โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ผลของไมโครพลาสติก Polystyrene ต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากรและการสะสมในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น *(Macrobrachium rosenbergii)*

Effects of Polystyrene Microplastics on the LC_{50} and Bioaccumulation in the Juvenile Giant Freshwater Prawn *(Macrobrachium rosenbergii)*

ชื่อนิสิต นางสาวจินดาพร เพชรวิสัย **เลขประจำตัว** 6032803623

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ปีการศึกษา 2563

ผลของไมโครพลาสติก Polystyrene ต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร และการสะสมในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น *(Macrobrachium rosenbergii)*

จินดาพร เพชรวิสัย

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Effects of Polystyrene Microplastics on the LC_{50} and Bioaccumulation in the Juvenile Giant Freshwater Prawn *(Macrobrachium rosenbergii)*

Jindaporn Petwisai

A Senior Project in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science in Marine Science
Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University
Academic Year 2021

หัวข้อโครงการ	ผลของไมโครพลาสติก Polystyrene ต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากรและการสะสมในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น *(Macrobrachium rosenbergii)*
โดย	นางสาวจินดาพร เพชรวิสัย
ภาควิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการหลัก	อาจารย์ ดร. ศุภณัฐ ไพโรหกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการร่วม	รศ.ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับโครงการฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2309499 โครงงานวิทยาศาสตร์

..... หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

(ศาสตราจารย์ ดร.วรณพ วิยกาญจน์)

คณะกรรมการการสอบโครงการ

Supamut Pandhdhl. ..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการหลัก

(อาจารย์ ดร. ศุภณัฐ ไพโรหกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการร่วม

(รศ.ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ)

..... กรรมการ

(รศ.ดร. สุชนา ชวนิชย์)

ปัทมา สิงหรักษ์ ..... กรรมการ

(ผศ.ดร. ปัทมา สิงหรักษ์)

สมฤดี จิตประไพ ..... กรรมการ

(ผศ.ดร. สมฤดี จิตประไพ)

สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์ ..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร. สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์)

Project Title	Effects of Polystyrene Microplastics on the LC_{50} and Bioaccumulation in the juvenile Giant Freshwater Prawn *(Macrobrachium rosenbergii)*
By	Miss Jindaporn Petwissi
Field of study	Marine Science
Advisor	Supanut Pairohakul, Ph.D.
Co-advisor	Assoc. Prof. Thaithaworn Lirdwitayaprasit, Ph.D.

Accepted by the Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirement for the Bachelor's Degree

..... Head of Marine Science Department

(Professor Voranop Viyakarn, Ph.D.)

PROJECT COMMITTEE

..... Project Advisor

(Supanut Pairohakul, Ph.D.)

..... Project Co-advisor

(Assoc. Prof. Thaithaworn Lirdwitayaprasit, Ph.D.)

..... Member

(Assoc. Prof. Suchana Chavanich, Ph.D.)

..... Member

(Asst. Prof. Patama Singhruck, Ph.D.)

..... Member

(Asst. Prof. Somrudee Jitpraphai, Ph.D.)

..... Member

(Sutaporn Bunyajetpong, Ph.D.)

ชื่อโครงการ ผลของไมโครพลาสติก Polystyrene ต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร และการสะสมในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น *(Macrobrachium rosenbergii)*
ชื่อนิสิต นางสาวจินดาพร เพชรวิสัย
อาจารย์ที่ปรึกษา อ.ดร. ศุภณัฐ ไพโรหกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ.ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ
ปีการศึกษา 2563
ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ไมโครพลาสติก (พลาสติกขนาดเล็กกว่า 5 มิลลิเมตร) สามารถพบได้ทั้งในน้ำทะเลและสะสมในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น แพลงก์ตอนสัตว์ หอยฝาเดียว เมื่อไมโครพลาสติกผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารของสัตว์ทะเล อาจมีการอุดตันบริเวณใดบริเวณหนึ่งของระบบทางเดินอาหาร ทำให้สิ่งมีชีวิตไม่สามารถขับออกนอกร่างกายได้ อาจเป็นสาเหตุให้สิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ตาย การศึกษาครั้งนี้จึงได้ศึกษาการสะสมและผลกระทบของไมโครพลาสติกชนิด Polystyrene (PS) ในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น *(Macrobrachium rosenbergii)* โดยให้กุ้งกินอาหารที่ผสม PS ที่เก็บจากธรรมชาติทั้งหมด 3 ขนาด ได้แก่ <30 μm 30-300 μm และ 300-1,000 μm และทำการผสมไมโครพลาสติกแต่ละขนาดในอาหารกุ้งให้มีความหนาแน่นต่างกัน ดังนี้ 500 1,500 และ 3,000 ชิ้นไมโครพลาสติกต่ออาหารกุ้ง 1 กรัม โดยกุ้งก้ามกรามในชุดควบคุมจะให้อาหารปกติที่ไม่มีการผสมไมโครพลาสติก ทำการเฝ้าดูพฤติกรรมและเก็บข้อมูลการตายที่เวลา 12 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์หาอัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร (LC_{50}) โดยการวิเคราะห์โพรบิท และทำการวิเคราะห์ปริมาณไมโครพลาสติกที่สะสมในกระเพาะอาหารและลำไส้ ผลการทดลองพบว่า อาหารที่ผสมไมโครพลาสติกประเภท PS ทำให้กุ้งตายภายใน 96 ชั่วโมง โดย LC_{50} ของขนาด <30 μm, 30-300 μm และ 300-1,000 μm มีค่า 37, 29 และ 40 ชิ้นต่อตัวกุ้งทดลองตามลำดับ และไม่พบไมโครพลาสติกสะสมในกระเพาะอาหารและลำไส้ของกุ้งชุดควบคุม การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าไมโครพลาสติกที่สะสมในสิ่งมีชีวิตสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการสร้างเกณฑ์มาตราฐานการปนเปื้อนของไมโครพลาสติกในทะเล

คำสำคัญ: ไมโครพลาสติก กุ้งก้ามกราม การสะสม อัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร

Project Title	Effects of Polystyrene Microplastics on the LC_{50} and Bioaccumulation in the Juvenile Giant Freshwater Prawn *(Macrobrachium rosenbergii)*
Name	Miss Jindaporn Petwisai
Advisor	Supanut Pairohakul Ph.D.
Co-advisor	Assoc. Prof. Thaithaworn Lirdwitayaprasit, Ph.D.
Academic Year	2563
Department	Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Abstract

Microplastics, which have smaller that 5 mm in diameter, can be found in both seawater. These microplastics can be accumulated in marine organisms e.g. zooplankton and filter-feeding molluscs. These plastics may obstruct some part of the digestive tract in some marine animals. Therefore, this blockage could prevent egestion and resulted in mortality. This study was, therefore, aimed to determine the accumulation of microplastics and the lethal concentration 50 (LC_{50}) of the microplastics on the juvenile giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. The animals were fed with the mixture of polystyrene (PS) retrieved from natural environment with different size ranging from <30 μm 30-300 μm and 300-1,000 μm. Also the different density as of 500, 1500, and 3000 particles per 1 g of prawn food were also studied. All group behaviors and mortality rates were observed for every 12, 24, 48, 72 and 96 hours to determine LC_{50}. Probit analysis was adopted for LC_{50} determination. The results showed that the food mixture with PS can resulted in the mortality within 96 hours after the exposure. LC_{50}, regarding to the particle size of <30 μm, 30-300 μm and 300-1,000 μm, were 37, 29, and 40 pieces per prawn respectively. For the control group, there was no microplastics accumulation in the digestive system. This study suggests that microplastics accumulation in marine organisms can be considered as an essential foundation to determine microplastics contamination in marine environments.

Keywords: Microplastics, giant freshwater prawn, accumulation, mortality rate

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจากคณาจารย์และบุคคลจากหลายฝ่าย ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร. ศุภณัฐ ไพโรหกุล และ รศ. ดร. ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำในการทำการทดลอง และตรวจสอบแก้ไขโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณนางสาวจุฑามาศ โพธาขวัญประชาเป็นอย่างสูง ผู้ซึ่งคอยให้คำแนะนำ คำปรึกษาที่มีประโยชน์ และคอยให้กำลังใจ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ตั้งแต่เริ่มต้นโครงการ จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี และขอขอบคุณนางสาวอิงอร ทองคำดี ที่ให้คำแนะนำในการปฏิบัติจนกระทั่งโครงการสำเร็จ และขอขอบคุณเงินอุดหนุนโครงการจากภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

ในการจัดทำโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ในครั้งนี้ อยู่ในช่วงระยะเวลาการระบาดของเชื้อไวรัสโควิด-19 (COVID-19) ทำให้มีผลกระทบทั้งต่อการปฏิบัติงาน และการนำเสนอผลงาน ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมฤดี จิตประไพ ที่สละเวลาอันมีค่าในการจัดการ และประสานงานโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ในครั้งนี้ และขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเลที่สละเวลา ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกและให้ข้อเสนอแนะแก่นิสิตในการปฏิบัติงานและการนำเสนอผลงาน จนกระทั่งโครงการสำเร็จ

ขอขอบคุณครอบครัวที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา พร้อมทั้งคำแนะนำต่าง ๆ ที่มีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ในครั้งนี้เสมอมา และขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ และน้องในภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล โดยเฉพาะนางสาวนันทิตา แก้วนิสัย ที่ช่วยเหลือในการทำการทดลอง คอยดูแล ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์กันอยู่เสมอ และเป็นกำลังใจในการทำโครงการการเรียนการสอนเสริมประสบการณ์ครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

จินดาพร เพชรวิสัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ก

Abstract ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

สารบัญ ..... ง

สารบัญรูป ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ช

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ 2

1.3 ขอบเขตการศึกษา 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 ไมโครพลาสติก 3

2.1.1 สมบัติทางเคมีของไมโครพลาสติกประเภท PS 4

2.1.2 การกระจายตัวของไมโครพลาสติกในสิ่งแวดล้อมทางทะเล 4

2.1.3 ผลกระทบของไมโครพลาสติกต่อสัตว์ทะเล 7

2.1.4 การศึกษาเกี่ยวข้องกับไมโครพลาสติกในประเทศไทย 8

2.2 กุ้งก้ามกราม *(Macrobrachium rosenbergii)* 9

บทที่ 3 วิธีการศึกษา 11

3.1 การจัดทำไมโครพลาสติก 11

3.2 ตัวอย่างสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดลอง 12

3.3 การปรับสภาพสัตว์ทดลองกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น 12

3.4 การตรวจนับจำนวนไมโครพลาสติกเพื่อเตรียมความหนาแน่นของไมโครพลาสติกตามที่กำหนด 13

3.5 การเตรียมความหนาแน่นของไมโครพลาสติกเพื่อผสมในอาหารกุ้ง 14

3.6 ผลของไมโครพลาสติกต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร (LC_{50}) 16

3.7 การสะสมของไมโครพลาสติกในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น 16

บทที่ 4 ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล 18
4.1 ลักษณะของไมโครพลาสติกจำลองในอาหารผสม 18
4.2 ปริมาณไมโครพลาสติกในอาหารกุ้ง 18
4.3 การศึกษา LC_{50} ในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่นเมื่อได้รับอาหารผสมไมโครพลาสติก PS.....19
4.4 จำนวนไมโครพลาสติกประเภท Polystyrene (PS) ในทางเดินอาหารของกุ้งทดลอง 21
บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ 24
5.1 สรุปผลการศึกษา.....24
5.2 ข้อเสนอแนะ.....24
เอกสารอ้างอิง..... 25

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 กระบวนการย่อยและเส้นทางการถ่ายทอดไมโครพลาสติกในสัตว์ทะเล....4
2.1.1 โครงสร้างของพอลิสไตรีน....5
2.1.2 พลาสติกประเภทพอลิสไตรีน....5
2.1.3 การถ่ายทอดไมโครพลาสติกในระบบนิเวศทางทะเล....7
2.1.4 ลักษณะทางกายภาพของกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii*....10
3.1 ขั้นตอนการจัดทำไมโครำพลาสติก....11
3.2 กุ้งกร้ามกรามที่ใช้ในการทดลอง....12
3.3 ระบบ closed circulating system สำหรับลี้ยงและปรับสภาพตู้ทดลอง....13
3.4 Sedgewick Rafter Counting Chamber....14
3.5 การทำอาหารกุ้งสำหรับการทดลอง....15
3.6 ขั้นตอนการศึกษาการสะสมของไมโครพลาสติกในกุ้งก้ามกราม....17
4.1 ไมโครพลาสติก PS ขนาด 30-300 μm ภายใต้กล้องจุลทรรศน์....18
4.4.1 ปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกประเภท PS ในลำไส้กุ้งก้ามกรามในแต่ละความหนาแน่นของไมโครพลาสติก (ชิ้น/ลิตร)....22
4.4.2 ปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกประเภท PS ในกระเพาะอาหารและตับกุ้งก้ามกรามในแต่ละความหนาแน่นของไมโครพลาสติก (ชิ้น/ลิตร)....23

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1.1 ประเภทของผลิตภัณฑ์และชนิดพลาสติกในขยะทะเลที่มีที่มาจากแหล่งน้ำ.....6

4.2.1 จำนวนไมโครพลาสติกที่ผสมในอาหารกุ้ง 1 กรัม.....18

4.2.2 จำนวนกุ้งที่ตายสะสมตามเวลาต่าง ๆ ภายใน 96 ชั่วโมง.....19

4.3.3 LC_{50} ของกุ้งในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมไมโครพลาสติกประเภท PS.....20

4.4.1 จำนวนไมโครพลาสติก PS ที่พบในตับ กระเพาะอาหาร และลำไส้กุ้งหลังการทดลอง LC_{50}.....21

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา

พลาสติกหรือขยะพลาสติกขนาดใหญ่ (macroplastic) เมื่อมีการสะสมในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานานและผ่านกระบวนการย่อยต่าง ๆ ทำให้ถูกย่อยสลายให้มีขนาดเล็กลง ถ้ามีขนาดเล็กกว่า 5 มิลลิเมตรจะจัดเป็นไมโครพลาสติก (microplastic) โดยไมโครพลาสติกเหล่านี้จะสามารถแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมได้ง่าย โดยแพร่กระจายอยู่ในหลายบริเวณของสิ่งแวดล้อม เช่น ชายหาด ตะกอนดินในปากแม่น้ำ ชายฝั่งรวมไปถึงในมวลน้ำ (Desforges et al., 2014) ไมโครพลาสติกสามารถทำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมทางทะเลได้หลายประการ เช่น การกินไมโครพลาสติกของสิ่งมีชีวิตในทะเล เมื่อไมโครพลาสติกผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารอาจจะอุดตันบริเวณใดบริเวณหนึ่ง ทำให้สิ่งมีชีวิตไม่สามารถขับไมโครพลาสติกออกจากร่างกายได้ อาจเป็นสาเหตุที่ให้สิ่งมีชีวิตตาย (ไทยถาวร และคณะ, 2561) ทั้งนี้ระยะเวลาที่ทำให้สิ่งมีชีวิตตาย ขึ้นอยู่กับขนาดของตัวสิ่งมีชีวิตเอง รวมไปถึงขนาดของไมโครพลาสติกที่ได้รับและตำแหน่งที่มีการอุดตัน และหากสิ่งมีชีวิตในทะเลกินไมโครพลาสติกเข้าไปอาจทำให้เกิดการสะสมในห่วงโซ่อาหารได้ จากข้อมูลในหลายการศึกษาพบว่า แพลงก์ตอนพืช หอยสองฝา และไส้เดือนทะเล มีการกินไมโครพลาสติกเข้าไป โดยที่ไม่สามารถแยกได้ว่าเป็นอาหารหรือไมโครพลาสติก (Bhattacharya *et al*., 2010

ไมโครพลาสติกที่พบกระจายและปนเปื้อนในทะเลสามารถจับตัวกับสารอินทรีย์ และตกตะกอนสะสมอยู่ที่พื้นผิวดินตะกอนในทะเลได้ เนื่องจากไมโครพลาสติกเป็นตัวกลางที่ดีในการดูดซับสารเคมีที่ปนเปื้อนอยู่ในทะเล บางชนิดมีความเป็นพิษจากสารประกอบในพลาสติกเอง อาทิเช่น สาร Vinyl chloride ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งตับ (สิตาวีร์ ธีรวิรุฬ์, 2560) ทำให้ไมโครพลาสติกกลายเป็นแหล่งสะสมสารก่อพิษในระบบนิเวศทางทะเล ที่ปนเปื้อนและถ่ายทอดผ่านทางห่วงโซ่อาหารจนอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำ และผู้บริโภคได้

สำหรับการศึกษาไมโครพลาสติกในประเทศไทยได้มีการศึกษาในเรื่อง การสะสมและผลกระทบของไมโครพลาสติกในกุ้งกุลาดำวัยรุ่น *(Penaeus monodon)* พบว่า อาหารกุ้งที่ผสมไมโครพลาสติกจำลองที่ทำจาก Polystyrene (PS) ทำให้กุ้งตายภายใน 96 ชั่วโมง และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพของเนื้อเยื่อตับอ่อนของกุ้งกุลาดำ (ไทยถาวร และคณะ, 2018) แต่เนื่องจากการศึกษาในประเทศไทยยังมีเพียงแค่การศึกษาการสะสมของไมโครพลาสติกของหอยแมลงภู่ หรือหอยสองฝา และกุ้งกุลาดำ แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงผลกระทบของไมโครพลาสติกต่อกุ้งก้ามกรามซึ่งเป็นสัตว์ที่มีวงจรชีวิตแบบสัตว์สองน้ำ กล่าวคือมีการวางไข่ในบริเวณปากแม่น้ำ หรือน้ำกร่อย และเมื่อเข้าสู่ระยะวัยรุ่นจะอพยพไปเติบโตในน้ำจืด ด้วยเหตุนี้จึงมีแนวโน้มที่จะสัมผัสกับไมโครพลาสติก ดังนั้นกุ้งก้ามกรามจึงจัดเป็นสายพันธุ์เป้าหมายในการตรวจสอบไมโครพลาสติก โดยการตรวจวัดค่า LC_{50} และปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติก เพื่อเป็นการเข้าใจข้อมูล

เบื้องต้นทำให้ทราบระดับความเข้มข้นที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ทดลอง ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสร้างเกณฑ์มาตราฐานคุณภาพน้ำเพื่อประเมินความเสี่ยงในสิ่งแวดล้อมได้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อศึกษาผลกระทบของไมโครพลาสติกต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร (LC_{50}) และปริมาณการสะสมในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น *(Macrobrachium rosenbergii)*

1.3 ขอบเขตการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาผลกระทบของไมโครพลาสติกต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร (LC_{50}) และปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น *(Macrobrachium rosenbergii)* โดยใช้พลาสติกประเภท Polystyrene (PS) ที่เก็บได้จากบริเวณสถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี และได้ทำการบดพลาสติกที่ได้เป็นไมโครพลาสติกในขนาด <30 μm, 30-300 μm และ300-1000 μm ที่ได้รับความอนุเคราะห์มาจากคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบระดับความเข้มข้นที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ทดลอง ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสร้างเกณฑ์มาตราฐานคุณภาพน้ำเพื่อประเมินความเสี่ยงในสิ่งแวดล้อมได้

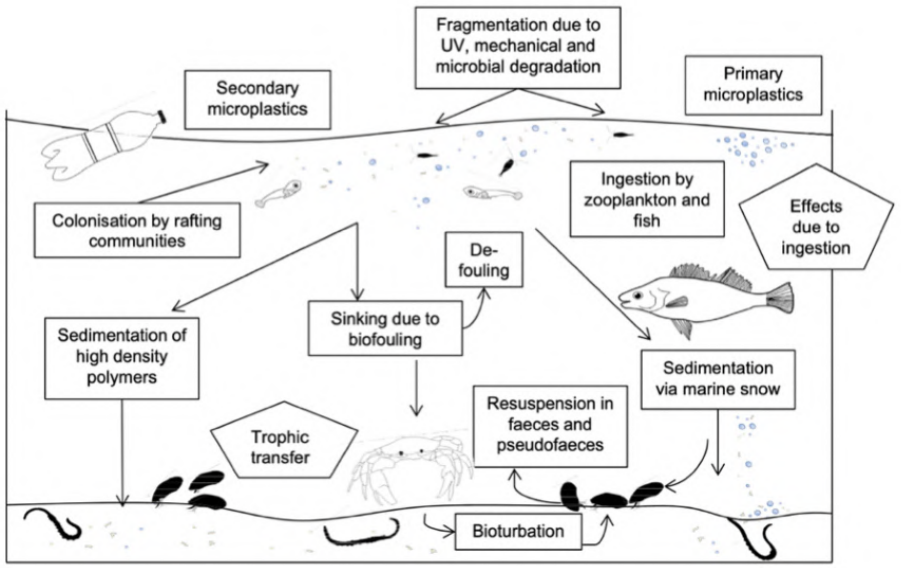
บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไมโครพลาสติก

ไมโครพลาสติก คือ พลาสติกที่มีขนาดเล็กกว่า 5 มิลลิเมตร พบกระจายทั่วไปในอากาศ พื้นดิน น้ำจืด น้ำทะเล และพื้นท้องน้ำ ไมโครพลาสติกเกิดจากการย่อยสลายหรือแตกหักของขยะพลาสติกขนาดใหญ่ที่อยู่ในทะเลเป็นเวลานานโดยกระบวนการต่าง ๆ เช่น การแตกหักจากคลื่นลมในทะเล การแตกสลายโดยแสง UV หรืออาจเกิดจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย (Fotopoulou and Karapanagioti., 2017)

ไมโครพลาสติกสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ไมโครพลาสติกปฐมภูมิ (Primary microplastics) และไมโครพลาสติกทุติยภูมิ (Secondary microplastics) (Arthur et al. 2009) ไมโครพลาสติกปฐมภูมิ คือ ไมโครพลาสติกที่เกิดจากการกระบวนการผลิตโดยตรง เช่น เม็ดพลาสติกขนาดเล็ก เม็ดสครับในผลิตภัณฑ์ดูแลร่างกาย (Browne et al. 2007, Arthur et al. 2009) ซึ่งไมโครพลาสติกประเภทนี้สามารถปนเปื้อนในมหาสมุทรได้จากการพัดพาโดยกระแสน้ำ (Andrady, 2011) ส่วนไมโครพลาสติกทุติยภูมิจะเกิดจากการแตกย่อยเป็นชิ้นเล็ก (fragmentation) จากเศษพลาสติกขนาดใหญ่ที่ปนเปื้อนอยู่บริเวณชายหาดและในมหาสมุทร เช่น เศษพลาสติกจากภาชนะต่าง ๆ

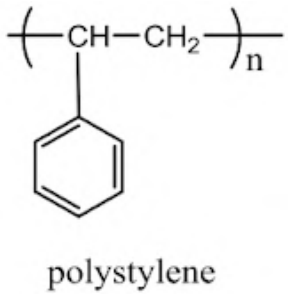
กระบวนการเกิดไมโครพลาสติกทุติยภูมิ สามารถเกิดได้จากการย่อยด้วยแสง (photodegradation) การย่อยทางชีวภาพ (biological degradation) (Thompson et al., 2004; Browne et al., 2008; Cooper and Corcoran, 2010; Andrady, 2011) และการย่อยทางเคมี (chemical degradation) (Moore, 2008) ดังตัวอย่างในรูปที่ 2.1 ทั้งนี้ไมโครพลาสติกซึ่งรวมไปถึงใยสังเคราะห์จากอุตสาหกรรม เครื่องสำอาง สิ่งทอ จัดเป็นไมโครพลาสติกอนุภาคขนาดเล็กที่ลอยน้ำ ที่สามารถปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติจากกิจกรรมของมนุษย์ โดยพลาสติกและไมโครพลาสติกส่วนใหญ่ที่พบและส่งผลกระทบต่อสัตว์ทะเล ได้แก่ พลาสติกประเภท Polypropylene (PP), Polystyrene (PS) และ Polybutylene succinate (PBS)



รูปที่ 2.1 กระบวนการย่อยและเส้นทางการถ่ายทอดไมโครพลาสติกในสัตว์ทะเล
(ที่มา: Wright et al., 2013)

2.1.1 สมบัติทางเคมีของไมโครพลาสติกประเภท Polystyrene (PS)

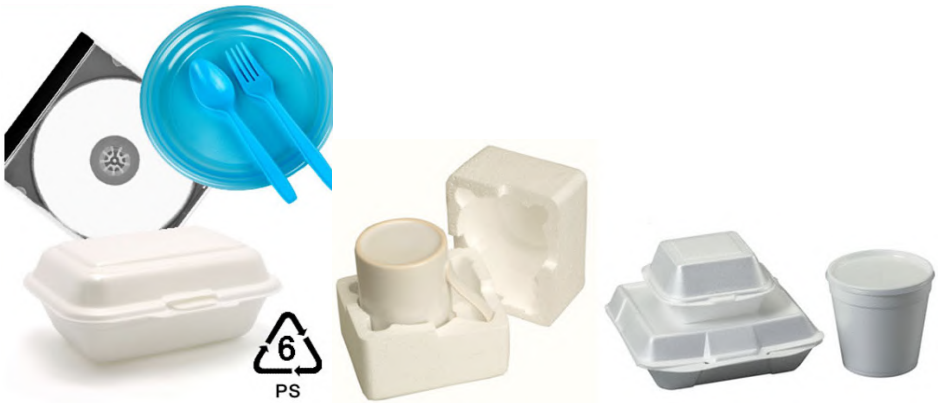
พอลิสไตรีน (Polystyrene, PS) เป็นพลาสติกที่ผลิตขึ้นมาจากสไตรีนมอนอเมอร์ มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.1.1 พอลิสไตรีนเป็นพลาสติกชนิดเทอร์โมพลาสติก คือหลอมเป็นของเหลวได้ โดยที่อุณหภูมิห้องจะอยู่ในสถานะของแข็ง แต่จะหลอมละลายเมื่อทำให้ร้อนและแข็งตัวเมื่อเย็นลง พอลิสไตรีนแข็งที่บริสุทธิ์จะไม่มีสี ใส แต่สามารถทำเป็นสีต่าง ๆ ได้ และยืดหยุ่นได้จำกัด พอลิสไตรีนที่ใช้กันอยู่ทั่วไปส่วนใหญ่เป็นชนิดที่เรียกว่า expanded polystyrene (EPS) เป็นชนิดที่ได้จากการผสมพอลิสไตรีนร้อยละ 90-95 กับสารทำให้ขยายตัว (ที่ใช้กันมากคือเพนเทนหรือคาร์บอนไดออกไซด์ โดยในสมัยก่อนจะใช้เป็นสารซีเอฟซีซึ่งเป็นสารทำลายชั้นโอโซน) ร้อยละ 5-10 พลาสติกที่เป็นของแข็งถูกทำให้เป็นโฟมโดยการใช้ความร้อน (มักเป็นไอน้ำ) พอลิสไตรีนอีกชนิดหนึ่งคือ Extruded polystyrene (XPS) มีชื่อทางการค้าที่แพร่หลายคือ Styrofoam เป็นชนิดที่มีการเติมอากาศไว้ในช่องว่างตามเนื้อโฟมทำให้มีค่าการนำความร้อนต่ำ ใช้ในงานก่อสร้าง และใช้เป็นฉนวนกันความร้อนในอาคาร และยังมีชนิดที่เป็นแผ่นเรียกว่า Polystyrene Paper Foam (PSP) ใช้เป็นภาชนะบรรจุอาหาร เช่นกล่องหรือถาดใส่อาหาร (Wypych and George, 2012) ดังแสดงในรูปที่ 2.1.2



polystylene

รูปที่ 2.1.1 โครงสร้างของพอลิสไตรีน

(ที่มา: Wypych and George, 2012)



รูปที่ 2.1.2 พลาสติกประเภทพอลิสไตรีน

(ที่มา: https://sites.google.com/site/jamesmeeladyboy19092544/)

2.1.2 การกระจายตัวของไมโครพลาสติกในสิ่งแวดล้อมทางทะเล

ไมโครพลาสติกที่ตรวจพบในมวลน้ำและในสิ่งมีชีวิตในทะเลมีความหลากหลายทั้งประเภทของพลาสติก ขนาด และรูปร่าง รวมถึงสภาพภูมิศาสตร์ของพื้นที่ที่พบไมโครพลาสติก โดยไมโครพลาสติกส่วนใหญ่ที่พบคือ พลาสติกประเภท PS (22%) และ PP (12%) และขึ้นอยู่กับขนาดไมโครพลาสติก กับความลึกของน้ำที่ไมโครพลาสติกกระจายอยู่ (Enders et al., 2015)

การปนเปื้อนของไมโครพลาสติกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติทั้งน้ำท่าและน้ำทะเล เกิดผ่านระบบระบายน้ำจากการใช้น้ำของชุมชนและอุตสาหกรรม โดยมีกระแสลมและกระแสน้ำเป็นตัวกลางให้เกิดการกระจายไมโครพลาสติกไปตามแนวชายฝั่งของทุกทวีป ซึ่งจากงานวิจัยเรื่องการกระจาย ปริมาณ และความเสี่ยงของไมโครพลาสติกต่อสิ่งแวดล้อมของ (Yu et al., 2020) อธิบายว่านอกจากกระแสลม และกระแสน้ำที่เป็นตัวพา

ไมโครพลาสติกลงสู่สิ่งแวดล้อมทางทะเลแล้ว ยังพบว่าไมโครพลาสติกส่วนใหญ่เกิดจากการแตก และย่อยของทุ่นลอยน้ำที่ไม่ได้รับการดูแลอย่างเหมาะสม

ในกระบวนการเกิดไมโครพลาสติกทุติยภูมิจากการแตกหักจากขยะพลาสติกในมวลน้ำจากกระบวนการย่อยด้วยแสง การย่อยทางชีวภาพ และการย่อยทางเคมี สามารถเกิดได้รวดเร็วในบริเวณชายฝั่ง เนื่องจากมีรังสียูวี (UV radiation) และมีคลื่นลมรุนแรง เมื่อความลึกน้ำทะเลเพิ่มขึ้น รังสียูวีที่ส่องถึงจะมีปริมาณลดลง จึงทำให้เกิดไมโครพลาสติกทุติยภูมิช้าลง (GESAMP, 2015)

จากการศึกษาของ ศีลาวุธ ดำรงศิริ และเพ็ญรดี จันทร์ภิวัฒน์ (2562) ได้ศึกษาชนิดของไมโครพลาสติกที่กระจายในพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วโลก พบมีเม็ดพลาสติกหลากหลาย ชนิดที่นำมาใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อการอุปโภค ได้รายงานชนิดพลาสติกที่มีการนำมาใช้ประโยชน์มากที่สุด ซึ่งประกอบไปด้วยพลาสติกทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ Polyethylene (PE) Polyvinyl chloride (PVC) Polypropylene (PP) Polystyrene (PS) Polyethylene terephalate (PET) Polyamide (PA) และ Polyester (PES) โดยรวบรวมและแสดงประเภทของผลิตภัณฑ์ และชนิดพลาสติกดัง ตารางที่ 2.1.1

ตารางที่ 2.1.1 ประเภทของผลิตภัณฑ์และชนิดพลาสติกในขยะทะเลที่มีที่มาจากแหล่งน้ำจืด
(ที่มา: ศีลาวุธ ดำรงศิริ และ เพ็ญรดี จันทร์ภิวัฒน์, 2562)
(เครื่องหมาย / แสดงการพบชนิดพลาสติกดังกล่าว)

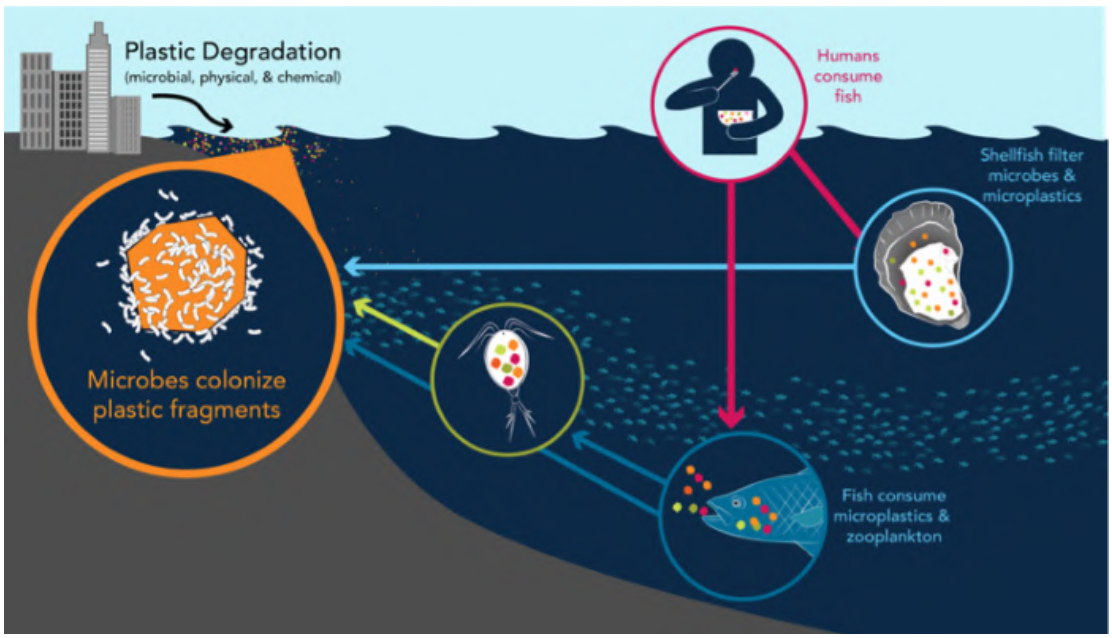
ประเภทของพลาสติก	ชนิดของพลาสติก						
	PE	PVC	PP	PS	PET	PA	PES
ถุงก๊อบแก๊บ	/						
ถุงพลาสติกอื่น ๆ	/		/		/		/
ถุง/ห่อขนม ถุงฟอยล์	/		/		/	/	
ขวดน้ำดื่ม ขวดพลาสติก					/		
ฝาพลาสติก	/	/	/	/			
หลอด			/	/			
กล่องโฟมบรรจุอาหาร				/			
ภาชนะพลาสติกบรรจุอาหาร	/		/	/	/		
ช้อน ส้อม มีด ไม้จิ้มพลาสติก				/			
เชือก	/	/	/			/	/

2.1.3 ผลกระทบของไมโครพลาสติกต่อสัตว์ทะเล

ไมโครพลาสติกเข้าสู่สิ่งแวดล้อมจากกิจกรรมของมนุษย์ และมีการกระจายตัวในระบบนิเวศทางทะเลผ่านทางกระแสน้ำ กระแสลม และการไหลของน้ำท่า (river runoff) (Guzzetti et al., 2018) เนื่องจากไมโครพลาสติกเป็นสารพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ย่อยสลายได้ยาก ทำให้อาจมีสะสมในสิ่งแวดล้อมเป็นระยะเวลานาน จึงก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์ทะเลในหลายลำดับขั้นการกินอาหาร (trophic level) ดังรูปที่ 2.1.3 ไมโครพลาสติกเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารโดยการบริโภคตามลำดับขั้นจากแพลงก์ตอนสัตว์ที่กินเข้าไปและสะสมไมโครพลาสติกไปสู่สัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลัง สัตว์น้ำวัยอ่อน ปลา และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Moore, 2008) ตลอดจนไปสู่เต่าทะเล และนกทะเล (Tourinho et al., 2010)

ไมโครพลาสติกที่สะสมอยู่ในสัตว์ทะเล อาจส่งผลกระทบด้านกายภาพในสัตว์ทะเล เช่น อุดตันระบบทางเดินอาหาร การลดลงของการกินอาหาร การลดลงของอัตราการเติบโต เป็นต้น ซึ่งอาจเป็นสาเหตุการตายได้ในที่สุด (Cole et al., 2015) ทั้งนี้ระยะเวลาที่ทำให้สิ่งมีชีวิตตายขึ้นอยู่กับขนาดของสิ่งมีชีวิต และขนาดและปริมาณของไมโครพลาสติกที่สะสมตลอดจนตำแหน่งที่อุดตันในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ด้วย

ไมโครพลาสติกสามารถที่จะดูดซับสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ทะเลที่ละลายอยู่ในน้ำทะเลได้หลายชนิด เช่น Polychlorinated biphenyls (PCB), โลหะหนัก และสารก่อมะเร็งอื่น ๆ เป็นต้น รวมทั้งสารเคมีที่เป็นอันตรายที่ใช้ทำพลาสติกเอง สารเคมีอันตรายเหล่านี้สามารถสะสมในร่างกาย และส่งต่อไปยังผู้บริโภคตามลำดับขั้นในห่วงโซ่อาหารได้เช่นกัน



รูปที่ 2.1.3 การถ่ายทอดไมโครพลาสติกในระบบนิเวศทางทะเล
(ที่มา https://microplastics.whoi.edu/wp-content/uploads/sites/119/2019/05/diagram.png)

ขนาดของไมโครพลาสติก

ขนาดของไมโครพลาสติกส่งผลกระทบที่ต่างกันในสิ่งมีชีวิตในทะเล จากงานวิจัยของ Browne et al. (2008) ได้ศึกษาการกรองกินไมโครพลาสติก และติดตามอวัยวะที่สะสมไมโครพลาสติกของหอยแมลงภู่ *Mytilus edulis* โดยศึกษาติดตามไมโครพลาสติกที่เรืองแสงได้ (fluorescent microspheres) พบว่าไมโครพลาสติกที่มีขนาดเล็กจากระบบทางเดินอาหารสามารถผ่านเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดของหอยแมลงภู่ได้เร็วกว่าไมโครพลาสติกที่มีขนาดใหญ่ หลังจากการกรองกินไมโครพลาสติกเรืองแสงแล้ว 3 วัน พบไมโครพลาสติกขนาด 3.0 – 9.6 μm สะสมในระบบไหลเวียนเลือดของหอยแลงภู่ ซึ่งก่อให้เกิดการอักเสบของระบบย่อยอาหาร และส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของหอยแมลงภู่ และจากงานวิจัยของ Lei et al. (2018) ได้ศึกษาผลกระทบของไมโครพลาสติก 5 ชนิดต่อปลา Zebrafish *(Danio rerio)* และ *Caenorhabditis elegans* โดยให้ปลาได้รับไมโครพลาสติกหลายขนาด เป็นเวลา 10 วัน ที่ความเข้มข้น 0.001-10.0 mg/L พบว่า ปลายตายเป็นจำนวนน้อยแต่เนื้อเยื่อลำไส้ของปลาถูกทำลาย และได้สรุปว่า ผลกระทบหลักที่สำคัญของไมโครพลาสติก คือ การทำลายเนื้อเยื่อลำไส้ของสัตว์ทดลอง และขึ้นอยู่กับขนาดของไมโครพลาสติก

ความหนาแน่นของไมโครพลาสติก

ความหนาแน่นของไมโครพลาสติกส่งผลต่อการสะสมของไมโครพลาสติกในมวลน้ำและดินตะกอน และก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกันขึ้นอยู่พฤติกรรมการกินและเส้นทางการรับไมโครพลาสติกเข้าสู่ร่างกาย ไมโครพลาสติกชนิด PE ที่มีความหนาแน่นต่ำ (Low density polyethylene: LDPE) ส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ด้านบนของมวลน้ำมากกว่า และมีแนวโน้มสะสมในสิ่งมีชีวิตที่กรองกินแพลงก์ตอนเป็นอาหาร (Planktivores) (Wright et al., 2013) ในขณะที่ไมโครพลาสติกชนิด Polyvinylchloride (PVC) ที่เป็นไมโครพลาสติกที่มีความหนาแน่นสูงและสะสมตัวพื้นผิวดินตะกอนได้ดี จะส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่มีพฤติกรรมการกินอยู่บริเวณพื้นผิวดินตะกอนและสะสมไมโครพลาสติกชนิด PVC ได้มากกว่า (Wright et al., 2013)

ปริมาณของไมโครพลาสติกที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม

การเพิ่มขึ้นของปริมาณของไมโครพลาสติกในสิ่งแวดล้อมทางทะเลเป็นการเพิ่มโอกาสที่สิ่งมีชีวิตจะพบกับอนุภาคไมโครพลาสติกมากขึ้น และการกระจายตัวของไมโครพลาสติกในสิ่งแวดล้อมทางทะเลสามารถส่งผลให้มีสิ่งมีชีวิตบริโภคไมโครพลาสติกเพิ่มขึ้นในวงกว้าง (Wright et al., 2013)

2.1.4 การศึกษาเกี่ยวกับไมโครพลาสติกในประเทศไทย

จากงานวิจัยของไทยถาวรและคณะ (2018) ทำการศึกษาการสะสมและผลกระทบของไมโครพลาสติกในกุ้งกุลาดำวัยรุ่น (*Penaeus monodon*) โดยการให้กุ้งกินอาหารที่ผสมไมโครพลาสติกจำลองที่ทำจาก

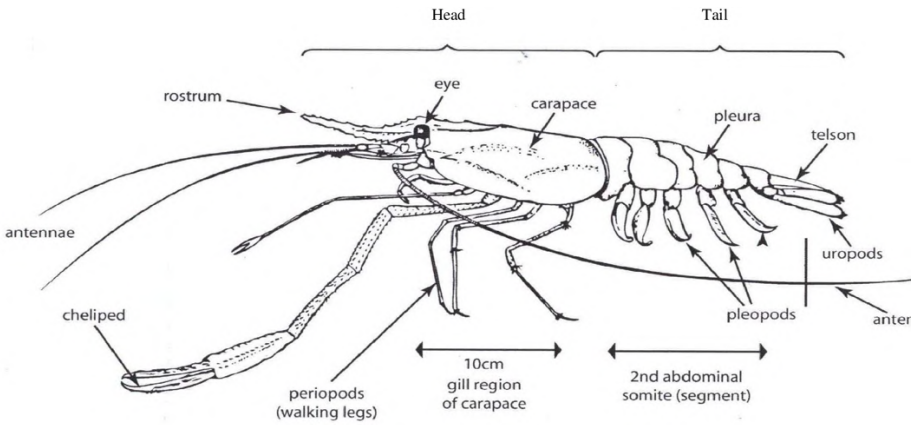
พลาสติก 3 ประเภทคือ Polystyrene (PS), Polypropylene (PP) และ Polybutylene Succinate (PBS) แต่ละประเภทพลาสติกทำ 3 ขนาด คือ <30 μm 30-300 μm และ 300-1,000 μm แต่ละขนาดมีความหนาแน่น 3 ระดับ 500, 1,500 และ 3,000 ชิ้นไมโครพลาสติกต่ออาหารกุ้งหนึ่งกรัม โดยกุ้งในชุดตัวควบคุมการทดลองให้อาหารกุ้งปกติที่ไม่ผสมไมโครพลาสติก ทุกชุดการทดลองทำในตู้ทดลองระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิด ใช้กุ้งกุลาดำความยาวเหยียด 5 เซนติเมตร เก็บข้อมูลการตายที่เวลา 12 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์หา LC_{50} โดยวิธีการวิเคราะห์โพรบิท และหาสาเหตุการตายโดยวิเคราะห์ปริมาณไมโครพลาสติกที่สะสมในกระเพาะอาหารและลำไส้ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อตับอ่อนและศึกษา oxidative stress ผลการทดลองพบว่า อาหารกุ้งผสมไมโครพลาสติกจำลองที่ทำจาก PP, PBS และไมโครพลาสติกจำลองที่ทำจากพลาสติกประเภท PP ที่เก็บจากธรรมชาติไม่ทำให้กุ้งตายภายใน 96 ชั่วโมง อาหารกุ้งผสมไมโครพลาสติกจำลองที่ทำจาก PS เป็นประเภทเดียวที่ทำให้กุ้งตายภายใน 96 ชั่วโมง ผลการตรวจวิเคราะห์เนื้อเยื่อตับอ่อนพบว่า อาหารกุ้งผสมไมโครพลาสติก ทำให้โครงสร้างของเซลล์ตับและตับอ่อน รวมถึงโครงสร้างของท่อตับเสียหายเมื่อเทียบกับชุดควบคุมการทดลอง โดยพบว่าในกุ้งตัวตายท่อตับจะมีลักษณะเป็นรูกว้างขึ้น ปริมาณ B-Cell (Blasenzellen Cell), F-Cell (Fibrillar Cell) และ R-Cell (Restzellen) มีปริมาณลดลงอย่างเห็นได้ชัด รวมถึงมีการอักเสบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ความรุนแรงของอาการเพิ่มขึ้นตามลำดับระดับขนาดของไมโคร-พลาสติกที่เพิ่มขึ้น ส่วนการศึกษา Oxidative stress พบว่าปริมาณค่า antioxidant และ peroxidase มีแนวโน้มลดลงตามขนาดที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุมการทดลอง

2.2 กุ้งก้ามกราม *(Macrobrachium rosenbergii)*

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Macrobrachium rosenbergii*
ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ: Giant freshwater prawn
ชื่อสามัญภาษาไทย: กุ้งก้ามกราม

ลักษณะทางกายภาพ

กุ้งก้ามกรามจัดอยู่ในจำพวกสัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลัง แต่มีเปลือกหุ้มอยู่ภายนอก ลำตัวแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนหัว ส่วนลำตัว และส่วนหาง ส่วนหัวประกอบด้วยขาเดน 3 คู่ และขาที่มีลักษณะเป็นก้ามอีก 2 คู่ อยู่ทางส่วนหน้า ขาคู่ที่ 1ใช้ในการป้อนอาหารเข้าปากและทำความสะอาดร่างกาย ขาคู่ที่ 2 มีความยาวและใหญ่กว่าคู่ที่ 1 ซึ่งใช้ประโยชน์ในการต่อสู้และจับเหยื่อ ส่วนปลายสุดของกุ้งก้ามกรามประกอบด้วยกรีมีลักษณะแบนข้าง ส่วนโคนของกรีหนาและนูนเรียวแหลมไปทางส่วนปลาย ตรงกลางกรีโค้งแอ่นลง ส่วนปลายงอนขึ้น ที่สันกรีด้านบนและล่างมีหลักหนามคล้ายฟันเลื่อย จำนวนหนามบนสันกรีล่าง 8-14 ซี่ สันกรีบนมี 12-15 ซี่ ตาอยู่ส่วนใต้โคนกรี อยู่บนก้านซึ่งยาวยื่นออกมาและเคลื่อนไหวได้ ส่วนลำตัวแบ่งออกเป็นปล้อง ๆ รวม 6 ปล้อง ด้านล่างของส่วนลำตัวมีขาว่ายน้ำ 5 คู่ ระหว่างปล้องที่ 1 ถึงปล้องที่ 5 ส่วนหางประกอบด้วยแพนหางข้างละ 1 คู่ ตรงส่วนกลางเป็นปลายหางแหลม ดังแสดงในรูปที่ 2.1.4



รูปที่ 2.1.4 ลักษณะทางกายภาพของกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii*
(ที่มา: Forster and Wickins, 2009)

ลักษณะนิสัย

กุ้งก้ามกรามเป็นสัตว์ชอบน้ำเคลื่อนไหว กุ้งขนาดใหญ่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืดตามแม่น้ำ ลำคลอง ซึ่งมีอุณหภูมิค่อนข้างต่ำ และมีความต้องการออกซิเจนสูง จึงมักจะพบกุ้งชนิดนี้ในที่ที่มีน้ำไหล และใสสะอาด มีนิสัยชอบเกาะซุกซ่อนตัวอยู่ตามรากไม้และเสา ตลอดจนหินที่จมอยู่ใต้น้ำ เช่น บริเวณเขื่อน ฝายฯ มีความไวต่อแสง ว่องไว ปราดเปรียว หลบหลีกศัตรูได้คล่องแคล่วเมื่อถูกรบกวนตามปกติ ตามธรรมชาติกุ้งก้ามกรามออกหากินในเวลากลางคืน ส่วนในเวลากลางวันจะซุกซ่อนตัวอยู่ตามสภาพสิ่งแวดล้อมที่อาศัย

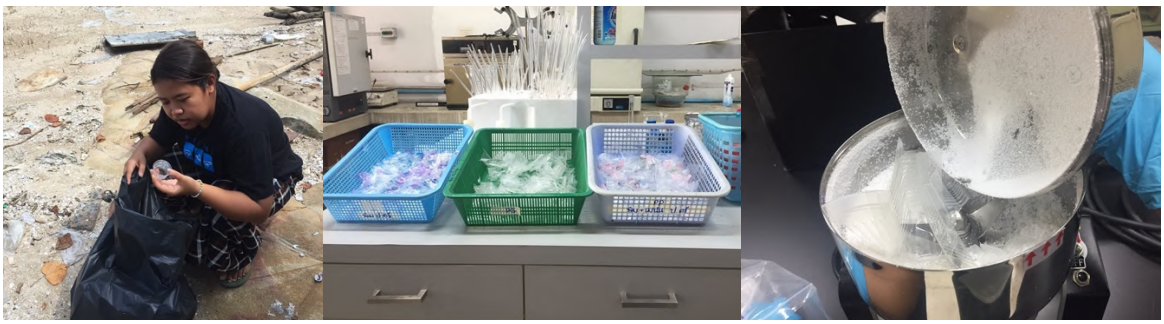
ถิ่นอาศัย

กุ้งก้ามกราม มีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางพบทั้งบริเวณแหล่งน้ำกร่อยและแหล่งน้ำจืด กุ้งก้ามกรามวัยรุ่นจะเดินทางไปหากินในแหล่งน้ำจืดตามแม่น้ำ ลำคลองทั่ว ๆ ไป เมื่อถึงฤดูผสมพันธุ์พ่อแม่พันธุ์กุ้งจะเดินทางมายังแหล่งน้ำกร่อย ซึ่งเป็นบริเวณปากแม่น้ำหรือทะเลสาบเพื่อผสมพันธุ์วางไข่ และ เลี้ยงตัวอ่อนจนเป็นกุ้งวัยรุ่นแล้วเดินทางเข้าไปในบริเวณน้ำจืดเพื่อเลี้ยงตัวจนเป็นกุ้งใหญ่ต่อไป

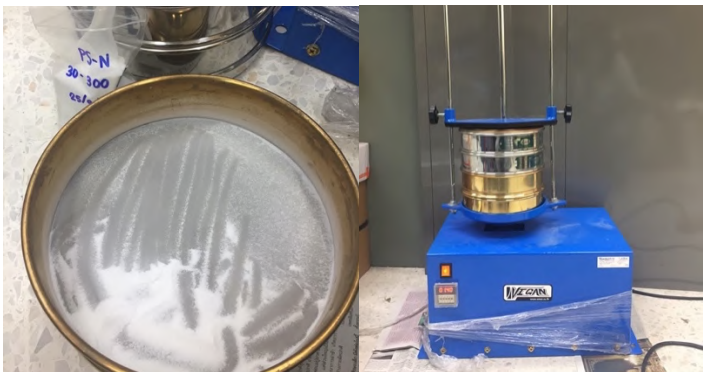
บทที่ 3 วิธีการศึกษา

3.1 การจัดทำไมโครพลาสติก

ตัวอย่างพลาสติกจากธรรมชาติที่นำมาศึกษาดูปริมาณการสะสมในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น *(Macrobrachium rosenbergii)* เป็นการเก็บจากบริเวณหาดของสถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี และได้รับความอนุเคราะห์จากคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ในการใช้สถานีที่และเครื่องมือสำหรับจัดทำไมโครพลาสติก โดยผู้วิจัยเลือกใช้ไมโครพลาสติกประเภท พอลิสไตรีน (Polystyrene; PS) ทำการบดพลาสติกดังกล่าวให้มีขนาดเล็กและทำการคัดแยกขนาดด้วยตะแกรงร่อน (sieve) ให้ได้ 3 ขนาดคือ >30 μm 30-300 μm และ 300-1000 μm เนื่องจากเป็นพลาสติกประเภทที่พบว่ามีการปนเปื้อนในธรรมชาติมากและทำให้เกิดปัญหาผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต และพลาสติกประเภทนี้ยังมีการนำมาใช้ในการบรรจุอาหารและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในชีวิตประจำวันกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน



(ก) (ข) (ค)



(ง) (จ)

รูปที่ 3.1 เก็บพลาสติกประเภทพอลิสไตรีน (Polystyrene; PS) จากชายหาดหน้าศูนย์วิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี (ก) ทำความสะอาดพลาสติกประเภทพอลิสไตรีนที่เก็บได้ (ข) บดพลาสติกด้วยเครื่องบดพลาสติก (ค) sieve พลาติกที่บดได้ให้มีขนาด <30 μm 30-300 μm และ 300-1000 μm ด้วย sieve analysis (ง และ จ)

3.2 ตัวอย่างสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดลอง

กุ้งก้ามกรามที่ใช้ในการศึกษาได้รับจากฟาร์มกุ้งก้ามกราม ตำบลคลองขุด อำเภอบ้านโพธิ์ จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวนตัวอย่างกุ้งก้ามกรามที่ใช้ในการทดลองนี้อ้างอิงจากตัวอย่างการศึกษาในกุ้ง ชนิด *Crangon crangon, Palaemonetes pugio* (Gray et al., 2017: Devriese et al., 2015) การทดลองนี้เลือกใช้กุ้งก้ามกรามวัยรุ่นขนาดความยาวเหยียด 4-6 เซนติเมตร ซึ่งเป็นขนาดที่อยู่ในระยะการเติบโตรวดเร็ว มีการอัตราการบริโภคอาหารที่สูงเหมาะสมสำหรับการศึกษา ขนาดตัวไม่ใหญ่ ทำให้คุณภาพน้ำในการเลี้ยงเปลี่ยนแปลงไม่มาก อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้งก้ามกราม และใช้เป็นตัวแทนของสัตว์ที่กินอาหารตามพื้นน้ำ

รูปที่ 3.2 กุ้งก้ามกรามที่ใช้ในการทดลอง

3.3 การปรับสภาพสัตว์ทดลองกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น

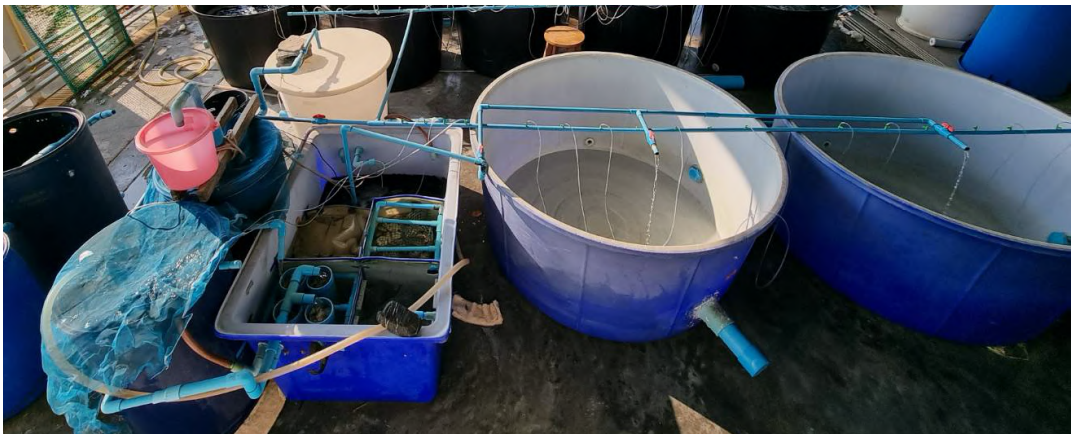
กุ้งก้ามกรามที่ได้มาจากฟาร์มกุ้งก้ามกราม ตำบลคลองขุด อำเภอบ้านโพธิ์ จังหวัดฉะเชิงเทรา นำมาปรับสภาพประมาณ 5 วัน ในระบบปิด (closed circulating system) ตลอดทำการทดลองทำการให้อากาศกับระบบตลอดเวลาเพื่อเพิ่มออกซิเจนละลายในน้ำ ณ สถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ก่อนนำไปทำการทดลอง

โดยระบบเลี้ยงปรับสภาพกุ้งก้ามกรามแบบปิดประกอบด้วย 2 ส่วนสำคัญ ดังรูปที่ 1

1. ส่วนถังเลี้ยงกุ้งขนาด 1000 ลิตร เส้นผ่านศูนย์กลางปากถัง 153 เซนติเมตร สูง 80 เซนติเมตร ทำการปล่อยกุ้งเพื่อประสภาพในถังที่ระดับความหนาแน่น 450 ตัว/ถัง
2. ส่วนบำบัดน้ำ ประกอบด้วยชุดบ่อบำบัดน้ำแบบชีวภาพ และชุดกรองน้ำขนาด 0.3 μm เพื่อกรองน้ำก่อนเข้าถังเลี้ยง

ทำการปรับสภาพกุ้งก้ามกรามในระบบปิด (Closed Circulating System) เป็นระยะเวลา 2 วัน แล้วจึงนำไปทำการทดลองในชุดการทดลองตู้กระจก ซึ่งเป็นระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิดย่อส่วน ดังรูปที่ 2 และ

ระหว่างการปรับสภาพจะทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (แอมโมเนีย ไนไตรท์ pH) ทุกวันด้วยชุดตรวจ AQUA-VBC test Kit



(ก)

(ข)

รูปที่ 3.3 ระบบ closed circulating System สำหรับเลี้ยงและปรับสภาพสัตว์ทดลอง (ก) และหน่วยทดลองตู้กระจก Closed Circulating System (ข)

3.4 การตรวจนับจำนวนไมโครพลาสติกเพื่อเตรียมความหนาแน่นของไมโครพลาสติกตามที่กำหนด

ทำการเตรียมความหนาแน่นของไมโครพลาสติกเพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณที่จะผสมในอาหารกุ้ง ดังนี้

1. ชั่งไมโครพลาสติก 0.01 กรัม บรรจุในขวดแก้ว
2. เติมน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt ที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง membrane filter 0.45 µm ปริมาตร 200 ml ปิดฝาให้สนิท และตั้งทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวอย่างดูดซับน้ำและไม่ฟุ้งกระจาย

3. สุ่มตัวอย่าง ๆ ละ 1 ml นำไปตรวจนับจำนวน 3 ซ้ำ ด้วย Sedgewick Rafter Counting Chamber โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 และ 40 เท่า
4. คำนวณจำนวนชิ้นไมโครพลาสติกต่อน้ำหนัก

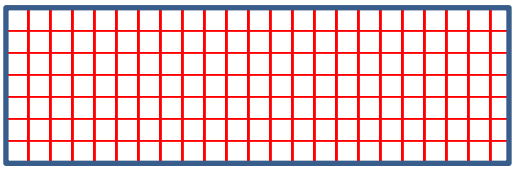
จำนวนไมโครพลาสติก 0.01 กรัม = $\frac{A \times 200}{1}$ ชิ้น

A คือ ค่าเฉลี่ยจำนวนไมโครพลาสติกแต่ละขนาดที่นับได้ใน 1 ml

ในที่นี้นับได้ 3076, 1048 และ536 ชิ้นไมโครพลาสติก/1 ml ในขนาด <30 μm 30-300 μm และ 300-1000 μm ตามลำดับ

ดังนั้นจะได้ จำนวนไมโครพลาสติก 0.01 กรัม เท่ากับ 615200, 209600 และ107200 ชิ้นในขนาด <30 μm 30-300 μm และ 300-1000 μm ตามลำดับ

นำค่าที่ได้จากการคำนวณไปใช้ในการเตรียมไมโครพลาสติกผสมในอาหารกุ้ง โดยแต่ละขนาดของไมโครพลาสติก จะผสมให้มีความหนาแน่น 3 ระดับ คือ ความหนาแน่น 500 1500 และ 3000 ชิ้น/กรัมอาหารกุ้ง



รูปที่ 3.4 Sedgewick Rafter Counting Chamber

3.5 การเตรียมความหนาแน่นของไมโครพลาสติกเพื่อผสมในอาหารกุ้ง

หลังจากที่ทราบจำนวนไมโครพลาสติกในปริมาตร 0.01 กรัม การเตรียมอาหารกุ้งกุลาดำต้องการจำนวน 300 กรัม (ในแต่ละขนาดและแต่ละความหนาแน่นของไมโครพลาสติก) จะใช้วิธีการคำนวณดังนี้

ในปริมาตรอาหารกุ้ง 1 กรัม* ต้องการไมโครพลาสติก 500 ชิ้น

หากเตรียมอาหารกุ้ง 300 กรัม ต้องใส่ไมโครพลาสติกเท่ากับ 150,000 ชิ้น

*เนื่องจากในการทดลองจะให้อาหารแก่กุ้งก้ามกรามวันละ 1 กรัม

ดังสมการ

จำนวนไมโครพลาสติกในอาหารกุ้ง 300 กรัม = $\frac{500 \times 300}{1}$ = 150,000 ชิ้น

ดังนั้นต้องชั่งไมโครพลาสติกขนาด <30 μm ใส่ในอาหารกุ้ง

จำนวนไมโครพลาสติก 500 ชิ้น ในอาหารกุ้ง 300 กรัม = $\frac{\mathbf{0.01 \times 150{,}000}}{\mathbf{615{,}200}}$ = 0.0027 กรัม

จำนวนไมโครพลาสติก 1500 ชิ้น ในอาหารกุ้ง 300 กรัม = $\frac{\mathbf{0.01 \times 450{,}000}}{\mathbf{615{,}200}}$ =0.0081 กรัม

จำนวนไมโครพลาสติก 3000 ชิ้น ในอาหารกุ้ง 300 กรัม = $\frac{\mathbf{0.01 \times 900{,}000}}{\mathbf{615{,}200}}$ = 0.0162 กรัม

ดังนั้นในการชั่งไมโครพลาสติกขนาด 30-300 μm และ300-1000 μm ใส่ในอาหารกุ้ง แสดงดังนี้

ชั่งไมโครพลาสติกขนาด 30-300 μm ใส่ในอาหารกุ้ง

จำนวนไมโครพลาสติก 500 ชิ้น ในอาหารกุ้ง 300 กรัม = 0.0027 กรัม

จำนวนไมโครพลาสติก 1500 ชิ้น ในอาหารกุ้ง 300 กรัม =0.0081 กรัม

จำนวนไมโครพลาสติก 3000 ชิ้น ในอาหารกุ้ง 300 กรัม = 0.0162 กรัม

ชั่งไมโครพลาสติกขนาด 300-1000 μm ใส่ในอาหารกุ้ง

จำนวนไมโครพลาสติก 500 ชิ้น ในอาหารกุ้ง 300 กรัม = 0.0027 กรัม

จำนวนไมโครพลาสติก 1500 ชิ้น ในอาหารกุ้ง 300 กรัม =0.0081 กรัม

จำนวนไมโครพลาสติก 3000 ชิ้น ในอาหารกุ้ง 300 กรัม = 0.0162 กรัม

เมื่อได้น้ำหนักที่คำนวณได้จะนำมาผสมกับสูตรอาหารกุ้งและทำการอัดเม็ดอาหารและนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ทิ้งในเย็น และเก็บรักษาไว้ในที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทำการทดลอง

รูปที่ 3.5 การทำอาหารกุ้งสำหรับทำการทดลอง

3.6 ผลของไมโครพลาสติกต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร (LC_{50})

ก่อนเริ่มการทดลองจะทำการปรับสภาพตัวอย่างกุ้งทดลองในตู้เลี้ยงกระจกขนาด 25 x 30 x 15 ซม.^{3} โดยให้อาหารควบคุมการทดลอง (control artificial shrimp food) ซึ่งไม่ได้ผสมไมโครพลาสติก เป็นเวลา 3 วัน ๆ ละ 1 กรัม โดยแบ่งเป็นช่วงเช้า (09.00 น.) 0.5 กรัม และช่วงเย็น (16.00 น.) 0.5 กรัม และทำการดูดตะกอนในช่วงค่ำ (ประมาณ 20.00 น.)

เมื่อเริ่มทำการทดลองจะให้อาหารทดลองที่ผสมไมโครพลาสติกแก่กุ้งตามแผนทดลองที่กำหนดไว้ และดูดตะกอนตามเวลาเช่นเดียวกันกับการลี้ยงปรับสภาพกุ้งดังกล่าวข้างต้น

ในหนึ่งชุดการทดลองประกอบด้วย หน่วยควบคุมการทดลอง 1 หน่วย หน่วยการทดลอง 3 หน่วย สำหรับไมโครพลาสติก 3 ขนาด แต่ละขนาดจะประกอบด้วย 3 หน่วยการทดลอง 3 ระดับความหนาแน่น หนึ่งหน่วยการทดลองมี 3 ช่องเลี้ยง (3 ซ้ำ) ดังรูปที่ 2 ในแต่ละช่องใช้กุ้งก้ามกราม 20 ตัว ดังนั้นแต่ละหน่วยการทดลองจะใช้กุ้งก้ามกราม 60 ตัว

ระหว่างการทดลองผลของไมโครพลาสติกต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร (LC_{50}) จะทำการเฝ้าสังเกตพฤติกรรมกุ้งทุก ๆ 2 ชั่วโมง และทำการเก็บตัวอย่างกุ้งที่ตาย ชั่วโมงที่ 12 24 48 และ 96 ตามลำดับ นำตัวอย่างกุ้งที่ตายไปแยกส่วนอวัยวะ ได้แก่ ตับ และลำไส้ เพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณไมโครพลาสติกในทางเดินอาหาร ในกรณีที่พบตัวตายจะทำการจดบันทึกและนำมาวิเคราะห์หาค่า (LC_{50}) โดยใช้วิธีโพรบิท (Shaala *et al*., 2015)

3.7 การสะสมของไมโครพลาสติกในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น

ในส่วนของการศึกษาการสะสมไมโครพลาสติก จะทำการเก็บตัวอย่าง ดังนี้ เก็บตัวแต่ละช่อง ช่องละ 1 ตัว รวมเป็น 3 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างที่ -20 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างกุ้งกุลาดำวัยรุ่นที่ตายมาทำการแยกส่วนอวัยวะ ตับ และลำไส้ จากนั้นนำไปย่อยด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 30% ตามวิธีการ Baxter et al., 2009 จากนั้นทำการกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง cellulose nitrate membranes 0.45 μm และนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบสเตอริโอ

(ก) (ข)

(ค) (ง)

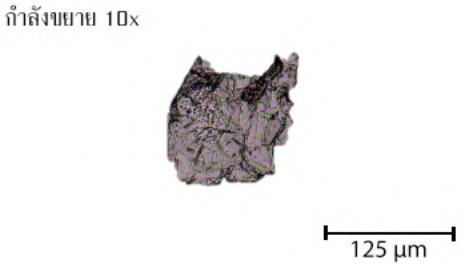
(จ) (ฉ)

รูปที่ 3.6 แยกส่วนอวัยวะตับ และลำไส้ (ก และ ข) ย่อยด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 30% ด้วยอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 วัน (ค) กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง cellulose nitrate membranes 0.45 μm (ง และ จ) ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบสเตอริโอ (ฉ)

บทที่ 4 ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล

4.1 ลักษณะของไมโครพลาสติกจำลองในอาหารผสม

ทำการตรวจวิเคราะห์ลักษณะไมโครพลาสติก Polystyrene (PS) ในอาหารผสมที่จัดทำก่อนนำอาหารนั้นไปใช้ในการทดลอง พบว่า ไมโครพลาสติกมีลักษณะไม่แน่นอน มีเนื้อที่ค่อนข้างเปื่อยยุ่ย และส่วนใหญ่มีลักษณะแบบ film ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ไมโครพลาสติก PS ขนาด 30-300 µm ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

4.2 ปริมาณไมโครพลาสติกในอาหารกุ้ง

ก่อนทำการทดลองได้สุ่มอาหารกุ้งผสมไมโครพลาสติก และทำการย่อยอาหารที่สุ่มเพื่อทำการตรวจนับความหนาแน่นจริงของไมโครพลาสติกในอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 4.2.1

ตารางที่ 4.2.1 จำนวนไมโครพลาสติกที่ผสมในอาหารกุ้ง 1 กรัม (n = 3)

ขนาด (µm)	จำนวนในอาหารผสมจากคำนวณ (ชิ้น/กรัม)	จำนวนในอาหารผสมจากการตรวจนับ (ชิ้น/กรัม)
<30	3,000	3020 ± 2.53
	1,500	1579 ± 2.99
	500	558 ± 0.57
30-300	3,000	2997 ± 4.53
	1,500	1561 ± 2.07
	500	532 ± 2.73
300-1000	3,000	2947 ± 1.11
	1,500	1550 ± 1.86
	500	506 ± 1.92

ผลการตรวจนับจำนวนไมโครพลาสติกในตารางที่ 4.2.1 พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างมากนักเมื่อเทียบกับค่าจากการคำนวณปริมาณไมโครพลาสติกที่ผสมในอาหารกุ้งทุกขนาดของไมโครพลาสติกที่ใช้ในทุกชุดการทดลอง

ดังนั้นจึงใช้ค่าความหนาแน่นจากการคำนวณในการระบุเป็นตัวแปรในชุดการทดลองต่าง ๆ การรายงานผล และอภิปรายผลของการศึกษานี้

4.3 การศึกษา LC_{50} ในกุ้งก้ามกรามวัยรุ่นเมื่อได้รับอาหารไมโครพลาสติกประเภท Polystyrene (PS)

จำนวนกุ้งที่ตายสะสมตามเวลาต่าง ๆ ได้นำไปวิเคราะห์อัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร พบว่าภายใน 96 ชั่วโมงของการทดลองมีตัวตาย ดังแสดงในตารางที่ 4.2.2 ชุดการทดลองที่ให้อาหารกุ้งผสมไมโครพลาสติกขนาด 300-1000 μm ความหนาแน่น

ตารางที่ 4.2.2 จำนวนกุ้งที่ตายสะสมตามเวลาต่าง ๆ ภายใน 96 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมงที่)	ขนาด (μm)	ความหนาแน่น (ชิ้น/กรัม)	จำนวนตัวตาย (ตัว)
12	300-1000	500	2
24	<30	3000	2
	30-300	500	2
	30-300	3000	1
	300-1000	500	1
	300-1000	1500	1
48	<30	500	1
	30-300	500	2
	300-1000	500	1
72	<30	3000	1
96	30-300	1500	1
	300-1000	1500	1

ในการวิเคราะห์ค่า LC_{50} ในกุ้งทดลองที่ได้รับไมโครพลาสติก PS โดยวิธีโพรบิท เมื่อได้รับอาหารผสมไมโครพลาสติก PS ขนาด <30 μm 30-300 μm และ 300-1,000 μm ทำการวิเคราะห์จากจำนวนการตายที่เวลาต่าง ๆ และจำนวนไมโครพลาสติกที่พบสะสมอยู่ในตับ กระเพาะอาหาร และลำไส้ของกุ้งที่ตาย ไม่ได้วิเคราะห์จากปริมาณความหนาแน่นของไมโครพลาสติกที่ผสมในอาหารกุ้ง พบว่า ค่าความเข้มข้นของไมโครพลาสติกที่ทำให้กุ้งทดลองตาย 50% มีค่าสูงมากไม่สอดคล้องกับปริมาณจำนวนไมโครพลาสติกที่พบสะสมในตับ กระเพาะอาหาร และลำไส้ของตัวอย่างกุ้งตัวเป็นชั่วโมงที่ 12 และ 96 และกุ้งตายที่ชั่วโมง 96 เมื่อทำการคำนวณจากการตายสะสมและปริมาณไมโครพลาสติกที่สะสม พบว่าค่า LC_{50} มีค่า 37, 29 และ 40 ชิ้นไมโครพลาสติก/ตัวกุ้ง ในอาหารผสมไมโครพลาสติกขนาด <30 μm 30-300 μm และ 300-1,000 μm ตามลำดับในทุกความหนาแน่นของไมโครพลาสติกในอาหารผสม ดังตารางที่ 4.3.3 แสดงให้เห็นว่าไมโครพลาสติก PS ที่ผสมในอาหารกุ้งไม่ส่งผลต่อการตายครึ่งหนึ่งของประชากรกุ้งก้ามกราม อาจเนื่องมาจากไมโครพลาสติก PS ที่ใช้ในการทดลองมีลักษณะเปื่อยยุ่ย จึงไม่ส่งผลกระทบให้เกิดการตาย โดยลักษณะรูปร่างของไมโครพลาสติกอาจจะเป็นสาเหตุที่ส่งผลกระทบด้านต่าง ๆ ของสัตว์ทะเล เช่น อาจเป็นสาเหตุการตาย การสืบพันธุ์และการพัฒนาการของตัวอ่อน (Birnstiel et al., 2019) และขนาดของไมโครพลาสติกเป็นปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อกุ้งทดลองในการศึกษาครั้งนี้ โดยไมโครพลาสติกประเภท PS ขนาด 30-300 μm และ 300-1,000 μm ส่งผลกระทบต่อการตายของกุ้งทดลองมากกว่าขนาด <30 μm เนื่องจากเมื่อกุ้งกินอาหารที่ผสมไมโครพลาสติกเข้าไป จะถูกขับถ่ายออกจากร่างกายผ่านช่องทวาร (anus) ของกุ้ง หากช่องเปิดมีขนาดเล็ก กุ้งไม่สามารถขับออกไปได้ก็จะสะสมและทำให้เกิดการอุดตันของลำไส้และอาจเป็นสาเหตุโน้มนำให้กุ้งตายได้ (Hossain et al., 2020)

ตารางที่ 4.3.3 LC_{50} ของกุ้งในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมไมโครพลาสติกประเภท PS

ขนาด (μm)	จำนวน (ชิ้น/กรัมอาหารกุ้ง)	การตาย (%)	LC_{50}
<30	500	3	37 ชิ้น
	1500	0	
	3000	10	
30-300	500	13	29 ชิ้น
	1500	3	
	3000	3	
300-1000	500	13	40 ชิ้น
	1500	7	
	3000	0	

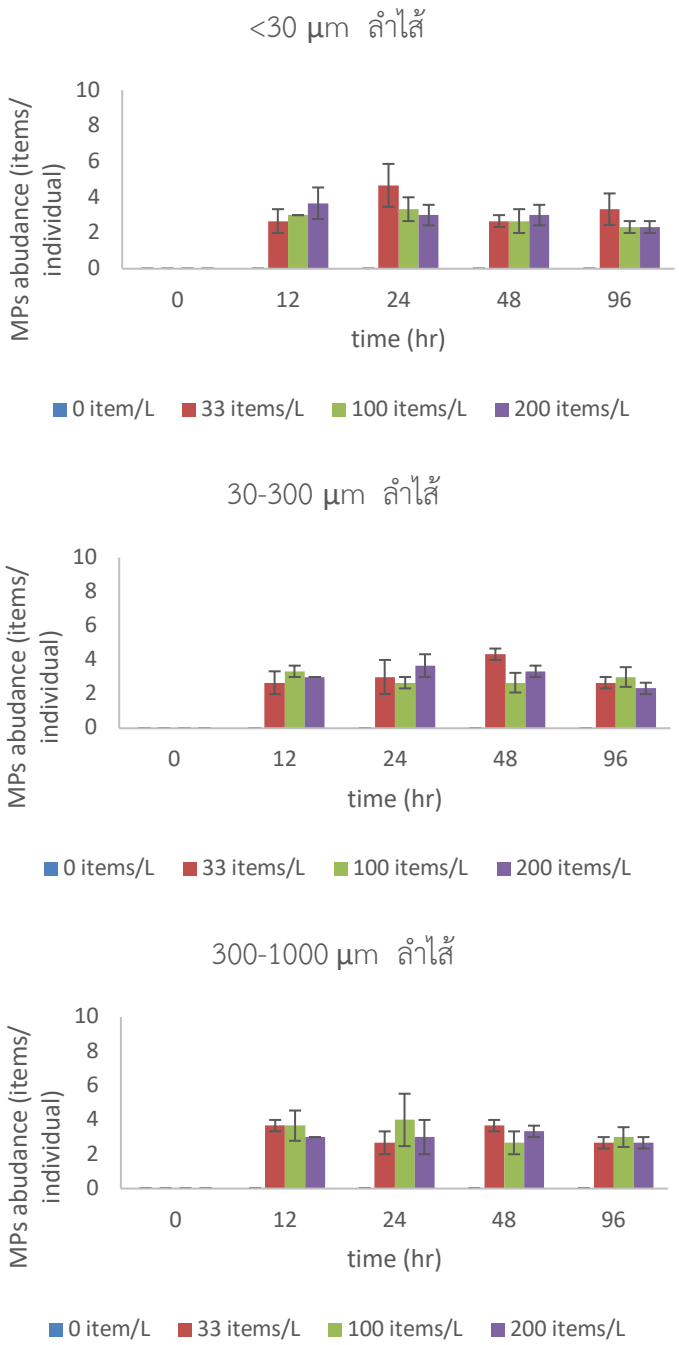
4.4 จำนวนไมโครพลาสติกประเภท Polystyrene (PS) ในทางเดินอาหารของกุ้งทดลอง

ตารางที่ 4.4.1 จำนวนไมโครพลาสติก PS ที่พบในตับ กระเพาะอาหาร และลำไส้กุ้งหลังการทดลอง LC_{50} (ชิ้น/ตัว)

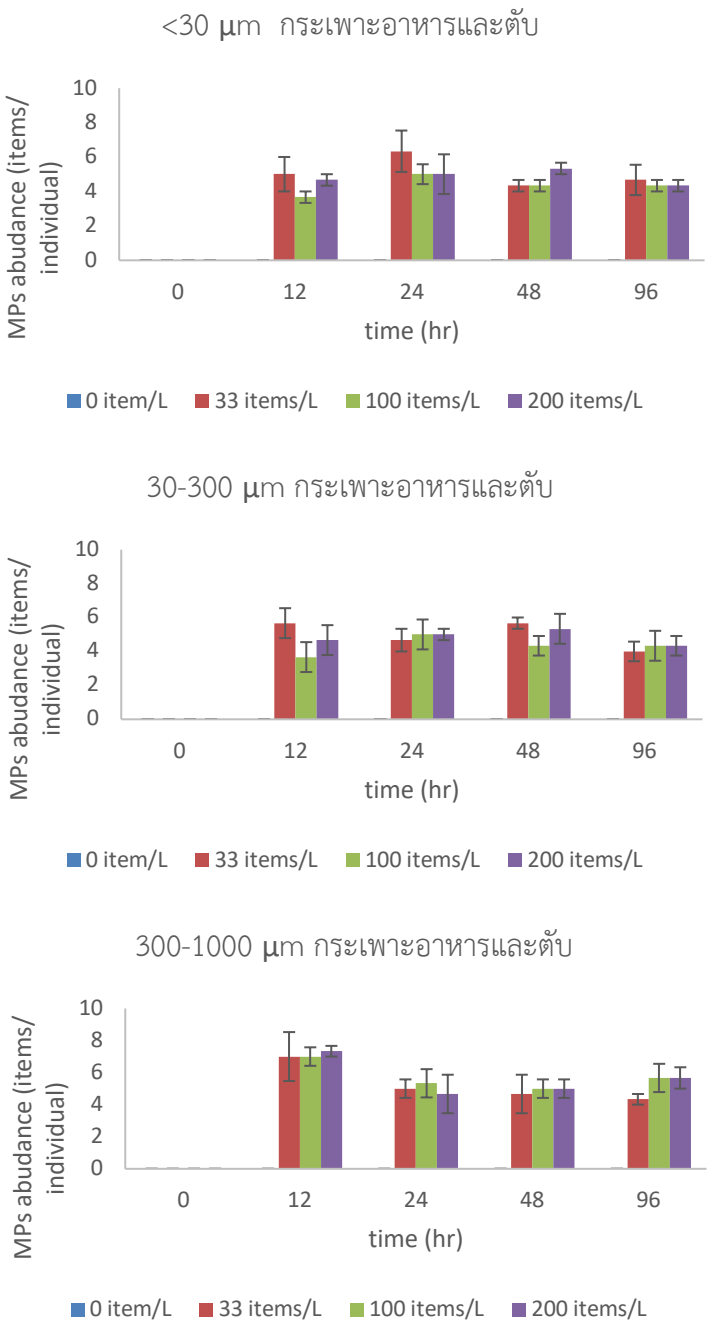
ขนาด (μm)	ความหนาแน่น	ตัวเป็นชั่วโมงที่ 12 (ชิ้น)			ตัวเป็นชั่วโมงที่ 96 (ชิ้น)		
		ตับและกระเพาะ	ลำไส้	รวม	ตับและกระเพาะ	ลำไส้	รวม
control		0	0	0	0	0	0
<30	3,000	5	4	9	4	2	6
	1,500	4	3	7	4	2	6
	500	5	3	8	5	3	8
30-300	3,000	6	3	9	5	2	7
	1,500	5	3	8	6	3	9
	500	6	3	9	4	3	7
300-1000	3,000	7	3	10	6	3	9
	1,500	7	4	11	6	3	9
	500	7	4	11	4	3	7

ไมโครพลาสติกประเภท PS ที่พบในตับ กระเพาะอาหาร และลำไส้ของกุ้งก้ามกรามหลังการทดลอง LC_{50} ดังแสดงในในตารางที่ 4.4.1

สำหรับการสะสมไมโครพลาสติกรวมในตับ กระเพาะอาหาร และลำไส้ของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารผสมไมโครพลาสติกขนาด <30 μm 30-300 μm และ300-1000 μm พบว่าทุกความหนาแน่นมีการสะสมไม่ต่างกัน (7-11 ชิ้นต่อตัวกุ้ง) โดยส่วนใหญ่พบในตับและกระเพาะอาหารมากกว่าในลำไส้ของกุ้งก้ามกราม ดังแสดงในรูปที่ 4.4.1 และ 4.4.2 อาจเนื่องจากตับของกุ้งมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมระบบการเผาผลาญอาหารภายในตัวกุ้ง สังเคราะห์และหลั่งเอนไซม์เพื่อช่วยให้การดูดซึม นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ในการเก็บสะสมพลังงานและกำจัดสารพิษ ด้วยเหตุนี้ไมโครพลาสติกที่ผสมในอาหารกุ้งที่ถือว่าเป็นสารพิษจึงเกิดการสะสมมากในส่วนนี้ (อนุตรา อัครจามร, 2534)



รูปที่ 4.4.1 ปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกประเภท PS ในลำไส้กุ้งก้ามกราม ในแต่ละความหนาแน่นของไมโครพลาสติก (ชิ้น/ลิตร) โดย Error bar แทนค่า Standard Error



รูปที่ 4.4.2 ปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกประเภท PS ในกระเพาะอาหารและตับกุ้งก้ามกราม ในแต่ละความหนาแน่นของไมโครพลาสติก (ชิ้น/ลิตร) โดย Error bar แทนค่า Standard Error

บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

ไมโครพลาสติกจากธรรมชาติ Polystyrene (PS) มีความคมน้อยกว่าไมโครพลาสติกจำลอง (ไทยถาวร และคณะ, 2018) เนื่องจากเมื่ออยู่ในธรรมชาติเป็นเวลานานจะได้รับการขัดสีตลอดเวลากับวัตถุแขวนลอยอื่นในมวลน้ำ จะลบความคมของก้อนไมโครพลาสติกได้ การศึกษาครั้งนี้ทำการวิเคราะห์ค่า LC_{50} ในกุ้งทดลองที่ได้รับอาหารผสมไมโครพลาสติก PS โดยวิธีโพรบิท เมื่อคำนวณจากการตายสะสมและความหนาแน่นของไมโครพลาสติกที่ผสมในอาหารกุ้ง พบว่าค่า LC_{50} มีค่า 37, 29 และ 40 ชิ้นไมโครพลาสติก/ตัวกุ้ง ในอาหารผสมไมโครพลาสติกขนาด <30 μm 30-300 μm และ 300-1,000 μm ตามลำดับ ในทุกความหนาแน่นของไมโครพลาสติกในอาหารผสม แสดงให้เห็นว่าไมโครพลาสติก PS ที่ผสมในอาหารกุ้งไม่ส่งผลต่อการตายครึ่งหนึ่งของประชากรกุ้งก้ามกราม และในการสะสมของไมโครพลาสติกในระบบทางเดินอาหารกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น *(Macrobrachium rosenbergii)* พบว่ามีการสะสมในตับและกระเพาะอาหาร มากกว่าในลำไส้ของกุ้ง

5.2 ข้อเสนอแนะ

สำหรับผู้ที่มีความสนใจในการศึกษาผลกระทบของไมโครพลาสติกต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร และการสะสมในกุ้งก้ามกรามรวมถึงสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น จำเป็นต้องทำการวางแผนการทดลองโดยคำนึงถึงประเภทของไมโครพลาสติกที่ใช้สำหรับการทดลอง ควรทำการศึกษาผลของไมโครพลาสติกในหลายประเภท และวางแผนการทดลองในระยะยาว เพื่อให้ทราบถึงอัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากรและสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสร้างเกณฑ์มาตราฐานการปนเปื้อนไมโครพลาสติกในอนาคตได้

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. 2561. ร่างแผนจัดการขยะพลาสติกอย่างบูรณาการ (พ.ศ. 2561-2573). สืบค้นเมื่อวันที่ 13 มีนาคม 2563 จาก http://www.pcd.go.th/Info_serv/File/Plastic%20Roadmap.pdf

ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ ศุภกิจ สุทธิเรืองวงศ์ กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์ และสุธาพร บุญญเจตน์พงษ์ 2561. การสะสมและผลกระทบของไมโครพลาสติกในกุ้งกุลาดำวัยรุ่น *(Penaeus monodon)* งานวิจัยภายใต้โครงการทะเลไทยไร้ขยะ ประจำปี 2561

ปิติพงษ์ ธาระมนต์ สหทัย ไพรสานท์กุล และนภาพร เลียดประถม. 2559. การปนเปื้อนของไมโครพลาติกในหอยสองฝาบริเวณหาดเจ้าหลาว และชายหาดคุ้งวิมาน จังหวัดจันทบุรี. แก่นเกษตร 44 ฉบับพิเศษ 1

พิเชต พลายเพชร 2558. ชีววิทยาการสืบพันธุ์และความต้องการสารอาหารของพ่อแม่พันธุ์กุ้งก้ามกราม (Reproductive Biology and Nutrient Requirements of Giant Freshwater Prawn (Macrobrachium rosenbergii) Broodstock). บทความวิชาการสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด กองวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง ฉบับ 26 ตุลาคม 2558.

ศีลาวุธ ดำรงศิริ และ เพ็ญรดี จันทร์ภิวัฒน์. 2562. ไมโครพลาสติกในแหล่งน้ำจืดและแหล่งน้ำเพื่อการอุปโภคบริโภค. วารสารสิ่งแวดล้อม, ปีที่ 23 (ฉบับที่ 2)

สิตาวีร์ ธีรวิรุฬห์. 2560. พลาสติก: สิ่งปลอมปนในชีวิตและสิ่งแวดล้อม (Plastic: Extraneous Material that affect life and environment). เอกสารวิชาการ Academic Focus

อนุตรา อัครจามร. 2534. การศึกษาทางเนื้อเยื่อของกุ้งกุลาดำ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; doi: https://doi.nrct.go.th/ListDoi/listDetail?Resolve_DOI=

Andrady, L. 2011. Microplastics in the marine environmental. Marine Pollution Bulletin, volume 62, pages 15596-1605.

Baxter, R. M., Steinbeck, M. J., Tipper, J. L., Parvizi, J., Marcolongo, M., & Kurtz, S. M. (2009). Comparison of periprosthetic tissue digestion methods for ultra-high molecular weight polyethylene wear debris extraction. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 91B(1), 409–418. doi:10.1002/jbm.b.31416

Bhattacharya, P., Lin, S., Turner, J.P., Ke, P.C., 2010. Physical adsorption of charged plastic nanoparticles affects algal photosynthesis. The Journal of Physical Chemistry C 114 pp 483-492

Birnstiel, S., Soares-Gomes, A., Bernardo A.P. da Gama. 2019. Depuration reduces microplastic content in wild and farmed mussels. Marine Pollution Bulletin (140): 241-247

Browne, Mark Anthony & Dissanayake, Awantha & Galloway, Tamara & Lowe, David & Thompson, Richard. (2008). Ingested Microscopic Plastic Translocates to the Circulatory System of the Mussel, Mytilus edulis (L.). Environmental science & technology.

Cole M., Lindeque P., Halsband C. and Galloway T.S. 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. Marine Poluution Bulletin.

Cooper and Corcoran. 2010. Effects of mechanical and chemical processes on the degradation of plastic beach debris on the island of Kauai, Hawaii. Marine Pollution Bulletin, 60(5): 650 doi:10.1016/j.marpolbul.2009.12.026

Desforges, J. P. et al., 2014. Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, *79*, 94–99.

Devriese, L. I., et al., 2015. Microplastic contamination in brown shrimp (Crangon crangon, Linnaeus 1758) from coastal waters of the Southern North Sea and Channel area. *Marine pollution bulletin*, 98(1-2), 179–187. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.06.051

Enders et al., 2015. Abundance, size and polymer composition of marine microplastics ≥10μm in the Atlantic Ocean and their modelled vertical distribution. Marine Pollution Bulletin 100(1) doi:10.1016/j.marpolbul.2015.09.027

Farrell, P., & Nelson, K. 2013. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). Environmental Pollution, 177, 1-3. doi:10.1016/j.envpol.2013.01.046

Forster and Wickins, 2009. Macrobrachium rosenbergii (de Man 1879): the antennal gland and the role of pheromones in mating behaviour. Semantic Scholar, Biology.

GESAMP (2015, IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection). A global assessment: Microplastics in the ocean. GESAMP REPORTS & STUDIES No. 90

Graham, E.R., and J.T. Thompson. 2009. Deposit- and suspension-feeding sea cucumbers (Echinodermata) ingest plastic fragments. J. of Exp. Mar. Biol. and Ecol. 368: 22-29.

Gray, A. D. and Weinstein, J. E. 2017. Size and shape dependent effects of microplastic particles on adult dagger blade grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 36(11): 3074-3080

Guzzetti, E., Sureda, A., Tejada, S. and Faggio, C. 2018. Microplastic in marine organism: Environmental and toxicological effects. Environmental Toxicology and Pharmacology. 64: 164-171.

Hossain, M. S., et al., 2020. Microplastic contamination in Penaeid shrimp from the Northern Bay of Bengal. Chemosphere (238): 1-9

Lei J., et al., 2018. Evaluation of 3,4,4,9-trichlorocarbanilide to zebrafish developmental toxicity based on transcriptomics analysis. Chemosphere, Science direct, volume 278.

Ling and Merican 1961. Freshwater Prawn Culture: The Farming of *Macrobrachium Rosenbergii* : Habitat and life cycle. Page 18.

Moore, J. 2008. Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing ,long-term threat. Environmental Research. 108: 131-139.

Setälä *et al*., 2014. Ingestion and transfer pf microplastics in the planktonic food web. Environmental pollution. 185: 77-83

Thompson, R.C., et al., 2004. Lost at sea: Where is all the plastic? Science, 838

Tourinho et al., 2010. Is marine debris ingestion still a problem for the coastal marine biota of southern Brazil? Marine Pollution Bulletin. 396-401.

Wright, S. L., Thompson, R. C. and Galloway, T. S. 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. Entvironmental Pollution. 178: 482-492

Wypych, George (2012). "PS polystyrene". *Handbook of Polymers*. pp. 541–7.

Yu, R., et al., 2020. The effects of partial replacement of fishmeal protein by hydrolysed feather meal protein in the diet with high inclusion of plant protein on growth performance, fillet quality and physiological pparameters of Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze). Aquaculture research. 51: 636-647.

Zhang, B., et al., 2019. Microplastics pollution in the surface sediments collected from Sishili Bay, North Yellow Sea, China. Marine Pollution Bulletin. 141: 9-15.