดยใช้วิธีการทางชีวภาพด้วยกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน ซึ่งอาศัยการทำงานของแบคทีเรีย เชื้อราและแบคทีเรียเส้นใยบางกลุ่ม โดยจุลินทรีย์เหล่านี้จะเปลี่ยนรูปสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียไนโตรเจนที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำมาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องกำจัดแอมโมเนียโดยผ่านกระบวนการไนตริฟิเคชันซึ่งไนตริฟายอิงแบคทีเรียจะออกซิไดซ์แอมโมเนียให้เป็นไนไตรต์และไนเตรต ตามลำดับ ในสภาวะที่มีการเติมออกซิเจน จากนั้นจะเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันต่อโดยการทำงานของดีไนตริฟายอิงแบคทีเรีย ซึ่งไนเตรตที่เกิดขึ้นจะถูกลดรูปให้เป็นก๊าซไนโตรเจนในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน โดยรายละเอียดสำหรับแต่ละกระบวนการที่เกิดขึ้น มีดังนี้

2.2.1 กระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification)

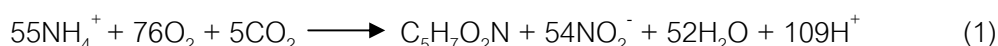
เป็นกระบวนการเปลี่ยนรูปสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนพวกเศษอาหารที่เหลือ เซลล์สัตว์ที่ตายแล้ว ซึ่งอยู่ในรูปโปรตีน โพลีเปปไทด์ และกรดอะมิโน ไปอยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ โดยแบคทีเรียที่มีบทบาทในขั้นตอนนี้ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเฮเทอโรโทรฟ (Heterotroph) ซึ่งสามารถพบได้ทั้งในชั้นน้ำและดินตะกอนก้นบ่อ แอมโมนิฟิเคชันสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะไร้ออกซิเจน แต่เนื่องจากสารอินทรีย์และแบคทีเรียมักพบมากในดินตะกอน การผลิตแอมโมเนียส่วนใหญ่จึงเกิดขึ้นที่ผิวชั้นดินตะกอนใต้น้ำ ส่วนแอมโมเนียที่เกิดในชั้นน้ำจะถูกพืชน้ำดูดซึมนำไปใช้เป็นอาหาร และบางส่วนจะถูกแบคทีเรียเปลี่ยนเป็นไนเตรตด้วยกระบวนการไนตริฟิเคชัน

สำหรับกระบวนการแอมโมนิฟิเคชันในบ่อเลี้ยงกุ้งจะเกิดขึ้นเมื่อมีการให้อาหารกับกุ้ง โดยกุ้งที่เลี้ยงในบ่อจะต้องได้รับออกซิเจนในปริมาณที่พอเพียง โดยในน้ำควรมีปริมาณออกซิเจนมากกว่า 4 มก.ต่อลิตร (ชลอ ลัมสุวรรณ, 2535) เพื่อให้กุ้งสามารถสร้างพลังงานสำหรับการดำรงชีวิตและมีการเจริญเติบโตที่ดี ซึ่งผลจากการเผาผลาญโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตของกุ้งจะมีผลทำให้เกิดแอมโมเนียซึ่งจะเป็นพิษกับสิ่งมีชีวิต ดังนั้นกุ้งจึงต้องขับแอมโมเนียออกจากร่างกาย

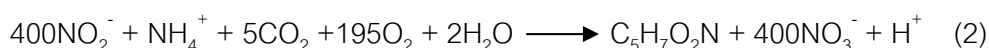
2.2.2 กระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification)

เป็นกระบวนการชีวภาพที่เปลี่ยนแอมโมเนียหรือแอมโมเนียมไอออนซึ่งมีความเป็นพิษสูงต่อสัตว์น้ำให้เป็นไนเตรตภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน โดยอาศัยการทำงานของแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มออกโตโทรฟที่ใช้สารอนินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์หรือไบคาร์บอเนตและได้พลังงานออกมา โดยปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันมี 2 กระบวนการย่อยดังนี้

1) กระบวนการไนโทรติฟิเคชันหรือแอมโมเนียออกซิเดชัน เป็นกระบวนการเปลี่ยนแอมโมเนียไปเป็นไนไตรต์ ซึ่งอาศัยการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มแอมโมเนียออกซิไดซิงหรือ AOB (Ammonium Oxidizing Bacteria) ดังสมการที่ 1



2) กระบวนการไนเตรติฟิเคชันหรือไนไตรต์ออกซิเดชัน เป็นกระบวนการเปลี่ยนไนไตรต์ไปเป็นไนเตรต ซึ่งอาศัยการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มไนไตรต์ออกซิไดซิงหรือ NOB (Nitrite Oxidizing Bacteria) ดังสมการที่ 2



จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในกระบวนการไนตริฟิเคชัน ได้แก่ ไนทริฟายอิงแบคทีเรียหรือไนทริฟายเออร์ (Nitrifying bacteria or Nitrifier) ซึ่งพบได้ทั้งในดิน น้ำจืด น้ำทะเล หรือน้ำเสีย แบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญเติบโตได้โดยใช้ออกซิเจนในการหายใจ แหล่งคาร์บอนได้จากสารอนินทรีย์ คาร์บอนไดออกไซด์หรือไบคาร์บอเนต และใช้การออกซิไดซ์สารประกอบไนโตรเจนให้เป็นพลังงานเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญเติบโตช้า โดยเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 °ซ และพีเอช ในช่วง 7.5-8.0 โดยจะหยุดการเจริญเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 5 °ซ หรือสูงกว่า 42 °ซ ไนทริฟายอิงแบคทีเรียสามารถแบ่งตามการทำงานออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ

- แอมโมเนียออกซิไดซิงแบคทีเรีย (*Ammonia-oxidizing Bacteria: AOB*) แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถออกซิไดซ์แอมโมเนียไปเป็นไนไตรต์ ที่รู้จักกันดีคือ สกุล *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus* และ *Nitrosolobus* ปริมาณและสกุลที่พบเป็นชนิดเด่นขึ้นอยู่กับลักษณะของน้ำเสียในระบบบำบัด

AOB เป็นแบคทีเรียคีโมลิโทโทรฟชนิดเด็ดขาด (Obligate chemolithotroph) แต่บางครั้ง AOB สามารถใช้สารประกอบอินทรีย์ได้ ปัจจุบันพบว่า AOB บางชนิดเมื่ออยู่ในสภาวะออกซิเจนต่ำ สามารถใช้ไนไตรต์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนเกิดเป็นไนตรัสออกไซด์ (N_2O) หรือไนตริกออกไซด์ (NO) ตัวอย่างเช่น *Nitrosomonas eutropha* และ *Nitrosomonas europaea* สามารถทำให้เกิดได้ทั้ง

ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันและดีไนตริฟิเคชันเมื่อเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด โดยสามารถออกซิไดซ์แอมโมเนียให้เป็นไนไตรต์ได้ภายใต้สภาวะแอน็อกซิก (Anoxic)

- ไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย (*Nitrite-oxidizing Bacteria : NOB*) ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มที่สามารถออกซิไดซ์ไนไตรต์ให้เป็นไนเตรต ได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Nitrococcus Nitrobacter* และ *Nitrospira* โดยสกุลที่รู้จักกันดีคือ *Nitrobacter* ในปัจจุบันพบว่าสกุลที่มีบทบาทมากในน้ำทะเลคือ *Nitrospira* ซึ่งไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตในสิ่งแวดล้อมหรืออาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนไตรต์ที่ต่างกัน โดย *Nitrobacter* จะเจริญในที่ที่มีปริมาณไนไตรต์สูง (ทนได้ถึง 14 มิลลิโมลาร์ หรือประมาณ 196 มก.ไนไตรต์ในโตรเจนต่อลิตร) แต่ *Nitrospira* จะเจริญในที่ที่มีปริมาณไนไตรต์ต่ำๆ (ทนได้ 0.5 มิลลิโมลาร์ หรือประมาณ 7 มก.ไนไตรต์ในโตรเจนต่อลิตร) สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของ *Nitrospira moscoviensis* คือในอาหารที่มีปริมาณไนไตรต์ 0.35 มิลลิโมลาร์ (ประมาณ 4.9 มก.ไนไตรต์ในโตรเจนต่อลิตร) พีเอช 7.6-8.0 ที่อุณหภูมิ 39 °ซ (Ehrich และคณะ ,1995)

NOB บางชนิดเป็นออโตโทรฟ (Autotrophs) และแอนแอโรบิก โดยสามารถใช้สารอินทรีย์ เช่น ไพรูเวตได้ และ *Nitrobacter* มีความสามารถในการรีดิวซ์ไนไตรต์เป็นไนเตรตในปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันได้

2.2.3 กระบวนการดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification)

กระบวนการดีไนตริฟิเคชันเป็นกระบวนการรีดิวซ์ไนเตรต ไนไตรต์ให้อยู่ในรูปของก๊าซไนโตรเจนหรือไนตรัสออกไซด์ออกสู่บรรยากาศ โดยอาศัยการทำงานของดีไนตริฟิเคชันแบคทีเรีย (Denitrifying bacteria) ซึ่งประกอบด้วย *Pseudomonas Achromobacter, Bacillus, Micrococcus* และ *Thiobacillus denitrificans* เนื่องจากแบคทีเรียดังกล่าวต้องการสารอินทรีย์คาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้ในเทรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ดังนั้นจึงต้องมีการเติมสารอินทรีย์คาร์บอนลงสู่ระบบเนื่องจากความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนในน้ำเสียอาจไม่เพียงพอสำหรับการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน และแบคทีเรียจะต้องใช้คาร์บอนนี้ไปลดรูปออกซิเจนของไนเตรตให้เป็นไนไตรต์ (NO_2) ก๊าซไนตริกออกไซด์ (NO) ก๊าซไนตรัสออกไซด์ (N_2O) จนถึงก๊าซไนโตรเจน (N_2) โดยสารอินทรีย์คาร์บอนที่มีการใช้กันโดยทั่วไป ได้แก่ เมธานอล โซเดียมอะซิเตท อาหารกุ้งหรือกากน้ำตาล เป็นต้น

2.3 การควบคุมคุณภาพน้ำโดยตัวกรองชีวภาพ

การพัฒนา ระบบตัวกรองชีวภาพไนตริฟิเคชัน (Nitrification biofilter) มีการศึกษากันมากในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยมีการใช้วัสดุตัวกรอง (Filtering media) เป็นที่ยึดเกาะของไนตริฟิเคชันแบคทีเรียซึ่งเรียกว่า การตรึง (Immobilization) โดยการยึดเกาะจนเกิดเป็นชั้นเรียกว่า ฟิล์มชีวภาพ (Biofilm) ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ไหลผ่านตัวกรองชีวภาพได้ (Leonard และ คณะ, 2000) ซึ่งมีรูปแบบของระบบที่หลากหลาย เช่น ตัวกรองชีวภาพแบบใต้น้ำ (Submerged filters) แบบโปรยกรอง (Trickling filter) แบบตัวกรองหมุน (Rotating media filters) และแบบฟลูอิดไดส์ (Fluidized bed) เป็นต้น สำหรับกลไกการบำบัดน้ำเสียด้วยตัวกรองชีวภาพจะเกิดขึ้นโดยสารอินทรีย์ที่ละลายในน้ำเสียหรือสารอินทรีย์แขวนลอยจะถูกย่อยสลายจนได้โมเลกุลเล็กๆ บริเวณผิวฟิล์มแบคทีเรีย จากนั้นน้ำเสียจะไหลผ่านชั้นฟิล์มแบคทีเรียด้วยวิธีการแพร่โมเลกุล (Molecular Diffusion) แล้วถูกแบคทีเรียเปลี่ยนรูปหรือย่อยสลายต่อไป

การเจริญเติบโตของแบคทีเรียเป็นฟิล์มชีวภาพซึ่งอยู่ที่ผิวของตัวกรองจะเกิดขึ้นจากการยึดเกาะของแบคทีเรีย 2 กลุ่ม แบคทีเรียกลุ่มแรกคือ เฮเทอโรโทรฟ ซึ่งใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งของคาร์บอนและแหล่งพลังงานโดยจะใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ซึ่งปริมาณออกซิเจนที่ใช้จะอยู่ในรูปของค่าบีโอดี แบคทีเรียกลุ่มที่สองคือ ออโตโทรฟ ซึ่งใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งพลังงานและไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบในการสร้างเซลล์ ทำให้เกิดกระบวนการไนตริฟิเคชันขึ้นบนตัวกรองชีวภาพ แอมโมเนียจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรต์โดยแบคทีเรียกลุ่มแอมโมเนียออกซิไดซิงแบคทีเรีย และไนไตรต์จะถูกเปลี่ยนเป็นไนเตรตโดยแบคทีเรียกลุ่มไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย ซึ่งสารประกอบไนเตรตที่เกิดขึ้นจะมีความเป็นพิษน้อยกว่าแอมโมเนียและไนไตรต์

ระบบบำบัดประเภทนี้โดยทั่วไปถูกออกแบบสำหรับกระบวนการไนตริฟิเคชัน ระบบบำบัดจะถูกออกแบบให้แบคทีเรียสามารถยึดเกาะกับตัวกรองชีวภาพ (Biofilter) ตัวอย่างของวัสดุตัวกรองชีวภาพที่ใช้ในปัจจุบันได้แก่ หิน หวาย หรือเปลือกหอย จะมีราคาถูก แต่จะมีปัญหาเรื่องน้ำหนักที่มากหรือการอุดตันของตัวกรอง เนื่องจากช่องว่างระหว่างตัวกรองมีน้อย ส่วนวัสดุกรองที่ทำจากพลาสติก เช่น พีวีซี Polyethylene หรือ Polypropylene ซึ่งจะมีความคงทน มีปัญหาการอุดตันน้อยและไม่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบในน้ำ แต่อย่างไรก็ตามวัสดุกรองที่ทำจากพลาสติกมักมีราคาแพงและย่อยสลายได้ยากในธรรมชาติ คุณลักษณะที่สำคัญของวัสดุตัวกรองชีวภาพคือ ต้องมีพื้นที่ผิวสูง มีความพรุนหรือขรุขระมาก เพื่อให้ไนตริฟายอิงแบคทีเรียมายึดเกาะและเติบโตในปริมาณที่เพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งทำให้สามารถแก้ไขปัญหากับอัตราการเติบโตที่จำกัดของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้

2.4 การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในประเทศไทย

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นกุ้งที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกา (Feth, 1970) โดยในประเทศไทยได้มีการนำกุ้งแวนนาไมเข้ามาทดลองเลี้ยงครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2541 แต่การเลี้ยงไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควรจนกระทั่งในปี พ.ศ. 2545 กรมประมงได้อนุญาตให้นำพ่อแม่พันธุ์ที่ปลอดเชื้อ (specific pathogen free, SPF) จากต่างประเทศเข้ามาทดลอง ซึ่งเป็นช่วงเดียวกับที่ประเทศไทยประสบปัญหากุ้งกุลาดำโตช้าและขนาดตัวแตกต่างกันมาก (Limsuwan, 1999) ทำให้ในปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่ได้เปลี่ยนมาทำการเลี้ยงกุ้งขาว เนื่องจากเป็นกุ้งที่มีอัตราการเติบโตเร็ว เลี้ยงง่าย และสามารถทำการเลี้ยงแบบหนาแน่นได้มากกว่ากุ้งกุลาดำ

2.4.1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไมมี 8 ปล้อง ลำตัวมีสีเขียว การเคลื่อนไหวเร็ว ส่วนหัวมี 1 ปล้อง มีกรืออยู่ในระดับยาวประมาณ 0.8 เท่าของความยาวเปลือก หัวสั้นกรือสูง ปลายกรือแคบ ส่วนของกรือมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีแดงอมน้ำตาล กริด้านบนมี 8 ฟัน กริด้านล่างมี 2 ฟัน ร่องบนกรือมองเห็นได้ชัด เปลือกหัวสีเขียวอมชมพูถึงแดง ขาเดินมีสีเขียวเป็นลักษณะที่ขาวายน้ำ 5 คู่ มีสีเขียวข้างใน ส่วนหางมี 1 ปล้อง ปลายหางมีสีแดงเข้ม แพนหางมี 4 ใบ และ 1 กรือหาง

2.4.2 อนุกรมวิธานกุ้งขาวแวนนาไม

Kingdom: Animalia

Phylum: Arthropoda

Subphylum: Crustacea

Class: Malacostraca

Order: Decapoda

Suborder: Dendrobranchiata

Family: Panaeidae

Genus: *Litopenaeus*

Species: *Litopenaeus Vannamei*

2.5 คุณภาพน้ำที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

ปัจจัยทางคุณภาพน้ำเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยมีผลต่ออัตราการรอด การเจริญเติบโต ความต้านทานโรค และผลผลิต ซึ่งคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้ง ประกอบด้วยปัจจัยหลักดังต่อไปนี้

2.5.1 ความเค็ม (Salinity)

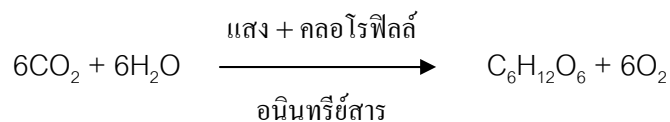
เป็นดัชนีวัดปริมาณความเข้มข้นของอิออน (ion) ที่ละลายในน้ำ แสดงหน่วยเป็นส่วนหนึ่งในพันส่วน (Part per thousand: ppt หรือในปัจจุบันเรียกว่า Practical Salinity Units PSU) ค่าความเค็มของน้ำทะเลจะขึ้นอยู่กับปริมาณอิออนที่สำคัญ 7 ชนิด ได้แก่ โซเดียม (Sodium) โพแทสเซียม (Potassium) แคลเซียม (Calcium) แมกนีเซียม (Magnesium) คลอไรด์ (Chloride) ซัลเฟต (Sulfate) และไบคาร์บอเนต (Bicarbonate) ในน้ำทะเลทั่วไปจะมีความเค็มประมาณ 34 พีเอสยู แต่สำหรับกุ้งขาวแวนนาไมสามารถอยู่ในน้ำที่มีความเค็มอยู่ในช่วงระหว่าง 2-35 พีเอสยู แต่ระดับที่เหมาะสมคือ 20-25 พีเอสยู

2.5.2 อุณหภูมิ (Temperature)

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในน้ำมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อสัตว์น้ำ ในทางตรง อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น 1 °C ทำให้เมตาบอลิซึมภายในร่างกายสัตว์เพิ่มขึ้น 10 เท่า ส่งผลให้สัตว์มีความต้องการอาหารและออกซิเจนเพิ่มขึ้น ส่วนทางอ้อมมีผลต่อกิจกรรมการย่อยสลายอินทรีย์สารของจุลินทรีย์ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลงและการละลายออกซิเจนในน้ำลดลงเช่นกัน สำหรับอุณหภูมิในน้ำที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งแวนนาไมจะขึ้นกับอายุ (Wyban และคณะ, 1995) คือในช่วงที่น้ำหนักต่ำกว่า 5 กรัม อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 30 °C และสำหรับกุ้งโตจะอยู่ในช่วง 27-30 °C (Cuzon และคณะ, 2004) ซึ่งถ้ามีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำอย่างรวดเร็ว กุ้งจะเกิดอาการตัวเกร็งได้ โดยมีลักษณะคล้ายเป็นตะคริวและลำตัวกลายเป็นสีขาวขุ่น

2.5.3 ความโปร่งแสงของน้ำ (Transparency)

เป็นค่าแสดงความสามารถให้แสงส่งผ่านลงใต้ผิวน้ำ บางครั้งเรียกว่าความขุ่น (Turbidity) แสงมีความสำคัญมากต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) ของแพลงก์ตอนพืชในน้ำ เพื่อผลิตสารอินทรีย์ และในกระบวนการสังเคราะห์แสงจะได้ออกซิเจนออกมาเป็นผลพลอยได้ ซึ่งออกซิเจนละลายในน้ำที่เกิดขึ้นจะมีผลต่อการดำรงชีวิตของกุ้ง โดยคลอโรฟิลล์เอจะมีบทบาทมากที่สุดในการกระบวนการสังเคราะห์แสง



แหล่งน้ำที่มีความโปร่งแสงอยู่ระหว่าง 30-60 ซม. มีความเหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ แต่ถ้ามีความโปร่งแสงของน้ำภายในบ่อลดลงจนต่ำกว่า 20 ซม. แสดงว่าในน้ำมีปริมาณสารอาหารมาก ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการบลูมของแพลงก์ตอนพืช (Laws และ Malecha, 1981 อ้างถึงใน Smith และ Piedrahita, 1988)

2.5.4 ปริมาณของสารแขวนลอย (Suspended solid)

ปริมาณของสารแขวนลอยในน้ำจะมีความสัมพันธ์เป็นปฏิภาคส่วนกลับกับค่าความโปร่งแสงของน้ำ ถ้ามีปริมาณของแข็งแขวนลอยมากน้ำจะมีความโปร่งแสงน้อยลง ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช เกณฑ์คุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำปริมาณของสารแขวนลอยไม่ควรสูงเกิน 25 มก.ต่อลิตร

2.5.5 ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำ (Organic matter)

สำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนิยมวัดปริมาณสารอินทรีย์ในรูปของบีโอดี น้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งมีการปนเปื้อนของอินทรีย์สารสูงส่วนใหญ่มาจากอาหารส่วนที่เหลือ สิ่งขับถ่าย และซากแพลงก์ตอนซึ่งจะทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำลดลง เนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ชนิด Aerobic bacteria จะต้องใช้ ออกซิเจนเพื่อการย่อยสลายสารอินทรีย์เหล่านี้

2.5.6 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen, DO)

กุ้งทะเลมีความต้องการออกซิเจนที่ละลายในน้ำตั้งแต่ 5 มก.ออกซิเจนต่อลิตร ขึ้นไปถือว่าเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในรอบวันในบ่อกลางแจ้ง พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายมีแนวโน้มสูงขึ้นตั้งแต่ 8:00 น. ไปจนถึง 15:00 น. ซึ่งเป็นค่าสูงสุด และมีแนวโน้มลดลงตั้งแต่เวลา 18:00 น. ไปเรื่อยๆ จนถึง 6:00 น. ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำสุด ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิของน้ำ 25 °ซ จะมีความเข้มข้นออกซิเจนอิ่มตัวประมาณ 8.24 มก.ออกซิเจนต่อลิตร แต่ถ้าอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นหรือค่าความเค็มเพิ่มขึ้นปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำจะมีค่าลดลง ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ ได้แก่ แสงแดด การไหลเวียนของน้ำ แพลงก์ตอนพืชและสัตว์ ฟิชน้ำ ความโปร่งแสง ความลึกของบ่อ ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ สิ่งขับถ่ายของกุ้ง รวมทั้งปริมาณอาหารที่เหลือจากการกินของกุ้ง โดยค่าออกซิเจนในบ่อควรมีค่าออกซิเจนในบ่อควรมีค่ามากกว่า 2 มก.ต่อลิตร (Rosas และคณะ, 1998)

2.5.7 ความเป็นกรดต่าง (พีเอช)

ค่าความเป็นกรดต่าง (พีเอช) มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง โดยพบว่ากุ้งทะเลจะเจริญเติบโตได้ดีที่พีเอชของน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 6-9 ซึ่งกุ้งจะมีการเจริญเติบโตช้าถ้ามีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 4-6 และ 9-11 และกุ้งจะไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ถ้าค่าพีเอชมีค่าต่ำกว่า 4 และ 11 แต่ค่าพีเอชที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม่อยู่ในช่วง 7.2-8.6 นอกจากนี้ค่าพีเอชของน้ำจะมีค่าเพิ่มขึ้นในเวลากลางวัน ทั้งนี้เนื่องจากการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชส่งผลให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ในน้ำลดลง และน้ำมีค่าความเป็นต่างสูงขึ้น ในทางกลับกันพีเอชของน้ำจะลดลงในเวลากลางคืน ทั้งนี้เนื่องจากกระบวนการหายใจของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำโดยจะคายคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ทำให้น้ำมีความเป็นกรดมากขึ้น

2.5.8 ความเป็นด่าง (Alkalinity)

ความเป็นด่างเป็นค่าที่ขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของเบส (Bases) ที่ละลายน้ำอันได้แก่อิออนของไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) และคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) มีหน่วยวัดเป็น มก.ต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต (mg/l-CaCO_3) ค่าความเป็นด่างที่เหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิตของสัตว์ทะเลควรมีค่าในช่วง 70-120 มก.ต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต ค่าดัชนีชนิดนี้มีสมบัติในการควบคุมค่าพีเอชของน้ำให้คงที่ โดยยอมให้มีการเปลี่ยนแปลงได้ไม่เกิน 0.5 ในรอบวัน การปรับค่าความเป็นด่างมักใช้ปูนคาร์บอเนต (CaCO_3) หรือโดโลไมต์ [$\text{Ca(MgCO}_3)_2$]

2.5.9 สารประกอบไนโตรเจน

2.5.9.1 แอมโมเนีย (Ammonia)

แอมโมเนียที่พบในน้ำมี 2 รูป คือ แอมโมเนียมอิออน (Ammonium ion, NH_4^+) และแอมโมเนียที่ไม่มีอิออน (Un-ionized ammonia, NH_3) แอมโมเนียมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ โดยพิษของแอมโมเนีย จะมีผลต่อการเจริญเติบโต ระบบประสาท สมดุลแร่ธาตุ กระบวนการเมตาบอลิซึม และอัตราการรอดของกุ้ง (Heath, 1995 อ้างถึงใน Wicks และคณะ, 2002) ซึ่งการเกิดแอมโมเนียทั้ง 2 รูปแบบขึ้นอยู่กับความสมดุลของอุณหภูมิและค่าพีเอชของน้ำ โดยในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำปริมาณแอมโมเนียรวม (Total ammonia) ไม่ควรเกิน 1 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร

2.5.9.2 ไนไตรต์ (Nitrite)

ไนไตรต์เป็นสารตัวกลางของปฏิกิริยาไนทริฟิเคชัน ซึ่งการสะสมของไนไตรต์ภายในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำเกิดจากกระบวนการไนทริฟิเคชันที่ไม่สมบูรณ์โดยส่วนใหญ่มักพบในบ่อไร้อินกลางแจ้ง (มะลิวัลย์ คุตะโค และคณะ, 2550) โดยความเป็นพิษของไนไตรต์เกิดจากไนไตรต์ไป

ออกซิไดซ์เหล็กที่เป็นองค์ประกอบของฮีโมไซยานินให้เป็นแมงกานีสไฮดรอกไซด์ ทำให้ไม่สามารถขนถ่ายออกซิเจนส่งผลให้เกิดสภาวะขาดออกซิเจนในเนื้อเยื่อ ทั้งยังมีผลต่อระบบการหายใจและลดความทนทานต่ออนุมูลอิสระของตัวกึ่งด้วย โดยในบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลไม่ควรมีไนโตรเจนเกิน 0.1 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร (Chen และ Chin, 1992 อ้างถึงใน Alcaraz และคณะ, 1997)

2.5.9.3 ไนเตรต (Nitrate)

ไนเตรตเป็นผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการไนตริฟิเคชันที่สมบูรณ์โดยเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่มีความเสถียรที่สุด ซึ่งระดับของไนเตรตที่ยอมรับว่าปลอดภัยต่อสัตว์น้ำคือไม่เกิน 50 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร แต่ถ้าไนเตรตมีความเข้มข้นเกิน 75 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร จะมีผลต่ออัตราการผสมพันธุ์ การฟักไข่ทำให้ล่าช้าขึ้น ปริมาณไนเตรตสูง ทั้งยังส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของตัวอ่อนด้วย (Gutierrez-Wing และ Malone, 2006)

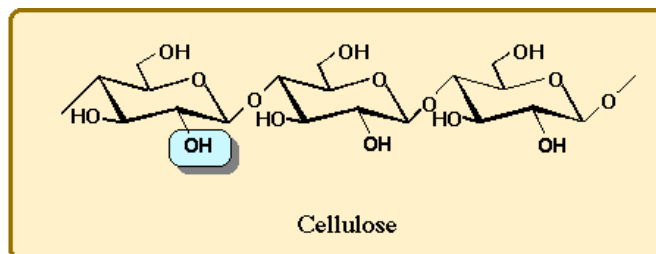
2.5.10 ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S)

ในสภาวะที่ขาดออกซิเจน แบคทีเรียบางชนิดสามารถใช้ซัลเฟอร์ในรูปซัลเฟตและสารประกอบซัลเฟอร์อื่นๆ ที่อยู่ในรูปออกซิไดซ์และเปลี่ยนสารประกอบซัลเฟอร์เหล่านี้ให้อยู่ในรูปของซัลไฟด์ในสามรูปแบบ คือไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ไฮโดรซัลไฟด์อิออน (HS^-) และไบซัลไฟด์อิออน (S^{2-}) สัดส่วนของแต่ละชนิดที่พบจะขึ้นอยู่กับพีเอชของน้ำโดยน้ำที่มีค่าพีเอชต่ำจะทำให้เกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์มากกว่าน้ำที่มีพีเอชสูง ความเป็นพิษของไฮโดรเจนซัลไฟด์จะคล้ายคลึงกับการขาดออกซิเจน โดยจะไปสกัดกั้นการแพร่ของออกซิเจนในเซลล์ทำให้ปริมาณแลคเตท (lactate) ในเลือดสูง แต่ความเป็นพิษของไฮโดรเจนซัลไฟด์จะรุนแรงกว่าการขาดออกซิเจน ระดับความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ทำให้สัตว์น้ำตายจะอยู่ในช่วง 0.01-0.05 พีเอชยู สำหรับการเลี้ยงกุ้งนั้นไฮโดรเจนซัลไฟด์สูงสุดที่ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้งคือ 0.033 พีเอชยู (ชลอ ลิมสุวรรณ และพรเลิศ จันทร์รัชชกุล, 2547)

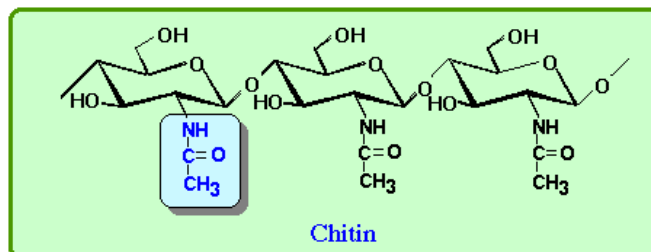
2.6 ไคโตซาน

2.6.1 ลักษณะทั่วไปของไคตินและไคโตซาน

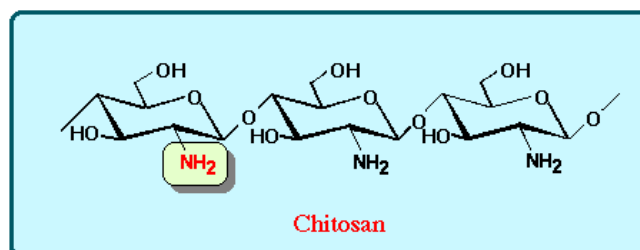
ไคตินเป็นพอลิเมอร์ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของคาร์โบไฮเดรต ประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตรเจนเกาะอยู่ภายในโมเลกุล โดยไคตินมีชื่อทางเคมีว่า poly- $[\beta$ -(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose] และโครงสร้างของไคตินจะคล้ายกับเซลลูโลส ต่างกันตรงที่หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C-2 จะถูกแทนที่ด้วยหมู่อะซิทามิโด (acetamido group) ดังแสดงในรูปที่ 2.2(ก) และ 2.2(ข) ในธรรมชาติจะพบไคตินในโครงสร้างของสัตว์ที่มีข้อ-ปล้อง ได้แก่ เปลือกกุ้ง กระดองปู แกนปลาหมึก ปีกแมลงและผนังเซลล์ของเห็ดราบางชนิด (สุวลี จันทร์กระจ่าง, 2543) นอกจากนี้ยังพบว่าไคตินมีมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส



(ก) เซลลูโลส



(ข) ไคติน



(ค) ไคโตซาน

รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส ไคติน และไคโตซาน (กมลศิริ พันธนียะ, 2546)

โคโตซานหรือ poly- $[\beta\text{-(1}\rightarrow\text{4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose}]$ เป็นอนุพันธ์ของโคตินที่เกิดจากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิทิล (deacetylation) ของโคตินด้วยด่างเข้มข้น ทำให้โครงสร้างของโคตินบางส่วนเปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะหมู่ฟังก์ชันที่มีธาตุไนโตรเจน ในรูปของหมู่อะซีตามิโด ($-\text{NHCOCH}_3$) เปลี่ยนไปเป็นรูปของหมู่อะมิโน ($-\text{NH}_2$) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 ดังแสดงในรูปที่ 2.2(ค)

2.6.2 สมบัติของโคตินและโคโตซาน

2.6.2.1 การละลาย (Solubility)

โคตินเป็นพอลิเมอร์ที่มีลักษณะกึ่งผลึก (Semicrystalline) เนื่องจากมีโครงสร้างที่จับกันโดยพันธะไฮโดรเจน ด้วยสมบัติทางกายภาพนี้ทำให้โคตินยากต่อการละลายในกรดเจือจางหรือด่างเจือจางและตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ ในสภาวะปกติ ความยากในการละลายของโคตินในตัวทำละลายต่างๆ มีผลมาจากสายโซ่โมเลกุลที่อยู่กันหนาแน่น มีพันธะเกิดขึ้นทั้งภายในและระหว่างโมเลกุล เนื่องจากหมู่ฟังก์ชันที่ต่างกัน หมู่ไฮดรอกซิล และหมู่อะซีตามิโด (ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ, 2546) อย่างไรก็ตามโคตินสามารถละลายได้ในกรดฟอร์มิก กรดซัลโฟนิกและส่วนผสมของ 1,2 ไดคลอโรอีเทน (1,2-dichloroethane) และไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic) (35:36) แต่ตัวทำละลายเหล่านี้มีความเป็นพิษและทำให้สมบัติของโคตินเปลี่ยนแปลงไป การกำจัดหมู่อะซิทิลในสภาวะที่เป็นด่างเป็นการเปลี่ยนจากโคตินเป็นโคโตซาน ซึ่งจากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้โครงสร้างของโคโตซานมีหมู่อะมิโนอิสระและมีความสามารถในการละลายที่พีเอชต่ำกว่า 6.5 ดังนั้นการเตรียมเป็นสารละลายสามารถเตรียมในสารละลายกรดอินทรีย์เจือจางได้แก่ กรดฟอร์มิกและกรดอะซิติก เป็นต้น (Austin, 1988)

2.6.2.2 ความหนืด (Viscosity)

ความหนืดของสารละลายโคโตซานขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล น้ำหนักโมเลกุล ความเข้มข้น ค่าพีเอช และอุณหภูมิ โดยทั่วไปแล้วความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น นอกจากนี้ชนิดของกรดที่ใช้ และการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของสารละลายพอลิเมอร์ส่งผลให้สารละลายมีความหนืดที่แตกต่างกัน เช่น ความหนืดของโคโตซานในกรดอะซิติกเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายมีค่าพีเอชลดลง ในขณะที่ความหนืดของโคโตซานในกรดไฮโดรคลอริกเพิ่มขึ้นเมื่อค่าพีเอชของสารละลายเพิ่มขึ้น (ปิยรัตน์ บำรุงสาส์, 2550)

2.6.2.3 สมบัติพอลิอิเล็กโทรไลต์ (Polyelectrolyte properties)

ไคโตซานเป็นสายพอลิเมอร์ของแอนไฮโดรกลูโคซามีน (Anhydroglucosamine) และเป็นสายพอลิอิเล็กโทรไลต์ที่สภาวะเป็นกรดมีค่าพีเอชเท่ากับ 6.5 ไคโตซานในสารละลายมีประจุเป็นบวก (Positive charge) เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีความหนาแน่นของประจุบวกสูง จึงมีศักยภาพในการนำไปใช้ในหลายๆ ด้าน ทั้งนี้เนื่องจากประจุบวกของไคโตซานจะจับกับประจุลบบนผิวของจุลินทรีย์ทำให้เกิดความเป็นกลาง ดังนั้นการจับของไคโตซานกับเซลล์จึงมีชีวิตเป็นสมบัติที่สำคัญมากในการนำไปใช้ในทางการแพทย์และการบำบัดน้ำ (Hon, 1996)

2.6.2.4 น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight)

ความยาวของสายโซ่โมเลกุลมีความสำคัญในการพิจารณาสมบัติของพอลิเมอร์ พอลิเมอร์ทั่วไปมีขนาดใหญ่ แต่ไม่จำเป็นต้องมีความยาวเท่ากัน การนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์ต่างๆ มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุล ระดับการกำจัดหมู่อะซีทิล ซึ่งมีผลต่อกลไกการทำงานและสมบัติทางเคมี เมื่อใช้ไคโตซานในการผลิตฟิล์ม เมมเบรน และเส้นใยต่างๆ น้ำหนักโมเลกุล สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของไคตินคือ 1.03×10^6 ถึง 2.50×10^6 ดาลตัน และน้ำหนักโมเลกุลของคาร์บอกซีเมทิลไคติน (Carboxymethylchitin) ประมาณ 1.33×10^6 ดาลตัน (Muzzarelli, 1977) โดยทั่วไปน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของไคโตซานที่สกัดได้จากกุ้งมีค่าประมาณ 4.40-5.00 ดาลตัน และของปูมีค่าประมาณ 5.00-8.50 ดาลตัน (เยาวภา ไหวพริบ, 2534)

2.6.2.5 ระดับการกำจัดหมู่อะซีทิล (Degree of deacetylation)

สิ่งที่ต้องคำนึงเมื่อนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์ คือ ระดับการกำจัดหมู่อะซีทิล ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของไคโตซาน ดังนั้นจึงมีการวัดระดับอะซีทิลของไคโตซาน เพื่อพิจารณาถึงการใช้งาน ซึ่งการวิเคราะห์มีหลายวิธี ได้แก่ อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Infrared spectroscopy; IR) เซอคิวลาร์ไดโคริซึม (Circular dichroism; CD) การวิเคราะห์ธาตุ (Elemental analysis; EA) การไทเทรต (Titration) และอัลตราไวโอเล็ตสเปกโตรสโกปี (First derivation ultraviolet spectroscopy) การศึกษาแบบ IR จะทำการวิเคราะห์ได้ยาก และผลที่ได้มีแนวโน้มที่คลาดเคลื่อน การศึกษาแบบ CD มีข้อจำกัดในการละลายของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงไม่สามารถวิเคราะห์พวกที่ไม่ละลาย และพวก Highly acetylated polymeric compound ได้ วิธีการไทเทรตมีความยุ่งยากและใช้เวลานาน ส่วนการตรวจสอบพวกกลุ่มอะมิโนอิสระโดยการใช้ฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) มีการตอบสนองเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคซามีนแบบไม่เป็นเส้นตรง และการวัดตัวอย่างอาจมีการเจือจางขึ้นอยู่กับค่าที่ต้องการวัด (Miyoshi และคณะ, 1992)

2.6.3 การใช้ประโยชน์จากไคโตซาน

จากสมบัติที่โดดเด่นของไคโตซาน อาทิ มีความเป็นประจุบวกสูงในสภาวะกรดอ่อน สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Plascencia และคณะ, 2000; Seo และคณะ, 1992) ทำให้ไคโตซานถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง ตัวอย่างเช่น ใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (Seo และคณะ, 1992) เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* เป็นสารตกตะกอนและสารดูดซับสีในอุตสาหกรรมน้ำตาล (Pan และคณะ, 1998) นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถใช้ในการตกตะกอนน้ำเสียในโรงงานที่มีการรีไซเคิลกระดาษ (Ramos และคณะ, 1997) และในการบำบัดน้ำในแม่น้ำเพื่อใช้ในการบริโภค (Divakaran และ Pillai, 2002) และสามารถใช้เป็นสารสำหรับดักจับโลหะหนัก (Cárdenas และคณะ, 2001) สำหรับกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบกระบวนการชั้นตะกอนจุลินทรีย์ใ้อากาศแบบไหลขึ้น (Upflow Anaerobic Sludge Bed System, UASB) พบว่าไคโตซานสามารถเพิ่มศักยภาพและลดระยะเวลาในการเกาะตัวกันเป็นเม็ดของจุลินทรีย์ (Kaseamchochoung และคณะ, 2006; Lertsittichai และคณะ, 2007) นอกจากนี้พบว่าไคโตซานและไคโตซานดัดแปรสามารถใช้ในการตกตะกอนสารแขวนลอย (Wang และคณะ, 2006) รวมถึงแก๊สไดออกไซด์ (Lertsutthiwong และคณะ, 2009) นอกจากนี้ไคโตซานสามารถใช้ร่วมกับสารสังเคราะห์โพลีอะลูมิเนียมคลอไรด์ (Polyaluminum chloride: PACl) ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการลดปริมาณการใช้ PACl ในกระบวนการโคแอกกูเลชัน (Pan และคณะ, 1999)

2.7 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.7.1 ปัจจัยของไคโตซานต่อการตรึงเชื้อ

ณิชากร คอนดี (2551) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนน้ำมันด้วยไคโตซานที่ตรึงเชื้อแบคทีเรีย โดยนำเสียน้ำมันที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นน้ำเสียที่สังเคราะห์จากการผสมน้ำมันหล่อลื่นกับน้ำกลั่นและสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ โดยในการศึกษาเบื้องต้นพบว่าไคโตซานสามารถดูดซับน้ำมันและน้ำในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 ได้ถึง 0.5 กรัม/น้ำมันต่อกรัมไคโตซาน และ 10 กรัม/น้ำต่อกรัมไคโตซานตามลำดับ และสภาวะที่ไคโตซานสามารถกำจัดน้ำมันออกจากน้ำได้มากที่สุด คือใช้ไคโตซาน 1 กรัมต่อลิตรและระยะเวลาในการกวน 60 นาที โดยสามารถลดความขุ่นของน้ำเสียสังเคราะห์ได้ถึงร้อยละ 80 ของปริมาณความขุ่นเริ่มต้นและมีน้ำมันในน้ำเหลืออยู่เพียงร้อยละ 20 ของปริมาณน้ำมันเริ่มต้น

Kaseamchochoung และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของไคโตซานและสภาวะแวดล้อมต่อการตกตะกอนสารแขวนลอยจุลินทรีย์ไร้อากาศ (anaerobic sludge) พบว่า ไคโตซานสามารถช่วยในการตกตะกอนสารแขวนลอยจุลินทรีย์ โดยประสิทธิภาพในการตกตะกอนขึ้นอยู่กับระดับการกำจัดหมู่อะซิติกและน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน นอกจากนี้ยังพบว่าไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติกร้อยละ 85 มีประสิทธิภาพในการตกตะกอนมากกว่าไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิติกร้อยละ 70 และเมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำหนักโมเลกุลพบว่า ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตกตะกอนได้ดีกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง นอกจากนี้การเพิ่มความแรงของอิออน (สูงถึง 0.1 โมลาร์) ในสารแขวนลอยจุลินทรีย์สามารถลดระดับการแตกของฟล็อกในสภาวะที่เติมไคโตซานมากเกินไป

Chen และคณะ (1998) รายงานว่า การกำจัดสาหร่ายออกจากแหล่งน้ำด้วยเทคนิคการทำให้ลอย โดยการเติมอากาศควบคู่กับการใช้สารพอลิเมอร์ประจุบวกไคโตซานเป็นตัวทำให้สาหร่ายจับตัวกันนั้นให้ผลดีกว่าการใช้เทคนิคดังกล่าวควบคู่กับพอลิเมอร์ประจุลบและพอลิเมอร์ที่ไม่มีประจุ นอกจากนี้ยังพบว่าตัวแปรที่มีผลต่อการกำจัดสาหร่ายออกจากแหล่งน้ำ ได้แก่ พีเอช ความแรงอิออน อัตราการเติมอากาศ และค่าสภาพต่าง

2.7.2 การใช้โคโตซานในการบำบัดคุณภาพน้ำ

สุทธิทิรา บัวนาค (2547) ศึกษาการใช้เกล็ดโคโตซานจากเปลือกกุ้งในการกำจัดโครเมียม (เฮกซะเวเลนซ์) นิกเกิล และตะกั่วในน้ำเสียอุตสาหกรรม โดยโคโตซานที่ใช้มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 90 และมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 1.8×10^5 ดาลตัน ความเข้มข้นของโครเมียม (เฮกซะเวเลนซ์) นิกเกิล และตะกั่วในน้ำเสียอุตสาหกรรมเท่ากับ 50-80 มก.ต่อลิตร 30-50 มก.ต่อลิตร และ 1.5-3.5 มก.ต่อลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโลหะหนักทั้ง 3 ชนิด คือ ปรับพีเอชของน้ำเสียให้เท่ากับ 4 ใช้เกล็ดโคโตซานขนาด 710-850 ไมโครเมตร ในปริมาณ 20 กรัมต่อน้ำเสีย 1 ลิตร กวนที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และทิ้งให้ตกตะกอนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี โครเมียม (เฮกซะเวเลนซ์) นิกเกิล และตะกั่วได้ร้อยละ 84.65, 85.45, 93.54 และ 94.32 ตามลำดับ แต่ความเข้มข้นของโครเมียม (เฮกซะเวเลนซ์) และนิกเกิล ยังไม่ผ่านมาตรฐานน้ำทิ้งอุตสาหกรรม ดังนั้นจึงทำการบำบัดซ้ำอีก 1 ครั้ง เพื่อให้ได้คุณภาพน้ำทิ้งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

จุฑาทิพย์ คชนทร์มาศ (2549) ศึกษาการตรึงเอนไซม์ไว้กับอนุภาคโคโตซานในการบำบัดน้ำเสียสีย้อมโดยใช้โคโตซานเกล็ด โคโตซานเม็ด และโคโตซานเม็ดที่ยึดเกาะด้วยเอนไซม์ที่พีเอช 5.52 ระยะเวลา 5 ชั่วโมง พบว่าโคโตซานเกล็ดสามารถลดสีดำ (Reactive black 5) มากที่สุดคือ ร้อยละ 93.8 รองลงมาคือ สีแดง (Reactive red 198) และสีเหลือง (Reactive yellow 176) มีประสิทธิภาพการลดสีร้อยละ 66 และ 59.4 ตามลำดับ ความเข้มข้นของเกล็ดมีผลต่อการลดสีของโคโตซานเกล็ดน้อยมาก ส่วนโคโตซานเม็ดและโคโตซานเม็ดที่ผ่านการตรึงด้วยเอนไซม์ พบว่ามีประสิทธิภาพการลดสีมีค่าใกล้เคียงกัน

จิตรวนา จันทรขอนแก่น (2550) ศึกษาการดูดซับสีย้อมผ้าประเภทรีแอกทีฟด้วยมวลชีวภาพที่ไร้ชีวิตของ *Rhizopus arrhizus* ที่ถูกตรึงอยู่ในเม็ดเจลโคโตซาน โดยทำการตรึงสปอร์แองจิโอสปอร์ในเม็ดเจลโคโตซานแล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเพื่อเพิ่มมวลชีวภาพของเชื้อราจากนั้นนำมาทดสอบการดูดซับสีย้อม โดยใช้สีย้อมประเภทรีแอกทีฟ 2 ชนิดได้แก่ สีริมาซอล โกลเด็น เยลโล่ และซีบาครอนเทอร์ควอยซ์ เอชจีเอ็น โดยทดสอบการดูดซับด้วยมวลชีวภาพราที่ตรึงในเม็ดเจลโคโตซานที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 50 มก.ต่อลิตร จากการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการดูดซับที่ค่าพีเอชตั้งแต่ 1-10 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการดูดซับมากที่สุด คือพีเอช 3 โดยสมมูลของการดูดซับของมวลชีวภาพราที่ตรึงในเม็ดเจลโคโตซานมีประสิทธิภาพการดูดซับสูงสุด (q_{max}) ของมวลชีวภาพราที่ตรึงในเม็ดเจลโคโตซานเท่ากับ 294.12 มก.ต่อกรัม สำหรับสีริมาซอล โกลเด็น เยลโล่ อาร์จีบี และเท่ากับ 278 มก.ต่อกรัม สำหรับสีซีบาครอน เทอร์ควอยซ์ เอชจีเอ็น ผลการทดสอบ

สมดุผลการดูดซับสำหรับสีรามาซอล โกลเด้น เยลโล่ อาร์จีบี สอดคล้องกับสมการของเฟรנדลิคซ์ ส่วนสีซีบากรอน เทอร์ควอยซ์ เอชจีเอ็นสอดคล้องกับสมการของแลงเมียร์ และเฟรנדลิคซ์

El-Mamouni และคณะ (1998) ศึกษาประสิทธิภาพของตัวเร่งให้เกิดเม็ดตะกอนในระบบ UASB โดยเปรียบเทียบระหว่างพอลิเมอร์ธรรมชาติ คือโคโคซาน และพอลิเมอร์สังเคราะห์ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชมีผลต่อโคโคซานอย่างมาก ค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับโคโคซานอยู่ในช่วง 4-6 ส่วนพอลิเมอร์สังเคราะห์นั้นพีเอชส่งผลกระทบต่อปริมาณที่เหมาะสมของโคโคซานอยู่ที่ 25 มก.โคโคซานต่อกรัมของแข็งแขวนลอย และพอลิเมอร์สังเคราะห์อยู่ที่ 2 มก.ต่อกรัมของแข็งแขวนลอย พอลิเมอร์ทั้งสองชนิดสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการจับตัวเป็นก้อนของสารแขวนลอยจุลินทรีย์ในถัง UASB

Lertsittichi และคณะ (2007) ทำการศึกษาผลของโคโคซานในการปรับปรุงระบบถังบำบัดน้ำเสียแบบ UASB โดยใช้น้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องจากผลการทดลองพบว่า ถัง UASB ที่มีการใช้โคโคซานจะมีขนาดของสารแขวนลอยจุลินทรีย์ใหญ่กว่าถังที่ไม่ใช้โคโคซานประมาณร้อยละ 24-37 นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยถังที่ใช้โคโคซานจะมีค่าการกำจัดซีไอดีและอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพสูงกว่าถัง UASB ที่ไม่ใช้โคโคซานประมาณร้อยละ 4-10 และ 35 ตามลำดับ

2.7.3 การบำบัดน้ำเสียจากการเลี้ยงกุ้ง

รตีวรรณ อ่อนรัศมี และคณะ (2541) ศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากนาุ้งด้วยระบบบำบัดแบบชีววิทยาซึ่งประกอบด้วยระบบตะกอนเร่งและบ่อเลี้ยงสาหร่ายผสม การทดลองชุดที่ 1 มีระยะเวลาเก็บกักน้ำในระบบตะกอนเร่ง 6 ชั่วโมง และระยะเวลาเก็บกักน้ำในบ่อสาหร่ายผสม 24 ชั่วโมง การทดลองชุดที่ 2 มีระยะเวลาเก็บกักน้ำในระบบตะกอนเร่ง 4 ชั่วโมง และระยะเวลาเก็บกักน้ำในบ่อสาหร่ายผสม 24 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าระบบบำบัดมีค่าการบำบัดทุกสารอินทรีย์ 72.64 กรัมบีโอดีต่อลบ.ม.ต่อวัน และ 108.96 กรัมบีโอดีต่อลบ.ม.ต่อวัน มีประสิทธิภาพในการบำบัดบีโอดีร้อยละ 58.10 และร้อยละ 49.25 สามารถลดแอมโมเนียไนโตรเจนได้ร้อยละ 42.24 และร้อยละ 35.69 และระบบยังสามารถลดปริมาณของแข็งแขวนลอยได้ร้อยละ 84.91 และ 73.79 ในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

สุธาสิทธิ์ อ่วมจันทร์ (2546) ศึกษาองค์ประกอบชนิดของแบคทีเรียในถังปฏิกรณ์ไนโตรฟิกเคชันและถังปฏิกรณ์ดีไนโตรฟิกเคชัน (NR และ DNR) สำหรับใช้ในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งดำเนินการทดลองด้วยถังปฏิกรณ์สองถังที่เหมือนกัน โดยจัดให้ถัง NR มีการพ่นอากาศอยู่ตลอดเวลา เพื่อให้เหมาะสมกับการเกิดปฏิกิริยาไนโตรฟิกเคชัน ส่วนถัง DNR ควบคุมให้ภายในถังมีสภาวะไร้ออกซิเจนซึ่งจะเหมาะสมกับการเกิดปฏิกิริยาดีไนโตรฟิกเคชัน ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียกลุ่มเด่นที่พบในทั้งสองถังปฏิกรณ์ได้แก่ *Cytophaga-Flavobacterium-bacteroides* (CFB) group bacterium กลุ่มเด่นที่พบในถังปฏิกรณ์ไนโตรฟิกเคชัน ได้แก่ *Alpha-proteobacterium*, CFB group bacterium และ *Methylobacterium* sp. ส่วนแบคทีเรียชนิดเด่นในถังปฏิกรณ์ดีไนโตรฟิกเคชัน ได้แก่ Bacteroidetes bacterium (CFB) group bacterium, *Pseudomonas* sp. หรือ Uncultured *Colwellia* sp. และ *Desulfobulbus* sp.

Shan และ Obbard (2001) ศึกษาการกำจัดแอมโมเนียในบ่อเลี้ยงกุ้งโดยใช้ไนโตรฟิอิงแบคทีเรียที่ตรึงบนตัวกรองเปรียบเทียบกับไนโตรฟิอิงแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงตามปกติ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนแรกทดลองกับระบบเลี้ยงกุ้งซึ่งใช้น้ำในการเลี้ยงกุ้งที่สังเคราะห์ขึ้น ส่วนที่สองจะทดลองกับระบบเลี้ยงกุ้งซึ่งใช้น้ำในการเลี้ยงกุ้งตามแบบฟาร์มเลี้ยงกุ้งจริง ผลการทดลองพบว่าการใช้เทคนิคการตรึงแบคทีเรียช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด (Total ammonia nitrogen; TAN) ได้สูงถึงร้อยละ 70-90 จากเดิมที่ระบบเก่าซึ่งใช้วิธีเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการกำจัด TAN ในช่วงเพียงแค่อ้อยละ 5-45 ซึ่งใช้เทคนิคการตรึงแบคทีเรียกลุ่มไนโตรฟิกเคชันบนตัวกรองที่มีพื้นที่ผิวที่สูงกับบ่อเลี้ยงกุ้งนั้นเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพดี และเหมาะสมกับการบำบัด TAN ของฟาร์มกุ้งในเขตร้อนชื้น

2.7.4 การใช้ตัวกรองชีวภาพในการบำบัดของเสียในโตรเจน

นภาพร กิตติมศักดิ์ (2541) ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างตัวกรองชีวภาพแบบไบโอดรัมและแบบได้น้ำซึ่งใช้ในระบบหมุนเวียนน้ำทะเลแบบปิดสำหรับเลี้ยงกุ้งกุลาดำและปลากะพงขาว ระบบบ่อทดลองประกอบด้วย 2 ส่วน คือบ่อเลี้ยงบำบัดซึ่งมีตัวกรองชีวภาพต่างชนิดกันคือ ตัวกรองชีวภาพแบบไบโอดรัม และตัวกรองชีวภาพแบบได้น้ำ ผลการทดลองพบว่าระบบตัวกรองชีวภาพทั้งสองแบบสามารถควบคุมคุณภาพน้ำได้ ซึ่งสังเกตได้จากค่าแอมโมเนียรวม ไนไตรต์ และไนเตรตอยู่ในเกณฑ์ปกติ อัตรารอดของกุ้งกุลาดำมีค่าร้อยละ 6.25 และ 7.03 9 และมีอัตราเติบโตเท่ากับ 0.06 กรัมต่อวัน และ 0.05 กรัมต่อวัน ในชุดการทดลองแบบไบโอดรัมและได้น้ำตามลำดับ ส่วนการทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวพบว่าปริมาณแอมโมเนียและไนไตรต์ในชุดการ

ทดลองที่มีตัวกรองชีวภาพแบบได้น้ำมีค่าร้อยละ 58.42 และ 57.00 ตามลำดับ ส่วนอัตราการเติบโตเท่ากับ 1.273 กรัมต่อวัน และ 1.288 กรัมต่อวันในชุดการทดลองแบบไบโอดรัมและแบบได้น้ำ ตามลำดับ

วัจน์ ธีญรส และ ประชีฟ ชูพันธ์ (2542) ศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของอาหารและความเค็มต่ออัตราการกรองของหอยนางรม (*Crassostrea belcheri*) ขนาดใหญ่และเล็ก เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการประเมินความเหมาะสมในการใช้เป็นตัวกรองทางชีวภาพในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งทะเล ผลการทดลองพบว่า ระดับความเข้มข้นของอาหารและระดับความเค็มมีผลต่ออัตราการกรองของหอยนางรมทั้ง 2 ขนาด โดยอัตราการกรองของหอยนางรมมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับระดับความเข้มข้นของอาหารและมีความสัมพันธ์กับค่าความเค็มของน้ำ โดยอัตราการกรองของหอยนางรมเฉลี่ยมีค่าสูงในช่วงระดับความเค็ม 15-25 พีเอสยู และ 10-25 พีเอสยู ในหอยนางรมขนาดเล็กและขนาดใหญ่ ตามลำดับ

สรวิศ เผ่าทองสุข และคณะ (2547) ศึกษาประสิทธิภาพของการบำบัดแอมโมเนียโดยตัวกรองชีวภาพในทรีพีเคชันในบ่อเลี้ยงกุ้งระบบปิด โดยตัวกรองชีวภาพที่ใช้ลักษณะเป็นเส้นพลาสติกสานเป็นรูปทรงกระบอก การทดลองแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุมซึ่งเลี้ยงกุ้งในบ่อที่ปักท่อพีวีซีโดยไม่ได้มีการบรรจุตัวกรองชีวภาพไว้ภายในท่อ และกลุ่มทดลองซึ่งจะเลี้ยงกุ้งในบ่อที่ทำการปักท่อพีวีซีซึ่งภายในบรรจุตัวกรองชีวภาพ ผลการทดลองพบว่า บ่อทั้งสองระบบสามารถควบคุมปริมาณแอมโมเนียในน้ำให้อยู่ในระดับต่ำกว่า 0.5 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร และมีปริมาณไนเตรตเกิดขึ้นในท่อพีวีซีแสดงว่ามีกระบวนการไนทริฟิเคชันเกิดขึ้น โดยกลุ่มทดลองที่มีการใช้ตัวกรองชีวภาพจะสามารถบำบัดแอมโมเนียได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม

มนวิกานต์ ขจรบุญ (2551) ศึกษาการคัดเลือกหัวเชื้อไนทริไฟอิงแบคทีเรียเพื่อการประยุกต์ใช้กับตัวกรองชีวภาพสำหรับระบบหมุนเวียนของบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งระบบปิด โดยใช้ตัวกลางพลาสติก (R-190) พบว่าตัวกรองชีวภาพจากระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดสำหรับใช้เลี้ยงกุ้งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยมีอัตราการบำบัดแอมโมเนียสูงที่สุด โดยการเพิ่มเวลาและความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ใช้ในการบ่มตัวกรองมีผลร่วมกันที่จะทำให้อัตราการบำบัดแอมโมเนียเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และตัวกรองชีวภาพที่ผ่านการตรึงเชื้อไนทริไฟอิงแบคทีเรียมาล่วงหน้าสามารถควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งปริมาตร 450 ลิตร ความหนาแน่น 47 ตัวต่อตร.ม. เป็นเวลา 90 วัน ได้อย่างมีประสิทธิภาพและให้ผลผลิตกุ้งที่มีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดสูงที่สุด

Tapaneeyaworawong และคณะ (2008) ศึกษาการพัฒนาระบบตัวกรองชีวภาพสำหรับ
ถังอนุบาลลูกกุ้ง โดยตัวกรองชีวภาพมีลักษณะเป็นตัวกรองแบบเคลื่อนที่หรือฟลูอิดไดส์ที่บรรจุอยู่
ภายในถุงตาข่ายที่มีขนาดรู 33 ไมครอน และถ่วงดงกล่าวจะลอยอยู่ในถังอนุบาลลูกกุ้ง ทำการ
ทดลองอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำตั้งแต่ระยะนอเพ็ลีสจนถึงระยะโพสลาวา 15 เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 21
วัน ผลการศึกษาพบว่าระบบตัวกรองชีวภาพสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยสามารถ
ควบคุมคุณภาพน้ำ และให้อัตรการรอดของลูกกุ้งในถังชุดทดลองได้ไม่ต่างจากถังชุดควบคุมที่
ต้องมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ โดยการที่น้ำในถังทดลองมีปริมาณแอมโมเนียและไนไตรต์ที่ต่ำ แต่พบ
การสะสมไนเตรตสูง 16.4 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร

บทที่ 3

แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์สำหรับการทดลอง

- กระจกและเข็มฉีดยา
- ขวดโหลพลาสติกปริมาตร 2 ลิตร
- เครื่องชั่งน้ำหนัก
- เครื่องเติมอากาศ
- ตัวกลางพลาสติกโพลีเอทิลีน รุ่น BCN-009
- ถังปฏิกรณ์ทำมาจากกระจกปริมาตร 14 ลิตร
- ถังปฏิกรณ์พลาสติกปริมาตร 6 ลิตร
- ถังปฏิกรณ์พลาสติกปริมาตร 100 ลิตร
- เทอร์โมมิเตอร์แบบกระเปาะแก้ว
- สายออกซิเจนชนิดบางและหนา
- ไม้กรองอากาศ
- หัวทรายพ่นอากาศ
- อุปกรณ์วัดความยาวเส้นรั้วน้ำ

3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

- กระดาษกรอง Whatman GF/C ขนาด 25 และ 47 มม.
- กระจกตวง
- กล้องจุลทรรศน์
- ขวดรูปชมพู่
- ขวดวัดปริมาตร
- เครื่องชั่งสารเคมี

- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค
- เครื่องปั่นเหวี่ยง
- เครื่องวัดปริมาณออกซิเจนละลาย
- เครื่องวัดความเค็ม
- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Milton Roy
รุ่น Spectronic Genesys 5 และ 10 UV Scanning
- ชุดทดสอบแอมโมเนีย ไนไตรต์ ไนเตรต และคลอรีน ของศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ตู้อบ
- ปีกเกอร์
- ปีเปต
- ไมโครปีเปต
- หลอดทดลอง

3.1.3 สารเคมี

- Phenol solution (Phenol 20 g ใน 95 % V/V ethyl alcohol)
- Sodium nitropusside solution ($\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Oxidizing solution (Sodium citrate 100 g และ NaOH 5 g ในน้ำ DI 500 ml)
- Sodium hypochlorite (NaOCl)
- Sodium nitrite (NaNO_2)
- Sodium bicarbonate (NaHCO_3)
- Sodium hydroxide (NaOH)
- Ammonium chloride (NH_4Cl)
- Sulphanilamide (Sulphanilamide 5 g และ HCl 50 ml)
- NNED solution (N-(1-Naphthyl)-Ethylenediamine Dihydrochloride)
- Sulfuric acid (H_2SO_4)
- Purified potassium peroxdisulphate ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)
- Boric acid (H_3BO_3)
- Chlorine

- De-ionized water (DI water)

3.2 การดำเนินการทดลอง

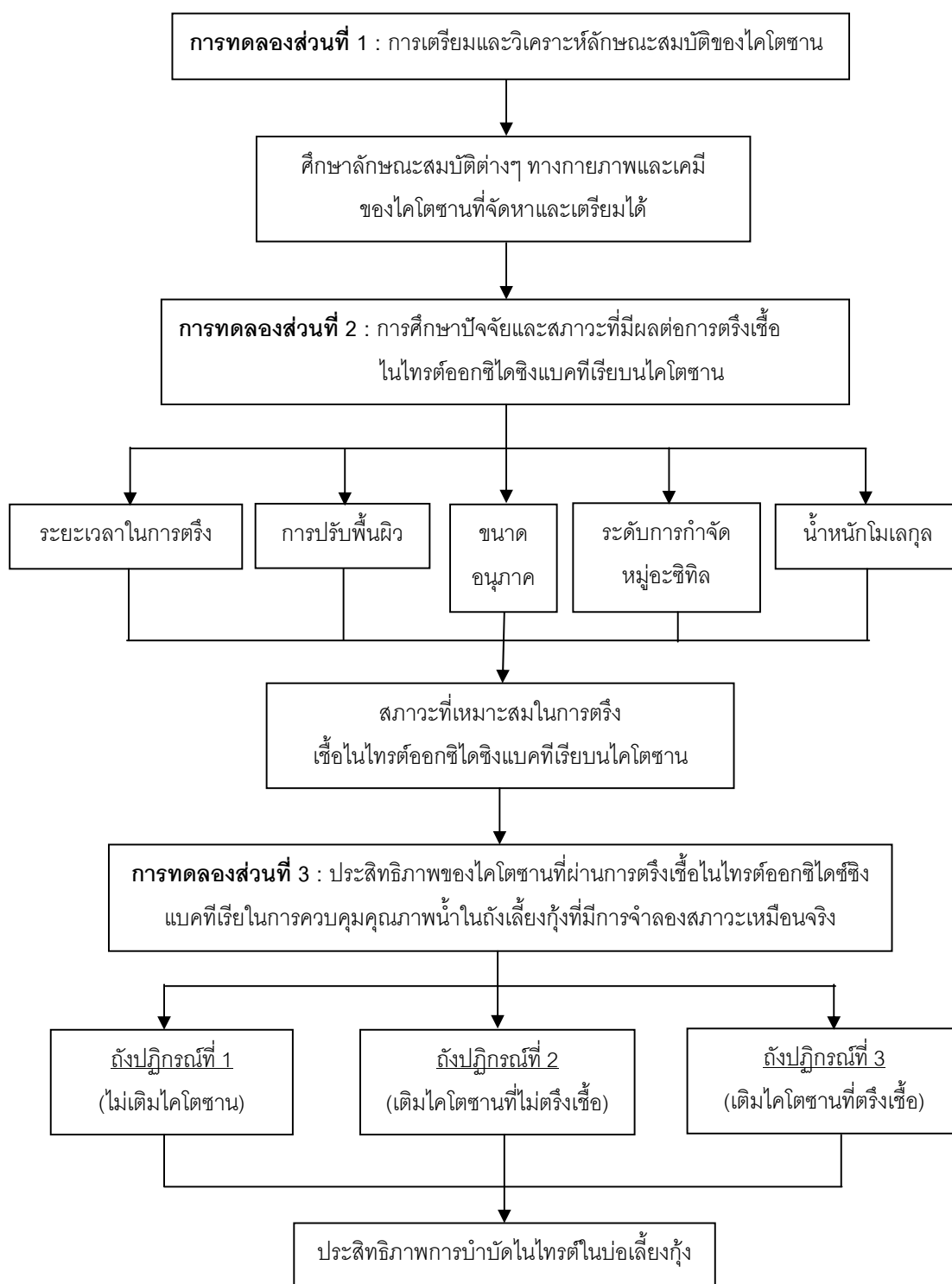
งานวิจัยนี้ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ และห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยการทดลองทั้งหมดแบ่งออกเป็น 3 ส่วน มีรายละเอียดดังนี้

การทดลองส่วนที่ 1 เป็นการเตรียมและปรับสภาพไคโตซาน โดยทำการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติต่างๆ เบื้องต้น ได้แก่ ความชื้น ความสามารถในการละลาย ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล และน้ำหนักโมเลกุล

การทดลองส่วนที่ 2 เป็นการศึกษาปัจจัยและสภาวะที่มีผลต่อการตรึงเชื้อไนโทรสออกซิโดซิงแบคทีเรียบนไคโตซานที่เตรียมได้จากการทดลองส่วนที่ 1 โดยทำการศึกษาระยะเวลาในการตรึงเชื้อ การปรับพื้นผิว ขนาดอนุภาค น้ำหนักโมเลกุล และระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของไคโตซาน โดยเปรียบเทียบความสามารถในการบำบัดไนโทรสของเชื้อไนโทรสออกซิโดซิงแบคทีเรียบนไคโตซานที่สภาวะต่างๆ

การทดลองส่วนที่ 3 เป็นการนำไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโทรสออกซิโดซิงแบคทีเรียตามสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองส่วนที่ 2 มาใช้ควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งที่มีการจำลองสภาวะเหมือนจริงในระบบบ่อไร่นากลางแจ้ง โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดไนโทรสระหว่างถังเลี้ยงกุ้งจำนวน 3 ถัง ได้แก่ ถังควบคุมที่ไม่ใส่ตัวกลางไคโตซาน ถังควบคุมที่ใส่ตัวกลางไคโตซานที่ยังไม่ผ่านการตรึงเชื้อ และถังทดลองที่ใส่ตัวกลางไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว ภายใต้อุณหภูมิเลี้ยงกุ้งเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 1 เดือน

โดยแผนผังสรุปการทดลองของงานวิจัยนี้แสดง ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แผนผังสรุปขั้นตอนทั้งหมดของงานวิจัย

การทดลองส่วนที่ 1 การเตรียมและการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของไคโตซาน

ไคโตซานที่ใช้ในงานวิจัยนี้มี 6 ตัวอย่าง ดังรายละเอียดแสดงในตารางที่ 3.1 โดย 5 ตัวอย่างแรกได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยงานเอกชนและสถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ส่วนตัวอย่างสุดท้ายเป็นตัวอย่างที่สังเคราะห์ขึ้นเองในห้องปฏิบัติการตามวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Lertsutthiwong และคณะ (2002) ซึ่งมีรายละเอียดคือ

