บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ประเมินความเที่ยงตรงของวิธีการตรวจวัดสมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในเลือดและสมองปลาดุกพันธุ์ผสม

3.1.1 ทำการตรวจวัดสมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในเลือด ที่รวบรวมได้จากปลาดุกพันธุ์ผสมหลายๆ ตัว (pooled whole blood) โดยทำการวัดทั้งหมด 20 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) และค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SE) พบว่า $\bar{X} \pm SE$ มีค่าเท่ากับ 0.32 ± 0.01 ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (%CV) เท่ากับ 9.38 % ดังแสดงผลที่ได้ในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงค่าความเที่ยงตรงของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสม

จำนวนครั้งที่	สมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรส	จำนวนครั้งที่	สมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรส
1	0.30	11	0.29
2	0.35	12	0.33
3	0.38	13	0.32
4	0.34	14	0.33
5	0.31	15	0.36
6	0.26	16	0.34
7	0.27	17	0.32
8	0.31	18	0.34
9	0.29	19	0.33
10	0.32	20	0.38

$\bar{X}$ = 0.32

SE = 0.01

%CV = 9.38

หมายเหตุ

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสคือ μmoles of substrate hydrolyzed/min/ml

3.1.2 ทำการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรส ในสมองปลาดุกพันธุ์ผสมที่รวบรวมได้จากปลาหลายๆ ตัว (pooled brain) ทำการวัดทั้งหมด 20 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) และค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SE) พบว่า $\bar{X} \pm$ SE มีค่าเท่ากับ 20.94 ± 0.14 ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (%CV) เท่ากับ 2.01% ดังแสดงผลที่ได้ในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 แสดงค่าความเที่ยงตรงของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองปลาดุกพันธุ์ผสม

จำนวนครั้งที่	สมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรส	จำนวนครั้งที่	สมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรส
1	21.03	11	20.57
2	20.07	12	20.76
3	20.99	13	20.53
4	21.22	14	21.35
5	21.20	15	21.22
6	20.85	16	21.44
7	20.07	17	21.31
8	20.89	18	20.66
9	21.03	19	21.49
10	20.66	20	21.40

$\bar{X}$ = 20.94

SE = 0.14

%CV = 2.01

หมายเหตุ

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสคือ μmoles of substrate hydrolyzed/min/g of tissue

3.2 ประเมินความเที่ยงตรงของการตรวจวัดปริมาณเมทฮีโมโกลบินในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสม

ทำการตรวจวัดปริมาณเมทฮีโมโกลบินในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสมที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ 6.25 มก./ลิตร นาน 24 ชั่วโมง โดยเลือดที่ได้จะรวบรวมจากปลาหลายๆ ตัว (pooled whole blood) ทำการวัดทั้งหมด 20 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) และค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SE) พบว่า $\bar{X} \pm SE$ มีค่าเท่ากับ 2.08 ± 0.06 ค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (%CV) เท่ากับ 9.13% ผลที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงค่าความเที่ยงตรงของการตรวจวัดปริมาณเมทฮีโมโกลบินในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสมที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ 6.25 มก./ลิตร นาน 24 ชั่วโมง

จำนวนครั้งที่	ปริมาณเมทฮีโมโกลบิน (%)	จำนวนครั้งที่	ปริมาณเมทฮีโมโกลบิน (%)
1	1.97	11	2.07
2	1.91	12	2.03
3	1.93	13	2.00
4	1.96	14	2.19
5	1.51	15	2.16
6	2.22	16	2.18
7	2.31	17	1.77
8	1.83	18	2.21
9	2.02	19	2.36
10	2.16	20	2.45

$\bar{X} = 2.08$

$SE = 0.06$

$\%CV = 9.13$

3.3 การศึกษาเปอร์เซนต์รีโกเวอรี่ของการตรวจวัดสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสม

จากการศึกษาเปอร์เซนต์รีโกเวอรี่ของการตรวจวัดสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรส โดยการนำ standard cholinesterase enzyme (bovine erythrocyte cholinesterase) มาเจือจางด้วยน้ำ

กลั่นให้ได้ปริมาณของเอนไซม์ 0.0022-0.07 หน่วยสากล/มล. เติมลงไปในเลือดที่ทราบค่าสมรรถนะของเอนไซม์แล้วทำการตรวจวัดหาสมรรถนะของเอนไซม์ นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซนต์รีโคเวอรี่โดยการเปรียบเทียบค่าสมรรถนะเอนไซม์ที่วัดได้กับค่าที่ควรจะเป็น เปอร์เซนต์รีโคเวอรี่อยู่ระหว่าง 96.66-107.45 ดังแสดงผลที่ได้ในตาราง 13

ตารางที่ 13 แสดงค่าเปอร์เซนต์รีโคเวอรี่ของวิธีการตรวจวัดสมรรถนะเอนไซม์โฉลีนเอสเทอเรสในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสม

	ค่าที่วัดได้ (Determined value)	ค่าที่ควรจะเป็น (Theoretical value)	ค่าเปอร์เซนต์ที่วัดได้ (Percentage recovery)
ปริมาณบัฟเฟอร์ 3 มิลลิลิตร และเลือดปลา 10 ไมโครลิตร ใส่ standard enzyme 50 ไมโครลิตร ในความเข้มข้น			
0.0022 หน่วยสากล/มล.	0.2471	0.2422	102.02
0.0044 หน่วยสากล/มล.	0.2537	0.2444	103.81
0.0088 หน่วยสากล/มล.	0.2405	0.2488	96.66
0.0175 หน่วยสากล/มล.	0.2834	0.2575	110.06
0.0350 หน่วยสากล/มล.	0.2691	0.2750	97.85
0.0467 หน่วยสากล/มล.	0.2824	0.2867	98.50
0.07 หน่วยสากล/มล.	0.3331	0.3100	107.45

3.4 การศึกษาผลของเมททิลพาราไธออนในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตายในปลาดุกพันธุ์ผสม

3.4.1 อาการทั่วไปของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน

การศึกษาจะทำโดยการเลี้ยงปลาในน้ำที่มีเมททิลพาราไธออน ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ทำการสังเกตอาการของปลาก่อนที่จะสัมผัสกับสารเคมี และที่เวลา 30 นาที, 2 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง

ตามเวลาที่กำหนด ความรุนแรงของการเกิดพิษที่สังเกตเห็นเพิ่มตามขนาดความเข้มข้นของเมททิล-พาราไธออน ระยะเวลาเริ่มต้นของอาการแสดง (onset of action) จะแปรผกผันกับความเข้มข้นของสารที่ได้รับ โดยกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนในขนาดต่ำๆ มีระยะเวลาเริ่มต้นของการเกิดพิษช้ากว่ากลุ่มที่ได้รับในขนาดสูงๆ อาการที่ปรากฏสามารถสรุปแยกเป็นกลุ่มได้ดังนี้

กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.125 และ 0.25 มก./ลิตร : ตลอดระยะเวลาที่สัมผัสกับสารเคมีนาน 24 ชั่วโมง ปลาคุกพันธุ์ผสมยังคงมีพฤติกรรมที่ไม่ต่างไปจากกลุ่มควบคุม ปลายังว่ายน้ำไปมาปกติหรือไม่ก็นอนนิ่งๆ อยู่ที่พื้นอ่าง การตอบสนองต่อการกระตุ้นปกติ น้ำที่ใช้เลี้ยงเริ่มขุ่นขาวเป็นบางอ่าง ที่ลำตัวปลายังไม่มีเมือกลื่น

กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.5 มก./ลิตร : ปลาบางตัวเริ่มแสดงอาการผิดปกติ โดยเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 24 ชั่วโมง ปลามีอาการกระวนกระวายว่ายไปมาอย่างรวดเร็วหรือกระโดดลอยตัวขึ้นเหนือน้ำเป็นบางครั้ง แต่ส่วนใหญ่ยังคงมีพฤติกรรมไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม น้ำในอ่างเริ่มขุ่นขาว ลำตัวปลาเริ่มมีเมือกลื่นเล็กน้อย

กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 1.0 และ 1.5 มก./ลิตร : ปลาแสดงอาการเหมือนกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.5 มก./ลิตร แต่อาการจะเกิดเร็วขึ้น ปลาบางตัวแสดงอาการไวต่อสิ่งกระตุ้น สังเกตได้จากเมื่อเอามือเคาะที่ตู้และขณะที่ตู้ปลา ปลาจะว่ายน้ำหนีอย่างรวดเร็ว กระโดดลอยตัวหนีไปมา ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างเห็นได้ชัด น้ำในอ่างขุ่นมากขึ้น ลำตัวปลามีเมือกลื่นเพิ่มมากขึ้นด้วย

กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 2.0 มก./ลิตร : ปลาแสดงอาการกระวนกระวายมาก ว่ายไปมาอย่างรวดเร็ว ว่ายชนอ่าง กระโดดลอยตัวขึ้นเหนือน้ำเป็นบางครั้ง ปลาไวต่อสิ่งกระตุ้นมาก แต่บางตัวก็แสดงอาการตรงกันข้ามคือ นอนลอยตัวอยู่นิ่งๆ ใกล้ผิวน้ำหรืออยู่ใกล้ๆ หัวทราย ที่ช่วยเพิ่มออกซิเจน น้ำในอ่างขุ่นมากขึ้น และที่ตัวปลามีเมือกลื่นเพิ่มมากขึ้นด้วย

กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 4.0 มก./ลิตร : ปลาแสดงอาการเหมือนกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 2.0 มก./ลิตร โดยระยะเวลาที่แสดงอาการจะเร็วขึ้น แต่ก็ยังคงมีปลาบางตัวที่ลอยตัวอยู่นิ่งๆ หรือตะแคงตัวอยู่ใกล้ๆผิวน้ำหรือไม่ก็อยู่ใกล้ๆ หัวทรายที่ช่วยเพิ่มออกซิเจน การตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นไวและรุนแรงมากขึ้น น้ำในอ่างขุ่นมาก ลำตัวปลามีเมือกเพิ่มมากขึ้นด้วย

3.4.2 ผลของเมททิลพาราไธออนต่อสมรรถนะเอนไซม์โมโนเอสเทอเรสในเลือด และสมองในปลาดุกพันธุ์ผสม

เมททิลพาราไธออนในทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง มีผลทำให้สมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอสเทอเรสทั้งในเลือดและสมองลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 14 และรูปที่ 5, 6 โดยเปอร์เซนต์การยับยั้ง (% inhibition) จะเพิ่มตามขนาดความเข้มข้นของเมททิลพาราไธออนที่สูงขึ้นและในทุกความเข้มข้น สมรรถนะของเอนไซม์ในเลือดจะถูกยับยั้งมากกว่าในสมองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$ (ตารางที่ 15, รูปที่ 7) การยับยั้งสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอสเทอเรสทั้งในเลือดและสมองเนื่องจากการได้รับเมททิลพาราไธออนมีความสัมพันธ์กันและมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) = 0.9671 ดังแสดงในรูปที่ 8

