บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนับเป็นอุตสาหกรรมการเกษตรที่สำคัญของประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์ทะเล ในปี 2546 ประเทศไทยส่งออกกุ้งปริมาณ 234,277 ตัน ซึ่งมีมูลค่าสูงถึง 71,845 ล้านบาท (ชะลอ ลิ้มสุวรรณ และพรเลิศ จันทร์รัชชกูล, 2547) นอกจากนั้นอุตสาหกรรมดังกล่าวยังเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมเกี่ยวเนื่องที่ทำให้เกิดการจ้างงานอีกหลายชนิดเช่น อุตสาหกรรมแช่เยือกแข็ง อุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์ อุตสาหกรรมผลิตท่อส่งน้ำ อุตสาหกรรมเครื่องจักรกล เป็นต้น อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงซึ่งจัดเป็นอุตสาหกรรมต้นน้ำยังคงประสบปัญหาหลายด้านโดยเฉพาะอย่างยิ่งการตายเนื่องจากโรคระบาดของกุ้งกุลาดำและกุ้งขาว ดังนั้นงานวิจัยเพื่อแก้ปัญหาต่างๆ เช่นการปรับปรุงสายพันธุ์ ศึกษากลไกการเกิดโรคและแนวทางแก้ปัญหา การผลิตพ่อและแม่พันธุ์ที่มีคุณภาพสูง การสร้างสูตรอาหารที่มีคุณภาพโดยมีต้นทุนการผลิตต่ำลง จึงนับวันจะทวีความสำคัญมากยิ่งขึ้น กระบวนการศึกษาวิจัยเหล่านี้จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีห้องปฏิบัติการสัตว์น้ำที่มีมาตรฐาน

คุณภาพน้ำที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเป็นปัจจัยสำคัญอย่างยิ่งต่อความน่าเชื่อถือของผลการทดลองเกี่ยวกับสัตว์ทะเล เพราะสามารถส่งผลกระทบต่อ อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย การเปลี่ยนแปลงของกระบวนการต่างๆทางชีวเคมีและระบบทางสรีระของสัตว์ทดลองจากสภาวะปกติ ปัญหาดังกล่าวนี้สามารถแก้ไขได้ไม่ยากนักสำหรับสถานที่ที่การดำเนินงานวิจัยอยู่ใกล้แหล่งน้ำทะเลธรรมชาติเพราะสามารถควบคุมโดยการเปลี่ยนถ่ายน้ำครั้งละมากๆได้ แต่นับเป็นปัญหาสำคัญสำหรับสถานที่ที่ห่างไกลเพราะต้องใช้ต้นทุนในการขนส่งสูง ดังนั้นแนวคิดในการบำบัดน้ำทะเลที่ใช้แล้วเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ (recycle) หรือการรักษาคุณภาพน้ำในระหว่างการทดลองให้ใช้ได้นานที่สุดโดยไม่กระทบต่อผลการทดลองจึงเป็นสิ่งที่ควรได้รับการศึกษาอย่างเป็นระบบ

ปัจจัยสำคัญที่ทำให้คุณภาพของน้ำในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของสัตว์เลี้ยงเกิดจากการสะสมของสารประกอบไนโตรเจนที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ได้แก่ แอมโมเนีย และไนไตรท์ แอมโมเนีย สารประกอบเหล่านี้เป็นผลิตผลจากกระบวนการย่อยสลายโปรตีนและกรดนิวคลีอิคจากของเสียที่สัตว์ขับถ่ายออกมา การละลายออกมาจากอาหารที่ให้ รวมทั้งเศษอาหารที่เหลือโดยการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์หลายชนิด แอมโมเนียจะถูกลดรูปกลายเป็นไนไตรท์และไนเตรทด้วยกระบวนการ nitrification ที่เกิดจากการสร้างพลังงานของ nitrifying

bacteria แอมโมเนียในน้ำพบได้ 2 รูป คือ แอมโมเนียรูปแตกตัว (ionized ammonia, NH_4^+-N) และแอมโมเนียรูปไม่แตกตัว (un-ionized ammonia, NH_3-N) การที่จะแปรเปลี่ยนเป็นรูปใดมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ pH อุณหภูมิ และความเค็มของน้ำ ทั้งนี้แอมโมเนียรูปไม่แตกตัวเท่านั้นที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ สำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระดับความเข้มข้นที่ปลอดภัยของแอมโมเนียรวม (total ammonia nitrogen ,TAN) แอมโมเนียรูปไม่แตกตัว (NH_3–N) และไนไตรท์ (NO_2-N) สำหรับกุ้งกุลาดำระยะ adolescent คือ 4.26 mg/l, 0.08 mg/l และ 10.60 mg/l ตามลำดับ (Chen *et.al*., 1990) วิธีลดระดับสารประกอบไนโตรเจนในตู้ทดลองที่ง่ายที่สุดคือการเปลี่ยนถ่ายน้ำ แต่วิธีนี้นอกจากต้องใช้น้ำทะเลปริมาณมากแล้วยังทำให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วซึ่งเป็นการเพิ่มความเครียดให้สัตว์ทดลองอีกทางหนึ่งด้วย

ปัจจุบันการเลี้ยงสัตว์ทะเลในระบบตู้เลี้ยงสวยงาม นิยมควบคุมสารประกอบไนโตรเจนโดยอาศัยกระบวนการทางกายภาพและชีวภาพ กระบวนการทางกายภาพทำหน้าที่กำจัดสารอินทรีย์รูปของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ โดยน้ำในระบบการเลี้ยงจะหมุนเวียนผ่านตัวกรองเช่น กรวดทราย ฟองน้ำหรือตะแกรงพลาสติก สำหรับกระบวนการทางชีวภาพเป็นวิธีที่กำจัดสารประกอบไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในน้ำได้ดีที่สุด กระบวนการนี้อาศัยการทำงานของจุลินทรีย์หลายประเภท เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา โปรโตซัวและสาหร่าย ช่วยเปลี่ยนรูปสารประกอบไนโตรเจนให้อยู่ในรูปที่ไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำและสามารถกำจัดออกจากระบบได้ง่าย และด้วยความต้องการลดปริมาณการใช้น้ำ ลดความเสี่ยงจากการติดเชื้อโรคและลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จึงมีความพยายามเลี้ยงสัตว์ทะเลด้วยตู้เลี้ยงระบบปิดคือไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำใหม่ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง แต่การเลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดมีโอกาสเพิ่มสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษขึ้นในตู้เลี้ยงอย่างรวดเร็วหากระบบการควบคุมคุณภาพน้ำไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ ด้วยเหตุนี้การศึกษาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพการเปลี่ยนรูปสารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดจึงเป็นสิ่งจำเป็นและได้รับความสนใจเป็นพิเศษ

การเปลี่ยนรูปสารประกอบไนโตรเจนด้วยกระบวนการทางชีวภาพ จุลินทรีย์อาจใช้สารประกอบไนโตรเจนสร้างพลังงานด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน ทำให้สารประกอบไนโตรเจนเปลี่ยนรูปไปเป็นแก๊สไนโตรเจนซึ่งสามารถแพร่สู่อากาศได้ง่าย โดยกระบวนการ nitrification และ denitrification หรืออาจดึงสารประกอบไนโตรเจนมาใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนและกรดนิวคลีอิกเพื่อสร้างเซลล์ใหม่ (assimilation; immobilization of inorganic nitrogen) โดยธรรมชาติจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ nitrification เติบโตช้า การเปลี่ยนรูปสารประกอบไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์จึงเกิดขึ้นได้ช้า อย่างไรก็ตาม LaMotta (1976) อ้างโดย Wijffels and Tramper (1995)

พบว่ากระบวนการ nitrification สามารถเร่งให้เร็วขึ้นได้โดยตรึงจุลินทรีย์ให้ก่อตัวเป็นฟิล์ม (biofilm ; immobilized cells) บนผิววัสดุที่มีพื้นที่ผิวจำเพาะสูง (high specific surface area) เช่น ซากเปลือกหอย เม็ดพลาสติก โพลีเมอร์เจล เป็นต้น การก่อตัวเป็น biofilm ช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ เนื่องจากจะเกิดส่วนที่มีสภาพแวดล้อมต่างๆ กันเกิดเป็นชุมชนของจุลินทรีย์ต่างชนิด เมื่อ denitrifying bacteria ถูกตรึงใน biofilm ส่วนที่ออกซิเจนแพร่ผ่านเข้าไปได้น้อยจะทำให้อัตราเร็วของกระบวนการ denitrification เพิ่มขึ้นซึ่งผลิตผลที่ได้คือแก๊สไนโตรเจนระเหยไปในอากาศเร็วขึ้นด้วย (Kotlar *et.al*., 1996)

การควบคุมสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิด อาจดำเนินการโดยการเติมสารอินทรีย์คาร์บอนเช่น กลูโคส แป้งมันสำปะหลัง หรือ กากน้ำตาล ลงในตู้เลี้ยงเพื่อปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ให้เหมาะสมสำหรับการนำไปสังเคราะห์โปรตีนและกรดนิวคลีอิก ซึ่งมีความจำเป็นในการสร้างเซลล์จุลินทรีย์ เมื่อเติมสารอินทรีย์ที่มี C/N ratio สูง ลงในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำ จุลินทรีย์จะดึงสารอนินทรีย์ไนโตรเจนที่สะสมในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำ ได้แก่ แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท มาใช้ จึงทำให้สารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษในระบบการเลี้ยงลดลง (Boyd, 1996) แบคทีเรียกลุ่ม heterotrophs มีบทบาทมากในปรากฏการณ์นี้ นอกจากนั้นสัตว์ทะเล เช่น กุ้งกุลาดำ หรือกุ้งขาวแวนนาไม สามารถใช้จุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นเป็นแหล่งอาหาร จึงช่วยลดการให้อาหารโปรตีนในระบบการเลี้ยงได้ (Avnimelech, 1999; Burford *et al*., 2003; Hari *et al*., 2004) โดยจุลินทรีย์จะดึงสารอนินทรีย์ไนโตรเจนมาใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ใหม่เมื่อสารอินทรีย์มี C/N ratio มากกว่า 10 (Lancelot and Billen,1985 อ้างโดย Burford *et al*, 2003)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการลดระดับสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษด้วยวิธีทางชีวภาพอย่างง่ายที่สามารถนำมาใช้สำหรับตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดในห้องปฏิบัติการ โดยศึกษาผลจากการใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์และการควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ต่อประสิทธิภาพการลดระดับสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษโดยกระบวนการทางชีวภาพที่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุช่วยตรึงจุลินทรีย์แบบธรรมชาติ และใช้น้ำตาลทรายขาวในการปรับ C/N ratio การทดลองดำเนินการโดยติดตามและเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระดับแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท ความเป็นกรด-ด่าง ออกซิเจนที่ละลายน้ำ ควบคู่กับการศึกษาประสิทธิภาพการเลี้ยงได้แก่ อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และอัตราการแลกเนื้อของกุ้งทดลอง การทดลองแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ 1) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดที่ใช้สำหรับงานทดลอง เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์

2) ศึกษาอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ที่เหมาะสมในการลดระดับสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษด้วยชีวภาพในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดที่ใช้สำหรับงานทดลอง เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ และ 3) ศึกษาผลของการควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อการเปลี่ยนแปลงระดับไนโตรเจนที่เป็นพิษในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบระบบปิดที่ใช้สำหรับงานทดลอง เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์

การตรวจเอกสาร

1.1 คุณภาพน้ำในตู้ทดลองเลี้ยงสัตว์ทะเล

คุณภาพน้ำในตู้ทดลองเลี้ยงสัตว์ทะเลขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการทั้งทางเคมี กายภาพ และ ชีวภาพ ซึ่งสรุปได้ดังต่อไปนี้

1.1.1 ปัจจัยทางเคมี (chemical factors)

