

ความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิล



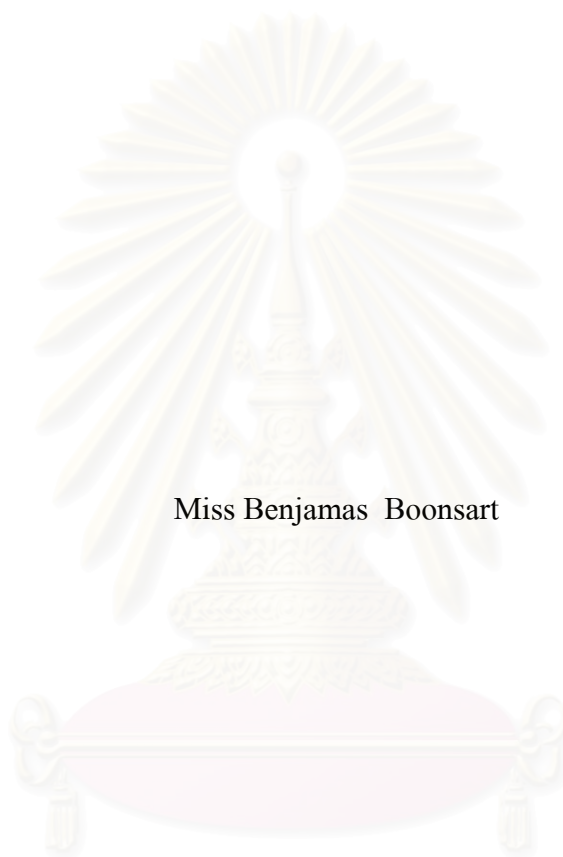
นางสาวเบญจมาศ บุญศาสตร์

สถาบันวิทยบริการ
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชวิทยาทางสัตวแพทยศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

TOXICITY AND RESIDUE OF AFLATOXIN B1 IN NILE TILAPIA
(*OREOCHROMIS NILOTICUS*)



Miss Benjamas Boonsart

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Veterinary Pharmacology

Department of Veterinary Pharmacology

Faculty of Veterinary Science


Chulalongkorn University

Academic Year 2006

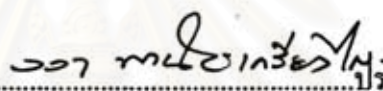
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี1 ในปลานิล
โดย	นางสาวเบญจมาศ บุญศาสตร์
สาขาวิชา	เภสัชวิทยาทางสัตวแพทยศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ศพ.ญ.ดร.อนงค์ บินชวิหค
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศพ.ญ.ดร.อรัญญา พลพรพิสิฐ

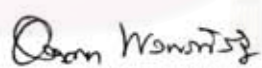
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

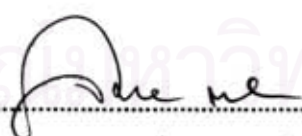

.....คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.อรรณพ คุณาวงษ์กฤต)

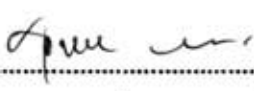
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ศพ.ญ.ดร.วรา พานิชเกรียงไกร)


.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ศพ.ญ.ดร.อนงค์ บินชวิหค)


.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศพ.ญ.ดร.อรัญญา พลพรพิสิฐ)


.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.จิสักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์)


.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ เรืองวิเศษ)

เบญจมาศ บุญศาสตร์ : ความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี1 ในปลานิล
(TOXICITY AND RESIDUE OF AFLATOXIN B1 IN NILE TILAPIA
(*OREOCHROMIS NILOTICUS*))

อ.ที่ปรึกษา: รศ.สพ.ญ.ดร.อนงค์ บิณทวิหก, อ.ที่ปรึกษาร่วม: ผศ.สพ.ญ.ดร.อรัญญา
พลพรพิสิฐ, 125 หน้า

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb ในปลานิล โดยตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาว การทำงานของเอนไซม์ตับ การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับ ไต ม้าม ลำไส้ และเหงือก ปริมาณสารพิษตกค้างในกล้ามเนื้อและการขับออกทางอุจจาระ ผลการศึกษาแสดงว่ากลุ่มที่ได้รับสารพิษพบจำนวน โมโนไซต์และนิวโทรฟิลสูงขึ้น ส่วนลิมโฟไซต์ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ระดับเอนไซม์ GPT, GOT, ALP และ GGT ในกลุ่มที่ได้รับ อะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb มีค่าเพิ่มสูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา พบเซลล์ตับเสื่อมสภาพแบบมีไขมันแทรกอยู่ทั่วไปและพบการตายของเซลล์ตับ พบการเสื่อมสภาพของท่อไต เยื่อผนังลำไส้ บางส่วนลอกหลุด พบเหงือกบวมและมีการอักเสบ การตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกล้ามเนื้อของปลานิลที่ได้รับสารพิษครั้งเดียว พบปริมาณสูงสุด 0.93 ± 0.35 ppb ในเวลา 96 hr. ระดับการตกค้างจะลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง การขับออกทางอุจจาระพบปริมาณสูงสุด 8.32 ppb ในเวลา 24 hr. ระดับการขับออกจะลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วนปลานิลที่ได้รับสารพิษติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน พบปริมาณสูงสุด 1.31 ± 0.33 ppb ในเวลา 72 hr. ระดับการตกค้างจะลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง การขับออกทางอุจจาระพบปริมาณสูงสุด 34.53 ppb ในเวลา 96 hr. ระดับการขับออกจะลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง ผลการศึกษาแสดงว่าระยะเวลาขับออกของอะฟลาทอกซินบี 1 ในเวลา 7-10 วัน จัดว่ามีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคปลานิล

ภาควิชา เกษัตริวิทยา..... ลายมือชื่อนิสิต..... *Manodan Mueksatorn*
สาขาวิชา เกษัตริวิทยาทางสัตวแพทยศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *Orna Win*
ปีการศึกษา 2549..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... *Orna Manopitru*

:MAJOR VETERINARY PHARMACOLOGY

KEYWORDS: AFLATOXIN B1/ TOXICITY/ RESIDUE/ NILE TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

BENJAMAS BOONSART: TOXICITY AND RESIDUE OF AFLATOXIN B1 IN NILE TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*). THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF.

ANONG BINTVIHOK, D.V.M., M.P.H., Ph.D., THESIS COADVISOR : ASST. PROF.

ARANYA PONPORNPIKIT , D.V.M., M.S., Ph.D., 125 pp.

The objective of this research is to study the toxicity and residue of 40, 80 and 160 ppb aflatoxin B 1 (AFB1) in fresh water fish Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by determination of white blood cell parameters, hepatic enzyme activities, histopathological changes of liver, kidney, spleen, intestine and gill, the residue of AFB1 in the muscle and fecal excretion levels of AFB1 residues. The results of this study indicate that the average cell counts of monocyte and neutrophil were significantly higher in the AFB1-treated groups than in the control group, whereas lymphocyte counts were significantly lower. GPT, GOT, ALP and GGT levels were significantly increased in the AFB1-treated groups, in comparison to the control group. For histopathological study, hepatic cell degeneration and necrosis, renal tubular cell degeneration, intestinal mucosa slough off, secondary gill lamella inflammation have been found. The single oral dose experiment with 40, 80 and 160 ppb AFB1, the AFB1 residual levels in the muscle were highest in the 160 ppb AFB1-treated group with mean value of 0.93 ± 0.35 ppb on the 96th hour of the experiment. After the 96th hour of the experiment, all AFB1-treated groups showed markedly decreasing of the muscle levels of AFB1 residues over the experimental period. The fecal excretion levels of AFB1 residues were highest with mean value of 8.32 ppb on the 24th hour of the experiment. Fecal excretion levels of AFB1 residues decreased over the experimental period. The 7-day multiple oral dose experiment with 40, 80 and 160 ppb AFB1, the AFB1 residual levels in the muscle were highest in the 160 ppb AFB1-treated group with mean value of 1.31 ± 0.33 ppb on the 72th hour of the experiment. Over the last experimental period, the muscle levels of AFB1 residues decreased in all AFB1-treated groups. The fecal excretion levels of AFB1 residues were highest with mean value of 34.53 ppb on the 96th hour of the experiment. After the 96th hour of the experiment, all AFB1-treated groups showed markedly decreasing of the fecal levels of AFB1 residues over the experimental period. The results of this study indicate that the 7-day interval after the withdrawal of the single oral dose experiment and the 10-day interval after the withdrawal of the 7-day multiple oral dose experiment were effective for reducing the residual level, and sufficient to ensure a safe level.

Department: Veterinary Pharmacology.....Student's signature.....Benjamas Boonsart
 Field of study: Veterinary Pharmacology.....Advisor's signature.....A. Bimtvihok.
 Academic year 2006.....Co- advisor's signature.....Aranya P.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.อนงค์ บินทวิหค อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.อรุณญา พลพรพิสิฐ อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้
สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ ที่ให้ความ
อนุเคราะห์สถานที่ในการเลี้ยงปลานิลทดลอง

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ เรืองวิเศษ และคุณวลาสิณี รักษา ที่ให้ความ
อนุเคราะห์เครื่องมือและให้คำปรึกษาในการตรวจวิเคราะห์ค่า B.O.D.

ขอขอบพระคุณ คุณมณีรัตน์ พัฒนชัย และคุณปิยะวรรณ เจริญเลิศกุล นักวิทยาศาสตร์
ประจำภาควิชาเกษตรสัตววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือใน
ด้านการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

สุดท้ายผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา พี่น้องและเพื่อนทุกๆ คน ที่เป็นแรงผลักดัน
ให้มีกำลังใจ และความมานะพยายามในการศึกษามาตลอด รวมถึงเอาใจใส่ช่วยเหลือและ
รอคอยที่จะชื่นชมกับความสำเร็จที่ได้รับในครั้งนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูป.....	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ณ

บทที่

1	บทนำ.....	1
2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1	อะฟลาทอกซิน.....	3
2.2	คุณสมบัติทั่วไปของอะฟลาทอกซิน.....	4
2.3	ขบวนการสันดาปและลดความเป็นพิษ.....	5
2.4	ปลานิล.....	7
2.5	เลือดและส่วนประกอบของเม็ดเลือด.....	8
2.6	ตับและเอนไซม์ตับ.....	12
2.7	ไตและหน้าที่.....	13
2.8	เหงือกและหน้าที่.....	14
2.9	กล้ามเนื้อและส่วนประกอบ.....	14
2.10	อันตรายของอะฟลาทอกซิน.....	15
3	วิธีดำเนินการทดลอง	
3.1	วัสดุและอุปกรณ์.....	20
3.2	วิธีการทดลอง.....	21
3.3	ขั้นตอนการทดลอง.....	25
3.4	การวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	27

4	ผลการทดลอง	
4.1	การทดลองที่ 1.....	29
4.2	การทดลองที่ 2.....	30
4.3	การทดลองที่ 3.....	37
4.4	การทดลองที่ 4.....	63
5	สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	
5.1	อภิปรายผล.....	90
5.2	สรุปผลการวิจัย.....	93
5.3	ข้อเสนอแนะ.....	94
	รายการอ้างอิง.....	96
	ภาคผนวก.....	100
	ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	125

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญญัตราง

ตารางชื่อ	หน้า
1. ค่า LD ₅₀ ของอะฟลาทอกซินบี 1 ในขนาดให้กินเพียงครั้งเดียวในสัตว์ชนิดต่างๆ	18
2. แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดเลือดขาวในปลานิลปกติ.....	29
3. แสดงค่าเฉลี่ยของเอนไซม์ตับในปลานิลปกติ.....	29
4. แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลอง.....	30
5. แสดงอัตราการตายสะสมของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1.....	31
ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นเวลา 96 ชั่วโมง	
6. แสดงค่า Median Lethal Doses (LD ₅₀) ของอะฟลาทอกซินบี 1.....	32
ต่อปลานิล ภายในเวลา 96 ชั่วโมง	
7. เปรียบเทียบจำนวนโมโนไซค์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1.....	39
ครั้งเดียวที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24,48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.	
8. เปรียบเทียบจำนวนนิวโทรฟิลของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1.....	40
ครั้งเดียวที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24,48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.	
9. เปรียบเทียบจำนวนลิมโฟไซค์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1	41
ครั้งเดียวที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.	
10. เปรียบเทียบค่า GPT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว	44
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.	
11. เปรียบเทียบค่า GOT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว	45
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.	
12. เปรียบเทียบค่า ALP ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว.....	46
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.	