นำไคโตซาน EX II (เพรียงทราย) แขนในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 60 ในอัตราส่วนระหว่างไคโตซานต่อสารละลายต่างเท่ากับ 1:20 (น้ำหนัก/ปริมาตร) นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นล้างด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้งจนไคโตซานมีค่าพีเอชเป็นกลาง ซึ่งตรวจสอบโดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ จากนั้นนำมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °ซ

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างไคโตซานทั้งหมดที่ใช้ในงานวิจัย

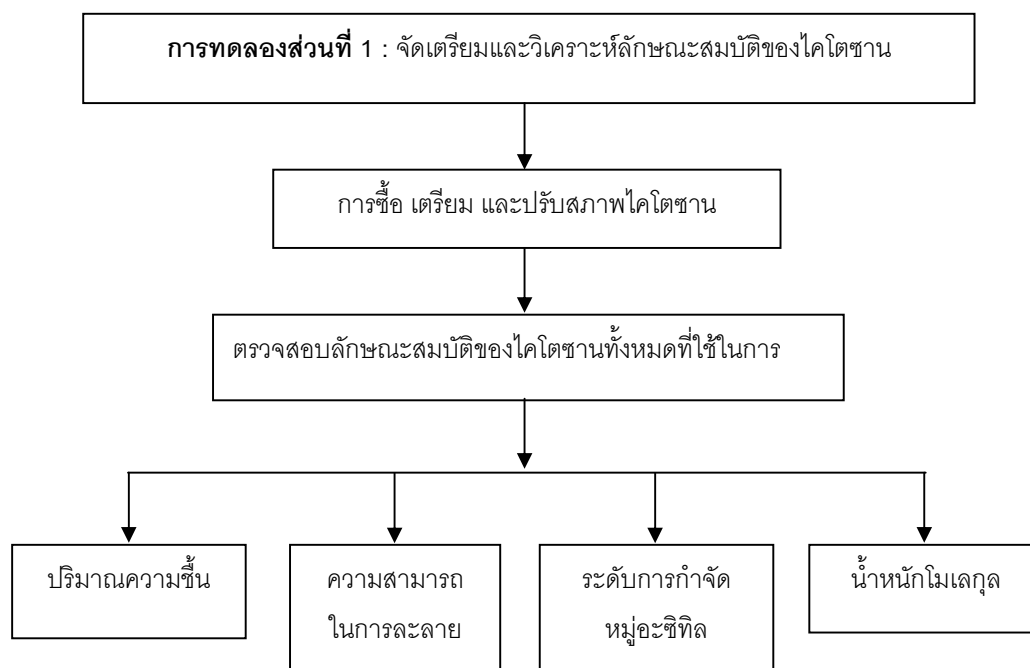
ตัวอย่างที่	ชื่อไคโตซาน	แหล่งที่มา
1	Chitin_21/4/09	ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท เอ เอ็น แล็บ จำกัด
2	Chitosan Lot A	ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท อีแลนด์ คอปอเรชัน จำกัด
3	Chitosan D82	ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
4	Chitosan EX II (เพรียงทราย)	ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
5	Chitosan_10/01/11	สั่งซื้อมาจากบริษัท เอ เอ็น แล็บ จำกัด
6	Chitosan B	สังเคราะห์ขึ้นเองในงานวิจัยนี้

ทำการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของโคโตซานทั้งหมดที่ใช้ในงานวิจัย ได้แก่ ปริมาณความชื้น ความสามารถในการละลาย ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลและน้ำหนักโมเลกุล ตามรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของโคโตซานและเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์

สมบัติของโคโตซาน	วิธีการ/เครื่องมือ	อ้างอิงวิธีวิเคราะห์
ปริมาณความชื้น	อบแห้งด้วยความร้อน และชั่งน้ำหนัก	ดัดแปลงจาก AOAC (2000)
ความสามารถในการละลาย	ละลายในกรดอะซิติก กรอง แล้วนำไปอบด้วยความร้อนและชั่งน้ำหนัก	ดัดแปลงจาก Roberts (1992)
ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล	UV-Spectrophotometry	ดัดแปลงจาก Muzzarelli และ Rocchetti (1985)
น้ำหนักโมเลกุล	Gel Permeation Chromatography	ASTM D6474-99 (2006)

โดยแผนผังสรุปการดำเนินการทดลองและตารางตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในการทดลองส่วนที่ 1 แสดงดังรูปที่ 3.2 และตาราง 3.3 ตามลำดับ



รูปที่ 3.2 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองส่วนที่ 1

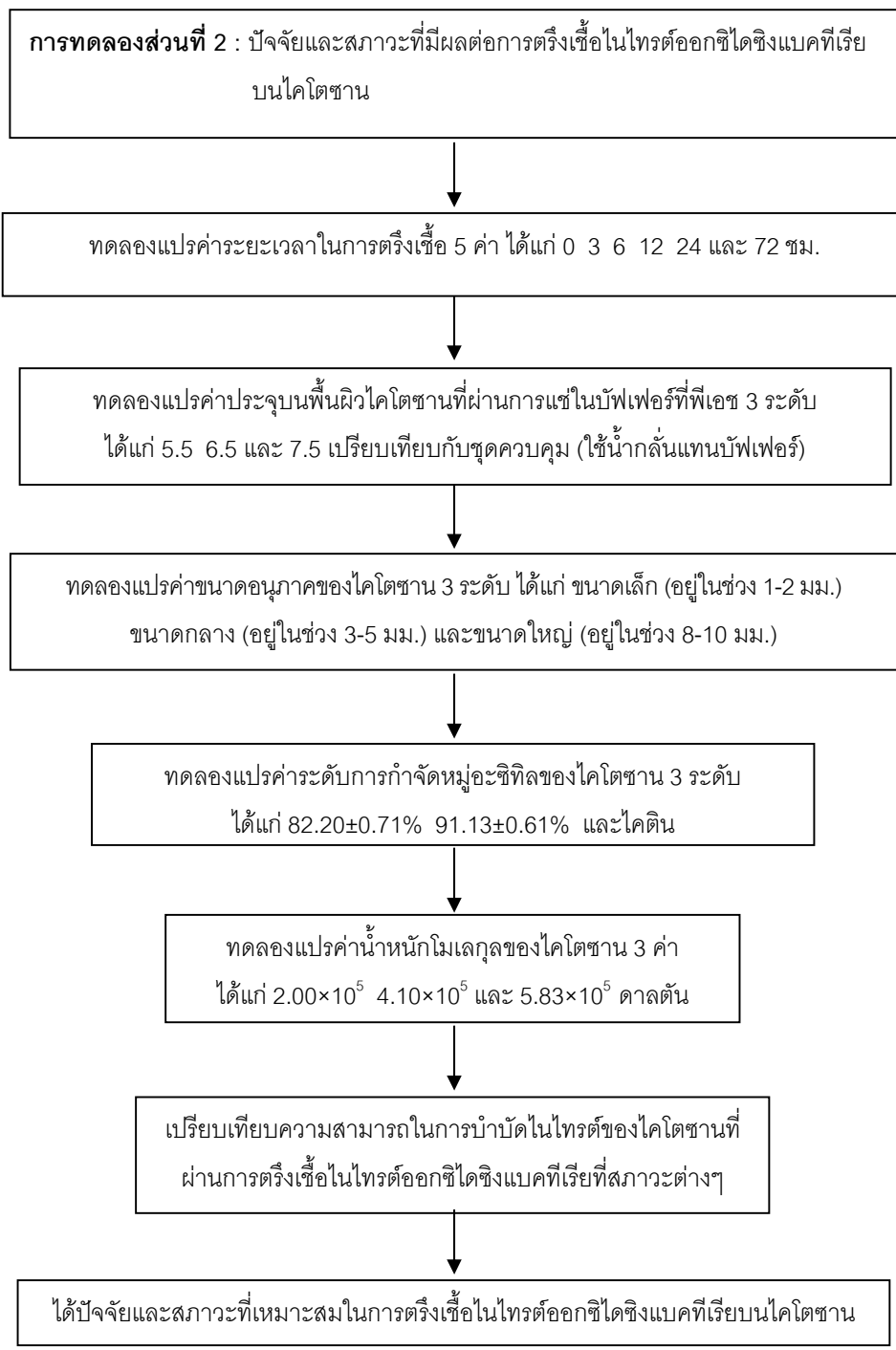
ตารางที่ 3.3 ตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในการทดลองส่วนที่ 1

ตัวแปรควบคุม	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. วิธีวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของโคโตซาน	- ตามวิธีอ้างอิงที่ระบุในตารางที่ 3.2
ตัวแปรอิสระ	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. แหล่งที่มาของโคโตซาน	- โคโตซาน 6 ตัวอย่าง
ตัวแปรตาม	พารามิเตอร์ที่ทำการศึกษาวิเคราะห์/วิธีการทดลอง
1. ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล 2. น้ำหนักโมเลกุล 3. ปริมาณความชื้น 4. ความสามารถในการละลาย	- UV-Spectrophotometry - Gel Permeation Chromatography - อบที่ 105 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง - ปริมาณการละลายของสารตัวอย่างในตัวทำละลายที่เหมาะสม

การทดลองส่วนที่ 2 ปัจจัยและสภาวะที่มีผลต่อการตรึงเชื้อไนโทรด็อกซีโคติงแบคทีเรียบนโคโตซาน

การทดลองในส่วนนี้เป็นการศึกษาปัจจัยและสภาวะต่างๆ ที่มีผลต่อการตรึงเชื้อไนโทรด็อกซีโคติงแบคทีเรียบนโคโตซาน ได้แก่ ระยะเวลาในการตรึงเชื้อ การปรับพื้นผิว ขนาดอนุภาค ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล และน้ำหนักโมเลกุลของโคโตซาน จากนั้นทำการเปรียบเทียบความสามารถในการบำบัดไนโทรด็อกซีโคติงแบคทีเรียที่ตรึงบนโคโตซานที่สภาวะต่างๆ เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการเตรียมโคโตซานเพื่อเป็นตัวกลางไนโทรฟิเคชันพร้อมใช้งานในการบำบัดไนโทรด็อกซีโคติงแบคทีเรีย โดยรูปที่ 3.3 แสดงแผนผังสรุปการดำเนินการทดลองในส่วนที่ 2 และตารางที่ 3.4 แสดงตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในการทดลองส่วนนี้

การทดลองส่วนที่ 2 : ปัจจัยและสภาวะที่มีผลต่อการตรึงเชื้อไนโทรด็อกซีโคติงแบคทีเรียบนโคโตซาน



รูปที่ 3.3 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองส่วนที่ 2

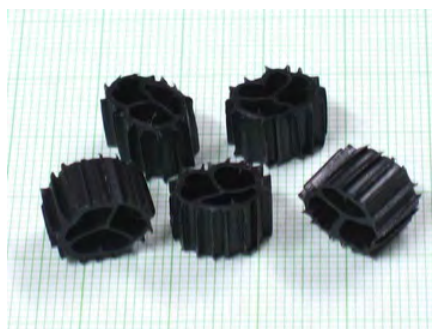
ตารางที่ 3.4 ตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในการทดลองส่วนที่ 2

ตัวแปรควบคุม	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. หัวเชื้อเริ่มต้น	- ไนโตรต็อกซิดอกซีไดซิงแบคทีเรีย
2. ปริมาณโคโคซาน	- 0.60 กรัม
3. ความเร็วรอบในการเขย่า	- 150 รอบต่อนาที
4. อุณหภูมิ	- 25 °ซ
ตัวแปรอิสระ	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. ระยะเวลาในการตรึงเชื้อ	- ระยะเวลา 0 3 6 12 24 และ 72 ชม.
2. ขนาดอนุภาคของโคโคซาน	- อยู่ในช่วง 1-2 3-5 และ 8-10 มม.
3. การปรับพื้นผิวของโคโคซาน	- บัฟเฟอร์ที่พีเอช 5.5 6.5 และ 7.5
4. ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของโคโคซาน	- โคติน 82.20±0.71% และ 91.13±0.57%
5. น้ำหนักโมเลกุลของโคโคซาน	- 2.00×10^5 4.10×10^5 และ 5.83×10^5 ดาลตัน
ตัวแปรตาม	พารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา/วิธีการทดลอง
1. การเกาะติดของเชื้อบนโคโคซาน	- ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
2. ประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรต์	- ปริมาณไนโตรต์ที่เปลี่ยนแปลง

การเตรียมสภาพของตัวกรองชีวภาพไนทริไฟเคชัน

- ตัวกลางพลาสติกและการเตรียมตัวกลางก่อนการใช้งาน

ตัวกลางพลาสติกที่ใช้ในการทดลองเป็นวัสดุพลาสติกโพลีเอทิลีน (PE) ชนิดช่วยกระจายการไหลของน้ำให้ทั่วทั้งพื้นผิว (Random Flow Plastic Media) รุ่น BCN-009 (2H, Germany) ดังแสดงในรูปที่ 3.4 มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มม. สูง 8 มม. มีค่าพื้นที่ผิวจำเพาะเท่ากับ 864 ตร.ม.ต่อลบ.ม. โดยก่อนใช้ในการทดลองจะนำตัวกลางพลาสติกไปฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน และนำมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70-80 °ซ



รูปที่ 3.4 วัสดุพลาสติกโพลีเอทิลีน รุ่น BCN-009

- การตรึงหัวเชื้อไนโตรไฟอิงแบคทีเรียจากระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ทำการตรึงหัวเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นบนตัวกลางพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยบรรจุในถุงตาข่ายแล้วนำไปแช่ในบ่อเลี้ยงกุ้งระบบปิด ณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ระดับความลึกประมาณ 10 ซม. จากผิวน้ำเป็นเวลา 45 วัน เพื่อให้เกิดการเกาะติดของหัวเชื้อผสมไนโตรไฟอิงแบคทีเรีย (Ammonia-oxidizing Bacteria ; AOB และ Nitrite-oxidizing Bacteria ; NOB) จากนั้นนำตัวกลางพลาสติกที่ผ่านการตรึงหัวเชื้อแล้วมาเลี้ยงต่อเพื่อคัดเลือกให้เหลือเฉพาะแบคทีเรียกลุ่ม NOB ในถังปฏิกรณ์พลาสติกขนาด 6 ลิตร ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวไนโตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและปรับค่าความเค็มเป็น 30 พีเอสยู เติมนิโตรเจนไนโตรตเพื่อเป็นแหล่งไนโตรตโดยควบคุมให้มีความเข้มข้น 10 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรตลอดการทดลอง ในสภาวะที่มีการเติมอากาศในน้ำด้วยหัวทรายตลอดเวลา (รูปที่ 3.5) ทดสอบประสิทธิภาพของตัวกลางพลาสติกที่คัดเลือกให้เหลือเฉพาะแบคทีเรียกลุ่ม NOB โดยการตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโตรตเป็นระยะ

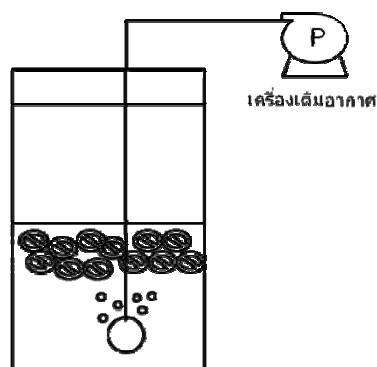


รูปที่ 3.5 ชุดปฏิกรณ์ที่ใช้ในการคัดเลือกไนโตรไฟอิงแบคทีเรียกลุ่ม NOB บนตัวกลางพลาสติก

- การตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโตรต

นำตัวกลางพลาสติกที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วมาแยกใส่ลงในขวดโหลพลาสติกใส ที่บรรจุน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู และผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1 ลิตร เติมนิโตรเจนไนโตรตความเข้มข้น 2 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร และโซเดียมไบคาร์บอเนตเพื่อเพิ่มค่าสภาพต่างของน้ำให้อยู่ในช่วง 100-150 มก.ต่อลิตร ทำการเติมอากาศด้วยหัวทรายพ่นอากาศที่ต่อเข้ากับชุดเครื่องเติมอากาศ (Aqua Tech, Model A-T 2001) ที่มีไส้กรองอากาศขนาด 0.3 ไมครอน (PURE PE Capsile Filter) เพื่อให้อากาศที่เข้าถึงปฏิกรณ์อยู่ในสภาวะปลอดเชื้อ (รูปที่ 3.6) โดยทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ตรวจวัดคุณภาพน้ำ

ในโหลพลาสติกเป็นระยะเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนไตรต์ โดยความถี่ในการเก็บตัวอย่างน้ำจะขึ้นอยู่กับอัตราการลดลงของความเข้มข้นไนไตรต์ และหยุดเก็บตัวอย่างน้ำเมื่อไม่สามารถตรวจวัดค่าความเข้มข้นของไนไตรต์ในน้ำได้



รูปที่ 3.6 การติดตั้งอุปกรณ์สำหรับการตรวจวัดอัตราการบำบัดไนไตรต์ของตัวกลางพลาสติกที่ผ่านการตรึงเชื้อและคัดเลือกให้เหลือเฉพาะแบคทีเรียกลุ่ม NOB

- การตรึงเชื้อไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซาน

บรรจุวัสดุตัวกลางพลาสติก BCN-009 ที่มีหัวเชื้อ NOB เจริญบนพื้นผิวจำนวน 20 ชิ้น ลงในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวไนไตรต์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 40 มล. จากนั้นทำการ sonication และเขย่าหลอดทดลองบนเครื่องเขย่า (Vortex-Genie mixers) เป็นเวลา 4 นาที แยกตัวกลางพลาสติกออกก่อนที่จะนำหัวเชื้อ NOB ที่ละลายอยู่ในอาหารเหลวมาเขย่ารวมกับไคโตซาน ปริมาณ 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยสารละลายเอทานอล 70% ปริมาตร 20 มล. เป็นเวลา 2 นาที และทำการปรับพื้นผิวด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 20 มล. เป็นเวลา 2 นาทีแล้ว จากนั้นเติมโซเดียมไนไตรต์ให้มีความเข้มข้น 2 มก. ไนโตรเจนต่อลิตร ทำการบ่มบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 °ซ เพื่อให้หัวเชื้อ NOB เกาะติดบนไคโตซาน

การแปรค่าปัจจัยของไคโตซานและสภาวะที่มีผลต่อการตรึงเชื้อไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซาน

- ระยะเวลาในการตรึงเชื้อ

นำโคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทธิลร้อยละ 91.13 ± 0.57 ไปบดและร่อนผ่านตะแกรง เพื่อคัดขนาดให้อยู่ในช่วง 1-2 มม. จากนั้นนำโคโตซานดังกล่าวจำนวน 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยการแช่ใน 70% เอทานอลและปรับพื้นผิวของโคโตซานด้วยบัพเฟอร์พีเอช 6.5 ไปตรึงเชื้อในไทรต์ ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เรียที่เวลาต่างๆ ดังนี้ คือ 0 3 6 12 24 และ 72 ชม. จากนั้นตรวจสอบการเกาะติด ของแบคทีเรียบนผิวโคโตซานด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และทดสอบประสิทธิภาพ การบำบัดในไทรต์เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนโคโตซาน

- ผลของการปรับพื้นผิวของโคโตซาน

นำโคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทธิลร้อยละ 91.13 ± 0.57 ขนาดที่เหมาะสมจากผลการ ทดลองที่ผ่านมาจำนวน 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 70% เอทานอล ไปทำการปรับ พื้นผิวของโคโตซานด้วยบัพเฟอร์ที่พีเอชแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 5.5 6.5 และ 7.5 ส่วนชุดควบคุม จะแช่ในน้ำกลั่นแทนบัพเฟอร์ จากนั้นนำไปตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียด้วยช่วงเวลา ที่เหมาะสม และตรวจสอบประสิทธิภาพการบำบัดในไทรต์ เพื่อหาสภาวะการปรับพื้นผิวโคโตซานที่ เหมาะสมในการตรึงเชื้อในไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนโคโตซาน

- ขนาดอนุภาคของไคโตซาน

นำไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 91.13±0.57 ไปบดและร่อนผ่านตะแกรงเพื่อคัดขนาดให้ได้ 3 ระดับ ได้แก่ ขนาดเล็ก (อยู่ในช่วง 1-2 มม.) ขนาดกลาง (อยู่ในช่วง 3-5 มม.) และขนาดใหญ่ (อยู่ในช่วง 8-10 มม.) จากนั้นนำไคโตซานแต่ละขนาดจำนวน 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 70% เอทานอลและปรับพื้นผิวของไคโตซานด้วยบัพเฟอร์พีเอช 6.5 ไปตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียตามเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการแปรค่าระยะเวลาในการตรึงเชื้อ และตรวจสอบประสิทธิภาพการบำบัดไนโทรต์ เพื่อหาขนาดของไคโตซานที่เหมาะสมในการตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซาน

- ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของไคโตซาน

นำไคตินและไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล 2 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 82.20±0.71 และร้อยละ 91.13±0.57 ขนาดที่เหมาะสมจำนวน 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 70% เอทานอล และทำการปรับพื้นผิวของไคโตซานด้วยบัพเฟอร์พีเอชที่เหมาะสม จากนั้นนำไปตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียตามช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากผลการทดลองที่ผ่านมา และตรวจสอบประสิทธิภาพการบำบัดไนโทรต์ เพื่อหาระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของไคโตซานที่เหมาะสมในการตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซาน

- น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

นำไคโตซานที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 70% เอทานอล และปรับพื้นผิวด้วยบัพเฟอร์พีเอชที่เหมาะสม น้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 2.00×10^5 4.10×10^5 และ 5.83×10^5 ดาลตัน ที่มีขนาดเหมาะสมจากผลการทดลองที่ผ่านมา จำนวน 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 70% เอทานอล และทำการปรับพื้นผิวของไคโตซานด้วยบัพเฟอร์พีเอชที่เหมาะสม จากนั้นนำไปตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียด้วยช่วงเวลาที่เหมาะสม ตรวจสอบประสิทธิภาพการบำบัดไนโทรต์เพื่อหาน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่เหมาะสมที่จะใช้ในการตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซาน

การทดลองส่วนที่ 3 ประสิทธิภาพของโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียในการควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งที่จำลองสภาวะเหมือนจริงของระบบบ่อไร้ดินกลางแจ้ง

การทดลองในส่วนนี้เป็นการนำโคโตซานซึ่งผ่านการตรึงหัวเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียตามสภาวะที่เหมาะสมมาใช้ในการควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งที่มีการจำลองสภาวะการเลี้ยงกุ้งเหมือนจริงในระบบบ่อไร้ดินกลางแจ้ง โดยทำการทดลองเปรียบเทียบกันระหว่างชุดทดลองคือถังที่ใส่ตัวกลางโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว กับชุดควบคุมที่ประกอบด้วยถังควบคุมที่ไม่ใส่ตัวกลางโคโตซาน และถังที่ใส่ตัวกลางโคโตซานเปล่า (ที่ยังไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) (ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ) โดยรูปที่ 3.7 แสดงแผนผังสรุปการดำเนินการทดลองในส่วนที่ 3 และตารางที่ 3.5 แสดงตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในการทดลองส่วนนี้



รูปที่ 3.7 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองส่วนที่ 3

ตารางที่ 3.5 ตัวแปรที่ทำการศึกษาในการทดลองส่วนที่ 3

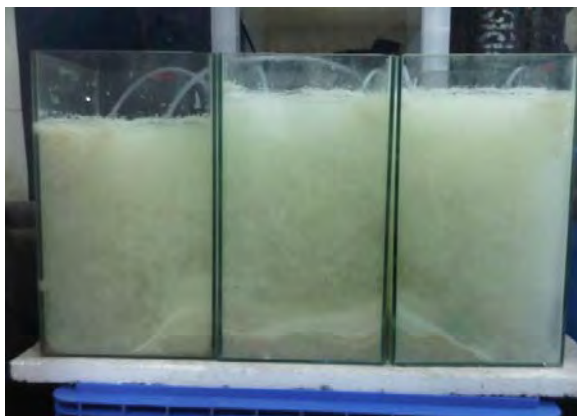
ตัวแปรควบคุม	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. ชนิดของสัตว์น้ำ 2. ระยะเวลาการเลี้ยงสัตว์น้ำ 3. ความเค็มของน้ำทะเล 4. ปริมาณโคโคซาน 5. ขนาดและความหนาแน่นของสัตว์น้ำ	- กุ้งขาวแวนนาไม - อย่างน้อย 1 เดือน - 30 พีเอสยู - ขึ้นอยู่กับอัตราการบำบัดไนโตรเจนของเชื้อ (มก.ไนโตรเจนต่อกรัม นน.แห้งต่อวัน) - กุ้งขาวแวนนาไมน้ำหนักเฉลี่ย 6.29 ± 0.98 กรัม ความยาวเฉลี่ย 10.11 ± 0.54 ซม. ความหนาแน่น 0.6 กก.ต่อลบ.ม.
ตัวแปรอิสระ	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
1. ลักษณะโคโคซานในถังเลี้ยงสัตว์น้ำ	- 3 ลักษณะ ได้แก่ โคโคซานที่ไม่ผ่านการตรึงหัวเชื้อ โคโคซานที่ผ่านการตรึงหัวเชื้อ และไม่มีโคโคซาน
ตัวแปรตาม	พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์
1. ประสิทธิภาพของเชื้อบนโคโคซาน (อัตราการบำบัดไนโตรเจนที่เทียบเคียงกับน้ำหนักตัวกลางต่อหน่วยเวลา ; มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน) 2. พารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำ 3. อัตราการรอดของสัตว์น้ำ 4. อัตราการเติบโตต่อวัน	- คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ได้แก่ ความเข้มข้นของแอมโมเนีย ไนโตรต์ และไนเตรต - อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ค่าพีเอช และค่าสภาพต่าง - จำนวนกุ้งที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - น้ำหนักและความยาวของกุ้ง

- การเหนี่ยวนำให้เกิดฟิล์มชีวภาพด้วยหัวเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่คัดเลือกได้

เป็นการนำตัวกรองชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดไนโทรต์มาใช้เป็นแหล่งของหัวเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย เพื่อเพิ่มจำนวนโดยการตรึงลงบนตัวกลางพลาสติกที่ยังไม่ผ่านการใช้งานมาก่อน โดยการนำตัวกลางพลาสติก BCN-009 ที่ผ่านการเตรียมสภาพตัวกรองมาแล้ว (มีหัวเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียตรึงอยู่) ใส่ในถังปฏิกรณ์พลาสติกขนาด 200 ลิตร ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อไนโทรต์ที่ทำการปรับค่าความเค็มเป็น 30 พีเอสยู ร่วมกับตัวกลางพลาสติกใหม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนมาแล้ว เติมน้ำเติมไนโทรต์เพื่อเป็นแหล่งไนโทรต์โดยควบคุมให้มีความเข้มข้น 10 มก. ไนโตรเจนต่อลิตรตลอดการทดลอง ในสภาวะที่มีการเติมอากาศลงในน้ำด้วยหัวฟันทราয়ตลอดเวลา ทำการตรวจวัดประสิทธิภาพของตัวกรองเป็นระยะตลอดช่วงเวลาการทดลองอย่างน้อย 1 เดือน ด้วยการตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโทรต์

- การตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซานเพื่อใช้กับบ่อเลี้ยงกุ้ง

จัดหาและเตรียมไคโตซานที่มีขนาด ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล และน้ำหนักโมเลกุลที่เหมาะสม เพื่อทำการตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียตามสภาวะที่ได้จากการทดลองในส่วนที่ 2 ซึ่งเป็นชุดทดลอง โดยใช้วัสดุตัวกลางพลาสติก BCN-009 ที่มีหัวเชื้อ NOB เจริญบนพื้นผิวเป็นแหล่งของหัวเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย จำนวน 5,300 ชี้น โดยบรรจุตัวกลางพลาสติกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวไนโทรต์ปริมาตร 10 ลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นทำการ sonication เป็นเวลา 4 นาที แยกตัวกลางพลาสติกออกก่อนที่จะนำหัวเชื้อ NOB ที่ละลายอยู่ในอาหารเหลวมาพร้อมกับไคโตซานปริมาณ 160 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยสารละลายเอทานอล 70% ปริมาตร 5 ลิตร เป็นเวลา 2 นาที และทำการปรับพื้นผิวด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 5 ลิตร เป็นเวลา 2 นาทีแล้วในถังปฏิกรณ์ที่ทำจากกระจกใสทรงสี่เหลี่ยม ขนาดกว้าง 20 ซม. ยาว 20 ซม. สูง 35 ซม. ซึ่งมีปริมาตรเท่ากับ 14 ลิตร จากนั้นเติมน้ำเติมไนโทรต์ให้มีความเข้มข้น 10 มก. ไนโตรเจนต่อลิตร และมีการเติมอากาศด้วยหัวฟันทราয়ตลอดเวลา (รูปที่ 3.8) ส่วนไคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) ซึ่งเป็นชุดควบคุมทำการเตรียมไคโตซานเช่นเดียวกับชุดทดลองแต่ไม่ต้องนำไปตรึงกับเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย

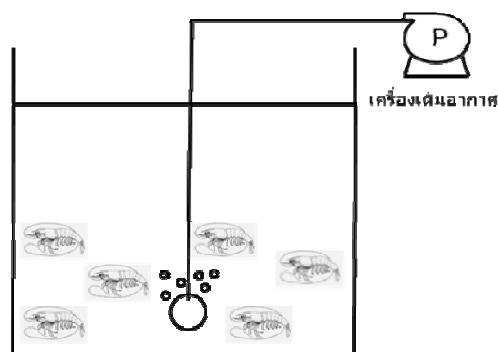


รูปที่ 3.8 ชุดอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรึงเชื้อไนโตรสออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซานเพื่อใช้กับบ่อเลี้ยงกุ้ง

- กุ้งและสภาวะในการเลี้ยงกุ้ง

ทำการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 6.29 ± 0.98 กรัม และความยาวเฉลี่ย 10.11 ± 0.54 ซม. โดยคิดเป็นความหนาแน่น 0.6 กก.ต่อลบ.ม. ในถังพลาสติกเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 ซม. สูง 46 ซม. ซึ่งคิดเป็นพื้นที่ผิวเท่ากับ 0.5 ตร.ม. ที่บรรจุน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู ปริมาตร 80 ลิตร โดยทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ก่อนเริ่มการทดลองเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตลงไปเพื่อปรับค่าสภาพต่างของน้ำให้มีความเข้มข้นประมาณ 150 มก.ต่อลิตร และติดตั้งระบบให้อากาศถังละ 3 จุด กระจายทั่วถังเพื่อให้มีปริมาณออกซิเจนที่เพียงพอต่อกุ้งและไนโตรไฟอิงแบคทีเรีย รวมถึงการวางตะแกรงตาข่ายพลาสติกไว้ที่ก้นถังเพื่อให้กุ้งสามารถยึดเกาะอาศัยอยู่ได้และเป็นแหล่งหลบภัยในเวลาล่อคราบ จัดวางถังเลี้ยงกุ้งในบริเวณที่ได้รับแสงธรรมชาติเพื่อให้มีสภาพคล้ายกับบ่อไร่ดินกลางแจ้ง รวมทั้งมีฉากกันพลาสติกป้องกันน้ำฝนไหลลงสู่ระบบทดลองและสิ่งอื่นจากภายนอกเข้าไปปนเปื้อนกับน้ำภายในถังเพาะเลี้ยง (รูปที่ 3.9)

สำหรับการให้อาหารกุ้งจะใช้อาหารที่มีตามท้องตลาด โดยคำนวณปริมาณอาหารที่ให้จากร้อยละ 5 ของน้ำหนักตัว ทำการทดลองต่อเนื่องเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 1 เดือน โดยไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำตลอดการทดลอง ยกเว้นการเติมน้ำจืดเพื่อชดเชยความเค็มที่เพิ่มขึ้นจากการเก็บตัวอย่างและการระเหยของน้ำในถังเลี้ยงกุ้ง เมื่อปริมาณไนโตรสในถังเลี้ยงกุ้งมีความเข้มข้นสูงประมาณ 2 มก. ไนโตรเจนต่อลิตร จะทำการตรึงเชื้อไนโตรสออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซานตามสภาวะที่ได้จากการทดลองในส่วนที่ 2 แล้วเติมลงไปในถังเลี้ยงกุ้ง



รูปที่ 3.9 การติดตั้งอุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงกุ้งที่มีการจำลองสภาวะเหมือนจริงในระบบบ่อไร้ดินกลางแจ้ง (แสดงรายละเอียดต่อ 1 ถึงการทดลอง)

- การประเมินอัตราการเติบโตของกุ้ง

ทำการติดตามการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงระยะเวลาการเลี้ยงด้วยการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของกุ้งทุกตัวในถังเลี้ยงกุ้งด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักและอุปกรณ์วัดความยาวกุ้ง (รูปที่ 3.10) โดยในวันที่ 0 คือวันเริ่มต้นการทดลองที่ปล่อยกุ้งลงในถังเลี้ยงกุ้ง และวันสุดท้ายคือวันสิ้นสุดการทดลอง เพื่อใช้คำนวณน้ำหนักและความยาวเฉลี่ย อัตราการเติบโตของกุ้งต่อวัน (Daily weight gain) ร้อยละอัตราการรอดของกุ้ง (Survival rate of shrimp) อัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio) และผลผลิตของกุ้ง (Production of shrimp) จากสูตรต่างๆ ดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการเติบโตต่อวัน (ก.ต่อวัน)} = \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น (ก.)}}{\text{จำนวนวันที่ทำการทดลอง (วัน)}}$$

$$\text{อัตราการรอด (ร้อยละ)} = \frac{\text{จำนวนกุ้งที่เหลือ} \times 100}{\text{จำนวนกุ้งที่ปล่อยทั้งหมด}}$$

$$\text{อัตราการแลกเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ให้กุ้งทั้งหมด (กก.)}}{\text{น้ำหนักรวมของกุ้งที่เพิ่มขึ้นทั้งหมด (กก.)}}$$

$$\text{ผลผลิต (กก./ไร่)} = \frac{\text{น้ำหนักรวมของกุ้งทั้งหมด (กก.)}}{\text{พื้นที่บ่อ (ไร่)}}$$



วัดความยาวกุ้ง



ชั่งน้ำหนักกุ้ง

รูปที่ 3.10 การศึกษาอัตราการเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมโดยการวัดความยาวและชั่งน้ำหนัก

- การตรวจวัดคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้ง

การประเมินประสิทธิภาพของระบบควบคุมคุณภาพน้ำจะดำเนินการโดยการตรวจวัดคุณภาพน้ำต่างๆ ของตัวอย่างน้ำในถังเลี้ยงกุ้งเป็นระยะตามรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 3.6 ได้แก่ แอมโมเนีย ไนไตรต์ ไนเตรต ค่าสภาพต่างของน้ำ ความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ และอุณหภูมิ เป็นระยะตลอดช่วงการทดลองและเก็บตัวอย่างโคโตซานมาตรวจสอบลักษณะการยืดเกาะของแบคทีเรียที่พื้นผิวโดยการส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดในวันสุดท้ายของการทดลอง