1. องค์ประกอบของน้ำทะเลและความเค็ม

ส่วนประกอบหลักของน้ำทะเลในธรรมชาติคือ Na^+ และ Cl^- นอกจากนั้นยังมีส่วนประกอบอื่นอีกหลายชนิดเช่น SO_4^{2-}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, K^+, Br^-, Sr^{2+}, F^- และ B (Wilson, 1975) ปริมาณหรืออัตราส่วนของสารประกอบเหล่านี้อาจแตกต่างกันตามแหล่งน้ำ ปกติความเค็มของน้ำในทะเลเปิดมีค่าระหว่าง 30-35 ppt นอกจากแร่ธาตุดังกล่าวแล้วน้ำทะเลจากธรรมชาติอาจมีส่วนผสมของตะกอนแขวนลอยทั้งที่เป็นสารอินทรีย์และอนินทรีย์ แบคทีเรีย รวมทั้งแพลงก์ตอนพืชและสัตว์ ดังนั้นการนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการจึงต้องผ่านการกรองและฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนหรือโอโซน จากนั้นจึงพักไว้ประมาณ 3-7 วันก่อนนำมาใช้ (Boyd, 1982) สำหรับงานทดลองซึ่งต้องควบคุมส่วนประกอบทางเคมีให้คงที่ ปราศจากสารพิษและสิ่งมีชีวิตจากภายนอกอาจใช้น้ำทะเลสังเคราะห์ (synthetic seawater) ซึ่งมีส่วนผสมของแร่ธาตุต่างๆใกล้เคียงกับน้ำทะเลธรรมชาติแทน (Valenti, 1968)

สัตว์ทะเลแต่ละชนิดสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้แตกต่างกัน เช่น กุ้งกุลาดำสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้ในช่วงกว้าง และหากการเปลี่ยนแปลงเป็นไปอย่างช้าๆ กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) สามารถปรับตัวอยู่ที่ความเค็มเป็นศูนย์หรือที่ความเค็ม 45 ppt ได้นาน 1 เดือน แต่ความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 10-20 ppt (Boyd, 1989)

2. ความเป็นกรด (acidity) และความเป็นด่าง (alkalinity)

ความเป็นกรดของน้ำหมายถึงความเข้มข้นของโปรตอน (H^+) ในน้ำบ่งชี้ด้วยค่า pH น้ำทะเลในธรรมชาติค่า pH อาจแปรเปลี่ยนอยู่ในช่วง 7.9-8.5 ในขณะที่ความเป็นด่าง ใช้เป็น

ดัชนีบ่งชี้ความสามารถในการรับโปรตอนของน้ำหรือในทางปฏิบัติหมายถึงปริมาณของกรดที่ใช้เพื่อการไตเตรทตัวอย่างน้ำจนเป็นกลาง ดังนั้นน้ำซึ่งมีความเป็นด่างสูงจะสามารถต้านทานการเปลี่ยนแปลงค่า pH ได้ดีเมื่อเติมกรดลงไป (Boyd, 1990)

การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของน้ำขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง นอกจากมีแหล่งที่มาจากการละลายของสารประกอบที่ทำให้เกิดความเป็นด่างแล้วคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งเกิดจากกระบวนการหายใจของสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำก็เป็นปัจจัยสำคัญยิ่งต่อระดับความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะเข้าทำปฏิกิริยากับน้ำเปลี่ยนไปเป็นกรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) ซึ่งจะแตกตัวต่อไปเป็นไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) และ โปรตอน (H^+) ดังสมการ

$$CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3 \longrightarrow H^+ + HCO_3$$

จะเห็นว่าปฏิกิริยานี้มีผลทำให้ค่า pH ของน้ำลดลง อย่างไรก็ตามคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนตเป็นสารซึ่งทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ (buffer) ซึ่งช่วยต้านทานการเปลี่ยนแปลง pH ในแหล่งน้ำธรรมชาติได้ด้วยดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$H_2CO_3 \underset{H^+}{\overset{OH^-}{\rightleftharpoons}} CO_3^{2-} + H_2O$$

$$CO_3^{2-} + H_2O \longrightarrow 2OH^- + CO_2$$

ระดับคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำขึ้นอยู่กับสมดุลระหว่างสองกระบวนการ กระบวนการแรกคือการหายใจ (respiration) ซึ่งจะปล่อย CO_2 ออกมาละลายในน้ำซึ่งเกิดจากกิจกรรมของสัตว์ พืช และ จุลินทรีย์หลากหลายชนิดที่อาศัยอยู่ร่วมกันในแหล่งน้ำนั้นๆ กระบวนการนี้เกิดขึ้นทั้งกลางวันและกลางคืน กระบวนการที่สองคือการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) ซึ่งจะทำให้ความเข้มข้นของ CO_2 ที่ละลายอยู่ลดลงเพราะจะถูกดึงมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ทำให้ pH ของน้ำสูงขึ้น กระบวนการนี้เกิดขึ้นเฉพาะช่วงเวลากลางวัน ดังนั้นระดับ pH ในแหล่งน้ำจึงแปรเปลี่ยนได้ตลอดเวลาในรอบ 1 วัน ในช่วงเวลากลางคืนซึ่งมีเพียงกระบวนการหายใจและปล่อย CO_2 ออกมาละลายในน้ำโดยไม่มีการดึงไปใช้ จึงทำให้ค่า pH ของน้ำต่ำลง

ผลกระทบของค่า pH ต่อสัตว์น้ำอาจทำให้เยื่อบุเหงือก (gill epithelium) ถูกทำลาย และทำให้เลือดอยู่ในสภาพเป็นกรด มีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์ต่างๆ ค่า pH นอกจากมีผลกระทบโดยตรงต่อสัตว์น้ำแล้ว ยังมีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย เมื่อค่า pH ของน้ำมีค่า

สูงจะมีผลทำให้แอมโมเนียเปลี่ยนไปอยู่ในรูปไม่แตกตัวซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำเพิ่มขึ้น โดยพบว่าเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้น 1 หน่วยทำให้ระดับความเข้มข้นแอมโมเนียรูปไม่แตกตัวเพิ่มขึ้น 10 เท่า (Boyd, 1982) ดังนั้นในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำจึงต้องควบคุมค่า pH ให้เหมาะสมไม่ควรมีการเปลี่ยนแปลงค่า pH เกิน 2 หน่วยในรอบวัน ในทางปฏิบัติอาจดำเนินการโดยเติมสารประกอบพวกแคลเซียมคาร์บอเนตเมื่อค่า pH ต่ำ หรือเติมกรดอะซิติกเมื่อค่า pH สูง

Hamid และคณะ (1994) รายงานว่าระบบการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีระดับแอมโมเนียรวม (TAN) 0-6 mg/l ระดับ pH ของน้ำที่กุ้งจะอยู่รอดและเจริญเติบโตได้คือ 7.5-8.0

3. ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen; DO)

ออกซิเจนที่ละลายน้ำ มีความสำคัญยิ่งต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ โดยทั่วไปออกซิเจนจะเข้าไปแทรกตัวอยู่ในน้ำด้วยการแพร่ (diffusion) จากอากาศหรือแหล่งอื่นๆ ระดับความเข้มข้นสูงสุด (saturation level) ที่ออกซิเจนสามารถละลายได้ ขึ้นอยู่กับความเค็ม อุณหภูมิ และ ความดันบรรยากาศ สำหรับน้ำบริสุทธิ์ออกซิเจนจะละลายได้สูงสุด 8.84 mg/l ที่อุณหภูมิ 20°C ที่ความดัน 1 บรรยากาศ แต่เมื่อมีความเค็มและอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นปริมาณออกซิเจนที่สามารถละลายได้สูงสุดจะลดลงดังความสัมพันธ์ที่แสดงในตารางที่ 1

Solubility of Oxygen (mg/l) as a function of Temperature and Salinity (Assuming Moist Air, Barometric Pressure = 760 mm Hg)									
Temp (°C)	Salinity parts per thousand								
	0	5	10	15	20	25	30	35	40
0	14.6	14.1	13.6	13.2	12.7	12.3	11.9	11.5	11.1
5	12.8	12.8	11.9	11.6	11.2	10.8	10.5	10.1	9.8
10	11.3	10.9	10.6	10.3	9.9	9.6	9.3	9.0	8.7
15	10.1	9.8	9.5	9.2	8.9	8.6	8.4	8.1	7.9
20	9.1	8.8	8.6	8.3	8.1	7.8	7.6	7.4	7.2
25	8.2	8.0	7.8	7.6	7.4	7.2	7.0	6.8	6.6
30	7.5	7.3	7.1	6.9	6.8	6.6	6.4	6.2	6.1
35	7.0	6.8	6.6	6.4	6.2	6.1	5.9	5.8	5.6
40	6.4	6.2	6.1	5.9	5.8	5.6	5.5	5.4	5.2

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ของความเค็มและอุณหภูมิของน้ำต่อปริมาณออกซิเจนละลาย
ที่มา : Colt, 1980 อ้างโดย Chamberlain, 1988

นอกจากปัจจัยดังกล่าวข้างต้นแล้วระดับ DO ในแหล่งน้ำธรรมชาติหรือบ่อเลี้ยงยังขึ้นอยู่กับสมดุลระหว่างกระบวนการหายใจและการสังเคราะห์แสงของสิ่งมีชีวิตหลายชนิดที่อาศัยอยู่ภายในระบบ ผลลัพธ์จากกระบวนการเหล่านี้ทำให้ระดับ DO ในรอบวันแปรเปลี่ยน

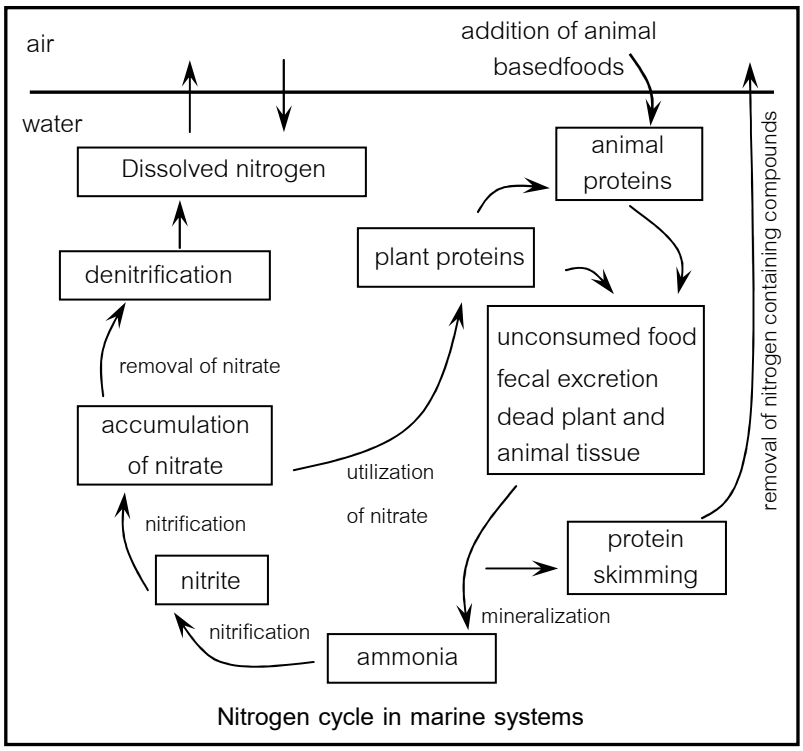
ตลอดเวลา ในเวลากลางวันระดับ DO จะเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากออกซิเจนซึ่งเป็นผลิตผลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยแพลงส์ตอนพืชหรือพืชน้ำจะแพร่กระจายออกมาละลายอยู่ในน้ำ แต่กระบวนการนี้สิ้นสุดลงในช่วงเวลากลางคืนในขณะที่กระบวนการหายใจซึ่งต้องใช้ออกซิเจนโดยแบคทีเรีย แพลงส์ตอนพืชและสัตว์ รวมทั้งสัตว์น้ำ ยังคงดำเนินไปอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้ระดับ DO ในเวลากลางคืนลดต่ำลง Boyd (1989) กล่าวว่าการเน่าสลายของสารอินทรีย์ซึ่งมาจากเศษอาหารตกค้าง สิ่งขับถ่ายของสัตว์น้ำ และซากจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในแหล่งน้ำทำให้ระดับ DO ลดลงมากกว่าสาเหตุอื่นๆ และเป็นที่น่าสังเกตว่าผลลัพธ์จากกระบวนการเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับความขุ่นของน้ำ ปริมาณสารอินทรีย์ ชนิดและปริมาณของสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์แสงได้ จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดระดับ DO ในระบบของบ่อเลี้ยง