13. เปรียบเทียบค่า GGT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว 47
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72,
96, 120, 144 และ 168 hr.
14. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับ..... 56
ในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40,
80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.
15. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของไต..... 57
ในปลานิล ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40,
80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.
16. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของม้าม..... 58
ในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40,
80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.
17. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของลำไส้..... 59
ในปลานิล ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40,
80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.
18. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเหงือก..... 60
ในปลานิล ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40,
80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.
19. เปรียบเทียบจำนวนโมโนไซต์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1..... 66
ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
20. เปรียบเทียบจำนวนนิวโทรฟิลของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1..... 67
ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

21. เปรียบเทียบจำนวนลิโพโปรตีนของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี1 68
 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
 ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
 หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
22. เปรียบเทียบค่า GPT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 171
 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
 ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
 หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
23. เปรียบเทียบค่า GOT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 172
 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
 ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
 หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
24. เปรียบเทียบค่า ALP ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 173
 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
 ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
 หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
25. เปรียบเทียบค่า GGT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 174
 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
 ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
 หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
26. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับ..... 83
 ในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน
 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96,
 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
27. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของไต..... 84
 ในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน
 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96,
 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

28. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของม้าม..... 85
 ในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน
 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96,
 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
29. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของลำไส้..... 86
 ในปลานิล ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน
 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96,
 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
30. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเหงือก..... 87
 ในปลานิล ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน
 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96,
 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

สารบัญรูป

รูปที่

หน้า

1. ปลานิลได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 1,500 ppb..... 32
2. ปลานิลได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 2,500 ppb 33
3. ปลานิลได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 5,000 ppb..... 33
4. แสดงอุณหภูมิของน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนและหลังการทดลอง.....34
5. แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนและหลังการทดลอง..... 35
6. แสดงค่าแอมโมเนียในน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนและหลังการทดลอง..... 35
7. แสดงค่าไนไตรต์ในน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนและหลังการทดลอง.....36
8. แสดงค่าบีโอดีของน้ำเลี้ยงปลานิลหลังการทดลอง 36
9. เปรียบเทียบจำนวนโมโนไซค์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว.....42
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120,
144 และ 168 hr.
10. เปรียบเทียบจำนวนนิวโทรฟิลของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว..... 42
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120,
144 และ 168 hr.
11. เปรียบเทียบจำนวนลิมโฟไซต์ ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว..... 43
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120,
144 และ 168 hr.
12. เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GPT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว.....48
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120,
144 และ 168 hr.
13. เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GOT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว.....48
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120,
144 และ 168 hr.
14. เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ ALP ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว.....49
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120,
144 และ 168 hr.

15. เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GGT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว..... 49
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120,
144 และ 168 hr.
16. ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับของปลานิล..... 51
17. ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อไตของปลานิล.....52
18. ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของม้ามของปลานิล.....53
19. ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาเยื่อบุผนังลำไส้ของปลานิล..... 54
20. ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาโครงสร้างเหงือกของปลานิล..... 55
21. แสดงปริมาณการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกล้ามเนื้อของปลานิล.....61
ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.
22. แสดงปริมาณการขับออกของอะฟลาทอกซินบี 1 ในอุจจาระของปลานิล.....62
ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.
23. เปรียบเทียบจำนวนโมโนไซค์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1..... 69
ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
24. เปรียบเทียบจำนวนนิวโทรฟิลของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1.....69
ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
25. เปรียบเทียบจำนวนลิมโฟไซค์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1.....70
ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
26. เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GPT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1..... 75
ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

27. เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GOT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1.....75
 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
 ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
 หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
28. เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ ALP ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1..... 76
 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
 ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
 หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
29. เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GGT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 76
 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb
 ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
 หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
30. ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับของปลานิล.....78
31. ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อไตของปลานิล.....79
32. ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของม้ามของปลานิล.....80
33. ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาเยื่อผนังลำไส้ของปลานิล..... 81
34. ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาโครงสร้างเหงือกปลานิลปกติ..... 82
35. แสดงปริมาณการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกล้ามเนื้อของปลานิลที่ได้รับ.....88
 อะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40,
 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
 หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย
36. แสดงปริมาณการขับออกของอะฟลาทอกซินบี 1 ในอุจจาระของปลานิลที่ได้รับ.....89
 อะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40,
 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr.
 หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

cm	centimeter
μ l	microlitre
ml	millilitre
L	liter
μ g	microgram
mg	milligram
g	gram
kg	kilogram
hr	hour
%	percent
$^{\circ}$ C	degree Celsius
hr	hour
IU	international unit
LD ₅₀	median lethal dose
M	molar
min	minute
mm	millimeter
nm	nanometer
μ l/g	microlitre per gram
μ g/kg	microgram per kilogram
mg/l	milligram per litre
ppb	part per billion
ppm	part per million
SD	standard deviation
GPT	glutamic-pyruvic transaminase
GOT	glutamic-oxaloacetic transaminase
ALP	alkaline phosphatase
GGT	gamma glutamyl transferase
BW	body weight

บทที่ 1

บทนำ

อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่เกิดจากเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* เชื้อราเหล่านี้พบได้บ่อยในเมล็ดถั่วลิสงและข้าวโพดและพบทั่วไปในข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี มันสำปะหลัง หอม กระเทียม พริกแห้ง ถั่วลิสงแปรรูป น้ำมันจากถั่วลิสง เมล็ดทานตะวันแปรรูป อาหารสำเร็จรูปหรือพบปนเปื้อนในข้าวโพดที่เป็นวัตถุดิบของอาหารสัตว์ รวมทั้งพบการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ในเนื้อสัตว์ นม และไข่ (จักรกริสน์, 2540; Tuan et al, 2002; <http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap41.html>, 2004 ; <http://www.ku.ac.th/kaset60/theme40/theme-04-34/index-04-34.html>, 2004) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อนได้ กำหนดให้มีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนอยู่ในอาหารได้ไม่เกิน 20 ppb (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) เชื้อราเหล่านี้เจริญได้ดีในอาหารที่มีความชื้นระหว่าง 14 – 30 % หรือมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศตั้งแต่ 75% ขึ้นไป อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่ทนความร้อนได้ดีและทนได้ถึง 260 °C ดังนั้นการหุงต้มธรรมดาซึ่งใช้ความร้อนไม่เกิน 100 °C จึงไม่สามารถทำลายอะฟลาทอกซินได้

อะฟลาทอกซินที่พบตามธรรมชาติมี 4 ชนิดคือ อะฟลาทอกซิน บี 1, บี 2, จี 1 และ จี 2 โดย บี 1 จะมีความเป็นพิษมากที่สุด รองลงมาคือ จี 1, บี 2 และ จี 2 ตามลำดับ (จักรกริสน์, 2540; http://www.rdi.ku.ac.th/FOODS/Varapa-Aflatoxin/index_aflatoxins.html, 2004) มีรายงานว่า อะฟลาทอกซินมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ปลา และคน (อรวรรณ, 2540) นอกจากนี้ยังอาจสะสมและตกค้างอยู่ในเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์อีกด้วย เช่น กล้ามเนื้อ น้ามน ไข่ เป็นต้น อะฟลาทอกซินที่เข้าสู่ร่างกายสัตว์โดยการกินจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตและผ่านไปสู่อวัยวะต่างๆ ตับเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่หลักในการกำจัดสารพิษและเกิดความเป็นพิษจาก อะฟลาทอกซิน โดยมีการเสื่อมสภาพแบบมีไขมันแทรก ตับแข็ง ตับอักเสบ เซลล์ตับถูกทำลาย (จักรกริสน์, 2540; <http://www.gpo.or.th/rdi/hlmls/kanokrat.html>, 2004) มีการศึกษากันมากเกี่ยวกับผลของอะฟลาทอกซินในสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น ไก่ เป็ด สุกร โค เป็นต้น แต่การศึกษาในปลา ยังจัดว่ามีน้อย ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาผลกระทบของการมีอะฟลาทอกซินปนเปื้อนในระดับสูงจากการที่อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของประเทศไทยมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องสามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรและประเทศชาติเป็นอย่างมาก แต่ยังพบปัญหาการปนเปื้อนมักตรวจพบในสินค้าการเกษตร ได้แก่ เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวโพด กากถั่ว ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ มีรายงานว่ากากเมล็ดปาล์มที่นำไปเป็นส่วนประกอบของอาหารเม็ดที่ใช้เลี้ยงปลานิลที่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus* มีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลานิลลดลง (Lim et al., 2001) ดังนั้นจึงมีความสนใจทำการศึกษาถึงผลของอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหารสัตว์ต่อ

ปลานิล ซึ่งเป็นปลาที่นิยมเลี้ยงและนิยมบริโภคเป็นอาหาร โดยทำการศึกษาความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิล เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาผลกระทบต่อผู้บริโภคปลานิล

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินบี 1 ระดับ 40, 80 และ 160 ppb ในปลานิล
2. เพื่อศึกษาการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ระดับ 40, 80 และ 160 ppb ครั้งเดียว และติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบข้อมูลของสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ปนเปื้อนในอาหารปลา มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของตับ ไต ม้าม ลำไส้ และเหงือกของปลานิล
2. เพื่อประโยชน์ในการประเมินความสูญเสียจากสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลานิล
3. การศึกษาการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิล ทำให้ทราบถึงความปลอดภัยหรือความเสี่ยงอันตรายของผู้บริโภคที่บริโภคปลานิลที่ได้รับสารพิษปนเปื้อนเป็นอาหาร
4. ได้ข้อมูลเพื่อใช้เป็นแนวทางในการควบคุมหรือป้องกันคุณภาพผลผลิตปลาหรืออาหารปลาให้ปลอดภัยจากสารพิษตกค้างและได้มาตรฐานอย่างสม่ำเสมอ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซิน (aflatoxin) เป็นกลุ่มของสารอินทรีย์เคมีไบส-ฟูราโนคิวมาริน (bis-furanocoumarin) ที่สร้างขึ้นโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* พบมากในเมล็ดธัญพืชและพืชน้ำมันชนิดต่างๆ เช่น ถั่วลิสง ข้าวโพด ข้าว ข้าวฟ่าง เมล็ดฝ้าย ลูกเดือย หอม กระเทียม พริกแห้ง เครื่องเทศ และผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสินค้าเกษตรเหล่านี้ อะฟลาทอกซินที่สำคัญและพบเสมอในธรรมชาติมี 4 ชนิด คือ อะฟลาทอกซินบี 1 บี 2 จี 1 และจี 2 ซึ่ง *A. flavus* จะผลิตอะฟลาทอกซินบี 1 และบี 2 และ *A. parasiticus* จะผลิตอะฟลาทอกซินบี 1 บี 2 จี 1 และจี 2 โดยอะฟลาทอกซินบี 1 จะพบมากที่สุดและมีความเป็นพิษสูงสุด (Ellis et al., 1991)

อุณหภูมิของประเทศไทยที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตและสร้างสารพิษของเชื้อราที่ *A. flavus* สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้คือ 12 - 41° C ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 25 - 32° C และความชื้นสัมพัทธ์ 86 - 87 % สารพิษจากเชื้อราสามารถเกิดได้ทุกขั้นตอนของการผลิต หากมีการเจริญของเชื้อราตั้งแต่การเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การเก็บรักษาในคลังสินค้า หรือในขณะลำเลียงเพื่อนำมาผลิตอาหารสัตว์ จากการวิเคราะห์วัตถุดิบอาหารสัตว์ในปี พ.ศ. 2539 พบว่าข้าวโพดมีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินสูงถึง 80 ppb. และกากถั่วลิสงที่นำเข้าจากประเทศอินเดียมีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินสูงถึง 342 ppb. จากการสำรวจอาหารสัตว์ในปี พ.ศ. 2518 - 2523 ในอาหารสัตว์มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินสูงถึง 6.7 - 934 ppb. (ภักดิ์, 2540) นอกจากนี้กากเมล็ดปาล์มที่นำไปเป็นส่วนประกอบของอาหารเม็ดที่ใช้เลี้ยงปลานิลที่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus flavus* มีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลานิลลดลง (Lim et al., 2001)

