

การบำบัดซีโอดีในน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งขาวด้วยแอคติโนมัยซีททะเล

Streptomyces indiaensis

The COD Removal in White Shrimp Pond Wastewater with Marine Actinomycetes *Streptomyces indiaensis*

จันทร์จรัส วัฒนะโชติ, ประ.ด. (Janjarus Watanachote, Ph.D.)¹

มยุริญ เล้าอรุณ, วท.บ. (Mayurin Laoarun, B.Sc.)²

มะลิวัลย์ คุณะโค, วท.ด. (Maliwan Kutako, Ph.D.)³

ภาควรรณ เศรษฐมมงคล, วท.ด. (Pakawan Setthamongkol, Ph.D.)³

นงนุช รุ่งสว่าง, วท.ม. (Nongnuch Rungsawang, M.S.)⁴

ปวีณา ตปนียวรงค์, วท.ม. (Paveena Tapaneeyaworawong, M.Sc.)⁵

ยุทธยา อยู่เย็น, วท.ด. (Yutthaya Yuyen, Ph.D.)^{6*}

Received : June 29, 2022

Revised : August 18, 2022

Accepted : August 31, 2022

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: ปริมาณสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) จะสะสมเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงกุ้ง งานวิจัยนี้จึงศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี หรือปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (Chemical oxygen demand, COD) ของแอคติโนมัยซีททะเล *Streptomyces indiaensis* เพื่อนำไปสู่แนวทางการใช้แอคติโนมัยซีทในการบำบัดน้ำจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

วิธีการวิจัย: ศึกษาสัณฐานวิทยาของ *S. indiaensis* ที่แยกได้จากป่าชายเลน โดยการย้อมแกรมและตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เลี้ยงแอคติโนมัยซีทด้วยอาหารสูตร ISP2 และน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว จากนั้นใช้ *S. indiaensis* บำบัดปริมาณ COD ในน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งขาว เปรียบเทียบกับการไม่ใช้ *S. indiaensis*

ผลการวิจัย: จากการย้อมแกรมพบว่า *S. indiaensis* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะเซลล์เป็นเส้นสาย แอคติโนมัยซีทเติบโตในอาหารมาตรฐานสูตร ISP2 ได้ดีกว่าน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้ง เมื่อทดสอบบำบัด COD ในน้ำจากการเลี้ยงกุ้งขาว พบว่าปริมาณ COD เริ่มต้นในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งมีค่าเท่ากับ 662 mg/L การใช้ *S. indiaensis* สามารถลดปริมาณ COD ในน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งได้ดีกว่าการไม่ใช้ *S. indiaensis* ซึ่งการใช้แอคติโนมัยซีทสามารถบำบัด COD ได้สมบูรณ์ ภายในเวลา 21 วัน ส่วนการไม่ใช้แอคติโนมัยซีทสามารถบำบัดได้เพียง 78% ผลจากการทดลองนี้จึงแสดงให้เห็นว่า แอคติโนมัยซีททะเล *S. indiaensis* ช่วยบำบัด COD ได้เร็วกว่าเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มีในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว

คำสำคัญ: *Streptomyces indiaensis*, การบำบัดน้ำเสีย, กุ้ง, ซีโอดี

¹นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการพิเศษ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

(Scientist, senior professional level, Institute of Marine Science, Burapha University)

²นักศึกษา คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

(Student, Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chantaburi Campus)

³อาจารย์ คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

(Lecturer, Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chantaburi Campus)

⁴นักวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสวนดุสิต กรุงเทพมหานคร

(Researcher, Research and Development Institute, Suan Dusit University, Bangkok)

⁵นักวิจัย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

(Researcher, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency)

⁶อาจารย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต กรุงเทพมหานคร

(Lecturer, Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University, Bangkok)

*ผู้เขียนหลัก (Corresponding author)

E-mail: yutthaya_yuy@dusit.ac.th

Abstract

Objective: The amount of organic substance in Pacific white shrimp pond (*Litopenaeus vannamei*) will accumulate according to time spent on breeding shrimps. This research studied the morphology and COD (Chemical oxygen demand) reduction efficiency of marine actinomycete *Streptomyces indiaensis* in order to create a guideline for using Actinomycete in wastewater treatment for coastal aquaculture.

Methods: The morphology of actinomycete *S. indiaensis* isolated from a mangrove forest was studied using Gram's staining method and observed under a light microscope. Actinomycete was cultured in standard ISP2 medium and water from a Pacific white shrimp pond. Then, actinomycete *S. indiaensis* was used to reduce COD in water from the shrimp pond and compared with not using actinomycete *S. indiaensis*.

Results: Gram's staining test revealed that marine actinomycete *S. indiaensis* is filamentous gram-positive bacteria. Marine actinomycete *S. indiaensis* could grow in a standard ISP2 medium better than in the shrimp pond water. Thereafter, a reduction of the COD in shrimp pond water was performed. The initial COD concentration in shrimp pond water was 662 mg/L. The use of *S. indiaensis* was able to reduce the amount of COD in the shrimp pond water in a greater manner than without *S. indiaensis*. The use of actinomycete had complete COD treatment within 21 days, whereas the comparison without the use of actinomycete could be treated at 78%. The results from this experiment showed that a marine actinomycete *S. indiaensis* was able to reduce COD faster than the native bacteria in the shrimp pond water.

Keywords: *Streptomyces indiaensis*, Wastewater treatment, Shrimp, COD

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

น้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำจะมีปริมาณสารอินทรีย์และธาตุอาหารสะสมเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง อาจพบอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (total organic carbon) มากถึง 9.5 mg/L (Biao et al., 2009) และหากน้ำที่ผ่านการเลี้ยงสัตว์น้ำปนเปื้อนออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก อาจส่งผลกระทบต่อแหล่งน้ำธรรมชาติได้ น้ำที่ผ่านการเลี้ยงสัตว์น้ำจึงต้องผ่านการบำบัดของเสียดังกล่าว เช่น การพักน้ำและตะกอนในบ่อกักตะกอนเลน ซึ่งมีกระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีการทางชีวภาพเกิดขึ้น โดยเป็นการทำงานของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารต่าง ๆ ทั้งนี้เนื่องจากในน้ำเสียมีสารอินทรีย์หลายชนิด แต่การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความจำเพาะต่อสารอินทรีย์แตกต่างกัน (Kumar et al., 2012) โดยแอคติโนมัยซีท (actinomycetes) มีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้ดี เพราะผลิตเอนไซม์ได้หลากหลายชนิด และแอคติโนมัยซีทยังมีความสามารถบำบัดแอมโมเนีย ไนเตรท และฟอสเฟตในน้ำเสีย โดยแอคติโนมัยซีทจะนำสารประกอบดังกล่าวไปใช้ในการสร้างเซลล์ (Madkour et al., 2019)

