

บทที่ 1



บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ประชากรส่วนใหญ่ยังมีอาชีพทางการเกษตร ปัจจุบันประชากรในประเทศมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ประกอบกับระบบการค้าระหว่างประเทศเป็นระบบที่เปิดเสรี จึงทำให้ได้รับเทคโนโลยีใหม่ๆ จากประเทศที่พัฒนาแล้วเข้ามาใช้ ทั้งทางด้านการเกษตรและอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตสินค้าด้านการเกษตรที่ต้องผลิตเพื่อให้เพียงพอกับการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก ดังนั้นจึงได้มีการนำเอาสารกำจัดศัตรูพืชเข้ามาใช้ ดังจะเห็นได้จากการนำเข้าที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี จาก 18164 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1497 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2527 เป็น 32274 ตัน มูลค่า 3593 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2537 โดยที่สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟต (organophosphate) เป็นกลุ่มที่มีการนำเข้าสูงที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมทิลพาราธาออน (methyl parathion) มีปริมาณการนำเข้าสูงเป็นอันดับสามรองจาก โมโนโครโทฟอส (monocrotophos) และเมทามิโดฟอส (methamidophos) ตามลำดับ (ไพฑูริย์, บุญส่ง และ นิยม, 2538)

การนำสารกำจัดศัตรูพืชมาใช้กันอย่างกว้างขวางและปริมาณการใช้ที่เพิ่มมากขึ้น นับว่าเป็นอันตรายอย่างยิ่งทั้งต่อสิ่งแวดล้อมและมนุษย์ผู้ที่เกี่ยวข้องกับสารพิษนี้ จากรายงานการสำรวจสถิติผู้ป่วยและผู้เสียชีวิตโดย กองระบาดวิทยากระทรวงสาธารณสุข ตั้งแต่เดือน มค.- ธค. ปี พ.ศ. 2538 มีจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับสารกำจัดศัตรูพืชทั้งประเทศจำนวน 3354 คน มีผู้เสียชีวิต 20 คน ส่วนในปี พ.ศ. 2537 มีจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษ 3165 คนและมีผู้เสียชีวิต 41 คน จะเห็นได้ว่าแนวโน้มของผู้ที่ได้รับพิษไม่ได้ลดลงจากเดิมและในปี 2538 กองอาชีวอนามัยได้ทำการสำรวจหาระดับเอนไซม์-โกลิตินเอสเทอร์สในเลือดของเกษตรกรทั่วประเทศ จำนวน 463142 คน พบว่าเกษตรกรที่มีผลการตรวจเลือดอยู่ในเกณฑ์ที่ไม่ปลอดภัย และเสี่ยงต่อการเกิดพิษจำนวน 85140 คน คิดเป็น 18 % ซึ่งมีแนวโน้มสูงขึ้น จากปี พ.ศ. 2537 ที่ตรวจพบ 16 % เท่านั้น (สุนีย์ จอมขวา และคณะ, 2538) นอกจากการใช้สารกำจัดศัตรูพืชแล้ว ฝูก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญ ในการที่จะเพิ่มผลผลิตให้ได้ปริมาณมากและมีคุณภาพเป็นที่ต้องการของตลาด ส่วนใหญ่ฝูที่ใช้ทางการเกษตรจะเป็นฝูสังเคราะห์ในรูปของเกลือไนเตรท ซึ่งเป็นแหล่งที่มาอันสำคัญของไนเตรทในสภาวะแวดล้อม โดยปกติแล้วไนเตรทจะถูกเปลี่ยนต่อภายในร่างกายไปอยู่ในรูปไนไตรท์ ซึ่งจะมีความเป็นพิษมากกว่าแต่ในสภาวะแวดล้อมไนเตรทและไนไตรท์จะมีการเปลี่ยนกลับไปกลับมามากตลอดเวลา โดยอาศัย

แบคทีเรีย ซึ่งเรียกรวมๆ ว่ากระบวนการไนทริฟิเคชัน (nitrification) (รัชนิ และ สมคุลย์, 2527) นอกจากจุดประสงค์ในการใช้ทั้งสารกำจัดศัตรูพืชและปุ๋ยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรแล้ว การปนเปื้อนของสารเคมีทั้งสองชนิดยังอาจเกิดจากสาเหตุอื่นๆ อีกเช่น การปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชที่เกิดจากการใช้เพื่อประโยชน์ในด้านการควบคุมการระบาดของเชื้อโรคน้ำหรือ เพื่อประโยชน์ในการจัดการการประมงและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ รวมถึงการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นโดยไม่ได้ตั้งใจ ซึ่งการปนเปื้อนดังกล่าวเกิดจากสาเหตุต่างๆ ดังนี้คือ

1. การฉีดยาฆ่าแมลงกำจัดศัตรูพืชลงสู่แหล่งน้ำโดยตรง เพื่อกำจัดยุงและวัชพืชน้ำ
2. การชะล้างของฝนและน้ำไหลบ่าหน้าดินผ่านพื้นที่ที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืช ก่อนลงสู่แหล่งน้ำ
3. การระบายน้ำทิ้งจากบ้านเรือนและโรงงานอุตสาหกรรมที่ใช้สารกำจัดศัตรูพืช ลงสู่แหล่งน้ำโดยไม่ได้มีการกำจัดอย่างถูกต้องเสียก่อน
4. การทิ้งหรือล้างภาชนะที่บรรจุสารกำจัดศัตรูพืชลงสู่แหล่งน้ำ
5. การใช้สารกำจัดศัตรูพืชในบริเวณพื้นที่การเกษตรที่ใกล้กับแหล่งน้ำ
6. การหกตกหล่นของสารกำจัดศัตรูพืชระหว่างการขนส่ง รวมทั้งการอับปางของเรือบรรทุกสารกำจัดศัตรูพืช

สารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำจะอยู่ในส่วนประกอบต่างๆ ของแหล่งน้ำดังนี้

1. น้ำ ปกติการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชในน้ำจะมีความเข้มข้นระดับต่ำและ ส่วนใหญ่จะเกาะจับอยู่กับสารอนุภาคเล็กๆ ที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ
2. โกลนเลนและดินตะกอน สารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในน้ำส่วนใหญ่ จะถูกดูดซึมหรือเกาะจับกับสารอนุภาคที่แขวนลอยในน้ำและ จมลงสู่พื้นท้องน้ำตกค้างอยู่ในดินตะกอนหรือ โกลนเลน โดยสารตกค้างในดินตะกอนบางส่วนจะสะสมอยู่ในสัตว์ที่อาศัยอยู่ตามพื้นท้องน้ำ
3. พืชและสัตว์น้ำ สารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำส่วนหนึ่งจะเข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตในน้ำและบางส่วนจะตกค้างอยู่ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตเหล่านั้น

ได้มีการรายงานถึง การปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟตในแหล่งน้ำของประเทศไทย จากการสำรวจของ จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ และคณะ (2538) ในช่วงปลายปี 2537 - 2538 พบว่ามีการปนเปื้อนของเมทิลพาราไรออนในแหล่งน้ำบริเวณต่างๆ ในระดับความเข้มข้น 0.06-4.74 ไมโครกรัม/ลิตร และมีการปนเปื้อนในตัวอย่างดินที่เก็บจากบ่อกึ่งสูงถึง 20.29-25.40 ไมโครกรัม/ลิตร (ตารางที่ 1) จากข้อมูลดังกล่าวเป็นที่น่าสังเกตว่า การปนเปื้อนของเมทิลพาราไรออนในตะกอนดินสูงกว่าในตัวอย่างน้ำถึง 5-338 เท่า

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณเมทิลดีทราไรซอนที่ตรวจพบในน้ำจากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย (จรัลศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ และคณะ, 2538)

วันที่	จังหวัด	เขต	แหล่งน้ำ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/ ลิตร)	ความเป็น กรด-ด่าง (pH)	ความเค็ม (กก./ลิตร)
16-08-37	สุราษฎร์ธานี	ปากกระแจะ	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.06	-	-
16-08-37	สุราษฎร์ธานี	เจงอะ	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.82	-	-
16-08-37	สุราษฎร์ธานี	ไร่หลวง	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.75	-	-
6-09-37	สุราษฎร์ธานี	ไร่หลวง	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.26	-	-
6-09-37	สุราษฎร์ธานี	บ้านคอน	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.30	-	-
6-09-37	สุราษฎร์ธานี	คลองราม	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.20	-	-
6-09-37	สุราษฎร์ธานี	เจงอะ	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.11	-	-
6-10-37	เพชรบุรี	เขื่อนเพชรบุรี	แหล่งน้ำธรรมชาติ	1.142	8.7	0
6-10-37	เพชรบุรี	เขื่อนศรีนครินทร์	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.204	7.5	0
6-10-37	เพชรบุรี	คลองน้ำเขียว	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.071	7.7	0
12-10-37	สุราษฎร์ธานี	คลองราม	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.53	6.9	15
12-10-37	สุราษฎร์ธานี	ท่าทอง	แหล่งน้ำธรรมชาติ	0.40	7.1	23
14-10-37	ภูเก็ต	แหลมพรหมเทพ	บ่อเพาะฟักกุ้ง	0.20-0.24	7.1-7.8	30
14-10-37	ภูเก็ต	อ่าวปอ	บ่อเพาะฟักกุ้ง	0.06-0.23	7.3-7.9	28-29
14-10-37	ภูเก็ต	ราไวย์	บ่อเพาะฟักกุ้ง	0.06	8.0	34
21-11-37	ภูเก็ต	เมือง	บ่อเพาะฟักกุ้ง	0.15	-	-
2-12-37	สุราษฎร์ธานี	ท่าทอง	น้ำจากฟาร์มกุ้ง	1.11-1.86	7.5-8.7	12-20
7-12-37	ชุมพร	เมือง	น้ำจากฟาร์มกุ้ง	0.40-4.74	7.2-8.3	3-24
13-12-37	ชุมพร	เมือง	น้ำจากฟาร์มกุ้ง	0.10-0.52	7.8-9.3	15-18
20-12-37	สุราษฎร์ธานี	ท่าชนะ	น้ำจากฟาร์มกุ้ง	0.61	-	-
23-12-37	สุราษฎร์ธานี	ท่าชนะ	น้ำจากฟาร์มกุ้ง	1.73	-	-
26-12-37	สุราษฎร์ธานี	กาญจนดิษฐ์	ดินจากบ่อเลี้ยงกุ้ง	20.29-25.40	-	-
16-01-38	สุราษฎร์ธานี	คอนสัก	น้ำจากฟาร์มกุ้ง	0.34-0.42	7.7-7.9	24-30
16-01-38	สุราษฎร์ธานี	ขนอม	น้ำจากฟาร์มกุ้ง	0.37-0.66	8.0	25-30

สำหรับการปนเปื้อนของไนเตรทและไนไตรท์ในสิ่งแวดล้อมนั้นพบว่ามีทั้งที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (รายละเอียดอยู่ในหัวข้อไนเตรทและไนไตรท์) และที่เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ นอกเหนือจากการใช้ปุ๋ยทางการเกษตรเป็นส่วนใหญ่แล้ว ยังเกิดจากสาเหตุต่างๆ ดังนี้คือ

1. ของเสียจากสัตว์ การทำฟาร์มเลี้ยงสัตว์ก่อให้เกิดสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นไนเตรทและไนไตรท์ได้ในที่สุด

2. ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม ปริมาณไนโตรเจนจากโรงงานอุตสาหกรรมจะแตกต่างกันตามชนิดของอุตสาหกรรม อุตสาหกรรมเชื้อเพลิง ปิโตรเลียมและการผลิตอาหาร อาจเป็นแหล่งใหญ่ของปัญหามลภาวะจากไนโตรเจน ออกไซด์ของไนโตรเจนที่ปล่อยเข้าสู่บรรยากาศส่วนใหญ่จะหมุนเวียนกลับไปยังพื้นโลกในรูปของไนเตรท

ทั้งสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและปุ๋ยในรูปเกลือไนเตรท สามารถที่จะแพร่กระจายลงสู่แหล่งน้ำได้ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำนั้นๆ ได้ ปลาเป็นสัตว์น้ำที่มีโอกาสได้รับสารเคมีที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำโดยตรง อีกทั้งปลายังเป็นสัตว์น้ำที่มีอยู่เป็นจำนวนมากเมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ โดยมีอยู่ทั้งในน้ำเค็ม น้ำกร่อยและน้ำจืด จึงได้มีผู้ทำการศึกษาที่จะนำปลามาใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของสารพิษต่างๆ ในแหล่งน้ำอย่างมากมาย เช่น Coppage และ Matthews (1975) ใช้ปลา pinfish (*Lagodon rhomboides*) ในการบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของ 1,2- dibromo-2,2-dichloroethyl dimethyl phosphate (Nales) ในน้ำทะเล หลายงานวิจัยที่ใช้ปลาเป็นตัวบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟตในน้ำจืด (Weiss, 1961; Pickering, Handerson and Lemke, 1962; Coppage, 1972) โดยใช้การวัดสมรรถนะของเอนไซม์-โกลบินเอสเทอเรสที่ถูกยับยั้งโดยสารเคมีในกลุ่มนี้เป็นดัชนีที่สำคัญถึงความรุนแรงของการเกิดพิษ และยังใช้ในการประเมินหาความไวของปลาหลายชนิดต่อความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟตทั้งในระยะเฉียบพลันและระยะเรื้อรังอีกด้วย นอกจากนี้ปลายังถูกนำมาใช้ในการประเมินความเป็นพิษอย่างอื่นของสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มนี้ เช่น Rao และคณะ (1985) ใช้ *Tilapia mossambica* (peters) ในการศึกษาผลของเมทิลพาราไรออนต่อขบวนการหายใจ ผลของมาลาไรออนในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตายต่อค่าทางโลหิตวิทยา (hematological effect) และผลต่อจุลกายวิภาค (histopathological effect) ของปลาตุก (channel catfish) (Areechon and Plumb, 1990) ส่วนการศึกษาผลของไนไตรท์ที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำที่ส่งผลให้เกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินนีเมีย (methemoglobinemia) ก็สามารถนำปลาเป็นตัวอย่างที่คิดในการศึกษาเช่นกัน ทั้งในน้ำจืด (Perrone and Meade, 1977; Tomasso et al., 1979; Huey et al., 1980; Tomasso, 1986; Mazik et al., 1991) น้ำกร่อย (Almendras, 1987) และน้ำทะเล (Crawford and Allen, 1977; Margiocco et al., 1983; Scarano and Saroglia, 1984) ซึ่งนอกจากจะดูระดับเมทฮีโมโกลบินที่สูงขึ้นในเลือดแล้ว

พิษอย่างอื่นของไนโตรที่ก็ได้มีผู้รายงานไว้เช่นกัน เช่น ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยาและผลต่อจุลกายวิภาค (Margiocco et al., 1983; Michael et al., 1987)

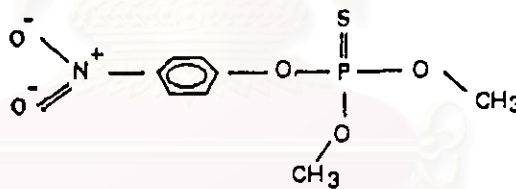
โดยเหตุที่เมทิลพาราไรออน เป็นสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออกาโนฟอสเฟตตัวหนึ่งที่นิยมใช้กันมากทั้งในอดีตจนถึงปัจจุบัน รวมถึงไนเตรทที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นไนโตรที่ภายในร่างกาย อีกทั้งยังมีความเป็นพิษสูงกว่าไนโตรที่ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงเลือกที่จะศึกษาผลร่วมกันของสารเคมีทั้งสองตัวนี้ในปลาอุกพันธุ์ผสม โดยมีรายละเอียดของสารเคมีดังกล่าวคือ

เมทิลพาราไรออน (Methyl parathion)

ชื่อทางเคมี O,O-dimethyl-O-(4-nitrophenyl) thiophosphate

สูตรโมเลกุล $C_8H_{10}O_5NSP$

สูตรโครงสร้าง



รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเมทิลพาราไรออน

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

เมทิลพาราไรออน เป็นสารบริสุทธิ์เป็นผลึกไม่มีสี ผลึกกัมมันต์และสารเจือปนเป็นของเหลวที่หนักคล้ายน้ำมันสีน้ำตาลแดง มีกลิ่นเหม็นเล็กน้อย น้ำหนักโมเลกุล 263.22 ละลายในน้ำได้เล็กน้อยแต่ละลายได้ดีในสารละลายอินทรีย์ทุกชนิด ยกเว้น alkanes เสถียรภาพในสารละลายที่เป็นกลางและกรดที่อุณหภูมิปกติ