สารพิษอะฟลาทอกซินเป็นที่รู้จักดีของผู้เกี่ยวข้องในการผลิตปศุสัตว์เพราะเป็นสารพิษที่สร้างปัญหาภัยกับอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์มากที่สุด มีรายงานว่าอะฟลาทอกซินมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ปลา และคน นอกจากนี้ยังอาจสะสมและตกค้างอยู่ในเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์อีกด้วย เช่น กล้ามเนื้อ นานม ไข่ เป็นต้น (อรรณ, 2540) จากการเปรียบเทียบความรุนแรงของสารพิษจากเชื้อราขององค์การอนามัยโลก อะฟลาทอกซินจัดอยู่ในระดับรุนแรงที่สุด (extremely toxic) (ศุภกิจ, 2540) โดยเฉพาะชนิดบี 1 จะมีความเป็นพิษสูงสุด เพราะเป็นสารก่อมะเร็งระดับทั้งในคนและในสัตว์ที่ได้รับสารพิษเข้าไป สารพิษอะฟลาทอกซินเข้าสู่ร่างกายโดยการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของสารพิษ เนื่องจากอาหารนั้นมีการปนเปื้อนของเชื้อราซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้ทุกขั้นตอนการผลิตตั้งแต่การเก็บเกี่ยวผลิตผลเกษตรระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่งผลิตผลเกษตร (จักรกริสน์, 2540 ; อมรา, 2547)

อะฟลาทอกซินสามารถทำอันตรายทั้งมนุษย์และสัตว์ (Ellis et al., 2000) การเกิดพิษอย่างเฉียบพลันจะเกิดอาการซีม เบื่ออาหาร น้ำหนักลด ดีซ่าน (icterus) และมีจุดเลือดออกที่กล้ามเนื้อ (Osweiller et al., 1994) ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบว่าเกิดการตายของเซลล์ตับ (hepatic cell necrosis) มีไขมันแทรกในเซลล์ตับ (fatty degeneration) และการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อท่อน้ำดี (bile duct proliferation) (Bintvihok et al., 1991, 1997) ความรุนแรงของสารพิษชนิดนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณสารพิษที่ได้รับ ระยะเวลา ชนิดสัตว์ เพศ อายุของสัตว์ สัตว์แต่ละชนิดมีความไวต่อการเกิดพิษจากอะฟลาทอกซินแตกต่างกัน สัตว์ที่มีความไวสูงต่ออะฟลาทอกซิน ซึ่งมีค่า $LD_{50} < 1$ mg/kg คือ ปลาเทราต์ แมว และเป็ด (Leeson et al., 1995) สัตว์ปีกมีความไวต่อการเป็นพิษมากกว่าในสุกร โค และกระบือ สัตว์อายุน้อยมีความไวต่อการเกิดพิษมากกว่าสัตว์ที่โตเต็มวัยแล้ว ลูกเป็ดมีความไวต่อการเกิดพิษมากกว่าลูกไก่และลูกนกกระทาตามลำดับ (อนงค์, 2540)

2.2 คุณสมบัติทั่วไปของอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินมีคุณสมบัติละลายได้เล็กน้อยในน้ำ และสารตัวทำละลายพวกมีขั้วละลายได้ดีในตัวทำละลายเคมีอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม เบนซีน แอซีโตน เอทานอล และเมทานอล ไม่ละลายในเฮกเซน อีเทอร์ และปิโตรเลียมอีเทอร์ อะฟลาทอกซินเรืองแสงได้เมื่อส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตโดยอะฟลาทอกซินชนิดบี และชนิดเอ็ม จะเรืองแสงสีน้ำเงิน ในช่วงความยาวคลื่น 256 ถึง 365 นาโนเมตร อะฟลาทอกซินชนิดจีเรืองแสงสีเขียวในความยาวคลื่นเดียวกัน (ดวงจันทร์, 2545) มีความทนทานต่อความร้อนสูงถึง 250°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สารพิษสลายตัวได้ อะฟลาทอกซินจึงไม่ถูกทำลายหรือเสื่อมสลายที่อุณหภูมิต่ำกว่า 250°C ดังนั้นความร้อนจากกระบวนการหุงต้มต่างๆ ไป เช่น ต้ม อบ หรือึ่ง จึงไม่สามารถทำลายพิษของอะฟลาทอกซินได้ (อนงค์, 2546)

มีสารเคมีบางชนิดสามารถลดความเป็นพิษหรือทำลายพิษของอะฟลาทอกซินได้บ้าง เช่น แอมโมเนีย ค่างแก่ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น เพราะวงแหวนแลคโตนของอะฟลาทอกซินจะแยกออกจากกันในสภาวะต่างๆ และสามารถกลับสู่โครงสร้างเดิมได้ในสภาวะกรดหรือกลาง ดังนั้นจึงไม่สามารถใช้สภาวะทางฟิสิกส์หรือทางเคมีอย่างใดอย่างหนึ่งทำลายพิษของอะฟลาทอกซินให้หมดลงได้ แต่อย่างไรก็ตามอะฟลาทอกซินเสื่อมสลายได้ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต แสงแดด และรังสีแกมมา (อนงค์, 2546)

อะฟลาทอกซินละลายน้ำได้เล็กน้อยเมื่อเข้าสู่ร่างกาย บางส่วนจะถูกขับออกในรูปแบบเดิม บางส่วนจะถูกขบวนการของร่างกายเปลี่ยนแปลงเป็นสารตัวอื่น (metabolites) ซึ่งมีพิษมากขึ้นหรือน้อยลงก็ได้ ซึ่งสารดังกล่าวจะถูกสะสมในร่างกายบางส่วนถูกขับออกทางปัสสาวะ อุจจาระและทางน้ำนม สารเมแทบอลิท์ที่มีพิษมากที่สุด คือ อะฟลาทอกซินบี 1-8,9-อีพอกไซด์ (aflatoxin B 1-8, 9-epoxide) ซึ่งจะไปจับกับดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ ทำให้การสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ผิดปกติ และทำให้เกิดมะเร็งที่ตับ

2.3 ขบวนการสันดาปและลดความเป็นพิษ

อะฟลาทอกซินจะถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือดเกิดขบวนการสันดาปซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ

1. ระยะที่ 1 (Phase I reaction) ประกอบด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) รีดักชัน (reduction) และ ไฮโดรไลซิส (hydrolysis)
2. ระยะที่ 2 (Phase II reaction) ประกอบด้วยปฏิกิริยาคอนจูเกชัน (conjugation)

1. Phase I reaction

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) เป็นการนำเอาออกซิเจน (O) เข้าไปในโครงสร้างโมเลกุลของสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ทำให้เกิดสารพิษที่มีจำนวนอะตอมของออกซิเจนเพิ่มมากขึ้น หรือได้โมเลกุลใหม่ที่มีกลุ่มไฮดรอกซิล (-OH) เพิ่มขึ้น เอนไซม์พี-450 ที่อยู่ในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมจะทำให้เกิดปฏิกิริยา Hydroxylation, O-demethylation และ Epoxydation

ปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (Hydroxylation) เป็นปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลงสารพิษที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนหกเหลี่ยม ให้ได้โครงสร้างใหม่ที่มีกลุ่มไฮดรอกซิล (-OH) อยู่ด้วย ซึ่งเรียกว่า วงแหวนไฮดรอกซิเลชัน (ring hydroxylation) โดยใช้เอนไซม์ไซโตโครมพี-450 (cytochrome P450 enzyme) เปลี่ยนแปลงอะฟลาทอกซินบี 1 ไปเป็นอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 คิว 1 และ บี 2 เอ ซึ่งเป็นพิษน้อยกว่าและละลายได้ในน้ำ

ปฏิกิริยาโอ - ดีเมทิลเลชัน (O-demethylation) เป็นปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลงสารพิษที่มีกลุ่มออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล โดยการตัดเอากลุ่มเมทิล (-CH₃) ออกไปจากโมเลกุลโดยใช้เอนไซม์ไซโตโครมพี-450 (cytochrome P450 enzyme) เปลี่ยนแปลงอะฟลาทอกซินบี 1 ไปเป็นอะฟลาทอกซินบี 1 ซึ่งพบได้ในหนูแรท หนูเม้าส์ หนูตะเภา และกระต่าย

ปฏิกิริยาอีพอกซิเดชัน (Epoxydation) เป็นปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษที่พันธะคู่ (double bond) ให้เป็นโครงสร้างใหม่ที่มีกลุ่มออกไซด์ เอนไซม์ไซโตโครมพี-450 (cytochrome P-450 enzyme) ช่วยให้มีการสันดาปเกิดการเปลี่ยนแปลงอะฟลาทอกซินบี 1 ไปเป็นอะฟลาทอกซินบี 1-8, 9 อีพอกไซด์ (aflatoxin B 1- 8,9-epoxide) ซึ่งไม่คงตัวและสามารถไปเกาะหรือจับตัวกันอย่างแน่นกับโมเลกุลใหญ่ในเซลล์เกิดเป็นอะฟลาทอกซินบี 1 จับแน่นกับดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือโปรตีนอื่นๆ การจับตัวกันแน่นนี้ถือเป็นขั้นตอนจำเป็นและสำคัญอย่างยิ่งในปฏิกิริยาที่มีผลต่อการเกิดพิษอย่างเฉียบพลัน (acute toxicity) และการก่อมะเร็งตับของอะฟลาทอกซินบี 1

ปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction) เป็นการนำเอาไฮโดรเจน (H) เข้าไปในโครงสร้างโมเลกุลของสารพิษทำให้เกิดสารพิษที่มีจำนวนอะตอมของไฮโดรเจนเพิ่มมากขึ้น โดยใช้เอนไซม์ไซโตโซลรีดักเตสในตับ (cytosol reductase enzyme) เปลี่ยนแปลงอะฟลาทอกซินบี 1 ไปเป็นอะฟลาทอกซิโคล (aflatoxicol) ซึ่งเป็นขั้นตอนลดความเป็นพิษ เนื่องจากความรุนแรงของการเป็นพิษหรือการก่อมะเร็งจากเมตาโบไลต์มีฤทธิ์น้อยกว่าอะฟลาทอกซินบี 1

ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) เป็นการนำเอาโมเลกุลของน้ำ (H_2O) เข้าไปในโครงสร้างโมเลกุลของสารพิษ ทำให้เกิดสารพิษที่เป็นสารไดไฮโดรไดออล (dihydrodiol) โดยใช้เอนไซม์อีพอกไซด์ไฮเดรส (epoxide hydase) เช่น อะฟลาทอกซินบี 1-8, 9 อีพอกไซด์ (aflatoxin B 1-8, 9-epoxide) เปลี่ยนแปลงโครงสร้างใหม่ได้เป็นอะฟลาทอกซินบี 1-8,9-ไดไฮโดรไดออล (aflatoxin B 1-8, 9-dihydrodiol)

2. Phase II reaction

ปฏิกิริยาคอนจูเกชัน (conjugation) ของเมตาโบไลต์ของอะฟลาทอกซิน ซึ่งเป็นขั้นตอนลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน เป็นการนำเอากลุ่มไฮดรอกซิล ($-OH$) แอมิโน ($-NH_2$) คาร์บอกซิล ($-COOH$) อีพอกไซด์ ($C_2 H_2 O$) หรือ แฮโลเจน เช่น คลอไรด์ โบรไมด์ ไอโอดีน (Cl, Br, I) ในโครงสร้างโมเลกุลของสารพิษไปจับคู่กับสารที่เซลล์ตับสร้างขึ้น เช่น กลูคูโรนิก (glucuronide) กลูตาไทโอน (glutathione) เมทิล (methyl) เป็นต้น เมื่อจับคู่กันแล้วได้ออกประกอบใหม่ที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีขึ้น ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการกำจัดสารพิษออกทางปัสสาวะโดยไต และอุจจาระทางน้ำดีโดยตับ (อนงค์, 2546)

