การบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) แบบพัฒนา โดยใช้แพลงก์ตอนพืช

Treatment of Wastewater from Intensive - culture of Black Tiger Prawn (*Penaeus monodon*) by Phytoplankton

สุภาพร แซ่อึ่ง

Supaporn Saeoung

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biotechnology

Prince of Songkla University

2539

วิ.

เลขหมู่ TD796. ส974 2539 ฉ.2

Bib Key 42467

ชื่อวิทยานิพนธ์ การบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) แบบพัฒนา โดยใช้แพลงก์ตอนพืช

ผู้เขียน นางสาวสุภาพร แซ่อึ่ง

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ พิมพรรณ ตันสกุล)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา อังสุภานิช)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ พิมพรรณ ตันสกุล)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา อังสุภานิช)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พูนสุข ประเสริฐสรรพ์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เริงชัย ตันสกุล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุนทร โสตถิพันธุ์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) แบบพัฒนาโดยใช้แพลงก์ตอนพืช

ผู้เขียน นางสาวสุภาพร แซ่อึ่ง

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2539

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพ และทางเคมีของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาและบ่อพักน้ำทิ้งตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 1 รุ่น (ประมาณ 4 เดือน) พบว่ามีความเค็มเฉลี่ย 26 และ 22 ส่วนในพัน, ค่าความเป็นกรด-ด่าง 8.05 และ 7.75, ความโปร่งใส 35.5 และ 23.75 เซนติเมตร และออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่าเฉลี่ย 1.4 และ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสีของน้ำส่วนใหญ่จะมีสีเขียว เมื่อทำการศึกษาชนิดของแพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาและบ่อพักน้ำทิ้งจากการเลี้ยง 1 รุ่น (4 ช่วงของการถ่ายน้ำ) พบแพลงก์ตอนพืช 6 ดิวิชั่น 39 สกุล เมื่อนำแพลงก์ตอนพืชมาแยกโดยใช้วิธีการแยกบนจานเพาะเชื้อและการแยกโดยใช้ไมโครปิเปตสามารถแยกแพลงก์ตอนพืชได้ 7 สกุล เป็นแพลงก์ตอนพืชสีเขียว 1 สกุล (*Chlorella*), สีน้ำตาลแกมทอง 1 สกุล (*Chroomonas*), สีเขียวแกมน้ำเงิน 1 สกุล (*Phormidium*), และไดอะตอม 4 สกุล (*Skeletonema, Chaetoceros, Pleurosigma* และ *Navicula*) มีเพียง 4 สกุล ที่เหมาะสมในการศึกษาขั้นต่อไปคือ *Chlorella, Chroomonas, Skeletonema* และ *Chaetoceros*

คัดเลือกแพลงก์ตอนพืชโดยการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 สกุลในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne ที่ความเข้มแสง 4,700 และ 6,300 ลักซ์ พบว่า *Chlorella* และ *Chroomonas* เติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 6,300 ลักซ์ ส่วน *Skeletonema* และ *Chaetoceros* เติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ เมื่อนำแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 สกุล มาเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ความเข้มแสงดังกล่าวข้างต้น พบว่า *Chroomonas* มีการอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.16 ต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 6 วัน

ชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารอาหารที่เติมลงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ใช้สำหรับเลี้ยง *Chroomonas* พบว่า *Chroomonas* สามารถใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดีที่กว่าโซเดียมไนเตรท, แอมโมเนียมไนเตรท และโพแทสเซียมไนเตรท ความเข้มข้น

ที่เหมาะสมของยูเรียที่เติมลงในน้ำทิ้งคือ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อเติมฟอสฟอรัสไม่มีผลทำให้การเติบโตของ *Chroomonas*สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติมยูเรียเพียงอย่างเดียว

ทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมและไม่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Chroomonas* สามารถใช้ไนไตรท์ ไนเตรท และแอมโมเนียได้ทั้งหมดภายใน 1 วัน และใช้ออร์โธฟอสเฟตในน้ำทิ้งหมดภายใน 3 วัน ส่วนไนโตรเจนทั้งหมดและ ซีโอดี *Chroomonas* สามารลดลงได้ร้อยละ 20.82 - 40.27 และร้อยละ 36.14 - 43.66 ภายใน 4 วัน เมื่อทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของ *Chroomonas* กับกุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาร์วา 25 พบว่า ไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุมซึ่งไม่เติม *Chroomonas*

Thesis Title Treatment of Wastewater from Intensive-culture of Black Tiger Prawn (*Penaeus monodon*) by Phytoplankton

Author Miss Supaporn Saeoung

Major Program Biotechnology

Academic Year 1996

Abstract

Physico-chemical parameters of water from intensive-culture black tiger prawn ponds and wastewater pond were analysed for one crop (4 months). The average of water salinity, pH, transparency and dissolved oxygen of water and wastewater were 26 and 22 ppt, 8.05 and 7.75, 35.5 and 23.75 cm, 1.4 and 0.75 $mg.l^{-1}$, respectively and the color of water is relatively green. Phytoplankton of 39 genera involving 6 divisions was recorded. Seven algal genera, .i.e. green algae (*Chlorella*) , golden-brown algae (*Chroomonas*), blue-green algae (*Phormidium*), diatoms (*Skeletonema, Chaetoceros, Pleurosigma* and *Navicula*) were isolated.

Four genera were selected to determine their growth rate by culturing in Walne medium at light intensity of 4,700 and 6,300 lux. *Chlorella* and *Chroomonas* required high light intensity (6,300 lux) whereas *Skeletonema* and *Chaetoceros* gave better growth in lower light intensity (4,700 lux). *Chroomonas* exhibited the highest specific growth rate of 0.16 per hour among selected genera cultured for 6 days in wastewater samples from ponds of black tiger prawn cultures.

Nutrient requirement and optimum concentrations of nutrient added in wastewater for growth of *Chroomonas* were investigated. Urea was found to be a better nitrogen source for growth than sodium nitrate, ammonium nitrate and potassium nitrate. The optimum concentration of urea on *Chroomonas* growth was 30 $mg.l^{-1}$, whereas the addition of phosphorus was unable to promote algal growth.

Wastewater from intensive-culture black tiger prawn (added and not added 30 $mg.l^{-1}$ urea) was treated by *Chroomonas*. *Chroomonas* can use all of nitrite, nitrate and ammonia within one day and three days for orthophosphate. Total nitrogen and COD were reduced by 20.82 - 40.27 % and 36.14 - 43.66 % respectively within 4 days. The toxicity of *Chroomonas* was primarily .tested using black tiger prawn larvae (postlarvae 25). It was founded that there was no difference compared to the control (no *Chroomonas*).

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ พิมพรรณ ตันสกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.เสาวภา อังสุภานิช กรรมการที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาแนะนำในการค้นคว้าวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ กรรมการผู้แทนคณะอุตสาหกรรมเกษตร และขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เริงชัย ตันสกุล กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณทุกคนในครอบครัวที่ให้การสนับสนุนในทุกๆด้าน และขอขอบพระคุณศูนย์ฝึกอบรมการเลี้ยงกุ้ง มหาวิทยาสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนพื้นที่และวัตถุดิบในการศึกษา บัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย และเพื่อนทุกๆคนที่ช่วยเหลือเป็นอย่างดี

สุภาพร แซ่อึ่ง

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(6)
สารบาญ	(7)
รายการตาราง	(8)
รายการภาพ	(10)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	2
วัตถุประสงค์	17
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	18
3. ผลและวิจารณ์	27
4. สรุป	68
เอกสารอ้างอิง	70
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช	81
ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์น้ำ	84
ภาคผนวก ค. การวิเคราะห์การเติบโตของแพลงก์ตอนพืช	94
ประวัติผู้เขียน	100

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	ผลกระทบของออกซิเจนที่มีต่อกุ้งทะเล	4
2.	ค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีต่อกุ้งกุลาดำ	5
3.	สีของน้ำที่ปรากฏเมื่อมีแพลงก์ตอนพืชชนิดต่างๆในปริมาณมาก	6
4.	ความสัมพันธ์ของค่าอัตราการแลกเนื้อ กับปริมาณเศษเหลือของอาหารต่อการผลิตกุ้ง 1 ตัน	9
5.	การใช้สารอินทรีย์ไนโตรเจน ของแพลงก์ตอนพืชในการเติบโต	13
6.	คุณภาพน้ำทางกายภาพ และทางเคมีบางประการของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา และบ่อพักน้ำทิ้ง ตลอด 4 ช่วงของการถ่ายน้ำ	28
7.	สกุลของแพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุลาดำแบบพัฒนาจำนวน 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้ง ในช่วงการก่อนการถ่ายน้ำ	31
8.	สกุลของแพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุลาดำแบบพัฒนาจำนวน 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้ง ในช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 15 - 20	32
9.	สกุลของแพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุลาดำแบบพัฒนาจำนวน 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้ง ในช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 30 - 40	33
10.	สกุลของแพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุลาดำแบบพัฒนาจำนวน 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้ง ในช่วงก่อนการเก็บเกี่ยว	34
11.	สกุลของแพลงก์ตอนพืชที่สามารถแยกได้จากน้ำในบ่อเลี้ยงกุลาดำแบบพัฒนา และบ่อพักน้ำทิ้ง	35
12.	คุณภาพน้ำทางเคมีของน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุลาดำแบบพัฒนาช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 30 - 40	59
13.	การเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาร์วา 25 จำนวน 20 ตัว ในน้ำทะเลธรรมชาติที่มี *Chroomonas* ความหนาแน่นเริ่มต้น 15.4 x 10^5 เซลล์ต่อลิตร	67

ตารางภาคผนวกที่

ข1.	ค่าเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อสัตว์น้ำกร่อย	92
ข2.	ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งที่สามารถปล่อยออกสู่แหล่งน้ำที่ใช้ประโยชน์ในการอุปโภคบริโภค ใช้อนุรักษ์สัตว์น้ำโดยทั่วไป	93

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ค1.	ค่าความหนาแน่น และน้ำหนักเซลล์แห้งของแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ walne	95
ค2.	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความหนาแน่น กับจำนวนเซลล์ของ *Chroomonas*	96
ค3.	การเติบโตของแพลงก์ตอนพืช 4 สกุล ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ walne เปรียบเทียบความเข้มแสงแตกต่างกัน 2 ระดับ	97
ค4.	ค่าความแปรปรวนของแพลงก์ตอนพืช 4 สกุลเมื่อเลี้ยงที่ความเข้มแสง 4,700 และ 6,300 ลักซ์	98

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1.	แผนผังบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา ศูนย์ฝึกอบรมการเลี้ยงกุ้ง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี	21
2.	การเติบโต และค่าความเป็นกรด-ด่างของ *Skeletonema* ที่ความเข้มแสง 2 ระดับคือ 4,700 และ 6,300 ลักซ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	37
3.	การเติบโต และค่าความเป็นกรด-ด่างของ *Chaetcceros* ที่ความเข้มแสง 2 ระดับคือ 4,700 และ 6,300 ลักซ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	39
4.	การเติบโต และค่าความเป็นกรด-ด่างของ *Chroomonas* ที่ความเข้มแสง 2 ระดับคือ 4,700 และ 6,300 ลักซ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	40
5.	การเติบโต และค่าความเป็นกรด-ด่างของ *Chlorella* ที่ความเข้มแสง 2 ระดับคือ 4,700 และ 6,300 ลักซ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	41
6.	การเติบโตของ *Chroomonas, Chlorella, Skeletonema* และ *Chaetoceros* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา โดยเลี้ยงที่ความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 ชนิด	44
7.	ค่าความเป็นกรด-ด่างของ*Chroomonas,Chlorella,Skeletonema* และ *Chaetoceros* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา โดยเลี้ยงที่ความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 ชนิด	45
8.	การเติบโตของ *Chroomonas* เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	47
9.	ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	49
10.	การเติบโตของ *Chroomonas* เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมสารประกอบไนโตรเจนแตกต่างกัน 4 ชนิด เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	50

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11.	ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมสารประกอบไนโตรเจนแตกต่างกัน 4 ชนิด เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	52
12.	การเติบโตของ *Chroomonas* เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมยูเรียความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	53
13.	ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมยูเรียความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	54
14.	การเติบโตของ *Chroomonas* เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	56
15.	ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne	58
16.	ปริมาณไนไตรท์ และไนเตรท ที่เปลี่ยนแปลงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ไม่เติม และเติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ระหว่างการเลี้ยง *Chroomonas* ในระยะเวลา 4 วัน	61
17.	ปริมาณแอมโมเนีย และไนโตรเจนทั้งหมด ที่เปลี่ยนแปลงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ไม่เติม และเติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ระหว่างการเลี้ยง *Chroomonas* ในระยะเวลา 4 วัน	62
18.	การเติบโต และปริมาณออร์โธฟอสเฟตที่เปลี่ยนแปลงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ไม่เติม และเติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ระหว่างการเลี้ยง *Chroomonas* ในระยะเวลา 4 วัน	63

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

19. ปริมาณซีโอดี ที่เปลี่ยนแปลงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ไม่เติม และเติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ระหว่างการเลี้ยง *Chroomonas* ในระยะเวลา 4 วัน 65

ภาพภาคผนวกที่

ค1. ค่าการถดถอย (regression) ของการเติบโต (OD.) ของ *Chroomonas* และ *Chlorella* เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา โดยเลี้ยงที่ความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 สกุล ระยะเวลา 6 วัน 99

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ในปี พ.ศ. 2537 ประเทศไทยมีพื้นที่การเลี้ยงกุ้งประมาณ 500,000 ไร่ เป็นการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาร้อยละ 85 แบบกึ่งพัฒนาร้อยละ 10 และแบบธรรมชาติร้อยละ 5 กุ้งที่เลี้ยงร้อยละ 95 คือ กุ้งกุลาดำ, ร้อยละ 3 เป็นกุ้งแชบ๊วย และร้อยละ 2 เป็นกุ้งขาว (พิมพ์ชนก, 2538) การเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาจะให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปเป็นหลัก ซึ่งมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 40 - 50, ไขมันร้อยละ 6.0 - 7.5, ฟอสฟอรัสร้อยละ 0.5 - 2.0 (น้ำหนักแห้ง) (Akiyama and Dominy, 1988) แม็กซ์ แอนเดอร์สัน (2533) กล่าวว่า กุ้งสามารถนำอาหารไปใช้ประโยชน์ได้เพียงร้อยละ 25 - 35 ส่วนอาหารที่เหลือจะตกค้างบริเวณพื้นก้นบ่อรวมกับสิ่งขับถ่ายของกุ้งและแพลงก์ตอนพืชที่ตาย ดังนั้นการเลี้ยงกุ้งแบบนี้การจัดการคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกุ้งเป็นสิ่งที่ต้องควบคุมอยู่เสมอ โดยมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำร้อยละ 5 - 10 ต่อวัน (ประมาณ 1 เดือน) และเพิ่มเรื่อยๆจนถึง ร้อยละ 30 - 40 ต่อวัน (ประมาณ 3 - 4 เดือน) สันตกิจ นิลอุดมศักดิ์ (2535) กล่าวว่า น้ำที่ถ่ายเข้าในบ่อเลี้ยงมีปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่ำส่วนน้ำที่ทิ้งไปมีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสค่อนข้างสูง คณิต ไชยาคำ และคณะ (2535) กล่าวว่า น้ำทิ้งเหล่านี้เมื่อปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติ จึงต้องทำการบำบัดก่อนปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งอาจจะใช้แพลงก์ตอนพืชในการบำบัด เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชสามารถใช้สารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเพื่อสร้างสารต่างๆและส่วนประกอบของเซลล์ เช่น ฟอสโฟโปรตีน (phosphoprotein), ฟอสโฟลิปิด (phospholipid), ฟอสโฟไกลโคไซด์ (phosphoglycoside), กรดนิวคลีอิค (nucleic acid), กรดอะมิโน (amino acid), สารประกอบอะมีน (amine compound) และอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosinetriphosphate) เป็นต้น (Lewin, 1962) แพลงก์ตอนพืชที่พบในบ่อเลี้ยงกุ้งมีมากมายหลายชนิดเหมือนกับที่พบบริเวณชายฝั่งทะเลทั่วไป ได้แก่ ไดอะตอม (diatoms), สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) และไดโนแฟลเจลเลต (dinoflagellates) (อัศวิน แก้วคง, 2538) ดังนั้นการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในน้ำทิ้งที่มีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูง จึงเป็นแนวทางขจัดปัญหาสิ่งแวดล้อมในทะเลอีกทางหนึ่ง นอกจากนั้นผลผลิตแพลงก์ตอนพืชบางชนิดที่ได้รับสามารถนำไปเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อนบางชนิดได้

การตรวจเอกสาร

1. ชีววิทยาของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* Fabricius ชื่อสามัญ Black tiger prawn จัดเป็นกุ้งที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในวงศ์ Penaeidae และมีขนาดใหญ่ที่สุดในเอเชีย ลักษณะมีเปลือกหัวเกลี้ยง ไม่มีขน ฟันกรีด้านบนมี 7 - 8 ซี่ ด้านล่าง 3 ซี่ ช่องข้างกรีทั้งสองด้านแคบและยาวไม่ถึงฟันกรีซี่สุดท้าย เปลือกมีสีน้ำตาลเข้ม โดยมีแถบสีเข้มสลับกับแถบสีจางพาดขวางตลอดแนวลำตัว การแพร่กระจายระหว่างแนวเส้นลองติจูดที่ 30 องศาตะวันออก ถึง 155 องศาตะวันออก และละติจูดที่ 35 องศาเหนือ ถึง 35 องศาใต้ แหล่งที่พบมากได้แก่ ไทย ออสเตรเลีย และอินเดีย กุ้งกุลาดำสามารถเลี้ยงได้ในบ่อ เนื่องจากมีความอดทนสูง ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ชอบหากินบริเวณพื้นก้นบ่อ ไม่ตื่นตกใจง่ายและสามารถขยายพันธุ์ได้ในบ่อโดยอาศัยพ่อแม่พันธุ์จากทะเล (สุเมธ ชัยวัชรากูล และคณะ, 2530)

2. การเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย แบ่งตามลักษณะการเลี้ยงได้ 3 แบบ (ชูศักดิ์ แสงธรรม, 2532)

2.1 การเลี้ยงแบบดั้งเดิม (Extensive system)

ส่วนใหญ่เป็นการดัดแปลงนาข้าว หรือนาเกลือชายฝั่งทะเลให้เป็นบ่อสำหรับการเลี้ยงกุ้ง และขุดร่องน้ำโดยรอบลึกประมาณ 1 - 1.5 เมตร เพื่อกักเก็บน้ำ การเลี้ยงกุ้งแบบนี้พื้นที่สร้างบ่อค่อนข้างมากประมาณ 50 - 200 ไร่ และลูกกุ้งส่วนใหญ่ได้มาจากน้ำทะเลที่สูบเข้ามาภายในบ่อกุ้ง ภายในบ่อเลี้ยงกุ้งเจริญเติบโตโดยใช้อาหารธรรมชาติที่เกิดขึ้นภายในบ่อ แม้ว่าการเลี้ยงกุ้งแบบดั้งเดิมใช้ต้นทุนการผลิตต่ำ เนื่องจากอาศัยธรรมชาติเป็นหลัก แต่ใช้พื้นที่มากและให้ผลผลิตต่ำประมาณ 40 - 70 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี อีกทั้งไม่สามารถควบคุมชนิดและปริมาณของผลผลิตได้จึงไม่นิยมเลี้ยงกุ้งแบบนี้ในปัจจุบัน

2. 2 การเลี้ยงแบบกึ่งพัฒนา (Semi-intensive system)

การเลี้ยงกุ้งทะเลแบบกึ่งพัฒนาเริ่มเข้ามามีบทบาทเมื่อการเลี้ยงกุ้งทะเลแบบดั้งเดิมมีปัญหา เนื่องจากลูกกุ้งจากน้ำทะเลที่สูบเข้ามามีปริมาณลดลงเรื่อยๆ จึงเริ่มนำพันธุ์กุ้งที่เพาะได้จากโรงเพาะฟักซึ่งส่วนใหญ่เป็นกุ้งกุลาดำ ปล่อยเสริมในบ่อเลี้ยงกุ้งแบบดั้งเดิม นอกจากนี้มีการให้อาหารเสริม เช่น ปลาเป็ด รำข้าว หรืออาหารที่ทำขึ้นเอง โดยพื้นที่การเลี้ยงแต่ละบ่อเท่าๆ กับบ่อเลี้ยงแบบดั้งเดิม อัตราความหนาแน่นของลูกกุ้งทั้งที่มาจากน้ำทะเลตามธรรมชาติ และที่ปล่อยเสริมไม่หนาแน่นมากนัก เฉลี่ยแล้วไม่เกิน 5 ตัวต่อตารางเมตร การเลี้ยงกุ้งแบบนี้

ในบางครั้งเรียกว่าการเลี้ยงกุ้งแบบปล่อยเสริม (Additional system) สามารถผลิตกุ้งได้ประมาณ 60 - 100 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี

2.3 การเลี้ยงแบบพัฒนา (Intensive system)

การเลี้ยงกุลาดำแบบพัฒนาได้เริ่มเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีผลตอบแทนต่อหน่วยการลงทุนสูงคือประมาณ 2,000 - 4,000 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี ในแต่ละรุ่นใช้ระยะเวลาการเลี้ยงสั้นประมาณ 4 เดือน และนิยมเลี้ยงในบ่อขนาดเล็ก (4 - 6 ไร่) เพื่อสะดวกในการจัดการ ในแต่ละบ่อมีความลึก 1.5 - 2 เมตร โดยกุ้งที่ปล่อยลงเลี้ยงมาจากโรงเพาะฟักทั้งหมด การให้อาหารจะให้อย่างเต็มที่ และมีอุปกรณ์เทคนิคการจัดการที่ทันสมัย เช่น เครื่องตีน้ำช่วยเพิ่มออกซิเจนในน้ำ เครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ นอกจากนี้การเลี้ยงจะใช้สารเคมีเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำ และการเจริญเติบโตของกุ้งให้อยู่ในเกณฑ์ที่ต้องการ

3. คุณภาพน้ำที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนามีอัตราการปล่อยกุ้งค่อนข้างสูงถึง 50 - 100 ตัวต่อตารางเมตร ซึ่งมากกว่าการเลี้ยงกุ้งแบบกึ่งพัฒนา 10 - 50 เท่า ดังนั้นการจัดการคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกุ้งจึงเป็นสิ่งที่ต้องควบคุมอยู่เสมอ มีดังนี้

3.1 ความเค็มของน้ำ

น้ำทะเลประกอบไปด้วยเกลือแร่ต่างๆที่ละลายในน้ำทำให้เกิดความเค็มซึ่งส่วนใหญ่ คือ โซเดียมคลอไรด์ ในบริเวณชายฝั่งความเค็มของน้ำเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 1 - 32 ส่วนในพัน (คณิต ไชยาคำ, 2534) กุ้งกุลาดำจัดเป็นกุ้งน้ำกร่อยมีการเจริญเติบโต และอัตราการรอดสูงในน้ำที่มีความเค็มต่ำ และสามารถดำรงชีวิตอยู่ในน้ำจืดได้นานถึง 1 เดือน (Boyd, 1989) แต่ความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 10 - 15 ส่วนในพัน โดยตามปกติน้ำทะเลมีความเค็มเฉลี่ย 34 ส่วนในพัน ดังนั้นการเลี้ยงกุ้งโดยใช้น้ำทะเลโดยตรงจะเจริญเติบโตช้ากว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำผสมน้ำจืด แต่ปัญหาเรื่องน้ำเสีย สารเคมี และโรค ที่มีอยู่ในน้ำจืดนั้นมากกว่าน้ำทะเล ดังนั้นการเลี้ยงโดยใช้น้ำทะเลที่ไม่ผสมน้ำจืดจากแม่น้ำลำคลองจึงเป็นการลดปัญหาที่อาจจะตามมา (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2534)

3.2 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

สัตว์น้ำต้องการออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำเพื่อใช้ในกระบวนการหายใจ ดังนั้นปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำจึงเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แต่ความสามารถการละลายน้ำของออกซิเจนมีจำกัดขึ้นอยู่กับ ความดันบรรยากาศ อุณหภูมิของน้ำ และ

ความเค็ม (คณิต ไชยาคำ, 2534) เมื่อความดันบรรยากาศเพิ่มขึ้นออกซิเจนสามารถละลายได้เพิ่มมากขึ้นแต่เมื่ออุณหภูมิของน้ำ และความเค็มเพิ่มขึ้นกลับทำให้การละลายได้น้อยลง เช่น ที่อุณหภูมิของน้ำ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 15 ส่วนในพัน จุดอิ่มตัวของออกซิเจนลดลงเหลือ 7.57 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นเป็น 30 ส่วนในพัน จุดอิ่มตัวของออกซิเจนลดลงเหลือ 6.95 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเค็ม 15 และ 30 ส่วนในพัน จุดอิ่มตัวของออกซิเจนลดลงเหลือ 6.94 และ 6.39 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (บริษัท แอล. พี. ฟีดส์เทค (ประเทศไทย) จำกัด, 2538)

การสูญเสียออกซิเจนในน้ำมีสาเหตุมาจากการหายใจของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำ และการเน่าสลายของสารอินทรีย์โดยพวกจุลินทรีย์ต่างๆที่อยู่ในน้ำ โดยออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นส่วนใหญ่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของแพลงก์ตอนพืชในน้ำ และส่วนหนึ่งมาจากการกดดันของบรรยากาศ (คณิต ไชยาคำ, 2534) Boyd (1989) รายงานผลกระทบของออกซิเจนต่อกุ้งทะเลไว้ดังนี้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลกระทบของออกซิเจนที่มีต่อกุ้งทะเล

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ	ผลที่มีต่อกุ้ง
น้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร	กุ้งอาจตายได้ภายในเวลา 3 - 4 ชั่วโมง
ในช่วง 1 - 5 มิลลิกรัมต่อลิตร	กุ้งจะโตช้าถ้ากุ้งอยู่ในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง
5 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึงจุดอิ่มตัว	เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของกุ้ง
มากกว่าจุดอิ่มตัว	อาจเป็นอันตรายกับกุ้งโดยการเกิดฟองอากาศสะสมอยู่ที่เหงือก และขัดขวางการแลกเปลี่ยนอากาศ ถ้าเกิดขึ้นทั่วบ่อ แต่โดยทั่วไปมักจะไม่พบ

ที่มา : Boyd (1989)

3.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ค่าความเป็นกรด-ด่าง แสดงถึง ปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออน (H^+) ที่มีอยู่ในน้ำ ซึ่งในน้ำทะเลจะมีระบบคาร์บอเนตควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วงแคบๆ คือ 7.8 - 8.3

แต่สำหรับบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในรอบวันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติของดิน, ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) และการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำซึ่งส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับจำนวนแพลงก์ตอนพืช (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2534) ค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีผลต่อการดำรงชีพของกุ้งกุลาดำ ดังตารางที่ 2 ดังนั้นน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งที่ดีควรมีค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 7.5 - 8.9 (Lin *et al.*, 1988 : อ้างโดย สันตกิจ นิลอุดมศักดิ์, 2535) เพราะ ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงส่งผลให้ปริมาณของแอมโมเนียในรูปที่เป็นพิษ (NH_3) สูงขึ้น เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำเกินไปไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นพิษมากขึ้น (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2534) ดังนั้น การเลี้ยงกุ้งจึงต้องควบคุมให้น้ำอยู่ในสภาพที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม เช่น เมื่อน้ำมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำเกินไป ก็จะใช้ปูนขาวเพื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้สูงขึ้น แต่เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างสูงเกินไป เนื่องจากปริมาณแพลงก์ตอนพืชเกิดขึ้นมากจะใช้การถ่ายน้ำเพื่อลดค่าความเป็นกรด-ด่างให้ต่ำลง (ปัญญา สุวรรณสมุทร, 2534)

ตารางที่ 2 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีผลต่อกุ้งกุลาดำ

ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ผลต่อกุ้ง
ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 4.0	จุดอันตรายที่ทำให้กุ้งตายได้
4.0-6.0	กุ้งเจริญเติบโตช้า และทำให้การสืบพันธุ์หยุดชะงัก
6.0-9.0	ไม่มีผลต่อการเลี้ยงกุ้ง
9.0-11.0	กุ้งเจริญเติบโตช้า
สูงกว่า 11.0	ทำให้กุ้งตาย

ที่มา : ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และ จารุวรรณ สมศิริ (2528)

3.4 สีของน้ำ

สีของน้ำเกิดจากสารที่อยู่ในน้ำ เช่น สารแขวนลอย อินทรีย์วัตถุที่ย่อยสลายอยู่ในน้ำ และแพลงก์ตอนพืชชนิดต่างๆ สิ่งเหล่านี้ทำให้เกิดสีของน้ำแตกต่างกันออกไป แต่แพลงก์ตอนจะเป็นสาเหตุทำให้สีของน้ำเปลี่ยนแปลงมากที่สุด และสีที่มองเห็นขึ้นกับรงควัตถุในเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชที่มีจำนวนมาก เช่น พวกไดอะตอม หรือ ไดโนแฟลเจลเลต สีน้ำจะเป็นสีน้ำตาล สำหรับชนิดของแพลงก์ตอนที่พบมากในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแล้วทำให้เกิดสีน้ำต่างๆกันจากหลายๆ ท้องที่ พอสรุปได้ตามตารางที่ 3 ซึ่งการควบคุมสีของน้ำให้เหมาะสมเป็นสิ่งที่สำคัญในระบบ

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา เนื่องจากสีของน้ำไปช่วยให้กุ้งกินอาหารได้ดีขึ้นเนื่องจากจะไปช่วยลดความโปร่งใสของน้ำทำให้อุณหภูมิของน้ำในบ่อไม่แตกต่างกันคุณภาพของน้ำไม่เปลี่ยนแปลงง่าย เพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำ และเป็นอาหารของลูกกุ้งวัยอ่อน เช่น *Skeletonema, Chaetoceros, Nitzschia, Chlorella* เป็นต้น จึงช่วยลดต้นทุนการเลี้ยงในระยะแรก (สิริ ทุกข์วินาศ และ สุรางค์ ทิพย์โยธิน, 2533)

ตารางที่ 3 สีของน้ำที่ปรากฏเมื่อมีแพลงก์ตอนพืชชนิดต่างๆในปริมาณมาก

สีน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ	แพลงก์ตอนพืชที่พบมาก
น้ำตาลใส	*Rhizosolenia* sp., *Nitzschia* sp.
น้ำตาลดำ	*Rhizosolenia* sp.,
น้ำตาล	*Rhizosolenia* sp., *Coscinodiscus* sp.
น้ำตาลอ่อน	ไดโนแฟลเจลเลต
น้ำตาลเข้มปานกลาง	ไดโนแฟลเจลเลต
น้ำตาลเข้ม	*Rhizosolenia* sp, *Chaetoceros* sp.
น้ำตาลเหลือง	*Oscillatoria* sp., *Coscinodiscus* sp.
น้ำตาลเขียว	เพนเนทไดอะตอม (Pennate Diatom)
	Pleurosigma sp., *Gyrosigma* sp.
เขียวเข้ม	*Oscillatoria* sp.
เขียวอ่อน	เพนเนทไดอะตอม
เขียวเหลือง	*Oscillatoria* sp., *Nitzschia* sp.
น้ำตาลแดง	ไดอะตอม, ไดโนแฟลเจลเลต

ที่มา : ชลอ ลิ้มสุวรรณ (2534)

3.5 สารประกอบไนโตรเจน

สารประกอบไนโตรเจนในแหล่งน้ำมีหลายรูปทั้งในรูปสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ สารอนินทรีย์ส่วนใหญ่เกิดมาจากสารอินทรีย์ที่ผ่านการย่อยสลายของพวกจุลินทรีย์ต่างๆที่มีอยู่ในน้ำ (คณิต ไชยาคำ, 2534) โดยทั่วไปในน้ำทะเลมีสารอนินทรีย์ไนโตรเจนพวกไนเตรท (NO_3^-) อยู่ระหว่าง 0.01 - 50 ไมโครกรัมไนเตรท-ไนโตรเจนต่อลิตร, ไนไตรท์ (NO_2^-) 0.01 - 5.0

ไมโครกรัมไนไตรท์-ไนโตรเจนต่อลิตร, แอมโมเนีย (NH_3) และแอมโมเนียมอิออน (NH_4^+) 0.1 - 5.0 ไมโครกรัมแอมโมเนีย-ไนโตรเจนต่อลิตร (มนูวดี หังสพฤกษ์, 2532) แอมโมเนียที่ละลายในน้ำมี 2 รูปแบบคือ แอมโมเนียและแอมโมเนียมอิออน แอมโมเนียทั้งสองรูปแบบสามารถเปลี่ยนกลับไปกลับมาตามค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำดังสมการข้างล่าง ส่วนใหญ่ระดับความเข้มข้นของสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนอยู่ภายใต้การควบคุมของสิ่งมีชีวิต และมีการเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอตามสภาพแวดล้อม (ชาญยุทธ คงภิรมย์ชื่น, 2533)

ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ

$$NH_3 + H_2O \rightleftharpoons NH^{4+} + OH^-$$

ค่าความเป็นกรด-ด่างสูง

แอมโมเนียสามารถแพร่กระจายผ่านผนังเซลล์ได้ดี เนื่องจากไม่มีประจุไฟฟ้า และสามารถละลายได้ดีในไขมันจึงทำอันตรายสัตว์น้ำได้มากกว่าแอมโมเนียมอิออน เมื่อแอมโมเนียถูกดูดซึมเข้าภายในเซลล์จะไปขัดขวางการแลกเปลี่ยนพลังงานในกระบวนการสร้างและสลาย (metabolism) (Smart, 1978) Allan และคณะ (1990) พบว่า ออกซิเจนจะเป็นตัวลดความเป็นพิษของแอมโมเนีย เช่น เมื่อน้ำมีแอมโมเนีย 1.6 มิลลิกรัมแอมโมเนีย-ไนโตรเจนต่อลิตร มีปริมาณออกซิเจน 2.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้กุ้งกุลาดำตัวเต็มวัยตายร้อยละ 90 แต่เมื่อมีปริมาณออกซิเจนเพิ่มขึ้นเป็น 5.7 มิลลิกรัมต่อลิตร กุ้งมีอัตราการตายเพียงร้อยละ 33.3 ในเวลา 96 ชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตามในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำไม่ควรมีปริมาณแอมโมเนียเกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (วัลลภ คงเพิ่มพูน, 2534) ส่วนไนไตรท์จะเป็นพิษต่อสัตว์น้ำเมื่อถูกดูดซึมเข้าในเลือด โดยไนไตรท์จะไปออกซิไดซ์เหล็กซึ่งเป็นองค์ประกอบของฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ทำให้เปลี่ยนรูปเป็นเมทฮีโมโกลบิน (methemoglobin) ซึ่งไม่สามารถขนถ่ายออกซิเจนได้ เลือดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเรียกโรคที่เกิดขึ้นนี้ว่า Brown blood disease (Boyd, 1982) ในแหล่งน้ำไนไตรท์เกิดจากการรีดิวซ์ไนเตรทโดยแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) (Hollerman and Boyd, 1980) และอีกกระบวนการหนึ่งเกิดจากแบคทีเรีย *Nitrosomonas* sp. เปลี่ยนแอมโมเนียให้เป็นไนไตรท์

