

บทที่ 2

การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

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

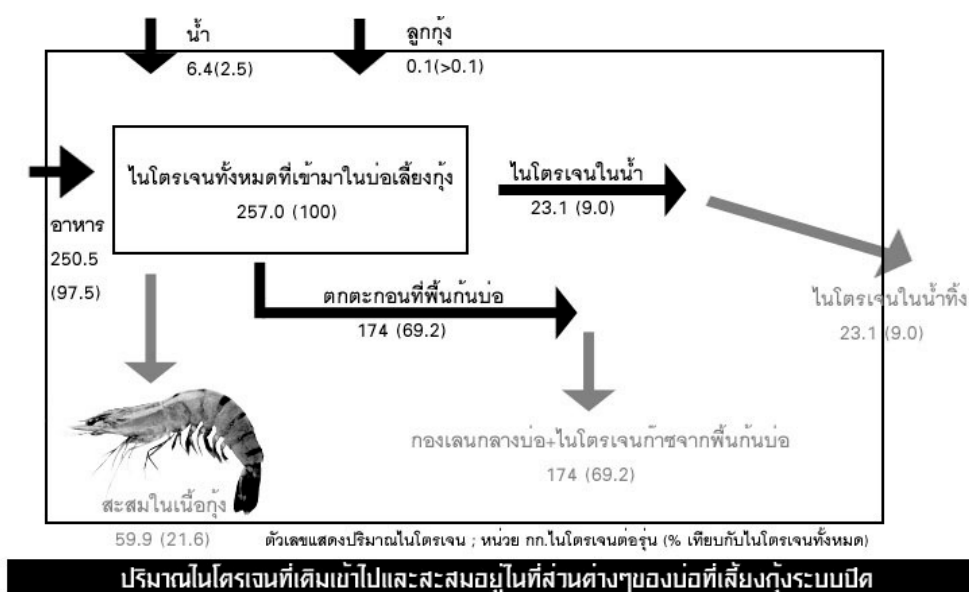
ตารางที่ 2.1 ปริมาณการส่งออกกุ้งแช่เย็นแช่แข็งของไทยในช่วงปี พ.ศ. 2546-2550

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

จากตารางที่ 2.1 แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของประเทศไทยในการผลิตกุ้งเพื่อการส่งออกที่มีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับของตลาดโลกซึ่งปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพกุ้งก็คือการควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง

2.1 คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง

ไนโตรเจนเกือบทั้งหมดที่เข้าสู่บ่อเลี้ยงกุ้งระบบปิดมาจากอาหารที่ให้ออกิน (พุทธ ส่องแสงจินดา, 2549) ซึ่งกุ้งสามารถเก็บไนโตรเจนไว้ในเนื้อกุ้งได้ประมาณร้อยละ 21.8 ส่วนที่เหลือประมาณร้อยละ 80 จะตกค้างอยู่ในบ่อในรูปของเศษอาหารและสิ่งขับถ่ายของกุ้งที่บริเวณก้นบ่อ โดยไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในบ่อจะเปลี่ยนแปลงจากรูปสารอินทรีย์ในไนโตรเจนซึ่งเป็นอาหารของแบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กไปอยู่ในรูปแอมโมเนียและไนไตรต์ที่เป็นพิษต่อกุ้ง โดยสารประกอบไนโตรเจนรูปต่างๆ จะเกิดการหมุนเวียนไปในระบบนิเวศของบ่อเลี้ยงกุ้งซึ่งบางส่วนจะถูกเปลี่ยนเป็นแก๊สไนโตรเจน ดังแสดงในภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ปริมาณไนโตรเจนที่เติมเข้าไปและสะสมอยู่ในส่วนต่างๆ ของบ่อเลี้ยงกุ้งระบบปิด (พุทธ ส่องแสงจินดา, 2549)

เป็นที่ทราบกันดีว่าบ่อไร้ดินกลางแจ้งเป็นบ่อที่ได้รับความนิยมสำหรับการเลี้ยงกุ้งแบบความหนาแน่นสูง ซึ่งลักษณะของบ่อเป็นบ่อซีเมนต์หรือบ่อดินที่มีการปูพื้นด้วยผ้าพลาสติก ระบบนี้จะไม่มีการกวนดินก้นบ่อซึ่งจะพบปัญหาการสะสมของไนไตรต์เกิดขึ้นในระหว่างการเลี้ยงกุ้งเนื่องจากเกิดกระบวนการไนตริฟิเคชันที่ไม่สมบูรณ์ภายในบ่อ (มะลิวัลย์ คุณะ โค และคณะ, 2550) แต่การได้รับแสงตามธรรมชาติจะทำให้เกิดแพลงก์ตอนพืชซึ่งสามารถช่วยควบคุมคุณภาพน้ำภายในบ่อได้ โดยแพลงก์ตอนพืชจะใช้สารอนินทรีย์ไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตทั้งในรูปของแอมโมเนียและไนเตรต แต่เมื่อแพลงก์ตอนมีจำนวนมากขึ้นจะทำให้เกิดการบดบังแสงกันเองและตายในที่สุด