สัดส่วนใหญ่จะเกิดกระบวนการสันดาปหรือเปลี่ยนแปลงสารพิษที่ตับ (hepatic metabolism) ซึ่งมีบทบาทเด่นชัดในการบ่งบอกปฏิกิริยาทางชีวภาพ (biological action) ของอะฟลาทอกซินบี 1 เอนไซม์ในกระบวนการสันดาปยา หรือสารพิษในไมโครโซมของตับ (Hepatic microsomal drug metabolizing enzymes) จะเพิ่มสูงขึ้นกว่าปกติ และเอนไซม์ไซโตโครมพี-450 (cytochrome P-450 enzyme) ช่วยให้มีกระบวนการสันดาปเกิดการเปลี่ยนแปลงอะฟลาทอกซินบี 1 ไปเป็นอะฟลาทอกซินบี 1-8, 9- อีพอกไซด์ ซึ่งไม่คงตัวและสามารถไปเกาะหรือจับตัวกันอย่างแน่นกับโมเลกุลใหญ่ๆ ในเซลล์เกิดเป็นอะฟลาทอกซินบี 1 จับแน่นกับดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ หรือโปรตีนอื่นๆ ซึ่งการจับตัวกันแน่นนี้ถือเป็นขั้นตอนจำเป็นและสำคัญยิ่งในปฏิกิริยาการก่อเกิดมะเร็งตับของอะฟลาทอกซินบี 1 การจับตัวกันแน่นเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับความไวต่อการเกิดพิษในแต่ละสัตว์ด้วย

กระบวนการสันดาปหรือเปลี่ยนแปลงสารพิษที่ตับจากอะฟลาทอกซินบี 1 เป็นเมตาโบไลต์ชนิดอื่นๆ คือ อะฟลาทอกซินเอ็ม 1 พี 1 คิว 1 และบี 2 เอ โดยอาศัยเอนไซม์ไซโตโครม พี -450 (cytochrome P450 enzyme) และการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอะฟลาทอกซิโกล โดยอาศัยเอนไซม์ไซโตโซลรีดักเทส (cytosol reductase enzyme) จัดว่าเป็นขั้นตอนลดความเป็นพิษ (detoxification) เพราะความรุนแรงของการเป็นพิษหรือการก่อมะเร็งจากเมตาโบไลต์เหล่านี้มีฤทธิ์น้อยกว่าอะฟลาทอกซินบี 1 การรวมตัวของอะฟลาทอกซินบี 1-8,9 - อีพอกไซด์ กับกลูตาไทโอน (glutathione) โดยอาศัยเอนไซม์ไซโตโซล กลูตาไทโอนเอสทรานสเฟอเรส (cytosol glutathione-S-transferase) หรือ การรวมตัวกับกลูคูโรนิก (glucuronide) หรือ อะฟลาทอกซินบี 1 รวมตัวกับกลูตาไทโอน ก็จัดว่าเป็นขั้นตอนการลดความเป็นพิษเช่นกัน (อนงค์, 2540)

2.4 ปลานิล (*Oreochromis niloticus* (Linn.))

อนุกรมวิธานของปลานิล

Phylum	Vertebrata
Class	Osteichthyes
Order	Perciformes
Family	Cichlidae
Genus	Oreochromis
Species	niloticus

ชื่อสามัญ Nile tilapia

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกาเป็นปลาที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายและเป็นปลาที่กำลังได้รับความนิยมจากผู้บริโภคอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน เพราะเป็นปลาที่สามารถขยายพันธุ์ได้เองในบ่อเลี้ยง ให้อูกด เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว เนื้อปลามีรสชาติดี ปลานิลเป็นปลาที่มีความอดทนและปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี จึงสามารถเลี้ยงได้ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อย กินอาหารได้เกือบทุกชนิด ขยายพันธุ์ได้ตลอดปี

ปลานิลถูกนำเข้ามาประเทศไทยครั้งแรกโดยสมเด็จพระจักรพรรดิอากิฮิโตะแห่งประเทศญี่ปุ่น ได้ทรงจัดส่งมาทูลเกล้าถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดช พระองค์ทรงเลี้ยงอยู่เป็นเวลา 1 ปี และได้ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ พระราชทานปลาให้แก่อธิบดีกรมประมงเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ และได้พระราชทานชื่อว่า “ปลานิล”

ปลานิลมีรูปร่างลักษณะคล้ายปลาหมอเทศ แต่ลักษณะพิเศษของปลานิลคือ ริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน ปลานิลมีลำตัวสั้น แบนด้านข้าง ขอบตามีสีแดง ที่บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถวตามลำตัวมีลายพาดขวาง 9-10 แถบ ครีบหลังติดต่อกันเป็นครีบเดี่ยวประกอบด้วยก้านครีบแข็งและก้านครีบอ่อนเป็นจำนวนมาก ครีบกันมีก้านครีบแข็งและอ่อนเช่นเดียวกัน ครีบหลัง ครีบกันและครีบหางมีจุดขาวและเส้นสีดำตัดขวาง มีเกล็ดตามแนวเส้นข้างตัว 33 เกล็ด ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาล ครีบหางตัดตรง ปลานิลเพศผู้จะมีอวัยวะเพศยาวยื่นออกมา ลำตัวมีสีเข้มกว่าเพศเมีย ปลานิลเพศเมียอวัยวะเพศมีลักษณะเป็นรูค่อนข้างใหญ่และกลม

จากการที่ปลานิลเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว แข็งแรง จึงเป็นปลาอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศ เพราะปัจจุบันความต้องการบริโภคปลานิลไม่ว่าจะเป็นตลาดในท้องถิ่น ในเมือง หรือแม้กระทั่งตลาดในต่างประเทศได้เพิ่มปริมาณมากขึ้นเป็นลำดับ (อุคม, 2547)

2.5 เลือดและองค์ประกอบของเลือด

เลือดปลาเป็นตัวกลางในระบบลำเลียง (transport medium) ทำหน้าที่หลายประการ ได้แก่ ลำเลียงสารต่างๆ เข้าและออกจากเส้นเลือดฝอย ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการแลกเปลี่ยนของเหลวในเนื้อเยื่อ ป้องกันเชื้อโรคต่างๆ เข้าสู่ร่างกาย ควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย ป้องกันการสูญเสียเลือด โดยกลไกการแข็งตัวของเลือด องค์ประกอบของเลือดปลามี 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นของเหลว (liquid portion) ส่วนนี้เรียกว่า น้ำเลือด (plasma) ประกอบด้วยน้ำ โมเลกุลชนิดต่างๆ รวมทั้งสารอาหารของเสีย เกลือ และโปรตีน และส่วนที่เป็นเซลล์ (formed elements) ประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ และเกล็ดเลือด (blood platelets) ได้แก่

1. เม็ดเลือดแดง (red blood cells หรือ erythrocytes) ทำหน้าที่ลำเลียงออกซิเจน เม็ดเลือดแดงของปลาจะมีรูปร่างกลมรี (oval) มีนิวเคลียสกลางเซลล์ ปริมาณของเม็ดเลือดแดงจะแตกต่างกันไปในปลาแต่ละชนิดและยังสัมพันธ์กับความเครียด (stress) และปัจจัยสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ โดยทั่วไปปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลาจะอยู่ในช่วง $1.05-3.0 \times 10^6 \text{ cells/mm}^3$ (นพดล, 2549)

2. เม็ดเลือดขาว (white blood cells หรือ leukocytes) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสิ่งแปลกปลอมและภูมิคุ้มกัน เซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาจะมีรูปร่างแตกต่างกันไป ได้แก่

อีโอสิโนฟิล (Eosinophil) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่นิวเคลียสเป็นพุกคล้าย heterophil แต่มีขนาดเล็กกว่า ภายในไซโตพลาสซึมมีแกรนูลรูปร่างกลม มีบทบาทเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาภูมิไวเกิน (hypersensitivity reaction) การอักเสบ (inflammation) และขบวนการ phagocytosis พบมีปริมาณเพียง 2-3 % ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (นพดล, 2549)

เบโซฟิล (Basophil) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ภายในไซโตพลาสซึมมีแกรนูลรูปร่างกลม และมีขนาดใหญ่ ภายในแกรนูลจะมีสาร histamine ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการเกิดภูมิแพ้และการอักเสบแบบเฉียบพลัน (acute inflammation) ในปลาพบมีปริมาณน้อยกว่า 1 % ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมดมีบทบาทในการจับกินสิ่งแปลกปลอมโดยวิธี phagocytosis (นพดล, 2549)

นิวโทรฟิล (Neutrophils หรือ Heterophil) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่นิวเคลียสมีหลายพู (multilobed nucleus) มีแกรนูลขนาดเล็ก รูปร่างเป็นแท่งภายในไซโตพลาสซึม ปริมาณนิวโทรฟิลของปลาโดยเฉลี่ยประมาณ $3-6 \times 10^3 \text{ cells/mm}^3$ (นพดล, 2549)

คุณสมบัติโดยทั่วไปของนิวโทรฟิล

1. หน้าที่หลักคือ จับกินสิ่งแปลกปลอมและทำลายสิ่งแปลกปลอมต่างๆ เหล่านั้น โดยจะมีประสิทธิภาพสูงเมื่อเคลื่อนเข้ามาในเนื้อเยื่อที่มีการติดเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดหนอง เช่น staphylococcus, streptococcus นอกจากนี้ยังให้ proteolytic enzyme ซึ่งทำลายอนุภาคต่างๆ ที่ถูกกินเข้าไปภายในเซลล์หรือปล่อยเอนไซม์ออกมาทำลายภายนอกเซลล์ เซลล์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับสภาวะการอักเสบ ซึ่งเป็นขบวนการทำลายจุลินทรีย์โดยการจับกินทำลายนี้จะมีประสิทธิภาพเมื่ออยู่ในเนื้อเยื่อไม่ใช่ภายในกระแสเลือด การที่นิวโทรฟิลเคลื่อนที่ออกจากกระแส

เลือดไปยังบริเวณของเนื้อเยื่อที่มีสิ่งแปลกปลอมและก่อให้เกิดการอักเสบได้นั้นเพราะมีการกระตุ้นจากสารเคมีที่ขับออกจากเซลล์ที่ตายแล้วแบคทีเรียหรือสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ รวมถึงองค์ประกอบของระบบคอมพลีเมนต์ โดยเรียกว่า Chemotaxis

2. นิวโทรฟิลจะหลั่งสารต่างๆ ออกมาเมื่อสัมผัสกับเชื้อแบคทีเรียหรือสารพิษจากแบคทีเรีย สารต่างๆที่นิวโทรฟิลผลิตและปล่อยออกมานี้จะทำหน้าที่ในการย่อยนอกเซลล์ (extra-cellular digestion)

3. นิวโทรฟิลอาจส่งผลเสียต่อร่างกายโดยทำให้เกิดพยาธิสภาพต่างๆ เช่น immune complex glomerulonephritis และ rheumatoid arthritis

4. นิวโทรฟิลที่เคลื่อนออกมาสู่เนื้อเยื่อแล้วจะไม่สามารถกลับเข้าสู่กระแสเลือดได้อีกในสภาวะที่ปกติ ส่วนนิวโทรฟิลที่เสื่อมหรือหมดอายุขัยจะถูกทำลายโดย macrophages ที่มีมา ตับ และไขกระดูก (เกรียงศักดิ์, 2539)

ภาวะจำนวนนิวโทรฟิลในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น (neutrophilia) ภาวะดังกล่าวเกิดขึ้นได้ในกรณีต่างๆ เช่น

1. มีการหลั่ง epinephrine ในร่างกาย ในขณะที่สัตว์ตื่นเต้น ตกใจกลัวหรือมีการออกกำลังกายทำให้เส้นเลือดส่วนปลายเกิดการหดตัว (blood vessel constriction) นิวโทรฟิลจึงไม่สามารถเคลื่อนออกนอกเส้นเลือดได้

2. มีการหลั่งของคอร์ติโคสเตียรอยด์จากภายในร่างกาย เช่น ความเจ็บปวด อุณหภูมิร่างกายที่สูงหรือต่ำเกินไปทำให้ลดการเคลื่อนที่ของนิวโทรฟิลจากกระแสเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อเป็นผลให้นิวโทรฟิลอยู่ในกระแสเลือดนานขึ้น

3. ร่างกายเกิดการอักเสบมีความต้องการใช้นิวโทรฟิลจำนวนมากจึงกระตุ้นให้มีการสร้างเพิ่มขึ้น

4. การตายของเนื้อเยื่อ (necrosis)

5. การเสียเลือด (hemorrhage)