สัตว์น้ำต้องการใช้ออกซิเจนในการหายใจและกระบวนการเมตาบอลิซึม หากระดับ DO ในน้ำลดลงสัตว์น้ำอาจเกิดอาการเครียดหรือตายได้ Seidman และ Lawrence (1985) รายงานว่ากุ้งกุลาดำและกุ้งขาวแวนนาไม *(Litopenaeus vannamei)* ขนาด 0.2-0.5 กรัม จะตายเมื่อระดับ DO ในน้ำต่ำกว่า 1.9 mg/l และ 2.2 mg/l ตามลำดับ และ Chen (1985) พบว่าระดับ DO 3.7 mg/l จัดว่าเป็นระดับวิกฤตสำหรับการดำรงชีวิตโดยปกติของสัตว์น้ำ หากระดับ DO ต่ำกว่านี้ อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดชีวิต ความดกของไข่ อัตราการฟักเป็นตัว และอัตราการรอดของตัวอ่อนจะลดลงรวมทั้งสัตว์น้ำจะอ่อนแอติดโรคได้ง่าย

4. สารประกอบไนโตรเจน

สารประกอบไนโตรเจนส่วนใหญ่ที่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติหรือบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ คือ สารอินทรีย์ไนโตรเจน แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท ในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเล สารประกอบไนโตรเจนเกิดจากของเสียที่สัตว์ขับถ่ายออกมา การละลายออกมาจากอาหารที่ให้ รวมทั้งเศษอาหารที่เหลือ การเปลี่ยนแปลงและการใช้ประโยชน์สารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลแสดงในภาพที่ 1 การย่อยสลายโปรตีนของจุลินทรีย์และการ hydrolysis ยูเรีย จะเปลี่ยนสารอินทรีย์ไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย และในสภาวะที่มีออกซิเจนแบคทีเรียจะออกซิไดซ์แอมโมเนียกลายเป็นไนไตรท์และไนเตรท แอมโมเนียและไนไตรท์มีความเป็นพิษมากต่อสัตว์น้ำ Wickins and Beard (1978 อ้างโดย Heales, 1985) รายงานว่าสำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล ระดับความเข้มข้นที่ปลอดภัยของแอมโมเนียรูปไม่แตกตัว (NH_4^+-N) ไนไตรท์ (NO_2-N) และไนเตรท (NO_3-N) คือ 0.1 mg/l, 1.0 mg/l และ 50 mg/l ตามลำดับ ส่วน Chen และ คณะ (1990) รายงานว่าระดับความเข้มข้นที่ปลอดภัยของแอมโมเนียรวม (TAN-N) แอมโมเนียรูปไม่แตกตัว และไนไตรท์ สำหรับกุ้งกุลาดำระยะ adolescent คือ 4.26 mg /l, 0.08 mg/l และ 10.60 mg/l

ตามลำดับ ความทนทานต่อความเป็นพิษของสารประกอบไนโตรเจนขึ้นอยู่กับชนิดและวัยของสัตว์น้ำ



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงและการใช้ประโยชน์สารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเล
ที่มา : Escobal, 1996

ความเป็นพิษของสารประกอบไนโตรเจนรูปต่างๆ สรุปได้ดังต่อไปนี้

1) <u>แอมโมเนียรวม</u> (total ammonia nitrogen; TAN) คือแอมโมเนียที่พบในน้ำ 2 รูป คือ แอมโมเนียในรูปแตกตัว และ แอมโมเนียในรูปไม่แตกตัว ปัจจัยสำคัญที่กำหนดรูปของแอมโมเนียคือระดับความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำ ในขณะที่อุณหภูมิและความเค็มเป็นปัจจัยที่รองลงมา เมื่อ pH เพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณแอมโมเนียรูปไม่แตกตัวเพิ่มขึ้น โดยสมดุลของปฏิกิริยาเป็นไปดังสมการต่อไปนี้

ระดับ pH สูงขึ้น

$$NH_3 + H_2O \rightleftharpoons NH_4^+ + OH^-$$

ระดับ pH ลดลง

ปรากฏการณ์นี้จะเกิดขึ้นในทิศทางเดียวกันเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นหรือความเค็มของน้ำลดลงแต่มีผลน้อยกว่า pH ดังความสัมพันธ์ที่แสดงในตารางที่ 2

Percentage Un-ionized Ammonia in Aqueous Solution at Different pH Values and Temperatures									
pH	Temperature (°C)								
	16	18	20	22	24	26	28	30	32
7.0	0.30	0.34	0.40	0.46	0.52	0.60	0.70	0.81	0.95
7.2	0.47	0.54	0.63	0.72	0.82	0.95	1.10	1.27	1.50
7.4	0.74	0.86	0.99	1.14	1.30	1.50	1.73	2.00	2.36
7.6	1.17	1.35	1.56	1.79	2.05	2.35	2.72	3.13	3.69
7.8	1.84	2.12	2.45	2.80	3.21	3.68	4.24	4.88	5.72
8.0	2.88	3.32	3.83	4.37	4.99	5.71	6.55	7.52	8.77
8.2	4.49	5.16	5.94	6.76	7.68	8.75	10.00	11.41	13.22
8.4	6.93	7.94	9.09	10.30	11.65	13.20	14.98	16.96	19.46
8.6	10.56	12.03	13.68	15.40	17.28	19.42	21.83	24.45	27.68
8.8	15.76	17.82	20.08	22.38	24.88	27.64	30.68	33.90	37.76
9.0	22.87	25.57	28.47	31.37	34.42	37.71	41.23	44.84	49.02

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ของค่า pH และอุณหภูมิต่อเปอร์เซ็นต์แอมโมเนียรูปไม่แตกตัวที่ละลายในน้ำทะเล

ที่มา : Boyd, 1988 อ้างโดย Chamberlain, 1988

แอมโมเนียรูปไม่แตกตัวมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำมากกว่าแอมโมเนียรูปแตกตัว เนื่องจากความสามารถในการละลายในไขมันสูงจึงสามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์ได้ ส่วนแอมโมเนียรูปแตกตัวเพราะประจุบวกที่มีอยู่ทำให้ไม่สามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์ได้จึงไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ (Armstrong et al., 1978 อ้างโดย Chen et al.,1990) ความเป็นพิษอาจเป็นได้ทั้งแบบพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) และพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) เมื่อแอมโมเนียในน้ำสูงขึ้น ทำให้การขับถ่ายแอมโมเนียของกุ้งทำได้น้อยลงทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อ ส่งผลให้พีเอชของเลือดเพิ่มขึ้นและมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ การใช้ออกซิเจนของเนื้อเยื่อสูงขึ้น รวมทั้งความสามารถของฮีโมโกลบินในการลำเลียงขนส่งออกซิเจนไปยังเนื้อเยื่อลดลง อาจทำให้เหงือกบวม มีเลือดคั่ง เนื้อเยื่อตายเป็นแห่งๆ ตับมีการตกเลือด ด้วยเหตุนี้การเลี้ยงสัตว์น้ำในภาวะที่มีแอมโมเนียสูงจึงมีผลต่ออัตราการรอด การเจริญเติบโต การลอกคราบ การสืบพันธุ์ และอ่อนแอติดเชื้อได้ง่าย (Colt and Armstrong ,1979 อ้างโดย Boyd, 1982)

Chen และ Kou (1992) รายงานอิทธิพลของระดับแอมโมเนียต่ออัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้ง *Penaeus japonicus* ระยะ juvenile (1.23±0.09 g)

โดยทดลองเลี้ยงกุ้งในน้ำทะเลความเค็ม 34 ppt อุณหภูมิ 25.5°C และค่า pH เท่ากับ 8.21 ที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมต่างกัน 5 ระดับคือ 0.04 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15 และ 20 mg/l หลังจากระยะการทดลอง 60 วัน พบว่าน้ำหนักของกุ้งเพิ่มขึ้นจากจุดเริ่มต้นเป็น 125%, 90%, 70%, 43% และ 39% ตามลำดับ มีอัตราการรอดตาย 100%, 93.9%, 73.3%, 30.0% และ 13.3% ตามลำดับ ส่วน Chen และคณะ (1990) ศึกษาความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อกุ้งกุลาดำ ระยะ adolescent (4.87± 1.40 g) โดยทดลองเลี้ยงกุ้งในน้ำทะเลความเค็ม 20 ppt อุณหภูมิ 24.5°C และ pH เท่ากับ 7.57 พบว่าค่าความเข้มข้นแอมโมเนียรวม และแอมโมเนียรูปไม่แตกตัว (NH_3-N) ที่ทำให้กุ้งกุลาดำตายเป็นจำนวน 50% (LC_{50}) ในเวลา 24, 48, 96 และ 144 ชั่วโมง เท่ากับ 97.9, 88.0, 53.4 และ 42.6 mg /l และ 1.76, 1.59, 0.96 และ 0.77 mg/l ตามลำดับ

2) <u>ไนไตรท์</u> (Nitrite; NO_2-N) ในสภาวะมีออกซิเจน แบคทีเรียในกระบวนการ nitrification จะออกซิไดซ์แอมโมเนียไปเป็นไนไตรท์และไนเตรทตามลำดับ ในกรณีที่ DO และแบคทีเรียในแหล่งน้ำไม่เพียงพอทำให้กระบวนการ nitrification เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์จะทำให้เกิดการสะสมของไนไตรท์ในแหล่งน้ำทำให้พบการสะสมไนไตรท์ปริมาณน้อยในแหล่งน้ำธรรมชาติ

ไนไตรท์เป็นสารที่มีพิษต่อสัตว์น้ำสูง โดยเฉพาะกับสัตว์มีกระดูกสันหลัง กลไกความเป็นพิษของไนไตรท์เกิดขึ้นโดยไนไตรท์จะออกซิไดซ์ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ให้เป็นเมทธิโมโกลบิน (methemoglobin) ทำให้ไม่สามารถขนส่งออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ได้ ทำให้เนื้อเยื่อตายเนื่องจากขาดออกซิเจน ในสัตว์พวกกุ้งและปูองค์ประกอบเลือดเป็นฮีโมไซยานิน ไนไตรท์จะจับกับเม็ดเลือดได้น้อยกว่า ไนไตรท์จึงมีความเป็นพิษต่อกุ้งและปูน้อยลง ความเป็นพิษของไนไตรท์จะถูกยับยั้งโดยคลอไรด์ในน้ำ น้ำทะเลที่มีคลอไรด์สูงความเป็นพิษของไนไตรท์ต่อสัตว์น้ำจึงลดลง ในทางปฏิบัติจึงใช้สารประกอบคลอไรด์โดยเฉพาะเกลือแกง (NaCl) ลดความเป็นพิษของไนไตรท์ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ (Boyd, 1982)

Chen และคณะ (1990) ศึกษาความเป็นพิษของไนไตรท์ต่อกุ้งกุลาดำ ระยะ adolescent (4.87± 1.40 g) โดยทดลองเลี้ยงกุ้งในน้ำทะเลความเค็ม 20 ppt อุณหภูมิ 24.5 °C และค่า pH เท่ากับ 7.57 พบว่าค่า LC_{50} ของไนไตรท์ ในเวลา 24, 48, 96, 144, 192 และ 240 ชั่วโมง เท่ากับ 218, 193, 171, 140, 128 และ 106 mg/l

3) <u>ไนเตรท</u> (Nitrate; NO_3-N) ผลผลิตขั้นสุดท้ายจากกระบวนการออกซิเดชันของสารประกอบไนโตรเจนในน้ำ คือไนเตรท โดยทั่วไปถือว่าไม่มีพิษต่อสัตว์และพืชน้ำ เพราะแพลงก์ตอนพืช สาหร่าย และ พืชน้ำ สามารถดึงมาใช้เป็นธาตุอาหารได้ Wickins (1976) รายงานว่าระดับไนเตรท 200 mg/l ไม่ทำให้กุ้งกุลาดำ ระยะ adolescent มีอัตราการเจริญเติบโตลดลงใน

