# การสำรวจเศษขยะพลาสติกในกระเพาะปูม้า (*Portunus*) จากชายฝั่งภาคตะวันออกของประเทศไทยและกลุ่มแบคทีเรียที่พบ monofilaments ในกระเพาะปูม้า

# SURVEY OF SMALL PLASTIC DEBRIS IN GUTS OF BLUE SWIMMING CRABS AND MICROBIOTA WITH PIECE OF MONOFILAMENT IN CRAB GUTS

อิชญา ไพจิตรพิมุข

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2565

# การสำรวจเศษขยะพลาสติกในกระเพาะปูม้า (*Portunus*) จากชายฝั่งภาคตะวันออกของประเทศไทยและกลุ่มแบคทีเรียที่พบ monofilaments ในกระเพาะปูม้า

อิชญา ไพจิตรพิมุข

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากร
คณะวัฒนธรรมสิ่งแวดล้อมและการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

# SURVEY OF SMALL PLASTIC DEBRIS IN GUTS OF BLUE SWIMMING CRABS AND MICROBIOTA WITH PIECE OF MONOFILAMENT IN CRAB GUTS

ICHAYA PAIJITPIMUK

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of MASTER OF SCIENCE

(Environmental Technology & Resources Management)

Faculty of Environmental Culture and Ecotourism, Srinakharinwirot University

2022

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การสำรวจเศษขยะพลาสติกในกระเพาะปูม้า (*Portunus*) จากชายฝั่งภาคตะวันออกของประเทศไทยและกลุ่มแบคทีเรียที่พบ monofilaments ในกระเพาะปูม้า

ของ

อิชญา ไพจิตรพิมุข

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากร
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

---

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

---

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.อรินทม์ งามนิยม)

..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิวงรอง ดวงใจ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัญจน์ ศิลป์ประสิทธิ์)

| | |
|---|---|
| ชื่อเรื่อง | การสำรวจเศษขยะพลาสติกในกระเพาะปูม้า (*Portunus*) จากชายฝั่งภาคตะวันออกของประเทศไทยและกลุ่มแบคทีเรียที่พบ monofilaments ในกระเพาะปูม้า |
| ผู้วิจัย | อิชญา ไพจิตรพิมุข |
| ปริญญา | วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต |
| ปีการศึกษา | 2565 |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | รองศาสตราจารย์ ดร. อรินทม์ งามนิยม |

มลพิษจากเศษพลาสติกเป็นหนึ่งในผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ป่า ขยะพลาสติกกระจายและปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม เช่น ระบบนิเวศน์ทางน้ำ ทำให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ ในสายพันธุ์เดคาพอด ปูม้า (Portunus armatus หรือ P. pelagicus) เป็นสัตว์ทะเลประเภทครัสเตเชียนที่มีชื่อเสียงสำหรับการบริโภคของมนุษย์ในหลายประเทศ อาจได้รับผลกระทบจากมลพิษพลาสติกในสิ่งแวดล้อมทางธรรมชาติหรือการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังนั้น จุดมุ่งหมายของการศึกษานี้คือการตรวจสอบความหลากหลายของจุลินทรีย์และเศษชิ้นส่วนของเส้นโมโนฟิลาเมนท์ในลำไส้ของปูม้า สำหรับการจำแนกแบคทีเรีย บริเวณ V1–V3 ที่แปรผันได้สูงของยีน 16S rRNA ได้รับการวิเคราะห์โดยใช้การจัดลำดับรุ่นต่อไปของอิลลูมินา ยิ่งไปกว่านั้น เส้นโมโนฟิลาเมนต์ได้รับการยืนยันโดยฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR) สำหรับวัสดุพลาสติก เก็บตัวอย่างปูจากชายฝั่งตะวันออกของอ่าวไทยได้ทั้งหมด 40 ตัว พบเส้นใยเดี่ยวสี่เส้น (เส้นเดียวต่อหนึ่งไส้) และมีความยาว 4-7 มม. สเปกตรัม FT-IR ที่จับคู่กับโพลีเอไมด์ สำหรับจุลินทรีย์ หน่วยอนุกรมวิธานปฏิบัติการ (OTU) ในลำไส้ที่ไม่มีเส้นใยเดี่ยวเท่ากับ 53 (n = 4 เป็นกลุ่มที่ 1) และลำไส้ที่มีเส้นใยเดี่ยวเท่ากับ 26 (n = 4 เป็นกลุ่มที่ 2) OTUs ในไส้ที่มีและไม่มี monofilament ตรวจพบในทำนองเดียวกันที่ 131 ในระดับของไฟลาแบคทีเรีย "Proteobacteria" สูงที่สุดในลำไส้ของทั้งสองกลุ่ม ในทางตรงกันข้าม ตรวจพบ “Firmicutes” สูงในกลุ่มที่ 2 ในสกุลแบคทีเรีย Photobacterium เด่นกว่า Vibrionaceae ในทั้งสองกลุ่ม แต่ Marinobacter ของ Alteromonadaceae อยู่ในกลุ่มที่ 1 สูง อย่างไรก็ตาม พบว่าตัวอย่างเดียวในกลุ่มที่ 2 ถูกครอบงำโดย วิบริโอ สำหรับ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathway แบคทีเรียโรคติดเชื้อในกลุ่มที่ 2 สูงกว่าในกลุ่มที่ 1 ผลลัพธ์เหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าชุมชนจุลินทรีย์อาจเชื่อมโยงกับการพบ monofilament ในลำไส้ของปูม้า

คำสำคัญ : กระเพาะปูม้า ประเทศไทย ขยะพลาสติก อาหารทะเล

| | |
|---|---|
| Title | SURVEY OF SMALL PLASTIC DEBRIS IN GUTS OF BLUE SWIMMING CRABS AND MICROBIOTA WITH PIECE OF MONOFILAMENT IN CRAB GUTS |
| Author | ICHAYA PAIJITPIMUK |
| Degree | MASTER OF SCIENCE |
| Academic Year | 2022 |
| Thesis Advisor | Associate Professor Dr. Arin Ngamniyom |

Pollutions of plastic debris is one of environmental aspects of human health and wildlife. Plastic waste distributes and contaminates into environments, such as aquatic ecosystems causing disease among aquatic animals. In the decapod species, blue swimming crabs (*Portunus armatus or P. pelagicus*) are a marine crustaceans species for human consumption in many countries. They may be affected by a risk of plastics pollution in natural environment or aquaculture. Therefore, the aim of this study was to examine microbial diversity, and pieces of debris, such as monofilament lines in guts of blue swimming crabs. For bacteria identification, the V1–V3 hypervariable regions of the 16S rRNA gene was analysis by using an illumina next generation sequencing. Moreover, monofilament lines were confirmed by fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) for plastic materials. A total of 40 individual gut samples of crabs were collected from the east coast of the Gulf of Thailand. There were Four monofilaments found (single monofilament per one gut), and length was 4-7 mm. FT-IR spectrum matched to polyamide. For microbes, the operational taxonomic units (OTUs) in guts without monofilament were 53 (n = 4 as Group 1), and guts with monofilament were 26 (n = 4 as Group 2). The OTUs in guts with and without monofilament were similarly detected at 131. In level of bacterial phyla, “Proteobacteria” was most highest in guts of both groups. In contrast, “Firmicutes” were highly detected in Group 2. In bacterial genera, Photobacterium was predominant Vibrionaceae in both groups, but Marinobacter of Alteromonadaceae was highest in Group 1. However, there was found that a single sample in Group 2 was dominated by *Vibrio*. According to the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathway, infectious diseases bacteria was higher in Group 2 than that in Group 1. These results suggest that microbial communities may associate with the discovery of monofilament in guts of blue swimming crabs.

Keyword : plastic debris Portunus gut microbes Thailand

# กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ เรื่องการสำรวจเศษขยะพลาสติกในกระเพาะปูม้า (Portunus) จากชายฝั่งภาคตะวันออกของประเทศไทยและกลุ่มแบคทีเรียที่พบ monofilaments ในกระเพาะปูม้า ซึ่งปริญญานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร.อรินทม์ งามนิยม อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ ที่ได้มีการแนะแนวขั้นตอนการปฏิบัติงาน ให้ข้อเสนอแนะ ความรู้ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่อง จนปริญญานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ จึงขอกราบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ คณะวัฒนธรรมสิ่งแวดล้อมและการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ที่ให้การสนับสนุนและได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาผู้มีสมรรถนะสูงเข้าศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา คณะวัฒนธรรมสิ่งแวดล้อมและการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำปีงบประมาณ 2565 - 2566 ซึ่งผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ทายาท ศรียาภัย และ รศ.ดร. พิชาภัค ศรียาภัย ผู้ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้ห้องปฏิบัติการ และวัสดุอุปกรณ์ในการทำวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในสาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมและทรัพยากร ที่ได้ให้ความรู้ และข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อปริญญานิพนธ์

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว รวมถึงเพื่อน ๆ ในสาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมและทรัพยากร ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจ

อิชญา ไพจิตรพิมุข

# สารบัญ

หน้า


บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ ..... 1

1.1 ที่มาและความสำคัญ ..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ ..... 2

1.3 สมมติฐาน ..... 2

1.4 ขอบเขตของการวิจัย ..... 2

1.5 ตัวแปรที่เกี่ยวข้อง ..... 2

1.6 ประโยชน์ที่ได้รับ ..... 2

1.7 คำนิยามศัพท์เฉพาะ ..... 3

1.8 กรอบแนวคิดงานวิจัย ..... 6

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... 7

2.1 คำจำกัดความของสิ่งแวดล้อม (Environment) ..... 7

2.2 ความรู้ทั่วไปของปูม้า (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Portunus pelagicus*) ..... 7

2.2.1 ประโยชน์ของปูม้า ..... 9

2.2.2 การแพร่กระจาย ..... 9

2.3 เทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) ..... 10

2.4 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM and EDX Scanning Electron Microscope (SEM) and Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX) ..... 11
2.5 เครื่องมือฉาบผิวตัวอย่างด้วยโลหะหนัก (Sputter Coater) ..... 12
2.6 เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ..... 12
2.7 กล้องจุลทรรศน์ ..... 13
2.8 ซอฟแวร์โปรแกรม Motic image Plus 3.0 ..... 13
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... 14
บทที่ 3 วิธีดำเนินการ ..... 16
3.1 กรอบงานวิจัย ..... 16
3.2 พื้นที่การศึกษา ..... 17
3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา ..... 18
3.3.1 เครื่องมือที่ใช้ในภาคสนาม ..... 18
3.3.2เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ..... 18
3.4 วิธีการศึกษาเก็บตัวอย่างภาคสนามของปูม้า ..... 19
3.4.2 การศึกษาหา microplastics ในปูม้า ..... 19
3.4.3 ยืนยันผลการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ..... 19
3.4.5 การศึกษาหาโลหะหนักในปูม้า ..... 20
3.4.6 การศึกษาความหลากหลายของ bacteria ในกระเพาะปูม้า ..... 20
3.5 ระยะเวลาดำเนินการ ..... 21
บทที่ 4 ผลการศึกษา ..... 23
4.1 การศึกษาตัวอย่างปูม้า บริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตะวันออก 4 จังหวัด ..... 23
4.2 ผลการวิเคราะห์แมคโครและ Microplastics ที่พบในกระเพาะอาหารของปูม้า ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) ..... 23
4.2.1 โพลิไวนิลคลอไรด์ (Polyvinyl chloride: PVC) ..... 23

4.2.2 โพลิเอไมด์ (Polyamide: PA) หรือไนลอน ..... 24
4.2.3 โพลิสไตรีน (Polystyrene: PS) ..... 24
4.2.4 โพลิเอสเตอร์ (Polyester: PL) ..... 24
4.3 วิเคราะห์ชนิดแมคโครและไมโครพลาสติกที่พบในปูม้าของแต่ละจังหวัด ..... 25
4.3.1 ผลการวิเคราะห์แบบหยดโดยตรง ..... 25
4.3.2 ผลการวิเคราะห์แบบกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman ..... 25
4.4 ผลการวิเคราะห์หาโลหะหนักในกระเพาะอาหารของปูม้าด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-ray Spectrometer (SEM-EDX) ..... 27
4.4.1 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบด้วยเทคนิค Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX) ..... 27
4.4.2 สเปกตรัมจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX) ..... 29
4.4.3 ภาพแสดงตัวอย่างที่นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-ray Spectrometer (SEM-EDX) ..... 31
4.5 วิเคราะห์กลุ่มแบคทีเรียโดยวิธี NEXT GENERATION ..... 33
4.5.1 ผลการวิเคราะห์กลุ่มแบคทีเรีย ..... 33
4.5.2 การวิเคราะห์กลุ่มแบคทีเรียโดยวิธี NEXT GENERATION ..... 34
บรรณานุกรม ..... 36
ภาคผนวก ..... 39
ประวัติผู้เขียน ..... 55

# สารบัญตาราง

**หน้า**

ตาราง 1 ระยะเวลาดำเนินการ ..... 21

ตาราง 2 ผลการวิเคราะห์เส้นเอ็นด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) ..... 26

ตาราง 3 ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบ ..... 27

ตาราง 4 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ 1 จังหวัดจันทบุรี ..... 27

ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ 4 จังหวัดจันทบุรี ..... 28

ตาราง 6 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ 7 จังหวัดจันทบุรี ..... 28

ตาราง 7 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ 1 จังหวัดตราด ..... 28

# สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดงานวิจัย ..... 6
ภาพประกอบ 2 ปูม้า (1) ..... 8
ภาพประกอบ 3 ปูม้า (2) ..... 10
ภาพประกอบ 4 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) ..... 10
ภาพประกอบ 5 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM and EDX Scanning Electron Microscope (SEM) Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX) ..... 11
ภาพประกอบ 6 เครื่องมือฉาบผิวตัวอย่างด้วยโลหะหนัก (Sputter Coater) ..... 12
ภาพประกอบ 7 Polymerase Chain Reaction (PCR) ..... 12
ภาพประกอบ 8 กล้องจุลทรรศน์ ..... 13
ภาพประกอบ 9 ซอฟต์แวร์โปรแกรม Motic image Plus 3.0 ..... 14
ภาพประกอบ 10 กรอบการวิจัย ..... 16
ภาพประกอบ 11 แผนที่ภาพรวมจังหวัด ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด ..... 17
ภาพประกอบ 12 แผนที่จังหวัด ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด ..... 17
ภาพประกอบ 13 ตัวอย่างที่ 1 จังหวัดจันทบุรี ..... 29
ภาพประกอบ 14 ตัวอย่างที่ 4 จังหวัดจันทบุรี ..... 29
ภาพประกอบ 15 ตัวอย่างที่ 7 จังหวัดจันทบุรี ..... 30
ภาพประกอบ 16ตัวอย่างที่ 1 จังหวัดตราด ..... 30
ภาพประกอบ 17ตัวอย่างที่ 1 จังหวัดจันทบุรี ..... 31
ภาพประกอบ 18 Barplot Sample Phylum A-B (Phylum) ..... 33
ภาพประกอบ 19 Barplot Sample Genus A-B (Genus) ..... 34
ภาพประกอบ 20 OUT Venn plot ..... 34

ภาพประกอบ 21 Box plot of beta diversity ..... 35

ภาพประกอบ 22 KEGG Pathway Heatman ..... 35

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ที่มาและความสำคัญ

มลพิษสิ่งแวดล้อมหรือmicroplastic pollutionเป็นปัญหาสำคัญในปัจจุบันทางสิ่งแวดล้อมทั่วโลกที่หลายคนต้องตระหนักถึงเพราะขยะพลาสติกที่เปลี่ยนไปเป็นขยะไมโครพลาสติก ทำให้ปนเปื้อนในธรรมชาติและมีผลต่อมนุษย์รวมถึงสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ มากมาย มีรายงานว่าตลอด 5 ปีที่ผ่านมา พบไมโครพลาสติกในกระเพาะสัตว์น้ำมากขึ้น เช่น ปูม้า ซึ่งจะเห็นได้ว่าสัตว์ชนิดดังกล่าวเป็นอาหารสำหรับมนุษย์และเป็นสัตว์เศรษฐกิจมีอิทธิพลต่อประเทศไทยโดย พ.ศ. 2553 มีการผลิตมากถึง สองหมื่นกว่าตัน อยู่ในลำดับที่ 4 ของโลก หลังจีน ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2562) รวมไปถึงเป็นแหล่งโปรตีนของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ อย่างมาก มลพิษทางมหาสมุทรกำลังคุกคามความมากชนิดทางชีวภาพ และเป็นอันตรายต่อชีวิตสัตว์ทางทะเล ซึ่งจะส่งผลสะท้อนถึงพฤติกรรมต่อสัตว์ทะเล โดยผลมาจากการผลิตพลาสติกที่เยอะมากขึ้นรวมถึงการขจัดของเสียที่ไม่ถูกวิธี เราจึงต้องตระหนักอย่างมากที่จะแก้ไขก่อนจะสายเกินไป

ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีถึงปริมาณขยะพลาสติกที่เพิ่มมากขึ้นและยังพบเม็ดพลาสติกที่มีรูปร่างหรือขนาดต่ำกว่า 5 มิลลิเมตร หรือมีขนาดอยู่ระหว่าง 1 นาโนเมตร-5 มิลลิเมตร ซึ่งกล่าวกันว่า microplastic โดย microplastic กลายเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่อันตรายในทะเลโดยก่อผลกระทบต่อระบบนิเวศในทะเลและชายฝั่งทั่วโลกไมโครพลาสติกเหล่านี้มาการแพร่ลงไปในแม่น้ำและไหลลงไปในมหาสมุทร ปัญหาสำคัญ คือ microplastic มีลักษณะที่เล็กมากจนไม่สามารถกรองไหลผ่านจากน้ำได้ ซึ่งปัจจุบันมีแนวโน้มที่จะทำปฏิกิริยากับสิ่งมีชีวิตในทะเล และจุดเหล่านี้เองที่จะย้อนมาสร้างความวุ่นวายให้กับมนุษย์เพราะเมื่อ microplastic ลงสู่มหาสมุทรแล้วสัตว์ทะเลต่าง ๆ ตลอดจน plankton ที่มีขนาดค่อนข้างเล็กล้วนได้รับผลสะท้อนที่เกิดขึ้น

เนื่องด้วย microplastic ค่อนข้างเล็กมาก ส่งผลเสียต่อการรวบรวมและการขจัดรวมไปถึงมีคุณลักษณะที่คงสภาพ ยากต่อการย่อยสลาย หากมีการปล่อยน้ำที่ผ่านการบำบัดน้ำเสียไปสู่สิ่งแวดล้อมจะทำให้ microplastic สามารถปนเปื้อน แพร่ขยาย สั่งสม และค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ง่าย โดยการแพร่ขยายของ microplastic ในสิ่งแวดล้อมทางทะเลพบได้ทั้งในน้ำ ตะกอนดิน รวมไปถึงสิ่งมีชีวิต หากสิ่งมีชีวิตในทะเลกินไมโครพลาสติกเข้าไป จะทำให้เกิดการสะสมในห่วงโซ่อาหาร (Food chain) และสามารถแพร่กระจายไปตามขั้นลำดับของการบริโภคอาหารในระบบ

นิเวศ ซึ่งจะก่อให้เกิดผลอันตรายต่อสุขภาพรวมไปถึงการอาศัยอยู่ของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากมีรายงานเกี่ยวกับผลสะท้อนต่อร่างกายในสัตว์น้ำที่กินไมโครพลาสติกเข้าไป

## 1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาแมคโครหรือ Microplastic ที่อยู่ภายในกระเพาะของปูม้า
2. เพื่อศึกษากลุ่มประชากรแบคทีเรียในปูม้าที่พบและไม่พบแมคโครหรือ Microplastic

## 1.3 สมมติฐาน

การวิจัยครั้งนี้เป็นการสำรวจแมคโครและ microplastic ในปูม้าที่เป็นสัตว์เศรษฐกิจในระบบนิเวศด้านฝั่งตะวันออกของอ่าวไทย เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของแมคโครและไมโครพลาสติก ความเสี่ยงต่อผู้บริโภค การดูดซับโลหะหนักของ Microplastic ที่แน่ชัดศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์และแบคทีเรียที่อยู่ภายในกระเพาะของปูม้าที่มีหรือไม่มี microplastic ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคปูม้า

## 1.4 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เน้นสนใจศึกษาการสำรวจแมคโครและ microplastic ที่อยู่ภายในกระเพาะของปูม้าบริเวณชายฝั่งตะวันออกของอ่าวไทยโดยมีพื้นที่เก็บตัวอย่างทั้งหมด สี่ จังหวัด ดังต่อไปนี้ จังหวัด ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด

## 1.5 ตัวแปรที่เกี่ยวข้อง

1. ปูม้าที่มีหรือไม่มีแมคโครและไมโครพลาสติก
2. การนำตัวอย่างมาวิเคราะห์โดยตรงและการนำตัวอย่างวิเคราะห์บนกระดาษกรอง

## 1.6 ประโยชน์ที่ได้รับ

1. เรียนรู้ถึงการปนเปื้อนจาก Microplastic ที่พบในกระเพาะของปูม้า
2. เรียนรู้ถึงการปนเปื้อนของสารพิษใน Microplastic
3. ทราบถึงความเสี่ยงจากแมคโครและ Microplastic จากการบริโภคอาหารทะเล
4. ทราบถึงแหล่งพื้นที่ที่มีความเสี่ยงของสารเคมีและไมโครพลาสติก
5. ทราบถึงกลุ่มประชากรของแบคทีเรียที่แตกต่างกันระหว่างปูม้าที่พบแมคโครพลาสติกและที่ไม่พบแมคโครพลาสติก

**1.7 คำนิยามศัพท์เฉพาะ**

1. พลาสติก (Plastic) คือสารที่สามารถทำให้เป็นรูปร่างลักษณะต่าง ๆ ด้วยอุณหภูมิสูง เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่โมเลกุลมีขนาดใหญ่มาก ผลิตขึ้นมาใช้แทนโลหะและสามารถเป็นหีบห่อ (packaging material) มีคุณลักษณะ ค่อนข้างเสถียร ยากต่อการสลายตัว มีน้ำหนักหรือ mole น้อย เป็นกำบังความร้อนและสามารถนำไฟฟ้าได้ ปกติจะค่อนข้างอ่อนมากและหลอมละลายได้ หากได้รับอุณหภูมิสูง จะสามารถเปลี่ยนลักษณะต่าง ๆ ตามที่ต้องการ นอกจากนี้พลาสติกยังมีข้อดีกว่าโลหะ คือไม่เกิดสนิมและมีน้ำหนักเบา ส่วนข้อเสีย คือสลายตัวได้ยากในธรรมชาติซึ่งเป็นเหตุผลหลักของปัญหามลภาวะและสิ่งแวดล้อม แบ่งพลาสติกเป็น 2 ประเภท

1.1 เทอร์โมพลาสติก (Thermo plastic) เป็น plastic ที่เมื่อเจออุณหภูมิที่สูงจะอ่อนตัวและเมื่ออุณหภูมิต่ำลงจะแข็งตัว สามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะได้ มีโครงสร้าง Molecules เป็น chain โดยจะเชื่อมต่อระหว่างpolymer chain ค่อนข้างน้อย ดังนั้นเทอร์มอพลาสติก ซึ่งสามารถหลอมละลายและเมื่อผ่าน compression ที่สูงจะไม่มีผล structure เดิม

1.2 เทอร์โมเซตพลาสติก (Thermoset plastic) คือพลาสติกที่คงอยู่ในลักษณะเดิมหลังจากโดนอุณหภูมิที่สูง เมื่ออุณหภูมิต่ำลงจะค่อนข้างแข็ง ทน extreme heat และ pressure ไม่หุบตัวและเปลี่ยนลักษณะไม่ได้ พลาสติกชนิดนี้ Molecules จะเชื่อมต่อเป็น gauze ติดแน่น แรงยึดเหนี่ยวระหว่าง Molecules ทนทาน ซึ่งจะนำมาละลายไม่ได้

2. Microplastics คือพลาสติกที่มีลักษณะค่อนข้างเล็ก โดยหากเป็นวงกลมจะมีลักษณะเล็กกว่า 5 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นผลการผุผังและกัดกร่อนของขยะจำพวกพลาสติกขนาดใหญ่หรือมาจาก plastics ที่สร้างมาเพื่อใช้งานในรูปแบบเล็กๆ ให้สามารถใช้กับความต้องการการใช้งาน นิยมใช้ชรูปร่างลักษณะทรงรี ทรงกลม หรือมีรูปร่างลักษณะที่ไม่สามารถระบุได้ โดย Microplastic แบ่งออกเป็น 2 ประเภท

2.1 Primary microplastics คือ Microplastic ประเภทนี้เป็นพลาสติกขนาดเล็ก ๆ ซึ่งมีการผลิตขึ้นโดยโรงงานจากความต้องการในการใช้ เช่น พวก microbeads ลักษณะเป็นเล็กๆ กลม ๆ ค่อนข้างเล็กมากในเจลล้างหน้า เครื่องสำอาง scrubขัดผิว หรือยาสีฟัน โดยทั่วไปผลิตจากโพลีเอทิลีน (Polyethylene) และได้มีงานวิจัยหนึ่งแจ้งว่าสิบห้าถึงสามสิบเปอร์เซ็นต์ของ plastics เหล่านี้ มาจาก Primary Microplastics และ สองส่วนสาม ของ Microplastic ได้จากใยสังเคราะห์จากการทำความสะอาดผ้า หรือจากการขับขี่ที่มีการหลุดของชิ้นส่วนของล้อยาง ซึ่งเมื่อถูกชำระล้างด้วยน้ำหรือน้ำฝนแล้วไหลไปรวมกันตามแม่น้ำลำคลอง

2.2 Secondary Microplastic เป็น Microplastics ได้มาจาก plastic ที่มีค่อนข้างใหญ่ แล้วแตกหักหรือผุพังจนกลายเป็นชิ้นเล็ก ๆ ทำให้ Microplastics ประเภทนี้มีรูปร่างที่หลากหลาย(สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2557)

3. ปูม้า (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Portunus pelagicus*) เรียกได้ว่าเป็นปูม้าที่อาศัยอยู่ในทะเลชนิดหนึ่ง โดยเจอเก้าสิบชนิดทั่วโลกและพบเจอบริเวณน่านน้ำไทยราว สิบเก้า ชนิด เป็นทรัพยากรสัตว์น้ำที่มีคุณค่าและสำคัญต่อเศรษฐกิจของไทย แต่ปัจจุบันปูม้าที่อาศัยตามธรรมชาติมีจำนวนลดลง สาเหตุหลักมาจากการทำประมงด้วยเครื่องมือในการจับปูม้า ทำให้ปูม้าตามธรรมชาติไม่สามารถเกิดทดแทนได้ทัน ลักษณะทั่วไปจำแนกออกเป็น 3 ส่วนใหญ่ คือ บริเวณตัว ส่วนอก และบริเวณท้อง บริเวณหัวและอกจะชิดกัน กระดองหุ้มอยู่บทางด้านบน ส่วนด้านข้างทั้ง2ของกระดองเป็นรอยหยักๆสเมือนฟันเลื่อยเป็นหนามแหลมด้านละเก้าอัน มีขาทั้งหมดห้าคู่ด้วยกัน คู่แรกเปลี่ยนแปลงไปเป็นก้ามใหญ่จะใช้ในการปกป้องตัวเองและหยิบจับจำพวกอาหาร ขาคู่ที่ สอง, สาม และ สี่ มีขนาดค่อนข้างเล็กปลายมีความแหลมสามารถเป็นขาเดิน ขาคู่สุดท้ายตอนท้ายมีรูปร่างเป็นใบพายออกแบบมาให้สามารถว่ายน้ำได้ ความยาวและความก้าวของกระดองมีโอกาสโตเต็มที่ได้ประมาณ 15–20 เซนติเมตร ปูม้าคือสัตว์เศรษฐกิจที่หน่วยงานภาครัฐและกรมประมงทำการเพาะขยายแพร่พันธุ์ในจุดเลี้ยงและสนับสนุนให้เกษตรกรของไทยเลี้ยงในเชิงประกอบอาชีพค้าขายหรือทางพาณิชย์ (ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งระยอง, 2564)

4. เทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรดสเปคโตรสโคปี คือเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาหมู่ฟังก์ชั่นของ molecules นิยมใช้ทดสอบ organic matter ใช้ได้ดีกับสารตัวอย่างที่มีความสะอาดสูงโดยสามารถอยู่ในลักษณะของแข็ง ของเหลว หรือแก๊ส ซึ่งเป็นวิธีการกระตุ้นสารด้วยพลังงานแสง เมื่อแสง infrared ที่มีความยาวคลื่นต่าง ๆ ผ่านสู่ organic matter พันธะเคมีในโมเลกุลของสารจะดูดกลืนพลังงานที่มีค่าความยาวคลื่น โดยข้อมูลจะถูกนำมาวิเคราะห์ผลโดย computer ซึ่งจะคำนวณพลังงานของความยาวคลื่นแต่ละอัน กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการส่องผ่านของแสงกับเลขคลื่นโดยจะแปลผลออกมาเป็นสเปกตรัม (มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา, 2556)

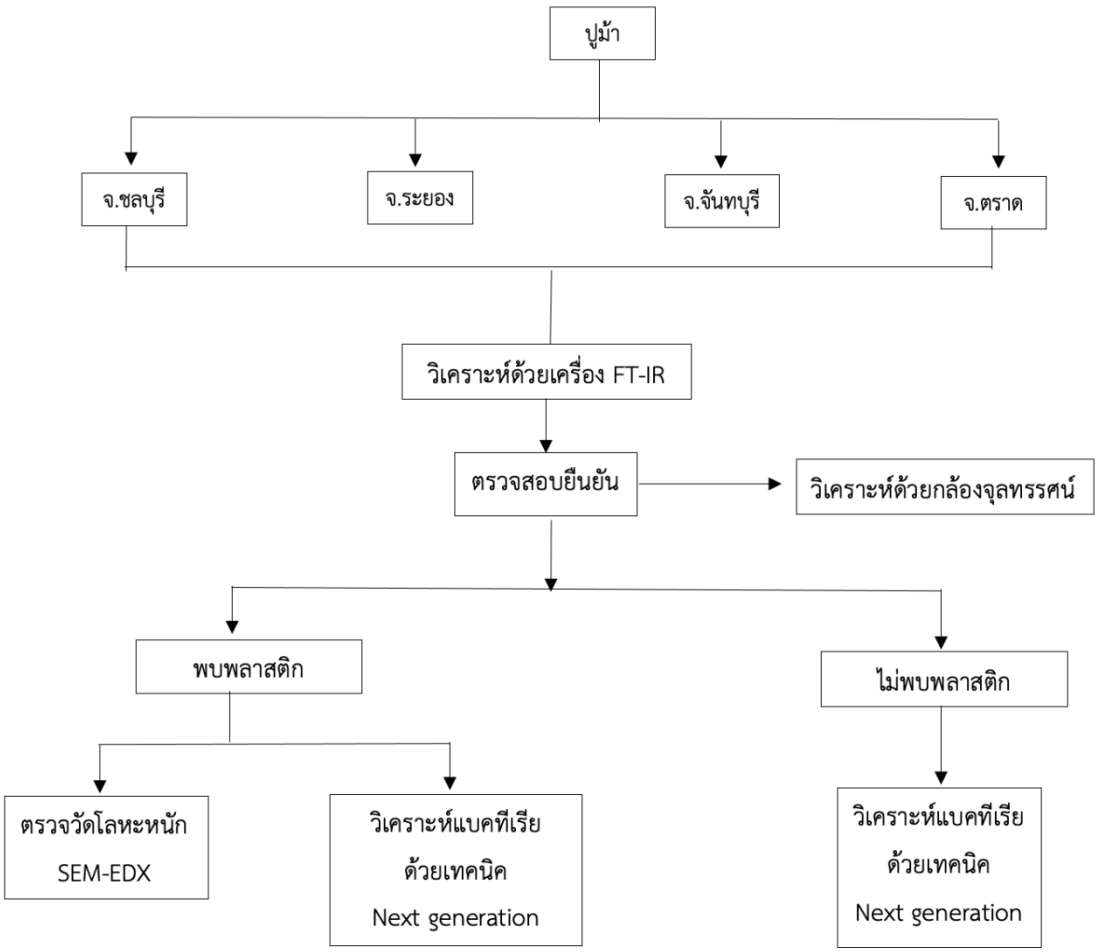
5. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM and EDX Scanning Electron Microscope (SEM) เป็นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดมีกำลังขยายสูงในระดับนาโนเมตร ภาพที่ได้จากเครื่อง SEM จะแสดงให้เห็นเป็นภาพ 3 มิติ ทำให้เครื่อง SEM สามารถใช้ศึกษารูปพรรณสัณฐานและรายละเอียดของลักษณะพื้นผิวของตัวอย่าง (ส. มหาวิทยาลัยมหิดล, 2562)

Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX) เป็นเครื่องที่นิยมติดกับเครื่อง SEM สามารถวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ เพื่อให้ทราบถึงธาตุหรือส่วนประกอบต่าง ๆ ในตัวอย่างและสามารถวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ โดยที่แสดงออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักของธาตุให้ทราบถึงองค์ประกอบของธาตุที่ประกอบอยู่ในตัวอย่าง (กิจชัยนุกูล, 2547)

6. เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) เป็นเทคนิคสำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA) โดยอาศัยหลักการ ดีเอ็นเอ Replication ซึ่งเป็นการ synthetic สารพันธุกรรม (DNA) สายใหม่จากสารพันธุกรรม (DNA) ต้นแบบในหลอดทดลองในช่วงระยะเวลาอันรวดเร็วและได้สารพันธุกรรม (DNA) สายใหม่เป็นล้านๆเท่าที่เกิดขึ้นมา เป็นนวัตกรรมที่มีความสำคัญอย่างยิ่งด้านงานด้านอณูชีวโมเลกุล เช่น Gene cloning หรือการนำปริมาณสารพันธุกรรม (DNA) ที่เพิ่มขึ้นไปวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยเทคนิคอื่น ๆ เป็นต้น (อพิสรา, 2558)

7. Deoxyribonucleic (DNA) เป็นสารพันธุกรรมทำหน้าที่ควบคุมและถ่ายทอดลักษณะต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตโดยสารพันธุกรรม (DNA) จะรวมด้วยหน่วยย่อยพื้นฐานที่เรียกว่า nucleotide เป็นชุดโมเลกุลฟอสเฟต น้ำตาลเพนโตส และสารเคมีที่มีสมบัติเป็นเบส 1 ตัว มี 4 ชนิดคือ อะดีนีน (A), กวานีน (G), ไซโตซิน (C) และ ไทน์มีน (T) ((สสวท.), 2565)

## 1.8 กรอบแนวคิดงานวิจัย




ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดงานวิจัย

# บทที่ 2
# เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาและวิจัยในครั้งนี้นิสิตผู้วิจัยมีการค้นคว้า รวบรวมข้อมูล จากสื่อออนไลน์และบทความทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย โดยได้ทำการวิจัยศึกษาค้นคว้าวิจัยต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

## 2.1 **คำจำกัดความของสิ่งแวดล้อม** (Environment)

คำจำกัดความของสิ่งแวดล้อม มีผู้วางคำจำกัดความของEnvironment ไว้ ซึ่งมีความหมายที่กว้างมากและคำจัดกัดความที่เป็นทางการ ดังต่อไปนี้ พจนานุกรม ฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ.2542 พระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ.2535 ให้คำจำกัดความคำว่า Environment คือ สิ่งต่าง ๆ ที่มีลักษณะทางกายภาพและชีวภาพที่อยู่รอบตัวมนุษย์ ซึ่งเกิดขึ้นโดยธรรมชาติและสิ่งที่มนุษย์ได้ทำขึ้น ทางวิชาการให้คำจำกัดความคำว่า Environment คือ ทุกสิ่งทุกอย่างที่สามารถอยู่รายล้อมมนุษย์ มีทั้งสิ่งที่มีชีวิตและสิ่งที่ไม่มีชีวิต และที่ไม่สามารถมัมผัสได้และสิ่งที่สามารถจับต้องได้ รวมถึงสิ่งที่สร้างเองตามธรรมชาติและสิ่งที่มนุษย์คิดค้นมาใหม่ มีอิทธิพลเกี่ยวโยงถึงกันเป็นหลักในการพึงพาซึ่งกัน ผลสะท้อนจากปัจจัยหนึ่งมีส่วนทำลายปัจจัยอื่นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ เป็นวงโคจรหรือวัฏจักรที่เกี่ยวเนื่องกันทั้งหมด

โดยทั่วไปให้คำจำกัดความคำว่า สิ่ง Environment คือ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มีความสำคัญและจำเป็นต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตเพราะสามารถอำนวยประโยชน์ในทุก ๆ ด้าน อาทิ เช่น เป็นที่อยู่อาศัย เป็นเสื้อผ้าที่เราใส่ ใช้ทำอาหารและเป็นยารักษาโรค

## 2.2 **ความรู้ทั่วไปของปูม้า (ชื่อวิทยาศาสตร์**: *Portunus pelagicus*)

ปูม้า (อังกฤษ: Flower crab, Blue crab, Blue swimmer crab, Blue manna crab, Sand crab; ชื่อวิทยาศาสตร์: *Portunus pelagicus*) จัดเป็นปูที่อาศัยอยู่ในทะเลชนิดหนึ่งที่อยู่ในสกุล *Portunus* ซึ่งพบทั้งหมด 90 ชนิดทั่วโลกและพบในน่านน้ำไทยราว 19 ชนิด ลักษณะทั่วไปแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนตัว อก และท้อง ส่วนหัวและอกจะอยู่ติดกัน มีกระดองหุ้มอยู่ตอนบน ทางด้านข้างทั้งสองของกระดองจะเป็นรอยหยักคล้ายฟันเลื่อยเป็นหนามแหลมข้างละ 9 อัน ขามีทั้งหมด 5 คู่ด้วยกัน คู่แรกเปลี่ยนแปลงไปเป็นก้ามใหญ่เพื่อใช้ป้องกันตัวและจับอาหาร ขาคู่ที่ 2, 3 และ 4 จะมีขนาดเล็กปลายแหลมใช้เป็นขาเดินขาคู่สุดท้ายตอนปลายมีลักษณะเป็นใบพายใช้ในการว่ายน้ำ ขนาดกระดองสามารถโตเต็มที่ได้ราว 15-20 เซนติเมตร เซนติเมตร ซึ่งปูม้าโดยทั่วไปมี

อายุขัยเฉลี่ย 3 หรือ 4 ปีอัตราการเจริญเติบโตขึ้นอยู่กับอุณหภูมิน้ำทะเล หากมีอุณหภูมิที่อุ่นจะเจริญเติบโตได้มากกว่า การขยายพันธุ์สำหรับปูม้าในประเทศไทยสามารถพบได้แทบทุกจังหวัดทั้งฝั่งทะเลอันดามันและอ่าวไทย มักจะอาศัยอยู่บริเวณปากแม่น้ำและแถบชายฝั่งทะเล การขยายพันธุ์ปูม้าตัวผู้และตัวเมียมีลักษณะแตกต่างกันที่จับปิ้งและสี ตัวผู้มีก้ามยาวเรียวกว่า มีสีฟ้าอ่อนและมีจุดขาวตกกระทั่วไปบนกระดองและก้าม พื้นท้องเป็นสีขาว ตัวเมียจะมีก้ามสั้นกว่ากระดองและก้ามมีสีฟ้าอมน้ำตาลอ่อนและมีจุดขาวประทั่วไปทั้งกระดองและก้าม

ปูม้า คือ สัตว์น้ำที่มีคุณค่าและมีบทบาทสำคัญอย่างมากในด้านเศรษฐกิจของประเทศไทยและเป็นสัตว์น้ำทีมีมูลค่าสูงที่สุด จึงเห็นได้ว่าปูม้าเป็นอาหารทะเลที่มีราคาแพง และยังมีรสชาติเป็นที่นิยมของผู้บริโภคเป็นอย่างมาก แต่ปัจจุบันปูม้าในธรรมชาติมีจำนวนลดลง สาเหตุหลักจากการทำประมงด้วยเครื่องมือในการจับปูม้า ทำให้ปูม้าในธรรมชาติลดลงและไม่สามารถเกิดใหม่ได้ทันที สำหรับข้อมูลทางด้านเศรษฐกิจข้อมูลในการส่งออกในช่วงเดือนธันวาคมปี พ.ศ. 2561–มกราคม พ.ศ. 2562 ประเทศไทยมีการส่งออกปูม้ากว่า 78 ตันเป็นมูลค่า 50 ล้านบาทในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561 และ 61 ตันเป็นมูลค่า 36 ล้านบาทในเดือนมกราคม พ.ศ. 2562 มีการส่งออกปูม้าไปประเทศออสเตรเลีย แคนนาดา ฮ่องกง ไต้หวัน เกาหลีใต้ และสหรัฐอเมริกา ทำให้ประเทศไทยมีรายได้จากการส่งออกปูม้าไปต่างประเทศต่าง ๆ มีมูลค่าที่สูง (รายงานการค้าสินค้าประมงของไทย. 2562: ออนไลน์) เกิดการขับเคลื่อนทางด้านเศรษฐกิจไทยได้อย่างเป็นรูปธรรมแต่ในปัจจุบันปูม้ามีแนวโน้มลดลง ผลมาจากปริมาณปูม้าตามท้องทะเลมีการลดลง เพราะถูกจับโดยชาวประมงที่ใช้เครื่องมือจับเอาแม่ปูไปขายก่อน อย่างไรก็ตาม ปูม้าเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่สามารถเติบโตให้กลับมาอุดมสมบูรณ์ได้ ถ้าชาวประมงมุ่งมาทำการประมงที่เหมาะสม โดยการทำประมงปูม้าที่มีขนาดใหญ่และไม่จับปูม้าที่มีไข่แก่นนอกกระดอง แต่ในปัจจุบันมีอีกวิธีหนึ่งที่กรมประมงร่วมมือกับชาวประมงพื้นบ้าน คือการทำธนาคารปูไข่ โดยนำปูม้าชนิดไข่แก่นนอกกระดองมาพักในกระชังเพื่อให้ไข่ฟักออกเป็นลูกปูแล้วจึงปล่อยออกสู่ธรรมชาติ (ลีรักษาเกียรติ, 2561)

ภาพประกอบ 2 ปูม้า (1)

2.2.1 ประโยชน์ของปูม้า

1. มีโปรตีนสูง แคลเซียม ไขมันต่ำ มีกรดไขมันOmega 3 และ EPA ที่ร่างกายจำเป็น อีกทั้งยังสามารถต้านมะเร็งได้

2. ปูม้าสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลาย เช่น เปลือกปูนำไปทำปุ๋ยที่มาจากปู หรือสกัดสารchitosanและchitin เป็นสารที่มีประโยชน์หลากหลาย เช่น ทางสิ่งแวดล้อมใช้บำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ โรงงานฆ่าสัตว์ โรงงานผลิตภัณฑ์นม และโรงงานผลิตเครื่องสำอางที่มีปริมาณอินทรีย์สารและโลหะหนัก เช่น ทองแดง นิกเกิล สังกะสี โครเมียม และเหล็ก โปรตีนที่มีตะกอนนอนก้นสามารถนำกลับมาใช้เป็นวัสดุ ให้ microorganism ในบ่อบำบัดน้ำเสียหรือในบ่อกุ้งเกาะใช้เป็นที่อยู่อาศัยและมีผลรับที่ดีในการทำงานมากขึ้น

3. ใช้ในการกำจัดเชื้อราซึ่งทำให้เกิด Pythium roort rotในพืชตระกูลถั่วหลายชนิด แก้ไขคุณภาพดิน ขยายพันธุ์ดอกของกล้วยไม้ สร้างfood chianในบ่อปู สามารถนำไปช่วยรักษาอายุของผลผลิตทางเกษตร เช่น มังคุด มะม่วง สตรอเบอรี่ และฝรั่ง ใช้เป็นองค์ประกอบของอาหารบำรุงสุขภาพ เพื่อช่วยลดคอเลสเตอรอล นำมาใช้ในทำให้ตะกอนนอนก้นของไวน์แดงและไวน์ขาว ทำเป็นฟิล์มสำหรับเคลือบอาหารช่วยในการลดจำนวนแบคทีเรียและรักษาอายุในการเก็บให้ยาวนานขึ้น (SUPA INTERFOOD CO., 2563)

2.2.2 การแพร่กระจาย

ปูม้ามีการแพร่กระจายทั่วไปในพื้นที่เขตร้อนบริเวณแนวชายฝั่ง ในประเทศไทยพบปูม้าแพร่กระจายทั้งชายฝั่งทะเลอันดามันและชายฝั่งทะเลอ่าวไทย ปูม้าอาศัยอยู่บริเวณพื้นทรายหรือทรายปนโคลน โดยทั่วไปพบที่ระดับความลึก 10-50 เมตร บริเวณน้ำขึ้นน้ำลงหรือแหล่งน้ำกร่อย บริเวณชายฝั่งและปากแม่น้ำที่ระดับความเค็มระหว่าง 28-30 เมตร การแพร่กระจายของปูม้าขึ้นอยู่กับระยะการเติบโตในวงจรชีวิตของปูม้า ดังนั้นปูม้าขนาดตัวเล็กส่วนใหญ่จะอาศัยอยู่บริเวณใกล้ฝั่ง เนื่องจากมีปริมาณอาหารสำหรับตัวอ่อนเยอะในบริเวณชายฝั่งและชอบอาศัยอยู่แนวหญ้าทะเล เพราะเป็นพื้นดินทรายง่ายต่อการพรางตัวโดยการฝังทรายในตอนกลางวัน มีใบหญ้าทะเลและซอกต่าง ๆ เพื่อหลีกหนีผู้ล่า และในตอนที่ขนาดโตขึ้น ปูม้าจะเคลื่อนย้ายไปอาศัยในบริเวณใกล้ฝั่งมากขึ้น เพราะต้องการความเค็มเพื่อสร้างกระดองและลอกคราบ รวมถึงปูม้าเพศเมียจะอพยพ เพื่อวางไข่ในพื้นที่ห่างจากฝั่ง ไปยังแหล่งที่มีความเค็มเหมาะสมต่อการฝักตัวของไข่ (นิลรัตน์และคณะ, 2562)

ภาพประกอบ 3 ปูม้า (2)

**2.3 เทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)**

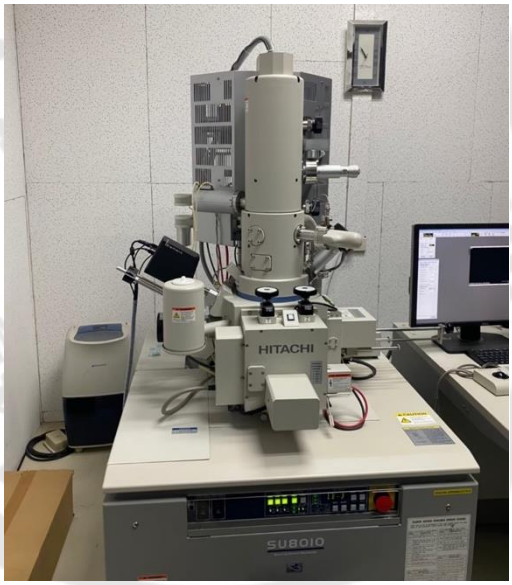
เทคนิคการวิเคราะห์โดยฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy: FT-IR) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาหมู่ function ของ Molecules นิยมใช้ในการทดสอบสารอินทรีย์ โดยจะวิเคราะห์ค่อนข้างดีมากกับสารตัวอย่างที่มีความสะอาดบริสุทธิ์สูงทั้งที่อยู่ในลักษณะของแข็ง ของเหลว และแก๊ส ซึ่งเป็นวิธีการกระตุ้นสารด้วยพลังงานแสง เมื่อแสงอินฟาเรดที่มีความยาวคลื่นต่าง ๆ ผ่านสู่สารอินทรีย์ พันธะเคมีใน Molecules ของสารจะดูดกลืนพลังงานที่มีค่าความยาวคลื่นหนึ่ง ข้อมูลจึงจะถูกวิเคราะห์ผลโดยคอมพิวเตอร์ ซึ่งจะคำนวณพลังงานของความยาวคลื่นและแปลผลออกมาเป็น spectrum (อนุชิต โอฬาร, 2546)

*ภาพประกอบ 4 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)*

**2.4 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน** SEM and EDX Scanning Electron Microscope (SEM) and Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่มีกำลังขยายสูงในระดับนาโนเมตร ภาพที่ได้จากเครื่อง SEM จะแสดงให้เห็นเป็นภาพ 3 มิติ ทำให้เครื่อง SEM นำมาใช้ในการศึกษารูปพรรณสัณฐานและรายละเอียดของลักษณะพื้นผิวของตัวอย่าง (ส. มหาวิทยาลัยมหิดล, 2562)

Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX) เป็นเครื่องที่นิยมติดกับเครื่อง SEM สามารถวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ เพื่อให้ทราบถึงธาตุหรือส่วนประกอบต่าง ๆ ในตัวอย่างและสามารถวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ โดยที่แสดงออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักของธาตุให้ทราบถึงองค์ประกอบของธาตุ ๆ ที่ประกอบอยู่ในตัวอย่าง (กิจชัยนุกูล, 2547)




ภาพประกอบ 5 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM and EDX Scanning Electron Microscope (SEM) Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX)

**2.5 เครื่องมือฉาบผิวตัวอย่างด้วยโลหะหนัก (Sputter Coater)**

ใช้ปรับสภาพตัวอย่างให้นำไฟฟ้าโดยใช้ไอออนของโลหะหนักฉาบบนผิวตัวอย่าง สำหรับใช้งานกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ค. มหาวิทยาลัยมหิดล, 2565)