6. Intoxication

7. การแตกของเม็ดเลือดแดง ในกรณีภาวะโลหิตจางจากการแตกทำลายเม็ดเลือดแดงอันเกิดจากภูมิคุ้มกัน (เจลิยว, 2548; สุนทร, 2549)

ภาวะจำนวนนิวโทรฟิลในกระแสเลือดลดลง (neutropenia) ภาวะดังกล่าวเกิดขึ้นได้ในกรณีต่างๆ เช่น

1. มีการใช้นิวโทรฟิลมาก หรือมีการทำลายนิวโทรฟิลมากเกินไปทำให้จำนวนนิวโทรฟิลในเลือดต่ำลง ซึ่งพบได้ในกรณีของการอักเสบ

2. การสร้างนิวโทรฟิลลดลง พบในกรณี Irradiation, cytotoxic drug, immunosuppressive therapy ซึ่งมักทำให้จำนวนแกร็ดเลือดต่ำ และเกิดภาวะโลหิตจางร่วมด้วย (เจลิยว, 2548)

โมนိုไซต์ (Monocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีขนาดใหญ่ และมีพื้นที่ของไซโตพลาสซึมมากกว่าลิมโฟไซต์อาจพบแกรนูลภายในไซโตพลาสซึม

คุณสมบัติโดยทั่วๆ ไปของโมนိုไซต์

1. โมนိုไซต์ผลิตจากไขกระดูกและหมุนเวียนอยู่ในกระแสเลือดเพียงชั่วระยะสั้นๆ หลังจากนั้นก็จะมีการเปลี่ยนแปลงเป็น macrophages แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อต่างๆ โดยที่ภายใน macrophages จะมีแกรนูลอยู่มากมายภายในแกรนูลมีเอนไซม์ proteolytic enzyme มากกว่า monocytes ซึ่งเป็นเซลล์ต้นกำเนิดและยังพบว่า macrophages มีชีวิตอยู่ในเนื้อเยื่อได้เป็นเวลานาน สามารถแบ่งตัวและทำหน้าที่เก็บกินสิ่งแปลกปลอมได้

2. หน้าที่ของ macrophages เก็บกินและย่อยจุลินทรีย์และสิ่งแปลกปลอมรวมถึงเซลล์ภายในร่างกายเองที่เสื่อมหรือตาย ถึงแม้ว่า macrophages จะตอบสนองต่อเชื้อจุลินทรีย์ได้ก็ตามแต่ถ้ามีการติดเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้เกิดหนองในกระแสเลือดนิวโทรฟิลจะตอบสนองได้ดีกว่า

3. สำหรับหน้าที่ในการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายนั้น macrophages มีความสำคัญในการนำเสนอสิ่งแปลกปลอมต่อลิมโฟไซต์และยังสามารถหลังสารบางอย่างออกมากระตุ้น T-lymphocytes และ B-lymphocytes รวมถึงได้รับการกระตุ้นจากลิมโฟไซต์ในขบวนการทำลายเนื้องอกหรือจุลินทรีย์ต่างๆ (เกรียงศักดิ์, 2539)

ภาวะจำนวนโมนိုไซต์ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น (monocytosis)

1. ภาวะ monocytosis มักพบร่วมกับ neutrophilia ได้เสมอ รวมถึงสามารถพบได้ในรายที่มีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในสัตว์ที่แข็งแรงตลอดจนเป็นภาวะที่ตอบสนองต่อการได้รับสารในกลุ่มคอร์ติโคสเตอรอยด์

2. อาจพบได้ในรายที่มีภาวะการอักเสบเป็นหนอง เกิดเนื้อตาย มะเร็ง เม็ดเลือดแดงแตก ภาวะเสียเลือด ความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน

3. สามารถพบลักษณะ monocytosis ได้ทั้งในรายที่มีความเจ็บป่วยแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง

ภาวะจำนวนโมนโอไซต์ในกระแสเลือดลดลง (monocytopenia)

ไม่มีความสำคัญต่อการแปลผลโลหิตวิทยา โดยทั่วไปจำนวนโมนโอไซต์ในกระแสโลหิตมีน้อยอยู่แล้ว และการกระจายตัวในสเมียร์เลือดก็ไม่สม่ำเสมอ (เฉลียว, 2548)

ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีปริมาณมากที่สุด นิวเคลียสมีรูปร่างกลมขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ไม่แบ่งเป็นพู (mononuclear cell) มีบทบาทเกี่ยวข้องกับ การตอบสนองทางด้านภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ พบว่าปลาที่ติดเชื้อ และอยู่ในภาวะเครียดจะมีปริมาณของ ลิมโฟไซต์ต่ำ (นพดล, 2549)

คุณสมบัติโดยทั่วไปของลิมโฟไซต์

1. ลิมโฟไซต์ส่วนใหญ่มีการกระจายตัวอยู่ตามเนื้อเยื่อน้ำเหลือง ได้แก่ ต่อมน้ำเหลือง ม้าม ไทมัส ทอนซิล เนื้อเยื่อน้ำเหลืองในระบบทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจ ไชกระดูกและระบบไหลเวียนเลือด

2. ลิมโฟไซต์แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ T - lymphocytes และ B- lymphocytes ซึ่งการแบ่งประเภทนี้ขึ้นกับตัวรับและ markers บนพื้นผิวของเซลล์นั้นๆ โดยที่ T- lymphocytes ถูกผลิตจากไขกระดูกหลังจากนั้นมาพัฒนาตัวที่ไทมัสโดยมีหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (cell-mediated immunity) ส่วน B- lymphocytes นั้นถูกผลิตจากไขกระดูกเช่นกันแต่ทำหน้าที่เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ (humoral responded immunity)

3. ลิมโฟไซต์ทุกชนิดมีอายุขัยมากกว่าเม็ดเลือดขาวชนิดอื่นๆ และมีความสามารถในการแบ่งตัวหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเพื่อทำหน้าที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงขึ้น (เกรียงศักดิ์, 2539)

ภาวะต่างๆ ที่มีผลกระทบต่อร่างกายมักมีผลต่อจำนวนของลิมโฟไซต์ในกระแสเลือดมีผลเล็กน้อยต่อการทำหน้าที่และการผลิต โดยปกติจำนวนลิมโฟไซต์มักคงที่ในสัตว์ที่มีสุขภาพปกติและลดลงเล็กน้อยในสัตว์ที่มีอายุมาก

ภาวะจำนวนลิมโฟไซต์ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น (lymphocytosis) การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นเนื่องจาก

1. ในสัตว์ที่มีสุขภาพแข็งแรงพบว่า epinephrine เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะ lymphocytosis ในกรณีที่เกิด physiologic leukocytosis

2. ในรายที่ต่อมน้ำเหลืองโตเนื่องจากการติดเชื้อ (lymphoid hyperplasia) พบว่าจำนวนลิมโฟไซต์ในกระแสเลือดไม่สัมพันธ์กับการทำหน้าที่ของมันเนื่องจาก จำนวนลิมโฟไซต์อาจมีค่าปกติหรือลดลงในรายที่ต่อมน้ำเหลืองโต โดยเฉพาะในระยะเวลาที่มีการติดเชื้ออย่างเฉียบพลันในบางครั้ง การติดเชื้ออย่างเรื้อรังอาจพบลักษณะ lymphocytosis

ภาวะจำนวนลิมโฟไซต์ในกระแสเลือดลดลง (lymphopenia) พบได้ปกติในสัตว์ป่วยซึ่งอาจเกิดจาก

1. ผลจากสเตียรอยด์ทำให้ลิมโฟไซต์ไม่ถูกปล่อยออกมาจากต่อมน้ำเหลือง

2. ในกรณี acute systemic infection, recirculation lymphocyte ถูกจับในต่อมน้ำเหลืองทำให้ต่อมน้ำเหลืองโตพร้อมกับเกิด lymphopenia ซึ่งจะเกิดในช่วงสั้นๆ

3. ในการรักษาด้วยยาที่กดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive drug) หรือการฉายรังสีซึ่งมีผลไปกด clonal proliferation จึงเกิด lymphopenia ตามมาอย่างช้าๆ

4. โครงสร้างของต่อมน้ำเหลือง (lymphnode architecture) เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากมีการอักเสบหรือเซลล์มะเร็งซึ่งไปแทนที่ลิมโฟไซต์ทำให้มีจำนวนลดลงและเกิดภาวะ lymphopenia (เฉลียว, 2548)

2.6 ตับและเอนไซม์ตับ

ปลากระดูกแข็งจะมีตับเป็นอวัยวะที่มีขนาดใหญ่ที่สุดเมื่อเทียบกับอวัยวะอื่นๆ ตับของปลา กินเนื้อสัตว์จะมีสีน้ำตาลแดงหรือน้ำตาลอ่อน ตับของปลากินพืชจะมีสีอ่อนกว่า ตับจะอยู่ทางส่วนหน้าของช่องท้องหรืออยู่ตามแนวยาวขนานกับอวัยวะในช่องท้องอื่นๆ ภายในเนื้อตับจะมีตับอ่อนแทรกอยู่และอยู่ล้อมรอบเส้นเลือด (portal vein) ซึ่งเรียกว่า hepatopancreas เลือดที่มาเลี้ยงตับเป็นเลือดจากเส้นเลือดดำที่รับมาจากอวัยวะต่างๆ ในระบบย่อยอาหารเข้าสู่ตับผ่าน hepatic portal vein และระบบเส้นเลือดฝอยภายในตับหรือ sinusoid (วิมล, 2540 ; El-Elaimy , 1993) สิ่งที่มาถึงเลือดได้แก่ สารอาหาร สารปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมทางน้ำ เช่น สารพิษต่างๆ ซึ่งสารเหล่านี้จะแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของผนังหลอดเลือด sinusoid เข้าสู่เซลล์ตับและจะสะสมอยู่ในส่วนของ space of disc ซึ่งเป็นแหล่งที่ตับใช้กำจัดสารพิษที่ปนมากับเลือด เป็นที่เก็บสะสมไขมันในขณะที่เดียวกันจะปล่อยสิ่งที่เซลล์ตับผลิตออกสู่กระแสเลือด เซลล์ตับ (hepatocyte) ของปลากระดูกแข็งมีรูปร่างหลายเหลี่ยม (polyhedral) มีนิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ โครงสร้างของเซลล์ตับประกอบด้วย hepatic plate เรียงตัวเป็น two-cell layers และมี bile duct cell แทรกตัวอยู่ระหว่างเซลล์ตับทั้งสองชั้นนี้ ภายในเซลล์ตับแต่ละเซลล์จะมี bile canaliculi ซึ่งจะมีท่อเล็กๆ เปิดเข้าสู่ cytoplasmic portion ของ bile duct cell ที่จัดตัวอยู่ในรูปของท่อน้ำดี ผนังของเซลล์ตับอีกด้านหนึ่งจะติดกับ sinusoid ซึ่งประกอบไปด้วย endothelial cell ที่มีลักษณะแบนบางแต่นิวเคลียสหนาเห็นชัดเรียงตัวชั้นเดียว

ความผิดปกติของตับตรวจพบจากการทำงานของเอนไซม์ตับ ได้แก่

GPT (Glutamic-pyruvic transaminase) หรือ ALT (Alanine aminotransferase) เป็นเอนไซม์หลักที่พบในตับ เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ตับมีผลทำให้เซลล์ตับมีการอักเสบ (inflammation) และเซลล์ตับถูกทำลาย (necrosis) ทำให้ระดับเอนไซม์ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น เอนไซม์ GPT บ่งบอกถึง number of cells injured แต่ไม่ได้บอกถึง degree of injury เนื่องจาก GPT สามารถออกจากเซลล์ได้แม้จะเป็น reversible injury หรือ cell necrosis ก็ตาม เอนไซม์ GPT มีความไวต่อการทำลายเซลล์ตับอย่างเฉียบพลัน (sensitive in acute of liver disease) ในขณะที่เอนไซม์ GOT มีความไวต่อการทำลายเซลล์ตับอย่างเรื้อรัง (sensitive in chronic and infiltrative lesions of liver) ระดับของเอนไซม์ GPT และ GOT ยังพบได้สูงในสัตว์ป่วยที่เป็น toxic hepatitis ข้อควรระวังในการตรวจหาค่าเอนไซม์ GPT การเกิดการทำลายเม็ดเลือด (hemolysis) และ เลือดมีไขมันเป็นจำนวนมากผิดปกติ (lipaemia) จะทำให้ได้ค่าสูงกว่าความเป็นจริง