ระยะเวลาเลี้ยง 3-5 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นก็สามารถส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำได้ Cavalli *et al.* (1996) รายงานว่าพิษเฉียบพลัน (LC_{50}) ที่ 96 ชั่วโมง ของไนเตรทต่อกุ้ง *paulensis* ระยะ bloodstock เท่ากับ 2,171.7 mg/l

1.1.2 ปัจจัยทางกายภาพ (physical factors)

1. อุณหภูมิ

อุณหภูมิในแหล่งน้ำธรรมชาติขึ้นอยู่กับปัจจัยจากสภาพแวดล้อมหลายชนิดเช่น อุณหภูมิของอากาศ ความเข้มของแสง ปริมาณสารแขวนลอยหรือความขุ่น กระแสลม และ ความลึก เป็นต้น โดยทั่วไปอุณหภูมิในแหล่งน้ำธรรมชาติจะเปลี่ยนแปลงอย่างช้าๆทำให้ร่างกายของสัตว์น้ำสามารถปรับตัวตามการเปลี่ยนแปลงจึงไม่ส่งผลกระทบโดยตรงต่อการดำรงชีวิต อย่างไรก็ตามถ้าเกิดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำอย่างรวดเร็ว (temperature shock) ก็ทำให้เกิดอันตรายโดยตรงต่อสัตว์น้ำได้เช่นกัน Levinton (1982) รายงานว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10°C ทำให้อัตราเมตาบอลิซึม (metabolic rate) ของสัตว์น้ำจะเพิ่มขึ้น 2-3 เท่า ซึ่งผลกระทบต่อเนื่องคือการควบคุมสมดุลของน้ำและแร่ธาตุในร่างกาย (Osmoregulatory system) ผิดปกติไป นอกจากนั้นยังทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของออกซิเจนลดลง ในขณะที่กิจกรรมต่างๆในการดำรงชีวิตเพิ่มขึ้น เช่น การหายใจ การเคลื่อนไหว การย่อยอาหาร การขับถ่าย การเต้นของหัวใจ เป็นต้น ซึ่งทำให้ความต้องการออกซิเจนของสัตว์น้ำเพิ่มขึ้น Boyd (1982) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำในบ่อเลี้ยงคือ 25-33 °C กุ้งบางชนิดถ้าอุณหภูมิของน้ำสูงเกินไปกุ้งจะเกิดอาการตัวงอเนื่องจากกล้ามเนื้อเกร็งหรือตายได้ เช่น กุ้งญี่ปุ่น (*P. japonicus*) จะตายที่อุณหภูมิ 32 °C ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 18 °C กุ้งจะหยุดว่ายน้ำและไม่กินอาหาร และเมื่ออุณหภูมิต่ำลงถึง 14 °C กุ้งจะตาย

2. ความเข้มของแสง

ความเข้มของแสงในแหล่งน้ำธรรมชาติขึ้นอยู่กับ ช่วงเวลารับแสง (กลางวัน-กลางคืน) ฤดูกาล ความลึก และความขุ่น แสงมีผลต่อการสังเคราะห์แสงของพืช สาหร่าย และแบคทีเรียบางชนิด ซึ่งส่งผลต่อระดับ DO และ CO_2 (Moe, 1992) ในน้ำ ความเข้มของแสงมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิ ถ้าปริมาณความเข้มแสงมากจะทำให้อุณหภูมิที่ผิวน้ำสูงขึ้น ความเข้มของแสงบริเวณผิวของแหล่งน้ำธรรมชาติช่วงเวลากลางวันในเขตร้อนอาจสูงถึง 130,000 ลักซ์ โดยทั่วไปเขตอบอุ่นจะมีช่วงเวลารับแสงประมาณ 8-10 ชั่วโมงต่อวัน ในขณะที่เขตร้อนประมาณ 12-14 ชั่วโมงต่อวัน (Moe, 1992)

ในระบบของบ่อเลี้ยงหรือตู้ทดลองอาจได้แสงจากดวงอาทิตย์โดยตรง อย่างไรก็ตามงานทดลองบางประเภทอาจจำเป็นต้องควบคุมความเข้มหรือช่วงเวลารับแสงให้เหมาะสม ในกรณีเช่นนี้อาจใช้หลอดฟลูออร์เรสเซนต์เป็นแหล่งกำเนิดแสงแทน

1.1.3 **ปัจจัยทางชีวภาพ** (Biological facors)

กระบวนการเปลี่ยนแปลงต่างๆที่เกิดขึ้นภายในระบบนิเวศของแหล่งน้ำขึ้นอยู่กับกิจกรรมของสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ และ จุลินทรีย์ ที่เจริญเติบโตและอาศัยอยู่ร่วมกันในแหล่งน้ำนั้นๆ สิ่งมีชีวิตเหล่านี้อาจแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่หนึ่งคือ producer หมายถึงสิ่งมีชีวิตที่สามารถเจริญเติบโตโดยสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลจากสารอนินทรีย์ขนาดเล็กเช่น CO_2, H_2O โดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง และใช้ NO_3, แร่ธาตุ เพื่อสังเคราะห์โปรตีนและกรดนิวคลีอิคได้เช่น สาหร่าย พืชน้ำ แพลงก์ตอนพืช กลุ่มที่สองคือ consumer หมายถึงสิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลจากสารอนินทรีย์ขนาดเล็กเองได้ แต่จะรับโดยตรงจากสิ่งมีชีวิตในกลุ่มแรกสร้างขึ้นมาใช้เป็นอาหารเช่น สัตว์ชั้นสูงทั่วไป และกลุ่มที่สามคือ reducer หมายถึงสิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลโดยผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง แต่จะปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ซึ่งสิ่งมีชีวิตในกลุ่มที่หนึ่งหรือที่สองสร้างขึ้นมาใช้ได้ สิ่งมีชีวิตในกลุ่มนี้คือจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและเชื้อราชนิดต่างๆ ซึ่งจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำจะแปรเปลี่ยนอยู่ตลอดเวลาขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการเช่น ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ อุณหภูมิ ความเค็ม pH เป็นต้น

จุลินทรีย์นอกจากจะมีประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในด้านห่วงโซ่อาหารเป็นแหล่งอาหารสำคัญสัตว์น้ำแล้ว จุลินทรีย์ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำ ป้องกันและกำจัดจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และส่งเสริมให้เกิดภูมิต้านทานโรค แบคทีเรียบางชนิดที่สามารถอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร (microfrora) สัตว์น้ำยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพย่อยและการดูดซึมสารอาหารของสัตว์น้ำให้ดีขึ้น ช่วยเพิ่มสารอาหารจำเป็นต่อสัตว์น้ำ รวมทั้งช่วยป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรคไม่ให้เพิ่มปริมาณในระบบทางเดินอาหารอีกด้วย เรียกกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์น้ำว่า probiotic (Gartesoupe, 1999)

แบคทีเรียในแหล่งน้ำธรรมชาติมีหลากหลายชนิดเมื่อแบ่งตามแหล่งคาร์บอนและความสามารถในการสร้างหรือผลิตอาหารได้เอง สามารถแบ่งแบคทีเรียเป็น 2 ประเภท (Pelczer, 1977) ได้แก่

1. Autotrophic bacteria เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างอาหารเองได้ รวมทั้งสร้างสารเคมีเชิงซ้อนได้ และสามารถใช้สารอนินทรีย์คาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนมาสร้างเซลล์ได้ แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อยคือ

1) Photoautotrophic bacteria ใช้พลังงานจากแสงโดยตรง

2) Chemoautotrophic bacteria ได้พลังงานจากปฏิกิริยาทางออกซิเดชัน-รีดักชันของสารอนินทรีย์ เช่นไนโตรเจนแบคทีเรีย ซึ่งใช้แอมโมเนียหรือไนไตรท์เป็นแหล่งพลังงาน เป็นต้น

2. Heterotrophic bacteria เป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ อาศัยคาร์บอนจากสารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนในการสร้างเซลล์ แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อยคือ

1) Photoheterotrophic bacteria ใช้พลังงานจากแสงโดยตรง

2) Chemoheterotrophic bacteria ได้พลังงานจากปฏิกิริยาเคมีออกซิเดชัน-รีดักชัน

Heterotroph กลุ่ม facultative bacteria เป็นแบคทีเรียกลุ่มหลักที่มีบทบาทในการควบคุมคุณภาพน้ำในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเล คือเมื่อเจริญในสภาวะที่มีอากาศก็จะใช้ก๊าซออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย แต่ถ้าอยู่ในสภาพไร้อากาศจะเกิดกระบวนการหายใจโดยไม่ใช้ออกซิเจน โดยมีไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย

1.2 การกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิด

ตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิด (closed system) จะมีการสะสมของสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำจากเศษอาหาร สิ่งขับถ่าย และซากจุลินทรีย์ เกิดขึ้นภายในระบบอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการควบคุมระดับสารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลจึงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการรักษาคุณภาพน้ำทะเล ปัจจุบันนิยมควบคุมสารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลด้วยกระบวนการทางกายภาพและกระบวนการทางชีวภาพ

1.2.1. กระบวนการทางกายภาพ

กระบวนการทางกายภาพ เช่น การกรอง การตกตะกอน การทำให้ลอยตัว บ่อดักไขมัน เป็นต้น ทำหน้าที่กำจัดของเสียในรูปของแข็งที่ไม่ละลายน้ำเช่น กรวด ทราย เศษอาหาร หรือสิ่งสกปรกอื่นๆ ขั้นตอนแรกในการบำบัดน้ำในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดส่วนใหญ่ใช้การกรอง ตัวกรองอาจมีลักษณะหยาบเช่น ตะแกรงไนลอน ฟองน้ำ หรือตัวกรองละเอียดเช่น ทราย ระบบกรองที่ดีต้องเป็นระบบที่สนับสนุนกระบวนการทางชีวภาพด้วย เช่น สามารถเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลาย และวัสดุกรองที่มีพื้นที่ผิวจำเพาะสูงช่วยตรึงจุลินทรีย์ เป็นต้น ระบบกรองในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลแบ่งเป็น 2 ประเภท คือระบบกรองภายในตู้เลี้ยง และระบบกรองภายนอกตู้เลี้ยง รายละเอียดดังนี้ (Emmens, 1995)

1. ระบบกรองภายในตู้เลี้ยง ตัวอย่างเช่น

1) ระบบกรองใต้กรวด (undergravel filters) มักใช้สำหรับตู้ทดลองที่มีการเลี้ยงสัตว์น้ำจำนวนไม่มากนัก โดยใช้ตะแกรงพลาสติกวางบนพื้นตู้แล้วนำกรวดหรือทรายกระจายทับไว้บนตะแกรงประมาณ 2-5 เซนติเมตร ปั๊มอากาศให้น้ำหมุนเวียนผ่านชั้นกรวดทรายพร้อมกับพัดพาเอาเศษอาหารและตะกอนจะถูกกรองเอาไว้เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ แต่หากในตู้เลี้ยงมีความหนาแน่นของสัตว์ทะเลมากประสิทธิภาพของระบบการกรองแบบนี้จะมีปริมาณจุลินทรีย์ไม่เพียงพอต่อการกำจัดสารประกอบไนโตรเจน

2) ระบบกรองแบบกล่องภายในตู้เลี้ยง (internal box filters) ระบบกรองแบบนี้วัสดุกรองจะถูกบรรจุอยู่ในกล่อง วัสดุกรองอาจใช้ใยกรอง ถ่าน ฟองน้ำ หิน ทราย ในกล่องตัวกรองจะเกิดได้ทั้งกระบวนการกรองทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ โดยให้อากาศผ่านกล่องตัวกรองน้ำเพื่อให้น้ำหมุนเวียนผ่านวัสดุกรองในกล่อง