แอคติโนมัยซีท เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะคล้ายกับเชื้อรา เนื่องจากโครงสร้างเป็นเส้นใยแตกกิ่งก้าน และยังสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ สาเหตุที่แอคติโนมัยซีทถูกจัดให้เป็นแบคทีเรีย เพราะว่ามีลักษณะอยู่ในกลุ่มของ Prokaryote มี Peptidoglycan เป็นองค์ประกอบของเซลล์ตามผนังเซลล์ ซึ่งจะแตกต่างจากผนังเซลล์ของเชื้อราที่ไม่มีไคติน (Chitin) และเซลลูโลส (Cellulose)

เป็นองค์ประกอบ ซึ่งแอคติโนมัยซีทน้อยชนิดที่ทำให้เกิดโรคในคน สัตว์ และพืช ทั้งนี้แอคติโนมัยซีทบางสกุลที่ตรึงก๊าซไนโตรเจนร่วมกับพืชชั้นสูง (Santamaria et al., 2020) ส่วนใหญ่พบทั่วไปทั้งในดินและบริเวณซากพืชแอคติโนมัยซีทจัดเป็นผู้ย่อยสลายซากสิ่งมีชีวิต และมีความสำคัญในทางด้านการแพทย์และทางเภสัช เพราะสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ และการประยุกต์ใช้แอคติโนมัยซีทในการบำบัดน้ำเสีย เช่น ฌีนา สรินนธธนา และคณะ (2562) ได้ใช้ *Streptomyces* sp. บำบัดน้ำจากโรงงานแปรงไม้สำหรับแปรงฟัน พบว่าสามารถลด COD ได้ 69% และ Bezak-Mazu et al. (2017) รายงานว่า *Actinomycetes* จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบเร่งตะกอน (activated sludge) สามารถลด COD ในน้ำโสโครกได้ 78.79% ส่วนใหญ่แล้วมักจะใช้แอคติโนมัยซีทในการบำบัดน้ำเสียที่ไม่มีความเค็ม จึงเป็นที่น่าสนใจว่าแอคติโนมัยซีททะเลก็อาจจะมีศักยภาพในการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มได้ เช่น น้ำจากอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำ และน้ำจากการเพาะเลี้ยงชายฝั่ง เป็นต้น

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำแอคติโนมัยซีททะเล *Streptomyces indiaensis* ที่แยกได้จากป่าชายเลน มาใช้ในการบำบัดสารอินทรีย์ โดยพิจารณาในรูปของปริมาณ COD ในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว ซึ่งเป็นน้ำที่มีความเค็ม ทั้งนี้เพื่อทราบถึงประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีททะเลในการบำบัด COD ในน้ำเสียที่มีความเค็ม และข้อมูลที่ได้สามารถนำไปสู่แนวทางการใช้แอคติโนมัยซีททะเลสำหรับการบำบัดน้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงชายฝั่งหรือน้ำจากอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเลได้

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาและประสิทธิภาพการบำบัด COD ในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว โดยการทำงานของแอคติโนมัยซีททะเล *S. indicaensis*

3. กรอบแนวคิดการวิจัย

3.1 แอคติโนมัยซีททะเล *S. indicaensis* ที่แยกได้จากตะกอนดินป่าชายเลน จังหวัด นครศรีธรรมราช (รัตนภรณ์ ศรีวิบุรณ์ และ จันทรจรัส วัฒนะโชติ, 2558)

3.2 ประเมินการเติบโตของแอคติโนมัยซีท ทะเล *S. indicaensis* ที่เลี้ยงในอาหารมาตรฐาน สูตร ISP2 และน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว

3.3 น้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง เป็นน้ำจาก บ่อที่เลี้ยงกุ้งมาเป็นระยะเวลา 65 วัน กุ้งมีน้ำหนัก เฉลี่ยตัวละ 20 g ให้อาหารกุ้งด้วยอาหารเม็ด สำเร็จรูปที่มีปริมาณโปรตีน 35% โดยให้อาหาร วันละ 3-5% ของน้ำหนักกุ้ง

3.4 น้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นตัวแทนของน้ำ เสียที่มีความเค็ม และนำน้ำเสียมาเติมแอคติโนมัยซีท ทะเล *S. indicaensis* ประมาณ 10% ของปริมาตร ทั้งหมด และพิจารณาประสิทธิภาพการบำบัด สารอินทรีย์ในรูปการลดลงของปริมาณ COD และ ลิ่นสุดการทดลองเมื่อพบว่าชุดทดลองมีปริมาณ COD อยู่ในระดับที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน

4. วิธีดำเนินการวิจัย

4.1 การเตรียมเชื้อแอคติโนมัยซีท

นำเชื้อแอคติโนมัยซีท *S. indicaensis* ที่แยกได้จากตะกอนดินป่าชายเลน จากนั้นทำพื้น สภาพเชื้อโดยการเชี่ยเชื้อลงในอาหารเหลว ISP2 (Shirling & Gottlieb, 1966) แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำเชื้อมา 1 Loop แล้วแยก เชื้อโดยวิธี Streak-plate technique

โดยทำการขีดเชื้อลงจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร ISP2 เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว

4.2 การศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยา

นำโคโลนีเดี่ยวที่แยกได้ใส่ลงใน อาหารเหลว ISP2 แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำเชื้อมาย้อมแกรม แล้วส่องกล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจสอบรูปร่างและลักษณะของ เชื้อแอคติโนมัยซีท *S. indicaensis*

4.3 การเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีท *S. indicaensis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 และน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว

นำแอคติโนมัยซีทที่พื้นสภาพเชื้อแล้ว ซึ่งเติบโตอยู่บนอาหารแข็งสูตร ISP2 โดยใช้ Pipette Tip เจาะวุ้นมาปริมาณ 1 ชิ้น ใส่ลงในขวด รูปชมพู่ที่มีอาหารแตกต่างกัน คือ อาหารสูตร ISP2 และน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว ปริมาตร 250 mL แล้ว บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ติดตามตรวจวัดการเติบโต ของแอคติโนมัยซีท ด้วยวิธีการหาน้ำหนักเปียกโดย ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12000 รอบ/นาที นาน 5 นาที 2 รอบ เทน้ำส่วนใสทิ้ง แล้วนำตะกอนที่ เหลือไปชั่งน้ำหนัก แล้วนำค่าน้ำหนักก่อนปั่น- น้ำหนักหลังปั่น และการเลี้ยงด้วยน้ำจากบ่อเลี้ยง กุ้งขาวได้ตรวจวัดน้ำหนักแห้งอีกด้วย ทั้งนี้เพื่อ ทราบระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับ นำมาใช้ในการทดลองบำบัดน้ำบ่อเลี้ยงต่อไป

4.4 ประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีทใน การบำบัด COD ของน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว

นำเสียที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำจาก บ่อเลี้ยงกุ้งขาวของศูนย์วิจัยเทคโนโลยีทางทะเล คณะเทคโนโลยีทางทะเล ซึ่งน้ำเก็บตัวอย่างจากบ่อมี ขนาดกว้าง 40x70 เมตร ปล่อยกุ้ง 250,000 ตัว และ เลี้ยงกุ้งขาวมาเป็นระยะเวลา 65 วัน ลักษณะของน้ำ ในบ่อเลี้ยงกุ้งเป็นสีเขียวขุ่น และพารามิเตอร์บ่งชี้ คุณภาพน้ำบางประการ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์พารามิเตอร์น้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาวที่นำมาใช้ในการทดลอง

