



ผลของรางจืดต่อการลดพิษพาราควอทในปลาตะเพียนขาว

วิญญู บุญประเสริฐ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง  
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยแม่โจ้



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง

ชื่อเรื่อง

ผลของรังจืดต่อการลดพิษพาราควอตในปลาตะเพียนขาว

โดย

วิญญู บุญประเสริฐ

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายนุ)

วันที่ 17 เดือน ก.พ. พ.ศ. 55

กรรมการที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จงกล พรหมยะ)

วันที่ 17 เดือน ก.พ. พ.ศ. 55

กรรมการที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ มั่งอ่ำพันธ์)

วันที่ 17 เดือน ก.พ. พ.ศ. 55

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญญัติ มนเทียรอาสน์)

วันที่ 17 เดือน ก.พ. พ.ศ. 55

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำเนียร ยศราช)

ประธานกรรมการบัณฑิตศึกษา

วันที่ 20 เดือน ก.พ. พ.ศ. 55

|                        |                                               |
|------------------------|-----------------------------------------------|
| ชื่อเรื่อง             | ผลของรังสีต่อการลดพิษพาราควอทในปลาตะเพียนขาว  |
| ชื่อผู้เขียน           | นายวิญญู บุญประเสริฐ                          |
| ชื่อปริญญา             | วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง |
| ประธานกรรมการที่ปรึกษา | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายบุญ           |

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของรังสีต่อการลดพิษพาราควอทในปลาตะเพียนขาว โดยตรวจวัดระดับเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (GST) และเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) ซึ่งเป็นสิ่งบ่งชี้ถึงความผิดปกติ แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุด การทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 คือ ให้อาหารชุดควบคุมร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท ชุดการทดลองที่ 2 คือ ให้อาหารที่ผสมรังสี 10% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท ชุดการทดลองที่ 3 คือ ให้อาหารที่ผสมรังสี 15% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท ชุดการทดลองที่ 4 คือ ให้อาหารที่ผสมรังสี 20% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท โดยการสัมผัสกับพาราควอท ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1% ของ  $LC_{50}$  (20.48 ml/l) เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าระดับเอนไซม์ GST ของปลาตะเพียนขาวในชุดการทดลองที่ 1 มีค่า  $0.224 \pm 0.04$  n mole product/mg protein/ml ซึ่งสูงกว่าปลาตะเพียนขาวในชุดการทดลองอื่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยค่า GST ของปลาตะเพียนขาวในชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 คือ  $0.214 \pm 0.04$ ,  $0.218 \pm 0.02$  และ  $0.173 \pm 0.02$  n mole product/mg protein/ml ตามลำดับ ส่วน AChE เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าระดับ AChE ของปลาตะเพียนขาวในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าเท่ากับ  $3.330 \pm 0.60$ ,  $2.883 \pm 0.42$ ,  $2.970 \pm 0.20$  และ  $3.170 \pm 0.70$  n mole/min/mg protein ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยที่ระดับเอนไซม์ GST และ AChE ในชุดการทดลองที่ 1 (อาหารชุดควบคุมร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) มีแนวโน้มสูงที่สุด

|                                       |                                                                                                                                               |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Title</b>                          | Effect of Babbler' s Bill leaf ( <i>Thubergia laurifolia</i> Linn) on Detoxication of paraquat in Silver Barb ( <i>Babonymus gonionotus</i> ) |
| <b>Author</b>                         | Mr. Winyoo Boonprasert                                                                                                                        |
| <b>Degree of</b>                      | Master of Science in Fisheries Technology                                                                                                     |
| <b>Advisory Committee Chairperson</b> | Assistant Professor Dr. Prachaub Chaibu                                                                                                       |

### ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of Babbler' s Bill leaf (*Thubergia laurifolia* Linn.) to detoxify sub-chronic concentration of paraquat in Silver Barb (*Babonymus gonionotus*). The experiment was divided into 4 treatments: Treatment 1 (fish were fed basal commercial diet and exposed to paraquat); Treatment 2 (fish were fed commercial diet supplemented with 10% of Babbler' s Bill leaf and exposed to paraquat); Treatment 3 (fish were fed with commercial diet supplemented with 15% of Babbler' s Bill leaf and exposed to paraquat); and, Treatment 4 (fish were fed with commercial diet supplemented with 20% of Babbler' s Bill leaf and exposed to paraquat). The Glutathiones-transferase (GST) and Acetylcholinesterase enzyme (AChE) were examined every week. At the end of experiment, average GST in Treatment 1 was not significantly higher ( $0.224 \pm 0.04$  n mole product/mg protein/ml) than Treatments 2, 3 and 4 ( $0.214 \pm 0.04$ ,  $0.218 \pm 0.02$  and  $0.173 \pm 0.03$  n mole product/mg protein/ml) ( $P < 0.05$ ), respectively. There were no significant differences ( $P > 0.05$ ) in AChE among 4 treatments and their values were  $3.330 \pm 0.60$ ,  $2.883 \pm 0.42$ ,  $2.970 \pm 0.20$  and  $3.170 \pm 0.70$  n mole/min/mg protein, respectively, thus tending to provide the highest value of GST and AChE enzyme in Treatment 1 (fish were fed basal commercial diet and exposed to paraquat).

### กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประจวบ ฉายบุญ ประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จกมล พรหมยะ กรรมการที่ปรึกษาและผู้ช่วยศาสตราจารย์ ชนกันต์ จิตมนัส อาจารย์ประจำคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ผู้ให้ความช่วยเหลือสนับสนุน และให้คำแนะนำกับปัญหาและอุปสรรคต่าง ๆ สำหรับการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด ทั้งยังสละเวลาอันมีค่าในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้จนเสร็จสิ้นสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้อนุเคราะห์ให้ใช้สถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณบุคคลากรทุกท่านในคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ ที่ให้ความช่วยเหลือทุกๆ ด้าน

และสุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คุณพ่อ และญาติพี่น้องที่คอยให้กำลังใจมาโดยตลอดระยะเวลาในการศึกษา

วิญญู บุญประเสริฐ  
กุมภาพันธ์ 2555

## สารบัญ

|                                                               | หน้า |
|---------------------------------------------------------------|------|
| บทคัดย่อ                                                      | (3)  |
| ABSTRACT                                                      | (4)  |
| กิตติกรรมประกาศ                                               | (5)  |
| สารบัญ                                                        | (6)  |
| สารบัญตาราง                                                   | (8)  |
| สารบัญภาพ                                                     | (9)  |
| บทที่ 1 บทนำ                                                  | 1    |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย                                       | 2    |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ                                     | 2    |
| ขอบเขตการวิจัย                                                | 3    |
| บทที่ 2 การตรวจเอกสาร                                         | 4    |
| ปลาตะเพียนขาว                                                 | 4    |
| รางจืด                                                        | 9    |
| สารกำจัดวัชพืช                                                | 12   |
| ระบบเอนไซม์ทำลายพิษ                                           | 24   |
| บทที่ 3 วิธีการวิจัย                                          | 38   |
| อุปกรณ์และสารเคมี                                             | 38   |
| วิธีวิจัยและดำเนินการ                                         | 40   |
| การวิเคราะห์ข้อมูล                                            | 42   |
| บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย                                | 43   |
| ผลของอาหารผสมรางจืดต่อระดับเอนไซม์กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรส  | 43   |
| ผลของอาหารผสมรางจืดต่อระดับเอนไซม์เอนไซม์อะซิติกโคลิเนสเทอเรส | 46   |
| ผลการวิเคราะห์น้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาตะเพียนขาว               | 49   |
| บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ                                   | 57   |
| สรุปผลการศึกษา                                                | 57   |
| ข้อเสนอแนะ                                                    | 58   |

(7)

หน้า

บรรณานุกรม

59

ภาคผนวก

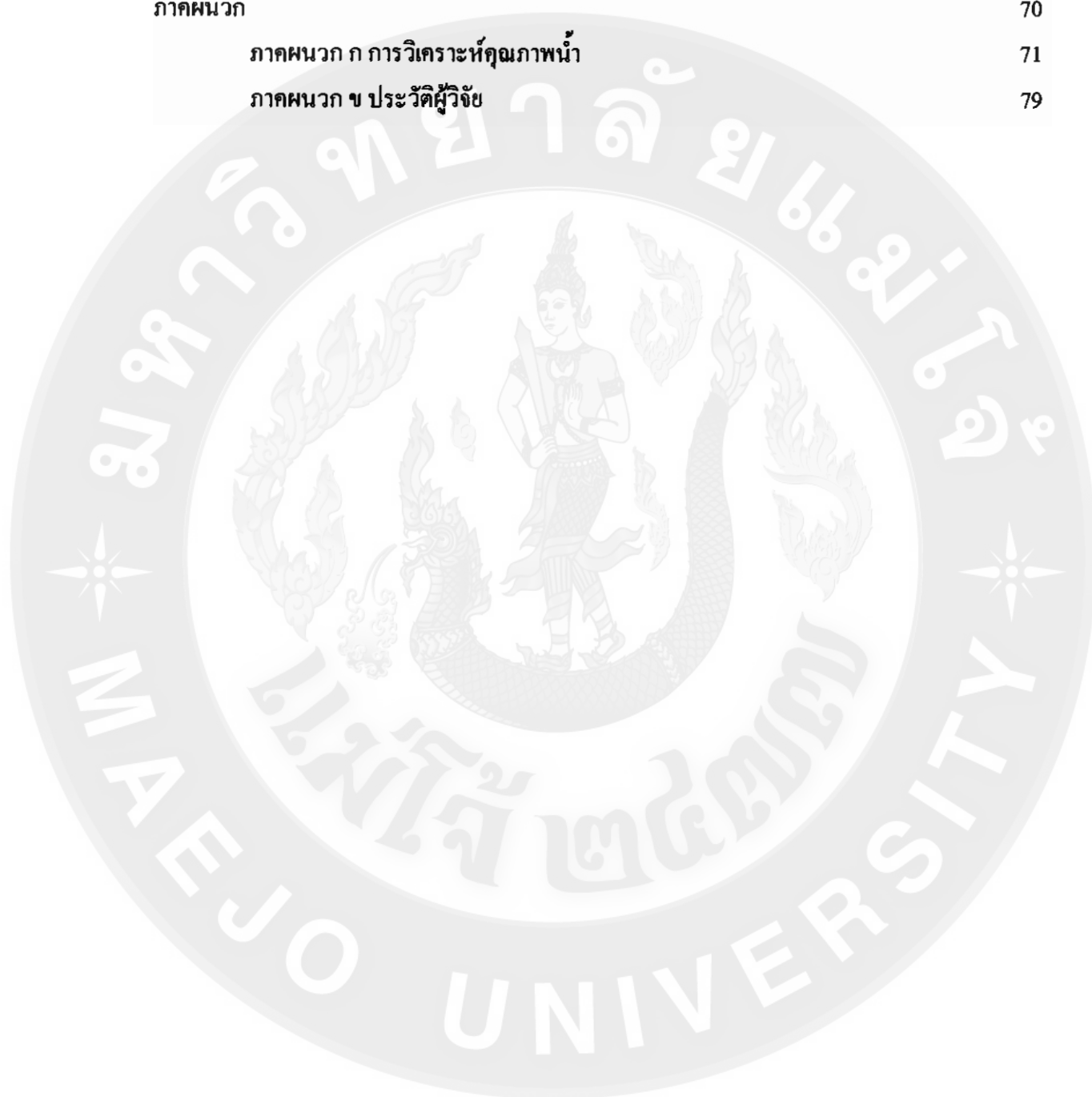
70

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

71

ภาคผนวก ข ประวัติผู้วิจัย

79



## สารบัญตาราง

| ตาราง                                                                                                                                                                                       | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 ตัวอย่างข้อมูลความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชบางชนิดต่อสิ่งมีชีวิต                                                                                                                           | 16   |
| 2 ระดับความเข้มข้นสูงสุด (maximum allowance concentration) ของสารพิษประเภทสารเคมีทางการเกษตร (pesticide) ที่ยินยอมให้มีอยู่ในน้ำโดยไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ                                | 23   |
| 3 ระดับโคลีนเอสเตอเรสในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำบางชนิด                                                                                                                                         | 34   |
| 4 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (n mole product/mg protein/ml) ของปลาตะเพียนขาวเมื่อให้อาหารผสมรางจืดอัตราส่วนต่าง ๆ กันในช่วงเวลา 4 สัปดาห์ | 45   |
| 5 ระดับเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (n mole product/mg protein) ของปลาตะเพียนขาวเมื่อให้อาหารผสมรางจืดอัตราส่วนต่างกันในช่วงเวลา 4 สัปดาห์                                                  | 48   |
| 6 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาตะเพียนขาว                                                                                                                                     | 55   |

## สารบัญภาพ

| ภาพ | หน้า                                                                                                               |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | ลักษณะของปลาดตะเพียนขาว                                                                                            |
| 2   | ลักษณะของรางจืด                                                                                                    |
| 3   | สาเหตุของการปนเปื้อนของสารกำจัดวัชพืชในแหล่งน้ำธรรมชาติ                                                            |
| 4   | การปล่อยของสารสื่อประสาท และถูกทำลายโดย อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส ที่<br>รอยต่อของเซลล์ประสาท                          |
| 5   | ระดับเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส จากเหงือกปลาดตะเพียนขาวที่ชุด<br>การทดลองแตกต่างกันในช่วงระยะเวลา 4 สัปดาห์ |
| 6   | ระดับเอนไซม์อะซีทิล โคลีนเอสเตอเรส จากเหงือกปลาดตะเพียนขาวที่ชุดการ<br>ทดลองแตกต่างกันในช่วงระยะเวลา 4 สัปดาห์     |

## บทที่ 1

### บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ที่มีการใช้สารเคมีกำจัดวัชพืช และแมลงอย่างแพร่หลาย เมื่อมีการใช้สารเคมีจำนวนมากเกินความสามารถที่ธรรมชาติจะขจัดให้หมดไปได้ ส่งผลให้เกิดการสะสมหรือตกค้างในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน แหล่งน้ำ และสัตว์น้ำเป็นต้น ซึ่งนวลศรี และคณะ (2536) กล่าวว่าแหล่งน้ำเป็นแหล่งที่รองรับชั้นสุดท้ายของวัฏจักรของสารเคมี โดยสารเคมีจะสามารถเข้าไปสะสมในพืชน้ำและสัตว์น้ำ

พาราควอต (1,1-dimethyl-4,4-bipyridylium dichloride) มีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อใช้เป็นสารปราบวัชพืช (Melchiorri, 1995) และเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดพิษต่อปอด ตับ สมอง ไต และอวัยวะอื่น ๆ จากการทดลองและสภาพศพที่ตายจากพิษพาราควอต ส่วนใหญ่เกิดจากการอักเสบของปอด (lung inflammation) และเกิดพังผืดในระหว่างเนื้อปอด (interstitial lung fibrosis) เป็นผลทำให้เกิดการหายใจล้มเหลว (respiratory failure) อาการเหล่านี้เกิดจากการสะสมพาราควอตในปอด พาราควอตจะได้รับอิเล็กตรอนหนึ่งตัวจาก NADPH-Cytochrome P450 reductase เปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระของพาราควอต (paraquat radical) เมื่อได้รับออกซิเจน อนุมูลอิสระของพาราควอตจะถูกออกซิไดส์อย่างรวดเร็วเป็น paraquat dication และ superoxide anion radical เมื่อมีการ reduce ที่เกิดสมมูลย์ (reducing equivalents) และเพียงพอ วงจรการเกิดพิษนี้ก็จะเกิดขึ้นอีกโดยพาราควอตจะถูก reduce และถูก oxidize ใหม่ ทำให้เกิดปริมาณของ reactive oxygen species, oxidative stress และ lipid peroxidation ขึ้นมากมาย นอกจากนี้ Di Marzio and Tortorelli (1994) กล่าวว่า พาราควอตว่ามีผลต่อ เหยือก ไค และตับของปลา Asztalos and Nemcsok (1985 ; Gabryelak and KleKot, 1985) ได้พบการเพิ่มขึ้นของ peroxidase activity การยับยั้ง AChE activity และ การเปลี่ยนแปลงของ lactate dehydrogenase ในปลาการ์ป Gun *et al.* ได้กล่าวว่า พาราควอตมีผลทำให้ glutation reductase activity และเหนี่ยวนำ hepatic glucose-6-phosphate dyhydrogenase activity เพิ่มขึ้นในตับปลาเรนโบว์เทราต์ Mendikute and Cajaraville (2003) ได้รายงานว่ actin cytoskeleton ถูกทำลายและมีการเพิ่มขึ้นของ reactive oxygen species (ROS) หลังจากสัมผัสกับพาราควอต

ได้มีความพยายามที่จะลด reactive oxygen species ที่เกิดจากพาราควอตโดยใช้ Antioxidants (Quencher หรือ Scavenger ได้แก่ catalase, superoxide dismutase, reduced glutathione, วิตามินอี และวิตามินซี แต่ไม่สามารถลดความเป็นพิษของพาราควอต (Melchiorri, 1995)

อาจเป็นเพราะว่าความสามารถที่จะผ่านผนังเซลล์ หรือความเร็วในการกำจัดพิษพาราควอตออกจากเซลล์ช้า

รางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) เป็นสมุนไพรที่มีประวัติว่าใช้ถอนพิษต่าง ๆ เช่น พิษสัตว์กัดต่อย เห็ดพิษ ยาหรือสารพิษ (สารเบื่อหนู สารกำจัดแมลง ฯลฯ) (ชลอ, 2519) รวมทั้งอาการเมาจากสารมึนเมาต่าง ๆ (กรุงไกร, 2516) นอกจากนี้ได้มีการทดลองนำสารสกัดจากใบรางจืดมาลดพิษหนูขาว (wistar) ที่ถูกทำให้เกิดพิษจากพาราควอต พบว่าสามารถลดอัตราการตายของหนูขาวลงได้ (สกุตรรัตน์ และคณะ, 2543)

การวิจัยนี้ศึกษาการใช้รางจืดผสมอาหารต่อการลดพิษของพาราควอต และผลของอาหารผสมเหล่านี้ต่อระบบเอนไซม์ทำลายพิษบางชนิด เช่น กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส และอะซีทิลโคไลน์เอสเทอเรส จากนั้นจะหาว่าการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์กับอัตราการให้อาหารผสมรางจืดระดับต่าง ๆ ในการลดพิษของรางจืด

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของรางจืดที่ผสมอาหารอัตราต่าง ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส ของปลาดุกเพียนขาวที่เกิดพิษจากพาราควอต
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของรางจืดที่ผสมอาหารอัตราต่าง ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนไซม์อะซีทิลโคไลน์เอสเทอเรส ของปลาดุกเพียนขาวที่เกิดพิษจากพาราควอต

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อได้ทราบถึงสรรพคุณของรางจืดในการลดพิษสารเคมีพาราควอตในปลาดุกเพียนขาว
2. เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ใบรางจืดในการลดพิษสารเคมีทางการเกษตร และการประมง
3. เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลทางวิชาการในการส่งเสริมความรู้แก่เกษตรกร สถาบันการศึกษาและบุคคลที่มีความสนใจ

### ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของรางจืดผสมอาหารต่อการลดพิษของพาราควอทในปลาตะเพียนขาว โดยตรวจวัดระดับเอนไซม์กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรส และอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ทำลายพิษที่บ่งชี้ถึงความผิดปกติ ซึ่งมีการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์กับอัตราการให้อาหารผสมรางจืดระดับต่าง ๆ ในการลดพิษพาราควอท โดยการใช้รางจืดผสมในสูตรอาหารที่แตกต่างกันคือ 10, 15, 20 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งใช้เลี้ยงปลาตะเพียนขาวที่ได้รับการปนเปื้อนสารพิษพาราควอท โดยการให้อาหาร 3 % ต่อน้ำหนักตัว และปรับการให้อาหาร มีการเก็บข้อมูลเกี่ยวกับคุณภาพน้ำ คือ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ออกซิเจนละลายในน้ำ (DO) แอมโมเนียไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ไนไตรท์-ไนโตรเจน ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) ไนเตรต-ไนโตรเจน ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) และออร์โธฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส ( $\text{PO}_4\text{-P}$ )

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

#### ปลาตะเพียนขาว

#### ลักษณะทั่วไปของปลาตะเพียนขาว

ปลาตะเพียนขาว (*Babonymus gonionotus*) เป็นปลาพื้นเมืองของประเทศไทยที่พบทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมอยู่แถบภูมิภาคอินโดจีน เป็นปลาที่มีลักษณะของเกล็ดใหญ่ ลำตัวมีสีเงิน ครีบท้อง และครีบกันมีสีเหลืองปนส้มเล็กน้อย ครีบหูมีสีจางหรือสีเหลืองอ่อนจาง ๆ ครีบหลัง และครีบหางสีเทาปนเหลือง ครีบหลังมีก้านครีบแข็ง 3 ก้าน และก้านครีบอ่อน 8 ก้าน ก้านครีบแข็งก้านสุดท้ายของครีบหลังเป็นกระดูกแข็ง และหักทางด้านหลัง ครีบกันมีก้านครีบแข็ง 3 ก้าน และก้านครีบอ่อน 6 ก้าน ก้านครีบแข็งอันสุดท้ายของครีบกันอ่อนจับอโค้งได้ปานกลาง เส้นข้างตัวมี 1 เส้น และมีเกล็ดตามเส้นข้างลำตัว 26-28 เกล็ด เกล็ดทางด้านเฉียง 5.5/1/3.5-4 โดยนับเฉียงไปทางฐานครีบอก และ 5.5/1/5.5 โดยนับเฉียงไปจนถึงเส้นกึ่งกลางของสันท้อง ลำตัวกว้างแบน ข้างส่วนหลังยกโค้งสูงขึ้น ความลึกของลำตัวเป็น 2.2-2.6 เท่าของความยาวมาตรฐาน ความยาวหัว 3.9-4.2 เท่าของความยาวมาตรฐาน จะอวบปากกลม ปากเล็กอยู่ปลายสุด มีหนวด 2 คู่ ความยาวของหนวด rostral barbells เป็น 1/3-1/2 ของความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางตา หนวด maxillary barbells เป็น 2/3-1/2 ของความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางตา (ภาพ 1)

Lagler *et al.* (1962) ได้จัดลำดับทางอนุกรมวิธานของปลาตะเพียนขาวได้ดังนี้

|         |                   |
|---------|-------------------|
| Phylum  | Chordata          |
| Class   | Osteichthyes      |
| Order   | Cyprinoidei       |
| Family  | Cyprinidae        |
| Genus   | <i>Babonymus</i>  |
| Species | <i>gonionotus</i> |

ดังนี้

สมโภชน์ และคณะ (2519) กล่าวว่าปลาคะเพียนขาวมีชื่อแตกต่างกันท้องถิ่น

ภาษาอังกฤษ : Barb, Thai Silver Carp, Thai Carp  
 ภาษาไทยมีชื่อในภาคกลางว่า ตะเพียนขาว ปลาคะเพียน และปลาคะเพียนทราย  
 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือแถบแม่น้ำโขงเรียกว่า ปลาปาก ปลาปึก ส่วนอื่น ๆ  
 ขอนแก่นเรียกว่า ปลาน้ำเงิน และปลาหางาม  
 ภาคเหนือเรียก ปลาปึก



ภาพ 1 ลักษณะของปลาคะเพียนขาว

#### แหล่งกำเนิด และการแพร่กระจาย

ปลาคะเพียนขาวพบในชวา สุมาตรา และไทย ปลาคะเพียนขาวเป็นปลาน้ำจืดที่ชอบอยู่ตามแม่น้ำลำคลอง บึงที่มีกระแสน้ำไหลอ่อน หรือน้ำนิ่งค่อนข้างใส นอกจากนี้ยังพบปลาคะเพียนขาวเป็นปลาน้ำจืดอาศัยอยู่ตามแม่น้ำ แต่สามารถเค็มได้ได้น้ำกร่อยซึ่งมีความเค็มถึง 7 ppt และอาจพบในบริเวณที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลถึง 800 เมตร อุณหภูมิเหมาะสมสำหรับปลาชนิดนี้อยู่ระหว่าง 25-31 องศาเซลเซียส (Hora and Pillay, 1962)

สำหรับในประเทศไทยนั้น พบว่าปลาคะเพียนขาวตามแม่น้ำในจังหวัดต่าง ๆ เช่น แม่น้ำป่าสัก แม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำแม่กลอง นอกจากนี้ยังพบการแพร่กระจายของปลาคะเพียนขาวในแม่น้ำปิงตอนบน แม่น้ำมูล บึงบอระเพ็ด หนองหาร เขื่อนอุบลรัตน์ เขื่อนภูมิพล อ่างเก็บน้ำลำตะคลอง (สมโภชน์ และคณะ, 2519)

## การแพร่ขยายพันธุ์

กำพล (2525) กล่าวว่าความแตกต่างระหว่างเพศของปลาคะเพียนขาว เมื่อสังเกตจากลักษณะภายนอกจะพบความแตกต่างระหว่างเพศได้ 5 ประการ ดังนี้

1. ปลาคะเพียนขาวรุ่นเดียวกันเมื่อเติบโตเต็มวัยเพศผู้จะมีขนาดเล็กกว่าเพศเมีย
2. ปลาเพศผู้มีลำตัวยาวเรียว เพศเมียลำตัวสั้นป้อม
3. พ่อแม่ปลาที่มีน้ำเชื้อ และไข่แก่ เมื่อสัมผัสเพศผู้บริเวณแก้ม และเกล็ดโดยทั่วไปปาก ส่วนเพศเมียแก้ม และเกล็ดมีลักษณะลื่นมือ
4. ครีบท้อง (Pelvic fin) ปลาเพศผู้เมื่อจับให้แนบขนานกับท้องไปทางครีบทวาร (Anal fin) จะยาวจรดถึง โคนฐานครีบทวารด้านหน้า เพศเมียครีบท้องยาวไม่จรดถึง โคนฐานครีบทวาร นอกจากนี้ยังพบว่าปลาเพศผู้จะมีคู่มิวจับแล้วลื่นมือ
5. ในฤดูผสมพันธุ์ปลาเพศเมียจะมีท้องอูมออกมาทั้งสองข้างพื้นท้องนิ่ม Urogenital pore กว้างกว่าปกติ ส่วนปลาเพศผู้ท้องแบนแข็งกว่าเพศเมีย ถ้าเอามือรีดท้องไปทางทวาร จะมีน้ำเชื้อบาง ๆ คล้ายน้ำมันไหลออกมาจากอวัยวะเพศ

จากการศึกษาพยาธิสภาพของรังไข่ของปลาคะเพียนขาว รังไข่จะมีการพัฒนาการวางไข่ไม่สม่ำเสมอ (Asynchronous oocyte development) โดยจะพบไข่ทุกขั้นตอนของการพัฒนาอยู่ในรังไข่เดียวกันตลอดทั้งปี จึงแสดงให้เห็นว่าแม่ปลาคะเพียนขาวสามารถวางไข่ได้หลายครั้งในหนึ่งฤดูกาล ส่วนปลาเพศผู้จะมีลักษณะเป็นแบบ Lobular type พบได้ในปลาทั่วไป นอกจากนี้ลักษณะของปลาคะเพียนขาวยังประกอบด้วยเซลล์ในระยะ Spermatozoa เป็นส่วนใหญ่ จึงแสดงให้เห็นว่าปลาคะเพียนขาวมีการสร้างน้ำเชื้อเกิดขึ้นตลอดทั้งปี (นฤพล และ วัฒนะ, 2537) โดยทั่วไปปลาคะเพียนขาวจะมีการวางไข่ในช่วงฤดูฝน ไข่ปลาปลาคะเพียนขาวเมื่อรีดไข่ออกจากท้องมีลักษณะกลมเล็ก และมีสีเขียวยาวครามอ่อน (สำรอง, 2512) ขนาดของไข่ก่อนพองน้ำมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-3.5 มิลลิเมตร (วิทย์, 2512)

## อายุ และการเจริญเติบโต

เมฆ (2511) ได้ศึกษาอายุและขนาดของลูกปลาคะเพียนขาวที่ได้รับการผสมเทียมด้วยวิธีฉีดฮอร์โมน พบว่าลูกปลาคะเพียนขาวเมื่อฟักเป็นตัวจะมีขนาดความยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร เมื่ออายุ 2 สัปดาห์ จะมีความยาว 1.20 มิลลิเมตร และอายุ 1 เดือน มีความยาว 1.50 เซนติเมตร สำรอง (2512) รายงานเกี่ยวกับอายุและขนาดของปลาคะเพียนขาวที่เลี้ยงในบ่อของ

สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดเชียงใหม่ว่าเมื่อปลาคะเพียนมีอายุ 8 เดือน ปลาทุกตัวเริ่มจะมีไข่ และน้ำเชื้ออ่อน ๆ ถึงแม้ว่าปลาจะมีขนาดความยาวสุดเพียง 8.5 เซนติเมตร และมีน้ำหนักเพียง 9 กรัม หลังจากเลี้ยงด้วยอาหารประเภท กากถั่วลิสง รำ ผัก เป็นเวลา 2 เดือนก็ผสมพันธุ์วางไข่ได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ปลาคะเพียนขาวสามารถแยกเพศได้ตั้งแต่อายุประมาณ 2 เดือน ปลาเพศผู้มีความยาว 8 เซนติเมตร และหนัก 7 กรัม เมื่อบีบส่วนท้ายสุดของครีบท้องจะมีน้ำสีขาวข้นคล้ายนมสดไหลออกมา ส่วนเพศเมียมีความยาว 11.5 เซนติเมตร น้ำหนัก 20 กรัม จะเห็นลอนไข่ปรากฏสองข้างอย่างชัดเจน

### อาหาร และนิสัยการกินอาหาร

นิสัยการกินอาหารลูกปลาคะเพียนขาววัยอ่อน (Larvae) กินสาหร่ายเซลล์เดียว และ แพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเล็ก ดังนั้นนิสัยการกินอาหารของลูกปลาคะเพียนขาวจึงจัดเป็นจำพวก Plankton feeder (Hora and Pillay, 1962) ลูกปลาคะเพียนขาวที่มีขนาดอายุ 32 วัน จะเริ่มเปลี่ยนนิสัยการกินอาหารมาเป็นใบของสาหร่ายหางกระรอก (Vegetable feeder) (พินิจ และ โยธิน, 2527) ส่วนปลาคะเพียนขาวที่มีความยาวมากกว่า 13 เซนติเมตรขึ้นไป ยังพบว่ากินพืช 83.33 เปอร์เซ็นต์ และพืชน้ำมากที่สุด

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น จึงอาจสรุปได้ว่าปลาคะเพียนขาวเป็นปลาที่มีการเปลี่ยนแปลงนิสัยการกินอาหารตามวัย โดยลูกปลาวัยอ่อนจะกินแพลงก์ตอน และเมื่อมีขนาดมากกว่า 3 นิ้วขึ้นไปจะเริ่มเปลี่ยนมากินพืชน้ำเป็นส่วนใหญ่ Suraswadi (1976) พบว่าปลาคะเพียนขาวเป็นปลาหากินกลางวัน (Diurnal fish) โดยจะหากินในช่วงเวลา 08.00-20.00 น.

