

รายงานผลการดำเนินการวิจัย

โครงการวิจัยและพัฒนาเพื่อการเฝ้าระวัง เตรียมความพร้อม และระงับเหตุฉุกเฉินทางนิวเคลียร์
และรังสี

และการเฝ้าระวังผลกระทบทางรังสีต่อสุขภาพประชาชนและสิ่งแวดล้อม

โดย

ดร.ยุทธนา	ต๋มน้อย
ดร.กิตติศักดิ์	ชัยสรรค์
ผศ.ดร.วันวิวิทย์	ต๋มน้อย
ดร.ธวัชชัย	อิทธิพนธนกร
ดร.สระเราะ	นิยมเดชา
นางสาวปราณนิชา	หงส์พิทักษ์พงศ์
นางสาววราลี	คงเจริญ

"โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม
ปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๕"

1. ผู้วิจัยหลัก

- | | |
|-------------------|-----------------|
| 1) ดร.ยุทธนา | ตุ้มน้อย |
| 2) ดร.กิตติศักดิ์ | ชัยสรรค์ |
| 3) ผศ.ดร.วันวิวิธ | ตุ้มน้อย |
| 4) ดร.ธวัชชัย | อิทธิพนธ์นกร |
| 5) ดร.สระเราะ | นิยมเดชา |
| 6) นางสาวปราณณิชา | หงส์พิทักษ์พงศ์ |
| 7) นางสาววรารีย์ | คงเจริญ |

2. ระยะเวลาของโครงการ

1 ตุลาคม 2564 – 30 กันยายน 2566

3. งบประมาณรวมของโครงการ

942,800 บาท

4. วัตถุประสงค์ของโครงการ

4.1 เพื่อเก็บตัวอย่างน้ำทะเล ดินตะกอน และหอยแครง *Anadara granosa* จากชายฝั่งอ่าวไทย 3 บริเวณ สำหรับการประเมินระดับกัมมันตรังสีซีเซียม-137 ที่หอยแครงได้รับ

4.2 เพื่อศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของหอยแครง *Anadara granosa* จากชายฝั่งอ่าวไทย 3 บริเวณ ด้วยเทคนิค Micronucleus test และ Comet assay

5. ผลการดำเนินโครงการในปีงบประมาณ 2565

5.1 การเก็บตัวอย่างหอยแครง น้ำทะเล และตะกอนดิน

5.1.1 พื้นที่และช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างสิ่งแวดล้อมทางทะเลและหอยแครง

พื้นที่เก็บตัวอย่างสิ่งแวดล้อมทางทะเลและหอยแครง *Anadara granosa* เป็นแหล่งประมงหอยแครงบริเวณชายฝั่งอ่าวไทย 3 พื้นที่ (รูปที่ 1) ดังนี้

พื้นที่ที่ 1 บ้านคลองโคน ตำบลแม่กลอง อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม (รูปที่ 2) เก็บตัวอย่างวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2566

จุดที่ 1 พิกัด 13.326266, 99.990069

จุดที่ 2 พิกัด 13.322180, 99.987133

จุดที่ 3 พิกัด 13.3208495, 99.9827893

พื้นที่ที่ 2 ท่าเรือคลองใหญ่ ตำบลคลองใหญ่ อำเภอคลองใหญ่ จังหวัดตราด (รูปที่ 3) เก็บตัวอย่างวันที่ 20 เมษายน 2566

จุดที่ 1 พิกัด 11.7689113, 102.8750609

จุดที่ 2 พิกัด 11.7774412, 102.8715720

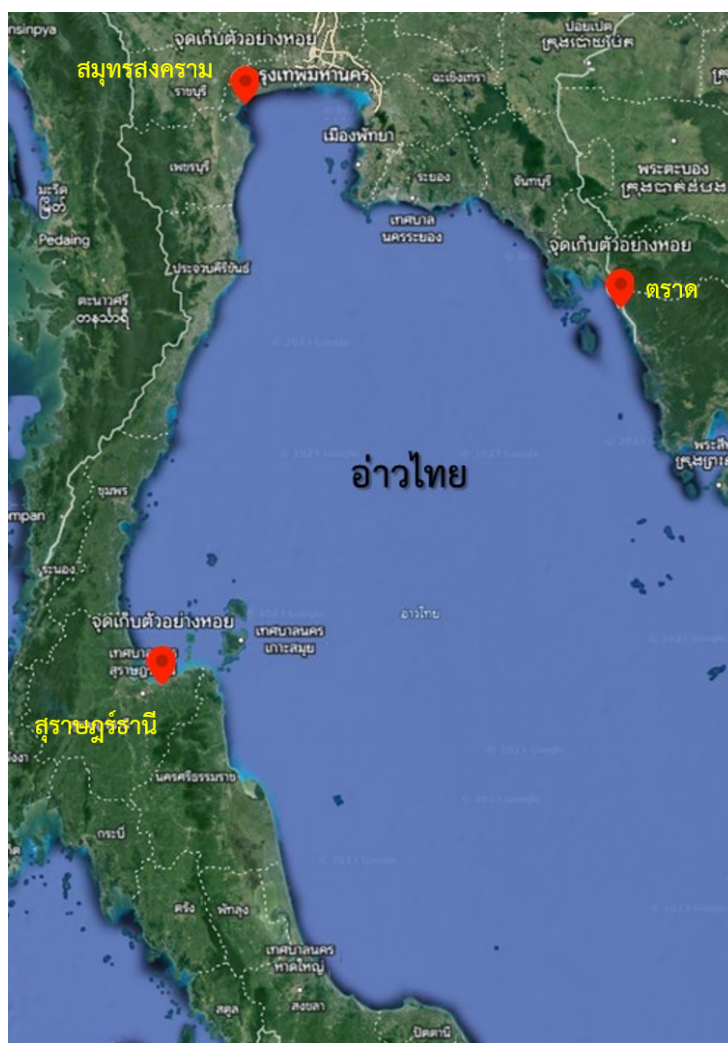
จุดที่ 3 พิกัด 11.7899125, 102.8665734

พื้นที่ที่ 3 ปากน้ำท่าทอง ตำบลท่าทอง อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี (รูปที่ 34) เก็บตัวอย่างวันที่ 18 มีนาคม 2566

จุดที่ 1 พิกัด 9.2279506 , 99.4915884

จุดที่ 2 พิกัด 9.2307761 , 99.4929167

จุดที่ 3 พิกัด 9.2343482 , 99.4944432



รูปที่ 1 แผนที่พื้นที่เก็บตัวอย่างจังหวัดสมุทรสงคราม จังหวัดตราด และจังหวัดสุราษฎร์ธานี



จุดที่ 1



จุดที่ 2



จุดที่ 3

รูปที่ 2 จุดเก็บตัวอย่างบ้านคลองโคน ตำบลแม่กลอง อำเภอมือ จังหวัดสมุทรสงคราม



จุดที่ 1



จุดที่ 2



จุดที่ 3

รูปที่ 3 จุดเก็บตัวอย่างท่าเรือคลองใหญ่ ตำบลคลองใหญ่ อำเภอกลองใหญ่ จังหวัดตราด



จุดที่ 1



จุดที่ 2



จุดที่ 3

รูปที่ 4 จุดเก็บตัวอย่างปากน้ำท่าทอง ตำบลท่าทอง อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี

5.1.2 การเก็บตัวอย่างสิ่งแวดล้อมทางทะเลและหอยแครง

เก็บตัวอย่างสิ่งแวดล้อมทางทะเลพื้นที่ละ 3 จุด โดยแต่ละจุดเก็บน้ำทะเล 20 ลิตร ดินตะกอน 1 กิโลกรัม และหอยแครง *Anadara granosa* (น้ำหนักสดรวมเปลือก) 7 กิโลกรัม (รูปที่ 5) ดังนั้นแต่ละพื้นที่จะมีตัวอย่างน้ำทะเลรวม 60 ลิตร ดิน 3 กิโลกรัม และหอยแครง 21 กิโลกรัม (รูปที่ 6) ตัวอย่างทั้งหมดนำส่งสำนักงานปริมาณเพื่อสันติเป็นที่เรียบร้อย และเก็บหอยแครงในแต่ละพื้นที่ไม่ต่ำกว่า 20 ตัว สำหรับศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของหอยแครง ที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร



ก



ข



ค



ง



จ



ฉ

รูปที่ 5 การเก็บตัวอย่าง ก. การเก็บตัวอย่างน้ำทะเล ข.- ค. การเก็บตัวอย่างดินตะกอน
ง.-ฉ. การเก็บตัวอย่างหอยแครง



ก



ข



ค

รูปที่ 6 ตัวอย่าง ก. ตัวอย่างน้ำทะเล ข.ตัวอย่างดิน ค.ตัวอย่างหอยแครง

5.2 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเม็ดเลือดในหอยแครง

หอยแครง *Anadara granosa* ที่เก็บตัวอย่างได้จากจังหวัดสมุทรสงคราม จังหวัดตราด และจังหวัดสุราษฎร์ธานี พื้นที่ละ 20 ตัว รวม 60 ตัว ขนาดตลาดมีความยาวเปลือกเฉลี่ยระหว่าง 3.03-3.43 เซนติเมตร และน้ำหนักเปียกเฉลี่ยระหว่าง 9.06-13.73 กรัม (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ความยาวเปลือกเฉลี่ยและน้ำหนักเปียกเฉลี่ยของหอยแครง *Anadara granosa* จังหวัดสมุทรสงคราม ตราด และสุราษฎร์ธานี ในปี 2566

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	ความยาวเปลือก (เซนติเมตร)	น้ำหนักเปียก (กรัม)
จังหวัดสมุทรสงคราม	3.43±0.40	10.70±1.74
จังหวัดสุราษฎร์ธานี	3.03±1.30	9.06±1.37
จังหวัดตราด	3.34±1.44	13.73±1.57

ก่อนการวิเคราะห์ความผิดปกติของโครโมโซมและความเสียหายของดีเอ็นเอในเม็ดเลือดหอยแครง *Anadara granosa* จำเป็นต้องมีการประเมินความเหมาะสมของหอยที่ใช้ศึกษา โดยควรมีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดประมาณ 1×10^6 cells/ml ซึ่งในศึกษาพบว่าหอยแครง *Anadara granosa* ทั้งจังหวัดสมุทรสงคราม สุราษฎร์ธานี และตราด มีความเข้มข้นของเม็ดเลือดที่มีชีวิตสูงมากถึง $37.44 - 153.92 \times 10^6$ cells/ml จึงจำเป็นต้องเจือจางเลือดให้มีความเข้มข้นเหมาะสมเพื่อไม่ให้เซลล์ซ้อนทับกันสำหรับการศึกษาต่อไป สำหรับอัตราการรอดชีวิตของเซลล์เม็ดเลือดควรมีค่ามากกว่า 75% จากการเก็บตัวอย่างเลือดและตรวจสอบด้วยเทคนิค Trypan Blue (รูปที่ 7) พบว่า เม็ดเลือดหอยแครงที่ใช้ในการศึกษามีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์เม็ดเลือดทุกตัวอย่างสูงกว่า 77% และมีค่าเฉลี่ยสูงกว่า 89% ทุกพื้นที่ (ตารางที่ 2)



ก



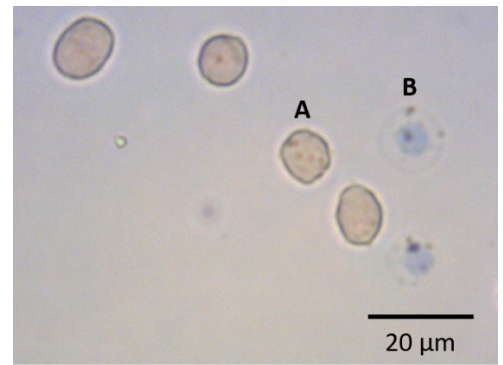
ข



ค



ง



จ

รูปที่ 7 การเก็บตัวอย่างเลือดหอยแครงและการวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตของเซลล์เม็ดเลือด ก. หอยแครง

ข. การเก็บตัวอย่างเลือด ค. เลือดหอยแครง ง. เทคนิค trypan blue จ. เม็ดเลือดหอยแครง

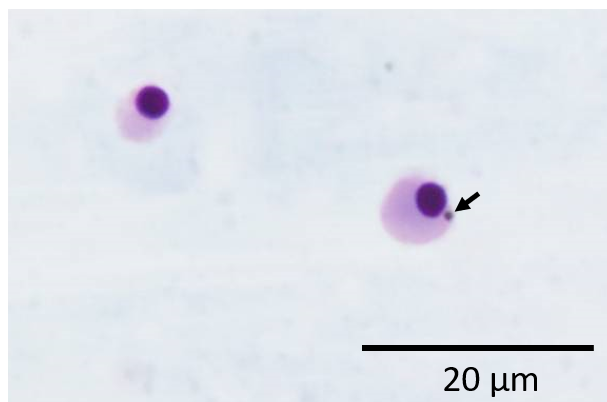
A. เซลล์ที่มีชีวิต B. เซลล์ที่ตายติดสีฟ้า

ตารางที่ 2 จำนวนเม็ดเลือดรวมและอัตราการรอดชีวิตของเซลล์เม็ดเลือดหอยแครง *Anadara granosa* จังหวัดสมุทรสงคราม ตราด และสุราษฎร์ธานี ในปี 2566

หอยตัวที่	จำนวนเม็ดเลือดรวม ($\times 10^6$ cells/ml)			อัตราการรอดชีวิตของเซลล์เม็ดเลือด (%)		
	สมุทรสงคราม	ตราด	สุราษฎร์ธานี	สมุทรสงคราม	ตราด	สุราษฎร์ธานี
1	117.50	30.00	172.50	100.00	81.11	98.55
2	170.00	57.50	80.00	100.00	89.09	90.28
3	170.00	35.83	142.50	98.25	100.00	96.80
4	142.50	33.33	127.50	100.00	88.89	97.78
5	322.50	30.83	225.00	97.37	98.15	96.62
6	95.00	11.00	120.00	100.00	89.43	97.92
7	180.00	44.17	127.50	97.00	77.55	95.48
8	132.50	54.33	162.50	100.00	77.78	96.93
9	100.00	35.67	125.00	100.00	84.11	96.25
10	147.50	54.00	82.50	100.00	88.70	100.00
11	192.50	40.33	42.50	97.44	83.78	100.00
12	170.00	29.67	85.00	100.00	87.27	97.44
13	137.50	29.67	72.50	100.00	93.63	97.62
14	137.50	38.00	180.00	98.04	91.58	98.48
15	130.00	24.33	147.50	100.00	90.40	96.90
16	202.50	41.00	190.00	98.96	91.25	99.33
17	110.00	56.00	175.00	98.25	89.94	100.00
18	115.00	46.33	167.50	98.25	97.82	98.41
19	197.50	35.00	92.50	96.77	95.95	97.44
20	108.33	38.67	97.50	100.00	87.05	93.70
ค่าเฉลี่ย	153.92	37.44	130.75	99.02	89.17	97.30
ส่วน เบี่ยงเบน มาตรฐาน	51.60	11.27	47.14	1.21	6.26	2.28

5.3 การวิเคราะห์ค่าความถี่ในการเกิดไมโครนิวเคลียส (Micronucleus test; MNF)

การประเมินความผิดปกติของโครโมโซมในเม็ดเลือดหอยแครง *Anadara granosa* ในการวิเคราะห์ครั้งนี้ ใช้เทคนิค Micronucleus test โดยนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดไมโครนิวเคลียส (Micronucleated cells) (รูปที่ 8) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากเซลล์ทั้งหมด 3,000 เซลล์/ตัวอย่าง รวม 30 ตัวอย่าง พบว่าหอยแครงจังหวัดสมุทรสงคราม ตราด และสุราษฎร์ธานี มีค่าความถี่ในการเกิดไมโครนิวเคลียส (MNF) ระหว่าง 23.20 ± 4.42 – 38.00 ± 2.37 MN/1000 cells (ตารางที่ 3)



รูปที่ 8 เซลล์เม็ดเลือดหอยแครงปกติและที่พบไมโครนิวเคลียส ลูกศรชี้คือไมโครนิวเคลียส

ตารางที่ 3 ความถี่ในการเกิดไมโครนิวเคลียส (MN/1000 cells) ในเม็ดเลือดของหอยแครง *Anadara granosa* จังหวัดสมุทรสงคราม จังหวัดตราด และจังหวัดสุราษฎร์ธานี ในปี 2566

ตัวอย่างที่	สมุทรสงคราม	ตราด	สุราษฎร์ธานี
1	29.33	39.67	29.00
2	30.67	36.00	25.67
3	18.00	39.67	24.67
4	19.33	34.00	26.00
5	26.00	36.67	24.00
6	22.67	38.67	27.33
7	24.33	42.00	25.67
8	18.00	39.00	23.67
9	22.00	35.67	26.00
10	21.67	38.67	26.33
ค่าเฉลี่ย	23.20	38.00	25.83
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	4.42	2.37	1.56

5.4 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การแตกหักของดีเอ็นเอ (% Tail DNA)

ในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมาได้ดำเนินการการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การแตกหักของดีเอ็นเอ (% Tail DNA) ในเม็ดเลือดหอยแครงจากจังหวัดสมุทรสงคราม ตราด และสุราษฎร์ธานี ทั้ง 30 ตัวอย่าง เป็นที่เรียบร้อยแล้ว พบ % Tail DNA อยู่ในช่วง $6.58 \pm 1.06 - 8.53 \pm 1.27\%$ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ความเสียหายของดีเอ็นเอ (% Tail DNA) ในเม็ดเลือดของหอยแครง *Anadara granosa* จังหวัดสมุทรสงคราม จังหวัดตราด และจังหวัดสุราษฎร์ธานี ในปี 2566

ตัวอย่างที่	สมุทรสงคราม	ตราด	สุราษฎร์ธานี
1	7.81	5.55	8.17
2	6.92	6.13	8.68
3	7.46	6.03	8.23
4	8.9	7.39	8.31
5	8.84	4.85	8.1
6	10.04	6.17	8.42
7	9.8	8.63	8.35
8	6.5	6.78	7.79
9	9.58	7.09	7.7
10	9.44	7.14	7.93
ค่าเฉลี่ย	8.53	6.58	8.17
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	1.27	1.06	0.30

5.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติทั้งหมดจะดำเนินการในช่วง 6 เดือนหลัง