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่า มีการศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวางในการบำบัดน้ำเพื่อกำจัดของเสียไนโตรเจนดังกล่าว ตัวอย่างเช่น การใช้สาหร่ายเซลล์เดียวในการกำจัดของเสียไนโตรเจน โดยสาหร่ายเซลล์เดียวนี้อาจใช้ของเสียดังกล่าวเป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโต ดังนั้นการแยกสาหร่ายเซลล์เดียวออกจากระบบน้ำเลี้ยงกุ้งจึงเป็นการกำจัดของเสียไนโตรเจนออกจากระบบด้วยโดยข้อดีของการใช้สาหร่ายเซลล์เดียวคือกระบวนการไม่ยุ่งยากซับซ้อน แต่ข้อเสียก็คือสาหร่ายเซลล์เดียวจะมีขนาดเล็กมากซึ่งยากแก่การกำจัดออกจากระบบน้ำด้วยวิธีการกรองทั่วไป และหาก

ในระบบมีสาหร่ายมากเกินไปจะทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง อันเนื่องมาจากการหายใจของสาหร่ายในเวลากลางคืน และเมื่อสาหร่ายตายลงก็จะย่อยสลายและปลดปล่อยสารประกอบไนโตรเจนกลับคืนมาอยู่ในน้ำ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอีกมากมายที่พยายามศึกษาถึงวิธีการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนออกจากน้ำด้วยวิธีการอื่นๆ เช่น การใช้สารช่วยในการตกตะกอนชนิดต่างๆ (Pan et al., 2006) และการใช้แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายของเสียในโตรเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ (Liu et al., 2000)

2.2 การบำบัดไนโตรเจนทางชีวภาพ

การบำบัดสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนในน้ำซึ่งสามารถทำได้โดยใช้วิธีการทางชีวภาพด้วยกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน ซึ่งอาศัยการทำงานของแบคทีเรีย เชื้อราและแบคทีเรียเส้นใยบางกลุ่ม โดยจุลินทรีย์เหล่านี้จะเปลี่ยนรูปสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียในโตรเจนที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำมาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องกำจัดแอมโมเนียโดยผ่านกระบวนการไนตริฟิเคชันซึ่งไนตริฟายอิงแบคทีเรียจะออกซิไดซ์แอมโมเนียให้เป็นไนไตรต์และไนเตรต ตามลำดับ ในสถานะที่มีการเติมออกซิเจน จากนั้นจะเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันต่อโดยการทำงานของดีไนตริฟายอิงแบคทีเรีย ซึ่งไนเตรตที่เกิดขึ้นจะถูกลดรูปให้เป็นก๊าซไนโตรเจนในสถานะที่ไร้ออกซิเจน โดยรายละเอียดสำหรับแต่ละกระบวนการที่เกิดขึ้น มีดังนี้

2.2.1 กระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification)

เป็นกระบวนการเปลี่ยนรูปสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนพวกเศษอาหารที่เหลือ เชลล์สัตว์ที่ตายแล้ว ซึ่งอยู่ในรูปโปรตีน โพลีเปปไทด์ และกรดอะมิโน ไปอยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์โดยแบคทีเรียที่มีบทบาทในขั้นตอนนี้ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเฮเทอโรโทรฟ (Heterotroph) ซึ่งสามารถพบได้ทั้งในชั้นน้ำและดินตะกอนก้นบ่อ แอมโมนิฟิเคชันสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งสถานะที่มีออกซิเจนและสถานะไร้ออกซิเจน แต่เนื่องจากสารอินทรีย์และแบคทีเรียมักพบมากในดินตะกอน การผลิตแอมโมเนียส่วนใหญ่จึงเกิดขึ้นที่ผิวชั้นดินตะกอนใต้น้ำ ส่วนแอมโมเนียที่เกิดในชั้นน้ำจะถูกพืชน้ำดูดซึมไปใช้เป็นอาหาร และบางส่วนจะถูกแบคทีเรียเปลี่ยนเป็นไนเตรตด้วยกระบวนการไนตริฟิเคชัน

สำหรับกระบวนการแอมโมนิฟิเคชันในบ่อเลี้ยงกุ้งจะเกิดขึ้นเมื่อมีการให้อาหารกับกุ้ง โดยกุ้งที่เลี้ยงในบ่อจะต้องได้รับออกซิเจนในปริมาณที่พอเพียง โดยในน้ำควรมีปริมาณออกซิเจนมากกว่า 4 มก.ต่อลิตร (ชลอ ลิมสุวรรณ, 2535) เพื่อให้กุ้งสามารถสร้างพลังงานสำหรับการ