3.4.3 ผลของเมททิลพาราไธออน ต่อค่าทางโลหิตวิทยาในปลาดุกพันธุ์ผสม

เมททิลพาราไธออนในทุกความเข้มข้น ไม่มีผลต่อจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว แต่มีผลทำให้ค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นตามขนาดความเข้มข้นที่สูงขึ้น แต่ค่าที่เพิ่มขึ้นมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงผลในตารางที่ 16 และรูปที่ 9, 10 ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดและสมองปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเมททิลพาราไธออน (มก./ลิตร)	สมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือด	สมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมอง
	mean ± SE	mean ± SE
กลุ่มควบคุม (12)	0.35 ± 0.011	19.97 ± 0.34
0.125 (13)	0.22 ± 0.012 *	14.08 ± 0.45 *
0.25 (13)	0.18 ± 0.005 *	12.98 ± 0.84 *
0.5 (13)	0.13 ± 0.009 *	11.49 ± 0.40 *
1.0 (13)	0.08 ± 0.010 *	8.22 ± 0.60 *
1.5 (12)	0.07 ± 0.005 *	5.30 ± 0.34 *
2.0 (12)	0.05 ± 0.002 *	4.22 ± 0.21 *
4.0 (10)	0.03 ± 0.002 *	2.57 ± 0.05 *

<u>หมายเหตุ</u>

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดคือ μmoles of substrate hydrolyzed/min/ml

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองคือ μmoles of substrate hydrolyzed/min/g of tissue

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P<0.001

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 15 เปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะของเอนไซม์โฉลีนเอสเทอเรสในเลือดและสมองปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเมททิลพาราไธออน (มก./ลิตร)	เปอร์เซนต์การยับยั้ง (% inhibition)	
	เลือด mean ± SE	สมอง mean ± SE
0.125 (13)	33.08 ± 3.09	29.44 ± 2.15 **
0.25 (13)	45.06 ± 1.54 *	34.99 ± 4.19 **
0.5 (13)	63.33 ± 2.23 *	44.44 ± 2.00 *'**
1.0 (13)	75.36 ± 2.80 *	58.13 ± 3.17 *'**
1.5 (12)	80.71 ± 1.73 *	73.58 ± 1.63 *'**
2.0 (12)	85.95 ± 0.55 *	78.87 ± 1.05 *'**
4.0 (10)	92.86 ± 0.48 *	85.12 ± 1.88 *'**

<u>หมายเหตุ</u>

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.01$ (แนวตั้ง)

** มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (แนวนอน)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

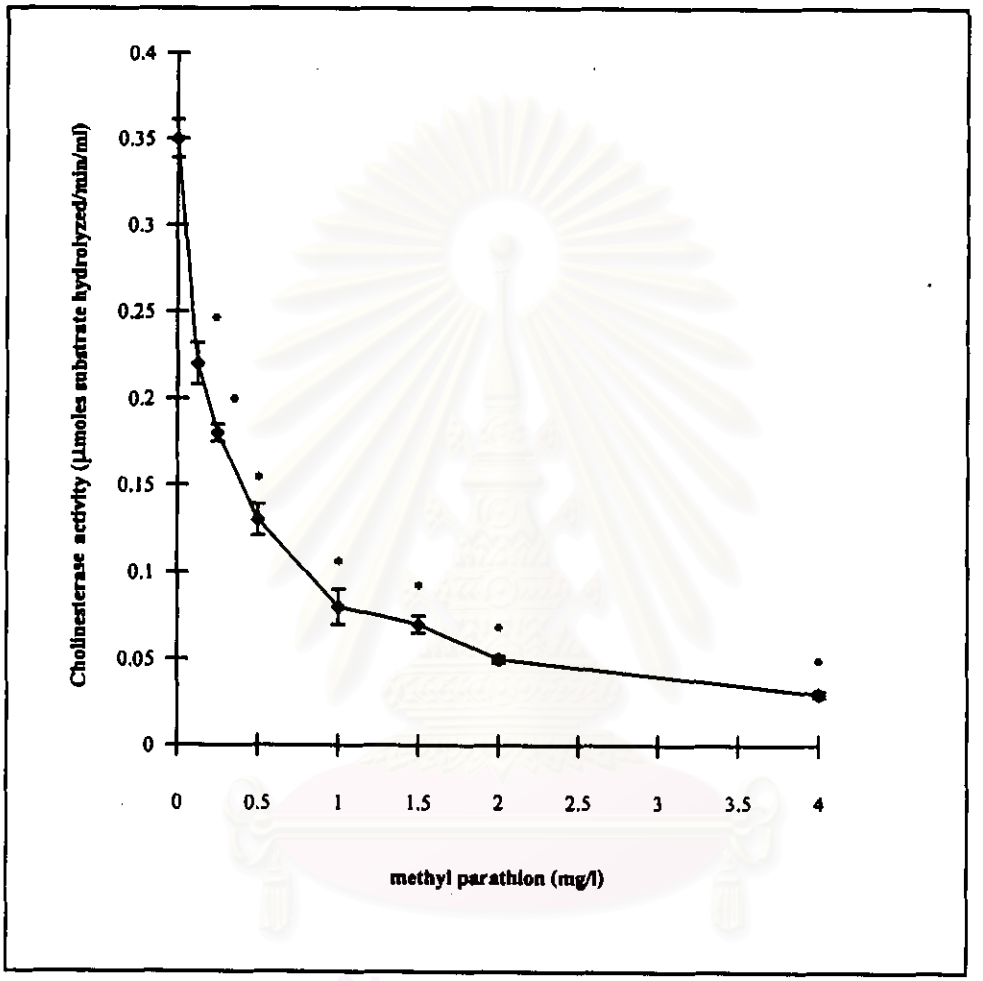
ตารางที่ 16 เปรียบเทียบค่าฮีมาโตคริต (Hct) ฮีโมโกลบิน (Hb) จำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) และจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) ของปลาดุกพันธุ์ผสมในกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับเมททิลพารา-ไธออน ที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเมททิลพาราไธออน (มก./ลิตร)	Hct (%)	Hb (%)	RBC x 10^6 เซลล์/มม.^{3}	WBC x 10^5 เซลล์/มม.^{3}
	mean ± SE	mean ± SE	mean ± SE	mean ± SE
กลุ่มควบคุม (12)	37.25 ± 1.23	12.42 ± 0.41	2.54 ± 0.07	2.17 ± 0.29
0.125 (13)	36.00 ± 1.50	11.99 ± 0.50	2.38 ± 0.09	3.01 ± 0.39
0.25 (13)	36.77 ± 0.99	12.22 ± 0.35	2.41 ± 0.05	2.23 ± 0.39
0.5 (13)	38.77 ± 1.20	12.92 ± 0.40	2.58 ± 0.06	2.28 ± 0.31
1.0 (13)	37.54 ± 0.76	12.49 ± 0.26	2.57 ± 0.04	2.96 ± 0.38
1.5 (12)	39.00 ± 1.55	12.99 ± 0.51	2.48 ± 0.08	2.95 ± 0.46
2.0 (12)	39.50 ± 0.78	13.16 ± 0.26	2.55 ± 0.05	3.30 ± 0.59
4.0 (10)	39.20 ± 2.97	13.07 ± 0.32	2.57 ± 0.06	2.66 ± 0.45

หมายเหตุ

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

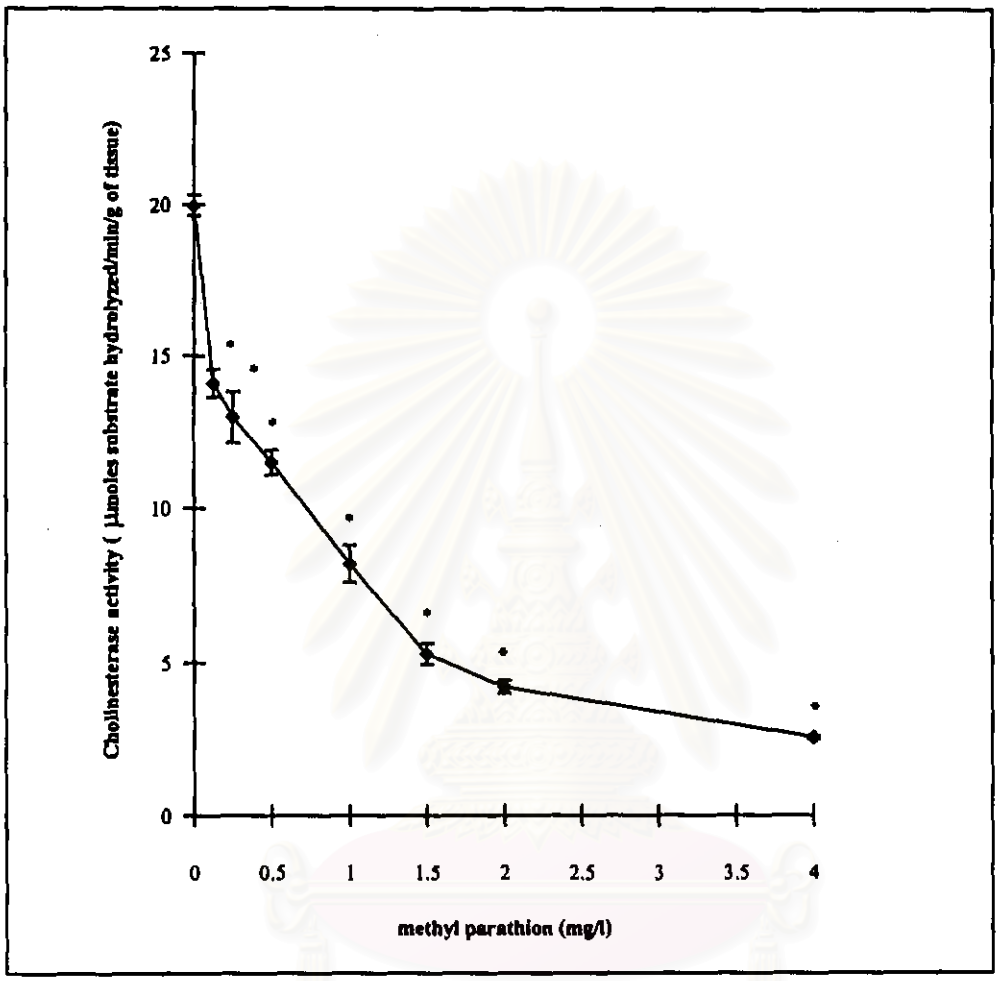
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โนลีนเอสเทอเรสในเลือดปลาคุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

