

บทที่ 4

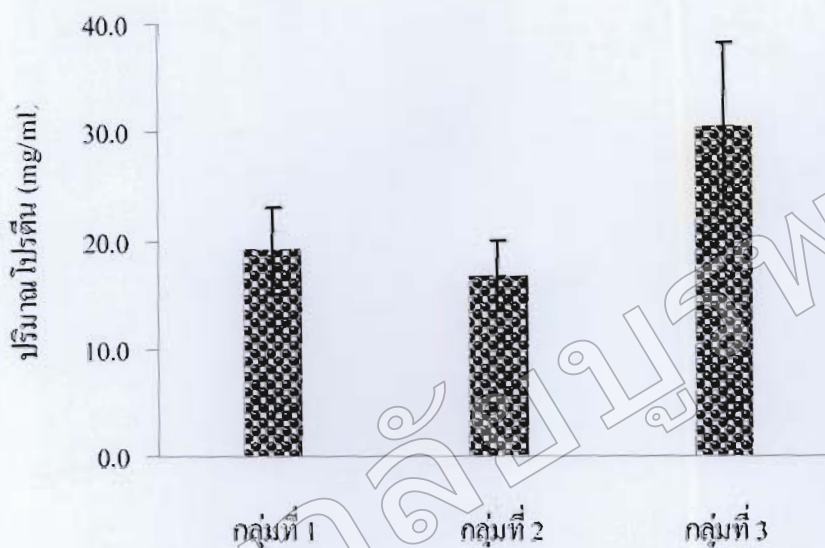
ผลการทดลอง

4.1 การสกัดโปรตีน Cd-Binding Protein และทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Immobilized metal ion affinity chromatography

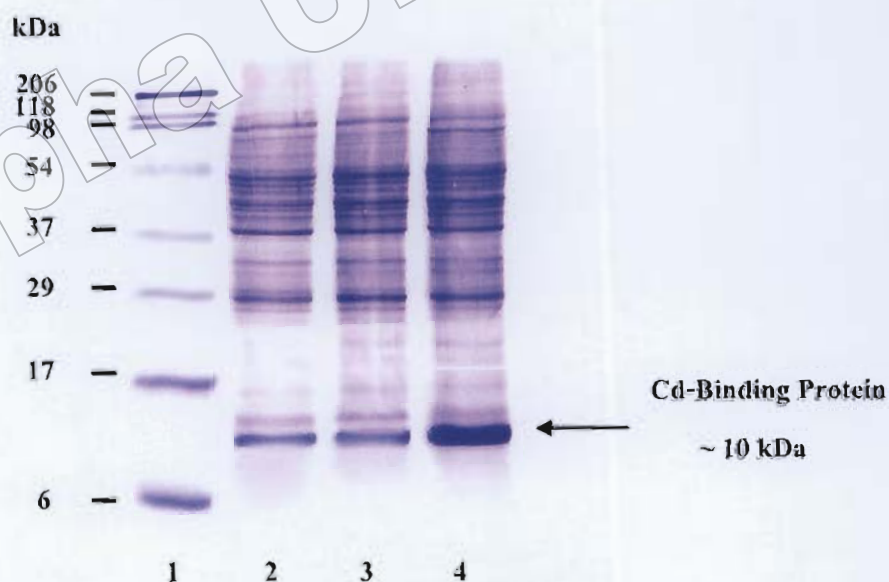
4.1.1 อัตราการตายของปลากระพงขาวหลังการฉีดแคดเมียมและการสกัดโปรตีน Cd-Binding Protein

จากการฉีดกระตุ้นปลากระพงขาวด้วยสาร $\text{CdNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ เพื่อชักนำให้สร้าง Cd-Binding Protein พบว่า ปลากระพงขาวกลุ่มควบคุม ที่ไม่ได้ฉีดบัฟเฟอร์และฉีดบัฟเฟอร์ (50 mM Sodium Phosphate Buffer, pH 7.4) จำนวนกลุ่มละ 5 ตัว มีอัตราการรอดตาย 100 % ที่ 48 ชั่วโมง แต่ปลากระพงขาวกลุ่มฉีด $\text{CdNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ที่ละลายใน 50 mM Sodium Phosphate Buffer, pH 7.4 ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม จำนวน 5 ตัว มีอัตราการรอดตาย 80 % ที่ 48 ชั่วโมง และลักษณะคืบของปลากระพงขาวพบว่าปลากระพงขาวกลุ่มฉีด $\text{CdNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ คืบมีการอักเสบ เป็นจุดเลือดสีแดงชัดเจน แตกต่างกับกลุ่มที่ไม่ได้ฉีดบัฟเฟอร์และฉีดบัฟเฟอร์ ที่คืบจะมีลักษณะสีแดง สดปกติไม่เป็นแผลอักเสบ ดังภาพในภาคผนวก ข

