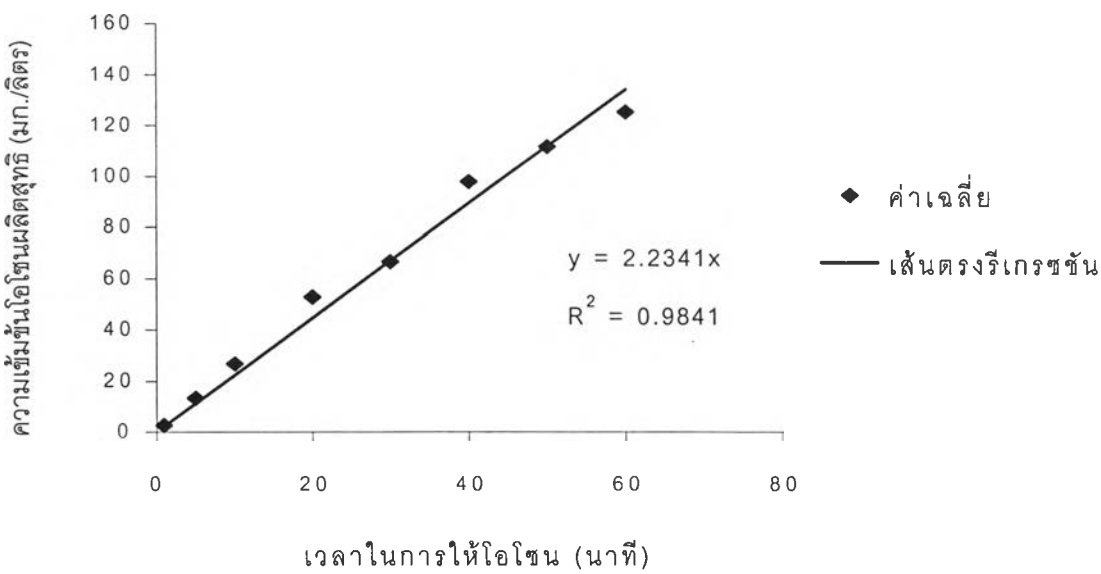
บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

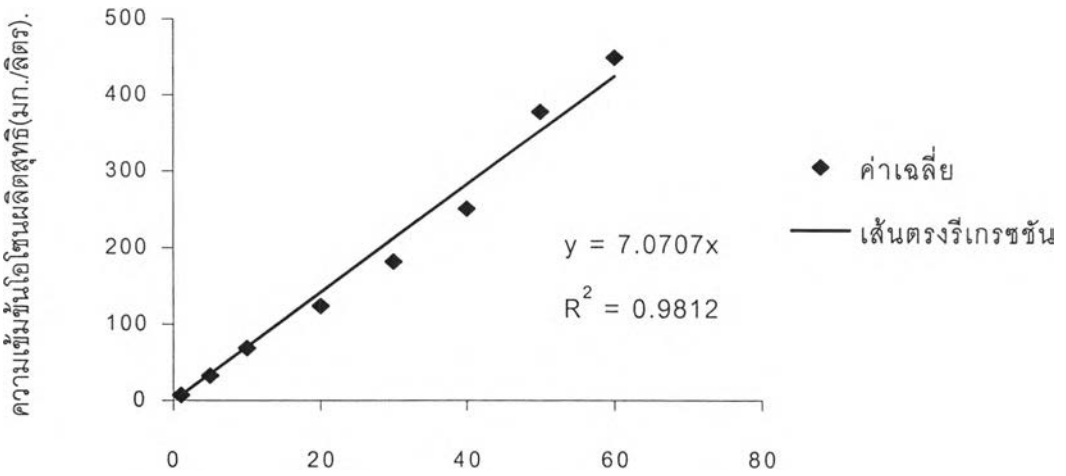
4.1 <u>การศึกษาหาปริมาณความเข้มข้นของโอโซนที่ผลิตได้จริง</u>

ความเข้มข้นของก๊าซโอโซนจากเครื่องผลิต สัมพันธ์โดยตรงกับระยะเวลาที่สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์สัมผัสกับก๊าซโอโซน ได้กราฟความสัมพันธ์เป็นสมการเส้นตรงรีเกรซชัน คือ $Y = 2.2341 X$ ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชัน (Coefficient of determination) คือ $R^2 = 0.9841$ จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 100 มก./ชม. (Ozonisator) โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ (ภาพที่ 4.1)



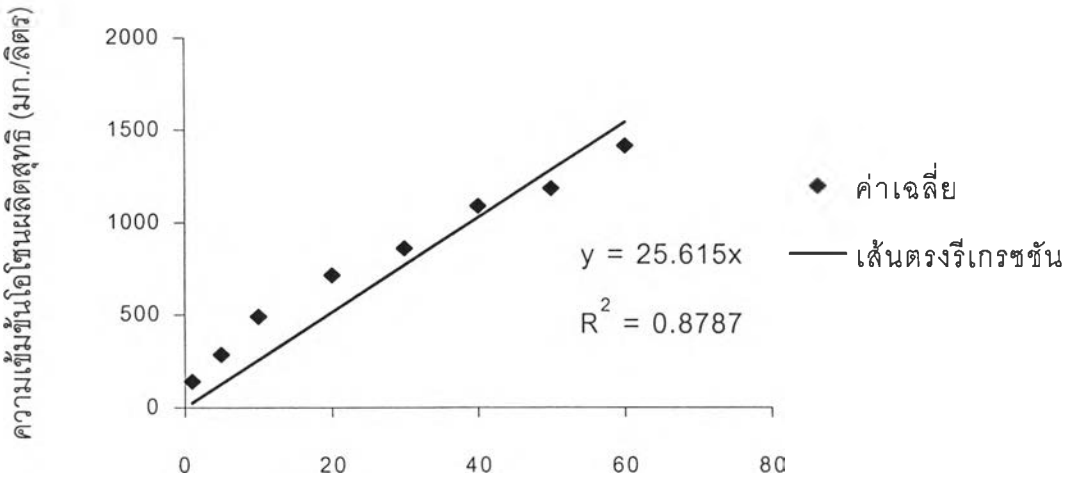
ภาพที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่สัมผัสโอโซนและความเข้มข้นของโอโซนจากเครื่องขนาดกำลังผลิต 100 มก./ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ)

เมื่อเปลี่ยนขนาดของเครื่องผลิตโอโซนเป็นขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม. โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ พบว่าเครื่องผลิตขนาดใหญ่ขึ้น สามารถผลิตก๊าซโอโซนได้มากขึ้น ได้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่สัมผัสโอโซน และความเข้มข้นโอโซนผลิตสุทธิ (TOO) เป็นสมการเส้นตรงรีเกรซชัน คือ Y = 7.0707 X ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชัน คือ R^2 = 0.9812 (ภาพที่ 4.2)



ภาพที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่สัมผัสโอโซน และความเข้มข้นของโอโซนจากเครื่องขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ)

แหล่งกำเนิดก๊าซออกซิเจนเป็นอีกปัจจัยหนึ่ง ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ TOO จากการทดลองพบว่า เมื่อเปลี่ยนแหล่งกำเนิดออกซิเจนจากอากาศเป็นก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ในเครื่องขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ช.ม. ค่าสมการเส้นตรงรีเกรซชันเปลี่ยนเป็น Y= 25.616 X ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชัน คือ R^2 = 0.8788 (ภาพที่ 4.3)



ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่สัมผัสโอโซนและความเข้มข้นของโอโซนจากเครื่องขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ)

เมื่อให้ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์เป็นแหล่งกำเนิดออกซิเจนในการผลิตโอโซน ปริมาณ TOO ที่ได้จะเพิ่มสูงกว่าการใช้อากาศ ความแตกต่างของปริมาณ TOO ที่ผลิตได้ในทั้ง 3 การทดลอง เกิดจากเวลาในการผลิตโอโซน ขนาดกำลังผลิตของเครื่องโอโซน และแหล่งกำเนิดออกซิเจนเท่านั้น เมื่อตัวแปรอื่นๆ ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ คุณสมบัติของสารละลาย และขนาดของฟองก๊าซโอโซนถูกควบคุมให้อยู่ภายใต้สภาวะเดียวกัน

4.2 <u>การศึกษาความเป็นพิษของโอโซนต่อกุ้งกุลาดำโพสต์ลาวา</u>

4.2.1 การให้โอโซนโดยตรงในน้ำเลี้ยงกุ้งที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ศึกษาความเป็นพิษของโอโซน เมื่อกุ้งสัมผัสกับ TOO และ ปริมาณโอโซนตกค้าง (ROC) ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้วิธีวัดอัตราการหายใจ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมที่ให้แต่ออกซิเจนกับกลุ่มทดลองที่มีการให้โอโซน เพื่อวัดความผิดปกติทางสรีระวิทยาของกุ้ง ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 อัตราการหายใจของลูกกุ้งโพสต์ลาวาที่ 15-21 ในกลุ่มควบคุมที่ให้แต่ออกซิเจนกับกลุ่มทดลองที่มีการให้โอโซนค่า TOO ความเข้มข้นต่างๆ (ข้อมูลจากการทดลอง 5 ซ้ำ ± SD)

เวลาในการเป่าพ่นโอโซน (ชม.)	TOO (ppm)	ROC (ppm)	ค่าอัตราการหายใจเฉลี่ย ± SD (ไมโครกรัม/นน.กุ้ง-กรัม/ชม.)	
			กลุ่มควบคุม	กลุ่มที่ให้โอโซน
4	107.23	0.354	2021.27 ± 1323.80	3057.80 ± 2220.95
6	160.85	1.895	1925.68 ± 1046.27	2055.86 ± 1400.20
8	214.47	1.991	1115.12 ± 687.83	1784.61 ± 1185.33
10	268.09	0.812	1519.39 ± 1049.52	1735.59 ± 993.15
12	321.28	1.320	1900.67 ± 1852.43	1163.81 ± 1096.41

จากนั้นนำค่าอัตราการหายใจที่ได้มาทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยหลักการทางสถิติ คือ t-test แบบ one way analysis

สมมติฐานที่กำหนดไว้ คือ

H_0 : ไม่มีความแตกต่างของอัตราการหายใจระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่มีการให้โอโซน

H_1 : กลุ่มทดลองที่มีการให้โอโซนมีอัตราการหายใจสูงกว่ากลุ่มควบคุม

ผลการทดลองคือ เมื่อวัดอัตราการหายใจของลูกกุ้งกลุ่มควบคุม เปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่มีการให้โอโซนนาน 4, 6, 8, 10 และ 12 ชม. ปริมาณ TOO 107.23, 160.85, 214.47, 268.09 และ 321.28 มก./ลิตร ปริมาณ ROC 0.354, 1.895, 1.991, 0.812 และ 1.320 ตามลำดับ) พบว่าไม่มี

ความแตกต่างของอัตราการหายใจระหว่างลูกกุ้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.2.2 การให้โอโซนแบบต่อเนื่องในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

การให้โอโซนแบบต่อเนื่อง ลงในน้ำเลี้ยงกุ้งที่มีค่าคุณภาพน้ำดังแสดงในตารางที่ 4.2 นาน 16 ชม. จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 100 มก./ชม. (ปริมาณ TOO 97.48 มก./ลิตร ปริมาณ ROC 0.416 มก./ลิตร) ทำให้เกิดอาการผิดปกติของลูกกุ้งกุลาดำโพสต์ลาวาระยะ 21 กล่าวคือ สูญเสียการทรงตัว ว่ายน้ำควงสว่าน ลำตัวงอ และมีสีเข้มขึ้น ลูกกุ้งที่แสดงอาการผิดปกติจะถูกคัดออกและรักษาสภาพด้วยสารละลาย Davidsons fixative และจากการสังเกตอาการลูกกุ้งทุกๆ 2 ชม. ตลอดระยะเวลา 24 ชม. (ปริมาณ ROC 0.154-0.454 มก./ลิตร) พบว่าลูกกุ้งจะแสดงอาการผิดปกติอย่างชัดเจน ที่ปริมาณ TOO 121.86 มก./ลิตร ผลการทดลอง คือ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.2 ค่าคุณภาพน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ จากการทดลองให้โอโซนแบบต่อเนื่อง ด้วยเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 100 มก./ชม.