Nitrosomonas sp.

$$2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2NO_2 + 2H^+ + 2H_2O$$

แต่เมื่อสภาวะน้ำเป็นกรดไฮโดรเจนอิออนในน้ำมาก ไฮโดรเจนอิออนจะทำปฏิกิริยากับไนไตรท์ได้กรดไนตรัสดังสมการ

$$NO_2 + H^+ \longrightarrow HNO_2$$

และกรดไนตรัสมีความเป็นพิษสูงกว่าไนไตรท์ (ชาญยุทธ คงภิรมย์ชื่น, 2533) ดังนั้นในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำต้องควบคุมให้ปริมาณไนไตรท์ไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนไนเตรทถึงแม้ว่าไม่เป็นพิษกับสัตว์น้ำโดยตรงแต่สามารถเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ได้ ดังนั้นปริมาณที่เหมาะสมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำควรมีไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (คณิต ไชยาคำ, 2534)

3.6 สารประกอบฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำทั่วไปมีหลายรูปแบบ ทั้งในรูปการรวมตัวกับสารอื่นแล้วตกตะกอน เช่น เหล็กฟอสเฟต ($FePO_4$), อลูมิเนียมฟอสเฟต ($AlPO_4$), แคลเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (CaH_2PO_4) (Chein, 1989) และส่วนที่ละลายน้ำได้ เช่น ออร์โธฟอสเฟต (Orthophosphate) ซึ่งมีหลายรูปแบบ (PO_4^{3-}, HPO_4^{2-} และ $H_2PO_4^-$) Kester และ Pytkowicz (1967 อ้างโดย มนูวดี หังสพฤกษ์, 2532) กล่าวว่า น้ำทะเลที่มีค่าความเค็มปกติ และค่าความเป็นกรด-ด่าง 8.0 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ร้อยละ 87 ของฟอสฟอรัสอยู่ในรูป HPO_4^{2-} , ร้อยละ 12 อยู่ในรูป PO_4^{3-} และร้อยละ 1.0 อยู่ในรูป $H_2PO_4^-$ ส่วน PO_4^{3-} (ร้อยละ 99.6) และบางส่วนของ HPO_4^{2-} (ร้อยละ 44) ในน้ำทะเลจะจับกับแคลเซียมและแมกนีเซียมในรูปอิออนคู่ นอกจากนี้ยังมีฟอสฟอรัสอนินทรีย์อีกรูปหนึ่ง คือโพลีฟอสเฟต (polyphosphate, $H_{n+2}\ P_n\ O_{2n+1}$) ที่พบในน้ำบริเวณชายฝั่ง และปากแม่น้ำ

ฟอสฟอรัสในบ่อเลี้ยงกุ้งได้จากสิ่งขับถ่ายและเศษอาหารที่เหลือ ส่วนใหญ่สามารถตกตะกอนและซึมลงไปในดิน และจะถูกปลดปล่อยออกมาในรูปของอิออนฟอสเฟต (ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร และคณะ, 2532) ในน้ำทะเลทั่วไปมีฟอสฟอรัสอยู่ระหว่าง 70 - 75 ไมโครกรัม-ฟอสฟอรัสต่อลิตร (Redfield, 1958 อ้างโดย มนูวดี หังสพฤกษ์, 2532) ซึ่งปกติฟอสฟอรัสไม่เป็นพิษกับสัตว์น้ำโดยตรง แต่มีผลในทางอ้อมเนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเติบโตของแพลงก์ตอนพืชและพืชน้ำ เมื่อมีปริมาณฟอสฟอรัสมากเกินไปทำให้แพลงก์ตอนพืชและพืชน้ำเจริญขึ้นอย่างรวดเร็ว เป็นสาเหตุให้สัตว์น้ำขาดออกซิเจนในเวลากลางคืน (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2534) ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และ จารุวรรณ สมศิริ, (2528) กล่าวว่า แหล่งน้ำที่มีปัญหาภาวะมลพิษมีปริมาณฟอสฟอรัส 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำจึงไม่ควรมีฟอสฟอรัสเกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (คณิต ไชยาคำ, 2534)

4. คุณสมบัติของน้ำทิ้ง

น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง หมายถึง น้ำที่ใช้ในกิจกรรมต่างๆของการเลี้ยงโดยคุณสมบัติน้ำเปลี่ยนไปทั้งทางด้าน พิสิกส์ เคมี และชีวภาพ จะประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ตะกอนเลน และน้ำที่เปลี่ยนในระหว่างการเลี้ยง (คณิต ไชยาคำ, 2534)

น้ำจะถูกปล่อยออกมาจากบ่อเลี้ยงกุ้ง เมื่อสภาพน้ำไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกุ้ง เช่น เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างในรอบวันต่างกันเกินกว่า 0.5 ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนสูง และออกซิเจนต่ำในตอนเช้า (ชูศักดิ์ แสงธรรม, 2532) Annon (1991) พบว่า เมื่ออัตราการแลกเนื้อ (Food Convertion Ratio, F.C.R.) สูงขึ้น ปริมาณเศษเหลือของอาหารที่ละลายในน้ำมากขึ้นตามไปด้วย (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ของค่าอัตราการแลกเนื้อกับปริมาณเศษเหลือของอาหารต่อการผลิตกุ้ง 1 ตัน

อัตราการแลกเนื้อ *	อินทรีย์วัตถุ (กก.)	ไนโตรเจน(กก.)	ฟอสฟอรัส (กก.)
1.0	500	26	13
1.5	875	56	21
2.0	1,250	87	28
2.5	1,625	117	38

$$\text{*อัตราการแลกเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนัก (แห้ง) ของอาหารที่ให้}}{\text{น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น}}$$

ที่มา : Annon (1991)

Vorathep (1991) ได้ศึกษาปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่าในสัปดาห์ที่ 14 ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของน้ำที่ปล่อยเข้าเท่ากับ 0.46 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.025 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่น้ำที่ปล่อยออกจากบ่อเลี้ยงมีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูงถึง 1.521 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.35 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่ามีปริมาณสารอาหารเพิ่มสูงขึ้นหลังจากการเลี้ยง สันตกิจ นิลอุดมศักดิ์ (2535) พบว่า น้ำที่ปล่อยลงสู่บ่อน้ำทิ้งมีปริมาณซีโอดี, ฟอสฟอรัส, แอมโมเนีย และไนโตรเจนทั้งหมด สูงกว่าน้ำในบ่อพักน้ำ

เนื่องจากน้ำที่ปล่อยออกมามีอาหาร สิ่งขับถ่าย และแพลงก์ตอนที่ตายแล้วตกค้างอยู่ (อุทัย คันโธ และ บรรพต วิรุณราช, 2534)

5. แพลงก์ตอนพืช

แพลงก์ตอนพืช หมายถึงสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ล่องลอยอยู่ในน้ำ มีทั้งเคลื่อนที่ได้เองโดยอาศัยแฟลเจลลา (flagella) และเคลื่อนที่โดยอาศัยกระแสน้ำ สามารถแบ่งตามรูปแบบการเติบโตได้ 3 จำพวก คือ

5.1 พวกออโตทรอฟ (autotroph) หมายถึง แพลงก์ตอนพืชที่สามารถสังเคราะห์สารประกอบอินทรีย์พลังงานสูงจากสารประกอบอนินทรีย์พลังงานต่ำ เช่น น้ำ และคาร์บอนไดออกไซด์อาศัยแสงสว่างเป็นพลังงาน หรือพลังงานเคมีจากการออกซิไดซ์สารประกอบอนินทรีย์ ดังนั้นสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ไม่ต้องการสารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงาน เช่น แพลงก์ตอนพืชในชั้น Chlorophyceae

5.2 พวกออกโซทรอฟ (auxotroph) หมายถึง แพลงก์ตอนพืชที่ต้องการสารอินทรีย์บางชนิดเพื่อใช้เติบโต แต่ไม่ได้ใช้สารอินทรีย์เหล่านี้เป็นแหล่งพลังงานยังคงใช้คาร์บอนไดออกไซด์ และพลังงานจากแสงสว่าง เช่น แพลงก์ตอนพืชในชั้น Dinophyceae ต้องการวิตามินบี 1 (thiamin) ไบโอติน (biotin) และ วิตามินบี 12 (cyanocobalamin) ในการเติบโต

5.3 พวกเฮเทอโรทรอฟ (heterotroph) หมายถึง แพลงก์ตอนพืชที่ใช้พลังงานจากสารอินทรีย์คาร์บอนเพื่อการเติบโต ซึ่งสารอินทรีย์คาร์บอนกำเนิดจากสิ่งมีชีวิตในทะเลเป็นส่วนใหญ่ เช่น แพลงก์ตอนพืชในชั้น Cyanophyceae (Parsons and Takahashi, 1973)

6. การสังเคราะห์ด้วยแสง

แพลงก์ตอนพืชต้องการพลังงานจากแสงอาทิตย์เพื่อใช้ในการเติบโต เช่นเดียวกันกับพืชชั้นสูงชนิดอื่นๆ โดยที่เม็ดสีจะเป็นตัวรับแสงเพื่อใช้เป็นพลังงานในการเปลี่ยนสารอนินทรีย์ในน้ำให้เป็นสารอินทรีย์เพื่อใช้สำหรับการเติบโต ซึ่งเม็ดสีในแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดจะรับแสงได้แตกต่างกัน ดังนั้นความเข้มแสงมากหรือน้อยเกินไปจะส่งผลต่อการทำงานของเซลล์ เช่น ความเข้มแสงเพิ่มขึ้นแสงจะไปเร่งการทำงานของเซลล์ (Kosaric *et al.*, 1974) แต่เมื่อความเข้มแสงสูงเกินไปส่งผลยับยั้งการทำงาน และการหายใจของเซลล์หรือเกิดปรากฏการณ์การยับยั้งด้วยแสง (photoinhibition) ซึ่งมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแพลงก์ตอนพืช และช่วงเวลาได้รับแสง (Vonshak *et al.*, 1982) Gimmeler และ คณะ (1981 อ้างโดย Avron and Ben- Amotz , 1992) พบว่า *Dunaliella parva* ให้อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์

แต่ที่ความเข้มแสงระดับเดียวกันนี้ จะยับยั้งการเติบโตของ *D. acidophila* Movey (1983) พบว่า *Chaetoceros gracilis* มีอัตราการเติบโตสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มแสงจาก 500 ลักซ์ เป็น 10,000 ลักซ์ ส่วน *Skeletonema costatum* จะสร้างออโซสปอร์ (auxospores) เมื่อความเข้มแสงสูงกว่า 1,000 ลักซ์ และสร้างได้ดีที่ความเข้มแสง 4,000 - 5,000 ลักซ์ ส่วน *Oscillatoria laetevirens* ซึ่งเป็นแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงินเติบโตได้ดีที่ความเข้มแสงต่ำเพียง 1,800 ลักซ์ (Mehta and Chauhan , 1988) Alias (1988) ได้ศึกษาความเข้มแสงที่เหมาะสมของ *Chlorella virginica* โดยเลี้ยงที่ความเข้มแสง 3 ระดับ คือ 1,140, 2,260 และ 3,040 ลักซ์ พบว่า ที่ความเข้มแสง 3,040 ลักซ์ *C. virginica* เติบโตดีที่สุด โดยให้จำนวนเซลล์ 3.9×10^4 เซลล์ต่อลิตร Sukenik และ Wahnon (1991) ศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการเติบโตของ *Isochrysis galbana* พบว่าการเติบโตสูงสุดที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ และอัตราการเติบโตเริ่มลดลงอย่างช้าๆอย่างชัดเจนที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ เนื่องจากแสงจะไปยับยั้งการเติบโต Kitamura (1992) พบว่า อัตราการเติบโตของ *Navicula ramosissima* ที่ความเข้มแสง 7,000 ลักซ์ สูงกว่าที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์

7. การใช้ไนโตรเจน

ไนโตรเจนในทะเลมีหลายรูปแบบทั้งสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน พิวรีน ยูเรีย กรดยูริก ไนไตรท์ แอมโมเนีย และไนเตรท เป็นต้น สารเหล่านี้จะถูกแพลงก์ตอนพืชกลุ่มต่างๆ นำไปใช้สร้างองค์ประกอบต่างๆของเซลล์ (Provasoil, 1963 ; Hellebust, 1971; Khailov, 1971 ; Ukeles, 1976) แต่แพลงก์ตอนพืชจะเลือกใช้ ไนไตรท์ ไนเตรท และแอมโมเนีย ได้ดีกว่าไนโตรเจนรูปแบบอื่นๆ และจะเลือกใช้แอมโมเนียก่อน ไนไตรท์ หรือ ไนเตรท (Grant *et al.*, 1967) Strickland และคณะ (1969) กล่าวว่า แพลงก์ตอนพืชจะเริ่มใช้ไนเตรทเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่การเติบโตของแพลงก์ตอนพืชจะลดลงครึ่งหนึ่ง Eppley และคณะ (1969) พบว่า เมื่อเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชบางชนิดในอาหารที่มีไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน จะพบเอนไซม์ไนเตรทรีดักเตส (nitrate reductase) แต่เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียปริมาณเอนไซม์ภายในเซลล์ลดลงและหยุดการใช้ไนเตรท แต่เมื่อปริมาณแอมโมเนียลดลงต่ำกว่า 0.5 - 1.0 ไมโครโมล เอนไซม์ไนเตรทรีดักเตสจะถูกสร้างขึ้นไนเตรทจึงสามารถดูดซับไปใช้ได้อีก ดังนั้นเอนไซม์ไนเตรทรีดักเตสจึงเป็นเอนไซม์ที่ถูกกระตุ้นให้สร้างโดยไนเตรทและถูกยับยั้งโดยแอมโมเนีย ส่วนการเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นแอมโมเนียเป็นวิธีการที่ยุ่งยาก เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยารีดักชั่นจำเป็นต้องใช้อิเลกตรอนจากกระบวนการสังเคราะห์

ด้วยแสง ดังนั้นไนเตรทถูกใช้ได้เมื่อมีแสงเท่านั้น (Larsson *et al.*, 1982) Eppley และ Coatsworth (1968) พบว่า ในสภาพที่มีแสง *Ditylum brightwellii* สามารถใช้ไนไตรท์ในอัตรา 1 ไมโครโมลต่อ 10^6 เซลล์ต่อชั่วโมง และไม่สามารถใช้ไนไตรท์ได้เมื่อปราศจากแสง เพราะต้องการอิเลกตรอนจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เพื่อไปออกซิไดซ์ไนไตรท์ให้เป็นแอมโมเนีย เซลล์จึงสามารถนำไปใช้ได้ นอกจากนี้แพลงก์ตอนพืชสามารถใช้ไนโตรเจนในรูปแบบอื่นได้ เช่น พวกสารอินทรีย์ไนโตรเจน [อะมีน (amines), ยูเรีย, กลูตามีน (glutamine), แอสพาราจิน (asparagine)] เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ (Neilson and Larson, 1980) โดยแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดสามารถใช้แหล่งไนโตรเจนได้แตกต่างกัน (ตารางที่ 5)

8. การใช้ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นสารสำคัญที่แพลงก์ตอนพืช และพืชต่างๆต้องการนำไปใช้ในกระบวนการสร้างและสลายภายในเซลล์ การใช้ฟอสฟอรัสในรูปของออร์โธฟอสเฟต (HPO_4^{2-}, $H_2PO_4^-$ และ PO_4^{3-}) แพลงก์ตอนพืชสามารถดึงไปใช้ได้โดยผลิตเอนไซม์ฟอสโฟเอสเทอเรส (phosphoesterase) หรือฟอสฟาเทส (phosphatase) เพื่อเปลี่ยนออร์โธฟอสเฟตให้อยู่ในรูปฟอสเฟตอิออน และดูดซับเข้าในเซลล์ เซลล์จะนำไปผลิตสารพลังงานสูง เช่น อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosin triphosphate) หรือ ATP ใช้ในกระบวนการสร้างและสลาย และฟอสฟอรัสส่วนหนึ่งถูกใช้สร้างส่วนประกอบภายในเซลล์ เช่น poly-P-RNA (Kuhl, 1974 ; Riley and Chester, 1971) Solorzano และ Strickland (1968) กล่าวว่า แพลงก์ตอนพืชบางชนิด เช่น *Skeletonema costatum* และ *Amphidinium carteri* สามารถใช้โพลีฟอสเฟต (polyphosphate) เป็นแหล่งฟอสฟอรัสเมื่อมีปริมาณในเตรทเพิ่มขึ้น และปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำมีผลต่อการเกิดสารประกอบภายในเซลล์ Wikfors (1986) พบว่า เมื่อน้ำมีปริมาณฟอสฟอรัสต่ำ ปริมาณโปรตีนภายในเซลล์ของ *Tetraselmis maculata* และ *Dunaliella tertiolecta* เพิ่มขึ้นแต่ปริมาณคาร์โบไฮเดรทลดลง Ketchum (1939 อ้างโดย มนูวดี หังสพฤกษ์, 2532) กล่าวว่า ระดับวิกฤตของฟอสฟอรัสในน้ำมีอยู่ประมาณ 10 ไมโครกรัมฟอสเฟตต่อลิตร ถ้ามีปริมาณต่ำกว่านี้การแบ่งเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชจะถูกจำกัด และเซลล์ที่สร้างขึ้นใหม่จะขาดฟอสฟอรัสในที่สุดกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจะหยุดลง แต่เมื่อเติมฟอสฟอรัสลงไปเซลล์จะดูดไปใช้อย่างรวดเร็ว โดยส่วนใหญ่แล้วในน้ำมักไม่ขาดฟอสฟอรัส เนื่องจากแบคทีเรียสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่แพลงก์ตอนพืชสามารถนำไปใช้ได้

ตารางที่ 5 การใช้สารอินทรีย์ไนโตรเจนของแพลงก์ตอนพืชในการเติบโต

Nitrogen source	*Chlamydomonas*	*Chlorella*	*Chlorella: 16*	*Scenedesmus*	*Selenastrum*	*Raphidonema*	*Cosmarium*	*Platymonas*	*Bumilleriopsis*	*Tribonema*	*Monodus*	*Ochromonas*	*Pavlova*	*Cyclotella*	*Phaeodactylum*	*Nitzschia*	*Euglena*	*Ectocarpus*	*Porphyridium*	*Cyanidium*	*Synechococcus*	*Synechocystis*	*Pseudanabaena: 6903*	*Pseudanabaena: B2*	LPP 6402	LPP 73110	*Anabaena*
Glycine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	−	+	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Glycylglycine	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Glutamate	−	−	+	+	−	−	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Glutamine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−	+	+
Aspartate	−	−	+	+	+	−	−	+	−	+	−	+	−	+	+	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Asparagine	−	−	+	+	+	−	+	+	−	+	−	+	−	−	−	+	+	+	−	+	−	+	+	+	−	+	−
Histidine	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Methionine	−	−	+	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Leucine*	−	−	+	+	−	−	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Alanine	−	−	+	+	+	−	+	+	−	+	−	+	+	−	−	+	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Serine	−	−	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−	+	−	+	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Proline	−	−	+	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−		−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Arginine	+	+	+	+	+	−	+	+	−	+	−	+	−		+	+	−	−	−	+	−	+	+	−	−	+	+
Ornithine	+	+	+	+	+	−	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−	−	+	+
Betaine	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Acetamide	+	+	+	+	−	+	−	+	+	+	−	−	+	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Putrescine	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Adenosine	−	−	+	+	−	−	−	+	−	+	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Anosine	+	−	+	+	+	−	−	+	−	+	+	−	−	−	+	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
Urate	−	+	+	+	−	+	−	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	+	−	−	+	−	+	−	+	+	−
Uridine	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Urea	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	−	+	−	+	+	+	+	+	+
Ammonium	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	−	+	+	+	−	+	+	+	+	+
Nitrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+

ที่มา : Neilson และLarson (1980 อ้างโดย Richmond , 1986)

9.ประโยชน์ของแพลงก์ตอนพืช

9.1 บำบัดน้ำทิ้ง

แพลงก์ตอนพืชหลายชนิดสามารถนำมาใช้บำบัดน้ำที่มีสารอาหารพวกไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชสามารถนำสารอาหารเหล่านี้มาใช้ในการเติบโตได้

Jaag และ Leibmann (1967) ได้ศึกษาการใช้ฟอสฟอรัส และไนโตรเจนของ *Selenastrum capriconutum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Z8 ร้อยละ 5 (ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ส่วน ผสมน้ำ 95 ส่วน) พบว่า สามารถลดปริมาณไนโตรเจนลงจาก 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถลดฟอสฟอรัสลงจาก 2.45 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 12 วัน

Milligan และคณะ (1979) ได้ศึกษาการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งที่มีความเค็มสูงโดยใช้ระบบการกำจัด 3 ขั้น คือ แบคทีเรีย แพลงก์ตอนพืช และสัตว์ที่กินอาหารโดยการกรอง (filter feeding) พบว่าสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่เป็นของแข็ง (Bacteria solids), บีโอดี และแอมโมเนีย ถึงร้อยละ 89, 89 และ 88 ตามลำดับ ในระยะเวลาการเลี้ยง 2 วัน

หยกแก้ว ยามาลี และคณะ (2525) พบว่าการเลี้ยง *Chlorella* sp. K3 ร่วมกับแบคทีเรียสามารถลดค่า บีโอดี ในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำนมถั่วเหลืองได้ถึงร้อยละ 95 ภายในระยะเวลาเพียง 2 วัน

De-la- Nouee และ Proulx (1988) ศึกษาการบำบัดน้ำทิ้งจากบ้านเรือนขั้นที่ 3 โดยใช้ *Phormidium* ที่ถูกตรึงด้วยไคโตแซน (chitosan) โดยการเลี้ยงแบบแบช (batch system) พบว่าสามารถลดออร์โธฟอสเฟตได้ร้อยละ 71 และ 92 หลังจากการเลี้ยง 7 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนสารอนินทรีย์ไนโตรเจนลดลงร้อยละ 95 หลังจากการเลี้ยง 4 - 6 ชั่วโมง

Wong และ Chan (1990) เลี้ยง *Chlorella salina* ในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนที่มีความเค็ม 14 ส่วนในพัน และผ่านการบำบัดขั้นที่สองในระบบบ่อเปิด พบว่า *Chlorella salina* สามารถใช้แอมโมเนีย ไนเตรท และฟอสฟอรัส คิดเป็นร้อยละ 95 - 100, 35 - 60 และ 100 ตามลำดับ ภายในระยะเวลา 6 วัน

กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ (2536) พบว่า *Chlorella sp.* T9 สามารถบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล โดยลดปริมาณซีโอดี, ไนโตรเจนทั้งหมด และแอมโมเนีย ได้ร้อยละ 63, 97 และ 99.90 ตามลำดับ ในระยะเวลา 2 วัน

Canizares และ Dominguez (1993) ได้ศึกษาความสามารถในการเติบโตของ *Spirulina maxima* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงสุกร ซึ่งเป็นการบำบัดขั้นที่ 3 โดยการให้อากาศตลอดเวลา พบว่า

สามารถใช้ฟอสฟอรัสทั้งหมด, ออร์โธฟอสเฟต และแอมโมเนีย ในการเติบโตได้ดีเมื่อมีความเข้มข้นของน้ำทิ้งจากการเลี้ยงสุกรร้อยละ 50

9.2 อาหารสัตว์น้ำ

ในธรรมชาติแพลงก์ตอนพืชมักเป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อนและพวกที่กินอาหารโดยการกรอง เช่น หอยชนิดต่างๆ ลูกกุ้ง ลูกปลา เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชมีคุณค่าทางอาหารสูง และมีขนาดพอเหมาะ

Juario และ Storch (1984) พบว่าระยะวัยอ่อนของปลานวลจันทร์ทะเล (21 วัน) ที่เลี้ยงในบ่อมีการให้อาหารเฉพาะแพลงก์ตอนพืชคือ *Chlorella* sp., *Tetraselmis* sp. และ *Isochrysis galbana* ศึกษาตับและตับอ่อนพบว่าปลาไม่สามารถใช้ *Chlorella* sp. ได้โดยตรงเนื่องจาก *Chlorella* sp. มีผนังเซลล์หนาส่วน *Tetraselmis* sp. และ *I. galbana* ปลาสามารถใช้ได้โดยตรง และปลาจะใช้ *I. galbana* ได้ดีกว่า *Tetraselmis* sp.

สุนันท์ ภัทรจินดา (2531) กล่าวว่า การอนุบาลกุ้งวัยอ่อนระยะแรกอาหารที่สำคัญ ได้แก่ สาหร่ายในสกุล *Tetraseimis* sp. ไดอะตอมสกุลต่างๆ เช่น *Skeletonema* sp. แพลงก์ตอนพืชสีน้ำตาลแกมทอง (*Isochrysis* sp.) ส่วนกุ้งระยะนอเพลียส (Nauplius) ที่กำลังเข้าสู่ระยะซูเอีย (Zoea) ต้องการไดอะตอมในปริมาณที่มากกว่า 6,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อนำสารที่ได้จากไดอะตอมมาสร้างเปลือก

Sommer และคณะ (1991) ได้ศึกษาการให้สาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็ก (*Dunaliella salina*) ที่มีแคโรทีนสูงกับกุ้ง *Cherax tenuimanus* ที่เลี้ยงด้วยอาหารสังเคราะห์ทำให้สีจางลง โดยเลี้ยงกุ้งในบ่อระบบปิดเป็นเวลา 100 วัน พบว่า กุ้งที่ให้ *D. salina* จะมีชั้นของสีเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ให้ *D. salina* และอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งที่ให้ *D. salina* จะเติบโตสูงกว่าชุดควบคุมอย่างเห็นได้ชัด

Laing และ Gil - Verdugo (1991) ได้ศึกษาการเจริญของหอย 2 ฝา จำนวน 5 ชนิด (*Tapes philipinarum, T. decussato, Mercenaria mercenaria, Crassostrea gigas* และ *Ostrea edulis*) เมื่อเลี้ยงด้วย *Tetraselmis suecica* มีชีวิตและที่ทำแห้งแล้ว หรือ *Chaetoceros calcitrans* มีชีวิตผสมกับ *T. suecica* ที่มีชีวิต พบว่า หอย 2 ฝา ทั้ง 5 ชนิด เจริญเติบโตได้ดีเมื่อเลี้ยงด้วย *T. suecica* ที่มีชีวิต เนื่องจาก *T. suecica* เมื่อถูกทำให้แห้งผนังเซลล์จะแตกง่าย ทำให้หอยไม่สามารถนำไปใช้ได้เต็มที่

Santaella และ Aranda (1994) ได้ทดลองเลี้ยงหอยสังข์ราชินี (*Strombus gigas*) ด้วยแพลงก์ตอนพืช 3 ชนิด คือ *Thalassiosira fluviatilis* , *Isochrysis galbana* และ

Tetraselmis suecica เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต พบว่าหอยสังข์ราชินีเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงด้วย *Tetraselmis suecic*

9.3 ผลิตเม็ดสี

Vonshak (1988) รายงานว่า ปัจจุบันได้มีการสกัดเอาเม็ดสีไฟโคไซยานิน (phycocyanin) และแคร์โรตินอยด์ (carotenoid) เพื่อนำมาใช้เป็นสีผสมอาหาร และใช้ในการผลิตเครื่องสำอางค์ ซึ่งสามารถสกัดได้จากสาหร่ายบางชนิด โศภิษฐ์ เวทยสุภรณ์ และคณะ (2532) พบว่า สาหร่ายเกลียวทองมีเม็ดสีไฟโคไซยานินบริสุทธิ์ร้อยละ 20 - 30 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง Ben - Amotz และ Avron (1990) พบว่า *Dunaliella* มีเบต้าแคโรทีนอยด์ (β- carotenoid) สูงถึงร้อยละ 10 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ส่วน *Haematococcus* เป็นแหล่งสำหรับการผลิตเอสต้าแซนทีน (astaxantin) เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Hall *et al.*, 1993)

9.4 ผลิตสารปฏิชีวนะ

Kumar และ Singh (1971) รายงานว่า *Chlorella* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ คือ คลอเรลลิน (Chlorellin) ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และ *Mycobacterium* sp.

วัตถุประสงค์

1.เพื่อแยก (isolate) แพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง และบ่อพักน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา

2.เพื่อคัดเลือกแพลงก์ตอนพืชที่สามารถเติบโตได้ดีในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา

3.ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้แพลงก์ตอนพืชมาบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสด

1. วัตถุดิบ

น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาในเดือนที่ 3 - 4 ของศูนย์ฝึกอบรมการเลี้ยงกุ้ง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี อำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี

2. แพลงก์ตอนพืช

แพลงก์ตอนพืชที่แยกได้จากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ และบ่อพักน้ำทิ้ง

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารสำหรับการแยกแพลงก์ตอนพืช 3 สูตร (รายละเอียด ภาคผนวก ก.)ได้แก่ สูตร Umebayashi (Umebayashi, 1961), Walne (Movey, 1983), Sato และ Serikawa (Sato and Serikawa, 1968)

4. อาหารกุ้งวัยอ่อน บริษัท ยูนิคอร์ด ฟีด, อาหารกุ้งวัยอ่อนระยะที่หนึ่ง (แวค 981)

5. กุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาร์วา 25 (postlarvae 25) ของบริษัทซาโนฟี่แฮทเชอรี่ จำกัด

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาคุณลักษณะทางเคมีและทางกายภาพภาคสนาม

1.1 แผ่นเซคชี่ดิช (secchi disk)

1.2 เครื่องวัดความเค็ม Model SAS 508 - II ของบริษัท Nippon Optical Works

1.3 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง Model HI 8314 ของบริษัท Hanna

1.4 เครื่องวัดออกซิเจนในน้ำ Model 57 ของบริษัท Yellow Springs

2. อุปกรณ์ที่ศึกษาชนิด และแยกแพลงก์ตอนพืช

2.1 กล้องจุลทรรศน์ Model Olympus OOI ของบริษัท Olympus Ltd.

2.2 กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ Model Imv mi 2-2 ของบริษัท Olympus Ltd.

2.3 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) Model HS - 225 ของบริษัท International Scientific Co., Ltd.

2.4 เครื่องหมุนเหวี่ยง Model H - 103 N ของบริษัท Kokusan Enshinki Ltd.

2.5 หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave)

2.6 ชั้นเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชพร้อมหลอดไฟฟ้าฟลูออเรสเซนต์ (หลอดละ 40 วัตต์ จำนวน 1 หลอด)

2.7 จานเพาะเชื้อ, ปาสเจอร์ปิเปต, ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร, หลอดทดลอง ขนาด 15 มิลลิลิตร

3. อุปกรณ์ที่ใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

3.1 ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร, ขวดแก้วกลม (florese flask) ขนาด 2 ลิตร

3.2 หลอดไฟฟ้าฟลูออเรสเซนต์ หลอดละ 40 วัตต์ จำนวน 6 หลอด

3.3 ท่อกรองอากาศ

3.4 เครื่องเขย่าแบบวงกลม (orbital shaker) ของบริษัท New Brunswick Scientific

3.5 เครื่องควบคุมเวลา Model TB 318 ของบริษัท Matsushita Electric Works Ltd.