ตารางที่ 3.6 คุณภาพน้ำและวิธีวิเคราะห์สำหรับตรวจวัดคุณภาพน้ำภายในถังเลี้ยงกุ้ง

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์ / เครื่องมือวิเคราะห์
แอมโมเนีย	Strickland และ Parson (1972)
ไนโตรต์	Strickland และ Parson (1972)
ไนเตรต	Spectrophotometric method (APHA, 2005)
ค่าสภาพต่าง	Test Kit (ศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)
ของแข็งแขวนลอย	กรองบนกระดาษกรอง GF/C และชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ	DO meter method
พีเอช	pH meter method
อุณหภูมิ	Thermometer method
ความเค็ม	ตรวจวัดด้วยเครื่องวัดความเค็ม
อัตราการรอดของกุ้ง	นับจำนวนกุ้งที่เหลือในบ่อเพาะเลี้ยง
อัตราการเติบโตของกุ้ง	ชั่งน้ำหนักกุ้งและวัดความยาวของตัวกุ้ง

- การตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโตรต์ของเชื้อไนโตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่ตรึงบนไคโตซาน

ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งจะทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำเป็นระยะ โดยเมื่อปริมาณไนโตรต์ในระบบเลี้ยงกุ้งมีความเข้มข้นสูงประมาณ 2 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร จะเติมไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียพร้อมใช้งานลงไปบ่อเลี้ยงกุ้งและไคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) ปริมาณถึงละ 160 กรัม จากนั้นติดตามและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งระหว่างไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วกับไคโตซานเปล่า(ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) โดยสุ่มตัวอย่างไคโตซานจากถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุม (ใส่ไคโตซานเปล่าที่ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) และถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลอง (ใส่ไคโตซานที่ผ่านการตรึงหัวเชื้อแล้ว) ทั้งก่อนและหลังการเติมลงไปบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 2 สัปดาห์เพื่อมาตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโตรต์ในโหลพลาสติกในห้องปฏิบัติการ (จำนวน 3 ซ้ำ) ที่บรรจุน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วความเค็ม 30 พีเอสยู ปริมาตร 1 ลิตร โดยเติมโซเดียมไนโตรต์ความเข้มข้น 2 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรเพื่อเป็นแหล่งไนโตรต์ และโซเดียมไบคาร์บอเนตเพื่อปรับค่าสภาพต่างของน้ำให้มีความเข้มข้นประมาณ 100-150 มก.ต่อลิตร ภายใต้สภาวะที่มีการเติมอากาศด้วยหัวทรายพ่นอากาศตลอดเวลา

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเตรียมและวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของไคโตซาน

ตารางที่ 4.1 แสดงสมบัติของไคตินและไคโตซานที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยแบ่งออกเป็น 6 ตัวอย่างดังนี้ ตัวอย่างที่ 1 เป็นไคตินที่มีความชื้นอยู่ที่ประมาณร้อยละ 6 ตัวอย่างที่ 2 และ 3 เป็นตัวอย่างไคโตซานที่นำมาใช้ในการศึกษาผลของระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลต่อประสิทธิภาพในการตรึงเชื้อไนโทรสออกซิไดซิงแบคทีเรีย โดยควบคุมน้ำหนักโมเลกุลให้อยู่ในช่วง 3.10×10^5 - 4.10×10^5 ดาลตัน และตัวอย่างที่ 2 4 และ 6 เป็นตัวอย่างไคโตซานที่นำมาใช้ในการศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุลต่อประสิทธิภาพในการตรึงเชื้อไนโทรสออกซิไดซิงแบคทีเรีย โดยควบคุมระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลให้อยู่ที่ประมาณร้อยละ 90 ± 5

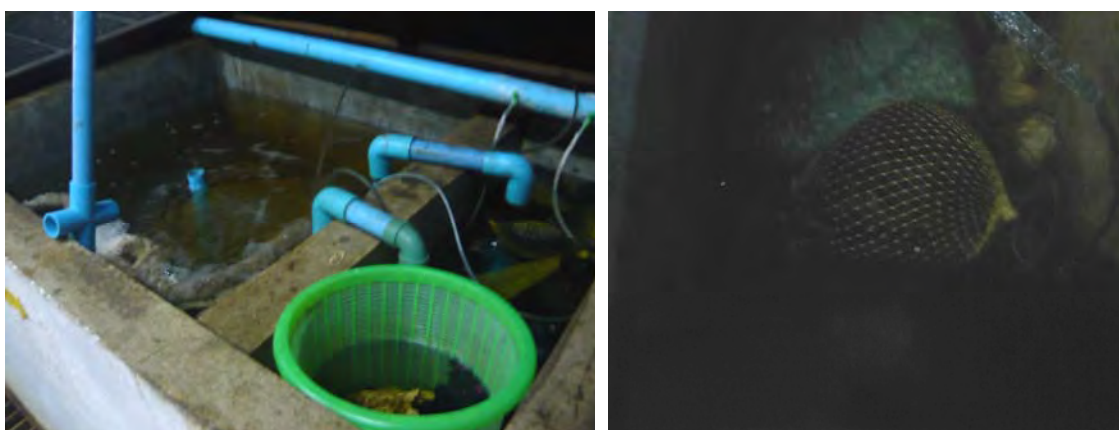
ตารางที่ 4.1 สมบัติจำเพาะของไคโตซาน

ตัวอย่างที่	ชื่อไคโตซาน	ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล (%)	น้ำหนักโมเลกุล (ดาลตัน)	ค่าความชื้น (%)	ค่าการละลาย (%)
1	Chitin_21/4/09	-	-	5.83 ± 1.15	-
2	Chitosan Lot A	91.13 ± 0.57	4.10×10^5	10.21 ± 0.85	96.37 ± 0.63
3	Chitosan D82	82.20 ± 0.71	3.10×10^5	8.63 ± 0.19	95.01 ± 1.41
4	Chitosan EX II (เพรียงทราย)	85.41 ± 0.73	5.83×10^5	13.13 ± 1.02	97.75 ± 0.04
5	Chitosan_10/01/11	91.72 ± 0.32	7.10×10^5	11.64 ± 1.21	96.82 ± 0.58
6	Chitosan B	92.43 ± 0.61	2.00×10^5	12.71 ± 0.41	97.75 ± 0.25

ปัจจัยและสภาวะที่มีผลต่อการตรึงเชื้อไนโตรเจนออกซิไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซาน

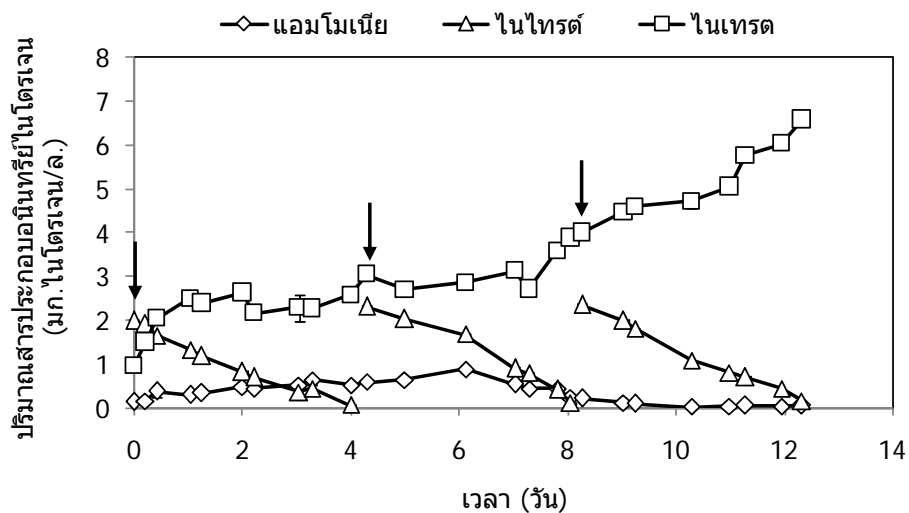
การเตรียมหัวเชื้อไนโตรเจนออกซิไดซิงแบคทีเรียและการประเมินประสิทธิภาพของตัวกรองชีวภาพไนโตรฟิเคชัน

เมื่อนำตัวกลางพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนำไปแช่ในบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดที่มีกระบวนการไนโตรฟิเคชันสมบูรณ์ ณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดังแสดงในรูปที่ 4.1 เป็นเวลา 45 วัน เพื่อให้เกิดการเกาะติดของหัวเชื้อผสมไนโตรฟายอิงแบคทีเรีย (มนวิกันต์ ขจรบุญ, 2552) พบว่าตัวกรองมีชั้นฟิล์มบางๆ จนแทบมองไม่เห็นเคลือบอยู่บนผิวของวัสดุตัวกรอง



รูปที่ 4.1 การแช่ตัวกรองชีวภาพในบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดเป็นเวลา 45 วัน

จากนั้นนำตัวกรองชีวภาพมาเลี้ยงต่อในถังปฏิกรณ์พลาสติกขนาด 6 ลิตร ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวไนโตรเจนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งมีความเค็ม 30 พีเอสยู และเติมไซโตเดียมไนโตรเจนความเข้มข้น 2 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร เพื่อคัดเลือกให้เหลือเฉพาะแบคทีเรียกลุ่ม NOB จากนั้นทำการตรวจวัดแอมโมเนีย ไนโตรเจน และไนเตรตเป็นระยะ ผลการทดลองพบว่าหลังจากเติมไซโตเดียมไนโตรเจนความเข้มข้นเริ่มต้น 2 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร มีอัตราการบำบัดไนโตรเจนของตัวกรองชีวภาพเกิดขึ้นอย่างชัดเจน ทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนลดลงเหลือน้อยกว่า 0.10 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ภายในระยะเวลา 4 วัน ในขณะที่ความเข้มข้นของไนเตรตมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และความเข้มข้นของแอมโมเนียมีค่าสูงขึ้นจาก 0.13 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรเป็น 0.87 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรในวันที่ 6 ของการทดลอง เนื่องจากเกิดการปลดปล่อยแอมโมเนียที่เป็นผลมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์และซากสิ่งมีชีวิตทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียในน้ำ ดังรูปที่ 4.2



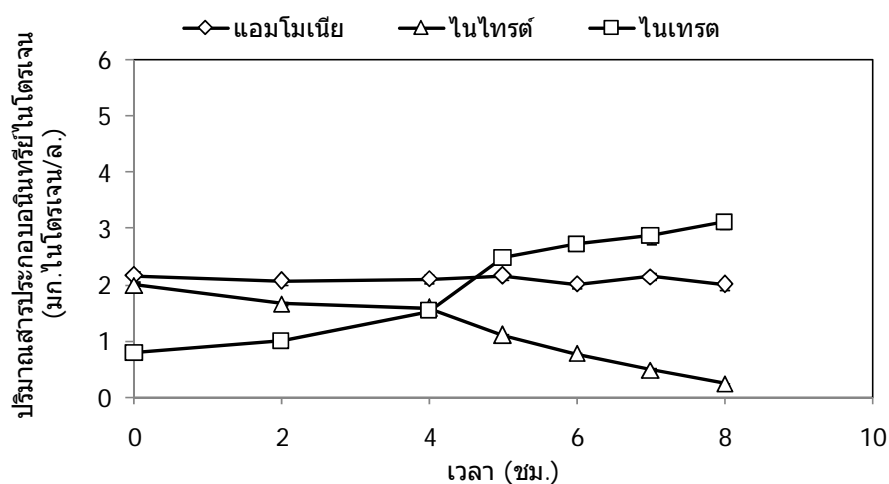
รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงของแอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต ของตัวกรองชีวภาพไนทริไฟเคชัน ในถังคัดเลือกเชื้อ NOB โดย (↓) แสดงวันที่ทำการเติมไนไตรต์ไปในถังปฏิกรณ์พลัสติกขนาด 6 ลิตร

Satoh และคณะ (2000) รายงานว่า ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ค่าสภาพต่าง พีเอช ความเค็ม และอุณหภูมิ มีผลกระทบต่อการทำงานของตัวกรองไนทริไฟเคชัน ดังนั้นจึงทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำในถังปฏิกรณ์สำหรับคัดเลือกเชื้อ NOB ดังแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในถังปฏิกรณ์มีค่าอยู่ในช่วง 5.20-5.80 มก.ต่อลิตร ซึ่งเหมาะสมต่อการอาศัยและเติบโตของไนทริไฟอิงแบคทีเรีย สอดคล้องกับรายงานของ Hart และ O'sullivan (1993) ที่กล่าวว่าไนทริไฟอิงแบคทีเรียจะไม่สามารถออกซิไดซ์แอมโมเนียได้ที่ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่า 2 มก.ต่อลิตร สำหรับค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อตัวกรองไนทริไฟเคชันอยู่ในช่วง 6-9 แต่ค่าต่ำสุดที่มีผลทำให้ *Nitrosomonas spp.* และ *Nitrobacter spp.* ทำงานได้ดีมีค่าระหว่าง 6.50-7.00 (Lawson, 1995) โดยจากการทดลองนี้ น้ำจากถังปฏิกรณ์มีพีเอชอยู่ในช่วง 7.15-7.56 ซึ่งมีความเหมาะสมต่อการทำงานของทั้ง AOB และ NOB นอกจากนี้ Timmons และ Losordo (1994) พบว่าตัวกรองไนทริไฟเคชันสามารถทำงานได้ในช่วงความเค็มที่กว้างตั้งแต่ น้ำจืดจนถึงน้ำเค็ม โดยมีค่าความเค็มเท่ากับ 40 พีเอชยู จากการทดลองนี้ น้ำในถังปฏิกรณ์มีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 30-31 พีเอชยู จึงไม่เป็นปัญหาต่อการทำงานของตัวกรองชีวภาพ และสำหรับอุณหภูมิของน้ำซึ่งในการทดลองนี้มีค่าอยู่ในช่วง 25.80-27.10 °ซ โดยอุณหภูมิที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของไนทริไฟอิงแบคทีเรียอยู่ในช่วงระหว่าง 25-40°ซ (ปพิชญา ศรีเทพ, 2553) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าคุณภาพน้ำในถังปฏิกรณ์สำหรับคัดเลือกเชื้อ NOB อยู่ในระดับที่เหมาะสมสำหรับการเกิดกระบวนการไนทริไฟเคชัน

ตารางที่ 4.2 คุณภาพน้ำในถังปฏิกรณ์ที่ทำการคัดเลือกเชื้อ NOB

พารามิเตอร์	ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)
ออกซิเจนละลายน้ำ (มก.ต่อลิตร)	5.43 \pm 0.21 (5.20-5.80)
ค่าค่าสภาพต่าง (มก.ต่อลิตร)	113.33 \pm 8.16 (100-120)
พีเอช	7.34 \pm 0.18 (7.15-7.56)
ความเค็ม (พีเอสยู)	30.33 \pm 0.52 (30.00-31.00)
อุณหภูมิ ($^{\circ}$ ซ)	26.50 \pm 0.15 (25.80-27.10)

เมื่อทำการสูบลำตัวอย่างตัวกรองชีวภาพออกมาทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจนพบว่าหลังจากเติมโซเดียมไนไตรต์ความเข้มข้นเริ่มต้น 2 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรลงในขวดโหลพลาสติกใส ไนไตรต์ถูกบำบัดลดลงจนมีค่าต่ำกว่า 0.5 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ภายในระยะเวลา 7 ชม. โดยมีอัตราการบำบัดไนไตรต์เฉลี่ย 28.09 ± 0.58 มก.ไนโตรเจนต่อตร.ม.ต่อวัน ในขณะที่ความเข้มข้นของไนเตรตมีค่าเพิ่มมากขึ้นจาก 0.78 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรเป็น 3.10 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร และความเข้มข้นของแอมโมเนียก่อนทำการทดลองและเสร็จสิ้นการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงของแอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต ระหว่างการทดสอบประสิทธิภาพของตัวกรองชีวภาพไนทริไฟเคชันที่ทำการคัดเลือกให้เหลือแต่เชื้อ NOB

ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในถังปฏิกรณ์ที่ทำการตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโตรเจนในตารางที่ 4.3 มีค่าอยู่ในระดับที่เหมาะสมกับการเกิดกระบวนการไนตริฟิเคชัน โดยค่าออกซิเจนละลายน้ำในถังปฏิกรณ์มีค่าอยู่ในช่วง 5.30-5.90 มก.ต่อลิตร ค่าสภาพต่างอยู่ในช่วง 110-120 มก.ต่อลิตร พีเอชของน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 7.17-7.50 ความเค็มมีค่าอยู่ในช่วง 29-30 พีเอสยู และอุณหภูมิของน้ำในการทดลองนี้มีค่าอยู่ในช่วง 25.50-26.50 ซึ่งทุกพารามิเตอร์มีความเหมาะสมต่อการเติบโตของไนโตรสออกซิไดซิงแบคทีเรีย

ตารางที่ 4.3 คุณภาพน้ำในถังปฏิกรณ์ที่ทำการตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโตรเจนของตัวกรองชีวภาพที่ผ่านการคัดเลือกหัวเชื้อ NOB แล้ว

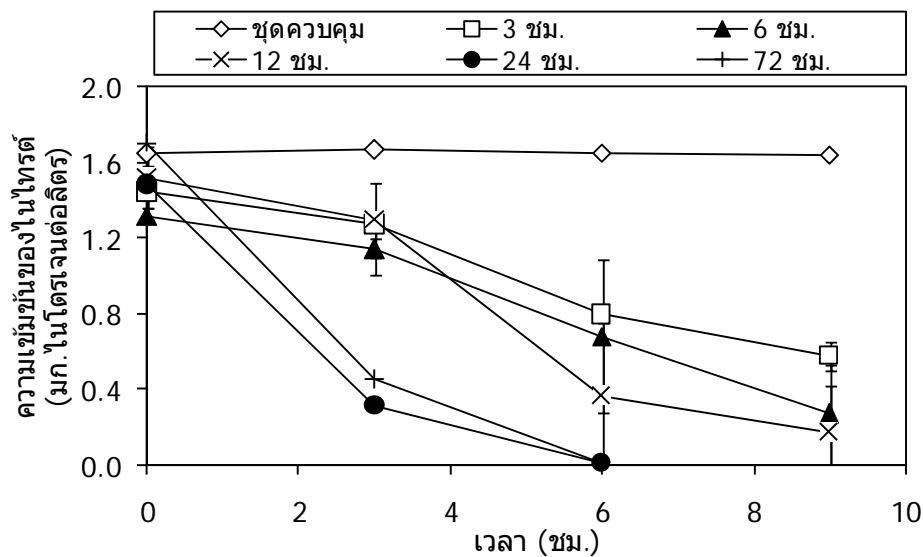
พารามิเตอร์	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)
ออกซิเจนละลายน้ำ (มก.ต่อลิตร)	5.57±0.24 (5.30-5.90)
ค่าสภาพต่าง (มก.ต่อลิตร)	116.67±5.16 (110-120)
พีเอช	7.36±0.14 (7.17-7.50)
ความเค็ม (พีเอสยู)	30.33±0.52 (29.00-30.00)
อุณหภูมิ (°ซ)	25.95±0.38 (25.50-26.50)

4.1.1 ระยะเวลาในการตรึงเชื้อ

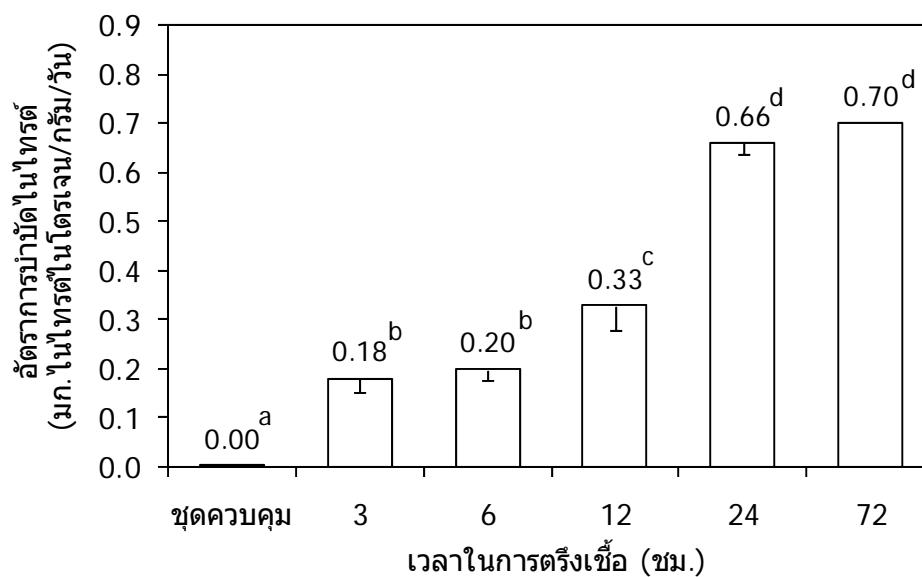
ตัวอย่างโคโตซานที่ใช้ในการศึกษาระยะเวลาในการตรึงเชื้อ คือ Chitosan Lot A ซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 91.13±0.57 ขนาด 1.00-2.00 มม. จากนั้นนำโคโตซานดังกล่าวจำนวน 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 70% เอทานอลและปรับพื้นผิวของโคโตซานด้วยบัฟเฟอร์พีเอช 6.5 ไปตรึงเชื้อไนโตรสออกซิไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลาต่างๆ ได้แก่ 3 6 12 24 และ 72 ชม. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ตรึงเชื้อ) และทำการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจนของโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว พบว่าโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อเป็นเวลาเท่ากับ 72 ชม. สามารถบำบัดไนโตรเจนจาก 1.70 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ลดลงเหลือ 0.46 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ภายในระยะเวลาประมาณ 3 ชม. โดยมีอัตราการบำบัดไนโตรเจนเฉลี่ยเท่ากับ 0.70±0.02 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน ในขณะที่โคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อเป็นเวลา 24 ชม. สามารถบำบัดไนโตรเจนจาก 1.48 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ลดลงเหลือน้อยกว่า 0.40 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ภายในระยะเวลาประมาณ 3 ชม. โดยมีอัตราการบำบัดไนโตรเจนเฉลี่ยเท่ากับ 0.66±0.02 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน ส่วนโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อเป็นเวลา 3 6 12 ชม. ใช้เวลาในการ

บำบัดไนโตรเจนมากกว่า 6 ชม. โดยมีอัตราการบำบัดไนโตรเจนเฉลี่ยเท่ากับ 0.18 ± 0.03 0.20 ± 0.03 และ 0.33 ± 0.05 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.4 และ 4.5

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อเป็นเวลา 72 และ 24 ชม. มีอัตราการบำบัดไนโตรเจนสูงกว่าโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อเป็นเวลา 3-12 ชม. อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งระยะเวลาในการตรึงเชื้อที่นานขึ้นมีผลทำให้อัตราการบำบัดไนโตรเจนมีค่าสูงขึ้นตามปกติแล้วการเตรียมตัวกรองชีวภาพในทรีพีเคชั่นพร้อมใช้งาน จะต้องใช้เวลาในการตรึงหัวเชื้อในทรีฟออิงแบคทีเรียไม่น้อยกว่า 30-45 วัน เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้มีอัตราการเติบโตที่ค่อนข้างต่ำ (Ruiz และคณะ, 2006) และมีปริมาณน้อย ซึ่งการนำโคโตซานมาตรึงเชื้อสามารถลดระยะเวลาในการเตรียมตัวกรองชีวภาพในทรีพีเคชั่นได้ ซึ่งปรากฏการณ์ดังกล่าวเกิดจากพื้นผิวของโคโตซานที่ถูกปรับสภาพด้วยพีเอช 6.5 มีประจุเป็นบวก และสามารถเกิดพันธะอิเลคโตรสแตติก (Electrostatic Interaction) กับประจุลบบนพื้นผิวของแบคทีเรียได้ดีกว่าวัสดุสังเคราะห์หรือพลาสติกที่ใช้ในปัจจุบันที่ไม่มีประจุ ผลจากการทดลองนี้อาจสรุปได้ว่าระยะเวลาในการตรึงเชื้อที่ 24 ชม. เป็นสภาวะที่เหมาะสมเพื่อลดระยะเวลาในการตรึงเชื้อลง ทั้งนี้เนื่องจากมีอัตราการบำบัดไนโตรเจนไม่แตกต่างกับที่เวลา 72 ชม. อย่างมีนัยสำคัญ



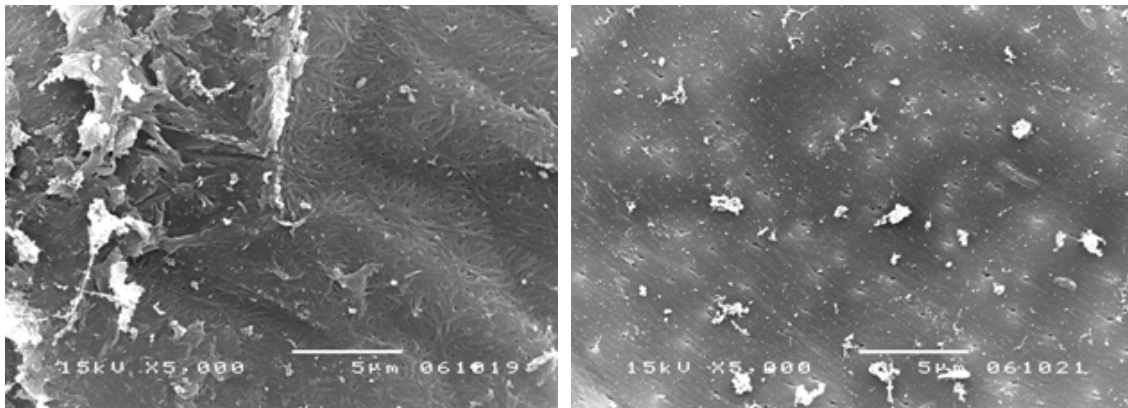
รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรเจนด้วยโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรเจนออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 3 6 12 24 และ 72 ชม. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ตรึงเชื้อ)



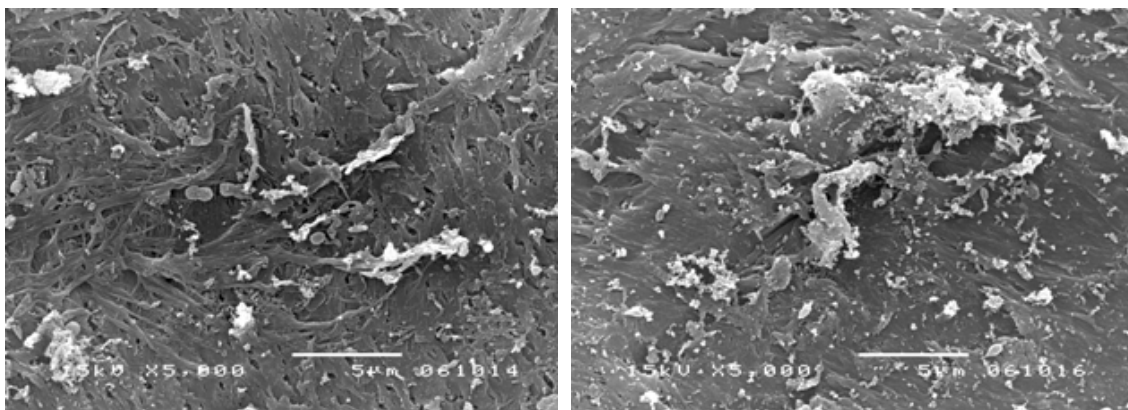
รูปที่ 4.5 อัตราการบำบัดไนโตรเจนของโคโคซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรเจนออกซิไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 3 6 12 24 และ 72 ชม. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ตรึงเชื้อ) โดยตัวอักษร a-d แสดงถึงค่าความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

- การตรวจสอบการเกาะติดของแบคทีเรียที่พื้นผิวโคโคซาน

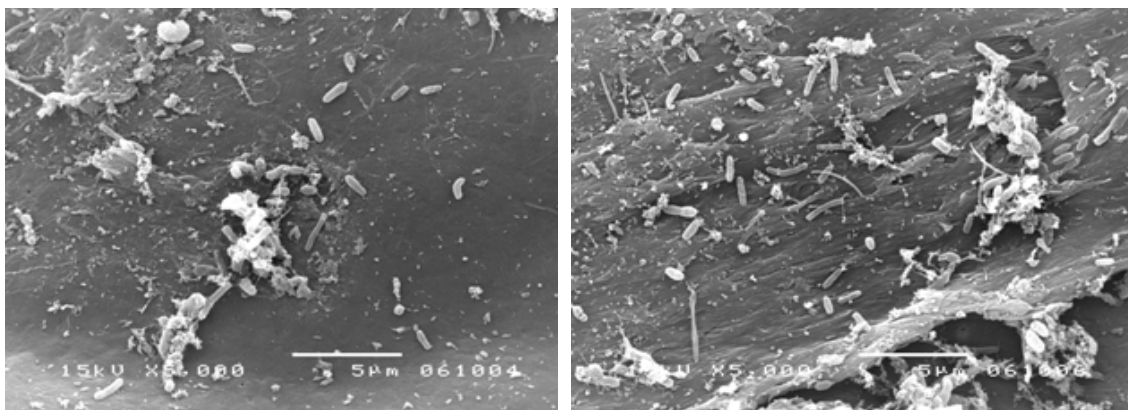
เมื่อทำการตรวจสอบลักษณะของเชื้อ NOB ที่เกาะติดบนผิวของโคโคซานด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่ารูปร่างแบคทีเรียที่ตรึงบนผิวของโคโคซานเป็นเวลา 3 และ 24 ชม. มีลักษณะคล้ายคลึงกัน โดยพบแบคทีเรียรูปท่อน (Rod) แต่ปริมาณการเกาะติดของแบคทีเรียแตกต่างกัน โดยพบว่า ระยะเวลาในการตรึง 3 ชม. มีปริมาณแบคทีเรียที่เกาะติดบนผิวโคโคซานน้อยกว่าที่เวลา 24 ชม. (รูปที่ 4.6)



(ก) ชุดควบคุม



(ข) ระยะเวลาในการตรึง 3 ชม.

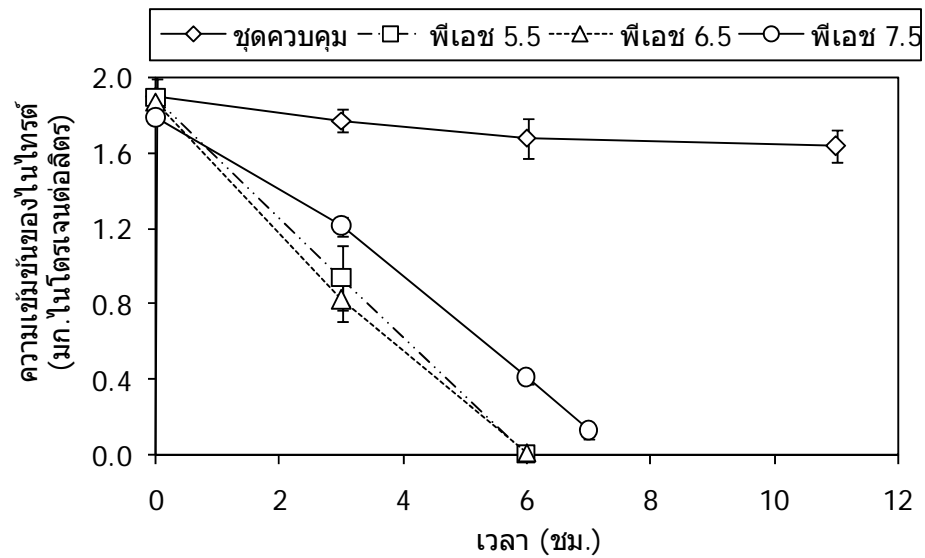


(ค) ระยะเวลาในการตรึง 24 ชม.