### การใช้ปลาคะเพียนขาวในการทดสอบสารพิษ

ได้มีงานวิจัยต่าง ๆ เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช วูฒิพร และคณะ (2530) ทำการทดลองหาค่าความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสารกำจัดวัชพืช imazapyl (isopropylamine salt of 2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazole-2-yl) ต่อปลาคะเพียนขาว โดยวิธีชีววิเคราะห์ในน้ำนิ่ง ใช้ลูกปลาที่มีความยาวเฉลี่ยประมาณ 2-3 เซนติเมตร แบ่งการทดลองเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นแรกเป็นหาค่าความเข้มข้นของ imazapyl ในช่วงกว้างที่ทำให้ปลาคะเพียนขาวตาย 0 และ 100 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำมากำหนดความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองขั้นที่ 2 ซึ่งจะเป็นการกำหนดความเข้มข้นที่ละเอียดขึ้น จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของ imazapyl ที่ทำให้ปลา

ตะเพียนขาวตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 96 ชั่วโมง มีค่า 2.706 (2.664-2.746) มก./ลิตร และพบว่าค่า 24-hr LC<sub>50</sub> และ 96-hr LC<sub>50</sub> ของสาร imazapyr ต่อปลาตะเพียนขาวมีค่าเท่ากัน

บรรจง และคณะ (2554) ศึกษาพิษเฉียบพลันของ dimethyl 2,2,2 trichloro-1-hydroxy ethyl phosphonate (ไตรคลอโรฟอน) ต่อลูกปลาตะเพียนขาว อายุ 4 วัน (ความยาวเฉลี่ย 3.77±0.15 มม. น้ำหนักเฉลี่ย 3.00 มก.) 8 วัน (ความยาวเฉลี่ย 5.37±0.26 มม. น้ำหนักเฉลี่ย 3.75 มก.) 12 วัน (ความยาวเฉลี่ย 7.20±0.69 มม. น้ำหนักเฉลี่ย 5.00 มก.) และ 30 วัน (ความยาวเฉลี่ย 17.32±1.67 มม. น้ำหนักเฉลี่ย 67.00±16.36 มก. โดยวิธีชีววิเคราะห์ในน้ำนิ่ง พบว่า ค่า 24 และ 48 ชั่วโมง LC<sub>50</sub> พร้อมทั้งช่วงของค่า LC<sub>50</sub> ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของไตรคลอโรฟอนต่อลูกปลาตะเพียนขาวอายุ 4, 8, 12 และ 30 วัน มีค่า 39.437 (28.428-54.330), 226.191 (182.684-280.983), 39.863 (29.165-53.005) และ 45.723 (32.647-62.367) มก./ล.; 8.014 (4.976-10.387), 62.635 (50.331-77.932), 16.764 (12.526-21.059) และ 17.311 (13.081-21.677) มก./ล. ตามลำดับ ค่า 72 และ 96 ชั่วโมง LC<sub>50</sub> พร้อมทั้งช่วงของค่า LC<sub>50</sub> ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของไตรคลอโรฟอนต่อลูกปลาตะเพียนขาวอายุ 12 และ 30 วัน มีค่า 11.795 (8.355-14.540) และ 11.444 (7.052-14.887); 10.488 (6.558-13.174) และ 10.790 (6.979-13.496) มก./ล. ตามลำดับ ระดับความเข้มข้นที่ปลอดภัยของไตรคลอโรฟอนต่อลูกปลาตะเพียนขาวอายุ 4, 8, 12 และ 30 วัน ที่เวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 1.972, 11.310, 1.993 และ 2.286 มก./ล ตามลำดับ

รัตนาวรรณ (2541) ศึกษาถึงผลของกรดฮิวมิกและความกระด้างของน้ำต่อค่าความเป็นพิษของโลหะหนักแคดเมียมในปลาตะเพียนขาววัยอ่อน โดยที่ค่าความเป็นพิษของโลหะหนักแคดเมียมคำนวณจากค่าความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการตาย ร้อยละ 50 ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (LC<sub>50</sub>) พบว่าค่าความเป็นพิษของโลหะหนัก แคดเมียมลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดฮิวมิกจาก 0.5 เป็น 5.0 และ 50 มิลลิกรัม ต่อลิตร (ค่า LC<sub>50</sub>) เป็น 3.04, 4.17, 4.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) หรือเมื่อค่าความกระด้างของน้ำเพิ่มขึ้นจาก 55 เป็น 113 และ 225 มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต (ค่า LC<sub>50</sub>) เป็น 4.17, 4.35, 5.06 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ผลรวมของกรดฮิวมิก และความกระด้างของน้ำทำให้ค่าความเป็นพิษของโลหะหนัก แคดเมียมลดลงเช่นกัน ค่า LC<sub>50</sub> ในน้ำกระด้างอย่างอ่อนเป็น 2.43, 2.84 และ 2.84 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำกระด้างปานกลางเป็น 2.71, 2.92 และ 3.35 มิลลิกรัม ต่อลิตร และในน้ำกระด้างรุนแรง เป็น 3.05, 3.32 และ 3.49 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อ เพิ่มความเข้มข้นของกรดฮิวมิกจาก 0.5 เป็น 5.0 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ในการศึกษาผลของกรดฮิวมิกและความกระด้างของน้ำต่อปริมาณการสะสมของโลหะหนักแคดเมียม พบว่าปริมาณการสะสมของโลหะหนักแคดเมียมไม่มีความสัมพันธ์ที่แน่นอนกับการเพิ่มขึ้นของกรดฮิวมิกหรือความกระด้างของน้ำ รวมทั้งค่าความเป็นพิษของโลหะ

หนักแคดเมียม ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่ากรดฮิวมิกจะมีผลทำให้ปริมาณการสะสมของโลหะหนักแคดเมียมเพิ่มขึ้น ลดลง หรือคงที่นั้นขึ้นอยู่กับค่าความเข้มข้นของกรดฮิวมิก และระยะเวลาที่สัมผัสกับสภาวะดังกล่าว

## รางจืด

### ลักษณะทั่วไปของรางจืด

รางจืด (*Thunbergia laurifolia* Linn.) เป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่รู้จักกันดี และใช้แพร่หลายในวงการแพทย์แผนโบราณ จากตำรายาสมุนไพร (เสงี่ยม, 2508; ชลอ, 2519; วุฒิ, 2540) กล่าวว่า รางจืดมีรสเย็น ใช้ปรุงเป็นยาเขียวถอนพิษไข้ แก้เบื่อเมา แก้ร้อนใน กระหายน้ำ ประจำเดือนไม่ปกติ ปวดหู อักเสบ ปวดบวม และใช้รักษาผู้ป่วยที่ถูกยาพิษต่าง ๆ อาทิเช่น พิษจากสุรา เห็ดเมา พิษเนื่องจากอาการแพ้ หรือรับประทานอาหารที่มีพิษ เช่น ปลาปักเป้าทะเลบางชนิด แมงดาทะเลชนิดที่มีพิษ รวมทั้งใช้รักษาผู้ที่ได้รับสารเคมีที่มีพิษร้ายแรง เช่น สารหนู สตริกนิน และสารเคมีทางการเกษตรต่าง ๆ

รางจืด (Babbler's Bill leaf)

ชื่อทางพฤกษศาสตร์ *Thunbergia laurifolia* Linn.

ชื่ออังกฤษ Blue Thunbergia (Lanrel Clock Vine)

ชื่ออื่น ๆ กำลังช้างเผือก ขอบชะนาง เครือเขาเขียว ยาเขียว(กลาง)  
รางเย็น หนามแน่ (เหนือ) ขำเข้ (อุตรดิตถ์) กล้วย (ยะลา)  
คูเหล้า (ปัตตานี) ทิดพุด (นครศรีธรรมราช) น้านอง  
(สระบุรี) แอดแอ (เพชรบูรณ์) จอถอดิเออ ชังกะละะ พอ-  
หน่อเตอ จัดอยู่ในลำดับชั้นของอนุกรมวิธานดังนี้  
(สมพร, 2546)

Kingdom Plantae

Phylum Magnoliophyta

Class Magnoliopsida

Order Scrophulariales

Family Acanthaceae

Genus *Thunbergia*

Species *laurifolia* Linn.



ภาพ 2 ลักษณะของรางจืด

### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

สมพร (2546) ได้กล่าวว่า รางจืดมีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบตามป่าดงดิบ ป่าละเมาะหรือตามทุ่งหญ้า ตามที่รกร้างทั่วไป รางจืดเป็นพืชขนาดกลางเป็นเถาเลื้อย (woody climber) เถาพันสิ่งยึดเกาะ ลำต้นกลมสีเขียว มีข้อ และปล้อง (node and internode) ชัดเจน ใบเดี่ยว (simple leaf) ออกตรงข้าม (opposite vernation) ผิวใบเกลี้ยง (glabrous) ลักษณะใบรูปไข่ยาว ปลายใบดิ่งแหลม โคนใบกลมมน ขอบใบหยักมน (crenate) แผ่นใบสีเขียวเข้มเรียบมัน ขนาดใบยาว 8-10 เซนติเมตร กว้าง 4-5 เซนติเมตร มีเส้นกลางใบ และเส้นใบ 3 เส้น ดอกช่อแบบ cyme ช่อหนึ่งมี 3-4 ดอก ออกตามง่ามใบ ช่อห้อยลง ดอกรูปกรวยตื้น (funnel form) ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร มีกลีบดอกชั้นใน (petal) ติดกัน 5 กลีบ ปลายกลีบแยก 5 แฉก สีม่วงอ่อน สีคราม สีฟ้า ดอกบานเต็มที่ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 นิ้ว ภายในหลอดมีสีขาว ใบประดับ (bract) หุ้มดอกสีเขียวประแดง เกสรตัวผู้ (stamen) 4 อัน ผลเป็นฝักปลายแหลม โคนฝักกลมความยาวผลประมาณ 1 เซนติเมตร ผลแก่แตกเป็น 2 ซีก

### การปลูก และการเก็บเกี่ยว

เพาะเมล็ดหรือปักชำลงในดินร่วนซุยที่เก็บความชื้นได้ ปลูกในที่ร่ม และหาหลักยึดเกาะไว้ให้ลำต้นเลื้อย การนำไปใช้ควรเก็บใบที่ไม่แก่ไม่อ่อนเกินไป หรือรากที่มีอายุเกิน 1 ปีขึ้นไป นำใบสดที่เก็บได้ผึ่งแดด หรืออบที่อุณหภูมิประมาณ 40-50 องศาเซลเซียส ใบที่แห้งแล้วเก็บลง

ในภาชนะปิดสนิท ความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ ในสถานที่ไม่มีลมพัดผ่าน และแสงแดดส่องไม่ถึง ป้องกันการติดเชื้อรา และแมลงกัดทำลายทำให้คุณภาพของสมุนไพรลดลงได้ (สมพร, 2546)

### สรรพคุณความเชื่อ

ใบ (แห้ง) ถอนพิษสารเคมี เช่น สารหนู สตริกนิน พิษจากแมลง ในมาเลเซียเชื่อว่า ใบแก้ประจำเดือนผิดปกติ แก้ปวดบวม

ใบ (สด) ขับขี้ขามาแมลง สารเคมีที่มีพิษ พิษพิษ เห็ดพิษ พิษจากสัตว์และสิ่งมีเมตาต่าง ๆ

ราก (แห้ง) แก้บวม แก้อักเสบ แก้ไข้

ลำต้น (แห้ง) แก้ไข้

รากและเถา ถอนพิษเบื่อเมา แก้อ่อนในกระหายน้ำ

### องค์ประกอบทางเคมี

ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม flavonoid คือ cosmosiin delphinidin-3-5-di-O-β-D-glucoside steroids carotenoid amino acid 3 ชนิด คือ methionine glycine serine (สมพร, 2546)

### ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

#### 1. ฤทธิ์ต้านพิษยาฆ่าแมลงและสารเคมี

จากการศึกษาทดลองในหนูขาว ให้หนูได้รับพิษฟอลิดอล-อี (Folidol-E) ซึ่งเป็นยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนังของหนู หลังจากนั้น 5 นาที ให้สารสกัดคั่วของใบรางจืดทางปาก ฉีดเข้าใต้ผิวหนังของหนู และช่องท้อง พบว่าการให้สารสกัดคั่วของใบรางจืด โดยทางกรอกปากสามารถลดอัตราการตายของหนูจากพิษฟอลิดอล-อี ได้ดีกว่าให้ทางฉีดเข้าใต้ผิวหนัง และทางช่องท้อง นอกจากนี้ได้มีการใช้น้ำสกัดใบรางจืดร่วมกับการฉีดอะโทรปีน (atropine) เข้าผิวหนัง พบว่าทำให้ความดันโลหิตลดลง ซึ่งสามารถแก้ไขได้ด้วยการให้อะโทรปีน ส่วนกลไกการออกฤทธิ์ไม่ทราบแน่ชัด โรงพยาบาลเจ้าพระยาบรมราช จังหวัดสุพรรณบุรี ได้ทำการศึกษาโดยเก็บข้อมูลเบื้องต้น ในการใช้รางจืดรักษาผู้ป่วยที่ได้รับพิษจากยาฆ่าหญ้า คือ พาราควอต (กรัมม็อกโซน) ก่อนการทดลอง เมื่อศึกษาข้อมูลย้อนหลังไป 3 ปี พบว่าผู้ป่วย

ที่ได้รับพาราควอตแล้วมาโรงพยาบาลเกิดอาการหลับไม่ตื่น ถึงแม้ว่าจะทำการรักษาทำให้อาเจียนและล้างท้อง เมื่อนำวิธีการใช้รางจืดรักษาควบคู่กับวิธีการรักษาของทางโรงพยาบาล พบว่า ผู้ป่วยโรคชิวัดร้อยละ 51 คิดว่าการใช้วิธีการรักษาแบบปกติร้อยละ 50

## 2.ฤทธิ์ด้านแบคทีเรีย

มีผู้ทำการวิจัยพบว่า สารสกัดอีเทอร์ และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ของต้นรางจืดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *Aerobacter aerogenes*

## 3.ฤทธิ์ด้านไวรัส

มีผู้ทำการวิจัยพบว่า สารสกัดน้ำจากใบรางจืดแสดงฤทธิ์ด้านเชื้อเริ่มที่ปากได้โดยตรง มีผลยับยั้งการเพิ่มปริมาณของไวรัสในเซลล์ที่เจริญอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ อย่างไรก็ตาม สารสกัดของใบรางจืดไม่สามารถขัดขวางเชื้อไวรัสเข้าสู่เซลล์ได้

## 4.ฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อเรียบ

น้ำสกัดจากรางจืดเพิ่มการบีบตัวของหลอดเลือดจากรกของคน และตามด้วยการลดการบีบตัวของหลอดเลือด เมื่อทดลองกับลำไส้หนูที่ตัดแยกจากลำตัว ทำให้ลำไส้บีบตัวลดลงในระยะเวลาสั้น แล้วเปลี่ยนเป็นการเพิ่มการบีบตัว น้ำสกัดรางจืดเพิ่มการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบที่หลอดลม และมดลูกได้ชัดเจน ซึ่งผลต่อกล้ามเนื้อเรียบนี้ไม่สามารถยับยั้งด้วยอะโทรปีน (atropine) หรือ ไดฟีนิลไฮโดรามีน (diphenylhydramine) น้ำสกัดรางจืดแสดงผลต่อกล้ามเนื้อเรียบคล้ายคลึงกับโพรสตาแกลนดิน (prostaglandin) และเบรคคิไคนิน (bradykinin) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารสกัดด้วยความร้อนจะให้ผลดีกว่าการสกัดไม่ใช้ความร้อน นอกจากนี้ยังพบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่น ๆ คือ สารสกัดจากลำต้น และรากแห้งสามารถรักษาไข้ สารสกัดด้วยน้ำร้อนจากใบแห้งสามารถออกฤทธิ์ด้านการอักเสบ และฤทธิ์การต้านมะเร็งจากสารสกัดทั้งต้นแห้งอีกด้วย อย่างไรก็ตาม กลไกในการต้านพิษยังไม่เป็นที่ชัดเจน (สมพร, 2546)

## สารก่าจัดวัชพืช

สารก่าจัดวัชพืช โดยทั่วไปอาจจะเรียกเป็นภาษาไทยที่แตกต่างกันไปได้หลายอย่าง เช่น ขาม่าหญ้า ยาปราบหญ้า ยากำจัดวัชพืช หรือสารเคมีกำจัดวัชพืช ซึ่งทั้งหมดนี้การใช้คำว่า “สารก่าจัดวัชพืช” เป็นชื่อเรียกที่เหมาะสมที่สุด โดยได้มีการเรียกกันอย่างเป็นทางการในสมาคมวิชาการวัชพืชแห่งประเทศไทย และกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร ซึ่งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปแล้วในการจำแนกประเภทของสารก่าจัดวัชพืช ได้มีการแบ่งประเภทของสารออกเป็นกลุ่มๆ โดยอาศัยหลักในการจำแนกซึ่งจะแบ่งออกได้หลายวิธี ได้แก่ การแบ่งตามลักษณะ

วิธีการใช้ การแบ่งตามลักษณะอาการได้รับพิษโดยทั่วไป การแบ่งตามลักษณะการเลือกทำลายของสาร การแบ่งตามเวลาที่ใช้ ตลอดจนการแบ่งตามลักษณะโครงสร้างพื้นฐานทางเคมีและกลไกในการทำปฏิกิริยาทางชีวเคมีในพืช เป็นต้น (ทัศนียา, 2552)

### ประเภทของสารกำจัดวัชพืช

ในการจำแนกประเภทของสารกำจัดวัชพืชทั้งหมดนี้ ยังไม่สมบูรณ์เพียงพอเนื่องจากปัญหาในการพัฒนาของระบบการจำแนกประเภทของสารกำจัดวัชพืชมีความหลากหลายมาก ทั้งในลักษณะทางเคมี และกลไกในการทำปฏิกิริยาของสารในแต่ละชนิดแต่อย่างไรก็ตามในระบบพื้นฐานทั่วไปที่นำมาใช้ในการจำแนกประเภทของสารวัชพืชออกเป็นกลุ่ม ๆ นั้นจะแบ่งตามลักษณะโครงสร้างพื้นฐานทางเคมี ซึ่งมีความจำเป็นที่จะต้องมีการพิจารณาเกี่ยวข้องกับกลไกในการทำปฏิกิริยาของสารภายในพืชด้วย ในที่นี้ได้ทำการจำแนกประเภทของสารกำจัดวัชพืชสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มหลัก ๆ ดังต่อไปนี้

#### 1. การแบ่งตามลักษณะการเลือกทำลาย แบ่งได้ 2 กลุ่ม ดังต่อไปนี้

1.1 สารประเภทเลือกทำลาย (selective herbicides) หมายถึง สารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด แต่ไม่มีผลหรือมีผลน้อยกับพืชบางชนิด สารกำจัดวัชพืชส่วนใหญ่ที่มีจำหน่ายมักจะเป็นพวกที่เลือกทำลาย โดยฆ่าเฉพาะวัชพืชแต่จะไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก เช่น ทูโฟดี ฟลูอะซิฟอป ฮาโลซีฟอป และไพราฟานิล เป็นต้น

1.2 สารประเภทไม่เลือกทำลาย (non-selective herbicides) หมายถึง สารที่มีผลในการทำลายพืชทุกชนิด เช่น พาราควอต ไกลโฟเสท และกลูโฟดีเนท เป็นต้น สารพวกนี้จะทำลายพืชทุกชนิดที่สารสัมผัสการใช้จึงต้องระมัดระวังไม่ให้สารสัมผัสกับพืชปลูกมักนิยมใช้ในพืชปลูกพวกไม่ขึ้นต้นและแหล่งที่ไม่ได้ทำการเกษตร

#### 2. การแบ่งตามลักษณะวิธีการใช้ แบ่งได้ 2 กลุ่ม ดังต่อไปนี้

2.1 สารประเภทฉีดทางใบ (foliar-applied herbicides) หมายถึง สารซึ่งทำลายพืชโดยมีการใช้ผ่านเข้าสู่ทางใบ เช่น ไกลโฟเสท กลูโฟดีเนท พาราควอต และทูโฟดี เป็นต้น

สารประเภทฉีดทางใบนั้น สามารถแบ่งออกตามลักษณะอาการที่พืชได้รับพิษโดยทั่วไป (general symptoms) ได้ 2 กลุ่ม ดังนี้

2.1.1 สารประเภทสัมผัส (contact herbicides) เช่น กลูโฟดีเนท พาราควอต และเอเอ็มเอเอ็มเอ เป็นต้น

2.1.2 สารประเภทเคลื่อนย้าย (translocated herbicides) เช่น  
ทุโฟดี อิมาซาพิล ไตรโคลพิล และคาลาปอนด์ เป็นต้น

2.2 สารประเภทฉีดทางดิน (soil-applied herbicides) หมายถึง สารที่ใช้  
ฉีดลงบนดินหรือหลังจากฉีดแล้วมีการคลุกของสารเข้าไปกับดิน เพื่อทำลายเมล็ดวัชพืชที่กำลังงอก  
โดยสารจะเข้าสู่ต้นพืชได้ทางรากหรือยอดใต้ดิน (soil-acting herbicides) ส่วนใหญ่แล้วสารพวกนี้  
จะมีผลตกค้างในดิน เช่น แอจคลอ อะทราซีน โบรมาซีล ออกซีฟลูออเฟน ออกซาเดียมซัล และ  
เพนดีเมทาลีน เป็นต้น

### 3. การแบ่งตามลักษณะโครงสร้างพื้นฐานทางเคมี

Warren and Hess (1993) ได้จำแนกโดยอาศัยหลักของโครงสร้างโมเลกุล และ  
ตำแหน่งของอะตอม ของสารภายในโมเลกุลที่คล้ายคลึงกัน แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มดังต่อไปนี้

3.1 สารกำจัดวัชพืชที่เป็นอนินทรีย์สาร (inorganic herbicides) เป็นสาร  
กำจัดวัชพืชที่ไม่มีอะตอมของคาร์บอนในโมเลกุล ได้แก่ แอมโมเนีย ซัลฟาเมท คอปเปอร์  
ซัลเฟตเมทาโบเรต และ โซเดียมคลอเรต เป็นต้น

3.2 สารกำจัดวัชพืชที่เป็นอินทรีย์สาร (organic herbicides) เป็นสารที่มี  
อะตอมของคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอย่างน้อย 1 อะตอม โดยทั่วไปโมเลกุลของสารอินทรีย์  
ประกอบด้วยธาตุต่าง ๆ 12 ชนิด ซึ่งธาตุที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน  
ส่วนธาตุชนิดอื่น ๆ ที่อาจจะพบบ้าง ได้แก่ ไนโตรเจน กำมะถัน ฟอสฟอรัส และธาตุในกลุ่ม  
ฮาโลเจน (halogen : F, Cl, Br, I) เป็นต้น อะตอมของคาร์บอนในโมเลกุลที่ไม่ได้ติดต่อกันเป็นวง  
แหวนจะเรียกว่า อะลิฟาติก ไฮโดรคาร์บอน ส่วนอะตอมของคาร์บอนที่จับกันเป็นวงแหวนจะ  
เรียกว่า อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน หรือเบนซีน สารกำจัดวัชพืชที่เป็นอินทรีย์สาร สามารถ  
แบ่งเป็นกลุ่มต่าง ๆ ตามลักษณะโครงสร้างพื้นฐานทางเคมีของสาร และตามกลไกในการทำ  
ปฏิกิริยาทางชีวเคมี

### การวัดความเป็นพิษ (toxicity measures)

การวัดความเป็นพิษนิยมวัดพิษ 2 ลักษณะด้วยกัน คือ ความเป็นพิษเฉียบพลัน (acute  
toxicity) และความเป็นพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) ความเป็นพิษเฉียบพลัน หมายถึง พิษที่เกิดขึ้นในสัตว์ทดลอง  
หลังจากให้สารพิษหนึ่งขนาด (single dose) โดยวิธีการกิน สัมผัส หรือหายใจ ภายในระยะเวลาอัน  
สั้น (ไม่เกิน 14 วัน) ความเป็นพิษเรื้อรัง หมายถึง พิษที่เกิดขึ้นในสัตว์ทดลองหลังจากให้สารพิษแก่สัตว์

ทดลองหลาย ๆ ครั้งอย่างต่อเนื่อง ในระยะเวลาที่ยาวนาน การวัดพิษเรื้อรังนั้นปริมาณสารพิษที่สัตว์ทดลองได้รับในแต่ละครั้ง ไม่ถึงขนาดที่ทำให้ตายได้ อาการพิษเรื้อรังที่เกิดขึ้น ได้แก่ การเกิดผลต่อทารกในครรภ์ การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ผลต่อระบบเลือด ระบบประสาท และระบบสืบพันธุ์ผิดปกติหรือก่อให้เกิดมะเร็ง เป็นต้น

### วิธีการทดสอบความเป็นพิษ (toxicity tests)

การทดสอบความเป็นพิษของสารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์นั้น สามารถกระทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ และการนำไปใช้ประโยชน์ การทดสอบความเป็นพิษของสารหากจำแนกตามผลของการนำไปใช้ประโยชน์ สามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

1. การทดสอบเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารต่อสิ่งมีชีวิตเป้าหมาย (target organisms) หมายถึง การนำสารเคมีมาทดสอบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืชและสัตว์มากน้อยเพียงใด
2. การทดสอบเพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารต่อสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย (non-target organisms) หมายถึง การนำสารเคมีมาทดสอบว่ามีระดับความเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์มากน้อยเพียงใด โดยใช้สัตว์ทดลอง เช่น หนู กระต่าย ในการทดสอบ

### ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อสิ่งมีชีวิต

สารกำจัดวัชพืชมีทั้งผลดีและผลเสียต่อสิ่งมีชีวิต ในด้านของผลดีก็เป็นผลประโยชน์ต่อเกษตรกรรวมไปถึงผู้ใช้ทั่วไป ในการนำไปฉีดพ่นเพื่อฆ่าทำลายวัชพืชที่ขึ้นบริเวณที่ไม่พึงประสงค์ ซึ่งเป็นการลดภาระค่าใช้จ่ายที่จะต้องเสียเพื่อจ้างมากำจัด ซึ่งปัจจุบันค่าแรงมีราคาเพิ่มขึ้นมาก ดังนั้นการใช้สารกำจัดวัชพืชจึงเป็นการประหยัดและสะดวกรวดเร็วกว่าการใช้แรงงานคน อย่างไรก็ตามการใช้สารกำจัดวัชพืชก็มีผลเสียหลายด้าน ทั้งผลต่อสุขภาพของผู้ใช้เอง และสิ่งมีชีวิตที่อยู่บริเวณใกล้เคียง มีการศึกษามากมายเกี่ยวกับผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชต่อสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืชที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายและรู้จักกันดี สารพาราควอตเป็นวัชพืชที่มีพิษมากที่สุดในบรรดาสารกำจัดวัชพืชทั้งหมดมีผลต่อการตอบสนองของชีวเคมีในตับของหนู Wistar และ Swiss คือ การตอบสนองของเอนไซม์ที่กระตุ้นการเกิดกระบวนการ Reduction ในหนู Wistar ขณะที่ในหนู Swiss มีการชักนำให้เอนไซม์ catalase ทำงานเร็วกว่าปกติ ดังนั้นจึงชี้ให้เห็นว่า พาราควอตมีการชักนำให้เกิดการทำงานเร็วกว่าปกติของเอนไซม์ในหนูทั้ง 2 ชนิด สาร