4. อุปกรณ์ที่ใช้ศึกษาการเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

4.1 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ Model U. best - 30 ของบริษัท Jasco

4.2 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง Model SA 520 ของบริษัท Orion

4.3 เครื่องวัดความเค็ม Model SAS 508 - II ของบริษัท Nippon Optical Works

4.4 เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า Model 33 ของบริษัท Yellow Springs

5. อุปกรณ์วิเคราะห์สารอาหารในน้ำทิ้ง

5.1 เครื่องกรองเซลล์

5.2 ชุดวิเคราะห์ค่าซีโอดี (Chemical Oxygen Demand)

5.3 ชุดวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน

5.4 ชุดวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์

5.5 ชุดวิเคราะห์ปริมาณไนเตรท

5.6 ชุดวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย

5.7 ชุดวิเคราะห์ปริมาณออร์โธฟอสเฟต

6. อุปกรณ์ที่ใช้ทดสอบความเป็นพิษของแพลงก์ตอนพืช

6.1 ขวดโหลแก้วขนาด 5 ลิตร จำนวน 3 โหล

6.2 สายยางดูดตะกอน และหัวทราย จำนวน 3 หัว

6.3 เทอร์โมมิเตอร์

6.5 แอร์ปั๊ม (air pump)

6.6 เครื่องมือนับเม็ดโลหิตแดง (haemacytometer)

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

วิธีการ

1. การศึกษาสกุล และการแยกแพลงก์ตอนพืชจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาและบ่อพักน้ำทิ้ง

1.1 คุณภาพน้ำทางกายภาพ และทางเคมีบางประการจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาและบ่อพักน้ำทิ้งภาคสนาม

วัดคุณภาพน้ำที่ผิวน้ำ ในบ่อเลี้ยงกุ้งจำนวน 8 บ่อ จากทั้งหมด 16 บ่อ โดยการสุ่มแบบจับฉลาก (random sampling) (A2, A6, A7, B10, B12, B13, B14 และ B15) และบ่อพักน้ำทิ้ง(W) (ภาพที่ 1) โดย

1.1.1 วัดค่าความเค็ม ด้วยเครื่องวัดค่าความเค็ม

1.1.2 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

1.1.3 วัดค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ด้วยเครื่องวัดค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

1.1.4 วัดค่าความโปร่งใส ด้วยแผ่นเซคชี่ดิช

การวัดคุณภาพน้ำจากข้อ 1.1.1 - 1.1.4 ทำการวัดจุดละ 3 ซ้ำ

1.1.5 สีของน้ำ บันทึกด้วยสายตา

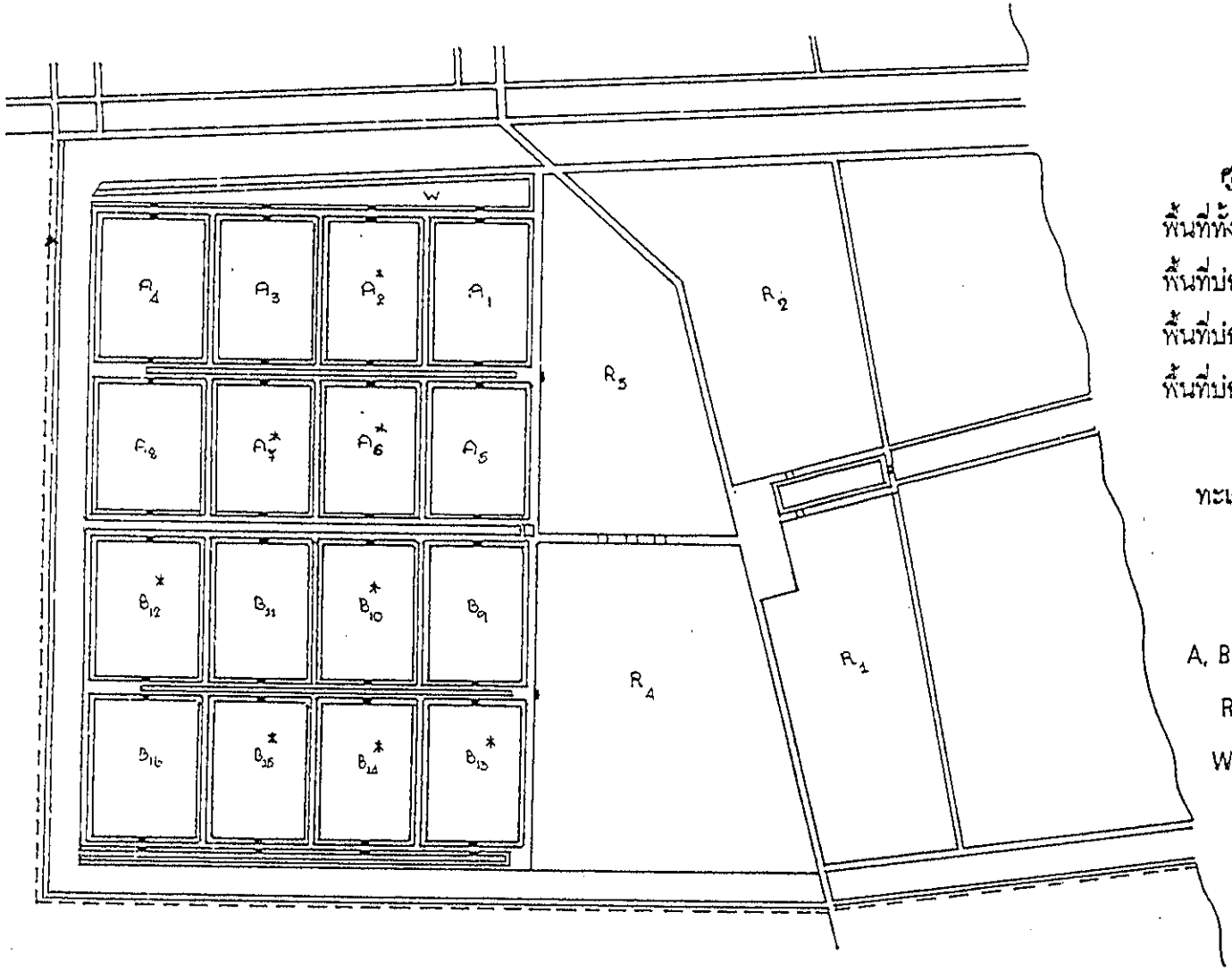
ทั้งนี้จะทำการวัดก่อนการสุ่มตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชทุกครั้ง ตั้งแต่ก่อนการเปลี่ยนน้ำ (วันที่ 15 พฤศจิกายน 2537) เปลี่ยนน้ำร้อยละ 15 - 20 ต่อวัน (วันที่ 16 เดือน มกราคม 2538) ร้อยละ 30 - 40 ต่อวัน (วันที่ 15 มีนาคม 2538) และก่อนการเก็บเกี่ยว (วันที่ 30 มีนาคม 2538) เพื่อศึกษาคุณภาพของน้ำบางประการภายในบ่อเลี้ยงกุ้ง และบ่อพักน้ำทิ้ง

1.2 การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช

เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งจำนวน 8 บ่อ (A2, A6, A7, B10, B12, B13, B14 และ B15) และบ่อพักน้ำทิ้ง(W) โดยใช้ถุงแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร ลากตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชบริเวณผิวน้ำระยะทาง 5 เมตร ที่สะพานเช็คยอและเก็บแพลงก์ตอนพืชที่ได้ในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเติมฟอร์มาลีนร้อยละ 4 เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของเซลล์ อีกส่วนหนึ่งทำให้เจือจางโดยใช้น้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งแล้วนำไปแช่ในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งเพื่อเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชให้มีชีวิต

1.3 การศึกษาชนิดของแพลงก์ตอนพืช

หยดตัวอย่างน้ำที่มีแพลงก์ตอนพืชที่ตองไว้ลงบนสไลด์ ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ทำซ้ำหลายๆครั้งเพื่อศึกษาชนิดของแพลงก์ตอนพืชจนถึงระดับสกุล (genus) ตามแนววินิจฉัยของ Yamaji (1984) และ Desikachary (1959)



ศูนย์ฝึกอบรมการเลี้ยงกุ้ง

พื้นที่ทั้งหมด	257	ไร่
พื้นที่บ่อเลี้ยงกุ้ง (16 5.23)	83.68	ไร่
พื้นที่บ่อพักน้ำ	90	ไร่
พื้นที่บ่อพักน้ำทิ้ง	28	ไร่

ทะเล

A, B = บ่อเลี้ยงกุ้ง

R = บ่อพักน้ำ

W = บ่อพักน้ำทิ้ง

ภาพที่ 1 แผนผังบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา ศูนย์ฝึกอบรมการเลี้ยงกุ้ง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

หมายเหตุ * = บ่อเลี้ยงกุ้งที่เก็บตัวอย่าง

1.4 การแยกแพลงก์ตอนพืช

1.4.1 การแยกบนจานเพาะเชื้อ (streak plate)

นำแพลงก์ตอนพืชจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้งที่แช่น้ำแข็งในกล่องโฟม เข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ตะกอนเซลล์ที่ได้นำไปแยกให้ได้เชื้อเดี่ยวๆ โดยขีดลากเชื้อลงบนจานเพาะเชื้อที่บรรจุอาหารแข็งสูตร Walne, Umebayashi และ Sato and Serikawa นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 - 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 2 - 3 สัปดาห์ แพลงก์ตอนพืชเติบโตขึ้นเป็นโคโลนี เลือกเขี่ยเชื้อที่ขึ้นเป็นโคโลนีเดี่ยวๆ นำไปขีดลากลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ทำซ้ำหลายๆครั้งเพื่อให้ได้แพลงก์ตอนพืชชนิดเดียว (Stein, 1973)

1.4.2 การแยกโดยใช้ไมโครปิเปต

นำแพลงก์ตอนพืชที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้ง รวมกันหยดตัวอย่าง 6 - 8 หยด บนจานเพาะเชื้อ นำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ดูดแพลงก์ตอนพืชทีละเซลล์ด้วยไมโครปิเปตปลายแหลม (นำปาสเจอร์ปิเปตไปลนไฟให้แก้วอ่อนตัวแล้วใช้ปากคีบ (forcep) ดึงปลายปิเปตให้เล็ก ตัดปลายปิเปตให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางกว้างกว่าเซลล์แพลงก์ตอนพืชเล็กน้อย) แพลงก์ตอนพืชที่ดูดได้แต่ละชนิด นำไปเลี้ยงในหลอดทดลองขนาดเล็กที่บรรจุอาหารเหลวที่ปราศจากเชื้อ บ่มเหมือนวิธีการแรกทำเช่นนี้หลายๆครั้ง จนกว่าจะได้แพลงก์ตอนพืชชนิดเดียว (Lewin, 1959)

1.4.3 การเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืช

เก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชที่แยกได้ในหลอดอาหารเอียงที่มีอาหารสูตร Walne และในฟลาสก์ที่มีอาหารเหลวสูตร Walne ในตู้เลี้ยงเชื้อ (growth chamber) ที่มีอุณหภูมิ 20 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ ช่วงสว่างต่อมืด เท่ากับ 12 : 12 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารเหลวทุกๆ 1 เดือน ส่วนอาหารแข็งถ่ายเชื้อทุกๆ 2 เดือน

2. การคัดเลือกแพลงก์ตอนพืช

2.1 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น

ถ่ายเชื้อแพลงก์ตอนพืชที่แยกได้ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร บรรจุอาหารเหลวสูตร Walne ปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำฟลาสก์ไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 130 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 - 5 วัน ถ่ายเชื้อจากฟลาสก์ลงในขวดแก้วกลมขนาด 2 ลิตร ให้อากาศประมาณ 5 ลิตรต่อนาที ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ช่วงสว่างต่อมืด เท่ากับ 16 : 8 ชั่วโมง

ควบคุมความเค็มด้วยการปรับด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อให้ได้ความเค็ม 30 ส่วนในพัน และเพิ่มอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne ประมาณ 30 มิลลิลิตร ทุกๆ 2 วัน จนได้ความหนาแน่นและปริมาตรที่ต้องการเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

2.2 การหาความเข้มแสงที่เหมาะสม

เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชด้วยอาหารเหลวสูตร Walne ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยวัดความหนาแน่น (OD.) เริ่มต้นที่ 0.2 (ความหนาแน่นวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร) ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ความเค็ม 30 ส่วนในพัน เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 2 ระดับคือ 4,700 ลักซ์ และ 6,300 ลักซ์ ช่วงสว่างต่อมืด เท่ากับ 16 : 8 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน บันทึกผลโดยการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง, ความเค็ม และการเติบโตโดยวัดค่าความหนาแน่น และหาน้ำหนักเซลล์แห้งของแพลงก์ตอนพืชตามวิธีการของ Markovits *et al.*(1993)

2.3 การคัดเลือกแพลงก์ตอนพืชที่เติบโตได้ดีในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา

2.3.1 การเตรียมน้ำทิ้ง

เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งในช่วงการเปลี่ยนน้ำร้อยละ 30 - 40 ต่อวัน เก็บรักษาที่ห้องแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงของสารอาหารในน้ำทิ้ง เมื่อต้องการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชให้นำน้ำทิ้งมาทำให้ละลาย แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.3.2 การเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในน้ำทิ้ง

เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชด้วยน้ำทิ้งในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ความหนาแน่นเริ่มต้นที่ 0.2 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ให้แสงที่เหมาะสมสำหรับแพลงก์ตอนพืช (จากข้อ 2.2) ช่วงสว่างต่อมืด เท่ากับ 16 : 8 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 130 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน โดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเค็ม ความหนาแน่นและหาน้ำหนักเซลล์แห้งของแพลงก์ตอนพืช นำน้ำหนักเซลล์แห้งไปคำนวณอัตราการเติบโตจำเพาะ (μ) (Pirt, 1975)

$$\mu = \frac{1}{X}\frac{dX}{dt} \quad \text{หรือ} \quad \frac{\ln X - \ln Xo}{t}$$

เมื่อ Xo = มวลของแพลงก์ตอนพืชเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)

X = มวลของแพลงก์ตอนพืชที่เวลา (t) (กรัมต่อลิตร) t = เวลา (ชั่วโมง)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี DMRT เลือกแพลงก์ตอนพืชที่สามารถเติบโตได้ดี ในระยะเวลาน้อยที่สุดเพื่อนำมาบำบัดน้ำทิ้ง

3. การหาชนิด และความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารอาหารที่เติมในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา

โดยการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในน้ำทิ้งในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ความหนาแน่นเริ่มต้น 0.2 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 130 รอบต่อนาที ให้แสงที่ช่วงสว่างต่อมืด เท่ากับ 16 : 8 ชั่วโมง ความเข้มแสงที่เหมาะสม (จากข้อ 2.2) อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 14 วัน วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าความเค็ม ความหนาแน่น และหาน้ำหนักเซลล์แห้งของแพลงก์ตอนพืช นำค่าน้ำหนักเซลล์แห้งมาหาค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี DMRT

3.1 แหล่งไนโตรเจน

3.1.1 ความเข้มข้นของไนโตรเจน

เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในน้ำทิ้ง โดยเติม โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (คิดเป็นไนโตรเจน ร้อยละ 0.82, 1.65, 2.47 และ 3.29) ในน้ำทิ้งเลี้ยงเปรียบเทียบกับแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงในน้ำทิ้งไม่เติมโซเดียมไนเตรท และที่เลี้ยงในอาหารสูตร Walne

3.1.2 ชนิดของสารประกอบไนโตรเจน

เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในน้ำทิ้ง โดยเติมสารประกอบไนโตรเจน 4 ชนิด คือ โซเดียมไนเตรท, แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3), โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) และยูเรีย [$CO(NH_2)_2$] ในความเข้มข้นของไนโตรเจนที่เหมาะสม (จากข้อ 3.1.1) เลี้ยงเปรียบเทียบกับแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และเลี้ยงในอาหารสูตร Walne

3.1.3 ความเข้มข้นของสารประกอบไนโตรเจน

เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในน้ำทิ้ง โดยเติมสารประกอบไนโตรเจนที่คัดเลือกได้ (จากข้อ 3.1.2) ความเข้มข้น 4 ระดับคือ 15, 30, 45 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน และที่เลี้ยงในอาหารสูตร Walne

3.2 แหล่งฟอสฟอรัส

3.2.1 ความเข้มข้นของฟอสฟอรัส

เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในน้ำทิ้งเติมแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด (จากข้อ 3.1) และเติมโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (คิดเป็นฟอสฟอรัสร้อยละ 0.2, 0.399, 0.596 และ 0.795) เลี้ยงเปรียบเทียบกับแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และเลี้ยงในอาหารสูตร Walne

3.2.2 ชนิดของสารประกอบฟอสฟอรัส

เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในน้ำทิ้งเติมแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด (จากข้อ 3.1) และเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4), ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4), ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) ในปริมาณความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่เหมาะสม (จากข้อ 3.2.1) เลี้ยงเปรียบเทียบกับแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และเลี้ยงในอาหารสูตร Walne

4.ทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาของแพลงก์ตอนพืชที่คัดเลือกได้

4.1 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำทิ้ง

นำน้ำทิ้งจากช่วงการเปลี่ยนน้ำร้อยละ 30 - 40 ต่อวัน 3 จุดนำมารวมกัน วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง, ความเค็ม, วิเคราะห์ค่าซีโอดี (APHA, AWWA and WPCF, 1985), ไนเตรท, ไนไตรท์, ออร์โธฟอสเฟต, แอมโมเนีย (Strickland and Parsons, 1972), และไนโตรเจนทั้งหมด (UNESCO, 1983)

4.2 ศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้ง

เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา เติมสารอาหารที่ศึกษาจากข้อ 4 เลี้ยงเปรียบเทียบกับน้ำทิ้งที่ไม่ได้เติมสารอาหาร เก็บตัวอย่างทุกๆวันเป็นเวลา 4 วัน วัดความหนาแน่น และน้ำหนักเซลล์แห้ง แล้วนำน้ำเลี้ยงมากรองผ่านกระดาษกรอง GF/C น้ำที่ผ่านการกรอง นำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง, อุณหภูมิ, วิเคราะห์หาค่าซีโอดี, ออร์โธฟอสเฟต, ไนเตรท, ไนไตรท์, แอมโมเนีย และไนโตรเจนทั้งหมด

5. ทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของแพลงก์ตอนพืชที่คัดเลือกได้

5.1 การเตรียมน้ำทะเล

นำน้ำทะเลธรรมชาติที่ผ่านการกรองแล้วจากสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งแห่งชาติ จังหวัดสงขลา มาให้อากาศด้วยหัวทราย (air stone) ตลอดเวลาเพื่อเพิ่มออกซิเจนในน้ำเป็นเวลา 1 วัน ก่อนนำกุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาร์วา 25 มาเลี้ยง

5.2 การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้น

เลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาร์วา 25 ในขวดโหลแก้วขนาด 5 ลิตร บรรจุน้ำทะเล (ความเค็ม 35 ส่วนในพัน) ที่เตรียมไว้ปริมาตร 4 ลิตร ปล่อยกุ้งในอัตรา 5 ตัวต่อลิตร ใส่แพลงก์ตอนพืช ความหนาแน่นเท่ากับ 15.4×10^8 เซลล์ต่อลิตร (Darley, 1982) (OD. = 0.15 ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ตามตารางภาคผนวก ค ที่ 2) ให้อากาศด้วยหัวทรายตลอดเวลา เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 31 องศาเซลเซียส) โดยวางขวดเลี้ยงไว้บริเวณริมหน้าต่าง ให้อาหารกุ้งทุกๆ 6 ชั่วโมง โดยให้อาหารประมาณร้อยละ 5 ของน้ำหนักตัว แล้วจึงดูดเศษอาหารที่ตกค้างหลังจากให้อาหาร 1 ชั่วโมง บันทึกผลทุกๆ 3 ชั่วโมง จนถึง 4 วัน โดยนับจำนวนกุ้งที่ตาย วัดความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืชที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร แล้วนำมาคำนวณหาจำนวนแพลงก์ตอนพืช วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิน้ำทะเลที่เลี้ยงกุ้ง เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใส่แพลงก์ตอนพืช วิธีการเลี้ยงดัดแปลงจากวิธีของ Watanabe และ Oishi (1986) ทำการทดลองชุดละ 2 ซ้ำ

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาสกุล และการแยกแพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา และบ่อพักน้ำทิ้ง

1.1 คุณลักษณะทางกายภาพ และทางเคมีบางประการจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา และบ่อพักน้ำทิ้งภาคสนาม

การศึกษาลักษณะทางกายภาพ และทางเคมีบางประการจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาจำนวน 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้งตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 1 รุ่น พบว่า น้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งและบ่อพักน้ำทิ้งมีความเค็มเฉลี่ย 26 และ 22 ส่วนในพัน ตามลำดับ จากการศึกษาของ ดุสิต ตันวิไลย และคณะ (2537) พบว่า น้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งและบ่อพักน้ำทิ้งจำนวน 5 ฟาร์ม ในจังหวัดปัตตานี มีความเค็มเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 1 รุ่น ไม่แตกต่างกัน (20 และ 20 ส่วนในพัน) และมีค่าแตกต่างกับน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งและบ่อพักน้ำทิ้งที่ทำการศึกษาไม่มากนัก เนื่องจากค่าความเค็มของน้ำจะเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล ซึ่งขณะทำการศึกษาได้เก็บตัวอย่างน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งและบ่อพักน้ำทิ้งช่วงฤดูฝนในระยะก่อนการถ่ายน้ำ ความเค็มจึงค่อนข้างต่ำกว่าช่วงอื่น (17.3 และ 17 ส่วนในพัน) (ตารางที่ 6) ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งและบ่อพักน้ำทิ้งเฉลี่ย 8.05 และ 7.75 พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง และบ่อพักน้ำทิ้งในจังหวัดปัตตานี โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ย 8.13 และ 8.15 ตามลำดับ (ดุสิต ตันวิไลย และคณะ, 2537) เนื่องจากน้ำทะเลมีระบบคาร์บอเนตเป็นตัวควบคุมให้ความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงแคบๆ (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2534) ซึ่งในบ่อเลี้ยงกุ้งจะใช้การถ่ายน้ำ และใช้ปูนขาวเป็นตัวปรับค่าความเป็นกรด-ด่างไม่ให้เปลี่ยนแปลงมากกว่า 0.5 ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของกุ้ง (ปัญญา สุวรรณสมุทร, 2534) ชลอ ลิ้มสุวรรณ (2534) ได้กล่าวว่าความแตกต่างของค่าความเป็นกรด-ด่างจะเป็นตัวบ่งบอกปริมาณแพลงก์ตอนพืชอย่างคร่าวๆคือ เมื่อน้ำในบ่อมีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างมากจะมีปริมาณแพลงก์ตอนพืชค่อนข้างมาก

จากการศึกษาความโปร่งใสซึ่งเป็นตัวบ่งบอกปริมาณสารแขวนลอยที่อยู่ในน้ำ ส่วนใหญ่จะเป็นตะกอนและแพลงก์ตอน พบว่าน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งมีค่าความโปร่งใสเฉลี่ย 35.5 เซนติเมตร ซึ่งมีค่าความโปร่งใสมากกว่าน้ำในบ่อพักน้ำทิ้ง (23.75 เซนติเมตร) (ตารางที่6) ค่าความโปร่งใสจะแตกต่างกันมากในช่วงก่อนการถ่ายน้ำและช่วงก่อนการเก็บเกี่ยว เนื่องจากหยุดการถ่ายน้ำ น้ำในบ่อพักน้ำทิ้งจะมีปริมาณน้อยทำให้มีตะกอนมากความโปร่งใสจึงต่ำ และอีกประการหนึ่งคือ

ตารางที่ 6 คุณภาพน้ำทางกายภาพ และทางเคมีบางประการของน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา และบ่อพักน้ำทิ้งตลอด ตลอด 4 ช่วงการถ่ายน้ำ

ช่วงการถ่ายน้ำ	ก่อนการถ่ายน้ำ		ถ่ายน้ำร้อยละ15-20		ถ่ายน้ำร้อยละ 30-40		ก่อนการเก็บเกี่ยว		ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 1 รุ่น	
คุณภาพน้ำ	บ่อเลี้ยงกุ้ง	บ่อพักน้ำทิ้ง	บ่อเลี้ยงกุ้ง	บ่อพักน้ำทิ้ง	บ่อเลี้ยงกุ้ง	บ่อพักน้ำทิ้ง	บ่อเลี้ยงกุ้ง	บ่อพักน้ำทิ้ง	บ่อเลี้ยงกุ้ง	บ่อพักน้ำทิ้ง
ความเค็ม (ส่วนในพัน)	17.3±1.0	17	30.8±0.7	25	29.3±0.7	25	28.1±0.4	22	26	22
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	7.5±0.2	7.4	8.3±0.2	8.1	8.2±0.3	8.3	8.2±0.2	7.2	8.05	7.75
ความโปร่งใส (เซนติเมตร)	47±14	10	33.1±10	40	28.8±6.4	25	33.13±12	20	35.5	23.75
สีน้ำ	-	ดำ	-	เขียวใส	-	เขียว	-	เขียวขุ่น	-	-
ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.7±0.3	0.1	2.3±0.5	1.9	1.6±0.5	0.3	1.0±0.8	0.6	1.4	0.73

- สีของน้ำที่ได้จากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำจำนวน 8 บ่อ ซึ่งแตกต่างกันจึงไม่สามารถบอกสีได้

น้ำที่เปลี่ยนถ่ายออกมาส่วนใหญ่จะเป็นน้ำส่วนล่างที่มีปริมาณสารอาหารสูง เมื่อปล่อยออกมาแพลงก์ตอนพืชในบ่อพักน้ำทิ้งจะใช้สารอาหารและเติบโตอย่างรวดเร็ว ทำให้การส่องผ่านของแสงลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ดุสิต ตันวิไลย และคณะ (2537) พบว่าน้ำทิ้งที่ปล่อยออกมาจากทั้ง 5 ฟาร์มในเขตจังหวัด ปัตตานี มีความโปร่งใสเฉลี่ย 27.96 เซนติเมตร และมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกับน้ำทิ้งที่เก็บตัวอย่างได้ (23.75 เซนติเมตร) ส่วนสีของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งจะเปลี่ยนแปลงตามปริมาณสารแขวนลอย อินทรีย์วัตถุ และแพลงก์ตอนที่อยู่ในน้ำ แต่แพลงก์ตอนพืชจะเป็นสาเหตุทำให้สีของน้ำเปลี่ยนแปลงมากที่สุด จากการศึกษาพบว่าสีของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งส่วนใหญ่จะเป็นสีเขียว ซึ่งเป็นสีน้ำที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยทำให้ง่ายต่อการควบคุมและจัดการแพลงก์ตอนพืชที่จะพบมากในน้ำสีนี้คือแพลงก์ตอนพืชสีเขียวและมีชนิดอื่นผสมอยู่ด้วย ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นพวกเพนเนทไดอะตอม (อานันท์ แก้วมี, 2538) ส่วนออกซิเจนที่ละลายในน้ำเป็นสิ่งสำคัญในการดำรงชีพของสัตว์น้ำ และความแตกต่างของออกซิเจนในรอบวันจะเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณของสิ่งมีชีวิตในน้ำ ดังนั้นออกซิเจนในน้ำต้องมีปริมาณมากพอที่สิ่งมีชีวิตสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ แต่จากการศึกษาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งเวลา 6.00 นาฬิกา พบว่ามีปริมาณเฉลี่ย 1.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งค่อนข้างต่ำเนื่องจากในช่วงเวลากลางคืนแพลงก์ตอนพืชไม่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงแต่จะมีการหายใจของสิ่งที่มีชีวิตต่างๆในบ่อเลี้ยงกุ้ง ดังนั้นหลังเที่ยงคืนถึงเช้ามืดจะมีออกซิเจนในน้ำต่ำที่สุด (สิริ ทุกข์วินาศ และ สุรางค์ ทิพย์โยธิน, 2533) ชลอ ลิ้มสุวรรณ (2534) กล่าวว่าปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกุ้งกุลาดำไม่ควรต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อมีปริมาณต่ำกว่านี้จะทำอันตรายต่อกุ้งหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นด้วย เช่น จำนวนของกุ้งที่ปล่อย สภาพของน้ำภายในบ่อ และอีกหลายๆองค์ประกอบอื่น ส่วนน้ำในบ่อพักน้ำทิ้งมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเฉลี่ย 0.73 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำเนื่องจากน้ำที่ปล่อยออกมาเป็นน้ำส่วนล่างที่มีการเน่าสลายสูง (สิริ ทุกข์วินาศ และ สุรางค์ ทิพย์โยธิน, 2533) และน้ำที่นำมาเลี้ยงกุ้งถ้ามีตะกอนมากตะกอนอาจจะไปขัดขวางการส่องผ่านของแสงทำให้แพลงก์ตอนพืชสังเคราะห์แสงและผลิตออกซิเจนได้น้อยลง

1.2 การศึกษาสกุลของแพลงก์ตอนพืช

การศึกษาสกุลของแพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาจำนวน 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้ง ทั้ง 4 ช่วงของการถ่ายน้ำ แพลงก์ตอนพืชที่พบส่วนใหญ่เป็นพวกไดอะตอม โดยช่วงก่อนการถ่ายน้ำพบแพลงก์ตอนพืช 19 สกุล แบ่งเป็นกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) 4 สกุล, สีเขียว (green algae) 1 สกุล, ไดโนแฟลเจลเลต 2 สกุล,

ไดอะตอม 11 สกุล และ ยูกลีนอยด์ (euglenoid) 1 สกุล (ตารางที่ 7) ช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 15 - 20 พบแพลงก์ตอนพืช 21 สกุล แบ่งเป็นกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงิน 3 สกุล, สีเขียว 1 สกุล, ไดโนแฟลเจลเลต 2 สกุล, และไดอะตอม 15 สกุล (ตารางที่ 8) ช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 30 - 40 พบแพลงก์ตอนพืช 26 สกุล อยู่ในกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงิน 6 สกุล, สีเขียว 2 สกุล, ไดโนแฟลเจลเลต 4 สกุล, ไดอะตอม 13 สกุล และยูกลีนอยด์ 1 สกุล (ตารางที่ 9) ส่วนช่วงก่อนการเก็บเกี่ยวพบแพลงก์ตอนพืช 28 สกุล แบ่งเป็นกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงิน 5 สกุล, สีเขียว 1 สกุล, ไดโนแฟลเจลเลต 5 สกุล, ไดอะตอม 15 สกุล, ยูกลีนอยด์ 1 สกุล และสีน้ำตาลแกมทอง (golden brown algae) 1 สกุล (ตารางที่ 10) แสดงให้เห็นว่าแพลงก์ตอนพืชที่พบในบ่อเลี้ยงกุ้งมีมากมายหลายชนิด เช่นเดียวกับที่พบบริเวณชายฝั่งทะเลทั่วไป เนื่องจากน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำจะใช้น้ำบริเวณชายฝั่งดังนั้นแพลงก์ตอนพืชที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่ ไดอะตอม สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และไดโนแฟลเจลเลต (อัศวิน แก้วคง, 2538) แต่ในช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 30 - 40 และก่อนการเก็บเกี่ยวจะพบแพลงก์ตอนพืชสีเขียวแกมน้ำเงินมากกว่าช่วงอื่น Lin (1983) กล่าวว่าแพลงก์ตอนพืชสีเขียวแกมน้ำเงินเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสารอาหารสมบูรณ์ เช่นเดียวกับ Edmondson (1966) พบว่า แพลงก์ตอนพืชสีเขียวแกมน้ำเงินต้องการสารอาหารสำหรับการเติบโตมากกว่ากลุ่มอื่นแต่แพลงก์ตอนพืชในกลุ่มนี้บางชนิด เช่น *Oscillatoria* sp. สามารถสร้างสารจีออสมิน (geosmin) ทำให้เนื้อกุ้งมีกลิ่นโคลน (อัศวิน แก้วคง, 2538) สกุลของแพลงก์ตอนพืชที่พบในบ่อเลี้ยงกุ้งส่วนใหญ่เป็นพวกไดอะตอม เช่นเดียวกับการศึกษาสกุลแพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา ของ คณิต ไชยาคำ และคณะ (2535) พบแพลงก์ตอนพืช 59 สกุล โดยมีไดอะตอมถึง 33 สกุล อย่างไรก็ตามแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มนี้ควบคุมได้ยาก เนื่องจากมีการเติบโตและตายอย่างรวดเร็วกว่าแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มสีเขียว เช่น *Chlorella* sp., *Tetraselmis* sp., *Carteria* sp., และ *Dunaliella* sp. เป็นต้น (อานันท์ แก้วมี, 2538) ส่วนช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 15 - 20 และร้อยละ 30 - 40 พบ *Gonyaulax* ซึ่งเป็นพวกไดโนแฟลเจลเลตที่สามารถสร้างสารพิษถ้ามีจำนวนมากอาจทำให้กุ้งตายได้ (อัศวิน แก้วคง,2538) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีจำนวนน้อย

1.3 การแยกแพลงก์ตอนพืช

จากการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 สูตร คือ น้ำทะเลสังเคราะห์ 1 สูตร (Umebayashi) และน้ำทะเลธรรมชาติเติมสารอาหาร 2 สูตร (Sato and Serikawa และ Waine) สามารถแยกแพลงก์ตอนพืชได้ทั้งหมด 7 สกุล (ตารางที่11) เป็นแพลงก์ตอนพืชสีเขียวแกมน้ำเงิน 1 สกุล คือ *Phormidium* แพลงก์ตอนพืชที่พบในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่สามารถสร้างสารจีออสมิน

ตารางที่ 7 สกุลของแพลงก์ตอนพืชจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาจำนวน 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้งในช่วงก่อนการถ่ายน้ำ

ดิวิชั่น	วงศ์	สกุล	บ่อที่พบ
Cyanophyta (blue - green algae)	Oscillatoriaceae	*Oscillatoria*	W,A2,A7,B10,B12,B13,B14
		Phormidium	A6,B12,B14
	Chroococcaceae	*Merismopedia*	A7,B14
		Chroococcus	B10
Chlorophyta (green - algae)	Oocystaceae	*Chlorella*	A2,A7,B10,B13
Pyrrophyta (dinoflagellates)	Peridiniaceae	*Protoperidinium*	W,A6,A7,B10,B12,B14
	Gymnodiniaceae	*Amphidinium*	B10,B14
Bacillariophyta (diatoms)	Nitzschiaceae	*Nitzschia*	W,A2,B10,B12,B14
		Cylindrotheca	W,A6,B14
	Coscinodiscaceae	*Coscinodiscus*	W,A2,A6,A7,B10,B12B13,B14,B15
	Achnanthaceae	*Cocconeis*	W
	Naviculaceae	*Navicula*	A2,A6,A7,B12B13,B14,B15
		Pleurosigma	A2,A7,B10,B12B13,B14,B15
		Amphiprora	A7,B14,B15
	Rhizosoleniaceae	*Rhizosolenia*	B14
	Melosiraceae	*Melosira*	A6
	Skeletonemaceae	*Skeletonema*	A7,B10,B12B13,B14,B15
	Biddulphiaceae	*Biddulphia*	B14
Euglenophyta (euglenoids)	Euglenaceae	*Euglena*	B14

W = บ่อพักน้ำทิ้ง

A,B = บ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ตารางที่ 8 สกุลของแพลงก์ตอนพืชในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาจำนวน 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้งในช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 15 - 20

ดิวิชั่น	วงศ์	สกุล	บ่อที่พบ
Cyanophyta	Oscillatoriaceae	*Oscillatoria*	A2,B10,B12,B13,B15
		Phormidium	W,B12,B13,B14
	Chroococcaceae	*Chroococcus*	A7,B12,B15
Chlorophyta	Oocystaceae	*Chlorella*	A2,B12
Pyrrophyta	Peridiniaceae	*Protoperidinium*	W,B12,B13,B15
	Gymnodiniaceae	*Gonyaulax*	B13
Bacillariophyta	Chaetoceraceae	*Chaetoceros*	W,A2,B10,B12,B13
	Skeletonemaceae	*Skeletonema*	W,A2,A6,A7,B10,B12,B13,B14,B15
	Naviculaceae	*Amphiprora*	W,A7,B10
		Navicula	A2
		Pleurosigma	W,A2,A6,A7,B10,B12,B13
		Amprora	B15
	Nitzschiaceae	*Nitzschia*	W,A2,A7,B10,B12,B15
		Cylindrotheca	W,A2,B14,B15
	Coscinodiscaceae	*Coscinodiscus*	W,A2,A6,A7,B10,B13,B14,B15
	Rhizosoleniaceae	*Rhizosolenia*	W,A6,A7,B10,B12
	Leptocylindraceae	*Leptocylindrus*	W,B12
	Fragilariaceae	*Thalassionema*	A7,B10
		Asterionella	A7
	Biddulphiaceae	*Hemiaulus*	A7
		Biddulphia	A6,A7

