



สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รายงานฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยเรื่อง

การประเมินผลกระทบของโลหะหนักและสารอินทรีย์ไฮโดรคาร์บอนต่อสัตว์
ทะเลตามแนวชายฝั่งทะเลอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง

Assessments of heavy metals and organic hydrocarbons
exposure in selected marine animals from coastal industrial area
at Map Ta Phut, Rayong Province

โดย

ผศ.ดร. ปภาศิริ บาร์เนท

ผศ. ดร. สุวรรณ ภาณุตระกูล

ดร. พอจิต นันทนาวัฒน์

ผศ. ดร. นันทพร ภัทรพุท

อาจารย์ นิภา มหารัชพงศ์

ดร. ไพฑูรย์ มกกงไผ่

นาย อาวุธ หมั่นหาผล

ดร. นันทิกา คงเจริญพร

Prof. Dr. Malin Charlotta Celandner

รายงานในปีพ.ศ. 2556, งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2555 – 2557

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช)

๐๑656 04

23 ส.ย. 2557

338743

เริ่มบริการ

28 ก.ค. 2557

บทคัดย่อ

การศึกษาการปนเปื้อนของแคดเมียมและสาร Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) ซึ่งเป็นสารประกอบในคราบน้ำมัน ได้ถูกตรวจสอบในปลาทะเลธรรมชาติและหอยแมลงภู่เลี้ยงในฟาร์มทะเลจากชายฝั่งทะเลอ่าวตังเกี๋ย จังหวัดชลบุรีและนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง ระยะทาง 5 กิโลเมตรจากชายฝั่ง รวมทั้งตรวจสอบการตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) และ Metallothionein (MT) บ่งชี้การรับสัมผัสสารพิษ PAHs และโลหะหนัก ตามลำดับ ทำการเก็บตัวอย่างเพียงครั้งเดียวใน 3 ปี โดยรายงานครั้งนี้ปีพ.ศ. 2556 เป็นปีที่ 2 รวมทั้งศึกษาพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลและการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของประชาชน หญิงตั้งครรภ์และนักเรียน จากการสัมภาษณ์เพื่อให้ได้ข้อมูลในการวิเคราะห์ความรู้ ความเข้าใจ และการรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับอันตรายจากการปนเปื้อนสารเคมีจากการบริโภคอาหารทะเล

ผลการศึกษาพบว่าปริมาณแคดเมียมในตับปลาทะเลจากอ่าวตังเกี๋ย ค่าเฉลี่ย 0.4490 ± 0.6753 ug/g wet wt. (n=30) สูงกว่าตับปลาทะเลจับจากมาบตาพุด ค่าเฉลี่ย 0.3252 ± 0.3441 ug/g wet wt. (n=30) และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p > 0.01$) แต่พบสูงกว่าในเนื้อปลาทะเลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) ที่มีค่าแคดเมียมต่ำใกล้เคียงกันคือ อ่าวตังเกี๋ยและมาบตาพุดมีค่าช่วงเฉลี่ย 0.0028 ± 0.0035 ug/g wet wt. และ 0.0033 ± 0.0024 ug/g wet wt (n=30) ตามลำดับ ปลาทะเล 17 ชนิดจับจากอ่าวตังเกี๋ยที่ค่าปริมาณแคดเมียมค่อนข้างสูง คือ ปลาลิ้นหมา ปลาสิ่กุน และปลาข้างตะเภา (~ 1.4 ถึง 2.6 ug/g wet wt.) ส่วนตับปลา (เฉลี่ย 0.2473 ± 0.0561 ug/g wet wt.) ส่วน ปลาทะเล 11 ชนิด จับจากมาบตาพุดที่ค่าปริมาณแคดเมียมสูงมีเพียงชนิดเดียวคือ ในตับปลา (เฉลี่ย 0.8777 ± 0.6479 ug/g wet wt.) ซึ่งสูงกว่าอ่าวตังเกี๋ย

ปริมาณแคดเมียมในหอยแมลงภู่พบในช่วงความเข้มข้นน้อยกว่าจากตับปลาทะเล บริเวณอ่าวตังเกี๋ยในหอยแมลงภู่ขนาดเล็กมีค่าเฉลี่ย 0.05128 ± 0.0043 ug/g wet wt. (n=20) สูงกว่าหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่มีค่าเฉลี่ย 0.0485 ± 0.0055 ug/g wet wt. (n=20) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) แต่บริเวณมาบตาพุดค่าความเข้มข้นของปริมาณแคดเมียม ในหอยแมลงภู่ขนาดเล็กและใหญ่เฉลี่ย 0.0136 ± 0.0040 ug/g wet wt. (n=19) และ 0.0104 ± 0.0027 ug/g wet wt. (n=20) ตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.01$) แต่ละค่าความเข้มข้นของปริมาณแคดเมียม ทั้งในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่และขนาดเล็กจากบริเวณอ่าวตังเกี๋ยมีค่าสูงกว่ามาบตาพุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

ความเข้มข้นของ PAHs รวมในตับปลาจากอ่าวตังเกี๋ย มีค่าเฉลี่ย 0.16982 ± 0.1650 ug/g dry wt. (n=30) สูงกว่า 2.8 เท่า ในกล้ามเนื้อค่าเฉลี่ย 0.0607 ± 0.0708 ug/g dry wt. (n=30) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) ส่วนมาบตาพุด ความเข้มข้นของ PAHs ในตับปลามีค่าเฉลี่ย 0.1314 ± 0.0699 ug/g dry wt. (n=30) สูงกว่า 3.7 เท่า ในกล้ามเนื้อเฉลี่ย 0.0351 ± 0.0378 ug/g dry wt. (n=30) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในเนื้อเยื่อตับและกล้ามเนื้อปลาที่อาศัยบริเวณอ่าวตังเกี๋ยและบริเวณมาบตาพุด ($p > 0.05$)

ความเข้มข้นของ PAHs รวม ของหอยแมลงภู่น้ำจืดขนาดใหญ่จากอ่างศิลา มีค่าเฉลี่ย 0.1190 ± 0.0959 ug/g dry wt. (n=20) สูงกว่า 2.3 เท่า ในหอยขนาดเล็กมีค่าเฉลี่ย 0.0507 ± 0.0398 ug/g dry wt. (n=20) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) ส่วนมาบตาพุด ความเข้มข้นของ PAHs ในหอยขนาดใหญ่มีค่าเฉลี่ย 0.2542 ± 0.1301 ug/g dry wt. (n=20) สูงกว่า 1.6 เท่า ในหอยขนาดเล็กมีค่าเฉลี่ย 0.1569 ± 0.1160 ug/g dry wt. (n=20) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และพบความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในหอยแมลงภู่น้ำจืดขนาดใหญ่และหอยแมลงภู่น้ำจืดขนาดเล็กที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดมีค่าสูงกว่าอ่างศิลา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ส่วนจากจังหวัดตราดไม่พบสาร PAHs รวม (n=10)

ชนิดของ PAHs จาก 16 ตัวที่เป็นพิษสามารถตรวจพบจากปลาทะเลจากทั้งสองแหล่งทั้งระดับและกล้ามเนื้อ รวมทั้งหอยแมลงภู่น้ำจืดขนาดเล็กและใหญ่พบเป็นสารขนาดโมเลกุลเล็กมี 3 ชนิดเท่านั้นคือ Phenanthrene (PHE), Pyrene (PYR), Fluoranthene (FLA) ส่วนมาบตาพุดในหอยแมลงภู่น้ำจืดเล็ก นอกจากพบ 3 ชนิดแล้วยังพบเพิ่มคือ Chrysene (CHR) ในหอยแมลงภู่น้ำจืดใหญ่นอกจากพบ 3 ชนิดแล้วยังพบเพิ่มคือ Acenaphthylene (ACY) และ Chrysene (CHR)

การแสดงออกของ CYP1A (ขนาดแบนที่ 76/54 kDa) ในปลาทะเลด้วยเทคนิคแอนติบอดี (Western blot) จากอ่างศิลาพบมีผลบวกจำนวน 44 จาก 60 ตัวอย่าง (73.3%) ส่วนมาบตาพุด พบจำนวน 48 จาก 60 ตัวอย่าง (80%) การแสดงออกของ MT (ขนาด 10 kDa) จากอ่างศิลาพบมีจำนวน 10 จาก 60 ตัวอย่าง (16.6%) ส่วนมาบตาพุด พบมีจำนวน 34 จาก 60 ตัวอย่าง (56.7%) โดยประเภทปลาทะเลชนิดการกินอาหาร (กินเนื้อ กินพืช และ กินทั้งพืชและเนื้อ) ไม่มีผลนัยยะต่อการแสดงออกของ CYP1A และ MT

ผลการตรวจการแสดงผลของ CYP1A (56 kDa) ด้วยเทคนิคแอนติบอดี ในหอยแมลงภู่น้ำจืด อ่างศิลาและมาบตาพุดพบ 100% ทั้งสองสถานี แต่ความเข้มข้นของแบนตัวชีวิตชีวภาพมีการจับด้วยความเข้มข้นต่างกันในตัวอย่างไม่เท่ากัน โดยอ่างศิลาหอยขนาดใหญ่และขนาดเล็กมีการจับของแอนติบอดีกับแอนติเจนความเข้มข้น (+) และความเข้มข้นปานกลาง (++) เท่านั้น ส่วนมาบตาพุดหอยขนาดใหญ่และเล็กมีความเข้มข้นปานกลาง (++) และเข้มข้นมาก (+++) เท่านั้น

การศึกษาพฤติกรรมกรรมการบริโภคอาหารทะเล ความรู้ ความเข้าใจ ตลอดจนการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนที่อาศัยอยู่ใกล้แหล่งอุตสาหกรรมซึ่งเป็นการวิจัยเชิงสำรวจ โดยเก็บข้อมูลแบบภาคตัดขวางในหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนที่อาศัยอยู่ในบริเวณมาบตาพุด จ.ระยอง และอ่างศิลา จ.ชลบุรี จำนวนทั้งสิ้น 241 และ 356 คน ตามลำดับ โดยใช้แบบสอบถามแบบมีโครงสร้างผลการวิจัยพบว่า ส่วนใหญ่หญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนในมาบตาพุดและอ่างศิลามีพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลที่น้อยกว่าหญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดโดยร้อยละ 45 รับประทานอาหารทะเลอย่างน้อย 3 ครั้ง/สัปดาห์ ส่วนเด็กนักเรียนในมาบตาพุดมีพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลที่น้อยกว่าเด็กนักเรียนในอ่างศิลาโดยประมาณร้อยละ 50 รับประทานอาหารทะเลสด 1-2 ครั้ง/สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดและอ่างศิลา พบว่า มีการบริโภคอาหารทะเลสดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.001$ ขณะที่ในเด็กนักเรียนทั้งสองพื้นที่ ไม่พบความแตกต่างในการบริโภคอาหารทะเลสด ด้านความรู้ พบว่าส่วนใหญ่ (> ร้อยละ 60) ของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนของทั้งสองพื้นที่มีความรู้ในระดับน้อย ส่วนใหญ่ยังขาดความรู้ที่เกี่ยวกับการป้องกัน/

การลดปริมาณการปนเปื้อนสารเคมีและผลกระทบต่อสุขภาพจากแคดเมียมและโพสโซคลิกอะโรเมติกไฮโดรคาร์บอน เช่นเดียวกับกลุ่มประชาชนทั่วไปที่ทำการศึกษาวิจัยในปี 2555 ประมาณร้อยละ 40 ของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนทั้งใน มาบตาพุดและอ่างศิลาไม่รู้จักโลหะหนัก และมากกว่าร้อยละ 88 ไม่รู้จักแคดเมียม และโพสโซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ด้านการรับรู้ความเสี่ยง พบว่า มากกว่าร้อยละ 86 ของหญิงตั้งครรภ์ในทั้งสองพื้นที่มีการรับรู้ความเสี่ยงในระดับน้อย ในขณะที่ครึ่งหนึ่ง (ร้อยละ 49.8) ของเด็กนักเรียนในมาบตาพุดมีการรับรู้ความเสี่ยงในระดับปานกลาง ผลการเปรียบเทียบความรู้ ความเข้าใจ และการรับรู้ความเสี่ยง พบว่า หญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดและอ่างศิลามีความรู้ความเข้าใจและมีการรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนักไม่แตกต่างจากหญิงตั้งครรภ์ในอ่างศิลา ที่ $P = 0.14$, $P = 0.28$ และ $P = 0.46$ ตามลำดับในขณะที่เด็กนักเรียนในมาบตาพุดมีความรู้และมีการรับรู้ความเสี่ยงสูงกว่าเด็กนักเรียนในอ่างศิลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P < 0.001$ แต่ความเข้าใจเกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนักของเด็กนักเรียนในมาบตาพุดและอ่างศิลา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P = 0.35$ สรุปผลจากการศึกษาที่ผ่านมา 2 ปี ในกลุ่มประชาชนทั่วไป หญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนในมาบตาพุดอ่างศิลา พบว่า ส่วนใหญ่ทราบถึงแหล่งที่มาของการปนเปื้อนและการรับสัมผัสสารเคมีในอาหารทะเลและการป้องกัน/ลดการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเล แต่ความรู้ ความเข้าใจและการรับรู้เกี่ยวกับสารเคมีและความเสี่ยงต่อการรับสัมผัส ตลอดจนผลกระทบต่อสุขภาพ ยังมีอยู่ในระดับคะแนนที่ต่ำ ดังนั้น จึงควรส่งเสริมและสนับสนุนการสื่อสารความเสี่ยงเกี่ยวกับผลกระทบต่อร่างกายและการป้องกันตนเองจากการบริโภคอาหารทะเล

Abstract

The study concentrated on Cadmium and total Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contamination on feral fish and farmed green mussels along the Ang Sila coast, Chonburi province and Mapthaputh Industrial Estate, Rayong province in 2012 to 2014. In addition, biomarker (Cytochrome P450, CYP1A) and Metallothionein (MT) assessment proved exposure to above mentioned chemicals based on one time sampling collected in 2013. Pregnant and student's behaviour in marine food consumption and their perceived risks related to consuming marine food was studied based on interviews relating to their knowledge and understanding about danger in consuming marine food contaminated with chemicals.

Results showed Cadmium in fish liver caught from Ang Sila averaged 0.4490 ± 0.6753 ug/g wet wt. (n=30), which is higher value than the liver in fish caught from Mapthaputh that averaged 0.3252 ± 0.3441 ug/g wet wt. (n=30). It is not statistically significant with ANOVA ($p > 0.01$). As compare to the fish meat, the Cadmium level is lower and statistically significant with ANOVA ($p < 0.01$) in both areas where Ang Sila and Mapthaputh averaged 0.0028 ± 0.0035 ug/g wet wt. (n=30) and 0.0033 ± 0.0024 ug/g wet wt (n=30). Seventeen fish species were caught from Angsila, 3 species with high Cadmium quantity in the liver (~ 1.4 ถึง 2.6 ug/g wet wt.) were *Synaptura panoides*, *Alepes djedaba* and *Terapon jarbua* where Mackerel (*Rastrelliger brachysoma*) has cadmium level at 0.2473 ± 0.0561 ug/g wet wt. As for Mapthaputh, the level of Cadmium quantity in the liver is high only in Mackerel (averaged 0.8777 ± 0.6479 ug/g wet wt.) as for the total of 11 fish species tested.

The Cadmium quantities in green mussels found is lower than that fish liver. Around Ang Sila, the Cadmium concentration in small green mussels averaged 0.05128 ± 0.0043 ug/g wet wt. (n=20), which is higher than large green mussels that averaged 0.0485 ± 0.0055 ug/g wet wt. (n=20) with statistical significance with ANOVA ($p < 0.01$). On the contrary, around Mapthaputh area, there is no statistical significance ($p > 0.01$) of Cadmium concentration between large (averaged 0.0136 ± 0.0040 ug/g wet wt. (n=19) and small green mussels (averaged 0.0104 ± 0.0027 ug/g wet wt.). And, Cadmium concentration in green mussels of both large and small around Ang Sila is higher than Mapthaputh with statistical significance ($p < 0.01$).

The concentration of PAHs in fish liver from Ang Sila averaged 0.16982 ± 0.1650 ug/g dry wt. (n=30), which is 2.8 times higher in fish meat that averaged 0.0607 ± 0.0708 ug/g dry wt. (n=30). This is significant statistically with ANOVA ($p < 0.01$). As for Mapthaputh area, the concentration of PAHs in fish liver averaged 0.1314 ± 0.0699 ug/g dry wt. (n=30), which is 3.7 times higher than fish meat that averaged 0.0351 ± 0.0378

ug/g dry wt. (n=30). This is no significant statistically difference ($p > 0.05$) in which the concentration in fish meat and liver from both Ang Sila and Mapthaputh.

The concentration of total PAHs from large green mussels in Ang Sila averaged 0.1190 ± 0.0959 ug/g ug/g dry wt. (n=30), which is 2.3 times higher than small green mussels that averaged 0.0507 ± 0.0398 ug/g dry wt. (n=30). This is different with statistical significance with ANOVA ($p < 0.01$). As for Mapthaputh, the concentration of PAHs in large green mussels averaged 0.2542 ± 0.1301 ug/g ug/g dry wt. (n=30), which is 1.6 times higher than small green mussels that averaged 0.1569 ± 0.1160 ug/g dry wt. (n=30). It is different with statistical significance ($p < 0.01$). The total concentration of PAHs of both sizes of green mussels from Ang Sila is higher than that from Mapthaputh with statistical significance ($p < 0.01$). Farmed-mussel (as control) collected from Trat Province found no PAHs concentration (n=10).

Fish (liver and muscle) from both stations and from Ang Sila (small and large size of green mussel) found 3 types of low molecular weight PAH namely Phenanthrene (PHE), Pyrene (PYR), Fluoranthene (FLA). For Mapthaputh, Chrysene (CHR) found additional type beside 3 types of PAHs in small size of green mussel while large size found additional type of Acenaphthylene (ACY) and Chrysene (CHR).

The expression of CYP1A (molecular mass at 76/54 kDa, Western Blot) in marine fish from Ang Sila using antibody technique shows 44 positive results from 60 samples (73.3%) as for Mapthaputh area, there are 48 positive results from 60 samples (80%). MT expression (size 10 kDa) from Ang Sila was found in 10 out of 60 samples (16.6%) as for Mapthaputh, 34 out of 60 samples (56.7%). Fish species as categorized by its consumption behaviour (carnivore, omnivore and herbivore) has no significance statistically in relation to expression of CYP1A and MT.

The expression of CYP1A (56 kDa) with antibody technique was found in green mussels for both Ang Sila and Mapthaputh. However, the concentration of the bioindicator band can verify different concentrations of samples. Both small and large green mussels from Ang Sila were verified by antibody and antigen with thin concentration (+) and average concentration (++) only. As for Mapthaputh, small and large green mussels have average (++) and high concentration (+++) only.

Seafood consumption behavior and perception of the risk associated with seafood consumption by pregnant women and students living near Mapthaputh Industrial Estate, Rayong Province, Thailand were surveyed for cross-sectional data. A structured interview with a total of 241 pregnant women and 356 students found that most pregnant women and student consume mackerel, shrimp, squid, crab, and green mussels frequently to always. Pregnant women in Angsilat consume more seafood than pregnant women living in Mapthaputh or about 45% of pregnant women consume

seafood at least 3 times per week. Students in Mapthaputh consume more seafood than students in Angsila or about 50% of students consume fresh seafood 1-2 times per week. When consumption behavior is compared between pregnant women in Mapthaputh and Angsila, there is a statistically significant differences at $P < 0.001$, while students from both areas showed no differences in fresh seafood consumption. In terms of knowledge, it was found that most (more than 60%) pregnant women and students in both areas have low levels of knowledge on chemical contamination and preventative measures from chemicals such as cadmium and polycyclic aromatic hydrocarbon. This finding corresponds to a survey conducted in 2013 on the general public. About 40% of pregnant women and students in Mapthaputh and Angsila have no knowledge of heavy metals and more than 88% have no knowledge of cadmium and polycyclic aromatic hydrocarbon. Furthermore, it was found that 86% of pregnant women in both areas have little knowledge of risks, while 49.8% of students in Mapthaputh have some perception of risks associated. The comparison on knowledge, understanding and perception of risks associated with heavy metals found no statistical significant difference between pregnant women in Mapthaputh and Angsila as $P = 0.14$, $P = 0.28$, and $P = 0.46$ respectively. Students in Mapthaputh are more knowledgeable and perceive the risks associated with heavy metals than students in Angsila with statistically significant difference at $P < 0.001$. However, understanding of seafood and heavy metals of students in Mapthaputh and Angsila is not statistically significant difference at $P = 0.35$. In conclusion, based on the 2 years spent on studying the general public, pregnant women, and students in Mapthaputh and Angsila, it was found that in general these groups know the source of contamination and exposure to chemicals in seafood and prevention or reduction measures of chemical contamination in seafood, but knowledge, understanding, and perception of risks associated with exposure as well as effects on health is low. As a result, more supports should be given in terms of public communication of the risks and effects on health along with preventative measures from heavy metals for seafood consumption.

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	11
บทที่ 2 เอกสารงานวิจัย	14
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	31
บทที่ 4 ผลการวิจัย	40
บทที่ 5 วิจัยรณผลการวิจัย	77
สรุปผลการวิจัย	81
บทที่ 6 เอกสารอ้างอิง	83
ภาคผนวก	91
ผลงานวิจัยตีพิมพ์ปี 2013	

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	ค่าปริมาณแคดเมียม (ug/g wet wt.) วิเคราะห์จากตับและกล้ามเนื้อปลาทะเล ประเภทต่างๆ จับจากชายฝั่งทะเลอ่างศิลาและมาบตาพุด เดือนมิถุนายน 2556	43
ตารางที่ 2	การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) และ MT ในปลาทะเล จับจากอ่างศิลา เดือนมิถุนายน ปี 2556 เทคนิคทางแอนติบอดี (Western blot)	52
ตารางที่ 3	การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) และ MT ในปลาทะเล จับจากมาบตาพุด เดือนมิถุนายน ปี 2556 เทคนิคทางแอนติบอดี	54
ตารางที่ 4	การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) ในหอยแมลงภู่เก็บ จากอ่างศิลาและมาบตาพุด เดือนเมษายน ปี 2556 เทคนิคทางแอนติบอดีสังเกตุด้วยสายตา	56
ตารางที่ 5	จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามลักษณะทางประชากรและสังคม	58
ตารางที่ 6	จำนวน (ร้อยละ) ของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนจำแนกตามพฤติกรรม การบริโภคอาหารทะเล	61
ตารางที่ 7	เปรียบเทียบพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียน ในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา	62
ตารางที่ 8	จำนวน (ร้อยละ) ของความถี่ในการบริโภคอาหารทะเลในหญิงตั้งครรภ์ในรอบ 1 สัปดาห์ ที่ผ่านมา	62
ตารางที่ 9	จำนวน (ร้อยละ) ของความถี่ในการบริโภคอาหารทะเลในเด็กนักเรียนในรอบ 1 สัปดาห์ ที่ผ่านมา	64
ตารางที่ 10	จำนวน (ร้อยละ) การตอบสนองของหญิงตั้งครรภ์ที่ไม่ถูกต้อง (% false) และ ความไม่รู้ (% don't know) เกี่ยวกับอันตรายของการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเล	66
ตารางที่ 11	จำนวน (ร้อยละ) การตอบสนองของเด็กนักเรียนที่ไม่ถูกต้อง (% false) และ ความไม่รู้ (% don't know) เกี่ยวกับอันตรายของการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเล	67
ตารางที่ 12	จำนวนและร้อยละของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนจำแนกตามระดับความรู้	68
ตารางที่ 13	การตอบสนองต่อคำนิยามอันตราย (Definition of hazard phase) ในหญิงตั้งครรภ์ ที่พักอาศัยในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา	69
ตารางที่ 14	การตอบสนองต่อคำนิยามอันตราย (Definition of hazard phase) ในเด็กนักเรียน ที่พักอาศัยในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา	71
ตารางที่ 15	จำนวน (ร้อยละ) ของหญิงตั้งครรภ์จำแนกตามการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภค อาหารทะเล	73
ตารางที่ 16	จำนวน (ร้อยละ) ของเด็กนักเรียนจำแนกตามการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภค อาหารทะเล	75
ตารางที่ 17	จำนวนและร้อยละของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนจำแนกตามระดับการรับรู้ความเสี่ยง	76
ตารางที่ 18	การเปรียบเทียบความรู้ ความเข้าใจ และการรับรู้ความเสี่ยง ระหว่างหญิงตั้งครรภ์ และเด็กนักเรียนพื้นที่มาบตาพุด และอ่างศิลา	77

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แผนที่ประเทศไทยและสถานที่เก็บตัวอย่าง แนวชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี และมาบตาพุด จังหวัดระยอง	33
ภาพที่ 2 เครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS)	35
ภาพที่ 3 Box plot ของความเข้มข้นของ Cadmium ในกล้ามเนื้อและตับของปลาที่อาศัย บริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)	41
ภาพที่ 4 Box plot ของความเข้มข้นของ Cadmium ในหอยแมลงภู่น้ำขนาดเล็กและใหญ่ ที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)	44
ภาพที่ 5 Box plot ของความเข้มข้นของ PAHs ในกล้ามเนื้อและตับของปลาที่อาศัย บริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)	47
ภาพที่ 6 Box plot ของความเข้มข้นของ PAHs ในหอยแมลงภู่น้ำขนาดเล็กและใหญ่ ที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)	49
ภาพที่ 7 การแสดงออกของ CYP1A ในตับปลาทะเลจากอ่างศิลา ถูกจับจำเพาะด้วย โมโนโคลนอลแอนติบอดีบนกระดาดไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ให้ผลบวกทุก เลนที่ 74 หรือ/และ 56 kDa เลนที่ 1 = seabass CYP1A เลน 2 = โปรตีน มาตรฐาน เลน 3 - 4 = ปลาหัวหางพัด (ผลเป็น ลบ) เลน 5 - 6 = ปลากระทุงเหว (ผลเป็น ลบ) เลน 7 - 10 = ปลากระทุงเหว (ผลเป็น บวก)	54
ภาพที่ 8 การแสดงออกของ MT ในตับปลาทะเลจากมาบตาพุด ถูกจับจำเพาะด้วย โพลีโคลนอล แอนติบอดีบนกระดาดไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ให้ผลบวก เลน 7 - 10 ที่ 10 kDa เลนที่ 1 = โปรตีนมาตรฐาน เลน 2 = seabass MT เลน 3 - 6 = ปลาหู เลน 7 - 8 = ปลาตะเพียนน้ำเค็ม เลน 9 - 10 = ปลาหางแข็ง	54
ภาพที่ 9 การแสดงออกของ CYP1A ในต่อมย่อยอาหาร ของหอยแมลงภู่น้ำ ถูกจับจำเพาะ ด้วยโพลี โคลนอลแอนติบอดีบนกระดาดไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ให้ผลบวก ทุกเลนที่ 56 kDa เลน 1 = seabass CYP1A เลน 2 = โปรตีนมาตรฐาน เลน 3 - 6 = หอยแมลงภู่น้ำขนาดใหญ่ (ผลความเข้มระดับ +++) เลน 7 - 10 = หอยแมลงภู่น้ำขนาดเล็ก (ผลความเข้มระดับ +)	56

บทที่ 1 บทนำ

จากการประกาศกำหนดนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยองให้เป็นเขตควบคุมมลพิษ (คำสั่งศาลปกครองพิพากษาวันที่ 3 มีนาคม 2552) เพื่อดำเนินการควบคุม ลด และขจัดมลพิษ ตามที่กำหนดไว้ในกฎหมาย จึงควรมีงานวิจัยในการติดตามตรวจสอบยืนยันผลทางวิทยาศาสตร์ ว่าตามแนวชายฝั่งทะเลยังมีปัญหามลภาวะทางน้ำ คำตอบบางส่วนจากงานวิจัยครั้งนี้ คือจะทราบผลกระทบของโลหะหนักและสารอินทรีย์ไฮโดรคาร์บอน กลุ่มพีเอเอช ยังปนเปื้อนอยู่ในสัตว์ทะเล จำพวกปลาทะเลและหอยแมลงภู่ โดยชาวประมงยังมีการจับปลาทะเลตามชายฝั่งทะเลมาเป็นอาหารและบริโภคหอยแมลงภู่จากฟาร์มเลี้ยงในอ่าว ซึ่งเป็นบริเวณที่มีคลองรับการระบายน้ำทั้งจากโรงงานอุตสาหกรรม โดยใช้สถานีเปรียบเทียบจาก ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรีที่เป็นแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งมีฟาร์มเลี้ยงหอยแมลงภู่และมีการจับปลาทะเลมาบริโภค

สำหรับชายฝั่งทะเลนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง ซึ่งเป็นนิคมอุตสาหกรรมขนาดใหญ่แห่งแรกของจังหวัด เพื่อเป็นฐานการผลิตก๊าซธรรมชาติและผลิตภัณฑ์เกี่ยวเนื่อง เช่น อุตสาหกรรมปิโตรเคมี อุตสาหกรรมเคมี โรงงานผลิตกระแสไฟฟ้า เป็นต้น ดังนั้นหนึ่งในมลพิษทั้งหลาย คือมลภาวะการปนเปื้อนของสารจากโรงงานที่ปล่อยมาสู่ทางทะเล พื้นที่มาบตาพุดถูกกำหนดให้เป็นเขตอุตสาหกรรมหนักและอุตสาหกรรมปิโตรเคมี เช่น โรงแยกก๊าซธรรมชาติ โรงกลั่นน้ำมัน โรงไฟฟ้าถ่านหิน โรงผลิตเหล็กและเหล็กกล้า โรงงานพลาสติก โรงงานเคมีและปุ๋ยเคมี ศูนย์กำจัดของเสียอันตราย รวมไปถึงท่าเรือน้ำลึกขนาดใหญ่ กลุ่มนิคมอุตสาหกรรมบริเวณพื้นที่มาบตาพุด ประกอบด้วย นิคมอุตสาหกรรมทั้งหมด 4 แห่ง มีขนาดพื้นที่รวม 21,241 ไร่ มีจำนวนโรงงานทั้งหมด 130 โรงงาน (เฉพาะนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุดมีพื้นที่ประมาณ 10,000 ไร่ จำนวน 65 โรงงาน) (สำนักงานจังหวัดระยอง, 2552) สาเหตุของมลพิษทางแหล่งน้ำนั้นเกิดจากการปนเปื้อนของสารมลพิษที่มาจาก 2 แหล่งตามชายฝั่งทะเลบริเวณนี้ คือแหล่งปนเปื้อนที่มีจุดกำเนิดแน่นอน (point source) เช่น โรงแยกก๊าซธรรมชาติ โรงกลั่นน้ำมัน โรงไฟฟ้าถ่านหิน เป็นต้น และแหล่งปนเปื้อนที่มีจุดกำเนิดที่ไม่แน่ชัด เพราะสารมลพิษแพร่กระจายจนไม่สามารถบ่งชี้แหล่งกำเนิดได้แน่ชัด ดังเช่น ปัญหาการลักลอบทิ้งน้ำเสีย ภายในนิคมอุตสาหกรรมออกสู่ภายนอก เช่น น้ำล้างเครื่องจักรหรืออุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งการระบายของเสียที่มากกระบวนการผลิตในขั้นตอนต่างๆ ด้วย ทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารเคมีหรือสารพิษที่มาจากโรงงานอุตสาหกรรม ไม่ว่าจะเป็นของเหลว ของเสียที่เป็นกาก หรือสิ่งปฏิกูลลงสู่แหล่งน้ำในธรรมชาติทางทะเล และปัญหาการลักลอบทิ้งกากอุตสาหกรรมออกสู่สาธารณะ

ในการติดตามถึงการปล่อยสารพิษจากโรงงานต่างๆในทางปฏิบัติแล้ว การเข้าไปตรวจสอบถึงการปล่อยน้ำเสียหรือเข้าไปควบคุมการดำเนินการทั้งหมดในโรงงานอุตสาหกรรมนั้นทำได้ยาก ดังนั้นการเข้าไปประเมินเบื้องต้น คือ การตรวจสอบในสิ่งแวดล้อม เช่น การวิเคราะห์การปนเปื้อนของโลหะหนักประเภทต่างๆ และสารอินทรีย์ไฮโดรคาร์บอน จำพวกสารพีเอเอช ในตัวสัตว์ทะเล อย่างไรก็ตามการตรวจวิเคราะห์ทุกๆ สารที่ต้องสงสัยนั้นมีความสิ้นเปลือง และเครื่องมืออาจไม่สอดคล้องกับความไวในการตรวจปริมาณต่ำๆ ดังนั้นการประยุกต์ใช้ตัวชี้วัดทางชีวภาพต่างๆ (ทำให้การประเมินถึงสถานการณ์มลพิษต่างๆมีความแม่นยำมากขึ้น) เช่นโปรตีน CYP1A (สัตว์รับสัมผัสสารพีเอเอช) และ metal-binding protein (สัตว์รับสัมผัสโลหะหนัก) มาใช้ในการเฝ้าระวังหรือประเมินสถานการณ์เบื้องต้นของมลพิษทางทะเล การที่สัตว์ทะเลจำพวกปลาทะเลและหอยแมลงภู่มีการสร้างโปรตีนออกมาในร่างกาย เนื่องจากการ

ลดความเป็นพิษของโลหะหนักและสารพีเอเอช และช่วยให้ขับออกจากร่างกาย (Peakall, 1994) ทั้งนี้ จะใช้เทคนิคทางแอนติบอดีในการติดตามการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีน ซึ่งโมโนโคลนอล แอนติบอดีที่จับจำเพาะกับโปรตีน CYP1A ได้มีการผลิตขึ้นสำเร็จจากการได้รับทุนวิจัยอุดหนุนจากสภาวิจัยแห่งชาติในงบประมาณปีพ.ศ. 2550-2552 การใช้ตัวชี้วัดทางชีวภาพประเมินความเสี่ยงการรับสัมผัสมีข้อดีอย่างมากเพราะสามารถบ่งชี้การปนเปื้อนของสารพิษ (หลายกลุ่ม) ในสัตว์แม่ที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายในปริมาณน้อยก็ตาม

การที่ชายฝั่งทะเลมาบตาพุดยังคงมีการจับสัตว์ทะเลนำมาบริโภคเป็นอาหาร และมีการบริโภค หอยแมลงภู่มากจากแพะเลี้ยง ประชาชนกลุ่มเสี่ยงต่อการบริโภคอาหารทะเลในพื้นที่นี้ นอกจากนักท่องเที่ยว ที่มี ชาวประมง กลุ่มประมงผู้เลี้ยงหอยแมลงภู่ และประชาชนในพื้นที่ที่มีการซื้อบริโภคอาหารทะเล ก็จะได้รับสารโลหะหนักและสารพีเอเอชจากอาหารทะเลที่บริโภค โดยมีการศึกษาการปนเปื้อนโลหะหนักในเนื้อเยื่อสัตว์ทะเล ดังนี้ พบการปนเปื้อนของปรอทในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่และปลาทะเล ปริมาณ 0.010 และ 0.569 ตามลำดับ (ค่าเข้าใกล้ 1 หมายถึงมีความเสี่ยงได้รับสารปรอทเกินมาตรฐาน) โดยปลาทรายแดง พบปริมาณ 1.058 (กรมควบคุมมลพิษ 2545) ในปีพ.ศ. 2546 พบสารปรอทสูงสุด จำพวก ปลา ปู กุ้ง หอย และหมึก ในหอยเท้าช้างเล็ก ปริมาณ 0.232 mg/kg น้ำหนักเปียก รองลงมาคือ ปลาชังตะเกา และปลาแบนใหญ่ ปริมาณ 0.075 และ 0.073 mg/kg น้ำหนักเปียก ตามลำดับ (แววตา และ คณะ, 2548) และสำรวจอีกครั้งเมื่อปีพ.ศ. 2550-2551 ยังพบปรอทสูงเกินค่ามาตรฐาน 2 ตัวอย่าง (แววตา และ คณะ, 2552) ทั้งนี้ยังไม่รายงานการศึกษาการนำตัวชี้วัดชีวภาพมาตรวจสอบการรับสัมผัสของสัตว์ทะเลมาก่อน

กำหนดสถานที่เก็บตัวอย่างปลาทะเลและหอยแมลงภู่ คือ ตำบลอ่างศิลา จ.ชลบุรี ที่เป็นแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ กับบริเวณมาบตาพุด จ.ระยอง เป็นแหล่งอุตสาหกรรม เพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของปริมาณโลหะหนักและสารพีเอเอช กับการแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพโปรตีน metal-binding protein และ Cytochrome P450 (CYP1A) ตามลำดับ ในปลาทะเลและหอยแมลงภู่ ดังนั้น สมมติฐานของงานวิจัย ถ้าการประกาศมาบตาพุดเป็นเขตควบคุมมลพิษ และมีประสิทธิผลในการลดมลพิษ รวมทั้งมีความปลอดภัยในการบริโภคอาหารทะเล ปริมาณโลหะหนักและปริมาณสารพีเอเอช และเปอร์เซ็นต์การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพโปรตีนรับสัมผัสในปลาทะเลและหอยแมลงภู่ไม่ควรมีความแตกต่างกันทั้งสองสถานี กรณีพบความเสี่ยงในสถานีมาบตาพุดสูงกว่าสถานีอ่างศิลา ในฤดูกาลใดก็ตาม ตลอดระยะ 3 ปี การสำรวจ ผลของงานวิจัยสามารถนำไปใช้ในการบ่งชี้ยังมีโรงงานอุตสาหกรรมปล่อยน้ำทิ้งที่ยังไม่บำบัด ซึ่งเขตควบคุมมลพิษสามารถขอความร่วมมือ หรือนำกฎระเบียบไปควบคุม เข้มงวดต่อโรงงานในการลดมลพิษทางทะเล

ตามนโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ (พ.ศ. 2555-2559) ยุทธศาสตร์ คือพัฒนาสิ่งแวดล้อมเพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิต ดังนั้นการรับประทานอาหารทะเลปลอดภัย จึงเป็นการส่งเสริมคุณภาพชีวิตของประชาชน ดังนั้นการให้ความรู้ทางมลพิษทางทะเลควรเข้าถึงประชาชน โดยเฉพาะกลุ่มผู้อาศัยและมีอาชีพทำงานอยู่ในพื้นที่เขตอุตสาหกรรมในการเลือกรับประทานอาหารทะเลให้มีการปนเปื้อนของสารพิษน้อยที่สุด เช่น การเลือกรับประทานประเภทของอาหารทะเล ส่วนใดของสัตว์ที่ไม่ควรรับประทาน รวมทั้งการปนเปื้อนที่ต่างกัน เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อสร้างภูมิคุ้มกันทางมลภาวะสิ่งแวดล้อม มีกลยุทธ์ในการให้ความรู้แก่ประชาชน คือ การแบ่งจำนวนเป็นกลุ่มย่อยๆ ตามอาชีพ เพื่อสอบถามข้อมูลและให้ความรู้ในเวลาเดียวกัน

ข้อมูลจากการสำรวจปริมาณโลหะหนักและสารอินทรีย์ไฮโดรคาร์บอน และตัวชี้วัดชีวภาพการรับสัมผัสของงานวิจัยในครั้งนี้จะถูกวิเคราะห์ และสังเคราะห์ เป็นองค์ความรู้มลพิษทางน้ำ และจะถ่ายทอดความรู้สู่ประชาชนเชิงสุขภาพในการบริโภคอาหารทะเลให้ปลอดภัยจากสารพิษ รวมทั้งการปลูกจิตสำนึกให้ผู้ทำงานอยู่ในโรงงานมีความตระหนักถึงอันตรายของสารพิษที่ปล่อยจากโรงงานสู่แหล่งทะเลโดยไม่มีความรับผิดชอบในการบำบัดที่ถูกต้อง และผู้ควบคุมการจัดและลดมลพิษในพื้นที่เขตควบคุมมลพิษของนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด คือ บุคลากรจากองค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นจะได้มีความรู้ของข้อมูลจากผลวิจัยในครั้งนี้และทราบการประเมินความเสี่ยงของสารพิษในสัตว์ทะเล เพราะมีการปล่อยน้ำทิ้งที่ไม่มีการบำบัดสู่แหล่งน้ำทะเล ทำให้ผลสุดท้ายสัตว์ทะเลจะได้รับสัมผัสสารพิษ และนำอันตรายต่อผู้บริโภคอาหารทะเล

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. การวิเคราะห์โลหะหนัก (แคดเมียม) ในปลาทะเล และ หอยแมลงภู่ตามแนวชายฝั่งทะเล
2. การวิเคราะห์สารโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) รวม ในปลาทะเล และ หอยแมลงภู่ตามแนวชายฝั่งทะเล
3. การสำรวจการแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) และ metal-binding protein (Metallothionein) ในปลาทะเล และ หอยแมลงภู่ตามแนวชายฝั่งทะเล
4. ประเมินความสัมพันธ์ของโลหะหนัก และ สารพีเอเอชรวม และ ตัวชี้วัดชีวภาพ ในเนื้อและตับปลาทะเล และหอยแมลงภู่ตามแนวชายฝั่งทะเล
5. การศึกษาพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลและการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และนักเรียน
 - 5.1 ศึกษาพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเล ความรู้ ความเข้าใจ และการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนในเขตตำบลมาบตาพุด จ.ระยอง และตำบลอ่างศิลา จ.ชลบุรี
 - 5.2 เปรียบเทียบความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับอันตรายจากการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเล ตลอดจนการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียน

บทที่ 2 เอกสารงานวิจัย

โลหะหนักและการปนเปื้อนในทะเล

โลหะหนัก คือ โลหะที่มีคุณสมบัติเหมือนกับโลหะอื่นๆ ทัวไปในการนำไฟฟ้า นำความร้อน มีความวาว ความเหนียว การสะท้อนแสง โลหะหนักส่วนใหญ่มีสมบัติทางกายภาพคล้ายคลึงกัน แต่สมบัติทางเคมีแตกต่างกันและสามารถรวมตัวกับสารประกอบอินทรีย์ได้สารประกอบใหม่ที่เสถียรกว่าเดิมและสะสมในสิ่งมีชีวิตได้ โดยขบวนการทางชีวภาพถ่ายทอดตามห่วงโซ่อาหาร ทำให้เกิดพิษของโลหะหนักขึ้นได้ (มนัส สติรจินดา, 2538) โลหะหนักบางชนิดมีความจำเป็นต่อมนุษย์และสัตว์ แต่ในขณะเดียวกันก็อาจให้โทษได้เช่นเดียวกันถ้าเกิดความไม่สมดุลระหว่างสภาวะแวดล้อมกับการทำงานของแร่ธาตุในร่างกาย โลหะที่จำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิต เรียกว่าเป็น Essential Element จำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์ในร่างกาย ถ้าขาดโลหะเหล่านี้จะทำให้เอนไซม์ในร่างกายทำงานไม่เต็มที่ แต่ถ้ามีปริมาณมากเกินไปก็จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และเกิดเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้ โดยการสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อเริ่มตั้งแต่ปริมาณน้อยๆ เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ จนถึงขีดที่ร่างกายจะแสดงผลออกมาทันที ซึ่งเรียกว่า เป็นพิษเฉียบพลัน

การปนเปื้อนของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมนั้นมาจาก 2 แหล่งใหญ่ คือ จากขบวนการตามธรรมชาติ เช่น การผุพังของหิน พื้นผิวดิน การระเบิดของภูเขาไฟ การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและทางกายภาพของเปลือกโลก เป็นต้น ซึ่งอาจทำให้โลหะหนักจากพื้นผิวโลกเกิดการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมได้ อีกแหล่ง คือ เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ ได้แก่ แหล่งอุตสาหกรรม เช่น โรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ ซึ่งอาจปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำหรือปล่อยแก๊สพิษสู่บรรยากาศ แหล่งเกษตรกรรม เช่น การใช้ยาปราบศัตรูพืช ได้แก่ ยากำจัดเชื้อรา ยาฆ่าหญ้า ยาฆ่าแมลง แหล่งชุมชน เช่น การใช้น้ำมันที่มีสารตะกั่วเป็นองค์ประกอบ การทิ้งขยะที่มีโลหะหนักปนอยู่ เป็นต้น ซึ่งโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมนั้นส่วนใหญ่มาจากกิจกรรมของมนุษย์ โดยเฉพาะแหล่งอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นสาเหตุใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของโลหะหนัก (ศิริวรรณ ลาภทัพบิมทอง, 2544)

ในปลาทะเลส่วนใหญ่ จะมีสารปรอทเป็นองค์ประกอบอยู่ในกล้ามเนื้อประมาณ 150 ไมโครกรัม/กิโลกรัม (0.15 ppm) ในปลา Cod (*Gadus morhua*) บริเวณทะเลเหนือมีการสะสมของสารปรอทอยู่ 0.15-0.20 ppm ส่วนในกรีนแลนด์มีการสะสมของสารปรอทอยู่เพียง 0.01-0.04 ppm ในปลาฉลามซึ่งอาศัยอยู่บริเวณชายฝั่งฟลอริดา พบมีสารปรอทสะสมอยู่ในตัวถึง 2.57 ppm ในปลาทะเลมากกว่า 33 % มีการสะสมสารปรอทเกินกว่าระดับที่มนุษย์ควรบริโภค คือ 1 ไมโครกรัมต่อกรัม (Clark et al., 1997) ในปลาทะเลบางชนิด เช่น ปลาโอ (*Thunnus spp.*) ปลา Swordfish (*Xiphias gladius*) ปลา Marlin (*indical*) ที่อาศัยอยู่ในธรรมชาติจะมีระดับความเข้มข้นของปรอทสูงกว่าปลาชนิดอื่น ในปลาทะเลกินเนื้อซึ่งถือเป็นผู้บริโภคสุดท้ายในทะเล ปลาในกลุ่มนี้จะมีระดับของปรอทสูงเนื่องจากกระบวนการ Bioaccumulation ปลาทะเลที่ว่ายน้ำอยู่ตลอดเวลา มีอัตราเมตาบอลิซึมสูงและจะเปิดปากตลอดเวลาเพื่อรับออกซิเจนจากน้ำที่ไหลผ่านเหงือก ลักษณะเช่นนี้ทำให้ได้รับสารปรอทในรูป Methyl Mercury เข้าสู่ร่างกายเช่นกันและมีการสะสมเพิ่มขึ้นตามอายุ โดยปลาทะเลที่มีอายุมากจะมีการสะสมสารปรอทสูงกว่าอายุน้อย

ปลาสามารถรับสารปรอทได้โดยตรงจากอาหารที่กินและจากน้ำ อัตราการสะสมของสารปรอทก็จะขึ้นกับรูปของสารปรอท และปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ เช่น อุณหภูมิและความเค็ม เมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น

การสะสมของสารโปรทสูงขึ้นตาม ความเค็มของน้ำก็มีอิทธิพลต่อการสะสม ของสารโปรทในร่างกาย ปลา ปลาน้ำจืดจะสะสมเร็วกว่าน้ำกร่อย ส่วนปลาทะเลที่มีความเค็มปกติ (ประมาณ 30 ppt) จะมีอัตราการสะสมของสารโปรทภายในตัวได้ดีกว่าปากน้ำกร่อย เนื่องจากปลาทะเลจะต้องดื่มน้ำทะเล เพื่อปรับระดับความเข้มข้นภายในตัว (Osmoregulation) จึงมีโอกาสรับ สารโปรทจากน้ำโดยตรง ผลที่จะเกิดขึ้นต่อสัตว์น้ำเมื่อได้รับโปรทมีด้วยกันหลายประการ ได้แก่ ผลต่อการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ กระบวนการทางสรีรวิทยา พฤติกรรม การกินอาหาร วงจรชีวิต การอพยพย้ายถิ่น และพันธุกรรม เป็นต้น

สถานการณ์คุณภาพน้ำชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโลหะหนักบางชนิดในการสะสมของแคดเมียมและตะกั่ว ในหอยแมลงภู่ บริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามขนาดของหอยแมลงภู่ และระยะเวลา (สุชาติา ถิ่นแถบ, 2543) ส่วนในหอยนางรมปริมาณแคดเมียมมีแนวโน้มสะสมสูงขึ้นตามขนาดของหอยนางรม ขณะที่ปริมาณการสะสมสารตะกั่ว ทองแดงและสังกะสี พบว่ามีปริมาณลดลงตามระยะเวลา โดยพบมีโลหะหนักสะสมในปริมาณสูงในช่วงฤดูฝนแล้วจะลดลงเมื่อหลังฤดูฝน (เพลิน ปุณณมระ, 2544) ซึ่งตะกอนดินในแม่น้ำบางปะกงพบว่าปริมาณแคดเมียม ทองแดง เหล็กและสังกะสีมีสูงในช่วงที่ระดับความลึก 10 เซนติเมตรแล้วจะลดลงตามความลึก นั้นแสดงถึงการปนเปื้อนมีแนวโน้มสูงขึ้น (สุวรรณ ภาณุตระกูล และ ไพฑูรย์ มกนกไผ่, 2543) และจะออกสู่มวลน้ำหรืออยู่ในตะกอนแขวนลอยขนาดเล็กถูกพัดพาไหลมาสู่กระแสน้ำ

การตรวจคุณภาพน้ำของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล (2545) พบว่าคุณภาพน้ำในบริเวณเขตเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ประกอบด้วยสถานีปากแม่น้ำบางปะกง อ่าวชลบุรี อ่างศิลา ศรีราชา จังหวัดชลบุรีและบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง ปากแม่น้ำจันทบุรี และแม่น้ำตราด ปริมาณแคดเมียมมีค่าสูง จากการศึกษายังพบว่า สถานีในแม่น้ำหรือบริเวณใกล้ฝั่งค่าความเข้มข้นของโลหะหนักจะสูงและลดลงเมื่อออกห่างจากแม่น้ำหรือออกห่างจากฝั่ง นั้นแสดงว่าแหล่งที่มาของโลหะหนักมาจากต้นน้ำ ที่มีอยู่ตามธรรมชาติหรือการปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำจากกิจกรรมบนฝั่ง ขณะที่บริเวณเขตอุตสาหกรรม คือ อ่าวอุดม จังหวัดชลบุรี บริเวณบ้านหนองแปนและนิคมอุตสาหกรรมปิโตรเคมี มาบตาพุด จังหวัดระยอง ในบริเวณแหลมฉบังโลหะหนักแคดเมียม ทองแดง นิเกิล ตะกั่ว และสังกะสี ในบริเวณแหลมฉบังมีแนวโน้มสูงกว่ามาบตาพุด ส่วนใหญ่พบว่า ในฤดูแล้งมีสูงกว่าฤดูฝน แต่ตะกั่วในสถานีใกล้ฝั่งในฤดูแล้งสูงกว่าในฤดูฝน ขณะที่สถานีใกล้ฝั่งความเข้มข้นในฤดูฝนมีค่าความเข้มข้นสูงกว่าฤดูแล้ง นั้นแสดงว่าแหล่งปนเปื้อนโลหะหนักในน้ำทะเลมาจากบนฝั่ง โดยบริเวณแหลมฉบังและมาบตาพุดมีโรงงานอุตสาหกรรมประเภทต่างๆมากมายที่อาจจะเป็นสาเหตุให้มีโลหะหนักลงปนเปื้อนในแหล่งน้ำ และเมื่อสัตว์น้ำรับเอาโลหะหนักเข้าสู่ร่างกายอาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สัตว์น้ำเป็นโรคต่างๆ ได้ง่ายขึ้น เนื่องจากโลหะหนักไปมีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ ในร่างกายของสัตว์น้ำ ระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ มีความผิดปกติเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมทำให้สัตว์น้ำมีความไวหรือง่ายต่อการติดเชื้อ

