ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

ผลของโอโซนต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในน้ำ

Effect of Ozone to Inhibit Aquatic Bacteria

ชื่อนักศึกษา นายสาธิต เทศเสียงหวาน

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร. อัจฉรี เรืองเดช

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา .....

(ดร. อัจฉรี เรืองเดช)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่.....**เดือน**.....**พ.ศ.** .....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20534

ปัญหาพิเศษ

T099456

เรื่อง

ผลของโอโซนต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในน้ำ

Effect of Ozone to Inhibit Aquatic Bacteria

โดย

นายสาธิต เทศเสียงหวาน รหัสนักศึกษา 44040599

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2547

วพ.
ส642ผ
2547

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....99450
วัน.เดือน.ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของโอโซนต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในน้ำ

Effect of Ozone to Inhibit Aquatic Bacteria

ในปัจจุบันในการเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่างๆจะพบกับปัญหาการเกิดโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตในการทำธุรกิจการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอย่างมากถึงจะมีการเลี้ยงในระบบปิดเพื่อป้องกันการแพร่ของโรคแต่ก็ต้องมีการฆ่าเชื้อหรือทำความสะอาดน้ำที่มีการถ่ายออกมาจากการเลี้ยงเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่โดยโอโซนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโดยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียโดยใช้โอโซนในครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อเพื่อศึกษาผลของการใช้โอโซนและเปรียบเทียบระยะเวลาของการใช้โอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียชนิดต่างๆที่พบในน้ำโดยในการศึกษาครั้งนี้ผลิตโอโซนด้วยวิธี Photozone เครื่องที่ใช้มีกำลังผลิตโอโซนได้ 60 มิลลิกรัมโอโซนต่อลิตรต่อชั่วโมงทดสอบกับแบคทีเรีย 3 ชนิดคือ แบคทีเรียในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร , แบคทีเรีย *Vibrio harveyi* และ แบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* โดยทำการให้โอโซนแล้วเก็บน้ำตัวอย่างมาตรวจนับจำนวนเซลล์แบคทีเรียที่ลดลงที่เวลา 1,6,12และ 24ชั่วโมงแล้วนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95เปอร์เซ็นต์

โดยพบว่าการให้โอโซน 24ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรได้ 99.43 เปอร์เซ็นต์ ผลของโอโซนต่อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* พบว่าการให้โอโซน 1ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และการทดลองกับแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* พบว่าการให้โอโซน 12ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำได้เป็น 100 เปอร์เซ็นต์

ในส่วนของกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศใดๆเลยนั้นพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 24ชั่วโมงทั้ง 3 การทดลอง มีปริมาณของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจากตอนเริ่มต้นทดลองเป็นอย่างมาก

จากผลการศึกษาพบว่าโอโซนสามารถช่วยในการลดปริมาณของแบคทีเรียในน้ำได้อย่างรวดเร็วโดยในการให้โอโซนเพียง 1ชั่วโมงก็สามารถลดปริมาณแบคทีเรียในน้ำได้แล้ว แต่การใช้โอโซน ก็มีข้อควรระวังคือปริมาณโอโซนที่เข้มข้นเกินไปจะทำอันตรายต่อสัตว์น้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ขอบคุณอาจารย์ ดร. อัจฉรี เรืองเดช และ ผศ.ดร.อาจารย์ นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ ที่คอยให้คำปรึกษา , แก้ไขข้อบกพร่อง และคอยดูแลตลอดการทำปัญหาพิเศษ ถ้าไม่ได้ท่านอาจารย์ทั้ง 2 ผมคงไม่บรรลุความสำเร็จครั้งนี้ได้

ขอบคุณอาจารย์ ดร.สมชาย หวังวิบูลย์กิจ ที่ปรึกษาทีไรมักจะได้ความคิดดีๆมาช่วยเสริมในการทดลองเสมอๆ

ขอบคุณอาจารย์ ดร.มลฑณ แก่นมณี ทีคอยถามถึงความคืบหน้าของปัญหาพิเศษรวมทั้งเป็นที่ปรึกษาในระหว่างที่ทดลอง

ขอบคุณอาจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ สำหรับคำดุเตือน " นี่ สาธิต ทำไมเธอแต่งตัวไม่เรียบร้อยเลยนะ " ผมคงคิดถึงคำสอนนี้ไปอีกนานเลยครับ

ขอบคุณพี่มอญ , พี่ดาว , พี่นิพนธ์ , พี่ออด , พี่แสง ที่ให้ความสะดวกในการทดลอง อาจเลยเถิดไปถึงพี่จิ๊บ , พี่แจ๋ว ที่เป็นแหล่งพักกายพักใจเวลาหิวและหนื่อย

ขอบคุณ คุณพี่ , คุณอ๊อฟ , คุณต้อง , คุณแซมป์ , คุณโกที่ไม่ช่วยทำปัญหาพิเศษเลยแต่ยังดีที่ช่วยออกค่าห้องซ้อมดนตรี ขอบคุณ คุณมัทที่ชอบลากผมมาเป็นทำปัญหาพิเศษของคุณดึกๆดื่นๆ ขอบคุณ คุณฝน , คุณปุ้ยที่ช่วยล้างเครื่องแก้ว ขอบคุณ คุณคิวที่ชวนผมมาลำบากกับเขาด้วยอีกคนทำให้ปัญหาพิเศษมีสีสัน ขอบคุณน้องหนูนาที่มาก๊ิกกับคุณพี่ ขอบคุณ คุณสุปราณีไม่รู้ว่าขอบคุณทำไมแต่ทำแล้วรู้สึกดีบอกไม่ถูก และขอบคุณเพื่อนๆทุกท่านที่ไม่ได้เอ่ยนามเนื่องจากกลัวว่าคำนิยมจะยาวกว่าผลการทดลอง

ขอบคุณ พ่อ , แม่ ,พี่ ,น้อง ที่คอยให้กำลังใจ , ให้ผมได้เรียนในสิ่งที่ผมชอบ , ทำในสิ่งที่ผมรัก ผมจะไม่ทำให้ทุกคนผิดหวังฮะผมสัญญา

สุดท้ายจริงๆ ขอบคุณทุกคำสั่งสอน , ทุกบทเรียน ,ทุกคำตักเตือน จากอาจารย์ทุกท่านที่มีให้ตลอด 4ปี มีคนเคยถามผมตอนผมเด็กๆว่า " โตขึ้นอยากเป็นอะไร" ผมก็ตอบไปตามประสาเด็กๆว่าอยากเป็นทหารอยากเป็นตำรวจ แต่ตอนนี้ผมรู้แล้วครับว่าผมอยากเป็นอะไร ขอบคุณอาจารย์ทุกท่านที่ทำให้ผมรู้ว่าโตขึ้นผมอยากเป็นอะไร

นายสาธิต เทศเสียงหวาน

17 เมษายน 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลการทดลองและวิจารณ์	11
สรุปและข้อเสนอแนะ	15
เอกสารอ้างอิง	16
ภาคผนวก	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรและส่วนเบี่ยงเบนที่ได้จากการทดลอง	17
2	การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร	17
3	แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำและส่วนเบี่ยง เบนที่ได้จากการทดลอง	18
4	การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำ	19
5	แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำและส่วนเบี่ยง เบนที่ได้จากการทดลอง	20
6	การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบ ในน้ำ	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วิธีการทำลายสารชีวโมเลกุลของเชื้อจุลินทรีย์โดยโอโซน	5
2	กราฟแสดงปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างกัน	11
3	กราฟแสดงปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างกัน	12
4	กราฟแสดงปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างกัน	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ในปัจจุบันในการเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่างๆจะพบกับปัญหาการเกิดโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตในการทำธุรกิจการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอย่างมากถึงจะมีการเลี้ยงในระบบปิดเพื่อป้องกันการแพร่ของโรคแต่ก็ต้องมีการฆ่าเชื้อหรือทำความสะอาดน้ำที่มีการถ่ายออกมาจากการเลี้ยงเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่โดยสารเคมีที่นิยมใช้ในการฆ่าเชื้อจะได้แก่สารพวก ฟอร์มาลีน หรือ คลอรีน แต่สารเหล่านี้ก็จะพบกับปัญหาการตกค้างของสารหลังใช้และอาจจะทำให้เกิดปัญหาในการตกค้างในสัตว์น้ำหรือตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้

โอโซนก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ปกติโอโซนมีการใช้มานานแล้วโดยใช้เพื่อฆ่าเชื้อในธุรกิจน้ำดื่ม เคยมีการทดลองพบว่าโอโซนมีความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli* เร็วกว่าคลอรีนถึง 600-3000 เท่า (Majumdar and Sproul . 1974) และด้วยการเป็นตัวออกซิไดซ์อย่างแรงจึงทำให้โอโซนตกค้างในน้ำน้อยมาก แต่ถึงโอโซนจะมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีแต่ก็ไม่เป็นที่นิยมในการใช้กับการเลี้ยงในฟาร์ม เนื่องจากผู้เลี้ยงยังไม่มั่นใจในผลที่ได้ ดังนั้นการทดลองนี้จึงได้ศึกษาถึงผลของโอโซนต่อปริมาณของแบคทีเรียในน้ำโดยทำการทดลองให้โอโซนในระยะเวลาต่างๆกันเพื่อหาระยะเวลาในการให้โอโซนที่เหมาะกับการลดปริมาณแบคทีเรียในน้ำที่นำมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการใช้โอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียชนิดต่างๆที่พบในน้ำ
2. เพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาของการใช้โอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียชนิดต่างๆที่พบในน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

1. โอโซน (Ozone)

1.1 การผลิตโอโซน ก๊าซโอโซนสามารถเกิดขึ้นเองได้ในธรรมชาติ จากการเกิดฟ้าแลบฟ้าคะนอง บนบรรยากาศชั้นสตราโทส เฟียร์ (โอโซโนสเฟียร์) ที่ระดับความสูง 10-50 กิโลเมตร และบนพื้นผิวโลก (Smith, 1999; อนันต์ ตันสุตะพานิช, 2541) ในธรรมชาติก๊าซโอโซนเกิดจากก๊าซออกซิเจนที่ประกอบด้วยธาตุออกซิเจน 2 อะตอม ส่วนหนึ่งยังคงอยู่ในรูป โมเลกุลของก๊าซออกซิเจนบางส่วนถูกรังสีอุลตร้าไวโอเลต (UV) แยกสลายเป็นออกซิเจนอิสระที่มีธาตุออกซิเจน 1 อะตอม แล้วรวมกันใหม่กลายเป็นก๊าซโอโซนที่ประกอบด้วยธาตุออกซิเจน 3 อะตอม ปัจจุบันวิธีการที่ใช้ผลิตโอโซนมี 2 วิธี ก๊าซโอโซนที่ใช้ผลิตอาจใช้อากาศในธรรมชาติมีก๊าซออกซิเจน 20 เปอร์เซ็นโดยปริมาตรถ้าต้องการความเข้มข้นสูงและได้ก๊าซโอโซนที่บริสุทธิ์จะผลิตจากก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ที่มีออกซิเจนมากกว่า 95 เปอร์เซ็นโดยปริมาตร (เอกชัย จิตต์รุ่งเรืองสุข, 2538; สุรพล รักปทุม, 2543)

1.1.1 วิธี Photozone คือการแตกตัวของก๊าซออกซิเจน จากพลังงานคลื่นรังสีอุลตร้าไวโอเลตที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า 200 นาโนเมตร ดีที่สุดอยู่ที่ 185 นาโนเมตร แล้วรวมตัวกันใหม่อยู่ในรูปก๊าซโอโซน วิธี Photozone เป็นวิธีที่ให้ความแรงของการออกซิไดซ์สูงและใช้พลังงานในการผลิตน้อยกว่าวิธีอื่นแต่มีข้อจำกัดคือปัญหาการขุ่นมัวของหลอดและอายุการใช้งานสั้นทำให้ปริมาณก๊าซที่ได้น้อยลงหรือไม่คงที่

1.1.2 วิธี Corona discharge คือการเร่งประจุไฟฟ้าแบบ Silent Spark (corona) จากไฟฟ้ากระแสสลับผ่านแผ่น อิเล็กโตรด ที่มีความต่างศักย์ 4,000 - 15,000 โวลท์ วิธีนี้จะได้ปริมาณก๊าซโอโซนที่มีความเข้มข้นและปริมาณมากกว่าวิธี Photozone ก๊าซโอโซนที่ผลิตได้ค่อนข้างคงที่ แต่ก๊าซออกซิเจนที่ใช้ผลิตต้องปราศจากความชื้นเนื่องจากเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดไอน้ำอยู่ภายในเครื่องก่อให้เกิดสนิมทำให้อายุการใช้งานสั้นลง

1.2 คุณสมบัติและปฏิกิริยาของก๊าซโอโซน โอโซนมีสูตรทางเคมี O_3 ประกอบด้วยธาตุออกซิเจน 3 อะตอม น้ำหนักโมเลกุล 48 เป็นก๊าซสีฟ้า (bluish) ในบรรยากาศทั่วไปมีความเข้มข้นต่ำมักไม่มีสี เมื่อเป็นของเหลวมีสีน้ำเงินเข้ม (dark blue) กลิ่นฉุนคล้ายคาวปลา ความหนาแน่นในสถานะก๊าซ 2.144 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรที่อุณหภูมิและความดันปกติ ในสถานะของเหลว 1.574 กรัมต่อลูกบาศก์เซ็นติเมตร ที่อุณหภูมิ –183 องศาเซลเซียส ในสถานะของแข็ง 1.728 กรัมต่อลูกบาศก์เซ็นติเมตร มีจุดเดือด –112 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 100 kPa และจุดหลอมเหลว –

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

196 องศาเซลเซียส ความหนืด 0.0016 และ 0.0042 Pa.s ที่อุณหภูมิ –183 และ –196 องศาเซลเซียส ตามลำดับ สามารถดูดซึมรังสีอัลตราไวโอเลตระหว่างช่วงความยาวคลื่น 220-330 นาโนเมตร ดูดซึมแสงที่มองเห็นในช่วงความยาวคลื่น 435-475 นาโนเมตร ค่าครึ่งชีวิต (half life) ประมาณ 36-120 นาที ในสภาวะก๊าซ และ 18-20 นาที เมื่อละลายน้ำ หลังจากสลายตัวได้ก๊าซออกซิเจนแล้วให้พลังงาน –140 กิโลจูนต่อโมล (สุรพล รักปทุม, 2543; กัญญาจิต โล่ภิญโญสิริ, 24543) การทำปฏิกิริยาเคมีกับสารต่าง ๆ จะเกิดปรากฏการณ์ที่แตกต่างกันไปตามชนิดของสาร สภาพของก๊าซโอโซนที่อยู่ในอากาศหรือสารละลาย สารที่มีอิเล็กตรอนมากหรือตัวรีดิวซ์ เช่น ซัลไฟด์ (HS^-) ไนไตรต์ (NO_2^-) โบรไมด์ (Br^-) ไอโอไดด์ (I^-) ไซยาไนด์(CN^-) ไธโอไซยาไนด์ (CNS^-) และธาตุทุกชนิด ยกเว้นฟลูออไรด์ในตารางธาตุก็จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอย่างตรงไปตรงมา (สุรพล รักปทุม, 2543) สำหรับก๊าซโอโซนที่ละลายอยู่ในน้ำ ยังสามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นทางอ้อมจากอนุมูลอิสระโดยโมเลกุลของน้ำบางส่วนแตกตัวออกเป็นอนุมูลไฮดรอกซี (OH^-) แล้วทำปฏิกิริยากับโอโซนกลายเป็นอนุมูลอิสระพวกซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide radical) และอนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical) ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงกว่าโอโซน แล้วจึงเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นอีกที

1.3 ประสิทธิภาพในการละลายน้ำของโอโซน ปัจจัยที่ส่งผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของโอโซน (นิรชา วงษ์จินดา, 2534)

1.3.1 อุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณโอโซนที่ละลายในน้ำลดลง เนื่องจากโอโซนสลายตัวได้เร็วขึ้น ความคงตัวของโอโซนรวมทั้งความเข้มข้นเริ่มต้นของโอโซนขึ้นกับอัตราการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความสั่นสะเทือน

1.3.2 ค่าความเป็นกรด – ด่างของสารละลาย (pH) pH มีความสำคัญในการทำปฏิกิริยาของโอโซนต่ออินทรียสารต่าง ๆ ในสภาวะที่ pH น้อยกว่า 7 โอโซนจะทำปฏิกิริยากับอินทรียสารต่าง ๆ ได้ช้า แต่ที่ pH มากกว่า 8 ปฏิกิริยาจะเกิดอย่างรวดเร็ว เนื่องจากโอโซนสลายตัวให้ไฮดรอกซี่แรดดิคัล ($^{\circ}OH$) ที่เป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรง อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของความสามารถในการละลายของโอโซนที่ pH ของน้ำเท่ากับ 5 – 9 เมื่อความเข้มข้นของโอโซนตกค้าง (ROC) อยู่ในช่วง 0.60 –0.70 พีพีเอ็ม ในน้ำที่ความเค็ม 31 พีพีที

1.3.3 ความเค็มของน้ำ เมื่อน้ำทะเลมีค่าความเค็มเพิ่มสูงขึ้น จะทำให้โอโซนละลายลดน้อยลง ถ้าตัวแปรอื่น ๆ ได้แก่ อุณหภูมิ และค่า pH ของน้ำทะเลคงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.4 คุณสมบัติของสารละลาย ปริมาณของสารประกอบ และอนุภาคแขวนลอยต่าง ๆ ในน้ำมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการละลายของก๊าซโอโซน กล่าวคือถ้ามีสารประกอบและอนุภาคต่าง ๆ ในปริมาณมาก จะทำให้ปริมาณโอโซนละลายลดลง

1.3.5 ขนาดของฟองก๊าซโอโซน จำนวนและขนาดช่องของหัวทรายที่ใช้พ่นก๊าซโอโซนมีผลต่อขนาดของฟองก๊าซโอโซน ฟองก๊าซขนาดใหญ่ ทำให้การผสมผสานระหว่างก๊าซโอโซนกับน้ำไม่สมบูรณ์ ปริมาณโอโซนละลายจึงมีค่าน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณโอโซนละลายที่ได้จากฟองก๊าซขนาดเล็ก นอกจากนี้ความดันอากาศในการผลิตก๊าซโอโซนยังมีผลต่อขนาดฟองก๊าซ เนื่องจากที่ความดันสูง จะทำให้ฟองก๊าซมีขนาดใหญ่ ทำให้โอโซนละลายน้ำได้น้อย

1.3.6 วิธีการที่โอโซนสัมผัสกับสารละลาย การเป่าพ่นก๊าซโอโซนและน้ำไปพร้อม ๆ กัน ทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างก๊าซและของเหลวอย่างชัดเจน ปริมาณโอโซนละลายที่ได้จึงมีค่าน้อย แต่การเป่าพ่นโอโซนลงไปในน้ำที่ตั้งอยู่ในคอลัมน์จะทำให้โอโซนผสมกับของเหลวได้ดีกว่า ปริมาณโอโซนละลายที่ได้จึงปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

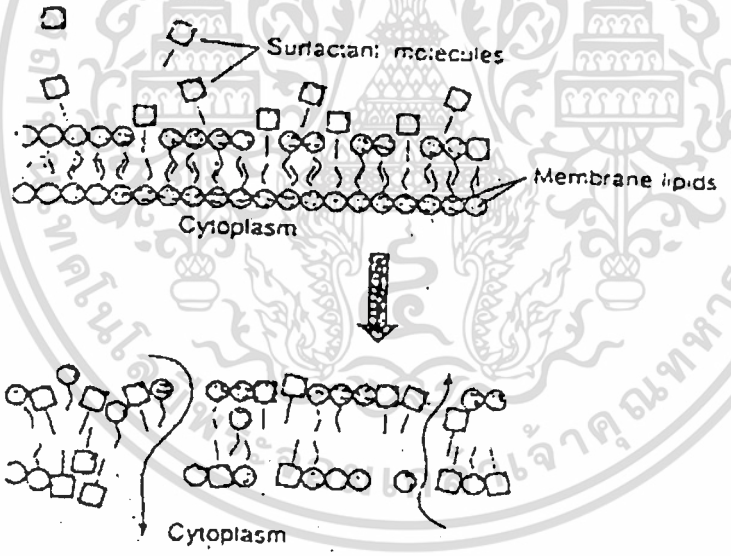
1.4 การตรวจวัดปริมาณก๊าซโอโซน ความเข้มข้นของโอโซนมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา นับตั้งแต่มีการผลิตจากเครื่องให้กำเนิดโอโซน จึงต้องมีการตรวจวัดความเข้มข้นที่แท้จริงของโอโซน ซึ่งจำแนกได้ดังนี้

1.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนผลิตสุทธิ (Total Ozone Output. TOO) การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนแบบนี้จะใช้วิธีการวิเคราะห์ด้วยวิธี Iodometric titration (APHA,1976) เป็นการวิเคราะห์ปริมาณก๊าซโอโซนที่เข้าไปสู่ระบบต่อหน่วยเวลา โดยใช้สารโปแตสเซียมไอโอไดด์เป็นตัวดูดจับกาซโอโซนในน้ำทำให้เกิดสารโปแตสเซียมไอโอเดต ซึ่งทำปฏิกิริยากับน้ำแป้งให้สีน้ำเงิน แม้วิธีนี้จะไม่คำนึงถึงการระเหยออกจากระบบของโอโซนในภายหลัง แต่เป็นวิธีการที่นักวิจัยหลายกลุ่มเลือกใช้ เนื่องจากไม่มีวิธีใดที่สามารถวัดความเข้มข้นของโอโซนในน้ำได้อย่างถูกต้องแน่นอน (Yang and Chen, 1979;Liltved et al, 1995)

1.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณโอโซนตกค้าง (Residual Ozone Concentration, ROC) วิธี Indigo Colorimetric เป็นการวัดค่าโอโซนที่ยังหลงเหลืออยู่ในน้ำขณะทำการตรวจวัด วิธีนี้ได้รับการรับรองจาก Standard Methods Committee (APHA, 1976) มีหลักการคือ โอโซนทำปฏิกิริยากับ diethy–p– phenylenediamine (DPD) โดยมี iodide ion เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้สารละลายสีแดงม่วง ซึ่งตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Merck Ltd., 1998) อย่างไรก็ตามโบรมีนและคลอรีนในน้ำทะเล สามารถทำให้เกิดความผิดพลาดในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ผลของโอโซนที่มีต่อเชื้อแบคทีเรีย ปฏิกิริยาการเข้าทำลายเซลล์สิ่งมีชีวิตของโอโซนเริ่มจากการที่โอโซนจะออกซิไดซ์เยื่อหุ้มเซลล์ที่บริเวณพันธะคู่ของกรดไขมัน (นิรชา วงษ์จินดา, 2537; Smith, 1999; Arturo and Tapas, 1988 อ้างถึงใน กัญญาจิต โล่ภิญโญสิริ, 2543) จนเกิดการเสียหายและแยกออกจากกัน (Trukhacheva et al, 1993 อ้างถึงใน นิรชา วงษ์จินดา, 2537) จากนั้นโอโซนจะเข้าไปออกซิไดซ์สารชีวโมเลกุลอื่นๆภายในเซลล์ ทำให้การสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ และโครงสร้างของโมเลกุลหยุดชะงัก (Paulesu et al,1991 อ้างถึงใน กัญญาจิต โล่ภิญโญสิริ, 2543) เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างของ DNA และ RNA หรือเกิดพันธะกับ RNA ทำให้กระบวนการสังเคราะห์ DNA และ RNA เกิดขึ้นได้อย่างไม่สมบูรณ์ (ศิริรักษ์ เนตรรัตนะ, 2539 อ้างถึงใน กัญญาจิต โล่ภิญโญสิริ, 2543)(ภาพที่ 1) เมื่อออแกแนลล์ต่างๆในเซลล์ถูกทำลายจะทำให้ตายในที่สุด (นันทริกา อิศรศักดิ์ ณ อยุธยา และคณะ, 2532 อ้างถึงใน กัญญาจิต โล่ภิญโญสิริ , 2543) อย่างไรก็ตามถ้าเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ถูกทำลายจนแตกแยกออกจากกัน เซลล์จะสามารถฟื้นกลับมามีชีวิตใหม่ได้ (Arturo and Tapas, 1988 อ้างถึงใน กัญญาจิต โล่ภิญโญสิริ, 2543)



ภาพที่ 1 วิธีการทำลายสารชีวโมเลกุลของเชื้อจุลินทรีย์โดยโอโซน

ที่มา : ศิริรักษ์ เนตรรัตนะ (2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดลอง

2.1 เชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi*

แบคทีเรียชนิดนี้จัดอยู่ในแบคทีเรียประเภทรูปร่างเป็นแท่งโค้งสั้น ขนาดเซลล์ประมาณ 1.5-4.0 μm เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram – negative) เคลื่อนที่ได้มี Polar flagella ไม่สร้างสปอร์ และไม่สร้างซีสต์ (Cyst) เป็นพวก Facultative anaerobes สร้างสารสีเขียวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS (Thiosulfate-citrate-bile-salf-sucrose) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต 20-30 ^{0}C ค่าpH 7-9 ความเค็มระหว่าง 10-40 ppt ลักษณะเด่นที่สำคัญคือเมื่อส่องดูใต้แสง Fluorescent เซลล์จะเรืองแสงขึ้นมา โดยแบคทีเรียชนิดนี้เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในการเลี้ยงสัตว์น้ำจำพวกกุ้งและปู

2.2 เชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*

เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีคล้ายกับแบคทีเรียบางชนิดใน Order Pseudomonas. Family Enterobacteraceae รูปร่างแบบแท่ง ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้เพราะมีแส้ (Flagellum) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ โคโลนีขึ้นบนอาหารเลี้ยงธรรมดา โดยโคโลนีมีลักษณะกลมและผิวเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 – 0.8 μm X 1.0 – 1.5 μm โดยส่วนมากแบคทีเรียชนิดนี้จะทำอันตรายกับปลาน้ำจืด ปลาที่มีเชื้อนี้จะทำให้ผิวหนังสีดำ ขนาดใหญ่อาจไม่สม่ำเสมอกันซึ่งเกิดมาจากการตกเลือด (Haemorrhage) ทำให้เกิดการตายของกล้ามเนื้อ ผิวหนังชั้นนอกเกิดเป็นแผลเปื่อย ไตและม้ามบวมน้ำ มีน้ำของเหลวไหลอยู่ในช่องท้อง โดยจุดสำคัญที่มีการตายของกล้ามเนื้อ ได้แก่ ตับ หัวใจ กล้ามเนื้อ gonad และตับอ่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. Volumetric Flask ขนาด 6 ลิตร
2. เครื่องผลิตโอโซน
3. เครื่อง Air Pump
4. หัวทราย,ท่อลม,ข้อต่อปรับแรงลม
5. อาหารเลี้ยงเชื้อPlate count agar (PCA)
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate-citrate-bile salts-sucrose (TCBS)
7. Pipett ขนาด 10 ml
8. Micropipett ขนาด 10 ml,5ml,1ml,20µl
9. Plate
10. หลอดทดลองขนาดเล็ก,ที่วางหลอดทดลอง
11. ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ
12. บีกเกอร์ ขนาด 1L,2L
13. Cylinder
14. แท่งแก้วคนสาร
15. กระบอกกอบ Plate
16. ตู้อบความร้อน (Oven)
17. เครื่อง Auto Clave
18. ตู้บ่มเชื้อ
19. ตู้ Laminar Flow
20. Vortex mixture
21. Loop,needle
22. น้ำกลั่น
23. NaCl
24. น้ำเกลือ 0.85%
25. ช้อนตักสาร
26. เครื่องชั่งแบบจุดทศนิยม 2 ตำแหน่ง
27. แอลกอฮอล์ 70%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

แผนการทดลอง

มีแผนการทดลองแบบ แฟคเตอร์ 2 X 4 ปัจจัย โดยปัจจัยที่ 1 คือการใช้โอโซน มี 2 ระดับ ได้แก่ ใช้โอโซน กับ ไม่ใช้โอโซน ปัจจัยที่ 2 คือระยะเวลาในการให้โอโซน มี 4 ระดับได้แก่ 0 , 1 , 6 , 12 , 24 ชั่วโมง แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ผลของโอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร

การทดลองที่ 2 ผลของโอโซนต่อเชื้อ *Vibrio harveyi*

การทดลองที่ 3 ผลของโอโซนต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

วิธีการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

1. การศึกษาผลของโอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร

วิธีการมีดังนี้

1.1 การเตรียมชุดการทดลอง

1.1.1 เก็บน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรในเขตลาดกระบังซึ่งเลี้ยงหมูป่าทุกวัยด้วยอาหารตามธรรมชาติ นำน้ำทิ้งมาใส่ใน Volumetric flask ขนาด 6 L โดยใส่น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรลงไป 2 L

1.1.2 แบ่ง Volumetric flask ขนาด 6 L เป็น 3 ชุดแต่ละชุดมี 3ซ้ำโดยชุดที่ 1นำไปต่อเข้ากับเครื่องผลิตโอโซนแบบ photozone ที่มีกำลังผลิตโอโซนได้ 60 mgโอโซน/L/ชั่วโมง 1 ชุด ชุดที่ 2 ต่อเข้ากับเครื่องให้อากาศ 1 ชุด โดยชุดที่มีการให้อากาศทั้ง 2 ชุดปรับให้มีอัตราการไหลของอากาศเท่าๆกัน และชุดที่ 3เป็น control โดยไม่มีการให้อากาศ

1.1.3 เปิดเครื่องให้อากาศและเครื่องผลิตโอโซนจากนั้นเก็บน้ำที่ 0, 1, 6, 12, 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย

1.2 การเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรีย

1.2.1 เตรียมน้ำเกลือ 0.85% โดยชั่ง NaCl 8.5g ละลายในน้ำ 1 L จากนั้นนำไปอบใน Auto Clave ที่ 121 ^{0}C เป็นเวลา 15นาที เพื่อฆ่าเชื้อ

1.2.2 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA โดยชั่งอาหาร PCA 22.5g/น้ำ 1L จากนั้นนำไปอุ่นบนเตาแก๊สจนวุ้นละลายหมด เทอาหารใส่ในขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปอบใน Auto Clave ที่ 121 ^{0}C เป็นเวลา 15นาที

1.2.3 นำ plate ไปอบฆ่าเชื้อในตู้ Hot Air Oven ที่อุณหภูมิ 180 ^{0}C เป็นเวลา 3ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.4 นำอาหารที่อบใน Auto Clave ที่ 121 ^{0}C เป็นเวลา 15นาที แล้วมาเทลงใน plate ภายในตู้ Laminar Flow โดยเทอาหารประมาณ 20ml ต่อ 1 plate

1.3.การตรวจสอบปริมาณเชื้อ

1.3.1 เก็บน้ำจากชุดทดลองโดยใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดน้ำมา 5ml ใส่ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

1.3.2 จากนั้นนำน้ำที่ได้มาเจือจางในน้ำเกลือปลอดเชื้อโดยเจือจางที่ 5ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 10^{-1} – 10^{-5} โดยดูดน้ำตัวอย่างมา 1ml ใส่ลงในน้ำเกลือ 9ml เขย่าให้เข้ากันด้วย Vortex mixture จะได้น้ำตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่ 10^{-1} แล้วจากนั้นดูด ได้น้ำตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่ 10^{-1}มา 1ml ใส่ในน้ำเกลือ 9ml เขย่าให้เข้ากันด้วยVortex mixture จะได้น้ำตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่ 10^{-2} แล้วจากนั้นทำแบบนี้เรื่อยไปจนกระทั่งได้น้ำตัวอย่างที่มีความเข้มข้น10^{-5} (10 fold dilution)

1.3.3 เมื่อได้น้ำตัวอย่างครบทุกระดับความเข้มข้นแล้วทำการตรวจนับโคโลนีโดยใช้วิธี Drop Plate โดยดูดน้ำตัวอย่างมา 10μl หยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ 1plate จะทำการหยด 5ตำแหน่ง

1.3.4 เมื่อทำการ Drop Plate เสร็จแล้วนำอาหารไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 ^{0}C เป็นเวลา 16 – 18 ชั่วโมงจากนั้นนำออกมานับจำนวนโคโลนีที่เกิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกนับเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีขึ้นอยู่ในช่วง 30 – 300 โคโลนี

2. ผลของโอโซนต่อเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi*

วิธีการมีดังนี้

2.1 นำเชื้อ *Vibrio harveyi* บริสุทธิ์ที่ได้จากภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มาเลี้ยงด้วยสูตรอาหารดังนี้ อาหาร NB 8g/l, NaCl 15g/l และ Agar 15g/l

2.2 ขยายเชื้อลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 200ml ที่บรรจุอาหารเหลว 120ml จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 ^{0}C เป็นเวลา 24ชั่วโมง

2.3 เมื่อได้จำนวนเชื้อที่มากพอนำเชื้อใส่ใน Volumetric flask ขนาด 6 L ที่บรรจุน้ำเกลือที่มีความเค็ม 10 ส่วนใน 1000ส่วน อยู่ 2L โดยแต่ละ flask จะใส่เชื้อในปริมาณที่เท่าๆกันประมาณ 10ml จากนั้นทิ้งไว้ 24ชั่วโมงเพื่อให้เชื้อเพิ่มจำนวน

2.4 เปิดเครื่องให้อากาศและเครื่องผลิตโอโซนจากนั้นเก็บน้ำที่ 0, 1, 6, 12, 24 ชั่วโมงเพื่อนำมาตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย

2.5 จากนั้นทำตามขั้นตอนที่ 1.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลของโอโซนต่อเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*

วิธีการมีดังนี้

ทำตามการทดลองที่ 2 แต่เปลี่ยนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้เป็น *Aeromonas hydrophila*

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังจากให้อากาศและโอโซน

โดยใช้วิธี Drop plate **แล้วนับจำโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงโดยเลือกนับเฉพาะอาหารที่มีโคโลนีขึ้นอยู่ในช่วง** 30 – 300**โคโลนี**

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. **การหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำ**

การคำนวณ

จำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้น 10^{-X} = Y **โคโลนี**

ปริมาณน้ำตัวอย่างที่หยดในอาหารเลี้ยงเชื้อ = 10μl **แต่** 1ml = 1000μl

ดังนั้นในน้ำตัวอย่าง 1ml **มีปริมาณเชื้อ** = Y X 1000 X 10^{X} **โคโลนี**

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณเชื้อแบคทีเรียในแต่ละการทดลองโดยใช้โปรแกรม Spss version 10.0 for Window

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

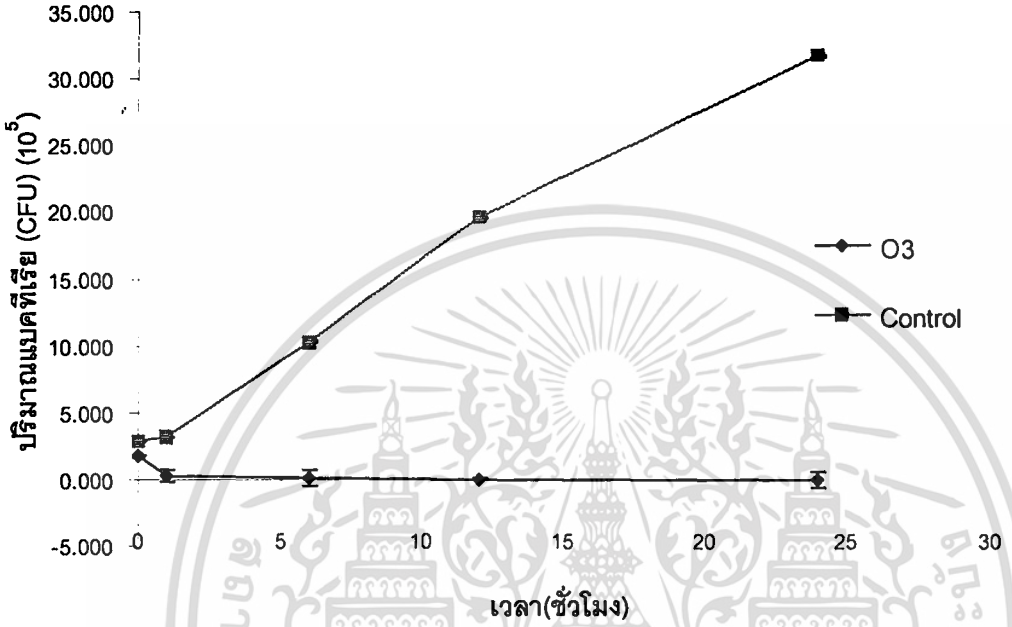
ระยะเวลาการทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่วันที่ 1กุมภาพันธ์ สิ้นสุดการทดลองวันที่ 31มีนาคม 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของโอโซนต่อปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร



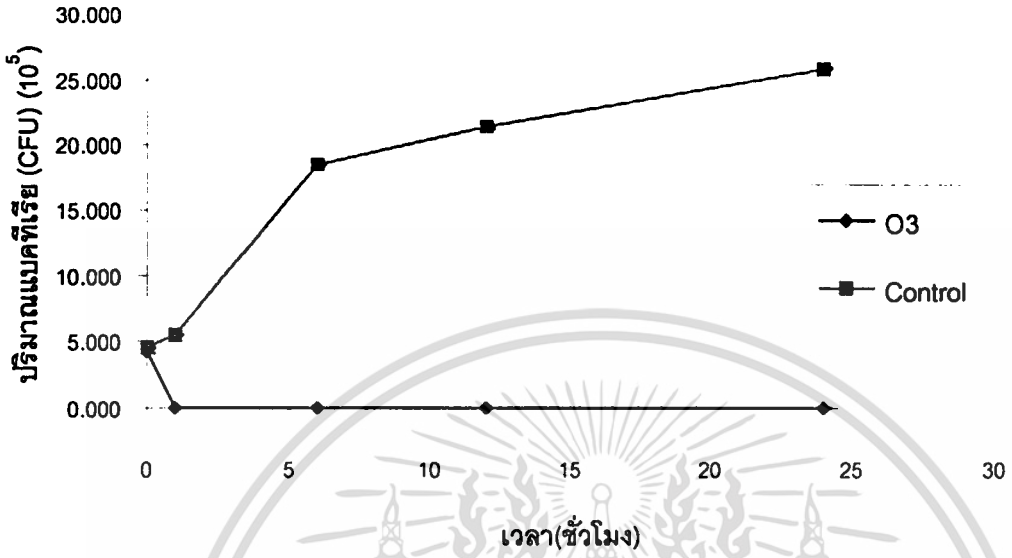
ภาพที่ 2 แสดงปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างๆ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณแบคทีเรียในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจากชนิดของอากาศที่เป่าพ่นในน้ำตัวอย่างเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อากาศจากบรรยากาศและโอโซนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเทียบกับระยะเวลาแล้ว ระยะเวลาที่ 1 , 6 , 12 และ 24ชั่วโมง ก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากภาพที่ 2 การให้โอโซน 24ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจาก 176,300 CFU เหลือ 1,000 CFU หรือคิดเป็น 99.43 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการให้อากาศธรรมดาพบว่าการให้อากาศธรรมดา 24ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจาก 161,700 CFU เหลือ 25,600 CFU หรือคิดเป็น 84.17 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศใดๆพบปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรเพิ่มขึ้นจาก 282,700 C F U เป็น 3,176,700 C F U

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2. ผลของโอโซนต่อปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi*

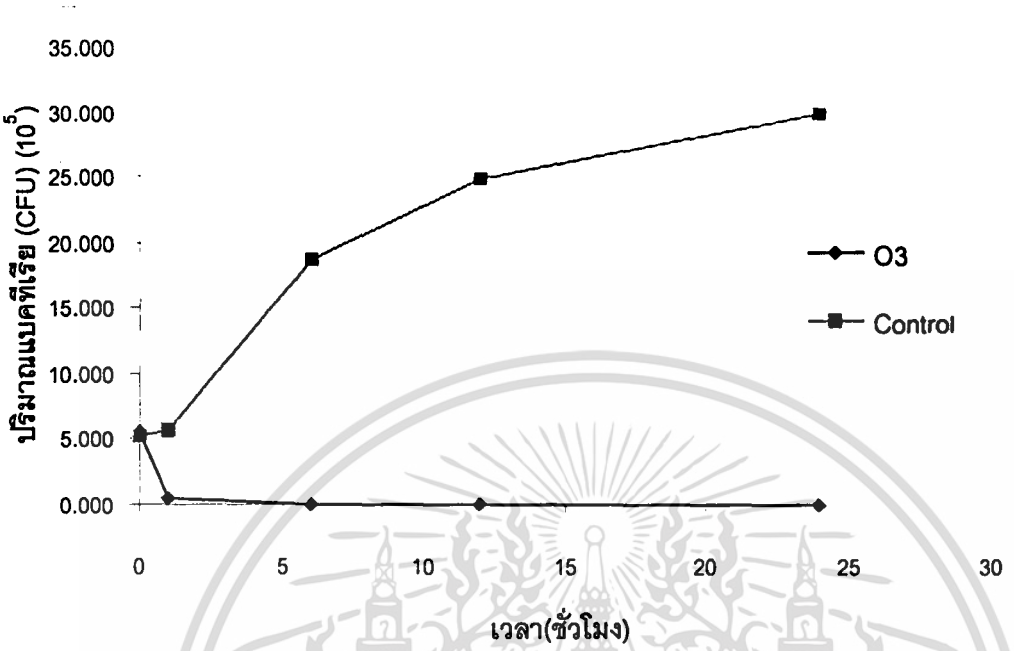


ภาพที่ 3 แสดงปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างๆ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ในน้ำจากชนิดของอากาศที่เป่าพ่นในน้ำตัวอย่างเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอากาศจากบรรยากาศและโอโซนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเทียบกับระยะเวลาแล้ว ระยะเวลาที่ 1 , 6 , 12 และ 24ชั่วโมง ก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากภาพที่ 3 การให้โอโซน 1ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำจาก 428,000 CFU เหลือ 0 CFU หรือคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการให้อากาศธรรมดาพบว่าการให้อากาศธรรมดา 1ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำจาก 510,700 CFU เหลือ 159,300 CFU หรือคิดเป็น 68.8 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศใดๆเป็นเวลา 1ชั่วโมงพบว่าปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำเพิ่มขึ้นจาก 457,700 C F U เป็น 550,300C F U

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลของโอโซนต่อปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*



ภาพที่ 4 แสดงปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophilai* ที่พบในน้ำหลังจากให้อากาศและโอโซนที่เวลาต่างๆ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ในน้ำจากชนิดของอากาศที่เป่าพ่นในน้ำตัวอย่างเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อากาศจากบรรยากาศและโอโซนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเทียบกับระยะเวลาแล้ว ระยะเวลาที่ 1 , 6 , 12 และ 24ชั่วโมง ก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากภาพที่ 4 การให้โอโซน 12ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจาก 559,000 CFU เหลือ 0 CFU หรือคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการให้อากาศธรรมดาพบว่าการให้อากาศธรรมดา 12ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจาก 536,300CFU เหลือ 16,500CFU หรือคิดเป็น 96.9 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้อากาศใดๆเป็นเวลา 12ชั่วโมงพบว่าปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำเพิ่มขึ้นจาก 527,700CFU เป็น 2,480,000CFU

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าการให้โอโซนสามารถลดปริมาณแบคทีเรียได้ซึ่งสาเหตุที่ปริมาณแบคทีเรียลดลงมาจากโอโซนไปอ๊อกซิไดซ์เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียบริเวณพันธะคู่ของกรดไขมันจนเยื่อหุ้มเซลล์เกิดการเสียหายและแยกออกจากกันจากนั้นโอโซนจะเข้าไปอ๊อกซิไดซ์สารชีวโมเลกุลอื่นๆภายในเซลล์ทำให้การสร้างโปรตีนที่เป็นโครงสร้างหลักของโมเลกุลหยุดชะงักและทำให้โครงสร้างของ DNA และ RNA เปลี่ยนแปลงไปทำให้แบคทีเรียตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

การให้โอโซน 24ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจาก 176,300 CFU เหลือ 1,000 CFU หรือคิดเป็น 99.43 เปอร์เซ็นต์ การให้โอโซน 1ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำจาก 428,000 CFU เหลือ 0 CFU หรือคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ และการให้โอโซน 12ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจาก 559,000 CFU เหลือ 0 CFU หรือคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

การให้อากาศธรรมดาพบว่าการให้อากาศธรรมดา 24ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจาก 161,700 CFU เหลือ 25,600 CFU หรือคิดเป็น 84.17 เปอร์เซ็นต์ การให้อากาศธรรมดา 1ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่พบในน้ำจาก 510,700 CFU เหลือ 159,300 CFU หรือคิดเป็น 68.8 เปอร์เซ็นต์ และการให้อากาศธรรมดา 12 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจาก 536,300CFU เหลือ 16,500CFU หรือคิดเป็น 96.9 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

ในการทดลองเป็นการหาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะในการใช้โอโซนลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำโดยไม่ได้มีการทดลองถึงความเหมาะสมของความเข้มข้นและระยะเวลาที่มีต่อสัตว์น้ำดังนั้นในการนำโอโซนไปใช้ผู้ใช้ควรปรับระยะเวลาและความเข้มข้นของโอโซนให้เหมาะกับชนิดของสัตว์น้ำหรือใช้โอโซนในการฆ่าแบคทีเรียในน้ำทิ้งที่ต้องการนำกลับมาใช้ใหม่น่าจะเป็นการปลอดภัยกับสัตว์น้ำที่เลี้ยงมากกว่า

ในการใช้โอโซนถ้าต้องการเพิ่มความเข้มข้นของโอโซนก็สามารถนำก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (ออกซิเจน 95 เปอร์เซ็นต์) มาเป็นแหล่งผลิตโอโซนแทนอากาศธรรมดาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กัญญาจิต โล่ภิญโญสิริ. 2548. การใช้โอโซนในการควบคุมคุณภาพน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 4-5 น, 12-15 น, 56 น

จันทิมา ดำรงวุฒิ. 2543. การทดสอบประสิทธิภาพและค่า MIC ของ Acriflavin ต่อ *Aeromonas hydrophila* และ *Pseudomonas fluorescence*. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 4-5 น.

สันติ ปานนุสา. 2547. อัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากระพงขาว ที่ได้รับเชื้อ *Vibrio sp.* ในระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกัน. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 2-3 น.

Martin S. Tango, Graham A. Gagnon. 2003. Impact of ozonation on water quality in marine recirculation systems. Aquacultural engineering. 29:125-137 p.

Oraporn Meunpol, Kanyajit Lopinyosiri, Piamsak Menasveta. 2003. The effect of ozone and probiotics on the survival of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Aquaculture. 220:437-448 p.

Valdis Krumins, James Ebeling, Fred Wheaton. 2001. Part-day ozonation for nitrogen and organic carbon control in recirculating aquaculture systems. Aquacultural engineering. 24: 231-241 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียที่พบในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรและส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐานที่ได้จากการทดลอง

ปริมาณแบคทีเรีย (CFU) (10^5)	ควบคุม	อากาศธรรมดา	โอโซน
1ชั่วโมง	3.137±0.057	1.257±0.277	0.270±0.458
6ชั่วโมง	10.303±0.063	0.773±0.169	0.070±0.613
12ชั่วโมง	19.567±0.083	0.593±0.039	0.032±0.125
24ชั่วโมง	31.767±0.05	0.256±0.05	0.010±0.6

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรียในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable

Source	SS	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.47E+13	14	2.48E+12	624.779	0E+00
Intercept	1.10E+13	1	1.10E+13	2778.783	0E+00
TREAT	1.65E+13	2	8.27E+12	2084.689	0E+00
HOUR	5.16E+12	4	1.29E+12	325.092	0E+00
TREAT * HOUR	1.30E+13	8	1.63E+12	409.644	0E+00
Error	1.19E+11	30	3.97E+09		
Total	4.59E+13	45			
Corrected Total	3.48E+13	44			

A R Squared = 0.997 (Adjusted R Squared = 0.995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

99456

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรียในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจากชนิดของอากาศที่ต่างกัน

Treat	ควบคุม	อากาศธรรมดา	โอโซน
Mean	16.193a	0.720b	0.095c

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรียในน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรจากระยะเวลาที่ให้อากาศต่างกัน

Treat	1ชั่วโมง	6ชั่วโมง	12ชั่วโมง	24ชั่วโมง
Mean	1.555a	3.715b	6.731c	10.678d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงถึงการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio harvey* ที่พบในน้ำและส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐานที่ได้จากการทดลอง

ปริทาณแบคทีเรีย (CFU) (10^5)	ควบคุม	อากาศธรรมดา	โอโซน
1ชั่วโมง	5.503±0.057	1.593±0.377	0.000±0
6ชั่วโมง	18.533±0.038	0.252±0.356	0.000±0
12ชั่วโมง	21.400±0.080	0.042±0.407	0.000±0
24ชั่วโมง	25.900±0.064	0.014±0.869	0.000±0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรีย*Vibrio harvey* ที่พบในน้ำ

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable

Source	SS	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.20E+13	14	2.30E+12	454.526	0E+00
Intercept	1.50E+13	1	1.50E+13	3033.082	0E+00
TREAT	2.00E+13	2	9.90E+12	1971.788	0E+00
HOUR	2.10E+12	4	5.20E+11	104.06	0E+00
TREAT * HOUR	1.00E+13	8	1.30E+12	250.444	0E+00
Error	1.50E+11	30	5.00E+09		
Total	4.70E+13	45			
Corrected Total	3.20E+13	44			

A R Squared = 0.995 (Adjusted R Squared = 0.993)

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรีย*Vibrio harvey* ที่พบในน้ำจากชนิดของอากาศที่ต่างกัน

Treat	ควบคุม	อากาศธรรมดา	โอโซน
Mean	17.834a	0.475b	0c

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรีย*Vibrio harvey* ที่พบในน้ำจากระยะเวลาที่ให้อากาศต่างกัน

Treat	1ชั่วโมง	6ชั่วโมง	12ชั่วโมง	24ชั่วโมง
Mean	2.366a	6.262b	7.147c	8.638d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงถึงการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำและส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐานที่ได้จากการทดลอง

ปริทาณแบคทีเรีย (CFU) (10^5)	ควบคุม	อากาศธรรมดา	โอโซน
1ชั่วโมง	5.737	2.053	0.401
6ชั่วโมง	18.700	0.373	0.039
12ชั่วโมง	24.800	0.165	0.000
24ชั่วโมง	29.900	0.075	0.000

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณแบคทีเรีย*Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำ

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable

Source	SS	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.00E+13	14	2.90E+12	423.386	0E+00
Intercept	1.90E+13	1	1.90E+13	2864.843	0E+00
TREAT	2.40E+13	2	1.20E+13	1769.951	0E+00
HOUR	2.80E+12	4	7.00E+11	102.715	0E+00
TREAT * HOUR	1.30E+13	8	1.70E+12	247.081	0E+00
Error	2.00E+11	30	6.80E+09		
Total	6.00E+13	45			
Corrected Total	4.00E+13	44			

A R Squared = 0.995 (Adjusted R Squared = 0.993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจากชนิดของอากาศที่ต่างกัน

Treat	ควบคุม	อากาศธรรมดา	โอโซน
Mean	19.784a	0.667b	0.110c

เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่พบในน้ำจากระยะเวลาที่ให้อากาศต่างกัน

Treat	1ชั่วโมง	6ชั่วโมง	12ชั่วโมง	24ชั่วโมง
Mean	2.730a	6.371b	8.322c	9.992d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงถึงการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้