ดำรงชีวิตและมีการเจริญเติบโตที่ดี ซึ่งผลจากการเผาผลาญโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตของกุ้งจะมีผลทำให้เกิดแอมโมเนียซึ่งจะเป็นพิษกับสิ่งมีชีวิต ดังนั้นกุ้งจึงต้องขับแอมโมเนียออกมานอกร่างกาย

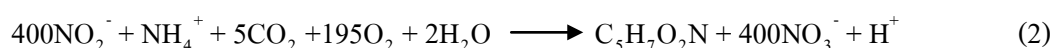
2.2.2 กระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification)

เป็นกระบวนการชีวภาพที่เปลี่ยนแอมโมเนียหรือแอมโมเนียมไอออนซึ่งมีความเป็นพิษสูงต่อสัตว์น้ำให้เป็นไนเตรตภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน โดยอาศัยการทำงานของแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มออกซิโทโทรฟที่ใช้สารอนินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์หรือไบคาร์บอเนตและได้พลังงานออกมา โดยปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันมี 2 กระบวนการย่อยดังนี้

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



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



จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในกระบวนการไนตริฟิเคชัน ได้แก่ ไนตริฟายอิงแบคทีเรียหรือไนตริฟายเออร์ (Nitrifying bacteria or Nitrifier) ซึ่งพบได้ทั้งในดิน น้ำจืด น้ำทะเล หรือน้ำเสีย แบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญเติบโตได้โดยใช้ออกซิเจนในการหายใจ แหล่งคาร์บอนได้จากสารอนินทรีย์ คาร์บอนไดออกไซด์หรือไบคาร์บอเนต และใช้การออกซิไดซ์สารประกอบไนโตรเจนให้เป็นพลังงาน เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญเติบโตช้า โดยเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 °ซ และพีเอชในช่วง 7.5-8.0 โดยจะหยุดการเจริญเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 5 °ซ หรือสูงกว่า 42 °ซ ไนตริฟายอิงแบคทีเรียสามารถแบ่งตามการทำงานออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ

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

AOB เป็นแบคทีเรียเคมีลิโธโทรฟชนิดเด็ดขาด (Obligate chemolithotroph) แต่บางครั้ง AOB สามารถใช้สารประกอบอินทรีย์ได้ ปัจจุบันพบว่า AOB บางชนิดเมื่ออยู่ในสภาวะออกซิเจนต่ำ สามารถใช้ในไนไตรต์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนเกิดเป็นไนตรัสออกไซด์ (N_2O) หรือไนตริกออกไซด์ (NO) ตัวอย่างเช่น *Nitrosomonas eutropha* และ *Nitrosomonas europaea* สามารถทำให้เกิดได้ทั้งปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันและดีไนตริฟิเคชันเมื่อเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด โดยสามารถออกซิไดซ์แอมโมเนียให้เป็นไนไตรต์ได้ภายใต้สภาวะแอน็อกซิก (Anoxic)

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

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

2.2.3 กระบวนการดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification)

กระบวนการดีไนตริฟิเคชันเป็นกระบวนการรีดิวซ์ไนเตรต ไนไตรต์ให้อยู่ในรูปของก๊าซไนโตรเจนหรือไนตรัสออกไซด์ออกสู่บรรยากาศ โดยอาศัยการทำงานของดีไนตริฟิอิงแบคทีเรีย (Denitrifying bacteria) ซึ่งประกอบด้วย *Pseudomonas* *Achromobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*

และ *Thiobacillus denitrificans* เนื่องจากแบคทีเรียดังกล่าวต้องการสารอินทรีย์คาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้ในเทรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ดังนั้นจึงต้องมีการเติมสารอินทรีย์คาร์บอนลงสู่ระบบเนื่องจากความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนในน้ำเสียอาจไม่เพียงพอสำหรับการเกิดกระบวนการไนตริฟิเคชัน และแบคทีเรียจะต้องใช้คาร์บอนนี้ไปลดรูปออกซิเจนของไนเทรตให้เป็นไนไตรต์ (NO_2) ก๊าซไนตริกออกไซด์ (NO) ก๊าซไนตรัสออกไซด์ (N_2O) จนถึงก๊าซไนโตรเจน (N_2) โดยสารอินทรีย์คาร์บอนที่มีการใช้กันโดยทั่วไป ได้แก่ เมธานอล โซเดียมอะซิเตท อาหารกุ้ง หรือกากน้ำตาล เป็นต้น