GOT (Glutamic-oxaloacetic transaminase) หรือ AST (Aspartate aminotransferase) จะพบได้ในเนื้อเยื่อต่างๆ มากมาย แต่ที่มีปริมาณมากจะพบได้ในตับ กล้ามเนื้อลาย กล้ามเนื้อหัวใจ ดังนั้นเมื่อเนื้อเยื่อดังกล่าวถูกทำลายจะทำให้เอนไซม์ชนิดนี้อยู่ในกระแสเลือดจำนวนมากขึ้น อย่างไรก็ตามในระหว่างการเก็บตัวอย่างซีรัมเพื่อนำมาตรวจนั้น ถ้าหากตัวอย่างเลือดเกิด hemolysis จะทำให้ค่าที่ออกมาผิดพลาดได้ เนื่องมาจากมีเอนไซม์ชนิดนี้อยู่ในเม็ดเลือดแดงเช่นกันพยาธิสภาพที่

ทำให้ค่าเอนไซม์ GOT สูงขึ้น เช่น ตับถูกทำลาย (liver damage) กล้ามเนื้อถูกทำลาย (skeletal muscle damage) ความผิดปกติของกล้ามเนื้อหัวใจ (cardiomyopathy) เช่น การขาดเลือด (cardiac ischemia) เนื้อตาย (necrosis) เนื้องอก (neoplasm) หรือการเสื่อมสภาพ (degeneration) ภาวะการกั่งเลือด (cardiac congestion)

ALP (Alkaline phosphatase) เป็น isoenzyme พบในตับ (bile duct epithelial cells and hepatocyte) กระดูกรก และ intestinal mucosa การเพิ่มขึ้นของ ALP มีผลมาจาก เช่น การได้รับสารพิษ ตับถูกทำลาย การอุดตันของท่อน้ำดี โรคระดูก เนื้องอก

GGT, GT (Gamma glutamyltranspeptidase หรือ gamma glutamyltransferase) พบในเนื้อเยื่อหลายชนิด เช่น ไต ตับอ่อน ลำไส้เล็ก และกล้ามเนื้อ แต่พบมากในตับ เอนไซม์ GGT มีความจำเพาะในการวินิจฉัยโรคตับและทางเดินท่อน้ำดีได้ดีกว่า ALP แต่น้อยกว่า GOT และ GPT เนื่องจากเอนไซม์ ALP ยังพบได้ในอวัยวะอื่น เช่น กระดูกรก และลำไส้ และข้อดีอีกอย่างของเอนไซม์ GGT คือขึ้นได้เร็วกว่า และอยู่ได้นานกว่า ALP นอกจากนี้ระดับเอนไซม์ GGT ยังพบสูงในสัตว์ป่วยที่มีอาการของโรคตับ

ALP และ GGT เอนไซม์เหล่านี้จะช่วยในการประเมินการทำงานของระบบทางเดินน้ำดีว่ามีการอุดตันการไหลของน้ำดีหรือไม่ เนื่องจากเอนไซม์ ALP ที่สร้างจากตับพบได้สูงใน bile duct epithelium และใน canalicular membrane ของเซลล์ตับ ดังนั้น ALP จะช่วยในการวินิจฉัย ตรวจคัดกรอง และติดตามผลการรักษา cholestatic hepatobiliary lesions ระดับ ALP ในเลือดพบได้สูงในสัตว์ที่เป็นโรคตับ โดยเฉพาะในรายที่มีการอุดตันของท่อน้ำดี (biliary obstruction) เนื่องจากเซลล์ตับที่เป็นหลักในการสร้าง ALP คือเซลล์ที่อยู่บริเวณ biliary canaliculi ซึ่งถูกกระตุ้นให้มีการสร้างเอนไซม์เพิ่มขึ้นโดย cholestasis และกระตุ้นการหลั่งโดย bile salts ถ้ามีการอุดตันท่อน้ำดีมาก ระดับ ALP อาจสูงกว่าปกติถึง 10-12 เท่า ดังนั้นจึงจัดได้ว่า ALP เป็นตัวบ่งชี้ภาวะท่อน้ำดีอุดตัน (sensitive indicator of cholestasis) (พรเพ็ญ, 2549)

2.7 ไตและหน้าที่

หน้าที่ของไตแบ่งออกเป็น 2 อย่าง คือ ช่วยกำจัดของเสียจำพวกไนโตรเจนที่ได้จากการเผาผลาญโปรตีนและของเสียอื่นๆ ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย และช่วยควบคุมปริมาณน้ำและเกลือแร่ภายในร่างกายให้อยู่ในสภาพสมดุล ไตประกอบด้วยหน่วยเล็กๆ หลายหน่วย แต่ละหน่วยเรียกว่า nephron แต่ละ nephron ประกอบด้วย renal corpuscle หรือ malpighian body และท่อไต ท่อไตจะต่อกับท่อรวมและนำออกสู่ภายนอกโดย mesonephric duct ในส่วนของ malpighian body ประกอบด้วย glomerulus ซึ่งภายในมีเส้นเลือดฝอยขดไปมา โดยมีทั้งเส้นเลือดแดงและเส้นเลือดดำ และถูกห่อหุ้มไว้ใน kidney cell บางๆ เรียกว่า Bowman's capsule ทั้ง glomerulus และ Bowman's capsule รวมกันทำหน้าที่เป็นเครื่องกรองที่มีความละเอียดมาก (ultrafilter) ช่วยกรองของเสียออกจากเลือดและดูดเอาเกลือแร่ สารที่เป็นประโยชน์และน้ำบางส่วนกลับเข้าสู่กระแสเลือด (วิมล, 2540)

2.8 เหงือกและหน้าที

เหงือกเป็นอวัยวะที่สำคัญใช้ในการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ทำหน้าที่ในการหายใจของปลาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

1. primary lamella ประกอบด้วยแกนกระดูกอ่อนตรงกลางรองรับเส้นเลือดที่เข้ามาเลี้ยง และออกจากซี่เหงือกทำหน้าที่ค้ำจุน secondary lamella

2. secondary lamella ประกอบด้วย pillar cell และเยื่อบุผิว โดย pillar cell จะมีลักษณะคล้ายเส้นใยตาข่ายเชื่อมกันอยู่สำหรับให้ออกซิเจนและเลือดไหลเวียน และด้านนอกที่เป็นเยื่อบุผิวของ secondary lamella จะมี microvilli และ microridge เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการแลกเปลี่ยนก๊าซ

เมื่อเกิดความเสียหายหรือความผิดปกติที่เหงือกปลา ปลาจะแสดงอาการต่างๆ เช่น มีการเคลื่อนไหวของแผ่นปิดเหงือกที่บริเวณกระพุ้งแก้มเร็วขึ้นทางแผ่นปิดเหงือกออกกว้างขึ้น ปลาอาจว่ายขึ้นมาหายใจที่ผิวน้ำซึ่งเป็นบริเวณที่มีออกซิเจนละลายอยู่มากกว่าน้ำชั้นล่าง ความผิดปกติในระดับเซลล์ที่เกิดขึ้นอย่างเฉียบพลันได้แก่ การเกิด vacuolation การบวมของเซลล์เยื่อ (swelling of lamellae epithelium) การเกิดเป็นตุ่มเลือดคั่ง มีเมือกมากขึ้น บวมน้ำ ซึ่งความผิดปกติเหล่านี้เป็นการตอบสนองเพื่อต่อต้านสิ่งแปลกปลอมและสิ่งระคายเคือง (อรัญญา, 2544)

2.9 กล้ามเนื้อและส่วนประกอบ

ส่วนประกอบหรือกล้ามเนื้อส่วนใหญ่ของปลา คือ สิ่งที่ยึดหรือเกาะยึดกระดูกปลาซึ่งได้แก่ เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (muscular tissue) ซึ่งรวมตัวกันและมีเยื่อเกี่ยวพันประสานไว้เป็นมัดกล้ามเนื้อ แล้วมีเอ็นยึดไว้กับกระดูก ลักษณะของกล้ามเนื้อนั้น โดยทั่วไปจำแนกออกเป็น 3 ประเภทคือ กล้ามเนื้อลาย กล้ามเนื้อเรียบ และกล้ามเนื้อหัวใจ กล้ามเนื้อลายทำงานอยู่กับโครงกระดูก ส่วนมากอยู่ในอำนาจของจิตใจ มีหน้าที่เพื่อการเคลื่อนไหว กล้ามเนื้อเรียบอยู่นอกอำนาจจิตใจ เช่น ผงังเส้นเลือด กระเพาะ ลำไส้ อวัยวะสืบพันธุ์ และกระเพาะปัสสาวะ มีหน้าที่ช่วยยึดหดอวัยวะเหล่านั้น ในระหว่างปฏิบัติงาน ส่วนกล้ามเนื้อหัวใจมีลักษณะคล้ายกล้ามเนื้อลายเหมือนกันแต่อยู่นอกอำนาจจิตใจทำหน้าที่สูบฉีดเลือด

อวัยวะที่มีกล้ามเนื้อขนาดใหญ่และที่สำคัญที่สุดในตัวปลาอยู่ที่สองข้างลำตัว เริ่มตั้งแต่บริเวณถัดจากหัวไปจรดโคนครีบหาง กล้ามเนื้อเหล่านี้แบ่งออกตามขวางเป็นท่อนๆ และเรียงลำดับจับคู่ขนานกันไป พอตีช่วงและจำนวนท่อนกระดูกสันหลัง แต่ละตอนมีรูปทรงคล้ายตัว S หรือ W ดังนั้นเมื่อลอกหนังปลาออกจะเห็นลายขวางลำตัวปลาเป็นสีขาววิ่งสลับฟันปลาขนานกัน กล้ามเนื้อแต่ละท่อนหรือตอนนั้นหดหรือยืดขยายตัวได้โดยอิสระอันเป็นประโยชน์แก่การเคลื่อนไหวไปมาอย่างยิ่ง กล้ามเนื้อที่โคนครีบหูและครีบท้องซึ่งเทียบได้กับขาหน้าหลังของปลาจะมีอยู่เพียงเล็กน้อย และทำหน้าที่เพียงเป็นกำลังสมทบ สำหรับทรงตัวและบังคับการทำงานของครีบช่วยให้การเคลื่อนที่ตรงเส้นทางที่ต้องการเท่านั้น กล้ามเนื้อที่เป็นท่อนๆทั้งบนลำตัว และท่อนหางมีหน้าที่ส่วนใหญ่ในการว่ายน้ำด้วยวิธีขยายและหดตัวสลับกันทำให้เกิดการสอคล้ายยักย้ายอย่างเป็นจังหวะจะโคนของ

กล้ามเนื้อ ทำให้เกิดการโค้งงอบนลำตัวเป็นระลอกคลื่นต่อเนื่องกันทำให้เพิ่มแรงส่งเคลื่อนตัวไปข้างหน้าหรือถอยหลังได้ (วิมล, 2540)

2.10 อันตรายของอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินเป็นสารพิษที่สร้างจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* ซึ่งประกอบด้วยสารพิษย่อยหลายชนิด ชนิดที่เป็นพิษมากที่สุดคืออะฟลาทอกซินบี 1 สารพิษดังกล่าวมีผลต่อการหยุดยั้งการสร้างดีเอ็นเอ และโปรตีนในเซลล์ อวัยวะที่ได้รับผลกระทบมากที่สุดจากสารพิษอะฟลาทอกซินก็คือ ตับ เนื้อเยื่อตับจะถูกทำลายเกิด fatty liver ผลที่ตามมาก็คือหน้าที่ของตับเสียหาย (โสมทต, 2540) ซึ่งในระยะแรกของการได้รับสารพิษดังกล่าวสัตว์ส่วนใหญ่จะแสดงอาการ เบื่ออาหาร อัตรการเจริญเติบโตลดลง และสูญเสียภาวะปกติต่างๆ รวมทั้งผลผลิตทางเนื้อ นมและไข่ลดลงด้วย โดยสัตว์จะแสดงอาการในระดับความรุนแรงแตกต่างกันขึ้นอยู่กับขนาดหรือความเข้มข้น ระยะเวลาที่สัตว์ได้รับสารพิษ ชนิดของสัตว์ เพศ อายุ สุขภาพ และภาวะทางโภชนาการ ในขณะที่สัตว์ได้รับอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษ สัตว์แต่ละชนิดมีความไวต่อการเกิดพิษจากอะฟลาทอกซินแตกต่างกัน สัตว์ปีกมีความไวต่อการเกิดพิษมากกว่าสุกรและโคกระบือ สัตว์อายุน้อยมีความไวต่อการเกิดพิษมากกว่าสัตว์ที่โตเต็มวัยแล้ว (อนงค์, 2540)

การปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในอาหารของมนุษย์และสัตว์ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค มีรายงานว่า การบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินมีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็ง และส่วนใหญ่จะเกิดที่ตับ (Ellis et al, 2000) ผลการศึกษาการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินต่อการเกิดโรคมะเร็งตับในผู้ป่วยที่จังหวัดอุดรธานี ตรวจพบเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซิน บี 1 อยู่ในข้าวเหนียวและตรวจพบอะฟลาทอกซินบี 1 ในกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ปัสสาวะ อุจจาระ และน้ำดีของผู้ป่วย นอกจากนี้ มีการศึกษาความเชื่อมโยงระหว่างการได้รับสารอะฟลาทอกซินกับการเกิดมะเร็งตับ พบว่ามีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับสูงในผู้ที่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินประกอบกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (Ellis et al, 2000 ; http://www.rdi.ku.ac.th/FOODS/Varapa-aflatoxin/index_aflatoxin.html, 2004)

Wang และ Tang (2004) รายงานถึงระดับวิทยาของการได้รับสารอะฟลาทอกซินและการเกิดมะเร็งตับว่า สารอะฟลาทอกซินโดยเฉพาะอะฟลาทอกซินบี 1 เป็นสารก่อมะเร็งชนิด hepatocarcinogens ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดเนื้องอกที่ตับได้ทั้งในมนุษย์ และสัตว์หลายชนิด เช่น สัตว์ฟันแทะ ลิง และปลา เป็นต้น นอกจากนี้ได้มีการศึกษาผลของความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินในสัตว์ปีกกันอย่างกว้างขวางซึ่ง มนกันต์ และคณะ (2545) ได้ทำการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาเคมี และจุลพยาธิวิทยาเอนไซม์ของตับลูกไก่กระทง ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ขนาด 5 mg/kg พบว่าลูกไก่ส่วนใหญ่มีอาการซึม กินอาหารลดลง เซลล์ตับมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรก เซลล์ตับที่เสื่อมมีการทำงานของเอนไซม์ไฮโดรโมออกซิเดสลดลงชัดเจนในระหว่างชั่วโมงที่ 24-144 เซลล์ตับกลับสู่สภาพใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมเริ่มจากชั่วโมงที่ 192 ของการทดลอง แต่การเรียง

ตัวของเซลล์ตับได้เสียชีวิตไปและยังคงมีร่องรอยการบวมของเซลล์ตับ รอยโรคดังกล่าวยังคงพบได้ อยู่ตลอดแม้ว่าสัตว์จะไม่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินแล้วซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Espada และคณะในปี 1992 ซึ่งได้อธิบายรอยโรคที่พบในไก่กระทงอายุ 1 วัน ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีอะฟลาทอกซินปี 1 ผสมในขนาด 0.2 และ 3 ppm เป็นเวลา 21 วัน และเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีอะฟลาทอกซินปี 1 ต่ออีก 10 วันเพื่อดูช่วงเวลากลับสู่สภาพเดิม พบว่าเซลล์ตับมีไขมันแทรก ท่อน้ำดีขยายใหญ่และเพิ่มจำนวน ลิมโฟไซต์ในต่อมเบอริซาล์ฟอลิบ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้ยังคงพบได้ แม้สัตว์จะไม่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินแล้ว

กณารัตน์ (2542) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาและการขับออกทาง อุจจาระของอะฟลาทอกซินปี 1 เป็นระยะเวลา 10 วัน ในลูกไก่กระทงที่ป้อนอะฟลาทอกซินปี 1 ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ครั้งเดียว พบว่าลูกไก่ที่ป้อนอะฟลาทอกซินปี 1 ในวันที่ 2 มีอาการซึม ค่าทางโลหิตวิทยาในแต่ละกลุ่มยังคงอยู่ในระดับปกติ ในวันที่ 4 เซลล์ตับ บางส่วนเริ่มมีการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกในระดับปานกลางถึงรุนแรง เซลล์ตับบางส่วนตาย ร่วมกับมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อท่อน้ำดี ในวันที่ 5-6 เซลล์ตับเริ่มมีการเรียงตัวกลับสู่สภาพ เดิม แต่ยังคงพบการเสื่อมแบบมีไขมันแทรกในระดับอ่อน ในวันที่ 7-8 เซลล์ตับเรียงตัวเป็นกลุ่ม และเบียดเซลล์เยื่อท่อน้ำดีให้เล็กลงและพบเซลล์ไฟโบรบลาสต์เจริญล้อมเซลล์ตับ ในวันที่ 9-10 เซลล์ตับมีการเรียงตัวเป็นแถวคู่คล้ายสภาพปกติ ส่วนไตในวันที่ 2-3 พบการเสื่อมของเซลล์เยื่อท่อน้ำดีในระดับอ่อนถึงปานกลาง การขับถ่ายของอะฟลาทอกซินปี 1 ทางอุจจาระพบว่าในวันที่ 1 มีการ ขับถ่ายสูงสุด ลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 และลดลงตามลำดับจนถึงสิ้นสุดการทดลอง

การศึกษาผลของความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินปี 1 นอกจากในสัตว์ปีกแล้วยังมี การศึกษาในสัตว์ชนิดอื่นๆ อีกมากมาย และสัตว์อีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจก็คือสัตว์ น้ำ อย่างเช่น กุ้ง และปลา เป็นต้น Ostrowski-Meissner และคณะ (1994) ได้ศึกษาถึงความไวของ กุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) ต่ออะฟลาทอกซินปี 1 พบว่ากุ้งที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี 1 ขนาด 50 ppb เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เกิดการเสื่อมและการตายของเซลล์ hepatopancreas และเนื้อเยื่อ antennal gland กุ้งขาวที่ได้รับการป้อนอะฟลาทอกซินปี 1 ขนาด 400 ppb เป็นเวลา 56 วัน มีอัตราการ เจริญเติบโต และอัตราแลกเนื้อลดลง และที่ขนาด 900 ppb เป็นเวลา 56 วัน มีผลต่อการลดลงของ สัมประสิทธิ์การย่อยของกุ้ง และที่ 1,500 ppb เป็นเวลา 2 สัปดาห์ มีผลทำให้กุ้งตายได้ 100%

Hardy และคณะ (2001) ศึกษาถึงผลของอะฟลาทอกซินปี 1 ต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง กูลาดำ (*Penaeus monodon fabricius*) โดยผสมอะฟลาทอกซินปี 1 ในอาหาร ขนาด 0, 50, 100, 500, 1,000 และ 2,500 ppb นำไปเลี้ยงกุ้งกูลาดำเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอะฟลาทอกซินปี 1 ขนาด 50-100 ppb ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตในกุ้งวัยรุ่น (juvenile shrimp) แต่การเจริญเติบโตจะลดลง เมื่อกุ้งได้รับอะฟลาทอกซินปี 1 ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นไปขนาด 500-2,500 ppb ค่า total haemocyte count และ phenoloxidase activity เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 ในกุ้งที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี 1 ที่มีความ

เข้มข้นสูง และจะค่อยๆลดลงในสัปดาห์ที่ 6 ถึง 8 ระดับ cholesterol และ alkaline phosphatase ในพลาสมาเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 ในกึ่งที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่มีความเข้มข้นสูงกึ่งที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ขนาด 100-2,500 ppb นาน 8 สัปดาห์ พบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาใน hepatopancreas คือพบการเกิด necrosis ของ hepatic tubular epithelial cell และ hepatopancreatic cell

ความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินในปลาตู้แอฟริกัน พบว่ามีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลงและเกิดภาวะโลหิตจาง (Gallagher and Eaton, 1995) ปลาแต่ละชนิดและแต่ละสายพันธุ์มีระดับความทนต่อสารพิษแตกต่างกัน จากการศึกษาของ Tuan และคณะ (2002) พบว่าปลานิลอายุ 1 เดือน ที่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ผสมอาหารที่ระดับ 0.25 mg/kg เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์จะมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของตับ แต่ที่ระดับ 10 mg/kg พบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของตับแต่ยังไม่ส่งผลต่ออัตราการตายของปลาโดยปลาที่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินในระดับนี้จะมีน้ำหนักลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ

Chavez-Sanchez และคณะ (1994) ได้ทำการทดลองในปลานิลโดยให้อะฟลาทอกซินบี 1 ขนาด 0, 0.94, 1.88, 0.375, 0.752, 1.5 และ 3.0 mg/kg ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงเป็นเวลา 25 วัน พบว่าอัตราการเจริญเติบโตและการกินอาหารลดลงปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินทุกขนาดพบว่าการเสื่อมและการขยายใหญ่ของเซลล์ตับมีนิวคลีโอไลต์เพิ่มจำนวนมากขึ้น, nuclear atrophy, cellular infiltration, hyperemia, cellular basophilia และเกิดเนื้อตายที่ตับ และพบเลือดคั่งในไต มีการหดตัวของ glomeruli และเกิดภาวะ melanosis ร่วมด้วย

Hussain และคณะ (1993) ศึกษาผลของอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหารต่ออัตราการเกิดโรคและการตกค้างของอะฟลาทอกซินในกล้ามเนื้อปลาวอลอาย (Walleye fish) โดยให้อาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี 1 จี 1 และ จี 2 ขนาด 0, 50 และ 100 ppb เป็นเวลา 30 วัน พบว่าตับของปลาที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี 1 มีสีจางกว่าตับของปลาในกลุ่มควบคุม มีการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาโดยพบว่าเซลล์ตับมีลักษณะ angular shaped, vacuolation, eosinophilic และเกิดภาวะ karyolysis และพบการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 จี 1 และ จี 2 ที่ความเข้มข้น 5, 15 และ 15 ppb ตามลำดับ ในกล้ามเนื้อปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินในอาหารขนาด 50 ppb และพบการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 จี 1 และ จี 2 ที่ระดับความเข้มข้น 10, 20 และ 20 ppb ตามลำดับ ในกล้ามเนื้อปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินในอาหารขนาด 100 ppb เมื่อฉีดให้อาหารที่มีอะฟลาทอกซิน 2 สัปดาห์ ตรวจไม่พบอะฟลาทอกซินในกล้ามเนื้อปลา

Bauer และคณะ (1968) ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันในปลาเรนโบว์เทราต์ อายุ 9 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 60 กรัม โดยวัดค่า median lethal doses (LD_{50}) ของ อะฟลาทอกซินบี 1 และ จี 1 ซึ่งใช้พิษที่เกิดจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* (ATCC 15517) โดยการฉีดสารพิษเข้าช่องท้องของปลาพบว่า มีค่า LD_{50} ของอะฟลาทอกซินบี 1 เท่ากับ 810 ppb และ LD_{50} ของอะฟลาทอกซินจี 1 เท่ากับ 1,900 ppb

นอกจากนี้พบว่าขนาดของอะฟลาทอกซินที่ทำให้หนูถึงตาย (lethal dose) มีค่าเท่ากับ 5-20 ppb ดังนั้น FDA (The Food and Drug Administration) จึงมีการกำหนดระดับสูงสุดของอะฟลาทอกซินที่ยอมให้มีการปนเปื้อนในข้าวโพดสำหรับสัตว์อายุน้อยเท่ากับ 20 ppb โดยข้าวโพดที่มีการปนเปื้อนสารพิษนี้ในระดับตั้งแต่ 100 ppb ขึ้นไปจะไม่สามารถทำการเคลื่อนย้ายระหว่างมลรัฐในสหรัฐอเมริกาเพื่อใช้เลี้ยงสุกรพันธุ์หรือไก่ที่โตเต็มวัย ส่วนระดับสูงสุดที่ยอมให้มีได้สำหรับเลี้ยงสุกรขุนที่มีน้ำหนักตั้งแต่ 100 ปอนด์ ขึ้นไป คือ 200 ppb (จักรกริสน์, 2540) อะฟลาทอกซินบี 1 เป็นสารที่ทำให้เกิดความเป็นพิษสูงซึ่งความเป็นพิษจะขึ้นอยู่กับขนาดและระยะเวลาที่สัตว์ได้รับ ซึ่งในสัตว์แต่ละชนิดจะมีค่า LD_{50} ของอะฟลาทอกซินบี 1 ในขนาดที่ต่างกัน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่า LD_{50} ของอะฟลาทอกซินบี 1 ในขนาดให้กินเพียงครั้งเดียวในสัตว์ชนิดต่างๆ (คณาวัฒน์, 2542; <http://www.aflatoxin.info/health.asp>, 2005)