คุณสมบัติทั่วไป

เมทิลพาราไรซอน เป็นสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออกาโนฟอสเฟต (organophosphate) ที่มีกลุ่ม methyl อยู่ในโมเลกุล ดังแสดงในรูปที่ 1 ในความเข้มข้นต่ำๆ เมทิลพาราไรซอนจะถูกย่อยสลายได้ง่ายภายในระยะเวลาอันสั้น (วันหรือเดือน) โดยขบวนการทางชีวภาพ จะย่อยสลายได้เร็วเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและอยู่ในบริเวณที่มีแสงแดดส่องถึง ในพื้นที่ที่มีอุณหภูมิสูงจุลินทรีย์ผู้ย่อยสลายทั้งชนิด Bacillus และ Flavobacterium ทำให้เมทิลพาราไรซอนย่อยสลายหมดภายใน 2-4 สัปดาห์ (Michalenko et al., 1991) ปัญหาการตกค้างจึงมีน้อยกว่ากลุ่มคลอรีนเนตเตคไฮโดรคาร์บอน เช่น DDT มาก อย่างไรก็ตามผลกระทบที่พบในสภาพแวดล้อมอาจสูงกว่าที่คาดคิด เนื่องจากมีการนำสารกำจัดศัตรูพืชชนิดนี้มาใช้อย่างไม่ถูกวิธี เช่น นำมาใช้บ่อยและใช้ในปริมาณที่มากเกินไปกำหนด

กลไกการออกฤทธิ์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

เมทิลพาราไรซอนและสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟตเมื่อเข้าสู่ร่างกาย จะยังไม่รวมตัวกับเอนไซม์โดยตรงแต่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในร่างกายก่อน โดยขบวนการ oxidative desulfuration โดยอาศัยเอนไซม์ mixed function oxidase ของระบบไซโตโครมพี 450 ได้เป็นสารตัวใหม่ซึ่งสามารถรวมตัวกับเอนไซม์ได้ เช่น เมทิลพาราไรซอนจะเปลี่ยนเป็นเมทิลพาราออกซอน (methyl paraoxon) ในร่างกาย (Benke and Murphy, 1975) ออกฤทธิ์โดยการไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส ทั้งอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (acetylcholinesterase, AChE) และซูโดโคลีนเอสเตอเรส (pseudocholinesterase, PChE) จากผลการยับยั้งทำให้เกิดการสะสมของอะเซทิลโคลีน (acetylcholine, ACh) ที่บริเวณ cholinceptive site และก่อให้เกิดผลจากการทำงานของอะเซทิลโคลีนอย่างต่อเนื่อง

การแบ่งชนิดของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส

เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส มีชื่อว่าโคลีนเอสเตอเรส (choline esterases) เพราะเป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลต์สารพวกโคลีนเอสเทอร์ เช่น อะเซทิลโคลีน (acetylcholine) อะเซทิลเบตาเมทิลโคลีน (acetyl- β -methylcholine) เบนโซอิลโคลีน (benzoylcholine) ซัคซินิลโคลีน (succinylcholine) เป็นต้น เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส แบ่งออกได้เป็นสองชนิด คือ

1. อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (acetylcholinesterase, AChE) บางที่เรียก true หรือ specific cholinesterase หรือบางที่เรียก red cell cholinesterase เป็นเอนไซม์ที่พบมากที่สุดที่สมอง, postjunctional membrane ของ motor end plate, neuro effector junction ของปลายประสาทพาราซิมพาเทติก (parasympathetic), เม็ดเลือดแดง (red cell หรือ erythrocytes), ก้อนเลือด (thrombocytes), รก, เส้นประสาทหลายแห่งที่มีเอนไซม์ทั้งใน axons, dendrite, perikarya เช่น somatic nerve fibers, preganglionic autonomic nerve fibers, postganglionic parasympathetic nerve fibers เป็นต้น พวก primary afferent (sensory) fibers และ adrenergic fibers ก็มีเอนไซม์ชนิดนี้แต่ต่ำกว่าพวก cholinergic fibers

2. พลาสมาโคลีนเอสเตอเรส (plasma cholinesterase) หรือบางที่เรียก ตูโดโคลีนเอสเตอเรส (pseudocholinesterase), nonspecific cholinesterase, butyrylcholinesterase หรือ cholinesterase เป็นเอนไซม์ที่พบใน พลาสมา, ตับ, เยื่อลำไส้ (intestinal mucosa), glial cells และ satellite cells เป็นต้น เอนไซม์นี้ทำหน้าที่อย่างไรยังไม่ทราบแน่ชัด แต่สามารถไฮโดรไลต์สารต่างๆ ได้หลายชนิด เช่น บิวทิลโคลีน (butyrylcholine), อะเซทิลโคลีน (acetylcholine), เบนโซอิลโคลีน (benzoylcholine) และ ซัคซินิลโคลีน (succinylcholine) เป็นต้น

ข้อแตกต่างระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและตูโดโคลีนเอสเตอเรส

1. อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส สามารถไฮโดรไลต์สารอะเซทิลโคลีนได้เร็วมาก แต่ไฮโดรไลต์สารบิวทิลโคลีนได้ช้ามาก ส่วนตูโดโคลีนเอสเตอเรสสามารถไฮโดรไลต์สารบิวทิลโคลีนได้เร็วมาก แต่ไฮโดรไลต์สารอะเซทิลโคลีนได้ช้า

2. อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส สามารถไฮโดรไลต์สารอะเซทิลเบตามาทิลโคลีนได้ดีแต่ไม่สามารถไฮโดรไลต์เบนโซอิลโคลีน ส่วนตูโดโคลีนเอสเตอเรสสามารถไฮโดรไลต์สารเบนโซอิลโคลีนได้ แต่ไม่สามารถไฮโดรไลต์สารอะเซทิลเบตามาทิลโคลีนได้

3. ถ้าการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสถูกยับยั้ง จะมีผลต่างๆ เกิดขึ้นมากมาย ทั้งผลทางมัสคารินิก (muscarinic effect) และนิโคตินิก (nicotinic effect) แต่ถ้ายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ตูโดโคลีนเอสเตอเรสอย่างเดียวไม่พบความผิดปกติทางสรีรวิทยาเกิดขึ้น

ในสภาวะปกติเมื่ออะเซทิลโคลีนทำหน้าที่ที่อวัยวะแล้ว จะถูกไฮโดรไลต์ด้วยเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ได้เร็วมาก อะเซทิลโคลีนจะจับกับเอนไซม์ อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ทั้งที่ anionic และ esteratic sites โดยที่ประจุบวกของ quaternary nitrogen ของอะเซทิลโคลีนจับกับประจุลบของเอนไซม์ อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ที่ anionic sites โดย electrostatic bond และอาจมี

hydrophobic และ Van der Waals forces ช่วยจับอีกที ส่วนที่ esteratic sites ของเอนไซม์ อะเซทิล-โคลีนเอสเตอเรส ซึ่งมี hydroxyl group ของกรดอะมิโน (เซรีน) จะจับกับอะตอมคาร์บอนของ carboxyl group ของอะเซทิลโคลีนโดย covalent bond และอาจมี hydrogen bond ช่วยจับอีก เมื่อจับแล้วโคลีนจะหลุดออกมาก่อน เหลือกลุ่มอะเซทิลจับกับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสเป็นอะเซทิลเลทเททเอนไซม์ (acetylated enzyme) ซึ่งจะถูกไฮโดรไลสได้อย่างรวดเร็ว โดยรวมกับน้ำ เกิดเป็นเอนไซม์อิสระและกรดอะซิติก (acetic acid) สำหรับสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟต นั้นเมื่อเข้าสู่ร่างกายตัวมันเองและเมตาบอไลต์ของมันซึ่งส่วนใหญ่แล้วมีฤทธิ์มากกว่าตัวเดิมจะเข้าแย่งจับกับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ทำให้ปฏิกิริยาระหว่างอะเซทิลโคลีนกับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสถูกขัดขวาง ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งกับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส เรียกว่า ฟอสโฟริลเลทเตทเอนไซม์ (phosphorylated enzyme) ที่จับกันแบบถาวรมาก ปลดปล่อยอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสเป็นอิสระได้ยาก จึงทำให้มีฤทธิ์ยาวนานมาก (รูปที่ 2) ซึ่งการทำงานจะเกิดขึ้นได้อีกก็ต่อเมื่อร่างกายสร้างเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสขึ้นมาใหม่เท่านั้น

อาการพิษ

ความเป็นพิษเนื่องจากเมทิลพาราไอออนและสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มอื่นๆ เกิดขึ้นได้ ทั้งแบบเฉียบพลันเมื่อได้รับในขนาดสูงๆ หรือแบบเรื้อรังเมื่อได้รับสารในขนาดต่ำติดต่อกันและสะสมเป็นเวลานาน ซึ่งอาการพิษทั้งสองแบบมีความแตกต่างกันคือ

อาการพิษเฉียบพลัน

อาการพิษเฉียบพลันจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟต โดยทั่วไปจะมีทั้งอาการทาง มัสคารินิก (muscarinic) นิโคตินิก (nicotinic) และฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง (รูปที่ 3) ดังนี้คือ

1. ฤทธิ์มัสคารินิก (muscarinic effect) เป็นผลมาจากการกระตุ้นระบบประสาทพาราซิมพาเทติก ที่มีมัสคารินิกรีเซพเตอร์ (muscarinic receptor) มีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบของระบบทางเดินอาหาร ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดเกร็งในท้อง ท้องเดิน น้ำลายออกมากผิดปกติ กล้ามเนื้อที่นัยน์ตาหดเกร็ง ตาพร่า ปวดตา รุ่่านตาหด สำหรับระบบหายใจมีอาการแน่นหน้าอก หลอดลมหดเกร็ง มีสิ่งคัดหลั่งในทางเดินหายใจมาก หายใจมีเสียงหวีดและหายใจขัด ส่วนผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจได้แก่ หัวใจเต้นช้าลง ความดันโลหิตต่ำ อย่างไรก็ตามหัวใจอาจจะเต้นเร็วหรือมีความดันโลหิตสูงเกิดขึ้นได้ อันเป็นผลเนื่องมาจากเกิดปฏิกิริยาสะท้อนกลับ (reflex)

2. ฤทธิ์นิโคติค (nicotinic effect) เป็นผลจากการกระตุ้นที่นิโคติกรีเซพเตอร์ (nicotinic receptor) ของระบบประสาทซิมพาเทติกและกล้ามเนื้อลาย ทำให้มีฤทธิ์ตรงข้ามกับการกระตุ้นระบบประสาทพาราซิมพาเทติก ซึ่งอาการที่เกิดขึ้นมีทั้งอาการหัวใจเต้นเร็ว รุ่มา่นตาขยาย ความดันโลหิตสูง มีการกระตุกของกล้ามเนื้อบริเวณใบหน้า เปลือกตาและลำคอ โดยในระยะแรกจะแสดงอาการเด่นทางซิมพาเทติก แต่ต่อมาจะแสดงอาการเด่นทางพาราซิมพาเทติก ส่วนการกระตุ้นกล้ามเนื้อลายที่ motor end plate ทำให้กล้ามเนื้ออ่อนกำลังและเกิดอัมพาตในที่สุด โดยเฉพาะกล้ามเนื้อที่ใช้ในการหายใจ

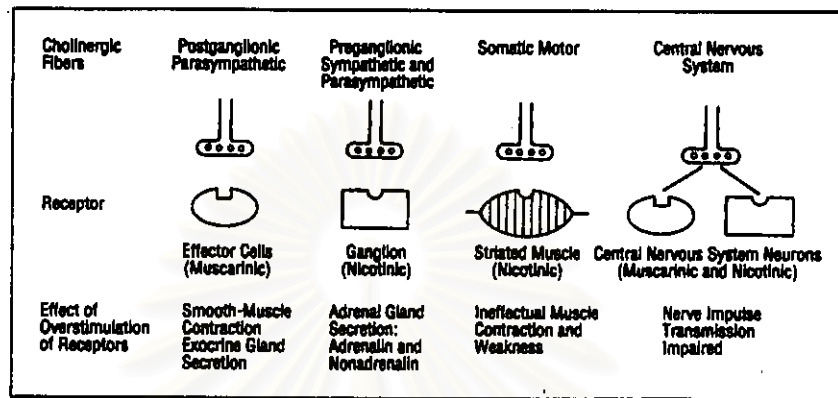
3. ฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system effect) ทำให้มีอาการเวียนศีรษะ กระสับกระส่าย ความคิดฟุ้งซ่าน อารมณ์พุ่งพล่าน การเคลื่อนไหวไม่ประสานกัน พูดไม่ชัด ผู้ป่วยที่มีอาการมากอาจเสียชีวิตจากศูนย์ควบคุมการหายใจในสมองหยุดทำงาน

สาเหตุสำคัญที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตเกิดจากอาการพิษทั้งทางกล้ามเนื้อลาย อาการทางระบบประสาทอัตโนมัติและระบบประสาทส่วนกลางร่วมกัน โดยเฉพาะระบบการหายใจล้มเหลว ซึ่งเกิดจากกล้ามเนื้อหายใจเป็นอัมพาต ศูนย์การหายใจถูกกด หลอดลมบีบเกร็ง มีสิ่งกีดขวางในทางเดินหายใจมาก นอกจากนี้ยังอาจเกิดระบบไหลเวียนโลหิตล้มเหลวร่วมด้วย ศูนย์ vasomotor และการหมุนเวียนของโลหิตใน medullar ถูกกดและเกิดการขาดออกซิเจน (hypoxia)

อาการพิษเรื้อรัง

ความเป็นพิษเรื้อรังอาจเกิดจากสารพิษไปมีผลโดยตรงต่อเซลล์ต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์ของระบบประสาท เช่นพบว่ามีอาการประสาทหลายแห่งอักเสบ (polyneuritis) ไม่มีแรงกล้ามเนื้อทำงานไม่ประสานกัน ระบบประสาทรับความรู้สึกเปลี่ยนแปลง กล้ามเนื้อกระตุก ถ้าความเป็นพิษรุนแรงอาจพบว่าเป็นอัมพาต หรือกล้ามเนื้อเกร็ง และมีปฏิกิริยาสะท้อนกลับมากกว่าปกติ ความเป็นพิษเรื้อรังนี้หายช้า กินเวลาหลายเดือนหรือหลายปี

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3 แสดงตำแหน่งต่างๆ ที่สารกลุ่มออกาโนฟอสเฟตไปมีผลยับยั้งการทำลายอะเซทิลโคลีน (Bardin et al., 1994)

ในปี พ.ศ. 2515 (ค.ศ. 1972) International Workshop on Epidemiological Toxicology of Pesticides Exposure ได้กำหนดค่าปกติของโคลีนเอสเตอเรสในคนไว้ดังนี้

1. ต้องลดลงไม่เกินกว่าร้อยละ 30 จากระดับที่เคยตรวจไว้ก่อนเข้าทำงาน
2. จำนวนคนงานที่มีระดับของเอนไซม์ลดลงต่ำกว่าปกติเกินกว่าร้อยละ 20 ของคนงานทั้งหมด แสดงว่าสภาพแวดล้อมในการทำงานไม่ปลอดภัย

อาการและอาการแสดงของผู้ป่วยจากพิษออกาโนฟอสเฟตชนิดเฉียบพลัน จะมีความสัมพันธ์กับระดับ โคลีนเอสเตอเรส โดยอาการจะปรากฏอย่างชัดเจน เมื่อระดับโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงและในน้ำเลือดลดลงมากกว่าร้อยละ 50 อย่างไรก็ตามผู้ที่ได้รับสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟตในปริมาณน้อยเป็นเวลานาน ร่างกายจะสามารถปรับตัวได้ อาการและอาการแสดงของความเป็นพิษ จะปรากฏให้เห็นเมื่อระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสถูกยับยั้งถึง ร้อยละ

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับเอนไซม์โกลูตาไมนเอสเทอเรสกับอาการและอาการแสดง

1. ความเป็นพิษระดับต่ำ ระดับเอนไซม์โกลูตาไมนเอสเทอเรสลดลงร้อยละ 60 มีอาการดังนี้
อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ มีน้ำตาและน้ำลายไหลมากขึ้น คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร ปวดท้อง
กระต๊อบกระต่าย รุ่มาตาขยาย และหลอดลมหดร่งชนิดปานกลาง อาการต่างๆ จะดีขึ้นใน 1 วัน

2. ความเป็นพิษระดับกลาง ระดับเอนไซม์โกลูตาไมนเอสเทอเรสลดลงร้อยละ 60-90 มีอาการ
ดังนี้