พารามิเตอร์	ระดับค่า	วิธีการวิเคราะห์
ความเค็ม	15 ppt	Salinometer
ความเป็นกรด-ด่าง	8.04	pH meter
อุณหภูมิ	30.00 °C	Thermometer
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen, DO)	4.89 mg-O ₂ /L	DO meter
อัลคาไลน์ตี (alkalinity)	34.00 mg/L CaCO ₃	Test kit
ของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (total dissolved solids, TDS)	3650.00 mg/L	Water Quality Analyzer (Portable TOC COD TDS Tester Multifunctional Mini 3-In 1 Testing Meter, Zoumity)
อินทรีย์คาร์บอนรวม (TOC)	11.00 mg-/L	Water Quality Analyzer
ไนเตรท	2.71 mg-N/L	Ultraviolet spectrophotometer screening method (APHA, 1992)
ไนไตรท์	0.096 mg-N/L	Griess method (Strickland & Parsons, 1972)
แอมโมเนีย	0.15 mg-N/L	Salicylate-Hypochlorite method (Bower & Holm-Hansen, 1980)
สารแขวนลอยทั้งหมดในน้ำ (Total suspended solids, TSS)	0.078 g/L	Total suspended solids dried (APHA, 1992)
ไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen, TN)	4.39 mg-N/L	Grasshoff et al. (1999)
COD	662.00 mg/L	Close reflux method (EPA, 1978)

ทำการเตรียมหัวเชื้อแอกติโนมัยซีท *S. indicaensis* เพื่อใช้ในการทดลอง โดยเติมน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ปริมาตร 1000 mL ลงในขวดขวดรูปชมพู่ ทำทั้งสิ้น 3 ข้าง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเติมเชื้อที่ได้รับการฟื้นฟูสภาพเชื้อแล้ว จำนวน 9 ขัน และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน เพื่อใช้เติมลงในชุดทดลอง

ดำเนินการทดลอง โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 2 ชุด คือ ชุดควบคุม ที่ใช้ถังบรรจุน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว ปริมาตร 10 ลิตร และไม่ได้มีการเติมเชื้อแอกติโนมัยซีท และชุดการทดลองที่บรรจุน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 9 ลิตร และมีการเติม

แอกติโนมัยซีท ปริมาตร 1 ลิตร หรือคิดเป็น 10% ของปริมาตรทั้งหมด แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ข้าง และเติมาอากาศทั้งในชุดควบคุมและชุดทดลองให้มีปริมาณ DO มากกว่า 4 mg-O₂/L ติดตามตรวจวัดค่าอุณหภูมิ ความเค็ม อัลคาไลน์ตี pH DO COD TOC TSS TDS ไนโตรเจนทั้งหมด แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรทเป็นประจำทุก 2 วัน (ตารางที่ 1)

4.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลประสิทธิภาพในการบำบัด COD และพารามิเตอร์บ่งชี้คุณภาพน้ำบางประการ ในวันแรกและวันสุดท้ายจากแต่ละชุดการทดลอง ได้วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี ANOVA T-Test และ

Duncan's new multiple rang test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้โปรแกรมสถิติ R (Team, 2020)

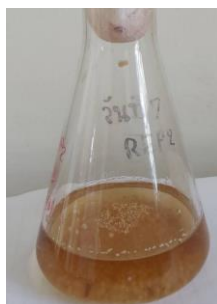
5. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

5.1 ผลการวิจัย

5.1.1 การเตรียมเชื้อแอสคิโนไมซีต

S. indiaensis

เมื่อนำเชื้อแอสคิโนไมซีต *S. indiaensis* ที่เก็บรักษานอาหารแข็งสูตร ISP2 มาทำพื้นสภาพเชื้อโดยเชื้อลงในอาหารเหลว ISP2 และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน (รูปที่ 1ก) จากนั้นนำเชื้อขีตลงจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร ISP2 เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว พบว่าลักษณะโคโลนีมีเป็นวงกลมขอบขรุขระ ผิวหน้าโคโลนีมีลักษณะนูนและขรุขระ (รูปที่ 1ข)



(ก)



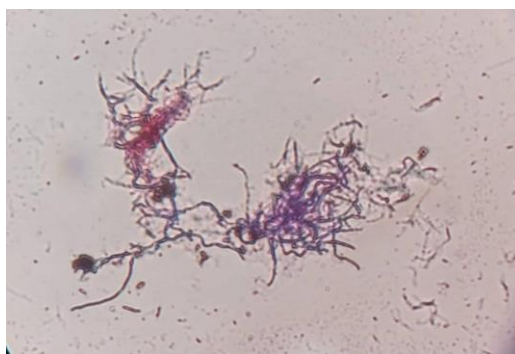
(ข)

รูปที่ 1 เชื้อแอสคิโนไมซีต *S. indiaensis* ที่เติบโตในอาหารเหลวสูตร ISP2 (ก) และขีตเชื้อลงบนอาหารแข็ง ISP2 เพื่อตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อ (ข)

5.1.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอสคิโนไมซีต *S. indiaensis*

เมื่อนำเชื้อแอสคิโนไมซีตที่เจริญบนอาหาร ISP2 มาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา โดยวิธีการย้อมแกรมและส่องตรวจภายใต้

กล้องจุลทรรศน์ ผลการศึกษาพบว่าลักษณะและรูปร่างของเชื้อเป็นเส้นสาย ส่วนใหญ่พบว่าเซลล์อยู่รวมกลุ่มกัน และเชื้อติดสีน้ำเงินม่วง แสดงว่าเชื้อแอสคิโนไมซีตที่ใช้ในการทดลองเป็นแบคทีเรียแกรมบวก (รูปที่ 2)



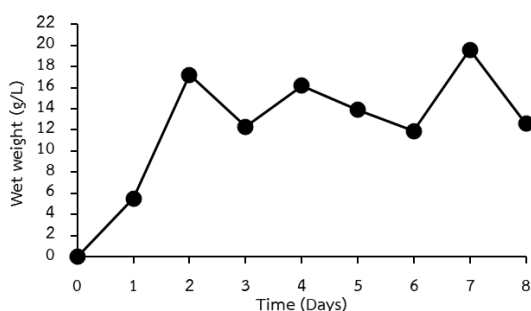
รูปที่ 2 ลักษณะเชื้อแอสคิโนไมซีตที่ผ่านการย้อมแกรม และส่องตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า (กำลังขยายของเลนส์วัตถุ 100X, กำลังขยายของเลนส์ใกล้ตา 4X)