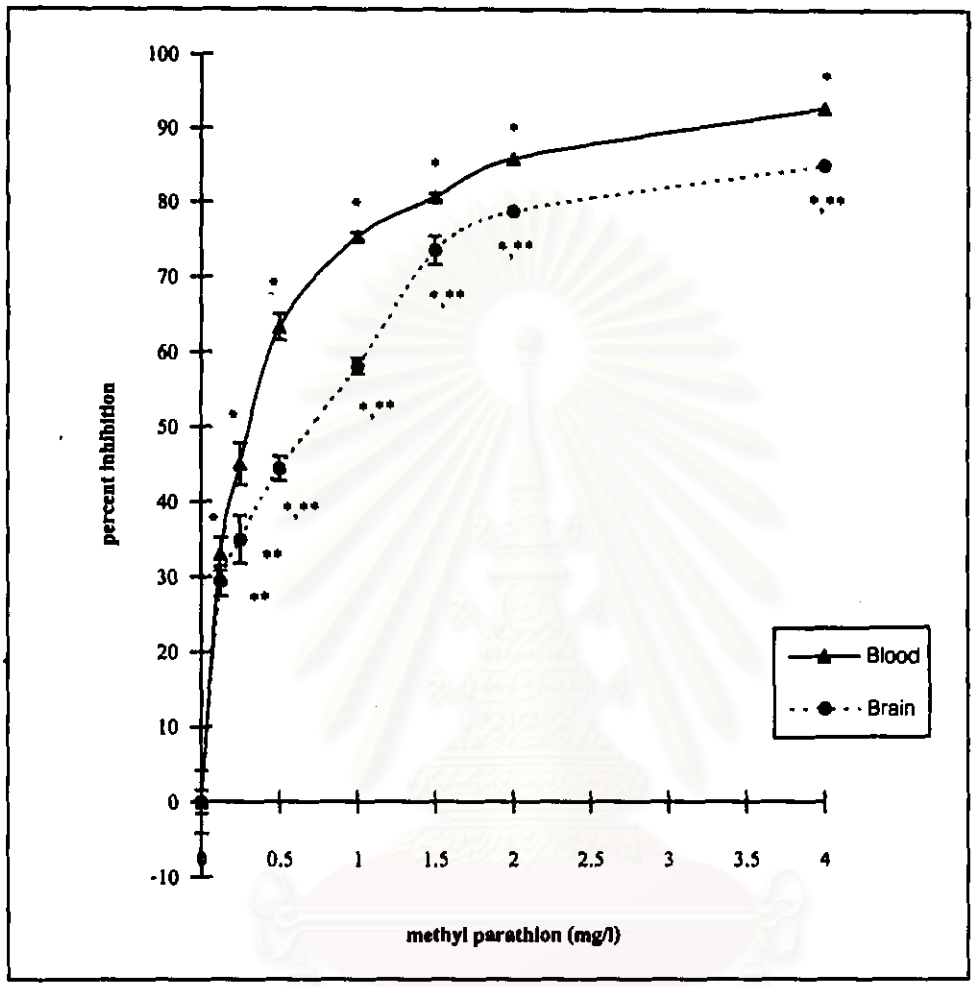
*** แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P<0.001**

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 6 แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

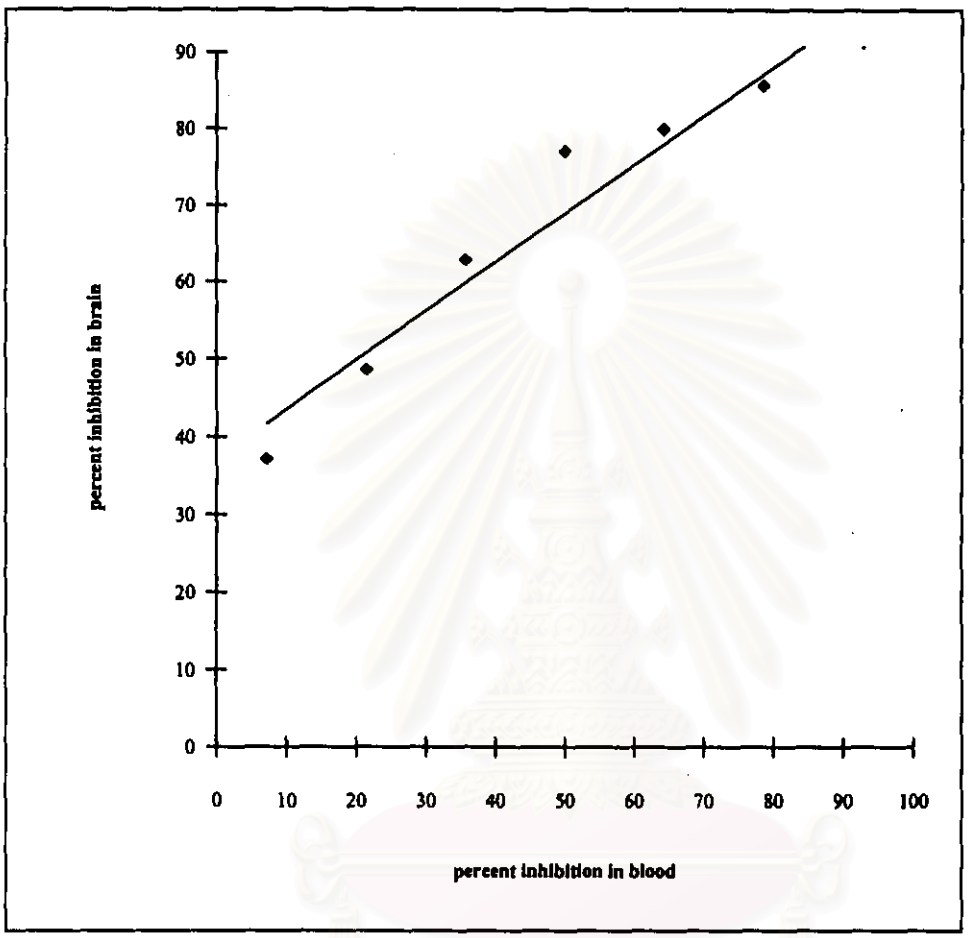
* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.001$



รูปที่ 7 แสดงเปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดและสมองปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

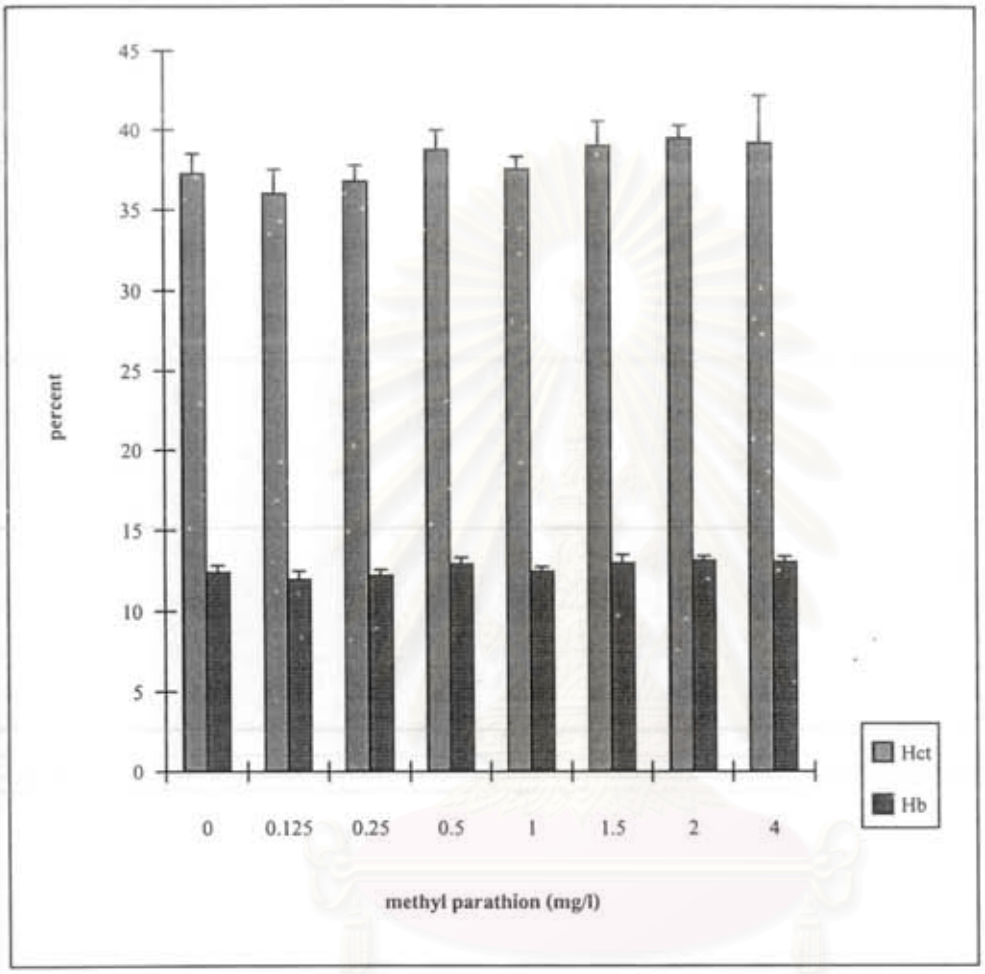
* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$

** มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$



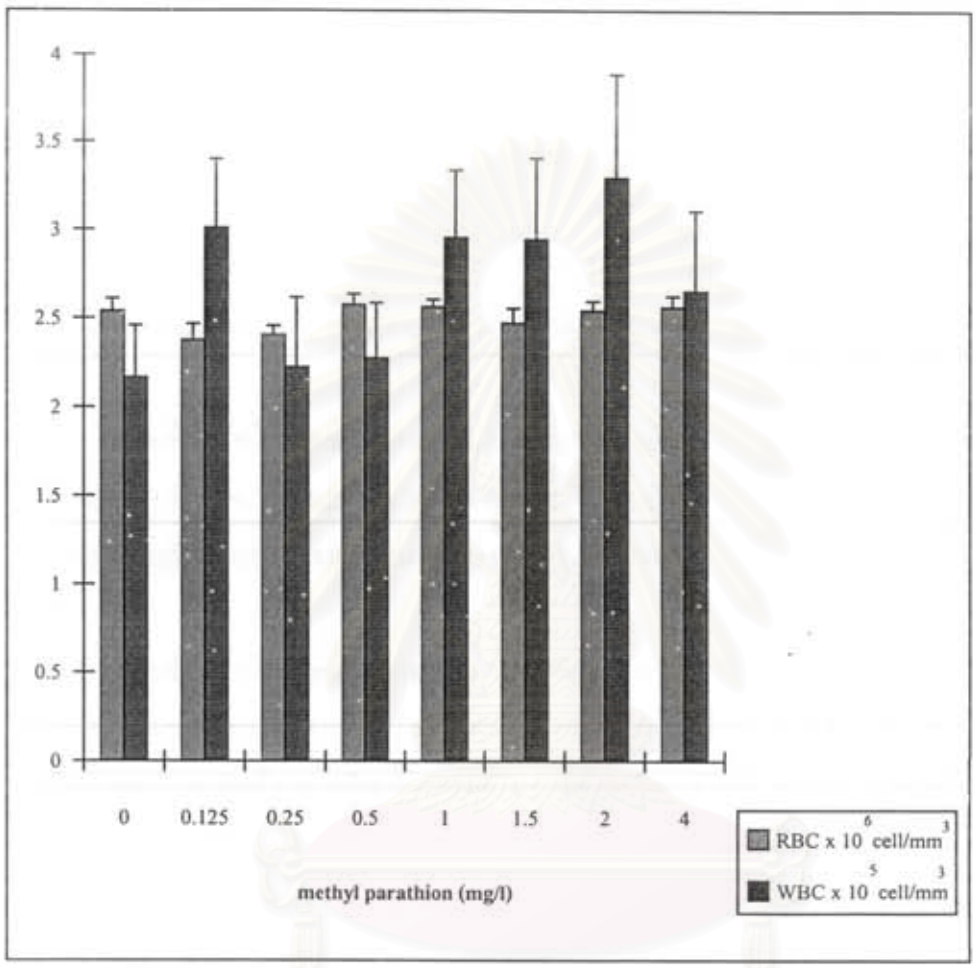
รูปที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์โนลีนเอสเทอเรสในเลือดกับสมองปลาดุกพันธุ์ผสม ที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) = 0.9671