ภาพประกอบ 6 เครื่องมือฉาบผิวตัวอย่างด้วยโลหะหนัก (Sputter Coater)

**2.6 เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)**

เทคนิคนี้ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยอาศัยหลักการ DNA Replication ซึ่งเป็นการ synthetic สารพันธุกรรมสายใหม่จากสารพันธุกรรมต้นแบบในหลอดทดลองภายในระยะเวลารวดเร็วและได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้นเป็นล้านๆเท่า เทคโนโลยีที่มีความสำคัญต่องานด้านอณูชีวโมเลกุล เช่น การเพิ่มปริมาณยีน (Gene cloning) หรือการนำปริมาณ DNA ที่เพิ่มขึ้นไปวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยเทคนิคอื่น ๆ เป็นต้น (สสวท, 2565)

ภาพประกอบ 7 Polymerase Chain Reaction (PCR)

## 2.7 กล้องจุลทรรศน์

กล้องจุลทรรศน์เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจขยายวัตถุหรือสิ่งมีชีวิตลักษณะเล็กที่มนุษย์ไม่สามารถดูได้ชัดเจนด้วยตาของมนุษย์ เช่น เครื่องประดับ จุลินทรีย์ เซลล์เม็ดเลือด หรือพยาธิชนิดต่าง ๆ โดยกล้องจุลทรรศน์สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก ๆ คือกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์แบบอิเล็กตรอน แต่ละประเภทจะมีส่วนประกอบที่สำคัญ คือตัวกล้อง ส่วนรับแสงแบบกระจกหลอดไฟ ปุ่มปรับภาพและเลนส์ที่ทำหน้าที่ขยายวัตถุ หากต้องการใช้กล้องจุลทรรศน์ที่ดี ต้องเลือกกล้องที่ประสิทธิภาพเหมาะสมกับการใช้งาน เพื่อที่จะสามารถปรับโฟกัสการขยายวัตถุให้มองเห็นผ่านเลนส์ได้อย่างละเอียดและแม่นยำที่สุด และในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ใช้กล้องจุลทรรศน์ รุ่น Labomed microscope Lx400 ในการยืนยันผลการวิเคราะห์ของเครื่อง FT-IR ซึ่งมีกำลังขยายขนาด 10X มีค่า N.A. 0.25 มีค่า Working Distance ไม่น้อยกว่า 5.00 มม. (dungjainang, 2564)

ภาพประกอบ 8 กล้องจุลทรรศน์

ที่มา: www.microscope.in.th/product/lx-400

## 2.8 ซอฟแวร์โปรแกรม Motic image Plus 3.0

โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับแสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์บนหน้าจอคอมพิวเตอร์ผ่านชุดถ่ายทอดสัญญาณ Moticam แบบ Real time สามารถใช้งานเพื่อการปรับแต่งภาพ วัดขนาด ถ่ายภาพนิ่งและวิดีโอสามารถใช้งานได้ 2 โหมด คือโหมดการดูภาพแบบ Real time และโหมดการเรียกดูจากคลังรูปภาพ (SARAMAS, 2018)

ภาพประกอบ 9 ซอฟต์แวร์โปรแกรม Motic image Plus 3.0

**2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

Christina J., Malcolm D., Andrea E. (2019) ได้ทำการศึกษาการพัฒนาการโดยวิเคราะห์ไมโครพลาสติกในเนื้อเยื่อหอยสองฝา (หอยนางรม) โดยการใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ในอุณหภูมิ 40 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าอัตราการฟื้นตัวของอนุภาคไมโครพลาสติกจากเนื้อเยื่อหอยนางรมหลังครบ 48 ชั่วโมง ที่ Potassium hydroxide solution 10 % concentration มีอัตราการฟื้นตัวเท่ากับ 80±8.2% และพบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพการย่อยเนื้อเยื่อหอยสองฝาได้ดีกว่า อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และหลังการย่อยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าโพลิเมอร์กึ่งสังเคราะห์บางชนิดถูกย่อยสลายไป จึงสรุปได้ว่า Potassium hydroxide solution 10 % concentration เป็นเทคนิคการย่อยที่เหมาะสมสำหรับเนื้อเยื่อหอยสองฝา โดยอุณหภูมิในการย่อยมีความสำคัญและมีผลต่อโพลิเมอร์กึ่งสังเคราะห์ เช่น เรยอน โดยอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า พบว่ามีผลลัพธ์ที่สม่ำเสมอ อีกทั้งการใช้Potassium hydroxide solution ในการย่อยเป็นวิธีที่ประหยัดและใช้เวลาน้อยที่สุด อีกทั้งความเป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์ใกล้เคียงหรือน้อยกว่ารีเอนเจนต์ตัวอื่น ๆ

นางสาวธิติสุดา ณ สงขลา. (2020) ได้ทำการวิจัยการปนเปื้อนของ microplastics ในทางเดินอาหารของสัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชียนโดยมีตัวแปรที่เกี่ยวข้อง คือการสกัดแบบกรองและไม่กรอง ผลการศึกษาพบว่าวิธีวิเคราะห์หาไมโครพลาสติกทั้งสองแบบพบว่าการวิเคราะห์แบบกระดาษกรองพบไมโครพลาสติกน้อยกว่าการวิเคราะห์แบบหยดโดยตรง เนื่องจากการกรองผ่านกระดาษกรอง เมื่อมีพลาสติกขนาดเล็กกว่ารูกรองอาจทำให้รอดผ่านกระดาษกรองได้ เมื่อนำไปวิเคราะห์จึงไม่พบชนิดของพลาสติก สิ่งที่น่าสนใจในการทำการสำรวจไมโครพลาสติกในสัตว์ทะเล

กลุ่มครัสเตเชียนในครั้งนี้ คือการพบชนิดของ microplastics ที่ปนเปื้อนอยู่ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชียน เนื่องจากสัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชียนเป็นสัตว์ที่อยู่ในห่วงโซ่อาหารของมนุษย์ โดยสัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชียนกลุ่มที่สามารถรับประทานได้พบไมโครพลาสติกจำนวนมาก มนุษย์จึงควรเฝ้าระวังหรือหลีกเลี่ยงการบริโภคสัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชียนที่อาจถ่ายทอดสู่มนุษย์ผ่านห่วงโซ่อาหารและเมื่อมีการสะสมปริมาณมากอาจทำให้เกิดผลที่ไม่ดีต่อสุขภาพร่างกายของผู้บริโภค

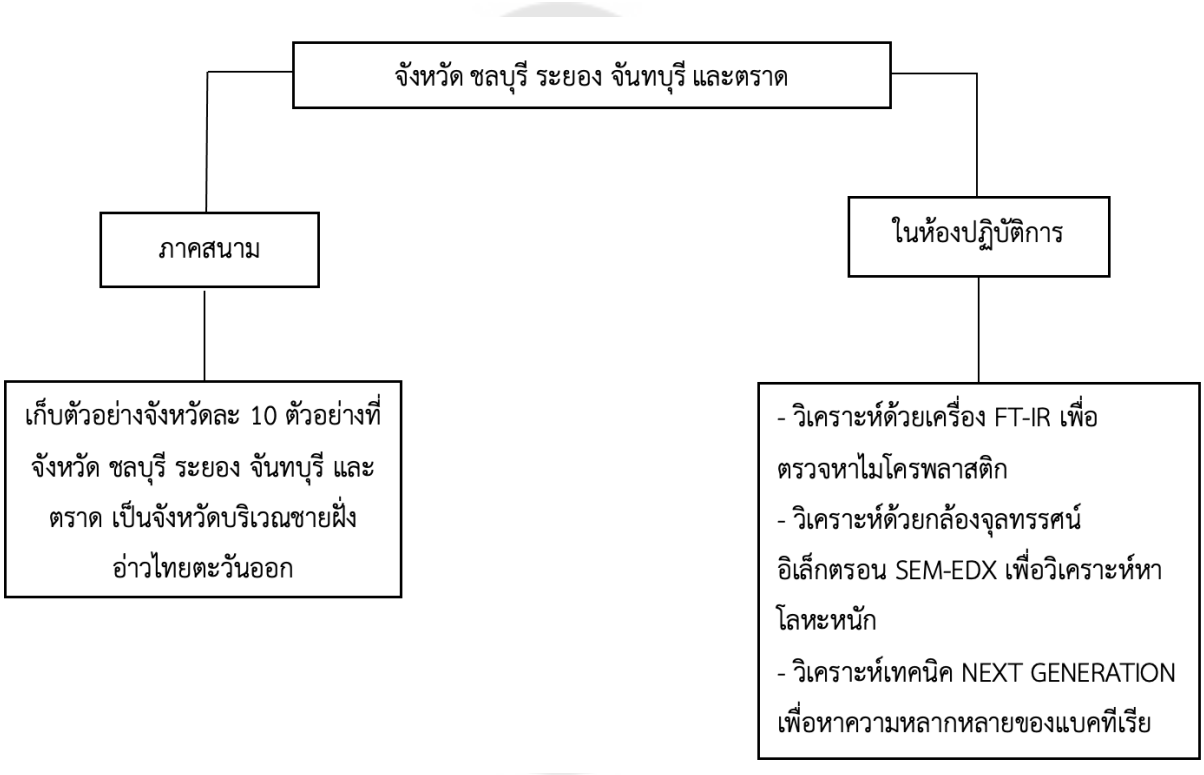
พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์ และคนอื่น ๆ . (2563) ได้ทำการวิจัย microplastics ในสัตว์ทะเลที่มีการบริโภคของมนุษย์เป็นอาหารทั้ง 5 กลุ่ม ได้แก่ หอย กุ้ง ปู หมึก และปลา โดยศึกษาจำนวน ขนาด และคุณลักษณะต่าง ๆ ของ microplastics ผลการวิจัยพบการปนเปื้อนของ microplastics ในสัตว์ทะเลที่คนไทยบริโภคเป็นอาหารทุกกลุ่มไม่ว่าจะเป็นหอย กุ้ง ปู หมึก และปลา โดยกลุ่มหอยพบการปนเปื้อนมากที่สุดและเป็นกลุ่มที่ควรเฝ้าระวังมากที่สุด เนื่องจากการบริโภคหอยที่มักจะบริโภคทั้งตัว ทำให้มีความเสี่ยงสูงต่อสุขภาพของผู้บริโภค ในขณะที่สัตว์กลุ่มอื่น ๆ ก็พบไมโครพลาสติก โดยกลุ่มกุ้งและปูมีขนาดใกล้เคียงกันกลุ่มปลาและหมึกมีปริมาณ microplastics น้อยกว่ากลุ่มอื่น ๆ การกินอาหารทะเลจึงเป็นเส้นทางโดยตรงที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของ microplastics ในมนุษย์ ทั้งนี้พิษของ microplasticsที่ มีต่อมนุษย์เป็นหัวข้อสำคัญที่งานวิจัยทางด้านไมโครพลาสติกที่กำลังทำการศึกษาอย่างกว้างขวางขึ้น อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีข้อมูลพื้นฐานของการปนเปื้อนของ microplastics ในสัตว์ทะเลในพื้นที่นั้น ๆ รวมทั้งการเฝ้าติดตามอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากข้อมูลไมโครพลาสติกมีความผันแปรสูงมาก

คเณศ แฝงศรีคำ และคนอื่น ๆ . (2564) เป็นการศึกษาที่มีวัตถุประสงค์เพื่อการประเมินสารตกค้างของ microplastics ในกระเพาะปูม้าบริเวณนิคมอุสาหกรรมมาบตาพุด อำเภอเมืองระยอง จังหวัดระยอง จุดเก็บตัวอย่างปูม้า 3 จุด ได้แก่ หนองแฟบ แสงจันทร์ และตากวน ช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 ถึงเมษายน พ.ศ. 2563 ผลการวิจัยพบปริมาณสิ่งเจือปนในกระเพาะอาหารของปูม้าเฉลี่ย 5.5 ± 2.3 ชิ้น / ตัว ปริมาณไมโครพลาสติกมีค่าเฉลี่ย 1.1±1.0 ชิ้น / ตัว คิดเป็น 21.5% ของสิ่งปนเปื้อนในงานวิจัยครั้งนี้ สีของ microplastics ที่พบมากที่สุดคือสีน้ำเงิน (31.5%) และสีส้มต่ำสุด (1.7%) microplastics ส่วนใหญ่มีขนาดยาว 0.5 ±0.55 มม. คิดเป็น 56.5% ดังนั้นในการวิจัยนี้พบว่าประมาณ microplastics ในปูม้าที่จับได้ในนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุดปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับ microplastics ที่เจือปนในสัตว์น้ำในประเทศอื่น ๆ

# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการ

กรอบงานวิจัยที่ทำการศึกษา ประกอบไปด้วยสถานที่ที่ทำการศึกษา วิธีการเก็บข้อมูลภาคสนามและทดลองในห้องปฏิบัติการของตัวอย่างปูม้า (*Portunus pelagicus*) ดังภาพ

## 3.1 กรอบงานวิจัย




ภาพประกอบ 10 กรอบการวิจัย

### 3.2 พื้นที่การศึกษา

การวิจัยในครั้งนี้ทำการศึกษาบริเวณจังหวัด ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด ลักษณะภูมิอากาศทั่วไปเป็นมรสุมเขตร้อน ซึ่งสภาพอากาศมีปริมาณฝนตกค่อนข้างมาก โดยจะมีอย่างต่ำประมาณ 3 เดือนมีปริมาณฝนตกน้อยกว่า 62 มิลลิเมตร (2.4 นิ้ว) พื้นที่ที่มีสภาพอากาศแบบนี้ได้แก่ บริเวณภาคตะวันออกบริเวณจังหวัดจันทบุรี และตราด (โครงการชลประทานตราด, 2565; กองพัฒนากรมอุตุนิยมวิทยา, 2563; กองพัฒนาอุตุนิยมวิทยา, 2563; สำนักงานการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดชลบุรี, 2565)

ภาพประกอบ 11 แผนที่ภาพรวมจังหวัด ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด

ที่มา: Google Map

ภาพประกอบ 12 แผนที่จังหวัด ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด

ที่มา: Google Map

## 3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษาในงานวิจัยนี้ มีทั้งการศึกษาภาคสนามและในห้องปฏิบัติการ มีเครื่องมือดังนี้

3.3.1 เครื่องมือที่ใช้ในภาคสนาม

1. Forceps
2. ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
3. กล่องใส่ตัวอย่าง

3.3.2เครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

1. ขวด Vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
2. ไมโครปิเปต ขนาด 20-200 ไมโครลิตร และทิป
3. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 (ขนาด 20-25 ไมครอน)
4. เครื่องชั่งดิจิตอล
5. เครื่องบ่ม
6. เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR)
7. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (SEM-EDX)
8. เครื่อง Polymerase chain reaction (PCR)
9. เครื่อง Hiseq2500 illumina
10. เครื่องปั่นเหวี่ยงเซลล์ (Centrifuge)
11. เครื่องเขย่าสาร (Voltex mixer)
12. กล้องจุลทรรศน์
13. สไลด์แก้วและแผ่นกระจกปิดสไลด์ (cover glass)
14. สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ 10% KOH : 10% H2O2, Isopropanol, 100% Ethanol, Formalin, Dimethyl Sulfoxide

### 3.4 วิธีการศึกษาเก็บตัวอย่างภาคสนามของปูม้า

3.4.1 การเก็บตัวอย่างปูม้า

การเก็บตัวอย่างปูม้าที่จังหวัด ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด โดยการเก็บตัวอย่างจะต้องเตรียมอุปกรณ์ให้พร้อม คือ Forceps ขวด vial ที่เตรียมสาร 10% KOH : 10% $H_2O_2$ ไว้เรียบร้อยแล้ว และขวดเก็บตัวอย่างขนาด 2 มิลลิลิตรเพื่อศึกษาด้วย FT-IR เตรียมสาร Formalin ไว้เรียบร้อยแล้วและกล่องใส่ตัวอย่างเพื่อนำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อเตรียมอุปกรณ์พร้อมแล้วจึงลงพื้นที่ไปเก็บตัวอย่างโดยนำปูม้าใส่กล่อง สำหรับการศึกษาแบคทีเรียและ monofilaments แล้วผ่าเอาเนื้อเยื่อกระเพาะผิวด้านในของปูม้าด้วย forceps และมีดผ่าตัดที่ฆ่าเชื้อใส่ชิ้นส่วนตัวอย่างลงในหลอด 1.5 ml Eppendorf ที่ฆ่าเชื้อด้วย autoclave โดยในหลอด 1.5 ml มี 100% Ethanol บรรจุอยู่ ในกรณีที่ไม่สามารถสกัด DNA ได้ทันที เศษชิ้นส่วนของ monofilaments จะแช่ในIsopropanolวิธีการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