5.1.3 การเติบโตของเชื้อ

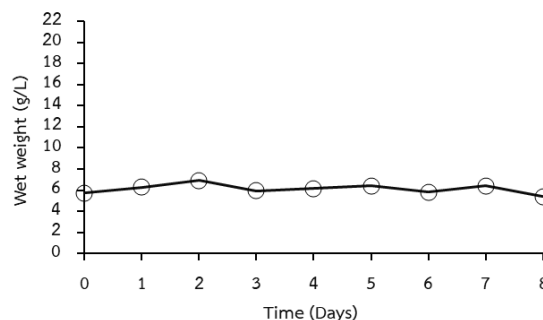
แอสคิโนไมซีต *S. indiaensis*

เมื่อเลี้ยงเชื้อแอสคิโนไมซีตในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ISP2 พบว่า เชื้อมีการเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 0-2 และหลังจากนั้นการเติบโตเริ่มคงที่ โดยที่เชื้อแอสคิโนไมซีตทะเล *S. indiaensis* มีน้ำหนักเปียกมากที่สุดในวันที่ 7 เท่ากับ 19.6 g/L (รูปที่ 3ก) ส่วนการเติบโตของเชื้อแอสคิโนไมซีตที่เลี้ยงด้วยน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งขาว

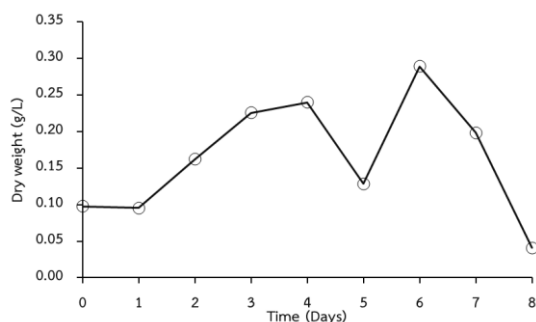
พบว่าเติบโตได้น้อยกว่าการเลี้ยงด้วยอาหาร ISP2 โดยแอสคิโนไมซีตทะเลมีการเติบโตสูงที่สุดในช่วงวันที่ 2 แต่มีน้ำหนักเปียกเพียง 6.93 g/L (รูปที่ 3ข) ซึ่งผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การเลี้ยงเชื้อแอสคิโนไมซีตในอาหารเหลว ISP2 ส่งผลให้เชื้อเติบโตดีกว่าน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากน้ำหนักแห้งของแอสคิโนไมซีตทะเล *S. indiaensis* ก็พบว่าการใช้น้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ส่งผลให้แอสคิโนไมซีตมีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นได้ดีในช่วงวันที่ 1-4 ของการทดลอง (รูปที่ 3ค)



(ก)



(ข)



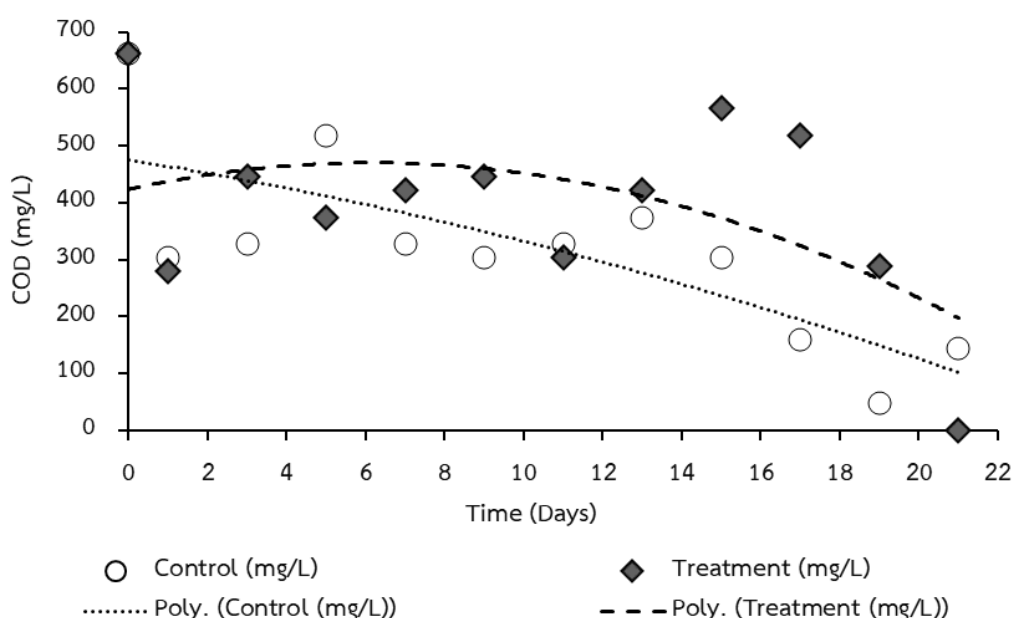
(ค)

รูปที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเปียกของเชื้อแอสคิโนไมซีตในอาหารเหลว ISP2 ที่ความเค็ม 15 ppt (ก) และการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเปียก (ข) และน้ำหนักแห้ง (ค) ของเชื้อแอสคิโนไมซีตที่เลี้ยงด้วยน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ความเค็ม 15 ppt

5.1.4 ประสิทธิภาพการบำบัด COD ในน้ำที่ผ่านการเลี้ยงกุ้งขาวของแอกติโนมัยซีท

ปริมาณ COD ของชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อแอกติโนมัยซีททะเล *S. indicaensis* 10% มีค่าเริ่มต้นที่ 662 mg/L หลังจากนั้นปริมาณ COD ลดลง อย่างไรก็ตาม ในวันสุดท้ายของการทดลอง ตรวจไม่พบ COD ในถังบำบัด ซึ่งในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อมีค่า COD เริ่มต้น 662 mg/L และลดลงเหลือน้อยที่สุดเท่ากับ 48 mg/L ในวันที่ 19

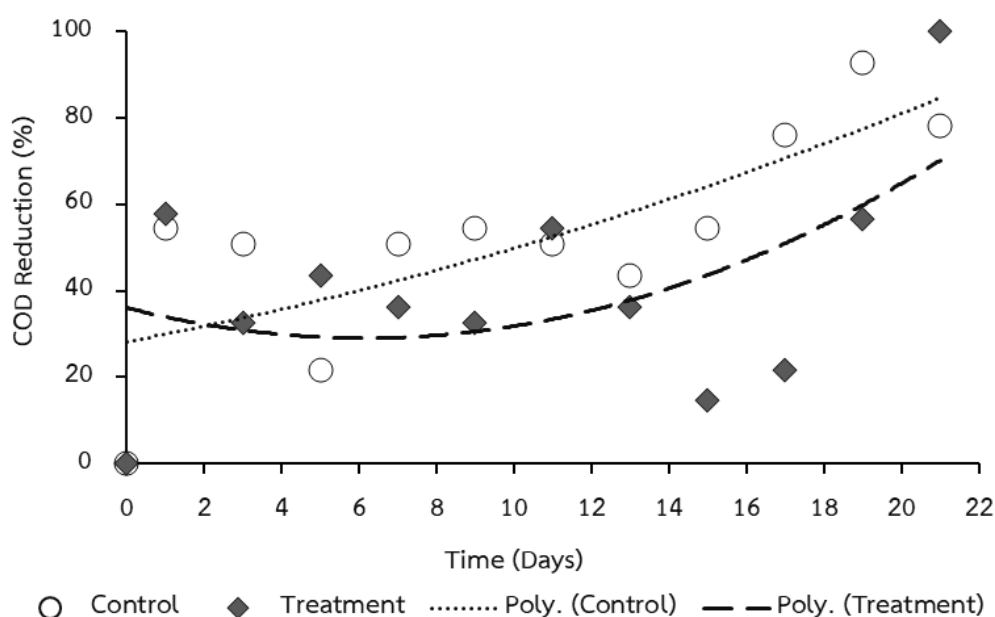
และในวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 21) กลับพบว่าค่า COD เพิ่มขึ้นเป็น 144 mg/L เมื่อวิเคราะห์แนวโน้มเส้นโค้งแบบพหุนาม (polynomial) ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณ COD ในช่วงวันแรกถึงวันสุดท้ายของการทดลอง พบว่าในชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อแอกติโนมัยซีท *S. indicaensis* คือ $y = -0.3141x^2 - 11.223x + 475.52$, $R^2 = 0.5962$ และชุดทดลองที่เติมเชื้อแอกติโนมัยซีท *S. indicaensis* คือ $y = -1.2371x^2 + 15.196x + 423.35$, $R^2 = 0.2733$ แสดงดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ COD ในระหว่างการทดลอง โดยชุดควบคุมไม่มีการเติมเชื้อ (control) ส่วนชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อ *S. indicaensis* (treatment)