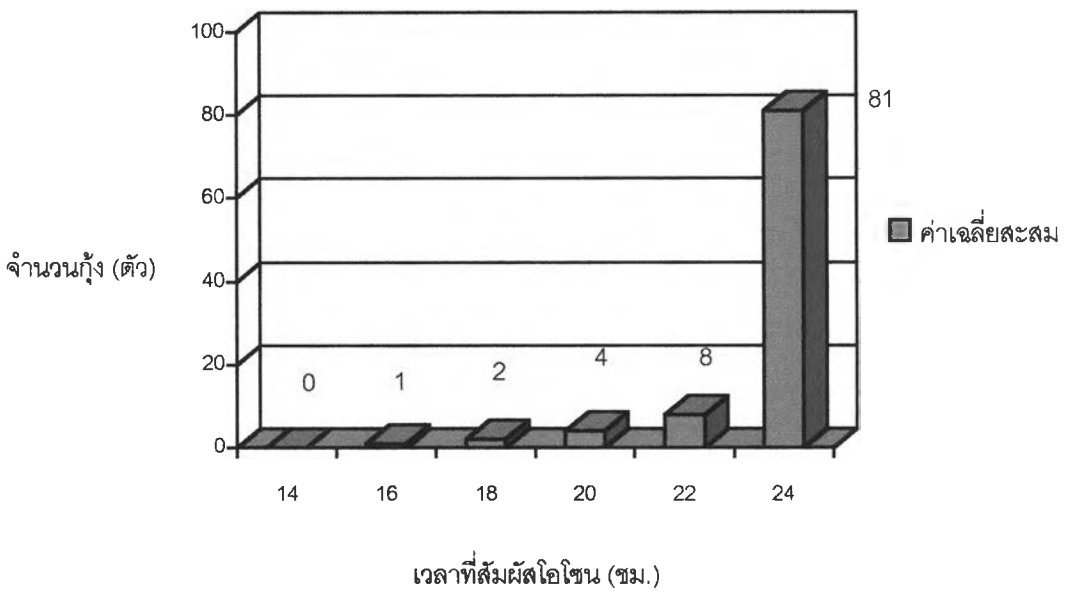
ตัวแปรคุณภาพน้ำ	ความเข้มข้น
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	25
ความเค็ม (ส่วนในพันส่วน)	18
ค่าออกซิเจนละลาย (มก./ลิตร)	8.0
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.9
แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	0
ไนไตรต์-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	0.05
สภาพด่าง (มก./ลิตร)	119

ตารางที่ 4.3 จำนวนกุ้งที่มีอาการผิดปกติทุกๆ 2 ชม. ตลอดระยะเวลา 24 ชม. ปริมาณ ROCเฉลี่ย 0.342 มก./ลิตร จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 100 มก./ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ

TOO (ppm)	12.18	24.37	36.55	48.74	60.93	73.02	85.30	97.48	109.67	121.86	134.04	146.23
ROC (ppm)	0.154	0.408	0.454	0.408	0.387	0.391	0.412	0.416	0.354	0.400	0.166	0.158
ส่วนที่/ เวลา (ชั่วโมงที่)	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
1	-	-	-	-	-	-	-	1	1	2	4	74
2	-	-	-	-	-	-	-	1	1	3	4	72
3	-	-	-	-	-	-	-	1	1	2	4	73

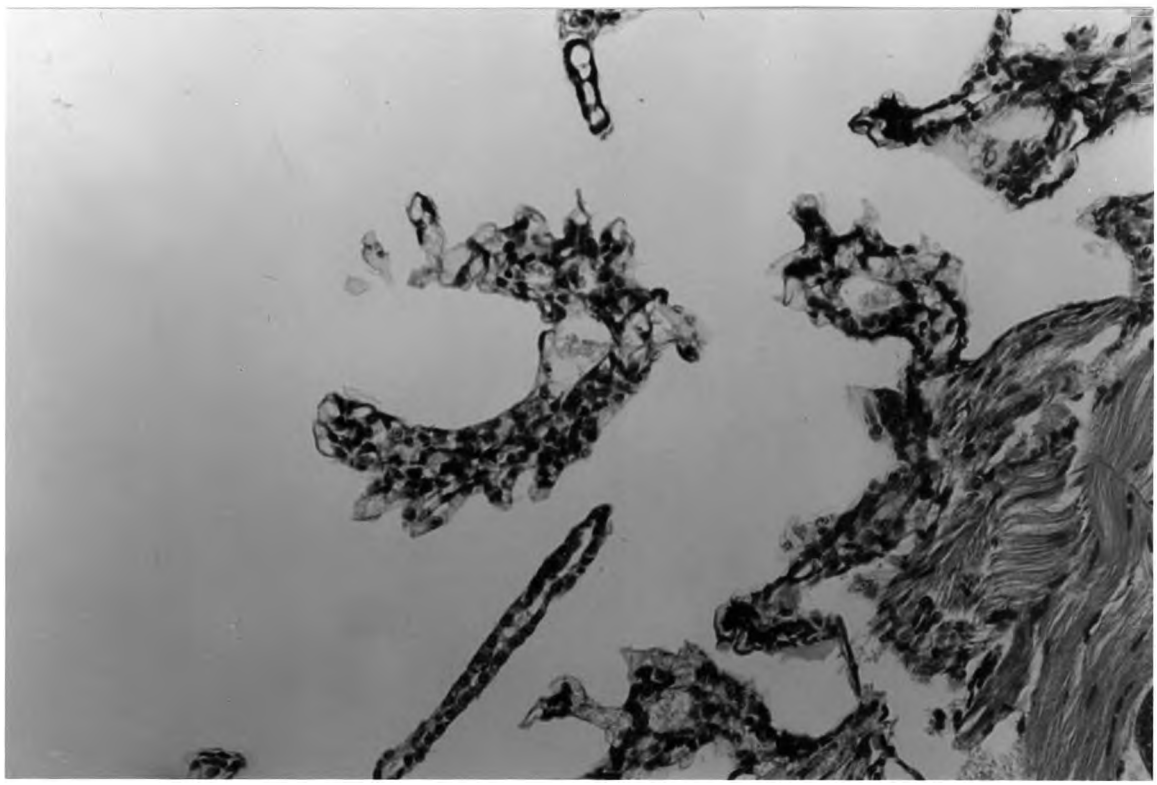
หมายเหตุ : กุ้งที่อ่อนแอ เริ่มจากอาการตัวงอ ไม่ค่อยเคลื่อนที่ อยู่ตามพื้นบ่อและลำตัวโดยเฉพาะบริเวณหางถึงกลางลำตัวสีตัวจะขุ่นเป็นเส้น สี เข้ม

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.3 มาสร้างแผนภูมิแสดงจำนวนกุ้งเฉลี่ยสะสม ที่มีอาการผิดปกติ ที่ระยะเวลาสัมผัสโอโซนต่อเนื่องนาน 14, 16, 20, 22 และ 24 ชม. ได้ดังนี้ (ภาพที่ 4.4)

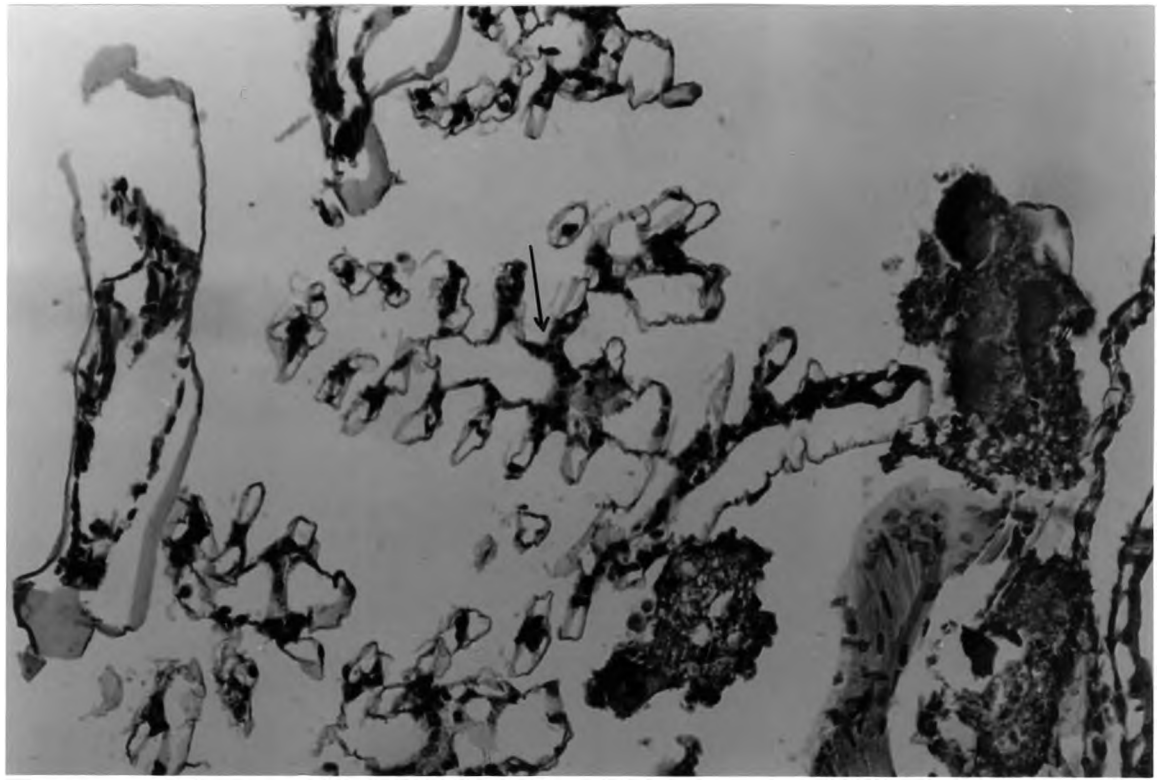


ภาพที่ 4.4 แผนภูมิแสดงจำนวนกุ้งเฉลี่ยสะสม ที่มีอาการผิดปกติ ที่ระยะเวลาในการให้โอโซนแบบต่อเนื่องตลอด 24 ชม. จากเครื่องขนาดกำลังผลิต 100 มก./ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ)

นำลูกกุ้งที่แสดงอาการผิดปกติเมื่อสัมผัสโอโซนนาน 16 ชม. มาตรวจดูลักษณะทางพยาธิสภาพของเหงือกเปรียบเทียบกับกุ้งปกติ พบว่ามีอาการบวมน้ำ ลักษณะนิวเคลียสของเซลล์มีสีเข้มและหดตัว เนื้อเยื่อถูกทำลายจนเสียรูปร่างของเซลล์ปกติ (ภาพที่ 4.5 และ 4.6)



ภาพที่ 4.5 ลักษณะเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งปกติที่ให้อากาศ 16 ชม. เนื้อเยื่อเหงือกย้อมด้วยสี Hematoxylin และ eosin ภาพขนาดกำลังขยาย 200X