2. ระบบกรองภายนอกตู้ ตัวอย่างเช่น

1) ระบบกรองน้ำหยด (trickle filters) ระบบกรองนี้น้ำจะหยดผ่านตัวกรองแล้วไหลหยดกลับเข้าตู้ ระบบกรองแบบนี้การควบคุมสารประกอบไนโตรเจนทางชีวภาพจะมีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจากออกซิเจนในอากาศสามารถผ่านลงมาในน้ำได้มากขณะน้ำหยดและการไหลของน้ำไม่แรงเกินไปจนทำให้จุลินทรีย์หลุดออกจากวัสดุกรอง

2) ระบบกรองแบบกล่องภายนอกตู้เลี้ยง (external Box filters) ระบบกรองแบบนี้วัสดุกรองจะถูกบรรจุอยู่ในกล่องเช่นเดียวกับระบบกรองแบบกล่องภายในตู้เลี้ยง แต่ตัวกรองจะอยู่ภายนอกตู้เลี้ยง จึงจำเป็นต้องมีระบบปั๊มน้ำผ่านตัวกรอง

3) ระบบกรองแบบตู้ภายนอก (external power filters) การทำงานของระบบนี้คือน้ำในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลจะหมุนเวียนโดยการปั๊มน้ำผ่านตู้บรรจุวัสดุกรองต่างชนิดกันเพื่อการกรองทางกายภาย เคมี และชีวภาพ การกรองแบบนี้ตัวกรองมีขนาดใหญ่จึงมีประสิทธิภาพในการกรองสูงขึ้นมีอายุการใช้งานเพิ่มขึ้น และสามารถสร้างสภาวะที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของระบบการกรองซึ่งไม่สามารถทำได้ในตู้เลี้ยง

4) ระบบกรองรวม (system filters) ระบบกรองแบบนี้จะใช้กับตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลหลายๆ ตู้ที่ใช้ระบบกรองรวมกัน ระบบกรองจะต้องมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะกำจัดของเสียปริมาณมากในน้ำได้ อาจเพิ่มประสิทธิภาพของระบบด้วยการใช้แสงอุลตร้าไวโอเลตช่วยฆ่าเชื้อร่วมด้วย (Heales, 1985)

1.2.2. กระบวนการทางชีวภาพ

การเปลี่ยนรูปสารประกอบไนโตรเจนด้วยกระบวนการทางชีวภาพ เป็นวิธีที่กำจัดสารประกอบไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในน้ำได้ดีที่สุดโดยอาศัยจุลินทรีย์หลายชนิดที่ทำให้เกิดกระบวนการต่างกัน (ภาพที่ 2) ดังนี้ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. Ammonification

Ammonification คือ กระบวนการที่เปลี่ยนรูปสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนไปอยู่ในรูปอนินทรีย์ เรียกได้อีกอย่างหนึ่งว่า nitrogen mineralization การกำจัดสารประกอบไนโตรเจนทางชีวภาพเริ่มต้นที่กระบวนการนี้ก่อนกระบวนการอื่นๆ มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีบทบาทในขั้นตอนนี้ เช่น แบคทีเรีย แอคทิโนมัยซีทิส ฟังไจ กระบวนการสร้างแอมโมเนียเกิดได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะไร้ออกซิเจน แต่จะเกิดขึ้นได้ดีที่สุดที่ผิวตะกอนซึ่งเป็นบริเวณที่มีสารอินทรีย์ไนโตรเจนมากที่สุด heterotrophic bacteria ส่วนใหญ่จะมีความสามารถดังกล่าว ตัวอย่างเช่น *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Proteus* และ *Vibrio* เป็นต้น (Herbert, 1999) ในธรรมชาติพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ทั้งในชั้นน้ำและชั้นตะกอนในน้ำ เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า ammonifying bacteria แอมโมเนียผลิตขึ้นได้โดย 1) ปฏิกิริยาภายนอกเซลล์ที่มีต่อซากพืช ซากสัตว์ และอุจจาระ และ 2) การหายใจแบบเอนโดจีนัสของเซลล์มีชีวิตและจากซากเซลล์รวมทั้งเซลล์ที่แตก (lysed) แล้ว ส่วนการ hydrolysis ยูเรียโดยเอนไซม์ยูรีเอสก็ปล่อยแอมโมเนียรูปแตกตัว (NH_4^+) ออกมาได้เช่นกัน ขั้นตอนการเปลี่ยนสารประกอบโปรตีนเป็นแอมโมเนียคือจุลินทรีย์ที่นำโปรตีนมาใช้มีเอนไซม์ที่สำคัญคือ proteinases ย่อยโปรตีนให้อยู่ในรูปเปปไทด์ หลังจากนั้นเปปไทด์จะถูกย่อยเป็นกรดอะมิโน แล้วจึงถูกลดอะมีน (deamination) เป็นแอมโมเนียรูปแตกตัว (Bitton, 1994) ดังสมการ

$$\text{Protein} \xrightarrow{\text{proteinases}} \text{Peptides} \xrightarrow{\text{peptidases}} \text{Amino acid}$$

$$\text{Amino acid} \xrightarrow{\text{deamination}} \text{Organic acid} + NH_4^+$$

ส่วนการเปลี่ยนรูปของยูเรียเป็นแอมโมเนียรูปไม่แตกตัว ดังสมการนี้

$$\text{Urea} + H_2O \xrightarrow{\text{ureases}} 2NH_3 + CO_2$$

แต่แอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะอยู่ในรูปใดขึ้นกับค่า pH ของน้ำ หากน้ำมีค่า pH เป็นกลางหรือกรดแอมโมเนียจะอยู่ในรูปแตกตัว (NH_4^+) ต่อเมื่อค่า pH สูงขึ้นแอมโมเนียจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปไม่แตกตัว (NH_3) ซึ่งถูกขับออกจากน้ำไปสู่บรรยากาศได้ประมาณ 2-38% ต่อวัน (Boyd, 1982) เรียกกระบวนการนี้ว่า ammonia stripping

2. Nitrification

Nitrification คือกระบวนการออกซิไดซ์แอมโมเนียรูปแตกตัวเปลี่ยนเป็นไนเตรท โดยจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน ซึ่งจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ การออกซิไดซ์แอมโมเนียรูปแตกตัวเป็นไนไตรท์ และการออกซิไดซ์ไนไตรท์เป็นไนเตรท โดยมีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ดังสมการ (Spotte, 1979)

$$NH_4^+ + 1.5O_2 \xrightarrow{\textit{Nitrosomonas}\ \text{sp.}} H^+ + NO_2^- + 2H_2O$$

$$NO_2^- + 0.5O_2 \xrightarrow{\textit{Nitrobacter}\ \text{sp.}} NO_3^-$$

แบคทีเรียหลักที่เกี่ยวข้องคือ *Nitrosomonas* และ *Nitrobacter* ตามลำดับ (khin and Annachhatre, 2004) เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า nitrifying bacteria จัดเป็น autotrophic bacteria แบ่งย่อยเป็น 2 ประเภทคือ 1) ammonia oxidizing bacteria (AOB) ทำหน้าที่ออกซิไดซ์แอมโมเนียรูปแตกตัว ให้เป็นไนไตรท์ เช่น *Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosospira* และ *Nitrosolobus* เป็นต้น 2) nitrite oxidizing bacteria (NOB) ทำหน้าที่ออกซิไดซ์ไนไตรท์ให้เป็นไนเตรทในสภาวะที่มีออกซิเจน แบคทีเรียที่มีความสามารถดังกล่าวเช่น *Nitrobacter, Nitrosococcus, Nitrospina* และ *Nitrospira* เป็นต้น (Herbert, 1999)

เมื่อสารอินทรีย์ไนโตรเจนผ่านกระบวนการ ammonification กลายเป็นแอมโมเนีย และระบบมีสารอินทรีย์คาร์บอนเพียงพอ heterotrophic bacteria จะใช้แอมโมเนียในการสร้างเซลล์ใหม่ แต่หากสารอาหารคาร์บอนในระบบเหลือน้อยและระบบอยู่ในภาวะมีออกซิเจน (aerobic) autotrophic bacteria จะเกิดการหายใจ (respiration) โดยกระบวนการ nitrification ได้พลังงานออกมา และใช้พลังงานที่ได้ไปดึงเอา CO_2 หรือ HCO_3^- หรือ CO_3^{2-} มาเป็นแหล่งคาร์บอนต่อไป autotrophic bacteria สามารถสร้างสารอินทรีย์หรือเซลล์ใหม่จากอนินทรีย์คาร์บอนได้และสามารถสร้างพลังงานจาก CO_2 โดยการออกซิไดซ์แอมโมเนียรูปแตกตัวเป็นไนไตรท์ โดยมี CO_2 เป็นตัวรับอิเล็กตรอน แบคทีเรียในกลุ่ม autotrophs มีบทบาทในกระบวนการ nitrification มากกว่ากลุ่ม heterotrophs เป็นอย่างมาก สมการเคมีที่ใช้แทนปฏิกิริยา nitrification ที่สมบูรณ์คือ (Henze *et al*., 1997)

$$NH_4^+ + 2O_2 + 2HCO_3^- \longrightarrow NO_3^- + 2H_2CO_3 + H_2O$$

ทั้งนี้ในปฏิกิริยา nitrification จะมีการปล่อย H^+ ออกมา หากระบบมีความเป็นด่างไม่เพียงพอ pH ในระบบจะลดลง การออกซิไดซ์แอมโมเนียรูปแตกตัว 1 กรัม ความเป็นด่าง

(HCO_3^-) ประมาณ 8.24 กรัม จะถูกใช้ในการทำให้ H^+ เป็นกลาง และใช้ออกซิเจนประมาณ 4.57 กรัม ในการออกซิไดซ์แอมโมเนียรูปแตกตัว 1 กรัมไปเป็นไนเตรท (ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544)

3. Denitrification

หากระบบมีแอมโมเนียไม่เพียงพอ จุลินทรีย์จะลดรูปไนเตรทไปเป็นแอมโมเนียด้วยเอนไซม์ไนเตรทรีดักเตสหลายชนิด เพื่อนำไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนและสร้างเซลล์ เรียกว่า assimilatory denitrification (Gayle, 1989) แต่กระบวนการหลักของการกำจัดไนโตรเจนด้วยชีวภาพ คือ dissimilatory denitrification เป็นกระบวนการรีดิวซ์ไนเตรทหรือไนไตรท์เป็นแก๊สไนโตรเจนเมื่อระบบมีออกซิเจนไม่เพียงพอ โดยมีไนเตรท ไนไตรท์ หรือไนตริกออกไซด์ ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายและต้องการสารอินทรีย์คาร์บอนจากภายนอก เช่น เอทานอล เมทานอล และกลูโคส เป็นต้น เป็นตัวให้อิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic respiration) ของ denitrifying bacteria (Khin and Annachhatre, 2004) ดังสมการ

$$2NO_3^- + 10H^+ + 10e^- \longrightarrow N_2 + 2OH^- + 4H_2O$$

$$2NO_2^- + 6H^+ + 6e^- \longrightarrow N_2 + 2OH^- + 2H_2O$$

ขั้นตอนการรีดักชันไนเตรทแสดงได้ดังนี้

$$NO^{3-} \longrightarrow NO^{2-} \longrightarrow NO \longrightarrow N_2O \longrightarrow N_2$$

แบคทีเรียทำหน้าที่ denitrification จัดอยู่ในกลุ่ม facultative ทำงานได้ทั้งในสภาวะไร้ออกซิเจนและสภาวะที่มีออกซิเจนอยู่เล็กน้อย ซึ่งส่วนใหญ่เป็น heterotrophic bacteria เช่น *Pseudomonas Alkaligenes* และ *Bacillus* (Herbert, 1999) เกือบทั้งหมดของแบคทีเรียพวกนี้สามารถใช้ออกซิเจนเช่นเดียวกับไนเตรท

สมการเคมีที่ใช้แทนปฏิกิริยา denitrification เมื่อใช้เมทานอลเป็นสารอินทรีย์คาร์บอน คือ

$$6NO_3^- + 5CH_3OH + 6H^+ \longrightarrow 3N_2 + 10H_2CO_3 + 12HCO_3^- + 6OH^- + 8H_2O$$

จะเห็นได้ว่ากระบวนการ denitrification จะได้สภาพด่างกลับมาด้วยแต่ยังน้อยกว่าสภาพด่างที่ถูกใช้ในกระบวนการ nitrification