การบำบัด COD (%) ของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อสามารถลด COD ได้สูงสุด 93% ในวันที่ 19 ส่วนในชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อ *S. indicaensis* สามารถลด COD ได้หมดในวันที่ 21 ซึ่งมีค่าที่ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) (ภาพที่ 5 และ ตารางที่ 2) แต่การเติมเชื้อ *S. indicaensis* ปริมาตร 10% มีประสิทธิภาพในการบำบัด COD ออกจากน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งได้อย่างสมบูรณ์

โดยใช้ระยะเวลาในการบำบัด 21 วัน ทั้งนี้แนวโน้มเส้นโค้งแบบพหุนาม (polynomial) ของประสิทธิภาพในการลดปริมาณ COD ในชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อแอกติโนมัยซีท *S. indicaensis* คือ $y = 0.0474x^2 + 1.6942x + 28.212$, $R^2 = 0.5962$ และชุดทดลองที่เติมเชื้อแอกติโนมัยซีท *S. indicaensis* คือ $y = 0.1868x^2 - 2.294x + 36.089$, $R^2 = 0.2733$ (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 เปอร์เซนต์การลดลงของ COD ในระหว่างการทดลอง ทั้งชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อ (control) และชุดทดลองที่เติมเชื้อ *S. indicaensis* (treatment)

เมื่อทดลองบำบัดน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว เป็นเวลา 21 วัน พบว่านอกจากปริมาณ COD แล้ว ยังมีค่าของพารามิเตอร์ที่บ่งชี้คุณภาพน้ำบางประการมีค่าลดลง คือ TOC TDS แอมโมเนีย TSS และอัลคาไลน์ิตี้ และเป็นที่น่าสังเกตว่าน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้ว

พบว่ามีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ไนไตรท์และไนเตรทเพิ่มขึ้น ส่วนค่า DO ทั้งในชุดควบคุมและชุดทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 4.35-4.41 mg/L เป็น 6.37-6.54 mg/L และความเค็มมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการบำบัด COD และพารามิเตอร์ที่บ่งชี้คุณภาพน้ำบางประการในน้ำจากชุดควบคุมและชุดทดลองในวันแรก (วันที่ 0) และวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 21)

พารามิเตอร์	ชุดควบคุม		ชุดทดลอง	
	วันที่ 0	วันที่ 21	วันที่ 0	วันที่ 21
ประสิทธิภาพการบำบัด COD (%)	0.00±0.00 ^c	78±3.90 ^b	0.00±0.00 ^c	100±0.00 ^a
COD (mg/L)	662.00±0.00 ^a	144.00±6.00 ^b	662.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^c
TOC (mg-C/L)	11.00±0.00 ^a	8.33±1.04 ^b	11.00±0.00 ^a	6.50±0.71 ^c
TDS (g/L)	3.65±0.00 ^c	8.02±1.3 ^a	3.65±0.00 ^c	6.94±2.15 ^b
TN (mg-N/L)	4.39±0.00 ^c	8.53±0.03 ^b	4.39±0.00 ^c	16.62±9.81 ^a
แอมโมเนีย (mg-N/L)	0.15±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	0.15±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b
ไนไตรท์ (mg-N/L)	0.096±0.00 ^c	1.38±0.12 ^b	0.096±0.00 ^c	2.15±0.28 ^a

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการบำบัด COD และพารามิเตอร์ที่บ่งชี้คุณภาพน้ำบางประการในน้ำจากชุดควบคุมและชุดทดลองในวันแรก (วันที่ 0) และวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 21) (ต่อ)

พารามิเตอร์	ชุดควบคุม		ชุดทดลอง	
	วันที่ 0	วันที่ 21	วันที่ 0	วันที่ 21
ไนเตรท (mg-N/L)	2.71±0.00 ^c	3.92±0.96 ^a	2.71±0.00 ^c	3.65±0.10 ^b
TSS (g/L)	0.078±0.00 ^a	0.076±0.00 ^b	0.078±0.00 ^a	0.046±0.00 ^c
Alkalinity (mg/L CaCO ₃)	34.00±0.00 ^a	28.33±96.33 ^b	34.00±0.00 ^a	28.33±96.33 ^b
DO (mg/L)	4.35±0.14 ^b	6.37±0.47 ^a	4.41±0.24 ^b	6.54±2.65 ^a
ความเค็ม (ppt)	15.00±0.00 ^a	14.00±2.08 ^a	15.00±0.00 ^a	14.00±1.53 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แสดงในข้อมูลตามแนวนอนของตารางที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

5.2 อภิปรายผล

5.2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ

เชื้อแอกติโนมัยซีท *S. indiaensis*

เชื้อแอกติโนมัยซีท

S. indiaensis ที่ใช้ในการทดลองมีลักษณะของโคโลนีเชื้อ คือ โคโลนีเป็นวงกลมขอบขรุขระ ผิวหน้าโคโลนีมีลักษณะนูน และขรุขระ รวมทั้งสีสปอร์มีสีขาว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของรัตนกรณศรีวิบูลย์ และ จันทร์จรัส วัฒนะโชติ (2558) ที่พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยซีทแยกได้จากดินตะกอนในป่าชายเลน (ในความเค็ม 17 ppt) โคโลนีอยู่แบบเดี่ยวเป็นโคโลนีเดี่ยวและมีการสร้างเส้นใย (hyphae) เกิดเส้นใยทั้งแบบใต้ผิวอาหาร (Aerial mycelium) และแบบเหนือผิวอาหาร (Substrate mycelium) โดยส่วนใหญ่สีของกลุ่มสปอร์ (Spore) จะมีลักษณะของสี Substrate mycelium มีสีเหลือง น้ำตาลอ่อนและน้ำตาลเข้ม ส่วน Aerial mycelium มีสีขาว เหลือง และครีม เส้นใยเหนือผิวอาหารแห้ง และมีลักษณะคล้ายขุยผง และยังสอดคล้องกับรายงานของ Rathore et al. (2019) ที่ได้แยกแอกติโนมัยซีททะเล

ที่ Kachhighadi รัฐ Gujarat ประเทศอินเดีย

พบว่า ลักษณะโคโลนีเป็นจุดเส้นใย ซึ่งมีผิวหน้าโคโลนีลักษณะเรียบ นูน และมีสีโคโลนีเป็นสีขาว สีเทา หรือสีเหลืองอ่อน เช่นกัน และจากการย้อมสีแกรมเชื้อแอกติโนมัยซีท *S. indiaensis* พบว่ารูปร่างของเชื้อเป็นเส้นสาย แตกแขนง ส่วนใหญ่พบว่า อยู่รวมกลุ่มกัน และเชือดูดสีน้ำเงินม่วงจัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก สอดคล้องกับงานวิจัยของ Malviya et al. (2013) ที่ศึกษาแอกติโนมัยซีทโดยย้อมสีแกรมและส่องตรวจสอบผ่านไต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า แอกติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวก สปอร์จัดเรียงเป็นเส้นเดี่ยวหรือเป็นโซ่ยาว และมีเส้นใยที่แตกแขนงจำนวนมากเป็นวงรี

5.2.2 การเติบโตของเชื้อ

แอกติโนมัยซีท *S. indiaensis*

การเติบโตของเชื้อแอกติ

โนมัยซีทที่ตรวจสอบโดยการวัดน้ำหนักเปียก พบว่าเชื้อที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลว ISP2 เติบโตได้มากกว่าเชื้อที่เลี้ยงด้วยน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งขาวอาจเป็นเพราะสารอาหารในน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งขาวไม่เพียงพอสำหรับเชื้อแอกติโนมัยซีท เชื้อที่มีการเติบโตในอาหาร

เหลว ISP2 มีน้ำหนักเปียกมากที่สุด 19.60 g/L ในขณะที่ เชื้อที่เติบโตในน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งขามีน้ำหนักเปียกสูงสุดเพียง 6.93 g/L และเมื่อตรวจวัดน้ำปริมาณหนักแห้งของเชื้อแอสคิตินมัยซีทที่เลี้ยงด้วยน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งขาพบว่า เชื้อมีการเติบโตได้อย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 0-4 จาก 0.10 g/L เพิ่มขึ้นถึง 0.24 g/L และปริมาณน้ำหนักแห้งสูงสุดเท่ากับ 0.29 g/L ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลการศึกษาเชื้อแอสคิตินมัยซีทสามารถเติบโตได้ทั้งในอาหารเหลว ISP2 และในน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งขาว และการเตรียมเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองต่อไปนั้นควรเตรียมเลี้ยงเชื้อให้อยู่ในช่วงไม่เกิน 4 วัน เพราะเชื้ออยู่ในช่วงที่เติบโตดี โดยเป็นระยะการเติบโตแบบทวีคูณ (Log phase) ทั้งนี้ Kurniawati et al. (2016) รายงานว่า แอสคิตินมัยซีทจะไม่สร้างเอนไซม์ Hydrolysis ในช่วงที่เซลล์อยู่ในระยะพัก (Lag phase) แต่จะสร้างเอนไซม์ได้ดีในช่วงที่เซลล์เติบโตในระยะทวีคูณ ดังนั้นเชื้อแอสคิตินมัยซีท *S. indicaensis* ที่เป็นหัวเชื้อในการใช้งานด้านต่างๆ เซลล์ควรเติบโตอยู่ในระยะทวีคูณ และในงานวิจัยนี้ได้เลี้ยงแอสคิตินมัยซีทเป็นเวลา 4 วัน จึงนำไปใช้เติมลงในชุดการทดลองลำดับต่อไป

5.2.3 ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียบ่อเลี้ยงกุ้งขาวของแอสคิตินมัยซีท

การบำบัด COD ในน้ำเสียบ่อเลี้ยงกุ้งขาว แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อ *S. indicaensis* ปริมาตร 10% มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งขาวได้ โดยตรวจไม่พบ COD เหลืออยู่ในถังทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hozzein et al. (2012) ที่ศึกษาประสิทธิภาพแอสคิตินมัยซีทสายพันธุ์ C11 ในการบำบัดน้ำพบว่า สามารถลดความเข้มข้นของบีโอดีหรือความต้องการออกซิเจนทางชีวภาพ (Biological oxygen demand, BOD) ได้จาก 283 mg/L เหลือ 13 mg/L

ซึ่งหมายถึงมีประสิทธิภาพการบำบัด BOD ได้ 95.4% และสามารถบำบัด COD ได้จากความเข้มข้น 498 mg/L เหลือ 76 mg/L แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการบำบัด 84.7% ส่วนในการบำบัด TSS ประสิทธิภาพในการบำบัดสูงสุดด้วยสายพันธุ์ B21 และสายพันธุ์ C11 สามารถบำบัดได้ 95.6% และ 93.7% ตามลำดับ การบำบัดด้วยเชื้อธรรมชาติที่ไม่มีการเติมเชื้อ *S. indicaensis* สามารถลด COD ได้สูงสุด 93% ซึ่งอาจจะเกิดจากการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติที่สามารถบำบัด COD ได้ ดังนั้นผลจากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าการทำงานในการบำบัด COD ในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งน่าจะเกิดจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ และเมื่อมีการเติมเชื้อ *S. indicaensis* เพิ่มลงระบบบำบัดก็สามารถช่วยให้ประสิทธิภาพการบำบัด COD เพิ่มขึ้นอีกจนสามารถบำบัด COD ออกจากระบบได้เร็วกว่าชุดควบคุม อย่างไรก็ตามเนื่องจากน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำที่มีความเค็ม ซึ่งมี Cl^- เป็นองค์ประกอบ และ Cl^- นี้จะรบกวนปฏิกิริยาการตรวจวัดค่า COD เช่น หากน้ำเสียมีค่า COD เท่ากับ 212 mg/L และมี 100 mg Cl^- /L ค่าเฉลี่ย COD ที่ตรวจวัดได้จะมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานประมาณ ± 20 mg/L (AHPA, 1992)

ปริมาณสารอินทรีย์ไนโตรเจนแสดงอยู่ในรูปของแอมโมเนีย ไนไตรท์และไนเตรทพบว่า ปริมาณของแอมโมเนียทั้ง 2 ชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงและหมดจากระบบทดลอง แสดงให้เห็นว่าชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อ *S. indicaensis* สามารถบำบัดแอมโมเนียได้หมด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Madkour et al., (2019) ที่กล่าวว่าแอสคิตินมัยซีท *Streptomyces* มีประสิทธิภาพในการบำบัดแอมโมเนียสูงสุด 77% โดยสามารถบำบัดแอมโมเนีย 138 mg-N/L เหลือเพียง 31 mg-N/L และในชุดการควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อ

S. indiaensis พบว่าสามารถบำบัดได้หมด เช่นเดียวกัน อาจเกิดจากการจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่สามารถบำบัดแอมโมเนียได้ เช่น แอมโมเนียออกซิไดซิงแบคทีเรีย (ammonia oxidizing bacteria) เปลี่ยนรูปแอมโมเนียไปเป็น ไนโตรที่ ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน (nitrification) ที่เปลี่ยนสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียให้เป็นไนโตรที่ และสะสมอยู่ในรูปของไนเตรต (Antileo et al., 2003) และผลการทดลองครั้งนี้ สอดคล้องกับผลของงานวิจัยนี้ที่พบว่าปริมาณไนโตรที่เพิ่มขึ้นสูงจากวันแรก จนกระทั่งในวันสุดท้ายของการทดลองมีไนโตรที่ 1.38 mg/L และ 2.15 mg-N/L ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจาก การเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันที่ไม่สมบูรณ์ (incomplete nitrification) ซึ่งเมื่อพิจารณาจาก ข้อมูลของปริมาณ DO ก็พบว่ามีความเหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน แต่ปริมาณอัลคาไลน์ตี้ มีค่าต่ำ (ตารางที่ 2) ซึ่งค่าอัลคาไลน์ตี้ที่เหมาะสม ควรมีค่า 75-150 mg CaCO₃/L (Li & Irvin, 2007) ดังนั้นจึงส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันที่ไม่สมบูรณ์และมีไนโตรที่สะสม ซึ่งปริมาณไนโตรที่ที่สะสมในถังบำบัดทั้งในชุดควบคุมและชุดทดลองอยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อกุ้งขาว โดย Gross et al. (2004) รายงานว่าปริมาณไนโตรที่ที่ปลอดภัยในบ่อเลี้ยงกุ้งขาว ต้องต่ำกว่า 0.45 mg-N/L จึงเห็นได้ว่า น้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วจากการทดลองนี้ จำเป็นต้องมีการบำบัดไนโตรที่ก่อนนำไปใช้เลี้ยงกุ้ง รอบต่อไป ส่วนปริมาณของไนเตรตทั้งในชุดการทดลองและชุดการควบคุม จากในวันแรกถึงวันที่ 21 ของการทดลอง ก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับ ไนโตรที่ ในวันสุดท้ายของการทดลอง พบไนเตรตสะสมในชุดควบคุมและชุดทดลอง เท่ากับ 3.92 mg-N/L และ 3.65 mg-N/L ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม ปริมาณไนเตรตในน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้ว ยังอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำ และอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่องกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง และคู่มือการปฏิบัติทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ดี (จีเอพี) สำหรับฟาร์มเลี้ยงกุ้งทะเล

จากตารางที่ 3 เห็นได้ว่า ชุดควบคุมมีปริมาณ COD คงเหลือหลังจากที่ทำการทดลองบำบัด สูงกว่าค่าเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม (2539) เรื่องกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม แต่ปริมาณ COD ที่เหลือในชุดทดลองมีค่าผ่านเกณฑ์มาตรฐานดังกล่าว ผลการทดลองแสดงให้เห็นชัดเจนว่าการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาวสามารถช่วยบำบัด COD ให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานได้ อีกทั้งยังพบว่าปริมาณแอมโมเนีย อัลคาไลน์ตี้ TSS มีปริมาณลดลงจนผ่านเกณฑ์มาตรฐานของประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (2547) เรื่องกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง และประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2558) เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : แนวปฏิบัติในการใช้มาตรฐานสินค้าเกษตร การปฏิบัติทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ดีสำหรับฟาร์มเลี้ยงกุ้งทะเล อย่างไรก็ตาม น้ำที่ผ่านการบำบัดจากชุดควบคุมและชุดการทดลอง มีปริมาณ TDS ไนโตรเจนทั้งหมด และไนโตรที่เพิ่มขึ้น และมีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐาน ในส่วนของปริมาณ TOC ไม่สามารถเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานเนื่องจากในงานวิจัยนี้ ไม่ได้ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่เหมือนกับที่กำหนดไว้ในตามวิธีการวิเคราะห์มาตรฐาน

ตารางที่ 3 คุณภาพน้ำที่ผ่านการบำบัด และคุณภาพน้ำตามเกณฑ์มาตรฐาน

พารามิเตอร์	เกณฑ์มาตรฐาน	ชุดควบคุม	ชุดทดลอง
COD (mg/L)*	120.00	144.00	0.00
TDS (g/L)*	3.00	8.02	6.94
ไนโตรเจนทั้งหมด (mg-N/L)**	4.00	8.53	16.62
แอมโมเนีย (mg-N/L)**	1.10	0.00	0.00
ไนไตรท์ (mg-N/L)***	0.10	1.38	2.15
ไนเตรท (mg-N/L)***	60	3.92	3.65
TSS (g/L)**	70.00	0.08	0.05
อัลคาไลน์ตี (mg/L CaCO ₃)***	>100	28.33	28.33

หมายเหตุ: * ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม (2539) เรื่องกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม

** ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (2547) เรื่องกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

*** ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2558) เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : แนวปฏิบัติในการใช้มาตรฐานสินค้าเกษตร การปฏิบัติทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ดีสำหรับฟาร์มเลี้ยงกุ้งทะเล

6. ข้อเสนอแนะ

6.1 การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อทราบถึงความเป็นไปได้ในการใช้เชื้อแอคติโนมัยซีททะเล *S. indicaensis* ในการบำบัดปริมาณ COD ในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้ง จึงได้ทดลองบำบัดน้ำเพียง 21 วัน ในอนาคต สามารถทดลองบำบัดด้วยระยะเวลาที่นานขึ้นเพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ COD และคุณภาพน้ำบางประการทั้งชุดที่มีการเติมและไม่เติมเชื้อแอคติโนมัยซีท

6.2 ในการศึกษาครั้งต่อไปควรปรับเปลี่ยนชนิดน้ำเสียที่มีความเค็ม เช่น อาจใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการแปรรูปอาหารทะเล หรือโรงงานน้ำปลา ซึ่งมีปริมาณซีโอติสูง ทั้งนี้เพื่อจะได้ทราบถึงแนวทางการใช้ประโยชน์จากเชื้อแอคติโนมัยซีททะเล *S. indicaensis* ในการบำบัดน้ำเสียประเภทที่เหมาะสม

6.3 น้ำที่ผ่านการบำบัดแล้ว มีปริมาณ

ไนไตรท์เกินค่ามาตรฐาน และอยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อกุ้งขาว หากต้องการนำน้ำที่ผ่านการบำบัดกลับไปใช้ในการเลี้ยงกุ้งอีกครั้ง ควรบำบัดไนไตรท์ก่อน เช่น ใช้วิธีการบำบัดด้วยกระบวนการไนตริฟิเคชัน ซึ่งจำเป็นต้องเติมหรือปรับอัลคาไลน์ตีให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมในระหว่างดำเนินการบำบัด

7. สรุป

ลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยซีททะเล *S. indicaensis* ที่ใช้ในการทดลอง มีลักษณะเป็นวงกลมขอบขรุขระ มีสีสปอร์เป็นสีขาว ผิวหน้ามีลักษณะนูนและขรุขระ เมื่อตรวจสอบได้กลิ่นจุลทรรศน์พบว่าเซลล์เป็นเส้นสายและอยู่รวมกลุ่มกัน และเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งแอคติโนมัยซีทเติบโตได้ในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว แต่เติบโตไม่ดี