กำจัดวัชพืชพรีดิกอล 0.382 mg/l มีผลทำให้สาหร่ายมีการเพิ่มจำนวนอย่างหนาแน่นคิดเป็น 81.6-93.3% (Takahashi *et al*, 2007)

สารกำจัดวัชพืชทูปโฟ-ดี ความเข้มข้นที่ 675 ppm ในระยะเวลา 7 สัปดาห์ ทำให้น้ำหนักสัตว์ทดลอง ซึ่งได้แก่ สุนัขหายไป และทำให้การบริโภคอาหารน้อยลง เนื่องจากปริมาณที่เพิ่มขึ้นของฟอสฟอรัสเล็กน้อย การเพิ่มของยูเรียในเลือด มีการบวมของถุงลม การลดลงของน้ำหนักอวัยวะเพศเมีย ได้แก่ ต่อมหมวกไต ม้าม และรังไข่ ส่วนการศึกษาเนื้อเยื่อของตับ และไต นั้นพบว่า มีความผิดปกติไปจากกลุ่มควบคุม ความเข้มข้นของทูปโฟ-ดีที่ 75 ppm ร่างกายสัตว์ทดลอง ไม่สามารถต้านทานได้แล้ว และการศึกษาไม่ได้บ่งชี้ในเรื่องผลกระทบต่อภูมิคุ้มกัน และการเกิดเนื้องอกในสัตว์ทดลอง (Charles and Leeming, 1998) จากการตรวจสอบพบว่าข้อมูลความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ สามารถรายงานได้ดังตารางต่อไปนี้

### ข้อมูลความเป็นพิษ

ตาราง 1 ตัวอย่างข้อมูลความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชบางชนิดต่อสิ่งมีชีวิต

| ชื่อการค้าสาร<br>กำจัดวัชพืช | สิ่งมีชีวิต         | ค่า LC <sub>50</sub> (mg/kg) |            | ค่า LD <sub>50</sub> (mg/kg) |            |
|------------------------------|---------------------|------------------------------|------------|------------------------------|------------|
|                              |                     | ทางปาก                       | ทางผิวหนัง | ทางปาก                       | ทางผิวหนัง |
| Glyphosate (acid)            | หนู                 | -                            | -          | 5,600                        | -          |
|                              | กระต่าย             | -                            | -          | -                            | >5,600     |
| Glyphosate (salt)            | หนู                 | -                            | -          | >5,000                       | -          |
|                              | กระต่าย             | -                            | -          | -                            | >5,000     |
| Paraquat                     | หนู                 | -                            | -          | 57                           | -          |
|                              | กระต่าย             | -                            | -          | 236-500                      | -          |
|                              | ปลา (rainbow trout) | -                            | 32         | -                            | -          |

ที่มา: ทศพล (2545)

## สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการทดลอง

พาราควอต (Paraquat) เป็นยาปราบวัชพืชชนิดหนึ่งซึ่งมีชื่อเรียกทั่วไปว่า กรัมน็อกโซน (gramoxone) เป็นที่นิยมของเกษตรกรมากโดยเฉพาะในไร่ฝ้าย และสวนยางพาราเพราะใช้ได้ผลดี ในปี 2524 ได้เกิดปฏิกายตามบ่อเลี้ยงปลา และลำคลองต่าง ๆ ในเขตกรุงเทพฯ ปทุมธานี นนทบุรี และอีกหลายจังหวัดทางภาคใต้ เจ้าหน้าที่ได้เก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำเหล่านั้นมาตรวจก็พบการปะปนของสารกำจัดวัชพืชหลายชนิด หนึ่งในนั้นก็คือ พาราควอต และในปี 2528 สำนักคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติได้จัดอันดับสารพิษที่ก่อให้เกิดพิษร้ายแรงที่สุด 15 อันดับปรากฏว่าพาราควอตเป็นสารที่ก่อให้เกิดพิษสูงสุดอันดับสอง (ไพโรจน์ และวิฑูรย์, 2529)

### คุณสมบัติทางเคมีของพาราควอต

พาราควอตมีชื่อว่า 1,1 - dimethyl-4,4- dipyridilium มี สูตร โมเลกุลเป็น  $C_{12}H_{14}N_2$  ในรูป cation และ  $C_{12}H_{14}C_{12}N_2$  ในรูป dichloride salt โดยมีสูตร โครงสร้างเป็น

*Paraquat cation*



*Paraquat dichloride salt*



มีน้ำหนักโมเลกุลในรูป cation เท่ากับ 186.26 และในรูป dichloride salt เท่ากับ 257.16 โดยทั่วไปจะพบอยู่ในรูปเกลือของ dichloride หรือ dimethyl sulfate เป็นผลึกแข็งสีขาวแต่เมื่ออยู่ในรูปของเหลวละลายน้ำจะมีสีแดงเข้มเกือบดำ (dark - red ) มีรสเผ็ด ขม และมีกลิ่นฉุน จุดหลอมเหลวอยู่ที่  $300^\circ\text{C}$  ไม่ระเหย ความหนาแน่นเท่ากับ 1.5 กรัม/มล. ที่ความเข้มข้นสูงสามารถกัด-กร่อน โลหะ ดีบุก สังกะสี และอะลูมิเนียม ละลายได้ดีในน้ำ (700 กรัม / ลิตร ที่  $20^\circ\text{C}$ ) แต่ละลายได้น้อยในแอลกอฮอล์ และไม่ละลายในตัวทำละลายที่เป็นสารอินทรีย์อื่น ๆ จะออกฤทธิ์ต่อเมื่อน้ำออกซิเจน และแสงเท่านั้น มีความคงทนดีในสภาวะกรด หรือสภาวะเป็นกลาง แต่จะสลายตัวได้ง่ายในสภาวะเป็นด่าง ถูกทำลายให้เสื่อมฤทธิ์เมื่อถูกแสงอัลตราไวโอเล็ต สารที่มีพื้นผิวเป็นประจุลบ และดินเหนียว ส่วนใหญ่ใช้ในรูปของสารละลายมีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 20 ที่ใช้ในครัวเรือนมีความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (สุกชัย, 2529; Cremlyn , 1978) มีครึ่งชีวิต (half - life) เป็น 13.1 ชั่วโมง (Kamrin, 1997)

## ความสามารถในการเคลื่อนย้ายของสารกำจัดวัชพืช

ทศพล (2545) กล่าวว่า ความสามารถของสารกำจัดวัชพืชในการเคลื่อนย้าย (herbicides movement) ได้มาน้อยเพียงใด สามารถพิจารณาได้จากความเกี่ยวข้องของการกำจัดวัชพืชที่มีต่อรูปของสารละลายในดินและสารละลายในน้ำ โดยทั่วไปแล้ววิธีการในการศึกษาการเคลื่อนย้ายของสารกำจัดวัชพืชในดินนั้น สามารถศึกษาได้จากการระเหยและการเคลื่อนย้ายของน้ำ

**การระเหย (volatilization)** ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของของเหลวหรือของแข็งไปเป็นก๊าซ โดยทั่วไปแล้วศักยภาพของสารกำจัดวัชพืชที่ระเหยไปนั้น สามารถตรวจสอบได้โดยอาศัยความดันไอ (vapor pressure) การเคลื่อนย้ายผ่านทางกระบวนการระเหยนั้นสามารถช่วยทำให้เกิดการแพร่กระจายของสารกำจัดวัชพืชลงไปในดินได้อย่างสม่ำเสมอ ทำให้สารผ่านลงไปในดิน และพืชสามารถที่จะดูดซับสารเข้าไปได้โดยผ่านเข้าไปทางส่วนที่อยู่ใต้ดิน (ราก)

**การเคลื่อนย้ายของน้ำ (water movement)** น้ำเป็นปัจจัยหลักสำคัญที่เกี่ยวข้องในการเคลื่อนย้ายของสารกำจัดวัชพืชลงสู่ดิน นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่สำคัญที่จะช่วยให้มีการเคลื่อนย้ายของน้ำ ได้แก่ การไหลบ่า การชะล้าง และปฏิกิริยาของช่องว่างในดิน เป็นต้น

**การชะล้าง (surface runoff)** จะเกี่ยวข้องสำหรับการเคลื่อนย้ายของโมเลกุลของสารลงไปในบริเวณผิวดินในบริเวณรอบนอกของพื้นที่เป้าหมาย (non target) การไหลบ่าของสารกำจัดวัชพืชส่วนใหญ่แล้ว จะเกิดขึ้นเมื่อมีฝนตกลงมาอย่างหนักก่อนที่จะมีการเปลี่ยนแปลงแล้วจึงมีการเคลื่อนย้ายลงไปในดิน

**การซึมลึก (leaching)** เป็นการเคลื่อนย้ายของสารกำจัดวัชพืชโดยมีน้ำเป็นตัวกลางช่วยให้มีการเคลื่อนย้ายผ่านลงไปในชั้นของดิน ซึ่งเป็นวิธีการหลักของการขนส่งลำเลียงสารไปยังส่วนที่อยู่ใต้ดินของพืช การชะล้างของสารจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการลดความเกี่ยวข้องกันของสารละลายในดิน การลดขนาดโมเลกุลของสารและการเพิ่มสารละลายในน้ำ

## การตกค้างของสารป้องกันกำจัดวัชพืชในสัตว์

นวลศรี (2533) ได้รายงานสาเหตุที่สัตว์ได้รับสารป้องกันกำจัดวัชพืช เนื่องจาก

1. สัตว์ได้รับสารพิษโดยตรงจากการฉีดย่น สัตว์สามารถรับสารเข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทาง คือ ทางอาหาร ทางหายใจ และทางผิวหนัง ปริมาณสารที่สัตว์ได้รับเข้าไบนั้นไม่มากพอที่จะทำอันตรายกับสัตว์ สารนั้นจะสะสมในเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ ของสัตว์ได้

2. สัตว์ได้รับสารป้องกันกำจัดวัชพืช โดยทางอ้อม คือ เกษตรกรฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชพลาตเป้าหมายมากกว่า 50% นั้นย่อมหมายความว่า สารเคมีจำนวนนั้นรวมทั้งสารเคมีในพื้นที่เป้าหมายด้วยได้ตกลงสู่ น้ำ ดิน และอากาศ และเข้าไปอยู่ในห่วงอาหาร ถ้าผู้ผลิตมีสารพิษตกค้างอยู่แล้ว สัตว์ก็จะได้รับสารพิษและสะสมในร่างกายได้ โดยเฉพาะสัตว์น้ำที่มีการปนเปื้อนของสารป้องกันกำจัดวัชพืช และสามารถสะสมสารพิษได้จากห่วงโซ่อาหารของแหล่งน้ำนั้น

#### การแพร่กระจายของสารป้องกันกำจัดวัชพืช ในแหล่งน้ำ

ศักดา (2546) กล่าวว่า การปนเปื้อนของสารกำจัดวัชพืช ในแหล่งน้ำนั้น มาจากหลายสาเหตุด้วยกันดังต่อไปนี้

1. การฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดวัชพืช ลงสู่แหล่งน้ำโดยตรง เพื่อกำจัดขุมและวัชพืชน้ำ
2. การกัดเซาะดินของฝนและน้ำไหลผ่านหน้าดินผ่านพื้นที่ที่มีการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชก่อนลงสู่แหล่งน้ำ
3. การระบายน้ำทิ้งจากบ้านเรือนและโรงงานอุตสาหกรรมที่ใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชลงสู่แหล่งน้ำ โดยมีได้มีวิธีการจัดการสารป้องกันกำจัดวัชพืช
4. การทิ้งหรือล้างภาชนะที่บรรจุสารป้องกันกำจัดวัชพืชลงสู่แหล่งน้ำ
5. การใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชในบริเวณพื้นที่เกษตรใกล้กับแหล่งน้ำ
6. น้ำฝนสามารถนำเอาสารป้องกันกำจัดวัชพืช ที่ปะปนในอากาศมาสู่พืชได้และในขณะที่เดียวกันก็อาจจะล้างสารที่ติดตามใบและลำต้นพืชออกไปได้เช่นกัน

เมื่อลงสู่แหล่งน้ำแล้ว จะมีปัจจัยต่าง ๆ เข้ามาเกี่ยวข้องกับหลายประการ ดังต่อไปนี้

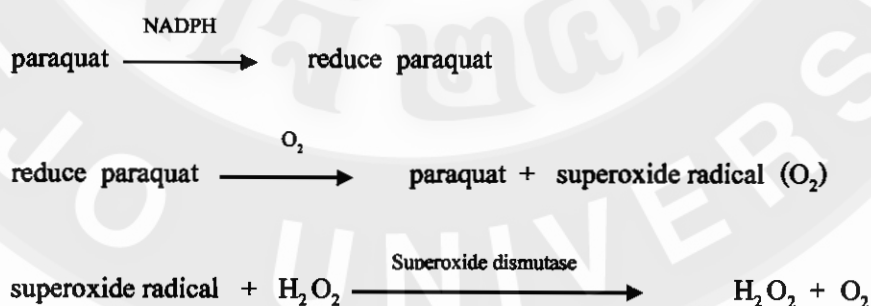
1. ความสามารถในการละลายน้ำของสารป้องกันกำจัดวัชพืช ชนิดต่างๆจะแตกต่างกันไป
2. อัตราการระเหยขึ้นสู่บรรยากาศของสาร อาจมีได้บ้างในปริมาณน้อยมากเนื่องจากสารส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปสารแขวนลอยและตกตะกอน
3. ชนิดของอนุภาคดินที่ดูดซับสารป้องกันกำจัดวัชพืชที่แตกต่างกันจะสามารถดูดซับได้ไม่เท่ากัน
4. ปริมาณสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำ สิ่งมีชีวิตและสารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลายแล้วสามารถดูดซับสารได้ดี ถ้าบริเวณใดของแหล่งน้ำมีปริมาณสารอินทรีย์อยู่มากก็มักตรวจพบสารในปริมาณสูงด้วย

### การตกค้างของสารป้องกันกำจัดวัชพืชในมนุษย์

มนุษย์ก็เช่นเดียวกันกับสัตว์ทั้งหลาย ซึ่งสามารถรับสารป้องกันกำจัดวัชพืช ได้ 2 ทาง คือ โดยทางตรงจากการฉีดพ่น ได้แก่ผู้ที่เกี่ยวข้องกับสาร เช่น เกษตรกร ประชาชน ที่ใช้สารเหล่านี้ตามบ้านเรือน หรือคนงานในโรงงานที่เกี่ยวข้องกับสารพิษ เมื่อได้รับสารเข้าไปในปริมาณมากพอ ก็จะแสดงอาการพิษได้อีกทางหนึ่งคือ โดยทางอ้อม จากการกินอาหารหรือดื่มน้ำที่มีสารพิษเจือปนอยู่ เช่น บริโภคข้าว ผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์ ไข่ เป็นต้น ซึ่งอาหารเหล่านี้มีสารตกค้างในปริมาณน้อยก็จริงแต่จะสะสมมากขึ้นได้ในอวัยวะต่างๆ ของมนุษย์ เช่น ไขมัน ตับ ไต และสมอง เป็นต้น (นวลศรี, 2533)

### ความเป็นพิษต่อร่างกาย

ศุภชัย (2529) กล่าวว่า สารพาราควอตสามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้โดยการกิน และการสูดดมเอาละอองของพาราควอตเข้าไป สารนี้ถูกดูดซึมได้น้อยมากทางผิวหนังที่ไม่มีแผล ขกเว้นโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง กลไกการออกฤทธิ์ที่แท้จริงยังไม่ทราบแน่ชัด สมมุติฐานที่เชื่อว่าจะเป็นไปได้คือ พาราควอตถูก reduce โดยเอนไซม์ NADPH ในเซลล์ของร่างกายเกิดเป็น reduce paraquat ซึ่งต่อมาจะถูก oxidize โดยออกซิเจน เกิด superoxide radical ทำปฏิกิริยากับน้ำเกิด  $H_2O_2$  (Hydrogen Peroxide) superoxide radical และ  $H_2O_2$  จะออกฤทธิ์ไปทำลายผนังเซลล์ของอวัยวะต่างๆทั่วร่างกาย ดังแสดงไว้ด้วยปฏิกิริยาดังล่าง



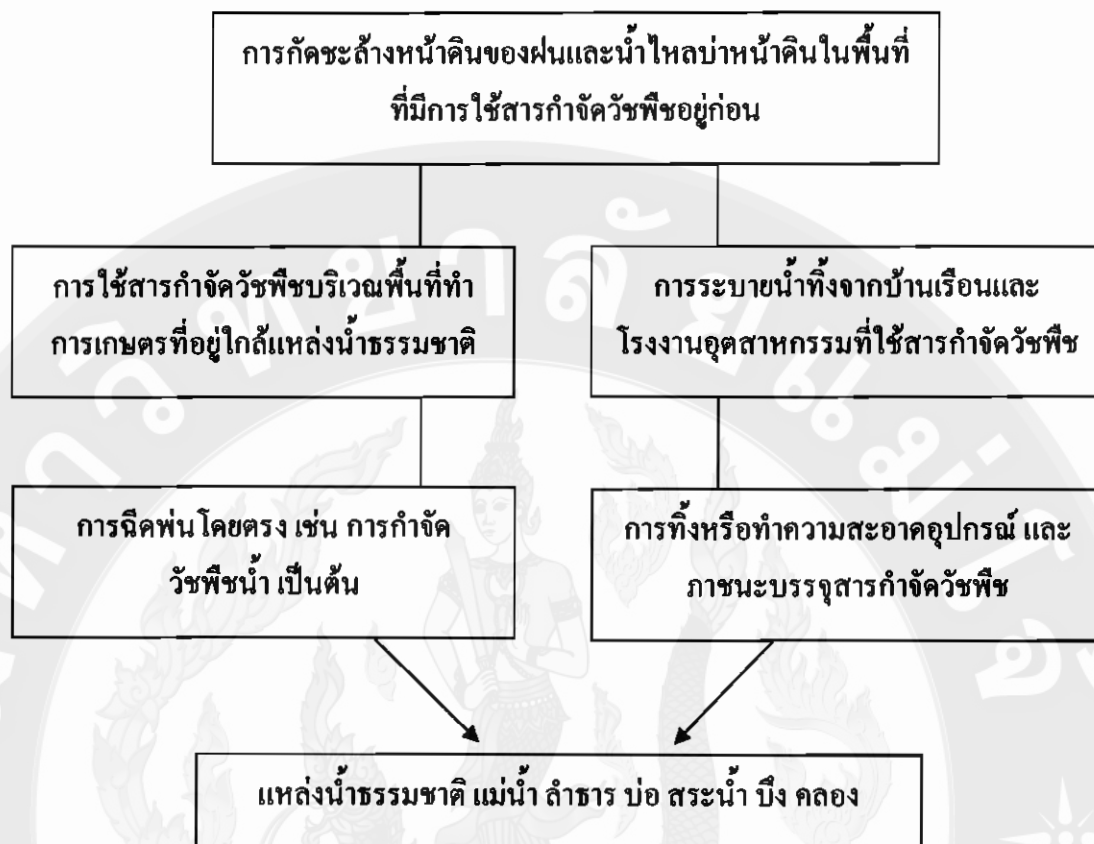
พิษของพาราควอตจะทำให้เกิดพยาธิสภาพที่อวัยวะต่างๆดังนี้

1. ปอดเกิด pulmonary edema
2. ตับเกิดการสะสมของไขมันทำให้ตับจะมีขนาดโตขึ้น มีการคั่งของเลือดและ

น้ำดี

3. ไตมี Cortical necrosis และ tubular necrosis มีขนาดโตขึ้น
4. กระเพาะอาหารมีเลือดออก
5. ต่อมหมวกไตจะถูกทำลาย
6. หัวใจจะมี myocardial necrosis
7. เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมภายในเซลล์ขาดหายไป
8. เกิดความเสียหายที่ epithelial cell ของเส้นเลือด pulmonary alveolar

จากข้อมูลกรมควบคุมมลพิษ (2543) กล่าวว่า อาการที่เกิดจากพิษของพาราควอต แบ่งได้ 2 ประเภท คือ อาการที่เกิดจากพิษเฉียบพลัน และอาการที่เกิดจากพิษเรื้อรัง ซึ่งอาการเป็นพิษเฉียบพลันของพาราควอตคือ มี LD<sub>50</sub>ทางปากต่อหนูตัวผู้เท่ากับ 50-100 มก./กก., ถึงเท่ากับ 48 มก./กก., แมวเท่ากับ 50-70 มก./กก., วัวเท่ากับ 126 มก./กก. และ ทางผิวหนังกระด่ายเท่ากับ 60 มก./กก. (ไพโรจน์ และวิฑูรย์, 2529 ; Kamrin, 1997) ส่วน WHO จัดให้พาราควอตเป็นสารที่มีพิษปานกลางโดยพิจารณาจากความเป็นพิษโดยเฉียบพลันของมัน พาราควอตเป็นพิษอย่างร้ายแรงต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ไม่ว่าจะเป็นได้รับพิษโดยทางใด เมื่อเราสูดดมสารนี้เข้าไปแล้วจะเกิดความรุนแรงแค่ไหนขึ้นอยู่กับอนุภาคของสารพิษที่สูดดมเข้าไป ยิ่งเล็กความเป็นพิษยิ่งรุนแรง เมื่อสัมผัสถูกผิวหนังสารนี้จะซึมผ่านได้ช้า (Kamrin, 1997) แต่ถ้าผิวหนังมีรอยขีดข่วนหรือแผล พาราควอตจะซึมผ่านได้ดี ถ้าได้รับพิษเข้มข้นทางปากหรือผิวหนังจะมีอาการอ่อนเพลีย ท้องร่วง เลือดกำเดาไหล หายใจขัดเบื่ออาหาร หัวใจเต้นเร็ว ผิวหนังคล้ำ การได้รับพิษเข้มข้นอาจทำให้เสียชีวิตได้ แต่ถ้าได้รับพิษจากการสูดดมจะมีอาการแน่นในช่องท้อง คลื่นไส้ อาเจียน อ่อนเพลีย วิงเวียน หายใจขัด ปวดบวม และอาจตายได้ด้วยระบบหัวใจล้มเหลว ถ้าหากกลืนกินสารนี้เข้าไปจะเกิดอาการระคายเคืองตลอดลำคอ ทางเดินอาหารอักเสบและแสบร้อน คลื่นไส้ อาเจียน ท้องบวมไม่สบาย ท้องเสีย เหงื่อออกมาก ประสาทส่วนกลางได้รับความกระทบกระเทือน มีอาการกระสับกระส่าย ระบายหายใจล้มเหลว เซลล์ตับและไตถูกทำลายและตายในที่สุด (ศุภชัย, 2529) นอกจากนี้ Kamrin (1997) ยังได้กล่าวถึงผลของพาราควอตต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำว่ามี LD<sub>50</sub> ใน 96 ชั่วโมงต่อปลา rainbow trout เท่ากับ 32 มก./ล., ปลา brown trout เท่ากับ 13 มก./ล. และไรน้ำ *Daphnia pulex* เท่ากับ 1.2-4.0 มก./ล. ในการทดลองของ Mendikute and Cajaraville (2003) ได้รายงานว่า actin cytoskeleton ถูกทำลายและมีการเพิ่มขึ้นของ reactive oxygen species (ROS) หลังจากสัมผัสกับพาราควอต Figueiredo *et al.* (2006) พบว่าเมื่อปลานิลสัมผัสกับพาราควอต 0.5 mg/L จะมีระดับของเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (GST) สูงกว่าชุดควบคุมที่  $4.64 \pm 0.13$  และ  $4.49 \pm 0.24$  n mole product/mg protein/ml ที่อุณหภูมิ 17 และ 27 องศาเซลเซียส



ภาพ 3 สาเหตุของการปนเปื้อนของสารกำจัดวัชพืชในแหล่งน้ำธรรมชาติ  
ที่มา: ทศณียา (2552)

ตาราง 2 ระดับความเข้มข้นสูงสุด (maximum allowance concentration) ของสารพิษประเภท  
สารเคมีทางการเกษตร (pesticide) ที่ยินยอมให้มีอยู่ในน้ำโดยไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ

| สารพิษ                                   | ระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ยอมให้มีได้ในน้ำ<br>(มิลลิกรัม/ลิตร) |
|------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>1. สารพิษกลุ่ม Organochlorine</b>     |                                                               |
| DDT (Dichro-dihphenyl-trichorometane)    | $0.5 \times 10^{-3}$                                          |
| Dieldrin                                 | $0.2 \times 10^{-3}$                                          |
| Endrin                                   | $0.01 \times 10^{-3}$                                         |
| Heptachlor                               | $0.4 \times 10^{-3}$                                          |
| <b>2. สารพิษกลุ่ม Organophosphate</b>    |                                                               |
| Fenitrothion                             | 0.06                                                          |
| Malathion                                | 0.02                                                          |
| Methyl parathion                         | 0.2                                                           |
| Parathion                                | 0.04                                                          |
| <b>3. สารพิษกลุ่ม Carbamate</b>          |                                                               |
| Carbaryl                                 | 0.1                                                           |
| Carbofuran                               | 0.008                                                         |
| <b>4. สารเคมีกำจัดวัชพืช (Herbicide)</b> |                                                               |
| Glyphosate                               | 4.8                                                           |
| Paraquat                                 | 0.5                                                           |
| Propanil                                 | 0.5                                                           |
| 2,4-D                                    | 45.0                                                          |

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2543)

### ระบบเอนไซม์ทำลายพิษ

สิ่งมีชีวิตเมื่อได้รับสารแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย ย่อมมีกลไกการตอบสนอง ต่อสารเหล่านั้น โดยมีกระบวนการป้องกัน หรือทำลายสารพิษ สารแปลกปลอม ที่เข้าสู่ร่างกาย (เกิดการ Detoxification) ทั้งนี้ จะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางชีววิทยา (Biotransformation) โดยมีเอนไซม์ทำลายพิษ (Detoxification enzymes) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แล้วจึงถูกกำจัดออกจากร่างกาย

Biotransformation เป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารแปลกปลอม ซึ่งเป็นผลมาจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในสิ่งมีชีวิต อย่างไรก็ตาม พบว่า ปฏิกิริยาหลายชนิดไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์เลย เช่น สารแปลกปลอมอาจเกาะกับสารที่ร่างกายสร้างขึ้น (Endogenous) ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสโดยไม่มีเอนไซม์เร่งปฏิกิริยา (ชัยวัฒน์ และคณะ, 2536)

Detoxification คือ กระบวนการทำลายสารพิษ หรือสารแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย โดยการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี ไม่ว่าสารพิษ จะเป็นสารอินทรีย์ หรืออนินทรีย์ก็ตาม โดยจะถูกเปลี่ยนแปลงให้มีพิษน้อยลง หรือไม่มีพิษ (ไมตรี, 2540)

Detoxification enzyme system มีลักษณะการทำงานเหมือนเอนไซม์ทั่วไป โดยมีสารแปลกปลอมสู่ร่างกาย เอนไซม์นี้จะเป็นตัวเร่งในการทำให้สารเหล่านั้นมีความสามารถในการละลายน้ำเพิ่มมากขึ้น หรือทำให้เป็นสารที่มีขั้ว (Electrophilic) เพื่อที่จะได้ถูกกำจัดออกจากร่างกายได้ดีขึ้น ดังนั้น เอนไซม์เหล่านี้จึงมีความพร้อมต่อการทำงานทุกเมื่อ โดยมีสมบัติดังนี้ (Schokneehy and Otto, 1989)