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ยของฮีมาโตคริต (Hct) และ ฮีโมโกลบิน (Hb) ในปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC)และเม็ดเลือดขาว (WBC) ในปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน นาน 24 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.5 การศึกษาพิษของโซเดียมไนไตรทในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตาย (Sublethal dose) ในปลาดุกพันธุ์ผสม

3.5.1 อาการทั่วไปของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์

ปลาดุกพันธุ์ผสมจะถูกเลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ต่างกัน 8 ความเข้มข้น โดยเริ่มที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50, 75, 100, 125 และ150 มก./ลิตร ตามลำดับ สังเกตอาการปลาก่อนที่จะได้รับโซเดียมไนไตรท์และที่เวลา 30 นาที, 2 ชั่วโมงและ24 ชั่วโมง หลังจากได้รับโซเดียมไนไตรท์ จากการสังเกตพบว่า ความรุนแรงของการเกิดพิษจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารที่ได้รับ โดยอาการที่ปรากฏสามารถสรุปแยกเป็นกลุ่มได้ดังนี้

กลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ 6.25 และ 12.5 มก./ลิตร : อาการโดยทั่วไปตั้งแต่ได้รับสารจนครบ 24 ชั่วโมง ยังแตกต่างจากกลุ่มควบคุมไม่เด่นชัดนัก ปลายังคงว่ายน้ำไปมาปกติหรือไม่ก็นอนนิ่งๆ อยู่ที่พื้นอ่าง การตอบสนองต่อการกระตุ้นปกติ

กลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ 25 มก./ลิตร : อาการที่สังเกตเห็นเมื่อครบ 24 ชั่วโมง ยังคงไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมมากนัก ปลาบางตัวแสดงอาการกระสับกระส่าย กระโดดลอยตัวขึ้นเหนือผิวน้ำเป็นบางครั้ง ส่วนใหญ่นอนอยู่นิ่งๆ ที่พื้นอ่าง น้ำในอ่างเริ่มขุ่น ลำตัวปลามีเมือกลื่นเล็กน้อย

กลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ 50 และ 75 มก./ลิตร : อาการโดยทั่วไปไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ 25 มก./ลิตร แต่ที่ความเข้มข้น 75 มก./ลิตร ปลาบางตัวเริ่มแสดงอาการเฉื่อย การตอบสนองต่อการกระตุ้นเริ่มช้าลง นอนลอยตัวนิ่งๆ เอียงทำมุมกับพื้นอ่าง หัวอยู่ใกล้ๆ กับผิวน้ำ น้ำในอ่างเริ่มขุ่นมากขึ้น และที่ลำตัวปลาก็มีเมือกลื่นมากขึ้น

กลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ 100, 125 และ 150 มก./ลิตร : ปลาส่วนใหญ่แสดงอาการเฉื่อยเด่นชัดขึ้น ไม่ค่อยตอบสนองต่อการกระตุ้น ลอยตัวอยู่ใกล้ๆ ผิวน้ำ บางตัวนอนตะแคงหรือนอนลอยตัวนิ่งๆ อยู่ที่พื้นอ่างใกล้หัวทรายที่ช่วยเพิ่มออกซิเจน แต่ปลาบางตัวยังแสดงอาการกระสับกระส่าย ว่ายน้ำไปมาอย่างรวดเร็ว ว่ายชนอ่าง กระโดดลอยตัวขึ้นเหนือน้ำบ่อยครั้งโดยความรุนแรงที่สังเกตเห็น จะแปรผันตามขนาดความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ที่ได้รับ ขณะที่ตักปลาขึ้น ปลาจะเฉื่อยไม่ว่ายหนี น้ำที่ใช้เลี้ยงขุ่นมากขึ้นและที่ลำตัวมีเมือกลื่นมาก

3.5.2 ผลของโซเดียมไนไตรท์ในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตายต่อการเกิดภาวะเมทฮีโมโกลบิน-นีเมีย (methemoglobinemia) ผลต่อสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดและสมอง ค่าทางโลหิตวิทยา

3.5.2.1 ผลของโซเดียมไนไตรท์ต่อการเกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินนีเมียในปลาดุกพันธุ์ผสม

จากการศึกษาพบว่า โซเดียมไนไตรท์มีผลทำให้เลือดปลาดุกพันธุ์ผสมเกิดภาวะเมทฮีโม-โกลบินนีเมีย เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม ปริมาณเมทฮีโมโกลบินที่เกิดขึ้นจะเพิ่มตามขนาดความเข้มข้นของสารเคมีที่ปลาได้รับ ซึ่งปริมาณเมทฮีโมโกลบินที่เพิ่มขึ้นนี้ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 12.5 มก./ลิตร ดังแสดงผลในตาราง ที่ 17 และรูปที่ 11 เมื่อนำค่าที่ได้เปรียบเทียบกันภายในกลุ่ม พบว่าปริมาณเมทฮีโมโกลบินของกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 6.25-12.5 มก./ลิตร และที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 75 - 150 มก./ลิตร มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.01$)

3.5.2.2 ผลของโซเดียมไนไตรท์ต่อ สมรรถะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดและสมองปลาดุกพันธุ์ผสม

โซเดียมไนไตรท์ทุกขนาดความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดและสมอง ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 18 และรูปที่ 12, 13 ตามลำดับ

3.5.2.3 ผลของโซเดียมไนไตรท์ต่อค่าทางโลหิตวิทยาในปลาดุกพันธุ์ผสม

จากการศึกษา โซเดียมไนไตรท์มีผลทำให้ค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินลดลงเรื่อยๆ ตามขนาดความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ที่เพิ่มสูงขึ้น ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 มก./ลิตร ค่าฮีมา-โตคริตและฮีโมโกลบินเริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$(ยกเว้นความเข้มข้น50 มก./ลิตร มีความแตกต่างกันที่ $p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนั้นโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นสูงๆ มีแนวโน้มทำให้ จำนวนเม็ดเลือดแดงมีค่าลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

($p<0.05$) ที่ความเข้มข้น 100 และ 150 มก./ลิตร แต่จำนวนเม็ดเลือดขาวไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 19 และรูปที่ 14, 15

ตารางที่ 17 แสดงปริมาณเมทฮีโมโกลบินในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)	ปริมาณเมทฮีโมโกลบิน (%)
	mean ± SE
กลุ่มควบคุม (12)	ND
6.25 (14)	0.36 ± 0.12
12.5 (12)	3.80 ± 0.41 *
25 (12)	17.94 ± 2.57 *
50 (10)	37.66 ± 2.49 *
75 (10)	55.45 ± 4.34 *
100 (12)	65.06 ± 3.12 *
125 (10)	60.32 ± 1.38 *
150 (10)	61.21 ± 2.38 *

หมายเหตุ

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

ND = ตรวจไม่พบ

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$

ตารางที่ 18 แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดและสมองปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและ กลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)	สมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือด	สมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมอง
	mean ± SE	mean ± SE
กลุ่มควบคุม (12)	0.30 ± 0.02	21.23 ± 0.40
6.25 (14)	0.28 ± 0.02	22.15 ± 0.37
12.5 (12)	0.30 ± 0.02	21.51 ± 0.21
25 (12)	0.27 ± 0.02	21.34 ± 0.29
50 (10)	0.30 ± 0.02	21.45 ± 0.43
75 (10)	0.29 ± 0.02	21.51 ± 0.43
100 (12)	0.30 ± 0.03	21.89 ± 0.44
125 (10)	0.30 ± 0.02	21.18 ± 0.28
150 (10)	0.30 ± 0.01	21.42 ± 0.39

<u>หมายเหตุ</u>

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดคือ μmoles of substrate hydrolyzed/min/ml

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองคือ μmoles of substrate hydrolyzed/min/g of tissue

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 19 แสดงค่าฮีมาโตคริต (Hct) ฮีโมโกลบิน (Hb) จำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) และจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) ของปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

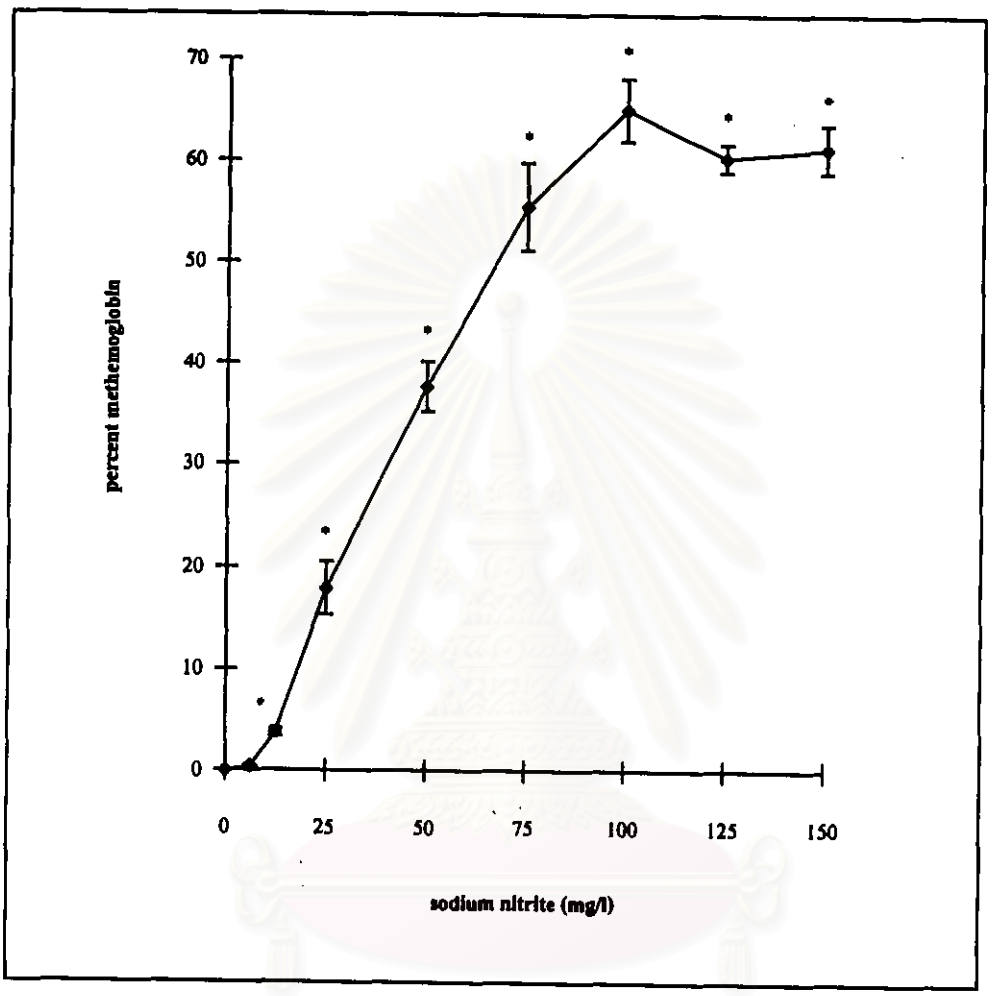
ความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)	โซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)			
	Hct(%)	Hb(%)	RBC x 10^6 เซลล์/มม.^{3}	WBC x 10^5 เซลล์/มม.^{3}
	mean ± SE	mean ± SE	mean ± SE	mean ± SE
กลุ่มควบคุม (12)	35.42 ±0.74	11.80 ± 0.24	2.78 ± 0.07	2.83 ±0.36
6.25 (14)	34.29 ±1.37	11.42 ± 0.46	2.70 ± 0.09	4.05 ± 0.62
12.5 (12)	34.83 ±0.98	11.61 ± 0.33	2.71 ± 0.12	3.58 ± 0.48
25 (12)	34.38 ±0.92	11.37 ± 0.32	2.78 ± 0.05	3.23 ± 0.48
50 (10)	32.30 ±2.87 *	10.76 ± 0.30 *	2.78 ± 0.11	3.17 ± 0.38
75 (10)	29.15 ±0.93 *	9.98 ± 0.36 *	2.58 ± 0.08	2.56 ± 0.40
100 (12)	28.83 ±1.51 *	9.61 ± 0.50 *	2.55 ± 0.13 *	3.04 ± 0.42
125 (10)	29.40 ±1.28 *	9.88 ± 0.44 *	2.56 ± 0.08	3.29 ± 0.42
150 (10)	30.00 ±1.12 *	10.01 ± 0.37 *	2.54 ± 0.13 *	3.25 ± 0.25

หมายเหตุ

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

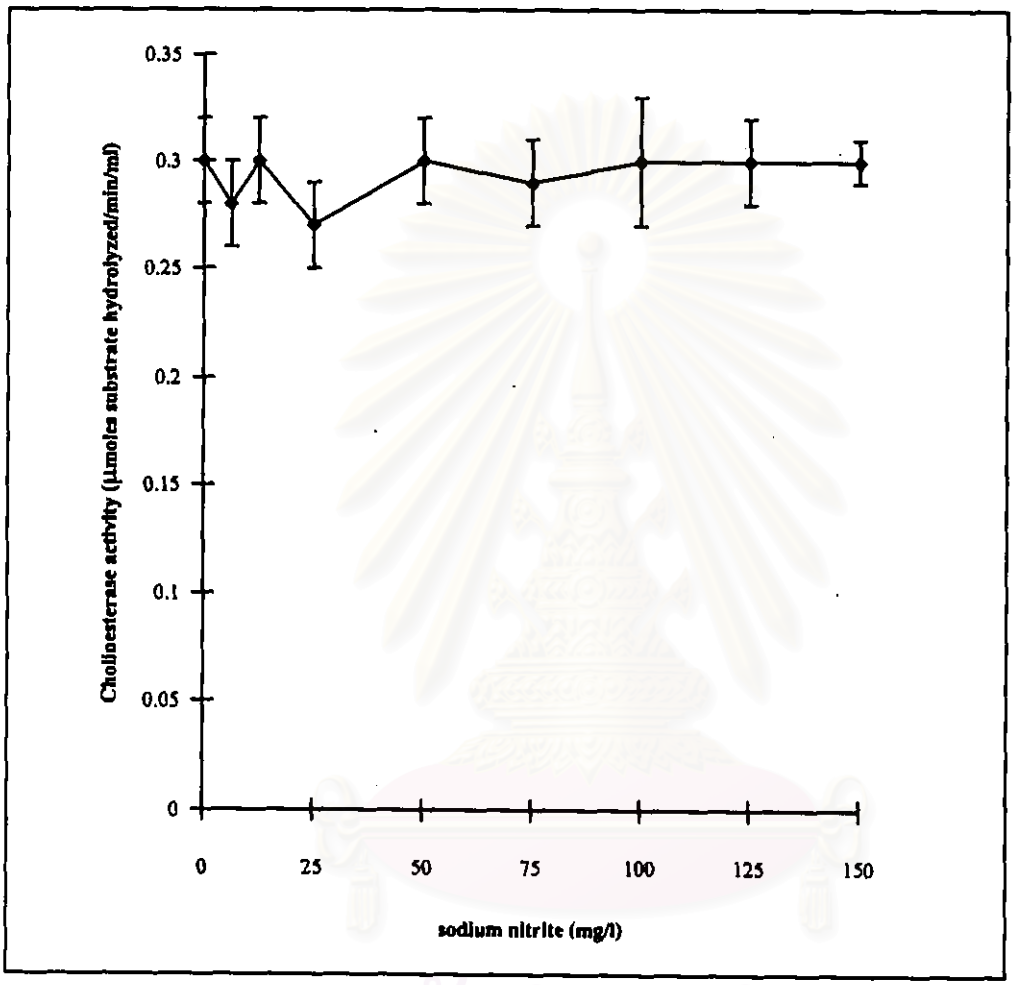
* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

** แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$

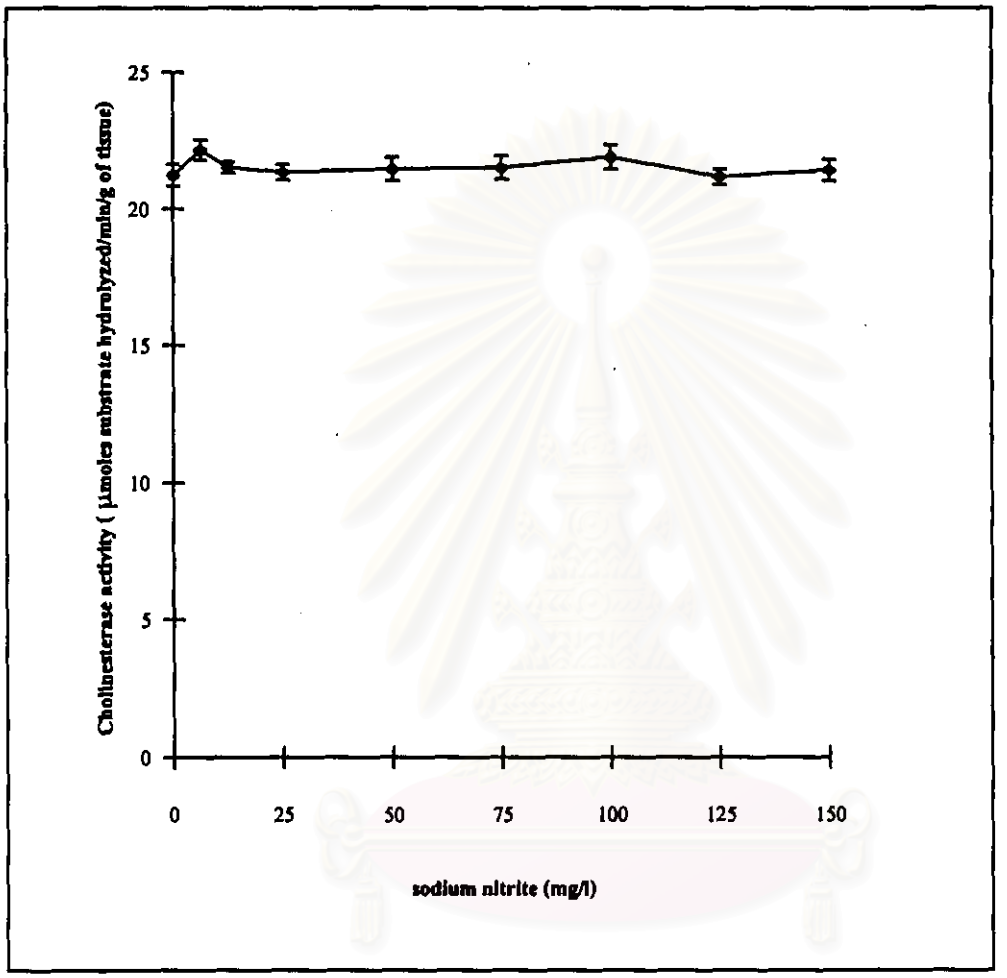


รูปที่ 11 แสดงปริมาณเมทฮีโมโกลบินในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.01$

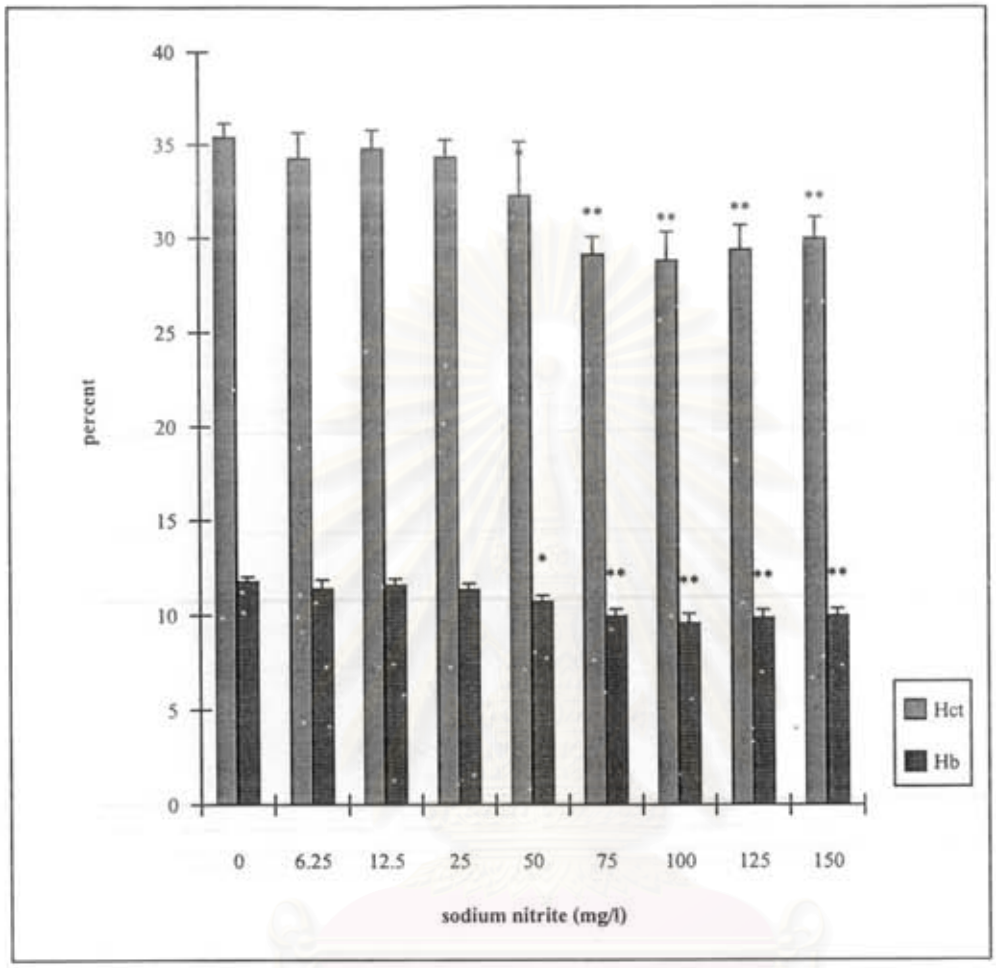


รูปที่ 12 แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โฉลีนเอสเทอเรสในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง



รูปที่ 13 แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

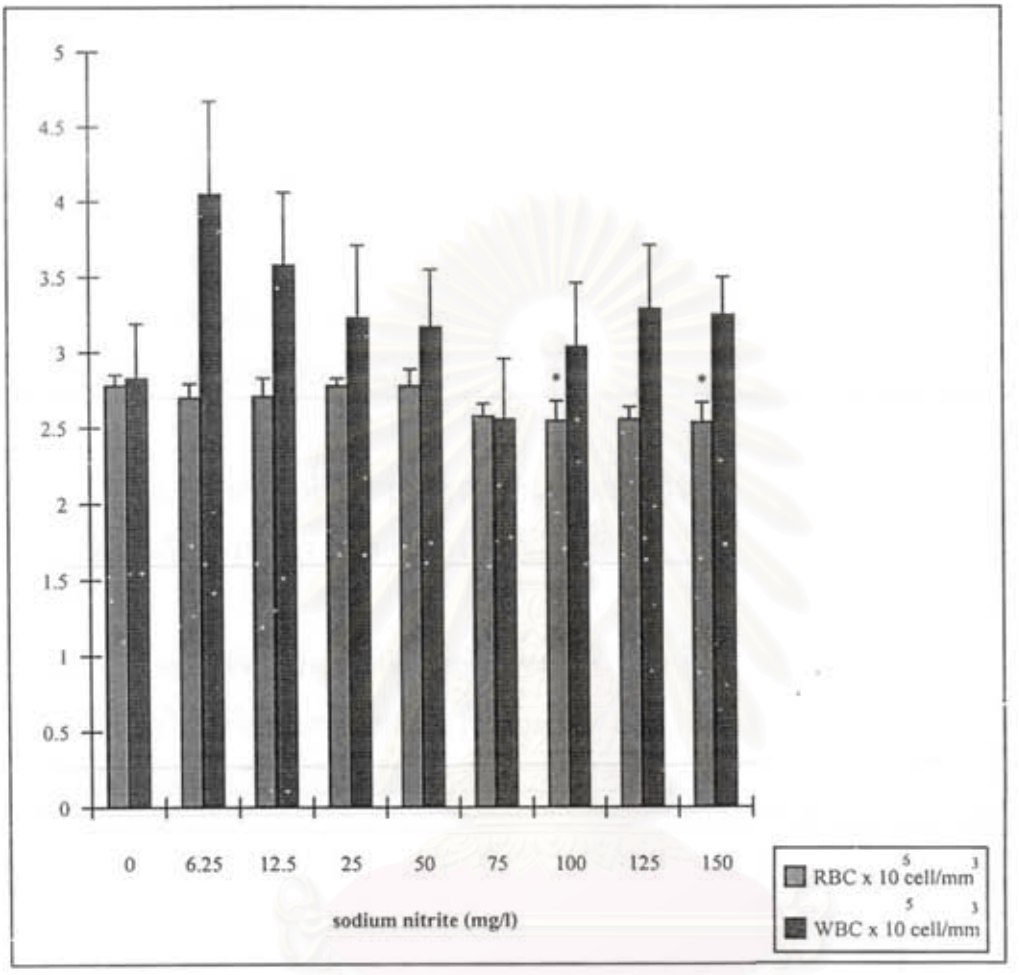
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 14 แสดงค่าเฉลี่ยของฮีมาโตคริต (Hct) และฮีโมโกลบิน (Hb) ของปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P<0.05

** แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P<0.01



รูปที่ 15 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC)และเม็ดเลือดขาว (WBC)ในปลาดุกพันธุ์ผสม กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน นาน 24 ชั่วโมง

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

3.6 การศึกษาผลร่วมกันของเมททิลพาราไธออนกับโซเดียมไนไตรท์ในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตาย ในปลาดุกพันธุ์ผสม

การศึกษาผลของเมททิลพาราไธออนเมื่อให้ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ ต่อการเกิดภาวะเมท-ฮีโมโกลบินนีเมีย ต่อสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสทั้งในเลือดและในสมอง ค่าทางโลหิตวิทยา ในขั้นตอนนี้เลือกใช้เมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้น 0.25 มก./ลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ทำให้สมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดลดลงประมาณร้อยละ 50 (ตารางที่ 14) โดยการศึกษาจะให้เมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ซึ่งเป็นความเข้มข้นเดียวกันกับการศึกษาที่ให้โซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียว คือ 12.5, 25, 50, 75, 100 และ150 มก./ลิตร ตามลำดับ

3.6.1 อาการทั่วไปของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน

จากการศึกษาโดยให้ปลาดุกพันธุ์ผสมได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ซึ่งเป็นขนาดความเข้มข้นที่ไม่ทำให้ปลาตาย สังเกตอาการปลาก่อนที่จะสัมผัสกับสารเคมีและหลังจากสัมผัสกับสารเคมีที่เวลา 30 นาที, 2 ชั่วโมงและ24 ชั่วโมง ตามที่กำหนด จากอาการที่สังเกตเห็น พบว่าระยะเวลาเริ่มต้นของการเกิดพิษจะเร็วและอาการจะรุนแรงกว่ากลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียว นอกจากนั้น ความรุนแรงของอาการแสดงยังแปรผันตามความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ที่สูงขึ้นอีกด้วย

กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้น 12.5 มก./ลิตร : อาการโดยทั่วไปยังไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ปลายังคงว่ายน้ำไปมาปกติ หรือไม่ก็นอนนิ่งๆ อยู่ที่พื้นอ่าง น้ำที่ใช้เลี้ยงเริ่มขุ่น สังเกตเห็นว่ามีเมือกที่ปล่อยจากตัวปลาลอยอยู่ในน้ำบางส่วนเกาะที่ผิวอ่าง ที่ลำตัวปลามีเมือกเล็กน้อย

กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้น 25 และ 50 มก./ลิตร : อาการโดยทั่วไปยังไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมเด่นชัดนัก บางตัวแสดงอาการกระวนกระวาย กระโดดลอยตัวขึ้นเหนือน้ำ แต่บางตัวก็นอนลอยตัวนิ่งๆ อยู่ใกล้ๆ ผิวน้ำหรือไม่ก็นอนอยู่ใกล้ๆ หัวทรายที่ช่วยเพิ่มออกซิเจน น้ำในอ่างขุ่นมากมีเมือกลอยและเกาะข้างตู้จำนวนมาก ที่ตัวปลามีเมือกลื่นเพิ่มมากขึ้น

กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้น 75 และ 100 มก./ลิตร : ปลาบางตัวแสดงอาการกระสับกระส่าย กระวนกระวายอย่างชัดเจน ว่ายน้ำไปมาอย่างรวดเร็ว กระโดดลอยตัวขึ้นเหนือน้ำบ่อยครั้งขึ้น แต่บางตัวกลับมีอาการเฉื่อยชาไม่ค่อยตอบสนองต่อการกระตุ้น นอนลอยตัวนิ่งๆ อยู่ใกล้ๆ ผิวน้ำหรือไม่ก็นอนตะแคงตัวอยู่ใกล้ๆ หัวทราย น้ำในอ่างขุ่นมากจนแทบจะมองไม่เห็นตัวปลา ถ้าตัวปลามีเมือกลื่นจำนวนมาก

กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้น 150 มก./ลิตร : ปลาแสดงอาการเฉื่อยเด่นชัดขึ้น ส่วนใหญ่จะนอนลอยตัวนิ่งๆ อยู่ใกล้ๆ ผิวน้ำหรือไม่ก็นอนตะแคงตัวอยู่ใกล้ๆ หัวทรายที่ช่วยเพิ่มออกซิเจน ไม่ค่อยตอบสนองต่อการกระตุ้น เมื่อได้รับการกระตุ้นจะว่ายน้ำหนีอย่างช้าๆ แล้วก็หยุดนิ่ง ขณะที่ทำการตักปลาขึ้นมาเพื่อศึกษา ปลาจะเฉื่อยไม่ว่ายหนี น้ำในอ่างมีเมือกลอยและเกาะอยู่ที่อ่างจำนวนมากจนมองไม่เห็นตัวปลา ถ้าตัวปลามีเมือกลื่นจำนวนมาก

3.6.2 ผลร่วมกันของเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร กับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินนีเมียในปลาดุกพันธุ์ผสม

ปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์มีผลทำให้มีปริมาณเมทฮีโมโกลบินเพิ่มสูงขึ้น แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ตั้งแต่ความเข้มข้น 12.5 มก./ลิตร เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่ม พบว่าที่ทุกความเข้มข้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) ผลที่ได้จากขั้นตอนนี้ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าในกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 12.5-50 มก./ลิตร มีปริมาณเมทฮีโมโกลบินสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับร่วมกับเมททิลพาราไธออน อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่ปริมาณเมทฮีโมโกลบินในกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 150 มก./ลิตร เพิ่มสูงขึ้นมากกว่ากลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$ (ตารางที่ 20, รูปที่ 16)

3.6.3 ผลร่วมกันของเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร กับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อสมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสทั้งในเลือดและในสมอง

สมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสทั้งในเลือดและในสมองของปลาคุกพันธุ์ผสม กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ในทุกความเข้มข้นมีค่าลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ต่างกัน สมรรถนะของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสทั้งในเลือดและในสมองมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.01$) ผลที่ได้เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้นเดียวกันและกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้น 0.25 มก./ลิตร พบว่าสมรรถนะของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรส ทั้งในเลือดและในสมองของกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ ร่วมกับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นเดียวกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.01$) แต่ต่างจากกลุ่มที่ได้รับเฉพาะโซเดียมไนไตรท์อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 21, 22 และรูปที่ 17, 18

3.6.4 ผลร่วมกันของเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร กับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อค่าทางโลหิตวิทยา

ความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ที่เพิ่มขึ้น ตั้งแต่ 75 มก./ลิตร เมื่อให้ร่วมกับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร มีผลทำให้ ค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 มก./ลิตร มีผลทำให้จำนวนเม็ดเลือดแดงลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ในทุกความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ที่ให้ร่วมกับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ไม่มีผลต่อจำนวนเม็ดเลือดขาว เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 23, 24 และรูปที่ 19, 20 เมื่อนำค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบินและจำนวนเม็ดเลือดแดงที่ได้ในขั้นตอนนี้ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียว พบว่าแนวโน้มการลดลงของค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบินและจำนวนเม็ดเลือดแดง เป็นไปในทางเดียวกัน แต่ในกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ร่วมกับเมททิลพาราไธออนจำนวนเม็ดเลือดแดงที่ลดลงจากกลุ่มควบคุมแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียวชัดเจนขึ้น

ตารางที่ 20 เปรียบเทียบปริมาณเมทฮีโมโกลบินในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มของควบคุม และกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กับ กลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์อย่างเดียว นาน 24 ชั่วโมง (n = 10-15)

ความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)	ปริมาณเมทฮีโมโกลบิน กลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์อย่างเดียว (%)	ปริมาณเมทฮีโมโกลบิน กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ (%)
	mean ± SE	mean ± SE
กลุ่มควบคุม	ND (12)	ND (13)
12.5	3.80 ± 0.41 (12)	1.80 ± 0.23 [b] (13)
25	17.94 ± 2.57 (12)	7.85 ± 0.87 [a,b] (13)
50	37.66 ± 2.49 (10)	29.82 ± 1.95 [a,b] (15)
75	55.45 ± 4.34 (10)	47.47 ± 2.98 [a] (13)
100	65.06 ± 3.12 (12)	71.34 ± 2.96 [a] (10)
150	61.21 ± 2.38 (10)	83.53 ± 3.13 [a,b] (10)