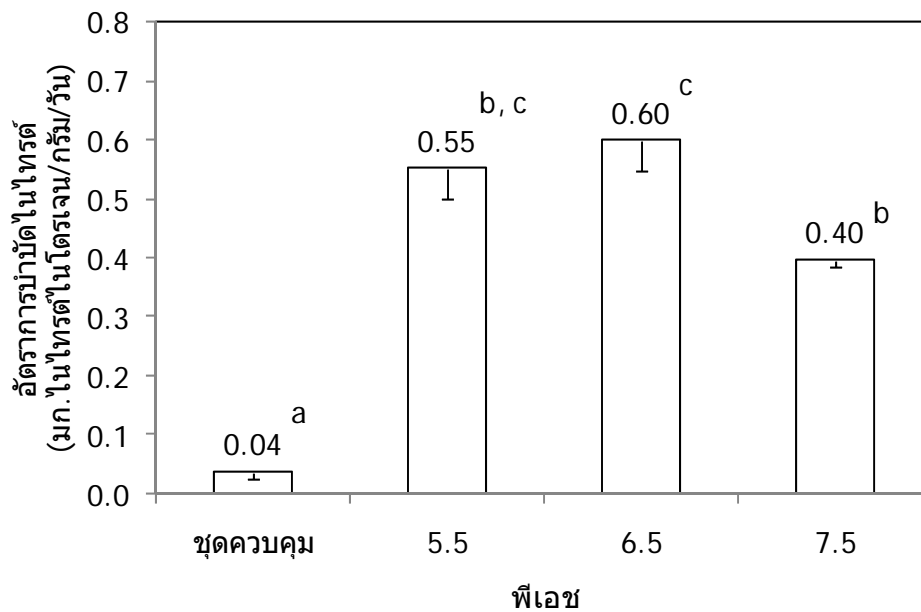
รูปที่ 4.6 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงพื้นผิวของไคโตซานที่ไม่ผ่านการตรึงเชื่อม (ชุดควบคุม) และไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื่อมในไทรต้ออกซิไดซิงแบบที่เรียเป็นเวลา 3 และ 24 ชม. (กำลังขยาย 5,000 เท่า)

4.1.2 ผลของการปรับพื้นผิวของไคโตซาน

ตัวอย่างไคโตซานที่ใช้ในการศึกษาผลของการปรับพื้นผิวไคโตซาน คือ Chitosan Lot A ซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 91.13 ± 0.57 ขนาด 1-2 มม. จำนวน 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 70% เอทานอล ไปทำการปรับพื้นผิวของไคโตซานด้วยบัฟเฟอร์ที่พีเอชแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 5.5 6.5 และ 7.5 ส่วนของชุดควบคุมจะแช่ในน้ำกลั่นแทนบัฟเฟอร์ จากนั้นนำไปตรึงเชื้อไนโทรสออกซิโดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชม. และทำการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดไนโทรสของไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว พบว่าไคโตซานที่ปรับพื้นผิวด้วยบัฟเฟอร์ที่พีเอช 5.5 และ 6.5 สามารถลดความเข้มข้นของไนโทรสลงเหลือน้อยกว่า 0.10 มก.ไนโตรเจน ภายในระยะเวลาเพียง 6 ชม. โดยมีอัตราการบำบัดไนโทรสเฉลี่ยเท่ากับ 0.55 ± 0.05 และ 0.60 ± 0.05 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน ตามลำดับ ในขณะที่พีเอช 7.5 ใช้เวลาในการบำบัดไนโทรสมากกว่า 6 ชม. โดยมีอัตราการบำบัดไนโทรสเฉลี่ยเท่ากับ 0.40 ± 0.01 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน ดังรูปที่ 4.7 และ 4.8 จากการทดสอบทางสถิติพบว่า การปรับพื้นผิวของไคโตซานด้วยบัฟเฟอร์ที่พีเอช 5.5 และ 6.5 มีอัตราการบำบัดไนโทรสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากในสถานะที่เป็นกรดอ่อน ไคโตซานจะมีความเป็นประจุบวกสูงจึงสามารถจับกับผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีประจุเป็นลบได้ โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Strand และคณะ (2003) พบว่าการดูดซับ *E. coli* บนไคโตซานขึ้นอยู่กับพีเอช เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิอิเล็กโตรไลต์แบบอ่อน ความหนาแน่นของประจุจึงขึ้นอยู่กับค่าพีเอช อย่างไรก็ตามเพื่อให้เหมาะสมกับการนำไปใช้ในบ่อเลี้ยงกุ้งซึ่งมีพีเอชประมาณ 6-9 จึงเลือกที่จะปรับพื้นผิวของไคโตซานด้วยบัฟเฟอร์ที่พีเอช 6.5 ซึ่งมีอัตราการบำบัดไนโทรสสูงที่สุดเป็นสถานะที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการทดลองลำดับต่อไป



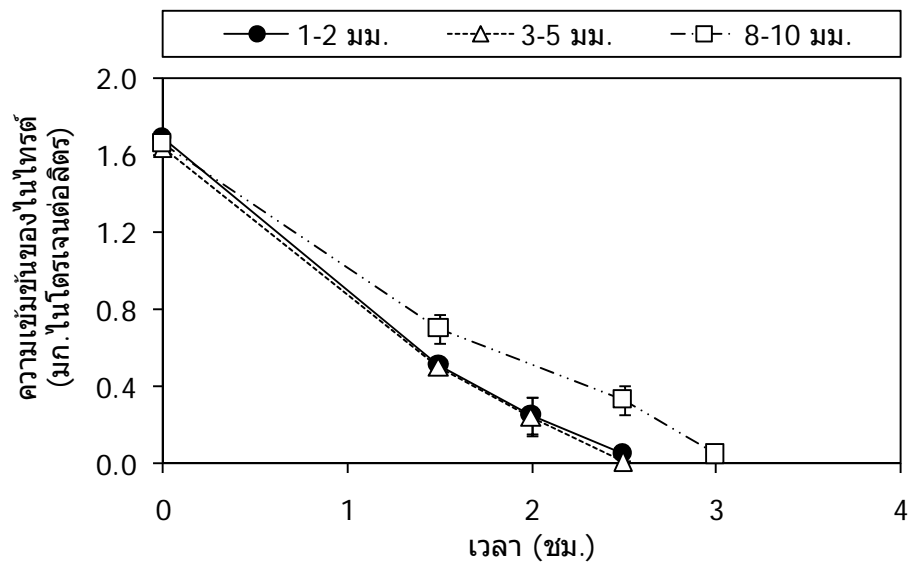
รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนเตรตด้วยโคโตซานที่ทำการปรับพื้นผิวด้วยบัฟเฟอร์ที่พีเอช 5.5 6.5 และ 7.5 หลังนำไปตรึงเชื้อไนเตรตออกซิไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชม. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (แช่น้ำกลั่น)



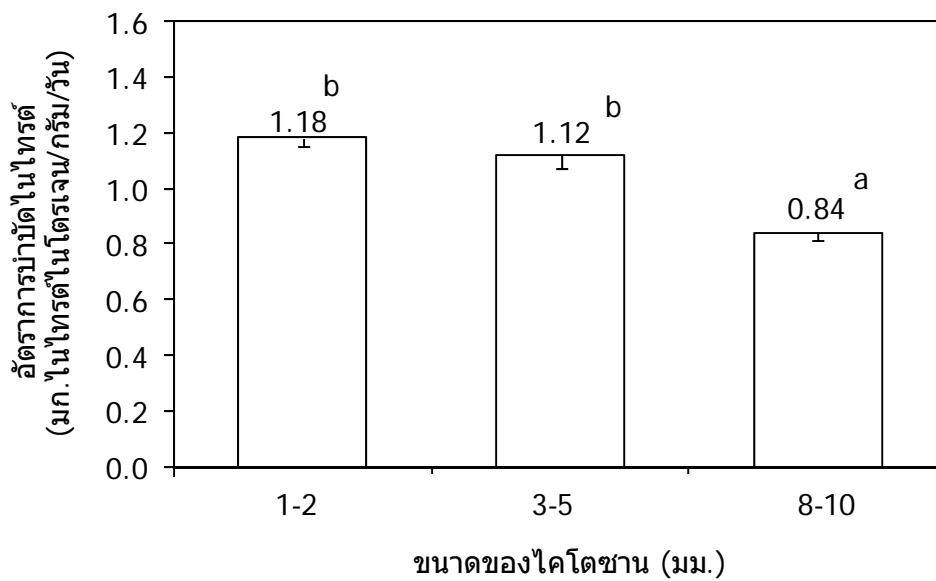
รูปที่ 4.8 อัตราการบำบัดไนเตรตของโคโตซานที่ทำการปรับพื้นผิวด้วยบัฟเฟอร์ที่พีเอช 5.5 6.5 และ 7.5 หลังนำไปตรึงเชื้อไนเตรตออกซิไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชม. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (แช่น้ำกลั่น) โดยตัวอักษร a-c แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

4.1.3 ขนาดอนุภาคของไคโตซาน

ตัวอย่างไคโตซานที่ใช้ในการศึกษาผลของขนาดอนุภาคของไคโตซาน คือ Chitosan Lot A ซึ่งมีระดับการกำจัดหุอะซิทีลร้อยละ 91.13 ± 0.57 และมีขนาด 3 ระดับดังนี้ คือ ขนาดเล็ก (อยู่ในช่วง 1-2 มม.) ขนาดกลาง (อยู่ในช่วง 3-5 มม.) และขนาดใหญ่ (อยู่ในช่วง 8-10 มม.) จากนั้นนำไคโตซานแต่ละขนาดจำนวน 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 70% เอทานอล และปรับพื้นผิวของไคโตซานด้วยบัพเฟอร์พีเอช 6.5 ไปตรึงเชื้อในไทรต้ออกซิโดซิงแบคที่เรียเป็นเวลา 24 ชม. และทำการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดในไทรต้ออกซิโดซิงแบคที่เรียที่เรียงเชื้อแล้วพบว่าไคโตซานขนาด 1-2 มม. และ 3-5 มม. สามารถบำบัดในไทรต้ออกซิโดซิงแบคที่เรียได้เร็วกว่า 0.30 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ภายในระยะเวลาเพียง 2 ชม. โดยมีอัตราการบำบัดในไทรต้ออกซิโดซิงแบคที่เรียเท่ากับ 1.18 ± 0.03 และ 1.12 ± 0.05 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน ตามลำดับ ในขณะที่ไคโตซานขนาด 8-10 มม. ใช้เวลาในการบำบัดในไทรต้ออกซิโดซิงแบคที่เรียมากกว่า 2 ชม. โดยมีอัตราการบำบัดในไทรต้ออกซิโดซิงแบคที่เรียเท่ากับ 0.84 ± 0.03 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน ดังแสดงในรูปที่ 4.9 และ 4.10 จากการทดสอบทางสถิติพบว่าไคโตซานขนาด 1-2 มม. และ 3-5 มม. มีอัตราการบำบัดในไทรต้ออกซิโดซิงแบคที่เรียไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เนื่องจากพื้นที่ผิวจำเพาะของไคโตซานขนาด 1-2 มม. และ 3-5 มม. มีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.41 และ 2.39 ตร.ม.ต่อกรัม ตามลำดับ จากการรายงานของ Manju และคณะ (2009) ที่ได้ทดลองตรึงเชื้อในทริฟายอิงแบคที่เรียบนอนุภาคของไม้ที่แตกต่างกัน 5 ขนาด และนำไปบำบัดในไทรต้ออกซิโดซิงแบคที่เรียพบว่าอนุภาคเนื้อไม้ขนาด 0.3-1.5 มม. ซึ่งมีพื้นที่ผิว 1.87 ตร.ม.ต่อกรัม มีประสิทธิภาพในการบำบัดในไทรต้ออกซิโดซิงแบคที่เรียได้ดีที่สุด จากผลการทดลองนี้จึงเลือกใช้ไคโตซานขนาด 1-2 มม. เป็นขนาดที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการทดลองลำดับต่อไป



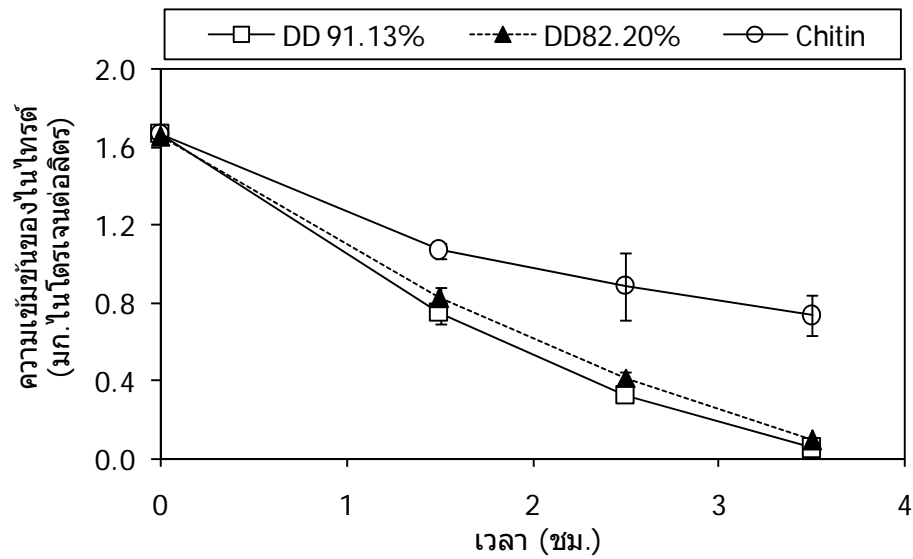
รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรเจนของไนไทรต์ด้วยโคโตซาน 3 ขนาด ภายหลังจากการนำไปตรึงเชื้อไนไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชม.



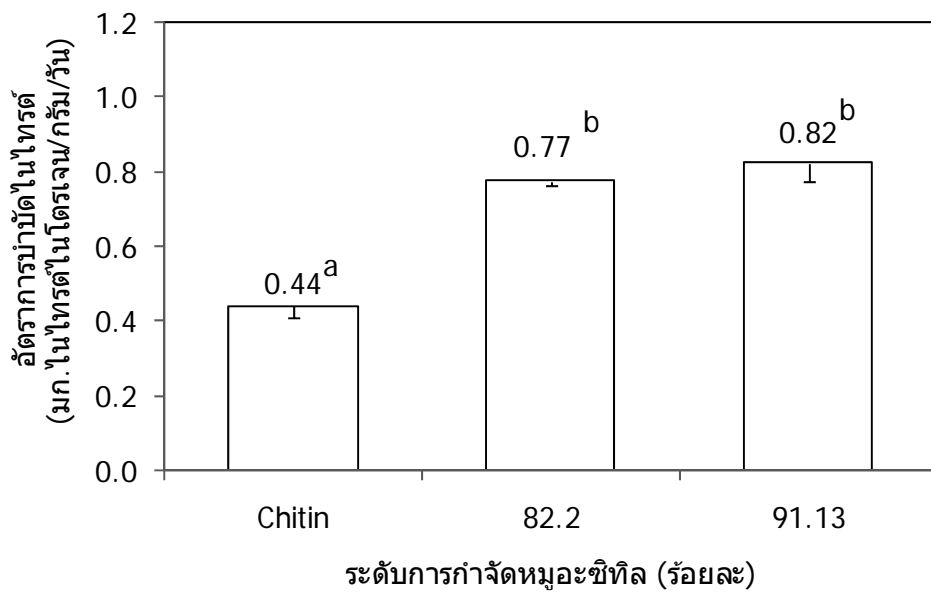
รูปที่ 4.10 อัตราการบำบัดไนโตรเจนของโคโตซาน 3 ขนาด ภายหลังจากการนำไปตรึงเชื้อไนไทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชม. โดยตัวอักษร a และ b แสดงถึงค่าความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

4.1.4 ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของไคโตซาน

นำไคตินและไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล 2 ระดับ ได้แก่ Chitosan D82 และ Chitosan Lot A ซึ่งมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 82.20±0.71 และ 91.13 ±0.57 ตามลำดับ ขนาด 1-2 มม. จำนวน 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 70% เอทานอล และทำการปรับพื้นผิวของไคโตซานด้วยบัฟเฟอร์ที่พีเอช 6.5 จากนั้นนำไปตรึงกับเชื้อไนโทรคอกซีไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชม. และทำการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดไนโทรคอกซีไดซิงแบคทีเรียที่ตรึงแล้ว พบว่าไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 82.20±0.71 และ 91.13 ±0.57 สามารถบำบัดไนโทรคอกซีไดซิงแบคทีเรียได้น้อยกว่า 0.10 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ภายในระยะเวลาประมาณ 3.5 ชม. โดยมีอัตราการบำบัดไนโทรคอกซีไดซิงแบคทีเรียเท่ากับ 0.77±0.01 และ 0.82±0.05 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน ตามลำดับ ในขณะที่ไคตินสามารถบำบัดไนโทรคอกซีไดซิงแบคทีเรียได้เพียง 0.74 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ใช้เวลา 3.5 ชม. โดยมีอัตราการบำบัดไนโทรคอกซีไดซิงแบคทีเรียเท่ากับ 0.44±0.03 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน ดังรูปที่ 4.11 และ 4.12 จากการทดสอบทางสถิติพบว่าไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 82.20±0.71 และ 91.13 ±0.57 มีอัตราการบำบัดไนโทรคอกซีไดซิงแบคทีเรียไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าการใช้ไคโตซานเป็นวัสดุในการเกาะติดเชื้อ NOB นั้นควรเลือกใช้ไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลตั้งแต่ร้อยละ 80 ขึ้นไป จากปรากฏการณ์ดังกล่าวสามารถอธิบายได้ว่า ไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 80 ขึ้นไป เมื่อนำไปปรับพื้นผิวที่พีเอช 6.5 จะทำให้พื้นผิวของไคโตซานมีประจุเป็นบวก อันเนื่องมาจากหมู่เอมีน ($-NH_2$) รับโปรตอนและเปลี่ยนเป็นหมู่แอมโมเนียม ($-NH_3^+$) ซึ่งประจุบวกดังกล่าวจะสร้างพันธะอิเลคโตรสแตติก (Electrostatic Interaction) กับประจุลบบนพื้นผิวของแบคทีเรียและสะสมบนพื้นผิวไคโตซาน ในขณะที่ไคตินในสภาวะดังกล่าวจะมีประจุบวกลittle เนื่องจากในธรรมชาติไคตินจะมีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 10-15 (Lertsutthiwong และคณะ, 2002) ทำให้อัตราการเกาะติดของแบคทีเรียน้อยกว่าไคโตซาน



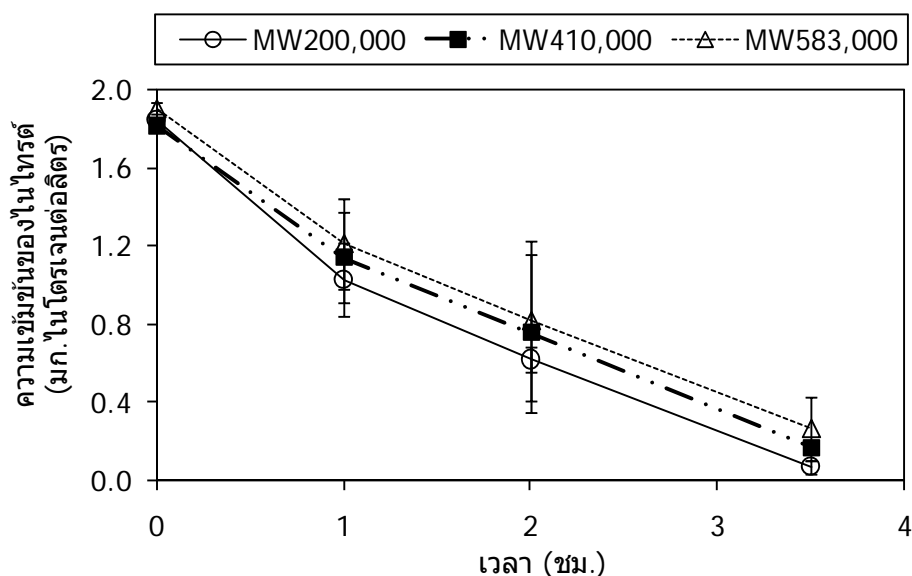
รูปที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรเจนของไนโทรต์ด้วยไคตินและไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหุ่อะซีทิล 2 ระดับ ภายหลังจากการนำไปตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซีไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชม.



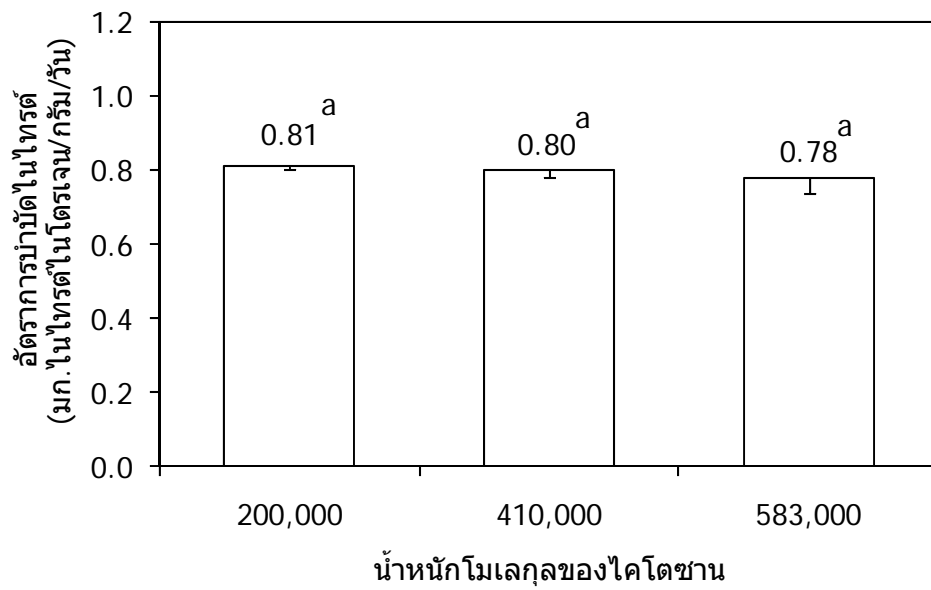
รูปที่ 4.12 อัตราการบำบัดไนโทรต์ของไนโทรต์ของไคตินและไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหุ่อะซีทิล 2 ระดับ ภายหลังจากการนำไปตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซีไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชม. โดยตัวอักษร a และ b แสดงถึงค่าความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

4.1.5 น้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน

นำไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ Chitosan B, Chitosan Lot A และ Chitosan Ex II (เพรียงทราย) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 2.00×10^5 , 4.10×10^5 และ 5.80×10^5 ดาลตัน ตามลำดับ ขนาด 1-2 มม. จำนวน 0.60 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการแช่ใน 70% เอทานอล และปรับพื้นผิวของไคโตซานด้วยบัฟเฟอร์ที่พีเอช 6.5 ไปตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชม. และทำการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดไนโทรต์ของไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว พบว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันมีความสามารถในการบำบัดไนโทรต์ใกล้เคียงกัน โดยสามารถบำบัดไนโทรต์ลดลงเหลือน้อยกว่า 0.40 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรภายในระยะเวลาประมาณ 3 ชม. ซึ่งมีอัตราการบำบัดไนโทรต์เฉลี่ยเท่ากับ 0.81 ± 0.01 , 0.80 ± 0.02 และ 0.78 ± 0.04 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.13 และ 4.14 โดยจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานทั้ง 3 ระดับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงสามารถสรุปได้ว่าน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานไม่มีผลต่อการตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย



รูปที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโทรต์ด้วยไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 3 ระดับ ภายหลังจากนำไปตรึงเชื้อไนโทรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชม.



รูปที่ 4.14 อัตราการบำบัดไนโตรเจนของโคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 3 ระดับ ภายหลังจากนำไปตรึงเชื้อไนโตรเจนออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชม.

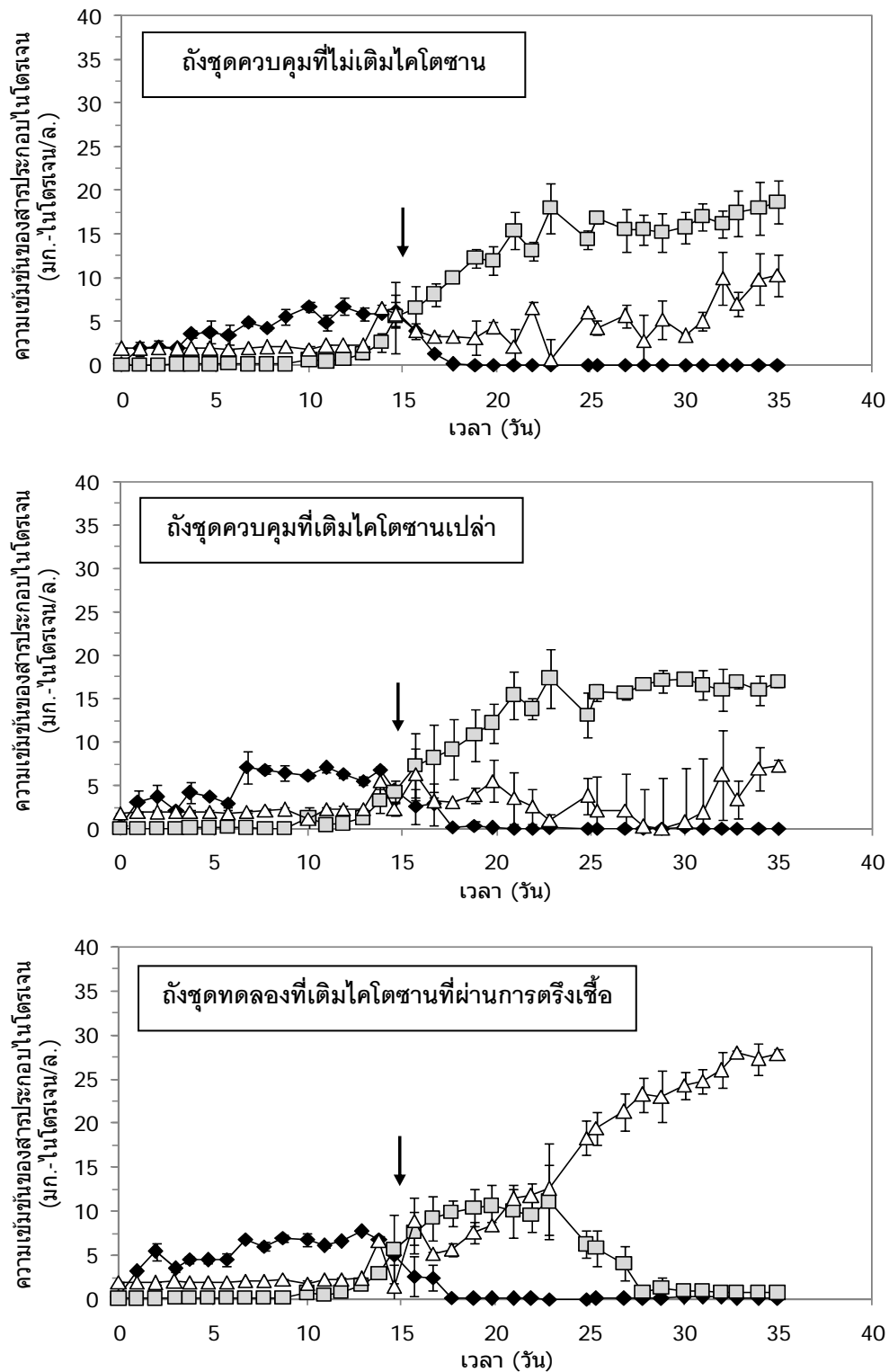
4.2 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำในถังเลี้ยงกุ้งระบบบ่อไร้ดินกลางแจ้งด้วยไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโทรสออกซิโดซิงแบคทีเรีย

การทดลองในช่วงนี้เป็นกรนำไคโตซานที่ผ่านการตรึงหัวเชื้อไนโทรสออกซิโดซิงแบคทีเรียในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองที่ผ่านมา คือ ใช้ตัวอย่าง Chitosan_10/01/11 ปริมาณ 160 กรัม ขนาด 1-2 มม. ที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 91.72 ± 0.32 และน้ำหนักโมเลกุล 7.10×10^5 ดาลตัน มาทำการฆ่าเชื้อด้วย 70% เอทานอลและปรับพื้นผิวของไคโตซานด้วยบัพเฟอร์พีเอช 6.5 และนำไปตรึงเชื้อเป็นเวลา 24 ชม. สำหรับใช้ควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งที่มีการจำลองสภาวะคล้ายจริงของบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบบ่อไร้ดินกลางแจ้งระบบปิด ที่ทำการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม้น้ำหนักเฉลี่ย 6.28 ± 0.98 กรัม ทำการเพาะเลี้ยงคิดเป็นความหนาแน่น 0.6 กก.ต่อลบ.ม. ในถังปฏิกรณ์พลาสติกขนาด 100 ลิตร บรรจุน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู ปริมาตร 80 ลิตร เป็นระยะเวลา 35 วัน โดยไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำตลอดการทดลอง สำหรับการให้อาหารกุ้งนั้นจะใช้อาหารที่มีขายตามท้องตลาด ซึ่งปริมาณที่ให้คำนวณจากร้อยละ 5 ของน้ำหนักตัว โดยทำการเติมไคโตซานลงไปในวันที่ 15 ของการเลี้ยงกุ้ง เนื่องจากเริ่มมีการสะสมของไนโทรสประมาณ 2 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรในถังเลี้ยงกุ้ง และทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของไคโตซานจากการตรวจวัดคุณภาพน้ำและพารามิเตอร์ต่างๆ ในถังเลี้ยงกุ้ง 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมที่ไม่ใส่ไคโตซาน ถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมที่ใส่ไคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) และถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลองที่ใส่ไคโตซานที่ผ่านการตรึงหัวเชื้อไนโทรสออกซิโดซิงแบคทีเรียแล้ว โดยทำการทดลองชุดละ 3 ซ้ำ

4.2.1 คุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้ง

- แอมโมเนีย

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบไนโตรเจนต่างๆ ทั้งความเข้มข้นของแอมโมเนีย ไนโทรส และไนเตรต ในถังเลี้ยงกุ้ง 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุมที่ไม่เติมไคโตซาน ชุดควบคุมที่เติมไคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) เปรียบเทียบกับถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลองที่เติมไคโตซานที่ผ่านการตรึงหัวเชื้อไนโทรสออกซิโดซิงแบคทีเรียแล้ว ผลการทดลองดังรูปที่ 4.15 แสดงให้เห็นว่าแอมโมเนียในถังเลี้ยงกุ้งทั้ง 3 ชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน โดยแอมโมเนียมีการสะสมในน้ำในช่วง 15 วันแรกตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง จากนั้นระบบจะสามารถควบคุมความเข้มข้นของแอมโมเนียให้มีค่าต่ำกว่า 0.2 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรได้ตลอดการทดลอง โดยถังควบคุมที่ไม่เติมไคโตซานมีความเข้มข้นของแอมโมเนียสูงสุดเท่ากับ 6.28 ± 1.82



รูปที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนของตัวอย่างน้ำ จากถังเลี้ยงกุ้งปริมาตร 80 ลิตร ทั้ง 3 ชุดการทดลอง โดยสัญลักษณ์ (◆) แสดงความเข้มข้นแอมโมเนีย (□) แสดงความเข้มข้นไนไตรต์ และ (△) แสดงความเข้มข้นไนเตรต โดย (↓) แสดงวันที่ทำการเติมโคโตซานลงไปในถังเลี้ยงกุ้งปริมาณ 160 กรัม

มก.ไนโตรเจนต่อลิตร และมีแอมโมเนียเฉลี่ยเท่ากับ 2.11 ± 0.35 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ส่วนถึงควบคุมที่เติมโคโคซานเปลา (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) มีความเข้มข้นของแอมโมเนียสูงสุดเท่ากับ 7.13 ± 1.88 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร และมีแอมโมเนียเฉลี่ยเท่ากับ 2.38 ± 0.45 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ส่วนถึงทดลองที่เติมโคโคซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วมีความเข้มข้นของแอมโมเนียสูงสุดเท่ากับ 7.65 ± 0.16 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร และมีแอมโมเนียเฉลี่ยเท่ากับ 2.57 ± 0.23 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร นั่นคือ ผลการทดลองแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าถึงเลี้ยงกุ้งทั้ง 3 ชุดการทดลองมีการสะสมแอมโมเนียอยู่ในน้ำเป็นเวลานาน และมีปริมาณสูงกว่า 2.0 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ซึ่ง Hart และ O'sullivan (1993) กล่าวว่า กุ้งบางชนิดสามารถทนอยู่ในน้ำที่มีแอมโมเนียความเข้มข้นสูงถึง 4.9 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอายุและชนิดของกุ้ง แต่ระดับแอมโมเนียที่ปลอดภัยต่อการเลี้ยงกุ้งควรมีความเข้มข้นไม่เกิน 0.1 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร และหากมีแอมโมเนียอิสระในน้ำมากกว่า 0.4 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร จะทำให้กุ้งเครียดจนอาจจะทำให้กุ้งตายได้ (ชลอ ลิมสุวรรณ และพรเลิศ จันทร์รัชกุล, 2547)

- ไนไตรต์

สำหรับความเข้มข้นของไนไตรต์พบว่าถึงชุดทดลองที่เติมโคโคซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วมีไนไตรต์เฉลี่ย 3.25 ± 1.00 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร และพบว่ามีไนไตรต์สะสมในช่วงวันที่ 13-26 ของการทดลอง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.52-11.05 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร จากนั้นความเข้มข้นของไนไตรต์จะลดลงต่ำกว่า 1.0 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่ถึงชุดควบคุมที่เติมโคโคซานเปลา (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) เริ่มมีการสะสมของไนไตรต์ในวันที่ 12 ของการทดลอง จนมีไนไตรต์สูงสุดเท่ากับ 17.34 ± 3.43 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ในวันที่ 23 ของการทดลอง จากนั้นความเข้มข้นของไนไตรต์ค่อนข้างคงที่อยู่ในช่วง 13-17 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร และมีไนไตรต์เฉลี่ยเท่ากับ 7.02 ± 1.57 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ส่วนถึงชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโคซานลงไปพบว่ามีไนไตรต์มีความเข้มข้นสูงกว่า 5.0 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ในวันที่ 15 ของการทดลอง และมีความเข้มข้นไนไตรต์สะสมสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึง 18.70 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ซึ่งอยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ (Hargreaves, 1998) โดยมีค่าไนไตรต์เฉลี่ยเท่ากับ 8.24 ± 1.15 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร นอกจากนี้ผลจากการทดลองยังระบุว่าถึงเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าไนไตรต์เฉลี่ยสูงกว่า 4.0 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่ไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้ง (ชลอ ลิมสุวรรณ, 2535) แต่จากการทดลองพบว่ากุ้งยังคงมีชีวิตอยู่ได้ โดยสอดคล้องกับรายงานของ Mishra และคณะ (2008) ที่ได้ทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู ที่มีความเข้มข้นของไนไตรต์สูงกว่า 20 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าระดับความเข้มข้นของไนไตรต์

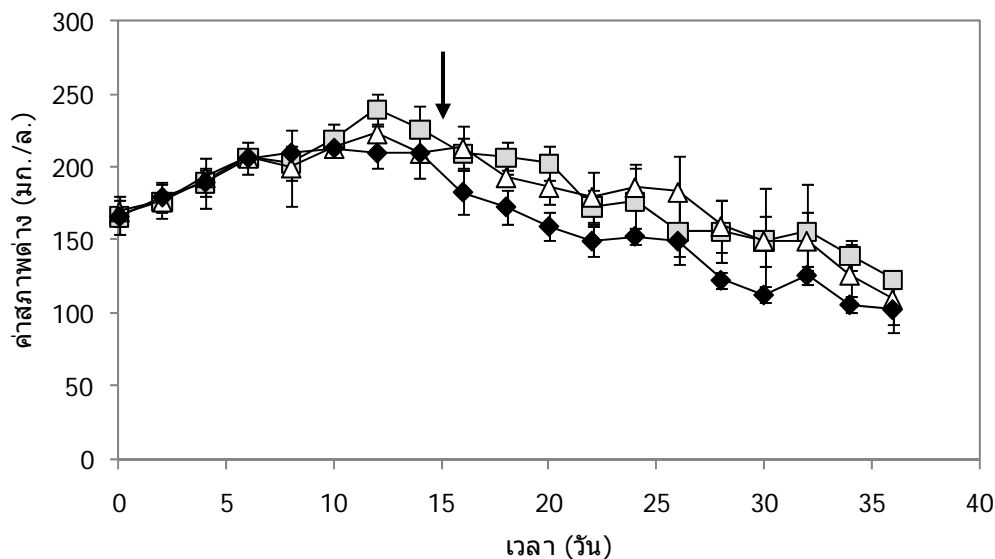
ที่สูงระดับนี้ยังไม่ทำให้กุ้งตายในทันที ทั้งนี้ Hart และ O'sullivan (1993) ยังกล่าวเพิ่มเติมว่ากุ้งบางชนิดสามารถทนอยู่ในน้ำที่มีไนโตรเจนความเข้มข้นสูงถึง 60 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ได้เป็นเวลานานก่อนที่จะค่อยๆ ตายเนื่องจากพิษของไนโตรเจน

- ไนเตรต

สำหรับความเข้มข้นของไนเตรตในถังชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโคซานลงไปในถังและชุดควบคุมที่เติมโคโคซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) มีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน โดยในช่วง 13 วันแรกของการทดลองความเข้มข้นของไนเตรตค่อนข้างคงที่ในช่วง 2 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร หลังจากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงตลอดการทดลองจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งถึงชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโคซานลงไปในถังมีความเข้มข้นไนเตรตเฉลี่ยเท่ากับ 3.93 ± 2.54 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร จนเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีความเข้มข้นของไนเตรตเท่ากับ 10.30 ± 2.40 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ส่วนถึงชุดควบคุมที่เติมโคโคซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) มีความเข้มข้นไนเตรตเฉลี่ยเท่ากับ 2.84 ± 1.83 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร จนเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีความเข้มข้นของไนเตรตเท่ากับ 7.30 ± 0.61 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร โดยจะเห็นได้ว่าทั้ง 2 ชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนเตรตไม่แตกต่างกันมากนัก และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีไนเตรตสะสมอยู่ในน้ำในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แต่ในถังชุดทดลองที่เติมโคโคซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วพบว่าความเข้มข้นของไนเตรตมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 10.59 ± 9.81 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร และมีไนเตรตสะสมสูงขึ้นเรื่อยๆ จนเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าในไนเตรตสะสมในน้ำสูงถึง 27.80 ± 0.60 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ซึ่งตัวเลขดังกล่าวถือว่ายังอยู่ในช่วงความเข้มข้นต่ำที่ยังไม่ส่งผลต่อสัตว์น้ำ เนื่องจากไนเตรตเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่จัดว่ามีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับแอมโมเนียและไนไตรต์ โดย Whiston และคณะ (1994) ได้เสนอไว้ว่าความเข้มข้นของไนเตรตที่ปลอดภัยต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำไม่ควรสูงกว่า 50 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร เนื่องจากเป็นปริมาณที่จะทำให้เกิดความเครียดในสัตว์น้ำได้ ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยต่อการเลี้ยงกุ้งควรมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำออกจากถังเลี้ยงกุ้ง นอกจากนี้ Muir และคณะ (1991) รายงานว่าที่ระดับความเข้มข้นของไนเตรต 100 มก.ไนโตรเจนต่อลิตรจะทำให้กุ้งตายเช่นเดียวกับ Hart และ O'sullivan (1993) ที่สรุปว่าในระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำไม่ควรมีความเข้มข้นของไนเตรตสูงกว่า 100 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร

- ค่าสภาพต่างของน้ำ

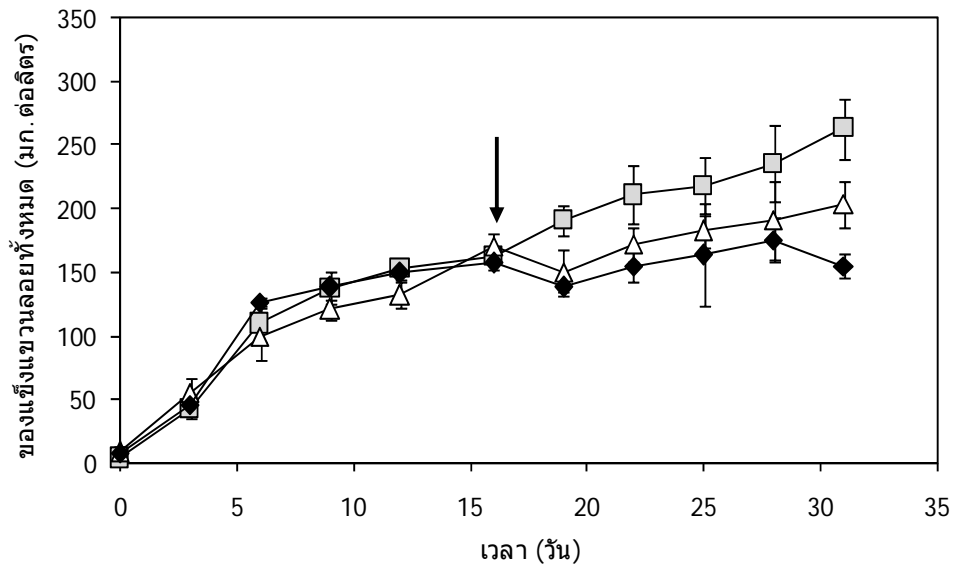
ก่อนเริ่มทำการทดลองได้มีการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตลงในถังเลี้ยงกุ้งเพื่อปรับค่าสภาพต่างของน้ำให้มีความเข้มข้นประมาณ 150 มก.ต่อลิตร โดยจากการทดลองพบว่าน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งทุกถังการทดลองมีค่าสภาพต่างเพิ่มขึ้นในช่วง 12 วันแรกของการทดลอง และเมื่อเติมโคโคซานลงไปในถังเลี้ยงกุ้งในวันที่ 15 ของการทดลอง พบว่าค่าสภาพต่างในน้ำมีค่าลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 100-130 มก.ต่อลิตร ดังรูปที่ 4.16 ซึ่งมีรายงานว่าค่าสภาพต่างที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการทำงานของตัวกรองไนทริฟิเคชันต้องมีค่าไม่ต่ำกว่า 100 มก.ต่อลิตร (Hart และ O'sullivan, 1993) โดยจากการลดลงของค่าสภาพต่างในถังเลี้ยงกุ้งทั้ง 3 ชุดการทดลองอาจเป็นการช่วยยืนยันได้ว่ามีกระบวนการไนทริฟิเคชันเกิดขึ้นภายในถังเลี้ยงกุ้งทุกถัง เนื่องจากค่าสภาพต่างที่ลดลงส่วนหนึ่งเกิดจากการที่ไนทริไฟอิงแบคทีเรียนำคาร์บอนจากโซเดียมไบคาร์บอเนตมาใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโต ซึ่งโดยทั่วไปแล้วไนทริไฟอิงแบคทีเรียต้องการค่าสภาพต่างในรูปแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ปริมาณ 7.14 กรัม ในการออกซิไดซ์แอมโมเนียเป็นไนเตรต (Tchobanoglous และคณะ, 2004) และกระบวนการไนทริฟิเคชันนั้นยังเป็นกระบวนการที่ผลิตกรดทำให้ในน้ำมีไฮโดรเจนอิออนอิสระ ซึ่งส่งผลให้พีเอชของน้ำลดลง (มนวิกานต์ ขจรบุญ, 2551) ดังนั้นการเติมไบคาร์บอเนตจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบปิดที่มีตัวกรองชีวภาพไนทริฟิเคชัน เมื่อค่าสภาพต่างของน้ำภายในระบบมีค่าต่ำกว่า 100 มก.ต่อลิตร เพื่อคงการเติบโตของไนทริไฟอิงแบคทีเรียและควบคุมสภาพพีเอชของน้ำ



รูปที่ 4.16 ค่าสภาพต่างในมวณน้ำของถังเลี้ยงกุ้งทุกชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้ง 35 วัน ในถังชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโตซาน (□) ถังชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (△) และถังชุดทดลองที่เติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว (◆) โดย (↓) แสดงวันที่ทำการเติมโคโตซานลงไปในถังเลี้ยงกุ้ง

- ปริมาณของแข็งแขวนลอย

ปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำจากการทดลองพบว่าน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งทุกถังการทดลอง มีปริมาณของแข็งแขวนลอยเพิ่มขึ้นในช่วง 15 วันแรกของการทดลอง และเมื่อเติมโคโตซานลงไป ในถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลองที่เติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อและชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) ในวันที่ 15 ของการทดลอง พบว่าปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำมีค่าลดลงและค่อยๆเพิ่มขึ้นอีกครั้งจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง โดยมีปริมาณของแข็งแขวนลอยเท่ากับ 155.33 ± 9.50 มก.ต่อลิตร และ 204.17 ± 18.54 ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโตซานมีปริมาณของแข็งแขวนลอยเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 263.56 ± 23.48 มก.ต่อลิตร ดังรูปที่.4.17 ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสามารถของโคโตซานในการดักจับตะกอนที่แขวนลอยในน้ำ ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนว่าในถังเลี้ยงกุ้งที่เติมโคโตซานนั้นจะมีปริมาณตะกอนที่แขวนลอยน้อยกว่าถังเลี้ยงกุ้งที่ไม่เติมโคโตซาน ดังนั้นโคโตซานนอกจากจะทำหน้าที่เป็นที่ยึดเกาะของไนทรีฟอิงแบคทีเรียแล้ว ยังสามารถทำหน้าที่ลดปริมาณของแข็งแขวนลอยในน้ำไปพร้อมกัน



รูปที่ 4.17 ปริมาณของแข็งแขวนลอยในมวณ้ำของถึงเลี้ยงกุ้งทุกชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้ง 35 วัน ในถึงชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโตซาน (□) ถึงชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (△) และถึงชุดทดลองที่เติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว (◆) โดย (↓) แสดงวันที่ทำการเติมโคโตซานลงไปในถึงเลี้ยงกุ้ง

- คุณภาพน้ำอื่นๆ

คุณภาพน้ำด้านกายภาพอื่นๆ ในถึงชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโตซาน ถึงชุดควบคุมที่เติมโคโตซาน (ที่ยังไม่ผ่านการใช้งาน) และถึงชุดทดลองที่โคโตซานที่ตรึงหัวเชื้อแล้ว ในระหว่างการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม่เป็นเวลา 35 วัน แสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 พารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้ง 3 ถัง เมื่อทำการทดลองเป็นเวลา 35 วัน

คุณภาพน้ำ	ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่าต่ำสุด - ค่าสูงสุด)		
	ถึงชุดควบคุม	ถึงชุดทดลอง	
		ไม่เติมโคโคซาน	เติมโคโคซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ)
แอมโมเนีย (มก.ไนโตรเจนต่อลิตร)	2.11 \pm 0.35 (0.00-6.70)	2.38 \pm 0.45 (0.00-7.13)	2.57 \pm 0.29 (0.00-7.65)
ไนโตรต์ (มก.ไนโตรเจนต่อลิตร)	8.30 \pm 1.26 (0.02-18.70)	7.02 \pm 1.57 (0.01-14.77)	3.25 \pm 1.00 (0.01-11.05)
ไนเตรต (มก.ไนโตรเจนต่อลิตร)	12.17 \pm 1.06 (1.92-29.00)	10.92 \pm 1.95 (1.84-24.23)	13.84 \pm 1.04 (1.85-28.79)
ออกซิเจนละลายน้ำ (มก.ต่อลิตร)	6.25 \pm 0.12 (6.1-6.4)	6.27 \pm 0.16 (6.0-6.4)	6.24 \pm 0.12 (6.1-6.4)
พีเอช	7.96 \pm 0.10 (7.42-8.34)	7.89 \pm 1.12 (7.57-8.18)	7.91 \pm 1.12 (7.59-8.11)
ความเค็ม (พีเอสยู)	31.17 \pm 0.35 (30.00-34.33)	31.20 \pm 0.37 (30.00-34.33)	31.13 \pm 0.53 (30.00-34.00)
ค่าสภาพต่าง (มก.ต่อลิตร)	183.33 \pm 14.51 (123-240)	180.70 \pm 14.06 (110-223)	164.74 \pm 7.83 (1000-213)
อุณหภูมิ ($^{\circ}$ ซ)	27.47 \pm 0.50 (26.7-29.00)	27.34 \pm 0.46 (26.7-29.1)	27.43 \pm 0.48 (26.7-29.0)
ของแข็งแขวนลอยใน วันสุดท้าย (มก.ต่อลิตร)	263.56 \pm 23.48 (236.67-280.00)	204.17 \pm 18.54 (183.00-217.50)	155.33 \pm 9.50 (146.00-165)

1) ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในถังเลี้ยงกุ้งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การกินอาหาร และสุขภาพของกุ้ง ถ้าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม จะทำให้กุ้งเริ่มเกิดการตาย จากผลการตรวจวัดปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในถังเลี้ยงกุ้ง พบว่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในแต่ละชุดการทดลองจะอยู่ในช่วง 6.0-6.4 มก.ต่อลิตร ซึ่งเป็นระดับปรกติที่พบในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วไป โดยสุภัณฑิต นิมรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย (2552) รายงานว่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งคือ ตั้งแต่ 3.60-5.00 มก.ต่อลิตร และ Tookwinas (2000) เสนอว่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งควรมีค่ามากกว่า 3.5 มก.ต่อลิตร ดังนั้นปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในถังเลี้ยงกุ้งทั้ง 3 ถังจากผลการทดลองของงานวิจัยนี้น่าจะเพียงพอต่อความต้องการออกซิเจนของกุ้งและไนโตรไฟอิงแบคทีเรีย

2) อุณหภูมิ

อุณหภูมิของน้ำเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในน้ำ ทั้งสัตว์น้ำสำหรับ และต่อการละลายของออกซิเจน ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมจะขึ้นอยู่กับอายุ (Wyban และคณะ, 1995) คือในช่วงที่น้ำหนักตัวต่ำกว่า 5 กรัม อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 30 °ซ และสำหรับกุ้งโตจะอยู่ในช่วง 27-30 °ซ (Cuzon และคณะ, 2004) ซึ่งจากการวัดอุณหภูมิในถังเลี้ยงกุ้งขาวในการทดลองนี้พบว่าอุณหภูมิของน้ำจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 26.7-29.1 °ซ ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่อยู่ระหว่างค่าที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (ชลอ ลิมสุวรรณ และพรเลิศ จันทร์รัชกุล, 2547)

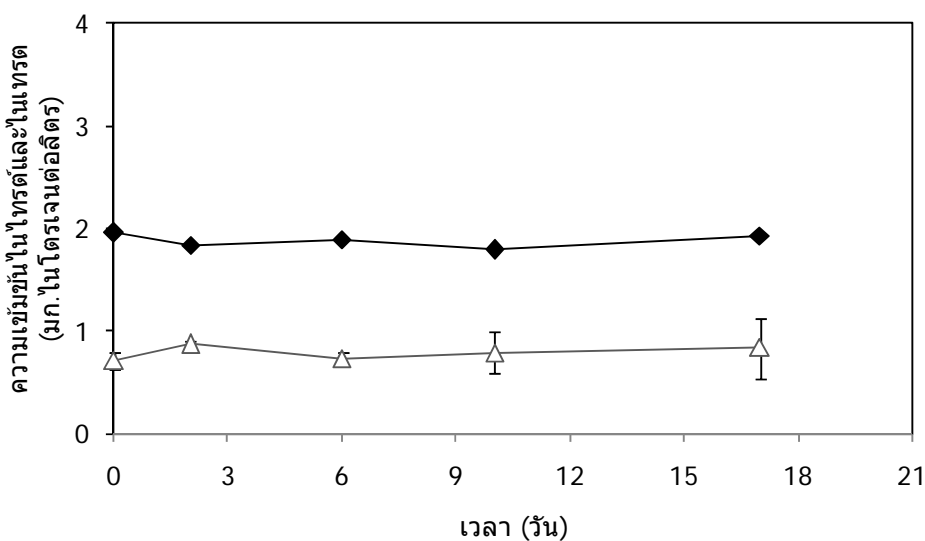
3) พีเอชและความเค็ม

ค่าพีเอชในถังเลี้ยงกุ้งทุกชุดการทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 7-8 ซึ่งจัดว่าเป็นระดับพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและอยู่อาศัยของกุ้งขาวแวนนาไม (เอกชัย มาลาพล, 2551) และสำหรับค่าความเค็มของน้ำในถังเลี้ยงกุ้งพบว่ามีค่าประมาณ 31-32 พีเอสยู ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (ชลอ ลิมสุวรรณ และพรเลิศ จันทร์รัชกุล, 2547)

4.2.2 อัตราการบำบัดไนโตรเจนของโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรตอกซีไดซิงแบคทีเรีย

- การเปลี่ยนแปลงสารประกอบไนโตรเจนของน้ำในถังเพาะเลี้ยงกุ้ง

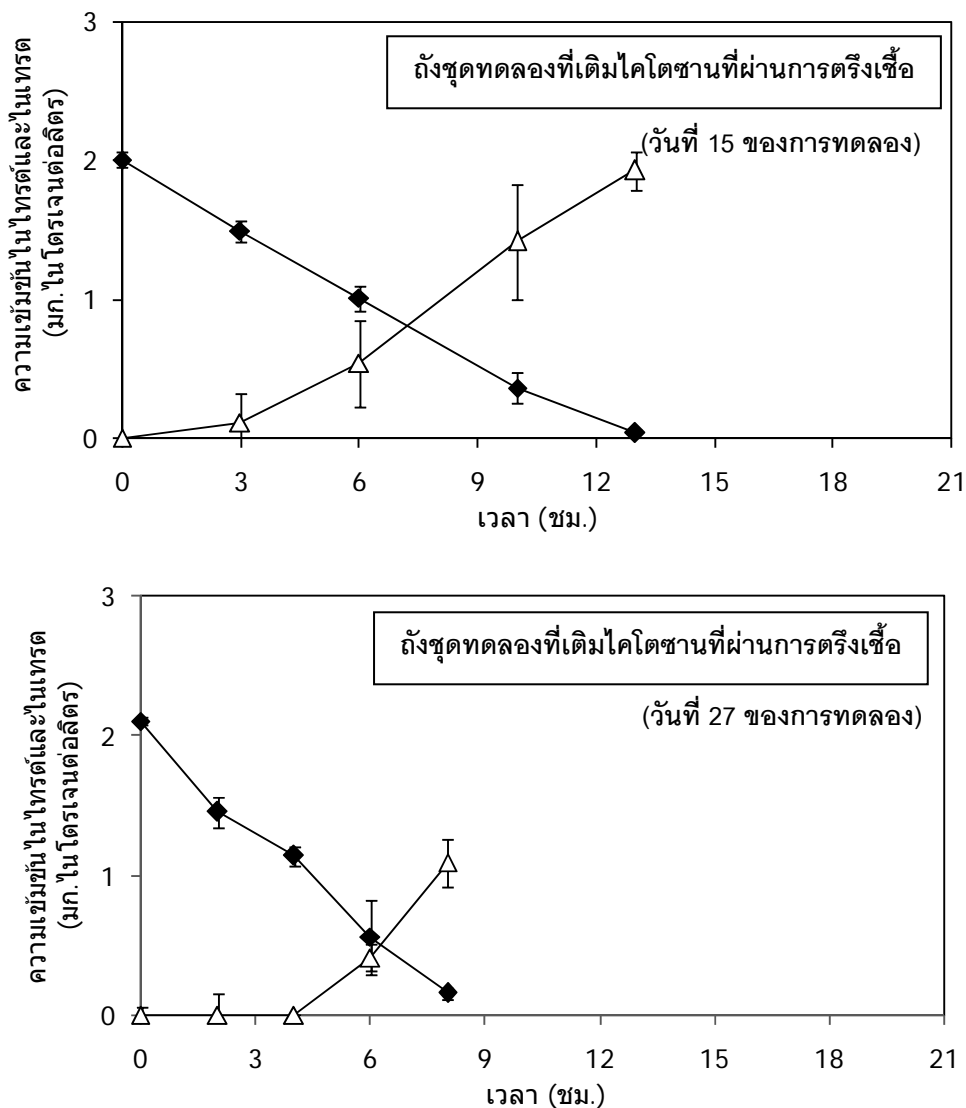
สำหรับงานวิจัยนี้ประกอบไปด้วยถังเลี้ยงกุ้งที่ทำการเติมโคโตซานจำนวน 2 ชุดการทดลอง คือ ถังชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) และถังชุดทดลองที่เติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว โดยทำการสุ่มตัวอย่างโคโตซานในแต่ละถังมาตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโตรเจนในวันแรกที่เติมโคโตซาน (วันที่ 15 ของการทดลอง) และหลังจากเติมโคโตซานลงไปแล้ว 2 สัปดาห์ (วันที่ 27 ของการทดลอง) ผลการทดลองดังรูปที่ 4.18 แสดงให้เห็นว่าโคโตซานจากถังชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) มีค่าอัตราการบำบัดไนโตรเจนเฉลี่ยเท่ากับ 0.04 ± 0.05 มก.ไนโตรเจนไนโตรเจนต่อตร.ม.ต่อวัน โดยไนโตรเจนและไนเตรตมีค่าค่อนข้างคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลา 18 ชม.



รูปที่ 4.18 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรเจนและไนเตรตด้วยโคโตซานจากถังชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) เมื่อทำการเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 27 วัน โดยสัญลักษณ์ (◆) แสดงความเข้มข้นไนโตรเจน และ (△) แสดงความเข้มข้นไนเตรต

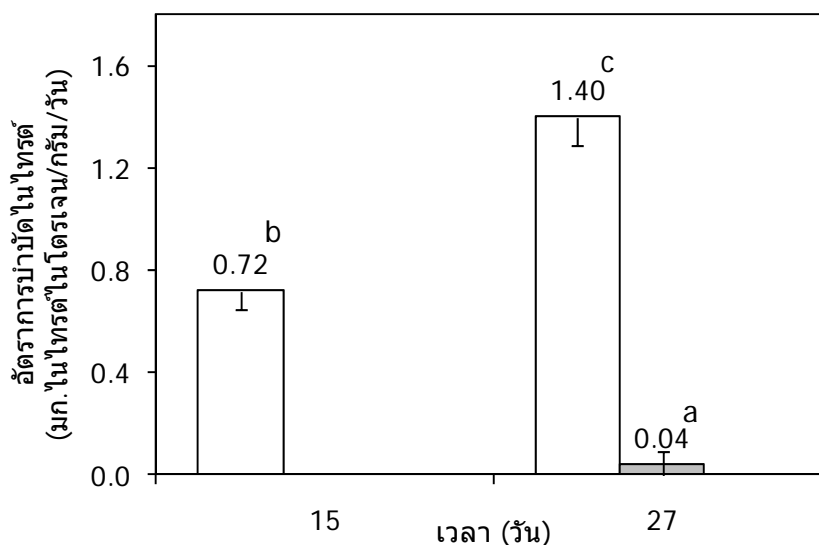
ส่วนผลการทดลองดังรูปที่ 4.19 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรเจนและไนเตรตของโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว โดยในวันแรกที่เติมลงในถังเลี้ยงกุ้งพบว่าอัตราการบำบัดไนโตรเจนเฉลี่ยเท่ากับ 0.72 ± 0.07 มก.ไนโตรเจนไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน และใช้เวลาประมาณ 10 ชม. ในการลดความเข้มข้นของไนโตรเจนในน้ำให้มีค่าต่ำกว่า 0.4 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ส่งผลให้

ความเข้มข้นของไนเตรตที่ตรวจวัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นโดยมีความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 1.93 มก. ไนโตรเจนต่อลิตร ส่วนผลการตรวจวัดอัตราการไนโทรตีของโคโตซานที่เติมลงไปในปีเลี้ยงกุ้งในวันที่ 27 ของการทดลอง พบว่าโคโตซานที่นำมาจากถังชุดทดลองที่เติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วมีอัตราการบำบัดไนโทรตีเฉลี่ยเท่ากับ 1.40 ± 0.11 มก.ไนโทรตีไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน และใช้เวลาประมาณ 7 ชม. ในการลดไนโทรตีให้มีความเข้มข้นต่ำกว่า 0.4 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร จึงทำให้ไนเตรตมีความเข้มข้นสูงขึ้นถึง 1.16 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร



รูปที่ 4.19 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโทรตีและไนเตรตของตัวอย่างน้ำในถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลอง เมื่อเติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วลงไปในวันแรก (วันที่ 15 ของการทดลอง) และหลังการเพาะเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (วันที่ 27 ของการทดลอง) โดยสัญลักษณ์ (◆) แสดงความเข้มข้นไนโทรตี และ (△) แสดงความเข้มข้นไนเตรต

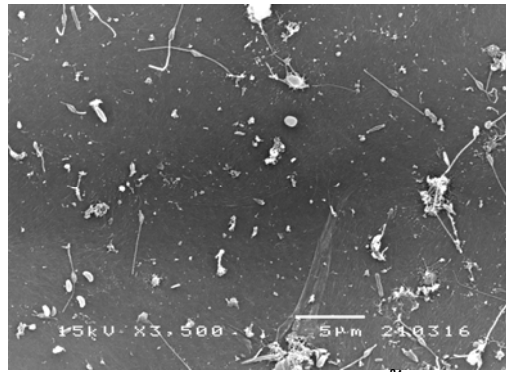
เมื่อสิ้นสุดการตรวจวัดผลการทดลองแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อก่อนใช้งานมีประสิทธิภาพสูงกว่าไคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) ในการบำบัดไนโตรเจนในถังเลี้ยงกุ้ง โดยผลการเปรียบเทียบอัตราการบำบัดไนโตรเจนของไคโตซานในการทดลองนี้แสดงดังรูปที่ 4.20 พบว่าระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งที่นานขึ้นมีผลทำให้อัตราการบำบัดไนโตรเจนมีค่าสูงขึ้น น่าจะเป็นผลมาจากแบคทีเรียกลุ่ม NOB มีการเติบโตที่ดีและเพิ่มจำนวนมากขึ้น และภายในถังเลี้ยงกุ้งทั้งสองนั้นมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มนี้ ซึ่งพบว่าไคโตซานจากถังชุดทดลองที่เติมไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วมีอัตราการบำบัดไนโตรเจนสูงกว่าถังชุดควบคุมที่เติมไคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) น่าจะเป็นเพราะตัวกรองที่ผ่านการตรึงมี NOB จำนวนหนึ่งอยู่บนผิวของไคโตซาน ดังนั้นเมื่อนำไคโตซานมาใส่ในถังเลี้ยงกุ้งที่มีสภาวะที่เหมาะสมทำให้แบคทีเรียกลุ่ม NOB เพิ่มจำนวนมากขึ้น ซึ่งแตกต่างจากไคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) ซึ่งจะต้องใช้เวลาที่นานกว่าในการตรึงเชื้อแบคทีเรีย NOB ให้มายึดเกาะอยู่บนผิวของตัวกรองชีวภาพ



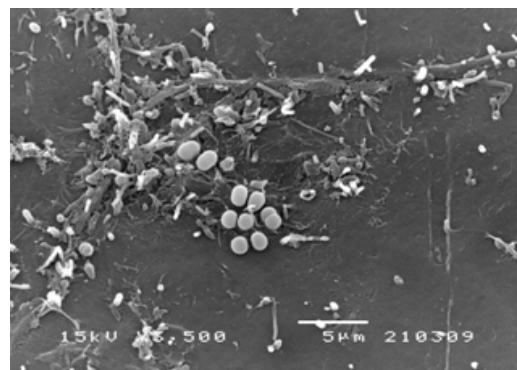
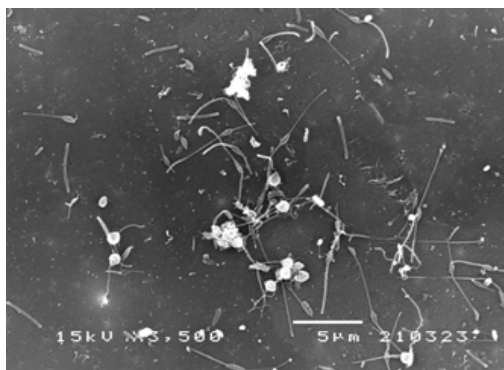
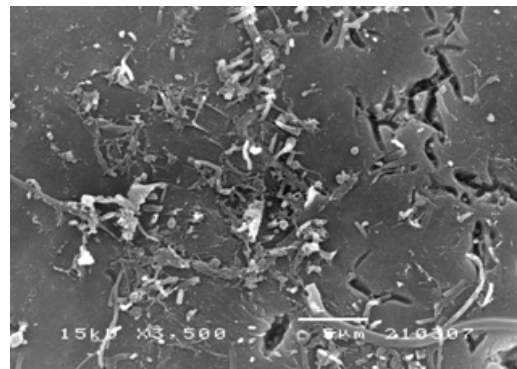
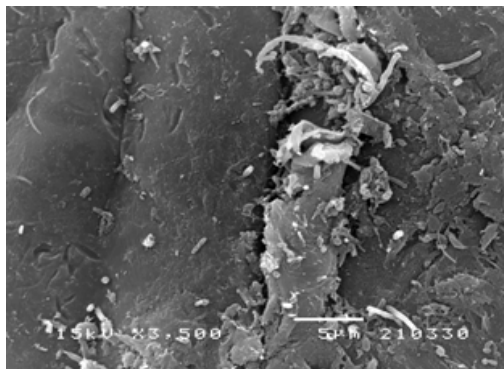
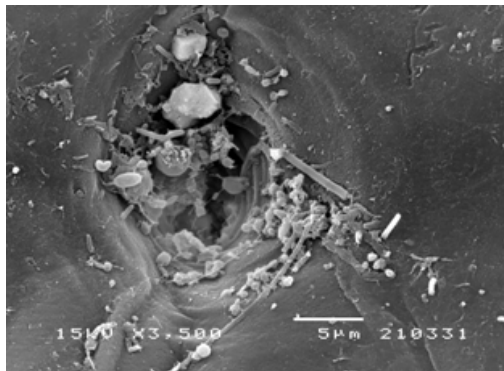
รูปที่ 4.20 อัตราการบำบัดไนโตรเจนของไคโตซานที่สุ่มตัวอย่างมาจากถังชุดควบคุมที่เติมไคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) (■) และจากถังชุดทดลองที่เติมไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว (□) ในวันที่ 15 และ 27 ของการทดลอง โดยตัวอักษร a-c แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

- การตรวจสอบแบคทีเรียที่พื้นผิวโคโตซาน

เมื่อทำการตรวจสอบการเกาะติดของเชื้อแบคทีเรียบนผิวของโคโตซานโดยใช้การส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.21 โดยพบว่าโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วเป็นเวลา 24 ชม. ก่อนนำมาเติมลงในถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลอง จะสังเกตเห็นว่ามีแบคทีเรียรูปท่อน (Rod) เกาะอยู่อย่างกระจัดกระจาย โดยมีปริมาณแบคทีเรียเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อนำโคโตซานจากถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) และถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลองที่เติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วภายหลังเมื่อสิ้นสุดการทดลอง มาส่องตรวจดูอีกครั้ง จะพบว่ามีเกาะติดของแบคทีเรียรูปท่อนกระจายอยู่บนผิวของโคโตซานเป็นจำนวนมากขึ้น โดยมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างโคโตซานจากถังเลี้ยงกุ้งทั้งสอง ซึ่งโคโตซานจากถังชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) พบว่ามีแบคทีเรียเส้นใยและแบคทีเรียรูปแท่งกระจายอยู่บนผิวของโคโตซานบ้างเล็กน้อย ส่วนถังชุดทดลองที่เติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว พบว่ามีแบคทีเรียรูปท่อนมากมายมาเกาะติดที่พื้นผิวจนเกิดเป็นชั้นฟิล์มที่มีความหนามากขึ้น และยังพบจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอมเกิดขึ้นด้วย โดยงานวิจัยของ ปกฉัตร ชูติวิศุทธิ์ (2552) ทำการเลี้ยงกุ้งขาวในถังพลาสติกไร้ดินกลางแจ้ง พบว่าหลังจากทำการเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์มีจุลสาหร่ายเกิดขึ้นซึ่งเป็นจุลสาหร่ายกลุ่มไดอะตอมสีน้ำตาล



ชุดทดลองก่อนเติมในบ่อเลี้ยงกุ้ง



ชุดควบคุมเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ชุดทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

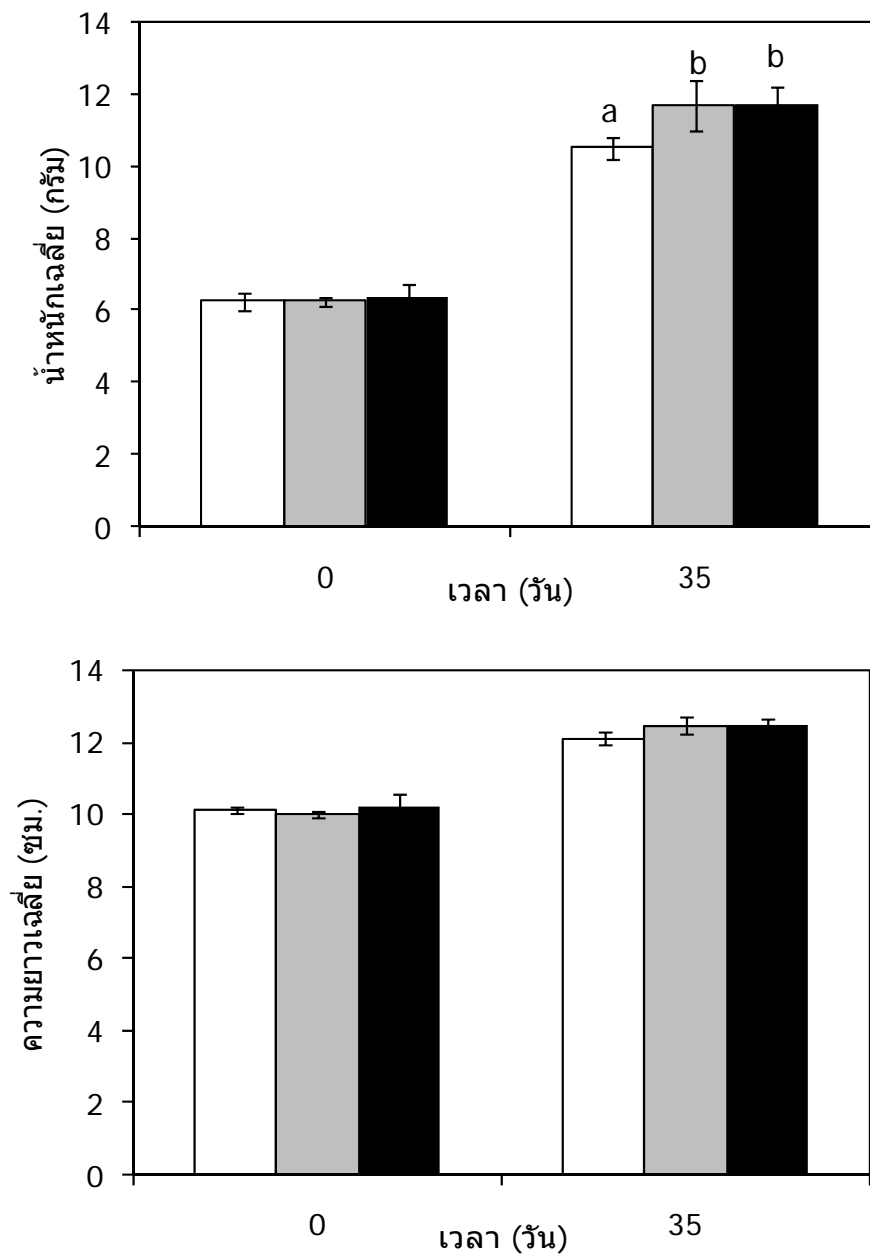
รูปที่ 4.21 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงพื้นผิวของไคโตซานจากถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมและชุดทดลองก่อนเติมลงในบ่อเลี้ยงกุ้ง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กำลังขยาย 3,500 เท่า)