W = บ่อพักน้ำทิ้ง

A,B = บ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ตารางที่ 9 สกุลของแพลงก์ตอนพืชในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา จำนวน 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้งในช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 30 - 40

ดิวิชั่น	วงศ์	สกุล	บ่อที่พบ
Cyanophyta	Oscillatoriaceae	*Oscillatoria*	W,A2,A6,A7,B10,B12,B14,B15
		Phormidium	W,A2,A6,A7,B10,B12,B13,B14,B15
		Spirulina	B10,B14
	Chroococcaceae	*Chroococcus*	W,A7,B10
		Merismopedia	A7
	Nostocaceae	*Anabaena*	A7,B14
Chlorophyta	Oocystaceae	*Chlorella*	W,B12,B13
	Halosphaeraceae	*Pyramimonas*	B12
Pyrrophyta	Peridiniaceae	*Protoperidinium*	W,A2,A6,B10,B12,B13,B14,B15
		Diplopsalis	B10
	Gymnodiniaceae	*Gonyaulax*	A7,B12,B13
		Gymnodinium	B15
Bacillariophyta	Naviculaceae	*Navicula*	W,A2,A6,B12,B13,B14,B15
		Amphiprora	W,A6,B14,B15
		Pleurosigma	A2
	Nitzschiaceae	*Nitzschia*	W,A2,A6,A7,B10,B12,B13,B14,B15
		Cylindrotheca	B14
	Skeletonemaceae	*Skeletonema*	W,A7,B10,B12,B13,B14
	Coscinodiscaceae	*Coscinodiscus*	W,A2,A6,A7,B10,B12,B13,B14,B15
	Chaetoceraceae	*Chaetoceros*	W,A6,A7,B10,B12,B13,B14
	Rhizosoleniaceae	*Rhizosolenia*	W,A2,A6,A7,B10,B12,B13,B14,B15
	Eucampiaceae	*Streptotheca*	W,B12,B14
	Biddulphiaceae	*Biddulphia*	B10,B13,B14
	Achnanthaceae	*Cocconeis*	A2
	Melosiraceae	*Melosira*	A2
Euglenophyta	Euglenaceae	*Euglena*	W,B12,B13

W = บ่อพักน้ำทิ้ง, A,B = บ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ตารางที่ 10 สกุลของแพลงก์ตอนพืชในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา จำนวน 8 บ่อ และบ่อพักน้ำทิ้งในช่วงก่อนการเก็บเกี่ยว

ดิวิชั่น	วงศ์	สกุล	บ่อที่พบ
Cyanophyta	Oscillatoriaceae	*Oscillatoria*	W,A2,A6,A7,B12,B13,B15
		Phormidium	W,A2,A7,B10,B12,B14
	Chroococcoccae	*Chroococcus*	W,A7,B10,B12,B13,B15
		Merismopedia	A7,B12,B13,B14
		Microcystis	W,A2,A6,A7,B10,B12,B13,B14,B15
Chlorophyta	Oocystaceae	*Chlorella*	W,A2,A7,B12,B13
Pyrrophyta	Peridiniaceae	*Protoperidinium*	W,A2,A6,B12,B14,B15
	Gymnodiniaceae	*Glenodinium*	A2
		Gymnodinium	A2
		Amphidinium	B10
	Gonyaulacaceae	*Heteraulacus*	B12
Bacillariophyta	Skeletonemaceae	*Skeletonema*	W,A2,A7,B10,B12,B13,B14
	Naviculaceae	*Navicula*	W,A2,B13
		Amprora	A6,B15
		Pleurosigma	B14,B15
	Nitzschiaceae	*Nitzschia*	W,A2,A6,A7,B10,B12,B13,B14,B15
		Cylindrotheca	A2,A6,A7,B10,B12,B13,B15
	Chaetoceraceae	*Chaetoceros*	W,A2,A6,B12,B15
	Rhizosoleniaceae	*Rhizosolenia*	W,A2,A6,A7,B10,B12,B13,B14,B15
	Biddulphiaceae	*Biddulphia*	W,A2,A6,B12,B13,B14,B15
		Climacodium	B13,B14
	Melosiraceae	*Melosira*	A2,A7
	Coscinodiscaceae	*Coscinodiscus*	A7,B12,B14,B15
	Fragilariaceae	*Thalassionema*	B10,B14
		Thalassiothrix	B12,B13,B14,B15
	Cymbellaceae	*Cymbella*	B13
Euglenophyta	Euglenaceae	*Euglena*	B12
Cryptophyta	Hemisselmidaceae	*Hemisselmis*	A7

W = บ่อพักน้ำทิ้ง, A,B = บ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ตารางที่ 11 สกุลของแพลงก์ตอนพืชที่สามารถแยกได้จากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาและบ่อพักน้ำทิ้ง

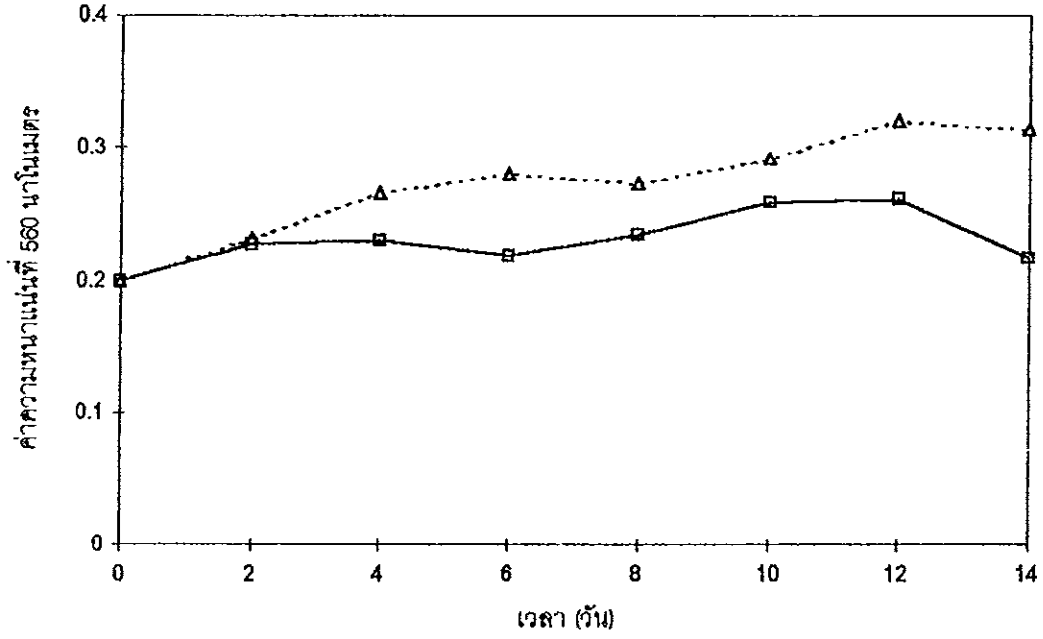
ดิวิชั่น	วงศ์	สกุล
Cryptophyta	Chroomonadaceae	*Chroomonas*
Cyanophyta	Oscillatoriaceae	*Phormidium*
Chlorophyta	Oocystaceae	*Chlorella*
Bacillariophyta	Naviculaceae	*Navicula*
		Pleurosigma
	Skeletonemaceae	*Skeletonema*
	Chaetoceraceae	*Chaetoceros*

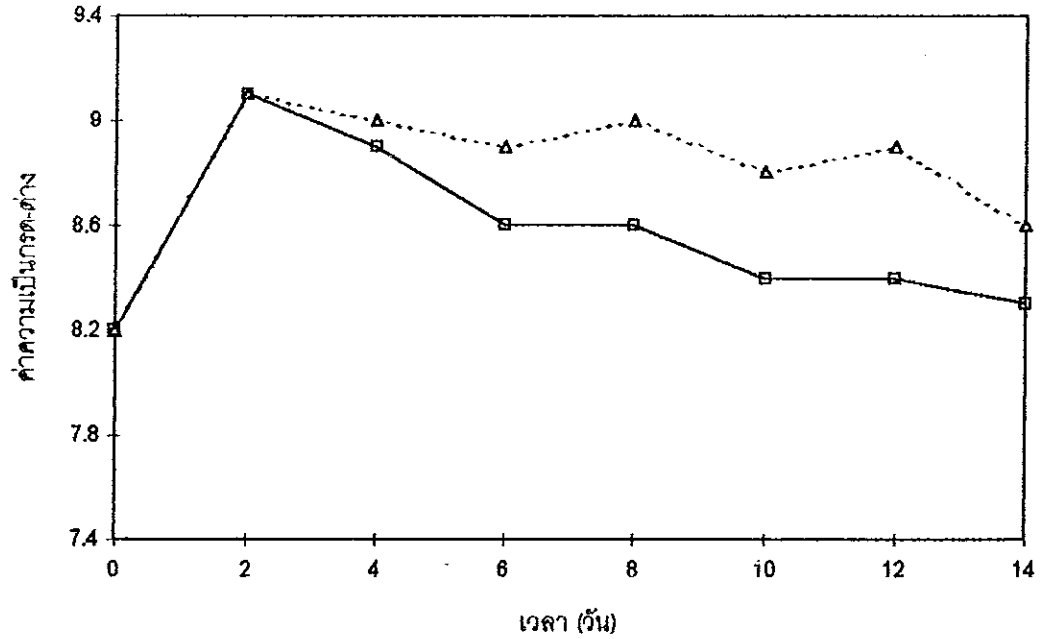
ทำให้เกิดกลิ่นโคลนในตัวกุ้ง (อัศวิน แก้วคง, 2538) ดังนั้นถึงแม้ว่าพบสกุลนี้ทั่วไปแต่ไม่นำมาศึกษาในขั้นตอนต่อไป แพลงก์ตอนพืชสีเขียว 1 สกุล คือ *Chlorella* สามารถนำมาใช้เลี้ยงโรติเฟอร์ (rotifers) ซึ่งเป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อนหลายชนิด (Mcvey, 1983) แพลงก์ตอนพืชสีน้ำตาลแกมทอง (*Chroomonas*) 1 สกุล ซึ่งมีขนาดเล็กมาก (4 - 5 ไมโครเมตร) เหมาะสำหรับที่จะใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน เช่น ลูกหอย (Fritsch, 1975) ส่วนไดอะตอมสามารถแยกได้ 4 สกุล คือ *Navicula, Pleurosigma , Skeletonema* และ *Chaetoceros* แพลงก์ตอนพืชในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่นิยมนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน (Mcvey, 1983) แต่เมื่อนำไดอะตอมทั้ง 4 สกุล มาเลี้ยงในขวดแก้วกลมขนาด 2 ลิตร พบว่า *Navicula* และ *Pleurosigma* จะเกาะติดกับผิวขวดแก้วจึงเติบโตได้น้อยและมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะใช้ทดลองในขั้นต่อไป จากเหตุผลที่กล่าวมาแล้วจึงเลือกแพลงก์ตอนพืชสีเขียว 1 สกุล (*Chlorella*) ไดอะตอม 2 สกุล (*Skeletonema* และ *Chaetoceros*) และแพลงก์ตอนพืชสีน้ำตาลแกมทอง 1 สกุล (*Chroomonas*) ในการทดลองขั้นต่อไปซึ่งแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 สกุล สามารถเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne เนื่องจากในอาหารเพิ่มวิตามินบี 12 และวิตามินบี 1 (ภาคผนวก ก) ซึ่งแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มออกโซทรอฟต้องการวิตามินพวกนี้เพื่อใช้ในการเติบโต (มนุวดี หังสพฤกษ์, 2532) ส่วนสูตรอาหารสังเคราะห์ (Umebayashi) ในขั้นตอนการเตรียมเกิดการตกตะกอนของฟอสฟอรัส และคาร์บอนทำให้สารอาหารบางส่วนเกิดการรวมตัวเป็นสารประกอบอื่นแพลงก์ตอนพืชไม่สามารถนำไปใช้ได้ (Iwasaki, 1961 อ้างโดย สุนีย์ สุวภีพันธ์, 2524) ดังนั้นจึงเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Walne ในการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในขั้นต่อไป

2. การคัดเลือกแพลงก์ตอนพืช

2.1 การหาความเข้มแสงที่เหมาะสม

การศึกษาความเข้มแสงโดยเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 ชนิด (*Skeletonema, Chaetoceros, Chlorella* และ *Chroomonas*) ที่ระดับความเข้มแสง 4,700 และ 6,300 ลักซ์ โดยที่ความหนาแน่นเริ่มต้นเท่ากับ 0.2 ที่ 560 นาโนเมตร พบว่า *Skeletonema* และ *Chaetoceros* ซึ่งเป็นพวกไดอะตอมสามารถเติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ โดย *Skeletonema* ความหนาแน่นสูงสุด 0.32 (น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.26 กรัมต่อลิตร) ที่ระยะการเลี้ยง 12 วัน และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) กับที่เลี้ยงที่ความเข้มแสง 6,300 ลักซ์ โดยให้ความหนาแน่นสูงสุด 0.26 (น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.21 กรัมต่อลิตร) ที่ระยะการเลี้ยง 10 วัน (ภาพที่ 2) แต่จากการศึกษาของ Nakanishi และ Monji (1965 อ้างโดย Parsons and Takahashi, 1973) พบว่า



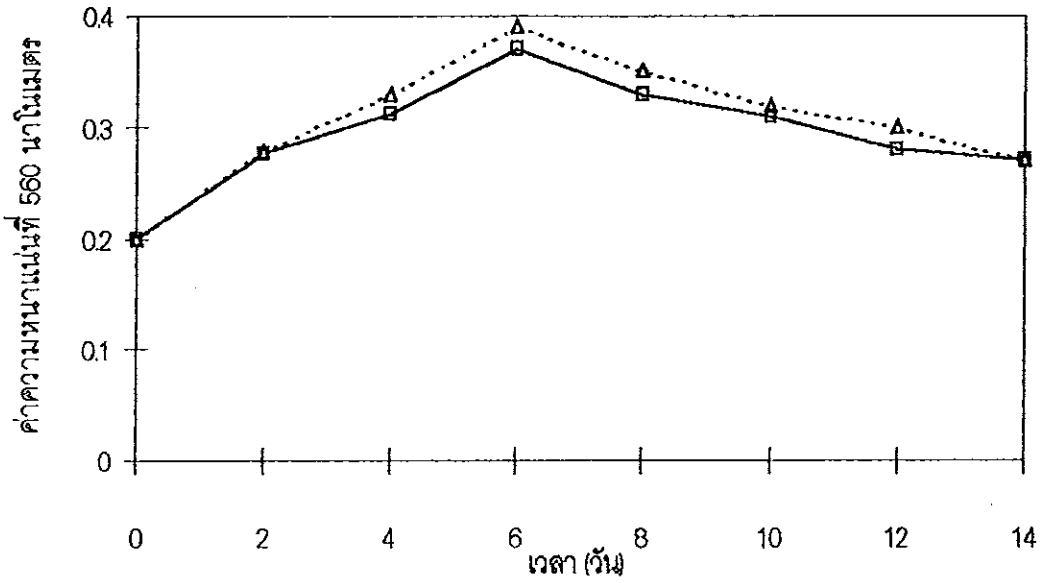


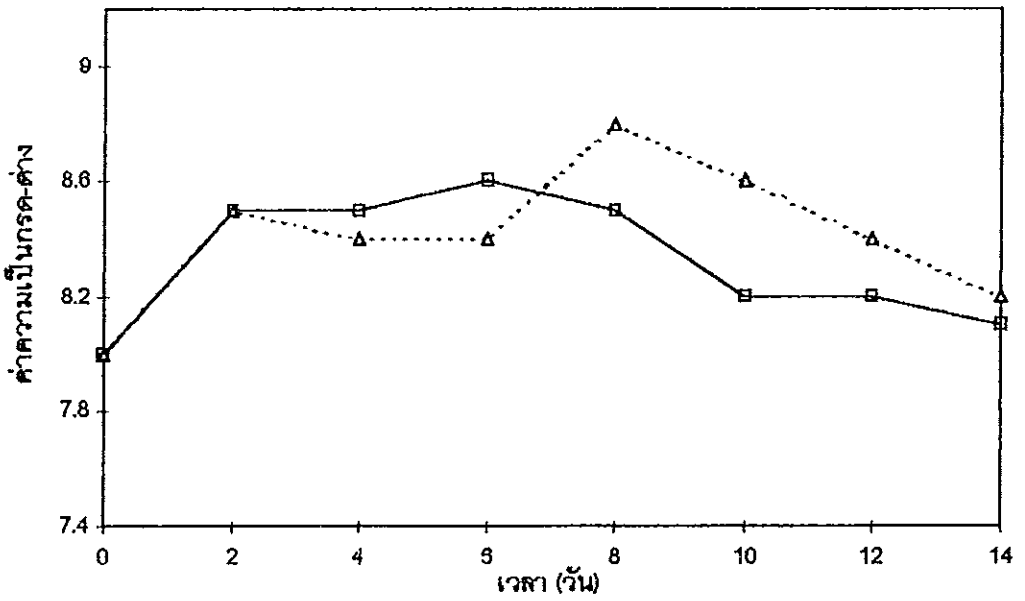
ภาพที่ 2 การเติบโต และค่าความเป็นกรด-ด่างของ *Skeletonema* ที่ความเข้มแสง 2 ระดับ คือ 4,700 ลักซ์ (Δ) และ 6,300 ลักซ์ (□)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne

Skeletonema costatum เติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 8,000 ลักซ์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของสกุล สภาพการเลี้ยง และขนาดภาชนะที่บรรจุ ซึ่งจากการศึกษาเมื่อเลี้ยง *Skeletonema* ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร พบว่าเซลล์เริ่มแตกเมื่อความเข้มแสงสูงขึ้นเป็น 6,300 ลักซ์ อาจเป็นเพราะขนาดภาชนะค่อนข้างเล็กทำให้เซลล์ของแพลงก์ตอนพืชสามารถรับแสงได้ทั่วถึงและถูกทำลาย(photoinhibition) ได้ง่ายขึ้น ซึ่ง Vonshak และคณะ (1982) ได้กล่าวว่าความเข้มแสงสูงเกินไปจะมีผลยับยั้งการทำงาน และการหายใจของเซลล์

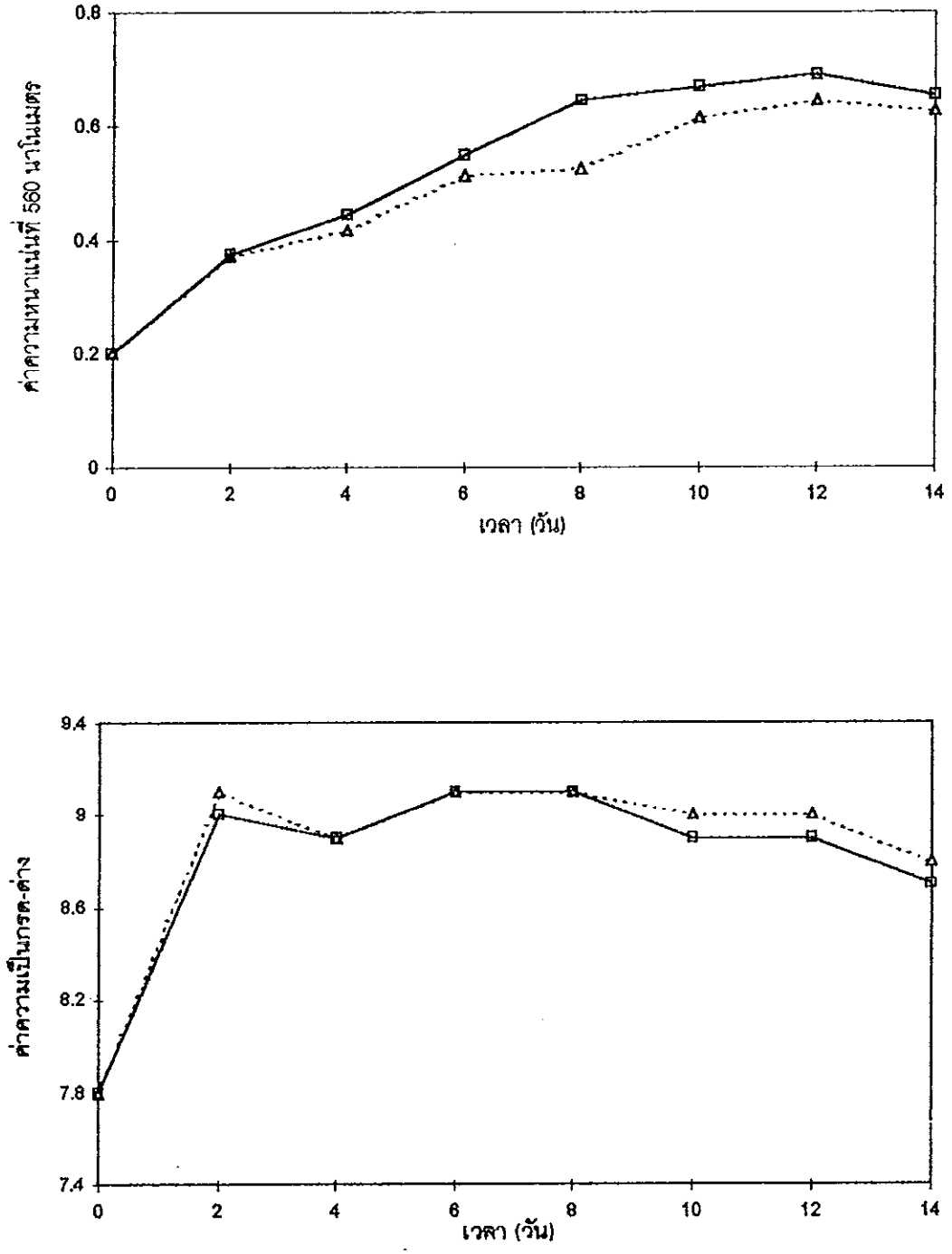
ส่วน *Chaetoceros* ที่ความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ ความหนาแน่นสูงสุด 0.39 (น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.20 กรัมต่อลิตร) ที่ระยะการเลี้ยง 6 วัน และที่ความเข้มแสง 6,300 ลักซ์ ความหนาแน่นสูงสุด 0.37 (น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.19 กรัมต่อลิตร) ที่ระยะการเลี้ยง 6 วัน) (ภาพที่ 3) เมื่อเลี้ยงได้ 8 วัน เซลล์เริ่มซีดและแตก เมื่อเปรียบเทียบกับที่เลี้ยงที่ความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ เช่นเดียวกับ *Skeletonema* ถึงแม้ Mcvey (1983) กล่าวว่า *Chaetoceros* เติบโตมากขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มแสงจาก 500 เป็น 10,000 ลักซ์ แต่เมื่อเลี้ยงในฟลาสก์ขนาดเล็กจะเกิดการยับยั้งด้วยแสงได้ง่าย

Chroomonas และ *Chlorella* สามารถเติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 6,300 ลักซ์ โดย *Chroomonas* ให้ความหนาแน่นสูงสุด 0.69 (น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.37 กรัมต่อลิตร) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับที่เลี้ยงที่ความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ ความหนาแน่นสูงสุด 0.64 (น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.35 กรัมต่อลิตร) ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 12 วัน (ภาพที่ 4) ส่วน *Chlorella* ให้ความหนาแน่นเท่ากับ 1.016 (น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.49 กรัมต่อลิตร) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ ความหนาแน่น 0.96 (น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.46 กรัมต่อลิตร) ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 14 วัน (ภาพที่ 5) หลังจากนั้นพบว่าเซลล์แตกและมีสีซีดลง สาเหตุเนื่องมาจากเลี้ยงในระยะยาว (14 วัน) สารอาหารถูกใช้หมดไปทำให้เซลล์ซีดลงและเริ่มตาย เช่นเดียวกับการศึกษาของ Mcvey (1983) พบว่า *Chlorella* เติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 6,000 - 9,000 ลักซ์ โดย *Chlorella* สามารถ เติบโตได้สูงสุดใช้ระยะเวลาเพียง 4 - 5 วัน เท่านั้น หลังจากนั้นการเติบโตจะลดลง ส่วนการเลี้ยง *Chlorella* sp. T9 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NS III ที่ความเข้มแสง 3 ระดับ คือ 2,700 4,000 และ 5,200 ลักซ์ พบว่าอัตราการเติบโตจำเพาะมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อได้รับแสงมากขึ้น (กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์, 2536) เช่นเดียวกับการเลี้ยง *Chlorella virginica* ที่ความเข้มแสง 3 ระดับคือ 1,140 2,260 และ 3,040 ลักซ์ พบว่าที่ความเข้มแสง 3,040 ลักซ์ จะให้ปริมาณเซลล์สูงสุด (Alias, 1988)

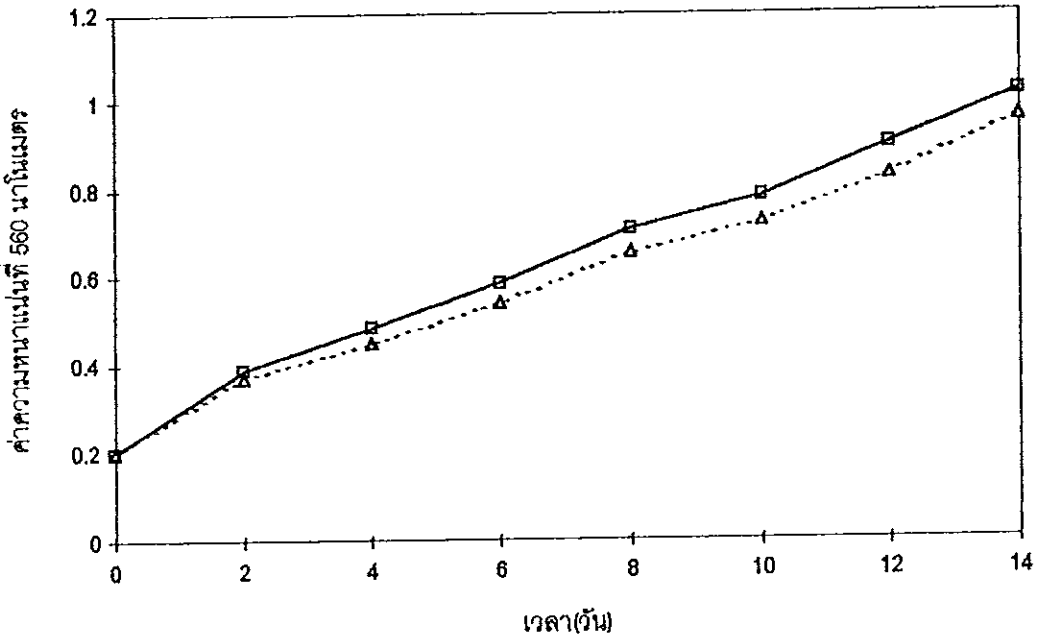


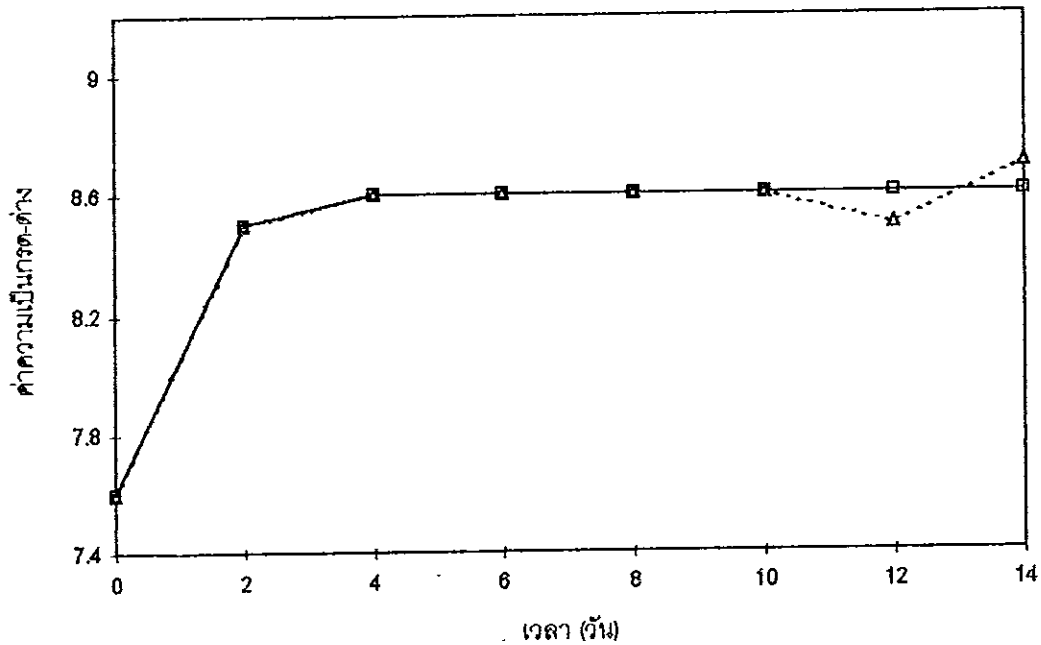


ภาพที่ 3 การเติบโต และค่าความเป็นกรด-ด่างของ *Chaetoceros* ที่ความเข้มแสง 2 ระดับ คือ 4,700 ลักซ์ (Δ) และ 6,300 ลักซ์ (□)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne



ภาพที่ 4 การเติบโต และค่าความเป็นกรด-ด่างของ *Chroomonas* ที่ความเข้มแสง 2 ระดับ คือ 4,700 ลักซ์ (Δ) และ 6,300 ลักซ์ (□)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne





ภาพที่ 5 การเติบโต และค่าความเป็นกรด-ด่างของ *Chlorella* ที่ความเข้มแสง 2 ระดับ คือ 4,700 ลักซ์ (Δ) และ 6,300 ลักซ์ (□)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 สกุล ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne (ภาพที่ 2 - 5) พบว่า เมื่อเลี้ยง *Skeletonema* ในระดับความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ ได้ 2 วัน ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วจาก 8.2 เป็น 9.2 และเริ่มลดลงเรื่อยๆจนในวันที่ 14 ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8.6 (ภาพที่ 2) แต่เมื่อดูลักษณะของเซลล์พบว่าแตกมากขึ้นในวันที่ 12 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเป็นการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชชนิดเดียว (monoculture) ที่มีแบคทีเรียปนเปื้อน ดังนั้นเมื่อเซลล์แตกแบคทีเรียที่อยู่ในน้ำจึงเข้าไปย่อยสลายเกิดเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์รวมตัวกับไฮโดรเจนอิออนเกิดเป็นกรดคาร์บอนิค (H_2CO_3) ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง (จิระศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์, 2538) แต่ที่ระดับความเข้มแสง 6,300 ลักซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มลดลงในวันที่ 6 และพบว่าเซลล์แตกเป็นจำนวนมาก เนื่องจากความเข้มแสงสูงเกินไปเซลล์จะถูกทำลาย (Parsons and Takahashi, 1973) Rajaretnam และคณะ (1987) พบว่า ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของ *Skeletonema costatum* อยู่ระหว่าง 7.5 - 8.2 ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาในครั้งนี้ อาจเนื่องมาจากค่าความเป็นกรด-ด่างของการเลี้ยง *Skeletonema* ในช่วงเริ่มต้นค่อนข้างสูง (8.2) ดังนั้นเมื่อแพลงก์ตอนพืชเติบโตจึงดึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและปล่อยก๊าซออกซิเจนออกมารวมตัวกับไฮโดรเจนอิออน เกิดเป็นไฮดรอกซีอิออน (OH^-) จึงเพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่างให้สูงขึ้นอย่างรวดเร็ว (Richmond, 1986) และเมื่อเลี้ยง *Chaetoceros* ได้ 2 วัน ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มสูงขึ้นทั้ง 2 ระดับความเข้มแสง (ภาพที่ 3) ที่ระดับความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มสูงขึ้นมากในวันที่ 8 หลังจากนั้นเริ่มลดลงเรื่อยๆ ส่วนที่ความเข้มแสง 6,300 ลักซ์ เริ่มลดลงในวันที่ 6 เมื่อดูจากกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์แตกเป็นจำนวนมาก ส่วน *Chroomonas* และ *Chlorella* เมื่อเลี้ยงได้ 2 วัน ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว เช่นเดียวกับการเลี้ยง *Chaetoceros* แต่เมื่อเลี้ยงต่อไปค่าความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างคงที่จนสิ้นสุดการเลี้ยง (14 วัน) (ภาพที่ 4,5) จากการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 สกุล ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 7.6 - 9.2 โดยเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเลี้ยงไปได้ 2 วัน ส่วนความเค็มเปลี่ยนแปลงน้อยมาก เพราะเป็นการเลี้ยงในระบบปิด