2.3 การควบคุมคุณภาพน้ำโดยตัวกรองชีวภาพ

การพัฒนากระบวนการบำบัดน้ำเสียไนตริฟิเคชัน (Nitrification biofilter) มีการศึกษากันมากในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยมีการใช้วัสดุตัวกรอง (Filtering media) เป็นที่ยึดเกาะของไนตริฟิอิงแบคทีเรียซึ่งเรียกว่า การตรึง (Immobilization) โดยการยึดเกาะจนเกิดเป็นชั้นเรียกว่า ฟิล์มชีวภาพ (Biofilm) ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ไหลผ่านตัวกรองชีวภาพได้ (Leonard et al., 2000) ซึ่งมีรูปแบบของระบบที่หลากหลาย เช่น ตัวกรองชีวภาพแบบใต้น้ำ (Submerged filters) แบบโปรยกรอง (Trickling filter) แบบตัวกรองหมุน (Rotating media filters) และแบบฟลูอิดไคส์ (Fluidized bed) เป็นต้น สำหรับกลไกการบำบัดน้ำเสียด้วยตัวกรองชีวภาพจะเกิดขึ้นโดยสารอินทรีย์ที่ละลายในน้ำเสียหรือสารอินทรีย์แขวนลอยจะถูกย่อยสลายจนได้โมเลกุลเล็กๆ บริเวณผิวฟิล์มแบคทีเรีย จากนั้นน้ำเสียจะไหลผ่านชั้นฟิล์มแบคทีเรียด้วยวิธีการแพร่โมเลกุล (Molecular Diffusion) แล้วถูกแบคทีเรียเปลี่ยนรูปหรือย่อยสลายต่อไป

การเจริญเติบโตของแบคทีเรียเป็นฟิล์มชีวภาพซึ่งอยู่ที่ผิวของตัวกรองจะเกิดขึ้นจากการยึดเกาะของแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ (1) กลุ่มเฮเทอโรโทรฟ ซึ่งใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งของคาร์บอนและแหล่งพลังงานโดยจะใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ซึ่งปริมาณออกซิเจนที่ใช้จะอยู่ในรูปของค่าบีโอดี และ (2) กลุ่มออโตโทรฟ ซึ่งใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งพลังงานและไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบในการสร้างเซลล์ ทำให้เกิดกระบวนการไนตริฟิเคชันขึ้นบนตัวกรองชีวภาพ แอมโมเนียจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรต์โดยแบคทีเรียกลุ่มแอมโมเนียออกซิไดซิงแบคทีเรียและไนไตรต์จะถูกเปลี่ยนเป็นไนเทรตโดยแบคทีเรียกลุ่มไนไตรต์ออกซิไดซิงแบคทีเรีย ซึ่งสารประกอบไนเทรตที่เกิดขึ้นจะมีความเป็นพิษน้อยกว่าแอมโมเนียและไนไตรต์

ระบบบำบัดประเภทนี้โดยทั่วไปถูกออกแบบสำหรับกระบวนการไนตริฟิเคชัน ระบบบำบัดจะถูกออกแบบให้แบคทีเรียสามารถยึดเกาะกับตัวกรองชีวภาพ (Biofilter) ตัวอย่างของวัสดุตัวกรอง

ชีวภาพที่ใช้ในปัจจุบันได้แก่ หิน ทราย หรือเปลือกหอย จะมีราคาถูก แต่จะมีปัญหาเรื่องน้ำหนักที่มากหรือการอุดตันของตัวกรอง เนื่องจากช่องว่างระหว่างตัวกรองมีน้อย ส่วนวัสดุกรองที่ทำจากพลาสติก เช่น พิวซี Polyethylene หรือ Polypropylene ซึ่งจะมีความคงทน มีปัญหาการอุดตันน้อย และไม่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบในน้ำ อย่างไรก็ตามวัสดุกรองที่ทำจากพลาสติกมักมีราคาแพง และย่อยสลายได้ยากในธรรมชาติ คุณลักษณะที่สำคัญของวัสดุตัวกรองชีวภาพคือต้องมีพื้นที่ผิวสูง มีความพรุนหรือขรุขระมาก เพื่อให้ไนตริฟายอิงแบคทีเรียมายึดเกาะและเติบโตในปริมาณที่เพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งทำให้สามารถแก้ไขปัญหาเกี่ยวกับอัตราการเติบโตที่จำกัดของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้

2.4 สารประกอบไนโตรเจน

2.4.1 แอมโมเนีย

แอมโมเนียที่พบในน้ำมี 2 รูป คือ แอมโมเนียมไอออน (Ammonium ion, NH_4^+) และ แอมโมเนียที่ไม่มีไอออน (Un-ionized ammonia, NH_3) แอมโมเนียมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ โดยพิษของแอมโมเนียจะมีผลต่อการเจริญเติบโต ระบบประสาท สมดุลแร่ธาตุ กระบวนการเมตาบอลิซึม และอัตราการรอดของกุ้ง (Heath, 1995) ซึ่งการเกิดแอมโมเนียทั้ง 2 รูปแบบขึ้นอยู่กับความสมดุลของอุณหภูมิและค่าพีเอชของน้ำ โดยในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำปริมาณแอมโมเนียรวม (Total ammonia) ไม่ควรเกิน 1 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร

2.4.2 ไนไตรต์

ไนไตรต์เป็นสารตัวกลางของปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน ซึ่งการสะสมของไนไตรต์ภายในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำเกิดจากกระบวนการไนตริฟิเคชันที่ไม่สมบูรณ์โดยส่วนใหญ่มักพบในบ่อไร้นินกลางแจ้ง (มะลิวัลย์ อุตะโก และคณะ, 2550) โดยความเป็นพิษของไนไตรต์เกิดจากไนไตรต์ไปออกซิไดซ์เหล็กที่เป็นองค์ประกอบของฮีโมโกลบินให้เป็นเมทฮีโมโกลบิน ทำให้ไม่สามารถขนถ่ายออกซิเจนส่งผลให้เกิดสภาวะขาดออกซิเจนในเนื้อเยื่อ ทั้งยังมีผลต่อระบบการหายใจและลดความทนทานต่ออุณหภูมิของตัวกุ้งด้วย โดยในบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลไม่ควรมีไนไตรต์เกิน 0.1 มก.ไนโตรเจนต่อลิตร (Chen and Chin, 1992)

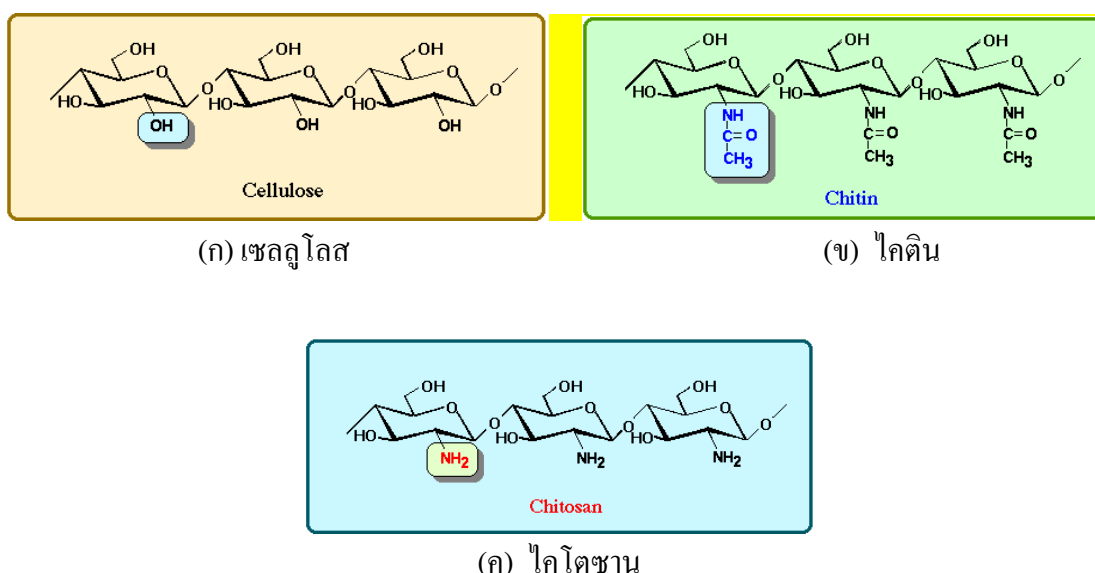
2.4.3 ไนเตรต

ไนเตรตเป็นผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการไนตริฟิเคชันที่สมบูรณ์โดยเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่มีความเสถียรที่สุด ซึ่งระดับของไนเตรตที่ยอมรับว่าปลอดภัยต่อสัตว์น้ำคือไม่เกิน 50 มก./ไนโตรเจนต่อลิตร แต่ถ้าไนเตรตมีความเข้มข้นเกิน 75 มก./ไนโตรเจนต่อลิตร จะมีผลต่ออัตราการผสมพันธุ์ การฟักไข่ทำให้ล่าช้าขึ้น ปริมาณไข่ลดลง ทั้งยังส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของตัวอ่อนด้วย (Gutierrez-Wing and Malone, 2006)

2.5 ไคโตซาน

2.5.1 ลักษณะทั่วไปของไคตินและไคโตซาน

ไคตินเป็นพอลิเมอร์ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของคาร์โบไฮเดรต ประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตรเจนเกาะอยู่ภายในโมเลกุล โดยไคตินมีชื่อทางเคมีว่า poly- $[\beta-(1 \rightarrow 4)-2\text{-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose}]$ และโครงสร้างของไคตินจะคล้ายกับเซลลูโลส ต่างกันตรงที่หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง C-2 ของเซลลูโลสถูกแทนที่ด้วยหมู่อะซิทามิโด (acetamido group) ดังแสดงในภาพที่ 2.2(ก) และ 2.2(ข) ในธรรมชาติจะพบไคตินในโครงสร้างของสัตว์ที่มีข้อปล้อง ได้แก่ เปลือกกุ้ง กระดองปู แกนปลาหมึก ปีกแมลงและผนังเซลล์ของเห็ดราบางชนิดนอกจากนี้ยังพบว่าไคตินมีมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส (สุวดี จันทร์กระจ่าง, 2543)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส ไคติน และไคโตซาน (กมลศิริ พันธนิยะ, 2546)