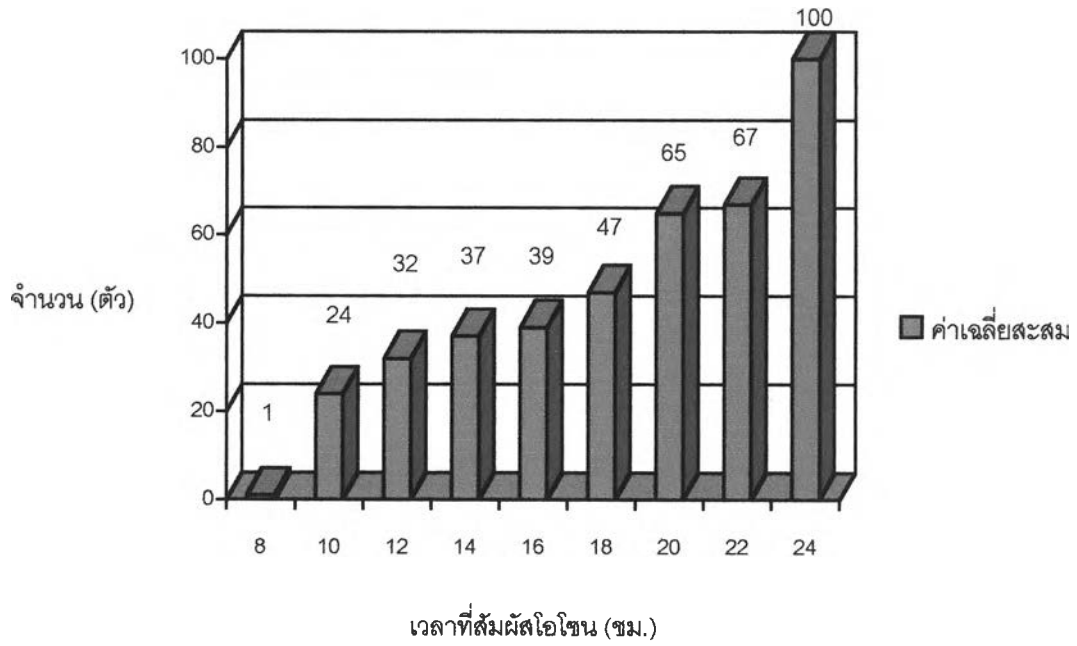


ภาพที่ 4.6 ลักษณะเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งที่สัมผัสโอโซนนาน 16 ชม. ปริมาณ TOO 97.48 มก./ลิตร ปริมาณ ROC 0.416 มก./ลิตร แสดงอาการบวมน้ำ และการหดตัวของนิวเคลียส (pycnotic nuclei) เนื้อเยื่อเหงือกย้อมด้วยสี Hematoxylin และ eosin ภาพขนาดกำลังขยาย 200X

ลูกศรแสดง pycnotic nuclei

ศึกษาเพิ่มเติมโดยเปลี่ยนขนาดเครื่องผลิตโอโซนเป็น 2 กรัม/ชม. ให้โอโซนต่อเนื่องเป็นเวลา 24 ชม. ในน้ำเลี้ยงที่มีค่าคุณภาพน้ำดังแสดงในตารางที่ 4.4 สังเกตอาการลูกกุ้งโพสต์ลาวาทุกๆ 2 ชม. (ปริมาณ ROC 0.173-0.572 มก./ลิตร) พบว่าลูกกุ้งกุลาดำเริ่มแสดงอาการผิดปกติ ที่ปริมาณ TOO 154.26 มก./ลิตร จากการสัมผัสโอโซนนาน 8 ชม. สรุปผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.5

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.5 มาสร้างแผนภูมิแสดงจำนวนกุ้งเฉลี่ยสะสม ที่มีอาการผิดปกติ ที่ระยะเวลาสัมผัสโอโซนต่อเนื่องนาน 14, 16, 20, 22 และ 24 ชม. ได้ดังนี้ (ภาพที่ 4.7)



ภาพที่ 4.7 แผนภูมิแสดงจำนวนกุ้งเฉลี่ยสะสม ที่มีอาการผิดปกติ ที่ระยะเวลาในการให้โอโซนแบบต่อเนื่องตลอด 24 ชม. จากเครื่องผลิตขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ)

ตารางที่ 4.4 ค่าคุณภาพน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ จากการทดลองให้โอโซนแบบต่อเนื่อง ด้วยเครื่องโอโซน ขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.

ตัวแปรคุณภาพน้ำ	ความเข้มข้น
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	25
ความเค็ม (ส่วนในพันส่วน)	18
ค่าออกซิเจนละลาย (มก./ลิตร)	8
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	7.9
แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	0.4
ไนไตรต์-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	1.0
สภาพด่าง (มก./ลิตร)	153

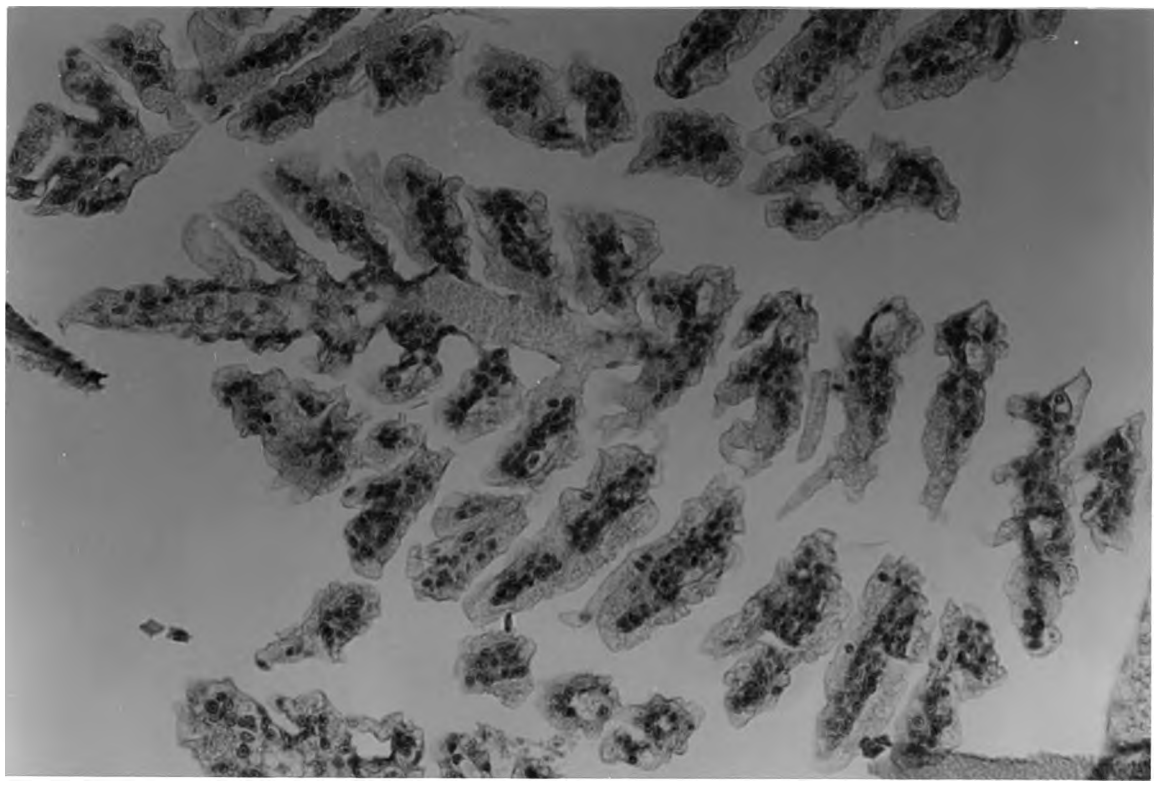
ตารางที่ 4.5 แสดงจำนวนกุ้งที่มีอาการผิดปกติทุกๆ 2 ชม. ตลอดระยะเวลา 24 ชม. ปริมาณ ROC เฉลี่ย 0.404 มก./ลิตร จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ

TOO (ppm)	38.65	77.13	115.70	154.26	192.83	231.40	269.97	308.53	347.10	385.67	424.24	462.80
ROC (ppm)	0.173	0.381	0.555	0.275	0.381	0.572	0.381	0.485	0.433	0.503	0.312	ND
ส่วนที่/ เวลา (ชั่วโมงที่)	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
1	-	-	-	1	25	11	6	1	6	50	-	-
2	-	-	-	1	20	9	4	4	11	1	2	49
3	-	-	-	1	23	5	5	1	8	2	3	52

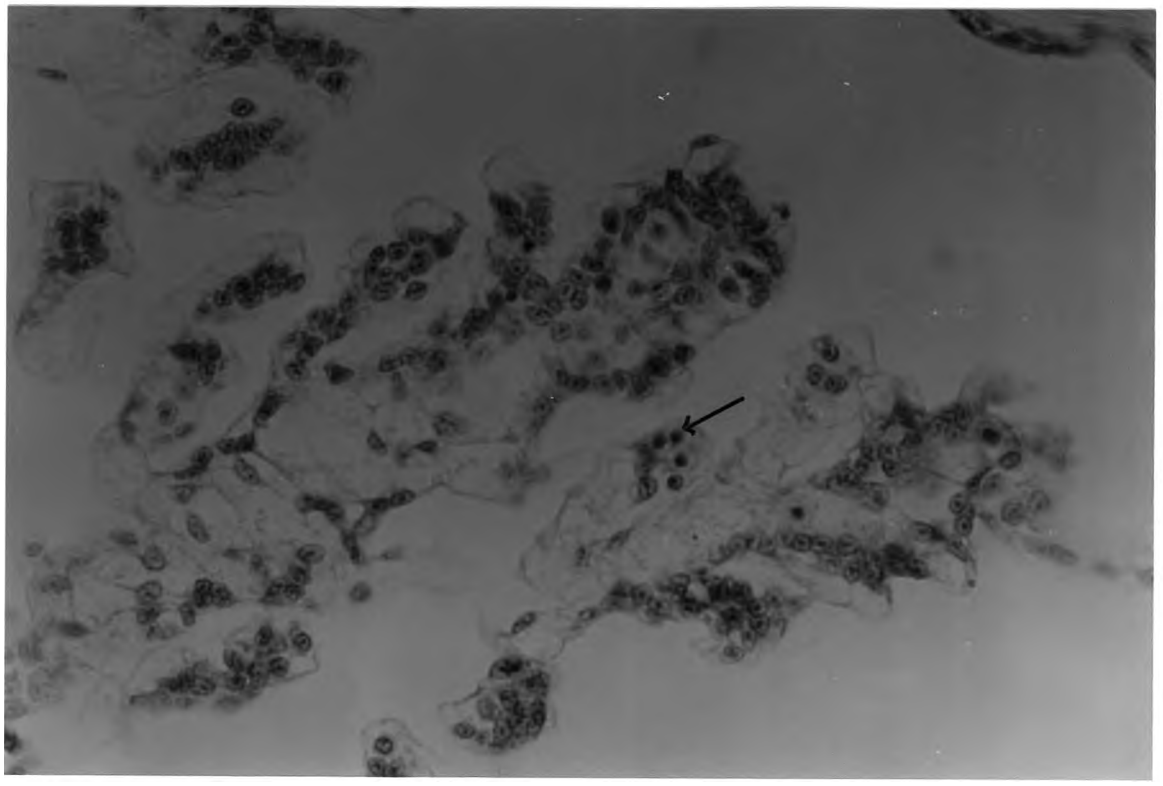
หมายเหตุ : กุ้งที่อ่อนแอ เริ่มจากอาการตัวงอ ไม่ค่อยเคลื่อนที่อยู่ตามพื้นบ่อ และลำตัวโดยเฉพาะบริเวณหางถึงกลางลำตัวสีตัวจะขุ่นเป็นเส้นสีเข้ม

ND (Non Detectable)

นำลูกกุ้งที่แสดงอาการผิดปกติเมื่อสัมผัสโอโซนนาน 8 ชม. จากเครื่องขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ มาตรวจดูลักษณะทางพยาธิสภาพของเหงือกเปรียบเทียบกับกุ้งปกติ พบว่ามีอาการบวมน้ำ ลักษณะนิวเคลียสของเซลล์มีสีเข้ม และหดตัว เนื้อเยื่อถูกทำลายจนเสียรูปร่างของเซลล์ปกติ (ภาพที่ 4.8 และ 4.9)



ภาพที่ 4.8 ลักษณะเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งปกติที่ให้อากาศ 8 ชม. เนื้อเยื่อเหงือกย้อมด้วยสี Hematoxylin และ eosin ภาพขนาดกำลังขยาย 200X



ภาพที่ 4.9 ลักษณะเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งที่สัมผัสโอโซนนาน 8 ชม. ปริมาณ TOO 154.26 มก./ลิตร ปริมาณ ROC 0.275 มก./ลิตร แสดงอาการบวมน้ำ และการหดตัวของนิวเคลียส (pycnotic nuclei) เนื้อเยื่อเหงือกย้อมด้วยสี Hematoxylin และ eosin ภาพขนาดกำลังขยาย 200X