อ่อนเพลียมากขึ้น ปวดศีรษะ มีปัญหาเกี่ยวกับการมองเห็น น้ำลายเพิ่มมากกว่าเดิม คลื่นไส้
อาเจียน ปวดท้อง ทำเดินผิดปกติ เจ็บหน้าอกและหายใจลำบาก กล้ามเนื้อบริเวณหน้าจะกระตุก
มือและส่วนอื่นๆ ของร่างกายต้น ปอดมีเสียงกรอบแกรบ (crepitation) อาการต่างๆ จะหายภายใน
1-2 สัปดาห์

3. ความเป็นพิษระดับสูง ระดับเอนไซม์โกลูตาไมนเอสเทอเรสลดลงร้อยละ 90-100 มีอาการ
ดังนี้

การต้นของกล้ามเนื้อจะเพิ่มมากขึ้น เกิดการชัก มีความผิดปกติทางด้านจิตใจ มีอาการตัว
เขียวและเกิด pulmonary edema หรือหดร่ง ผู้ป่วยหลายรายถึงแก่กรรมจากระบบการหายใจหรือ
หัวใจล้มเหลว

การสลายตัวของสารกำจัดศัตรูพืชในสภาวะแวดล้อม

ความเป็นพิษของสาร ในกลุ่มนี้ขึ้นอยู่กับตัวแปรหรือปัจจัยหลายอย่าง สารกำจัดศัตรูพืชที่
ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปให้มีความแตกต่างไปจากเดิม (transformation) การ
เปลี่ยนแปลงรูปโดยทั่วไปมีผลก่อให้เกิดการทำลายความเป็นพิษ (detoxification) ของสารกำจัด
ศัตรูพืช แสงอุตราไวโอเลต ความร้อน ความเค็ม ภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีผลต่อความเป็น
พิษของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟต จากการศึกษาของ Badawy และ El-Dib (1984) ที่
เปรียบเทียบการสลายตัวของเมทิลพาราไรออนโดยพิจารณาจากค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) พบว่าที่อุณหภูมิ
สูงๆ การสลายตัวจะเกิดขึ้นได้เร็วกว่าที่อุณหภูมิต่ำๆ (ตารางที่ 2) เช่นเดียวกันกับที่ค่า pH สูงๆ
อัตราการสลายตัวจะเกิดได้มากกว่าที่ pH ต่ำ เพราะเมทิลพาราไรออนค่อนข้างจะมีความคงตัวใน
สภาวะที่เป็นกรดและเป็นกลางมากกว่าสภาวะที่เป็นด่าง และที่ pH เดียวกันเมทิลพาราไรออนที่
ปนเปื้อนในน้ำจืดจะมีอัตราการสลายตัวที่เร็วกว่าในน้ำกร่อยและน้ำทะเล ดังแสดงในตารางที่ 3

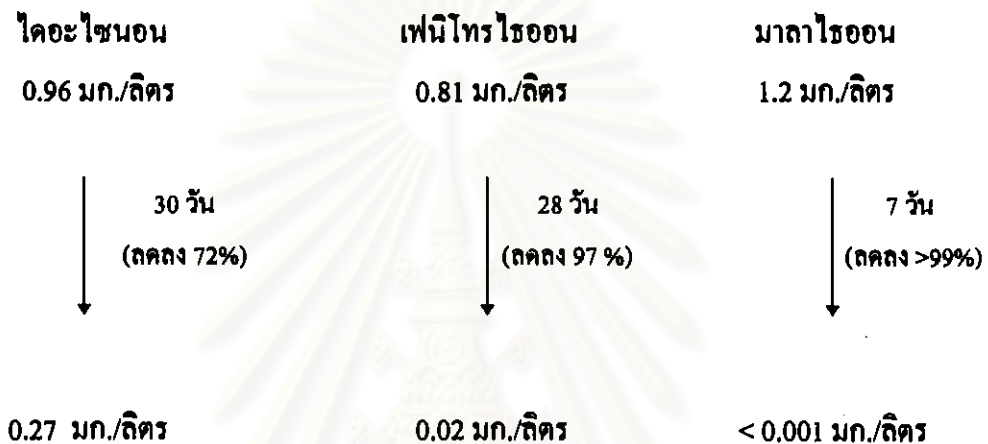
ตารางที่ 2 แสดงอัตราการตายตัวของเมททีดพาราไรซอนในน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ (ดัดแปลงมาจากผลการทดลองของ Badawy และ El-Dib, 1984)

อุณหภูมิ (°C)	ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	ค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) (ชั่วโมง)
20	11	6.0
30	11	3.3
40	11	1.5

ตารางที่ 3 แสดงค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของเมททีดพาราไรซอนในน้ำที่สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่างๆ (ดัดแปลงมาจากผลการทดลองของ Badawy และ El-Dib, 1984)

ตัวอย่างน้ำ	ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	ค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) (วัน)
น้ำทะเล	5.0	301.3
น้ำกร่อย	5.0	277.0
น้ำจืด	5.0	154.0
น้ำทะเล	7.0	231.0
น้ำกร่อย	7.0	184.8
น้ำจืด	7.0	135.8
น้ำทะเล	8.5	38.5
น้ำกร่อย	8.5	23.1
น้ำจืด	8.5	15.7

นอกจากการสลายตัวที่มีผลมาจากปัจจัยต่างๆ แล้ว สารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มนี้แต่ละตัวก็ ยังมีความคงตัวที่แตกต่างกันออกไป ดังจะเห็นได้จากการทดลองของ Kanazawa (1975) ที่ได้ทำ การศึกษาความคงตัวของสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออกาโนฟอสเฟตในน้ำที่มีอุณหภูมิ 23 ± 2 °ซ , มีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) เท่ากับ 30-38 มก./ลิตร และมี pH เท่ากับ 6.4-6.8 สาร กำจัดศัตรูพืชที่ใช้คือ ไดอะซินอน (diazinon) เฟนิโทรไธออน (fenitrothion) และมาลาไธออน (malathion) ผลที่ได้พอที่จะสรุปเป็นไดอะแกรมได้ดังนี้



ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารกำจัดศัตรูพืชแต่ละตัวจะมีความคงตัวที่แตกต่างกันออกไป แม้ จะอยู่ในสภาวะแวดล้อมเดียวกัน

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟต

การประเมินความเป็นพิษของสารในกลุ่มนี้ สามารถทำการวัดหาปริมาณของสารพิษได้ โดยตรงจากเลือดและเนื้อเยื่อต่างๆ แต่ต้องอาศัยกระบวนการที่ยุ่งยาก ซับซ้อนและเสียเวลามาก อีกทั้งสารเคมีในกลุ่มนี้ยังมีการสลายตัวที่รวดเร็ว อาจทำให้การประเมินผลมีความผิดพลาดได้ (Weiss, 1961) จากข้อมูลที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้นว่ามีหลายปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของสารกำจัดศัตรู พืชในกลุ่มออกาโนฟอสเฟต เช่นเดียวกับการศึกษาของ ภัทธา หาญจริยาภูล (2536) ที่ได้ทำการ ตรวจวัดหา ปริมาณเมทิลพาราไรออนที่เหลืออยู่ในน้ำเมื่อเวลาผ่านไป โดยใช้วิธี gas chromatography จากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าปริมาณเมทิลพาราไรออนจะลดลงอย่างรวดเร็ว โดยเมทิลพาราไรออนในความเข้มข้นต่ำจะมีอัตราการสลายตัวได้เร็วกว่าเมทิลพาราไรออนที่มี ความเข้มข้นสูง นอกจากนั้นสมรรถนะของเอนไซม์โกลีนิเอสเทอเรสในสมองปลากะพงขาวที่ถูก ับยั้งยังคงแสดงให้เห็นอยู่ แม้ว่าปริมาณเมทิลพาราไรออนจะลดลงจนเหลือเพียง 2.79-4.80 %

หลังจากผ่านไปแล้ว 4 วัน ดังนั้นการวัดสมรรถนะของเอนไซม์โกลิโนเอสเทอร์จึงน่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมกว่าการวัดหาปริมาณสารพิษโดยตรง เนื่องจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟตมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โกลิโนเอสเทอร์ได้อย่างถาวร

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณเมทิลพาราไรออนที่เหลือน้ำเปรียบเทียบกับสมรรถนะของเอนไซม์โกลิโนเอสเทอร์ของปลาที่ถูกยับยั้งที่เวลาต่างๆ โดยคิดเป็นร้อยละ (%) ของความเข้มข้นที่วัดครั้งแรก (ภัทรา หาญจริยาภรณ์, 2536)

ความเข้มข้นของเมทิลพาราไรออนที่ใส่ลงในน้ำ (มก./ลิตร)	ความเข้มข้นของเมทิลพาราไรออนที่ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป (%) (วัน)				
	0	1	2	3	4
0.05	100 (14.04)	32.00 (36.44)	10.00 (37.08)	5.40 (37.59)	4.80 (31.34)
0.1	100 (16.24)	25.30 (36.64)	10.84 (37.11)	6.02 (37.97)	4.22 (33.54)
0.2	100 (22.09)	19.84 (43.81)	7.43 (41.06)	3.99 (45.68)	2.79 (39.36)

หมายเหตุ

ตัวเลขในวงเล็บคือ สมรรถนะของเอนไซม์โกลิโนเอสเทอร์ในสมองปลากระพงขาว

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โกลิโนเอสเทอร์คือ $\mu\text{moles of substrate hydrolyzed}/\text{min}/\text{g of tissue}$

ด้วยเหตุผลที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น มีงานวิจัยจำนวนมากที่นำการหาสมรรถนะเอนไซม์โกลิโนเอสเทอร์มาเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความเป็นพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟตรวมทั้งในสัตว์น้ำด้วยได้มีการใช้สมรรถนะของเอนไซม์โกลิโนเอสเทอร์ในสมองปลาเป็นตัวบ่งชี้ถึงความเป็นพิษของสารในกลุ่มนี้ที่ปนเปื้อนอยู่ในสถานะแวดล้อม (Coppage and Matthews, 1975) นอกจากนี้สมรรถนะของเอนไซม์ในสมองแล้ว การวัดสมรรถนะของเอนไซม์นี้ในเลือดและกล้ามเนื้อก็เป็นที่ยอมรับว่า สามารถที่จะใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเกิดพิษจากสารกลุ่มออกาโนฟอสเฟตได้เช่นเดียวกัน (Darlington, Partos and Fatts, 1971)

ผลกระทบของเมทิลดีทราไรออนต่อสัตว์น้ำ

สารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออกาโนฟอสเฟตมี ความเป็นพิษต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำหลาย ประการ ถ้าได้รับในปริมาณน้อยๆ และในระยะเวลาอันสั้น อาจสังเกตไม่พบความผิดปกติจากภายนอก แต่เมื่อได้รับในปริมาณที่มากขึ้น และระยะเวลาที่สัมผัสกับสารยาวนานขึ้น ก็มีผลทำให้เกิด การเปลี่ยนแปลงทั้งทางพฤติกรรม ทางสรีรวิทยา และผลต่อระบบต่างๆ ของร่างกายได้ เช่น ระบบ เลือด ระบบหายใจ ระบบสืบพันธุ์ นอกจากนี้ยังอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมได้ อีกด้วย จากรายงานการศึกษาความเป็นพิษจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟต มีการ ศึกษากันมาก ทั้งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แมลง สัตว์น้ำ รวมทั้งปลาด้วย ซึ่งความแตกต่างกันของ ระดับความเป็นพิษจะขึ้นอยู่กับ ชนิด อายุ ความไวของสัตว์แต่ละชนิด ความเข้มข้นของสารพิษและ ระยะเวลาที่สัมผัสกับสาร เช่นเดียวกับปลาที่การยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์โกลีเทินเอสเทอเรสจากสาร กำจัดศัตรูพืชกลุ่มนี้ก็ขึ้นอยู่กับ ชนิดของปลา คุณสมบัติทางเคมีของสารกำจัดศัตรูพืชนั้นๆ ความ เข้มข้นของสารและระยะเวลาที่ปลาสัมผัสกับสาร จากรายงานถึงความความเป็นพิษของเมทิลดีทราไรออนที่ผ่านมา ต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในน้ำ ได้สรุปไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงค่า LC₅₀ ของเมทิลดีทราไรออนต่อสัตว์น้ำชนิดต่างๆ

ชนิดของสัตว์	ค่า LC ₅₀ (มก./ลิตร) ที่ระยะเวลา (ชั่วโมง)			เอกสารอ้างอิง (reference)
	24	48	96	
กุ้งตะกาด (<i>Metapenaeus monoceros</i>)	-	1.2	-	Reddy and Rao, 1989
ปลา rainbow trout	-	-	2.8	Palawski, Bucker and Mayer, 1983
ปลา fathead minnow	13.0	9.8	9.5	Pickering, Handerson and Lemke, 1962
ปลา bluegill sunfish	9.8	8.6	2.4	Pickering, Handerson and Lemke, 1962
ปลา goldfish	14.0	12.0	12.0	Pickering, Handerson and Lemke, 1962
ปลา Guppies	11.0	9.8	9.8	Pickering, Handerson and Lemke, 1962
ปลา <i>tilapia mossambica</i> (Peters)	-	0.266	-	Rao, Sahib and Rao, 1985
ปลาดุกพันธุ์ผสม (Crossbreed catfish)	-	-	38	วรา พานิชเกรียงไกร และคณะ, 2536
ปลากระพงขาว (<i>Lates calcarifer</i>)	-	-	1.48	ภัทรา หาญจริยาอุถ, 2536

พิษของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟตมีความสัมพันธ์ต่อสมรรถนะของเอนไซม์ ไนทีนเอสเทอเรส พบว่าระดับเอนไซม์ที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับระดับความเป็นพิษที่เกิดขึ้น แต่ ความรุนแรงของการทำให้สมรรถนะของเอนไซม์ไนทีนเอสเทอเรสลดลงมีความแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น จากการศึกษาของ Salte และคณะ (1987) ได้ทำการทดลองโดยให้ Neguvon[®] vet (Trichlorfon + dichlorvos) แก่ปลา Atlantic salmon ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้ในการรักษาหมักหรือโร่น้ำในปลา พบว่าปลาในกลุ่มที่ตายมีสมรรถนะ เอนไซม์ไนทีนเอสเทอเรสเพียงร้อยละ 4 ส่วนในปลากลุ่มที่รอดชีวิตมีสมรรถนะเหลือร้อยละ 30 เมื่อ เทียบกับปลากลุ่มควบคุม สำหรับในปลาคูกพันธุ์ผสม (Crossbreed catfish) ที่ได้รับเมทิลพาราไรออน 10 มก./ลิตร ซึ่งเป็นขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตาย นาน 24 ชั่วโมง พบว่าสมรรถนะเอนไซม์ ไนทีนเอสเทอเรสในซั้มถูกยับยั้งคิดเป็นร้อยละ 73.60 และเมื่อได้รับนาน 96 ชั่วโมง สมรรถนะ ของเอนไซม์ลดลงเหลือเพียงร้อยละ 8.06 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ไม่พบว่ามิปลาตาย (วรา พานิชเกรียงไกร และคณะ, 2536) จากการศึกษาของ กัทธา หาญจริยาฎ (2536) โดยให้ปลากระพง ขาวได้รับเมทิลพาราไรออนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ได้รายงานผลว่า สมรรถนะของเอนไซม์ ไนทีนเอสเทอเรสในสมองและในกล้ามเนื้อที่ถูกยับยั้งจะเพิ่มตามขนาดความเข้มข้นที่สูงขึ้น โดยที่ ความเข้มข้น 2.0, 2.25 และ 2.5 มก./ลิตร ปลาที่ยังมีชีวิตอยู่มีสมรรถนะของเอนไซม์ไนทีนเอสเทอเรส และ กล้ามเนื้อที่ถูกยับยั้งคิดเป็นร้อยละ 90.84, 93.63, 95.83 และ 92.02, 94.71, 96.74 ส่วนปลาที่ตาย ในช่วง 6 ชั่วโมงแรก มีสมรรถนะของเอนไซม์เหลือเพียงร้อยละ 4.64, 3.39, 2.61 และ 1.48, 1.32, 1.16 ตามลำดับ แต่จากการศึกษาของ Weiss (1961) สมรรถนะของเอนไซม์ไนทีนเอสเทอเรสในปลาที่ตายอาจจะถูก ยับยั้งน้อยกว่าปลาที่มีชีวิตอยู่ก็ได้ โดยการศึกษาทำโดยให้ปลา largemouth bass และ fathead minnow สัมผัสกับสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออกาโนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 0.5 มก./ลิตร ที่เวลา ต่างๆ ซึ่งเป็นเวลาที่ปลาตายประมาณร้อยละ 50 (LT₅₀) แล้วทำการวัดสมรรถนะของเอนไซม์ไนทีน เอสเทอเรสของปลาที่รอดชีวิตกับปลาที่ตาย ดังแสดงผลที่ได้ในตารางที่ 6

นอกจากผลในการยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์ไนทีนเอสเทอเรสแล้ว เมทิลพาราไรออนยังมีผลทำให้เอนไซม์ที่ใช้ในการหายใจ (respiratory enzymes) ในตับลดลง นอกจากนั้นยังมีผลต่อ สมอง กล้ามเนื้อ และเหงือกของ teleost (*Tilapia mossambica*) อีกด้วย (Rao, Sahib and Rao, 1985) โดยผลดังกล่าวสามารถที่จะแยกออกเป็นระบบได้ดังนี้

1. ผลต่อตับ เมทิลพาราไรออนมีผลทำให้ระดับเอนไซม์ succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase และ cytochrome c oxidase ในตับลดลง จากการที่เมทิลพาราไรออนไป กระทบการเกิด oxidative metabolism ที่ mitochondria

2. ผลต่อสมอง มีผลไปรบกวนศูนย์ควบคุมการหายใจในสมอง ทำให้การผ่านเข้าออก ของออกซิเจนสู่เนื้อเยื่อสมองลดลง ทำให้สมองเกิดการขาดออกซิเจน ที่เรียกว่า ภาวะ asphyxia

3. ผลต่อเหงือก เมททิลพาราไรออนไปมีผลทำให้อัตราการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้นใน 12 ชั่วโมงแรก ต่อมาจะค่อยๆ ลดลงเนื่องจากการหายใจในปลาส่วนใหญ่จะอาศัยเหงือกที่ถือว่าเป็นอวัยวะแรกที่เป็นทางผ่านของสารพิษ เมื่อเวลาผ่านไปการสะสมของสารพิษก็เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ อัตราการใช้ออกซิเจนก็ลดลงหรืออาจจะเกิดจากการสร้าง coagulation film ที่เหงือก ผลที่เกิดตามมาคือ การดูดซึมออกซิเจนลดลง

4. ผลต่อกล้ามเนื้อ ทำให้มีการใช้ออกซิเจนของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นจากการที่เมททิลพาราไรออนไปทำให้พฤติกรรมของปลาเปลี่ยนแปลงไป มีอาการกระสับกระส่าย ว่ายน้ำไปมา

ตารางที่ 6 แสดงค่าร้อยละของสมรรถนะเอนไซม์โกลินเอสเทอเรส เมื่อเทียบกับค่าปกติของปลา largemouth bass และ fathead minnow เมื่อได้รับสารกำจัดศัตรูพืชที่ความเข้มข้น 0.5 มก./ลิตร ที่เวลาต่างๆ (ดัดแปลงมาจากผลการทดลองของ Weiss, 1961)

ชนิดของสารกำจัดศัตรูพืช	สมรรถนะเอนไซม์โกลินเอสเทอเรส (%)					
	Largemouth bass			Fathead minnow		
	เวลา	ปลาที่รอดชีวิต	ปลาที่ตาย	เวลา	ปลาที่รอดชีวิต	ปลาที่ตาย
กูไธออน(guthion)	40 นาที *	5.4	3.8	40 นาที *	51.5	44.9
ไดอะไซนอน (diazinon)	1 ชั่วโมง *	17.5	28.1	1 ชั่วโมง 20 นาที *	29.1	38.2
มาลาไรออน (malathion)	2 ชั่วโมง 40 นาที *	23.9	17.1	24 ชั่วโมง	70.8	69.7
พาราไรออน (parathion)	24 ชั่วโมง *	24.3	23.5	24 ชั่วโมง	81.5	66.3

หมายเหตุ * หมายถึง เวลาที่ทำให้ปลาตายไปร้อยละ 50 จากจำนวนทั้งหมด

สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟตนี้ ยังไปทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้ออย่างรุนแรงโดยเฉพาะบริเวณกลางลำตัวของปลา channel catfish ที่สัมผัสกับมาลาไรออน ทำให้เกิดการบิดรูปของกระดูกสันหลัง (Areechon and Plumb, 1990) เช่นเดียวกับที่พบในปลา Motsugo ที่สัมผัสกับไดอะไซนอน (diazinon) นาน 2 สัปดาห์ พบว่ามีถึงร้อยละ 40 ที่มี spinal curbature ของกระดูก

ต้นหลังอย่างถาวรและอาการเช่นเดียวกันนี้ ยังพบในกลุ่มที่ได้รับเฟนิโทโรธอน (fenitrothion) ด้วย แต่พบเพียงร้อยละ 10 (Kanazawa, 1975) พิษของมาลาโรธอน ยังทำให้ lamellar epithelium ของเหงือกและตับของ channel catfish เกิดเนื้อตายด้วย ทำให้ตับมีลักษณะฟอง (foamy) จากการสะสมของเศษเซลล์ที่ตายแล้ว ซึ่งพบได้เร็วที่สุดหลังจากสัมผัสเพียง 12 ชั่วโมง (Areechon and Plumb, 1990) เช่นเดียวกับการศึกษาของ ภัทรา หาญจริยาภูล (2536) ที่รายงานว่า ปลากระพงขาวกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราโรธอนในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตาย นาน 24 ชั่วโมง พบมี vacuolation และการตายของเซลล์ตับเกิดขึ้น ส่วนที่เซลล์เหงือกเริ่มมีการบวมและหลุดลอกของ lamellar สำหรับกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราโรธอนในขนาด 2.25 และ 2.5 มก./ลิตร นาน 96 ชั่วโมง มีการตายของเซลล์ตับ กล้ามเนื้อ และเหงือกมากจนไม่สามารถทำงานได้ โดยในเซลล์ตับมี vacuolation เกิดขึ้นทั่วทั้งเซลล์ตับ ในขณะที่เซลล์เหงือกมีการหลุดของ filament จนเห็นแต่แกน chondroblast เท่านั้น

จากคุณสมบัติที่สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออกาโนฟอสเฟตละลายได้ดีในไขมัน เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจึงสามารถที่จะแพร่กระจายไปที่อวัยวะต่างๆ ได้ ซึ่งอาจไปมีผลทำให้การยับยั้งสมรรถนะของเอนไซม์ที่อวัยวะต่างๆ มีความแตกต่างกันออกไป ดังจะเห็นได้จากการศึกษาของ Sahib และ Rao (1980) ที่ทำการศึกษาโดยให้ปลา *Tilapia mossambica* สัมผัสกับมาลาโรธอนในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตาย 2 มก./ลิตร นาน 48 ชั่วโมง พบว่ามาลาโรธอนมีผลในการยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์ที่อวัยวะต่างๆ แตกต่างกันไป โดยที่สมองจะมีความไวมากที่สุด (47.8%) รองลงมาคือกล้ามเนื้อ (45.9%) เหงือก (39.1%) และตับ (35.4%) ตามลำดับ นอกจากนี้ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่กระจาย (coefficient of distribution) ของสารกลุ่มนี้ในอวัยวะต่างๆยังมีความแตกต่างกัน จากการศึกษโดยให้หนูขาวได้รับเมททิลพาราโรธอนและไดอะไซนอนในขนาด $1/3$ ของ LD_{50} นาน 4, 8, 12, 16 และ 20 วัน ผลที่ได้พบว่า เมททิลพาราโรธอนและไดอะไซนอนเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมและแพร่กระจายไปยังอวัยวะต่างๆ แตกต่างกัน โดยที่เวลาเดียวกัน เมททิลพาราโรธอนจะแพร่กระจายและสะสมอยู่ในเลือดมากกว่า adipose tissue, สมองและตับ ส่วนไดอะไซนอนจะสะสมที่ adipose tissue มากกว่า กล้ามเนื้อ สมองและตับ ตามลำดับ (Garcia-Repetto, Martinez and Repetto, 1995) การสะสมของสารกำจัดศัตรูพืชในสัตว์น้ำโดยทั่วไปจะมีอัตราการสะสมสูงกว่าในสัตว์บก เพราะสัตว์น้ำสามารถรับสารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำได้โดยตรง นอกจากนั้นสัตว์น้ำยังได้รับสารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในสิ่งมีชีวิตที่เป็นอาหารอีกด้วย โดยการสะสมของสารกำจัดศัตรูพืชที่อวัยวะใดนั้นจะถูกกำหนดโดยปัจจัยที่สำคัญไม่เพียงแต่อัตราการรับสารกำจัดศัตรูพืชเข้าสู่ร่างกาย (rate of uptake) เท่านั้น ยังถูกกำหนดโดยอัตราการขับสารกำจัดศัตรูพืชออกจากร่างกาย (rate of elimination) ด้วย (สุวรรณ กิตติชัยเกษม, 2528)

ความรุนแรงของการลดค่าลงของเอนไซม์โกลบินเอสเทอร์และความเร็วของการกลับสู่ระดับปกติ (recovery) จะขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของสารพิษที่สัตว์ได้รับเข้าไปในร่างกาย เช่น ในปลาที่สัมผัสกับ เดลตาฟ (delnav) ที่ความเข้มข้นเดียวกัน หลังจากนำไปปล่อยในน้ำที่สะอาด ปลาทองจะฟื้นตัวใน 2-3 สัปดาห์ ส่วน bluegill sunfish จะใช้เวลา 3-4 สัปดาห์ จึงจะสร้างเอนไซม์กลับมาอยู่ในระดับปกติได้ และในปลาชนิดเดียวกัน ถ้าได้รับสารต่างชนิดกันการกลับสู่ระดับปกติ ก็จะใช้เวลาไม่เท่ากัน เช่น ใน bluegill sunfish ที่ได้รับพาราไรออน 0.1 มก./ลิตร ใช้เวลาทั้งหมด 60 วัน และใช้เวลาประมาณ 10 วันสำหรับ DDVP 0.1 มก./ลิตร ในการที่จะสร้างเอนไซม์ให้กลับมาอยู่ในระดับปกติ (Weiss, 1961)

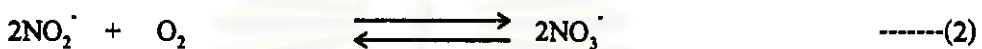
ไนเตรทและไนไตรท์ (Nitrate and Nitrite)

ไนเตรทและไนไตรท์ ได้ถูกนำมาใช้เป็นสารกันเสียที่ใส่ในเนื้อสัตว์มาเป็นเวลานาน เพื่อระงับการเจริญเติบโตและการเกิดทอกซินจาก *Clostridium botulinum* โดยใช้ในรูปของเกลือโปแตสเซียมไนเตรท (ดินประสิว) โซเดียมไนเตรท โปแตสเซียมไนไตรท์ โซเดียมไนไตรท์อาหารประเภทเนื้อสัตว์ ที่พบไนเตรทและไนไตรท์ได้แก่ หมูเบคอน ไส้กรอก แฮม กุนเชียง แหนม กะปิ ปลาเค็ม ปลาร้า เป็นต้น ยังสามารถพบไนเตรทและไนไตรท์ได้ตามธรรมชาติ โดยไนโตรเจนในบรรยากาศสามารถที่จะเข้าสู่แหล่งน้ำได้โดยตรงและถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปสารประกอบไนโตรเจนหลายรูป เช่น แอมโมเนีย ไนเตรท และ ไนไตรท์ ในระบบนิเวศน์สารประกอบไนโตรเจนจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปต่างๆ ได้หลายรูป กระบวนการเหล่านี้เกิดขึ้นได้ทั้งที่อาศัยและไม่ต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตเป็นผู้ดำเนินการ ปฏิกิริยาที่อาศัย สิ่งมีชีวิตเป็นผู้ดำเนินการได้แก่ การรับเข้าไว้ทางชีวภาพ (biological assimilation) การย่อยสลาย (decomposition) ซึ่งเกิดเป็นวงจร นอกจากนี้ไนโตรเจนอาจถูกทำให้ออกไปจากระบบได้โดยกระบวนการทางชีวภาพ (denitrification) ซึ่งจะสลายไนเตรทเป็นไนโตรเจนหรือไนตรัสออกไซด์ (N_2O) เข้าสู่บรรยากาศหรือมีการหมุนเวียนตามวัฏจักรไนโตรเจนต่อไป (รูปที่ 4)

สารประกอบไนโตรเจนจะถูกออกซิไดส์ได้สารประกอบที่มีแอมโมเนียเป็นส่วนใหญ่ นอกจากแอมโมเนียจะมีความเป็นพิษโดยตรงต่อสิ่งมีชีวิตแล้ว ยังถูกออกซิไดส์ได้ง่ายให้กลายเป็นไนไตรท์ที่มีความเป็นพิษสูงต่อสัตว์น้ำเช่นกัน โดยแอมโมเนียในแหล่งน้ำมีต้นกำเนิดมาจากสองแหล่งด้วยกัน คือ แอมโมเนียที่เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ไม่ว่าจะเป็นการทิ้งน้ำโสโครกจากบ้านเรือน และจากโรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับแอมโมเนีย การเกษตรกรรม หรืออาจจะมาจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ ผลขั้นสุดท้ายที่สำคัญของกระบวนการเผาผลาญ

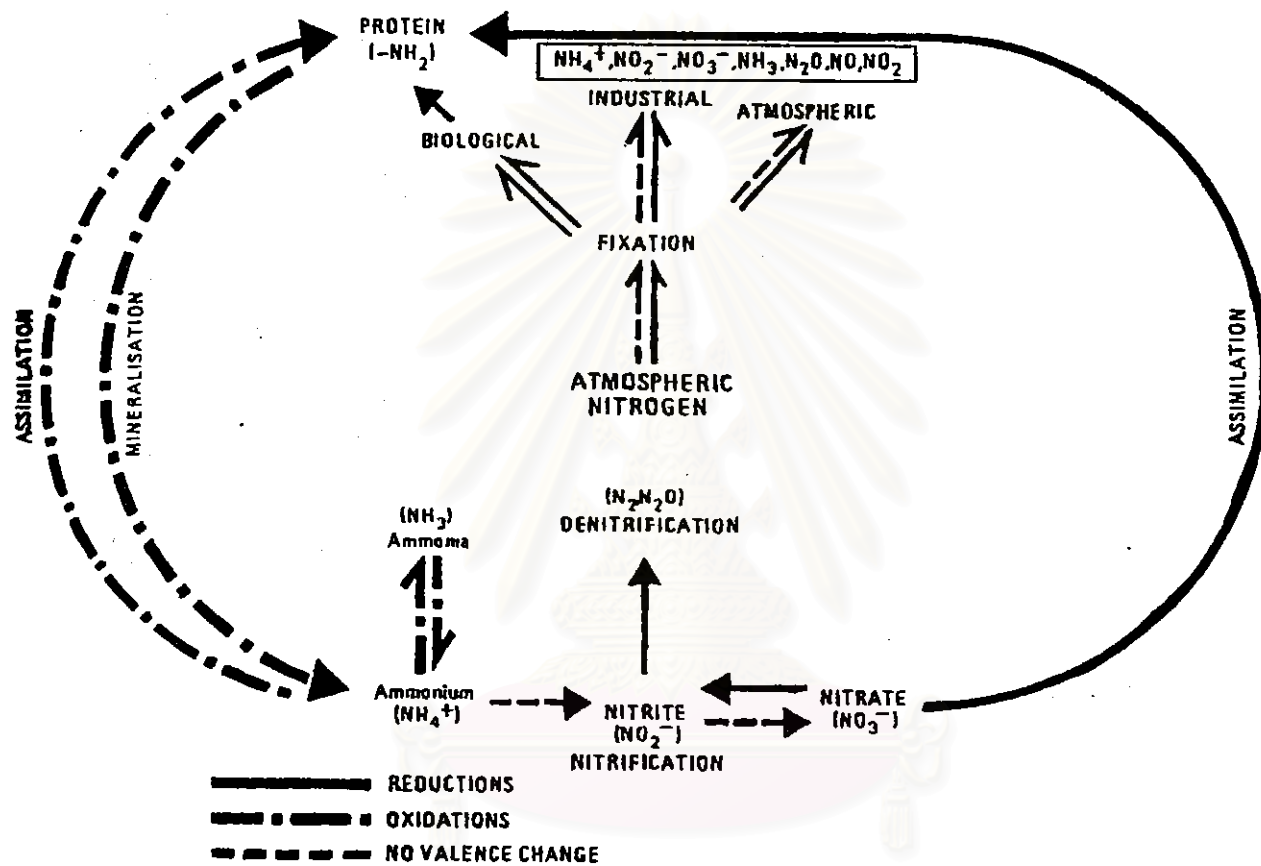
ของโปรตีนคือ แอมโมเนีย (Campbell, 1973; Rychly and Marina, 1977) โดยที่การกำจัดสารนี้ออกจากร่างกายอาจอยู่ในรูปของแอมโมเนียโดยตรง ในรูปกรดยูริกหรือยูเรียขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์

ในสภาพแวดล้อม แอมโมเนียสามารถที่จะเปลี่ยนเป็นไนเตรทและไนไตรท์ได้ออกได้ โดยกระบวนการ biological oxidation เรียกกระบวนการดังกล่าวนี้ว่า กระบวนการไนตริฟิเคชัน (nitrification) ซึ่งประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ (รัชนี และ สมดุลย์, 2527)