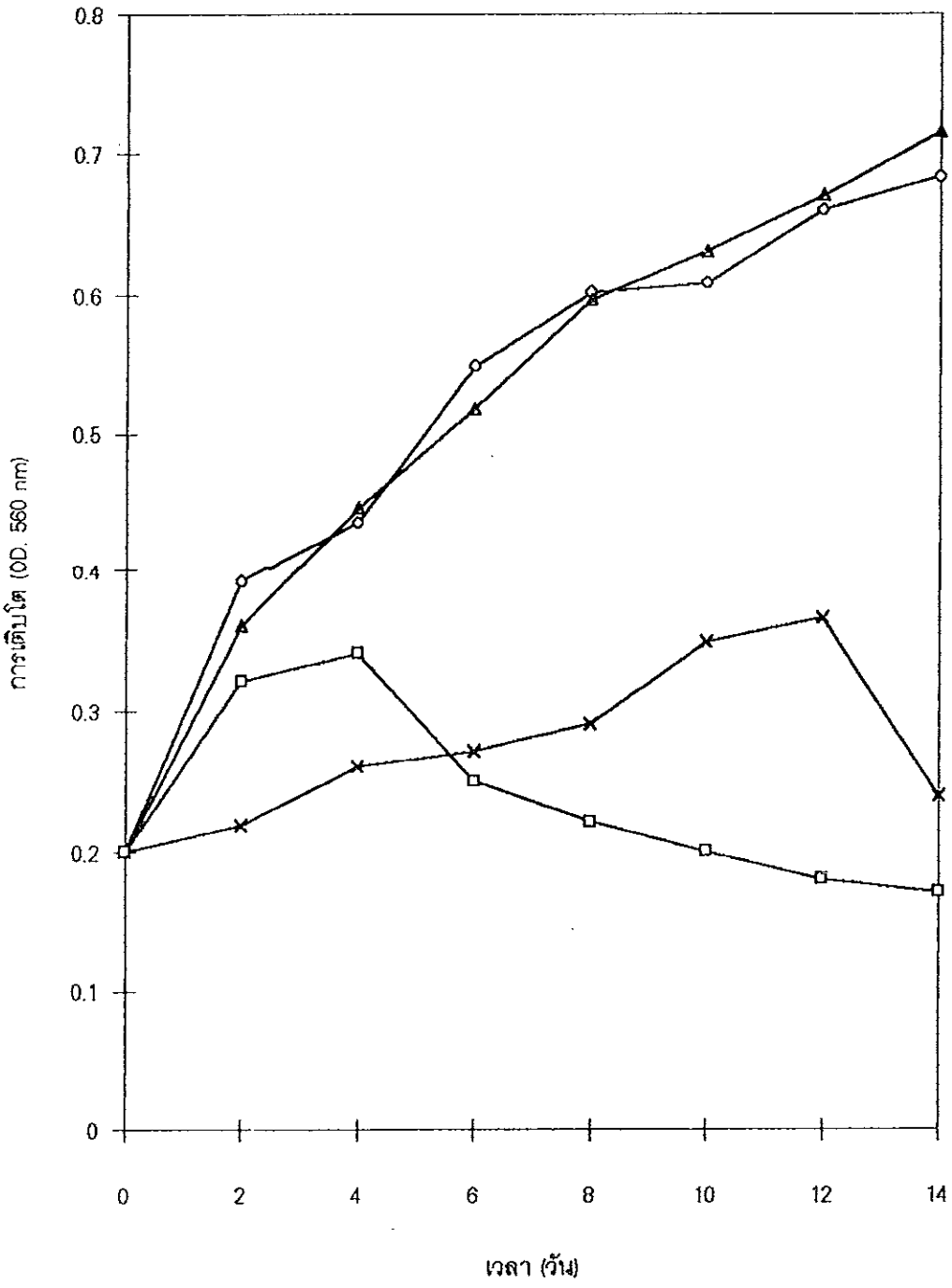
2.2 การเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในน้ำทิ้ง

เลี้ยง *Skeletonema* และ *Chaetoceros* ที่ความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ ส่วน *Chlorella* และ *Chroomonas* เลี้ยงที่ความเข้มแสง 6,300 ลักซ์ (คัดเลือกจากข้อ 2.1) ในน้ำทิ้ง โดยเลี้ยงในระบบปิดที่มีการให้อากาศแบบเขย่า ความหนาแน่นเริ่มต้นเท่ากับ 0.2 ที่ 560 นาโนเมตร เพื่อคัดเลือกสกุลที่สามารถเติบโตได้ดีในน้ำทิ้ง พบว่า *Skeletonema* และ *Chaetoceros*

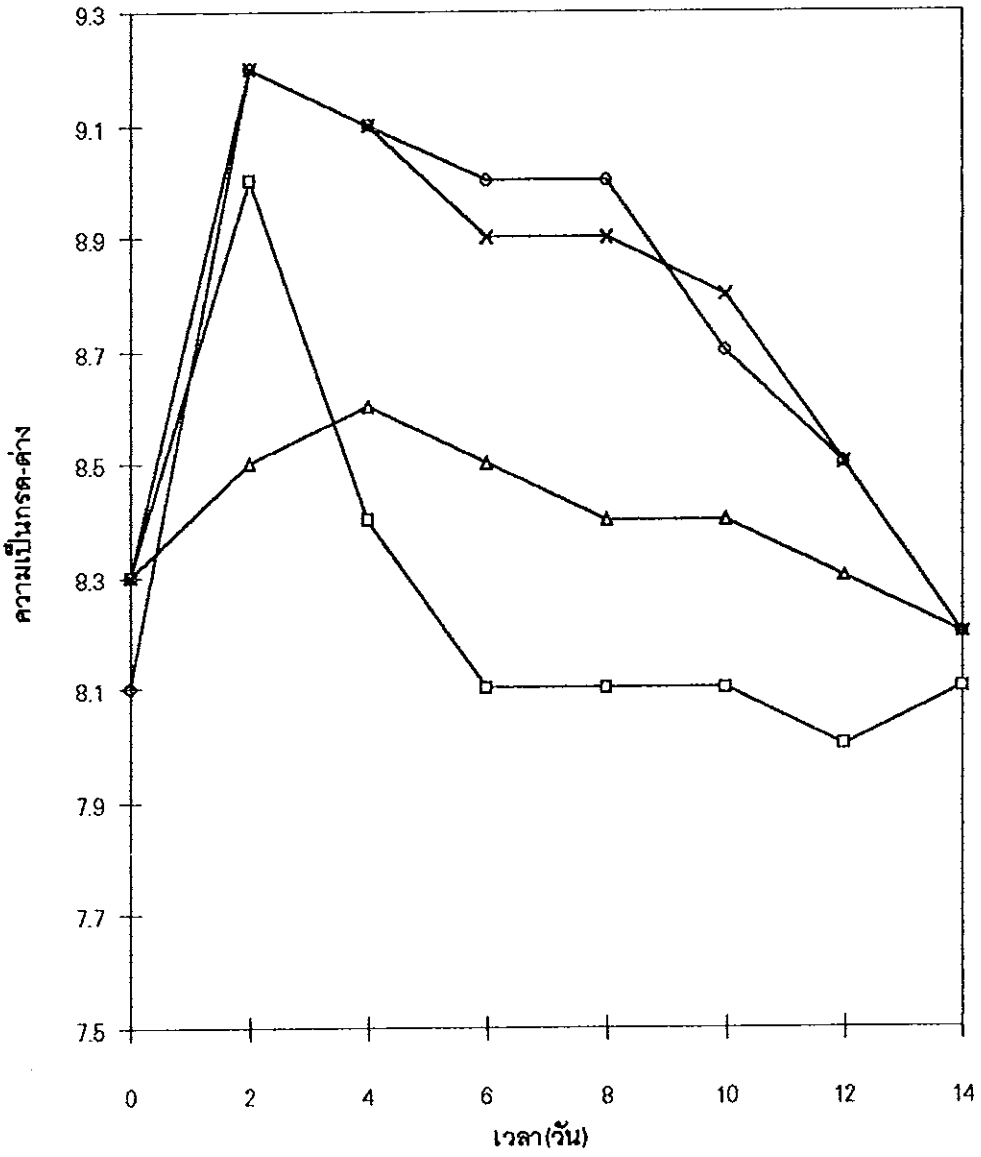
มีการเติบโตค่อนข้างต่ำและจับตัวกันเป็นกลุ่มก้อนเนื่องจากเซลล์มีการจัดเรียงตัวเป็นสายจึงไม่สามารถใช้สารอาหารได้อย่างทั่วถึง (Mcvey, 1983) โดย *Skeletonema* ให้ความหนาแน่นสูงสุดเท่ากับ 0.37 (น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.30 กรัมต่อลิตร) ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 12 วัน ส่วน *Chaetoceros* ให้ความหนาแน่นสูงสุด 0.34 (น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.18 กรัมต่อลิตร) ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 วัน ส่วน *Chlorella* และ *Chroomonas* ซึ่งเป็นแพลงก์ตอนพืชเซลล์เดียวมีขนาดเล็กประมาณ 4 - 5 ไมโครเมตร เมื่อเลี้ยงโดยการให้อากาศแบบเขย่าสามารถใช้สารอาหารได้อย่างเต็มที่จึงเติบโตได้ดีกว่า โดยความหนาแน่นสูงสุด 0.72 และ 0.68 (น้ำหนักเซลล์แห้ง 0.35 และ 0.37 กรัมต่อลิตร) ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 14 วัน (ภาพที่ 6) แต่ในการบำบัดน้ำทิ้งโดยทั่วไปจะใช้เวลาช่วงสั้นเพื่อประโยชน์ในการลดต้นทุนในการบำบัด ดังเช่น Milligan และ คณะ (1979) ใช้เวลาในการบำบัดน้ำทิ้งที่มีความเค็มสูงเพียง 2 วัน เช่นเดียวกับ หยกแก้ว ยามาลี และคณะ (2525) ใช้เวลาในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตนมถั่วเหลืองเพียง 2 วัน ดังนั้นการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 สกุล จะพิจารณาช่วงการเติบโตระยะเวลาเพียง 6 วัน เพื่อคัดเลือกแพลงก์ตอนพืชที่เติบโตดีที่สุด พบว่า *Skeletonema* และ *Chaetoceros* มีการเติบโตค่อนข้างต่ำจึงไม่เหมาะสมกับสภาพการบำบัดแบบนี้ ส่วน *Chlorella* และ *Chroomonas* สามารถเติบโตได้อย่างรวดเร็ว โดยในวันที่ 6 *Chlorella* มีความหนาแน่นเท่ากับ 0.52 และ *Chroomonas* มีความหนาแน่นเท่ากับ 0.55 (ภาพที่ 6)

จากการศึกษาจะเห็นได้ว่า *Chroomonas* มีการเติบโตใกล้เคียงกับ *Chlorella* ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 6 วัน โดย *Chlorella* มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด 0.15 ต่อชั่วโมง ส่วน *Chroomonas* มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.16 ต่อชั่วโมง (ภาพภาคผนวก ค ที่ 1) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เนื่องจาก *Chlorella* เป็นสกุลที่มีการศึกษาค่อนข้างมาก ส่วน *Chroomonas* เป็นสกุลที่มีการศึกษาน้อยทั้งบางสกุลของ *Chroomonas* สามารถใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน และใช้ผลิตกรดอะมิโนบางชนิดได้ (Wildish and Saulnier, 1993 ; Brown, 1991) จากเหตุผลดังกล่าวจึงเลือกที่จะใช้ *Chroomonas* ในการบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 ชนิด พบว่า เมื่อเลี้ยงไปได้ 2 วัน ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มสูงขึ้นจาก 8.1 - 8.3 เป็น 8.5 - 9.2 และเริ่มลดลงอย่างช้าๆจนต่ำสุดในวันที่ 14 อยู่ในช่วง 8.1 - 8.2 (ภาพที่ 7) จะเห็นได้ว่าค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเลี้ยงไปได้ 2 วัน เนื่องจากแพลงก์ตอนพืชใช้สารอาหารในน้ำทิ้งเพื่อการเติบโตและดึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์



ภาพที่ 6 การเติบโตของ *Chroomonas* (o), *Chlorella* (Δ), *Skeletonema* (x) และ *Chaetoceros* (□)ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาโดยเลี้ยงที่ความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 สกุล



ภาพที่ 7 ค่าความเป็นกรด-ด่างของ *Chroomonas* (O), *Chlorella* (Δ), *Skeletonema* (X) และ *Chaetoceros* (□) ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา โดยเลี้ยงที่ความเข้มแสงที่เหมาะสม

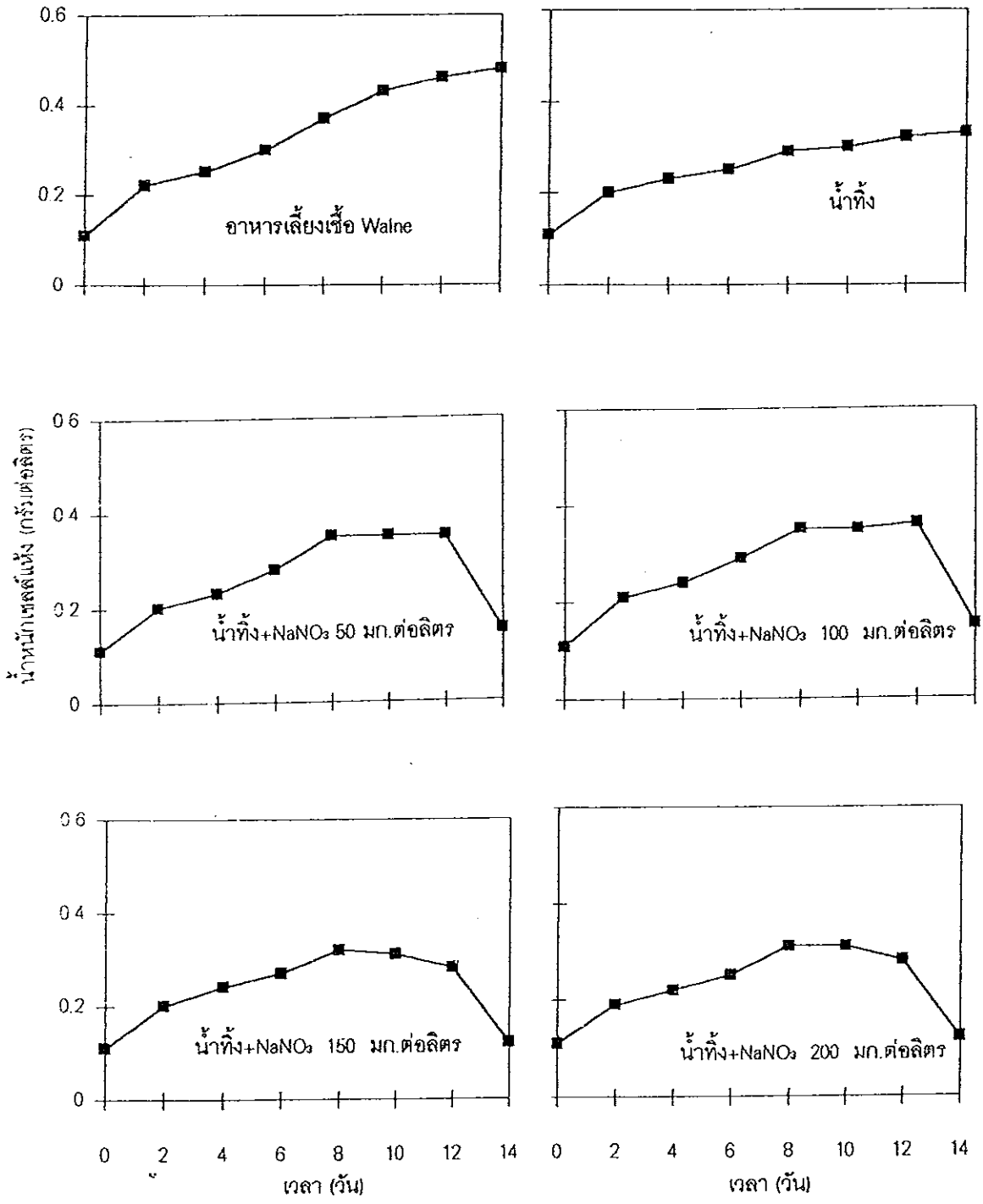
ด้วยแสงและปล่อยก๊าซออกซิเจนออกมารวมตัวไฮโดรเจนอิอนในน้ำเกิดเป็นไฮดรอกซีอิออนเป็นผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น (Richmond, 1986) ส่วนความเค็มของน้ำที่ใช้เลี้ยงเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 1 - 2 ส่วนในพัน เนื่องจากเลี้ยงในฟลาสก์ที่มีจุกปิดการระเหยของน้ำมีน้อย

3. การหาชนิด และความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารอาหารที่เติมในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา

3.1 แหล่งไนโตรเจน

3.1.1 ความเข้มข้นของไนโตรเจน

เลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งโดยเติมโซเดียมไนเตรทความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 50, 100, 150, และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (คิดเป็นไนโตรเจนร้อยละ 0.82, 1.65, 2.47 และ 3.29) พบว่า *Chroomonas* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งเติมโซเดียมไนเตรท 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเติบโตเท่ากัน โดยให้ปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ 0.35 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.11 ต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 10 วัน แต่เมื่อเพิ่มโซเดียมไนเตรทเป็น 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ให้ปริมาณเซลล์ลดลงเป็น 0.31 และ 0.32 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ระยะเวลาเลี้ยง 10 วัน มีอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.095 และ 0.096 ต่อชั่วโมง (ภาพที่ 8) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติมโซเดียมไนเตรท 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (ให้ปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ 0.35 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.11 ต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 10 วัน) กับน้ำทิ้งที่ไม่เติมโซเดียมไนเตรทให้ปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ 0.30 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.088 ต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 10 วัน) พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และ*Chroomonas* เติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne ได้ดีกว่าในน้ำทิ้งที่เติมโซเดียมไนเตรท เนื่องจากในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne มีสารอาหารเหมาะสมต่อการเติบโตมากกว่า จากการศึกษาแสดงให้ว่าเมื่อเติมโซเดียมไนเตรทในปริมาณที่เหมาะสมจะทำให้การเติบโตสูงขึ้น ซึ่งแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดมีความสามารถใช้ไนเตรทในปริมาณที่แตกต่างกัน เพราะไนเตรทจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ และไนไตรท์จึงถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียโดยการรีดิวซ์ ทำให้แพลงก์ตอนพืชสามารถดูดซึมแอมโมเนียไปใช้ในการสร้างสารอินทรีย์ไนโตรเจนภายในเซลล์ แต่ถ้าปริมาณไนไตรท์สูงกว่า 1 มิลลิโมล จะมีผลยับยั้งการเติบโตของเซลล์ (Richmond, 1986) ดังนั้นปริมาณไนโตรเจนที่จะเติมลงไปจึงต้องมีปริมาณเหมาะสมต่อการเติบโตของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิด การศึกษาในขั้นต่อไปจึงเลือกใช้ไนโตรเจนร้อยละ 0.82

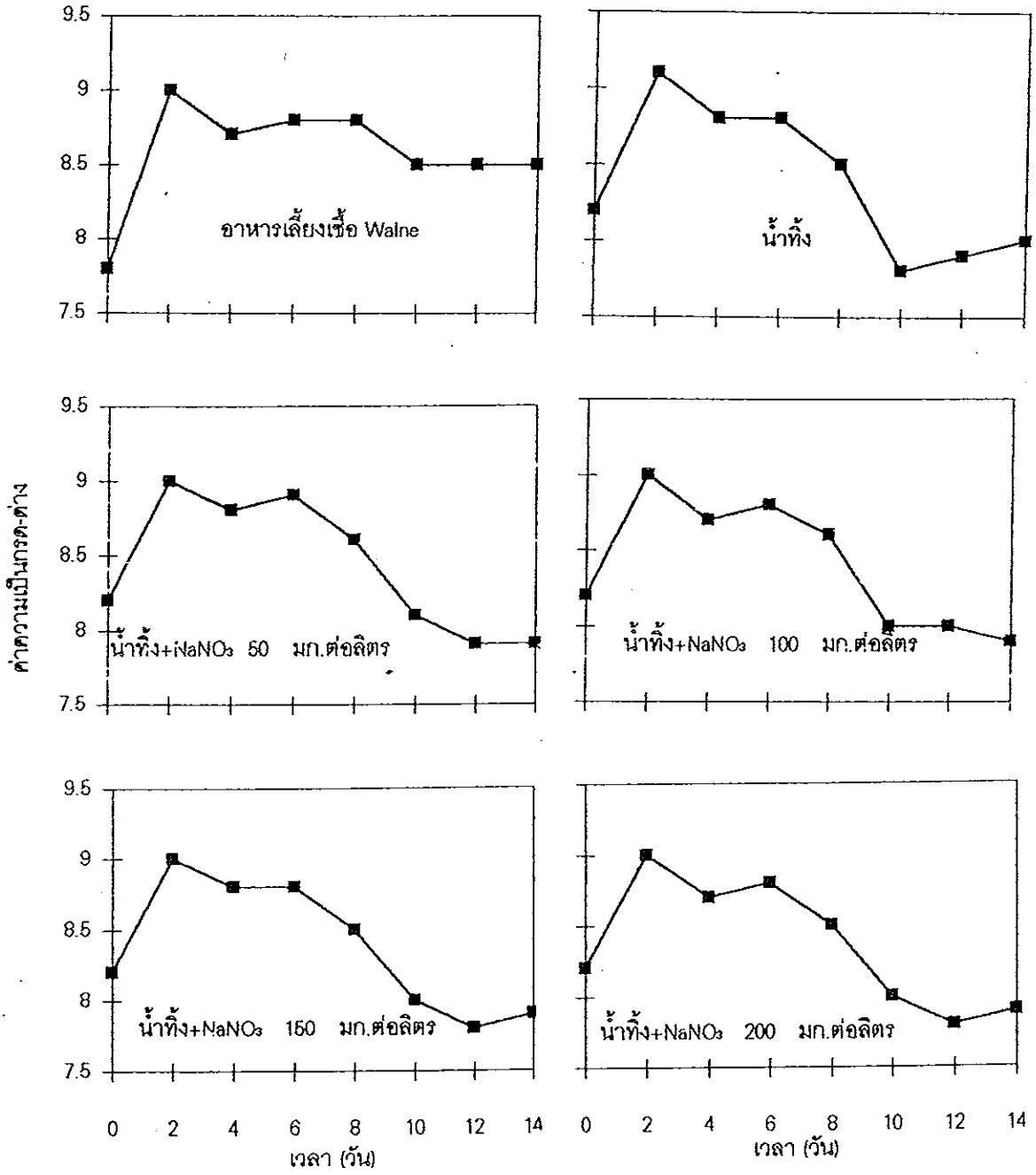


ภาพที่ 8 การเติบโตของ *Chroomonas* เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne

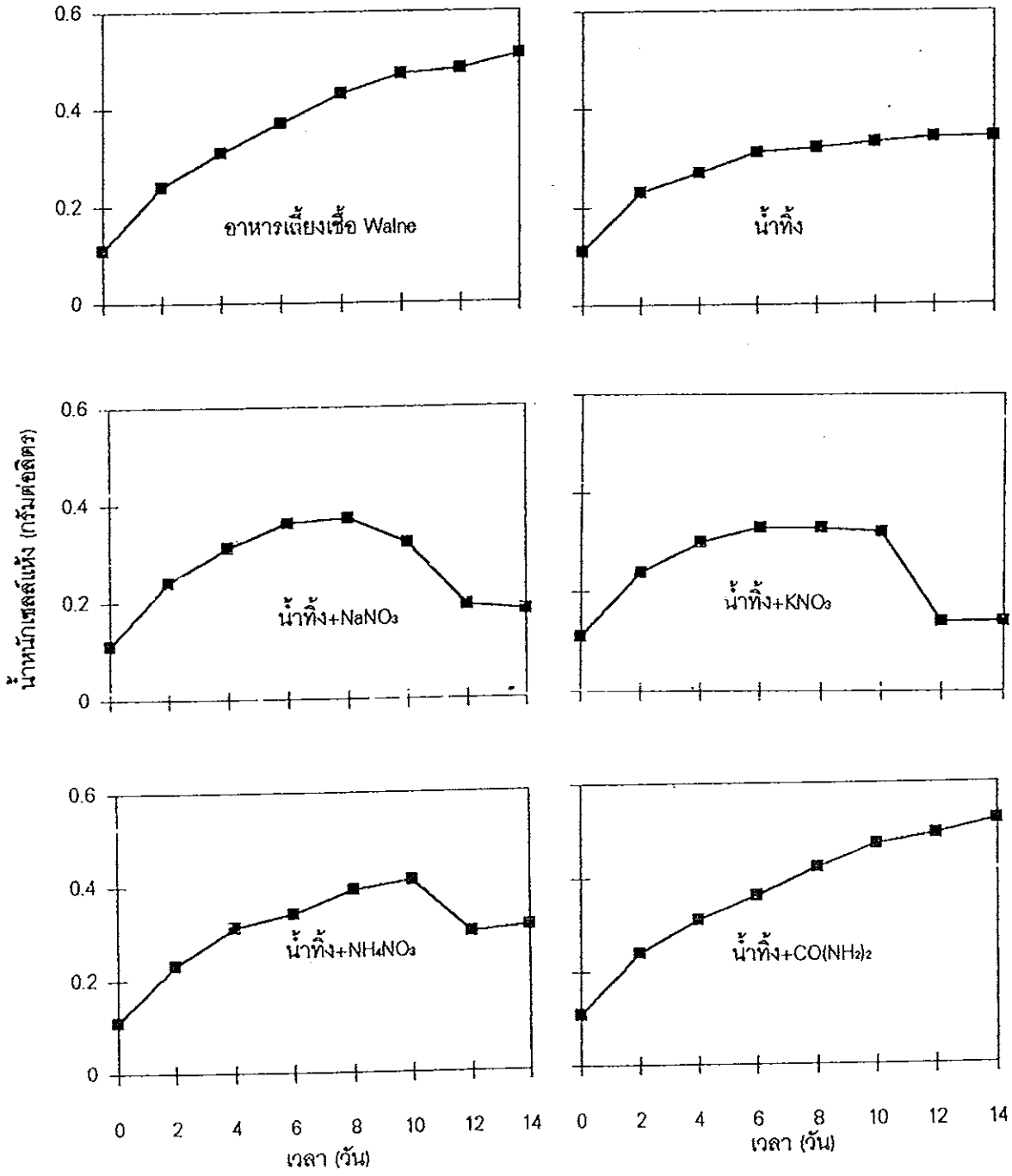
ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำทิ้งที่เติมโซเดียมไนเตรททั้ง 4 ระดับ สูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 2 วัน โดยเพิ่มจาก 7.8 - 8.2 เป็น 9.0 - 9.1 และลดลงช้าๆจนต่ำสุดเมื่อเลี้ยงได้ 10 วัน จะอยู่ในช่วง 7.8 - 8.5 (ภาพที่ 9)

3.1.2 ชนิดของสารประกอบไนโตรเจน

เลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งที่เติมสารประกอบไนโตรเจนแตกต่างกัน 4 ชนิด คือ โซเดียมไนเตรท โพแทสเซียมไนเตรท แอมโมเนียมไนเตรท และยูเรีย (มีปริมาณไนโตรเจนร้อยละ 0.82) เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งไม่เติมสารประกอบไนโตรเจน และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne พบว่า *Chroomonas* เติบโตได้ดีในน้ำทิ้งเติมยูเรียโดยให้ปริมาณเซลล์ 0.52 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 14 วัน มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.095 ต่อชั่วโมง รองลงมาคือแอมโมเนียมไนเตรทให้ปริมาณเซลล์สูงสุด 0.41 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.118 ต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 10 วัน ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบกับ *Chroomonas* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne กับในน้ำทิ้งเติมยูเรีย พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ส่วน *Chroomonas* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติมยูเรียสามารถเติบโตได้ดีกว่าที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยง Walne เมื่อเลี้ยงไปได้ 12 วัน (ภาพที่10) แต่เมื่อเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งที่เติมโซเดียมไนเตรท และโพแทสเซียมไนเตรท พบว่า *Chroomonas* เติบโตได้ไม่ดีนัก โดยให้ปริมาณเซลล์สูงสุด 0.37 และ 0.33 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.14 และ 0.12 ต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 8 วัน จากการเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งที่เติมสารประกอบไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 4 ชนิด แสดงให้เห็นว่า *Chroomonas* สามารถใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดีที่สุด Neilson และ Larson (1980) กล่าวว่าแพลงก์ตอนพืชสามารถใช้ยูเรียโดยใช้เอนไซม์ 2 ชนิดคือยูรีเอส (urease) และยูเรียอมิโดไลเอส (urea amidolyase) ในแพลงก์ตอนพืชสีเขียวจะมีเอนไซด์ยูเรียอมิโดไลเอสส่วนแพลงก์ตอนพืชกลุ่มอื่นมีเอนไซด์ยูรีเอส Syrett (1981 อ้างโดย Richmond, 1986) กล่าวว่าแพลงก์ตอนพืชหลายชนิดสามารถใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดี และยูเรียมีราคาถูกจึงนิยมใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในปริมาณมาก (mass culture) (Mcvey, 1983) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rhodes และคณะ (1994) พบว่า *Chrysochromulina camella* และ *C. polylepis* เติบโตได้ดีเมื่อใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน และจากการศึกษาของ Mc-Anally - Salas และคณะ (1992) พบว่า ยูเรียสามารถนำมาทดแทนไนโตรเจนในสูตรอาหาร f/2 ในการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในระดับห้องปฏิบัติการดังนั้นในขั้นตอนต่อไปจึงเลือกใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เติมลงในน้ำทิ้ง



ภาพที่ 9 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne



ภาพที่ 10 การเติบโตของ *Chroomonas* เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมสารประกอบไนโตรเจนแตกต่างกัน 4 ชนิด เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งและในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne

ความแตกต่างของค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติมสารประกอบไนโตรเจนแตกต่างกัน 4 ชนิด พบว่าเมื่อเลี้ยงไปได้ 2 วัน ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นจาก 8.3 - 8.4 เป็น 8.6 - 8.7 แล้วเริ่มลดลงเรื่อยๆ ส่วนการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Waine ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วเมื่อเลี้ยงได้ 2 วัน โดยเพิ่มจาก 8.0 เป็น 8.7 แล้วลดลงเรื่อยๆแต่ไม่มากนัก และที่เลี้ยงในน้ำทิ้งการเปลี่ยนแปลง เช่นเดียวกับเลี้ยงในสารประกอบไนโตรเจนที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 11)

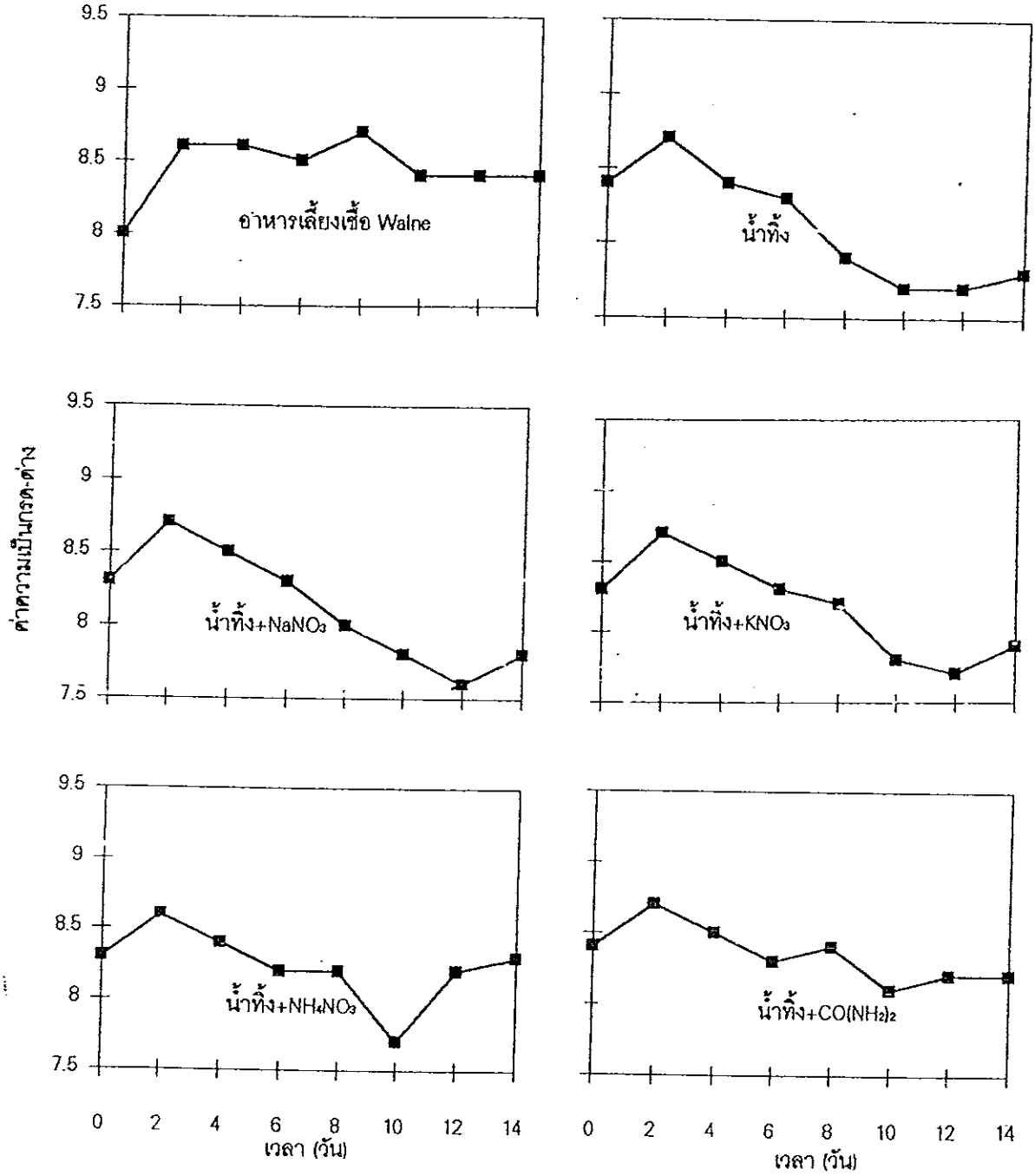
3.1.3 ความเข้มข้นของสารประกอบไนโตรเจน

เลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งเติมยูเรียที่ความเข้มข้น 4 ระดับคือ 15, 30, 45 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อเติมยูเรียที่ระดับความเข้มข้น 30, 45 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร การเติบโตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ให้ปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ 0.52, 0.53 และ 0.53 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (อัตราการเติบโตจำเพาะ 0.095, 0.094 และ 0.094 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ) ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 14 วัน (ภาพที่ 12) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ไม่เติมยูเรีย แสดงให้เห็นว่าเมื่อเติมยูเรียมากกว่า 30 มิลลิกรัมต่อลิตร จะไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณเซลล์ และเมื่อเปรียบเทียบกับ *Chroomonas* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติมยูเรีย 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้ปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ 0.49 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 14 วัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบ *Chroomonas* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Waine กับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติมยูเรียระดับความเข้มข้น 30, 45 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แสดงให้เห็นว่าเมื่อเติมยูเรียปริมาณ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในน้ำทิ้งเป็นปริมาณที่เหมาะสม และเพียงพอต่อการเติบโตของ *Chroomonas* ซึ่งปริมาณยูเรียที่เหมาะสมที่ใช้เติมขึ้นอยู่กับแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิด และอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆด้วย ซึ่ง สุนันท์ ภัทรจินดา (2531) กล่าวว่า สูตรปุ๋ยที่ใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชสีเขียวได้ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนและเติมในปริมาณ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