ไคโตซานหรือ poly-[β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose] เป็นอนุพันธ์ของไคตินที่เกิดจากปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิทิล (deacetylation) ของไคตินด้วยด่างเข้มข้น ทำให้โครงสร้างของไคตินบางส่วนเปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะหมู่ฟังก์ชันที่มีธาตุไนโตรเจนในรูปของหมู่อะซิทามิโด ($-\text{NHCOCH}_3$) เปลี่ยนไปเป็นรูปของหมู่เอมิโน ($-\text{NH}_2$) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 ดังแสดงในภาพที่ 2.2(ค)

2.5.2 สมบัติของไคตินและไคโตซาน

2.5.2.1 การละลาย (Solubility)

ไคตินเป็นพอลิเมอร์ที่มีลักษณะกึ่งผลึก (Semicrystalline) เนื่องจากมีโครงสร้างที่จับกันโดยพันธะไฮโดรเจน ด้วยสมบัติทางกายภาพนี้ทำให้ไคตินยากต่อการละลายในกรดเจือจางหรือด่างเจือจางและตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ ในสภาวะปกติ ความยากในการละลายของไคตินในตัวทำละลายต่างๆ มีผลมาจากสายโซ่โมเลกุลที่อยู่กันหนาแน่น มีพันธะเกิดขึ้นทั้งภายในและระหว่างโมเลกุล เนื่องจากหมู่ฟังก์ชันที่ต่างกัน หมู่ไฮดรอกซิล และหมู่อะซิทามิโด อย่างไรก็ตามไคตินสามารถละลายได้ในกรดฟอर्मิก กรดซัลโฟนิกและส่วนผสมของ 1,2 ไดคลอโรอีเทน (1,2-dichloroethane) และไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic) (35:36) แต่ตัวทำละลายเหล่านี้มีความเป็นพิษและทำให้สมบัติของไคตินเปลี่ยนแปลงไป การกำจัดหมู่อะซิทิลในสภาวะที่เป็นด่างเป็นการเปลี่ยนจากไคตินเป็นไคโตซาน ซึ่งจากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้โครงสร้างของไคโตซานมีหมู่เอมิโนอิสระและมีความสามารถในการละลายที่พีเอชต่ำกว่า 6.5 ดังนั้นการเตรียมเป็นสารละลายสามารถเตรียมในสารละลายกรดอินทรีย์เจือจาง ได้แก่ กรดฟอर्मิกและกรดอะซิติก เป็นต้น (Austin, 1988)

2.5.2.2 ความหนืด (Viscosity)

ความหนืดของสารละลายไคโตซานขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ อาทิ ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล น้ำหนักโมเลกุล ความเข้มข้น ค่าพีเอช และอุณหภูมิ โดยทั่วไปความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น นอกจากนี้ชนิดของกรดที่ใช้และการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของสารละลายพอลิเมอร์ส่งผลให้สารละลายมีความหนืดที่แตกต่างกัน เช่น ความหนืดของไคโตซานในกรดอะซิติกเพิ่มขึ้นเมื่อ

สารละลายมีค่าพีเอชลดลง ในขณะที่ความหนืดของไคโตซานในกรดไฮโดรคลอริก เพิ่มขึ้นเมื่อค่าพีเอชของสารละลายเพิ่มขึ้น (ปิยรัตน์ บำรุงสาส์, 2550)

2.5.2.3 สมบัติพอลิอิเล็กโทรไลต์ (Polyelectrolyte properties)

ไคโตซานเป็นสายพอลิเมอร์ของแอนไฮโดรไกลูโคซามีน (Anhydroglucosamine) และเป็นสายพอลิอิเล็กโทรไลต์ที่สภาวะเป็นกรดมีค่าพีเอชเท่ากับ 6.5 ไคโตซานในสารละลายมีประจุเป็นบวก เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีความหนาแน่นของประจุบวกสูง จึงมีศักยภาพในการนำไปใช้ในหลายๆ ด้าน ทั้งนี้เนื่องจากประจุบวกของไคโตซานจะจับกับประจุลบบนผิวของจุลินทรีย์ทำให้เกิดความเป็นกลาง ดังนั้นการจับของไคโตซานกับเซลล์จึงมีชีวิตเป็นสมบัติที่สำคัญมากในการนำไปใช้ในทางการแพทย์ และการบำบัดน้ำ (Hon, 1996)

2.5.2.4 น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight)