ปฏิกิริยาทั้งสองนี้อาศัยจุลินทรีย์ที่ต่างกัน โดยแบคทีเรียในสกุล *Nitrosomonas* จะสามารถใช้แอมโมเนียแล้วเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ออกมา อย่างไรก็ตามไนไตรท์อาจจะสร้างขึ้นได้จากปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) ของไนเตรท ไนไตรท์จะถูกย่อยสลายอีกขั้นหนึ่งโดยการเติมออกซิเจน ซึ่งไนไตรท์จะถูกเปลี่ยนเป็นไนเตรท แบคทีเรียที่ย่อยสลายไนไตรท์ในขั้นตอนนี้ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Nitrobacter* เมื่อใดก็ตามที่มีแอมโมเนียในปริมาณมากๆ จะทำให้แอมโมเนียเหลือตกค้างในน้ำมากขึ้นและทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาณไนไตรท์ตามมา ถ้าประกอบกับสภาวะขาดออกซิเจนด้วยแล้ว จะเกิดปฏิกิริยาคืนกลับจากไนเตรทเป็นไนไตรท์ ทำให้ปริมาณไนไตรท์เพิ่มขึ้นได้อีกทางหนึ่ง (Armstrong et al., 1976)

ไนไตรท์ (NO_2^-) เป็นแอนไอออน (anion) ที่พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็มจัดเป็น intermediate compound ที่ถูกสร้างขึ้นระหว่างกระบวนการ nitrification ของแอมโมเนียและไนเตรท (Russo, Thurston and Emerson, 1981; Huey, Beitinger and Wooton, 1984) การใช้ปุ๋ยทางการเกษตรนับว่าเป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งส่งผลทำให้เกิดการปนเปื้อนของไนเตรทในแหล่งน้ำ นอกเหนือจากปัจจัยต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น บริเวณที่มีการเพาะปลูกและใส่ปุ๋ยจะมีเกลือไนเตรทในปริมาณมากโดยพืชจะสามารถใช้ไนเตรทในดินได้บางส่วน บางส่วนจะถูกชะล้างไหลลงสู่แหล่งน้ำ ในขณะที่บางส่วนเกิด denitrification ซึ่งเป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่สลายไนเตรทเป็นไนโตรเจนและไนตรัสออกไซด์แล้วเข้าสู่บรรยากาศ นอกจากนี้ยังมีพืชบางชนิดที่พบว่ามีปริมาณของเกลือไนเตรทสูง เช่น หัวแครอท ผักขม กระบี่ หัวผักกาด ผักกระหล่ำ



รูปที่ 4 แสดงวัฏจักรไนโตรเจน (รัชนิ และ สมดุจย์, 2527)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิษของไนไตรท์ต่อปลา

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ไนไตรท์เป็นสารประกอบไนโตรเจนอีกชนิดหนึ่งที่มีความเป็นพิษสูงต่อสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์น้ำที่มีกระดูกสันหลัง (Russo et al., 1974) ความเป็นพิษของไนไตรท์นั้น ทำให้เกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินนิเมีย (methemoglobinemia) ซึ่งเป็นสภาวะที่ฮีโมโกลบิน(Hb) ไม่สามารถรวมกับออกซิเจนได้ เกิดจากมีการออกซิเดชัน (oxidation) ของ Fe^{2+} (ferrous form) ของฮีโมโกลบินปกติตรงตำแหน่งที่ 6 ซึ่งเป็นตำแหน่งที่จะจับกับออกซิเจนไปเป็น Fe^{3+} (ferric form) ทำให้ไม่สามารถจับกับออกซิเจน ความสามารถในการนำส่งออกซิเจนของเลือดไปยังเนื้อเยื่อต่างๆลดลง ถ้ามีเมทฮีโมโกลบินในปริมาณสูงจะทำให้เกิดการขาดออกซิเจนขึ้นได้ (Tomasso et al., 1979; Huey et al., 1980) เช่นเดียวกับสัตว์ชั้นสูงชนิดอื่นที่จะสังเกตได้ว่าเลือดจะมีสีน้ำตาล (Smith and Russo, 1975) โดยปกติฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงมีหน้าที่นำออกซิเจนให้กับเซลล์โดยที่ ออกซิเจนจะรวมตัวกับฮีโมโกลบินกลายเป็นออกซีฮีโมโกลบิน (oxyhemoglobin) ซึ่งเป็นการรวมในแบบที่ออกซิเจนสามารถที่จะแยกออกจากฮีโมโกลบินได้ง่าย เพื่อผลในการนำส่งออกซิเจน อย่างไรก็ตาม การเกิดเมทฮีโมโกลบินอ่อนๆในปลา สามารถเกิดขึ้นได้เองในสภาวะที่ไม่มีไนไตรท์ ดังจะเห็นได้จากการศึกษาของ Brown และ McLeay (1975) ที่ตรวจพบเมทฮีโมโกลบินร้อยละ 0.9 ในปลา rainbow trout กลุ่มควบคุม และพบปริมาณเมทฮีโมโกลบินถึงร้อยละ 3.6 ในปลา rainbow trout ที่เลี้ยงในน้ำที่มีไนไตรท์เพียง 0.004 มก./ลิตร (Smith and Russo, 1975) และ Cameron (1971) พบเมทฮีโมโกลบินถึงร้อยละ 10.9 และ 11.6 ในปลา pink salmon ก่อนวางไข่และหลังวางไข่ตามลำดับ ทั้งๆ ที่ตรวจไม่พบไนไตรท์ โดยปกติจะไม่พบว่าปลาแสดงอาการเป็นพิษจากปริมาณเมทฮีโมโกลบินอ่อนๆ ตามที่ตรวจพบ โดยเหตุที่ปลาก็มีระบบที่สามารถเปลี่ยนเมทฮีโมโกลบินกลับเป็นฮีโมโกลบินได้คล้ายกับที่พบในคน โดยอาศัย erythrocyte methemoglobin reductase system แต่วิวัฒนาการในระบบนี้อาจยังไม่สมบูรณ์เท่ากับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จึงทำให้ตรวจพบเมทฮีโมโกลบินได้ในปริมาณสูงถึงร้อยละ 10.9 และ 11.6 ในปลา pink salmon ในกลุ่มที่ไม่ได้รับไนไตรท์ (Cameron, 1971) Huey และ Beitinger (1982) ได้รายงานเป็นครั้งแรกว่า ปลาตุ๊ก (channel catfish) มี methemoglobin reductase system เช่นกัน จากการศึกษาในเวลาต่อมา ก็พบว่า ปลาหลายชนิดมี erythrocyte ที่สามารถแสดง NADH-methemoglobin reductase activity (NADH-cytochrome b5 reductase) ได้ เช่น ปลา large-mouth bass (*Micropterus salmoides*), ปลา carp (*Cyprinus carpio*) และ blue catfish (*Ictalurus fuscus*) (Freeman, 1983)

จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมา มีหลายงานวิจัยที่เชื่อว่ากลไกความเป็นพิษลำดับแรก (primary toxic mechanism) ของไนไตรท์ ต่อปลา คือผลที่ทำให้เกิดการขาดออกซิเจน จากภาวะเมท-

อีโมโกทบินนีเมีย (Tomasso et al., 1979; Huey et al., 1980) ดังจะเห็นได้จากปลาตุก (channel catfish) ที่มีปริมาณเมทอีโมโกทบินสูงถึงร้อยละ 90 ก็ยังสามารถที่จะมีชีวิตอยู่ได้ถ้าไม่ถูกรบกวน ให้มีความต้องการใช้ออกซิเจนเพิ่มมากขึ้น แต่ปลาจะตายภายในไม่กี่นาทีถ้าถูกกระตุ้นให้มีการเคลื่อนไหว โดยจะแสดงอาการที่บ่งบอกถึงสภาวะการขาดออกซิเจน เช่น การว่ายน้ำขึ้นมาสูบอากาศที่ผิวน้ำ แสดงอาการกระต๊ပ်กระต๋าย ว่ายน้ำไปมา (Huey et al., 1980) ซึ่งสอดคล้องกับ Perrone และ Meade (1977) ที่ได้แสดงความคิดเห็นว่า ความแตกต่างกันของพฤติกรรมและสภาพทางสรีรวิทยาของปลา อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความแตกต่างกันของปลา ในการที่จะปรับตัวด้านการเพิ่มขึ้นของระดับเมทอีโมโกทบินในร่างกาย ปลาที่มีการเคลื่อนไหวมากจะทำให้มีความต้องการใช้ออกซิเจนเพิ่มมากขึ้นด้วย ขณะที่ปลาที่มีการปรับตัวที่ดีจะสามารถใช้พลังงานที่เก็บสะสมไว้ในรูปไกลโคเจน (glycogen) ที่ตับได้ แต่ก็มีอีกหลายท่านที่มีความเห็นขัดแย้งกันว่า ภาวะเมทอีโมโกทบินนีเมียไม่ได้เป็นกลไกความเป็นพิษลำดับแรก (primary toxic mechanism) ของไนโตรท์ (Smith and Williams, 1974; Brown and McLeay, 1975; Crawford and Allen, 1977; Margiocco et al., 1983) ดังจะเห็นได้จากการทดลองเลี้ยง rainbow trout ในน้ำที่มี $\text{NO}_2\text{-N}$ 550 ไมโครกรัม/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง ตรวจพบปริมาณเมทอีโมโกทบินร้อยละ 47.7 เปรียบเทียบกับปลาที่เลี้ยงในน้ำที่มี $\text{NO}_2\text{-N}$ 150 ไมโครกรัม/ลิตร นาน 48 ชั่วโมง พบปริมาณเมทอีโมโกทบินร้อยละ 71.7 ปลา rainbow trout ร้อยละ 55 จะตายในน้ำที่มีปริมาณไนโตรท์ที่มีความเข้มข้นสูงเท่านั้น ในขณะที่กลุ่มที่มีปริมาณเมทอีโมโกทบินสูงกว่ากลับมีชีวิตรอดอยู่ได้ (Smith and Williams, 1974)

Crawford และ Allen (1977) ได้สนับสนุนความคิดเห็นนี้โดยแสดงให้เห็นว่า ปลา chinook salmon ที่เลี้ยงในน้ำเค็ม (dilute seawater) ที่มีไนโตรท์ 815 มก./ลิตร ตรวจพบปริมาณเมทอีโมโกทบินร้อยละ 74 มีอัตราการตายเพียงร้อยละ 10 ส่วนกลุ่มที่เลี้ยงในน้ำจืดที่มีไนโตรท์ 27 มก./ลิตร ตรวจพบปริมาณเมทอีโมโกทบินร้อยละ 44 แต่พบว่าอัตราการตายถึงร้อยละ 70 และในปลาที่ตายเมื่อสิ้นสุดการทดลองครบ 48 ชั่วโมง พบว่าบริเวณ lamellar ของเหงือกยังคงมีสีแดง แสดงว่าสาเหตุการตายของปลา น่าจะเกิดจากสาเหตุอื่น

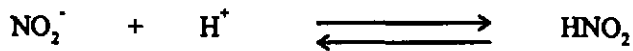
Huey และคณะ (1980) ได้แสดงความคิดเห็นไว้ว่า ปลาที่ว่ายน้ำช้าๆ และสม่ำเสมอจะมีความต้องการใช้ออกซิเจนในปริมาณน้อย และสามารถที่จะใช้ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในพลาสมาได้อย่างเพียงพอ ปลาจึงไม่ตายทันทีจากภาวะเมทอีโมโกทบินนีเมียที่รุนแรง ปลาจะมีความต้องการออกซิเจนจากอีโมโกทบินเฉพาะในกรณีที่มีการเคลื่อนไหวที่อย่างรวดเร็วเท่านั้น เช่นเดียวกับ Crawford และ Allen (1977) ที่สังเกตเห็นว่า ปลา chinook salmon ที่รอดชีวิตมีการปรับตัวโดยการลดการเคลื่อนไหว นอนนิ่งๆ อยู่ทีกั้นอ่าง ดังนั้นถึงแม้ว่าอีโมโกทบินจะไม่สามารถนำส่งออกซิเจนได้ทัน ปลาก็สามารถที่จะปรับตัวให้มีชีวิตอยู่ได้ ดังเช่นผลการวิจัยในปลาตุก (channel catfish) ของ Tomasso และคณะ (1979) ที่มีเมทอีโมโกทบินสูงถึงร้อยละ 100 แต่ก็ยังมีชีวิตอยู่ได้

ปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษของไนไตรท์

ความเป็นพิษเฉียบพลันของไนไตรท์ที่มีต่อปลามีความแตกต่างกันตาม ชนิด ขนาด และ อายุของปลา Lewis และ Morris (1986) เสนอว่าปลาจำพวก salmonids มีความไวต่อพิษของไนไตรท์มากที่สุด รองลงมาคือ channel catfish (*Ictalurus punctatus*) blue tilapia (*Tilapia aurea*) logperch (*Percina caprodes*) และ brook stickleback (*Culaea inconstans*) ซึ่งมีความไวเท่าๆ กัน ในปลากลุ่มนี้ กลุ่มที่มีความไวน้อยคือ fathead minnows (*Pimephales promelas*) mottled scalpin (*Cotus bairdi*) และ black bullhead (*Ictalulus melas*) ส่วนปลากลุ่มที่มีความไวน้อยที่สุดหรือทนต่อพิษของไนไตรท์ได้มากที่สุดคือ largemouth bass (*Micropterus salmoides*) และ bluegill (*Lepomis macrochirus*) และในปลาชนิดเดียวกัน ปลาขนาดเล็กจะมีความทนทานต่อพิษของไนไตรท์ มากกว่าปลาตัวใหญ่ (Smith and Williams, 1974) แต่ความสัมพันธ์ระหว่างพิษของไนไตรท์ กับขนาดของปลา ยังไม่ชัดเจนนัก เนื่องจากมีรายงานส่วนหนึ่งที่สนับสนุนว่า ปลาตัวเล็กมีความทนต่อพิษของไนไตรท์ได้ดีกว่าปลาตัวใหญ่ (Russo et al., 1974; Perrone and Meade, 1977; Almendras, 1987) แต่ก็มีรายงานที่ขัดแย้งกันว่า ปลาตัวใหญ่มีความไวต่อมลภาวะต่างๆ น้อยกว่าปลาตัวเล็ก (Hilmy et al., 1987) Wedemayer และ Yasutake (1978) ได้รายงานว่า ปลา steelhead trout ตัวใหญ่ ขนาด 10 กรัม จะมีความทนต่อพิษจากไนไตรท์ได้ดีกว่าปลาตัวเล็กขนาด 5 กรัม เช่นเดียวกับ Alcaraz และ Espina (1995) ที่ได้ทำการศึกษาค่า LC_{50} 96 ชั่วโมง ของโซเดียมไนไตรท์ ในปลาการ์ป น้ำหนัก 0.02, 0.45 และ 7.6 กรัม พบว่าที่อุณหภูมิ 29°C ปลาตัวเล็กจะมีความไวต่อการเกิดพิษจากไนไตรท์มากกว่าปลาตัวใหญ่ถึง 3.4 เท่า การที่ปลาแต่ละชนิดมีความไวต่อการเกิดพิษจากไนไตรท์ที่ต่างกัมนั้น เหตุผลที่พอจะอธิบายได้คือความแตกต่างกันของ methemoglobin reductase system ที่มีในปลาแต่ละชนิดและรวมถึงความสามารถของปลาในการรับหรือขับไนไตรท์ ออกจากร่างกาย (Tomasso et al., 1986)

ระดับความเป็นพิษของไนไตรท์นอกจากจะขึ้นอยู่กับ ชนิด ขนาด และอายุของปลา ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นนั้นยังมีปัจจัยอื่นๆเกี่ยวข้องด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณสมบัติของน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิของน้ำ Huey และคณะ (1984) ได้ทำการศึกษาค่าผลของอุณหภูมิต่อการเกิดพิษของไนไตรท์ โดยให้ปลาตุ๊ก (channel catfish) สัมผัสกับ NO_2-N 30 มก./ลิตร นาน 24 ชั่วโมง ในน้ำอุณหภูมิ 10°C, 20°C และ 30°C ปริมาณเมทฮีโมโกลบินที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 1.88, 2.18 และ 3.4 กรัมเปอร์เซ็นต์ (g%) ตามลำดับ จากผลการทดลองที่ได้นี้จะเห็นว่าที่อุณหภูมิสูงๆ จะทำให้พิษของไนไตรท์เพิ่มมากขึ้น เพราะอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลทำให้การแพร่โมเลกุลของสารเคมี (chemicals molecules) ในน้ำผ่านเหงือกเพิ่มมากขึ้น การไหลเวียนโลหิตเพิ่มขึ้นและเพิ่มความต้องการออกซิเจนของปลาอีกด้วย

ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ ไนโตรทเจนจะรวมตัวกับไฮโดรเจนไอออน (H^+) เกิดเป็นกรดไนตริก (HNO_2) อยู่ในสภาวะสมดุล ดังสมการ (Russo, Thurston and Emerson, 1981)



ซึ่งสภาวะสมดุลนี้จะถูกรบกวนโดยภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำ ถ้า pH ของน้ำสูงขึ้น (ด่าง) ไนโตรทเจนจะอยู่ในรูปกรดไนตริกมากขึ้น จากการศึกษาของ Russo และคณะ (1981) พบว่า เมื่อเพิ่ม pH ของน้ำ ความเป็นพิษต่อปลา rainbow trout ของ NO_2-N จะลดลง แต่ความเป็นพิษในรูปของ HNO_2-N จะเพิ่มมากขึ้น ซึ่งความเป็นพิษของไนโตรทเจนจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดไนตริกมากกว่าไนโตรท เพราะกรดไนตริกอยู่ในรูปกรดอิสระสามารถที่จะเคลื่อนผ่าน biological membrane ได้มากกว่าไนโตรทซึ่งอยู่ในรูปของไอออน (ionic form) ที่ผ่านเข้าสู่ร่างกายได้ทางกลอไรด์เซลล์ (chloride cell) เท่านั้น ดังนั้นกรดไนตริกจึงอาจจะมีพิษต่อปลามากกว่าจากการที่กรดไนตริกไปทำให้ pH ของของเหลวในร่างกายลดลง จนอาจถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อร่างกายและส่งผลกระทบต่อเนื้อเยื่อต่างๆ ของปลา (Colt and Tchobanoglous, 1976) เช่นเดียวกับ Wedemayer และ Yasutake (1978) พบว่าเมื่อ pH ของน้ำเพิ่มสูงขึ้นจะสามารถลดพิษของไนโตรทลงได้ ดังจะเห็นได้จาก การศึกษาความเป็นพิษของไนโตรทในปลา steelhead trout โดยดูจากค่า LC_{50} 96 ชั่วโมง สำหรับปลาขนาด 5 กรัม ค่า LC_{50} 96 ชั่วโมง ของ NO_2-N ที่ pH 7 และ 8 มีค่าเท่ากับ 1.5 และ 2.5 มก./ลิตร ส่วนปลาขนาด 10 กรัม ค่า LC_{50} 96 ชั่วโมง ของ NO_2-N ที่ pH 7 และ 8 มีค่าเท่ากับ 2.3 และ 3.6 มก./ลิตร ตามลำดับ แต่ Bath และ Eddy (1980) ได้เสนอว่า pH ของน้ำไม่มีผลต่อความเป็นพิษของไนโตรทต่อปลา rainbow trout ถ้าอยู่ในช่วงที่กำหนดคือ ไม่ต่ำกว่า pH เท่ากับ 5 และไม่มากกว่า pH 10 แต่ผู้ที่เสนอไม่ได้ให้เหตุผลสำหรับข้อเสนอนี้ไว้ อย่างไรก็ตาม US. Environmental Protection Agency (1977) ได้กำหนดว่า pH ในช่วงที่ปลอดภัยสำหรับสิ่งมีชีวิตในน้ำจืดคือ pH ในช่วง 6.5-9.0

ได้มีการศึกษาหาวิธีที่จะลดพิษที่เกิดจากไนโตรท โดยมีหลายงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า กลอไรด์ไอออน (Cl^-) สามารถที่จะลดการเกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินีเมีย จากพิษของไนโตรทได้ในปลาหลายชนิดไม่ว่าจะเป็นปลา rainbow trout, ปลา coho salmon (Perrone and Meade, 1977; Russo, Thurston and Emerson, 1981; Eddy, Kunzlik and Bath, 1983) ปลา steelhead trout (Wedemayer and Yasutake, 1978) และปลาดุก (channel catfish) (Tomasso et al., 1979) โดยการไปแย่งที่ไนโตรทอย่าง competitive ในการที่จะผ่านเข้าตัวปลาทางกลอไรด์เซลล์ ปลาดุก (channel catfish) ที่เลี้ยงในน้ำที่มี NO_2-N 1.5 มก./ลิตรและมีกลอไรด์อยู่ 3.54 มก./ลิตร วัดปริมาณเมทฮีโมโกลบินได้ร้อยละ 77 แต่หลังจากเติมกลอไรด์ 60 มก./ลิตร ลงไป พบปริมาณเมทฮีโมโกลบิน

เหลือเพียง ร้อยละ 8.8 (Tomasso et al., 1979) และจากการศึกษาของ Tomasso และคณะ (1981) อีกเช่นกัน พบว่า ปลา rainbow trout กลุ่มที่ได้รับคลอไรด์ไอออนความเข้มข้นประมาณ 10 มก./ลิตร ที่ pH เดียวกัน พบว่าค่า LC_{50} 96 ชั่วโมง ของ NO_2-N เพิ่มจาก 0.17-0.54 มก./ลิตร เป็น 3.5-5.3 มก./ลิตร และ LC_{50} 96 ชั่วโมง ของ HNO_2-N เพิ่มจาก 24.0-3.0 นาโนกรัม/ลิตร เป็น 280.0-34.0 นาโนกรัม/ลิตร อย่างไรก็ตาม จากรายงานที่ผ่านมาพบว่าสัดส่วนของคลอไรด์ต่อไนโตรเจนในปลา แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันโดยที่ การใช้สารละลายคลอไรด์ในการป้องกันการเกิดเมทฮีโมโกลบินจะมีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อใช้อัตราส่วนคลอไรด์ต่อไนโตรเจน เท่ากับ 6:1 สำหรับปลา rainbow trout ในปลา coho salmon เท่ากับ 7:1 (Perrone and Meade, 1977) และปลาดุก channel catfish เท่ากับ 16:1 ตามลำดับ (Tomasso et al., 1979) นอกจากคลอไรด์แล้วแอนไอออน (anion) อื่นๆ ก็สามารถลดพิษจากไนโตรเจนได้เช่นกัน โบรไมด์ไอออน (Br^-) ซึ่งเป็นแอนไอออนตัวหนึ่งที่มี ประสิทธิภาพในการลดพิษที่เกิดจากไนโตรเจนได้ดีพอๆ กับคลอไรด์ไอออน ดังจะเห็นได้จากการ ศึกษาของ Eddy และคณะ (1983) พบว่าโซเดียมโบรไมด์ 1 mM (โบรไมด์ไอออนเท่ากับ 80 มก./ลิตร) สามารถที่จะลดพิษจาก ไนโตรเจน 0.7 mM (NO_2-N 32 มก./ลิตร) ได้เกือบจะสมบูรณ์ในปลา Atlantic salmon ที่เลี้ยงในน้ำจืด นอกจากโบรไมด์ไอออนแล้ว ยังได้มีศึกษาโดยการทดลองเลี้ยงปลาดุก (channel catfish) ในน้ำที่มีโซเดียมไนโตรเจน 2.5 มก./ลิตร นาน 24 ชั่วโมง พบว่าเกิดเมทฮีโมโกลบิน ร้อยละ 60 หลังจากใส่โซเดียมโบรไมด์ 0.84 กรัม/ลิตร ลงไป สามารถที่จะลดการเกิดเมทฮีโมโกลบินเหลือเพียงร้อยละ 8 (Huey, Simco and Criswell, 1980) นอกจากนั้น Bath และ Eddy (1980) ยังสนับสนุนผลการทดลองข้างต้นโดยได้ศึกษาผลของโบรไมด์ไอออน 152 มก./ลิตร พบว่าสามารถลดการตายของปลา rainbow trout ที่สัมผัสกับ NO_2-N 9.8 มก./ลิตร นาน 72 ชั่วโมง ได้ถึงร้อยละ 50 นอกจากแอนไอออนที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ได้มีการศึกษาแอนไอออนตัวอื่นๆ อีก เช่น โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) ซึ่ง Huey และคณะ (1980) พบว่าโซเดียมซัลเฟต 1.42 กรัม/ลิตร ไม่สามารถที่จะลดการเกิดเมทฮีโมโกลบินในปลาดุก (channel catfish) ที่สัมผัสกับ NO_2-N 0.76 มก./ลิตร และจากการศึกษาของ Eddy และคณะ (1983) พบว่าเมื่อให้ แมกนีเซียมซัลเฟตและโปแตสเซียมซัลเฟตแก่ปลา rainbow trout ที่เลี้ยงในน้ำทะเล พบว่าสารทั้งสองตัวมีผลเล็กน้อยต่อการ ลดพิษจากไนโตรเจน ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับ Russo และคณะ (1981) ที่ได้เคยรายงานไว้ จากที่กล่าว มาข้างต้นทั้งหมด พอที่จะสรุปได้ว่า คลอไรด์ไอออนและโบรไมด์ไอออน มีประสิทธิภาพสูงที่สุดใน การลดพิษที่เกิดจากไนโตรเจน ส่วนโบรไมด์ไอออนก็สามารถที่จะลดพิษจากไนโตรเจนได้เช่นกัน แม้จะไม่ดีเท่าคลอไรด์ไอออน ส่วน divalent และ trivalent anion อื่นๆ มีผลเพียงเล็กน้อยต่อการลด พิษจากไนโตรเจน

นอกจากผลของแอนไอออนแล้ว ยังมีการศึกษาถึงผลของแคทไอออน (cation) เช่นแคลเซียม ด้วยเช่นกัน โดย Crawford และ Allen (1977) ได้ทำการศึกษาหาความเป็นพิษของไนโตรเจนต่อ

ปลา chinook salmon ในน้ำจืด (แคลเซียมไอออน = 32 มก./ลิตร) และน้ำเค็ม (แคลเซียมไอออน = 396 มก./ลิตร) พบว่า LC_{50} 48 ชั่วโมง ของ NO_2-N ในน้ำจืดมีค่าเท่ากับ 19 มก./ลิตร ส่วนในน้ำเค็มมีค่าเท่ากับ 1070 มก./ลิตร หลังจากเติมแคลเซียมซัลเฟตลงไปในน้ำจืดที่มี NO_2-N อยู่ 30 มก./ลิตร สามารถลดระดับความเป็นพิษของไนไตรท์ลงได้ แต่การเกิดเมทิลโมโกลบิโนยังคงอยู่ระดับเดิม และในน้ำเค็มที่มี NO_2-N อยู่ 100 มก./ลิตร เมื่อเติมแคลเซียมซัลเฟตลงไปปรากฏว่า การเกิดพิษของไนไตรท์ลดลงโดยไม่มีผลต่อปริมาณเมทิลโมโกลบิโนเช่นกัน แสดงว่าแคลเซียมสามารถที่จะลดพิษของไนไตรท์ได้โดยไม่เกี่ยวข้องกับการเกิดเมทิลโมโกลบิโนแต่อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถที่จะอธิบายได้ถึงกลไกการออกฤทธิ์ดังกล่าว Krous, Blazer และ Meade (1982) คาดว่า แคลเซียมที่ความเข้มข้นสูงๆ อาจจะไปมีผลลดการสูญเสียคลอไรด์ที่จะผ่านออกทางเหงือกได้ ในขณะที่เดียวกันก็ไปมีผลลดการผ่านเข้าของคลอไรด์ซึ่งก็จะมีผลไปลดการผ่านเข้าของไนไตรท์ในทางอ้อมด้วย

จากที่ทราบกันดีแล้วว่า การเพิ่มขึ้นของปริมาณไนไตรท์ในสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดพิษต่อปลาหลายชนิด ไนไตรท์ที่ผ่านเข้าทางคลอไรด์เซลล์อาจจะมี ความเข้มข้นในของเหลวในเลือด สูงกว่าในน้ำได้ถึง 10 เท่า จากการที่ไนไตรท์สามารถที่จะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของกรดไนตริกได้ที่ pH สูงๆ กรดไนตริกที่เกิดขึ้นอาจจะเกิดการแตกตัวต่อเป็น NO_2^- และ H^+ และถ้า pH ของเลือดสูงกว่า pH ของน้ำ 1 หน่วย ที่สภาวะสมดุลย์ความเข้มข้นของกรดไนตริก (HNO_2) ในเลือดและน้ำจะเท่ากัน ในขณะที่ปริมาณไนไตรท์ไอออนในพลาสมา จะมีความเข้มข้นสูงกว่าในน้ำถึง 10 เท่า หรือการที่คลอไรด์เซลล์มี affinity ต่อไนไตรท์มาก จึงส่งผลทำให้เกิดการผ่านของไนไตรท์เข้าสู่ร่างกายในปริมาณมาก แต่ในความเป็นจริงแล้ว ถ้าปริมาณคลอไรด์ไอออนภายนอกในร่างกายมีมากจะทำให้ปริมาณไนไตรท์ไอออนที่จะผ่านเข้าสู่เลือดจะลดลง เพราะคลอไรด์ไอออนและไนไตรท์ไอออนมีอัตราการแพร่ผ่านที่ใกล้เคียงกัน (Eddy, kunzlik and Bath, 1983) และจากการศึกษาของ Margiocco และคณะ (1983) ปริมาณไนไตรท์ที่วัดได้ในเลือดปลา rainbow trout ที่สัมผัสกับไนไตรท์สูงกว่าในน้ำถึง 20 เท่า แต่ในปลา striped bass กลับพบว่าปริมาณไนไตรท์ที่วัดได้ในพลาสมาต่ำกว่าที่พบในสภาวะแวดล้อมน่าจะเกิดจากการที่มีความสามารถที่จะจับไนไตรท์ออกจากร่างกายได้ หรือการที่ปลา striped bass อาจจะมีอัตราการแพร่ผ่านเข้าของไนไตรท์ต่ำ จึงส่งผลให้ปริมาณไนไตรท์ที่ผ่านเข้าและสะสมในพลาสมาลดลงไปด้วย (Mazik et al., 1991) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Tomasso (1986) ที่พบว่าระดับไนไตรท์ในพลาสมาของปลา bluegills ก็มีปริมาณต่ำกว่าที่วัดได้ในสิ่งแวดล้อม

พิษอย่างอื่นของไนไตรท์

Smith และ Williams (1974) ได้ตั้งสมมติฐานไว้ว่า พิษของไนไตรท์นอกจากจะทำให้เกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินนีเมียแล้ว ยังทำให้เกิดผลอย่างอื่นอีกดังจะเห็นได้จาก ปลา trout และ salmon ที่สัมผัสกับไนไตรท์เกิดรอยเลือดออกและรอยเนื้อตายที่ไทมัส (thymus) ซึ่งสมมติฐานนี้ยังได้รับการสนับสนุนจาก Margiocco และคณะ (1983) ที่แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างพยาธิสภาพ (physiologic condition) และปริมาณไนไตรท์ที่สะสมอยู่ในอวัยวะต่างๆ ของปลา salmon (*Salmo gairdneri*) ไม่ว่าจะเป็นที่เหงือก กล้ามเนื้อ ตมอ และ ตับ ซึ่งในปลาที่ใกล้จะตายปริมาณไนไตรท์ในตับและในตมอจะมีความเข้มข้นสูงกว่าที่พบในสิ่งแวดล้อมถึง 30 เท่า การสะสมของไนไตรท์ในอวัยวะที่สำคัญนี้อาจจะไปมีผลกระทบต่อขบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ในร่างกายอย่างรุนแรงได้ จากรายงานที่ผ่านมา (quoted in Mayo et al., 1972) พบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพอย่างรุนแรงและมีการติดเชื้อแบคทีเรียที่เหงือกเพิ่มขึ้นในปลาที่สัมผัสกับไนไตรท์และแอมโมเนียที่ความเข้มข้นสูงๆ และจากการศึกษาโดยให้ปลา *Clarias lazera* สัมผัสกับไนไตรท์เป็นเวลานาน 6 เดือน พบว่ามีพิษต่อตับโดยดูได้จาก การทำงานของเอนไซม์ glutamic oxaloacetic และ glutamic pyruvic transaminase ในซีรัมที่เพิ่มสูงขึ้นในเดือนที่ 1-4 หลังจากสัมผัสและเริ่มลดลงในเดือนที่ 5 และ 6 แต่ก็ยังคงสูงกว่าในกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังมีการสะสมของไขมันในเซลล์ตับรอบๆ central vein อีกด้วย ส่วนที่เหงือกพบว่าเกิด hypertrophy และ hyperplasia ที่บริเวณผิวหน้าของ lamellar epithelium (Michael et al., 1987) Hofer และ Gatamu (1994) พบว่าเกิด retina necrosis อย่างรุนแรงในปลา rainbow trout ที่มีปริมาณเมทฮีโมโกลบินมากกว่า ร้อยละ 80 แต่ก็มีบางงานวิจัยที่รายงานว่า เมื่อเลี้ยงปลา rainbow trout ในน้ำที่มี $\text{NO}_2\text{-N}$ ที่ความเข้มข้นในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตายเป็นเวลา 6 เดือน ไม่พบว่าไนไตรท์ไปมีผลทำให้เกิดพยาธิสภาพที่ไตและไทมัสเหมือนที่ Smith และ Williams (1974) รายงานไว้ มีเพียงที่ epithelium ของเหงือก ที่เกิด hypertrophy, hyperplasia และมีการแยกออกจากกันของ lamellar หลังจากสัมผัสกับไนไตรท์นาน 3-7 สัปดาห์