ตัวชี้วัดทางชีวภาพ

ในปัจจุบันมีหลายคำจำกัดความที่ถูกนำมาใช้ในการอธิบายถึงนิยามของคำว่าตัวชี้วัดทางชีวภาพ เช่น Peakall, 1994 ได้ให้คำจำกัดความของตัวชี้วัดทางชีวภาพว่า ตัวชี้วัดทางชีวภาพ หมายถึง การ

เปลี่ยนแปลงหรือการตอบสนองทางชีววิทยาตั้งแต่ระดับโมเลกุล ระดับเซลล์ไปจนถึงลักษณะทางชีววิทยา และพฤติกรรม หลังจากที่ได้รับสารพิษในสิ่งแวดล้อม ในขณะที่ WHO, 1993 ได้ให้คำจำกัดความว่า ตัวชี้วัดทางชีวภาพ หมายถึง การเปลี่ยนแปลงของระบบชีววิทยา และอาจจะก่อให้เกิดอันตรายต่างๆ ได้ ตัวชี้วัดทางชีวภาพของการสัมผัส (Biomarker of Exposure) เป็นตัวแสดงการสัมผัส บ่งชี้ว่ามีสาร แผลกปลอม หรือ อนุพันธ์ ผลิตผลจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารภายนอกกับโมเลกุลเป้าหมายของเซลล์ได้ เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งสามารถวัดได้ในสิ่งมีชีวิต เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ ที่ประกอบด้วยปริมาณที่รับสัมผัส (Internal Dose) ขนาดที่ให้ผลทางชีวภาพ (Biologically Effective Dose) และผลทางชีววิทยา ที่ปรากฏในระยะแรก (Early Biologic Effect)

เทคนิคทางแอนติบอดีในการตรวจตัวชี้วัดชีวภาพ

การตรวจสอบโดยใช้เทคนิคทางแอนติบอดีจะเกี่ยวข้องกับการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีและ แอนติเจน เป็นปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุล 2 ชนิด คล้ายกับกรณีของปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรท แต่มีข้อแตกต่างบางประการ ได้แก่ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีอย่างถาวรต่อแอนติบอดีและแอนติเจน ประกอบด้วยพันธะต่างๆ ยกเว้นพันธะโควาเลนต์ (noncovalent interaction) ระหว่าง epitope ของ แอนติเจนกับบริเวณที่มีความแปรปรวนสูง (Hypervariable Region) หรือ พาราโทป (paratope) ของ แอนติบอดี

ความจำเพาะระหว่างปฏิกิริยาของแอนติบอดีและแอนติเจนสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการ ทดสอบทางวิทยาภูมิคุ้มกัน (Immunoassay) รูปแบบต่างๆ ซึ่งสามารถใช้ได้ทั้งในการตรวจสอบ แอนติบอดีหรือแอนติเจนก็ได้ สามารถใช้ในการวินิจฉัยโรคต่างๆ ตรวจระดับการตอบสนองโดยการสร้าง แอนติบอดี พิสูจน์ทราบโมเลกุลทางชีววิทยาหรือทางการแพทย์ที่ต้องการ Immunoassay รูปแบบต่างๆ จะมีความไวและความรวดเร็วแตกต่างกันไป บางชนิดใช้ตรวจในแง่คุณภาพ บางชนิดสามารถใช้วัดปริมาณ ได้ด้วย (ไพศาล สิทธิกรกุล, 2548)

เทคนิคทางแอนติบอดีจะใช้ในการศึกษาสารทดสอบต่างๆ ได้หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับระบบ ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต ซึ่งการทดสอบด้วยแอนติบอดี ประกอบด้วยหลากหลายวิธี ซึ่งมีรูปแบบและ ความไวต่างกัน ซึ่งเทคนิคทางแอนติบอดีที่ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบสารเชิงปริมาณที่พบใน ห้องปฏิบัติการ ทั่วไป ได้แก่ Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) เป็นวิธีการตรวจสอบ ปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนโดยใช้เอนไซม์เป็นตัว บ่งชี้แทนสารกัมมันตภาพรังสี หรือสาร เรืองแสง วิธีนี้สามารถใช้ตรวจหาแอนติบอดีและแอนติเจนได้อย่างจำเพาะเจาะจงมีความไวสูง ง่าย และ รวดเร็ว วิธีการทดสอบโดยอาศัย Immunoblotting (Western Blot) จะมีการแยกองค์ประกอบของ แอนติเจนโดยอาศัยกระแสไฟฟ้าผ่านตัวกลาง คือ polyacrylamide gel เป็นการใช้เทคนิคการแยก โปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้าที่เรียกว่า SDS polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ซึ่งจะ แยกโปรตีนตามน้ำหนักโมเลกุล จากนั้นจะเคลื่อนย้ายโปรตีนที่แยกได้บน gel สู่มembrane nitrocellulose ด้วย กระแสไฟฟ้าเช่นกัน โปรตีนแถบต่าง ๆ จะยึดติดกับแผ่น nitrocellulose ซึ่งจะสามารถนำไปตรวจสอบ ด้วยการทดสอบปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี

Metal - Binding Protein

Metal - Binding Protein หรือ Metallothionein (MT) เป็นกลุ่มของโปรตีนขนาดเล็กที่มีการจับกับของโลหะ และเป็นโปรตีนที่มีลักษณะพิเศษ คือ ประกอบด้วย Cysteine สูงประมาณ 30 % ของกรดอะมิโน มีมวลโมเลกุลต่ำและไม่มี aromatic amino acid และ histidine อยู่ในโมเลกุล ซึ่งในโมเลกุลของ MT นี้ Cysteine จะทำหน้าที่เป็นลิแกนด์ให้โลหะมาจับ (Izawa et al., 1998: Minami, Ichida & Kubo, 2002)

MT มีหน้าที่ทางชีวภาพมากมาย ซึ่งหน้าที่ที่ตรวจพบ คือ การลดความเป็นพิษของโลหะ เช่น แคดเมียมและปรอท การมีส่วนร่วมในการควบคุม จัดเก็บ และการจ่ายออกของไอออนของโลหะบางชนิด เช่น สังกะสีและทองแดง เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระในระดับเซลล์ และที่สำคัญคือทำหน้าที่ขนส่งไอออนของโลหะไปยังโปรตีนอื่นๆ เช่น Zinc finger โปรตีนที่มีความสำคัญกับการจับตัวกันของดีเอ็นเอและควบคุมโปรตีนในสิ่งมีชีวิตเป็นต้น (Tapiro & Ten, 2003: Chen et al., 2002: Deed & Klerk, 1999: Roesijadi, 1994)

การประยุกต์ใช้ Metal-Binding Protein เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพในสิ่งแวดล้อม

ในปัจจุบันพบว่าโลหะหนักโดยเฉพาะอย่างยิ่งแคดเมียมเป็นสารที่มีการปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมค่อนข้างมาก โดยส่วนใหญ่จะอยู่ร่วมกับสังกะสี ตะกั่วและคอปเปอร์ซัลไฟด์ และแคดเมียมจะพบมากในวัสดุที่มีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบอยู่สูง เช่น น้ำมันดิบและถ่านหิน (สุวัจน์ ธีรุต, 2549) นอกจากนี้ยังพบได้ในกิจกรรมอื่นๆ เช่น อุตสาหกรรมการทำเหมือง การหลอมและการถลุงตะกั่ว และสังกะสี เป็นต้น จากลักษณะที่กล่าวมาจึงทำให้มีแคดเมียมเข้าไปปนเปื้อนในแหล่งน้ำต่างๆ มากมายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในน้ำทะเล เพราะทะเลเป็นแหล่งสะสมของเสียแหล่งสุดท้ายของมนุษย์ ทำให้สัตว์น้ำต่างๆ ได้รับแคดเมียมและเก็บสะสมแคดเมียมไว้ในตัวเป็นจำนวนมาก เมื่อน้ำสัตว์น้ำมารับประทานจึงมีโอกาสได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายที่อาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพในมนุษย์ได้ แคดเมียมและสารในกลุ่มโลหะหนักเมื่อเข้าสู่ร่างกายของสัตว์น้ำอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพ โดยอาจจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ การเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ กระบวนการทางสรีรวิทยา และพันธุกรรม เป็นต้น ดังนั้นการตรวจวัดโลหะหนักบริเวณแนวชายฝั่งทะเล เพื่อให้ทราบถึงสถานการณ์การปนเปื้อนของโลหะหนัก เพื่อเป็นแนวทางในการเฝ้าระวังและจัดการการปนเปื้อนของโลหะหนักแนวชายฝั่งทะเลจึงกลายเป็นสิ่งที่น่าสนใจ แต่การตรวจสอบการปนเปื้อนโดยการวัดปริมาณโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมหรือสิ่งมีชีวิตโดยตรงนั้นทำได้ยากและที่สำคัญคือต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง ดังนั้นการใช้ตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biomarker) เช่น MT จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะพิจารณาทั้งนี้ก็เนื่องจาก MT เป็นโปรตีนขนาดเล็กที่มี cysteine สูง และสามารถเลือกจับกับโลหะได้อย่างจำเพาะ ระดับความเข้มข้นของ MT จะเพิ่มขึ้นเมื่อสิ่งมีชีวิตได้รับโลหะ เพราะ MT มีบทบาทสำคัญในการเมตาโบไลต์และปรับสมดุลของร่างกายให้เป็นปกติ จากลักษณะดังกล่าว MT จึงถูกเสนอให้ใช้เป็นดัชนีชี้บ่งถึงการปนเปื้อนของโลหะหนักโดยเฉพาะอย่างยิ่งการปนเปื้อนของแคดเมียมในสิ่งแวดล้อมได้

การสังเคราะห์ MT ในสิ่งมีชีวิตนอกจากจะเกิดจากปัจจัยดังที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว มีรายงานอีกหลายฉบับที่เสนอว่า อาหาร อายุ และระยะการพัฒนาร่างกายต่างๆ ล้วนมีผลต่อการสังเคราะห์ MT และ MT สามารถตรวจพบได้ในเนื้อเยื่อหลายชนิด แต่ที่พบว่ามีการสร้างและสะสม MT อยู่มาก คือ เซลล์ของตับและเหงือก (Costa, et al. 2008)

สำหรับการเหนี่ยวนำให้มีการสร้าง MT ในสิ่งมีชีวิตในทะเลหลายชนิด เมื่อได้สัมผัสกับโลหะหลายชนิด เช่น แคดเมียม โปรท คอปเปอร์ และ ซิลเวอร์ จะนำไปสู่การเสนอให้การใช้ MT เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพสำหรับการติดตามและตรวจสอบการปนเปื้อนของโลหะหนักในแหล่งน้ำและเมื่อไม่นานมานี้ได้มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นถึงความจำเพาะของโลหะหนักที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์ MT ใน Form ต่างๆ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้อย่างยิ่งที่จะนำลักษณะที่สำคัญที่ตรวจพบใน MT นี้มาใช้สำหรับเป็นตัวชี้บ่งถึงการรับสัมผัสทางโลหะหนัก และที่สำคัญคือ ยังยืนยันได้ถึงหน้าที่หลักของ MT ในการสิ่งมีชีวิตด้วยนั้น คือ บทบาทของ MT ในการกำจัดสารพิษและการปรับสมดุลของไอออนของโลหะในร่างกาย โดยการศึกษาที่ใช้ปูม้า (*C. sapidus*) เป็นตัวแทนของสิ่งมีชีวิตในน้ำ ซึ่งจากการศึกษาพบว่า MT จะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นเมื่อปูม้าได้รับแคดเมียม แต่ MT ที่ตรวจพบมี 2 Form คือ CdMT-I และ CdMT-II ซึ่ง CdMT-I จะสามารถจับกับ Cd ได้ดีกว่า CdMT-II และนอกจากนี้ ยังมีการศึกษาเพิ่มเกี่ยวกับการเหนี่ยวนำให้มีการสังเคราะห์ MT เมื่อให้ปูม้าได้รับสัมผัสคอปเปอร์ซึ่งจากการศึกษาพบว่า เมื่อปูม้าได้รับคอปเปอร์จะมีการสังเคราะห์ MT เกิดขึ้น โดย MT ที่ตรวจพบจะมีอยู่ 3 form คือ CdMT-I, CdMT-II, และ CdMT-III และหลังจากการทำการศึกษาลักษณะเฉพาะของ MT ที่พบใน form ต่างๆ พบว่า CdMT-I และ CdMT-II จะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการ metabolism แต่สำหรับ CdMT-III จะเกี่ยวข้องกับการลดความเป็นพิษหรือ detoxification ของคอปเปอร์ (Schlenk and Brouwer, 1993)

แต่ถึงอย่างไรก็ตามก็มีรายงานเพิ่มอีกว่า ปัจจัยทางธรรมชาติ เช่น ความเค็มก็มีผลอย่างมากกับการเหนี่ยวนำให้มีการสังเคราะห์ MT ในสิ่งมีชีวิต กล่าวคือ ความเค็มจะมีผลต่อการเปลี่ยนรูป (Speciation) และ bioavailability ของโลหะ และมีผลต่อการ uptake โลหะของสิ่งมีชีวิตในน้ำ (Bianchini and Gilles, 2000; Bianchini et al., 2000) ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าความเค็มจะมีผลโดยตรงที่จะควบคุมปริมาณของโลหะที่จะเข้าไปจับกับ MT ซึ่งแสดงให้เห็นได้ชัดเจนว่า ความแปรปรวนหรือการเปลี่ยนแปลงความเค็มมีผลต่อความเข้มข้นของ MT ในสิ่งมีชีวิต (Monserat et al., 2007)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องด้าน Metal-Binding Protein

การใช้ Metal-Binding Protein เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพเพื่อแสดงถึงการปนเปื้อนของโลหะหนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งแคดเมียมนั้นในปัจจุบันพบว่ามีประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบในสัตว์น้ำหลายชนิด เช่น เมื่อตรวจสอบปริมาณ Metal-Binding Protein ในปลา Striped sea bream (*Lithognathus mormyrus*) ในทะเลเมดิเตอร์เรเนียน ประเทศอิสราเอล จาก 2 แหล่ง คือ บริเวณที่มีสารมลพิษ และบริเวณที่ไม่มีสารมลพิษ โดยใช้เทคนิค ELISA พบว่า ในปลาบริเวณที่มีสารมลพิษจะตรวจพบปริมาณ Metal-Binding Protein สูงกว่าปลาที่อยู่ในบริเวณไม่มีมลพิษถึง 10 เท่า (Yudkovski et al., 2008) เมื่อทำการศึกษากปริมาณ Metal-Binding Protein ในปลา Golden grey mullet (*Liza aurata*) ในบริเวณ mullet ในบริเวณ Ria de Aveiro ซึ่งเป็นบริเวณชายฝั่งของทะเลสาบในประเทศโปรตุเกส พบว่าในสถานที่ 4 คือ Rio Novo do จะเป็นสถานที่ที่ตรวจพบปริมาณ Metal-Binding Protein ในปลาสูงที่สุด คือ $\approx 627.7 \mu\text{g}$ ต่อ น้ำหนักเปียก ทั้งนี้ก็เนื่องจากบริเวณดังกล่าวเป็นบริเวณที่อยู่ในเขตอุตสาหกรรม และมีปริมาณโลหะหนัก ได้แก่ Zn, Cu, Hg และ Cd สูงกว่าในบริเวณอื่นๆ (Oliveira et al., 2010)

อภิรติ เมืองเดช (2545) ศึกษาปริมาณโลหะตะกั่ว แคดเมียม สังกะสีและปรอทใน

หอยแครง (*Anadara granosa*) บริเวณปากแม่น้ำบางปะกง และบริเวณชายฝั่งทะเล ตั้งแต่บางทรายถึง ตำบลคลองตำหรุ ชลบุรี โดยทำการเก็บตัวอย่าง 6 ครั้ง ตั้งแต่เดือน ธันวาคม 2542 มกราคม มีนาคม เมษายน มิถุนายน กรกฎาคม 2543 พบว่า ค่าเฉลี่ยสูงสุดของโลหะตะกั่วและแคดเมียมพบในเดือน ธันวาคม 2542 และมกราคม 2543 โดยมีค่าเท่ากับ 0.435 และ 0.835 $\mu\text{g/g}$, wet weight

ศรีกุล กันทาใจ (2546) ทำการผลิตพอลิโคลนัลแอนติซีราต่อต้านสายเปปไทด์สังเคราะห์ 3 สาย ตามลำดับกรดอะมิโนใน 3 บริเวณที่แตกต่างกันบนสายพรีออนโปรตีนของแกะ เพื่อใช้ในการตรวจสอบหา เซลล์ลูลาร์พรีออนโปรตีนในสัตว์เศรษฐกิจของประเทศไทย คือ ปลาตูก หมู และวัว และทำบริสุทธิ์ด้วยวิธี immobilized metal ion affinity chromatography (IMAC) โดยอาศัยความสามารถในการจับคอปเปอร์ไอออน (Cu^{2+} ion) ของพรีออนโปรตีน ตรวจสอบโปรตีนที่สกัดได้โดยการย้อมด้วย Coomassie blue หรือด้วยเทคนิค immunoblot หลังจากย้อมพรีออนโปรตีนด้วยโพลีโคลนอล แอนติบอดีที่ผลิตได้ทั้ง 3 ตัวหรือโมโนโคลนอลแอนติบอดีทางการค้า (mAb L42) พบว่าในสารสกัดหยาบของสมองหมู และวัวมีแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30 และ 40 kDa ในขณะที่ในสมองปลาพบแถบโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 40 และ 42 kDa เมื่อผ่านขั้นตอนการทำบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธี IMAC แล้วย้อมด้วยโพลีโคลนอลแอนติบอดี Ab PII พบว่าสามารถแยกพรีออนโปรตีนได้สองส่วน คือ ในส่วนของการชะด้วย 10 mM imidazole ซึ่งพบแถบโปรตีนที่มีขนาดเท่ากับแถบโปรตีนที่ได้จากสารสกัดหยาบในตัวอย่างสัตว์ทั้งสามชนิด แต่ในส่วนของการชะด้วย EDTA พบแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 21 kDa ในตัวอย่างของหมูและวัวแต่ไม่พบในปลา

สุวิมล อุทาร์พงศา (2546) ทำการศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน และความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรังของแคดเมียมต่อปลาตะเพียนขาววัยอ่อนในระยะเวลา 96 ชั่วโมงและ 3 เดือน เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน Metal binding protein mRNA (MTmRNA) ในตับและไตปลา พบว่าความเข้มข้นของแคดเมียมที่ทำให้เกิดการตายร้อยละ 50 (LC_{50}) ภายใน 24, 48, 72, และ 96 ชั่วโมง คือ 3.81, 3.41, 3.23 และ 2.88 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ คำนวณหาค่าความเข้มข้นเพื่อใช้ศึกษาความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรังได้เท่ากับ 0.012, 0.06 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการแสดงออกของยีน MTmRNA ที่มีความเข้มข้น 0.012 มิลลิกรัมต่อลิตร ในตับเท่ากับ 4.20 เท่า และในไตเท่ากับ 4.16 เท่า การแสดงออกของยีน MTmRNA ที่ความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตรในตับเท่ากับ 4.43 เท่า และในไตเท่ากับ 3.34 เท่า การแสดงออกของยีน MTmRNA ที่มีความเข้มข้น 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ในตับเท่ากับ 4.93 เท่า และในไตเท่ากับ 5.57 เท่า ซึ่งการแสดงออกของยีน MTmRNA ในตับสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ เพื่อประเมินการปนเปื้อนของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อม

Olafson and Thompson (1974) ศึกษาการแยก Cd-Binding Protein ให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี gel filtration พบว่าสามารถแยก Cd-Binding Protein จาก Atlantic grey seal (*Halichoerus grypus*) พบโปรตีนขนาด 9 kDa , Pacific fur seal (*Callorhinus ursinus*) พบโปรตีนขนาด 10 kDa และ ปลา copper rock (*Sebastes caurinus*) พบโปรตีนขนาด 11 kDa

Serra, Carpené, Marcantonio and Isani (1995) ศึกษาการสะสมของตัวของแคดเมียมและ Cd-Binding Protein ในหอยสองฝา *Scapharca inaequalvis* บริเวณใต้ เหยือก อ่าววะภายใน แมนเทิล เท้า กล้ามเนื้อ และ เซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งพบว่าใต้เป็นบริเวณที่พบการสะสมของแคดเมียมมากที่สุด

(725.70 $\mu\text{g/g}$ น้ำหนักแห้ง) หลังให้หอยรับสัมผัสน้ำทะเลที่มี แคดเมียมอยู่ 0.5 $\mu\text{g Cd/ml}$ และการสะสมของตัวแคดเมียมพบในช่วงฤดูร้อนมากกว่าฤดูหนาว

Dabrio, Rodríguez, Bordin, Bebianno, Ley, Šestáková, Vašák and Nordberg (2002) ศึกษาเทคนิคต่างๆ ในการตรวจสอบ MT ได้แก่ Electroanalytical techniques, UV-Vis spectrophotometry, Metal saturation assay และ Immunological techniques และศึกษาเทคนิคการแยก MT ได้แก่ indirect method (atomic absorption spectrometry; AAS, induce coupled plasma emission spectrometry; ICp-AES) และ Direct method (liquid chromatography, capillary electrophoresis)

Park, Chung, Park, Kim, Koh and Lee (2002) ศึกษาการใช้ gel filtration (Sephadex G-75), DEAE-Sepharose, Sepharose 12 และ HPLC ในการแยก Cd-Binding Protein จากหอย Asian periwinkle (*Littorina brevicula*) พบว่า Cd-Binding Protein ที่แยกได้ มีโปรตีนขนาด 15 kDa

Crooker, Pozo, Castro, Dice, Boutet, Tanguy, Moraga and Ahearn (2003) ศึกษาตำแหน่งของ calcium, heavy metal และ MT บนเซลล์ hepatopancreas ของกุ้งลอปเตอร์ (*Homarus americanus*) โดยใช้ confocal microscopy, centrifugal elutriation และ metal binding protein-specific antibody ที่พัฒนามาจากสัตว์ในกลุ่ม mollusks ซึ่งมีปฏิกิริยาข้ามกับกลุ่ม crustaceans พบว่าสามารถหาตำแหน่งของ MT บนเซลล์ hepatopancreas ของกุ้งลอปเตอร์ได้

Honda, Araujo, Horta, Val and Demasi (2005) ศึกษาการทำโปรตีน MT ที่สกัดจากปลาอะเมซอน (*Colossoma macropomum*) และยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ที่ได้รับแคดเมียม ให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธี affinity chromatography โดย MT ที่สกัดจากปลาอะเมซอนใช้คอลัมน์ที่มี Ni^{2+} -loaded resin และ เซโปรตีนด้วย imidazol ส่วน MT ที่สกัดจากยีสต์ใช้คอลัมน์ที่มี Cu^{2+} -loaded resin และ เซด้วย EDTA พบว่าสามารถแยก MT ให้บริสุทธิ์ได้ ซึ่งมีขนาดโปรตีนประมาณ 10 kDa.

Wu and Chen (2005) ใช้ MT เป็นตัวตรวจวัดทางชีวภาพในการตรวจวัดการปนเปื้อนของโลหะหนัก โดยดูการสะสมของแคดเมียมและสังกะสีในกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ด้วยเทคนิค gel filtration chromatography ซึ่งพบว่าระดับของ MT เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่สัมผัสกับแคดเมียมและสังกะสี

Demuyne, Grumiaux, Mottier, Schikorski, Lemiere, and Lepretre (2006) ศึกษาการตอบสนองของโปรตีน MT เทคนิคทางภูมิคุ้มกันและโมเลกุล ในหนอน (*Eisenia fetida*) ที่สัมผัสแคดเมียม ด้วยวิธี Dot immunobinding assay (DIA) โดยโพลีโคลอนอลแอนติบอดีที่ผลิตจากสายเปปไทด์ 14-mer ของ MT หนอน (*Eisenia fetida*) และศึกษาระดับของการแสดงออก ด้วยวิธี Northern blotting โดยใช้ความจำเพาะของ prob

Yudkovski, Wrzesinska, Yankelevich, Shefer, Herut and Tom (2008) ใช้แอนติบอดีทางการค้าที่จำเพาะต่อ cod MT และ mammalian actin และแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ *Lithognathus mormyrus* MT (ที่ผลิตขึ้น) ตรวจสอบการแสดงออกของ MT ในปลา *L. mormyrus* ที่สัมผัสสารแคดเมียม ด้วยวิธี ELISA พบว่าแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ *Lithognathus mormyrus* MT (ที่ผลิตขึ้น) สามารถตรวจปริมาณของ MT ในปลา *L. mormyrus* ได้เช่นเดียวกัน

สารพีเอเอช (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; PAHs)

PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) เป็นกลุ่มสารเคมีที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงอะโรมาติก (Aromatic Ring) ตั้งแต่ 2 วงเชื่อมต่อกัน (Fused) ลักษณะการเชื่อมต่อกันคือวงอะโรมาติก 2 วงที่อยู่ติดต่อกันต้องใช้คาร์บอน 2 อะตอมร่วมกัน วงอะโรมาติกอาจมีคาร์บอน 5 หรือ 6 อะตอมก็ได้ PAHs จัดเป็นกลุ่มของสารเคมีที่ละลายได้ดีในไขมัน มีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมในลักษณะของสารปนเปื้อนก่อให้เกิดมลพิษ แต่มักจะมีอยู่ในปริมาณที่น้อยมากในระดับของไมโครกรัมต่อกิโลกรัม หรือนาโนกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (พรชัย สิทธิศรัณย์กุล, 2545) ประกอบด้วยสารที่มีสูตรโครงสร้างหลักแตกต่างกัน 35 ชนิด และแต่ละสูตรโครงสร้างหลักประกอบด้วยอนุพันธ์ ต่าง ๆ (Derivative) PAHs มีปรากฏอยู่ในธรรมชาติ เช่น น้ำมันดิบ ถ่านหิน รวมทั้งปรากฏอยู่ในควันจากภูเขาไฟ (กองจัดการสารอันตรายและกากของเสีย, 2543)

ตัวอย่างสารในกลุ่ม PAHs ได้แก่ แนฟทาซีน (Naphthalene) ฟีนแอนทรีน (Phenanthrene) เบนโซ[เอ]แอนทราซีน (Benzo[a]Anthracene) และเบนโซ[เอ]ไพรีน (Benzo[a]Pyrene) เป็นต้น แนฟทาซีนเป็นสารที่สกัดจากผงถ่านมีลักษณะเป็นเกล็ดสีขาว เดิมใช้เป็นลูกเหม็น ปัจจุบันใช้มากในอุตสาหกรรมสีย้อม ในขณะที่เบนโซ[เอ]แอนทราซีนและเบนโซ[เอ]ไพรีน ซึ่งเกิดจากการเผาไหม้จะมีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็ง (มลิวรรณ บุญเสนอ, 2544)

การประยุกต์ใช้ Cytochrome P450 (CYP1A) เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพในสิ่งแวดล้อมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอนไซม์ไซโตโครม P-450 หมายถึง กลุ่มของเอนไซม์ที่ประกอบด้วยฮีม ซึ่งอยู่ที่บริเวณเมมเบรนของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม ทำหน้าที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนสุดท้ายของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Mix Function Oxidase System ไซโตโครม P-450 จะช่วยเร่งขบวนการเมแทบอลิซึมของสารประกอบทั้งจากภายในและภายนอกร่างกาย ตัวอย่างเช่น ปฏิกิริยา Hydroxylation, Heteroatom Oxygenation, Dealkylation และ Epoxidation เป็นต้น นอกจากนี้ไซโตโครม P-450 ยังเกี่ยวข้องในปฏิกิริยารีดักชันด้วย เมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้น จะมีความสามารถในการละลายน้ำได้มากกว่า สารประกอบตั้งต้นและสามารถขับออกจากร่างกายได้ แต่พบว่าหลังเกิดปฏิกิริยาแล้วอาจเกิดเมตาบอไลต์ที่สามารถทำปฏิกิริยากับ Cellular Nucleophiles ผลคืออาจเกิดความเป็นพิษหรือเป็นสารก่อมะเร็งได้ (ศรีสมบัติ นวนพรัตน์สกุล, 2540) เอนไซม์ไซโตโครม P-450 จึงเป็นกลุ่มเอนไซม์ที่ได้รับการศึกษาอย่างมากเนื่องจากมีบทบาทสำคัญในเมแทบอลิซึมของสารเคมีต่าง ๆ ทั้งที่อยู่ภายในและภายนอกสิ่งมีชีวิต ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าไซโตโครม P-450 เป็นตัวเร่งทางชีวภาพ (Biological Catalyst) ที่มีความหลากหลายมากที่สุดและมักกระจายอยู่ทั่วไปภายในเซลล์เกือบทุกชนิดของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ทั้ง คน สัตว์ พืช แมลง ยีสต์ และแบคทีเรีย เป็นต้น (มณี ชะนะมา, 2546)

ไซโตโครม P-450 มีหน้าที่หลักเกี่ยวข้องกับการขจัดพิษ (Detoxification) ในสิ่งมีชีวิต เช่น ในร่างกายของมนุษย์ถ้าปราศจากเอนไซม์เหล่านี้ร่างกายก็จะเต็มไปด้วยสารพิษ (Pollutants) ต่าง ๆ จากสิ่งแวดล้อม สารมลพิษดังกล่าวส่วนใหญ่ได้แก่ Benzo[a]Pyrene ซึ่งพบในควันบุหรี่และเนื้องาย Polychlorinated Biphenyls (PCBs) ซึ่งถูกใช้ในการทำวัสดุฉนวน (Insulating Materials) และ Dioxins (2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin หรือ TCDD) ซึ่งเป็นผลพลอยได้ (By-Product) จากการเผาไหม้ทั่วไป นอกจากนี้สารพิษชนิดอื่น ๆ ที่สามารถถูกเมตาบอไลซ์ (Metabolized) โดยไซโตโครม

P-450 ได้แก่ ยาชนิดต่าง ๆ รวมทั้งยาปฏิชีวนะ สารต่อต้านตัวออกซิไดซ์ และสารกำจัดศัตรูพืช (Pesticides) เป็นต้น ตัวอย่างในการกำจัดสารแปลกปลอม ออกจากร่างกายของไซโตโครม P-450 เช่น การเมทาบอไลซึมของยา การตอบสนองของคนต่อยาชนิดใดชนิดหนึ่งนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของเอนไซม์ไซโตโครม P-450 ที่จำเพาะต่อนั้น ๆ ว่ามีอยู่ในร่างกายของคน ๆ นั้นมากน้อยเพียงใด ในบางคนอาจจะขาดเอนไซม์ไซโตโครม P-450 ที่จำเพาะต่อยา ดังกล่าวทำให้คนเหล่านั้นไม่สามารถกำจัดสารชนิดนั้น ๆ ออกจากร่างกายได้และจะสะสมไว้อย่างต่อเนื่องจนส่งผลให้เกิดความรุนแรงขึ้น (มณี ชะนะมา, 2546)

Peter, Nasci, and Livingstone (1998) ใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CYP กลุ่มต่าง ๆ จากปลา มาตรวจสอบในหอยแมลงภู่ *Mytilus edulis* จากบริเวณแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนและแหล่งน้ำสะอาด ด้วยเทคนิค Western Blot เพื่อศึกษารูปแบบของ CYP จากไมโครโซมและตัวอย่าง CYP บริสุทธิ์ พบปริมาณเอนไซม์ CYP1A, 2B และ 4A จากหอยในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนสูงกว่าในแหล่งน้ำสะอาด และพบว่าเอนไซม์ CYP ชนิดเดียวกันจากตัวอย่างไมโครโซมและตัวอย่างสกัด CYP บริสุทธิ์มีจำนวนแถบโปรตีนต่างกัน มีเพียง CYP4A เท่านั้นที่มีจำนวนแถบโปรตีนตรงกัน โดยการสกัดตัวอย่างให้เหลือเฉพาะ CYP จะพบแถบโปรตีนน้อยกว่า เนื่องจากวิธีการสกัดตัวอย่าง CYP บริสุทธิ์จะสามารถกำจัดโปรตีนที่ไม่จำเพาะซึ่งอาจทำปฏิกิริยาข้ามกับแอนติเจนออกไปได้ ทำให้เหลือเฉพาะแถบโปรตีน CYP ที่จำเพาะต่อแอนติบอดีชนิดนั้น ๆ

Rice, Schlenk, Ainsworth, and Goksøyr (1998) ทดสอบปฏิกิริยาข้ามของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ CYP1A จากปลา Rainbow Trout พบว่าสามารถใช้ตรวจสอบการสร้าง CYP1A ในปลาชนิดอื่นได้เช่น Atlantic Cod, Atlantic Salmon, Pinfish, Killfish, Carp และ Channel Catfish ที่รับสาร PCBs และ PAHs ทำให้สามารถประยุกต์ใช้แอนติบอดีตัวนี้เพื่อทดสอบการสร้าง CYP1A ในปลาหลายชนิดที่รับสัมผัสมลพิษได้

Schlezing, Parker, Zeldin, and Stegeman (1998) ได้ทดลองในปลา Scup เพศผู้และเพศเมีย โดยการฉีดสาร BaP (10 mg/kg) และ TCDD (1 µg/kg) หลังจากนั้นเป็นเวลา 3 วัน เก็บตับปลา มาวิเคราะห์โปรตีน CYP1A โดยวิธี Western Blot และ EROD พบว่าปลาทั้งเพศผู้และเพศเมียที่ได้รับสาร BaP และ TCDD มีการสร้าง CYP1A สูงกว่าชุดควบคุมที่ฉีด Corn Oil (1 mg/kg) อย่างมีนัยสำคัญ แต่ปลาเพศเมียจะมีการสร้าง CYP1A น้อยกว่าปลาเพศผู้เนื่องจากในขณะที่ปลาเพศเมียมีการเจริญเติบโตเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์จะมีการสร้างฮอร์โมน Estradiol ซึ่งมีผลยับยั้งการสร้างโปรตีน CYP1A

Yawetz, Woodin, and Stegeman (1998a) ศึกษาการเกิด CYP จากตับของเต่า *C. picta* ที่ได้รับสาร TCB, PCB, β-Naphthoflavone (BNF), Aroclor 1254 และ Phenobarbital โดยใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CYP กลุ่มต่าง ๆ พบว่าเต่าที่ได้รับสาร TCB, BNF และ Aroclor สามารถชักนำให้เกิด CYP1A สูงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลทดสอบด้วยวิธี Western Blot โดยใช้ MAb anti Scup CYP1A 1-12-3 พบว่าสามารถใช้ตรวจสอบการสร้าง CYP1A ในเต่าชนิดนี้ได้ โดยมีขนาดโมเลกุลที่ 59 kDa ส่วนการใช้ PAb anti Scup CYP2B พบแถบโปรตีน CYP2B 3 Band โดยสารที่ชักนำให้มีการสร้าง CYP2B คือ TCB, Phenobarbital, BNF และ Aroclor

Yawetz, Zilberman, Woodin, and Stageman (1998b) ทำการทดลองในปลากระบอก (*Mugil capico*) โดยการฉีดสาร β-Naphtoflavone (BNF) ความเข้มข้น 15, 30 และ 60 mg/kg และสาร Aroclor ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 mg/kg จากนั้น 5 วัน นำตัวอย่างตับและหัวใจของปลา มาสกัดโปรตีนและตรวจสอบการสร้าง CYP1A ด้วยวิธี Western Blot และ EROD พบการสร้าง CYP1A

เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารทั้งสองชนิด เมื่อตรวจสอบโดยวิธี EROD พบการสร้าง CYP1A ในตับมากกว่าหัวใจ ส่วนการตรวจสอบโดยวิธี Western Blot ไม่สามารถตรวจวัด CYP1A จากหัวใจได้

Bainy, Woodin, and Stegeman (1999) ศึกษาารูปแบบของ CYP ในปลาไน *O. niloticus* จากอ่างเก็บน้ำ Billing นำมาตรวจสอบโดยวิธี Western Blot โดยใช้แอนติบอดีต่าง ๆ คือ MAb anti Scup CYP1A (1-12-3), PAb anti Scup P450B (CYP2B) และ PAb anti Trout CYP3A พบว่าแอนติบอดีทั้งสามสามารถทำปฏิกิริยาข้ามกับ CYP ในปลาไนได้ โดยปริมาณ CYP1A จากอวัยวะทั้งตับและไตของปลาที่ได้รับสารพิษสูงกว่าในแหล่งน้ำที่ไม่ได้รับสาร นอกจากนี้การวิเคราะห์ด้วยวิธี Immunohistochemical ยังพบการเกิด CYP1A ได้ในอวัยวะทุกส่วนทั้ง ตับ หัวใจ และเหงือก ส่วน CYP2B และ CYP3A นั้นมีการตรวจพบในปลาจากทั้ง 2 แหล่งซึ่งปลาในแหล่งที่ไม่ได้รับสารพิษนั้นเป็นปลาจากฟาร์มที่อาจจะได้รับสารเคมีที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารเม็ด และเปรียบเทียบการเกิด CYP2B ในปลาที่ได้รับสารพิษจากตับและไตพบว่าในตับจะมีแถบโปรตีน 3 แถบ ที่มีขนาดโมเลกุล 55.5, 53.9 และ 52.3 kDa ส่วนในไตมี 1 แถบที่มีขนาด 53.9 kDa โดยการที่พบในตับมีแถบโปรตีนมากกว่าเนื่องมาจากการที่ตับเป็นอวัยวะที่มีการสร้าง CYP โดยตรง และมียีนที่คล้ายกับ CYP2B หลายตัวในปลาไน ทำให้สามารถทำปฏิกิริยาข้ามกันได้

Nyman et al. (2000) ศึกษาการสร้าง CYP1A ในแมวน้ำ (Ringed Seals และ Grey Seals) จากแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนของสารเคมีจากโรงงานอุตสาหกรรม จากการทดสอบโดยเทคนิค EROD พบว่ามีปริมาณ CYP1A สูงกว่าเมื่อเทียบกับแหล่งที่ไม่มีการปนเปื้อน เมื่อตรวจสอบโดยใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CYP กลุ่มต่าง ๆ พบว่า Anti-Peptide Antibodies Raised against Human CYP1A1 และ CYP1A2 ไม่สามารถทำปฏิกิริยาข้ามกับแมวน้ำทั้งสองชนิดนี้ได้ แสดงว่าแอนติบอดีนี้มีความจำเพาะสูงมาก ส่วนการใช้ MAb 1-7-1 Raised against Rat CYP1A1 และ CYP1A2 สามารถทำปฏิกิริยาข้าม CYP1A1 และ CYP1A2 ในแมวน้ำได้โดยพบ CYP1A มีขนาด 56 kDa

Al-Arabi and Goksøyr (2002) ศึกษาการตอบสนองของ CYP1A1 ในปลาเขตร้อนสองชนิดคือปลาตุ๊กแม่น้ำ (*Rita rita*) และปลาทะเล Mudfish (*Apocryptes bato*) โดยการให้ปลาทั้งสองชนิดได้รับสาร β -Naphthoflavone (BNF 50 mg/kg), PCB Mixer (Clophen A50 20 mg/kg) และ $CdCl_2$ (1 mg/kg) โดยศึกษาการสร้าง CYP1A หลังฉีดสารนำตับของปลามาสกัดและตรวจสอบโดยวิธี Western Blot ด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CYP1A จากปลา Scup พบว่าแอนติบอดีสามารถทำปฏิกิริยาข้ามกับปลาทั้งสองชนิดนี้ได้โดยปลาที่ได้รับ BNF และ Clophen A50 มีการสร้าง CYP1A สูงกว่าชุดควบคุม มีขนาดโมเลกุลเท่ากับ 58 kDa ในปลา Mudfish และ 49.5 kDa ในปลา Catfish

Carlson, Li, and Zelikoff (2004) ได้ศึกษาผลของสาร BaP ที่ทำให้เกิดเกิดความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันในปลา Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) โดยการใช้ MAb 1-12-3 ที่จำเพาะกับปลา Scup พบว่าสามารถทำปฏิกิริยาข้ามกับปลาหลายชนิดได้ และทำการศึกษา เพื่อดูว่า CYP1A สามารถพบได้ที่เนื้อเยื่อส่วนใดได้บ้าง ผลการทดลองพบว่า CYP1A สามารถพบได้ทั้งใน ตับ ไต และม้าม หลังจากที่ได้รับสาร BaP 48 ชั่วโมง และพบว่า BaP สามารถไปกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในปลาได้โดยกระตุ้นการแบ่งตัวของ T และ B-Lymphocyte มีผลให้รับเชื้อโรคได้ง่ายขึ้น

Johnson, Schiedek, Goksøyr, and Grosvik (2006) ได้ศึกษาการแสดงออกของ Cytoskeleton Protein ที่สามารถทำปฏิกิริยาข้ามต่อ Anti-Fish CYP1A ต่อหอยแมลงภู่ (*Mytilus* sp.) ที่ได้รับการปนเปื้อนจากสารอินทรีย์ โดยดูความเป็นไปได้ในการใช้องค์ประกอบใน Cytoskeleton เป็น

ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพของการปนเปื้อนจากสารอินทรีย์มลพิษในโดยใช้โปรตีนจากส่วนที่เป็น Non-Muscular Actin และ Tropomyosin ทำปฏิกิริยากับ Anti-Fish CYP1A เพื่อการปนเปื้อน สารอินทรีย์และเปรียบเทียบกับเกิดการเกิด Heat Shock Protein (Hsp70) ซึ่งจะถูกสร้างขึ้นเมื่อปลาเกิดความเครียดจากการได้รับสารเคมี พบว่าหอยแมลงภู่ที่ได้รับสาร 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl Ether (BDE-47) 5 ppb มีปริมาณ Microsomal Actin มากกว่าในชุดควบคุมถึง 200% และปริมาณ Microsomal Actin ในหอยที่ได้รับน้ำมันดิบ น้ำมันดิบผสมอัลคิลฟีนอลและ PAHs กับชุดทดลองมีค่าไม่ต่างกัน

ข้อดีข้อเสียของการบริโภคอาหารทะเล (Pros and Cons of Seafood Consumption)

ปลาและผลิตภัณฑ์อาหารทะเลมีบทบาทสำคัญที่ช่วยป้องกันโรคเรื้อรัง การบริโภคปลามีข้อดีมากมาย สามารถช่วยป้องกันโรคมะเร็ง (Geelen *et al.*, 2007) และโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ (Schmidt *et al.*, 2000) การบริโภคปลาหรือน้ำมันจากปลาสามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจล้มเหลวและการเสียชีวิตได้ (Nakamura *et al.*, 2005).

ปลาทะเลและอาหารทะเลอื่นๆ แม้ว่าจะมีประโยชน์ต่อร่างกายหลายอย่าง แต่ไม่ใช่จะมีแต่ข้อดีเท่านั้นเนื่องมาจากสิ่งแวดล้อมที่สัตว์ทะเลอาศัยอยู่มีผลต่อคุณภาพของอาหารทะเลเช่นกัน การมีโลหะหนักปนเปื้อนอันเนื่องมาจากของเสียทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ครีวเรือน เรือเดินสมุทรที่มีการปล่อยของเสียเหล่านี้ลงสู่ทะเล

ในต่างประเทศ โดยองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (Food Drug Administration; FDA) และองค์การพิทักษ์สิ่งแวดล้อม (Environmental Protection Agency; EPA) ประกาศคำเตือนสำหรับผู้หญิงที่กำลังตั้งครรภ์หรือกำลังจะตั้งครรภ์ รวมถึงผู้หญิงที่ให้นมบุตร และเด็กเล็ก ให้หลีกเลี่ยงการกินปลาทะเล 4 ชนิด คือ ปลาฉลาม ปลากระโทงดาบหรือปลาฉนาก ปลาแมคเคอเรล หรือปลาอินทรี และปลาโทซึ่งเป็นกลุ่มปลาไหล เนื่องจากปลาดังกล่าวมีวงจรชีวิตยาว ทำให้มีระดับสารโลหะหนักสะสมอยู่มาก

มีงานวิจัยมากมายที่ศึกษาเกี่ยวกับทัศนคติในการบริโภคอาหารทะเล ดังต่อไปนี้

Clonan และคณะ (2011) ศึกษาทัศนคติของผู้บริโภคใน 842 ครีวเรือนในประเทศอังกฤษ พบว่า ผู้บริโภคเกินครึ่ง (57%) ตระหนักถึงผลด้านสุขภาพจากการบริโภคปลา และพบว่าสุขภาพเป็นตัวกระตุ้นอันดับแรกในการซื้อปลาบริโภค แต่กระนั้น ก็ยังบริโภคปลาในปริมาณที่ต่ำกว่าที่หน่วยงานด้านมาตรฐานอาหาร (Food Standard Agency) กำหนดไว้ ค่าแนะนำด้านการบริโภคในประเทศอังกฤษ กำหนดให้บริโภคปลาอย่างน้อย 2 มื้อ/สัปดาห์ มื้อละ 140 กรัม (ประมาณครึ่งละ 3-4 ช้อนกินข้าว) โดยในหนึ่งมื้อควรเป็นปลาที่มีไขมัน (oily fish) ซึ่งจะช่วยให้ลดความเสี่ยงในหลายๆ ปัญหาสุขภาพ ซึ่งรวมถึงโรคหัวใจและหลอดเลือด (SACN, 2004) และโรคมะเร็ง (Terry *et al.*, 2003). ปลาที่มีไขมันมีกรดไขมัน

โอเมก้า 3 โดยเฉพาะจากคุณสมบัติของ EPA (eicosapentaenoic acid), DHA (docosahexaenoic acid) (สายยาวของ PUFA) ซึ่งมีอยู่เฉพาะใน $n-3$ จากแหล่งของอาหารทะเล

Olsen (2001, 2003) ได้ทำการศึกษาในประชาชนทั่วไป พบว่า ทักษะคิดและการกระตุ้นในแง่มุมมองประโยชน์ของการบริโภคปลาเป็นปัจจัยสำคัญที่ประชาชนทั่วไปเลือกบริโภคปลา. นอกจากนั้น การเข้าถึงได้, ความยากง่ายในการเตรียมและปรุงประกอบอาหารจำพวกปลา, ราคาปลาที่แพงกว่าอาหารชนิดอื่น, คุณสมบัติทางกายภาพเช่น กระดูก, กลิ่น และรสชาติ ก็เป็นปัจจัยที่สำคัญเช่นกันในการเลือกบริโภคปลา (Olsen et al., 2007). นักโภชนาการแนะนำว่าควรบริโภคปลาอย่างน้อยสัปดาห์ละ 2 มื้อ ซึ่งก็พบว่าส่วนใหญ่ประชาชนในหลายๆ ประเทศก็ได้ปฏิบัติตามคำแนะนำดังกล่าว (Verbeke et al., 2005)

Pieniak และคณะ (2008) ทำการสำรวจแบบภาคตัดขวางเกี่ยวกับความถี่และแรงจูงใจในการบริโภคปลา ทั้งในบ้านที่มีและไม่มีประวัติสมาชิกในครอบครัวที่เป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยทำการสำรวจในกลุ่มตัวอย่างจำนวน 4,786 คน ที่มีอายุระหว่าง 18-84 ปี ซึ่งมีหน้าที่ในการซื้อและปรุงประกอบอาหารใน 5 ประเทศได้แก่ เบลเยียม เนเธอร์แลนด์ เดนมาร์ก โปแลนด์ และสเปน ผลการศึกษา พบว่า ผู้ที่อาศัยในบ้านที่มีสมาชิกในครอบครัวเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือดในประเทศเบลเยียมและเดนมาร์ก มีการบริโภคปลาบ่อยกว่าผู้ที่อาศัยในบ้านที่ไม่มีสมาชิกในครอบครัวเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด ส่วนใหญ่ (ยกเว้นประเทศเบลเยียม) มีการบริโภคปลาที่มีไขมัน ทั้งในบ้านที่มีและไม่มีสมาชิกในครอบครัวเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือดในระดับที่เท่าๆ กัน โดยกลุ่มตัวอย่างทุกคนที่บริโภคปลารับรู้ว่าการบริโภคปลามีคุณค่าทางโภชนาการและทำให้มีสุขภาพดี การรับรู้ในเชิงบวกเกี่ยวกับปลาอยู่ในระดับต่ำในทั้งสองกลุ่มทั้งๆ ที่มีการอ้างถึงการบริโภคปลาในระดับสูงในผู้ที่เป็โรคหัวใจและหลอดเลือด งานวิจัยนี้ให้ข้อเสนอแนะว่า มิใช่ประวัติการเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด แต่เป็นเนื่องจากนิสัยหรือวัฒนธรรมซึ่งส่งผลต่อความแตกต่างในปริมาณการบริโภคปลาในแต่ละประเทศ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องให้ความรู้ด้านโภชนาการและเน้นการสื่อสารถึงประโยชน์ในการบริโภคปลา โดยเฉพาะในกลุ่มที่เป็นโรคหัวใจและหลอดเลือดเท่านั้น แต่หมายถึงประชาชนทั่วไป

แหล่งที่มาของโลหะหนักและโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในอาหารทะเล

(Sources of Heavy Metals and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon)

1. น้ำมันดิบ ซึ่งเป็นปิโตรเลียมที่มีสถานะเป็นของเหลว เกิดขึ้นตามธรรมชาติจากการทับถมของซากพืชซากสัตว์ มีส่วนผสมที่ซับซ้อนของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ ปะปนกันอยู่ มีธาตุสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักอยู่ 2 ชนิด คือ คาร์บอน 82-87% และไฮโดรเจน 12-15% นอกนั้นเป็นสารอื่นๆ ปะปนอยู่ในปริมาณน้อย ได้แก่ กำมะถัน 0.05-5% ออกซิเจนน้อยกว่า 2% ไนโตรเจนน้อยกว่า 0.1%

ในน้ำมันดิบยังพบว่า มีโลหะเจือปนอยู่ด้วยตามธรรมชาติ ส่วนใหญ่ที่พบ คือ นิกเกิล และแวนาเดียม ส่วนโลหะอื่นที่พบมีอยู่ด้วย ได้แก่ แคดเมียม ทองแดง ตะกั่ว เหล็ก สังกะสี แมงกานีส

โม่ลิบตี้นัม ไทเทเนียม อะลูมิเนียม โครเมียม โคบอลต์ ยูเรเนียม ดีบุก แบเรียม เงิน สารหนู เป็นต้น โลหะเหล่านี้จะมีปริมาณมากน้อยแตกต่างกันตามแหล่งกำเนิดของน้ำมันดิบ ขึ้นอยู่กับลักษณะทางธรณีเคมีของชั้นหินและแหล่งน้ำ ซึ่งโลหะในน้ำมันดิบนั้นนอกจากพบตามธรรมชาติแล้ว บางส่วนอาจถูกเติมลงไปในการบวนการผลิต การขนส่ง และการเก็บรักษา

2. น้ำเสีย ไม่ว่าจะเป็นน้ำทิ้งจากชุมชนเมือง โรงงานอุตสาหกรรม เช่น ปิโตรเคมี โรงงานผลิตพลาสติก พีวีซี ซี หรือน้ำทิ้งจากการเกษตร ทั้งจากยาฆ่าแมลงและปุ๋ย ซึ่งก็ล้วนมีโลหะหนักปนเปื้อนทั้งสิ้น โลหะหนักเป็นสารที่คงตัว ไม่สามารถสลายตัวได้ในกระบวนการธรรมชาติ จึงมีบางส่วนตกตะกอนสะสมอยู่ในดิน ดินตะกอนที่อยู่ในน้ำ ดังนั้น จึงเกิดการปนเปื้อนของโลหะหนักในสัตว์น้ำ