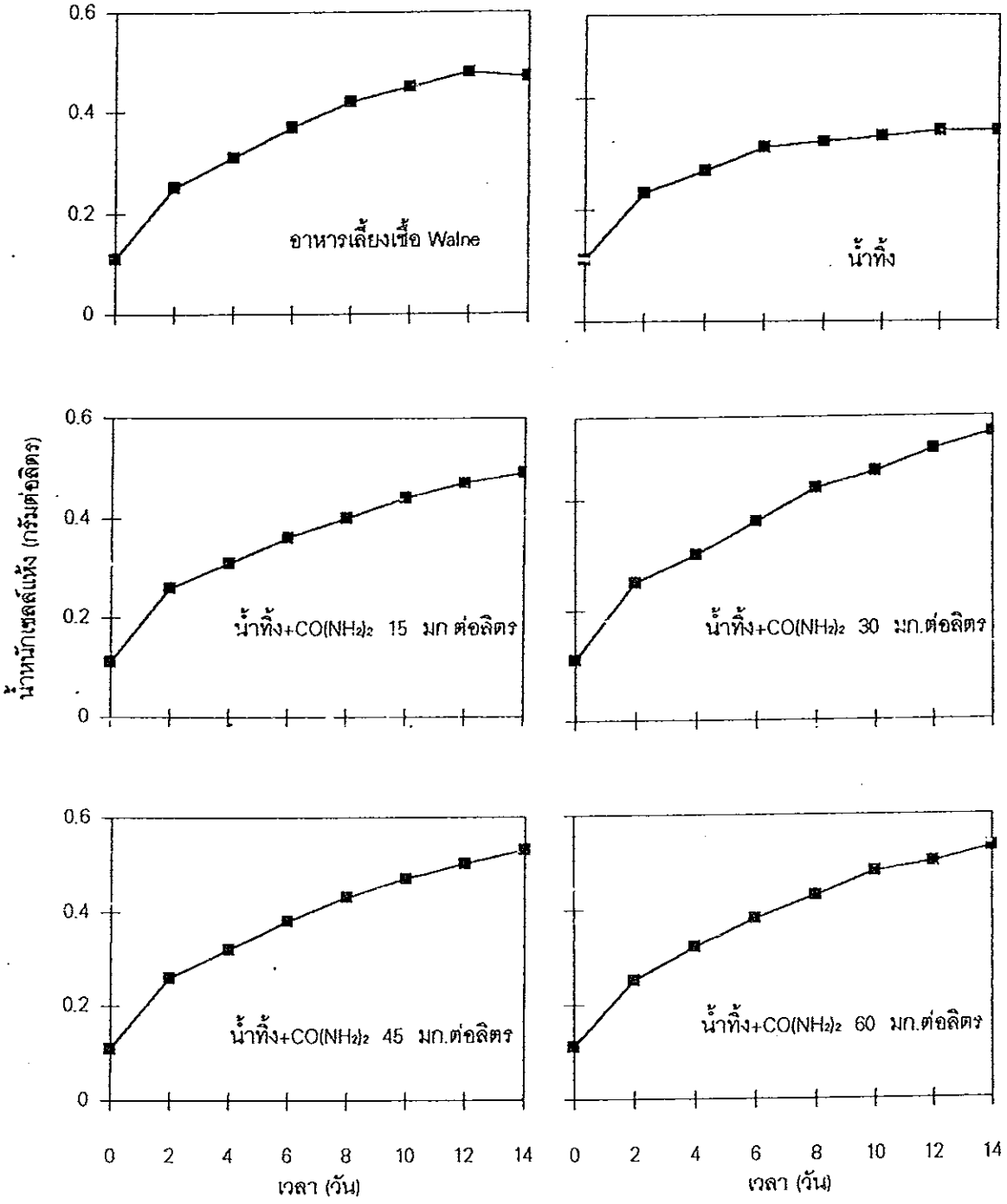
ความเข้มข้นของยูเรียมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเลี้ยงไปได้ 2 วัน โดยเพิ่มจาก 7.7 - 8.0 เป็น 8.5 - 8.8 และค่อยๆลดลงตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 14 วัน (ภาพที่ 13)

3.2 แหล่งฟอสฟอรัส

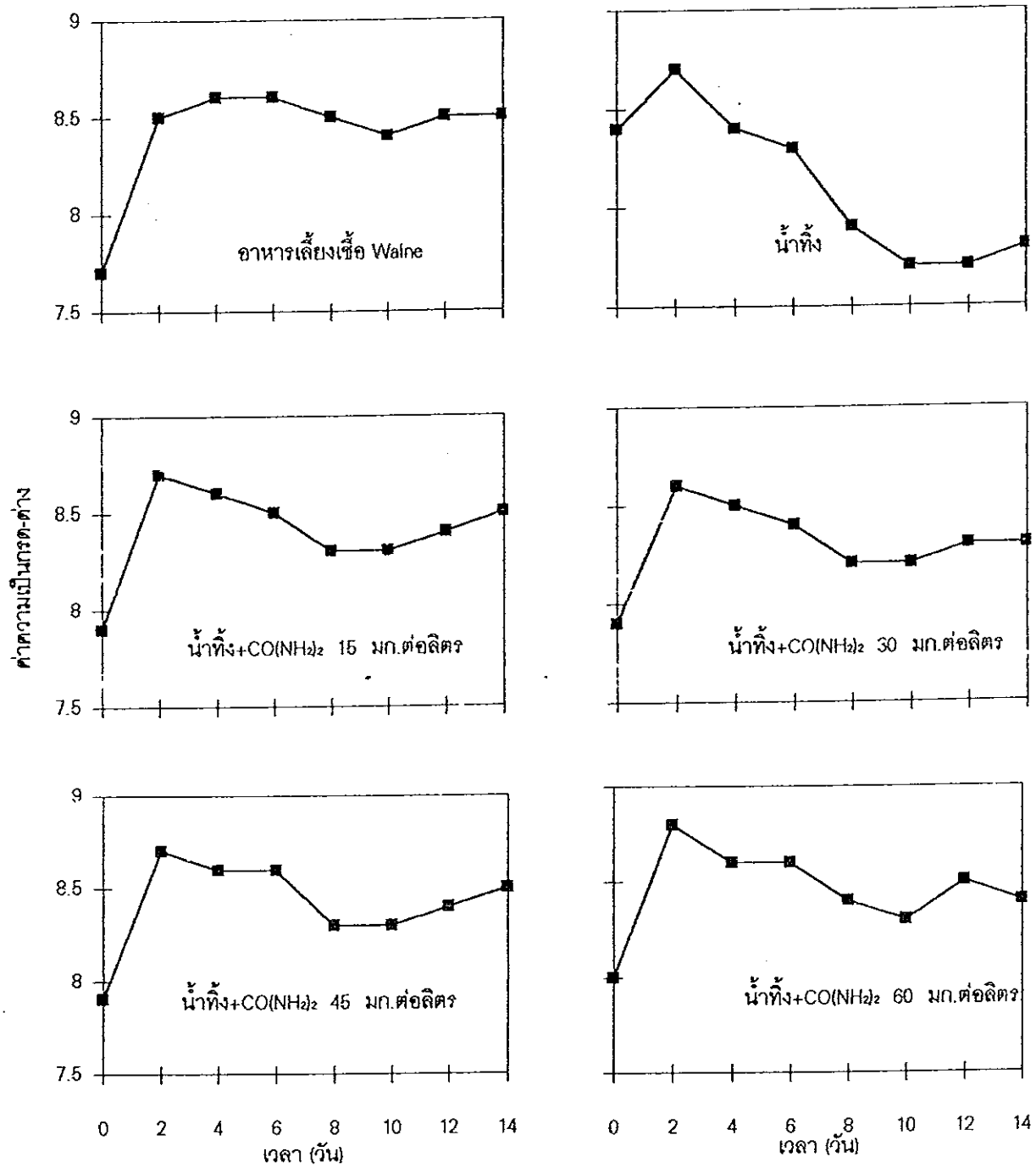
การเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งที่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟสที่ 4 ระดับความเข้มข้นคือ 10, 20, 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (คิดเป็นฟอสฟอรัสร้อยละ 0.2, 0.399, 0.596 และ 0.795) พบว่า การเติบโตของ *Chroomonas* ที่เติมฟอสฟอรัส



ภาพที่ 11 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมสารประกอบไนโตรเจนแตกต่างกัน 4 ชนิด เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งและในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne



ภาพที่ 12 การเติบโตของ *Chroomonas* เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมยูเรียความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งและในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne

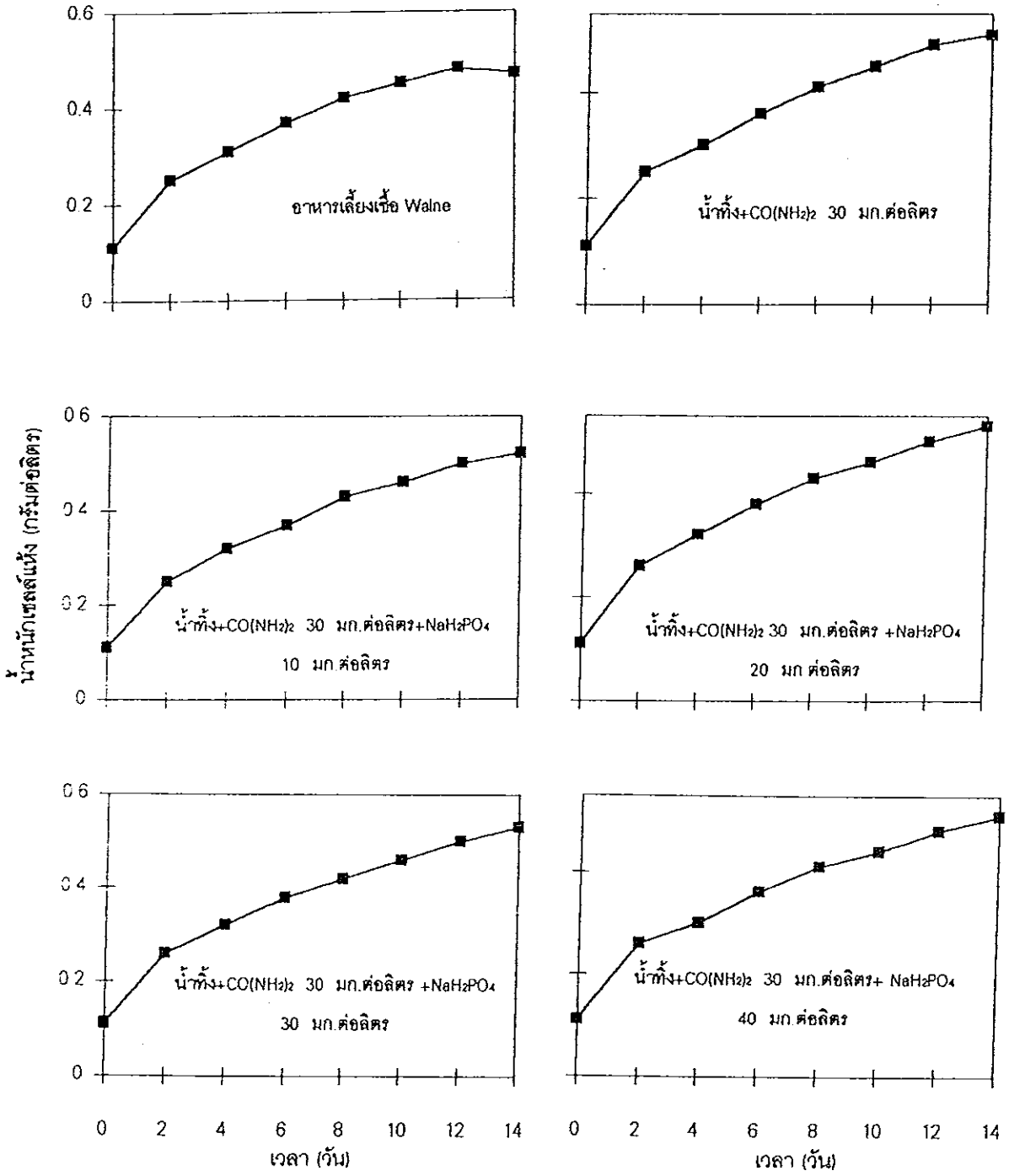


ภาพที่ 13 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมยูเรียความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งและในอาหารเลี้ยงเชื้อ Waine

ทั้ง 10, 20, 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ 0.52, 0.53, 0.53 และ 0.50 กรัมต่อลิตร มีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.093, 0.092, 0.092 และ 0.090 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 14 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว และอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne อาจเป็นเพราะฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งมีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการของ *Chroomonas* แต่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยง พบว่า *Chroomonas* สามารถเติบโตในน้ำทิ้งที่เติมยูเรียเพียงอย่างเดียวโดยให้ปริมาณเซลล์ 0.51 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะ 0.092 ต่อชั่วโมง ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 14 วัน ซึ่งเติบโตได้ดีกว่าที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ภาพที่ 14)

ปกติแพลงก์ตอนพืชใช้ฟอสฟอรัสเพื่อการเติบโตค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับไนโตรเจน Wikfors (1986) พบว่า *Dunaliella tertiolecta* เติบโตได้ดีเมื่อมีอัตราส่วนไนโตรเจน : ฟอสฟอรัส เท่ากับ 99.2 : 1 ซึ่งใช้ฟอสฟอรัสในการเติบโตต่ำมากเพียง 1 ส่วนเมื่อเทียบกับไนโตรเจน *Tetraselmis maculata* เติบโตได้ดีในอัตราส่วน ไนโตรเจน : ฟอสฟอรัส 24.8 : 1 อย่างไรก็ตาม ฟอสฟอรัสเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเติบโตของแพลงก์ตอนพืช Ketchum (1989 อ้างโดย มนวดี หังสพฤกษ์, 2532) กล่าวว่าการแบ่งเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชจะถูกจำกัดเมื่อปริมาณของฟอสฟอรัสในน้ำต่ำกว่า 10 ไมโครกรัมฟอสเฟตต่อลิตร แต่ในน้ำส่วนใหญ่ไม่ขาดแคลนฟอสฟอรัส เนื่องจากแบคทีเรียจะย่อยสารฟอสฟอรัสอินทรีย์ให้แพลงก์ตอนพืชนำไปใช้ได้ Solorzano และ Strickland (1968) กล่าวว่าแพลงก์ตอนพืชบางชนิดสามารถใช้ฟอสฟอรัสในรูปของสารอินทรีย์ แต่เมื่อปริมาณของฟอสฟอรัสมากเกินไปการเติบโตของแพลงก์ตอนพืชจะลดลง จากการศึกษา พบว่าเมื่อเติมโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 40 มิลลิกรัมต่อลิตร *Chroomonas* จะเติบโตลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้นอื่น (10, 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร) (ภาพที่ 14) เช่นเดียวกับการเลี้ยง *Chlorella* sp. T9 เมื่อเติมฟอสฟอรัสลงในน้ำทิ้งจะให้ปริมาณเซลล์น้อยกว่าชุดที่ไม่ได้เติม (กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์, 2536) พิมพรรณ ตันสกุล และอารักษ์ จันทศิลป์ (2531) ได้ศึกษาการเติบโตของ *Spirulina* sp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานยางพารา พบว่า เมื่อเติมไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ลงในน้ำทิ้งจากยางพารา *Spirulina* sp. มีการเติบโตลดลง ดังนั้นในขั้นตอนต่อไปจะไม่เติมฟอสฟอรัสลงในน้ำทิ้งที่ใช้เลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

จากการศึกษาความเข้มข้นฟอสฟอรัส พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างทุกความเข้มข้น (10, 20, 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร) เปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นโดยเพิ่มจาก 7.4 - 7.9 เป็น



ภาพที่ 14 การเติบโตของ *Chroomonas* เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา ที่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง และอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne

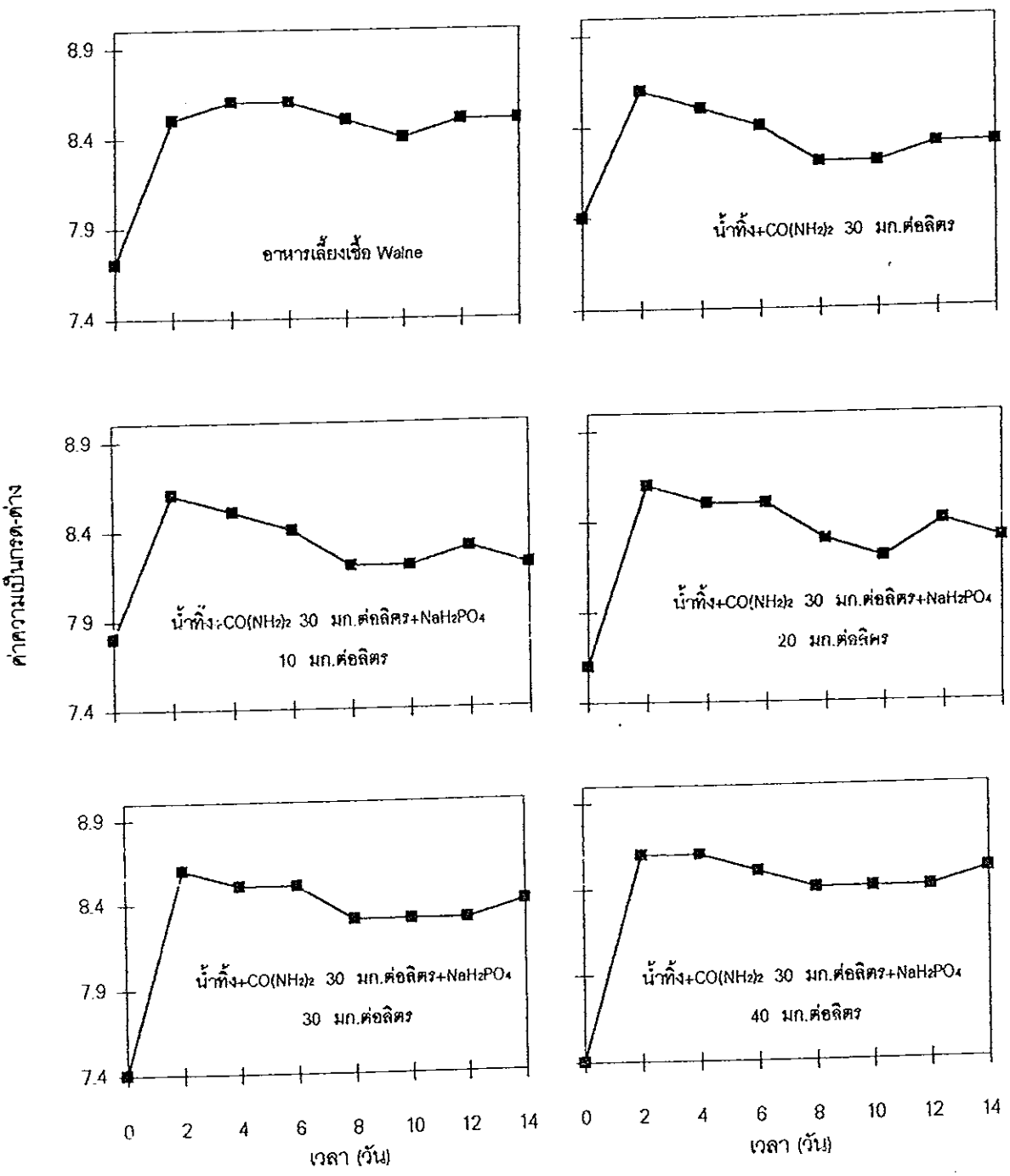
8.5 - 8.6 ในการเลี้ยง 2 วัน หลังจากนั้นเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยอยู่ในช่วง 8.2 - 8.6 จนสิ้นสุดการเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน (ภาพที่ 15)

4. ทดสอบประสิทธิภาพของแพลงก์ตอนพืชที่คัดเลือกได้

4.1 คุณสมบัติของน้ำทิ้ง

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำทิ้งในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาจากช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 30 - 40 ต่อวัน ซึ่งเป็นช่วงที่มีการถ่ายน้ำมากที่สุดของการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เนื่องจากเป็นช่วงที่มีการสะสมสิ่งขับถ่ายของกุ้ง และอาหารที่ตกค้างในระหว่างการเลี้ยงแสดงในตารางที่ 12 พบว่า มีค่าความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 8.1, ความเค็ม 14 ส่วนในพัน, ค่าซีโอดี 40.6 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไนเตรท 70.2 ไมโครกรัมต่อลิตร, ไนไตรท์ 116.59 ไมโครกรัมต่อลิตร, แอมโมเนีย 108.27 ไมโครกรัมต่อลิตร, ไนโตรเจนทั้งหมด 2.46 มิลลิกรัมต่อลิตร และออร์โธฟอสเฟต 32.43 ไมโครกรัมต่อลิตร ดุสิต ตันวิไลย และ คณะ (2537) ได้ศึกษาคุณสมบัติน้ำทิ้งของฟาร์มเลี้ยงกุ้ง 5 ฟาร์ม ในจังหวัดปัตตานี พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.81 - 8.77, ความเค็ม 12.55 - 28.04 ส่วนในพัน, ซีโอดี 29.63 - 49.92 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไนเตรท 16.0 - 118.0 ไมโครกรัมต่อลิตร, ไนไตรท์ 8.0 - 83.0 ไมโครกรัมต่อลิตร, แอมโมเนีย 63.0 - 773.0 ไมโครกรัมต่อลิตร, ไนโตรเจนทั้งหมด 0.81 - 1.97 มิลลิกรัมต่อลิตร และออร์โธฟอสเฟต 34.0 - 72.0 ไมโครกรัมต่อลิตร แต่น้ำในบ่อเลี้ยงมีคุณสมบัติดังนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.81 - 8.44, ความเค็ม 11.43 - 27.46 ส่วนในพัน, ซีโอดี 28.83 - 36.32 มิลลิกรัมต่อลิตร, ไนเตรท 22.0- 81.0 ไมโครกรัมต่อลิตร, ไนไตรท์ 24.0 - 69.0 ไมโครกรัมต่อลิตร, แอมโมเนีย 75.0 - 1,463 ไมโครกรัมต่อลิตร, ไนโตรเจนทั้งหมด 0.49 - 1.37 มิลลิกรัมต่อลิตร และออร์โธฟอสเฟต 40.0 - 60.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งสารอาหารบางชนิดมีความแตกต่างกับน้ำในบ่อพักน้ำทิ้ง เช่น ไนไตรท์ ไนโตรเจนทั้งหมด แต่ปริมาณไนไตรท์ของน้ำทิ้งที่เก็บได้จากการทดลองครั้งนี้มีค่าค่อนข้างสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำทิ้งที่เก็บจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งทั้ง 5 ฟาร์ม อาจเนื่องมาจากสารอาหารและของเสียจากการขับถ่ายของกุ้งที่ตกค้างในระหว่างการเลี้ยงสูง ส่วนพื้นที่ที่ใช้เลี้ยงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งแตกต่างกัน

สันตกิจ นิลอุดมศักดิ์ (2535) ศึกษาคุณสมบัติน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา เมื่อเลี้ยงได้ 4 เดือน 10 วัน พบว่า ค่าซีโอดีมีค่าเท่ากับ 253.95 มิลลิกรัมต่อลิตร, ฟอสฟอรัส 196.00 ไมโครกรัมต่อลิตร, แอมโมเนีย 188.86 ไมโครกรัมต่อลิตร และไนโตรเจนทั้งหมด 877.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่าปริมาณสารอาหารต่างๆที่มีอยู่ เช่น



ภาพที่ 15 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ เปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งและในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne

ตารางที่ 12 คุณภาพน้ำทางเคมีของน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาช่วงการถ่ายน้ำร้อยละ 30 - 40

คุณภาพน้ำทางเคมี	ค่าเฉลี่ย ± S.E*
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	8.1 ± 0.3
ความเค็ม (ส่วนในพัน)	14.0 ± 1.7
ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	40.6 ± 13
ไนเตรท (ไมโครกรัมต่อลิตร)	70.20 ± 0.96
ไนไตรท์ (ไมโครกรัมต่อลิตร)	116.59 ± 6.30
แอมโมเนีย (ไมโครกรัมต่อลิตร)	108.27 ± 7.54
ไนโตรเจนทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	2.64 ± 1.17
ฟอสฟอรัส (ไมโครกรัมต่อลิตร)	32.43 ± 7.20

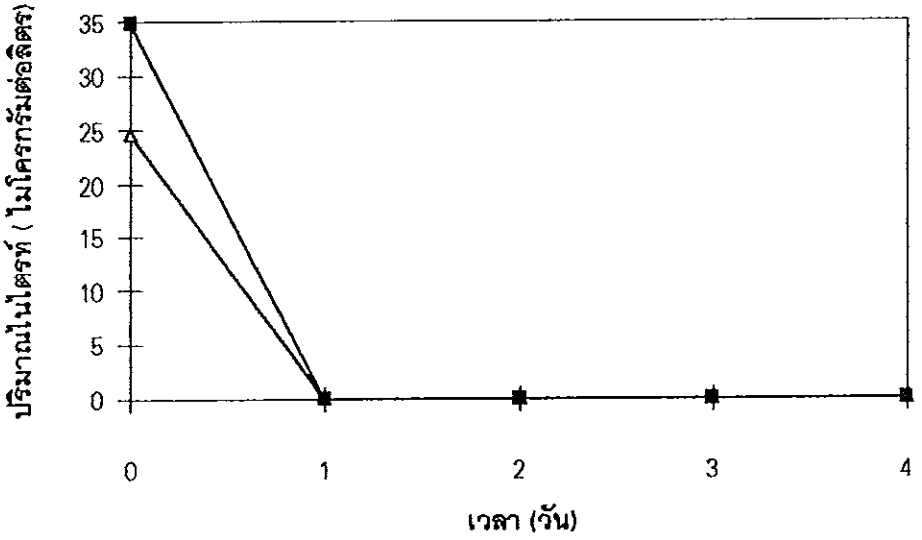
*จำนวน 3 ซ้ำ

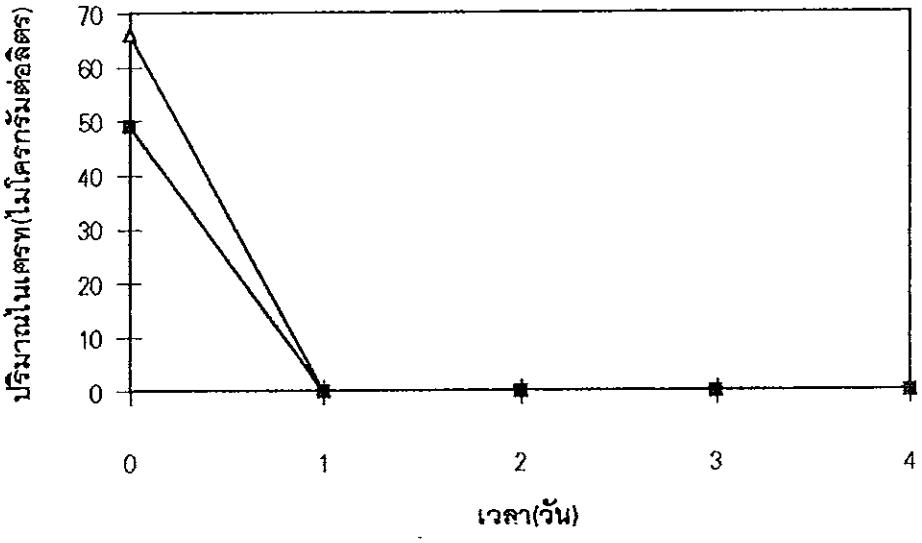
ฟอสฟอรัส แอมโมเนีย และไนโตรเจนทั้งหมด สูงกว่าปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งจากฟาร์มที่ทำการศึกษา ดังนั้นปริมาณสารอาหารในน้ำทิ้งจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับการจัดการระหว่างการเลี้ยง

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้ง

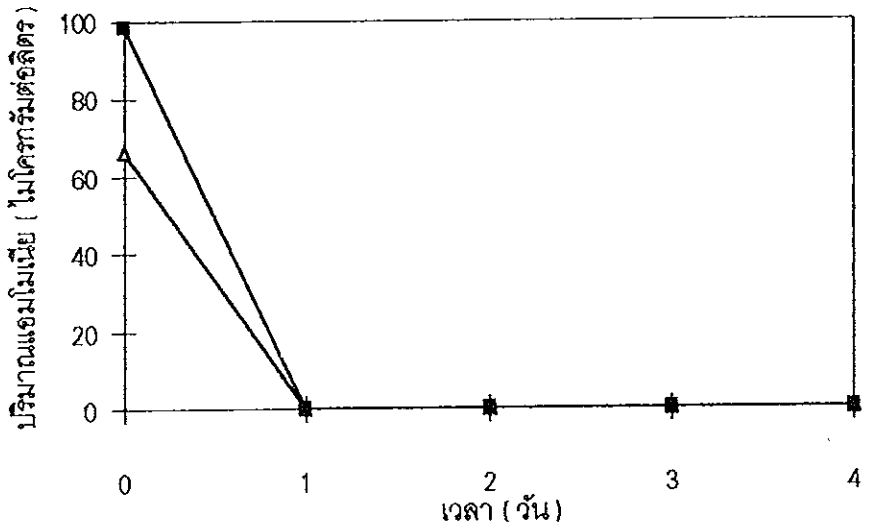
เมื่อเปรียบเทียบการเลี้ยง *Chroomonas* ในน้ำทิ้งที่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (ไนโตรเจนร้อยละ 0.82) และไม่เติมยูเรียเป็นเวลา 4 วัน ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี พบว่าหลังจากการเลี้ยง 1 วัน *Chroomonas* สามารถใช้ไนไตรท์ ไนเตรท และแอมโมเนียได้ร้อยละ 100 (ภาพที่ 16, 17) แต่ไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำทิ้งที่เติมและไม่เติมยูเรียลดจาก 10.02 และ 5.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 7.93 และ 2.99 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 20.82 และ 40.27 ในระยะเวลาการเลี้ยง 4 วัน (ภาพที่ 17) จากผลการศึกษา พบว่า *Chroomonas* สามารถใช้ไนโตรเจนในรูปแบบอื่นนอกจาก ไนไตรท์ ไนเตรท และแอมโมเนียได้ เนื่องจากปริมาณเซลล์ยังคงเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 18) Neilson และ Larson (1980) กล่าวว่า แพลงก์ตอนพืชหลายชนิดสามารถใช้ไนโตรเจนในรูปแบบอื่น เช่น สารประกอบอะมีน ยูเรีย กลูตามีน แอสพาราจิน เป็นต้น เป็นแหล่งไนโตรเจน ส่วนออร์โธฟอสเฟต *Chroomonas* สามารถใช้ได้ทั้งหมดภายในระยะเวลาการเลี้ยง 3 วัน ในน้ำทิ้งที่เติมและไม่เติมยูเรีย (ภาพที่ 18) แต่ปริมาณเซลล์ยังคงเพิ่มขึ้นแสดงว่า *Chroomonas* สามารถใช้ฟอสฟอรัสรูปอื่นในการเติบโต Solorzano และStrickland (1968) กล่าวว่า แพลงก์ตอนพืชบางชนิดสามารถใช้ฟอสฟอรัสในรูปอื่นนอกเหนือจากออร์โธฟอสเฟตได้ และในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีฟอสฟอรัสรูปอื่น เช่น โพลีฟอสเฟตรวมอยู่ด้วย (ดุสิต ตันวิไลย และคณะ, 2537) De-La-Nouee และ Proulx (1988) ได้ศึกษา *Phormidium* ที่ถูกตรึงด้วยไคโตแซนในการบำบัดน้ำทิ้งจากครัวเรือนขั้นที่ 3 โดยการเลี้ยงแบบ batch พบว่า สามารถลดปริมาณออร์โธฟอสเฟตได้ร้อยละ 71 - 92 ภายในระยะเวลา 7 - 24 ชั่วโมง

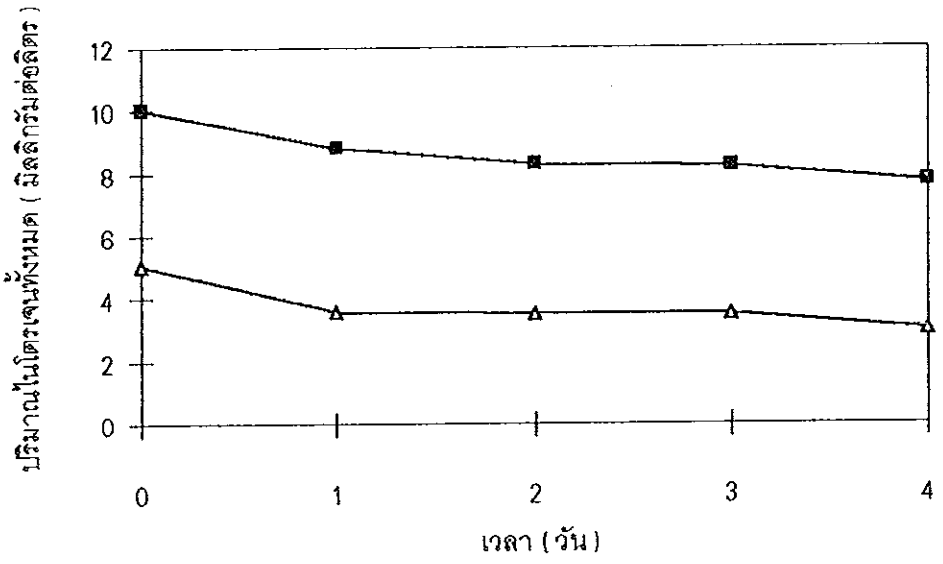
ค่าซีโอดีเป็นปริมาณก๊าซออกซิเจนทั้งหมดที่ต้องการเพื่อใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ในน้ำให้เปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ โดยอาศัยหลักว่าสารอินทรีย์เกือบทั้งหมดสามารถถูกออกซิไดส์โดยตัวเติมก๊าซออกซิเจนอย่างแรงภายใต้สภาวะกรด พวกอะมิโนไนโตรเจนจะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย และสารอินทรีย์ไนโตรเจนถูกเปลี่ยนไปเป็นไนเตรท (คณิต ไชยาคำ และดุสิต ตันวิไลย, 2535) ดังนั้นเมื่อน้ำทิ้งถูกฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พบว่ามีค่าซีโอดีลดลงมาก เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์เมื่อถูกความร้อนสูงจะเปลี่ยนรูปเป็นก๊าซ และก๊าซที่อยู่ในน้ำทิ้งระเหยออกไปดังนั้นค่าซีโอดีจึงลดต่ำลง ค่าซีโอดีในน้ำทิ้งที่ไม่เติมยูเรียเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 วัน โดยลดจาก 17.96 เป็น 11.47 มิลลิกรัมต่อลิตร



