



บทที่ 1

บทนำ

จากการใช้สารพิษทางการเกษตรในประเทศไทยเป็นระยะเวลานานกว่า 50 ปี ได้มีการนำเอาสารพิษหลายประเภทในปริมาณมากมาควบคุม ป้องกัน และกำจัดแมลง วัชพืช เชื้อรา โรคพืช และศัตรูพืชอื่นๆ เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร สารพิษที่ใช้มีทั้งที่มีอันตรายน้อยและอันตรายมากต่อผู้ใช้ สภาพแวดล้อมและผู้บริโภค ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะข้อมูลของสารพิษมีไม่มากพอ รวมทั้งจากการใช้ผิดวิธี ผิดวัตถุประสงค์ของสารพิษ ทั้งหมดนี้ก่อให้เกิดปัญหาตามมา ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ประชาชนกำลังประสบอยู่และยังไม่สามารถแก้ไขได้ คือการมีสารเคมีเหล่านี้ปนเปื้อนและตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อม ตลอดจนสะสมอยู่ในอาหารที่ได้จากพืชและสัตว์โดยผ่านทางขบวนการห่วงโซ่อาหาร ผลกระทบที่มีต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำ ได้แก่ กุ้ง ปลาชนิดต่างๆ ทั้งที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติและในบ่อเลี้ยงที่ต้องอาศัยน้ำจากธรรมชาติ (วิทย์ ชารชลาณกิจ, 2531) สารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ส่วนใหญ่ไม่ว่าจะเป็นการใช้โดยตรงกับพืช โดยการฉีด การพ่นผง หรือหว่านสารชนิดเม็ด มีผลทำให้เกิดการสะสมอยู่ในดินและอาจถูกชะล้างลงสู่แหล่งน้ำเลี้ยงสัตว์ใกล้เคียง ทำให้เกิดความเป็นพิษแก่สัตว์น้ำทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่นการเกิดพิษเฉียบพลันทำให้มีจำนวนปลาตายเพิ่มขึ้น สัตว์น้ำมีพฤติกรรมที่ผิดปกติ มีผลต่ออัตราการเจริญพันธุ์และการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ (Konar, 1981) นอกจากนี้การได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเป็นเวลานานทำให้มีการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิสภาพของสัตว์น้ำ คาดว่าการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจำนวนมากในน้ำ ดิน สัตว์น้ำและพืชน้ำ อาจก่อให้เกิดผลเสียต่อระบบนิเวศน์วิทยาในอนาคต (Couch, 1975, Konar, 1981)

สารพิษที่พบที่มีการตกค้างอยู่มากในสิ่งแวดล้อม ส่วนใหญ่เป็นประเภทที่สลายตัวยาก คือกลุ่มออร์แกโนคลอรีนที่พบมากได้แก่ DDT, dieldrin และ heptachlor จากรายงานของ FAO พบว่า DDT ที่ผลิตขึ้นมาใช้ในโลกลี้ประมาณ 60% ของทั้งหมด ปัจจุบันนี้ลงไปอยู่ในแหล่งน้ำต่างๆหมดแล้ว ซึ่งจะก่อให้เกิดการสะสมของสารพิษในสัตว์น้ำ โดยเฉพาะปลาพบว่าปลาหลายชนิด มีสารพิษสะสมอยู่สูงเกินค่าปลอดภัย สารพิษที่พบคือพวก DDT, dieldrin และ endrin เป็นต้น สำหรับ endrin นี้ มีอันตรายสูงจนปัจจุบันถูกห้ามสั่งเข้ามาจำหน่ายแล้ว แต่พบว่ามีการใช้อยู่กับพืชหลายชนิดซึ่งนับว่ามีอันตรายมาก การเกิดอันตรายนอกจากจะพบได้ในทันทีแล้ว ยังมีอันตรายอีกประเภทหนึ่งซึ่งเป็นผลที่เกิดขึ้นในระยะยาว เป็นผลของความผิดปกติต่างๆ ซึ่งไม่

อาจทำนายได้ง่ายๆ จำเป็นจะต้องทำการค้นคว้าวิจัยต่อไป (นวลศรี ทยานันท์ และคณะ, 2526)

การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในปัจจุบัน มีแนวโน้มที่จะเลือกใช้สารที่มีการสลายตัวค่อนข้างเร็ว ได้แก่สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต (organophosphate) หรือกลุ่มคาร์บาเมต (Carbamate) ที่มีผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อมได้น้อยกว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์แกโนคลอรีน

สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต ดีกว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์แกโนคลอรีน ในแง่ที่ว่าไม่มีพิษสะสมหรือพิษเรื้อรังในร่างกายและในธรรมชาติ เพราะถูกไฮโดรไลสได้ง่ายด้วย nonspecific esterase ได้ฟอสเฟตอินทรีย์และสารที่ไม่เป็นพิษ การสลายตัวของออร์แกโนฟอสเฟตในสิ่งแวดล้อมก็เป็นไปได้เร็ว (Sancho et al., 1992) ปัญหาเกิดจากพิษตกค้างจึงน้อยกว่า อย่างไรก็ตามสถิติการตายของคนไทยเนื่องจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชประเภทนี้ยังค่อนข้างสูงมาก ดังแสดงในตารางที่ 1.1 คงมีสาเหตุมาจากการใช้อย่างไม่ถูกต้องของเกษตรกร เช่น ใช้ยามากเกินขนาด การได้รับพิษโดยตรงขณะผสมหรือพ่นฉีดยา หรือการเก็บผักผลไม้หลังจากฉีดยาก่อนกำหนด เป็นต้น ตามปกติสารกำจัดศัตรูพืชประเภทนี้จะสลายตัวหมดหลังจากฉีดพ่นในระยะเวลา 1-12 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้สารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟตจำนวนมากก่อให้เกิดความเป็นพิษแก่ระบบนิเวศในน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลา (Dutta, 1992)

โดยเหตุที่สารเคมีกำจัดศัตรูพืชออร์แกโนฟอสเฟตมีความเป็นพิษสูง เกษตรกรจึงเลือกมีชนิดที่มีการสลายตัวเร็วและมีความเป็นพิษต่ำกว่า เช่น สารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมต ซึ่งเป็นที่นิยมใช้มากในปัจจุบัน (Davis et al., 1992) จากสถิติการนำเข้าของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย พบว่ามีการนำเข้าของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมตมากขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 1.2 อาจเนื่องจากมีพิษต่อคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมน้อยกว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต (ดูจากตารางที่ 1.3) พิษตกค้างในธรรมชาติก็น้อยกว่า เพราะสลายตัวได้รวดเร็ว (ไมตรี สุทตจิตต์, 2534) โดยมีค่าครึ่งชีวิตในสภาวะแวดล้อมในแม่น้ำเท่ากับ 1.7-5.8 วัน ในพืชผัก 3-4 วัน และในดิน 8-9 วัน (Liu et al., 1981) นับเป็นค่าครึ่งชีวิตที่สั้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่น นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษกับสารในกลุ่มเมทิลคาร์บาเมต คือ คาร์บาริล คาร์โบฟูแรน และอัลดีคาร์บ พบว่าสารที่มีพิษต่อสัตว์ชนิดต่างๆ น้อยที่สุดคือ คาร์บาริล (carbaryl) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1.3

ตารางที่ 1.1 สถิติผู้ได้รับจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช จากการทำงาน ในเกษตรกรรมโรงงาน (15-64 ปี) แยกตามชนิดของสารในปี พ.ศ. 2530

ชนิดของสารกำจัดแมลง	ผู้ป่วย		ผู้ตาย	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
1. ออกโทฟอสเฟต	1,415	44.70	11	68.75
2. ออกโทคลอรีน	8	0.25	0	0
3. คาร์บาเมท	247	7.80	1	6.25
4. ไพรอทรอยด์	18	0.57	0	0
5. สารกำจัดแมลงอื่น ๆ	70	2.21	0	0
6. ไประบุชนิดของสารกำจัดแมลง	1,408	44.47	4	25.00
รวม	3,166	100.00	16	100.00

ที่มา : ฝ่ายจัดการสารพิษ สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ

(สถิติการได้รับสารพิษจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชและแมลง, 2530)

ตารางที่ 1.2 ปริมาณการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืชปี พ.ศ. 2528-2530

ประเภทสารเคมีกำจัดศัตรูพืช	พ.ศ. 2528		พ.ศ. 2529		พ.ศ. 2530	
	ปริมาณ(ตัน)	ร้อยละ	ปริมาณ(ตัน)	ร้อยละ	ปริมาณ(ตัน)	ร้อยละ
1. ออแกโนฟอสเฟต	4,190	62.3	4,492	61.1	5,381	66.7
2. ออแกโนคลอรีน	622	9.2	510	6.9	835	10.4
3. คาร์บาเมท	917	13.6	1,060	14.4	998	12.4
4. ไพร์ทรอยด์	132	2.0	161	2.2	133	1.6
5. อื่น ๆ	280	4.2	314	4.3	262	3.2
6. สารรวมควิน	584	8.7	813	11.1	457	5.7
รวม	6,725	100.00	7,350	100.00	8,066	100.00

ที่มา : กรมวิชาการเกษตร สถิติการกำจัดศัตรูพืชปี พ.ศ. 2530

(สถิติการได้รับสารพิษจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชและแมลง, 2530)

ตารางที่ 1.3 เปรียบเทียบค่า LD₅₀ ของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมทและออกโนฟอสเฟต

สาร	ชนิดของสัตว์	วิธีการได้รับสาร	LD ₅₀ (ppm)	เอกสารอ้างอิง
<u>กลุ่มคาร์บาเมท</u>				
คาร์บาริล	หนูขาว	ทางปาก	307	Chapalamadugu, 1992
	สุนัข	ทางปาก	759	Buck et al., 1976
	กระต่าย	ทางปาก	710	Buck et al., 1976
	ปลาชนิด ต่างๆ	ทางผิวหนัง	5-12	ชวิญชัย, 2528
	คาร์โบฟูแรน	หนูขาว	ทางปาก	8
	สุนัข	ทางปาก	19	Chapalamadugu, 1992
อัลดีคาร์บ	หนูขาว	ทางปาก	1	Chapalamadugu, 1992
แลนดรีน	หนูขาว	ทางปาก	178	Buck et al., 1976
เม็ททิลคาเมท	หนูขาว	ทางปาก	87	Buck et al., 1976
เม็ทโทมิล	หนูขาว	ทางปาก	17	Buck et al., 1976
<u>กลุ่มออกโนฟอสเฟต</u>				
เมทิลพาราไรซอน	หนูขาว	ทางปาก	9	Gaines, 1960
	เพศเมีย			
พาราไรซอน	หนูขาว	ทางปาก	67	Gaines, 1960
	เพศผู้			
คาร์โบฟิโนไรซอน	หนูขาว	ทางปาก	6.8	Gaines, 1960
	เพศเมีย			
คาร์โบฟิโนไรซอน	หนูขาว	ทางปาก	22	Gaines, 1960
	เพศผู้			
คาร์โบฟิโนไรซอน	หนูขาว	ทางปาก	6	Chapalamadugu, 1992
	กระต่าย	ทางปาก	1,250	Buck et al., 1976