การสกัดและหาปริมาณ โปรตีนรวม (Protein Determination) จากตับปลากระพงขาว ซึ่งจากการศึกษาพบว่าปลากระพงขาวกลุ่มฉีด $\text{CdNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ มีปริมาณโปรตีนรวมสูงกว่าปลากระพงขาว ปลากระพงขาวกลุ่มควบคุม ที่ไม่ได้ฉีดบัฟเฟอร์และฉีดบัฟเฟอร์ (50 mM Sodium Phosphate Buffer, pH 7.4) 1-2 เท่า แสดงดังภาพที่ 4-1 และเมื่อศึกษารูปแบบของโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE โดยโหลดโปรตีนจำนวน 10 ไมโครลิตรต่อเลน แล้วย้อมด้วยสี Coomassie Blue พบว่า ผลของเจลที่แยกโปรตีนรวมด้วยเทคนิค SDS-PAGE ให้โปรตีนน้ำหนักโมเลกุลหลายขนาด แต่แถบโปรตีนหลักที่พบซึ่งคาดว่า เป็น Cd-Binding Protein มีขนาดประมาณ 10 kDa จะพบมากในปลากระพงขาว กลุ่มฉีด $\text{CdNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ แสดงดังภาพที่ 4-2



ภาพที่ 4-1 ปริมาณโปรตีนรวมของปลากะพงขาว กลุ่มที่ 1 คือ กลุ่มไม่ฉีด, กลุ่มที่ 2 คือ ฉีดบัฟเฟอร์ (50 mM sodium phosphate buffer, pH 7.4) และ กลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มฉีด $\text{CdNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$



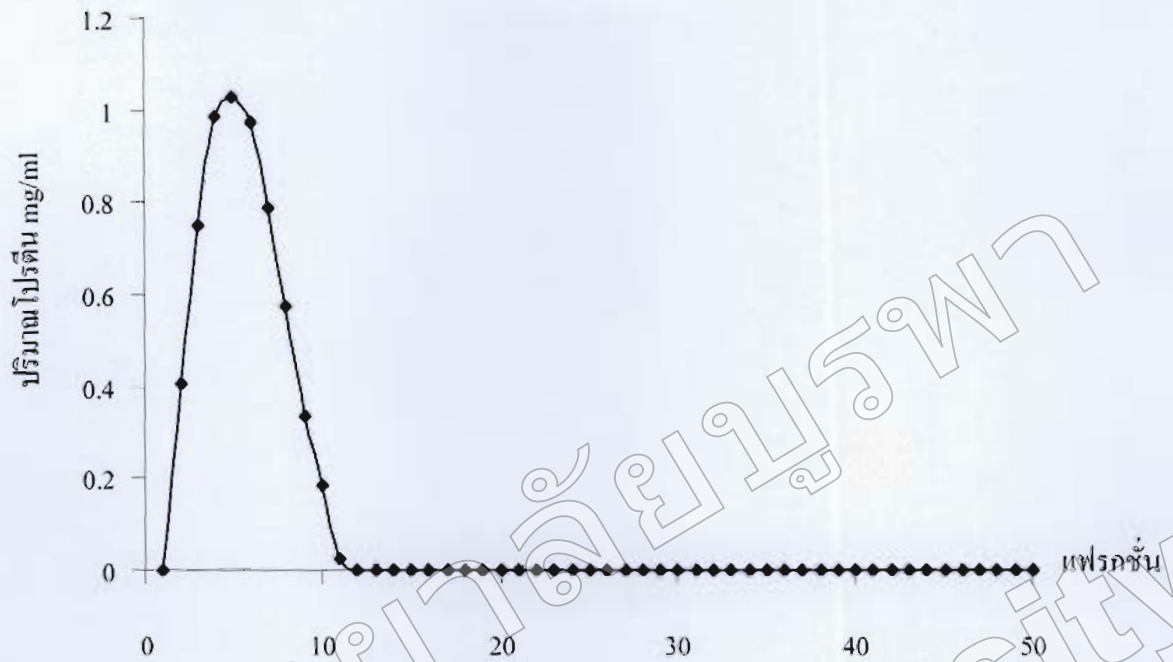
ภาพที่ 4-2 แสดงรูปแบบของโปรตีนปลากะพงขาว โดยใช้เทคนิค Gel Electrophoresis และย้อมสีด้วย Coomassie Blue คาดว่าเป็น Cd-Binding Protein มีขนาดประมาณ 10 kDa (ดูกราฟ)

- แถวที่ 1 : โปรตีนมาตรฐาน คือ Myosin (206 kDa), β -Galactosidase (118 kDa), Bovine Serum Albumin (98 kDa), Ovalbamin (54 kDa), Carbonic Anhydrase (37 kDa), Soybean Trypsin Inhibitor (29 kDa), Lysozyme (17 kDa) และ Aprotinin (6 kDa)
- แถวที่ 2 : ปลากระพงขาวไม่ฉีดบัฟเฟอร์
- แถวที่ 3 : ปลากระพงขาวฉีดบัฟเฟอร์ (50 mM sodium phosphate buffer, pH 7.4)
- แถวที่ 4 : ปลากระพงขาวกลุ่มฉีด CdNO₃, ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม

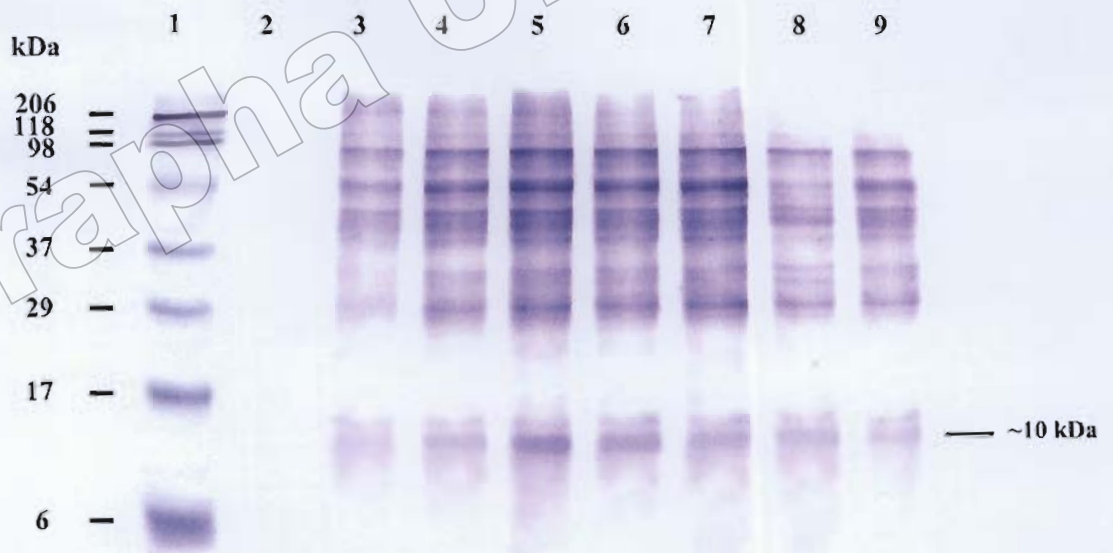
4.1.2 การทำโปรตีนให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Immobilized Metal Ion Affinity

Chromotagraphy

ผลการใช้วิธี Immobilized Metal Ion Affinity Chromotagraphy เพื่อให้ได้ Cd-Binding Protein ที่บริสุทธิ์ ด้วย HiTrap FF Crude Column ขนาด 5 มิลลิลิตร โดยโหลดโปรตีนลงในคอลัมน์ปริมาณ 5 มิลลิกรัมต่อ 5 มิลลิลิตร จากนั้นชะ Cd-Binding Protein ที่จับกับ Ni²⁺ ด้วย 10 volume ของ 15, 50, 100, 250 และ 500 mM imidazol เก็บแฟรกชันที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อ นาที ความเข้มข้นละ 10 แฟรกชัน และนำโปรตีนที่เก็บได้แต่ละแฟรกชัน มาหาปริมาณโปรตีนพบว่า มีปริมาณโปรตีน 0.18-1.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในช่วง 5-50 mM imidazole แสดงดังภาพที่ 4-3 และเมื่อทดสอบคุณสมบัติด้วยเทคนิค SDS-PAGE โหลด 10 ไมโครลิตรต่อเลน พบว่าเริ่มเห็นแถบของ Cd-Binding Protein ที่มีขนาดประมาณ 10 kDa ตั้งแต่แฟรกชันที่ 2 เป็นต้นไป แสดงดังภาพที่ 4-4 โดยเมื่อโปรตีนผ่าน HiTrap FF crude column จะเห็นได้ว่าสามารถกำจัดโปรตีนบางส่วนที่ไม่ต้องการออกไปได้ ดังภาพที่ 4-5



ภาพที่ 4-3 ปริมาณโปรตีนรวมที่ผ่าน Hitrap column สามารถแยกเก็บได้ในแต่ละเฟรกชัน (F)



ภาพที่ 4-4 รูปแบบของ Cd-Binding Protein ที่ผ่าน Hitrap column สามารถแยกเก็บได้ในแต่ละเฟรกชัน (F)

แถวที่ 1 : โปรตีนมาตรฐาน คือ Myosin (206 kDa), β -Galactosidase (118 kDa), Bovine Serum Albumin (98 kDa), Ovalbamin (54 kDa), Carbonic Anhydrase (37 kDa), Soybean Trypsin Inhibitor (29 kDa), Lysozyme (17 kDa) และ Aprotinin (6 kDa)
 แถวที่ 2-9 : แพรกชั้นที่ 1-8 ตามลำดับ



ภาพที่ 4-5 เปรียบเทียบความแตกต่างของ Cd-Binding Protein ที่ผ่านและไม่ได้ผ่าน Hitrap column

แถวที่ 1 : โปรตีนมาตรฐาน คือ Myosin (206 kDa), β -Galactosidase (118 kDa), Bovine Serum Albumin (98 kDa), Ovalbamin (54 kDa), Carbonic Anhydrase (37 kDa), Soybean Trypsin Inhibitor (29 kDa), Lysozyme (17 kDa) และ Aprotinin (6 kDa)

แถวที่ 2 : ปลากระพงขาวกลุ่มควบคุมไม่ฉีดบัฟเฟอร์

แถวที่ 3 : ปลากระพงขาวกลุ่มควบคุมฉีดบัฟเฟอร์ 50 mM sodium phosphate buffer, pH 7.4

แถวที่ 4 : Cd-Binding Protein ก่อนผ่าน Hitrap column

แถวที่ 5 : Cd-Binding Protein หลังผ่าน Hitrap column

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ Cd-Binding Protein โดยเทคนิค Western blot

จากการทดสอบประสิทธิภาพของโพลีโคลนอลแอนติบอดี(PAb) ต่อ Cd-Binding Protein จากปลากระพงขาวทดลองฉีด CdNO₃ โดยใช้เทคนิค Western blot เมื่อใช้แอนติบอดีที่เจือจางต่าง ๆ กันคือ 1:1,000, 1:2,500, 1:5,000, 1:7,500 และ 1:10,000 ทดสอบกับแอนติเจน Cd-Binding Protein ที่ความเข้มข้น 10 µg พบว่าค่าการเจือจางแอนติบอดีที่เหมาะสมคือ 1:2,500 โดยมีการจับกันของแอนติบอดีกับโปรตีนที่ไม่จำเพาะอื่นค่อนข้างน้อย และพบแถบโปรตีน Cd-Binding Protein (~10 kDa) ค่อนข้างชัดเจน แสดงผลดังภาพที่ 4-6 ดังนั้นจึงเลือกใช้ค่าการเจือจางแอนติบอดีที่ 1:2,500 เพื่อใช้ในการทดสอบด้วยเทคนิค Western Blot ในปลาทะเลชนิดอื่น ๆ ที่จับจากชายฝั่งทะเลบริเวณเขตพื้นที่อุตสาหกรรมต่อไป



ภาพที่ 4-6 ทดสอบประสิทธิภาพของPAb: Cd-Binding Protein จากปลากระพงขาวทดลองฉีด CdNO₃ แถวที่ 1 : โปรตีนมาตรฐาน คือ Myosin (206 kDa), β-Galactosidase (118 kDa), Bovine Serum Albumin (98 kDa), Ovalbamin (54 kDa), Carbonic Anhydrase (37 kDa), Soybean Trypsin Inhibitor (29 kDa), Lysozyme (17 kDa) และ Aprotinin (6 kDa) แถวที่ 2-3 : โปรตีนสกัดจากตับปลากระพงฉีด CdNO₃ 4 mg/kg ยังไม่ได้ผ่านและ ผ่าน Hitrap Column ตามลำดับ ใช้ PAb เจือจาง 1:1,000 แถวที่ 4-5 : โปรตีนสกัดจากตับปลากระพงฉีด CdNO₃ 4 mg/kg ยังไม่ได้ผ่านและ ผ่าน Hitrap Column ตามลำดับ ใช้ PAb เจือจาง 1:2,500

แถวที่ 6-7 : โปรตีนสกัดจากตับปลากระพงชนิด CdNO_3 , 4 mg/kg ยังไม่ได้ผ่านและผ่าน Hitrap Column ตามลำดับ ใช้ PAb เจือจาง 1:5,000

แถวที่ 8-9 : โปรตีนสกัดจากตับปลากระพงชนิด CdNO_3 , 4 mg/kg ยังไม่ได้ผ่านและผ่าน Hitrap Column ตามลำดับ ใช้ PAb ใช้ PAb เจือจาง 1: 7,500

แถวที่ 10-11 : โปรตีนสกัดจากตับปลากระพงชนิด CdNO_3 , 4 mg/kg ยังไม่ได้ผ่านและผ่าน Hitrap Column ตามลำดับ ใช้ PAb ใช้ PAb เจือจาง 1:10,000

4.3 การสำรวจการแสดงออกของ Cd-Binding Protein ของปลาทะเลบางชนิดจากชายฝั่งทะเลในพื้นที่ อุดสาหกรรม

จากการสำรวจ Cd-Binding Protein ของปลาทะเลจับจากชายฝั่งทะเลในพื้นที่ อุดสาหกรรม 2 บริเวณ (คือ บริเวณนิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี และนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง) โดยเทคนิค Western Blot (โดยตัวอย่างปลาทะเลทั้งหมดได้รับความอนุเคราะห์จากงานวิจัย เรื่อง การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของโลหะหนักในอาหารทะเลในพื้นที่อุตสาหกรรมชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก ของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา) ตัวอย่างที่เก็บแบ่งออกเป็น 2 ครั้ง คือ ถดุดุ่น (สิงหาคม- กันยายน 2550) และ ถดุดุ่น (มีนาคม 2551) ผลการสำรวจมีดังนี้

4.3.1 จำนวนชนิดของปลาทะเลที่นำมาสำรวจการแสดงออกของ Cd-Binding Protein บริเวณนิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี

ถดุดุ่น (สิงหาคม- กันยายน 2550) 13 ชนิด ได้แก่ ปลาเป็นจุดดำ ปลาพระจันทร์ ปลาจวดปลาปากลม ปลาทรายขาว ปลาหางควาย ปลาภูเลกส่วย ปลาหัวหางพัด ปลาดอกหมากกริบขาว ปลาข้างตะเกียบ ปลาข้างเหลือง ปลาภูเลกหลังเขียว ปลาเห็ดโคน

ถดุดุ่น (มีนาคม 2551) 19 ชนิด ได้แก่ ปลาเป็นจุดดำ ปลาดาวหวาน ปลาสลิดทะเลจุดขาว ปลาลิ้นหมา ปลาข้างเหลือง ปลาใบปอ ปลาปากลม ปลาจวด ปลาดะเพียนน้ำเค็ม ปลาข้างตะเกียบ ปลาดอกหมากกริบขาว ปลาเห็ดโคน ปลาสิ่กุน ปลาทรายขาว ปลาสร้อยนกเขา ปลาหางควาย ปลาดอกหมากกระโดง ปลาหัวหางพัด ปลาทรายแดง

4.3.2 จำนวนชนิดของปลาทะเลที่นำมาสำรวจการแสดงออกของ Cd-Binding

Protein บริเวณนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง

ฤดูฝน (สิงหาคม- กันยายน 2550) 17 ชนิด ได้แก่ ปลาทรายขาว ปลาทรายแดง ปลาจวด ปลาแป้น ปลาจวดหนวด ปลาพะยะ ปลาตาหวาน ปลาข้างเหลือง ปลาดาบเงิน ปลาดอกหมาก กระโดง ปลาเห็ดโคนลาย ปลาโถมงาม ปลาลิ้นหมา ปลาเห็ดโคน ปลาหางควาย ปลงอินทรีย์ ปลาปากคม

ฤดูแล้ง (มีนาคม 2551) 12 ชนิด ได้แก่ ปลาเห็ดโคน ปลาทรายขาว ปลาดอกหมาก กระโดง ปลาพะยะ ปลาทรายแดง ปลาเห็ดโคนลาย ปลาข้างเหลือง ปลาจวดน้ำ ปลาหางควาย ปลาจวดหนวด ปลาโถมงาม ปลาลิ้นหมาลายดอก

ตารางที่ 4-1 สรุปจำนวนชนิดของปลาทะเลที่นำมาสำรวจการแสดงออกของ Cd-Binding Protein บริเวณนิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี และนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง

ช่วงเวลา	แหลมฉบัง		มาบตาพุด		รวมทั้ง 2 บริเวณ
	ชนิด	ตัวอย่าง	ชนิด	ตัวอย่าง	ตัวอย่าง
ฤดูฝน(สิงหาคม- กันยายน 2550)	13	66	17	82	148
ฤดูแล้ง(มีนาคม 2551)	19	92	12	66	158
รวม	32	158	29	148	306

4.3.3 การแสดงออกของ Cd-Binding Protein ในปลาทะเลบริเวณนิคมอุตสาหกรรม

แหลมฉบัง จังหวัดชลบุรีและนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง ด้วยวิธี Western Blot

จากการใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อ Cd-Binding Protein จากปลากระพงขาวทดลองฉีด CdNO₃ ที่ค่าการเจือจาง 1:2,500 เมื่อทดสอบโดยใช้เทคนิค Western Blot พบว่าปลาทะเลจากนิคมอุตสาหกรรมทั้งสองแห่งสามารถพบแถบโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 10 kDa เหมือนกับปลากระพงขาวที่ทดลองฉีด CdNO₃ แสดงดังภาพที่ 4-7



ภาพที่ 4-7 ทดสอบการแสดงออกของ Cd-Binding Protein ในปลาทะเลที่เก็บจากบริเวณนิคมอุตสาหกรรม ใช้โพลิโคลนอลแอนติบอดีคือ Cd-Binding Protein จากปลากระพงขาว ทดลองฉีด CdNO₃ ที่ค่าการเจือจาง 1:2,500 ด้วยวิธี Western Blot

แถวที่ 1 : โปรตีนมาตรฐาน คือ Myosin (206 kDa), β -Galactosidase (118 kDa), Bovine Serum Albumin (98 kDa), Ovalbumin (54 kDa), Carbonic Anhydrase (37 kDa), Soybean Trypsin Inhibitor (29 kDa), Lysozyme (17 kDa) และ Aprotinin (6 kDa)

แถวที่ 2 : โปรตีนสกัดจากตับปลากะพงฉีด CdNO₃ 4 mg/kg ผ่าน Hi-Trap Column

แถวที่ 3 : โปรตีนสกัดจากตับปลาตาบเงินตัวที่ 2 นานดาพุด ฤดูแล้ง ให้ผลบวกขาง

แถวที่ 4 : โปรตีนสกัดจากตับปลาตาบเงินตัวที่ 3 นานดาพุด ฤดูแล้ง ให้ผลบวกขาง

แถวที่ 5 : โปรตีนสกัดจากตับปลาตาบเงินตัวที่ 4 นานดาพุด ฤดูแล้ง ให้ผลบวกเข้ม

แถวที่ 6 : โปรตีนสกัดจากตับปลาตาบเงินตัวที่ 5 นานดาพุด ฤดูแล้ง ให้ผลบวกเข้ม

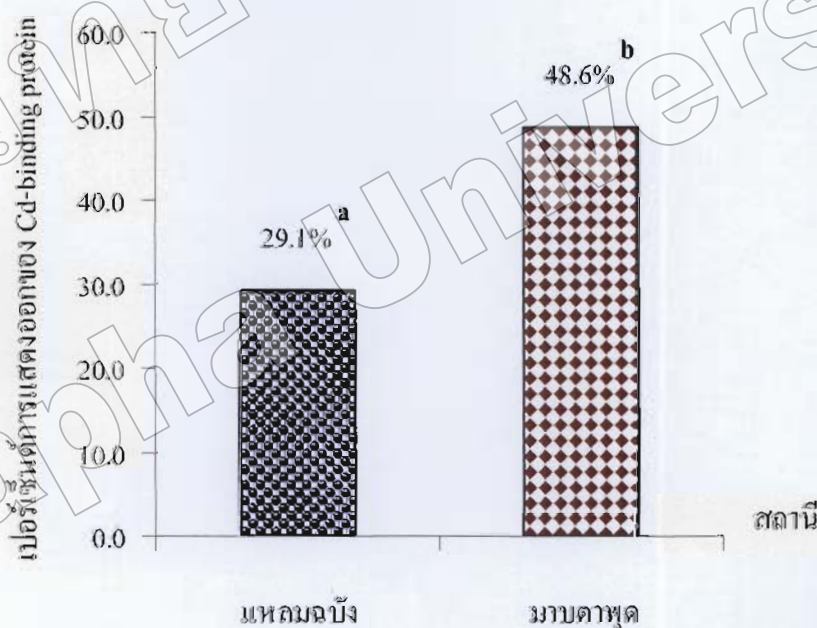
แถวที่ 7 : โปรตีนสกัดจากตับปลาตาบเงินตัวที่ 6 นานดาพุด ฤดูแล้ง ให้ผลบวกขาง

แถวที่ 8 : โปรตีนสกัดจากตับปลาหางควายตัวที่ 1 นานดาพุด ฤดูแล้ง ให้ผลบวกขาง

แถวที่ 9 : โปรตีนสกัดจากตับปลาหางควายตัวที่ 2 นานดาพุด ฤดูแล้ง ให้ผลบวกขาง

การเก็บตัวอย่างจากปลาทะเลบริเวณนคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรีและ
นคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง ในช่วงฤดูฝนและ ฤดูแล้ง เพื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของ
Cd-Binding Protein ด้วยวิธี Western Blot แสดงผลทั้งหมด ดังภาคผนวก ก พบว่า

บริเวณนคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง พบการแสดงออกของ Cd-Binding
Protein สูงกว่าบริเวณนคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี โดยจากการเก็บตัวอย่างปลาทะเล
29 ชนิด จำนวน 148 ตัวอย่าง พบการแสดงออกของ Cd-Binding Protein ให้ผลบวก 72 ตัวอย่าง
คิดเป็น 48.6% (n=148) ส่วนบริเวณนคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี ปลาทะเล 32 ชนิด
จำนวน 158 ตัวอย่าง พบการแสดงออกของ Cd-Binding Protein ให้ผลบวก 46 ตัวอย่าง คิดเป็น
29.1% (n=158) (ภาพที่ 4-8 และตารางที่ 4-2)



ภาพที่ 4-8 การแสดงออกของ Cd-Binding Protein ในปลาทะเลจากชายฝั่งทะเลบริเวณ

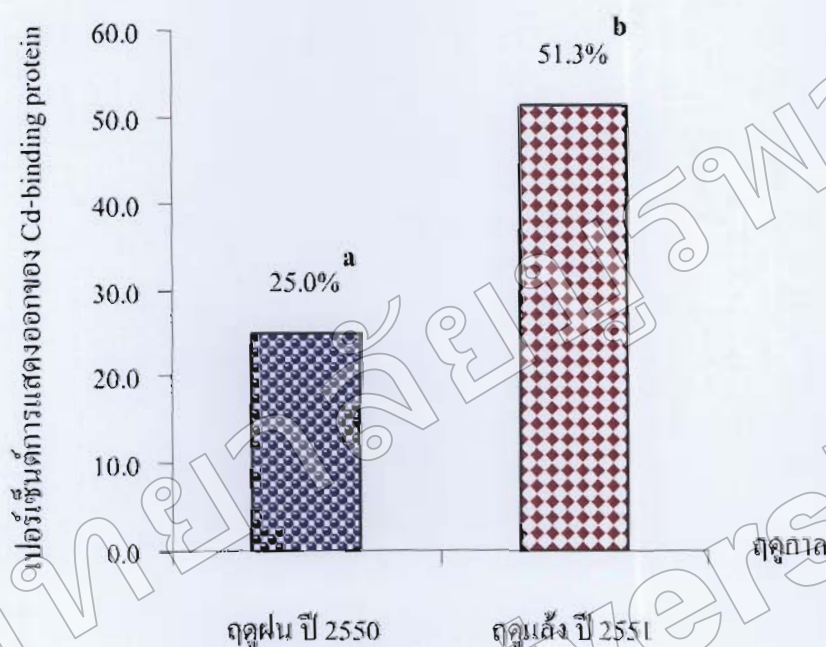
นคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรีและนคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัด
ระยอง ดำรงในปี 2550-2551; อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่าง
กันทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4-2 ผลการแสดงผลของ Cd-Binding Protein ของปลาทะเลเปรียบเทียบกับบริเวณ
นิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี และนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัด
ระยอง ในปีพ.ศ. 2550-2551 ด้วยวิธี Western Blot

สถานี	ฤดูที่สำรวจ	เปอร์เซ็นต์การพบ Cd-Binding Protein
นิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง	ฤดูฝน ปี 2550	27.3 (n=66)
	ฤดูแล้ง ปี 2551	30.4 (n=92)
	เฉลี่ยรวม	29.1 (n=158) ^a
นิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด	ฤดูฝน ปี 2550	23.2 (n=82)
	ฤดูแล้ง ปี 2551	80.3 (n=66)
	เฉลี่ยรวม	48.6 (n=148) ^b

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างช่วงระยะเวลาที่ทำการสำรวจทั้ง 2 ครั้ง พบว่าการแสดงผลของ Cd-Binding Protein ในช่วงฤดูแล้ง (มีนาคม 2551) สูงกว่า ฤดูฝน (สิงหาคม- กันยายน 2550) โดยแต่ละช่วงการเก็บตัวอย่างพบเปอร์เซ็นต์การแสดงผลของ Cd-Binding Protein เท่ากับ 51.3% (n=158) และ 25.0% (n=148) ตามลำดับ (ภาพที่ 4-9 และตารางที่ 4-3)



ภาพที่ 4-9 การแสดงออกของ Cd-Binding Protein ในปลาทะเลจากชายฝั่งทะเลบริเวณนิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง จังหวัดชลบุรีและนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง เปรียบเทียบตัวอย่างในช่วงฤดูฝน ปี 2550 และฤดูแล้ง ปี 2551; อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4-3 ผลการแสดงผลของ Cd-Binding Protein ของปลาทะเลบริเวณนิคมอุตสาหกรรม
แหลมฉบัง จังหวัดชลบุรี และนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง จากการเก็บ
ตัวอย่างในช่วงฤดูฝน ปี 2550 และฤดูแล้ง ปี 2551 ด้วยวิธี Western Blot

ฤดูกาล	สถานี	เปอร์เซ็นต์การพบ Cd-Binding Protein
ฤดูฝน (สิงหาคม- กันยายน 2550)	นิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง	27.3 (n=66)
	นิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด	23.2 (n=82)
	เฉลี่ยรวมทั้ง 2 สถานี	25.0 (n=148) ^a
ฤดูแล้ง (มีนาคม 2551)	นิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง	30.4 (n=92)
	นิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด	80.3 (n=66)
	เฉลี่ยรวมทั้ง 2 สถานี	51.3 (n=158) ^b

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)