<u>หมายเหตุ</u>

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

ND = ตรวจไม่พบ

a แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$ (แนวตั้ง)

b แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์อย่างเดียวในขนาดที่เท่ากัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$ (แนวนอน)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 21 เปรียบเทียบสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสมของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กับกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียว นาน 24 ชั่วโมง (n = 10-15)

ความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)	สมรรถนะเอนไซม์ในเลือด	
	กลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์อย่างเดียว	กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนร่วมกับโซเดียมไนไตรท์
	mean ± SE	mean ± SE
กลุ่มควบคุม	0.30 ± 0.02 (12)	0.30 ± 0.007 (14)
12.5	0.30 ± 0.02 (12)	0.17 ± 0.008 [a,b] (13)
25	0.27 ± 0.02 (12)	0.17 ± 0.011 [a,b] (13)
50	0.30 ± 0.02 (10)	0.18 ± 0.004 [a,b] (15)
75	0.30 ± 0.02 (10)	0.18 ± 0.012 [a,b] (13)
100	0.29 ± 0.03 (12)	0.18 ± 0.005 [a,b] (10)
150	0.30 ± 0.01 (10)	0.18 ± 0.008 [a,b] (10)

<u>หมายเหตุ</u>

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดคือ μmoles of substrate hydrolyzed/min/ml

a แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$ (แนวตั้ง)

b แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์อย่างเดียวในขนาดที่เท่ากัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$ (แนวนอน)

ตารางที่ 22 เปรียบเทียบสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองปลาดุกพันธุ์ผสมของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กับกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียว นาน 24 ชั่วโมง (n = 10-15)

ความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)	สมรรถนะเอนไซม์ในสมอง	
	กลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์อย่างเดียว	กลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนร่วมกับโซเดียมไนไตรท์
	mean ± SE	mean ± SE
กลุ่มควบคุม	21.23 ± 0.40 (12)	19.80 ± 0.21 (14)
12.5	21.51 ± 0.21 (12)	13.90 ± 0.42 [a,b] (13)
25	21.34 ± 0.29 (12)	13.74 ± 0.43 [a,b] (13)
50	21.45 ± 0.43 (10)	14.19 ± 0.30 [a,b] (15)
75	21.51 ± 0.43 (10)	14.61 ± 0.29 [a,b] (13)
100	21.89 ± 0.44 (12)	14.70 ± 0.13 [a,b] (10)
150	21.42 ± 0.39 (10)	14.28 ± 0.27 [a,b] (10)

<u>หมายเหตุ</u>

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองคือ μmoles of substrate hydrolyzed/min/g of tissue

a แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$ (แนวตั้ง)

b แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์อย่างเดียวในขนาดที่เท่ากัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$ (แนวนอน)

ตารางที่ 23 เปรียบเทียบค่าฮีมาโตคริต (Hct) ฮีโมโกลบิน (Hb) ของปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กับกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียว นาน 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)	โซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)		เมททิลพาราไธออนและโซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)	
	Hct (%)	Hb (%)	Hct (%)	Hb (%)
	mean ± SE	mean ± SE	mean ± SE	mean ± SE
กลุ่มควบคุม	35.42 ±0.74 (12)	11.80 ± 0.24	41.00±0.96 (14)	13.68 ±0.32
12.5	34.83 ±0.98 (12)	11.61 ± 0.33	41.23±0.89 (13)	13.72 ±0.30
25	34.38 ±0.92 (12)	11.37 ± 0.32	40.38±2.14 (13)	13.46 ±0.72
50	32.30 ±2.87* (10)	10.76 ± 0.30*	38.60±1.26 (15)	12.91 ±0.43
75	29.15 ±0.93** (10)	9.98 ± 0.36**	35.31±0.94** (13)	11.74 ±0.30**
100	28.83 ±1.51** (10)	9.61 ± 0.50**	34.40±1.93** (10)	11.45 ±0.46**
150	30.00 ±1.12** (10)	10.01 ± 0.37**	33.80±0.81** (10)	11.27 ±0.27**

<u>หมายเหตุ</u>

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

** แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 24 เปรียบเทียบจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) และจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) ของปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ เมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กับกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียว นาน 24 ชั่วโมง

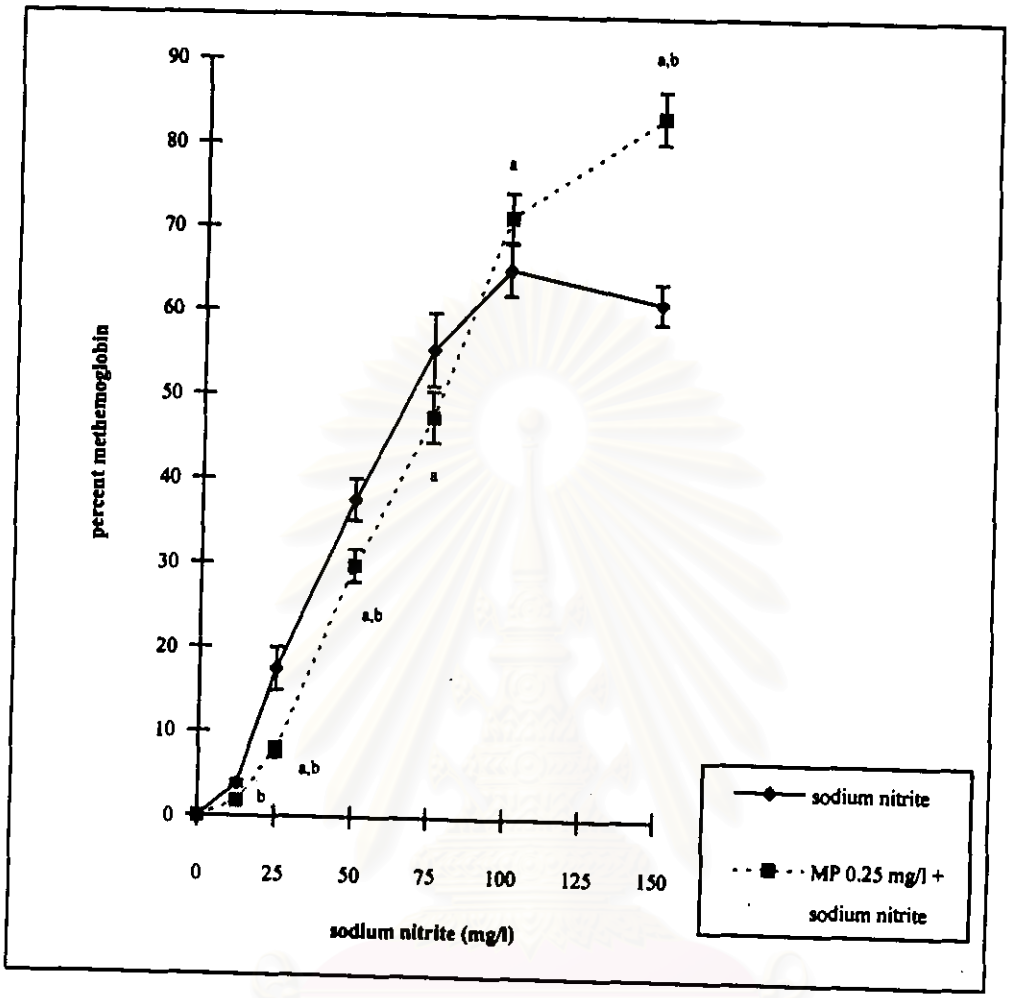
ความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)	โซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)		เมททิลพาราไธออน 0.25 มก./ลิตร และโซเดียมไนไตรท์ (มก./ลิตร)	
	RBC x 10^6 เซลล์/มม.^{3}	WBC x 10^5 เซลล์/มม.^{3}	RBC x 10^6 เซลล์/มม.^{3}	WBC x 10^5 เซลล์/มม.^{3}
	mean ± SE	mean ± SE	mean ± SE	mean ± SE
กลุ่มควบคุม	2.78 ±0.07 (12)	2.83 ± 0.36	2.86 ±0.06 (14)	1.61 ± 0.18
12.5	2.71 ±0.12 (12)	3.58 ± 0.48	2.80 ±0.08 (13)	2.12 ± 0.27
25	2.78 ±0.05 (12)	3.23 ± 0.48	2.77 ±0.13 (13)	2.11 ± 0.30
50	2.78 ±0.11 (10)	3.17 ± 0.38	2.66 ±0.07 * (15)	1.73 ± 0.15
75	2.58 ±0.08 (10)	2.56 ± 0.40	2.56 ±0.06 * (13)	1.68 ± 0.16
100	2.55 ±0.13*(10)	3.04 ± 0.42	2.65 ±0.05 * (10)	2.21 ± 0.24
150	2.54 ±0.13*(10)	3.25 ± 0.25	2.53 ±0.06 * (10)	1.69 ± 0.23

หมายเหตุ

ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนตัวอย่าง (n) ที่ใช้ในการทดลอง

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

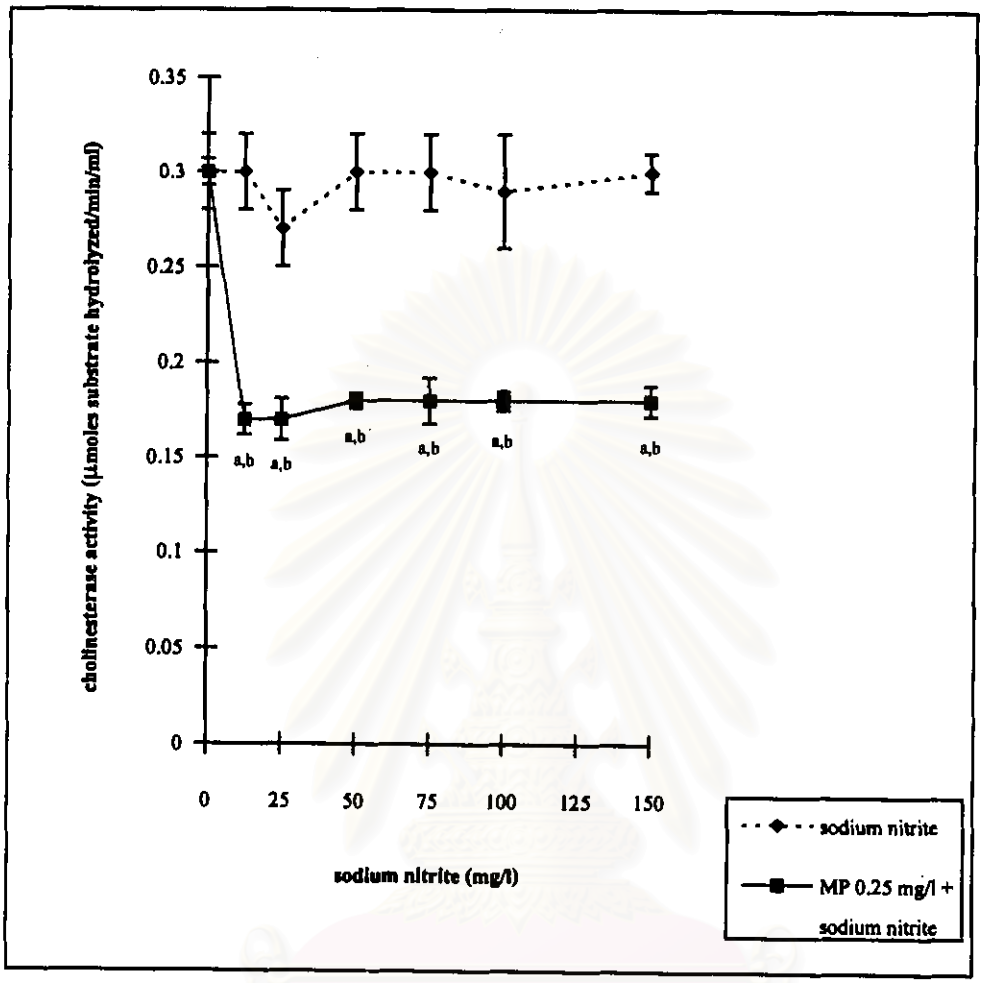
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 16 แสดงปริมาณเมทฮีโมโกลบินในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ร่วมกับเมทธิลพาราไธออนขนาด 0.25 mg/l นาน 24 ชั่วโมง

a แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$

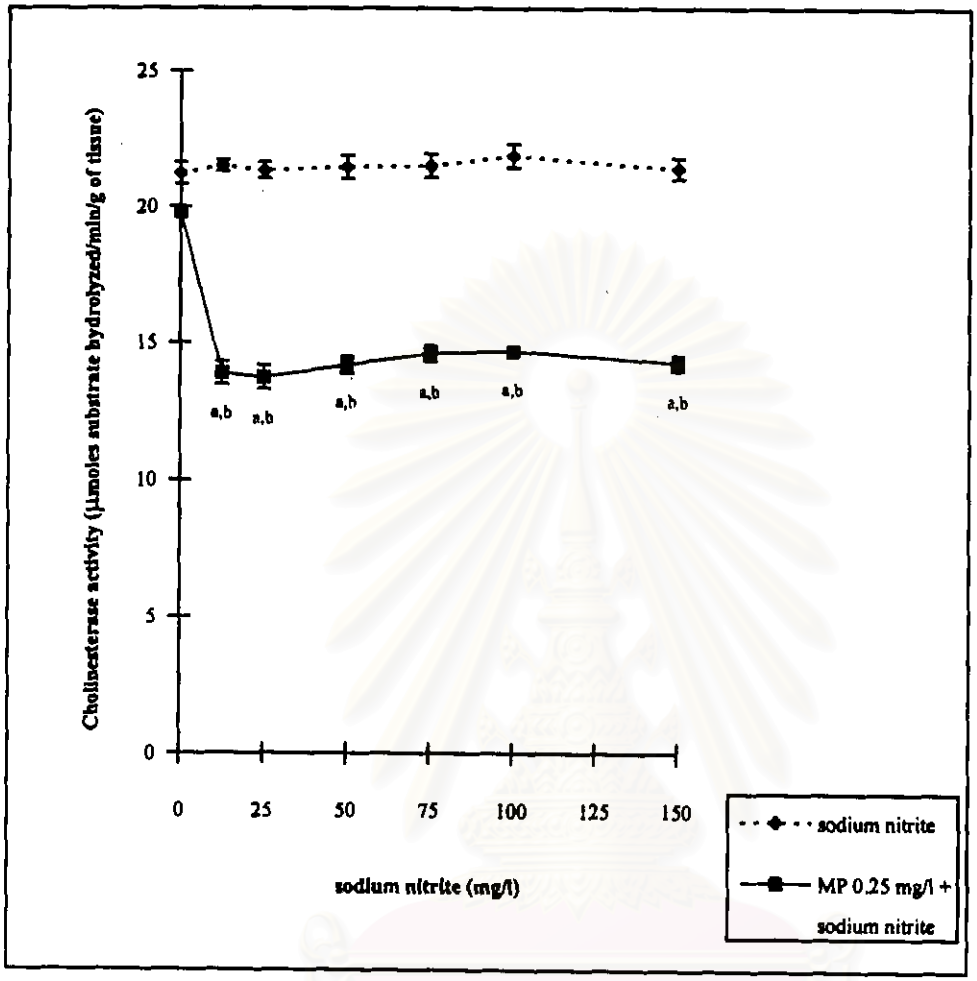
b แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์อย่างเดียวในขนาดที่เท่ากัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$



รูปที่ 17 แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในเลือดปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ และกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ร่วมกับเมทธิลพาราไธออน 0.25 mg/l เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเมทธิลพาราไธออนขนาด 0.25 mg/l อย่างเดียว นาน 24 ชั่วโมง

a แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$

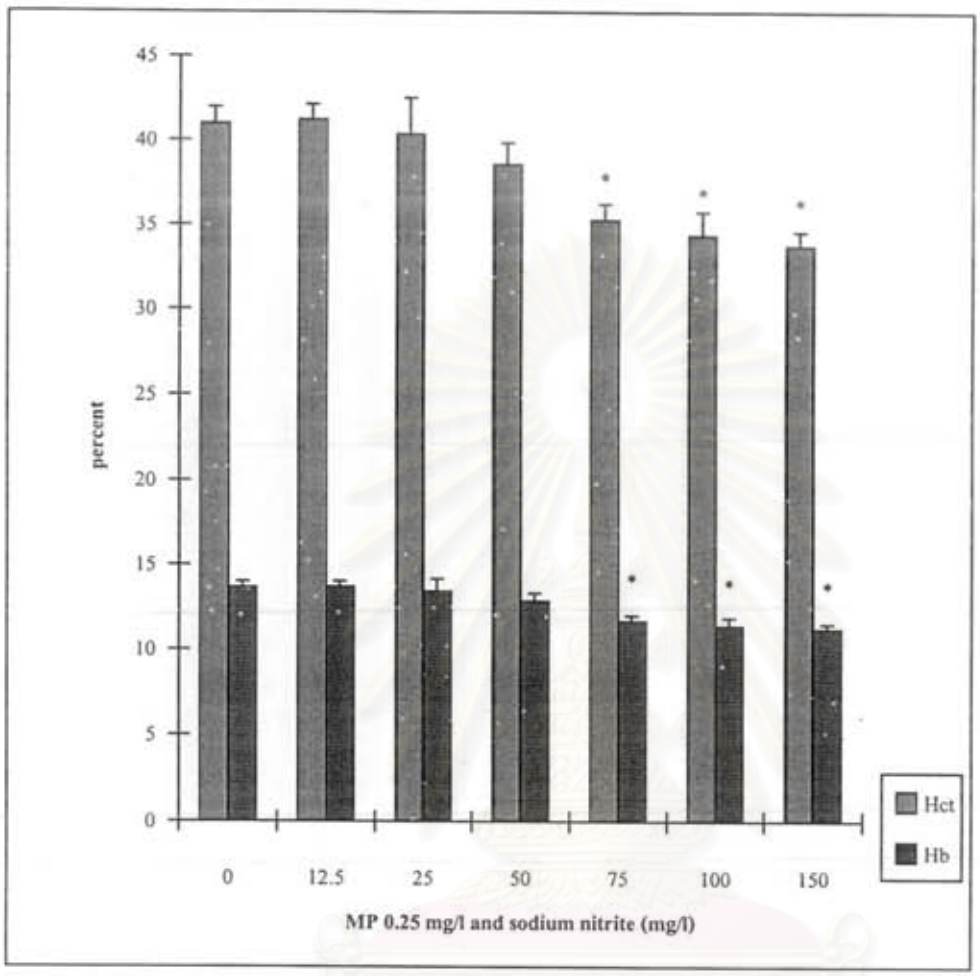
b แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.01$



รูปที่ 18 แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองปลาคุกพันธุ์ผสมที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ และกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์ร่วมกับเมททิลพาราไธออน 0.25 mg/l เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนขนาด 0.25 mg/l อย่างเดียว นาน 24 ชั่วโมง

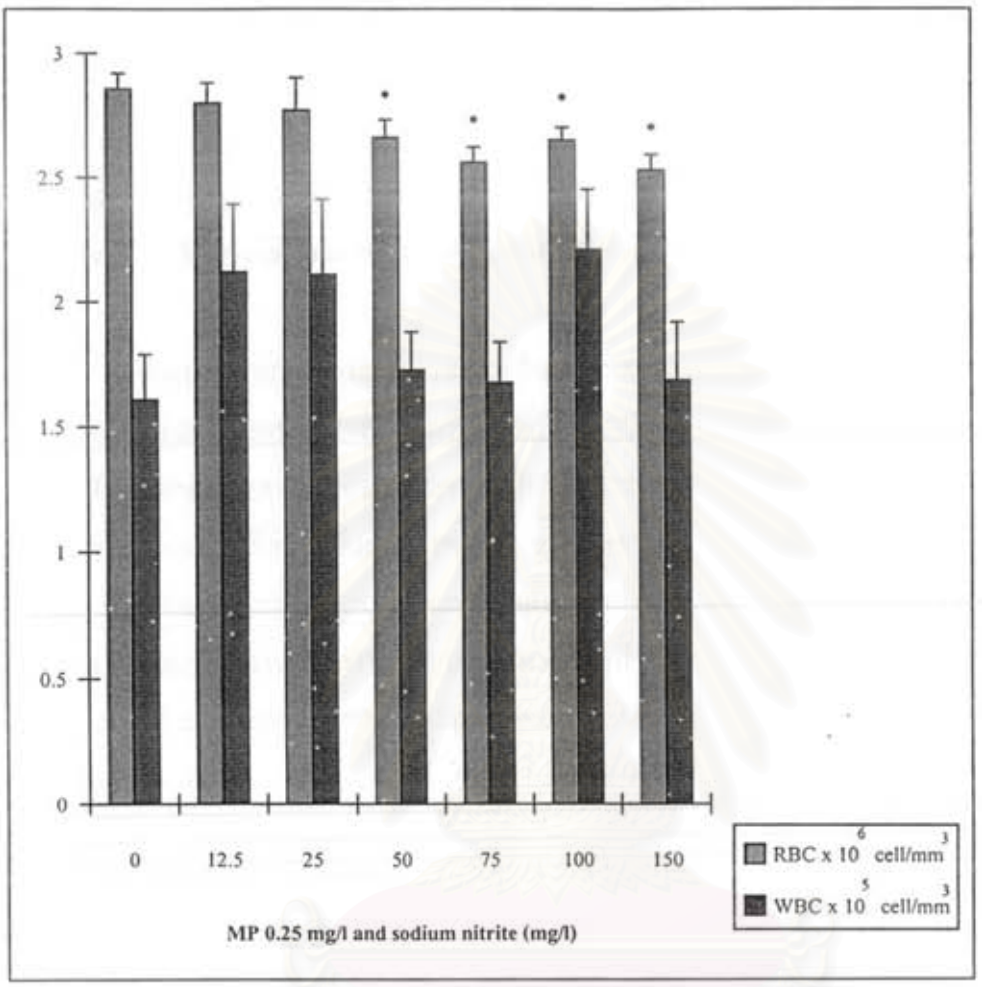
a แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$

b แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับโซเดียมไนไตรท์เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.01$



รูปที่ 19 แสดงค่าเฉลี่ยของฮีมาโตคริต (Hct) และฮีโมโกลบิน (Hb) ในปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 mg/l ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.01$



รูปที่ 20 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) และ เม็ดเลือดขาว (WBC) ในปลาดุกพันธุ์ผสมกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออน 0.25 mg/l ร่วมกับโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 24 ชั่วโมง

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P<0.05