← แสดง pycnotic nuclei

4.3 ผลของโอโซนต่อเชื้อแบคทีเรียที่เป็นโทษ

ศึกษาประสิทธิภาพของโอโซนในการกำจัดเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ D331 โดยให้เชื้อสัมผัสโอโซนนาน 5, 10, 15 และ 20 นาที จากเครื่องขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ ปริมาณ TOO 70.70, 141.41, 212.12 และ 282.82 มก./ลิตร ตามลำดับ ปริมาณ ROC ตลอดการตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย 48 ชม. มีค่าอยู่ในช่วง 0.042-0.137 มก./ลิตร พบว่าทั้ง 4 ความเข้มข้น สามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียให้โทษดังกล่าวได้ 1–1.40 log units นาน 4 ชม. หลังจากนั้นเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตจนมีจำนวนเท่ากับกลุ่มควบคุมในชม.ที่ 6 (ภาพที่ 4.12 ก และ ข)

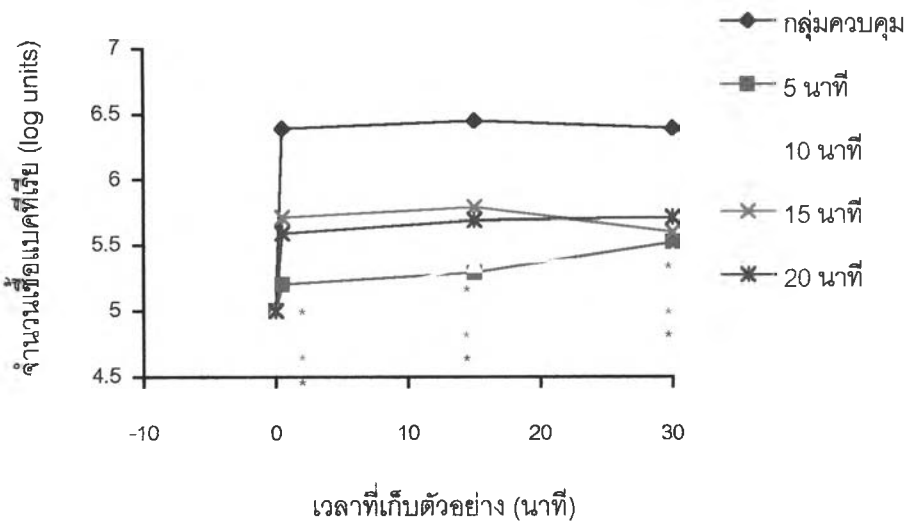
เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ด้วยหลักการทางสถิติ คือ t-test แบบ one way analysis

สมมติฐาน คือ

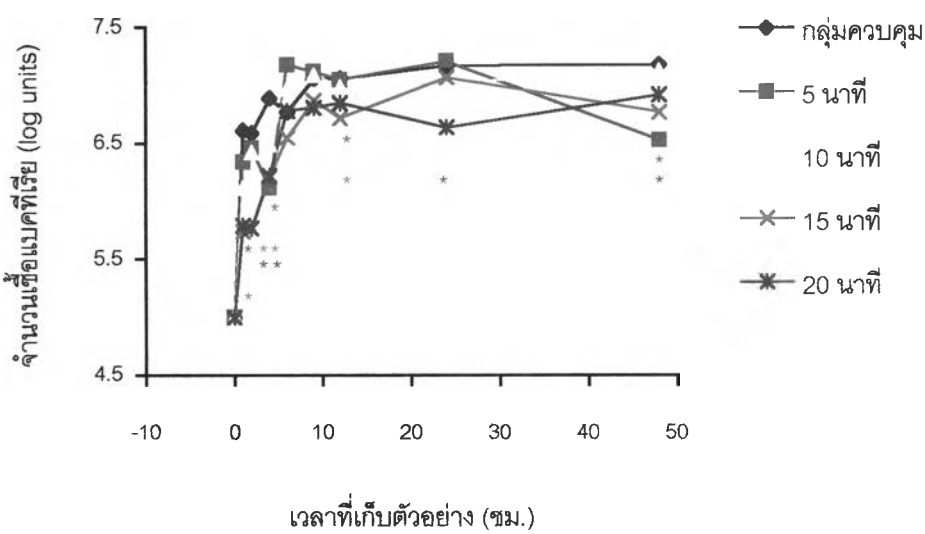
H_0 : ไม่มีความแตกต่างของจำนวนเชื้อแบคทีเรียเฉลี่ยระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองที่มีการให้โอโซน

H_1 : กลุ่มทดลองที่มีการให้โอโซนมีจำนวนเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

พบว่ามีความแตกต่างของจำนวนเชื้อแบคทีเรียเฉลี่ย ระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่มีการให้โอโซนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ภาพที่ 4.10 ก และ ข)

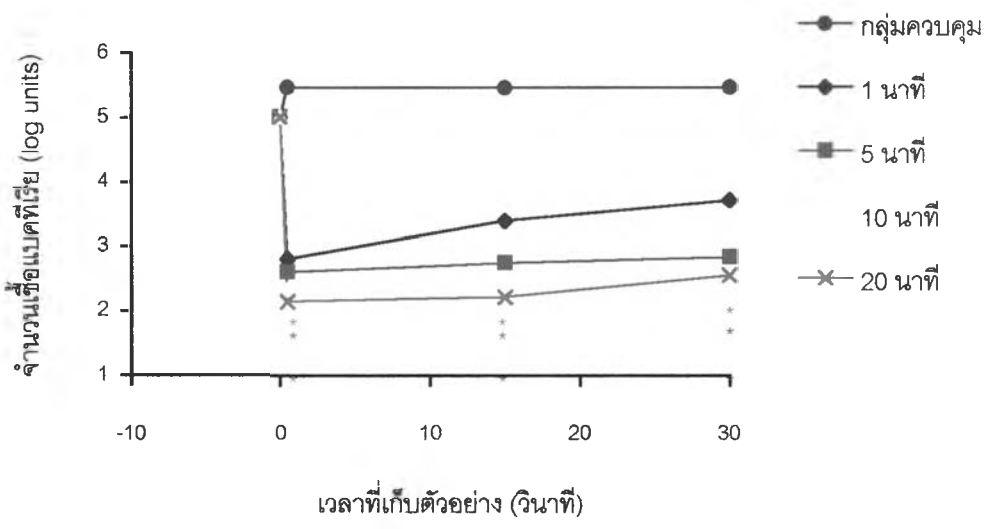


ภาพที่ 4.10 ก จำนวนเชื้อ *Vibrio* ในช่วง 30 วินาที-30 นาที หลังการสัมผัส TOO ความเข้มข้นต่างๆ จากเครื่องผลิตโอโซน ขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ) * แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

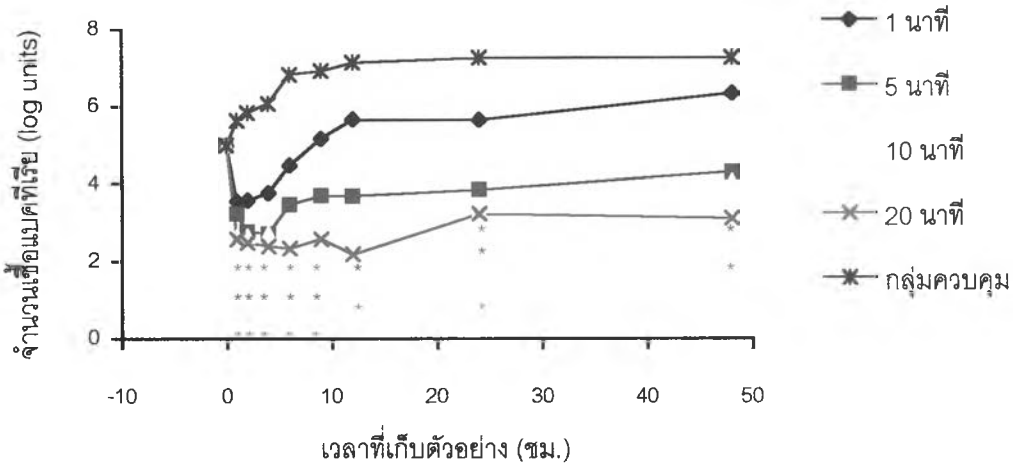


ภาพที่ 4.10 ข จำนวนเชื้อ *Vibrio* ใน ชม.ที่ 1-48 หลังการสัมผัส TOO ความเข้มข้นต่างๆ จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ) * แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ความเข้มข้นโอโซนที่ผลิตจากแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ สามารถลดจำนวนเชื้อ *Vibrio*ได้ 1-1.4 log units และเชื้อ *Vibrio* สามารถเจริญเติบโตได้ในชม.ที่ 6 แต่เมื่อเพิ่มปริมาณ TOO และ ROC ให้สูงขึ้น ด้วยการเปลี่ยนแหล่งกำเนิดออกซิเจนในการผลิตโอโซน เป็นก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ พบว่าเชื้อที่สัมผัสโอโซนนาน 5, 10 และ 20 นาที (ปริมาณ TOO 256.16, 512.32 และ 1,024.64 มก./ลิตร ตามลำดับ ปริมาณ ROC อยู่ในช่วง 0.064-4.345 มก./ลิตร) มีจำนวนลดลง 3 log units ตลอด 48 ชม. เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในทั้ง 3 ความเข้มข้น และมีความแตกต่างของจำนวนเชื้อแบคทีเรียเฉลี่ย ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองที่ให้โอโซน ในทุกๆ จุดเวลาหลังการให้โอโซน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ภาพที่ 4.11 ก และ ข)



ภาพที่ 4.11 ก จำนวนเชื้อ *Vibrio* ในช่วง 30 วินาที-30 นาที หลังการสัมผัส TOO ความเข้มข้นต่างๆ จากเครื่องผลิตโอโซน ขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ) * แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4.11 ข จำนวนเชื้อ *Vibrio* ใน ชม.ที่ 1-48 หลังการสัมผัส TOO ความเข้มข้นต่างๆ จากเครื่องผลิตโอโซน ขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ) * แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

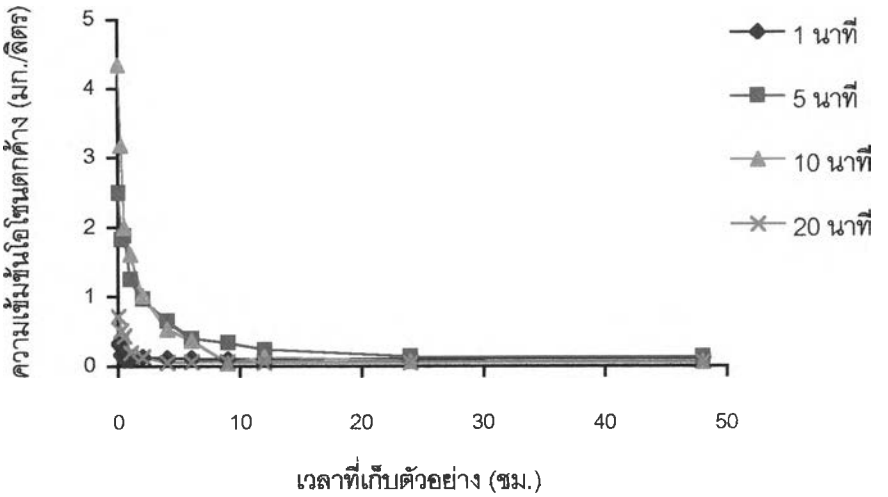
ส่วนเชื้อ *Vibrio* ที่สัมผัสโอโซนนาน 1 นาที จากเครื่องขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (ปริมาณ TOO 51.23 มก./ลิตร ปริมาณ ROC 0.120-0.337 มก./ลิตร) มีจำนวนลดลง 3 log units จนถึง ชม.ที่ 6 จากนั้นจึงเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน 1 log units ใน ชม.ที่ 9 และไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุมใน ชม.ที่ 12 และ 48 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ภาพที่ 4.11 ก และ ข)

จากการทดลองผลของโอโซนต่อเชื้อ *V.harveyi* สรุปได้ดังนี้ (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 ปริมาณ TOO และ ROC ที่มีผลต่อเชื้อ *V.harveyi* สายพันธุ์ D331 (จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.)