นอกจากพิษของไนไตรท์ต่อปลาแล้ว ในสัตว์น้ำอื่นๆ เช่น กุ้งนาง (*Astacus astacus*) ไนไตรท์ก็ไปมีผลรบกวน ionic homeostasis ทั้งในเลือด (haemolymph) และกล้ามเนื้อ ทำให้ไปขัดขวางออสโมติกในกล้ามเนื้อลดลง ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อ membrane potentials การหดตัวของกล้ามเนื้อและ cellular metabolism นอกจากนี้ยังพบอีกด้วยว่าไนไตรท์ที่ผ่านเข้าสู่ตัวกุ้งจะไปสะสมอยู่ในเลือด โดยที่พบว่ามีปริมาณสูงกว่าในสิ่งแวดล้อมถึง 10 เท่า อีกทั้งยังส่งผลให้คลอไรด์ไอออนในเลือดกุ้งลดลงอีกด้วย (Jensen, 1990) เช่นเดียวกับที่ Williams และ Eddy (1988) เคย

รายงานว่างปลา rainbow trout ที่สัมผัสกับไนไตรท์นาน 24 ชั่วโมง มีปริมาณโปแตสเซียมในปลาตมาลดลง

การฟื้นคืนกลับสู่สภาพปกติ (recovery) ของปลาหลังจากนำปลาที่สัมผัสกับไนไตรท์ไปปล่อยในน้ำที่ไม่มีไนไตรท์ ปลาจะสามารถฟื้นตัวได้ภายใน 24 ชั่วโมง ปริมาณเมทฮีโมโกลบินในปลาดุก (channel catfish) ที่สูงถึงร้อยละ 90 ลดลงจนใกล้ถึงระดับปกติได้ (Huey, Simco and Criswell, 1980) เช่นเดียวกับที่พบในลูกปลา milkfish ที่ระดับเมทฮีโมโกลบินลดลงมาอยู่ในระดับปกติได้ภายในระยะเวลา 24-26 ชั่วโมง ซึ่งการฟื้นคืนกลับสู่สภาพปกติของปลาเชื่อว่าอาศัยเอนไซม์ methemoglobin reductase (cytochrome b5 reductase) โดยเอนไซม์ในระบบนี้จะอาศัย NADH ในการที่จะเปลี่ยนเมทฮีโมโกลบินกลับไปอยู่ในรูปฮีโมโกลบินปกติ (Huey, Beitinger and Wooten, 1984)

พิษของไนเตรทและไนไตรท์ในคน

ได้มีรายงานถึงความเป็นพิษของสารประกอบไนเตรทต่อคนเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1793 (quoted in Beck, 1909) การเกิดพิษเนื่องจากการได้รับสารไนเตรทหรือไนไตรท์ไม่ว่าจะได้รับจากอาหารหรือจากน้ำดื่มก็ตาม ถ้าได้รับในปริมาณที่มากหรือได้รับเป็นเวลานานก็มีผลทำให้เกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินนีเมียได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็กทารก ภาวะเมทฮีโมโกลบินนีเมียที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่มักจะถูกรายงานว่า เกิดจากการได้รับสารไนเตรท ซึ่งไนเตรทเองไม่ได้เป็นตัวที่ทำให้เกิดพิษ แต่เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกรีดิวซ์ให้กลายเป็นไนไตรท์และทำให้เกิดพิษตามมา ไนเตรทสามารถที่จะถูกรีดิวซ์ให้กลายเป็นไนไตรท์ได้โดยแบคทีเรียที่อยู่ในกระเพาะอาหารและลำไส้ส่วนบน (upper gastrointestinal tract) หลังจากนั้นไนไตรท์จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด แล้วมีผลไปออกซิไดส์ฮีโมโกลบินทำให้เกิดเมทฮีโมโกลบินได้ (Marshall and Marshall, 1945) ในคนปกติจะมีปริมาณเมทฮีโมโกลบินอยู่ 1% สมดุลย์กับฮีโมโกลบินปกติ 99%

อาการพิษจากไนเตรทหรือไนไตรท์คือ ทำให้หลอดเลือดแดงทั่วร่างกายขยายตัวและเกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินสูงในเลือด พิษที่ร้ายแรงอีกอย่างหนึ่งคือเป็นต้นเหตุทำให้เกิดสารก่อมะเร็ง (carcinogen) ขึ้นภายในร่างกาย ความรุนแรงของการเกิดพิษขึ้นอยู่กับปริมาณไนเตรทหรือไนไตรท์ที่ร่างกายได้รับ อาการแสดงมีดังนี้

1. ผลต่อระบบทางเดินอาหาร กลิ่นในเดรททำให้เกิดการระคายเคืองต่อกระเพาะอาหาร และ ถ้าใส่ทำให้เกิดอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเดิน ถ้าได้รับในปริมาณมากจะทำให้มีการอักเสบของกระเพาะอาหารและถ้าใส่ อาเจียนหรืออุจจาระเป็นเลือดได้

2. ผลต่อระบบกล้ามเนื้อและหลอดเลือด การออกฤทธิ์ของไนเดรทและไนไตรท์ทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัว รวมทั้งกล้ามเนื้อของผนังหลอดเลือด เชื่อกันว่ากลไกการออกฤทธิ์ของไนเดรทและไนไตรท์จะถูกเปลี่ยนเป็นไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide) ที่เซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบแล้วไปทำปฏิกิริยากับ sulphydryl group เกิด s-nitrosothiols มีผลไปกระตุ้น guanylate cyclase ทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบขึ้น (Ignarro and Gruetter, 1980) จะมีอาการปวดศีรษะ เนื่องจากการขยายตัวของหลอดเลือด หน้าแดงร้อนผ่าว เวียนศีรษะ ความดันโลหิตต่ำ หัวใจเต้นเร็ว เหงื่อออก เป็นลม

3. การเกิดเมทฮีโมโกลบินในเลือด โดยปกติแล้วไนเดรทจะไม่มีพิษแต่เมื่อถูกรีดิวซ์ให้อยู่ในรูปของไนไตรท์ โดยอาศัยเอนไซม์ nitrate reductase ที่มีอยู่ในแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในกระเพาะอาหารและถ้าใส่ส่วนบน (Marshall and Marshall, 1945) ไนไตรท์ที่เกิดขึ้นจะมีฤทธิ์ไปออกซิไดส์ฮีโมโกลบินที่มี Fe^{2+} ในฮีมของฮีโมโกลบินให้เปลี่ยนเป็นเมทฮีโมโกลบินที่มี Fe^{3+} ส่งผลทำให้โมเลกุลของฮีม(hem)ไม่สามารถจับกับออกซิเจน และนำออกซิเจนไปสู่เซลล์ต่างๆ ในร่างกายได้ จึงทำให้เกิดอาการตัวเขียวขึ้น(cyanosis) ความเป็นพิษของไนเดรทและไนไตรท์ในร่างกาย ในการทำให้เกิดเมทฮีโมโกลบิน ขึ้นอยู่กับปริมาณที่ร่างกายได้รับเข้าไปและการทำงานของ NADH-methemoglobin reductase(cytochrome b5 reductase) ในคนที่ขาดเอนไซม์นี้ โดยเฉพาะในเด็กอ่อนที่อายุต่ำกว่า 3 เดือนและเด็กเล็ก การทำงานของเอนไซม์นี้ยังไม่สมบูรณ์ จึงทำให้เกิดอาการพิษได้มาก แม้จะได้รับไนไตรท์ในปริมาณต่างๆ ประกอบกับความเป็นกรดในกระเพาะอาหารต่ำ ส่งผลทำให้แบคทีเรียที่มีเอนไซม์ที่สามารถรีดิวซ์ไนเดรทเป็นไนไตรท์เจริญเติบโตได้ดี (แบคทีเรียชนิดนี้จะไม่เจริญเติบโตในภาวะที่เป็นกรด) (รัชณี และ สมดุลย์, 2527) ในประเทศไทยเคยมีรายงานการเกิดพิษจากโซเดียมไนไตรท์เมื่อปี พ.ศ. 2529 เด็ก 4 คน อายุ 1-3 ปี ดื่มน้ำที่มีโซเดียมไนไตรท์ผสมอยู่ ถูกนำส่งโรงพยาบาลด้วยอาการตัวเขียวทั้งตัว หัวใจเต้นเร็ว อ่อนเพลียมาก เลือดมีสีน้ำตาล ซ็อกโกแลต (รัตนพร ภิญโญส โมสร, 2529)

อาการพิษที่แสดงออกมามีความสัมพันธ์กับปริมาณเมทฮีโมโกลบินในเลือด ดังแสดงไว้ในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงระดับเมทฮีโมโกลบินและอาการแสดงของผู้ป่วย (คัดแปลงจาก Kross, Ayebo and Fuortes, 1992)

ระดับเมทฮีโมโกลบิน (%)	อาการแสดง
10-20	ส่วนใหญ่จะยังไม่แสดงอาการ บางรายมีอาการเขียวที่ปลายมือ ปลายเท้าหรือเขียวทั้งตัว
20-45	มีอาการของระบบประสาทส่วนกลางถูกกด เช่น ปวดศีรษะ เวียนศีรษะ อ่อนเพลีย เป็นลม อาจมีอาการหายใจลำบากร่วมด้วย
45-55	หัวใจเต้นผิดปกติ ชัก ช็อค และมีอาการไตมา
>70	เสี่ยงต่อการเสียชีวิต

สาเหตุของการเกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินนีเมีย

ภาวะเมทฮีโมโกลบินนีเมีย เกิดจากการที่ฮีโมโกลบินมากกว่าร้อยละ 1 ถูกออกซิไดส์ให้อยู่ในรูปเมทฮีโมโกลบิน ซึ่งสาเหตุที่ทำให้เกิดฮีโมโกลบินพอที่จะสรุปได้ดังนี้

1. มีสารหรือยาบางอย่างที่สามารถเพิ่มการออกซิเดชัน (oxidation) ของฮีโมโกลบินไปเป็นเมทฮีโมโกลบิน การที่ร่างกายมีปริมาณเมทฮีโมโกลบินเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ ขึ้นกับความสามารถของยา หรือสารที่จะไปออกซิไดส์ฮีโมโกลบิน การดูดซึม การกำจัดสารหรือยาออกจากร่างกาย และความสามารถของร่างกายที่จะรีดิวซ์ (reduce) เมทฮีโมโกลบินให้เป็น ฮีโมโกลบินปกติ ยาหรือสารที่ทำให้เกิดเมทฮีโมโกลบินได้บ่อยๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 8

2. ภาวะทางพันธุกรรมที่มีการขาดเอนไซม์ที่เรียกว่า methemoglobin reductase ทำให้ฮีโมโกลบินถูกออกซิไดส์ได้ง่ายกว่าปกติ ในคนปกติถ้าได้รับยาในขนาดรักษาที่กำหนดไว้มักจะไม่เกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินนีเมีย แต่ถ้าขาดเอนไซม์ methemoglobin reductase หรือมีฮีโมโกลบินที่ผิดปกติ เช่น ฮีโมโกลบิน "M" และ unstable hemoglobins (ผู้ที่มี unstable hemoglobins จะมีความไวต่อ oxidizing agent ต่างๆ แตกต่างกัน) เมื่อได้รับสารหรือยาดังกล่าวจะเกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินนีเมียได้ง่าย มนุษย์มีกลไกที่มีความสามารถในการเปลี่ยนเมทฮีโมโกลบินให้กลับมาอยู่ในรูปฮีโมโกลบิน เพื่อนำกลับมาใช้ในการนำออกซิเจนไปสู่เซลล์ต่างๆ ได้อีก โดยอาศัยการทำงานของระบบเอนไซม์ต่างๆ ดังนี้ NADH-methemoglobin reductase (NADH-cytochrome b5 reductase)

(60-90%), NADPH-methemoglobin reductase (5%) และอีก 2 ระบบที่ทำงานโดยไม่อาศัยเอนไซม์ คือ การใช้ ascorbic acid (16%) และ glutathione (GSH, 12%) (Scott, Duncan and Ekstrand, 1965)

ภาวะการขาดเอนไซม์ NADH- cytochrome b5 แบ่งได้เป็นชนิดย่อยๆ ดังนี้ (Jaffe', 1986)

Type I : เป็นชนิดที่พบได้มากที่สุด ผู้ป่วยในกลุ่มนี้จะพบว่า มีเฉพาะ เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) เท่านั้นที่ขาดเอนไซม์ methemoglobin reductase อาการที่พบมีเพียงอาการตัวเขียวเท่านั้น

Type II : พบได้น้อยกว่า Type I ซึ่งเป็นภาวะที่มีอาการค่อนข้างรุนแรงคือ ทำให้เกิดอาการปัญญาอ่อนได้ (mental retardation) ซึ่งไม่เฉพาะแต่เม็ดเลือดแดงเท่านั้นที่ขาดเอนไซม์นี้ ในส่วนประกอบอื่นๆ ของเลือด ดับ fibroblast และในสมอง ก็พบว่าขาดเอนไซม์นี้เช่นกัน

Type III และ IV : จากการศึกษาในครอบครัวของชาวญี่ปุ่น พบว่า นอกจากที่เม็ดเลือดแดงแล้ว ที่เกล็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวก็ขาด cytochrome b5 (Tanishima, Tanimoto and Tomoda, 1985) อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่าผู้ป่วยในกลุ่มนี้มีอาการทางระบบประสาท Type III จะแตกต่างจาก Type IV ตรงที่ นอกจากจะขาด cytochrome b5 แล้ว ยังขาด เอนไซม์ cytochrome b5 reductase ด้วย ซึ่งใน Type IV จะไม่ขาดเอนไซม์ cytochrome b5 reductase (Hegesh, Hegesh and Kaftory, 1986)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 แสดงสารหรือยาบางอย่างที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินีเมีย (Kross, Ayebo and Fuortes, 1992)

สารหรือสารเคมี (Agent)	แหล่งที่ได้รับ (Source)
สารประกอบไนเตรทหรือไนไตรท์ชนิดอนินทรีย์สาร (Inorganic nitrate/nitrite)	น้ำที่ปนเปื้อน (Contaminated well water) สารกันเสียในเนื้อสัตว์ (Meat preservative) ผัก เช่น ผักขม หัวแครอท จิลเวอร์ไนเตรทที่ใช้รักษาแผลไฟไหม้ (Silver nitrate burn therapy) เกลือจากอุตสาหกรรม (Industrial salts) ปนเปื้อนอยู่กับแก๊สไนตรัสออกไซด์ที่ใช้เป็นยาสลบ (Contaminants of nitrous oxide canisters for anesthesia)
สารประกอบไนไตรท์ชนิดอินทรีย์สาร (Organic nitrite) บิวทิล/ไอโซบิวทิลไนไตรท์ (Butyl/isobutyl nitrite) เอมีลไนไตรท์ (Amyl/sodium nitrite) ไนโตรกลีเซอริน (Nitroglycerin)	สารจับกลิ่นในกระป๋องสเปรย์ดับกลิ่น (Room deodorizer propellants) ไชระเหยที่อยู่ในอุปกรณ์แก้ไขความเป็นพิษของไซยาไนด์ (Inhalant in cyanide antidote kit) ยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะปวดเค้นอก (Oral, sublingual or transdermal pharmaceuticals for treatment of angina)
อื่นๆ (Others) อะนิลีน/อะมีโนฟีนอล (Aniline/aminophenols) ไนโตรเบนซีน (Nitrobenzene) ยาชาเฉพาะที่ (Local anesthetics) ซัลโฟนามายด์ (Sulfonamides) ฟีนาโซไพริดีน (Phenazopyridine) ยาต้านมาลาเรีย (Antimalarials) ซัลฟอน (Sulfones) แนพทาลีน (Naphthalene) คอปเปอร์ ซัลเฟต (Copper sulphate) รีซอร์ซินอล (Resorcinol) คลอเรต (Chlorates) สารที่ทำให้เกิดการเผาไหม้ (Combustion products)	ตี,หมึก (Laundry ink) ตัวทำละลายที่ใช้ในอุตสาหกรรม, ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทำ ความสะอาดปืน (Industrial solvents, gun-cleaning products) เบนโซเคน (Benzocain), ลิดอคเคน (Lidocaine) ยาต้านแบคทีเรีย (Antibacterial drugs) ไพริเดียม (Pyridium) คลอโรควิน (Chloroquine), ไพรมาคควิน (primaquine) แดปโซน (Dapsone) ลูกเหม็น (Mothballs) ยารักษาโรคเชื้อราในพืช (Fungicide for plants, seed treatment) ยาแก้คัน, ยาต้านการติดเชื้อ (antipruritics, antiseptics) ระเบิด, หัวไม้ขีด, ดอกไม้ไฟ (Explosives, matches, pyrotechnics) ไฟไหม้ (Fires)