3.4.2 การศึกษาหา microplastics ในปูม้า

1. นำตัวอย่างไปเข้าเครื่องบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน
2. นำตัวอย่างไปตากให้แห้ง
3. นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาไมโครพลาสติกโดยเครื่อง FT-IR แล้วบันทึกผล
4. การวิเคราะห์ตัวอย่างบนกระดาษกรอง จะนำตัวอย่างหยดลงบนกระดาษกรองจากนั้นจะนำกระดาษกรองวางลงบนหัวเพชรของเครื่อง FT-IR เพื่อทำการวิเคราะห์
5. การวิเคราะห์ตัวอย่างโดยตรงซึ่งจะนำตัวอย่างหยดลงหัวเพชรของเครื่อง FT-IR โดยตรงและอ่านผลการวิเคราะห์

3.4.3 ยืนยันผลการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

1. หยด Isopropanol บนสไลด์แก้ว 1 หยด แล้ววางตัวอย่างพลาสติกลงปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์
2. ส่องตัวอย่างด้วยกำลังขยาย x10
3. ใช้ซอฟแวร์โปรแกรม Motic image Plus 3.0 ในการบันทึกภาพ

3.4.5 การศึกษาหาโลหะหนักในปูม้า

1. วิเคราะห์หาโลหะหนักโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ScanningElectron Microscope and Energy Dispersive X-Ray (SEM-EDX)

2. นำชิ้นพลาสติกล้างด้วย Isopropanol 3 ครั้ง

2.1 นำตัวอย่างไปทำให้แห้งด้วย Critical-point drying ที่ 1,200-1,500 Pcal เป็นเวลา 20-30 นาที

2.2 ติดตัวอย่างบน Aluminum SEM stubs ด้วย Conductive carbon adhesive tapes โดยเก็บตัวอย่างไว้ในตู้ดูดความชื้น 1 คืน

2.3 เคลือบ Pt และ Pd บนตัวอย่างด้วย Sputter coater โดยความหนาของ Pt และ Pd ที่เคลือบบนตัวอย่างจะขึ้นกับระยะเวลาในการเคลือบ ซึ่งขึ้นกับกำลังขยายที่ใช้วิเคราะห์ผิวตัวอย่าง

2.4 วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM-EDX

3.4.6 การศึกษาความหลากหลายของ bacteria ในกระเพาะปูม้า

ตรวจสอบหา Diversity of bacteria โดยการใช้ DNA ในเนื้อเยื่อกระเพาะปูม้านำมาวิเคราะห์ การเพิ่มจำนวนของ DNA ด้วยการใช้เทคนิค PCR หรือที่เรียกว่าเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส เพื่อเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมให้มีปริมาณที่เยอะขึ้นและสามารถนำไปวิเคราะห์หาชนิดของแบคทีเรียด้วยเครื่อง Illumina

1. สกัด DNA โดยใช้ DNA Extraction Kit

2. วัดคุณภาพ DNA ด้วยเครื่อง Nano Drop Lite

3. เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยใส่ Primer ตำแหน่ง V1-V3 hypervariable regions ของ 16s rRNA (Hanshew et al. , 2013) การใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสในเครื่อง PCR ตรวจสอบการปนเปื้อนของ DNA อื่น ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องด้วย Gel Eletrophoresis ย้อมแถบ DNA ด้วยสารเรืองแสงและนำไปวิเคราะห์ภายใต้แสง Blue Light

4. สกัด DNA ออกจาก Gel Extraction Kit

5. วัดคุณภาพ PCR Product ด้วยเครื่อง Nano Drop Lite

6. PCR ที่ผ่าน QC ทำ PCR อีกครั้งด้วย Primer 16s rRNA เดิมที่ติดกับ Adapter

7. ทำ PCR Product ให้บริสุทธิ์ด้วย Agencourt AMPure XP beads เพื่อเป็น Library construction

8. วัดคุณภาพ DNA ด้วย Agilent 2100 Bioanalyzer

9. วิเคราะห์ระดับ DNA ทั้งหมด ของ Library ด้วยเครื่อง Hiseq Illumina platform

10. ข้อมูลระดับ DNA ทั้งหมดจะบันทึกในไฟล์สกุล FASTQ format

11. วิเคราะห์ Operational taxanomic unit (OTU) Clustering โดยเทียบกับฐานข้อมูล Bioinformatics และสร้าง Relative Abundance ของ Phylum และ Genus

12. สร้าง Venn Plot และ Beta Diversity ด้วย Software : R(V.3.4.10)

13. วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของ Beta Diversity ด้วยสถิติ T-Test

14. วิเคราะห์ Gene Annotation จาก Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) และสร้าง Heatmap ด้วยโปรแกรม PICRUSt2 v2.3.0-b,(V.3.4.10)

**3.5 ระยะเวลาดำเนินการ**

ระยะเวลาในการศึกษา โดยเริ่มศึกษาในช่วงเดือนกันยายน 2565 - เดือนพฤษภาคม 2566 กิจกรรมการดำเนินการ

ตาราง 1 ระยะเวลาดำเนินการ

| กิจกรรม | ระยะเวลาดำเนินการ | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | พ.ศ 2565 | | | | พ.ศ 2566 | | | | |
| | ก.ย. | ต.ค. | พ.ย. | ธ.ค. | ม.ค. | ก.พ. | มี.ค. | เม.ย. | พ.ค. |
| 1. พบอาจารย์ที่ปรึกษาและออกแบบการทดลอง | / | / | / | / | - | - | - | - | - |
| 2. ลงพื้นที่และเก็บตัวอย่าง | - | / | - | / | - | - | - | - | - |
| 3. ทำการทดลองและบันทึกผล | - | - | / | / | / | / | / | / | - |

ตาราง 1 ระยะเวลาดำเนินการ (ต่อ)

| กิจกรรม | ระยะเวลาดำเนินการ | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | พ.ศ 2565 | | | | พ.ศ 2566 | | | | |
| | ก.ย. | ต.ค. | พ.ย. | ธ.ค. | ม.ค. | ก.พ. | มี.ค. | เม.ย. | พ.ค. |
| 4. วิเคราะห์ข้อมูลและประมวลผล | - | - | - | - | / | / | / | - | - |
| 5. จัดทำรูปเล่ม | - | - | - | - | - | - | / | / | / |
| 6. นำเสนอผลงานงานวิจัย | - | - | - | - | - | - | - | - | / |
| 7. ส่งเล่มผลงานวิจัย | - | - | - | - | - | - | - | - | / |

# บทที่ 4
# ผลการศึกษา

ผลการวิจัยเรื่อง การสำรวจแมคโครและ microplastics ในปูม้า บริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตะวันออก ได้เริ่มออกแบบการทดลองและทำการศึกษาตั้งแต่เดือนกันยายน พ.ศ. 2564 จนถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2565 จากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลจากผลการทดลองที่ได้ทำการศึกษาเพื่อให้ตรงกับวัตถุประสงค์ โดยผลที่ได้มีดังต่อไปนี้

## 4.1 การศึกษาตัวอย่างปูม้า บริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตะวันออก 4 จังหวัด

การศึกษาตัวอย่างปูม้า บริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตะวันออก 4 จังหวัด ได้ทำการศึกษาจากการเก็บตัวอย่างปูม้าจากแต่ละจังหวัด ได้แก่ จังหวัด ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด

## 4.2 ผลการวิเคราะห์แมคโครและ Microplastics ที่พบในกระเพาะอาหารของปูม้า ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR)

การตรวจสอบ microplastics ในกระเพาะอาหารของปูม้าด้วยเครื่อง FT-IR นำผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR มาสร้างตารางในโปรแกรม Excel แสดงให้เห็นชนิดของไมโครพลาสติกที่พบในกระเพาะอาหารของ ปูม้า โดยการวิเคราะห์ microplasticsในกระเพาะอาหารของปูม้า พบ microplastics ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ โพลิไวนิลคลอไรด์ (Polyvinyl chloride: PVC) โพลิเอไมด์ (Polyamid: PA) โพลิสไตรีน (Polystyren: PS) และโพลิเอสเตอร์ (Polyester: PL) โดย microplastics แต่ละชนิดที่พบมีคุณลักษณะและการนำไปใช้ประโยชน์ ดังต่อไปนี้

### 4.2.1 โพลิไวนิลคลอไรด์ (Polyvinyl chloride: PVC)

พลาสติกรีไซเคิลประเภทที่ 3 เป็นพลาสติกที่สามารถแปรเปลี่ยนคุณสมบัติได้ โดยการเติมสารเคมีปรุงแต่งต่าง ๆ มีลักษณะขุ่นทึบ แข็งคงรูปและอ่อนนุ่มเหนียว ทนต่อสารเคมีและน้ำ ทนต่อสภาวะอากาศและสิ่งแวดล้อม นิยมใช้ในอุตสาหกรรมโดยจะนำมาผลิตในรูปของขวด ฟิล์ม ท่อน้ำ รองเท้า สายเคเบิล เป็นต้น เคยมีการประกาศจะให้เลิกใช้ โพลิไวนิลคลอไรด์ ในหีบห่อเนื่องจากมีสารเคมีตกค้างของ Vinyl chloride ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายของมนุษย์ได้ ปัจจุบันได้มีวิวัฒนาการทางด้านการผลิต ทำให้สามารถผลิต Polyvinyl chloride ที่มี Vinyl chloride ตกค้างในกระบวนการผลิตน้อยกว่า 1 ในล้านส่วน (บริษัทตง เฮง พลาสติก จำกัด. 2561: ออนไลน์)

**4.2.2 โพลิเอไมด์ (Polyamide: PA) หรือไนลอน**

เป็นพลาสติกที่ได้จากกระบวนการ polymerization ระหว่างเอไมด์และกรดอินทรีย์ โดยเพิ่ม additive ประเภท graphite และ molydbdenum sulfide ช่วยเพิ่มสมบัติให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โพลิเอไมด์ (PA) หรือ ไนลอน ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ทดแทนเส้นใยจากธรรมชาติ เช่น ใยไหม ซึ่งไนลอนมีลักษณะโปร่งใสแต่เมื่อนำมาหล่อ (cast nylon) จะมีลักษณะทึบแสงมีสีขาว ไม่มีกลิ่นและไม่เป็นอันตราย คุณสมบัติทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี ใช้งานในอุณหภูมิที่สูงถึง 120 องศาเซลเซียสมีความแข็งแรง เหนียวมาก ทนต่อแรงฉีกขาดและแรงดึงได้ดี ทนต่อการกัดกร่อนและการเสียดสี สามารถยืดหยุ่นได้ ป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน ไขมัน และกลิ่นต่าง ๆ ได้ดี นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องจักรและอุปกรณ์แปรรูปอาหาร เช่น ทำเฟือง ล้อ ลูกกลิ้ง วัสดุบรรจุภัณฑ์อาหารที่ต้องการความทนทาน และเอ็นตกปลา เป็นต้น ( THAI POLY CHEMICALS CO.,LTD. 2563: ออนไลน์ )

**4.2.3 โพลิสไตรีน (Polystyrene: PS)**

พลาสติกจากการถูกค้นพบในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 โดยพลาสติกชนิดนี้เกิดมาจากสารไฮโดรคาร์บอนที่ผ่านกระบวนการผลิตจนเป็น Styrene monomer และกลายมาเป็น Polystyrene ในขั้นตอนสุดท้าย ซึ่งเป็น plastic รีไซเคิลประเภทที่ 6 หรือเรียกได้ว่าเป็น Thermoplastic ที่ให้คุณสมบัติในการหลอมเหลวได้ดี สามารถขึ้นรูปเป็นบรรจุภัณฑ์ต่าง ๆ ได้ตามต้องการ ลักษณะเมื่อเริ่มแข็งตัวจะเป็นสีใสไม่มีสีอื่นปนเปื้อน มีความยืดหยุ่นพอประมาณ สามารถนำไปผลิตได้ตั้งแต่ผนังกันความร้อน หรือกล่องบรรจุภาชนะแต่ต้องมีความระมัดระวังอย่างมาก หากใช้ผลิตภัณฑ์จากโพลิสไตรีนในการบรรจุอาหารเพราะสามารถปล่อยสารพิษ เช่น เบนซีน สไตรีนมอนอเมอร์ บิวทาไดอีน และโครเมียม ซึ่งสารพิษเหล่านี้ถือว่าเป็นสารพิษที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ (Watana Bhand Packaging System CO., TLD. 2565: ออนไลน์)

**4.2.4 โพลิเอสเตอร์ (Polyester: PL)**

คือ เส้นใยสังเคราะห์ที่เกิดจากพลาสติก จึงทำให้เส้นใยโพลิเอสเตอร์มีความเหนียวทนทาน และสามารถนำไปผลิตเป็นสิ่งทอได้อย่างหลากหลาย เช่น เสื้อผ้ากีฬา เป็นต้น (บริษัท สยามเซฟตี้พลัส จำกัด. 2552: ออนไลน์)

**4.3 วิเคราะห์ชนิดแมคโครและไมโครพลาสติกที่พบในปูม้าของแต่ละจังหวัด**

การวิเคราะห์ชนิด microplastics ที่พบในกระเพาะอาหารของปูม้าด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) โดยพบชนิด microplastics ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ โพลิไวนิลคลอไรด์ (PVC)โพลิสไตรีน (PS) โพลิเอไมด์ (PA) และโพลิเอสเตอร์ (PL) โดยทำการวิเคราะห์แบบกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman และแบบหยดโดยตรงบน Sample compartment พบว่าวิธีการวิเคราะห์แบบกระดาษกรอง พบโพลิสไตรีน (PS) และโพลิเอสเตอร์ (PL) ที่จังหวัดระยอง และจังหวัดตราดพบเพียงโพลิสไตรีน (PS) ในส่วนของวิธีการวิเคราะห์แบบหยดโดยตรง พบโพลิไวนิลคลอไรด์ (PVC) ที่จังหวัดชลบุรี และพบโพลิไวนิลคลอไรด์ (PVC) ที่จังหวัดระยองเช่นกัน ส่วนการนำเส้นเอ็นไปวิเคราะห์ของจังหวัดจันทบุรี และตราด จะพบโพลิเอไมด์ (PA) หรือ ไนลอน

**4.3.1 ผลการวิเคราะห์แบบหยดโดยตรง**

จังหวัดชลบุรี ชนิด microplastics ที่พบในกระเพาะอาหารของปูม้าด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) จากการวิเคราะห์ 10 ตัวอย่าง พบ 6 ตัวอย่าง ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยนอยู่ที่ 98 กรัม และพบ Polyvinyl Chloride ทั้ง 6 ตัวอย่าง โดยประเภทของไมโครพลาติก คือ Polymer

จังหวัดระยอง ชนิด microplastics ที่พบในกระเพาะอาหารของปูม้าด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) จากการวิเคราะห์ 10 ตัวอย่าง พบ 8 ตัวอย่างซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยนอยู่ที่ 163 กรัม และพบ Polyvinyl Chloride ทั้ง 9 ตัวอย่าง โดยประเภทของไมโครพลาติก คือ Polymer

**4.3.2 ผลการวิเคราะห์แบบกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman**

จังหวัดระยอง ชนิด microplastics ที่พบในกระเพาะอาหารของปูม้าด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) จากการวิเคราะห์ 10 ตัวอย่าง พบตัวอย่างที่ 1 ซึ่งมีน้ำหนักอยู่ที่ 218 กรัม พบ Polystyrene และตัวอย่างที่ 9 ซึ่งมีน้ำหนักอยู่ที่ 190 กรัม พบ Polyester โดยประเภทของไมโครพลาติก คือ Polymer

จังหวัดตราด ชนิด microplastics ที่พบในกระเพาะอาหารปูม้าด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) จากการวิเคราะห์ 10 ตัวอย่าง พบตัวอย่างที่ 6 ซึ่งมีน้ำหนักอยู่ที่ 124 กรัม พบ Polystyrene โดยประเภทของไมโครพลาติก คือ Polymer

ตาราง 2 ผลการวิเคราะห์เส้นเอ็นด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR)

| ชนิดตัวอย่าง | จังหวัด | น้ำหนัก (g) | สารที่พบ | % | ประเภทของไมโครพลาสติก |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | จันทบุรี | 161 | Nylon fiber | 0.910973 | Polymer |
| 4 | จันทบุรี | 207 | Polyamide | 0.967640 | Polymer |
| 6 | จันทบุรี | 168 | Polyamide | 0.984601 | Polymer |
| 10 | ตราด | 150 | Polyamide | 0.980681 | Polymer |

## 4.4 ผลการวิเคราะห์หาโลหะหนักในกระเพาะอาหารของปูม้าด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-ray Spectrometer (SEM-EDX)

การตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์หาโลหะหนักในกระเพาะอาหารของปูม้าด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM-EDX Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-ray Spectro-meter (SEM-EDX) พบว่าในกระเพาะของปูม้า มีคอปเปอร์ (Cu) แต่มีในปริมาณที่น้อย ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายของผู้บริโภค

4.4.1 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบด้วยเทคนิค Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX)

ตาราง 3 ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบ

| ชนิดตัวอย่าง | น้ำหนัก | องค์ประกอบ | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | O | C | P | Cu | Na | Mg |
| 1 จันทบุรี | 92 g | 51.68 | - | 13.96 | 9.34 | 25.01 | - |
| 4 จันทบุรี | 107 g | 51.04 | - | 13.39 | 10.41 | 25.06 | - |
| 7 จันทบุรี | 84 g | 41.9 | 44.75 | 3.6 | 2.42 | 6.36 | 0.97 |
| 1 ตราด | 106 g | 48.46 | 48.03 | - | 3.51 | - | - |
| **ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบ** | | **48.27** | **23.195** | **7.73** | **6.44** | **14.10** | **0.242** |

ตาราง 4 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ 1 จังหวัดจันทบุรี

| Element | Weight% | Atomic% | Net Int. |
|---|---|---|---|
| O K | 51.68 | 65.71 | 320.11 |
| Na K | 25.01 | 22.13 | 99.94 |
| P K | 13.96 | 9.17 | 126.53 |
| Cu K | 9.34 | 2.99 | 26.34 |

ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ 4 จังหวัดจันทบุรี

| Element | Weight% | Atomic% | Net Int. |
|---|---|---|---|
| O K | 51.04 | 65.4 | 464.89 |
| Na K | 25.06 | 22.35 | 143.78 |
| P K | 13..39 | 8.86 | 176.4 |
| Cu K | 10.51 | 3.39 | 43.26 |

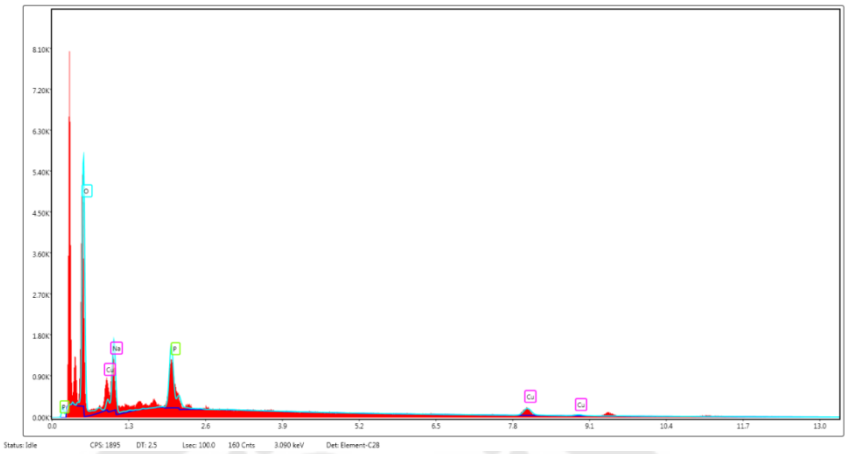
ตาราง 6 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ 7 จังหวัดจันทบุรี

| Element | Weight% | Atomic% | Net Int. |
|---|---|---|---|
| C K | 41.9 | 51.63 | 392.19 |
| O K | 44.75 | 41.4 | 452.04 |
| Na K | 6.36 | 4.1 | 105.46 |
| Mg K | 0.97 | 0.59 | 26.79 |
| P K | 3.6 | 1.72 | 146.7 |
| Cu K | 2.42 | 0.56 | 28.13 |

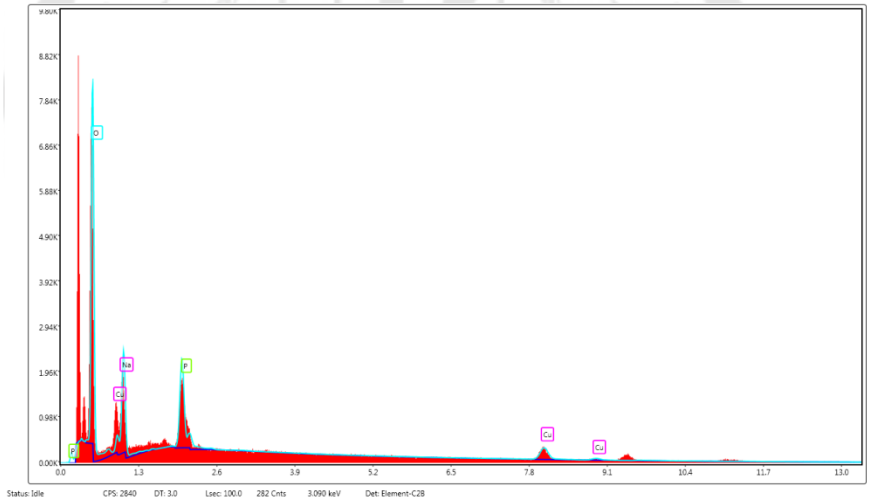
ตาราง 7 ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณของธาตุที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ 1 จังหวัดตราด

| Element | Weight% | Atomic% | Net Int. |
|---|---|---|---|
| C K | 48.03 | 56.45 | 872.41 |
| O K | 48.46 | 42.77 | 603.95 |
| Cu K | 3.51 | 0.78 | 52.06 |

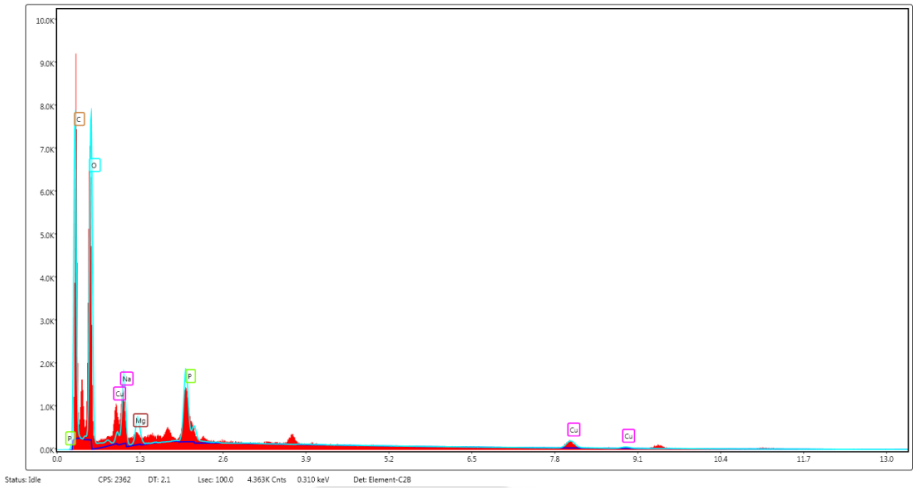
4.4.2 สเปกตรัมจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX)



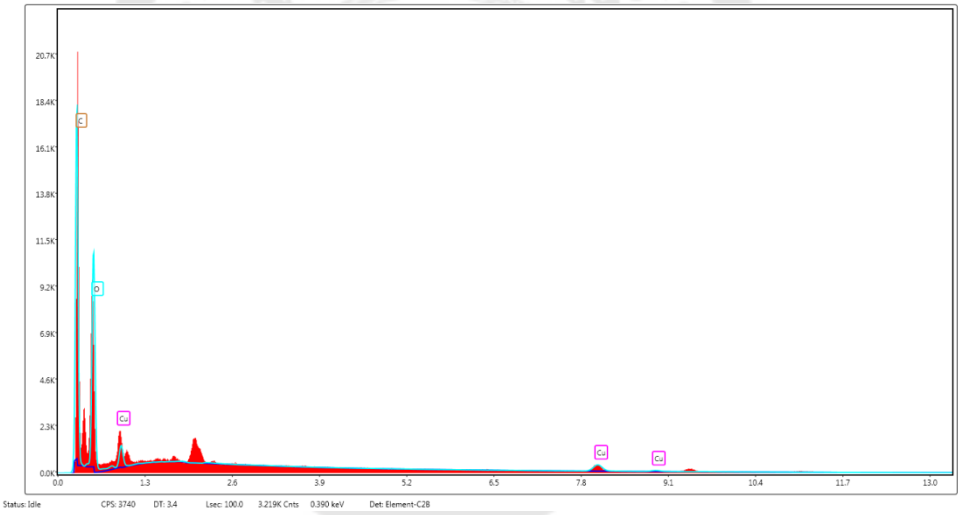

ภาพประกอบ 13 ตัวอย่างที่ 1 จังหวัดจันทบุรี




ภาพประกอบ 14 ตัวอย่างที่ 4 จังหวัดจันทบุรี

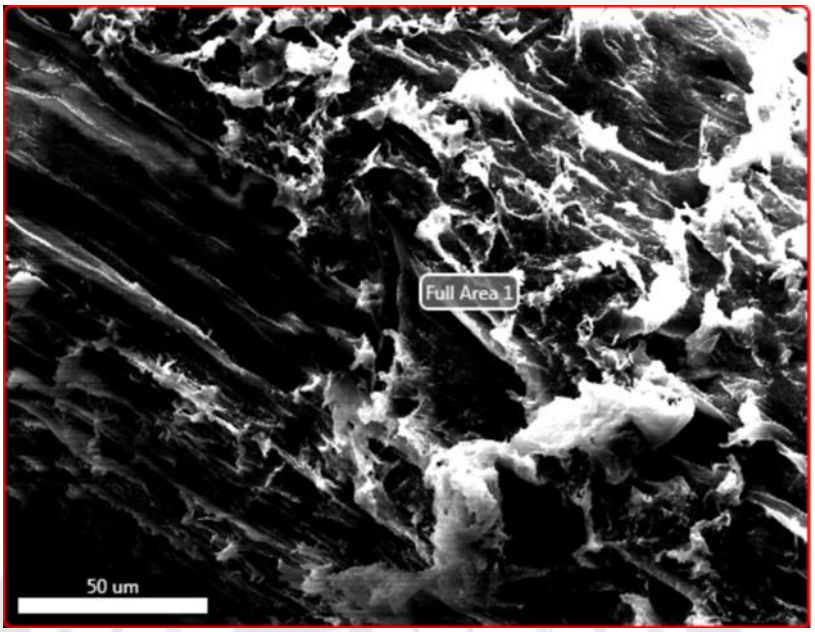



ภาพประกอบ 15 ตัวอย่างที่ 7 จังหวัดจันทบุรี

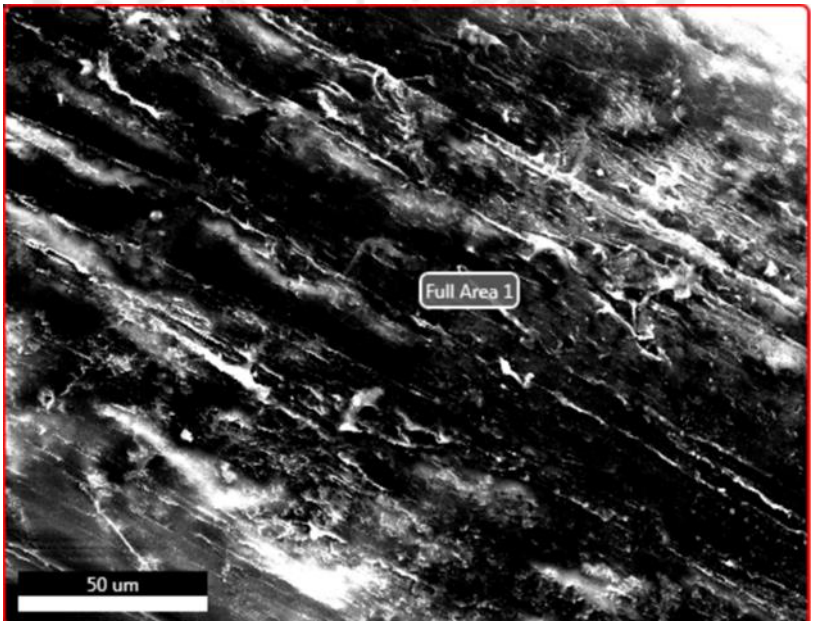



ภาพประกอบ 16ตัวอย่างที่ 1 จังหวัดตราด

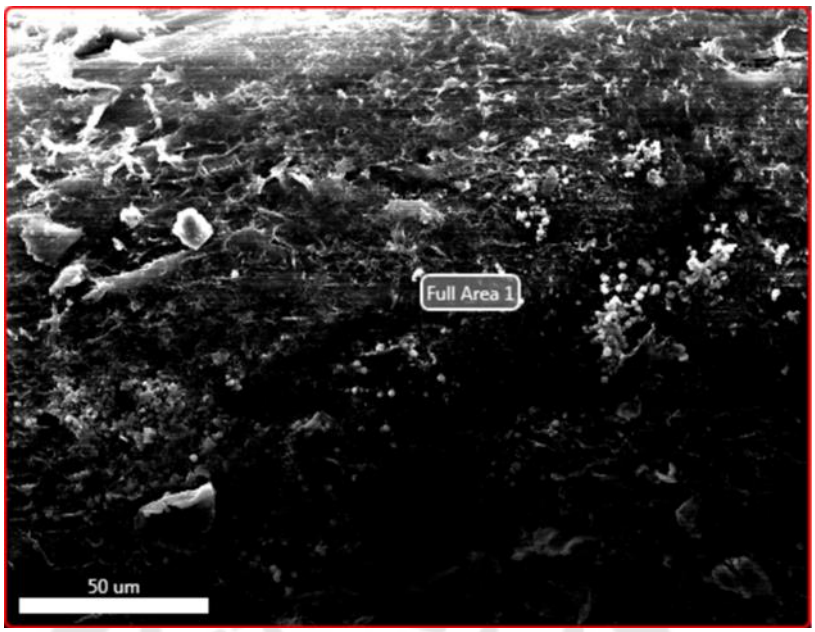
4.4.3 ภาพแสดงตัวอย่างที่นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-ray Spectrometer (SEM-EDX)



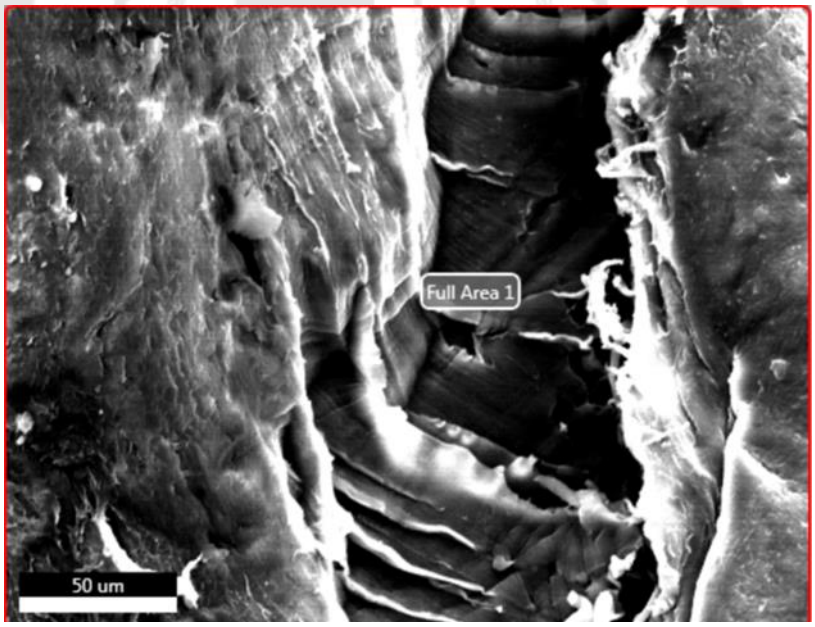

ภาพประกอบ 17ตัวอย่างที่ 1 จังหวัดจันทบุรี




ภาพประกอบ 19 ตัวอย่างที่ 4 จังหวัดจันทบุรี




ภาพประกอบ 20 ตัวอย่างที่ 7 จังหวัดจันทบุรี




ภาพประกอบ 21 ตัวอย่างที่ 1 จังหวัดตราด

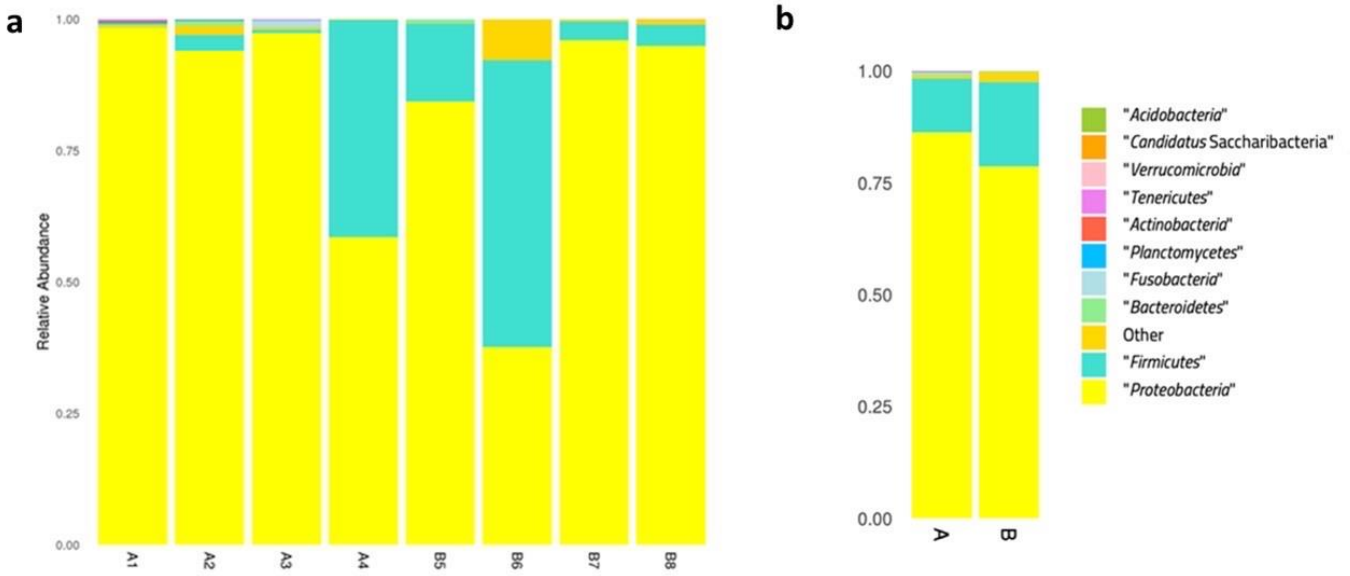
**4.5 วิเคราะห์กลุ่มแบคทีเรียโดยวิธี** NEXT GENERATION

เป็นการวิเคราะห์ความหลากหลายของชนิดแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในกระเพาะปูม้าทั้งแบบที่มีแมคโครและไมโครพลาสติก โดยพบชนิดของแบคทีเรียในกลุ่มตัวอย่างปูม้าที่ไม่มีเส้นเอ็น 53 ชนิด และชนิดของแบคทีเรียในกลุ่มตัวอย่างปูม้าที่มีเส้นเอ็น 26 ชนิดที่แตกต่างกัน และพบชนิดแบคทีเรียที่มีความเหมือนกันทั้ง 2 กลุ่มตัวอย่าง 131 ชนิด ซึ่งการเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียด้วย KEGG พบชนิดแบคทีเรียในกลุ่มตัวอย่างปูม้าที่มีเส้นเอ็นเป็นชนิด Infectious diseases: Bacterial ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียชนิดก่อโรค

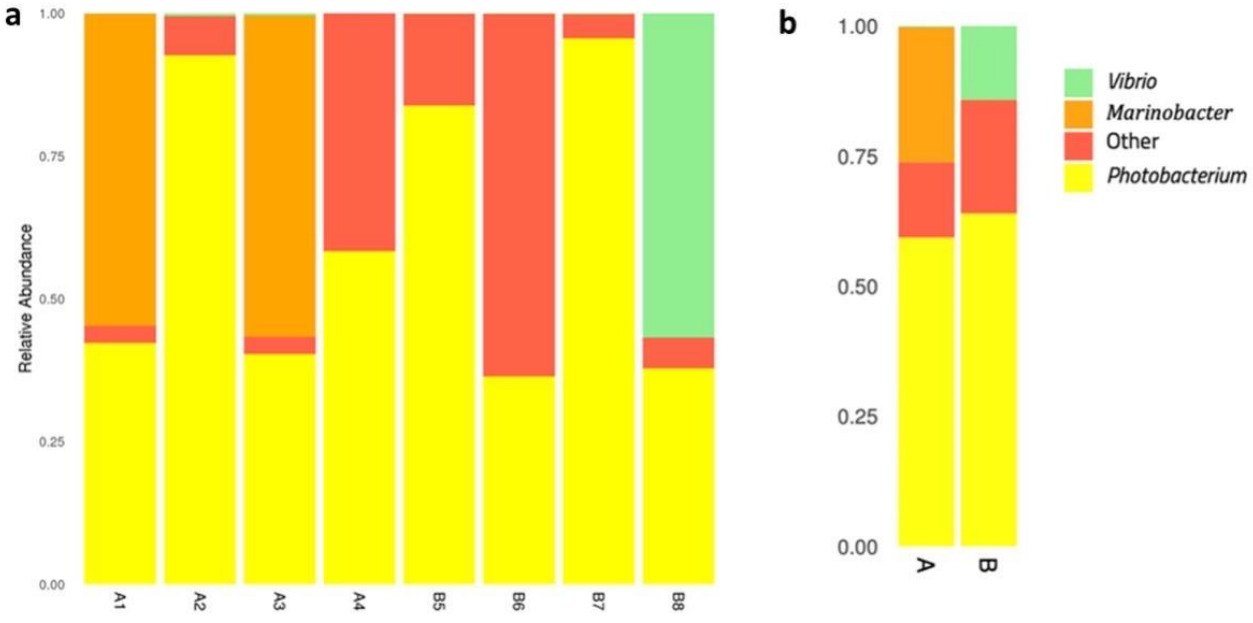
4.5.1 ผลการวิเคราะห์กลุ่มแบคทีเรีย

A: กลุ่มตัวอย่างที่ไม่พบเส้นเอ็น

B: กลุ่มตัวอย่างที่มีเส้นเอ็น




ภาพประกอบ 18 Barplot Sample Phylum A-B (Phylum)

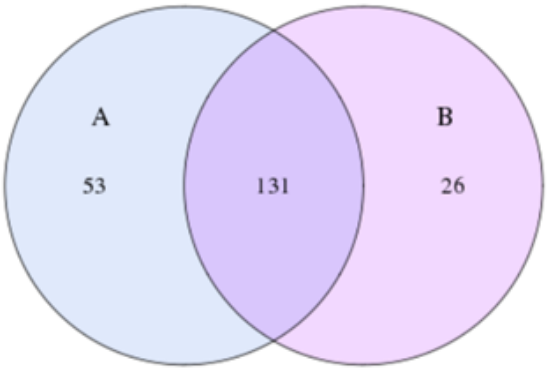



ภาพประกอบ 19 Barplot Sample Genus A-B (Genus)

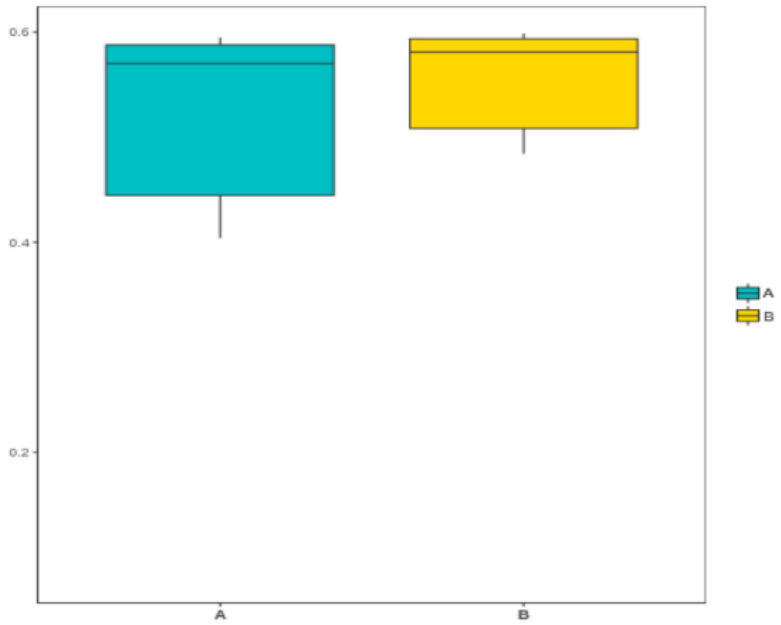
4.5.2 การวิเคราะห์กลุ่มแบคทีเรียโดยวิธี NEXT GENERATION

A: กลุ่มตัวอย่างที่ไม่พบเส้นเอ็น

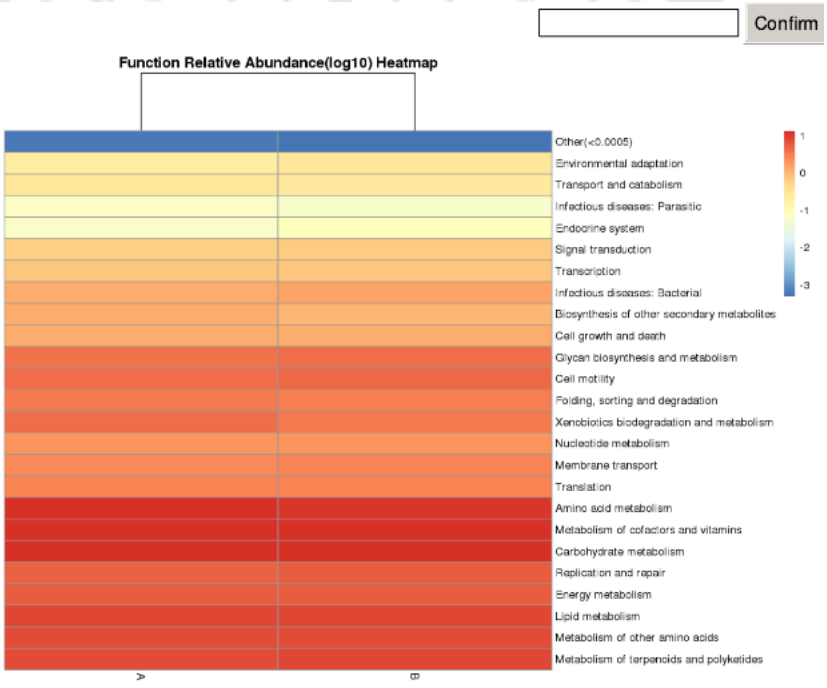
B: กลุ่มตัวอย่างที่มีเส้นเอ็น




ภาพประกอบ 20 OUT Venn plot




ภาพประกอบ 21 Box plot of beta diversity




ภาพประกอบ 22 KEGG Pathway Heatman

# บรรณานุกรม


(สสวท.), ส. (2565). ไขข้อข้องใจ DNA และ RNA เหมือนหรือต่างกันอย่างไร? Retrieved from https://www.ipst.ac.th/knowledge/20119/20220211-dna.html

dungjainang. (2564). กล้องจุลทรรศน์. Retrieved from https://dungjainang.wordpress.com/%E0%B8%81%E0%B8%A5%E0%B9%89%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%88%E0%B8%B8%E0%B8%A5%E0%B8%97%E0%B8%A3%E0%B8%A3%E0%B8%A8%E0%B8%99%E0%B9%8C/

Hanshew et al. , B. e. a., McAllister et al. . (2013). The identification of bacteria using the V1–V3 region of the 16S rRNA gene according. Retrieved from doi.org/10.3389/fmicb.2016.00650

SARAMAS, S. (2018). ซอฟแวร์โปรแกรม Motic Image Plus 3.0. Retrieved from http://intereducation.co.th/th/2018/07/09/program-motic-image-plus-3-0/

SUPA INTERFOOD CO., L. (2563). ประโยชน์ดีๆ-เนื้อปูแกะ. Retrieved from http://www.supa.co.th/uncategorized/%E0%B8%9B%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%B9%82%E0%B8%A2%E0%B8%8A%E0%B8%99%E0%B9%8C%E0%B8%94%E0%B8%B5%E0%B9%86-%E0%B9%80%E0%B8%99%E0%B8%B7%E0%B9%89%E0%B8%AD%E0%B8%9B%E0%B8%B9%E0%B9%81%E0%B8%81%E0%B8%B0/

โครงการชลประทานตราด. (2565). จังหวัดตราด. Retrieved from https://www.govesite.com/tratrid9/content.php?mcid=20170118100451pKMHwfk

กองพัฒนากรมอุตุนิยมวิทยา, ศ. (2563). จังหวัดจันทบุรี. Retrieved from http://climate.tmd.go.th/data/province/%E0%B8%95%E0%B8%B0%E0%B8%A7%E0%B8%B1%E0%B8%99%E0%B8%AD%E0%B8%AD%E0%B8%81/%E0%B8%A0%E0%B8%B9%E0%B8%A1%E0%B8%B4%E0%B8%AD%E0%B8%B2%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A8%E0%B8%88%E0%B8%B1%E0%B8%99%E0%B8%97%E0%B8%9A%E0%B8%B8%E0%B8%A3%E0%B8%B5.pdf

กองพัฒนาอุตุนิยมวิทยา, ศ. (2563). จังหวัดระยอง. Retrieved from http://climate.tmd.go.th/data/province/%E0%B8%95%E0%B8%B0%E0%B8%A7%

E0%B8%B1%E0%B8%99%E0%B8%AD%E0%B8%AD%E0%B8%81/%E0%B8%A0%E0%B8%B9%E0%B8%A1%E0%B8%B4%E0%B8%AD%E0%B8%B2%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A8%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%B8%A2%E0%B8%AD%E0%B8%87.pdf

กิจชัยนุกูล, ด. (2547). กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด หรือ Scanning Electron Microscope (SEM). 2-3. Retrieved from https://soreda.oas.psu.ac.th/files/944_file_Chapter4.pdf

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ส. (2562). ไมโครพลาสติกในแหล่งน้ำจืดและแหล่งน้ำเพื่อการอุปโภคบริโภค. Retrieved from http://www.ej.eric.chula.ac.th/content/6114/82

นิลรัตน์และคณะ, ส. (2562). ชีววิทยาและการประมงปูม้าในประเทศไทย. 11-112. Retrieved from file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/juthamaspr,+%E0%B8%9C%E0%B8%B9%E0%B9%89%E0%B8%88%E0%B8%B1%E0%B8%94%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%A7%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%A3,+13.%E0%B8%AD%E0%B8%A1%E0%B8%A3%E0%B8%A8%E0%B8%B1%E0%B8%81%E0%B8%94%E0%B8%B4%E0%B9%8C+%E0%B8%AA%E0%B8%A7%E0%B8%B1%E0%B8%AA%E0%B8%94%E0%B8%B5+P117-127.pdf

มหาวิทยาลัยมหิดล, ค. (2565). เครื่องมือฉาบผิวตัวอย่างด้วยโลหะหนัก (Sputter Coater). Retrieved from https://dt.mahidol.ac.th/th/sputter-coater/

มหาวิทยาลัยมหิดล, ส. (2562). กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM and EDX Scanning Electron Microscope (SEM) Retrieved from https://il.mahidol.ac.th/e-media/nano/Page/Unit4-5.html

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา, ศ. (2556). Fourier Transform Infrared Spectroscope (FT-IR). Retrieved from http://science.skru.ac.th/ShowToolCame.php?id_skru=SKRU111222333444

ลีรักษาเกียรติ, ป. (2561). การบริหารจัดการทรัพยากรปูม้าเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ธนาคารปูไข่โซล่าเซลล์. Retrieved from https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20190620144836_1_file.pdf

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งระยอง. (2564). ปูม้า. Retrieved from https://www4.fisheries.go.th/local/index.php/main/view_blog2/100/1040/3260

สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2557). การสำรวจและจำแนกตัวอย่างขยะทะเล ประเภทไมโครพลาสติก. Retrieved from https://www.dmcr.go.th/detailLib/3095

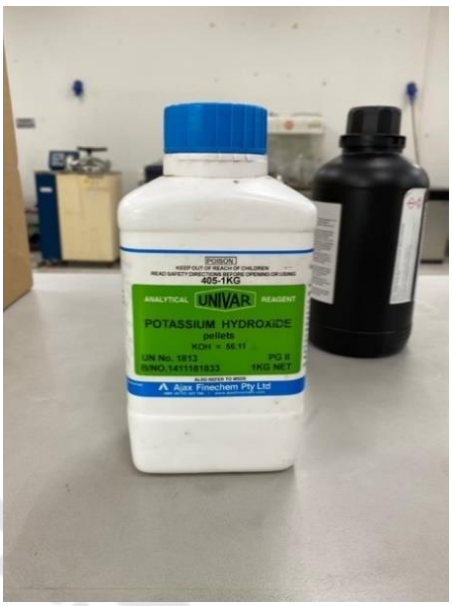
สสวท. (2565). เทคนิค PCR ในการเพิ่มจำนวน DNA และวินิจฉัยโรคบางชนิด. Retrieved from https://www.nectec.or.th/schoolnet/library/snet4/genetics/pcr.html

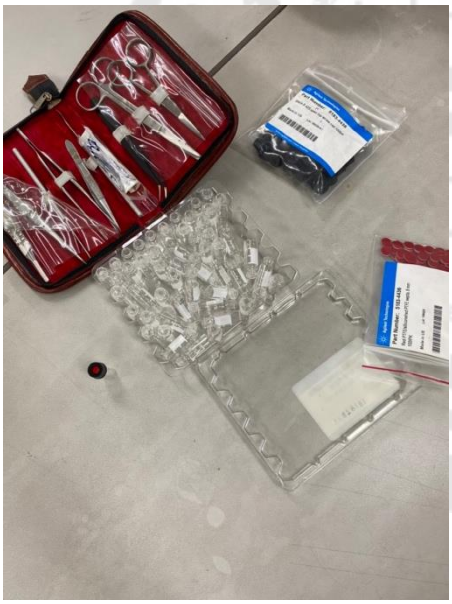
สำนักงานการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดชลบุรี. (2565). จังหวัดชลบุรี. Retrieved from http://www.chonburimots.go.th/th/%E0%B9%80%E0%B8%81%E0%B8%B5%E0%B9%88%E0%B8%A2%E0%B8%A7%E0%B8%81%E0%B8%B1%E0%B8%9A%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%84%E0%B9%8C%E0%B8%81%E0%B8%A3/%E0%B8%A3%E0%B8%B9%E0%B9%89%E0%B8%88%E0%B8%B1%E0%B8%81%E0%B8%8A%E0%B8%A5%E0%B8%9A%E0%B8%B8%E0%B8%A3%E0%B8%B5/%E0%B8%AA%E0%B8%A0%E0%B8%B2%E0%B8%9E%E0%B8%A0%E0%B8%B9%E0%B8%A1%E0%B8%B4%E0%B8%AD%E0%B8%B2%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A8.html

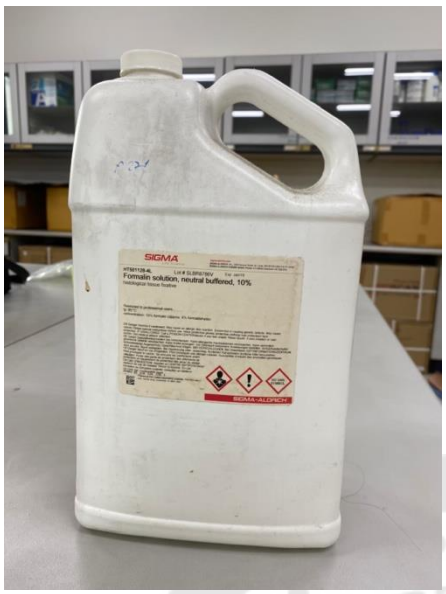
อนุชิตโอฬาร, ว. (2546). FT-IR Imagine. *Materials Characterization*. Retrieved from https://www2.mtec.or.th/th/e-magazine/admin/upload/212_67-70.pdf

อพิสรา, จ. (2558). เทคนิคพีซีอาร์ (PCR) Retrieved from https://juthapornapisara.wordpress.com/%e0%b9%80%e0%b8%97%e0%b8%84%e0%b8%99%e0%b8%b4%e0%b8%84%e0%b8%81%e0%b8%b2%e0%b8%a3-pcr/

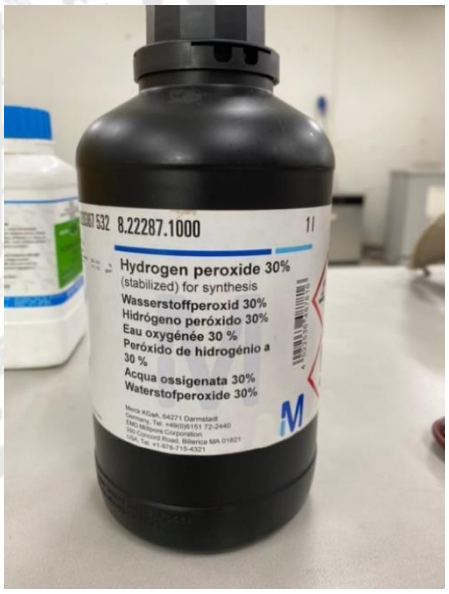
# ภาคผนวก

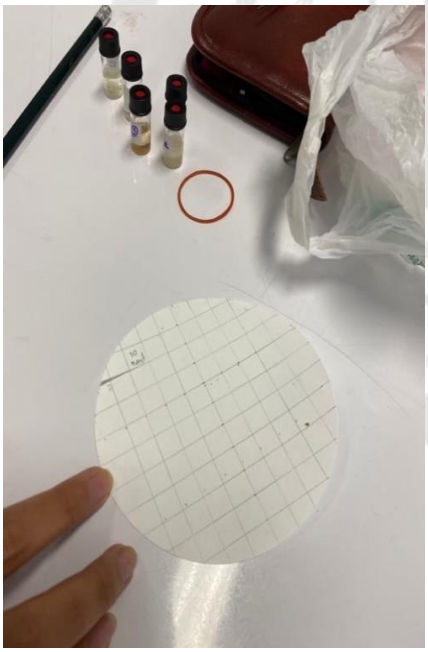

POISON
405-1KG
ANALYTICAL
UNIVAR
REAGENT
POTASSIUM HYDROXIDE
pellets
1KG NET
Ajax Finechem Pty Ltd




SIGMA
Formalin solution, neutral buffered, 10%
SIGMA-ALDRICH

0.99
CAS
MODE
UNITS
SETUP
ESC


8.22287.1000
1 l
Hydrogen peroxide 30%
(stabilized) for synthesis
Wasserstoffperoxid 30%
Hidrógeno peróxido 30%
Eau oxygénée 30 %
Peróxido de hidrogénio a 30 %
Acqua ossigenata 30%
Waterstofperoxide 30%



TEMP
30
Set 50.0°C
TIMER
00h 00m
End 27.10. 10:15
FLAP
10 %
UN 55

CAUTION
Mupid-ex

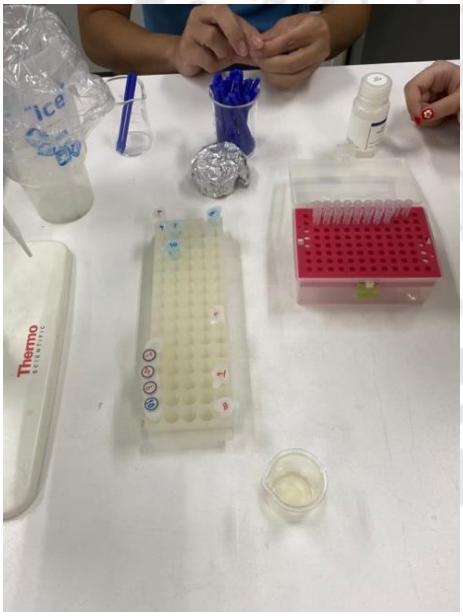
F1
F2
F3
F4
F5
Enter
Life Express

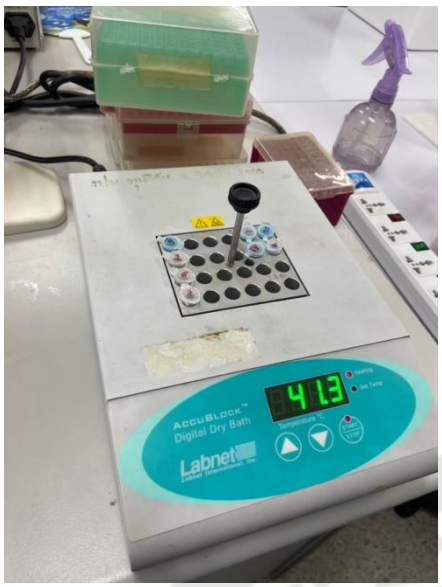
BIO-RAD
T100 Thermal Cycler

Thermo
SCIENTIFIC
NANODROP LITE
Spectrophotometer
ECE

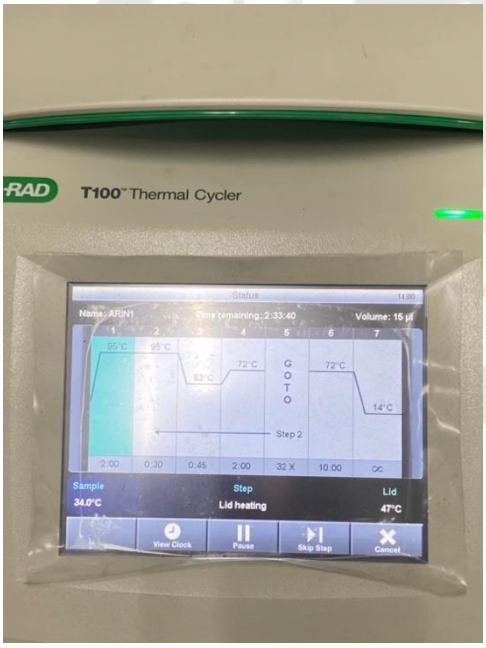
ALDRICH
1101

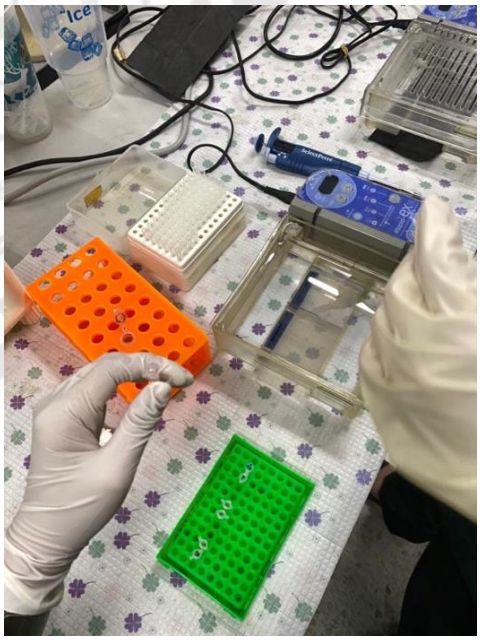
ALDRICH
440191-100ML
Lot # STBH9671
Hexamethyldisilazane
Reagent grade, ≥99%

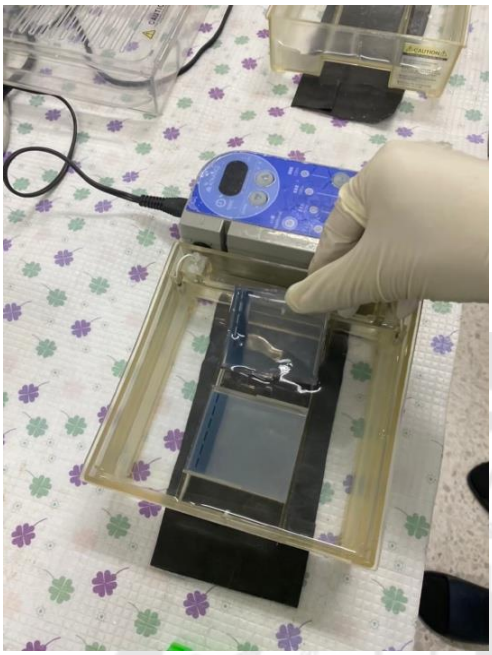

Thermo


AccuBlock™
Digital Dry Bath
Labnet
41.3

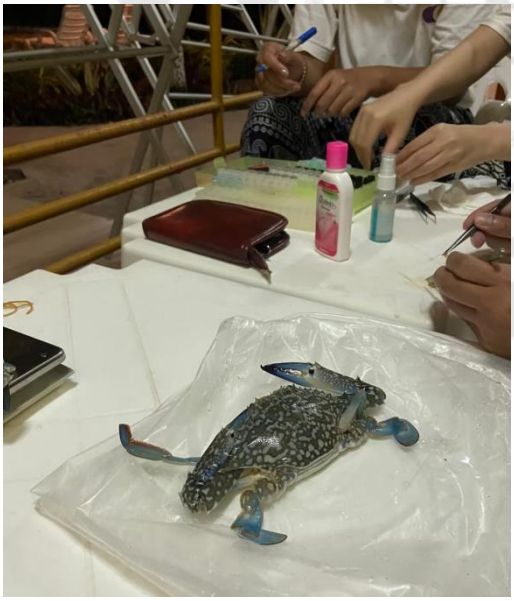
SCILOGEX


T100™ Thermal Cycler
Name: ARIN1
Volume: 15 µl
95°C
98°C
53°C
72°C
72°C
14°C
GOTO
Step 2
2:00
0:30
0:45
2:00
32 X
10:00
∞
Sample
34.0°C
Step
Lid heating
Lid
47°C
View Clock
Pause
Skip Step
Cancel

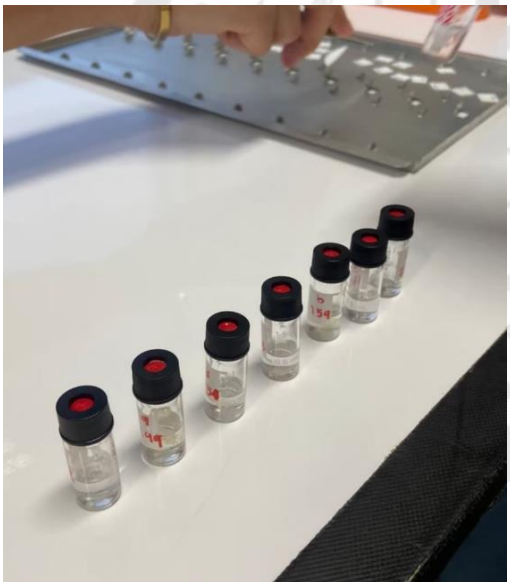

Ice

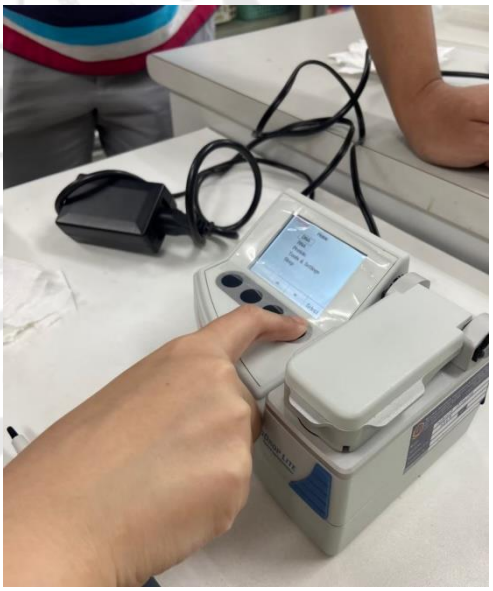


"Ice"
Mupid-ex

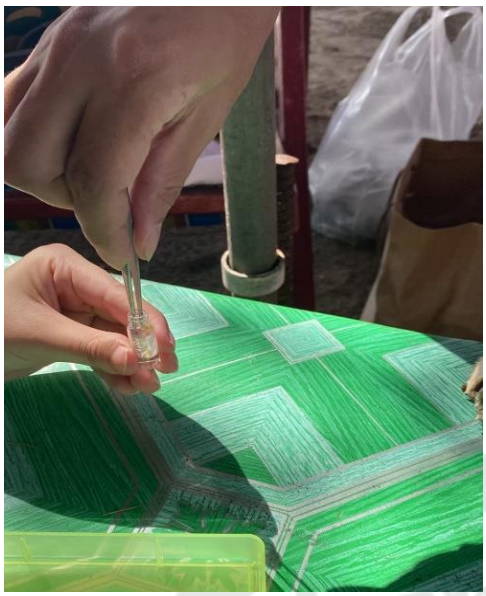


เครื่องชั่ง 2
109
g
TARE



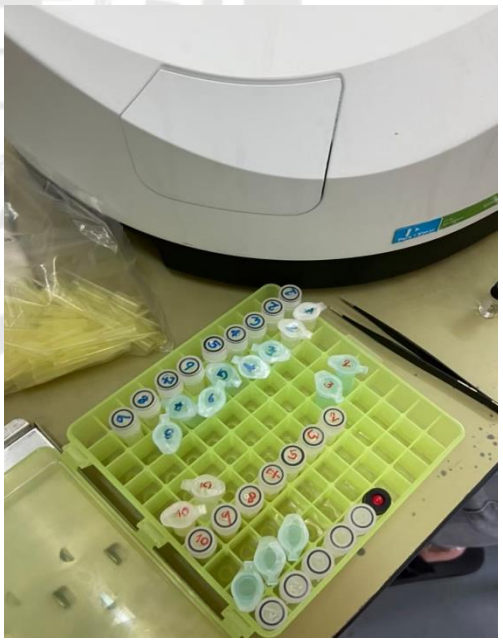


HITACHI
SU8010



PARAFILM
PARAFILM
PARAFILM
PARAFILM

เครื่องชั่ง 2
TANITA



# ประวัติผู้เขียน