แหล่งกำเนิดออกซิเจน	เวลาพ่นโอโซน (นาที)	TOO (ppm)	ROC (ppm) ชม.ที่ 1-ชม.ที่ 48	จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ลดลง
เครื่องปั๊มอากาศ	5	70.70	0.137-0.095	1-1.40 log units นาน 4 ชม.
	10	141.41	0.095-0.091	
	15	212.12	0.091-0.042	
	20	282.82	0.125-0.058	
ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์	1	51.23	0.337-0.120	3 log units นาน 6 ชม.
	5	256.16	2.501-0.135	3 log units นาน 48 ชม.
	10	512.32	4.345-0.064	
	20	1,024.64	0.726-0.066	

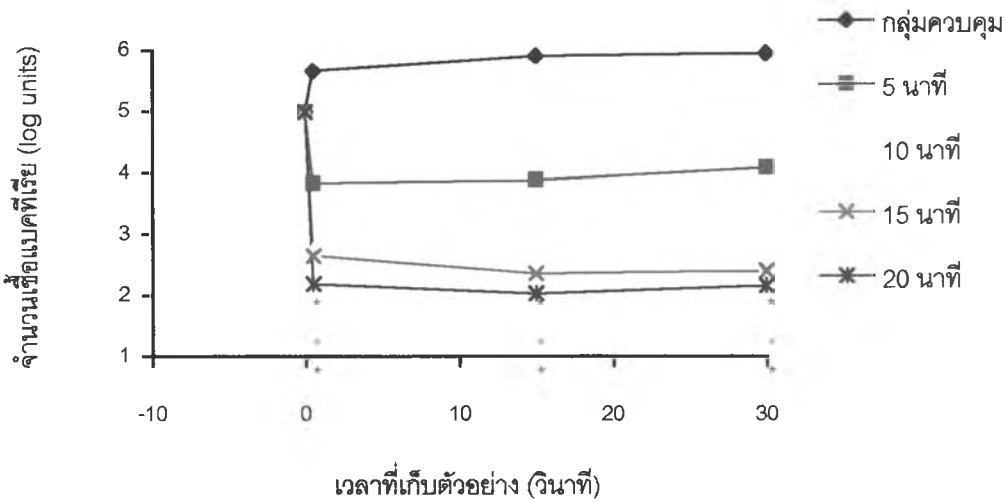
โอโซนสลายตัวอย่างรวดเร็วเมื่อละลายน้ำ เนื่องจากปัจจัยต่างๆ ทำให้ ROC แปรผกผันกับระยะเวลาหลังเป่าพ่นโอโซน ดังเช่นน้ำทะเลผสมเชื้อแบคทีเรียที่สัมผัสโอโซนนาน 10 นาที จะมีปริมาณ ROC ลดลงเรื่อยๆ จาก 4.345 มก./ลิตร ใน 30 วินาทีแรกหลังการเป่าพ่น จนเหลือความเข้มข้นเพียง 0.064 มก./ลิตร ใน ชม.ที่ 48 (ภาพที่ 4.12) และทุกๆ กลุ่มการทดลองที่เป่าพ่นโอโซนระยะเวลาต่างๆ มีการลดลงของ ROC แปรผกผันกับเวลาเช่นกัน



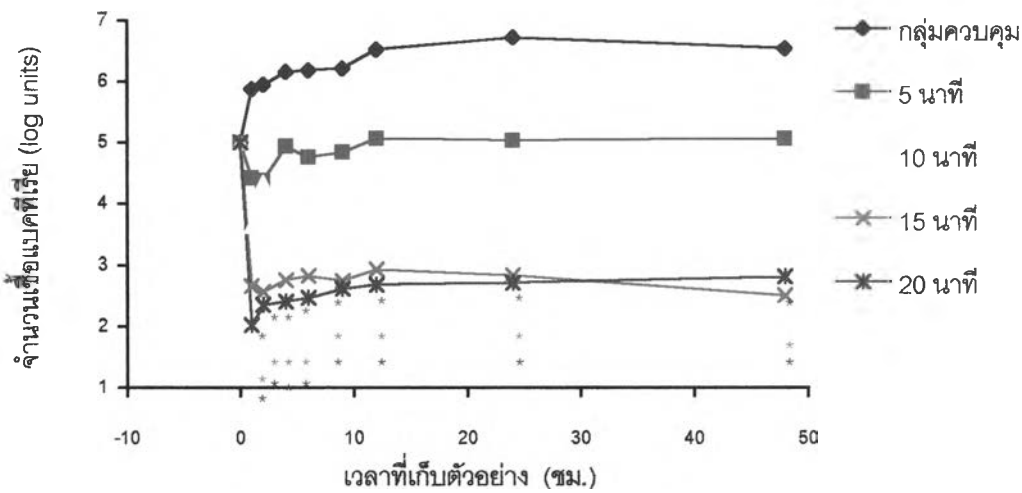
ภาพที่ 4.12 ปริมาณ ROC ที่ระยะเวลาต่างๆ หลังการเป่าพ่นโอโซนนาน 1, 5, 10และ 20 นาที จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์

4.4 ผลของโอโซนต่อเชื้อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์

ปริมาณ TOO 70.70 มก./ลิตร จากการพ่นโอโซนนาน 5 นาที ด้วยเครื่องขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ สามารถลดจำนวน *Bacillus* S11 ได้ 1.16 log units ที่ระยะเวลาหลังการให้โอโซน 30 วินาที (ปริมาณ ROC 0.204 มก./ลิตร) แต่เชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้อีกในชั่วโมงที่ 12 (ปริมาณ ROC 0.066 มก./ลิตร) เมื่อเพิ่มระยะเวลาให้เชื้อสัมผัสโอโซนนาน 10, 15 และ 20 นาที (ปริมาณ TOO 141.41, 212.12 และ 282.82 มก./ลิตร ตามลำดับ ปริมาณ ROC อยู่ในช่วง 0.362-1.233 มก./ลิตร) พบว่าทั้ง 3 ความเข้มข้นสามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียได้ 2-4 log units นาน 48 ชม. ผลการทดลองสามารถแสดงได้ดังนี้ (ภาพที่ 4.13 ก และ ข)



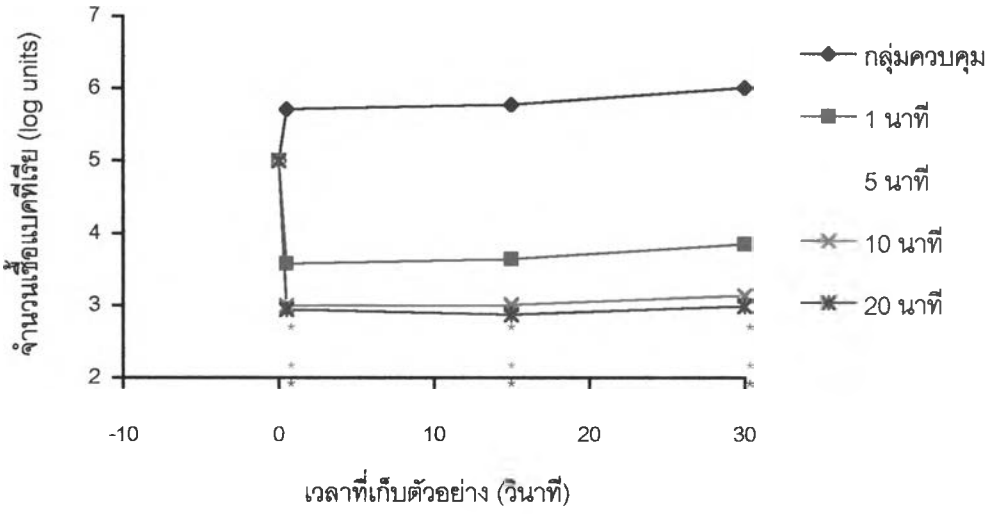
ภาพที่ 4.13 ก จำนวนเชื้อ *Bacillus* S11 ในช่วง 30 วินาที-30 นาที หลังการสัมผัส TOO ความเข้มข้นต่างๆ จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ) * แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



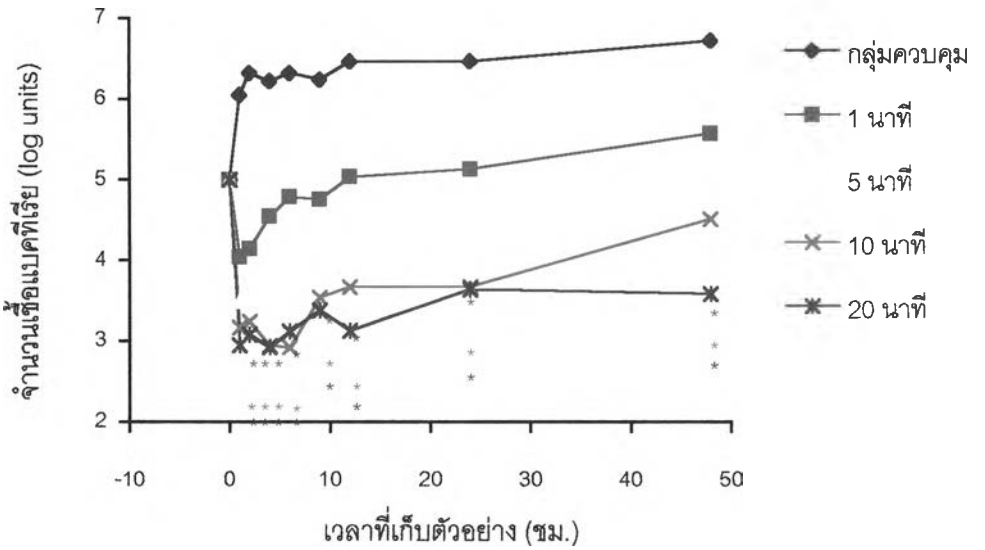
ภาพที่ 4.13 ข จำนวนเชื้อ *Bacillus* S11 ใน ชม.ที่ 1-48 หลังการสัมผัส TOO ความเข้มข้นต่างๆ จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ) * แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อเปลี่ยนแหล่งกำเนิดออกซิเจนเพื่อผลิตโอโซนเป็นก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อ *Bacillus* S11 ได้ 2 log units นาน 9 ชม. ที่โอโซนสัมผัสนาน 1 นาที (ปริมาณ TOO 51.23 มก./ลิตร ปริมาณ ROC 0.262 มก./ลิตร) และการให้โอโซนนาน 5, 10 และ 20 นาที (ปริมาณ TOO 256.16, 512.32 และ 1,024.64 มก./ลิตร ตามลำดับ ปริมาณ ROCที่ 30 วินาทีหลังการให้โอโซนเท่ากับ 0.385, 0.739 และ 1.361 มก./ลิตร ตามลำดับ) สามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียได้ 2-3.4 log units นาน 48 ชม. (ภาพที่ 4.14 ก และ ข)

และในการนับจำนวนเชื้อ *Bacillus* S11 ที่สัมผัสโอโซนจากเครื่องผลิต ที่มีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศและก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ สามารถนับจำนวนได้หลังบ่มไว้ใน Incubator 48 ชม. เนื่องจากที่ระยะเวลาในการบ่ม 24 ชม. ไม่สามารถนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียได้ เพราะโคโลนีของเชื้อมีขนาดเล็กมาก



ภาพที่ 4.14 ก จำนวนเชื้อ *Bacillus* S11 ในช่วง 30 วินาที-30 นาที หลังการสัมผัส TOO ความเข้มข้นต่างๆ จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ) * แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4.14 ข จำนวนเชื้อ *Bacillus* S11 ใน ชม.ที่ 1-48 หลังการสัมผัส TOO ความเข้มข้นต่างๆ จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ) * แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