เท่ากับการเลี้ยงด้วยอาหารเหลว ISP2 ทั้งนี้เชื้อแอคติโนมัยซีทที่เลี้ยงในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว มีการเติบโตในช่วงทวีคูณในช่วงวันที่ 0-4 ของการเลี้ยง ดังนั้นจึงควรเลี้ยงแอคติโนมัยซีท *S. Indiaensis* เป็นเวลา 4 วัน แล้วนำมาใช้เติมลงในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งขาว เพื่อใช้บำบัด COD ในน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งขาว การที่ไม่เติมและเติมเชื้อแอคติโนมัยซีท (ปริมาตร 10% ของปริมาตรทั้งหมด) สามารถลดปริมาณ COD ในบ่อเลี้ยงกุ้งได้เช่นเดียวกัน แต่การเติมเชื้อแอคติโนมัยซีทช่วยลดค่า COD ให้อยู่ระดับเกณฑ์มาตรฐานได้ เมื่อใช้เวลาบำบัดน้ำ เป็นเวลา 21 วัน อย่างไรก็ตาม หากต้องการนำน้ำที่ผ่านการบำบัดไปใช้ในการเลี้ยงกุ้งอีกครั้ง หรือปลดปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ จำเป็นต้องมีการบำบัดไนโตรเจนก่อน เพราะน้ำดังกล่าวมีปริมาณไนโตรเจนในระดับที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ

8. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อนุเคราะห์ให้เชื้อแอคติโนมัยซีท *S. indiaensis* เพื่อใช้ในการทดลอง และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี ที่อำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

9. เอกสารอ้างอิง

1. ณิช สิริพนธ์ธนา, มะลิวัลย์ คุตะโค, พัฒน ศิลปชัย และ จันทร์จรัส วัฒนะโชติ. (2562). ประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีททะเลในการลดค่าซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์แปรงมันสำปะหลัง. *แก่นเกษตร*, 47 (ฉบับพิเศษ 1), 1247-1252.
2. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2558). ราชกิจจานุเบกษา เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : แนวปฏิบัติในการใช้มาตรฐานสินค้าเกษตร การปฏิบัติทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ดีสำหรับฟาร์มเลี้ยงกุ้งทะเล ตามพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. 2551. เล่มที่ 132 ตอนพิเศษ 179ง.
3. ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (2547). ราชกิจจานุเบกษา เรื่องกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. เล่มที่ 121 ตอนพิเศษที่ 49.
4. ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. (2539). ราชกิจจานุเบกษา เรื่อง กำหนดประเภทของโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม เป็นแหล่งกำเนิดมลพิษที่จะต้องถูกควบคุมการปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะหรือออกสู่สิ่งแวดล้อม. เล่มที่ 113 ตอนที่ 13ง.
5. รัตนภรณ์ ศรีวิบูลย์ และ จันทร์จรัส วัฒนะโชติ. (2558). การพัฒนาการผลิตสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากแอคติโนมัยซีทและการผลิตเซลล์ปริมาณมาก. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ชลบุรี: มหาวิทยาลัยบูรพา.
6. Antileo, A., Roeckel, M., & Wiesmann, U. (2003). High nitrite buildup during nitrification in a rotating disk reactor. *Water Environment Research*, 75(2), 151-162.

7. APHA. (1992). *Standard method for the examination of water and wastewater* (18th ed.). Washington, D.C.: America Public Health Association.
8. Bezak-Mazur, E., Stoińska, R., Rajca, J., & Latasiewicz, E. (2017). Effect of the presence of *Actinomyces* in the activated sludge on the quality of the treated wastewater. *E3S Web of Conferences*, 17, 00007.
9. Biao, X., Tingyou, L., Xipei, W., & Yi, Q. (2009). Variation in the water quality of organic and conventional shrimp ponds in a coastal environment from Eastern China. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15(1), 47-59.
10. Bower, C. E., & Holm-Hansen, T. (1980). A salicylate-hypochlorite method for determining ammonia in seawater. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(5), 794-798.
11. EPA. (1978). *Method 410.3: Chemical oxygen demand (titrimetric, high level for saline waters) by titration*. United States: United States Environmental Protection Agency.
12. Grasshoff, K., Kremling, K., & Ehrhardt, M. (1999). *Methods of seawater analysis* (3rd ed.). Weinheim, New York, Rochester, Brisbane, Singapore, Toronto: John Wiley & Sons.
13. Gross, A., Abutbu, S., & Zilberg, D. (2004). Acute and chronic effects of nitrite on white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in low-salinity brackish water. *Journal of The World Aquaculture Society*, 35(3), 315-321.
14. Hozzein, W. N., Ahmed, M. B., & Tawab, M. S. A. (2012). Efficiency of some actinomycete isolates in biological treatment and removal of heavy metals from wastewater. *African Journal of Biotechnology*, 11(5), 1163-1168.
15. Kumar, V., Bharti, A., Negi, Y. K., Gusain, O., Pandey, P., & Bisht, G. S. (2012). Screening of actinomycetes from earthworm castings for their antimicrobial activity and industrial enzymes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 205-214.
16. Kurniawati, N., Meryandini, A., & Sunarti, T. C. (2016). Introduction of actinomycetes starter on coffee fruits fermentation to enhance quality of coffee pulp. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(3), 188-195.

17. Li, B. & Irvin, S. (2007). The comparison of alkalinity and ORP as indicators for nitrification and denitrification in a sequencing batch reactor (SBR). *Biochemical Engineering Journal*, 34(3), 248-255.
18. Madkour, A. G., Hamed, M. M., & Dar, M. A. (2019). Removal of ammonia and orthophosphate from domestic wastewater using marine actinomycetes. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 23(3), 455-465.
19. Malviya, M. K., Pandey, A., Sharma, A., & Tiwari, S. C. (2013). Characterization and identification of actinomycetes isolated from 'fired plots' under shifting cultivation in northeast Himalaya, India. *Annals of microbiology*, 63(2), 561-569.
20. Rathore, D. S., Sheikh, M., Gohel, S., & Singh, S. P. (2019). Isolation strategies, abundance and characteristics of the marine actinomycetes of Kachhighadi, Gujarat, India. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 61(1), 71-78.
21. Santamaría, R. I., Martínez-Carrasco, A., Sánchez de la Nieta, R., Torres-Vila, L. M., Bonal, R., Martín, J., ... Díaz, M. (2020). Characterization of actinomycetes strains isolated from the intestinal tract and feces of the larvae of the longhorn beetle *Cerambyx welensii*. *Microorganisms*, 8(12), 2013.
22. Shirling, E.B., & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of streptomyces species. *International Journal of systematic bacteriology*, 16(3), 313-340.
23. Strickland, J. D. H., & Parsons, T. R. (1972). *A practical handbook of seawater analysis*. Fisheries research board of Canada. Ottawa: The Alger Press.
24. Team, R. C. (2020). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Copenhagen: European Environment Agency.