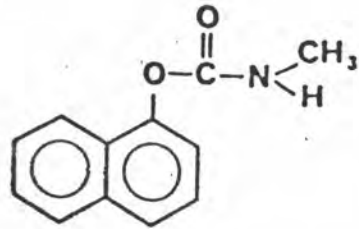
ตารางที่ 1.3 (ต่อ)

สาร	ชนิดของสัตว์	วิธีการได้รับสาร	LD ₅₀ (ppm)	เอกสารอ้างอิง
<u>กลุ่มออกโทฟอสเฟต (ต่อ)</u>				
ไดอะซินอน	หนูขาว	ทางปาก	456	Gaines, 1960
	เพชเม็ย			
	หนูขาว	ทางปาก	90	Gaines, 1960
คูปาฟอส	เพชผู้			
	กระต่าย	ทางปาก	130	Gaines, 1960
	หนูขาว	ทางปาก	13	Buck et al., 1976
ไดคลอวาอส	หนูขาว	ทางปาก	25	Buck et al., 1976
ไดเมทโทเอท	หนูขาว	ทางปาก	250	Buck et al., 1976
	กระต่าย	ทางปาก	300	Buck et al., 1976
	สุนัข	ทางปาก	400	Buck et al., 1976
	หนูขาว	ทางปาก	178	Buck et al., 1976
เฟนโทออน	หนูขาว	ทางปาก	720	Buck et al., 1976
มาลาโทออน	หนูขาว	ทางปาก	906	Buck et al., 1976
	สุนัข	ทางปาก	500	Buck et al., 1976
	กระต่าย	ทางปาก	640	Buck et al., 1976
ไตรคลอฟอน	หนูขาว	ทางปาก	300	Buck et al., 1976
โพเรต	หนูขาว	ทางปาก	1	Buck et al., 1976

คาร์บาริล (Carbaryl)

ชื่อทางเคมี : 1-naphthyl methylcarbamate

สูตรเคมี : สูตรโมเลกุล $C_{12}H_{11}NO_2$ มวลโมเลกุล 201.23 และมีสูตรโครงสร้างดังนี้



รูปที่ 1.1 แสดงสูตรโครงสร้างของคาร์บาริล (Chapalamadugu, 1992)

- ชื่อสามัญ : คาร์บาริล
- ชื่อการค้า : คอมไบร 85, คาร์บาริล (85, 450, 185, เอฟ, เอสแอล, คาร์ราวิน), เซฟวิน 85, พลังใหม่, เอส 85, ไบโฟเซฟ 85, เซฟ 85 ดี, เอสวิน 85, วาตาบาริล, คาร์บาริล, คาร์บาวินผง ไคคาร์แบม แนพทิล, เอกซาวิน และคาร์โบน็อกซ์
- ประวัติการผลิต : บริษัท Union Carbide สหรัฐอเมริกา ผลิตขึ้นในปี พ.ศ.2499
- ชนิดและปริมาณ : - แบบผงผสมน้ำ (wetable powder, WP) 85%
 - แบบเม็ด (granules, G) 5%
 - แบบผงฝุ่น (dust, D) 5 หรือ 10%
 - แบบน้ำเข้มข้นแขวนลอย (micronised suspension, F) 200, 300, 400 ๘/L
 - แบบ technical grade ประกอบด้วยสารบริสุทธิ์ >99%
- คุณสมบัติ : เป็นผลึกแข็งสีขาว จุดหลอมเหลว $42^{\circ}C$ ความดันไอ $<5 \times 10^{-3}$ mm/Hg ที่ $26^{\circ}C$ มีความหนาแน่น 1.232 ๘/ml ละลายน้ำได้ 120 ม๘/L ที่ $30^{\circ}C$ ละลายใน dimethylformamide และ dimethylsulphoxide ได้ 400-450 ๘/kg ที่ $25^{\circ}C$ มีความเสถียรที่อุณหภูมิต่ำกว่า $70^{\circ}C$

และไม่สลายตัวง่ายเมื่อถูกแสง สลายตัวให้สาร 1-naphthol อย่างรวดเร็วในสภาพที่เป็นด่าง ($\text{pH} > 9$) แต่ไม่สลายตัวในสภาพที่เป็นกรด (Worthing, 1983)

ประโยชน์ : ใช้ป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชต่างๆ เช่น ผีเสื้อ ลม ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่ว ข้าว กล้วย มะม่วง ชา ไม้ดอก ไม้ประดับทั่วไป และผักชนิดต่างๆ แมลงศัตรูพืชที่กำจัดได้คือ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ มวนแดงผีเสื้อ มวนเขียว ตั๊กแตน หนอนม้วนใบ หนอนคืบ หนอนเจาะสมออเมริกัน หนอนเจาะสีชมพู หนอนกระทู้ ค้างคาวหมัดผักกาด หนอนกอลาย หนอนกอสีขาว นอกจากนี้ยังใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชและสัตว์ และแมลงศัตรูในโรงเก็บ เช่นแมลงสาบ มด แมลงวัน เรือด เห็บสุนัข ตัวสามง่าม หมัด เหา ค้างคาวงวงข้าว มอดแป้ง และผีเสื้อข้าวเปลือก

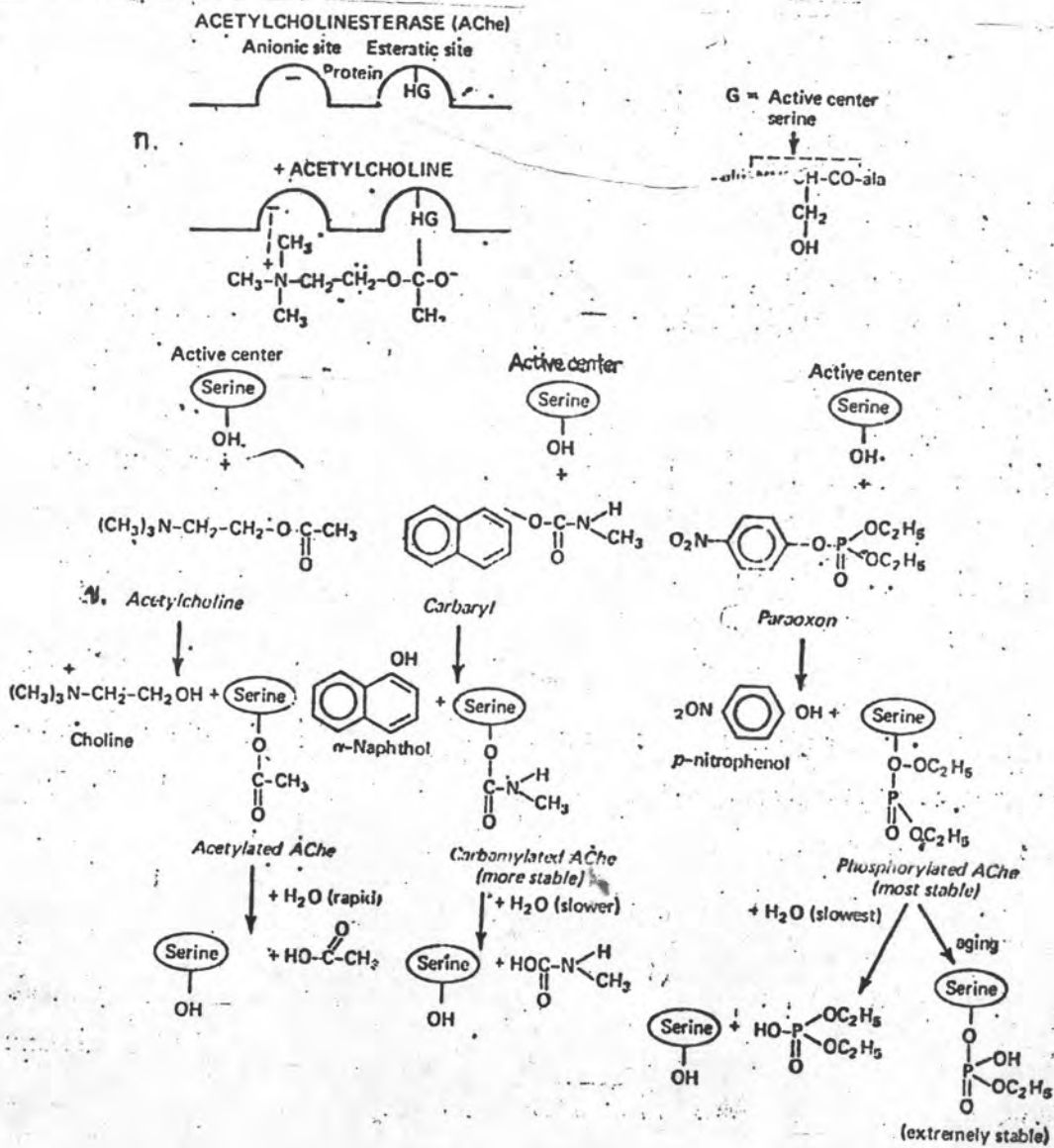
กลไกการออกฤทธิ์

คาร์บาริลและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมท ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (cholinesterase) ทั้งชนิดอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสและซูโดโคลีนเอสเตอเรส โดยการทำปฏิกิริยาระหว่างอนุพลคาร์บาเมท (carbamate) กับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสทั้ง 2 ชนิด มีผลทำให้เกิดการสะสมของอะเซทิลโคลีน (ACh) ที่บริเวณรอยต่อของเส้นประสาทพาราซิมพาเธติก (parasympathetic) เกิดการกระตุ้นการทำงานของโพลิเนอจิกไฟเบอร์อย่างต่อเนื่อง (มณฑนา, 2529)

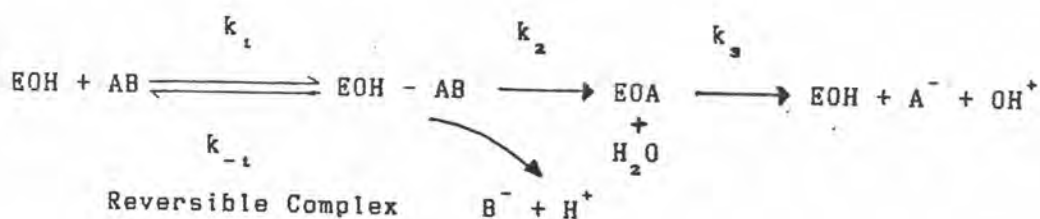
เช่นเดียวกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมทอื่นๆ คาร์บาริลจับกับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสแบบย้อนกลับ (reversible) ขบวนการย้อนกลับนี้ทำให้ความเป็นพิษของคาร์บาริลน้อยกว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์แกนอโฟสเฟต ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1.2

ขั้นตอนการจับกันของคาร์บาริลกับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส ดังแสดงในรูปที่ 1.3 มี 3 ขั้นตอนดังนี้

1. คาร์บาริล หรือเมตาบอไลต์ของคาร์บาริล เช่น methyl carbamyI (A), 1-naphthol (B) จะจับกับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสได้เป็นสารประกอบ carbaryl cholinesterase complex (EOH-AB) โดยมีค่าคงที่ของการจับ (affinity, k_1/k_{-1}) เท่ากับ $1.1 \times 10^{-5} / \text{min}$ ซึ่งเป็นการจับอย่างไม่ถาวร ทำให้เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับอย่างรวดเร็ว และได้เอนไซม์กลับคืนมา



รูปที่ 1.2 ก. แสดงขบวนการทำลายอะเซทิลโคลีนโดยเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (AChE)
 ข. เปรียบเทียบปฏิกิริยาของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมตและกลุ่มออกนิฟอสเฟตที่มีต่อเอนไซม์ (Doull, 1980)



A = methyl carbamyl

B = 1-naphthol

EOH = cholinesterase

EOH-AB = complexed carbaryl enzyme

EOA = carbamylated enzyme

k_1/k_{-1} = affinity constant = 1.1×10^{-5} per minute

k_2 = 1.3 per minute

k_3 = 0.05 per minute

รูปที่ 1.3 แสดงการจับกันของคาร์บาริลกับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (Cranmer, 1986)

2. เกิดขบวนการ Carbamylation บางส่วนของเอนไซม์ที่ถูกจับโดยคาร์บาริล จะอยู่ในรูปของสารประกอบ carbamylated enzyme (EOA) ซึ่งจะมีการทำลายโครงสร้าง บางส่วนของคาร์บาริลหรือเมตาบอลิท์ ปฏิกริยาจาก carbaryl cholinesterase complex (EOH-AB) เป็น carbamylated enzyme (EOA) มีค่าคงที่ (k_2) เท่ากับ 1.3 / min

3. เกิดขบวนการ Decarbamylation เอนไซม์จะแยกตัวออกจากคาร์บาริลหรือ เมตาบอลิท์ของคาร์บาริล โดยอาศัยปฏิกริยาไฮโดรไลซิส ในขั้นตอนนี้มีค่าคงที่ k_3 เท่ากับ 0.05 /min ซึ่งเทียบเป็นค่าครึ่งชีวิตของขบวนการ demethylation เท่ากับ 40 นาที ขั้นตอนนี้เกิดขึ้นช้าหรือเร็วแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของสัตว์ ขบวนการนี้สามารถลดความเป็น พิษและทำลายฤทธิ์ anticholinesterase ของคาร์บาริลได้ 60-80% อวัยวะที่สำคัญในการ เกิดขบวนการนี้คือ ตับ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ mixed function oxidase ที่ตับ

การยับยั้งการทำงานของอะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสในสมองของคาร์บาริล จะเกิดขึ้น หลังจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในเลือดและตับ การหายใจล้มเหลวจะเกิดขึ้นหลังจาก ระดับเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในเลือดลดลงถึง 95% (Cranmer, 1986)

ขบวนการเมตาบอลิซึม

คาร์บาริลถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารในรูปของ 1-naphthol glucuronide ซึ่งสามารถผ่านเข้าสู่ชั้น serosal และ mucosal ได้ (Pekas and Paulson, 1970)

Hwang และคณะ (1974) ศึกษาพบว่า 1-naphthol glucuronide มีค่าครึ่งชีวิต (half life) ในลำไส้เท่ากับ 6.4 นาที และในปอดเท่ากับ 2.6 นาที

นอกจากนี้คาร์บาริลยังออกฤทธิ์อย่างอ่อนในการเหนี่ยวนำให้ตับหลั่งเอนไซม์ (weak inducer of hepatic microsomal enzyme) แต่ 1-naphthol ไม่มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเอนไซม์ เมื่อให้ในขนาดความเข้มข้นที่เท่ากัน (Cress and Strother, 1974)

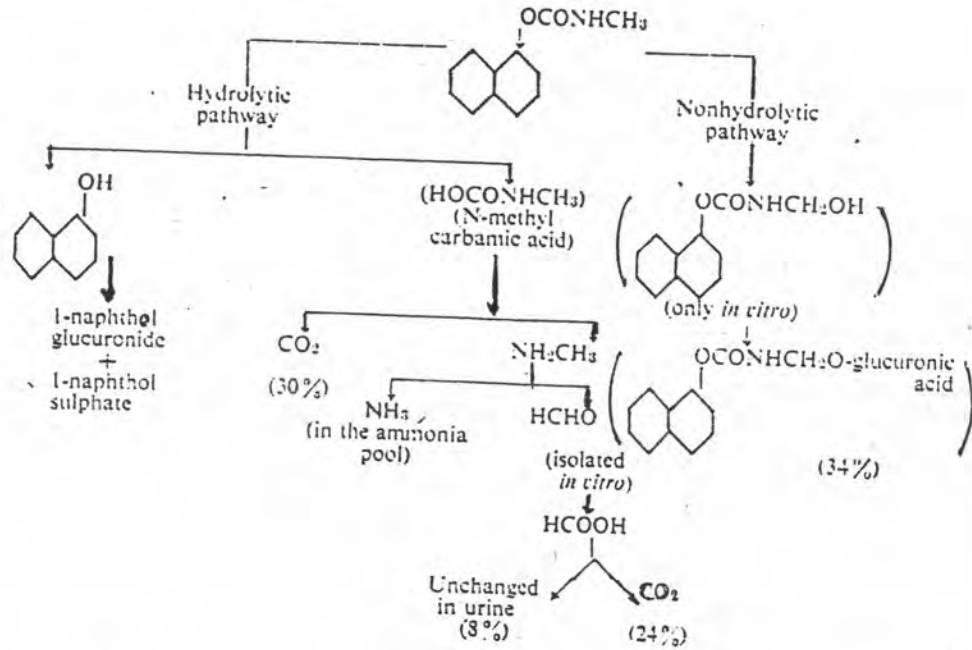
จากการศึกษาของ Hassan และคณะ (1966) โดยการฉีดคาร์บาริลขนาด 0.5 มล ทางหน้าท้องหนู พบว่าคาร์บาริลถูกขับออกโดยทางปอดและไตเป็นส่วนใหญ่ หลังการฉีดสารนาน 48 ชั่วโมง ตรวจพบเมตาบอลิท์ของคาร์บาริลในลมหายใจออกและในปัสสาวะ

จากการศึกษาโดยใช้สารกัมมันตภาพรังสีติดในส่วนที่เป็นวงแหวนและส่วนที่เป็น methyl group ของคาร์บาริล สามารถอธิบายได้ว่า การเกิดเมตาบอลิซึมของคาร์บาริลแบ่งได้เป็น 2 ทางคือ hydrolytic pathway และ nonhydrolytic pathway โดยทำการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและในหลอดทดลอง (Hassan et al., 1966) ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1.4

ขบวนการ hydrolytic pathway จะอาศัยเอนไซม์ esterase ในเลือดไฮโดรไลซ์ ester bond ของคาร์บาริล ได้เป็น N-methyl carbamic acid ซึ่งจะถูกเปลี่ยนไปเป็น methylamine (NH_2CH_3) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) โมเลกุลของ methylamine จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และเมตาบอลิท์ ซึ่งถูกขับออกทางลมหายใจและทางปัสสาวะ โดยอาศัยปฏิกิริยา oxidative demethylation

จากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่าขบวนการ nonhydrolytic pathway เป็นขบวนการที่ต้องอาศัยการทำงานของไมโครโซมที่ตับ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เป็นเมตาบอลิท์ที่ละลายน้ำได้ดี และถูกขับออกทางปัสสาวะ (Dorough, 1967)

จากการศึกษาในหลอดทดลอง ด้วยการศึกษานอวัยวะที่แยกออกจากกาย พบว่าในเลือดมีการเกิดขบวนการ oxidative demethylation มากกว่าในตับ ไตและตับอ่อน และในสมองมีการเกิดขบวนการนี้น้อยที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าตับลดปริมาณของคาร์บาริลได้โดยอาศัยเอนไซม์ monoamine oxidase (Hassan et al., 1966)



รูปที่ 1.4 แสดงขบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์บาริล (Hassan, 1966)

อาการพิษที่เกิดจากการได้รับคาร์บาริล

1. ฤทธิ์มัสคารินิก (Muscarinic effect) มีผลจากการกระตุ้น M-cholinergic receptor เป็นการกระตุ้นระบบประสาทพาราซิมพาเซติก มีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบ เกิดการหดตัวของระบบทางเดินอาหาร มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดเกร็งในท้อง และท้องเดิน น้ำลายออกมากผิดปกติ เหงื่อออก สำหรับระบบหายใจมีอาการแน่นในอก หายใจมีเสียงหวีด มีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจ ทำให้หัวใจเต้นช้าลง ความดันโลหิตต่ำ สิ่งคัดหลั่งเพิ่มมากขึ้นและชุ่มชื้นตาหุด

2. ฤทธิ์นิโคติินิก (Nicotinic effect) มีผลจากการกระตุ้น N-cholinergic receptor เป็นการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเซติกและกล้ามเนื้อลาย ทำให้มีฤทธิ์ตรงข้ามกับการกระตุ้นระบบประสาทพาราซิมพาเซติก ซึ่งอาการของผู้ได้รับพิษที่แสดงอาการทางซิมพาเซติกคือมีอาการหัวใจเต้นเร็ว ชุ่มชื้นตาหุด ความดันโลหิตสูง มีการกระตุกของกล้ามเนื้อบริเวณเปลือกตา ใบหน้า และคอ กล้ามเนื้ออ่อนแอ โดยที่ในระยะแรกจะแสดงอาการเด่นทางซิมพาเซติก แต่ต่อมาจะแสดงอาการเด่นทางพาราซิมพาเซติก ส่วนการกระตุ้นกล้ามเนื้อลายที่

motor end plate ทำให้กล้ามเนื้ออ่อนกำลังในที่สุดจะเกิดอัมพาตโดยเฉพาะกล้ามเนื้อที่ใช้ในการหายใจ

3. ฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง อาจมีผลมาจากการกระตุ้นระบบ central M-cholinergic ทำให้มีอาการวิงเวียน ความคิดฟุ้งซ่าน การเคลื่อนไหวเปะปะ พูดไม่ชัด การหายใจผิดปกติ ไม่มีปฏิกิริยาโต้ตอบต่อสิ่งกระตุ้น มีการกระตุกของกล้ามเนื้อ การชักเกร็งของกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง มีการสับสนทางจิต อาการโคล่า และหมดสติ

การสลายตัวของคาร์บาริล

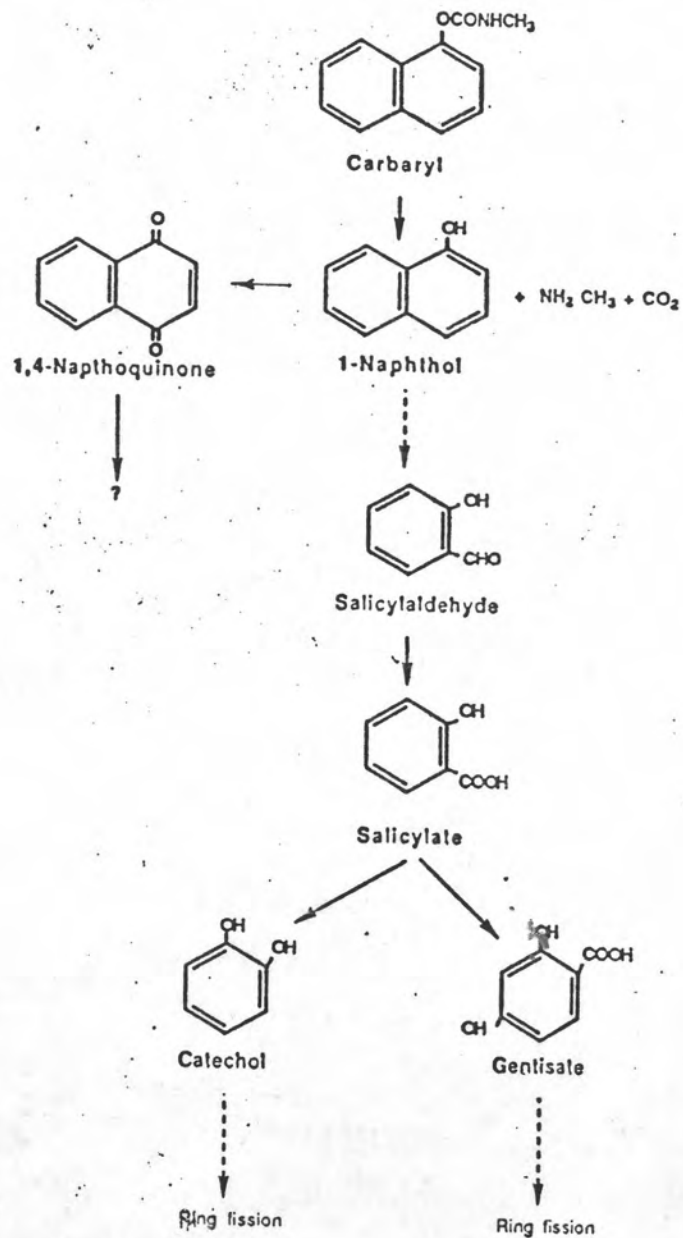
การลดลงของคาร์บาริลในสภาพแวดล้อมทั้งในดินและระบบนิเวศน์ในน้ำ อาศัยการเกิดขบวนการไฮโดรไลซิสเป็นสำคัญ ในน้ำคาร์บาริลจะถูกเปลี่ยนเป็น 1-naphthol ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดขบวนการไฮโดรไลซิสคือ pH, อุณหภูมิ และจุลินทรีย์ต่างๆ (Gonzalez et al., 1992) โดๆเหตุที่ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเป็นแบบ first order kinetic ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณ $[OH^-]$ ดังนั้นในสภาวะที่เป็นด่างมีผลทำให้ขบวนการไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้น จากการศึกษาของ Gonzalez และคณะ (1992) ถึงผลของ pH ต่อการเกิดไฮโดรไลซิสของคาร์บาริลพบว่า ถ้า $[OH^-] > 10^{-3}$ จะเกิดขบวนการไฮโดรไลซิสอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ ถ้า $[OH^-] < 10^{-3}$ จะทำให้คาร์บาริลคงตัวอยู่ได้นานเป็นสัปดาห์ นอกจากนี้ปริมาณของสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ที่เพิ่มขึ้นทำให้การเกิดไฮโดรไลซิสของคาร์บาริลเพิ่มขึ้น จากการศึกษาของ Karinen และคณะ (1967) และ Fukoto และคณะ (1967) พบว่าขบวนการไฮโดรไลซิสของคาร์บาริลจะเกิดขึ้นเร็วในน้ำที่มีปริมาณเกลือต่ำ คือในน้ำจืดจะเกิดได้เร็วกว่าน้ำกร่อย และในน้ำกร่อยเร็วกว่าน้ำเค็ม (Gonzalez et al., 1992)

จากการศึกษาถึงผลของอุณหภูมิต่อการสลายตัวของคาร์โบฟูแรนในดิน พบว่าคาร์โบฟูแรนจะสลายตัวได้เร็ว โดยอาศัยขบวนการไฮโดรไลซิสเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ คือ สลายตัวที่ $35^{\circ}C$ ได้เร็วกว่าที่ $25^{\circ}C$ (Sahoo et al., 1993) โดยเหตุที่คาร์บาริลเป็นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มเมทิลคาร์บาเมตเช่นเดียวกับคาร์โบฟูแรน คาดว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิมีผลทำให้การสลายตัวของคาร์บาริลโดยขบวนการไฮโดรไลซิสเกิดได้เร็วขึ้น

ถึงแม้ว่าคาร์บาริลจะมีฤทธิ์กำจัดศัตรูพืชได้หลายชนิด แต่ประสิทธิภาพลดลงเมื่อลงสู่ดิน เนื่องจากเกิดขบวนการย่อยสลาย (degradation) พบว่าปริมาณของคาร์บาริลลดลงถึง 90% หลังจากใส่ลงดินนาน 4 วัน การให้สาร 1-naphthol ซึ่งเป็น hydrolysis product ของคาร์บาริลก่อน ทำให้การเกิดไฮโดรไลซิสของคาร์บาริลในดินเพิ่มขึ้น (Rajagopal et al., 1986)

คาร์บาริลสามารถถูกย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ *Pseudomonas* spp. (Lurkin and Day, 1986) *P. aeruginosa* strain 50581 (Chapalamadugu and Chaudhry, 1991), *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp. เชื้อราหลายชนิดและแบคทีเรีย โดยมี pathway ในการย่อยสลายแตกต่างกัน (Chapalamadugu, 1992)

Larkin และ Day (1986) ศึกษาการย่อยสลายของคาร์บาริลโดยจุลินทรีย์ *Pseudomonas* (NCDB 12042) และ *Rhodococcus* sp. (NCDB 12038) พบว่าจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด สามารถย่อยคาร์บาริลได้เป็นคาร์บอนและไนโตรเจน



รูปที่ 1.5 แสดงการสลายตัวของคาร์บาริลโดย *P. aeruginosa*
(Chapalamadugu, 1992)

ความเป็นพิษของคาร์บาริล

- ความเป็นพิษต่อระบบประสาท (Neurotoxicity)

การเกิดพิษเฉียบพลันของคาร์บาริลต่อระบบประสาท เกิดจากการได้รับสารปริมาณมาก ทำให้เกิดพิษต่อระบบประสาทพาราซิมพาเธติก (parasympathetic) ทั้งที่มัสคารินิก (muscarinic) นิโคติินิก (nicotinic) และระบบประสาทกลาง (central nervous system) เนื่องจากการออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (Cranmer, 1986)

พบว่าลูกหนูที่ได้รับคาร์บาริลขนาด 20 มก./กก. สมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในสมองส่วนเปลือกสมองใหญ่ (cerebral cortex) และในส่วนก้านสมอง (brain stem) ถูกยับยั้งไป 40% และ 50% ตามลำดับ เกิดอัมพาต (paralyzed) ที่ขาหลัง โดยไม่มีพยาธิสภาพของสมองในส่วนเปลือกสมองใหญ่และก้านสมอง (Miller, 1969)

การศึกษาถึงผลระยะยาวโดยการให้คาร์บาริลขนาด 150 มก./กก. ทุกวันนาน 4 สัปดาห์ หนูแสดงอาการผิดปกติทางระบบประสาทคือ กล้ามเนื้อทำงานไม่ประสานกัน (incoordination) กล้ามเนื้อทำงานผิดปกติ (ataxia) เกิดอาการสั่นกระตุกของกล้ามเนื้อ (tremor) และตายในที่สุด ผลการตรวจทางจุลพยาธิสภาพพบว่าสมองส่วนก้านสมองและเส้นใยไขสันหลัง ถูกทำลายเนื่องจากเกิดการบวมของเส้นเลือด (vasogenic edema) โดยมีการทำลายของเซลล์ประสาท (neuron cell) เพียงเล็กน้อย (Smalley et al., 1969)

การให้คาร์บาริลขนาดต่ำๆ มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในสมอง ซึ่งทำให้มีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมในหนู (Weiss, 1968) Desi (1974) ศึกษาพฤติกรรมการเรียนรู้ของหนูโดยใช้ค้ำยกล (maze) ให้หนูหาอาหารที่ซ่อนไว้ในค้ำยกล พบว่าการให้คาร์บาริลขนาด 100 และ 200 ppm/วัน แก่หนูทางปากทำให้หนูใช้เวลาในการหาอาหารที่ซ่อนไว้ในค้ำยกลนานกว่าหนูในกลุ่มควบคุม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 11 ของการทดลอง และจากการศึกษาคลื่นไฟฟ้าสมอง (Electroencephalography, EEG) พบว่าคาร์บาริลที่ความเข้มข้นทั้ง 2 ขนาด เพิ่มการทำงานในรูปไฟฟ้า (electrical activity) ของสมองโดยการเพิ่มจำนวนของ moderately slow theta waves และ gamma waves

- ความเป็นพิษต่อระบบเลือด (Haematological toxicity)

ปี 1984 Lox ได้ศึกษาถึงผลของคาร์บาริลต่อปัจจัยการแข็งตัวของเลือด (clotting factor) พบว่าในหนู Sprague-Dawley 30 ตัว ที่ได้รับคาร์บาริลขนาด 10 ppm โดยผสมลงในน้ำดื่มนาน 30 วัน น้ำหนักของหนูไม่เปลี่ยนแปลง แต่มีการลดลงของจำนวนเกล็ดเลือด (platelet count) และการทำงานของ factor VIII อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อตรวจจุลพยาธิสภาพของตับพบว่ามีการเสื่อมสลายของเซลล์กลืนทำลาย (phagocyte degeneration) การคั่งของเลือดในหลอดเลือดดำส่วนกลาง (central vein congestion) การเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาว (leukocyte infiltration) มีการสะสมของไกลโคเจน และเกิดช่องว่างใน cytoplasm

- ความเป็นพิษต่อผิวหนังและตา

มีรายงานหลายฉบับ รายงานว่าคาร์บาริลไม่มีผลต่อผิวหนัง แต่มีบางรายงานระบุว่าคาร์บาริลทำให้เกิด transient erythema และการให้คาร์บาริลชนิด technical grade ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเยื่อตาดำในกระต่ายซึ่งกลับเป็นปกติในเวลา 2 วัน (Smalley, 1968)

- ผลต่อพัฒนาการและการเจริญพันธุ์

การให้คาร์บาริลขนาด 0.2% ของค่า LD_{50} แก่หนูที่ตั้งท้องทางปากในวันที่ 9, 11 และ 13 พบว่าทำให้น้ำหนักของตัวอ่อนลดลง (Cranmer, 1986) และการให้คาร์บาริลในสุนัขขณะตั้งครรภ์ทำให้ลูกสุนัขที่เกิดมามีรูปร่างผิดปกติ มีรูร้าวระหว่างช่องอกและช่องท้อง (abdominal thoracic fissure) ขากรรไกรล่างสั้นผิดปกติ (brachygnathia) ไม่มีหาง (acudate pups) มีความผิดปกติของการสร้างกระดูก (failure of skeletal formation) กระดูกนิ้วอกเกิน (superflourous phalanges) (Smalley, 1968)

- ผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Immunology)

ในปี 1971 Perelygin ทำการศึกษาในหนูและกระต่าย โดยการให้คาร์บาริลขนาด 0.1 และ 2.0 mg/kg พบว่าคาร์บาริลขนาด 0.1 mg/kg ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระบบภูมิคุ้มกัน ส่วนคาร์บาริลขนาด 2.0 mg/kg ทำให้การทำหน้าที่ในการกลืนทำลายของเม็ดเลือดขาว (phagocytic activity of leukocyte) การสร้างแอนติบอดี (antibody

formation) และคุณสมบัติในการป้องกันร่างกาย (protective properties) ของซีรัม
ลดลง

- ผลต่อสารชีวโมเลกุลในสมองและในเลือด (Neurochemistry and blood
chemistry toxicity)

จากการศึกษาของ Butygin และ Viatchannikov (1969) โดยการให้
คาร์บาริลขนาด 1 mg/kg/d ในหนูขาว พบว่าทำให้ระดับของ serotonin ในเลือดและสมอง
เพิ่มขึ้นนาน 2-4 เดือน หลังการให้และลดลงสู่ระดับปกติภายใน 6 เดือน

ในปี 1978 Bursian และ Edens ทำการศึกษาผลของคาร์บาริลในนกคุ้ม (Squail)
โดยการให้คาร์บาริลขนาด 30 mg/kg ทางกล้ำมเนื้อพบว่า ทำให้ระดับโดปามีน (dopamine)
เพิ่มขึ้น จากการเพิ่มการสังเคราะห์โดยไม่มีผลต่อ norepinephrine turnover คาร์บาริลมี
ผลเพิ่มการสังเคราะห์ norepinephrine โดยพบว่าทำให้ระดับ norepinephrine ในหัวใจ
เพิ่มขึ้น หลังจากได้คาร์บาริลแล้ว 48 ชั่วโมง แต่คาร์บาริลไม่มีผลต่อระดับกลูโคสและโคเลส-
เทอรอล

- การเป็นสารก่อเกิดการกลายพันธุ์ (Mutagenicity)

จากการศึกษาตำแหน่งของยีน (gene) ในโครโมโซมของแบคทีเรีย พบว่าคาร์บาริล
ไม่มีฤทธิ์ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในยีนของแบคทีเรีย

Vasilos และคณะ (1972) ศึกษาใน embryonic fibroblasts โดยการให้
คาร์บาริลขนาด 20, 40 และ 80 ppm พบว่าคาร์บาริลที่ความเข้มข้น 80 ppm มีผลทำให้
mitotic activity ลดลง หลังจากได้รับสารนาน 48 ชั่วโมง

- การเป็นสารก่อให้เกิดเนื้องอก (Oncogenicity)

จากการศึกษารายงานของ Cranmer (1986) พบว่าคาร์บาริลไม่มีฤทธิ์เป็นสารก่อ
ให้เกิดเนื้องอก อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าคาร์บาริลสามารถ catalyzed ในไนโตรอ็อกไซด์
(nitrite ion) ได้เป็น N-nitrosocarbaryl ซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารก่อให้เกิดมะเร็งผิวหนัง
อย่างแรง

- การเกิดปฏิกิริยาต้านทาน (Tolerance)

ในปี 1982 Costa และคณะ รายงานว่าการให้อาหารแก่หนูที่มีคาร์บาริลผสมอยู่ 2,000 ppm นาน 60 วัน ทำให้เกิดความต้านทานต่อพิษของคาร์บาริลอาจเกิดจากมีการเปลี่ยนแปลงในปัจจัยสำหรับเมตาบอลิซึม (metabolic factor) เช่นมีการเพิ่มขึ้นของ cytochrome p-450 ที่ตับ มีการเพิ่มขึ้นของสารที่ใช้ในการลดความเป็นพิษ (detoxification compound) เป็นต้น

- ความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity)

Cranmer (1986) ได้ทำการรวบรวมค่า LD_{50} ของคาร์บาริลในสัตว์ชนิดต่างๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1.4



ตารางที่ 1.4 แสดงค่า LD₅₀ ในสัตว์ชนิดต่างๆ ที่ได้รับคาร์บาริล (Cranmer, 1986)

ชนิดของสัตว์	วิธีการได้รับสาร	LD ₅₀ (ppm)	เอกสารอ้างอิง
หนู rat เพศผู้	ทางปาก	850	Gaines, 1960
หนู rat เพศเมีย	ทางปาก	500	Gaines, 1960
หนู rat	ทางปาก	510	Carpenter et al., 1961
หนู rat	ทางปาก	850	Servituna, 1964
หนู rat	ทางปาก	515	Rybakova, 1966
หนู rat	ทางปาก	600	Coulston, 1966
หนู rat	ทางปาก	721	Yakim, 1967
หนู rat	ทางปาก	233	Carnegie-Mellon, 1974
หนู rat เพศผู้	ทางผิวหนัง	>4,000	Gaines, 1960
หนู rat เพศเมีย	ทางผิวหนัง	>4,000	Gaines, 1960
หนู rat	ทางผิวหนัง	>5,000	Carnegie-Mellon, 1974
หนู rat	ทางผิวหนัง	>2,000	Carnegie-Mellon, 1974
หนู rat	ทางผิวหนัง	>2,000	CDC-UC-008, 1981
หนู rat	ทางผิวหนัง	>2,000	Hazelton, 1982
หนู rat	ทางผิวหนัง	>2,000	Bushy Run 46-96, 1985
หนู rat	ทางหน้าท้อง	200	Wilhelm and Vandekar, 1966
หนู rat	ทางเส้นเลือดดำ	24	Carpenter et al., 1961
หนู rat	ทางเส้นเลือดดำ	42	Wilhelm and Vandekar, 1966
หนู rat	ทางเดินหายใจ	5-23 mg/m ³	Carnegie Mellon, 1974
หนู mouse	ทางปาก	437.5	Rybakova, 1966
หนู mouse	ทางปาก	650	Coulston, 1966

ตารางที่ 1.4 (ต่อ)

ชนิดของสัตว์	วิธีการได้รับสาร	LD ₅₀ (ppm)	เอกสารอ้างอิง
หนู mouse	ทางปาก	275	Bukin, 1966
หนู mouse	ทางปาก	363	Yakim, 1967
หนู mouse เพศผู้	ทางปาก	108	Haley et al., 1974
หนู mouse เพศเมีย	ทางปาก	116	Haley et al., 1974
หนู mouse	ทางปาก	588	Ahdaya et al., 1976
หนู mouse	ทางหน้าท้อง	25	Baron et al., 1964
หนู mouse	ทางหน้าท้อง	29	Balba and Casida, 1968
หนูตะเภา	ทางปาก	280	Carpenter, 1971
กระต่าย	ทางปาก	710	Carpenter, 1971
กระต่าย	ทางหน้าท้อง	223	Carpenter et al., 1961
สุนัข	ทางปาก	<500	Coulston, 1966
สุนัข	ทางปาก	250-795	Carpenter, 1971
แมว	ทางปาก	150	Yakim, 1967
แมว	ทางปาก	125-250	Carpenter, 1971
หมู	ทางปาก	1,500- 2,000	Smalley, 1969
แกะ	ทางปาก	200-400	Tucker and Crabtree, 1970
ลิง	ทางปาก	>1,000	Coulston, 1966

ผลกระทบของคาร์บาริลต่อสัตว์น้ำ

ในปี 1981 Haines ทำการศึกษาผลของคาร์บาริลในปลา Brook trout (*Salvelinus fontinalis*) โดยเก็บปลาจาก 2 บริเวณ ให้เป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับคาร์บาริล ก่อนการพ่นยาทำการเก็บปลาขึ้นมา 5 ตัว ที่เวลา 1 วัน แล้วจึงทำการพ่นยาครั้งที่ 1 ขนาด 25 lb/AI/acre หลังจากนั้นเก็บปลาที่เวลา 1, 3 และ 5 วัน นำส่วนของสมอง 100 mg ใส่ใน phosphate buffer pH 8.0 นำไปตรวจวัดระดับของเอนไซม์โฆลินเอสเทอเรสตามวิธีของ Ellman et al., (1961) ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ได้รับคาร์บาริลมีสมรรถนะของเอนไซม์โฆลินเอสเทอเรสในสมองต่ำกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังจากพ่นยาแล้วนาน 24 ชั่วโมง และผลการตรวจน้ำย่อยในกระเพาะอาหารพบเชื้อ *Diptera*, *Ephemeroptera* และ *Trichoptera* ในกลุ่มที่ได้รับคาร์บาริล

ในปี 1987 Zinkl และคณะ ศึกษาถึงผลของคาร์บาริลต่อสมรรถนะเอนไซม์โฆลินเอสเทอเรสในสมองของปลา Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) โดยนำปลามาเลี้ยงและอดอาหารก่อนการทดลอง 24 ชั่วโมง ทำการหาค่า LC_{50} ได้เท่ากับ 1.41 mg/L (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เท่ากับ 1.02-1.95 mg/L) พบว่าสมรรถนะของเอนไซม์โฆลินเอสเทอเรสในสมองปลาลดลงตามขนาดความเข้มข้นของคาร์บาริลที่เพิ่มขึ้น โดยปลาที่ตายส่วนใหญ่จะมีการลดลงของระดับสมรรถนะเอนไซม์ $>85\%$ ปลาในกลุ่มควบคุมมีการลดลงของสมรรถนะเอนไซม์เช่นกัน แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อนำปลาที่ได้รับคาร์บาริลขนาด 10 mg/L นาน 24 ชั่วโมงนำมาเลี้ยงต่อในน้ำที่ไม่มีคาร์บาริล พบว่าระดับเอนไซม์ในสมองสูงขึ้น และเท่ากับกลุ่มควบคุมภายใน 48 ชั่วโมง อาการผิดปกติของปลาในกลุ่มที่ได้รับคาร์บาริลที่สังเกตพบคือ ปลามีอาการตื่นเต้นตกใจ ครีบปลาจะผายออก และเปิดกว้าง อาจเนื่องจากการเกิดอัมพาตของกล้ามเนื้อที่ใช้ในการหายใจ

ปี 1979 Titak และคณะ ได้ศึกษาพิษของคาร์บาริลและเมตาบอลิท์ที่เกิดขึ้นคือ 1-naphthol ในปลา *Labeo rohita* พบว่า 1-naphthol มีความเป็นพิษมากกว่าคาร์บาริล โดยค่า LC_{50} ของคาร์บาริลเท่ากับ 3.9-5.3 ppm และค่า LC_{50} ของ 1-naphthol เท่ากับ 1.8-3.8 ppm ในปลาที่มีขนาดเท่ากัน Lang และคณะ (1987) ศึกษาในปลา Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) ที่ได้รับคาร์บาริลขนาด 0.25 mg/L พบว่าปลามีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้น กินอาหารน้อยลง น้ำหนักลดลง และต่อมาอัตราการหายใจจะลดลง ปลา กินอาหารได้มากขึ้น เชื่อว่าเกิดจากการปรับตัวของปลาต่อสารพิษที่ได้รับ จากการศึกษาในปลา

Channa punctatus โดยการให้คาร์บาริลร่วมกับเฟนโทเอท (phentoate) พบว่าทำให้ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสเพิ่มมากขึ้น เชื่อว่าอาจเกิดจากการที่เฟนโทเอทยับยั้งเอนไซม์ carboxyesterase ทำให้การเกิดขบวนการลดพิษของคาร์บาริลลดลง (Kao, 1989)

ในปี 1980 Woodward และ Mauck ศึกษาถึงความเป็นพิษเฉียบพลันของสารคาร์บาริลในปลา *Cutthroat trout* พบว่าค่า LC_{50} , 96 ชั่วโมง เท่ากับ 3,950 $\mu\text{g/L}$ (3,040-5,130 $\mu\text{g/L}$, technical grade, 99%) และเท่ากับ 6,700 $\mu\text{g/L}$ (5,230-8,600 $\mu\text{g/L}$) formulation, 49%) นอกจากนี้ยังพบว่า pH และอุณหภูมิของน้ำมีผลต่อค่า LC_{50} ของคาร์บาริล เมื่ออุณหภูมิ 12°C ที่ pH 6.5 มีค่า LC_{50} เท่ากับ 5,000 $\mu\text{g/L}$ เมื่อ pH เท่ากับ 7.5 ค่า LC_{50} เท่ากับ 3,950 $\mu\text{g/L}$ และอุณหภูมิ 7°C ที่ pH 7.5 ค่า LC_{50} เท่ากับ 6,000 $\mu\text{g/L}$

นอกจากคาร์บาริลจะมีผลลดสมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสของสัตว์น้ำแล้วยังทำให้พฤติกรรมของสัตว์น้ำเปลี่ยนแปลงไป ในปี 1990 Little และคณะ ศึกษาถึงผลของคาร์บาริลขนาดต่ำกว่า LC_{50} , 96 ชั่วโมง คือ 0.01, 0.1 และ 1.0 mg/L (LC_{50} , 96 ชั่วโมง เท่ากับ 1.95 mg/L) ในปลา *Rainbow trout* พบว่าที่ความเข้มข้น 1.0 mg/L คาร์บาริลมีผลลดความสามารถและความไวในการว่ายน้ำของปลา คาร์บาริลที่ความเข้มข้น 5.1 mg/L ปลามีการใช้ออกซิเจน ความดัน และปริมาณของอากาศที่ใช้ในการหายใจของปลาสูงขึ้น แต่อัตราการหายใจลดลง ปริมาณออกซิเจนในเลือดและ pH ของเลือดลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงและจำนวนเม็ดเลือดแดงสูงขึ้น

Koundinya และ Ramamurthi (1979) รายงานว่าปลาหมอเทศ (*Tilapia mossambica*) (ขนาดความยาว 10-18 cm น้ำหนัก 8-12 g) ที่ได้รับคาร์บาริล 10 mg/L (ค่า LC_{50} , 48 ชั่วโมง) มีการแลกเปลี่ยนออกซิเจนที่ตับ เหงือก สมอง ไต กล้ามเนื้อ และลำไส้ของปลาต่ำลง โดยผลนี้เกิดขึ้นรุนแรงที่ตับ เหงือก และสมอง ตามลำดับ Arunachlam และคณะ (1990) ทดลองใช้คาร์บาริลขนาด 32.5 mg/L ต่อปลา *Mystus vittatus* (Bloch) พบว่าทำให้ปลาตายหมดในเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีค่า LC_{50} , 72 ชั่วโมง เท่ากับ 17.5 mg/L ส่วนที่ความเข้มข้นต่ำกว่าหรือเท่ากับ 12.5 mg/L ไม่มีผลทำให้ปลาตายภายใน 72 ชั่วโมง แต่จะมีผลทำให้ปลาวายน้ำไปมาอย่างรวดเร็วในลักษณะกระวนกระวาย กระพริบแก้มปิด-เปิดเร็วขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า การให้คาร์บาริลที่ความเข้มข้น 12.5 mg/L ต่อปลานาน 27 วัน ทำให้อัตราการกินอาหารและอัตราการเจริญเติบโตของปลาลดลงด้วย Kasymov และคณะ

(1981) พบว่าปลา Sturgeon fry แสดงอาการผิดปกติเมื่อได้รับคาร์บาริลเพียง 0.001-0.01 mg/L เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นถึง 10 mg/L ทำให้ปลาชนิดนี้ตายหมด ในปี 1980 Bansal และคณะ รายงานค่ามัธยฐานความเข้มข้นที่ปลาทนอยู่ได้ 50% (the median tolerance limit, TL_{50}) ภายในเวลา 30 วัน ของคาร์บาริลที่มีต่อปลาคาร์พ 4 ชนิด ที่มีอายุอยู่ในช่วง Larvae และ Juvenile ตอนต้น มีค่าระหว่าง 1.42-2.00 ppm และได้เสนอความเข้มข้นสูงสุดของคาร์บาริลในน้ำที่ยอมรับได้ (maximum acceptable toxicant concentration, MATC) เท่ากับ 0.42-0.50 $\mu\text{g/L}$

Macek และ Mc Allister (1970) ทำการหาค่า LC_{50} ต่อปลาที่มีความสำคัญและพบทั่วไป 12 ชนิด นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Katz (1961) Carlson (1971) และ Woodward และ Mauck (1980) ดังสรุปไว้ในตารางที่ 1.5 และความเป็นพิษของคาร์บาริลต่อสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ดังสรุปในตารางที่ 1.6

ผลเสียของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำ

จากการศึกษาของ Hassan และคณะ (1966) ในขั้นตอนของ hydrolytic pathway ของคาร์บาริลมีการสังเคราะห์แอมโมเนีย (NH_3) ขึ้น การเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำย่อมมีผลไปขัดขวางการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง และทำให้เซลล์ประสาทเสื่อม เช่นเดียวกับสัตว์ชั้นสูง นอกจากนี้ระดับแอมโมเนียที่สูงขึ้นทำให้พฤติกรรมของสัตว์น้ำผิดปกติไป เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการทดลองถึงผลของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำ ดังเช่น Palackove และคณะ (1986) ได้ศึกษาถึงผลของแอมโมเนียในขนาดไม่ทำให้ตาย (sublethal concentration) ในปลาตะเพียนน้อย (*Cyprinus carpio*) พบว่าถ้าระดับแอมโมเนียเพิ่มสูงขึ้นจาก 0.33 ± 0.048 mmol/L เป็น 2.4 ± 0.274 mmol/L มีผลต่อคาร์โบไฮเดรต เมตาบอลิซึม คือทำให้ปริมาณไกลโคเจนสะสมในตับและตับอ่อนลดลง ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นถึง 6.19 ± 0.295 mmol/L ความเข้มข้นของแลคเตทจะเพิ่มขึ้นในระยะแรก และค่อยๆ ลดลง การทำงานของเอนไซม์ lactate dehydrogenase เพิ่มขึ้นและสูงสุดภายใน 18 วัน หลังจากได้รับแอมโมเนีย และในปีเดียวกัน Yang และคณะ พบว่าปลาตะเพียนที่ได้รับแอมโมเนียขนาดสูง 10, 20 และ 30 ppm มีพยาธิสภาพผิดปกติไป โดยทำให้เกิดการสะสมของไกลโคเจนมากกว่าปกติ มีการตายของเซลล์และการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ในเซลล์ตับ และไต

ตารางที่ 1.5 สรุปผลการทดลองความเป็นพิษของคาร์บอเนตที่มีต่อปลาน้ำจืดต่าง ๆ

ปลาที่ใช้ทดลอง	ขนาดของปลาที่ใช้		สภาพการทดลอง				ค่า LC ₅₀ 96 ชั่วโมง (mg/L)	เอ็กส์พาร์ อ้างอิง
	ความยาว (cm)	น้ำหนัก (g)	อุณหภูมิ (°C)	pH	ความเป็นด่าง (mg/L, CaCO ₃)	ความกระด้าง (mg/L, CaCO ₃)		
Coho salmon <i>Oncorhynchus kisutch</i>	5.72-7.62	2.7-4.1	20±0.5	6.8-7.4	45-57	-	0.997	(1)
Rainbow trout <i>Salmo gairdneri</i>	5.08-7.94	3.2	20±0.5	6.8-7.4	45-57	-	1.350	(1)
<i>Salmo gairdneri</i>	-	0.6-1.7	13±0.5	7.1	35	**	4.340	(2)
Sun fish <i>Lepomis microlophus</i>	-	0.6-1.7	18±0.5	7.1	35	**	11.220	(2)
<i>Micropterus salmoides</i>	-	0.6-1.7	18±0.5	7.1	35	**	6.400	(2)
Yellow perch <i>Perea flavescens</i>	-	0.6-1.7	18±0.5	7.1	35	**	0.745	(2)
Channel catfish <i>Ictalurus punctatus</i>	-	0.6-1.7	18±0.5	7.1	35	**	15.800	(2)
Black bullhead <i>Ictalurus melas</i>	-	0.6-1.7	18±0.5	7.1	35	**	20.000	(2)
Goldfish <i>Carrsius auratus</i>	-	0.6-1.7	18±0.5	7.1	35	**	13.200	(2)

ตารางที่ 1.5 (ต่อ)

ปลาที่ใช้ทดลอง	ขนาดของปลาที่ใช้		สภาพการทดลอง				ค่า LC ₅₀ 96 ชั่วโมง (mg/L)	เอกสารอ้างอิง
	ความยาว (cm)	น้ำหนัก (g)	อุณหภูมิ (°C)	pH	ความเป็นด่าง (mg/L, CaCO ₃)	ความกระด้าง (mg/L, CaCO ₃)		
Carp <i>Cyprinus carpio</i>	-	0.6-1.7	18±0.5	7.1	35	**	5.280	(2)
Fathead minow	-	0.6-1.7	18±0.5	7.1	35	**	14.600	(2)
<i>Pimephalas promelas</i>	-	0.6-1.7	18±0.5	7.1	35	**	14.600	(2)
<i>Pimephalas promelas</i> Brown trout	อายุ 2 เดือน	-	25±2	7.6	42.0	45.2	9.00	(3)
<i>Salmo trutta</i> Cutthroat trout	-	0.6-1.7	13±0.5	7.1	35	**	1.950	(2)
<i>Salmo clarki</i> Rainbow trout	-	-	12	7.5	-	40	3.95	(4)
<i>Salmo gairdneri</i>	-	-	-	-	-	-	2.83	(5)

หมายเหตุ เอกสารอ้างอิง (1) Katz (1961)

(2) Macek และ McAllister (1970)

(3) Carlson (1971)

(4) Woodward และ Mauck (1980)

(5) Mckim et al, (1987)

ความกระด้าง : ปรับด้วยสารเคมี ** หมายถึง

ใส่สารต่อไปนี้ลงในน้ำ 1 ลิตร : KCl 30 mg,

MgSO₄ 30 mg, CaSO₄ 30 mg และ NaHCO₃

48 mg

ตารางที่ 1.6 สรุปผลการทดลองความเป็นพิษของคาร์บาริลที่มีต่อสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ

สัตว์ชนิดต่างๆ	ขนาดและ อายุ	ค่า LC ₅₀ 96 ชั่วโมง (mg/L)	เอกสารอ้างอิง
<i>Gammarus lacustris</i>	-	0.016	Sander 1969
<i>Gammarus fasciatus</i>	-	0.026	Sander 1972
<i>Palaemonetes kadiakensis</i>	-	0.0056	Sander 1972
<i>Orconectes nais</i>	-	0.0086	Sander 1972
<i>Asellus brevicaudus</i>	-	0.024	Sander 1972
White river crayfish	-	0.5	ชาลิต 2529
<i>Gammarus sp.</i>	Larvae	0.099	Bluzat et al, 1976
<i>Chaoborus sp.</i>	Larvae	0.19	Bluzat et al, 1976
<i>Cloeon sp.</i>	Larvae	0.34	Bluzat et al, 1976
<i>Lymnea sp.</i>	Larvae	8.67	Bluzat et al, 1976

อาการพิษรุนแรงมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิและ pH สูงขึ้น Beghm (1987) พบว่าแอมโมเนียทำให้เมตาบอลิซึมของกลูโคสเปลี่ยนแปลง จากการศึกษาในปลากระดุกแข็ง ตับ และเหงือกของปลาที่ได้รับแอมโมเนียขนาดที่ไม่ทำให้ตาย (sublethal concentration เท่ากับ 0.01 M) จะมีการลดลงของไกลโคเจนสะสม การทำงานของเอนไซม์ phosphorylase และ aldolase ในตับ สมอง เหงือก และกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงถึงการเกิดขบวนการเคลื่อนย้ายที่ (mobilization) อย่างรวดเร็วของไกลโคเจนสู่ glycolytic pathway และถูกเปลี่ยนเป็นแลคเตทและไพรูเวทและพบเอนไซม์ lactate dehydrogenase ในบางเนื้อเยื่อด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าแอมโมเนียทำให้การทำงานของเอนไซม์บางตัวใน citric acid cycle เปลี่ยนแปลง เช่น isocitrate, succinate, malate dehydrogenase และ cytochrome oxidase มีการลดลงของระดับ AMP ทำให้ ATP และ ADP ลดลง ซึ่งมีผลต่อการสร้างพลังงานของเซลล์

ในปี 1987 มีการตายของปลาจำนวนมากในประเทศสเปน จากการตรวจสอบน้ำพบปริมาณของแอมโมเนียสูงจนเกิดพิษแก่ปลา ปลาที่ได้รับแอมโมเนียในขนาดสูงตายภายใน 24 ชั่วโมง และที่เหลือตายภายใน 96 ชั่วโมง โดยปลาที่ตายจะมีอาการ การเคลื่อนไหวมากผิดปกติ (hyperexcitability) การหายใจยาวและลึก (hyperventilation) มีการคั่งของเลือดบริเวณเหงือกและมีเลือดออก (gill congestion and haemorrhage) การลดลงของออกซิเจนในน้ำทำให้ความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำเพิ่มขึ้น (Wajshort et al., 1991) และความเป็นพิษของแอมโมเนียจะสูงสุดเมื่อ pH ของน้ำเท่ากับ 7.0 (Miller et al., 1990)

การได้รับแอมโมเนียนานๆ มีผลต่อพยาธิสภาพของปลา ในปี 1989 Dey และคณะ พบว่าการให้แอมโมเนียขนาด 15.64 ppm แก่ปลา *Channa punctatus* ทำให้น้ำหนักรังไข่ของปลาในฤดูผสมพันธุ์ลดลงเนื่องจากจำนวนไข่ลดลง

สารที่ใช้ลดปริมาณแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อมีอยู่หลายชนิด เช่น glutamic acid, methionine sodium glutamate, monosodium glutamate เป็นต้น คาดว่าการนำ sodium glutamate ซึ่งหาได้ง่ายมาใช้เป็นสารแก๊พิษ เพื่อลดปริมาณแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อของปลาที่เกิดจากคาร์บอไรลได้ โดยที่ sodium glutamate (monosodium salt of L- α amino glutaric acid) จับกับแอมโมเนียได้สาร sodium glutamine ทำให้ปริมาณแอมโมเนียลดลง (Arthur et al., 1975)

ปลากระพงขาว

ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Lates calcarifer* (BLOCH) นักวิทยาศาสตร์ได้จัดจำแนกปลากระพงขาว ตามหลักอนุกรมวิธานดังนี้

Phylum Chordata

Sub-phylum Vertebrata

Sub-class Teleostomi

Order - Percomorphi

Family Centropomidae

Genus *Lates*

Species *Calcarifer*

ปลากระพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยขนาดใหญ่ที่สุด เจริญเติบโตได้ดีในน้ำกร่อยและน้ำจืด จัดได้ว่าเป็นปลาประเภทสองน้ำ คือ ในช่วงชีวิตปลากระพงขาวจะมีการเคลื่อนย้ายไปมาระหว่างแหล่งน้ำจืดและน้ำเค็ม

การเลี้ยงปลากระพงขาวเป็นที่นิยม และได้รับความสนใจจากเกษตรกรผู้เลี้ยงอย่างแพร่หลาย และมักจะประสบปัญหาต่างๆ มากมาย จากการเพาะเลี้ยง นับตั้งแต่การผสมพันธุ์ เพาะฟัก อนุบาล จนได้ขนาดตามที่ตลาดต้องการก็ประสบปัญหาเช่นกัน ปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงได้รับความเสียหายมากคือ ปัญหาปลาเป็นโรค ซึ่งเกิดได้จากสภาวะสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม

ปลาที่ถูกเลี้ยงไว้ในน้ำที่มีคุณภาพเหมาะสมแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลง หรือปลาที่เลี้ยงอยู่ในสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมมีสภาวะเป็นพิษหรือเลวร้าย ปลาย่อมจะเกิดความเครียด เนื่องจากต้องต่อสู้เพื่อเอาชีวิตรอด ปลาอาจจะเริ่มตายลงหลังจากอยู่ในสภาวะเครียดดังกล่าวประมาณ 3-5 อาทิตย์ สำหรับปลาที่ได้รับความกระทบกระเทือนจากการเปลี่ยนคุณภาพน้ำทันทีทันใด หลังจากการถูกสารพิษอย่างแรงทันที ปลานั้นจะช็อคตายได้ในเวลาอันรวดเร็วโดยไม่มีอาการใดๆ ปรากฏ ปลาที่ตายเนื่องจากเหตุการณ์เช่นนี้ มักจะสังเกตง่ายคือ เหงือกจะกางอ้า หุบไม่เข้า สีตัวซีดขาว มีเมือกตามตัวมากผิดปกติ (สโมสรณิลิตคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2531)

จากการถูกสารพิษอย่างแรงทันที ปลานั้นจะช็อคตายได้ในเวลาอันรวดเร็วโดยไม่มีอาการใดๆ ปรากฏ ปลาที่ตายเนื่องจากเหตุการณ์เช่นนี้ มักจะสังเกตง่ายคือ เหงือกจะกางอ้า หุบไม่เข้า สีตัวซีดขาว มีเมือกตามตัวมากผิดปกติ (สโมสรมนิตคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2531)

ลักษณะเนื้อเยื่อที่ศึกษา

ตับ (liver)

ลักษณะตับของปลากระดูกขาวจะไม่เหมือนกับตับของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม กล่าวคือตับของปลากระดูกขาว มี fibroconnective tissue เป็นเกราะหุ้ม และจะไม่เห็นเป็น lobe ชัดเจน ไม่มี typical portal triad ลักษณะสำคัญที่แตกต่างไปจากสัตว์อื่นคือ เนื้อเยื่อตับจะมีตับอ่อนแทรกอยู่ทั่วไป และอยู่ล้อมรอบส่วนของ portal vein แม้ว่าส่วนของ portal triad จะไม่มีในปลากระดูกขาว แต่มักพบท่อน้ำดี ซึ่งอยู่ร่วมกับตับอ่อนที่ล้อมรอบ portal vein และพบ hepatic arteries แทรกอยู่ใน hepatic parenchyma แต่จะพบอยู่ร่วมกับท่อน้ำดีและตับอ่อนน้อยมาก

ในทางเนื้อเยื่อวิทยาโดยทั่วไปแล้ว เซลล์ตับ (hepatocyte) จะมีรูปร่างแบบ polyhedral มีนิวเคลียสอยู่ตรงกลางและเซลล์ตับเหล่านี้จะเป็นที่สะสมไขมันและไกลโคเจน ลักษณะของเซลล์ที่มีการสะสมไขมันและไกลโคเจนมาก นิวเคลียสจะติดสีเข้มและไซโทพลาสซึมแน่นทึบ

จากภาคตัดขวางของเนื้อเยื่อตับ พบว่า liver sinusoid ถูกล้อมรอบด้วยเซลล์ตับ 5-8 เซลล์ และอยู่ห่างจากกันอย่างน้อย 2 เซลล์ ซึ่งช่องว่างเหล่านี้จะล้อมรอบด้วย reticuloendothelial cells และพบว่าเส้นเลือดดำที่แทรกในเนื้อเยื่อตับ จะผ่านไปยัง portal vein ซึ่งจะไหลไปยัง sinusoid เหล่านี้ และเก็บรวบรวมที่ central vein ของหัวใจต่อไป

ในปลากระดูกขาวไม่มี tubular lumina สำหรับเก็บน้ำดี ท่อน้ำดีขนาดเล็ก (bile canaliculi) อยู่ติดต่อกันระหว่างเซลล์ตับและเชื่อมต่อกับท่อน้ำดีขนาดใหญ่ (bile duct) ซึ่งท่อเหล่านี้มักพบอยู่ร่วมกับตับอ่อนหรือใน hepatic parenchyma ท่อเหล่านี้จะถูกล้อมรอบด้วย low cuboidal epithelium และมีเยื่อชั้นบาง ๆ ของ fibrous connective tissue หุ้มอีกที ท่อน้ำดีขนาดเล็กจะเชื่อมต่อกับท่อน้ำดีขนาดใหญ่ ก่อนที่จะเทออกจากเนื้อเยื่อตับ น้ำดีของปลาเป็นด่างอ่อน ๆ และมีความเข้มข้นของโซเดียมสูงและคลอไรด์ต่ำ