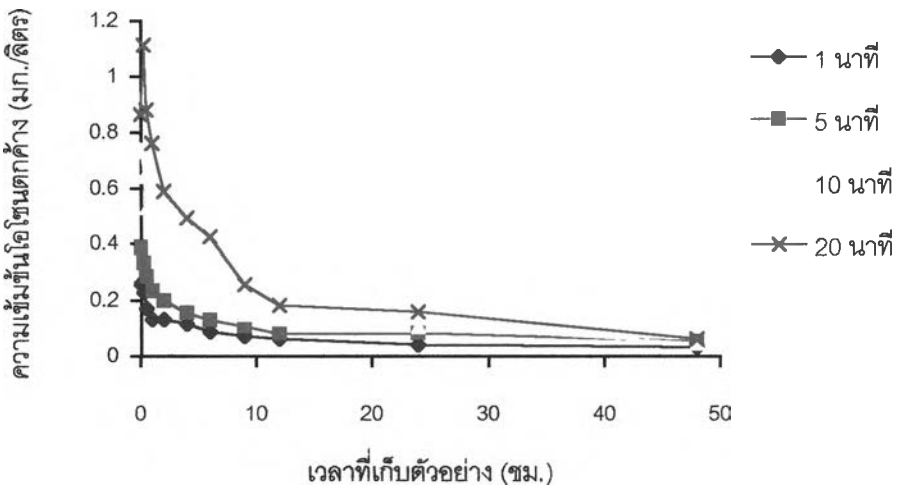
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อ *Bacillus* S11 ระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่สัมผัสโอโซนจากเครื่องผลิต ที่มีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศและก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ระยะเวลาต่างๆ ด้วยหลักการทางสถิติ คือ t-test แบบ one way analysis พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุมที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในทุกๆ หน่วยการทดลอง

จากการทดลองผลของโอโซนต่อเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *Bacillus* S11 สรุปได้ดังนี้ (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 ปริมาณ TOO และ ROC ที่มีผลต่อเชื้อ *Bacillus* S11 (จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.)

แหล่งกำเนิดออกซิเจน	เวลาพ่นโอโซน (นาที)	TOO (ppm)	ROC (ppm) ชม.ที่ 1-ชม.ที่ 48.	จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ลดลง
เครื่องปั๊มอากาศ	5	70.70	0.204-0.025	1.83 log units นาน 12 ชม.
	10	141.41	0.362-0.029	2-4 log units นาน 48 ชม.
	15	212.12	0.837-0.095	
	20	282.82	1.233-0.200	
ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์	1	51.23	0.262-0.037	2 log units นาน 9 ชม.
	5	256.16	0.385-0.053	2-3.4 log units นาน 48 ชม.
	10	512.32	0.739-0.045	
	20	1,024.64	1.361-0.062	

ปริมาณ ROC ลดลงตามระยะเวลาหลังจากพ่นโอโซนลงน้ำครั้งแรก และในชม.ที่ 48 ทุกกลุ่มการทดลองมีค่า ROC เกือบเป็นศูนย์ (ภาพที่ 4.15)



ภาพที่ 4.15 ปริมาณ ROC ที่ระยะเวลาต่างๆ หลังการเป่าพ่นโอโซนนาน 1, 5, 10 และ 20 นาที จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์

4.4 <u>ผลของโอโซนต่อคุณภาพน้ำ</u>

ศึกษาความเข้มข้นของโอโซนที่เหมาะสม ต่อการปรับปรุงค่าคุณภาพน้ำต่างๆ จากเครื่องผลิตโอโซนขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ ระยะเวลาในการให้โอโซนเท่ากับ 1 ชม. (ปริมาณ TOO 424.24 มก./ลิตร ปริมาณ ROC 0.180 มก./ลิตร) เปรียบเทียบกับคุณภาพน้ำเริ่มต้น และกลุ่มที่พ่นอากาศจากเครื่องปั๊มอากาศ (ตารางที่ 4.8) พบว่ากลุ่มที่พ่นโอโซนสามารถลดค่าการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ ค่าแอมโมเนียม-ไนโตรเจน และปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดได้ 0.8, 0.15 และ 12.5 มก./ลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับคุณภาพน้ำเริ่มต้น แตกต่างจากกลุ่มที่พ่นอากาศ ที่ลดปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดได้เพียง 4 มก./ลิตร (ตารางที่ 4.9) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่ากลุ่มที่พ่นโอโซนมีค่าการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ และปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด ต่างจากคุณภาพน้ำเริ่มต้น และมีค่าการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ ต่างจากกลุ่มที่พ่นอากาศ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนกลุ่มที่พ่นอากาศไม่มีความแตกต่างของค่าคุณภาพน้ำต่างๆ ทางสถิติจากคุณภาพน้ำเริ่มต้น ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4.8 ค่าคุณภาพน้ำก่อนและหลังการพ่นก๊าซโอโซน และอากาศ 1 ชม.
(ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ ± SD)

ตัวแปรคุณภาพน้ำ	คุณภาพน้ำเริ่มต้น	กลุ่มที่พ่นอากาศ 1 ชม.	กลุ่มที่พ่นโอโซน 1 ชม.
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	27.40 ± 0.56	27.05 ± 0.07	27.00 ± 0.00
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	7.9 ± 0.14	7.9 ± 0.42	7.9 ± 0.42
ค่าความเค็ม (ส่วนในพันส่วน)	22 ± 0.0	22 ± 0.0	22 ± 0.0
ค่าการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ (มก./ลิตร)	4.70 ± 0.12	5.01 ± 0.43	3.90 [a, b] ± 0.16
ปริมาณออกซิเจนละลายเริ่มต้น (มก./ลิตร)	5.92 ± 0.12	6.60 ± 0.32	6.99 ± 0.09
ค่าความกระด้างของน้ำ (มก./ลิตร)	86 ± 11.31	86 ± 11.31	84 ± 14.14
แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	3.065 ± 0.487	3.05 ± 0.466	2.915 ± 0.417
ไนไตรต์-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	0.064 ± 0.011	0.066 ± 0.011	0.124 ± 0.009
ไนเตรต-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	0.152 ± 0.015	0.139 ± 0.043	0.183 ± 0.007
ฟอสเฟต (มก./ลิตร)	0.812 ± 0.026	0.805 ± 0.014	0.881 ± 0.084
ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (มก./ลิตร)	70 ± 2.82	66 ± 2.82	57.5 [a] ± 3.53

หมายเหตุ : [a] แสดงความแตกต่างทางสถิติระหว่างค่าคุณภาพน้ำเริ่มต้นกับกลุ่มที่พ่นโอโซน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

[b] แสดงความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มที่พ่นอากาศกับกลุ่มที่พ่นโอโซน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4.9 เปอร์เซ็นต์ค่าคุณภาพน้ำที่ลดลง เมื่อสัมผัสโอโซน และอากาศนาน 1 ชม. เปรียบเทียบกับค่าคุณภาพน้ำเริ่มต้น

ตัวแปรคุณภาพน้ำ	กลุ่มที่ให้อากาศ 1 ชม.		กลุ่มที่ให้โอโซน 1 ชม.	
	มก./ลิตร	%	มก./ลิตร	%
ค่าการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ (มก./ลิตร)	-	-	0.8	17
แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	-	-	0.15	4.89
ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (มก./ลิตร)	4	5.71	12.5	17.85

เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการพ่นโอโซนเป็น 2 ชม. (ปริมาณ TOO 848.48 มก./ลิตร ปริมาณ ROC 0.283 มก./ลิตร) สามารถปรับปรุงค่าคุณภาพน้ำได้เพิ่มสูงขึ้นกว่าการพ่นโอโซน 1 ชม. ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่ากลุ่มที่พ่นโอโซนมีค่าความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนไตรต์-ไนโตรเจน ไนเตรต-ไนโตรเจน และปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด ต่างจากค่าคุณภาพน้ำเริ่มต้น และมีค่าความกระด้างของน้ำ แอมโมเนียม-ไนโตรเจน ไนไตรต์-ไนโตรเจน ไนเตรต-ไนโตรเจน และปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด ต่างจากกลุ่มที่พ่นอากาศ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนกลุ่มที่พ่นอากาศมีเพียงค่าแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ที่แตกต่างทางสถิติจากคุณภาพน้ำเริ่มต้น ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.10 ค่าคุณภาพน้ำก่อนและหลังการให้โอโซน และอากาศ 2 ชม.
(ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ ± SD)

ตัวแปรคุณภาพน้ำ	คุณภาพน้ำเริ่มต้น	กลุ่มที่พ่นอากาศ 2 ชม.	กลุ่มที่พ่นโอโซน 2 ชม.
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	27.55 ± 0.35	27.40 ± 0.28	26.70 ± 0.70
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	7.85 ± 0.07	8.15 ± 0.21	8.55 [a] ± 0.21
ค่าความเค็ม (ส่วนในพันส่วน)	22 ± 0.0	22 ± 0.0	22 ± 0.0
ค่าการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ (มก./ลิตร)	5.02 ± 0.21	4.91 ± 0.18	4.36 ± 0.45
ปริมาณออกซิเจนละลายเริ่มต้น (มก./ลิตร)	5.39 ± 0.27	6.34 ± 0.24	7.9 ± 0.19
ค่าความกระด้างของน้ำ (มก./ลิตร)	97 ± 4.24	95 ± 1.41	88 [b] ± 2.82
แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	7.01 ± 0.21	2.73 [a] ± 0.43	0.75 [a, b] ± 0.07
ไนไตรต์-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	0.093 ± 0.070	0.089 ± 0.001	0.055 [a, b] ± 0.003
ไนเตรต-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	0.890 ± 0.004	0.775 ± 0.096	0.338 [a, b] ± 0.080
ฟอสเฟต (มก./ลิตร)	0.532 ± 0.010	0.536 ± 0.012	0.525 ± 0.020
ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (มก./ลิตร)	65.5 ± 0.707	60 ± 7.071	37 [a, b] ± 4.24

หมายเหตุ : [a] แสดงความแตกต่างทางสถิติจากคุณภาพน้ำเริ่มต้น ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

[b] แสดงความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มที่พ่นอากาศกับกลุ่มที่พ่นโอโซน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 4.9 พบว่าโอโซนมีประสิทธิภาพ ในการปรับปรุงค่าคุณภาพน้ำต่างๆ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ ดังนี้ (ตารางที่ 4.11)

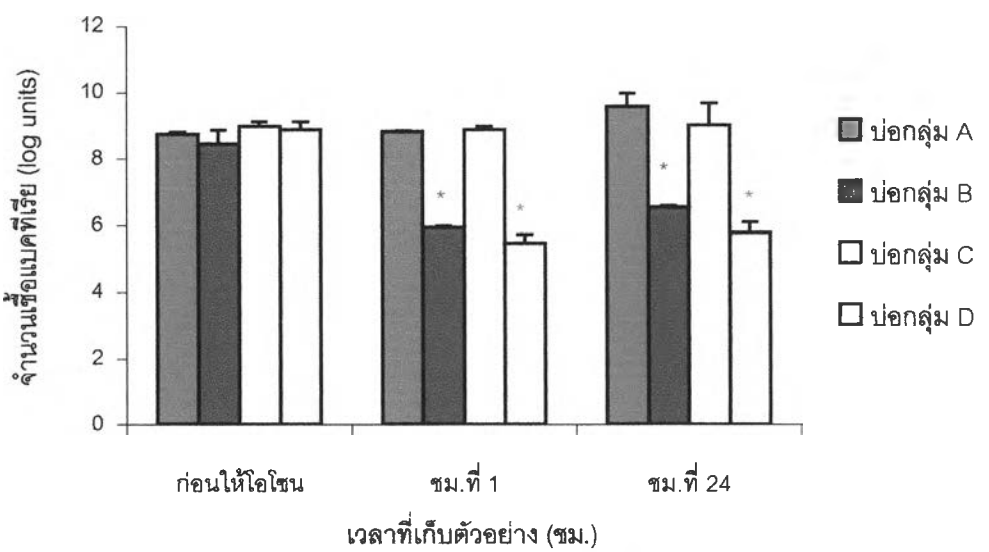
ตารางที่ 4.11 เปอร์เซ็นต์ค่าคุณภาพน้ำที่ลดลง เมื่อสัมผัสโอโซน และอากาศนาน 2 ชม. เปรียบเทียบกับค่าคุณภาพน้ำเริ่มต้น