แหล่งสำคัญที่มนุษย์ได้รับไนเตรทก็คือน้ำ ปริมาณไนเตรทในแหล่งน้ำของชุมชนที่เคยตรวจมีตั้งแต่ไม่พบเลย จนสูงกว่า 200 มก./ลิตร มีรายงานว่า เด็กหลายรายป่วยและตายจากการดื่มนมที่ชงด้วยน้ำบ่อที่มีไนเตรทและไนไตรท์สูงกว่า 90 มก./ลิตร ปนเปื้อนอยู่ (รัชนิ และ สมดุลย์, 2527) จากการกำหนดของ U.S Environmental Protection Agency (EPA) (1971) กำหนดให้ไนเตรท-ไนไตรเจน ที่พบในน้ำดื่มไม่ควรเกิน 10 มก./ลิตร หรือถ้าอยู่ในรูปไนเตรท ไม่ควรเกิน 45 มก./ลิตร สำหรับประเทศไทยกำหนดให้มีปริมาณไนเตรทในน้ำดังนี้ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 แสดงค่ามาตรฐานของไนเตรทในน้ำที่กำหนดให้มีได้ในประเทศไทย (รัชนิ และ สมดุลย์, 2527)

ชนิด	มาตรฐาน (มก./ลิตร)	หน่วยงานควบคุม	ที่มา
น้ำดื่ม	ไนเตรท-ไนไตรเจน 4 มก./ลิตร	กระทรวงสาธารณสุข	ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 61 พศ.2524
น้ำบาดาลเพื่อการบริโภค	ไนเตรท 45 มก./ลิตร	กระทรวงอุตสาหกรรม	ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 4 พศ.2521
น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม	(ไม่มีการกำหนด)	(กระทรวงอุตสาหกรรม)	(ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 12 พศ.2525)
น้ำทิ้งชุมชน	ไนเตรท-ไนไตรเจนไม่มีการกำหนดสำหรับชุมชนน้อยกว่า 501 คนและจะกำหนดเมื่อน้ำมีปัญหาสำหรับชุมชนมากกว่า 500 คน	สำนักคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ	คณะอนุกรรมการกำหนดมาตรฐานน้ำทิ้งชุมชน
น้ำผิวดิน	ไนเตรท-ไนไตรเจน 5 มก./ลิตร	สำนักคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ	ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและการพลังงาน พศ.2528

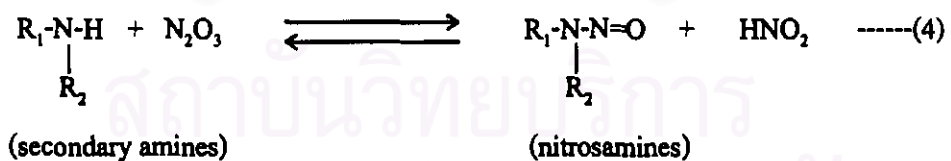
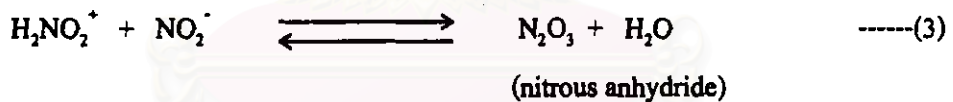
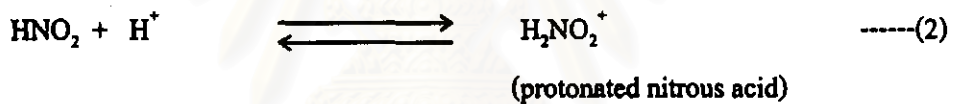
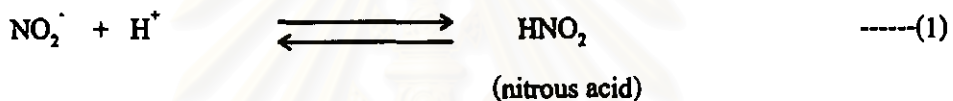
หมายเหตุ

ส่วนไนไตรท์ไม่มีการกำหนดปริมาณในน้ำ

ไนโตรทและสารก่อมะเร็งไนโตรซามีน

นอกจากไนโตรทจะมีความเป็นพิษโดยตรงแล้ว ไนโตรทที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารยังเป็นสาเหตุทำให้เกิดสาร ไนโตรซามีน (nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งชนิดร้ายแรง

ไนโตรซามีนจัดเป็นสารก่อมะเร็งพวก N-nitroso compound ที่พบมากในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในอาหารประเภทหมักดองเช่น ปลาเค็ม กุ้งแห้ง กะปิ ปลาร้า กุนเชียง เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบในอาหารอื่นๆ ด้วยเช่น เนื้อสำเร็จรูป เนย เบียร์ วิตกี ไนโตรซามีนเกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาที่เรียกว่า N-nitrosation ระหว่างสาร 2 จำพวกเรียกว่า nitrosating agent กับสาร amine ชนิด secondary และ tertiary amines สำหรับ nitrosating agents ที่พบมากในอาหาร ได้แก่ nitrous anhydride (N_2O_3) ปฏิกิริยาโดยทั่วไปของการเกิดไนโตรซามีน สามารถเขียนเป็นลำดับได้ดังนี้



จากปฏิกิริยาที่ (4) จะเห็นได้ว่า nitrosamine จะเกิดขึ้นจากการรวมตัวกันระหว่าง nitrous anhydride ซึ่งเป็น nitrosating agent กับ secondary amines ที่มี unshared pair of electrons เมื่อศึกษาถึงปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดไนโตรซามีนแล้ว จะเห็นได้ว่าไนโตรทหรือฮอน มีบทบาทสำคัญโดยเป็นสารตั้งต้นในการสร้างไนโตรซามีน จากการพบไนโตรทได้ในอาหารหลายชนิดเนื่องจากถูกใช้เป็นสารกันบูดในอาหารและทำให้เกิดสารก่อมะเร็งไนโตรซามีนในที่สุด ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 พศ. 2527 จึงกำหนดให้มีไนเตรทในอาหาร ได้ไม่เกิน 500 มก./กก. ส่วนไนโตรทมิได้ไม่เกิน 200 มก./กก.

แนวเหตุผลและสมมติฐานในการศึกษา

ประชากรส่วนใหญ่ในประเทศยังดำรงชีวิตด้วยการทำการเกษตร ยังมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชและการใส่ปุ๋ยเพื่อเพิ่มผลผลิตอยู่ รวมถึงการใช้ไนเตรทและไนไตรท์ในการป้องกันแบคทีเรียและรักษาคุณภาพของอาหาร เพราะฉะนั้นโอกาสที่มนุษย์จะได้รับผลกระทบจากสารพิษทั้งจากสารกำจัดศัตรูพืช และไนเตรทหรือไนไตรท์ก็เป็นสิ่งที่มีโอกาสเกิดขึ้นได้ ประกอบกับยังไม่เคยมีการศึกษาและรายงานถึงการที่ได้รับสารทั้งสองตัวพร้อมกันว่าจะมีผลต่อการเกิดภาวะเมทิลโมโกลบินนิเมีย ผลต่อสมรรถนะเอนไซม์ไนตริเนสเทอเรสและค่าทางโลหิตวิทยาอย่างไร การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะทดสอบว่าสารเคมีทั้งสองตัวจะมีผลไปเสริมฤทธิ์ หรือหักล้างฤทธิ์ของตัวใดตัวหนึ่งเปรียบเทียบกับ การได้รับสารเคมีตัวใดตัวหนึ่งเพียงตัวเดียว โดยการศึกษาจะเป็นการศึกษาแบบภายในร่างกาย (*in vivo*) ความเป็นพิษของสารแต่ละตัวและจากการใช้ร่วมกัน จากที่ทราบแล้วว่า ไนไตรท์มีผลไปออกซิไดส์ฮีโมโกลบินให้กลายเป็นเมทิลโมโกลบิน ซึ่งเป็นรูปที่ไม่สามารถนำออกซิเจนไปส่งให้กับอวัยวะต่างๆ ได้ ถ้าปลาถูกรบกวนให้มีความต้องการใช้ออกซิเจนมากขึ้น ปลาอาจจะตายได้ (Huey et al., 1980) ในขณะเดียวกันเมทิลพาราไรออนก็ไปมีผลทำให้อัตราการใช้ออกซิเจนของเนื้อเยื่อปลาเพิ่มขึ้นใน 12 ชั่วโมงแรก หลังการสัมผัสกับสารเคมี (Rao, Sahib and Rao, 1985) จากผลดังกล่าวนี้ โอกาสที่ปลาจะเป็นอันตรายจึงมีมากขึ้น ถ้าได้รับสารสองตัวในเวลาเดียวกัน นอกจากเมทิลพาราไรออนจะมีผลทำให้สมรรถนะของเอนไซม์ไนตริเนสเทอเรสลดลงแล้ว ยังมีผลต่อไนโตรเจนเมตาบอลิซึมอีกด้วย ดังรายงานที่พบในกุ้ง (*Penaeus indicus*) ที่ได้รับเมทิลพาราไรออน 0.03 มก./ลิตร นาน 72 ชั่วโมง มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณแอมโมเนีย ยูเรีย กูตามีน และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง เช่น AMP- deaminase, glutamine synthetase, arginase และ adenosine deaminase ใน hepatopancreas กล้ามเนื้อ และเหงือก ผลจากการเพิ่มขึ้นของ AMP- deaminase และ adenosine deaminase ทำให้เกิดการเผาผลาญ (catabolism) ของ purine และกรดอะมิโนอื่นๆ มากขึ้นแล้วทำให้เกิดการสร้างแอมโมเนียมากขึ้น (Reddy and Rao, 1988) และแอมโมเนียที่เกิดขึ้นนี้อาจจะถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปไนไตรท์ ก็จะเป็นการเพิ่มโอกาสการเกิดพิษจากปริมาณไนไตรท์มากขึ้น และนอกจากการที่สารทั้งสองตัวอาจจะไปมีผลเสริมฤทธิ์ที่เป็นพิษกันแล้ว สารทั้งสองตัวก็อาจจะมีผลไปหักล้างกันได้ ดังเช่น เคยมีรายงานว่ามาลาไรออนไปมีผลทำให้จำนวนเม็ดเลือดแดงฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินของปลาดุก (channel catfish) เพิ่มสูงขึ้นเมื่อสัมผัสกับมาลาไรออนที่ความเข้มข้น 4.5 มก./ลิตร นาน 72 และ 96 ชั่วโมง (Areechon and Plumb, 1990) แต่ในทางกลับกัน ไนไตรท์กลับไปมีผลทำให้ฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินของปลาดุก (channel catfish) ลดลง เมื่อสัมผัสกับ $\text{NO}_2\text{-N}$ 1.89 มก./ลิตร และ 2.88 มก./ลิตร นาน 0, 7 และ 14 วันตามลำดับ (Trucker, Francis-Floyd and Bebeau, 1989) เช่นเดียวกับผลที่ได้จากการให้ปลาสัมผัสกับ

ไนโตรที่ทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม พบว่าค่าฮิมาโตคริตลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น (Eddy, Kunzlik and Bath, 1983) และในลูกปลา *Clarius lazera* ก็มีจำนวนเม็ดเลือดแดง ฮิมาโตคริต และ ฮีโมโกลบินลดลงเช่นกัน เมื่อสัมผัสกับ $\text{NO}_2\text{-N}$ นาน 96 ชั่วโมง (Hilmy, EL-Domiatiy and Wershana, 1987)

นอกจากผลต่างๆที่กล่าวมาแล้ว ยังมีผลอีกอย่างหนึ่งที่น่าสนใจคือผลต่อการทำงานของ เอนไซม์ในระบบไซโตโครมพี 450 ที่กำลังได้รับความสนใจในแง่ของการนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ถึงสถานะแวดล้อมที่เป็นพิษในน้ำ (Brumley et al., 1995) โดยเหตุที่ การทำงานของไซโตโครมพี 450 (cytochrome P-450) จะต้องอาศัยเอนไซม์ไซโตโครมบี 5 รีดักเตส (cytochrome b₅ reductase) เป็นตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนจาก NADH ให้แก่ ฟลาโวโปรตีน (flavoprotein) และไซโตโครมบี 5 เพื่อเข้าสู่วงจรการทำงานของไซโตโครมพี 450 ต่อไป (Bethizy and Hayes, 1994) จากการศึกษาที่ผ่านมามีรายงานว่า พาราไรออน ทำให้ไซโตโครมพี 450 ในตับหนูลดลง (Halpart, Hammond and Neal, 1980) เมททิลพาราไรออนมีผลทำให้ทั้งระดับไซโตโครมพี 450 และไซโตโครมบี 5 ของปลาตุ๊กพันธุ์ผสมลดลง จากการศึกษาภายนอกร่างกาย (*in vitro*) (ประภัสสร ดันติพงษ์วิวัฒน์, 2358) และจากการศึกษาในร่างกายก็พบว่าระดับไซโตโครมพี 450 ลดลงเช่นกัน (ฐิติลาวัลย์ กลิ่นคล้ายกัน, 2539) ประกอบกับมีรายงานว่า ไนโตรที่อาจจะยับยั้งบทบาทในการเป็น mixed function oxidase inhibitor อีกด้วย (Shertzer and Duthu, 1979) โดยเหตุที่การเปลี่ยนให้เมทฮีโมโกลบินกลับมาอยู่ในรูปฮีโมโกลบินที่สามารถนำออกซิเจนไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย จำเป็นจะต้องอาศัยการทำงานของ NADH-cytochrome b₅ reductase ดังที่กล่าวมาแล้ว จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น จะเห็นว่าสารทั้งสองตัวต่างก็มีผลกระทบซึ่งกันและกัน จึงทำให้เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งในการที่จะทำการศึกษาค้นคว้าผลของสารทั้งสองกลุ่มนี้โดยใช้ขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตาย (sublethal concentration) ซึ่งเป็นสถานะที่อาจเกิดขึ้นได้ในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ

สัตว์ทดลองที่เลือกใช้ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้คือ ปลาตุ๊กพันธุ์ผสมระหว่างปลาดุกรัสเชียเพศผู้กับปลาดุกอุยเพศเมีย ซึ่งเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่มีการเพาะเลี้ยงกันอยู่ทั่วไป นอกจากนั้น ปลาดุกยังเป็นปลาที่ชอบหากินตามพื้นท้องน้ำที่มีการปนเปื้อนของเมททิลพาราไรออนสูงกว่าในน้ำ ประกอบกับปลาดุกเป็นปลาที่ไม่มีเกล็ด โอกาสที่สารกำจัดศัตรูพืชและปุ๋ยจากเรือสวนที่ถูกชะล้างลงสู่แหล่งน้ำจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทางผิวหนังจึงมีมากกว่าปลาที่มีเกล็ดโดยทั่วไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาผลของไซเดียมไนโครท์และ/หรือ เมททิลพาราไรซอนในขนาดที่ไม่ทำให้ตายต่อการเกิดภาวะเมทธีโมโกลบินนีเมีย สมรรถนะของเอนไซม์โกลบินเอสเทอร์สทั้งในเลือดและสมอง รวมทั้งค่าทางโลหิตวิทยาในปลาอุกพันธุ์ผสม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงผลของไซเดียมไนโครท์ต่อการเกิดภาวะเมทธีโมโกลบินนีเมีย สมรรถนะของเอนไซม์โกลบินเอสเทอร์ส ค่าทางโลหิตวิทยา ผลของเมททิลพาราไรซอนต่อสมรรถนะของเอนไซม์โกลบินเอสเทอร์ส ค่าทางโลหิตวิทยา ในปลาอุกพันธุ์ผสม เมื่อได้รับสารตัวใดตัวหนึ่งเพียงตัวเดียวหรือได้รับสารทั้งสองตัวพร้อมกันในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตาย ซึ่งเป็นสภาวะที่พบในสิ่งแวดล้อม

2. สามารถใช้เป็นแนวทางในการป้องกันและควบคุมปัญหาที่อาจจะเกิดจากการเกษตรกรรมที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สิ่งมีชีวิตที่อาศัยในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ รวมถึงมนุษย์ที่อาจจะได้รับสารพิษทั้งทางตรงและโดยทางอ้อม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย