

ผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่ออุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp.  
บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง

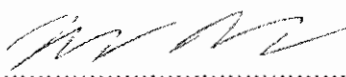
ศุณัฐฐา ริงวอน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา  
สิงหาคม 2558  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

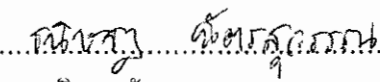
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้พิจารณา  
วิทยานิพนธ์ของ ศุภรัฐา วิงวอน ฉบับนี้แล้ว เห็นควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

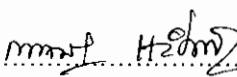
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

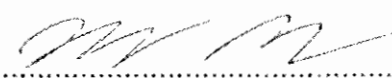
.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
(ดร.กาญจนา หрімเพ็ง)

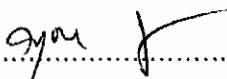
.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ดร.นภาพร เลียดประดม)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

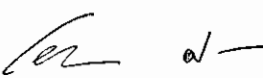
.....ประธาน  
(ดร.ชนิษฐา นัครสุวรรณ)

.....กรรมการ  
(ดร.กาญจนา หрімเพ็ง)

.....กรรมการ  
(ดร.นภาพร เลียดประดม)

.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุเทพ ภาสุระ)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพของมหาวิทยาลัยบูรพา

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ ศรีสุข)

วันที่ 31 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2558

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลือจาก ดร.กาญจนา หริ่มเพ็ง อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ดร.นภาพร เลียดประถม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ธนินฐา ฉัตรสุวรรณ ที่ให้ความกรุณามาเป็นประธานกรรมการสอบปกป้องวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งแนะนำข้อแก้ไขต่าง ๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภารัตน์ สวนจิตร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุเทพ ภาสุระ ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการสอบเค้าโครงวิทยานิพนธ์และสอบปกป้องวิทยานิพนธ์และแนะนำข้อแก้ไขต่าง ๆ เพื่อนำไปปรับปรุงให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คุณจิรวัดน์ เนินไชย นายกษมาคมชาวประมงปากน้ำประแสร์ อำเภอแกลง จังหวัดระยอง ที่ได้ให้การช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการเก็บข้อมูลภาคสนาม

ขอขอบพระคุณนายกฤตวิษณุ สุขอึ้ง นายสมภพ เต๋ววันฮวด นางสาวภาวิณี อุ่นกอง นายอลงกรณ์ พุดหอม นางสาวกาวนา บุรณะกิจ และนางสาวพรเพ็ญ ทองสอาด สำหรับความช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลภาคสนามตลอดระยะเวลา 1 ปีอย่างเต็มกำลัง

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ รวมทั้งพี่ ๆ น้อง ๆ ทุกคนที่ให้การช่วยเหลือ สนับสนุนและเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงด้วยดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาจุลชีววิทยา วาริชศาสตร์ เทคโนโลยีชีวภาพและโครงการบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในเรื่องอุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในภาคสนามและในห้องปฏิบัติการ

เนื่องจากงานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยของสำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว.) จึงขอขอบพระคุณ ณ ที่นี้ด้วย

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูแก่เวทิตาแด่บุพการี บุรพจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษาและประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

สุณัฐฐา วิงวอน

53910193: สาขาวิชา: วิทยาศาสตร์ชีวภาพ; วท.ม. (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)

คำสำคัญ: แบคทีเรียสกุลวิบริโอ/ ปัจจัยสิ่งแวดล้อม/ ปลากระพงขาว/ ปากแม่น้ำ

ศูนย์ฐาน วิงวอน: ผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่ออุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง (EFFECT OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON INCIDENCE OF *Vibrio* spp. IN PRA-SAE ESTUARY, RAYONG PROVINCE) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: กาญจนา หิรัญเพ็ญ, Ph.D., นภาพร เกียรติประดม, Ph.D., 155 หน้า. ปี พ.ศ. 2558.

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่ออุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ อำเภอกแกลง จังหวัดระยอง ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำทุก ๆ เดือน จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี ได้แก่ สถานีริมฝั่งแม่น้ำ สถานีกลางแม่น้ำ สถานีกระซังเพาะเลี้ยงปลา และตัวอย่างจากปลากระพงขาวที่เลี้ยงในกระซัง ผลการศึกษาพบว่า *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำทั้ง 3 สถานีและตัวอย่างปลากระพงขาว ได้แก่ *V. cholerae*, *V. alginolyticus* และ *V. parahaemolyticus* โดยสถานีริมฝั่งแม่น้ำพบความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันของปริมาณ *V. cholerae* กับอุณหภูมิในน้ำ สถานีกลางแม่น้ำพบความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกันของปริมาณ *V. cholerae* กับความเค็มการนำไฟฟ้า ความเป็นกรดต่างและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ และสถานีกระซังเพาะเลี้ยงปลาพบความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันของปริมาณ *V. parahaemolyticus* กับความเค็มและค่าการนำไฟฟ้าในน้ำ จากนั้นได้ศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและปลากระพงขาว พบว่า *V. alginolyticus*, *V. cholerae* และ *V. parahaemolyticus* ทั้ง 90 ไอโซเลทที่ทดสอบมีความไวต่อยาปฏิชีวนะ cefotaxime, chloramphenicol, rifampicin และ gentamicin และคือต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin จำนวน 36 ไอโซเลท และ aztreonam จำนวน 11 ไอโซเลท นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรค พบว่า อุณหภูมิมีผลต่อการสลายเม็ดเลือดแดงและการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. ( $p$ -value = 0.016, 0.002) สำหรับความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มนั้น พบว่า ที่ระยะเวลาการเจริญเท่ากัน อุณหภูมิในการเจริญที่แตกต่างกันคือ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. ทั้ง 35 ไอโซเลทที่ทดสอบ ( $p$ -value = 0.857)

53910193: MAJOR: BIOLOGICAL SCIENCE; M.Sc. (BIOLOGICAL SCIENCE)

KEYWORDS: *Vibrio* spp./ ENVIRONMENTAL FACTOR/ SAE BASS/ ESTUARY

SUNUTTHA WINGWON: EFFECT OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON  
INCIDENCE OF *Vibrio* spp. IN PRA-SAE ESTUARY, RAYONG PROVINCE.

ADVISORY COMMITTEE: KARNJANA HRIMPENG, Ph.D., NAPAPORN

LEADPRATHOM, Ph.D. 155 P. 2015.

This research objective is to study on effect of environmental factors on incidence of *Vibrio* spp. in Pra-sae Estuary, Klaeng District, Rayong Province, Thailand. Water samples were collected from 3 stations (River bank area, middle of the river area and fish farming area) and specimen from sea bass (*Lates calcarifer*) monthly collected between January and December 2012. Water samples and specimen from sea bass found that incidence of *Vibrio* spp., including *V. cholerae*, *V. alginolyticus* and *V. parahaemolyticus*. River bank area station found a positive correlation between of *V. cholerae* and water temperature. Middle of the river area station found a negative correlation between of *V. cholerae* with salinity conductivity, pH and dissolved oxygen (DO). Fish farming area station found a positive correlation between of *V. parahaemolyticus* with salinity and conductivity in water. Then, Study on antibiotic susceptibility patterns of 90 isolates of *Vibrio* spp. collected from water samples and specimen from sea bass found that *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* and *V. cholerae* were sensitive to cefotaxime, chloramphenicol, rifampicin and gentamicin but resistant to ampicillin (36 isolates) and aztreomam (11 isolates). In addition, study on effect of temperature on the virulence factors of *Vibrio* spp. found that production of haemolysis and  $\beta$ -lactamase enzyme-dependence of temperature ( $p$ -value = 0.016, 0.002). And biofilms formation of *Vibrio* spp. (35 isolates) found that the temperature for growth (28, 30 and 35°C)-independence of temperature ( $p$ -value = 0.857).

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
สารบัญ .....	ฉ
สารบัญตาราง .....	ซ
สารบัญภาพ .....	ฅ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา .....	2
วัตถุประสงค์ของการวิจัย .....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย .....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ปากแม่น้ำ .....	5
องค์ประกอบทางเคมีของปากแม่น้ำ.....	6
ปากแม่น้ำประแสร์ .....	7
ลักษณะทางกายภาพและเคมีของแหล่งน้ำ.....	10
จุลินทรีย์ดัชนีในการตรวจสอบคุณภาพน้ำ .....	16
<i>Vibrio</i> spp. ....	18
ปลากระพงขาว .....	24
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	26
3 วิธีดำเนินการวิจัย .....	29
สถานที่ในการวิจัย .....	29
ระยะเวลาในการศึกษา.....	29
อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา.....	30
ขั้นตอนการศึกษาและการเก็บข้อมูล .....	32
การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิจัย .....	40

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการวิจัย .....	41
5 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย .....	97
บรรณานุกรม .....	114
ภาคผนวก .....	120
ภาคผนวก ก .....	120
ภาคผนวก ข .....	130
ภาคผนวก ค .....	132
ภาคผนวก ง .....	136
ภาคผนวก จ .....	141
ภาคผนวก ฉ .....	144
ภาคผนวก ช .....	149
ภาคผนวก ซ .....	151
ประวัติย่อของผู้วิจัย .....	153

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1	คุณสมบัติทางชีวเคมีของ <i>Vibrio</i> spp. ที่ก่อโรค..... 21
3-1	ตำแหน่งละติจูดและลองจิจูดของสถานีที่ใช้ในการศึกษา บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ อ. แกลง จ. ระยอง ..... 29
3-2	การตรวจวิเคราะห์ลักษณะและคุณภาพน้ำทางกายภาพ ..... 32
3-3	การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี ..... 32
3-4	การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา ..... 33
4-1	อุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555..... 42
4-2	ความเค็มเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 ..... 44
4-3	ความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 ..... 46
4-4	ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) เฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555..... 48
4-5	ค่าบีโอดีเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 ..... 50
4.6	ค่าการนำไฟฟ้าเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 ..... 52
4-7	ปริมาณแบคทีเรียรวมเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 ..... 54
4-8	ปริมาณ โคลิฟอร์มแบคทีเรียเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 ..... 55



## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4-9 ปริมาณและชนิดของ <i>Vibrio</i> spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 .....	59
4-10 ปริมาณและชนิดของ <i>Vibrio</i> spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 .....	60
4-11 ปริมาณและชนิดของ <i>Vibrio</i> spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลาปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 .....	61
4-12 ชนิดของ <i>Vibrio</i> spp. ที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากะพงขาวในเขตเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 .....	65
4-13 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ <i>Vibrio</i> spp. จากตัวอย่างน้ำ บริเวณริมฝั่งแม่น้ำ .....	68
4-14 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ <i>Vibrio</i> spp. จากตัวอย่างน้ำ บริเวณกลางแม่น้ำ .....	74
4-15 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ <i>Vibrio</i> spp. จากตัวอย่างน้ำ บริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา.....	76
4-16 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ <i>Vibrio</i> spp. จากตัวอย่างปลากะพงขาว.....	82
4-17 ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของ <i>V. alginolyticus</i> จำนวน 30 ไอโซเลท.....	85
4-18 ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของ <i>V. cholerae</i> จำนวน 30 ไอโซเลท .....	86
4-19 ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของ <i>V. parahaemolyticus</i> จำนวน 30 ไอโซเลท .....	87
4-20 ความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ <i>V. alginolyticus</i> ที่อุณหภูมิการเจริญแตกต่างกัน .....	89

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4-21 ความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ <i>V. cholerae</i> ที่อุณหภูมิ การเจริญแตกต่างกัน .....	90
4-22 ความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่อุณหภูมิ การเจริญแตกต่างกัน .....	91
4-23 ความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของ <i>Vibrio</i> spp. ที่อุณหภูมิในการเจริญ เท่ากับ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยตรวจวัด ค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร .....	95
4-24 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ $\beta$ -lactamase ของ <i>Vibrio</i> spp. ที่อุณหภูมิ ในการเจริญเท่ากับ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยตรวจวัด ค่าการดูดกลืนแสงที่ 486 นาโนเมตร .....	98
5-1 ระดับคุณภาพของน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ.ระยอง ในปี พ.ศ. 2555 .....	104

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1 บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ .....	8
2-2 การเพาะเลี้ยงปลากระพงขาวในกระชังของชาวบ้านชุมชนปากน้ำประแสร์ .....	9
2-3 ลักษณะทั่วไปของปลากระพงขาว.....	24
4-1 อุณหภูมิของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี.....	43
4-2 เปรียบเทียบอุณหภูมิของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี .....	43
4-3 ความเค็มของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี .....	45
4-4 เปรียบเทียบความเค็มของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี .....	45
4-5 ความเป็นกรด-ด่างของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี .....	47
4-6 เปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่างของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี .....	47
4-7 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี .....	49
4-8 เปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนละลายน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี.....	49
4-9 ค่าบีโอดีของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี .....	51
4-10 เปรียบเทียบค่าบีโอดีของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี .....	51
4-11 ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี.....	53
4-12 เปรียบเทียบค่าการนำไฟฟ้าของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี.....	53
4-13 ปริมาณแบคทีเรียรวมของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี.....	56
4-14 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียรวมในน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี .....	56
4-15 ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี .....	57
4-16 เปรียบเทียบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี.....	57
4-17 ปริมาณของ <i>Vibrio</i> spp. ในน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ (MPN/100mL).....	62
4-18 ปริมาณของ <i>Vibrio</i> spp. ในน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ (MPN/100mL).....	62
4-19 ปริมาณของ <i>Vibrio</i> spp. ในน้ำบริเวณกระชังปลา (MPN/100mL).....	63
4-20 ร้อยละของการตรวจพบ <i>Vibrio</i> spp. แต่ละชนิด จากตัวอย่างน้ำทั้ง 3 สถานี.....	64

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-21 ร้อยละของการตรวจพบ <i>Vibrio</i> spp. แต่ละชนิดจากตัวอย่างปลากะพงขาว ที่เลี้ยงในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง ในช่วงเดือนมกราคม ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555.....	66
4-22 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิในน้ำกับปริมาณของเชื้อ <i>V. cholerae</i> (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ.....	67
4-23 ความสัมพันธ์ระหว่างความเค็มในน้ำกับปริมาณของเชื้อ <i>V. cholerae</i> (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ.....	70
4-24 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการนำไฟฟ้ากับปริมาณของเชื้อ <i>V. cholerae</i> (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ.....	70
4-25 ความสัมพันธ์ระหว่างความเป็นกรดต่างกับปริมาณของเชื้อ <i>V. cholerae</i> (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ.....	71
4-26 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) กับปริมาณของเชื้อ <i>V. cholerae</i> (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ.....	71
4-27 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค็มกับปริมาณของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา.....	73
4-28 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการนำไฟฟ้ากับปริมาณของเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา.....	73
4-29 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าบีโอดีในน้ำกับปริมาณของเชื้อ <i>Vibrio</i> spp. (MPN/100 mL) ทั้งหมดที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง.....	78
4-30 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดต่างในน้ำกับปริมาณของเชื้อ <i>Vibrio</i> spp. (MPN/100 mL) ทั้งหมดที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง.....	79
4-31 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าบีโอดีในน้ำกับอุบัติการณ์ของ <i>V. alginolyticus</i> ที่ตรวจพบ จากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง.....	79
4-32 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค็มในน้ำกับอุบัติการณ์ของ <i>V. cholerae</i> ที่ตรวจพบ จากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง.....	80

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-33 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการนำไฟฟ้าในน้ำกับอุบัติการณ์ของ <i>V. cholerae</i> ที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง.....	80
4-34 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดต่างในน้ำกับอุบัติการณ์ของ <i>V. cholerae</i> ที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง .....	81
4-35 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าออกซิเจนละลายน้ำกับ อุบัติการณ์ของ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง .....	81
4-36 ร้อยละของความไวต่อยาปฏิชีวนะของ <i>V. alginolyticus</i> .....	85
4-37 ร้อยละของความไวต่อยาปฏิชีวนะของ <i>V. cholera</i> .....	86
4-38 ร้อยละของความไวต่อยาปฏิชีวนะของ <i>V. parahaemolyticus</i> .....	87
4-39 การสลายเม็ดเลือดแดงแบบ beta-hemolysis ของ <i>Vibrio</i> spp. ....	88
4-40 ผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างในการสลายเม็ดเลือดแดงของ <i>V. alginolyticus</i> ที่อุณหภูมิต่างกัน ด้วยวิธี Tukey HSD.....	92
4-41 ผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างในการสลายเม็ดเลือดแดงของ <i>V. cholerae</i> ที่อุณหภูมิต่างกัน ด้วยวิธี Tukey HSD .....	93
4-42 ผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างในการสลายเม็ดเลือดแดงของ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่อุณหภูมิต่างกัน ด้วยวิธี Tukey HSD.....	93
4-43 ผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างในการสร้างเอนไซม์ $\beta$ -lactamase ของ <i>Vibrio</i> spp. ที่อุณหภูมิต่างกัน ด้วยวิธี Tukey HSD .....	99
5-1 ระดับน้ำในแม่น้ำประแสร์ จ. ระยอง เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2555.....	100

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กิจกรรมของมนุษย์ต่าง ๆ ทั้งบนบกและในทะเลที่เกิดขึ้นมากมายของประเทศไทย ทำให้เกิดการแพร่กระจายของมลพิษสู่ม่านน้ำ ชายฝั่ง และทะเลเป็นบริเวณกว้าง โดยมลพิษดังกล่าวจะปะปนหรือละลายในน้ำ สะสมหรือรวมตัวอยู่กับดินตะกอนพื้นท้องทะเลและเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตที่ได้รับมลพิษเข้าไป แต่ในปัจจุบันสถานการณ์มลพิษทางทะเลได้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมทางทะเลมากขึ้น ซึ่งพิจารณาได้จากรายงานสถานการณ์คุณภาพสิ่งแวดล้อมชายฝั่งทะเลของกรมควบคุมมลพิษปี พ.ศ. 2548-2549 (กรมควบคุมมลพิษ, 2549) พบว่า ในบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออกของซึ่งครอบคลุมพื้นที่ 4 จังหวัด คือ จังหวัดตราด จันทบุรี ระยองและชลบุรี เป็นแหล่งท่องเที่ยวทางทะเล และยังมีแหล่งนิคมอุตสาหกรรมที่สำคัญ มีท่าเทียบเรือขนส่งสินค้าและคลังน้ำมันขนาดใหญ่ รวมทั้งยังมีแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งอีกจำนวนมาก ซึ่งมีวิธีการเลี้ยงที่แตกต่างกัน ไปส่งผลให้คุณภาพน้ำเสื่อมโทรม โดยจะพบในบริเวณที่มีแหล่งกิจกรรมหนาแน่น อย่างไรก็ตาม พื้นที่บริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออกนี้ยังถือว่าเป็นจุดวิกฤตที่เกิดความเสื่อมโทรมของสภาพน้ำชายฝั่งได้บ่อย เนื่องจากกิจกรรมในพื้นที่บริเวณนี้ค่อนข้างรุนแรงและหนาแน่น สถานการณ์เสื่อมโทรมของสภาพน้ำบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออกนั้นอาจจะไม่ได้มีสาเหตุจากลักษณะภูมิประเทศและสภาพแวดล้อมในพื้นที่นั้น ๆ เพียงอย่างเดียว แต่อาจเกิดจากแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate change) อันเป็นผลจากกิจกรรมของมนุษย์ที่เปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของบรรยากาศโลกโดยตรงหรือโดยอ้อมและที่เพิ่มเติมจากความแปรปรวนของสภาวะอากาศตามธรรมชาติที่สังเกตได้ในช่วงระยะเวลาเดียวกัน ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำฝน ช่วงของฤดูกาล ซึ่งเป็นปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่สำคัญต่อการดำรงอยู่ของสิ่งมีชีวิตที่จะต้องปรับตัวให้เข้ากับสภาพภูมิอากาศในบริเวณที่สิ่งมีชีวิตนั้นอาศัยอยู่อย่างรวดเร็วและรุนแรงมากขึ้น (ศูนย์ประสานการจัดการการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ, 2550)

พื้นที่บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ.ระยอง เป็นอีกพื้นที่หนึ่งที่มีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง โดยเฉพาะการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง เนื่องจากมีความอุดมสมบูรณ์ของแร่ธาตุอาหารเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำหลายชนิดอีกทั้งยังเป็นแหล่งอนุบาลสัตว์น้ำ แต่พื้นที่บริเวณปากแม่น้ำประแสร์นั้นกลับประสบปัญหาการตายของปลาเนื่องจากโรคและพยาธิสภาพ ซึ่งพบได้ในปลาว่ายอ่อนจนถึงขนาดพ่อแม่พันธุ์ที่มีน้ำหนัก 3-4 กิโลกรัมขึ้นไป จากผลการติดตามคุณภาพน้ำ

ในพื้นที่บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ในช่วงเวลาที่ผ่าน พบว่า บริเวณด้านในแม่น้ำมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่ำกว่ามาตรฐาน ค่าความสกปรกในรูปบีโอดีสูงเกินมาตรฐาน และปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดมีค่าเกินมาตรฐาน นอกจากนี้ยังพบว่า มีค่าสารอาหารบางตัวสูงเกินเกณฑ์มาตรฐาน เช่น ฟอสเฟต แอมโมเนีย และไนเตรท ซึ่งบ่งชี้ว่าพื้นที่ปากแม่น้ำแห่งนี้ยังคงมีปัญหาด้านการปล่อยน้ำทิ้งน้ำเสียจากแหล่งต้นน้ำและกลางน้ำ ซึ่งมีทั้งน้ำทิ้งจากครัวเรือนหรือชุมชน น้ำทิ้งจากแหล่งน้ำโรงงานอุตสาหกรรมและน้ำที่ชะล้างผ่านพื้นที่เกษตรกรรมต่าง ๆ (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2545) ร่วมกับสาเหตุที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ การปนเปื้อนของเชื้อโรคในแม่น้ำโดยเฉพาะเชื้อโรคที่ก่อให้เกิดโรคในกลุ่ม water and foodborne diseases ในสกุล *Vibrio* spp. ที่มีการแพร่กระจายได้ในระบบนิเวศชายฝั่งทะเลและบริเวณปากแม่น้ำ ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม mesophile อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์และมีสภาพเป็นเบส สามารถก่อโรคที่สำคัญในมนุษย์ ได้แก่ *V. cholerae* ทำให้เกิดอาการท้องร่วง *V. vulnificus* ทำให้ติดเชื้อที่บาดแผล โลหิตเป็นพิษ (septicemia) อย่างรุนแรง *V. parahaemolyticus* ทำให้เกิดอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะ ปวดท้อง มีไข้ และถ่ายอุจจาระเป็นน้ำมีเลือดหรือเมือกปนเล็กน้อย (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2547) ก่อโรคในสัตว์น้ำ ได้แก่ โรค vibriosis (Vibriosis) ซึ่งเป็นโรคที่เกิดในปลาน้ำเค็ม โดยมีการติดเชื้อในกระแสเลือดของปลาทำให้เกิดจุดหรือเป็นเลือดออกที่อวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะครีบและหาง และอาจพบแผลหลุมที่ผิวหนัง การแพร่กระจายของโรคจะผ่านทางน้ำและปลาที่ป่วยเป็นโรค หากปริมาณของ *Vibrio* spp. มีเพิ่มขึ้นในระบบนิเวศแหล่งน้ำก็จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและประชากรของสัตว์น้ำต่าง ๆ ที่เป็นโฮสต์ และติดต่อแพร่กระจายไปยังมนุษย์ผ่านการสัมผัสกับแหล่งน้ำและการบริโภคสัตว์น้ำ

จะเห็นได้ว่าถ้ามีอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. เพิ่มขึ้น โอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนและก่อโรคในสัตว์น้ำเหล่านี้จะมีเพิ่มมากขึ้น (Motes et al., 1998) ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อปริมาณผลผลิตที่จะได้รับและเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรค ดังนั้น จึงได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของคุณภาพแหล่งน้ำทางกายภาพ เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม ทางเคมี เช่น สภาวะความเป็นกรด-ด่าง ทางจุลชีววิทยา ได้แก่ ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมและปริมาณแบคทีเรียรวม นอกจากนี้ยังศึกษาปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบทั้งในแหล่งน้ำและในสัตว์น้ำชายฝั่ง บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ.ระยอง รวมทั้งศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบ และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์มและการสร้างเอ็นไซม์  $\beta$ -lactamase ซึ่งถือเป็นความสามารถในการสร้างปัจจัยความรุนแรงของโรค การศึกษาครั้งนี้จึงสามารถนำข้อมูลทั้งหมดใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานส่วนหนึ่งในการ

พัฒนาแบบจำลองคอมพิวเตอร์สำหรับทำนายการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคเหล่านี้ในแหล่งน้ำ และสัตว์น้ำ รวมทั้งอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ในอนาคตได้โดยใช้ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมดังกล่าวเป็นดัชนีชี้วัด

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาและตรวจวิเคราะห์ลักษณะและคุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา จากตัวอย่างน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ. ระยอง
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากระพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ. ระยอง
3. เพื่อศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากระพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ. ระยอง
4. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์มและการสร้างเอ็นไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากระพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ. ระยอง

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. สามารถนำข้อมูลคุณภาพน้ำทางด้านต่าง ๆ วิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากระพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง
2. สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่มีผลต่อการสร้างปัจจัยความรุนแรงในการก่อโรคของ *Vibrio* spp. เช่น ความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์ม และการสร้างเอ็นไซม์  $\beta$ -lactamase
3. สามารถนำข้อมูลทั้งหมดที่ได้ไปใช้นั้นใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานส่วนหนึ่งในการพัฒนาแบบจำลองคอมพิวเตอร์สำหรับคาดการณ์อุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ในแหล่งน้ำและปลากระพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังได้โดยใช้ปัจจัยสิ่งแวดล้อมดังกล่าวเป็นดัชนีชี้วัด



### ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษานี้จะกำหนดสถานที่ทำการศึกษาอยู่ในบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ.ระยอง โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำและตัวอย่าง (specimen) บริเวณกริบของปลากะพงขาว จำนวน 25 ตัวอย่าง และบริเวณเหนือหรือบริเวณที่มีบาดแผลของปลากะพงขาว จำนวน 25 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชัง ทุกเดือน ๆ ละ 1 ครั้ง โดยครอบคลุมตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 เป็นระยะเวลา 1 ปี จากนั้นนำตัวอย่างน้ำมาตรวจวิเคราะห์ลักษณะและคุณภาพน้ำทางกายภาพ ได้แก่ ความลึก ความโปร่งแสง ความเค็ม อุณหภูมิและการนำไฟฟ้า วิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ค่าบีโอดี ค่าความเป็นกรด-ด่าง และวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา ได้แก่ ปริมาณแบคทีเรียรวม และปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม และทำการตรวจหาปริมาณและพิสูจน์ชนิดของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำและปลากะพงขาว และหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ต่ออุบัติการณ์ของปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ด้วยวิธี Pearson จากนั้นคัดเลือกตัวแทนของ *Vibrio* spp. แต่ละสปีชีส์ มาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ และหาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิต่อความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์ม การสร้างเอ็นไซม์  $\beta$ -lactamase โดยทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 1. ปากแม่น้ำ

ปากแม่น้ำ (Estuary) หมายถึง บริเวณที่เป็นเขตติดต่อระหว่างแม่น้ำกับทะเล ซึ่งมีการผสมผสานระหว่างน้ำจืดกับน้ำเค็มจากทะเล รวมถึงได้รับอิทธิพลของน้ำขึ้นน้ำลง สภาพของบริเวณปากแม่น้ำสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามกาลเวลา ปากแม่น้ำที่มีร่องน้ำเดียว เรียกว่า Simple estuary บางแห่งที่มีลำธารหลายสายแยกลงไปสู่มหาสมุทร เรียกว่า Irregular estuary

สิ่งที่ควบคุมการหมุนเวียนของน้ำในบริเวณปากแม่น้ำมีอยู่ทั้งหมด 4 ประการ คือ กระแสน้ำขึ้นน้ำลง กระแสน้ำที่ไหลเข้ามาจากแม่น้ำ ลักษณะของร่องน้ำบริเวณปากแม่น้ำ และผลของ Coriolis คือ ถ้ากระแสน้ำที่ไหลจากแม่น้ำมีพลังมากเมื่อถึงบริเวณปากแม่น้ำจะแผ่กว้างออกไปปกคลุมน้ำทะเล ทำให้เกิดชั้นของน้ำจืดและน้ำเค็มอย่างเห็นได้ชัด ถ้ากระแสน้ำขึ้นน้ำลงมีพลังมากก็จะทำให้เกิดการกลมกลืนจากระดับบนลงระดับล่าง Coriolis จะมีผลในบริเวณปากแม่น้ำที่มีพื้นที่กว้างใหญ่ การแบ่งประเภทของปากแม่น้ำโดยพิจารณาการหมุนเวียนของน้ำและลักษณะของความเค็มในระดับลึกต่าง ๆ ได้ 5 ประเภท คือ

1.1 ปากแม่น้ำแบบค้ำน้ำเค็ม (Salt-wedge estuary) เป็นลักษณะการไหลของน้ำจากแม่น้ำที่มีพลังมากกว่าการไหลของน้ำขึ้นน้ำลง น้ำจืดจึงแผ่กระจายออกเหนือน้ำทะเล จึงเป็นผลให้น้ำเค็มอยู่ในระดับต่ำกว่าน้ำจืดโดยอยู่ในสภาพเหมือนคานหรือค้ำ ถ้าปากแม่น้ำมีความลึกพอสมควรและไม่ขรุขระจะทำให้น้ำทะเลทะลักเข้าไปบริเวณใต้แม่น้ำเป็นระยะทางยาวหลายกิโลเมตร

1.2 ปากแม่น้ำแบบไหลสองชั้น โดยน้ำทะเลซึมเข้าชั้นบน (Two-layers flow with entrainment) การหมุนเวียนของน้ำประเภทนี้เกิดขึ้นในบริเวณปากแม่น้ำที่มีกระแสน้ำในแม่น้ำมีพลังมากกว่ากระแสน้ำขึ้นน้ำลงเล็กน้อย น้ำทะเลจะซึมเข้าสู่ชั้นของน้ำจืดที่อยู่ข้างบน น้ำจืดจะไม่ลงมาผสมกับน้ำเค็มที่อยู่ข้างล่างทำให้ความเค็มเฉพาะส่วนบนเท่านั้นเปลี่ยนแปลงไป

1.3 ปากแม่น้ำแบบไหลสองชั้นและมีการผสมกันระหว่างชั้นบนกับชั้นล่าง (Two-layers flow with vertical mixing) การหมุนเวียนของน้ำประเภทนี้เกิดขึ้นในปากแม่น้ำที่มีร่องน้ำค่อนข้างตื้น กระแสน้ำจากแม่น้ำมีพลังเท่า ๆ กับกระแสน้ำขึ้นน้ำลง เพราะฉะนั้นจึงทำให้เกิดการผสมกันระหว่างน้ำจืดกับน้ำเค็มในระดับกลาง

1.4 ปากแม่น้ำที่มีการผสมกลมกลืนกันในแนวตั้งแบบสมบูรณ (Vertically homogeneous estuary) ถ้ากระแสขึ้นน้ำลงมีพลังมากกว่ากระแสของแม่น้ำ จะทำให้เกิดการผสมกลมกลืน โดยตลอดแนวตั้ง เพราะฉะนั้นความเค็มจากระดับบนถึงระดับล่างจึงไม่แตกต่างกัน

1.5 ปากแม่น้ำแบบพิเศษ (Exceptional case) ปากแม่น้ำที่มีรูปร่างที่ไม่สามารถจำแนกการหมุนเวียนของน้ำได้ เช่น อาจมีการผสมผสานกลมกลืนในแนวตั้งเป็นบางส่วนของปากแม่น้ำ บางส่วนเป็นแบบ salt-wedge ตามปกติแล้วในบริเวณปากแม่น้ำส่วนมากจะมีการถ่ายเทน้ำจืดที่ไหลเข้ามาออกไปจากปากแม่น้ำในอัตราที่คงที่ คือ น้ำที่ไหลออกจากบริเวณปากแม่น้ำนั้นจะมีส่วนที่มาทดแทนโดยน้ำที่ไหลออกจากปากแม่น้ำ สำหรับปากแม่น้ำที่มีการหมุนเวียนน้ำแบบที่มีการผสมกลมกลืนกันในแนวตั้งแบบสมบูรณ น้ำจืดที่ผสมกับน้ำเค็มแล้วใช้เวลาอยู่ในบริเวณปากแม่น้ำนานพอสมควร ระยะเวลาดังกล่าวนี้เรียกว่า Flushing time (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต, 2536)

## 2. องค์ประกอบทางเคมีของปากแม่น้ำ

การกระจายขององค์ประกอบทางเคมีภายในปากแม่น้ำเป็นผลมาจากกระบวนการหลายอย่างที่เกิดขึ้นพร้อมกัน สารต่าง ๆ ที่เกิดโดยธรรมชาติและโดยการกระทำของมนุษย์ต่างก็ถูกนำเข้าสู่บริเวณปากแม่น้ำโดยแม่น้ำ โดยทางอากาศ จากแหล่งบนชายฝั่งใกล้เคียงและจากทะเลด้วย ส่วนหนึ่งจะสะสมอยู่ในปากแม่น้ำ และอีกส่วนหนึ่งก็ถูกพาออกทะเลไป สารต่าง ๆ เหล่านี้จะอยู่ในสภาพและรูปแบบต่างกัน บางส่วนละลายอยู่ในน้ำในรูปแบบของไอออนอิสระ ไอออนคู่ สารประกอบเชิงซ้อน คอลลอยด์ และสารแขวนลอย ชั้นส่วนของแร่ธาตุที่แขวนลอยอยู่จะมีผิวเคลือบไปด้วยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ องค์ประกอบทุกชนิดในปากแม่น้ำยังอยู่ภายใต้อิทธิพลทางไฮโดรไดนามิกส์ และไฮดรอลิกส์ของระบบน้ำ รวมทั้งอิทธิพลของสิ่งมีชีวิตด้วย โดยทั่วไปกล่าวได้ว่า ลักษณะทางเคมีของปากแม่น้ำถูกควบคุมโดยลักษณะของแม่น้ำแต่ละสายและสัดส่วนของการผสมผสานของน้ำจืดกับน้ำทะเล

สำหรับองค์ประกอบปริมาณน้อยมักจะพบว่าธาตุที่ไม่ค่อยว่องไวต่อการทำปฏิกิริยาทางเคมี เช่น ลิเทียม ยูเรเนียม โมลิบดีนัม และพลูโตไรด์ จะมีในน้ำทะเลมากกว่าในแม่น้ำ แต่ธาตุที่ไวต่อการทำปฏิกิริยาทางเคมีมากกว่า เช่น แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี กลับตรงกันข้าม ความแตกต่างในองค์ประกอบปริมาณน้อยระหว่างแม่น้ำสายหนึ่งกับอีกสายหนึ่งนี้อาจมีได้มาก เช่น แตกต่างกันเป็นสิบเท่า หรือบางแหล่งอาจเป็นพันเท่า (มนูวดี หังสพฤกษ์, 2532)

### 2.1 ปัจจัยควบคุมการกระจายของสารในปากแม่น้ำ

การกระจายของธาตุอาหารและก๊าซที่ละลายน้ำในปากแม่น้ำภายใต้การควบคุมของการหมุนเวียนของน้ำ การผสมผสาน กระบวนการทางฟิสิกส์ กระบวนการทางชีวภาพ

กระบวนการทางเคมี และการตกตะกอน แอสตัน ได้สรุปถึงอิทธิพลต่าง ๆ ที่ควบคุมการกระจายดังกล่าวดังนี้

2.1.1 การผสมผสานกันของน้ำจืดกับน้ำทะเล โดยน้ำจืดน้ำลงนั้น ไม่ว่าจะเป็นแบบวันละสองครั้งหรือแบบครั้งเดียวก็ตาม จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณของน้ำในปากแม่น้ำ ซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงแบบชั่วคราวในการถ่ายเทสาร เช่น ธาตุอาหาร โลหะ จากแหล่งน้ำจืดหรือน้ำทะเล มักพบว่าปากแม่น้ำจะมีปริมาณธาตุอาหารและโลหะสูงกว่าในทะเลมาก เนื่องจากการนำพาจากแม่น้ำ

2.1.2 การหมุนเวียนของน้ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งการแบ่งชั้นของน้ำในปากแม่น้ำบางแห่งทำให้เกิดความแตกต่างในระดับของสารทั้งในแนวนอนและแนวตั้ง

2.1.3 ความจำกัดในแง่รูปร่างลักษณะของปากแม่น้ำอาจจำกัดการหมุนเวียนถ่ายเทของน้ำ เช่น ในพวยอร์ด ซึ่งการผสมผสานกันของน้ำทะเลจากภายนอกกับน้ำในปากแม่น้ำเป็นไปได้ น้อยมาก ทำให้เกิดสภาพการขาดแคลนก๊าซออกซิเจน เกิดเป็นสภาพรีดิวซ์ซึ่งในระดับล่างของน้ำในพวยอร์ดได้

2.1.4 ระบบกระแสน้ำชายฝั่งและในปากแม่น้ำทำให้เกิดการทับถมของตะกอนต่าง ๆ การตกตะกอนและการกักเก็บของตะกอนในปากแม่น้ำ อาจมีผลกระทบต่อปริมาณรวมของธาตุอาหารต่าง ๆ ที่ละลายน้ำ

2.1.5 ปฏิกริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างการผสมผสานของน้ำแม่น้ำและน้ำทะเล อาจนำไปสู่การกำจัดหรือการเพิ่มของธาตุที่ละลายน้ำ ยิ่งกว่านั้นการเปลี่ยนแปลงความเค็มและอุณหภูมิจะมีผลต่อการละลายอีกด้วย

2.1.6 กระบวนการผลิตทางชีวภาพและเมตาบอลิซึมมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเกิดและการกระจายของธาตุอาหารและก๊าซบางชนิด เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ และออกซิเจน สภาพแวดล้อมของปากแม่น้ำที่มีการเปลี่ยนแปลงได้มาก ทำให้เกิดปัญหาด้านการปรับตัวของสิ่งมีชีวิตบริเวณนั้นจึงพบสัตว์และพืชจำพวกน้อยชนิดที่อาศัยอยู่ได้ (มนูวดี หังสพฤษ, 2532)

### 3. ปากแม่น้ำประแสร์

ปากแม่น้ำประแสร์เป็นบริเวณตอนปลายของแม่น้ำประแสร์ที่น้ำจืดของแม่น้ำไหลออกสู่อ่าวไทย ซึ่งแม่น้ำประแสร์เป็นแม่น้ำสายสำคัญสายหนึ่งของจังหวัดระยอง มีต้นกำเนิดจากเขาใหญ่ เขาอ่างฤๅไน เขาหินโรง เขาอ่างกระเต็น ในอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี แล้วไหลมาตามคลองต่าง ๆ หลายสาย คือ คลองกระแสร้อย คลองปลิง คลองบ่อทอง ห้วยหินคม คลองเจี๊วดี คลองตากด้วย คลองชุมแสง คลองไผ่เหนือ คลองไผ่ใต้ คลองตวาด คลองฝั่งหวาย คลองจำคา คลองไข่

คลองแหวน คลองโพธิ์ คลองท่าสี่แก้วและคลองหนองเพลง โดยมีสายหลักคือ คลองไผ่ ไหลมารวมกันในเขตอำเภอแกลง แม่น้ำประแสร์มีความยาวประมาณ 26 กิโลเมตร สำหรับบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ด้านทิศตะวันตกจะเป็นที่ตั้งของบ้านแหลมสน หมู่บ้านชาวประมง ทางด้านทิศตะวันออกเป็นบ้านตลาดประแสร์ซึ่งเป็นชุมชนใหญ่ที่มีบ้านเรือนหนาแน่น

แม่น้ำประแสร์มีความสำคัญกว่าแม่น้ำระยอง เนื่องจากแม่น้ำประแสร์อำนวยประโยชน์ในด้านอุปโภคบริโภค การเกษตร และการคมนาคมทางน้ำ นอกจากนี้ยังมีการส่งน้ำเพื่อประโยชน์ทางด้านเกษตรกรรมและอุตสาหกรรม จากคลองคอกกราย คลองหนองปลาไหล คลองโพธิ์และคลองสะอึก (เครือข่ายลุ่มน้ำประแสร์, 2554)



ภาพที่ 2-1 บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ (เครือข่ายลุ่มน้ำประแสร์, 2554)

### 3.1 ชุมชนปากน้ำประแสร์

#### 3.1.1 สภาพภูมิประเทศ

ชุมชนปากน้ำประแสร์ เป็นที่ราบเชิงเขาตลอดไปถึงทะเลตะวันออกของอ่าวไทย ทิศเหนือส่วนใหญ่คงสภาพป่าไม้ซึ่งมีแหล่งต้นน้ำลำธาร แม่น้ำพังราด แม่น้ำประแสร์ ทำให้สภาพพื้นที่เหมาะแก่การทำไร่ ทำสวน สมบูรณ์ไปด้วยผลไม้มั ไม้ยืนต้น เช่น เงาะ ทุเรียน มังคุด และสวนยางพารา สภาพพื้นดินโดยทั่วไปเป็นดินร่วนระบายน้ำได้ดี บริเวณตอนใต้เป็นโคลนตมเหมาะสำหรับเลี้ยงสัตว์น้ำเค็ม ทำฟาร์มกุ้งกุลาดำ ทำฟาร์มหอยนางรมตามชายฝั่งทะเล สภาพภูมิอากาศ

โดยทั่วไปเป็นลักษณะมรสุมเมืองร้อน เนื่องจากมีพื้นที่ติดกับชายฝั่งทะเลประกอบด้วยสภาพป่า  
ตอนเหนือเป็นสวนผลไม้ จึงทำให้ฝนตกในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกันยายนอยู่เสมอ

### 3.1.2 สภาพเศรษฐกิจ

อาชีพสำคัญของชาวบ้านในชุมชนปากน้ำประแสร์นั้น ส่วนใหญ่จะยึดอาชีพ  
ประมง โดยออกทะเลทั้งเรือใหญ่และเรือเล็ก มีสมาคมประมงปากน้ำประแสร์ ปัจจุบันสัตว์น้ำใน  
อ่าวไทยลดน้อยลงชาวประมงต้องหากินไกลขึ้น ต้นทุนการประกอบอาชีพสูงขึ้น อีกทั้งมีความเสี่ยง  
ที่จะต้องถูกจับในน่านน้ำประเทศเพื่อนบ้านสูงขึ้น จึงมีการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตามชายฝั่ง  
โดยมีการทำฟาร์มกุ้งกุลาดำ และฟาร์มหอยนางรม จากการที่ประชาชนมีการประกอบอาชีพประมง  
ทางทะเลมากขึ้น จึงมีอีกอาชีพหนึ่งที่มีการส่งเสริมอุตสาหกรรมเฉพาะกิจการประมง คือ อู่ซ่อม  
เรือ โรงงานปลาป่นในชุมชน และกิจการอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับทะเล

### 3.1.3 การเลี้ยงปลาในกระชัง

เมื่อปี พ.ศ. 2545 เทศบาลเมืองแกลง ได้จัดอบรมส่งเสริมให้ชาวบ้านแหลมยางเลี้ยง  
ปลาในกระชัง เพื่อสร้างรายได้เพิ่มเติม และเป็นเครื่องบ่งชี้ เฝ้าระวังคุณภาพน้ำในแม่น้ำประแสร์  
ปลาที่เลี้ยงเป็นปลากะพงขาว มีผู้นิยมเลี้ยงปลาในกระชังเพิ่มขึ้น และเมื่อปลาโตขนาดพอที่จะขาย  
ได้จะนำไปขายที่ตลาดสามย่านเป็นอาชีพที่นำศึกษาอีกอาชีพหนึ่งสำหรับผู้ที่อยู่ริมแม่น้ำประแสร์  
นอกจากอาชีพเลี้ยงกุ้ง (เครือข่ายลุ่มน้ำประแสร์, 2554)



ภาพที่ 2-2 การเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังของชาวบ้านชุมชนปากน้ำประแสร์

## 4. ลักษณะทางกายภาพและเคมีของแหล่งน้ำ

ลักษณะทางกายภาพและเคมีของแหล่งน้ำ เป็นสิ่งสำคัญในการพิจารณาคุณภาพของน้ำ (Water quality) และยังสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำหรือใช้ประกอบในการตัดสินใจนำไปใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสม

### 4.1 ลักษณะทางกายภาพ

#### 4.1.1 สีของน้ำ (Color of water)

สีของน้ำเกิดจากสารอินทรีย์ ซึ่งเป็นชนิดที่ละลายมาจากการสลายตัวของซากพืชซากสัตว์แล้วให้สารแทนนิน ลิกนิน และกรดฮิวมิก ซึ่งเป็นสารที่มีสี นอกจากนั้นอาจเกิดจากเหล็กและแมงกานีสในน้ำ ซึ่งอยู่ในรูปของเฟอร์ริกฮิวเมต สีของน้ำมี 2 ประเภท คือ

1. สีที่แท้จริง (true color) เกิดจากการละลายของสารประกอบที่มีอยู่ในน้ำ เช่น โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต
2. สีที่ปรากฏ (appaeant color) เกิดจากการสะท้อนของสิ่งที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ เช่น แผลงก่ดอนพืชและสัตว์ขนาดเล็ก ตะกอนดิน ฯลฯ หรืออาจเกิดจากการสะท้อนของท้องฟ้า การทราบสีที่แท้จริงของน้ำอาจทำได้โดยการเก็บตัวอย่างขึ้นมาแล้วทำการกรองสิ่งแขวนลอยออกไป แล้วนำส่วนที่เป็นน้ำมาทำการเปรียบเทียบกับสีมาตรฐานที่เตรียมขึ้น สีมาตรฐานที่เตรียมขึ้นนั้น ได้จากการเจือจางสารประกอบ Potassium chloroplatinate ( $K_2PtCl_6$ ) และ Cobaltous chloride ( $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ) หน่วยที่ใช้วัดคือ Potassium Cobalt Unit (1 unit = 1 mg Pt/L) ค่าของหน่วยดังกล่าวมีตั้งแต่ 1 ซึ่งใสมาก ไปจนถึง 300 ซึ่งมีสีคล้ำ

#### 4.1.2 ความขุ่นของน้ำ (Turbidity of water)

ความขุ่นของน้ำเกิดจากสารแขวนลอย ซึ่งอาจเป็นสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ เช่น ดิน ตะกอน รวมทั้งสิ่งมีชีวิตที่แขวนลอยอยู่ สารแขวนลอยอาจมีขนาดตั้งแต่ 100-1,000 ไมโครเมตร นอกจากสารแขวนลอยที่ทำให้น้ำขุ่นแล้ว ยังมีสารเคมีบางชนิดที่ทำให้เกิดความขุ่นของน้ำ ได้แก่ สารประกอบของเหล็กและแมงกานีส ซึ่งพบในน้ำบ่อ น้ำบาดาล ซึ่งเมื่อนำมาในตอนแรกจะใส แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้ให้สัมผัสกับอากาศน้ำจะขุ่น เพราะ  $Fe^{2+}$  จะเปลี่ยนไปในรูปของ  $Fe^{3+}$  ตกตะกอนแยกออกมาเป็น  $Fe(OH)_3$  ที่มีสีเหลืองหรือสีน้ำตาลแดง เครื่องมือที่ใช้วัดความขุ่นคือ Secchi disk มีลักษณะเป็นแผ่นวงกลมสีขาวสลับดำ การวัดทำโดยการหย่อนลงไปใต้น้ำ แล้วบันทึกความลึกสูงสุดที่ตาสามารถมองเห็นแผ่นวงกลมนี้ ถ้าความลึกที่วัดได้มีค่าน้อยแสดงว่าน้ำนั้นมีความขุ่นมาก

#### 4.1.3 ของแข็งทั้งหมดในน้ำ (Total solids)

สิ่งที่ปนอยู่ในน้ำทุกชนิดทั้งที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำได้ นอกเหนือจากก๊าซที่ละลายอยู่ในน้ำปริมาณส่วนใหญ่ สารจะอยู่ในรูปสารละลายเกลืออนินทรีย์ ในน้ำโสโครกและน้ำเสียจะมีปริมาณสารที่ไม่ละลายน้ำทั้งที่เป็นคอลลอยด์หรือสารแขวนลอยขนาดหยาบเพิ่มขึ้นตามความสกปรกของน้ำ การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดทำได้โดยนำน้ำมาระเหยด้วยไอน้ำ จากนั้นนำตะกอนที่เหลือออกมาทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้วิธี Gravimetric ค่าที่ได้จะบอกปริมาณสารในรูปน้ำหนักของสารต่อปริมาตรของน้ำตัวอย่าง

#### 4.1.4 กลิ่นของน้ำ (Odor of water)

กลิ่นที่มีอยู่ในน้ำมักมีสาเหตุมาจากสารอินทรีย์ที่กำลังถูกย่อยสลาย หรือในกรณีที่เป็นน้ำพุร้อนเพราะไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดจากกระบวนการรีดักชันของซัลเฟตโดยแบคทีเรียในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ สารอินทรีย์ที่สะสมอยู่อาจมีปริมาณมากโดยเฉพาะสารพวกโปรตีนและซัลเฟต จนทำให้เกิดสถานะที่เหมาะสม ในการทำให้เกิดก๊าซที่มีกลิ่นรุนแรง เช่น aldehyde indole, butyric acid,  $\text{NH}_3$  และ  $\text{H}_2\text{S}$  โดยแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic bacteria)

#### 4.1.5 อุณหภูมิของน้ำ (Water temperature)

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในแหล่งน้ำเกิดจากการที่มีแสงส่องผ่านลงไป ในแหล่งน้ำ ต่อมาเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นพลังงานความร้อน อุณหภูมิมีผลกับปัจจัยสำคัญที่ใช้บอกรูปร่างของน้ำหลายชนิด เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีและชีวเคมีก็เพิ่มขึ้น การละลายของก๊าซลดลง การละลายของแร่ธาตุเพิ่มขึ้น สิ่งมีชีวิตในน้ำส่วนใหญ่มีอัตราการเติบโตเพิ่มขึ้นและอัตราการหายใจลดลง ซึ่งสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ยังต้องการช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อการสืบพันธุ์และการอยู่รอด นอกจากนี้ อุณหภูมิยังมีอิทธิพลต่อการหมุนเวียนและการผสมกลมกลืนของน้ำ (up-welling) ในทะเลและมหาสมุทรหรือแหล่งน้ำที่มีระดับความลึกมาก ๆ

แหล่งน้ำต่าง ๆ ในบริเวณเขตอบอุ่นที่มีระดับค่อนข้างลึก จะมีชั้นของน้ำที่มีอุณหภูมิต่างกัน ในฤดูร้อน ซึ่งการที่แหล่งน้ำมีการแบ่งชั้นของอุณหภูมิตามระดับความลึกนี้ เรียกว่า Thermal stratification โดยชั้นบนสุดที่มีอุณหภูมิสูงเรียกว่า Epilimnion ชั้นกลางซึ่งมีอุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็วเรียกว่า Thermocline และชั้นล่างสุดซึ่งมีอุณหภูมิต่ำและค่อนข้างคงที่ เรียกว่า Hypolimnion ซึ่งในการแบ่งชั้นอุณหภูมิ จะไม่มีการผสมของน้ำระหว่างชั้น เนื่องจากความแตกต่างของความหนาแน่น อย่างไรก็ตามการผสมกลมกลืนของน้ำอาจเกิดขึ้นได้โดยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในแหล่งน้ำ ซึ่งในเขตอบอุ่นนั้นแหล่งน้ำส่วนใหญ่จะมีการผสมกลมกลืนสองครั้งต่อปี (Dimictic) โดยการเกิดในช่วงฤดูหนาวและฤดูร้อน ในขณะที่แหล่งน้ำในเขตร้อนส่วนใหญ่จะมีการผสมของน้ำปีละครั้ง (Monomictic) โดยเกิดในช่วงฤดูหนาว (ศิริพรรณ สารินทร์, 2550)



#### 4.1.6 การนำไฟฟ้าของน้ำ (Electrical conductivity of water)

การนำไฟฟ้าเป็นการวัดความสามารถของน้ำที่จะให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่าน คุณสมบัติในการนำไฟฟ้านี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของไอออนที่อยู่ในน้ำ ตลอดจนอุณหภูมิ ขณะที่ทำการวัดน้ำที่มีไอออนของสารต่าง ๆ สามารถนำไฟฟ้าได้ทั้งสิ้น ในสนามไฟฟ้ากระแส ไอออนบวกจะเคลื่อนที่ไปยังอิเล็กโทรดขั้วลบ และไอออนลบ จะเคลื่อนที่ไปยังอิเล็กโทรดขั้วบวก กรด-ด่าง และเกลืออนินทรีย์ เช่น HCl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> และ NaCl เป็นตัวนำไฟฟ้าได้เพราะแตกตัวให้ ไอออนบวกและไอออนลบ ในทางตรงข้าม โมเลกุลของสารอินทรีย์ เช่น ซูโครสและเบนซิน ไม่แตก ตัวในน้ำจึงไม่นำไฟฟ้า การนำไฟฟ้าไม่ได้เป็นค่าเฉพาะไอออนตัวใดตัวหนึ่ง แต่เป็นค่ารวมของ ไอออนในน้ำ ค่านี้จึงไม่ได้บอกให้ทราบถึงชนิดของสารในน้ำ แต่บอกการเพิ่มหรือลดของ ไอออนที่ละลายน้ำเท่านั้น กล่าวคือ ถ้าค่าการนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้น แสดงว่าสารที่แตกตัวได้ในน้ำเพิ่มขึ้น หรือถ้าค่าการนำไฟฟ้าลดลง แสดงว่าสารที่แตกตัวได้ในน้ำลดลง อย่างไรก็ตาม ค่าการนำไฟฟ้าของ น้ำจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ (สิทธิชัย ตันชนะสฤณี, 2549)

### 4.2 ลักษณะทางเคมี

#### 4.2.1 ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH of water)

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็นค่าแสดงปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน (H<sup>+</sup>) ในน้ำ ระดับ pH ของน้ำบอกถึงอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนेटและไบคาร์บอนेट กล่าวคือ ค่า pH ยิ่งสูงปริมาณคาร์บอนेटยิ่งมาก ทำให้โอกาสการสร้างตะกอนยิ่งเพิ่มขึ้น เพราะเกลือคาร์บอนेट ละลายน้ำได้น้อยมาก น้ำที่มี pH ในสภาพที่เป็นกรดมักกัดกร่อน โลหะ แต่ถ้า pH ในสภาพที่เป็นด่าง มักจะสร้างตะกอนแร่บางชนิด เช่น แคลเซียมคาร์บอนेट แมกนีเซียมคาร์บอนेट เมื่อละลายน้ำที่มี pH ต่ำจะแตกตัวให้ Ca<sup>+</sup> และ Mg<sup>+</sup> มีผลทำให้ pH ของน้ำสูงขึ้นได้

สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันออกไปทำให้ระดับ pH ของน้ำในแหล่งธรรมชาติ อาจมีค่าแตกต่างกัน ความแตกต่างของ pH ขึ้นอยู่กับลักษณะของภูมิประเทศ และสภาพแวดล้อม เช่น ลักษณะของพื้นดินและหิน ปริมาณน้ำฝน ตลอดจนการใช้ที่ดินในบริเวณแหล่งน้ำ นอกจากนี้ กิจกรรมของจุลินทรีย์ในน้ำมีส่วนทำให้ระดับ pH ของน้ำเปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากการย่อยสลาย ของสารอินทรีย์ในน้ำมากขึ้น (สิทธิชัย ตันชนะสฤณี, 2549)

#### 4.2.2 ออกซิเจนละลายในน้ำ (Dissolve Oxygen)

ออกซิเจนมีความสำคัญต่อแหล่งน้ำมาก เป็นตัวควบคุมกระบวนการสร้างและการ ใช้พลังงานของแหล่งน้ำ ไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ ต่างก็ต้องการออกซิเจนในกระบวนการ หายใจ (Aerobic respiration) โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen, DO) จะเป็นเครื่องชี้คุณภาพของน้ำในแหล่งน้ำ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในระยะเวลาใดเวลาหนึ่ง

จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำ ความดันบรรยากาศ ความลึก และความเค็ม โดยที่ปริมาณ DO จะแปรผันโดยตรงกับความดันบรรยากาศและความลึก แต่จะแปรผกผันกับอุณหภูมิของน้ำและความเค็ม ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำได้มาจากอากาศเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งในอากาศมีออกซิเจนอยู่ประมาณ 21% นอกจากนี้ อาจมาจากการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชและคลอรีน การตรวจวัดค่า DO สามารถทำได้หลายวิธี เช่น วัดด้วยเครื่อง DO meter หรือ Oxygen meter และวิธีวิเคราะห์ทางเคมี เช่น Modified azide iodometric method เป็นต้น ซึ่งในลำธาร แม่น้ำหรือแหล่งน้ำที่มีน้ำเสียปนเปื้อนลงไปนั้นจะพบว่า มีการลดลงของออกซิเจนเป็นอย่างมาก ดังนั้น ค่า DO จึงมีความสำคัญต่อสภาวะแวดล้อมทางน้ำเป็นอย่างมาก ซึ่งในแหล่งน้ำตามธรรมชาติควรมีค่า DO ในปริมาณที่ไม่น้อยกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ค่า DO ยังเป็นพื้นฐานของค่าความต้องการออกซิเจน ซึ่งใช้ในการย่อยสลายสิ่งสกปรกหรือสารอินทรีย์ในน้ำ ที่เรียกว่า Oxygen demand ของน้ำ ซึ่งวิธีที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์มีอยู่ 2 วิธี คือ ค่าบีโอดี (Biochemical oxygen demand, BOD) และค่าซีโอดี (Chemical oxygen demand, COD) (วีรานุช หลาง, 2554)

**4.2.3 BOD (Biochemical oxygen demand)** คือ ปริมาณของออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน โดยทั่วไปจะใช้เป็นตัววัดความสกปรกของแหล่งน้ำ จากการทดลองหาปริมาณออกซิเจนที่น้ำเสียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน หรือเขียนความสัมพันธ์ได้ว่า

$$BOD_5^{20} = DO_0 - DO_5$$

$BOD_5^{20}$  คือ ค่าการใช้ออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน

$DO_0$  คือ ค่าปริมาณออกซิเจนในน้ำที่ไทเทรตได้ในวันแรก

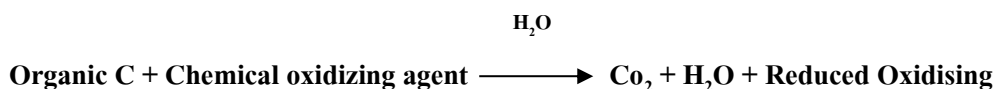
$DO_5$  คือ ค่าปริมาณออกซิเจนในน้ำที่ไทเทรตได้ในวันที่ 5

ถ้าค่า BOD มีค่าต่ำ น้ำที่วัดจะเป็นน้ำสะอาด แต่ถ้าค่า BOD มีค่าสูง แสดงว่าเป็นน้ำที่สกปรก ค่าน้ำดีทั่วไป BOD ประมาณ 1 ppm ส่วนน้ำบริโภคน้ำ BOD ประมาณ 3 ppm สำหรับน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมจะกำหนดให้มีค่าไม่มากกว่า 20 ppm (วีรานุช หลาง, 2554)

**4.2.4 COD (Chemical oxygen demand)** คือ ค่าที่ใช้วัดความสกปรกของน้ำ โดยบอกเป็นปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ต้องการ เพื่อใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ในน้ำให้กลายเป็นน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ โดยอาศัยหลักการที่ว่าสารอินทรีย์เกือบทั้งหมดสามารถที่จะถูก

ออกซิไดส์ได้โดยตัวออกซิไดส์อย่างแรงภายใต้สภาวะที่เป็นกรด พร้อมทั้งพวกกรดอะมิโนจะถูกเปลี่ยนแอมโมเนียในโตรเจน และสารอินทรีย์ในโตรเจนจะถูกเปลี่ยนเป็นไนเตรท

หลักการหาค่า COD จะเหมือน BOD แต่การย่อยสลายสารกรณี BOD จะใช้แบคทีเรียซึ่งใช้เวลานาน 5 วัน อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ส่วน COD จะใช้ตัวออกซิไดส์ที่แรงในสภาวะที่เป็นกรดและใช้เวลาน้อยกว่า คือ น้อยกว่า 3 ชั่วโมง ดังสมการ



ปกติแล้ว ค่า COD จะมีค่ามากกว่า BOD เสมอ เนื่องจากการวิเคราะห์แบบ COD สารอินทรีย์คาร์บอนจะถูกเปลี่ยนโดยไม่ต้องอาศัยการดูดซึมทางชีววิทยา ซึ่งใช้เวลาและเงินไขมากกว่า ในการวัดค่าความสกปรกของน้ำจากโรงงานอุตสาหกรรม จะใช้ข้อมูลของ COD เป็นส่วนมาก เนื่องจากกระทำได้รวดเร็วและค่าที่ได้น่าเชื่อถือกว่า แต่ข้อเสียคือไม่สามารถใช้แยกค่าสารอินทรีย์ที่ถูกออกซิไดส์ทางชีววิทยาได้ อย่างไรก็ตาม ข้อมูล COD อาจจะใช้บอกค่า BOD ได้อย่างคร่าว ๆ จากการพล็อตกราฟระหว่างค่า COD และ BOD เพื่อหาความสัมพันธ์ของค่าทั้งสอง (วีรานูช หลาง, 2554)

#### 4.2.3 ธาตุอาหารในน้ำ (Nutrient in water)

##### 4.2.3.1 ไนโตรเจน (Nitrogen)

ไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสารอินทรีย์ กล่าวคือ เป็นส่วนประกอบของสารโปรตีน คาร์โบไฮเดรตบางชนิด และไขมันบางชนิด เมื่อสิ่งมีชีวิตตายลง สารประกอบโปรตีนก็จะถูกย่อยสลาย และเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบไนโตรเจนหลายรูป ได้แก่ สารอินทรีย์ไนโตรเจน (organic nitrogen) แอมโมเนีย (ammonia,  $\text{NH}_3$ ) ไนเตรต (nitrate,  $\text{NO}_3^-$ ) และไนไตรต์ (nitrite,  $\text{NO}_2^-$ ) เป็นต้น

สารอินทรีย์ไนโตรเจน หมายถึง ไนโตรเจนที่พบอยู่ในสารอินทรีย์ต่าง ๆ เช่น ยูเรีย โปรตีน ถั่วเหลือง และมูลสัตว์ เป็นต้น

แอมโมเนีย หมายถึง ไนโตรเจนทั้งหมดที่อยู่ในรูปแอมโมเนียและแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่อุณหภูมิและความดันปกติ แอมโมเนียจะอยู่ในสภาวะก๊าซและพบได้ในธรรมชาติ ก๊าซแอมโมเนียอยู่ในสภาวะสมดุลในน้ำเกิดเป็นแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{NH}_4^+$ )

ไนไตรต์ หมายถึง สารที่อยู่เป็นกึ่งกลางของวัฏจักรไนโตรเจน ในขั้นตอนการออกซิเดชันของแอมโมเนียเป็นไนเตรตและในขั้นตอนการรีดักชันของไนเตรต ซึ่งกระบวนการทั้งสองนี้อาจเกิดในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ระบบประปาและน้ำในธรรมชาติ ไนไตรต์ปริมาณ

เล็กน้อยที่พบในน้ำเกิดจากการสลายตัวของโปรตีน ซึ่งเป็นตัวชี้วัดความสกปรกเนื่องจากสารอินทรีย์

ในเตรต หมายถึง สารประกอบไนโตรเจนที่สำคัญในน้ำอย่างหนึ่งคือ ไนเตรต ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโตของพืชสามารถนำไปใช้ในการสร้างโปรตีนเพื่อเป็นอาหารของคนและสัตว์ต่อไป ไนเตรตเกิดจากการที่สิ่งมีชีวิตปล่อยของเสียซึ่งมีสารประกอบไนโตรเจนออกมาและเมื่อสิ่งมีชีวิตตายลง โปรตีนภายในสิ่งมีชีวิตจะถูกย่อยสลายเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย ซึ่งพืชนำไปใช้ในการสร้างโปรตีนได้ ถ้ามีปริมาณมากเกินไป ความต้องการ แอมโมเนียจะถูกออกซิไดซ์โดยแบคทีเรียไปเป็นไนไตรต์และไนเตรตต่อไป (สิทธิชัย ดันธนะสฤกษ์, 2549)

#### 4.2.3.2 ฟอสฟอรัส (Phosphorus)

ในแหล่งน้ำจะสามารถพบฟอสฟอรัสได้ในรูปของสารฟอสฟอรัสอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้และอยู่ในอนุภาคที่ไม่ละลายน้ำ ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสัตว์และพืชโดยปกติฟอสฟอรัสจะสะสมอยู่ในดินและหินหรือแหล่งสะสมอื่น ๆ ซึ่งจะปลดปล่อยฟอสเฟตออกมาในรูปที่ละลายน้ำได้โดยการชะล้าง เมื่อสิ่งมีชีวิตนำไปใช้หรือเมื่อตายลงแบคทีเรียจะย่อยสลายให้กลายเป็นฟอสฟอรัสที่สามารถละลายน้ำได้

แหล่งน้ำธรรมชาติพบฟอสฟอรัสในปริมาณน้อย และพบในน้ำใต้ดิน น้ำไหลบ่าหน้าดิน สูงกว่าแหล่งน้ำอื่น ๆ นอกจากนั้น พบ ฟอสฟอรัสบางส่วนในรูปของสารฟอสฟอรัสอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้และในรูปอนุภาคที่ไม่ละลายน้ำ แต่ส่วนใหญ่จะพบฟอสฟอรัสทั้งประเภทสารอินทรีย์ และอนินทรีย์ในรูปที่เดิมออกซิเจนแล้ว คือ ฟอสเฟตอินทรีย์และสารฟอสเฟตอนินทรีย์ ซึ่งเป็นรูปที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบนิเวศของแหล่งน้ำเป็นอย่างมาก และในแหล่งน้ำฟอสเฟตจะอยู่ร่วมกับธาตุที่มีประจุบวกต่าง ๆ เช่น เหล็ก แคลเซียม และ โซเดียม และบางส่วนจะถูกดูดซึมอยู่กับดินเหนียวใต้ท้องน้ำได้ (สิทธิชัย ดันธนะสฤกษ์, 2549)

### 5. จุลินทรีย์ดัชนีในการตรวจสอบคุณภาพน้ำ (Indicator Microorganisms)

การตรวจสอบตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อมเพื่อแสดงถึงเชื้อก่อโรคที่พบในระบบทางเดินอาหารมักจะมี ความยุ่งยาก ใช้เวลาและค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง จึงได้มีการใช้กลุ่มจุลินทรีย์ดัชนีที่สามารถแสดงถึงเชื้อก่อโรคที่อาจจะพบ ตัวอย่างเช่น ได้มีการเลือกใช้แบคทีเรียโคลิฟอร์มซึ่งปกติจะพบทั่วไปในสัตว์เลือดอุ่นทุกชนิดและถูกปล่อยออกมาพร้อมกับสิ่งขับถ่ายได้แก่อุจจาระ ในน้ำที่มีความสกปรกมักจะพบแบคทีเรียโคลิฟอร์มอยู่ในปริมาณที่เป็นสัดส่วน โดยตรงกับอุจจาระ เนื่องจากแบคทีเรียโคลิฟอร์มมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมมากกว่าแบคทีเรียก่อโรคทั่วไป

การไม่พบแบคทีเรียกลุ่มนี้ในน้ำจึงชี้ให้เห็นถึงความปลอดภัยของน้ำนั้นต่อการบริโภค (วีรานูช หลาง, 2554) เกณฑ์การเลือกจุลินทรีย์ดัชนีประกอบด้วย

- จุลินทรีย์นั้นควรเป็นตัวแทนของการปนเปื้อนเชื้อก่อโรคได้ในแหล่งน้ำทุกชนิด
- จุลินทรีย์นั้นควรจะถูกตรวจพบหากเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหารถูกตรวจพบ
- จุลินทรีย์นั้นควรมีชีวิตอยู่รอดได้เป็นเวลานานกว่าเชื้อก่อโรค
- จุลินทรีย์นั้นไม่ควรเจริญได้ในน้ำ
- กระบวนการตรวจสอบควรง่ายในทางปฏิบัติ
- จำนวนจุลินทรีย์ดัชนีควรมีความสัมพันธ์กันโดยตรงกับระดับของเชื้อโรค
- จุลินทรีย์นั้นควรจะอยู่ในกลุ่มของจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่พบได้ในสัตว์เลือดอุ่น

### 5.1 การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (Total Coliform)

แบคทีเรียโคลิฟอร์ม ได้แก่ *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* และ *Klebsiella* เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ง่ายต่อการตรวจสอบ โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียทนสั้น ดิดีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในที่มีอากาศแบบแฟคคัลเททีฟแอนแอโรบ (Facultative anaerobe) สามารถหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระหว่าง 24-48 ชั่วโมง โดยสร้างกรดและก๊าซออกมา อัตราการตายของแบคทีเรียโคลิฟอร์มขึ้นอยู่กับปริมาณสารอินทรีย์และอุณหภูมิของน้ำ ถ้าน้ำนั้นมีปริมาณสารอินทรีย์และอุณหภูมิก่อนข้างสูง จะทำให้แบคทีเรียเพิ่มจำนวน การตรวจพบเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์มในน้ำ จึงเป็นเครื่องชี้ให้ทราบว่าน้ำนั้นมีความสกปรกมากน้อยเพียงใด ไม่เหมาะสมที่จะใช้ กล่าวคือ ถ้าตรวจพบโคลิฟอร์มมากแสดงว่า น้ำนั้นสกปรกมาก ถ้าน้ำสกปรกน้อยก็จะพบจำนวนเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์มน้อย หรืออาจไม่พบเลย ทั้งนี้เพราะ โรคที่อาศัยน้ำเป็นสื่อ นั้น ส่วนใหญ่เป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร โดยธรรมชาติแล้วจะปะปนออกมาพร้อมกับอุจจาระของผู้ป่วยเสมอ

นักจุลชีววิทยาได้เลือกแบคทีเรียโคลิฟอร์มให้เป็นจุลินทรีย์ดัชนีบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนจากอุจจาระในการตรวจสอบคุณภาพน้ำ เนื่องจาก

- เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Normal Flora) ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลือดอุ่น
- เป็นแบคทีเรียที่ถูกขับออกมาพร้อมกับอุจจาระในจำนวนที่สม่ำเสมอ
- ไม่เป็นเชื้อก่ออันตรายต่อผู้ตรวจวิเคราะห์
- เป็นเชื้อที่ทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีกว่าเชื้อโรค
- ใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ไม่ยุ่งยากเหมือนการตรวจหาเชื้อโรค

### 5.1.1 The Most Probable Number (MPN) Test

วิธี MPN เป็นการประเมินปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มในตัวอย่าง การทดสอบมี 3 ขั้นตอน ได้แก่

ขั้น Presumptive test ใช้อาหาร Lauryl sulfate tryptose lactose บรรจุในหลอดทดลองเป็นชุดตามระดับความเจือจางของตัวอย่างน้ำ โดยทั่วไปมักใช้จำนวน 3-5 หลอดต่อความเจือจางแต่ละชุด หลอดอาหารทั้งหมดจะถูกนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจผลการเจริญของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม โดยสังเกตการสร้างก๊าซและกรด หลอดอาหารที่ให้ผลบวกจะถูกบันทึกแล้วเทียบกับตาราง MPN เป็นการบอกค่าประมาณของจำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม

ขั้น Confirmed test เป็นการทดสอบยืนยัน โดยเฉพาะเชื้อจากหลอดทุกหลอดที่ให้ผลบวกในขั้น Presumptive ในอาหาร Brilliant green lactose bile broth ซึ่งมี brilliant green และเกลือน้ำดี (Bile) เป็นสารยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจผลการเจริญของแบคทีเรียโคลิฟอร์ม โดยสังเกตการสร้างก๊าซและกรดอีกครั้ง บันทึกผลที่ได้แทนหลอดอาหารที่นำมาจากขั้น Presumptive แล้วเทียบกับตาราง MPN เป็นการบอกค่ายืนยันจำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม

ขั้น Completed test เป็นการเพาะเชื้อที่ให้ผลบวกจากขั้น Confirmed test ลงในอาหารจำเพาะได้แก่ Levine's eosin-methylene blue (EMB) หรือ Endo agar แบคทีเรียที่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสได้จะเกิดโคโลนีที่มีสีเขียวเป็นมันวาวหรือมีสีดำตรงกลางโคโลนีดังกล่าวกลับไปเลี้ยงในอาหาร Lauryl sulfate tryptose lactose แล้วสังเกตการสร้างกรดและก๊าซ (วีรานูช หลาง, 2554)

### 5.2 การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (Total Bacteria)

เป็นการตรวจนับจำนวน heterotrophic bacteria ในน้ำ 1 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 20 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในอาหาร Tryptone glucose yeast agar (Plate count agar) แบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จะเป็นแบคทีเรียที่มีอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติและดิน สำหรับแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะเป็นแบคทีเรียที่มีอยู่ในทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลือดอุ่นซึ่งอาจปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำ วิธีการตรวจนับแบคทีเรียวิธีนี้จะตรวจนับจำนวนแบคทีเรียในแหล่งน้ำต่ำกว่าความเป็นจริง เนื่องจากแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความต้องการสารอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแตกต่างกัน วิธีการและอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวจึงไม่อาจทำให้จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดได้อย่างแท้จริง (สิทธิชัย ตันธนะสฤษดิ์, 2549)

## 6. *Vibrio* spp.

*Vibrio* spp. จัดอยู่ในวงศ์ (Family) Vibrionaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างแบบ comma-shaped หรือ vibrioid เซลล์มีการเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วด้วย polar flagella มีการดำรงชีวิตแบบ chemoorganotroph ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนหลัก เป็น facultative และเป็น normal microbiota ในสัตว์น้ำที่มีความเค็ม น้ำกร่อยบริเวณปากแม่น้ำ facultative anaerobic type เจริญได้ทั้งในที่ที่มีและไม่มีออกซิเจน เนื่องจากสามารถเปลี่ยนแปลงระบบเมตาบอลิซึมของตัวเองได้ แต่โดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์พวกนี้เจริญได้ดีในที่ที่มีออกซิเจน มากกว่าในที่ที่ไม่มีออกซิเจน (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534)

แบคทีเรียในวงศ์ Vibrionaceae นี้ประกอบด้วย 5 สกุล (genus) ได้แก่ *Vibrio*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* และ *Enhydrobacter* แต่มี 3 สกุลที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคในคนคือ *Vibrio*, *Aeromonas* และ *Plesiomonas* การติดเชื้อส่วนใหญ่ที่เกิดจาก *Vibrio* spp. ทำให้เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารตั้งแต่หวัดตกโรจนถึงโรคท้องร่วง นอกจากนี้ *Vibrio* spp. หลายสปีชีส์ยังแยกจากการติดเชื้อและเนื้อเยื่อและจากเลือด (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

### 6.1 โรคที่เกิดจาก *Vibrio* spp.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ (2547) กล่าวว่า สปีชีส์ของวิบริโอมีมากกว่า 30 สปีชีส์ แต่เชื้อที่สามารถก่อโรคที่สำคัญที่สุดต่อมนุษย์มีดังนี้

6.1.1 *Vibrio cholerae* เป็นสปีชีส์ที่มีความสำคัญมากที่สุดในจีนัสวิบริโอ ก่อให้เกิดโรคอหิวาตกโรค อูจจาระออกมามากคล้ายน้ำขาวขำ พบระบาดได้ง่ายในประเทศที่ระบบสุขาภิบาลไม่ดี จึงมีการปนเปื้อนมากับอาหารและน้ำดื่มที่ไม่สะอาด

*Vibrio cholerae* มีลักษณะเป็นท่อนโค้งสั้น ติดสีแกรมลบ ถ้าเลี้ยงบนอาหารแข็งไปนาน ๆ รูปร่างเชื้อจะเปลี่ยนเป็นท่อนตรง เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาเส้นเดียวที่อยู่ตรงขั้วเซลล์ ไม่สร้างสปอร์ เชื้อถูกทำลายด้วยความร้อน 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และยาฆ่าเชื้อ ไม่ทนต่อความแห้งและความเป็นกรด ถ้าหยดเชื้อไว้บนสไลด์เชื้อจะตายภายใน 2 ชั่วโมง แต่ทนต่อความเย็นและความชื้นได้ *V. cholerae* เป็นพวกที่ชอบออกซิเจน (strongly aerobic) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 37 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ตั้งแต่ 16-32 องศาเซลเซียส สามารถเลี้ยงได้ในสภาพ pH ตั้งแต่ 6.4-9.6 และชอบเจริญที่ pH เป็นเบส คือ 7.8-8.0 ความสามารถที่ทนต่อเบสได้จึงใช้ในการคัดเลือกเชื้อ

#### 6.1.1.1 ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

*V. cholerae* สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์และเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH 7.4-9.6 แต่ไม่เจริญที่ pH ต่ำกว่า 6.8 โคโลนีของ *V. cholerae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar จะทำให้โคโลนีสีเหลือง ทึบแสง กลม ขอบเรียบ ขนาด 2-3 มิลลิเมตร

#### 6.1.1.2 ลักษณะทางชีวเคมี

*V. cholerae* สามารถหมักย่อยกลูโคส มอลโทส แมนโนส ซูโครส และแมนนิทอลให้กรดแต่ไม่มีก๊าซ เชื้อให้ผลบวกต่ออินโดลและสามารถรีดิวส์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ได้ สามารถแยก *V. cholerae* ออกจาก *Vibrio* สปีชีส์อื่น ๆ ได้โดยเชื้อสามารถเจริญได้ใน Nutrient broth ที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ ให้ผลลบต่อการทดสอบการผลิตอาร์จินินดีไฮโดรเลส แต่ให้ผลบวกต่อการผลิตไลซีนคาร์บอกซิเลสและออร์นิตินดีคาร์บอกซิเลส และแยกจาก *V. mimicus* ซึ่งมีลักษณะทางชีวเคมีที่คล้ายกันโดย *V. cholerae* หมักย่อยซูโครสได้

6.1.2 *Vibrio parahaemolyticus* เป็นสปีชีส์ที่มีความสำคัญทางด้านอาหาร เพราะธรรมชาติทั่วไปของเชื้อชนิดนี้อาศัยอยู่ในทะเล มักมีการปนเปื้อนมากับอาหารทะเล โดยเฉพาะหอยนางรม กุ้ง ปู การเกิดการระบาดของมีสาเหตุมาจากการรับประทานอาหารทะเลดิบ หรือมีการปนเปื้อนภายหลัง อาการจะเกิดภายหลังการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนเข้าไปตั้งแต่ 2-48 ชั่วโมง โดยมีอาการปวดท้อง ท้องร่วง ถ่ายเป็นน้ำมีเลือดปน คลื่นไส้ อาเจียน มีไข้ต่ำ บางครั้งก่อให้เกิดโรคโลหิตเป็นพิษพร้อมทั้งเกิดอาการช็อก ปัจจุบันการติดเชื้อชนิดนี้จะเพิ่มมากขึ้นในหลายประเทศพบการระบาดมากในช่วงฤดูร้อน แต่ในช่วงที่อุณหภูมิต่ำกว่า 13-15 องศาเซลเซียส พบการระบาดน้อยมากหรือไม่พบเลย

#### 6.1.2.1 ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

*V. parahaemolyticus* เจริญบน TCBS agar ให้โคโลนีสีเขียว นูน ตรงกลางโคโลนีทึบ ขนาด 3-4 มิลลิเมตร ต้องการเกลือในการเจริญ ไม่เจริญในอาหารที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์และสามารถเจริญในอาหาร APW ที่มีโซเดียมคลอไรด์ 6-8% แต่ไม่เจริญที่มีโซเดียมคลอไรด์ 10%

#### 6.1.2.2 ลักษณะทางชีวเคมี

*V. parahaemolyticus* ให้ผลบวกต่อการผลิตไลซีนดีคาร์บอกซิเลส ซึ่งสามารถแยกจากสปีชีส์อื่นได้และ *V. parahaemolyticus* ไม่หมักย่อยซูโครส ซาลิซิน เซลโลไบโอส และส่วนมากหมักย่อยอาราบีโนส (พิพ์แตน์ ศรีเบญจลักษณะและอรุณลักษณะ ลูติทานนท์, 2540) *V. parahaemolyticus* คล้ายกับ *V. cholerae* ทั้งด้านโครงสร้างและสมบัติการย้อมสี เมื่อเลี้ยงใน



อาหารเหลวและในอาหารที่ pH 8.5 หรือมากกว่า จะสร้างแฟลกเจลลาเส้นเดี่ยว (sheathed flagella) แต่ถ้าเลี้ยงบนอาหารแข็งจะสร้างแฟลกเจลลารอบตัว (unsheathed peritrichos flagella) เจริญได้ดีที่สุดในสภาพเป็นเบสระหว่าง pH 7.6-9.0

6.1.3 *Vibrio vulnificus* มีการระบาดเกิดจากการบริโภคอาหารทะเลดิบ ทำให้เกิดการติดเชื้อทางกระแสเลือด นอกจากนี้อาจติดเชื้อที่บริเวณบาดแผล และอาจทำให้ถึงตายได้ *Vibrio vulnificus* เป็น *Vibrio* ในน้ำทะเลที่สามารถหมักย่อยแลคโทสได้ และทำให้เกิดโรครักกับคน การติดเชื้อมักเกิดในฤดูร้อนที่เชื้อเจริญเพิ่มขึ้นได้ดี ทำให้เกิดโรครักกับคนได้ 3 ลักษณะ คือ

1. การติดเชื้อที่บาดแผล (wound infection) ที่มีการลุกลามอย่างรวดเร็วจนทำให้เกิดเนื้อเยื่ออักเสบ (cellulitis) การติดเชื้อเนื่องจากการสัมผัสกับน้ำทะเล โดยมีอาการบวมร้อนแดงที่ผิวหนัง เจ็บปวด และอาจกลายเป็นตุ่ม จนเกิดอาการเนื้อตาย (necrosis) ได้

2. เกิดอาการ โลหิตเป็นพิษ (septicemia) อย่างรุนแรง หลังจากการติดเชื้อที่ผิวหนัง ซึ่งมีอัตราการตายสูงและมากกว่า 50 % ของคนที่เกิดอาการ โลหิตเป็นพิษจะตาย การเกิดโรครักนี้เนื่องมาจากการกินอาหารทะเลดิบ ๆ โดยเชื้อจะผ่านเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองที่ลำไส้ โดยมีอาการไม่สบาย มีไข้ หนาวสั่น อ่อนเพลียมาก คนไข้ 20-40 % ที่มีเชื้ออยู่ในเลือดหรือในเนื้อเยื่อจะมีอาการ อาเจียนท้องร่วง ความดันต่ำ

3. อาการท้องร่วงรุนแรง หลังจากการกินอาหารทะเลเข้าไป โดยปกติไม่ค่อยพบอาการแบบนี้ และอัตราการเกิดน้อยมาก ความรุนแรงของเชื้อเกี่ยวข้องกับกรณีแคปซูล ซึ่งทำให้เชื้อทนต่อการถูกฟาโกไซโทซิสและการทำลายของซีรัมได้ เชื้อสร้างทอกซินหลายชนิดทำลายเนื้อเยื่อ เช่น คอลลาเจนเอส ไชโททอกซิน เป็นต้น

#### 6.1.3.1 ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

*V. vulnificus* เจริญบน TCBS agar ให้โคโลนีสีเขียวคล้ายกับ *V. parahaemolyticus* แต่สามารถแยกออกจากกันได้ เนื่องจาก *V. vulnificus* สามารถเจริญในอาหารที่มีเกลือสูงสุด 6 %

#### 6.1.3.2 ลักษณะทางชีวเคมี

*V. vulnificus* ให้ผลบวกต่อการผลิตไลซีนดีคาร์บอกซิเลส ให้ผลลบต่อการผลิตอาร์จินินดีไฮโดรเลส แต่แยกจากสปีชีส์อื่น ๆ จากกลุ่มนี้ได้โดยเชื้อหมักย่อยซาลิซินและเซลโลไบโอส นอกจากนี้ยังคือต่อโคลิสติน แต่ไวต่อแอมพิลิซินและคาร์เบนนิซิลลิน

ตารางที่ 2-1 คุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรค

คุณสมบัติทางชีวเคมี	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>
Oxidase	+	+	+
Indole	+	+	+
Voges-Proskauer	+(-)	-	-
Simmon citrate	+(-)	+	+
<b>Decarboxylases</b>			
Lysine	+	+	+
Ornithine	+	+	+
Arginine dihydrolase	-	-	-
<b>Fermentation of</b>			
Sucrose	+	-	-
Lactose	(+)	-	+
L-Arabinose	-	+	-
D-Mannitol	+	+	+(-)
Maltose	+	+	+
Cellobiose	-	-	+
Salicin	-	-	+
Gas from glucose	-	-	-
Nitrate to nitrite	+	+	+
Gelatinase	+	+	+
0% NaCl	+	-	-
3% NaCl	+	+	+
6% NaCl	-	+	+(-)
10% NaCl	-	-	-

หมายเหตุ +(-) ส่วนมากให้ผลบวก (+) ให้ผลบวกหลังจาก 3 วัน (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

## 6.2 *Vibrio* spp. ที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ

*Vibrio* spp. ที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ ได้แก่ *V. anguillarum* ก่อให้เกิดโรค red boil ในปลาไหลและปลาไพค์ (pike) ปลาที่ป่วยมีอาการมีจุดเลือดบริเวณปาก กระพุ้งแก้ม บริเวณผิวหนัง ด้านท้องทั้งหมดและด้านบนของครีบอก *V. harveyi* ก่อให้เกิดโรคเรืองแสง โรคเพชรพลอยในสัตว์จำพวกกุ้งแชบ๊วย กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกรามในช่วงลูกกุ้งวัยอ่อน อาการของลูกกุ้งจะอ่อนแอ ว่ายน้ำไม่กินอาหาร *V. vulnificus* ก่อให้เกิดโรคเสี้ยนดำ โรคจุดดำ ในกุ้งกุลาดำ อาการจะพบจุดหรือเสี้ยนดำหรือน้ำตาลดำแห้งได้เปลือก ทำให้มีปัญหาต่อการขายให้แก่ผู้บริโภคได้ (ประภาศิริ ศรีโสภารณ์, 2538)

### 6.3 ความสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์กับแบคทีเรีย

สารอาหารและแหล่งพลังงานของแบคทีเรียจะดำรงชีวิตโดยอาศัยแหล่งพลังงานแบบคิโมเฮเทอโรโทรฟ (chemoheterotroph หรือ chomoorgranotrop) คือแบคทีเรียที่ดำรงชีพโดยอาศัยพลังงานและแหล่งคาร์บอนจากแหล่งที่มีสารประกอบอินทรีย์ (organic compound) แบคทีเรียส่วนใหญ่ดำรงชีพโดยวิธีนี้

แบคทีเรียมีทั้งที่พบตามธรรมชาติ ดำรงชีวิตแบบอิสระ (saprophyte) แบบอยู่ร่วมกันกับสิ่งมีชีวิตอื่นและให้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน (mutualism) อยู่ร่วมกันแบบได้รับประโยชน์ฝ่ายเดียว อีกฝ่ายไม่ได้รับประโยชน์หรือโทษ (commensalism) แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในร่างกายคนและสัตว์ และในพืชในภาวะปกติและมีประโยชน์ (normal microbiota) นอกจากนี้ยังมีพวกปรสิต (parasite) ซึ่งมีชีวิตร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นแบบเบียดเบียน และพวกก่อโรค (pathogen) (ศุภยางค์ วรวุฒิคุณชัย, 2547) ซึ่งแบคทีเรีย *Vibrio* spp. เป็นเชื้อที่อยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นแบบเบียดเบียนและทำให้เกิดโรคในสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ด้วย

ดังนั้น อาจแบ่งจุลินทรีย์ออกเป็น 3 ประเภท คือ พวกก่อโรค (strict pathogens) พวกไม่ก่อโรค (nonpathogens) และพวกฉวยโอกาสเกิดโรค (opportunistic pathogens) เชื้อก่อโรคคือเชื้อที่เกี่ยวข้องและเป็นสาเหตุของการเกิดโรค พวกเชื้อไม่ก่อโรคคือเชื้อประจำถิ่นในร่างกายคนและสัตว์ แต่บางครั้งสามารถทำให้เกิดโรคได้ เช่น *Escherichia coli* เป็นเชื้อประจำถิ่นที่อยู่ในลำไส้ของคนปกติ แต่อาจเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ และเชื้อฉวยโอกาสก่อโรคในคนที่ภูมิคุ้มกันของร่างกายผิดปกติ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

### 6.4 ปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย

จากการดำรงชีวิตของแบคทีเรียที่ได้กล่าวไว้เบื้องต้น แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของอาหารและสภาพแวดล้อมต่อจำนวนและกิจกรรมของแบคทีเรีย ซึ่งมีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมของน้ำดังนี้

6.4.1 อาหาร เป็นแหล่งที่จำเป็นต่อการเจริญ การมีชีวิตอยู่ และการแบ่งเซลล์ ซึ่งสารอาหารที่แบคทีเรียต้องการซึ่งอาจแตกต่างกันไปตามชนิดของแบคทีเรีย ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นต้น

6.4.2 พลังงาน เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นในเซลล์ และใช้ในกระบวนการเคลื่อนที่ และการส่งผ่านสารอาหารจากภายนอกเข้าสู่เซลล์ภายใน ซึ่งพลังงานจะได้จากสิ่งแวดล้อมที่เซลล์นั้นอาศัยอยู่ ส่วนแบคทีเรีย *Vibrio* spp. จะได้พลังงานจากสารประกอบอินทรีย์

6.4.3 น้ำ เป็นแหล่งสารอาหารที่เซลล์นำเข้าสู่ภายใน และของเสียที่เกิดขึ้นและที่ต้องการปล่อยออกสู่ภายนอก ซึ่งแบคทีเรียจะเจริญได้จะต้องการน้ำในปริมาณมาก แบคทีเรียต่างชนิดกันจะสามารถทนต่อการอยู่รอดภายใต้สภาวะขาดน้ำได้ดีไม่เท่ากัน ซึ่งแบคทีเรียมีกระบวนการพิเศษที่เกิดขึ้นเพื่อช่วยให้เซลล์ทนต่อช่วงที่น้ำลงเป็นเวลานาน ๆ ได้

6.4.4 อุณหภูมิ แบคทีเรียมีความต้องการอุณหภูมิในการเจริญที่แตกต่างกัน (optimum growth temperature) ซึ่งอุณหภูมิมิผลต่อปฏิกิริยาทางเคมีภายในเซลล์ ซึ่งแบคทีเรียบางชนิดสามารถเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิสูง ๆ แต่บางชนิดสามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิ 15-45 องศาเซลเซียส ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งพวกที่สามารถก่อโรคในคน สัตว์ และพืช อุณหภูมิมีผลต่อการกระจายของแบคทีเรียในแหล่งน้ำ และมีผลต่อความหนาแน่นของน้ำ

6.4.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) แบคทีเรียจะสามารถเจริญได้ดีในช่วง pH เท่ากับ 7 ซึ่งเป็นกลาง โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำจืดสามารถเจริญที่ pH 6.5-8.5 ขณะที่ pH ของน้ำทะเลคือ 7.5-8.5 และ pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ในทะเลอยู่ในช่วง 7.2-7.6 ขณะที่ในทะเลสาบและแม่น้ำค่า pH จะอยู่ในช่วงที่กว้างขึ้นกับสภาวะสิ่งแวดล้อมบริเวณนั้น

6.4.6 Oxygen ซึ่งแบคทีเรียมีความต้องการออกซิเจน เพื่อใช้ในการสร้างพลังงานแบบ oxidative (ดวงพร คันธโชติ, 2545)

## 6.5 ความสามารถในการก่อโรคของแบคทีเรีย

ความสามารถในการเกิดโรคของแบคทีเรียนั้นต้องเกิดจากการติดเชื้อและกลไกต่าง ๆ ซึ่งกำหนดด้วยปัจจัยที่ส่งเสริมให้แบคทีเรียส่งผลกระทบต่อโฮสต์ที่มันอาศัยอยู่ด้วย และสามารถต่อต้านกลไกการป้องกันตัวเองของโฮสต์ ปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคมี่ดังนี้

1. ปัจจัยที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์เอง ได้แก่ ความรุนแรงของเชื้อ การบุกรุกของเชื้อ บริเวณที่เชื้อบุกรุก ปริมาณของเชื้อที่บุกรุก เป็นต้น
2. ปัจจัยที่เกิดจากสภาพร่างกายของโฮสต์เอง ได้แก่ การมีบาดแผล ความเครียด การหลังฮีสตามีน (histamine) การอักเสบ
3. ปัจจัยที่เกิดจากเซลล์ของโฮสต์ ได้แก่ กระบวนการฟาโกไซโทซิส (phagocytosis) เป็นแมค โครฟาจ (macrophage) และพอลิเมอร์โฟนิวเคลียร์ลิว โคลไซต์ (polymorphonuclear leucocyte) และลิม โฟไซต์ (lymphocyte)

## 7. ปลากระพงขาว

ปลากระพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยชนิดหนึ่งที่มีขนาดใหญ่และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากสามารถหาพันธุ์ได้ง่าย เลี้ยงง่าย โตเร็ว เนื้อมีรสชาติดี และราคาค่อนข้างสูง จึงเป็นที่ต้องการของตลาดมาก ปลาชนิดนี้นิยมเลี้ยงอย่างแพร่หลายในเขตจังหวัดชายทะเลของประเทศไทย นอกจากการเลี้ยงเพื่อบริโภคในประเทศแล้วยังส่งออกต่างประเทศ เช่น ใต้หวัน สิงคโปร์ มาเลเซีย ฮองกง และจีน เป็นต้น

### 7.1 ชีวิตวิทยาของปลากระพงขาว

#### 7.1.1 การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน

ปลากระพงขาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lates calcarifer* (Bloch) มีชื่อสามัญว่า Giant Perch หรือ Sea Bass มีการจัดปลากระพงขาวตามหลักอนุกรมวิธานได้ดังนี้

Phylum Chordata

Sub-phylum Vertebrata

Sub-class Teleostomi

Order Percomorphi

Family Centropomidae

Genus *Lates*

Species *Calcarifer*



ภาพที่ 2-3 ลักษณะทั่วไปของปลากระพงขาว (สารานุกรมวัฒนธรรมไทยภาคใต้, 2542)

#### 7.1.2 ลักษณะทั่วไป

ปลากระพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยที่มีขนาดใหญ่ มีลำตัวค่อนข้างยาวและหนาแบน ข้างเล็กน้อย บริเวณไหล่จะโค้งมน ส่วนตัวจะลาดชันและเว้า ส่วนของขากรรไกรล่างยื่นยาวกว่า ขากรรไกรบนเล็กน้อย ปากกว้าง ขอบปากบนเป็นแผ่นใหญ่แยกเป็นแนวตอนต้นและตอนท้ายอย่างชัดเจน บริเวณส่วนปากจะยึดหดได้บ้าง ช่องปากเฉียงลงด้านล่างเล็กน้อย มีฟันเล็กละเอียดบน ขากรรไกรบนและล่าง และที่เพดานปากมีตาขนาดกลาง ไม่มีเยื่อเป็นไขมันหุ้ม แก้มมีขนาดใหญ่

มีขอบหลังเป็นหนามสี่ซี่ และเรียงต่อด้วยซี่เล็ก ๆ จัดตามแนวหลัง ด้านบนส่วนหัวและบนแผ่นเหงือก มีเกล็ดขนาดต่าง ๆ กัน เกล็ดบริเวณลำตัวค่อนข้างใหญ่ ด้านหลังมีสีเทาเงินหรือเขียวปนเทา ส่วนท้องจะมีสีเงินแกมเหลือง บริเวณด้านหลังลำตัวมีสีเงิน ครีบท้อง ครีบก้น ครีบท่าง จะมีสีเทาปนดำบาง ๆ มีครีบท้องสองตอน ตอนแรกอยู่ตรงตำแหน่งของครีบท้อง มีก้านครีบท้องที่แหลมคมขนาดใหญ่ 7-8 ก้าน เชื่อมต่อกันด้วยเยื่อบาง ๆ ครีบท้องตอนที่สองแยกจากตอนแรกอย่างเห็นได้ชัด มีก้านครีบท้อง 1 ก้าน ก้านครีบท้องมีปลายแตกแขนง มี 10-11 ก้าน ครีบทูและครีบท่างไม่ถึงรู ก้น ครีบท่างมีตำแหน่งใกล้เคียงกับครีบท้องตอนที่สอง ซึ่งประกอบด้วยก้านครีบท้อง 3 ก้าน ก้านครีบท้อง 7-8 ก้าน ข้อยางสั้น ครีบท่างค่อนข้างกลม เส้นข้างตัวโค้งไปตามแนวสันหลัง มีเกล็ดบนเส้นข้างตัว 52-61 เกล็ด

### 7.1.3 การแพร่กระจายและถิ่นที่อยู่

ปลากระพงขาวสามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม สำหรับประเทศไทยพบปลากระพงขาวแพร่กระจายอยู่ทุกจังหวัดชายทะเลทั้งในอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามัน จะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ไม่ห่างไกลออกไปจากชายฝั่งมากนัก โดยอาศัยอยู่ชุกชุมตามปากแม่น้ำ ลำคลอง และปากทะเลสาบ นอกจากนี้ปลากระพงขาวยังสามารถขึ้นไปอาศัยและเจริญเติบโตในแหล่งน้ำจืดได้อีกด้วย จึงจัดเป็นปลาประเภทสองน้ำ มีการอพยพย้ายถิ่นระหว่างน้ำจืดและน้ำเค็มอยู่เสมอ โดยเฉพาะเมื่อมีความสมบูรณ์ทางเพศต้องอพยพไปสู่ปากแม่น้ำและทะเลเพื่อสืบพันธุ์วางไข่ต่อไป

### 7.2 การเลี้ยงปลากระพงขาวในกระชัง

ปลากระพงขาวที่จะปล่อยเลี้ยงในกระชังต้องมีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตรขึ้นไป จึงจะมีอัตราการรอดมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงคัดเลือกปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันเลี้ยงอยู่ในกระชังเดียวกันเพื่อป้องกันการแย่งกินอาหารปลาที่มีขนาดใหญ่กว่า โดยปล่อยลงเลี้ยงในอัตรา 100-300 ตัวต่อตารางเมตร ซึ่งขึ้นกับสภาพแวดล้อมและสถานที่ตั้งของกระชัง ส่วนอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาเป็นพวกปลาสดหรือใช้ปลาเป็ดสดโดยให้อาหารจนอิ่มวันละ 2 ครั้งเช้าและเย็น ซึ่งหากปลาที่ใช้เลี้ยงมีความสดมาก ๆ หรืออาจจะเป็นปลาสดที่แช่แข็งไว้จะมีผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีมาก แต่หากใช้ปลาที่เป็นอาหารไม่สดจะส่งผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่ค่อยดี ปลากระพงขาวที่เลี้ยงในกระชังที่ระยะเวลา 6-7 เดือนจะได้ขนาดตามที่ตลาดต้องการ (500-800 กรัม) (สโตนนิสิตคณะประมง, 2531)

## 8. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จิราพร จันทสิทธิ์ (2550) ได้สำรวจ *Vibrio* spp. ที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรม บริเวณปากแม่น้ำท่าเสา จังหวัดจันทบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2550 ถึงเดือนมกราคม 2551 โดยใช้เทคนิค MPN (Most Probable Number) พบว่า ในน้ำทะเลและหอยนางรม พบปริมาณ *Vibrio* spp. รวมสูงสุดในเดือนกรกฎาคม รองลงมาคือ สิงหาคม กันยายน ตุลาคม พฤศจิกายน และ มกราคม ตามลำดับ นอกจากนี้พบ *Vibrio* spp. 6 ชนิด ได้แก่ *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. furnissii* และ *V. vulnificus*

วรรณนิสา เกตุแก้ว (2550) ได้ศึกษาหาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่มีอยู่ในน้ำและหอยนางรม บริเวณปากแม่น้ำท่าเสา จังหวัดจันทบุรี ระหว่างเดือนสิงหาคม 2550 ถึงเดือนมกราคม 2551 โดยใช้เทคนิค MPN (Most Probable Number) พบว่า ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มในแต่ละเดือนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยพบมากที่สุดในช่วงเดือนกันยายน รองลงมาคือ ตุลาคม พฤศจิกายน ธันวาคม สิงหาคมและมกราคม ตามลำดับ

อนุกุล บุรณประทีปรัตน์ และเชษฏโชก จินตเศรษฐี (2555) ได้ศึกษาคุณภาพน้ำทะเล บริเวณปากแม่น้ำบางปะกงในช่วงเดือนเมษายน มิถุนายน กันยายนและธันวาคม พ.ศ. 2545 พบว่า คุณภาพน้ำได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ออกซิเจนละลายน้ำ แอมโมเนีย ไนไตรท์ ฟอสเฟตและซิลิเกต มีการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) สำหรับของแข็งแขวนลอย ไนเตรท และคลอโรฟิลล์-เอ มีการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลที่ไม่มีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยอิทธิพลหลักของการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารในพื้นที่มาจากปริมาณน้ำท่า การฟุ้งกระจายกลับสู่มวลน้ำของตะกอนที่พื้นทะเล และปฏิสัมพันธ์ระหว่างน้ำทะเลและน้ำท่าจากแม่น้ำบางปะกงที่เปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาล

Noriega et al. (2007) ได้ศึกษาความหนาแน่นของ *Vibrio* spp. ในฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศเม็กซิโก และหาความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับความหนาแน่นของ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง พบว่า ความหนาแน่นของเชื้อจะเปลี่ยนแปลงช่วงของฤดูกาล อุณหภูมิของน้ำ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ และความหนาแน่นของ *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* จะเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 3-460 MPN/mL ในช่วงที่มีการเกี่ยวผลผลิตกุ้ง สำหรับสภาพแวดล้อมของบริเวณที่ทำการศึกษานั้น พบว่า มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นสูงถึง

30 องศาเซลเซียส ซึ่งค่าของอุณหภูมินี้มีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ แต่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความหนาแน่นของ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบ

Steve et al. (2009) ได้ศึกษาอุบัติการณ์และการแพร่กระจายของ *Vibrio* spp. ในปากแม่น้ำ Great Bay มลรัฐ New Hampshire ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยทำการเก็บตัวอย่างหอยนางรม ตัวอย่างน้ำและตัวอย่างตะกอนดิน ในช่วงปี ค.ศ 2007-2008 พบว่า มีการตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* มากที่สุด โดย *Vibrio* spp. จะตรวจพบในตัวอย่างหอยนางรมและตะกอนดินมากกว่าในตัวอย่างน้ำ นอกจากนี้ยังพบว่า *V. parahaemolyticus* จะมีการแพร่กระจายของเชื้อสัมพันธ์กับอุณหภูมิมากที่สุด เนื่องจากระยะเวลาที่ทำการศึกษานั้นมีช่วงของฤดูกาลที่แตกต่างกัน

Julie et al. (2010) ได้ศึกษาผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับอุบัติการณ์ของ *V. parahaemolyticus* ในชายฝั่งทะเลแอตแลนติก ทางตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศฝรั่งเศส โดยทำการเก็บข้อมูลสิ่งแวดล้อมทุกเดือนเป็นระยะเวลา 1 ปี และตรวจหา *V. parahaemolyticus* จากตัวอย่างตะกอนดิน ตัวอย่างน้ำและตัวอย่างหอยแมลงภู่ พบว่า ความเค็มของน้ำมีอิทธิพลมากกว่า อุณหภูมิต่อการแพร่กระจายของ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างตะกอนดิน และพบว่าอุณหภูมิต่ำสูงขึ้นอาจส่งผลให้มีการตรวจพบการแพร่กระจายของ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างน้ำเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ที่ศึกษาในครั้งนี้ไม่มีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายของ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างหอยแมลงภู่

Prasanthan, Udayakumar, Sarathkumar, and Ouseph (2010) ได้ศึกษาผลกระทบของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการแพร่กระจายของ *Vibrio* spp. ในชายฝั่งทะเลของรัฐ Kerala ประเทศอินเดีย โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำตามสถานีเก็บตัวอย่างจุดต่าง ๆ เพื่อวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางกายภาพและทางจุลชีววิทยาและหาความสัมพันธ์ของปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับการแพร่กระจายของ *Vibrio* spp. พบว่า การแพร่กระจายของ *V. cholerae* กับปริมาณสารอาหารในน้ำที่ตรวจพบมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการแพร่กระจายของ *V. cholerae* มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) และค่าความเค็มของน้ำ (Salinity) สำหรับการแพร่กระจายของ *V. parahaemolyticus* มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) และการรอดชีวิตของ *V. parahaemolyticus* ในน้ำทะเลนั้นจะขึ้นอยู่กับความแปรปรวนทางกายภาพ ในขณะที่การรอดชีวิตของ *V. cholerae* จะขึ้นอยู่กับปัจจัยของสิ่งแวดล้อม



Banakar et al. (2012) ได้ศึกษาช่วงระยะเวลาของอุบัติการณ์ของ *V. vulnificus* บริเวณผิวน้ำในอ่าว Chesapeake Bay ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยทำการเก็บข้อมูลของอุณหภูมิและความเค็มบริเวณผิวน้ำทะเลระหว่างปี ค.ศ 1991-2005 ซึ่งแบ่งบริเวณเก็บข้อมูลออกเป็น 3 จุด ได้แก่ Upper Bay, Mid Bay และบริเวณปากแม่น้ำทางตะวันตกของอ่าว และตรวจหาการแพร่กระจายของ *V. vulnificus* พบว่า มีการแพร่กระจายของ *V. vulnificus* บริเวณที่มีอุณหภูมิมากกว่า 20 องศาเซลเซียส และมีความเค็มของน้ำเท่ากับ 11.5 ppt และในปีที่มีปริมาณฝนมากจะพบการแพร่กระจายของ *V. vulnificus* ในระดับสูงบริเวณ Mid Bay และบริเวณที่มีความเค็มต่ำกว่า 5 ppt หรือบริเวณที่มีความเค็มสูงกว่า 20 ppt จะพบการแพร่กระจายของ *V. vulnificus* ในระดับต่ำ

Rhodes, Bhaskaran, and Jacobs (2013) ได้ศึกษาการแพร่กระจายของ *V. vulnificus* และ *V. parahaemolyticus* ในบริเวณปากแม่น้ำ Tidal ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากบริเวณผิวน้ำและบริเวณกึ่งกลางความลึกของน้ำ ในช่วงเดือนกรกฎาคมและสิงหาคม ปี ค.ศ 2010 และเก็บข้อมูลคุณภาพทางกายภาพของน้ำ พบว่า ระดับความลึกของน้ำและการขึ้นลงของน้ำมีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายของ *V. parahaemolyticus* ระดับความลึกของน้ำและการขึ้นลงของน้ำร่วมกับระดับความลึกของน้ำมีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายของ *V. vulnificus* และสภาพแวดล้อมที่อบอุ่นมีความเค็มของน้ำไม่สูงมาก จะพบว่ามี การแพร่กระจายของ *V. vulnificus* ได้ดี (8 CFU/ml)

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 สถานที่ในการวิจัย

##### 3.1.1 การศึกษาในภาคสนาม

ทำการศึกษาวิจัยในภาคสนาม ณ บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ อ. แกลง จ. ระยอง โดยได้กำหนดสถานีเก็บตัวอย่างเป็น 3 สถานี คือ สถานีริมฝั่งแม่น้ำ (ห่างจากฝั่งประมาณ 5-10 เมตร ติดกับบริเวณชุมชนริมฝั่งแม่น้ำ) สถานีกลางแม่น้ำ (ห่างจากฝั่งประมาณ 90 เมตร) และสถานีเขตเพาะเลี้ยงปลาในกระชัง (ห่างจากฝั่งประมาณ 140 เมตร) โดยใช้เครื่องตรวจวัดพิกัดบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (GPS) ช่วยในการตรวจสอบสถานี โดยมีตำแหน่งละติจูดและลองจิจูด (ตารางที่ 3-1) และใช้เรือประมงชายฝั่งเป็นพาหนะในการปฏิบัติงานภาคสนาม

ตารางที่ 3.1 ตำแหน่งละติจูดและลองจิจูดของสถานีที่ใช้ในการศึกษา บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ อ. แกลง จ. ระยอง

สถานี	บริเวณ	ละติจูด	ลองจิจูด
1	ริมฝั่งแม่น้ำ	12°42'05.99" N	101°42'07.96" E
2	กลางแม่น้ำ	12°42'06.08" N	101°42'06.32" E
3	เขตเพาะเลี้ยงปลาในกระชัง	12°42'06.11" N	101°42'04.59" E

##### 3.1.2 การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

ทำการศึกษาวิจัยในห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการ โครงการบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

#### 3.2 ระยะเวลาในการศึกษา

ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาวิจัย 1 ปี ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555 โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำและสัตว์น้ำ เก็บข้อมูลคุณภาพน้ำทางกายภาพเดือนละ 1 ครั้ง

### 3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

#### 3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในภาคสนาม

1. เครื่องตรวจวัดพิกัดบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System, GPS)
2. เครื่องเก็บตัวอย่างน้ำ (Water sampler)
3. เครื่องมือวัดความโปร่งแสง (Secchi disc)
4. เครื่องวัดคุณภาพน้ำหลายตัวแปร (Multi-parameter, YSI 85)
5. เครื่องวัดพีเอชและอุณหภูมิภาคสนาม (pH/Temp Meter, YSI 60)
6. เครื่องวัดความลึกของน้ำแบบลูกตั้ง
7. ขวดบรรจุตัวอย่างน้ำขนาด 1 ลิตร
8. ขวดแก้วปราศจากเชื้อขนาด 1.5 ลิตร
9. กล่องโฟม
10. อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar (TCBS)
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ Alkaline peptone water (APW)
12. ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ
13. ตารางบันทึกข้อมูลภาคสนาม

#### 3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

##### 3.3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar (TCBS)
2. Alkaline peptone water (APW)
3. Brilliant green lactose bile broth
4. Motility test medium
5. Triple sugar iron agar
6. Tryptic soy agar (TSA)
7. Tryptic soy broth (TSB)
8. 0.1% peptone water
9. (Lysine, Ornithine, Arginine) decarboxylase medium
11. CHROM agar
12. Mueller Hinton Agar (MHA)
13. ชุดทดสอบ API 20 E

### 3.3.2.2 สารเคมี

1. N, N, N, N-tetramethy-*p*-phenylenediamine
2. Phosphate buffer เข้มข้น 0.1 M
3. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
4. Manganess sulfate solution
5. Alkali-iodide-azide reagent
6. Starch indicator
7. Standard 0.025 N sodium thiosulfate solution
8. Standard 0.025 N potassium dichromate solution

### 3.3.2.3 ยาปฏิชีวนะ

1. ampicillin (AMP) ขนาด 10  $\mu\text{g}$
2. aztreomam (ATM) ขนาด 30  $\mu\text{g}$
3. cefotaxime (CTX) ขนาด 30  $\mu\text{g}$
4. cefoxitin (FOX) ขนาด 30  $\mu\text{g}$
5. ciprofloxacin (CIP) ขนาด 5  $\mu\text{g}$
6. norfloxacin (NOP) ขนาด 10  $\mu\text{g}$
7. sulphamethoxazole ขนาด 23.75  $\mu\text{g}$  + Trimethoprim (SXT) ขนาด 1.25  $\mu\text{g}$
8. nitrofurantoin (F) ขนาด 300  $\mu\text{g}$
9. ritampicin (RD) ขนาด 30  $\mu\text{g}$
10. gentamicin (GM) ขนาด 20  $\mu\text{g}$
11. tetracycline (TE) ขนาด 30  $\mu\text{g}$
12. chloramphenicol (C) ขนาด 30  $\mu\text{g}$

### 3.3.2.4 เครื่องมือและอุปกรณ์อื่น ๆ

1. ออโตปิเปต (Autopipette)
2. หลอดทดลอง
3. ขวด BOD ขนาด 300 มิลลิลิตร
4. ขวดรูปหม้อ ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. บีกเกอร์
6. บิวเรต
7. ปิเปต

### 3.4 ขั้นตอนการศึกษาและการเก็บข้อมูล

#### 3.4.1 การศึกษาคุณภาพน้ำทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา

เก็บตัวอย่างน้ำสถานีละ 3 ซ้ำ ของการเก็บตัวอย่างทุก ๆ เดือน ได้ผิวน้ำที่ระดับกึ่งกลางความลึกด้วยเครื่องเก็บตัวอย่างน้ำ (water sampler) ถ่ายลงถึงพลาสติกความจุ 1 ลิตร จำนวน 1 ถึง เพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี และถ่ายลงขวดแก้วที่ปราศจากเชื้อความจุ 1.5 ลิตร จำนวน 3 ขวด เพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา สำหรับลักษณะและคุณภาพน้ำทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม การนำไฟฟ้า ความโปร่งแสงและความลึก ทำการตรวจวัด ณ สถานีเก็บตัวอย่าง วิธีการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำถือตาม Standard method for the examination of water and wastewater โดยมีพารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวิเคราะห์ ดังนี้

ตารางที่ 3-2 การตรวจวิเคราะห์ลักษณะและคุณภาพน้ำทางกายภาพ

พารามิเตอร์	เครื่องมือ
1. อุณหภูมิ (Temperature)	เครื่องวัดคุณภาพน้ำหลายตัวแปร (YSI 85)
2. ความเค็ม (Salinity)	เครื่องวัดคุณภาพน้ำหลายตัวแปร (YSI 85)
3. การนำไฟฟ้า (Conductivity)	เครื่องวัดคุณภาพน้ำหลายตัวแปร (YSI 85)
4. ความโปร่งแสง	เครื่องมือวัดความโปร่งแสง (Secchi disc)
5. ความลึก	เครื่องวัดความลึกของน้ำแบบลูกคั้ง

ตารางที่ 3-3 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี

พารามิเตอร์	วิธีการ	เครื่องมือ
1. ออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO)	Azide Modification (มันซิน ตัณฑุลเวศม์, 2540)	-
2. บีโอดี (BOD)		
3. พีเอช (pH)		เครื่องวัดพีเอชภาคสนาม (YSI 60)

ตารางที่ 3.4 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา

พารามิเตอร์	วิธีการ	อาหารเลี้ยงเชื้อ
1. โคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม (Total Coliform Bacteria)	Multiple Tube Fermentation Technique (ศิริพรรณ สารินทร์, 2550)	1. Lauryl sulphatetryptone (LST) broth 2. Brilliant green lactose bile (BGLB) broth
2. ปริมาณและชนิดของ <i>Vibrio</i> spp.	Conventional method (Food and Drug Administration, 200)	1. Alkline Peptone Water (APW) 2. TCBS 3. T <sub>1</sub> N <sub>1</sub> agar 4. TSI 5. CHROMagar 6. T <sub>1</sub> N <sub>0</sub> , T <sub>1</sub> N <sub>3</sub> , T <sub>1</sub> N <sub>6</sub> , T <sub>1</sub> N <sub>8</sub> , T <sub>1</sub> N <sub>10</sub> 7. Lysine, Arginine, Ornithine Decarboxylase 8. Motility medium
3. ปริมาณแบคทีเรียรวม (Total Bacterial Count)	Total plate count (ศิริพรรณ สารินทร์, 2550)	1. 0.1% peptone 2. Plate Count Agar (PCA)

### 3.4.1.2 การศึกษาคุณภาพน้ำทางด้านเคมี

#### 3.4.1.2.1 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO)

1. ถ่ายตัวอย่างน้ำใส่ขวด BOD ขนาด 300 มิลลิลิตร ให้เต็ม 2 ขวด (ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ) ซึ่งขวดที่ 1 นำมาหาค่า DO<sub>0</sub> แล้วนำขวดที่ 2 บ่มใน BOD Incubator ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ในที่มืดเพื่อหาค่า DO<sub>5</sub>

2. เติมสารละลาย Manganese sulfate 1 มิลลิลิตร และ Alkali-iodide-azide 1 มิลลิลิตร ลงในขวด BOD ขวดที่ 1 โดยใช้ปลายปิเปตอยู่เหนือตัวอย่างน้ำเล็กน้อย ปิดจุกขวด ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ ผสมให้เข้ากัน โดยคว่ำขวดขึ้นลง 15-20 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน จนได้ปริมาตรน้ำใส 1/2 ของขวด

3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปิดจุกขวดก่อนที่ตะกอนจะล้นออกจากปากขวด เขย่ากับไปกลับมาประมาณ 15 ครั้ง

4. ตวงตัวอย่างน้ำจากข้อ 3 ปริมาตร 201 มิลลิลิตร เพื่อนำไปไทเทรต

5. ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน Sodium thiosulfate เข้มข้น 0.025 N จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแข็งปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จะได้สารละลายสีน้ำเงินเข้ม ไทเทรตต่อไปจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป

6. อ่านปริมาตรของสารละลาย Sodium thiosulfate ที่ใช้สำหรับการไทเทรต ซึ่งปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) จะเท่ากับปริมาตรของสารละลาย Sodium thiosulfate (มิลลิลิตร) ที่ใช้สำหรับการไทเทรต (มันลีน ดัชนีทูลเวรสม์, 2540)

### 3.4.1.2.2 บีโอดี (BOD)

1. รินน้ำตัวอย่างลงในขวด BOD จนเต็มขวดจำนวน 3 ขวด ปิดจุกให้สนิท ไม่ให้มีฟองอากาศ นำขวดหนึ่งมาหาค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ก่อน ตามวิธีการหาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำขั้นตอนที่ 2-6 สำหรับอีก 2 ขวดนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน

2. หลังจาก 5 วัน นำตัวอย่างทั้ง 2 ขวดที่หาค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหลืออยู่ จากนั้นคำนวณค่า BOD ดังนี้ (มันลีน ดัชนีทูลเวรสม์, 2540)

$$BOD_5^{20} \text{ (mg/l)} = DO_0 - DO_5$$

เมื่อ  $DO_0$  คือ ค่าปริมาณออกซิเจนในน้ำที่ไทเทรตได้ในวันแรก

$DO_5$  คือ ค่าปริมาณออกซิเจนในน้ำที่ไทเทรตได้ในวันที่ 5

### 3.4.1.3 การศึกษาคุณภาพน้ำทางด้านจุลชีววิทยา

#### 3.4.1.3.1 การตรวจหาปริมาณแบคทีเรียรวม (Total Bacterial Count)

1. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างน้ำปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดเปปโตนเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร คูดขึ้นลงเพื่อให้สารละลายเปปโตนผสมกับตัวอย่างน้ำจะได้ตัวอย่างที่มีความเจือจางเท่ากับ  $10^{-1}$

2. ใช้ปิเปตดูดส่วนผสมของสารละลายเปปโตนและตัวอย่างน้ำจากข้อ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดเปปโตนเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร คูดขึ้นลงเพื่อให้สารละลายเปปโตนผสมกับตัวอย่างน้ำจะได้ตัวอย่างที่มีความเจือจางเท่ากับ  $10^{-2}$

3. ใช้ปิเปตดูดส่วนผสมของสารละลายเปปโตนและตัวอย่างน้ำจากข้อ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดเปปโตนเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร คูดขึ้นลงเพื่อให้สารละลายเปปโตนผสมกับตัวอย่างน้ำจะได้ตัวอย่างที่มีความเจือจางเท่ากับ  $10^{-3}$  แล้วนำตัวอย่างที่มีความเจือจางทั้ง 3 ระดับ ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) มาปฏิบัติด้วยวิธีพอร์เพลท
4. ถ่ายตัวอย่างจากแต่ละระดับความเจือจางลงในจานเพาะเชื้อปลอดเชื้อทั้ง 3 จาน ๆ ละ 1 มิลลิลิตร
5. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) หลอมเหลว อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่าง จานละประมาณ 15 มิลลิลิตร ผสมตัวอย่างกับอาหารให้เข้ากัน โดยวิธีเลื่อนจานเพาะเชื้อขึ้นลง 5 รอบ หมุนจานตามเข็มนาฬิกา 5 รอบ เลื่อนจานแนวซ้ายไปขวา 5 รอบ และหมุนทวนเข็มนาฬิกา 5 รอบ ระวังอย่าให้ตัวอย่างหกออกมานอกจาน จากนั้นรอให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนีจากแต่ละจานเพาะเชื้อ หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีใน 1 จานและคำนวณค่า CFU ต่อกรัมของตัวอย่าง (ศิริพรรณ สารินทร์, 2550)

### 3.4.1.3.2 การตรวจหาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียรวม (Total Coliform

#### Bacteria)

1. ใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulphatetryptone (2X LST) broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด
2. ใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดตัวอย่างน้ำ 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulphatetryptone (1X LST) broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด
3. ใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดตัวอย่างน้ำ 0.1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulphatetryptone (1X LST) broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด
4. นำหลอดอาหารทั้งหมดบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง แล้วนำหลอดทดลองทั้งหมดมาตรวจผล โดยสังเกตการเจริญจากความขุ่นและสังเกตการผลิตก๊าซจากการเกิดฟองอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อและมีที่ว่างในหลอดดักก๊าซ (หลอดที่อ่านผลบวกจะต้องมีที่ว่างในหลอดดักก๊าซมากกว่า 1 ใน 10 ของปริมาตรหลอดดักก๊าซ)
5. ใช้หวงเขี่ยเชื้อถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LST broth ที่ให้ผลบวกลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ BGLB broth ทำเช่นเดียวกันจนครบทุกหลอดที่ให้ผลบวก



6. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลหลังจากบ่มเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง หลอดที่ให้ผลบวก อาหารเลี้ยงเชื้อจะขุ่นและเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลอมเหลือง และมีที่ว่างในหลอดดักก๊าซมากกว่า 1 ใน 10 ของปริมาตรหลอดดักก๊าซ

7. นำค่าของจำนวนหลอด BGLB broth ที่ให้ผลบวกจากทุกความเจือจางไปอ่านค่าปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียต่อตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร ดังภาคผนวก ข (ศิริพรรณ สารินทร์, 2550)

### 3.4.2 การตรวจหาปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำ

#### 3.4.2.1 การเตรียมสารละลายเจือจาง

1. ปิเปิดตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ 2X Alkaline Peptone Water (APW) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด

2. ปิเปิดตัวอย่างน้ำ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ 1X APW ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด

3. ปิเปิดตัวอย่างน้ำ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ 1X APW ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด จากนั้นนำหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ความเข้มข้นบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

#### 3.4.2.2 การเลือกลักษณะโคโลนีของ *Vibrio* spp.

1. ใช้ loop ชิดแยกเชื้อจากหลอดที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ APW ทุกหลอดที่ขุ่นลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

2. สังเกตลักษณะโคโลนีที่ขึ้นบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS จากนั้นเลือกลักษณะโคโลนีของ *Vibrio* spp. ซึ่งจะมีสีเขียวหรือสีเหลือง ลักษณะกลม Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ T<sub>1</sub>N<sub>1</sub> agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

#### 3.4.2.3 การจำแนกเพื่อยืนยันชนิดของ *Vibrio* spp.

1. จำแนกชนิดของ *Vibrio* spp. เบื้องต้น โดยทดสอบคุณสมบัติการสร้างเอนไซม์ Cytochrome Oxidase ทดสอบการเจริญในอาหาร TSI และทดสอบการเคลื่อนที่ของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Motility medium วิธีการทดสอบแต่ละชนิดแสดงในภาคผนวก ฉ (Food and Drug Administration, 2000)

2. ทดสอบการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>N<sub>3</sub>, T<sub>1</sub>N<sub>6</sub>, T<sub>1</sub>N<sub>8</sub>, T<sub>1</sub>N<sub>10</sub> ทดสอบการใช้กรดอะมิโน Lysine, Arginine และ Ornithine ทดสอบลักษณะโคโลนีที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร

เลี้ยงเชื้อ CHROMagar และยืนยันผลการทดสอบโดยใช้ Test kit API20E วิธีการทดสอบแต่ละชนิด แสดงในภาคผนวก ฉ

#### 3.4.2.4 กาค่าปริมาณของ *Vibrio* spp.

นำผลที่ได้จาก multiple tube มาหาปริมาณของ *Vibrio* spp. โดยอ่านผลเป็นค่า MPN/100 mL จากตาราง MPN ดังแสดงในภาคผนวก ฉ

#### 3.4.3 การตรวจหาปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากะพงขาว

บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ อ. แกลง จ. ระยอง เป็นบริเวณที่มีการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังเป็นจำนวนมาก ในการศึกษาครั้งนี้จะทำการเก็บตัวอย่าง (Specimen) บริเวณครีบบของปลากะพงขาว จำนวน 25 ตัวอย่าง และบริเวณเหงือกหรือบริเวณที่มีบาดแผลของปลากะพงขาว จำนวน 25 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างปลากะพงขาวที่ตายในบริเวณเขตเพาะเลี้ยงปลาในกระชังเพื่อนำมาทำการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Vibrio* spp. ตามวิธีของ Bacteriological Analytical Manual, US FDA

##### 3.4.3.1 การเก็บตัวอย่างบริเวณครีบบและเหงือกหรือบริเวณที่มีบาดแผล

ใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อป้ายบริเวณครีบบและเหงือกหรือบริเวณที่มีบาดแผลจากการเกิดโรค จากนั้นป้ายลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS โดยตรง และเก็บไม้พันสำลีที่ได้ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ APW บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

##### 3.4.3.2 การเลือกลักษณะโคโลนีของ *Vibrio* spp.

1. ใช้ loop ชิดแยกเชื้อจากหลอดที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ APW ทุกหลอดที่ขุ่นลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
2. สังเกตลักษณะโคโลนีที่ขึ้นบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS และเลือกลักษณะโคโลนีของ *Vibrio* spp. ซึ่งจะมีสีเขียวหรือสีเหลือง ลักษณะกลม Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ T<sub>1</sub>N<sub>1</sub> agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปตรวจหาปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. ตามขั้นตอนที่ 3.4.2.3

3.4.4 การศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ. ระยอง

ทำการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ของ *Vibrio* spp. ด้วยวิธี Agar disc diffusion ตามมาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)

#### 3.4.4.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

นำโคโลนีของ *Vibrio* spp. ชนิดต่าง ๆ ซึ่งเจริญบนอาหาร Trypticase soy agar (TSA) + 2% NaCl จำนวน 3-4 โคโลนี มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy broth (TSB) + 2% NaCl ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นปรับเชื้อให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland No. 0.5 โดยใช้ 0.85% NaCl จะได้ความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml

#### 3.4.4.2 การทดสอบ

1. ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มลงใน suspension ของเชื้อ แล้วนำมาป้ายลงบนผิวหน้าอาหาร Mueller-Hinton agar (มีความหนาประมาณ 4 มิลลิลิตร) เป็น 3 ระบาย ทิ้งให้ผิวหน้าอาหารแห้ง
2. วาง Disk ที่มีด้วยปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ปากคีบ (Forceps) ที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

#### 3.4.4.3 การอ่านผลการทดสอบ

วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone แล้วนำค่าที่วัดได้เปรียบเทียบกับค่าในตารางมาตรฐานและรายงานผล โดยรายงานเป็น Sensitivity (S), Intermediate sensitive (I) และ Resistant (R) ดังแสดงในภาคผนวก ซ

**3.4.5 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ. ระยอง**

ศึกษาการสลายเม็ดเลือดแดงของ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบ โดยเฉพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood agar บ่มที่อุณหภูมิ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส และตรวจสอบการสลายเม็ดเลือดแดงเปรียบเทียบกับชุดควบคุมผลบวก (Positive control) คือ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ที่สามารถสร้าง thermostable direct hemolysin (TDH) ซึ่งจะมีการสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์ ( $\beta$ -hemolysis) (Rahim & Aziz, 1996)

3.4.6 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการสร้าง Biofilm ของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ. ระยอง

1. เพาะเลี้ยงเชื้อ *Vibrio* spp. จำนวน 30 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่มี 2% NaCl บ่มที่อุณหภูมิ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 และ 48 ชั่วโมง
2. เลือกโคโลนีเดี่ยวเพาะเลี้ยงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มี 2% NaCl ปริมาตร 2 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง
3. ปรับปริมาณเชื้อเทียบกับ 0.5 McFarland standard โดยใช้ 0.85% NaCl จะให้ความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml
4. นำเชื้อปริมาณ 20 ไมโครลิตร ใส่ลงในถาดหลุมพลาสติก 96 wells microtiter plate ที่มีอาหาร TSB + 2% NaCl ปริมาตร 180 ไมโครลิตรต่อหลุม ผสมให้เข้ากัน โดยชุดควบคุมผลบวก (positive control) ใช้เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และชุดควบคุมผลลบ (negative control) ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB + 2% NaCl บ่มที่อุณหภูมิ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 และ 48 ชั่วโมง
5. เมื่อครบเวลาใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อกวาดฝ้าเชื้อ (pellicle) ที่เจริญบริเวณผิวหน้าของหลุมออกให้หมด แล้วดูดอาหารออกจากหลุม
6. ล้างแบคทีเรียที่ไม่เกาะติดด้วย 0.85% NaCl 2 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 0.1% crystal violet ปริมาตร 125 ไมโครลิตรในแต่ละหลุม ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
7. ดูดสีข้อมออก ล้างตะกอนสีด้วยน้ำ 3 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 ชั่วโมง เติม 30% acetic acid ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ในแต่ละหลุม ตั้งทิ้งไว้ 10-15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อละลายสี crystal violet
8. นำ microtiter plate ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader เพื่อหาค่าเฉลี่ยของการดูดกลืนแสง ( $OD_{595}$ ) ของเชื้อแต่ละชนิดของ *Vibrio* spp. เปรียบเทียบกับ positive control และ negative control (Merritt et al., 2005)

### 3.4.7 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการสร้างเอนไซม์ $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ.ระยอง

1. เพาะเลี้ยงเชื้อ *Vibrio* spp. จำนวน 23 ไอโซเลท (ชนิดที่คัดต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม  $\beta$ -lactam ลงในอาหารเหลว Brain heart infusion (BHI) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
2. เตรียม Stock. สารละลายยาปฏิชีวนะ Nitrocefin เข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายใน Phosphate buffer เข้มข้น 0.1 M
3. ปรับเชื้อ *Vibrio* spp. ที่เลี้ยงในอาหาร BHI ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland No. 0.5 โดยใช้ 0.85% NaCl จะได้ความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml จากนั้นนำเชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในถาดหลุมพลาสติก 96 wells microtiterplate และเติมสารละลายยาปฏิชีวนะ Nitrocefin ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที และวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 486 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 และ *S. aureus* ATCC 25923 (Calbiochem, 2006)

## 3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิจัย

3.5.1 วิเคราะห์ความแตกต่างของปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ ที่ศึกษาทั้ง 3 สถานี ด้วยวิธี one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 โดยวิเคราะห์จากโปรแกรม SPSS Statistics version 20

3.5.2 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ กับปริมาณของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ด้วยวิธี Pearson โดยวิเคราะห์จากโปรแกรม SPSS Statistics version 20

3.5.3 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ บริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลากับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากะพงขาว โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ด้วยวิธี Pearson โดยวิเคราะห์จากโปรแกรม SPSS Statistics version 20

3.5.4 วิเคราะห์ความแตกต่างของอุณหภูมิในการเจริญต่อความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์มและการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากะพงขาว ด้วยวิธี one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 โดยวิเคราะห์จากโปรแกรม SPSS Statistics version 20

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่ออุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง ซึ่งได้ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำและเก็บตัวอย่างน้ำและสัตว์น้ำเพื่อนำมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเป็นประจำทุกเดือน ๆ ละ 1 ครั้ง โดยเริ่มตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555 โดยมีรายละเอียดของผลการศึกษาดังต่อไปนี้

#### 4.1 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา จากตัวอย่างน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง

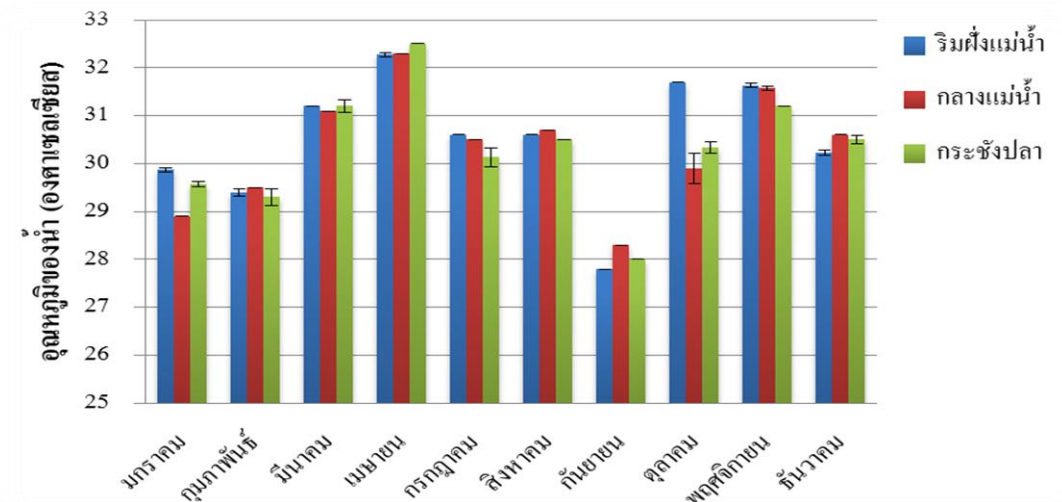
##### 4.1.1 อุณหภูมิของน้ำ

จากการเก็บข้อมูลอุณหภูมิของน้ำในเขตเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี (ริมแม่น้ำ กลางแม่น้ำ และบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา) ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 พบว่า เดือนกันยายนเป็นเดือนที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยของน้ำต่ำที่สุดและเดือนเมษายนเป็นเดือนที่มีอุณหภูมิของน้ำสูงที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง  $28.0 \pm 0.20$  ถึง  $32.3 \pm 0.10$  องศาเซลเซียส จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของอุณหภูมิของน้ำทั้ง 3 สถานีทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า อุณหภูมิของน้ำของสถานีเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p$ -value = 0.918) (ตารางที่ 4-1 ภาพที่ 4-1 และ 4-2)

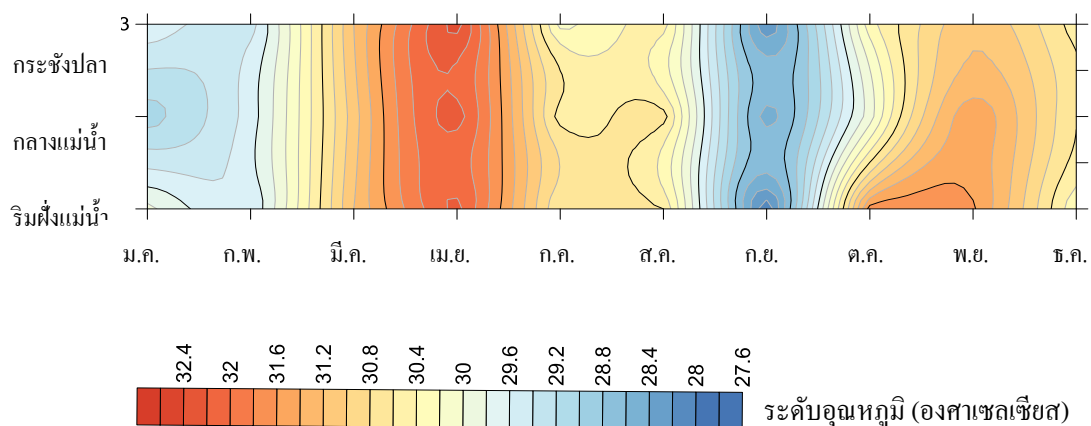
ตารางที่ 4-1 อุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม- ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	อุณหภูมิในน้ำ (°ซ) บริเวณสถานีเก็บตัวอย่างต่าง ๆ			
	ริมฝั่งแม่น้ำ	กลางแม่น้ำ	กระชังเพาะเลี้ยงปลากระพงขาว	เฉลี่ย
มกราคม	29.8 ± 0.05	28.9 ± 0.00	29.5 ± 0.05	29.4 ± 0.40
กุมภาพันธ์	29.4 ± 0.08	29.5 ± 0.00	29.3 ± 0.17	29.4 ± 0.08
มีนาคม	31.2 ± 0.00	31.1 ± 0.00	31.2 ± 0.14	31.2 ± 0.05
เมษายน	32.2 ± 0.05	32.3 ± 0.00	32.5 ± 0.00	32.3 ± 0.10
พฤษภาคม	ND	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND	ND
กรกฎาคม	30.6 ± 0.00	30.5 ± 0.00	30.1 ± 0.21	30.4 ± 0.20
สิงหาคม	30.6 ± 0.00	30.7 ± 0.00	30.5 ± 0.00	30.6 ± 0.08
กันยายน	27.8 ± 0.00	28.3 ± 0.00	28.0 ± 0.00	28.0 ± 0.20
ตุลาคม	31.7 ± 0.00	29.9 ± 0.33	30.3 ± 0.12	30.6 ± 0.76
พฤศจิกายน	31.6 ± 0.05	31.5 ± 0.05	31.2 ± 0.00	31.5 ± 0.20
ธันวาคม	30.2 ± 0.05	30.6 ± 0.00	30.5 ± 0.08	30.4 ± 0.15
ค่าเฉลี่ย	30.5 ± 1.24	30.3 ± 1.15	30.3 ± 1.16	30.4 ± 0.09
ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด	27.8 - 32.3	28.3 - 32.3	28.0 - 32.5	28.0 - 32.3

หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)



ภาพที่ 4-1 อุณหภูมิของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี



ภาพที่ 4-2 เปรียบเทียบอุณหภูมิของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี

#### 4.1.2 ความเค็มของน้ำ

จากการเก็บข้อมูลความเค็มของน้ำในเขตเพาะเลี้ยงปลากระพงขาวในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี (ริมแม่น้ำ กลางแม่น้ำ และบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา) ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 พบว่า ความเค็มของน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลากระพงขาวมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ และน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำมีค่าความเค็มต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $23.2 \pm 8.68$ ,  $22.4 \pm 9.96$  และ  $22.0 \pm 9.84$  psu ตามลำดับ ค่าความเค็มต่ำสุดในรอบปีตรวจพบในเดือนกันยายนจากทั้ง 3 สถานี โดยมีค่าอยู่ในช่วง

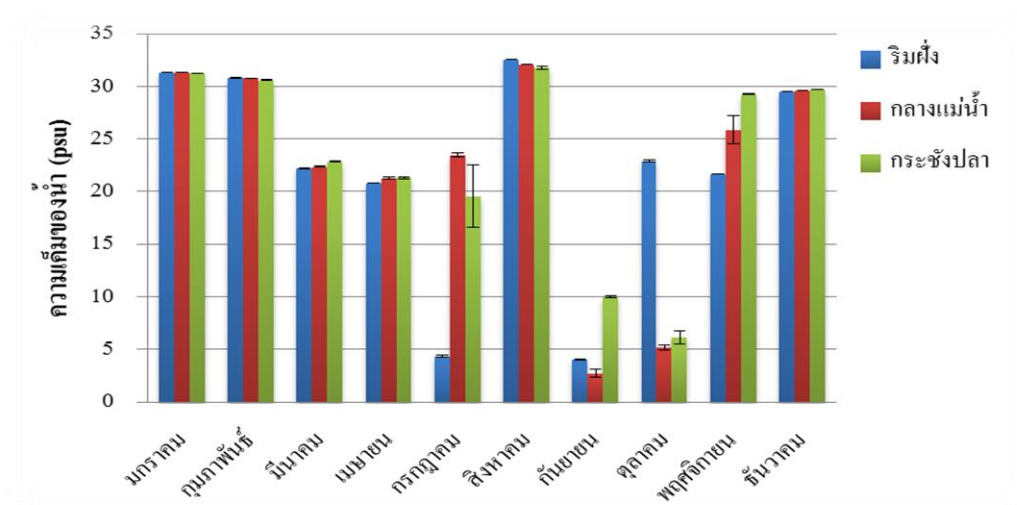


2.73-9.97 psu และในเดือนสิงหาคมพบว่าน้ำมีค่าความเค็มสูงที่สุดโดยมีค่าอยู่ในช่วง 31.77-32.60 psu จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเค็มในน้ำทั้ง 3 สถานีทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ความเค็มในน้ำของสถานีเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p$ -value = 0.964) (ตารางที่ 4-2 ภาพที่ 4-3 และ 4-4)

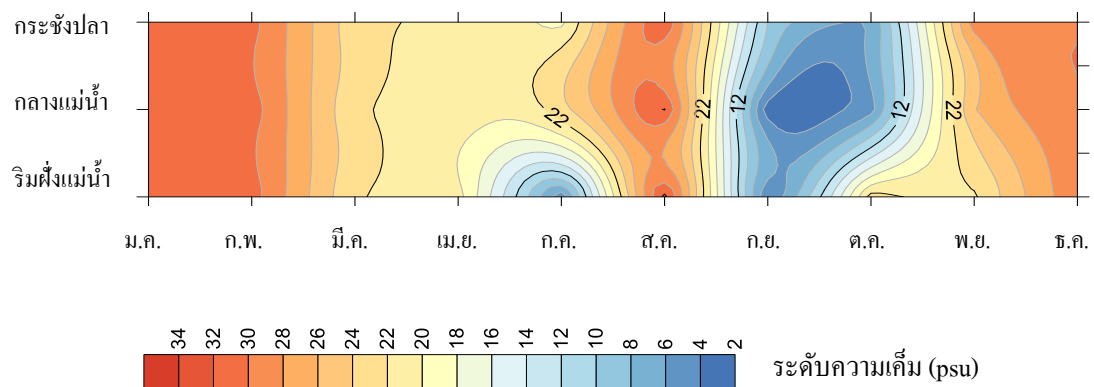
ตารางที่ 4-2 ความเค็มเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ความเค็มของน้ำ (psu)			
	ริมฝั่งแม่น้ำ	กลางแม่น้ำ	กระชังปลา	เฉลี่ย
มกราคม	31.3±0.00	31.3±0.00	31.2±0.00	31.3 ± 0.05
กุมภาพันธ์	30.8±0.05	30.8±0.00	30.6±0.08	30.7 ± 0.10
มีนาคม	22.2±0.05	22.3±0.05	22.8±0.05	22.5 ± 0.25
เมษายน	20.8±0.00	21.3±0.08	21.3±0.09	21.1 ± 0.24
พฤษภาคม	ND	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND	ND
กรกฎาคม	4.3±0.09	23.4±0.17	19.5±2.98	15.8 ± 8.23
สิงหาคม	32.6±0.00	32.1±0.00	31.7±0.12	32.2 ± 0.34
กันยายน	4.0±0.05	2.7±0.38	9.9±0.09	5.6 ± 3.14
ตุลาคม	22.9±0.09	5.2±0.24	6.1±0.61	11.4 ± 8.14
พฤศจิกายน	21.7±0.00	25.8±1.32	29.2±0.05	25.6 ± 3.08
ธันวาคม	29.5±0.00	29.6±0.00	29.7±0.00	29.6 ± 0.08
ค่าเฉลี่ย	22.0 ± 9.84	22.4 ± 9.96	23.2 ± 8.68	22.6 ± 0.50
ค่าต่ำสุด-สูงสุด	4.0 - 32.6	2.7 - 32.1	6.1 - 31.7	5.6 - 32.2

หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)



ภาพที่ 4-3 ความเค็มของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี



ภาพที่ 4-4 เปรียบเทียบความเค็มของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี

#### 4.1.3 ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ

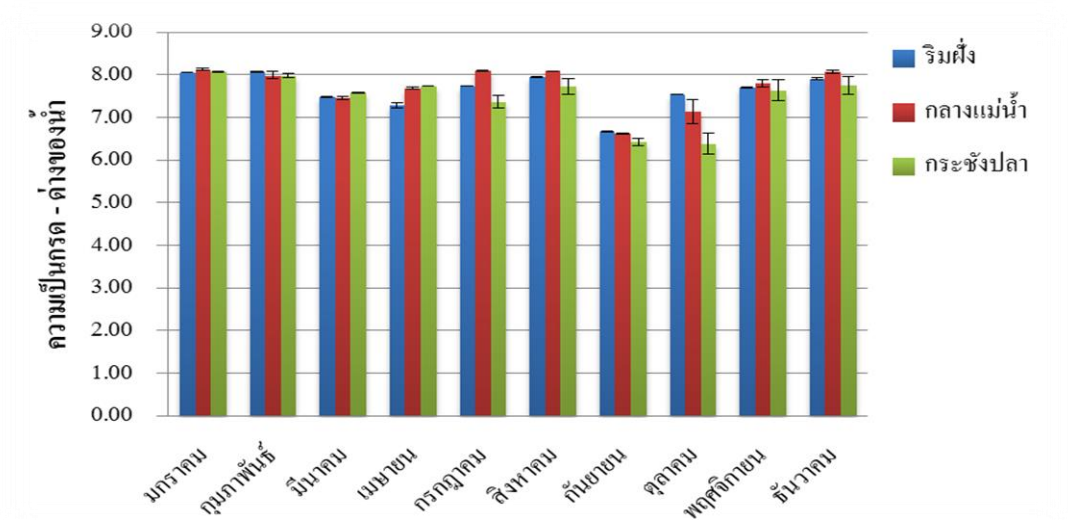
จากการเก็บข้อมูลความเป็นกรด-ด่างของน้ำในเขตเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี (ริมแม่น้ำ กลางแม่น้ำ และบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา) ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 พบว่า ความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่วัดได้จากสถานีดังกล่าวตลอดทั้งปีมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $7.6 \pm 0.40$ ,  $7.7 \pm 0.47$  และ  $7.4 \pm 0.56$  ตามลำดับ โดยในเดือนตุลาคมมีความเป็นกรด-ด่างของน้ำเฉลี่ยต่ำที่สุดบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว ( $\text{pH} = 6.38$ ) และในเดือนมกราคมมีความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุดบริเวณกลางแม่น้ำ

(pH = 8.1) จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำทั้ง 3 สถานีทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำของสถานีเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p$ -value = 0.561) (ตารางที่ 4-3 ภาพที่ 4-5 และ 4-6)

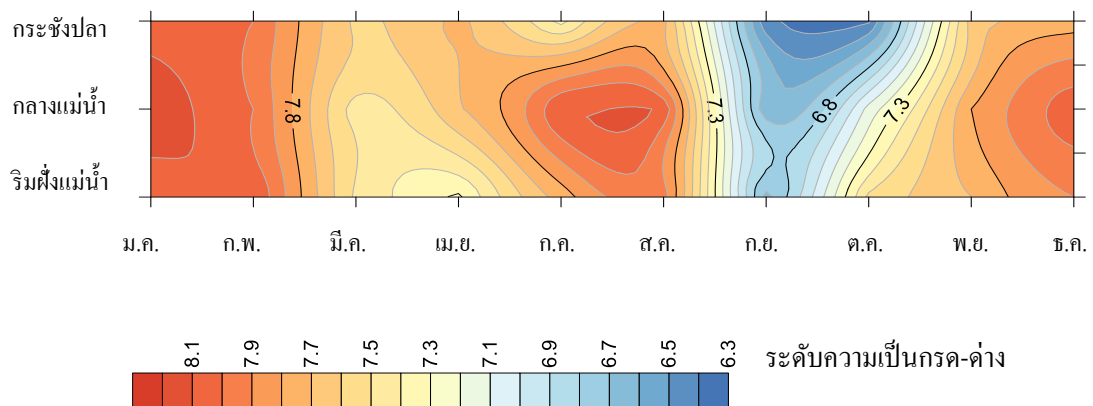
ตารางที่ 4-3 ความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือน มกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ			
	ริมฝั่งแม่น้ำ	กลางแม่น้ำ	กระชังปลา	เฉลี่ย
มกราคม	8.0±0.00	8.1±0.02	8.0±0.01	8.0 ± 0.03
กุมภาพันธ์	8.1±0.01	8.0±0.09	8.0±0.05	8.0 ± 0.04
มีนาคม	7.4±0.01	7.4±0.03	7.5±0.01	7.5 ± 0.05
เมษายน	7.2±0.07	7.6±0.02	7.7±0.00	7.5 ± 0.20
พฤษภาคม	ND	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND	ND
กรกฎาคม	7.7±0.01	8.1±0.00	7.3±0.15	7.7 ± 0.30
สิงหาคม	7.9±0.01	8.0±0.00	7.7±0.19	7.9 ± 0.15
กันยายน	6.6±0.01	6.6±0.02	6.4±0.09	6.5 ± 0.10
ตุลาคม	7.5±0.00	7.1±0.28	6.3±0.25	7.1 ± 0.47
พฤศจิกายน	7.7±0.01	7.8±0.08	7.6±0.24	7.7 ± 0.60
ธันวาคม	7.9±0.02	8.0±0.04	7.7±0.21	7.9 ± 0.13
ค่าเฉลี่ย	7.6 ± 0.40	7.7 ± 0.47	7.4 ± 0.56	7.6 ± 0.10
ค่าต่ำสุด-สูงสุด	6.6 - 8.1	6.6 - 8.1	6.3 - 8.0	6.5 - 8.0

หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)



ภาพที่ 4-5 ความเป็นกรด-ด่างของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี



ภาพที่ 4-6 เปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่างของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี

#### 4.1.4 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO)

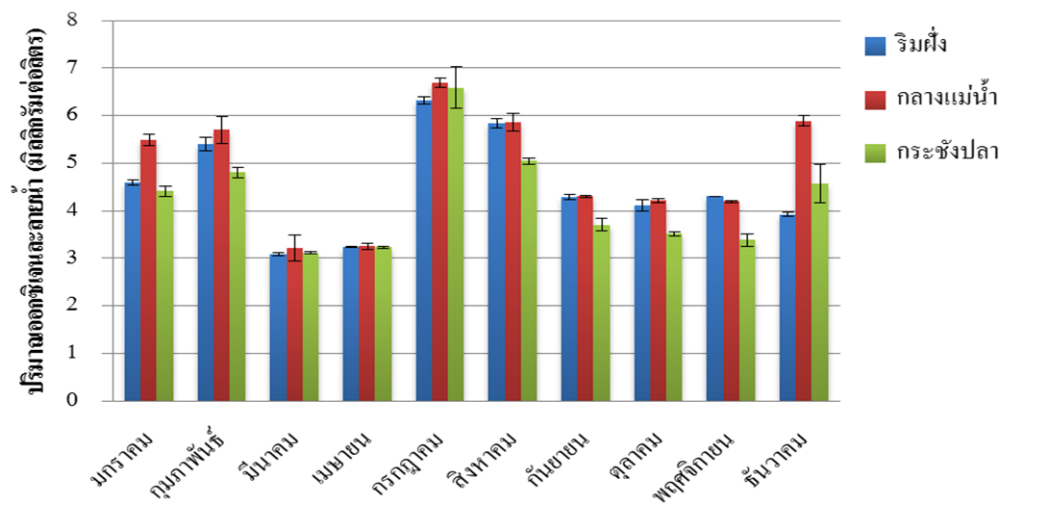
จากการเก็บข้อมูลปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในเขตเพาะเลี้ยงปลากระชังในบริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี (ริมแม่น้ำ กลางแม่น้ำ และบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา) ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 พบว่า ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำบริเวณกลางแม่น้ำมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ และน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลากระชังมีปริมาณออกซิเจนต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $4.87 \pm 1.13$ ,

4.50 ± 1.00 และ 4.23 ± 1.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณออกซิเจนต่ำสุดในรอบปีตรวจพบในเดือนมีนาคมจากทั้งสามสถานีโดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.08 - 3.21 มิลลิกรัมต่อลิตร และในเดือนกรกฎาคมพบว่าน้ำมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำมากที่สุดโดยมีค่าอยู่ในช่วง 6.32 – 6.69 มิลลิกรัมต่อลิตร จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณออกซิเจนในน้ำทั้ง 3 สถานีทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ปริมาณออกซิเจนในน้ำของสถานีเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p$ -value = 0.442) (ตารางที่ 4-4 ภาพที่ 4-7 และ 4-8)

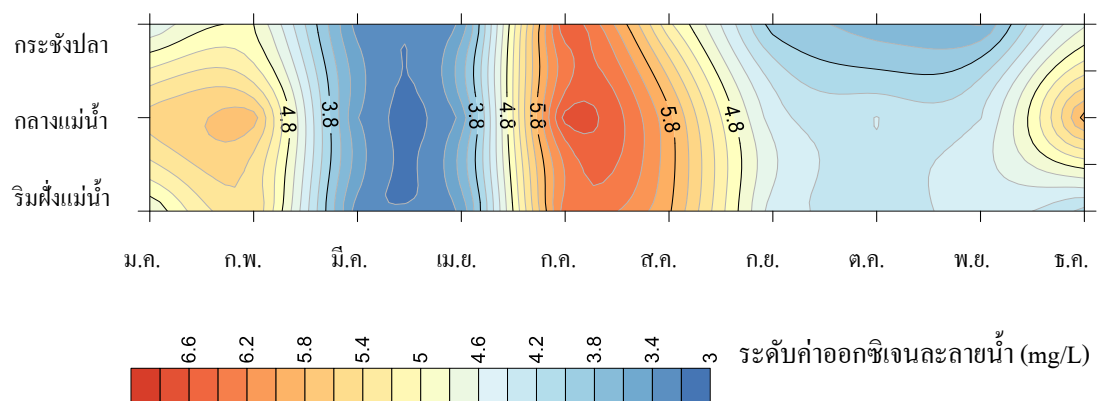
ตารางที่ 4-4 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) เฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (mg/L)			
	ริมฝั่งแม่น้ำ	กลางแม่น้ำ	กระชังปลา	เฉลี่ย
มกราคม	4.60±0.06	5.49±0.11	4.41±0.10	4.83 ± 0.47
กุมภาพันธ์	5.40±0.15	5.70±0.28	4.80±0.11	5.30 ± 0.34
มีนาคม	3.08±0.03	3.21±0.28	3.11±0.02	3.13 ± 0.05
เมษายน	3.23±0.01	3.25±0.06	3.23±0.03	3.23 ± 0.01
พฤษภาคม	ND	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND	ND
กรกฎาคม	6.32±0.07	6.69±0.11	6.59±0.43	6.53 ± 0.15
สิงหาคม	5.83±0.10	5.86±0.19	5.04±0.07	5.57 ± 0.37
กันยายน	4.29±0.05	4.30±0.02	3.70±0.13	4.10 ± 0.27
ตุลาคม	4.11±0.11	4.21±0.03	3.51±0.05	3.94 ± 0.30
พฤศจิกายน	4.30±0.00	4.19±0.03	3.38±0.13	3.95 ± 0.41
ธันวาคม	3.92±0.04	5.89±0.12	4.57±0.40	4.8 ± 0.82
ค่าเฉลี่ย	4.50 ± 1.00	4.87 ± 1.13	4.23 ± 1.02	4.54 ± 0.26
ค่าต่ำสุด-สูงสุด	3.08 - 6.32	3.21 - 6.69	3.11 - 6.59	3.94 - 6.53

หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)



ภาพที่ 4-7 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี



ภาพที่ 4-8 เปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนละลายน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี

#### 4.1.5 ค่าบีโอดีของน้ำ

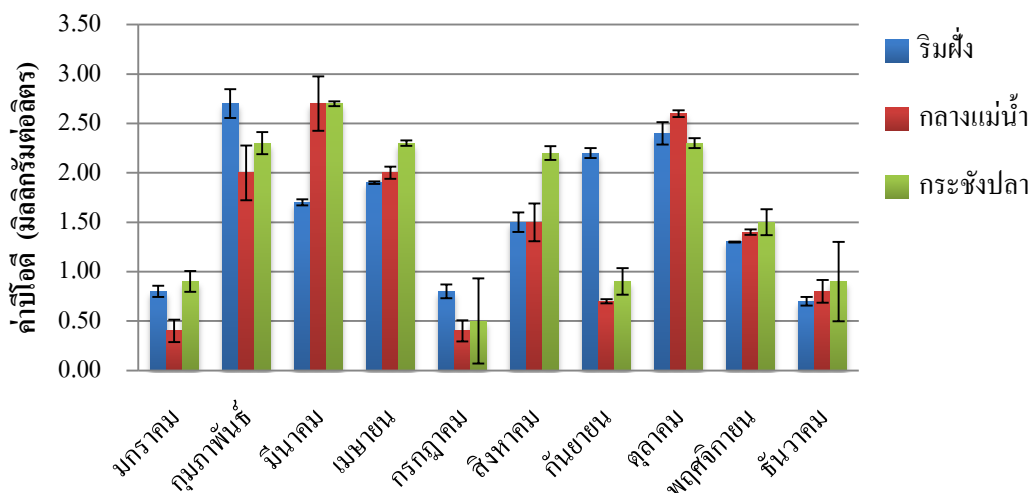
จากการเก็บข้อมูลค่าบีโอดีของน้ำในเขตเพาะเลี้ยงปลากระพงขาวในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี (ริมแม่น้ำ กลางแม่น้ำ และบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา) ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 พบว่า ค่าบีโอดีของน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลากระพงขาวมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ และน้ำบริเวณกลางแม่น้ำมีค่าบีโอดีต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $1.65 \pm 0.80$ ,  $1.60 \pm 0.71$  และ  $1.45 \pm 0.86$  มิลลิกรัมต่อลิตร

ตามลำดับ ค่าบีโอดีต่ำสุดในรอบปีตรวจพบในเดือนกรกฎาคมจากทั้งสามสถานีโดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.40-0.80 มิลลิกรัมต่อลิตร และในเดือนมีนาคมพบว่ามีค่าบีโอดีมากที่สุดโดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.70-2.70 มิลลิกรัมต่อลิตร จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าบีโอดีในน้ำ ทั้ง 3 สถานีทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ค่าบีโอดีในน้ำ ของสถานีเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p$ -value = 0.842) (ตารางที่ 4-5 ภาพที่ 4-9 และ 4-10)

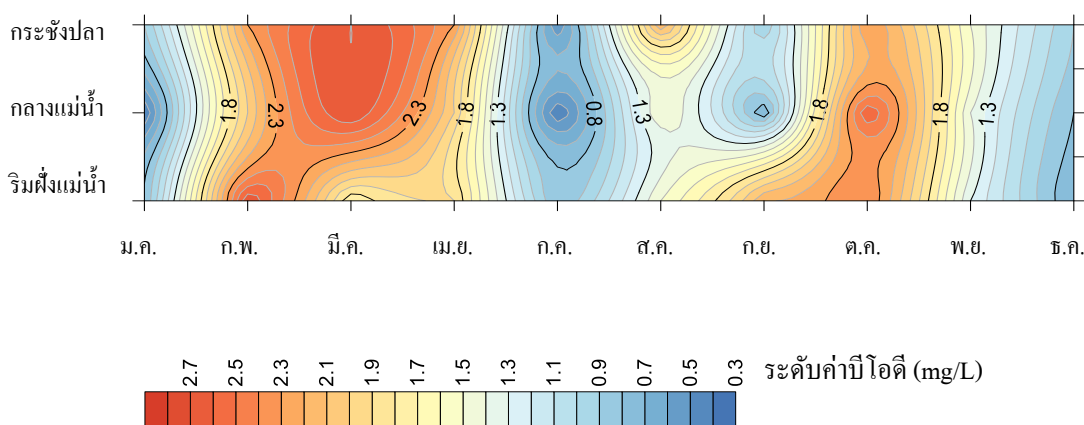
ตารางที่ 4-5 ค่าบีโอดีเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม- ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ค่าบีโอดี (mg/L)			
	ริมฝั่งแม่น้ำ	กลางแม่น้ำ	กระชังปลา	เฉลี่ย
มกราคม	0.80±0.25	0.40±0.00	0.90±0.00	0.70±0.26
กุมภาพันธ์	2.70±0.00	2.00±0.00	2.30±0.10	2.33±0.35
มีนาคม	1.70±0.10	2.70±0.10	2.70±0.00	2.37±0.58
เมษายน	1.90±0.00	2.00±0.10	2.30±0.00	2.07±0.21
พฤษภาคม	ND	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND	ND
กรกฎาคม	0.80±0.10	0.40±0.00	0.50±0.10	0.57±0.21
สิงหาคม	1.50±0.00	1.50±0.10	2.20±0.00	1.73±0.40
กันยายน	2.20±0.10	0.70±0.20	0.90±0.00	1.27±0.81
ตุลาคม	2.40±0.00	2.60±0.00	2.30±0.10	2.33±0.15
พฤศจิกายน	1.30±0.00	1.40±0.00	1.50±0.10	1.40±0.10
ธันวาคม	0.70±0.10	0.80±0.10	0.90±0.00	0.80±0.10
ค่าเฉลี่ย	1.60±0.71	1.45±0.86	1.65±0.80	1.57±0.72
ค่าต่ำสุด-สูงสุด	0.70 - 2.70	0.40 - 2.70	0.90 - 2.70	0.60 - 2.43

หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)



ภาพที่ 4-9 ค่าบีโอดีของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี



ภาพที่ 4-10 เปรียบเทียบค่าบีโอดีของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี

#### 4.1.6 ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ

จากการเก็บข้อมูลค่าการนำไฟฟ้าของน้ำในเขตเพาะเลี้ยงปลากระชังบริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี (ริมแม่น้ำ กลางแม่น้ำ และบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา) ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 พบว่า ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำที่วัดได้จากสถานีดังกล่าวตลอดทั้งปีมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $40.73 \pm 12.21$ ,  $39.44 \pm 13.44$  และ  $13.65 \pm 13.65$  ตามลำดับ โดยในเดือนกันยายนมีค่าการนำไฟฟ้าของน้ำเฉลี่ยต่ำที่สุดบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ (7.87 ms) และในเดือนสิงหาคมมีค่าการนำไฟฟ้าสูงที่สุดบริเวณกลางแม่น้ำ (54.80 ms) จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าการนำไฟฟ้าในน้ำทั้ง 3 สถานีทางสถิติ

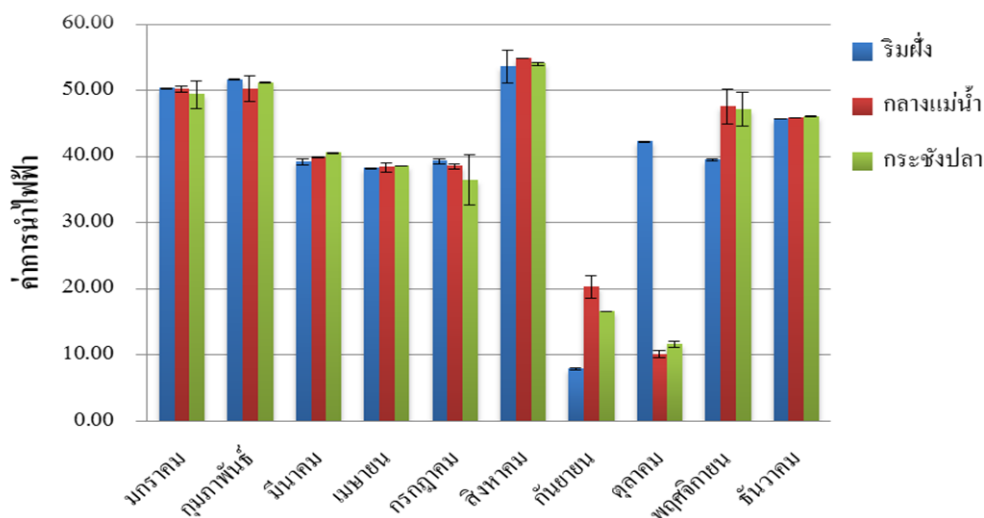


โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ค่าการนำไฟฟ้าในน้ำของสถานีเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p$ -value = 0.965) (ตารางที่ 4-6 ภาพที่ 4-11 และ 4-12)

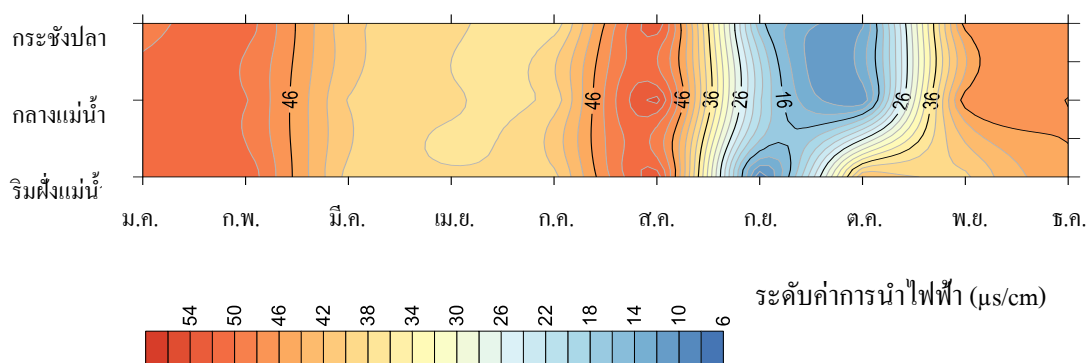
ตารางที่ 4-6 ค่าการนำไฟฟ้าเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือน มกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ค่าการนำไฟฟ้า ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )			
	ริมฝั่งแม่น้ำ	กลางแม่น้ำ	กระชังปลา	เฉลี่ย
มกราคม	50.27±0.09	50.23±0.45	49.33±2.15	49.94 ± 0.43
กุมภาพันธ์	51.60±0.08	50.20±1.93	51.20±0.05	51.00 ± 0.57
มีนาคม	39.23±0.45	39.83±0.05	40.53±0.05	39.80 ± 0.53
เมษายน	38.17±0.05	38.33±0.67	38.60±0.00	38.36 ± 0.17
พฤษภาคม	ND	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND	ND
กรกฎาคม	39.27±0.33	38.52±0.39	36.43±3.80	38.07 ± 1.20
สิงหาคม	53.53±2.50	54.80±0.00	54.00±0.22	54.11 ± 0.52
กันยายน	7.87±0.09	20.30±1.70	16.53±0.05	14.90 ± 5.20
ตุลาคม	42.20±0.08	10.07±0.53	11.53±0.48	21.26 ± 14.81
พฤศจิกายน	39.50±0.16	47.53±2.65	47.13±2.53	44.72 ± 3.70
ธันวาคม	45.70±0.00	45.87±0.05	46.03±0.05	45.86 ± 0.13
ค่าเฉลี่ย	40.73 ± 12.21	39.44 ± 13.44	13.65 ± 13.65	39.81 ± 0.67
ค่าต่ำสุด-สูงสุด	7.87 – 51.6	10.07 – 54.8	11.53 – 54.00	14.90 – 54.11

หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)



ภาพที่ 4-11 ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี



ภาพที่ 4-12 เปรียบเทียบค่าการนำไฟฟ้าของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี

#### 4.1.7 ปริมาณแบคทีเรียรวมและปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำ

จากการเก็บข้อมูลปริมาณแบคทีเรียรวมในน้ำบริเวณเขตเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี (ริมแม่น้ำ กลางแม่น้ำ และบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา) ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 พบว่า ปริมาณแบคทีเรียรวมบริเวณริมฝั่งแม่น้ำมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว และน้ำบริเวณกลางแม่น้ำมีปริมาณแบคทีเรียรวมต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $3.31 \pm 0.80$ ,  $3.15 \pm 1.24$  และ  $2.89 \pm 1.01$  log CFU/mL ตามลำดับ ปริมาณแบคทีเรียรวมสูงสุดในรอบปีตรวจพบในเดือนธันวาคมจากทั้งสามสถานีโดยมีค่าอยู่ในช่วง 4.12-4.84 log CFU/mL และในเดือนกุมภาพันธ์พบว่า

มีปริมาณแบคทีเรียรวมต่ำที่สุดโดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.46-1.81 log CFU/mL (ตารางที่ 4-7 ภาพที่ 4-13 และ 4-14)

ตารางที่ 4-7 ปริมาณแบคทีเรียรวมเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณแบคทีเรียรวม (log CFU/mL)		
	ริมฝั่งแม่น้ำ	กลางแม่น้ำ	กระชังปลา
มกราคม	3.14±0.06	2.57±0.08	2.67±0.04
กุมภาพันธ์	1.81±0.25	1.63±0.17	1.46±0.15
มีนาคม	4.16±0.23	4.75±0.04	4.43±0.09
เมษายน	3.88±0.22	1.98±0.18	2.19±0.18
พฤษภาคม	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND
กรกฎาคม	3.98±0.10	3.01±0.11	4.87±0.13
สิงหาคม	2.40±0.15	1.64±0.54	1.63±0.13
กันยายน	3.20±0.41	3.14±0.45	3.26±0.32
ตุลาคม	2.87±0.15	2.86±0.24	2.77±0.10
พฤศจิกายน	3.41±0.79	3.17±0.11	3.37±0.50
ธันวาคม	4.22±1.09	4.12±0.34	4.84±0.15
ค่าเฉลี่ย	3.31±0.80	2.89±1.01	3.15±1.24
ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด	1.81-4.22	1.63-4.75	1.46-4.87

หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)

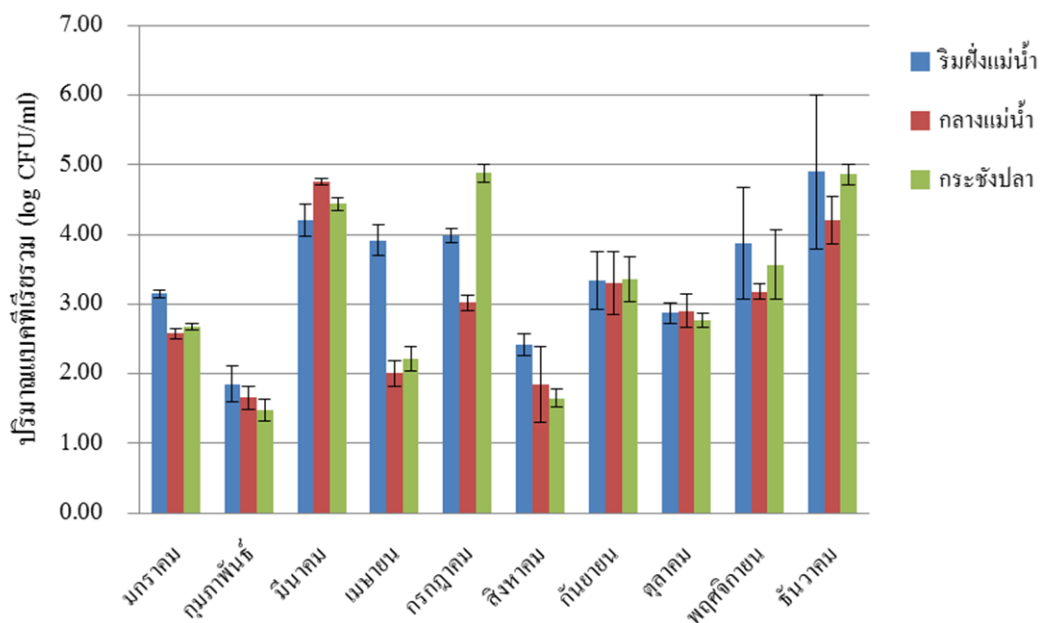
สำหรับการเก็บข้อมูลปริมาณ โคลิฟอร์มแบคทีเรีย พบว่า ปริมาณ โคลิฟอร์มแบคทีเรีย บริเวณริมฝั่งแม่น้ำมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือน้ำบริเวณกลางแม่น้ำและน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยง ปลากระพงขาวมีปริมาณ โคลิฟอร์มแบคทีเรียต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 2.73±0.10, 1.43±1.20 และ

1.17±1.10 log MPN/100 mL ตามลำดับ ปริมาณโคลิฟอร์มสูงสุดในรอบปีตรวจพบในเดือน กันยายน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.04-3.20 log MPN/100 mL และในเดือนมีนาคมพบว่ามีปริมาณโคลิฟอร์มต่ำสุดจากทั้งสามสถานีมีค่าเท่ากับ 0.30 log MPN/100 mL (ตารางที่ 4-8 ภาพที่ 4-15 และ 4-16)

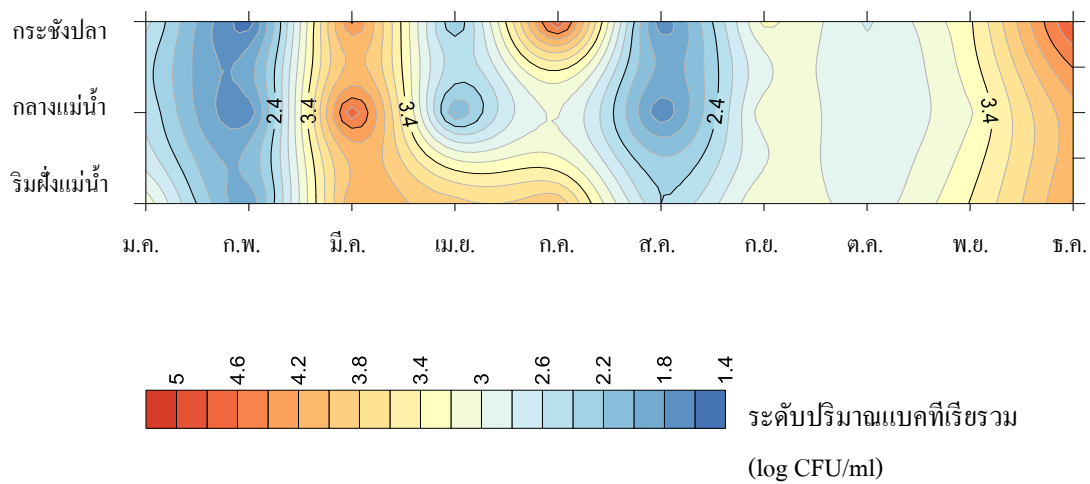
ตารางที่ 4-8 ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียเฉลี่ยรายเดือนของน้ำบริเวณปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม ปี พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (log MPN/100 mL)		
	ริมฝั่งแม่น้ำ	กลางแม่น้ำ	กระชังปลา
มกราคม	2.70±0.00	0.30±0.00	0.30±0.00
กุมภาพันธ์	2.23±0.00	0.30±0.00	0.30±0.00
มีนาคม	0.30±0.00	0.30±0.00	0.30±0.00
เมษายน	3.04±0.14	2.02±0.16	0.30±0.00
พฤษภาคม	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND
กรกฎาคม	3.20±0.00	2.01±0.53	1.14±0.47
สิงหาคม	3.04±0.29	0.40±0.17	0.30±0.00
กันยายน	3.20±0.00	3.20±0.00	3.04±0.29
ตุลาคม	3.20±0.00	2.75±0.43	2.78±0.15
พฤศจิกายน	3.20±0.00	2.71±0.49	2.39±0.27
ธันวาคม	3.20±0.00	0.30±0.00	0.84±0.53
ค่าเฉลี่ย	2.73±0.10	1.43±1.20	1.17±1.10
ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด	0.30-3.20	0.30-3.20	0.30-3.04

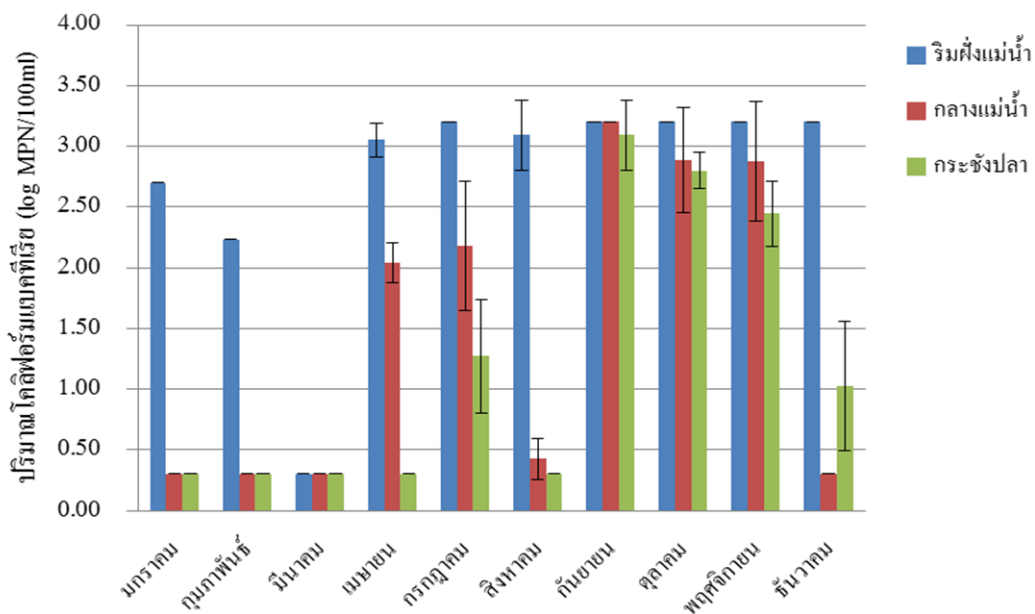
หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)



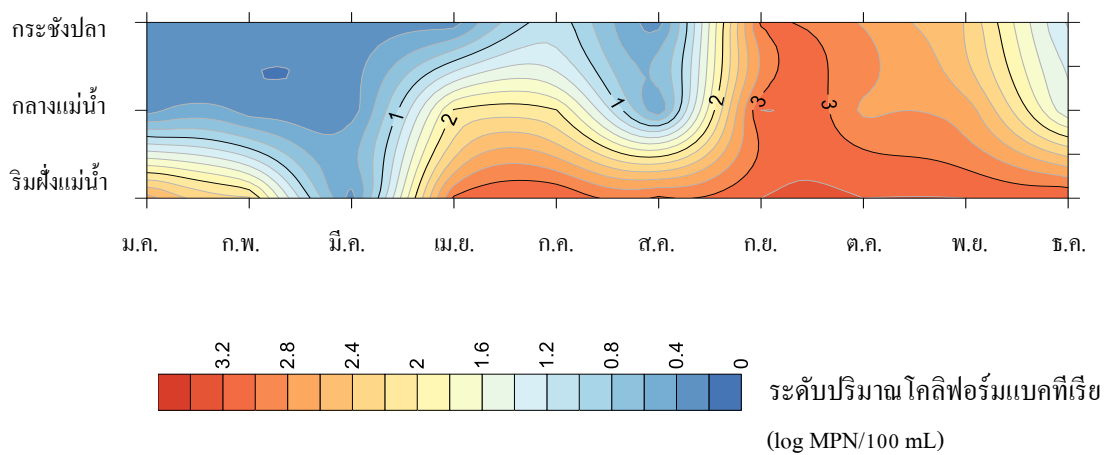
ภาพที่ 4-13 ปริมาณแบคทีเรียรวมของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี



ภาพที่ 4-14 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียรวมในน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี



ภาพที่ 4-15 ปริมาณ โคลิฟอร์มแบคทีเรียรวมของน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี



ภาพที่ 4-16 เปรียบเทียบปริมาณ โคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำจากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี

4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เคมีและจุลชีววิทยากับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง

#### 4.2.1 อุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำ

##### 4.2.1.1 สถานีริมฝั่งแม่น้ำ

จากการตรวจหาปริมาณและสายพันธุ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ พบว่า ปริมาณ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 2.67 - 30.88 MPN/100 mL ซึ่งเดือนเมษายนมีปริมาณ *Vibrio* spp. มากที่สุดเท่ากับ 30.88 MPN/100 mL และในเดือนมกราคมมีปริมาณ *Vibrio* spp. น้อยที่สุดเท่ากับ 2.67 MPN/100 mL สำหรับชนิดของ *Vibrio* spp. ที่พบมากที่สุดคือ *V. alginolyticus* เท่ากับ 3.37 MPN/100 mL รองลงมาคือ *V. cholerae* เท่ากับ 2.70 MPN/100 mL และ *V. parahaemolyticus* เท่ากับ 2.39 MPN/100 mL โดย *V. alginolyticus* พบมากที่สุดในเดือนสิงหาคม *V. cholerae* พบมากที่สุดในเดือนเมษายน และ *V. parahaemolyticus* พบมากที่สุดในเดือนธันวาคม แสดงดังตารางที่ 4-9 ภาพที่ 4-17

##### 4.2.1.2 สถานีกลางแม่น้ำ

จากการตรวจหาปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ พบว่า ปริมาณ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 1.00 – 61.82 MPN/100 mL ซึ่งเดือนสิงหาคมมีปริมาณ *Vibrio* spp. มากที่สุดเท่ากับ 61.82 MPN/100 mL และในเดือนกรกฎาคมมีปริมาณ *Vibrio* spp. น้อยที่สุดเท่ากับ 1.00 MPN/100 mL สำหรับสายพันธุ์ของ *Vibrio* spp. ที่พบมากที่สุดคือ *V. alginolyticus* เท่ากับ 3.56 MPN/100 mL รองลงมาคือ *V. parahaemolyticus* เท่ากับ 3.20 MPN/100 mL และ *V. cholerae* เท่ากับ 2.07 MPN/100 mL โดย *V. alginolyticus* พบมากที่สุดในเดือนสิงหาคม *V. parahaemolyticus* พบมากที่สุดในเดือนสิงหาคม และ *V. cholerae* พบมากที่สุดในเดือนตุลาคม แสดงดังตารางที่ 4-10 ภาพที่ 4-18

##### 4.2.1.3 สถานีกระชังเพาะเลี้ยงปลา

จากการตรวจหาปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา พบว่า ปริมาณ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 1.67 – 25.00 MPN/100 mL ซึ่งเดือนเมษายนมีปริมาณ *Vibrio* spp. มากที่สุดเท่ากับ 25.00 MPN/100 mL และในเดือนมีนาคมมีปริมาณ *Vibrio* spp. น้อยที่สุดเท่ากับ 1.67 MPN/100 mL สำหรับชนิดของ *Vibrio* spp. ที่พบมากที่สุดคือ *V. alginolyticus* เท่ากับ 5.20 MPN/100 mL รองลงมาคือ *V. cholerae* เท่ากับ 4.58 MPN/100 mL และ *V. parahaemolyticus* เท่ากับ 3.31 MPN/100 mL โดย *V. alginolyticus* พบมากที่สุดในเดือน

พบจุลชีพ *V. cholerae* พบมากที่สุดในเดือนเมษายน และ *V. parahaemolyticus* พบมากที่สุดในเดือนธันวาคม แสดงดังตารางที่ 4-11 ภาพที่ 4-19

ตารางที่ 4-9 ปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ ปากน้ำประแสร์  
จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณของ <i>Vibrio</i> spp. (MPN/100 mL) ในน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ			
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
มกราคม	2.67 ±1.70	1.67 ±0.58	1.00 ±0.00	1.33 ±0.58
กุมภาพันธ์	8.00 ±2.94	4.33 ±0.58	4.00 ±3.00	1.00 ±0.00
มีนาคม	4.33 ±2.05	1.67 ±0.58	2.00 ±1.73	2.00 ±1.73
เมษายน	30.88 ±26.33	1.33 ±0.58	8.67 ±7.23	1.33 ±0.58
พฤษภาคม	ND	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND	ND
กรกฎาคม	6.00 ±3.56	1.33 ±0.58	2.67 ±2.36	2.67 ±2.08
สิงหาคม	30.00 ±28.47	12.00 ±7.94	1.33 ±0.58	2.00 ±1.73
กันยายน	3.67 ±2.05	3.67 ± 2.52	1.00 ±0.00	1.00 ±0.00
ตุลาคม	11.00 ±1.41	5.67 ±2.89	4.00 ±0.00	1.00 ±0.00
พฤศจิกายน	5.67 ±2.36	1.00 ±0.00	1.33 ±0.58	5.00 ±3.61
ธันวาคม	14.52 ±13.67	1.00 ±0.00	1.00 ±0.00	6.60 ±4.11
ค่าเฉลี่ย	11.13 ±9.13	3.37 ±3.26	2.70 ±2.28	2.39 ±1.82
ค่าต่ำสุด-สูงสุด	2.67 - 30.88	1.00 - 12.00	1.00 - 8.67	1.00 - 6.60

หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)



ตารางที่ 4-10 ปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555

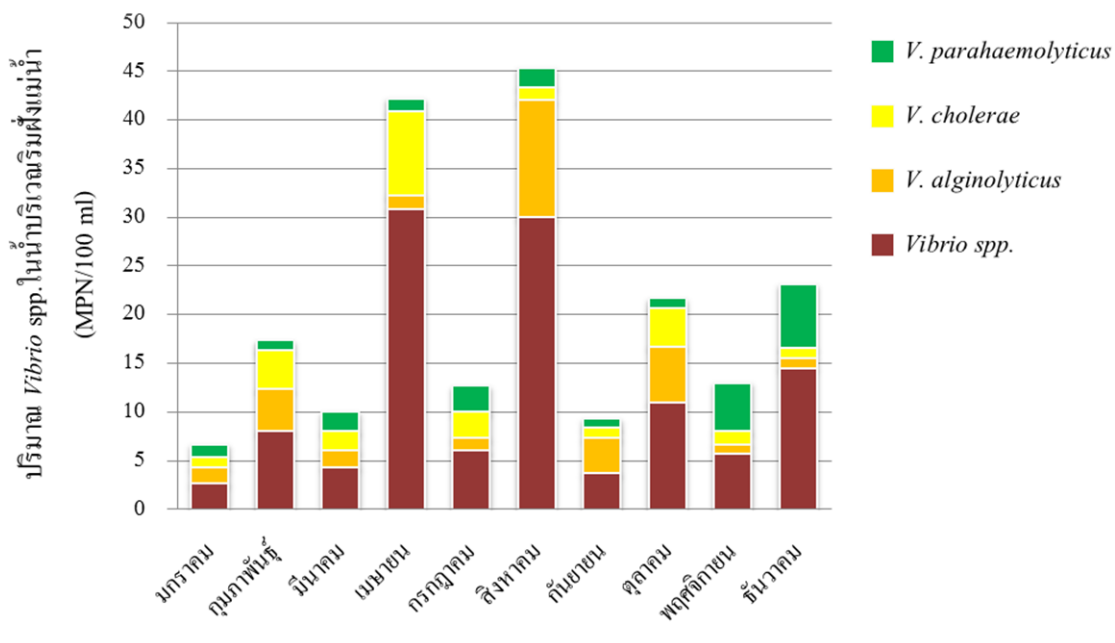
เดือน	ปริมาณของ <i>Vibrio</i> spp. (MPN/100 mL) ในน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ			
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolytic</i>
มกราคม	1.67 ±0.47	1.67 ±0.58	1.00 ±0.00	1.00 ±0.00
กุมภาพันธ์	8.33 ±4.92	3.33 ±1.15	2.00 ±1.73	2.33 ±1.53
มีนาคม	4.00 ±2.45	3.00 ±1.73	1.00 ±0.00	1.67 ±0.58
เมษายน	10.67 ±7.41	3.00 ±2.65	3.67 ±3.09	2.67 ±2.08
พฤษภาคม	ND	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND	ND
กรกฎาคม	1.00 ±0.00	1.00 ±0.00	1.00 ±0.00	1.00 ±0.00
สิงหาคม	61.82 ±53.00	11.56 ±9.57	1.33 ±0.58	8.00 ±6.68
กันยายน	9.00 ±1.63	3.00 ± 1.73	3.33 ±1.15	3.33 ±1.15
ตุลาคม	11.67 ±5.56	5.33 ±1.15	3.67 ±2.89	1.33 ±0.58
พฤศจิกายน	9.00 ±4.08	2.33 ±1.53	2.67 ±1.15	3.33 ±1.15
ธันวาคม	8.00 ±4.32	1.33 ±0.58	1.00 ±0.00	7.33 ±6.11
ค่าเฉลี่ย	14.14 ±11.73	3.56 ±2.91	2.07 ±1.10	3.20 ±2.38
ค่าต่ำสุด - สูงสุด	1.00 – 61.82	1.00 – 11.56	1.00 – 3.67	1.00 – 8.00

หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)

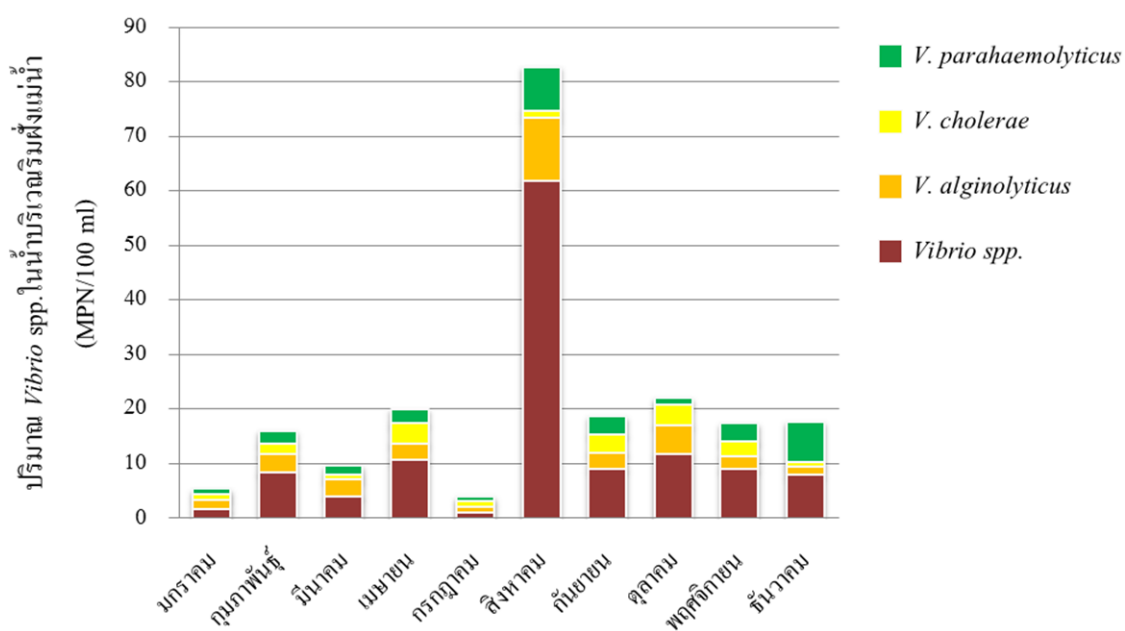
ตารางที่ 4-11 ปริมาณและชนิดของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลาปากน้ำประแสร์ จ.ระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555

เดือน	ปริมาณของเชื้อ <i>Vibrio</i> spp. (MPN/100 mL) ในน้ำบริเวณกระชังปลา			
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolytic</i>
มกราคม	5.33 ±0.94	3.67 ±2.52	1.00 ±0.00	2.67 ±1.15
กุมภาพันธ์	15.67 ±1.89	9.33 ±6.66	2.00 ±0.00	2.67 ±2.08
มีนาคม	1.67 ±0.47	1.00 ±0.00	1.67 ±0.58	1.00 ±0.00
เมษายน	25.00 ±11.31	3.33 ±2.08	16.33 ±14.98	2.00 ±1.73
พฤษภาคม	ND	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND	ND
กรกฎาคม	3.33 ±1.70	1.00 ±0.00	3.33 ± 2.08	1.00 ±0.00
สิงหาคม	19.00 ±11.52	4.00 ±3.00	1.67 ±0.58	7.00 ±1.73
กันยายน	10.67 ±4.64	3.30 ±3.83	7.60 ±6.65	1.33 ±0.58
ตุลาคม	14.00 ±9.09	10.00 ±6.56	2.30 ±1.73	1.33 ±0.58
พฤศจิกายน	14.35 ±14.00	14.00 ±14.35	1.00 ±0.00	1.00 ±0.00
ธันวาคม	12.67 ±3.30	2.33 ±1.53	1.00 ±0.00	11.67 ±2.52
ค่าเฉลี่ย	12.13 ±6.84	5.20 ±4.15	4.58±3.79	3.31±3.17
ค่าต่ำสุด-สูงสุด	1.67 – 25.00	1.00 – 14.00	1.00 – 16.33	1.00 – 11.67

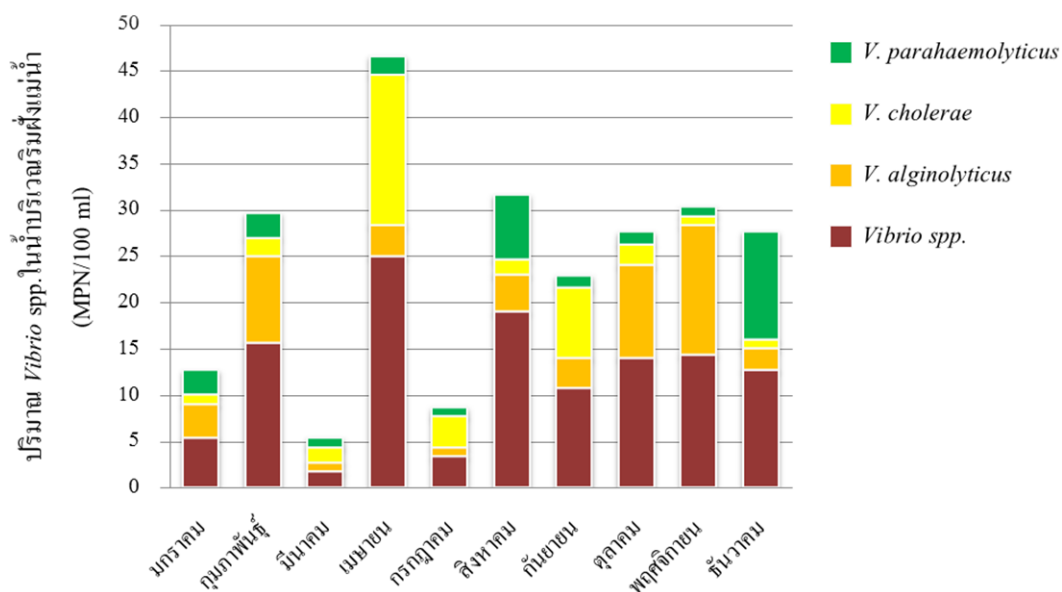
หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)



ภาพที่ 4-17 ปริมาณของ *Vibrio* spp. ในน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ (MPN/100 mL)



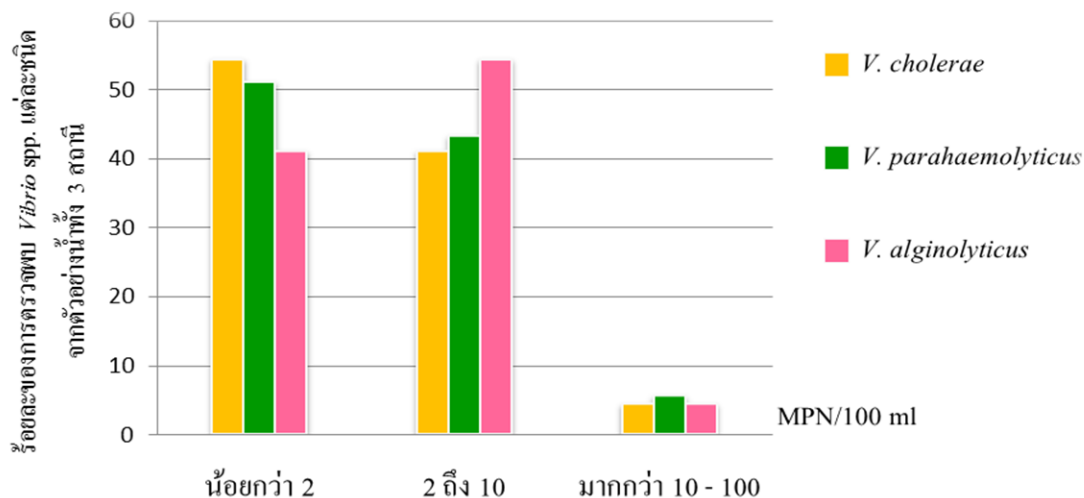
ภาพที่ 4-18 ปริมาณของ *Vibrio* spp. ในน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ (MPN/100 mL)



ภาพที่ 4-19 ปริมาณของ *Vibrio* spp. ในน้ำบริเวณกระชังปลา (MPN/100 mL)

สำหรับปริมาณแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. แต่ละชนิดที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำทั้ง 3 สถานี พบว่า ในระดับปริมาณที่น้อยกว่า 2 MPN/100 mL ชนิดที่ตรวจพบมากที่สุดคือ *V. cholerae* ร้อยละ 54.44 รองลงมาคือ *V. parahaemolyticus* ร้อยละ 51.11 และ *V. alginolyticus* ร้อยละ 41.11 ในระดับปริมาณที่อยู่ระหว่าง 2 ถึง 10 MPN/ 100 mL ชนิดที่ตรวจพบมากที่สุดคือ *V. alginolyticus* ร้อยละ 54.44 รองลงมาคือ *V. parahaemolyticus* ร้อยละ 43.33 และ *V. cholerae* ร้อยละ 41.11 ในระดับปริมาณที่มากกว่า 10 ถึง 100 MPN/100 mL ชนิดที่ตรวจพบมากที่สุดคือ *V. parahaemolyticus* ร้อยละ 55.56 รองลงมาคือ *V. alginolyticus* และ *V. cholerae* ร้อยละ 4.44

ดังภาพที่ 4-20



ภาพที่ 4-20 ร้อยละของการตรวจพบ *Vibrio* spp. แต่ละชนิดจากตัวอย่างน้ำทั้ง 3 สถานี

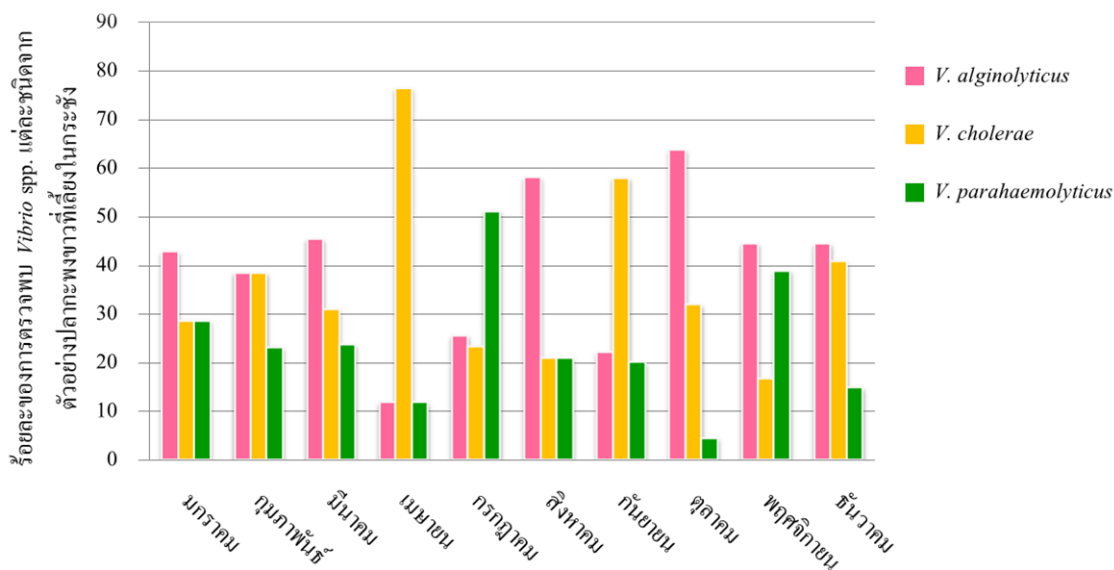
#### 4.2.2 อุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากะพงขาว

จากการตรวจหาอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากะพงขาวในเขตเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 พบว่า อุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ทั้งหมดจากตัวอย่างปลากะพงขาวพบมากที่สุดในเดือนสิงหาคม จำนวนทั้งหมด 86 ไอโซเลท และอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ทั้งหมดจากตัวอย่างปลากะพงขาวพบน้อยที่สุดในเดือนกุมภาพันธ์ จำนวนทั้งหมด 13 ไอโซเลท โดยตรวจพบชนิดของ *Vibrio* spp. มากที่สุดได้แก่ *V. cholerae* คิดเป็นร้อยละ 76.47 ซึ่งตรวจพบในเดือนเมษายน รองลงมาคือ *V. alginolyticus* คิดเป็นร้อยละ 63.77 ซึ่งตรวจพบในเดือนตุลาคม และ *V. parahaemolyticus* คิดเป็นร้อยละ 51.16 ซึ่งตรวจพบในเดือนกรกฎาคม แสดงดังตารางที่ 4-12 ภาพที่ 4-21

ตารางที่ 4-12 ชนิดของ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากระพงขาวในเขตเพาะเลี้ยงปลา  
กระพงขาวในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง ในช่วงเดือนมกราคมถึง  
เดือนธันวาคม พ.ศ. 2555

เดือน	<i>Vibrio</i> spp. ที่ตรวจพบ (ไอโซเลต)				ร้อยละของ <i>Vibrio</i> spp. ที่ตรวจพบ		
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
มกราคม	28	12	8	8	42.86	28.57	28.57
กุมภาพันธ์	13	5	5	3	38.46	38.46	23.08
มีนาคม	55	25	17	13	45.45	30.91	23.64
เมษายน	17	2	13	2	11.76	76.47	11.76
พฤษภาคม	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
มิถุนายน	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
กรกฎาคม	43	11	10	22	25.58	23.26	51.16
สิงหาคม	86	50	18	18	58.14	20.93	20.93
กันยายน	50	11	29	10	22.00	58.00	20.00
ตุลาคม	69	44	22	3	63.77	31.88	4.35
พฤศจิกายน	36	16	6	14	44.44	16.67	38.89
ธันวาคม	27	12	11	4	44.44	40.74	14.81

หมายเหตุ ND = ไม่ได้ตรวจวัด (Not Determined)



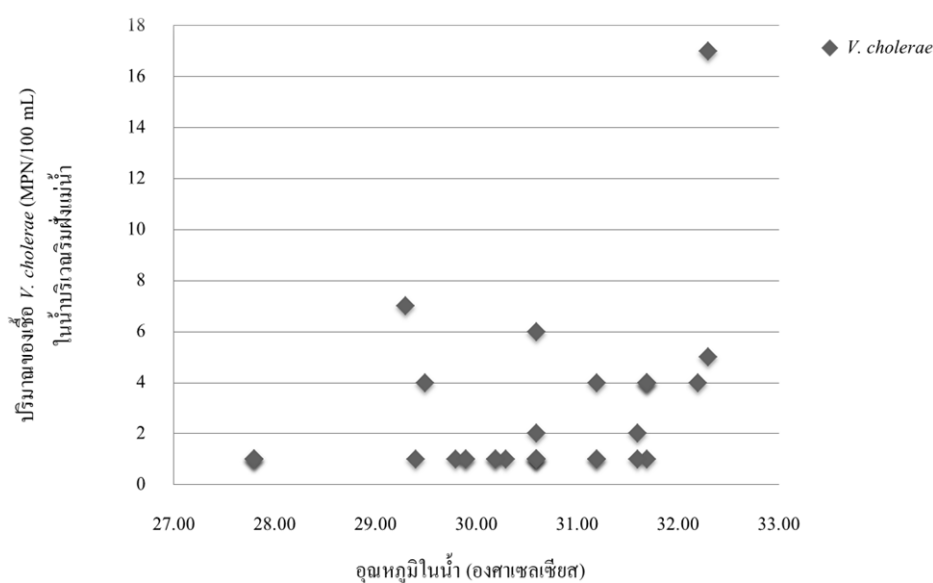
ภาพที่ 4-21 ร้อยละของการตรวจพบ *Vibrio* spp. แต่ละชนิดจากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555

#### 4.2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เคมีและจุลชีววิทยากับปริมาณของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำ

จากการเก็บข้อมูลปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิในน้ำ ความเค็มและค่าการนำไฟฟ้า สิ่งแวดล้อมทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) และค่าความบีโอดี สิ่งแวดล้อมทางจุลชีววิทยา ได้แก่ ปริมาณแบคทีเรียรวมทั้งหมด และปริมาณแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ในเขตเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง บริเวณปากน้ำประแสร์ จังหวัดระยอง จากสถานีเก็บตัวอย่าง 3 สถานี (ริมแม่น้ำ กลางแม่น้ำ และบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา) ในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 และหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ กับปริมาณของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำ โดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ด้วยวิธี Pearson ได้ผลการวิเคราะห์ข้อมูลดังต่อไปนี้

#### 4.2.3.1 สถานีริมฝั่งแม่น้ำ

จากการวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ทางสถิติ พบความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันระหว่างปริมาณของ *V. cholerae* กับอุณหภูมิในน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.373 ( $p$ -value = 0.042) ดังตารางที่ 4.13 และภาพที่ 4-22 และพบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ คือ อุณหภูมิในน้ำมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าการนำไฟฟ้าและค่าบีโอดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.431 ( $p$ -value = 0.017) และ 0.671 ( $p$ -value = 0.000) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความเค็มในน้ำมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าการนำไฟฟ้าและค่าความเป็นกรดต่าง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.811 ( $p$ -value = 0.000) และ 0.721 ( $p$ -value = 0.000) ตามลำดับ และค่าความเป็นกรดต่างมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.436 ( $p$ -value = 0.016) ดังตารางที่ 4-13



ภาพที่ 4-22 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิในน้ำกับปริมาณของเชื้อ *V. cholerae* (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ



ตารางที่ 4-13 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ

ปัจจัยที่ทำการวิเคราะห์	Total <i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	อุณหภูมิในน้ำ	ความเค็มในน้ำ	การนำไฟฟ้า	pH	DO	BOD	ปริมาณแบคทีเรียรวม	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย
Total <i>Vibrio</i> spp.		0.559** 0.001	0.525** 0.003	0.287 0.125	0.220 0.243	0.188 0.319	0.192 0.308	0.060 0.754	0.020 0.918	0.182 0.337	-0.108 0.569	0.162 0.394
<i>V. alginolyticus</i>	0.559** 0.001		-0.065 0.733	-0.114 0.547	-0.085 0.657	0.259 0.167	0.217 0.249	0.122 0.522	0.358 0.052	0.117 0.539	-0.230 0.285	0.136 0.472
<i>V. cholerae</i>	0.525** 0.003	-0.065 0.733		-0.151 0.425	0.373* 0.042	-0.020 0.918	0.040 0.835	-0.127 0.504	-0.212 0.261	0.246 0.191	-0.022 0.906	0.019 0.921
<i>V. parahaemolyticus</i>	0.287 0.125	-0.114 0.547	-0.151 0.425		0.020 0.916	0.134 0.479	0.099 0.603	0.171 0.366	-0.107 0.572	-0.189 0.318	0.265 0.158	0.132 0.488
อุณหภูมิในน้ำ	0.220 0.243	-0.085 0.657	0.373* 0.042	0.020 0.916		0.237 0.207	0.431* 0.017	0.211 0.262	-0.314 0.091	0.671** 0.000	0.292 0.117	-0.077 0.688
ความเค็มในน้ำ	0.188 0.319	0.259 0.167	-0.020 0.918	0.134 0.479	0.237 0.207		0.811** 0.000	0.721** 0.000	-0.089 0.639	-0.293 0.117	-0.342 0.064	-0.179 0.343

หมายเหตุ \*\* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 เปอร์เซนต์ (P < 0.01) \* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซนต์ (P < 0.05)

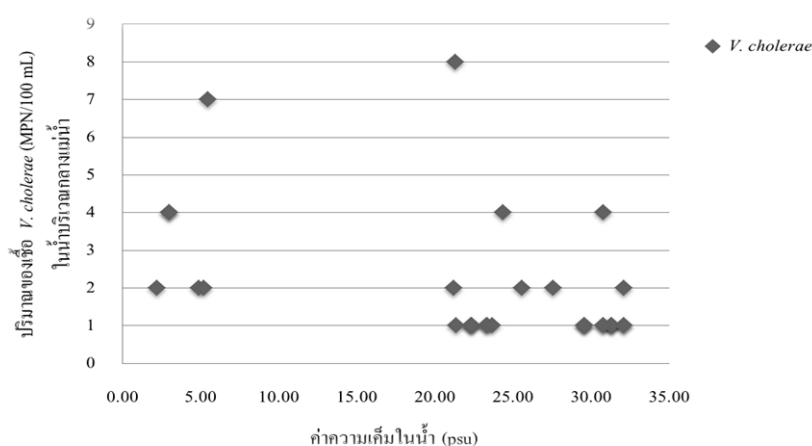
ตารางที่ 4-13 (ต่อ)

ปัจจัยที่ทำการวิเคราะห์	Total <i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	อุณหภูมิในน้ำ	ความเค็มในน้ำ	การนำไฟฟ้า	pH	DO	BOD	ปริมาณแบคทีเรียรวม	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย
การนำไฟฟ้า	0.192	0.217	0.040	0.099	0.431*	0.811**		0.938**	0.279	0.056	-0.254	-0.122
	0.308	0.249	0.835	0.603	0.017	0.000		0.000	0.136	0.769	0.176	0.520
pH	0.060	0.122	-0.127	0.171	0.211	0.721**	0.938**		0.436*	-0.131	-0.264	-0.051
	0.754	0.522	0.504	0.366	0.262	0.000	0.000		0.016	0.490	0.159	0.789
DO	0.020	0.358	-0.212	-0.107	-0.314	-0.089	0.279	0.436*		0.025	-0.426*	0.369*
	0.918	0.052	0.261	0.572	0.091	0.639	0.136	0.016		0.897	0.019	0.045
BOD	0.182	0.117	0.246	-0.189	0.671**	-0.293	0.056	-0.131	0.025		0.318	-0.090
	0.337	0.539	0.191	0.318	0.000	0.117	0.769	0.490	0.897		0.087	0.637
ปริมาณแบคทีเรียรวม	0.108	-0.230	-0.022	0.265	0.292	-0.342	-0.254	-0.264	-0.426*	0.318		-0.117
	0.569	0.285	0.906	0.158	0.117	0.064	0.176	0.159	0.019	0.087		0.539
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	0.162	0.136	0.019	0.132	-0.077	-0.179	-0.122	-0.051	0.369*	-0.090	-0.117	
	0.394	0.472	0.921	0.488	0.688	0.343	0.520	0.789	0.045	0.637	0.539	

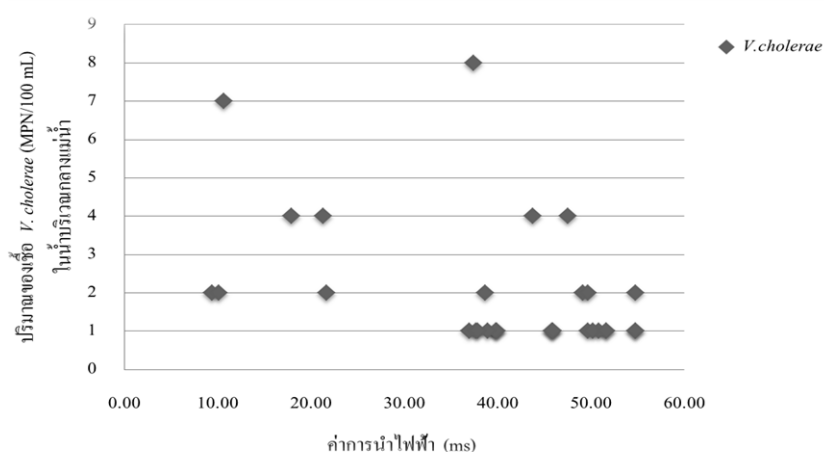
หมายเหตุ \*\* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 เปอร์เซนต์ ( $P < 0.01$ ) \* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซนต์ ( $P < 0.05$ )

#### 4.2.3.2 สถานีกกลางแม่น้ำ

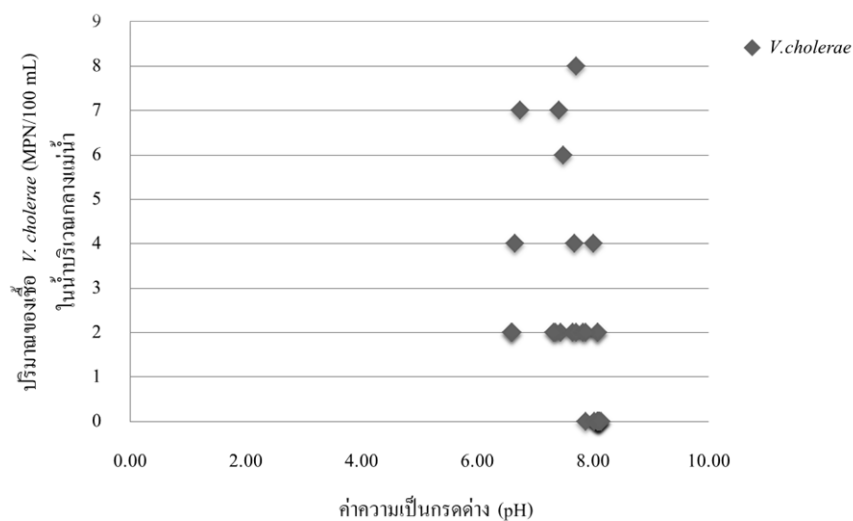
จากการวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ทางสถิติ พบความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกันระหว่างอุบัติการณ์ของ *V. cholerae* กับค่าความเค็มในน้ำ ค่าการนำไฟฟ้า ค่าความเป็นกรดต่างและค่าออกซิเจนละลายน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ  $-0.443$  ( $p$ -value = 0.014) ,  $-0.436$  ( $p$ -value = 0.016) ,  $-0.487$  ( $p$ -value = 0.006) และ  $-0.369$  ( $p$ -value = 0.045) ตามลำดับ ดังตารางที่ 4-14 และภาพที่ 4-23 ถึง 4-26



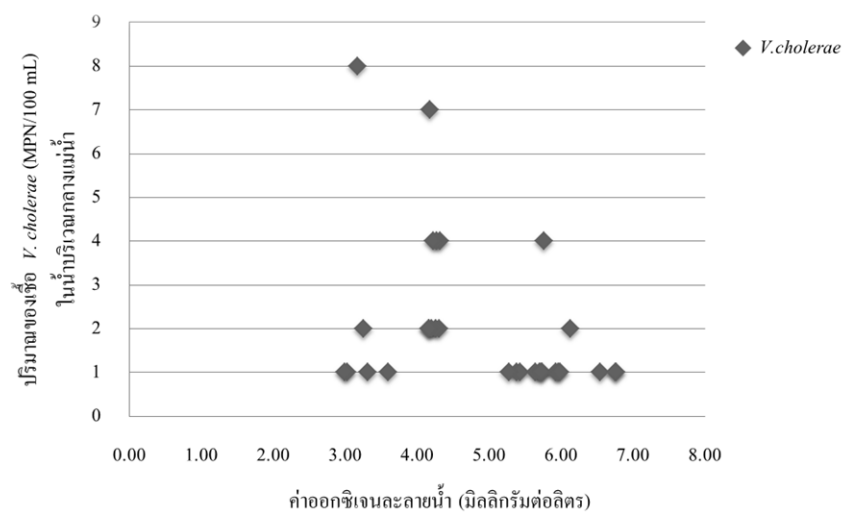
ภาพที่ 4-23 ความสัมพันธ์ระหว่างความเค็มในน้ำกับปริมาณของเชื้อ *V. cholerae* (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ



ภาพที่ 4-24 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการนำไฟฟ้ากับปริมาณของเชื้อ *V. cholerae* (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ



ภาพที่ 4-25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับปริมาณของเชื้อ *V. cholerae* (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ

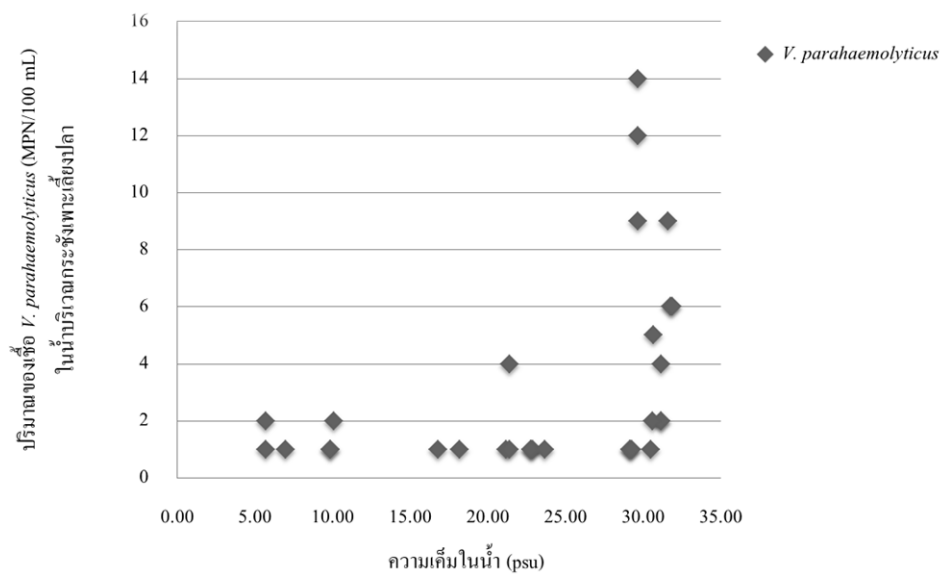


ภาพที่ 4-26 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) กับปริมาณของเชื้อ *V. cholerae* (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ

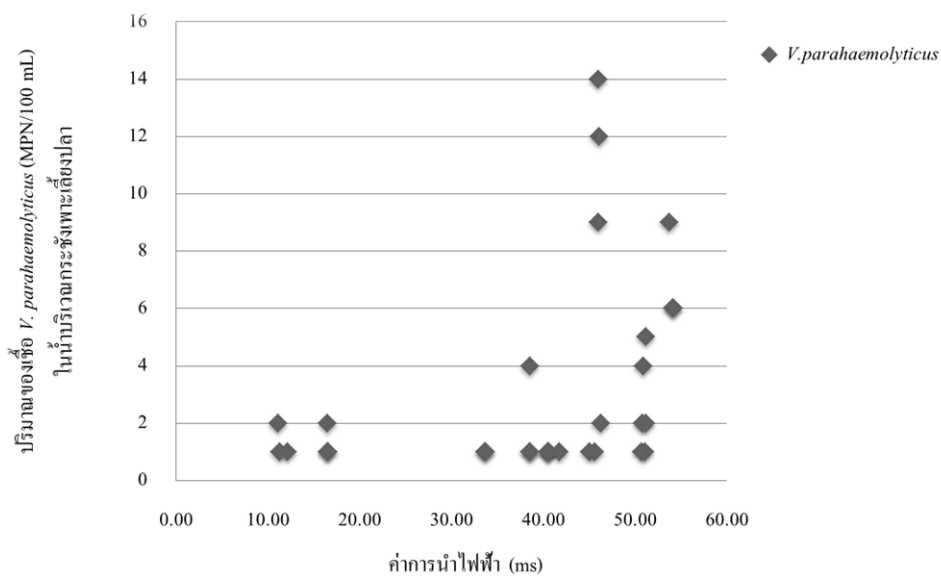
นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ คือ ค่าความเค็มในน้ำมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าการนำไฟฟ้า ค่าความเป็นกรดด่าง และค่าออกซิเจนละลายน้ำ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.960 ( $p$ -value = 0.000), 0.916 ( $p$ -value = 0.000) และ 0.463 ( $p$ -value = 0.000) ตามลำดับ และมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกันกับค่าบีโอดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.175 ( $p$ -value = 0.000) นอกจากนี้ยังพบว่าค่าการนำไฟฟ้ามีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าความเป็นกรดด่างและค่าออกซิเจนละลายน้ำ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.811 ( $p$ -value = 0.000) และ 0.382 ( $p$ -value = 0.037) ตามลำดับ และมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกันกับค่าบีโอดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.684 ( $p$ -value = 0.000) ค่าความเป็นกรดด่างมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าออกซิเจนละลายน้ำและแปรผกผันกันกับค่าบีโอดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.603 ( $p$ -value = 0.000) และ -0.701 ( $p$ -value = 0.000) ตามลำดับ และค่าออกซิเจนละลายน้ำมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกันกับค่าบีโอดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.635 ( $p$ -value = 0.000) ดังตารางที่ 4-14

#### 4.2.3.3 สถานีกระชังเพาะเลี้ยงปลา

จากการวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ทางสถิติ พบความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันระหว่างอุบัติการณ์ของ *V. parahaemolyticus* กับค่าความเค็มและค่าการนำไฟฟ้าในน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.438 ( $p$ -value = 0.016) และ 0.382 ( $p$ -value = 0.037) ตามลำดับ ดังตารางที่ 4-15 และภาพที่ 4-27 ถึง 4-28 และพบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ คือ อุณหภูมิในน้ำมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าบีโอดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.519 ( $p$ -value = 0.003) นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความเค็มในน้ำมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าการนำไฟฟ้าและค่าความเป็นกรดด่าง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.985 ( $p$ -value = 0.000) และ 0.893 ( $p$ -value = 0.000) ตามลำดับ และแปรผกผันกันกับค่าบีโอดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.503 ( $p$ -value = 0.005) ดังตารางที่ 4-15



ภาพที่ 4-27 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค็มกับปริมาณของเชื้อ *V. parahaemolyticus* (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา



ภาพที่ 4-28 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการนำไฟฟ้ากับปริมาณของเชื้อ *V. parahaemolyticus* (MPN/100 mL) ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา

ตารางที่ 4-14 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ

ปัจจัยที่ทำการวิเคราะห์	Total <i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	อุณหภูมิในน้ำ	ความเค็มในน้ำ	การนำฟุ้ง	pH	DO	BOD	ปริมาณแบคทีเรียรวม	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย
Total <i>Vibrio</i> spp.		0.950** 0.000	0.061 0.750	0.247 0.188	0.077 0.685	0.119 0.532	0.149 0.431	0.071 0.708	0.077 0.686	-0.029 0.880	-0.359 0.051	-0.068 0.721
<i>V. alginolyticus</i>	0.950** 0.000		0.101 0.594	0.048 0.800	0.023 0.904	0.000 0.999	0.014 0.940	-0.031 0.871	-0.023 0.904	0.091 0.633	-0.367 0.082	-0.022 0.907
<i>V. cholerae</i>	0.061 0.750	0.101 0.594		-0.064 0.737	-0.003 0.988	-0.443* 0.014	-0.436* 0.016	-0.487* 0.006	-0.369* 0.045	0.265 0.157	-0.178 0.346	0.057 0.684
<i>V. parahaemolyticus</i>	0.247 0.188	0.048 0.800	-0.064 0.737		0.114 0.547	0.213 0.258	0.247 0.189	0.161 0.396	0.218 0.248	-0.205 0.278	0.043 0.821	-0.205 0.277
อุณหภูมิในน้ำ	0.077 0.685	0.023 0.904	-0.003 0.988	0.114 0.547		0.307 0.099	0.270 0.149	0.337 0.069	-0.335 0.070	0.134 0.479	0.079 0.678	-0.031 0.870
ความเค็มในน้ำ	0.119 0.532	0.000 0.999	-0.443* 0.014	0.213 0.258	0.307 0.099		0.960** 0.000	0.916** 0.000	0.463** 0.010	-0.715** 0.000	-0.194 0.303	-0.775** 0.000

หมายเหตุ \*\* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 เปอร์เซนต์ (P < 0.01) \* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซนต์ (P < 0.05)

ตารางที่ 4-14 (ต่อ)

ปัจจัยที่ทำการวิเคราะห์	Total <i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	อุณหภูมิในน้ำ	ความเค็มในน้ำ	การนำไฟฟ้า	pH	DO	BOD	ปริมาณแบคทีเรียรวม	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย
การนำไฟฟ้า	0.149	0.014	-0.436*	0.247	0.270	0.960**		0.811**	0.382*	-0.684**	-0.213	-0.703**
	0.431	0.940	0.016	0.189	0.149	0.000		0.000	0.037	0.000	0.259	0.000
pH	0.071	-0.031	-0.487*	0.161	0.337	0.916**	0.811**		0.603**	-0.701**	-0.249	-0.655**
	0.708	0.871	0.006	0.396	0.069	0.000	0.000		0.000	0.000	0.184	0.000
DO	0.077	-0.023	-0.369*	0.218	-0.335	0.463**	0.382*	0.603**		-0.635**	-0.249	-0.339
	0.686	0.904	0.045	0.248	0.070	0.000	0.037	0.000		0.000	0.184	0.067
BOD	-0.029	0.091	0.265	-0.205	0.134	-0.715**	-0.684**	-0.701**	-0.635**		0.325	0.457*
	0.880	0.633	0.157	0.278	0.479	0.000	0.000	0.000	0.000		0.080	0.011
ปริมาณแบคทีเรียรวม	-0.359	-0.367	-0.178	0.043	0.079	-0.194	-0.213	-0.249	-0.249	0.325		-0.017
	0.051	0.082	0.346	0.821	0.678	0.303	0.259	0.184	0.184	0.080		0.927
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	-0.068	-0.022	0.057	-0.205	-0.031	-0.775**	-0.703**	-0.655**	-0.339	0.457*	-0.017	
	0.721	0.907	0.684	0.277	0.870	0.000	0.000	0.000	0.067	0.011	0.927	

หมายเหตุ \*\* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 เปอร์เซ็นต์ (P < 0.01) \* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ (P < 0.05)



ตารางที่ 4-15 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลา

ปัจจัยที่ทำการวิเคราะห์	Total <i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	อุณหภูมิในน้ำ	ความเค็มในน้ำ	การนำไฟฟ้า	pH	DO	BOD	ปริมาณแอมโมเนียรวม	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย
Total <i>Vibrio</i> spp.		0.554** 0.001	0.481** 0.007	0.228 0.226	0.232 0.217	0.042 0.824	0.041 0.830	0.062 0.743	-0.161 0.395	-0.030 0.875	-0.124 0.648	-0.062 0.743
<i>V. alginolyticus</i>	0.554* 0.001		-0.157 0.407	-0.149 0.432	0.017 0.929	0.011 0.955	-0.033 0.863	-0.003 0.987	-0.205 0.276	-0.052 0.783	-0.278 0.137	0.241 0.199
<i>V. cholerae</i>	0.481** 0.007	-0.157 0.407		-0.187 0.321	0.235 0.212	-0.236 0.210	-0.191 0.311	-0.089 0.642	-0.198 0.293	0.133 0.483	-0.193 0.307	-0.050 0.792
<i>V. parahaemolyticus</i>	0.228 0.226	-0.149 0.432	-0.187 0.321		0.033 0.864	0.438* 0.016	0.382* 0.037	0.283 0.130	0.237 0.207	-0.326 0.079	0.109 0.566	-0.307 0.099
อุณหภูมิในน้ำ	0.232 0.217	0.017 0.929	0.235 0.212	0.033 0.864		0.205 0.278	0.270 0.150	0.339 0.067	-0.299 0.109	0.519** 0.003	0.060 0.752	-0.360 0.051
ความเค็มในน้ำ	0.042 0.824	0.011 0.955	-0.236 0.210	0.438* 0.016	0.205 0.278		0.985** 0.000	0.893* 0.000	0.256 0.172	-0.503** 0.005	-0.162 0.394	-0.683** 0.000

หมายเหตุ \*\* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 เปอร์เซ็นต์ (P < 0.01) \* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ (P < 0.05)

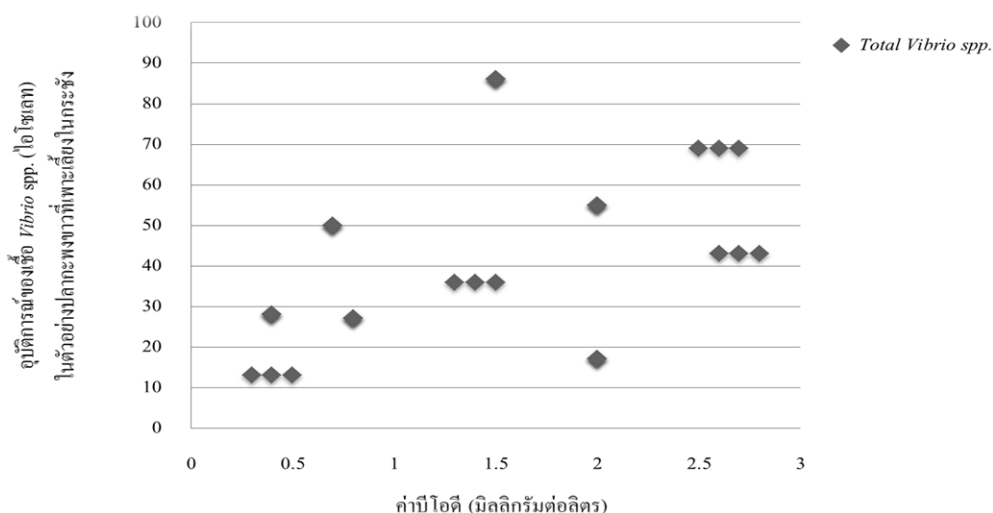
ตารางที่ 4-15 (ต่อ)

ปัจจัยที่ทำการวิเคราะห์	Total <i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	อุณหภูมิในน้ำ	ความเค็มในน้ำ	การนำไฟฟ้า	pH	DO	BOD	ปริมาณแบคทีเรียรวม	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย
การนำไฟฟ้า	0.041	-0.033	-0.191	0.382*	0.270	0.985**		0.901**	0.290	-0.405*	-0.168	-0.740**
	0.830	0.863	0.311	0.037	0.150	0.000		0.000	0.120	0.026	0.376	0.000
pH	0.062	-0.003	-0.089	0.283	0.339	0.893**	0.901**		0.213	-0.355	-0.164	-0.825**
	0.743	0.987	0.642	0.130	0.067	0.000	0.000		0.258	0.054	0.387	0.000
DO	-0.161	-0.205	-0.198	0.237	-0.299	0.256	0.290	0.213		0.046	0.145	-0.280
	0.395	0.276	0.293	0.207	0.109	0.172	0.120	0.258		0.809	0.443	0.134
BOD	-0.030	-0.052	0.133	-0.326	0.519**	-0.503**	-0.405*	-0.355	0.046		0.292	0.151
	0.875	0.783	0.483	0.079	0.003	0.005	0.026	0.054	0.809		0.118	0.424
ปริมาณแบคทีเรียรวม	-0.124	-0.278	-0.193	0.109	0.060	-0.162	-0.168	-0.164	0.145	0.292		0.172
	0.648	0.137	0.307	0.566	0.752	0.394	0.376	0.387	0.443	0.118		0.364
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	-0.062	0.241	-0.050	-0.307	-0.360	-0.683**	-0.740**	-0.825**	-0.280	0.151	0.172	
	0.743	0.199	0.792	0.099	0.051	0.000	0.000	0.000	0.134	0.424	0.364	

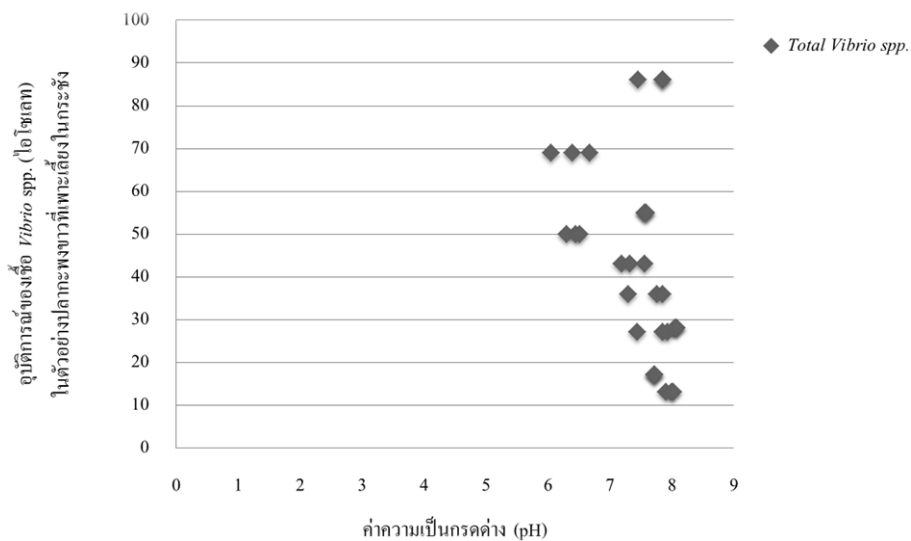
หมายเหตุ \*\* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 เปอร์เซ็นต์ (P < 0.01) \* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ (P < 0.05)

#### 4.2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เคมีและจุลชีววิทยาบริเวณ กระชังเพาะเลี้ยงปลา กับอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากระพงขาว

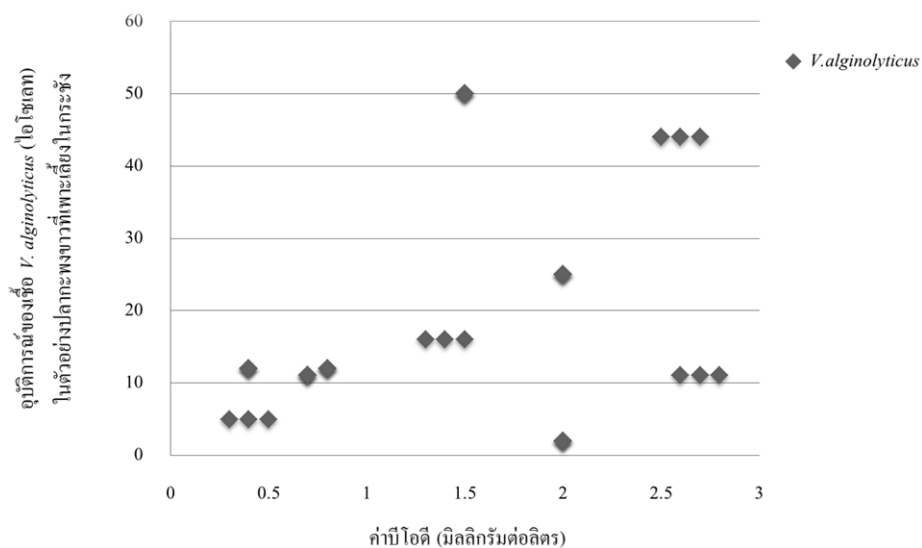
จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากระพงขาว พบว่า อุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ทั้งหมดจากตัวอย่างปลากระพงขาว มีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าบีโอดีในน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.429 ( $p\text{-value} = 0.018$ ) ดังตารางที่ 4-16 และภาพที่ 4-29 และมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกันกับค่าความเป็นกรดต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.469 ( $p\text{-value} = 0.009$ ) ดังตารางที่ 4-16 และภาพที่ 4-30 อุบัติการณ์ของ *V. alginolyticus* มีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าบีโอดีในน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.375 ( $p\text{-value} = 0.041$ ) ดังตารางที่ 4-16 และภาพที่ 4-31 อุบัติการณ์ของ *V. cholerae* มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกันกับค่าความเค็ม ค่าการนำไฟฟ้าและค่าความเป็นกรดต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.742 ( $p\text{-value} = 0.000$ ), -0.745 ( $p\text{-value} = 0.000$ ) และ -0.791 ( $p\text{-value} = 0.000$ ) ตามลำดับ ดังตารางที่ 4-16 และภาพที่ 4-32 ถึง 4-34 และอุบัติการณ์ของ *V. parahaemolyticus* มีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าออกซิเจนละลายน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.499 ( $p\text{-value} = 0.005$ ) ดังตารางที่ 4-16 และภาพที่ 4-35



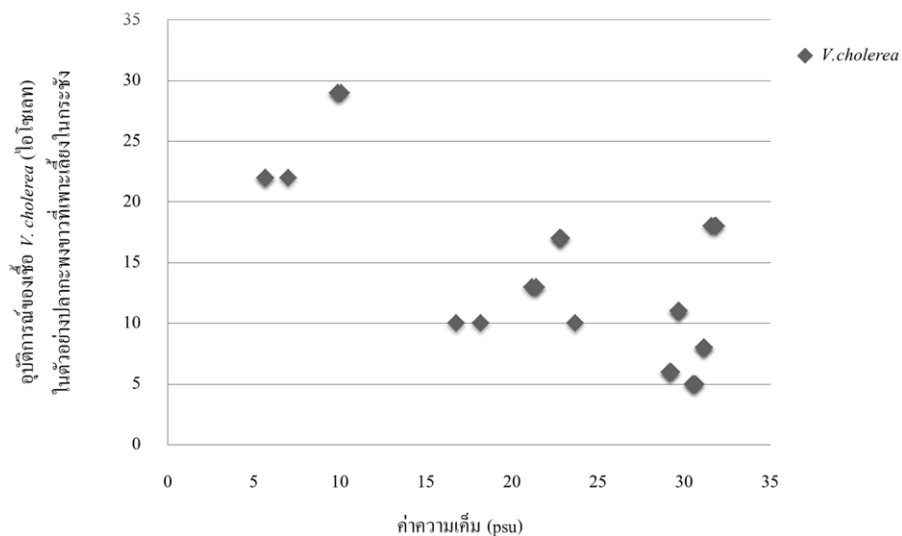
ภาพที่ 4-29 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าบีโอดีในน้ำกับปริมาณของเชื้อ *Vibrio* spp. (MPN/100 mL) ทั้งหมดที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากระพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง



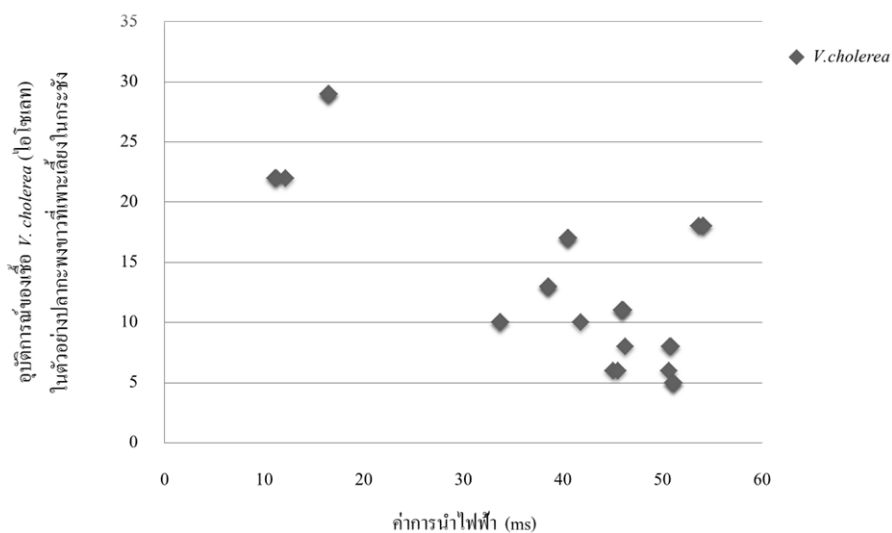
ภาพที่ 4-30 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดต่างในน้ำกับปริมาณของเชื้อ *Vibrio* spp. (MPN/100 mL) ทั้งหมดที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง



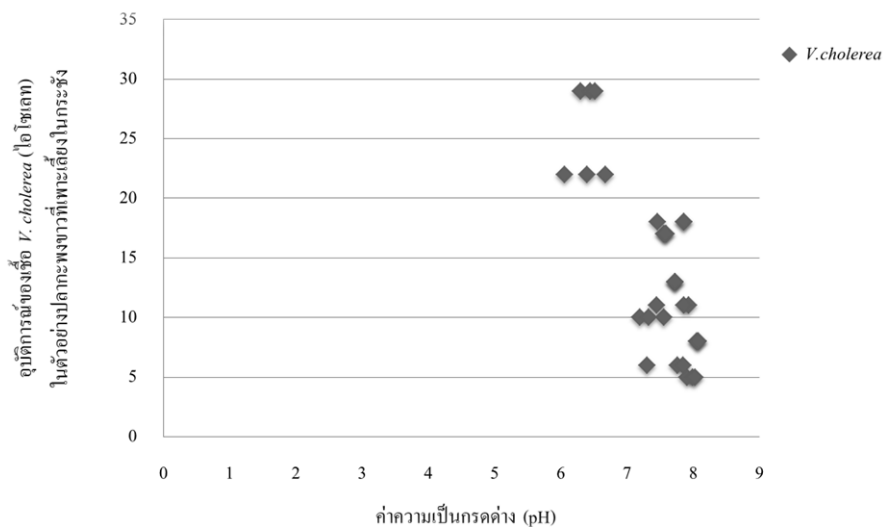
ภาพที่ 4-31 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าบีโอดีในน้ำกับอุบัติการณ์ของ *V. alginolyticus* ที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง



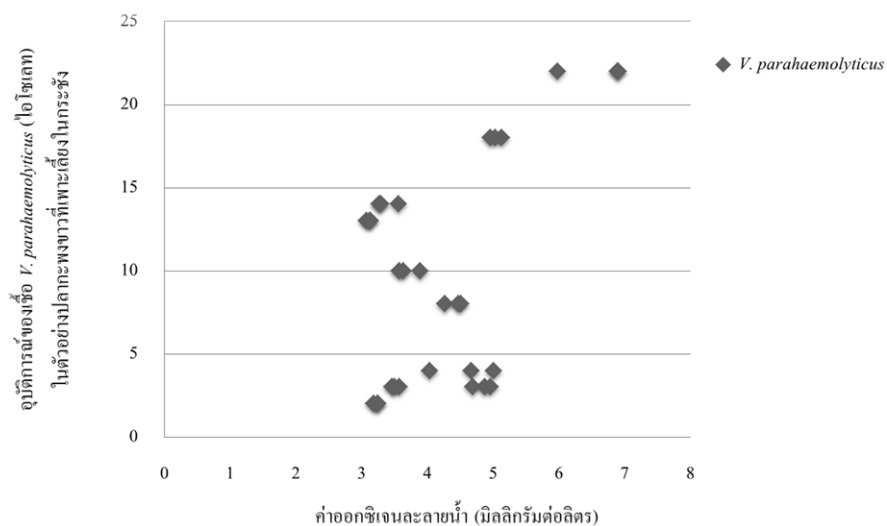
ภาพที่ 4-32 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค็มในน้ำกับอุบัติการณ์ของ *V. cholerae* ที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากระพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง



ภาพที่ 4-33 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการนำไฟฟ้าในน้ำกับอุบัติการณ์ของ *V. cholerae* ที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากระพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง



ภาพที่ 4-34 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างในน้ำกับอุบัติการณ์ของ *V. cholerae* ที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง



ภาพที่ 4-35 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าออกซิเจนละลายน้ำกับ อุบัติการณ์ของ *V. parahaemolyticus* ที่ตรวจพบจากตัวอย่างปลากะพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง

ตารางที่ 4-16 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากระพงขาว

ปัจจัยที่ทำการวิเคราะห์	Total <i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	อุณหภูมิในน้ำ	ความเค็มในน้ำ	การนำไฟฟ้า	pH	DO	BOD	ปริมาณแอมโมเนียรวม	โคลิฟอร์มเบคทีเรีย
Total <i>Vibrio</i> spp.		0.922** 0.000	0.638** 0.000	0.429** 0.006	-0.080 0.675	-0.319 0.086	-0.294 0.115	-0.469** 0.009	0.020 0.915	0.429* 0.018	-0.019 0.922	0.274 0.142
<i>V. alginolyticus</i>	0.922** 0.000		0.438* 0.015	0.270 0.149	0.058 0.762	-0.164 0.385	-0.153 0.420	-0.310 0.096	-0.042 0.825	0.375* 0.041	-0.179 0.343	0.151 0.426
<i>V. cholerae</i>	0.638** 0.000	0.438* 0.015		0.012 0.950	-0.313 0.092	-0.742** 0.000	-0.745** 0.000	-0.791** 0.000	-0.314 0.102	0.209 0.268	0.021 0.914	0.209 0.104
<i>V. parahaemolyticus</i>	0.492** 0.006	0.270 0.149	0.012 0.950		-0.570 0.765	0.131 0.489	0.192 0.309	0.023 0.905	0.499** 0.005	0.329 0.076	0.332 0.073	0.006 0.975
อุณหภูมิในน้ำ	-0.080 0.675	0.058 0.762	-0.313 0.092	-0.057 0.765		0.205 0.278	0.270 0.150	0.339 0.067	-0.299 0.109	0.519** 0.003	0.060 0.752	-0.360 0.051
ความเค็มในน้ำ	-0.319 0.086	-0.164 0.385	-0.742** 0.000	0.131 0.489	0.205 0.278		0.985** 0.000	0.893** 0.000	0.256 0.172	-0.503** 0.005	-0.162 0.392	-0.683** 0.000

หมายเหตุ \*\* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 เปอร์เซนต์ ( $P < 0.01$ ) \* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซนต์ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 4-16 (ต่อ)

ปัจจัยที่ทำการวิเคราะห์	Total <i>Vibrio</i> spp.	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	อุณหภูมิในน้ำ	ความเค็มในน้ำ	การนำไฟฟ้า	pH	DO	BOD	ปริมาณแบคทีเรียรวม	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย
การนำไฟฟ้า	-0.294	-0.153	-0.745**	0.192	0.270	0.985**		0.901**	0.290	-0.405*	-0.168	-0.740**
	0.115	0.420	0.000	0.309	0.150	0.000		0.000	0.120	0.026	0.376	0.000
pH	-0.469**	-0.310	-0.791**	0.023	0.339	0.893**	0.901**		0.213	-0.355	-0.164	-0.825**
	0.009	0.096	0.000	0.905	0.067	0.000	0.000		0.258	0.054	0.387	0.000
DO	0.020	-0.042	-0.304	0.499**	-0.299	0.256	0.290	0.213		0.046	0.145	-0.280
	0.915	0.825	0.102	0.005	0.109	0.172	0.120	0.258		0.809	0.443	0.134
BOD	0.429*	0.375*	0.209	0.329	0.519**	-0.503**	-0.405*	-0.355	0.046		0.292	0.151
	0.018	0.041	0.268	0.076	0.003	0.005	0.026	0.054	0.809		0.118	0.424
ปริมาณแบคทีเรียรวม	-0.019	-0.179	0.021	0.332	0.060	-0.162	-0.168	-0.164	0.145	0.292		0.172
	0.922	0.343	0.914	0.073	0.752	0.392	0.376	0.387	0.443	0.118		0.364
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	0.274	0.151	0.209	0.006	-0.360	-0.683**	-0.740**	-0.825**	-0.280	0.151	0.172	
	0.142	0.426	0.104	0.975	0.051	0.000	0.000	0.000	0.134	0.424	0.364	

หมายเหตุ \*\* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99 เปอร์เซ็นต์ ( $P < 0.01$ ) \* มีความสัมพันธ์ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์ ( $P < 0.05$ )



#### 4.3 ผลการศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำ และตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง

จากการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. แต่ละชนิดที่ตรวจพบจาก ตัวอย่างน้ำจำนวน 44 ไอโซเลท และตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชัง จำนวน 46 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 90 ไอโซเลท โดยเลือกให้ยาปฏิชีวนะในกลุ่มต่าง ๆ จำนวน 12 ชนิด ดังต่อไปนี้

กลุ่มยาปฏิชีวนะที่ทำลายผนังเซลล์ (Cell envelope antibiotics) ได้แก่ ampicillin (AMP 10 µg), aztreomam (ATM 30 µg), cefotaxime (CTX 30 µg), และ cefoxitin (FOX 30 µg)

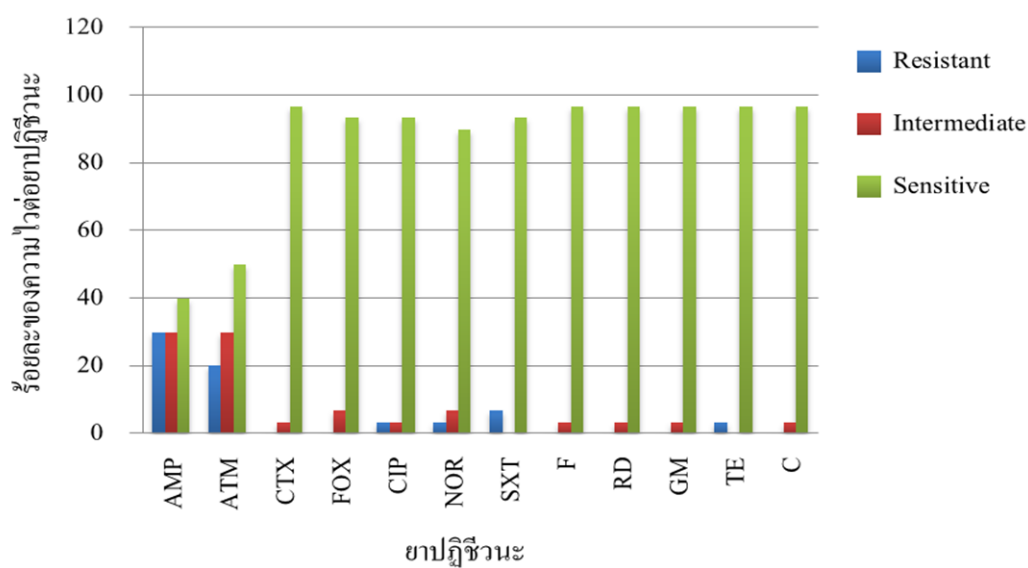
กลุ่มยาปฏิชีวนะที่ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (Nucleic acid inhibitors) ได้แก่ ciprofloxacin (CIP 5 µg), norfloxacin (NOR 10 µg), co-trimoxazole (sulphamethoxazole + trimethoprim) (SXT, 23.75 µg + 1.25 µg), nitrofurantoin (F 300 µg) และ rifampicin (RD 5 µg)

กลุ่มยาปฏิชีวนะที่ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (Protein synthesis inhibitors) ได้แก่ gentamicin (GM 10 µg), tetracycline (TE 30 µg) และ coramphenical (C 30 µg)

ผลการทดสอบ พบว่า *V. alginolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลท มีผลไว (Sensitive) ต่อยา cefotaxime, ciprofloxacin, norfloxacin, co-trimoxazole, gentamicin, rifampicin, nitrofurantoin และ coramphenical ร้อยละ 100 และมีผลดื้อ (Resistant) ต่อยา ampicillin, aztreomam และ tetracycline ร้อยละ 80, 6.7 และ 3.3 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4-17 สำหรับ *V. cholerae* จำนวน 90 ไอโซเลท มีผลไว (Sensitive) ต่อยา cefotaxime, cefoxitin, ciprofloxacin, norfloxacin, rifampicin, gentamicin, tetracycline และ coramphenical ร้อยละ 100 และมีผลดื้อ (Resistant) ต่อยา ampicillin, aztreomam และ co-trimoxazole ร้อยละ 10, 10 และ 6.7 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4-18 และ *V. parahaemolyticus* จำนวน 90 ไอโซเลท มีผลไว (Sensitive) ต่อยา cefotaxime, coramphenical, rifampicin, gentamicin, tetracycline และ nitrofurantoin ร้อยละ 96.7 และมีผลดื้อ (Resistant) ต่อยา ampicillin, aztreomam, co-trimoxazole, ciprofloxacin, norfloxacin และ tetracycline ร้อยละ 30, 20, 6.7, 3.3, 3.3 และ 3.3 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4-19

ตารางที่ 4-17 ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *V. alginolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลต

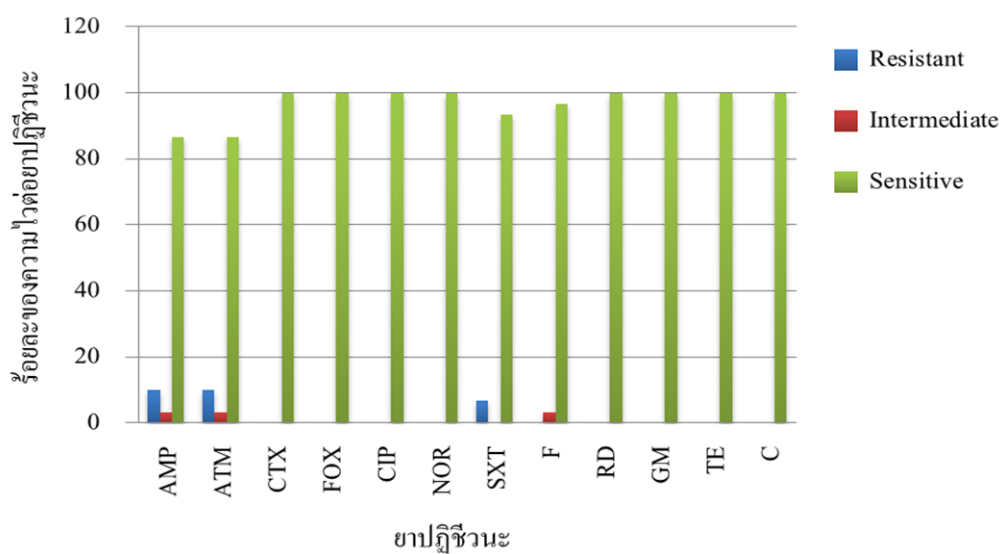
ยาปฏิชีวนะ	ระดับความไวต่อยาปฏิชีวนะ					
	Resistant		Intermediate		Sensitive	
	จำนวน ไอโซเลต	ร้อยละ	จำนวน ไอโซเลต	ร้อยละ	จำนวน ไอโซเลต	ร้อยละ
ampicillin (AMP 10 µg)	24	80	1	3.3	5	16.7
aztreomam (ATM 30 µg)	2	6.7	13	43.3	15	50.0
cefotaxime (CTX 30 µg)	0	0	0	0	30	100.0
cefoxitin (FOX 30 µg)	0	0	2	6.6	28	93.4
ciprofloxacin (CIP 5 µg)	0	0	0	0	30	100.0
norfloxacin (NOR 10 µg)	0	0	0	0	30	100.0
co-trimoxazole (SXT 23.75 µg +1.25 µg)	0	0	0	0	30	100.0
nitrofurantoin (F 300 µg)	0	0	0	0	30	100.0
rifampicin (RD 5 µg)	0	0	0	0	30	100.0
gentamicin (GM 10 µg)	0	0	0	0	30	100.0
tetracycline (TE 30 µg)	1	3.3	0	0	29	96.7
coramphenical (C 30 µg)	0	0	0	0	30	100.0



ภาพที่ 4-36 ร้อยละของความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *V. alginolyticus*

ตารางที่ 4-18 ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *V. cholerae* จำนวน 30 ไอโซเลต

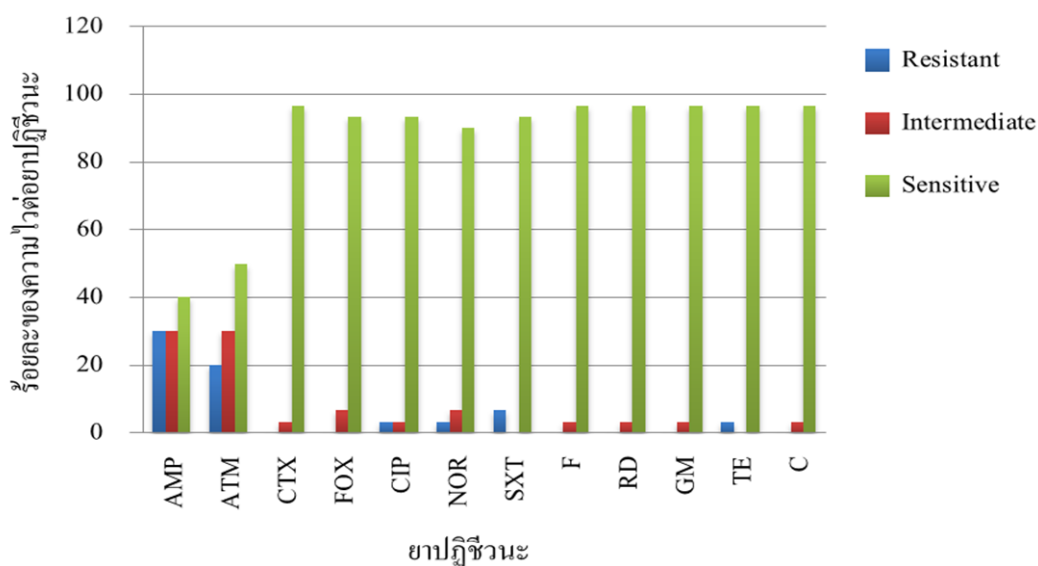
ยาปฏิชีวนะ	ระดับความไวต่อยาปฏิชีวนะ					
	Resistant		Intermediate		Sensitive	
	จำนวน ไอโซเลต	ร้อยละ	จำนวน ไอโซเลต	ร้อยละ	จำนวน ไอโซเลต	ร้อยละ
ampicillin (AMP 10 µg)	3	10.0	1	3.3	26	86.7
aztreomam (ATM 30 µg)	3	10.0	1	3.3	26	86.7
cefotaxime (CTX 30 µg)	0	0	0	0	30	100.0
cefoxitin (FOX 30 µg)	0	0	0	0	30	100.0
ciprofloxacin (CIP 5 µg)	0	0	0	0	30	100.0
norfloxacin (NOR 10 µg)	0	0	0	0	30	100.0
co-trimoxazole (SXT 23.75 µg +1.25 µg)	2	6.7	0	0	28	93.3
nitrofurantoin (F 300 µg)	0	0	1	3.3	29	96.7
rifampicin (RD 5 µg)	0	0	0	0	30	100.0
gentamicin (GM 10 µg)	0	0	0	0	30	100.0
tetracycline (TE 30 µg)	0	0	0	0	30	100.0
coramphenical (C 30 µg)	0	0	0	0	30	100.0



ภาพที่ 4-37 ร้อยละของความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *V. cholerae*

ตารางที่ 4-19 ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *V. parahaemolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลต

ยาปฏิชีวนะ	ระดับความไวต่อยาปฏิชีวนะ					
	Resistant		Intermediate		Sensitive	
	จำนวนไอโซเลต	ร้อยละ	จำนวนไอโซเลต	ร้อยละ	จำนวนไอโซเลต	ร้อยละ
ampicillin (AMP 10 µg)	9	30.0	9	30.0	12	40.0
aztreomam (ATM 30 µg)	6	20.0	9	30.0	15	50.0
cefotaxime (CTX 30 µg)	0	0	1	3.3	29	96.7
cefoxitin (FOX 30 µg)	0	0	2	6.7	28	93.3
ciprofloxacin (CIP 5 µg)	1	3.3	1	3.3	28	93.3
norfloxacin (NOR 10 µg)	1	3.3	2	6.7	27	90.0
co-trimoxazole (SXT 23.75 µg +1.25 µg)	2	6.7	0	0	28	93.3
nitrofurantoin (F 300 µg)	0	0	1	3.3	29	96.7
rifampicin (RD 5 µg)	0	0	1	3.3	29	96.7
gentamicin (GM 10 µg)	0	0	1	3.3	29	96.7
tetracycline (TE 30 µg)	1	3.3	0	0	29	96.7
coramphenical (C 30 µg)	0	0	1	3.3	29	96.7

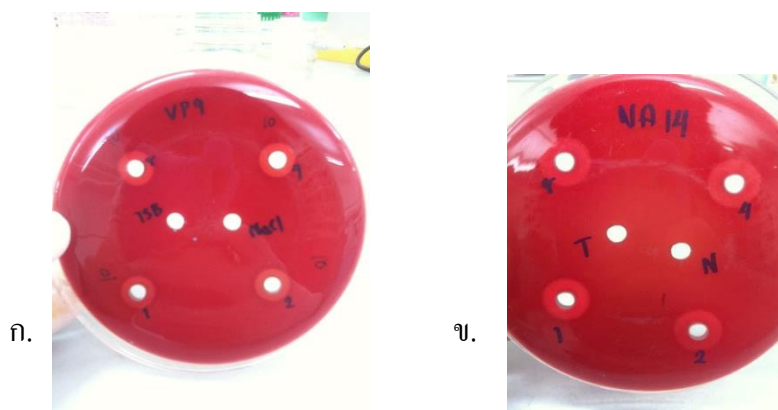


ภาพที่ 4-38 ร้อยละของความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *V. parahaemolyticus*

4.4 ผลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์มและการสร้างเอ็นไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง

#### 4.4.1 ผลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง

จากการทดสอบความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ของ *Vibrio* spp. แต่ละชนิดที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำจำนวน 44 ไอโซเลท และตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชัง จำนวน 46 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 90 ไอโซเลท พบว่า *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* มีการสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ (beta-hemolysis) ดังภาพที่ 4-39 โดยที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28 องศาเซลเซียส *V. alginolyticus* ที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้มีจำนวน 12 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 40 ส่วน *V. cholerae* ที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้มีจำนวน 4 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 13.3 และ *V. parahaemolyticus* ที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้มีจำนวน 4 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 13.3 ที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส *V. alginolyticus* ที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้มีจำนวน 13 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 43.3 ส่วน *V. cholerae* ที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้มีจำนวน 26 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 86.6 และ *V. parahaemolyticus* ที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้มีจำนวน 11 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 36.6 และที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส *V. alginolyticus* ที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้มีจำนวน 23 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 76.6 ส่วน *V. cholerae* ที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้มีจำนวน 26 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 86.6 และ *V. parahaemolyticus* ที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้มีจำนวน 21 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 70 ดังตารางที่ 4-20 ถึง 4-22



ภาพที่ 4-39 การสลายเม็ดเลือดแดงแบบ beta-hemolysis ของแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp.

ก. *V. parahaemolyticus* ข. *V. alginolyticus*

ตารางที่ 4-20 ความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. alginolyticus* ที่อุณหภูมิการเจริญแตกต่างกัน

<i>Vibrio</i> spp.	แหล่งที่ตรวจพบ	ความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง		
		อุณหภูมิในการเจริญ (องศาเซลเซียส)		
		28	30	35
<i>V. alginolyticus</i> 01	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	+	+	+
<i>V. alginolyticus</i> 02	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	+	+	+
<i>V. alginolyticus</i> 03	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	+	+	+
<i>V. alginolyticus</i> 04	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 05	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 06	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	+	+	+
<i>V. alginolyticus</i> 07	น้ำบริเวณกระชังปลา	+	+	-
<i>V. alginolyticus</i> 08	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	+	+	-
<i>V. alginolyticus</i> 09	น้ำบริเวณกระชังปลา	+	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 10	ครีบบลาคะพงขาว	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 11	ครีบบลาคะพงขาว	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 12	เหงือกปลาคะพงขาว	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 13	เหงือกปลาคะพงขาว	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 14	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	+	+
<i>V. alginolyticus</i> 15	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	+	+
<i>V. alginolyticus</i> 16	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	-	-
<i>V. alginolyticus</i> 17	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 18	ครีบบลาคะพงขาว	-	-	-
<i>V. alginolyticus</i> 19	ครีบบลาคะพงขาว	+	+	+
<i>V. alginolyticus</i> 20	เหงือกปลาคะพงขาว	-	-	-
<i>V. alginolyticus</i> 21	เหงือกปลาคะพงขาว	-	-	-
<i>V. alginolyticus</i> 22	เหงือกปลาคะพงขาว	+	+	
<i>V. alginolyticus</i> 23	ครีบบลาคะพงขาว	+	+	+
<i>V. alginolyticus</i> 24	ครีบบลาคะพงขาว	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 25	เหงือกปลาคะพงขาว	+	+	+
<i>V. alginolyticus</i> 26	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 27	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	+	+	+
<i>V. alginolyticus</i> 28	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 29	ครีบบลาคะพงขาว	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i> 30	เหงือกปลาคะพงขาว	-	-	-

หมายเหตุ + คือ สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้ - คือ ไม่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้

ตารางที่ 4-21 ความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. cholerae* ที่อุณหภูมิจริณูแตกต่างกัน

<i>Vibrio</i> spp.	แหล่งที่ตรวจพบ	ความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง		
		อุณหภูมิในการเจริญ (องศาเซลเซียส)		
		28	30	35
<i>V. cholerae</i> 01	ใส่ปลากะพงขาว	+	+	+
<i>V. cholerae</i> 02	ใส่ปลากะพงขาว	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 03	ครีบบปลากะพงขาว	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 04	ครีบบปลากะพงขาว	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 05	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 06	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 07	ใส่ปลากะพงขาว	-	-	-
<i>V. cholerae</i> 08	ครีบบปลากะพงขาว	-	-	-
<i>V. cholerae</i> 09	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 10	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 11	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 12	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 13	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 14	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 15	ใส่ปลากะพงขาว	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 16	ครีบบปลากะพงขาว	-	-	-
<i>V. cholerae</i> 17	ครีบบปลากะพงขาว	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 18	เหงือกปลากะพงขาว	-	-	-
<i>V. cholerae</i> 19	เหงือกปลากะพงขาว	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 20	ครีบบปลากะพงขาว	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 21	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 22	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 23	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 24	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 25	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 26	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 27	ครีบบปลากะพงขาว	-	+	+
<i>V. cholerae</i> 28	เหงือกปลากะพงขาว	+	+	+
<i>V. cholerae</i> 29	เหงือกปลากะพงขาว	+	+	+
<i>V. cholerae</i> 30	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	+	+	+

หมายเหตุ + คือ สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้ - คือ ไม่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้

ตารางที่ 4-22 ความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิการเจริญแตกต่างกัน

<i>Vibrio</i> spp.	แหล่งที่ตรวจพบ	ความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง		
		อุณหภูมิในการเจริญ (องศาเซลเซียส)		
		28	30	35
<i>V. parahaemolyticus</i> 01	ไส้ปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 02	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ		+	-
<i>V. parahaemolyticus</i> 03	น้ำบริเวณกระชังปลา	+	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 04	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 05	ไส้ปลากะพงขาว	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i> 06	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 07	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	+	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 08	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	-	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 09	ครีบบปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 10	ครีบบปลากะพงขาว	+	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 11	ไส้ปลากะพงขาว	-	+	-
<i>V. parahaemolyticus</i> 12	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	-	+	-
<i>V. parahaemolyticus</i> 13	ครีบบปลากะพงขาว	-	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 14	ครีบบปลากะพงขาว	+	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 15	น้ำบริเวณกระชังปลา	-	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 16	เหงือกปลากะพงขาว	-	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 17	เหงือกปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 18	ไส้ปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 19	ไส้ปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 20	เหงือกปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 21	ไส้ปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 22	ไส้ปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 23	ไส้ปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 24	ไส้ปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 25	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i> 26	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i> 27	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i> 28	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i> 29	ไส้ปลากะพงขาว	-	-	+
<i>V. parahaemolyticus</i> 30	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	-	-	-

หมายเหตุ + คือ สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้ - คือ ไม่สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้



จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิต่อการสลายเม็ดเลือดแดงของ *Vibrio* spp. ทั้ง 90 ไอโซเลท ทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ที่อุณหภูมิในการเจริญต่างกันมีผลต่อการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. alginolyticus* ทั้ง 30 ไอโซเลทแตกต่างกันด้วย ( $p$ -value = 0.016) เมื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยใช้ Post-Hoc test ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า อุณหภูมิในการเจริญที่ 35 องศาเซลเซียส *V. alginolyticus* สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้แตกต่างจากอุณหภูมิในการเจริญที่ 28 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.025) และ 30 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.048) ดังภาพที่ 4-40

Dependent Variable: hemolysis					
	(I) temperature	(J) temperature	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	28.00	30.00	-.03333	.12513	.962
		35.00	-.33333*	.12513	.025
	30.00	28.00	.03333	.12513	.962
		35.00	-.30000*	.12513	.048
	35.00	28.00	.33333*	.12513	.025
		30.00	.30000*	.12513	.048

ภาพที่ 4-40 ผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างในการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. alginolyticus* ที่อุณหภูมิต่างกัน ด้วยวิธี Tukey HSD

สำหรับการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. cholerae* ที่อุณหภูมิในการเจริญต่างกัน เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ที่อุณหภูมิในการเจริญต่างกันมีผลต่อการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. cholerae* ทั้ง 30 ไอโซเลทแตกต่างกันด้วย ( $p$ -value = 0.000) เมื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยใช้ Post-Hoc test ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28 องศาเซลเซียส *V. cholerae* สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้แตกต่างจากอุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 30 และ 35 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.000) ดังภาพที่ 4-41

Dependent Variable: hemolysis

	(I) temperature	(J) temperature	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	28.00	30.00	-.73333	.08927	.000
		35.00	-.73333*	.08927	.000
	30.00	28.00	.73333	.08927	.000
		35.00	.00000	.08927	1.000
	35.00	28.00	.73333	.08927	.000
		30.00	.00000	.08927	1.000

ภาพที่ 4-41 ผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างในการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. cholerae* ที่อุณหภูมิต่างกัน ด้วยวิธี Tukey HSD

และการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิในการเจริญต่างกัน เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ที่อุณหภูมิในการเจริญต่างกันมีผลต่อการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. parahaemolyticus* ทั้ง 30 ไอโซเลตแตกต่างกันด้วย ( $p$ -value = 0.000) เมื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยใช้ Post-Hoc test ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 35 องศาเซลเซียส *V. parahaemolyticus* สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้แตกต่างจากอุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.000) และ 35 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.011) ดังภาพที่ 4-42

Dependent Variable: hemolysis

	(I) temperature	(J) temperature	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	28.00	30.00	-.23333	.11324	.104
		35.00	-.56667*	.11324	.000
	30.00	28.00	.23333	.11324	.104
		35.00	-.33333*	.11324	.011
	35.00	28.00	.56667*	.11324	.000
		30.00	.33333*	.11324	.011

ภาพที่ 4-42 ผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างในการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิต่างกัน ด้วยวิธี Tukey HSD

#### 4.4.2 ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์ม

จากการทดสอบความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ของ *Vibrio* spp. แต่ละชนิดที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำจำนวน 19 ไอโซเลท และตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชัง จำนวน 16 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 35 ไอโซเลท โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Positive control) ผลการทดลองพบว่า ระยะเวลาการเจริญนาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มี *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มสูง ( $OD_{595} \geq 1.12$ ) จำนวน 5 ไอโซเลท ที่แยกได้จากบริเวณเหงือกปลาและน้ำบริเวณริมฝั่ง กลางแม่น้ำ กระชังปลา โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ของ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ซึ่งเป็นเชื้อควบคุมผลบวก เท่ากับ 0.88 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มี *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มสูง จำนวน 6 ไอโซเลท ที่แยกได้จากไส้และเหงือกปลา และน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำและกระชังปลา โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ของ *P. aeruginosa* ATCC 27853 เท่ากับ 0.63 และที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มี *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มสูง จำนวน 6 ไอโซเลท ที่แยกได้จากไส้และครีบบปลา และน้ำบริเวณริมฝั่ง กลางแม่น้ำและกระชังปลา โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ของ *P. aeruginosa* ATCC 27853 เท่ากับ 0.59 สำหรับระยะเวลาการเจริญนาน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ไม่พบ *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มสูง แต่พบ *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มปานกลาง จำนวน 3 ไอโซเลท ที่แยกได้จากบริเวณเหงือกปลาและน้ำบริเวณริมฝั่ง โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ของ *P. aeruginosa* ATCC 27853 เท่ากับ 0.49 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไม่พบ *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มสูง แต่พบ *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มปานกลาง จำนวน 1 ไอโซเลท ที่แยกได้จากน้ำบริเวณกระชังปลา โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ของ *P. aeruginosa* ATCC 27853 เท่ากับ 0.49 และที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มี *Vibrio* spp. ทั้ง 35 ไอโซเลท ที่มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มต่ำ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ของ *P. aeruginosa* ATCC 27853 เท่ากับ 0.22 ดังตารางที่ 4-23

จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิต่อค่าการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. ทั้ง 35 ไอโซเลท ทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ที่ระยะเวลาการเจริญเดียวกัน อุณหภูมิไม่มีผลต่อการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. ทั้ง 35 ไอโซเลทที่ทดสอบ ( $p\text{-value} = 0.857$ )

ตารางที่ 4-23 ความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. ที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร

<i>Vibrio</i> spp.	แหล่งที่ตรวจพบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร					
		เจริญที่ 24 ชั่วโมง			เจริญที่ 48 ชั่วโมง		
		อุณหภูมิ ในการเจริญ			อุณหภูมิ ในการเจริญ		
		28 °ซ	30 °ซ	35 °ซ	28 °ซ	30 °ซ	35 °ซ
<i>V. alginolyticus</i> 14	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	1.19	1.62	1.33	0.60	0.44	0.36
<i>V. alginolyticus</i> 15	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.11	0.09	0.21	0.09	0.09	0.09
<i>V. alginolyticus</i> 25	เหงือกปลา	0.13	0.14	0.09	0.11	0.13	0.09
<i>V. alginolyticus</i> 27	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.85	0.16	0.11	0.26	0.08	0.21
<i>V. cholerae</i> 01	ไส้ปลา	0.66	1.22	1.44	0.21	0.23	0.35
<i>V. cholerae</i> 02	ไส้ปลา	0.20	0.41	1.06	0.09	0.16	0.25
<i>V. cholerae</i> 03	ครีบบปลา	0.76	0.15	0.23	0.24	0.09	0.09
<i>V. cholerae</i> 04	ครีบบปลา	0.10	0.22	0.46	0.17	0.13	0.13
<i>V. cholerae</i> 05	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.16	1.04	0.08	0.11	0.19	0.07
<i>V. cholerae</i> 06	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	2.50	0.20	0.18	0.31	0.10	0.26
<i>V. cholerae</i> 09	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	1.11	0.76	1.33	0.23	0.20	0.19
<i>V. cholerae</i> 10	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.70	1.36	1.22	0.17	0.15	0.22
<i>V. cholerae</i> 11	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	1.42	0.44	0.48	0.54	0.29	0.19
<i>V. cholerae</i> 12	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.60	1.10	0.49	0.34	0.25	0.20
<i>V. cholerae</i> 13	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.10	0.55	0.71	0.08	0.39	0.18
<i>V. cholerae</i> 14	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.10	0.10	0.10	0.18	0.09	0.09
<i>V. cholerae</i> 15	ไส้ปลา	0.10	0.09	0.09	0.11	0.07	0.09
<i>V. cholerae</i> 17	ครีบบปลา	0.78	0.11	0.10	0.38	0.11	0.09
<i>V. cholerae</i> 19	เหงือกปลา	1.37	0.51	0.75	0.57	0.27	0.19
<i>V. cholerae</i> 20	ครีบบปลา	0.13	0.39	2.29	0.10	0.23	0.33

หมายเหตุ OD<sub>595</sub> < 0.56 มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มต่ำ

0.56 ≥ OD<sub>595</sub> < 1.12 มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มปานกลาง

OD<sub>595</sub> ≥ 1.12 มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มสูง (O'Toole and Kolter, 1998)

ตารางที่ 4-23 (ต่อ)

<i>Vibrio</i> spp.	แหล่งที่ตรวจพบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร					
		เจริญที่ 24 ชั่วโมง			เจริญที่ 48 ชั่วโมง		
		อุณหภูมิ ในการเจริญ			อุณหภูมิ ในการเจริญ		
		28 °C	30 °C	35 °C	28 °C	30 °C	35 °C
<i>V. cholerae</i> 21	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.14	0.13	0.09	0.09	0.09	0.10
<i>V. cholerae</i> 22	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.14	0.13	0.15	0.08	0.09	0.22
<i>V. cholerae</i> 23	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.10	0.11	0.12	0.08	0.09	0.09
<i>V. cholerae</i> 24	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.12	0.08	0.09	0.10	0.08	0.09
<i>V. cholerae</i> 25	น้ำบริเวณกระชังปลา	1.60	0.14	0.15	0.43	0.07	0.18
<i>V. cholerae</i> 26	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.10	1.68	1.44	0.09	0.57	0.24
<i>V. cholerae</i> 27	ครีบบปลา	0.52	0.11	0.13	0.14	0.08	0.22
<i>V. cholerae</i> 28	เหงือกปลา	0.24	0.76	0.47	0.15	0.26	0.17
<i>V. cholerae</i> 29	เหงือกปลา	0.58	0.33	0.20	0.28	0.32	0.21
<i>V. cholerae</i> 30	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.09	1.30	0.13	0.11	0.13	0.20
<i>V. parahaemolyticus</i> 10	ไส้ปลา	0.10	0.09	0.11	0.09	0.13	0.08
<i>V. parahaemolyticus</i> 13	ครีบบปลา	0.09	0.28	0.09	0.10	0.08	0.08
<i>V. parahaemolyticus</i> 14	ครีบบปลา	0.10	0.10	0.09	0.09	0.11	0.08
<i>V. parahaemolyticus</i> 15	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.93	0.10	0.09	0.09	0.11	0.10
<i>V. parahaemolyticus</i> 16	เหงือกปลา	0.79	1.26	0.10	0.65	0.18	0.09
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 (positive control)		0.88	0.63	0.59	0.49	0.49	0.22

หมายเหตุ  $OD_{595} < 0.56$  มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มต่ำ  
 $0.56 \geq OD_{595} < 1.12$  มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มปานกลาง  
 $OD_{595} \geq 1.12$  มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มสูง (O'Toole and Kolter, 1998)

#### 4.4.3 ผลของอุณหภูมิต่อการสร้างเอนไซม์ $\beta$ -lactamase

จากการทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ของ *Vibrio* spp. สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม  $\beta$ -lactam จากการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ ซึ่งเป็นไอโซเลทจากตัวอย่างน้ำจำนวน 14 ไอโซเลท และตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชัง จำนวน 9 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 23 ไอโซเลท เปรียบเทียบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 และ *S. aureus* ATCC 25923 พบว่า ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มี *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ได้มากที่สุด ( $OD_{486} = 1.280$ ) คือ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากบริเวณเหงือกปลากะพงขาว โดยมีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่า *S. aureus* ATCC 43300 ซึ่งเป็นเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ เมริซิลลินที่ในกลุ่ม  $\beta$ -lactam ( $OD_{486} = 0.436$ ) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มี *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ได้มากที่สุด ( $OD_{486} = 1.269$ ) คือ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากบริเวณครีบบปลากะพงขาว โดยมีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่า *S. aureus* ATCC 43300 ( $OD_{486} = 0.643$ ) และที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มี *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ได้มากที่สุด ( $OD_{486} = 2.203$ ) คือ *V. cholerae* ที่แยกได้จากบริเวณเหงือกปลากะพงขาว โดยมีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่า *S. aureus* ATCC 43300 ( $OD_{486} = 1.067$ ) ดังตารางที่ 4-24

จากข้อมูลดังกล่าวเมื่อทำการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิต่อการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. ทั้ง 23 ไอโซเลท ทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ที่อุณหภูมิในการเจริญต่างกันมีผลต่อการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p$ -value = 0.002) เมื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยใช้ Post-Hoc test ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า อุณหภูมิในการเจริญที่ 28 องศาเซลเซียส *Vibrio* spp. จะสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ได้แตกต่างจากอุณหภูมิในการเจริญที่ 30 และ 35 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.002 และ 0.018) ดังภาพที่ 4-43

ตารางที่ 4-24 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. ที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 486 นาโนเมตร

<i>Vibrio</i> spp.	แหล่งที่ตรวจพบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 486 นาโนเมตร		
		อุณหภูมิในการเจริญ (องศาเซลเซียส)		
		28 °C	30 °C	35 °C
<i>V. alginolyticus</i> 01	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.747	0.302	0.325
<i>V. alginolyticus</i> 02	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	0.648	0.188	0.628
<i>V. alginolyticus</i> 03	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	1.314	0.490	0.657
<i>V. alginolyticus</i> 04	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.645	0.425	0.984
<i>V. alginolyticus</i> 05	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.728	0.341	0.451
<i>V. alginolyticus</i> 06	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	0.611	0.513	0.306
<i>V. alginolyticus</i> 07	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.589	0.422	0.441
<i>V. alginolyticus</i> 08	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	0.704	0.372	0.737
<i>V. alginolyticus</i> 09	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.870	0.391	0.109
<i>V. alginolyticus</i> 10	ครีบบลาคะพงขาว	0.988	0.499	0.520
<i>V. alginolyticus</i> 11	ครีบบลาคะพงขาว	0.940	0.607	0.340
<i>V. cholerae</i> 01	ใส่ปลาคะพงขาว	0.458	0.187	0.412
<i>V. cholerae</i> 18	เหงือกปลาคะพงขาว	0.403	0.989	2.203
<i>V. cholerae</i> 24	น้ำบริเวณกระชังปลา	1.009	0.509	0.762
<i>V. cholerae</i> 28	เหงือกปลาคะพงขาว	0.850	0.827	0.444
<i>V. cholerae</i> 29	เหงือกปลาคะพงขาว	0.677	0.377	0.513
<i>V. cholerae</i> 30	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.789	0.633	0.505
<i>V. parahaemolyticus</i> 03	น้ำบริเวณกระชังปลา	0.680	0.836	0.352
<i>V. parahaemolyticus</i> 06	น้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ	0.998	0.364	0.940
<i>V. parahaemolyticus</i> 07	น้ำบริเวณกลางแม่น้ำ	0.604	0.196	0.552
<i>V. parahaemolyticus</i> 10	ครีบบลาคะพงขาว	1.142	0.842	0.482
<i>V. parahaemolyticus</i> 14	ครีบบลาคะพงขาว	1.186	1.269	0.396
<i>V. parahaemolyticus</i> 17	เหงือกปลาคะพงขาว	1.280	1.003	0.429
<i>S. aureus</i> ATCC43300		0.436	0.643	1.067
<i>S. aureus</i> ATCC25923		0.042	0.042	0.042

Dependent Variable: Betalactamase

	(I) Temperature	(J) Temperature	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	28.00	30.00	.32391*	.09244	.002
		35.00	.25904*	.09244	.018
	30.00	28.00	-.32391*	.09244	.002
		35.00	-.06487	.09244	.763
	35.00	28.00	-.25904*	.09244	.018
		30.00	.06487	.09244	.763

ภาพที่ 4-43 ผลการเปรียบเทียบเพื่อหาความแตกต่างในการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. ที่อุณหภูมิต่างกัน ด้วยวิธี Tukey HSD



## บทที่ 5

### อภิปรายผลและสรุปผลการวิจัย

#### 5.1 อภิปรายผลการศึกษา

จากผลการทดลองการศึกษาค้นคว้าของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่ออุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 จะเห็นได้ว่าในเดือนพฤษภาคมและมิถุนายนไม่สามารถตรวจวัดค่าปัจจัยสิ่งแวดล้อมและตรวจหาปริมาณของแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำและตัวอย่าง (Specimen) จากปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชัง เนื่องจากในเดือนพฤษภาคมและมิถุนายนบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ.ระยอง มีการเปลี่ยนแปลงของช่วงเวลาในการเกิดน้ำขึ้น-น้ำลง โดยน้ำในแม่น้ำประแสร์นั้นจะเริ่มขึ้นเวลาประมาณ 0.00-2.00 น. และเกิดปัญหาปลากะพงขาวตายในสถานีบริเวณกระชังปลา เนื่องจากระดับน้ำที่ลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้ผู้เพาะเลี้ยงปลากะพงประสบกับปัญหาปลาตายในกระชังจำนวนมาก จึงทำให้ผู้วิจัยไม่สามารถทำการเก็บตัวอย่างในเดือนพฤษภาคมและมิถุนายนได้ จึงต้องทำการสำรวจเขตเพาะเลี้ยงปลากะพงบริเวณปากน้ำประแสร์ใหม่และกำหนดสถานีบริเวณกระชังปลาเพื่อเก็บตัวอย่างปลาในเดือนต่อไปได้ ผู้วิจัยจึงได้ติดต่อกับนายกสมาคมผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำบริเวณปากน้ำประแสร์เพื่อเปลี่ยนแปลงสถานีเก็บตัวอย่างปลาเป็นสถานีที่อยู่บริเวณใกล้เคียงกับสถานีเก็บตัวอย่างเดิมและสอบถามกับผู้เพาะเลี้ยงปลากะพงและชาวบ้านบริเวณปากแม่น้ำประแสร์เกี่ยวกับช่วงเวลาในการขึ้น-ลงของน้ำ ซึ่งได้รับคำแนะนำจากผู้เพาะเลี้ยงปลาและชาวบ้านให้เริ่มทำการเก็บตัวอย่างในเดือนกรกฎาคม เนื่องจากคาดว่าระดับน้ำจะขึ้นช่วงเวลาประมาณ 11.00 น. เป็นต้นไป และจะสามารถนำเรือออกจากชายฝั่งเพื่อไปเก็บตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากะพงได้ตามปกติ



ภาพที่ 5-1 ระดับน้ำในแม่น้ำประแสร์ จ. ระยอง เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2555

### 5.1.1 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา จากตัวอย่างน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง

#### 5.1.1.1 อุณหภูมิของน้ำ

อุณหภูมิของน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ในเดือนเมษายนซึ่งเป็นช่วงฤดูร้อนมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ  $32.3 \pm 0.10$  องศาเซลเซียส และในเดือนกันยายนซึ่งเป็นช่วงฤดูฝนมีอุณหภูมิต่ำที่สุดเท่ากับ  $28.0 \pm 0.20$  องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามอุณหภูมิของน้ำในรอบปีทั้ง 3 สถานี มีความแตกต่างกันไม่มากนักซึ่งโดยปกติจะมีอุณหภูมิใกล้เคียงกันตลอดทั้งปีและจะแปรผันตามอุณหภูมิของบรรยากาศ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลของศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา กรมอุตุนิยมวิทยา ได้รายงานอุณหภูมิของบรรยากาศเฉลี่ยในพื้นที่ภาคตะวันออก (ภาคผนวก ข) พบว่าอุณหภูมิของบรรยากาศเฉลี่ยสูงสุดอยู่ในเดือนเมษายนเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของบรรยากาศเฉลี่ยต่ำสุดอยู่ในเดือนมกราคม เท่ากับ 27.2 องศาเซลเซียส สำหรับในเดือนกันยายนนั้นมีอุณหภูมิของบรรยากาศใกล้เคียงกับเดือนมกราคม เท่ากับ 27.5 องศาเซลเซียส จึงทำให้อุณหภูมิของน้ำในเดือนกันยายนแปรผันตามอุณหภูมิของบรรยากาศเช่นกัน

#### 5.1.1.2 ความเค็มของน้ำ

ความเค็มของน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ในเดือนกันยายนซึ่งเป็นช่วงฤดูฝนนั้นมีค่าความเค็มต่ำที่สุดเท่ากับ  $5.6 \pm 3.14$  psu ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลของศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา กรมอุตุนิยมวิทยา ได้รายงานปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในพื้นที่ภาคตะวันออก พบว่าในเดือนกันยายนนั้นมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยสูงสุดในรอบปีเท่ากับ 513 มิลลิเมตร จึงส่งผลให้ในเดือนกันยายนนี้มีค่าความเค็มต่ำที่สุด เนื่องจากช่วงฤดูฝนจะมีปริมาณน้ำท่าจากต้นแม่น้ำไหลลงมาปริมาณมากจึงผลักดันปริมาณน้ำเค็มออกไป นอกจากนี้ยังพบว่าในช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์นั้นมีค่าความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยค่อนข้างต่ำจึงทำให้มีการลู่ล้าของน้ำเค็มเข้ามาในบริเวณปากแม่น้ำประแสร์มากกว่าช่วงฤดูฝน

#### 5.1.1.3 ความเป็นกรดต่างของน้ำ

ความเป็นกรดต่างของน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์เปรียบเทียบระหว่างสถานีต่าง ๆ พบว่าในเดือนตุลาคมมีความเป็นกรดต่างของน้ำเฉลี่ยต่ำที่สุดบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว ( $\text{pH} = 6.38$ ) และในเดือนมกราคมมีความเป็นกรดต่างสูงที่สุดบริเวณกลางแม่น้ำ ( $\text{pH} = 8.13$ ) ทั้งนี้เป็นเพราะอิทธิพลของน้ำบริเวณปากแม่น้ำที่มีคุณสมบัติเป็นด่างอ่อน ๆ อันเกิดจากแร่ธาตุที่ละลายอยู่ในน้ำ เช่น โซเดียม, แมกนีเซียม, คลอไรด์, ซัลเฟต เป็นต้น (มนูวดี หังสพฤกษ์, 2532) สำหรับค่าความเป็นกรดต่างเฉลี่ยของทั้ง 3 สถานี อยู่ในช่วง 7.46-7.71 ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์

มาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดินที่กำหนดโดยกรมควบคุมมลพิษคือ มีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ระหว่าง 5.0-9.0 (กรมควบคุมมลพิษ, 2549)

#### 5.1.1.4 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO)

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำของทั้ง 3 สถานีบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ พบว่า ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำบริเวณกลางแม่น้ำมีค่าสูงสุด รองลงมาคือน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำ และ น้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวมีปริมาณออกซิเจนต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $4.87 \pm 1.13$ ,  $4.50 \pm 1.00$  และ  $4.23 \pm 1.02$  มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดินที่กำหนดโดยกรมควบคุมมลพิษคือ มีค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำไม่น้อยกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2549) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะบริเวณปากแม่น้ำมีระดับน้ำค่อนข้างตื้นและมีคลื่นลมแรงจึงช่วยในการละลายออกซิเจนลงสู่น้ำได้ง่ายขึ้น

#### 5.1.1.5 ค่าบีโอดีของน้ำ

ค่าบีโอดีเป็นค่าที่บอกระดับปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ โดยค่าบีโอดีของน้ำที่มีค่าต่ำที่สุดตรวจพบในเดือนกรกฎาคมจากทั้ง 3 สถานีโดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.40-0.80 มิลลิกรัมต่อลิตร และในเดือนมีนาคม พบว่า มีค่าบีโอดีสูงสุดโดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.70-2.70 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งค่าบีโอดีในระดับดังกล่าวถือว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดินที่กำหนดโดยกรมควบคุมมลพิษคือ ค่าบีโอดีไม่ควรเกิน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2549) และพบว่า ในช่วงฤดูร้อนจะมีค่าบีโอดีสูงกว่าฤดูฝนและฤดูหนาว เนื่องจากฤดูร้อนนั้นมีปริมาณน้ำฝนค่อนข้างน้อยจึงส่งผลให้ปริมาณน้ำในแม่น้ำลดลงในขณะที่เดียวกันของเสียในรูปของสารอินทรีย์ต่าง ๆ จากแหล่งชุมชน แหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งยังคงปล่อยลงสู่แม่น้ำในปริมาณเท่าเดิมประกอบกับอุณหภูมิของน้ำในช่วงฤดูร้อนมีค่าสูงจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาในการสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ ได้เร็วขึ้นส่งผลให้ค่าบีโอดีมีค่าสูง

#### 5.1.1.6 ค่าการนำไฟฟ้า

ค่าการนำไฟฟ้านั้นเป็นค่าที่บอกระดับความสามารถของน้ำในการส่งผ่านกระแสไฟฟ้า จากการตรวจวิเคราะห์ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำเฉลี่ยของทั้ง 3 สถานีบริเวณปากน้ำประแสร์ พบว่า ในเดือนกันยายนมีค่าการนำไฟฟ้าของน้ำเฉลี่ยต่ำที่สุดเท่ากับ  $14.90 \pm 5.20$  ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร และในเดือนสิงหาคมมีค่าการนำไฟฟ้าของน้ำเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ  $54.11 \pm 0.52$  ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร โดยปัจจัยที่มีผลต่อค่าการนำไฟฟ้าคือ ความเข้มข้นของสารที่มีประจุที่ละลายอยู่ในน้ำ ได้แก่ แอนไอออนของคลอไรด์ ไนเตรท ซัลเฟต และฟอสเฟต หรือแคทไอออนของโซเดียม แมกนีเซียม เหล็ก และอะลูมิเนียม (APHA, 1992) จะเห็นได้ว่าในเดือนกันยายนที่มีค่าการนำไฟฟ้าของน้ำเฉลี่ยต่ำที่สุดนั้นเป็นผลมาจากค่าความเค็มของน้ำที่แสดงถึง

ปริมาณของแคทไอออนของโซเดียมและแอนไอออนของคลอไรด์ที่ละลายในน้ำ ซึ่งค่าความเค็มต่ำที่สุดในเดือนกันยายนนั้นเท่ากับ  $5.6 \pm 3.14$  psu จึงส่งผลต่อค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ เช่นเดียวกับเดือนสิงหาคมที่มีค่าการนำไฟฟ้าของน้ำเฉลี่ยสูงที่สุด เนื่องจากมีค่าความเค็มสูงที่สุดเท่ากับ  $32.2 \pm 0.34$  psu

#### 5.1.1.7 ปริมาณแบคทีเรียรวมและปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียในน้ำ

ปริมาณแบคทีเรียรวมสูงสุดในรอบปีตรวจพบในเดือนธันวาคมจากทั้ง 3 สถานี โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.58-78,300 CFU/mL และในเดือนกุมภาพันธ์พบว่าปริมาณแบคทีเรียรวมต่ำที่สุดมีค่าอยู่ในช่วง 3.00-72 CFU/mL โดยตรวจพบปริมาณแบคทีเรียรวมบริเวณริมฝั่งแม่น้ำมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลากระพงขาว และน้ำบริเวณกลางแม่น้ำ ซึ่งชนิดและปริมาณแบคทีเรียในแหล่งน้ำจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมที่แบคทีเรียอาศัยอยู่ ซึ่งการดำรงชีวิตของแบคทีเรียในแหล่งน้ำนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ ธาตุอาหาร ออกซิเจนละลายน้ำ ความเป็นกรดด่าง เป็นต้น (Hoadley & Dulka, 1977) ซึ่งปัจจัยของอุณหภูมินั้นถือเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนและการมีชีวิตอยู่ในสิ่งแวดล้อม แบคทีเรียสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิแตกต่างกัน ซึ่ง Stainer and Adelbery (1976) ได้อธิบายเกี่ยวกับการแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียตามความต้องการช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (psychrophile) สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส กลุ่มที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophile) สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส และกลุ่มที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง (thermophile) สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45-85 องศาเซลเซียส และจากการตรวจวิเคราะห์อุณหภูมิของน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์มีค่าอยู่ในช่วง 28-32.3 องศาเซลเซียส อาจทำให้ปริมาณแบคทีเรียรวมที่ตรวจพบในบริเวณนี้เป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophile) สำหรับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ โคลิฟอร์มแบคทีเรียในรอบปี พบว่าบริเวณริมฝั่งแม่น้ำมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือบริเวณกลางแม่น้ำและบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลากระพงขาวมีปริมาณ โคลิฟอร์มแบคทีเรียต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1,000, 340 และ 22 MPN/100 mL ตามลำดับ ซึ่งการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม โคลิฟอร์มแบคทีเรียนั้นจะเริ่มจากเชื้อที่มีอยู่ในตัวของผู้ป่วยที่เป็นโรคในระบบทางเดินอาหารหรือเป็นพาหะของโรคถูกขับออกมาพร้อมอุจจาระแล้วปนเปื้อนไปกับน้ำและดินใต้ น้ำ หรือภายหลังจากฝนตกแบคทีเรียจะซึมมาตามน้ำใต้ดิน เช่น ส้วมซึมหรือส้วมหลุม ซึ่งการปนเปื้อนจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำฝน ลักษณะภูมิประเทศ และชนิดของดิน (Gleeson & Gray, 1997) จากลักษณะของแหล่งชุมชนบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ที่อยู่ติดกับริมฝั่งแม่น้ำและมีการใช้ส้วมซึมอาจส่งผลให้มีโอกาสในการปนเปื้อนแบคทีเรียในกลุ่ม

โคลิฟอร์มแบคทีเรียลงในแม่น้ำได้ จึงทำให้บริเวณริมฝั่งแม่น้ำนั้นมีการตรวจพบปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียสูงกว่าบริเวณกลางแม่น้ำและบริเวณกระซังเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว โดยปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียมีค่าสูงสุดจากทั้ง 3 สถานีตรวจพบในเดือนกันยายนโดยมีค่าอยู่ในช่วง 160-1,600 MPN/100 mL และในเดือนมีนาคมพบว่ามีปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียต่ำที่สุดจากทั้ง 3 สถานีมีค่าเท่ากับ 2 MPN/100 mL ซึ่งปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียทั้งหมดที่ตรวจพบจากทั้ง 3 สถานีนั้นถือว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดินที่กำหนดโดยกรมควบคุมมลพิษคือ ไม่ควรเกิน 20,000 MPN/100 mL (กรมควบคุมมลพิษ, 2549)

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา จากตัวอย่างน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง และทำการประเมินระดับของคุณภาพน้ำจากระบบฐานข้อมูลคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินของกรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม สรุปผลได้ดังตารางที่ 5-1

ตารางที่ 5-1 ระดับคุณภาพของน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ.ระยอง ในปี พ.ศ. 2555

ดัชนีคุณภาพน้ำ	หน่วย	ค่าเฉลี่ยที่ตรวจวัดในปี พ.ศ. 2555	ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดิน	ระดับคุณภาพน้ำ
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	-	7.60	5.00-9.00	ดี
ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO)	mg/L	4.54	≥ 4.00	พอใช้
ค่าบีโอดี	mg/L	1.57	≤ 2.00	พอใช้
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย	MPN/100 ml	553	≤ 20,000	ดี

จากผลสรุประดับคุณภาพของน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ.ระยอง นั้นผ่านเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพแหล่งน้ำผิวดินประเภทที่ 2 คือเป็นแหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทั้งจากกิจกรรมบางประเภทแต่สามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการอุปโภค การอนุรักษ์สัตว์น้ำและการประมงชายฝั่งได้ (กรมควบคุมมลพิษ, 2549)

5.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เคมีและจุลชีววิทยากับปริมาณของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากระพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง

5.2.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เคมีและจุลชีววิทยากับปริมาณของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำ

#### 5.2.1.1 สถานีริมฝั่งแม่น้ำ

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ กับปริมาณของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำพบความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันระหว่างปริมาณของ *V. cholerae* กับอุณหภูมิในน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยอุณหภูมิของน้ำบริเวณริมฝั่งแม่น้ำอยู่ในช่วง 27.8-32.2 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ *Vibrio* spp. สามารถเจริญได้ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophile) และเจริญได้ในพื้นที่ชายฝั่งทะเลเขตร้อน (HERVIO-HEATH et al., 2002) และ *V. cholerae* นั้นสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 16-42 องศาเซลเซียส (Volk and Wheeler, 1988) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิของน้ำกับปริมาณของ *V. cholerae* ได้มีรายงานการวิจัยของ Blackwell and Oliver (2008) ที่ศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมและการแพร่กระจายของเชื้อ *V. vulnificus*, *V. cholerae* และ *V. parahaemolyticus* บริเวณปากแม่น้ำในรัฐนอร์ทแคโรไลนา สหรัฐอเมริกา พบความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิของน้ำบริเวณปากแม่น้ำกับปริมาณของ *V. cholerae* มีความสัมพันธ์เชิงบวกหรือแปรผันตามกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

#### 5.2.1.2 สถานีกลางแม่น้ำ

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ กับปริมาณของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณกลางแม่น้ำพบความสัมพันธ์แบบแปรผันกันระหว่างปริมาณของ *V. cholerae* กับค่าความเค็มในน้ำ ค่าการนำไฟฟ้า ค่าความเป็นกรดต่างและค่าออกซิเจนละลายน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค็มในน้ำกับปริมาณของ *V. cholerae* นั้น ได้มีรายงานการวิจัยของ Jiang and Fu (2001) ที่ศึกษาอิทธิพลของฤดูกาลและการแพร่กระจายของเชื้อ *V. cholerae* บริเวณลุ่มน้ำนิวยอร์ก รัฐแคลิฟอเนีย สหรัฐอเมริกา พบความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค็มกับปริมาณของ *V. cholerae* มีความสัมพันธ์เชิงลบหรือแปรผันกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยของ Kaper et al. (1979) ที่ได้ศึกษานิเวศวิทยาและการสร้างสาร enterotoxin ของ *V. cholerae* ในอ่าวเซซาพิค สหรัฐอเมริกาพบความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดต่างของน้ำกับปริมาณของ

*V. cholerae* มีความสัมพันธ์เชิงลบหรือแปรผกผันกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.89 สำหรับความสัมพันธ์ของค่าออกซิเจนละลายน้ำกับปริมาณ *V. cholerae* ได้มีรายงานของวิจัยของ Blackwell and Oliver (2008) เช่นกันที่พบความสัมพันธ์ระหว่างค่าออกซิเจนละลายน้ำกับปริมาณของ *V. cholerae* มีความสัมพันธ์เชิงลบหรือแปรผกผันกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ -0.4316

### 5.2.1.3 สถานีกระชังเพาะเลี้ยงปลา

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้านต่าง ๆ กับปริมาณของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างน้ำบริเวณกระชังเพาะเลี้ยงปลาพบความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันระหว่างปริมาณของ *V. parahaemolyticus* กับค่าความเค็มและค่าการนำไฟฟ้าในน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค็มในน้ำกับปริมาณของ *V. parahaemolyticus* นั้นได้มีรายงานการวิจัยของ Johnson et al. (2010) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับแบคทีเรียก่อโรคในสกุล *Vibrio* spp. บริเวณตอนเหนือของอ่าวแม็กซิโก พบความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค็มกับปริมาณของ *V. parahaemolyticus* มีความสัมพันธ์เชิงบวกหรือแปรผันตามกัน โดยค่าความเค็มที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 3-35 psu

### 5.2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เคมีและจุลชีวิวิทยากับปริมาณของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากระพงขาว

จากการตรวจพบชนิดของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากระพงขาวที่พบมากที่สุดได้แก่ *V. cholerae* คิดเป็นร้อยละ 76.47 รองลงมาคือ *V. alginolyticus* คิดเป็นร้อยละ 63.77 และ *V. parahaemolyticus* คิดเป็นร้อยละ 51.16 ซึ่งมีรายงานการวิจัยของ Lee et al. (2010) ได้ศึกษาอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในแหล่งน้ำที่เพาะเลี้ยงปลากระพงขาว รัฐตรังگانู ประเทศมาเลเซีย พบว่าในแหล่งน้ำที่เพาะเลี้ยงปลากระพงขาวตรวจพบแบคทีเรียในสกุล *Salmonella* spp มากที่สุด รองลงมาคือ *Vibrio* spp., *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli.*, *Aeromonas* spp. และ *Edwardsiella tarda* ตามลำดับ สำหรับการตรวจพบชนิดของ *Vibrio* spp. จากปลากระพงขาวนั้นมีรายงานการวิจัยของ รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์ (2539) ได้ศึกษาแบคทีเรียที่เข้าทำลายปลากระพงขาว โดยนำปลากระพงขาวที่ป่วยเป็นโรคและไกล่ตายมาตรวจหาชนิดของแบคทีเรียที่เข้าทำลายหรือทำให้เกิดการติดเชื้อ จำนวน 39 ตัวอย่าง โดยสำรวจจากฟาร์มเลี้ยงในจังหวัดระยอง ชลบุรีและฉะเชิงเทรา รวมทั้งจากสถานเลี้ยงสัตว์น้ำเค็มของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล แยกเชื้อจากเนื้อเยื่อตับ ไตและหัวใจ ตลอดจนบริเวณบาดแผล พบเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคและอาการป่วยของปลารวมทั้งหมดอย่างน้อย 8 สกุลจากเชื้อที่แยกทั้งหมดจำนวน 182 ไอโซเลท (isolates) ได้แก่

*V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. campbellii*, *V. cholerae*, *V. fluvialis* I&L, *V. harveyi*, *V. metschnikovii*, *V. splendidus*, *V. vulnificus*, *Aeromonas* sp., *Hafnia* sp., *Haemophilus* sp., *Streptococcus* sp., *Edwardsiella* sp., *Pseudomonas* sp., *Plesiomonas* sp. และ unidentified species โดยส่วนใหญ่พบว่าปลากระพงขาวที่ป่วยและตายในที่สุดนั้น มักมีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรียหนึ่งชนิดหรือสองสามชนิดขึ้นไป นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Sulumane et al. (2013) ได้ศึกษาการติดเชื้อ *V. alginolyticus* ในปลากระพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง ของประเทศอินเดีย โดยการเก็บตัวอย่างบริเวณผิวและเหงือก รวมทั้งอวัยวะภายในของปลา ได้แก่ ตับ ไต ม้าม สมอ และเส้นเลือด ซึ่งพบการติดเชื้อ *V. alginolyticus* บริเวณตับ ไต และม้ามของปลากระพงขาว และรายงานการวิจัยของ Sadok et al. (2013) ที่ศึกษาความรุนแรงของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากปลากระพงขาว ในช่วงที่มีการแพร่ระบาดของโรคในปลา โดยการเก็บตัวอย่างบริเวณผิว ตับ ม้าม และไต ซึ่งพบการติดเชื้อ *V. parahaemolyticus* บริเวณผิวและตับของปลา สำหรับการศึกษความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับปริมาณของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากระพงขาว พบว่า ปริมาณของ *V. alginolyticus* มีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าบีโอดีในน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ปริมาณของ *V. cholerae* มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกันกับค่าความเค็ม ค่าการนำไฟฟ้า และค่าความเป็นกรดต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) และปริมาณของ *V. parahaemolyticus* มีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าออกซิเจนละลายน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) ซึ่งจากรายงานวิจัยของ Hormansdorfer et al. (2000) ได้กล่าวว่า *V. cholerae* และ *V. alginolyticus* เป็นชนิดของแบคทีเรียก่อโรคที่มีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคในปลาทะเล หอย และกุ้ง สำหรับอุบัติการณ์ของ *V. parahaemolyticus* ได้มีรายงานการวิจัยของ Nithya et al. (2007) พบว่า อุบัติการณ์ของ *V. parahaemolyticus* สามารถตรวจพบได้ในแหล่งน้ำทะเลและแหล่งน้ำกร่อย เนื่องจาก *V. parahaemolyticus* เจริญได้ในแหล่งน้ำที่มีช่วงของค่าความเค็มค่อนข้างกว้าง และยังตรวจพบการปนเปื้อนในหอยและปลาทะเลที่เพาะเลี้ยงบริเวณริมฝั่ง และจากการศึกษาของ Martinez-Urtaza et al. (2008) ได้กล่าวว่า สภาพแวดล้อมในแหล่งน้ำที่ทำการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อบริโภค (อุณหภูมิของน้ำ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณแพลงก์ตอนพืช ความเป็นกรดต่าง ปริมาณแสง และปริมาณธาตุอาหาร เช่น ฟอสฟอรัส ในโตรเจน) สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงและก่อให้เกิดแบคทีเรียก่อโรคในแหล่งน้ำนั้นได้ และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศและฤดูกาลที่มีอุณหภูมิสูงขึ้นบริเวณชายฝั่งทะเลในทวีปยุโรปของ Caburlotto et al. (2008) ได้รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate change) อาจส่งผลต่อการเพิ่มการแพร่กระจายของแบคทีเรียก่อโรคในสกุล *Vibrio* spp. ในแหล่งน้ำ



### 5.3 ผลการศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากระพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง

จากการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. แต่ละชนิดที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำจำนวน 44 ไอโซเลท และตัวอย่างปลากระพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชัง จำนวน 46 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 90 ไอโซเลท พบว่า *V. alginolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลท มีผลไว (Sensitive) ต่อยา cefotaxime, ciprofloxacin, norfloxacin, co-trimoxazole, gentamicin, rifampicin, nitrofurantoin และ chloramphenicol และพบว่า *V. alginolyticus* มีผลคือ (Resistant) ต่อยา ampicillin จำนวน 24 ไอโซเลท ยา aztreonam จำนวน 2 ไอโซเลท และยา tetracycline จำนวน 1 ไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Cristina et al. (2014) ที่ได้ศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. ที่แยกได้จากเขตเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่าง ๆ ในทวีปยุโรป พบว่า *V. alginolyticus* มีผลคือต่อยา aztreonam, ampicillin, tetracycline, streptomycin และ cefoxitin

*V. cholerae* จำนวน 30 ไอโซเลท มีผลไวต่อยา cefotaxime, cefoxitin, ciprofloxacin, norfloxacin, rifampicin, gentamicin, tetracycline และ chloramphenicol และพบว่า *V. cholerae* มีผลคือต่อยา ampicillin จำนวน 3 ไอโซเลท aztreonam จำนวน 3 ไอโซเลท และ co-trimoxazole จำนวน 2 ไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Francisca et al. (2014) ที่ได้ศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *V. cholerae* ที่ตรวจจากปากแม่น้ำทางตอนเหนือของประเทศบราซิล พบว่า *V. cholerae* ทุกไอโซเลทที่ตรวจพบไวต่อยา gentamicin, tetracycline, ciprofloxacin และ chloramphenicol

*V. parahaemolyticus* จำนวน 30 ไอโซเลท มีผลไวต่อยา cefotaxime, chloramphenicol, rifampicin, gentamicin, tetracycline และ nitrofurantoin และพบว่า *V. parahaemolyticus* มีผลคือต่อยา ampicillin จำนวน 9 ไอโซเลท aztreonam จำนวน 6 ไอโซเลท co-trimoxazole จำนวน 2 ไอโซเลท ciprofloxacin จำนวน 1 ไอโซเลท norfloxacin จำนวน 1 ไอโซเลท และ tetracycline จำนวน 1 ไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Bhattacharya et al. (2000) ที่ศึกษาการคือต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. ที่แยกได้จากฟาร์มเลี้ยงกุ้ง พบว่า *V. parahaemolyticus* ไวต่อยา nalidixic acid และ nitrofurantoin แต่คือต่อยา ampicillin

จากผลของความไวต่อยาปฏิชีวนะ cefotaxime, chloramphenicol, rifampicin และ gentamicin ของ *V. alginolyticus*, *V. cholerae* และ *V. parahaemolyticus* ทั้ง 90 ไอโซเลทที่นำมาทดสอบ เนื่องจากยา chloramphenicol และ gentamicin เป็นยาในกลุ่มที่มีกลไกในการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย ส่วนยา rifampicin เป็นยาในกลุ่มที่มีกลไกในการยับยั้งการ

สังเคราะห์ RNA และยา cefotaxime เป็นยาในกลุ่ม  $\beta$ -lactam ที่มีกลไกในการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (Pasqualina et al., 2011) ส่วนผลของการดื้อ (Resistant) ต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin ของ *V. alginolyticus*, *V. cholerae* และ *V. parahaemolyticus* จำนวน 36 ไอโซเลท และ ยา aztreomam จำนวน 11 ไอโซเลท ซึ่งยาปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิดนี้อยู่ในกลุ่ม  $\beta$ -lactam ที่มีกลไกในการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแต่ไม่สามารถที่จะออกฤทธิ์ได้เนื่องจากแบคทีเรียมีการสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคแทมเมส (Beta lactamase) ซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญที่สุดเพราะเป็นเอนไซม์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมาเพื่อต่อต้านฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ (Renata et al., 2015) และได้มีรายงานวิจัยของ Jun et al. (2012) ที่ตรวจหา beta-lactamase gene ที่ทำให้ดื้อต่อยา ampicillin จาก *Vibrio* spp. ในประเทศเกาหลี โดยตรวจพบ beta-lactamase gene ใน *V. alginolyticus* จำนวน 3 ไอโซเลทจากทั้งหมด 36 ไอโซเลท ที่แยกได้จากแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำบนเกาะโกเจ

มีรายงานวิจัยของ Manfrin et al. (2009) ได้รายงานว่าในประเทศอิตาลีนั้นมีการอนุญาตให้ใช้ยาปฏิชีวนะ amoxicillin, flumequine, oxytetracycline, tetracycline และ sulfadiazine+ trimethoprim ในการควบคุมโรคในสัตว์น้ำ สำหรับประเทศไทยมีการใช้ยาปฏิชีวนะในการควบคุมโรคสัตว์น้ำเช่นกัน ซึ่งในอดีตนิยมใช้เกลือ, Formalin, Copper sulphate ต่อมาในปี พ.ศ.2548 จึงเริ่มใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจากแบคทีเรียโดยยากกลุ่มแรกที่ใช้ คือกลุ่มยาซัลฟา โดยยาซัลฟาเมอราซีน (Sulfamerazine) จัดว่าเป็นยาปฏิชีวนะชนิดแรกที่มีการแนะนำให้ใช้ในสหรัฐอเมริกา และได้รับการขึ้นทะเบียนให้ใช้เป็นยารักษาโรค Furunculosis ในสัตว์น้ำ ในปัจจุบันการขึ้นทะเบียนยาปฏิชีวนะที่รักษาโรคในสัตว์น้ำนั้นอยู่ภายใต้การควบคุม ของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข โดยยาที่อนุญาตให้ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของประเทศไทย ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 303 พ.ศ.2550 มีทั้งหมด 3 ชนิด คือ

- 1). ยาในกลุ่ม Chlortetracycline, Oxytetracycline และ Tetracycline
- 2). ยา Deltamethrin
- 3). Flumequine

สำหรับยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของประเทศไทย ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 299) พ.ศ. 2549 มีทั้งหมด 3 ชนิด คือ

- 1). Chloramphenicol
- 2). สารในกระบวนการสร้างและสลายของกลุ่มไนโตรฟิวแรนส์ (Nitrofurans metabolites)
- 3). มาลาไคต์ กรีน (Malachite Green) และเกลือของสาร และสารในกระบวนการสร้างและสลาย (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข, 2555)

ดังนั้น ผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงควรให้นักวิชาการประมงหรือผู้เชี่ยวชาญวินิจฉัยโรคที่เกิดในสัตว์น้ำพร้อมทั้งผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำควรรู้เรื่องยาที่ใช้ก่อนการเลือกยาปฏิชีวนะมารักษาให้เหมาะสมกับโรคและควรมีการจัดการควบคุมคุณภาพน้ำที่ถูกต้องควบคู่ไปด้วย

**5.4 ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์มและการสร้างเอ็นไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและตัวอย่างปลากระพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชังบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง**

#### 5.4.1 ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง

จากการทดสอบความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่า *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* มีการสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์ (beta-hemolysis) สอดคล้องกับรายงานของ Sabir et al. (2012) ได้ศึกษาลักษณะของ *V. alginolyticus* ที่ควบคุมโดยยีน *trh* ซึ่งแยกได้จากสิ่งแวดล้อม พบว่า สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์ (beta-hemolysis) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Wagatsuma blood agar นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับ *V. parahaemolyticus* ชนิดที่มีความรุนแรงก่อโรคในคน ได้แก่ สายพันธุ์ (serotype) O3:K6 ที่ทำให้เกิดการระบาดทั่วโลก ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารโดยเฉพาะอาหารทะเลที่มีการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าว ปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของเชื้อคือ มียีน *idh* ที่สร้างสารพิษ Thermostable direct hemolysin (TDH) จัดเป็น pore-forming toxin ที่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์ (beta-hemolysis) ทำให้เกิดรูบนเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงส่งผลให้เซลล์แตกและเกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ (Satoshi et al., 2014) และ *V. cholerae* biotype El Tor ที่มีความทนทานต่อสารเคมีและทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ดี สามารถสร้างเอ็นไซม์ฮีโมไลซิน (Hemolysin) ที่ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงได้โดยมีลักษณะการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงเป็นแบบ beta-hemolysis เช่นกัน (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2547) และเมื่อทำการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิต่อการสลายเม็ดเลือดแดงของ *Vibrio* spp. ทั้ง 90 ไอโซเลททางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า อุณหภูมิในการเจริญต่างกัน มีผลต่อการสลายเม็ดเลือดแดงของ *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* แตกต่างกันด้วย ( $p$ -value = 0.016, 0.000 และ 0.000) ตามลำดับ ซึ่งมีรายงานวิจัยของ Springer and Goebel (1980) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสร้างเอ็นไซม์ฮีโมไลซิน (Hemolysin) ของ *Escherichia coli* พบว่า ร้อยละ 50 ของ *E. coli* ที่ทดสอบสามารถสร้างเอ็นไซม์ฮีโมไลซิน (Hemolysin) ได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และร้อยละ 25 ของ *E. coli* ที่ทดสอบสามารถสร้าง

เอนไซม์ฮีโมไลซิน (Hemolysin) ได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 20 และ 10 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยของ Siriporn (2000) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสร้างเอนไซม์ฮีโมไลซิน (Hemolysin) ของ *V. parahaemolyticus* โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิต่างกัน คือ 4, 10, 20, 25, 30, 35 และ 42 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส *V. parahaemolyticus* สามารถผลิตเอนไซม์ฮีโมไลซิน (Hemolysin) ได้หลังจากเจริญที่ 10 และ 12 ชั่วโมง ในขณะที่อุณหภูมิที่สูงขึ้นคือ 20, 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส สามารถผลิตเอนไซม์ฮีโมไลซิน (Hemolysin) ได้หลังจากเจริญที่ 6 และ 8 ชั่วโมง โดย *V. parahaemolyticus* สามารถผลิตเอนไซม์ฮีโมไลซิน (Hemolysin) ได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และต่ำสุดที่อุณหภูมิ 4, 10 และ 42 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองดังกล่าว จะเห็นได้ว่า สัตว์น้ำที่นำมาเป็นอาหารนั้นหากมีการปนเปื้อนของเชื้อและผ่านการให้ความร้อนได้ไม่เพียงพออาจทำให้เชื้ออยู่ในสภาวะที่สามารถผลิตเอนไซม์ฮีโมไลซินก่อให้เกิดความรุนแรงในโรคติดเชื้อที่เกิดจากอาหารเป็นสื่อ (foodborne disease) ได้

#### 5.4.2 ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์ม

จากผลการทดสอบความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ของ *Vibrio* spp. แต่ละสายพันธุ์ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำจำนวน 19 ไอโซเลท และตัวอย่างปลากะพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชัง จำนวน 16 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 35 ไอโซเลท โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง พบว่า ที่ระยะการเจริญ 24 ชั่วโมง *Vibrio* spp. สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ดีกว่าที่ระยะการเจริญ 48 ชั่วโมง สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ คำเกิง บัณฑิตอมร และสุตสาข ตริวานิช (2553) ได้ศึกษาแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มโดยคัดแยกจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่เยือกแข็ง พบแบคทีเรียกลุ่ม Coliform และ Enterococci จำนวน 44 ไอโซเลท *Listeria* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท *Salmonella* spp. จำนวน 19 ไอโซเลท *Vibrio* spp. จำนวน 15 ไอโซเลท และแบคทีเรียที่ไม่สามารถจำแนกได้อีก 261 ไอโซเลท เมื่อทดสอบความสามารถในการสร้างฟิล์มชีวภาพที่ระยะการเจริญต่างกันคือ 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่า ที่ระยะการเจริญ 24 ชั่วโมง แบคทีเรียสามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ดีกว่าที่ระยะการเจริญ 48 ชั่วโมง สำหรับแหล่งน้ำที่มี *Vibrio* spp. สามารถสร้างไบโอฟิล์มสูง คือ น้ำบริเวณกระชังปลา โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับ อยู่ในช่วง 1.22-1.68 และบริเวณเหนืออกของปลากะพงขาวนั้นพบ *Vibrio* spp. ที่สามารถสร้างไบโอฟิล์มสูง โดยมีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.57-1.37 เมื่อทำการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิที่แตกต่างกันคือ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ต่อการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. ทั้ง 35

ไอโซเลท พบว่า ที่ระยะเวลาการเจริญเดียวกัน อุณหภูมิที่แตกต่างกันทั้ง 3 ระดับนั้น ไม่มีผลต่อการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. ทั้ง 35 ไอโซเลทที่ทดสอบ ( $p$ -value = 0.857) มีรายงานการประหลูมเกี่ยวกับจุลชีววิทยาด้านอาหารระหว่างประเทศ (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) ในปี 1990 กล่าวว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของ *V. parahaemolyticus* คือ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเท่ากับอุณหภูมิในร่างกายมนุษย์และอาจก่อให้เกิดความรุนแรงได้ในผู้ที่รับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อน *V. parahaemolyticus* เข้าสู่ร่างกาย มีรายงานวิจัยของ Watnick and Kolter (1999) ได้อธิบายการสร้างไบโอฟิล์มของ *V. cholerae* ที่มี Flagella เป็นโครงสร้างที่สำคัญในการนำแบคทีเรียมาสัมผัสกับพื้นผิวและโปรตีนของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (outer membrane protein, ONPs) ก็มีบทบาทในการช่วยให้แบคทีเรียมายึดเกาะกับพื้นผิวด้วยเช่นกัน ซึ่ง *V. cholerae* จะผลิตสารพอลิเมอร์ (exopolymeric substances, EPS) ออกมา คือ Vibrio polysaccharide หรือ VPS ที่ช่วยให้เสถียรภาพของการยึดเกาะกับพื้นผิวในระยะเริ่มต้นดีขึ้นและยังช่วยพัฒนาโครงสร้างของไบโอฟิล์มให้สมบูรณ์ เนื่องจากมีการศึกษาพบว่า *V. cholerae* สายพันธุ์ที่ไม่สามารถผลิต EPS จะไม่สามารถสร้างไบโอฟิล์มที่มีโครงสร้างปกติได้ และมีรายงานวิจัยของ Yildiz and Schoolnik (1999) ได้ศึกษาการสร้างไบโอฟิล์มของ *V. cholerae* สายพันธุ์ที่ผลิต EPS ได้น้อย พบว่า ลักษณะของไบโอฟิล์มที่สร้างนั้นบางมากและไม่สมบูรณ์ จะเห็นได้ว่า *Vibrio* spp. ที่แยกได้จากแหล่งน้ำและปลากระพงขาวถือได้ว่าเป็นตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม แบคทีเรียจึงจำเป็นต้องสร้างไบโอฟิล์มเพื่อการอยู่รอดได้ในสิ่งแวดล้อมที่มีปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรดด่าง เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ทำให้แบคทีเรียเกิดความเครียดหรือกดดัน รวมทั้งการถูกล่าโดยโปรโตซัวหรือแม้แต่พวกแบคทีเรียโอฟาจที่อยู่สิ่งแวดล้อม (Huq et al. 2008)

#### 5.4.3 ผลของอุณหภูมิต่อการสร้างเอนไซม์ $\beta$ -lactamase

จากการทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ของ *Vibrio* spp. สายพันธุ์ที่คือต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม  $\beta$ -lactam จากการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ ซึ่งเป็นไอโซเลทจากตัวอย่างน้ำจำนวน 14 ไอโซเลท และตัวอย่างปลากระพงขาวที่เพาะเลี้ยงในกระชัง จำนวน 9 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 23 ไอโซเลท พบว่า ที่อุณหภูมิ 28 และ 30 องศาเซลเซียส มี *Vibrio* spp. ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ได้มากที่สุด ( $OD_{486} = 1.280$  และ  $1.269$ ) คือ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากบริเวณเหงือกและครีบของปลากระพงขาว ซึ่งมีรายงานของ Debell et al. (1978) ได้ศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิในการเจริญต่อการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ของ

*V. parahaemolyticus* ที่คือต่อยา penicillin พบว่า ที่อุณหภูมิในการเจริญแตกต่างกัน คือ 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 และ 40 องศาเซลเซียส *V. parahaemolyticus* มีการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ได้สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส ที่ช่วงความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 6.5-7.0

นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิต่อการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. ทั้ง 23 ไอโซเลท ทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 พบว่า ที่อุณหภูมิในการเจริญต่างกันมีผลต่อการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P$ -value = 0.002) สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Cullmann and Dick (1990) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ในแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน พบว่า ที่อุณหภูมิ 28 และ 32 องศาเซลเซียสแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนที่ทดสอบมีการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ได้สูงที่สุด และไม่ตรวจพบที่มีการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ซึ่งความไวต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม beta-lactams ของแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนนั้น จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการเจริญ หากอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูงมากก็จะทำให้ความสามารถในการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -lactamase ลดลง

## 5.2 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่ออุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง ตั้งแต่เดือนมกราคม-เดือนธันวาคม พ.ศ. 2555 โดยการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำด้านต่าง ๆ การตรวจหาอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. จากตัวอย่างปลากระชังที่เลี้ยงในกระชังและตัวอย่างน้ำทั้ง 3 สถานี ได้แก่ ริมฝั่งแม่น้ำ กลางแม่น้ำ กระชังเพาะเลี้ยงปลา และหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ กับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. พบว่า ระดับคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดินของบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จ.ระยอง นั้นผ่านเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพแหล่งน้ำผิวดินประเภทที่ 2 คือ แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภท แต่สามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการอุปโภค การอนุรักษ์สัตว์น้ำและการประมงชายฝั่งได้ โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยอยู่ที่ 7.6 อยู่ในระดับดี ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) เฉลี่ยอยู่ที่ 4.54 mg/L อยู่ในระดับพอใช้ ค่าบีโอดีเฉลี่ยอยู่ที่ 1.57 mg/L อยู่ในระดับพอใช้ และค่าปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียเฉลี่ยอยู่ที่ 533 MPN/100 mL อยู่ในระดับดี อุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำทั้ง 3 สถานี ได้แก่ *V. cholerae*, *V. alginolyticus* และ *V. parahaemolyticus* โดยสถานีริมฝั่งแม่น้ำนั้นพบความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันระหว่างปริมาณของ *V. cholerae* กับอุณหภูมิในน้ำ สถานีกลางแม่น้ำพบความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกันระหว่างปริมาณของ *V. cholerae* กับค่าความเค็มในน้ำ

ค่าการนำไฟฟ้า ค่าความเป็นกรดต่างและค่าออกซิเจนละลายน้ำ และสถานีกระชังเพาะเลี้ยงปลาพบความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันระหว่างปริมาณของ *V. parahaemolyticus* กับค่าความเค็มและค่าการนำไฟฟ้าในน้ำ สำหรับอุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบจากตัวอย่าง (specimen) บริเวณเหนืออก ครีบและไส้ปลากระพงขาวที่เลี้ยงในกระชัง ได้แก่ *V. cholerae*, *V. alginolyticus* และ *V. parahaemolyticus* โดยปริมาณของ *V. cholerae* มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกันกับค่าความเค็ม ค่าการนำไฟฟ้าและค่าความเป็นกรดต่างในน้ำ ปริมาณของ *V. alginolyticus* มีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าบีโอดีในน้ำและปริมาณของ *V. parahaemolyticus* มีความสัมพันธ์แบบแปรผันตามกันกับค่าออกซิเจนละลายน้ำ จากนั้นได้ศึกษาความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและปลากระพงขาว พบว่า *V. alginolyticus*, *V. cholerae* และ *V. parahaemolyticus* ทั้ง 90 ไอโซเลทที่นำมาทดสอบมีความไว (Sensitive) ต่อยาปฏิชีวนะ cefotaxime, chloramphenicol, rifampicin และ gentamicin และคือ (Resistant) ต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin จำนวน 36 ไอโซเลท และ aztreonam จำนวน 11 ไอโซเลท และศึกษาความรุนแรงในการก่อโรคของ *Vibrio* spp. บางไอโซเลทที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำและปลากระพงขาวโดยการทดสอบผลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดง การสร้างไบโอฟิล์มและการสร้างเอ็นไซม์  $\beta$ -lactamase พบว่า อุณหภูมิในการเจริญมีผลต่อความสามารถในการสลายเม็ดเลือดแดงของ *Vibrio* spp. ( $p$ -value = 0.016) โดยอุณหภูมิในการเจริญที่ 35 องศาเซลเซียส *V. alginolyticus* สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้แตกต่างจากอุณหภูมิในการเจริญที่ 28 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.025) และ 30 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.048) ที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28 องศาเซลเซียส *V. cholerae* สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้แตกต่างจากอุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 30 และ 35 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.000) และที่อุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 28 องศาเซลเซียส *V. parahaemolyticus* สามารถสลายเม็ดเลือดแดงได้แตกต่างจากอุณหภูมิในการเจริญเท่ากับ 30 และ 35 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.000) สำหรับความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มนั้น พบว่า ที่ระยะเวลาการเจริญเดียวกัน อุณหภูมิในการเจริญที่แตกต่างกันคือ 28, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการสร้างไบโอฟิล์มของ *Vibrio* spp. ทั้ง 35 ไอโซเลทที่ทดสอบ ( $p$ -value = 0.857) และความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์  $\beta$ -lactamase พบว่า อุณหภูมิในการเจริญมีผลต่อการสร้างเอ็นไซม์  $\beta$ -lactamase ของ *Vibrio* spp. ( $p$ -value = 0.002) โดยอุณหภูมิในการเจริญที่ 28 องศาเซลเซียส *Vibrio* spp. จะสร้างเอ็นไซม์  $\beta$ -lactamase ได้แตกต่างจากอุณหภูมิในการเจริญที่ 30 และ 35 องศาเซลเซียส ( $p$ -value = 0.002 และ 0.018)

## บรรณานุกรม

- กรมควบคุมมลพิษ. (2549). รายงานสถานการณ์มลพิษของประเทศไทย 2549. กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ.
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2545). ความหลากหลายทางชีวภาพของพื้นที่ลุ่มน้ำประแสร์. เข้าถึงได้จาก <http://marinegiscenter.dmcg.go.th>
- เครือข่ายลุ่มน้ำประแสร์. (2554). ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับประแสร์. เข้าถึงได้จาก <http://www.prasae.com>
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. (2555). ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial agents). เข้าถึงได้จาก <http://www.fisheries.go.th/quality>
- จิราพร จันทสิทธิ์. (2550). การสำรวจแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio spp.* ที่ก่อโรคในน้ำทะเลและหอยนางรมบริเวณปากแม่น้ำท่าแฉลบ จังหวัดจันทบุรี. ปัญหาพิเศษ, สาขาเทคโนโลยีทางทะเล, คณะเทคโนโลยีทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ดวงพร คันชโชติ. (2545). นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- คำเกิง บัณฑิตอมร และสุตสาย ตริวานิช. (2553). การใช้ Micro-titer Plate สำหรับคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างฟิล์มชีวภาพจากแหล่งที่มีความเสี่ยงสูงของโรงงานอาหารทะเลแช่เยือกแข็ง. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 (หน้า 585-591). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. (2547). จุลชีววิทยาทั่วไป (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2547). แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. (2534). จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ประภาศิริ ศรีโสภรณ์. (2538). โรคและพยาธิของสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: ไร่เขียว.
- เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต. (2536). แหล่งน้ำกับปัญหามลพิษ. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พิพัฒน์ ศรีเบจดีกานต์ และอรุณลักษณ์ ลุดินานนท์. (2540). แบคทีเรียวิทยาคลินิก. ขอนแก่น: ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะเทคนิคการแพทย์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- มันสิน ตันฑูเวศม์. (2540). คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. กรุงเทพฯ: ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม, คณะวิศวกรรมศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.



- มนูวดี หังสพฤกษ์. (2532). *สมุทรศาสตร์เคมี*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รัตนารักษ์ ศรีวิบูลย์. (2539). *แบคทีเรียที่เข้าทำลายปลากระพงขาว (Lates calcalifer)*. งานวิจัย มหาวิทยาลัยบูรพา. เข้าถึงได้จาก <http://www.lib.buu.ac.th/buuir/research/node/1099>
- วรรณนิสา เกตุแก้ว. (2550). *การศึกษาหาปริมาณ โคลิฟอร์มแบคทีเรียที่มีอยู่ในน้ำและหอยนางรม บริเวณปากแม่น้ำท่าเสา จังหวัดจันทบุรี*. ปัญหาพิเศษ, สาขาเทคโนโลยีทางทะเล, คณะเทคโนโลยีทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- วีรานุช หลาง. (2554). *จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม (พิมพ์ครั้งที่ 2)*. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- ศิริพรรณ สารินทร์. (2550). *จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ สามลดา.
- ศุภยงค์ วรวิมลคุณชัย. (2547). *ภาวะติดเชื้อ Molecular Cellular and Clinical basis*. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา กรมอุตุนิยมวิทยา. (2555). *รายงานปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในพื้นที่ภาคตะวันออก ประจำปี พ.ศ. 2555*. เข้าถึงได้จาก <http://www.tmd.go.th>
- ศูนย์ประสานการจัดการการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ. (2550). *Climate Change: การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ*. เข้าถึงได้จาก <http://www.onep.go.th/CDM/cmc.html>
- สโมสรนิสิตคณะประมง. (2531). *การเพาะเลี้ยงปลากระพงขาว (หลักการและแนวปฏิบัติ)*. กรุงเทพฯ: ช่อมนนทรี.
- สารานุกรมวัฒนธรรมไทย ภาคใต้. (2542). *ปลากระพงขาว*. เข้าถึงได้จาก <http://www.culture.nstru.ac.th>
- สิทธิชัย ดันชนะศุภย์. (2549). *ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับคุณภาพน้ำ*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อนุกุล บุรณประทีปรัตน์ และเชษิต โชค จินตเศรษฐี. (2555). *การศึกษาคุณภาพน้ำทะเลบริเวณปากแม่น้ำบางปะกง พ.ศ 2545*. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา มหาวิทยาลัยบูรพา*, 17(2), 116-129.
- APHA. (1992). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (18<sup>th</sup> ed.). American Public Health Association, Washington, D.C.
- Banakar, V., Constantin de Magny, G., Jacobs, J., Murtugudde, R., Huq, A., Wood, R.J., & Colwell, R.R. (2012). Temporal and spatial variability in the distribution of *Vibrio vulnificus* in the Chesapeake Bay: A Hindcast Study. *Ecology and Health*, 1-12.

- Bhattacharya, M., Choudhury, P., & Kumar, R. (2000). Antibiotic- and metal-resistant strains of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from shrimps. *Microbial Drug Resistance*, 6(2), 171-172.
- Blackwell, K.D., & Oliver, J.D. (2008). The ecology of *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae*, and *Vibrio parahaemolyticus* in North Carolina estuaries. *Journal of Microbiology*, 46, 146-153.
- Caburlotto, G., Ghidini, V., Gennari, M., Tafi, M. C., & Lleo, M. M. (2008). Isolation of a *Vibrio parahaemolyticus* pandemic strain from a marine water sample obtained in the northern Adriatic. *Eurosurveillance*, 13(11).
- Calbiochem®. (2006). *Nitrocefin Cat. No. 484400. Data sheet 484400*. Review from [http://www.nugizentrum.de/fileadmin/website\\_uni\\_ulm/nugi/Experimente/Biochemie/Beta-Lactamase/Nitrocefin\\_Beschreibung.pdf](http://www.nugizentrum.de/fileadmin/website_uni_ulm/nugi/Experimente/Biochemie/Beta-Lactamase/Nitrocefin_Beschreibung.pdf)
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2007). *Performance standards for antimicrobial susceptibility tests; seventeenth informational supplement*. M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.
- Cristina, G.A., Jordi, R.H., & Anicet, R.B. (2014). Antimicrobial resistance and presence of the SXT mobile element in *Vibrio* spp. isolated from aquaculture facilities. *New Microbiologica*, 37, 339-346.
- Cullmann, W., & Dick, W. (1990). Influence of temperature on beta-lactamase production and outer membrane proteins in gram-negative rods. *Chemotherapy*, 36(4), 277-286.
- DeBell, R.M., Hickey, T. M., & Uddin, D.E. (1978). Partial characterization of a beta-lactamase from *Vibrio parahaemolyticus* by a new automated microiodometric technique. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 13, 165-169.
- Food and Drug Administration. (2000). *Draft Risk Assessment on the Public Health Impact of Vibrio parahaemolyticus in Raw Molluscam Shellfish*. Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, Washington, D.C.
- Francisca, G.R.M., Soraya, S.N., & Oscarina, V.S. (2014). Detection of virulence genes in environmental strains of *Vibrio cholerae* from estuaries in Northeastern Brazil. *Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine*, 56(5), 427-432.

- Gleeson, C., & Gray, N. (1997). *The Coliform Index and Waterborne Disease*. United Kingdom. London : E & FN Sons.
- Hervio-Heath, D., Colwell, RR., Derrien, A., Robert-Pillot, A., Fournier, JM., & Pommepuy M. (2002). Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 1123-1135.
- Hoadley, A.W., & Dulka, B.J. (1977). *Bacterial Indicator Health Hazards Associated with Water*. American Society of Testing and Material. United States of America, New York.
- Hormansdorfer, S., Wentges, H., Neugebauer-Buchler, K., & Bauer, J. (2000). Isolation of *Vibrio alginolyticus* from seawater aquaria. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 203, 169-175.
- Huq, A., Whitehouse, CA., Grim, CJ., Alam, M., & Colwell, RR. (2008). Biofilms in water, its role and impact in human disease transmission. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3), 244-2447.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). (1990). *Microbial Ecology of Foods, Volume 2 : Food Commodities*. New York: Academic Press.
- Jiang, SC., & Fu, W. (2001). Seasonal abundance and distribution of *Vibrio cholerae* in coastal waters quantified by a 16S-23S intergenic spacer probe. *Microbial Ecology*, 42, 540-548.
- Johnson, CN., Flowers, AR., Noriea, NF., Zimmerman, AM., Bowers, JC., DePaola, A., & Grimes, DJ. (2010). Relationships between environmental factors and pathogenic *Vibrio spp.* in the northern Gulf of Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 7076-7084.
- Julie, D., Solen, L., Antonine, V., Jaufrey, C., & Annick, D. (2010). Ecology of pathogenic and non-pathogenic *V. parahaemolyticus* on the French Atlantic coast. Effect of temperature, salinity, turbidity and chlorophyll. *Environmental Microbiology*, 12(4), 929-937.

- Jun, L.J, Kim, J.H, Jin, J.W., & Jeong, H.D. (2012). Characterization of a new beta-lactamase gene from isolates of *Vibrio* spp. in Korea. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(4), 555-562.
- Kaper, J., Lockman, H., Colwell, R., & Joseph, S. (1979). Ecology, serology, and enterotoxin production of *Vibrio cholerae* in Chesapeake Bay. *Applied and Environmental Microbiology*, 37, 91-103.
- Lee, SW., Najiah, M., & Wendy, W. (2010). Bacterial flora from a healthy freshwater Asian sea bass (*Lates calcarifer*) fingerling hatchery with emphasis on their antimicrobial and heavy metal resistance pattern. *Veterinarski arhiv*, 80(3), 411-420.
- Manfrin, A., Bovo, G., Selli, L., & Ceschia, G. (2009). The use of vaccines and chemicals in Italy. The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. *Options mediterraneennes*, 86, 35-39.
- Martinez-Urtaza, J., Lozano-Leon, A., Varala-Pet, J., Trinanes, J., Pazos, Y., & Garcia-Martin, O. (2008). Environmental determinants of the occurrence and distribution of *V. parahaemolyticus* in the rias of Galicia, Spain. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(1), 265-274.
- Merritt, J.H., Kadouri, D. E., & Toole, G.A. (2005). *Growing and analysing static biofilm. Current Protocols in Microbiology*. John Wiley & Sons.
- Motes, M.L., DePaolo, A., Cook, D.W., Veazey, J.E., Hunsucker, J.C., Garthright, W.E., Blodgett, R.J., & Chirtel, S.J. (1998). Influence of water temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* in Northern Gulf and Atlantic Coast oyster (*Crassostrea virginica*). *Environmental Microbiology*, 64, 1459-1465.
- Nithya, Q.M., Porteen, K., & Pramanik, A.K. (2007). Studies on occurrence of *V. parahemolyticus* in fin fishes and shellfishes from different ecosystem of West Bengal. *Livestock Research for Rural Development*, 19(1).
- Noriega-Orozco, L., Acedo-Felix, E., Higuera-Ciapara, I., Jimenez-Flores, R., & Cano, R. Pathogenic and nonpathogenic *Vibrio* species in aquaculture shrimp ponds. *Revista latinoamericana de microbiology*, 49(3-4), 60-67.

- O'Toole, G. A., & Kolter, R. (1998). The initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways: a genetic analysis. *Molecular Microbiology*, 28, 449-461.
- Parsons, T.R., Maita, Y., & Lalli, C.M. (1984) *A manual of chemical and biological methods for seawater analysis*. Publisher: Pergamon Press. Great Britain.
- Pasqualina, L., Gabriella, C., Eleonora, M., Renata, Zaccone., & Santi, D. (2011). Susceptibility to antibiotics of *Vibrio* spp. and *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* strains isolated from Italian aquaculture farms. *New Microbiologica*, 34, 53-63.
- Prasanthan, V., Udayakumar, P., Sarathkumar, & Ouseph, P.P. (2010). Influence of abiotic environmental factor on the abundance and distribution of *Vibrio* species in coastal waters of Kerala, India. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 40(4), 587-592.
- Rahim, Z., & Aziz, KMS. (1996). Factors affecting production of haemolysin by strains of *Vibrio fluvialis*. *Journal of Diarrhoeal Diseases Research*, 14(2), 113-116.
- Renata, A.C., Rayza, L.A., Oscarina, V.S., & Regine, H.S. (2015). Antibiotic-Resistant *Vibrio* spp. in Farmed Shrimp. *BioMed Research International*.
- Rhodes, M., Bhaskaran, H., & Jacobs, J. (2013). Short-term variation in the abundance of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in a Tidal Estuary. *Journal of Marine Biology & Oceanography*, 2(2), 1-4.
- Roberts, T.A., Baird-Parker, A.C., & Tompkin, R.B. (1995). *Microorganisms in foods*, International Commission on Microbiological Specification for Food (ICMSF). London: Blackie Academic and Professional.
- Sabir, M., Ennaji, M.M., Bouchrif, B., & Cohen N. (2012). Characterization of *V. alginolyticus* Trh Positive From Mediterranean Environment of Tamouda Bay (Morocco). *World Environment*, 2, 76-80.
- Sadok, K., Faouzi, L., & Amina, B. (2013). Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during disease outbreaks. *International Aquatic Research*, 5(13), 1-11.

- Satoshi, F., Tomoaki, M., & Tetsuya, Y. (2014). Membrane Curvature Affects the Formation of  $\alpha$ -Hemolysin Nanopores. *ACS Chemical Biology*, 10(7).
- Siriporn, S. (2000). Effect of Temperature and Cell Number on the Production of Hemolysin by *V. parahaeolyticus*. *Kasetsart Journal Natural Science*, 34, 248-253.
- Springer, W., & Goebel, W. (1980). Synthesis and secretion of hemolysin by *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 144, 53-59.
- Stainer, E.E., & Adelberg, E.A. (1976). *The Microbial World. United States of America*. New Jersey: Prentice-Hall.
- Steve, J., Megan, S., Jennifer, M., Vaughn, C., & Cheryl, W. (2009). Incidence and abundance of pathogenic *Vibrio* species in the Great Bay Estuary, New Hampshire. In 7<sup>th</sup> *International Conference on Molluscan Shellfish Safety, June 14-19*, (pp. 1-10).
- Sulumane, R.K.S., Krupsha, S., Gaurav, Rathore., Dev, K.V., Narasimhulu, S., & Kuttickal, K.P. (2013). *Vibrio alginolyticus* infection in Asian sea bass (*Lates calcarifer*, Bloch) reared in open sea floating cages in India. *Aquaculture Research*, 44, 86-92.
- Volk, Wesley, A., & Wheeler, Margaret, F. (1988). Pathogens that enter the body via the digest tract. In *Basic Microbiology* (6<sup>th</sup> ed.). New York: Harper & Row.
- Watnick, P.I., & Kolter, R. (1999). Steps in the development of a *Vibrio cholerae* El Tor biofilm. *Molecular Microbiology*, 34(3), 586-595.
- Yildiz, F.H., & Schoolnik, G.K. (1999). *Vibrio cholerae* O1 El Tor: Identification of a gene cluster required for the rugose colony type, exopolysaccharide production, chlorine resistance, and biofilm formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(7), 4028-4033.

**ภาคผนวก ก**

ข้อมูลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา  
จากตัวอย่างน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง พ.ศ. 2555

ตารางภาคผนวก ก-1 คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา (สถานีริมฝั่งแม่น้ำ) ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555

เดือน	จุดที่	คุณภาพน้ำทางกายภาพ			คุณภาพน้ำทางเคมี			คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา	
		อุณหภูมิ (°C)	ความเค็ม (psu)	pH	ออกซิเจนละลายน้ำ (mg/L)	บีโอดี (mg/L)	การนำไฟฟ้า (µs/cm)	แบคทีเรียรวม (CFU/mL)	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL)
มกราคม	1	29.9	31.3	8.05	4.52	0.50	50.20	1,630	500
	2	29.8	31.3	8.05	4.63	1.00	50.40	1,320	500
	3	29.9	31.3	8.06	4.65	1.20	50.20	1,240	500
กุมภาพันธ์	1	29.5	30.8	8.05	5.34	0.50	51.70	110	170
	2	29.4	30.8	8.08	5.58	0.50	51.60	70	170
	3	29.3	30.9	8.08	5.23	0.50	51.50	35	170
มีนาคม	1	31.2	22.3	7.47	3.06	2.40	38.60	25,800	2
	2	31.2	22.2	7.49	3.12	2.20	39.50	9,140	2
	3	31.2	22.2	7.49	3.05	2.30	39.60	12,470	2
เมษายน	1	32.2	20.8	7.20	3.24	2.30	38.20	12,600	1,600
	2	32.3	20.8	7.27	3.23	2.30	38.10	4,660	900
	3	32.3	20.8	7.37	3.21	2.30	38.20	7,200	900



ตารางภาคผนวก ก-1 ( ต่อ)

เดือน	จุดที่	คุณภาพน้ำทางกายภาพ			คุณภาพน้ำทางเคมี			คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา	
		อุณหภูมิ (°C)	ความเค็ม (psu)	pH	ออกซิเจนละลายน้ำ (mg/L)	บีโอดี (mg/L)	การนำไฟฟ้า (µs/cm)	แบคทีเรียรวม (CFU/mL)	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL)
กรกฎาคม	1	30.6	4.3	7.74	6.33	2.60	39.5	12,100	1,600
	2	30.6	4.3	7.73	6.23	2.70	39.5	7,700	1,600
	3	30.6	4.5	7.75	6.40	2.80	38.8	9,100	1,600
สิงหาคม	1	30.6	32.6	7.94	5.95	2.20	55.30	226	500
	2	30.6	32.6	7.94	5.71	2.20	50.00	370	1,600
	3	30.6	32.6	7.97	5.84	2.20	55.30	193	1,600
กันยายน	1	27.8	4.1	6.65	4.23	0.90	7.80	4,700	1,600
	2	27.8	4.0	6.67	4.28	0.80	7.80	845	1,600
	3	27.8	4.1	6.67	4.35	1.00	8.00	993	1,600
ตุลาคม	1	31.7	23.0	7.53	3.95	2.30	42.20	1,050	1,600
	2	31.7	23.0	7.53	4.20	2.30	42.10	753	1,600
	3	31.7	22.8	7.53	4.18	2.30	42.30	516	1,600

ตารางภาคผนวก ก-1 ( ต่อ)

เดือน	จุดที่	คุณภาพน้ำทางกายภาพ			คุณภาพน้ำทางเคมี			คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา	
		อุณหภูมิ (°C)	ความเค็ม (psu)	pH	ออกซิเจนละลายน้ำ (mg/L)	บีโอดี (mg/L)	การนำไฟฟ้า (µs/cm)	แบคทีเรีย รวม (CFU/mL)	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL)
พฤศจิกายน	1	31.7	21.7	7.69	4.31	1.50	39.70	20,600	1,600
	2	31.6	21.7	7.70	4.30	1.50	39.30	926	1,600
	3	31.6	21.7	7.71	4.30	1.50	39.50	866	1,600
ธันวาคม	1	30.3	29.5	7.87	3.98	0.90	45.70	219,600	1,600
	2	30.2	29.5	7.91	3.92	1.00	45.70	1,473	1,600
	3	30.2	29.5	7.92	3.87	0.80	45.70	13,930	1,600

ตารางภาคผนวก ก-2 คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา (สถานีกลางแม่น้ำ) ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555

เดือน	จุดที่	คุณภาพน้ำทางกายภาพ			คุณภาพน้ำทางเคมี			คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา	
		อุณหภูมิ (°C)	ความเค็ม (psu)	pH	ออกซิเจนละลายน้ำ (mg/L)	บีโอดี (mg/L)	การนำไฟฟ้า (µs/cm)	แบคทีเรียรวม (CFU/mL)	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL)
มกราคม	1	28.9	31.3	8.15	5.39	0.80	50.80	450	2
	2	28.9	31.3	8.11	5.43	0.80	49.70	310	2
	3	28.9	31.3	8.12	5.65	0.80	50.20	365	2
กุมภาพันธ์	1	29.5	30.8	7.87	5.28	0.80	51.60	65	2
	2	29.5	30.8	8.09	5.93	0.80	51.60	40	2
	3	29.5	30.8	8.01	5.77	0.80	47.50	30	2
มีนาคม	1	31.1	22.4	7.49	3.60	2.80	39.90	53,000	2
	2	31.1	22.3	7.41	3.03	2.70	39.80	62,050	2
	3	31.1	22.4	7.45	3.00	2.60	39.80	55,210	2
เมษายน	1	32.3	21.4	7.66	3.32	1.80	38.90	110	130
	2	32.3	21.2	7.71	3.26	2.00	38.70	133	70
	3	32.3	21.3	7.71	3.17	1.90	37.38	60	130

ตารางภาคผนวก ก-2 ( ต่อ)

เดือน	จุดที่	คุณภาพน้ำทางกายภาพ			คุณภาพน้ำทางเคมี			คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา	
		อุณหภูมิ (°C)	ความเค็ม (psu)	pH	ออกซิเจนละลายน้ำ (mg/L)	บีโอดี (mg/L)	การนำไฟฟ้า (µs/cm)	แบคทีเรียรวม (CFU/mL)	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL)
กรกฎาคม	1	30.5	23.3	8.09	6.54	1.70	37.00	810	130
	2	30.5	23.4	8.10	6.77	1.70	37.70	1,350	300
	3	30.5	23.7	8.10	6.76	1.70	37.90	1,000	27
สิงหาคม	1	30.7	32.1	8.09	6.13	1.50	54.80	160	2
	2	30.7	32.1	8.09	5.74	1.40	54.80	13	4
	3	30.7	32.1	8.09	5.71	1.60	54.80	40	2
กันยายน	1	28.3	2.2	6.60	4.31	2.00	21.70	616	1,600
	2	28.3	3.0	6.61	4.32	2.20	21.30	4,460	1,600
	3	28.3	3.0	6.65	4.27	2.40	17.90	983	1,600
ตุลาคม	1	29.5	5.5	6.74	4.18	2.40	10.70	816	1,600
	2	30.3	4.9	7.35	4.26	2.40	9.40	1,183	220
	3	29.9	5.2	7.32	4.20	2.40	10.10	396	500

ตารางภาคผนวก ก-2 ( ต่อ)

เดือน	จุดที่	คุณภาพน้ำทางกายภาพ			คุณภาพน้ำทางเคมี			คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา	
		อุณหภูมิ (°C)	ความเค็ม (psu)	pH	ออกซิเจนละลายน้ำ (mg/L)	บีโอดี (mg/L)	การนำไฟฟ้า (µs/cm)	แบคทีเรียรวม (CFU/mL)	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL)
พฤศจิกายน	1	31.5	24.4	7.69	4.23	1.30	43.80	1,786	500
	2	31.6	25.6	7.83	4.17	1.30	49.10	1,126	1,600
	3	31.6	27.6	7.87	4.17	1.30	49.70	1,630	170
ธันวาคม	1	30.6	29.6	8.02	5.73	0.60	45.80	12,800	2
	2	30.6	29.6	8.08	5.96	0.70	45.90	6,060	2
	3	30.6	29.6	8.11	5.99	0.80	45.90	28,600	2

ตารางภาคผนวก ก-3 คุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา (สถานีกระชังเพาะเลี้ยงปลา) ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555

เดือน	จุดที่	คุณภาพน้ำทางกายภาพ			คุณภาพน้ำทางเคมี			คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา	
		อุณหภูมิ (°C)	ความเค็ม (psu)	pH	ออกซิเจนละลายน้ำ (mg/L)	บีโอดี (mg/L)	การนำไฟฟ้า (µs/cm)	แบคทีเรียรวม (CFU/mL)	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL)
มกราคม	1	29.6	31.2	8.05	4.51	0.40	50.90	513	2
	2	29.5	31.2	8.08	4.27	0.40	50.80	421	2
	3	29.6	31.2	8.08	4.47	0.40	46.30	486	2
กุมภาพันธ์	1	29.2	30.5	7.91	4.69	0.30	51.10	40	2
	2	29.1	30.7	8.00	4.87	0.50	51.20	30	2
	3	29.5	30.6	8.03	4.96	0.40	51.20	20	2
มีนาคม	1	31.4	22.8	7.56	3.14	2.00	40.60	34,100	2
	2	31.1	22.9	7.59	3.08	2.00	40.50	23,100	2
	3	31.1	22.8	7.58	3.12	2.00	40.50	25,300	2
เมษายน	1	32.5	21.2	7.73	3.25	2.00	38.60	96	2
	2	32.5	21.4	7.73	3.19	2.00	38.60	193	2
	3	32.5	21.4	7.73	3.25	2.00	38.60	206	2

ตารางภาคผนวก ก-3 ( ต่อ)

เดือน	จุดที่	คุณภาพน้ำทางกายภาพ			คุณภาพน้ำทางเคมี			คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา	
		อุณหภูมิ (°C)	ความเค็ม (psu)	pH	ออกซิเจนละลายน้ำ (mg/L)	บีโอดี (mg/L)	การนำไฟฟ้า (µs/cm)	แบคทีเรียรวม (CFU/mL)	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL)
กรกฎาคม	1	30.1	23.7	7.20	6.89	2.60	41.80	80,000	22
	2	29.9	18.2	7.56	5.98	2.70	33.80	52,600	30
	3	30.4	16.8	7.33	6.90	2.80	33.70	95,000	4
สิงหาคม	1	30.5	31.6	7.46	5.13	1.50	53.70	40	2
	2	30.5	31.8	7.86	5.04	1.50	54.10	33	2
	3	30.5	31.9	7.86	4.96	1.50	54.20	60	2
กันยายน	1	28.0	10.1	6.30	3.89	0.70	16.50	1,106	1,600
	2	28.0	9.9	6.45	3.64	0.70	16.50	1,293	500
	3	28.0	9.9	6.52	3.58	0.70	16.60	4,330	1,600
ตุลาคม	1	30.5	7.0	6.06	3.58	2.50	12.20	673	900
	2	30.2	5.7	6.40	3.46	2.60	11.10	653	500
	3	30.3	5.7	6.68	3.50	2.70	11.30	453	500

ตารางภาคผนวก ก-3 (ต่อ)

เดือน	จุดที่	คุณภาพน้ำทางกายภาพ			คุณภาพน้ำทางเคมี			คุณภาพน้ำทางจุลชีววิทยา	
		อุณหภูมิ (°C)	ความเค็ม (psu)	pH	ออกซิเจนละลายน้ำ (mg/L)	บีโอดี (mg/L)	การนำไฟฟ้า (µs/cm)	แบคทีเรียรวม (CFU/mL)	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (MPN/100 mL)
พฤศจิกายน	1	31.2	29.2	7.30	3.27	1.30	50.70	8,400	500
	2	31.2	29.2	7.77	3.30	1.40	45.10	913	170
	3	31.2	29.3	7.85	3.56	1.50	45.60	1,640	170
ธันวาคม	1	30.6	29.7	7.45	4.04	0.80	46.10	84,300	23
	2	30.5	29.7	7.93	5.01	0.80	46.00	85,300	2
	3	30.4	29.7	7.86	4.67	0.80	46.00	46,600	7





**ภาคผนวก ข**

ข้อมูลปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิบรรยากาศเฉลี่ย  
ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พ.ศ. 2555

ตารางภาคผนวก ข-1 ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิบรรยากาศเฉลี่ยในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียง  
พ.ศ. 2555 (ศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมหาวิทยาลัย)

เดือน	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	อุณหภูมิบรรยากาศ (องศาเซลเซียส)
มกราคม	45.70	27.20
กุมภาพันธ์	48.70	28.20
มีนาคม	50.30	29.30
เมษายน	42.70	30.00
พฤษภาคม	260.60	29.30
มิถุนายน	228.20	29.00
กรกฎาคม	310.60	28.20
สิงหาคม	201.70	28.40
กันยายน	513.00	27.50
ตุลาคม	169.90	28.10
พฤศจิกายน	159.10	28.00
ธันวาคม	11.80	28.10
ค่าเฉลี่ย	170.19	28.44
ค่าต่ำสุด-สูงสุด	11.80-513.00	27.20-30.00

**ภาคผนวก ค**

มาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน

ตารางภาคผนวก ก-1 มาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน (กรมควบคุมมลพิษ, 2550)

คุณภาพน้ำ <sup>2/</sup>	หน่วย	เกณฑ์กำหนดสูงสุด <sup>3/</sup> ตามการแบ่งประเภทคุณภาพน้ำตามการใช้ประโยชน์ <sup>1/</sup>				
		ประเภท	ประเภท	ประเภท	ประเภท	ประเภท
		1	2	3	4	5
สี กลิ่น และรส (Colour Odour and Taste)	-	๓	๓ <sup>1/</sup>	๓ <sup>1/</sup>	๓ <sup>1/</sup>	-
อุณหภูมิ (Temperature)	°ซ	๓	๓ <sup>1/</sup>	๓ <sup>1/</sup>	๓ <sup>1/</sup>	-
ความเป็นกรดและด่าง (pH)	-	๓	5.0 - 9.0	5.0 - 9.0	5.0 - 9.0	-
ออกซิเจนละลาย (DO) <sup>3/</sup>	มก./ล.(mg/l)	๓	6.0	4.0	2.0	-
บีโอดี (BOD)	มก./ล.(mg/l)	๓	1.5	2.0	4.0	-
แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (Total Coliform Bacteria)	เอ็ม.พี.เอ็น/100มล. (MPN/100 ml)	๓	5,000	20,000	-	-
แบคทีเรียกลุ่มฟีโคลิฟอร์ม (Fecal Coliform Bacteria)	เอ็ม.พี.เอ็น/100มล. (MPN/100 ml)	๓	1,000	4,000	-	-
ไนเตรด (NO <sub>3</sub> ) ในหน่วยไนโตรเจน	มก./ล. (mg/l)	๓	5.0	5.0	5.0	-
แอมโมเนีย (NH <sub>3</sub> ) ในหน่วยไนโตรเจน	มก./ล. (mg/l)	๓	0.5	0.5	0.5	-
ฟีนอล (Phenols)	มก./ล. (mg/l)	๓	0.005	0.005	0.005	-
ทองแดง (Cu)	มก./ล. (mg/l)	๓	0.1	0.1	0.1	-
นิกเกิล (Ni)	มก./ล. (mg/l)	๓	0.1	0.1	0.1	-
แมงกานีส (Mn)	มก./ล. (mg/l)	๓	1.0	1.0	1.0	-
สังกะสี (Zn)	มก./ล. (mg/l)	๓	1.0	1.0	1.0	-
แคดเมียม (Cd)	มก./ล. (mg/l)	๓	0.005* 0.05*	0.005* 0.05*	0.005* 0.05*	- -
โครเมียมชนิดเฮกซะวาเลนต์ (Cr Hexavalent)	มก./ล. (mg/l)	๓	0.05	0.05	0.05	-
ตะกั่ว (Pb)	มก./ล. (mg/l)	๓	0.05	0.05	0.05	-
ปรอททั้งหมด (Total Hg)	มก./ล. (mg/l)	๓	0.002	0.002	0.002	-
สารหนู (As)	มก./ล. (mg/l)	๓	0.01	0.01	0.01	-
ไซยาไนด์ (Cyanide)	มก./ล. (mg/l)	๓	0.005	0.005	0.005	-

## ตารางภาคผนวก ก-1 (ต่อ)

คุณภาพน้ำ <sup>2</sup>	หน่วย	เกณฑ์กำหนดสูงสุด <sup>3</sup> ตามการแบ่งประเภทคุณภาพน้ำตามการใช้ประโยชน์ <sup>1</sup>				
		ประเภท 1	ประเภท 2	ประเภท 3	ประเภท 4	ประเภท 5
กัมมันตภาพรังสี (Radioactivity)						
- ค่ารังสีแอลฟา (Alpha)		เบเคอเรล/ล.	๓	0.1	0.1	
- ค่ารังสีเบตา (Beta)		เบเคอเรล/ล.	๓	1.0	1.0	
สารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ชนิดมีคลอรีนทั้งหมด (Total Organochlorine Pesticides)	มก./ล. (mg/l)	๓	0.05	0.05	0.05	-
ดีดีที (DDT)	ไมโครกรัม/ล.	๓	1.0	1.0	1.0	-
บีเอชซีชนิดแอลฟา (Alpha-BHC)	ไมโครกรัม/ล.	๓	0.02	0.02	0.02	-
ดีลด์ริน (Dieldrin)	ไมโครกรัม/ล.	๓	0.2	0.2	0.2	-
อัลดริน (Aldrin)	ไมโครกรัม/ล.	๓	0.1	0.1	0.1	-
เฮปตาคลอร์และเฮปตาคลอร์อีพอกไซด์ (Heptachlor & Heptachlor epoxide)	ไมโครกรัม/ล.	๓	0.2	0.2	0.2	-
เอนดริน (Endrin)	ไมโครกรัม/ล.	๓	ไม่สามารถตรวจพบได้ตามวิธีการตรวจสอบที่กำหนด			-

**หมายเหตุ**

1 คือ การแบ่งประเภทแหล่งน้ำผิวดิน

ประเภทที่ 1 ได้แก่ แหล่งน้ำที่คุณภาพน้ำมีสภาพตามธรรมชาติโดยปราศจากน้ำทิ้งจากกิจกรรมทุกประเภทและสามารถเป็นประโยชน์เพื่อ

- (1) การอุปโภคและบริโภค โดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติก่อน
- (2) การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติของสิ่งมีชีวิตระดับพื้นฐาน
- (3) การอนุรักษ์ระบบนิเวศน์ของแหล่งน้ำ

**ประเภทที่ 2** ได้แก่ แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภทและสามารถเป็นประโยชน์เพื่อ

- (1) การอุปโภคและบริโภค โดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติ และผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำทั่วไปก่อน
- (2) การอนุรักษ์สัตว์น้ำ
- (3) การประมง
- (4) การว่ายน้ำและกีฬาทางน้ำ

**ประเภทที่ 3** ได้แก่ แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภทและสามารถเป็นประโยชน์เพื่อ

- (1) การอุปโภคและบริโภค โดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติ และผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำทั่วไปก่อน
- (2) การเกษตร

**ประเภทที่ 4** ได้แก่ แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภท และสามารถเป็นประโยชน์เพื่อ

- (1) การอุปโภคและบริโภค โดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติ และผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำทั่วไปก่อน
- (2) การอุตสาหกรรม

**ประเภทที่ 5** ได้แก่ แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภทและสามารถเป็นประโยชน์เพื่อการคมนาคม

**2** คือ กำหนดค่ามาตรฐานเฉพาะในแหล่งน้ำประเภทที่ 2-4 สำหรับแหล่งน้ำประเภทที่ 1 ให้เป็นไปตามธรรมชาติ และแหล่งน้ำประเภทที่ 5 ไม่กำหนดค่า

**3** คือ ค่า DO เป็นเกณฑ์มาตรฐานต่ำสุด

ธ เป็นไปตามธรรมชาติ

ธ' อุณหภูมิของน้ำจะต้องไม่สูงกว่าอุณหภูมิตามธรรมชาติ เกิน 3 องศาเซลเซียส

\* น้ำที่มีความกระด้างในรูปของ  $\text{CaCO}_3$  ไม่เกินกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

\*\* น้ำที่มีความกระด้างในรูปของ  $\text{CaCO}_3$  เกินกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

<sup>0</sup>ซ องศาเซลเซียส

มก./ล. มิลลิกรัมต่อลิตร

มล. มิลลิลิตร

MPN เอ็ม.พี.เอ็น หรือ Most Probable Number

ภาคผนวก ง  
อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง



### 1. Alkaline Peptone Water (APW)

Peptone 10 กรัม

Sodium chloride 5 กรัม

pH  $8.4 \pm 0.2$  ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร แล้วแบ่งใส่หลอดขนาด 16x150 มิลลิลิตร ปริมาตรหลอดละ 10 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จะมีสีเหลืองอมน้ำตาล

### 2. Brilliant green lactose bile broth

Peptone 10 กรัม

Lactose 10 กรัม

Ox bile (Oxoid L15 หรือเทียบเท่า) 20 กรัม

Brilliant green (1%)

Distilled water 1 ลิตร

ละลายเปปโตนและแลคโตสในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ละลาย Ox bile ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งสองแล้วเติมน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ลงไป ปรับค่าความเป็นกรด-เบส เป็น 7.4 เติม 1% brilliant green ลงไปแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น บรรจุลงในหลอดทดลองที่มีหลอดดักแก๊ส ปิดฝา แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

### 3. CHROMagar™ Vibrio

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการแยกและตรวจสอบเชื้อ *V. parahaemolyticus*

*V. vulnificus* และ *V. cholerae*

ลักษณะโคโลนีของ *Vibrio* spp. บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ CHROM agar

*V. parahaemolyticus* โคโลนีมีสีม่วงแดง

*V. vulnificus* / *V. cholerae* โคโลนีมีสีฟ้าเขียว ถึง สีฟ้าเขียวขุ่น

*V. alginolyticus* โคโลนีไม่มีสี

#### 4. (Lysine, Ornithine, Arginine) Decarboxylase medium

Peptone	5 กรัม
Yeast extract	3 กรัม
Dextrose	1 กรัม
(Lysine, Ornithine, Arginine)	5 กรัม
Bromocresol purple	0.02 กรัม

ปรับ pH  $6.8 \pm 0.2$  ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สำหรับกรดอะมิโน Ornithine

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ผสมให้เนื้ออาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปใส่หลอดทดลองขนาด  $13 \times 100$  มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

#### 5. Motility test medium

Beef extract	3 กรัม
Pancreatic digest of gelatin	10 กรัม
Sodium chloride	5 กรัม
Agar	4 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนส่วนผสมละลายเข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที วางให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วนำมาแบ่งใส่หลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อปริมาตร 3 มิลลิลิตร

#### 6. Peptone water diluents หรือ 0.1% peptone water

Peptone	1 กรัม
Distilled water	1 ลิตร

ปรับค่าความเป็นกรด-เบสสุดท้ายหลังจากผสมสารต่าง ๆ ให้ได้  $7.1 \pm 0.2$  ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

### 7. Thiosulfate Citrate Bile Salt sucrose (TCBS) agar

Peptone	10 กรัม
Yeast extract	5 กรัม
Sodium thiosulphatepentahydrate	10 กรัม
Trisodium citratedihydrate	10 กรัม
Bile salts	8 กรัม
Sucrose	20 กรัม
Sodium chloride	10 กรัม
Ferric citrate	1 กรัม
Bromthymol blue	0.04 กรัม
Thymol blue	0.04 กรัม
Agar	15 กรัม

ปรับค่าความเป็นกรด-เบสสุดท้ายให้ได้  $8.6 \pm 0.2$  ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ซึ่งสารอาหารต่าง ๆ เติมน้ำกลั่นตามสัดส่วนปริมาณสาร จากนั้นให้ความร้อนและคนให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ห้ามนำเข้า autoclave รอให้เย็นลง (ประมาณ 50 องศาเซลเซียส) เทใส่จานหรือภาชนะที่ปราศจากเชื้อ อาหารที่เตรียมได้มีอายุการใช้งานไม่เกิน 4 สัปดาห์ เมื่อเก็บเข้าตู้เย็น

### 8. Triple sugar iron agar

Peptone	20 กรัม
Lactose	10 กรัม
Sucrose	10 กรัม
D-glucose	1 กรัม
Sodium chloride	5 กรัม
Sodium thiosulphatepentahydrate	0.2 กรัม
Di-ammonium iron (II) sulphatehexahydrate	0.2 กรัม
Phenol red (1%)	2.5 กรัม
Agar	13 กรัม
Distilled water	1 ลิตร

ละลายขณะร้อน ปรับค่าความเป็นกรด-เบสให้เท่ากับ  $7.4 \pm 0.2$  แล้วกรอกใส่หลอดทดสอบปริมาตร 7 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เอียงหลอด (slant) ให้มีความสูงจากก้นหลอด 3 เซนติเมตร

#### 9. Tryptic soy agar (TSA)

Pancreatic digest of casein	15 กรัม
Papaic digest of soybean	5 กรัม
Sodium chloride	5 กรัม
Agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนส่วนผสมละลายเข้ากัน แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที วางให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเทใส่จานอาหารที่ปราศจากเชื้อ

#### 10. Tryptic soy broth (TSB)

Pancreatic digest of casein	15 กรัม
Papaic digest of soybean	5 กรัม
Sodium chloride	5 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปตั้งไฟอ่อนๆจนส่วนผสมละลายเข้ากัน แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยการ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำมาแบ่งใส่หลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อปริมาตร 3 มิลลิลิตร

ภาคผนวก จ  
สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง



#### 4. Alkali-iodide-azide reagent

ละลาย Sodium hydroxide (NaOH) 500 กรัม และ Sodium iodide (NaI) 135 กรัม (หรือ Potassium hydroxide (KOH) 700 กรัม และ Potassium iodide (KI) 150 กรัม) ในน้ำกลั่น และทำให้เจือจางเป็น 1 ลิตร และเติม Sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) 10 กรัม (ซึ่งละลายในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร) ลงในสารละลายดังกล่าว

#### 5. Starch indicator

ละลายแป้ง (soluble starch) 16 กรัม และกรด Salicylic 2 กรัม เพื่อป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำร้อน 1 ลิตร ควรเตรียมสารละลายน้ำแป้งก่อนการวิเคราะห์ทุกเดือน

#### 6. Standard 0.025 N sodium thiosulfate solution

ละลาย Sodium thiosulfate pentahydrate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 6.205 กรัม และ Sodium hydroxide (NaOH) 0.4 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วเจือจางเป็น 1 ลิตร ควรเตรียมใหม่ทุก ๆ เดือน

#### 7. Standard 0.025 N potassium dichromate solution

ละลาย  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  0.6129 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่น ปริมาตรจนครบ 500 มิลลิลิตร ก่อนนำ  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  มาใช้ควรนำเข้าสู่อบที่ 130 องศาเซลเซียส ประมาณ 90 นาที และทำให้เย็นใน dessicator และน้ำกลั่นที่ใช้ต้องต้มเดือดใหม่ ๆ และตั้งทิ้งไว้ให้เย็น (ปิดฝาไว้เพื่อป้องกันการปนเปื้อน) เมื่อได้สารละลายแล้วบรรจุลงในขวดสีชา

**ภาคผนวก จ**

การทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย



## 1. Alkaline Peptone Water (APW) (สูบัตินิต นิมรัตน์, 2552)

Alkaline Peptone Water (APW) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เพิ่มจำนวน *Vibrio* spp. จากตัวอย่างส่งตรวจทางการแพทย์หรือตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม เนื่องจาก *Vibrio* spp. ในตัวอย่างมีปริมาณน้อย จึงต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมมาเพิ่มจำนวนก่อนที่จะนำไปจัดจำแนกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ เช่น TCBS agar ต่อไป ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อ APW มีคุณสมบัติที่เหมาะสม เพราะเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงและมีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 8.4 ซึ่งจะส่งเสริมการเจริญของ *Vibrio* spp.

### การทดสอบ

เพาะเชื้อจากตัวอย่างลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ  $35 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-12 ชั่วโมง

### การอ่านผล

ผลบวก อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่น

ผลลบ อาหารเลี้ยงเชื้อใส

## 2. Oxidase test (สูบัตินิต นิมรัตน์, 2552)

เป็นการทดสอบการผลิตเอนไซม์ Cytochrome oxidase ของแบคทีเรีย ซึ่งปกติแล้วแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญในสภาวะที่มีออกซิเจน (Aerobic bacteria) และแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มียอกซิเจน (Facultative anaerobic bacteria) จะมีการหายใจโดยใช้กระบวนการ Oxidative phosphorylation ซึ่งอาศัย Cytochrome ต่าง ๆ เป็นตัวรับอิเล็กตรอน ทำให้น้ำเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย

ในการทดสอบการผลิตเอนไซม์ Cytochrome oxidase จะต้องใช้สารรีเอเจนต์ที่ไม่มีสีคือ Tetramethyl- *p*-phenylene diamine dihydrochloride หรือ Dimethyl- *p*-phenylene diamine dihydrochloride ถ้าแบคทีเรียสามารถผลิตเอนไซม์ Cytochrome oxidase จะทำให้สารทั้งสองชนิดนี้ถูกออกซิไดส์กลายเป็นสารประกอบที่มีสีม่วง เรียกว่า Indophenol แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ เช่น แบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่หมักย่อยน้ำตาลกลูโคส (Glucose nonfermentative-Gram negative bacilli) เช่น *Pseudomonas*, *Alcaligenes* แบคทีเรียวงศ์วับริโอนาซีอี เช่น *Vibrio*, *Aeromonas*

### การทดสอบ

ใช้ไม้จิ้มฟันที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเช็ดเชื้อที่ต้องการทดสอบลงบนกระดาษกรองหยดน้ำยา Oxidase (N, N, N, N – tetramethy – *p* - phenylenediamine) ลงบนเชื้อ สังเกตการผลิตเอนไซม์ Cytochrome oxidase ของแบคทีเรีย

### การอ่านผล

ผลบวก โคโลนีจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงเข้ม

ผลลบ โคโลนีจะไม่เปลี่ยนสี

### 3. Decarboxylase test (Lysine, Ornithine, Arginine) (สูบัตินิต นิมรัตน์, 2552)

แบคทีเรียหลายชนิดสามารถย่อยสลายกรดอะมิโน ให้เอมีนและคาร์บอนไดออกไซด์ โดยที่กรดอะมิโน L-Lysine จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ lysine decarboxylase ทำให้ได้ cavarine สำหรับกรดอะมิโน L-Ornithine เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ Ornithine decarboxylase ทำให้ได้ putrescine และเอนไซม์ทั้งสองชนิดดังกล่าวข้างต้น สามารถย่อยสลาย L-arginine ทำให้ได้ alkaline amine putrescine พร้อมทั้งเอนไซม์ arginine decarboxylase และ arginine dihydrolase อาจทำงานแยกกันหรือต่อเนื่องกัน

Decarboxylation เป็นการทดสอบการผลิตเอนไซม์ carboxylase ซึ่งทำหน้าที่ดึงหมู่คาร์บอกซิลออกจากโมเลกุลของกรดอะมิโน เอนไซม์ชนิดนี้จะมีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของกรดอะมิโน โดยผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เกิดขึ้นคือ เอมีนและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นด่างส่งผลให้อินดิเคเตอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ Bromcresol purple เปลี่ยนเป็นสีม่วง การย่อยสลายกรดอะมิโนเริ่มต้นจากแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อหมักย่อน้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ในอาหาร ทำให้เกิดการลดอินทรีย์และเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์เป็นสีเหลือง เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีสภาวะเป็นกรดจึงทำให้เอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลสทำงานได้ดี โดยจะย่อยกรดอะมิโนเกิดเป็นเอมีนและคาร์บอนไดออกไซด์ดังที่กล่าวมาข้างต้น อาหารเลี้ยงเชื้อจึงเปลี่ยนสีกลับไปเป็นสีม่วงเหมือนเดิม ซึ่งการทดสอบการย่อยกรดอะมิโนนั้นจะต้องแบ่งอาหารเลี้ยงเชื้อออกเป็น 2 ชุด โดยอาหารเลี้ยงเชื้อมีส่วนผสมเหมือนกัน ยกเว้นกรดอะมิโน เนื่องจากแบคทีเรียในวงค์เอนเทอโรแบคทีเรียซีอีสามารถหมักย่อน้ำตาลในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนได้ แต่แบคทีเรียบางชนิดไม่สามารถหมักย่อน้ำตาลในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน แต่สามารถเปลี่ยนสีอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีม่วงได้ ทั้งนี้เกิดจากปฏิกิริยา Oxidation deamination แบคทีเรียจะย่อยสลายโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อเกิดเป็นกรดอะมิโน เอมีน และคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งมีสภาวะเป็นด่าง เอนไซม์ decarboxylase มีหลายชนิดและแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน กรดอะมิโนที่นิยมใช้ในการจัดจำแนกแบคทีเรีย

3 ชนิดคือ Lysine Ornithine และ Arginine ซึ่งมีประโยชน์แตกต่างกัน แต่ปฏิกิริยาในการทดสอบเหมือนกัน

#### การทดสอบ

เชื้อเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้งในหลอดที่มีกรดอะมิโนและไม่มีกรดอะมิโน หยดพาราฟินที่ปราศจากเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

#### การอ่านผล

ผลบวก หลอดควบคุมเป็นสีเหลือง

หลอดที่มีกรดอะมิโนเป็นสีม่วง

ผลลบ หลอดควบคุมเป็นสีเหลือง

หลอดที่มีกรดอะมิโนเป็นสีเหลือง

#### 4. การทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility test)

แบคทีเรียที่มีแฟลกเจลลาจะเคลื่อนที่ได้ เช่น *E.coli*, *Salmonella* ส่วนแบคทีเรียที่ไม่มีแฟลกเจลลาจะไม่เคลื่อนที่ได้แก่ *Klebsiella* และ *Shigella* อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบการเคลื่อนที่ ต้องเป็น Semisolid agar ซึ่งมี agar เพียง 0.4% ถ้า agar มีมากกว่านี้จะทำให้แบคทีเรียเคลื่อนที่ไม่ได้ เนื่องจากอาหารแข็งเกินไป โดยทั่วไปแบคทีเรียสามารถเคลื่อนที่ได้ดีที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส การทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Motile medium จะต้องสังเกตการณ์เคลื่อนที่ของแบคทีเรียจะมีลักษณะพุ่งร่วบรอย Stab

#### 5. Triple sugar iron (TSI) agar (นันทนา, 2537)

อาหารเลี้ยงเชื้อ TSI ใช้ในการจำแนกชนิดของแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนโดยใช้ความสามารถของแบคทีเรียในการใช้น้ำตาลกลูโคส แล็กโทส และซูโครส ทำให้ได้กรด และอาจให้ก๊าซเป็นผลผลิตสุดท้าย นอกจากนั้น ยังเป็นการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ( $H_2S$ ) ด้วย

#### การทดสอบ

เพาะเชื้อที่ต้องการทดสอบ โดยการเขี่ยเชื้อบนหน้าวุ้นของ TSI agar ให้ทั่วและแบ่งปลายเข็มที่ขีดเชื้อในตอนแรกลงลึกประมาณ 2 ใน 3 ของอาหารเลี้ยงเชื้อจนถึงก้นหลอด บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผล

### การอ่านผล

#### 1. ผลการหมักย่อยน้ำตาลต่าง ๆ

1.1 ถ้าแบคทีเรียสามารถย่อยน้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว บนผิววุ้น (Slant) ที่มีสีแดง ส้มซึ่งเป็นสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ เปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม (Alkaline หรือ K) ส่วนที่ก้นหลอด (Butt) เปลี่ยนจากสีแดงส้มเป็นสีเหลือง (acid หรือ A) หรืออ่านผลว่า K/A

1.2 ถ้าแบคทีเรียสามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลแลคโตส หรือสามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสหรือร่วมกับน้ำตาลซูโครส หรือสามารถหมักย่อยน้ำตาลทั้งสามชนิด ทั้งบนผิวและที่ก้นของหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีแดง-สีส้มเป็นเหลืองทั้งหมด หรืออ่านผลว่า A/A

1.3 หากแบคทีเรียไม่สามารถใช้น้ำตาลชนิดใด ๆ เลย มีอยู่ 3 แบบ คือ N/N, K/N, K/K (N: ไม่เกิดการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ K: เปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม)

2. การเกิดก๊าซ จะเห็นเป็นรอยแตก หรือสังเกตเห็นฟองอากาศ

3. การเกิดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ จะเห็นสีดำของตะกอน ฟอรัรัสซัลไฟด์อยู่ที่ก้นหลอด

### 6. ความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่าง ๆ

เป็นการทดสอบเพื่อจัดจำแนก *Vibrio* spp. โดยอาศัยความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของเกลือแตกต่างกันออกไป

#### การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ คือ Tryptone water มีส่วนประกอบ ดังนี้

Tryptone 1 กรัม

Sodium chloride

(เติมตามความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ) เช่น 0%, 3%, 6%, 8%, 10%

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมให้เนื้ออาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ถ่ายใส่หลอด 13 × 100 มิลลิลิตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

#### การอ่านผล

ผลบวก อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่น เนื่องจากเชื้อสามารถเจริญได้

ผลลบ อาหารเลี้ยงเชื้อใส (ไม่มีการเปลี่ยนแปลง)

**ภาคผนวก ข**

ค่า MPN ของตัวอย่าง โดยทดสอบที่ระดับความเชื่อใจงละ 5 หลอด

ตารางภาคผนวก ข-1 ค่า MPN ของตัวอย่าง โดยทดสอบที่ระดับความเชื่อใจงละ 5 หลอด  
(Kiss, 1984)

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			ค่า MPN ต่อ 100 mL	จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			ค่า MPN ต่อ 100 mL
1 <sup>st</sup> dilution	2 <sup>nd</sup> dilution	3 <sup>th</sup> dilution		1 <sup>st</sup> dilution	2 <sup>nd</sup> dilution	3 <sup>th</sup> dilution	
0	0	0	< 2	4	2	1	26
0	0	1	2	4	3	0	27
0	1	0	2	4	3	1	33
0	2	0	4	4	4	0	34
1	0	0	2	5	0	0	23
1	0	1	4	5	0	1	31
1	1	0	4	5	0	2	43
1	1	1	6	5	1	0	33
1	2	0	6	5	1	2	46
2	0	0	5	5	1	2	63
2	0	1	7	5	2	0	49
2	1	0	7	5	2	1	70
2	1	1	9	5	2	2	94
2	2	0	9	5	3	0	79
2	3	0	12	5	3	1	110
3	0	0	8	5	3	2	140
3	0	1	11	5	3	3	180
3	1	0	11	5	4	0	130
3	1	1	14	5	4	1	170
3	2	0	14	5	4	2	220
3	2	1	17	5	4	3	280
3	3	0	17	5	4	4	350
4	0	0	13	5	5	0	240
4	0	1	17	5	5	1	350
4	1	0	17	5	5	2	540
4	1	1	21	5	5	3	920
4	1	2	26	5	5	4	1600
4	2	0	22	5	5	5	> 2400

**ภาคผนวก ข**

ค่ามาตรฐานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone ของชนิดและความเข้มข้น  
ของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดสอบ

ตารางที่ ๗-1 ค่ามาตรฐานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone ของชนิดและความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดสอบ

ยาปฏิชีวนะ	ความเข้มข้น	เส้นผ่านศูนย์กลาง (Zone diameter) (มิลลิเมตร) และการแปลผล		
		Resistant	Intermediate	Sensitivity
ampicillin (AMP)	10 µg	≤ 13	14-16	≥ 17
chloramphenicol (C)	30 µg	≤ 12	13-17	≥ 18
norfloxacin (NOR)	10 µg	≤ 12	13-16	≥ 17
trimethoprim- sulfamethoxazole (SXT)	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16
tetracycline (TE)	30 µg	≤ 11	12-14	≥ 15
aztreomam (ATM)	30 µg	≤ 15	16-21	≥ 22
cefotaxime (CTX)	30 µg	≤ 14	15-22	≥ 23
cefoxitin (FOX)	30 µg	≤ 14	15-17	≥ 18
ciprofloxacin (CIP)	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21
nitrofurantoin (F)	300 µg	≤ 14	15-16	≥ 17
rifampicin (RD)	30 µg	≤ 16	17-19	≥ 20
gentamicin (GM)	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15
tetracycline (TE)	30 µg	≤ 11	12-14	≥ 15

(Clinical and Laboratory Standard Institute, 2007)