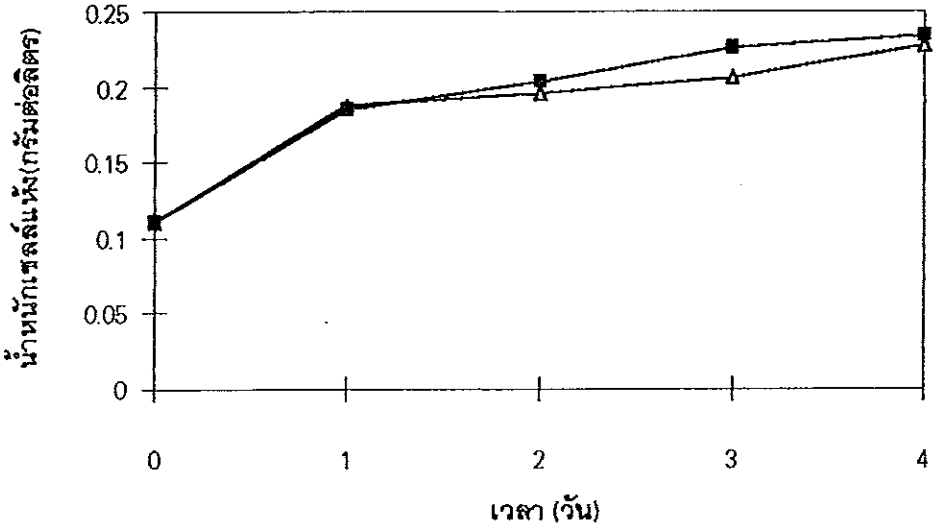


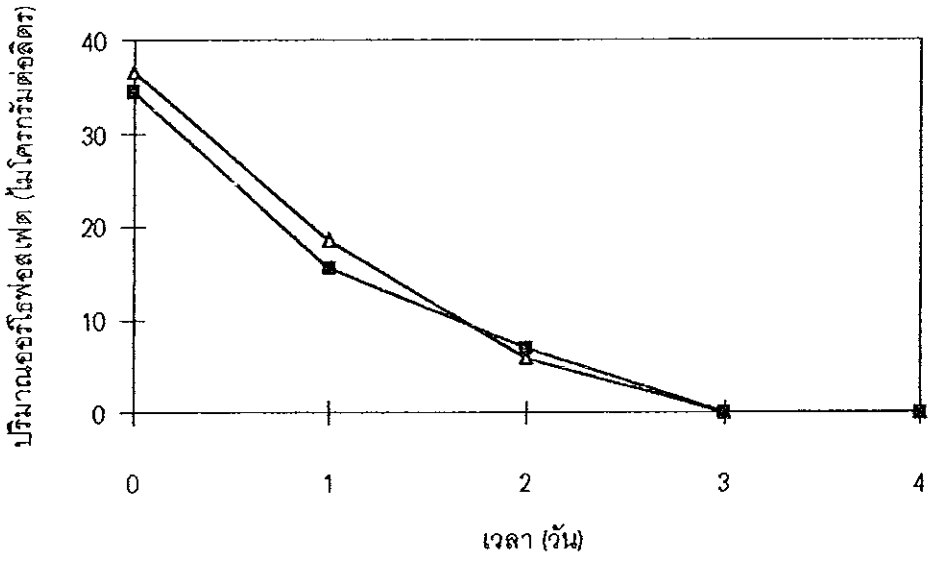
ภาพที่ 16 ปริมาณไนไตรท์ และไนเตรทที่เปลี่ยนแปลงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ไม่เติม (Δ) และเติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (■) ระหว่างการเลี้ยง *Chroomonas* ในระยะเวลา 4 วัน





ภาพที่ 17 ปริมาณแอมโมเนีย และไนโตรเจนทั้งหมดที่เปลี่ยนแปลงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ไม่เติม (Δ) และเติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (■) ระหว่างการเลี้ยง *Chroomonas* ในระยะเวลา 4 วัน





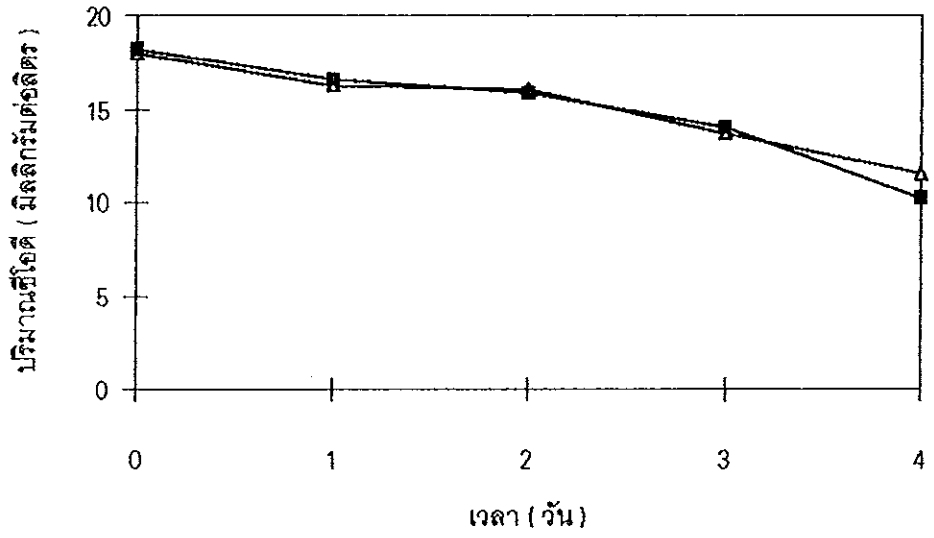
ภาพที่ 18 การเติบโต และปริมาณออร์โธฟอสเฟตที่เปลี่ยนแปลงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ไม่เติม (Δ) และเติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (■) ระหว่างการเลี้ยง *Chroomonas* ในระยะเวลา 4 วัน

คิดเป็นร้อยละ 36.14 และเมื่อเติมยูเรียสามารถลดค่าซีโอดีจาก 18.16 เป็น 10.35 มิลลิกรัมต่อลิตร (ร้อยละ 43.66) (ภาพที่ 19) และประสิทธิภาพการใช้สารอาหารมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของแพลงก์ตอนพืช เช่น การเลี้ยง *Chlorella* sp. T9 ในน้ำทิ้งจากโรงงาน แปรรูปอาหารทะเล พบว่าค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 63 ในระยะเวลาการเลี้ยง 2 วัน (กรองจันทร์ รัตน์ประดิษฐ์, 2536)

ได้มีการนำแพลงก์ตอนพืชหลายชนิดมาใช้บำบัดน้ำทิ้งเพื่อลดปริมาณสารอาหารที่มากเกินไป เช่นในปี ค.ศ. 1990 Wong และ Chan ได้เลี้ยง *Chlorella salina* ในน้ำทิ้งจากครัวเรือนที่ผ่านบำบัดขั้นที่ 2 มีค่าความเค็ม 14 ส่วนในพัน ในระบบบ่อเปิด พบว่า *Chlorella salina* ใช้แอมโมเนีย ไนเตรท และฟอสฟอรัส ได้สูงร้อยละ 95 - 100, 35 - 66 และ 100 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 6 วัน ในสภาพกลางแจ้ง Milligan และ คณะ (1979) ศึกษาการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งที่มีความเค็มสูงโดยใช้การกำจัด 3 ขั้น คือ แบคทีเรีย แพลงก์ตอนพืช และสัตว์ที่กินอาหารโดยการกรอง เช่น โรติเฟอร์ (rotifer) พบว่า สามารถลดแบคทีเรียที่รวมตัวเป็นก้อน (bacteria solid), บีโอดี และแอมโมเนีย ร้อยละ 89, 89 และ 88 ในระยะเวลาการเลี้ยง 2 วัน หยกแก้ว ยามาลี และคณะ (2525) พบว่า การเลี้ยง *Chlorella* sp. K3 ร่วมกับแบคทีเรียสามารถ ลดค่าบีโอดีในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำนมถั่วเหลืองได้ร้อยละ 95 ภายในระยะเวลา 2 วัน จากการศึกษา พบว่า *Chroomonas* เลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติมและไม่เติมยูเรีย สามารถลดค่าไนไตรท์, ไนเตรท และแอมโมเนียได้ร้อยละ 100 หลังจากการเลี้ยง 1 วัน ไนโตรเจนทั้งหมดลดได้ร้อยละ 20.82 และ 40.27 เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง (4 วัน) ออร์โธฟอสเฟตลดลงร้อยละ 100 ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 3 วัน ส่วนค่าซีโอดีในน้ำทิ้งที่เติมและไม่เติมยูเรียลดลงร้อยละ 43.66 และ 36.14 แสดงให้เห็นว่าการใช้ *Chroomonas* มาบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาได้ดีพอสมควรในการเลี้ยงระยะสั้น

5. การทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นของแพลงก์ตอนพืช

ได้ทำการศึกษาเบื้องต้นโดยเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาวา 25 ในน้ำทะเลธรรมชาติจำนวน 20 ตัว (2 ซ้ำ) แล้วเติม *Chroomonas* ความหนาแน่นเท่ากับ 15.4 X 10^8 เซลล์ต่อลิตร เลี้ยงเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ใส่ *Chroomonas* (ชุดควบคุม) พบว่า *Chroomonas* เติบโตสูงสุด โดยมีความหนาแน่นเท่ากับ 21.1 x 10^8 เซลล์ต่อลิตร เมื่อเลี้ยงได้ 15 ชั่วโมง และการเติบโตลดลง (17.2 X 10^8) เมื่อเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง หลังจากนั้นการเติบโตค่อนข้างคงที่อยู่ในช่วง 15.3 x 10^8 - 19.2 x 10^8 เซลล์ต่อลิตร ตลอดเวลาการทดลอง 4 วัน ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงระหว่าง 7.6 - 8.1 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2534)



ภาพที่ 19 ปริมาณซีโอดีที่เปลี่ยนแปลงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ไม่เติม (Δ) และเติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (■) ระหว่างการเลี้ยง *Chroomonas* ในระยะเวลา 4 วัน

เช่นเดียวกับอุณหภูมิที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากอยู่ในช่วง 28 - 30 องศาเซลเซียส จึงไม่มีผลต่อกุ้งส่วนอัตราการตายของกุ้ง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า มีกุ้งตายจำนวน 2 ตัวเท่ากัน (ตารางที่ 13) แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่า *Chroomonas* ไม่เป็นพิษกับสัตว์น้ำ ซึ่งการทดลองนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น เพื่อใช้เป็นพื้นฐานสำหรับการทดลองอย่างละเอียด ในเรื่องความเป็นพิษของแพลงก์ตอนพืชที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำต่อไป

ตารางที่ 13 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาวา 25 จำนวน 20 ตัว ในน้ำทะเลธรรมชาติที่มี *Chroomonas* ความหนาแน่นเริ่มต้น 15.4 x 10^8 เซลล์ต่อลิตร*

เวลา (ชั่วโมง)	ชุดควบคุม			ชุดทดลอง		
	อุณหภูมิ (°ซ)	จำนวนกุ้งที่ตาย (ตัว)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	จำนวนกุ้งที่ตาย (ตัว)	จำนวน *Chroomonas* (เซลล์x10^8)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
0	28	0	7.8	0	15.4	7.9
3	28.5	0	7.7	0	17.7	8.1
6	29	0	7.8	1	19.1	8.1
9	29	0	7.8	0	18.2	8.0
12	29	0	7.6	0	19.1	7.9
15	28.5	0	7.6	0	21.1	7.6
18	28	0	7.6	0	21.1	7.6
21	28	1	7.6	0	19.1	7.6
24	28	0	7.5	0	19.1	7.6
27	28	0	7.4	0	20.1	7.7
30	28	0	7.7	0	20.1	7.7
33	28	0	7.5	0	20.1	7.7
36	29	0	7.5	0	17.2	7.6
39	29	0	7.6	0	17.2	7.6
42	28	0	7.4	1	16.3	7.6
45	28	0	7.6	0	16.3	7.6
48	28	0	7.6	0	16.3	7.7
51	28	0	7.5	0	14.4	7.6
54	28	1	7.6	0	15.3	7.6
57	28.5	0	7.7	0	15.3	7.6
60	29	0	7.6	0	15.3	7.6
63	29	0	7.5	0	17.3	7.6
66	29	0	7.6	0	15.3	7.6
69	29	0	7.5	0	17.3	7.6
72	28.5	0	7.0	0	16.3	7.6
75	29	0	7.2	0	16.3	7.7
78	29	0	7.8	0	17.3	7.8
81	29	0	7.4	0	18.2	7.6
84	29	0	7.6	0	17.3	7.7
87	30	0	7.6	0	17.3	7.6
90	29	0	7.2	0	19.2	7.7
93	29	0	7.5	0	16.3	7.7
96	28	0	7.6	0	17.5	7.6

* ทดลองจำนวน 2 ซ้ำ

บทที่ 4

สรุป

1. การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพ และทางเคมีของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาและบ่อพักน้ำทิ้งพบว่า เปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล และระยะเวลาการเลี้ยง

2. การศึกษาชนิด และการแยกแพลงก์ตอนพืชจากน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาและบ่อพักน้ำทิ้ง 4 ช่วงของการถ่ายน้ำ พบแพลงก์ตอนพืช 6 ดิวิชั่น 39 สกุล เมื่อนำมาแยกโดยใช้วิธีการแยกบนจานเพาะเชื้อ และการแยกโดยใช้ไมโครปิเปตสามารถแยกแพลงก์ตอนพืชได้ 7 สกุล คือ *Chlorella, Skeletonema, Chaetoceros, Pleurosigma, Navicula, Phormidium* และ *Chroomonas* เนื่องจาก *Pleurosigma* และ *Navicula* เกาะติดผนังขวดแก้ว ส่วน *Phormidium* ซึ่งเป็นแพลงก์ตอนพืชกลุ่มที่สามารถผลิตสารจีออสมินทำให้เกิดกลิ่นโคลนในกุ้ง ดังนั้นจึงมีเพียง 4 สกุล (*Chlorella, Skeletonema, Chaetoceros* และ *Chroomonas)* ที่จะนำมาศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3. การคัดเลือกแพลงก์ตอนพืชโดยเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 สกุล ที่ความเข้มแสง 4,700 และ 6,300 ลักซ์ พบว่า *Skeletonema* และ *Chaetoceros* เติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ ส่วน *Chlorella* และ *Chroomonas* เติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 6,300 ลักซ์ เมื่อนำแพลงก์ตอนพืชทั้ง 4 สกุลมาเลี้ยงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา พบว่า *Chroomonas* มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.16 ต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่า *Skeletonema, Chaetoceros* และ *Chlorella* ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 6 วัน

4. ชนิด และความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารอาหารที่เติมลงในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาสำหรับเลี้ยง *Chroomonas* ในระยะเวลาการเลี้ยง 14 วัน พบว่า *Chroomonas* สามารถใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดีที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อเติมฟอสฟอรัสลงในน้ำทิ้งที่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Chroomonas* มีการเติบโตไม่แตกต่างกับที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งมีความเข้มข้นเพียงพอต่อการเติบโตของ *Chroomonas* และเมื่อเปรียบเทียบกับ *Chroomonas* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne พบว่า *Chroomonas* มีการเติบโตไม่แตกต่างกัน

5. การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา พบว่า *Chroomonas* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติมยูเรีย 30 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถใช้ไนไตรท์, ไนเตรท และแอมโมเนีย ได้ทั้งหมดภายใน 1 วัน ใช้ออร์โธฟอสเฟตหมดภายใน 3 วัน ส่วนไนโตรเจนทั้งหมด

ลดลงร้อยละ 20.82 และค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 43.66 เมื่อเลี้ยงไปได้ 4 วัน ส่วน *Chroomonas* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งเพียงอย่างเดียวสามารถใช้ไนไตรท์, ไนเตรท และแอมโมเนีย ได้ทั้งหมดภายใน 1 วัน เช่นเดียวกัน ไนโตรเจนทั้งหมดลดลงร้อยละ 40.27 และ ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 36.14 เมื่อเลี้ยงไปได้ 4 วัน การเติบโตของ *Chroomonas* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่เติม และไม่เติมยูเรีย พบว่าไม่แตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อใช้ *Chroomonas* ในการบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาระยะสั้น (4 วัน) ไม่จำเป็นต้องเติมยูเรียเพราะสามารถบำบัดน้ำทิ้งได้ไม่แตกต่างกันมากนัก

6. เมื่อนำ *Chroomonas* มาทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นกับกุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาวา 25 เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง(4 วัน) พบว่า *Chroomonas* ไม่ได้ทำอันตรายต่อกุ้งกุลาดำ

ข้อเสนอแนะ

1. การนำ *Chroomonas* มาบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนากลางแจ้ง (outdoor) ควรทำการศึกษาเพิ่มเติม เนื่องจากมีปัจจัยภายนอก เช่น อุณหภูมิของน้ำ ความเค็ม เป็นต้น ที่ไม่สามารถควบคุมได้ จึงอาจให้ผลแตกต่างจากที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

2. *Chroomonas* เป็นแพลงก์ตอนพืชที่มีขนาดเล็กมากประมาณ 4 - 5 ไมโครเมตร ทำให้การเก็บเกี่ยวทำได้ยาก ดังนั้นเพื่อเพิ่มรายได้ควรนำหอยมาเลี้ยงในบ่อบำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา แต่ควรตรวจสอบการปนเปื้อนของสารพิษต่างๆในหอยที่เลี้ยงในน้ำทิ้ง เพราะสารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งอาจตกค้างอยู่

3. การทดสอบความเป็นพิษของ *Chroomonas* ควรทำการศึกษาในรายละเอียดเพิ่มเติม เมื่อต้องการเลี้ยงในขั้นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์. 2526. การเลี้ยง *Chlorella* sp. T9 ในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล . วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

คณิต ไชยาคำ. 2534. การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งกับผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม. เอกสารวิชาการธันวาคม 2534. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสงขลา. กรมประมง.

คณิต ไชยาคำ และดุสิต ตันวิไลย. 2535. การทดลองใช้หอยแมลงภู่ และสาหร่ายผมนางเพื่อบำบัดน้ำทิ้งทางชีวภาพจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา. เอกสารวิชาการ 6/2535. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสงขลา. กรมประมง.

คณิต ไชยาคำ, พุทธ ส่องแสงจินดา และดุสิต ตันวิไลย. 2535. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและแพลงก์ตอนพืชในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา. เอกสารวิชาการ 4/2535. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสงขลา. กรมประมง.

จิระศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์. 2538. ผลกระทบของแพลงก์ตอนพืชต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ว.ฟาร์มมิ่ง 16 : 26 - 29.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2534. คัมภีร์การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. กรุงเทพฯ : ฐานเศรษฐกิจ.

ชาญยุทธ คงภิรมย์ชื่น. 2533. คู่มือปฏิบัติการคุณภาพน้ำทางการประมง. ชลบุรี: คณะเกษตรศาสตร์ บางพระ. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

ชูศักดิ์ แสงธรรม. 2532. กุ้งกุลาดำ. นนทบุรี : ศูนย์ผลิตตำราเกษตรเพื่อชนบท.

ดุสิต ตันวิไลย, คณิต ไชยาคำ, ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร และเชาว์ ศรีวิชัย. 2537. การตรวจและติดตามคุณภาพน้ำและดินจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งกุลาดำ จังหวัดปัตตานี. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 5/ 2537. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสงขลา. กรมประมง.

ทศพร ธงทอง. 2529. การกำจัดไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากแหล่งชุมชนโดยใช้สาหร่าย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บริษัท แอล พี ฟิดส์เทค (ประเทศไทย) จำกัด. 2538. ออกซิเจนกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิด. ว. สัตว์น้ำ 68 : 78 - 82.

ปัญญา สุวรรณสมุทร. 2534. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. กรุงเทพฯ : โครงการหนังสือเกษตรชุมนุม.

พิมพรรณ ตันสกุล และอารักษ์ จันทศิลป์. 2531. การเพาะเลี้ยง *Spirulina* sp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานยางพารา. ว. สงขลานครินทร์ 10 : 149 - 155.

พิมพ์ชนก. 2538. วันหนึ่งในสยามนิคส์. ว. แลใต้ 23 : 45 - 46.

มนุวดี หังสพฤกษ์. 2532. สมุทรศาสตร์เคมี. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

แม็กซ์ แอนเดอร์สัน. 2533 . การควบคุมคุณภาพสิ่งแวดล้อมในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา. ในรายงานการสัมมนาเชิงวิชาการปัญหาสิ่งแวดล้อมในเขตพื้นที่การเลี้ยงกุ้งทะเลบริเวณก้นอ่าว ไทย ณ. โรงแรมรีเจนท์ ชะอำ . จ. เพชรบุรี. กรมประมง. หน้า 25 - 31.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ. 2528. คุณภาพของน้ำและวิธีการวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางการประมง. ฝ่ายวิจัยสิ่งแวดล้อมสัตว์น้ำ. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. กรมประมง.

ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร, เพิ่มศักดิ์ เพิงมาก, พุทธ ส่องแสงจินดา , ศุภโยค สุวรรณมณี และวิชาญ ชูสุวรรณ. 2532. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 10 / 2532. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสงขลา . กรมประมง.

วัลลภ คงเพิ่มพูน . 2534. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. โครงการหนังสือเกษตรชุมนุม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โศภิษฐ์ เวทยสุภรณ์ และคณะ. 2532. การสกัดกรดไขมันไม่อิ่มตัว และรงควัตถุจากสาหร่ายเกลียวทอง . การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่15. เชียงใหม่.

สันตกิจ นิลอุดมศักดิ์. 2535. การศึกษาคุณภาพน้ำของบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ปัญหาพิเศษ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สิริ ทุกข์วินาศ และสุรางค์ ทิพย์โยธิน. 2533. สิ่งแวดล้อมของแพลงก์ตอนในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา . ว. การประมง 43 : 265 - 268.

สุนันท์ ภัทรจินดา. 2531. การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชเพื่ออนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อน . ว. การประมง 41 : 441 - 449.

สุนีย์ สุวภีพันธ์ . 2524. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว . ว. การประมง 34 : 309 - 325.

สุเมธ ชัยวัชรากูล, สมบัติ สิริพันธ์วราภรณ์ , และนิวุฒิ หวังชัย. 2530. การเพาะขยายพันธุ์และอนุบาลกุ้งกุลาดำ. เอกสารวิชาการ 2530. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ .

หยกแก้ว ยามาลี, วิเชียร ยามนิตชัย, สมบูรณ์ ผู้พัฒน์, กัญญา สุจริตวงศานนท์, ไปรมา ภัทรกุลพงศ์ และไพลิน ผู้พัฒน์. 2525. การกำจัดน้ำทิ้งจากนมถั่วเหลืองโดยใช้สาหร่ายสีเขียว (*Chlorella* sp.). กรุงเทพฯ : สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัศวิน แก้วคง . 2538. สีน้ำและแพลงก์ตอน. ว. ฟาร์มมิ่ง 16 : 8 - 20.

อานันท์ แก้วมี. 2538. การจัดการสีน้ำในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ว. ฟาร์มมิ่ง 16 : 30 - 35.

อุทัย คันโธ และบรรพต วิรุณราช. 2534. หลักการเลี้ยง การให้อาหาร และการควบคุมป้องกัน รักษาโรคกุ้งกุลาดำ . กรุงเทพฯ : บริษัท ยูเค ฟิคมิลส์ จำกัด และบริษัท ยูเคมาร์เก็ตติ้ง จำกัด.

Akiyama, D.M. and Dominy, W.G. 1988. *Penaeus* shrimp nutrition for the commercial feed industry. Tech Rep. Taxas Agricultural Extention Service and Taxas A&M Sea Grant College Program.

Alias, A. Z. 1988. Effect of salinity and light intensity on the growth of *Chlorella virginica*. Pertanika. 11 : 469 - 474.

Allan, G. L., Maguire, G.B. and Hopkins, S.J. 1990. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved - oxygen levels . Aquaculture 91 : 265 - 280.

Annon. 1991. Shrimp feed affects water quality. Asian Shrimp News. 7 : 4 - 4.

APHA, AWWA and WPCF. 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington D.C. : American Public Health Assoc.

Avron , M. and Ben - Amotz , A. 1992. *Dunaliella* Physiology , Biochemisty and Biotechnology. Boca Raton, Florida : CRC Press.

Ben - Amotz, A. and Avron, M. 1990. The biotechnology of cultivation the halotolerant alga *Dunaliella* . Trends Biotechnol. 8 : 121 - 126.

Boyd, C.E. 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science Volume 9. Alabama : Auburn University.

Boyd. C.E. 1989. Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming. Fisheries and Allied Aquacultures Departmental Series No 2. Alabama : Auburn University.

Brown, M.R. 1991. The amino acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. J. Exp. Biol. Ecol. 145 : 79 - 99.

Canizares, R. O. and Dominguez, A. R. 1993 . Growth of *Spirulina maxima* on swine waste . Bioresour . Technol . 45 : 73 - 75 .

Chein Y. U. 1989. Study on the sediment chemistry of the tiger prawn , kuruma prawn and red tail prawn ponds in I- Lan- Hsien . Coastal Fish Servey 16 : 16 - 18 .

Darley, W.M. 1982. Algal Biology : A Physiological Approach . Oxford : Blackwell Scientific Publications.

De- La - Nouee, J. and Proulx, D. 1988 . Biological tertiary treatment of urban wastewater with chitosan-immobilized *Phormidium*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 29 : 292 - 297.

Desikachary,T.V. 1959. Cyanophyta. New Delhi : Indian Council of Agricultural Research.

Edmondson, E.T. 1966. Why Study Blue - green Algae. Proceedings of Symposium. September. 2 - 24 . 1966 . University of Washington Seattle.

Eppley, R.W. and Coatsworth, J.L. 1968. Uptake of nitrate and nitrite by *Ditylum brightwellii* kinetics and mechanisms. J. Phycol. 4: 151 - 153.

Eppley, R.W. and Coatsworth, J.L. and Solorzano, I. 1969. Studies of nitrate reductase in marine phytoplankton. Limnol. Oceanogr. 14 : 194 - 205.

Fritsch, F. E. 1975. The Structure and Reproduction of the Algae Volume 1. Cambridge: Cambridge University Press.

Grant, B.R., Madgwick, J. and Dalpont, G. 1967. Growth of *Cylindrotheca closterium* var. californica (Mereschk) Reimann and Lewin on nitrate ammonia and urea. Aust. J. mar. Freshwat. Res. 18 : 129 - 136.

Hall, D.O., Scurlock, J.M.O., BoLhar - Nordenkampf, H.R., Leegood, R. C. and Long, S.P. 1993. Photosynthesis and Production in the Changing Environment . London : Champman & Hall.

Hellebust, J.A. 1971. Symposium Organic Matter in Natural Water . Aaska : University of Aaska.

Hollerman, W.D. and Boyd, C.E. 1980. Nightly aeration to increase production of channel catfish. Tran. Amer. Fish. Soc. 109 : 446 - 452.

Jaag, O. and Leibmann, H. 1967. Advances in Water Polluion Research Volume 1. Washington D.C. : WPCF.

Juario, J.V. and Storch, V. 1984. Biological evaluation of phytoplankton (*Chlorella* sp. , *Tetraselmis* sp. and *Isochrysis galbana*) as food for milkfish (*Chanos chanos*) fry. Aquaculture. 40 : 193 - 198.

Khailov, M. 1971. Ecological Metabolism in the Sea (Russ). Kiev : Naukova Dumka.

Kitamura, H. 1992. Effect of light intensity, chlorinity and nutrients on the growth of attaching diatom *Navicula ramosissima*. Bull. Fac. Fish. Nagasaki Uninv. Chodai. Suikenpo. 71 : 159 - 162.

Kosaric, N., Nguyen, H.T. and Bengognou, M.A. 1974. Growth of *Spirulina maxima* algae in effluents from secondary waste water treatment plant. Biotechnol. Bioeng. 16 : 869 - 881.

Kuhl, A. 1974. Phosphorus in Algal Physiology and Biochemistry. Oxford : Blackwell Scientific .

Kumar, H.D. and Singh, H. N. 1971. A Textbook on Algae. New Delhi : Affiliated East - West Press.

Laing, I. and Gil - Verdugo, C. 1991. Nutritional value of spray-dried *Tetraselmis suecica* for juvenile bivalves. Aquaculture. 92 : 207 - 218.

Larsson, M., Ingemarsson, B. and Larsson, C.M. 1982. Photosynthetic energy supply for nitrate assimilation in *Scenedesmus*. Plant. Physiol. 55 : 301 - 308.

Lewin, R.A. 1959. The isolation of algae. Rev. Algol. 3 : 181 - 197.

Lewin, R.A. 1962. Physiology and Biochemisty of Algae . New York : Academic Press.

Lin, C.R. 1983. Biological Principles of Pond Culture : Phytoplankton and Macrophytes Principles and Practices of Pond Aquaculture. Oregon : Oregon State University.

Markovits, A., Gianelli, M.P., Conejeros, R. and Erazo, S. 1993. Strain selection for β - carotene production by *Dunaliella*. World J. of Microbiol. and Biotechnol. 9 : 534 - 537.

McAnally - Salas, L.S., Ocampo - Aranda, F.J. and Garcia - Pamanes, L.E. 1992. Effect of the microalgae *Pavlova lutheri* (Droop) Hibberd cultured with agricultural fertilizers on the growth and survival of the larvae and postlarvae of the mussel *Mytilus edulis*. Cienc. Mar. 18 : 57 - 74.

Mcvey, J. P. 1983. Handbook of Mariculture Volume 1 Crustaceans Aquaculture. Boca Raton, Florida : CRC Press.

Mehta, B. J. and Chauhan, V. D. 1988 . Physiology and requirements of marine cyanobacterium *Oscillatoria laetevirens* (Crouan) Gom. Indian J. Mar. Sci. 17 : 37 - 39.

Milligan, D. J. , Quick, J. A. , Hill, S. E. , Morris, J. A. and Hover, R. J. 1979. Sequential Use of Bacteria Algae and Brine Shrimp to Treat Industrial Wastewater at Pilot Plant Scale. *In* The Brine Shrimp Artemia. Volume 3 . Texas : Corpus Clrisiti.

Neilson, A. H. and Larson, I. 1980. The utilization of organic nitrogen for growth of algae. Plant. Physiol. 48 : 542 - 549.

Parsons, T.R. and Takahashi, M. 1973. Biological Oceanographic Processes. Columbia : Institute of Oceanography University of British Columbia.

Pirt, S. J. 1975. Principles of Microbe and Cell Cultivation. Oxford : Blackwell Scientific Publication .

Provasoil, J. A. 1963 . The Sea. Volume 2 . New York : Wiley.

Rajaretnam, A. A. , Paulpandian, A. L. and Purushothaman, A. 1987 . Effect of pH in diatom culture and species competition. J. Mar. Biol. Assos. India. 29 : 329 - 336 .

Rhodes, L. L. , O-Kelly, C. J. and Hall, J.A. 1994. Comparision of growth characteristics of New Zealand isolates of the prymnesiophytes *Chrysochromulina quadrikonta* and *C. camella* with those of the ichthyotoxic species *C. polylepis*. J. Plankt. Res. 16 : 69 - 82.

Richmond, A. 1986. Handbook of Microalgal Mass Culture. Florida : CRC Press. Inc. Boca Raton.

Riley, J. P. and Chester, R . 1971. Introduction to Marine Chemistry. London : Academic Press.

Santaella , E.G. and Aranda , D.A. 1994. Effect of algal food and feeding schedule on larval growth and survival rates of the queen conch *Strombus gigas* (Mollusca, Gastropoda) in Maxico . Aquaculture . 128 : 261 - 268 .

Sato, T . and Serikawa , M. 1968. Mass culture of a marine diatom *Nitzschia closterium*. Bull. Plankt. Soc. Japan. 15 : 13 - 16.

Smart, G.R. 1978. Investigations of the toxic mechanisms of ammonia to fish - gas exchange rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to acutely lethal concentrations. J. Fish. Biol. 12 : 93 - 104.

Sclorzano, L. and Strickland, J.D.H. 1968. Polyphosphate in sea water . Limnol. Oceanogr. 13 : 515 - 518.

Sommer, T.R. Morrissy , N.M. ahd Potts , W.T. 1991. Growth and pigmentation of marron *(Cherax tenuimanus)* fed a reference ration supplemented with the microalgae *Dunaliella salina.* Aquaculture . 99 : 285 - 295.

Stein, J.R. 1973. Handbook of Phycological Methods Culture Methods and Growth Measurements. London ; Cambridge University Press.

Strickland, J.D.H., Holm - Hansen, O., Eppley, R.W. and Linn, R.J. 1969. The use of deep tank in plankton ecology I Studies of the growth and composition of phytoplankton crops at low nutrient levels. Limnol. Oceanogr. 14 : 23 - 24.

Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis Fisheries Research. Ontario : Board of Canada.

Sukenik, A. and Wahnon, R. 1991. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition *Isochrysis galbana*. Aquaculture. 97 : 61 - 72.

Ukeles, R. 1976. Marine Ecology Volume 3. London ; Wiley.

Umebayashi, O. 1961. On the culture of a diatom *Chaetoceros simplex* as the food for the larvae of marine animals. Suisan Zoshoku. 9 : 147 - 150.

UNESCO . 1983. Chemical Methods for Use in Marine Environmental Monitoring . UNESCO : UNESCO.

Vonshak, A. 1988. The potential application of algal biotechnology to small industries in developing countries .Biotechnology to small industries in developing countries. Bangkok , 21 - 24 september 1988 . pp 132 - 134.

Vonshak, A., Abeliovich, A., Boussiba, S., and Richmond, A. 1982. On the production of *Spirulina* sp. biomass : effects of environmental factors and the population density. Biomass. 2 : 175 - 185.

Vorathep, M. 1991. Water Quality and Nutrient Budgets of Intensive Shrimp Culture Ponds. M. Sc. Thesis. AE - 91 - 40 Asian Institute of Technology. Bangkok.

Watanabe, M.F and Oishi, S. 1986. Strong probability of lethal toxicity in the blue-green alga *Microcystis viridis* Lemmermann. J.Phycol. 22: 552 - 556.

Werner , D. 1977. The Biology of Diatom. Oxford : Blackwell Scientific Publications.

Wikfors, G.H. 1986. Altering growth and gross chemical composition of two microalgal molluscan food species by varying nitrate and phosphate. Aquaculture 59 : 1 - 14.

Wildish, D.J. and Saulnier, A.M. 1993. Hydrodynamic control of filtration in *Placopecten magellanicus*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 174 : 65 - 68.

Wong, P.K. and Chan, K.Y. 1990. Growth and value of *Chlorella salina* growth on highly saline sewage effluent. Agric. Ecosyst. Environ. 30 : 235 - 253.

Yamaji, I. 1984. Illustrations of the Marine Plankton of Japan. 3rd ed. Osaka : Hoikusha Publishing.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

อาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Walne (Mcvey, 1983)

- สารละลาย A (ธาตุอาหารหลัก)

Na_2EDTA	45.00	กรัม
H_3BO_3	33.60	กรัม
$NaNO_3$ (KNO_3)	100.00	กรัม
$NaH_2PO_4.2H_2O$	20.00	กรัม
$MnCl_2.4H_2O$	0.36	กรัม
$FeCl_3.6H_2O$	1.30	กรัม
สารละลาย D	1.00	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	1,000	มิลลิลิตร

- สารละลาย B (วิตามิน)

วิตามิน บี 12	10	มิลลิกรัม
วิตามิน บี 1	200	มิลลิกรัม
เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	100	มิลลิลิตร

- สารละลาย C

$Na_2SiO_4.5H_2O$	4.0	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	100	มิลลิลิตร

- สารละลาย D (ธาตุอาหารรอง)

$ZnCl_2$	2.1	กรัม
$CoCl_2.6H_2O$	2.0	กรัม
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$	0.9	กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	2.0	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	100	มิลลิลิตร

การเตรียมอาหาร

1. นำน้ำทะเลที่ผ่านการกรอง ใส่ลงในขวดขนาด 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

2. สารละลาย B ก่อนนำไปฆ่าเชื้อต้องปรับให้เป็นกรด ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.5

3. นำสารละลาย A, B, C และ D ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

4. อาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั่วไปเติมสารละลาย A 1 มิลลิลิตร สารละลาย B 0.1 มิลลิลิตร ส่วนไดอะตอมเติมสารละลาย C 2 มิลลิลิตร ในน้ำทะเล 1 ลิตร

5. อาหารแข็ง (agar medium) เติม bactoagar 9 กรัมต่อลิตร และหลอม bactoagar ให้ละลายโดยใช้ความร้อนก่อนนำไปฆ่าเชื้อ

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sato and Serikawa (Sato and Serikawa, 1968)

- สารละลาย A (ธาตุอาหารหลัก)

$NaNO_3$	10	กรัม
Na_2HPO_4	1	กรัม
$NaHCO_3$	16.8	กรัม
$Na_2SiO_3 . 9H_2O$	0.4	กรัม
Na_2EDTA	0.3	กรัม
H_3BO_3	0.344	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	100	มิลลิลิตร

- สารละลาย B (ธาตุอาหารรอง)

$CuSO_4 . 5H_2O$	0.4	มิลลิกรัม
$CoCl_2 . 6H_2O$	0.8	มิลลิกรัม
$MnCl_2 . 4H_2O$	0.27	กรัม
$FeCl_3 . 6H_2O$	0.24	กรัม
$ZnCl_2$	0.03	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	100	มิลลิลิตร

การเตรียมอาหาร

เติมสารละลาย A 1 มิลลิลิตร และสารละลาย B 0.1 มิลลิลิตร ในน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1 ลิตร ส่วนในอาหารแข็งให้เพิ่ม bactoagar 9 กรัมต่อน้ำทะเล 1 ลิตร

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Umebayashi (Umebayashi, 1961)

น้ำกลั่น	1,000	มิลลิตร
NaCl	24	กรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	8	กรัม
KCl	0.7	กรัม
$CaCl_2 . 2H_2O$	0.368	กรัม
$NaNO_3$	0.1	กรัม
$Na_2HPO_4 . 12H_2O$	0.1	กรัม
$NaHCO_3$	0.168	กรัม
$Na_2SiO_3 . 9H_2O$	0.04	กรัม
PI Solution	1	มิลลิลิตร

PI Solution

Na_2EDTA	0.3	กรัม
$FeCl_3 . 6H_2O$	0.03	กรัม
$ZnCl_2$	0.003	กรัม
$MnCl_2 . 4H_2O$	0.043	กรัม
$CoCl_2 . 6H_2O$	1.21	มิลลิกรัม
$CuSO_4 . 5H_2O$	0.47	มิลลิกรัม
H_3BO_3	0.343	กรัม
วิตามิน บี 12	0.01 - 0.3	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

หมายเหตุ : การเตรียมอาหารเติม $Na_2SiO_3.9H_2O$ ลงภายหลัง

ภาคผนวก ช.

การวิเคราะห์น้ำ

1. ซีโอดี Chemical Oxygen Demand (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

1.1 สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 0.25 นอร์มัล

ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง) 12.259 กรัมในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟามิก (NH_2SO_3H) 0.12 กรัม เจือจางจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

2. กรดซัลฟูริก รีเอเจนท์

ละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 22 กรัม ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2.65 ลิตร เนื่องจากซิลเวอร์ซัลเฟตละลายยาก อาจใช้เวลา 1- 2 วัน จึงจะละลายหมด

3. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต $Fe(NH_4)_2(SO_4).6H_2O$ 0.10 นอร์มัล

ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 39 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ทำให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

การหาความเข้มข้น ของสารละลายมาตรฐาน

ดูดสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 0.25 นอร์มัล จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดซัลฟูริกรีเอเจนท์ 30 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นเติมเฟอร์โรอิน 2 - 3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ ไตเทรตด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต จนสารละลายเปลี่ยนสี

$$\text{ความเข้มข้น (นอร์มัล)} = \frac{\text{ปริมาตรสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (มล.)} \times 0.25}{\text{ปริมาตรสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (มล.)}}$$

4. สารละลายเฟอร์โรอิน

สารละลาย 1-10 ฟีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต ($C_{12}H_8N_2.H_2O$) จำนวน 1.485 กรัม และเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) จำนวน 0.695 กรัม เติมน้ำจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

5. ซิลเวอร์ซัลเฟตชนิดผง

6. เมอร์คิวรีซัลเฟต ($HgSO_4$) ชนิดผลึกบริสุทธิ์ หรือชนิดผง

1.2 วิธีการวิเคราะห์

1. เติมเมอร์คิวรีซัลเฟต 0.4 กรัม ลงในขวดกลม

2. เติมตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร หรือส่วนของตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 20 มิลลิลิตร

3. เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 1.0 มิลลิลิตร และลูกแก้ว 3 - 5 เม็ด

4. นำไปกลั่นด้วยอุปกรณ์กลั่นไหลกลับ แล้วเติมกรดซัลฟูริกรีเอเจนท์ 30 มิลลิลิตร กลั่นประมาณ 2 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

5. เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 150 มิลลิลิตร แล้วนำไปไตเทรตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เกินพอด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้เฟอร์โรอินเป็นอินดิเคเตอร์ เมื่อถึงจุดยุติจะเปลี่ยนจากสีเขียวปนน้ำเงินเป็นสีแดงอิฐ

6. ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร แทนตัวอย่างน้ำทำอย่างเดียวกับตัวอย่าง (ข้อ 1 - 5)

$$\text{ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(A-B) \times N \times 8 \times 1{,}000}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มล.)}}$$

A = ปริมาตรสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเทรต blank

B = ปริมาตรสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเทรตตัวอย่าง

N = นอร์มัลของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต

2. ไนไตรท์ (Strickland and Parsons, 1972)

2.1 สารเคมี

1. สารละลายซัลฟาทิลาไมด์ ($NH_2C_6H_4SO_2NH_2$)

ละลายซัลฟาทิลาไมด์ 5 กรัม ในกรดเกลือเจือจาง (กรดเกลือ 50 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร) เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (เก็บในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก)

2. สารละลาย N-(1- napthyl) ethylene dianine dehydrochloride ($C_{10}H_7NHCH_2NH_2$ 2HCl)

ละลาย N - (1 - napthyl) ethylene dianine dehydrochloride 0.50 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บในขวดแก้วสีชา (ถ้าสารละลายมีสีน้ำตาลต้องเตรียมใหม่)

3. สารละลายมาตรฐานไนไตรท์

ละลายโพแทสเซียมไนไตรท์ (KNO_2) 0.6072 กรัม เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คงสภาพด้วยคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็น

สารละลาย 1 มิลลิลิตร มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมไนไตรท์-ไนโตรเจน

2.2 การทำกราฟมาตรฐาน

ดูดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 0.01, 0.025, 0.05, 0.1 และ 0.25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร สารละลายจะมีความเข้มข้น 10, 25, 50, 100 และ 250 ไมโครกรัมต่อลิตรต่อไนไตรท์ ตามลำดับ

2.3 การวิเคราะห์

1. ดูดตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันไว้ให้เกิดปฏิกิริยา 2 - 8 นาที

3. เติมสารละลาย N - (1 - napthyl) - ethylene dianine dehydrochloride 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและต้องทำการวัดภายใน 2 ชั่วโมง ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร

4. blank และสารละลายมาตรฐานทำเช่นเดียวกับตัวอย่าง

3. **ไนเตรท** (Strickland and Parsons, 1972)

3.1 สารเคมี

1. สารละลายซัลฟานิลาไมด์

การเตรียมเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาไนไตรท์ในน้ำ

2. สารละลาย N- (1 - napthyl) - ethylene diamine dihydrochloride

เตรียมเช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์ไนไตรท์ในน้ำ

3. สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น

ละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ 125 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร (เก็บในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก)

4. สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เจือจาง

เจือจางแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น 25 มิลลิลิตร ปรับให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

5. สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)

ละลายคอปเปอร์ซัลเฟต 20 กรัม ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

6. กรดไฮโดรคลอริก (HCl) 2 นอร์มัล

ตวงกรดไฮโดรคลอริก 25 มิลลิลิตร ค่อยๆเติมลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 500 มิลลิลิตร

7. แคดเมียมฟิลลิ่ง (cadmium filling)

ใช้โลหะแคดเมียมที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร

การเตรียม column cadmium

- ชั่งแคดเมียม 50 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ที่มีกรดไฮโดรคลอริก 2 นอร์มัล 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ใช้แท่งแก้วคนเป็นครั้งคราว

- รินส่วนที่เป็นของเหลวออก ล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆครั้งจนกระทั่งกรดไฮโดรคลอริกถูกล้างหมดไป

- เติมสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตลงไป 10 มิลลิลิตร แกว่งไปมาจนกระทั่งสีฟ้าของสารละลายหมดไป ผงแคดเมียมจะมีสีดำ (หากเกิดตะกอนแดงให้ดูดออกด้วยหลอดหยดระวังอย่าให้ผงแคดเมียมที่เคลือบผิวแล้วสัมผัสอากาศ)

- ใช้คีมคีบใยแก้ว (glass wool) ใส่ลงใน column เกลี่ยใยแก้วให้อยู่ที่ก้นของ column เพื่อรองรับผงแคดเมียม แล้วเติมน้ำกลั่นหรือสารละลายแอมโมเนียมเจือจางลงใน column จนเต็ม

- ตักผงแคดเมียมที่เคลือบผิวด้วยคอปเปอร์ซัลเฟตลงใน column ระวังมิให้ผงแคดเมียมอัดตัวแน่นเกินไปและควรให้น้ำเต็ม column อยู่เสมอ เพื่อให้แคดเมียมถูกอากาศน้อยที่สุด

- เติมสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เจือจาง ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ปรับอัตราการไหลผ่าน column ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ภายในเวลา 8 - 12 นาที (ถ้าอัตราการไหลเร็วหรือช้ากว่าที่กำหนด ให้ทำการปรับระดับของสายยางที่ไหลออก)

- ใส่ใยแก้วเหนือผงแคดเมียม แล้วล้างด้วยสารละลายแอมโมเนียมเจือจางอีกครั้ง หากไม่ใช้งานทันทีจะต้องเติมสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เจือจาง

- เมื่อใช้งาน column ได้ประมาณ 100 ตัวอย่าง ต้องเคลือบผงแคดเมียมใหม่ โดยล้างด้วยกรดเกลือร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) 300 มิลลิลิตร เททิ้ง 2 ครั้ง จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น (200 - 300 มิลลิลิตรต่อครั้ง) จนน้ำใสและค่าความเป็นกรด-ด่างมากกว่า 5 เทน้ำทิ้งให้แห้งแล้วเคลือบผิวใหม่ตามวิธีข้างต้น

8. สารละลายมาตรฐาน

ละลายโพแทสเซียมไนเตรท 1.02 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร (เก็บสารละลายไว้ในขวดแก้วสีน้ำตาล)

1 มิลลิลิตร = 10 ไมโครกรัมไนเตรท - ไนโตรเจน

9. สารละลายมาตรฐานเจือจาง

ดูดสารละลายมาตรฐาน 4.5, 2.25, 1.125, 0.56, 0.28, 0.14 และ 0.07 มิลลิลิตร เจือจางในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของไนเตรท 450, 225, 112.5, 56.25, 28.125, 14.06 และ 7.03 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.2 วิธีการวิเคราะห์

1. ตวงน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C 50 มิลลิลิตร เติมแอมโมเนียมครอไรด์เข้มข้น 1 มิลลิลิตร เทสารละลายลงใน column

2. รองรับน้ำตัวอย่างที่ผ่าน column 30 มิลลิลิตร เททิ้งแล้วเติมตัวอย่างน้ำที่เหลือลงไปทั้งหมด ใช้กระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร รองรับน้ำ 7 - 9 มิลลิลิตร (เพื่อล้างกระบอกตวงแล้วเททิ้งไป) รองรับน้ำตัวอย่างที่เหลือ 10 มิลลิลิตร เพื่อทำการวิเคราะห์

3. ทำน้ำตัวอย่างที่ผ่าน column แล้ว 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองเติมสารละลายซัลฟาทิลาไมด์ 0.2 มิลลิลิตร ผสมกันทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกริยา 2 - 8 นาที

4. เติม N - (1- napthyl) ethylene diamine dihydrochloride 0.2 มิลลิลิตร ผสมทันที (ภายใน 10 นาที) และต้องทำการวัดภายใน 2 ชั่วโมง ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร

5. ต้องนำค่าไนไตรท์มาหักลบทุกครั้งที่หาไนเตรท (เนื่องจาก column แคดเมียมจะเปลี่ยนไนเตรทในน้ำให้เป็นไนไตรท์)

6. Blank และสารละลายมาตรฐานเจือจาง ทำเช่นเดียวกับน้ำตัวอย่าง

4.ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (UNESCO, 1983)

4.1 สารเคมี

1 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 ไมโครโมลต่อลิตร

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัมในน้ำกลั่น 50 - 60 มิลลิลิตร เจือจางให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

2 สารออกซิเดชั่น

ละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) 50 กรัม และกรดบอริค (H_3BO_3) 30 กรัม ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 350 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรในน้ำกลั่นจนได้ 1,000 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดแก้ว)

3. สารละลายมาตรฐาน

สารละลายโพแทสเซียมไนเตรท 0.5055 กรัม และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1361 กรัม ในน้ำกลั่น และทำให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดแก้ว)

1 มิลลิลิตร = 50 ไมโครอะตอมไนโตรเจน

4. สารละลายมาตรฐานเจือจาง

ดูดสารละลายมาตรฐาน 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 และ 0.03125 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร จะมีความเข้มข้นของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 1,000, 500, 250, 125, 62.5 และ 31.25 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

4.2 วิธีการวิเคราะห์

1. ดูดน้ำตัวอย่างที่กรองแล้วใส่หลอดทดลองที่มีฝาขนาด 15 มิลลิลิตร เติมสารออกซิเดชั่น 2 มิลลิลิตร

2. นำเข้าหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 110 - 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

3. นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและนำไปหาไนเตรท ตามวิธีการหาไนเตรทข้างต้น (ก่อนหาไนเตรทให้นำมาเจือจางโดยน้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร)

5.แอมโมเนีย (Strickland and Parsons, 1972)

5.1 สารเคมี

1. สารละลายไฮโปคลอไรด์

- ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaClO) ซึ่งจะมีคลอรีนประมาณร้อยละ 5.5 หรือใช้น้ำยาฟอกสี ซึ่งมีคลอรีนประมาณร้อยละ 5 ควรเก็บไว้ในภาชนะทึบแสง และไม่ควรเก็บไว้นาน

2. สารละลายอัลคาไลน์

ละลายโซเดียมซิเตรท 100 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 กรัม ในน้ำกลั่นกำจัดอิออนจนได้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

3. ออกซิไดซ์ซิ่งรีเอเจนท์ (oxidizing reagent)

ผสมสารละลายอัลคาไลน์ 4 ส่วน สารละลายไฮโปคลอไรต์ 1 ส่วน สารละลายนี้จะเตรียมเมื่อต้องการใช้ในแต่ละครั้งและจะต้องเก็บไว้ในขวดทึบแสงปิดฝา

4. สารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ [$Na_2(NO)Fe(CN)_5 . 2H_2O$]

ละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ 1 กรัม ในน้ำกลั่นกำจัดอิออนจนได้ปริมาณครบ 200 มิลลิลิตร

5. ฟีนอล รีเอเจนท์ (phenol reagent)

สารละลายฟีนอล 5 กรัม ไดเอทธิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 93 จนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

6. สารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย

ละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ (อบที่ 110 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง) 3.818 กรัม ในน้ำกลั่นกำจัดอิออนจนได้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร

7. สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียเจือจาง

ดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย 0.01, 0.012, 0.05, 0.07 และ 0.1 มิลลิลิตร ลงในวัดขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย 100, 200, 500, 700 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

5.2 วิธีการวิเคราะห์

1. ดูดตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิดขนาด 15 มิลลิลิตร

2. เติมฟีนอล รีเอเจนท์ 0.4 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน

3. เติมสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ 0.4 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน

4. เติมออกซิไดซ์ซิ่งรีเอเจนท์ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ไม่ควรเกิน 24 ชั่วโมง ในที่มืด หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร

5. blank และสารละลายมาตรฐาน ทำเช่นเดียวกับตัวอย่างน้ำ

6. ปริมาณออร์โธฟอสเฟต (Strickland and Parsons, 1972)

6.1 สารเคมี

1. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดท [$(NH_4)_6Mo_7O_{24} . 4H_2O$]

ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดท 15 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร (เก็บในขวดพลาสติกในที่มืด

2. สารละลายกรดซัลฟูริก

ตวงกรดซัลฟูริกเข้มข้น 140 มิลลิลิตร ใส่ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร (ตั้งไว้ให้เย็นเก็บไว้ในขวดแก้ว)

3 สารละลายกรดแอสคอบิก ($C_6H_8O_6$)

ละลายกรดแอสคอบิก 13.5 กรัม ในกลั่น 900 มิลลิลิตร (เก็บในขวดพลาสติก และแช่แข็งไว้)

4 สารละลายโพแทสเซียมแอนติโมทิลทาเทรต (K (SbO) $C_4H_4O_6$)

สารละลายโพแทสเซียมแอนติโมทิลทาเทรต 0.34 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร (เก็บในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก)

5 สารผสม

ผสมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดท 2 ส่วน สารละลายกรดซัลฟูลิก 5 ส่วน สารละลายกรดแอสคอบิก 2 ส่วน และสารละลายโพแทสเซียมแอนติโมทิลทาเทรต 1 ส่วน (เก็บได้ไม่เกิน 6 ชั่วโมง หลังผสม)

6 สารละลายมาตรฐาน

ละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) (anhydrous) อบที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) 0.816 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร (ใส่คลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร สามารถเก็บได้นานหลายเดือน) 1 มิลลิลิตร = 60 ไมโครกรัมอะตอม ฟอสเฟต

7. สารละลายมาตรฐานเจือจาง

ดูดสารละลายมาตรฐาน 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125 และ 0.15625 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของฟอสเฟตเท่ากับ 60, 30, 15, 7.5, 3.75 และ 1.875 ไมโครกรัมอะตอมฟอสเฟต ตามลำดับ

6.2 วิธีการวิเคราะห์

1. ดูดน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรอง 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารผสม 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน ทิ้งไว้ 5 นาที (ไม่เกิน 2 - 3 ชั่วโมง)

2. นำไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 885 นาโนเมตร

3. blank และสารละลายมาตรฐานเจือจาง ทำเช่นเดียวกับน้ำตัวอย่าง

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1 ค่าเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อสัตว์น้ำกร่อย

พารามิเตอร์	ค่าที่เหมาะสม	หมายเหตุ
บีโอดี	<4 มิลลิกรัมต่อลิตร	1.ค่าบีโอดีของน้ำเสียมีค่าระหว่าง 20 - 32 มิลลิกรัมต่อลิตร 2. ห้ามปล่อยน้ำทิ้งที่มีค่าบีโอดี>10 มิลลิกรัมต่อลิตร (มาตรการการจดทะเบียนฟาร์มกุ้งทางด้านวิชาการ)
ซีโอดี	<15 มิลลิกรัมต่อลิตร	
ตะกอนแขวนลอย	1. <250 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลกระทบ 2. 25.0 - 80.0 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาณที่เหมาะสม 3. 80 - 400 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลกระทบบ้าง 4. > 400 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลกระทบมาก	
ความเค็ม	15 - 30 ส่วนในพัน	
ไนเตรท	0.01 - 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	
ไนไตรท์	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	
แอมโมเนีย	0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร	
ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S)	0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร	
ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ	0.05 ถึงจุดอิ่มตัวเป็นสภาวะที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญเติบโต	
ค่าความเป็นกรด - ด่าง	6 - 9	
ปริมาณฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำ	> 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร	
ความโปร่งใส	40 - 60 เซนติเมตร	

ที่มา : คณิต ไชยาคำ (2534)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2 มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งที่สามารถปล่อยออกสู่แหล่งน้ำที่ใช้ประโยชน์ในการอุปโภคบริโภค ใช้อนุรักษ์สัตว์น้ำโดยทั่วไป และการพักผ่อนย่อนใจ

พารามิเตอร์	ค่ามาตรฐาน
สารเคมีหรือสิ่งต่างๆ	ไม่มีวัตถุและสิ่งของลอยอยู่ สารที่ก่อให้เกิดกลิ่นและรสผิดไปจากธรรมชาติ
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6 - 8
อุณหภูมิ	ไม่สูงกว่าอุณหภูมิปรกติของแหล่งน้ำนั้นๆ 4 องศาเซลเซียส
สารที่เป็นพิษในแหล่งน้ำนั้นจะต้องไม่สูงเกินกว่าค่าที่กำหนดไว้	
- แอมโมเนีย	0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในรูปไนโตรเจน
- ไนเตรท	5 มิลลิกรัมต่อลิตร
- สารหนู	0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร
- โครเมียม	0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ทองแดง	0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ตะกั่ว	0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ยาปราบศัตรูพืช	0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ปรอท	0.002 มิลลิกรัมต่อลิตร
ค่าบีโอดี (BOD_5)	ไม่สูงเกินกว่า 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO_2)	ไม่ต่ำกว่า 6 มิลลิกรัมต่อลิตร

ที่มา : คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (2525 อ้างโดยทศพร ธงทอง,2529)

ภาคผนวก ค.

การวิเคราะห์การเติบโตของแพลงก์ตอนพืช

การหาน้ำหนักเซลล์แห้งของแพลงก์ตอนพืช (Markovits *et al.*, 1993)

วิธีการ

1. อบหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น (dessicator) เมื่อหลอดทดลองมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งชนิดละเอียด ทำซ้ำจนน้ำหนักคงที่

2. เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำมาเจือจางด้วยน้ำทะเล หาค่าความหนาแน่นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ให้ได้ค่าความหนาแน่นเท่ากับ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8 blank ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ

3. นำเซลล์ที่ระดับความหนาแน่นต่างๆปริมาณ 15 มิลลิลิตร ไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,500 รอบต่อนาที ประมาณ 10 นาที เซลล์ตกตะกอนทั้งหมดแล้วเทของเหลวที่อยู่ส่วนบนทิ้ง นำหลอดทดลองที่มีแพลงก์ตอนพืชไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำไปใส่ในโถดูดความชื้นจนกระทั่งเย็น จึงนำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งละเอียดจะได้น้ำหนักของหลอดทดลอง + แพลงก์ตอนพืช + น้ำหนักของเกลือ

4. หาน้ำหนักของเกลือ โดยวัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ค่าที่ได้คือค่าความนำไฟฟ้าของตัวอย่างน้ำทะเล

$$S\ ‰ = -0.08996 + 28.89720\ R_{15} + 12.80832\ R_{15}^{2} + 10.67869\ R_{15}^{3} + 5.98624\ R_{15}^{4} - 1.32311\ R_{15}^{5}$$

R_{15} คือ อัตราส่วนของความนำไฟฟ้าของตัวอย่างน้ำทะเลนั้นๆที่ 15 องศาเซลเซียส เทียบกับน้ำทะเลมาตรฐาน (Standard Sea Water) ที่ความเค็ม 35.00 ส่วนในพัน (ppt) และคลอรินิตี้ 19.375 ส่วนในพัน ภายใต้ความกดดัน 1 บรรยากาศ โดยค่าความนำไฟฟ้าของน้ำทะเลมาตรฐาน 35 ส่วนในพัน = 1.00012

5. นำค่ารวม (หลอดทดลอง + แพลงก์ตอนพืช + น้ำหนักเกลือ) หักลบกับค่าหลอดทดลอง และน้ำหนักเกลือ จะได้น้ำหนักเซลล์แห้งของแพลงก์ตอนพืช

6. บันทึกค่าความหนาแน่น กับน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ (กรัมต่อลิตร) และนำค่าที่ได้ไปเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของแพลงก์ตอนพืช

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1 ค่าความหนาแน่น และน้ำหนักเซลล์แห้งของแพลงก์ตอนพืชที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne

ค่าความหนาแน่น (OD.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			
ที่ 560 นาโนเมตร	*Skeletonema*	*Chlorella*	*Chaetoceros*	*Chroomonas*
0.1	0.08	0.05	0.06	0.055
0.2	0.17	0.09	0.11	0.105
0.3	0.25	0.15	0.163	0.155
0.4	0.32	0.19	0.22	0.205
0.5	0.40	0.24	0.27	0.260
0.6	0.47	0.29	0.32	0.305
0.7	0.56	0.34	0.38	0.360
0.8	0.64	0.38	0.43	0.410

การหาอัตราการเติบโตจำเพาะ

นำค่าน้ำหนักเซลล์แห้งของแพลงก์ตอนพืช มาคำนวณหาค่า ln จากนั้นนำไปเขียนกราฟกับระยะเวลาที่เลี้ยงแพลงก์ตอนพืชโดยใช้ regression program ค่าความชันของเส้นกราฟจะเป็นอัตราการเติบโตจำเพาะ

ตารางภาคผนวก ค ที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความหนาแน่น กับจำนวนเซลล์ของ *Chroomonas*

ค่าความหนาแน่น (OD.) ที่ 560 นาโนเมตร	จำนวนเซลล์ *Chroomonas* (เซลล์ต่อลิตร)
0.05	5.3×10^8
0.15	15.4×10^8
0.25	24.9×10^8
0.35	34.4×10^8
0.45	43.9×10^8
0.55	53.4×10^8
0.65	62.9×10^8
0.75	72.4×10^8

ตารางภาคผนวก ค ที่ 3 การเติบโตของแพลงก์ตอนพืช 4 สกุล ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Walne เปรียบเทียบความเข้มแสงแตกต่างกัน 2 ระดับ

เวลา (วัน)	ความหนาแน่นที่ 560 นาโนเมตร							
	Chroomonas		*Chlorella*		*Skeletonema*		*Chaetoceros*	
	ความเข้มแสง(ลักซ์)		ความเข้มแสง(ลักซ์)		ความเข้มแสง(ลักซ์)		ความเข้มแสง(ลักซ์)	
	4,700	6,300	4,700	6,300	4,700	6,300	4,700	6,300
0	0.20	0.20ns	0.20	0.20ns	0.20	0.20ns	0.20	0.20ns
2	0.37	0.38ns	0.37	0.39ns	0.23	0.23ns	0.28	0.28ns
4	0.42	0.45ns	0.45	0.49*	0.27	0.23*	0.33	0.31ns
6	0.51	0.55*	0.54	0.58*	0.28	0.22*	0.39	0.37ns
8	0.59	0.65**	0.66	0.71*	27	0.23*	0.35	0.33ns
10	0.62	0.67*	0.72	0.78**	0.29	0.25*	0.32	0.31ns
12	0.64	0.69*	0.83	0.90**	0.32	0.26**	0.30	0.28ns
14	0.63	0.65	0.96	1.02*	0.31	0.22**	0.27	0.27ns

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

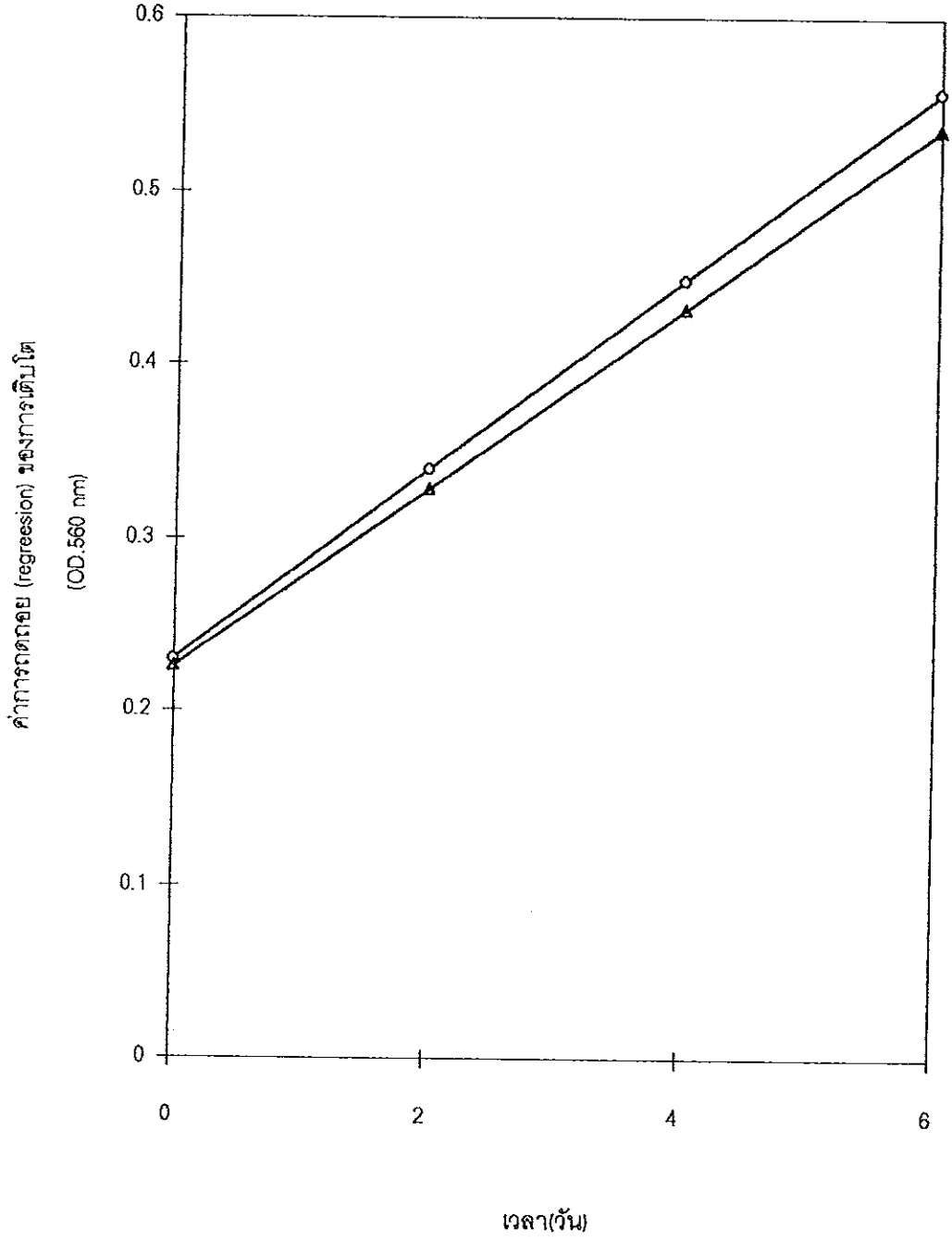
ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวก ค ที่ 4 ค่าความแปรปรวนของแพลงก์ตอนพืช 4 สกุล เมื่อเลี้ยงที่ความเข้มแสง 4,700 ลักซ์ และ 6,300 ลักซ์

สกุล	SV	df	SS	MS	F
Skeletonema	Treatment	1	0.0118	0.0118	33.18**
	Error	28	0.0099	0.0004	
	Total	41	0.037		
Chaetoceros	Treatment	1	0.0004	0.0004	1.15 ns
	Error	28	0.0066	0.0003	
	Total	41	0.037		
Chroomonas	Treatment	1	0.0003	0.0003	<1
	Error	28	0.0068	0.0005	
	Total	41	0.0938		
Chlorella	Treatment	1	0.0013	0.0013	2.65 ns
	Error	28	0.0141	0.0005	
	Total	41	0.037		

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)



ภาพภาคผนวก ค ที่ 1 ค่าการถดถอย (regression) ของการเติบโต (OD.)ของ *Chroomonas* (o), และ*Chlorella* (Δ)ในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาโดยเลี้ยงที่ความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับแพลงก์ตอนพืชทั้ง 2 สกุล ระยะเวลา 6 วัน