ซี่เหงือก (gill lamella)

เป็นส่วนที่เกิดการแลกเปลี่ยนออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อทำหน้าที่ในการหายใจของปลา แบ่งได้ 2 ส่วนคือ

1. Primary lamella ทำหน้าที่ค้ำจุน secondary lamella มากกว่าจะทำหน้าที่ในการหายใจ

2. Secondary lamella ทำหน้าที่ในการหายใจ

Primary lamella (filament) ประกอบด้วยเซลล์หลายชนิดได้แก่ melanocytes, lymphocytes, macrophages, coarse eosinophile, granular leukocytes, endothelial cells และ epithelial cells

สำหรับ secondary lamella ประกอบด้วย mucous cells, rodlet cells และ chloride cells ซึ่งมักพบอยู่ที่หรือแทรกภายใน stratified squamous epithelium ซึ่งถัดจากเยื่อผิวหนังออกมาจะเป็น basement membrane และชั้นบาง ๆ ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue)

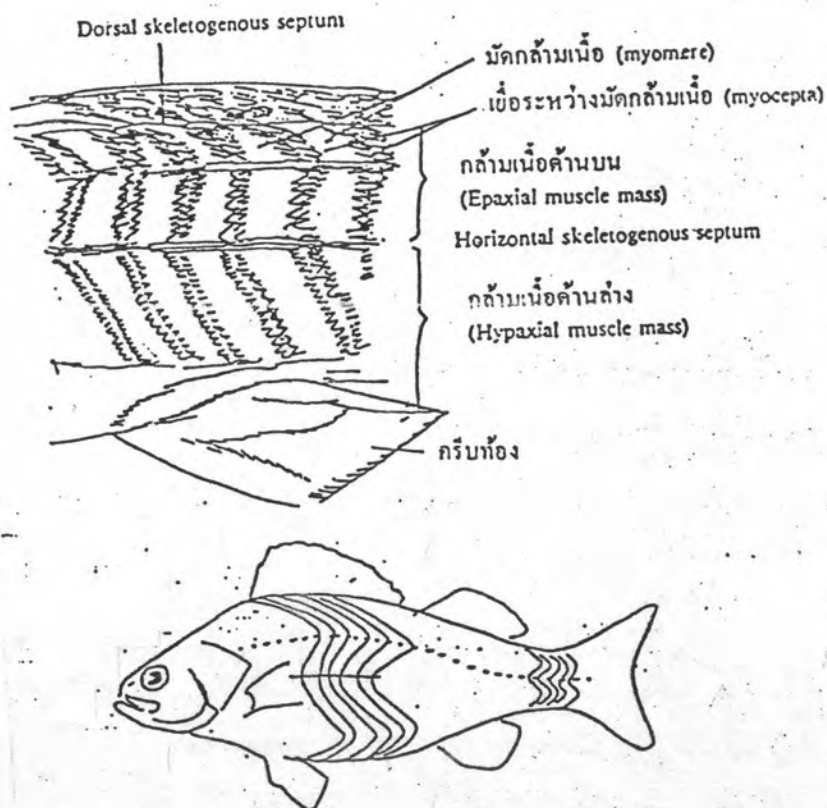
mucous cells พบในบริเวณช่องระหว่าง respiratory epithelium และ pillar cell เซลล์เหล่านี้มีนิวเคลียสไม่อยู่ตรงกลางเซลล์ และมี cytoplasmic mucous vacuole ขนาดใหญ่

chloride cells หรือ ionocytes เป็น osmoregulatory cells ของปลา ในปลากระดูกแข็งที่เลี้ยงในน้ำเค็มพบว่า chloride cells ประกอบด้วยนิวเคลียสขนาดใหญ่ ไมโทคอนเดรีย และถุงน้ำไซโทพลาสซึม (cytoplasmic vesicle) มาก

rodlet cells จะพบได้ที่ฐานของ secondary lamella และอยู่ตั้งฉากกับ lamellar epithelium ภายในเซลล์ประกอบด้วยนิวเคลียส fibrous capsule หนา membrane bound vesicle และ cytoplasmic vesicle ซึ่งภายในถุง (vesicle) เหล่านี้จะพบผลึกของ rodlet cells อยู่ในปลากระดูกแข็ง rodlet cells พบได้ใน gill lamella, olfactory epithelium, intestinal mucosa, ตับและเยื่อผิวหนังที่น้ำดี mesenteries ท่อไต เยื่อผนังกระเพาะปัสสาวะและ lateral-line organ เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา พบเซลล์มีรูปร่างเป็นกษเปาะย้อมติดสี Eosin

กล้ามเนื้อ

กล้ามเนื้อของปลากระดูกแข็งมีลักษณะเป็นกล้ามเนื้อมัดเล็ก ๆ ลักษณะมัดกล้ามเนื้อจะเป็นรูป W ตะแคงข้าง โดยหันส่วนกันไปข้างหน้าและกล้ามเนื้อแต่ละมัดจะเรียงตัวซ้อนๆ กันเข้าไปเหมือนกรวย ซึ่งสวมกันได้พอดี (ดังรูปที่ 1.6)



รูปที่ 1.6 แสดงมัดกล้ามเนื้อของปลากระดูกแข็ง (มาลินี , 2523)

ความผิดปกติทางจุลพยาธิสภาพ

1.1 ความผิดปกติของเซลล์

Degeneration หมายถึงความผิดปกติที่เกิดขึ้นในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต มีผลทำให้เซลล์สูญเสียหน้าที่ในการทำงาน เกิดการเปลี่ยนแปลงในขบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ซึ่งเซลล์อาจกลับสู่สภาพเดิมได้.

Vacuolation เป็นการเกิด degeneration ของเซลล์อีกแบบหนึ่งเนื่องจากมีการสะสมของไกลโคเจนมากภายในเซลล์ จากการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ลำแสงธรรมดาพบว่าไม่มีสีเมื่อย้อมด้วย Eosin

Necrosis เป็นการตายของเซลล์ชนิดถาวร อาจได้จากการทำงานของเอนไซม์ เมื่อการตายของเซลล์รุนแรงขึ้นจะเกิดขบวนการทำลายตัวเองของเซลล์ (Autolysis) เป็นภาวะความผิดปกติของเซลล์ เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ลำแสงธรรมดา จะเห็นส่วนของไซโทพลาสซึมและนิวเคลียสทึบแสง

Shrinkage of cell membrane เป็นความผิดปกติที่เกิดขึ้นในโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์มีลักษณะผิดรูปไป

Hyperplasia เซลล์จะมีขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ อาจเกิดจากเซลล์ได้รับสารพิษ เกิดการบาดเจ็บหรือได้รับเชื้อ เลือดจะมาหล่อเลี้ยงบริเวณอวัยวะนั้นมากขึ้น และทำให้เกิดขบวนการแบ่งตัวของเซลล์มากขึ้น

1.2 ความผิดปกติในนิวเคลียส

ในเซลล์ที่ตายจะพบการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสได้ 3 ลักษณะคือ

- Pyknosis เกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วนของเส้นใยโครมาติน พบว่าติดสีเข้มเมื่อย้อมสี acid dyes ทำให้ไม่เห็นนิวเคลียสของเซลล์
- Karyorrhexis เกิดการแตกสลายของนิวเคลียส ลักษณะเป็นเม็ดๆ (granules) กระจายทั่วทั้งเซลล์
- Karyolysis เกิดการสลายตัวของนิวเคลียส เมื่อย้อมด้วยสี Hematoxylin-Eosin พบว่านิวเคลียสติดสีจาง

ความผิดปกติของนิวเคลียสที่พบ จะเริ่มต้นด้วยการเปลี่ยนแปลงแบบ Pyknosis ก่อน แล้วอาจตามด้วยการเกิด Karyorrhexis หรือ Karyolysis อย่างใดอย่างหนึ่ง (McManus, 1966)

วัตถุประสงค์ในการศึกษา

จากการที่ยังไม่เคยมีการศึกษาถึงความเป็นพิษของคาร์บาริลในปลากระพงขาว ซึ่งเป็นปลาเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยมาก่อน การศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงความเป็นพิษของคาร์บาริลในปลากระพงขาว ทั้งความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity) และพิษในขนาดที่ไม่ทำให้ตาย (Sublethal effect) โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงสมรรถนะของเอนไซม์ ไซลีนเอสเทอเรส ซึ่งใช้บ่งบอกความเป็นพิษของคาร์บาริลนั้นเป็นที่ยอมรับและมีการใช้กันอย่างกว้างขวาง (Trudle and Marcial, 1988, Zinkl et al., 1987, Haines, 1981) ประกอบกับการศึกษาทางจุลพยาธิสภาพในเซลล์กล้ามเนื้อ ตับ และเหงือกของปลากระพงขาวที่ได้รับคาร์บาริล

นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาเพื่อหาแนวทางป้องกันและแก้ไขความเป็นพิษของคาร์บาริลต่อปลากระพงขาว โดยทั่วไปในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ที่ได้รับพิษของคาร์บาริล นิยมใช้อะโทรปีน (atropine) เป็นยาฉีดแก้ไขความเป็นพิษ สำหรับสัตว์น้ำการใช้อะโทรปีนเพื่อแก้ไขความเป็นพิษเป็นไปได้ยาก แนวทางอื่นๆ ที่สามารถทำได้ในอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ เช่น การลดปริมาณแอมโมเนียที่เกิดขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของคาร์บาริล (ดูรูปที่ 1.4) โดยการใช้สารที่สามารถลดปริมาณแอมโมเนีย ซึ่งคาดว่าจะป็นสารพิษที่ทำให้ปลาตายในเวลาต่อมา ในการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกใช้สารโมโนโซเดียมกลูตาเมต (ผงชูรส) มาทดลอง เนื่องจากเป็นสารที่หาได้โดยง่าย ราคาไม่แพงมาทดลองใช้แก้ไขความเป็นพิษของคาร์บาริล

สรุปวัตถุประสงค์ในการศึกษาวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของคาร์บาริลในปลากระพงขาว โดยการหาค่า LC_{50} , 96 ชั่วโมง การวัดสมรรถนะของเอนไซม์ ไซลีนเอสเทอเรส และการศึกษาทางจุลพยาธิสภาพ
2. เพื่อศึกษาความเป็นพิษของคาร์บาริลในความเข้มข้นที่ไม่ทำให้ปลาตาย โดยดูผลการเปลี่ยนแปลงสมรรถนะของเอนไซม์ ไซลีนเอสเทอเรส และการศึกษาทางจุลพยาธิสภาพ
3. เพื่อหาแนวทางป้องกัน และแก้ไขความเป็นพิษของคาร์บาริลในปลากระพงขาว โดยใช้วิธีการเปลี่ยนน้ำและการให้สารแก้ไขความเป็นพิษ โดยดูผลการเปลี่ยนแปลงสมรรถนะของเอนไซม์ ไซลีนเอสเทอเรส และการศึกษาทางจุลพยาธิสภาพ