

พิษเห็บพลันและพิษกึ่งเห็บพลันของเมธามิโดฟอสในปลานิล

นางสาวสมฤดี ชื่นกิติญานนท์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรวิทยา สหสาขาวิชาเกษตรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-03-0697-7

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

๕ 2๐2 ๙๐๙ 44

ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY OF METHAMIDOPHOS
IN TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

Miss Somrudee Chuenkitiyanon

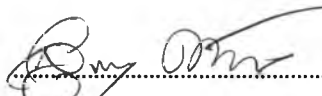
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacology
Inter-Department Program in Pharmacology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2001
ISBN 974-03-0697-7

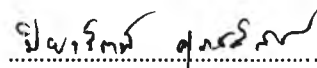
หัวข้อวิทยานิพนธ์	พิษเฉียบพลันและพิษกึ่งเฉียบพลันของเมทามิโดฟอสในปลานิล
โดย	นางสาวสมฤดี ชื่นกิติญานนท์
สาขาวิชา	สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.ปิยะรัตน์ ศุภชลัสน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.เจนนุช ว่องธวัชชัย รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.อนงค์ บิณฑวิท


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

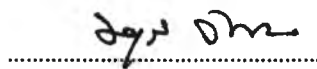
..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา กิระนันท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.ปิยะรัตน์ ศุภชลัสน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.เจนนุช ว่องธวัชชัย)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.มยุรี ตันติสิระ)

สมฤดี ชื่นกิติญานนท์ : พิษเฉียบพลันและพิษกึ่งเฉียบพลันของเมธามิโดฟอสในปลานิล
(ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY OF METHAMIDOPHOS IN TILAPIA
(*OREOCHROMIS NILOTICUS*)) อ.ที่ปรึกษา ผศ.สพ.ญ.ดร.ปิยะรัตน์ ศุภชลัสต์,
อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.สพ.ญ.ดร.เจนนุช ว่องธวัชชัย, รศ.สพ.ญ.ดร.อนงค์ บิณฑวิท
73 หน้า ISBN 974-03-0697-7.

ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของเมธามิโดฟอสที่ความเข้มข้น 0-90 ppm ในปลานิล พบว่าค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง เท่ากับ 43.36 ppm (33.20-54.21 ppm) ปลาที่ได้รับสารแสดงอาการเป็นพิษตามความเข้มข้นของสารเมธามิโดฟอสที่ได้รับ โดยมีลำตัวคล้ำขึ้น มีอาการกระวนกระวาย มีจุดเลือดออกที่ครีบ ลำตัวงอ มีการเคลื่อนที่อย่างมีทิศทางไม่แน่นอน กินอาหารน้อยลง ปลาที่สัมผัสสารในขนาด ≥ 75 ppm ตายหมดภายใน 48 ชั่วโมง

ศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลันของเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลา 24 48 72 96 ชั่วโมง และ 30 วัน พบการเปลี่ยนแปลงภายนอกเฉพาะในกลุ่มที่สัมผัสสารเป็นเวลา 30 วัน คือ ปลากินอาหารลดลง ตัวคล้ำขึ้น ไม่ค่อยเคลื่อนไหว ผลต่อสมรรถนะของเอนไซม์ไมลีนเอสเทอร์สในซีรัมและในสมองของปลานิลทุกกลุ่มที่ได้สัมผัสสารเมธามิโดฟอสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสมรรถนะของเอนไซม์ในซีรัมมีการลดลงมากกว่าในสมอง การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ แต่พบการอักเสบของซีเหงือกและเนื้อเยื่อตับ

จากผลการทดลอง พบว่าสมรรถนะของเอนไซม์ไมลีนเอสเทอร์สที่ลดลงในซีรัมและสมองของปลานิล สามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของการปนเปื้อนสารกำจัดแมลงชนิดนี้ในแหล่งน้ำได้

ภาควิชา เภสัชวิทยา

สาขาวิชา สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา

ปีการศึกษา 2544

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

##4289704220 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD: METHAMIDOPHOS /TOXICITY / CHOLINESTERASE /TILAPIA

SOMRUDEE CHUENKITIYANON : ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY
OF METHAMIDOPHOS IN TILAPIA(*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PIYARAT SUBHACHALAT, D.V.M.,
Ph. D., THESIS COADVISOR : ASST. PROF. JANENUJ

WONGTAVATCHAI, D.V.M., M.S., Ph. D. ASSOC. PROF. ANONG
BINTWIHOK, D.V.M., Ph. D., 73 PP. ISBN 974-03-0697-7.

Toxicity study of methamidophos in fresh water fish tilapia (*Oreochromis niloticus*) was approached in 0-90 ppm static bath exposure. The LC_{50} at 96 hours was 43.36 ppm (33.20-54.21 ppm). Fish exposed to subacute levels of methamidophos showed intoxication signs : hyperexcitability, loss of balance, loss of appetite and dark coloration. Degree of intoxication or death of the animal correlated with the level of exposure.

Exposures of 10 ppm methamidophos for 24, 48, 72, 96 hours and 30 days were applied for subacute toxicity study. Intoxication signs were observed in fish exposed to 10 ppm methamidophos for 30 days. In contrast, the reduction of serum and brain cholinesterase activity was found in all treated fish ($p < 0.05$). Cholinesterase in serum was more susceptible to the inhibition than the brain enzyme. Histological examination of muscle tissue revealed no effect of the exposure, while gill and liver tissues were sensitive to 10 ppm methamidophos and exhibited severe inflammation.

The study suggested an inhibition of serum and brain cholinesterase in tilapia is a potential indicator for low level of methamidophos contamination in water.

Inter-department Pharmacology.....

Field of study Pharmacology.....

Academic year 2001.....

Student's signature *Somsudee C.*

Advisor's signature *Piyarat Subhachalat*

Co-advisor's signature *Janenuj*

A. Bimwihok



กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.ปิยะรัตน์ ศุภขลัสต์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.เจนนุช ว่องธวัชชัย และ รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.อนงค์ บินทวิหค อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณา ให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้ ตลอดจนเสีย สละเวลาอันมีค่าตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ จนวิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ หัวหน้าศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ผู้วิจัยได้ ใช้สถานที่ และอุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งคำชี้แนะ ความห่วงใย ตลอดระยะเวลาศึกษาวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ คณาจารย์ประจำหลักสูตรสหสาขา วิชาเกษตรวิทยาทุกท่าน ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และความเอาใจใส่ในตัวลูกศิษย์ตลอดการศึกษา

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อัจฉรา ธวัชสิน อาจารย์ประจำภาควิชาอายุร ศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ ที่เสียสละเวลาอันมีค่าของท่านช่วยตรวจทานและให้คำแนะนำทาง ด้านสถิติที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์ สถานทีในการเลี้ยงสัตว์ทดลองตลอดงานวิจัย รวมถึงความช่วยเหลือต่างๆ ตลอดจนความเป็น กันเองที่มีให้แก่ผู้วิจัย

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยและทบวงมหาวิทยาลัยที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนในการทำ วิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ตึกอักษรศาสตร์ 6 ได้ โรงพยาบาลศิริราชทุกท่าน ที่ให้โอกาสผู้วิจัยแลกเปลี่ยน มาศึกษาเล่าเรียนตลอดจนความห่วงใยและความเอื้ออาทรที่มีให้ผู้วิจัยตลอดมา และต้องขอ อภัยหากไม่ได้เอ่ยนามท่านที่ให้ความช่วยเหลือเนื่องจากงานวิจัยนี้มีผู้ให้ความช่วยเหลือผู้วิจัยเป็น จำนวนมากผู้วิจัยขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

สุดท้ายผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา พี่น้องหลานๆ ทุกๆ คน ที่เป็นแรงผลักดัน ให้มีกำลังใจ กำลังใจและความมานะพยายามในการศึกษามาตลอด รวมถึงเอาใจใส่ช่วยเหลือ และรอยยิ้มที่จะชื่นชมกับความสำเร็จที่ได้รับในครั้งนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูป.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฎ
บทที่	
1. บทนำ	
เมธามิโดฟอส.....	3
คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี.....	3
การแบ่งชนิดของเอนไซม์ไพลินเอสเทอร์ส.....	4
ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเมธามิโดฟอส.....	5
ความเป็นพิษเฉาะด้านของเมธามิโดฟอส.....	5
ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำของเมธามิโดฟอส.....	7
การสลายตัวของเมธามิโดฟอส.....	9
พิษของสารกำจัดแมลงกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟตกับระดับของเอนไซม์ ไพลินเอสเทอร์ส.....	10
ปลานิล.....	12
ตับปลานิล.....	14
เหงือกปลานิล.....	15
กล้ามเนื้อปลานิล.....	15
วัตถุประสงค์การวิจัย.....	16
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	16
2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
สัตว์ทดลอง เครื่องมือ และสารเคมี.....	18
การเตรียมสารเคมี.....	19
การเตรียมตัวอย่าง.....	20
การวัดสมรรถนะของเอนไซม์ไพลินเอสเทอร์ส.....	21
การคิดคำนวณสมรรถนะของเอนไซม์ไพลินเอสเทอร์ส.....	22

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
การหาความเที่ยงตรงของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์ โกลีตีนเอสเทอเรส.....	23
การหาเปอร์เซ็นต์รีโคเวอรีของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์ โกลีตีนเอสเทอเรส.....	23
ขั้นตอนการทดลอง.....	24
สถิติที่ใช้ในการทดลอง.....	26
3. ผลการทดลอง	
การประเมินความเที่ยงตรงของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์ โกลีตีนเอสเทอเรส.....	27
การศึกษาเปอร์เซ็นต์รีโคเวอรีของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์ โกลีตีนเอสเทอเรส.....	29
การศึกษาพิษเฉียบพลันของเมธามิโดฟอส.....	31
การศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลันของเมธามิโดฟอส.....	35
ผลต่อสมรรถนะของเอนไซม์โกลีตีนเอสเทอเรส.....	36
ผลต่อจุลพยาธิสภาพ.....	40
4. อภิปรายสรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	44
รายการอ้างอิง.....	50
ภาคผนวก.....	56
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	73

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1. แสดงอาการและอาการแสดงจากการที่มีอะซิทิลโคลีน (ACh) คั่งสะสม.....	6
2. แสดงพิษเฉียบพลันของเมธาไมโดฟอสในสัตว์ชนิดต่าง ๆ.....	8
3. แสดงคุณภาพน้ำระหว่างทำการทดลอง.....	25
4. แสดงค่าความเที่ยงตรงของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์ โคลีนเอสเทอเรสในซีรัมของปลานิล.....	27
5. แสดงค่าความเที่ยงตรงของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์ โคลีนเอสเทอเรสในสมองของปลานิล.....	28
6. แสดงการเปรียบเทียบค่าความคงตัวของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในซีรัมและ สมอง โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์สมรรถนะของเอนไซม์ที่วัดได้เทียบกับสัปดาห์แรก...	29
7. แสดง Recovery(%) ของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส....	30
8. แสดง Recovery(%) ของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส ในซีรัม.....	30
9. แสดง Recovery(%) ของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส ในสมอง.....	30
10. แสดงค่า median lethal concentration ของสารเมธาไมโดฟอสต่อปลานิลภายใน เวลา 96 ชั่วโมง ($LC_{50,96-hr}$).....	33
11. แสดงอัตราการตายสะสมของปลาที่สัมผัสสารเมธาไมโดฟอสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง.....	34
12. แสดงค่าสมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในซีรัมและสมองของปลานิล กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารเมธาไมโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลาต่าง ๆ.....	36
13. แสดงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในซีรัมและ สมองของปลานิลกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารเมธาไมโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลาต่าง ๆ.....	37

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. สูตรโครงสร้างทางเคมีของเมธามิโดฟอส.....	3
2. แสดงการเปลี่ยนแปลงของ Acetylcholine.....	4
3. ปลานิล.....	13
4. แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในซีรัมของปลานิลกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลาต่าง ๆ.....	38
5. แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในสมองของปลานิลกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลาต่าง ๆ.....	39
6. แสดงลักษณะเนื้อเยื่อตับปกติของปลานิล.....	41
7. แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อตับที่สัมผัสสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm.....	41
8. แสดงลักษณะเหงือกปกติของปลานิล.....	42
9. แสดงลักษณะของเหงือกปลานิลที่สัมผัสสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm..	42
10.แสดงลักษณะกล้ามเนื้อลายตัดตามขวางของปลานิล.....	43
11.แสดงลักษณะกล้ามเนื้อลายตัดตามยาวของปลานิล.....	43

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ซม.	เซนติเมตร
ซม ³ .	ลูกบาศก์เซนติเมตร
นกก.	นาโนกรัม
มก.	มิลลิกรัม
มล.	มิลลิลิตร
ล.	ลิตร
ชม.	ชั่วโมง
%	เปอร์เซ็นต์
ACh	acetylcholine
AChE	acetylcholinesterase
ΔA	optical density ที่เปลี่ยนแปลงไป
C°	degree celsius
C ₀	original concentration
CV	coefficient of variance
DTNB	dithiobisnitrobenzoic acid
DDVP	dichlorvos
g	gram
hr	hour
kg	kilogram
IU	international unit
l	litre
LC ₅₀	median lethal concentration
M	molar
min	minute
μg	microgram
mg/l	milligram per litre
ppb	part per billion
ppm	part per million
μm	micromole
SE	standard error
SD	standard deviation