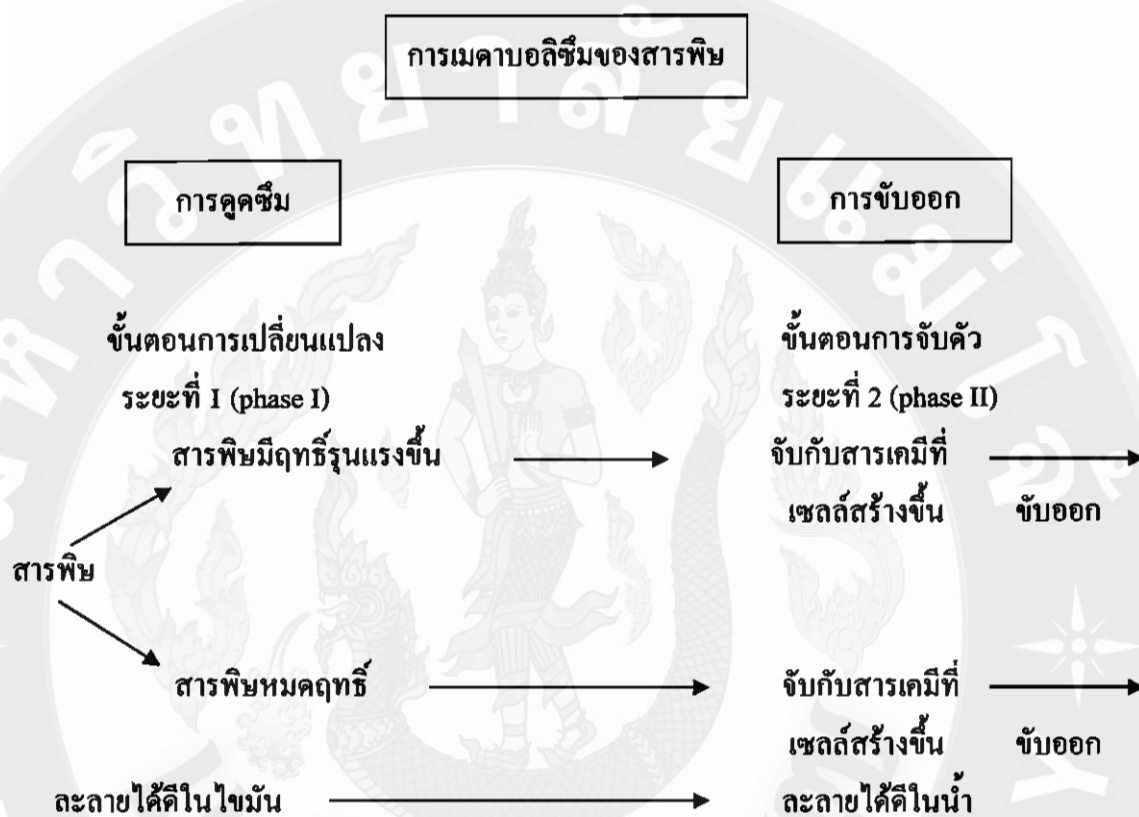
1. อยู่ภายในอวัยวะที่มักสัมผัสกับสารแปลกปลอมอยู่เสมอ เช่น ตับ ปอด ลำไส้ ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง และเซลล์ไขมัน หรือลำไส้ของแมลง
2. สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารแปลกปลอมที่มีโครงสร้างหลากหลาย โดยทำให้มีความเป็นพิษน้อยลง หรือหมดความเป็นพิษ สามารถขับออกจากร่างกายได้ง่าย
3. สามารถควบคุมระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ได้ในแต่ละระยะของวงจรชีวิต และถูกชักนำให้เกิดได้รวดเร็วในกรณีที่ร่างกายมีการรับสารแปลกปลอม

### การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ (Biotransformation of xenobiotics)

สารพิษส่วนใหญ่ที่ถูกดูดซึมสู่ร่างกายมักอยู่ในรูปไม่แตกตัวเป็นไอออน สามารถละลายดีในไขมันจึงถูกดูดซึมง่าย โดยหลังจากเข้าสู่กระแสเลือด จะผ่านเข้าเซลล์ตับ ไต ปอด และ

เส้นทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นอวัยวะในการป้องกันการทำลายสารพิษ และขับถ่ายออกนอกร่างกาย (ชัยวัฒน์ และคณะ, 2536)

มีขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ 2 ขั้นตอน ดังต่อไปนี้



กลไกการทำลายสารพิษโดยใช้เอนไซม์ จะเป็นการทำให้หมดความเป็นพิษ หรือนำพิษน้อยลงโดยจะมีกลไกการเข้าทำปฏิกิริยา 2 ระยะ (Dorelanko and Hollinger, 1995; Niesink *et al.*, 1996) ดังนี้

### 1. ปฏิกิริยาในระยะที่ 1 (Phase I)

ปฏิกิริยาระยะที่ 1 (Phase I) ประกอบด้วยกลไกสำคัญ 2 กลไก คือ

1.1 กลไกการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ใช้เอนไซม์โดยตรงซึ่งก่อให้เกิดโครงสร้างใหม่

1.2 กลไกการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ใช้เอนไซม์ในไมโครโซม (Microsome) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีองค์ประกอบพิเศษที่มี Cytochrome P 450 ร่วมในการทำงาน

ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงในระยะที่ 1 อาจทำให้สารรุนแรงขึ้นหรือหมดความเป็นพิษได้

เอนไซม์จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารพิษ โดยยื่น Active site ที่เป็น Poor group ไปจับกับโมเลกุลของสารพิษ ทำให้สารพิษนั้นมีการแตกตัวเป็นสารที่มีขั้ว และเปลี่ยนรูปให้อยู่ในรูปที่มีการละลายน้ำที่ดีขึ้น กำจัดออกนอกอวัยวะดีขึ้น และยังทำให้สารพิษ เหมาะสมที่จะเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาใน Phase II ต่อไป

ทั้งนี้ ในระยะที่ 1 นี้ จะเป็นการเติมหมู่ฟังก์ชัน ให้กับสารพิษที่มีส่วนประกอบเป็นไฮโดรคาร์บอน ทั้งที่อยู่ในรูปโซ่ หรือ วงแหวน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้แก่ ออกซิเดชัน (Oxidation) ไฮดรอกซิเลชัน (Hydroxylation) เมแทบอลิก รีดักชัน (Metabolic reduction) การกำจัดกลุ่มของฮาโลเจน (Removal of Halogen) และการเกิดเมแทบอลิก ไฮโดรไลซิส (Metabolic Hydrolysis)

## 2. ปฏิกิริยาในระยะที่ 2 (Phase II)

ขั้นตอนการจับตัวระยะที่ 2 สารพิษยังคงไม่เปลี่ยนแปลงโครงสร้าง หรือ ในกรณี ที่เปลี่ยนแปลง โครงสร้างแล้ว จะจับตัว หรือเรียกว่า เกิดการคอนจูเกชัน (Conjugation) กับสสารภายในเซลล์ ได้สารที่มีคุณสมบัติละลายน้ำดีขึ้น เพื่อที่จะถูกกำจัดออกนอกอวัยวะดีขึ้น

ขั้นตอนต่าง ๆ นี้ จะเริ่มเมื่อมีสารประกอบ 3N ผ่านระยะที่ 1 ไปเกาะกับ ซับสเตรท (Substrate) ภายในอวัยวะต่าง ๆ (Endogenous substrate) ที่เป็นองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน หรือกลุ่มของธาตุกำมะถัน และองค์ประกอบของฟอสเฟตต่าง ๆ จากการมีขั้วในปฏิกิริยาแรก อาจทำปฏิกิริยาการรวมตัว (Conjugation reaction) โดยผลผลิตส่วนมากเป็นคอนจูเกชัน โปรดัก (Conjugation product) ซึ่งมีองค์ประกอบละลายน้ำสูง ถูกกำจัดออกนอกอวัยวะได้ดีขึ้นเหตุการณ์สำคัญที่เกิดขึ้นในระยะนี้ เช่น การเกิด Conjugation by glucuronides, Conjugation by glutathione และ Conjugation by sulfate เป็นต้น

สารกลูตาไธโอนีน เป็นกลุ่มของไตรเปปไทด์ (Tripeptide) โดยมีอะมิโนแอซิดเหมือนกัน 3 ชุด คือ กลูตามีน (Glutamine) ซีสทีนีน (Cystenine) และไกลซีน (Glycine) จากโครงสร้างของกลูตาไทโอนีน พบว่าสารประกอบซัลไฮดริก (SH) มีบทบาทในการยึดเหนี่ยว โดยเป็นแบบโควาเลนต์ (Covalent) ผลที่ได้ถูกออกนอกอวัยวะ หรืออาจเกิดการจัดรูปใหม่ เป็นกลุ่มกรดเมอแคปทิวริก (Mercapturic acid) มีกลุ่มเอน-อะเซทิลซีสทีนีน (N-acetylcystiene) ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดีมาก และถูกกำจัดออกนอกอวัยวะได้รวดเร็ว (Visetson and Naknatti, 1996) ทั้งนี้สามารถแบ่งขั้นตอนดังกล่าวนี้เป็น 3 แบบ (สุรพล, 2542; สุรพล, 2544ก; สุรพล, 2544ข) คือ

แบบที่ 1 Xenobiotic + Activated conjugation agent  $\longrightarrow$  conjugation product

แบบที่ 2 Activated xenobiotic + amino acid  $\longrightarrow$  conjugation product

แบบที่ 3 Reactive xenobiotic + conjugating agent  $\longrightarrow$  conjugation product

ผลผลิตส่วนใหญ่ในระยะที่ 2 มักอยู่ในรูปคอนจูเกชันโปรตีน ตัวอย่างปฏิกิริยา  
เช่น (Abou-Donia, 1995; Gibson and Skett, 1994)

| Reaction                | Transferase               | Functional group                 |
|-------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| Glucuronidation         | UDP-Glucuronyltransferase | -OH                              |
|                         |                           | -COOH                            |
|                         |                           | -NH <sub>2</sub>                 |
|                         |                           | -SH                              |
| Glycosidation           | UDP-Glucuronyltransferase | -OH                              |
|                         |                           | -COOH                            |
|                         |                           | -SH                              |
| Sulfation               | Sulfotransferase          | -OH                              |
|                         |                           | -NH <sub>2</sub>                 |
|                         |                           | -SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> |
| Methylation             | Methyltransferase         | -OH                              |
|                         |                           | -NH <sub>2</sub>                 |
|                         |                           | -SH                              |
| Acetylation             | Acetyltransferase         | -OH                              |
|                         |                           | -NH <sub>2</sub>                 |
|                         |                           | -SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> |
| Glutathione conjugation | Glutathione-s-transferase | Epoxide                          |
| Fatty acid conjugation  |                           | Organic halide                   |
| Amino acid conjugation  |                           | -OH                              |
|                         |                           | -COOH                            |

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ นอกจากจะทำให้ละลายน้ำได้ดีขึ้น ยังทำให้คุณสมบัติออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลงด้วย โดยเปลี่ยนแปลงสารพิษที่ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ หรือออกฤทธิ์ไม่ได้ ให้เป็นสารพิษน้อยลง หรือเร่งการออกฤทธิ์เพิ่มขึ้น

## ระบบเอนไซม์ทำลายพิษ

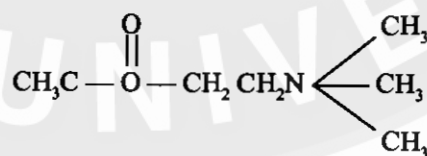
เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้กับสารตั้งต้น หรือซับสเตรทที่เปลี่ยนรูปไปอาจทำให้พิษของสารนั้นลดลง หรือเพิ่มขึ้นโดยเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ pH และชนิดของสิ่งมีชีวิตเป็นต้น สารแปลกปลอมสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายวิธี เช่น ทางปาก ทางผิวหนัง การหายใจ โดยจะถูกดูดซึมและแพร่กระจายไปทั่วร่างกาย ซึ่งร่างกายจะมีการขับถ่าย และเกิดเมแทบอลิซึม (Metabolism) ในการเปลี่ยนสภาพสารให้ผิดไปจากเดิมหรือเกิด Biotransformation โดยการเปลี่ยนนี้ เป็นผลมาจากการเร่งของเอนไซม์ในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (สุรพล, 2542)

อัตราการสังเคราะห์เอนไซม์ ถูกกำหนดโดยการถ่ายทอดจากยีนส์บนโครโมโซม (gene transcription) ซึ่งอาจเกิดจากการเหนี่ยวนำ (induce) ของสารแปลกปลอมหรือสารพิษ (xeno-biotic) ที่ร่างกายไม่ได้สังเคราะห์ขึ้นมา จึงทำให้เกิดกระบวนการแปลรหัส (translation) ผลสุดท้ายก็เกิดการสังเคราะห์โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อสารแปลกปลอมหรือสารพิษมากขึ้น (Ernest and Patricia, 1994)

ตัวอย่างเอนไซม์ทำลายพิษที่สำคัญ ได้แก่ เอสเทอเรส (Esterase) และกลูตาไธโอนเอส-ทรานเฟอเรส (Glutathione s-transferase)

### 1. อะซิทิลโคลีน (Acetylcholine, Ach)

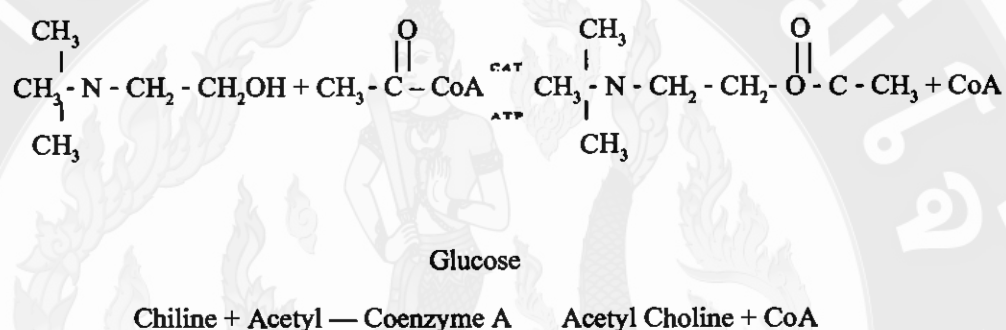
ในร่างกายของคนและสัตว์จะมี อะซิทิลโคลีน ซึ่งเป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่หลั่งออกมาจากปลายเส้นประสาท มีหน้าที่ควบคุมการทำงานในการนำส่งอิมพัลส์ (Impulse) ที่ส่วนต่อระหว่างปลายประสาทชนิดโคลิเนอร์จิก (Cholinergic Synaptic) ของระบบประสาท รวมทั้งที่ประสาทชนิด นิโคติค (Nicotinic Site) และชนิดมัสคารินิก (Muscarinic Site) มีสูตรทางเคมีดังนี้ (ราตรี, 2539)



อะซิทิลโคลีน

### 1.1 การสังเคราะห์

อะซิทิลโคลีน ถูกสร้างขึ้นที่พรีไซแนปติก (Presynaptic Site) บริเวณปลายประสาทพอกโคลีนเนอจิก โดยอาศัยสารเริ่มต้น คือ โคลีน (Choline) ซึ่งเป็นสารประกอบควอเทอร์นารี แอมโมเนียม (Quaternary Ammonium Compound) ส่วนใหญ่ถูกสร้างจากตับแล้วปล่อยเข้าสู่กระแสเลือด และถูกดูดซึมเข้าปลายประสาทแบบแอคทีฟ (Active) โดยอาศัยตัวพาและพลังงาน กระบวนการนี้เป็น  $\text{Na}^+$ -Dependent โคลีนจะถูกเติมด้วยกลุ่มอะซิติล จากอะซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl CoA) ดังภาพ ซึ่งได้มาจากกระบวนการเผาผลาญกลูโคสโดยเอนไซม์ (Choline Acetyltransferase, CAT) ดังสมการ (Messer, 2003)



### 1.2 การเก็บ

ส่วนใหญ่ของอะซิทิลโคลีน ที่ถูกสร้างขึ้นจะถูกเก็บอยู่ใน ไซแนปติกเวสซิเคิล (Synaptic Vesicles) มีจำนวนเล็กน้อย ที่เหลืออยู่ใน ไซโตพลาสซึม อะซิทิลโคลีน ถูกเก็บใน เวสซิเคิล 2 แบบ คือ

1.2.1 Loosly Bound Pool จะอยู่ใกล้กับบริเวณ ซิแนปส์ มีอะซิทิลโคลีน ที่ถูกปลดปล่อยออกมาได้ง่าย เมื่อมีการกระตุ้นให้มีการหลั่ง อะซิทิลโคลีน ใน Pool นี้จะถูกหลั่งออกมาก่อน

1.2.2 Stable หรือ Reserve Pool อะซิทิลโคลีน ถูกปลดปล่อยออกมาได้ยากกว่า อะซิทิลโคลีนใน Pool นี้จะเคลื่อนที่ไปสู่ Loosely Bound Pool ก่อนถึงจะหลั่งออกมาได้

### 1.3 การหลั่ง

ในระยะพัก อะซิทิลโคลีน จะถูกหลั่งมาจำนวนน้อย ๆ อยู่ตลอดเวลา เมื่อมีการกระตุ้นเส้นประสาท จะทำให้มีการหลั่ง อะซิทิลโคลีน เพิ่มขึ้น การหลั่งที่เพิ่มขึ้นนี้อาศัย  $\text{Ca}^{++}$  ซึ่งจะเพิ่มการเคลื่อนที่ของ อะซิทิลโคลีน ทำให้มีจำนวน เวสซิเคิล มาแทนที่ เมมเบรน มากขึ้น การปลดปล่อย อะซิทิลโคลีน ก็มากขึ้นด้วย

#### 1.4 การออกฤทธิ์

อะซิทิลโคลีน ที่ถูกปล่อยออกมาจากปลายประสาท 프리ไซแนปติก จะแพร่กระจายอย่างรวดเร็วภายในเวลาไม่ถึง 1 วินาที ผ่านช่อง ไซแนปติก (Synaptic Cleft) ซึ่งมีระยะทาง 15 – 50 นาโนเมตร ไปจับกับตัวรับโคลิเนอร์จิก ที่ โฟสไซแนปติก เมมเบรน ให้ผลตอบสนอง อะซิทิลโคลีน เป็นสารสื่อประสาทที่พบได้หลายแหล่ง แม้ว่า อะซิทิลโคลีน ที่หลั่งออกมาเป็น อะซิทิลโคลีน ที่มีสูตรและคุณสมบัติเหมือนกัน แต่คุณสมบัติของ โคลิเนอร์จิก รีเซปเตอร์ ต่างกัน ทำให้ อะซิทิลโคลีน มีการออกฤทธิ์ได้ 2 ชนิด ตามชนิดของ รีเซปเตอร์ที่จับ คือ

1.4.1 มัสคารินิก รีเซปเตอร์ (Muscarinic Receptor) เป็น รีเซปเตอร์ ที่พบในกล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะภายใน กล้ามเนื้อหัวใจและต่อมมีท่อ ผลของ อะซิทิลโคลีน ต่ออวัยวะภายในร่างกายผ่านทาง มัสคารินิก รีเซปเตอร์ นอกจากนี้ มัสคารินิก รีเซปเตอร์ บน 프리ไซแนปติก เมมเบรน ยังควบคุมการหลั่งสาร ต่อจากโคลิเนอร์จิก และ อะดรีเนอร์จิก (Adrenergic) ได้ เรียก รีเซปเตอร์ บน 프리ไซแนปติก เมมเบรน ว่า ออโต รีเซปเตอร์ (Auto Receptors)

1.4.2 นิโคตินิก รีเซปเตอร์ (Nicotinic Receptor) เป็น รีเซปเตอร์ ที่พบในปมประสาท (Ganglia) ของระบบประสาทอัตโนมัติ ที่ นิวโรมัสคิวลาร์ จังก์ชัน (NMJ, Neuromuscular Junction)

#### 1.5 การทำลายฤทธิ์

อะซิทิลโคลีน ที่หลั่งออกมาในช่อง ไซแนปติก จะถูกทำลายอย่างรวดเร็ว ส่วนใหญ่โดยเอนไซม์เอสเทอเรส (Esterase) ซึ่งมี 2 ชนิด คือ

1.5.1 อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase, AChE) พบในเม็ดเลือดแดง และเนื้อเยื่อประสาท มีความชอบจับต่อ อะซิทิลโคลีนสูง แต่ไม่เฉพาะเจาะจงทีเดียว

1.5.2 ชูโดโคลีนเอสเทอเรส (Pseudocholinesterase, Butyryl cholinesterase, BChE) พบในซีรัมและเนื้อเยื่อทั่วๆ ไป มีความชอบจับต่อ อะซิทิลโคลีน น้อยกว่า อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

### 2. โคลีนเอสเทอเรส (Cholinesterase, ChE)

การค้นพบโครงสร้างทางเคมีของเอนไซม์นี้มีมานานหลายปี ด้วยความก้าวหน้าด้านการศึกษาในโมเลกุลทางชีววิทยา และชีวเคมี ให้ความรู้ว่า โดยทั่วไป เอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส แบ่งได้เป็น 2 ชนิดใหญ่ ๆ คือ ชนิดที่ 1 อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (AChE) มีหน้าที่สำคัญในขบวนการสื่อสัญญาณประสาทบริเวณปลายประสาทที่เรียกว่า โคลิเนอร์จิกไซแนปส์ ชนิดที่ 2 บิวทา-

ริลโคลีนเอสเทอเรส (Butyrylcholinesterase, BChE) ซึ่งรู้จักกันในชื่ออื่นอีกว่า ซีรัมโคลีนเอสเทอเรส (Serum Cholinesterase), ซูโดโคลีนเอสเทอเรส หรือ นอนสเปซิฟิก โคลีนเอสเทอเรส (Non-specific Cholinesterase) แต่ เอนไซม์ชนิดนี้ยังไม่รู้หน้าที่ทางด้านสรีรวิทยา (วิภา , 2541)

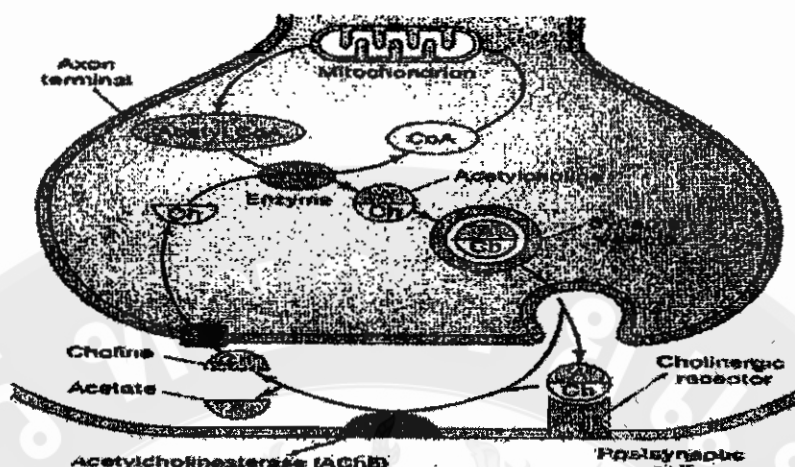
เอนไซม์ อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส และ บิวทาลีนโคลีนเอสเทอเรส พบในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง โดยเฉพาะ อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส สามารถสกัดออกมาได้จากสัตว์หลายชนิด ทั้ง สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นก ปลา สัตว์เลื้อยคลาน และแมลง เอนไซม์ทั้งสอง สามารถไฮโดรไลซ์ สารอะซิติลโคลีน ที่กลุ่ม เอสเทอร์ และถูกยับยั้งการทำงานได้ด้วยสารกลุ่ม ออร์แกโนฟอสเฟต และ สารกลุ่ม คาร์บาเมต ที่มีความเข้มข้นค่าประมาณ  $20^{-4}M$  และโดยทั่วไป คำว่า โคลีนเอสเทอเรส มีความหมายรวมทั้ง อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส และ บิวทาลีนโคลีนเอสเทอเรส

ขนาดน้ำหนักโมเลกุลของ อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส และ บิวทาลีนโคลีนเอสเทอเรส มีค่าอยู่ประมาณ 50,000 – 500,000 และพบว่ามีรูปแบบที่เรียกว่า โกลบูลา (Globular) และ อะซิมเมตริก (Asymmetric) ซึ่งประกอบด้วย โพลีเมอร์ของ คะตะไลติก ซับยูนิต (Catalytic Subunit) โดยทั่วไปมีขนาดตั้งแต่ 1 ถึง 12 ซับยูนิต ทำให้น้ำหนักโมเลกุลของ เอนไซม์มีขนาดแตกต่างกันตามจำนวนของ ซับยูนิต เนื่องจากบางซับยูนิตของเอนไซม์มีส่วนต่อกับคอลลาเจน (Collagen) หรือ คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates) หรือ โกลโคลิปิด (Glycolipids)

อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส พบในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของสัตว์ รวมทั้งพบในอวัยวะที่ทำให้เกิดไฟฟ้าในปลา เม็ดเลือดแดงของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เอนไซม์นี้ที่อยู่ในระบบประสาทส่วนกลางอวัยวะ และต่อมต่าง ๆ ถูกควบคุมการทำงานด้วยระบบประสาทอัตโนมัติ (Autonomic Nervous System) ส่วนที่เรียกว่า พาราซิมพาทีค (Parasympathetic) ซึ่งปัจจุบันได้มีการหาปริมาณ อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของสัตว์หลายชนิด ซึ่งที่เนื้อเยื่อต่างกันก็มีปริมาณ อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ที่ต่างกันไปด้วย โดยขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ บางชนิดพบในสมองมาก แต่บางชนิดพบในกล้ามเนื้อมากกว่า

## 2.1 หน้าที่ของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส

โคลีนเอสเทอเรส มีบทบาทในขบวนการสื่อสารสัญญาณประสาท ชนิด โคลิเนอร์จิก ทรานสมิSSION (Cholinergic Transmission) บริเวณที่เรียกว่า ไชนอปส์ หรือ โคลิเนอร์จิก-จังก์ชัน คือ บริเวณถ่ายทอดสัญญาณจากเซลล์ประสาทหนึ่งไปสู่อีกเซลล์หนึ่ง

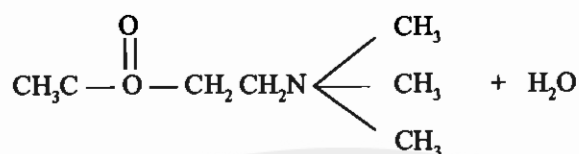


ภาพ 4 การปล่อยของสารสื่อประสาท และถูกทำลายโดย อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ที่รอบต่อของ เซลล์ประสาท

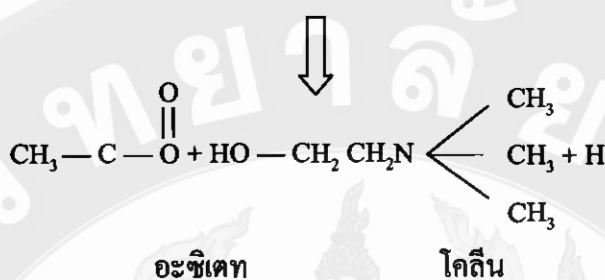
ที่มา: English (2002)

เริ่มต้นจากสัญญาณประสาทถูกถ่ายทอดส่งมาถึงเซลล์ประสาทชนิด พาราซิมพา-  
ทีติก บริเวณปลายประสาท (Nerve Ending) (ภาพ 4) ซึ่งจะมีสารอะซิติลโคลีน สะสมอยู่ในถุง  
(Vesicles) เป็นสารเคมีที่มีหน้าที่สื่อสัญญาณประสาทหลังจากบริเวณ พรีไซเนปส์ ภายในเวลา  
2 – 3 msec สู่บริเวณรอบต่อของเซลล์ สารอะซิติลโคลีน จะเข้าไปจับกับ อะซิติลโคลีน รีเซปเตอร์  
ที่อยู่ในโพสไซเนปส์ติด เมมเบรน ของเซลล์ประสาทตัวถัดไป จะมีผลให้เปิดไอออน แชนแนล  
(Ion Channel) และเกิดดีโพลาไรเซชัน (Depolarization) ที่บริเวณเมมเบรนนั้น ทำให้เกิดการไหล  
ของประจุบวกเข้าสู่เซลล์ เซลล์ประสาทตัวที่รับ อะซิติลโคลีน มาแล้ว ก็จะถูกกระตุ้นให้เกิดการ  
ทำงานของกล้ามเนื้อบริเวณนั้น โดยทั่วไป เอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส มีหน้าที่ควบคุมการทำงานของ  
ของขบวนการสื่อสัญญาณประสาท ด้วยการลดความเข้มข้นของ อะซิติลโคลีน ที่บริเวณรอบต่อ  
ของเซลล์ประสาท โดยการเร่งปฏิกิริยา ไฮโดรไลซิส ของ อะซิติลโคลีน เกิดเป็น โคลีน และ  
กรดอะซิติก (Acetic Acid) ดังภาพ 4 แล้วการถ่ายทอดสัญญาณประสาทจะหยุดและการทำงานของ  
กล้ามเนื้อบริเวณนั้นก็สิ้นสุดลง (Katzung, 2001)