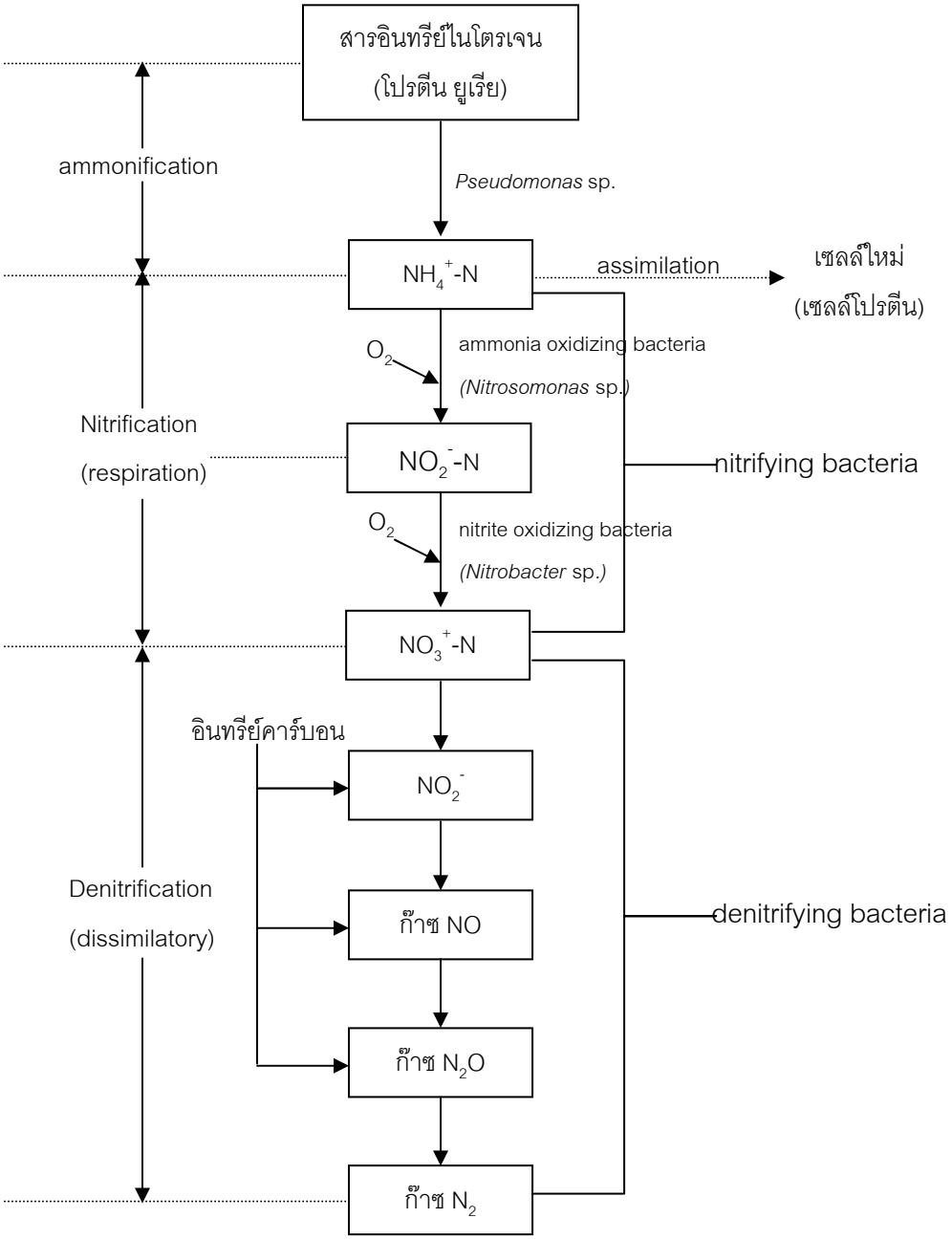
4. Anaerobic ammonia oxidation (ANAMMOX)

ANAMMOX คือกระบวนการออกซิไดซ์แอมโมเนียรูปแตกตัวภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนให้เป็นแก๊สไนโตรเจน โดยมีไนเตรทหรือไนไตรท์เป็นตัวรับอิเล็กตรอน และต้องการสารอินทรีย์คาร์บอนจากภายนอก (Mulder et al., 1995) ดังสมการ

$$5NH_4^+ + 3NO_3^- \longrightarrow 4N_2 + 9H_2O + 2H^+$$

$$NH_4^+ + NO_2^- \longrightarrow N_2 + 2H_2O$$

แบคทีเรียที่มีความสามารถดังกล่าวเช่น *Planctomycetales* และ *Candidatus* เป็นต้น (Herbert, 1999) เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า anaerobic ammonia oxidizing bacteria



ภาพที่ 2 ขั้นตอนต่างๆในกระบวนการกำจัดไนโตรเจนทางชีวภาพ

ที่มา : ดัดแปลงจาก ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544

1.2.3. ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนด้วยชีวภาพ

1. สารประกอบไนโตรเจน

Anthonie (1976 อ้างโดย Sandu, 2000) รายงานว่าน้ำที่มีแอมโมเนียรูปไม่แตกตัว (NH_3-N) และไนไตรท์ (NO_2-N) ที่ระดับ 5-10 และ 0.1-1.0 mg/l ตามลำดับ ทำให้อัตราเร็วของกระบวนการ nitrification ลดลงโดยจะยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Nitrosomonas* และ *Nitrobacter* ตามลำดับ

2. อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อ *Nitrobacter* มากกว่า *Nitrosomonas* อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับ nitrification คือ 30-36 ^{o}C Hunik (1993 อ้างโดย Khin and Annachhatre, 2004) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการกำจัดไนโตรเจน คือ 35 ^{o}C โดยเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 15 ^{o}C อัตราการเจริญเติบโตของ ammonia oxidizing bacteria จะเร็วกว่า nitrite oxidizing bacteria ประมาณ 1 เท่าตัว Cao และคณะ (2002) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนโดย nitrifying bacteria และ denitrifying bacteria ที่ถูกตรึงร่วมกันในเม็ดเจลโพลิเมอร์ polyvinyl alcohol พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 ^{o}C และประสิทธิภาพจะลดลง 54% เมื่ออุณหภูมิลดลงเป็น 10 ^{o}C

3. ความเป็นกรด (acidity) และความเป็นด่าง (alkalinity)

กระบวนการ nitrification จะมีการใช้ความเป็นด่างไปด้วย ทำให้ pH ในระบบลดลง ระบบที่ความเป็นด่างต่ำ อาจต้องมีการเติมปูนขาวเนื่องจาก nitrifying bacteria ทั้ง 2 กลุ่มไวต่อ pH มากและทำงานได้ดีที่ pH ประมาณ 6.5-7.5 (Haug and McCarty, 1972 อ้างโดย Sandu, 2000) กระบวนการ nitrification จะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อค่า pH ในน้ำต่ำกว่า 6 (van Dongen et al., 2001) เมื่อ pH สูงกว่า 8 อัตราเร็วของกระบวนการ nitrification จะลดลงเนื่องจากแอมโมเนียส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปแอมโมเนียไม่แตกตัว (NH_3) ซึ่งเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ออกซิไดซ์ไนไตรท์ (Anthonisen *et.al.*, 1976 อ้างโดย Sandu, 2000) นอกจากนี้ nitrification ยังเพิ่มความเข้มข้นกรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) แต่ไม่สะสมในระบบเพราะ CO_2 จะถูกไล่ออกจากน้ำสู่บรรยากาศตลอดเวลา

ในกระบวนการ denitrification จะให้ความเป็นด่างกลับมาด้วย pH ที่เหมาะสมต่อ denitrifying bacteria คือ 7.0-7.5 แต่ถ้า pH ต่ำกว่า 7 จะเกิดไนตรัสออกไซด์เป็นผลสุดท้ายของ denitrification แทนที่จะเป็นก๊าซไนโตรเจน (Zhang,1992 อ้างโดย Cao *et al.*, 2002)

Cao และคณะ (2002) พบว่า pH ที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนด้วย nitrifying bacteria และ denitrifying bacteria ที่ถูกตรึงรวมกันใน polyvinyl alcohol gel คือ 8.2

4. ความเค็ม (Salinity)

NaCl มีผลยับยั้งกระบวนการ nitrification กระบวนการออกซิไดซ์ไนไตรท์มีความไวต่อความเค็มมากกว่ากระบวนการออกซิไดซ์แอมโมเนีย Nijhof และ Bovendeur (1990) ศึกษาอัตรา nitrification ในการเพาะเลี้ยงปลา (luxury seafish) ด้วยระบบหมุนเวียนน้ำทะเลแบบ Trickle filter พบว่าอัตรา nitrification น้อยกว่าและมีการสะสมของไนไตรท์ในระยะเวลานานกว่าเมื่อเทียบกับระบบหมุนเวียนน้ำจืด

5. ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO)

อัตรา nitrification จะลดลงเมื่อระดับ DO ลดลง ทั้งนี้เนื่องจาก nitrifying bacteria มีความไวต่อ DO ระดับต่ำมากกว่า heterotrophic bacteria โดยระบบควรมี DO ไม่ต่ำกว่า 2 mg/l อย่างไรก็ตามเมื่อ DO มากกว่า 0.2 mg/l ก็จะยับยั้งกระบวนการ denitrification ของ *Pseudomonas* หากระบบมี DO คู่กับไนเตรท แบคทีเรียจะเลือกใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนก่อนการใช้ไนเตรททำให้อัตรา denitrification ลดลง (Menasveta *et al.,* 2001)

6. C/N ratio

การกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในน้ำด้วยกระบวนการทางชีวภาพเกิดขึ้นโดย 2 กระบวนการสำคัญคือ จุลินทรีย์จะนำไปใช้สังเคราะห์สารชีวโมเลกุลเช่นโปรตีนและกรดนิวคลีอิกเพื่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนไปเป็นก๊าซไนโตรเจนให้ระเหยไปในอากาศ อย่างไรก็ตามกระบวนการทั้งสองนี้จะต้องเกิดขึ้นควบคู่กับการใช้คาร์บอน ดังนั้น C/N ratio ที่เหมาะสมรวมทั้งแหล่งสารอินทรีย์คาร์บอนจึงเป็นปัจจัยสำคัญต่ออัตราเร็วของกระบวนการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในน้ำด้วย (McCarty et al., 1969 อ้างโดย Khin and Annachhatre, 2004) แต่ Zhu และ Chen (2001) ศึกษาผลของอินทรีย์คาร์บอนที่มีต่อกระบวนการ nitrification พบว่าเมื่อชุดปฏิกิริยามี C/N ratio เท่ากับ 1 อัตราการกำจัดแอมโมเนียรวมลดลง 70% เมื่อเทียบกับชุดปฏิกิริยามี C/N ratio เท่ากับ 0 เนื่องจากกระบวนการ nitrification ถูกยับยั้งด้วยการทำงานของ heterotrophic bacteria

1.3 การเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษด้วยชีวภาพ

1.3.1. การตรึงจุลินทรีย์

ในธรรมชาติจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตยึดติดกันเกิดเป็นฟิล์มบนพื้นผิวตัวกลางของแข็งได้ เรียกว่า biofilm หรือจุลินทรีย์ที่ถูกตรึงแบบแบบธรรมชาติ (Naturally attached cells) ดังภาพประกอบที่ 3 การสะสมของ biofilm เป็นผลรวมสุทธิของกระบวนการทางกายภาพ ทางเคมี และชีวภาพ มีขั้นตอนการเกิดตามลำดับต่อไปนี้ (Stoodley *et al.*, 2002)

1. การเคลื่อนย้ายโมเลกุลของสารอินทรีย์ในน้ำไปสู่ผิวหน้าของตัวกลางซึ่งจะมีบางส่วนถูกดูดกลืนเข้าไปและสร้างเป็นแผ่นฟิล์มบางคลุมผิวตัวกลางเรียกว่า condition film

2. เซลล์จุลินทรีย์จำนวนหนึ่งที่กระจายอยู่ในน้ำ จะเคลื่อนที่เข้าไปเกาะติดอยู่กับ condition film บนผิวตัวกลางนั้น

