

ผลของไอโซนต่อการกำจัดแบคทีเรียกลุ่มไวรัสในบ่อดินเลี้ยงกุ้งจำลอง



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2565

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Effect of Ozone on *Vibrio* Removal in Simulated Earthen Shrimp Pond.



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

Department of Environmental Engineering

FACULTY OF ENGINEERING

Chulalongkorn University

Academic Year 2022

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของโอโซนต่อการกำจัดแบคทีเรียกลุ่มไวรัสโอโนปอดิน เลี้ยงกุ้งจำลอง
โดย	นายมงคล มีรัตนไพโร
สาขาวิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณะ ฝั่งรัมย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข

---

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ตะวัน ลิ้มปิยากร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณะ ฝั่งรัมย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข)

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจพร สุวรรณศิลป์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ดร.กัลยาณี ศรีธีชญลักษณ์)

มงคล มิร์ตันไพร์ : ผลของโอโซนต่อการกำจัดแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในบ่อดินเลี้ยงกุ้งจำลอง. ( Effect of Ozone on *Vibrio* Removal in Simulated Earthen Shrimp Pond.) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. ดร.วิบูลย์ลักษณ์ ฟิ่งรัมย์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของโอโซนต่อการกำจัดแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในบ่อดินเลี้ยงกุ้งจำลอง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง การทดลองช่วงที่ 1 เป็นการศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่มวิบริโอในดิน พบว่าดินจากระบบบ่อดินเลี้ยงกุ้งกลางแจ้งมีค่าพีเอชเป็นกลาง อินทรีย์วัตถุและอินทรีย์คาร์บอนรวมอยู่ในระดับสูง และมีปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่มวิบริโอในดินเท่ากับ  $1.0 \pm 0.0 \times 10^3$  ซีเอฟยู/ก. การทดลองช่วงที่ 2 เป็นการศึกษาความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำสูงสุด (จุดอิ่มตัว) ในน้ำความเค็ม 5 พีพีที พบว่ามีค่าเฉลี่ย  $1.43 \pm 0.03$  มก./ล. โดยแปรผันอยู่ในช่วง 1.36 – 1.50 มก./ล. และการศึกษาผลของความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 4 ระดับ ได้แก่ 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล. และระยะเวลาการสัมผัส 5, 10, 30 และ 60 นาที ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่มวิบริโอในดิน พบว่าความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล. ที่ระยะเวลาสัมผัส 30 นาที สามารถกำจัดวิบริโอในดินได้ร้อยละ 98.6 และการทดลองช่วงที่ 3 เป็นการประยุกต์ใช้โอโซนในการควบคุมปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่มวิบริโอในระบบเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริงเป็นเวลา 45 วัน พบว่าการใช้โอโซนยังสามารถควบคุมปริมาณวิบริโอในระบบได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยปริมาณวิบริโอในดินในชุดควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องมีค่าสูงสุด  $9.48 \pm 1.73 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. ในขณะที่ชุดทดลองที่มีการปรับสภาพดินด้วยโอโซนมีปริมาณวิบริโอในดินอยู่ในช่วง  $6.5 \pm 2.12 \times 10^3$  –  $1.25 \pm 0.29 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณวิบริโอในน้ำ ทั้งนี้การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าทุกชุดการทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งใกล้เคียงกัน เท่ากับ  $0.12 \pm 0.03$  และ  $0.13 \pm 0.02$  ก./วัน อัตราการรอดตายร้อยละ  $89.75 \pm 11.33$  และ  $89.60 \pm 5.43$  และอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ  $1.96 \pm 0.25$  และ  $1.96 \pm 0.20$  ตามลำดับ รวมถึงการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำอื่นๆ มีค่าไม่แตกต่างกันโดยอยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของกุ้งขาว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม  
ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนิสิต .....  
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....  
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

# # 6370447921 : MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEYWORD: Vibrio, Residual ozone concentration, Litopenaeus vannamei, Shrimp-pond soil, Pond bottom soil management, Nitrogen Removal

Mongkol Mirutanaphai : Effect of Ozone on *Vibrio* Removal in Simulated Earthen Shrimp Pond.. Advisor: Assoc. Prof. Dr. WIBOONLUK PUNGRASMI Co-advisor: Dr. Sorawit Powtongsook

This research studied the effect of ozone on *Vibrio* pathogen removal in a simulated earthen shrimp pond. The experiment was divided into three phases. The first experiment was to study the physical and chemical properties, as well as *Vibrio* pathogen in the soil. Results found that the soil had a neutral pH and high organic matter and organic carbon. The *Vibrio* pathogen concentration was  $1.0 \pm 0.0 \times 10^3$  CFU/g. The second experiment was to determine the maximum ozone concentration (saturated point) in saline water at a salinity level of 5 ppt. Results found that the ozone saturation point was  $1.43 \pm 0.03$  mg/L, with a range of 1.36 – 1.50 mg/L. Additionally, the study examined the effects of residual ozone concentration (ROC) at 4 levels of 0.3, 0.6, 1.0, and 1.5 mg/L and exposure time of 5, 10, 30, and 60 minutes on the change in *Vibrio* pathogens. Results found that a ROC of 1.0 mg/L was able to eliminate 98.6% of *Vibrio* pathogens after 30 minutes of contact time. The third experiment was to apply ozone to control *Vibrio* pathogens in a simulated earthen pond for white shrimp culture over a period of 45 days. The application of ozone proved effective in controlling *Vibrio* pathogens. In the control set, *Vibrio* pathogens in the soil continued to increase, reaching the highest level of  $9.48 \pm 1.73 \times 10^5$  CFU/g. Contrarily, in the experiment set with ozone soil treatment, *Vibrio* pathogens in the soil ranged from  $6.5 \pm 2.12 \times 10^3$  to  $1.25 \pm 0.29 \times 10^5$  CFU/g. This corresponded to the *Vibrio* pathogen in the water. Results of shrimp growth found that the average daily gain (ADG) in both groups were comparable at  $0.12 \pm 0.03$  and  $0.13 \pm 0.02$  g/day, with survival rates of  $89.75 \pm 11.33$  and  $89.60 \pm 5.43\%$ , and feed conversion ratio (FCR) of  $1.96 \pm 0.25$  and  $1.96 \pm 0.20$ , respectively. Furthermore, the water quality parameters were found to be comparable and within the appropriate conditions for shrimp growth.

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

Academic Year: 2022 Advisor's Signature .....

Co-advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยความอนุเคราะห์ช่วยเหลือจากหลายท่าน ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณผู้ที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณะ พิ้งรัมย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ ดร.สรวิศ เผ่าทองสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม สำหรับหลักวิชาการและองค์ความรู้ที่มีประโยชน์ในการวางแผนและออกแบบงานวิจัย รวมถึงความดูแลเอาใจใส่ การให้คำปรึกษา ให้คำแนะนำ ตลอดจนความช่วยเหลือในแต่ละขั้นตอนระหว่างการทำงานจนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ตะวัน ลิ้มปิยากร ประธานกรรมการ รองศาสตราจารย์ ดร. เบญจพร สุวรรณศิลป์ กรรมการ และ ดร. กัลยาณ ศรีธัญญลักษณ์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกมหาวิทยาลัย ที่กรุณาสละเวลาในการสอบวิทยานิพนธ์ รวมถึงให้คำชี้แนะและแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ นอกจากนี้ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่อบรมสั่งสอน และให้ความรู้ที่เป็นประโยชน์สำหรับการประกอบวิชาชีพวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และโครงการฟาร์มทดสอบและสาธิตมีนเกษตร “สองน้ำ” มูลนิธิชัยพัฒนา จังหวัดฉะเชิงเทรา ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทำงานวิจัย และเอื้อเพื่อเครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี ตัวอย่างดิน รวมถึง ดร.เพ็ญพิชา สท้านวัตร ตลอดจนบุคลากรของศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเลทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการทำงานวิจัยและการวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ด้านต่างๆ

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา บุคคลในครอบครัว รวมถึงเพื่อนทุกคนที่คอยสนับสนุน เป็นแรงผลักดันและเป็นกำลังใจที่ดีสำหรับผู้วิจัยเสมอมา จนกระทั่งสามารถสำเร็จการศึกษา และได้รับปริญญามหาบัณฑิตที่ตั้งใจ

มงคล มิรัตนไพโร

## สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฐ
สารบัญรูป.....	ท
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 กุ้งขาวแวนนาไม (Litopenaeus vannamei).....	5
2.2 การเพาะเลี้ยงกุ้ง.....	6
2.2.1 ระบบบ่อดินกลางแจ้ง (Outdoor earthen pond).....	6
2.2.2 ระบบบ่อไร้ดินกลางแจ้ง (Outdoor Lining Pond).....	7
2.2.3 ระบบบ่อเลี้ยงในโรงเรือน (Indoor Pond).....	7
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง.....	8
2.3.1 อุณหภูมิ (Temperature).....	8

2.3.2 ออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen; DO).....	9
2.3.3 สภาพความเป็นด่าง (Alkalinity).....	10
2.3.4 พีเอช (pH).....	10
2.3.5 แอมโมเนีย (Ammonia; NH <sub>3</sub> ).....	11
2.3.6 ไนไตรต์ (Nitrite-N; NO <sub>2</sub> -N).....	12
2.3.7 ไนเตรต (Nitrate-N; NO <sub>3</sub> -N).....	12
2.3.8 ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogen sulfide; H <sub>2</sub> S).....	12
2.3.9 อนุภาคของแข็งแขวนลอย.....	13
2.4 คุณสมบัติและลักษณะที่สำคัญของดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง.....	14
2.4.1 ลักษณะทางกายภาพของดิน (Soil Physical Characteristics).....	14
1) เนื้อดิน (Soil Texture).....	14
2) การแบ่งกลุ่มดิน (Soil Classification).....	14
3) สีของดิน (Soil Color).....	15
2.4.2 ลักษณะทางเคมีของดิน (Soil Chemical Characteristics).....	15
1) ความเป็นกรดและด่างของดิน (Soil pH).....	15
2) สภาพออกซิเดชัน – รีดักชันในดิน (Oxidation-Reduction in Soil).....	16
2.4.3 ลักษณะทางชีวภาพของดิน (Soil Biological Characteristics).....	16
1) จุลินทรีย์ในดิน.....	16
2) การกระจายตัวของจุลินทรีย์ในดิน.....	17
3) ปัจจัยที่มีผลต่อจุลินทรีย์ในดิน.....	17
2.5 วัฏจักรไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ.....	18
2.5.1 แอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification).....	19
2.5.2 ไนทริฟิเคชัน (Nitrification).....	19
1) การออกซิไดซ์แอมโมเนียเป็นไนไตรต์.....	19



2) การออกซิไดซ์ไนโตรเจนเป็นไนเตรต .....	19
2.5.3 ดีไนทริฟิเคชัน (Denitrification).....	20
2.6 การปรับสภาพดินตะกอนฟอสฟอรัสในบ่อเลี้ยงกุ้ง .....	21
2.6.1 ที่มาของของเสียในบ่อเลี้ยงกุ้ง .....	22
2.6.2 การเตรียมฟอสฟอรัสในบ่อเลี้ยงกุ้ง .....	23
2.6.3 การกำจัดพาหะและศัตรูของลูกกุ้งในบ่อเลี้ยงกุ้ง.....	24
2.7 เชื้อก่อโรคกลุ่มวิบริโอ ( <i>Vibrio</i> Pathogens).....	24
2.7.1 ลักษณะทั่วไปของ <i>V. parahaemolyticus</i> .....	24
2.7.2 แหล่งที่อยู่ .....	25
2.7.3 ความทนทานของเชื้อ .....	26
2.7.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ .....	26
2.7.5 ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (Infective Dose) .....	26
2.7.6 การตรวจหาเชื้อ .....	26
2.7.7 การเพาะเลี้ยงเชื้อ.....	27
2.7.8 การทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี (Biochemical tests) .....	27
2.8 โรคติดเชื้อในกุ้ง .....	27
2.8.1 โรคติดเชื้อวิบริโอ ( <i>Vibriosis</i> ).....	27
2.8.2 โรคกุ้งตายด่วน (Early Mortality Syndrome; EMS).....	29
2.9 โอโซน (Ozone).....	30
2.9.1 การผลิตโอโซน .....	32
1) Photozone Method.....	32
2) Electrochemical Method .....	32
3) Radiochemical Method.....	32
4) Corona Discharge Method.....	32

2.9.2	ปัจจัยที่มีผลต่อโอโซน.....	33
1)	พีเอช.....	33
2)	อุณหภูมิ.....	33
3)	คุณสมบัติของสารละลาย.....	33
4)	วิธีการที่โอโซนสัมผัสกับสารละลาย.....	33
2.9.3	การสลายตัวของโอโซนละลายน้ำ.....	34
2.9.4	กลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรียของโอโซน.....	34
2.9.5	ปฏิกิริยาระหว่างโอโซนกับสารประกอบอินทรีย์.....	36
2.9.6	ข้อดี-ข้อเสียของโอโซน.....	37
2.9.7	การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนตกค้างในน้ำ (Residual Ozone Concentration; ROC)	
	38	
2.10	ความเป็นพิษของโอโซนในระบบเพาะเลี้ยงกุ้ง.....	38
2.10.1	ความเป็นพิษของโอโซนต่อแบคทีเรีย.....	38
2.10.2	ความเป็นพิษของโอโซนต่อกุ้งขาว.....	40
2.10.3	ความเป็นพิษของโอโซนต่อกระบวนการไนตริฟิเคชัน.....	40
2.10.4	ความเป็นพิษของโอโซนต่อสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน.....	41
2.11	บททวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	42
2.11.1	สรุปประเด็นสำคัญจากการทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	44
บพที่ 3	แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย.....	45
3.1	วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	45
3.1.1	อุปกรณ์และวัสดุวิทยาศาสตร์.....	45
3.1.2	อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ดินและน้ำ.....	45
3.1.3	สารเคมี 46	
3.1.4	อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	47

3.2 แผนการดำเนินงานวิจัย.....	47
3.3 การดำเนินการทดลอง.....	51
3.3.1 การทดลองช่วงที่ 1 การศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพ เคมี และปริมาณเชื้อก่อโรค ของดินพื้นบ่อระบบการเลี้ยงกุ้งชาวกลางแจ้ง.....	51
1) การเก็บตัวอย่างดินและการเตรียมดิน.....	51
2) การวิเคราะห์สภาพดิน.....	52
3.3.2 การทดลองช่วงที่ 2 ผลของความเข้มข้นไอโซนตค้ำในน้ำเค็มในห้องปฏิบัติการ.....	53
1) การศึกษาค่าความเข้มข้นของไอโซนในน้ำ.....	53
(1.1) เครื่องกำเนิดไอโซน.....	53
(1.2) เตรียมไอโซนละลายน้ำที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 7.5 ลิตร.....	55
(1.3) เตรียมเชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> .....	56
2) การศึกษาความเข้มข้นของไอโซนตค้ำในน้ำต่อปริมาณเชื้อก่อโรค.....	56
3) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> .....	57
4) ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> ในดินและการวิเคราะห์ทางสถิติ .....	59
3.3.3 การทดลองช่วงที่ 3 การประยุกต์ใช้ไอโซนในการควบคุมเชื้อก่อโรคในระบบเลี้ยงกุ้ง แบบบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริง.....	59
1) การทดลองช่วงที่ 3.1 การปรับสภาพดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง.....	59
(1.1) เตรียมไอโซนละลายน้ำตามความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองช่วงที่ 2..	59
(1.2) เตรียมดินก่อนการเลี้ยงกุ้งชาวในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง.....	60
(1.3) การวิเคราะห์อัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน.....	62
2) การทดลองที่ 3.2 การใช้ไอโซนปรับสภาพดินสำหรับเลี้ยงกุ้งชาวในบ่อดิน จำลองสภาวะเหมือนจริง.....	64
(2.1) การเตรียมบ่อสำหรับการทดลอง.....	64
(2.2) การเตรียมบ่อและติดตั้งอุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงกุ้งในสภาวะจำลอง...	64

(2.3) การเลี้ยงกุ้งในสภาวะจำลอง.....	65
(2.4) การตรวจวัดพารามิเตอร์ระหว่างการทดลอง .....	66
3.4 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ .....	68
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง .....	69
4.1 การทดลองช่วงที่ 1 การศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพ เคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคของดิน พื้นที่บ่อระบบการเลี้ยงกุ้งชาวกลางแจ้ง.....	69
4.1.1 ลักษณะสมบัติทางกายภาพ เคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคของดินพื้นที่บ่อระบบการเลี้ยงกุ้ง ชาวกลางแจ้ง.....	69
4.2 การทดลองช่วงที่ 2 ผลของความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเค็มในห้องปฏิบัติการ.....	71
4.2.1 ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำที่ช่วงเวลาต่างๆ และจุดอิ่มตัว .....	71
4.2.2 ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำและระยะเวลาการสัมผัสต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ เชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> ในดิน .....	72
1) ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3 มก./ล.....	73
2) ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.6 มก./ล.....	73
3) ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล.....	73
4) ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.5 มก./ล.....	74
4.2.3 ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> ในดิน.....	75
4.3 การทดลองช่วงที่ 3 การประยุกต์ใช้โอโซนในการควบคุมเชื้อก่อโรคในระบบเลี้ยงกุ้งในบ่อดิน จำลองที่สภาวะเหมือนจริง.....	76
4.3.1 การปรับสภาพดินพื้นที่บ่อเลี้ยงกุ้ง.....	76
1) การเตรียมโอโซนละลายน้ำที่ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ปริมาตร 50 ลิตร .....	76
2) การประเมินอัตราการแอมโมเนียของดิน.....	77
4.3.2 การใช้โอโซนในการปรับสภาพดินสำหรับเลี้ยงกุ้งชาวในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง	
1) การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> .....	80

2) การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม .....	83
3) การเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำ.....	86
(1) แอมโมเนีย .....	86
(2) ไนไตรต์.....	87
(3) ไนเตรต.....	88
(4) ออกซิเจนละลายน้ำ.....	90
(5) พีเอช 90	
(6) สภาพความเป็นต่าง.....	91
(7) อุณหภูมิของน้ำ.....	92
(8) ความเค็ม.....	93
(9) แคลเซียม.....	93
(10) แมกนีเซียม.....	94
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ .....	97
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	97
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	100
บรรณานุกรม.....	101
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์.....	107
ภาคผนวก ข ผลการวิเคราะห์สำหรับการทดลองช่วงที่ 1 .....	118
ภาคผนวก ค ผลการวิเคราะห์สำหรับการทดลองช่วงที่ 2.....	121
ภาคผนวก ง ผลการวิเคราะห์สำหรับการทดลองช่วงที่ 3.....	124
ภาคผนวก จ ตัวอย่างรายการคำนวณ .....	135
ประวัติผู้เขียน.....	137

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2-1 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อสัตว์น้ำ.....	9
ตารางที่ 2-2 ผลของค่าพีเอชต่อสัตว์น้ำ.....	11
ตารางที่ 2-3 ปริมาณความเข้มข้นของสารยับยั้งที่มีผลต่อกระบวนการไนทริฟิเคชัน.....	20
ตารางที่ 2-4 ครึ่งชีวิตของโอโซนในรูปก๊าซที่อุณหภูมิต่างๆ.....	31
ตารางที่ 2-5 ครึ่งชีวิตของโอโซนในรูปน้ำโอโซนที่สภาวะพีเอช เท่ากับ 7 ที่อุณหภูมิต่างๆ.....	31
ตารางที่ 2-6 ความเป็นพิษของโอโซนต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ.....	39
ตารางที่ 2-7 ความเป็นพิษของโอโซนต่อกุ้งขาว.....	40
ตารางที่ 2-8 ความเป็นพิษของโอโซนต่อการทำงานของแอมโมเนียออกซิเดซิซิงแบคทีเรีย.....	40
ตารางที่ 2-9 ความเป็นพิษของโอโซนต่อความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน.....	41
ตารางที่ 3-1 วิธีการวิเคราะห์และการเก็บรักษาตัวอย่างดิน.....	52
ตารางที่ 3-2 ตัวแปรต่างๆ ในการทดลองช่วงที่ 1.....	53
ตารางที่ 3-3 ตัวแปรต่างๆ ในการทดลองช่วงที่ 2.....	58
ตารางที่ 3-4 ตัวแปรต่างๆ ในการทดลองช่วงที่ 3.....	62
ตารางที่ 3-5 ตัวแปรต่างๆ ในการทดลองวิเคราะห์อัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน.....	63
ตารางที่ 3-6 ตัวแปรต่างๆ ในการทดลองเลี้ยงกุ้งในบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริง.....	67
ตารางที่ 3-7 พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ทำการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้.....	68
ตารางที่ 4-1 ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติทางกายภาพ เคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคของดินพื้น บ่อระบบการเลี้ยงกุ้งขาวกลางแจ้ง.....	70
ตารางที่ 4-2 การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม.....	85
ตารางที่ 4-3 พารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำระหว่างการเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม.....	96

## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2-1	กุ้งขาวแวนนาไม ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) ..... 5
รูปที่ 2-2	การจำแนกอนุกรมวิธานของกุ้งขาวแวนนาไม ..... 5
รูปที่ 2-3	กลไกการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ชลธิชา พลายชุม, 2553)..... 8
รูปที่ 2-4	แผนผังรูปสามเหลี่ยมด้านเท่าในการแบ่งกลุ่มดิน (ที่มา : Wang et al., 2008) ..... 15
รูปที่ 2-5	การบำบัดสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (ดัดแปลงจาก ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544)..... 18
รูปที่ 2-6	ลักษณะเนื้อตายในเฮปปาโตแพนเคเรียสเกิดจากการติดเชื้อไวรัส (ชลอ ลี้มสุวรรณ และคณะ, 2551)..... 29
รูปที่ 2-7	ลักษณะของกุ้งที่ติดเชื้อ EMS (ชัยวุฒิ สุตทองคง, 2555)..... 30
รูปที่ 2-8	รูปและปฏิกิริยาการเกิดโอโซน (O <sub>3</sub> )..... 30
รูปที่ 2-9	กลไกการสลายตัวของโอโซนในน้ำบริสุทธิ์ (Staehelin และคณะ, 1984)..... 34
รูปที่ 3-1	แผนผังการทดลองช่วงที่ 1 และ 2 ..... 49
รูปที่ 3-2	แผนผังการทดลองช่วงที่ 3..... 50
รูปที่ 3-3	จุดเก็บตัวอย่างดินจากบ่อเลี้ยงกุ้งโครงการฟาร์มทดสอบและสาธิตมีนเกษตร “สองน้ำ” มูลนิธิชัยพัฒนา จ. ฉะเชิงเทรา ..... 51
รูปที่ 3-4	เครื่องกำเนิดโอโซนยี่ห้อ Ebase รุ่น OZ 1060T..... 54
รูปที่ 3-5	เครื่องกำเนิดโอโซนชนิดมีปั๊มลมในตัว ยี่ห้อ Ebase รุ่น OZ 3070A ..... 54
รูปที่ 3-6	กลไกการทำงานของเครื่องกำเนิดโอโซน..... 54
รูปที่ 3-7	การเตรียมและวิเคราะห์ความเข้มข้นของโอโซนตกค้างในน้ำปริมาตร 7.5 ลิตร..... 55
รูปที่ 3-8	ชุดการทดลองเพื่อศึกษาความเข้มข้นของโอโซนตกค้างในน้ำแตกต่างกัน (แสดงอุปกรณ์ต่อ 1 ชุดการทดลอง) ..... 56

รูปที่ 3-9	การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> ในดิน.....	58
รูปที่ 3-10	การเตรียมและวิเคราะห์ความเข้มข้นไอโชนตกค้างในน้ำปริมาณ 50 ลิตร.....	60
รูปที่ 3-11	ชุดอุปกรณ์สำหรับการปรับสภาพดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งด้วยแนวทางกายภาพและเคมี ..	61
รูปที่ 3-12	การทดลองเพื่อวิเคราะห์อัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน (แสดงอุปกรณ์ต่อ 1 ชุด การทดลอง).....	63
รูปที่ 3-13	การติดตั้งชุดอุปกรณ์เพื่อศึกษาการใช้ไอโชนปรับสภาพดินสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อ ดินจำลองสภาวะเหมือนจริง .....	65
รูปที่ 3-14	ชุดทดลองในการศึกษาการเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง.....	66
รูปที่ 4-1	การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นไอโชนตกค้างในน้ำเมื่อเติมไอโชนอย่างต่อเนื่องที่ ช่วงเวลาต่างๆ ในระยะเวลา 1 ชม.....	72
รูปที่ 4-2	การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> ในดินของชุดทดลอง ที่ระดับความ เข้มข้นไอโชนตกค้างในน้ำ 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล.....	74
รูปที่ 4-3	ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> ในดินของชุดทดลองที่มีการแปรค่าความ เข้มข้นไอโชนตกค้างในน้ำเริ่มต้น 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล. ที่เวลาสัมผัส 5, 10, 30 และ 60 นาที.....	75
รูปที่ 4-4	การเตรียมไอโชนละลายน้ำที่มีความเข้มข้นไอโชนตกค้าง $1.01 \pm 0.04$ มก./ล. ใน น้ำเค็มปริมาตร 50 ล.....	77
รูปที่ 4-5	ความเข้มข้นของ (ก) แอมโมเนีย (ข) ไนไตรต์ และ (ค) ไนเตรต ระหว่างชุดควบคุมที่ ไม่มีการบำบัดดินด้วยไอโชนและชุดทดลองที่ใช้ไอโชนตกค้าง $1.01 \pm 0.04$ มก./ล. ใน การบำบัดดิน .....	79
รูปที่ 4-6	ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง (ก) ในดิน และ (ข) ในน้ำ ของระบบเลี้ยงกุ้งในบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริง.....	83
รูปที่ 4-7	การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม (ก) น้ำหนักของกุ้ง (ข) ความยาวของกุ้ง ในบ่อ ดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริงระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง .....	84
รูปที่ 4-8	ลักษณะของกุ้ง (ก) ชุดควบคุม และ (ข) ชุดทดลอง ในระบบเลี้ยงกุ้งบ่อดินจำลองที่ สภาวะเหมือนจริงเป็นเวลา 45 วัน .....	86



รูปที่ 4-9	การเปรียบเทียบปริมาณ (ก) แอมโมเนีย (ข) ไนไตรต์ (ค) ไนเตรต ในถังเลี้ยงกุ้งขาว แวนนาไมระหว่างชุดควบคุมที่ไม่มีการบำบัดดินด้วยโอโซนและชุดทดลองที่ใช้โอโซน ตกค้าง $1.01 \pm 0.04$ มก./ล. ในการบำบัดดิน .....	89
รูปที่ 4-10	การเปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุด ควบคุมและชุดทดลอง .....	90
รูปที่ 4-11	การเปรียบเทียบค่าพีเอชในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุมและชุด ทดลอง .....	91
รูปที่ 4-12	การเปรียบเทียบปริมาณสภาพความเป็นด่างในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุด ควบคุมและชุดทดลอง .....	92
รูปที่ 4-13	การเปรียบเทียบอุณหภูมิของน้ำในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุมและชุด ทดลอง .....	92
รูปที่ 4-14	การเปรียบเทียบค่าความเค็มในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุมและชุด ทดลอง .....	93
รูปที่ 4-15	การเปรียบเทียบปริมาณแคลเซียมในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุมและ ชุดทดลอง.....	94
รูปที่ 4-16	การเปรียบเทียบปริมาณแมกนีเซียมในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุม และชุดทดลอง .....	95

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กุ้งขาวแวนนาไม หรือ กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ถูกนำเข้ามาทดลองเลี้ยงในช่วงปี พ.ศ. 2541 ซึ่งยังไม่ได้ได้รับความนิยมมากนัก ต่อมากรมประมงได้อนุญาตให้นำพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์กุ้งขาวที่ปลอดเชื้อเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทยได้ พบว่า การเลี้ยงกุ้งขาวประสบความสำเร็จและให้ผลผลิตดีกว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เนื่องจากกุ้งขาวเจริญเติบโตรวดเร็ว สามารถอาศัยและหากินอยู่ทั้งผิวน้ำ กลางน้ำ และพื้นท้องน้ำ อีกทั้งยังสามารถกินอาหารได้หลากหลายจึงเป็นที่นิยมของเกษตรกรไทยมากขึ้น โดยในปี พ.ศ. 2549 มีผลผลิตกุ้งขาวปริมาณ 480,061 ตัน และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงปี พ.ศ. 2555 สามารถผลิตกุ้งขาวได้มากถึง 588,361 ตัน อย่างไรก็ตาม ในช่วงปลายปี พ.ศ. 2555 ถึง 2556 ประเทศไทยเริ่มประสบปัญหาโรค EMS (Early Mortality Syndrome) ระบาดอย่างรุนแรงทำให้ทุกภาคมีเนื้อที่เลี้ยงกุ้งขาวลดลง ส่งผลทำให้ผลผลิตกุ้งขาวในปี พ.ศ. 2556 ลดลงอย่างมาก โดยมีผลผลิตกุ้งขาวปริมาณ 310,705 ตัน และยังคงส่งผลกระทบต่อเนื่อง (กลุ่มสถิติการประมง, 2566)

อย่างไรก็ตาม อุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทยมักพบการระบาดของโรคในระหว่างการเลี้ยง ได้แก่ โรคเรืองแสง โรควิวริโอ โรคซีขาว และโรค EMS ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* โดยกลุ่มอาการตายด่วน เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า กลุ่มอาการตับและตับอ่อนตายเฉียบพลัน (Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome; AHPNS) พบการระบาดครั้งแรกในรัฐเท็กซัส เมื่อปี พ.ศ. 2528 และกระจายไปประเทศจีน เวียดนาม มาเลเซีย และไทย ในช่วงปี พ.ศ. 2552 ถึง พ.ศ. 2554 ตามลำดับ อาการของกุ้งที่ติดเชื้อโรควิวริโอตายด่วน พบว่า กุ้งจะมีลักษณะตัวซีด ขาวขุ่น เปลือกนึ่ม ตับและตับอ่อนซีดขาว ฝ่อ ลีบ หรือสีเหลืองอ่อน อาหารไม่เต็มลำไส้ ขาดเป็นช่วงๆ พบกุ้งตายจำนวนมากบริเวณพื้นที่ก้นบ่อ กุ้งในบ่อจะเริ่มตายภายในระยะเวลา 20 - 30 วัน และหากไม่มีการรักษาจะทำให้กุ้งมีอัตราการตายสูงถึงร้อยละ 90

ทั้งนี้การป้องกันและการแก้ปัญหาการติดเชื้อในกุ้ง รวมถึงการจัดการสุขภาพกุ้งในฟาร์มเลี้ยงในระยะยาวนั้นไม่่ง่ายนัก เนื่องจากการเกิดโรคไม่เพียงเกี่ยวข้องกับปัจจัยด้านสุขภาพของลูกกุ้ง แต่ยังรวมถึงปัจจัยด้านการจัดการอื่นๆ เช่น คุณภาพน้ำ สภาพดินพื้นบ่อ และการเปลี่ยนแปลงทางด้านสิ่งแวดล้อม เป็นต้น ดังนั้นการรักษาโรคจึงไม่เพียงแต่ใช้ยาหรือสารเคมีในการกำจัดเชื้อโรคเพียงอย่างเดียว แต่รวมไปถึงการจัดการสภาพต่างๆ ภายในบ่อเลี้ยงให้ดีขึ้นควบคู่ไปด้วย โดยทั่วไปการ

เลี้ยงกุ้งในระบบบ่อดินกลางแจ้งมักพบการสะสมตัวของเชื้อก่อโรคบริเวณดินพื้นบ่อ ดังนั้นภายหลังจากการเลี้ยงกุ้ง เกษตรกรจึงทำความสะอาดบ่อด้วยการฉีดยา และทำการฆ่าเชื้อก่อโรคก่อนเริ่มต้นการเลี้ยงกุ้งในรอบถัดไปด้วยการเติมคลอรีนความเข้มข้น 20 มก./ล. หรือ การเติมปูนเผา (CaO) ให้ค่าพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 8 เป็น 11 หรือ 12 ทันที และทิ้งไว้ประมาณ 5-7 วัน (สิริ ทุกข์วิภาส, 2547) อย่างไรก็ตามการเติมสารเคมีที่มีสถานะเป็นด่างรุนแรงควบคู่กับการตากบ่อไม่เพียงแต่ทำลายเชื้อก่อโรคในดิน แต่ยังทำลายจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในกระบวนการบำบัดของเสียไนโตรเจนที่เกิดขึ้นในระหว่างการเลี้ยงกุ้งไปด้วย ส่งผลทำให้ระบบเสียสมดุลในการบำบัด และอาจก่อให้เกิดการสะสมตัวของของเสียเมื่อเริ่มต้นการเลี้ยงสัตว์น้ำในรอบถัดไป

การใช้โอโซนในการกำจัดเชื้อก่อโรคบริเวณดินพื้นบ่อเป็นทางเลือกในการจัดการระบบบ่อดินกลางแจ้งที่น่าสนใจ จากการศึกษาผลของการเติมโอโซนต่อแบคทีเรียสกุลวิบริโอในระบบเลี้ยงกุ้งแบบปิด พบว่า แบคทีเรีย *Vibrio* spp. และ *Vibrio parahaemolyticus* มีการสะสมบริเวณตะกอนก้นถึงมากที่สุด และเมื่อเติมโอโซนลงในน้ำที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้าง 0.3 และ 0.4 มก./ล. แบคทีเรียดังกล่าวจะลดลงได้ทั้งหมดภายในระยะเวลา 50 และ 40 นาที ตามลำดับ ทั้งนี้การเติมโอโซนที่ความเข้มข้นโอโซนตกค้างเท่ากับ  $0.30 \pm 0.01$  มก./ล. สามารถทำลายแบคทีเรีย *Vibrio* spp. และ *V. parahaemolyticus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยไม่ส่งผลต่อการทำงานของไนตริไฟอิงแบคทีเรียในกระบวนการบำบัดแอมโมเนีย (Pumkaew และคณะ, 2021)

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการประยุกต์ใช้โอโซนเพื่อควบคุมปริมาณแบคทีเรียสะสมในดินพื้นบ่อ โดยเฉพาะแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* ซึ่งเป็นสาเหตุของกลุ่มอาการตายด่วน หรือกลุ่มอาการดับและดับอ่อนตายเฉียบพลัน โดยมุ่งเน้นไปที่การหาระดับความเข้มข้นโอโซนและระยะเวลาการสัมผัสที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดการทำลายเชื้อก่อโรคอย่างสมบูรณ์ โดยที่ไม่กระทบต่อประสิทธิภาพการบำบัดไนโตรเจนของดิน ซึ่งข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางเลือกในการจัดการดินพื้นบ่อภายหลังการเลี้ยง โดยสามารถลดระยะเวลาการเตรียมบ่อ รวมถึงสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคระบาดในระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## 1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาการสัมผัสโอโซนต่อการลดลงของปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* และอัตราการกำจัดสารอินทรีย์ไนโตรเจนของดินพื้นบ่อ
- 1.2.2 เพื่อประเมินศักยภาพการประยุกต์ใช้โอโซนในกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในบ่อดินเลี้ยงกุ้งจำลองในห้องปฏิบัติการ

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองในระดับปฏิบัติการ ดำเนินการที่อุณภูมิห้อง ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยกำหนดขอบเขตของงานวิจัย ดังนี้

1.3.1 ดินตะกอนที่ใช้ในการวิจัยเป็นดินจากพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus Vannamei*) โดยเก็บตัวอย่างดินภายหลังการเลี้ยงกุ้ง จากฟาร์มทดสอบและสาธิตมีนเกษตร “สองน้ำ” มูลนิธิชัยพัฒนา อำเภอมะนัง จังหวัดฉะเชิงเทรา

1.3.2 โอโซนที่ใช้การทดลองอยู่ในรูปของโอโซนละลายน้ำ โดยตรวจวัดเป็นความเข้มข้นของโอโซนตกค้างในน้ำ (Residual Ozone Concentration; ROC)

1.3.3 ระบบจำลองสภาพดินบ่อเลี้ยงสัตว์กุ้ง อาศัยดินที่เก็บจากพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งกลางแจ้ง ดำเนินการทดลองแบบต่อเนื่องในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำปริมาตร 100 ลิตร ด้วยการเลี้ยงกุ้งขาวในระดับความหนาแน่นเริ่มต้น 1.0 กก./ลบ.ม. เป็นเวลา 45 วัน

1.3.4 ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ในดิน ได้แก่ พีเอช (pH) ความเค็ม (Salinity) อินทรีย์วัตถุ (Organic Matter) อินทรีย์คาร์บอนรวม (Total Organic Carbon) สัดส่วนแร่ธาตุ ความชื้นในดิน (Soil Moisture Content) ความต้องการออกซิเจนของดิน (Sediment Oxygen Demand, SOD) และปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio*

1.3.5 ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ในน้ำ ได้แก่ แอมโมเนีย ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) ไนไตรต์ ( $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ) ไนเตรต ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) ออกซิเจนละลายน้ำ (DO) พีเอช (pH) สภาพความเป็นด่าง (Alkalinity) อุณหภูมิ (Temperature) ความเค็ม (Salinity) แคลเซียม (Calcium) แมกนีเซียม (Magnesium) และปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio*

1.3.6 ทำการวิเคราะห์เชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* โดยใช้เทคนิค Standard Plate Count ด้วยวิธี Spread Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เพื่อทราบถึงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* รวมถึงตำแหน่งที่มีการสะสมเชื้อก่อโรคในดินพื้นบ่อภายหลังจากการเลี้ยงกุ้งขาวในระบบบ่อดินกลางแจ้ง

1.4.2 เพื่อให้ได้แนวทางการจัดการดินพื้นบ่อภายหลังการเลี้ยงกุ้งด้วยการประยุกต์ใช้ไอโซนในระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการสัมผัสที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดการทำลายเชื้อก่อโรคอย่างสมบูรณ์ โดยที่ไม่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการกำจัดของเสียไนโตรเจนของดิน



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

กุ้งขาวแวนนาไม ชื่อวิทยาศาสตร์ *Litopenaeus vannamei* หรือเรียกว่า กุ้งขาว เป็นกุ้งพื้นถิ่นของทวีปอเมริกาใต้พบได้ทั่วไปบริเวณชายฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันออก ถูกนำเข้ามาทดลองเลี้ยงในช่วงปี พ.ศ. 2541 ซึ่งยังไม่ได้รับความนิยมมากนัก ต่อมากรมประมงได้อนุญาตให้นำพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์กุ้งขาวที่ปลอดเชื้อเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทยได้ พบว่า การเลี้ยงกุ้งขาวประสบความสำเร็จและให้ผลผลิตดีกว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เนื่องจากกุ้งขาวเจริญเติบโตรวดเร็ว สามารถอาศัยและหากินอยู่ทั้งผิวน้ำ กลางน้ำ และพื้นที่ท้องน้ำ อีกทั้งยังสามารถกินอาหารได้หลากหลายจึงเป็นที่นิยมของเกษตรกรไทยมากขึ้น แต่มีข้อเสียคือไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมและตกใจง่าย ดังรูปที่ 2-1 และมีการจำแนกอนุกรมวิธานของกุ้งขาวแวนนาไม ดังรูปที่ 2-2



รูปที่ 2-1 กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Phylum Arthropoda

Class Crustacea

Subclass Malacostraca

Superorde Eucarid Ecarida

Order Decapoda

Suborder Natantia

Section Penaeidea

Family Penaeidae

Genus *Litopenaeus*

Species *vannamei*

รูปที่ 2-2

การจำแนกอนุกรมวิธานของกุ้งขาวแวนนาไม

ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไม ลำตัวมี 8 ปล้องและมีสีขาวย ส่วนหัวมี 1 ปล้อง เปลือกหัวสีขาวยอมชมพูถึงแดง หน้าอกใหญ่ มีกริยาวประมาณ 0.8 เท่าของความยาวเปลือกหัวสันกริ ปลายกริแคบ ส่วนของกริมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีแดงอมน้ำตาล กริด้านบนมี 8 ฟัน กริด้านล่างมี 2 ฟัน ร่องบนกริมองเห็นได้ชัด ขาเดินมีสีขาวยเป็นลักษณะที่โดดเด่น ขนาดแดง 2 เส้นยาว ตาแดงเข้ม ส่วนตัวมี 6 ปล้อง เปลือกตัวสีขาวยอมชมพูถึงแดง เปลือกบาง ขาววัยน้ำ 5 คู่ มีสีขาวยข้างในที่ปลายมีสีแดง ส่วนหางมี 1 ปล้อง ปลายหางมีสีแดงเข้ม แพนหางมี 4 ใบ และ 1 กริหาง ขนาดตัวที่โตสมบูรณ์เต็มที่ของกุ้งสายพันธุ์นี้จะมีขนาดที่เล็กกว่ากุ้งกุลาดำ

## 2.2 การเพาะเลี้ยงกุ้ง

การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมสามารถเลี้ยงได้ในบ่อธรรมชาติ บ่อกึ่งหนาแน่น และการเลี้ยงแบบพัฒนาที่ปล่อยกุ้งหนาแน่นสูงได้ดีกว่ากุ้งกุลาดำ ซึ่งเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งต้องมีระบบจัดการฟาร์มที่ดี เพื่อให้กุ้งขาวแวนนาไมมีลักษณะพิเศษ คือ สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในน้ำที่มีระดับความเค็มที่ 5 - 35 พีพีที และระดับความเค็มต่ำ 0 - 5 พีพีที แต่ที่ระดับความเค็ม 10 - 22 พีพีที จะสามารถเจริญเติบโตได้ดี ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งมีค่าอยู่ในช่วง 26 - 29° ซ. แต่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ที่อุณหภูมิ 25 - 35° ซ. ระดับออกซิเจนที่ละลายในน้ำควรมีค่า 4 - 9 มก./ล. และสำหรับค่าความเป็นกรดและด่างควรอยู่ระหว่าง 7.2 - 8.6 ซึ่งสามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในบริเวณพื้นที่ชายฝั่ง หรือบริเวณพื้นที่ที่มีความเค็มต่ำ กุ้งชนิดนี้ชอบน้ำที่มีความกระด้างรวม 120 มก./ล. มีค่าอัลคาไลน์ดีในช่วง 80 - 150 มก./ล. มีนัยสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงสถานะของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง ตื่นตกใจง่าย ซึ่งสามารถจำแนกรูปแบบการเลี้ยงกุ้งได้เป็น 3 ระบบ ดังนี้

### 2.2.1 ระบบบ่อดินกลางแจ้ง (Outdoor earthen pond)

เป็นรูปแบบที่สามารถดำเนินการได้ง่ายและใช้ต้นทุนต่ำ เกษตรกรจึงเลือกนิยมเลือกใช้รูปแบบนี้และพบเห็นได้ทั่วไป ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อรูปแบบนี้ เช่น แสงแดด อุณหภูมิ และปริมาณน้ำฝนมีการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล ซึ่งเกษตรกรนิยมใช้วิธีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเพื่อควบคุมปริมาณของเสียไนโตรเจนและปริมาณแพลงก์ตอนพืช ดังนั้น ดินตะกอนก้นบ่อที่ผ่านการเลี้ยงกุ้งจึงการสะสมของเศษอาหารและสิ่งปฏิกูลจากกุ้ง จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการกำจัดไนโตรเจนของระบบบ่อดินกลางแจ้ง โดยเฉพาะอาหารที่หลุดตกค้างและสิ่งปฏิกูลจากการขับถ่ายของกุ้งจะถูกบำบัดจากการเติมอากาศบริเวณผิวน้ำ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในระบบได้จากการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชในช่วงเวลากลางวัน ซึ่งก๊าซออกซิเจนดังกล่าวจะถูกใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์และปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน ทำให้ของเสียไนโตรเจนในระบบเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ

สารอนินทรีย์ ได้แก่ แอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต โดยแพลงก์ตอนพืชจะนำสารอนินทรีย์เหล่านี้มาใช้ในการเจริญเติบโตจึงเป็นการหมุนเวียนสารตามธรรมชาติ

### 2.2.2 ระบบบ่อไร้ดินกลางแจ้ง (Outdoor Lining Pond)

เป็นบ่อกลางแจ้งมีการปูพื้นด้วยซีเมนต์หรือเป็นบ่อดินที่มีการปูพื้นด้วยวัสดุสังเคราะห์ผ้าพลาสติกโพลีเอทิลีน (Polyethylene) เนื่องจากบริเวณพื้นบ่อไม่มีดินตะกอนเช่นเดียวกับระบบบ่อเลี้ยงภายในโรงเรือน ดังนั้นการกำจัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจนตามธรรมชาติบริเวณพื้นบ่อผ่านกระบวนการดีไนทริฟิเคชันจึงเกิดขึ้นได้ไม่สมบูรณ์ ซึ่งไนไตรต์และไนเตรตจะถูกบำบัดต่อไปเป็นก๊าซไนโตรเจนได้น้อย แต่เนื่องจากระบบบ่อไร้ดินกลางแจ้งจะได้รับแสงในช่วงเวลากลางวันเช่นเดียวกับระบบบ่อดินกลางแจ้ง ทำให้การสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นได้ และแพลงก์ตอนพืชสามารถเติบโตอยู่ในบ่อได้ ส่งผลดีต่อการช่วยกำจัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจนและพืชสามารถดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์ได้ เมื่อมีสารอาหารมากเกินไปแพลงก์ตอนพืชจำนวนมากขึ้นจนปิดกั้นการส่องผ่านของแสงลงสู่แหล่งน้ำ ส่งผลทำให้น้ำในระบบมีความขุ่นสูงและเนื่องจากในระบบไม่มีดินตะกอนพื้นบ่อเป็นตัวช่วยบำบัดในกระบวนการดีไนทริฟิเคชัน การรีดิวซ์ไนเตรตจึงเกิดขึ้นได้น้อยมากเมื่อเทียบกับระบบบ่อดินกลางแจ้ง ทำให้ปริมาณไนเตรตเกิดการสะสมและตกค้างอยู่ในระบบ

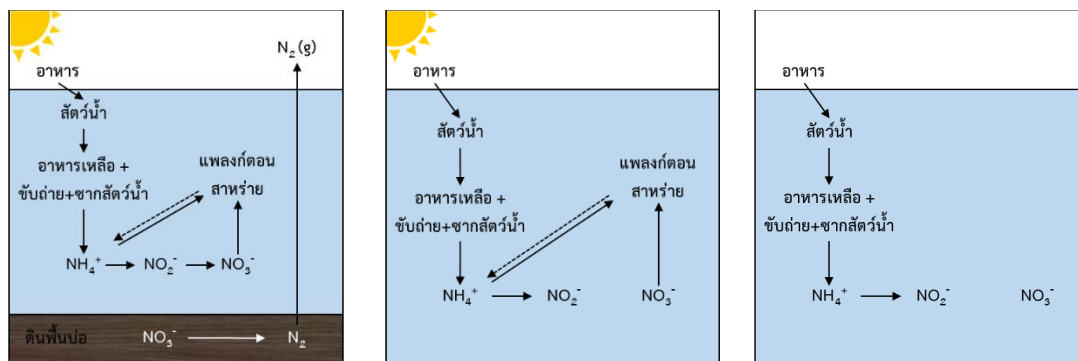
### 2.2.3 ระบบบ่อเลี้ยงในโรงเรือน (Indoor Pond)

เป็นรูปแบบการเลี้ยงกุ้งภายในอาคารหรือโรงเรือน ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงของแสงแดด อุณหภูมิ และปริมาณน้ำฝนน้อยกว่าระบบบ่อกลางแจ้ง ลักษณะของระบบจะเป็นบ่อที่มีการปูพื้นด้วยซีเมนต์หรือพลาสติก ทำให้สามารถแก้ไข้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นกับระบบบ่อดินกลางแจ้งได้ เช่น ลดปัญหาการติดเชื้อโรคจากดินตะกอนพื้นบ่อ ลดปัญหาคุณภาพดิน รวมถึงสามารถควบคุมคุณภาพน้ำได้ดีกว่าระบบอื่น แต่ทั้งนี้ระบบบ่อเลี้ยงภายในโรงเรือนยังพบปัญหาอื่นๆ เช่น มีการสะสมของของเสียเนื่องจากกระบวนการกำจัดไนโตรเจนเกิดขึ้นได้ไม่สมบูรณ์ ทำให้ปริมาณสารอนินทรีย์ไนโตรเจนเพิ่มขึ้นอย่างมากจนส่งผลกระทบต่อกุ้ง ทำให้กุ้งกินอาหารน้อยลง เจริญเติบโตช้ากว่าปกติ ระบบนี้จึงจำเป็นต้องมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในระบบเป็นประจำเพื่อลดความเข้มข้นของสารอนินทรีย์ไนโตรเจนที่เกิดขึ้น หรือจำเป็นต้องมีการผนวกระบบบำบัดของเสียไนโตรเจนเพื่อให้สามารถเลี้ยงสัตว์น้ำในระดับความหนาแน่นที่สูงขึ้นได้

ระบบเพาะเลี้ยงกุ้งทั้ง 3 ระบบ มีสถานะแวดล้อมและกลไกการกำจัดสารอนินทรีย์ที่สะสมอยู่ในบ่อเพาะเลี้ยงที่ต่างกัน ซึ่งชั้นดินตะกอนพื้นบ่อมีผลอย่างมากต่อการหมุนเวียนในวัฏจักรไนโตรเจน ปัญหาการสะสมตัวของสารประกอบไนโตรเจนประเภทต่างๆ ได้แก่ แอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต



ของแต่ละรูปแบบส่งผลทำให้แนวทางการแก้ปัญหาที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งมีความแตกต่างกัน กลไกการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแสดงดังรูปที่ 2-3



(1) ระบบบ่อดินกลางแจ้ง (2) ระบบบ่อไร้ดินกลางแจ้ง (3) ระบบบ่อเลี้ยงในโรงเรือน

รูปที่ 2-3 กลไกการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

(ชลธิชา พลายชุม, 2553)

## 2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง

คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญเติบโตของกุ้ง รวมทั้งส่งผลต่อกิจกรรมทางชีวภาพ ทางเคมี การรักษาสสมดุลร่างกาย การขับถ่าย และการสืบพันธุ์ของกุ้ง คุณภาพน้ำจึงมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตและปริมาณผลผลิตกุ้ง ดังนั้นการเลี้ยงกุ้งควรควบคุมคุณภาพน้ำภายในบ่อให้เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลผลิตตามความต้องการ โดยปัจจัยที่มีผลต่อระบบเพาะเลี้ยงกุ้งในบ่อดิน มีรายละเอียดดังนี้

### 2.3.1 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีบทบาทสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ตามฤดูกาล โดยกิจกรรมต่างๆ ของจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมซึ่งมีผลต่อปฏิกิริยาต่างๆ เช่น กระบวนการเมตาบอลิซึม การย่อยสลายสารอินทรีย์ เป็นต้น นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในน้ำยังมีผลต่อสัตว์น้ำทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยในทางตรงอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น 1 องศาเซลเซียส จะทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกายของสัตว์เพิ่มขึ้น 10 เท่า ทำให้สัตว์มีความต้องการอาหารและออกซิเจนเพิ่มขึ้น ส่วนในทางอ้อมจะมีผลต่อกิจกรรมการย่อยสลายอินทรีย์สารของจุลินทรีย์ โดยจะส่งผลให้ความสามารถในการละลายน้ำของออกซิเจนลดลง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำจึงลดลงเช่นกัน จุลินทรีย์กลุ่มที่ต้องการออกซิเจนจึงทำงานได้ไม่ดี

เนื่องจากกุ้งและสัตว์น้ำอื่นๆ เป็นสัตว์เลือดเย็น ทำให้อัตราเมตาบอลิซึมของกุ้งจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำเป็นหลัก โดยกุ้งต้องใช้พลังงานจำนวนหนึ่งเพื่อปรับระดับอุณหภูมิของร่างกายให้เท่ากับอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตามการปรับตัวของสัตว์น้ำย่อมมีขีดจำกัด ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วจะทำให้อุณหภูมิของน้ำกับสัตว์น้ำมีความแตกต่างกันมาก หากสัตว์น้ำไม่สามารถปรับตัวได้ทันจะส่งผลให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำ นอกจากนี้อุณหภูมียังมีผลต่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ คือ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำลดลง และทำให้เกิดการกระตุ้นการดูดซึมสารพิษเข้าสู่ร่างกายของสัตว์น้ำ และส่งผลให้อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพและการละลายของเกลือแร่ในน้ำเพิ่มขึ้นอีกด้วย (คณิต ไชยา คำ และยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร, 2537)

### 2.3.2 ออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen; DO)

ค่าออกซิเจนละลายน้ำหรือค่าดีโอมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำทั้งหมด โดยค่านี้สามารถบอกได้ถึงความเหมาะสมเพียงพอต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำ ปริมาณการละลายของออกซิเจนจะขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ น้ำ ความเค็ม กระบวนการย่อยสลายต่างๆ ภายในน้ำ และการสังเคราะห์แสงของพืช จึงกล่าวได้ว่าค่าดีโอเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญมากในการเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากสัตว์น้ำทุกชนิดจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในกระบวนการต่างๆ ภายในร่างกายเพื่อการเจริญเติบโต โดยความสามารถในการละลายของออกซิเจนในน้ำบริสุทธิ์จะสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 0° ซ. และความสามารถในการละลายนี้จะลดลงเมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้น เมื่อในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมีออกซิเจนละลายน้ำอยู่น้อยเป็นเวลานานอาจเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ เช่น ทำให้ปลาติดเชื้อโรคจากแบคทีเรียได้ง่าย เป็นต้น และหากภายในบ่อมีออกซิเจนละลายน้ำสูงเกินระดับอิมตัวก็จะเป็นโรคได้ง่ายเช่นกัน ทั้งนี้มีรายงานว่าระดับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วไปและการขยายพันธุ์ควรมีค่ามากกว่า 5 มก./ล. (Boyd, 1979) โดยปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่มีผลต่อสัตว์น้ำ ดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 ผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่อสัตว์น้ำ

ออกซิเจนละลายน้ำ (มก./ล.)	ผลต่อกุ้ง
น้อยกว่า 1	เป็นอันตรายหากเกิดขึ้นเป็นระยะเวลานาน
1 - 5	ทำให้การเจริญเติบโตช้า และการสืบพันธุ์ผิดปกติ
มากกว่า 5	เป็นระดับปกติที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้ง เจริญเติบโตได้ดี สารอินทรีย์สลายตัวได้เร็ว

(ที่มา : Boyd, 1979)

### 2.3.3 สภาพความเป็นด่าง (Alkalinity)

สภาพความเป็นด่าง หมายถึง ความสามารถของน้ำที่จะรับไฮโดรเจนไอออน ( $H^+$ ) หรือความสามารถของน้ำที่จะสะเทินกรดให้ได้พีเอชเป็นกลาง โดยสภาพความเป็นด่างของน้ำในธรรมชาติส่วนใหญ่เกิดจากความเข้มข้นของไฮดรอกไซด์ไอออน ( $OH^-$ ) คาร์บอเนตไอออน ( $CO_3^{2-}$ ) และไบคาร์บอเนตไอออน ( $HCO_3^-$ ) โดยสภาพความเป็นด่างของน้ำมีความสัมพันธ์กับพีเอชของน้ำ สามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชได้ด้วยระบบบัฟเฟอร์ (Buffer system) และระบบควบคุมการเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำ อีกทั้งยังช่วยลดความเป็นพิษของโลหะหนักในแหล่งน้ำอีกด้วย กระบวนการเกิดบัฟเฟอร์ (Buffer system) ของสภาพความเป็นด่าง แสดงดังสมการที่ 1 และ 2 (มันสิน ตันตุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา, 2539)



### 2.3.4 พีเอช (pH)

ค่าพีเอชหรือค่าความเป็นกรดและด่าง เป็นดัชนีแสดงความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน ( $H^+$ ) ในน้ำ สำหรับในแหล่งน้ำกร่อยทั่วไปมีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 7.0 – 8.0 และค่าพีเอชระหว่าง 8.0 - 8.2 แพลงก์ตอนพืชส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ดีในน้ำ สำหรับค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำควรอยู่ระหว่าง 7.5 - 8.5 หากพีเอชมีค่าสูงหรือต่ำเกินไปจะทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำได้ เช่น หากในน้ำที่มีค่าพีเอชสูงกว่า 8.5 จะเป็นด่างเกินไปจนทำให้ปลาหลายชนิดวางไข่น้อยลง นอกจากนี้น้ำที่เป็นด่างเกินไปจะส่งผลให้เกิดแอมโมเนียอิสระมากขึ้นซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ โดยค่าพีเอชที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ แสดงดังตารางที่ 2-2 นอกจากนี้ค่าพีเอชยังมีบทบาทในการช่วยควบคุมการปล่อยสารอาหาร เช่น เหล็ก และฟอสฟอรัส จากดินพื้นบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ออกสู่น้ำ ซึ่งหากน้ำมีค่าพีเอชสูงจะทำให้คุณภาพน้ำนั้นขาดแคลนไอออนเหล็กสำหรับการเจริญเติบโตของพืชน้ำ เป็นต้น (มันสิน ตันตุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา, 2539)

ตารางที่ 2-2 ผลของค่าพีเอชต่อสัตว์น้ำ

ค่าพีเอช	ผลกระทบต่อสัตว์น้ำ
ต่ำกว่า 4	สัตว์น้ำตาย ไม่สามารถอาศัยอยู่ได้
4 - 5	ส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์
4 - 6	การเจริญเติบโตช้า
6.5 - 9	มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต
9 - 11	การเจริญเติบโตช้า
9.5 - 11	ส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์
สูงกว่า	สัตว์น้ำตาย ไม่สามารถอาศัยอยู่ได้

ที่มา : มั่นสิน ตันจุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา, 2539

### 2.3.5 แอมโมเนีย (Ammonia; $NH_3$ )

แอมโมเนียเป็นสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนเกิดจากการย่อยสลายของเสียจากสัตว์น้ำและเศษอาหารที่เหลือในระบบ ซึ่งมีโปรตีนมากถึงร้อยละ 25 - 30 ดังนั้นการให้อาหารสัตว์น้ำในระบบมากเกินไปจะก่อให้เกิดการสะสมของแอมโมเนียในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ทั้งนี้แอมโมเนียที่อยู่ในน้ำมี 2 รูปแบบ ได้แก่ ก๊าซแอมโมเนียไม่แตกตัว (Un-ionized Ammonia) และแอมโมเนียมไอออนแตกตัวได้ง่าย (Ionized Ammonia) ซึ่งสามารถเรียกรวมกันว่า ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดในน้ำ (Total Ammonia) เมื่ออุณหภูมิและค่าพีเอชของน้ำสูงขึ้นจะส่งผลให้อัตราส่วนของแอมโมเนียและแอมโมเนียมไอออนสูงขึ้น ในทางตรงข้ามหากปริมาณเกลือแร่ในน้ำสูงขึ้นทำให้สมดุลเคมีย้อนกลับส่งผลให้อัตราส่วนของแอมโมเนียต่อแอมโมเนียมไอออนลดลง โดยทั่วไปแอมโมเนียจะมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำมากกว่าแอมโมเนียมไอออน (เพ็ญพิชา สท้านวัตร, 2557) พิษของแอมโมเนียส่วนใหญ่จะมีผลต่อสัตว์น้ำในทางอ้อม เช่น ทำให้สัตว์น้ำไม่สามารถขับแอมโมเนียที่สะสมภายในร่างกายออกสู่ภายนอกได้ เนื่องจากแอมโมเนียในน้ำมีความเข้มข้นสูงกว่าแอมโมเนียภายในกระแสเลือดของสัตว์น้ำ ส่งผลทำให้พีเอชของเลือดมีค่าสูงขึ้นและส่งผลกระทบต่อปฏิกิริยาชีวเคมีต่างๆ ในร่างกายสัตว์น้ำ อีกทั้งแอมโมเนียยังสามารถทำลายเหงือกของสัตว์น้ำ ทำให้ประสิทธิภาพการแลกเปลี่ยนออกซิเจนเข้าสู่ภายในร่างกายลดลง (ชลอ ลิ้มสุวรรณ และพรเลิศ จันทร์รัชชกุล, 2547) โดยระดับความเข้มข้นสูงสุดของแอมโมเนียที่มีในระบบเลี้ยงสัตว์น้ำไม่ควรเกิน 0.025 มก.-ไนโตรเจน/ล. (Chen และคณะ 2006; Neori และคณะ 2004)

### 2.3.6 ไนไตรต์ (Nitrite-N; $NO_2-N$ )

ไนไตรต์เป็นสารตัวกลางที่เป็นผลจากกระบวนการไนโทรฟิเคชันของแอมโมเนีย โดยอาศัยกิจกรรมของแบคทีเรียกลุ่ม *Nitrosomonas* sp. และ *Nitrobacter* sp. ซึ่งไนไตรต์จะมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำสูงกว่าไนเตรต ไนบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลควรจะมีไนไตรต์ไม่เกิน 0.1 มก.-ไนโตรเจน/ล. (Chen & Chen, 1992) ความเป็นพิษของไนไตรต์ต่อสัตว์น้ำเกิดจากการที่ไนไตรต์ไปจับตัวกับฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ในเลือดกลายเป็นเมทธิโมโกลบิน (Methemoglobin) ซึ่งไม่สามารถขนถ่ายออกซิเจนไปสู่เซลล์และกล้ามเนื้อได้ สัตว์น้ำจึงตายจากการขาดออกซิเจน (มันสิน ตันกุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา, 2539) โดยระดับความเป็นพิษของไนไตรต์จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อปริมาณออกซิเจนละลายน้ำและค่าพีเอชลดลง ดังนั้นสามารถป้องกันปัญหาความเป็นพิษของไนไตรต์ได้โดยการควบคุมค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 7.5 - 8.5 และมีการเติมอากาศเพียงพอ รวมถึงสามารถลดปริมาณการสะสมของไนไตรต์ในระบบเลี้ยงสัตว์น้ำโดยการเปลี่ยนน้ำ (ชลธิชา พลายชุม, 2553)

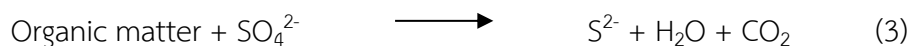
### 2.3.7 ไนเตรต (Nitrate-N; $NO_3-N$ )

ไนเตรตเป็นสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนที่เกิดจากการออกซิไดซ์ไนไตรต์ผ่านกระบวนการไนเตรเทชัน (Nitrification) โดยอาศัยแบคทีเรียกลุ่มไนไตรต์ออกซิไดซ์ซึ่งแบคทีเรีย (Nitrite-Oxidizing Bacteria; NOB) โดยไนเตรตนั้นเกิดจากการออกซิไดซ์ที่สมบูรณ์จากสารประกอบไนโตรเจนรูปอื่นๆ ซึ่งหากในน้ำมีปริมาณออกซิเจนที่เพียงพอแล้วไนเตรตจัดได้ว่าเป็นสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนที่มีความเสถียรมากที่สุด (สุนทรีย์ อยู่สถาน, 2550) กล่าวคือเมื่อเกิดไนเตรตขึ้นในแหล่งน้ำ ไนเตรตจะสะสมอยู่ในน้ำปริมาณสูงและคงอยู่ได้นาน ซึ่งจะทำให้เกิดผลกระทบในระยะยาวต่อสุขภาพของสัตว์น้ำ อัตราการบริโภคอาหารลดลง สัตว์น้ำเกิดความเครียด เจริญเติบโตช้า อัตราการเจริญพันธุ์ลดลง และอาจตายได้ โดยปริมาณไนเตรตที่ความเข้มข้น 30 มก.-ไนโตรเจน/ล. อาจจะทำให้เกิดโรคจุดขาวกับสัตว์น้ำ และระดับความเข้มข้นสูงสุดของไนเตรตที่ยอมรับได้ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำได้ คือ 50 มก.-ไนโตรเจน/ล. หากไนเตรตมีค่าสูงกว่านี้ควรมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ แต่อย่างไรก็ตามการปล่อยน้ำที่มีไนเตรตสูงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติก็จะทำให้เกิดการเจริญเติบโตของสาหร่ายและพืชน้ำอย่างรวดเร็ว ก่อให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) ทำให้ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำลดลง เกิดปัญหาคุณภาพน้ำ ส่งผลให้สัตว์น้ำตายและแหล่งน้ำธรรมชาติเกิดการเน่าเสียในที่สุด (ชลธิชา พลายชุม, 2553)

### 2.3.8 ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogen sulfide; $H_2S$ )

ไฮโดรเจนซัลไฟด์หรือก๊าซไข่เน่าเกิดจากการสะสมของสารอินทรีย์และตะกอนแขวนลอยบริเวณพื้นบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ทำให้บริเวณดังกล่าวเกิดสภาวะไร้อากาศ จากนั้นเกิดการย่อย

สลายสารอินทรีย์และตะกอนบริเวณพื้นบ่อโดยแบคทีเรียที่เรียกรวมกันว่ารีดิวซ์ซัลเฟต (Sulfate Reducing Bacteria; SRB) ในสภาวะไร้อากาศโดยใช้ซัลเฟต ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) เป็นตัวรับอิเล็กตรอนจากกระบวนการหายใจ ทำให้เกิดซัลไฟด์ ( $\text{S}^{2-}$ ) ดังสมการที่ 3 (Boyd, 1998)



สารประกอบของซัลไฟด์ที่อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว (Un-ionized form) คือ  $\text{H}_2\text{S}$  มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำมากกว่าที่อยู่ในรูปแตกตัวเป็นไอออน (Ionized form) ได้แก่  $\text{HS}^-$  หรือ  $\text{S}^{2-}$  ซึ่งสัดส่วนของซัลไฟด์ที่พบขึ้นอยู่กับค่าพีเอชของแหล่งน้ำ หากแหล่งน้ำนั้นมีค่าพีเอชต่ำจะพบไฮโดรเจนซัลไฟด์มาก และแหล่งน้ำที่มีค่าพีเอชเป็นกลางจะพบสารประกอบจำพวกซัลไฟด์ไอออน ( $\text{HS}^-$  และ  $\text{S}^{2-}$ ) ดังสมการที่ 4 และ 5



ไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำจะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ เมื่อน้ำทั้งบ่อถูกผสมรวมกันเนื่องจากเกิดการกระจายของก๊าซ โดยระดับความเป็นพิษของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ คือ 0.01 - 0.05 มก./ล. ในกรณีที่มีการให้ออกซิเจนอย่างทั่วถึงในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์จะไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ เนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์จะถูกออกซิไดซ์ให้อยู่ในรูปที่ไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ

### 2.3.9 อนุภาคของแข็งแขวนลอย

ของแข็งแขวนลอยในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำประกอบด้วยอนุภาคของดิน สารอินทรีย์ สารอินทรีย์ขนาดเล็ก แพลงก์ตอน และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่อยู่ในน้ำ เป็นต้น โดยทั่วไปอนุภาคเหล่านี้ส่วนใหญ่เกิดจากเศษอาหารและสิ่งขับถ่ายของสัตว์น้ำ หากของแข็งแขวนลอยมีปริมาณมากจะส่งผลทำให้บดบังการส่องผ่านของแสงลงสู่บ่อน้ำจนเกิดความขุ่นขึ้นได้ นอกจากนี้ยังส่งผลต่อสัตว์น้ำโดยตรงโดยการเข้าไปอุดช่องเหงือกทำให้การหายใจติดขัด การเจริญเติบโตช้าลงกว่าปกติ รวมทั้งการฟักตัวของไข่และการเจริญของตัวอ่อนหยุดชะงักหรือช้าลงได้ สำหรับอนุภาคของแข็งแขวนลอยส่วนใหญ่ที่พบในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมีขนาดอยู่ในช่วง 150 - 250 ไมครอน (เศรษฐศักดิ์ ติวะนันทร, 2556) จึงมีข้อเสนอแนะในการควบคุมปริมาณของแข็งแขวนลอยให้ต่ำกว่า 80 มก./ล. (เพ็ญพิชา สท้านวัตร, 2557)

## 2.4 คุณสมบัติและลักษณะที่สำคัญของดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง

สภาพดินที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้ง คือ ดินเหนียวหรือดินเหนียวปนทรายที่เก็บกักน้ำอยู่ได้ มีสภาพเป็นกลางค่าพีเอช 7.0 สารอินทรีย์ร้อยละ 1.5 -2.0 สารอินทรีย์คาร์บอนร้อยละ 1.08 - 1.44 อินทรีย์ไนโตรเจนร้อยละ 0.075 - 0.100 ฟอสฟอรัสประมาณ 50 มก./กก. ซึ่งค่าพีเอชมีผลต่อการละลายของแร่ธาตุที่กักบ่อสูน้ำ ถ้าค่าพีเอชลดการละลายของแร่ธาตุในดินจะสูงขึ้น แต่การเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตจะลดลงตามค่าพีเอชที่ลดลง ทั้งนี้ ลักษณะของดินสามารถจำแนกออกเป็น 3 ด้าน ได้แก่ ด้านกายภาพ ด้านเคมี และด้านชีวภาพ

### 2.4.1 ลักษณะทางกายภาพของดิน (Soil Physical Characteristics)

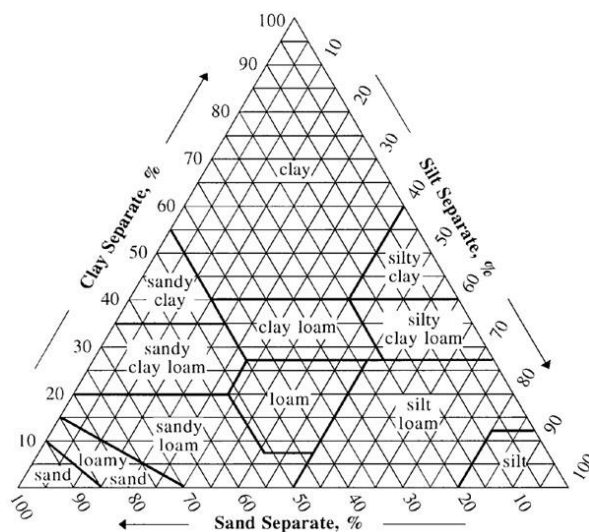
จัดเป็นลักษณะภายนอกของดินที่สามารถมองเห็น จับต้องหรือสัมผัสได้ เช่น เนื้อดิน โครงสร้างของดิน ชั้นของดิน ความหนาแน่น และความพรุน เป็นต้น มีรายละเอียดดังนี้

#### 1) เนื้อดิน (Soil Texture)

เป็นองค์ประกอบทางกายภาพของดิน เป็นคุณสมบัติที่บ่งบอกถึงความหยาบ (Coarseness) หรือความละเอียด (Fineness) ของอนุภาคอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบของดิน ซึ่งเรียกว่า อนุภาคของดิน อนุภาคเหล่านี้จะมีขนาดไม่เท่ากัน แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ขนาดใหญ่ เรียกว่า อนุภาคขนาดทราย (0.05 - 2.0 มม.) ขนาดกลางเรียกว่า อนุภาคขนาดทรายแป้ง (0.002 - 0.05 มม.) และขนาดเล็กที่สุด คือ อนุภาคดินเหนียว (น้อยกว่า 0.002 มม.)

#### 2) การแบ่งกลุ่มดิน (Soil Classification)

เป็นการจำแนกดินตามลักษณะของเนื้อดินด้วยการจัดทำแผนผังรูปสามเหลี่ยมด้านเท่า (Soil Texture Triangle) ซึ่งพิจารณาจากร้อยละของอนุภาคสามขนาดที่ประกอบกันเป็นดิน ได้แก่ ทราย ทรายแป้ง และดินเหนียว ดังรูปที่ 2-4 การใช้แผนผังรูปสามเหลี่ยมด้านเท่าแสดงการกระจายตัวของอนุภาคดิน สามารถช่วยระบุประเภทของดินได้ เช่น เมื่อนำดินที่มีองค์ประกอบของดินเหนียวร้อยละ 70 ดินทรายแป้งร้อยละ 20 และดินทรายร้อยละ 10 เมื่อนำทั้งสามสัดส่วนมาลากเส้นจนพบกันบนไดอะแกรมสามเหลี่ยมจะตกอยู่ในกลุ่มที่จัดเป็นดินเหนียว จึงสรุปได้ว่าดินนั้นจัดเป็นประเภทดินเหนียว เป็นต้น



รูปที่ 2-4 แผนผังรูปสามเหลี่ยมด้านเท่าในการแบ่งกลุ่มดิน  
(ที่มา : Wang et al., 2008)

### 3) สีของดิน (Soil Color)

สีของดินเป็นคุณสมบัติที่สามารถเห็นได้ชัดเจนกว่าคุณสมบัติอื่นๆ ทำให้สะท้อนถึงสภาพแวดล้อม กระบวนการเกิดดิน แร่ที่เป็นองค์ประกอบของดิน หรือวัสดุอื่นๆ ที่อยู่ในดิน ทั้งนี้สีของดินจะกำหนดโดยปริมาณของฮิวมัส ชนิดของสารประกอบธาตุหลัก และปริมาณความชื้นที่มีอยู่ในดิน โดยดินที่มีสีน้ำตาลเข้มจัดแสดงว่ามีสารอินทรีย์มาก

#### 2.4.2 ลักษณะทางเคมีของดิน (Soil Chemical Characteristics)

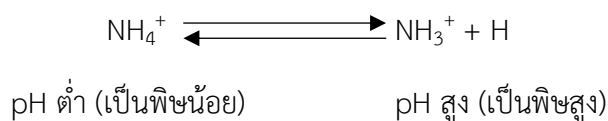
คุณสมบัติทางเคมีของดินมีผลโดยตรงต่อพฤติกรรมของธาตุและมลสารเมื่อเคลื่อนที่ลงสู่ดิน โดยเป็นปัจจัยที่บ่งบอกถึงความอุดมสมบูรณ์ของดิน เช่น ความเป็นกรดและด่างของดิน และสภาพออกซิเดชัน - รีดักชันในดิน เป็นต้น ทั้งนี้แต่ละปัจจัยมีความสำคัญแตกต่างกันดังนี้

#### 1) ความเป็นกรดและด่างของดิน (Soil pH)

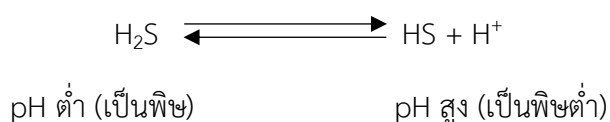
มีความสำคัญมากต่อการละลายของธาตุอาหารในดินและการละลายของไอออนบางชนิด เช่น อลูมิเนียมไอออนจะละลายได้ดีเมื่อดินมีค่าพีเอชลดลง เป็นต้น โดยทั่วไปจุลินทรีย์จะทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อค่าพีเอชของดินอยู่ในช่วงที่ค่อนข้างเป็นกลาง (6 - 7) และเมื่อดินมีสภาพเป็นกรด กิจกรรมต่างๆ ของจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นได้ช้าลง

นอกจากนี้ความเป็นกรดและด่างของดินยังมีผลต่อรูปของกัมกลุ่มสารละลายในน้ำ เช่น สารกลุ่มแอมโมเนีย พีเอชสูง สารกลุ่มนี้จะอยู่ในรูป  $\text{NH}_3$  เป็นส่วนใหญ่และมีพิษสูง แต่ถ้าพีเอชต่ำลงมา  $\text{NH}_3$  ก็จะเปลี่ยนอยู่ในรูป  $\text{NH}_4$  ซึ่งมีความเป็นพิษน้อยกว่า ดังนี้





ไฮโดรเจนซัลไฟด์หรือแก๊สไข่เน่า ( $\text{H}_2\text{S}$ ) จะมีพิษมากและปรากฏเมื่อน้ำเป็นกรด แต่เมื่อพีเอชสูง  $\text{H}_2\text{S}$  จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป  $\text{HS}^-$  (ไฮโดรเจนซัลไฟด์ไอออน) ซึ่งมีความเป็นพิษต่ำ (หรือไม่เป็นพิษ)



พีเอชที่เป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตและทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นพีเอชที่ทำให้กึ่งโตนี มีจุลินทรีย์มากพอในการช่วยเปลี่ยนของเสียเป็นสารอาหารให้พืชและสารอื่นให้อยู่ในห่วงโซ่อาหาร และมีสารในรูปที่ไม่เป็นพิษ พีเอชควรอยู่ในช่วง 7.5 - 8.5

## 2) สภาพออกซิเดชัน – รีดักชันในดิน (Oxidation-Reduction in Soil)

สถานะออกซิเดชันของดินเป็นผลมาจากการระบายน้ำและอากาศของดิน สภาพอากาศและน้ำในดินจะเป็นตัวกำหนดชนิดของจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการในการย่อยสลายสารอินทรีย์และการเปลี่ยนรูปของธาตุต่างๆ ในดิน โดยเฉพาะสารพิษในดิน เช่น กลุ่มโลหะหนัก ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า ศักย์รีดอกซ์ (Redox Potential) ของดินมีความสำคัญในการกำหนดบทบาทของกระบวนการทางเคมีและชีวเคมีในดิน

### 2.4.3 ลักษณะทางชีวภาพของดิน (Soil Biological Characteristics)

#### 1) จุลินทรีย์ในดิน

โดยทั่วไปการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับปริมาณอินทรีย์วัตถุที่เป็นองค์ประกอบในดินเป็นหลัก โดยเฉพาะจุลินทรีย์กลุ่มเฮเทอโรโทรฟ (Heterotroph) ปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะเปลี่ยนแปลงไปตามชนิด ปริมาณ และอินทรีย์วัตถุในดิน มีรายงานว่าอินทรีย์วัตถุที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตจะมีสัดส่วนประมาณร้อยละ 3 - 6 โดยปริมาตร หรือไม่เกินร้อยละ 5 โดยน้ำหนักของดิน ส่วนที่เป็นอินทรีย์วัตถุนี้เองจะมีอิทธิพลต่อทั้งคุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และชีวภาพของดิน โดยองค์ประกอบที่เป็นอินทรีย์วัตถุจะช่วยให้ดินมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และเป็นแหล่งอาหารที่จำเป็นต่อจุลินทรีย์ในดิน บริเวณผิวดินจะมีจุลินทรีย์สูงถึงประมาณ 10 โคโลนีต่อน้ำหนักดินแห้ง 1 กรัม โดยที่บริเวณผิวดินจะมีปริมาณจุลินทรีย์มากกว่าชั้นดินที่ลึกลงไป เนื่องจากมีปริมาณธาตุอาหาร ความชื้น และอากาศเพียงพอ (วีรานูช หลาง, 2551)

## 2) การกระจายตัวของจุลินทรีย์ในดิน

เนื่องจากบริเวณผิวดินและใต้ดินมีแร่ธาตุและสารอินทรีย์ที่แตกต่างกัน ความแตกต่างของสารอาหารนี้เป็นผลให้เกิดการกระจายตัวของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันไปด้วย เนื้อดินและโครงสร้างของดินก็มีผลต่อการแพร่กระจายของจุลินทรีย์เช่นกัน จุลินทรีย์เกือบทุกชนิดที่อยู่ในดินประมาณร้อยละ 80 - 90 มีการยึดเกาะอยู่กับเม็ดดิน โดยส่วนที่เหลือจะอยู่กันอย่างอิสระ ลักษณะดังกล่าวนี้จะช่วยปกป้องจุลินทรีย์จากการถูกล่าโดยโปรโตซัวและยังเป็นการกระตุ้นให้เกิดการใช้และหมุนเวียนสารอาหารมากกว่าจุลินทรีย์ที่อยู่กันอย่างอิสระ ประโยชน์อีกประการหนึ่ง คือ จุลินทรีย์สามารถปรับตัวให้เข้ากับการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้อย่างทันท่วงที เช่น การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชและสภาวะการเจริญเติบโต อีกทั้งยังเกิดการแลกเปลี่ยนทางพันธุกรรมได้มากกว่าเซลล์ที่อยู่เดี่ยวๆ ในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ก็มักจะพบสาหร่ายบริเวณผิวดินเนื่องจากสาหร่ายต้องการแสงในการสังเคราะห์แสง ส่วนในดินจะพบสาหร่ายน้อยมากเนื่องจากกิจกรรมทางด้านชีวเคมีของสาหร่ายจะถูกขัดขวางโดยแบคทีเรียและเชื้อรา (วีรานุช หลาง, 2551)

## 3) ปัจจัยที่มีผลต่อจุลินทรีย์ในดิน

ปัจจัยที่มีความสำคัญต่อชนิด ปริมาณ และการกระจายของจุลินทรีย์ในดินขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ทั้งนี้สภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อจุลินทรีย์ในดินอาจจำแนกออกได้ ดังนี้

1. ธาตุอาหารในดิน หากมีปริมาณธาตุอาหารสูงมากจะพบแบคทีเรียและเชื้อราในดินมากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เนื่องจากแบคทีเรียและเชื้อราเจริญได้เร็วและใช้สารอาหารได้ดีกว่า

2. ความชื้นของดิน อากาศเป็นปัจจัยในการดำรงชีพที่สำคัญของจุลินทรีย์ ดินที่มีความชื้นสูงปริมาณออกซิเจนในดินจะลดลง จุลินทรีย์ในดินแต่ละชนิดมีระดับความชื้นของดินที่เหมาะสมต่อการดำรงชีพที่ต่างกันไป เช่น แบคทีเรียเจริญได้ดีที่ความชื้นร้อยละ 50 - 75 ของความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity; WHC) แอคติโนมัยซีสจะเจริญได้น้อยหรือไม่เจริญเลยที่ความชื้นร้อยละ 85 - 100 ของ WHC และเชื้อราจะเจริญได้ดีที่ความชื้นร้อยละ 27 ของ WHC เป็นต้น

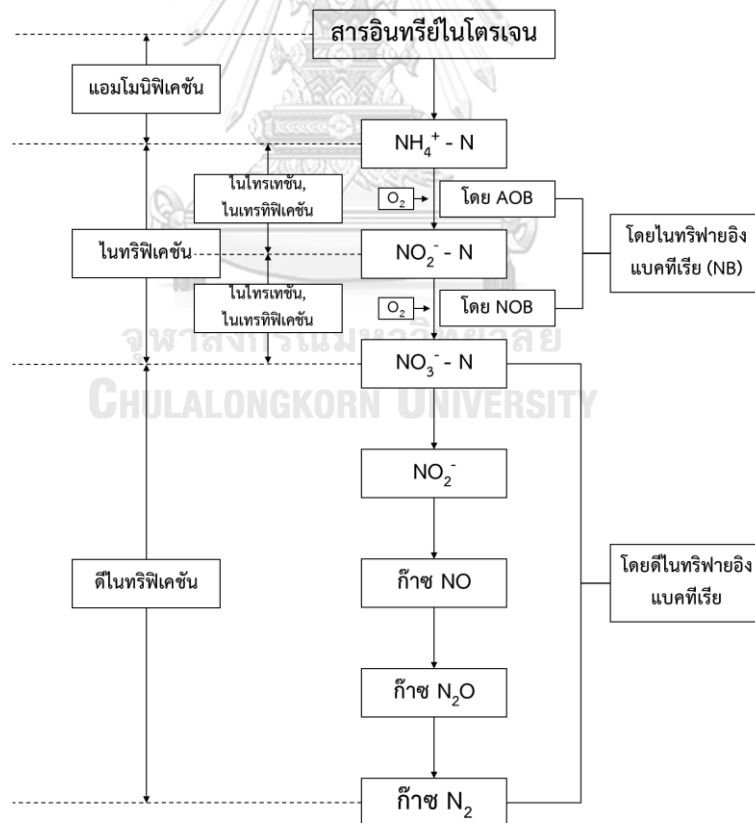
3. อุณหภูมิของดิน ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูงจะกระตุ้นกิจกรรมต่างจุลินทรีย์ในดินให้มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิต่ำ

4. สภาพพีเอชของดิน โดยทั่วไปแบคทีเรียจะเจริญได้ดีในดินที่มีพีเอชเป็นกลาง คือ 6 - 7.5 ที่พีเอชสูงกว่นี้จะพบแอคติโนมัยซีสมากกว่าแบคทีเรีย ถ้าพีเอชต่ำกว่า 5 แอคติโนมัยซีสจะไม่เจริญเลย ส่วนเชื้อราจะเจริญได้ดีในดินที่มีสภาพความเป็นกรดมากกว่าสภาพต่าง

5. ความลึกของดิน ระดับความลึกของชั้นดินสอดคล้องกับปริมาณธาตุอาหารอากาศ และแสง โดยในดินชั้นบนมีธาตุอาหาร อากาศ และแสงมากกว่าดินชั้นล่าง ทำให้ดินชั้นบนจะพบจุลินทรีย์กลุ่มใช้อากาศ แอคติโนมัยซีส เชื้อรา สาหร่าย และโปรโตซัวมากกว่าดินชั้นล่าง ในขณะที่ดินชั้นล่างจะพบจุลินทรีย์กลุ่มไร้อากาศเป็นหลัก (วีรานูช หลาง, 2551)

### 2.5 วัฏจักรไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ

การบำบัดสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยกระบวนการทางชีวภาพเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมีทั้งสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อแพลงก์ตอนพืชและมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ โดยกระบวนการบำบัดอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ ประกอบด้วย 3 กระบวนการหลัก ได้แก่ แอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) ไนทริฟิเคชัน (Nitrification) และดีไนทริฟิเคชัน (Denitrification) (สุธาสิณี อ่วมจันทร์, 2546) โดยการบำบัดสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยกระบวนการทางชีวภาพแสดงดังรูปที่ 2-5



รูปที่ 2-5 การบำบัดสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยกระบวนการทางชีวภาพ (ดัดแปลงจาก ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544)

### 2.5.1 แอมโมเนียฟิเคชัน (Ammonification)

กระบวนการแอมโมเนียฟิเคชันเป็นการเปลี่ยนรูปสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนในน้ำให้อยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจน โดยแบคทีเรียในกลุ่มเฮเทอโรโทรฟ ได้แก่ แอมโมเนียฟายอิงแบคทีเรีย (Ammonifying Bacteria) เฮเทอโรโทรฟิกแบคทีเรีย (Heterotrophic Bacteria) และแอคทีโนมัยซีต (Actinomycetes) ซึ่งพบได้ทั้งในน้ำและในดินตะกอนพื้นบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากสารอินทรีย์และแบคทีเรียส่วนใหญ่มักพบสะสมในดินตะกอนพื้นบ่อทำให้เกิดแอมโมเนียส่วนใหญ่เกิดขึ้นบริเวณพื้นผิวดินตะกอนใต้น้ำ ทั้งนี้การเกิดแอมโมเนียขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิ พีเอช ออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณแสง ปริมาณและประเภทของสารอินทรีย์ในน้ำ เป็นต้น ทั้งนี้การควบคุมปริมาณแอมโมเนียในน้ำมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากแอมโมเนียความเข้มข้นสูงจะส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำได้ ดังสมการที่ 6



### 2.5.2 ไนทริฟิเคชัน (Nitrification)

กระบวนการไนทริฟิเคชันเป็นการออกซิไดซ์สารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนจากแอมโมเนียหรือแอมโมเนียมไอออนที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ให้เป็นไนไตรต์และไนเตรตในสภาวะที่มีออกซิเจนโดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ออโตโทรฟ (Autotroph) 2 กลุ่ม ได้แก่ แอมโมเนียออกซิไดซิงแบคทีเรีย (Ammonia Oxidizing Bacteria : AOB) ทำหน้าที่ออกซิไดซ์แอมโมเนียให้เป็นไนไตรต์ และไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย (Nitrite Oxidizing Bacteria : NOB) ทำหน้าที่ออกซิไดซ์ไนไตรต์ให้เป็นไนเตรต โดยมีรายละเอียดดังนี้

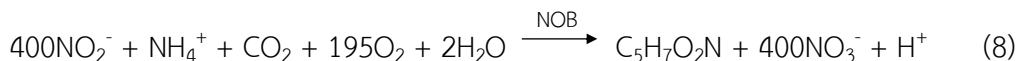
#### 1) การออกซิไดซ์แอมโมเนียเป็นไนไตรต์

โดยแบคทีเรียกลุ่ม AOB เช่น *Nitrosomonas* spp. *Nitrosospira* spp. *Nitrosolobus* spp. เป็นต้น มีการสะสมไฮโดรเจนไอออนซึ่งจะทำให้น้ำในบ่อเลี้ยงมีสภาวะเป็นกรด ถ้าพีเอชของน้ำมีค่าต่ำกว่า 6.0 จะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อไนทริไฟอิงแบคทีเรีย ดังนั้น ในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจะต้องปรับสภาวะให้เป็นกลางด้วยสารละลายไบคาร์บอเนตหรือสารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นด่างอื่นๆ (มนวิกันต์ ขจรบุญ, 2551) ดังสมการที่ 7



#### 2) การออกซิไดซ์ไนไตรต์เป็นไนเตรต

เป็นการเปลี่ยนไนไตรต์เป็นไนเตรต จากการทำงานของแบคทีเรียกลุ่ม NOB เช่น *Nitrobacter* และ *Nitrospira* เป็นต้น ดังสมการที่ 8



จากสมการข้างต้นหากมีปริมาณไนเตรตสูงจะทำให้แพลงก์ตอนพืชและสาหร่ายนำไปใช้ในการเจริญเติบโตจนเกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชันได้ ไนตริไฟอิงแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตช้า เพราะพลังงานที่ได้จากกระบวนการออกซิโดซิมมีค่าต่ำ อีกทั้งแอมโมเนียยังถูกแพลงก์ตอนพืชและสาหร่ายแย่งไปใช้ในการเจริญเติบโต นอกจากนี้เมื่อค่าออกซิเจนละลายน้ำต่ำกว่า 1-2 มก./ล. ส่งผลให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะลดลง ทั้งนี้ในสภาวะที่มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7 - 8 และอุณหภูมิช่วง 25 - 35° ซ. กระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้เร็วและดีที่สุด (วิรัช จิวแหยม, 2544)

ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการไนตริฟิเคชัน เช่น อุณหภูมิ ออกซิเจนละลายน้ำ พีเอช ปริมาณแอมโมเนีย อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน โลหะหนักบางชนิด พื้นที่ผิวสำหรับแบคทีเรีย และสารยับยั้งกระบวนการไนตริฟิเคชัน แสดงดังตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 ปริมาณความเข้มข้นของสารยับยั้งที่มีผลต่อกระบวนการไนตริฟิเคชัน

สารยับยั้ง	ความเข้มข้น (มก./ล.)	อ้างอิง
โคบอลต์	0.08 - 0.5	ศิวฤกษ์ หนูฤทธิ, 2554
โครเมียม	0.25	
ปรอท	0.05 - 0.56	
นิกเกิล	0.25	
สังกะสี	0.08 - 0.5	
แคดเมียม	14.3	
ซัลไฟด์	5.0	
โซเดียมคลอไรด์	35,000	
โซเดียมไซยาไนด์	100	
ไฮโดรเจนไฟด์	50	
ไอโซน	0.4	

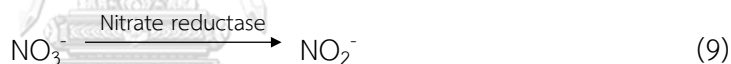
### 2.5.3 ดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification)

กระบวนการดีไนตริฟิเคชันเป็นการเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรต์และก๊าซไนโตรเจน โดยแบคทีเรียกลุ่มดีไนตริไฟอิง (Denitrifying Bacteria) หรือดีไนตริไฟเออร์ (Denitrifier) ไนเตรตจะถูกลดรูปหรือถูกบำบัดออกจากระบบ มักเกิดในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแบคทีเรียกลุ่มดีไนตริไฟเออร์เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobic

bacteria) ในสถานะที่มีออกซิเจนแบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน และในสถานะที่ไม่มีออกซิเจนแบคทีเรียกลุ่มนี้ก็สามารถใช้ในโตรเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน กระบวนการนี้เป็นการเปลี่ยนแปลงที่มีประโยชน์อย่างมากในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Aquaculture system) เนื่องจากต้องมีการกำจัดสารอนินทรีย์ไนโตรเจนในน้ำเสียดังกล่าวซึ่งอยู่ในรูปของแอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต โดยหากมีการปล่อยน้ำเสียเหล่านี้ลงสู่แหล่งน้ำโดยไม่ทำการบำบัดจะส่งผลให้เกิดกระบวนการยูโทรฟิเคชันหรือมีพิษน้ำเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในแหล่งน้ำธรรมชาติได้ (สุภัณฑิต นิมรัตน์, 2549)

ทั้งนี้กระบวนการดีไนทริฟิเคชันประกอบด้วย 4 ขั้นตอนต่อเนื่องกัน เริ่มต้นจากเปลี่ยนไนเตรตให้อยู่ในรูปของไนไตรต์โดยเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทส (Nitrate Reductase; NR) จากนั้นไนไตรต์จะถูกเปลี่ยนเป็นไนทริกออกไซด์โดยเอนไซม์ไนไตรตรีดักเทส (Nitrite Reductase; NiR) แล้วไนทริกออกไซด์ถูกเปลี่ยนเป็นไนตรัสออกไซด์โดยเอนไซม์ไนทริกออกไซด์รีดักเทส (Nitric Oxide Reductase; NOR) และสุดท้ายไนตรัสออกไซด์ถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซไนโตรเจนโดยเอนไซม์ไนตรัสออกไซด์รีดักเทส (Nitrous Oxide Reductase; NOR) ตามลำดับ ดังสมการที่ 9 - 12

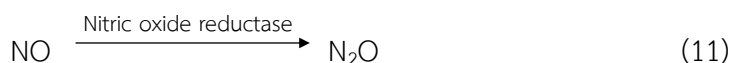
1.  $\text{NO}_3^-$  reduction



2.  $\text{NO}_2^-$  reduction



3. NO reduction



4.  $\text{N}_2\text{O}$  reduction



## 2.6 การปรับสภาพดินตะกอนพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง

ปัจจุบันมีหลากหลายวิธีในการจัดการดินพื้นบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยอาศัยแนวทาง เช่น ทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ เป็นต้น วิธีการที่จะเลือกใช้มักขึ้นอยู่กับต้นทุนการจัดการของเสียทั้งหมดในบ่อและความเหมาะสมของพื้นที่ โดยดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งหรือตะกอนเลนที่เน่าเสียจะเป็น

แหล่งสะสมของสารอินทรีย์ สารประกอบไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และซัลไฟด์ รวมทั้งแบคทีเรียกลุ่มก่อโรค หากไม่มีการปรับสภาพหรือการจัดการที่เหมาะสมจะทำให้เกิดอันตรายต่อกุ้งได้ โดยทั่วไปการจัดการหรือปรับสภาพดินตะกอนพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งมีหลายวิธี เช่น การตากบ่อให้เลนแห้งแล้วจึงกำจัดออกไป การใช้สารเคมี เช่น ปูนขาว ปูนเผา การฉีดเลนหรือการฉีดน้ำเพื่อการล้างของเสียที่อยู่ในเลนออกไปก่อนที่จะทำการตากบ่อ เป็นต้น

ดังได้กล่าวแล้วว่าสภาพดินที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงสัตว์น้ำ คือดินเหนียวหรือดินเหนียวปนทรายที่เก็บกักน้ำอยู่ได้ มีสภาพเป็นกลาง พีเอช 7.0 มีความอุดมสมบูรณ์พอควร คือมีอินทรีย์สารร้อยละ 1.5 - 2.0 หรืออินทรีย์คาร์บอนร้อยละ 1.08 - 1.44 มีอินทรีย์ไนโตรเจนร้อยละ 0.075 - 0.1 ฟอสฟอรัสประมาณ 50 มก./กก. ของดิน โดยอุณหภูมิน้ำที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของกุ้งเลี้ยง คือ 28 - 29° ซ. และพีเอชประมาณ 7.5 - 8.5 ตามลำดับ ขณะที่พีเอชที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของสัตว์น้ำจืด คือ 6.5 - 7.5 สำหรับสัตว์น้ำเค็ม คือ 7.5 - 8.5 นอกจากนี้พีเอชยังมีผลต่อการละลายของแร่ธาตุที่กักเก็บอยู่ในน้ำ แพลงก์ตอนพืชจะนำไปใช้ได้เพราะแพลงก์ตอนพืชไม่มีรากพืชไปดูดสารอาหารจากดินโดยตรง พีเอชกับการละลายสารของแร่ธาตุจะสัมพันธ์กันทางตรงข้าม กล่าวคือถ้าพีเอชลดการละลายของแร่ธาตุในดินจะสูงขึ้น แต่การเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตจะลดลงตามพีเอชที่ลดลง

## 2.6.1 ที่มาของของเสียในบ่อเลี้ยงกุ้ง

### 1. อาหารที่ให้กับกุ้ง

1.1 จากการศึกษาพบว่าเพียงร้อยละ 30 ของโปรตีนหรือไนโตรเจนในอาหารจะถูกนำไปสร้างเป็นเนื้อกุ้งหรือเพื่อการเจริญเติบโต ส่วนที่เหลือจะถูกขับออกมาเป็นมูลหรือของเสีย

1.2 จากอัตราแลกเปลี่ยนที่ต่างกันในแต่ละบ่อและแต่ละฟาร์มโดยเปลี่ยนแปลงในช่วง 1.2 ถึงสูงสุดมากกว่า 2.0 จะเห็นว่าส่วนของอาหารที่ให้แล้วกุ้งไม่ได้กิน หรืออาหารส่วนเกินมีสูงถึงร้อยละ 60 โดยอาหารส่วนเกินนี้จะกลายเป็นของเสีย

1.3 โดยเฉลี่ยอัตราแลกเปลี่ยนเท่ากับ 1.5 ดังนั้นการผลิตกุ้ง 1,000 กก. จะให้อาหาร 1,500 กก. แต่กุ้งมีความชื้นหรือน้ำอยู่ร้อยละ 75 วัตถุประสงค์ร้อยละ 25 อาหารมีความชื้นร้อยละ 10 วัตถุประสงค์ร้อยละ 90 เพื่อคำนวณน้ำหนักแห้งในการผลิตกุ้ง 250 กก. จะต้องใช้อาหาร 1,350 กก. จะเห็นว่าการผลิตกุ้ง 1,000 กก. จะเกิดอินทรีย์สารที่มาจากอาหารกุ้ง 1,100 กก.

2. การตายและตกตะกอนของแพลงก์ตอนในบ่อ โดยทั่วไปแพลงก์ตอนจะใช้สารอาหารในบ่อเพื่อการเจริญและเพิ่มจำนวน จากนั้นจะถูกจับกินเป็นอาหารของสัตว์น้ำ แต่หากแพลงก์ตอนไม่ถูกจับกินแพลงก์ตองดังกล่าวก็จะแก่และตายกลายเป็นของเสียสะสมที่พื้นบ่อจุลินทรีย์

ที่มีอยู่ในบ่อหรือถูกเติมลงไปใหม่จะช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือเศษอาหารเหลือเหล่านั้นให้เป็นธาตุอาหาร เช่น N, NO<sub>2</sub>, C, P และ S แต่หากพื้นบ่อและน้ำขาดออกซิเจนสารอินทรีย์จะถูกย่อยสลายไปเป็นแก๊สมีพิษ เช่น NH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>S และ CH<sub>4</sub> เป็นต้น

3. อินทรีย์สารที่มากับน้ำ โดยปริมาณอินทรีย์สารส่วนนี้จะมากหรือน้อยขึ้นกับที่ตั้งฟาร์มและฤดูกาล โดยในช่วงฤดูมรสุมฝั่งอ่าวไทยตอนใต้จะมีตะกอนและสารอินทรีย์สารที่มากับน้ำมาก

### 2.6.2 การเตรียมพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง

การเตรียมพื้นบ่อให้เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้ง มีหลักการที่ต้องให้มีความสะอาดไม่มีการหมักของสารอินทรีย์ และมีกระบวนการทางเคมีของดินที่ไม่ทำให้เกิดสารที่เป็นพิษ โดยทั่วไปบ่อที่ผ่านการเลี้ยงกุ้งมาแล้วจะมีสารอินทรีย์และสารประกอบเป็นพิษสะสมอยู่ ไม่เหมาะสมต่อการนำไปเลี้ยงกุ้งทันทีโดยไม่มีการบำบัด ในการเปลี่ยนสภาพของดินเลนที่ขาดออกซิเจนให้อยู่ในสภาพมีออกซิเจนมักใช้เวลาประมาณ 2 - 3 สัปดาห์ และการบำบัดให้สารอินทรีย์และสิ่งขับถ่ายให้สลายตัวเปลี่ยนเป็นปุ๋ยที่เป็นประโยชน์ด้วยวิธีควบคุมความชื้นและความเป็นกรดและด่างของพื้นบ่อให้เหมาะสมจะใช้เวลาบำบัดประมาณ 4 - 6 สัปดาห์

สำหรับบ่อที่ดินเปรี้ยวหรือบ่อที่มีศักยภาพดินกรด เกษตรกรต้องใช้ปูนขาวหรือปูนไฮดรอกไซด์ช่วยปรับความเป็นกรดและด่างของดินให้ขึ้นมาอยู่ประมาณไม่ต่ำกว่า 5.5 - 6.5 แล้วจึงบำบัดพื้นบ่อและเตรียมน้ำต่อไป ซึ่งการปรับสภาพค่าความเป็นกรดและด่างของดินสามารถปรับสภาพดินให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 7 โดยการใช้ปูนเผา (CaO) และแมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) เป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณร้อยละ 25-30 สำหรับอัตราส่วนในการใช้ขึ้นอยู่กับสภาพดินของแต่ละพื้นที่ โดยทั่วไปจะใช้ปุ๋ยที่ประมาณ 10 - 20 กก./ไร่/ครั้ง จากนั้นปล่อยน้ำเข้าไปในบ่อให้มีระดับความสูง 10 ซม. จากพื้นบ่อ และใช้คราดเหล็กคราดดินที่พื้นบ่อให้เป็นร่องลึกประมาณ 15 - 20 ซม. พร้อมกับหว่านปูน คราดกลับไปกลับมาหลายๆ รอบเพื่อให้ปูนที่ละลายน้ำซึมลงไปร่องพื้นของคราดและฆ่าเชื้อโรคที่พื้นบ่อ จากนั้นพักทิ้งไว้ประมาณ 1 - 2 วัน และก่อนนำน้ำเข้าบ่อจะต้องฆ่าเชื้อก่อนโดยนำเข้าจากบ่อพักน้ำ ควรหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีใดๆ ในบ่อเลี้ยงกุ้งชนิดนี้ เนื่องจากกุ้งพันธุ์นี้เป็นกุ้งที่ได้มาจากธรรมชาติ เป็นกุ้งที่ไม่มีความต้านทานต่อสารเคมี

ในกรณีที่พื้นบ่อเลี้ยงกุ้งมีสารอินทรีย์สะสมจำนวนมาก สามารถนำเลนออกโดยการใช้น้ำฉีดล้างบ่อ และเลนที่ฉีดออกจะไหลลงไปในที่เก็บรวบรวมเลนสำหรับการบำบัดต่อไป โดยจะไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมภายนอก หลังจากฉีดเลนออกแล้วหน้าดินพื้นบ่อยังเป็นดินที่ขาด



ออกซิเจน ควรปล่อยให้ผิวหน้าดินพื้นบ่อตากแดดและสัมผัสกับอากาศ ทำให้เกิดการย่อยสลาย บริเวณหน้าดินอย่างน้อยประมาณ 14 วันก่อนการเลี้ยงกุ้งในรุ่นต่อไป

### 2.6.3 การกำจัดพาหะและศัตรูของลูกกุ้งในบ่อเลี้ยงกุ้ง

การกำจัดพาหะและศัตรูของกุ้งในช่วงระหว่างการเตรียมบ่อจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการเลี้ยงกุ้ง ทำให้ความเสี่ยงที่จะล้มเหลวในการเลี้ยงกุ้งลดน้อยลง วิธีการกำจัดพาหะและศัตรูของกุ้งแต่ละชนิดมีแนวทางที่ต่างกัน ดังนี้

- พาหะจำพวกกุ้ง ปู ต้องทำให้พื้นบ่อแห้งไม่มีน้ำขัง และใช้อวนหรือผ้าพลาสติก ชิงกันรอบบ่อป้องกันไม่ให้สัตว์พาหะเข้ามาอาศัยในบ่อ
- หอยเจดีย์ กำจัดโดยใช้กากชาประมาณ 40 กก./ไร่ แช่ทิ้งไว้ 5-7 วัน
- สาหร่ายที่พื้นบ่อ ใช้วิธีการตักออก เมื่อกุ้งโตพอสมควรแล้วหรือเพิ่มความลึกของน้ำในบ่อทำให้แสงแดดส่องลงไปไม่ถึงพื้นบ่อ
- ตัวอ่อนสัตว์น้ำ กำจัดโดยกรองด้วยอวนตาถี่หลายๆ ชั้น
- นก สามารถป้องกันได้โดยการชิงเชือกกัน เพื่อมิให้นกบินลงมากินกุ้งป่วย การที่นกสามารถบินลงมาได้ เป็นสาเหตุหนึ่งของการแพร่กระจายของโรคกุ้งจนทำให้ควบคุมได้ยาก

## 2.7 เชื้อก่อโรคลกลุ่ม vibrio (Vibrio Pathogens)

เชื้อก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* เช่น *Vibrio parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. vulnificus* เป็นต้น สามารถพบได้ทั่วไปในน้ำทะเลและน้ำกร่อย ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์น้ำและทำให้เกิดการตายของกุ้ง แม้แต่ในกุ้งที่แข็งแรงก็ยังสามารถพบเชื้อกลุ่มนี้ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งได้ ซึ่งเชื้อกลุ่มนี้จะก่อให้เกิดโรคในกุ้งได้ทุกระยะ ตั้งแต่ไข่ (Eggs) จนถึงกุ้งที่โตเต็มวัย (Adults) นอกจากนี้เชื่อดังกล่าวยังเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร โรคบริเวณตับและตับอ่อน และโรคบริเวณเปลือกของกุ้งได้ สำหรับเชื้อก่อโรค *V. parahaemolyticus* มีรายละเอียดดังนี้

### 2.7.1 ลักษณะทั่วไปของ *V. parahaemolyticus*

*V. parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง ลักษณะเป็นท่อนตรงหรือโค้งเล็กน้อยขนาด 0.5 - 0.8 x 1.4 - 2.6 มม. สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์ มีแคปซูล เมื่ออยู่ในอาหารเคลื่อนที่ด้วย single polar flagellum แต่เมื่อเจริญในอาหารแข็งแรงสามารถสร้าง peritrichous flagella เพื่อใช้ในการเคลื่อนที่ สามารถใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน (Chemoorganotroph) วิบริโอสายพันธุ์นี้สามารถสร้าง

เอนไซม์ Catalase และ Oxidase ได้ ไม่สามารถหมักน้ำตาล Sucrose แต่หมักน้ำตาล Glucose ให้กรดแต่ไม่ทำแก๊ส ดังนั้นลักษณะโคโลนิบนอาหาร TCBS จึงมีสีเขียวอมน้ำเงินขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มม. *V. parahaemolyticus* สามารถหมักน้ำตาล Mannitol และ Mannose แต่ไม่สามารถหมัก Silicon และ Cellobiose สามารถเปลี่ยน Tryptophan เป็น Indole

การศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* พบว่า เชื้อดังกล่าวเจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 15-42° ซ. (Mesophilic) อุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถเจริญได้คือ 5° ซ. และอุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้ คือ 44° ซ. แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ระหว่าง 30-35° ซ. วิบริโอสายพันธุ์นี้สามารถเจริญได้ที่ pH ค่อนข้างกว้างคือ 4.8-11 แต่ pH ที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 7.6-8.6 นอกจากนี้ โซเดียมคลอไรด์ ก็เป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญของเชื้อ ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เชื้อสามารถเจริญได้อยู่ในช่วงร้อยละ 0.5-8.0 ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือร้อยละ 2-3 เมื่อเชื้อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ Peptone water ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมจะมี Generation time สั้นประมาณ 11 นาที (Lee, 1990)

ในธรรมชาติพบว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10° ซ. เชื้อไม่สามารถเจริญได้ มีการศึกษาเลี้ยงเชื้อในน้ำทะเลที่อุณหภูมิ 4° ซ. พบว่า เชื้อไม่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Heart Infusion Agar และ TCBS แต่เชื้อยังมีกระบวนการ Metabolism และเซลล์เมมเบรนยังมีสภาพสมบูรณ์ แต่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์จากรูปแท่งเป็นรูปกลม แต่เชื้อบางสายพันธุ์สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวได้หากมีการเพิ่มอุณหภูมิของน้ำทะเลก่อนการเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Johnston และ Brown, 2002) ส่วนการอยู่รอดในอาหารต่างๆ พบว่า เมื่อนำกุ้งทั้งตัวเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 3, 7, 10 หรือ -18° ซ. ปริมาณ *V. parahaemolyticus* จะลดลงแต่ยังมีชีวิตอยู่ได้ 8 วัน ในหอยนางรมที่วางบนชั้นจำหน่ายอาหารอุณหภูมิ 4° ซ. เชื้อสามารถมีชีวิตอยู่ได้ อย่างน้อย 3 สัปดาห์ และสามารถเพิ่มจำนวนได้เมื่อนำไปต้มที่ 35° ซ. เป็นเวลา 2-3 วัน

### 2.7.2 แหล่งที่อยู่

*V. parahaemolyticus* พบทั่วไปบริเวณชายฝั่งทะเลในน้ำทะเลทั่วโลก ในตะกอนดิน อนุภาคแขวนลอย สัตว์ทะเล เช่น กุ้ง หอย ปู ปลา แพลงก์ตอน และสาหร่ายการกระจายตัวของเชื้อในสิ่งแวดล้อมขึ้นกับฤดูกาล ในช่วงฤดูร้อนพบเชื้อมากกว่าฤดูหนาว จากการศึกษาปริมาณวิบริโอดังกล่าวในหอยนางรมที่จำหน่ายในร้านค้าปลีกช่วงปี ค.ศ. 1998-1999 ในสหรัฐอเมริกาโดยวิธี Most Probable Number พบว่าปริมาณของ *V. parahaemolyticus* เพิ่มขึ้นสูงมากในช่วงฤดูร้อน (Cook และคณะ, 2002) ในช่วงฤดูหนาวเชื้อจะอาศัยอยู่ในตะกอนใต้น้ำ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเชื้อสามารถเพิ่มจำนวนและปนเปื้อนในน้ำทะเลมากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถพบเชื้อ *V.*

*parahaemolyticus* ได้ในแพลงก์ตอนสัตว์ โดยเชื้อดูดซับสารโคตินบนแพลงก์ตอนเมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมเชื้อจะย่อยผนังเซลล์ของแพลงก์ตอน และเพิ่มจำนวนมากขึ้นในน้ำทะเล จากการศึกษา พบว่า ไม่สามารถแยกเชื้อในน้ำทะเลที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $15^{\circ}$  ซ. แต่สามารถแยกเชื้อจากตะกอนดินได้แม้ว่าอุณหภูมิของตะกอนดินจะต่ำกว่า  $10^{\circ}$  ซ. (Kancko และ Colwell, 1973)

### 2.7.3 ความทนทานของเชื้อ

เป็นเชื้อที่ไม่ทนความร้อน สามารถทำลายได้ด้วยการพาสเจอร์ไรซ์ (Pasteurization) ถูกทำลายโดยกรดที่ค่าพีเอชต่ำกว่า 4.5 ไม่เจริญในอาหารที่เป็นกรด (Acid Food) หรืออาหารปรับกรด (Acidified Food) เช่น ถูกทำลายได้ด้วยกรดอินทรีย์เช่น กรดมะนาว (Citric Acid) ซึ่งมีค่าพีเอช 4.4 ในเวลาเพียง 30 นาที เป็นแบคทีเรียที่ชอบเกลือ (Halophilic Bacteria) เจริญได้ในอาหารหรือน้ำที่มีเกลือแกง (NaCl) ตั้งแต่ร้อยละ 1-8 เจริญได้ในอาหารหมักเกลือ (Salt Curing) ที่ปริมาณเกลือในช่วงดังกล่าว แต่ถ้ามากกว่าร้อยละ 10 เซลล์จะถูกทำลาย และไม่เจริญในที่ไม่มีเกลือ

สามารถอยู่ได้ที่อุณหภูมิต่ำ ในฤดูหนาวเชื้อสามารถอาศัยในตะกอนใต้พื้นน้ำ และอยู่ได้ในอาหารแช่เย็น เช่น อยู่ในเนื้อปู ( $1-15^{\circ}$  ซ.) เป็นเวลา 30 วัน กุ้งปอกเปลือก ( $3-18^{\circ}$  ซ.) เป็นเวลา 6 วัน, หอยนางรมแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 40-130 วัน

### 2.7.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ

- เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ  $9.5-45^{\circ}$  ซ.
- พีเอชอยู่ในช่วง 5-11
- Water Activity ต่ำสุดที่สามารถเจริญได้ คือ 0.94
- สามารถเจริญในอาหารที่มีเกลือร้อยละ NaCl 0.5-8

### 2.7.5 ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (Infective Dose)

สำหรับโรคเกิดจากการกินอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (Infective Dose) คือ  $10^6 - 10^9$  ซีเอฟยู/ก. อาการมักปรากฏหลังจากกินอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเข้าไป 10 ถึง 12 ชม. บางรายแสดงอาการภายใน 4 ถึง 96 ชม. ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดหรือด่างภายในระบบทางเดินอาหาร โดยเชื้อนี้ใช้เวลาเพิ่มจำนวนเป็นเท่าตัว (Generation Time) 10 ถึง 15 นาที ที่อุณหภูมิ  $37^{\circ}$  ซ.

### 2.7.6 การตรวจหาเชื้อ

เชื้อในกลุ่ม *Vibrio* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ติดสีแดง รูปร่างท่อนโค้ง (Gram-negative curved rods) และชอบอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง (Halophile) ไม่สร้างสปอร์

สามารถเคลื่อนที่ได้เชื้อ *Vibrio* spp. เจริญได้ใน Blood Agar และทำให้เกิดการแตกสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์ (Beta-Hemolysis) เช่น *V. cholerae* แต่บางชนิดก็ทำให้เกิดการแตกสลายเม็ดเลือดแดงแบบไม่สมบูรณ์ (alpha-hemolysis) เช่น *V. vulnificus* การเจริญบนอาหาร MacConkey agar จะให้โคโลนีที่ไม่มีสี เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มนี้ไม่สามารถใช้น้ำตาล Lactose ได้

### 2.7.7 การเพาะเลี้ยงเชื้อ

การแยกเชื้อในกลุ่ม *Vibrio* จากตัวอย่างที่เป็นอาหารหรือน้ำหรือตะกอนดินทะเล ทำโดยนำตัวอย่างที่ต้องการตรวจหาเชื้อมาทำการเพิ่มจำนวนเชื้อ (Enrichment) ใน Alkaline Peptone Water ก่อน จากนั้นจึงนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) agar ซึ่งเป็น Selective Medium ของเชื้อกลุ่ม *Vibrio* โดยเชื้อกลุ่มที่สามารถใช้น้ำตาล Sucrose ได้จะมีโคโลนีสีเหลือง ได้แก่ *V. cholerae* ส่วนเชื้อกลุ่มที่ไม่สามารถใช้น้ำตาล sucrose ได้จะมีโคโลนีสีเขียว ได้แก่ *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* เป็นต้น โดยปกติแล้วเชื้อในกลุ่ม *Vibrio* จะไม่สร้าง  $H_2S$  ดังนั้นเชื้อที่สามารถเจริญขึ้นได้บนอาหาร TCBS agar และไม่พบการสร้าง  $H_2S$  จึงถือว่าเป็นเชื้อในกลุ่ม *Vibrio* หากมีแบคทีเรียที่เจริญขึ้นได้บนอาหารนี้และพบการสร้าง  $H_2S$  ได้ โดยจะพบเป็นโคโลนีขนาดเล็กสีดำ ซึ่งจะจัดว่าเป็นแบคทีเรียกลุ่มอื่น

### 2.7.8 การทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี (Biochemical tests)

การทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่สำคัญในการจำแนกเชื้อกลุ่ม *Vibrio* ได้แก่ การทดสอบ Oxidase Test, การทดสอบใน Triple Sugar Iron (TSI) agar, การทดสอบ Lysine decarboxylase, การทดสอบการเจริญในอาหารที่มี NaCl ความเข้มข้นต่างๆ (Salt Requirement) เป็นต้น การตรวจหาด้วยวิธี PCR สามารถตรวจหา species-specific gene ของเชื้อกลุ่ม *Vibrio* ได้ โดยตรวจหา toxR gene ด้วยวิธี PCR

## 2.8 โรคติดเชื้อในกุ้ง

ปัญหาโรคติดเชื้อในกุ้งเป็นปัญหาที่สำคัญ เกษตรกรจำเป็นต้องทำความเข้าใจกับสาเหตุพื้นฐานของโรคในแต่ละชนิดหรือกลุ่ม เพื่อที่จะได้แก้ปัญหาได้อย่างตรงจุดและทันเวลา โดยส่วนใหญ่โรคติดเชื้อที่ทำให้ผลผลิตกุ้งเสียหายอย่างรุนแรงส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสและโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย จึงมีความจำเป็นต้องให้ความสำคัญกับเชื้อไวรัสและแบคทีเรียในบ่อเลี้ยงกุ้ง

### 2.8.1 โรคติดเชื้อไวรัส (Vibriosis)

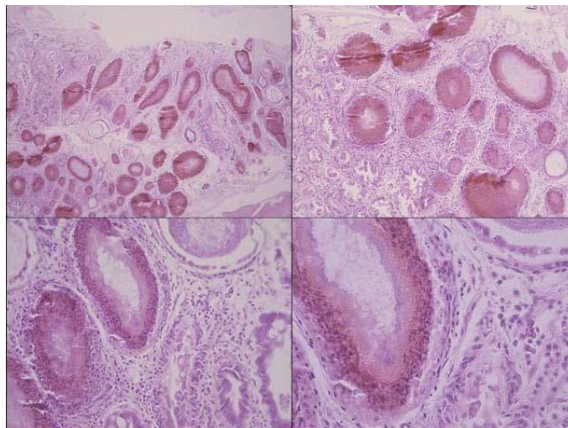
โรคติดเชื้อไวรัสเกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* เป็นแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนสั้น (Short Rod) แบคทีเรียกลุ่มนี้มีหลายชนิดที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งขาว ได้แก่ *V. parahaemolyticus*,

*V. harveyi*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. penaeicida* และ *Vibrio* sp. (Lightner, 1996) มีรายงานการแพร่ระบาดของโรค Vibriosis ในกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* ในประเทศ เอกวาดอร์ เปรู โคลัมเบีย และอเมริกากลาง (Lightner, 1996) และมีรายงานในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) และ *Penaeus merguensis* ในไต้หวัน อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และไทย (Jiann-Chu Chen และ Sheue-Feng Chen, 1992) โดยส่วนใหญ่จะพบการติดเชื้อในกุ้งระยะโพสต์ ลาร์วา และระยะวัยรุ่น (Lightner, 1996)

โรค Vibriosis เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้ง โดยเฉพาะในโรงเพาะฟักกุ้งที่ติดเชื้อมักจะมีอัตราการตายทั้งหมด (Brock และ Main, 1994) โดยปกติพบว่าเชื้อในกลุ่ม *Vibrio* จะเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในระบบเพาะเลี้ยงกุ้ง แต่จะพัฒนาเป็นเชื้อก่อโรคและมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม สาเหตุหลักที่ทำให้กุ้งติดเชื้อมาจากภาวะเครียด อันเนื่องจากระบบการเลี้ยงแบบหนาแน่นสูง และการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม ภายในบ่อ เช่น ความเค็ม อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ความเป็นกรดและด่าง และการปนเปื้อนของสารพิษ โดยกุ้งที่อยู่ในภาวะเครียดจะมีความต้านทานโรคลดลง จึงมีโอกาสติดเชื้อได้ง่ายขึ้น (Burrell และคณะ, 1991) ในระยะแรกของการติดเชื้อจะพบแบคทีเรียอยู่บริเวณผิวเปลือก แล้วจะเข้าสู่ภายในทางบาดแผลหรือทางเดินอาหารของกุ้ง (Brock และ Main, 1994) บริเวณที่พบการติดเชื้อ *Vibrio* ได้แก่ เหงือก กระเพาะอาหาร ต่อมเหงื่อ กล้ามเนื้อ ผิวใต้เปลือก น้ำเลือด และตับอ่อนของกุ้งทั้งในฟาร์มเพาะเลี้ยงและกุ้งในธรรมชาติ (Jiann-Chu Chen และ Sheue-Feng Chen, 1992) กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ระยะลาร์วาที่เป็นโรค Vibriosis จะแสดงอาการผิดปกติ ได้แก่ ลำไส้ว่างเปล่า ตับเหี่ยว และอาจพบตุ่มสีน้ำตาลในตับ บริเวณลำตัวและระยางค์มีรอยแผลสีน้ำตาล (Brock และ Main, 1994)

กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ติดเชื้อโรค Vibriosis อาการของโรคแบบเฉียบพลันคือจะทำให้กุ้งตายอย่างรวดเร็ว และอาการแบบเรื้อรังคือกุ้งจะแสดงอาการผิดปกติ เช่น ว่ายนํ้าแบบไร้ทิศทาง ไม่กินอาหาร ขึ้นมาอาศัยอยู่บริเวณผิวนํ้าและขอบบ่อ เนื่องจากกุ้งมีปริมาณออกซิเจนในเลือดต่ำ (hypoxia) (Robertson และคณะ, 1998) พบแผลอักเสบและรอยแผลสีดําหรือนํ้าตาล บริเวณเหงือก ระยางค์ และเปลือก กล้ามเนื้อมีสีขุ่น ระยางค์ขาด (Takahashi และคณะ, 1985) ; (Brock และ Main, 1994) กรณีที่การติดเชื้อ *Vibrio* spp. ในทางเดินอาหาร ตับ และตับอ่อน พบว่า จะมีการตายของเนื้อเยื่อตับ และมี Vacuole ภายใน (Lightner, 1996) ส่วนตับอ่อนจะมีการสร้างก้อนไขมัน (Lipid Vacuolation) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานสำรองน้อยลง (Anderson และคณะ, 1988) นอกจากนี้อาจพบ septic haemocytic nodules ในต่อมเหงื่อ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเหงือก ตับ

ตับอ่อน หัวใจ antennal gland แพนหาง ปมประสาท และกล้ามเนื้อ (Anderson และคณะ, 1988)  
ลักษณะเนื้อตายในเฮปพาโตแพนครีเอตัสที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสแสดงดังรูปที่ 2-6



รูปที่ 2-6 ลักษณะเนื้อตายในเฮปพาโตแพนครีเอตัสที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัส  
(ชโล ลิมสุวรรณ และคณะ, 2551)

### 2.8.2 โรคกุ้งตายด่วน (Early Mortality Syndrome; EMS)

โรคตายด่วนเกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* (เจนจิตต์ คงกำเนิน, 2561) โดยกลุ่มอาการตายด่วน เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า กลุ่มอาการตับและตับอ่อนตายเฉียบพลัน (Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome; AHPNS) พบการระบาดครั้งแรกในรัฐเท็กซัส เมื่อปี พ.ศ. 2528 และกระจายไปประเทศจีน เวียดนาม มาเลเซีย และไทย ในช่วงปี พ.ศ. 2552 - 2554 ตามลำดับ อาการของกุ้งที่ติดเชื้อโรคกุ้งตายด่วน พบว่า กุ้งจะมีลักษณะตัวซีด ขาวขุ่น เปลือกนึ่ม ตับและตับอ่อนซีดขาว ฝ่อ ลีบ หรือสีเหลืองอ่อน อาหารไม่เต็มลำไส้ ขาดเป็นช่วงๆ พบกุ้งตายจำนวนมากบริเวณพื้นที่ก้นบ่อ แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคนี้คือ *Vibrio parahaemolyticus* อัตราการตายสูงสุดพบในกุ้งขาวแวนนาไมซึ่งเป็นกุ้งเลี้ยงที่ติดในสองอันดับแรกที่มีการเลี้ยงมากที่สุด โดยกุ้งที่เกิดโรคกุ้งตายด่วน (EMS) หรือกลุ่มอาการตับและตับอ่อนตายเฉียบพลัน (AHPNS) จะเกิดภายใน 20 - 30 วันหลังการปล่อยลูกกุ้งลงบ่อ ในช่วงระยะแรกกุ้งในบ่อที่ป่วยจะไม่แสดงอาการผิดปกติอย่างเด่นชัด ไม่มีอาการเกยขอบบ่อ แต่จะเริ่มพบกุ้งตายในบ่อและตายที่ก้นบ่อ หลังจากนั้นจะพบซากกุ้งลอยขึ้นมา กุ้งเริ่มทยอยตายและหากไม่ได้รับการรักษาก็จะส่งผลกระทบต่อกุ้งระยะโพสท์ลาราซึ่งจะมีอัตราตายถึง 90% ภายใน 30 วัน



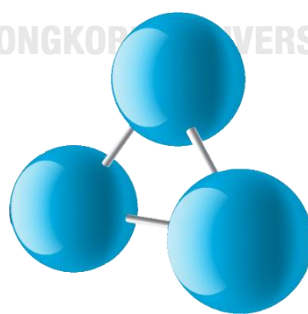
(A) กุ้งปกติ (B) กุ้งที่ติดเชื้อไวรัสโร ตับและตับอ่อนอักเสบมีสีเหลือง

รูปที่ 2-7 ลักษณะของกุ้งที่ติดเชื้อ EMS

(ชัยวุฒิ สุตทองคง, 2555)

## 2.9 โอโซน (Ozone)

โอโซน ( $O_3$ ) ประกอบด้วยออกซิเจน 3 อะตอม มีสถานะเป็นก๊าซ พบมากที่ระดับความสูงประมาณ 10 - 50 กม. จากพื้นผิวโลก อยู่ในชั้นสตราโตสเฟียร์ (Stratospheres) ซึ่งโอโซนในชั้นนี้มีประโยชน์ในการช่วยลดอันตรายของรังสีอัลตราไวโอเล็ตจากดวงอาทิตย์ ก๊าซโอโซนสามารถเกิดขึ้นเองในธรรมชาติ เช่น เกิดจากฟ้าแลบหรือฟ้าผ่า ทำให้ก๊าซออกซิเจน ( $O_2$ ) ที่ประกอบด้วยออกซิเจน 2 อะตอม แยกตัวเป็นออกซิเจนอะตอมอิสระ ( $O$ ) แล้วรวมกับก๊าซออกซิเจนโมเลกุลอื่น เกิดเป็นโอโซนโมเลกุล ( $O_3$ ) ดังรูปที่ 2-8 นอกจากนี้รังสีอัลตราไวโอเล็ตจากดวงอาทิตย์สามารถทำให้ก๊าซออกซิเจนแตกตัวเกิดเป็นก๊าซโอโซนได้เช่นกัน (Horvath และคณะ, 1985)



รูปที่ 2-8 รูปและปฏิกิริยาการเกิดโอโซน ( $O_3$ )

โอโซนมีลักษณะเป็นก๊าซสีฟ้า เมื่ออยู่ในรูปละลายน้ำจะเป็นสีฟ้าถึงสีน้ำเงินเข้ม กลิ่นฉุน ค่อนข้างรุนแรง ค่าศักย์ออกซิเดชันโพเทนเชียลเท่ากับ -2.07 โวลต์ เมื่อเทียบกับกรดไฮโปคลอรัสที่มี ค่าศักย์ออกซิเดชันโพเทนเชียลเท่ากับ -1.49 โวลต์ หรือคลอรีนที่มีค่าศักย์ออกซิเดชันโพเทนเชียล เท่ากับ -1.36 โวลต์ จึงเป็นตัวออกซิแดนท์ที่รุนแรงและมีความเสถียรต่ำ ไม่มีสารตกค้าง มีครึ่งชีวิต (Half – Life) ประมาณ 36 นาที ถึง 2 ชม. ในรูปก๊าซ ส่วนในรูปสารละลายมีครึ่งชีวิตประมาณ 20 นาที และเมื่อสลายตัวจะกลายเป็นออกซิเจน (Budavari, 1996) ทั้งนี้อุณหภูมิของตัวกลางมีผลทำให้ ครึ่งชีวิตมีค่าต่างกัน กล่าวคือเมื่ออุณหภูมิของตัวกลางลดลงจะทำให้ครึ่งชีวิตของโอโซนในรูปก๊าซและ ในรูปน้ำมากขึ้น ในทางตรงข้ามถ้าอุณหภูมิของตัวกลางเพิ่มขึ้นจะทำให้ครึ่งชีวิตของโอโซนในรูปก๊าซ และในรูปน้ำลดลง เช่น ที่อุณหภูมิของตัวกลางมีอุณหภูมิ -50° ซ. มีค่าครึ่งชีวิตของโอโซนในรูปก๊าซ เท่ากับ 3 เดือน และอุณหภูมิของตัวกลางมีอุณหภูมิ 25° ซ. มีค่าครึ่งชีวิตของโอโซนในรูปน้ำเท่ากับ 1.5 วินาที ที่ตั้งตารางที่ 2-4 และตารางที่ 2-5

ตารางที่ 2-4 ครึ่งชีวิตของโอโซนในรูปก๊าซที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (° ซ.)	ครึ่งชีวิต
-50	3 เดือน
-35	18 วัน
-25	8 วัน
20	3 วัน
120	1.5 นาที
250	1.5 วินาที

ที่มา : Ozone Solutions, Inc (2004b)

ตารางที่ 2-5 ครึ่งชีวิตของโอโซนในรูปน้ำโอโซนที่สภาวะพีเอช เท่ากับ 7 ที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (°C)	ครึ่งชีวิต (นาที)
15	30
20	20
25	15
30	12
35	8

ที่มา : Ozone Solutions, Inc (2004b)



### 2.9.1 การผลิตโอโซน

ปัจจุบันโอโซนเริ่มเข้ามามีบทบาทในการบำบัดคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงสัตว์น้ำมากขึ้น เนื่องจากโอโซนสามารถลดความขุ่น สี กลิ่น และแบคทีเรียได้ นอกจากนี้ยังปกป้องสิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา (U. S. Environmental Protection Agency, U. S. EPA) ได้ให้การรับรองความปลอดภัยในการใช้โอโซนเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำได้ สำหรับการเติมโอโซนพบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช แต่ในน้ำที่มีค่าพีเอชเป็นกรดจะทำให้โอโซนสลายตัวได้ช้ากว่าในน้ำที่มีค่าพีเอชเป็นกลาง ปัจจุบันการผลิตโอโซนสามารถดำเนินการได้หลายวิธี (Goncalves, 2012) ดังนี้

#### 1) Photozone Method

เป็นวิธีการแตกตัวของก๊าซออกซิเจนจากพลังงานคลื่นอัลตราไวโอเล็ตที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 200 นาโนเมตร แล้วรวมตัวกันใหม่ในรูปของก๊าซโอโซน หรือ Activated Oxygen ปริมาณก๊าซโอโซนที่ผลิตได้ขึ้นกับแหล่งกำเนิดออกซิเจนที่ผ่านหลอดอัลตราไวโอเล็ต กล่าวคือ ถ้าแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ ปิ๊มลม (อากาศในธรรมชาติ) ก๊าซโอโซนที่ได้จะมีปริมาณร้อยละ 66.7 ของปริมาณก๊าซทั้งหมด แต่ถ้าใช้ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ในการผลิตจะได้ก๊าซโอโซนทั้งหมดร้อยละ 100 ซึ่งเป็นวิธีที่ให้ความแรงของการออกซิไดซ์สูง และใช้พลังงานในการโอโซนน้อยกว่าวิธีอื่น

#### 2) Electrochemical Method

เป็นวิธีที่ใช้หลักการ Electrolysis โดยการแยกน้ำออกเป็นไฮโดรเจนและออกซิเจนอะตอมแล้วแยกโมเลกุลไฮโดรเจนออกไป ส่วนอะตอมออกซิเจนจะรวมกันเป็นก๊าซโอโซน ( $O_3$ ) และ Diatomic oxygen ( $O_2$ )

#### 3) Radiochemical Method

เป็นวิธีที่ใช้สารกัมมันตรังสี (Radioactive) เป็นแหล่งพลังงานเพื่อแยกโมเลกุล  $O_2$  เป็นวิธีที่ผลิต  $O_3$  ได้ปริมาณมาก ต้นทุนต่ำ แต่ต้องมีการควบคุมความปลอดภัยที่ดีพอ

#### 4) Corona Discharge Method

เป็นวิธีการถ่ายประจุไฟฟ้าแบบ Silent Spark (Corona) โดยเป็นการให้อากาศแห้งผ่านเข้าไประหว่างขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว ที่มีความต่างศักย์สูงประมาณ 4,000 - 15,000 โวลต์ ผ่านก๊าซออกซิเจนหรืออากาศ ทำให้เกิดการแยกพันธะออกซิเจนและกลายเป็นอะตอมออกซิเจน จากนั้นอะตอมออกซิเจนจะรวมตัวกันทำให้เกิดโมเลกุลโอโซนขึ้น การผลิตโอโซนด้วยวิธีนี้จะให้ปริมาณโอโซนสูงถึงร้อยละ 96.4 แต่อากาศที่ให้อากาศต้องปราศจากความชื้น เนื่องจากความชื้นอาจมีผลในการลดปริมาณ

โอโซนที่ควรผลิตได้ และเป็นสาเหตุให้เกิดไอน้ำเกาะอยู่ภายในเครื่องซึ่งก่อให้เกิดสนิมได้ วิธีนี้นิยมใช้งานมากที่สุดเนื่องจากต้นทุนต่ำและสร้างโอโซนได้มากในการใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์

### 2.9.2 ปัจจัยที่มีผลต่อโอโซน

ประสิทธิภาพในการละลายน้ำของโอโซนมีผลต่อความเข้มข้นของโอโซนที่ละลายในน้ำซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาในการทำลายเชื้อโรค สารอินทรีย์ และอื่นๆ ในน้ำได้ โดยการละลายน้ำของโอโซนขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง สามารถสรุปได้ดังนี้ (วงษ์จินดา, 2537; สุทธิรักษ์ กาบแก้ว, 2546)

#### 1) พีเอช

พีเอชมีความสำคัญในการทำปฏิกิริยาของโอโซนต่อสารอินทรีย์ต่างๆ โดยในสภาวะที่ค่าพีเอชน้อยกว่า 7 โอโซนจะทำปฏิกิริยากับอินทรีย์สารต่างๆ ได้ช้า และในสภาวะที่ค่าพีเอชสูงปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากโอโซนสลายตัวให้ไฮดรอกซิลแรดิคัล (Hydroxyl Radical; OH) ที่เป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรง แต่เมื่อพีเอชต่ำโอโซนจะทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ต่างๆ ได้ช้าลง โดยพีเอชที่เหมาะสมต่อการละลายน้ำของโอโซนมีค่าอยู่ระหว่าง 5 - 7

#### 2) อุณหภูมิ

เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณโอโซนละลายลดลง เนื่องจากโอโซนสลายตัวได้เร็ว และส่งผลต่อความคงตัวของโอโซนรวมทั้งความเข้มข้นเริ่มต้นของโอโซนอีกด้วย

#### 3) คุณสมบัติของสารละลาย

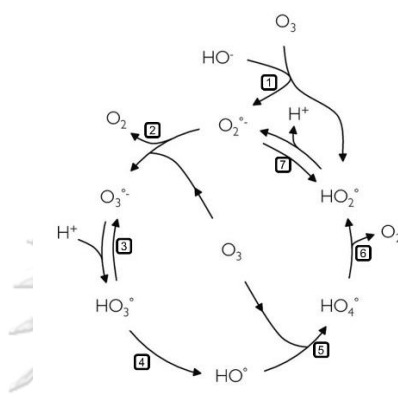
ปริมาณของสารประกอบอนุภาคแขวนลอยต่างๆ ในน้ำมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการละลายของก๊าซโอโซน โดยถ้าในน้ำมีสารประกอบและอนุภาคต่างๆ ในปริมาณมากจะทำให้โอโซนละลายได้น้อยลง

#### 4) วิธีการที่โอโซนสัมผัสกับสารละลาย

การเป่าพ่นก๊าซโอโซนพร้อมๆ กับการเติมก๊าซออกซิเจนทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างก๊าซและของเหลวอย่างชัดเจน ปริมาณโอโซนละลายที่ได้จึงมีค่าน้อย แต่การเป่าพ่นโอโซนลงในน้ำเพียงอย่างเดียวในคอลัมน์จะทำให้โอโซนผสมกับน้ำได้ดีกว่า ซึ่งส่งผลให้ปริมาณโอโซนละลายที่ได้จึงเพิ่มขึ้น

### 2.9.3 การสลายตัวของโอโซนละลายน้ำ

ก๊าซโอโซนเป็นก๊าซที่ไม่เสถียร โอโซนจะสลายเป็นออกซิเจนโดยแตกตัวให้เรดิคัลต่างๆ ซึ่งเรดิคัลที่เกิดขึ้นจะมีความว่องไวมากในการทำปฏิกิริยากับสารหลายชนิด โดยสุดท้ายก๊าซโอโซนจะสลายตัวกลายเป็นก๊าซออกซิเจน (Staehelin และคณะ, 1984) ได้แสดงลำดับการย่อยสลายและการเปลี่ยนรูปของโอโซนในน้ำ ประกอบด้วย 3 ช่วง ได้แก่ Initiation Step (ขั้นที่ 1) Propagation Steps (ขั้นที่ 2-6) และ Break in chain reaction Steps (ขั้นที่ 7) ดังรูปที่ 2-9



รูปที่ 2-9 กลไกการสลายตัวของโอโซนในน้ำบริสุทธิ์ (Staehelin และคณะ, 1984)

### 2.9.4 กลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรียของโอโซน

การเกิดโรคในกุ้งทะเล ส่วนใหญ่มีสาเหตุจากแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Vibrio harveyi*, *V. vulnificus*, *V. anguillarum*, *V. parahaemolyticus* และ *Vibrio* spp. เป็นต้น การติดเชื้อแบคทีเรียในสัตว์น้ำมักเป็นแบบ Secondary Infection คือเมื่อสัตว์น้ำอ่อนแอจากบาดแผลหรือเกิดความเครียดจากปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น มีสารพิษในน้ำ ขาดธาตุอาหารบางชนิด หรือคุณสมบัติบางประการของน้ำในบ่อเลี้ยงไม่เหมาะสม (พัฒน์ จันทร์โรทัย, 2536) จะทำให้สัตว์น้ำสามารถติดโรคจากแบคทีเรียได้ง่ายขึ้น โดยกลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรียของโอโซน พบว่าโอโซนจะเข้าทำลายเซลล์แบคทีเรียจากการออกซิไดซ์พันธะคู่ของกรดไขมันบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (Arturo และ Tapas, 1988; นิรชา วงษ์จินดา, 2537) จนเกิดความเสียหายและแยกออกจากกัน จากนั้นโอโซนจะเข้าไปออกซิไดซ์สารชีวโมเลกุลอื่นๆ ภายในเซลล์ ทำให้การสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์และโครงสร้างของโมเลกุลอื่นๆ หยุดชะงัก (Paulesu และคณะ, 1991) เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง DNA และ RNA ทำให้กระบวนการสังเคราะห์ DNA และ RNA เกิดไม่สมบูรณ์ (ศิริรักษ์ เนตรรัตน์, 2539) เมื่อโครงสร้างต่างๆ ในเซลล์ถูกทำลายจะทำให้เซลล์ตายในที่สุด (นันทริกา อิศรศักดิ์, 2532) โดยลักษณะการตายของเชื้อจุลินทรีย์เป็นแบบ Logarithmic Order คือจำนวนเชื้อมีการลดลงอย่างรวดเร็วแบบทวีคูณ (Exponential Rate) (ศิริรักษ์ เนตรรัตน์, 2539)

อย่างไรก็ตามถ้าเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ถูกทำลายจนแตกแยกออกจากกันเซลล์จะสามารถฟื้นกลับมามีชีวิตใหม่ได้ โดยประสิทธิภาพของการทำลายแบคทีเรียขึ้นอยู่กับปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในน้ำ ประเภทของแบคทีเรียที่ต้องการกำจัดและเวลาที่แบคทีเรียสัมผัสกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Arturo และ Tapas , 1988; Lightner, 1996)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้หลายกลุ่ม เช่น *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. Typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus* รวมทั้งยีสต์และสปอร์เชื้อรา เช่น *Aspergillus niger* (Byun และคณะ, 1998) ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ขึ้นกับค่าความเข้มข้น ระยะเวลาที่สัมผัสกับจุลินทรีย์ และสภาพที่เป็นกรดของตัวกลางจะช่วยให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้น โดยลักษณะการทำลายจุลินทรีย์ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีดังนี้

1. ผนังเซลล์ (Cell Envelopes) พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกซิไดซ์สารต่างๆ ของผนังเซลล์ เช่น ไกลโคโปรตีน ไกลโคลิพิด และพันธะคู่ของกรดไขมันอิ่มตัว เป็นต้น ทำให้เซลล์เกิดการรั่วสูญเสียการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่างๆ และทำให้ผนังเซลล์แตกจนของเหลวภายในเซลล์ไหลออกมาซึ่งเกิดจากกระบวนการ Lysis โดยในปี 1999 Dave (อ้างถึงใน Khadre และคณะ, 2006) ได้ศึกษาการใช้ก๊าซไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในภาวะของเหลวกับ *Salmonella Enteritidis* และพบว่ามีการแตกของเยื่อหุ้มเซลล์

2. ผนังเคลือบสปอร์ (Bacterial Spore Coats) จากรายงานของ Foegending (1985) พบว่าโปรตีนที่เคลือบสปอร์ และชั้นนอกของสปอร์ *B. cereus* จะถูกกำจัดออกอย่างรวดเร็วเมื่อสัมผัสกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และบางงานวิจัยพบว่าสปอร์ของ *B. subtilis* จะเกิดการแตกตัวของผนังภายนอกที่เคลือบสปอร์อย่างชัดเจนเมื่อผ่านสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

3. เอนไซม์ (Enzymes) พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีความสามารถในการทำลายเอนไซม์ได้ดีกว่าคลอรีน เนื่องจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะเข้าไปทำลายโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในเอนไซม์หลายชนิด ทำให้โปรตีนเหล่านั้นตกตะกอนและเสียสภาพ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้าไปรบกวนระบบการหายใจของจุลินทรีย์จึงตายในที่สุด

4. กรดนิวคลีอิก (Nucleic Material) พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ RNA และ DNA หรือเกิดพันธะกับ RNA ทำให้กระบวนการสังเคราะห์ RNA และ DNA เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ และเข้าทำลายในส่วนของ plasmid DNA ลดความสามารถในการ Transformed, ทำให้เกิดนิวคลีโอไทด์ที่ไม่สมบูรณ์ใน Plasmid DNA และลด Transcription Activity ด้วย

สำหรับแบคทีเรียบางกลุ่ม เช่น ไนทริไฟอิงแบคทีเรียมีเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (Outer membrane) และสามารถเพิ่มความหนาได้มากขึ้นเพื่อป้องกันโครงสร้างภายในจากสารพิษได้ ประกอบกับแบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีการเติบโตอยู่ภายในชั้นไบโอฟิล์มบนผิวของตัวกรองชีวภาพ การถูกทำลายโดยโอโซนจึงเกิดได้ยากและน้อยกว่าแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. ที่เกาะอาศัยอยู่บริเวณด้านนอกของชั้นไบโอฟิล์ม (Schroeder และคณะ, 2015; Sugita และคณะ, 1992)

ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการทำลายเซลล์ ได้แก่ ความเข้มข้นของโอโซน ทั้งหมด ความเข้มข้นโอโซนคงเหลือในน้ำ และระยะเวลาการสัมผัสกับ (Arturo and Tapas, 1988) โดยเมื่อเปรียบเทียบกับคลอรีน พบว่าคลอรีนต้องใช้ระยะเวลานานถึง 30-60 นาที ในการทำลายผนังเซลล์แบคทีเรีย นอกจากนี้ในกรณีที่ความเข้มข้นของคลอรีนและระยะเวลาการสัมผัสไม่เพียงพอ ทำให้แบคทีเรียสามารถฟื้นกลับมามีชีวิตใหม่ได้ (Yanco Industries, 1998) ขณะที่การสัมผัสโอโซนที่ความเข้มข้น 1.0 และ 2.3 มก./ล. ระยะเวลาสัมผัสเพียง 30 วินาที สามารถกำจัดเชื้อ *Vibrio harveyi* ปริมาณ 1.5 และ 4.0 log units ได้ตามลำดับ (Matsumura และคณะ, 1998) และการสัมผัสโอโซนที่ความเข้มข้น 0.10-0.2 มก./ล. ระยะเวลาสัมผัสนาน 3 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio anguillarum* *Vibrio salmonicida* และ *Yersini ruckeri* ได้ทั้งหมด (Helge และคณะ, 1993)

#### 2.9.5 ปฏิกริยาระหว่างโอโซนกับสารประกอบอินทรีย์

ปฏิกริยาโดยตรง (Direct attack) โอโซนจะเข้าทำปฏิกริยาโดยตรงกับสารอินทรีย์ บริเวณพันธะ (C=C, C=C-O-R, C=C-X) หรือบริเวณอะตอมที่มีประจุลบ (N, P, O, S, และ nucleophilic C) ทำให้เกิดสารมัธยันตร์ (intermediate) ที่ไม่คงตัวกลายเป็น Molozonides จากนั้น Zwitterion ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกริยากับแอลดีไฮด์อย่างรวดเร็วและเกิด Ozonide ที่มีคุณสมบัติเป็นพิษสามารถเข้าไปออกซิไดซ์สารชีวเคมีต่างๆ ทำให้เซลล์แตกและเสียหายในที่สุด (สุรพล รัชชปทุม, 2543) สารอะโรมาติกที่มีหมู่ OH, CH<sub>3</sub>, หรือ OCH<sub>3</sub> อยู่ตรงบริเวณออโรจะทำปฏิกริยากับโอโซนได้ดี แต่ถ้ามีหมู่ NO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>H หรือ CHO ปฏิกริยาจะเกิดช้า ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างทางเคมี ของสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรตไม่มีหมู่นิวคลีโอฟิลิก จึงทำให้การเกิดปฏิกริยาก่อนข้างช้า ปฏิกริยาระหว่างโอโซนกับโพลีแซคคาไรด์เริ่มจากการทำลายพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic) ตามด้วยการออกซิไดซ์หมู่แอลกอฮอล์ (OH) ของ free monosaccharide ได้สารอัลดีไฮด์และกรดที่เป็นโซ่ยาว (Aliphatic Acid)

ปฏิกิริยาโดยอ้อม (Indirect attack) อนุมูลอิสระ (free radicals) ของโอโซนที่เกิดจากปฏิกิริยาโดยตรง ได้แก่  $\text{OH}^\circ$  และ  $\text{OH}_2^\circ$  ทำหน้าที่เป็นตัวออกซิไดซ์สารอินทรีย์ประเภท acids, aldehydes, ketones และ less highly activated aromatic ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### 2.9.6 ข้อดี-ข้อเสียของโอโซน

ปัจจุบันมีการใช้โอโซนในระบบเลี้ยงสัตว์น้ำมากขึ้น รวมถึงการใช้ในงานประเภทอื่นๆ เช่น การฆ่าเชื้อโรคในอากาศ กำจัดกลิ่นอับ การใช้ฆ่าเชื้อในอาหาร ผัก ผลไม้ และการใช้ในงานอุตสาหกรรม เป็นต้น ทั้งนี้การเลือกใช้โอโซนในระบบเลี้ยงสัตว์น้ำมีข้อดีและข้อเสียดังนี้

#### ข้อดี

- โอโซนเป็นตัวออกซิไดซ์มีประสิทธิภาพ ทำให้การออกซิไดซ์เกิดขึ้นรวดเร็วและสมบูรณ์
- ลดปัญหากลิ่น สี ความขุ่น และสารตั้งผิวได้
- กำจัดสีได้อย่างมีประสิทธิภาพ
- เพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำได้
- ฆ่าเชื้อโรค แบคทีเรีย และไวรัสในน้ำได้รวดเร็ว
- ลดค่าซีโอดีและบีโอดีในน้ำ
- ความเข้มข้นต่ำเพียงพอต่อการบำบัดสารอินทรีย์
- หลังการบำบัดไม่ก่อให้เกิดสารประกอบที่เป็นพิษตกค้างในน้ำ
- ประหยัดงบประมาณในการใช้สารเคมีและการขนส่ง
- สามารถทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์และไม่มีปัญหาในการกำจัดตะกอน

#### ข้อเสีย

- ความสามารถในการละลายต่ำเมื่ออุณหภูมิสูง
- ไม่สามารถเก็บโอโซนที่คงเหลือในน้ำได้
- อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตโอโซนเชิงพาณิชย์มีราคาสูง
- เครื่องผลิตโอโซนต้องติดตั้งอยู่กับที่
- การซ่อมแซมอุปกรณ์เมื่อชำรุดทำได้ยาก และจำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการควบคุมระบบ

### 2.9.7 การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนตกค้างในน้ำ (Residual Ozone Concentration; ROC)

การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนตกค้างในน้ำเป็นการวัดปริมาณโอโซนที่หลงเหลือในน้ำเพื่อใช้ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียและกำจัดสารอินทรีย์-อนินทรีย์ในน้ำ โดย Indigo Colorimetric Method เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณโอโซนตกค้างในน้ำ ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ง่าย แม่นยำ รวดเร็ว และได้รับการรับรองจาก Standard Methods Committee (APHA, 2005) มีหลักการคือ โอโซนจะเข้าทำปฏิกิริยาที่บริเวณพันธะคู่ของคาร์บอน (C=C) ในโมเลกุลของสาร Potassium Indigo Trisulfonate ผลจากปฏิกิริยาดังกล่าวจะให้สารละลายสีฟ้าซึ่งแสดงถึงปริมาณโอโซนตกค้างในน้ำที่เกิดขึ้น จากนั้นเมื่อนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จะสามารถคำนวณความเข้มข้นของโอโซนตกค้างในน้ำได้จากความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงระหว่างตัวอย่างน้ำที่มีการเติมโอโซน (Sample) และตัวอย่างน้ำที่ไม่มีการเติมโอโซน (Blank)

## 2.10 ความเป็นพิษของโอโซนในระบบเพาะเลี้ยงกุ้ง

### 2.10.1 ความเป็นพิษของโอโซนต่อแบคทีเรีย

ประสิทธิภาพของการทำลายเซลล์ของแบคทีเรียขึ้นอยู่กับปริมาณของโอโซนทั้งหมด ปริมาณโอโซนตกค้าง และเวลาที่เชื้อสัมผัสกับโอโซน (Arturo และ Tapas, 1988) เมื่อเปรียบเทียบกับคลอรีน พบว่าคลอรีนต้องใช้เวลานาน 30 - 60 นาที ในการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย หากความเข้มข้นของคลอรีนและเวลาในการให้คลอรีนสัมผัสกับเชื้อไม่เพียงพอแบคทีเรียสามารถฟื้นกลับมามีชีวิตได้ใหม่ แต่การสัมผัส ROC ที่ความเข้มข้นเพียง 1.0 และ 2.3 มก./ล. นาน 30 วินาที สามารถกำจัดเชื้อ *Vibrio harveyi* จำนวน 1.5 log units และ 4.0 log units ตามลำดับ (Matsumura และคณะ, 1998) และมีรายงานว่าที่ปริมาณ ROC 0.1 - 0.2 มก./ล. จากการสัมผัสโอโซนนาน 3 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Vibrio anguillarum*, *Vibrio salmonicida* และ *Yersini ruckeri* ได้ทั้งหมด (Helge และคณะ, 1993)

ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้โอโซนเพื่อทำลายแบคทีเรียก่อโรครกลุ่ม *Vibrio* สายพันธุ์ต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยต้องพิจารณาถึงความเข้มข้นของโอโซนตกค้างในน้ำที่เหมาะสมและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างโอโซนและแบคทีเรีย พบว่าโอโซนมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อการลดลงของปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ดังตารางที่ 2-6

ตารางที่ 2-6 ความเป็นพิษของโอโซนต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ

แบคทีเรีย	ปริมาณโอโซน ตกค้าง (มก./ล.)	เวลาสัมผัส	จำนวนแบคทีเรีย ที่ลดลง	อ้างอิง
<i>Aeromonas salmonicida</i> <i>Vibrio anguillarum</i> <i>Vibrio salmonicida</i> <i>Yersini ruckeri</i>	0.15 – 0.20	3 นาที	4 log units	Helge และคณะ, 1993
<i>Achromobacter</i> <i>Flavobacter</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Vibrio</i>	0.53	ระยะ หมุนเวียนน้ำ 2 ชม.	ทั้งหมด	Blogoslawski และ คณะ, 1978
<i>Vibrio harveyi</i>	2.3	30 วินาที	4 log units	Matsumura และ คณะ, 1998
<i>Vibrio harveyi</i>  <i>Marine bacteria</i> <i>Vibrio vulnificus</i>	-  0.37 1.0 0.98 0.56	น้ำที่ผ่าน โอโซน 24 ชม.  30 นาที 2 นาที มากกว่า 2 นาที	3 log units  3 log units 5 log units 5 log units 2 - 3 log units	นันทริกา อิศรศักดิ์ ณ อยู่สุยา และคณะ, 2532
<i>Vibrio vulnificus</i>	โอโซนละลาย ทั้งหมด 5.3	4 นาที	8 log units	Schneider และ คณะ, 1990
<i>Vibrio</i> spp. <i>Vibrio harveyi</i>	1.05 1.05	40 20	2 log units ทั้งหมด	นภา จิระกิตติเจริญ และคณะ (2547)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.3 0.4	50 นาที 40 นาที	ทั้งหมด ทั้งหมด	Pumkaew และ คณะ, 2021



### 2.10.2 ความเป็นพิษของโอโซนต่อกุ้งขาว

โอโซนที่ความเข้มข้นระดับสูงๆ เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ (Matsumura และคณะ, 1998) เนื่องจากความเป็นสารออกซิไดซ์ที่รุนแรง และจากกรดไฮโปโบรมัสที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของโอโซนกับโบรมีนในน้ำทะเล (Blogoslowski และคณะ, 1978) จากการศึกษาความเป็นพิษของโอโซนต่อกุ้งขาว พบว่าระดับความเข้มข้นของโอโซนตกค้างมีผลต่ออัตราการตายของกุ้งขาว ดังตารางที่ 2-7

ตารางที่ 2-7 ความเป็นพิษของโอโซนต่อกุ้งขาว

การตรวจวัด	ปริมาณโอโซนตกค้าง (มก./ล.)	ผลที่เกิดขึ้น	เวลาสัมผัส	ความเค็ม (พีเอสยู)	อ้างอิง
LC <sub>50</sub>	0.5	กุ้งตายร้อยละ 50	4 วัน	17	Schroeder และคณะ, 2010
Short term	0.15	กุ้งตายร้อยละ 0	4 วัน	17	
Long term	0.06	กุ้งตายร้อยละ 0	21 วัน	17	

### 2.10.3 ความเป็นพิษของโอโซนต่อกระบวนการไนตริฟิเคชัน

การศึกษาความเป็นพิษของโอโซนต่อการทำงานของแอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย (AOB) และไนไตรต์ออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย (NOB) พบว่าแอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงและไนไตรต์ออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรียยังสามารถทำงานได้เป็นปกติเมื่อมีการเติมโอโซน โดยตรวจวัดจากอัตราการบำบัดแอมโมเนีย ดังตารางที่ 2-8

ตารางที่ 2-8 ความเป็นพิษของโอโซนต่อการทำงานของแอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย

ความเข้มข้นของโอโซน (มก./ล.)	Activity of AOB	ระยะเวลา	ความเค็ม (พีพีที)	อ้างอิง
0.60	1.2 mg-N/m <sup>2</sup> /h	1 ชม.	23	Schroeder และคณะ (2015)
0.15	150 mg-TAN/m <sup>2</sup> /d	21 วัน	18	
0.10	37.89 mg-N/m <sup>2</sup> /d	24 ชม.	25	Pumkaew และคณะ (2021)
0.20	33.69 mg-N/m <sup>2</sup> /d	24 ชม.	25	
0.30	33.28 mg-N/m <sup>2</sup> /d	24 ชม.	25	
0.40	30.29 mg-N/m <sup>2</sup> /d	24 ชม.	25	

#### 2.10.4 ความเป็นพิษของโอโซนต่อสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน

การศึกษาความเป็นพิษของโอโซนต่อความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียทั้งหมด ไนไตรต์ และไนเตรต วัดความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์อย่างต่อเนืองและคำนวณหาอัตราการเพิ่มขึ้น/ลดลงของสารประกอบดังกล่าว พบว่าแบคทีเรียกลุ่มแอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย (AOB) และไนไตรต์ออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย (NOB) สามารถทำงานได้ไม่แตกต่างกันระหว่างชุดทดลองที่เติมโอโซนและชุดควบคุมที่ไม่เติมโอโซน โดยประเมินจากปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนียทั้งหมด ไนไตรต์ และไนเตรต ที่มีค่าไม่ต่างกันระหว่างการทดลองทั้งสอง แสดงดังตารางที่ 2-9

ตารางที่ 2-9 ความเป็นพิษของโอโซนต่อความเข้มข้นของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน

ความเข้มข้น โอโซน (มก./ล.)	ความเข้มข้น (มก.-ไนโตรเจน/ล.)		ระยะเวลา	ความเค็ม (พีพีที)	อ้างอิง
	TAN	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>			
0.15	0.18:0.10	0.011:0.055	21 วัน	10	Schroeder และคณะ (2015)
0.22	<0.6:<0.6	<0.2:<0.2	6 เดือน	35	Tango และ Gagnon (2003)
0.25	0.55:0.58	0.35:0.42	44 วัน	35	Park และคณะ (2015)

กลไกการทำงานของโอโซนในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดต่าง เช่น *E. coli* O157: H7, *P. fluorescens*, *S. Typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus* รวมทั้งยีสต์และสปอร์เชื้อรา (Byun และคณะ, 1998; Moore, Griffith, & Peters, 2000; Restaino และคณะ, 1995) ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของโอโซน ได้แก่ ความเข้มข้น ระยะเวลาการสัมผัส และสภาวะที่เป็นกรดของตัวกลางจะช่วยให้โอโซนสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ก๊าซโอโซนและ Reactive by product เช่น OH, O<sub>2</sub><sup>-</sup> และ HO<sub>2</sub> เป็นสารสำคัญในการทำลายจุลินทรีย์ (Moore และคณะ, 2000)

โอโซนถูกนำมาใช้ในการฆ่าเชื้อโรคอย่างแพร่หลาย โดยผลของการเติมโอโซนต่อการก่อตัวและผลพลอยได้จากการฆ่าเชื้อโรค (Disinfection byproduct from ozone; DBP) ประกอบด้วย ไตรฮาโลมีเทน (THMs), กรดไตรฮาโลอะซีติก (THAs), กรดไดฮาโลอะซีติก (DHAAs), ไดฮาโลอะซีโตไนไตรล์ (DHANs), คลอเรลไฮเดรต (CH) และไตรคลอโรไนโตรมีเทน (TCNM)

## 2.11 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กัญญาจิต โสภัญญะสิริ (2543) ศึกษาการใช้โอโซนในการควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ พบว่าการใช้โอโซนที่ความเข้มข้น 51.23 มก./ล. (ความเข้มข้นที่ผลิตได้จากเครื่องผลิตโอโซน) เป็นระยะเวลา 24 ชม. สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ D331 ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในกุ้งได้ร้อยละ 99.9 โดยความเข้มข้นของโอโซนที่เริ่มทำให้ลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวาที่ 15 - 21 แสดงอาการผิดปกติมีค่าสูงกว่าค่าความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ ดังนั้นโอโซนจึงมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ D331 ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในกุ้งและมีความปลอดภัยต่อกุ้งกุลาดำ

Pumkaew และคณะ (2021) ได้ทำการศึกษาผลของการใช้โอโซนในระบบเพาะเลี้ยงกุ้งต่อการทำงานของไนตริไฟอิงแบคทีเรียบนตัวกรองชีวภาพ พบว่าปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. และ *V. parahaemolyticus* ส่วนใหญ่มีการสะสมตัวบริเวณตะกอนก้นถังเลี้ยงกุ้ง โดยมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ  $131.11 \pm 41.67$  และ  $21.11 \pm 11.67$  ซีเอฟยู/มล. ตามลำดับ และการศึกษาความเป็นพิษของโอโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่สามารถทำลายแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* ได้ในระยะเวลา 1 ชม. เมื่อเติมโอโซนที่มีความเข้มข้นของโอโซนตกค้างในน้ำเท่ากับ 0.3 และ 0.4 มก./ล. ลงในน้ำที่มีแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* แขนวลอยอยู่ประมาณ  $3.83 \pm 1.44 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. พบว่าที่ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3 และ 0.4 มก./ล. ทำให้ปริมาณแบคทีเรียดังกล่าวลดลงได้ทั้งหมดภายในระยะเวลา 50 และ 40 นาที ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียดังกล่าวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในระยะเวลา 50 นาที จากการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่าโอโซนตกค้างในน้ำสามารถกำจัดแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของโอโซนต่อกระบวนการไนตริฟิเคชันบนตัวกรองชีวภาพ เมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นของแอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต พบว่าระดับความเข้มข้นของโอโซนตกค้าง 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 มก./ล. ความเข้มข้นของแอมโมเนียและไนไตรต์มีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับเวลา ในขณะที่ความเข้มข้นไนเตรตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเวลาแสดงให้เห็นว่ากระบวนการไนตริฟิเคชันเกิดได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อวิเคราะห์อัตราการบำบัดแอมโมเนียของตัวกรองชีวภาพ พบว่าแอมโมเนียออกซิไดซ์ซึ่งแบคทีเรียสามารถทำงานได้เป็นปกติ เมื่อมีการเติมโอโซนที่มีระดับความเข้มข้นของโอโซนตกค้าง 0.1, 0.2 และ 0.3 มก./ล. ( $P < 0.05$ ) โดยมีอัตราการบำบัดแอมโมเนียของตัวกรองชีวภาพเท่ากับ  $37.89 \pm 3.49$ ,  $33.69 \pm 2.56$  และ  $33.28 \pm 3.55$  มก.-ไนโตรเจน/ตร.ม./วัน ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้นของโอโซนตกค้างที่ 0.4 มก./ล. การทำงานของแอมโมเนียออกซิไดซ์ซึ่งแบคทีเรียจะเริ่มถูกยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) โดยมีอัตราการบำบัดแอมโมเนียของตัวกรองชีวภาพเท่ากับ  $30.29 \pm 0.56$  มก.-ไนโตรเจน/ตร.ม./วัน

ชาตรี วีระสิทธิ์ (2543) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียในการบำบัดดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยวิธีการคราดพรวนดิน เพื่อวิเคราะห์ค่าบีโอดีและตรวจวัดปริมาณแบคทีเรียบางชนิด พบว่า การบำบัดด้วยวิธีดังกล่าวทำให้แบคทีเรียสกุล *Vibrio* ลดจำนวนลง แต่แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* มีจำนวนไม่เปลี่ยนแปลงมากนักในบ่อที่มีการเลี้ยงมานาน

นภา จิระกิตติเจริญ และคณะ (2547) ได้ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการทำลายเชื้อแบคทีเรียกลุ่มก่อโรคระหว่างระบบโอโซนและระบบคลอรีนในการเลี้ยงกุ้งในบ่อขนาด 30 และ 3,000 ล. พบว่าระบบโอโซนเมื่อทำการทดลองโดยใช้โอโซนที่กำลังการผลิต 280 มก./ชม./น้ำ 30 ล. นาน 60 นาที ที่ความเข้มข้นโอโซนตกค้าง 1.05 มก./ล. และที่กำลังการผลิต 2.5 มก./ล. ต่อน้ำ 3,000 ล. นาน 4 ชม. ที่ความเข้มข้นโอโซนตกค้าง 0.898 มก./ล. ผลการทดลองทั้งสองชุดการทดลองสอดคล้องกัน คือสามารถทำลายปริมาณเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ทั้งหมด (ร้อยละ 100) และลดปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. ลงได้ 1 log unit โดยเมื่อเปรียบเทียบกับระบบคลอรีนที่มีการเติมแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ ( $\text{Ca(OCl)}_2$ ) ปริมาณ 228 กรัม/น้ำ 30 ล. และพักน้ำเป็นเวลา 3 - 4 ชม. (ขึ้นกับอัตราการสลายตัวของคลอรีนในรูปที่เป็นพิษตกค้างอยู่ในน้ำ) พบว่าระบบโอโซนสามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรค และเพิ่มอัตราการรอดของลูกกุ้งได้ดีกว่าระบบคลอรีน

อาทิตยา ทิพย์มณี และคณะ (2560) ศึกษาการใช้โอโซนในรูปของสารละลายต่ออายุการเก็บรักษาปลานิลแช่เย็นที่บรรจุในบรรยากาศปกติและสุญญากาศ เมื่อติดตามคุณภาพทางจุลินทรีย์ และกายภาพเคมี พบว่า การใช้น้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 1 มก./ล. แช่ปลานิลเป็นเวลา 1 นาที สามารถลดจำนวนแบคทีเรีย *Vibrio cholerae* ได้ 0.36 Log นอกจากนี้โอโซนยังมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนแบคทีเรียโดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายแบคทีเรียในรูปสารแขวนลอยได้คือ 0.25 มก./ล. ความเข้มข้นสูงสุด คือ 15 มก./ล. และสามารถลดแบคทีเรียได้มากกว่า 5 log ซีเอฟยู/ก. จากผลงานวิจัยแสดงว่าโอโซนมีประโยชน์ในการปรับปรุงคุณภาพทางจุลินทรีย์ของปลานิล ทำให้มีจำนวนแบคทีเรียเริ่มต้นลดลงและสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้

Nimrat และคณะ (2008) ศึกษาผลของสภาพดินตะกอนพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งที่แตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุด ได้แก่ 1) การตากดินร่วมกับการไถพรวน 2) การตากดินร่วมกับการไถพรวนและเติมปูนขาว 3) การตากดินและเติมปูนขาว 4) การตากดินร่วมกับการเติมจุลินทรีย์ และ 5) การตากดินร่วมกับการไถพรวนและเติมจุลินทรีย์ และมีชุดควบคุมคือการตากดินจากแสงอาทิตย์เพียงอย่างเดียว ผลการทดลอง พบว่า ค่าพีเอชของดินในทุกชุดทดลองและชุดควบคุมมีค่าลดลง โดยปริมาณอินทรีย์วัตถุของทั้งชุดทดลองและชุดควบคุมเพิ่มขึ้นจากร้อยละ  $1.76 \pm 0.05$  ของวันที่ 0 เป็นร้อยละ  $4.33 \pm 0.06$  ในวันที่ 15 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรฟปรับตัวลดลงเฉพาะในชุดทดลองที่ 5 และเชื้อ

*Vibrio* ที่เป็นผลเสียต่อสัตว์น้ำสามารถลดลงได้ภายใน 6 วัน สำหรับชุดทดลองทั้งหมด และไม่พบ *Pseudomonas* หลังจากวันที่ 9 ของการทดลอง จากผลการทดลองสรุปได้ว่าการตากดินร่วมกับการไถพรวนและเติมจุลินทรีย์ (ชุดการทดลองที่ 5) เป็นวิธีที่ดีที่สุดสำหรับการกำจัดเชื้อ *Vibrio* และ *Pseudomonas* จากดินตะกอนพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง

Schroeder และคณะ (2010) ศึกษาความเป็นพิษของโอโซนตกค้างต่อกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วง ได้แก่ ช่วงแรกศึกษาผลต่อกุ้งขาวระยะสั้น (Short-term Exposure Experiments) เป็นเวลา 96 ชม. พบว่า ความเข้มข้นโอโซนตกค้าง 0.15 มก./ล. กุ้งรอดตายทั้งหมด (ร้อยละ 100) โดยมีค่าความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน ( $LC_{50}$ ) เท่ากับ 0.50 มก./ล. และการทดลองช่วงที่ 2 ศึกษาผลต่อไนทรีไฟอิงแบคทีเรียและกุ้งขาวระยะยาว (Long-term Exposure Experiments) เป็นเวลา 18 วัน พบว่า ความเข้มข้นโอโซนตกค้าง 0.06 มก./ล. กุ้งรอดตายทั้งหมดเช่นกัน จึงเป็นค่าที่แนะนำสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวเมื่อให้มีการสัมผัสโอโซนตกค้างในน้ำโดยตรง

#### 2.11.1 สรุปประเด็นสำคัญจากการทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. แบคทีเรียก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* เป็นสาเหตุหลักของที่ทำให้กุ้งขาวแวนนาไมติดเชื้อและตายด้วยโรคกุ้งตายด่วน (Early Mortality Syndrome; EMS)
2. โอโซนความเข้มข้นเท่ากับ 0.15 – 2.30 มก./ล. และระยะเวลาสัมผัส 30 วินาที – 2 ชม. สามารถออกฤทธิ์กำจัดเชื้อก่อโรคในกุ้งทะเลได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงและไม่ส่งผลกระทบต่อตัวกุ้งทะเล
3. การประยุกต์ใช้โอโซนในการปรับสภาพดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งช่วยลดระยะเวลาในการเตรียมบ่อก่อนการเลี้ยงกุ้งรอบถัดไปในสัปดาห์และสามารถเลี้ยงกุ้งในรอบต่อไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ
4. ไนทรีไฟเคชันเป็นกระบวนการชีวภาพในการกำจัดแอมโมเนียที่เกิดจากการสะสมของเสียในระบบการเลี้ยงกุ้ง โดยไนทรีฟายอิงแบคทีเรียทำหน้าที่เปลี่ยนแอมโมเนียเป็นไนเตรตและไนเตรดตามลำดับ ทั้งนี้การประยุกต์ใช้โอโซนในการกำจัดเชื้อก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* ในระดับที่เหมาะสมในช่วงความเข้มข้นไม่เกิน 0.4 มก./ล. จะไม่ส่งผลกระทบต่อการทำหน้าที่ของแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวที่อยู่ในน้ำ

### บทที่ 3

#### แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

##### 3.1.1 อุปกรณ์และวัสดุวิทยาศาสตร์

- เครื่องกำเนิดโอโซนชนิดมีปั๊มลมในตัว ยี่ห้อ Ebase รุ่น OZ 1060T กำลังการผลิตโอโซนสูงสุด 1,000 มก./ชม.
- เครื่องกำเนิดโอโซนชนิดมีปั๊มลมในตัว ยี่ห้อ Ebase รุ่น OZ 3070A กำลังการผลิตโอโซนสูงสุด 5,000 มก./ชม.
- เครื่องเติมอากาศ (Air pump)
- ถังพลาสติกขนาด 3 ลิตร
- ถังพลาสติกขนาด 130 ลิตร
- หลอด LED สีขาว
- เครื่องตั้งเวลา Timer 220V 10A รุ่น AL-06
- ตาข่ายไนลอน
- หัวทรายละเอียดและสายยาง
- อาหารกุ้งที่มีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 38
- อุปกรณ์ตักดินแบบมีด้ามจับ

##### 3.1.2 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ดินและน้ำ

- เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer)
- เครื่องเขย่าสำหรับเพาะเชื้อแบคทีเรียพร้อมอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิ (Shaker)
- เครื่องแก้วต่างๆ เช่น ปีกเกอร์ หลอดทดลอง ขวดปรับปริมาตร กระจกตวง ขวดรูปชมพู่ ฯลฯ
- เครื่องกวนสาร (Magnetic Stirrer)
- เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave)
- เครื่องวัดความเค็ม (Hand-Held Refractometer)
- เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter) ยี่ห้อ HANNA

- เครื่องวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO meter) ยี่ห้อ HANNA
- เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer) ยี่ห้อ HANNA
- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ยี่ห้อ BioTek
- แท่งแก้วเขี่ยเชื้อสามเหลี่ยม (Spreader glass)
- ไมโครไปเปิดขนาดต่างๆ
- กระดาษลิตมัส (Litmus Paper)
- ขวดสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำ
- จานเพาะเชื้อพลาสติก
- ชุดทดสอบโอโซน Ozone Test Kit ยี่ห้อ Hanna รุ่น HI38054
- ชุดทดสอบแอมโมเนีย ไนไตรต์ ไนเตรต และค่าความเป็นด่าง ยี่ห้อ AQUA – VBC
- ชุดทดสอบแคลเซียม และแมกนีเซียม ยี่ห้อ AQUA – VBC
- ตู้ดูดสารเคมี (Fume Hood)
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
- ตู้ปลอดเชื้อ (Biological Safety Cabinet)
- สายวัดความยาว

### 3.1.3 สารเคมี

- Ammonium chloride ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )
- Ammonium sulfate ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ )
- Calcium oxide ( $\text{CaO}$ )
- De-ionized water (DI)
- Ethanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ )
- Methanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )
- NED (N-(1-Naphthyl)-Ethylenediamine Dihydrochloride)
- Phosphoric acid
- Potassium indigo trisulfonate
- Sodium bicarbonate ( $\text{NaHCO}_3$ )
- Sodium chloride ( $\text{NaCl}$ )
- Sodium citrate dihydrate ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )
- Sodium dihydrogen orthophosphate anhydrous 99% ar ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )
- Sodium hydroxide ( $\text{NaOH}$ )

- Sodium hypochlorite (NaOCl)
- Sodium nitroprusside dihydrate ( $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )
- Sodium salicylate ( $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{COONa}$ )
- Sulphanilamide ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ )

#### 3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- Thiosulphate Citrate Bile-salt Sucrose Agar (TCBS)
- Tryptic Soy Broth (TSB)

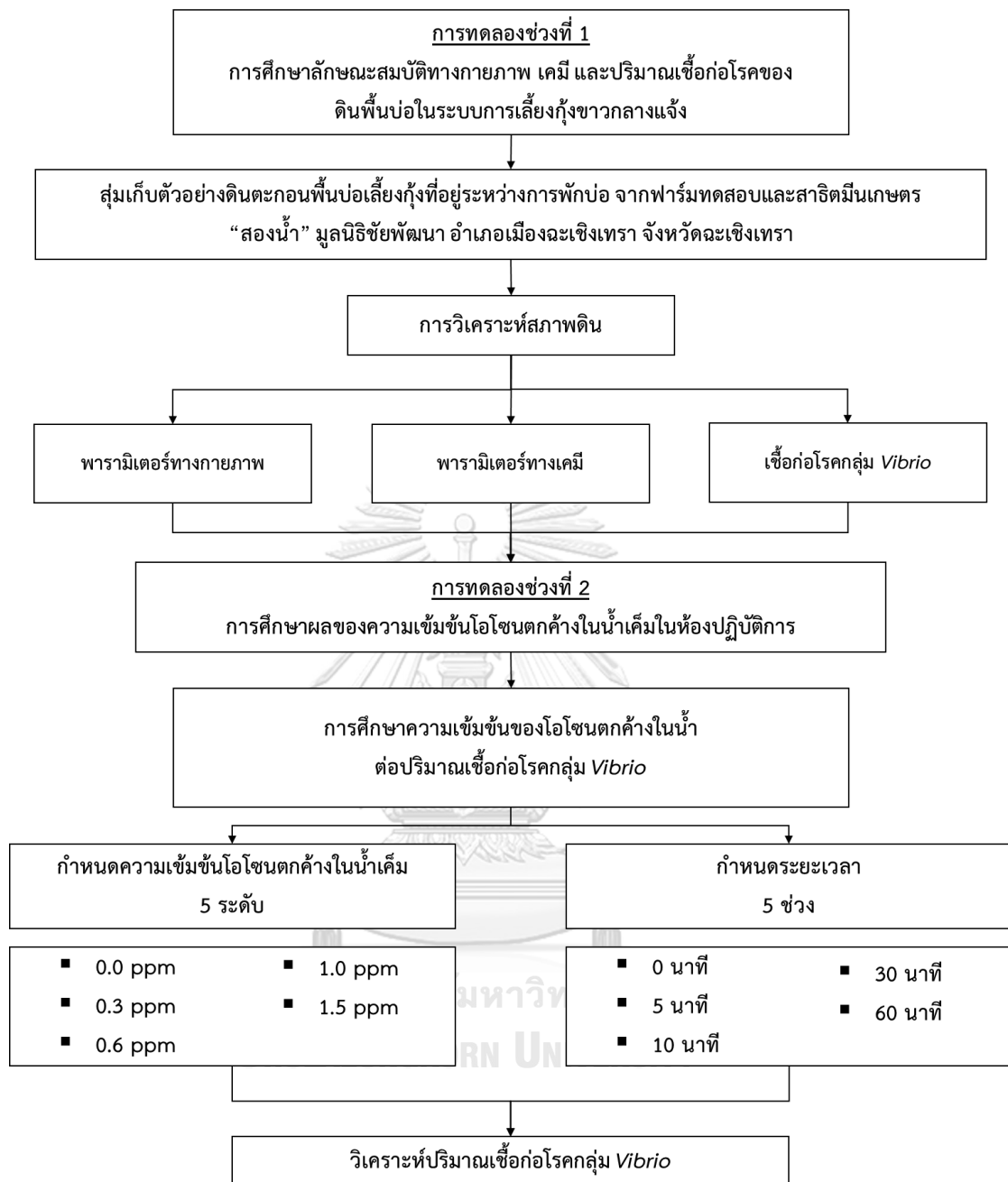
### 3.2 แผนการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้ดำเนินการในระดับห้องปฏิบัติการ ณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อศึกษาผลของการเติมไอโซนต่อความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำที่จุดอิมตัว และผลของความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำและระยะเวลาการสัมผัสไอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มวิบริโอในดิน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง มีรายละเอียดดังนี้

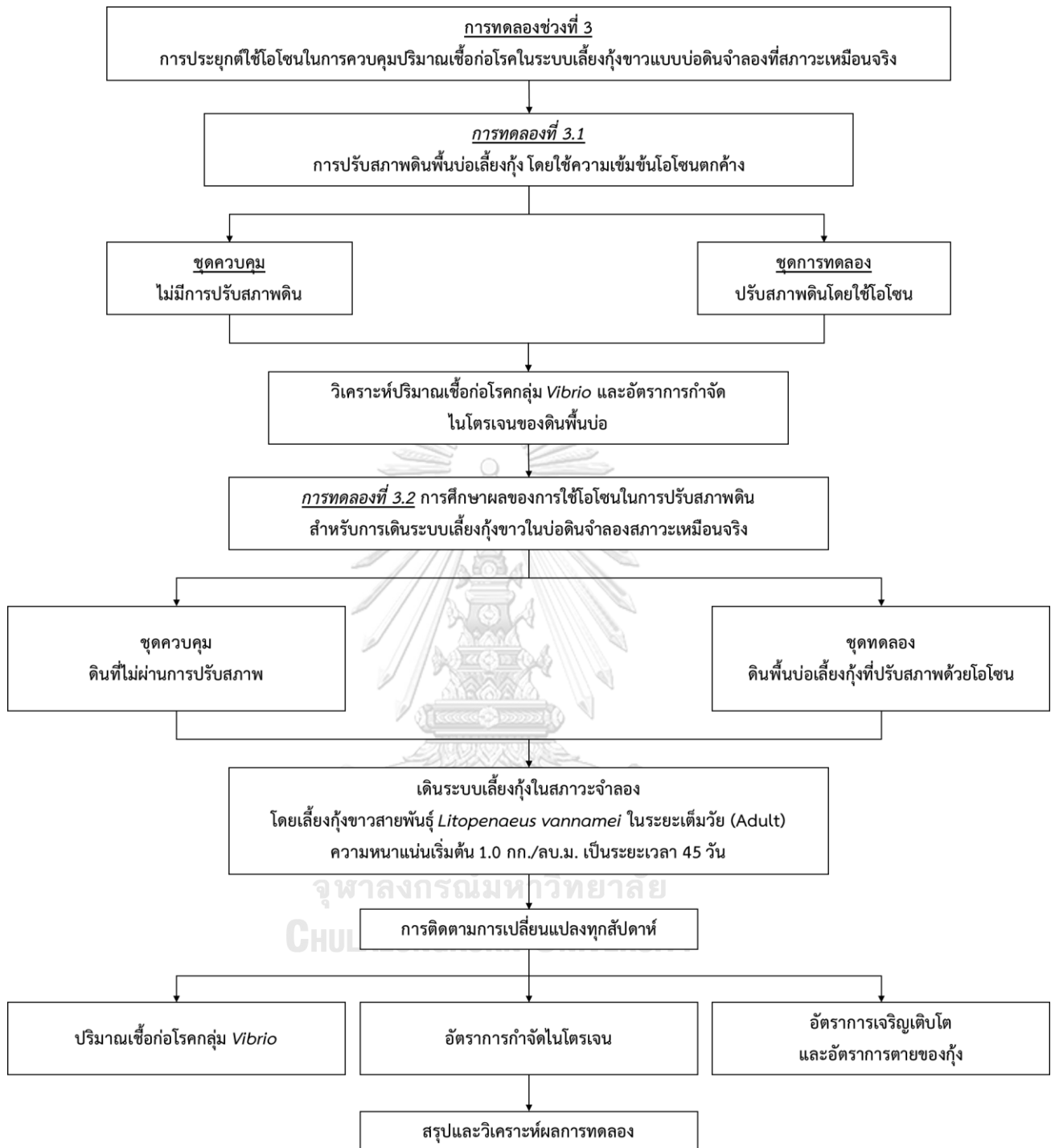
- **การทดลองช่วงที่ 1** การศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ที่สะสมในดินพื้นบ่อในระบบการเลี้ยงกุ้งกลางแจ้ง จากฟาร์มทดสอบและสาธิตมีนเกษตร “สองน้ำ” มูลนิธิชัยพัฒนา อำเภอมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่อยู่ระหว่างการพักบ่อ จำนวน 5 จุด บริเวณมุมทั้งสี่ด้านที่เป็นมุมอับของบ่อ และตำแหน่งกึ่งกลางของบ่อซึ่งคาดว่าจะเป็แหล่งที่มีการสะสมของสารอินทรีย์และเป็นแหล่งสะสมของเชื้อก่อโรค นำตัวอย่างดินไปวิเคราะห์ลักษณะสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* รวมทั้งการประเมินลักษณะพื้นฐานของดินตัวอย่างและปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสมบัติของดินในสภาวะธรรมชาติ
- **การทดลองช่วงที่ 2** การศึกษาความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำที่ช่วงเวลาต่างๆ และจุดอิมตัว และการศึกษาผลของความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำเค็มและระยะเวลาสัมผัสที่ต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* และอัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน โดยแปรค่าความเข้มข้นของไอโซนตกค้างที่ 0.0, 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล. ทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 5, 10, 30 และ 60 นาที
- **การทดลองช่วงที่ 3** การประยุกต์ใช้ไอโซนในการควบคุมปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองย่อย ได้แก่



- การทดลองที่ 3.1 การเตรียมดินก่อนเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดินจำลอง สภาวะเหมือนจริง โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* และ อัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด ได้แก่ (1) ชุดควบคุม ดินที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (2) ชุดทดลอง ดินที่ปรับสภาพด้วยโอโซนที่ความเข้มข้นของโอโซนตกค้างและระยะเวลาสัมผัสที่เหมาะสมจากการทดลองช่วงที่ 2 และศึกษาความเข้มข้นโอโซนและระยะเวลาสัมผัสต่อประสิทธิภาพการกำจัดของเสียไนโตรเจนของดิน
- การทดลองที่ 3.2 การศึกษาผลของการใช้โอโซนในการปรับสภาพดินสำหรับการเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ระยะเต็มวัย (Adult) ในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง ในบ่อเลี้ยงกุ้งขนาด 130 ลิตร ที่สภาวะให้แสงไฟด้วยหลอดไฟ LED สีขาวเป็นเวลา 12 ชม./วัน ตามสภาวะธรรมชาติ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด (ชุดละ 3 ซ้ำ) ได้แก่ (1) ชุดควบคุมที่ 1 ดินที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (2) ชุดทดลอง ดินที่ทำการปรับสภาพด้วยโอโซนที่ความเข้มข้นของโอโซนตกค้างและระยะเวลาสัมผัสที่เหมาะสมจากการทดลองช่วงที่ 2 โดยบรรจุดินในบ่อน้ำหนัก 5 กก. สูงจากพื้นบ่อ 5 ซม. เดินระบบต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 45 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* และอัตราการกำจัดไนโตรเจนของดินพื้นบ่อ รวมทั้งประเมินอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้ง



รูปที่ 3-1 แผนผังการทดลองช่วงที่ 1 และ 2



รูปที่ 3-2 แผนผังการทดลองช่วงที่ 3

### 3.3 การดำเนินการทดลอง

#### 3.3.1 การทดลองช่วงที่ 1 การศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพ เคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคของดินพื้นบ่อระบบการเลี้ยงกุ้งชาวกวางแจ๊ง

โดยเป็นการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในห้องปฏิบัติการ มีรายละเอียดดังนี้

##### 1) การเก็บตัวอย่างดินและการเตรียมดิน

สุ่มเก็บตัวอย่างดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งชาวกวางแจ๊ง จากฟาร์มทดสอบและสาธิตมีนเกษตร “สองน้ำ” มูลนิธิชัยพัฒนา อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา ในช่วงระยะเวลาพักบ่อเพื่อปรับสภาพดินและรอเลี้ยงสัตว์น้ำในรุ่นต่อไป (รูปที่ 3-3) ทั้งนี้วิธีการเก็บตัวอย่างและรักษาสภาพตัวอย่างดินจะดำเนินการตามประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 25 (พ.ศ. 2547) เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน โดยเก็บตัวอย่างดินจำนวน 5 จุด กำหนดจุดเก็บตัวอย่างบริเวณมุมทั้งสี่ด้านที่เป็นมุมอับของบ่อ และตำแหน่งกึ่งกลางของบ่อซึ่งคาดว่าจะเป็แหล่งที่มีการสะสมของสารอินทรีย์และเชื้อก่อโรค แต่ละจุดจะใช้พลั่วขุดดินลึกประมาณ 15 ซม. นำตัวอย่างดินทั้ง 5 จุด มาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน และเก็บรวบรวมใส่ถุงพลาสติก นำไปเก็บรักษาให้คงสภาพในตู้แช่เย็น เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป



รูปที่ 3-3 จุดเก็บตัวอย่างดินจากบ่อเลี้ยงกุ้งโครงการฟาร์มทดสอบและสาธิตมีนเกษตร “สองน้ำ” มูลนิธิชัยพัฒนา จ. ฉะเชิงเทรา

## 2) การวิเคราะห์สภาพดิน

ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างดินทั้งพารามิเตอร์ทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ จำนวน 12 พารามิเตอร์ ได้แก่ ค่าความเป็นกรดและด่าง ความเค็ม อินทรีย์วัตถุ อินทรีย์คาร์บอนรวม สัดส่วนแร่ธาตุ ความต้องการออกซิเจนของดิน ความชื้นในดิน และปริมาณ *Vibrio* โดยวิธีการวิเคราะห์และเก็บรักษาตัวอย่างดินจะดำเนินการตามประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 25 (พ.ศ. 2547) เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน คู่มือปฏิบัติการเก็บตัวอย่างน้ำและตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์หาสารเคมีป้องกันและกำจัดศัตรูพืช (กรมควบคุมมลพิษ, พ.ศ. 2555) และคู่มือการปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี ดังตารางที่ 3-1 โดยมีตัวแปรในการทดลอง ช่วงที่ 1 แสดงดังตารางที่ 3-2

ตารางที่ 3-1 วิธีการวิเคราะห์และการเก็บรักษาตัวอย่างดิน

ลำดับ	พารามิเตอร์	หน่วย	วิธีวิเคราะห์
1	ค่าพีเอช	-	Electrometric Method (U.S.EPA 2004:9045 D)
2	ความเค็ม	ส่วนในพันส่วน	Electrical Conductivity Method
3	อินทรีย์วัตถุ	ร้อยละโดยน้ำหนัก	Walkley and Black, 1947
4	อินทรีย์คาร์บอนรวม	ร้อยละโดยน้ำหนัก	Walkley and Black, 1947
5	สัดส่วนแร่ธาตุ	ร้อยละโดยน้ำหนัก	CHNS analyser
6	ความต้องการออกซิเจนของดิน	มก.-ออกซิเจน/ก./วัน	Azide modification ที่อุณหภูมิ 20° ซ. เป็นเวลา 5 ชม.
7	ความชื้นในดิน	ร้อยละ	Oven dried method
8	เชื้อก่อโรคลกลุ่ม <i>Vibrio</i>	ซีเอฟยู/ก.	Spread Plate Counting ในอาหาร TCBS

ตารางที่ 3-2 ตัวแปรต่างๆ ในการทดลองช่วงที่ 1

ตัวแปร	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
<b>ตัวแปรอิสระ</b>	
- ตัวอย่างดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง	ดินจากพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งฟาร์มทดสอบและสาธิตฯ จ.ฉะเชิงเทรา
<b>ตัวแปรควบคุม</b>	
- บ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ	กุ้งขาวแวนนาไม
- ขนาดบ่อ	>1,600 ตร.ม.
- ลักษณะของบ่อ	บ่อดินกลางแจ้ง
- ความเค็ม	5-15 พีพีที
<b>ตัวแปรตาม</b>	<b>พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์</b>
- พารามิเตอร์ทางกายภาพ	พีเอช ความเค็ม และความชื้นของดิน
- พารามิเตอร์ทางเคมี	อินทรีย์วัตถุ อินทรีย์คาร์บอนรวม สัดส่วนแร่ธาตุ และความ ต้องการออกซิเจนของดิน
- เชื้อก่อโรค	เชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i> sp.

### 3.3.2 การทดลองช่วงที่ 2 ผลของความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำเค็มในห้วงปฏิบัติการ

ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำเค็มและระยะเวลาการสัมผัสที่แตกต่างกัน ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* และอัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน โดยแปรค่าความเข้มข้นของไอโซนตกค้างและระยะเวลาการสัมผัสเพื่อให้ได้สภาวะการใช้ไอโซนที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการจัดไนโตรเจนของดิน มีรายละเอียดดังนี้

#### 1) การศึกษาค่าความเข้มข้นของไอโซนในน้ำ

##### (1.1) เครื่องกำเนิดไอโซน

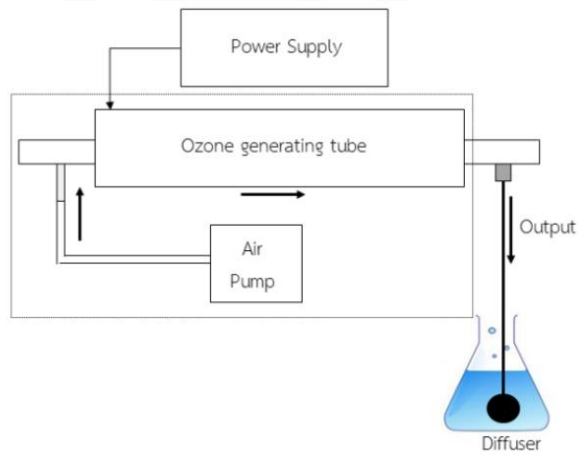
งานวิจัยนี้ใช้เครื่องกำเนิดไอโซนชนิดมีปั๊มลมในตัวยี่ห้อ Ebase รุ่น OZ 1060T (รูปที่ 3-4) มีกำลังการผลิตไอโซนสูงสุด 1,000 มก./ชม. และรุ่น OZ 3070A (รูปที่ 3-5) มีกำลังการผลิตไอโซนสูงสุด 5,000 มก./ชม. ผลิตไอโซนด้วยวิธีการ Corona discharge ซึ่งเป็นการถ่ายประจุไฟฟ้าแบบ Silent Spark โดยให้อากาศแห้งผ่านเข้าไประหว่างขั้วไฟฟ้า 2 ขั้วที่มีความต่างศักย์กัน และเกิดการแยกพันธะออกซิเจนและกลายเป็นอะตอมออกซิเจน จากนั้นอะตอมออกซิเจนจะรวมตัวกันทำให้เกิดโมเลกุลไอโซน ดังแสดงไดอะแกรมกลไกการทำงานของเครื่องกำเนิดไอโซนรูปที่ 3-6



รูปที่ 3-4 เครื่องกำเนิดโอโซนยี่ห้อ Ebase รุ่น OZ 1060T



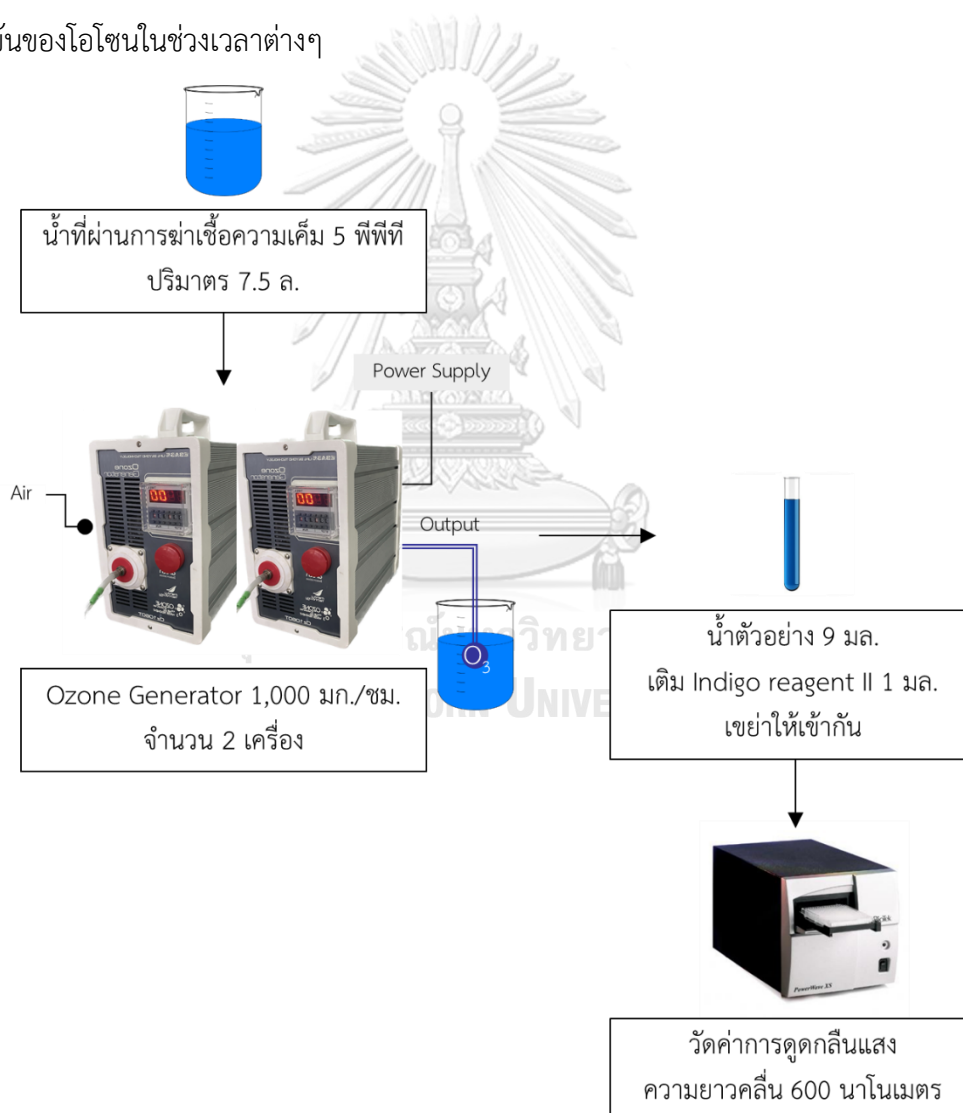
รูปที่ 3-5 เครื่องกำเนิดโอโซนชนิดมีปั๊มลมในตัว ยี่ห้อ Ebase รุ่น OZ 3070A



รูปที่ 3-6 กลไกการทำงานของเครื่องกำเนิดโอโซน

## (1.2) เตรียมโอโซนละลายน้ำที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 7.5 ลิตร

เติมโอโซนลงในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 5 พีพีที ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 7.5 ลิ. ด้วยเครื่องกำเนิดโอโซนผ่านหัวทรายละเอียด เพื่อให้โอโซนสัมผัสกับน้ำอย่างทั่วถึงด้วยอัตรา 1,000 มก./ชม. จำนวน 2 เครื่อง (อัตราการผลิตโอโซนรวม 4.4 มก./ล./นาท) จากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำ ทุก 10 นาที เป็นเวลา 1 ชม. เพื่อวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของโอโซนด้วยเทคนิค Indigo Colorimetric Method ตามวิธีมาตรฐานที่ระบุใน Standard Method for the Examination of Water and Wastewater (ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง) จากนั้นนำค่าที่ได้มาหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโอโซนในน้ำกับระยะเวลาที่เติมโอโซน เพื่อหาระยะเวลาที่โอโซนอิ่มตัวในน้ำ และความเข้มข้นของโอโซนในช่วงเวลาต่างๆ



รูปที่ 3-7

การเตรียมและวิเคราะห์ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำปริมาตร 7.5 ลิตร

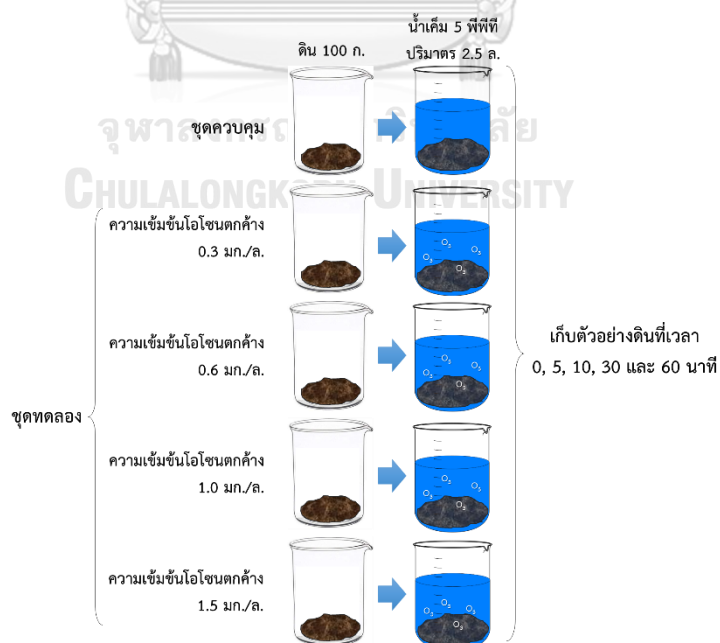


### (1.3) เตรียมเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio*

การเตรียมเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* โดยนำเชื้อที่แช่แข็งอุณหภูมิ  $-80^{\circ}\text{C}$ . เขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) ปริมาตร 10 มล. นำไปปั่นเพาะเชื้อในเครื่องเขย่าและควบคุมอุณหภูมิ (Shaker) ที่  $30^{\circ}\text{C}$ . เป็นเวลา 18 - 24 ชม. เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อก่อโรคที่ต้องการ ใส่ลงไปดินตัวอย่างที่เตรียมไว้ ผสมให้เข้ากันและพักตัวอย่างดินทิ้งไว้ประมาณ 1 ชม. เก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

### 2) การศึกษาความเข้มข้นของไอโซนตกค้างในน้ำต่อปริมาณเชื้อก่อโรค

แปรค่าความเข้มข้นของไอโซนตกค้างในน้ำเค็มแตกต่างกัน 5 ระดับ และระยะเวลาแตกต่างกัน 5 ช่วง ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* โดยเตรียมดินสำหรับการทดลองช่วงนี้ แบ่งเป็น ชุดควบคุมจำนวน 1 ชุด และชุดการทดลองจำนวน 4 ชุด (ทดลองชุดละ 3 ซ้ำ) โดยใช้บีกเกอร์ขนาด 3 ล. บรรจุตัวอย่างดินน้ำหนัก 100 ก. และเติมน้ำทะเลความเค็ม 5 พีพีที ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 2,500 มล. (สัดส่วนน้ำต่อดินมากเกินพอที่จะทำให้น้ำสัมผัสกับดินได้อย่างทั่วถึง) ปิดฝาบีกเกอร์ด้วยพลาสติกแร็ป เติกระบบการทดลองโดยเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมไอโซน และชุดทดลองที่มีการแปรค่าการเติมน้ำเค็มที่ผ่านการเติมไอโซนที่มีความเข้มข้น 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล. ตามลำดับ หลังจากนั้นดำเนินการเก็บตัวอย่างดินในช่วงเวลา 0, 5, 10, 30 และ 60 นาที เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป โดยมีรายละเอียดของแต่ละชุดการทดลอง ดังรูปที่ 3-8



รูปที่ 3-8 ชุดการทดลองเพื่อศึกษาความเข้มข้นของไอโซนตกค้างในน้ำแตกต่างกัน (แสดงอุปกรณ์ต่อ 1 ชุดการทดลอง)

### 3) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio*

ละลายดินตัวอย่างวิเคราะห์เป็นสารละลายดินและเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ แบบ Serial dilution แล้วนำไปตรวจปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะต่อจุลินทรีย์แต่ละชนิด (Germida, 1993) ด้วยเทคนิคมาตรฐานวิธี Spread Plate Counting (รูปที่ 3-9) มีรายละเอียดดังนี้

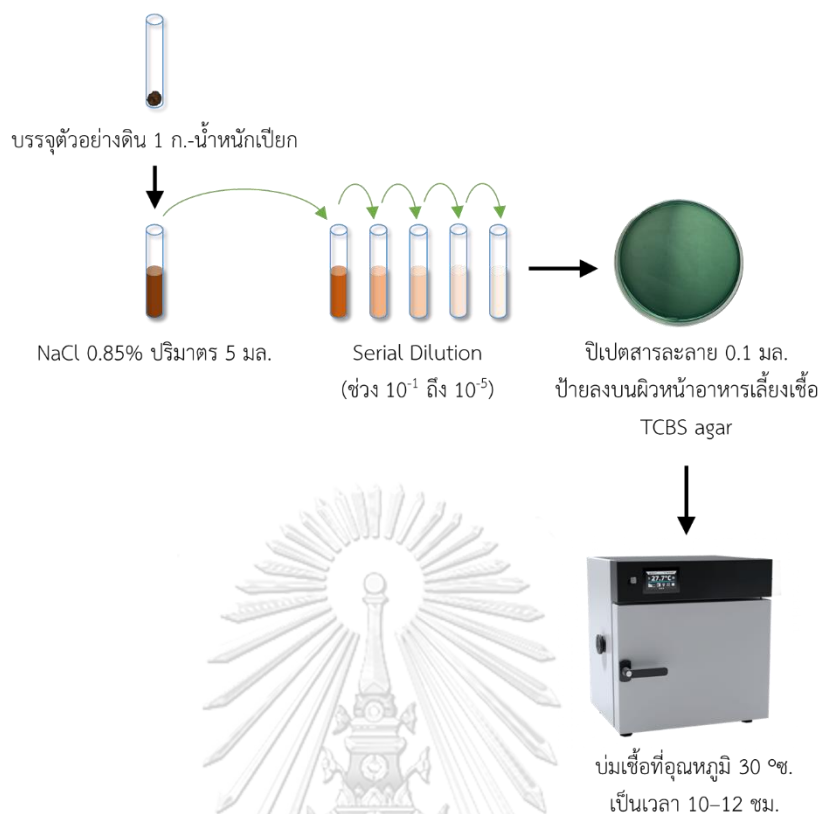
1. ละลายตัวอย่าง 1 ก.-น้ำหนักเปียก ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 5 มล. เขย่าบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 1 นาที และทำการเจือจางแบบ Serial Dilution
2. ปิเปตสารละลายดินที่ความเข้มข้นต่างๆ ( $10^{-1}$  ถึง  $10^{-5}$ ) ปริมาตร 0.1 มล. ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Thiosulphate Citrate Bile-salt Sucrose Agar (TCBS) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* (ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ)
3. ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมที่ผ่านการลนไฟฆ่าเชื้อโรคแล้วเกลี่ยสารละลายดินให้ทั่วผิวหน้าอาหาร TCBS
4. บ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ  $30^{\circ}$  ซ. เป็นเวลา 10-12 ชม. แล้วตรวจนับโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกนับจาก Dilution ที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ในช่วง 30 – 300 โคโลนี บันทึกและรายงานผล

การคำนวณปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ละลายตัวอย่างดิน 1 ก. ใน สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 5 มล. คิดเป็นความเข้มข้นดิน 0.2 ก./มล. ปิเปตสารละลายดินปริมาตร 0.1 มล. ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS สามารถคำนวณปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ได้ดังนี้

$$\text{ตัวอย่างดินในสารละลาย } 0.1 \text{ มล.} = 0.2 \text{ ก./มล.} \times 0.1 \text{ มล.}$$

$$= 0.02 \text{ ก.}$$

$$\text{ปริมาณเชื้อ } Vibrio \text{ (ซีเอฟยู/ก.)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนี} \times \text{Dilution}}{0.02 \text{ ก.}}$$



รูปที่ 3-9 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดิน

โดยมีตัวแปรในการทดลองช่วงที่ 2 ดังตารางที่ 3-3

ตารางที่ 3-3 ตัวแปรต่างๆ ในการทดลองช่วงที่ 2

ตัวแปร	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
<b>ตัวแปรอิสระ</b>	
- ความเข้มข้นไอโชน	0, 0.3, 0.6, 1.0, และ 1.5 มก./ล.
- ระยะเวลาการสัมผัสไอโชน	0, 5, 10, 30 และ 60 นาที
<b>ตัวแปรควบคุม</b>	
- ปริมาณดิน	100 กรัม
- ปริมาตรน้ำเค็ม	2,500 มล.
- ความเค็ม	5-10 พีพีที
- ลักษณะการใช้ไอโชน	ไอโชนละลายน้ำ
- อุณหภูมิ	อุณหภูมิห้อง (อยู่ในช่วง 20-30° ซ.)
<b>ตัวแปรตาม</b>	<b>พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์</b>
- ปริมาณเชื้อก่อโรคในดิน	เชื้อ <i>Vibrio</i> sp.

#### 4) ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคลกลุ่ม vibrio ในดินและการวิเคราะห์ทางสถิติ

คำนวณประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคลกลุ่ม vibrio ในดินที่สัมผัสกับน้ำที่มีการเติมโอโซน เมื่อทำการแปรค่าความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำแตกต่างกัน 4 ระดับ (0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล.) และระยะเวลาสัมผัส 4 ช่วงเวลา (5, 10, 30 และ 60 นาที) ตามสมการดังแสดงใน (1)

$$\text{ร้อยละประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรค (\%)} = \frac{[Vibrio]_{\text{initial}} - [Vibrio]_t}{[Vibrio]_{\text{initial}}} \times 100 \quad (1)$$

โดย  $[Vibrio]_{\text{initial}}$  คือปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม vibrio ในดินเริ่มต้น (ซีเอฟยู/ก.) และ  $[Vibrio]_t$  คือปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม vibrio ในดินที่ระยะเวลาสัมผัสใดๆ (ซีเอฟยู/ก.) จากนั้นรายงานผลค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ด้วยวิธี One-way analyses of variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS (Version 22; IBM, New York, USA)

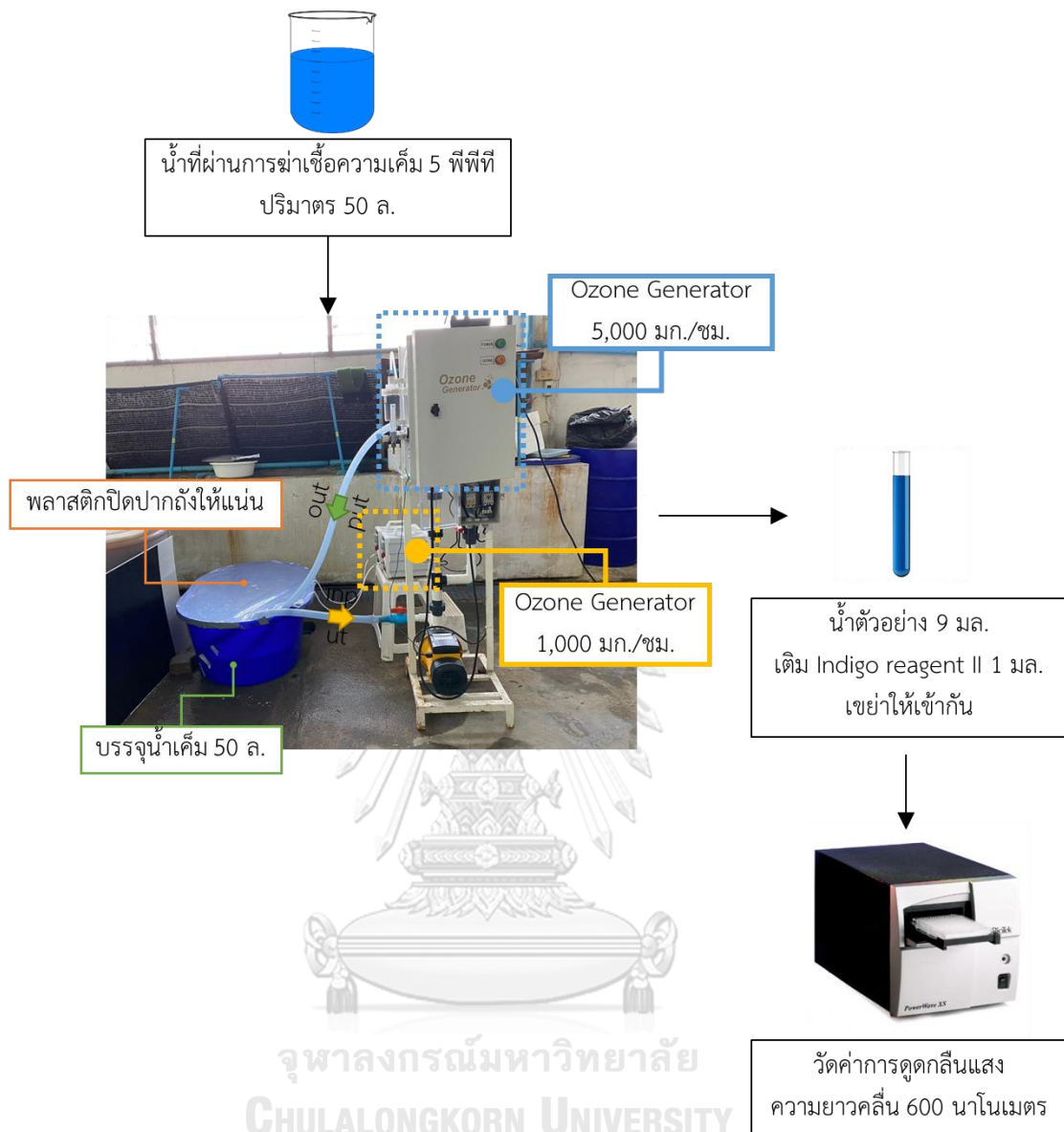
#### 3.3.3 การทดลองช่วงที่ 3 การประยุกต์ใช้โอโซนในการควบคุมเชื้อก่อโรคในระบบเลี้ยงกุ้งแบบบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริง

ทดสอบการประยุกต์ใช้โอโซนในการควบคุมปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* ในระบบเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง โดยเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม (ดินที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ) และชุดทดลอง (ดินที่ทำการปรับสภาพด้วยโอโซน) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วง ดังนี้

##### 1) การทดลองช่วงที่ 3.1 การปรับสภาพดินพื้นบ่อดินเลี้ยงกุ้ง

###### (1.1) เตรียมโอโซนละลายน้ำตามความเข้มข้นที่ได้จากการทดลองช่วงที่ 2

เตรียมน้ำทะเลความเค็ม 5 พีพีที ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 50 ล. จากนั้นเติมโอโซนลงในน้ำด้วยเครื่องกำเนิดโอโซนผ่านหัวทรายละเอียด ควบคุมให้โอโซนสัมผัสกับน้ำอย่างทั่วถึงด้วยอัตรา 1,000 มก./ชม. และที่กำลังการผลิตโอโซนสูงสุด 5,000 มก./ชม. เก็บตัวอย่างน้ำทุก 10 นาที วิเคราะห์หาความเข้มข้นของโอโซนด้วยเทคนิค Indigo Colorimetric Method ตามวิธีมาตรฐานที่ระบุใน Standard Method for the Examination of Water and Wastewater (ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง) เพื่อหาระยะเวลาการเติมโอโซนจนได้ระดับความเข้มข้นของโอโซนที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2 สำหรับใช้ในการฆ่าเชื้อก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* ในดินน้ำหนัก 5 กก.-น้ำหนักเปียก (สัดส่วนน้ำต่อดินมากเกินพอที่จะทำให้ น้ำสัมผัสกับดินได้อย่างทั่วถึง) เพื่อใช้ในการเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง ดังขั้นตอนที่แสดงในรูปที่ 3-10



รูปที่ 3-10 การเตรียมและวิเคราะห์ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำปริมาณ 50 ลิตร

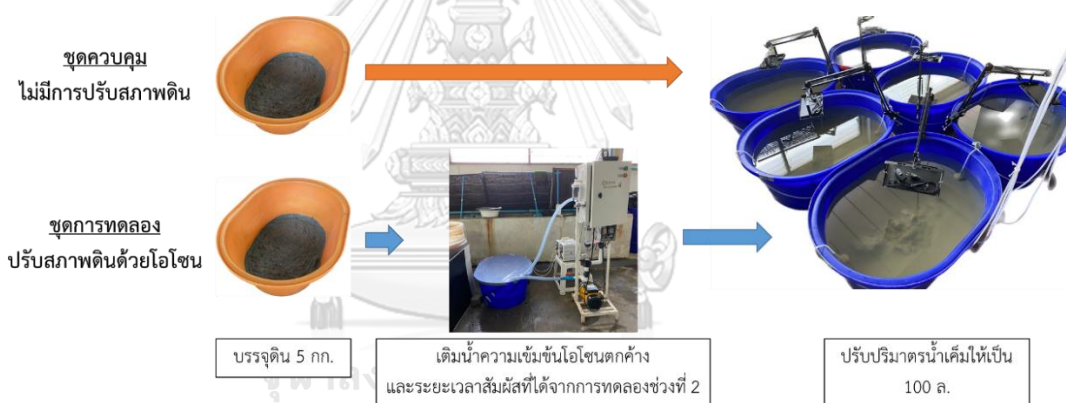
### (1.2) เตรียมดินก่อนการเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง

ทำการเตรียมดินก่อนเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง โดยเก็บตัวอย่างดินจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำฟาร์มทดสอบและสาธิตมีนเกษตร “สองน้ำ” มูลนิธิชัยพัฒนา จังหวัดฉะเชิงเทรา ในช่วงระยะเวลาพักบ่อเช่นเดียวกับการทดลองช่วงที่ 1 คือ เก็บตัวอย่างดินจำนวน 5 จุด ได้แก่ บริเวณมุมทั้งสี่ด้านที่เป็นมุมอับของบ่อ และตำแหน่งกึ่งกลางของบ่อ ซึ่งคาดว่าจะเป็นแหล่งที่มีการสะสมของสารอินทรีย์และเชื้อก่อโรค แต่ละจุดจะใช้ฟลั่วชุดดินลึกประมาณ 15 ซม. นำตัวอย่างดินทั้ง 5 จุด มาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ทำการบรรจุดิน 5 กก. ลงในบ่อ

พลาสติกปริมาตร 130 ล. เติกระบบการทดลองโดยเปรียบเทียบผลของการปรับสภาพดินด้วยแนวทางต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* และอัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด ดังรูปที่ 3-11 มีรายละเอียดดังนี้

- ชุดควบคุม บรรจุดิน 5 กก. ที่ไม่ผ่านการปรับสภาพลงในบ่อพลาสติกปริมาตร 130 ล. (ทดลอง 3 ซ้ำ)
- ชุดทดลอง บรรจุดิน 5 กก. ลงในบ่อพลาสติกปริมาตร 130 ล. จากนั้นปรับสภาพด้วยการเติมน้ำเค็มปริมาตร 50 ล. ความเค็ม 5 พีพีที ที่ผ่านการเติมไอโซนที่ความเข้มข้นไอโซนตกค้างและระยะเวลาสัมผัสที่เหมาะสมจากการทดลองช่วงที่ 2 (ทดลอง 3 ซ้ำ)

เก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* รวมถึงตรวจวัดอัตราการกำจัดแอมโมเนียของดินในชุดควบคุมและชุดทดลองที่ผ่านการปรับสภาพดินด้วยกระบวนการต่างๆ โดยมีตัวแปรที่ทำการศึกษาดังตารางที่ 3-6



รูปที่ 3-11

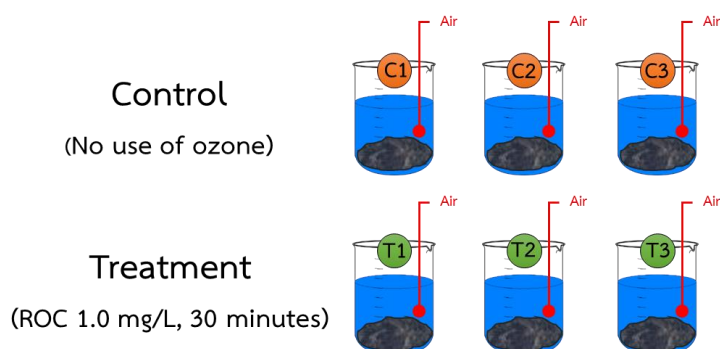
ชุดอุปกรณ์สำหรับการปรับสภาพดินในบ่อเลี้ยงกุ้งด้วยแนวทางกายภาพและเคมี

ตารางที่ 3-4 ตัวแปรต่างๆ ในการทดลองช่วงที่ 3

ตัวแปร	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
<b>ตัวแปรอิสระ</b>	
- การเตรียมสภาพดิน	ไม่ผ่านการปรับสภาพ, การเติมโอโซน
- การเติมโอโซน	ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2
<b>ตัวแปรควบคุม</b>	
- ปริมาณดิน	5 กก./บ่อ
- ปริมาตรบ่อ	130 ล.
<b>ตัวแปรตาม</b>	<b>พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์</b>
- ปริมาณเชื้อก่อโรค	ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i>
- อัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน	ปริมาณแอมโมเนีย ปริมาณไนไตรต์ ปริมาณไนเตรต

### (1.3) การวิเคราะห์อัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน

ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของโอโซนต่อประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนของดิน ภายหลังจากเดินระบบชุดควบคุม (ไม่มีการเติมโอโซน) และชุดทดลอง (แปรค่าน้ำทะเลที่ผ่านการเติมโอโซนที่ความเข้มข้นโอโซนตกค้างและระยะเวลาสัมผัสที่ได้จากการทดลองช่วงที่ 2) จากนั้นนำดินในชุดควบคุมและชุดทดลองมาตรวจวัดอัตราการกำจัดแอมโมเนีย โดยบรรจุดิน 10 ก. ลงในน้ำเค็ม 5-10 พีพีที ปริมาตร 0.5 ล. เติมแอมโมเนียมคลอไรด์ ปริมาณ 1 มก.-ไนโตรเจน/ล. และเติมออกซิเจนตลอดเวลาให้มีค่าออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 5 - 8 มก./ล. (ทดลองจำนวน 3 ซ้ำ) ทำการเก็บตัวอย่างน้ำทุก 1.5 ชม. เป็นเวลารวม 7.5 ชม. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต ตามวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานที่ระบุใน Standard Method for the Examination of Water and Wastewater จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณอัตราการกำจัดแอมโมเนียที่ความเข้มข้นโอโซนต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้โอโซน ดังรูปที่ 3-12 และมีรายละเอียดตัวแปรที่ทำการศึกษาดังตารางที่ 3-5



รูปที่ 3-12 การทดลองเพื่อวิเคราะห์อัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน  
(แสดงอุปกรณ์ต่อ 1 ชุดการทดลอง)

ตารางที่ 3-5 ตัวแปรต่างๆ ในการทดลองวิเคราะห์อัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน

ตัวแปร	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
<b>ตัวแปรอิสระ</b>	
- การเตรียมสภาพดิน	ไม่ผ่านการปรับสภาพ, การเติมโอโซน
- การเติมโอโซน	ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2
<b>ตัวแปรควบคุม</b>	
- ระยะเวลารวม	7.5 ชม.
- ปริมาณดิน	10 กรัม
- ปริมาณน้ำทะเล	500 มล.
- ความเค็ม	5-10 พีพีที
- ลักษณะการใช้โอโซน	โอโซนละลายน้ำ
- อุณหภูมิ	อุณหภูมิห้อง (อยู่ในช่วง 20-30° ซ.)
- ออกซิเจนละลายน้ำ	5 – 8 มก./ล.
- แอมโมเนียมคลอไรด์	1 มก./ล.
<b>ตัวแปรตาม</b>	<b>พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์</b>
- อัตราการกำจัดอินทรีย์ไนโตรเจน	ปริมาณแอมโมเนีย ปริมาณไนไตรต์ ปริมาณไนเตรต



2) การทดลองที่ 3.2 การใช้โอโซนปรับสภาพดินสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินจำลอง สภาวะเหมือนจริง

ศึกษาผลของการใช้โอโซนในการปรับสภาพดินสำหรับการเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะเต็มวัย ในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง ใช้บ่อเลี้ยงกุ้งขนาด 130 ลิตร และให้แสงไฟด้วยหลอดไฟ LED สีขาวเป็นเวลา 12 ชม./วัน ตามสภาวะธรรมชาติ โดยบรรจุดินในชุดควบคุมและชุดทดลองที่ผ่านการปรับสภาพดินด้วยขั้นตอนการต่างๆ จากการทดลองที่ 3.1 ลงในบ่อให้สูงจากพื้นบ่อ 5 ซม. จากนั้นเดินระบบการเลี้ยงกุ้งในสภาวะจำลองต่อเนื่องเป็นเวลา 45 วัน และติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* และอัตราการกำจัดไนโตรเจน รวมทั้งเก็บข้อมูลอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการตายของกุ้ง มีรายละเอียดดังนี้

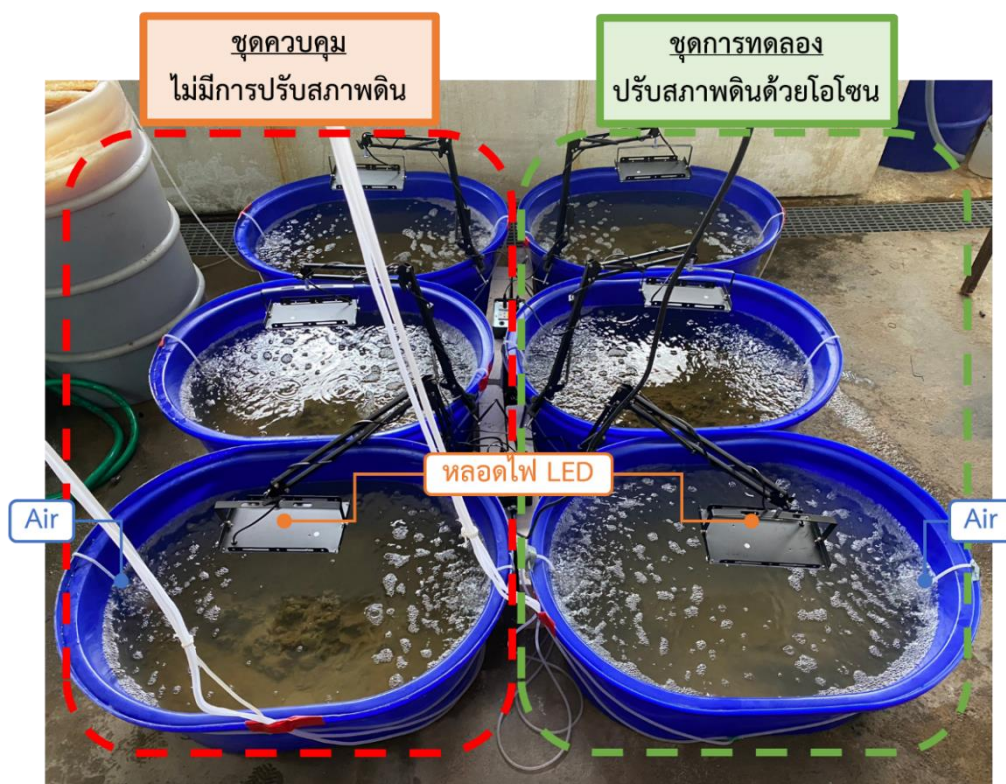
(2.1) การเตรียมกุ้งสำหรับการทดลอง

กุ้งที่ใช้ในการทดลองเป็นกุ้งขาวสายพันธุ์แวนนาไมระยะเต็มวัย โดยเมื่อขนส่งมาถึงห้องปฏิบัติการจะทำการอนุบาลกุ้งจนคุ้นชินกับสภาวะจำลองที่จะใช้ในการทดลองโดยปรับอุณหภูมิ ค่าพีเอช ความเค็ม สภาพความเป็นด่าง ออกซิเจนละลายน้ำ แคลเซียม และแมกนีเซียม เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดอาการช็อค นอกจากนี้ยังให้ออกซิเจนตลอดระยะเวลาอย่างเพียงพอเพื่อสร้างสภาวะที่เหมาะสมตลอดการเลี้ยง

(2.2) การเตรียมบ่อและติดตั้งอุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงกุ้งในสภาวะจำลอง

เตรียมบ่อพลาสติกขนาด 130 ล. บรรจุดินประมาณ 5 กก. ความสูงจากพื้นบ่อ 5 ซม. และเติมน้ำปริมาตร 100 ล. มีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 5-10 พีพีที และปรับสภาพความเป็นด่างในน้ำให้มีค่าประมาณ 150 มก./ล. ด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนต ติดตั้งหลอดไฟ LED สีขาว ให้แสงสว่างเป็นเวลา 12 ชม. โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด ดังนี้

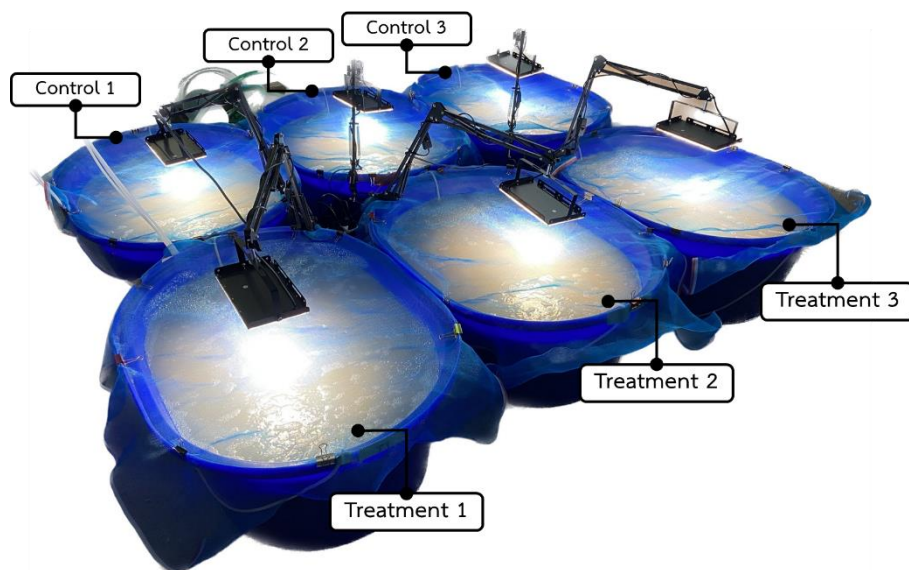
- ชุดควบคุม บรรจุดินที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ (ทดลอง 3 ซ้ำ)
- ชุดทดลอง บรรจุดินที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโอโซน (ทดลอง 3 ซ้ำ)



รูปที่ 3-13 การติดตั้งชุดอุปกรณ์เพื่อศึกษาการใช้ไอโซนปรับสภาพดินสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง

### (2.3) การเลี้ยงกุ้งในสภาวะจำลอง

เริ่มเดินระบบในบ่อดินที่ผ่านการเตรียมตามชุดการทดลองที่กำหนดไว้ โดยเลี้ยงกุ้งขาวสายพันธุ์ *Litopenaeus vannamei* ระยะเต็มวัย ที่ความหนาแน่นเริ่มต้น 1.0 กก./ลบ.ม. ให้อาหารสำเร็จรูปทั่วไปที่มีโปรตีนร้อยละ 38 ในอัตราร้อยละ 2-5 ของน้ำหนักกุ้งรวมในบ่อต่อวัน โดยแบ่งการให้อาหารเป็น 3 มื้อ/วัน เดินระบบต่อเนื่องโดยไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเป็นระยะเวลา 45 วัน โดยควบคุมค่าออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 5 – 8 มก./ล. และปรับสภาพความเป็นต่างในน้ำให้มีค่าประมาณ 150 มก./ล. ด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนต ตามลำดับ ดังรูปที่ 3-14



รูปที่ 3-14 ชุดทดลองในการศึกษาการเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง

#### (2.4) การตรวจวัดพารามิเตอร์ระหว่างการทดลอง

เก็บตัวอย่างน้ำเพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต ในการบำบัดของเสียที่เกิดขึ้นตามกระบวนการธรรมชาติ ทุก 2 วัน และเก็บตัวอย่างดินจากบ่อดินจำลองทุกสัปดาห์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* ควบคู่กับการติดตามอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการตายของกุ้ง ทุก 2 สัปดาห์ ตลอดระยะเวลาการเดินระบบเลี้ยงกุ้ง โดยมีตัวแปรที่ทำการศึกษาดังตารางที่ 3-6

ตารางที่ 3-6 ตัวแปรต่างๆ ในการทดลองเลี้ยงกุ้งในบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริง

ตัวแปร	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
<b>ตัวแปรอิสระ</b>	
- การเตรียมสภาพดิน	ไม่ผ่านการปรับปรุงสภาพ, การเติมโอโซน
- ความเข้มข้นโอโซนและระยะเวลาสัมผัส	ค่าที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2
<b>ตัวแปรควบคุม</b>	
- ชนิดของสัตว์น้ำ	กุ้งขาวสายพันธุ์แวนนาไม
- ขนาดบ่อเลี้ยงกุ้ง	130 ล.
- ปริมาณดิน	5 กก.
- ความสูงชั้นดินพื้นบ่อ	5 ซม.
- ระยะเวลาการเลี้ยงกุ้ง	45 วัน
- ปริมาณน้ำในบ่อ	100 ล.
- ความเค็ม	5-10 พีพีที
- สภาพความเป็นต่างในน้ำ	150 มก./ล.
- แสงสว่าง	หลอดไฟ LED สีขาว ระยะเวลา 12 ชม.
- ความหนาแน่นกุ้งในระบบ	1.0 กก./ลบ.ม.
<b>ตัวแปรตาม</b>	<b>พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์</b>
- ปริมาณเชื้อก่อโรค	เชื้อ <i>Vibrio</i> sp.
- อัตราการกำจัดไนโตรเจน	ปริมาณแอมโมเนีย ปริมาณไนไตรต์ ปริมาณไนเตรด
- คุณภาพสัตว์น้ำ	น้ำหนักกุ้ง ความยาวกุ้ง อัตราการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ อัตราการรอดชีวิต
- คุณภาพน้ำ	ออกซิเจนละลายน้ำ พีเอช สภาพความเป็นต่าง อุณหภูมิของน้ำ ความเค็ม แคลเซียม แมกนีเซียม

### 3.4 พารามิเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

พารามิเตอร์ที่ตรวจวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ แบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ คุณภาพดิน คุณภาพน้ำ และคุณภาพสัตว์น้ำ มีรายละเอียดและวิธีวิเคราะห์ แสดงดังตารางที่ 3-7

ตารางที่ 3-7 พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ทำการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้

พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
<b>พารามิเตอร์ทางคุณภาพดิน</b>	
- ค่าพีเอช	Electrometric Method (U.S.EPA 2004:9045 D)
- ความเค็ม	Electrical Conductivity Method
- อินทรีย์วัตถุ	Walkley and Black, 1947
- อินทรีย์คาร์บอนรวม	Walkley and Black, 1947
- สัดส่วนแร่ธาตุ	CHNS analyser
- ความต้องการออกซิเจนของดิน	Azide modification ที่อุณหภูมิ 20° ซ. เป็นเวลา 5 ชม.
- ความชื้นของดิน	Oven dried method
- เชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i>	Spread Plate Counting ในอาหาร TCBS
<b>พารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำ</b>	
- ค่าพีเอช	Electrometric Method (U.S.EPA 2004:9045 D)
- สภาพความเป็นด่าง	Test kit
- ความเค็ม	Electrical Conductivity Method
- ออกซิเจนละลายน้ำ	DO meter method
- อุณหภูมิของน้ำ	Thermometer
- แคลเซียม	Test kit
- แมกนีเซียม	Test kit
- ประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจน	Colorimetric and Spectrophotometric method
- ค่าความเข้มข้นไอออนตกค้างในน้ำ	Indigo Colorimetric Method
- เชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i>	Spread Plate Counting ในอาหาร TCBS
<b>พารามิเตอร์ทางคุณภาพสัตว์น้ำ</b>	
- น้ำหนัก	เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
- ความยาว	สายวัดความยาว
- อัตราการเจริญเติบโต	เปรียบเทียบน้ำหนักต่อระยะเวลาการเลี้ยง
- อัตราการแลกเนื้อ	ผลรวมของปริมาณอาหารต่อน้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น
- อัตราการรอดชีวิต	เปรียบเทียบจำนวนกุ้งเริ่มต้นกับสุดท้าย
- ความหนาแน่นของกุ้งในระบบ	น้ำหนักของกุ้งต่อปริมาตรน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 การทดลองช่วงที่ 1 การศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพ เคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคของดินพื้นบ่อระบบการเลี้ยงกุ้งชาวกลางแจ้ง

##### 4.1.1 ลักษณะสมบัติทางกายภาพ เคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคของดินพื้นบ่อระบบการเลี้ยงกุ้งชาวกลางแจ้ง

การทดลองส่วนนี้เป็นการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติทางกายภาพ เคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคของดินพื้นบ่อระบบการเลี้ยงกุ้งชาวกลางแจ้ง จากฟาร์มทดสอบและสาธิตมีนเกษตร “สองน้ำ” มูลนิธิชัยพัฒนา อำเภอมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน (ตารางที่ 4-1) พบว่าดินมีสภาพเป็นกลางโดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยเท่ากับ  $7.52 \pm 0.11$  โดยอยู่ในช่วงปกติเมื่อเทียบกับบ่อเลี้ยงกุ้งทั่วไปที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างของดินเท่ากับ  $6.73 - 7.39$  (Munsiri และคณะ, 1996) ค่าความเค็มอยู่ในช่วง 5 – 10 พีพีที ซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่าความเค็มของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง อินทรีย์วัตถุในดิน มีค่าเฉลี่ยร้อยละ  $3.91 \pm 0.46$  และอินทรีย์คาร์บอนรวมในดินมีค่าเฉลี่ยร้อยละ  $2.27 \pm 0.27$  โดยสารอินทรีย์วัตถุและอินทรีย์คาร์บอนในดินเป็นผลมาจากการสะสมของตะกอนอินทรีย์ที่เกิดจากเศษอาหารที่เหลือตกค้าง นอกจากนี้ยังมีของเสียที่กุ้งขับถ่ายออกมา และซากของสิ่งมีชีวิตในบ่อที่ตายเมื่อมีการย่อยสลายเป็นสารอินทรีย์ที่สะสมอยู่ในดินพื้นบ่อ โดยรายงานของ Boyd และคณะ (2003) ระบุว่าค่าอินทรีย์คาร์บอนรวมในดินควรมีค่ามากกว่าร้อยละ 0.5 เพื่อให้เกิดการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนในระบบโดยเฉพาะกลุ่มไดอะตอมผิวดิน (Benthic diatoms) ซึ่งมีบทบาทในกระบวนการสังเคราะห์แสงและการผลิตออกซิเจนตามธรรมชาติให้กับระบบ อย่างไรก็ตามค่าอินทรีย์คาร์บอนรวมในดินไม่ควรมีค่าสูงเกินกว่าร้อยละ 3 ซึ่งอาจทำให้เกิดการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนอย่างรวดเร็ว (Plankton bloom) และส่งผลให้อัตราการใช้ออกซิเจนของดินสูงขึ้น โดยการวิเคราะห์ความต้องการออกซิเจนของดินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $4.61 \pm 1.79$  มก.-ออกซิเจน/ก./วัน ซึ่งในทางปฏิบัติการเลี้ยงกุ้งชาวในบ่อดินกลางแจ้ง จะทำการตรวจวัดความต้องการออกซิเจนของดินต่อหน่วยพื้นที่ โดยงานวิจัยของ Satanwat และคณะ (2023) ระบุว่าความต้องการออกซิเจนของดินในบ่อเลี้ยงกุ้งชาวแวนนาไม่อายุ 76 วัน จะมีค่าแปรผันอยู่ในช่วง  $0.14 - 0.18$  ก.-ออกซิเจน/ตร.ม./ชม. ซึ่งเทียบเท่ากับ  $3.36 - 4.32$  ก.-ออกซิเจน/ตร.ม./วัน สำหรับสัดส่วนแร่ธาตุของดินประกอบด้วย คาร์บอนร้อยละ  $0.85 \pm 0.02$  ไฮโดรเจนร้อยละ  $0.68 \pm 0.08$  ไนโตรเจนร้อยละ  $0.71 \pm 0.04$  และไม่มีซิลเฟอร์ ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับบ่อเลี้ยงกุ้งทั่วไปพบว่าสัดส่วนแร่ธาตุของดินประกอบด้วยคาร์บอนร้อยละ  $0.65 - 1.45$  ไนโตรเจนร้อยละ  $0.17 - 0.28$  และซิลเฟอร์ร้อยละ

0.29–0.52 ตามลำดับ (Munsiri และคณะ, 1996) โดยพบว่ามีค่าสัดส่วนคาร์บอนที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่สัดส่วนไนโตรเจนของงานวิจัยนี้มีค่ามากกว่าบ่อเลี้ยงกุ้งทั่วไป ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปัจจัยด้านปริมาณอาหารที่เข้าสู่ระบบ สัดส่วนโปรตีนในอาหาร และความหนาแน่นกุ้งในระหว่างการเลี้ยง ทำให้ปริมาณไนโตรเจนที่เข้าสู่ระบบและไนโตรเจนที่สะสมในดินมีค่าแตกต่างกัน สำหรับความชื้นของดินพบว่ามีค่าเท่ากับร้อยละ 15.52 เนื่องจากเป็นบ่อที่ผ่านการตากมาแล้ว แสดงให้เห็นว่าดินภายในบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นดินทราย (Sandy soils) ปนอยู่ค่อนข้างสูง

สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดินใช้เทคนิค Standard Plate Count ด้วยวิธี Spread Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS พบว่า มีปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* เท่ากับ  $1.0 \pm 0.0 \times 10^3$  ซีเอฟยู/ก. (ตารางที่ 4-1) ซึ่งมีปริมาณค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของศุภชัย ประพัทธ์สร (2538) ที่ได้ศึกษาปริมาณแบคทีเรียในดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งในเขตจังหวัดจันทบุรี เก็บตัวอย่างดินในช่วงก่อนปล่อยกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้ง และหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต พบว่า มีปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. ในตัวอย่างดินเท่ากับ  $3.3 \times 10^5$ ,  $4.1 \times 10^6$  –  $6.0 \times 10^7$  และ  $2.3 \times 10^8$  ซีเอฟยู/ก. ตามลำดับ ทั้งนี้สาเหตุปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ที่มีค่าค่อนข้างต่ำในงานวิจัยนี้อาจเป็นผลมาจากการเก็บตัวอย่างดินจากบ่อเลี้ยงกุ้งขากกลางแจ้งภายหลังจากการจับกุ้ง ซึ่งทางฟาร์มจะมีการกำจัดเลนบริเวณหน้าดินและตากบ่อเพื่อฆ่าเชื้อโรค โดยตัวอย่างดินที่เก็บจะผ่านการตากแดดมาแล้วประมาณ 1 สัปดาห์ จึงอาจทำให้ปริมาณเชื้อก่อโรคงกล่าวนี้มีปริมาณลดลง

ตารางที่ 4-1 ผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติทางกายภาพ เคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคของดินพื้นบ่อระบบการเลี้ยงกุ้งขากกลางแจ้ง

ลำดับ	พารามิเตอร์	หน่วย	ผลการวิเคราะห์
1	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	-	7.52±0.11
2	ความเค็ม	พีพีที	5 – 10
3	อินทรีย์วัตถุ	ร้อยละโดยน้ำหนัก	3.91±0.46
4	อินทรีย์คาร์บอนรวม	ร้อยละโดยน้ำหนัก	2.27±0.27
5	ความต้องการออกซิเจนของดิน	มก.-ออกซิเจน/ก./วัน	4.61±1.79
6	สัดส่วนแร่ธาตุ		
	- คาร์บอน	ร้อยละโดยน้ำหนัก	0.85±0.02
	- ไนโตรเจน	ร้อยละโดยน้ำหนัก	0.68±0.08
	- ไนโตรเจน	ร้อยละโดยน้ำหนัก	0.71±0.04
	- ซัลเฟอร์	ร้อยละโดยน้ำหนัก	0
7	ความชื้นของดิน	ร้อยละ	15.52
8	เชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i>	ซีเอฟยู/ก.	$1.0 \pm 0.0 \times 10^3$

## 4.2 การทดลองช่วงที่ 2 ผลของความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเค็มในห้องปฏิบัติการ

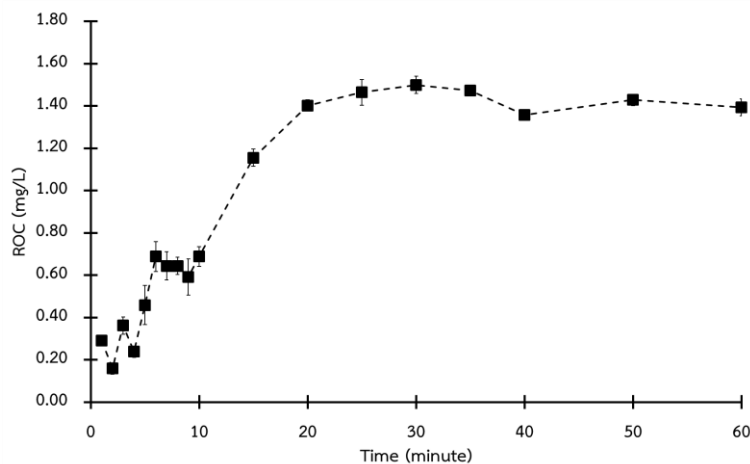
การทดลองส่วนนี้เป็นการศึกษาความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำที่ช่วงเวลาต่างๆ และจุดอิ่มตัว และการศึกษาผลของความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเค็มและระยะเวลาสัมผัสที่ต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* และอัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน โดยใช้เครื่องกำเนิดโอโซนชนิดมีบัลลมในตัว ยี่ห้อ Ebase รุ่น OZ 1060T มีกำลังการผลิตโอโซนสูงสุด 1,000 มก./ชม. ผลิตโอโซนด้วยวิธีการ Corona discharge โดยเตรียมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วความเค็ม 5 พีพีที ปริมาตร 7.5 ลิตร และเติมโอโซนด้วยเครื่องกำเนิดโอโซนจำนวน 2 เครื่อง เติมน้ำในระบบการทดลองแบบแบทช์ (Batch) เป็นเวลา 1 ชม. เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำด้วยวิธี Indigo Colorimetric Method ตามวิธีมาตรฐานที่ระบุใน Standard Methods 21<sup>st</sup> Edition (2005) มีผลการศึกษาดังนี้

### 4.2.1 ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำที่ช่วงเวลาต่างๆ และจุดอิ่มตัว

การทดลองส่วนนี้เป็นการหาความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำสูงสุด (จุดอิ่มตัว) ในน้ำความเค็ม 5 พีพีที ที่อุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-30° ซ. โดย รูปที่ 4-1 แสดงความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเมื่อเติมโอโซนอย่างต่อเนื่องที่ช่วงเวลาต่างๆ ในระยะเวลา 1 ชม. ผลการทดลองพบว่าการเติมโอโซนในช่วง 10 นาทีแรก ส่งผลให้ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำมีค่าแปรผันอยู่ในช่วง 0.2-0.7 มก./ล. โดยปริมาณโอโซนที่ถูกเติมเข้าสู่ระบบบางส่วนจะเกิดการออกซิไดซ์กับสารอินทรีย์ในน้ำ ทำให้ตรวจพบแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของโอโซนตกค้างในน้ำอย่างช้าๆ ในขณะที่เมื่อเติมโอโซนอย่างต่อเนื่องจนเข้าสู่เวลาที่ 20 ระบบมีความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเท่ากับ  $1.40 \pm 0.03$  มก./ล. และเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนถึงเวลาที่ 30 จนได้ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเฉลี่ย  $1.50 \pm 0.04$  มก./ล. หลังจากนั้นเมื่อเติมโอโซนต่อเนื่องจนถึงเวลาที่ 60 จะมีความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเฉลี่ยคงที่เท่ากับ  $1.43 \pm 0.03$  มก./ล. อยู่ในช่วง  $1.36 \pm 0.02 - 1.50 \pm 0.04$  มก./ล. โดยค่าความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำที่คงที่แม้ว่าจะทำการเติมโอโซนเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่อง แสดงให้เห็นถึงจุดอิ่มตัวของความเข้มข้นโอโซนละลายน้ำ ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิของน้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการละลายของโอโซนในน้ำ อุณหภูมิของน้ำที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลทำให้การละลายของโอโซนในน้ำลดลง (Kim และคณะ, 2003) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Braz และคณะ (2018) ที่ระบุว่าจุดอิ่มตัวของโอโซนในน้ำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และอัตราการเติมโอโซน โดยจุดอิ่มตัวของโอโซนในน้ำจะมีค่าสูง เมื่อมีอัตราการเติมโอโซนสูง ในขณะที่อุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำมีค่าต่ำ โดยน้ำที่มีอุณหภูมิเท่ากับ 25° ซ. ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 และอัตราการเติมโอโซนเท่ากับ 13.3 มก./ล. จะมีจุดอิ่มตัวของโอโซนในน้ำเท่ากับ 3.5 มก./ล. โดยเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองนี้ดำเนินการที่



อุณหภูมิเท่ากับ 25-30° ซ. ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 และอัตราการเติมไอโซนเท่ากับ 4.4 มก./ล. จะมีจุดอิ่มตัวของไอโซนในน้ำเฉลี่ยเท่ากับ  $1.43 \pm 0.03$  มก./ล.



รูปที่ 4-1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำเมื่อเติมไอโซนอย่างต่อเนื่องในช่วงเวลาต่างๆ ในระยะเวลา 1 ชม.

#### 4.2.2 ความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำและระยะเวลาการสัมผัสต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดิน

การทดลองส่วนนี้เป็นการหาผลของความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำเค็มและระยะเวลาสัมผัสที่ต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* โดยใช้ตัวอย่างดินพื้นบ่อจากระบบบ่อดินกลางแจ้งภายหลังสิ้นสุดรอบการเลี้ยงกุ้งขาว จากโครงการฟาร์มทดสอบและสาธิตมีนเกษตร “สองน้ำ” มูลนิธิชัยพัฒนา จ.ฉะเชิงเทรา ทำการบรรจุดิน 100 ก.-น้ำหนักเปียก ลงในถังปฏิกรณ์พลาสติกปริมาตร 3 ล. เติมน้ำความเค็ม 5 พีพีที ที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 2.5 ล. และเติมไอโซนที่ระดับความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำเริ่มต้นแตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล. เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมไอโซน เตินระบบการทดลองแบบแบทช์เป็นเวลา 1 ชม. โดยเก็บตัวอย่างดิน 1 ก.-น้ำหนักเปียก เป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 30 และ 60 นาที เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมไอโซนและในชุดทดลองที่มีการแปรค่าความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำแตกต่างกัน 4 ระดับ ดังรูปที่ 4-2 โดยมีผลการศึกษาดังนี้

1) ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3 มก./ล.

รูปที่ 4-2 (ก) แสดงให้เห็นว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้โอโซนพบว่าปริมาณไวรัสโอดิเนเลียคิงที่ตลอดการทดลองเท่ากับ  $1.6 \pm 0.4 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. ขณะที่ชุดทดลองที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3 มก./ล. มีปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอดิเนเลียคิงในดินเริ่มต้น  $1.0 \pm 0.0 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. และเมื่อสัมผัสกับน้ำที่มีโอโซนตกค้างเป็นเวลา 5, 10, 30 และ 60 นาที พบว่าปริมาณไวรัสโอดิเนเลียคิงในดินมีค่าลดลงเหลือ  $3.3 \pm 1.1 \times 10^4$ ,  $1.0 \pm 0.5 \times 10^4$ ,  $1.2 \pm 1.1 \times 10^4$  และ 0 ซีเอฟยู/ก. ตามลำดับ โดยความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3 มก./ล. สามารถกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอดิเนเลียคิงได้อย่างเห็นได้ชัดเจนตั้งแต่เวลาสัมผัส 5 นาที และสามารถกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอดิเนเลียคิงได้ทั้งหมดเมื่อเพิ่มระยะเวลาสัมผัสเป็น 60 นาที ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pumkaew และคณะ (2021) ที่ระบุว่าระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3 มก./ล. สามารถกำจัดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ที่เกาะติดบนตัวกรองชีวภาพแบบเคลื่อนที่ในถังปฏิกรณ์ไนตริฟิเคชันในระบบเลี้ยงสัตว์น้ำหมุนเวียนแบบปิด โดยสามารถกำจัดเชื้อได้ทั้งหมดที่ระยะเวลาการสัมผัสโอโซน 50 นาที

2) ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.6 มก./ล.

รูปที่ 4-2 (ข) พบว่าที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.6 มก./ล. มีปริมาณไวรัสโอดิเนเลียคิงในดินเริ่มต้น  $1.4 \pm 0.2 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. และลดลงจนมีค่าเท่ากับ  $5.7 \pm 0.0 \times 10^4$ ,  $5.8 \pm 0.0 \times 10^4$ ,  $2.5 \pm 3.5 \times 10^4$  และ 0 ซีเอฟยู/ก. ที่ระยะเวลาการสัมผัสโอโซน 5, 10, 30 และ 60 นาที ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้โอโซนพบว่าปริมาณไวรัสโอดิเนเลียคิงที่ตลอดการทดลองเท่ากับ  $1.6 \pm 0.4 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.6 มก./ล. สามารถกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอดิเนเลียคิงได้อย่างเห็นได้ชัดเจนตั้งแต่เวลาสัมผัส 5 นาที และสามารถกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอดิเนเลียคิงได้ทั้งหมดเมื่อเพิ่มระยะเวลาสัมผัสเป็น 60 นาที เช่นเดียวกับที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3 มก./ล.

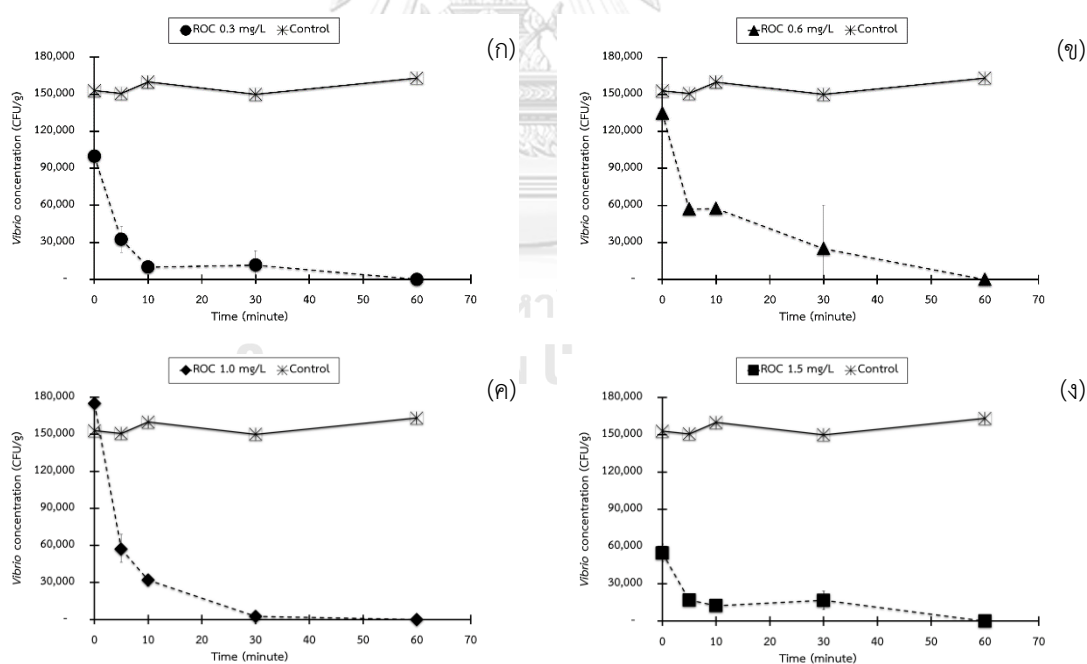
3) ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล.

รูปที่ 4-2 (ค) พบว่าที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล. มีปริมาณไวรัสโอดิเนเลียคิงในดินเริ่มต้น  $1.8 \pm 0.4 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. และลดลงจนมีค่าเท่ากับ  $5.7 \pm 1.2 \times 10^4$ ,  $3.2 \pm 0.0 \times 10^4$ ,  $2.5 \pm 3.5 \times 10^3$  และ 0 ซีเอฟยู/ก. ที่ระยะเวลาการสัมผัสโอโซน 5, 10, 30 และ 60 นาที ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้โอโซนพบว่าปริมาณไวรัสโอดิเนเลียคิงที่ตลอดการทดลองเท่ากับ  $1.6 \pm 0.4 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล. สามารถกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอดิเนเลียคิงได้อย่างเห็นได้ชัดเจนตั้งแต่เวลาสัมผัส 5 นาที และสามารถกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอดิเนเลียคิงได้ทั้งหมดเมื่อเพิ่มระยะเวลาสัมผัสเป็น 60 นาที เช่นเดียวกับที่ระดับ

ความเข้มข้นไอโซนตค้ำในน้ำ 0.3 และ 0.6 มก./ล. ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของภา จิระกิตติ เจริญ และคณะ (2547) ระบุว่า การเติมไอโซนที่ความเข้มข้น 1.05 มก./ล. ที่ระยะเวลาสัมผัส 60 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. ที่แขวนลอยในน้ำได้ในระดับหนึ่ง จาก  $10^3$ – $10^4$  ซีเอฟยู/มล. จนมีค่าเท่ากับ  $10^1$ – $10^2$  ซีเอฟยู/มล. และสามารถทำลายปริมาณเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ทั้งหมด (ร้อยละ 100)

#### 4) ความเข้มข้นไอโซนตค้ำในน้ำ 1.5 มก./ล.

รูปที่ 4-2 (ง) พบว่าที่ระดับความเข้มข้นไอโซนตค้ำในน้ำ 1.5 มก./ล. มีปริมาณ *Vibrio* ในดินเริ่มต้น  $5.5 \pm 0.7 \times 10^4$  ซีเอฟยู/ก. และลดลงจนมีค่าเท่ากับ  $1.7 \pm 0.0 \times 10^4$ ,  $1.3 \pm 0.4 \times 10^4$ ,  $1.7 \pm 0.7 \times 10^3$  และ 0 ซีเอฟยู/ก. ที่ระยะเวลาการสัมผัสไอโซน 5, 10, 30 และ 60 นาที ตามลำดับ พบว่าผลของน้ำไอโซนต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์แปรผันตามความเข้มข้นน้ำไอโซน กล่าวคือเมื่อความเข้มข้นไอโซนเพิ่มขึ้นส่งผลให้การลดปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น แต่ที่ระดับความเข้มข้นไอโซน 1.0 และ 1.5 มก./ล. ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 4-2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดินของชุดทดลอง ที่ระดับความเข้มข้นไอโซนตค้ำในน้ำ 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล.

#### 4.2.3 ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอในดิน

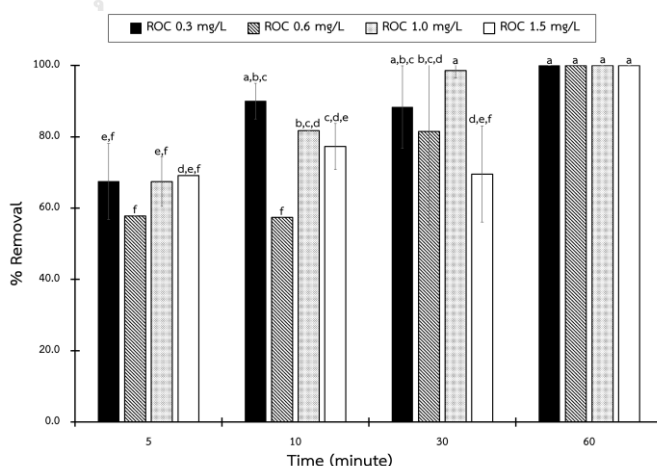
ผลของประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอในดินที่สัมผัสกับน้ำที่มีการเติมโอโซน เมื่อทำการแปรค่าความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ (0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล.) และระยะเวลาสัมผัส (5, 10, 30 และ 60 นาที) ดังรูปที่ 4-3 โดยมีผลการศึกษาดังนี้

**ระยะเวลาการสัมผัส 5 นาที** พบว่าชุดทดลองที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล. มีประสิทธิภาพการกำจัดไวรัสโอในดินอยู่ในช่วงร้อยละ 57.8–69.1 โดยมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกชุดการทดลอง

**ระยะเวลาการสัมผัส 10 นาที** พบว่าชุดทดลองที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.6 มก./ล. มีประสิทธิภาพการกำจัดไวรัสโอในดินต่ำที่สุด (ร้อยละ 57.4) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการสัมผัสดินและน้ำในระบบไม่ทั่วถึง ในขณะที่ชุดทดลองอื่นๆ (0.3, 1.0 และ 1.5 มก./ล.) มีประสิทธิภาพการกำจัดไวรัสโอในดินไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 77.3–90.0

**ระยะเวลาการสัมผัส 30 นาที** พบว่าชุดทดลองที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3 และ 0.6 มก./ล. มีประสิทธิภาพการกำจัดไวรัสโอในดินใกล้เคียงกันอยู่ในช่วงร้อยละ 81.5–88.3 ในขณะที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล. สามารถกำจัดไวรัสโอในดินได้เกือบทั้งหมด โดยมีประสิทธิภาพการกำจัดเท่ากับร้อยละ 98.6

**ระยะเวลาการสัมผัส 60 นาที** พบว่าชุดทดลองที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล. มีประสิทธิภาพการกำจัดไวรัสโอในดินไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกชุดการทดลอง โดยสามารถกำจัดไวรัสโอในดินได้ทั้งหมดร้อยละ 100



รูปที่ 4-3 ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอในดินของชุดทดลองที่มีการแปรค่าความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเริ่มต้น 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล. ที่เวลาสัมผัส 5, 10, 30 และ 60 นาที

จากผลการทดลองในช่วงที่ 2 พบว่าการสัมผัสดินและน้ำที่มีการเติมโอโซนตกค้างในน้ำ เริ่มต้น 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล. สามารถกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ได้ทั้งหมดที่ระยะเวลาสัมผัสโอโซน 60 นาที ขณะที่ระยะเวลาสัมผัส 30 นาที ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล. มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อดังกล่าวสูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 98.6 ซึ่งประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.5 มก./ล. อีกทั้งยังสามารถลดระยะเวลาการสัมผัสได้ถึงที่ 30 นาที สอดคล้องกับงานวิจัยของ de Mendonca & Goncalves (2017) ที่ศึกษาผลของน้ำโอโซน 0-1.5 มก./ล. ต่อคุณภาพกายเคมี และจุลินทรีย์ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1 และ 1.5 มก./ล. มีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่ต่างกัน แต่ที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำสูงขึ้น ส่งผลต่อการทำงานของแอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงและไนไตรต์ออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย จึงเลือกใช้ความเข้มข้นโอโซน 1 มก./ล. เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าสามารถลดเวลาและต้นทุนในการผลิตน้ำโอโซนได้ อีกทั้งเป็นความเข้มข้นที่ไม่ทำให้คุณภาพทางกายภาพ ทางเคมี และอัตราการกำจัดไนโตรเจนของดินเปลี่ยนแปลงไปจากชุดควบคุม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล. และระยะเวลาสัมผัส 30 นาที สำหรับการทดลองในช่วงที่ 3 ต่อไป

#### 4.3 การทดลองช่วงที่ 3 การประยุกต์ใช้โอโซนในการควบคุมเชื้อก่อโรคในระบบเลี้ยงกุ้งในบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริง

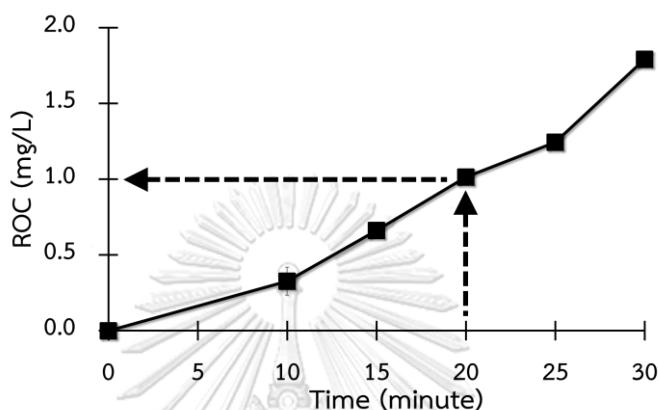
การทดลองส่วนนี้เป็นการประยุกต์ใช้โอโซนในการควบคุมปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในระบบเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง โดยเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม (ดินที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ) และชุดทดลอง (ดินที่ทำการปรับสภาพด้วยโอโซน) ในสภาวะที่มีการควบคุมความเข้มข้นของโอโซนตกค้างและระยะเวลาสัมผัสที่เหมาะสมจากการทดลองช่วงที่ 2 โดยมีผลการศึกษา ดังนี้

##### 4.3.1 การปรับสภาพดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง

- 1) การเตรียมโอโซนละลายน้ำที่ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ปริมาตร 50 ลิตร

การทดลองส่วนนี้เป็นการเตรียมโอโซนเพื่อปรับสภาพดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง โดยการเตรียมน้ำเค็ม 5 พีพีที ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 50 ล. เติมโอโซนลงในน้ำด้วยเครื่องกำเนิดโอโซน ยี่ห้อ Ebase รุ่น OZ 1060T ที่มีกำลังการผลิตโอโซนสูงสุด 1,000 มก./ชม. จำนวน 2 เครื่อง โดยเติมโอโซนผ่านทางหัวทรายละเอียด และรุ่น OZ 3070A ที่มีกำลังการผลิตโอโซนสูงสุด 5,000 มก./ชม. โดยเติมโอโซนผ่านทางปั๊มและวาล์วผสมน้ำแบบวนจูลี่เพื่อให้โอโซนสัมผัสกับน้ำอย่างทั่วถึง ผลการทดลองดังรูปที่ 4-4 พบว่า การเติมโอโซนในช่วง 10 นาทีแรก ส่งผลให้ความเข้มข้นโอโซนตกค้าง

ในน้ำมีค่าเท่ากับ  $0.33 \pm 0.09$  มก./ล. โดยโอโซนที่ถูกเติมเข้าสู่ระบบบางส่วนจะเกิดการออกซิไดซ์กับสารอินทรีย์ในน้ำ ทำให้ตรวจพบแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของโอโซนตกค้างในน้ำอย่างช้าๆ ขณะที่เมื่อเติมโอโซนอย่างต่อเนื่องจนถึงนาทีที่ 20 ในระบบมีความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเท่ากับ  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ต้องการจากผลการทดลองในช่วงที่ 2 ทั้งนี้ น้ำเค็ม 50 ล. ที่เตรียมไว้จะถูกนำไปใช้ในการเลี้ยงขาในระบบบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริงต่อไป

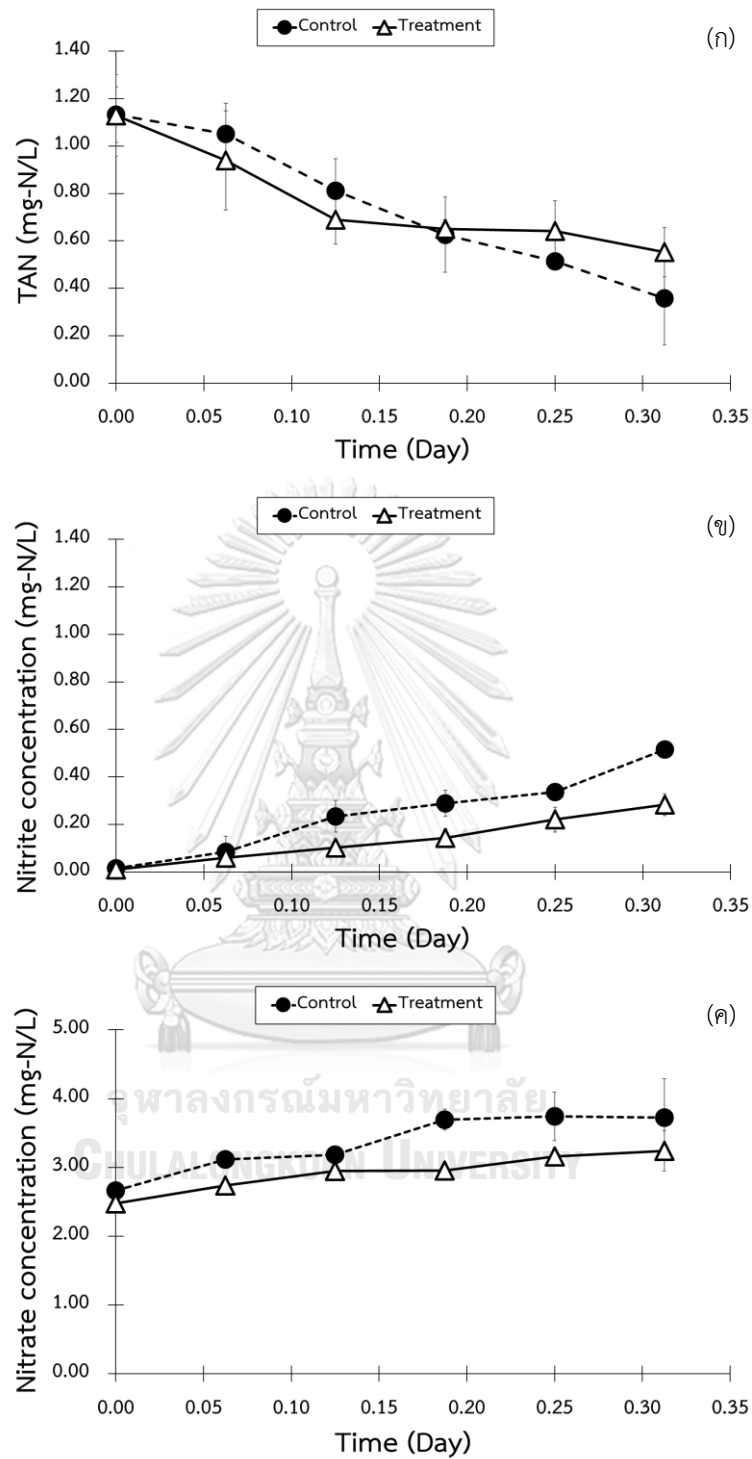


รูปที่ 4-4 การเตรียมโอโซนละลายน้ำที่มีความเข้มข้นโอโซนตกค้าง  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. ในน้ำเค็มปริมาตร 50 ล.

## 2) การประเมินอัตราการแอมโมเนียของดิน

การประเมินอัตราการบำบัดแอมโมเนียของดินในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมโอโซนและชุดทดลองที่มีการปรับสภาพดินก่อนเริ่มต้นเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวด้วยการเติมโอโซนลงในน้ำที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้าง  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. เป็นเวลา 30 นาที ผลการทดลองพบว่า การเติมแอมโมเนียมคลอไรด์เข้าสู่ระบบส่งผลให้ความเข้มข้นแอมโมเนียในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าเริ่มต้นใกล้เคียงกัน เท่ากับ  $1.13 \pm 0.12$  และ  $1.13 \pm 0.17$  มก.-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ (รูปที่ 4-5 (ก)) จากนั้นความเข้มข้นแอมโมเนียมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องในระหว่างการเดินระบบเป็นเวลา 7.5 ชม. จนมีค่าเท่ากับ  $0.36 \pm 0.20$  และ  $0.55 \pm 0.10$  มก.-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ โดยคิดเป็นอัตราการบำบัดแอมโมเนียเฉลี่ยเท่ากับ  $2.52 \pm 0.91$  และ  $1.46 \pm 0.23$  มก.-ไนโตรเจน/ล./วัน หรือ  $0.25 \pm 0.09$  และ  $0.15 \pm 0.02$  มก.-ไนโตรเจน/ก.-ดิน/วัน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอัตราการบำบัดแอมโมเนียพบว่า ชุดทดลองที่มีการเติมโอโซนมีการลดลงของแอมโมเนียช้ากว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งเป็นได้ว่าการเติมโอโซนอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าดินที่ผ่านการปรับสภาพด้วยความเข้มข้นโอโซนตกค้าง  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. เป็นเวลา 30 นาที ยังคงมีความสามารถในการบำบัดแอมโมเนียได้ โดยงานวิจัยของ Park และคณะ (2015) ซึ่งใช้ระดับความเข้มข้นของโอโซนตกค้างต่ำ  $0.15$  และ  $0.25$  มก./ล. ในการเปรียบเทียบผลของโอโซนตกค้างต่อ

สารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนในน้ำภายในถังเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 44 วัน พบว่าอัตราการบำบัดแอมโมเนียระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และงานวิจัยของ Pumkaew และคณะ (2021) ที่ศึกษาความเป็นพิษของโอโซนต่อกระบวนการไนตริฟิเคชันของตัวกรองชีวภาพแบบเคลื่อนที่ โดยเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมโอโซนและชุดทดลองที่มีการเติมโอโซนที่ระดับความเข้มข้นของโอโซนตกค้าง 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 มก./ล. พบว่าตัวกรองชีวภาพดังกล่าวสามารถทำงานได้ไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้การลดลงของแอมโมเนียคาดว่าเป็นผลโดยตรงมาจากการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มแอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย (Ammonia Oxidizing Bacteria : AOB) ผ่านกระบวนการไนตริฟิเคชัน เนื่องจากในระหว่างการเดินทางระบบตรวจพบการเพิ่มของไนไตรต์จากเริ่มต้น 0 มก.-ไนโตรเจน/ล. จนมีค่าสูงสุดในชุดควบคุมและชุดทดลอง เท่ากับ  $0.51 \pm 0.00$  และ  $0.28 \pm 0.05$  มก.-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ (รูปที่ 4-5 (ข)) นอกจากนี้ยังตรวจพบแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของไนเตรตจากเริ่มต้น  $2.66 \pm 0.04$  และ  $2.47 \pm 0.02$  มก.-ไนโตรเจน/ล. จนมีค่าเท่ากับ  $3.72 \pm 0.57$  และ  $3.24 \pm 0.29$  มก.-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ (รูปที่ 4-5 (ค)) ซึ่งการเปลี่ยนไนไตรต์ให้อยู่ในรูปของไนเตรตคาดว่าเป็นผลโดยตรงมาจากการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มไนไตรต์ออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย (Nitrite Oxidizing Bacteria : NOB)



รูปที่ 4-5 ความเข้มข้นของ (ก) แอมโมเนีย (ข) ไนไตรต์ และ (ค) ไนเตรต ระหว่างชุดควบคุมที่ไม่มีการบำบัดดินด้วยไอโซนและชุดทดลองที่ใช้ไอโซนตกค้าง  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. ในการบำบัดดิน



#### 4.3.2 การใช้โอโซนในการปรับสภาพดินสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินจำลองสถานะเหมือนจริง

การทดลองส่วนนี้เป็นการใช้โอโซนในการปรับสภาพดินสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินจำลองสถานะเหมือนจริง โดยติดตามปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* การเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์ไนโตรเจนและพารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำอื่นๆ รวมถึงการประเมินการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาว เพื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลองที่มีการปรับสภาพดินก่อนเริ่มต้นเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวด้วยการเติมโอโซนลงในน้ำที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างและระยะเวลาสัมผัสที่เหมาะสมจากการทดลองช่วงที่ 2 โดยมีผลการทดลองดังนี้

##### 1) การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio*

รูปที่ 4-6 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดิน (รูปที่ 4-6 (ก)) และน้ำ (รูปที่ 4-6 (ข)) ภายหลังจากการปรับสภาพดินและระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวเป็นเวลา 45 วัน โดยในดินสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวก่อนดำเนินการทดลอง พบว่ามีปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* เริ่มต้น  $2.17 \pm 2.47 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับดินในชุดควบคุมที่ไม่มีการปรับสภาพดินด้วยโอโซนที่มีปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดินเท่ากับ  $2.00 \pm 2.12 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. ขณะที่ชุดทดลองมีการปรับสภาพดินก่อนเริ่มต้นเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวด้วยการเติมโอโซนลงในน้ำความเค็ม 5 - 10 พีพีที ปริมาณ 100 ล. ที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้าง  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. และใช้ระยะเวลาสัมผัสดินและน้ำที่เติมโอโซนเป็นเวลา 30 นาที พบว่าโอโซนตกค้างในน้ำสามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดินลดลงอย่างเห็นได้ชัด โดยมีค่าเท่ากับ  $6.00 \pm 1.41 \times 10^3$  ซีเอฟยู/ก. คิดเป็นประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* เท่ากับร้อยละ 97.23 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองช่วงที่ 2 ที่ระบุว่า ชุดทดลองที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล. ที่ระยะเวลาการสัมผัส 30 นาที มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* เท่ากับร้อยละ 98.6

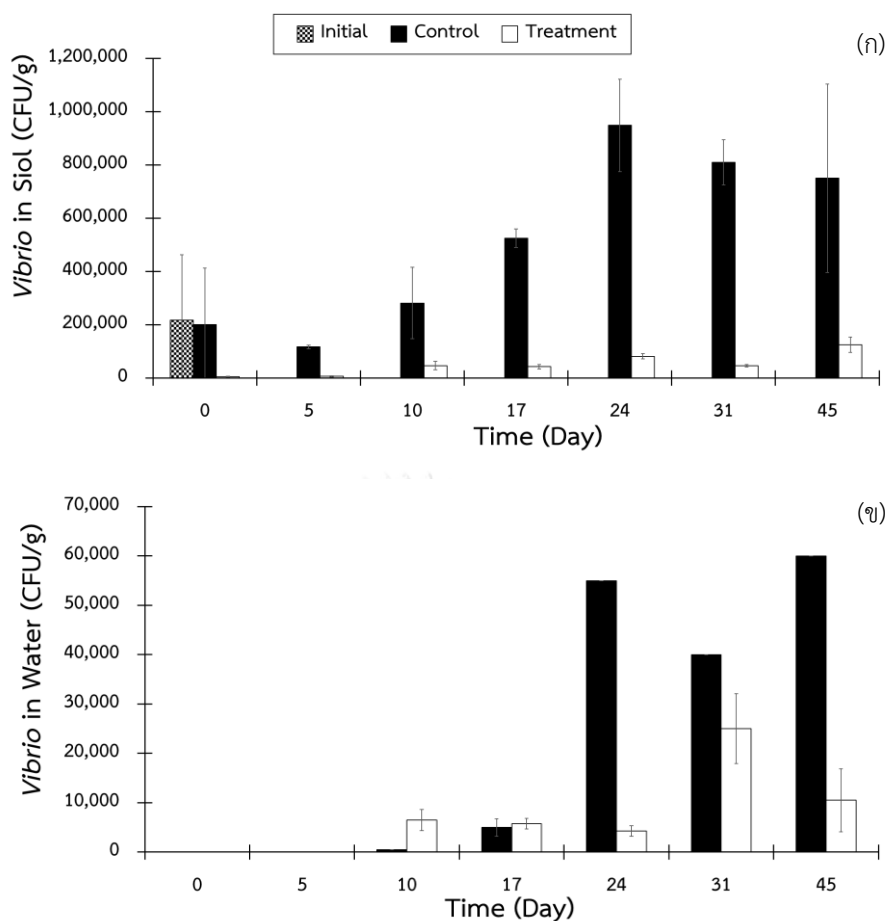
รูปที่ 4-6 (ก) แสดงผลการตรวจวัดปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดิน โดยในระหว่างการเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินจำลองสถานะเหมือนจริง พบว่าในชุดควบคุมที่ไม่มีการปรับสภาพดินด้วยโอโซนมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* เมื่อเพิ่มระยะเวลาการเดินระบบ โดยปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* มีค่าเท่ากับ  $1.17 \pm 0.07 \times 10^5$ ,  $2.82 \pm 1.34 \times 10^5$ ,  $5.25 \pm 0.35 \times 10^5$ ,  $9.48 \pm 1.73 \times 10^5$ ,  $8.10 \pm 0.85 \times 10^5$  และ  $7.50 \pm 3.54 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. ในวันที่ 5, 10, 17, 24, 31 และ 45 ตามลำดับ โดยปริมาณเชื้อก่อโรคที่เพิ่มมากขึ้นในชุดควบคุมอาจเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณตะกอนกันถึงเลี้ยงที่มีทั้งเศษอาหารสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ สิ่งขับถ่ายจากกุ้งและซากกุ้งที่ตาย ซึ่งในระบบทางเดินอาหารของกุ้งจะมีแบคทีเรียเหล่านี้สะสมอยู่ ทำให้เมื่อมีการ

ขับถ่ายของเสียลงสู่สิ่งแวดล้อมจะพบการสะสมตัวของเชื้อแบคทีเรียในตะกอนกันถึงเลี้ยงด้วย ส่งผลทำให้ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* เพิ่มขึ้น (Sirikharin และคณะ, 2015) โดยปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในระบบเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริงในชุดควบคุมมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. ในตัวอย่างดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งในเขตจังหวัดจันทบุรี ในช่วงก่อนปล่อยกุ้งและระหว่างการเลี้ยงกุ้ง เท่ากับ  $3.3 \times 10^5$  และ  $4.1 \times 10^6 - 6.0 \times 10^7$  ซีเอฟยู/ก. (ประพัศพร, 2538) ขณะที่ชุดทดลองที่มีการปรับสภาพดินก่อนเริ่มต้นเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวด้วยความเข้มข้นไอโซนตค้ำ  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. เป็นเวลา 30 นาที พบว่าปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* มีค่าต่ำกว่าอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยมีค่าเท่ากับ  $6.5 \pm 2.12 \times 10^3$ ,  $4.66 \pm 1.61 \times 10^4$ ,  $4.30 \pm 0.82 \times 10^4$ ,  $8.18 \pm 0.95 \times 10^4$ ,  $4.65 \pm 0.49 \times 10^4$  และ  $1.25 \pm 0.29 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. ในวันที่ 5, 10, 17, 24, 31 และ 45 ตามลำดับ โดยปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ที่ค่อนข้างคงที่ในช่วงแรกของการทดลอง เป็นผลมาจากความเข้มข้นไอโซนตค้ำในน้ำมีผลยับยั้งและทำลายเซลล์แบคทีเรียจากปฏิกิริยาออกซิไดซ์ที่เกิดขึ้นบริเวณพื้นระเคาะของกรดไขมันบนเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย จากนั้นไอโซนจะเข้าไปออกซิไดซ์สารภายในเซลล์ ทำให้การสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์และโครงสร้างของโมเลกุลอื่นๆ หยุดชะงัก ส่งผลทำให้แบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโตและเซลล์ตายในที่สุด (นันทริกา อิศรศักดิ์, 2532; นิรชา วงษ์จินดา, 2537; ศิริรักษ์ เนตรรัตน์, 2539)

รูปที่ 4-6 (ข) แสดงผลการตรวจวัดปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในน้ำ พบว่าในช่วงวันที่ 0-5 ไม่พบเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในน้ำ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปริมาณสารอินทรีย์ เศษอาหาร และของเสียจากกุ้งที่เป็นแหล่งอาหารและแหล่งสะสมของเชื้อก่อโรคในระบบมีการสะสมที่ค่อนข้างน้อยในช่วงแรกของการเลี้ยงกุ้งขาว ทำให้ตรวจไม่พบปริมาณเชื้อดังกล่าวในน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคในดินที่มีปริมาณน้อย ในเวลาต่อมาพบว่าชุดควบคุมและชุดทดลองมีปริมาณเชื้อใกล้เคียงกัน โดยมีค่าในวันที่ 10 เท่ากับ  $5.00 \pm 0.00 \times 10^2$  และ  $6.50 \pm 2.12 \times 10^3$  ซีเอฟยู/มล. และมีค่าในวันที่ 17 เท่ากับ  $5.00 \pm 1.77 \times 10^3$  และ  $5.75 \pm 1.06 \times 10^3$  ซีเอฟยู/มล. ตามลำดับ สำหรับในวันที่ 24 พบความแตกต่างของปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในน้ำในชุดควบคุมและชุดทดลอง โดยชุดควบคุมที่ไม่มีการปรับสภาพดินด้วยไอโซนมีปริมาณเชื้อก่อโรคในน้ำสูงถึง  $5.50 \pm 0.00 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. โดยการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในน้ำเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งนานขึ้น เนื่องจากการสะสมของเสียในระบบมากขึ้นทำให้ปริมาณเชื้อดังกล่าวเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ที่อยู่ในดินของชุดควบคุม ขณะที่ชุดทดลองที่มีการปรับสภาพดินก่อนเริ่มต้นเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวด้วยความเข้มข้นไอโซนตค้ำ  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. เป็นเวลา 30 นาที พบว่ายังสามารถควบคุมปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในน้ำให้มีค่าคงที่เท่ากับ  $4.25 \pm 1.06 \times 10^3$  ซีเอฟยู/มล. ในวันที่ 31 ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ใน

ชุดควบคุมที่ไม่มีการปรับสภาพดินด้วยโอโซนลดลงจากวันที่ 24 เล็กน้อย แต่ยังคงมีปริมาณเชื้อก่อโรคสะสมในน้ำสูง เท่ากับ  $4.00 \pm 0.00 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. ขณะที่ชุดทดลองที่มีการปรับสภาพดินก่อนเริ่มต้นเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวด้วยความเข้มข้นโอโซนตกค้าง  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. เป็นเวลา 30 นาที พบว่ามีปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* สะสมในน้ำเพิ่มมากขึ้นเท่ากับ  $2.50 \pm 0.71 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. และในวันที่ 45 ของการเลี้ยงกุ้ง ปริมาณเชื้อก่อโรคในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าเท่ากับ  $6.00 \pm 0.00 \times 10^4$  และ  $1.05 \pm 0.64 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. ตามลำดับ เนื่องจากมีการสะสมของเสียในระบบมากขึ้นทำให้ปริมาณเชื้อดังกล่าวเพิ่มขึ้นด้วย โดยมีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งอยู่ในช่วง  $4.25 \pm 1.06 \times 10^3$  -  $2.50 \pm 0.71 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดินของชุดทดลอง และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pumkaew และคณะ (2021) ที่ระบุว่าปริมาณแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างน้ำจากถังเลี้ยงสัตว์น้ำในชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้โอโซนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสูงกว่า  $10^3$  ซีเอฟยู/มล. ภายหลังจากการเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 25 วัน

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดินและน้ำในระบบเลี้ยงกุ้งขาวเมื่อทำการเลี้ยงกุ้งขาวเป็นเวลา 45 วัน พบว่า ในชุดควบคุมมีปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* สะสมในดินมากกว่าในน้ำคือมีค่าเท่ากับ  $7.50 \pm 3.54 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. และ  $6.00 \pm 0.00 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. ตามลำดับ สอดคล้องกับชุดทดลองที่มีปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* สะสมในดินมากกว่าในน้ำเช่นกันคือมีค่าเท่ากับ  $1.25 \pm 0.29 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. และ  $1.05 \pm 0.64 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. ตามลำดับ เนื่องจากในดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งประกอบไปด้วยเศษอาหาร สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ สิ่งขับถ่ายและซากกุ้งที่ตายสะสมอยู่จำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pumkaew และคณะ (2021) ทำการสำรวจปริมาณและการสะสมของแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. บริเวณตะกอนกันถึง ตัวกรองชีวภาพน้ำในถังเลี้ยง น้ำในถังไนตริฟิเคชัน พื้นผิวของถังเลี้ยง พบว่า ปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. และ *V. parahaemolyticus* ส่วนใหญ่มีการสะสมตัวบริเวณตะกอนกันถึงถังเลี้ยงกุ้ง นอกจากนี้จากงานวิจัยของ Leonard และคณะ (2000) ที่ระบุว่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรฟมีการเจริญเติบโตและสะสมบนตัวกรองมากกว่าแขวนลอยในน้ำ

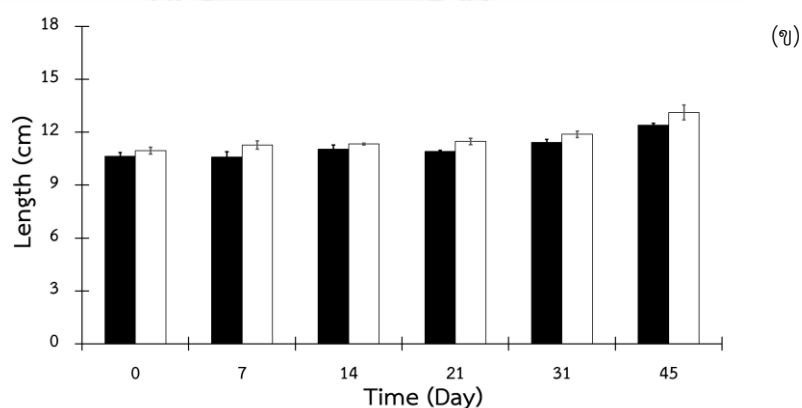
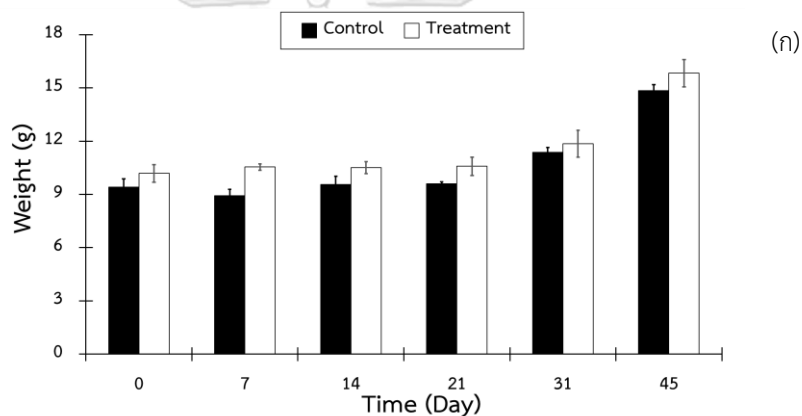


รูปที่ 4-6 ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง (ก) ในดิน และ (ข) ในน้ำ ของระบบเลี้ยงกุ้งในบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริง

## 2) การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม

เริ่มต้นการเลี้ยงกุ้งขาวสายพันธุ์แวนนาไมระยะเต็มวัยในชุดควบคุมและชุดทดลองที่ความหนาแน่นเริ่มต้น เท่ากับ  $0.94 \pm 0.06$  และ  $1.02 \pm 0.06$  กก./ลบ.ม. น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ  $9.41 \pm 0.45$  และ  $10.18 \pm 0.50$  ก. และความยาวเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ  $10.64 \pm 0.20$  ซม. และ  $10.96 \pm 0.20$  ซม. ตามลำดับ (รูปที่ 4-7) โดยให้อาหารทุกวันด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปในอัตราร้อยละ 2 - 5 ของน้ำหนักกุ้ง ทำการเลี้ยงกุ้งในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริงด้วยระบบปิดที่ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเป็นระยะเวลา 45 วัน (ตารางที่ 4-2) พบว่าในวันที่ 45 ของการทดลอง ในชุดควบคุมและชุดทดลองที่ความหนาแน่นสุดท้าย เท่ากับ  $1.49 \pm 0.09$  และ  $1.58 \pm 0.13$  กก./ลบ.ม. น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ  $14.85 \pm 0.45$  และ  $15.82 \pm 0.77$  ก. และความยาวสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ  $12.40 \pm 0.09$  และ  $13.12 \pm 0.43$  ซม. ตามลำดับ โดยสามารถคำนวณอัตราการเจริญเติบโตของกุ้ง (Average daily gain: ADG) เท่ากับ  $0.12 \pm 0.03$  ก./วัน และ  $0.13 \pm 0.02$  ก./วัน อัตราการรอดตายเท่ากับร้อยละ

89.75±11.33 และ 89.60±5.43 และอัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio: FCR) เท่ากับ 1.96±0.25 และ 1.96±0.20 ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตของกุ้งในชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้โอโซนในการปรับสภาพดินและชุดทดลองที่มีการปรับสภาพดินก่อนเริ่มต้นเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวด้วยความเข้มข้นโอโซนตกค้าง 1.01±0.04 มก./ล. เป็นเวลา 30 นาที มีอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และอัตราการแลกเนื้อใกล้เคียงกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pumkaew และคณะ (2021) ระบุว่า ผลการประเมินอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวโดยเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมโอโซนและชุดทดลองที่มีการเติมโอโซนที่ระดับความเข้มข้นของโอโซนตกค้างเท่ากับ 0.3 มก./ล. เป็นเวลา 40 วัน มีอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าเท่ากับ 0.036 และ 0.037 ก./ตัว/วัน ตามลำดับ และอัตราการรอดตายเท่ากับร้อยละ 81.67 และ 80.00 ตามลำดับ

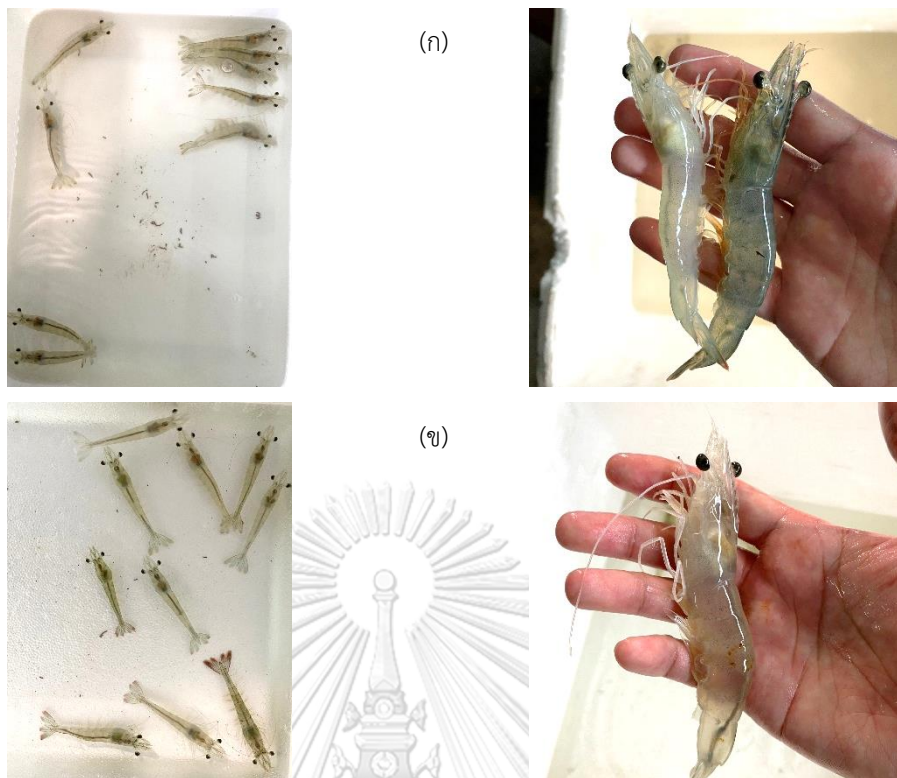


รูปที่ 4-7 การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม (ก) น้ำหนักของกุ้ง (ข) ความยาวของกุ้ง ในบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริงระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

ตารางที่ 4-2 การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม

พารามิเตอร์	ชุดควบคุม	ชุดทดลอง
น้ำหนักเริ่มต้น (ก.)	9.41±0.45	10.18±0.50
น้ำหนักสิ้นสุด (ก.)	14.85±0.34	15.82±0.77
ความยาวเริ่มต้น (ซม.)	10.64±0.20	10.96±0.20
ความยาวสิ้นสุด (ซม.)	12.40±0.09	13.12±0.43
ความหนาแน่นเริ่มต้น (ก./ลบ.ม.)	0.94±0.06	1.02±0.06
ความหนาแน่นสิ้นสุด (ก./ลบ.ม.)	1.49±0.09	1.58±0.13
อัตราการเจริญเติบโต (ก./วัน)	0.12±0.03	0.13±0.02
อัตราการรอด (ร้อยละ)	89.75±11.33	89.60±5.43
อัตราการแลกเนื้อ	1.96±0.25	1.96±0.20

ลักษณะของกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าในชุดควบคุมที่มีปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม vibrio ในดินและน้ำมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $7.50 \pm 3.54 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. และ  $6.00 \pm 0.00 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. ซึ่งลักษณะภายนอกของกุ้งส่วนใหญ่มีลักษณะปกติ แต่ยังมีกุ้งส่วนน้อยที่มีขนาดตัวเล็กกว่าตัวอื่น บริเวณลำตัวมีแผล หนวดขาด ปลายหางเป็นแผล ตับและตับอ่อนมีสีขาว ลำตัวซีด อาหารไม่เต็มลำไส้ แต่ยังไม่พบการตายของกุ้งปริมาณมาก ซึ่งเป็นไปได้ว่าปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม vibrio ในดินและน้ำของชุดควบคุมดังกล่าวเริ่มส่งผลให้กุ้งขาวที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงกุ้งบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริงเป็นเวลา 45 วัน จะเริ่มมีการบ่งชี้โรคกุ้งตายด่วน (EMS) และในชุดทดลองที่มีปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม vibrio ในดินและน้ำมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $1.25 \pm 0.29 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. และ  $1.05 \pm 0.64 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. ซึ่งลักษณะภายนอกของกุ้งส่วนใหญ่มีลักษณะปกติ แต่ยังมีกุ้งส่วนน้อยที่มีแผลบริเวณลำตัว หนวดขาด ปลายหางเป็นแผล แต่ทั้งนี้ลักษณะของกุ้งโดยทั่วไปยังคงปกติ มีความสามารถในการว่ายน้ำ กินอาหารได้ปกติ และยังไม่พบการตายของกุ้งปริมาณมาก ซึ่งเป็นไปได้ว่าปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม vibrio ในดินและน้ำของชุดทดลองดังกล่าว ยังไม่ส่งผลที่ทำให้กุ้งขาวที่เลี้ยงในระบบเลี้ยงกุ้งบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริงเป็นเวลา 45 วัน มีการติดโรคกุ้งตายด่วน ดังรูปที่ 4-8



รูปที่ 4-8 ลักษณะของกุ้ง (ก) ชุดควบคุม และ (ข) ชุดทดลอง ในระบบเลี้ยงกุ้งปอดินจำลองที่ สภาวะเหมือนจริงเป็นเวลา 45 วัน

### 3) การเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำ

#### (1) แอมโมเนีย

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียในระหว่างการเลี้ยงกุ้ง (รูปที่ 4-9 (ก)) พบว่า ที่ความหนาแน่นเริ่มต้น  $0.94 \pm 0.06$  (ชุดควบคุม) และ  $1.02 \pm 0.06$  (ชุดทดลอง) กก./ลบ.ม. ให้อาหาร ทุกวันด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปในอัตราร้อยละ 2 - 5 ของน้ำหนักกุ้ง พบว่าในช่วงวันที่ 1-45 ของการ ทดลอง ในชุดควบคุมและชุดทดลองมีแนวโน้มของปริมาณแอมโมเนียคงที่ โดยมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่า 0.2 มก.-ไนโตรเจน/ล. ซึ่งเป็นระดับที่ค่อนข้างต่ำและปลอดภัยในการเดินระบบเลี้ยงสัตว์น้ำ ทั้งนี้เนื่องจาก ในระหว่างการเลี้ยงกุ้งมีการให้อาหารเพียงร้อยละ 2 ของน้ำหนัก ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ที่เดิมเข้าสู่ ระบบมีปริมาณน้อย โดยสารอินทรีย์ไนโตรเจนจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ไนโตรเจน หรือแอมโมเนียผ่านกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) โดยอาศัยการทำงานของ แบคทีเรียกลุ่มแอมโมนิไฟอิงแบคทีเรีย เฮทเทอโรโทรฟิกแบคทีเรีย และแอคติโนมัยซีท จึงทำให้ แอมโมเนียที่เกิดขึ้นมีปริมาณน้อยตามไปด้วย ประกอบกับแอมโมเนียที่เกิดขึ้นถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูป ของไนไตรต์โดยอาศัยการทำงานของกลุ่มแอมโมนิออกซิไดซิงแบคทีเรีย (Ammonia Oxidizing

Bacteria : AOB) ผ่านกระบวนการไนตริฟิเคชัน โดยในชุดควบคุมมีค่าพีเอชเฉลี่ย  $7.57 \pm 0.07$  (อยู่ในช่วง 7.11 – 7.91) และชุดทดลองมีค่าพีเอชเฉลี่ย  $7.98 \pm 0.32$  (อยู่ในช่วง 7.08 – 8.08) ตามลำดับ ซึ่งค่าพีเอชในระบบการทดลองอยู่ในช่วงที่เหมาะสมที่ AOB สามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยมีค่าระหว่าง 7.5 – 8.0 นอกจากนี้ค่าพีเอชดังกล่าวยังทำให้แอมโมเนียที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแอมโมเนียมไอออน ( $\text{NH}_4^+$ ) ทั้งนี้ หากระดับพีเอชเพิ่มขึ้นอาจส่งผลทำให้สมดุลย้อนกลับโดยแอมโมเนียมไอออนจะถูกเปลี่ยนกลับมาอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวหรือแอมโมเนียอิสระ ( $\text{NH}_3$ ) และทำให้เกิดความเป็นพิษสูงต่อกุ้งในระบบเลี้ยงได้ (Lawson, 1995) จากรายงานเกณฑ์และมาตรฐานความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำสามารถใช้ค่าแอมโมเนียทั้งในรูปแอมโมเนียมรวมและแอมโมเนียอิสระ Klontz (1991) อ้างตาม Mac Intrye และคณะ (2008) ได้แนะนำค่าที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำเมื่อสัมผัสกับแอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ ) แบบ intermittent และแบบคงที่ โดยมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.05 และ 0.03 มก./ล. ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับแอมโมเนียในชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่ามีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าการใช้ไอโซนในการปรับสภาพดินก่อนการเริ่มต้นเดินระบบเลี้ยงกุ้งไม่ส่งผลต่อกระบวนการบำบัดทางชีวภาพและรูปแบบการเปลี่ยนแปลงไนโตรเจนในระบบเลี้ยงกุ้งในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริง

## (2) ไนไตรต์

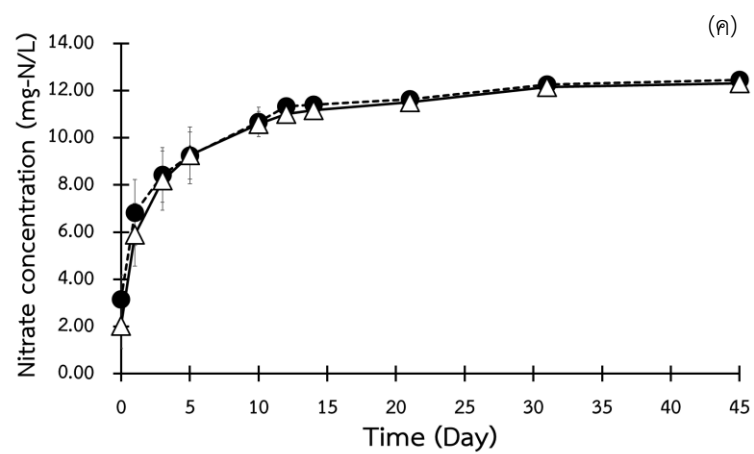
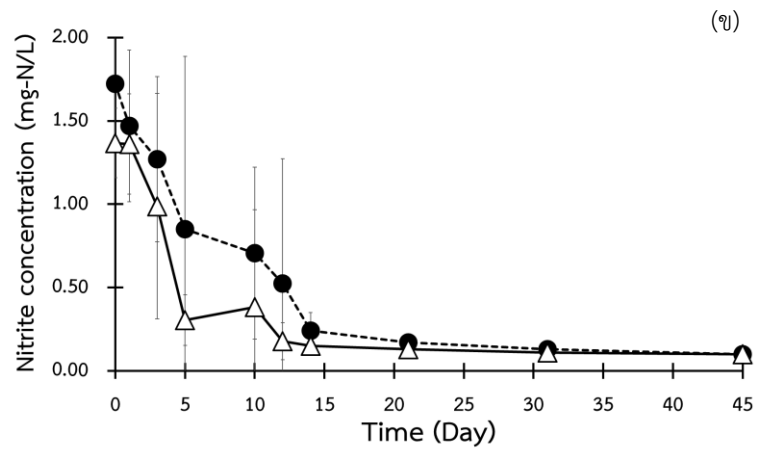
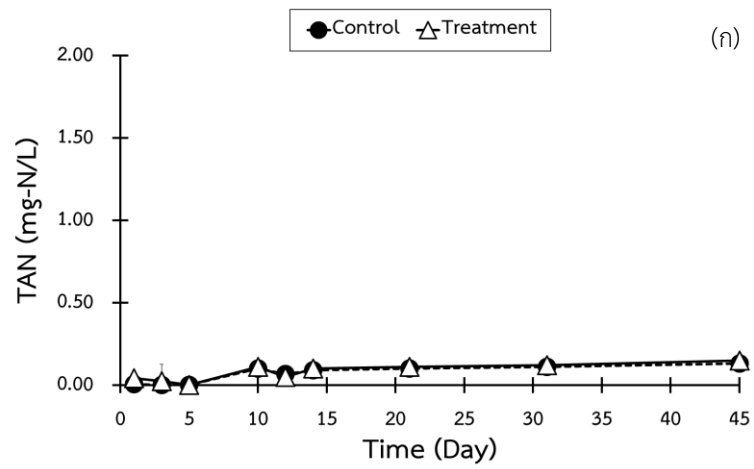
ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรต์ในระหว่างการเลี้ยงกุ้ง (รูปที่ 4-9 (ข)) พบว่าในแต่ละชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงไนไตรต์ในทิศทางที่สอดคล้องกัน โดยในช่วงวันที่ 0 – 3 ของการทดลอง ชุดควบคุมและชุดทดลองมีปริมาณไนไตรต์เท่ากับ 1.47 – 1.72 และ 1.36 – 1.37 มก.-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ โดยปริมาณไนไตรต์ที่คงค้างดังกล่าวอาจเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแอมโมเนียในระบบให้อยู่ในรูปของไนไตรต์ผ่านกระบวนการไนตริฟิเคชัน โดยอาศัยการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มแอมโมเนียออกซิไดซ์ซึ่งแบคทีเรีย (Ammonia Oxidizing Bacteria : AOB) ต่อมาในช่วงวันที่ 3 – 45 ของการทดลอง พบว่าปริมาณไนไตรต์ในชุดควบคุมและชุดทดลองมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยมีปริมาณไนไตรต์ตลอดการทดลองเลี้ยงกุ้ง 45 วัน เฉลี่ยเท่ากับ  $0.72 \pm 0.60$  และ  $0.51 \pm 0.52$  มก.-ไนโตรเจน/ล. แปรผันอยู่ในช่วง 0.00 – 1.72 และ 0.10 – 1.37 มก.-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ โดยการลดลงของไนไตรต์คาดว่าเป็นผลมาจากการออกซิไดซ์ไนไตรต์เป็นไนเตรต โดยอาศัยการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มไนไตรต์ออกซิไดซ์ซึ่งแบคทีเรีย (Nitrite Oxidizing Bacteria : NOB) เช่น Nitrobacter และ Nitrospira เป็นต้น เมื่อพิจารณาค่าพีเอชในระบบเลี้ยงกุ้งของชุดควบคุมและชุดทดลอง พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 7.11 – 7.91 และ 7.08 – 8.08 ตามลำดับ และอุณหภูมิในช่วง 25 – 35° ซ. ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาในกระบวนการดังกล่าวสามารถเกิดขึ้นได้เร็วและดีที่สุด ทั้งนี้ จากการทดลองดังกล่าวพบว่าปริมาณไนไตรต์ของชุด



ควบคุมที่ไม่มีการบำบัดดินด้วยโอโซนมีปริมาณสูงกว่าชุดทดลองเล็กน้อย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการทำงานของแอมโมเนียออกซิไดซ์ซึ่งแบคทีเรียในชุดทดลองอาจจะถูกยับยั้งจากการปรับสภาพดินด้วยโอโซนตกค้างในน้ำความเข้มข้น  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. ทำให้ปริมาณไนโตรดที่เกิดขึ้นในชุดทดลองมีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pumkaew และคณะ (2021) ที่ระบุว่า การเพิ่มความเข้มข้นของโอโซนตกค้างในน้ำเท่ากับ 0.4 มก/ล. ส่งผลให้การทำงานของแอมโมเนียออกซิไดซ์ซึ่งแบคทีเรียในตัวกรองชีวภาพไนตริฟิเคชันถูกยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับ การใช้ความเข้มข้นของโอโซนตกค้างในน้ำที่ต่ำกว่า 0.3 มก/ล. อย่างไรก็ตามที่ระดับความเข้มข้นของโอโซนตกค้าง 0.4 มก/ล. ยังคงสามารถบำบัดแอมโมเนียได้โดยมีอัตราการบำบัดแอมโมเนียของตัวกรองชีวภาพเท่ากับ  $30.29 \pm 0.56$  มก.-ไนโตรเจน/ตร.ม./วัน

### (3) ไนเตรต

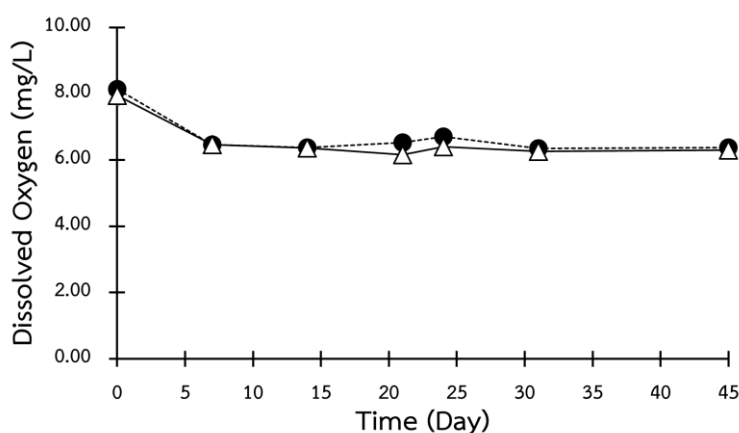
ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรตในระหว่างการเลี้ยงกุ้ง (รูปที่ 4-9 (ค)) พบว่าในแต่ละชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงไนเตรตในทิศทางที่สอดคล้องกัน โดยในช่วงวันที่ 0 – 45 ของการทดลอง ชุดควบคุมและชุดทดลองมีปริมาณไนเตรตเท่ากับ 3.14 – 12.45 และ 2.02 – 12.36 มก.-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ โดยปริมาณไนเตรตที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากการออกซิไดซ์ไนโตรดให้อยู่ในรูปของไนเตรตผ่านกระบวนการไนตริฟิเคชัน โดยอาศัยการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มไนโตรดออกซิไดซ์ซึ่งแบคทีเรีย NOB จากการทดลองดังกล่าวพบว่าปริมาณไนเตรตของชุดควบคุมที่ไม่มีการบำบัดดินด้วยโอโซนและชุดทดลองที่ใช้โอโซนตกค้างในน้ำ  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. มีค่าไม่แตกต่างกัน จึงคาดว่าความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำไม่มีผลต่อการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มไนโตรดออกซิไดซ์ซึ่งแบคทีเรีย NOB



รูปที่ 4-9 การเปรียบเทียบปริมาณ (ก) แอมโมเนีย (ข) ไนไตรต์ (ค) ไนเตรต ในถังเลี้ยงกุ้งขาว  
 แวนนาไมระหว่างชุดควบคุมที่ไม่มีการบำบัดดินด้วยโอโซนและชุดทดลองที่ใช้โอโซนตกค้าง  
 $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. ในการบำบัดดิน

## (4) ออกซิเจนละลายน้ำ

ผลการวิเคราะห์ค่าออกซิเจนละลายน้ำในช่วงวันที่ 0 – 45 ของการเลี้ยงกุ้ง พบว่า ในแต่ละชุดการทดลองมีค่าออกซิเจนละลายน้ำใกล้เคียงกัน โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ย  $6.71 \pm 0.63$  มก./ล. แปรผันอยู่ในช่วง 6.00 – 8.23 มก./ล. และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ย  $6.56 \pm 0.60$  มก./ล. แปรผันอยู่ในช่วง 6.11 – 8.01 มก./ล. ตามลำดับ (รูปที่ 4-10) โดยระดับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วไปและการขยายพันธุ์สัตว์น้ำควรมีค่ามากกว่า 5 มก./ล. (Boyd, 1979) เป็นระดับปกติที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่สามารถเจริญเติบโตได้ดี รวมถึงเป็นระดับที่เพียงพอสำหรับการย่อยสลายสารอินทรีย์ผ่านกระบวนการทางชีวภาพ ทั้งนี้ หากในบ่อเลี้ยงกุ้งมีออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในระดับที่ต่ำเป็นเวลานานอาจเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ เช่น ทำให้สัตว์น้ำติดเชื้อโรคจากแบคทีเรียได้ง่าย เป็นต้น



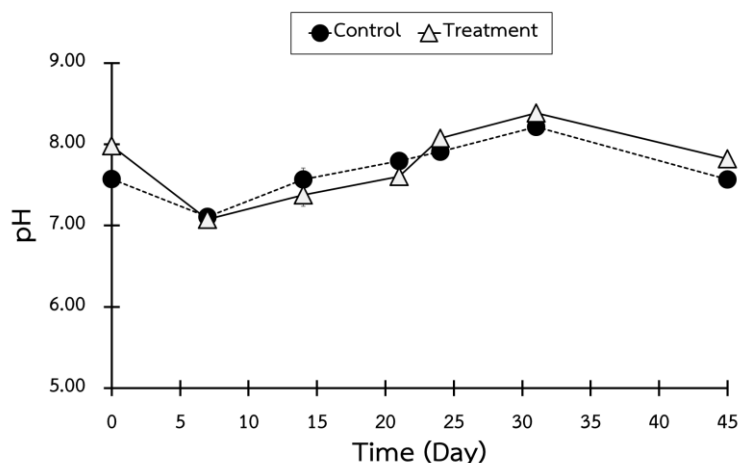
รูปที่ 4-10

การเปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

## (5) พีเอช

ผลการวิเคราะห์ค่าพีเอชของน้ำในช่วงวันที่ 0 – 45 ของการเลี้ยงกุ้ง พบว่า ในแต่ละชุดการทดลองมีค่าพีเอชใกล้เคียงกัน โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ย  $7.68 \pm 0.34$  แปรผันอยู่ในช่วง 7.10 – 8.24 และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ย  $7.76 \pm 0.44$  แปรผันอยู่ในช่วง 7.05 – 8.50 ตามลำดับ (รูปที่ 4-11) ทั้งนี้ค่าพีเอชของน้ำเป็นการวัดปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนอยู่ในน้ำ โดยการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชอาจเป็นผลมาจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชในเวลากลางวัน เนื่องจากในการทดลองมีการให้แสงสว่างด้วยการเปิดไฟ LED เป็นเวลา 12 ชม. จะทำให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) ในน้ำลดลง ส่งผลให้ค่าพีเอชของน้ำสูงขึ้น ในขณะที่การลดลงของค่าพีเอช

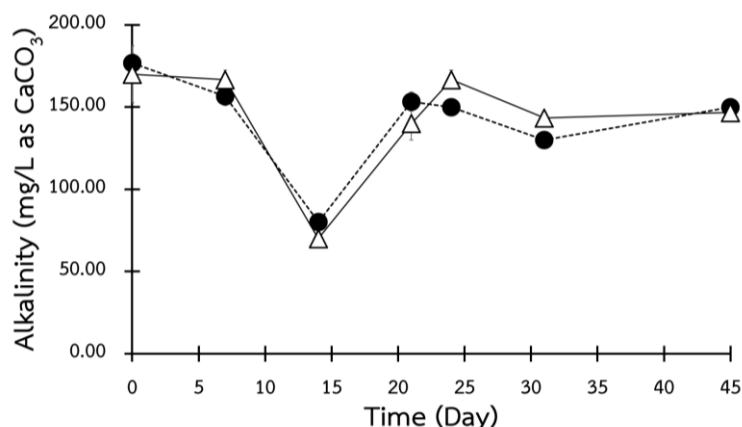
ในเวลากลางคืนเป็นผลมาจากกระบวนการหายใจของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำ จะคายคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ทำให้น้ำมีความเป็นกรดมากขึ้น โดยค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำควรอยู่ระหว่าง 7.5 - 8.5 ซึ่งในรอบวันไม่ควรเกิน หรือเปลี่ยนแปลงมากจนเกินไป เพราะการเปลี่ยนแปลงของพีเอชในรอบวันจะทำให้กุ้งเกิดความเครียด ไม่เจริญเติบโต ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายต่ำลง และทำให้ติดเชื้อโรคได้ง่าย (มันสิน ตันทุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา, 2539)



รูปที่ 4-11 การเปรียบเทียบค่าพีเอชในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

#### (6) สภาพความเป็นต่าง

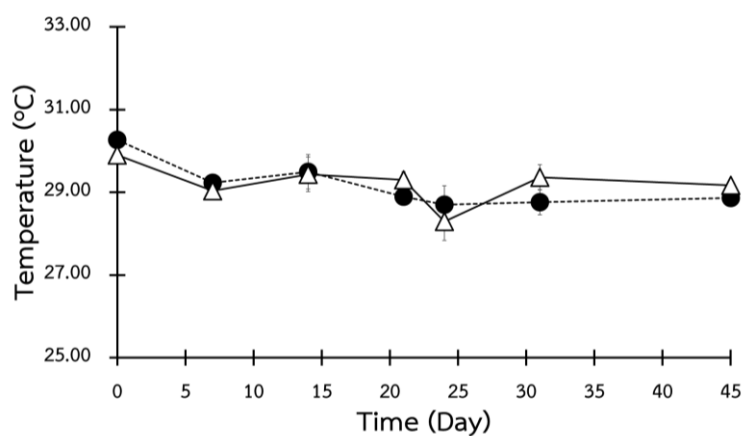
ผลการวิเคราะห์สภาพความเป็นต่างของน้ำในช่วงวันที่ 0 - 7 ของการเลี้ยงกุ้ง พบว่าในชุดควบคุมและชุดทดลองมีสภาพความเป็นต่างอยู่ในช่วง 156.67 - 176.67 และ 166.67 - 170.00 มก./ล. ของแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ (รูปที่ 4-11) ขณะที่ต่อมาสภาพความเป็นต่างของน้ำมีแนวโน้มลดลงในวันที่ 14 ของการเลี้ยงกุ้ง โดยในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าเท่ากับ  $80.00 \pm 0.00$  และ  $70.00 \pm 0.00$  มก./ล. ของแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ ทั้งนี้การลดลงของสภาพความเป็นต่างอาจเป็นผลมาจากการถูกนำไปใช้ในการบำบัดสารอินทรีย์ไนโตรเจนผ่านกระบวนการไนตริฟิเคชัน ดังนั้นจึงได้ทำการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ( $\text{NaHCO}_3$ ) โดยภายหลังจากการปรับสภาพความเป็นต่างแล้วในช่วงวันที่ 21 - 45 ของการเลี้ยงกุ้ง พบว่าในชุดควบคุมและชุดทดลองมีสภาพความเป็นต่างอยู่ในช่วง 150.00 - 153.33 และ 140.00 - 166.67 มก./ล. ของแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ โดยจากงานวิจัยของ ชลอ และพรเลิศ (2547) ระบุว่าสภาพความเป็นต่างของน้ำในการเพาะเลี้ยงกุ้งมีความสัมพันธ์กับอัตราการรอดและการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมและกุ้งทุกชนิด ค่าสภาพความเป็นต่างที่เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมอยู่ในช่วง 80 - 150 มก./ล.