3. กระบวนการแปรรูปและปรุงอาหาร การแปรรูปอาหารที่ทำให้เกิดสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนหรือพีเอเอช (PAHs) ได้ คือ การอบ การเคี้ยว การคั่ว การปรุงอาหารโดยการปิ้ง อย่างเป็นที่นิยมในปัจจุบัน เช่น หมักปิ้ง กุ้งย่าง ที่ไหม้เกรียมทำให้มีสาร PAHs ปนเปื้อนในอาหารได้ (นิธิยา รัตนาพนนท์ และ วิบูลย์ รัตนาพนนท์, 2543)

ทฤษฎีเกี่ยวกับการรับรู้ (Perception Theory)

พจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2542 ได้กำหนดไว้ว่า “ความรู้” คือสิ่งที่สั่งสมมาจากการศึกษาเล่าเรียนการค้นคว้าหรือประสบการณ์ รวมทั้งความสามารถเชิงปฏิบัติและทักษะ ความเข้าใจหรือสารสนเทศที่ได้รับมาจากประสบการณ์สิ่งที่ได้รับมาจากการได้ยิน ได้ฟัง การคิดหรือการปฏิบัติองค์วิชาในแต่ละสาขา

Davenport and Prusak (1998) ได้ให้ความหมายของความรู้ว่า ความรู้ หมายถึง ส่วนผสมของกรอบประสบการณ์ คุณค่า สารสนเทศ ที่เป็นสภาพแวดล้อมและกรอบการทำงานสำหรับการประเมินและรวมกันของประสบการณ์และสารสนเทศใหม่

ส่วนการรับรู้ ถือเป็นกระบวนการทางจิตวิทยาพื้นฐานของบุคคลที่สำคัญ เพราะถ้าปราศจากการรับรู้แล้วจะไม่สามารถมีความจำหรือการเรียนรู้ได้ การรับรู้ทุกครั้งที่เกิดขึ้นจะต้องมีบุคคลเข้ามาเกี่ยวข้องเสมอ เพื่อทำการตีความบางสิ่งบางอย่าง หรือเหตุการณ์ หรือความสัมพันธ์ในฐานะเป็นสิ่งที่สัมผัสรู้อะไรก็ตามที่เกี่ยวข้องในฐานะเป็นสิ่งที่สัมผัสรู้ โดยการผ่านประสาทสัมผัส มนุษย์ทุกคนรู้ทุกสิ่งในโลกโดยผ่านเข้ามาทางประสาทสัมผัส

ความสำคัญของการรับรู้ แบ่งออกเป็น 2 ชนิด (สิทธิโชค วรรณสันติกุล, 2546)

1. การรับรู้มีความสำคัญต่อการเรียนรู้ โดยที่การรับรู้ทำให้เกิดการเรียนรู้ ถ้าไม่มีการรับรู้จะเกิดการเรียนรู้ไม่ได้ ในทำนองเดียวกัน การเรียนรู้มีผลต่อการรับรู้ครั้งใหม่ เนื่องจากความรู้ ประสบการณ์เดิมจะแปลความหมายให้ทราบว่า คืออะไร

2. การรับรู้มีความสำคัญต่อเจตคติ อารมณ์ และแนวโน้มพฤติกรรม เมื่อรับรู้แล้วย่อมเกิดความรู้สึกและมีอารมณ์ พัฒนาเป็นเจตคติ แล้วเกิดพฤติกรรมตามมาในที่สุด

เมื่อมนุษย์มีการรับรู้ต่างกัน ความล้มเหลวของการสื่อสารจึงอาจเกิดขึ้นได้ เพราะการรับรู้เป็นตัวกำหนดพฤติกรรมการสื่อสาร ทักษะและความหวังของผู้สื่อสาร เป็นกระบวนการทางจิตที่ตอบสนองสิ่งเร้าที่ได้รับเป็นกระบวนการเลือกรับสาร การจัดสารเข้าด้วยกัน และการตีความสารที่ได้รับตามความเข้าใจและความรู้สึกของตนเอง โดยในแต่ละวันสื่อต่าง ๆ ได้นำเสนอข่าวสารมากมาย ผู้รับสารจะเลือกที่จะเปิดรับข่าวสารตามความสนใจหรือเกี่ยวข้องกับตนเอง โดยทั่วไปการรับรู้เป็นสิ่งที่เกิดขึ้นโดยไม่รู้ตัวหรือตั้งใจ และมักเกิดตามประสบการณ์และการสังสมทางสังคม คนเราไม่สามารถให้ความสนใจกับสิ่งต่างๆ รอบตัวได้หมด แต่จะเลือกรับรู้เพียงบางส่วนเท่านั้นตามความสนใจของแต่ละคน ซึ่งต่างคนมีความสนใจและรับรู้สิ่งต่างๆ รอบตัวต่างกัน โดยทั่วไปการรับรู้ที่แตกต่างกันเกิดจากอิทธิพล ได้แก่ แรงผลักดันหรือแรงจูงใจ ประสบการณ์เดิม สภาพแวดล้อม สภาวะจิตใจและอารมณ์

Schiffman and Kanuk (2004; อ้างในโชติรัตน์ ศรีสุข, 2554) ให้ความหมายการรับรู้ไว้ว่า เป็นกระบวนการที่ปัจเจกบุคคลคัดเลือก จัดระเบียบและตีความสิ่งเร้า ให้เกิดเป็นภาพของสิ่งต่างๆ ในโลกให้มีความหมายสอดคล้องกัน

ดารา ทีปะปาน (2553) ได้ให้ความหมายการรับรู้ไว้ว่า เป็นกระบวนการที่บุคคลเลือกรับ จัดองค์ประกอบแล้วแปลความหมายของสิ่งเร้าที่ผ่านเข้ามาทางประสาทสัมผัส โดยอาศัยความรู้และประสบการณ์เดิมเป็นเครื่องมือ

พฤติกรรมการรับรู้เป็นกระบวนการที่เกิดแทรกอยู่ระหว่างสิ่งเร้าและการตอบสนองต่อสิ่งเร้า การรับรู้ของมนุษย์จะมีประสิทธิภาพมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับองค์ประกอบต่างๆ ได้แก่

1. สิ่งเร้า ซึ่งจะมีชนิดและธรรมชาติที่แตกต่างกันไป
2. อวัยวะที่รับสัมผัส ซึ่งได้รับการกระตุ้นจากสิ่งเร้าแล้วแปลความหมายโดยอาศัยประสบการณ์เข้าช่วย
3. การแปลความหมายของอาการสัมผัส ซึ่งจะต้องเพียงใด ขึ้นอยู่กับปัจจัยด้านสรีระ และปัจจัยด้านจิตวิทยา โดยมนุษย์จะเลือกรับรู้เฉพาะสิ่งเร้าที่มีความหมาย ประกอบกับต้องใส่ใจความเหนื่อยล้าหรือสภาพจิตใจย่อมมีผลกระทบต่อความเข้าใจในสิ่งเร้าต่างๆ ได้
4. ประสบการณ์เดิม เมื่อได้รับสิ่งเร้า บุคคลจะทำการคาดคะเนหรือตั้งสมมุติฐานขึ้นมาก่อน ประสบการณ์เดิม ที่เคยมีมาจะช่วยสามารถยืนยันการคาดคะเน หรือตั้งสมมุติฐานใหม่ขึ้นมา

การรับรู้ความเสี่ยง

Heng และคณะ (2005) กล่าวว่า ความเสี่ยงเป็นส่วนหนึ่งของทัศนคติที่มีความสัมพันธ์และส่งผลในทางลบต่อความเชื่อมั่นที่มีต่อความตั้งใจที่จะทำพฤติกรรม

หากจะกล่าวในประเด็นความเข้าใจในเรื่องความเสี่ยงด้านสารเคมีนั้น อาจกล่าวได้ว่า ความเสี่ยงเกี่ยวกับสารเคมี เกี่ยวข้องกับความเป็นพิษและการรับสัมผัสสาร ศักยภาพของความเป็นพิษของสารเคมีนั้นมีความแตกต่างกันไป สารเคมีบางตัวมีความเป็นพิษมาก บางตัวเป็นพิษน้อย หรือบางตัวก็ไม่มีพิษ

เลยในการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมทั่วไป ระดับของการสัมผัสสารก็มีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ มากมาย ความเสี่ยง คือ โอกาสที่อาจเกิดขึ้น แต่ไม่แน่นอนว่าจะเกิดขึ้นหรือไม่ ในชีวิตประจำวันประชาชนย่อมต้องสัมผัสสารเคมีหลายชนิด ซึ่งรวมทั้งการสัมผัสสารโลหะหนักที่ปนเปื้อนในอาหารทะเลในระดับความเข้มข้นที่ไม่มากนัก เหล่านี้ย่อมมีความเสี่ยงต่อสุขภาพในระดับหนึ่ง

มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการรับรู้และการยอมรับความเสี่ยง เช่น ความเคยชิน (familiarity) ความสามารถในการควบคุมของบุคคล (personal controllability) ความตั้งใจในการสัมผัสสาร (voluntariness of exposure) ผลประโยชน์ที่ได้รับ (benefits) ความยุติธรรม (fairness) ฯลฯ โดยทั่วไป ความเสี่ยงที่เกิดขึ้นจากความจำเป็น หรือหลีกเลี่ยงไม่ได้ในการสัมผัส เช่น อาจเนื่องจากการที่ต้องทำงาน มักได้รับการยอมรับมากกว่าความเสี่ยงที่เกิดจากการถูกคุกคาม ความเสี่ยงที่อยู่ในการควบคุมได้ของบุคคล มักได้รับการยอมรับมากกว่าความเสี่ยงที่อยู่นอกเหนือการควบคุม เช่นเดียวกับความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับผลประโยชน์ หรือค่าตอบแทนที่ได้ ย่อมได้รับการยอมรับมากกว่า

ปริมาณหรือธรรมชาติของความเสี่ยง (ในเชิงวิทยาศาสตร์) อย่างเดียวไม่ได้เป็นตัวกำหนดการยอมรับความเสี่ยงของประชาชน เพียงเพราะว่าความเสี่ยงที่น้อยกว่า ซึ่งอาจจะไม่ได้น้อยจริงๆ ก็มักจะได้รับการยอมรับในความเสี่ยงนั้นมากกว่า นอกจากนั้นยังมีอีกหลายปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการรับรู้เรื่องความเสี่ยง ดังนั้นจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องวิเคราะห์ปัจจัยเหล่านั้นในชุมชน ซึ่งเป็นสิ่งที่มีผลต่อการรับรู้ในเรื่องความเสี่ยงต่อการสัมผัสสารเคมี หากปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการรับรู้ความเสี่ยงถูกนำไปประยุกต์ใช้ในเรื่องความเสี่ยงต่อการสัมผัสสารเคมีที่ปลดปล่อยออกมาจากสิ่งแวดล้อมรอบข้าง หรือสิ่งอำนวยความสะดวกต่างๆ ในชีวิตประจำวัน เช่น การเผาขยะ น้ำเสีย ประชาชนส่วนใหญ่ก็จะมองเรื่องความเสี่ยงในลักษณะของการคุกคาม การไม่สามารถควบคุมการสัมผัสได้ หรือความไม่ยุติธรรม เช่น บางคนอาจมองหรือรู้สึก ว่าทำไมเขาต้องมาทนสัมผัสสารเคมีที่ปล่อยออกมาในบริเวณที่พักอาศัย ทั้งๆ ที่เขาไม่ได้เป็นคนก่อมลพิษ หรือไม่ได้รับประโยชน์จากการกระทำเหล่านั้น (นันทพร ภัทรพทุธ, 2553)

มีงานวิจัยหลายฉบับที่เกี่ยวข้องกับการรับรู้ความเสี่ยงและพฤติกรรมการบริโภค ได้แก่

นุจรินทร์ วงศ์อินทร์อยู่ และยรรยงค์ อินทร์ม่วง (2555) ประเมินการรับรู้ความเสี่ยงและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการรับรู้ด้านสิ่งแวดล้อมและสุขภาพจากการประกอบอาชีพต้มเกลือในพื้นที่ ตำบลกุดเรือคำ อำเภอนวนนิวาส จังหวัดสกลนคร ประชากรที่ศึกษาคือผู้ประกอบการอาชีพรับจ้างต้มเกลือทั้งหมด 104 คน เก็บข้อมูลโดยใช้แบบสอบถามระหว่างมิถุนายน 2554 ถึง เมษายน 2555 วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนาและสถิติเชิงอนุมาน ผลการศึกษา พบว่า ในภาพรวมผู้ประกอบการอาชีพต้มเกลือมีการรับรู้โอกาสในการเกิดสิ่งคุกคาม สาเหตุ และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพ อยู่ในระดับน้อย ร้อยละ 47.1, 53.8 และ 49.1 ตามลำดับ ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการรับรู้โอกาสในการเกิดสิ่งคุกคาม คือ ระดับการศึกษา ($P = 0.033$) ด้านสาเหตุของผลกระทบที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับปัจจัยคือ การประกอบอาชีพหลัก ($P = 0.005$) และประสบการณ์การอบรมด้านความปลอดภัยในการทำงาน ($P = 0.029$) และในด้าน

ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพ พบว่า มีความสัมพันธ์กับปัจจัย คือ ระดับการศึกษา ($P = 0.006$) และอายุการทำงาน ($P = 0.039$) การศึกษาการรับรู้ชี้ให้เห็นว่าผู้ประกอบการอาชีพต้มเกลือยังมีการรับรู้ถึงความเสี่ยงด้านสิ่งแวดล้อมและสุขภาพในระดับน้อย ซึ่งหน่วยงานของรัฐควรเร่งหามาตรการกระตุ้นการรับรู้และวางแผนทางป้องกันปัญหาการเกิดผลกระทบด้านสิ่งแวดล้อมและสุขภาพต่อไป

รวิน ไชโย (2549) ศึกษาอิทธิพลของลักษณะทางด้านประชากรศาสตร์ การรับรู้โฆษณาสินค้าหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ (OTOP) ทางสื่อต่างๆ ปัจจัยส่วนประสมการตลาด และทัศนคติเกี่ยวกับสินค้า OTOP ที่มีต่อการยอมรับสินค้า OTOP โดยการเก็บข้อมูลด้วยแบบสอบถามจากกลุ่มตัวอย่าง 400 คน ที่อาศัยในเขตกรุงเทพฯ ทั้งเพศชายและหญิงที่มีอายุ 15 – 59 ปี ผลการวิจัยพบว่า การรับรู้โฆษณาสินค้า OTOP ทางสื่อบุคคล ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดในด้านช่องทางการจัดจำหน่ายและการส่งเสริมการตลาด และทัศนคติเกี่ยวกับสินค้า OTOP มีผลกระทบในเชิงบวกต่อการยอมรับสินค้า OTOP ของประชาชนในกรุงเทพฯ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมื่อเรียงลำดับความแข็งแกร่งของผลกระทบของตัวแปรทั้งหมดที่มีอิทธิพลต่อการยอมรับสินค้า OTOP พบว่า ทัศนคติที่มีต่อสินค้า OTOP เป็นตัวแปรที่มีความแข็งแกร่งของผลกระทบสูงสุด รองลงมา คือ การส่งเสริมการตลาด ช่องทางการจำหน่าย และการรับรู้โฆษณาสินค้า OTOP ทางสื่อบุคคล ตามลำดับ ผลจากการวิจัยยังพบว่า ความสนใจและความรู้เกี่ยวกับสินค้า OTOP มีผลกระทบในเชิงบวกต่อทัศนคติเกี่ยวกับสินค้า OTOP ของประชาชนในเขตกรุงเทพฯ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมื่อเรียงลำดับความแข็งแกร่งของผลกระทบของตัวแปรทั้งหมดที่มีอิทธิพลต่อทัศนคติเกี่ยวกับสินค้า OTOP พบว่า ความรู้เกี่ยวกับสินค้า OTOP เป็นตัวแปรที่มีความแข็งแกร่งของผลกระทบสูงกว่าตัวแปรทางด้านความสนใจเกี่ยวกับสินค้า OTOP

พงศ์พิชาญ พรสินธน์ (2552). ศึกษาการรับรู้ภาพลักษณ์ของเครื่องดื่มประเภทสุราที่ผ่านสื่อโทรทัศน์ โดยใช้แบบสอบถามจากกลุ่มตัวอย่าง 400 คน ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเพศชายประกอบอาชีพพนักงานบริษัท อายุ 31-35 ปี รายได้ 5,001-10,000 บาท ผลการวิจัยพบว่า กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เห็นด้วยในระดับปานกลางต่อการรับรู้ภาพลักษณ์ผ่านสื่อโทรทัศน์ของเครื่องดื่มประเภทสุรา ความคิดเห็นเกี่ยวกับทัศนคติต่อการสื่อสารเพื่อสร้างภาพลักษณ์ผ่านสื่อโทรทัศน์ที่มีเพศ อายุ การศึกษา อาชีพ รายได้ และในด้านพฤติกรรม的开ปรับสารที่แตกต่างกัน มีความคิดเห็นต่อการสื่อสารเพื่อสร้างภาพลักษณ์ผ่านสื่อโทรทัศน์ของเครื่องดื่มประเภทสุราที่ต่างกัน นอกจากนั้น การสื่อสารเพื่อสร้างภาพลักษณ์ผ่านสื่อโทรทัศน์ของเครื่องดื่มประเภทสุรามีผลเชิงบวกต่อพฤติกรรม的开ปซื้อเครื่องดื่มประเภทสุรา

ปัญญา บุญสิน (2552). ศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่กัตาคารอาหารญี่ปุ่นฟูจิในห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานคร โดยทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นลูกค้าที่มาใช้บริการอายุ 15 ปีขึ้นไปจำนวน 400 คน ผลการวิจัยพบว่า กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นนิสิต/นักศึกษาเพศหญิง โสด มีความถี่ในการบริโภคเดือนละ 1 ครั้ง ค่าใช้จ่ายเฉลี่ยต่อครั้งประมาณ 300 บาท โอกาสที่มาใช้บริการเพื่อการพบปะสังสรรค์ จากการศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร พบว่า เพศที่ต่างกันมีความถี่ของการบริโภคและค่าใช้จ่ายในการบริโภคแต่ละครั้งไม่แตกต่างกัน อายุและสถานภาพสมรสที่ต่างกันมีค่าใช้จ่ายในการบริโภคแต่ละครั้งที่แตกต่างกัน ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดบริการ

ด้านผลิตภัณฑ์และด้านพนักงานผู้ให้บริการ มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภคที่ภัตตาคารอาหารญี่ปุ่นฟูจิเรื่องค่าใช้จ่ายในการบริโภคแต่ละครั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 และ 0.05 ตามลำดับ ช่องทางการจัดจำหน่ายมีความสัมพันธ์กับความถี่ในการบริโภคและค่าใช้จ่ายในการบริโภคแต่ละครั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และ 0.01 ตามลำดับ

วรรณปกรณ์ สุดตะนา (2549) ศึกษาภาวะโภชนาการ พฤติกรรมการบริโภคอาหารและวิถีชีวิตที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพของนักศึกษาสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์ จำนวน 110 คน โดยใช้แบบสอบถาม ผลการศึกษาพบว่า นักศึกษาบริโภคข้าวเหนียวเป็นอาหารหลัก นักศึกษาบริโภคเนื้อสัตว์วันละ 1-2 ครั้ง ผักผลไม้วันละ 1 ครั้ง น้ำอัดลมสัปดาห์ละ 2 ครั้ง นักศึกษามีความรู้ถูกต้องด้านโภชนาการเฉลี่ยร้อยละ 77.78 โดยมีคะแนนในระดับต่ำ ปานกลางและสูงคิดเป็นร้อยละ 1.82, 53.64, 44.54 ตามลำดับ ทักษะคติในการบริโภคมีค่าคะแนนเฉลี่ยร้อยละ 82.12 โดยมีคะแนนในระดับต่ำ ปานกลางและสูงคิดเป็นร้อยละ 17.27, 66.36, 16.37 ตามลำดับ มีนักศึกษาที่ออกกำลังกายร้อยละ 70 นักศึกษามีภาวะอ้วน ($BMI \geq 25 \text{ Kg/m}^2$) และภาวะที่เสี่ยงต่อโรคอ้วน ($BMI = 23.0-24.9 \text{ Kg/m}^2$) ร้อยละ 2.73 และ 3.64 ตามลำดับ และมีนักศึกษาที่มีน้ำหนักต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ($BMI < 18.5 \text{ Kg/m}^2$) ร้อยละ 38.18

มัณชุสา ธนิกบุ (2553). ศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภคอาหารของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษา โรงเรียนเทพสุวรรณชาญวิทยา อำเภออัมพวา จังหวัดสมุทรสงคราม โดยมีกลุ่มประชากรศึกษาจำนวน 190 คน โดยใช้แบบสอบถาม ผลการวิจัย พบว่า พฤติกรรมการบริโภคของเด็กนักเรียนอยู่ในระดับปานกลาง ความรู้และเจตคติต่อการบริโภคอาหาร ความสะดวกในการซื้ออาหาร การได้รับข่าวสารจากสื่อ และอายุ มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภคอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

บทที่ 3 วิธีการวิจัย

- เก็บรวบรวมปลาทะเลและหอยแมลงภู่ตามแนวชายฝั่งทะเลจังหวัดระยองและชลบุรี ดังภาพที่ 1 จำแนกตัวอย่างชนิดของปลาทะเล ที่เป็นตัวแทนของปลากินพืชและปลากินสัตว์ และเก็บตัวอย่าง หอยแมลงภู่ 2 ขนาด คือ เปลือกความยาวน้อยและมากกว่า 6 เซนติเมตร ซึ่งน้ำหนัก วัดความยาว โดยเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ตำบลอ่างศิลา และมาตาบุตร เก็บเนื้อเยื่อปลาและตับ และเนื้อหอยแมลงภู่ที่แกะเปลือก ลงในถุงพลาสติกที่สะอาดแล้วแช่แข็งจนกว่าจะทำการวิเคราะห์ ตัวอย่างทั้งปลาทะเลและหอยแมลงภู่ ในแต่ละตัวอย่างจะใช้วิเคราะห์ทั้ง โลหะหนัก (แคดเมียม) สารฟิเอเอช และตัวชี้วัดชีวภาพ โปรตีน CYP1A และ metal-binding protein

- วิเคราะห์หาปริมาณสารฟิเอเอช ที่สุ่มจากปลาทะเล เนื้อ (30 ตัวอย่าง) และตับ (30 ตัวอย่าง) และหอยแมลงภู่ (20 ตัวอย่าง เปลือกความยาวน้อยกว่า 6 เซนติเมตร และ 20 ตัวอย่าง เปลือกความยาวมากกว่า 6 เซนติเมตร) การสกัดเนื้อเยื่อตัวอย่าง (Extraction) แบ่งซังตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ใน Thimble ใส่ลงในชุดสกัดตัวอย่างแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) ในชุดสกัด Soxhlet extractor สกัดด้วยสาร Hexane, Dichloromethane(1:1 v/v) 250 มิลลิลิตร สกัดแบบต่อเนื่อง อย่างน้อย 6 ชั่วโมง ปิดเตาสิ่งที่สกัดได้มา 10 มิลลิลิตร เพื่อนำไปหาปริมาณฟิเอเอชรวม ด้วยเครื่อง GC/MS ทำการตรวจสอบที่ห้องปฏิบัติการ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

- วิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (Analysis of variance, ANOVA) ของปริมาณสารฟิเอเอช ระหว่าง เนื้อและตับปลาทะเล และ เนื้อหอยแมลงภู่ 2 ขนาด ตามแหล่งเก็บตัวอย่างจังหวัดระยองและชลบุรี

- การหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ระหว่างสารฟิเอเอชและการแสดงออกของโปรตีน CYP1A ในปลาทะเลและหอยแมลงภู่

- วิเคราะห์หาปริมาณ แคดเมียม ที่สุ่มจากปลาทะเล และหอยแมลงภู่ (20 ตัวอย่าง เปลือกความยาวมากกว่า 6 เซนติเมตร) การวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียม โดยทำการย่อยตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์น้ำด้วยกรดไนตริก (Suprapure Nitric acid) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเครื่องย่อยสลายตัวอย่างด้วยคลื่นสั้น (Microwave Digester) ทำการปรับปริมาตรแล้วนำไปตรวจวัดปริมาณ แคดเมียม ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ทำการตรวจสอบที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

- วิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (Analysis of variance, ANOVA) ของปริมาณสารแคดเมียม ในเนื้อและตับปลา และ เนื้อหอยแมลงภู่ ตามแหล่งเก็บตัวอย่างจังหวัดระยองและชลบุรี

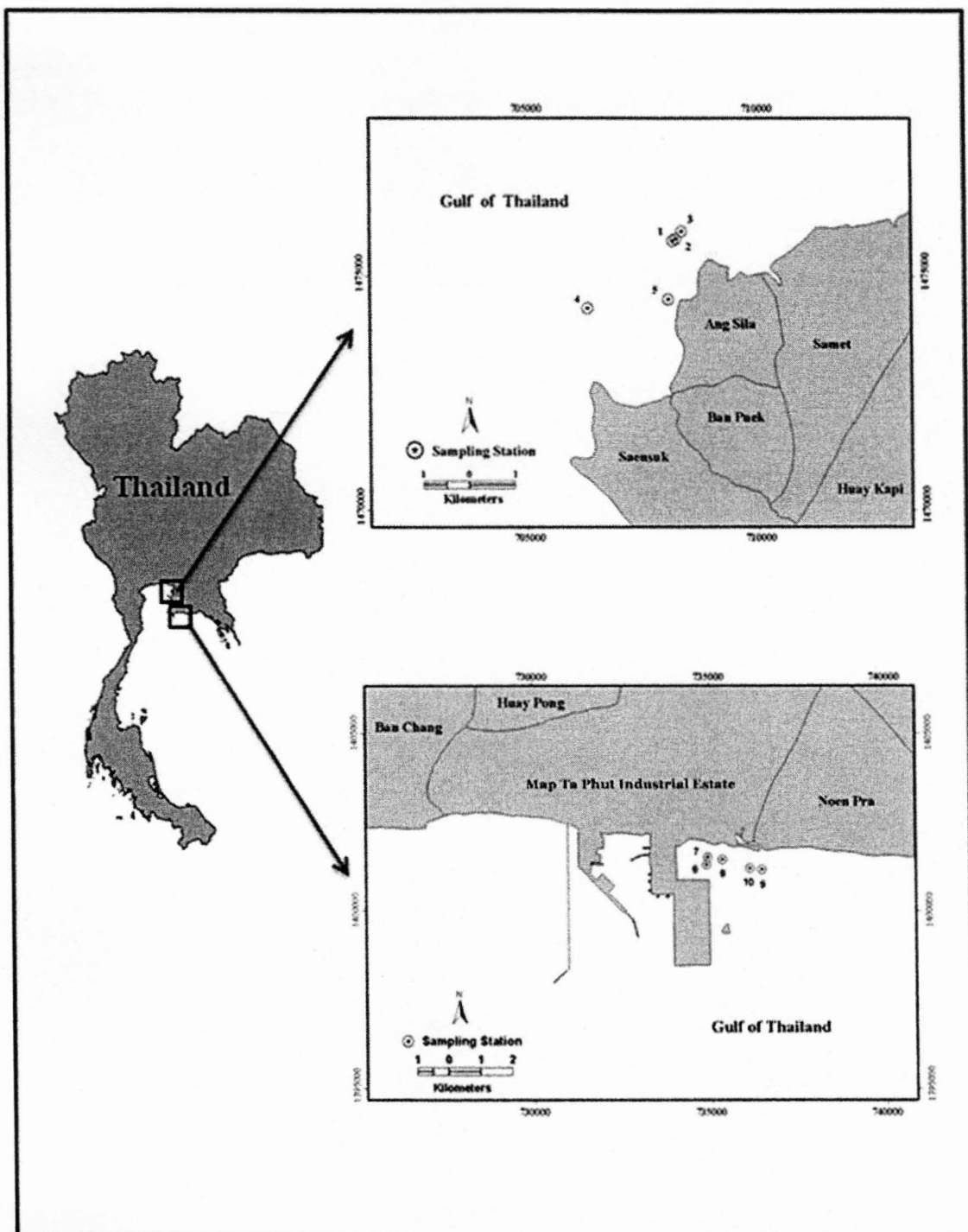
- การหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ระหว่างสารแคดเมียม และการแสดงออกของโปรตีน metal-binding protein ในปลาทะเล

- การสกัด crude CYP1A (เตรียมตัวอย่างการปั่นโปรตีนในเครื่องตกตะกอนต่ำที่ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ส่วนปั่นเครื่องตกตะกอนสูงที่ศูนย์เครื่องมือมหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ) สำหรับ Western blot และ ELISA ทำการตรวจสอบที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

- การทดสอบ โปรตีน CYP1A โดย Western blot Analysis เพื่อทราบขนาดน้ำหนักโมเลกุล

ทำการแยกสารสกัด CYP1A ใน 12 % SDS-PAGE จากนั้นนำเจลที่แยกโปรตีนแล้วถ่ายโปรตีนจากแผ่นเจลลงสู่กระดาษไนโตรเซลลูโลส นำไปบ่มใน PAb หรือ MAb แต่ละตัว ล้างด้วย 0.5% blotto บ่มใน GAM-HRP (1:1000) 3 ชั่วโมง ล้างด้วย 0.5% blotto และบ่มในสารละลาย 0.03% DAB, 0.006% H_2O_2 , 0.05% $CoCl_2$ 5 นาที ล้างด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้ง ตรวจดูแถบโปรตีนที่ให้ผลบวกกับแอนติบอดีแต่ละตัว คำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลโดยเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน prestain น้ำหนักโมเลกุล 31.4-126 kDa (Sigma)

- การวิเคราะห์ metal-binding protein จากตับปลาทะเล โดยจะ ใน 50 mM Tris-HCl, pH 7.4 สกัด (35 % w/v) ที่บรรจุด้วย 0.1 mM PMSF, 0.5 mM DTT และ 150 mM NaCl นำมา centrifuge ที่ 15,000 X g นาน 90 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บโปรตีนส่วนบน supernatant นำส่วน supernatant ที่เป็นของเหลวเก็บใส่ตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส รอการทดสอบการหาปริมาณโปรตีน ทำการหาปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง เพื่อนำค่าความเข้มข้นโปรตีนมาคำนวณ ตรวจการแสดงออกของ metal-binding protein ในปลาทะเล ด้วยวิธี Western blot (ดังที่กล่าวไว้แล้วข้างต้น)



ภาพที่ 1 แผนที่ประเทศไทยและสถานที่เก็บตัวอย่าง แนวชายฝั่งทะเล อ่างศิลา จังหวัดชลบุรี (จุดเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่ จุดที่ 1-3 และตัวอย่างปลาทะเล จุดที่ 4-5) และแนวชายฝั่งทะเล มาบตาพุด จังหวัดระยอง (จุดเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่ จุดที่ 6-8 และตัวอย่างปลาทะเล จุดที่ 9-10)

วิธีการวิเคราะห์ PAHs ด้วยวิธี Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

วิเคราะห์หาปริมาณสาร PAHs โดยในตัวอย่างปลาทะเลทำการสุมตัวอย่างเนื้อสองข้างและตับส่วนหอยแมลงภู่ใช้เนื้อทั้งตัว นำตัวอย่างมาทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดปั่น แล้วสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลาย Dichloromethane ในชุดสกัด Soxhlet extractor โดยเติมสาร 2-Fluoro-1,10-biphenyl ซึ่งเป็น internal standard ทำการสกัดต่อเนื่องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปสกัดแยกเฉพาะส่วนของสาร PAHs ด้วยวิธี column chromatography และนำไปตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร PAHs จำนวน 16 ชนิด ได้แก่ naphthalene (NAP), acenaphthylene (ACY), acenaphthene (ACE), fluorene (FLO), phenanthrene (PHE), anthracene (ANT), fluoranthene (FLA), pyrene (PYR), benz[a]anthracene (BaA), chrysene (CHR), benzo[b]-fluoranthene (BbF), benzo[k]fluoranthene (BkF), benzo[a]pyrene (BaP), indeno[1,2,3-cd]pyrene (IcdP), dibenzo[a,h]anthracene (DahA) และ benzo[ghi]perylene (BghiP) โดยทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) ของบริษัท Agilent รุ่น Agilent 6890N Gas Chromatograph/5970 inert Mass Selective Detector ดังภาพที่ 5 ซึ่งมีสภาวะการทำงานของเครื่อง ดังนี้

Instrument setting

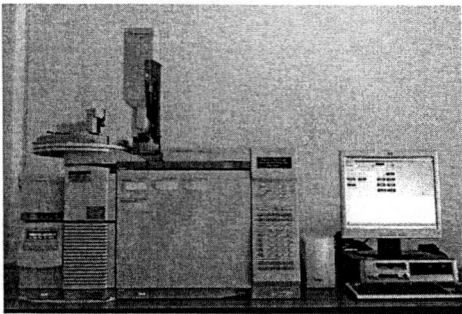
Injection volume	1 μ l
Injection technique	Splitless
Initial temperature	270 $^{\circ}$ C
Transfer line temperature	280 $^{\circ}$ C
Injection temperature	270 $^{\circ}$ C
Carrier gas	Helium
Linear gas velocity	43 cm/sec
Carrier gas flow	1.4 mL/min

Temperature program

Initial temperature	0.50 min at 50 $^{\circ}$ C		
Rate ($^{\circ}$ C/min)	Final temperature	Final time (min)	
17	200	0	
9	250	0	
10	280	7	

Column

Type	Capillary column, HP-5MS (0.25 cm x 30 m x 0.25 μ m)
Mode	Constant flow
Detection	Mass Selective Detector (MSD)
Acquisition mode	SIM mode



ภาพที่ 2 เครื่อง Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GC-MS) ของบริษัท Agilent รุ่น Agilent 6890N Gas Chromatograph/5970 inert Mass Selective Detector ปริมาณสารต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้

PAHs	LOD (ug/ml)
Naphthalene (NAP)	0.0009
Acenaphthylene (ACY)	0.0017
Acenaphthene (ACE)	0.0011
Fluorene (FLO)	0.0026
Phenanthrene (PHE)	0.0176
Anthracene (ANT)	0.0011
Fluoranthene (FLA)	0.0153
Pyrene (PYR)	0.0132
Benz[a]anthracene (BaA)	0.0016
Chrysene (CHR)	0.0037
Benzo[b]-fluoranthene (BbF)	0.0018
Benzo[k]fluoranthene (BkF)	0.0017
Benzo[a]pyrene (BaP)	0.0012
Indeno[1,2,3-cd]pyrene (IcdP)	0.0003
Dibenzo[a,h]anthracene (Dah)	0.0009
Benzo[ghi]perylene (BghiP)	0.0026

การศึกษาพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลและการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนในเขตตำบลมาตาพุด จ.ระยอง และตำบลอ่างศิลา จ.ชลบุรี

วิธีการศึกษาวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

รูปแบบการศึกษาในครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงสำรวจ (survey research) โดยเก็บข้อมูลแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional study) เพื่อประเมินพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลและการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของเด็กนักเรียนและหญิงตั้งครรภ์ในเขตตำบลมาบตาพุด จ.ระยอง และตำบลอ่างศิลา จ.ชลบุรี โดยทำการเก็บข้อมูลในช่วงเดือนกรกฎาคม-กันยายน 2556

3.2 ประชากรและตัวอย่างศึกษา

3.2.1 หญิงตั้งครรภ์

ประชากรเป้าหมายที่ศึกษา คือ หญิงตั้งครรภ์ ที่อาศัยในพื้นที่ ตำบลมาบตาพุด จ.ระยอง และตำบลอ่างศิลา จ.ชลบุรี ได้จำนวนกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งคำนวณจากค่าสัดส่วนโดยใช้สูตรของ Daniel W.W (1999)

$$n = \frac{Z^2_{\alpha/2} pq}{d^2}$$

n แทนจำนวนกลุ่มตัวอย่าง

$Z^2_{\alpha/2}$ แทน ค่ามาตรฐานโค้งปกติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

p แทน สัดส่วนประชากรที่บริโภคอาหารทะเล ซึ่งใช้ค่าประมาณการที่ ร้อยละ 50

q แทน สัดส่วนประชากรที่ไม่บริโภคอาหารทะเล ซึ่งใช้ค่าประมาณการที่ ร้อยละ 50

d แทน ความคลาดเคลื่อนของการสุ่มตัวอย่าง ที่ 0.05

เมื่อแทนค่าในสูตรได้ค่า $n = 384.2$

ในการสุ่มตัวอย่าง แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ 1) แบ่งกลุ่มตัวอย่าง ทั้ง 2 พื้นที่ๆ ละ 192 คน 2) สุ่มตัวอย่างด้วยวิธี consecutive sampling โดยเก็บรวบรวมข้อมูลหญิงตั้งครรภ์ที่มาใช้บริการรับฝากครรภ์ในสถานบริการของรัฐในช่วงเวลาที่กำหนด

ในพื้นที่ตำบลอ่างศิลา ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลจากหญิงตั้งครรภ์และคลอดบุตรแล้วไม่เกิน 1 ปี ทุกคน เนื่องจากในพื้นที่นี้มีหญิงตั้งครรภ์น้อย จึงได้ขยายกลุ่มเป้าหมายครอบคลุมถึงกลุ่มที่คลอดบุตรแล้วไม่เกิน 1 ปี ได้จำนวนทั้งสิ้น 41 คน

ในพื้นที่ตำบลมาบตาพุด ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลหญิงตั้งครรภ์ที่มาใช้บริการรับฝากครรภ์ในช่วงเดือนกรกฎาคม และเพื่อเป็นการลดความคลาดเคลื่อนจากการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง จึงเพื่อการเก็บกลุ่มตัวอย่างอีกร้อยละ 4 ได้จำนวนกลุ่มตัวอย่างทั้งสิ้นจำนวน 200 คน

เกณฑ์ที่ใช้ในการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างที่เข้าร่วมโครงการ ได้แก่ การมีระยะเวลาการพักอาศัยในเขตพื้นที่ดังกล่าวไม่น้อยกว่า 6 เดือน เป็นผู้ที่สามารถสื่อสารโดยใช้ภาษาไทยได้และยินดีเข้าร่วมโครงการ โดยเซ็นต์หนังสือยินยอมเพื่อเข้าร่วมกิจกรรมโครงการ

3.2.2 เด็กนักเรียน

ประชากรเป้าหมายที่ศึกษา คือ เด็กนักเรียนระดับประถมศึกษาปีที่ 4-6 ในโรงเรียนรัฐบาลทุกโรงที่ตั้งอยู่ในพื้นที่มาบตาพุด จ.ระยอง (3 โรงเรียน) และตำบลอ่างศิลา จ.ชลบุรี (2 โรงเรียน) โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้จำนวนกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งคำนวณจากค่าสัดส่วนโดยใช้สูตรของ Daniel W.W. (1999)

$$n = \frac{Z^2_{\alpha/2} pq}{d^2}$$

เมื่อ	n	แทนจำนวนกลุ่มตัวอย่าง
	$Z^2_{\alpha/2}$	แทน ค่ามาตรฐานโค้งปกติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05
	p	แทน สัดส่วนประชากรที่บริโภคอาหารทะเล ซึ่งใช้ค่าประมาณการที่ร้อยละ 50
	q	แทน สัดส่วนประชากรที่ไม่บริโภคอาหารทะเล ซึ่งใช้ค่าประมาณการที่ร้อยละ 50
	d	แทน ความคลาดเคลื่อนของการสุ่มตัวอย่างที่ 0.05
	เมื่อแทนค่าในสูตรได้ค่า $n = 382.2$	

การสุ่มตัวอย่างแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ 1) แบ่งกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 พื้นที่ ได้กลุ่มตัวอย่างพื้นที่ละ 192 คน 2) สุ่มห้องเรียนของโรงเรียนในแต่ละพื้นที่ และเก็บข้อมูลแบบยกห้อง (cluster sampling)

ในพื้นที่ตำบลอ่างศิลา ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลของทุกโรงเรียนที่ตั้งอยู่ในตำบลอ่างศิลา 2 โรงเรียน ในเด็กนักเรียนทุกคนในระดับชั้นประถมศึกษาปีที่ 4-6 ได้จำนวนทั้งสิ้น 147 คน และพื้นที่ตำบลมาบตาพุด ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลจากตั้งอยู่ในพื้นที่มาบตาพุด 3 โรงเรียน ในเด็กนักเรียนในระดับชั้นประถมศึกษาปีที่ 4-6 โดยการสุ่มห้องเรียนของแต่ละโรงเรียนและแต่ละชั้นเรียนๆ ละ 1 ห้อง และเก็บข้อมูลแบบยกห้องได้จำนวนทั้งสิ้น 211 คน

เกณฑ์ที่ใช้ในการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างที่เข้าร่วมโครงการ ได้แก่ ได้รับอนุญาตจากครูและผู้ปกครอง โดยมีลายเซ็นต์หนังสือแสดงความยินยอมจากครูหรือผู้ปกครองเพื่อเข้าร่วมกิจกรรมโครงการ และต้องศึกษาอยู่ในโรงเรียนแห่งนี้ไม่น้อยกว่า 1 ปี

3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูล

โดยใช้แบบสอบถามแบบมีโครงสร้าง (structured questionnaires) ซึ่งสร้างขึ้นมาจากจากการศึกษาแนวคิด ทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนข้อมูลการสัมภาษณ์รายบุคคล (face to face interviews) แบบปลายเปิดเพื่อนำข้อมูลจากการพูดคุย สอบถาม และจากข้อเสนอแนะของกลุ่มตัวอย่าง มาจัดสร้างแบบสอบถามแบบมีโครงสร้าง (structured questionnaires) แบบสอบถามประกอบด้วยข้อมูล 5 ส่วน ได้แก่

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ เพศ อายุ อาชีพ ระดับการศึกษา สมาชิกในครอบครัว รายได้ต่อเดือน

ส่วนที่ 2 ความหมายของคำที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีและผลกระทบจากการบริโภคอาหารทะเล

ประกอบด้วยข้อคำถาม 14 ข้อ

ส่วนที่ 3 ความรู้เกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนัก ประกอบด้วยข้อคำถาม 12 ข้อ

ส่วนที่ 4 ข้อมูลการรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับการบริโภคอาหารทะเล โดยมีลักษณะข้อคำถามเป็นระดับความคิดเห็นแบบการประเมินค่า (rating scale) 4 ระดับ ได้แก่ น้อย ปานกลาง มาก มากที่สุด โดยมีจำนวนข้อคำถาม 10 ข้อ

ส่วนที่ 5 ข้อมูลพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลและแบบการประเมินความถี่การบริโภค 4 ระดับ ได้แก่ ไม่เคยเลย นานๆ ครั้ง บ่อยครั้ง และเป็นประจำ โดยมีจำนวนข้อคำถาม 20 ข้อ

3.3.2 การตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ

การตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือประกอบด้วย 2 ส่วน ได้แก่ การตรวจสอบความตรงของเนื้อหา (content validity) และการตรวจสอบความเที่ยง (reliability)

การตรวจสอบความตรงของเนื้อหา โดยการนำแบบสอบถามไปให้ผู้เชี่ยวชาญที่มีความรู้และประสบการณ์ด้านระบาดวิทยาและพิษวิทยา จำนวน 3 ท่าน เพื่อทำการตรวจสอบความตรงตามเนื้อหาและปรับแก้ตามข้อเสนอแนะของผู้เชี่ยวชาญ

การตรวจสอบความเที่ยง โดยนำแบบสอบถามไปทดลองสอบถามประชาชนทั่วไปในพื้นที่ตำบลแสนสุขจำนวน 30 ชุด และนำมาหาความเที่ยงด้วยสัมประสิทธิ์อัลฟาของครอนบาช (Cronbach' alpha coefficient) และพบว่า ข้อมูลส่วนที่ 3 การรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับการบริโภคอาหารทะเลและโลหะหนัก มีค่าความเที่ยงเท่ากับ 0.80

3.3.3 ขั้นตอนการเก็บรวบรวมข้อมูล

1. ทำหนังสือประสานงานกับเทศบาลทั้ง 2 พื้นที่ เพื่อขอข้อมูลเบื้องต้นและขออนุญาตเข้าเก็บข้อมูลในพื้นที่

2. ประชุมชี้แจงรายละเอียดแบบสอบถาม ให้แก่เจ้าหน้าที่สาธารณสุขและนักศึกษาที่ช่วยเก็บข้อมูลแบบสอบถาม ซึ่งเป็นนักศึกษาระดับปริญญาโท คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
3. เข้าเก็บข้อมูลในพื้นที่

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากแบบสอบถาม (questionnaires) และนำไปวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ โดยการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยสถิติพรรณนา (descriptive statistics) ได้แก่ การคำนวณหาความถี่ (frequency) ร้อยละ (percentage) ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ค่ากลางข้อมูล (median) ค่าสูงสุด (max) ค่าต่ำสุด (min)

เปรียบเทียบความรู้ ความเข้าใจ การรับรู้ความเสี่ยงและพฤติกรรมการบริโภคระหว่างกลุ่มตัวอย่างในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา โดยใช้ Chi-square และ Independent t-test

บทที่ 4 ผลการวิจัย

การวิเคราะห์โลหะหนัก (แคดเมียม) ในปลาทะเล และ หอยแมลงภู่ตามแนวชายฝั่งทะเล

1. ปริมาณแคดเมียมพบในปลาทะเลชนิดต่างๆ จับตามแนวชายฝั่งทะเลมาบตาพุด และ อ่างศิลา ในปี พ.ศ. 2556

ชายฝั่งทะเลนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยองมีการจับสัตว์น้ำ เช่น ปลา กุ้ง ปู ปลาหมึก เป็นต้น ขึ้นมาเป็นอาหารทะเล ทำให้สัตว์ทะเลจากแหล่งนี้อาจได้การปนเปื้อนจากสารไม่พึงประสงค์ที่ถูกปล่อยทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและโรงไฟฟ้าถ่านหิน มีคลองเล็กๆ เช่น คลองซากหมาก คลองตากวน เป็นต้น ซึ่งเป็นคลองที่รับน้ำทิ้งจากโรงงานและบ้านเรือนที่อยู่เหนือคลอง ลงสู่อ่าวประดู่ ส่วนชายฝั่งทะเล อ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ก็เป็นแหล่งการประมงและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งมีคลองเล็กๆ หลายแห่งที่รับน้ำทิ้งส่วนใหญ่จากบ้านเรือน ร้านค้า และร้านอาหาร และทั้งได้รับอิทธิพลจากแม่น้ำบางปะกงที่ต้นน้ำมีแหล่งอุตสาหกรรม และมีเรือประมงมากมายจอดเทียบท่า รวมทั้งเรือขนส่งสินค้าในอ่าวไทย ดังนั้นชายฝั่งทะเลทั้งสองแห่งได้ถูกเปรียบเทียบหาปริมาณแคดเมียม สารอินทรีย์ PAHs ในปลาทะเลและหอยแมลงภู่เลี้ยงจากฟาร์ม ปลาทะเลและหอยแมลงภู่จากชายฝั่งทะเลทั้งสองแห่งได้นำมาเป็นอาหารมนุษย์ทั้งสิ้น

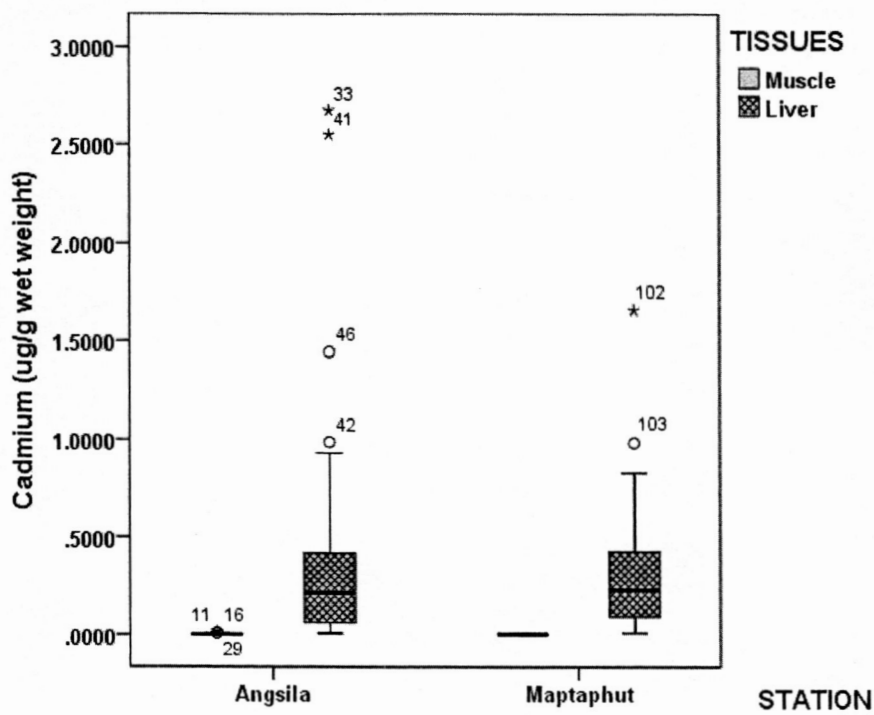
1. ปริมาณแคดเมียมพบในปลาทะเลจับชายฝั่งทะเลอ่างศิลา และมาบตาพุด

ผลการศึกษาพบว่าปริมาณแคดเมียมในตับปลาทะเลจากอ่างศิลาปีพ.ศ. 2556 ค่าเฉลี่ย 0.4490 ± 0.6753 ug/g wet wt. (n=30) สูงกว่าตับปลาทะเลจับจากมาบตาพุด ค่าเฉลี่ย 0.3252 ± 0.3441 ug/g wet wt. (n=30) และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p > 0.01$) แต่พบสูงกว่าในเนื้อปลาทะเลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) ที่มีค่าแคดเมียมต่ำใกล้เคียงกันคือ อ่างศิลา และมาบตาพุดมีค่าช่วงเฉลี่ย 0.0028 ± 0.0035 ug/g wet wt. และ 0.0033 ± 0.0024 ug/g wet wt (n=30) ปลาทะเล 15 ชนิดจากอ่างศิลาที่ค่าปริมาณแคดเมียมค่อนข้างสูง คือ ปลาลิ้นหมา ปลาสิ่กุน และปลาข้างตะเภา (~ 1.4 ถึง 2.6 ug/g wet wt.) ส่วน ปลาทะเล 11 ชนิด จากมาบตาพุดที่ค่าปริมาณแคดเมียมในตับค่อนข้างสูง มีเพียงชนิดเดียวคือ ปลาหู (เฉลี่ย 1.157 ug/g wet wt.) แสดงดงภาพที่ 3 และตารางสถิติ

เปรียบเทียบภาพรวมผลการศึกษาพบปริมาณแคดเมียมในตับปลาทะเลจากอ่างศิลาปีพ.ศ. 2556 มีค่าสูงกว่าปีพ.ศ. 2555 ค่าเฉลี่ย 0.196 ± 0.202 ug/g wet wt. (n=30) มาบตาพุด ค่าเฉลี่ย 0.071 ± 0.135 ug/g wet wt. (n=30) ส่วนในเนื้อปลาทะเล ปีพ.ศ. 2556 มีค่าใกล้เคียงกับปีพ.ศ. 2555 คือ อ่างศิลา มีค่าเฉลี่ย 0.0028 ± 0.007 ug/g wet wt. (n=30) ที่มีค่าแคดเมียมใกล้เคียงกับจากมาบตาพุดมีค่าเฉลี่ย 0.0020 ± 0.003 ug/g wet wt. (n=30) ตามลำดับ

โดยชนิดของปลาทะเลจับจากอ่างศิลาในปีพ.ศ. 2556 รวบรวมไม่แตกต่างกัน ยกเว้นปลาทะเลจากมาบตาพุดมีความแตกต่างของชนิดปลา ชนิดที่ซ้ำกัน มี 3 ชนิด คือ ปลาจวด ปลาสิ่กุน และปลาหู ปลาทะเลจากอ่างศิลาที่ค่าปริมาณแคดเมียมในตับค่อนข้างสูง (>0.2 ถึง ~ 2.68 ug/g wet wt.) มี 8 ชนิด ได้แก่ ปลาลิ้นหมา ปลาแป้นจุดดำ ปลาสิ่กุน ปลาข้างตะเภา ไบโป ปลาตะกรับเสือดาว ปลาหู ปลาไหลทะเล และ ปลาไหลทะเล สำหรับปลาหูมีค่าแคดเมียมในตับเฉลี่ย 0.2473 ± 0.0561 ug/g wet wt. ค่าแคดเมียมในกล้ามเนื้อเฉลี่ย 0.0022 ± 0.0007 ug/g wet wt. ส่วนปลาทะเลจากมาบตาพุดที่ค่าปริมาณแคดเมียมในตับค่อนข้างสูง มีเพียงชนิดเดียวคือ ปลาหู (ค่าเฉลี่ย 0.8877 ± 0.6479 ug/g wet wt.) ค่าแคดเมียมในกล้ามเนื้อเฉลี่ย 0.0048 ± 0.0002 ug/g wet wt. ส่วนปลาที่เหลือ 5 ชนิดคือ ปลาตาบเงิน

ใหญ่ ปลาสิ่กุน ปลาหางแข็ง ปลาแมว และปลาซาก มีค่าปริมาณแคดเมียมในตับ >0.2 ug/g wet wt. แสดงดังตารางที่ 1



ภาพที่ 3 Box plot ของความเข้มข้นของ Cadmium ในกล้ามเนื้อและตับของปลาที่อาศัยบริเวณมาตาพุตและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)

ตารางสรุปสถิติผลการตรวจวิเคราะห์ความเข้มข้นของ Cadmium ในกล้ามเนื้อและตับของปลาที่อาศัยบริเวณมาตาพุตและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)

Dependent Variable: Cadmium				
1=Angsila 2=Maptaphut	1=Muscle 2=Liver	Mean	Std. Deviation	N
1	1	0.002883	0.0035840	30
	2	0.449013	0.6753258	30
	Total	0.225948	0.5241900	60
2	1	0.003313	0.0024352	30
	2	0.325200	0.3441623	30
	Total	0.164257	0.2908002	60
Total	1	0.003098	0.0030456	60
	2	0.387107	0.5350560	60
	Total	0.195103	0.4232252	120

ตารางสรุปการทดสอบบริเวณแหล่งอาศัยและชนิดเนื้อเยื่อของปลาที่มีผลต่อความเข้มข้นของ Cadmium ด้วยสถิติ ANOVA (ปี พ.ศ. 2556)

Dependent Variable: Cadmium					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.654 ^a	3	1.551	10.800	0.000
Intercept	4.568	1	4.568	31.802	0.000
STATION	0.114	1	0.114	0.795	0.374
TISSUE	4.424	1	4.424	30.800	0.000
STATION * TISSUE	0.116	1	0.116	0.806	0.371
Error	16.661	116	0.144		
Total	25.883	120			
Corrected Total	21.315	119			
a. R Squared = .218 (Adjusted R Squared = .198)					

ตารางที่ 1 ค่าปริมาณแคดเมียม (ug/g wet wt.) วิเคราะห์จากตับและกล้ามเนื้อปลาทะเลประเภทต่างๆ จับจากชายฝั่งทะเลอ่างศิลาและมาบตาพุด เดือนมิถุนายน 2556

ค่า Cd (ug/g wet wt.)					
ชนิดของปลาทะเล	อ่างศิลา		ชนิดของปลาทะเล	มาบตาพุด	
	กล้ามเนื้อ	ตับ		กล้ามเนื้อ	ตับ
ปลาลิ้นหมา	ND	0.9303	ปลาตาบเงินใหญ่	0.0025	0.0814
ปลาลิ้นหมา	0.0011	0.6923	ปลาตาบเงินใหญ่	0.0077	0.0854
ปลาลิ้นหมา	ND	2.6809	ปลาตาบเงินใหญ่	0.0010	0.0986
ปลาใบปอ	ND	0.2020	ปลาตาบเงินใหญ่	0.0027	0.0914
ปลาใบปอ	0.0010	0.1678	ปลาตาบเงินใหญ่	ND	0.1169
ปลากุเลา	0.0016	0.0602	ปลาตาบเงินใหญ่	0.0025	0.1982
ปลากุเลา	ND	0.0609	ปลาตาบเงินใหญ่	0.0010	0.0997
ปลาเห็ดโคน	0.0058	0.0748	ปลาตาบเงินใหญ่	0.0023	0.0974
ปลาแป้นจุดดำ	0.0030	0.3331	ปลาตาบเงินใหญ่	0.0015	0.0842
ปลาจวด	ND	0.1215	ปลาจวด	0.0012	0.0469
ปลาสิ่กุน	0.0176	2.5532	ปลาสิ่กุน	0.0093	0.4934
ปลาสิ่กุน	0.0033	0.5058	ปลาอินทรียั้ง	0.0063	0.0851
ปลาข้างตะเภา	0.0031	0.9872	ปลาตะเพียนน้ำเค็ม	0.0012	0.1297

ปลาข้างตะเภา	0.0095	1.4457	ปลาหางแข็ง	0.0044	0.3352
ปลาข้างเหยียบ	ND	0.0123	ปลาหางแข็ง	0.0069	0.5889
ปลาตะกรับเลือดดาว	ND	0.2736	ปลาหางแข็ง	0.0071	0.4873
ปลาตะกรับเลือดดาว	0.0039	0.4212	ปลาหางแข็ง	0.0062	0.4673
ปลาทุ	0.0013	0.2242	ปลาทุ	0.0049	1.6588
ปลาทุ	0.0028	0.2065	ปลาทุ	0.0048	0.9841
ปลาทุ	0.0026	0.1799	ปลาทุ	0.0046	0.8278
ปลาทุ	0.0017	0.3096	ปลาปิ่นแก้ว	0.0011	0.0102
ปลาทุ	0.0018	0.3187	ปลาแมว	0.0029	0.3352
ปลาทุ	0.0030	0.2446	ปลาแมว	0.0027	0.2575
ปลาหัวหางพัด	ND	0.0079	ปลาแมว	0.0043	0.1936
ปลากระทุงเหว	0.0015	0.0452	ปลาแมว	0.0021	0.3185
ปลากระทุงเหว	0.0013	0.0165	ปลาแมว	0.0038	0.2634
ปลากระทุงเหว	0.0014	0.0367	ปลาแมว	0.0010	0.4102
ปลากระบ่าง	0.0027	0.0811	ปลาซาก	ND	0.4291
ปลากระบ่าง	0.0036	0.0612	ปลาซาก	ND	0.4003
ปลาไหลทะเล	0.0089	0.2155	ปลาแป้นยักษ์	0.0019	0.0803

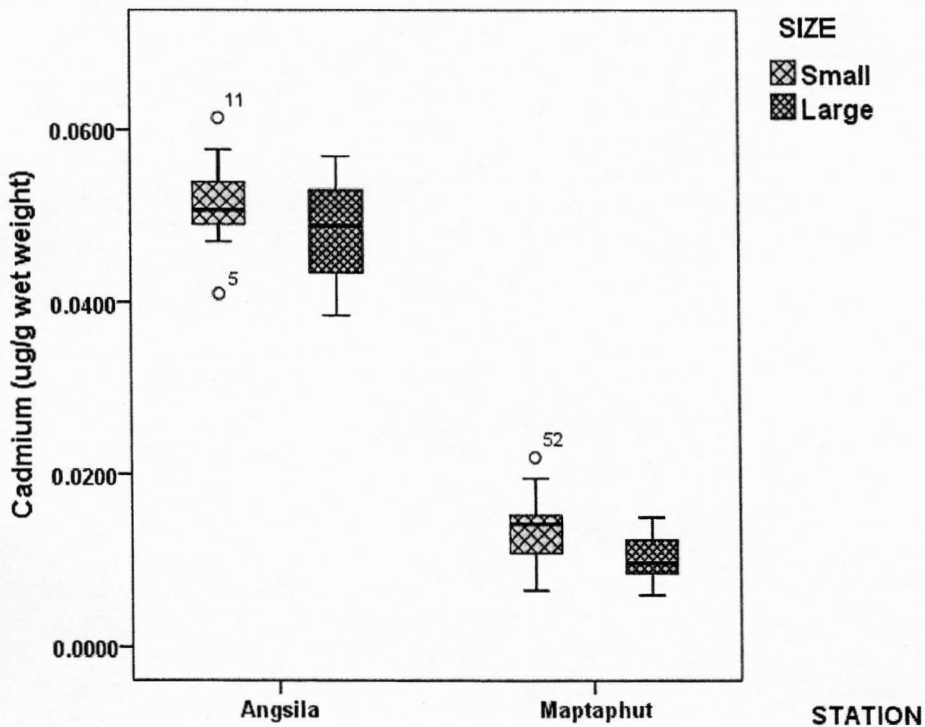
หมายเหตุ ND ใช้เป็นค่าต่ำสุดในการตรวจพบได้ คือที่ 0.001ug/g wet wt. และใช้คำนวณในตารางเป็นค่าครึ่งหนึ่งคือ 0.0005 ug/g wet wt.

2. ปริมาณแคดเมียมพบในหอยแมลงภู่เลี้ยงมาบตาพุด และ อ่างศิลา ตามขนาดเล็ก และ ขนาดใหญ่ (ขายสู่ตลาด) พ.ศ. 2556

ในปีพ.ศ. 2555 หอยแมลงภู่เลี้ยงแบบฟาร์มบริเวณอ่างศิลา มีทั้งแบบไม้ไผ่ปักให้หอยแมลงภู่ลงเกาะ และแบบเชือกแขวนบนไม้ไผ่ซึ่งเป็นราว มีการเลี้ยงกันในบริเวณวงกว้าง ห่างจากจากชายฝั่งทะเลระหว่าง 500 เมตร ไปจนไกลขึ้นถึง 1 กิโลเมตร มีจำนวนฟาร์มมากมายประมาณ ฟาร์ม โดยแต่ละฟาร์มจะมีการเลี้ยงหอยหลายแปลง แต่ละแปลง มีความกว้างยาว เฉลี่ยขนาด 6-7 X 70-100 เมตร (สำรวจจริง) ส่วนการเลี้ยงหอยแมลงภู่ที่อ่าวประดู่เป็นหอยแมลงภู่เลี้ยงแบบฟาร์มชนิดเชือกแขวนบนแพ ห่างจากจากชายฝั่งทะเลระหว่าง 300 เมตร ไปจนไกลขึ้นถึง 1 กิโลเมตร และเลี้ยงกันตลอดแนวชายฝั่ง มีจำนวนฟาร์มในปี 2555 เพียง 300 แพ จากชาวประมง 159 ราย แต่ละราย มีแพหอย 3-4 แพ ในปัจจุบันทางจังหวัดระยองไม่ให้มีการสร้างแพเพิ่มขึ้นอีกแล้ว เนื่องจากปัญหาการเลี้ยงหนาแน่นเกินไป และหอยมีการตายส่วนมากทั้งอ่าวประดู่ในปี พ.ศ. 2553 โดยเริ่มแรกมีชาวประมงได้รับการสนับสนุนให้เลี้ยงหอยจากนิคมอุตสาหกรรม ระยะแรกปี พ.ศ. 2548 จำนวน 2-3 แพ โดยการรวมตัวกันของชาวประมงร่วมกันดูแลรับผิดชอบ ต่อมา ปี พ.ศ. 2549 เพิ่มจำนวนเป็น 14 แพ และขยายการเลี้ยงแพเรื่อยๆจนถึงปัจจุบัน ลักษณะแพมีความกว้างยาว เฉลี่ยขนาด 100X200 เมตร (สำรวจจริง) ส่วนในปีพ.ศ. 2556 การเลี้ยงหอยแมลงภู่มิมีปริมาณแพเลี้ยงเท่าเดิม ไม่มีการขยายพื้นที่ ทั้งนี้ได้ถูกควบคุมไม่ให้มีการขยายจำนวนแพอีกต่อไป

จากผลการทดสอบในปีพ.ศ. 2556 พบว่าปริมาณแคดเมียมในหอยแมลงภู่พบในช่วงความเข้มข้นน้อยกว่าจากตบปลาทะเล บริเวณอ่างศิลาค่าความเข้มข้นของปริมาณแคดเมียมในหอยแมลงภู่ขนาดเล็กมีค่าเฉลี่ย 0.05128 ± 0.0043 ug/g wet wt. (n=20) สูงกว่าหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่มีค่าเฉลี่ย 0.0485 ± 0.0055 ug/g wet wt. (n=20) อย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) แต่บริเวณมาบตาพุดค่าความเข้มข้นของ ปริมาณแคดเมียม ในหอยแมลงภู่ขนาดเล็กและใหญ่ เฉลี่ย 0.0136 ± 0.0040 ug/g wet wt. (n=19) และ 0.0104 ± 0.0027 ug/g wet wt. (n=20) ตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.01$) แต่ค่าความเข้มข้นของปริมาณแคดเมียม ทั้งในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่และหอยแมลงภู่ขนาดเล็กจากบริเวณอ่างศิลามีค่าสูงกว่ามาบตาพุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แสดงสรุปดังภาพที่ 4 และตารางสรุปสถิติ

ส่วนในปีพ.ศ. 2555 บริเวณอ่างศิลาความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของแคดเมียม ในหอยแมลงภู่ขนาดเล็กมีค่าเฉลี่ย 0.1534 ± 0.0876 ug/g wet wt. (n=20) สูงกว่าหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่มีค่าเฉลี่ย 0.0637 ± 0.0073 ug/g wet wt. (n=20) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แต่บริเวณมาบตาพุดค่าความเข้มข้นของแคดเมียมในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่ (ค่าเฉลี่ย 0.0107 ± 0.0045 ug/g wet wt.) และหอยแมลงภู่ขนาดเล็ก (ค่าเฉลี่ย 0.0090 ± 0.0033 ug/g wet wt.) ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.01$) และพบความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ แคดเมียมในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่และหอยแมลงภู่ขนาดเล็กที่อาศัยบริเวณอ่างศิลามีค่าสูงกว่ามาบตาพุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)



ภาพที่ 4 Box plot ของความเข้มข้นของ Cadmium ในหอยแมลงภู่ขนาดเล็กและใหญ่ ที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)

ตารางสรุปสถิติผลการตรวจวิเคราะห์ความเข้มข้นของ Cadmium ในหอยแมลงภู่นขนาดเล็กและใหญ่ ที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)

Dependent Variable: Cadmium				
1=Angsila 2=Maptaphut	1=Small 2=Large	Mean	Std. Deviation	N
1	1	0.051280	0.0043895	20
	2	0.048490	0.0055261	20
	Total	0.049885	0.0051245	40
2	1	0.013658	0.0040874	19
	2	0.010375	0.0027619	20
	Total	0.011974	0.0038068	39
Total	1	0.032951	0.0195058	39
	2	0.029433	0.0197761	40
	Total	0.031170	0.0195970	79

Dependent Variable: Cadmium

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	0.029 ^a	3	0.010	513.001	0.000
Intercept	0.076	1	0.076	4075.535	0.000
STATION	0.028	1	0.028	1525.248	0.000
SIZE	0.000	1	0.000	9.807	0.002
STATION * SIZE	1.199E-006	1	1.199E-006	0.065	0.800
Error	0.001	75	1.856E-005		
Total	0.107	79			
Corrected Total	0.030	78			

a. R Squared = .954 (Adjusted R Squared = .952)

การวิเคราะห์สารโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช)รวม ในปลาทะเล และ หอยแมลงภู่นตามแนวชายฝั่งทะเล

1. การวิเคราะห์สารโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) รวม ในปลาทะเลในปี พ.ศ. 2556

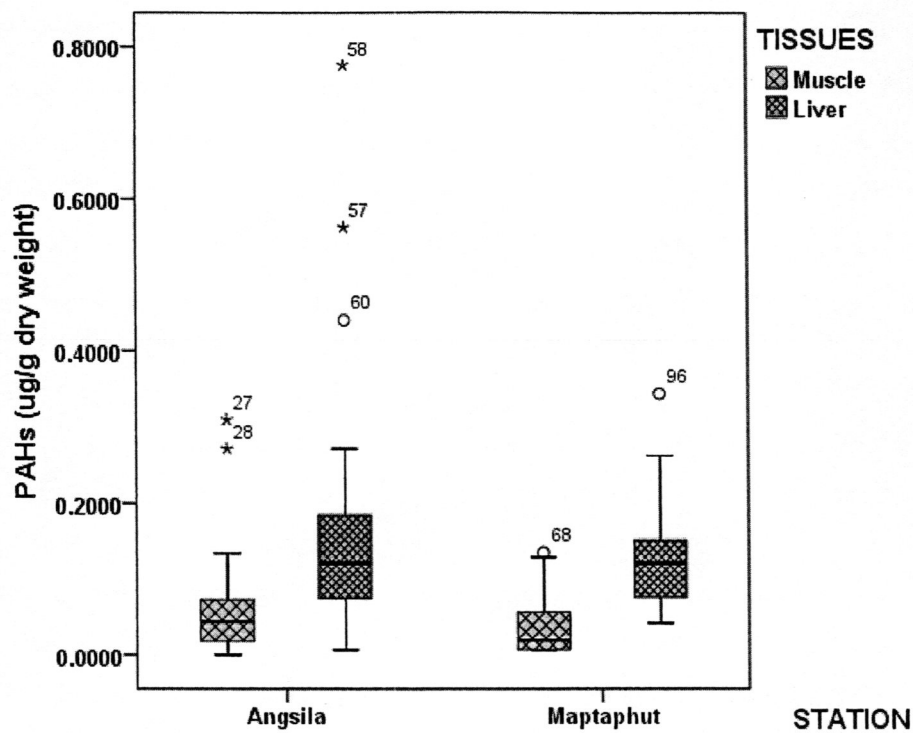
ผลการวิเคราะห์ พีเอเอช ในปี พ.ศ. 2556 มีการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ PAHs ระหว่างแหล่งอาศัยของปลา อ่างศิลาและมาบตาพุดและชนิดของเนื้อเยื่อปลา กล้ามเนื้อและตับด้วยสถิติ ANOVA พบว่าความเข้มข้นของ PAHs รวมในตับปลาจากอ่างศิลา มีค่าเฉลี่ย $0.1698 \pm$

0.1650 ug/g dry wt. (n=30) สูงกว่า 2.8 เท่า ในกล้ามเนื้อค่าเฉลี่ย 0.0607 ± 0.0708 ug/g dry wt. (n=30) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) ส่วนมาบตาพุด ความเข้มข้นของ PAHs ในตับปลามีค่าเฉลี่ย 0.1314 ± 0.0699 ug/g dry wt. (n=30) สูงกว่า 3.7 เท่า ในกล้ามเนื้อค่าเฉลี่ย 0.0351 ± 0.0378 ug/g dry wt. (n=30) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในเนื้อเยื่อตับและกล้ามเนื้อปลาที่อาศัยบริเวณอ่างศิลาและบริเวณมาบตาพุด ($p > 0.05$) แสดงดังภาพที่ 5 และตารางสรุปสถิติ

ในปี พ.ศ. 2555 พบว่า อ่างศิลาความเข้มข้นของ PAHs ในตับปลามีค่าเฉลี่ย 0.1173 ± 0.0739 ug/g dry wt. (n=30) สูงกว่า 4.5 ในกล้ามเนื้อค่าเฉลี่ย 0.0256 ± 0.0101 ug/g dry wt. (n=30) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ด้วยสถิติ ANOVA ส่วนมาบตาพุด ความเข้มข้นของ PAHs ในตับปลามีค่าเฉลี่ย 0.1054 ± 0.0393 ug/g dry wt. (n=30) สูงกว่า 2.4 ในกล้ามเนื้อค่าเฉลี่ย 0.0438 ± 0.0185 ug/g dry wt. (n=30) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ด้วยสถิติ ANOVA ในภาพรวมทั้งสองสถานความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในตับมีค่าสูงกว่ากล้ามเนื้อปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ด้วยสถิติ ANOVA โดยความเข้มข้นในกล้ามเนื้อปลาจากมาบตาพุดสูงประมาณ 2 เท่า จากอ่างศิลา ส่วนความเข้มข้นจากตับปลาทั้งสองสถานมีค่าไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ PAHs ในตับและกล้ามเนื้อของปลาที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.01$)

ในปี พ.ศ. 2556 พบว่า ชนิดของ PAHs จาก 16 ชนิดที่ตรวจพบเป็นสารขนาดมวลงโมเลกุลเล็ก ได้แก่ ชนิดของ PAHs จาก 16 ตัวที่เป็นพิษสามารถตรวจพบจากทั้งปลาทะเลพบเป็นสารขนาดมวลงโมเลกุลเล็กมีชนิดที่พบในปลามี 3 ชนิดเท่านั้นคือ Phenanthrene (PHE), Pyrene (PYR), Fluoranthene (FLA) โดย $\Sigma 16$ PAHs ในปลาทะเลของ 3 ชนิด (เฉลี่ยทั้งตับและกล้ามเนื้อ) จากอ่างศิลามีค่าเฉลี่ย 0.0553 ± 0.0553 ug/g dry wt. จากมาบตาพุดเฉลี่ย 0.0457 ± 0.0323 ug/g dry wt

ในปี พ.ศ. 2555 พบว่า จากอ่างศิลา พบ Phenanthrene (PHE), Fluoranthene (FLA) เป็นส่วนใหญ่ พบส่วนน้อยคือ Acenaphthylene (ACY), Pyrene (PYR), Benz[a]anthracene (BaA) และ Chrysene (CHR) ส่วนจากมาบตาพุด พบ Acenaphthylene (ACY), Fluorene (FLO) และ Phenanthrene (PHE,) เป็นส่วนใหญ่ พบส่วนน้อยคือ Pyrene (PYR), Benz[a]anthracene (BaA) และ Chrysene (CHR) โดย $\Sigma 16$ PAHs ในปลาทะเล (เฉลี่ยทั้งตับและกล้ามเนื้อ) จากอ่างศิลามีค่าเฉลี่ย 0.0715 ± 0.0698 ug/g dry wt. จากมาบตาพุดเฉลี่ย 0.0746 ± 0.0435 ug/g dry wt



ภาพที่ 5 Box plot ของความเข้มข้นของ PAHs ในกล้ามเนื้อและตับของปลาที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)

ตารางสรุปสถิติผลการตรวจวิเคราะห์ความเข้มข้นของ PAHs ในกล้ามเนื้อและตับของปลาที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)

Dependent Variable: PAHs				
1=Angsila 2=Maptaphut	1=Muscle 2=Liver	Mean	Std. Deviation	N
1	1	0.060727	0.0708882	30
	2	0.169823	0.1649936	30
	Total	0.115275	0.1373924	60
2	1	0.035103	0.0378860	30
	2	0.131400	0.0699675	30
	Total	0.083252	0.0739547	60
Total	1	0.047915	0.0578136	60
	2	0.150612	0.1271312	60
	Total	0.099263	0.1110371	120

ตารางสรุปการทดสอบบริเวณแหล่งอาศัยและชนิดเนื้อเยื่อของปลาที่มีผลต่อความเข้มข้นของ PAHs ด้วยสถิติ ANOVA (ปี พ.ศ. 2556)

Dependent Variable: PAHs					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	0.348 ^a	3	0.116	12.041	0.000
Intercept	1.182	1	1.182	122.594	0.000
STATION	0.031	1	0.031	3.190	0.077
TISSUE	0.316	1	0.316	32.805	0.000
STATION * TISSUE	0.001	1	0.001	0.127	0.722
Error	1.119	116	0.010		
Total	2.650	120			
Corrected Total	1.467	119			
a. R Squared = .237 (Adjusted R Squared = .218)					

2. การวิเคราะห์สารโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) รวม ในหอยแมลงภู่ในปี พ.ศ. 2556

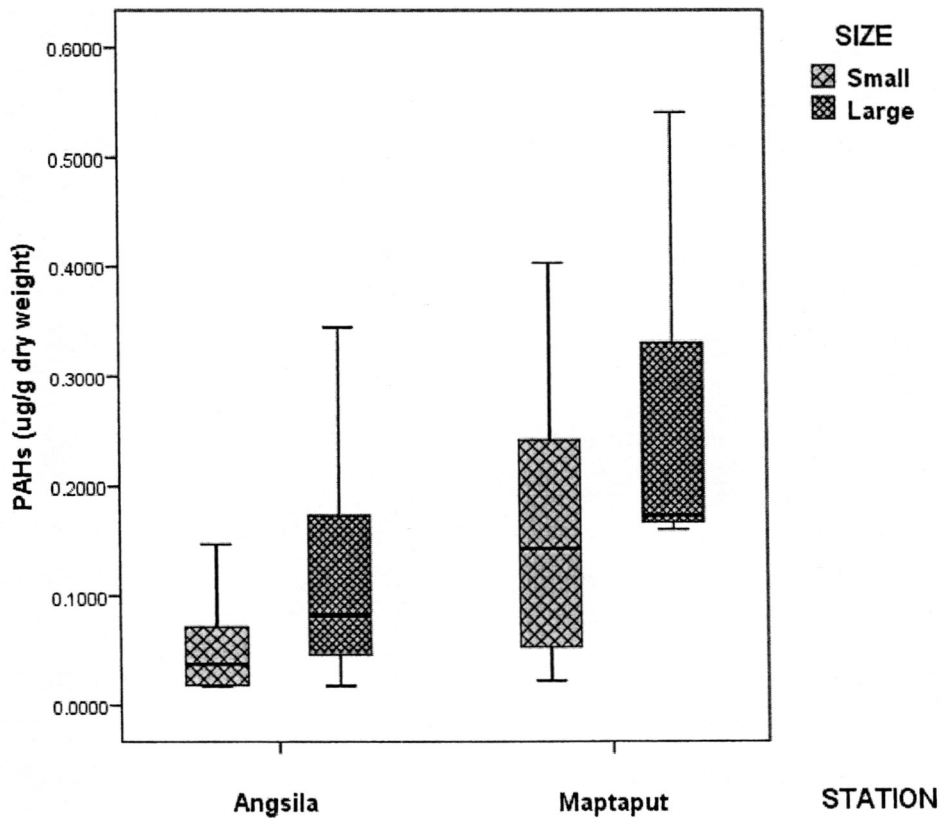
ในปี พ.ศ. 2556 ความเข้มข้นของ PAHs รวม ของหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่จากอ่างศิลา มีค่าเฉลี่ย 0.1190 ± 0.0959 ug/g dry wt. (n=20) สูงกว่า 2.3 เท่าในหอยขนาดเล็กมีค่าเฉลี่ย 0.0507 ± 0.0398 ug/g dry wt. (n=2) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) ส่วนมาบตาพุด ความเข้มข้นของ PAHs ในหอยขนาดใหญ่มีค่าเฉลี่ย 0.2542 ± 0.1301 ug/g dry wt. (n=20) สูงกว่า 1.6 เท่าในหอยขนาดเล็กมีค่าเฉลี่ย 0.1569 ± 0.1160 ug/g dry wt. (n=30) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และพบความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่และหอยแมลงภู่ขนาดเล็กที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดมีค่าสูงกว่าอ่างศิลา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แสดงดังภาพที่ 6

ในปี พ.ศ. 2555 จากผลการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ PAHs ระหว่างบริเวณแหล่งอาศัยและขนาดของหอยแมลงภู่ โดยอ่างศิลาความเข้มข้นของ PAHs หอยขนาดใหญ่มีค่าเฉลี่ย 0.5435 ± 0.1992 ug/g dry wt. (n=20) สูงกว่าในหอยขนาดเล็กมีค่าเฉลี่ย 0.1917 ± 0.0504 ug/g dry wt. (n=30) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ด้วยสถิติ ANOVA ส่วนมาบตาพุด ความเข้มข้นของ PAHs ในหอยขนาดใหญ่มีค่าเฉลี่ย 0.4389 ± 0.0886 ug/g dry wt. (n=20) สูงกว่าในหอยขนาดเล็กมีค่าเฉลี่ย 0.1544 ± 0.1470 ug/g dry wt. (n=30) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ด้วยสถิติ ANOVA และความเข้มข้นของ PAHs ในภาพรวมพบว่าในทั้งสองสถานี่ความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่มีค่าสูงกว่าหอยแมลงภู่ขนาดเล็กอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ด้วยสถิติ ANOVA แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ PAHs ในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่และหอยแมลงภู่ขนาดเล็กที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดและ

อ่างศิลา ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.01$) และความเข้มข้นของ PAHs ในหอยแต่ละขนาดทั้งสองสถานนี้มีค่าไม่แตกต่างกัน

ในปี พ.ศ. 2556 ชนิดของ PAHs จาก 16 ชนิดที่ตรวจพบเป็นสารขนาดมวลโมเลกุลเล็ก ชนิดของ PAHs จาก 16 ตัวที่เป็นพิษสามารถตรวจพบหอยแมลงภู่พบเป็นสารขนาดมวลโมเลกุลเล็กมีชนิดที่พบ ในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่คือ Acenaphthylene (ACY), Phenanthrene (PHE), Fluoranthene (FLA), Pyrene (PYR), Chrysene (CHR) ในหอยแมลงภู่ขนาดเล็กคือ Phenanthrene (PHE), Fluoranthene (FLA), Pyrene (PYR), Chrysene (CHR)

ในปี พ.ศ. 2555 จากอ่างศิลา พบทั้งในหอยขนาดใหญ่และหอยขนาดเล็ก ได้แก่ Acenaphthylene (ACY), Fluorene (FLO) Fluoranthene (FLA) และ Pyrene (PYR) ส่วนจากมาบตาพุด พบทั้งในหอยขนาดใหญ่และหอยขนาดเล็กได้แก่ Fluorene (FLO) Fluoranthene (FLA) และ Pyrene (PYR) โดย $\Sigma 16\text{PAHs}$ ในหอยแมลงภู่จากอ่างศิลามีค่าเฉลี่ย $0.3676 \pm 0.2287 \text{ ug/g dry wt}$. จากมาบตาพุดเฉลี่ย $0.2967 \pm 0.1874 \text{ ug/g dry wt}$



ภาพที่ 6 Box plot ของความเข้มข้นของ PAHs ในหอยแมลงภู่ขนาดเล็กและใหญ่ ที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)

ตารางสรุปสถิติผลการตรวจวิเคราะห์ความเข้มข้นของ PAHs ในหอยแมลงภู่นานเล็กและใหญ่ ที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดและอ่างศิลา (ปี พ.ศ. 2556)

Dependent Variable: PAHs				
1=Angsila 2=Maptaphut	1=Small 2=Large	Mean	Std. Deviation	N
1	1	0.050745	0.0398367	20
	2	0.119025	0.0959609	20
	Total	0.084885	0.0803415	40
2	1	0.156935	0.1160894	20
	2	0.254200	0.1301630	20
	Total	0.205567	0.1313216	40
Total	1	0.103840	0.1011439	40
	2	0.186613	0.1320052	40
	Total	0.145226	0.1240452	80

ตารางสรุปการทดสอบบริเวณแหล่งอาศัยและขนาดของหอยแมลงภู่นานที่มีผลต่อความเข้มข้นของ PAHs ด้วยสถิติ ANOVA (ปี พ.ศ. 2556)

Dependent Variable: PAHs					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	0.433 ^a	3	0.144	13.992	0.000
Intercept	1.687	1	1.687	163.753	0.000
STATION	0.291	1	0.291	28.270	0.000
SIZE	0.137	1	0.137	13.299	0.000
STATION * SIZE	0.004	1	0.004	0.408	0.525
Error	0.783	76	0.010		
Total	2.903	80			
Corrected Total	1.216	79			

a. R Squared = .356 (Adjusted R Squared = .330)

การสำรวจการแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) และ metal-binding protein (Metallothionein) ในปลาทะเล และ หอยแมลงภู่ตามแนวชายฝั่งทะเล

1. การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) และ metal-binding protein (Metallothionein, MT) ในปลาทะเล ในปี พ.ศ. 2556

ในปี พ.ศ. 2556 การแสดงออกของ CYP1A (ขนาด 76/54 kDa) ในปลาทะเลด้วยเทคนิค แอนติบอดี จากอängศึลาพบมีผลบวกจำนวน 44 จาก 60 ตัวอย่าง (73.3%) ส่วนมาบตาพุด พบมีจำนวน 48 จาก 60 ตัวอย่าง (80%) การแสดงออกของ MT (ขนาด 10 kDa) จากอängศึลาพบมีจำนวน 10 จาก 60 ตัวอย่าง (16.6%) ส่วนมาบตาพุด พบมีจำนวน 34 จาก 60 ตัวอย่าง (56.7%) โดยประเภทปลาทะเลชนิดการกินอาหาร (กินเนื้อ กินพืช และ กินทั้งพืชและเนื้อ) ไม่มีผลนัยยะต่อการแสดงออกของ CYP1A แสดงชนิดของปลาที่มีการแสดงออก CYP1A ดังตารางที่ 2 (อängศึลา) ตารางที่ 3 (มาบตาพุด) และภาพการแสดงออกของ CYP1A ในตັบปลาทะเล ถูกจับจำเพาะด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดีบนกระดาษไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ให้ผลบวกทุกเลนที่ 74 หรือ/และ56 kDa ในปลาทะเล แสดงดັงภาพที่ 7 และ ภาพการแสดงออกของ MT ในตັบปลาทะเล ถูกจับจำเพาะด้วยโปลีโคลนอลแอนติบอดีบนกระดาษไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ให้ผลบวกทุกเลนที่ 10 kDa แสดงดັงภาพที่ 8

ตารางที่ 2 การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) และ MT ในปลาทะเล จับจากอängศึลา เดือนมิถุนายน ปี 2556 เทคนิคทางแอนติบอดี (Western blot)

Sample	Sample	Dietary preference	CYP1A (+)	MT (+) (~10 kDa)
ปลาลิ้นหมา <i>Synaptura panoides</i>	6	carnivore	6	0
ปลาใบป้อ <i>Depane punctata</i>	4	carnivore	4	4
ปลาทุเลา <i>Eleutheronema tetradactylum</i>	4	carnivore	4	0
ปลาเห็ดโคน <i>Sillago maculata</i>	2	carnivore	2	0
ปลาแป้นจุดดำ <i>Leiognathus blochii</i>	2	omnivore	2	0
ปลาจวด <i>Johnius carouna</i>	2	carnivore	2	0

ปลาสิğun				
<i>Alepes djedaba</i>	4	omnivore	2	0
ปลาข้างตะเภา				
<i>Terapon jarbua</i>	4	omnivore	4	2
ปลาข้างเหยียบ				
<i>Grammoplistes scaber</i>	2	carnivore	2	0
ปลาตะกรับเสือดาว				
<i>Scatophagus argus</i>	4	omnivore	0	4
ปลาข้างตะเภา	2	omnivore	2	1
<i>Terapon jarbua</i>				
ปลาทุ	12	herbivore	12	0
<i>Rastrelliger brachysoma</i>				
ปลาหัวหางพัด	2	herbivore	0	0
<i>Monacanthus chinensis</i>				
ปลากระทุงเหว	6	carnivore	4	0
<i>Ablennes hians</i>				

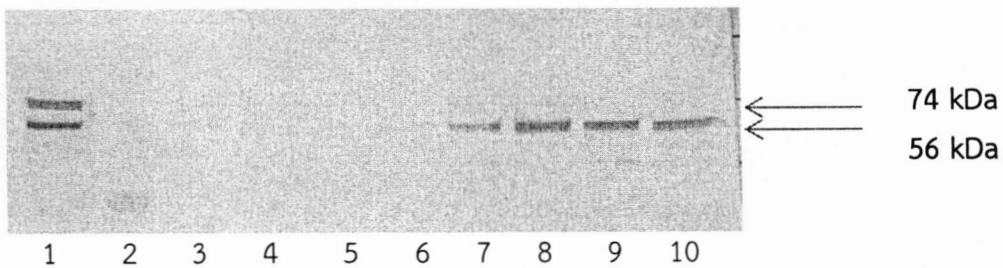
ตารางที่ 2 (ต่อ) การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) และ MT ในปลาทะเลจับจากอ่างศิลา เดือนมิถุนายน ปี 2556 เทคนิคทางแอนติบอดี

Sample	Sample	Dietary preference	CYP1A (+)	MT (+) (~10 kDa)
ปลากะบาง	2	carnivore	0	0
<i>Himantura signifier</i>				
ปลาไหลทะเล	1	carnivore	0	0
<i>Anguilla bicolor</i>				
รวม 17 ชนิด	60		44/60 (73.3%)	10/60 (16.6%)

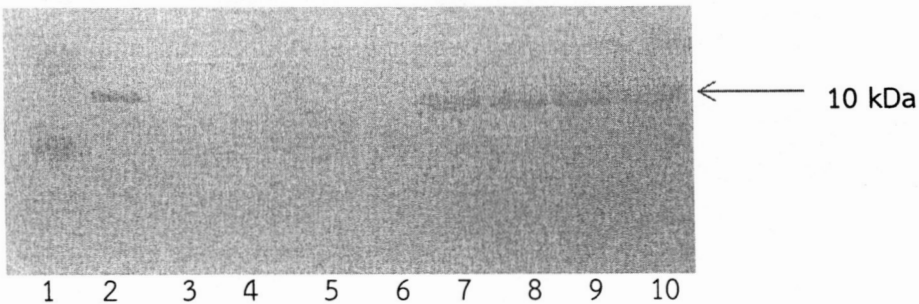
ตารางที่ 3 การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) และ MT ในปลาทะเล
จับจากมาบตาพุด เดือนมิถุนายน ปี 2556 เทคนิคทางแอนติบอดี

Sample	Sample	Dietary preference	CYP1A (+)	MT (+) (~10 kDa)
ปลาตาบเงินใหญ่ <i>Trichiurus lepturus</i>	18	carnivore	18	4
ปลาปิ่นแก้ว <i>Plotosus lineatus</i>	2	carnivore	0	0
ปลาอินทรียั้ง <i>Scomberomorus commerson</i>	2	carnivore	0	0
ปลาสิ่กุน <i>Alepes vari</i>	2	omnivore	0	0
ปลาทุ <i>Rastrelliger brachysoma</i>	6	herbivore	6	0
ปลาตะเพียนน้ำเค็ม <i>Anodontostoma chacunda</i>	2	omnivore	0	0
ปลาหางแข็ง <i>Megalaspis cordyla</i> (Linnaeus, 1758)	8	carnivore	8	8
ปลาจวด <i>Johnius carouna</i>	2	carnivore	2	0
ปลาแมว <i>Setipinna melanochir</i>	12	carnivore	8	12
ปลาสากดำ <i>Sphyraena qenie</i>	4	carnivore	4	4
ปลาแป้นยักษ์ <i>Leiognathus fasciatus</i>	2	omnivore	2	0
รวม 11 ชนิด	60		48/60 (80.0%)	34/60 (56.7%)

ในปี พ.ศ. 2555 การแสดงออกของ CYP1A ในปลาทะเลจากอ่างศิลาพบมีจำนวน 34 จาก 60 ตัวอย่าง (56.6%) ส่วนมาบตาพุด พบมีจำนวน 34 จาก 60 ตัวอย่าง (60%) การแสดงออกของ MT จากอ่างศิลาพบมีจำนวน 16 จาก 60 ตัวอย่าง (26.6%) ส่วนมาบตาพุด พบมีจำนวน 22 จาก 60 ตัวอย่าง (36.6%) โดยประเภทปลาทะเลชนิดการกินอาหาร (กินเนื้อ กินพืช และ กินทั้งพืชและเนื้อ) ไม่มีผลนัยยะต่อการแสดงออกของ CYP1A โดยมาบตาพุดพบว่าปลากะบอก (ปลากินพืชและสัตว์) มีการแสดงออกของ MT ค่อนข้างสูง จำนวน 22 ตัวอย่าง (n=60) และ CYP1A จำนวน 16 ตัวอย่าง (n=60) ส่วนอ่างศิลา พบว่าการแสดงออกของ CYP1A ในปลาทุ (ปลากินพืช) จำนวน 12 ตัวอย่าง (n=60)



ภาพที่ 7 การแสดงออกของ CYP1A ในตับปลาทะเลจากอ่างศิลา ถูกจับจำเพาะด้วยโมโนโคลนอล แอนติบอดีบนกระดาษไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ให้ผลบวกทุกเลนที่ 74 หรือ/และ 56 kDa เลนที่ 1 = seabass CYP1A เลน 2 = โปรตีนมาตรฐาน เลน 3 - 4 = ปลาหัวทงล (ผลเป็น ลบ) เลน 5 - 6 = ปลากระทุงเหว (ผลเป็น ลบ) เลน 7 - 10 = ปลากระทุงเหว (ผลเป็น บวก)



ภาพที่ 8 การแสดงออกของ MT ในตับปลาทะเลจากมาบตาพุด ถูกจับจำเพาะด้วยโพลีโคลนอล แอนติบอดีบนกระดาษไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ให้ผลบวกเลน 7 - 10 ที่ 10 kDa เลนที่ 1 = โปรตีนมาตรฐาน เลน 2 = seabass MT เลน 3 - 6 = ปลาทุ เลน 7 - 8 = ปลาดูเพียนน้ำเค็ม เลน 9 - 10 = ปลาหางแข็ง

2. การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) ในหอยแมลงภู่

ในปี พ.ศ. 2556 ผลการตรวจการแสดงออกของ CYP1A (56 kDa) ด้วยเทคนิคแอนติบอดีในหอยแมลงภู่ทั้งอ่างศิลาและมาบตาพุดพบ 100% ทั้งสองสถานี แต่ความเข้มของแบนตัวชี้วัดชีวภาพมีการจับด้วยความเข้มต่างกันในตัวอย่าง โดยอ่างศิลาหอยขนาดทั้งใหญ่และขนาดเล็กมีการจับของแอนติบอดีกับแอนติเจนความเข้มบาง (+) และความเข้มปานกลาง (++) เท่านั้น ส่วนมาบตาพุดหอยขนาดทั้งเล็กและใหญ่มีความเข้มปานกลาง (++) และเข้มมาก (+++) เท่านั้น ภาพการแสดงออกของ CYP1A ในต่อมอาหารหอยแมลงภู่ ถูกจับจำเพาะด้วยโพลีโคลนอลแอนติบอดีบนกระดาษไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ให้ผลบวกทุกเลนที่ 56 kDa แสดงดังภาพที่ 9 แสดงผลดังตารางที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบกับหอยแมลงภู่เลี้ยงจากจังหวัดตราดพบความเข้มบาง (+) เท่านั้น

ในปี พ.ศ. 2555 ผลการตรวจ CYP1A ในหอยแมลงภู่ทั้งอ่างศิลาและมาบตาพุดพบ 100% ทั้งสองสถานี แต่ความเข้มของแบนตัวชี้วัดชีวภาพมีความเข้มต่างกันในตัวอย่าง โดยอ่างศิลาทั้งหอยขนาดใหญ่และขนาดเล็กมีการจับของแอนติบอดีกับแอนติเจนความเข้มบาง (+) และความเข้มปานกลาง (++) เท่านั้น ส่วนมาบตาพุดหอยขนาดทั้งใหญ่มีความเข้มปานกลาง (++) และเข้มมาก (+++) เท่านั้น หอยขนาดเล็กมีความเข้มทั้งสามแบบ

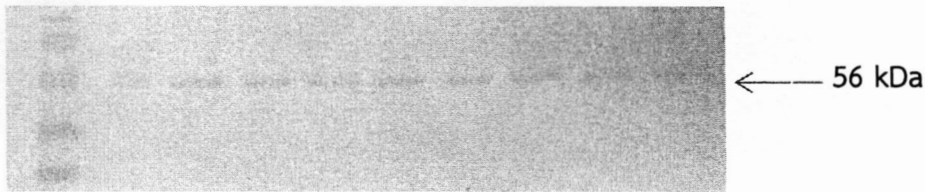
ตารางที่ 4 การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) ในหอยแมลงภู่เก็บจากอ่างศิลาและมาบตาพุด เดือนเมษายน ปี 2556 เทคนิคทางแอนติบอดีสังเกตด้วยสายตา

	sample	sample	sample	
Angsila	(+)	(++)	(+++)	Total
Large size	16	4	0	20
small size	16	4	0	20
Total	32	8	0	40
	sample	sample	sample	
Maptaphut	(+)	(++)	(+++)	Total
Large size	0	18	2	20
small size	8	16	4	20
Total	8	34	6	40
	sample	sample	sample	
Trat	(+)	(++)	(+++)	Total
Large size	10	0	0	10

- หมายเหตุ
- + มีการจับแอนติบอดีกับแอนติเจนความเข้มบาง

++ มีการจับแอนติบอดีกับแอนติเจนแบบความเข้มปานกลาง

+++ มีการจับแอนติบอดีกับแอนติเจนแบบความเข้มมาก



ภาพที่ 9 การแสดงออกของCYP1A ในต่อมย่อยอาหาร ของหอยแมลงภู่ ถูกจับจำเพาะด้วยโพลีโคลอนอลแอนติบอดีบนกระดาษไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ให้ผลบวกทุกเลนที่ 56 kDa เลน 1 = seabass CYP1A เลน 2 = โปรตีนมาตรฐาน เลน 3 -6 = หอยแมลงภู่ขนาดใหญ่ (ผลความเข้มระดับ +++) เลน 7 - 10 = หอยแมลงภู่ขนาดเล็ก (ผลความเข้มระดับ +)

ประเมินความสัมพันธ์ของโลหะหนัก และ สารพีเอเอชรวม และ ตัวชี้วัดชีวภาพ ในเนื้อและตับปลาทะเล และหอยแมลงภู่ตามแนวชายฝั่งทะเล

จะสามารถสรุปผลในระยะสามปีการศึกษาเมื่อศึกษาในปีพ.ศ. 2557

การศึกษาพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลและการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียน

4.1 ข้อมูลทั่วไปของพื้นที่และกลุ่มตัวอย่าง

4.1.1 หญิงตั้งครรภ์

หญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่มาบตาพุดมีอายุเฉลี่ย 24.88 ปี ส่วนใหญ่ (ร้อยละ 35.5) ประกอบอาชีพรับจ้าง มีจำนวนสมาชิกในครอบครัวเฉลี่ย 3.02 ± 2.16 คน และประชาชนที่ให้ข้อมูลส่วนใหญ่ (ร้อยละ 26) มีรายได้เฉลี่ยต่อเดือน 10,001-15,000 บาท

ส่วนหญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่อ่างศิลามีอายุเฉลี่ย 28.05 ปี ส่วนใหญ่ (ร้อยละ 34.15) ประกอบอาชีพค้าขาย/ ธุรกิจส่วนตัว มีจำนวนสมาชิกในครอบครัวเฉลี่ย 5.17 ± 4.44 คน และประชาชนที่ให้ข้อมูลส่วนใหญ่ (ร้อยละ 48.78) มีรายได้เฉลี่ยต่อเดือน 5,001-10,000 บาท ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 1

4.1.2 เด็กนักเรียน

เด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุดส่วนใหญ่ (ร้อยละ 55.45) เป็นเพศหญิง มีอายุเฉลี่ย 11.4 ปี ผู้ปกครองส่วนใหญ่ (ร้อยละ 73.46) ประกอบอาชีพรับจ้าง มีจำนวนสมาชิกในครอบครัวเฉลี่ย 4.84 ± 1.82 คน

ส่วนเด็กนักเรียนในพื้นที่อ่างศิลาส่วนใหญ่ (ร้อยละ 52.38) เป็นเพศชาย มีอายุเฉลี่ย 10.8 ปี ผู้ปกครองส่วนใหญ่ (ร้อยละ 58.5) ประกอบอาชีพรับจ้าง มีจำนวนสมาชิกในครอบครัวเฉลี่ย 5.77 ± 2.82 คน ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามลักษณะทางประชากรและสังคม

ลักษณะทางประชากร และสังคม	จำนวน (ร้อยละ)			
	หญิงตั้งครรภ์		เด็กนักเรียน	
	มาบตาพุด	อ่างศิลา	มาบตาพุด	อ่างศิลา
1. เพศ				
ชาย	-	-	94 (44.55)	77 (52.38)
หญิง	200 (100)	41(100)	117 (55.45)	70 (47.62)
2. อายุ (ปี)				
9-10	-	-	51 (24.17)	53 (36.05)
11-12	-	-	154 (72.99)	87 (59.19)
13-14	-	-	6 (2.84)	7 (4.76)
15-19	50 (25)	7 (17.07)	-	-
20-24	58 (29)	8 (19.51)	-	-
25-29	36 (18)	7 (17.07)	-	-
30-34	40 (20)	11 (26.83)	-	-
≥ 35	16 (8)	8 (19.51)	-	-
ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	24.88 ± 6.35	28.05 ± 7.50		
ค่าสูงสุด - ค่าต่ำสุด	15 – 40	16 - 49		
3. อาชีพ (ผู้ปกครอง)				
ประมง	2 (1.00)	0	9 (4.27)	16 (10.88)
รับจ้าง	71 (35.50)	14 (34.15)	155 (73.46)	86 (58.50)
ค้าขาย/ ธุรกิจส่วนตัว	11 (5.50)	8 (19.51)	28 (13.27)	37 (25.17)
พ่อบ้าน/แม่บ้าน	102 (51)	16 (39.02)	4 (2.72)	10 (4.74)
อื่นๆ	14 (7)	3 (7.32)	4 (2.72)	9 (4.27)
4. ระดับการศึกษา				
ไม่ได้เรียน	10 (5)	4 (9.76)	-	-
ประถมศึกษา	55 (27.5)	14 (34.15)	211 (100)	147 (100)
มัธยมศึกษาตอนต้น	70 (35)	11 (26.83)	-	-
มัธยมศึกษาตอนปลาย	48 (24)	9 (21.95)	-	-
ปริญญาตรี	14 (7)	3 (7.32)	-	-
ไม่มีข้อมูล	3 (1.50)	0	-	-

ตารางที่ 5 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามลักษณะทางประชากรและสังคม (ต่อ)

ลักษณะทางประชากร และสังคม	จำนวน (ร้อยละ)			
	หญิงตั้งครรภ์		เด็กนักเรียน	
	มาบตาพุด	อ่างศิลา	มาบตาพุด	อ่างศิลา
5. จำนวนสมาชิกในบ้าน (คน)				
1	3 (1.5)	0	0	0
2	61 (30.5)	2 (4.88)	7 (3.32)	3 (2.04)
3	36 (18)	12 (29.27)	31 (14.69)	24 (16.33)
4	35 (17.5)	8 (19.51)	69 (32.70)	33 (22.45)
5	34 (17)	7 (17.07)	57 (27.01)	21 (14.29)
≥6	31 (15.5)	12 (29.27)	47 (22.27)	66 (44.90)
ค่าเฉลี่ย±ค่าส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	3.02 ± 2.16	5.17 ± 4.44	4.84 ± 1.82	5.77 ± 2.82
(ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)*	1-16	2-31	2-12	2-19
6. รายได้เฉลี่ยต่อเดือน (บาท)				
≤ 5,000	12 (6)	1 (2.44)	-	-
5,001-10,000	51 (25.50)	20 (48.78)	-	-
10,001-15,000	52 (26)	1 (2.44)	-	-
15,001-20,000	28 (14)	7 (17.07)	-	-
>20,000	25 (12.5)	7 (17.07)	-	-
ไม่ต้องการเปิดเผย	32 (16)	5 (12.20)	-	-

* เนื่องจากบางหลังคาเรือนเป็นลักษณะบ้านเลขที่รวม ดังนั้น จำนวนสมาชิกในบางครัวเรือนจึงมีจำนวนค่อนข้างมาก

4.2 ข้อมูลพฤติกรรมกรรมการบริโภคอาหารทะเล

ตารางที่ 2 แสดงพฤติกรรมกรรมการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียน พบว่า หญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่มาบตาพุดรับประทานอาหารทะเลสดน้อยกว่าหญิงตั้งครรภ์ในอ่างศิลา โดยใน 1 สัปดาห์ หญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่มาบตาพุด มีความถี่ในการรับประทานอาหารทะเลสดมากกว่าอาหารทะเลแห้ง ประมาณร้อยละ 50 รับประทานอาหารทะเลสด 1-2 ครั้ง/สัปดาห์ และหากปรุงอาหารเองส่วนใหญ่ (ร้อยละ 87.5) ซื้อจากตลาดสดใกล้บ้าน และมากกว่าร้อยละ 90 รับประทานอาหารทะเลแบบปรุงสุก

หญิงตั้งครรภ์ในตำบลอ่างศิลาประมาณร้อยละ 40 รับประทานอาหารทะเลสดอย่างน้อย 3 วันต่อสัปดาห์ มากกว่าร้อยละ 60 มีความถี่การรับประทานอาหารทะเลแห้งน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 ครั้งต่อสัปดาห์ มากกว่าร้อยละ 70 ปรุงอาหารทานเองที่บ้าน และมักซื้อจากตลาดสดใกล้บ้าน ในด้านบริโภคนิสัย พบว่า ประมาณร้อยละ 95 รับประทานอาหารทะเลแบบปรุงสุก

สำหรับพฤติกรรมกรรมการบริโภคอาหารทะเลของเด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุด พบว่า ส่วนใหญ่ (~ ร้อยละ 50) รับประทานอาหารทะเลสด 1-2 ครั้ง/สัปดาห์แต่รับประทานอาหารทะเลแห้งน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 ครั้ง/สัปดาห์ ส่วนใหญ่ (~ ร้อยละ 60) ผู้ปกครองมักปรุงอาหารทานเองที่บ้าน และมักซื้อจากตลาดสดใกล้บ้าน เด็กนักเรียนประมาณร้อยละ 85 บริโภคอาหารทะเลแบบปรุงสุก

ส่วนเด็กนักเรียนในพื้นที่ตำบลอ่างศิลา ส่วนใหญ่รับประทานอาหารทะเลทั้งสดและแห้งน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 ครั้งต่อสัปดาห์ ประมาณร้อยละ 45 ที่ผู้ปกครองปรุงอาหารทานเองที่บ้าน และซื้อจากห้างสรรพสินค้า ด้านนิสัยการบริโภค พบว่า มากกว่าร้อยละ 85 เด็กนักเรียนนิยมบริโภคอาหารทะเลแบบปรุงสุก ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 จำนวน (ร้อยละ) ของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนจำแนกตามพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเล

การบริโภค	จำนวน (ร้อยละ)			
	หญิงตั้งครรภ์		เด็กนักเรียน	
	มาบตาพุด	อ่างศิลา	มาบตาพุด	อ่างศิลา
การรับประทานอาหารทะเล(สด) ใน 1 สัปดาห์				
ไม่เคย ≤ 1 ครั้ง/สัปดาห์	73 (36.5)	9 (21.95)	81 (38.39)	61 (42.07)
>1-2 ครั้ง/สัปดาห์	98 (49)	13 (31.71)	104 (49.29)	57 (39.31)
3-4 ครั้ง/สัปดาห์	24 (12)	17 (41.46)	20 (9.48)	17 (11.72)
≥ 5 ครั้ง/สัปดาห์	5 (2.5)	2 (4.88)	6 (2.84)	10 (6.9)
การรับประทานอาหารทะเล(แห้ง) ใน 1 สัปดาห์				
ไม่เคย ≤ 1 ครั้ง/สัปดาห์	119 (59.5)	26 (63.41)	104 (49.29)	76 (52.41)
>1-2 ครั้ง/สัปดาห์	68 (34)	13 (31.71)	79 (37.44)	47 (32.41)
3-4 ครั้ง/สัปดาห์	8 (4)	2 (4.88)	20 (9.48)	16 (11.03)
≥ 5 ครั้ง/สัปดาห์	5 (2.5)	0	8 (3.79)	6 (4.14)
การประกอบอาหารเองที่บ้าน				
ไม่เคย ≤ 1 ครั้ง/สัปดาห์	17 (8.5)	3 (7.32)	8 (3.79)	22 (15.17)
>1-2 ครั้ง/สัปดาห์	43 (21.5)	1 (2.44)	41 (19.43)	35 (24.14)
3-4 ครั้ง/สัปดาห์	64 (32)	6 (14.63)	38 (18.01)	24 (16.55)
≥ 5 ครั้ง/สัปดาห์	76 (38)	31 (75.61)	124 (58.77)	64 (44.14)
แหล่งซื้ออาหารทะเลสด เมื่อปรุงอาหารเอง				
ตลาดสดใกล้บ้าน	175 (87.5)	30 (73.17)	162 (76.78)	61 (42.07)
สะพานปลา	19 (9.5)	0	21 (9.95)	8 (5.52)
ห้างสรรพสินค้า	5 (2.5)	6 (14.63)	8 (3.79)	67 (46.21)
อื่นๆ	1 (0.5)	5 (12.2)	20 (9.48)	9 (6.21)
การปรุงสุก อาหารทะเล				
ดิบ	1 (0.5)	1 (2.44)	3 (1.42)	2 (1.38)
สุกๆดิบๆ	13 (6.5)	1 (2.44)	29 (13.74)	19 (13.10)
สุก	186 (93)	39 (95.12)	179 (84.83)	124 (85.52)

เมื่อเปรียบเทียบพฤติกรรมการบริโภคของหญิงตั้งครรภ์ พบว่า พฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P < 0.001$ ทั้งในด้านความถี่ของการบริโภคอาหารทะเลสด การปรุงประกอบอาหารเองที่บ้าน แหล่งซื้ออาหารทะเลสด และการปรุงสุกของอาหารทะเล

เปรียบเทียบพฤติกรรมการบริโภคของเด็กนักเรียน พบว่า พฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลของเด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P < 0.001$

เฉพาะประเด็นแหล่งอาหารทะเลสดที่ผู้ปกครองมักซื้อมาปรุงประกอบอาหาร ส่วนด้านความถี่ของการบริโภคอาหารทะเลทั้งสดและแห้ง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนในพื้นที่ มาบตาพุดและอ่างศิลา

การบริโภค	หญิงตั้งครรภ์		เด็กนักเรียน	
	χ^2	P-value	χ^2	P-value
การรับประทานอาหารทะเล(สด) ใน 1 สัปดาห์	22.35	< 0.001	5.72	0.12
การรับประทานอาหารทะเล(แห้ง) ใน 1 สัปดาห์	2.06	0.56	1.01	0.79
การประกอบอาหารเองที่บ้าน	212.20	< 0.001	17.69	0.001
แหล่งซื้ออาหารทะเลสด เมื่อปรุงอาหารเอง	34.38	< 0.001	93.12	< 0.001
การปรุงสุก อาหารทะเล	2.34	0.31	0.032	0.98

เกี่ยวกับความถี่ในการบริโภคอาหารทะเลชนิดต่างๆ ของหญิงตั้งครรภ์ในตำบลมาบตาพุดและ ตำบลอ่างศิลา พบว่า มีความถี่ในการบริโภคอาหารทะเลในระดับบ่อยครั้งถึงประจำ เรียงจากมากไปน้อย 5 อันดับแรก ได้แก่ ปลาหู กุ้งขาว ปลาหมึก ปู และหอยแมลงภู่ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8

เกี่ยวกับความถี่ในการบริโภคอาหารทะเลชนิดต่างๆ ของหญิงตั้งครรภ์ในตำบลมาบตาพุดและ ตำบลอ่างศิลา พบว่า มีความถี่ในการบริโภคอาหารทะเลในระดับบ่อยครั้งถึงประจำ เรียงจากมากไปน้อย 5 อันดับแรก ได้แก่ ปลาหู กุ้งขาว ปลาหมึก ปู และหอยแมลงภู่ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 8 จำนวน (ร้อยละ) ของความถี่ในการบริโภคอาหารทะเลในหญิงตั้งครรภ์ในรอบ 1 สัปดาห์ที่ผ่านมา

การรับประทาน อาหารทะเล	จำนวน (ร้อยละ) ของความถี่ในการบริโภค							
	มาบตาพุด (n=200)				อ่างศิลา (n=41)			
	ไม่เคยเลย	นานๆ ครั้ง	บ่อยครั้ง	เป็น ประจำ	ไม่เคยเลย	นานๆ ครั้ง	บ่อยครั้ง	เป็นประจำ
1. กุ้ง	14 (7)	126 (63)	57 (28.5)	3 (1.5)	5 (12.2)	19 (46.34)	12 (29.27)	5 (12.2)
2. ปู	45 (22.5)	141 (70.5)	14 (7)	0	18 (43.9)	17 (41.46)	3 (7.32)	3 (7.32)
3. หอยแมลงภู่	56 (28)	115 (57.5)	27 (13.5)	2 (1)	16 (39.02)	14 (37.53)	11 (26.83)	0
4. หอยนางรม	110 (55)	80 (40)	9 (4.5)	1 (0.5)	22 (53.66)	13 (31.71)	5 (12.20)	1 (2.44)

5. หอยแครง	64 (32)	109 (54.5)	25 (12.5)	2 (1)	21 (51.22)	14 (34.15)	5 (12.20)	1 (2.44)
6. ปลาหมึก ชนิดต่างๆ	21 (10.5)	128 (64)	43 (21.5)	8 (4)	11 (26.83)	14 (34.15)	13 (31.71)	3 (7.32)
7. ปลาอินทรี	133 (66.5)	62 (31)	3 (1.5)	2 (1)	22 (53.66)	15 (36.59)	4 (9.76)	0
8. ปลาทู	8 (4)	69 (34.5)	78 (39)	45 (22.5)	3 (7.32)	9 (21.95)	9 (21.95)	20 (48.78)
9. ปลาเห็ดโคน	168 (84)	26 (13)	4 (2)	2 (1)	35 (85.37)	5 (12.20)	1 (2.44)	0
10. ปลาสิ่กุน	186 (93)	12 (6)	2 (1)	0	39 (95.12)	1 (2.44)	1 (2.44)	0
11. ปลา ดุกทะเล	178 (89)	19 (9.5)	3 (1.5)	0	31 (75.61)	8 (19.51)	2 (4.88)	0
12. ปลากระบอก	144 (72)	50 (25)	5 (2.5)	1 (0.5)	32 (78.05)	5 (12.20)	4 (9.76)	0
13. ปลาแป้น	182 (91)	17 (8.5)	1 (0.5)	0	38 (92.68)	2 (4.88)	1 (2.44)	0
14. ปลาใบปอ	187 (93.5)	13 (6.5)	0	0	40 (97.56)	1 (2.44)	0	0
15. ปลา ข้างตะเภา	189 (94.5)	11 (5.5)	0	0	38 (92.68)	3 (7.32)	0	0

ตารางที่ 9 จำนวน (ร้อยละ) ของความถี่ในการบริโภคอาหารทะเลในเด็กนักเรียนในรอบ 1 สัปดาห์ที่ผ่านมา

การรับประทาน อาหารทะเล	จำนวน (ร้อยละ) ของความถี่ในการบริโภค							
	มาบตาพุด				อ่างศิลา			
	ไม่เคยเลย	นานๆ ครั้ง	บ่อยครั้ง	เป็นประจำ	ไม่เคยเลย	นานๆ ครั้ง	บ่อยครั้ง	เป็นประจำ
1. กุ้ง	43 (20.38)	115 (54.50)	40 (18.96)	13 (6.16)	22 (15.17)	90 (62.07)	23 (15.86)	10 (6.9)
2. ปู	53 (25.12)	114 (54.03)	33 (15.64)	11 (5.21)	30 (20.69)	76 (52.41)	27 (18.62)	12 (8.28)
3. หอยแมลงภู่	69 (32.70)	101 (47.87)	31 (14.69)	10 (4.74)	54 (37.24)	66 (45.52)	15 (10.34)	10 (6.9)
4. หอยนางรม	128 (60.66)	63 (29.86)	10 (4.74)	10 (4.74)	91 (62.76)	38 (26.21)	12 (8.28)	4 (2.76)
5. หอยแครง	76 (36.02)	95 (45.02)	30 (14.22)	10 (4.74)	72 (49.66)	50 (34.48)	15 (10.34)	8 (5.52)
6. ปลาหมึก ชนิดต่างๆ	50 (23.70)	100 (47.39)	46 (21.80)	15 (7.11)	35 (24.14)	77 (53.10)	21 (14.48)	12 (8.28)
7. ปลาอินทรี	139 (65.88)	46 (21.80)	21 (9.95)	5 (2.37)	62 (42.76)	56 (38.62)	19 (13.10)	8 (5.52)
8. ปลาทุ	21 (9.95)	71 (33.65)	71 (33.65)	48 (22.75)	22 (15.17)	59 (40.69)	34 (23.45)	30 (20.69)
9. ปลาเห็ดโคน	186 (88.15)	15 (7.11)	8 (3.79)	2 (0.95)	113 (77.93)	20 (13.79)	7 (4.83)	5 (3.45)
10. ปลาสิ่กุน	191 (90.52)	16 (7.58)	3 (1.42)	1 (0.47)	125 (86.21)	14 (9.66)	6 (4.14)	0
11. ปลา ดุกทะเล	134 (63.51)	51 (24.17)	14 (6.64)	12 (5.69)	73 (50.34)	47 (32.41)	13 (8.97)	12 (8.28)
12. ปลากระบอก	170 (80.57)	28 (13.27)	9 (4.27)	4 (1.90)	88 (60.69)	39 (26.9)	11 (7.59)	7 (4.83)
13. ปลาแป้น	181 (85.78)	18 (8.53)	8 (3.79)	4 (1.90)	125 (86.21)	16 (11.03)	3 (2.07)	1 (0.69)
14. ปลาใบปอ	194 (91.94)	11 (5.21)	4 (1.90)	2 (0.95)	127 (87.59)	10 (6.9)	8 (5.52)	0
15. ปลา ข้างตะเภา	199 (94.31)	9 (4.27)	2 (0.95)	1 (0.47)	128 (88.28)	12 (8.28)	4 (2.76)	1 (0.69)

4.3 ข้อมูลด้านความรู้เกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนัก

ตารางที่ 10 และ 11 เป็นการเปรียบเทียบการตอบสนองต่อรายการข้อมูล (statement) ที่เกี่ยวกับอันตรายจากการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียน ในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา ซึ่งรายการข้อมูลที่ใช้สอบถาม ส่วนหนึ่งได้มาจากการพูดคุย สอบถาม และจากข้อเสนอแนะของกลุ่มตัวอย่างที่ทำการสัมภาษณ์เจาะลึก และได้รับการพิจารณาตรวจสอบความเที่ยงของข้อมูลจากผู้เชี่ยวชาญ ในแง่ที่คิดว่ากลุ่มตัวอย่างจะตอบสนองอย่างไร และกลุ่มตัวอย่างจะเข้าใจหรือไม่ถึงความเสี่ยงต่ออันตรายที่อาจได้รับการบริโภคอาหารทะเล

ผลการวิจัย พบว่า หญิงตั้งครรภ์ของทั้ง 2 พื้นที่ยังขาดความรู้เกี่ยวกับการป้องกัน/การลดปริมาณการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเล โดยจากข้อคำถาม พบว่า เพียงประมาณร้อยละ 15 ที่หญิงตั้งครรภ์ของทั้ง 2 พื้นที่ที่ทราบว่า การต้ม นึ่งหรือทำให้สุกไม่สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนโลหะหนักได้ และมากกว่าร้อยละ 65 ที่หญิงตั้งครรภ์ไม่ทราบว่ามีการกำหนดค่ามาตรฐานความปลอดภัยของการปนเปื้อนสารเคมี (เช่น แคดเมียม) ในอาหารทะเลเพื่อการบริโภค และไม่มีความรู้เกี่ยวกับผลกระทบจากสารแคดเมียมและโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ส่วนความรู้เกี่ยวกับแหล่งที่มาของการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเล พบว่า หญิงตั้งครรภ์ส่วนใหญ่ของทั้ง 2 พื้นที่ (มากกว่าร้อยละ 65) ทราบว่า การปนเปื้อนโลหะหนักในอาหารทะเล ส่วนใหญ่เกิดจากน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมและการเผาไหม้ เช่น ถ่านหิน น้ำมัน ขยะ

ส่วนเด็กนักเรียนทั้งพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลาก็เช่นกัน ส่วนใหญ่ยังขาดความรู้เกี่ยวกับการป้องกัน/การลดปริมาณการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเล โดยจากข้อคำถาม พบว่า เพียงประมาณร้อยละ 20 ที่เด็กนักเรียนของทั้ง 2 พื้นที่ที่ทราบว่า การต้ม นึ่งหรือทำให้สุกไม่สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนโลหะหนักได้ และมากกว่าร้อยละ 70 ไม่ทราบว่ามีการกำหนดค่ามาตรฐานความปลอดภัยของการปนเปื้อนสารเคมี (เช่น แคดเมียม) ในอาหารทะเลเพื่อการบริโภค เด็กนักเรียนส่วนใหญ่ (มากกว่าร้อยละ 85) ไม่มีความรู้เกี่ยวกับผลกระทบจากสารแคดเมียมและโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ส่วนความรู้เกี่ยวกับแหล่งที่มาของการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเล พบว่า ประมาณร้อยละ 80 ทราบว่า การปนเปื้อนโลหะหนักในอาหารทะเล ส่วนใหญ่เกิดจากน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมและการเผาไหม้ เช่น ถ่านหิน น้ำมัน ขยะ

ตารางที่ 10 จำนวน (ร้อยละ) การตอบสนองของหญิงตั้งครรภ์ที่ไม่ถูกต้อง (% false) และความไม่รู้ (% don't know) เกี่ยวกับอันตรายของการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเล

Statement		มาบตาพุด		อ่างศิลา	
		ตอบคำถามผิด	ไม่ทราบ	ตอบคำถามผิด	ไม่ทราบ
1	การปนเปื้อนโลหะหนักในน้ำทะเลและ/หรืออาหารทะเลส่วนใหญ่เกิดมาจากน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมและการเผาไหม้ เช่น ถ่านหิน, น้ำมัน, การเผาขยะ	10 (5)	54 (27)	2 (4.88)	6 (14.63)
2	หากทะเลมีการปนเปื้อนโลหะหนัก จะไม่ส่งผลกระทบต่อการปนเปื้อนในสัตว์น้ำ เราจึงสามารถบริโภคสัตว์น้ำได้อย่างปลอดภัย	33 (16.5)	60 (30)	8 (19.51)	13 (31.71)
3	โลหะหนักที่ปนเปื้อนในอาหารทะเลไม่เป็นอันตราย เพราะเจือจางแล้วด้วยน้ำ	15 (7.5)	77 (38.5)	9 (21.95)	15 (36.59)
4	การล้างทำความสะอาดอาหารทะเลด้วยน้ำปริมาณมาก สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนโลหะหนักได้	39 (19.5)	91 (45.5)	26 (63.41)	9 (21.95)
5	การต้ม นึ่งหรือทำให้สุกสามารถลดปริมาณการปนเปื้อนโลหะหนักได้	97 (48.5)	75 (37.5)	31 (75.61)	8 (19.51)
6	มีการกำหนดค่ามาตรฐานความปลอดภัยของการปนเปื้อนโลหะหนัก (เช่น แคดเมียม) ในอาหารทะเลเพื่อการบริโภค	14 (7)	120 (60)	4 (9.76)	25 (60.98)
7	สัตว์ทะเลที่อาศัยอยู่ตามดินโคลน/หน้าดิน (เช่น หอย) มีโอกาสปนเปื้อนโลหะหนักมากกว่าสัตว์ที่ว่ายน้ำอยู่กลางน้ำ-ผิวน้ำ	26 (13)	92 (46)	8 (19.51)	10 (24.39)
8	หากบริโภคในปริมาณเท่ากัน สัตว์ทะเลตัวเล็กมีการปนเปื้อนสารพิษน้อยกว่าสัตว์ทะเลตัวใหญ่	19 (9.5)	113 (56.5)	8 (19.51)	15 (36.59)
9	ผลกระทบหรือความเป็นพิษจากโลหะหนัก เกิดจากการบริโภคอาหารทะเลปนเปื้อนติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน	18 (9)	90 (45)	4 (9.76)	14 (34.15)
10	แคดเมียมเป็นโลหะหนักที่พบมากในสัตว์ทะเลทำให้เกิดพิษต่อไตและกระดูก และเป็นสารก่อมะเร็ง	8 (4)	126 (63)	1 (2.44)	39 (95.12)
11	สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในอาหารทะเลบางชนิด เป็นสารก่อมะเร็ง	8 (4)	124 (62)	0	39 (95.12)
12	คนที่ได้รับแคดเมียมสะสมร่างกายมากๆ อาจเป็นโรค อีไต-อีไตได้	9 (4.5)	157 (78.5)	0	39 (95.12)

ตารางที่ 11 จำนวน (ร้อยละ) การตอบสนองของเด็กนักเรียนที่ไม่ถูกต้อง (% false) และความไม่รู้ (% don't know) เกี่ยวกับอันตรายของการปนเปื้อนสารเคมีในอาหารทะเล

Statement		มาบตาพุด		อ่างศิลา	
		ตอบคำถามผิด	ไม่ทราบ	ตอบคำถามผิด	ไม่ทราบ
1	การปนเปื้อนโลหะหนักในน้ำทะเลและ/หรืออาหารทะเลส่วนใหญ่เกิดมาจากน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมและการเผาไหม้ เช่น ถ่านหิน, น้ำมัน, การเผาขยะ	10 (4.74)	15 (7.11)	6 (4.14)	21 (14.48)
2	หากทะเลมีการปนเปื้อนโลหะหนัก จะไม่ส่งผลกระทบต่อการปนเปื้อนในสัตว์น้ำ เราจึงสามารถบริโภคสัตว์น้ำได้อย่างปลอดภัย	29 (13.74)	17 (8.06)	11 (7.59)	33 (22.76)
3	โลหะหนักที่ปนเปื้อนในอาหารทะเลไม่เป็นอันตราย เพราะเจือจางแล้วด้วยน้ำ	41 (19.43)	31 (14.69)	24 (16.55)	30 (20.69)
4	การล้างทำความสะอาดอาหารทะเลด้วยน้ำปริมาณมาก สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนโลหะหนักได้	60 (28.44)	30 (14.22)	71 (48.97)	27 (18.62)
5	การต้ม นึ่งหรือทำให้สุกสามารถลดปริมาณการปนเปื้อนโลหะหนักได้	123 (58.29)	30 (14.22)	82 (56.55)	39 (26.90)
6	มีการกำหนดมาตรฐานความปลอดภัยของการปนเปื้อนโลหะหนัก (เช่น แคดเมียม) ในอาหารทะเลเพื่อการบริโภค	59 (27.96)	95 (45.02)	32 (22.07)	92 (63.45)
7	สัตว์ทะเลที่อาศัยอยู่ตามดินโคลน/หน้าดิน (เช่น หอย) มีโอกาสปนเปื้อนโลหะหนักมากกว่าสัตว์ที่ว่ายน้ำอยู่กลางน้ำ-ผิวน้ำ	82 (38.86)	24 (11.37)	37 (25.52)	42 (28.97)
8	หากบริโภคในปริมาณเท่ากัน สัตว์ทะเลตัวเล็กมีการปนเปื้อนสารพิษน้อยกว่าสัตว์ทะเลตัวใหญ่	69 (32.70)	28 (13.27)	48 (33.10)	47 (32.41)
9	ผลกระทบต่อความเป็นพิษจากโลหะหนัก เกิดจากการบริโภคอาหารทะเลปนเปื้อนติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน	71 (33.65)	34 (16.11)	48 (33.10)	43 (29.66)
10	แคดเมียมเป็นโลหะหนักที่พบมากในสัตว์ทะเลทำให้เกิดพิษต่อไตและกระดูก และเป็นสารก่อมะเร็ง	6 (2.84)	202 (95.73)	9 (6.21)	120 (82.76)
11	สารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในอาหารทะเลบางชนิด เป็นสารก่อมะเร็ง	3 (1.42)	201 (95.26)	3 (2.07)	135 (93.10)
12	คนที่ได้รับแคดเมียมสะสมร่างกายมากๆ อาจเป็นโรค อีไต-อีไตได้	4 (1.90)	202 (95.73)	2 (1.38)	127 (87.59)

เมื่อเปรียบเทียบระดับความรู้ของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียน ในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา (ตารางที่ 12) พบว่า ส่วนใหญ่หญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนทั้งสองพื้นที่มีระดับความรู้น้อย ซึ่งหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุดมีระดับความรู้ที่สูงกว่า โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับความรู้อยู่ที่ 4.61 และ 5.03 คะแนน ตามลำดับ ในขณะที่หญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนในพื้นที่อ่างศิลามีค่าเฉลี่ยของระดับความรู้อยู่ที่ 3.88 และ 4.21 คะแนน ตามลำดับ

ข้อคำถาม (8 ใน 12 ข้อ) หญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดมีความรู้ที่สูงกว่าหญิงตั้งครรภ์ในอ่างศิลา ยกเว้นประเด็น การปนเปื้อนโลหะหนักในน้ำทะเลและ/หรืออาหารทะเลส่วนใหญ่เกิดมาจากน้ำเสียของ

โรงงานอุตสาหกรรมและการเผาไหม้ เช่น ถ่านหิน, น้ำมัน, การเผาขยะ ที่หญิงตั้งครรภ์ในตำบลอ่างศิลา มีความรู้สูงกว่า อย่างไรก็ตาม หญิงตั้งครรภ์ของทั้งสองพื้นที่ส่วนใหญ่ (ประมาณร้อยละ 70) ทราบถึงแหล่งปนเปื้อนโลหะหนักในอาหารทะเล ส่วนอีก 3 ประเด็นที่หญิงตั้งครรภ์ไม่ทราบหรือตอบคำถามผิดมากกว่า หญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่อ่างศิลาประมาณร้อยละ 10 ได้แก่ (1) สัตว์ทะเลที่อาศัยอยู่ตามดินโคลน/หน้าดิน (เช่น หอย) มีโอกาสปนเปื้อนโลหะหนักมากกว่าสัตว์ที่ว่ายน้ำอยู่กลางน้ำ-ผิวน้ำ (2) หากบริโภคในปริมาณเท่ากัน สัตว์ทะเลตัวเล็กมีการปนเปื้อนสารพิษน้อยกว่าสัตว์ทะเลตัวใหญ่ และ (3) ผลกระทบหรือความเป็นพิษจากโลหะหนัก เกิดจากการบริโภคอาหารทะเลปนเปื้อนติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน

ในเกือบทุกข้อคำถาม (9 ใน 12 ข้อ) เด็กนักเรียนในมาบตาพุดมีระดับความรู้สูงกว่าเด็กนักเรียนในอ่างศิลา ยกเว้นในประเด็นผลความเป็นพิษของแคดเมียมและโพลิไซคลิกอะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน ที่เด็กนักเรียนในอ่างศิลามีความรู้สูงกว่า อย่างไรก็ตาม เด็กนักเรียนส่วนใหญ่ของทั้งสองพื้นที่ (ประมาณร้อยละ 90) ไม่ทราบหรือตอบคำถามผิดเกี่ยวกับ ผลความเป็นพิษของแคดเมียมและโพลิไซคลิกอะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน

ตารางที่ 12 จำนวนและร้อยละของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนจำแนกตามระดับความรู้

ระดับความรู้	จำนวน (ร้อยละ)			
	หญิงตั้งครรภ์		เด็กนักเรียน	
	มาบตาพุด	อ่างศิลา	มาบตาพุด	อ่างศิลา
น้อย (คะแนน ≤ 60%)	123 (61.50)	33 (80.49)	128 (60.66)	113 (77.93)
ปานกลาง (คะแนน 60% - <75%)	58 (29)	8 (19.51)	83 (39.34)	32 (22.07)
มาก (คะแนน ≥ 75%)	19 (9.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ค่าเฉลี่ย, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	4.61, 3.01	3.88, 1.87	5.03, 1.55	4.21, 1.71
ค่าสูงสุด, ค่าต่ำสุด	0, 12	0, 7	0, 8	1, 8

4.4 ข้อมูลความเข้าใจเกี่ยวกับศัพท์เฉพาะ (technical term)

จากการสอบถามความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับศัพท์เฉพาะของหญิงตั้งครรภ์ในทั้งสองพื้นที่ พบว่า ส่วนใหญ่ (>ร้อยละ 90) ไม่รู้จักสารแคดเมียม และโพลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน หากเปรียบเทียบความเข้าใจจากการตอบสนองต่อคำถามอันตราย พบว่า หญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดและอ่างศิลารู้จักและสามารถให้ความหมายของอาหารเป็นพิษได้มากที่สุด รองลงมา คือ โลหะหนัก สารก่อมะเร็ง แคดเมียม และโพลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ตามลำดับ (ตารางที่ 13)

มีประมาณร้อยละ 30 ในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา ที่หญิงตั้งครรภ์รู้จักและให้ความหมายของโลหะหนักได้เป็นอย่างดี กล่าวคือ ทราบว่า โลหะหนักเป็นสารที่สามารถก่อให้เกิดพิษต่อร่างกายและสิ่งแวดล้อม และทางหลักในการเข้าสู่ร่างกายคือทางการกิน พร้อมกับสามารถยกตัวอย่างของโลหะหนักได้

มีประมาณร้อยละ 2 และร้อยละ 12 ของกลุ่มตัวอย่างในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลาตามลำดับ ที่หญิงตั้งครรภ์รู้จักและให้ความหมายของสารก่อมะเร็งได้เป็นอย่างดี กล่าวคือ ทราบว่าสารก่อมะเร็งเป็นสารที่สามารถทำให้เกิดเนื้องอกชนิดร้ายแรง หรือก่อให้เกิดโรคมะเร็ง ลักษณะการก่อโรค คือ ต้องรับเข้าสู่ร่างกายทีละน้อยๆ เป็นเวลานานๆ (อย่างน้อย 3 เดือน) จึงจะเกิดมะเร็งได้ และสามารถถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ได้

ประมาณร้อยละ 2 ของหญิงตั้งครรภ์ทั้งมาบตาพุดและอ่างศิลารู้จักและให้ความหมายของแคดเมียมได้เป็นอย่างดี คือ ทราบว่า แคดเมียมเป็นสารก่อมะเร็ง ทราบว่าหากสัมผัสแคดเมียมนานๆ จะไปสะสมที่กระดูก ทำให้กระดูกผุได้ และทราบว่าการแพร่กระจายส่วนใหญ่มาจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานผลิตแบตเตอรี่ ถ่านไฟฉาย สี สารเคลือบ และโลหะชุบ

หญิงตั้งครรภ์ทุกคนที่พักอาศัยในพื้นที่อ่างศิลา ไม่รู้จักสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ในขณะที่เพียงร้อยละ 2 ของหญิงตั้งครรภ์ที่พักอาศัยในมาบตาพุดที่รู้จักและให้ความหมายของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนได้

ตารางที่ 13 การตอบสนองต่อคำนิยามอันตราย (Definition of hazard phase) ในหญิงตั้งครรภ์ที่พักอาศัยในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา

Hazard phase	จำนวน (ร้อยละ) ของการตอบสนอง			
	มาก	ปานกลาง	น้อย	ไม่ทราบ
โลหะหนัก				
• มาบตาพุด	58 (29.0)	0	79 (39.5)	63 (31.5)
• อ่างศิลา	12 (29.3)	0	11 (26.8)	18 (43.9)
แคดเมียม				
• มาบตาพุด	4 (2)	8 (4)	4 (2)	184 (92)
• อ่างศิลา	1 (2.4)	0	0	40 (97.6)
โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน				
• มาบตาพุด	1 (0.5)	3 (1.5)	0	196 (98)
• อ่างศิลา	0	0	0	41 (100)
สารก่อมะเร็ง				
• มาบตาพุด	3 (1.5)	38 (19.0)	87 (43.5)	72 (36.0)
• อ่างศิลา	5 (12.2)	13 (31.7)	9 (22.0)	14 (34.1)
อาหารเป็นพิษ				
• มาบตาพุด	90 (45.0)	78 (39.0)	21 (10.5)	11 (5.5)
• อ่างศิลา	24 (58.5)	12 (29.3)	5 (12.2)	0

จากการสอบถามความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับศัพท์เฉพาะของเด็กนักเรียนในมาบตาพุดและอ่างศิลา พบว่า ส่วนใหญ่ (>ร้อยละ 85) ไม่รู้จักสารแคดเมียม และโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน หากเปรียบเทียบความเข้าใจจากการตอบสนองต่อคำนิยามอันตราย พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่เป็นเด็กนักเรียนของทั้งมาบตาพุดและอ่างศิลารู้จักและสามารถให้ความหมายของอาหารเป็นพิษได้มากที่สุด รองลงมา คือ สารก่อมะเร็ง โลหะหนัก แคดเมียม และโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

มากกว่าร้อยละ 75 ของจำนวนเด็กนักเรียนในมาบตาพุดและอ่างศิลา ที่รู้จักและให้นิยามของอาหารเป็นพิษได้ในระดับปานกลางถึงมาก โดยทราบว่า อาหารเป็นพิษอาจเกิดจากการปนเปื้อนเชื้อโรคหรือโลหะหนักในอาหาร อาการแสดง ได้แก่ ปวดมวนท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ถ่ายเหลว ปวดศีรษะ

มีประมาณร้อยละ 10 ของเด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลาที่รู้จักและให้ความหมายของโลหะหนักได้เป็นอย่างดี กล่าวคือ ทราบว่า โลหะหนักเป็นสารที่สามารถก่อให้เกิดพิษต่อร่างกายและสิ่งแวดล้อม และทางหลักในการเข้าสู่ร่างกายคือทางการกิน พร้อมกับการยกตัวอย่างของโลหะหนักได้

มีประมาณร้อยละ 3 และร้อยละ 7 ของเด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา (ตามลำดับ) ที่รู้จักและให้ความหมายของสารก่อมะเร็งได้เป็นอย่างดี กล่าวคือ ทราบว่าสารก่อมะเร็งเป็นสารที่สามารถทำให้เกิดเนื้องอกชนิดร้ายแรง หรือก่อให้เกิดโรคมะเร็ง ลักษณะการก่อโรคมะเร็ง คือ ต้องรับเข้าสู่ร่างกายทีละน้อยๆ เป็นเวลานานๆ (อย่างน้อย 3 เดือน) จึงจะเกิดมะเร็งได้ และสามารถถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ได้

มีเพียงร้อยละ 2 ของเด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุด ที่รู้จักและให้ความหมายของแคดเมียมได้บ้าง และมีประมาณร้อยละ 10 ของเด็กนักเรียนในพื้นที่อ่างศิลาที่รู้จักและให้ความหมายของแคดเมียมได้

เด็กนักเรียนทุกคนที่พักอาศัยในพื้นที่อ่างศิลา ไม่รู้จักสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ในขณะที่เพียงร้อยละ 1.5 ของเด็กนักเรียนที่พักอาศัยในมาบตาพุดรู้จักและให้ความหมายของสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนได้

ตารางที่ 14 การตอบสนองต่อคำนิยามอันตราย (Definition of hazard phase) ในเด็กนักเรียนที่พักอาศัยในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา

Hazard phase	จำนวน (ร้อยละ) ของการตอบสนอง			
	มาก	ปานกลาง	น้อย	ไม่ทราบ
โลหะหนัก				
• มาบตาพุด	28 (13.27)	0	94 (44.55)	89 (42.18)
• อ่างศิลา	15 (10.34)	0	68 (46.90)	62 (42.76)
แคดเมียม				
• มาบตาพุด	0	1 (0.47)	1 (0.47)	209 (99.05)
• อ่างศิลา	4 (2.76)	8 (5.52)	5 (3.45)	128 (88.28)
โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน				
• มาบตาพุด	0	1 (0.47)	2 (0.95)	208 (98.58)
• อ่างศิลา	0	0	0	145 (100)
สารก่อมะเร็ง				
• มาบตาพุด	7 (3.32)	67 (31.75)	86 (40.76)	51 (24.17)
• อ่างศิลา	10 (6.90)	32 (22.07)	68 (46.90)	35 (24.14)
อาหารเป็นพิษ				
• มาบตาพุด	106 (50.24)	70 (33.18)	33 (15.64)	2 (0.95)
• อ่างศิลา	53 (36.55)	56 (38.62)	25 (17.24)	11 (7.59)

4.5 การรับรู้ของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนเกี่ยวกับความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารเคมีจากการบริโภคอาหารทะเล

ตารางที่ 15 แสดงผลการศึกษาการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่มาบตาพุด พบว่า มากกว่าร้อยละ 60 มีการรับรู้ความเสี่ยงที่ถูกต้องในระดับมากถึงมากที่สุด ในประเด็นแหล่งที่มาของอาหารทะเล โดยรับรู้ว่าการบริโภคอาหารทะเลที่มาจากบริเวณที่อยู่ใกล้แหล่งอุตสาหกรรมอาจมีการปนเปื้อนสารเคมีมากกว่าอาหารทะเลที่ได้จากแหล่งที่ไกลจากโรงงานอุตสาหกรรม แต่มากกว่าร้อยละ 80 มีการรับรู้ความเสี่ยงที่ไม่ถูกต้องในประเด็น 1) การล้างทำความสะอาดอาหารทะเลด้วยน้ำสะอาดปริมาณมาก ไม่สามารถลดอันตรายจากโลหะหนักได้ 2) อาหารทะเลสะอาด ไม่มีเชื้อโรค ไม่มีพยาธิ เพราะอยู่ในน้ำทะเล และ 3) การบริโภคสัตว์น้ำที่มีขนาดตัวใหญ่จะได้รับสารเคมีน้อยกว่าสัตว์น้ำขนาดเล็ก เมื่อบริโภคในปริมาณที่เท่ากัน นอกจากนี้หญิงตั้งครรภ์มากกว่าร้อยละ 65 ยังมีการรับรู้ความเสี่ยงที่ไม่ถูกต้อง ในประเด็น 1) การบริโภคหอยเป็นประจำ ย่อมมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษที่ปนเปื้อนในทะเลมากกว่าการบริโภคปลา 2) ผู้ที่บริโภคอาหารทะเลเป็นประจำมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษมากกว่าผู้ที่บริโภคอาหารทะเลแบบนานๆ ครั้ง 3) โรคอาหารเป็นพิษ อาจเกิดจากการปนเปื้อนโลหะหนักในอาหารทะเล 4) โดยส่วนใหญ่คนเรารับสัมผัสโลหะหนัก (เช่น แคดเมียม) มา

จากอากาศและดิน มากกว่าการบริโภคอาหารทะเล และ 5) การบริโภคอาหารทะเลเป็นประจำ จะก่อให้เกิดการสะสมสารเคมีในร่างกาย และมีผลกระทบต่อร่างกายในระยะยาว ส่วนในประเด็นอื่นๆ หญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่มาบตาพุดมีการรับรู้ความเสี่ยงที่ถูกต้องและไม่ถูกต้องในสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน

การรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์ ในตำบลอ่างศิลา พบว่า มากกว่าร้อยละ 70 มีการรับรู้ความเสี่ยงที่ถูกต้องในประเด็น 1) แหล่งที่มาของอาหารทะเล โดยรับรู้ว่าการบริโภคอาหารทะเลที่มาจากบริเวณที่อยู่ใกล้แหล่งอุตสาหกรรม อาจมีการปนเปื้อนสารเคมีได้มากกว่าอาหารทะเลที่ได้จากแหล่งที่ไกลจากโรงงานอุตสาหกรรม และ 2) หากมีการปรุงอาหารให้สุกก่อนรับประทาน จะสามารถบริโภคอาหารทะเลทุกชนิดได้อย่างปลอดภัย

แต่มากกว่าร้อยละ 65 มีการรับรู้ความเสี่ยงที่ไม่ถูกต้องในประเด็น 1) การล้างทำความสะอาดอาหารทะเลด้วยน้ำสะอาดปริมาณมาก ไม่สามารถลดอันตรายจากโลหะหนักได้ 2) ผู้ที่บริโภคอาหารทะเลเป็นประจำ จะมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษมากกว่าผู้ที่บริโภคอาหารทะเลแบบนานๆครั้ง 3) โรคอาหารเป็นพิษ อาจเกิดจากการปนเปื้อนโลหะหนักในอาหารทะเล 4) โดยส่วนใหญ่คนเรารับสัมผัสโลหะหนัก (เช่น แคดเมียม) มาจากอากาศและดิน มากกว่าการบริโภคอาหารทะเล 5) อาหารทะเลสะอาด ไม่มีเชื้อโรค ไม่มีพยาธิ เพราะอยู่ในน้ำทะเล และ 6) การบริโภคสัตว์น้ำที่มีขนาดตัวใหญ่จะได้รับสารเคมีน้อยกว่าสัตว์น้ำขนาดเล็ก เมื่อบริโภคในปริมาณที่เท่ากัน ส่วนในประเด็นอื่นๆ หญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่อ่างศิลามีการรับรู้ความเสี่ยงที่ถูกต้องและไม่ถูกต้องในสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 15 จำนวน (ร้อยละ) ของหญิงตั้งครรภ์จำแนกตามการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเล

การรับรู้	จำนวน (ร้อยละ)							
	มาบตาพุด				อ่างศิลา			
	น้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด	น้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด
1. หากมีการปรุงอาหารให้สุกก่อนรับประทาน เราก็จะปลอดภัยจากการบริโภคอาหารทะเลทุกชนิด	14 (7)	99 (49.5)	69 (34.5)	18 (27.53)	3 (7.32)	8 (19.51)	11 (26.83)	19 (46.34)
2. หากล้างทำความสะอาดอาหารทะเลด้วยน้ำ สะอาดปริมาณมากจะทำให้โลหะหนักที่ปนเปื้อนในอาหาร ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ	53 (26.5)	111 (55.5)	35 (17.5)	1 (0.5)	13 (31.71)	15 (36.59)	10 (24.39)	3 (7.32)
3. ผู้ที่บริโภคอาหารทะเลเป็นประจำ ย่อมมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษมากกว่าผู้ที่ไม่ค่อยบริโภคอาหารทะเล	27 (13.5)	105 (52.5)	59 (29.5)	9 (4.5)	11 (26.83)	19 (46.34)	10 (24.39)	1 (2.44)
4. โรคอาหารเป็นพิษ อาจเกิดจากการปนเปื้อนโลหะหนักในอาหารทะเล	39 (19.5)	98 (49)	52 (26)	11 (5.5)	6 (14.63)	25 (60.98)	9 (21.95)	1 (2.44)
5. การบริโภคอาหารทะเลที่หาได้จากบริเวณใกล้แหล่งอุตสาหกรรมจะมีการปนเปื้อนสารเคมีมากกว่าอาหารทะเลที่ได้จากแหล่งที่ห่างไกลโรงงานอุตสาหกรรม	10 (5)	60 (30)	90 (45)	40 (20)	2 (4.88)	6 (14.63)	26 (63.41)	7 (17.07)
6. โดยส่วนใหญ่ คนเราสัมผัสสัมผัสโลหะหนัก (เช่น แคดเมียม) จากอากาศและดิน มากกว่าจากการบริโภคอาหารทะเล	28 (14)	102 (51)	64 (32)	6 (3)	15 (36.59)	18 (43.90)	8 (19.51)	0
7. อาหารทะเลสะอาด ไม่มีเชื้อโรค ไม่มีพยาธิ เพราะอยู่ในน้ำทะเล	75 (37.5)	102 (51)	19 (9.5)	4 (2)	23 (56.10)	8 (19.51)	7 (17.07)	3 (7.32)
8. การบริโภคอาหารทะเลเป็นประจำ จะก่อให้เกิดการสะสมสารเคมีในร่างกาย และมีผลกระทบต่อร่างกายในระยะยาว	34 (17)	100 (50)	54 (27)	12 (6)	4 (9.76)	16 (39.02)	19 (46.34)	2 (4.88)
9.การบริโภคสัตว์น้ำขนาดใหญ่ (ตัวโต) จะได้รับสารเคมีน้อยกว่าสัตว์น้ำขนาดเล็ก เมื่อบริโภคในปริมาณที่เท่ากัน	57 (28.5)	124 (62)	15 (7.5)	4 (2)	16 (39.02)	13 (31.71)	1 (2.44)	11 (26.83)
10.กิน หอย เป็นประจำ ย่อมมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษที่ปนเปื้อนในทะเลมากกว่าการกิน ปลา	35 (17.5)	107 (53.5)	48 (24)	10 (5)	8 (19.51)	10 (24.39)	14 (34.15)	9 (21.95)

ตารางที่ 16 แสดงผลการศึกษาการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของเด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุด พบว่า มากกว่าร้อยละ 65 มีการรับรู้ความเสี่ยงที่ถูกต้องในระดับมากถึงมากที่สุด ในประเด็น 1) แหล่งที่มาของอาหารทะเล โดยรับรู้ว่าการบริโภคอาหารทะเลที่มาจากบริเวณที่อยู่ใกล้แหล่งอุตสาหกรรมอาจมีการปนเปื้อนสารเคมีมากกว่าอาหารทะเล ที่ได้จากแหล่งที่ไกลจากโรงงานอุตสาหกรรม

2) ผู้ที่บริโภคอาหารทะเลเป็นประจำมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษมากกว่าผู้ที่บริโภคอาหารทะเลแบบนานๆ ครั้ง และ 3) การบริโภคอาหารทะเลเป็นประจำ จะก่อให้เกิดการสะสมสารเคมีในร่างกาย และมีผลกระทบต่อร่างกายในระยะยาว

มากกว่าร้อยละ 70 มีการรับรู้ความเสี่ยงที่ไม่ถูกต้องในประเด็น 1) การล้างทำความสะอาดอาหารทะเลด้วยน้ำสะอาดปริมาณมาก ไม่สามารถลดอันตรายจากโลหะหนักได้ 2) อาหารทะเลสะอาด ไม่มีเชื้อโรค ไม่มีพยาธิ เพราะอยู่ในน้ำทะเล และ 3) การบริโภคสัตว์น้ำที่มีขนาดตัวใหญ่จะได้รับสารเคมีน้อยกว่าสัตว์น้ำขนาดเล็ก เมื่อบริโภคในปริมาณที่เท่ากัน นอกจากนี้เด็กนักเรียนประมาณร้อยละ 60 ยังมีการรับรู้ความเสี่ยงที่ไม่ถูกต้อง ในประเด็นที่ว่า ส่วนใหญ่คนเราสัมผัสโลหะหนัก (เช่น แคดเมียม) มาจากอากาศและดิน มากกว่าการบริโภคอาหารทะเล

ส่วนประเด็นที่เด็กนักเรียนในมาบตาพุด มีการรับรู้ความเสี่ยงที่ถูกต้องและไม่ถูกต้องในสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน ได้แก่ 1) การบริโภคหอยเป็นประจำ ย่อมมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษที่ปนเปื้อนในทะเลมากกว่าการบริโภคปลา 2) โรคอาหารเป็นพิษ อาจเกิดจากการปนเปื้อนโลหะหนักในอาหารทะเล และ 3) หากมีการปรุงอาหารให้สุกก่อนรับประทาน จะสามารถบริโภคอาหารทะเลทุกชนิดได้อย่างปลอดภัย

การรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของเด็กนักเรียนในตำบลอ่างศิลา พบว่า ประมาณร้อยละ 76 มีการรับรู้ความเสี่ยงที่ถูกต้องในประเด็นแหล่งที่มาของอาหารทะเล โดยรับรู้ว่าการบริโภคอาหารทะเลที่มาจากบริเวณที่อยู่ใกล้แหล่งอุตสาหกรรม อาจมีการปนเปื้อนสารเคมีได้มากกว่าอาหารทะเลที่ได้จากแหล่งที่ไกลจากโรงงานอุตสาหกรรม และประมาณร้อยละ 56 มีการรับรู้ความเสี่ยงที่ถูกต้องในประเด็นที่ว่า หากมีการปรุงอาหารให้สุกก่อนรับประทาน จะสามารถบริโภคอาหารทะเลทุกชนิดได้อย่างปลอดภัย และในประเด็นของการที่ผู้บริโภคอาหารทะเลเป็นประจำ จะมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษมากกว่าผู้ที่บริโภคอาหารทะเลแบบนานๆ ครั้ง

แต่มากกว่าร้อยละ 70 มีการรับรู้ความเสี่ยงที่ไม่ถูกต้องในประเด็น 1) การล้างทำความสะอาดอาหารทะเลด้วยน้ำสะอาดปริมาณมาก ไม่สามารถลดอันตรายจากโลหะหนักได้ 2) โดยส่วนใหญ่คนเราสัมผัสโลหะหนัก (เช่น แคดเมียม) มาจากอากาศและดิน มากกว่าการบริโภคอาหารทะเล โรคอาหารเป็นพิษ อาจเกิดจากการปนเปื้อนโลหะหนักในอาหารทะเล 3) อาหารทะเลสะอาด ไม่มีเชื้อโรค ไม่มีพยาธิ เพราะอยู่ในน้ำทะเล และ 4) การบริโภคสัตว์น้ำที่มีขนาดตัวใหญ่จะได้รับสารเคมีน้อยกว่าสัตว์น้ำขนาดเล็ก เมื่อบริโภคในปริมาณที่เท่ากัน อีกประมาณร้อยละ 60 เด็กนักเรียนมีการรับรู้ความเสี่ยงที่ไม่ถูกต้องใน 2 ประเด็น ได้แก่ 1) การบริโภคหอยเป็นประจำ ย่อมมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษที่ปนเปื้อนในทะเลมากกว่าการบริโภคปลา และ 2) โรคอาหารเป็นพิษ อาจเกิดจากการปนเปื้อนโลหะหนักในอาหารทะเล

ตารางที่ 16 จำนวน (ร้อยละ) ของเด็กนักเรียนจำแนกตามการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเล

การรับรู้	จำนวน (ร้อยละ)							
	มาบตาพุด				อ่างศิลา			
	น้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด	น้อย	ปานกลาง	มาก	มากที่สุด
1. หากมีการปรุงอาหารให้สุกก่อนรับประทาน เราก็จะปลอดภัยจากการบริโภคอาหารทะเลทุกชนิด	19 (9)	91 (43.13)	62 (29.38)	39 (18.48)	13 (8.97)	49 (33.79)	27 (18.62)	56 (38.62)
2. หากล้างทำความสะอาดอาหารทะเลด้วยน้ำสะอาดปริมาณมากจะทำให้โลหะหนักที่ปนเปื้อนในอาหาร ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ	67 (31.75)	87 (41.23)	32 (15.17)	25 (11.85)	51 (35.17)	63 (43.45)	19 (13.10)	12 (8.28)
3. ผู้ที่บริโภคอาหารทะเลเป็นประจำ ย่อมมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษมากกว่าผู้ที่ไม่ค่อยบริโภคอาหารทะเล	22 (10.43)	36 (17.06)	60 (28.44)	93 (44.08)	21 (14.48)	43 (29.66)	40 (27.59)	41 (28.28)
4. โรคอาหารเป็นพิษ อาจเกิดจากการปนเปื้อนโลหะหนักในอาหารทะเล	27 (12.8)	76 (36.02)	51 (24.17)	57 (27.01)	38 (26.21)	54 (37.24)	24 (16.55)	29 (20)
5. การบริโภคอาหารทะเลที่ได้จากบริเวณที่อยู่ใกล้แหล่งอุตสาหกรรมอาจมีการปนเปื้อนสารเคมีมากกว่าอาหารทะเลที่ได้จากแหล่งที่ห่างไกลจากโรงงานอุตสาหกรรม	13 (6.16)	24 (11.37)	32 (15.17)	142 (67.3)	13 (8.97)	21 (14.48)	23 (15.86)	88 (60.69)
6. โดยส่วนใหญ่ คนเราสัมผัสโลหะหนัก (เช่น แคดเมียม) จากอากาศและดิน มากกว่าจากการบริโภคอาหารทะเล	40 (18.96)	86 (40.76)	48 (22.75)	37 (17.54)	28 (19.31)	78 (53.79)	29 (20)	10 (6.9)
7. อาหารทะเลสะอาด ไม่มีเชื้อโรค ไม่มีพยาธิ เพราะอยู่ในน้ำทะเล	120 (56.87)	49 (23.22)	23 (10.9)	19 (9)	71 (48.97)	46 (31.72)	10 (6.9)	18 (12.41)
8. การบริโภคอาหารทะเลเป็นประจำ จะก่อให้เกิดการสะสมสารเคมีในร่างกาย และมีผลกระทบต่อร่างกายในระยะยาว	24 (11.37)	47 (22.27)	83 (39.34)	57 (27.01)	36 (24.83)	39 (26.9)	36 (24.83)	34 (23.45)
9.การบริโภคสัตว์น้ำขนาดใหญ่ (ตัวโต) จะได้รับสารเคมีน้อยกว่าสัตว์น้ำขนาดเล็ก เมื่อบริโภคในปริมาณที่เท่ากัน	58 (27.49)	102 (48.34)	26 (12.32)	25 (11.85)	70 (48.28)	41 (28.28)	26 (17.93)	8 (5.52)
10.กิน หอย เป็นประจำ ย่อมมีความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสสารพิษที่ปนเปื้อนในทะเล มากกว่าการกิน ปลา	34 (16.11)	71 (33.65)	53 (25.12)	53 (25.12)	35 (24.14)	48 (33.10)	27 (18.62)	35 (24.14)

เมื่อเปรียบเทียบการรับรู้ความเสี่ยงระหว่างหญิงตั้งครรภ์ ในพื้นที่มาบตาพุดและอ่างศิลา (ตารางที่ 17) พบว่า มากกว่าร้อยละ 85 ของหญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดและอ่างศิลามีการรับรู้ความเสี่ยงในระดับน้อย ซึ่งหญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่มาบตาพุดมีการรับรู้ความเสี่ยงสูงกว่า โดยมีค่าเฉลี่ยการรับรู้ความเสี่ยง

เท่ากับ 24.55 คะแนน ในขณะที่หญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่อ่างศิลามีค่าเฉลี่ยการรับรู้ความเสี่ยงเท่ากับ 24.17 คะแนน

ตารางที่ 17 จำนวนและร้อยละของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนจำแนกตามระดับการรับรู้ความเสี่ยง

ระดับการรับรู้ความเสี่ยง	จำนวน (ร้อยละ)			
	หญิงตั้งครรภ์		เด็กนักเรียน	
	มาบตาพุด	อ่างศิลา	มาบตาพุด	อ่างศิลา
น้อย (คะแนน $\leq 60\%$)	172 (86.0)	37 (90.2)	95(45.0)	101 (69.7)
ปานกลาง (คะแนน $60\% - <75\%$)	25 (12.5)	4 (9.8)	105 (49.8)	39 (26.9)
มาก (คะแนน $\geq 75\%$)	3 (1.3)	0 (0.0)	11 (5.2)	5 (3.4)
ค่าเฉลี่ย,ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	24.55, 3.01	24.17, 2.71	27.67, 3.39	25.49, 3.54
ค่าสูงสุด, ค่าต่ำสุด	17, 33	17, 29	36, 20	34, 18

ตารางที่ 18 แสดงการเปรียบเทียบความรู้ ความเข้าใจ และการรับรู้ความเสี่ยง ระหว่างหญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดและอ่างศิลา พบว่า หญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดและอ่างศิลามีความรู้ ความเข้าใจและมีการรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนักไม่แตกต่างจากหญิงตั้งครรภ์ในอ่างศิลา ที่ $P = 0.46$, $P = 0.28$ และ $P = 0.14$ ตามลำดับ

ส่วนเด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุด มีความรู้และมีการรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนักสูงกว่าเด็กนักเรียนในอ่างศิลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P < 0.001$ แต่ความเข้าใจเกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนักของเด็กนักเรียนในมาบตาพุดและอ่างศิลา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P = 0.35$

ตารางที่ 18 การเปรียบเทียบความรู้ ความเข้าใจ และการรับรู้ความเสี่ยง ระหว่างหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนพื้นที่มาบตาพุด และอ่างศิลา

กลุ่มตัวอย่าง		พื้นที่	Mean	Mean Difference	95 % CI	P-value
ความรู้	หญิงตั้งครรภ์	มาบตาพุด	4.61	0.73	-1.69 - 0.24	0.14
		อ่างศิลา	3.88			
	เด็กนักเรียน	มาบตาพุด	5.03	0.82	0.47 - 1.16	<0.001
		อ่างศิลา	4.21			
ความเข้าใจ	หญิงตั้งครรภ์	มาบตาพุด	2.27	0.28	0.27 - 0.94	0.28
		อ่างศิลา	4.61			
	เด็กนักเรียน	มาบตาพุด	4.21	0.15	-0.47 - 0.17	0.35
		อ่างศิลา	4.06			
การรับรู้ความเสี่ยง	หญิงตั้งครรภ์	มาบตาพุด	24.55	0.38	-1.37 - 0.63	0.46
		อ่างศิลา	24.17			
	เด็กนักเรียน	มาบตาพุด	27.67	2.18	1.45 - 2.92	<0.001
		อ่างศิลา	25.49			

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยเป็นการตรวจสอบการปนเปื้อนของแคดเมียมและสาร PAHs รวม ในปลาทะเลธรรมชาติและหอยแมลงภู่เลี้ยงในฟาร์มทะเลจากชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรีและนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง รวมทั้งตรวจสอบการตัวชี้วัดชีวภาพ Cytochrome P450 (CYP1A) และ Metallothionein (MT) ป่งชี้การรับสัมผัสสารดังกล่าว ทำการเก็บตัวอย่างเพียงครั้งเดียวแต่ละปี รวม 3 ปี ในปีนี้จะรายงานในปีพ.ศ. 2556 และเปรียบเทียบกับปีพ.ศ. 2555 และ ศึกษาพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลและการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเลของหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียน ในปีพ.ศ. 2556 ส่วนประชาชนทั่วไปศึกษาในปีพ.ศ. 2555 จากการสัมภาษณ์เพื่อให้ได้ข้อมูลในการวิเคราะห์ความรู้ ความเข้าใจ และการรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับอันตรายจากการปนเปื้อนสารเคมีจากการบริโภคอาหารทะเล

ผลการศึกษาวิเคราะห์แคดเมียมและสาร PAHs รวม พบมีการปนเปื้อนทั้งในระดับและกล้ามเนื้อปลาทะเลธรรมชาติและหอยแมลงภู่เลี้ยงทั้งจากชายฝั่งทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรีและนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง ทั้งปีในปีพ.ศ. 2556 และปีพ.ศ. 2555 โดยถูกยืนยันว่าปลาทะเลและหอยแมลงภู่มีการรับสัมผัสจริงต่อสาร PAHs รวม ด้วยการใช้ตัวชี้วัดชีวภาพการแสดงออกของ CYP1A ในตับปลาทะเลและหอยแมลงภู่ และตัวชี้วัดชีวภาพการแสดงออกของ MT ในตับปลาทะเล เนื่องจากการนำ CYP1A ติดตาม ตรวจสอบในหอยแมลงภู่ *Mytilus edulis* จากบริเวณแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนจาก Venice Lagoon ในประเทศอิตาลี (Peter et al., 1998) และการนำ CYP1A (Praparsiri et. al., 2010) และ MT (Chutima et. al., 2013) ติดตามการแสดงออกในปลาทะเลชนิดต่างๆ ในประเทศไทย

ปริมาณการปนเปื้อนของแคดเมียมในตับปลาทะเลจากอ่างศิลาในปีพ.ศ. 2556 สูงกว่าจากตับปลาทะเลจับจากมาบตาพุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เหมือนกับผลวิเคราะห์ในปีพ.ศ. 2555 ปริมาณแคดเมียมในตับปลาทะเลจากอ่างศิลา ค่าเฉลี่ย 0.4490 ± 0.6753 ug/g wet wt. สูงกว่าตับปลาทะเลจับจากมาบตาพุด ค่าเฉลี่ย 0.3252 ± 0.3441 ug/g wet wt. และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p > 0.01$) แต่พบสูงกว่าในเนื้อปลาทะเลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) ที่มีค่าแคดเมียมต่ำใกล้เคียงกันคือ อ่างศิลาและมาบตาพุดมีค่าช่วงเฉลี่ย 0.0028 ± 0.0035 ug/g wet wt. และ 0.0033 ± 0.0024 ug/g wet wt ตามลำดับ ส่วนปลาหู (เฉลี่ย 0.2473 ± 0.0561 ug/g wet wt.) ปลาทะเล 15 ชนิดจากอ่างศิลาที่มีค่าปริมาณแคดเมียมค่อนข้างสูง คือ ปลาลิ้นหมา ปลาสิ่กุน และปลาข้างตะเกา (~ 1.4 ถึง 2.6 ug/g wet wt.) ส่วน ปลาทะเล 11 ชนิด จากมาบตาพุดที่มีค่าปริมาณแคดเมียมสูงมีเพียงชนิดเดียวคือ ในตับปลาหู (เฉลี่ย 0.8777 ± 0.6479 ug/g wet wt.) สูงกว่าอ่างศิลา 3.5 เท่า สอดคล้องกับการพบแคดเมียมในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่และหอยแมลงภู่ขนาดเล็กที่อาศัยบริเวณอ่างศิลามีค่าสูงมากกว่าจากมาบตาพุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และหอยขนาดเล็กพบปริมาณแคดเมียมสูงกว่าหอยขนาดใหญ่ เนื่องจากหอยขนาดเล็กมีพื้นที่เนื้อน้อยจึงพบการสะสมในปริมาณสูง และเหมือนกับผลวิเคราะห์ในปีพ.ศ. 2555 ผลการศึกษาทั้งสองปีบ่งชี้ว่า อ่างศิลาเป็นแหล่งการเพาะเลี้ยงและการประมง แต่ได้รับผลกระทบจากมลพิษทางน้ำค่อนข้างสูงจากแคดเมียม เมื่อเปรียบเทียบกับชายฝั่งทะเลนิคมอุตสาหกรรมที่คาดว่าควรมีการปนเปื้อนของแคดเมียมสูง ผลการศึกษาของอภิรดี เมืองเดช (2545) วิเคราะห์ปริมาณโลหะตะกั่ว แคดเมียม สังกะสีและปรอทใน หอยแครง (*Anadara granosa*) บริเวณปากแม่น้ำบางปะกง และบริเวณชายฝั่งทะเล ตั้งแต่บางทรายถึงตำบลคลองตำหรุ ชลบุรี โดยทำการ

เก็บตัวอย่าง 6 ครั้ง ตั้งแต่เดือน ธันวาคม 2542 มกราคม มีนาคม เมษายน มิถุนายน กรกฎาคม 2543 พบว่า ค่าเฉลี่ยสูงสุดของโลหะตะกั่วและแคดเมียมพบในเดือนธันวาคม 2542 และมกราคม 2543 โดยมีค่าเท่ากับ 0.435 และ 0.835 $\mu\text{g/g wet weight}$ ซึ่งการศึกษาค้างนี้ปีพ.ศ. 2556 บริเวณอ่างศิลาค่าความเข้มข้นของปริมาณแคดเมียมในหอยแมลงภู่นานเล็กมีค่าเฉลี่ย $0.05128 \pm 0.0043 \text{ ug/g wet wt. (n=20)}$ สูงกว่าหอยแมลงภู่นานใหญ่มีค่าเฉลี่ย $0.0485 \pm 0.0055 \text{ ug/g wet wt. (n=20)}$ อย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) แต่บริเวณมาบตาพุดค่าความเข้มข้นของ ปริมาณแคดเมียม ในหอยแมลงภู่นานเล็กและใหญ่ เฉลี่ย $0.0136 \pm 0.0040 \text{ ug/g wet wt.}$ และ $0.0104 \pm 0.0027 \text{ ug/g wet wt.}$ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าวิเคราะห์ได้ในปีพ.ศ. 2555 พบจากอ่างศิลาพบแคดเมียมในหอยแมลงภู่นานเล็กมีค่าเฉลี่ย $0.1534 \pm 0.0876 \text{ ug/g wet wt.}$ ที่สูงกว่าหอยแมลงภู่นานใหญ่มีค่าเฉลี่ย $0.0637 \pm 0.0073 \text{ ug/g wet wt.}$ ค่าแคดเมียมในหอยแมลงภู่นานเล็กและขนาดใหญ่จากการศึกษาปีพ.ศ.2555 นี้มีค่าน้อยกว่าในหอยแครง 5.4 เท่า ทั้งนี้เพราะการอาศัยของหอยแครงบริเวณหน้าดินในทะเลจะมีโอกาสสัมผัสแคดเมียมจากตะกอนดินสูงกว่าหอยแมลงภู่นานที่อาศัยในน้ำทะเล ผลการศึกษาบ่งชี้ชายฝั่งทะเลอ่างศิลามีการปนเปื้อนโลหะหนักอย่างแน่นนอนและสูงกว่าชายฝั่งทะเลมาบตาพุด อย่างไรก็ตามควรให้ทราบแหล่งกำเนิดของการปนเปื้อน เพราะอ่างศิลาเป็นแหล่งการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว หอยนางรม หอยแครง และหอยแมลงภู่นานลักษณะชายฝั่งทะเลมีชุมชนอาศัยอยู่จำนวนมาก และมีคลองต่างๆ ที่รับน้ำทิ้งลงสู่ชายทะเล รวมทั้งน้ำจากแม่น้ำบางปะกงที่ต้นน้ำมีโรงงาน และเกษตรกรรม ยังมีความน่ากังวลในการพบแคดเมียมปนเปื้อนในตับปลาหมีค่าค่อนข้างสูงจากทั้งสองสถาน ในปีพ.ศ. 2556 มาบตาพุด มีค่าเฉลี่ย $0.8777 \text{ ug/g wet wt.}$ อ่างศิลามีค่าเฉลี่ย $0.2473 \text{ ug/g wet wt.}$ ในปีพ.ศ. 2555 มีค่าเฉลี่ย $0.7626 \text{ ug/g wet wt.}$ อ่างศิลามีค่าเฉลี่ย $0.1998 \pm 0.0482 \text{ ug/g wet wt.}$ ซึ่งปลาที่จัดเป็นปลาน้ำจืดมีโอกาสน้อยมากจึงมีความเสี่ยงต่อผู้บริโภคในการรับแคดเมียมที่ปนเปื้อนแม้ค่าในตับจะสูงกว่าพบในกล้ามเนื้อก็ตาม อย่างไรก็ตามการปนเปื้อนแคดเมียมจากหอยและปลาทะเลยังไม่เกินค่ามาตรฐานอาหารจากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ.2529) เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อนในปลาห้ามเกิน $0.05 \text{ mg/Kg wet wt. (5 ug/g wet wt.)}$ และหอยห้ามเกิน $2.0 \text{ mg/Kg wet wt. (200 ug/g wet wt.)}$

ปริมาณการปนเปื้อนของสารพีเอเอชรวมในตับปลาทะเลในปีพ.ศ. 2556 ในตับปลาจากอ่างศิลา มีค่าเฉลี่ย $0.1698 \pm 0.1650 \text{ ug/g dry wt.}$ สูงกว่า 2.8 เท่า ในกล้ามเนื้อค่าเฉลี่ย $0.0607 \pm 0.0708 \text{ ug/g dry wt.}$ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วยสถิติ ANOVA ($p < 0.01$) ส่วนมาบตาพุด ความเข้มข้นของ PAHs ในตับปลามีค่าเฉลี่ย $0.1314 \pm 0.0699 \text{ ug/g dry wt.}$ สูงกว่า 3.7 เท่า ในกล้ามเนื้อเฉลี่ย $0.0351 \pm 0.0378 \text{ ug/g dry wt.}$ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในเนื้อเยื่อตับและกล้ามเนื้อปลาที่อาศัยบริเวณอ่างศิลาและบริเวณมาบตาพุด ($p > 0.05$) ปริมาณการปนเปื้อนของสารพีเอเอชรวมในตับปลาทะเลจากอ่างศิลาสูงกว่าเล็กน้อยจากมาบตาพุด และสูงกว่าในปีพ.ศ. 2555 ปริมาณการปนเปื้อนของสาร PAHs ความเข้มข้นจากตับปลาทั้งสองสถานมีค่าใกล้เคียงกัน (ประมาณ 0.1 ug/g dry wt.) สูงกว่า 2.5 เท่า ในกล้ามเนื้อปลาจากมาบตาพุด (เฉลี่ย $0.0438 \pm 0.0185 \text{ ug/g dry wt.}$) ส่วนกล้ามเนื้อปลาจากอ่างศิลาพบเฉลี่ย $(0.0256 \pm 0.0101 \text{ ug/g dry wt.})$ แต่การปนเปื้อนในหอยแมลงภู่นานใหญ่ ($0.4\text{--}0.5 \text{ ug/g dry wt.}$) จากทั้งสองสถานซึ่งสูงกว่า 4-5 เท่าจากตับปลา และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และในหอยแมลงภู่นานใหญ่ทั้งสองสถานมีค่าสูงประมาณ 2-3 เท่ากว่าหอยแมลงภู่นานเล็กอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ชนิดของสาร PAHs รวมจาก 16 ชนิดซึ่ง EPA มีการกำหนดให้ตรวจวัด ผลการศึกษาทั้งปี

พ.ศ. 2556 จากทั้งสองแหล่งตรวจพบเป็นสารขนาดมวโมเลกุลเล็ก 3 ชนิด น้อยกว่าในปีพ.ศ. 2555 ตรวจพบเป็นสารขนาดมวโมเลกุลเล็กหลายชนิด ทั้งจากอ่างศิลา และมาบตาพุด ทั้งในปลาทะเลและหอยแมลงภู่ ผลวิเคราะห์ยังบ่งชี้เป็นการปนเปื้อนจากสารน้ำมันต่างๆ ที่ปนเปื้อนในทะเล แหล่งการปนเปื้อนจากอ่างศิลาน่าจะมาจากเรือประมงและเรือขนส่งสินค้า ส่วนจากมาบตาพุดน่าจะมาจากน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและมลพิษทางอากาศที่สารน้ำมันตกลงในทะเล โดย $\Sigma 16\text{PAHs}$ ในปลาทะเล (เฉลี่ยทั้งตัวและกล้ามเนื้อ) ในปีพ.ศ. 2556 สูงกว่า ในปีพ.ศ. 2555 จากอ่างศิลามีค่าเฉลี่ย $0.0715 \pm 0.0698 \text{ ug/g dry wt.}$ จากมาบตาพุดเฉลี่ย $0.0746 \pm 0.0435 \text{ ug/g dry wt.}$ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าพบในหอยแมลงภู่ (เฉลี่ยทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก) จากอ่างศิลามีค่าเฉลี่ย $0.3676 \pm 0.2287 \text{ ug/g dry wt.}$ จากมาบตาพุดเฉลี่ย $0.2967 \pm 0.1874 \text{ ug/g dry wt.}$ ทั้งนี้การสลายและขับออกจากร่างกายของสาร PAHs ในหอยจะมีอัตราต่ำกว่าสัตว์กระดูกสันหลัง (Albers, 2003; Short, & Springman, 2006) เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งมลพิษทางน้ำมันจากทะเลเมดิเตอร์เรเนียน ประเทศอิตาลี ที่มีค่า $\Sigma 16\text{PAHs}$ ในตะกอนดิน และ กล้ามเนื้อปลาทะเลมีค่าเฉลี่ย 75,85 และ $3.93 \text{ ng/g dry wt.}$ ตามลำดับ โดย EPA กำหนดค่าปนเปื้อนค่า $\Sigma 16\text{PAHs}$ ในตะกอนดิน และ กล้ามเนื้อปลาทะเลที่ 138.50 และ $3.24 \text{ ng/g dry wt.}$ (หรือ 0.1385 และ $0.0032 \text{ ug/g dry wt.}$) ตามลำดับ ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้พบการปนเปื้อนทั้งในปลาทะเลและหอยแมลงภู่จากอ่างศิลาและมาบตาพุดสูงกว่ามลพิษทางน้ำมันที่ทะเลเมดิเตอร์เรเนียนและที่ EPA กำหนดค่าไว้สูงมาก (Trisciani et al., 2011) อย่างไรก็ตามในประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดค่า PAHs ปนเปื้อนในอาหารทะเล

ตัวชี้วัดชีวภาพเป็นสิ่งบ่งชี้ว่าสิ่งมีชีวิตมีการสัมผัสสารมลพิษ แล้วมีการขับออกนอกร่างกาย ซึ่งการตรวจพบจะใช้เป็นสัญญาณการเตือน (early warning parameter) ในสิ่งมีชีวิตกำลังถูกคุกคาม (Sarkar, et al., 2006) ในปีพ.ศ. 2556 การแสดงออกของ CYP1A (ขนาด 76/54 kDa) ในปลาทะเลด้วยเทคนิคแอนติบอดี จากอ่างศิลาพบมีผลบวกจำนวน 44 จาก 60 ตัวอย่าง (73.3%) ส่วนมาบตาพุดพบมีจำนวน 48 จาก 60 ตัวอย่าง (80%) ในปีพ.ศ. 2555 การแสดงออกของตัวชี้วัดชีวภาพ CYP1A ทั้งในปลาทะเลและหอยแมลงภู่ จากอ่างศิลาพบในปลาผลบวก 56.6% (จาก 60 ตัวอย่าง) ส่วนมาบตาพุด พบมีจำนวน 60% (จาก 60 ตัวอย่าง) ซึ่งการพบ CYP1A ในปีพ.ศ. 2556 แสดงออกในปลาทะเลสูงกว่าในปีพ.ศ. 2555 จากทั้งสองแหล่ง สอดคล้องกับผลปริมาณการวิเคราะห์สารพีเอเอชโดยประเภทปลาทะเลชนิดการกินอาหาร (กินเนื้อ กินพืช และ กินทั้งพืชและเนื้อ ไม่มีผลนัยยะต่อการแสดงออกของ CYP1A ผลการศึกษาบ่งชี้การปนเปื้อนของ CYP1A inducer ได้ทั้งสองสถานี ในหอยแมลงภู่ทั้งอ่างศิลาและมาบตาพุดพบ 100% ทั้งสองสถานี ทั้งปีพ.ศ. 2556 และ 2555 แต่ความเข้มของแบนตัวชี้วัดชีวภาพมีความเข้มต่างกันในตัวอย่าง การแสดงออกของ MT (ขนาด 10 kDa) ในปีพ.ศ. 2556 จากอ่างศิลา พบมีจำนวน 10 จาก 60 ตัวอย่าง (16.6%) จากมาบตาพุด พบมีจำนวน 34 จาก 60 ตัวอย่าง (56.7%) พบจำนวนน้อยกว่าในปีพ.ศ. 2555 จากอ่างศิลาพบมีจำนวน 16 จาก 60 ตัวอย่าง (26.6%) ส่วนมาบตาพุด พบมีจำนวน 22 จาก 60 ตัวอย่าง (36.6%) ซึ่งผลไม่สอดคล้องกับการวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อน ทั้งนี้จะเนื่องมาจากชนิดของปลาทะเลจากมาบตาพุดต่างชนิดกันทั้งสองปี ส่วนผล CYP1A ในหอยแมลงภู่ทั้งในปีพ.ศ. 2556 และ 2555 พบ 100% จึงถือว่าเป็นสัตว์ทะเลที่ไม่เคลื่อนที่และมีการสร้าง CYP1A ประสิทธิภาพต่ำกว่าในปลาทะเลชนิดต่างๆ สิ่งมีชีวิตที่มีการนำมาใช้ในการตรวจติดตามมลพิษสิ่งแวดล้อมทางน้ำที่มีการใช้บริเวณ Southeast Asia คือ หอยแมลงภู่ mytilid mussel, *Perna viridis* (Nicholson & Lam, 2005)

พฤติกรรมการบริโภคของหญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดและอ่างศิลา มีความแตกต่างกันทั้งในด้านความถี่ของการบริโภคอาหารทะเลสด การปรุงประกอบอาหารเองที่บ้าน และแหล่งซื้ออาหารทะเลสด ($p < 0.001$) เนื่องจากหญิงตั้งครรภ์ในพื้นที่อ่างศิลามีสัดส่วนของคนท้องถิ่นสูงกว่ามาบตาพุด ส่วนใหญ่เป็นแม่บ้านหรือรับจ้างเล็กๆ น้อยๆ บริเวณใกล้บ้าน เช่น แกะหอยนางรม ในขณะที่หญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดส่วนใหญ่เป็นผู้ที่ย้ายถิ่นมาจากที่อื่น และประกอบอาชีพรับจ้างในโรงงานอุตสาหกรรม ด้วยบริบทที่ค่อนข้างแตกต่างกัน จึงส่งผลให้วิถีชีวิตและพฤติกรรมการบริโภคมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่สำหรับพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลของเด็กนักเรียนในมาบตาพุดและอ่างศิลา พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.12$) อาจเนื่องจาก อย่างน้อยมี 1 มื้อกลางวันที่ได้รับประทานอาหารที่โรงเรียน ซึ่งทางโรงเรียนจัดหาอาหารกลางวันให้ และอาหารที่ทางโรงเรียนจัดให้ส่วนใหญ่ก็เป็นเนื้อหมู ไก่ และไข่ เป็นส่วนมาก (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ผลการวิจัยในส่วนนี้ขัดแย้งกับรายงานวิจัยที่ศึกษาพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลของประชาชนทั่วไปในมาบตาพุดและอ่างศิลา ซึ่งพบว่า มีความแตกต่างของพฤติกรรมบริโภคทั้งในด้านความถี่ของการบริโภคอาหารทะเลสด การปรุงประกอบอาหารเองที่บ้าน แหล่งซื้ออาหารทะเลสด และการปรุงสุกอาหารทะเลที่ $p < 0.001$ (ปภาศิริ บาร์เนทและคณะ, 2555)

ในส่วนของชนิดอาหารทะเล พบว่า หญิงตั้งครรภ์ของทั้งสองพื้นที่มีความนิยมในการบริโภคที่ไม่แตกต่างกัน โดยนิยมบริโภคปลาหมึกมากที่สุด รองลงมาคือ กุ้ง ปลาหมึก หอยแมลงภู่ และหอยแครงตามลำดับ ในขณะที่เด็กนักเรียนของมาบตาพุดและอ่างศิลา ก็มีการบริโภคปลาหมึกมากที่สุด รองลงมาคือ ปลาหมึก กุ้ง ปู และหอยแมลงภู่ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ทั้งหญิงตั้งครรภ์และเด็กนักเรียนในตำบลอ่างศิลามีความถี่ในการบริโภคปลามากกว่า อาจจะเป็นเพราะเป็นชุมชนขนาดเล็ก และอยู่ใกล้ทะเล

เมื่อเปรียบเทียบความรู้ ความเข้าใจและการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเล พบว่า หญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดและอ่างศิลามีความรู้ ความเข้าใจและมีการรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนักอยู่ในระดับน้อยและไม่แตกต่างจากหญิงตั้งครรภ์ในอ่างศิลา อาจเนื่องจากผลกระทบต่อสุขภาพของสารเคมีที่ปนเปื้อนในอาหารทะเล ส่วนใหญ่ต้องใช้เวลาในการก่อโรคนาน หญิงตั้งครรภ์จึงไม่ค่อยใส่ใจในเรื่องความเสี่ยงต่อสุขภาพจากการสัมผัสโลหะหนักหรือสารเคมีอื่นๆ ที่ปนเปื้อนในอาหารทะเล

ส่วนเด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุด มีความรู้และมีการรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนักสูงกว่าเด็กนักเรียนในอ่างศิลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องจากตำบลมาบตาพุด เป็นพื้นที่ตั้งของอุตสาหกรรมหนัก และมีการปนเปื้อนสารเคมีในสิ่งแวดล้อมในปริมาณที่สูง (กรมควบคุมมลพิษ, 2554; นสธ., 2554) และได้ถูกประกาศให้เป็นพื้นที่ควบคุมมลพิษ ส่งผลให้ทางโรงเรียนมีการเสริมความรู้เกี่ยวกับการปนเปื้อนสารเคมีในสิ่งแวดล้อมเข้าไปในหลักสูตรการเรียนการสอนปกติ จึงส่งผลให้เด็กนักเรียนในมาบตาพุดได้รับข้อมูลข่าวสารในเรื่องดังกล่าวมากกว่าเด็กนักเรียนในอ่างศิลา อย่างไรก็ตาม การได้รับข่าวสารข้อมูลเกี่ยวกับการบริโภคอาหารทะเล ก็ได้มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมบริโภค

อาหารทะเลแต่อย่างใด โดยจะเห็นได้ว่า เด็กนักเรียนในมาบตาพุด มีความถี่ในการรับประทานอาหารทะเลมากกว่าเด็กนักเรียนในอ่างศิลา

สรุปผลวิจัย

1. แคดเมียมในกล้ามเนื้อและตับปลาในปี 2556 จากผลการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ Cadmium ระหว่างบริเวณแหล่งอาศัยและชนิดเนื้อเยื่อของปลาด้วยสถิติ ANOVA พบว่าในทั้งสองสถานความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของแคดเมียมในตับปลามีค่าสูงกว่ากล้ามเนื้อปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของแคดเมียมในเนื้อเยื่อตับและกล้ามเนื้อปลาที่อาศัยบริเวณอ่างศิลาและบริเวณมาบตาพุด ($p > 0.05$)

2. ผลการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแคดเมียมระหว่างบริเวณแหล่งอาศัยและขนาดของหอยแมลงภู่ ด้วยสถิติ ANOVA พบว่าในทั้งสองสถานความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ Cadmium ในหอยแมลงภู่ขนาดเล็กมีค่าสูงกว่าหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และพบความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของแคดเมียมในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่และหอยแมลงภู่ขนาดเล็กที่อาศัยบริเวณอ่างศิลามีค่าสูงกว่าบริเวณมาบตาพุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

3 ผลการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ PAHs ระหว่างบริเวณแหล่งอาศัยและชนิดเนื้อเยื่อของปลาด้วยสถิติ ANOVA พบว่าในทั้งสองสถานความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในตับปลามีค่าสูงกว่ากล้ามเนื้อปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในเนื้อเยื่อตับและกล้ามเนื้อปลาที่อาศัยบริเวณอ่างศิลาและบริเวณมาบตาพุด ($p > 0.05$)

4. ผลการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ PAHs ระหว่างบริเวณแหล่งอาศัยและขนาดของหอยแมลงภู่ ด้วยสถิติ ANOVA พบว่าในทั้งสองสถานความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่มีค่าสูงกว่าหอยแมลงภู่ขนาดเล็กอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และพบความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มข้นของ PAHs ในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่และหอยแมลงภู่ขนาดเล็กที่อาศัยบริเวณมาบตาพุดมีค่าสูงกว่าอ่างศิลา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

5. การแสดงออกของ CYP1A (ขนาด 76/54 kDa) ในปลาทะเลด้วยเทคนิคแอนติบอดี จากอ่างศิลาพบมีผลบวกจำนวน 44 จาก 60 ตัวอย่าง (73.3%) ส่วนมาบตาพุด พบมีจำนวน 48 จาก 60 ตัวอย่าง (80%) การแสดงออกของ MT (ขนาด 10 kDa) จากอ่างศิลาพบมีจำนวน 10 จาก 60 ตัวอย่าง (16.6%) ส่วนมาบตาพุด พบมีจำนวน 34 จาก 60 ตัวอย่าง (56.7%) โดยประเภทปลาทะเลชนิดการกินอาหาร (กินเนื้อ กินพืช และ กินทั้งพืชและเนื้อ) ไม่มีผลนัยยะต่อการแสดงออกของ CYP1A

6. ผลการตรวจการแสดงออกของ CYP1A (56 kDa) ด้วยเทคนิคแอนติบอดี ในหอยแมลงภู่ทั้งอ่างศิลาและมาบตาพุดพบ 100% ทั้งสองสถาน แต่ความเข้มของแบนด์ตัวชี้วัดชีวภาพมีการจับด้วยความเข้มต่างกันในตัวอย่าง โดยอ่างศิลาหอยขนาดทั้งใหญ่และขนาดเล็กมีการจับของแอนติบอดีกับแอนติเจนความเข้มบาง (+) และความเข้มปานกลาง (++) เท่านั้น ส่วนมาบตาพุดหอยขนาดทั้งเล็กและใหญ่มีความเข้มปานกลาง (++) และเข้มมาก (+++) เท่านั้น ภาพการแสดงออกของ CYP1A ใน

ต่อมอาหารหอยแมลงภู่ ถูกจับจำเพาะด้วยโพลีโคลนอลแอนติบอดีบนกระดาษไนโตรเซลลูโลสเมมเบรน ให้ผลบวกทุกเลนที่ 56 kDa เมื่อเปรียบเทียบกับหอยแมลงภู่เลี้ยงจากจังหวัดตราดพบความเข้มบาง (+) เท่านั้น

7. ชนิดของ PAHs จาก 16 ตัวที่เป็นพิษสามารถตรวจพบจากทั้งปลาทะเลพบเป็นสารขนาดมวลโมเลกุลเล็กมีชนิดที่พบในปลา 3 ชนิดเท่านั้นคือ Phenanthrene (PHE), Pyrene (PYR), Fluoranthene (FLA) ส่วนชนิดของ PAHs จาก 16 ตัวที่เป็นพิษสามารถตรวจพบหอยแมลงภู่พบเป็นสารขนาดมวลโมเลกุลเล็กมีชนิดที่พบ ในหอยแมลงภู่ขนาดใหญ่คือ Acenaphthylene (ACY), Phenanthrene (PHE), Fluoranthene (FLA), Pyrene (PYR), Chrysene (CHR) ในหอยแมลงภู่ขนาดเล็กคือ Phenanthrene (PHE), Fluoranthene (FLA), Pyrene (PYR), Chrysene (CHR)

8. หญิงตั้งครรภ์จากอ่างศิลาและมาบตาพุดมีพฤติกรรมการบริโภค มีความแตกต่างกัน แต่ความรู้ความเข้าใจและการรับรู้ความเสี่ยงจากการบริโภคอาหารทะเล พบว่า หญิงตั้งครรภ์ในมาบตาพุดและอ่างศิลามีความรู้ ความเข้าใจและมีการรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนักอยู่ในระดับน้อยและไม่แตกต่างจากหญิงตั้งครรภ์ในอ่างศิลา ส่วนเด็กนักเรียนในพื้นที่มาบตาพุด มีความรู้และมีการรับรู้ความเสี่ยงเกี่ยวกับอาหารทะเลและโลหะหนักสูงกว่าเด็กนักเรียนในอ่างศิลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการได้รับข่าวสารข้อมูลเกี่ยวกับการบริโภคอาหารทะเล ก็ได้มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภคอาหารทะเลแต่อย่างใด โดยจะเห็นได้ว่า เด็กนักเรียนในมาบตาพุด มีความถี่ในการรับประทานอาหารทะเลมากกว่าเด็กนักเรียนในอ่างศิลา

บทที่ 6 เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมมลพิษ. (2545). โครงการประเมินความสามารถในการรองรับมลพิษและการประเมินความเสี่ยงต่อนิเวศน์ทางทะเล. กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 217 หน้า.
- กรมควบคุมมลพิษ. สำนักจัดการคุณภาพอากาศและเสียง สืบค้นจาก <http://aqnis.pcd.go.th/data/VOCS> (เข้าถึงเมื่อ 22 ธันวาคม 2555).
- กองจัดการสารอันตรายและกากของเสีย. (2543). *พีเอเอช*. กรุงเทพฯ: กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.
- ฉัตรภา หัตถโกศล (2556). ข้อดีและข้อควรรู้ของการกินปลาทะเล. ASTV ผู้จัดการออนไลน์. สืบค้นจาก <http://www.manager.co.th/family/ViewNews.aspx?NewsID=9560000026073> (เข้าถึงวันที่ 6 สิงหาคม 2556)
- โชติรัตน์ ศรีสุข (2554). กลยุทธ์การสื่อสารและการรับรู้รูปแบบโครงการความรับผิดชอบต่อสังคมของบริษัท ไทยเบฟเวอเรจ จำกัด (มหาชน). วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาบริหารธุรกิจมหาบัณฑิต สาขาการประกอบการ มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- ดารา ทีปะปาน (2553). การสื่อสารการตลาด. กรุงเทพฯ อมรการพิมพ์.
- เทศบาลเมืองอ่างศิลา (2554). สถิติประชากรจากทะเบียนบ้าน แยกรายพื้นที่ ระดับตำบล, ธันวาคม เทศบาลเมืองมาบตาพุด, กองสวัสดิการสังคม. สถิติประชากรจากทะเบียนบ้าน แยกรายพื้นที่ ระดับ ตำบล, มกราคม 2553.
- นิธิยา รัตนাপนนท์ และวิบูลย์ รัตนูปนนท์ (2543). สารพิษในอาหาร. กรุงเทพมหานคร. อเดียนส์โตร์.
- นันทพร ภัทรพุทธ (2553). สารพิษกับสุขภาพผู้ประกอบการอาชีพ. กรุงเทพมหานคร. โอ เอส พริ้นติ้ง เฮาส์.
- นุจรินทร์ วงศ์อินทร์อยู่ และยรรยงค์ อินทร์ม่วง (2555). การประเมินการรับรู้ความเสี่ยงด้านสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของผู้ประกอบการอาชีพต้มเกลือสินเธาว์ในพื้นที่ ตำบลกุดเรือคำ อำเภอนวนนิวาส จังหวัดสกลนคร. *KKU Res. J.* 17(6): 1012-1029.
- ปัญญา บุญสิน. (2552). ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ก่อกวนอาหารญี่ปุ่น พูจิในห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานคร นครปฐม: มหาวิทยาลัยศิลปากร
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ.2529) เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน http://www.iodinethailand.fda.moph.go.th/food_54/.../P98.pdf
- แผนงานสร้างเสริมนโยบายสาธารณะที่ดี (นสธ) รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการการจัดทำกรอบการประเมิน สิ่งแวดล้อมระดับยุทธศาสตร์ (Strategic Environmental Framework)สู่การเป็นเมืองอุตสาหกรรมเชิงนิเวศ (Eco Industrial Town) กรณีศึกษาพื้นที่มาบตาพุด จ.ระยอง 2554.
- พงศ์พิชาญ พรสินธน์รัชต์. (2552). การรับรู้ภาพลักษณ์ของเครื่องดื่มประเภทสุราที่ผ่านสื่อโทรทัศน์ กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิต

- พรชัย สิทธิศรีณกุล. (2545). *วิทยาการระบาดระดับโมเลกุล*. กรุงเทพฯ: กรุงเทพมหานคร.
- เพลิน ปุณณามระ. (2544). *ปริมาณแคดเมียม ตะกั่ว ทองแดงและสังกะสีในหอยนางรม (Crassostrea commercialis) บริเวณอ่างศิลา*. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตสิ่งแวดล้อม. คณะทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตศรีราชา. 66 หน้า.
- ไพศาล สิทธิกรกุล. (2548). *วิทยานิพนธ์*. กรุงเทพฯ: ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ.
- มนัส สติจินดา. (2538). *โลหะหนักกลุ่มเหล็ก*. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, พิมพ์ครั้งที่ 2. 217 หน้า.
- มณี ชะนะมา. (2546). *ไซโทโครม P450*. *วารสารวิทยาศาสตร์การแพทย์*, 14(1), 67-79.
- มลิวรรณ บุญเสนอ. (2544). *พิษวิทยาสิ่งแวดล้อม*. นครปฐม: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์.
- มัญชุสา ธนิกกุล (2553). ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการบริโภคอาหารของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษา โรงเรียนเทพสุวรรณชาอุวิทยา อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- รวิน ไชโย (2549). อิทธิพลของลักษณะทางประชากรศาสตร์ การรับรู้ ความสนใจ ความรู้และส่วนประสมการตลาดที่มีต่อทัศนคติและการยอมรับสินค้าหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์. สืบค้นจาก http://www.bu.ac.th/knowledgecenter/epaper/july_dec2006/Rawin.pdf (เข้าถึงวันที่ 6 สิงหาคม 2556).
- วรรณปกรณ์ สุดตะนา. (2549). *ภาวะโภชนาการ พฤติกรรมการบริโภคอาหารและวิถีชีวิตที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพของนักศึกษา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์* ขอนแก่น: มหาวิทยาลัย ขอนแก่น
- แววตา ทองระอา ฉลอย มุสิกะ วันชัย วงสุตาวรรณ และอาวุธ หมั่นหาผล. (2548). *การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของสารปรอทในดินตะกอนและน้ำบริเวณอุตสาหกรรมมาบตาพุด*. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยบูรพา. 71 หน้า.
- แววตา ทองระอา วันชัย วงสุตาวรรณ อาวุธ หมั่นหาผล และฉลอย มุสิกะ. (2548). *การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของโลหะหนักในอาหารทะเลในพื้นที่อุตสาหกรรมมาบตาพุดชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก*. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยบูรพา. 87 หน้า.
- ศิริวรรณ ลาภทัพบิมทอง. (2544). *การสะสมของโลหะหนักบางชนิดในหอยเชรชฐกิจบริเวณชายฝั่งทะเลของอ่าวไทย*. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา. 130 หน้า
- ศรีกุล กันทาใจ. (2546). *การตรวจหาโปรตีนชนิดเซลล์ลูอาร์พรีออนในสัตว์เศรษฐกิจของประเทศ* ไทย. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศรีสมบัติ นวนพรัตน์สกุล. (2540). *เอนไซม์ไฮโดรไลติก* พี 450. *วารสารไทยเภสัชสาร*, 21(1), 21-31.
- สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล. (2545). *สภาวะแวดล้อมทางทะเลในบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก*. รายงานการวิจัย. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัย

- บุรพา. 237หน้า.
- สุชาติ ถิ่นแถบ. 2543. การปนเปื้อนของโลหะแคดเมียมและตะกั่วในหอยแมลงภู่งบบริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต. ภาควิชาวาริชศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา. 32 หน้า.
- สุวัจน์ ธีรุต. (2549). *มลพิษทางทะเลและชายฝั่ง*. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- สุวิมล อุทาร์พงศา.(2003). ผลกระทบของแคดเมียมต่อ *Metallothionein mRNA (MTmRNA)* ใน ปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus*) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาชีววิทยา สภาวะแวดล้อม, มหาวิทยาลัยมหิดล.
- สุวรรณา ภาณุตระกูล และ ไพฑูรย์ มกกงไผ่. 2543. การสะสมโลหะหนักบางชนิดใน ตะกอนดินจากปากแม่น้ำบางปะกง. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 30 หน้า.
- สิทธิโชค วรานุสันติกุล. (2546). จิตวิทยาสังคม: ทฤษฎีและการประยุกต์ใช้. บริษัทซีเอ็ดดูเคชั่นจำกัด (มหาชน). สำนักงานจังหวัดระยอง. (2552). *บรรยายสรุปจังหวัดระยอง*. วันที่ค้นข้อมูล 6 ธันวาคม 2552, http://www.rayong.go.th/dataPV/general/summary_rayong.pdf
- อภิรดี เมืองเดช. 2545. ปริมาณโลหะหนักในหอยแครง(*Anadara granosa*) บริเวณปากแม่น้ำบางปะกง. การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 40 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขา วิทยาศาสตร์ สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม 4-7 กุมภาพันธ์ 2545 . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ
- Albers, P.H. (2003). Petroleum and individual polycyclic aromatic hydrocarbons. In D.J. Al-Arabi, S.A.M., & Goksøyr, A. (2002). Cytochrome P4501A responses in two tropical fish species, riverine catfish (*Rita rita*) and marine mudfish (*Apocryptes bato*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 131, 61-71.
- Bainy, A.C.D., Woodin, B.R., & Stegeman, J.J. (1999). Elevated levels of multiple cytochrome P450 forms in Tilapia from Billing reservoir Sao Paulo, Brazil. *Aquatic Toxicology*, 44, 289-309.
- Bianchini, A., Gilles, R. (2000). Is the digestive tract an important route for mercury in the Chinese crab *Eriocheir sinensis* (Crustacea, Decapoda) *Bull. Environmental Contamination and Toxicology*. 64,412-417.
- Carlson, E.A., Li, Y., & Zelikoff, J.T. (2004). Benzo[a]pyrene induced immunotoxicity in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) : relationship between lymphoid CYP1A activity and humoral immune suppression. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 201, 40-52.
- Chutima Thanomsit, Phochit Nantanawat, Britt Wassmur, Johanna Gräns, Malin C. Celandar and Praparsiri Kanchanopas-Barnette. 2013. Characterization of metallothionein from Asian sea bass (*Late calcarifer*, Bloch) and application as a

biomarker for heavy metal exposure in Thailand. *Asian Journal of water, environment and pollution*. 10 (4): 53-64.

Clark, R.B., C. Frid, & M. Attrill. (1997). *Marine pollution*. CLARENDON PRESS. OXFORD. 161.

Clonan A., Holdsworth M., Swift J.A., Leibovici D. and Wilson P. (2011). The dilemma of healthy eating and environmental sustainability: the case of fish. *Public Health Nutrition* 15(2): 277-284

Costa, P. M., Repolhe, T., Caeiro, S., Diniz., M.E., Moura., I, Moura., & Costa, M.H.(2008). Modelling metallothionein induction in the liver of *Sparus aurata* exposed to metal- contaminated sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71, 117-124.

Crooker, P.C., Pozo, P., Castro, H., Dice, M.S., Boutet, I., Tanguy, A., Moraga, D., & Ahearn, G.A. (2003). Cellular localization of calcium, heavy metal, and metallothionein in lobster (*Homarus americanus*) hepatopancreas. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 136, 213-224.

Dabrio, M., Rodríguez, A. R., Bordin, G., Bebianno, M. J., Ley, M. D., Šestáková, I. Vašák, M., Nordberg, M. (2002). Recent development in quantification methods for metallothionein. *Inorganic Biochemistry*, 88, 123-134.

Daniel W.W. (1999). *Biostatistics: A foundation for analysis in the health sciences*. 7th Ed. John Wiley and Sons, Inc.

Davenport TH., and Prusak L. (1998). *Working Knowledge: How Organizations Manage What They Know*. Cambridge, MA: Harvard Business School Press.

Demuyneck, S., Grumiaux, F., Mottier, V., Schikorski, D., Lemiere, S., & Lepretre, A. (2006). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 144, 34-46.

Hoffman, B.A. Ratter, G.A. Burton Jr, & J. Cairns Jr (Eds.), *Handbook of ecotoxicology* (pp. 341-360). Boca Raton: Lewis Publishers.

Honda, R.T., Araujo, R.M., Horta, B.B., Val, A.L. & Demaisi, M. (2005). One- step purification of metallothionein extracted from two different sources. *Journal of Chromatography B*, 820, 205-210.

Geelen A, Schouten JM, Kamphuis C, Stam BE, Burema J, Renkema JMS, Bakker E-J, van't

- Veer P, Kampman E. (2007). Fish consumption, n-3 fatty acids, and colorectal cancer: A meta-analysis of prospective cohort studies. *American Journal of Epidemiology* 166: 1116-1125
- Johnsson, H., Schiedek, D., Goksøyr, A., & Grosvik, B.E. (2006). Expression of cytoskeletal protein, cross reacting with anti CYP1A, in *Mytilus* sp. Exposed to organic contaminants. *Aquatic Toxicology*, 78S, S42-S48.
- Heng XU, Hock-Hai T, Bernard T (2005). Predicting the adoption of location-based services: the role of trust and perceived privacy risk. ICIS 2005 Proceedings. Paper 71. Available from: <http://aisel.aisnet.org/icis2005/71> (accessed Dec 21, 2013).
- Minami, T., Ichida, S., & Kubo, K. (2002). Study of metallothionein using capillary zone electrophoresis. *Chromatography*, 781, 303-311.
- Monserat, J.M., Martinez, P.E., Geracitano, L.A., Amado, L.L., Martins, C.M.G., Pinho, G.L.L., Chaves, I.S., Ferreira-Cravo, M., Ventura-Lima, J., Bianchini, A., 2007. Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 146, 221-234.
- Nakamura Y, Ueshima H, Okamura T, Kadowaki T, Hayakawa T, Kita Y, Tamaki S, Okayama A (2005). Association between fish consumption and all-cause and cause-specific mortality in Japan: NIPPON DATA80, 1980-99. *American Journal of Medicine* 118: 239-245.
- Nicholson, S. & Lam, P.K.S. 2005. Pollution monitoring in Southeast Asia using biomarkers in the mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia). *Environment International*. 31:121-132.
- Nyman, M., Raunio, H., Pelkonen, O., & Helle, E. (2000). Expression and inducibility of members in the cytochrome P4501 (CYP1) family in ringed and grey seals from polluted and less polluted waters. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 8, 217-225.
- Olafson, K.W. & Thompson, J.A.J. (1974). Isolation of heavy metal binding proteins from marine vertebrates. *Marine Biology*. 28: (83-86)
- Oliveira, M., Ahmad, I., Maria, V. L., Serafim, A., Bebianno, M. J., Pacheco, M., & Santos, M. A. (2010). Hepatic metallothionein concentrations in the golden grey mullet (*Liza aurata*)- Relationship with environmental metal concentrations in a metal- contaminated coastal system in a metal- contaminated coastal system in Portugal. *Marine Environmental Research*. 69, 227-233.

- Olsen SO. (2001). Consumer involvement in seafood as family meals in Norway: an application of the expectancy-value approach. *Appetite* 36:173-186.
- Olsen SO. (2003). Understanding the relationship between age and seafood consumption: the mediating role of attitude, health involvement and convenience. *Food Quality and Preference* 14:199-209
- Olsen SO, Scholderer J, Brunso K, Verbeke W. (2007). Exploring the relationship between convenience and fish consumption: A cross-cultural study. *Appetite* 49:84-91.
- Park, J.S., Chung, S., Park, I.S., Kim, Y., Koh, C.H., & Lee, S. (2002). Purification and characterization of metallothionein-like cadmium binding protein from Asian periwinkle *Littorina brevicula*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 131, 425-431.
- Peakall, D. W., Walker, C.H. (1994). The role of biomarkers in environmental assessment (3). *Ecotoxicology* 3, 173-179.
- Pieniak Z, Verbeke W, Perez-Cueto F, Brunsø K, De Henauw S. (2008). Fish consumption and its motives in households with versus without self-reported medical history of CVD: A consumer survey from five European countries. *BMC Public Health* 8; 306-320.
- Peters, L.D., Nasci, C., & Livingstone, R.D. (1998). Immunochemical investigations of cytochrome P450 forms/epitope (CYP1A, 2B, 2E, 3A and 4A) in digestive of *Mytilus* sp. *Comparative Biochemistry and physiology*, 121, 361-369.
- Praparsiri Kachanopas-Barnette, Phaithoon Mekkongpai, Britt Wassmur, Malin C. Celander and Pichan Sawangwong. 2010. Molecular characterization of cytochrome P450 1A (CYP1A) in Asian sea bass (*Lateolabrax niloticus* Bloch) and its application as a biomarker in the Gulf of Thailand. *Asian Journal of water, environment and pollution*. 7 (2): 43-51.
- Rice, C.D., Schlenk, D., Ainsworth, J., & Goksøyr, A. (1998). Cross-reactivity of monoclonal antibodies against peptide 227-249 of rainbow trout CYP1A with hepatic CYP1A among fish. *Marine Environmental Research*, 46(1-5), 87-91.
- Sarkar, A., Ray, D., & Shrivastava, A.N. (2006). Molecular Biomarkers: Their significance and application in marine pollution monitoring. *Ecotoxicology*, 15, 333-340.
- Schlenk, D., Brouwer, M. (1993). Introduction of metallothionein mRNA in the blue crab (*Callinectes sapidus*) after treatment with cadmium. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 104, 317-321.
- Schleizinger, J.J., Parker, C., Zeldin, P.C., & Stegeman, J.J. (1998). Arachidonic acid metabolism in the marine fish *Stenotomus chrysops* (scup) and the effect of cytochrome P450 1A inducers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 353(2), 265-275.

- Schmidt E, Skou H, Christensen J, Dyerberg J (2000). n – 3 Fatty acids from fish and coronary artery disease: implications for public health. Review. Public Health Nutrition 3: 91-98.
- Scientific Advisory Committee on Nutrition, Committee on Toxicity (2004). Advice on Fish Consumption: Benefits and Risks. London: The Stationery Office.
- Serra, R., Carpené, E., Marcantonio, A.C. and Isani, G. (1995). Cadmium accumulation and Cd-binding proteins in the bivalve *Scapharca inaequivalvis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Endocrinology*. 111: 2, 165-174.
- Short, J. W., & Springman, K. R. (2006). Identification of hydrocarbons in biological samples for source determination. In Z. Wang, & S. Stout (Eds.), *Oil Spill Environmental Forensics - Fingerprinting and Source Identification*. pp 381-403.
- Tapiro, H., & Tew, K. D. (2003). Trace elements in human physiology and pathology zinc and metallothionein. *Biomedical & Pharmacotherapy*, 57, 399-411.
- Terry PD, Rohan TE and Wolk A (2003). Intakes of fish and marine fatty acids and the risks of cancers of the breast and prostate and of other hormone related cancers: a review of the epidemiological evidence. *Am J Clin Nutr* 77, 532–543.
- Trisciani, A., Corsi, I., Torre, C.D., Perra, G. and Focardi, S. (2011). Hepatic biotransformation genes and enzymes and PAH metabolites in bile of common sole (*Solea solea*, Linnaeus, 1758) from an oil-contaminated site in the Mediterranean Sea: A field study. *Marine Pollution Bulletin*. 62: 806-814.
- Verbeke W, Sioen I, Pieniak Z, Van Camp J, De Henauw S. (2005). Consumer perception versus scientific evidence about health benefits and safety risks from fish consumption. *Public Health Nutrition* 8: 422-429.
- WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS). (1993). Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. *Environmental Health Criteria 155*, World Health Organization, Geneva.
- Wu, J.P., & Chen, H.C. (2005). Metallothionein induction and heavy metal accumulation in white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to cadmium and zinc. *Comparative Biochemistry and physiology Part C*. 140, 383-394.
- Yawetz, A., Woodin, B.R., & Stegeman, J.J. (1998a). Cytochrome P450 in liver of the turtle *Chrysemys picta picta* and the induction and partial purification of CYP1A-like proteins. *Biochemical et Biophysica Acta*, 1381, 12-26.
- Yawetz, A., Zilberman, B., Woodin, B., & Stegeman, J.J. (1998b). Cytochrome P450 1A,

P450 3A and P450 2B in liver and heart of *Mugil capito* treated with CYP1A inducers. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 6, 13-25.

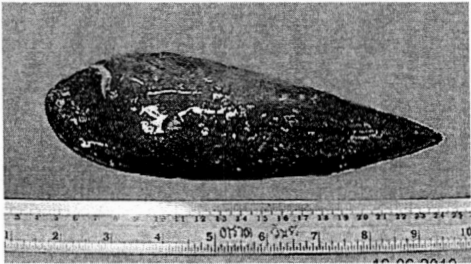
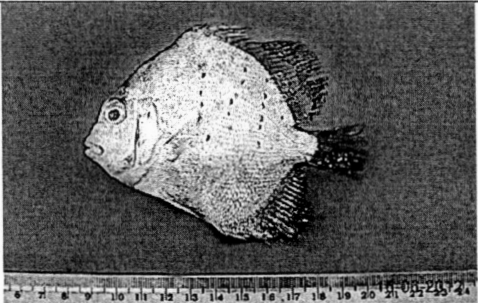
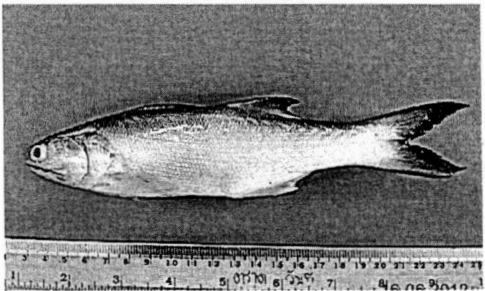
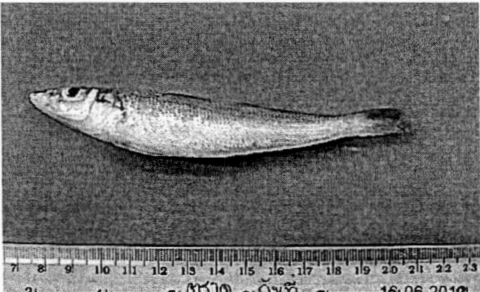
Yudkovski, Y., Wrzesinska, A.R., YanKelevich, I., Shefer, E., Herut, B., & Tom, M. (2008).

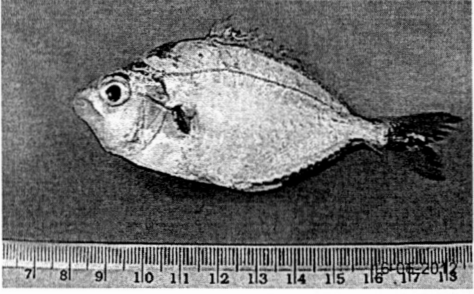
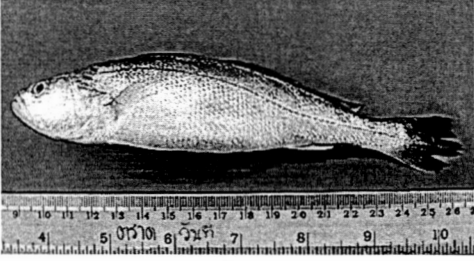
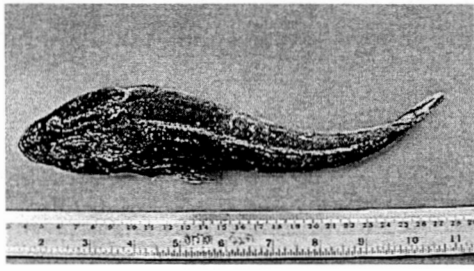
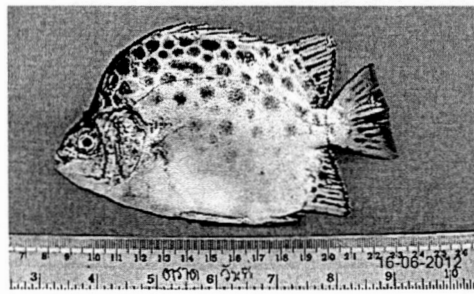
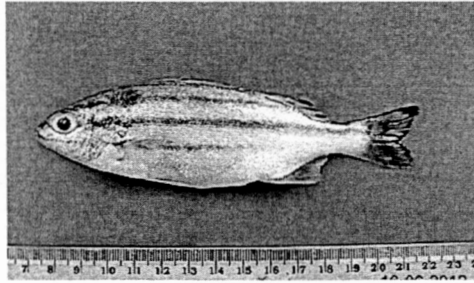
Quantitative immunochemical evaluation of fish metallothionein upon exposure to cadmium. *Marine Environmental Research*. 65, 427-436.

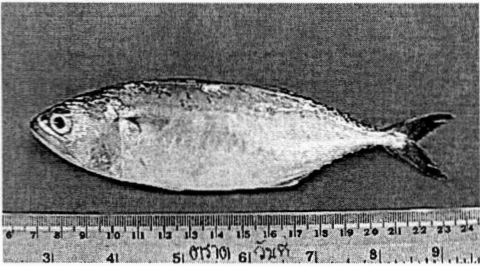
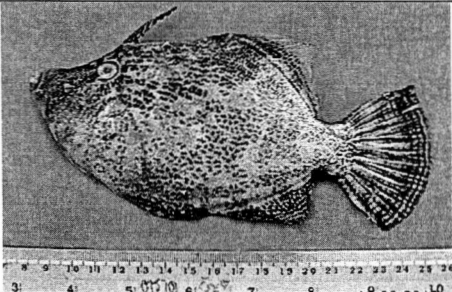
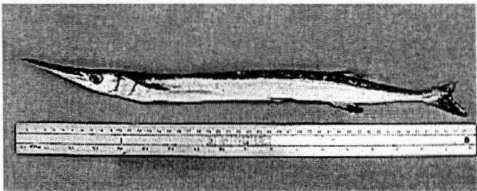
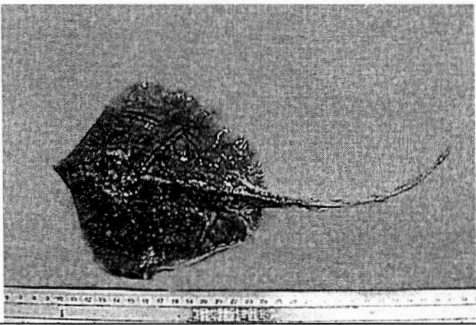
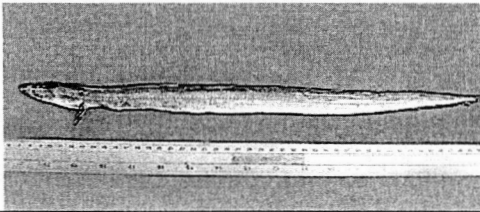
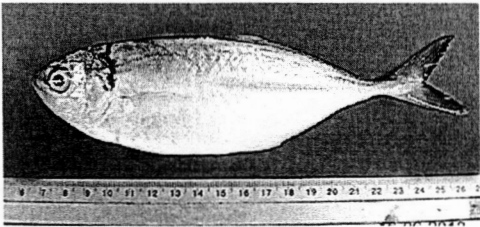
ภาคผนวก

ตัวอย่างปลาทะเลและหอยแมลงภู่วิเคราะห์โครงการ การประเมินผลกระทบของโลหะหนักและสารอินทรีย์
ไฮโดรคาร์บอนต่อสัตว์ทะเลตามแนวชายฝั่งทะเลอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง

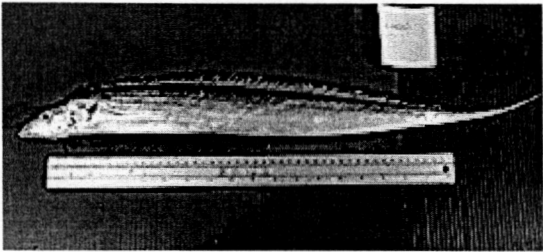
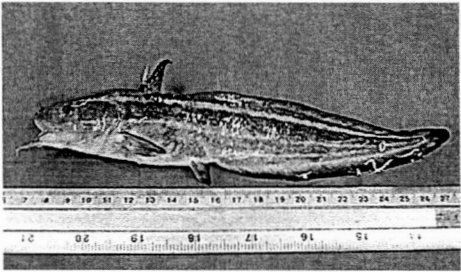
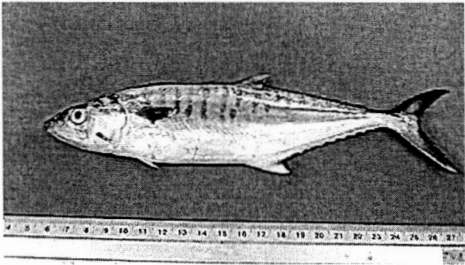
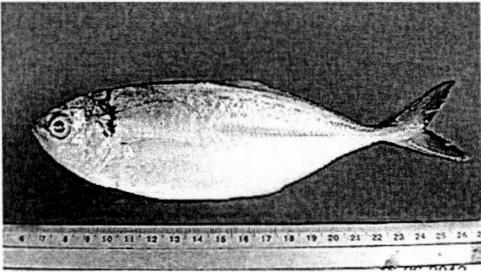
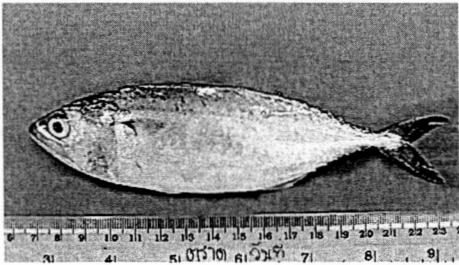
ตารางที่ 1 ปลาทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

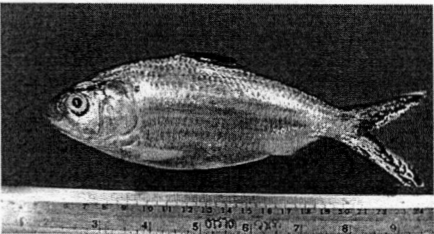
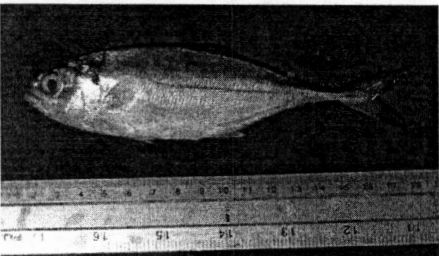
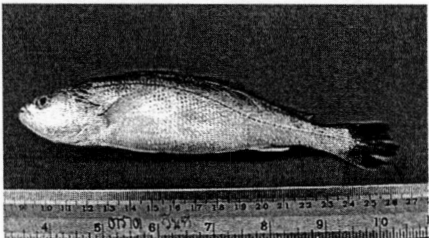
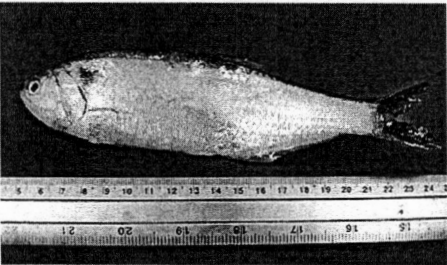
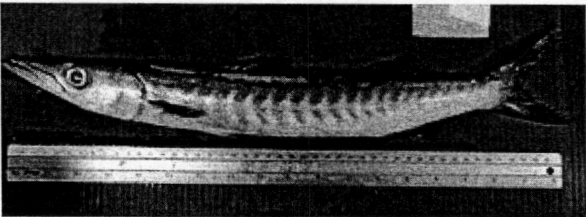
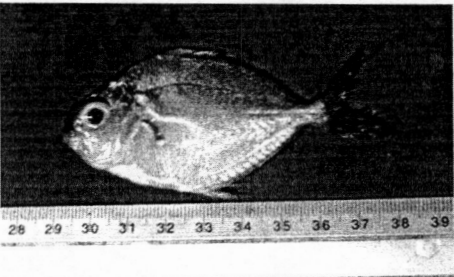
1. ปลาลิ้นหมา <i>Synaptura panoides</i>	
2. ปลาใบปอ <i>Depane punctata</i>	
3. ปลากุลเลา <i>Eleutheronema tetradactylum</i>	
4. ปลาเห็ดโคน <i>Sillago maculata</i>	

5. ปลาเป็นจุดดำ <i>Leiognathus blochii</i>	
6. ปลาจวด <i>Johnius carouna</i>	
7. ปลาข้างเหยียบ <i>Grammoplites scaber</i>	
8. ปลาตะกรับเลือดดาว <i>Scatophagus argus</i>	
9. ปลาข้างตะเกา <i>Terapon jarbua</i>	

10. ปลาหู <i>Rastrelliger brachysoma</i>	
11. ปลาหัวหางพัด <i>Monacanthus chinensis</i>	
12. ปลากระทุงเหว <i>Ablennes hians</i>	
13. ปลากระบาง <i>Himantura signifier</i>	
14. ปลาไหลทะเล <i>Anguilla bicolor</i>	
15. ปลาสีgun <i>Alepes vari</i>	

ตารางที่ 2 ปลาทะเลจากมาบตาพุด และหาดแม่รำพึง-เขาแหลมหญ้า* จังหวัดระยอง

1. * ปลาดาบเงินใหญ่ Trichiurus lepturus	
2. ปลาปิ่นแก้ว Plotosus lineatus	
3. ปลาอินทรีขี้บัง Scomberomorus commersoni	
4. ปลาตีนกุน Alepes djedaba	
5. ปลาทุ Rastrelliger brachysoma	

6. ปลาดะเพียนน้ำเค็ม <i>Anodontostoma chacunda</i>	
7. ปลาหางแข็ง <i>Megalaspis cordyla</i> (Linnaeus, 1758)	
8. ปลาจวด <i>Johnius carouna</i>	
9. ปลาแมว* <i>Setipinna melanochir</i>	
10. ปลาสาครคำ* <i>Sphyraena genie</i>	
11. ปลาเป็นัยักษ์* <i>Leiognathus fasciatus</i>	

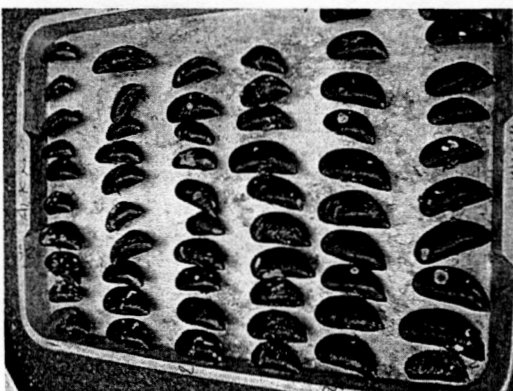
หมายเหตุ: * ตัวอย่างเก็บจากชายฝั่งทะเลหาดแม่รำพึง-เขาแหลมหญ้า



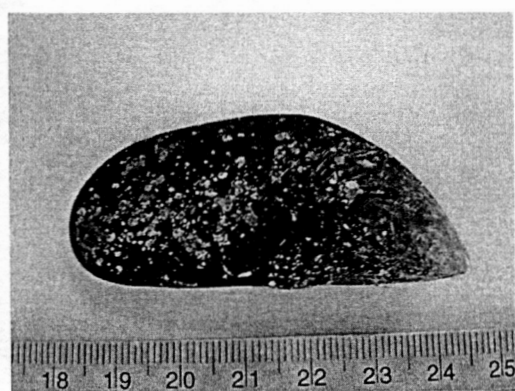
ภาพการเตรียมปล่อยอวนลอยในการจับปลาทะเล ภาพการเตรียมปล่อยอวนลอยปลาทะเลในตอนเช้า



ภาพปลาทะเลแยกชนิด ชั่งน้ำหนักโดยชาวประมง ภาพปลาทะเลแยกชนิด ชั่งน้ำหนักในห้องปฏิบัติการ



ภาพหอยแมลงภู่อำนาจขนาด



ภาพหอยแมลงภู่วัดขนาด และชั่งน้ำหนัก

ตัวอย่างปลาทะเลและหอยแมลงภู๋โครงการ การประเมินผลกระทบของโลหะหนักและสารอินทรีย์ไฮโดรคาร์บอนต่อสัตว์ทะเลตามแนวชายฝั่งทะเลอุตสาหกรรมมาบตาพุด
 จังหวัดระยอง ปี 2556

ตารางที่ 1 ตัวอย่างปลาทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี จำนวน 60 ตัวอย่าง

Sample	ID	Weight/Total length	Number of fish/sample	CYP1A		MT (~10 kDa)	Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.	Note. PAHs & Cd
				Result	Band (kDa)				
ปลาฉลาม <i>Synaptura panoides</i>	FA1 L	50.0-90.0 g / 20.0-28.7 cm	15	+, +++	74,56	-	0.0742	0.9303	Liver
	FA1 M			+, +++	74,56	-	0.0421	ND	Muscle
	FA2 L	60.0-120.0 g / 21.1-31.5 cm	15	++, +++	74,56	-	0.1163	0.6923	Liver
	FA2 M			++, +++	74,56	-	0.0933	0.0011	Muscle
	FA3 L	40.0-120.0 g / 20.0-32.0 cm	15	+, +++	74,56	-	0.2713	2.6809	Liver
	FA3 M			+, +++	74,56	-	0.0888	ND	Muscle
ปลาใบปอ <i>Depane punctata</i>	FA4 L	50.0-120.0 g / 11.2 - 17.6 cm	15	-, ++	-,56	+	0.1364	0.2020	Liver
	FA4 M			-, ++	-,56	+	0.0311	ND	Muscle
	FA5 L	30.0 - 110.0 g / 9.5 - 15.5 cm	15	-, +	-,56	+	0.1308	0.1678	Liver
	FA5 M			-, +	-,56	+	0.1088	0.0010	Muscle
ปลาทุเลา <i>Eleutheronema tetradactylum</i>	FA6 L	140.0 - 330.0 / 24.9 - 33.7 cm	15	+, +	74,56	-	0.0654	0.0602	Liver
	FA6 M			+, +	74,56	-	0.0611	0.0016	Muscle
	FA7 L	85.0 - 300.0 g / 20.0 - 33.5 cm	15	++, +	74,56	-	0.1057	0.0609	Liver
	FA7 M			++, +	74,56	-	0.0566	ND	Muscle

หมายเหตุ : F = Fish samples , A= Angsila , L= Liver , M= muscle , - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 2 ตัวอย่างปลาทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี จำนวน 60 ตัวอย่าง (ต่อ)

Sample	ID	Weight/Total length	Number of fish/sample	CYP1A		MT (~10 kDa)	Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.	Note. PAHs & Cd
				Result	Band (kDa)				
ปลาเห็ดโคน	FA8 L	10.0 - 30.0 g / 11.0 - 14.0 cm	50	++ , ++	74,56	-	0.1154	0.0748	Liver
<i>Sillago maculata</i>	FA8 M			++ , ++	74,56	-	0.0305	0.0058	Muscle
ปลาเป็นจุดดำ	FA9 L	10.0 - 25.0 g / 7.6 - 11.2 cm	100	++ , +++	74,56	-	0.2331	0.3331	Liver
<i>Leiognathus blochii</i>	FA9 M			++ , +++	74,56	-	0.0553	0.0030	Muscle
ปลาจวด	FA10 L	30.0 - 70.0 g / 14.0 - 17.9 cm	30	- , +	- , 56	-	0.1595	0.1215	Liver
<i>Johnius carouna</i>	FA10 M			- , +	- , 56	-	0.0462	ND	Muscle
ปลาสิğun 1	FA11 L	20.0-90.0 g. / 10.9-20.0 cm.	30	- , -	- , -	-	ND	2.5532	Liver
<i>Alepes djedaba</i>	FA11 M			- , -	- , -	-	ND	0.0176	Muscle
ปลาข้างตะเกา 1	FA12 L	50.0-90.0 g. / 14.5-17.8 cm.	30	++ , ++	74,56	-	0.0371	0.9872	Liver
<i>Terapon jarbua</i>	FA12 M			++ , ++	74,56	-	ND	0.0031	Muscle
ปลาข้างเหยียบ	FA13 L	40.0 - 100.0 g / 19.3 - 25.0 cm	15	++ , ++	74,56	-	0.2597	0.0123	Liver
<i>Grammoplistes scaber</i>	FA13 M			++ , ++	74,56	-	0.0226	ND	Muscle
ปลาตะกรับเสือดาว	FA14 L	40.0 - 150.0 g / 11.5 - 17.3 cm	15	- , -	- , -	++	0.0565	0.2736	Liver
<i>Scatophagus argus</i>	FA14 M			- , -	- , -	++	0.0732	ND	Muscle
	FA15 L	40.0 - 160.0 g / 10.6 - 18.0 cm	15	- , -	- , -	++	0.1237	0.4212	Liver
	FA15 M			- , -	- , -	++	0.0306	0.0039	Muscle

หมายเหตุ : F = Fish samples , A= Angsila , L= Liver , M= muscle , - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 3 ตัวอย่างปลาทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี จำนวน 60 ตัวอย่าง (ต่อ)

Sample	ID	Weight/Total length	Number of fish/sample	CYP1A		MT (~10 kDa)	Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.	Note. PAHs &Cd
				Result	Band (kDa)				
ปลาข้างตะเกา 2 <i>Terapon jarbua</i>	FA16 L	50.0 - 100.0 g / 13.3 - 17.6 cm	30	+, +	74,56	+	ND	1.4457	Liver
	FA16 M			+, +	74,56	+	ND	0.0095	Muscle
ปลาทุ <i>Rastrelliger brachysoma</i>	FA17 L	20.0 - 40.0 g / 11.8 - 15.9 cm	50	++, +	74,56	-	0.1004	0.2242	Liver
	FA17 M			++, +	74,56	-	0.1340	0.0013	Muscle
	FA18 L	20.0 - 50.0 g / 11.6 - 15.5 cm	50	++, +	74,56	-	0.0936	0.2065	Liver
	FA18 M			++, +	74,56	-	0.0401	0.0028	Muscle
	FA19 L	20.0 - 60.0 g / 12.1 - 17.2 cm	50	+++ , ++	74,56	-	0.2470	0.1799	Liver
	FA19 M			+++ , ++	74,56	-	0.0460	0.0026	Muscle
	FA20 L	50.0 - 70.0 g / 15.2 - 17.4 cm	50	+++ , ++	74,56	-	0.1202	0.3096	Liver
	FA20 M			+++ , ++	74,56	-	ND	0.0017	Muscle
	FA21 L	20.0 - 70.0 g / 11.7 - 17.3 cm	50	++++ , +++	74,56	-	0.0595	0.3187	Liver
	FA21 M			++++ , +++	74,56	-	0.0480	0.0018	Muscle
	FA22 L	40.0 - 90.0 g / 15.0 - 20.0 cm	50	++++ , ++	74,56	-	0.0511	0.2446	Liver
	FA22 M			++++ , ++	74,56	-	0.0179	0.0030	Muscle
ปลาหัวหางพัด <i>Monacanthus chinensis</i>	FA23 L	40.0 - 100.0 g / 12.6 - 17.5 cm	15	-, -	-, -	-	0.1217	0.0079	Liver
	FA23 M			-, -	-, -	-	0.0253	ND	Muscle

หมายเหตุ : F = Fish samples , A= Angsila , L= Liver , M= muscle , - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก, ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 4 ตัวอย่างปลาทะเลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี จำนวน 60 ตัวอย่าง (ต่อ)

Sample	ID	Weight/Total length	Number of fish/sample	CYP1A		MT (~10 kDa)	Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.	Note. PAHs & Cd
				Result	Band (kDa)				
ปลากระทุงเหว <i>Ablennes hians</i>	FA24 L	40.0 - 210.0 g / 31.0 - 49.5 cm	15	- , -	- , -	-	0.1729	0.0452	Liver
	FA24 M			- , -	- , -	-	0.0864	0.0015	Muscle
	FA25 L	150.0 - 430.0 g / 43.7 - 57.3 cm	15	- , ++	- , 56	-	0.0928	0.0165	Liver
	FA25 M			- , ++	- , 56	-	0.0141	0.0013	Muscle
	FA26 L	130.0 - 390.0 g / 42.4 - 58.0 cm	15	- , ++	- , 56	-	0.1845	0.0367	Liver
	FA26 M			- , ++	- , 56	-	ND	0.0014	Muscle
ปลากะบาง <i>Himantura signifier</i>	FA27 L	60.0 - 190.0 g / 26.6 - 52.1 cm	5	- , -	- , -	-	0.5632	0.0811	Liver
	FA27 M			- , -	- , -	-	0.3097	0.0027	Muscle
	FA28 L	60.0 - 210.0 g / 24.4 - 55.5 cm	5	- , -	- , -	-	0.7754	0.0612	Liver
	FA28 M			- , -	- , -	-	0.2710	0.0036	Muscle
ปลาไหลทะเล <i>Anguilla bicolor</i>	FA29 L	90.0 - 220.0 g / 42.0 - 50.5 cm	15	- , -	- , -	-	0.1737	0.2155	Liver
	FA29 M			- , -	- , -	-	0.0561	0.0089	Muscle
ปลาสิ่กุน 2 <i>Alepes djedaba</i>	FA30 L	20.0 - 90.0 g / 10.8 - 21.0 cm	50	++ , ++	74,56	-	0.4404	0.5058	Liver
	FA30 M			++ , ++	74,56	-	ND	0.0033	Muscle

หมายเหตุ : F = Fish samples , A= Angsila , L= Liver , M= muscle , - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 5 ตัวอย่างปลาบาตาพูด และหาดแม่รำพึง- เขาแหลมหญ้า จำนวน 60 ตัวอย่าง

Sample	ID	Weight/Total length	Number of fish/sample	CYP1A		MT (~10 kDa)	Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.	Note. PAHs &Cd
				Result	Band (kDa)				
ปลาบาตาพูด <i>Trichiurus lepturus</i>	FM1 L	50.0-160.0 g / 46.0-61.0 cm	30	+, ++	74,56	-	0.0673	0.0814	Liver
	FM1 M			+, ++	74,56	-	0.0161	0.0025	Muscle
	FM2 L	40.0-160.0 g / 42.7-63.0 cm	30	-, +	-, 56	-	0.0757	0.0854	Liver
	FM2 M			-, +	-, 56	-	0.0567	0.0077	Muscle
	FM3 L	60.0-140.0 g / 46.5-57.4 cm	30	+, +	74,56	++	0.0590	0.0986	Liver
	FM3 M			+, +	74,56	++	0.0326	0.0010	Muscle
	FM4 L	90.0-200.0 g / 48.5-63.0 cm	30	-, +	-, 56	++	0.1315	0.0914	Liver
	FM4 M			-, +	-, 56	++	ND	0.0027	Muscle
	FM5 L	80.0-200.0 g / 46.5-63.0 cm	30	-, +	-, 56	-	0.1008	0.1169	Liver
	FM5 M			-, +	-, 56	-	ND	ND	Muscle
	FM6 L	90.0-200.0 g / 49.0-63.5 cm	30	+, +	74,56	+	0.3435	0.1982	Liver
	FM6 M			+, +	74,56	+	0.0257	0.0025	Muscle
	FM7 L	100.0-230.0 g / 42.0-64.0 cm	30	-, +	-, 56	++	0.1223	0.0997	Liver
	FM7 M			-, +	-, 56	++	ND	0.0010	Muscle
	FM8 L	70.0-190.0 g / 46.0-61.0 cm	30	-, +	-, 56	-	0.2435	0.0974	Liver
	FM8 M			-, +	-, 56	-	0.1347	0.0023	Muscle

หมายเหตุ : F = Fish samples , M= Maptaphut , L= Liver , M= muscle , - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 6 ตัวอย่างปลามาบตาพุด และหาดแม่รำพึง- เขาแหลมหญ้า จำนวน 60 ตัวอย่าง (ต่อ)

Sample	ID	Weight/Total length	Number of fish/sample	CYP1A		MT (~10 kDa)	Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.	Note. PAHs & Cd
				Result	Band (kDa)				
ปลาปิ่นแก้ว <i>Plotosus lineatus</i>	FM9 L	30.0-70.0 g / 17.3-21.6 cm	30	- , -	- , -	-	0.0998	0.0102	Liver
	FM9 M			- , -	- , -	-	ND	0.0011	Muscle
ปลาอินทรีขี้ผึ้ง <i>Scomberomorus commersoni</i>	FM10 L	130.0-270.0 g / 17.2-36.0 cm	30	- , -	- , -	-	0.0932	0.0851	Liver
	FM10 M			- , -	- , -	-	0.0211	0.0063	Muscle
ปลาสิ่กุน <i>Alepes djedaba</i>	FM11 L	10.0-40.0 g / 11.0-16.0 cm	50	- , -	- , -	-	0.1242	0.4934	Liver
	FM11 M			- , -	- , -	-	ND	0.0093	Muscle
ปลาทุ <i>Rastrelliger brachysoma</i>	FM12 L	20.0-55.0 g / 13.0-17.8 cm	50	- , +	- , 56	-	0.0424	1.6588	Liver
	FM12 M			- , +	- , 56	-	ND	0.0049	Muscle
	FM13 L	20.0-45.0 g / 13.5-17.0 cm	50	- , +	- , 56	-	0.1223	0.9841	Liver
	FM13 M			- , +	- , 56	-	ND	0.0048	Muscle
	FM14 L	25.0-60.0 g / 14.0-18.0 cm	50	- , +	- , 56	-	0.2053	0.8278	Liver
	FM14 M			- , +	- , 56	-	0.0369	0.0046	Muscle
ปลาดะเพียนน้ำเค็ม <i>Anodontostoma chacunda</i>	FM15 L	50.0-160.0 g / 16.0-25.0 cm	30	- , -	- , -	++	0.1270	0.1297	Liver
	FM15 M			- , -	- , -	++	ND	0.0012	Muscle
ปลาหางแข็ง <i>Megalaspis cordyla</i>	FM16 L	20.0-40.0 g / 6.2-17.5 cm	50	- , +	- , 56	+++	0.0746	0.3352	Liver
	FM16 M			- , +	- , 56	+++	0.0593	0.0044	Muscle

หมายเหตุ : F = Fish samples , M= Maptaphut , L= Liver , M= muscle , - : ผลลบ , + : ผลบวก , ++ : ผลบวกเข้ม , +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 7 ตัวอย่างปลาบาตาพูด และหาคแม่รำพึง- เขาแหลมหญ้า จำนวน 60 ตัวอย่าง (ต่อ)

Sample	ID	Weight/Total length	Number of fish/sample	CYP1A		MT (~10 kDa)	Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.	Note. PAHs &Cd
				Result	Band (kDa)				
ปลาหางแข็ง <i>Megalaspis cordyla</i> (ต่อ)	FM17 L	25.0-50.0 g / 14.5-17.5 cm	50	- , +	- , 56	+++	0.0727	0.5889	Liver
	FM17 M			- , +	- , 56	+++	ND	0.0069	Muscle
	FM18 L	20.0-45.0 g / 14.5-17.0 cm	50	- , +	- , 56	++	0.1019	0.4873	Liver
	FM18 M			- , +	- , 56	++	ND	0.0071	Muscle
	FM19 L	10.0-70.0 g / 13.3 -18.4 cm	50	- , +	- , 56	++	0.1329	0.4673	Liver
	FM19 M			- , +	- , 56	++	0.0148	0.0062	Muscle
ปลาจวด <i>Johnius carouna</i>	FM20 L	15.0-50.0 g / 11.0-17.5 cm.	30	+ , +	74,56	-	0.1531	0.0469	Liver
	FM20 M			+ , +	74,56	-	0.0383	0.0012	Muscle
ปลาแมว * <i>Setipinna melanochir</i>	FM21 L	30.0-60.0 g / 16.1-19.6 cm.	50	- , +	- , 56	+++	0.1194	0.3352	Liver
	FM21 M			- , +	- , 56	+++	0.1034	0.0029	Muscle
	FM22 L	30.0-55.0 g / 15.2-19.4 cm	50	+ , +	74,56	++	0.0517	0.2575	Liver
	FM22 M			+ , +	74,56	++	0.0297	0.0027	Muscle
	FM23 L	35.0-60.0 g / 15.5-19.5 cm.	50	+ , +	74,56	+++	0.1508	0.1936	Liver
	FM23 M			+ , +	74,56	+++	0.1290	0.0043	Muscle
	FM24 L	25.0-50.0 g / 16.0-19.5 cm	50	- , -	- , -	+++	0.2616	0.3185	Liver
	FM24 M			- , -	- , -	+++	ND	0.0021	Muscle

หมายเหตุ : F = Fish samples , M= Maptaphut , L= Liver , M= muscle , - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด , * ตัวอย่างเก็บจากหาคแม่รำพึง- เขาแหลมหญ้า

ตารางที่ 8 ตัวอย่างปลาบาตาพุด และหาดแม่รำพึง- เขาแหลมหญ้า จำนวน 60 ตัวอย่าง (ต่อ)

Sample	ID	Weight/Total length	Number of fish/sample	CYP1A		MT (~10 kDa)	Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.	Note. PAHs &Cd
				Result	Band (kDa)				
ปลาสาเกคำ * <i>Sphyraena genie</i>	FM25 L	20.0-50 g / 16.0-19.2 cm	50	+, +	74,56	+++	0.2101	0.2634	Liver
	FM25 M			+, +	74,56	+++	0.0606	0.0038	Muscle
	FM26 L	10.0-60.0 g / 13.5-20.0 cm	50	-, -	-, -	+++	0.0663	0.4102	Liver
	FM26 M			-, -	-, -	+++	0.0243	0.0010	Muscle
	FM27 L	300.0-530.0 g / 43.0-50.0 cm	5	+, ++	74,56	++++	0.1146	0.4291	Liver
	FM27 M			+, ++	74,56	++++	0.0807	ND	Muscle
	FM28 L	200.0-510.0 g / 36.2-48.6 cm	5	+, +	74,56	++++	0.1322	0.4003	Liver
	FM28 M			+, +	74,56	++++	0.0184	ND	Muscle
ปลาเป็นยักษ์ * <i>Leiognathus fasciatus</i>	FM29 L	15.0-40.0 g / 10.5-14.5 cm	100	-, +	-, 56	-	0.2391	0.0803	Liver
	FM29 M			-, +	-, 56	-	ND	0.0019	Muscle
ปลาตาบเงินใหญ่ * <i>Trichiurus lepturus</i>	FM30 L	40.0-190.0 g / 38.4-62.0 cm.	30	+, ++	74,56	-	0.1032	0.0842	Liver
	FM30 M			+, ++	74,56	-	0.0916	0.0015	Muscle

หมายเหตุ : F = Fish samples , M= Maptaphut , L= Liver , M= muscle , - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด , * ตัวอย่างเก็บจากหาดแม่รำพึง- เขาแหลมหญ้า

ตารางที่ 9 หอยแมลงภู่อังสิดา จังหวัดชลบุรี จำนวน 40 ตัวอย่าง

Sample	ID	Weight/Total length	CYP1A		Total PAHs	Cd
			Result	Band (kDa)	(ug/g)	ug/g wet wt.
Large Size (>6 cm.) (n=20)	AL1	10.7-47.2 g / 6.1-8.4 cm.	+	56	0.1333	0.0526
	AL2	11.0 - 33.6 g / 6.1-9.0cm.	+	56	0.2408	0.0549
	AL3	11.2-39.1 g / 6.1-9.5 cm	+	56	0.1577	0.0476
	AL4	12.5-21.4 g / 6.1-6.8 cm	+	56	0.1596	0.0530
	AL5	9.2-19.1 g / 6.1-7.0 cm	++	56	0.2993	0.0451
	AL6	8.6-18.7 g / 6.1-7.4 cm	++	56	0.0819	0.0569
	AL7	9.2-21.9 g / 6.1-7.4 cm	++	56	0.0179	0.0488
	AL8	9.3-23.2 g / 6.1-6.7 cm	++	56	0.0434	0.0503
	AL9	12.1 - 17.4 g / 6.1 - 7.0 cm	+	56	0.3447	0.0552
	AL10	9.6 - 18.1 g / 6.1 - 6.8 cm	+	56	0.0879	0.0489
	AL11	10.1 - 18.9 g / 5.5 - 7.0 cm	+	56	0.2156	0.0466
	AL12	10.6 - 19.6 g / 5.5 - 7.0 cm	+	56	0.0513	0.0385
	AL13	10.4 - 22.4 g / 5.5 - 7.0 cm	+	56	0.0479	0.0438
	AL14	9.0 - 21.3 g / 5.5 - 6.7 cm	+	56	0.0800	0.0531
	AL15	8.8 - 20.4 g / 5.8 - 7.0 cm	+	56	0.0707	0.0520
	AL16	13.1 - 18.7 g / 5.0 - 7.3 cm	+	56	0.0836	0.0415

หมายเหตุ : A= Angsila, L=Large , - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 10 หอยแมลงภู่ออกจากอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี จำนวน 40 ตัวอย่าง (ต่อ)

Sample	ID	Weight/Total length	CYP1A		Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.
			Result	Band (kDa)		
Large Size (ต่อ)	AL17	13.7 - 18.4 g / 5.8 - 7.5 cm	+	56	0.0179	0.0547
	AL18	13.2 - 18.7 g / 6.0 - 7.1 cm	+	56	0.0257	0.0430
	AL19	9.8 - 18.3 g / 4.3 - 7.1 cm	+	56	0.1878	0.0413
	AL20	9.6 - 18.1 g / 6.1 - 7.3 cm	+	56	0.0335	0.0420
Small Size	AS1	3.6-9.7 g. / 3.9-4.9 cm.	+	56	0.0182	0.0478
(<5 cm.)	AS2	3.4-9.5 g. / 3.7-4.9 cm	+	56	0.0180	0.0471
(n=20)	AS3	3.2-8.5 g / 3.7-4.9 cm	+	56	0.0640	0.0514
	AS4	3.5-11.5 g / 3.7-4.9 cm	+	56	0.0206	0.0504
	AS5	3.2-10.0 g / 3.8-4.9 cm	++	56	0.1470	0.0410
	AS6	3.0-9.6 g / 2.8-4.9 cm	++	56	0.0515	0.0577
	AS7	2.9-8.5 g / 3.6-4.9 cm	++	56	0.1085	0.0538
	AS8	3.0-8.0 g / 3.5-4.9 cm	++	56	0.0482	0.0515
	AS9	1.8 - 9.6 g / 3.3 - 5.2 cm	+	56	0.0177	0.0492
	AS10	2.9 - 8.3 g / 2.3 - 5.5 cm	+	56	0.1010	0.0561
	AS11	3.3 - 11.8 g / 3.4 - 5.0 cm	+	56	0.0286	0.0614
	AS12	3.3 - 10.1 g / 3.5 - 4.9 cm	+	56	0.0183	0.0541

หมายเหตุ : A= Angsila, L=Large , S = Small, - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก, ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 11 หอยแมลงภู่อังสิดา จังหวัดชลบุรี จำนวน 40 ตัวอย่าง (ต่อ)

Sample	ID	Weight/Total length	CYP1A		Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.
			Result	Band (kDa)		
Small Size (ต่อ)	AS13	2.2 - 9.0 g / 3.3 - 5.0 cm	+	56	0.0178	0.0510
	AS14	3.4 - 8.4 g / 3.5 - 4.9 cm	+	56	0.1147	0.0508
	AS15	2.4 - 8.2 g / 3.6 - 4.7 cm	+	56	0.0199	0.0494
	AS16	3.7 - 9.2 g / 3.2 - 5.3 cm	+	56	0.0807	0.0506
	AS17	4.5 - 10.1 g / 3.2 - 5.3 cm	+	56	0.0188	0.0479
	AS18	5.9 - 11.5 g / 3.2 - 5.2 cm	+	56	0.0460	0.0558
	AS19	5.1 - 11.5 g / 3.2 - 5.1 cm	+	56	0.0182	0.0488
	AS20	6.3 - 13.2 g / 3.1 - 5.1 cm	+	56	0.0572	0.0498

หมายเหตุ : A= Angsila, S = Small, - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก, ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 12 หอยแมลงภู่มานาบาตพุด จังหวัดระยอง จำนวน 40 ตัวอย่าง

Sample	ID	Weight/Total length	CYP1A		Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.
			Result	Band (kDa)		
Large Size (>6 cm.) (n=20)	ML1	12.3 - 23.6 g / 6.1 - 7.3 cm	++	56	0.2266	0.0061
	ML2	10.6 - 29.1 g / 6.1 - 8.0 cm	++	56	0.3739	0.0067
	ML3	10.9 - 27.8 g / 5.6 - 7.7 cm	++	56	0.4953	0.0087
	ML4	6.1 - 23.6 g / 6.1 - 7.3 cm	++	56	0.1721	0.0063
	ML5	10.0 - 23.2 g / 6.1 - 7.6 cm	++	56	0.1604	0.0090
	ML6	9.3 - 21.8 g / 6.1 - 7.1 cm	++	56	0.1614	0.0092
	ML7	8.8 - 21.0 g / 6.1 - 7.0 cm	++	56	0.2868	0.0090
	ML8	7.3 - 20.7 g / 6.1 - 7.1 cm	++	56	0.4845	0.0081
	ML9	9.5 - 21.9 g / 6.1 - 7.0 cm	+++	56	0.1704	0.0086
	ML10	10.1 - 19.4 g / 6.1 - 6.5 cm	++	56	0.5412	0.0104
	ML11	9.6 - 24.0 g / 6.1 - 7.3 cm	++	56	0.2370	0.0150
	ML12	8.4 - 22.6 g / 6.1 - 7.4 cm	+++	56	0.4100	0.0151
	ML13	12.1 - 29.0 g / 6.1 - 8.4 cm	++	56	0.1621	0.0142
	ML14	12.6 - 24.7 g / 6.1 - 7.7 cm	++	56	0.1713	0.0122
	ML15	11.2 - 24.4 g / 6.1 - 7.3 cm	++	56	0.1743	0.0128
	ML16	12.0 - 25.1 g / 6.1 - 7.6 cm	++	56	0.1651	0.0108

หมายเหตุ : M = Maptaphut , L=Large, - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 13 หอยแมลงภู่น้ำจืดจากมาบตาพุด จังหวัดระยอง จำนวน 40 ตัวอย่าง (ต่อ)

Sample	ID	Weight/Total length	CYP1A		Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.
			Result	Band (kDa)		
	ML17	10.4 - 23.0 g / 6.1 - 7.2 cm	++	56	0.1687	0.0108
	ML18	6.0 - 30.4 g / 6.1 - 8.3 cm	++	56	0.1637	0.0092
	ML19	12.6 - 28.5 g / 6.2 - 8.0 cm	++	56	0.1887	0.0121
	ML20	14.0 - 25.8 g / 6.1 - 7.5 cm	++	56	0.1705	0.0132
Small Size (<5 cm.) (n=20)	MS1	4.5 - 12.9 g / 4.0 - 4.9 cm	++	56	0.2561	0.0104
	MS2	4.3 - 15.4 g / 4.0 - 4.9 cm	++	56	0.1129	0.0067
	MS3	3.9 - 11.5 g / 3.2 - 4.9 cm	++	56	0.0519	0.0068
	MS4	3.9 - 13.3 g / 3.6 - 4.9 cm	++	56	0.2562	0.0086
	MS5	3.1 - 11.1 g / 4.0 - 5.0 cm	++	56	0.2282	0.0099
	MS6	4.5 - 11.4 g / 4.0 - 4.9 cm	++	56	0.1511	0.0146
	MS7	4.4 - 12.0 g / 4.0 - 4.9 cm	++	56	0.2228	0.0143
	MS8	5.0 - 13.7 g / 4.0 - 4.9 cm	++	56	0.0431	0.0154
	MS9	4.8 - 10.5 g / 3.2 - 4.9 cm	+++	56	0.3841	0.3017
	MS10	4.6 - 11.4 g / 3.9 - 4.9 cm	+++	56	0.0311	0.0135
	MS11	2.8 - 10.7 g / 3.2 - 4.9 cm	+++	56	0.0546	0.0190
	MS12	3.9 - 12.3 g / 3.7 - 4.9 cm	+++	56	0.4036	0.0220

หมายเหตุ : M = Maptaphut , L=Large, S = Small, - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 14 หอยแมลงภู่น้ำจืดจากมาบตาพุด จังหวัดระยอง จำนวน 40 ตัวอย่าง (ต่อ)

Sample	ID	Weight/Total length	CYP1A		Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.
			Result	Band (kDa)		
	MS13	3.3 - 12.0 g / 3.7 - 4.9 cm	++	56	0.1353	0.0195
	MS14	2.9 - 11.8 g / 3.1 - 4.9 cm	++	56	0.0810	0.0165
	MS15	3.1 - 21.5 g / 2.8 - 4.9 cm	++	56	0.0226	0.0129
	MS16	3.0 - 13.7 g / 3.0 - 4.9 cm	++	56	0.2633	0.0150
	MS17	2.7 - 15.7 g / 3.0 - 4.9 cm	++	56	0.1914	0.0133
	MS18	1.9 - 11.6 g / 2.6 - 4.9 cm	++	56	0.1561	0.0143
	MS19	2.4-11.1 g / 2.7 - 4.9 cm	++	56	0.0229	0.0153
	MS20	2.5 - 11.6 g / 3.0 - 4.9 cm	++	56	0.0704	0.0115

หมายเหตุ : M = Maptaphut , L=Large, S = Small, - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก , ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

ตารางที่ 15 หอยแมลงภู่น้ำจืดจากแหล่งคลอง จังหวัดตราด จำนวน 10 ตัวอย่าง

Sample	ID	Weight/Total length	CYP1A		Total PAHs (ug/g)	Cd ug/g wet wt.
			Result	Band (kDa)		
	T1	18.2 - 51.6 g / 6.0 - 8.6 cm	+	56	0.0000	0.0771
	T2	11.4 - 52.5 g / 6.5 - 8.5 cm	+	56	0.0000	0.0884
	T3	12.8 - 51.6 g / 6.4 - 8.0 cm	+	56	0.0000	0.0715
	T4	18.2 - 50.0 g / 6.2 - 8.6 cm	+	56	0.0000	0.0818
	T5	11.5 - 51.6 g / 6.3 - 9.0 cm	+	56	0.0000	0.0826
	T6	11.8 - 49.0 g / 5.5 - 9.0 cm	+	56	0.0000	0.0749
	T7	12.6 - 50.4 g / 6.0 - 9.5 cm	+	56	0.0000	0.0966
	T8	12.8 - 48.0 g / 6.0 - 9.5 cm	+	56	0.0000	0.0874
	T9	11.3 - 48.3 g / 5.5 - 9.3 cm	+	56	0.0000	0.0742
	T10	13.0 - 39.4 g / 6.0 - 9.0 cm	+	56	0.0000	0.0732

หมายเหตุ : T = Trat, - : ผลลบ, + : ผลบวก, ++ : ผลบวกเข้ม, +++ : ผลบวกเข้มมาก, ++++ : ผลบวกเข้มมากที่สุด

Characterization of Metallothionein from Asian Sea Bass (*Lates calcarifer*, Bloch) and Application as a Biomarker for Heavy Metal Exposure in Thailand

Chutima Thanomsit¹, Phochit Nantanawat², Britt Wassmur³, Johanna Gräns³,
Malin C. Celander³ and Praparsiri Kanchanopas-Barnette^{1, 4, 5*}

¹Environmental Science Program, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

²Department of Biotechnology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

³Department of Biological and Environmental Sciences, University of Gothenburg, Box 463
SE 405 30, Göteborg, Sweden

⁴Center of Excellence on Environmental Health and Toxicology, Bangkok, Thailand

⁵Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

✉ praparsi@buu.ac.th

Received April 12, 2013; revised and accepted September 19, 2013

Abstract: In the present study, metallothionein (MT) proteins and cDNA were isolated from Asian sea bass (*Lates calcarifer*) livers. Immunochemical protocols (i.e. an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and Western blot) were developed for quantification of MT protein levels in Asian sea bass. These were applied to analyze MT protein levels in 15 different feral fish species from two different areas, one urban area Angsila and one industrial area Map Ta Phut in the Gulf of Thailand. An MT protein band was detected in Shrimp scad (*Alepes djadaba*) and Indian ilisha (*Ilisha melastoma*) from both areas. Higher MT protein expressions were seen in shrimp scad from cadmium-contaminated areas near shore as well as off shore. These results suggest that induction of hepatic MT immunoreactive proteins in the shrimp scad may be a good early warning signal for heavy metal exposure in environmental monitoring programmes in Thailand waters. Protocol for quantification of MT mRNA levels in Asian sea bass was developed using quantitative PCR. Asian sea bass were exposed in the lab to different doses of CdNO₃ and sampled at different times after injection. There appears to be a bi-phasic dose-response pattern with highest MT mRNA levels in fish injected with 4 mg CdNO₃/kg. In these fish, the highest expression was seen after one day and lowest induction after three days. These results suggest that induction of MT mRNA levels in Asian sea bass liver can be used as a sensitive early warning signal for cadmium exposure in tropical waters.

Key words: Metallothionein, *Lates calcarifer*, cadmium, fish, tropical waters.

Introduction

The industrial development affects the environment by increased chemical contaminations where most chemicals end up in the aquatic environment. This includes organic chemicals as well as metals. Exposure to metals can lead to harmful effects in fish and other aquatic organisms, either as a result of direct exposure

or indirect exposure via the food chain. Human consumption of fish from areas exposed to metals can result in adverse health effects (Castro-González and Méndez-Armenta, 2008). Hence, it is important to monitor levels of metals in the aquatic environment. However, heavy metals detected in water and sediment samples may not reflect heavy metal contamination in fish as the composition of different metal ions may be

*Corresponding Author

different in the environment compared to that in fish (Adhikari et al., 2009). For example, cadmium can be biomagnified in the aquatic food chain (Ruangsomboon and Wangrat, 2006). Besides, the ionic form of Cd is usually present as oxygen (CdO_2), chloride (CdCl_2) or sulphur (CdSO_4) salts in the environment. In seafood, the CdCl_2 is the most dominant form, because of its higher bioavailability (Castro-González and Méndez-Armenta, 2008). Environmental exposures to heavy metals can be assessed by analyzing metallothionein (MT) levels in animals. There is generally a positive correlation between MT levels and heavy metal levels where Cd^{2+} is the strongest inducer of MT (Klaassen et al., 1999) and causes most toxic effects in fish and mammals (Okocha and Adediji, 2011). Consequently, induction of MT in fish has been widely used as a biomarker for metal exposures in temperate waters (e.g. Lacorn et al., 2001; Linde et al., 2001; Cheung et al., 2004).

The MT proteins are found in both prokaryotic and eukaryotic organisms and they are small water-soluble proteins of 6-10 kDalton, containing 30% cysteine. Due to the high sulphur content they are able to selectively bind to metal ions such as Cd, Zn and Cu (Klaassen et al., 1999). Although the physiological functions of MTs have not yet been fully understood, MT proteins are supposed to be primarily involved in metal homeostasis and in metal detoxification in pufferfish, *Takifugu obscurus* (Kim et al., 2008).

There are different methods to study MT proteins in fish. It has been suggested that the UV spectra and absorbance at 260 nm can be used to confirm that Cd^{2+} binds to MT proteins in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and the Amazon fish (*Colossoma macropomum*) (Vergani et al., 2003; Honda et al., 2005). Levels of MT protein levels can be assessed using immunochemical techniques and specific antibodies to MT proteins. Since MT proteins are small, relatively high MT protein levels are needed as antigen for efficient antibody production. A one-step purification using affinity chromatography protocol was described for rapid isolation of MT proteins from the Amazon fish (Honda et al., 2005). An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was developed to analyze MT protein levels in hybrid tilapia exposed to Cd^{2+} , where elevated hepatic MT levels were observed 15 days after exposure (Wu et al., 2007). Furthermore, ELISA and Western blot protocols have been used to determine MT protein levels in *Lithognathus mormyrus* collected from two Cd^{2+} contaminated sites in the Mediterranean Sea. Fish from the two contaminated sites had 2-fold higher MT

protein levels compared to fish collected from a clean site (Yodkovski et al., 2008).

Levels of MT mRNA can be characterized using various molecular techniques. Determination of MT transcription levels using molecular technique has been earlier used, because it is a specific and sensitive tool and can be used as an early warning signal for metal contaminations in the environment. Hence, a number of real-time PCR protocols have been developed to analyze MT mRNA levels in several fish species, e.g. striped sea bream (*Lithognathus mormyrus*), tilapia (*Oreochromis mossambicus*), gudgeons (*Gobio gobio*) and sleek unicorn fish (*Naso hexacanthus*) (Tom et al., 2004; Cheung et al., 2005; Knapen et al., 2007; Monster et al., 2010).

The aim of the present study was to isolate hepatic MT proteins from Asian sea bass (*Lates calcarifer*) exposed to CdNO_3 in the lab and to develop specific protocols to detect MT mRNA and protein levels using quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (qPCR) and ELISA. The immunochemical protocols were next applied to determine induction of MT in feral fish caught from two different locations: one urban aquacultural area (Angsila, Chonburi Province) and one industrial area (Map Ta Phut, Rayong Province) in Thailand.

Materials and Methods

Chemicals

Cadmium nitrate was purchased from Unilab (Australia). The DNA gel extraction kit was purchased from VWR (Sweden), RT-PCR kit was from Applied Biosystems (Sweden) and DNA size marker was from Fermentas (Sweden). The RNAeasy plus mini kit was obtained from Qiagen (Sweden). The iScript cDNA synthesis kit and IQSYBR green supermix used for qPCR analysis were from BioRad (Sweden). Electrophoresis chemicals and affinity column chromatography chemicals were purchased from BioRad Inc. and Amersham Inc. (Thailand). All other chemicals used were obtained at the highest purity available from chemical suppliers in Thailand and Sweden.

Animals

Hatchery Reared Asian Sea Bass

Juvenile Asian sea bass were purchased from Angsila, Chonburi Province, Thailand and transported to the Burapha University. The animals were maintained in 2000 L tanks with aerated fresh water at a temperature of 28 °C and acclimated to these conditions for seven

days and were starved during the acclimation period. Five fish were used in each treatment group. For MT protein isolation, fish with an average body weight of 112 ± 0.5 g and length of 15 ± 1.1 cm were used. The big size of fish was needed to obtain enough amount of liver in order to yield MT protein. The fish were i.p. injected with CdNO_3 to reach a final dose of 4 mg/kg fish which was an optimal dose to induce MT protein comparing to 2 and 6 mg/kg fish. The CdNO_3 was dissolved (6.4 mg/ml) in 50 mM sodium phosphate buffer pH 7.4. For MT cDNA isolation, fish with an average body weight of 28 ± 1.5 g and length of 8 ± 1.1 cm were used. The fish were i.p. injected with CdNO_3 to reach final doses of 2, 4 and 6 mg/kg fish, respectively. Control fish were i.p. injected with the vehicle carrier alone (1 ml/kg fish). The fish were kept in 20 L aquaria with aerated fresh water at a temperature of 28 °C and were starved

during the exposure experiment. The fish were sacrificed by cervical transections after two days for MT protein analysis and after 1, 2 and 3 days post injection for MT mRNA analyses. The livers were quickly dissected out, immediately placed in liquid nitrogen and stored for two days prior to further processing.

Feral Fish

Fish were caught in year 2011 with hook fishing at Angsila and Map Ta Phut in Chonburi and Rayong provinces in the Gulf of Thailand (Figure 1). In total, 15 different species ($n = 2$ to 90) were collected. The fish were immediately sacrificed by cervical transections and their livers were quickly dissected out and placed and stored in liquid nitrogen prior to analyses. Information about the fish (species name, dietary preferences, weight and length) is provided in Table 1.

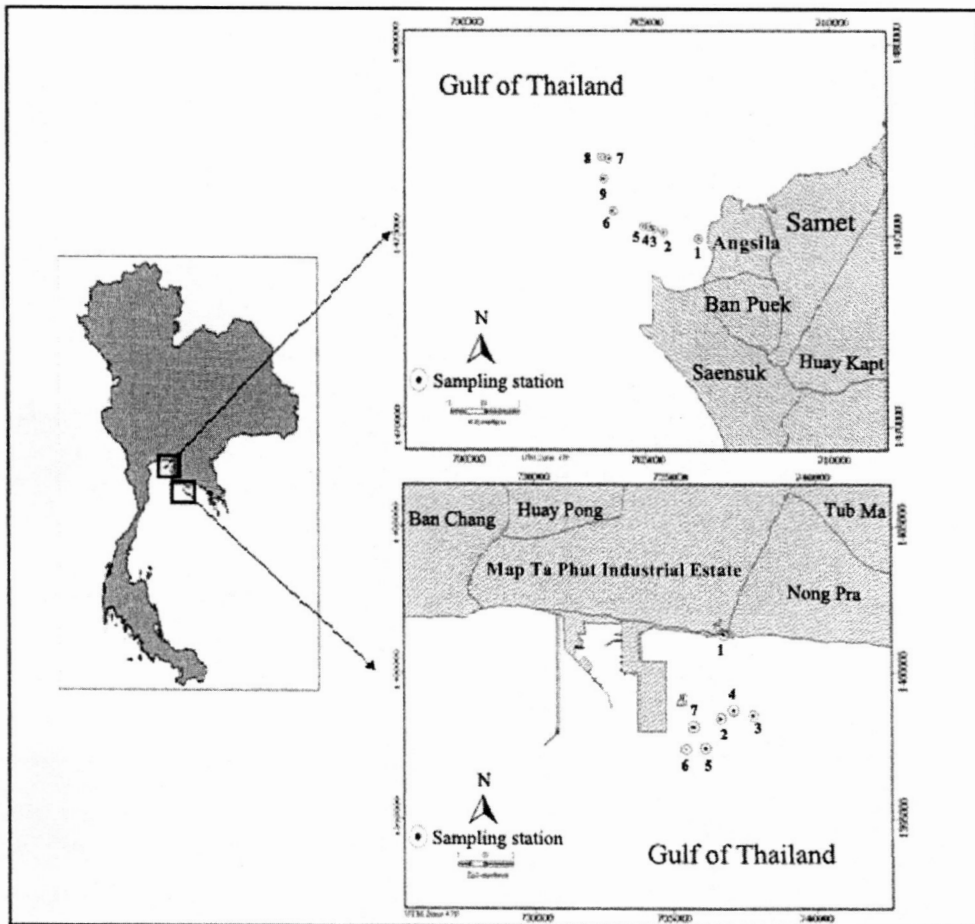


Figure 1: Map of the Chonburi province and Rayong province in the Gulf of Thailand. The four sampling sites are marked on the map. Site 1: Angsila (Near shore; 1-5), Site 2: Angsila (Off shore; 6-9), Site 3: Map Ta Phut (Near shore; 1-4) and Site 4: Map Ta Phut (Off shore; 5-7).

Table 1: Western blot and ELISA analyses using mouse PAb raised against Asian sea bass MT in liver of feral fish caught from four different sites that are shown in Figure 1

Sampling sites	Species	Dietary preferences	Weight/Length	MT staining (Western blot)	Optical density of MT protein (ELISA)
Site 1 Angsila (Near shore)	<i>J. carouna</i> (n = 8)	Carnivore	73.6-199.7g/18.0-25.5cm.	–	0.09±0.02 ^A
	<i>A. djedaba</i> (n = 20)	Carnivore	46.8-93.0 g/15.0-17.0cm.	++	0.39±0.26 ^B
	<i>S. jello</i> (n = 2)	Carnivore	618.5-639.6 g/51.0-51.2 cm	–	0.05±0.02 ^A
	<i>A. djedaba</i> (n = 60)	Carnivore	53.8-97.8 g/15.3-18.3 cm.	++	0.16±0.11 ^A
Site 2 Angsila (Off shore)	<i>A. djedaba</i> (n = 60)	Carnivore	10.2-43.2 g/10.5-16.8cm.	++	0.41±0.05 ^B
Site 3 Map Ta Phut (Near shore)	<i>M. cordyla</i> (n = 40)	Carnivore	22.6-40.0 g/13.0-16.8 cm	–	0.06±0.04 ^A
	<i>I. melastoma</i> (n = 60)	Carnivore	15.0-44.6 g/8.7-17.5 cm.	++	0.32±0.2 ^B
	<i>L. fasciatus</i> (n = 90)	Carnivore	10.6-29.2.6 g/7.5-13.0 cm.	–	0.07±0.02 ^A
	<i>S. melanochi</i> (n = 60)	Carnivore	33.2.0-79.4 g/16.0-21.7 cm.	–	0.07±0.03 ^A
	<i>S. maculate</i> (n = 40)	Carnivore	32.4-76.8 g/14.0-16.6 cm.	–	0.07±0.02 ^A
	<i>R. brachysoma</i> (n = 90)	Carnivore	18.2-44.4 g/12.5-15.4 cm	–	0.12±0.06 ^A
	<i>S. commersoni</i> (n = 4)	Carnivore	33.8-97.4 g/16.3-25.0 cm.	–	0.04±0.02 ^A
	<i>A. dorab</i> (n = 4)	Carnivore	180.0-350.0 g/38.0-48.0 cm	–	0.06±0.01 ^A
	<i>A. chacunda</i> (n = 10)	Scarvenger	46.6-60.8 g/14.8-16.0 cm	–	0.05±0.01 ^A
	<i>T. lepturus</i> (n = 10)	Carnivore	125.0-240.0 g/52.0-64.0 cm	–	0.06±0.01 ^A
	<i>A. djedaba</i> (n = 30)	Carnivore	24.1-48.6g/11.5-14.5 cm	–	0.07±0.02 ^A
	<i>S. jello</i> (n = 2)	Carnivore	65.0-335.0g/21.0- 42.0 cm	–	0.09±0.01 ^A
	<i>A. indica</i> (n = 5)	Carnivore	45.5-145.0 g/11.5-22.0 cm	–	0.04±0.00 ^A
	<i>L. blochii</i> (n = 30)	Omnivore	14.4-26.4 g/9.0-11.5 cm	–	0.08±0.00 ^A
Site 4 Map Ta Phut (Off shore)	<i>A. djedaba</i> (n = 30)	Carnivore	24.1-48.6g/11.5-14.5 cm	–	0.07±0.02 ^A
	<i>S. jello</i> (n = 2)	Carnivore	65.0-335.0g/21.0- 42.0 cm	–	0.09±0.01 ^A
	<i>A. indica</i> (n = 5)	Carnivore	45.5-145.0 g/11.5-22.0 cm	–	0.04±0.00 ^A
	<i>L. blochii</i> (n = 30)	Omnivore	14.4-26.4 g/9.0-11.5 cm	–	0.08±0.00 ^A

- No intensity; + Weak intensity; ++ Strong intensity; Mean ± SD, *p* < 0.05
Comparison of optic density at 490 nm using ELISA detection on feral fish from Angsila and Map Ta Phut areas were analyzed by one way ANOVA with SNK's comparison. Different letters (A and B) indicate a significant difference (*p* < 0.05). Each value represents mean optical density of each fish species ± SE.

Isolation of MT Protein from Asian Sea Bass Liver

Livers from individual fish were homogenized (35% w/v) in 50 mM Tris-HCl, pH 7.4; containing 0.1 mM PMSF, 0.5 mM DTT and 150 mM NaCl in a glass-teflon homogenizer. The homogenate was centrifuged at 15000 g for 90 min at 4 °C and the supernatant was immediately applied to a HiTrapTM Chelating HP column saturated with NiSO₄·6H₂O. The MT fraction was eluted using a continuous gradient imidazol (0-50 mM) dissolved in 50 mM Tris-HCl pH, 7.4, at a flow rate of 1 ml/min. Fractions of 1.5 ml were collected and each fraction was next detected by separation using SDS-PAGE and 15% acrylamide according to standard protocols. The protein bands were stained with Coomassie Brilliant Blue R-250. The MT positive fractions were further analyzed using an electro-eluter and the MT proteins were stored at -20 °C. The protein concentrations in the MT containing fractions were determined using the Bradford reagent method using bovine serum albumin as a protein standard and analyzed according to the protocol provided by the manufacturers. The purified MT protein fraction was characterized by analyzing the absorbance at 260 nm after adding increasing concentrations of CdNO₃ from 8, 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72 to 80 µM. The A₂₆₀ absorbances were plotted against CdNO₃ concentrations.

Production of Polyclonal Antibodies against Asian Sea Bass MT

Four ICR male mice of eight weeks old and 25 g of body weight were i.p. injected with an initial dose of 300 µg purified MT protein from Asian sea bass liver mixed with complete Freund's adjuvant. Next, booster doses each with 300 µg MT protein mixed with incomplete Freund's adjuvant were i.p. injected after two and four weeks, respectively. Seven days after the final antigen boost, the mice were bled from the tail vein to obtain polyclonal antibodies (PAb). Serum were collected and stored at -20 °C. The specificity of the PAb to MT proteins was determined using Western blot and ELISA analyses (data not shown).

Isolation of an MT cDNA from Asian Sea Bass Liver

Pieces of liver tissues of about 30 mg were quickly dissected out and immediately placed in RNA later solution (Sigma, code No. R0901, purchased in Thailand) and transported to the University of Gothenburg in Sweden. Preserved liver tissue, carried by the air plane which was spending around 15 hours at room temperature, samples were immediately placed in

-20 °C upon arrival to Sweden. The total RNA fraction was isolated using the RNeasy plus mini kit with DNA elimination. The concentration and quality of the RNA samples were analyzed using the Experion system and RNA StdSens analysis kit from BioRad. The RNA samples with acceptable concentrations and quality for PCR analysis were selected and stored at -80 °C. Total RNA (1 µg) was reversed transcribed using the PCR kit from applied Biosystems and universal primers.

The PCR was next carried out using primers designed against conserved regions of MT genes obtained from GenBank from four different fish species (i.e. killifish, Japanese medaka, zebrafish and rainbow trout). The forward primer was 5'-ATG GA(C/T) CC(C/T) TG(C/T) GA(A/C/G) TGC-3' and the reverse primer was 5'-CAC (G/A)CA GCC (T/A)GA (G/T/A)GC (G/A)CA-3'. Three different annealing temperatures were tested, 45 °C, 50 °C and 55 °C, respectively. The samples were first denaturated at 94 °C for 5 min followed by 30 cycles [denaturation at 95 °C for 30 s, annealing at 45 °C, 50 °C or 55 °C for 30 s, polymerization at 72 °C for 45 s]. The PCR products were analyzed on 2% agarose gels stained with ethidium bromide and visualized in UV light. The PCR bands were excised from the agarose gel and the DNA were purified using a Gel extraction kit from Omega Biotek. The DNA samples were sequenced by Eurofins MWG GmbH (Ebersberg, Germany). A 150 base pair long cDNA sequence was obtained and positive identification to MT was confirmed using a BLAST search against NCBI GenBank database.

Phylogenetic Analysis

The deduced amino acid sequence of the partial MT cDNA sequence from Asian sea bass was aligned using Clustal X2 with MT sequences from 13 fish species, i.e. Java medaka (*Oryzias javanicus*), Indian medaka (*Oryzias melastigma*) MT, Japanese medaka (*Oryzias latipes*) MT, gold fish (*Carassius auratus*) MT, chum salmon (*Oncorhynchus keta*) MT A, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) MT A, pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) MT A, coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) MT A, arctic char (*Salvelinus alpinus*) MT A, European grayling (*Thymallus thymallus*) MT A, chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) MT A, Atlantic salmon (*Salmo salar*) MT and MT A. A phylogenetic tree was next constructed on the fish MT amino acid sequences using neighbour-joining analysis with MEGA 5.1 model. The robustness of the tree topology was determined using bootstrap analysis with 1000 pseudo-replicates.

**Quantitative Reverse Transcriptase PCR (qPCR)
Analysis of MT mRNA Levels**

Gene specific primers targeted to the Asian sea bass MT cDNA sequence were designed for qPCR analyses and synthesized by Eurofins MWG. The qPCR primers were: forward 5'-CAC CTG CAC AAC TGC TCC TG -3' and 5'-ACG CAG CCT GAG GCA CAC T-3'. The qPCR was done with IQ SYBR green super mix and instrument iCycler/MyIQ from BioRad, and 25 ng of transcribed total RNA template was used in each reaction in a total volume of 25 μ l with 0.5 μ M of each primer. The following PCR profile in 40 cycles was used [94 $^{\circ}$ C for 20 s, 60 $^{\circ}$ C for 20 s, 72 $^{\circ}$ C for 30 s].

Statistical Analysis

Statistical analysis of MT protein levels from feral fish were performed by a one way analysis of variance (ANOVA) procedure, significant differences was considered at $p < 0.05$. Statistical analysis of MT mRNA expression levels from CdNO₃ Asian sea bass was evaluated by a two-way analysis of variance (ANOVA) with SNK's comparison and significant differences was considered at $p < 0.05$. The data are presented as mean ($n = 5$) $\pm$ standard error (SE).

Results

Isolation of MT Protein from Asian Bass and Development of Antibodies

A 10 kDalton protein from juvenile Asian sea bass liver was isolated and purified using metal affinity column chromatography followed by electro-elution. The isolated protein was characterized by analyzing absorbance at 260 nm upon addition of increasing concentrations of CdNO₃. There was a positive correlation between A₂₆₀ and CdNO₃ concentrations (Figure 2). This positive correlation supports that the isolated protein is an MT protein. This protein was next used for immunization of mice for production of PAb. These PAb recognized a 10 kDalton protein band in a Western blot loaded with 40-70 μ g MT proteins from CdNO₃-treated Asian sea bass (Figure 3).

Isolation of MT cDNA Fragment from Asian Sea Bass

A 150 base pair cDNA sequence was isolated using a reverse transcriptase approach and primers against conserved regions in fish MT genes. This PCR product was obtained using the highest annealing temperature tested (55 $^{\circ}$ C) but not at the lower annealing temperatures (i.e. 45 $^{\circ}$ and 50 $^{\circ}$ C) tested (Figure 4). The

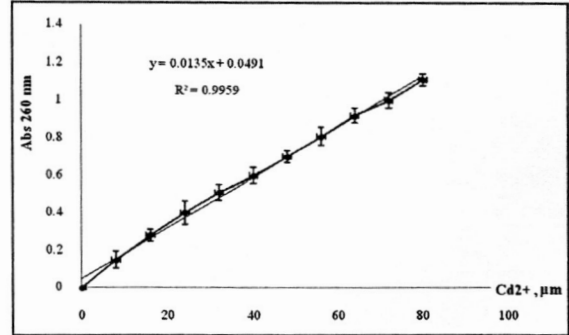


Figure 2: Absorbance at 260 nm was analyzed in the purified proteins after addition of 8-80 μ M of CdNO₃ for MT characterization.

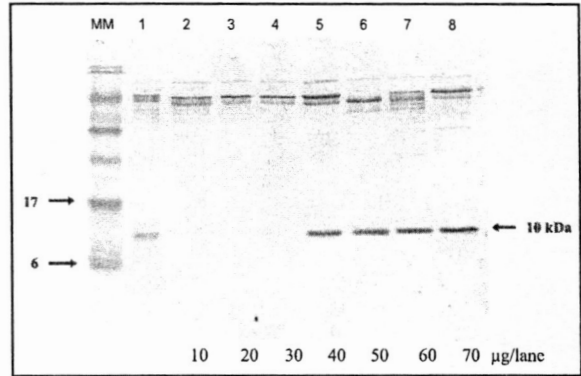


Figure 3: The specificity to MT of PAb (diluted 1:200) was analyzed in Western blot in serial dilutions of MT protein from CdNO₃-treated Asian sea bass. The gel was loaded as followed: molecular marker (MM); MT protein from CdNO₃-treated Asian sea bass 10-70 μ g protein/lane (lanes 2-8).

PCR product was sequenced and the deduced amino acid sequence aligned with other fish and mammalian MT sequences (Figure 5A-B). The Asian sea bass MT showed 56-65% amino acid sequence identity with other fish MT genes (Table 2). Phylogenetic analyses further shows that Asian sea bass MT forms a cluster with the medaka MT genes (Figure 5C).

MT mRNA Analysis Using qPCR

A qPCR protocol was developed for mRNA analyses in Asian sea bass exposed to CdNO₃ (2, 4 or 6 mg/kg) in a dose-response and time course study (1, 2 and 3 days). There appears to be a bi-phasic dose-response pattern with highest MT mRNA levels in fish injected with 4 mg CdNO₃/kg. These fish had 7-fold higher MT

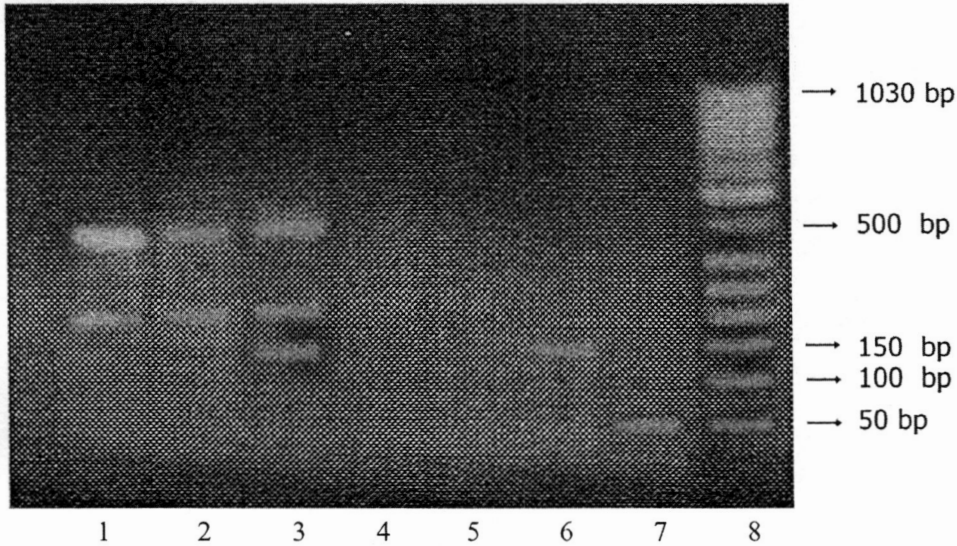


Figure 4: Optimization of reverse transcriptase PCR protocol for isolation of a 150 base pair MT cDNA fragment from the liver from Asian sea bass, using three different annealing temperatures 45 °C (lanes 1 and 4), 50 °C (lanes 2 and 5) and 55 °C (lanes 3 and 6), respectively. The PCR products were analyzed on 2% agarose gel stained with ethidium bromide and visualized by UV-light. Lanes 1-3: fish treated with the vehicle carrier (phosphate buffer); Lanes 4-6: fish treated with CdNO₃ (6 mg/kg fish); Lane 7: Negative control and Lane 8: DNA size marker.

ATGGATCCTTGAGTGCCAAGAGTGGAACCTGCAACT GCGGGGGATCCTGCACCTGCACAACTGCTCCTGT
M D P C E C Q E W N L Q L R G I L H L H N C S C
ACCACCTGCAAGAAGAGCTGCTGCGCATGCTGCCCGTCCGGCTGCAGCAAGTGTGCCTCAGGCTGCGTA
T T C K K S C C A C C P S G C S K C A S G C V—

Figure 5(A): Deduced amino acid sequence of Asian sea bass partial cDNA MT sequence.

	10	20	30	40	50	60	
Asian sea bass	MDP--CECQE	WNQLRG-IL	HLHNCSTTC	KK-SCCACP	SGCSKASGC	V-----	47
AAB32777	MDP--CECAK	TGACNCGATC	KCTNCQTTT	KK-SCCFCCP	SGCSKASGC	VCN-GNSCGS	SCQ 60
ABA03252	MDP--CECSK	TGSCNCGGSC	KCSNCACTSC	KKASCCDCCP	SGCSKASGC	VCK-GXTCDT	SC-- 59
ABA03254	MDP--CECSK	TGSCNCGGSC	KCSNCACTSC	KKASCCDCCP	SGCSKASGC	VCK-GRTCDT	SCC- 60
ABA03251	MDP--CECSK	TGTNCNCGGSC	KCSNCACTSC	KKASCCDCCP	SGCSKASXC	VCK-GHTCDT	IC-- 59
ABA03255	MXP--CECSK	TGSCNCGGSC	KCSNCACTSC	KKASCCDCCP	SGCSKASGC	VCK-GRTCDT	SC-- 59
NP001117149	MDP--CECSK	TGSCNCGGSC	KCSNCACTSC	KKASCCDCCP	SGCSKASGC	VCK-GHTCDT	SCCQ 61
ACN09889	MDP--CECSK	TGSCNCGGSC	KCSNCACTSC	KKASCCDCCP	SGCSKASGC	VCK-GHTCDT	SCCQ 61
AAP31403	MDP--CECSK	TGSCNCGGSC	KCSNCACTSC	KKASCCDCCP	SGCSKASGC	VCK-GHTCDT	SCCQ 61
ABA03250	-DP--CECSK	TGSCRCGGSC	KCSNCACTSC	KKPSCCDCCP	SGCSKASGC	VCK-GHTCDT	SCCQ 60
AEZ55097	MDP--CDCSK	TGKCNCGGSC	TCANCSCTSC	KK-SCCACP	SGCTKASGC	VCK-GKTRDK	SCCQ 60
AAW83513	MDP--CDCSK	TGKCNCGGSC	TCANCSCTSC	KK-SCCACP	SGCTKASGC	VCK-GKTRDK	SCCQ 60
NP001098255	MDP--CDCSK	TGKCNCGGSC	TCTNCSCTSC	KK-SCCACP	SGCTKASGC	VCK-GHTCDT	TCCQ 60
NP001134810	MDP--CDCSK	TGRCSCGGLC	KCTNCOCA--	-TKSCCSCP	TGCSKASGC	VCKREGKCDT	SCCQ 59
AAP97267	MDPN-CSCTT	GVSCACTGSC	KCECKCTSC	KK-SCCSCP	VGCARCAHGC	VCK-GTLENC	SCCA 61
AAA20233	MDPGECTCMS	GGICICGDNC	KCTTCSCKTC	KK-SCCFCCP	PGCARCARGC	ICK-GGSDKC	SCCP 62
Clustal Consensus	* * *		* *	. *** **	*** **		

Figure 5(B): Alignment of Asian sea bass MT amino acid sequence with the corresponding region of other fish and mammalian MT genes obtained from the GenBank database. These MT genes are *C. auratus* (AAB3277), *O. kisutch* (ABA03252), *O. keta* (ABA03254), *O. gorboscha* (ABA03251), *O. tshawytscha* (ABA03255), *S. salar* (ACN09889), *O. mykissgairdneri* (NP001117149), *S. alpinus* (AAP31403), *T. thymallus* (ABA03250), *O. melastigma* (AEZ55097), *O. javanicus* (AAW83513), *O. latipes* (NP001098255), *S. salar* (NP001134810), *H. sapiens* (AAP97267) and *M. musculus* (AAA20233).

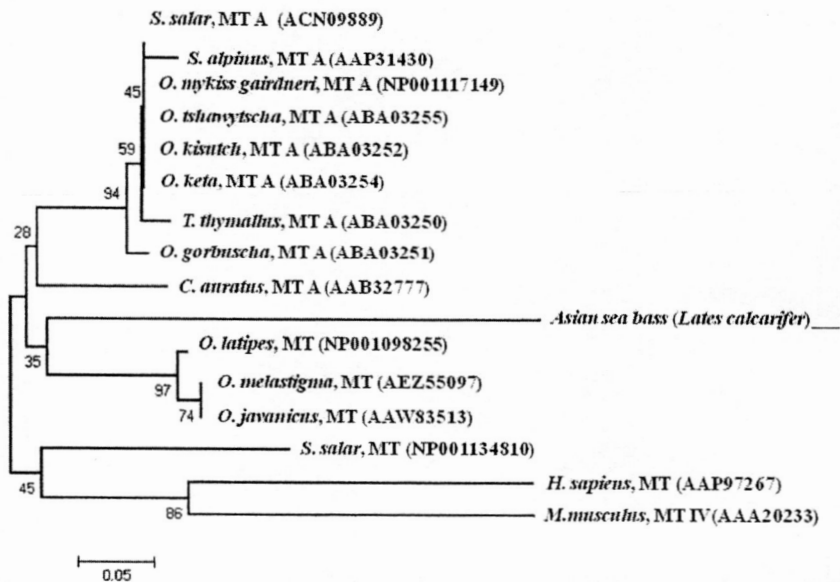


Figure 5(C): Phylogenetic tree of MT amino acid sequences from 13 different fish species was constructed using Neighbour-Joining and the MEGA 5.1 model. The tree was rooted with the MT protein sequences from human (AAP97267) and mouse (AAA20233). Robustness of tree topologies was evaluated by bootstrap analysis with 1000 pseudo-replicates.

Table 2: Amino acid sequence identity between Asian sea bass MT and MT deduced amino acid sequences from other fish species according to NCBI BLAST

Fish species	GenBank Accession number	Sequence identity (%)
Java medaka <i>Oryzias javanicus</i> (MT)	AAW83513.2	65
Indian medaka <i>Oryzias melastigma</i> (MT)	AEZ55097.1	65
Japanese medaka <i>Oryzias latipes</i> (MT)	NP001098255.1	65
Gold fish <i>Carassius auratus</i> (MT)	AAB32777.1	65
Chum salmon <i>Oncorhynchus keta</i> (MT A)	ABA03254.1	63
Rainbow trout <i>Oncorhynchus mykiss</i> (MT A)	NP001117149.1	63
Pink salmon or Humpback salmon <i>Oncorhynchus sgorbuscha</i> (MT A)	ABA0352.1	61
Coho salmon <i>Oncorhynchus kisutch</i> (MT A)	ABA03252.1	63
Arctic char <i>Salvelinus alpinus</i> (MT A)	AAP31403.1	63
European grayling <i>Thymallus thymallus</i> (MT A)	ABA03250.1	63
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> (MT A)	ABA03255.1	61
Atlantic salmon <i>Salmo salar</i> (MT A)	NP 001117149.1	59
Atlantic salmon <i>Salmo salar</i> (MT)	NP 001134810.1	56

mRNA levels compared to non-treated fish (Figure 6). In fish exposed to 4 mg/kg there was a time difference in MT induction with highest expression after one day and lowest induction after three days. However, in fish treated with the lower dose 2 mg/kg and the highest dose 6 mg/kg there were no apparent effect of duration of exposure (Figure 6). Although, in fish injected with the highest dose (6 mg/kg) had hemorrhage and 30% mortality was evident after day 2 in this treatment group, which suggests that this dose of CdNO_3 was lethal for Asian sea bass.

Detection of MT Proteins in Feral Fish from the Gulf of Thailand

The mouse PAb raised against Asian sea bass MT was applied to detect MT protein levels in 15 different fish collected in the Gulf of Thailand. Four different sampling sites (Figure 1) were selected: Klong Bangprong Angsila (Site 1, near shore), Klong Bangprong Angsila (Site 2, off shore), Map Ta Phut (Site 3, near shore) and Map Ta Phut (Site 4, off shore). Western blot and ELISA techniques were used to detect MT immunoreactive proteins in livers from these fish. Western blot analysis detected MT proteins in three of these four sampling

sites. Besides, of all 15 species tested only two species had detectable MT protein bands. Thus, at sites 1 and 2, an MT protein band was detected in shrimp scad (*Alepes djadaba*). In site 3, an MT protein band was also observed in shrimp scad as well as in Indian ilisha (*Ilisha melastoma*). In site 4, no MT protein band was observed in any of the four fish species analyzed. The Western blot results were confirmed using ELISA showing increased MT protein levels in shrimp scad from site 1, 2 and 3 and in Indian ilisha from site 3 (Table 1).

Discussion

Biomarkers

The most compelling reason for using biomarkers in environmental risk assessment is that they can give information about biological effects in wildlife. Besides, biomarkers also provide information on type of exposure in the environment. There are classical biomarkers such as induction of detoxification enzyme cytochrome P450 1A (CYP1A), which is a good biomarker for aromatic hydrocarbon exposure (Mihailovic et al., 2010); induction of the egg-yolk

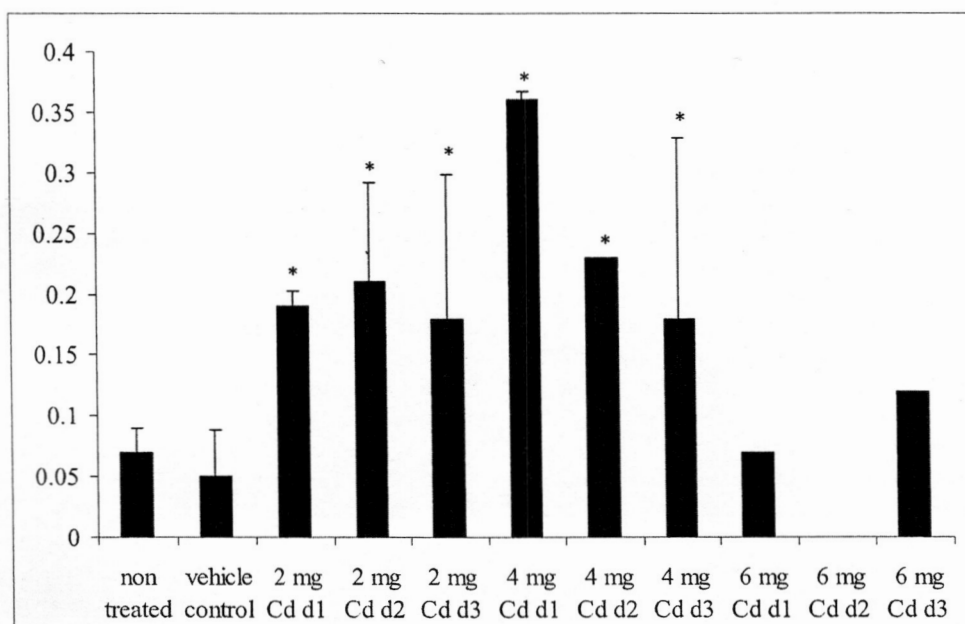


Figure 6: Expressions of MT mRNA levels were analyzed using quantitative PCR (qPCR) in livers from juvenile Asian sea bass. The fish were i.p. injected with CdNO_3 at 2, 4 or 6 mg/kg fish and the fish were sacrificed 1, 2 or 3 days post injection compared with untreated group and vehicle control group by two-way ANOVA. The values are presented as mean ($n = 3$) $\pm$ SE. * mean significant difference from untreated group and vehicle control group ($p < 0.05$).

precursor vitellogenin is a biomarker for estrogenic exposure (Hennies et al., 2003); and induction of MT is a biomarker for heavy metal exposure (Langston et al., 2001). These biomarkers have been commonly used in various biomarker programmes in temperate waters and have aided to decrease certain anthropogenic chemicals into the environment in Europe and North America. In tropical waters, less has been studied and there is a need to develop biomarkers that can be used to assess chemical exposures in these areas. In a previous study, we isolated and characterized CYP1A from Asian sea bass and applied it as a biomarker for exposure to aromatic hydrocarbons such as petroleum hydrocarbons in the Gulf of Thailand (Kanchanopas-Barnette et al., 2010). In addition to aromatic hydrocarbons, this area is also exposed to heavy metals. Therefore, our research aimed to study MT in fish in tropical areas and to develop a biomarker as an early warning signal for heavy metal pollution in tropical fish species.

Isolation of MT from Fish

In the present study, an MT protein was isolated from Asian sea bass and used to immunize mice to develop immunochemical protocols (i.e. Western blot and ELISA) to quantify MT proteins in Asian sea bass liver with a calculated molecular mass of 10 kDalton. Moreover, MT protein in CdNO₃ injected group was higher than in control fish. A study in the Amazon fish (*Colossoma macropomum*) showed induced MT protein levels 48 h post injection with CdNO₃ and 8-9 kDalton MT protein was isolated using a Hitrap column and a G-25 column (Honda et al., 2005). It is possible that there are multiple MT isoforms in fish. In fact, different MT isoforms of 37.7, 16.5 and 16.0 kDalton were isolated from hepatopancreas in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) exposed to CdCl₂ and ZnSO₄, using gel filtration chromatography of Wu and Chen (2005). In addition, two MT isoforms, between 6 and 10 kDalton, were isolated from crab (*Portunus pelagicus*) (Ang and Chong, 1998). However, the methods used to isolate MT proteins also need to be considered and that exposure conditions needs to be carefully considered. For example, tissue differences as well as possible differences in metal ion binding between different MT isoforms was suggested in brown trout (*Salmo trutta*) sampled from two different rivers in Norway, one contaminated with Cu ions and the other contaminated with Cd and Zn ions (Olsvik et al., 2001). At this stage, we do not know if there is more than one MT form in Asian sea bass. In the present study, we isolated a 150 base pair cDNA sequence from Asian sea bass using

a PCR based approach. This sequence showed up to 65% amino acid sequence identity with other fish MT sequences obtained from the GenBank database. The phylogenetic analyses suggested that the Asian sea bass sequence clusters with the medaka MT genes.

Responsiveness to Cd²⁺ Exposure in Lab Studies

Acute and chronic effects of Cd ion exposures have been earlier described in different aquatic organisms (Castano et al., 1998). The present study was undertaken to explore dose response and duration of MT mRNA levels in Asian sea bass exposed to CdNO₃ using qPCR. A bi-phasic dose response pattern was seen with highest induction of MT mRNA in Asian sea bass injected with 4 mg/kg fish and a higher dose (6 mg/kg) resulted in toxic effects e.g. bleeding and death, which probably explains the lower inducibility of MT gene expression in these fish. In fish treated with 4 mg/kg, highest MT mRNA levels were seen 24 h post injection. Thus, a 7-fold induction was observed in these fish compared to control fish. Increased expression of MT mRNA levels have also been reported in *Tilapia* (*T. aurea* × *T. nilotica*) exposed to 5 mg Cd²⁺/kg, where a 15-fold increase was seen after 24 h (Cheung et al., 2004). In addition, induced MT mRNA levels also have been reported in the obscure pufferfish (*Takifugu obscurus*) after 24 h exposure to various doses of CdCl₂, ranging from 50 to 5000 ppb (Kim et al., 2008). Dose-dependent differences in MT mRNA have been proposed by others (Kim et al., 2008). In turbot (*Scophthalmus maximus*), exposure to a low dose of CdCl₂ (75 µg/kg) and the high dose at 500 µg/kg resulted in different responses on hepatic MT mRNA levels. Hence, a 4-fold increase in MT mRNA levels was seen in turbot exposed to low dose, whereas a 30-fold increase was seen in turbot exposed to the high dose. In addition to a dose-response relationship, there were time effects. In turbot exposed to the high dose, no change in MT mRNA levels was observed after 21 days, but in fish exposed to a low dose lower MT mRNA levels were seen after 21 days (George et al., 1996). The decline in MT mRNA levels in Asian sea bass and *Tilapia* (Cheung et al., 2004) exposed to 6 and 10 mg/kg Cd²⁺, respectively, is probably due to a general toxic effect. In fact, in the present study exposure to 6 mg/kg resulted in 30% mortality. Hence, gene expression of MT mRNA is dependent on dose and duration of exposure and it is likely that the route of exposure as well as other factors such as temperature, season and species affect MT inducibility. Nevertheless, data from our lab, and from others, strongly supports the usefulness of analyzing MT mRNA levels in fish

using qPCR for establishing sensitive and specific early warning biomarkers in order to assess environmental exposures to heavy metals.

Induction of MT Levels in Wildlife Fish

Cadmium in the liver of feral fish in this study was not measured body burden because of very costly, problem of low-limited detection of equipment and need to pool many liver samples. Thus, alternatively screening studied for heavy metal contaminant by using antigen-antibody based technique having the advantage of high specific, cheaper, rapidly, and can be applied to many samples. In the present study, we applied immunochemical protocols to investigate MT protein levels in feral fish from two different locations: the urban Angsila area and the industrial Map Ta Phut area in the Gulf of Thailand. Our results imply that feral fish have been exposed to heavy metals as indicated by the strong MT immunoreactive proteins in some of the fishes determined by Western blot analyses. Fish collected from Map Ta Phut (Site 3, near shore) had highest levels of MT proteins compared to the other three sites. Cadmium contamination has earlier been reported in this industrial area. Thus, in Map Ta Phut, 0.001-0.005 mg Cd²⁺/L was detected in 2005 (Saengsupavanich et al., 2009). The safety limit for Cd ions is 0.005 mg/L according to the Thailand national standard.

In the present study, increased MT protein levels were seen in two fish species of totally 11 species analyzed near the shore, which suggests that these fish have been exposed to Cd ions. However, in fish collected off shore no MT proteins were detected. Increased levels of MT immune reactive proteins have also been reported in sentinel fish (*Lithognathus mormyrus*) collected from a polluted site in Israel along the Mediterranean coast, compared to fish from a cleaner site over a two-year sampling period (Yudkovski et al., 2008). Of all 15 different fish species analyzed, two species shrimp scad and Indian ilisha had statistically significantly higher MT protein levels compared to other fish from the Angsila and Map Ta Phut areas. Hence, both the aquaculture area in the urban Angsila and the industrial Map Ta Phut seem to be contaminated by heavy metals. Besides, in the aquaculture areas increased MT protein levels were also seen in fish sampled from off shore. The study implies that this aquaculture area is also exposed to heavy metals. It should be noted that dietary preferences may affect the responsiveness in the different fish species analyzed and this needs further investigations. However, shrimp scad seems to be a suitable fish for future biomonitoring programmes of

heavy metal exposure in this area because it is the only sentinel species that can be found in both areas and it also had the highest MT protein levels.

Conclusions

Hepatic Asian sea bass MT protein and partial cDNA sequence were isolated and used to develop immunochemical protocols for MT mRNA and protein quantifications. These protocols were used to analyze MT mRNA and protein levels in Asian sea bass exposed to CdNO₃ in the laboratory. In addition, the immunochemical protocols were used to analyze MT protein levels in feral fish collected from two different areas in Thailand: one industrial area and one urban aquaculture area. The data suggested that fish are more exposed to heavy metals near shore compared to off shore in the urban aquaculture site. Furthermore, the results suggest that the shrimp scad may be a good candidate fish species for environmental monitoring programmes in Thailand waters.

Acknowledgements

This work was supported by grant from the Center of Excellence on Environmental Health and Toxicology, Bangkok, Thailand. Malin Celander is supported by grants from the Swedish Research Council for Environment and Agricultural Sciences and Spatial Planning (FORMAS) Grant No. 2007-468 and the University of Gothenburg, Sweden.

References

- Adhikari, S., Ghosh, L., Giri, B.S. and S. Ayyappan (2009). Distributions of metals in the food web of fishponds of Kolleru Lake, India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**: 1242-1248.
- Ang, S.G. and P.S. Chong (1998). Purification of metallothionein proteins from the crab, *Portunus pelagicus*-selectivity of hydrophobic interaction chromatography. *Talanta*, **45**: 693-701.
- Castañó, A., Carbonell, G., Carballo, M., Fernandez, C., Boleas, S. and J.V. Tarazona (1998). Sublethal effects of repeated intraperitoneal cadmium injections on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **41**: 29-35.
- Castro-González, M. and I. Méndez-Armenta (2008). Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **26**: 263-271.

- Cheung, A.P.L., Lam, T.H.J. and K.M. Chan (2004). Regulation of *Tilapia* metallothionein gene expression by heavy metals ions. *Marine Environmental Research*, **58**: 389-394.
- Cheung, P.L.A., Lam, V.K.L. and K.M. Chan (2005). *Tilapia* metallothionein genes; PCR-cloning and gene expression studies. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1731**: 191-201.
- George, S.G., Todd, K. and J. Wright (1996). Regulation of metallothionein in Teleost: Induction of MT mRNA and protein by cadmium in hepatic and extra hepatic tissues of marine flatfish, the turbot (*Scophthalmus maximus*). *Comparative Biochemical and Physiology*, **113C**(2): 109-115.
- Hennies, M., Wiesmann, M., Allner, B. and H. Sauerwein (2003). Vitellogenin in carp (*Cyprinus carpio*) and perch (*Perca fluviatilis*): Purification, characterization and development of an ELISA for the detection of estrogenic effects. *The Science of the Total Environment*, **309**: 93-103.
- Honda, R.T., Araújo, R.M., Horta, B.B., Val, A.L. and M. Demasi (2005). One-step purification of metallothionein extracted from two different sources. *Journal of Chromatography B*, **820**: 205-210.
- Kachanopas-Barnette, P., Mekkongpai, P., Wassmur, B., Celander, M.C. and P. Sawangwong (2010). Molecular characterization of cytochrome P450 1A (CYP1A) in Asian sea bass (*Lates calcalifer* Bloch) and its application as a biomarker in the Gulf of Thailand. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*, **7**(2): 43-51.
- Kim, J.H., Wang, S.Y., Kim, I.C., Ki, J.S., Raisuddin, S., Lee, J.S. and K.N. Han (2008). Cloning of river pufferfish (*Takifugu obscurus*) metallothionein cDNA and study of its induction profile in cadmium-exposed fish. *Chemosphere*, **71**: 1251-1259.
- Klaassen, C.D., Lui, J. and S. Choudhuri (1999). Metallothionein: An Intracellular Protein to Protect Against Cadmium Toxicity. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **39**: 267-294.
- Knapen, D., Reynders, H., Bervoets, L., Verheyen, E. and R. Blust (2007). Metallothionein gene and protein expression as a biomarker for metal pollution in natural gudgeon populations. *Aquatic Toxicology*, **82**: 163-172.
- Lacorn, M., Lahrssen, A., Rotzoll, N., Simat, T.J. and H. Steinhart (2001). Quantification of metallothionein isoforms in fish liver and its implications for biomonitoring. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**(1): 140-145.
- Langston, W.J., Chesman, B.S., Burt, G.R., Pope, N.D. and J. McEvoy (2001). Metallothionein in liver of eels *Anguilla anguilla* from the Thames Estuary: An indicator of environmental quality? *Marine Environmental Research*, **53**: 263-293.
- Linde, A.R., Sánchez-Galán, S., Vallés-Mota, P. and E. García-Vázquez (2001). Metallothionein as bioindicator of freshwater metal pollution: European eel and brown trout. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **49**: 60-63.
- Mihailović, M., Petrovic, M., Grdović, N., Dinic, S., Uskoković, A., Vidaković, M., Grigorov, I., Bogojević, D., Ivanović-Matić, S., Martinović, V., Arambašić, J., Joksimović, D., Labus-Blagojević, S. and G. Poznanović (2010). CYP1A and metallothionein expression in the hepatopancreas of *Merluccius merluccius* and *Mullus barbatus* from the Adriatic sea. *Journal of Serbian Chemical Society*, **75**(8): 1149-1159.
- Montaser, M., Mahfouz, M.E., El-Shazly, S.A.M., Abdel-Rahman, G.H. and S. Bakry (2010). Toxicity of heavy metals on fish at Jeddah coast KSA: Metallothionein expression as a biomarker and histopathological study on liver and gills. *Journal of Fish and Marine Science*, **2**(3): 174-185.
- Okocha, R.C. and O.B. Adediji (2011). Overview of Cadmium Toxicity in Fish. *Journal of Applied Sciences Research*, **7**(7): 1195-1207.
- Olsvik, P.A., Hindar, K., Zachariassen, K.E. and R.F. Anderson (2001). Brown trout (*Salmo trutta*) metallothionein as biomarkers for metal exposure in two Norwegian rivers. *Biomarker*, **6**(4): 274-288.
- Ruangsomboon, S. and L. Wongrat (2006). Bioaccumulation of cadmium in an experimental Aquatic food chain involving phytoplankton (*Chlorella vulgaris*), zooplankton (*Moina macrocopa*), and the predator catfish *Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*. *Aquatic Toxicology*, **78**: 15-20.
- Saengsupavanich, C., Coowannitwong, N., Gallardo, W.G. and C. Lertsuchatavanich (2009). Environmental performance evaluation of an industrial port and estate: ISO14001, port state control-derived indicators. *Journal of Cleaner Production*, **17**: 154-161.
- Tom, M., Chen, N., Segev, M., Herut, B. and B. Rinkevich (2004). Quantifying fish metallothionein transcript by real time PCR for its utilization as an environmental biomarker. *Marine Pollution Bulletin*, **48**: 705-710.
- Vergani, L., Grattorola, M., Donderoand, F. and A. Viarengo (2003). Expression, purification, and characterization of metallothionein-A from rainbow trout. *Protein Expression and Purification*, **27**: 338-345.
- Wu, J.P. and H.P. Chen (2005). Metallothionein induction and heavy metal accumulation in white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to cadmium and zinc. *Comparative Biochemistry and Physiology C Toxicology Pharmacology*, **140**(3-4): 383-394.
- Wu, S.M., Shih, M. and Y.C. Ho (2007). Toxicological stress response and cadmium distribution in hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) upon cadmium exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **145**: 218-226.
- Yudkovski, Y., Rogowska-Wrzesinska, A., Yankelovich, I., Shefer, E., Herut, B. and M. Tom (2008). Quantitative immunochemical evaluation of fish metallothionein upon exposure to cadmium. *Marine Environmental Research*, **65**: 427-436.