ตัวแปรคุณภาพน้ำ	กลุ่มที่ให้อากาศ 2 ชม.		กลุ่มที่ให้โอโซน 2 ชม.	
	ค่าความแตกต่าง	%	ค่าความแตกต่าง	%
ค่าการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ (มก./ลิตร)	0.08	2.09	0.82	12.96
ค่าความกระด้างของน้ำ (มก./ลิตร)	4.00	2.06	10	9.27
แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	4.13	61.08	6.35	89.19
ไนไตรต์-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	0.008	4.28	0.045	40.68
ไนเตรต-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	0.05	12.91	0.499	62.04
ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (มก./ลิตร)	11	8.39	26	43.51

ข้อมูลจากตารางที่ 4.9-4.11 แสดงให้เห็นว่า โอโซนมีประสิทธิภาพในการปรับปรุงค่าคุณภาพน้ำต่างๆ สูงกว่าการพ่นอากาศ เนื่องจากการพ่นโอโซนนานทั้ง 1 และ 2 ชม. สามารถปรับปรุงค่าคุณภาพน้ำต่างๆ ได้มากกว่า และมีเปอร์เซ็นต์ค่าคุณภาพน้ำที่ลดลงสูงกว่าการพ่นอากาศ เมื่อเทียบกับค่าคุณภาพน้ำเริ่มต้น

4.5 การศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้โอโซนเพื่อบำบัดเชื้อโรค และควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง

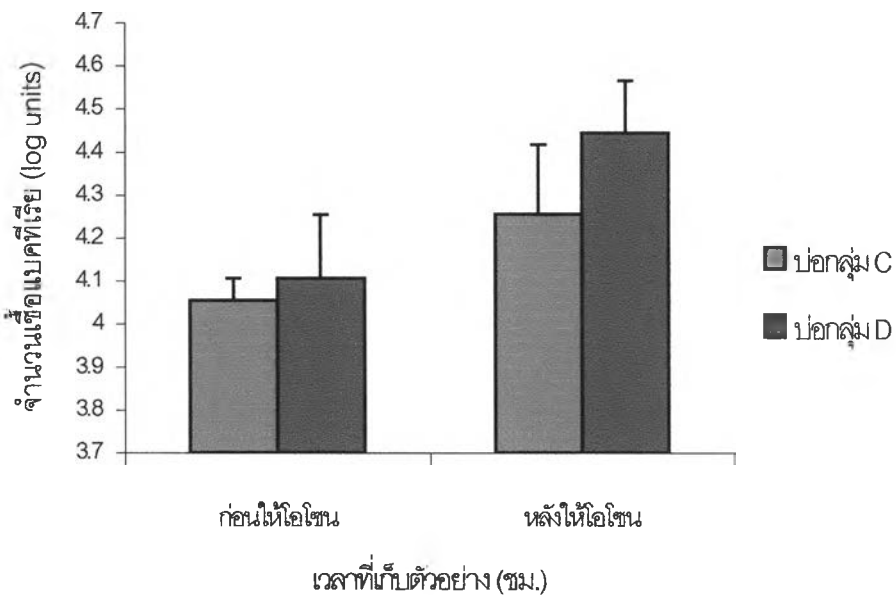
ทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำวัยรุ่นเป็นเวลา 1 เดือน ด้วยอาหาร 2 ชนิด คือ อาหารเม็ดธรรมดาและอาหารเม็ดผสมเชื้อ *Bacillus* S11 (อาหารเม็ดโพรไบโอติก) ตรวจวัดคุณภาพน้ำอาทิตย์ละ 1 ครั้ง ด้วยชุดเคมีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ เมื่อเลี้ยงกุ้งครบ 1 เดือน ทำการเหนี่ยวนำให้กุ้งอ่อนแอ โดยการแช่กุ้งใน *V.harveyi* ความเข้มข้น 10^7 cfu/ml นาน 6 ชม. แล้วจึงเป่าพ่นโอโซนในบ่อทดลองกลุ่ม B และ D ด้วยปริมาณ TOO จากการคำนวณความเข้มข้นที่เหมาะสมในการบำบัดเชื้อ ปรับปรุงคุณภาพน้ำ และไม่เป็นอันตรายต่อกุ้ง คือ 51.23 มก./ลิตร (เป่าพ่นโอโซนนาน 30 นาที) จากเครื่องขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ ก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *V.harveyi* สายพันธุ์ D331 ได้ 3 log units นาน 24 ชม. ทั้งในบ่อทดลองกลุ่ม B และกลุ่ม D (ปริมาณ ROC เฉลี่ย 0.341 มก./ลิตร และ 0.333 มก./ลิตร ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้โอโซน (บ่อ A และ C) (ภาพที่ 4.16)



ภาพที่ 4.16 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *V.harveyi* สายพันธุ์ D331 ในแต่ละบ่อทดลอง ทั้งก่อนและหลังการให้ TOO 51.23 มก./ลิตร (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ)
* แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
บ่อกลุ่ม A คือ กลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดธรรมดา
บ่อกลุ่ม B คือ กลุ่มโอโซนที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดธรรมดา

บ่อกลุ่ม C คือ กลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารโพรไบโอติก
บ่อกลุ่ม D คือ กลุ่มโอโซนที่เลี้ยงด้วยอาหารโพรไบโอติก

ตรวจนับจำนวนเชื้อโพรไบโอติก *Bacillus* S11 ในลำไส้กุ้งไปพร้อมๆ กับการเก็บตัวอย่างเชื้อ *V.harveyi* พบว่าในลำไส้กุ้งกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดโพรไบติก จะพบเชื้อ *Bacillus* S11 ส่วนกุ้งที่ให้อาหารเม็ดธรรมดาจะไม่พบ อีกทั้งปริมาณเชื้อ *Bacillus* S11 ในลำไส้กุ้งทั้งบ่อที่มีการให้และไม่มีการให้โอโซนมีจำนวนไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4.17)



ภาพที่ 4.17 แสดงจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* S11 ในลำไส้กุ้ง ในแต่ละบ่อทดลองก่อนและหลังการให้ TOO 51.23 มก./ลิตร บ่อกลุ่ม C คือ กลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารโพรไบโอติก บ่อกลุ่ม D คือ กลุ่มโอโซนที่เลี้ยงด้วยอาหารโพรไบโอติก

ตรวจวัดค่าคุณภาพน้ำเลี้ยงควบคู่กับการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด พบว่าในบ่อทดลองที่พ่นโอโซนมีค่าแอมโมเนียม-ไนโตรเจนลดลงจาก 1 มก./ลิตร เป็น 0.7 มก./ลิตร เพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ และปรับสภาพน้ำเลี้ยงให้มีความเป็นด่างเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการพ่นโอโซน (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.12 ค่าตัวแปรคุณภาพน้ำเฉลี่ย ก่อนและหลังการให้โอโซน (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ ± SD)

	ก่อนการให้โอโซน				หลังการให้โอโซน			
กลุ่มทดลอง	A	B	C	D	A	B	C	D
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	27±0	27±0.07	27±0.07	27±0	27±0	27±0.14	27±0	27±0
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	7.41 ±0.11	7.47 ±0.02	7.67 ± 0.51	7.71 ±0.16	7.57 ±0.43	8.01 ±0.07	7.74 ±0.32	8.08 ±0.04
ค่าออกซิเจนละลาย (มก./ลิตร)	6.61 ±0.53	6.49 ±0.38	6.90 ±0.70	6.76 ±0.54	6.73 ±0.43	7.49 ±0.73	7.11 ±0.77	8.43 ±0.26
แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	1±0	1 ±0	1±0	1±0	1±0	0.7±0	1±0	0.7±0
ไนไตรต์-ไนโตรเจน (มก./ลิตร)	7±0	6.5±0	7±0	7±0	7±0	8±1.41	7±0	8±0
ค่าความกระด้างของน้ำ (มก./ลิตร)	136±0	136±0	119±0	119±0	136±0	128±12.02	119±0	119±0
ROC (ppm)	-	-	-	-	-	0.341 ±0.035	-	0.333 ±0.024

หมายเหตุ : บ่อ A คือ กลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดธรรมดา
บ่อ B คือ กลุ่มโอโซนที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดธรรมดา
บ่อ C คือ กลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารโพรไบโอติก
บ่อ D คือ กลุ่มโอโซนที่เลี้ยงด้วยอาหารโพรไบโอติก

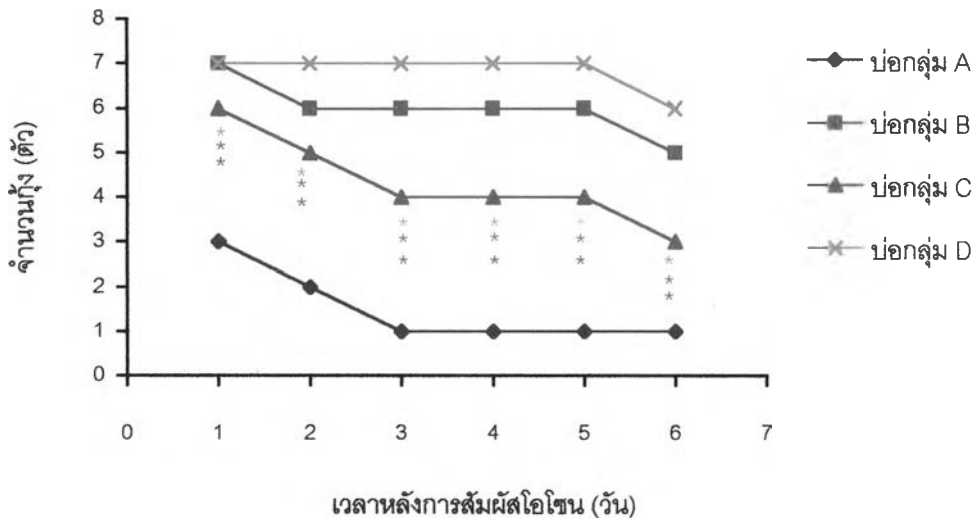
จากการทดลองพบว่า ปริมาณ TOO 51.23 มก./ลิตร ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้ง เนื่องจากในระหว่างการพ่นและหลังการพ่นโอโซนเสร็จ ไม่ทำให้กุ้งเกิดอาการผิดปกติและตายในทันที แต่ในกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการพ่นโอโซน พบกุ้งตายทันทีหลังการสัมผัสเชื้อความเข้มข้นสูง (10^7 cfu/ml) นาน 6 ชม. และเมื่อเลี้ยงต่อไปอีก 6 วัน พบว่าในกลุ่มที่มีการให้โอโซนจะมีจำนวนกุ้งรอดมากกว่ากลุ่มที่ไม่มีการให้โอโซน (ตารางที่ 4.13)

ตารางที่ 4.13 จำนวนกุ้งกุลาดำในแต่ละบ่อทดลอง ก่อนและหลังการเป่าพ่นโอโซน ที่ปริมาณ TOO 51.23 มก./ลิตร

กลุ่มทดลอง	A		B		C		D	
ซ้ำ	1	2	1	2	1	2	1	2
ก่อนให้โอโซน	6	5	7	8	7	7	7	9
หลังให้โอโซนทันที	5	4	7	7	7	7	7	8
1 วัน	3	3	6	7	6	6	6	8
2 วัน	2	2	5	7	5	5	6	8
3 วัน	1	1	5	6	4	4	5	8
6 วัน	1	1	5	5	3	3	5	7
คงเหลือ	1	1	5	5	3	3	5	7

หมายเหตุ : บ่อ A คือ กลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดธรรมดา
บ่อ B คือ กลุ่มโอโซนที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดธรรมดา
บ่อ C คือ กลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารโพรไบโอติก
บ่อ D คือ กลุ่มโอโซนที่เลี้ยงด้วยอาหารโพรไบโอติก

นำข้อมูลจำนวนกุ้งกุลาดำ ที่เหลือในแต่ละวันหลังการเป่าพ่นโอโซนค่า TOO 51.23 มก./ลิตร มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนกุ้ง และระยะเวลาหลังการสัมผัสโอโซน เพื่อเปรียบเทียบอัตรารอดของกุ้งระหว่างกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้โอโซนกับกลุ่มทดลองที่สัมผัสโอโซนค่าความเข้มข้นดังกล่าว (ภาพที่ 4.18) พบกุ้งในกลุ่มที่ให้โอโซนควบคู่กับการให้อาหารโพรไบโอติก มีอัตรารอดสูงที่สุด ตั้งแต่วันที่ 1 - วันที่ 6 หลังการสัมผัสโอโซนปริมาณ TOO 51.23 มก./ลิตร



ภาพที่ 4.18 แสดงจำนวนกุ้งเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มทดลอง หลังการเป่าพ่นโอโซนค่า TOO 51.23 มก./ลิตร 6 วัน (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ) * แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม (บ่อกลุ่ม A) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
บ่อกลุ่ม A คือ กลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดธรรมดา
บ่อกลุ่ม B คือ กลุ่มโอโซนที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดธรรมดา
บ่อกลุ่ม C คือ กลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารโพรไบโอติก
บ่อกลุ่ม D คือ กลุ่มโอโซนที่เลี้ยงด้วยอาหารโพรไบโอติก

เมื่อนำข้อมูลจำนวนกุ้งก่อน และหลังการให้โอโซนทันที มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย Analysis of Variance แบบ Two-way analysis พบว่าชนิดของอาหารและการให้โอโซน มีผลทำให้จำนวนกุ้งที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบปฏิกิริยาร่วมระหว่างชนิดของอาหารและการให้โอโซน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มการทดลองด้วย Duncan's New Multiple Range Test พบว่าค่าเฉลี่ยของทุกกลุ่มการทดลอง ยกเว้นระหว่างบ่อกลุ่ม B และ C มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4.14)

ตารางที่ 4.14 จำนวนกุ้งกุลาดำ หลังการเป่าพ่นโอโซน (ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ซ้ำ ± SD)

ชนิดอาหาร	บ่อควบคุม	บ่อที่มีการเป่าพ่นโอโซน
อาหารเม็ดธรรมดา	5 ± 0.7	7^{a} ± 0.0
อาหารโพรไบโอติก	7^{b} ± 0.0	$8^{a, b}$ ± 0.7

หมายเหตุ : [a] แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

[b] แสดงความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดธรรมดา ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

<u>ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ TOO และ ROC</u>

ปริมาณ TOO จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Iodometric Method (APHA, 1976) มีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาในอัตราส่วนที่คงที่ (ภาพที่ 4.1-4.3) ขณะที่ค่าความเข้มข้นโอโซนที่แท้จริงที่ละลายเหลืออยู่ในน้ำและวัดได้ในรูป ROC มีค่าไม่แน่นอน และไม่แปรตรงกับ TOO จากการคำนวณโดยใช้สมการเส้นตรงรีเกรซชัน ค่า ROC ลดลงเป็นระยะจากวินาทีแรกที่โอโซนละลายลงน้ำ (ภาพที่ 4.12) หากมีการให้ก๊าซ

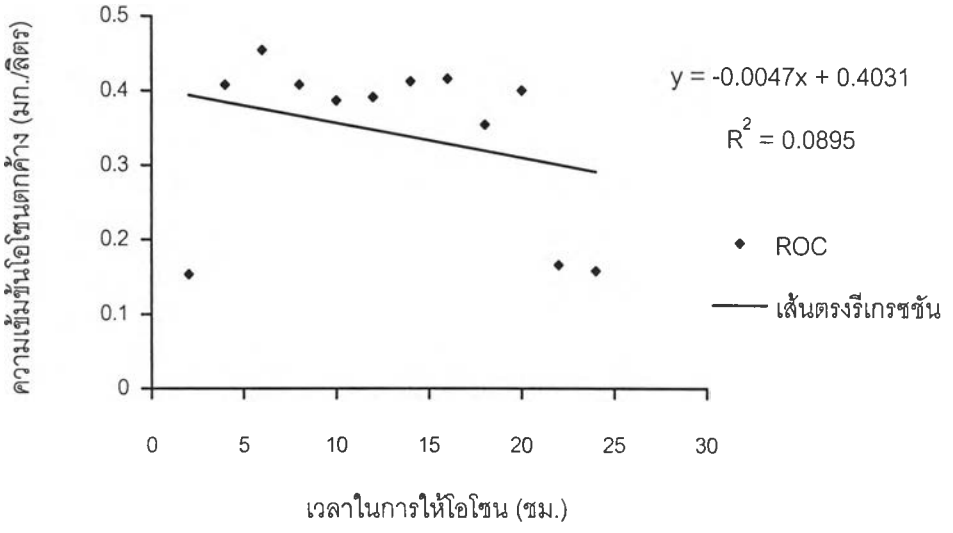
โอโซนต่อเนื่อง จะมีการสะสมของ ROC จนกระทั่งได้ค่าสูงสุด ณ เวลาหนึ่ง ซึ่งค่าสูงสุดนี้จะคงที่ไประยะหนึ่ง (ตารางที่ 4.3 และ 4.5) ขึ้นกับขนาดกำลังผลิตของเครื่องและแหล่งของออกซิเจน

การเป่าพ่นโอโซนเพียงครั้งเดียว ทำให้ค่า ROC สูงสุดในช่วง 30 วินาทีแรกหลังการเป่าพ่น เช่นในการศึกษาผลของโอโซนที่มีต่อเชื้อแบคทีเรีย ทั้งแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียโพรไบโอติก ROC จะลดลงตามเวลา และมีค่าเกือบเป็นศูนย์ในชม.ที่ 48 (ตารางที่ 4.6 และ 4.7)

ในการทดลองศึกษาความเป็นพิษของโอโซนต่อลูกกุ้งโพสต์ลาวาที่ 15-21 พบว่า การเป่าพ่นโอโซนจากเครื่องขนาดกำลังผลิต 100 มก./ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ ติดต่อกันเป็นเวลา 12 ชม. ได้ปริมาณ TOO จากการคำนวณ 321.28 มก./ลิตร เมื่อตรวจวัดปริมาณ ROC ทันทีที่เป่าพ่นโอโซนเสร็จ จะได้ ROC เท่ากับ 1.320 มก./ลิตร ซึ่งค่า ROC ที่ได้นี้มีปริมาณน้อยกว่าการเป่าพ่นโอโซนที่เวลานาน 6 และ 8 ชม. ในการทดลองคราวเดียวกัน (ปริมาณ TOO 160.85 และ 214.47 มก./ลิตร ปริมาณ ROC 1.895 และ 1.991 มก./ลิตร ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.1) แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์แบบไม่แน่นอนของ TOO และ ROC

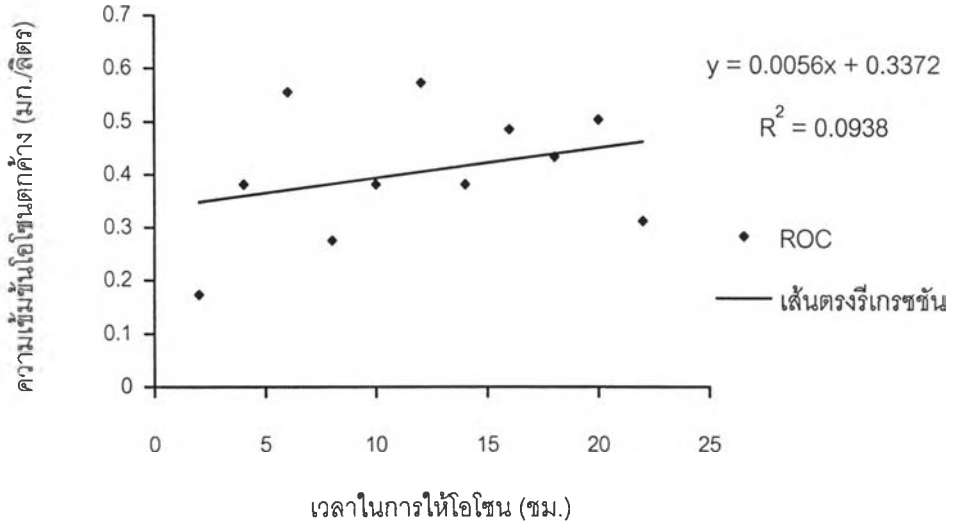
เมื่อทดลองให้โอโซนแบบต่อเนื่องนาน 24 ชม. ด้วยเครื่องโอโซนขนาดกำลังผลิต 100 มก./ชม. โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ โอโซนตกค้างจะสะสมจนมีปริมาณสูงสุดที่ 0.454 มก./ลิตร ในชม.ที่ 6 ระดับของ ROC นี้ค่อนข้างคงที่ไปถึงชม.ที่ 20 ข้อสังเกตหนึ่งจากการทดลองคือ ลูกกุ้งกุลาดำสัมผัสกับ ROC ที่ความเข้มข้นสูงนี้เป็นเวลาถึง 10 ชม. จึงเริ่มแสดงอาการผิดปกติ (ตารางที่ 4.3) ในการทดลองเพิ่มขนาดกำลังผลิตของเครื่องโอโซน ก็ยังพบข้อสังเกตแบบเดียวกัน กล่าวคือ ค่า ROC เริ่มสูงสุดเมื่อเป่าพ่นโอโซนติดต่อกัน 6 ชม. (0.555 มก./ลิตร) ความเข้มข้นของ ROC ในระดับนี้ยังดำเนินต่อไปอีก 14 ชม. ขณะที่ลูกกุ้งแสดงอาการผิดปกติตั้งแต่ ชม.ที่ 8 (ตารางที่ 4.5)

นำค่า ROC ที่ได้จากการเป่าพ่นโอโซนแบบต่อเนื่องของเครื่องขนาดกำลังผลิต 100 มก./ชม. โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ จากชม.ที่ 2 ถึงชม.ที่ 24 มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ROC กับระยะเวลาในการให้โอโซน ได้สมการเส้นตรงรีเกรซชัน คือ $Y = -0.0047X + 0.4031$ ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชัน (Coefficient of determination) คือ $R^2 = 0.0895$ (ภาพที่ 4.19)



ภาพที่4.19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการให้โอโซน กับความเข้มข้นของ ROC จากการเป่าพ่นโอโซนแบบต่อเนื่อง ด้วยเครื่องขนาดกำลังผลิต 100 มก./ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ

เมื่อเปลี่ยนขนาดกำลังผลิตของเครื่องโอโซนเป็น 2 กรัม/ชม.โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ ได้สมการเส้นตรงรีเกรซชันแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ROC กับระยะเวลาในการเป่าพ่น คือ Y = 0.0056X+0.3372 ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรซชัน (Coefficient of determination) คือ R^2 = 0.0938 (ภาพที่ 4.20)



ภาพที่ 4.20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการให้โอโซน กับความเข้มข้นของ ROC จากการเป่าพ่นโอโซนแบบต่อเนื่อง ด้วยเครื่องขนาดกำลังผลิต 2 กรัม/ชม. โดยมีแหล่งกำเนิดออกซิเจน คือ อากาศ

จากภาพที่ 4.19 และ 4.20 สรุปได้ว่า การให้โอโซนด้วยการเป่าพ่นแบบต่อเนื่อง จะทำให้ ROC มีค่าความเข้มข้นสูงสุดระยะหนึ่ง ค่าความเข้มข้นสูงสุดของ ROC และระยะเวลานานที่ความเข้มข้นนี้จะคงอยู่ ขึ้นกับขนาดกำลังผลิตของเครื่อง แหล่งกำเนิดออกซิเจน และ เวลานานในการเปิดเครื่อง