รูปที่ 4-12 การเปรียบเทียบปริมาณสภาพความเป็นต่างในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

(7) อุณหภูมิของน้ำ

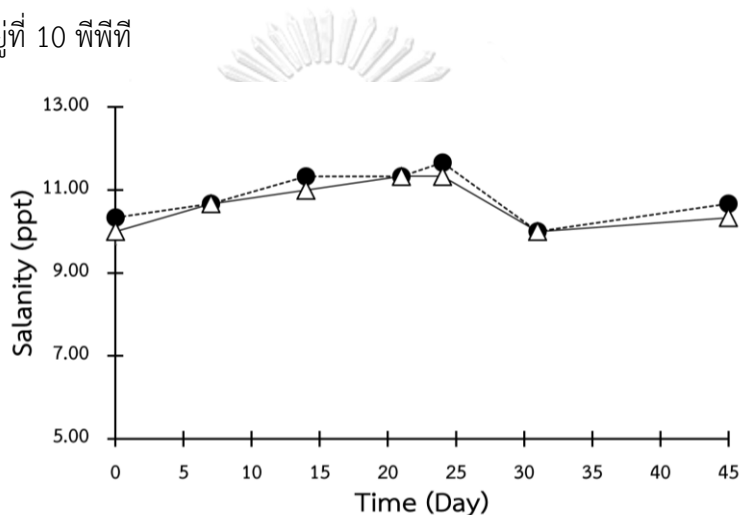
ผลการวิเคราะห์อุณหภูมิของน้ำในช่วงวันที่ 0 – 45 ของการเลี้ยงกุ้ง พบว่าในแต่ละชุดการทดลองมีอุณหภูมิใกล้เคียงกัน โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ย  $29.18 \pm 0.55^{\circ}$  ซ. แปรผันอยู่ในช่วง  $28.60 - 30.50^{\circ}$  ซ. และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ย  $29.21 \pm 0.52^{\circ}$  ซ. แปรผันอยู่ในช่วง  $27.80 - 30.10^{\circ}$  ซ. ตามลำดับ (รูปที่ 4-13) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำมีผลต่อกุ้งเนื่องจากกุ้งเป็นสัตว์เลือดเย็น โดยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำส่งผลทางตรงต่อกุ้ง คือเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น  $1^{\circ}$  ซ. ทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมของสัตว์เพิ่มขึ้น 10 เท่า จึงเป็นเหตุผลที่ทำให้กุ้งต้องการอาหารและออกซิเจนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำส่งผลทางอ้อมต่อระบบเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจะมีผลต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งอยู่ในช่วง  $28 - 32^{\circ}$  ซ.



รูปที่ 4-13 การเปรียบเทียบอุณหภูมิของน้ำในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

## (8) ความเค็ม

ผลการวิเคราะห์ค่าความเค็มในช่วงวันที่ 0 – 45 ของการเลี้ยงกุ้ง พบว่าในแต่ ละชุดการทดลองมีค่าความเค็มใกล้เคียงกัน โดยชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ย  $10.86 \pm 0.73$  พีพีที แปรผันอยู่ ในช่วง 10.00 – 12.00 พีพีที และชุดทดลองมีค่าเฉลี่ย  $10.67 \pm 0.66$  พีพีที แปรผันอยู่ในช่วง 10.00 – 12.00 พีพีที ตามลำดับ (รูปที่ 4-14) ซึ่งในวันที่ 31 ของการเลี้ยงกุ้ง ทำการปรับปริมาตรน้ำในบ่อ เลี้ยงกุ้งให้เป็น 100 ล. และปรับค่าความเค็มให้เป็น 10 พีพีที โดยทั่วไปกุ้งขาวแวนนาไม่สามารรถ เจริญเติบโตได้ในน้ำที่มีความเค็มตั้งแต่ 0 – 35 พีพีที อย่างไรก็ตามการเลี้ยงในพื้นที่ที่ความเค็มต่ำ ควรรักษาระดับความเค็มไม่ให้ต่ำกว่า 3 พีพีที ดังนั้นในการทดลองจะดำเนินการโดยควบคุมความเค็ม ของน้ำให้มีค่าอยู่ที่ 10 พีพีที

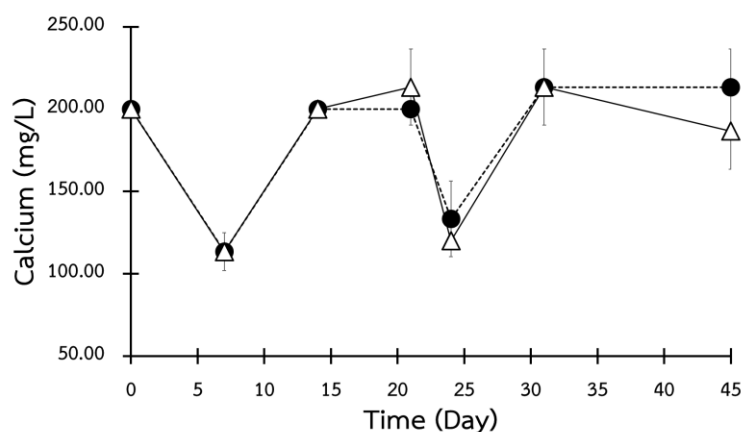


รูปที่ 4-14 การเปรียบเทียบค่าความเค็มในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม่ ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

## (9) แคลเซียม

ผลการวิเคราะห์ค่าแคลเซียม พบว่าที่เริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเลี้ยงกุ้ง ในชุดควบคุมและชุดทดลองมีการปรับค่าแคลเซียมเท่ากับ 200 มก./ล. (รูปที่ 4-15) ต่อมาในวันที่ 7 ของการเลี้ยงกุ้ง พบว่าแคลเซียมมีค่าลดลงเหลือเท่ากับ  $113.33 \pm 11.55$  มก./ล. ทั้งชุดควบคุมและชุดทดลอง โดยการลดลงของแคลเซียมในระบบเป็นผลมาจากการดูดซึมไปใช้ในกระบวนการสร้างเปลือก ของกุ้ง นอกจากนี้ยังอาจเป็นผลมาจากในระบบเลี้ยงกุ้งมีการเจริญเติบโตของหอยเจดีย์ (หอยขี้นก) ซึ่งอาจติดมากับตัวอย่างดิน ในระยะกำลังเจริญเติบโตของหอยดังกล่าวมีขนาดเล็กถ้ามีเป็นจำนวนมาก จะมีการใช้แคลเซียมสร้างเปลือกมาก ทำให้ค่าแคลเซียมของน้ำลดลงอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงทำ การปรับค่าแคลเซียมด้วยการเติมแคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2$ ) ให้มีค่าเท่ากับ 200 มก./ล. จนกว่าหอย เจดีย์เจริญเต็มที่แล้วจะไม่มีการใช้แคลเซียมสร้างเปลือก และกำจัดหอยด้วยการตักออกจากบ่อ

หลังจากการปรับค่าแคลเซียมในน้ำแล้ว ในช่วงวันที่ 14 – 21 ของการเลี้ยงกุ้ง พบว่าในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าแคลเซียมอยู่ในช่วง 200 มก./ล. และ 200.00 – 213.33 มก./ล. ตามลำดับ ในช่วงวันที่ 24 ของการเลี้ยงกุ้ง พบการลดลงของแคลเซียมในชุดควบคุมและชุดทดลองเท่ากับ  $133.33 \pm 23.09$  มก./ล. และ  $120.00 \pm 0.00$  มก./ล. ตามลำดับ จึงทำการเติมแคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2$ ) เพื่อปรับค่าแคลเซียมในน้ำให้มีค่าเท่ากับ 200 มก./ล. วันที่ 31 พบว่าในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าเท่ากับ  $213.33 \pm 23.09$  มก./ล. ทั้งสองชุด และวันที่ 45 พบว่าในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $213.33 \pm 23.09$  และ  $186.67 \pm 23.09$  มก./ล. ตามลำดับ ทั้งนี้แคลเซียมมีความสำคัญต่อการสร้างเปลือก ความสมดุลกรดต่างภายในร่างกาย การแข็งตัวของเลือด การหดตัวของกล้ามเนื้อ และการดูดซับวิตามินบี 12 โดยปกติแคลเซียมจะสะสมที่ตับและตับอ่อนในรูปของเกลือแคลเซียมฟอสเฟตและเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างภายนอกของกุ้ง ผลของการขาดแคลเซียมจะทำให้กุ้งเปลือกบาง นิ่ม และเปลือกแข็งช้าหลังจากลอกคราบ

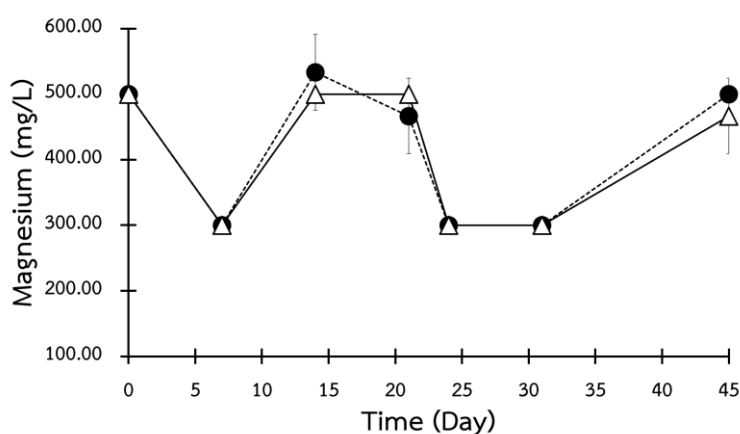


รูปที่ 4-15 การเปรียบเทียบปริมาณแคลเซียมในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

#### (10) แมกนีเซียม

ผลการวิเคราะห์ค่าแมกนีเซียม พบว่าที่เริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเลี้ยงกุ้ง ในชุดควบคุมและชุดทดลองมีการปรับค่าแมกนีเซียมเท่ากับ 500 มก./ล. (รูปที่ 4-16) ต่อมาในวันที่ 7 ของการเลี้ยงกุ้ง พบว่าแมกนีเซียมมีค่าลดลงเหลือ  $300.00 \pm 0.00$  มก./ล. โดยการลดลงของแมกนีเซียมในระบบอาจเป็นผลมาจากการถูกนำไปใช้โดยกุ้งและหอยเจดีย์ในระบบ ดังนั้นจึงทำการปรับค่าแมกนีเซียมด้วยการเติมแมกนีเซียมคลอไรด์ ( $\text{MgCl}_2$ ) ให้มีค่าเท่ากับ 500 มก./ล. หลังจากการปรับค่าแมกนีเซียมในน้ำแล้ว ในช่วงวันที่ 14 – 21 ของการเลี้ยงกุ้ง พบว่าในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าแมกนีเซียมอยู่ในช่วง 466.67 – 533.33 มก./ล. และ 500.00 มก./ล. ตามลำดับ ในช่วง

วันที่ 24 ของการเลี้ยงกุ้ง พบการลดลงของแมกนีเซียมในชุดควบคุมและชุดทดลองเท่ากับ  $300.00 \pm 0.00$  มก./ล. จึงทำการเติมแมกนีเซียมคลอไรด์ ( $MgCl_2$ ) เพื่อปรับค่าแมกนีเซียมในน้ำให้มีค่าเท่ากับ 500 มก./ล. วันที่ 31 ของการเลี้ยงกุ้ง พบการลดลงของแมกนีเซียมในชุดควบคุมและชุดทดลองเท่ากับ  $300.00 \pm 0.00$  มก./ล. และวันที่ 45 พบว่า ในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $500.00 \pm 0.00$  และ  $466.67 \pm 57.74$  มก./ล. ตามลำดับ ทั้งนี้แมกนีเซียมเป็นแร่ธาตุที่อยู่ในโครงสร้างร่างกายของกุ้งร้อยละ 70 ส่วนอีกร้อยละ 30 พบในเนื้อเยื่อและเลือด แมกนีเซียมช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหารของกุ้ง ช่วยให้อาหารเปลี่ยนไปเป็นพลังงานเพื่อใช้ในการดำรงชีวิตได้อย่างสมบูรณ์ และแมกนีเซียมยังช่วยควบคุมการเต้นของหัวใจ การยืดหดกล้ามเนื้อ แมกนีเซียมส่วนเกินจะถูกขับออกมาพร้อมกับอุจจาระกุ้งจะสามารถใช้แมกนีเซียมได้อย่างมีประสิทธิภาพก็ต่อเมื่อมีสัดส่วนที่สมดุลกับแคลเซียม คือ อัตราส่วน แมกนีเซียม 3 ส่วนต่อแคลเซียม 1 ส่วน โดยผลของการขาดแมกนีเซียมจะทำให้ค่าอัลคาลินิตีของน้ำไม่คงที่และลดต่ำลง เมื่อกุ้งลอกคราบแล้วจะทำให้กุ้งสร้างเปลือกแข็งได้ช้าลง กล้ามเนื้อเกร็ง และเกิดสภาวะหัวใจล้มเหลว



รูปที่ 4-16 การเปรียบเทียบปริมาณแมกนีเซียมในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง



ตารางที่ 4-3 พารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำระหว่างการเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

พารามิเตอร์	ชุดควบคุม	ชุดทดลอง
แอมโมเนีย (มก.-ไนโตรเจน/ล.)		
- ค่าต่ำสุด - สูงสุด	0.00 - 0.13	0.00 - 0.15
- ค่าเฉลี่ย	0.07±0.05	0.08±0.05
ไนไตรต์ (มก.-ไนโตรเจน/ล.)		
- ค่าต่ำสุด - สูงสุด	0.10 - 1.72	0.10 - 1.37
- ค่าเฉลี่ย	0.72±0.60	0.51±0.52
ไนเตรต (มก.-ไนโตรเจน/ล.)		
- ค่าต่ำสุด - สูงสุด	3.14 - 12.45	2.02 - 12.32
- ค่าเฉลี่ย	9.74±2.93	9.41±3.27
ออกซิเจนละลายน้ำ (มก./ล.)		
- ค่าต่ำสุด - สูงสุด	6.00 - 8.23	6.11 - 8.01
- ค่าเฉลี่ย	6.71±0.63	6.56±0.60
พีเอช		
- ค่าต่ำสุด - สูงสุด	7.10 - 8.24	7.05 - 8.50
- ค่าเฉลี่ย	7.68±0.34	7.76±0.44
สภาพความเป็นด่าง (มก./ล.)		
- ค่าต่ำสุด - สูงสุด	80 - 180	70 - 180
- ค่าเฉลี่ย	142.38±29.82	143.33±33.81
อุณหภูมิของน้ำ (°ซ.)		
- ค่าต่ำสุด - สูงสุด	28.60 - 30.50	27.80 - 30.10
- ค่าเฉลี่ย	29.18±0.55	29.21±0.52
ความเค็ม (พีพีที)		
- ค่าต่ำสุด - สูงสุด	10.00 - 12.00	10.00 - 12.00
- ค่าเฉลี่ย	10.86±0.73	10.67±0.66
แคลเซียม (มก./ล.)		
- ค่าต่ำสุด - สูงสุด	100.00 - 240.00	100.00 - 240.00
- ค่าเฉลี่ย	181.90±40.94	178.10±42.85
แมกนีเซียม (มก./ล.)		
- ค่าต่ำสุด - สูงสุด	300.00 - 600.00	300.00 - 500.00
- ค่าเฉลี่ย	414.29±106.23	409.52±99.52

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของการเติมโอโซนต่อความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำที่จุดอิมตัว ผลของความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำและระยะเวลาการสัมผัสโอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอในดิน และการประยุกต์ใช้โอโซนในกำจัดเชื้อก่อโรคในบ่อดินเลี้ยงกุ้งจำลองในห้องปฏิบัติการ โดยสรุปผลการทดลองได้ ดังนี้

การทดลองช่วงที่ 1 การศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอที่สะสมในดินพื้นบ่อในระบบการเลี้ยงกุ้งกลางแจ้ง จากฟาร์มทดสอบและสาธิตมีนเกษตร “สองน้ำ” มูลนิธิชัยพัฒนา จังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่าดินจากระบบบ่อเลี้ยงกุ้งกลางแจ้งมีค่าพีเอชเป็นกลาง ( $7.52 \pm 0.11$ ) มีอินทรีย์วัตถุร้อยละ  $3.91 \pm 0.41$  และอินทรีย์คาร์บอนรวมร้อยละ  $2.27 \pm 0.27$  ซึ่งอยู่ในระดับสูง โดยเป็นผลมาจากการสะสมของตะกอนอินทรีย์ที่เกิดจากเศษอาหารที่เหลือตกค้างของเสียที่กุ้งขับถ่ายออกมา และซากของสิ่งมีชีวิตในบ่อที่ตายเมื่อมีการย่อยสลายเป็นสารอินทรีย์ที่สะสมอยู่ในดินพื้นบ่อ ส่งผลให้อัตราการใช้ออกซิเจนของดินสูงขึ้น โดยการวิเคราะห์ความต้องการออกซิเจนของดินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $4.61 \pm 1.79$  มก.-ออกซิเจน/ก.-ดิน/วัน สำหรับสัดส่วนแร่ธาตุของดินประกอบด้วย คาร์บอนร้อยละ  $0.85 \pm 0.02$  ไฮโดรเจนร้อยละ  $0.68 \pm 0.08$  ไนโตรเจนร้อยละ  $0.71 \pm 0.04$  และไม่มีซิลเฟอร์ ตามลำดับ ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดินเท่ากับ  $1.0 \pm 0.0 \times 10^3$  ซีเอฟยู/ก. ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำโดยอาจเป็นผลมาจากการเก็บตัวอย่างดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้งขาวกลางแจ้งหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต เป็นบ่อที่ผ่านการตากบ่อมาแล้วประมาณ 7 วัน จึงอาจทำให้ปริมาณเชื้อก่อโรสดังกล่าวมีปริมาณลดลง

การทดลองช่วงที่ 2 การหาความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเมื่อเติมโอโซนอย่างต่อเนื่องที่ช่วงเวลาต่างๆ ในระยะเวลา 1 ชม. พบว่า การเติมโอโซนในช่วง 10 นาทีแรก ปริมาณโอโซนที่ถูกเติมเข้าสู่ระบบบางส่วนจะเกิดการออกซิไดซ์กับสารอินทรีย์ในน้ำ เมื่อเติมโอโซนอย่างต่อเนื่องจนถึงนาทีที่ 30 จะได้ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเฉลี่ย  $1.50 \pm 0.04$  มก./ล. หลังจากนั้นเมื่อเติมโอโซนต่อเนื่องจนถึงนาทีที่ 60 จุดอิมตัวของโอโซนละลายน้ำมีค่าเฉลี่ย  $1.43 \pm 0.03$  มก./ล. โดยแปรผันอยู่ในช่วง  $1.36 - 1.50$  มก./ล. ซึ่งเป็นความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำสูงสุด (จุดอิมตัว) ในน้ำความเค็ม 5 พีพีทีที่อุณหภูมิอยู่ในช่วง  $25-30^{\circ}$  ซ. จึงนำมาพิจารณาเป็นค่าความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำสูงสุดของการศึกษาต่อไป

การศึกษาความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำและระยะเวลาการสัมผัสต่อการเปลี่ยนแปลง ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดิน ที่ระดับความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำเริ่มต้นแตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0.3, 0.6, 1.0 และ 1.5 มก./ล. มีระยะเวลาสัมผัส 5, 10, 30 และ 60 นาที และเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมโอโซน พบว่าความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 0.3 มก./ล. เป็นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถกำจัดเชื้อไวรัสในดินได้ โดยทุกระดับความเข้มข้นสามารถกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสในดินได้อย่างเห็นได้ชัดตั้งแต่เวลาสัมผัส 5 นาที โดยมีประสิทธิภาพการกำจัดไวรัสในดินอยู่ในช่วงร้อยละ 57.8–69.1 และทุกระดับความเข้มข้นสามารถกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสในดินได้ทั้งหมดเมื่อเพิ่มระยะเวลาสัมผัสเป็น 60 นาที โดยคิดเป็นประสิทธิภาพการกำจัดไวรัสในดินร้อยละ 100 ทั้งนี้จากผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล. สามารถกำจัดเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสในดินได้เกือบทั้งหมดตั้งแต่เวลาสัมผัส 30 นาที โดยมีประสิทธิภาพการกำจัดไวรัสในดินได้ร้อยละ 98.6 ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ 1.0 มก./ล. และระยะเวลาสัมผัส 30 นาที สำหรับทำการทดลองในช่วงที่ 3 ต่อไป เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดเชื้อก่อโรค สามารถลดเวลาและต้นทุนในการผลิตน้ำโอโซนได้ อีกทั้งเป็นความเข้มข้นที่ไม่ทำให้คุณภาพทางกายภาพ ทางเคมี และอัตราการกำจัดไนโตรเจนของดินเปลี่ยนแปลงไปจากชุดควบคุม

การทดลองช่วงที่ 3 การประยุกต์ใช้โอโซนในการควบคุมปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสในระบบเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดินจำลองสภาวะเหมือนจริงเป็นเวลา 45 วัน โดยเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม (ดินที่ไม่ผ่านการปรับสภาพ) และชุดทดลอง (ดินที่ผ่านการปรับสภาพด้วยโอโซน) ในสภาวะที่มีการควบคุมความเข้มข้นของโอโซนตกค้าง  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. และระยะเวลาสัมผัส 30 นาที ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมจากการทดลองช่วงที่ 2

การประเมินอัตราการบำบัดแอมโมเนียของดินก่อนเริ่มต้นการเลี้ยงกุ้งขาวในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมโอโซน และชุดทดลองที่มีการปรับสภาพดินด้วยการเติมโอโซน พบว่าในแต่ละชุดการทดลองมีอัตราการบำบัดแอมโมเนียเฉลี่ยเท่ากับ  $0.25 \pm 0.09$  และ  $0.15 \pm 0.02$  มก.-ไนโตรเจน/ก.-ดิน/วัน ตามลำดับ โดยชุดทดลองที่มีการเติมโอโซนมีการลดลงของแอมโมเนียช้ากว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งเป็นได้ว่าการเติมโอโซนอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าดินที่ผ่านการปรับสภาพด้วยการเติมโอโซนยังคงมีความสามารถในการบำบัดแอมโมเนียผ่านกระบวนการไนตริฟิเคชันได้เช่นเดียวกับในชุดควบคุม เนื่องจากตรวจพบแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของไนไตรต์และไนเตรต ตามลำดับ

ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสที่อยู่ในดินเริ่มต้นพบว่ามีค่าเท่ากับ  $2.17 \pm 2.47 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. ซึ่งใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้โอโซน ( $2.00 \pm 2.12 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก.) ในขณะที่ชุดทดลองที่มี

การปรับสภาพดินด้วยโอโซนมีปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอในดินเริ่มต้นเท่ากับ  $6.00 \pm 1.41 \times 10^3$  ซีเอฟยู/ก. โดยคิดเป็นประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อเท่ากับร้อยละ 97.23 ต่อมาในระหว่างการเดินระบบเลี้ยงกุ้งขาว ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอในดินในชุดควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยมีค่าสูงสุด  $9.48 \pm 1.73 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. ในขณะที่ชุดทดลองที่มีการปรับสภาพดินด้วยโอโซนมีปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอในดินอยู่ในช่วง  $6.5 \pm 2.12 \times 10^3 - 1.25 \pm 0.29 \times 10^5$  ซีเอฟยู/ก. ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มไวรัสโอในน้ำของชุดควบคุมและชุดทดลองที่มีค่าต่างกัน โดยมีค่าแปรผันอยู่ในช่วง  $5.00 \pm 0.00 \times 10^2 - 6.00 \pm 0.00 \times 10^4$  และ  $4.25 \pm 1.06 \times 10^3 - 2.50 \pm 0.71 \times 10^4$  ซีเอฟยู/มล. ตามลำดับ

การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าในชุดควบคุมและชุดทดลองมีความหนาแน่นสุดท้ายเท่ากับ  $1.49 \pm 0.09$  และ  $1.58 \pm 0.13$  กก./ลบ.ม. น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ  $14.85 \pm 0.45$  และ  $15.82 \pm 0.77$  ก. และความยาวสุดท้ายเฉลี่ยเท่ากับ  $12.40 \pm 0.09$  และ  $13.12 \pm 0.43$  ซม. ตามลำดับ โดยสามารถคำนวณอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งเท่ากับ  $0.12 \pm 0.03$  ก./วัน และ  $0.13 \pm 0.02$  ก./วัน อัตราการรอดตายเท่ากับร้อยละ  $89.75 \pm 11.33$  และ  $89.60 \pm 5.43$  และอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ  $1.96 \pm 0.25$  และ  $1.96 \pm 0.20$  ตามลำดับ

ในส่วนของการประเมินคุณภาพน้ำในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างการทดลอง พบว่าในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยแอมโมเนียเท่ากับ  $0.07 \pm 0.05$  และ  $0.08 \pm 0.05$  มก.-ไนโตรเจน/ล. ค่าไนไตรต์เฉลี่ยเท่ากับ  $0.72 \pm 0.60$  และ  $0.51 \pm 0.52$  มก.-ไนโตรเจน/ล. และไนเตรตเฉลี่ยเท่ากับ  $9.74 \pm 2.93$  และ  $9.41 \pm 3.27$  มก.-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงสารอนินทรีย์ไนโตรเจนในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน โดยแอมโมเนียและไนไตรต์มีค่าต่ำกว่า 1 มก.-ไนโตรเจน/ล. ซึ่งอยู่ในระดับมาตรฐานสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำ ทั้งนี้การควบคุมปริมาณแอมโมเนียและไนไตรต์ในระบบทั้งในชุดควบคุมและชุดทดลองเป็นผลมาจากการทำงานของแอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย (Ammonia Oxidizing Bacteria : AOB) และไนไตรต์ออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย (Nitrite Oxidizing Bacteria : NOB) ผ่านกระบวนการไนตริฟิเคชัน นอกจากนี้พารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำด้านอื่นๆ ในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ได้แก่ ค่าออกซิเจนละลายเฉลี่ยเท่ากับ  $6.71 \pm 0.63$  และ  $6.56 \pm 0.60$  มก./ล. ค่าพีเอชเฉลี่ยเท่ากับ  $7.68 \pm 0.34$  และ  $7.76 \pm 0.44$  สภาพความเป็นด่างเฉลี่ยเท่ากับ  $142.38 \pm 29.82$  และ  $143.33 \pm 33.81$  มก./ล. ของแคลเซียมคาร์บอเนต อุณหภูมิของน้ำเฉลี่ยเท่ากับ  $29.18 \pm 0.55$  และ  $29.21 \pm 0.52^\circ$  ซ. ความเค็มเฉลี่ย  $10.86 \pm 0.73$  และ  $10.67 \pm 0.66$  พีพีที แคลเซียมเฉลี่ยเท่ากับ  $181.90 \pm 40.94$  และ  $178.10 \pm 42.85$  มก./ล. แมกนีเซียมเฉลี่ยเท่ากับ  $414.29 \pm 106.23$  และ  $409.52 \pm 99.52$  มก./ล. ตามลำดับ โดยพารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำในชุดควบคุมและชุดทดลองมีค่าใกล้เคียงกันและอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาผลของการเติมโอโซนต่อความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำที่จุดอิมตัว ผลของความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำและระยะเวลาการสัมผัสโอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคลุ่ม *Vibrio* ในดิน และการประยุกต์ใช้โอโซนในกำจัดเชื้อก่อโรคในบ่อดินเลี้ยงกุ้งจำลองในห้องปฏิบัติการ จากการประเมินผลการทดลองสามารถนำเสนอแนะแนวทางเพื่อพัฒนาและสามารถนำโอโซนไปใช้งานในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นได้ ดังนี้

5.2.1 ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้โอโซนในการควบคุมปริมาณเชื้อก่อโรคในระบบบ่อดินสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำขนาดใหญ่และความหนาแน่นสูง ซึ่งมีอัตราการผลิตของเสียในรูปของแอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรตสูงขึ้น เพื่อประเมินผลกระทบของโอโซนในการควบคุมปริมาณเชื้อก่อโรค และต่อผลกระทบของโอโซนต่อความสามารถในการทำงานของแบคทีเรียที่มีบทบาทในการบำบัดสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจน ซึ่งสามารถนำไปใช้งานต่อยอดในระบบเลี้ยงสัตว์น้ำจริงได้

5.2.2 ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลของระบบบ่อดินที่มีการปรับสภาพด้วยโอโซนต่อปริมาณเชื้อก่อโรคลุ่ม *Vibrio* ที่สะสมอยู่ในตับ ทางเดินอาหาร และสิ่งขับถ่ายของกุ้ง รวมถึงการประยุกต์ใช้โอโซนในการกำจัดเชื้อก่อโรคชนิดอื่นๆ เช่น *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิดการสูญเสียผลผลิตในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันการเกิดโรคต่อสัตว์น้ำให้ครอบคลุมได้

5.2.3 ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้แหล่งกำเนิดโอโซนจากออกซิเจนบริสุทธิ์ (Pure oxygen) ในการทำลายเชื้อก่อโรคชนิดอื่นๆ ในระบบเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อเพิ่มแนวทางการกำจัดและเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อก่อโรสดังกล่าว

## บรรณานุกรม

- Andressa Medeiros de Mendonça, S. (2017). Effect of aqueous ozone on microbial and physicochemical quality of Nile tilapia processing. *Journal of food processing and preservation*, v. 41(no. 6), pp. --2017 v.2041 no.2016.  
<https://doi.org/10.1111/jfpp.13298>
- Blogoslawski, W. J., Steward, M. E., & Rhodes, E. W. (1978). Bacterial disinfection in shellfish hatchery disease control. *Paper presented at the Ninth Annual Meeting World Mariculture Society, USA*.
- Boyd, C. E. (1979). Water quality in warm water fish ponds. *Craftmaster Auburn, Alabama, USA, Printers Inc.*
- Boyd, C. E. (1998). Pond water aeration systems. *Aquacultural Engineering*, 18(1), 9-40.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(98\)00019-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8609(98)00019-3)
- Boyd, C. E. (2003). Bottom soil and water quality management in shrimp ponds. *J. Appl. Aquac.*, 13, 11–33.
- Braz, J. (2018). Effect of water temperature and pH on the concentration and time of ozone saturation. *Food Technol.*, 21(e2017156).
- Brock, J. A., & Main, K. L. (1994). A guide to the common problems and diseases of cultured *Penaeus vannamei*. *The Oceanic Institute Makapuu Point, Honolulu, Hawaii.*, 242 p.
- Budavari, S. (1996). The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. *Whitehouse Station, NU: Merck*.
- Burrell, V. G., Jr., S., J., Batey, C., & Bobo, M. Y. (1991). Concentration of *Vibrio vulnificus* in oysters, *Crassostrea virginica*, grown in ponds with Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *Shellfish Res*, 10: 277.
- Byun, B. K., Bae, Y. S., & Park, K. T. (1998). Illustrated catalogue of Tortricidae in Korea (Lepidoptera). *Insects of Korea, series 2, 317pp*.
- Chen, J.-C., & Chen, S.-F. (1992). Accumulation of nitrite in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient nitrite. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 103(3), 477-481.

[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0742-8413\(92\)90168-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0742-8413(92)90168-7)

- Goncalves, A. A. (2012). Ozone an Emerging Technology for the Seafood Industry. *Brazilian Archives of Bio. and Tech*, 52, 1527-1539.
- I.G., A., M.N., S., & M., S. (1988). Bacterial septicemia in juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*, cultured in Malaysian brackish water ponds. *Asian Fish, Sci.* 2:93-108.
- L., A., & J., T. (1988). Ozone as Disinfection. The degree of Master of Engineering. *Asian Institute of Technology, Thailand*.
- Leonard, N., Blancheton, J. P., & Guiraud, J. P. (2000). Populations of heterotrophic bacteria in an experimental recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*, 22(1), 109-120. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(00\)00035-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0144-8609(00)00035-2)
- Lightner, D. V. (1996). A Handbook of Shrimp pathology and Diagnostic procedures for Diseases of Culture Penaeid Shrimp. *World Aquaculture. CRC Press Inc., Boca Raton*, 393-486.
- M, H., L, B., & J, H. (1985). Ozone. Budapest: Elsevier.
- Matsumura, M., Migo, V. P., Balobalo, D., Young, H. K., & Albaladejo, J. D. (1998). Preservation of water quality in shrimp ponds by ozone. In Flegal TW (ed) *Advances in shrimp biotechnology. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology*, 39-99.
- Munsiri, P., Boyd, C. E., Teichert-Coddington, D., & Hajek, B. F. (1996). Texture and chemical composition of soils from shrimp ponds near Choluteca, Honduras. *Aquaculture International*, 4(2), 157-168. <https://doi.org/10.1007/BF00140596>
- Nimrat, S., Suksawat, S., Maleweach, P., & Vuthiphandchai, V. (2008). Effect of different shrimp pond bottom soil treatments on the change of physical characteristics and pathogenic bacteria in pond bottom soil. *Aquaculture*, 285(1), 123-129. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.020>
- Park, J., Kim, P.-K., Park, S., & Daniels, H. V. (2015). Effects of two different ozone doses on total residual oxidants, nitrogen compounds and nitrification rate in seawater recirculating systems for black seabream *Acanthopagrus schlegelii* (Bleeker). *Aquacultural Engineering*, 67, 1-7. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2015.05.003>

- Paulesu, L., Luzzi, E., & Bocci, V. (1991). Studies on the biological effects of ozone: induction of tumor necrosis factor in human leucocytes. *Lymphokine Cytokine Res*, *10*, 409-412.
- Pumkaew, M., Taweephitakthaia, T., Satanwatbc, P., Yocawibunbc, P., Chumtongbc, P., Pungrasmiabd, W., & Powtongsookbc, S. (2021). Use of ozone for *Vibrio parahaemolyticus* inactivation alongside nitrification biofilter treatment in shrimp-rearing recirculating aquaculture system. *Journal of Water Process Engineering*.
- Satanwat, P., Tapaneeyaworawong, P., Boonprasertsakul, T., Maksee, A., Kotcharoen, W., Adlin, N., Watari, T., Yamaguchi, T., Pungrasmi, W., & Powtongsook, S. (2023). Sustainable practice for a zero-discharge outdoor earthen shrimp pond based on biological nitrogen waste carrying capacity. *Aquaculture*, *574*, 739734. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739734>
- Schroeder, J. P., Gärtner, A., Waller, U., & Hanel, R. (2010). The toxicity of ozone-produced oxidants to the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, *305*(1), 6-11. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.030>
- Sirikharin, R., Taengchaiyaphum, S., Sanguanrut, P., Chi, T. D., Mavichak, R., Proespraiwong, P., Nuangsaeng, B., Thitamadee, S., Flegel, T. W., & Sritunyalucksana, K. (2015). Characterization and PCR Detection Of Binary, Pir-Like Toxins from *Vibrio parahaemolyticus* Isolates that Cause Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in Shrimp. *PLOS ONE*, *10*(5), e0126987. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126987>
- Staehelein, J., Buehler, R. E., & Hoigne, J. (1984). Ozone decomposition in water studied by pulse radiolysis. 2. Hydroxyl and hydrogen tetroxide (HO<sub>4</sub>) as chain intermediates. *The Journal of Physical Chemistry*, *88*(24), 5999-6004. <https://doi.org/10.1021/j150668a051>
- Takahashi, Y., Shimoyama, Y., & Momoyama, K. (1985). Pathogenicity and characteristics of *Vibrio* sp. isolated from diseased postlarvae of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish*, *51*, 721-730.
- Tango, M. S., & Gagnon, G. A. (2003). Impact of ozonation on water quality in marine



recirculation systems [Article]. *Aquacultural Engineering*, 29(3-4), 125-137.

[https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(03\)00061-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(03)00061-X)

Wajsbrot, N., A. Gasith, M.D. Krom and D.M. Popper. (1991). Acute toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* under reduced oxygen levels.

*Aquaculture*, 164, 227-288.

Wang, D., Fu, B., Zhao, W., Hu, H., & Wang, Y. (2008). Multifractal characteristics of soil particle size distribution under different land-use types on the Loess Plateau.

*China. Catena*, 72(1)(29-36).

YANCO INDUSTRIES LTD. (1998). What is Ozone?

<http://www.o3zone.com/ozoneser/articles/001.html>.

เพ็ญพิชา สท้านวัตร. (2557). การบำบัดไนโตรเจนในระบบเลี้ยงสัตว์น้ำแบบปิดผ่านกระบวนการร่วมไนทริฟิเคชัน-ดีไนทริฟิเคชันด้วยตัวกรองชีวภาพไบโอคอร์ด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เศรษฐศักดิ์ ติวะนันทร. (2556). การกรองอนุภาคแขวนลอยในระบบหมุนเวียนน้ำเพื่อการเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยแผ่นกรองชนิดวางเอียง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง. (2555). สถิติผลผลิตการเลี้ยงกุ้งทะเลประจำปี 2555. ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง.

กลุ่มสถิติการประมง. (2566). สถิติผลผลิตการเลี้ยงกุ้งทะเล ประจำปี 2565.

กัญญาจิต โสภิญโญสิริ. (2543). การใช้ไอโซนในการควบคุมคุณภาพน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ.

คณิต ไชยาคำ, & ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร. (2537). ผลกระทบของน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งต่อคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติ. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 7/2537. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง.

ชลธิชา พลายชุม. (2553). การบำบัดไนเตรตในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยถังดีไนทริฟิเคชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชลอ ลิมสุวรรณ, & พรเลิศ จันทร์รัชชกุล. (2547). อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ กรุงเทพฯ.

ชัยวุฒิ สุตทองคง, ธิดาพร ฉวีภักดิ์, & ลีลา เรืองแป้น (2550). ปริมาณและปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp.

- ในกุ้งขาวแวนนาไม, *Penaeus vannamei* ที่เลี้ยงในบ่อดิน. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45: สาขาประมง. กรุงเทพฯ, 280-292
- ชาตรี วีระสิทธิ์. (2543). การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียบางชนิดในดินพังกันบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่บำบัดโดยวิธีการคราดพรวน.
- นภา จิระกิตติเจริญ, พิเชษฐ ลีมีสุวรรณ, ประเวทย์ ตู่เต็มวงศ์, & พิพัฒน์ ไทรทอง. (2547). การเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียในน้ำอนุบาลลูกกุ้งโดยระบบโอโซนและระบบคลอรีน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. กรุงเทพฯ.
- นันทริกา อิศรศักดิ์. (2532). การศึกษาผลทางแบคทีเรียของน้ำทะเลที่ผ่านก๊าซโอโซน : แนวทางการนำไปใช้ในฟาร์มเพาะฟักกุ้งกุลาดำ. การประชุมทางวิชาการ เรื่องโรคใหม่ที่ทำให้ความเสียหายในกุ้งกุลาดำ.
- นิรชา วงษ์จินดา. (2537). การใช้โอโซนในการกำจัด *Vibrio vulnificus*. สัมมนาวิชาการประจำปี 2537.
- พัฒน์ จันทร์โรทัย. (2536). ข้อพิจารณาในการใช้พืชน้ำปรับปรุงคุณภาพน้ำ. วิทยาศาสตร์ ม.ก. , 11(3), 154-157.
- มนวิกันต์ ขจรบุญ. (2551). การคัดเลือกหัวเชื้อไนตริไฟอิงแบคทีเรียเพื่อการประยุกต์ใช้กับตัวกรองชีวภาพสำหรับระบบน้ำหมุนเวียนของถังเพาะเลี้ยงกุ้งระบบปิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มันสิน ตันจุลเวศม์, & ไพพรรณ พรประภา. (2539). การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ : การจัดการคุณภาพน้ำ.
- วิรัช จิวแหยม. (2544). ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับคุณภาพน้ำและการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วีรานุช หลาง. (2551). จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศิริรักษ์ เนตรรัตน์. (2539). การวิเคราะห์เงื่อนไขที่เหมาะสมสำหรับการใช้ก๊าซโอโซนในการฆ่าเชื้อโรคที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศิวฤกษ์ หนูฤทธิ์. (2554). การพัฒนาหน่วยแยกตะกอนและผลของตะกอนคุณภาพน้ำในระบบเลี้ยงสัตว์น้ำแบบปิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศุภชัย ประพัศพร. (2538). แบคทีเรียในดินบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ และการดื้อของเชื้อ *Vibrio* spp. ต่อยาต้านจุลชีพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย.
- สุธาสิณี อ่วมจันทร์. (2546). การเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียในตัวกรองชีวภาพแบบไนตริฟิเคชันและ

ดีไนทรีฟิเคชันสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชา  
วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุนทรี อยู่สถาน. (2550). ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการลดไนโตรเจนในน้ำเสียโดยกระบวนการดีไนทรี  
ฟิเคชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุบัณฑิต นิมรัตน์. (2549). จุลชีววิทยาทางดิน. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

สุรพล รัชชูปทุม. (2543). โอโซนเพื่อชีวิตและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ภาพพิมพ์.

อาทิตยา ทิพย์มณี. (2560). ผลของน้ำโอโซนและการบรรจุแบบสุญญากาศต่อการเจริญของแบคทีเรีย  
ก่อโรคและแบคทีเรียที่ทำให้เสื่อมเสียบางชนิดในปลาชนิด *Oreochromis niloticus* แล้ว.

วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์  
มหาวิทยาลัย.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## ภาคผนวก ก

### วิธีวิเคราะห์

#### ก.1 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

##### 1. แอมโมเนีย

การวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนียในโตรเจนในน้ำดัดแปลงมาจากวิธีของ Bower และ Holm-Hansen (1980) โดยมีขั้นตอนการเตรียมสารเคมีและการวิเคราะห์ดังนี้

##### (1) การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายซาลิไซเลตคะตะลิสต์ (Salicylate-catalyst solution) สามารถเตรียมได้โดยการละลายโซเดียมซาลิไซเลต (Sodium salicylate;  $C_6H_4(OH)COONa$ ) ปริมาณ 440 ก. และโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (Sodium nitroprusside dehydrate;  $Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$ ) ปริมาณ 0.28 ก. ลงในน้ำปราศจากไอออน (De-ionized water) และปรับปริมาตรสารละลายซาลิไซเลตคะตะลิสต์ให้มีปริมาตรเท่ากับ 1 ลิ. โดยการเก็บสารละลายควรเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $5^{\circ}C$ . และควรเตรียมสารละลายใหม่ทุก 3 เดือน

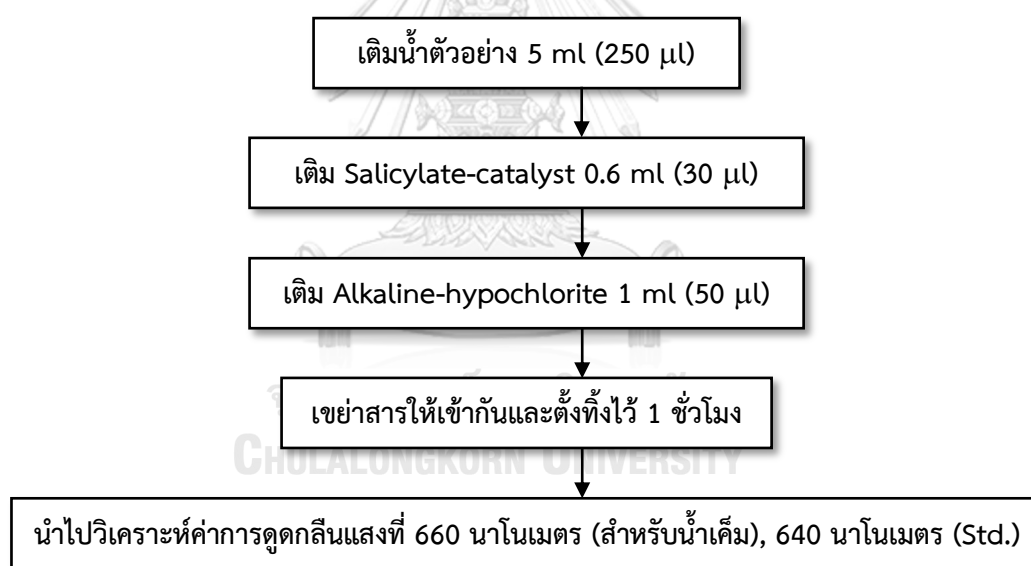
2. สารละลายอัลคาไลน์ซิเตรต (Alkaline-citrate solution) สามารถเตรียมได้โดยการละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide;  $NaOH$ ) ปริมาณ 18.5 ก. และโซเดียมซิเตรต (Sodium citrate dehydrate;  $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ ) ปริมาณ 100 ก. ลงในน้ำปราศจากไอออน และปรับปริมาตรสารละลายอัลคาไลน์ซิเตรตให้มีปริมาตรเท่ากับ 1 ลิ. โดยการเก็บสารละลายควรเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $5^{\circ}C$ .

3. สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite solution) สามารถใช้สารละลายไฮโปคลอไรต์ทางการค้าความเข้มข้น 1.5 นอร์มอล

4. สารละลายอัลคาไลน์ไฮโปคลอไรต์ (Alkaline-hypochlorite solution) สามารถเตรียมได้โดยการผสมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์และสารละลายอัลคาไลน์ซิเตรตในอัตราส่วน 1:9 ซึ่งเมื่อผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกันควรใช้สารละลายอัลคาไลน์ไฮโปคลอไรต์ในกระบวนการวิเคราะห์ภายใน 1 ชม.

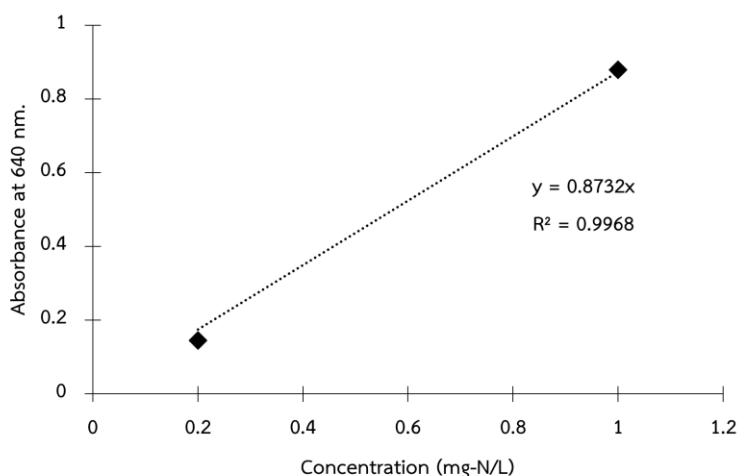
## (2) ขั้นตอนการวิเคราะห์

สำหรับการเก็บน้ำตัวอย่างควรเก็บใส่ขวดพลาสติกปริมาตร 30 มล. ทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C จากนั้นควรทำการวิเคราะห์ทันที หากไม่สามารถทำได้ควรเก็บน้ำตัวอย่างแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $-15^{\circ}$  ซ. กระบวนการวิเคราะห์เริ่มต้นจากการเปิดน้ำตัวอย่างปริมาตร 5 มล. ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลายซาลิไซเลตอะซิเตตปริมาตร 0.6 มล. และสารละลายอัลคาไลน์ไฮโปคลอไรต์ปริมาตร 1.0 มล. ตามลำดับ (ทั้งนี้สามารถปรับเพิ่มลดปริมาตรน้ำตัวอย่างและสารละลายที่ใช้ในกระบวนการวิเคราะห์ได้โดยคงอัตราส่วนให้มีค่าเท่าเดิม) เขย่าสารให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 1 ชม. แต่ไม่ควรเกิน 3 ชม. สำหรับการวิเคราะห์แบลнк (Blank) สามารถทำได้โดยใช้น้ำปราศจากไอออน ที่มีการเติมสารละลายเช่นเดียวกับน้ำตัวอย่างและใช้กระบวนการวิเคราะห์เช่นเดิม จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 640 นาโนเมตร ดังรูปที่ ก-1



รูปที่ ก-1 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย

เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแอมโมเนียมาตรฐาน (Standard ammonia solution) ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มก.แอมโมเนีย-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ ซึ่งเตรียมจากสารละลายสต็อกแอมโมเนีย (Stock ammonia solution) ความเข้มข้น 100 มก.แอมโมเนีย-ไนโตรเจน/ล. ดังกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์แอมโมเนียในรูปที่ ก-2



รูปที่ ก-2 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน

## 2. ไนโตรต์

การวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของไนโตรต์ไนโตรเจนในน้ำดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานที่อ้างอิงจาก Strickland และ Parsons (1972) โดยมีขั้นตอนการเตรียมสารเคมีและการวิเคราะห์ ดังนี้

### (1) การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide solution) สามารถเตรียมได้โดยการละลายซัลฟานิลาไมด์ (Sulphanilamide;  $C_6H_8N_2O_2S$ ) ปริมาณ 5 ก. ในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Hydrochloric acid; HCl) ปริมาตร 50 มล. และปรับปริมาตรสารละลายซัลฟานิลาไมด์ให้มีปริมาตรเท่ากับ 1 ล. โดยการเก็บสารละลายควรเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $5^{\circ}C$ .