4.2.3 การเลี้ยงกุ้งและอัตราการเจริญเติบโตของกุ้ง

โดยภาพถ่ายของกุ้งในวันสุดท้ายของการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.22 จากการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม่เป็นเวลา 35 วัน โดยปล่อยกุ้งเริ่มต้นในถังที่ความหนาแน่น 0.6 กก.ต่อลบ.ม. โดยกุ้งมีน้ำหนักเฉลี่ย 6.29 ± 0.98 กรัม และความยาวเฉลี่ย 10.11 ± 0.54 ซม. และทำการตรวจวัดอัตราการเติบโตของกุ้งในวันสุดท้ายของการทดลอง ผลการทดลองในรูปที่ 4.23 พบว่ากุ้งจากถังเลี้ยงกุ้งทุกชุดการทดลองมีการเจริญเติบโตขึ้น โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองกุ้งที่เลี้ยงจากถังชุดทดลองที่เติมโคโตซานที่ตรึงหัวเชื้อแล้วมีน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 11.78 ± 0.43 กรัม ส่วนกุ้งจากถังชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) มีค่าเท่ากับ 11.71 ± 0.69 กรัม และกุ้งจากถังชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโตซานมีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 10.53 ± 0.29 กรัม เมื่อวัดความยาวพบว่ากุ้งจากถังเลี้ยงกุ้งทุกชุดการทดลองมีความยาวเพิ่มขึ้นเช่นกัน โดยผลจากการวัดความยาวกุ้งในวันสุดท้ายของการทดลอง พบว่ากุ้งจากถังชุดทดลองที่เติมโคโตซานที่ตรึงหัวเชื้อแล้วมีความยาวเฉลี่ย 12.45 ± 0.18 ซม. ส่วนกุ้งจากถังชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) และถังชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโตซานมีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 12.45 ± 0.24 และ 12.11 ± 0.19 ซม. ตามลำดับ จากการทดสอบทางสถิติพบว่าน้ำหนักและความยาวของกุ้งที่เลี้ยงในถังชุดทดลองที่เติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงหัวเชื้อแล้วและกุ้งที่เลี้ยงจากถังชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) ในวันสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันโดยนัยทางสถิติ ในขณะที่กุ้งจากถังชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโตซานมีน้ำหนักน้อยกว่ากุ้งในถังชุดทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 4.22 ภาพถ่ายกุ้งในระบบทดลองเมื่อทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 35 วัน



รูปที่ 4.23 น้ำหนักเฉลี่ยของกึ่งขาวแวนนาไม (บน) และความยาวเฉลี่ยของกึ่งขาวแวนนาไม (ล่าง) ในถังชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโคซาน (□) ถังชุดควบคุมที่เติมโคโคซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) (▒) และถังชุดทดลองที่เติมโคโคซานที่ตรึงเชื้อแล้ว (■) ในวันที่ 0 และ 35 ของการทดลอง โดยตัวอักษร a และ b แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

โดยทั่วไปแล้วการเติบโตและอัตราการรอดของกุ้งขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ในการเพาะเลี้ยง เช่น คุณภาพน้ำ คุณภาพกุ้ง อายุและขนาดกุ้ง ความหนาแน่น ปริมาณและคุณภาพอาหารที่ทำให้ตลอดการเลี้ยง (Tseng และคณะ, 1998) โดยงานวิจัยนี้ทำการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความหนาแน่น 0.6 กก.ต่อ ลบ.ม. ซึ่งผลการตรวจวัดความยาวกุ้งในแต่ละถังแสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตของกุ้งในทุกถัง โดยชุดทดลองที่เติมโคโคซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วมีอัตราการเจริญเติบโตอยู่ที่ 0.15 กรัมต่อวัน และถึงชุดควบคุมที่เติมโคโคซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) มีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.16 กรัมต่อวัน ซึ่งมีค่าอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับการศึกษาของสรรเสริญ ช่อเจียง และคณะ (2551) ที่รายงานว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ทำการเลี้ยงที่ระดับความหนาแน่น 62.5 ตัวต่อ ตร.ม. มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 0.15 ± 0.03 กรัมต่อวัน ส่วนถึงชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโคซานมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุดเท่ากับ 0.12 กรัมต่อวัน

จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าชุดทดลองที่เติมโคโคซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วมีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 0.95 และมีอัตราการรอดร้อยละ 100 ส่วนถึงชุดควบคุมที่เติมโคโคซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) และชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโคซานมีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 0.98 และ 1.14 และมีอัตราการรอดร้อยละ 95.83 และ 91.67 ตามลำดับ โดยผลการศึกษาของ Balcazar และคณะ (2007) ที่ทำการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 2.2 ± 0.1 กรัม. พบว่ากุ้งมีอัตราการรอดร้อยละ 88.25 และอัตราการแลกเนื้อ 0.75 เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่ามีความอัตราการรอดใกล้เคียงกัน ในขณะที่อัตราการแลกเนื้อจากการศึกษานี้พบว่ามีค่าอัตราการแลกเนื้อที่สูงกว่า ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมจาก 3 ชุดการทดลองตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 35 วัน

ผลการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม	ถึงชุดควบคุม		ถึงชุดทดลอง
	ไม่เติมโคโคซาน	เติมโคโคซานเปล่า	เติมโคโคซานที่ตรงแล้ว
ระยะเวลาการเลี้ยง (วัน)	35	35	35
จำนวนกุ้งเริ่มต้น (ตัว)	8	8	8
จำนวนกุ้งในวันสุดท้าย (ตัว)	7.33±0.58	7.67±0.58	8.00±0.00
น้ำหนักเริ่มต้น (ก./ตัว)	6.26±0.27	6.25±0.14	6.37±0.41
ความยาวเริ่มต้น (ซม.)	10.12±0.45	10.01±0.59	10.19±0.54
น้ำหนักสุดท้าย (ก./ตัว)	10.53±0.29	11.71±0.69	11.78±0.43
ความยาวสุดท้าย (ซม.)	12.11±0.79	12.45±0.69	12.45±0.47
น้ำหนักอาหารทั้งหมด (ก.)	262.85	262.33	267.40
น้ำหนักกุ้งที่ปล่อย (กก./ลบ.ม.)	0.63±0.03	0.62±0.01	0.64±0.04
น้ำหนักกุ้งวันสุดท้าย (กก./ลบ.ม.)	0.97±0.10	1.12±0.05	1.18±0.04
อัตราการเจริญเติบโต (ก./วัน)	0.12±0.02	0.16±0.02	0.15±0.02
ผลผลิต (กก./ไร่)	246.18±26.48	285.24±13.79	300.00±11.05
อัตราการแลกเนื้อ	1.14±0.15	0.98±0.06	0.95±0.03
อัตราการรอดตายวันที่ 35 (ร้อยละ)	91.67±7.22	95.83±7.22	100±0.00

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการของศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรึงเชื้อไนโตรด็อกซีไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซาน พร้อมใช้งาน และศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งจำลองสภาวะเหมือนจริงของระบบบ่อไร่นากลางแจ้ง ซึ่งสามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

5.1.1 ไคโตซานมีศักยภาพใช้เป็นวัสดุในการตรึงเชื้อไนโตรด็อกซีไดซิงแบคทีเรีย โดยประสิทธิภาพในการตรึงเชื้อขึ้นอยู่กับ ระยะเวลาในการตรึงเชื้อ พีเอชที่ใช้ในการปรับสภาพผิวของไคโตซาน ขนาด และระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลของไคโตซาน แต่ไม่ขึ้นกับน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน นอกจากนี้สภาวะที่เหมาะสมในการตรึงได้แก่ ขนาดของไคโตซาน เท่ากับ 1-2 มม. ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลมากกว่าร้อยละ 80 พื้นผิวของไคโตซานควรปรับสภาพด้วยบัฟเฟอร์ พีเอช 6.5 และเวลาที่ใช้ในการตรึงเท่ากับ 24 ชั่วโมง

5.1.2 การตรึงหัวเชื้อไนโตรด็อกซีไดซิงแบคทีเรียบนไคโตซานและนำมาใช้กับถังทดลองเลี้ยงกุ้งขาวขนาด 80 ลิตร ในน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู และเลี้ยงกุ้งน้ำหนักเฉลี่ย 6.29 ± 0.98 กรัม มีความหนาแน่นเริ่มต้นเท่ากับ 0.6 กก.ต่อลบ.ม. เป็นเวลา 35 วัน พบว่าไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรด็อกซีไดซิงแบคทีเรียพร้อมใช้งาน สามารถควบคุมคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีไนโตรเจนเฉลี่ย 3.35 ± 3.95 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ในขณะที่ถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมที่เติมไคโตซานที่ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ และถังชุดควบคุมที่ไม่เติมไคโตซาน พบการสะสมของไนโตรเจนสูงถึง 17.33 และ 18.70 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร ตามลำดับ การตรวจวัดอัตราการบำบัดไนโตรเจนของไคโตซานในระหว่างการเลี้ยงกุ้ง พบว่าไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วมีอัตราการบำบัดไนโตรเจนสูงสุดเท่ากับ 1.40 ± 0.11 มก.ไนโตรเจนต่อกรัมต่อวัน และกุ้งในถังชุดทดลองที่เติมไคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้วมีอัตราการรอดและผลผลิตสูงกว่าถังชุดควบคุม

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงเชื้อไนโตรด็อกซีไดซิงแบคทีเรีย และศึกษาประสิทธิภาพของโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อพร้อมใช้งานในการควบคุมคุณภาพน้ำในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สามารถสรุปเป็นข้อเสนอแนะเพื่องานวิจัยในครั้งต่อไปได้ดังนี้

5.2.1 ควรมีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำของโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรด็อกซีไดซิงแบคทีเรียกับวัสดุตัวกรองที่ใช้ในปัจจุบัน

5.2.2 ควรทำการศึกษาในระดับภาคสนามถึงประสิทธิภาพของโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรด็อกซีไดซิงแบคทีเรียในการควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ

5.2.3 ควรศึกษาวิธีการเก็บรักษาของโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรด็อกซีไดซิงแบคทีเรียและอายุการใช้งาน

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กมลศิริ พันธนียะ. 2546. ไคติน-ไคโตซาน [ออนไลน์]. วิทยาศาสตร์ทั่วไป. แหล่งที่มา: <http://guru.sanook.com/pedia/topic/ไคติน-ไคโตซาน/> [2552, กุมภาพันธ์ 17]
- กรมศุลกากร. 2551(a). สถานการณ์การส่งออกกุ้งของไทย [ออนไลน์]. อุตสาหกรรมกุ้งไทย. แหล่งที่มา: http://www.thailandshrimp.com/industrial_export.html [2552, กุมภาพันธ์ 10]
- กรมศุลกากร. 2551(b). ปริมาณและมูลค่าการส่งออกกุ้งประเภทต่างๆ ปี 2542-2550 [ออนไลน์]. สถิติการส่งออกกุ้ง. แหล่งที่มา: <http://www.thailandshrimp.com/stat.html> [2552, กุมภาพันธ์ 10]
- จิตรวนา จันทร์খনแก่น. 2550. การดูดซับสีย้อมผ้าประเภทรีแอกทีฟด้วยมวลชีวภาพที่ไร้ชีวิตของ *Rhizopus arrhizus* ที่ถูกตรึงอยู่ในเม็ดเจลไคโตซาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จุฑาทิพย์ คเชนทร์มาศ. 2549. การใช้ไคโตซานที่ยึดเกาะด้วยเอนไซม์ในกระบวนการลดสีในน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม. วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต, ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชลอ ลิมสุวรรณ. 2535. คัมภีร์การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: บริษัทฐานเศรษฐกิจ จำกัด.
- ชลอ ลิมสุวรรณ และพรเลิศ จันทร์รัชกุล. 2547. อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: เมจิค พลับพลีเคชั่น.
- ณิชากร คอนดี. 2551. การบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนน้ำมันโดยใช้แบคทีเรียตรึงบนไคโตซาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต, สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นภาพร กิตติศักดิ์. 2541. การศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพน้ำระหว่างระบบหมุนเวียนน้ำทะเลแบบปิดที่มีตัวกรองชีวภาพแบบไบโอเดรัมและแบบได้น้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- ปพิชญา ศรีเทพ. 2553. กลุ่มประชากรและปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อกลุ่มประชากรไนโตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียในบ่อเลี้ยงกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปิยรัตน์ บำรุงสาดี. 2550. การย่อยสลายของโคโคซานในดินภายหลังจากการดูดซับสีย้อมแอซิดกรีน 25. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปกฉัตร ชูติวิศุทธิ์. 2552. ประสิทธิภาพของระบบกรองแบบแบ่งส่วนในการแยกจุลสาหร่ายและอนุภาคสารแขวนลอยเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- พุทธ ส่องแสงจินดา. 2549. การจัดการสารประกอบไนโตรเจนในฟาร์มเลี้ยงกุ้งระบบปิด [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.allvetgroup.com/KungThai/con_detail.php [2551, ตุลาคม 31]
- มะลิวัลย์ คุณตะโค, บุปผา ศรีสัมฤทธิ์, สรวิต เผ่าทองสุข และเปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต. 2550. การใช้ตัวกรองชีวภาพในตริฟิเคชันในการบำบัดไนโตรเจนในถังเลี้ยงสัตว์น้ำกลางแจ้ง. วารสารวิจัยสภาวะแวดล้อม 29: 23-45.
- มนิกานต์ ขจรบุญ. 2551. การคัดเลือกหัวเชื้อไนโตรไฟอิงแบคทีเรียเพื่อการประยุกต์ใช้กับตัวกรองชีวภาพสำหรับระบบน้ำหมุนเวียนของบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งระบบปิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เยาวภา ไหวพริบ. 2534. การผลิตไคตินและโคโคซานจากเปลือกกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รตีวรรณ อ่อนรัศมี, ธิรพงษ์ ธิรมนัส, ดนัย บวรเกียรติกุล และรจฤดี โชติกาวิรินทร์. 2541. การบำบัดน้ำทิ้งจากนาุ้งด้วยระบบบำบัดแบบชีววิทยา. คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- วัจน์ ธีญรส และประชีพ ชูพันธ์. 2542. การใช้หอยนางรม (*Crassostrea belcheri*) เป็นตัวกรองทางชีวภาพในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งทะเลแบบพัฒนา : ผลของระดับความเข้มข้นของอาหารและความเค็มต่ออัตราการกรอง. ในการประชุมสัมมนาทางวิชาการสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 16, หน้า 417-428. 22-24 มกราคม ณ โรงแรมโซฟิเทลราชาออกคิด และวิทยาเขตขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น.
- ศุภณ์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ. 2546. ประโยชน์ของไคตินและโคโคซาน. ใน Chitin Chitosan. หน้า 5-7. กรุงเทพมหานคร.

สรวิศ เผ่าทองสุข, และคนอื่นๆ 2547. การทดสอบประสิทธิภาพของการเลี้ยงกุ้งระบบปิดที่มีการควบคุมคุณภาพน้ำด้วยระบบกรองชีวภาพภายในบ่อ. หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล, สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

สุทธิทิศา บัวนาค. 2547. การกำจัดโครเมียม (เฮกซะเวเลนซ์) นิกเกิล และตะกั่วในน้ำเสียอุตสาหกรรม โดยใช้เกล็ดไคโตซานจากเปลือกกุ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุธาสิณี อ่วมจันทร์. 2546. การเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียในตู้กรองชีวภาพแบบไนโตรฟิเคชันและดีไนโตรฟิเคชันสำหรับเพาะเลี้ยงทางน้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุภัณฑิลา นิรมัตน์ และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างยั่งยืน บทบาทของจุลินทรีย์และการประยุกต์ใช้. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2552.

สุวลี จันทร์กระจ่าง. 2543. ภาพรวมการใช้สารไคติน/ไคโตซานในประเทศไทย. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาเรื่อง เกษตรยุคใหม่กับไคติน-ไคโตซาน ภาค 2. กรุงเทพฯ:มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สรวิศริศ ช่อเจียง, จำเริญศรี พวงแก้ว และจุมเจติ พงศ์มณีรัตน์. 2551. ประสิทธิภาพของการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมผสมผสานกับกุ้งกุลาดำในบ่อดิน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 22, ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งนครศรีธรรมราช.

เอกชัย มาลาพล. 2551. การบำบัดไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงกุ้งแบบบ่อไร้ดินกลางแจ้งโดยตู้กรองชีวภาพไนโตรฟิเคชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Alcaraz, G., Chiappa-Carrara, X., and Vanegas, C. 1997. Temperature tolerance of *Penaeus setiferus* postlarvae exposed to ammonia and nitrite. Aquatic Toxicology 39(3-4): 345-353.

- Annual Book of ASTM Standards. 2006. Standard Test Method for Determining Molecular Weight Distribution and Molecular Weight Averages of Polyolefins by High Temperature Gel Permeation Chromatography. Vol. 08.03. USA: Baltimore.
- AOAC International. 2000. Official Methods of Analysis. 17th edition. Gaithersburg, MD: AOAC Int.
- APHA, AWWA and WEF. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st edition. Washington DC: American Public Health Association.
- Austin, P. R. 1988. Chitin solution and purification of chitin. Method in Enzymology 61: 403-407.
- Balcazar, L. J., Luna, T. R., and Cunningham, P. D. 2007. Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*. Journal of Invertebrate Pathology 96: 147-150.
- Bock, E., and Koops, H. P. 1992. The genus *Nitrobacter* and related genera. In: The prokaryotes. Balows, A., Trüper, H. G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K.-H. (Eds.), 2302-2309, New York: Springer-Verlag.
- Cárdenas, G., Orlando, P., and Edelio, T. 2001. Synthesis and applications of chitosan mercaptanes as heavy metal retention agent. Biological Macromolecules 28: 167-174.
- Chen, J. C., and Chin, S. E. 1992. Accumulation of nitrite in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient nitrite. Comparative Biochemistry and Physiology 103c: 477-481. Cited in Alcaraz, G., Chiappa-Carrara, X., and Vanegas, C. 1997. Temperature tolerance of *Penaeus setiferus* postlarvae exposed to ammonia and nitrite. Aquatic Toxicology 39(3-4): 345-353.
- Chen, Y.M., Liu, J.C., and Yih-Hsu, J. 1998. Floatation removal of algae from water. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 12: 49-55.
- Cuzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C., and Guillaume, J. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or ponds. Aquaculture 235: 513-551.
- Divakaran, R., and Pillai, V. N. S. 2002. Flocculation of river silt using chitosan. Water Research 36: 2414-2418.

- Ehrich, S., Behrens, D., Lebedeva, E., Ludwig, W., and Bock, E. 1995. A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship. Archives of Microbiology 164: 16-23.
- El-Mamouni, R., Leduc, R., and Guiot, S. R. 1998. Influence of synthetic and natural polymers on the anaerobic granulation process. Water Science and Technology 38(8-9): 341-347.
- Feth, J. H. 1970. Saline groundwater resources of the conterminous United States. Water Resources Research 6: 1454-1457.
- Gutierrez-Wing, M. T., and Malone, R. F. 2006. Biological filters in aquaculture: trends and research direction for fresh water and marine applications. Aquaculture Engineering 34(3): 163-171.
- Hargreaves, J. A. 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. Aquaculture 166(3-4): 181-212.
- Hart, P., and O' sullivan, D. 1993. Recirculation Systems: Design, Construction and Management. Tasmania: Aquaculture Sourcebook.
- Heath, A. G. 1995. Osmotic and ionic regulation. Water Pollution and fish Physiology 141-170. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. Cited in Wicks, B.J., Joensen, R., Tang, Q., and Randall, D.J. 2002. Swimming and ammonia toxicity in salmonids: the effect of sub lethal ammonia exposure on the swimming performance of coho salmon and the acute toxicity of ammonia in swimming and resting rainbow trout. Aquatic Toxicology 59: 55-69.
- Hon, D. N. S. 1996. Chitin and chitosan: Medical application. In Polysaccharides in Medicinal Application, pp. 631-649. New York: Marcel Dekker.
- Kaseamchochoung, C., Lertsutthiwong, P., and Phalakornkule, C. 2006. Influence of chitosan characteristics and environmental conditions on flocculation of anaerobic sludge. Water Environment Research 78(11): 2210-2216.
- Laws, E. A., and Malecha, S. R. 1981. Application of nutrient-saturated growth model to phytoplankton management in fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) pond in Hawaii. Aquaculture 24: 91-101. Cited in Smith, D.W., and Piedrahita,

- R.H. 1988. The relation between phytoplankton and dissolved oxygen in fish ponds. Aquaculture 68: 249-265.
- Lawson, T. B. 1995. Fundamentals of aquacultural engineering. New York: Chapman & hall.
- Leonard, N., Blancheton, J. P., and Guiraud, J. P. 2000. Population of heterotrophic bacteria in an experimental recirculating aquaculture system. Aquacultural Engineering 22: 109-120.
- Lertsittichai, S., Lertsutthiwong, P., and Phalakornkule, C. 2007. Improvement of Upflow Anaerobic Sludge Bed Performance Using Chitosan. Water Environment Research 79: 801-807.
- Lertsutthiwong, P., How, N., Chandkrachang, S., and Stevens, W. 2002. Effect of chemical treatment on the characteristics of shrimp chitosan. Metals, Materials and Minerals 12: 11-18.
- Lertsutthiwong, P., Sutti, S., and Powtongsook, S. 2009. Optimization of chitosan flocculation for phytoplankton removal in shrimp culture ponds. Aquacultural Engineering 41: 188-193
- Limsuwan, C. 1999. Shrimp culture in Thailand toward year 2000. AAHRI Newsletter 8(1): 5-8.
- Liu, C., Honda, H., Ohshima, A., Shinkai, M., and Kobayashi, T. 2000. Development of chitosan-magnetite aggregates containing *Nitrosomonas europaea* cells for nitrification enhancement. Bioscience and Bioengineering 89 (5): 420-425.
- Manju, N. J., Deepesh, V., Achuthan, C., Rosamma, P., and Bright Singh, I. S. 2009. Immobilization of nitrifying bacterial consortia on wood particles for bioaugmenting. Aquaculture 294: 65-75.
- Mishra et al. 2008. Performance of an intensive nursery system for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, under limited discharge condition. Aquacultural Engineering 38(1): 2-15.
- Miyoshi, H., Shimura, K., and Kasuki, O. 1992. Characterization of some fungal chitosan. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 56: 1901-1905.

- Muir, P. R., Sutton, D. C., and Owens, L. 1991. Nitrate toxicity to *Penaeus monodon* protozoa. Marine Biology 108: 67-71.
- Muzzarelli, R. A. A. 1977. Enzymatic synthesis of chitin and chitosan. Occurrence of chitin. In: Chitin (Muzzarelli R.A.A. edition). New York: Pergamon Press.
- Muzzarelli, R. A. A., and Rocchetti, R. 1985. Determination of the Degree of Acetylation of Chitosan by First Derivative Ultraviolet spectrophotometry. Carbohydrate Polymers 5: 461-472.
- Pan, G., Zou, H., Chen, H., and Yuan, X. 2006. Removal of harmful cyanobacteria blooms in Taihu Lake using local soils III. Factors affecting the removal efficiency and an in situ field experiment using chitosan-modified local soils. Environmental Pollution 357: 206-212.
- Pan, J. R., Huang, C., Chen, S., and Chung, Y. C. 1999. Evaluation of a modified chitosan biopolymer for coagulation of colloidal particles. Colloids and Surface 147: 359-364.
- Pan, Y., et al. 1998. Utilization of Partially Deacetylated Chitin and Chitosan as Flocculent and Decolorant in Refining Sugar. Advances Chitin Science. Taiwan 3: 481-488.
- Plascencia, M., et al. 2000. Effect of chitosan on fungal growth using morphometric evaluation. Proceeding of eight International Chitin and Chitosan Conference and the forth Asia Pacific Chitin and Chitosan Symposium, Yamaguchi, Japan. Edited by Uragami, T., Kurita, K. and Fukamizo, T. 256-259.
- Ramos, V. M., et al. 1997. Advances Chitin Science Lyon 2: 853-855.
- Roberts, G.A.F. 1992. Chitin Chemistry. London, UK: The Macmillan Press.
- Rosas, C., Martinez, E., Gaxiola, G., Diaz, E., Brito, R., and Soto, L., 1998. Effect of dissolved oxygen on the energy balance and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. Marine Ecology Progress Series 174: 67-75.
- Ruiz, G., Jeison, D., Rubilar, O., Ciudad, G., and Chamy, R. 2006. Nitrification-denitrification via nitrite accumulation for nitrogen removal from wastewaters. Bioresource Technology 97(2): 330-335.
- Satoh, H., Okabe, S., Norimatsu, N., and Watanabe, Y. 2000. Significance of substrate C/N ratio on structure and activity of nitrifying biofilms determined by in situ

- hybridization and the use of microelectrodes. Water Science and Technology 41(4-5): 317-321.
- Seo, H., Mitsuhashi, K., and Tanibe, H. 1992. Antimicrobial and Antifungal Fiber Blended by Chitodan. Advances in Chitin and Chitosan. Edited by Brine, C.J., Sandford, P.A. and Zikakis, J.P.: 34-40.
- Shan, H., and Obbard, J. P. 2001. Ammonia removal from prawn aquaculture water using immobilized nitrifying bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology 57: 791-798
- Smith, D. W., and Piedrahita, R. H. 1988. The relation between phytoplankton and dissolved oxygen in fish ponds. Aquaculture 68: 249-265.
- Strand, S. P., Varum, K. M., and Ostgaard, K. 2003. Interactions between chitosans and bacterial suspensions: adsorption and flocculation. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 27:71-81.
- Strickland, J. D. H., and Parsons, T. R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. 2nd edition. Ottawa: Fisheries research board of Canada.
- Tapaneeyaworawong, P., Ngamphongsai, C., Donnuea, S., and Powtongsook, S. 2008. Development of nitrification biofilter system for the larviculture tank of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). 34th Congress on Science and Technology of Thailand.
- Tchobanoglous, G., Ruppe, L., Leverenz, H., and Darby, J. 2004. Decentralized wastewater management: challenges and opportunities for the twenty-first century. Water Supply 4(1): 95-102.
- Timmons, M. B., and Losordo, T. M. 1994. Aquaculture water reuse systems: engineering design and management. New York : Elsevier.
- Tookwinas, S., Dirakkait, S., Prompoj, W., Boyd, C. E., and Shaw, R. 2000. Thailand develops code of conduct for shrimp farming. Aquaculture Asia 5(1): 25-28.
- Tseng, K. F., Su, H. M., and Su, M. S. 1998. Culture of *Penaeus monodon* in a recirculating system. Aquacultural Engineering 17: 138-147.

- Wang, J. P., Chen, Y. Z., Ge, X. W., and Yu, H. Q. 2006. Gamma radiation-induced grafting of a cationic monomer onto chitosan as a flocculant. Chemosphere 66: 1752-1757.
- Whitson, J., Turk, P., and Lee, P. 1994. Biological Denitrification in a Closed Recirculating marine culture system. USA: Aquaculture Engineering Conference.
- Wicks, B. J., Joensen, R., Tang, Q., and Randall, D. J. 2002. Swimming and ammonia toxicity in salmonids: the effect of sub lethal ammonia exposure on the swimming performance of coho salmon and the acute toxicity of ammonia in swimming and resting rainbow trout. Aquatic Toxicology 59: 55-69.
- Wyban, J., Walsh, W. A., and Godin, D. M. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture 38(1-4): 267-279.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

ก.1 อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวไนไตรต์ (Nitrite broth)

NaNO ₂	1.0	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
NaCO ₃	1.0	กรัม
K ₂ HPO ₄	1.0	กรัม
MgSO ₄	0.3	กรัม
FeSO ₄	0.01	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ชั่งสารเคมีต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อตามสัดส่วน นำมาละลายน้ำให้ละลายและเข้ากันดี ปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 7-8 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อปรับความดันที่อุณหภูมิ 121 °ซ ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

หมายเหตุ อาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นไนไตรต์ประมาณ 203 มก.ไนไตรต์ไนโตรเจนต่อลิตร

วิธีวิเคราะห์สมบัติของโคโตซาน

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (พัฒนาเทคนิคและดัดแปลงวิธีมาจาก AOAC, 2000)

1. อบ crucible ในตู้อบอุณหภูมิ 105 °ซ อย่างน้อย 2 ชั่วโมง
2. นำ crucible ดังกล่าวมาใส่ใน desiccator และทิ้งไว้ให้เย็นลง ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30 - 60 นาที ก่อนชั่งน้ำหนัก
3. ชั่งตัวอย่างโคโตซานประมาณ 1 กรัม ใส่ใน crucible ดังกล่าว และจดบันทึกน้ำหนัก ก่อนนำไปอบที่ 105 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. นำมาใส่ใน desiccator ให้อุณหภูมิลดลงถึงอุณหภูมิห้อง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 30 - 60 นาที และทำการชั่งน้ำหนัก

คำนวณปริมาณความชื้นดังสมการข้างล่างนี้:

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(B - C) \times 100}{(B - A)}$$

โดยที่ A = น้ำหนัก crucible หลังอบที่ 105 °ซ เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง
 B = น้ำหนัก crucible ที่มีตัวอย่างโคโตซานอยู่ก่อนอบที่ 105 °ซ
 C = น้ำหนัก crucible ที่มีตัวอย่างโคโตซานอยู่หลังอบที่ 105 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

หมายเหตุ: การชั่งน้ำหนักจะใช้เทคนิค 4 ตำแหน่ง ตลอดการทดลอง

ก.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (solubility) (พัฒนาเทคนิคและดัดแปลงวิธีมาจาก Roberts, 1992)

1. ชั่งโคโคซาน 1 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. จากนั้นเติมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 100 มล. และปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์มหรือพลาสติก
2. นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง (25 °ซ) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. ทำการอบกระดาษกรอง GF/C ที่ 105 °ซ เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักกระดาษกรองหลังทิ้งให้เย็นลงใน desiccator เป็นเวลาประมาณ 30 นาที
4. เมื่อเขย่าสารละลายโคโคซานครบ 24 ชั่วโมง นำสารละลายดังกล่าวมากรองด้วยกระดาษกรองที่เตรียมไว้ โดยใช้ suction ช่วยในการกรอง
5. นำกระดาษกรองที่มีโคโคซานเจลและสิ่งเจือปนที่กรองได้ไปอบที่ 105 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
6. นำมาใส่ไว้ใน desiccator ประมาณ 30 - 60 นาที ก่อนชั่งน้ำหนัก

คำนวณความสามารถในการละลายดังสมการข้างล่างนี้:

$$\text{ความสามารถในการละลาย (\%)} = \left[1 - \frac{(B - A)}{C} \right] \times 100$$

โดยที่ A = น้ำหนักกระดาษกรอง (กรัม)
 B = น้ำหนักส่วนที่กรองได้และกระดาษกรองหลังอบที่ 105 °ซ นาน 24 ชั่วโมง (กรัม)
 C = น้ำหนักโคโคซานเริ่มต้น (กรัม)

หมายเหตุ: การชั่งน้ำหนักจะใช้ทศนิยม 4 ตำแหน่งตลอดการทดลอง

ก.4 การเตรียมตัวอย่างเพื่อหาค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล (Degree of Deacetylation)
(พัฒนาเทคนิคและดัดแปลงมาจาก Muzzarelli และ Rocchetti, 1985)

1. ละลาย 0.2 กรัม ของตัวอย่างไคโตซาน ใน 100 มล. ของ 0.2 โมลาร์กรดอะซิติก โดยนำมาเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าไคโตซานจะละลาย
2. นำสารละลายไคโตซานดังกล่าวมา 5 มล. และเติมน้ำให้ได้ 100 มล. ใน volumetric flask ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายไคโตซาน คือ 0.01 กรัม ไคโตซานใน 100 มล. ของ 0.01 โมลาร์กรดอะซิติก
3. นำสารละลายที่ได้หา the first derivative โดยใช้เครื่อง spectrophotometer และหาค่า H เพื่อนำมาหาค่าความเข้มข้นของ N-acetyl-D-glucosamine จากสมการความสัมพันธ์ของกราฟมาตรฐาน (standard calibration curve) ของ N-acetyl-D-glucosamine

คำนวณค่า degree of deacetylation ดังสมการข้างล่างนี้:

$$\% \text{ degree of deacetylation (\%DD)} = \left(1 - \left(\frac{A}{\frac{((10 \times W) - 204 A) + A}{161}} \right) \right) \times 100$$

โดยที่ A = ความเข้มข้นของ N-acetyl-D-glucosamine ที่วัดได้ (กรัมต่อลิตร) หารด้วย 204

W = น้ำหนักของตัวอย่างไคโตซาน (กรัม) ใน 100 มล. ของ 0.01 โมลาร์ กรดอะซิติก

204 = น้ำหนักโมเลกุลของ N-acetyl-D-glucosamine

161 = น้ำหนักโมเลกุลของ D-glucosamine

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ข.1 วิธีวิเคราะห์แอมโมเนีย

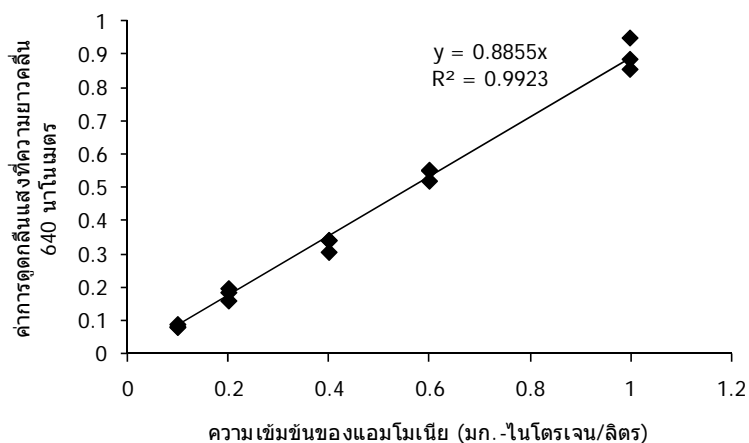
การวิเคราะห์ความเข้มข้นของแอมโมเนียในน้ำใช้วิธีวิเคราะห์มาตรฐานที่อ้างอิงจาก Strickland และ Parsons (1972) โดยเก็บตัวอย่างน้ำมาทำการกรองก่อนเก็บใส่ขวดพลาสติก ขนาด 30 มล. ควรทำการวิเคราะห์ทันทีหลังเก็บตัวอย่าง แต่หากยังไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ทันทีควรนำตัวอย่างน้ำแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิ -15°C

- การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายฟีนอล เตรียมโดยการละลายฟีนอล 20 กรัม ใน 95 เปอร์เซ็นต์เอทิลแอลกอฮอล์ และปรับให้ได้ปริมาตร 200 มล.
2. สารละลายไซเดียมไนโตรพอสไซด์ เตรียมโดยละลาย $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 กรัม ในน้ำ D.I. และปรับปริมาตรให้เท่ากับ 200 มล.
3. สารละลายออกซีไดซ์ซิงค์ เตรียมโดยการผสมอัลคาไลนรีเอเจนต์ (ละลายไซเดียมซิติเรต 100 กรัม และไซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 กรัม ในน้ำ D.I. ปริมาตร 500 มล.) กับสารละลายไซเดียมไฮโปคลอไรด์ (ใช้สารละลายไฮโปคลอไรด์ทางการค้าซึ่งมีความเข้มข้น 1.5 นอร์มอล) ในอัตราส่วน 4 ต่อ 1

- ขั้นตอนการวิเคราะห์

ปิเปตน้ำตัวอย่าง 5 มล. ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายฟีนอลปริมาตร 0.2 มล. และสารละลายไซเดียมไนโตรพอสไซด์ปริมาตร 0.2 มล. ตามลำดับ จากนั้นเติมสารละลายออกซีไดซ์ซิงค์ แล้วจึงปิดฝาหลอดทดลองด้วยฟาราฟิล์มและเขย่าให้เข้ากัน (ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) ตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชม. ก่อนทำการวิเคราะห์ สำหรับ Blank ใช้น้ำกลั่น (De-ionized water) ที่ใส่สารเคมีแบบเดียวกับตัวอย่างน้ำ จากนั้นจึงนำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่มีความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร สำหรับสารละลายแอมโมเนียมาตรฐานเตรียมที่ความเข้มข้น 0.1 0.2 0.4 0.6 และ 1.0 มก.-ไนโตรเจนต่อลิตร ตามลำดับ จากสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเข้มข้น (ความเข้มข้น 100 มก.-ไนโตรเจนต่อลิตร) ดังแสดงในรูปที่ ข-1



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานสำหรับแอมโมเนีย

ข.2 วิธีวิเคราะห์ไนไตรต์

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนไตรต์ในน้ำ ใช้วิธีวิเคราะห์มาตรฐานที่อ้างอิงมาจาก Strickland และ Parsons (1972) โดยเก็บตัวอย่างน้ำมาทำการกรองก่อนเก็บใส่ขวดพลาสติก ขนาด 30 มล. ควรทำการวิเคราะห์ทันทีหลังเก็บตัวอย่าง แต่หากยังไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ทันทีควรนำตัวอย่างน้ำแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิ -15°C

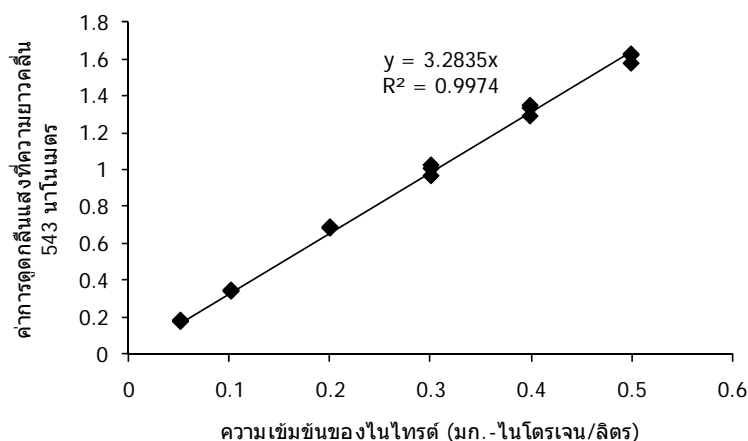
- การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายซัลฟานิลาไมด์ เตรียมโดยละลายซัลฟานิลาไมด์ 5 กรัม ในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 50 มล. จากนั้นเติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เท่ากับ 500 มล. เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 2 ถึง 8 นาที
2. สารละลายเอ็นเอ็นอีดี เตรียมโดยละลาย N-(1-Naphthyl)-Ethylenediamine Dihydrochloride 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้เท่ากับ 500 มล.

- ขั้นตอนการวิเคราะห์

ปิเปตน้ำตัวอย่าง 5 มล. ใส่ลงในหลอดทดลอง ทำการเติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ ปริมาตร 0.1 มล. และสารละลายเอ็นเอ็นอีดีปริมาตร 0.1 มล. ตามลำดับ ปิดหลอดทดลองด้วยพาราฟิล์มและเขย่าให้เข้ากัน (ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) ตั้งตัวอย่างทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ก่อนทำการวิเคราะห์ โดยใช้น้ำกลั่น (De-ionized water) เป็น Blank และใส่สารเคมีแบบเดียวกันกับตัวอย่างน้ำ จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร สำหรับสารละลายไนไตรต์มาตรฐานเตรียมที่ความเข้มข้น 0.05 0.1

0.2 0.3 0.4 และ 0.5 มก.-ไนโตรเจนต่อลิตร ตามลำดับ จากสารละลายมาตรฐานไนโตรต์เข้มข้น (ความเข้มข้น 100 มก.-ไนโตรเจนต่อลิตร) ดังแสดงในรูปที่ ข-2

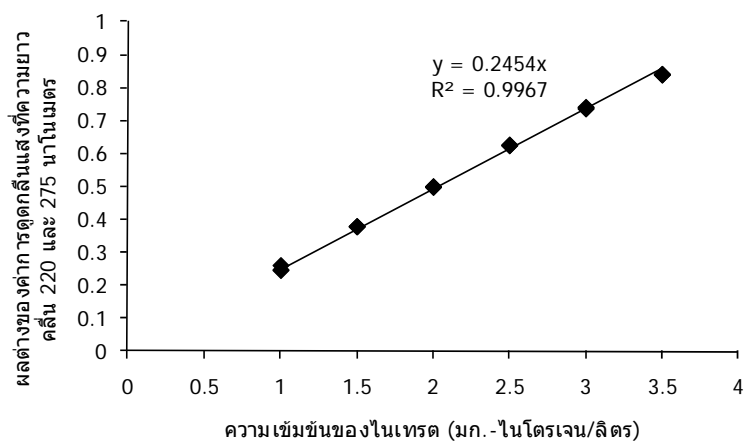


รูปที่ ข-2 กราฟมาตรฐานสำหรับไนโตรต์

ข.3 วิธีวิเคราะห์ไนเตรต

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนเตรตใช้วิธีวิเคราะห์มาตรฐานที่อ้างอิงมาจาก Strickland และ Parsons (1972) โดยเก็บตัวอย่างน้ำมาทำการกรองก่อนเก็บใส่ขวดพลาสติกขนาด 30 มล. ควรทำการวิเคราะห์ทันทีหลังเก็บตัวอย่าง แต่หากยังไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ทันทีควรนำตัวอย่างน้ำแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิ -15 °ซ

การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของไนเตรตดำเนินการโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 220 และ 275 นาโนเมตร ตามลำดับ และใช้น้ำกลั่นเป็น Blank โดยไม่มีการเติมสารเคมี จากนั้นจึงนำผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงทั้งสองค่าไปใช้ในการคำนวณหาปริมาณไนเตรต ซึ่งค่าไนเตรตที่คำนวณได้ต้องนำไปลบด้วยปริมาณไนโตรต์ในตัวอย่างน้ำเดียวกัน เนื่องจากการวิเคราะห์ไนเตรตด้วยวิธีการนี้จะเป็นการวิเคราะห์ไนโตรต์รวมไปด้วย สำหรับสารละลายไนเตรตมาตรฐานได้เตรียมไว้ที่ความเข้มข้น 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 และ 3.5 มก.-ไนโตรเจนต่อลิตร ตามลำดับ จากสารละลายมาตรฐานไนเตรตเข้มข้น (ความเข้มข้น 100 มก.-ไนโตรเจนต่อลิตร) ดังแสดงในรูปที่ ข-3



รูปที่ ข-3 กราฟมาตรฐานสำหรับไนเตรด

ข.4 วิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดในน้ำ

วิเคราะห์ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดด้วยวิธีการซึ่งอ้างอิงมาจาก Standard Method (1998) โดยการนำกระดาษกรอง GF/C ขนาด 47 มม. มาอบและชั่งน้ำหนักจนคงที่ จากนั้นนำน้ำตัวอย่างมากรองผ่านกระดาษกรอง แล้วจึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 °ซ เป็นเวลา 24 ชม. เมื่อนำกระดาษกรองออกจากตู้อบให้นำไปใส่ไว้ในโถดูดความชื้นจนกระดาษกรองเย็นลง แล้วจึงนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง เพื่อหาค่าน้ำหนักของของแข็งแขวนลอยทั้งหมดในน้ำ ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด} = \frac{\text{นน.กระดาษกรองหลังกรองน้ำ} - \text{นน.กระดาษกรองก่อนกรองน้ำ} \times 10^6}{\text{ปริมาตรน้ำที่กรอง (มล.)}}$$

ภาคผนวก ค

ตารางที่ ค-1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแอมโมเนีย ไนโตรต์ และไนเตรต ของตัวกรองชีวภาพไนทริฟิเคชันในถังคัดเลือกเชื้อ NOB

วันที่ของการทดลอง	แอมโมเนีย (มก.ไนโตรเจน/ล.)	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ไนโตรต์ (มก.ไนโตรเจน/ล.)	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ไนเตรต (มก.ไนโตรเจน/ล.)	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
0.00	0.13	0.01	1.98	0.05	0.94	0.03
0.21	0.15	0.00	1.90	0.01	1.50	0.01
0.42	0.37	0.12	1.64	0.03	2.03	0.06
1.04	0.29	0.01	1.32	0.02	2.48	0.02
1.25	0.34	0.01	1.17	0.02	2.38	0.03
2.00	0.48	0.02	0.81	0.02	2.62	0.05
2.21	0.43	0.02	0.69	0.01	2.15	0.02
3.04	0.52	0.02	0.36	0.01	2.28	0.30
3.29	0.63	0.05	0.43	0.09	2.26	0.04
4.00	0.51	0.03	0.06	0.00	2.56	0.05
4.29	0.58	0.01	2.30	0.02	3.04	0.02
5.00	0.63	0.00	2.01	0.01	2.69	0.02
6.13	0.87	0.07	1.67	0.01	2.85	0.04
7.04	0.53	0.01	0.90	0.03	3.12	0.05
7.29	0.43	0.02	0.78	0.01	2.70	0.04
7.81	0.44	0.05	0.41	0.00	3.57	0.03
8.06	0.22	0.01	0.11	0.02	3.88	0.03
8.27	0.21	0.01	2.34	0.02	4.00	0.04
9.04	0.12	0.01	1.98	0.02	4.46	0.04
9.25	0.09	0.01	1.80	0.02	4.57	0.08
10.29	0.02	0.00	1.08	0.01	4.70	0.16
11.00	0.02	0.00	0.80	0.01	5.04	0.05
11.29	0.04	0.00	0.69	0.02	5.75	0.10
11.96	0.03	0.01	0.44	0.00	6.02	0.09
12.33	0.05	0.01	0.16	0.00	6.57	0.09

ตารางที่ ค-2 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรต์ด้วยโคโคซานที่ผ่านการตรึงเชื้อไนโตรต์ ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 3, 6, 12, 24 และ 72 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ตรึงเชื้อ)

ศึกษาระยะเวลาในการตรึงไนโตรเจนในโคโคซาน			
ระยะเวลาในการตรึง (ชั่วโมง)	ชั่วโมงที่ทำการทดลอง	ไนโตรต์ (มล.-ไนโตรเจน/ล.)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
0	0	0.55	0.95
	3	0.56	0.96
	6	0.55	0.95
	9	0.55	0.95
3	0	1.44	0.14
	3	1.27	0.07
	6	0.80	0.04
	9	0.58	0.07
6	0	1.32	0.04
	3	1.14	0.13
	6	0.68	0.4
	9	0.27	0.26
12	0	1.52	0.16
	3	1.30	0.20
	6	0.37	0.46
	9	0.18	0.25
24	0	1.48	0.08
	3	0.32	0.02
	6	0.02	0.02
	9	0.00	0.00
72	0	1.70	0.07
	3	1.32	0.03
	6	0.28	0.39
	9	0.00	0.00

ตารางที่ ค-3 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรเจนด้วยโคโคซานที่ทำการปรับพื้นผิวด้วย บัฟเฟอร์ที่พีเอช 5.5 6.5 และ 7.5 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (แช่น้ำกลั่น) แล้วนำไปตรึงเชื้อ ไนโตรเจนออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ศึกษาผลของการปรับพื้นผิวบนโคโคซานด้วยบัฟเฟอร์ที่พีเอช 5.5 6.5 และ 7.5 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (แช่น้ำกลั่น)			
ระดับพีเอชที่ใช้ในการปรับพื้นผิวโคโคซาน	ชั่วโมงที่ทำการทดลอง	ไนโตรเจน (มล.-ไนโตรเจน/ล.)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
น้ำกลั่น	0	1.90	0.09
	3	1.70	0.06
	6	1.68	0.11
	11	1.64	0.08
พีเอช 5.5	0	1.89	0.03
	3	0.94	0.17
	6	0.00	0.00
	7	0.00	0.00
พีเอช 6.5	0	1.87	0.06
	3	0.82	0.11
	6	0.01	0.00
	7	0.00	0.00
พีเอช 7.5	0	1.79	0.02
	3	1.21	0.05
	6	0.41	0.03
	7	0.13	0.04

ตารางที่ ค-4 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรต์ด้วยไคโตซานขนาด 1-2 มม. 3-5 มม. และ 8-10 มม. แล้วนำไปตรึงเชื้อไนโตรต์ออกซีไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ศึกษาขนาดของไคโตซานที่มีผลต่อการตรึงเชื้อ			
ขนาดอนุภาคของไคโตซาน (มม.)	ชั่วโมงที่ทำการทดลอง	ไนโตรต์ (มล.-ไนโตรเจน/ล.)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
8-10	0	1.66	0.02
	1.5	0.70	0.05
	2.5	0.33	0.17
	3	0.05	0.04
3-5	0	1.63	0.02
	1.5	0.50	0.07
	2.5	0.25	0.07
	3	0.01	0.00
1-2	0	1.69	0.02
	1.5	0.51	0.03
	2.5	0.25	0.10
	3	0.05	0.03

ตารางที่ ค-5 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรต์โดยไคตินและไคโตซานที่มีระดับการกำจัด หมูอะซีทิล 2 ระดับ คือ ร้อยละ 82.20±0.71 และ 91.13 ±0.57 แล้วนำไปตรึงเชื้อไนโตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ศึกษาระดับการกำจัดหมูอะซีทิลของไคโตซานและไคตินที่มีผลต่อการตรึงเชื้อ			
ระดับการกำจัดหมูอะซีทิล (ร้อยละ)	ชั่วโมงที่ทำการทดลอง	ไนโตรต์ (มล.-ไนโตรเจน/ล.)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
91.13±0.57	0	1.67	0.03
	1.5	0.75	0.18
	2.5	0.33	0.16
	3.5	0.05	0.03
82.20±0.71	0	1.65	0.03
	1.5	0.82	0.06
	2.5	0.41	0.03
	3.5	0.09	0.02
Chitin	0	1.66	0.05
	1.5	1.07	0.04
	2.5	0.89	0.17
	3.5	0.74	0.11

ตารางที่ ค-6 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนโตรต์โดยโคโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 2.00×10^5 4.10×10^5 และ 5.80×10^5 ดาลตัน แล้วนำไปตรึงเชื้อไนโตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรียที่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ศึกษาน้ำหนักโมเลกุลของโคโคซานที่มีผลต่อการตรึงเชื้อ			
น้ำหนักโมเลกุล (ดาลตัน)	ชั่วโมงที่ทำการทดลอง	ไนโตรต์ (มล.-ไนโตรเจน/ล.)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
410000	0	1.81	0.08
	1	1.14	0.24
	2	0.75	0.16
	3.5	0.17	0.05
580000	0	1.90	0.03
	1	1.21	0.23
	2	0.82	0.41
	3.5	0.27	0.16
200000	0	1.84	0.01
	1	1.02	0.19
	2	0.62	0.19
	3.5	0.07	0.04

ภาคผนวก ง

จากการทดลองที่ 4.3 ได้ตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจน และคุณภาพน้ำภายในถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโตซาน ถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมซึ่งเติมโคโตซานเปล่า(ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ) และถังเลี้ยงกุ้งชุดทดลองซึ่งเติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว ดังแสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้

ตารางที่ ง-1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนของตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งทุกชุดการทดลอง

ความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนของตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งที่ไม่เติมโคโตซาน								
วันที่	วันที่ของการทดลอง	แอมโมเนีย (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนโตรด (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนเตรด (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	23/12/53	0	0.23	0.06	0.02	0.01	1.93	0.12
	24/12/53	1	1.89	0.74	0.02	0.01	1.91	0.09
	25/12/53	2	2.20	0.62	0.07	0.07	2.01	0.46
	26/12/53	3	1.92	0.21	0.09	0.01	1.89	0.07
	27/12/53	4	3.56	0.43	0.10	0.01	1.93	0.09
	28/12/53	5	3.84	1.35	0.12	0.01	1.89	0.03
	29/12/53	6	3.48	1.19	0.20	0.09	1.80	0.09
	30/12/53	7	4.91	0.34	0.11	0.03	2.04	0.05
	31/12/53	8	4.25	0.21	0.09	0.02	2.09	0.05
	01/01/54	9	5.55	0.86	0.10	0.01	2.16	0.07
	02/01/54	10	6.69	0.54	0.59	0.14	1.86	0.28
	03/01/54	11	4.95	0.89	0.43	0.12	2.25	0.14
	04/01/54	12	6.71	0.98	0.65	0.26	2.23	0.08
	05/01/54	13	5.87	0.70	1.32	0.59	2.25	0.01
	06/01/54	14	5.88	0.16	2.62	1.08	6.60	0.35
	07/01/54	15	6.28	1.82	5.53	4.08	5.83	1.52
	08/01/54	16	3.88	0.86	6.60	2.40	3.94	0.46
	09/01/54	17	1.39	0.10	8.14	1.29	3.27	0.33
	10/01/54	18	0.10	0.03	10.00	0.34	3.27	0.07
	11/01/54	19	0.02	0.01	12.31	1.04	3.12	1.95
	12/01/54	20	0.01	0.00	11.98	1.62	4.33	0.59
	13/01/54	21	0.03	0.01	15.44	2.14	2.12	2.09
	14/01/54	22	0.01	0.01	13.10	1.02	6.61	0.65
	15/01/54	23	0.00	0.00	17.98	2.92	0.65	2.44
	16/01/54	24	-	-	-	-	-	-
	17/01/54	25	0.00	0.00	14.41	1.07	6.05	0.17
	18/01/54	26	0.01	0.01	16.85	0.59	4.32	0.82
	19/01/54	27	0.01	0.02	15.51	2.47	5.65	1.26
	20/01/54	28	0.01	0.02	15.53	1.73	2.86	2.87
	21/01/54	29	0.02	0.02	15.25	2.19	5.24	2.26
	22/01/54	30	0.08	0.01	15.79	1.77	3.36	0.27

ความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนของตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งที่ไม่เติมโคโคซาน							
วันที่	วันที่ของการทดลอง	แอมโมเนีย (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนโตรต์ (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนเตรต (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
23/01/54	31	0.05	0.00	16.99	1.55	5.02	1.04
24/01/54	32	0.05	0.03	16.21	1.53	9.97	3.04
25/01/54	33	0.01	0.01	17.45	2.63	7.05	1.34
26/01/54	34	0.02	0.01	17.97	3.09	9.88	2.89
27/01/54	35	0.01	0.01	18.70	2.47	10.30	2.40

ความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนของตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งที่เติมโคโคซานเปล่า (ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ)							
วันที่	วันที่ของการทดลอง	แอมโมเนีย (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนโตรต์ (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนเตรต (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
23/12/53	0	0.28	0.11	0.01	0.00	1.83	0.09
24/12/53	1	2.99	1.38	0.02	0.01	1.92	0.09
25/12/53	2	3.64	1.49	0.03	0.01	1.90	0.08
26/12/53	3	2.08	0.25	0.07	0.01	1.93	0.13
27/12/53	4	4.15	1.20	0.08	0.02	1.98	0.12
28/12/53	5	3.74	0.16	0.10	0.02	1.92	0.18
29/12/53	6	2.93	0.45	0.24	0.10	1.79	0.33
30/12/53	7	7.13	1.88	0.11	0.02	1.99	0.17
31/12/53	8	6.82	0.49	0.06	0.01	2.13	0.18
01/01/54	9	6.52	0.88	0.07	0.00	2.22	0.22
02/01/54	10	6.13	0.23	1.30	0.06	1.18	1.32
03/01/54	11	7.01	0.41	0.42	0.09	2.26	0.25
04/01/54	12	6.26	0.45	0.60	0.06	2.28	0.31
05/01/54	13	5.51	0.49	1.23	0.11	2.26	0.12
06/01/54	14	6.74	0.28	3.23	1.36	5.48	1.74
07/01/54	15	4.49	0.12	4.25	1.25	2.31	0.80
08/01/54	16	2.56	2.00	7.33	3.66	6.30	3.00
09/01/54	17	2.85	2.40	8.18	3.84	3.18	0.45
10/01/54	18	0.18	0.07	9.15	3.49	3.10	0.23
11/01/54	19	0.38	0.52	10.80	3.06	3.86	0.96
12/01/54	20	0.11	0.09	12.19	2.22	5.55	2.43
13/01/54	21	0.07	0.08	15.40	2.74	3.58	2.96
14/01/54	22	0.03	0.03	13.83	1.17	2.58	2.04
15/01/54	23	0.12	0.10	17.34	3.43	0.95	0.80
16/01/54	24	-	-	-	-	-	-
17/01/54	25	0.00	0.00	13.13	2.64	3.79	2.16
18/01/54	26	0.01	0.01	15.73	1.03	2.16	3.94
19/01/54	27	0.04	0.04	15.66	0.78	2.17	4.25
20/01/54	28	0.03	0.03	16.67	0.52	0.28	4.33
21/01/54	29	0.02	0.02	17.08	1.29	0.00	5.88
22/01/54	30	0.13	0.06	17.19	0.27	0.77	6.18
23/01/54	31	0.07	0.01	16.54	1.70	1.87	6.24
24/01/54	32	0.07	0.06	16.04	2.44	6.21	5.18

ความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนของตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งที่เดิมโคโตซานเปล่า(ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ)							
วันที่	วันที่ของการทดลอง	แอมโมเนีย (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนโตรด (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนเตรด (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
25/01/54	33	0.02	0.02	16.92	0.71	3.38	2.20
26/01/54	34	0.02	0.03	15.94	1.71	6.91	2.44
27/01/54	35	0.02	0.02	16.93	0.52	7.30	0.61

ความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนของตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งที่เดิมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว							
วันที่	วันที่ของการทดลอง	แอมโมเนีย (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนโตรด (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนเตรด (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
23/12/53	0	0.27	0.22	0.01	0.00	1.89	0.05
24/12/53	1	3.14	0.12	0.02	0.00	1.94	0.05
25/12/53	2	5.37	0.95	0.05	0.00	1.81	0.13
26/12/53	3	3.44	0.30	0.08	0.02	1.95	0.08
27/12/53	4	4.49	0.42	0.11	0.00	1.94	0.07
28/12/53	5	4.42	0.29	0.13	0.05	1.89	0.13
29/12/53	6	4.44	0.73	0.17	0.04	1.91	0.01
30/12/53	7	6.72	0.13	0.11	0.04	2.03	0.08
31/12/53	8	5.99	0.44	0.12	0.08	2.10	0.03
01/01/54	9	6.90	0.46	0.12	0.04	2.21	0.07
02/01/54	10	6.74	0.74	0.70	0.10	1.77	0.32
03/01/54	11	6.01	0.19	0.49	0.04	2.25	0.03
04/01/54	12	6.53	0.02	0.76	0.11	2.27	0.13
05/01/54	13	7.65	0.16	1.52	0.24	2.33	0.06
06/01/54	14	6.77	0.43	2.84	0.62	6.63	0.34
07/01/54	15	5.01	0.29	5.67	3.94	1.37	2.57
08/01/54	16	2.54	2.27	7.59	2.34	8.83	2.73
09/01/54	17	2.42	1.52	9.18	2.50	5.18	0.17
10/01/54	18	0.12	0.11	9.79	1.46	5.57	0.75
11/01/54	19	0.06	0.01	10.30	2.10	7.57	1.18
12/01/54	20	0.03	0.01	10.58	2.40	8.42	0.41
13/01/54	21	0.02	0.01	9.97	3.07	11.38	1.07
14/01/54	22	0.01	0.01	9.49	1.82	11.69	1.50
15/01/54	23	0.00	0.00	11.05	4.17	12.49	5.23
16/01/54	24	-	-	-	-	-	-
17/01/54	25	0.00	0.00	6.20	1.55	18.31	1.98
18/01/54	26	0.03	0.04	5.76	2.04	19.37	1.83
19/01/54	27	0.02	0.03	4.02	1.98	21.26	2.15
20/01/54	28	0.01	0.02	0.81	0.63	23.18	1.88
21/01/54	29	0.03	0.05	1.23	1.15	23.00	2.98
22/01/54	30	0.20	0.05	0.92	0.28	24.21	1.54
23/01/54	31	0.22	0.06	0.91	0.28	24.76	1.41
24/01/54	32	0.19	0.05	0.79	0.50	25.97	2.00

ความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนของตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งที่เติมโคโคซานที่ผ่านการตั้งเชื้อแล้ว							
วันที่	วันที่ของการทดลอง	แอมโมเนีย (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนโตรเจน (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ไนเตรด (มก./ล)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
25/01/54	33	0.05	0.07	0.78	0.45	28.01	0.23
26/01/54	34	0.05	0.04	0.71	0.53	27.24	1.73
27/01/54	35	0.04	0.02	0.67	0.41	27.80	0.60

ตารางที่ ง-2 คุณภาพน้ำภายในถังเลี้ยงกุ้งทุกชุดการทดลอง

ความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนในถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโคซาน					
วันที่ของการทดลอง	ค่าสภาพต่าง (มก./ล)	ออกซิเจนละลายน้ำ (มก./ล)	ความเป็นกรด-ด่าง	ความเค็ม (พีเอสยู)	อุณหภูมิ (°ซ)
0	167	6.3	7.42	30.0	27.1
2	177	-	-	-	-
4	190	6.3	7.87	31.7	27.2
6	207	-	-	-	-
8	203	6.4	7.95	34.3	26.7
10	220	-	-	-	-
12	240	6.2	8.34	30.0	27.1
14	227	-	-	-	-
16	210	6.2	8.29	31.3	27.3
18	207	-	-	-	-
20	203	6.2	8.20	30.3	27.1
22	173	-	-	-	-
24	177	6.3	8.14	31.7	29.0
26	157	-	-	-	-
28	157	6.1	8.08	30.0	28.8
30	150	-	-	-	-
32	157	6.3	7.76	30.0	27.1
34	140	-	-	-	-
36	123	6.2	7.57	32.3	27.2

ความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนของตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งที่เดิมโคโตซานเปล่า(ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ)					
วันที่ของการ ทดลอง	ค่าสภาพต่าง (มก./ล)	ออกซิเจนละลายน้ำ (มก./ล)	ความเป็น กรด-ต่าง	ความเค็ม (พีเอสยู)	อุณหภูมิ (°ซ)
0	170	6.3	7.57	30.0	27.1
2	177	-	-	-	-
4	193	6.3	7.65	32.3	27.0
6	207	-	-	-	-
8	200	6.4	8.04	34.3	26.7
10	213	-	-	-	-
12	223	6.3	8.18	30.0	27.9
14	210	-	-	-	-
16	213	6.3	7.98	31.0	27.0
18	193	-	-	-	-
20	187	6.4	8.09	30.0	27.2
22	180	-	-	-	-
24	187	6.2	8.11	32.3	27.5
26	183	-	-	-	-
28	160	6.0	7.95	30.0	29.1
30	150	-	-	-	-
32	150	6.1	7.70	30.0	27.0
34	127	-	-	-	-
36	110	6.3	7.60	32.0	26.7

ความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนของตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงกุ้งที่เดิมโคโตซานที่ผ่านการตั้งเชื้อแล้ว					
วันที่ของการทดลอง	ค่าสภาพต่าง (มก./ล)	ออกซิเจนละลายน้ำ (มก./ล)	ความเป็นกรด-ด่าง	ความเค็ม (พีเอสยู)	อุณหภูมิ (°ซ)
0	167	6.4	7.62	30.0	27.1
2	180	-	-	-	-
4	190	6.3	7.88	31.7	27.1
6	207	-	-	-	-
8	210	6.4	7.95	34.0	26.7
10	213	-	-	-	-
12	210	6.4	8.11	30.0	27.6
14	203	-	-	-	-
16	183	6.2	8.14	31.0	27.4
18	173	-	-	-	-
20	160	6.2	8.06	30.3	27.0
22	150	-	-	-	-
24	153	6.2	8.00	32.0	28.2
26	150	-	-	-	-
28	123	6.2	5.00	30.0	29.0
30	113	-	-	-	-
32	127	6.1	7.73	30.0	26.7
34	107	-	-	-	-
36	110	6.1	7.59	32.3	27.4

ตารางที่ ง-3 น้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมจากถ้ำเลี้ยงกุ้งทั้งสามชุดการทดลองในวันก่อนเริ่มการทดลองและสิ้นสุดการทดลอง

น้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยของกุ้งจากถ้ำเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมที่ไม่เติมโคโคซาน					
ถ้ำที่	จำนวน	ก่อนเริ่มทดลอง		สิ้นสุดการทดลอง	
		น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (ซม)	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (ซม)
1	1	5.8	9.9	12.0	12.4
	2	6.5	10.1	7.1	10.8
	3	8.3	11.0	9.6	11.8
	4	5.8	9.6	8.8	11.5
	5	7.8	10.9	11.6	12.3
	6	5.6	10.0	9.9	12.0
	7	5.5	9.5	13.3	13.0
	8	7.2	10.6	-	-
Average		6.56	10.20	10.33	11.97
SD		1.08	0.57	2.11	0.70
2	1	6.9	10.5	16.4	13.8
	2	6.9	10.7	10.1	12.1
	3	7.5	10.7	10.5	12.2
	4	5.5	10.0	10.2	12.1
	5	5.6	9.9	8.6	11.3
	6	4.7	9.2	9.3	11.7
	7	6.8	10.1	7.6	11.1
	8	5.5	10.1	-	-
Average		6.18	10.15	10.39	12.04
SD		0.97	0.50	2.84	0.88
3	1	5.6	10.0	9.8	11.8
	2	5.5	9.9	11.3	12.4
	3	6.1	10.1	8.8	11.8
	4	6.1	10.1	13.1	13.2
	5	6.3	10.0	11.2	12.5
	6	6.0	10.0	7.2	10.9
	7	7.4	10.5	12.9	13.1
	8	5.3	9.5	12.6	12.9
Average		6.04	10.01	10.86	12.33
SD		0.65	0.27	2.11	0.79

น้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยของกุ้งจากถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมที่เติมโคโตซานเปล่า(ไม่ผ่านการตรึงเชื้อ)					
ถังที่	จำนวน	ก่อนเริ่มทดลอง		สิ้นสุดการทดลอง	
		น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (ซม)	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (ซม)
1	1	5.8	10.0	10.4	11.5
	2	7.4	10.5	15.2	13.4
	3	5.9	9.8	8.5	11.5
	4	5.0	9.0	10.2	11.9
	5	7.3	10.7	11.0	12.4
	6	4.6	9.0	13.4	13.3
	7	6.7	10.3	10.0	11.9
	8	6.2	10.0	9.1	11.6
Average		6.11	9.91	10.98	12.19
SD		1.01	0.63	2.24	0.78
2	1	5.7	9.5	13.4	13.0
	2	6.0	10.0	10.8	12.1
	3	7.5	10.5	11.5	12.4
	4	7.1	10.5	14.8	13.6
	5	5.5	10.0	11.8	12.6
	6	7.7	10.8	10.7	12.0
	7	4.9	9.1	10.3	12.0
	8	5.5	9.9	11.2	12.1
Average		6.24	10.04	11.81	12.48
SD		1.05	0.56	1.53	0.57
3	1	6.9	10.4	12.1	12.5
	2	6.7	10.4	10.7	11.9
	3	6.3	10.2	13.2	13.0
	4	4.2	8.8	14.0	13.1
	5	8.8	10.8	11.2	12.3
	6	5.6	10.0	13.4	13.2
	7	6.3	10.0	11.8	12.5
	8	6.3	10.1	-	-
Average		6.39	10.09	12.34	12.64
SD		1.29	0.58	1.22	0.48

น้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยของกุ้งจากถังเลี้ยงกุ้งชุดควบคุมที่เติมโคโตซานที่ผ่านการตรึงเชื้อแล้ว					
ถังที่	จำนวน	ก่อนเริ่มทดลอง		สิ้นสุดการทดลอง	
		น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (ซม)	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (ซม)
1	1	6.1	10.1	12.3	12.7
	2	6.7	10.05	10.4	11.9
	3	6.5	10.2	11.4	12.5
	4	6.6	10.0	11.8	12.6
	5	4.6	9.0	11.3	12.4
	6	5.2	9.4	11.5	12.2
	7	5.9	9.8	12.1	12.7
	8	6.8	10.4	11.2	12.2
Average		6.05	9.93	11.50	12.40
SD		0.79	0.51	0.59	0.28
2	1	6.4	10.5	14.2	13.4
	2	8.3	11.0	10.8	12.0
	3	7.2	10.7	10.3	11.8
	4	6.7	10.4	11.6	12.0
	5	5.4	9.6	10.6	11.9
	6	4.7	9.0	12.6	12.8
	7	4.8	9.2	11.0	12.2
	8	6.3	10.1	11.3	12.4
Average		6.23	10.06	11.55	12.31
SD		1.23	0.72	1.28	0.54
3	1	6.4	10.1	14.8	13.4
	2	6.6	10.2	10.5	11.9
	3	7.4	11.0	11.9	12.6
	4	6.6	10.5	11.4	12.4
	5	5.9	10.8	11.0	12.3
	6	6.5	10.4	11.2	12.3
	7	8.5	11.2	15.5	13.6
	8	6.7	10.5	11.9	12.7
Average		6.83	10.59	12.28	12.65
SD		0.79	0.38	1.84	0.58

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวดวงชีวัน บุญเฟือก เกิดเมื่อวันที่ 9 มกราคม พ.ศ. 2528 ที่จังหวัดชลบุรี ได้รับการศึกษาระดับมัธยมศึกษาปีที่ 1 ถึงมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนระยองวิทยาคม และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาบัณฑิตสาขาเคมีทรัพยากรสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปี พ.ศ. 2549 และได้รับการคัดเลือกเข้าศึกษาในระดับปริญญาโทบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2550 โดยได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิตทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2554 ครั้งที่ 1 และทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มาใช้ในการทำงานวิจัยนี้

ผลงานวิจัยที่ได้รับการเผยแพร่

Duangcheewan Boonpuak, Wiboonluk Pungrasmi, Pranee Lertsutthiwong and Sorawit Powtongsook. Effects of Immobilization Time and pH Adjustment on the Immobilization of Nitrite-oxidizing Bacteria on Chitosan. 2010 International Conference on Biology, Environment and Chemistry (ICBEC2010), Hong Kong, China, December 28-30, 2010. (Oral presentation)