ความยาวของสายโซ่โมเลกุลมีความสำคัญในการพิจารณาสมบัติของพอลิเมอร์ พอลิเมอร์ทั่วไปมีขนาดใหญ่ แต่ไม่จำเป็นต้องมีความยาวเท่ากัน การนำไคโตซานไปใช้ประโยชน์ต่างๆ มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักโมเลกุล ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล ซึ่งมีผลต่อกลไกการทำงานและสมบัติทางเคมี เมื่อใช้ไคโตซานในการผลิตฟิล์ม เมมเบรน และเส้นใยต่างๆ น้ำหนักโมเลกุลสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของไคตินคือ 1.03×10^6 ถึง 2.50×10^6 ดาลตัน และน้ำหนักโมเลกุลของคาร์บอกซีเมทิลไคติน (Carboxymethylchitin) ประมาณ 1.33×10^6 ดาลตัน (Muzzarrelli, 1977) โดยทั่วไปน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของไคโตซานที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งมีค่าประมาณ $4.40\text{--}5.00 \times 10^5$ ดาลตัน และของปูมีค่าประมาณ $5.00\text{--}8.50 \times 10^5$ ดาลตัน (เขวภา ไหวพริบ, 2534)

2.5.2.5 ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล (Degree of deacetylation)

สิ่งที่ต้องคำนึงเมื่อนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์ คือ ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของไคโตซาน ดังนั้นจึงมีการวัดระดับอะซิทิลของไคโตซาน เพื่อพิจารณาถึงการใช้งาน ซึ่งการวิเคราะห์มีหลายวิธี ได้แก่ อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Infrared spectroscopy; IR) เซอคิวลาร์ไดโครลิซึม (Circular dichroism; CD)

การวิเคราะห์ธาตุ (Elemental analysis; EA) การไทเทรต และอัลตราไวโอเลตสเปกโตรสโกปี (First derivation ultraviolet spectroscopy) การศึกษาแบบ IR จะทำการวิเคราะห์ได้ยาก และผลที่ได้มีแนวโน้มที่คลาดเคลื่อน การศึกษาแบบ CD มีข้อจำกัดในการละลายของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงไม่สามารถวิเคราะห์พวกที่ไม่ละลาย และพวก Highly acetylated polymeric compound ได้ วิธีการไทเทรตมีความยุ่งยากและใช้เวลานาน ส่วนการตรวจสอบพวกกลุ่มอะมิโนอิสระโดยใช้ฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) มีการตอบสนองเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคซามีนแบบไม่เป็นเส้นตรง และการวัดตัวอย่างอาจมีการเจือจางขึ้นอยู่กับค่าที่ต้องการวัด (Miyoshi et al., 1992)

2.5.3 การใช้ประโยชน์จากไคโตซาน

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

2.6 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.6.1 ปัจจัยของไคโตซานต่อการตรึงเชื้อ

Kaseamchochoung et al. (2006) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของไคโตซานและสภาวะแวดล้อมต่อการตกตะกอนสารแขวนลอยจุลินทรีย์ไร้อากาศ (anaerobic sludge) พบว่า ไคโตซานสามารถช่วยในการตกตะกอนสารแขวนลอยจุลินทรีย์ โดยประสิทธิภาพในการตกตะกอนขึ้นอยู่กับระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลและน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซาน นอกจากนี้ยังพบว่าไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 85 มีประสิทธิภาพในการตกตะกอนมากกว่าไคโตซานที่มีระดับการกำจัดหมู่อะซิทิลร้อยละ 70 และเมื่อเปรียบเทียบผลของน้ำหนักโมเลกุลพบว่า ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตกตะกอนได้ดีกว่าไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง นอกจากนี้การเพิ่มความแรงของออสโมส (สูงถึง 0.1 โมลาร์) ในสารแขวนลอยจุลินทรีย์สามารถลดระดับการแตกของฟล็อกในสภาวะที่เติมไคโตซานมากเกินไป

Chen et al. (1998) รายงานว่า การกำจัดสาหร่ายออกจากแหล่งน้ำด้วยเทคนิคการทำให้ลอย โดยการเติมอากาศควบคู่กับการใช้สารพอลิเมอร์ประจุบวกไคโตซานเป็นตัวทำให้สาหร่ายจับตัวกันนั้นให้ผลดีกว่าการใช้เทคนิคดังกล่าวควบคู่กับพอลิเมอร์ประจุลบและพอลิเมอร์ที่ไม่มีประจุ นอกจากนี้ยังพบว่าตัวแปรที่มีผลต่อการกำจัดสาหร่ายออกจากแหล่งน้ำ ได้แก่ พีเอช ความแรงออสโมส อัตราการเติมอากาศ และค่าสภาพต่าง