เมื่อใดที่ เอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส ถูกจับโดยสารพิษ ออร์แกนโนฟอสเฟต หรือ  
คาร์บาเมต ทำให้อะซิติลโคลีนไม่ถูกไฮโดรไลซ์จะมีอะซิติลโคลีนสะสมมากขึ้นๆ และกระตุ้นให้  
เซลล์ประสาท หรือกล้ามเนื้อบริเวณนั้นทำงานอย่างต่อเนื่อง มีผลทำให้เกิดความเหนื่อยล้าและ  
อาการชักต่อเนื่องอย่างรุนแรง (สมิง และบุพา , 2538)



อะซีทิลโคลีน



ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ของอะซีทิลโคลีน เกิดเป็นโคลีน และกรดอะซิติก (Katzung, 2001)

## 2.2 ปัจจัยที่ผลต่อระดับอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส

2.2.1 ชนิดของสิ่งมีชีวิต ในสิ่งมีชีวิตที่ต่างกันพบว่า ระดับของ อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส เท่ากัน โดยได้มีการศึกษาในสัตว์ชนิดต่าง ๆ กว่าร้อยชนิด พบว่าระดับ อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม  $\geq$  ปลา  $\geq$  สัตว์เลื้อยคลาน (Peakall, 1992) Qadri *et al.* (1994) พบว่าในปลาจะมีระดับอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส สูงกว่าในนกและหนู แต่ก็พบว่าใน ปลามีความไวต่อการยับยั้งโดยออร์แกนโนฟอสเฟตต่ำสุด โดยที่หนูไวต่อความเป็นพิษของ ออร์แกนโนฟอสเฟตมากกว่านกและปลา

2.2.2 เพศและอายุ พบว่าระดับอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสใน มีความสัมพันธ์กับอายุของลูกนก สตาริง โดยที่ลูกนกมีอายุเพิ่มขึ้น 4 – 18 วัน พบว่ามีระดับ อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสใน เพิ่มขึ้น 5 ถึง 15  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  ในปลาขนาดเล็กมีระดับ อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส มากกว่าปลาที่มีขนาดใหญ่กว่า (Galgani and Bocquenne, 2003) ส่วนเพศจากที่ได้มีการศึกษา สัตว์บางชนิดไม่พบว่าเพศมีผลต่อระดับอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส แต่บางชนิดพบว่า ระดับอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสของเพศเมียจะต่ำกว่าเพศผู้

2.2.3 ฤดูกาล จากการศึกษานในหูกบ้านและหูกบ้านมีระดับ อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสต่ำสุดในฤดูหนาว แต่ได้มีการศึกษาในนกเกรคเกิล ไม่พบความแตกต่างของระดับ อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส ในฤดูกาลที่ต่างกัน จากการเก็บตัวอย่างหอย (Bule Mussel) ที่ฤดูกาล ต่าง ๆ พบว่าระดับอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสในเหงือก แตกต่างกัน โดยในช่วงฤดูร้อนระดับ อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสจะสูงสุด และจะต่ำลงในฤดูหนาว ซึ่งการเปลี่ยนแปลงมีความสัมพันธ์ใน ทางบวกกับอุณหภูมิ (Pfeifer *et al.*, 2005)

2.2.4 ความต่างของส่วนสมอง ได้มีการศึกษาระดับ อะซิทิลโคลีน เอสเทอเรส ในความต่างของชิ้นส่วนสมอง พบว่าสมองส่วนกลางจะมีระดับ อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสมากกว่าสมองส่วนหน้า ซึ่งจากการค้นพบทำให้นำไปสู่ความระมัดระวังในการนำชิ้นส่วนของสมองไปวิเคราะห์หาระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

2.2.5 ชนิดเนื้อเยื่อ การศึกษาระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ในอวัยวะต่าง ๆ พบว่ามีระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ต่างกัน ในปลาพบว่าสมองมี อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูงกว่ากล้ามเนื้อและเหงือก ส่วนในหอยบางชนิด อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูงที่สุดในเหงือก บางชนิดในแมนเทิลสูงสุด (Mora *et al.*, 1999) จากตาราง 3 แสดงให้เห็นถึงระดับโคลีนเอสเทอเรส แตกต่างกันในสัตว์ต่างชนิด และเนื้อเยื่อต่างกัน

2.2.6 การกินอาหาร และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ พบว่าในนกกระทามีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนักของระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส เมื่อมีการกินอาหารลดลง หรือ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

ตาราง 3 ระดับโคลีนเอสเทอเรสในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำบางชนิด

| ชนิด                                               | ระดับโคลีนเอสเทอเรส<br>(nmol/mn per mg P) | ชนิดเนื้อเยื่อ    |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------|
| <b>Fish</b>                                        |                                           |                   |
| <i>Serranus cabrilla</i> (marine teleost)          | 281 ± 28                                  | Gill              |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> (freshwater teleost)    | 261 ± 41                                  | Muscle            |
| <b>Crustacean</b>                                  |                                           |                   |
| <i>Metapenaeus monoceros</i> (marinc decapods)     | 10                                        | Thoracic ganglion |
| <i>Paratya australiensis</i> (freshwater decapods) | 25.3 ± 7.7                                | Whole             |
| <b>Mollusc</b>                                     |                                           |                   |
| <i>Aplysia californica</i> (marine gastropod)      | 10                                        | Hemolymph         |
| <i>Mytilus galloprovincialis</i> (marine bivalve)  | 25.3 ± 7.7                                | Gill              |
| <i>Lymnaea acuminata</i> (freshwater gastropod)    | 74 ± 0.4                                  | Nervous tissue    |
| <i>Corbicula fluminea</i> (freshwater bivalve)     | 6.4 ± 2.2                                 | Whole             |

ที่มา: Mora *et al.* (1999)

### 2.3 การตรวจวัดระดับอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

วนิรัตน์ (2525) รายงานว่า โคลีนเอสเทอเรสในร่างกายที่สำคัญมี 2 ชนิด

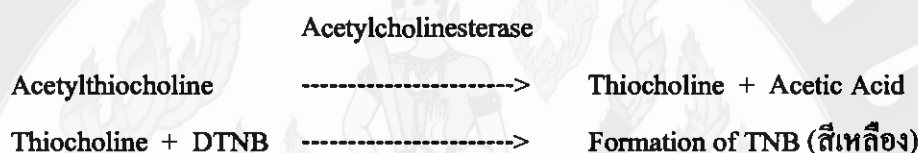
คือ

1. ชนิดที่พบในเม็ดเลือดแดงและเนื้อเยื่อระบบประสาท เรียกว่า อะซิติล โคลีน-เอสเทอเรส ซึ่งมีหน้าที่ในการ ไฮโดรไลซ์อะซิติล โคลีน
2. ชนิดที่พบในพลาสมา และเนื้อเยื่อนอกระบบประสาท เรียกว่า บิวทาลิล (ซูโด) โคลีนเอสเทอเรส ซึ่งมีบทบาทในการ ไฮโดรไลซ์ ซัคซินิลโคลีน (Succinylcholine) แต่ยังไม่ทราบหน้าที่ต่อร่างกายที่ชัดเจน

พลาสมาซูโด โคลีนเอสเทอเรส เป็นดัชนีที่มีความไวมากกว่า คือ มีระดับลดลงอย่างรวดเร็วกว่า แต่ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ พลาสมาโคลีนเอสเทอเรส (Plasma Cholinesterase) กับระยะเวลาของการเป็นพิษนั้น ไม่ดีเท่าใดนัก โดยเฉพาะถ้ามีการตรวจวัดที่ห้องปฏิบัติ การที่ต่างกัน ระดับอะซิติล โคลีนเอสเทอเรส อาจสัมพันธ์มากกว่า พบว่าระดับการลดลงของ โคลีนเอสเทอเรส มักสัมพันธ์กับความรุนแรงของการเป็นพิษ ซึ่งในสัตว์ที่เกิดอาการรับพิษอย่างรุนแรงมักตรวจพบว่ามีระดับการออกฤทธิ์ของเอนไซม์ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เป็นพิษปานกลาง ระดับมักอยู่ประมาณ 10 – 20 เปอร์เซ็นต์ และถ้าไม่ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ก็จะไม่ปรากฏอาการ

ในเกษตรกรที่ได้รับสารพิษพวกนี้จากการใช้ยาฆ่าแมลงได้มีการทำการตรวจวัดปริมาณ อะซิติล โคลีนเอสเทอเรสที่ลดลง จากการยับยั้งการทำงานของออร์แกนอพอเฟส และ คาร์บาเมท โดยการตรวจอะซิติล โคลีนเอสเทอเรสในเลือด ซึ่งมีวิธีการตรวจอยู่หลายวิธีด้วยกัน แต่ก็มีวิธีที่ประหยัดและรวดเร็วคือ การใช้รังสี โดยใช้ Sodium Bicarbonate –  $C^{14}$  ใช้ทำปฏิกิริยากับกรด อะซิดิก ที่ถูกปล่อยออกมาจากการ ไฮโดรไลซ์อะซิติล โคลีน ผลสุดท้ายได้  $C^{14} O_2$  ซึ่งจะตรวจวัดปริมาณได้โดย Liquid Scintillation Counter นอกจากนี้ยังมีการตรวจ โคลีนเอสเทอเรส ในเลือดโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็ว โดยเซลล์เม็ดเลือดจะถูกล้างไปเก็บไว้ พร้อมใส่สารที่เป็นตัวดูดซับ ต่อมาจะถูกสกัดเข้าไปใน คาร์บอนซัลไฟด์  $CS_2$  แล้วจึงนำไปตรวจวิเคราะห์โดยวิธี แก๊สโครมาโตกราฟี ซึ่งสามารถตรวจเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสที่มีปริมาณน้อยในเลือดได้ โดยวิธีทางอ้อมนั้นสามารถตรวจสอบวัดโคลีนเอสเทอเรส ได้จากการอาศัยการเกิดกรดอะซิดิกอิสระ ซึ่งเป็นสัดส่วนกับปริมาณของ โคลีนเอสเทอเรส ที่มีอยู่ในเลือดที่ไฮโดรไลซ์ อะซิติล โคลีนซึ่งเป็น ตัวดูดซับ ผลจากการเกิดปฏิกิริยาเคมีจะได้กรดอะซิดิก อิสระออกมา ซึ่งทำให้ pH เปลี่ยนแปลงไป โดยสามารถนำหลักการนี้ไปวัด pH เพื่อดูว่ามีการได้รับสารพวกออร์แกนอพอเฟสหรือไม่

ในการศึกษาระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ในสัตว์น้ำ จะสามารถตรวจพบได้ที่กล้ามเนื้อ และสมองปลา กล้ามเนื้อเปิดปิดฝาและเหงือกของหอย และกล้ามเนื้อท้องของกุ้ง โดยจะพบว่า ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส สูงมากในสมอง กล้ามเนื้อปลา และกล้ามเนื้อกุ้ง ส่วนหอยจะมีระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสต่ำ ซึ่งในการหาระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส โดยใช้อะซิทิลไทโอโคลีน (Acetylthiocholine Iodine, ACTC) เป็นซับสเตรทซึ่งจะได้ไทโอโคลีน (Thiocholine) เมื่อไปทำปฏิกิริยากับไอโทโอบิสไนโตรเบนโซเอท (Dithiobisnitrobenzoate, DTNB) จะมีสีเหลืองเพิ่มขึ้นแล้วเอาไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ (Spectrometer) ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ดังสมการ

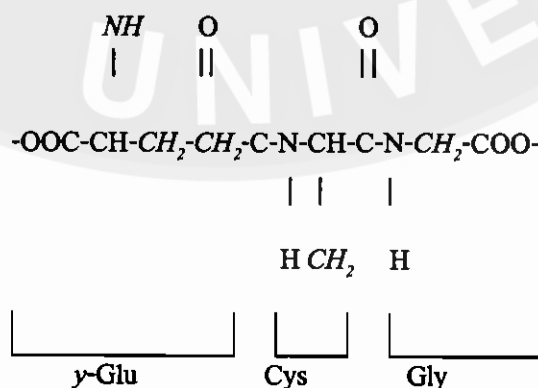


### 3. กลูตาไธโอน เอส-ทรานเฟอเรส (Glutathione s-transferase)

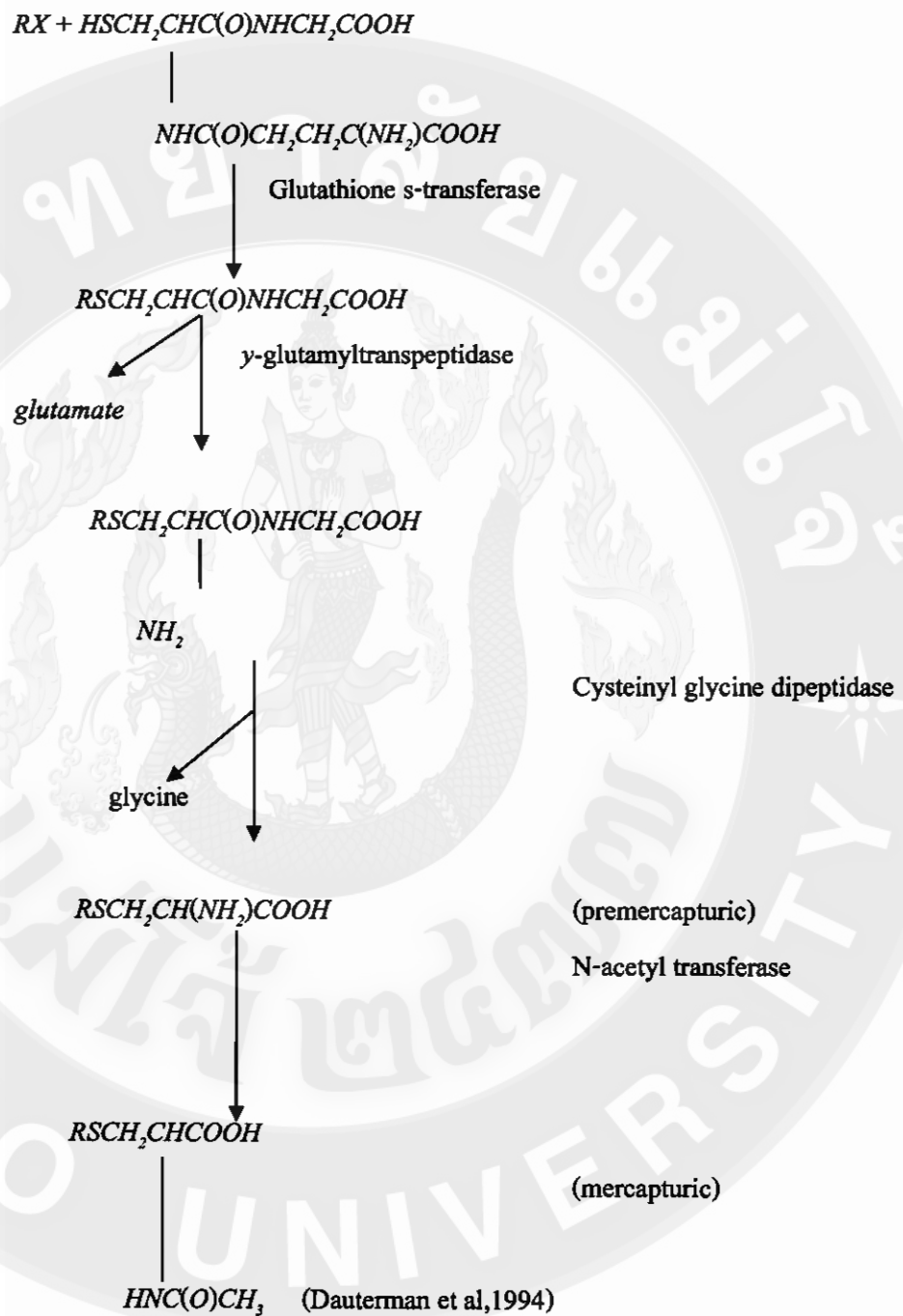
เป็นเอนไซม์เกี่ยวกับกระบวนการทำลายสารพิษ หรือสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายจะเกี่ยวข้องกับขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 2 (phase II) โดยจะไปเร่งปฏิกิริยาการรวมกัน (conjugation) ของ Glutathione s-transferase กับสารประกอบหรือสารพิษที่เข้ามาในร่างกาย (Dauterman, 1983)

สารกลูตาไทโอนภายในเซลล์ จะทำปฏิกิริยากับสารพิษ โดยอาศัยเอนไซม์ กลูตาไธโอน เอส-ทรานเฟอเรส ได้กรดเมอแคพตริก หรือเรียกกระบวนการนี้ว่า การสร้างกรดเมอแคพตริก (Mercapturic acid synthesis) (ชัยวัฒน์ และคณะ, 2536)

ทั้งนี้ Maines *et al.* (1999) สรุปโครงสร้างของเอนไซม์ได้ ดังนี้



ปฏิกิริยาการจับตัวคอนจูเกชัน ด้วยกลูตาไธโอน มีดังนี้



### บทที่ 3

#### วิธีการวิจัย

#### อุปกรณ์และสารเคมี

##### 1. ด้านระบบการเลี้ยงปลา

- 1.1 ตู้เลี้ยงปลาขนาด 25 นิ้ว จำนวน 15 ตู้
- 1.2 โรงเรือน
- 1.3 ปลาตะเพียนขาวขนาด  $4.4 \pm 0.91$  เซนติเมตร
- 1.4 อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมใบรางจืด
- 1.5 อุปกรณ์การเพิ่มออกซิเจน ได้แก่หัวทราย สายยาง
- 1.6 เครื่องชั่งน้ำหนัก
- 1.7 สวิตช์ปลา
- 1.8 หลอดทดลอง และmicrotube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 1.9 ไก่อบค
- 1.10 ผ้าขาวบาง
- 1.11 อุปกรณ์ผ่าตัด
- 1.12 ถังโฟมเก็บรักษาความเย็น
- 1.13 ตู้เย็นปรับอุณหภูมิ 4°C
- 1.14 Spectrophotometer รุ่น HACH DR/4000 U
- 1.15 Refrigerated high speed centrifuge ยี่ห้อ Heraeus Instruments รุ่น Biofuge

haemo

##### 2. เครื่องมือและอุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

- 2.1 pH meter
- 2.2 DO meter YSI Model 57
- 2.3 Thermometer
- 2.4 กระดาษกรอง

## 2.5 Cuvette

2.6 อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น ขวดรูปชมพู่ ปิเปต กรวยแก้ว กระบอกตวง

## 2.7 หลอดคอคอตันน์

# 3. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์เอนไซม์ทำลายพิษ

3.1 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์

3.2 potassium phosphate buffer

3.3 polyvinylpyrrolidone (PVPP)

3.4 ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA)

3.5 glutathione reduce form

3.6 paranitrophenyl acetate (PNPA)

3.7 chlorodinitrobenzene (CDNB)

# 4. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์เอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส

4.1  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$

4.2 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB)

4.3 Acetylcholine iodine

# 5. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้กับสัตว์ทดลอง

5.1 ยาปราบวัชพืชพาราควอท (Paraquat) (1,1-dimethyl-4,4-dipyridylum)

5.2 บีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร และ 250 มิลลิลิตร

5.3 หลอดฉีดขนาด 1 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร

5.4 ผ้าปิดจมูกป้องกันสารเคมี

5.5 ถุงมือยาง

## วิธีวิจัยและดำเนินการ

### สัตว์ทดลอง

นำปลาดุกเพียนขาว ขนาด  $4.4 \pm 0.91$  เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย  $0.75 \pm 0.23$  กรัม มาพักในตู้กระจกขนาด 25 นิ้ว ปริมาตรน้ำ 31.25 ลิตร 100 ตัว/ตู้ ที่มีน้ำปราศจากคลอรีนและเติมอากาศต่อเนื่อง ปรับสภาพในห้องปฏิบัติการ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นเริ่มเก็บตัวอย่างเอนไซม์

### การวางแผนการทดลอง

การศึกษารังนี้ได้ทำการทดลองเลี้ยงปลาดุกเพียนขาว ขนาด  $4.4 \pm 0.91$  เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย  $0.75 \pm 0.23$  กรัม โดยปล่อย 100 ตัว/ตู้ ในตู้กระจกขนาด 25 นิ้ว ปริมาตรน้ำ 31.25 ลิตร โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design; CRD) แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดทดลอง ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ ระยะเวลาในการเลี้ยงเวลา 4 สัปดาห์ แต่ละชุดการทดลองแบ่งออกเป็นดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 คือ อาหารชุดควบคุมยี่ห้อเอฟ-วัน คัลเลอร์ โปรตีน ไม่ต่ำกว่า 30 % ร่วมกับร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท

ชุดการทดลองที่ 2 คือ อาหารที่ผสมรางจืด 10% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท

ชุดการทดลองที่ 3 คือ อาหารที่ผสมรางจืด 15% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท

ชุดการทดลองที่ 4 คือ อาหารที่ผสมรางจืด 20% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท

### การเตรียมอาหารผสมสารสกัดหยาบรางจืด

นำสมุนไพรรางจืดมาประมาณ 10 กิโลกรัม ไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วนำไปบดละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงหมายเลข 20 มีลักษณะเป็นผง จากนั้นสกัดหยาบสมุนไพรตามวิธีการของ Herunsalee (1993) โดยชั่งผงรางจืด 100 กรัม หมักด้วยแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร

1,000 มิลลิลิตร นาน 5 วัน กรองส่วนใสด้วยกระดาษกรอง No. 1 นำส่วนใสที่กรองได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่อง evaporator จากนั้นเติมสาร polyvinyl povidone ปริมาตร 4 เท่าของน้ำหนักสารสกัด โดยละลาย polyvinyl povidone ด้วยแอลกอฮอล์ 95% จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่อง evaporator จนแห้ง ก็จะได้สารสกัดหยาบบรรจุ เพื่อใช้ในการทดลอง

#### การให้สารพิษพาราควอต

ความเข้มข้นของพาราควอตที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ เท่ากับ 0.1% ของ  $LC_{50}$  (20.48 ml/l) (ทัศนียา, 2552)

#### การตรวจวัดระดับเอนไซม์กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรสจากปลาตะเพียนขาว

วิธีการสกัดเอนไซม์ดัดแปลงจากวิธีการของ Feng *et al.* (1995 ; Visetson and Mantana, 2001 ; Yang *et al.* 2001 ; Visetson, 2001) โดยตัดเหงือกปลา 0.05 กรัมเติม polyvinylpolpyrrolidone 0.025 กรัม ใส่ลงในโกร่งที่แช่เย็น บดให้ละเอียด แล้วเติม GSH-reduce form 3 มิลลิลิตร นำมารองด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนของเหลวที่กรองได้ใส่หลอด centrifuge แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็ว 10,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 4 นาทีดูดส่วนใสข้างบนใส่หลอดพลาสติก ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เพื่อใช้วัดเอนไซม์กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรสต่อไป

การตรวจวัดระดับเอนไซม์ กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione s-transferase) ใช้วิธี CDNB-DCNB assay ของ Booth *et al.* (1996 ; สุรพล และเรวดี, 2542) โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 340 นาโนเมตร ตรวจวัดค่าการดูดกลืนของแสง monochloro-nitrobenzene glutathione ซึ่ง dichloronitro-benzene จะเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับ glutathione โดยมีเอนไซม์กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรส เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

#### การตรวจวัดระดับเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสจากปลาตะเพียนขาว

นำสมองของปลา 20 มิลลิกรัม เก็บใส่หลอดพลาสติกขนาด 1.5 มิลลิลิตร ทุกขั้นตอนของการเตรียมตัวอย่างอย่างอวัยวะได้ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ประมาณ 4 องศาเซลเซียส บดใน 0.1 M Phosphate buffer saline (PBS) pH 7.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วปั่นที่ความเร็ว 3,500 rpm

เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเก็บของเหลวใสด้านบนไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ตรวจหาระดับอะซิติกโคลิโนเอสเทอร์ต่อไป

ใช้ DTNB 1.3 มิลลิโมลในหลอดการทดลอง จากนั้นเติมเอนไซม์อะซิติกโคลิโนเอสเทอร์ และตัวอย่างที่สกัดได้ปริมาตร 63 และ 130  $\mu$ l ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำมาตรวจหาเอนไซม์โดยคัดแปลงจากวิธีของ Ellman *et al.* (1961 ; Ferrari *et al.* (2004) วัดระดับอะซิติกโคลิโนเอสเทอร์โดยอ่านค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร และคำนวณการทำงานของเอนไซม์

### การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลของอาหารผสมรางจืดต่อระดับเอนไซม์กดูตาโซโอน เอส-ทรานสเฟอเรสและเอนไซม์อะซิติกโคลิโนเอสเทอร์ และวิเคราะห์คุณภาพน้ำการทดลอง ในหน่วยการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองโดยวิเคราะห์ one-way ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 11.5

## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

#### ผลของอาหารผสมรางจืดต่อระดับเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส

จากการทดลองเลี้ยงปลาตะเพียนขาวในน้ำที่มีการปนเปื้อนพาราควอท เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (อาหารชุดควบคุมร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) ระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ามีระดับของเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (GST) เริ่มต้นของชุดการทดลองที่ 1 (อาหารชุดควบคุมร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) และชุดการทดลองที่ 2 (อาหารที่ผสมรางจืด 10% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) ชุดการทดลองที่ 3 (อาหารที่ผสมรางจืด 15% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) ชุดการทดลองที่ 4 (อาหารที่ผสมรางจืด 20% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) เท่ากับ  $0.154 \pm 0.06$ ,  $0.155 \pm 0.03$ ,  $0.159 \pm 0.01$  และ  $0.165 \pm 0.01$  n mole product/mg protein/ml ตามลำดับ จากนั้นได้วัดระดับเอนไซม์ GST ของปลาตะเพียนขาวทุกสัปดาห์ พบว่าในชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ระดับเอนไซม์ GST ในปลาตะเพียนขาวมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องในสัปดาห์ที่ 2 คือ  $0.152 \pm 0.03$ ,  $0.139 \pm 0.03$  และ  $0.136 \pm 0.03$  n mole product/mg protein/ml ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 2 ชุดการทดลองที่ 2 และ 4 ยังมีระดับเอนไซม์ GST ลดลงจากสัปดาห์ที่ 1 คือ  $0.139 \pm 0.01$  และ  $0.131 \pm 0.04$  n mole product/mg protein/ml ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และพบการเพิ่มขึ้นของระดับ เอนไซม์ GST ในชุดการทดลองที่ 3 ในสัปดาห์ที่ 2 คือ  $0.177 \pm 0.01$  ซึ่งเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 3 พบว่าระดับเอนไซม์ GST ในชุดการทดลองที่ 3 มีแนวโน้มมากที่สุด คือ  $0.218 \pm 0.02$  n mole product/mg protein/ml เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 4 คือ  $0.188 \pm 0.07$ ,  $0.214 \pm 0.02$  และ  $0.173 \pm 0.03$  n mole product/mg protein/ml ตามลำดับ แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ดังแสดงในตาราง 4 และภาพ 5

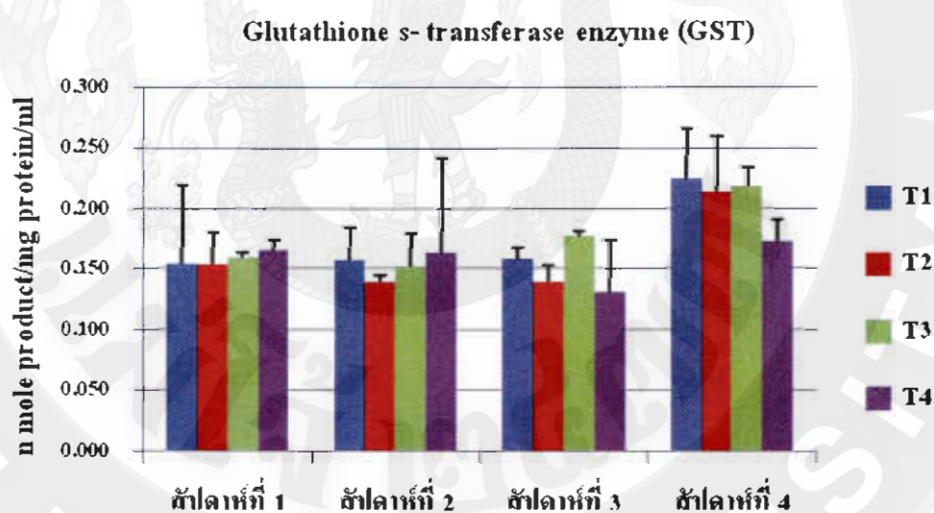
เอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (GST) ทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นเมื่อปลาตะเพียนขาวสัมผัสกับพาราควอทจะมีระดับเอนไซม์ GST สูงขึ้น (ตาราง 1) เช่นเดียวกับปลานิลที่สัมผัสกับพาราควอทซึ่งมีระดับของเอนไซม์ GST เพิ่มขึ้น (Figueiredo-Fernandes *et al.*, 2006) และปลาที่ได้รับอาหารผสมรางจืดในชุดการทดลองที่ 4 มีแนวโน้มที่ระดับ GST ลดลงในสัปดาห์ที่ 1 และ 3 แสดงว่า น่าจะช่วยลดพิษของพาราควอทได้ ทำให้เอนไซม์ GST ของปลาในกลุ่มดังกล่าวมีค่าต่ำกว่าชุดที่ไม่ได้รับอาหารผสมรางจืด อย่างไรก็ตาม ผลของมลพิษที่มีต่อระดับเอนไซม์ GST ยังไม่มีข้อพิสูจน์ที่แน่นอน หรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงและมีการยับยั้ง

ปฏิกิริยาของ GST (Figueiredo-Fernandes *et al.*, 2006) สอดคล้องกับการทดลอง Rendon-von *et al.* (2005) ได้กล่าวว่าผลของระดับ GST จะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ชนิดของสัตว์ทดลอง สภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปซึ่งเป็นไปได้ยากในการหาข้อพิสูจน์ ดังเช่นงานวิจัยของ Martinez *et al.* (1996) ได้รายงานไว้ว่า GST ของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) ที่สัมผัสกับพาราควอทลดลง การลดลงของ GST เนื่องจากพาราควอทไม่ได้กระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระ (Free radicals) ในตัวของสัตว์ทดลอง ส่วน Stegeman *et al.* (1992) กล่าวว่า เพศและฤดูกาลจะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ GST การลดลงของ GST ในปลาตะเพียนขาวแต่ละชุดการทดลองอาจเกิดจากการสลายตัวที่รวดเร็วของพาราควอททำให้มีความเป็นพิษต่อน้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ปภาศิริ (2527) กล่าวว่าพาราควอทสามารถสลายน้ำได้ศึกษาใน 3 สัปดาห์ และจากความสามารถสลายน้ำได้พิษของพาราควอท อาจทำให้พาราควอทถูกขับออกนอกร่างกายได้โดยง่ายในกระบวนการทำลายพิษของเอนไซม์ในระยะที่ 1 เช่น เอนไซม์เอสเทอร์ส ทั้งนี้การลดลงของ GST ไม่ได้เกิดจากความสามารถในการลดพิษของรังสีในอัตราส่วน 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์แต่อย่างใด แต่อาจเกิดจากความเข้มข้นของปริมาณรังสีน้อยเกินไป ซึ่งการทดลองในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมใช้วิธีการฉีด หรือป้อนโดยตรงทางปาก (สกุรัตน์ และคณะ, 2543) นอกจากนี้ปัญหาของการใช้สมุนไพรในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่สำคัญคือ ความไม่คงตัวของสารสำคัญในสมุนไพรและวิธีการในการสกัด ทำให้ประสิทธิภาพของสมุนไพรไม่เห็นชัดเจน ดังเช่นการทดลองของ Rojtinakorn *et al.* (2009) พบว่าการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรโดยใช้เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถสกัดสารสำคัญต่าง ๆ จากสมุนไพรได้มากกว่าเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ หรือน้ำบริสุทธิ์ การทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกในสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นสัตว์เลือดเย็นจึงไม่สามารถทราบปริมาณในการใช้ที่แน่นอน ส่วนระดับเอนไซม์ GST ที่เพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์สุดท้ายอาจมีสาเหตุมาจากความเครียดของปลาตะเพียนขาว Machala *et al.* (1997 ; Langiano and Martinez, 2008) กล่าวว่าเมื่อปลาได้สัมผัสกับสภาพแวดล้อมที่เป็นพิษทำให้เกิดความเครียดส่งผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ GST ในตับของปลา *P. lineatus*

ตาราง 4 ระดับเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (n mole product/mg protein/ml) ของปลาตะเพียนขาวเมื่อให้อาหารผสมรางจืดอัตราส่วนต่าง ๆ กันในช่วงเวลา 4 สัปดาห์

| สัปดาห์ | ชุดการทดลอง |            |            |            |
|---------|-------------|------------|------------|------------|
|         | 1           | 2          | 3          | 4          |
| 1       | 0.154±0.06  | 0.155±0.03 | 0.159±0.01 | 0.165±0.01 |
| 2       | 0.158±0.03  | 0.139±0.01 | 0.152±0.03 | 0.164±0.08 |
| 3       | 0.158±0.01  | 0.139±0.01 | 0.177±0.01 | 0.131±0.04 |
| 4       | 0.224±0.04  | 0.214±0.05 | 0.218±0.02 | 0.173±0.02 |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ±SD ( $P>0.05$ )



ภาพ 5 ระดับเอนไซม์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส จากเหงือกปลาตะเพียนขาวที่ชุดการทดลองแตกต่างกันในช่วงระยะเวลา 4 สัปดาห์

### ผลของอาหารผสมรางจืดต่อระดับเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

จากการทดลองเลี้ยงปลาดุกเพียนขาวในน้ำที่มีการปนเปื้อนพาราควอท เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (อาหารชุดควบคุมร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) ระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ามีระดับของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (AChE) เริ่มต้นของชุดการทดลองที่ 1 (อาหารชุดควบคุมร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) และชุดการทดลองที่ 2 (อาหารที่ผสมรางจืด 10% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) ชุดการทดลองที่ 3 (อาหารที่ผสมรางจืด 15% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) ชุดการทดลองที่ 4 (อาหารที่ผสมรางจืด 20% ร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) เท่ากับ  $2.873 \pm 0.05$ ,  $2.847 \pm 0.02$ ,  $2.807 \pm 0.09$  และ  $2.800 \pm 0.12$  n mole/min/mg protein ตามลำดับ จากนั้นได้วัดระดับเอนไซม์ AChE ของปลาดุกเพียนขาวทุก สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ระดับเอนไซม์ AChE ในปลาดุกเพียนขาวมีแนวโน้มลดลง คือ  $2.763 \pm 0.01$ ,  $2.467 \pm 0.46$ ,  $2.687 \pm 0.02$  และ  $2.713 \pm 0.06$  n mole/min/mg protein ของสัปดาห์ที่ 2 และ  $2.593 \pm 0.85$ ,  $2.167 \pm 0.04$ ,  $2.453 \pm 0.40$  และ  $2.263 \pm 0.37$  n mole/min/mg protein ของสัปดาห์ที่ 3 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าระดับเอนไซม์ AChE ในแต่ละชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น คือ  $3.330 \pm 0.61$ ,  $2.883 \pm 0.42$ ,  $2.970 \pm 0.20$  และ  $3.170 \pm 0.70$  n mole/min/mg protein ดังแสดงในตาราง 5 และภาพ 6 เมื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยระดับเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในชุดการทดลองที่ 1 มีแนวโน้มมากที่สุด เท่ากับ  $3.330 \pm 0.61$  n mole/min/mg protein (ตาราง 5)

จากการศึกษาเมื่อเอนไซม์ AChE ลดลงหรือถูกยับยั้งโดยสารพิษทำให้อะซิติลโคลีน (ACh) ไม่ถูกไฮโดรไลซ์จะมีอะซิติลโคลีนสะสมมากขึ้น และกระตุ้นให้เซลล์ประสาท หรือ กล้ามเนื้อบริเวณนั้นทำงานอย่างต่อเนื่อง มีผลทำให้เกิดความเหนื่อยล้าและเกิดอาการตะคริวของ กล้ามเนื้ออย่างต่อเนื่องและรุนแรง (สมิง และบุพา, 2538) โดยเอสเทอเรสจะทำหน้าที่ Hydrolyzed สารในกลุ่ม Ester ให้กลายเป็นสารพิษตัวใหม่ที่เป็นกรด และเป็นแอลกอฮอล์ (ชัยวัฒน์ และคณะ, 2536) ถ้าปลาที่อยู่ในน้ำที่มีการปนเปื้อนพาราควอท จะทำให้ระดับเอนไซม์ AChE มีปริมาณลดลง

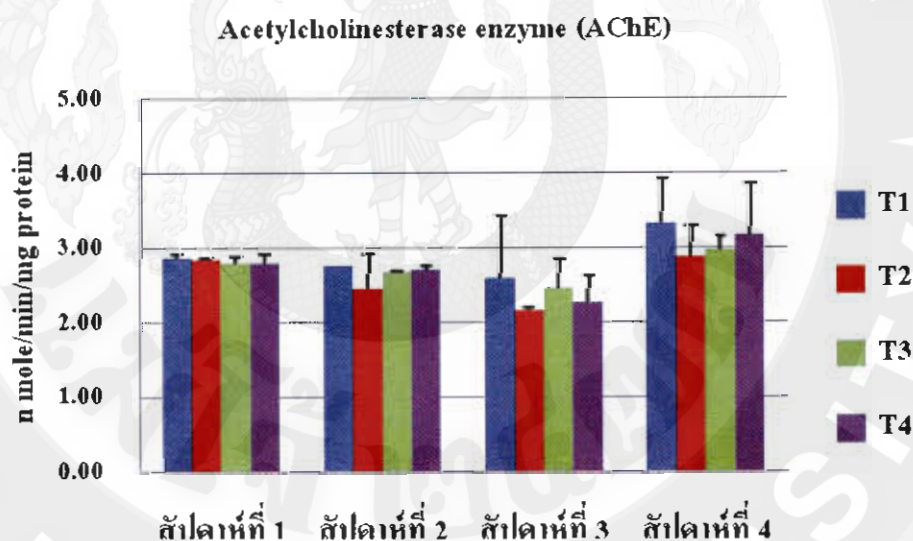
เป็นที่ทราบกันว่าสารพิษปราบศัตรูพืชกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต มีผลต่อการยับยั้ง AChE ในปลา (Monserat *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังมีรายงานผลของการยับยั้ง AChE ในเนื้อของปลาหลายชนิดที่เกิดจากสารปราบวัชพืช (Sancho *et al.*, 2000) เช่นรายงานของ Glusczak *et al.* (2007) รายงานว่า AChE มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญใน silver catfish (*Rhamdia quelen*) ที่สัมผัสกับยาปราบวัชพืชไกลโฟเสตนั่นเป็นที่รู้จักแพร่หลายในชื่อการค้า “ราวนด์อัฟ”

เมื่อเอนไซม์ AChE ลดลงทำให้ไม่สามารถควบคุมการหลั่ง เอนไซม์ Ach ทำให้เอนไซม์ดังกล่าวมีการสะสมและมีปริมาณสูงขึ้น ส่งผลต่อระบบประสาท (Dutta and Arends, 2003) และอาจส่งผลต่อการเคลื่อนที่ และสมดุลของร่างกาย (Bretaud *et al.*, 2000) จากการทดลองของ AChE ในการทดลองแต่ละชุดการทดลอง แสดงให้เห็นว่ารังสีจิมิแนวโน้มที่ไม่สามารถลดพิษพาราควอตได้ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการออกฤทธิ์ของรังสีจิมิแนวโน้ม ดังเช่นการทดลองของ Rojtinakorn *et al.* (2009) พบว่าการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรโดยใช้เอธานอล 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถสกัดสารสำคัญต่างๆจากสมุนไพรได้มากกว่าเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ หรือน้ำบริสุทธิ์ ส่วนการทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกในสัตว์น้ำซึ่งเป็นสัตว์เลือดเย็นจึงไม่สามารถทราบปริมาณในการใช้ที่แน่นอน ส่วนการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ AChE ในสปีคาสสุดท้ายอาจเกิดจากปัจจัยต่าง ๆ เช่นเดียวกับการทดลองของ Miron (2005) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ AChE ของปลา silver catfish (*Rhamdia quelen*) ที่สัมผัสกับ quinclorac และ metsulfuron ในสมองที่ 98 และ 179 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Chuiko *et al.* (1991) พบการเพิ่มขึ้นของ AChE ในสมองของปลาที่เกิดความเครียดเมื่อได้รับสาร cadmium และ naphthalene AChE ที่สูงขึ้นจากระดับปกติทุกชุดการทดลองบ่งชี้ถึงสิ่งผิดปกติทางสรีระได้หลายประการ เช่น สมองเป็นอวัยวะที่ไวต่อภาวะปนเปื้อนของน้ำ และเป็นสัญญาณการเริ่มอ่อนแอของร่างกายที่อาจนำไปสู่ความผิดปกติของอวัยวะอื่น ๆ การสูงขึ้นของ AChE ในสมองอาจเป็นผลมาจากสภาวะเครียดของปลาที่อาศัยอยู่ในน้ำที่มีภาวะปนเปื้อน (Pavlov *et al.*, 1994) นอกจากนี้ Chitmanat *et al.* (2008) กล่าวว่า การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ AChE ในหอยขมอาจจะใช้เป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของยาปราบศัตรูพืชในแหล่งน้ำธรรมชาติ แม้ว่าระดับเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) ในปลาไนที่ได้รับพาราควอต 5 ppm จะลดลง 50% แต่หลังจากนั้นสองสปีคาสเอนไซม์นี้จะเพิ่มสูงถึง 130% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Stegeman *et al.*, 1992) เช่นเดียวกับการทดลองนี้ซึ่งระดับเอนไซม์ AChE ที่สูงขึ้นอาจจะเกิดจากการสร้างใหม่ของเอนไซม์เนื่องจากสัตว์น้ำสามารถปรับตัวได้แล้ว โดยปลาที่มีขนาดเล็กจะมีระดับการคืนสภาพของการทำงานของเอนไซม์ AChE ที่เร็ว (Rath and Misra, 1981) ดังนั้นจึงควรมีการทดสอบเพิ่มเติมโดยสุ่มปลาเพื่อวัดการทำงานของเอนไซม์ในเวลาที่ย่นลงระดับชั่วโมงหลังจากปลาสัมผัสกับพาราควอต ซึ่งอาจจะทำให้ผลการทำงานของรังสีจิมิแนวโน้มในการลดความเป็นพิษของพาราควอตได้ชัดเจนมากขึ้น Chaiyasing (2005) แนะนำให้มีการให้สารสกัดรังสีจิมิแนวโน้มทดสอบก่อนได้รับพิษจากยาฆ่าแมลง และความสามารถในการต้านพิษจะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารสกัดรังสีจิมิแนวโน้มที่ได้รับ

ตาราง 5 ระดับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเตอเรส (n mole product/mg protein) ของปลาดตะเพียนขาวเมื่อให้อาหารผสมรางจืดอัตราส่วนต่างกันในช่วงเวลา 4 สัปดาห์

| สัปดาห์ | ชุดการทดลอง |            |            |            |
|---------|-------------|------------|------------|------------|
|         | 1           | 2          | 3          | 4          |
| 1       | 2.873±0.05  | 2.847±0.02 | 2.807±0.09 | 2.800±0.12 |
| 2       | 2.763±0.01  | 2.467±0.46 | 2.687±0.02 | 2.713±0.06 |
| 3       | 2.593±0.85  | 2.167±0.04 | 2.453±0.40 | 2.263±0.37 |
| 4       | 3.330±0.61  | 2.883±0.42 | 2.970±0.20 | 3.170±0.70 |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ±SD ( $P>0.05$ )



ภาพ 6 ระดับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเตอเรส จากเหงือกปลาดตะเพียนขาวที่ชุดการทดลองแตกต่างกันในช่วงระยะเวลา 4 สัปดาห์

ในปัจจุบันรางจืดได้ถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์ โดยการนำรางจืดมาทำเป็นแคปซูลรางจืดเพื่อให้เกษตรกรนั้นนำไปรับประทาน เพราะสาเหตุจากการเกิดสารตกค้างในเลือดของเกษตรกรที่เฉลี่ยสูงถึงร้อยละ 51 เนื่องมาจากการรับประทานผักผลไม้สดที่มีสารกำจัดศัตรูพืชตกค้าง และรางจืดนั้นยังมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระโดยการนำรากหรือใบรางจืดมาโขลกให้

ละเอียดผสมน้ำข้าวข้าวคันเอาแต่น้ำใช้ดื่ม หรือเอาใบรางจืดมาพิ้งลมให้แห้งแล้วเก็บใบชงกับน้ำร้อนดื่มแทนน้ำก็ได้

### ผลการวิเคราะห์น้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาตะเพียนขาว

จากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าคุณภาพน้ำในการเลี้ยงปลาตะเพียนขาวที่ได้รับอาหารผสมรางจืดในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน ร่วมกับการใช้น้ำที่มีการปนเปื้อนสารพิษพาราควอท พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งเมื่อสิ้นสุดการทดลองคุณภาพน้ำโดยเฉลี่ยตลอดการเลี้ยง อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ (ตาราง 6)

#### 1. คุณภาพของน้ำ

การศึกษาคุณภาพของน้ำหลังจากการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าทุกหน่วยการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 23-25 องศาเซลเซียส โดยที่ในสัปดาห์ที่ 2 คุณภาพของน้ำมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังแสดงในตาราง 6 ซึ่งเมื่อสิ้นสุดการทดลองคุณภาพของน้ำโดยเฉลี่ยมีค่าใกล้เคียงกันในทุกหน่วยการทดลอง คุณภาพของน้ำเป็นปัจจัยสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำทั้งทางตรงและทางอ้อม ทางตรงคือเมื่อคุณภาพของน้ำสูงขึ้น กิจกรรมต่าง ๆ ในการดำรงชีวิต (เช่น การหายใจ การเต้นของหัวใจ การกินและการย่อยอาหาร เป็นต้น) ก็สูงขึ้น และเมื่อคุณภาพของน้ำลดลงกิจกรรมเหล่านั้นก็จะลดลงโดยปกติปลาในเขตร้อน คุณภาพที่เหมาะสมควรมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-32 องศาเซลเซียส (นิรนาม, 2554) ส่วนไมตรี และ จารุวรรณ (2528) กล่าวว่าในประเทศไทยอุณหภูมิของน้ำในแหล่งน้ำจะผันแปรอยู่ในช่วงระหว่าง 23-32 องศาเซลเซียสทั้งนี้จะมีค่าต่ำหรือสูงขึ้นอยู่กับฤดูกาลและพื้นที่ที่จะเห็นว่าอุณหภูมิน้ำในช่วงดังกล่าวถูกปลาตะเพียนขาวที่เลี้ยงจะสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำได้

#### 2. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าเฉลี่ยอยู่ในประมาณ 3-8 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตาราง 6 โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงที่นานขึ้นปริมาณปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ จะมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยที่ค่าเฉลี่ยของออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าใกล้เคียงกันตลอดใน

แต่ละหน่วยการทดลอง โดยที่ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำจะเปลี่ยนแปลงขึ้นลงไม่คงที่ โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำของทุกหน่วยการทดลองอยู่ในช่วง 3.5-3.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าออกซิเจนที่ละลายน้ำอยู่ในระดับที่ปลาสามารถอาศัยอยู่ได้โดยไม่ได้รับอันตราย ซึ่ง Colt (2006) กล่าวว่าในบ่อเลี้ยงปลาควรมี DO อย่างน้อย 3-3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Swingle (1969) รายงานว่าปริมาณออกซิเจน ที่เหมาะสมต่อการดำรง ชีวิตของปลา จะอยู่ระหว่าง 3.0-5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามอัตราการใช้ออกซิเจนของปลามีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ ชนิด ขนาด ระยะต่างๆ ในช่วงชีวิต พฤติกรรม และสภาพแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่ (ศักดิ์ชัย, 2536)

### 3. ความเป็นกรด-ด่างของน้ำ (pH)

ความเป็นกรด-ด่างของน้ำพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6.1-7.4 โดยทุกหน่วยการทดลองจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงในสัปดาห์ที่ 1, 2 และ 3 ของการทดลอง เมื่อจบการทดลอง ดังแสดงในตาราง 6 โดยการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีรูปแบบที่เหมือนกันและมีค่าลดลงใกล้เคียงกันในทุกชุดการทดลอง ซึ่งอุทัยรัตน์ (2538) แนะนำว่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลาควรอยู่ที่ 6.5-8.5 ส่วน มั่นสิน และ ไพพรรณ (2539) รายงานว่าความเป็นกรดเป็นด่างมีค่าอยู่ในช่วง 6.5-9.0 Golombieski *et al.* (2003) พบว่าความเป็นกรด-ด่าง และความเป็นด่างทั้งหมดที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้แอมโมเนียเปลี่ยนรูปจาก  $\text{NH}_4^+$  เป็น  $\text{NH}_3$  ซึ่งมีความเป็นพิษสูงขึ้นทำให้ปริมาณแอมโมเนียในเลือด ตับและกล้ามเนื้อสูงขึ้น (Saha *et al.*, 2002) Boyd (1982) กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำจะอยู่ในช่วง 6.5-9 ถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำสูงหรือต่ำเกินไปทำให้ปลาเกิดอาการเครียด และมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของปลา นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างยังมีผลต่อการแตกตัวของสารพิษในน้ำ โดยสารพิษอาจมีการแตกตัวเพิ่มขึ้นหรือลดลงแล้วแต่ชนิดของสารพิษซึ่งเมื่อแตกตัวแล้วอาจอยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษมาก หรือน้อยลงก็ได้ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างยังมีผลต่อการดูดซึมสารพิษเข้าสู่ร่างกายของปลาอีกด้วย

### 4. แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ )

รูปแบบของแอมโมเนีย จะพบได้ 2 รูปแบบ คือ แอมโมเนียไอออนซึ่งแตกตัวได้ง่าย (Ionized ammonia  $\text{NH}_4^+$ ) ส่วนใหญ่จะพบในสภาพน้ำเป็นกรด กับแก๊สแอมโมเนีย ซึ่งไม่แตกตัว

(Unionized ammonia  $\text{NH}_3$ ) ซึ่งมักพบมากในสภาพน้ำเป็นด่างและอุณหภูมิสูง รูปแบบของแอมโมเนียที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำจะอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว ( $\text{NH}_3$ ) ความเป็นพิษของอันอออนไนซ์แอมโมเนีย เพิ่มมากขึ้นเมื่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีปริมาณต่ำและพิษของอันอออนไนซ์แอมโมเนียลดลง ถ้าในน้ำมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สูงเพราะว่าคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำลดลงส่วนแอมโมเนียในรูปที่แตกตัว ( $\text{NH}_4^+$ ) จะไม่มีพิษต่อสัตว์น้ำ นอกจากจะมีความเข้มข้นสูงมาก ๆ สำหรับแอมโมเนียในรูปไม่แตกตัวนั้นจะมีความสามารถในการแพร่กระจายผ่านผนังเซลล์ได้ดี เนื่องจากไม่มีประจุไฟฟ้าและสามารถละลายได้ดีในไขมัน ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนหนึ่งของผนังเซลล์ การให้อาหารที่มีโปรตีนสูงในบ่อปลา เศษอาหารหรือของเสียที่มีอยู่จะทำให้ปริมาณแอมโมเนียในน้ำสูงขึ้น ซึ่งจะเป็นพิษต่อสัตว์น้ำได้ (ไมตรี และจารุวรรณ 2528)

จากการศึกษาความเข้มข้นของแอมโมเนียในการเลี้ยงปลาดุกเพียนขาวมีเปลี่ยนแปลงดังแสดงในตาราง 6 โดยมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 0.09-0.52 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียจากการทดลองพบว่าในทุกหน่วยการทดลองในแต่ละวันจะมีค่าเปลี่ยนแปลงไม่คงที่ตลอดการทดลอง ความเข้มข้นเฉลี่ยของแอมโมเนียทุกหน่วยการทดลองจะมีแอมโมเนียเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงแรกของการทดลอง โดยการสะสมของแอมโมเนียมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกการทดลองเริ่มตั้งแต่วันแรกของการทดลองแต่อัตราการสะสมในช่วงแรกจะเป็นไปอย่างช้า ๆ และจะสูงขึ้นในช่วงสัปดาห์ที่ 1, 2 และ 3 ของการทดลอง โดยที่เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าหน่วยการทดลองที่ 3 มีปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนียน้อยที่สุดเท่ากับ  $0.417 \pm 0.14$  มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนหน่วยการทดลองที่ 4 มีปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนียสูงที่สุดเท่ากับ  $0.521 \pm 0.02$  มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียในทุกหน่วยการทดลองมีการเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงแรกของการทดลองโดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ความเข้มข้นเฉลี่ยของแอมโมเนียในทุกหน่วยการทดลองมีความเข้มข้นเฉลี่ยของแอมโมเนียโดยเฉลี่ยอยู่ในระดับ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร

โดย Boyd (1982) รายงานว่าถ้าแอมโมเนียอิสระสูงกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ปลาป่วยโดยมีความผิดปกติบริเวณเหงือก และ Scott (1996) ได้รายงานไว้ว่า ถ้าแอมโมเนียอิสระมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ปลาบางชนิดตายอย่างรวดเร็วได้ ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำแอมโมเนียได้จากการขับถ่ายของสัตว์น้ำเป็นหลัก MacIntyre *et al.* (2008) ได้แนะนำค่าที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำเมื่อสัมผัสกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ ) แบบ intermittent และคงที่ไว้ที่ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ Wajsbro *et al.* (1991) ได้แนะนำค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมไนโตรเจนและแอมโมเนียอิสระ ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ที่ปลอดภัยสำหรับปลา

seabream (*Sparus aurata*) ไร่ที่ 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.064 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ Lawson (1995) ได้แนะนำระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมไนโตรเจนและแอมโมเนียอิสระ ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ที่ปลอดภัยต่อปลาเมื่อสัมผัสกับแอมโมเนียเป็นเวลานาน (มากกว่า 2-3 สัปดาห์) ไร่ที่ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมดังกล่าวใกล้เคียงกับ IP *et al.* (2001) ได้กำหนดไร่ที่ 0.99 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน Frances *et al.* (2000) ได้กำหนดค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ปลอดภัยของปลา silver perch (*Bidyanus bidyanus*) ในรูปของแอมโมเนียอิสระ ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ไร่เท่ากับ 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร

## 5. ไนโตรที่-ไนโตรเจน ( $\text{NO}_2\text{-N}$ )

ความเข้มข้นของไนโตรที่ที่เปลี่ยนแปลงไปดังแสดงในตาราง 6 โดยในสัปดาห์เริ่มต้นของการทดลองพบว่าปริมาณไนโตรที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยมีปริมาณไนโตรที่อยู่ในช่วง 0.03-0.19 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยที่ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลองมีปริมาณความเข้มข้นของไนโตรที่น้อยลงในทุกหน่วยการทดลอง ส่วนในสัปดาห์ที่ 3 ของการทดลองพบว่าหน่วยการทดลองที่ 1 ปริมาณความเข้มข้นของไนโตรที่น้อยลง ในขณะที่หน่วยการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ปริมาณความเข้มข้นของไนโตรที่จะสูงขึ้น และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าหน่วยการทดลองที่ 2 และ 3 ปริมาณความเข้มข้นของไนโตรที่น้อยลง หน่วยการทดลองที่ 1 และ 4 ปริมาณความเข้มข้นของไนโตรที่จะสูงขึ้น โดยที่เมื่อสิ้นสุดการทดลองหน่วยการทดลองที่ 2 มีปริมาณความเข้มข้นของไนโตรที่น้อยที่สุดเท่ากับ  $0.050 \pm 0.02$  มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนหน่วยการทดลองที่ 4 มีปริมาณความเข้มข้นของไนโตรที่สูงที่สุดเท่ากับ  $0.199 \pm 0.11$  มิลลิกรัมต่อลิตรโดยค่าของไนโตรที่อยู่ในระดับที่ไม่มีผลเสียต่อการเจริญเติบโตของปลาตะเพียนขาว

Ebeling *et al.* (1993) รายงานว่าความเข้มข้นของไนโตรที่ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำควรจะมีไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน กษิตศ (2551) กล่าวว่าไนโตรที่หากมีการสะสมในบ่อเลี้ยงมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ความสามารถในการรับออกซิเจนของสัตว์น้ำต่ำกว่าปกติ ซึ่งจะมีผลเสียมากหากสภาพภายในบ่อเลี้ยงมีออกซิเจนต่ำและอุณหภูมิสูง ไนโตรที่สูงสุด ส่วน Scott (1996) รายงานว่าความเข้มข้นของไนโตรที่มีความเข้มข้นเกินกว่า 0.1-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะไปยับยั้งการเจริญของปลาหลายชนิด และถ้าเกินกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ปลาตายได้

## 6. ไนเตรท-ไนโตรเจน ( $\text{NO}_3\text{-N}$ )

ความเข้มข้นของไนเตรทที่เปลี่ยนแปลงไปในทุกหน่วยการทดลองแสดงในภาพ 12 โดยพบว่าความเข้มข้นของไนเตรทมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงแรกของการทดลองและเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนช่วงท้ายของการทดลอง ปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.35-2.21 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งในสัปดาห์ที่ 1 ของการทดลองพบว่าปริมาณไนเตรทมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าหน่วยการทดลองที่ 3 มีปริมาณความเข้มข้นของไนเตรทน้อยที่สุดเท่ากับ  $1.239 \pm 0.73$  มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนหน่วยการทดลองที่ 4 มีปริมาณความเข้มข้นของไนเตรทสูงที่สุดเท่ากับ  $2.211 \pm 0.70$  มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรทส่วนใหญ่ไม่เป็นปัญหาใหญ่ต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำแต่ละชนิด ความสามารถในการต้านความเข้มข้นของไนเตรทจะสูงมาก (มากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร) Midlen and Redding (1998) กล่าวว่าระดับไนเตรทที่มากกว่า 100 มก./ล. จะกลายเป็นพิษต่อปลาส่วนใหญ่ ส่วน Colt (2006) กล่าวว่า ไนเตรทมีความเป็นพิษต่อปลาน้ำจืดต่ำมากและ 96 ชั่วโมง  $\text{LC}_{50}$  ของไนเตรทต้องสูงกว่า 1000 มก./ล. โดยทางด้านการประมงไนเตรทไม่ถือว่าเป็นพิษต่อสัตว์น้ำโดยตรง นอกเสียจากมีความเข้มข้นสูงมาก แต่จะทำให้เกิดปัญหาทางอ้อมในกรณีที่ไนเตรทได้เปลี่ยนสภาพมาจากไนไตรท์ และแอมโมเนีย

## 7. ออร์โธฟอสเฟต ( $\text{PO}_4\text{-P}$ )

ฟอสฟอรัสหรือฟอสเฟต ที่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติมีความสำคัญต่อการประมงเนื่องจากมีความสำคัญและจำเป็นต่อการดำรงชีพของพืชและสัตว์ โดยเฉพาะพืชซึ่งจะใช้ในการสังเคราะห์แสงโดยปกติฟอสฟอรัสจะสะสมอยู่ในดิน หินแร่หรือแหล่งอื่นๆ จะปลดปล่อยออกมาในรูปที่ละลายน้ำได้โดยการชะล้าง พืชและสัตว์น้ำจะนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและสร้าง Protoplasm เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่มีความจำเป็นต่อพืช โดยเฉพาะแปลงตอนพืชซึ่งจะเป็นการสร้างความอุดมสมบูรณ์ให้แก่แหล่งน้ำ แต่ถ้ามีมากเกินไปจะทำให้เกิดสถานะเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ มีผู้รายงานว่าหากแหล่งน้ำธรรมชาติมีฟอสฟอรัสสูงเกินกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จัดว่าแหล่งน้ำนั้นมีอาหารธรรมชาติมากเกินไป และแหล่งน้ำที่มีปัญหามลภาวะจะมีฟอสฟอรัสสูงกว่า 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่อย่างไรก็ตามปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำไม่ได้ทำให้เกิดเป็นพิษ เพียงแต่เป็นตัวการในการทำให้เกิดอัตราการเจริญเติบโตของพืชน้ำสูง ในการควบคุมป้องกันปัญหาการเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำจึงกำหนดไว้ว่าไม่ควรมีปริมาณของฟอสฟอรัสเกินกว่า 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร (ไมตรี และจารุวรรณ, 2528)

ความเข้มข้นของออร์โทฟอสเฟตที่เปลี่ยนแปลงไปแสดงใน โดยอยู่ในช่วง 0.46-1.87 มิลลิกรัมต่อลิตร รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของทุกหน่วยการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายคลึงกัน โดยพบว่าระดับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงแรกของการทดลองไปจนถึงช่วงท้ายของการทดลอง ซึ่งในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองพบว่าความเข้มข้นของออร์โทฟอสเฟตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าหน่วยการทดลองที่ 4 มีปริมาณความเข้มข้นของออร์โทฟอสเฟตน้อยที่สุดเท่ากับ  $1.288 \pm 0.13$  มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนหน่วยการทดลองที่ 3 มีปริมาณความเข้มข้นของออร์โทฟอสเฟตสูงที่สุดเท่ากับ  $1.754 \pm 0.22$  มิลลิกรัมต่อลิตร โดยค่าของฟอสฟอรัสในแต่ละหน่วยการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน มั่นสิน และไพพรรณ (2539) กล่าวว่าค่าออร์โทฟอสเฟตของบ่อเลี้ยงปลาควรมีค่าอยู่ประมาณ 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งฟอสฟอรัสที่พบอาจอยู่ในรูปละลายน้ำ หรืออนุภาคแขวนลอยในบ่อปลา อีกทั้งการมีปริมาณฟอสฟอรัสที่สูงทำให้บริเวณขอบบ่อในบางจุดทำให้เกิดตะไคร่น้ำ ไมตรี และจารูวรรณ (2528) กล่าวว่าเนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่มีความจำเป็นต่อพืชโดยเฉพาะแพลงก์ตอนพืชซึ่งจะเป็นการสร้างความอุดมสมบูรณ์ให้แก่แหล่งน้ำ แต่ถ้ามีมากเกินไปจะทำให้เกิดสถานะเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ มีผู้รายงานว่าหากแหล่งน้ำธรรมชาติมีฟอสฟอรัส สูงเกินกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จัดว่าแหล่งน้ำนั้นมีอาหารธรรมชาติมากเกินไป และแหล่งน้ำที่มีปัญหามลภาวะจะมีฟอสฟอรัสสูงกว่า 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่อย่างไรก็ตามปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำไม่ได้ทำให้เกิดความเป็นพิษ

เมื่อศึกษาคุณภาพน้ำในการเลี้ยงปลาดะเพียนขาวที่ได้รับอาหารผสมรางจืดในอัตราส่วนที่แตกต่างกันร่วมกับการใช้น้ำที่มีการปนเปื้อนสารพิษพาราควอต อยู่ในเกณฑ์ดีและอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ดังนั้นคุณภาพน้ำในการทดลองครั้งนี้จึงไม่ใช่ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต (growth limiting factor) ของปลาดะเพียนขาว กล่าวคือคุณภาพน้ำจากการศึกษาการเลี้ยงปลาดังกล่าวไม่ใช่ปัจจัยจำกัดในการเลี้ยงปลา

ตาราง 6 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาดุกเพ็ญขาว

| เวลา      | หน่วยการทดลอง | อุณหภูมิ                  | DO                       | pH                       | NH <sub>3</sub> -N       | NO <sub>2</sub> -N       | NO <sub>3</sub> -N       | PO <sub>4</sub> -P       |
|-----------|---------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| สัปดาห์ 1 | T 1           | 25.333±1.04 <sup>ns</sup> | 8.233±0.21 <sup>ns</sup> | 7.400±0.17 <sup>ns</sup> | 0.091±0.07 <sup>ns</sup> | 0.084±0.01 <sup>ns</sup> | 0.614±0.27 <sup>ns</sup> | 0.600±0.26 <sup>ns</sup> |
|           | T 2           | 25.500±0.50 <sup>ns</sup> | 8.533±0.21 <sup>ns</sup> | 7.400±0.10 <sup>ns</sup> | 0.121±0.07 <sup>ns</sup> | 0.071±0.06 <sup>ns</sup> | 0.356±0.10 <sup>ns</sup> | 0.543±0.25 <sup>ns</sup> |
|           | T 3           | 25.500±0.50 <sup>ns</sup> | 8.367±0.42 <sup>ns</sup> | 7.433±0.06 <sup>ns</sup> | 0.102±0.05 <sup>ns</sup> | 0.070±0.03 <sup>ns</sup> | 0.350±0.07 <sup>ns</sup> | 0.697±0.17 <sup>ns</sup> |
|           | T 4           | 25.167±0.58 <sup>ns</sup> | 8.367±0.25 <sup>ns</sup> | 7.367±0.15 <sup>ns</sup> | 0.127±0.05 <sup>ns</sup> | 0.087±0.03 <sup>ns</sup> | 0.449±0.11 <sup>ns</sup> | 0.469±0.38 <sup>ns</sup> |
| สัปดาห์ 2 | T 1           | 24.067±0.57 <sup>ns</sup> | 4.767±0.06 <sup>a</sup>  | 6.817±0.03 <sup>bc</sup> | 0.185±0.16 <sup>ns</sup> | 0.051±0.02 <sup>ns</sup> | 1.322±0.12 <sup>a</sup>  | 0.647±0.43 <sup>ns</sup> |
|           | T 2           | 24.167±0.35 <sup>ns</sup> | 4.767±0.06 <sup>a</sup>  | 6.840±0.03 <sup>ab</sup> | 0.207±0.15 <sup>ns</sup> | 0.034±0.00 <sup>ns</sup> | 0.807±0.59 <sup>ab</sup> | 1.174±0.48 <sup>ns</sup> |
|           | T 3           | 23.867±0.59 <sup>ns</sup> | 4.867±0.06 <sup>a</sup>  | 6.747±0.02 <sup>c</sup>  | 0.214±0.19 <sup>ns</sup> | 0.045±0.02 <sup>ns</sup> | 0.595±0.07 <sup>b</sup>  | 0.727±0.51 <sup>ns</sup> |
|           | T 4           | 24.367±0.23 <sup>ns</sup> | 4.800±0.00 <sup>a</sup>  | 6.897±0.03 <sup>a</sup>  | 0.327±0.18 <sup>ns</sup> | 0.040±0.01 <sup>ns</sup> | 0.934±0.15 <sup>ab</sup> | 0.686±0.21 <sup>ns</sup> |

ตาราง 6 (ต่อ)

| เวลา      | หน่วยการทดลอง | อุณหภูมิ                  | DO                       | pH                       | NH <sub>3</sub> -N       | NO <sub>2</sub> -N       | NO <sub>3</sub> -N       | PO <sub>4</sub> -P       |
|-----------|---------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| สัปดาห์ 3 | T 1           | 23.700±0.40 <sup>ab</sup> | 4.233±0.35 <sup>a</sup>  | 6.327±0.14 <sup>ns</sup> | 0.285±0.16 <sup>ns</sup> | 0.039±0.01 <sup>ns</sup> | 1.478±0.25 <sup>ns</sup> | 1.710±0.42 <sup>ns</sup> |
|           | T 2           | 23.733±0.31 <sup>ab</sup> | 4.133±0.32 <sup>ab</sup> | 6.280±0.10 <sup>ns</sup> | 0.330±0.14 <sup>ns</sup> | 0.082±0.08 <sup>ns</sup> | 1.226±0.62 <sup>ns</sup> | 1.334±0.49 <sup>ns</sup> |
|           | T 3           | 24.267±0.57 <sup>a</sup>  | 3.500±0.46 <sup>b</sup>  | 6.253±0.03 <sup>ns</sup> | 0.293±0.18 <sup>ns</sup> | 0.115±0.08 <sup>ns</sup> | 1.003±0.64 <sup>ns</sup> | 1.114±0.50 <sup>ns</sup> |
|           | T 4           | 23.400±0.44 <sup>b</sup>  | 3.900±0.36 <sup>ab</sup> | 6.400±0.26 <sup>ns</sup> | 0.254±0.18 <sup>ns</sup> | 0.102±0.05 <sup>ns</sup> | 1.621±0.52 <sup>ns</sup> | 0.934±0.49 <sup>ns</sup> |
| สัปดาห์ 4 | T 1           | 25.667±0.45 <sup>ns</sup> | 3.633±0.25 <sup>ns</sup> | 6.187±0.09 <sup>ns</sup> | 0.425±0.03 <sup>ns</sup> | 0.058±0.02 <sup>ns</sup> | 1.792±0.34 <sup>ns</sup> | 1.517±0.41 <sup>ab</sup> |
|           | T 2           | 25.467±0.31 <sup>ns</sup> | 3.667±0.23 <sup>ns</sup> | 6.197±0.10 <sup>ns</sup> | 0.502±0.11 <sup>ns</sup> | 0.050±0.02 <sup>ns</sup> | 1.812±0.27 <sup>ns</sup> | 1.754±0.22 <sup>ab</sup> |
|           | T 3           | 25.767±0.15 <sup>ns</sup> | 3.633±0.15 <sup>ns</sup> | 6.157±0.09 <sup>ns</sup> | 0.417±0.14 <sup>ns</sup> | 0.063±0.02 <sup>ns</sup> | 1.239±0.73 <sup>ns</sup> | 1.879±0.40 <sup>a</sup>  |
|           | T 4           | 25.333±0.55 <sup>ns</sup> | 3.600±0.36 <sup>ns</sup> | 6.173±0.10 <sup>ns</sup> | 0.521±0.02 <sup>ns</sup> | 0.199±0.11 <sup>ns</sup> | 2.211±0.70 <sup>ns</sup> | 1.288±0.13 <sup>b</sup>  |

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P>0.05$ )

\* อักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ )

## บทที่ 5

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการศึกษา

จากการทดลองนี้มีแนวโน้มว่ารังสีอาจไม่สามารถลดพิษของพาราควอทได้ในปลาตะเพียนขาว ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยหลายประการ โดยการลดลงของเอนไซม์ กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรส เป็นเพราะการสลายตัวของพาราควอทในน้ำ จึงสามารถละลายได้ดีในเอนไซม์ทำลายพิษในระยะที่ 1 และสามารถขับออกภายนอกร่างกายได้ทันทีโดยไม่สามารถเข้าสู่ปฏิกิริยาการทำลายพิษในระยะที่ 2 (เอนไซม์ กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรส) ซึ่งทำให้สารพาราควอทไม่สามารถทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species, ROS) ส่วนการลดลงของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส AChE ในการทดลองแต่ละชุดการทดลอง เอนไซม์ AChE ลดลงหรือถูกจับโดยสารพิษทำให้อะซิติลโคลีน (ACh) ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ส่งผลให้อะซิติลโคลีนสะสมมากขึ้น และกระตุ้นให้เซลล์ประสาท หรือกล้ามเนื้อบริเวณนั้นทำงานอย่างต่อเนื่อง มีผลทำให้เกิดความเหนื่อยล้าและอาการเกร็งของกล้ามเนื้ออย่างต่อเนื่องและรุนแรง

การเลี้ยงปลาตะเพียนขาวในน้ำที่มีการปนเปื้อนพาราควอทเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (อาหารชุดควบคุมร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) การเลี้ยงปลาตะเพียนขาวในน้ำที่มีการปนเปื้อนพาราควอท ด้วยอาหารผสมรังสีอัตราส่วนที่แตกต่างกันพบว่าหน่วยการทดลองที่ 1 (อาหารชุดควบคุมร่วมกับน้ำที่ปนเปื้อนสารพิษพาราควอท) มีแนวโน้มของระดับเอนไซม์กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอเรส และระดับเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส สูงที่สุด อย่างไรก็ตามความสามารถของอาหารผสมรังสีในการลดพิษของพาราควอทสำหรับปลาตะเพียนขาวยังเห็นผลไม่ชัดเจน ซึ่งอาจเกิดจากเหตุผลหลายประการเช่น ปัญหาของการใช้สมุนไพรในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่สำคัญคือ ความไม่คงตัวของสารสำคัญในสมุนไพรและวิธีการในการสกัด ทำให้ประสิทธิภาพของสมุนไพรไม่เห็นชัดเจน และการทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกในสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นสัตว์เลือดเย็นจึงไม่สามารถทราบปริมาณในการใช้รังสีที่แน่นอน

จากการทดลองในครั้งนี้ผลปรากฏว่าคุณภาพน้ำที่ใช้ในการทำงานทดลองนี้มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลาตะเพียนขาว

### ข้อเสนอแนะ

1. จากการทดลองครั้งนี้ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกของปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำลายพิษในแต่ละระยะของปลาตะเพียนขาวเมื่อได้รับพาราควอท
2. การใช้สารพาราควอทควรรู้ใช้ในปริมาณที่มากยิ่งขึ้น เพื่อทดสอบการทำงานของเอนไซม์ GST และรังสีที่ใช้ในการผสมอาหาร ช่วยลดความเป็นพิษในปลาตะเพียนได้หรือไม่
3. ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกและปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำลายพิษในแต่ละระยะของปลาตะเพียนขาวเมื่อได้รับพาราควอทการสะสมของพาราควอทในอวัยวะต่าง ๆ ของตัวปลา รวมทั้งความเป็นพิษหรือผลข้างเคียงของรังสีที่มีผลต่อสัตว์น้ำ
4. ควรศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้รังสีร่วมกับสารชนิดอื่น ๆ หรือวิธีอื่น ๆ ในการลดความเป็นพิษดังกล่าว

## บรรณานุกรม

- กรุงไกร เจนพานิชย์. 2516. ยาไทยโบราณกับการกีฬา. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล. 12 น.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2543. สถานการณ์มลพิษในรอบทศวรรษ (2532-2542). กรุงเทพฯ:  
กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.
- กษิดิศ หนูทอง. 2551. การบำบัดในโตรเจนในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบปิด.  
วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 16(1): 11-22 น.
- กำพล อุดมคณานท. 2525. การเลี้ยงปลาตะเพียนขาวในกระชัง. น. 31-41. ใน รายงานประจำปี  
2525. กรุงเทพฯ: สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดกาญจนบุรี กองประมงน้ำจืด กรมประมง.
- จริญศักดิ์ แสงรัตนกุล. 2532. ผลของอาหารเม็ดที่มีโปรตีนต่างระดับต่อการเจริญเติบโตและอัตรา  
การรอดของปลาหมอไทย *Anabas testudineus* (Bloch). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 74 น.
- จิรวัช ชั่วรอดหมด. 2550. ประสิทธิภาพของระบบกรองชีวภาพเพื่อการเลี้ยงปลาในตู้ระบบปิด.  
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 99 น.
- ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, ชีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และ ปัญญา เต็มเจริญ. 2536. หลักการทางพิษวิทยา.  
พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 228 น.
- ชลอ ถิ่นสุวรรณ, สุปราณี ชินบุตร และ พนม สอดสุข. 2529. พิษของยาฆ่าแมลงฟุราดานต่อปลา-  
ช่อน. น. 18-26. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 24  
สาขาประมง 27-29 มกราคม 2529. กรุงเทพฯ: คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชลอ อุทกภาชน์. 2519. ยาสมุนไพรกับโรคในประเทศเขตร้อนและวิธีการบำบัดรักษา. กรุงเทพฯ:  
แพร์ฟิทยาอินเตอร์เนชันแนล.
- ทศพล พรพรหม. 2545. สารกำจัดวัชพืช: หลักการและกลไกการทำลาย. กรุงเทพฯ:  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 274 น.
- ทัศนียา มุลเข้า. 2552. ผลกระทบของไกลโฟเสตและพาราควอตต่อปลานิลและปลาตะเพียนขาว.  
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 105 น.
- นวลศรี ทยาพัชร. 2533. ปัญหาสารพิษทางการเกษตรในประเทศไทย. กรุงเทพฯ:  
กรมวิชาการเกษตร. 71 น.
- นวลศรี ทยาพัชร, จันทรทิพย์ ชำรงศรีสกุล และ ประภัสสร พิมพ์พันธุ์. 2536. การสะสมและการ  
ถ่ายทอดสารพิษผ่านห่วงโซ่อาหารในแหล่งน้ำ. วารสารข่าวสารวัดภูมิพิษ 20(1): 3-14.

- นฤพล สุขมาสวิน และ วัฒนะ ลีลาภัทร. 2537. วงจรการสืบพันธุ์ในรอบปีของแม่ปลาตะเพียนขาว. วารสารการประมง 47(1): 21-30.
- บรรจง จ้านงศิศรธรรม, ประสิทธิ์ นิยมไทย และ นันทพล เสมาทอง. 2554. พิษเฉียบพลันของ Dimethyl 2,2,2 trichloro-1-hydroxyethyl phosphonate (Trichlorfon) ต่อลูกปลาตะเพียนขาววัยอ่อนและสัตว์น้ำบางชนิด. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://uthaifish.tripod.com/reseach.htm>. (10 กุมภาพันธ์ 2554).
- ประภาศิริ กาญจนโกมล. 2527. ผลของสารพาราควอตต่อปลาช่อน (*Ophicepharus striatus* Bloch). วิทยานิพนธ์ สาขาวิทยาศาสตร์การประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 66 น.
- ประเทือง เข้าววันกลาง. 2534. คุณภาพน้ำทางการประมง. กรุงเทพฯ: ฟิสกส์ เซ็นเตอร์. 86 น.
- ประวิทย์ สุรนิมา. 2531. การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วไป. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 212 น.
- พินิจ สัมพันธ์เกียรติ และ โยธิน ลีถนันท. 2527. ชีวิตประวัติและการเพาะเลี้ยงปลาตะเพียนขาว. น. 10 ใน เอกสารวิชาการ ฉ.39/2527. กรุงเทพฯ: สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง.
- ไพโรจน์ อุ่นสมบัติ และ วิฑูรย์ อัดโ. 2529. พิษวิทยาคลินิก : ยาปราบศัตรูพืช. กรุงเทพฯ: เรือนแก้วการพิมพ์. 201 น.
- มันสิน คัมจุลเวศม์ และ ไพพรรณ พรประภา. 2539. การจัดการคุณภาพน้ำ และการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำอื่น ๆ. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 319 น.
- แมน บุญพราหมณ์. 2511. การเพาะพันธุ์ปลาตะเพียนขาว และปลาแก้มช้ำ ด้วยวิธีฉีดฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง. กรุงเทพฯ: คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 18 น.
- ไมตรี ดวงสวัสดิ์. 2530. การควบคุมคุณสมบัติของน้ำในบ่อเลี้ยงปลา. ฝ่ายวิจัยสิ่งแวดล้อม สัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: สถาบันการประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง. 115 น.
- ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และ จารุวรรณ สมศิริ. 2528. คุณสมบัติของน้ำและวิธีวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางการประมง. กรุงเทพฯ: ฝ่ายวิจัยสิ่งแวดล้อมสัตว์น้ำ สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง. 115 น.
- ไมตรี สุทธิจิตต์. 2540. สารพิษรอบตัวเรา. พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่: คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 335 น.
- ราตรี สุทธรวง. 2539. ประสาทสรีรวิทยา. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 496 น.

- รัตนาวรรณ มั่งคั่ง. 2541. ผลของกรดฮิวมิกและความกระด้างของน้ำต่อค่าความเป็นพิษของโลหะหนักแคดเมียมในปลาตะเพียนขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยมหิดล. 114 น.
- วนิรัตน์ บุญการกุล. 2525. การสำรวจวัตถุดิบพืชตกค้างในอรุณจากแหล่งปลูก อ. บ้านแพ้ว และ อ. สามพราน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 65 น.
- วิทย์ ธารชลาณกิจ. 2511. คู่มือการเลี้ยงปลา. กรุงเทพฯ: สถานปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 22 น.
- \_\_\_\_\_. 2512. คู่มือการเพาะเลี้ยงปลา. กรุงเทพฯ: คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 409 น.
- วิภา ตั้งนิพนธ์. 2541. ความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟต และคาร์บอเมต. วารสารข่าวสารวัตถุดิบพืช 25(3): 113-122.
- วีระพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. กรุงเทพฯ: โอเคเอ็นสโตร์. 216 น.
- วุฒิ วุฒิธรรมราช. 2540. สารานุกรมสมุนไพรไทย. กรุงเทพฯ: โอเคเอ็นสโตร์. 390 น.
- วุฒิพร พรหมขุนทอง, พรชัย เหลืองอาภาวงศ์ และ กิจการ สุภมาตย์. 2530. ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชในน้ำ. วารสารสงขลานครินทร์ 9(3): 309-313.
- เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2525. คุณภาพน้ำกับการผลิตของบ่อปลา. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 101 น.
- ศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2546. เอกสารประกอบการปฏิรูประบบสุขภาพ สำหรับการประชุมเวทีสมัชชาสุขภาพแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2546. นนทบุรี: สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข. 8 น.
- ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2536. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. กรุงเทพฯ: โอเคเอ็นสโตร์. 201 น.
- สุกัญญา รัตนมณีฉัตร. 2529. พืชวิทยาของสารเคมีที่ใช้ในการเกษตร. กรุงเทพฯ: อักษรประเสริฐ. 10 น.
- สกุลรัตน์ อุณาวรงค์, ธาณี เทศศิริ และสุพัตรา ปรศุพัฒนา. 2543. ผลของรางจืดต่อการลดพิษพาราควอต. วารสารวิจัย มข. 5(1): 11-17.
- สมพร ภูதியานันต์. 2546. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทยว่าด้วยการแพทย์แผนไทย. เชียงใหม่: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 784 น.
- สมโภชน์ อัครกะทิววัฒน์, วันเพ็ญ มินกาญจน์ และ จีรวรรณ รัตนเทวี. 2519. การแพร่กระจายของพันธุ์ปลาน้ำจืดในประเทศไทย. น. 13-14. ใน รายงานวิชาการ ปี 2519. กรุงเทพฯ: สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง.
- สมิง เก่าเจริญ และ ยุพา ถิลาพฤกษ. 2538. เกณฑ์มาตรฐานในการรักษาผู้ป่วยที่ได้รับพิษจากออร์แกนโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต. กรุงเทพฯ: กองควบคุมมลพิษ. 131 น.

- สุรพล วิเศษสรรค์. 2542. เอกสารประกอบการสอน วิชาพิษวิทยาชีวภาพเบื้องต้น. กรุงเทพฯ: ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 312 น.
- \_\_\_\_\_. 2544 ก. กลไกของสารพิษในสัตว์. กรุงเทพฯ: ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 470 น.
- \_\_\_\_\_. 2544 ข. ขบวนการเมแทบอลิซึมของสารแปลกปลอมในสัตว์โดยเอนไซม์ ทำลายพิษ. น. 1-78. ใน การพัฒนาสมุนไพร เพื่อสรีรวิทยาการผลิตสัตว์และสุขภาพมวลมนุษย์ การอบรมวิชาการสรีรวิทยา พยาธิสรีรวิทยา ครั้งที่ 19, 18-20 เมษายน 2544. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุรพล วิเศษสรรค์ และ เรวดี ชูช่วย. 2542. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากตะไคร้หอม และสะเดา กับการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ทำลายพิษในเห็บสุนัข. น. 847-851. ใน รายงานผลวิจัย ความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. การประชุมวิชาการประจำปี โครงการ BRT ครั้งที่ 3. 11-14 ตุลาคม 2542. สงขลา: หาดใหญ่.
- เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. 2508. ไม้เทศ เมืองไทย: สรรพคุณของยาเทศและยาไทย. กรุงเทพฯ: ไชยวัฒน์. 596 น.
- ลำรอง เผ่าหอม. 2512. การศึกษาชีวประวัติของปลาตะเพียนขาวด้วยวิธีเพาะพันธุ์และการเจริญ ของกัพพะ. น. 22-24. ใน รายงานประจำปี 2512. เชียงใหม่: สถานีประมงน้ำจืด เชียงใหม่.
- นิรนาม. 2554. หลักการเพาะเลี้ยงปลา. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา [http://www.chondaen.ac.th/km/fish\\_str.htm](http://www.chondaen.ac.th/km/fish_str.htm) (18 กุมภาพันธ์ 2554).
- อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2538. ปลาอุก: การเพาะพันธุ์และการเลี้ยง. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเพาะเลี้ยง สัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Abou-Donia, B.M. 1995. Metabolism and toxicokinetics of xenobiotics. pp. 539-588. In M. J. Derelanku and M. A. Hollinger (eds.). **CRS Hand Book of Toxicology**. Florida: CEC Press, Inc.
- Asztalos B. and Nemcsok J. 1985. Effect of pesticides on the LDH activity and soenzyme pattern of carp (*Cyprinus carpio* L.) sera. **Comp Biochem Physiol** 82: 217-219.
- Booth, J., E. Boyland and P. Sims. 1961. An enzyme from rat liver catalyzing conjugation with glutathione. **Biochem. J** 79: 515-524.
- Boyd, C.E. 1982. **Water quality management for pond fish culture**. New York: Elsevier Scientific. 318 p.

- Bretau, S., Toutant and J. P., Saglio, P. 2000. Effects of carbofuran, diuron and nicosulfuron on acetylcholinesterase activity in goldfish ( *Carassius auratus* ). **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 47: 117-124 p.
- Chaiyasing, K. 2005. **Effect of *Thunbergia Laurifolia* leaf extract on methomyl-induced cholinesterase inhibition.** [Online]. Available from [http://library.cmu.ac.th/digital\\_collection/theses/fulltext.php?id=14006#](http://library.cmu.ac.th/digital_collection/theses/fulltext.php?id=14006#) (18 February 2011).
- Charles, J.M. and Leeming. 1998. Chronic dietary toxicity study on 2,4-Dichlorophenoxybutyric acid in the dog. **Toxicological Sciences** 46, 1: 134-142 p.
- Chitmanat, C, N. Prakobsin and S. Traichaiyaporn. 2008. The Use of acetylcholinesterase inhibition in river snails (*Sinotaia ingallsiana*) to determine the pesticide contamination in the Upper Ping River. **Int. J. Agri. Biol.**, 10: 658–60 p.
- Chuiko, G.m. and Stepanova, V.M. 1991. Acetylcholinesterase and protein content in brain of *Oreochromis mossambicus* Peters as toxic stress indicators. pp. 43-45. In. Grigilis, A. (ed). **Methods of investigation and Use of Hydrosystems.** Proc. Inter. Conf. Riga, Latvia: Zinatne.
- Colt, J. 2006. Water quality requirement for reuse system. **Aquacultural Engineering.** 34: 143-156 p.
- Cremllyn, R. 1978. Pesticides. In Effects of copper, zinc and paraquat on acetylcholinesterase activity in carp (*Cyprinus carpio* L.). **Aquatic Toxicology** 5: 23-31 p.
- Dauterman, w. c. 1983. **Role of hydrolase and glutathione-S-transferase in pest resistance to pesticides** (ed. G. P. Georghion and T. Saito). New York: Plenum Press. 229-247 p.
- Dauterman, w.c., C.I. Chien and R.J. Linderman. 1994. Alpha, beta-unsaturated carbonyl compounds: inhibition of rat liver glutathione s-transferase isozymes and chemical reaction with reduced glutathione. **Biochim. Biophys. Acta.** 16: 1204(2): 175-180.
- Di Marzio ,W. and Tortorelli MC. 1994. Effects of paraquat on survival and total cholinesterase activity in fry of *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces, Poeciliidae). **Bull Environ Contam Toxicol.** 52: 274–278 p.
- Dorelanko, M.K. and M.A. Hollinger. 1995. **CRC Handbook of Toxicology.** New York: CRC Press, Inc. 984 p.

- Dutta, H.M. and, D.A. Arends. 2003. Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish. **Environ. Res.** 91: 157-162.
- Ebeling, J.M., T.M. Losordo and D.P. Delong. 1993. **Engineering design and performance of a model aquaculture recirculating system (MARS) for secondary school aquaculture education programs.** Proceeding of the Aquaculture Engineering Conference. Washington, D.C.: American Society of Agricultural Engineers. 10 p.
- Ellman G.L., Courtney K.D. and Featherstone R.M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology** 7: 88-95.
- English, J. 2002. **Galantamine: Perserving nemory and cognitive function.** [Online]. Available from [http:// www.nutrition review.org/library/galantamine.html](http://www.nutritionreview.org/library/galantamine.html). (13 January 2004).
- Ernest, H. and E.L. Patricia. 1994. Metabolism, Phase I Reactions. pp. 75-111. **In** H. Ernest and E.L. Patricia (eds.) Introduction to Biochemical Toxicology. **Handbook of Pesticide Toxicology.** Second Edition. New York: John Wiley & Sons.
- Frances, J., B.F. Nowak and G.L. Allan. 2000. Effects of ammonia on juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). **Aquaculture** 183: 95-103 p.
- Feng, R., W.Chen and M. B. Isman. 1995. Synergism of malathion and inhibition of midgut esterase activities by an extract from *Melia toosendan* (Meliaceae). **Pest. Biochem. and Physiol** 53: 34-41 p.
- Ferrari, A, Venturino A, and D'Angelo AM. 2004. Time course of brain cholinesterase inhibition and recovery following acute and subacute azinphosmethyl, parathion and carbaryl exposure in the goldfish (*Carassius auratus*). **Ecotoxicology and Environment Safety** 57: 420-425 p.
- Figueiredo-Fernandes, A., A. Fontainhas-Fernandes and M. A. Reis-Henriques. 2006. Effect of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to paraquat. **Pesticide Blochemlstry and physiology.** 85: 97-103.
- Frakes, T. and F.H. Hoff, Jr. 1982. Effect of high nitrogen-N on the growth and survival of juvenile and larval anemonefish, *Amphiprion ocellaris*. **Aquaculture.** 29; 155-158.
- Gabryelak, T. and Klekot, J. 1985. The effect of paraquat on the peroxide metabolism in erythrocytes of freshwater fish species. **Comp. Biochem. Physiol. C** 81: 415-418.

- Galgani, F. and G. Bocquene. 2003. Molecular biomarker of exposure of marine organisms to organophosphate pesticides and carbamate. pp. 246-285. *In* R. Lagadic, T. Caquet, J. C. Amiard, F. Ramade (Eds), **Use of biomarkers for environmental quality assessment**. A.A. Balkema: Rotterdam.
- Gibson, G.G. and P. Skett. 1994. **Introduction to Drug Metabolism**. London: Biochemical Education. 226 p.
- Golombieski, J. I., L. V. F. Silva, B. Baldisserotto and J. H. S. da Silva. 2003. Transport of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings at different times, load densities, and temperatures. **Aquaculture**. 216 : 95-102 p.
- Gómez-Mendikute, A., M.P., Cajaraville. 2003. Comparative effects of cadmium, copper, paraquat and benzo[a] pyrene on the actin cytoskeleton and production of reactive oxygen species (ROS) in mussels haemocytes. **Toxicol. in vitro** 17: 539-546.
- Gluszczak, L., D.S., Miron and V.L., Loro. 2007. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Comp. Biochem. Physiol. C**. 146: 519-524.
- Gun A kerman a and A. Patric. 2003. Paraquat and menadione exposure of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)/Studies of effects on the pentose-phosphate shunt and thiamine levels in liver and kidney. **Chemico-Biological Interactions** 142: 269-283.
- Herunsalee, A. and, S. Direkbusarakom. 1993. Investigation on the bioactive Thai medicinal plants to virus in tiger prawns. On Conference marine Biotechnology in the Asian Pacific Region. pp. 104-106.
- Hora, S. S. and T. V. R. Pillay. 1962. Handbook of Fish Culture in the Indo-Pacific Region. pp. 81-83. *In* **FAO Fisheries Biology Technical**. Massachusetts: Americana.
- Ip, Y.K., S.F. Chew and D.J., Randall. 2001. Ammonia toxicity, tolerance and excretion. pp. 109-148 *In* P.A., Wright, P.M. Anderson (Eds.). **Fish physiology, nitrogen excretion** 20: 109-148.
- Kamrin, M.A. 1997. Other Pesticides. pp. 499-502 *In* Walker, C.H. **Pesticide Profiles**. New York: CRC Press.

- Katzung, B.G. 2001. **The mechanism of action of acetylcholinesterase. Introduction to autonomic pharmacology. In: Basic and clinical pharmacology.** 8<sup>th</sup>ed. [Online]. Available from [http://www.CNSforum.com/imagebank/item/rcpt\\_sys\\_AChEsterase\\_default](http://www.CNSforum.com/imagebank/item/rcpt_sys_AChEsterase_default). (13 February 2005).
- Lager, K.F., J.E. Bardach and R. Robert. 1962. **Ichthyology.** New York: John Wiley & Sons Inc. 545 p.
- Langiano, V.C. and C.B.R. Martinez. 2008. Toxicity and effects of a glyphosate - based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*, **Comp. Biochem. Physiol.** C 147: 222-231 p.
- Lawson, T. B. 1995. **Fundamentals of aquaculture engineering.** New York: Chapman & Hall. 355 p.
- Lewbart, G.A. 1998. Clinical Nutrition of Ornamental Fish. **Exotic Pet Medicine.** 7: 154-158.
- Machala, M., M. Petrivalsky and Z. Svobodova. 1997. Responses of carp hepatopancreatic 7-ethoxyresorufin-o-deethylase and glutathione-dependent enzyme to organic pollutants a field study. **Environ. Toxicol. Chem.** 16: 1410-1416.
- Macintyre, C.M., T. Ellis. and J.F. Turnbull. 2008. The influences of water quality on the welfare of farmed rainbow trout a review. pp. 150-159 **In Fish welfare.** Singapore: Blackwell Publishing Ltd.
- Maines, M. D., L. G. Costa. and I.G. Siper. 1999. Overview of Glutathione Function and metabolism. pp. 1-18 **In Current Protocols in Toxicology.** USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Martinez-Lara, E., F. Toribio and J.A. Bafrcena. 1996. Glutathione-S-transferase isoenzyme patterns in the gilthead seabream (*Sparus aurata*) exposed to environmental contaminants. **Comp. Biochem. Physiol.** 113: 215-220.
- Melchiorri. 1995. Potent Protective Effect of Melatonin on in Vivo Paraquat induced Oxidative Damage in rats. **Life Science.** 56(2): 83-89.
- Messer, W.S. 2003. **Acetylcholine; Nicotinic receptors.** [Online]. Available from <http://www.Nicotinic.pharm.utolledo.edu/MBC3320>. (13 January 2004).
- Midlen, A. and T. Redding. 1998. **Environmental Management for Aquaculture.** New York: Chapman & Hall. 233 p.

- Miron, D., M. Crestani and G., V.L.P. Vieira. 2005. Effects of the herbicides clomazone, quinclorac and metsulfuron methyl on acetylcholinesterase activity in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) (Heptapteridae). **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 61: 398-403.
- Montserrat, J.M., A. Bainchini, and A.C.D. Bainy. 2002. Kinetic and toxicological Characteristics of acetylcholinesterase from the gills of orsters (*Crassostrea rhizophorae*) and other aquatic speices. **Mar. Environ. Res.** 54: 781-785.
- Mora, P., X. Michel and J.F. Naebonne. 1999. Cholinesterase activity as potential biomarker in two bivalues. **Environmental Toxicology and Pharmacology** 7: 253-260.
- Neisink, R.J., J.Vries and M.A. Hollinger. 1996. **Toxicology principle and application**. New York: CRC Press, Inc. 1284 p.
- Pavlov, D.F., G.M. Chuiko and A.G. Shabrova. 1994. Adrenaline induced changes of acetylcholinesterase activity in brain of perch (*perca fluviatilis* L.). **Comp. Biochem. Physiol.** 108 C : 113-115.
- Peakall, D. 1992. **Animal biomark as pollution indicator**. London: Chapman and Hall. 291 p.
- Pfeifer, S., D. Schiedex and J.W. Dipper. 2005. Effect of temperature and salinity on acetylcholinesterase activity a common pollution biomarker, in *Mytilus* sp. From the south-western Baltic Sea. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 320: 93-103.
- Qadri, Y. H., A. N. Swamy and, J. V. Rao. 1994. Species difference in brain acetylcholine response to monocrotophos in vitro. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 28(1): 91-98.
- Rendon-von, Osten J., Ortiz-Arana A. and A.M. Soares. 2005. In vivo evaluation of three biomarkers in the mosquitofish (*Gambusia yucatana*) exposed to pesticides. **Chemosphere** 58: 627-636.
- Rojtinnakorn J., T. Inphen and A. Jabprakon. 2009. **The use of herb extracts replacement antibiotic for antifungal in freshwater fish hatchery**. Chiang Mai: The Thailand Research Fund (TRF). 22 p.
- Ross, B. and K. Jauncey. 1981. A Radiographic estimation of the effect of temperature on Gastric emptying time in *Sarotherodon niloticus* (L.) x *S. aureus* (Steindachner) hybrids. **J. Fish. Biol.** 19(3): 333-344.

- Schoknechy, U. and D. Otto. 1989. Enzyme involved in Metabolism of Organophosphorus, Carbamate and Pyrethroid Insecticide. **J. Organometallic Chemistry**. 192(1): 118-42.
- Scott, P.W. 1996. **The complete aquarium**. London: Dorling Kindersley. 192 p.
- Saha, N., Y. K. Zaiba and D. Häussinger. 2002. Effect of alkalinity (pH 10) on ureogenesis in the air-breathing walking catfish, *Clarias batrachus*. **Comp. Biochem. Physiol.** 132: 353-364 p.
- Sancho, E., J.J. Ceron and, M.D. Ferrando. 2000. Cholinesterase activity and hematological parameters as biomarkers of sublethal molinate exposure in *Anguilla Anguilla*. **Exotoxicol. Environ. Saf.** 46 : 81-86.
- Stegeman, J.J., M. Brouwer and P.A. van Veld. 1992. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. **Aquatic Toxicology** 34: 195-219.
- Stephensen E., J. Sturve and L. Forlin. 2002. Effect of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout live. **Comp. Biochem. Physiol.** 133 : 435-442.
- Suraswadi, P. 1976. **Newly Covered Grass as a Habitat for Fish in Bung Boraped, Thailand**. Ph. D. Thesis. Winnipeg. University of Manitoba Canada. 352 p.
- Swingle, H.S. 1969. **Method of Analysis for Water, Organic Matter and Pond Bottom Soils**. Alabama: Used in Fisheries Research Auburn University. 119 p.
- Takahashi Y, T. Houjyo and T. Fujita. 2007. Impact of pretilachlor herbicide and pyridaphenthion insecticide on aquatic Organisms in model streams. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 67(2): 227-239.
- Termvidchakorn, A. 1997. **The effect of temperature on growth of mullet (*Mugil dussumieri* Val), Seabass (*Lates calcarifer* Bloch) and Spine Foot (*Siganus virgatus* Cuv. & Val)**. Master's thesis. Chulalongkorn University. 96 p.
- Tomasso, J. R., C. A. Goudie and K. B. Davis. 1980. Effects of Environmental pH and Calcium on Ammonia Toxicity in Channel Catfish. **Transactions of the American Fisheries Society**. 109: 229-234.

- Visetson and Mantana. 2001. Effect of root extract from derris (*Derris elliptica* Benth) on mortality and detoxification enzyme levels in the diamondback moth larvae (*Plutella xylostella* Linn.). **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 35: 157-163.
- Visetson and Naknatti, S. 1996. **An improved neem extraction method on farms in Thailand.** Internationnal neem conference 4-9 February 1996. Queensland: The University of Queensland, Australia.
- \_\_\_\_\_. 2001. Effects of Azadirachtin from various Thai Neem extracts on some detoxification enzyme activities in *Callosobruchus maculatus* F. pp. 38-46 **In 20<sup>th</sup> Asean/2<sup>nd</sup> APCR seminar on Postharvest Technology.** 11-14 September 2001. Thailand: Lotus Hotel Pang Suan Kaew. Chiangmai.
- Vivian do Carmo Langiano and Claudia B.R. Martinez. 2008. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology** 147: 222-231.
- Wajsbrot, N., A. Gasith. and D. M. Popper. 1991. Acute toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* under reduced oxygen levels. **Aquaculture** 164: 227-288.
- Warren, G.F. and F.D. Hess. 1993. Classification of herbicides. pp. 63-66 **In** S.C. Weller et al., eds. **Herbicide Action No. 1.** Indiana: Purdue University, West Lafayette.
- Yang, X., D.C. Margolies and L.L. Buschman. 2001. Host plant-induced changes in detoxification enzymes and susceptibility to pesticides in the twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae). **J. Econ. Entomol** 94 : 381-387.





ภาคผนวก ก  
การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

## ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen; DO)

โดยวิธี Winkler' method หรือ Azide modification

### สารเคมี

1. สารละลาย  $\text{MnSO}_4$   
ละลาย  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  480 กรัม หรือ  $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  400 กรัม หรือ  $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  346 กรัมในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มล.
2. สารละลาย Alkali iodide reagent (AIA)  
ละลาย  $\text{NaN}_3$  10 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มล. และเติม  $\text{NaOH}$  480 กรัม และ  $\text{NaI}$  750 กรัมลงไป คนจนละลาย (สารละลายที่ได้จะมีสีขาวขุ่นของโซเดียมคาร์บอเนต)
3. กรด  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เข้มข้น
4. น้ำแป้ง (Starch solution)  
ละลายผงแป้ง(starch) 2 กรัม และ salicylic acid 0.2 กรัม (ใช้เป็นสารกันบูด) ในน้ำกลั่นที่ร้อน 100 มล.
5. สารละลาย Sodium thiosulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 0.025 N  
ละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  6.025 กรัม ในน้ำกลั่นที่ต้มให้เดือดแล้วทำให้เย็นใหม่ ๆ เติม  $\text{NaOH}$  0.4 กรัม (หรือเติม 6N  $\text{NaOH}$  1.5 มล.) จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มล.

### วิธีการ

1. ใช้ขวด BOD ที่มีความจุประมาณเติมสารละลาย 300 มล. เก็บตัวอย่างน้ำพยายามอย่าให้เกิดฟองอากาศ แล้วปิดจุกแก้วให้สะอาด
2. เติมสารละลาย  $\text{MnSO}_4$  1 มล. และ Alkali – iodide - azide reagent (AIA) 1 มล. ปิดจุกเอียงคว่ำไปมา เพื่อให้สารละลายผสมกัน ซึ่งจะเกิดตะกอน ดึงทิ้งให้ตกตะกอน
3. ละลายตะกอนด้วย  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เข้มข้น 1-2 มล. ปิดจุกเอียงคว่ำไปมาจนตะกอนละลายหมด
4. ตวงสารละลายมา 100 ml ใส่ใน Flask ขนาด 250 มล.

5. ไตเตรตกับสารละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.025 N จนสีของสารละลายจางลง จากนั้นเติมน้ำแข็ง 2-3 หยด สีสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้าหรือสีน้ำเงิน แล้วไตเตรตต่อจนสารละลายกลายเป็นสีใส

6. จดปริมาตรละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.025 N ที่ใช้ไป

|                                                                                                                                                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\text{คำนวณปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ} = \text{ปริมาตร } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \text{ 0.025 N ที่ใช้ไป} \times 2$ |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (Ammonia- nitrogen)

โดยวิธี Phenol method

#### สารเคมี

##### 1. Oxidizing solution

เตรียมสารโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (5%) หรือ ใช้น้ำยาฟอกสี เช่น ไฮเตอร์, คลอโรกซ์ ที่มีคลอรีนประมาณ 5% ผสมกับน้ำกลั่น 40 มล. ปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ระหว่าง 6.5 - 7.0 ด้วยกรดเกลือ (HCl) สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่สัปดาห์

##### 2. Rochelle salt solution

ละลาย Rochelle salt จำนวน 50 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มล. ดม 30 นาที ทิ้งให้เย็น แล้วจึงเติม Manganous sulphate ( $\text{MnSO}_4$ ) 50 มก. เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียให้ได้ปริมาตรครบ 100 มล.

##### 3. Phenate solution

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 2.5 กรัม และ ฟีนอล (Phenol) 10 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียให้ได้ปริมาตรครบ 100 มล. สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่ทุกสัปดาห์

##### 4. Standard Ammonium chloride solution

ชั่ง  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ที่อบแห้ง 3.819 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียให้ได้ปริมาตร 1000 มล. จะได้สารละลายแอมโมเนียมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 1,000 มก./ล. จากนั้นดูดสารละลายมาจำนวน 5 มล. เจือจางด้วยน้ำกลั่น 500 มล. จะได้สารละลายแอมโมเนียมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 10 มก./ล. จากนั้นดูดสารละลาย 15 มล. เจือจางด้วยน้ำกลั่น 500 มล. จะได้สารละลายแอมโมเนียมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.3 มก./ล. (ใช้เป็น Standard Ammonium chloride solution)

## วิธีการ

1. ดูดน้ำตัวอย่างที่กรองด้วยกระดาษกรอง จำนวน 10 มล. ลงในขวดรูปชมพู่
2. ขณะเข่าน้ำตัวอย่างในขวดรูปชมพู่ ให้เติมสารละลาย

2.1 Rochelle salt solution 1 หยด

2.2 Oxidizing solution 0.5 มล.

2.3 Phenate solution 0.6 มล.

ตั้งไว้อย่างน้อย 15 นาที เพื่อให้สารละลายทำปฏิกิริยาเต็มที่

3. นำไปวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร (nm) เติร์ม Reagent blank โดยใช้น้ำกลั่น และ Standard solution โดยใช้ Standard Ammonia chloride (0.3 มล./ล.) อย่างละ 10 มล. แทนตัวอย่างน้ำและเติมสารละลายในข้อ 2.

4. คำนวณปริมาณ Total ammonia - nitrogen ด้วยสมการ

$$\begin{array}{l} C1 = A1 \quad \text{หรือ} \quad C2 = \frac{C1A2}{A1} \\ C2 = A2 \end{array}$$

โดยที่ C1 = ความเข้มข้นของ Total ammonia - nitrogen ใน Standard solution ( 0.3 มล./ล.)

C2 = ความเข้มข้นของ Total ammonia - nitrogen ใน Sample

A1 = ค่า Absorbance ของ Standard solution

A2 = ค่า Absorbance ของ Sample

## ไนไตรท์ ไนโตรเจน (Nitrite nitrogen ; $\text{NO}_2 - \text{N}$ )

โดยวิธี Reddish purple azo dye

### สารเคมี

#### 1. Diazotizing Reagent

ซังสาร Sulfanilamine 5 กรัม ละลายในสารละลายกรดเกลือ โดยใช้กรดเกลือ (HCl) เข้มข้นปริมาตร 50 มล. ละลายในน้ำกลั่น 300 มล. และปรับปริมาตรให้ได้ 500 มล.

#### 2. Coupling Reagent

ซังสาร N - (1 - naphthyl) - ethylenediamine - dihydrochloride 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มล. เก็บในขวดสีชา เตรียมสารละลายใหม่ทุกเดือน หรือเมื่อสารละลายมีสีน้ำตาล

#### 3. Standard Nitrite Solution

เตรียมสารละลาย Sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ) 0.4925 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มล. (ได้สารละลายความเข้มข้น 100 มก./ล.  $\text{NO}_2 - \text{N}$ ) ดูดสารละลาย Standard Nitrite Solution 10 มล. (ความเข้มข้น 100 มก./ล.  $\text{NO}_2 - \text{N}$ ) เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มล. (สารละลายมีความเข้มข้น 1.0 มก./ล.  $\text{NO}_2 - \text{N}$ ) ใช้สารละลาย  $\text{NO}_2 - \text{N}$  ที่มีความเข้มข้น 1.0 มก./ล. เป็น Standard Nitrite Solution

### วิธีการ

1. ตวงน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง 50 มล. ลงใน Beaker ขนาด 100 มล.
2. เติมสารละลาย Diazotizing Reagent 1 มล. เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 2 - 4 นาที (อย่าเกิน)
3. เติมสารละลาย Coupling Reagent 1 มล. เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 2 ชั่วโมง
4. นำไปวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 543 nm
5. คำนวณค่าความเข้มข้นไนไตรท์ ไนโตรเจน  $\text{NO}_2 - \text{N}$  จากกราฟมาตรฐาน แปลงค่าความเข้มข้นไนไตรท์ ไนโตรเจน  $\text{NO}_2 - \text{N}$  ให้เป็นไนไตรท์ (มก./ล.) โดยคูณ 3.28

## ไนเตรท ไนโตรเจน (Nitrate nitrogen ; $\text{NO}_3^- \text{N}$ )

โดยวิธี Phenoldisulphonic acid

### สารเคมี

#### 1. Standard 0.02N $\text{H}_2\text{SO}_4$

ทำการคชัลฟูริกเข้มข้นให้เจือจางโดยใช้น้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มล. โดยใช้สูตร  
คำนวณดังนี้

$$\frac{20}{\text{Normality of stock } \text{H}_2\text{SO}_4} = \text{มล. stock } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ ซึ่งใช้ในการเตรียม 1,000 มล. ของ 0.02N } \text{H}_2\text{SO}_4$$

#### 2. Aluminium hydroxide ( $\text{Al}(\text{OH})_3$ )

ละลาย  $\text{Al}(\text{SO}_4)_3$  (AR) 125 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มล. เติม  $\text{NH}_4\text{OH}$  จนเกิดตะกอนอย่างสมบูรณ์ รินเอาสารละลายใสเก็บโดยการกรอง ดังตะกอนด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้ง ทำการคนและทำให้ตกตะกอนเพื่อกำจัดคลอไรด์ ไนเตรท และแอมโมเนีย

#### 3. Standard silver sulfate solution

ละลาย  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  (CP) 4.397 กรัมในน้ำกลั่น 1,000 มล.

#### 4. Phenoldisulfonic acid solution

ละลาย Phenol บริสุทธิ์ 25 กรัม ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น 150 มล. และเติม Fuming  $\text{H}_2\text{SO}_4$  75 มล. ต้มเป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยใช้ water bath

#### 5. 12 N NaOH

ละลาย NaOH 480 กรัม ในน้ำกลั่นและทำให้เป็น 1,000 มล.

#### 6. Standard nitrate solution

6.1 ละลาย  $\text{KNO}_3$  (AR grade) 0.7216 กรัมในน้ำกลั่น 1,000 มล.

6.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานของไนเตรท 50 มล. ละลายให้แห้งบน water bath แล้วเติม 2 มล. จนตะกอนเปียก ใช้แท่นแก้วบดให้ตะกอนเข้ากับกรดให้เปียกทั่วถึงและทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มล.

$$1 \text{ มล.} = 10 \mu\text{g N} = 44.26 \mu\text{g NO}_3^-$$

## วิธีการ

1. กรองน้ำ 70-75 มล. โดยใช้กระดาษกรอง Whatmann No1. หรือ 42
2. ใช้น้ำ 50 มล. มาระเหยให้แห้งบน water bath (ถ้าไม่มีอาจใช้ hot plate ที่อุณหภูมิต่ำแทน)
3. เติม Phenoldisulfonic acid 1 มล. ลงบนตะกอนให้เปียกโดยทั่วถึง และทำให้เป็น 20 มล. ด้วยน้ำกลั่น
4. เติม 12 N NaOH จนกระทั่งสารละลายเป็นสีเหลืองเต็มที่ แต่ไม่ควรใช้เกิน 5-6 มล.
5. กรองด้วยกระดาษกรอง rinse และปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น
6. วัด % Transmittance โดยใช้ Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 425 nm
7. คำนวณ
 
$$\text{mg/L N} = \frac{A}{\text{มล. ของตัวอย่างในข้อ 2}}$$
 เมื่อ  $A = \mu\text{g NO}_3\text{-N}$  ที่อ่านได้จากการเทียบกับกราฟมาตรฐาน  
 หรือ  $\text{mg/L NO}_3^- = \text{mg/L N} \times 4.427$
8. ปิเปต 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มล. Standard  $\text{KNO}_3$  และปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น เติม 12 N NaOH 2 มล. และนำไปวัด % Transmittance พร้อมด้วย blank

## ออร์โธฟอสเฟต ฟอสฟอรัส (Orthophosphate phosphorus ; $\text{PO}_4 - \text{P}$ )

โดยวิธี Stannous chloride

### สารเคมี

#### 1. Ammonia Molybdate Solution

เตรียมสารละลาย Ammonia Molybdate  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  จำนวน 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 35 มล. นำสารละลายดังกล่าว เติมลงในสารละลายกรด  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (ละลายกรด  $\text{H}_2\text{SO}_4$  56 มล. ลงในน้ำกลั่น 80 มล.) แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรครบ 200 มล.

#### 2. Stannous Chloride Solution

เตรียมสารละลาย Stannous Chloride  $(\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$  จำนวน 2.5 กรัม ละลายใน Glycerol ในปริมาตร 100 มล. โดยใช้อ่างน้ำร้อน (Water bath) ในการทำละลายสาร

#### 3. Standard Phosphate Solution

เตรียมสารละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  จำนวน 0.2195 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มล. (ได้สารละลายเข้มข้น 50 มก./ล.  $\text{PO}_4 - \text{P}$ ) วัดสารละลาย Standard Phosphate Solution ที่ได้มา จำนวน 50 มล. เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 500 มล. (ได้สารละลายเข้มข้น 5 มก./ล.  $\text{PO}_4 - \text{P}$ ) เพื่อใช้ในการเตรียมกราฟมาตรฐาน

### วิธีการ

1. ใส่น้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง 25 มล. ลงใน Beaker ขนาด 100 มล.
2. เติมสารละลาย Ammonia Molybdate Solution จำนวน 1 มล. เขย่าให้เข้ากัน
3. เติมสารละลาย Stannous Chloride Solution จำนวน 5 หยด เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 10 นาที แต่ไม่เกิน 12 นาที
4. นำไปวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 690 nm
5. คำนวณค่าความเข้มข้นฟอสฟอรัส (Phosphorus) จากกราฟมาตรฐาน ทำการแปลงค่าความเข้มข้นออร์โธฟอสเฟต ฟอสฟอรัส ( $\text{PO}_4 - \text{P}$ ) ให้เป็นออร์โธฟอสเฟต (มก./ล.) โดยคูณด้วย 3.06



ภาคผนวก ข  
ประวัติผู้วิจัย

## ประวัติผู้วิจัย

|                 |                                                                                                            |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ชื่อ – สกุล     | นายวิญญู บุญประเสริฐ                                                                                       |
| เกิดเมื่อ       | 19 มกราคม 2527                                                                                             |
| ประวัติการศึกษา | พ.ศ. 2544 มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนสตรีศรีน่าน<br>จังหวัดน่าน                                             |
|                 | พ.ศ. 2547 ประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง (ปวส.)<br>มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรเวศน์น่าน วิทยาเขตน่าน<br>จังหวัดน่าน |
|                 | พ.ศ. 2549 ปริญญาตรี สาขาวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ<br>มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่                    |
| ประวัติการทำงาน | พ.ศ. 2549 Marketing Staff<br>Liley Scuba Shop, Boston Massachusetts USA.                                   |
|                 | พ.ศ. 2553 นักวิชาการประมง<br>ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด จังหวัดเชียงใหม่                                |