2. สารละลายเอ็นเอ็นอีดี (Naphthylethylenediamine solution) สามารถเตรียมได้โดยการละลายเอ็นเอ็นอีดี (NNED; N-(1-Naphthyl)-Ethylenediamine Dihydrochloride) ปริมาณ 0.5 ก. ในน้ำปราศจากไอออน และปรับปริมาตรสารละลายเอ็นเอ็นอีดีให้มีปริมาตรปริมาณ 0.5 ก. ในน้ำปราศจากไอออน และปรับปริมาตรสารละลายเอ็นเอ็นอีดีให้มีปริมาตรเท่ากับ 500 มล. โดยการเก็บสารละลายควรเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $5^{\circ}C$ . และควรเตรียมสารละลายใหม่ทุกเดือน

### (2) ขั้นตอนการวิเคราะห์

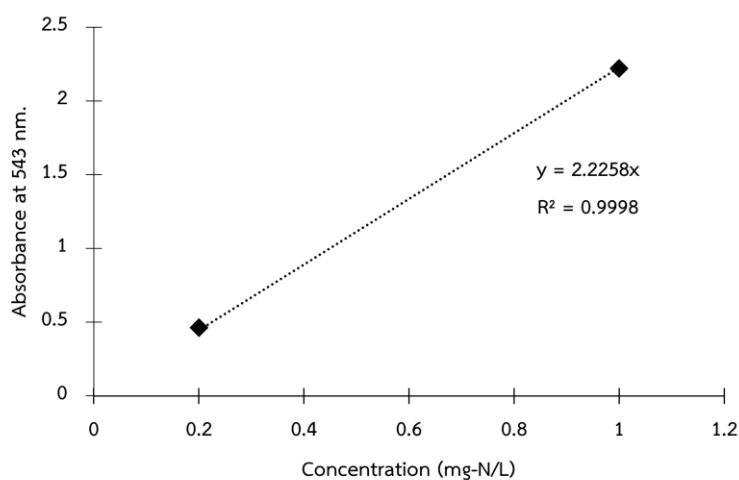
สำหรับการเก็บน้ำตัวอย่างควรเก็บใส่ขวดพลาสติกปริมาตร 30 มล. ทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C จากนั้นควรทำการวิเคราะห์ทันที หากไม่สามารถทำได้ควรเก็บน้ำตัวอย่างแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $-150^{\circ}C$ . กระบวนการวิเคราะห์เริ่มต้นจากการปิบน้ำตัวอย่างปริมาตร 5 มล. ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ปริมาตร 0.1 มล. เขย่าให้เข้ากันและ

ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาประมาณ 2 นาที แต่ไม่ควรเกิน 10 นาที จากนั้นเติมสารละลายเอ็นเอ็นอีดี ปริมาตร 0.1 มล. เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 30 นาที แต่ไม่ควรเกิน 2 ชม. (ทั้งนี้สามารถปรับเพิ่มลดปริมาตรน้ำตัวอย่างและสารละลายที่ใช้ใน กระบวนการวิเคราะห์ที่ได้โดยอัตราส่วนให้มีค่าเท่าเดิม) สำหรับการวิเคราะห์แบบคลอโรฟอร์มทำได้โดย ใช้น้ำปราศจากไอออน ที่มีการเติมสารละลายเช่นเดียวกับน้ำตัวอย่างและใช้กระบวนการวิเคราะห์ เช่นเดิม จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาว คลื่นเท่ากับ 543 นาโนเมตร ดังรูปที่ ก-3



รูปที่ ก-3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรต์

เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไนไตรต์มาตรฐาน (Standard nitrite solution) ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มก.ไนไตรต์-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ ซึ่งเตรียมจากสารละลายสต็อกไนไตรต์ (Stock nitrite solution) ความเข้มข้น 100 มก.ไนไตรต์-ไนโตรเจน/ล. ดังกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ไนไตรต์ในรูปที่ ก-4



รูปที่ ก-4 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน

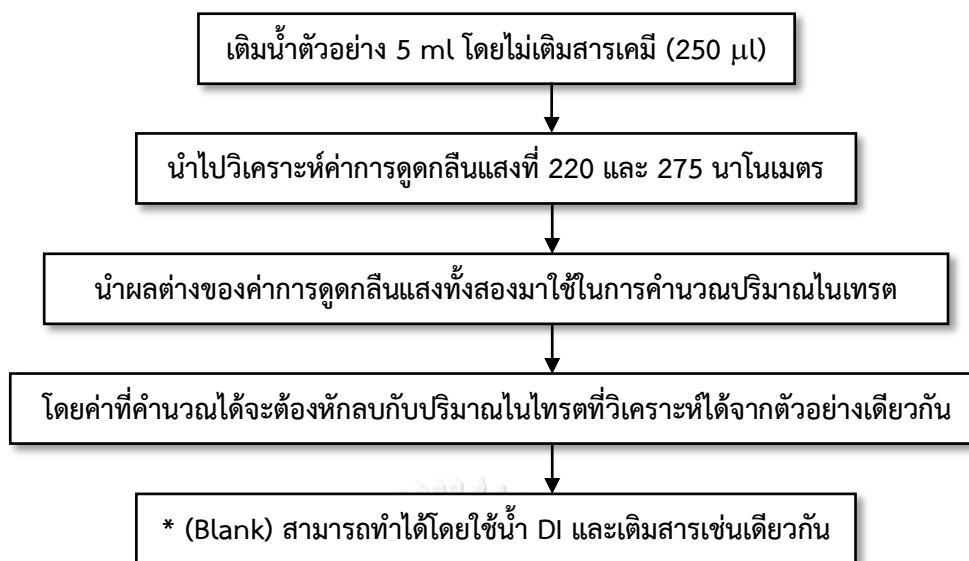
### 3. ไนเตรต

การวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของไนเตรตไนโตรเจนในน้ำดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานที่อ้างอิงจาก Standard Method (2005) โดยมีกระบวนการวิเคราะห์ ดังนี้

#### (1) กระบวนการวิเคราะห์

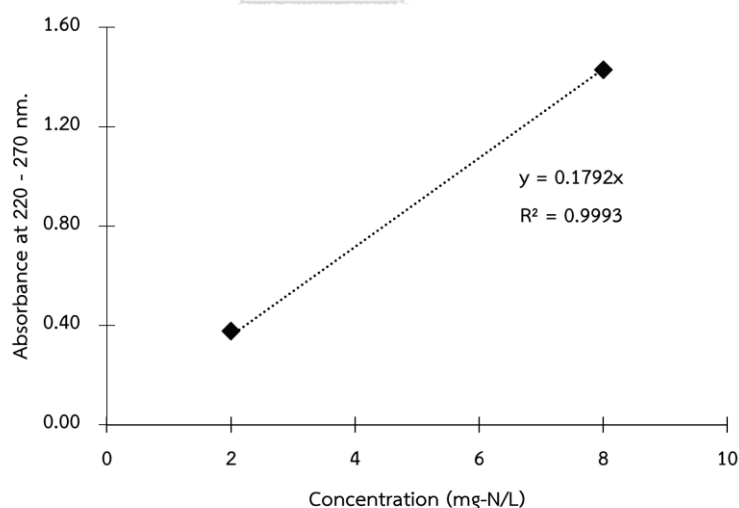
สำหรับการเก็บน้ำตัวอย่างควรเก็บใส่ขวดพลาสติกปริมาตร 30 มล. ทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/C จากนั้นควรทำการวิเคราะห์ทันที หากไม่สามารถทำได้ควรเก็บน้ำตัวอย่างแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $-15^{\circ}\text{C}$  กระบวนการวิเคราะห์เริ่มต้นจากการปิบน้ำตัวอย่างปริมาตร 5 มล. ใส่ในหลอดทดลองโดยไม่มีการเติมสารเคมีลงไป สำหรับการวิเคราะห์แบบคลอโรอิมิโนสามารถทำได้โดยใช้น้ำปราศจากไอออน ที่ไม่มีการเติมสารละลายเช่นเดียวกับน้ำตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 220 และ 270 นาโนเมตร นำผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นทั้งสองมาใช้ในการคำนวณหาปริมาณไนเตรตไนโตรเจนในน้ำโดยค่าที่คำนวณได้จะต้องทำการหักลบกับปริมาณไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างเดียวกันเนื่องจากวิธีการวิเคราะห์ไนเตรตตาม Standard Method (2005) จะมีปริมาณไนโตรเจนรวมอยู่ด้วย ดังรูปที่ ก-5





รูปที่ ก-5 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรต

เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไนเตรตมาตรฐาน (Standard nitrate solution) ที่ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 มก.ไนเตรต-ไนโตรเจน/ล. ตามลำดับ ซึ่งเตรียมจากสารละลายสต็อกไนเตรต (Stock nitrate solution) ความเข้มข้น 100 มก.ไนเตรต-ไนโตรเจน/ล. ดังกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ไนเตรตใน รูปที่ ก-6



รูปที่ ก-6 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรตไนโตรเจน

## ก.2 การวิเคราะห์ดิน

### 1. ค่าความเป็นกรดและต่างของดิน

การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดและต่างของดินดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานที่อ้างอิงจาก กองวิเคราะห์ดิน กรมพัฒนาที่ดิน (2540) โดยมีกระบวนการวิเคราะห์ ดังนี้

การวัด pH ในน้ำ อัตราส่วน ดิน : น้ำ = 1:1 (w/w) โดยชั่งดิน 20 ก. ใส่ในบีกเกอร์พลาสติก เติมน้ำกลั่น 20 มล. คนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วเป็นระยะๆ ให้บ่อยครั้งในระยะ 30 นาทีแรก หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้อีก 30 นาที จึงวัด pH ของดินในส่วนที่เป็นน้ำใสด้วย pH meter หรือใช้กระดาษลิตมัสจุ่มลงไปในส่วนที่เป็นน้ำใสเพื่อวัด pH

### 2. อินทรีย์วัตถุของดิน

การวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินใช้วิธีของ Walkley และ Black ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

#### (1) การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมต ( $K_2Cr_2O_7$ ) 1.0 N โดยละลาย  $K_2Cr_2O_7$  (A.R grade อบที่ 105° ซ. 24 ชั่วโมง) 49.04 กรัมในน้ำกลั่น แล้วทำสารละลายให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

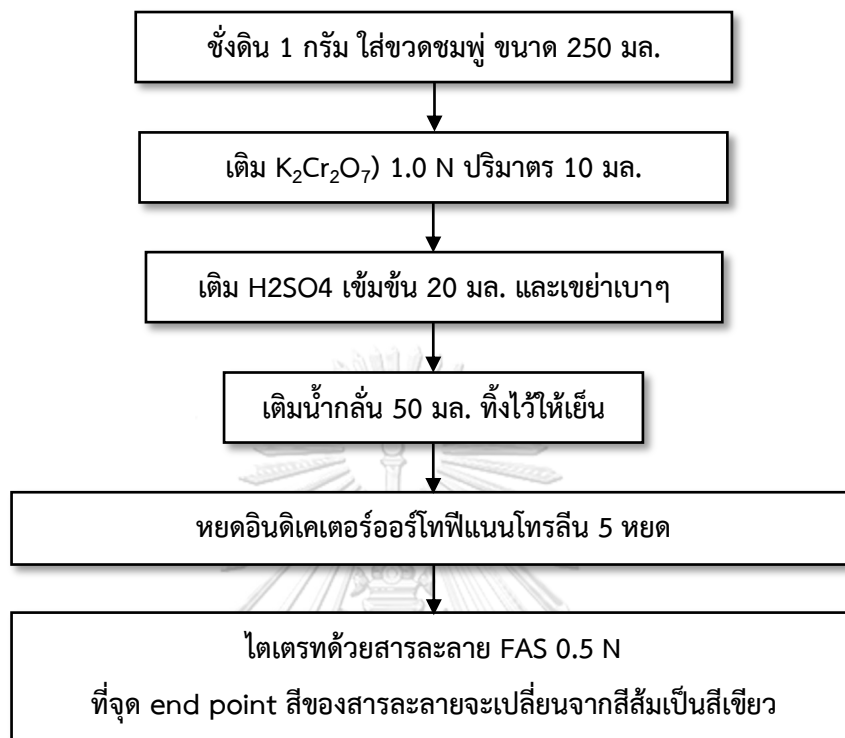
2. สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) 0.5 N โดยละลาย Fe  $(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  196.1 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มล. ที่มีกรด  $H_2SO_4$  เข้มข้นอยู่ 20 มล. แล้วทำให้เป็นสารละลาย 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล

3. สารละลายออร์โทฟีแนนโทรลีน อินดิเคเตอร์ โดยละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ) 0.7 กรัม และออร์โทฟีแนนโทรลีน 1.48 กรัม ในน้ำกลั่น และทำให้มีปริมาตร 100 มล.

#### (2) ขั้นตอนการวิเคราะห์

ชั่งดิน 1 กรัม ใส่ขวดชมพู ขนาด 250 มล. (ปริมาณตัวอย่างดินอาจลดลงได้ตามความเหมาะสมถ้าดินนั้นมีปริมาณอินทรีย์วัตถุสูง สังเกตได้จากสีของดิน ถ้าเป็นดินสีดำหรือ สีน้ำตาล เข้มต้องชั่งดินให้ลดลง แต่ถ้ากรณีเป็นดินทรายต้องเพิ่มปริมาณดินให้มากขึ้นกว่าเดิม) เติมหาละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมต ( $K_2Cr_2O_7$ ) 1.0 N ปริมาตร 10 มล. โดยใช้ Dispenser และเติม  $H_2SO_4$  เข้มข้น 20 มล. โดยใช้ Dispenser พยายามให้กรดไหลลงข้างๆ ขวดให้ชะล้างตัวอย่างลงไปอยู่ในขวดให้หมด เพื่อป้องกันไม่ให้เม็ดดินเกาะติดอยู่ตามข้างขวด เขย่าเบาๆ ให้ตัวอย่างเข้ากันดีเป็นเวลาประมาณ 1 นาที ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายเย็นเท่าอุณหภูมิห้องเติมน้ำกลั่น 50 มล. แล้วทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นหยดอินดิเคเตอร์ออร์โทฟีแนนโทรลีน 5 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลาย FAS 0.5 N ที่จุด

end point สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีส้มเป็นสีเขียว และทำ Blank โดยไม่ต้องใส่ตัวอย่างดิน ดังรูปที่ ก-7



รูปที่ ก-7

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน

### ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* spp.

#### 1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS

Thiosulphate citrate bile-salt sucrose agar (TCBs) 89 กรัม

น้ำปราศจากไอออน 1 ลิตร

ใส่สาร TCBS ลงในขวดขนาด 1 ลิตร และเติมน้ำปราศจากไอออน ตั้งบนเครื่องกวนสาร (Magnetic Stirrer) ตั้งทิ้งไว้จนละลาย แล้วนำไปเวฟในไมโครเวฟจนกระทั่งเดือด จากนั้นเทอาหารบนจานเลี้ยงเชื้อ แล้วเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

#### 2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB

Tryptic Soy Broth (TSB) 30 กรัม

น้ำปราศจากไอออน 1 ลิตร

Sodium Chloride 15 กรัม

เติมน้ำปราศจากไอออนลงในขวด ตั้งบนเครื่องกวนสาร (Magnetic Stirrer) จากนั้นเติม Tryptic Soy Broth (TSB) และ Sodium Chloride ตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งละลายแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อโรคที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

#### 3. ขั้นตอนการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณ *Vibrio* spp. โดยใช้เทคนิค Standard Plate Count ด้วยวิธี Spread Plate โดยการเก็บตัวอย่างดิน 1 กรัม ใส่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.85% ปรับปริมาตรให้เป็น 10 มล. เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer) จากนั้นปิเปตตัวอย่างดินที่ผสมในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.85% ปริมาตร 1 มล. ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.85% ปริมาตร 9 มล. เพื่อหา Dilution ที่เหมาะสม จากนั้นปิเปตตัวอย่างในแต่ละ Dilution มาปริมาณ 0.1 มล. ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเกลี่ยให้ทั่วผิวน้ำของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทำ Dilution ละ 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 30° ซ. เป็นเวลา 10-12 ชม. และทำการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* spp. ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 300 โคโลนี

### ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนตกค้างในน้ำ (Residual Ozone Concentration; ROC)

การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนตกค้างในน้ำเป็นการวัดปริมาณโอโซนที่หลงเหลือในน้ำเพื่อใช้ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียและกำจัดสารอินทรีย์-อนินทรีย์ในน้ำด้วยวิธี Indigo Colorimetric Method เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโอโซนที่ยังหลงเหลืออยู่ในน้ำ (Clesceri และคณะ 1998) ซึ่ง

สามารถตรวจวัดได้ง่าย แม่นยำ รวดเร็ว และได้รับการรับรองจาก Standard Methods Committee (APHA, 2005) มีหลักการคือ โอโซนจะเข้าทำปฏิกิริยาที่บริเวณพันธะคู่ของคาร์บอน (C=C) ในโมเลกุลของสาร Potassium Indigo Trisulfonate ผลจากปฏิกิริยาดังกล่าวจะให้สารละลายสีฟ้าซึ่งแสดงถึงปริมาณโอโซนตกค้างในน้ำที่เกิดขึ้น จากนั้นเมื่อนำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จะสามารถคำนวณความเข้มข้นของโอโซนที่หลงเหลืออยู่ในน้ำได้จากความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงระหว่างตัวอย่างน้ำที่มีการเติมโอโซน (Sample) และตัวอย่างน้ำที่ไม่มีการเติมโอโซน (Blank)

## 1. การเตรียมสารเคมี

### (1) การเตรียมสาร Indigo Stock Solution

เติมน้ำกลั่น 500 มล. และ Phosphoric acid 1 มล. ในขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร เขย่าให้เข้ากันและเติมสาร Potassium indigo trisulfonate 770 มก. จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

การทดสอบสาร Indigo Stock Solution โดยเจือจางที่ 1:100 และวัดค่าการดูดกลืน 0.20 ± 0.010 cm ที่ความยาวคลื่น 600 nm. สารละลาย stock มีความเสถียรประมาณ 4 เดือน เก็บในที่มืด เมื่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 1:100 มีค่าน้อยกว่า 0.16 cm.ให้นำไปทิ้งและเตรียมใหม่

### (2) การเตรียมสาร Indigo Reagent I

เติมสาร Indigo Stock Solution 20 มล. ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร จากนั้นเติมสาร Sodium dihydrogen phosphate 10 กรัม และ Phosphoric acid 7 มล. เขย่าให้เข้ากันและเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เมื่อค่าการดูดกลืนแสงลดลงเหลือน้อยกว่า 80% ของค่าเริ่มต้น โดยปกติภายใน 1 สัปดาห์ให้นำไปทิ้งและเตรียมใหม่

### (3) การเตรียมสาร Indigo Reagent II

เติมสาร Indigo Stock Solution 100 มล. ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร จากนั้นเติมสาร Sodium dihydrogen phosphate 10 กรัม และ Phosphoric acid 7 มล. เขย่าให้เข้ากันและเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เมื่อค่าการดูดกลืนแสงลดลงเหลือน้อยกว่า 80% ของค่าเริ่มต้น โดยปกติภายใน 1 สัปดาห์ให้นำไปทิ้งและเตรียมใหม่

## 2. ขั้นตอนการวิเคราะห์

- ความเข้มข้นโอโซนตกค้างช่วง 0.01 – 0.1 มก. O<sub>3</sub>/ล. เก็บตัวอย่างน้ำที่ผ่านการเติมโอโซนปริมาตร 9 มล. ลงในขวด และเติมสาร **Indigo Reagent I** 1 มล. เขย่าและนำไป

วัดทันที โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ซึ่งต้องเตรียม blank ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยใช้วิธีการเดียวกับการเตรียมตัวอย่าง แต่ใช้น้ำที่ไม่ผ่านการเติมโอโซนแทน

- ความเข้มข้นโอโซนตกค้างช่วง 0.05 - 0.5 มก. O<sub>3</sub>/ล. เก็บตัวอย่างน้ำที่ผ่านการเติมโอโซนปริมาตร 9 มล. ลงในขวด และเติมสาร **Indigo Reagent II** 1 มล. เขย่าและนำไปวัดทันที โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ซึ่งต้องเตรียม blank ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม โดยใช้วิธีการเดียวกับการเตรียมตัวอย่าง แต่ใช้น้ำที่ไม่ผ่านการเติมโอโซนแทน

นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณโอโซนตกค้างในน้ำ จากสูตร

$$\text{ROC (mg-O}_3\text{/L)} = \frac{100 \times \Delta A}{f \times b \times V}$$

โดยที่ ROV = Residual Ozone Concentration

$\Delta A$  = ค่าแตกต่างระหว่างตัวอย่างและ blank

b = Path length of cell (cm)

V = ปริมาตรของตัวอย่าง (มล.)

f = 0.42

**ภาคผนวก ข**  
**ผลการวิเคราะห์สำหรับการทดลองช่วงที่ 1**

**ข.1 ผลการวิเคราะห์สภาพดิน**

ตารางที่ ข-1 การวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนรวม และอินทรีย์วัตถุ

sample	ปริมาณ FAS (ml)			%Organic Carbon	OM
	เริ่ม	หลัง	ใช้ไป		
<b>การวิเคราะห์ครั้งที่ 1</b>					
Blank	1	6.5	5.50	-	-
Sample 1	8.00	12.50	4.50	2.83	4.89
Sample 2	13.00	17.80	4.80	1.98	3.42
Sample 3	17.80	22.40	4.60	2.55	4.40
เฉลี่ย				2.46	4.23
<b>การวิเคราะห์ครั้งที่ 2</b>					
Blank	36.9	42.9	6.00	-	-
Sample 1	13.00	18.20	5.20	2.08	3.58
Sample 2	24.00	29.10	5.10	2.34	4.03
Sample 3	29.10	34.40	5.30	1.82	3.13
เฉลี่ย				2.08	3.58
<b>ค่าเฉลี่ยรวมทั้ง 2 ครั้ง</b>				<b>2.27</b>	<b>3.91</b>
SD				<b>0.27</b>	<b>0.46</b>

ตารางที่ ข-2 การวิเคราะห์ความต้องการออกซิเจนของดิน

เวลา (นาที)	ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (มก./ล.)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0	4.55	4.80	4.86
10	3.70	3.70	4.22
20	3.15	3.50	3.98
30	2.26	3.10	3.68
40	1.98	2.50	3.46
50	1.88	3.00	3.23
60	1.45	2.90	2.99
70	1.11	2.80	2.89
80	1.04	2.80	2.71
90	0.85	2.70	2.56
100	0.72	2.50	2.38
110	0.52	2.60	2.62
120	0.41	2.40	2.63
น้ำหนักดิน (ก.)	11.5	34.5	11.5
Slope	0.0469	0.0239	0.0267
OCR (มก.-ออกซิเจน/ก./วัน)	5.87	1.00	3.34
ค่าเฉลี่ย		4.61	
SD		1.79	

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ ข-3 การวิเคราะห์สัดส่วนแร่ธาตุ (CHNS)

Summarize Results									
Date :	6/15/2023	14:46:55							
Method Name :	CHNS								
Method Filename :	CHNS method.mth								
Group	Sample name	Filename	Inj Date	Inj Time	Weight (g)	%Carbon	%Hydrogen	%Nitrogen	%Sulphur
1	1771	soil	06/14/2023	16:49	0.002177	0.86	0.62	0.73	0.00
1	1771	soil	06/14/2023	17:01	0.002392	0.83	0.73	0.68	0.00
						<b>0.85</b>	<b>0.68</b>	<b>0.71</b>	<b>0.00</b>
2 Sample(s) in Group No : 1									
Component Name	Average	Std. Dev.	% Rel. S. D.	Variance					
Nitrogen	0.71	0.0353535	5.0149	0.0013					
Carbon	0.84	0.02121323	2.5104	0.0005					
Hydrogen	0.68	0.07778175	11.5232	0.0061					
Sulphur	0	0	0	0					



ตารางที่ ข-4 การวิเคราะห์ความชื้นของดิน

sample	น้ำหนัก (กรัม)			%Organic Carbon	OM
	ก่อนอบ	หลังอบ	ผลต่าง		
Sample 1	71.50	62.50	9.00	14.40	1.14
Sample 2	68.06	59.53	8.53	14.33	1.14
Sample 3	67.43	57.23	10.20	17.82	1.18
เฉลี่ย				15.52	1.16

ตารางที่ ข-5 สรุปผลการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติทางกายภาพ เคมี และปริมาณเชื้อก่อโรคของดิน  
พื้นที่บ่อระบบการเลี้ยงกุ้งชาวกลางแจ้ง

ลำดับ	พารามิเตอร์	หน่วย	ผลการวิเคราะห์
1	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	-	7.52±0.11
2	ความเค็ม	ส่วนในพันส่วน	5 – 10
3	อินทรีย์วัตถุ	ร้อยละโดยน้ำหนัก	3.91±0.46
4	อินทรีย์คาร์บอนรวม	ร้อยละโดยน้ำหนัก	2.27±0.27
5	ความต้องการออกซิเจนของดิน	มก.-ออกซิเจน/ก./วัน	4.61±1.79
6	สัดส่วนแร่ธาตุ		
	- คาร์บอน	ร้อยละโดยน้ำหนัก	0.85±0.02
	- ไฮโดรเจน	ร้อยละโดยน้ำหนัก	0.68±0.08
	- ไนโตรเจน	ร้อยละโดยน้ำหนัก	0.71±0.04
	- ซัลเฟอร์	ร้อยละโดยน้ำหนัก	0
7	ความชื้นของดิน	ร้อยละ	15.52
8	เชื้อก่อโรคกลุ่ม <i>Vibrio</i>	ซีเอฟยู/ก.	1.0±0.0×10 <sup>3</sup>

**ภาคผนวก ค**  
**ผลการวิเคราะห์สำหรับการทดลองครั้งที่ 2**

**ค.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำที่ช่วงเวลาต่างๆ และจุดอิ่มตัว**

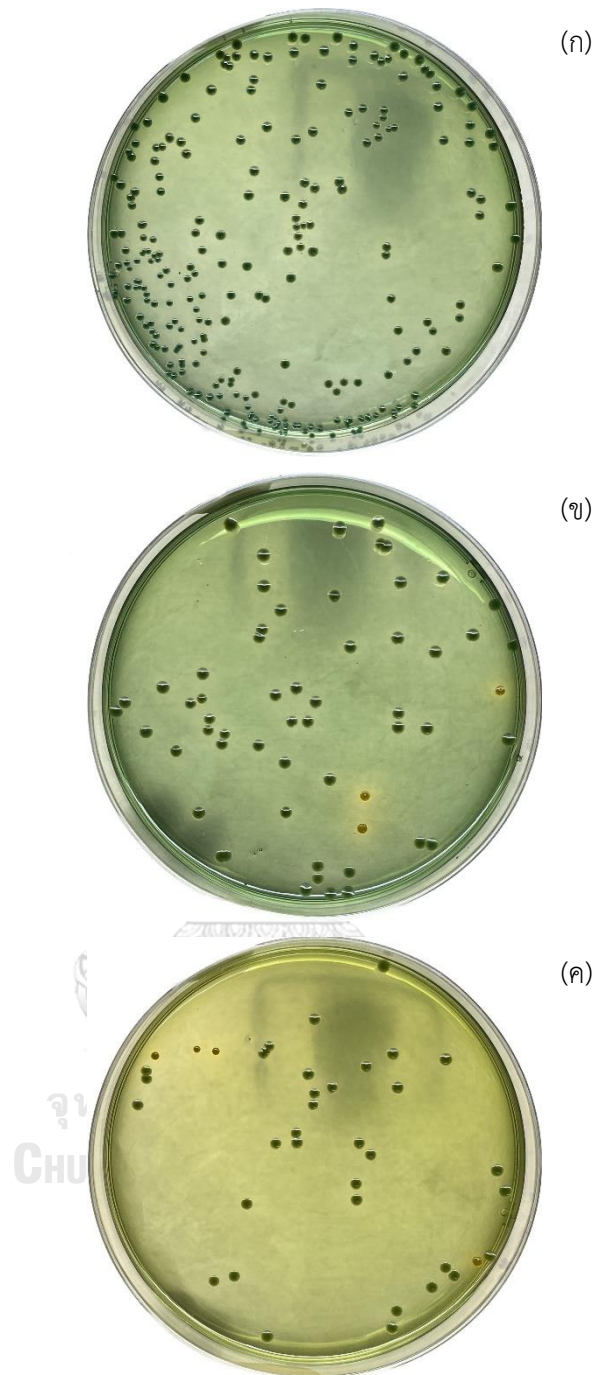
ตารางที่ ค-1 ความเข้มข้นไอโซนตกค้างในน้ำที่ช่วงเวลาต่างๆ

เวลา (นาท)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD
1	0.26	0.29	0.32	0.29	0.03
2	0.19	0.16	0.13	0.16	0.03
3	0.32	0.37	0.40	0.36	0.04
4	0.26	0.24	0.21	0.24	0.03
5	0.37	0.45	0.56	0.46	0.09
6	0.61	0.74	0.71	0.69	0.07
7	0.71	0.63	0.58	0.64	0.07
8	0.63	0.69	0.61	0.64	0.04
9	0.56	0.53	0.69	0.59	0.09
10	0.66	0.66	0.74	0.69	0.05
15	1.11	1.16	1.19	1.16	0.04
20	1.38	1.43	1.40	1.40	0.03
25	1.43	1.43	1.53	1.46	0.06
30	1.46	1.53	1.51	1.50	0.04
35	1.48	1.48	1.46	1.47	0.02
40	1.38	1.35	1.35	1.36	0.02
50	1.46	1.43	1.40	1.43	0.03
60	1.43	1.35	1.40	1.39	0.04

ค.2 การศึกษาความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำและระยะเวลาการสัมผัสต่อปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ในดิน และประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* ในดิน

ตารางที่ ค-2 ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำและระยะเวลาการสัมผัสต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* ในดิน และประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อก่อโรคลกลุ่ม *Vibrio* ในดิน

ชุดการทดลอง	เวลาสัมผัส (นาที)	ปริมาณเชื้อก่อโรคลกลุ่ม <i>Vibrio</i> (CFU/g)		%Removal	
		เฉลี่ย	SD	เฉลี่ย	SD
Control	0	153,000	15,716.2	-	-
	5	150,750	69,650.0	1.5	45.5
	10	160,000	82,613.6	-4.6	54.0
	30	150,000	0.0	2.0	0.0
	60	163,250	30,759.1	-6.7	20.1
ROC 0.3 mg/L	0	100,000	0.0	-	-
	5	32,500	10,606.6	67.5	10.6
	10	10,000	5,000.0	90.0	5.0
	30	11,667	11,547.0	88.3	11.5
	60	0	0.0	100	0.0
ROC 0.6 mg/L	0	135,000	21,213.2	-	-
	5	57,000	0.0	57.8	0.0
	10	57,500	0.0	57.4	0.0
	30	25,000	35,355.3	81.5	26.2
	60	0	0.0	100	0.0
ROC 1.0 mg/L	0	175,000	35,355.3	-	-
	5	57,000	12,124.4	67.4	6.9
	10	32,000	0.0	81.7	0.0
	30	2,500	3,535.5	98.6	2.0
	60	0	0.0	100	0.0
ROC 1.5 mg/L	0	55,000	7,071.1	-	-
	5	17,000	0.0	69.1	0.0
	10	12,500	3,535.5	77.3	6.4
	30	16,750	7,424.6	69.5	13.5
	60	0	0.0	100	0.0



รูปที่ ค-1 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* บนอาหาร TCBS  
(ก) Dilution  $10^{-1}$  (ข) Dilution  $10^{-2}$  และ (ค) Dilution  $10^{-3}$

## ภาคผนวก ง

## ผลการวิเคราะห์สำหรับการทดลองครั้งที่ 3

ง.1 ผลการเตรียมโอโซนละลายน้ำที่ความเข้มข้นโอโซนตกค้าง 1.0 มก./ล. ในน้ำเค็มปริมาตร 50 ลิตร

ตารางที่ ง-1 ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำที่ช่วงเวลาต่างๆ

เวลา (นาที)	ความเข้มข้นโอโซนตกค้างในน้ำ (มก./ล.)				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD
10	0.24	0.32	0.42	0.33	0.09
15	0.63	0.66	0.69	0.66	0.03
20	1.01	0.98	1.06	1.01	0.04
25	1.22	1.24	1.27	1.24	0.03
30	1.77	1.80	1.80	1.79	0.02

ง.2 การประเมินอัตราการกำจัดไนโตรเจนของดิน

ตารางที่ ง-2 ความเข้มข้นของแอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต ระหว่างชุดควบคุมที่ไม่มีการบำบัดดินด้วยโอโซนและชุดทดลองที่ใช้โอโซนตกค้าง  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. ในการบำบัดดิน

ชุดการทดลอง	เวลา (ชม.)	แอมโมเนีย		ไนไตรต์		ไนเตรต	
		ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าเฉลี่ย	SD
ชุดควบคุม	0	1.13	0.12	0.02	0.00	2.66	0.04
	1.5	1.05	0.13	0.09	0.06	3.12	0.13
	3.0	0.81	0.13	0.23	0.07	3.18	0.00
	4.5	0.63	0.16	0.29	0.05	3.70	0.15
	6.0	0.51	0.03	0.34	0.01	3.74	0.35
	7.5	0.36	0.20	0.51	0.00	3.72	0.57
ชุดทดลอง	0	1.13	0.17	0.01	0.00	2.47	0.02
	1.5	0.94	0.21	0.06	0.03	2.74	0.01
	3.0	0.69	0.10	0.10	0.01	2.95	0.13
	4.5	0.65	0.04	0.14	0.04	2.96	0.00

ตารางที่ ง-2 ความเข้มข้นของแอมโมเนีย ไนไตรต์ และไนเตรต ระหว่างชุดควบคุมที่ไม่มีการบำบัดดินด้วยโอโซนและชุดทดลองที่ใช้โอโซนตกค้าง  $1.01 \pm 0.04$  มก./ล. ในการบำบัดดิน

ชุดการทดลอง	เวลา (ชม.)	แอมโมเนีย		ไนไตรต์		ไนเตรต	
		ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าเฉลี่ย	SD
	6.0	0.64	0.13	0.22	0.05	3.16	0.12
7.5	0.55	0.10	0.28	0.05	3.24	0.29	

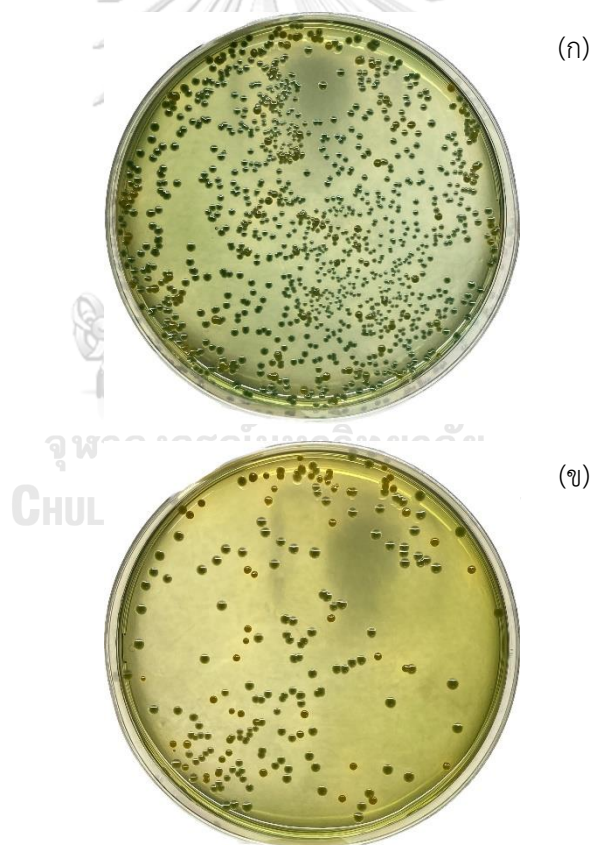
### ง.3 ผลการประเมินประสิทธิภาพการทำลายเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio*

ตารางที่ ง-3 ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลองในดิน

เวลา (วัน)	ปริมาณเชื้อ <i>Vibrio</i>					
	ปริมาณเชื้อเริ่มต้น		ชุดควบคุม		ชุดทดลอง	
	CFU/มก.	SD	CFU/มก.	SD	CFU/มก.	SD
0	$2.17 \times 10^5$	$2.47 \times 10^5$	$2.00 \times 10^5$	$2.12 \times 10^5$	$6.00 \times 10^3$	$1.41 \times 10^3$
5	-	-	$1.17 \times 10^5$	$0.07 \times 10^5$	$6.5 \times 10^3$	$2.12 \times 10^3$
10	-	-	$2.82 \times 10^5$	$1.34 \times 10^5$	$4.66 \times 10^4$	$1.61 \times 10^4$
17	-	-	$5.25 \times 10^5$	$3.54 \times 10^5$	$4.30 \times 10^4$	$0.82 \times 10^4$
24	-	-	$9.48 \times 10^5$	$1.73 \times 10^5$	$8.18 \times 10^4$	$0.95 \times 10^4$
31	-	-	$8.10 \times 10^5$	$0.85 \times 10^5$	$4.65 \times 10^4$	$0.49 \times 10^4$
45	-	-	$7.50 \times 10^5$	$3.54 \times 10^5$	$1.25 \times 10^5$	$0.29 \times 10^5$

ตารางที่ ง-4 ปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลองในน้ำ

เวลา (วัน)	ปริมาณเชื้อ <i>Vibrio</i>			
	ชุดควบคุม		ชุดทดลอง	
	CFU/g.	SD	CFU/g.	SD
0	0	-	0	-
5	0	-	0	-
10	$5.00 \times 10^2$	-	$6.50 \times 10^3$	$2.12 \times 10^3$
17	$5.00 \times 10^3$	$1.77 \times 10^3$	$5.75 \times 10^3$	$1.06 \times 10^3$
24	$5.50 \times 10^4$	-	$4.25 \times 10^3$	$1.06 \times 10^3$
31	$4.00 \times 10^4$	-	$2.50 \times 10^4$	$0.71 \times 10^4$
45	$6.00 \times 10^4$	-	$1.02 \times 10^4$	$0.64 \times 10^4$



รูปที่ ง-1 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อก่อโรคกลุ่ม *Vibrio* (ก) ในดิน และ (ข) ในน้ำ บนอาหาร TCBS

#### ง.4 การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริงระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

ตารางที่ ง-5 การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริงระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	พารามิเตอร์	ชุดควบคุม		ชุดทดลอง	
		ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าเฉลี่ย	SD
0	น้ำหนัก (ก.)	9.41	0.45	10.18	0.50
	ความยาว (ซม.)	10.64	0.20	10.96	0.20
	ความหนาแน่น (ก./ลบ.ม.)	0.94	0.73	1.02	0.06
	อัตราการเจริญเติบโต (ก./วัน)	-	-	-	-
	อัตราการรอด (ร้อยละ)	-	-	-	-
	อัตราการแลกเนื้อ	-	-	-	-
7	น้ำหนัก (ก.)	8.92	0.37	10.54	0.18
	ความยาว (ซม.)	10.59	0.30	11.27	0.24
	ความหนาแน่น (ก./ลบ.ม.)	0.73	0.15	0.87	0.10
	อัตราการเจริญเติบโต (ก./วัน)	-	-	-	-
	อัตราการรอด (ร้อยละ)	-	-	-	-
	อัตราการแลกเนื้อ	-	-	-	-
14	น้ำหนัก (ก.)	9.56	0.45	10.51	0.35
	ความยาว (ซม.)	11.05	0.22	11.33	0.06
	ความหนาแน่น (ก./ลบ.ม.)	0.73	0.15	0.87	0.10
	อัตราการเจริญเติบโต (ก./วัน)	0.01	0.01	0.02	0.01
	อัตราการรอด (ร้อยละ)	76.67	20.82	83.33	15.28
	อัตราการแลกเนื้อ	-	-	-	-
21	น้ำหนัก (ก.)	9.59	0.12	10.58	0.52
	ความยาว (ซม.)	10.91	0.06	11.48	0.18
	ความหนาแน่น (ก./ลบ.ม.)	0.89	0.04	1.06	0.05
	อัตราการเจริญเติบโต (ก./วัน)	-	-	-	-
	อัตราการรอด (ร้อยละ)	-	-	-	-
	อัตราการแลกเนื้อ	-	-	-	-



ตารางที่ ง-5 การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริงระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	พารามิเตอร์	ชุดควบคุม		ชุดทดลอง	
		ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าเฉลี่ย	SD
31	น้ำหนัก (ก.)	11.37	0.28	11.85	0.75
	ความยาว (ซม.)	11.42	0.17	11.88	0.18
	ความหนาแน่น (ก./ลบ.ม.)	1.14	0.06	1.19	0.10
	อัตราการเจริญเติบโต (ก./วัน)	0.06	0.02	0.05	0.02
	อัตราการรอด (ร้อยละ)	90.00	10.00	90.00	10.00
	อัตราการแลกเนื้อ	3.90	1.40	4.33	0.92
45	น้ำหนัก (ก.)	14.85	0.34	15.82	0.77
	ความยาว (ซม.)	12.40	0.09	13.12	0.43
	ความหนาแน่น (ก./ลบ.ม.)	1.49	0.09	1.58	0.13
	อัตราการเจริญเติบโต (ก./วัน)	0.12	0.03	0.13	0.02
	อัตราการรอด (ร้อยละ)	96.30	6.42	92.50	6.61
	อัตราการแลกเนื้อ	1.96	0.25	1.96	0.20



(ก)



(ข)

รูปที่ ง-2 ตัวอย่างการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม (ก) ชุดควบคุม (ข) ชุดทดลอง  
ในบ่อดินจำลองที่สภาวะเหมือนจริงระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

### ง.5 การเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ทางคุณภาพน้ำ

ตารางที่ ง-6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	ชุดควบคุม					ชุดทดลอง				
	C 1	C 2	C 3	เฉลี่ย	SD	T 1	T 2	T 3	เฉลี่ย	SD
0	2.30	0.45	3.21	0.45	0.03	2.91	2.66	3.20	2.92	0.27
1	-0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.04	0.02	0.07	0.04	0.02
3	-0.11	-0.12	-0.06	0.00	0.03	0.03	0.12	-0.08	0.02	0.10
5	-0.11	-0.10	-0.11	0.00	0.01	-0.11	-0.11	-0.12	0.00	0.01
10	0.09	0.09	0.12	0.10	0.02	0.10	0.08	0.16	0.11	0.04
12	0.05	0.08	0.07	0.07	0.02	0.06	0.04	0.04	0.05	0.01
14	0.05	0.09	0.12	0.09	0.04	0.07	0.11	0.11	0.10	0.02
21	0.05	0.10	0.14	0.10	0.05	0.07	0.10	0.15	0.11	0.04
31	0.10	0.12	0.11	0.11	0.01	0.10	0.13	0.12	0.12	0.02
45	0.13	0.14	0.13	0.13	0.01	0.15	0.16	0.15	0.15	0.01
ค่าเฉลี่ยรวม				0.07	0.05	ค่าเฉลี่ยรวม			0.08	0.05

ตารางที่ ง-7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	ชุดควบคุม					ชุดทดลอง				
	C 1	C 2	C 3	เฉลี่ย	SD	T 1	T 2	T 3	เฉลี่ย	SD
0	2.06	1.89	1.39	1.72	0.35	1.32	1.59	1.19	1.37	0.21
1	1.99	1.18	1.24	1.47	0.45	1.57	2.06	1.15	1.36	0.30
3	1.58	0.96	1.94	1.27	0.50	1.57	0.24	1.16	0.99	0.68
5	0.27	2.05	0.24	0.85	1.04	0.34	0.14	0.44	0.30	0.15
10	0.13	1.13	0.85	0.71	0.52	0.05	0.04	1.06	0.38	0.58
12	0.07	0.11	1.39	0.52	0.75	0.17	0.07	0.29	0.18	0.11
14	0.37	0.17	0.19	0.24	0.11	0.21	0.12	0.13	0.15	0.05
21	0.19	0.16	0.16	0.17	0.02	0.10	0.12	0.16	0.13	0.03
31	0.13	0.13	0.14	0.13	0.01	0.11	0.1	0.11	0.11	0.01
45	0.08	0.12	0.09	0.10	0.02	0.08	0.1	0.12	0.10	0.02
ค่าเฉลี่ยรวม				0.72	0.60	ค่าเฉลี่ยรวม			0.51	0.52

ตารางที่ ง-8 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรตในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม  
ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	ชุดควบคุม					ชุดทดลอง				
	C 1	C 2	C 3	เฉลี่ย	SD	T 1	T 2	T 3	เฉลี่ย	SD
0	4.14	3.63	2.14	3.14	1.04	1.25	3.09	1.71	2.02	0.96
1	5.79	8.42	6.26	6.82	1.40	5.63	4.54	7.51	5.89	1.33
3	7.81	9.05	6.74	8.43	1.16	7.32	7.61	9.64	8.19	1.26
5	10.24	9.26	8.24	9.25	1.00	8.75	8.39	10.64	9.26	1.21
10	11.25	10.74	10.01	10.67	0.62	11.01	9.99	10.75	10.58	0.53
12	11.21	11.44	9.00	11.33	0.16	10.78	9.80	11.23	11.00	0.32
14	11.36	11.36	11.49	11.40	0.08	11.05	11.19	11.29	11.18	0.12
21	11.66	11.60	11.63	11.63	0.03	11.43	11.49	11.6	11.51	0.09
31	12.25	12.26	12.29	12.27	0.02	12.13	12.21	12.15	12.16	0.04
45	12.44	12.45	12.47	12.45	0.02	12.31	12.28	12.37	12.32	0.05
ค่าเฉลี่ยรวม				9.74	2.93	ค่าเฉลี่ยรวม			9.41	3.27

ตารางที่ ง-9 ผลการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม  
ระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	ชุดควบคุม					ชุดทดลอง				
	C 1	C 2	C 3	เฉลี่ย	SD	T 1	T 2	T 3	เฉลี่ย	SD
0	8.23	8.16	8.04	8.14	0.10	7.98	7.86	8.01	7.95	0.08
7	6.40	6.51	6.49	6.47	0.06	6.58	6.38	6.44	6.47	0.10
14	6.37	6.34	6.42	6.38	0.04	6.31	6.32	6.45	6.36	0.08
21	6.73	6.51	6.34	6.53	0.20	6.20	6.17	6.11	6.16	0.05
24	6.65	6.69	6.77	6.70	0.06	6.65	6.23	6.31	6.40	0.22
31	6.57	6.49	6.00	6.35	0.31	6.42	6.17	6.21	6.27	0.13
45	6.61	6.35	6.18	6.38	0.22	6.24	6.27	6.39	6.30	0.08

ตารางที่ ง-10 ผลการวิเคราะห์ค่าพีเอชในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	ชุดควบคุม					ชุดทดลอง				
	C 1	C 2	C 3	เฉลี่ย	SD	T 1	T 2	T 3	เฉลี่ย	SD
0	7.63	7.59	7.50	7.57	0.07	8.35	7.83	7.76	7.98	0.32
7	7.10	7.11	7.11	7.11	0.01	7.05	7.07	7.11	7.08	0.03
14	7.43	7.56	7.71	7.57	0.14	7.23	7.43	7.47	7.38	0.13
21	7.69	7.89	7.81	7.80	0.10	7.63	7.61	7.58	7.61	0.03
24	7.90	7.90	7.93	7.91	0.02	8.18	8.06	7.99	8.08	0.10
31	8.24	8.17	8.24	8.22	0.04	8.50	8.39	8.26	8.38	0.12
45	7.59	7.63	7.48	7.57	0.08	7.81	7.74	7.92	7.82	0.09

ตารางที่ ง-11 ผลการวิเคราะห์สภาพความเป็นต่างในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	ชุดควบคุม					ชุดทดลอง				
	C 1	C 2	C 3	เฉลี่ย	SD	T 1	T 2	T 3	เฉลี่ย	SD
0	170.00	180.00	180.00	176.67	5.77	150.00	180.00	180.00	170.00	17.32
7	150.00	160.00	160.00	156.67	5.77	160.00	170.00	170.00	166.67	5.77
14	80.00	80.00	80.00	80.00	0.00	70.00	70.00	70.00	70.00	0.00
21	150.00	160.00	150.00	153.33	5.77	140.00	150.00	130.00	140.00	10.00
24	150.00	150.00	150.00	150.00	0.00	160.00	170.00	170.00	166.67	5.77
31	120.00	120.00	150.00	130.00	17.32	150.00	150.00	130.00	143.33	11.55
45	150.00	150.00	150.00	150.00	0.00	150.00	140.00	150.00	146.67	5.77

ตารางที่ ง-12 ผลการวิเคราะห์อุณหภูมิของน้ำในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	ชุดควบคุม					ชุดทดลอง				
	C 1	C 2	C 3	เฉลี่ย	SD	T 1	T 2	T 3	เฉลี่ย	SD
0	30.10	30.20	30.50	30.27	0.21	29.90	29.70	30.10	29.90	0.20
7	28.90	29.50	29.30	29.23	0.31	29.10	28.90	29.10	29.03	0.12
14	29.70	29.30	29.50	29.50	0.20	29.90	29.10	29.30	29.43	0.42
21	28.70	28.90	29.10	28.90	0.20	29.10	29.30	29.50	29.30	0.20
24	28.70	28.70	28.70	28.70	0.00	27.80	28.40	28.70	28.30	0.46
31	28.80	28.70	28.80	28.77	0.06	29.70	29.30	29.10	29.37	0.31
45	28.60	28.90	29.10	28.87	0.25	29.00	29.20	29.30	29.17	0.15

ตารางที่ ง-13 ผลการวิเคราะห์ความเค็มในถังเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	ชุดควบคุม					ชุดทดลอง				
	C 1	C 2	C 3	เฉลี่ย	SD	T 1	T 2	T 3	เฉลี่ย	SD
0	11.00	10.00	10.00	10.33	0.58	10.00	10.00	10.00	10.00	0.00
7	11.00	11.00	10.00	10.67	0.58	10.00	11.00	11.00	10.67	0.58
14	11.00	12.00	11.00	11.33	0.58	11.00	11.00	11.00	11.00	0.00
21	11.00	12.00	11.00	11.33	0.58	11.00	11.00	12.00	11.33	0.58
24	11.00	12.00	12.00	11.67	0.58	11.00	11.00	12.00	11.33	0.58
31	10.00	10.00	10.00	10.00	0.00	10.00	10.00	10.00	10.00	0.00
45	10.00	11.00	11.00	10.67	0.58	11.00	10.00	10.00	10.33	0.58

ตารางที่ ง-14 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมในถึงเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	ชุดควบคุม					ชุดทดลอง				
	C 1	C 2	C 3	เฉลี่ย	SD	T 1	T 2	T 3	เฉลี่ย	SD
0	200.00	200.00	200.00	200.00	0.00	200.00	200.00	200.00	200.00	0.00
7	120.00	120.00	100.00	113.33	11.55	120.00	120.00	100.00	113.33	11.55
14	200.00	200.00	200.00	200.00	0.00	200.00	200.00	200.00	200.00	0.00
21	200.00	200.00	200.00	200.00	0.00	200.00	240.00	200.00	213.33	23.09
24	120.00	160.00	120.00	133.33	23.09	120.00	120.00	120.00	120.00	0.00
31	200.00	240.00	200.00	213.33	23.09	200.00	200.00	240.00	213.33	23.09
45	200.00	240.00	200.00	213.33	23.09	200.00	160.00	200.00	186.67	23.09

ตารางที่ ง-15 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแมกนีเซียมในถึงเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง

วัน	ชุดควบคุม					ชุดทดลอง				
	C 1	C 2	C 3	เฉลี่ย	SD	T 1	T 2	T 3	เฉลี่ย	SD
0	500.00	500.00	500.00	500.00	0.00	500.00	500.00	500.00	500.00	0.00
7	300.00	300.00	300.00	300.00	0.00	300.00	300.00	300.00	300.00	0.00
14	500.00	600.00	500.00	533.33	57.74	500.00	500.00	500.00	500.00	0.00
21	500.00	400.00	500.00	466.67	57.74	500.00	500.00	500.00	500.00	0.00
24	300.00	300.00	300.00	300.00	0.00	300.00	300.00	300.00	300.00	0.00
31	300.00	300.00	300.00	300.00	0.00	300.00	300.00	300.00	300.00	0.00
45	500.00	500.00	500.00	500.00	0.00	500.00	400.00	500.00	466.67	57.74

## ภาคผนวก จ

### ตัวอย่างรายการคำนวณ

#### จ.1 การคำนวณปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มวิบริโอ

การคำนวณปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มวิบริโอ ละลายตัวอย่างดิน 1 ก. ใน สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 5 มล. คิดเป็นความเข้มข้นดิน 0.2 ก./มล. ปิเปตสารละลายดินปริมาตร 0.1 มล. ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS สามารถคำนวณปริมาณเชื้อก่อโรคกลุ่มวิบริโอ ได้ดังนี้

$$\begin{aligned}
 \text{ตัวอย่างดินในสารละลาย 0.1 มล.} &= 0.2 \text{ ก./มล.} \times 0.1 \text{ มล.} \\
 &= 0.02 \text{ ก.} \\
 \text{ปริมาณเชื้อวิบริโอ (ซีเอฟยู/ก.)} &= \frac{\text{จำนวน Colony} \times \text{Dilution}}{0.02 \text{ ก.}} \\
 \text{(ตัวอย่าง) ปริมาณเชื้อวิบริโอ (ซีเอฟยู/ก.)} &= \frac{\text{จำนวน Colony} \times \text{Dilution}}{0.02 \text{ ก.}} \\
 &= \frac{135 \text{ Colony} \times 10^2}{0.02 \text{ ก.}} \\
 &= 6.75 \times 10^5 \text{ ซีเอฟยู/ก.}
 \end{aligned}$$

#### จ.2 อัตราการบำบัดแอมโมเนียต่อวัน (มก.-ไนโตรเจน/ล./วัน)

คำนวณจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ในระบบกับเวลา 7.5 ชม.

$$\begin{aligned}
 &= \text{ความชันของกราฟ (มก.-ไนโตรเจน/ล./วัน)} \\
 &= 0.76 \text{ มก.-ไนโตรเจน/ล./วัน}
 \end{aligned}$$

#### จ.3 น้ำหนักสัตว์น้ำเฉลี่ย (ก./ตัว) (คำนวณจากชุดควบคุม)

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{น้ำหนักสัตว์น้ำทั้งหมด (ก./บ่อ)}}{\text{จำนวนสัตว์น้ำ (ตัว/บ่อ)}} \\
 &= (107.4 \text{ ก./บ่อ}) / (10 \text{ ตัว/บ่อ}) \\
 &= 10.7 \text{ ก./ตัว}
 \end{aligned}$$

#### จ.4 ความยาวสัตว์น้ำเฉลี่ย (ก./ตัว) (คำนวณจากชุดควบคุม)



$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{ความยาวสัตว์น้ำทั้งหมด (ชม./บ่อ)}}{\text{จำนวนสัตว์น้ำ (ตัว/บ่อ)}} \\
 &= (112.4 \text{ ก./บ่อ}) / (10 \text{ ตัว/บ่อ}) \\
 &= 11.2 \text{ ก./ตัว}
 \end{aligned}$$

**จ.5 อัตราการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำต่อวัน (ก./ตัว/วัน) (คำนวณจากชุดควบคุม)**

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{น้ำหนักสัตว์น้ำเฉลี่ยสิ้นสุด (ก./ตัว)} - \text{น้ำหนักสัตว์น้ำเฉลี่ยเริ่มต้น (ก./ตัว)}}{\text{จำนวนวันที่ทำการทดลอง (วัน)}} \\
 &= [(10.74 \text{ ก./ตัว}) - (9.59 \text{ ก./ตัว})] / (31 \text{ วัน}) \\
 &= 0.04 \text{ ก./ตัว/วัน}
 \end{aligned}$$

**จ.6 อัตราการรอดตายของสัตว์น้ำ (ร้อยละ)**

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{จำนวนสัตว์น้ำที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ตัว/บ่อ)} \times 100}{\text{จำนวนสัตว์น้ำเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (ตัว/บ่อ)}} \\
 &= [(8 \text{ ตัว/บ่อ}) \times 100] / (10 \text{ ตัว/บ่อ}) \\
 &= \text{ร้อยละ } 80
 \end{aligned}$$

**จ.7 อัตราการแลกเนื้อ**

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{น้ำหนักรวมของอาหารสัตว์น้ำที่ให้ในการทดลองทั้งหมด (ก.)}}{\text{น้ำหนักรวมของสัตว์น้ำที่เพิ่มขึ้นทั้งหมด (ก.)}} \\
 &= (62 \text{ ก.}) / (11.5 \text{ ก.}) \\
 &= 5.39
 \end{aligned}$$

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	มงคล มรัตน์ไพโร
วัน เดือน ปี เกิด	10 พฤษภาคม 2534
สถานที่เกิด	จังหวัดร้อยเอ็ด
ที่อยู่ปัจจุบัน	15 หมู่ 6 ต.วารีสวัสดิ์ อ.พนมไพร จ.ร้อยเอ็ด



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY