



## โครงการ

### การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ	ผลกระทบของไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีนต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร (LC <sub>50</sub> ) และการสะสมในหอยนางรมปากจีบ ( <i>Saccostrea forskalii</i> )	
	Impact of microplastics Polystyrene on median-lethal concentration (LC <sub>50</sub> ) and accumulation in oysters, <i>Saccostrea forskalii</i>	
ชื่อนิสิต	นางสาวนันทิตา แก้วนิสัย	เลขประจำตัวนิสิต 6032819723
ภาควิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล	
ปีการศึกษา	2563	

ผลกระทบของไมโครพลาสติกประเภทพอลิโพรพิลีนต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร (LC<sub>50</sub>)  
และการสะสมในหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forsklii*)

นันทิตา แก้วนิสัย

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2563

Impact of microplastics Polystyrene on median-lethal concentration (LC<sub>50</sub>)  
and accumulation in oysters, *Saccostrea forskalii*

Nunthita Kaewnisai

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 2020

หัวข้อโครงการ ผลกระทบของไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีนต่ออัตราการตายครั้งหนึ่ง  
ของประชากร (LC<sub>50</sub>) และการสะสมในหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*)  
โดย นันทิตา แก้วนิสัย  
ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล  
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์

---

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับโครงการฉบับนี้เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต ในรายวิชา 2309499 โครงงานวิทยาศาสตร์

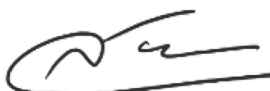


..... หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล  
(ศาสตราจารย์ ดร.วรมนพ วิทยาคุณ)

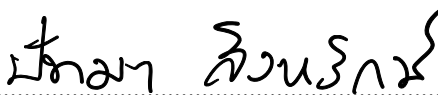
คณะกรรมการการสอบโครงการ



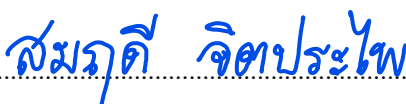
..... อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการหลัก  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์)



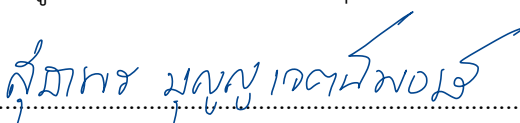
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชานา ชวนิชย์)



..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัทมา สิงห์รักษ์)



..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมฤดี จิตประไพ)



..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร. สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์)



**Project Title** Impact of microplastics Polystyrene on median-lethal concentration (LC<sub>50</sub>) and accumulation in oysters, *Saccostrea forskalii*  
**By** Nunthita Kaewnisai  
**Field of study** Marine Science  
**Advisor** Assoc. Prof.Thaitaworn 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  
(Assoc. Prof.Thaitaworn Lirdwitayaprasit, Ph.D.)



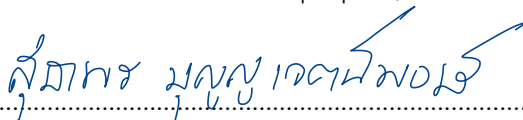
..... Member  
(Assoc. Prof.Suchana Chavanich, Ph.D.)

**P. Singhruck**

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

**Somrudee Jitpraphai**

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



..... Member  
(Sutaporn Bunyajetpong, Ph.D.)

ชื่อโครงการ	ผลกระทบของไมโครพลาสติกประเภทพอลิโอสไตรีนต่ออัตราการตายครั้งหนึ่งของประชากร ( $LC_{50}$ ) และการสะสมในหอยนางรมปากจีบ ( <i>Saccostrea forskalii</i> )
ชื่อนิสิต	นันทิตา แก้วนิสัย
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์
ปีการศึกษา	2563
ภาควิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

---

### บทคัดย่อ

การศึกษาได้ทำไมโครพลาสติกจำลองจากเศษขยะพลาสติกที่พบในธรรมชาติที่เก็บจากบริเวณหาดหน้าสถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่อนศิลาประเภทพอลิโอสไตรีน โดยการนำขยะพลาสติกไปทำการบดด้วยเครื่องบดพลาสติกจนได้ไมโครพลาสติกจำลอง และทำการแยกขนาดไมโครพลาสติกด้วยวิธีการร่อนด้วยตะแกรงจำนวน 3 ขนาด เพื่อทำการทดลองผลกระทบของไมโครพลาสติกประเภทพอลิโอสไตรีนต่ออัตราการตายครั้งหนึ่งของประชากร ( $LC_{50}$ ) และการสะสมในหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*) โดยให้ไมโครพลาสติกจำลองจากธรรมชาติแตกต่างกัน 3 ขนาดได้แก่ <30  $\mu\text{m}$ , 30-300  $\mu\text{m}$ , และ 300-1000  $\mu\text{m}$  และ 3 ความเข้มข้นได้แก่ 66 ชิ้น/ลิตร, 333 ชิ้น/ลิตร, และ 666 ชิ้น/ลิตร ผสมกับแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis galbana* เป็นอาหารแก่หอยนางรม โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ทำการทดลองผลของไมโครพลาสติกต่อการตายของหอยหลังได้รับไมโครพลาสติกเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง โดยสังเกตการตายในชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 48, 72, และ 96 ชั่วโมง พบว่าในระยะเวลา 96 ชั่วโมงไม่พบการตายของหอยในทั้ง 3 ขนาด และ 3 เข้มข้น การทดลองที่ 2 ทำการวิเคราะห์การสะสมไมโครพลาสติกทั้งส่วนภายในและภายนอกของเนื้อเยื่อตัวอย่างหอย ซึ่งทำการสุ่มเก็บตัวอย่างระหว่างการทำตามช่วงเวลาในการทดลองที่ 1 พบว่าการสะสมของไมโครพลาสติกเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยขนาดและความเข้มข้นของไมโครพลาสติกที่มากกว่าส่งผลให้พบการสะสมของไมโครพลาสติกที่เพิ่มมากขึ้นด้วย โดยพบการสะสมของไมโครพลาสติกที่มากที่สุดมาจากชั่วโมงที่ 96 ที่ความเข้มข้นที่ 666 ชิ้น/ลิตร ของไมโครพลาสติกทั้ง 3 ขนาด <30  $\mu\text{m}$ , 30-300  $\mu\text{m}$ , และ 300-1000  $\mu\text{m}$  ที่ 268, 314, และ 322 ชิ้น/ตัวหอย ตามลำดับ

คำสำคัญ: ไมโครพลาสติก พอลิโอสไตรีน หอยนางรม อัตราการตายครั้งหนึ่งของประชากร การสะสม

<b>Project Title</b>	Impact of microplastics Polystyrene on median-lethal concentration (LC <sub>50</sub> ) and accumulation in oysters, <i>Saccostrea forskalii</i>
<b>Name</b>	Nunthita Kaewnisai
<b>Advisor</b>	Assoc. Prof. Thaithaworn Lirdwitayaprasit, Ph.D.
<b>Academic Year</b>	2020
<b>Department</b>	Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University

---

### Abstract

The artificial micro-plastics used in this study were made from the natural plastic debris, Polystyrene type, collected from the beach in front of the Angsila Marine Animal Research Station. The debris has been blended with the plastic crushing machine until the artificial micro-plastic were obtained. Then, 3 sizes of microplastics were separated by sieve for this study. Three different sizes of natural polystyrene micro-plastics has been made, which were <30 µm, 30-300 µm, and 300-1000 µm, and each size of the micro-plastics has been prepared 3 concentrations, which were 66 items / l, 333 items / l, and 666 items / l. Each concentration was mixed with phytoplankton *Isochrysis galbana* as food for oyster feeding experiments. The experiment has been divided into 2 experiments. The first one was the median-lethal concentration (LC<sub>50</sub>) experiment in oyster, that feed on the various concentration micro-plastics mixed with phytoplankton, *Isochrysis galbana*, for 96 hours. The mortality of oyster observed at 0, 12, 24, 48, 72, and 96 hours. It was found that over a 96-hour period, no died oyster was observed. The second one was the study of the accumulation of micro-plastics in both internal and external of oyster's tissue samples, which were collected randomly at each observation time in the experiment 1. The results showed that the accumulation of micro-plastics increased with increasing of time, size and concentration of microplastics. The highest microplastic accumulation was found at 96 hours with the micro-plastics concentrations of 666 items/L in all 3 microplastics which were: <30 µm, 30-300 µm, and 300-1000 µm at 268, 314, and 322 items/ individual, respectively.

**Keywords:** microplastics, polystyrene, oysters, median-lethal concentration (LC50), accumulation

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจากคณะจารย์และบุคคลจากหลายฝ่าย ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ เป็นอย่างสูงที่กรุณาและคอยให้คำปรึกษา แนะนำในการทำการทดลอง แม้ตัวนิสิตจะทำผิดพลาดหรือไม่รู้ความมากเพียงใด ก็คอยพรั้าบอกพรั้าสอนอย่างใจเย็นและด้วยความเข้าใจ และให้ความกรุณาตรวจสอบแก้ไขโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ในการจัดทำโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ในครั้งนี้ อยู่ในช่วงระยะเวลาการระบาดของเชื้อไวรัสโคโรนา-19 (COVID-19) ทำให้เกิดผลกระทบทั้งต่อการปฏิบัติงานและนำเสนอผลงาน ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมฤดี จิตประไพ ที่สละเวลาอันมีค่าในการจัดการ และประสานงานโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ในครั้งนี้ และขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชญา ขวณิชย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัทมา สิงห์รักษ์ และอาจารย์ ดร.สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์ ที่ให้ความช่วยเหลือและให้ข้อเสนอแนะแก่นิสิตในการปฏิบัติงานและนำเสนอผลงาน และขอขอบพระคุณอาจารย์ในภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเลทุกท่าน ที่สละเวลาให้ความช่วยเหลือและรับฟังปัญหา ตลอดจนให้การชี้แนะและนำเสนอทางออกที่ถูกที่ควรจนกระทั่งโครงการสำเร็จ และขอขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่งในความกรุณาด้านทุนทรัพย์จากทุนอุดหนุน โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์เพื่อใช้จ่ายในการจัดซื้อสัตว์ทดลอง อุปกรณ์ในการทดลอง ตลอดจนค่าใช้จ่ายในด้านต่าง ๆ ในการจัดทำโครงการนี้จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบคุณบุคลากรในแล็บ 703 ทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการปฏิบัติงาน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ขอขอบคุณนางสาวจุฑามาศ โปธาขวัญประชาเป็นอย่างสูง ผู้ซึ่งคอยให้คำปรึกษา ให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ และคอยให้กำลังใจ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ อยู่เสมอตั้งแต่เริ่มต้นจนจบโครงการนี้ โดยที่ตัวนิสิตคิดว่าหากขาดบุคคลท่านนี้โครงการนี้จะไม่มีความสำเร็จลุล่วงออกมาได้ดีเช่นนี้ได้ และขอขอบคุณนางสาวอิงอร ทองคำดีที่คอยให้คำแนะนำในการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช ให้คำแนะนำในการปฏิบัติงาน จนกระทั่งโครงการสำเร็จ

ขอบคุณครอบครัวแก้วนิสัยที่เข้าใจและดูแลเอาใจใส่ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือและให้คำปรึกษา พร้อมทั้งคำแนะนำต่าง ๆ ที่มีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำโครงการในครั้งนี้เสมอมา ขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ และน้องภายในภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเลและนอกภาควิชา โดยเฉพาะนิสิตชั้นปีที่ 4 ขอขอบคุณนางสาวธนาภา ที่ให้คำแนะนำในการทำแผนภูมิและการใช้โปรแกรม excel และนางสาวพิชชาที่ให้คำแนะนำในการใช้โปรแกรม SPSS และขอขอบคุณนางสาวปานรวี นายวรวิญญ์ และนายสุริยพงษ์ ที่คอยให้กำลังใจและให้คำแนะนำตั้งแต่เริ่มจนจบโครงการนี้ และสุดท้ายนี้ ขอขอบคุณนางสาวจินดาพร เพชรวิสัย ผู้ที่คอยอยู่เคียงข้าง ร่วมทำการทดลองเคียงบ่าเคียงไหล่มาด้วยกัน ทั้งคอยให้กำลังใจ คอยทำกับข้าวให้ทาน ให้คำแนะนำที่ดีเสมอมา ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ จนกระทั่งโครงการสำเร็จลุล่วง

นนทิตา แก้วนิสัย

## สารบัญ

## หน้า

บทคัดย่อ .....	ก
Abstract .....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	จ
สารบัญภาพ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฉ
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 ไมโครพลาสติกประเภท polystyrene.....	3
2.1.2 ผลของไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีนในสัตว์ทะเล.....	5
2.2 หอยนางรมปากจีบ ( <i>Saccostrea forskalii</i> ).....	5
บทที่ 3 วิธีการศึกษา .....	8
3.1 ตัวอย่างไมโครพลาสติกและตัวอย่างสัตว์ทดลอง.....	8
3.1.1 ตัวอย่างไมโครพลาสติกจำลอง.....	8
3.1.2 ตัวอย่างสัตว์ที่ในการทดลอง.....	10
3.2 การเตรียมการทดลอง.....	10
3.2.1 ตัวอย่างสัตว์ทดลอง.....	10
3.2.2 ไมโครพลาสติก.....	11
3.2.3 แพลงก์ตอนพืช.....	13

3.4	วิธีการศึกษาผลกระทบของไมโครพลาสติกจำลองต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร(LC <sub>50</sub> ) ....	13
3.5	วิธีการศึกษาปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองในหอยนางรม.....	15
บทที่ 4	ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล.....	19
4.1	ลักษณะของไมโครพลาสติกจำลอง.....	19
4.2	การศึกษาผลกระทบของไมโครพลาสติกจำลองต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร(LC <sub>50</sub> ).....	19
4.3	การศึกษาปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองในหอยนางรมปากจีบ.....	20
บทที่ 5	สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ.....	24
5.1	สรุปผลการศึกษา.....	24
5.2	ข้อเสนอแนะ.....	24
เอกสารอ้างอิง.....		25
ภาคผนวก .....		29
ภาคผนวกที่ 1	ปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกบริเวณภายนอกเนื้อเยื่อหอย .....	30
ภาคผนวกที่ 2	ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวหอยต่อเวลา <30 µm .....	31
ภาคผนวกที่ 3	ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวหอยต่อความเข้มข้น <30 µm.....	32
ภาคผนวกที่ 4	ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวหอยต่อเวลา 30-300 µm.....	33
ภาคผนวกที่ 5	ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวหอยต่อความเข้มข้น 30-300 µm....	34
ภาคผนวกที่ 6	ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวหอยต่อเวลา 300-1000 µm. ....	35
ภาคผนวกที่ 7	ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวหอยต่อความเข้มข้น 300-1000 µm..	36

## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของพอลิस्टาไทริน.....	4
ภาพที่ 2.2 เปลือกของหอยนางรมชนิด <i>Saccostrea folskali</i> .....	6
ภาพที่ 2.3 โครงสร้างภายในของหอยนางรม.....	7
ภาพที่ 3.1 เก็บตัวอย่างขยะพลาสติกประเภทพอลิस्टาไทรินบริเวณหาดใกล้สถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา.....	8
ภาพที่ 3.2 ตัวอย่างขยะพลาสติกประเภทพอลิस्टาไทรินที่ขัดล้างและทำความสะอาดเรียบร้อยแล้ว.....	9
ภาพที่ 3.3 ตัวอย่างขยะพลาสติกประเภทพอลิस्टาไทริน.....	9
ภาพที่ 3.4 การคัดเลือกหอยนางรมจำนวน 800 ตัวเพื่อใช้ในการทดลอง.....	10
ภาพที่ 3.5 หอยนางรมที่ใช้ในการทดลองถูกปรับสภาพในถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 500 ลิตร ด้วยน้ำทะเลความเค็ม 28-30 ppt.....	10
ภาพที่ 3.6 ตู้กระจกสำหรับเลี้ยงหอยนางรม โดยระบบน้ำแบบปิด.....	11
ภาพที่ 3.7 สุ่มนับตัวอย่างไมโครพลาสติกแต่ละขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light- microscope) กำลังขยาย 10 และ 40 เท่า.....	12
ภาพที่ 3.8 ภาพของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิस्टาไทริน 3 ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) กำลังขยาย 40 เท่า $\mu\text{m}$ .....	12
ภาพที่ 3.9 แพะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชชนิด <i>Isochrysis galbana</i> เพื่อเป็นอาหารหอย.....	13
ภาพที่ 3.10 มุมด้านข้างตู้เลี้ยงขณะเฝ้าสังเกตการณ์ตายของหอย.....	14
ภาพที่ 3.11 ตัวอย่างหอยถูกตัดแยกเนื้อเยื่อออกเป็นสองส่วนระหว่างส่วนเนื้อเยื่อตัวทั้งหมด และส่วน gill.....	15
ภาพที่ 3.12 เครื่อง sonication ใช้เพื่อชะล้างอนุภาคของไมโครพลาสติกให้หลุดออกจากบริเวณรอบนอกเนื้อเยื่อหอย.....	16
ภาพที่ 3.13 ย่อยเนื้อเยื่อหอยด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 30% ภายในตู้ดูดควัน-ตู้ดูดไอสาร (Fume Hood).....	16
ภาพที่ 3.14 ตู้อบสำหรับอุ่นสารละลายและเนื้อเยื่อหอยด้วยความร้อน 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.....	17
ภาพที่ 3.15 เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) อิมิตัว เพื่อแยกไมโครพลาสติกออกจากอนุภาคอื่น ๆ .....	17
ภาพที่ 3.16 กรองสารละลายตัวอย่างผ่านกระดาษกรอง cellulose nitrate membranes 0.45 $\mu\text{m}$ .....	18

ภาพที่ 3.17 ส่องนับไมโครพลาสติกที่สะสมในเยื่อหอยนางรมบนแผ่นกรอง cellulose nitrate membranes 0.45  $\mu\text{m}$  ภายใต้กล้องไต้กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope)..... 18

ภาพที่ 4.1 ไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีน ขนาด 30-300  $\mu\text{m}$  ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10 เท่า..... 19

ภาพที่ 4.2 แสดงการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนในตัวหอย (จีน/ลิตร) Error bar แสดง Standard error พร้อมแสดงทางสถิติ (two-way ANOVA,  $p > 0.05$ )..... 20

ภาพที่ 4.3 แสดงปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนเป็นร้อยละระหว่างปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองในเหงือกและตัวหอยต่อความเข้มข้นทั้ง 3 ความเข้มข้น..... 22

ภาพที่ 4.4 แสดงปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนของเนื้อเยื่อทั้งหมดเป็นร้อยละในไมโครพลาสติกทั้ง 3 ขนาด ในชั่วโมงที่ 96..... 22



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 สมบัติของพอลิไทรีน.....	4
ตารางที่ 3.1 ปริมาณไมโครพลาสติกจำลองที่ตวงให้เป็นอาหารแก่หอยนางรม.....	14

## บทที่ 1 บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการศึกษา

ไมโครพลาสติกเป็นพลาสติกที่มีขนาดเล็กกว่า 5 มิลลิเมตรที่เกิดจากการแตกหักหรือย่อยสลายของขยะพลาสติกขนาดใหญ่หรือเกิดจากพลาสติกที่มีการสร้างให้มีขนาดเล็กเพื่อให้เหมาะกับวัตถุประสงค์การใช้งาน เช่น เม็ดพลาสติกขนาดเล็กในโฟมล้างหน้าหรือเม็ดพลาสติกตั้งต้นเพื่อขึ้นงานพลาสติก (Barnes et al., 2009) โดยไมโครพลาสติกเหล่านี้ จะสามารถแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมได้ง่าย แต่การจัดการในการทำความสะอาดหรือการกำจัดนั้นทำได้ยาก มีรายงานการแพร่กระจายของไมโครพลาสติก ในสิ่งแวดล้อม เช่น ชายหาด ตะกอนดินในปากแม่น้ำ ชายฝั่งและในมวลน้ำ รวมถึงมีรายงานการปนเปื้อนในสัตว์ทะเลหลายชนิด เช่น หอยนางรม (หลุณย์ จักราวีวัตร, 2561)

หอยนางรมปากจیب (*Saccostrea forskalii*) พบทั้งในธรรมชาติและแปลงเลี้ยงหอยนางรม มีการแพร่กระจายทั้งในบริเวณทะเลเปิด น้ำกร่อย ปากแม่น้ำ และป่าชายเลน มีการกระจายตัวตั้งแต่ ตราด จันทบุรี ชลบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สงขลา ระนอง กระบี่ พังงา ตรัง และสตูล โดยนิยมเลี้ยงในจังหวัดชลบุรี จันทบุรี และตราด เปลือกข้างซ้ายมีลักษณะพับจับแนวตามยาวของเปลือกหอย adductor muscle scarหรือรอยกล้ำมเนื้อยึดมีรูปร่างคล้ายไตมีสีขาว หรือน้ำตาล โดยมีพฤติกรรมกรอกกินแบบกรอกกิน (filter feeder) (Bussarawit et al., 2010) ส่วนใหญ่กินสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเช่นสาหร่ายหรือแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร เช่น *Isochrysis galbana*, *Skeletonema costatum* และ *Chlorella autotrophica* นอกจากนี้หอยนางรมปากจیب (*Saccostrea forskalii*) ยังมีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจเนื่องจากเป็นสัตว์ทะเลเศรษฐกิจที่ผู้คนนิยมบริโภคเป็นอาหาร และเป็นหนึ่งในกลุ่มหอยสองฝาที่สำคัญ โดยจะเห็นว่าการเพาะเลี้ยงอย่างแพร่หลายในประเทศไทย

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นปัญหาด้านขยะทะเลและขยะไมโครพลาสติกที่ส่งผลถึง กระทบโดยตรงต่อหอยนางรมปากจیب (*Saccostrea forskalii*) เนื่องจากเป็นสัตว์กรอกกิน (filterfeeder) และเป็นสัตว์ที่ไม่เคลื่อนที่ (sessile animal) อาศัยอยู่ตามโขดหินตามชายฝั่ง จึงทำให้หอยนางรมเป็นตัวแทนสัตว์ทะเลที่ได้รับไมโครพลาสติกจากน้ำทะเลในพื้นที่นั้นๆได้โดยตรง และด้วยไมโครพลาสติกมีขนาดเล็ก และมีสีสันทัดคล้ายกับแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ ซึ่งเป็นอาหารบริโภคหลักของหอยนางรม จึงทำให้หอยนางรมกรอกกินเข้าไปแล้ว นำไปสะสมในร่างกาย ซึ่งอาจส่งผลเสียถึงชีวิตได้ หรืออาจมีการสะสมในร่างกายของหอยนางรมแล้วเกิดการกินต่อกันไปเป็นทอดๆ ไมโครพลาสติกจึงเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารในที่สุด และยังสามารถส่งผลเสียต่อมายังมนุษย์ผ่านการกินได้อีกด้วย จึงได้ทำการศึกษาผลกระทบของไมโครพลาสติกประเภทพอลิโอสไตรีนต่ออัตราการตายครั้งหนึ่งของประชากร และการสะสมในหอยนางรมปากจیب (*Saccostrea forskalii*) โดยหวังว่าผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการศึกษาถึงผลกระทบของไมโครพลาสติกต่อสัตว์ทะเลชนิดอื่นต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อศึกษาอัตราการตายครั้งหนึ่งของประชากรและปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีน (polystyrene; PS) ในหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*) เมื่อได้รับไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนที่มีขนาดและความเข้มข้นแตกต่างกัน

## 1.3 ขอบเขตการศึกษา

เก็บตัวอย่างพลาสติกในธรรมชาติจากบริเวณหาดใกล้สถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่อนงศิลา จังหวัดชลบุรี มาบดให้มีความละเอียดถึงระดับของไมโครพลาสติก ในที่นี้มีการบดออกมา 3 ขนาดได้แก่ <math><30\ \mu\text{m}</math>, <math>30\text{-}300\ \mu\text{m}</math> และ <math>300\text{-}1000\ \mu\text{m}</math> โดยได้รับความอนุเคราะห์จากคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ในการบดพลาสติก

สัตว์ทดลองหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*) จากฟาร์มหอยที่ตำบลอ่างศิลา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี จำนวน 600 ตัว ขนาดตัว 3-6 เซนติเมตร โดยทำการทดลองเลี้ยงในตู้กระจกขนาดความจุ 15 ลิตร จำนวน 10 ตู้ ที่มีระบบน้ำแบบปิด บรรจุหอย 60 ตัวต่อตู้ และใน 1 ตู้มี 3 ช่อง บรรจุหอย 20 ตัวต่อช่องและแบ่งเป็นศึกษาอัตราการตายครั้งของประชากร 10 ตัว และศึกษาปริมาณการสะสมไมโครพลาสติก 10 ตัว โดยสถานที่ทำการทดลองคือสถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่อนงศิลา ตำบลอ่างศิลา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงขนาดและความเข้มข้นของไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีน (polystyrene; PS) ที่ส่งผลต่ออัตราการตายครั้งหนึ่งของประชากร ( $LC_{50}$ ) และการสะสมในหอยนางรม และสามารถนำข้อมูลได้จากการทดลองใช้เป็นเกณฑ์มาตรฐานในการควบคุมคุณภาพน้ำในแหล่งที่อยู่อาศัยของหอยนางรม โดยเฉพาะพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหอยนางรมในเชิงพาณิชย์ ตลอดจนการจัดทำมาตรการเพื่อจัดการปัญหาด้านขยะทะเลของหน่วยงานภาครัฐต่อไป

## บทที่ 2 ทฤษฎีและการศึกษาที่เกี่ยวข้อง

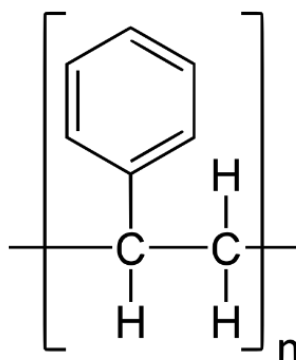
### 2.1 ไมโครพลาสติก

มลพิษพลาสติกในมหาสมุทรเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่ได้รับการยอมรับในระดับสากลของโลก เนื่องจากในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมาวัสดุที่ทำด้วยโลหะส่วนใหญ่ที่ใช้ในชีวิตประจำวันได้ถูกแทนที่ด้วยพลาสติกที่มีน้ำหนักเบา ราคาถูกกว่าและทนทานกว่าซึ่งทำให้ช่วงเวลาในประวัติศาสตร์ถูกอ้างว่าเป็น “ยุคแห่งพลาสติก” (Capolupo et al., 2018) โดยในปัจจุบันการใช้พลาสติกและวัสดุสังเคราะห์ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นเหตุเพราะบรรจุภัณฑ์พลาสติกหรืออุปกรณ์พลาสติกจัดเป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญในการดำเนินชีวิตประจำวันจึงทำให้การผลิตพลาสติกมีอัตราเติบโตเพิ่มขึ้น ซึ่งจากการสำรวจพบว่าประเทศไทยติดอันดับ 6 ของโลกที่มีขยะพลาสติกมากที่สุดในทะเล ซึ่งแนวโน้มดังกล่าวสะท้อนให้เห็นถึงปริมาณขยะในทะเลซึ่งมีพลาสติกเป็นองค์ประกอบอยู่ถึง 60-80% และในหลายพื้นที่อาจมีพลาสติกเป็นองค์ประกอบอยู่สูงถึง 90-95% ของปริมาณขยะทั้งหมด (เพ็ญศิริ เอกจิตต์, 2562) และมีขยะพลาสติกหลายล้านตันหลังไหลเข้าสู่สิ่งแวดล้อมทางทะเลทุกปีและคาดว่าปริมาณจะเพิ่มขึ้นในอีกทุกๆปีข้างหน้า (Thushari et al., 2017) เมื่อเวลาผ่านไปขยะพลาสติกหรือชิ้นส่วนพลาสติกในสภาพแวดล้อมทางทะเลสามารถย่อยสลายหรือสลายเป็นชิ้นเล็ก ๆ ได้โดยส่วนใหญ่ผ่านการผุกร่อนและแรงทางกลเช่นการกระทำของคลื่นและการขัดถูด้วยทราย หรือโดยรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) จากดวงอาทิตย์เกิดเป็น “ไมโครพลาสติก” (micro-plastics) ที่มีขนาดเล็กกว่า 5 มิลลิเมตร สามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทได้แก่ พลาสติกขนาดเล็กที่มาจากกระบวนการผลิตเม็ดพลาสติกขนาดเล็กโดยตรง (primary micro-plastic) ไมโครพลาสติกเหล่านี้เป็นองค์ประกอบในเครื่องสำอาง (micro-beads) หรือในการผลิตอุตสาหกรรมพลาสติกอื่นๆ สามารถแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมทางทะเลได้โดยการทิ้งของเสียโดยตรงจากบ้านเรือนสู่แหล่งน้ำและไหลสู่ทะเลอีกรูปแบบหนึ่งคือพลาสติกขนาดใหญ่ (secondary micro-plastic) เป็นพลาสติกที่เกิดจากพลาสติกที่มีขนาดใหญ่หรือแมคโครพลาสติก (macro-plastic) หรือพลาสติกที่มาจากการแตกหักของผลิตภัณฑ์พลาสติกชนิดต่าง ๆ ด้วยกระบวนการกายภาพทางเคมีหรือชีวภาพ จึงทำให้โครงสร้างของพลาสติกเกิดการแตกตัวจนมีขนาดที่เล็กลง (ชาญชัยคหาปนนะ, 2018) โดยเป็นที่รู้กันว่าไมโครพลาสติกมีขนาดเล็กยากต่อการเก็บและการกำจัด ประกอบกับมีคุณสมบัติที่คงสภาพย่อยสลายได้ยากจึงง่ายต่อการปนเปื้อน การแพร่กระจาย การสะสมและตกค้างในสิ่งแวดล้อม จากงานวิจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้องพบว่าพลาสติกเป็นขยะในทะเลที่พบมากที่สุดและเป็นแหล่งของสารพิษต่างๆ เนื่องจากพลาสติกสามารถดูดซับเอาสารพิษจากน้ำทะเลเอาไว้ โดยสารพิษที่พบมากเป็นพิเศษในขยะพลาสติก ได้แก่ สาร Polychlorinated biphenyl (PCBs) สาร Dichlorodiphenyethane (DDE) สาร Nonylphenols (NP) (เพ็ญศิริ เอกจิตต์, 2562)

#### 2.1.1 ไมโครพลาสติกประเภท polystyrene

ไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีน (polystyrene;PS) เป็นพลาสติกประเภทที่มีการนำมาใช้ในการบรรจุอาหารและเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์บรรจุสารเคมีที่ใช้ในชีวิตประจำวัน และพบว่ามี การปนเปื้อนในธรรมชาติมากที่สุด โดยพบว่ามี PS ถึง 22% ในธรรมชาติ (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และคณะ, 2561) โดยพลาสติกที่มีสัญลักษณ์เบอร์ 6 คือพลาสติกแบบทุติยภูมิที่ได้จากพลาสติกตั้งต้นประเภทพอลิสไตรีน ได้เป็นพลาสติกมีลักษณะแข็ง

และมันวาว แต่เปราะแตกง่าย ยกตัวอย่างเช่น ช้อน ส้อมพลาสติกตามร้านสะดวกซื้อ ภาชนะโฟม ฝาแก้วกาแฟ เป็นต้น (ภิญญลักษณ์ บัวประกายรัตน์, 2561)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของพอลิสไตรีน

(ที่มา: การสะสมและผลกระทบของไมโครพลาสติกในกุ้งกุลาดำวัยรุ่น (*Penaeus monodon*) (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และคณะ, 2561) )

สูตรทางเคมี	(C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>n</sub>
ความหนาแน่น	0.96-1.04 g/cm <sup>3</sup>
อุณหภูมิหลอมเหลว	~ 240°C (464°F; 513 K) สำหรับ Isotactic Polystyrene
ความสามารถในการละลายน้ำ	ไม่ละลาย
ค่าการนำความร้อน	0.033 W/(m·K) (foam, ρ 0.05 g/cm <sup>3</sup> )
ค่าดัชนีหักเหแสง (n <sub>D</sub> )	1.6
ค่าการนำไฟฟ้า	2.6 (1 kHz–1 GHz)
Tensile Modulus	3000-3600 MPa
Tensile Strength	30-60 MPa
Tensile Elongation	1.0-5.0%
ความสามารถในการดูดซึมน้ำ	0.03-0.10%

ตารางที่ 2.1 สมบัติของพอลิสไตรีน

(ที่มา: การสะสมและผลกระทบของไมโครพลาสติกในกุ้งกุลาดำวัยรุ่น (*Penaeus monodon*) (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และคณะ, 2561) )

### 2.1.2 ผลของไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีนในสัตว์ทะเล

ไมโครพลาสติกเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารโดยการบริโภคตามลำดับขั้น จากแพลงก์ตอนสัตว์ที่กินและสะสมไมโครพลาสติก ไปสู่สัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลัง สัตว์น้ำวัยอ่อน ปลา และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ตลอดจนไปสู่เต่าทะเล และนกทะเลได้ โดยขนาดที่พบอยู่ในช่วง <math>< 50-1600 \mu\text{m}</math> โดยพบว่าปริมาณที่พบในสิ่งแวดล้อมในทะเลสอดคล้องกับที่พบในสิ่งมีชีวิต โดยเมื่อทานเข้าไปก็สามารถไปสะสมในร่างกายของสัตว์ทะเลเหล่านี้ และอาจส่งผลกระทบต่อสัตว์ในทะเลได้ เช่น การอุดตันทางเดินอาหาร การทานอาหารลดลง การเจริญเติบโตลดลง การยับยั้งการผลิตเอมไซม์ เกิดภาวะเครียด เกิดการผิดปกติในระบบประสาท และสามารถถ่ายทอดความผิดปกติดังกล่าวผ่านทางพันธุกรรมได้ ตลอดจนสามารถทำให้สัตว์ทะเลเหล่านี้ถึงแก่การตายได้ (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และคณะ, 2561)

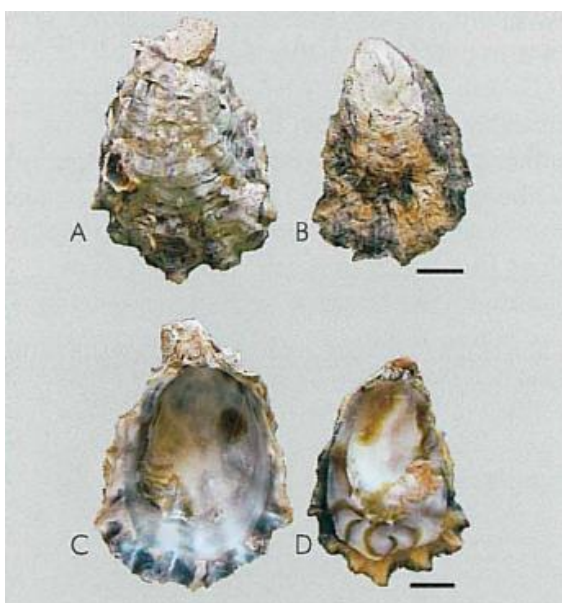
งานวิจัยของ Thushari และคณะในปี 2017 ได้ตรวจสอบพบการปนเปื้อนของไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีน (polystyrene; PS) ในหอยนางรม เปรียง และหอยขี้ก้น และมีพบการสะสมของไมโครพลาสติกในหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*) 0.37–0.57 อนุภาคต่อกรัม โดยพบพลาสติกประเภทพอลิสไตรีน (polystyrene; PS) คิดเป็นร้อยละ 10 (Thushari et al., 2017) และงานวิจัยของไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และคณะ ปี 2561 พบว่าเมื่อทำการทดลองให้อาหารผสมไมโครพลาสติกที่ทำจากไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีน (polystyrene; PS) มีการสะสมของไมโครพลาสติกและพบการตายของกุ้งกุลาดำภายใน 96 ชั่วโมงโดยเริ่มตายตั้งแต่วันที่ 24 ในทุกขนาดและทุกความหนาแน่นของไมโครพลาสติกในอาหารผสม (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และคณะ, 2561) และยังพบการศึกษาความเป็นพิษต่อระบบประสาทของหอยแมลงภู่ (*Dreissena polymorpha*) เมื่อได้รับไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีน (polystyrene; PS) พบว่ามีการผลิตสารสื่อประสาทชนิดโดพามีน (dopamine) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารดังกล่าวมีไว้เพื่อกำจัดไมโครพลาสติกที่สะสมอยู่ในหอยแมลงภู่ (Magni et al., 2018) และพบการแสดงออกของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ superoxide dismutase (SOD) และ catalase (CAT) และ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ในท่อทางเดินอาหารและเม็ดเลือดแดงของหอยเชลล์ (*Argopecten irradians*) เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของไมโครพลาสติก และระยะเวลาเมื่อได้รับไมโครพลาสติกชนิดพอลิสไตรีน (Jin Ah Song et al., 2020) นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติและไม่สามารถทำหน้าที่ได้ของเยื่อหุ้มลำไส้ของไรน้ำเค็ม เมื่อลำไส้ได้รับไมโครพลาสติกพอลิสไตรีน เป็นเวลา 14 วัน หรือมีรายงานว่าไมโครพลาสติกชนิดพอลิสไตรีน สามารถกระจายไปยังอวัยวะอื่นของปูขน (*Eriocheir sinensis*) โดยผ่านทำงานระบบไหลเวียนของเหลวในร่างกาย และเกิดภาวะเครียด (oxidative stress) ในปู และพบความผิดปกติของเอมไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน ระบบต้านอนุมูลอิสระ ระบบประสาท และชีวโมเลกุล เมื่อได้รับไมโครพลาสติกชนิดพอลิสไตรีน (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และคณะ, 2561)

### 2.2 หอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*)

หอยนางรมปากจีบมีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า Hooded oyster หรือ Rock oyster และมีชื่อสามัญภาษาไทยที่เรียกแตกต่างกันไปตามแต่ละท้องที่ เช่น หอยนางรมเล็ก หอยเงาะ หอยอีรม หอยจ้อ หอยทาบ หอยตีแตบ หรือหอยแตล้้ม (รัตนชาติ คิ้วสกุลกาญจน์ และคณะ, 2560)

ลักษณะเปลือกของหอยนางรมปากจีบ เป็นหอยสองฝา มีเปลือกหนาและเปลือกทั้งสองด้านมีขนาดไม่เท่ากัน โดยเปลือกด้านซ้ายเป็นเปลือกที่อยู่ด้านล่างจะเว้าลึกเป็นที่รองรับลำตัวของหอย ส่วนเปลือกด้านขวาเป็นเปลือกที่อยู่

ด้านบนจะมีลักษณะค่อนข้างแบนและเรียบ ขอบเปลือกมีรอยหยักไม่สม่ำเสมอทำให้ขอบเปลือกมีลักษณะเป็นจีบ เปลือกอาจมีลักษณะแตกต่างกันไปเล็กน้อย ขึ้นอยู่กับอิทธิพลของพื้นที่ที่หอยยึดเกาะ ความแรงและทิศทางของคลื่นที่กระทบหาดหิน และปริมาณอาหารและแร่ธาตุในน้ำทะเล รอยกล้ามเนื้อยึดเปลือก (adductor muscle) เป็นรูปไตและมีสีเข้มอยู่ค่อนข้างไปทางด้านท้ายของเปลือก มี chomata เรียงเป็นแถวใกล้กับขอบเปลือกด้านใน เปลือกด้านในมีสีขาวครีม เปลือกด้านนอกมีสีขาวคล้ำถึงน้ำตาลอมเทาหรืออาจมีสีม่วง ตามขอบเปลือกมีสีม่วงเข้มถึงดำ มีแหล่งที่อยู่อาศัยโดยเกาะตามวัสดุที่แข็ง พบทั้งเขตน้ำขึ้น-น้ำลงในทะเล น้ำกร่อย และบริเวณป่าชายเลน (รัตนชาติ คิ้วสกุลกาญจน์ และคณะ, 2560)



ภาพที่ 2.2 เปลือกของหอยนางรมชนิด *Saccostrea folskali*

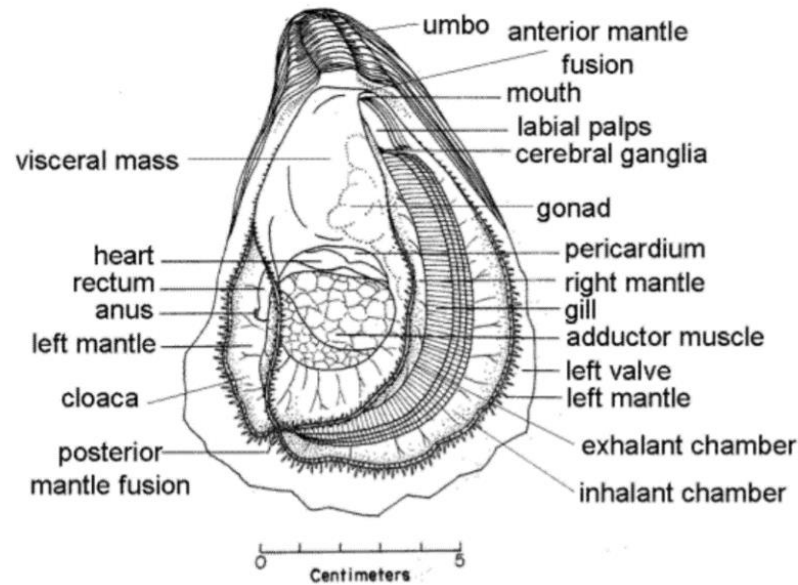
(A) ลักษณะภายนอกฝาข้างซ้าย (B) ลักษณะภายนอกฝาข้างขวา

(C) ลักษณะภายในฝาข้างซ้าย (D) ลักษณะภายในฝาข้างขวา scalebar = 1 เซนติเมตร

(ที่มา: Field guide to the oyster fauna of Thailand (Bussarawit et al., 2010))

ภายในเปลือกประกอบด้วยลำตัวของหอยจะมีชั้นแมนเทิลเป็นเนื้อเยื่อบางๆ ห่อหุ้มตัวทั้งสองข้างปกคลุมถึงช่องปาก (mouth) และแผ่นปาก (labial palp) ถัดจากชั้นแมนเทิลจะพบเหงือก (gill) ซึ่งเป็นอวัยวะที่ใช้กรองอาหาร และหายใจมี 2 คู่ หรือ 4 แถว โดยหอยนางรมจะกินอาหารโดยการกรองกินอาหารที่มีขนาดเล็กแขวนลอยอยู่ในน้ำ เช่น แพลงก์ตอนพืชและสัตว์ อาศัยหมุนเวียนน้ำภายในลำตัว โดยน้ำจะไหลเข้ามาทางช่องแมนเทิล ผ่านเหงือก และไหลออกทางช่องน้ำออก (exhalent chamber) ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่ถัดจากกล้ามเนื้อยึดเปลือก อาหารที่พัดพามากับน้ำจะติดอยู่บนซี่เหงือกและมีขนเส้นเล็ก ๆ (cilia) คอยโบกพัดให้อนุภาคอาหารขนาดเล็กเข้าสู่ทางเดินอาหาร ส่วนอาหารที่มีขนาดใหญ่เกินไปจะตกลงไปในช่องแมนเทิลตอนล่างและถูกขับออกทางช่องน้ำออก นอกจากเหงือกจะมีหน้าที่กรองอาหาร

จากน้ำแล้วยังทำหน้าที่ในการหายใจและช่วยในการขับถ่ายของเสียออกจากร่างกายด้วย และอวัยวะสืบพันธุ์จะมีขนาดเล็กและไม่สามารถตรวจสอบเพศของหอยนางรมได้ (รัตนชาติ คิ้วสกุลกาญจน์ และคณะ, 2560)



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างภายในของหอยนางรม

(ที่มา: การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในระยะเริ่มต้นของหอยนางรมปากจีบ *Saccostrea cucullata* (รัตนชาติ คิ้วสกุลกาญจน์ และคณะ, 2560))

การกระจายของหอยนางรม โดยองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations หรือ FAO) กล่าวว่าหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskali*) พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยพบที่จังหวัด ชลบุรี จันทบุรี และตราด และในภาคใต้พบที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ นครศรีธรรมราช สงขลา ระนอง กระบี่ พังงา ตรัง และสตูล พบมีการเพาะเลี้ยงเพื่อการบริโภคกันอย่างแพร่หลาย (รัตนชาติ คิ้วสกุลกาญจน์ และคณะ, 2560)



## บทที่ 3 วิธีการศึกษา

### 3.1 ตัวอย่างไมโครพลาสติกและตัวอย่างสัตว์ทดลอง

#### 3.1.1 ตัวอย่างไมโครพลาสติกจำลอง

เก็บตัวอย่างพลาสติกในธรรมชาติจากบริเวณหาดใกล้สถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี มาบดให้มีความละเอียดถึงระดับของไมโครพลาสติก จากนั้นนำไปแยกขนาดไมโครพลาสติกด้วยวิธีการร่อนด้วยตะแกรงจำนวน 3 ขนาด ได้แก่  $<30\ \mu\text{m}$  ,  $30-300\ \mu\text{m}$  และ  $300-1000\ \mu\text{m}$  เนื่องจากมีการตรวจพบขนาดของไมโครพลาสติกในธรรมชาติมีขนาดตั้งแต่  $<20-1900\ \mu\text{m}$  (Cho et al., 2019) โดยได้รับความอนุเคราะห์จากคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากรในการบดพลาสติก ประเภทของไมโครพลาสติกในปัจจุบันได้แก่ พอลิบิวทิลีนซัคซิเนต (polybutylene succinate; PBS), พอลิสไตรีน (polystyrene; PS) และ โพลีโพรพิลีน (polypropylene; PP) โดยในการทดลองนี้เลือกใช้พอลิสไตรีน (polystyrene; PS) เนื่องจากเป็นพลาสติกประเภทที่มีการนำมาใช้ในการบรรจุอาหารและเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์บรรจุสารเคมีที่ใช้ในชีวิตประจำวัน และพบว่ามี การปนเปื้อนในธรรมชาติ มากที่สุด โดยพบว่ามี PS ถึง 22% ในธรรมชาติ (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และคณะ, 2561)



ภาพที่ 3.1 เก็บตัวอย่างขยะพลาสติกประเภทพอลิสไตรีนบริเวณหาดใกล้สถานี



ภาพที่ 3.2 ตัวอย่างขยะพลาสติกประเภทพอลิโอสไตรีนที่ขัดล้างและทำความสะอาดแล้ว



ภาพที่ 3.3 ตัวอย่างขยะพลาสติกประเภทพอลิโอสไตรีน  
ที่ถูกบดด้วยเครื่องเครื่องบดไมโครพลาสติกจนได้ไมโครพลาสติกจำลอง

### 3.1.2 ตัวอย่างสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

หอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*) โดยใช้หอยนางรมจากตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ขนาดความยาวประมาณ 3-6 เซนติเมตร จำนวน 800 ตัว โดยก่อนทำการทดลองต้องทำการปรับสภาพสัตว์ทดลองก่อน โดยทำการเลี้ยงหอยนางรมในถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 500 ลิตร เส้นผ่านศูนย์กลางปากถัง 103 ซม. ก้นถัง 70 ซม. สูง 80 ซม. ที่มีน้ำทะเลความเค็ม 28-30 ppt อุณหภูมิน้ำอยู่ในช่วง 27-30 องศาเซลเซียส ป้อนอากาศลงน้ำตลอด และให้อาหาร 1 ครั้ง/วัน และจะให้เป็นแพลงก์ตอนพืชชนิด *Isochrysis galbana* ความเข้มข้นแพลงก์ตอน  $2256 \times 10^3$  cell/ml (OKUMUS et al., 2002) โดยทำการปรับสภาพสัตว์ทดลองเป็นเวลา 7 วัน



ภาพที่ 3.4 การคัดเลือกหอยนางรมจำนวน 800 ตัวเพื่อใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 3.5 หอยนางรมที่ใช้ในการทดลองถูกปรับสภาพในถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 500 ลิตร ด้วยน้ำทะเลความเค็ม 28-30 ppt

## 3.2 การเตรียมการทดลอง

### 3.2.1 ตัวอย่างสัตว์ทดลอง

นำหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*) ย้ายจากบ่อปรับสภาพลงในตู้กระจกขนาดความจุ 15 ลิตร หนึ่งตู้แบ่งเป็น 3 ช่อง ในแต่ละช่องบรรจุหอยลงไป 20 ตัว รวมเป็น 60 ตัว/ตู้ จำนวน 10 ตู้ รวมตู้ control ให้หอยอยู่บนตะแกรงสแตนเลสที่มีสายอากาศสอดอยู่ตรงกลางในแต่ละช่อง และแขวนไว้ในตู้ โดยจำนวนตัวอย่างหอยนางรมที่ใช้ในการศึกษาภายในห้องปฏิบัติการอ้างอิงหลักเกณฑ์ตามการศึกษาในหอยสองฝาชนิดอื่น ๆ (Browne et al., 2018) ในการทดลองนี้ในแต่ละช่องจะแบ่งหอยนางรมออกเป็น 10 ตัวเพื่อการศึกษาอัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร ( $LC_{50}$ ) และอีก 10 ตัวเพื่อหาปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีน ระหว่างการทดลองจะทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (แอมโมเนีย และไนไตรท์) ทุกวันด้วยชุดตรวจ AQUA-VBC test Kit





ภาพที่ 3.6 ตู้กระจกสำหรับเลี้ยงหอยนางรม โดยระบบน้ำแบบปิด

### 3.2.2 ไมโครพลาสติก

ซึ่งไมโครพลาสติกแต่ละขนาดได้แก่ <math><30\ \mu\text{m}</math> , <math>30-300\ \mu\text{m}</math> และ <math>300-1000\ \mu\text{m}</math> อย่างละ <math>10\ \text{mg}</math> นำไปใส่ในน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt ที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง membrane filter pore size <math>0.45\ \mu\text{m}</math> ปริมาตร 200 ml ในขวด B.O.D ตั้งทิ้งไว้ 2 คืนเพื่อให้ไมโครพลาสติกดูดซับน้ำและป้องกันการฟุ้งกระจาย

การเตรียมความหนาแน่นของไมโครพลาสติกสำหรับการทดลอง

สุ่มตัวอย่างไมโครพลาสติกแต่ละขนาดที่เตรียมไว้ด้วยปิเปต <math>1\ \text{ml}</math> ใส่ในสไลด์นับแสง (Sedgewick Rafter Counting Chamber) นำไปนับใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) กำลังขยาย 10 และ 40 เท่า ทำซ้ำ 3 ครั้งบันทึกค่าแล้วหาค่าเฉลี่ย โดยเมื่อทราบจำนวนชิ้นของไมโครพลาสติกแต่ละขนาดต่อน้ำหนัก <math>10\ \text{mg}</math> แล้วจึงนำไปใช้ในการคำนวณปริมาตรที่ให้เป็นอาหารแก่หอยนางรม ตามวิธีคำนวณดังนี้

กำหนดความหนาแน่นของไมโครพลาสติกที่ต้องการได้แก่ 50, 250 และ 500 ชิ้น/ตัวหอย หรือคิดเป็น 66, 333 และ 666 ชิ้น/ลิตร เมื่อคำนวณความเข้มข้นในน้ำเลี้ยง 15 ลิตร โดยคำนวณได้จาก

$$\frac{\text{ความหนาแน่นไมโครพลาสติกที่กำหนด ชิ้น } x \text{ จำนวนตัวหอยใน } 1 \text{ ช่อง (20 ตัว)}}{\text{น้ำเลี้ยง } 15 \text{ ลิตร}}$$

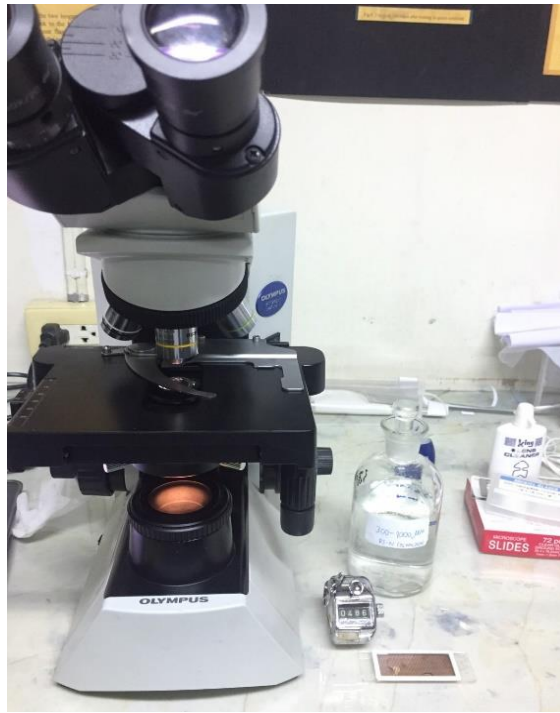
คำนวณปริมาณตามสมการต่อไปนี้

ถ้า <math>1\ \text{ml}</math> พบจำนวนไมโครพลาสติก A ชิ้น

แล้วต้องการเตรียมไมโครพลาสติกที่ความเข้มข้น 50 ชิ้น/ตัวหอย จำนวน 20 ตัว/ช่อง

$$\text{จะต้องปิเปตไมโครพลาสติกให้เป็นอาหารแก่หอยในหนึ่งครั้ง} = \frac{1\ \text{ml} \times 1,000 \text{ ชิ้น}}{A \text{ ชิ้น}} \text{ ml}$$

โดยคำนวณเช่นเดียวกันในความเข้มข้น 250 และ 500 ชิ้น/ตัวหอย



ภาพที่ 3.7 สุ่มนับตัวอย่างไมโครพลาสติกแต่ละขนาด  
ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) กำลังขยาย 10 และ 40 เท่า



3.8 ภาพของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีน 3 ขนาด  
ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) กำลังขยาย 40 เท่า  
(A) ขนาด  $<30 \mu\text{m}$  (B) ขนาด  $30\text{-}300 \mu\text{m}$  (C) ขนาด  $300\text{-}1000 \mu\text{m}$

### 3.2.3 แพลงก์ตอนพีช

คำนวณความเข้มข้นของแพลงก์ตอนพีชชนิด *Isochrysis galbana* เพื่อเป็นอาหารหอยนางรมปากจیب โดยให้ที่ความเข้มข้น  $5 \times 10^7$  cell/ตัวหอย



ภาพที่ 3.9 เพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพีชชนิด *Isochrysis galbana* เพื่อเป็นอาหารหอย

### 3.4 วิธีการศึกษาผลกระทบของไมโครพลาสติกจำลองต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร(LC<sub>50</sub>)

ทำการให้อาหารสัตว์ทดลองโดยตรงด้วยไมโครพลาสติกจำลอง 3 ขนาด ได้แก่  $<30 \mu\text{m}$ ,  $30-300 \mu\text{m}$  และ  $300-1000 \mu\text{m}$  3 ความเข้มข้น ได้แก่ 66, 333 และ 666 ชิ้น/ลิตร ที่เตรียมไว้ให้เป็นอาหารแก่หอยนางรมปากจیبในแต่ละช่อง ของทั้ง 9 ตู้ โดยให้อาหารเป็นไมโครพลาสติกจำลองควบคู่กับแพลงก์ตอนพีช (*Isochrysis galbana*) ไปด้วย วันละหนึ่งครั้ง เวลา 10.00 นาฬิกาในทุกวัน โดยแพลงก์ตอนพีชจะให้หลังจากให้ไมโครพลาสติก 30 นาที จากนั้นเฝ้าสังเกตการณ์ตายของหอยนางรมปากจیبทุก 2 ชั่วโมง นับจากเวลาที่ให้ไมโครพลาสติกไป และทำการบันทึกตัวตายที่เวลา 0, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ ตามวิธีการของ Capolupo et al (2018) และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างระหว่างการทดลองตามช่วงเวลาเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อในการทดลองที่ 2 การสะสมไมโครพลาสติกทั้งส่วนภายในและภายนอกของเนื้อเยื่อหอย ระหว่างการทดลองจะทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (แอมโมเนีย และไนไตรท์) ทุกวันด้วยชุดตรวจ AQUA-VBC test Kit

ขนาด ( $\mu\text{m}$ )	ความเข้มข้นของไมโครพลาสติกที่จากการคำนวณในน้ำ 15 L (items/L)	ปริมาณไมโครพลาสติกที่ตวงให้เป็นอาหารจาก stock solution 500 ml (ml)
<30	66	1
	333	2
	666	4
300-300	333	3
	66	5
	666	10
300-1000	66	2
	333	10
	666	19

ตารางที่ 3.1 ปริมาณไมโครพลาสติกจำลองที่ตวงให้เป็นอาหารแก่หอยนางรม จาก stock solution 500 ml



ภาพที่ 3.10 มุมด้านข้างตู้เลี้ยงขณะเฝ้าสังเกตการณ์ตายของหอย

### 3.5 วิธีการศึกษาปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองในหอยนางรม

ทำการเก็บตัวอย่างหอยนางรมที่ชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 48 และ 96 จากทั้ง 3 ช่อง จำนวน 9 คู่ รวมทั้งหอยนางรมปากจับที่ตายมาเรื่อยๆด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) ความเข้มข้น 30% ตามวิธีการของ (Baxter et al., 2009) โดยแช่เปลือกแข็งภายนอกก่อนแล้วแกะเอาเฉพาะส่วนเนื้อเยื่ออ่อนของตัวอย่าง จากนั้นตัดเอาเฉพาะส่วนเหงือก นำไป sonicate ชะล้างด้วยน้ำ DI (Deionized water) จากนั้นนำส่วนเหงือกและน้ำที่ได้จากการชะล้างไปย่อยด้วยความร้อน 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงหรือจนกว่าจะย่อยตัวอย่างทดลองจนหมดและได้สารละลายใส ส่วนของตัวหอย ก็ทำเช่นเดียวกัน ดังนั้นจะได้ตัวอย่างสารละลาย 4 ส่วน ได้แก่ส่วนที่เป็นเหงือก น้ำที่ผ่านการชะล้างเหงือก ตัวหอย และน้ำที่ผ่านการชะล้างตัวหอย จากนั้นเมื่อครบเวลา นำสารละลายออกมาพักให้เย็น เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) อิมิตัว ปริมาตรเป็น 1:4 ส่วน โดยแบ่งเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1 ส่วน และโซเดียมคลอไรด์ 4 ส่วน พร้อมผสมให้เข้ากันแล้ววางทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หรือรอจนกว่าสารละลายตกตะกอนอนุภาคอื่นที่ไม่ใช่ไมโครพลาสติกหมด จากนั้นนำสารละลายส่วนใสกรองผ่านกระดาษกรอง cellulose nitrate membranes  $0.45 \mu m$  นำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope)

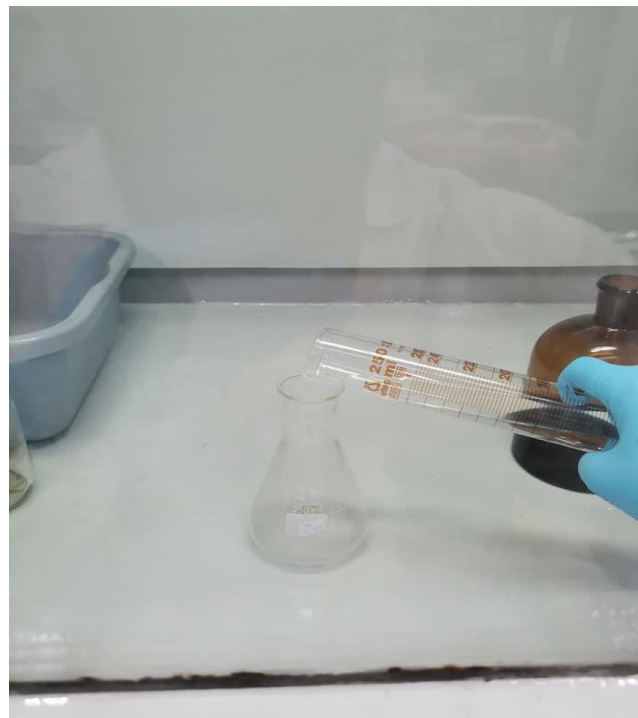


ภาพที่ 3.11 ตัวอย่างหอยถูกตัดแยกเนื้อเยื่อออกเป็นสองส่วนระหว่างส่วนเนื้อเยื่อตัวทั้งหมด และส่วนเหงือก





ภาพที่ 3.12 เครื่อง sonicator ใช้เพื่อชะล้างอนุภาคของไมโครพลาสติกให้หลุดออกจากบริเวณรอบนอกเนื้อเยื่อหอย



ภาพที่ 3.13 ย่อยเนื้อเยื่อหอยด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 30%  
ภายในตู้ดูดควัน-ตู้ดูดไอสาร (Fume Hood)



ภาพที่ 3.14 ตู้อบสำหรับอุ่นสารละลายและเนื้อเยื่อหอยด้วยความร้อน 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง



ภาพที่ 3.15 เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) อิมิตัว เพื่อแยกไมโครพลาสติกออกจากอนุภาคอื่น ๆ



ภาพที่ 3.16 กรองสารละลายตัวอย่างผ่านกระดาษกรอง cellulose nitrate membranes 0.45  $\mu\text{m}$

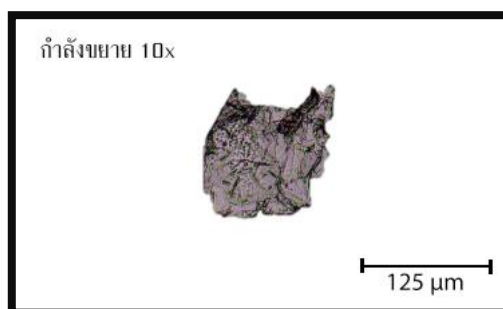


ภาพที่ 3.17 ส่องนับไมโครพลาสติกที่สะสมในเยื่อหอยนางรมบนแผ่นกรอง cellulose nitrate membranes 0.45  $\mu\text{m}$  ภายใต้อุปกรณ์กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope)

## บทที่ 4 ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล

### 4.1 ลักษณะของไมโครพลาสติกจำลอง

ทำการตรวจวิเคราะห์ลักษณะไมโครพลาสติกจำลองประเภท พอลิสไตรีน (polystyrene; PS) บนกระดาษกรอง cellulose nitrate membranes 0.45  $\mu\text{m}$  พบว่าไมโครพลาสติกมีลักษณะไม่แน่นอน ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นแบบ film และมีเนื้อที่ค่อนข้างเปื่อยยุ่ย โดยแสดงดังนี้



ภาพที่ 4.1 ไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีน ขนาด 30-300  $\mu\text{m}$  ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10 เท่า

### 4.2 การศึกษาผลกระทบของไมโครพลาสติกจำลองต่ออัตราการตายครั้งหนึ่งของประชากร(LC<sub>50</sub>)

ทำการศึกษาผลของไมโครพลาสติกต่ออัตราการตายครั้งหนึ่งของประชากร (LC<sub>50</sub>) โดยการให้อาหารเป็นไมโครพลาสติกจำลองควบคู่กับแพลงก์ตอนพืช (*Isochrysis galbana*) ไปด้วย วันละหนึ่งครั้งเวลา 10.00 นาฬิกา จากนั้นทำการเฝ้าสังเกตสัตว์ทดลองทั้งสองชั่วโมงในทุกหน่วยการทดลอง และทำการบันทึกตัวตายที่เวลา 0, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ พร้อมทั้งทำการสุ่มเก็บตัวอย่างระหว่างการทำทดลองตามช่วงเวลาเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อในการทดลองที่ 2 การสะสมไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนทั้งส่วนภายในและภายนอกของเนื้อเยื่อหอย

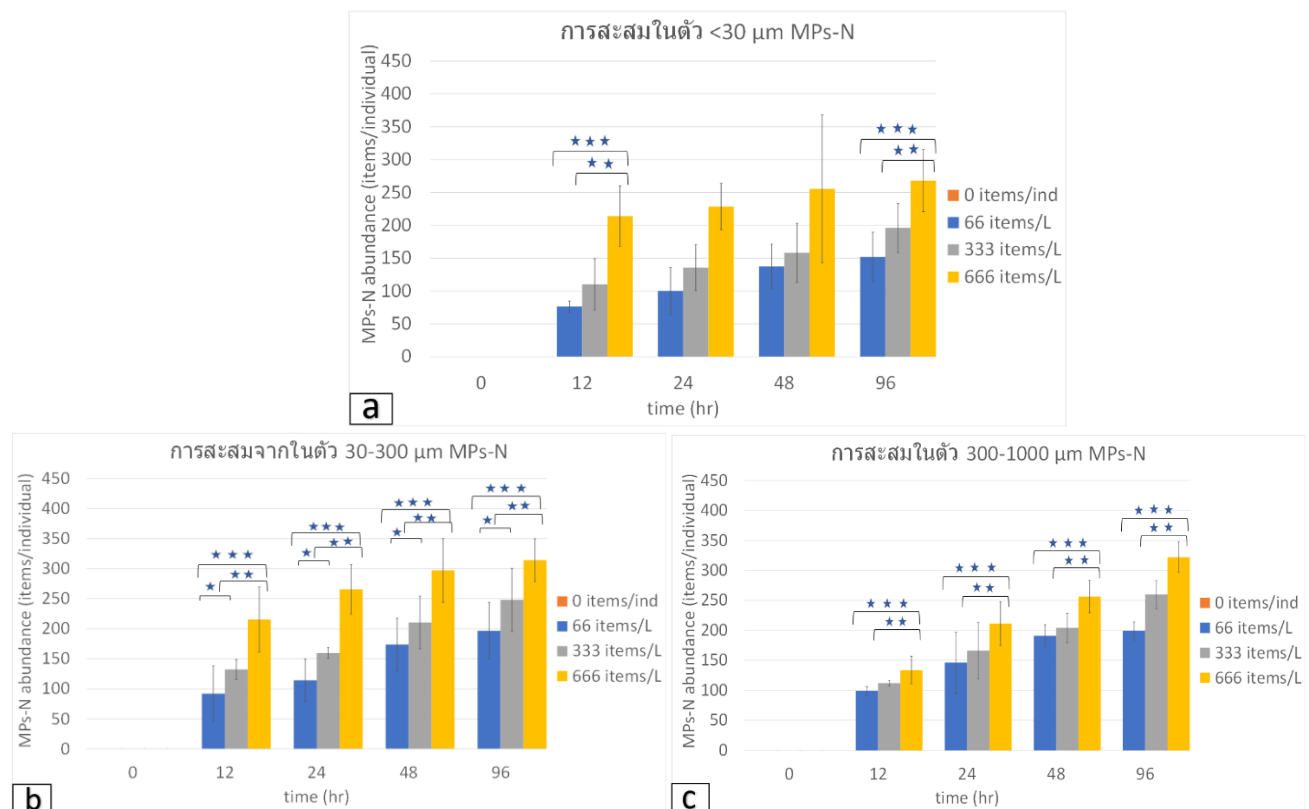
จากการทดลองพบการสะสมไมโครพลาสติกในหอย แต่ไม่พบหอยตายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ 96 ชั่วโมงแสดงว่า ไมโครพลาสติกที่สะสมไม่มีผลต่อการตายของหอยในระยะสั้นส่วนผลในระยะยาวต่อความผิดปกติของหอยและอัตราการตายควรมีการทำการทดลองต่อไปในอนาคต โดยงานวิจัยหนึ่งในหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) ที่ได้รับไมโครพลาสติกเป็นอาหาร ในระยะเวลาสั้นๆไม่พบความผิดปกติหรืออันตรายที่ส่งผลต่อการตายได้ โดยพบการเปลี่ยนแปลงของอัตราการกรองกินและอัตราการหายใจที่ลดน้อยลงเมื่อผ่านระยะเวลา 44 วันเป็นต้นไป (Rist et al., 2016) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการได้รับไมโครพลาสติกประเภทพอลิสไตรีนแก่วัยอ่อนของกุ้ง (*Acartia tonsa*) ในระยะสั้นเป็นระยะเวลา 5 วัน สัตว์ทดลองยังสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ (Shore et al., 2021)



### 4.3 การศึกษาปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองในหอยนางรมปากจีบ

ทำการทดลองโดยนำตัวอย่างหอยนางรมที่ชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 48 และ 96 จากทั้ง 3 ช่อง จำนวน 9 ตัว จากการทดลองก่อนหน้ามาย่อยได้ตัวอย่างสารละลาย 4 ส่วน ได้แก่ส่วนที่เป็นเหงือก น้ำที่ผ่านการชะล้างเหงือก ตัวหอย และน้ำที่ผ่านการชะล้างตัวหอย จากนั้นนำสารละลายส่วนใสกรองผ่านกระดาษกรอง cellulose nitrate membranes  $0.45\ \mu\text{m}$  นำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope) เพื่อตรวจนับปริมาณไมโครพลาสติกจำลองที่พบสะสมอยู่ในหอยนางรมปากจีบ

จากการทดลองพบปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนบริเวณภายในเนื้อเยื่อหอย โดยพบปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกบริเวณภายนอกเนื้อเยื่อหอยจากส่วนของน้ำที่ผ่านการชะล้างเหงือกและน้ำที่ผ่านการชะล้างตัวหอย (ภาคผนวกที่ 1) และพบปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกบริเวณภายในเนื้อเยื่อหอยจากส่วนของเหงือกและตัวหอย พบว่าการสะสมของไมโครพลาสติกเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยขนาดและความเข้มข้นของไมโครพลาสติกที่มากกว่าส่งผลให้พบการสะสมของไมโครพลาสติกที่เพิ่มมากขึ้นด้วย สามารถแสดงได้ดังแผนภูมิแท่งข้างต้นนี้



ภาพที่ 4.2 แสดงการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนในตัวหอย (ชิ้น/ลิตร) Error bar แสดง Standard error พร้อมแสดงทางสถิติ (two-way ANOVA,  $p > 0.05$ )

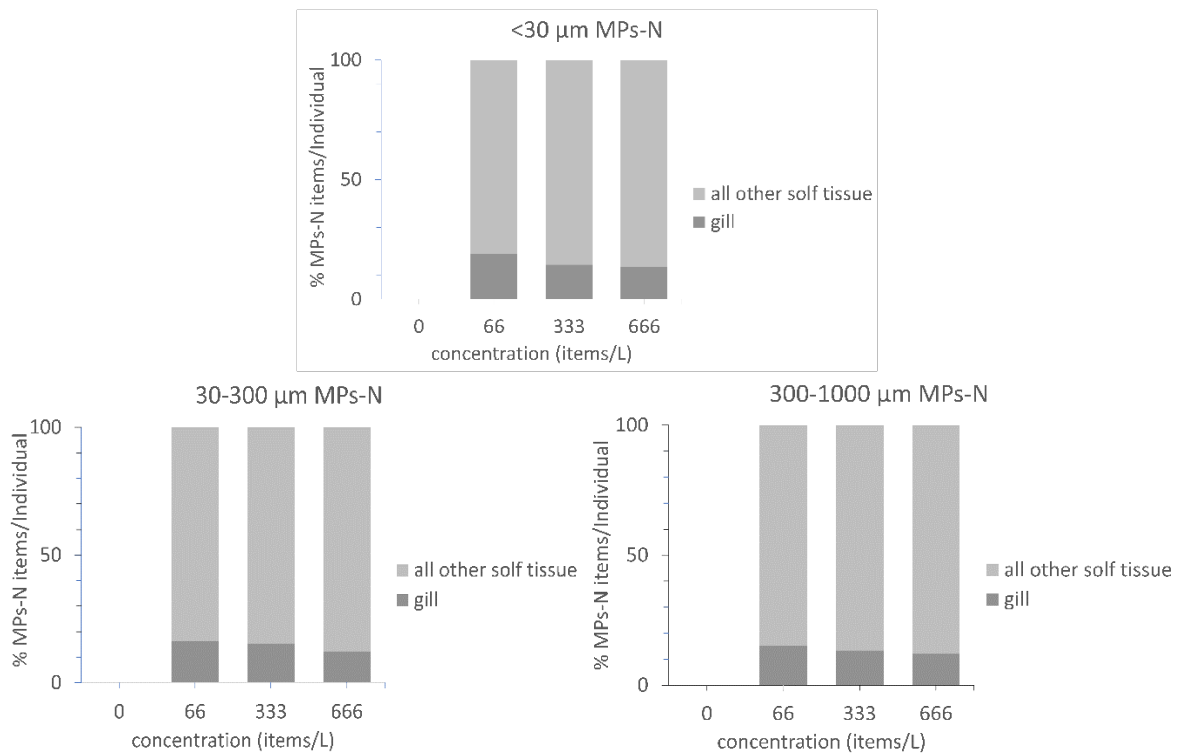
จากแผนภูมิข้างต้นแสดงให้เห็นว่าปริมาณไมโครพลาสติกสะสมภายในตัวหอยนางรม พบว่าไม่มีการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองภายในหอยกลุ่มควบคุม ทำให้ปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองในหอยกลุ่มควบคุมแตกต่างกับหอยที่ได้รับไมโครพลาสติกจำลองเป็นอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง ปริมาณไมโครพลาสติกและเวลาทั้ง 96 ชั่วโมง และปริมาณไมโครพลาสติกและความเข้มข้นทั้ง 3 ความเข้มข้น ในไมโครพลาสติกทั้ง 3 ขนาด (ภาคผนวกที่ 1-7)

โดยแผนภูมิ (a) ปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองในตัวหอยนางรม พบเฉลี่ยที่ 169 ชิ้น/ตัวหอย พบมากที่สุด ที่ความเข้มข้นสูงสุด 268 ชิ้น/ตัวหอย โดยปริมาณของไมโครพลาสติกจำลองในชั่วโมงที่ 12 แตกต่างกับชั่วโมงที่ 96 และในความเข้มข้นที่ 666 ชิ้น/ลิตร แตกต่างกับ 66 และ 333 ชิ้น/ลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (two-way ANOVA,  $p > 0.05$ ) (ภาคผนวกที่ 2-3)

(b) ปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกจำลองในตัวหอยนางรม พบเฉลี่ยที่ 201 ชิ้น/ตัวหอย พบมากที่สุด ที่ความเข้มข้นสูงสุด 314 ชิ้น/ตัวหอย โดยปริมาณของไมโครพลาสติกจำลองในชั่วโมงที่ 12 และ 24 แตกต่างกับชั่วโมงที่ 48 และ 96 และในความเข้มข้นทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (two-way ANOVA,  $p > 0.05$ ) (ภาคผนวกที่ 4-5)

(c) ปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกจำลองพบเฉลี่ยที่ 192 ชิ้น/ตัวหอย พบมากที่สุด ที่ความเข้มข้นสูงสุด 322 ชิ้น/ตัวหอย ซึ่งเป็นปริมาณสะสมที่มากที่สุด ในทั้ง 3 ขนาด และ 3 ความเข้มข้นของไมโครพลาสติกจำลอง โดยปริมาณของไมโครพลาสติกจำลองในตัวหอยนางรมในเวลาทั้งหมด และในความเข้มข้น 666 ชิ้น/ลิตร กับ 66 และ 333 ชิ้น/ลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (two-way ANOVA,  $p > 0.05$ ) (ภาคผนวกที่ 6-7)

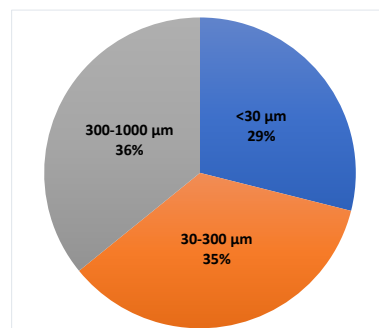
การสะสมของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนที่เหงือกของหอยนางรมปากจیب พบว่าไม่มีการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองภายในหอยกลุ่มควบคุม แต่พบปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกจำลองในกลุ่มทดลองทั้งในทั้ง 3 ขนาด ได้แก่  $< 30 \mu\text{m}$ ,  $30-300 \mu\text{m}$  และ  $300-1000 \mu\text{m}$  และ 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 66, 333 และ 666 ชิ้น/ลิตร โดยพบการสะสมเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น และมีการสะสมของไมโครพลาสติกในขนาดใหญ่มากกว่าขนาดเล็ก และพบการสะสมในความเข้มข้นมากกว่าความเข้มข้นน้อยของทุกขนาดของไมโครพลาสติกจำลอง โดยเมื่อนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับการสะสมของไมโครพลาสติกในตัวหอย สามารถแสดงได้ดังแผนภูมินี้



ภาพที่ 4.3 แสดงปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนเป็นร้อยละระหว่างปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองในเหงือกและตัวหอยต่อความเข้มข้นทั้ง 3 ความเข้มข้น ในชั่วโมงที่ 96

จากแผนภูมิข้างต้นแสดงให้เห็นว่าเมื่อนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับการสะสมของไมโครพลาสติกในตัวหอย ทำให้ความเข้มข้นน้อยมีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าความเข้มข้นมากในทั้ง 3 ขนาดของไมโครพลาสติก โดยในทั้ง 3 ขนาด <30 µm, 30-300 µm และ 300-1000 µm พบการสะสมของไมโครพลาสติกที่เหงือกคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับไมโครพลาสติกที่สะสมในตัวหอย มีค่ามากที่สุดที่ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ 19.1, 16.2 และ 15.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

และเมื่อนำปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกในเนื้อเยื่อภายในรวมทั้งเหงือกและตัวหอยในชั่วโมงที่ 96 มาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกขนาดใหญ่มีค่าเปอร์เซ็นต์การสะสมมากกว่าขนาดเล็กที่ 36 35 และ 29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยสามารถแสดงได้ดังแผนภูมิดังนี้



ภาพที่ 4.4 แสดงปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนของเนื้อเยื่อทั้งหมดเป็นร้อยละในไมโครพลาสติกทั้ง 3 ขนาด ในชั่วโมงที่ 96

จากการทดลอง มีการสะสมของไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีนภายในเนื้อเยื่อหอย โดยการสะสมของไมโครพลาสติกจะเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น และการสะสมของไมโครพลาสติกขนาดใหญ่และความเข้มข้นมากมีค่ามากกว่าไมโครพลาสติกขนาดเล็กและความเข้มข้นน้อยทั้งในเหงือกและตัวหอย โดยเป็นไปตามสมมุติฐานที่วางไว้ โดยการสะสมที่เหงือกนั้น ไมโครพลาสติกขนาดใหญ่อาจมีขนาดใหญ่เกินจนไม่สามารถรอดผ่านซี่กรองเข้าไปได้ หอยจึงมีการขับเมือกออกมาจับกับไมโครพลาสติก (Beyer et al., 2017) ทำให้มีพลาสติกสะสมอยู่ที่เหงือกในขนาดใหญ่มากกว่าขนาดเล็ก และในส่วนของไมโครพลาสติกที่สามารถรอดผ่านซี่กรองไปได้ โดยขนาดของไมโครพลาสติกที่พบในการกรองกินของหอยอยู่ในช่วงขนาด  $< 1 \text{ mm}$  (Ward et al., 2019) ซึ่งก็เป็นผลทำให้ไมโครพลาสติกที่ใช้ในการทดลองนี้ ที่มีขนาดตั้งแต่  $< 30 - 1000 \text{ }\mu\text{m}$  หอยสามารถกินและเข้าไปสะสมในร่างกายได้ ตลอดจนเข้าไปสู่ขบวนการย่อยอาหารและกำจัดไมโครพลาสติกออกจากร่างกายโดยการขับถ่ายออกมาในที่สุด (Stamataki et al., 2020) โดยไมโครพลาสติกจำลองที่มีขนาดใหญ่กว่าอาจเข้าไปสะสมและติดอยู่ในร่างกาย ไม่สามารถขับออกมาได้ และจากการทดลองพบการสะสมตั้งแต่ 72 ชิ้น/ตัวหอยไปจนถึง 322 ชิ้น/ตัวหอย ซึ่งการปนเปื้อนสะสมของไมโครพลาสติกในธรรมชาติที่พบในหอยนางรมเฉลี่ยอยู่ที่ 1.4 -7.0 ชิ้นต่อตัวหอย (Li et al., 2018) หรือพบในหอยแมลงภู่ซึ่งเป็นหอยสองฝาเช่นเดียวกันที่  $31.2 \pm 17.8$  ชิ้น/ตัวหอย (Birnstiel, 2019) ตลอดจนพบในสัตว์มีกระดูกสันหลังเช่นปลา ที่พบไมโครพลาสติกเฉลี่ยที่  $2.83 \pm 17.8$  ชิ้น/ตัวหอย (Huang et al., 2019) ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่ามากเมื่อเทียบกับผลจากการทดลอง อย่างไรก็ตามเนื่องจากการทดลองได้ทำในห้องปฏิบัติการ โดยมีการให้ไมโครพลาสติกในปริมาณที่มากตั้งแต่ 33-666 ชิ้น/ลิตร ในทุกวันของการทดลองที่เมื่อเทียบกับน้ำทะเลในธรรมชาติที่พบ 1.47-7.61 ชิ้น/ลิตร (Zhu, 2021) และ 27 ชิ้น/ลิตร (Karlsson et al., 2017) จึงทำให้ปริมาณการสะสมที่พบในหน่วยชิ้นต่อตัวมีปริมาณมากกว่าปริมาณการปนเปื้อนสะสมของไมโครพลาสติกในธรรมชาติหลายเท่า ทั้งนี้ด้วยปริมาณสะสมที่มากที่สุดในการทดลองที่ 322 ชิ้น/ตัวหอย ยังไม่สามารถส่งผลกระทบต่อทำให้เกิดการตายในหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*) ได้



## บทที่ 5 สรุปผลศึกษาและข้อเสนอแนะ

ไมโครพลาสติกสามารถส่งผลกระทบต่อหอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*) ได้เนื่องจากเป็นสัตว์กรองกิน (filterfeeder) และเป็นสัตว์ที่ไม่เคลื่อนที่ (sessile animal) จึงทำให้หอยนางรมเป็นตัวแทนสัตว์ทะเลที่ได้รับไมโครพลาสติกจากน้ำทะเลในพื้นที่นั้น ๆ ได้โดยตรง และด้วยไมโครพลาสติกมีขนาดเล็ก และมีสีสันทึบใกล้เคียงกับแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ ซึ่งเป็นอาหารบริโภคหลักของหอยนางรม จึงทำให้หอยนางรมกรองกินเข้าไปแล้วนำไปสะสมในร่างกาย ซึ่งอาจส่งผลเสียชีวิตได้ หรืออาจมีการสะสมในร่างกายของหอยนางรมแล้วเกิดการกินต่อกันไปเป็นทอด ๆ ไมโครพลาสติกจึงเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารในที่สุด และยังสามารถส่งผลเสียต่อมายังมนุษย์ผ่านการกินได้อีกด้วย

### 5.1 สรุปผลการศึกษา

งานวิจัยนี้พบว่าในระยะเวลา 96 ชั่วโมงไม่พบการตายของหอยที่ได้รับไมโครพลาสติกจำลองประเภทพอลิสไตรีน (polystyrene; PS) ในทั้ง 3 ขนาด ได้แก่ <math><30\ \mu\text{m}</math>, <math>30-300\ \mu\text{m}</math> และ <math>300-1000\ \mu\text{m}</math> และ 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 66, 333 และ 666 ชิ้น/ลิตร และพบการสะสมของไมโครพลาสติกทั้งภายนอกและภายในของเนื้อเยื่อหอย โดยพบว่าการสะสมของไมโครพลาสติกเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยขนาดและความเข้มข้นของไมโครพลาสติกที่มากกว่าส่งผลให้พบการสะสมของไมโครพลาสติกที่เพิ่มมากขึ้นด้วย โดยพบการสะสมของไมโครพลาสติกที่มากที่สุดมาจากชั่วโมงที่ 96 ที่ ความเข้มข้นสูงสุดที่ 666 ชิ้น/ลิตร ที่ 322 ชิ้น/ตัวหอย โดยปริมาณการสะสมที่พบมากที่สุดนี้ยังไม่สามารถทำให้หอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea forskalii*) ตายได้ใน 96 ชั่วโมง

### 5.2 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาผลกระทบของไมโครพลาสติกนั้นสามารถนำข้อมูลที่ได้ออกไปต่อยอดเพื่อใช้เป็นเกณฑ์มาตรฐานในการควบคุมคุณภาพน้ำในแหล่งที่อยู่อาศัยของหอยนางรม โดยเฉพาะพื้นที่ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหอยนางรมในเชิงพาณิชย์ ตลอดจนการจัดทำมาตรการเพื่อจัดการปัญหาด้านขยะทะเลของหน่วยงานภาครัฐต่อไป โดยในการศึกษานี้ ผู้ศึกษาได้ทำการศึกษาในระยะเวลาเพียง 96 ชั่วโมงซึ่งเป็นการศึกษาแบบเฉียบพลันทำให้ยังไม่พบการตายของหอย ดังนั้นหากมีผู้ที่สนใจในการนำไปศึกษาเพิ่มเติม ควรทำการทดลองในระยะเวลาที่มากกว่า 96 ชั่วโมงหรือจนกว่าจะพบการตายและอัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากร ( $LC_{50}$ ) เพื่อจะได้สามารถสรุปผลของขนาดและความเข้มข้นของไมโครพลาสติกที่มีผลต่ออัตราการตายครึ่งหนึ่งของประชากรได้ ( $LC_{50}$ ) ได้ และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในหอยชนิดอื่น ๆ ทั้งสองฝาและฝาเดียว ตลอดจนสัตว์ทะเลอื่น ๆ ให้ครอบคลุมตัวแทนในระบบนิเวศหรือห่วงโซ่ เพิ่มขนาดและความเข้มข้นของไมโครพลาสติก พร้อมทั้งศึกษาให้ครอบคลุมในพลาสติกประเภทอื่น ๆ เพื่อนำมาประมวลค่าที่ตรวจพบในแหล่งน้ำและในสัตว์ธรรมชาติ จะได้เข้าใจภาพรวมของผลกระทบของไมโครพลาสติกที่เกิดขึ้น ทำให้สามารถสร้างเกณฑ์และมาตรการต่าง ๆ ในการจัดการปัญหาได้ดียิ่งขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

### ออนไลน์

- ชาญชัย คหาปนระ. 2561. ไมโครพลาสติก...ภัยมืดในทะเล. สืบค้นเมื่อวันที่ 20 พฤษภาคม 2564, จาก <https://www.tistr.or.th/tistrblog/?p=4707>
- เพ็ญศิริ เอกจิตต์ และ สิริวรรณ รวมแก้ว 2562. ขยะไมโครพลาสติกบริเวณชายหาดฝั่งตะวันตก จังหวัดภูเก็ต. วารสารสิ่งแวดล้อม, 23(2). สืบค้นเมื่อวันที่ 20 พฤษภาคม 2564, จาก <http://www.ej.eric.chula.ac.th/content/6114/70>
- ภิญญลักษณ์ บัวประกายรัตน์. 2018. บริบทใหม่ของขยะพลาสติก (Doctoral dissertation, มหาวิทยาลัยศิลปากร). สืบค้นเมื่อวันที่ 20 พฤษภาคม 2564, จาก [http://www.sure.su.ac.th/xmlui/bitstream/handle/123456789/14999/BA\\_Pinyaluk\\_Buaprakairat.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://www.sure.su.ac.th/xmlui/bitstream/handle/123456789/14999/BA_Pinyaluk_Buaprakairat.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Bussarawit, S., Cedhagen, T., Shirayama, Y. & Torigoe, K. 2010. Field Guide to The Oyster Fauna of Thailand. Kyoto University Press. Retrieved May 20, 2021, from <http://www.jstor.org/stable/2455314>

### ภาษาไทย

- ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ ศุภกิจ สุทธิเรืองวงศ์ กรณ์รวี เอี่ยมสมบุรณ์ และสุธาพร บุญญเจตน์พงษ์ 2561. การสะสมและผลกระทบต่อของไมโครพลาสติกในกิ้งกูดดำวัยรุ่น (*Penaeus monodon*) งานวิจัยภายใต้โครงการทะเลไทยไร้ขยะ ประจำปี 2561
- รัตนชาติ คิ้วสกุลกาญจน์, กุลนิษฐ์ ฌนอมจิตร, สุภัททา ฉื่อยฉ่ำ, สุทิน กิ่งทอง. 2560. การเจริญของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในหอยนางรมปากจีบ *Saccostrea cucullata* (Born, 1778). วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้. 8(2), 215-226.
- วงศ์ศิริ เข้มสวัสดิ์. 2559. ไมโครพลาสติก: จากเครื่องสำอางสู่สารปนเปื้อนในอาหาร. วารสารพิษวิทยาไทย. 31: 50-61.
- หฤษฎ์ จักรชาติวัตร. 2561. ไมโครพลาสติกปนเปื้อนในหอยนางรมจากเกาะในอ่าวไทย (โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย), หน้า1-34.
- อนุกุล บุรณประทีปรัตน์. 2552. การไหลเวียนกระแสน้ำบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงและชายฝั่งจังหวัดชลบุรีจากการศึกษาโดยใช้แบบจำลองไฮโดรไดนามิค. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 14: 50-60.

## ภาษาอังกฤษ

- 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.
- Beyer, Jonny, Norman W. Green, Steven Brooks, Ian J. Allan, Anders Ruus, Tânia Gomes, Inger Lise N. Bråte, and Merete Schøyen. 2017. Blue mussels (*Mytilus edulis spp.*) as sentinel organisms in coastal pollution monitoring: a review. Marine environmental research. 130, 338-365.
- Birnstiel, S., Soares-Gomes, A. and da Gama, B.A. 2019. Depuration reduces microplastic content in wild and farmed mussels. Marine Pollution Bulletin. 140, 241-247.
- Browne, M. A., Dissanayake, A., Galloway, T. S., Lowe, D. M. and Thompson, C. R. 2008. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis (L)*. Environmental science & technology. 42, 5026-5031
- Capolupo, M., Franzellitti, S., Valbonesi, P., Sanz, C., Fabbri, E. 2018. Uptake and transcriptional effects of polystyrene microplastics in larval stages of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. Environmental Pollution. 241, 1038–1047.
- Huang, J.S., Koongolla, J.B., Li, H.X., Lin, L., Pan, Y.F., Liu, S., He, W.H., Maharana, D. and Xu, X.R. 2020. Microplastic accumulation in fish from Zhanjiang mangrove wetland, South China. Science of The Total Environment. 708, 134839.
- Jin Ah Song, Cheol Young Choi, Heung-Sik Park. 2020. Exposure of bay scallop *Argopecten irradians* to micro-polystyrene: Bioaccumulation and toxicity, Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. 236, 108801.
- Jingmin Zhu, Qiang Zhang, Yinan Huang, Yuping Jiang, Jiana Li, Jennifer J. Michal, Zhihua Jiang, Youhou Xu, Wenlu Lan. 2021. Long-term trends of microplastics in seawater and farmed oysters in the Maowei Sea, China. Environmental Pollution. 237, 116450.
- Karami, A., Choo, C. K., Golieskardi, A., Ho, Y. B., Romano, N. & Salamatinia, B. 2017. A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. Science of the Total Environment. 578, 485–494.

- Karlsson, T.M., Vethaak, A.D., Almroth, B.C., Ariese, F., van Velzen, M., Hassellöv, M., Leslie, H.A. 2017. Screening for microplastics in sediment, water, marine invertebrates and fish: method development and microplastic accumulation. Marine Pollution Bulletin. 122 (1-2), 403-408.
- Li, H.X., Ma, L.S., Lin, L., Ni, Z.X., Xu, X.R., Shi, H.H., Yan, Y., Zheng, G.M. and Rittschof, D. 2018. Microplastics in oysters *Saccostrea cucullata* along the Pearl River estuary, China. Environmental pollution. 236, 619-625.
- OKUMUŞ, I., BAŞÇINAR, N., ÖZKAN, M. 2002. The Effects of Phytoplankton Concentration, Size of Mussel and Water Temperature on Feed Consumption and Filtration Rate of the Mediterranean Mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lmk). Academic Journal of Turk J Zool. 26, 167-172.
- Pitipong Tharamon, Suhatai Praisanklul and Napaporn Leadprathom, 2016. Contamination of microplastic in bivalve at Chaolao and Kungwiman beach Chanthaburi province. Khon Kaen Agricultural Journal. 44(1), 738-744.
- Sinja Elena Rist, Khoirunnisa Assidqi, Neviaty Putri Zamani, Daniel Appel, Myriam Perschke, Mareike Huhn, Mark Lenz. 2016. Suspended micro-sized PVC particles impair the performance and decrease survival in the Asian green mussel *Perna viridis*, Marine Pollution Bulletin. 111(1-2). 213-220.
- Stamataki, N., Hatzonikolakis, Y., Tsiaras, K., Tsangaris, C., Petihakis, G., Sofianos, S. and Triantafyllou, G. 2020. Modelling mussel (*Mytilus spp.*) microplastic accumulation. Ocean Science. 16(4), 927-949.
- Stefano Magni, François Gagné, Chantale André, Camilla Della Torre, Joëlle Auclair, Houda Hanana, Camilla Carla Parenti, Francesco Bonasoro, Andrea Binelli. 2018. Evaluation of uptake and chronic toxicity of virgin polystyrene microbeads in freshwater zebra mussel *Dreissena polymorpha* (Mollusca: Bivalvia). Science of The Total Environment. 631–632, 778-788.
- Thushari, G. G. N., Senevirathna, J. D. M., Yakupitiyage, A. & Chavanich, S. 2017. Effects of microplastics on sessile invertebrates in the eastern coast of Thailand: An approach to coastal zone conservation. Marine Pollution Bulletin. 124, 349– 355.

Ward, J.E., Zhao, S., Holohan, B.A., Mladinich, K.M., Griffin, T.W., Wozniak, J. and Shumway, S.E. 2019. Selective ingestion and egestion of plastic particles by the blue mussel (*Mytilus edulis*) and eastern oyster (*Crassostrea virginica*): implications for using bivalves as bioindicators of microplastic pollution. Environmental science & technology. 53(15), 8776-8784.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 ปริมาณการสะสมของไมโครพลาสติกบริเวณภายนอกเนื้อเยื่อหอย

ขนาด	ตัวเป็นชั่วโมงที่ 12			ตัวเป็นชั่วโมงที่ 24			ตัวเป็นชั่วโมงที่ 48			ตัวเป็นชั่วโมงที่ 96		
	gill	ตัว	รวม	gill	ตัว	รวม	gill	ตัว	รวม	gill	ตัว	รวม
control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>&lt;30 <math>\mu\text{m}</math></b>												
66 ชิ้น/ลิตร	7	31	38	9	58	67	11	76	87	18	102	120
333 ชิ้น/ลิตร	7	31	38	11	67	78	16	107	123	29	102	131
666 ชิ้น/ลิตร	11	67	78	24	84	108	22	111	133	27	147	174
<b>30-300 <math>\mu\text{m}</math></b>												
66 ชิ้น/ลิตร	16	40	56	18	53	71	22	58	80	24	93	127
333 ชิ้น/ลิตร	22	62	84	22	36	58	29	89	118	22	116	138
666 ชิ้น/ลิตร	27	80	107	27	89	116	27	133	160	27	80	107
<b>300-1000 <math>\mu\text{m}</math></b>												
66 ชิ้น/ลิตร	20	40	60	29	53	82	33	58	91	27	67	94
333 ชิ้น/ลิตร	24	49	73	22	71	93	29	67	96	33	58	91
666 ชิ้น/ลิตร	24	67	91	27	84	111	24	111	135	38	124	162

ภาคผนวกที่ 2 ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวอย่างต่อเวลา <30  $\mu\text{m}$

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MPs-N

Tukey HSD

(I) Time	(J) Time	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	12	-133.56*	20.490	.000	-192.99	-74.12
	24	-154.78*	20.490	.000	-214.21	-95.34
	48	-183.78*	20.490	.000	-243.21	-124.34
	96	-205.33*	20.490	.000	-264.77	-145.90
12	0	133.56*	20.490	.000	74.12	192.99
	24	-21.22	20.490	.837	-80.66	38.21
	48	-50.22	20.490	.130	-109.66	9.21
	96	-71.78*	20.490	.012	-131.21	-12.34
24	0	154.78*	20.490	.000	95.34	214.21
	12	21.22	20.490	.837	-38.21	80.66
	48	-29.00	20.490	.623	-88.43	30.43
	96	-50.56	20.490	.125	-109.99	8.88
48	0	183.78*	20.490	.000	124.34	243.21
	12	50.22	20.490	.130	-9.21	109.66
	24	29.00	20.490	.623	-30.43	88.43
	96	-21.56	20.490	.829	-80.99	37.88
96	0	205.33*	20.490	.000	145.90	264.77
	12	71.78*	20.490	.012	12.34	131.21
	24	50.56	20.490	.125	-8.88	109.99
	48	21.56	20.490	.829	-37.88	80.99

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1889.311.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.



ภาคผนวกที่ 3 ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวอย่างต่อความเข้มข้น <math><30 \mu\text{m}</math>

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MPs-N

Method: LSD

(I) Conc (items/L)	(J) Conc (items/L)	Difference (I-J)	Standard Error	Sig.	% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
66	333	-26.87	15.872	.224	-65.99	12.26
	666	-100.00*	15.872	.000	-139.13	-60.87
333	66	26.87	15.872	.224	-12.26	65.99
	666	-73.13*	15.872	.000	-112.26	-34.01
666	66	100.00*	15.872	.000	60.87	139.13
	333	73.13*	15.872	.000	34.01	112.26

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1889.311.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

ภาคผนวกที่ 4 ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวอย่างต่อเวลา 30-300  $\mu\text{m}$

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MPs-N

MSD

(I) Time	(J) Time	Difference (I-J)	Standard Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	12	-146.56*	15.595	.000	-191.79	-101.32
	24	-179.89*	15.595	.000	-225.12	-134.65
	48	-227.00*	15.595	.000	-272.24	-181.76
	96	-252.89*	15.595	.000	-298.12	-207.65
12	0	146.56*	15.595	.000	101.32	191.79
	24	-33.33	15.595	.231	-78.57	11.90
	48	-80.44*	15.595	.000	-125.68	-35.21
	96	-106.33*	15.595	.000	-151.57	-61.10
24	0	179.89*	15.595	.000	134.65	225.12
	12	33.33	15.595	.231	-11.90	78.57
	48	-47.11*	15.595	.038	-92.35	-1.88
	96	-73.00*	15.595	.001	-118.24	-27.76
48	0	227.00*	15.595	.000	181.76	272.24
	12	80.44*	15.595	.000	35.21	125.68
	24	47.11*	15.595	.038	1.88	92.35
	96	-25.89	15.595	.473	-71.12	19.35
96	0	252.89*	15.595	.000	207.65	298.12
	12	106.33*	15.595	.000	61.10	151.57
	24	73.00*	15.595	.001	27.76	118.24
	48	25.89	15.595	.473	-19.35	71.12

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1094.444.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

ภาคผนวกที่ 5 ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวอย่างต่อความเข้มข้น 30-300  $\mu\text{m}$

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MPs-N

MSD

(I) Conc (items/L)	(J) Conc (items/L)	Difference (I-J)	Error	Sig.	% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
66	333	-34.73*	12.080	.020	-64.51	-4.95
	666	-103.07*	12.080	.000	-132.85	-73.29
333	66	34.73*	12.080	.020	4.95	64.51
	666	-68.33*	12.080	.000	-98.11	-38.55
666	66	103.07*	12.080	.000	73.29	132.85
	333	68.33*	12.080	.000	38.55	98.11

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1094.444.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

ภาคผนวกที่ 6 ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวอย่างต่อเวลา 300-1000  $\mu\text{m}$

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MPs-N

Tukey HSD

(I) Time	(J) Time	Mean		Sig.	95% Confidence Interval	
		Difference (I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
0	12	-114.67*	12.098	.000	-149.76	-79.58
	24	-174.33*	12.098	.000	-209.42	-139.24
	48	-217.00*	12.098	.000	-252.09	-181.91
	96	-260.22*	12.098	.000	-295.31	-225.13
12	0	114.67*	12.098	.000	79.58	149.76
	24	-59.67*	12.098	.000	-94.76	-24.58
	48	-102.33*	12.098	.000	-137.42	-67.24
	96	-145.56*	12.098	.000	-180.65	-110.46
24	0	174.33*	12.098	.000	139.24	209.42
	12	59.67*	12.098	.000	24.58	94.76
	48	-42.67*	12.098	.011	-77.76	-7.58
	96	-85.89*	12.098	.000	-120.98	-50.80
48	0	217.00*	12.098	.000	181.91	252.09
	12	102.33*	12.098	.000	67.24	137.42
	24	42.67*	12.098	.011	7.58	77.76
	96	-43.22*	12.098	.010	-78.31	-8.13
96	0	260.22*	12.098	.000	225.13	295.31
	12	145.56*	12.098	.000	110.46	180.65
	24	85.89*	12.098	.000	50.80	120.98
	48	43.22*	12.098	.010	8.13	78.31

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 658.600.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

ภาคผนวกที่ 7 ตารางแสดงผลทางสถิติปริมาณการสะสมไมโครพลาสติกในตัวอย่างต่อความเข้มข้น  
300-1000  $\mu\text{m}$

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MPs-N

Tukey HSD

(I) Conc (items/L)	(J) Conc (items/L)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
66	333	-21.40	9.371	.074	-44.50	1.70
	666	-57.73*	9.371	.000	-80.84	-34.63
333	66	21.40	9.371	.074	-1.70	44.50
	666	-36.33*	9.371	.002	-59.44	-13.23
666	66	57.73*	9.371	.000	34.63	80.84
	333	36.33*	9.371	.002	13.23	59.44

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 658.600.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.