2.6.2 การใช้ไคโตซานในการบำบัดคุณภาพน้ำ

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

จุฑาทิพย์ คชนทร์มาศ (2549) ศึกษาการตรึงเอนไซม์ไว้กับอนุภาคไคโตซานในการบำบัดน้ำเสียสีย้อมโดยใช้ไคโตซานเกล็ด ไคโตซานเม็ด และไคโตซานเม็ดที่ยึดเกาะด้วยเอนไซม์ ที่พีเอช 5.52 ระยะเวลา 5 ชั่วโมง พบว่าไคโตซานเกล็ดสามารถลดสีดำ (Reactive black 5) มากที่สุดคือ ร้อยละ 93.8 รองลงมาคือ สีแดง (Reactive red 198) และสีเหลือง (Reactive yellow 176) มีประสิทธิภาพการลดสีร้อยละ 66 และ 59.4 ตามลำดับ ความเข้มข้นของเกล็ดมีผลต่อการลดสีของไคโตซานเกล็ดน้อยมาก ส่วนไคโตซานเม็ดและไคโตซานเม็ดที่ผ่านการตรึงด้วยเอนไซม์ พบว่ามีประสิทธิภาพการลดสีมีค่าใกล้เคียงกัน

จิตรวนา จันทรขอนแก่น (2550) ศึกษาการดูดซับสีย้อมผ้าประเภทรีแอกทีฟด้วยมวลชีวภาพที่ไรโซเวคของ *Rhizopus arrhizus* ที่ถูกตรึงอยู่ในเม็ดเจลไคโตซาน โดยทำการตรึงสปอร์แรงจิโอสปอร์ในเม็ดเจลไคโตซานแล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเพื่อเพิ่มมวลชีวภาพของเชื้อราจากนั้นนำมาทดสอบการดูดซับสีย้อม โดยใช้สีย้อมประเภทรีแอกทีฟ 2 ชนิดได้แก่ สีรีมาซอล โกลเด้น เยลโล่และสีบาครอนเทอร์ควอยซ์ เอชจีเอ็น โดยทดสอบการดูดซับด้วยมวลชีวภาพราที่ตรึงในเม็ดเจลไคโตซาน ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 50 มก.ต่อลิตร จากการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการดูดซับที่ค่าพีเอชตั้งแต่ 1-10 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการดูดซับมากที่สุด คือพีเอช 3 โดยสมมูลของการดูดซับของมวลชีวภาพราที่ตรึงในเม็ดเจลไคโตซานมีประสิทธิภาพการดูดซับสูงสุด (q_{max}) ของมวลชีวภาพราที่ตรึงในเม็ดเจลไคโตซานเท่ากับ 294.12 มก.ต่อกรัม สำหรับสีรีมาซอล โกลเด้น เยลโล่ อาร์จีบี และเท่ากับ 278 มก.ต่อกรัม สำหรับสีสีบาครอน เทอร์ควอยซ์ เอชจีเอ็น ผลการทดสอบสมมูลการดูดซับสำหรับสีรีมาซอล โกลเด้น เยลโล่ อาร์จีบี สอดคล้องกับสมการของเฟรอนดลิช ส่วนสีสีบาครอน เทอร์ควอยซ์ เอชจีเอ็นสอดคล้องกับสมการของแลงเมียร์ และเฟรอนดลิช

El-Mamouni et al. (1998) ศึกษาประสิทธิภาพของตัวเร่งให้เกิดเม็ดตะกอนในระบบ UASB โดยเปรียบเทียบระหว่างพอลิเมอร์ธรรมชาติ คือไคโตซาน และพอลิเมอร์สังเคราะห์ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชมีผลต่อไคโตซานอย่างมาก โดยค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับไคโตซานอยู่ในช่วง 4-6 ส่วนพอลิเมอร์สังเคราะห์นั้นพีเอชส่งผลกระทบต่อปริมาณที่เหมาะสมของไคโตซานอยู่ที่ 25 มก.ไคโตซานต่อกรัมของแข็งแขวนลอย และพอลิเมอร์สังเคราะห์อยู่ที่ 2 มก.ต่อกรัมของแข็งแขวนลอย พอลิเมอร์ทั้งสองชนิดสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการจับตัวเป็นก้อนของสารแขวนลอยจุลินทรีย์ในถัง UASB

Lertsittichi et al. (2007) ทำการศึกษาผลของไคโตซานในการปรับปรุงระบบถังบำบัดน้ำเสียแบบ UASB โดยใช้น้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องจากผลการทดลองพบว่า ถัง UASB ที่มีการใช้ไคโตซานจะมีขนาดของสารแขวนลอยจุลินทรีย์ใหญ่กว่าถังที่ไม่ใช้ไคโตซานประมาณร้อยละ 24-

37 นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยถังที่ใช้โคโตซานจะมีค่าการกำจัดซีโอดีและอัตราการผลิตแก๊สชีวภาพสูงกว่าถัง UASB ที่ไม่ใช้โคโตซานประมาณร้อยละ 4-10 และ 35 ตามลำดับ