3. เซลล์จำนวนหนึ่งที่เกาะติดอยู่บนผิวตัวกลางได้ชั่วขณะหนึ่งจะมีบางส่วนที่หลุดออกมาจากผิวตัวกลาง ขั้นตอนนี้เรียกว่า reversible absorption การหลุดของเซลล์อาจเกิดจากแรงดัน (shear force) ของกระแสน้ำ แต่ปัจจัยอื่นๆ ทางเคมี กายภาพ และชีวภาพอาจมีส่วนในกระบวนการนี้ได้เช่นกัน

4. เซลล์จำนวนหนึ่งที่ถูกดูดซับไว้ที่ condition film อาจจะหลุดออกมาได้แต่ต้องใช้ระยะเวลาหนึ่งที่นานพอสมควร กลายเป็นการดูดซับแบบถาวร

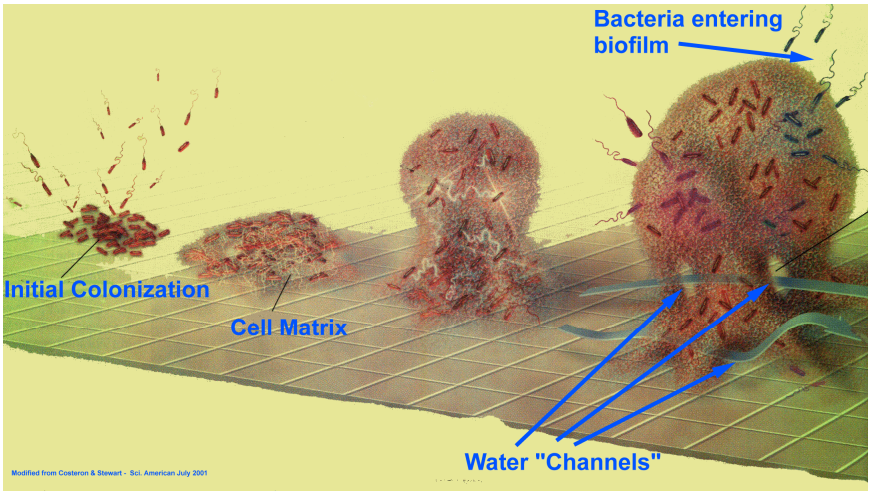
5. เซลล์ที่ถูกดูดซับแบบถาวรนี้จะเจริญเติบโตบนผิวของตัวกลางนั้น และใช้สารอาหารจากน้ำที่อยู่โดยรอบ มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ใน biofilm เซลล์เหล่านี้จะผลิตสารจากกระบวนการ metabolism โดยใช้พลังงานจากสารอาหารในน้ำและสารบางอย่างจะถูกกำจัดออกนอกเซลล์ ผลิตภัณฑ์อย่างหนึ่งคือ Extracellular Polymer Substance; Exopolysaccharide (EPS) เป็นสารที่จับ biofilm เข้าด้วยกัน

6. การสะสมของ biofilm จะเพิ่มขึ้นจากการที่ทั้งเซลล์และสารตกตะกอนอื่นๆเข้ามาเกาะติด (attachment) ที่ biofilm ประกอบด้วยกระบวนการเดียวกับการดูดซับ (absorption) ที่เกิดขึ้นที่ผิวตัวกลาง ได้แก่ การจับกันแบบย้อนกลับ (reversible attachment) และการจับกันแบบไม่ย้อนกลับ (irreversible attachment)

7. การจับกันแบบไม่ย้อนกลับทำให้ biofilm มีความสมบูรณ์ (maturation) และมีพัฒนาการของโครงสร้างต่างๆกัน ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารอาหาร และสิ่งแวดล้อมในระบบ

8. เซลล์หรือกลุ่มเซลล์บางส่วนจะหลุดออก (detachment) จาก biofilm กลับเข้าไปในน้ำ ส่วนการสูญเสียของเซลล์จากผิวหน้าตัวกลางเรียกว่า desorption การหลุดออกของเซลล์จาก biofilm อาจรวมถึง การชะล้าง (abrasion) การกัดกิน (grazing) การกัดกร่อน (erosion) การ

ลอกออก (sloughing) ขึ้นอยู่กับธรรมชาติการสูญเสียของ biofilm การเพิ่มจำนวนของเซลล์ก็จะมีการปล่อยให้เซลล์ใหม่ไปสู่น้ำได้



ภาพที่ 3 การจำลองลักษณะการตรึงจุลินทรีย์แบบธรรมชาติ

ที่มา : Website: http://wvlc.uwaterloo.ca/biology447/ © 2004 Colin I. Mayfield

การก่อตัวของ biofilm สร้างช่อง โพรง และส่วนที่มีสภาพแวดล้อมที่ต่างๆกัน ทำให้เกิดเป็นชุมชนของจุลินทรีย์ต่างชนิด สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในเนื่องจาก EPS ที่สร้างขึ้นทำให้จุลินทรีย์อยู่ร่วมกันได้ในสภาวะน้ำไหล ช่วยเคลือบเซลล์จุลินทรีย์ด้วยกันและกับผิวหน้าตัวกลาง ป้องกันเซลล์จุลินทรีย์จากการกัดกินและสารเคมี ช่วยจับสารอาหารและทำให้โมเลกุล intercellular communication เข้มข้นมากขึ้น ทำให้เซลล์ใน biofilm หนาแน่นมากขึ้น สนับสนุนปฏิกิริยาระหว่างกันในหมู่แบคทีเรียทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเซลล์เกิดความแข็งแรงของการยึดจับกัน EPS ที่พบมากได้แก่ alginate (Bhaskar and Bhosle, 2005)

การเกิด biofilm มีทั้งประโยชน์และโทษ โดย biofilm มีบทบาทสำคัญในการบำบัดน้ำหรือสารทิ้งก่อนปล่อยสู่แม่น้ำลำคลอง การชีวบำบัด (bioremediation) ในการทำความสะอาดคราบน้ำมัน ทำความสะอาดน้ำใต้ดิน ส่วนผลเสียคือ เป็นสาเหตุของการเกิดหินปูนที่เหงือกและฟัน การติดเชื้อจากอุปกรณ์เครื่องมือแพทย์ biofilm ต้านเคมีบำบัดได้ถึง 50-500 เท่า เมื่อเทียบกับ planktonic bacteria สายพันธุ์เดียวกัน และเป็นสาเหตุของโรคเรื้อรัง เช่น โรคกระดูกอักเสบ โรคต่อมลูกหมากอักเสบ โรคพังผืดที่ปอด โรคนิวโมเนีย (pneumonia) เป็นต้น

ในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ biofilm มีความสำคัญในการควบคุมสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ เนื่องจากโดยธรรมชาติการเปลี่ยนรูปสารประกอบไนโตรเจนโดย

อาศัยจุลินทรีย์เกิดขึ้นช้าเนื่องจากไม่มีความสมดุลของชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง Sharma และ Ahlert (1977 อ้างโดย Zhu and Chen, 2001) รายงานว่า nitrifying bacteria มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ เนื่องจากในระบบที่มีออกซิเจนและอินทรีย์คาร์บอน heterotrophic bacteria เจริญเติบโตได้ดีกว่า autotrophic bacteria เนื่องจากสามารถแย่งใช้ออกซิเจนได้ดีกว่า ปัญหาเหล่านี้แก้ไขได้โดยการตรึงแบคทีเรียบนตัวกลาง (immobilized cells; fixed film process) ซึ่งมีพื้นที่ผิวจำเพาะ (specific surface area) สูง ช่วยเร่งอัตราการเจริญเติบโต nitrifying bacteria และช่วยรักษาจำนวนจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการเปลี่ยนรูปสารประกอบไนโตรเจน ทำให้คุณภาพน้ำภายในระบบคงที่มากขึ้น (Wijffels and Tramper, 1995) และเมื่อ denitrifying bacteria ถูกตรึงใน biofilm ส่วนที่ออกซิเจนแพร่ผ่านเข้าไปได้น้อยจะทำให้อัตราเร็วของกระบวนการ denitrification เพิ่มขึ้นซึ่งผลิตผลที่ได้คือแก๊สไนโตรเจนระเหยไปในอากาศเร็วขึ้นด้วย (Kotlar *et.al.*, 1996) ในระบบที่มีออกซิเจน กระบวนการ denitrification สามารถเกิดขึ้นได้เมื่อจุลินทรีย์อยู่ในสภาพที่ถูกตรึง เนื่องจากลักษณะของฟิล์มจุลินทรีย์บนตัวกลางสามารถก่อให้เกิดส่วนของสภาวะไร้ออกซิเจน อัตราการเจริญเติบโตของ denitrifying bacteria ที่ถูกตรึงขึ้นอยู่กับความหนาของ biofilm แหล่งอินทรีย์คาร์บอน และอัตราการแพร่ของออกซิเจน (Arbiv and van Rijn, 1995) การกำจัดสารประกอบไนโตรเจนด้วยกระบวนการทางชีวภาพโดยระบบตรึงจุลินทรีย์ เรียกอีกอย่างว่า ตัวกรองทางชีวภาพ (biofilter)

ประสิทธิภาพการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษด้วยการตรึงจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุตรึงจุลินทรีย์ Kaiser และ Wheaton (1983 อ้างโดย Menasveta *et al.,* 2001) รายงานว่าในระบบกรองที่มีออกซิเจน ชนิดของวัสดุตรึงจุลินทรีย์เช่น ทราย หิน หินภูเขาไฟ และพลาสติก มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ วัสดุตรึงจุลินทรีย์ที่ดีต้องไม่ก่อให้เกิดพิษต่อสัตว์น้ำและจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการชีวภาพ มีพื้นที่ผิวจำเพาะสูงคือมีขนาดเล็กแต่มีพื้นที่ผิวมาก ราคาถูก หินหรือหินภูเขาไฟ พลาสติก polyethylene และ ทราย มีพื้นที่ผิวจำเพาะประมาณ 100, 100-300, 500 และ 3000 m^2/m^3 ตามลำดับ (Wijffels and Tramper, 1995) วัสดุตรึงจุลินทรีย์บางชนิด เช่น หินหรือเปลือกหอย (Menasveta *et al.,* 2001) ยังมีคุณสมบัติเพิ่มความเป็นด่างให้ระบบ เนื่องจากมีส่วนประกอบที่เป็นคาร์บอเนตช่วยทำให้ระบบทนต่อการเปลี่ยนแปลง pH ดังสมการนี้ (Birkeland, 1997)

$$CO_2 + H_2O + CaCO_3 \rightleftharpoons Ca^{2+} + HCO_3^-$$

ส่วนพลาสติกแม้ว่าจะเป็นวัสดุที่มีพื้นที่ผิวจำเพาะมากขึ้นและมีน้ำหนักเบาแต่มักมีราคาแพง นอกจากนั้นยังมีข้อเสียคือไม่มีคุณสมบัติต้านทานการเปลี่ยนแปลง pH

Tal และคณะ (2003) ศึกษาชนิดจุลินทรีย์ใน biofilm ของ biofilter ที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์เป็นเม็ดพลาสติก polyethylene ที่บรรจุอยู่ในแท่นที่เคลื่อนไหวในชุดปฏิกิริยาตลอดเวลา (moving bed bioreactor) โดยใช้ระบบถังเลี้ยงปลา *Sparus aurata* เป็นแหล่งสารอินทรีย์ ให้อากาศและหมุนเวียนน้ำทะเลผ่านชุดปฏิกิริยาตลอดเวลาเป็นเวลา 4 เดือน เมื่อศึกษาโดยวิธีจำแนก 16S rRNA gene ด้วยเทคนิค denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) พบว่ามีจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ nitrification คือ *Nitrosomomas* และ *Nitrospira* นอกจากนั้นยังพบจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ denitrification และกระบวนการ ANAMMOX อีกด้วยคือ *Pseudomonas* และ *Planctomycetes* ตามลำดับ biofilter มีประสิทธิภาพในการลดระดับแอมโมเนียสูงสุด 31.5 $mg/m^2/h$ และเมื่อนำเม็ดพลาสติกที่ได้ไปพิสูจน์ในชุดปฏิกิริยาที่ไม่มีการเติมแหล่งอินทรีย์คาร์บอนพบว่ากระบวนการ denitrification และกระบวนการ ANAMMOX สามารถเกิดขึ้นได้ แสดงให้เห็นว่า ในระบบที่มีออกซิเจน ฟิล์มจุลินทรีย์ที่ผิวนอกซึ่งส่วนใหญ่เป็น nitrifying bacteria เมื่อมีความหนาเพิ่มขึ้น ในที่สุดบริเวณฟิล์มชั้นในจะมีสภาวะไร้ออกซิเจนมากขึ้นเพราะออกซิเจนแพร่เข้าไปไม่ถึง ทำให้ denitrifying bacteria เจริญเติบโตได้และสามารถใช้สารอินทรีย์จากซากเซลล์เป็นแหล่งคาร์บอน ในระบบเพาะเลี้ยงกุ้ง *Farfantepenaeus paulensis* ระยะ juveniles 9 กรัมต่อตารางเมตร ในระยะเวลา 10 วัน พบว่าระบบเลี้ยงที่ใช้ biofilm อายุ 4 เดือน (ใช้ถัง glass fiber ที่เคยใช้ในการเลี้ยงกุ้งแล้วเป็นเวลา 4 เดือน) ช่วยรักษาความเข้มข้นของแอมโมเนียในระบบเลี้ยงให้อยู่ในระดับต่ำ (5.94 -16.09 μM) เมื่อเทียบกับระบบเลี้ยงที่ใช้ถังสะอาด (83.99 μM) และพบว่า biofilm เป็นแหล่งอาหารเสริมทำให้อัตราการเจริญเติบโตของกุ้งเพิ่มขึ้น (Thomson *et al.* 2002) ผลศึกษาดังที่กล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการตรึงจุลินทรีย์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษด้วยชีวภาพได้

การตรึงจุลินทรีย์แบบธรรมชาติต้องใช้อาศัยระยะเวลาในการสร้าง biofilm ให้สมบูรณ์จนมีส่วนที่ออกซิเจนแพร่เข้าไปได้น้อย เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าวปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคให้จุลินทรีย์ถูกตรึงแบบสังเคราะห์ขึ้น โดยใช้หลักการตรึงจุลินทรีย์ด้วยเจล (gel entrapment) เช่น วุ้น คาราจีเนน และ โพลีเมอร์สังเคราะห์ ซึ่งมักดำเนินการโดยเติมจุลินทรีย์ลงในสารละลายของวุ้นหรือคาราจีเนนแล้วค่อยเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของเม็ดเจล (gelation) โดยเติม Ca^{2+} และ K^{+} ลงไป ตามลำดับ ด้วยวิธีการนี้สามารถรวมกระบวนการ nitrification และ denitrification ให้เกิดขึ้นได้พร้อมกัน สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนด้วยชีวภาพได้รวดเร็วขึ้น เนื่องด้วยความจำกัดของการแพร่ของออกซิเจน nitrifying bacteria จะเจริญเติบโตได้ดี

ในส่วนผิวชั้นนอกของเม็ดเจล ในขณะที่ส่วนแกนในเม็ดเจลเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของ denitrifying bacteria หากสารที่จำเป็นสำหรับกระบวนการ denitrification เช่น ไนไตรท์ ไนเตรท หรืออินทรีย์คาร์บอนเพียงพอ (Wijffels and Tramper, 1995; Kotlar *et al.,* 1996)

1.3.2. การควบคุมอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) เป็นดัชนีบ่งชี้อัตราการย่อยสลายของสารอินทรีย์ และอัตราการเปลี่ยนรูปของสารอินทรีย์ไนโตรเจนไปเป็นสารอนินทรีย์ไนโตรเจน เนื่องจากองค์ประกอบเบื้องต้นของจุลินทรีย์คือโปรตีนซึ่งประกอบด้วยธาตุคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นส่วนใหญ่ องค์ประกอบเซลล์แบคทีเรียมีคาร์บอน 50% และไนโตรเจน 10% ของน้ำหนักแห้งเซลล์ (Boyd, 1982) ความเหมาะสมของอัตราส่วนคาร์บอนและไนโตรเจนจึงมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ใหม่ของจุลินทรีย์และอัตราการย่อยสลายของสารอินทรีย์ จุลินทรีย์ไม่สามารถเติบโตได้อย่างรวดเร็วได้หากมีไนโตรเจนไม่เพียงพอ การย่อยสลายของสารอินทรีย์ที่มี C/N ratio สูง จะไม่สมบูรณ์และช้ากว่าสารอินทรีย์ที่มี C/N ratio ต่ำ ยกเว้นในสิ่งแวดล้อมที่มีสารอนินทรีย์ไนโตรเจนสูง ถ้าสารอินทรีย์มี C/N ratio สูง คือมีปริมาณไนโตรเจนต่ำเมื่อเทียบกับปริมาณคาร์บอน ไนโตรเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโตจึงต้องดึงมาจากสิ่งแวดล้อม การศึกษาในอดีตพบว่าจุลินทรีย์จะดึงสารประกอบไนโตรเจนมาใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ใหม่ (immobilization of inorganic nitrogen) เมื่อ C/N ratio ของสารอินทรีย์มีสูงกว่า 10 (Lancelot and Billen,1985 อ้างโดย Burford *et al*, 2003) นอกจากนั้นอัตราการใช้ออกซิเจนของจุลินทรีย์ยังสามารถประเมินอัตราการย่อยสลายของสารอินทรีย์ได้อีกด้วย ในระบบเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีสารตกค้างที่มีไนโตรเจนสูงจะมีการใช้ออกซิเจนมากกว่าในระบบที่มีสารตกค้างไนโตรเจนต่ำ

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในระบบปิด การสะสมของสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว หนึ่งในวิธีการที่ใช้ลดสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำระบบปิด คือการเติมสารอินทรีย์คาร์บอนเช่น กลูโคส แป้งมันสำปะหลัง กากน้ำตาล หรือ cellulose ลงในบ่อเลี้ยงเพื่อทำให้ C/N ratio สูงขึ้น เมื่อปริมาณสารอินทรีย์ไนโตรเจนในระบบมีน้อยไม่เพียงพอสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนเพื่อสร้างเซลล์ใหม่ จุลินทรีย์จะสารอนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท ที่ละลายอยู่ในน้ำมาใช้แทน (Boyd, 1996) การเติมคาร์โบไฮเดรตเพื่อควบคุม C/N ratio ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีค่าสูงขึ้นทำให้กลุ่มแบคทีเรียหลักที่ทำการเปลี่ยนรูปสารประกอบไนโตรเจนเป็นแบคทีเรียกลุ่ม heterotroph (Avnimelech et al., 1989; Avnimelech, 1999) การลดลงของสารประกอบไนโตรเจนโดยการเติมคาร์โบไฮเดรตขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพในการเปลี่ยนรูปไนโตรเจนของจุลินทรีย์ (microbial

conversion efficiency) C/N ratio ในมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ และปริมาณคาร์บอนในสารคาร์โบไฮเดรตที่ใช้เติม นอกจากนั้นสัตว์น้ำ เช่น ปลานิล กุ้งกุลาดำ หรือกุ้งขาวแวนนาไม สามารถใช้เซลล์จุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นเป็นแหล่งอาหารโปรตีนได้ การเติมสารอินทรีย์คาร์บอนเพื่อเพิ่มอัตราส่วน C/N จึงทำให้สารประกอบไนโตรเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำลดลง และช่วยลดค่าใช้จ่ายด้านอาหารสัตว์น้ำ (Avnimelech, 1999; Burford *et al*., 2003; Hari *et al*., 2004)

Avnimelech (1999) ศึกษาผลของการเติมสารคาร์โบไฮเดรตที่มีต่อการสะสมสารอนินทรีย์ไนโตรเจนในถังทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ขนาด 25 ตารางเมตร (m^2) ความหนาแน่น 0.8 kg/m^2 ให้อาหารเม็ดองค์ประกอบโปรตีน 40% ในปริมาณ 2% ของน้ำหนักตัวกุ้ง และเติม น้ำตาลทรายในอัตราส่วนแอมโมเนียรวมต่อน้ำตาลทราย 1/20 โดยเติม 7ครั้งทุกๆ 1 ชั่วโมง พบว่าการสะสมของแอมโมเนียรวมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าการใช้อาหารเม็ดองค์ประกอบโปรตีน 20% (C/N ratio =16.7) แทนอาหารเม็ดองค์ประกอบโปรตีน 30% (C/N ratio =11.1) ในการเลี้ยงปลานิล ในบ่อทดลองขนาด 50 ตารางเมตร ความหนาแน่น 80 ตัว/ตารางเมตร ทำให้ปลาเจริญเติบโตได้ดีขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มในแต่ละวัน (daily weight gain) สูงขึ้น อัตราการแลกเนื้อ (feed conversion ratio) ลดลง การสะสมของสารอนินทรีย์ไนโตรเจนลดลง และค่าใช้จ่ายด้านอาหารลดลง

Hari และคณะ (2004) ศึกษาผลของการควบคุม C/N ratio โดยการเติมสารคาร์โบไฮเดรตที่มีการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบไม่หนาแน่น (extensive) ทั้งในห้องปฏิบัติการและในบ่อเลี้ยงทดลอง ในห้องปฏิบัติการดำเนินการทดลองโดยเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะ juvenile (0.357±0.01 g) 6 ตัวต่อถังไฟเบอร์ขนาด 1200 ลิตร เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเลี้ยงและคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงที่ใช้อาหารโปรตีน 25% (C/N ratio =12.9) กับการเลี้ยงที่ใช้อาหารโปรตีน 40% (C/N ratio =8.1) โดยใช้และไม่ใช้แป้งมันสำปะหลัง (20 g/g NH_4^+-N) เพื่อปรับอัตราส่วน C/N และการทดลองในบ่อเลี้ยงขนาด 250 m^2 ดำเนินการทดลองโดยเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะ post-larvae อายุ 20 วัน (PL-20) 6 ตัวต่อตารางเมตร เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเลี้ยงและคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงที่ใช้อาหารโปรตีน 25%และ ใช้แป้งมันสำปะหลังปรับ C/N ratio กับการเลี้ยงที่ใช้อาหารโปรตีน 40% โดยไม่ปรับ C/N ratio พบว่าทั้งในห้องปฏิบัติการและในบ่อเลี้ยงทดลองการเติมสารคาร์โบไฮเดรตในน้ำสามารถลดการสะสมแอมโมเนียรวมทั้งในส่วนน้ำและตะกอน การเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยใช้อาหารโปรตีน 25% และปรับ C/N ratio ให้อัตราการแลกเนื้อ (feed conversion ratio) ต่ำกว่า เมื่อเทียบกับการเลี้ยงที่ใช้อาหารโปรตีน 40% โดยไม่ปรับ C/N ratio การทดลองในบ่อเลี้ยงพบว่า ผลผลิตกุ้งจากการเลี้ยงที่ใช้อาหารโปรตีน 25%และปรับ C/N

ratio มากกว่า (64.43 g/m^2) ผลผลิตกุ้งจากการเลี้ยงที่ใช้อาหารโปรตีน 40% โดยไม่ปรับ C/N ratio (44.79 g/m^2) ค่าใช้จ่ายด้านอาหารลดลงเนื่องจากได้โปรตีนจากแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้นมาทดแทน และการทดลองในห้องปฏิบัติการยังพบว่าการเติมสารคาร์โบไฮเดรตทำให้จำนวนประชากรของ heterotrophic bacteria เพิ่มขึ้นทั้งในส่วนน้ำและตะกอน

วัตถุประสงค์

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการลดระดับสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษด้วยวิธีทางชีวภาพอย่างง่ายที่สามารถนำมาใช้สำหรับตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดในห้องปฏิบัติการ โดยประเมินจาก

1. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับสารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเล และประสิทธิภาพการเลี้ยง เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์

2. ศึกษาผลของ C/N ratio ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับสารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเล และประสิทธิภาพการเลี้ยง เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์