ชนิดสัตว์	LD_{50} (mg/Kg)
กระต่าย	0.3-0.5
เป็ด	0.34-0.56
แมว	0.55
สุกร	0.62
ปลาเรนโบว์เทราต์	0.81 (intraperitoneal)
สุนัข	0.5-1.0
หนูตะเภา	1.4-2.0
แกะ	1.0-2.0
ลิง	2.2
ไก่	6.5-16.5
หนูเมาส์	9.0
หนูแฮมเตอร์	10.2
หนูแรท	5.5-17.9

ปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรถูกนำมาใช้เป็นเครื่อง ต่อรอราคาในการซื้อขายผลิตผลดังกล่าวทั้งในระดับประเทศ และระหว่างประเทศทำให้แต่ละ ประเทศกำหนดค่าการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในอาหารต่างๆ ไม่เท่ากัน การกำหนดดังกล่าว ทำให้เกิดความสับสนและการได้เปรียบเสียเปรียบทางการค้าระหว่างประเทศ ดังนั้นในปัจจุบัน องค์การระหว่างประเทศโคเด็กซ์ (Codex Alimentarius Commission) จึงกำหนดค่ามาตรฐานการ ปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในอาหารต่างๆ ขึ้นเพื่อปกป้องสุขภาพอนามัยของผู้บริโภค และให้ ความเป็นธรรมในด้านการค้าระหว่างประเทศ ปริมาณอะฟลาทอกซินที่อนุญาตให้มีการปนเปื้อน สูงสุดในอาหารของประเทศไทยคือ 20 ppb (ดวงจันทร์และวนิดา, 2545; อนงค์, 2546)

อย่างไรก็ดี แม้ว่าการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ในอาหารสัตว์อาจพบใน ปริมาณน้อย แต่ก็อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ได้ และจากที่ได้กล่าวมาแล้วในตอนต้นว่าปลานิลเป็น ปลาเศรษฐกิจที่เป็นที่นิยมบริโภคในประเทศไทยและมีความสำคัญในทางเศรษฐกิจของประเทศ เพิ่มขึ้นโดยลำดับ จากการตรวจเอกสารการศึกษาถึงความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอก ซินบี 1 ในปลานิลยังมีน้อยจึงทำให้เกิดความสนใจที่จะทำการศึกษาเพื่อให้มีข้อมูลเพื่อนำไปใช้ วางมาตรการควบคุมหรือป้องกันการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ในอาหารปลาซึ่งอาจ ส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

3.1. วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 สัตว์ทดลอง และวัสดุอุปกรณ์การเลี้ยง

3.1.1.1 ปลานิล อายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 30 g.

3.1.1.2 ตู้กระจกเลี้ยงปลาขนาด 24 นิ้ว

3.1.1.3 ป้อนลมและหัวทราย

3.1.1.4 เครื่องกรองน้ำ หน้ากากปิดจุก กระจกชนิดกบ

3.1.1.5 อาหารปลาสำเร็จรูปชนิดเม็ดของซีพี

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.2.1 Pasture pipette/ micropipette/ multichannel micropipette (GILSON®)

3.1.2.2 Centrifuge/ rotary evaporator (HETTICH ZENTRIFUGEN®)

3.1.2.3 Chemical Hood (CAPTAIR TOXICAP®)

3.1.2.4 ELISA reader/ Spectrophotometer (SUNRISE®)

3.1.2.5 Sonicator (CREST®)

3.1.2.6 Weighing machine (SARTORIUS BASIC®)

3.1.2.7 Vortex mixer/ shaker (VORTEX-2 GENIE®)

3.1.2.8 Parafilm 'M' Laboratory film (PARAFILM®)

3.1.2.9 Microscope slides/ cover slide (SAIL BRAND 31®)

3.1.2.10 Tuberculin syringe with Needle (TERUMO®)

3.1.2.11 Microcentrifuge tube size 1.5 ml./ Eppendorf tube (GENUINE AXYGEN QUALITY®)

3.1.2.12 Surgical instrument/ thermometer/ incubator/ oven

3.1.2.13 Light microscope (OLYMPUS®)

3.1.2.14 Deepfreeze -20 degree celsius (MIRAGE®)

3.1.2.15 Examination gloves (SEMPERMED®)

3.1.2.16 Watch (SEIKO®)

3.1.2.17 Rack

3.1.2.18 Erlenmeyer flask size 100 and 250 ml. / Round bottom flask/ Test tube (PYREX®)

3.1.2.19 Vial

3.1.2.20 BOD bottle

3.1.3 สารเคมี

3.1.3.1 Standard Aflatoxin B1 from *Aspergillus flavus* (Sigma, USA.)

3.1.3.2 Methanol, chloroform, acetone, n-hexane, acetonitrile AR grade (BAKER ANALYZED[®])

3.1.3.3 Nitrogen gas

3.1.3.4 Formaldehyde solution 37% (BAKER ANALYZED[®])

3.1.3.5 น้ำกลั่น

3.1.3.6 Liquid paraffin

3.1.3.7 Giemsa stain (MERCK[®])

3.1.3.8 Hematoxylin and eosin stain

3.1.3.9 Olive oil (Bertolli[®])

3.1.3.10 DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit

3.1.3.11 SGOT SGPT ALP GGT reagent test sets

3.1.3.12 pH Test Kit/ Nitrite Test Kit/ Ammonium Test Kit

3.1.3.13 สารเคมีทดสอบค่าบีโอดี

3.2. วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารเคมี

3.2.1.1 สารมาตรฐานอะฟลาทอกซินบี 1

สารมาตรฐานอะฟลาทอกซินบี 1 ขนาด 1 mg. ละลายด้วยน้ำมันมะกอก ปริมาณ 10 ml. โดยผสมให้เข้ากันด้วย sonicator เป็นเวลา 30 นาที ได้เป็นสารมาตรฐานอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 mg/ml.

3.2.1.2 สารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มัลลิน 10% (10 % buffer formalin)

เตรียมโดยนำน้ำกลั่น ปริมาณ 900 ml. ผสมกับสาร Sodium dihydrogen phosphate monohydrate (NaH_2PO_4) จำนวน 4 g. และ สาร Sodium phosphate dibasic (Na_2HPO_4) จำนวน 6.5 g. จากนั้นนำไปผสมให้เข้ากันกับฟอร์มัลลินปริมาณ 100 ml.

3.2.1.3 สารละลายสำหรับตรวจ ELISA test kit

3.2.1.3.1 washing buffer นำมาเจือจางเป็น 0.01 M PBS-T โดยเติมน้ำกลั่น 900 ml. สำหรับนำไปใช้ในการเจือจางสารสกัดตัวอย่าง และใช้ล้าง Micro ELISA plate เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 °C

3.2.1.3.2 substrate solution ผสม substrate A และ substrate B ในอัตราส่วน 1:1 โดยเตรียมในปริมาณที่ต้องการเท่านั้นและใช้ภายใน 1 hr.

3.2.1.3.3 enzyme conjugate เติม conjugate buffer 1 ml. ลงไปในหลอด เอนไซม์ คอนจูเกต 1 หลอด เขย่าเล็กน้อยให้เป็นเนื้อเดียวกัน หรือกลับหลอดขึ้นลงให้เข้ากัน

3.2.2 การเก็บตัวอย่าง

3.2.2.1 การเก็บตัวอย่างเลือดและซีรัมของปลานิลเพื่อตรวจค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาว และค่าเอนไซม์ตับ

3.2.2.1.1 ทำการเก็บเลือดด้วยวิธีปลอดเชื้อที่บริเวณ caudal vessel โดยกำหนดตำแหน่งจากเส้นข้างลำตัว (lateral line) เหนือโคนหาง 1 cm. ใช้ tuberculin syringe และเข็มเบอร์ 26 ดูดเก็บเลือดปลาตัวละ 0.5-1 ml.

3.2.2.1.2 นำเลือดที่ได้หยดลงบนแผ่นกระจกสไลด์เพื่อทำ thin blood smear ย้อมด้วยสี Modified Wright's Giemsa

3.2.2.1.3 นำเลือดที่เหลือใส่ลงในหลอด eppendorf tube แล้วนำไปแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C จากนั้นจึงนำมาทำการปั่นแยกซีรัม

3.2.2.1.4 ปั่นแยกซีรัมจากตัวอย่างเลือดปลาที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

3.2.2.1.5 ใช้ปิเปตดูดซีรัมที่มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลืองใสด้านบน ใส่ลงในหลอด eppendorf tube ไม่ควรมีการปนเปื้อนจากเม็ดเลือด เก็บซีรัมไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 °C

3.2.2.2 การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่ออวัยวะของปลานิลเพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

3.2.2.2.1 ปลาที่ทำการเก็บเลือดแล้วจะนำมาแยกเก็บเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ ได้แก่ ตับ ม้าม ลำไส้ เหงือก และคงสภาพในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน 10% โดยใช้กรรไกรตัดส่วนซีเหงือกและผ่าตัดเปิดช่องท้องตัดส่วนของทางเดินอาหาร ตับ ม้าม และไต ใส่ลงในขวดสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน 10% ที่เตรียมไว้โดยให้น้ำยามีปริมาตร 10-20 เท่าของปริมาณเนื้อเยื่อ เพื่อรักษาสภาพของตัวอย่างและนำไปผ่านกรรมวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อต่อไป

3.2.2.2.2 นำตัวอย่างตับ ตับ ม้าม ลำไส้ และเหงือกของปลานิลมาตรวจวิเคราะห์ทางจุลพยาธิวิทยาเพื่อคุณภาพคดี

3.2.2.3 การเก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อของปลานิลและอุจจาระเพื่อตรวจหาอะฟลาทอกซิน บี 1 ตกค้าง

3.2.2.3.1 เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อปลาทั้งตัวและอวัยวะที่จับออกใน 1 วัน ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20°C

3.2.2.3.2 ซั่งตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วปริมาณ 20 g. ใส่ใน flask

3.2.2.3.3 เติม 100 ml ของ 70% เมทานอล ลงใน flask (อัตราส่วนของตัวอย่างต่อ 70% เมทานอล เท่ากับ 1:5)

3.2.2.3.4 ปิดปาก flask ด้วยจุกยางหรือแผ่นพาราฟิล์มแล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

3.2.2.3.5 ตัวอย่างที่ได้จากการเขย่าตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที แล้วจึงนำส่วนใสมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 เก็บส่วนที่กรองได้ไว้ในหลอดแก้วที่สะอาดปิดสนิท สารสกัดที่กรองได้นี้จะมีความเข้มข้นเป็น 1:5 ทำให้ทำการเจือจางสารสกัดเป็น 1:20 เท่า โดยใช้สารละลาย washing buffer (0.01 M PBS-T) และนำไปตรวจหาอะฟลาทอกซินบี 1 ตกค้างด้วยวิธี Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) โดยใช้ DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit

3.2.2.4 การเก็บตัวอย่างน้ำที่ใช้เลี้ยงปลานิลเพื่อวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

เก็บน้ำจากตู้ปลาทดลองใส่ในขวดสะอาดปิดฝาให้สนิทนำตัวอย่างน้ำที่ได้มาทำการตรวจวิเคราะห์ทันที

3.2.3 การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.2.3.1 การตรวจวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา

นำสไลด์เม็ดเลือดที่ข้อมด้วยสี Modified Wright's Giemsa แล้วมาต้องตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่างที่กำลังขยาย 100 เท่า นับแยกชนิดจำนวนเม็ดเลือดขาว 3 ชนิด ได้แก่ โมโนไซต์ นิวโทรฟิล และลิมโฟไซต์

3.2.3.2 การตรวจวิเคราะห์ค่าเอนไซม์ตับ

นำซีรัมที่เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20°C มาตรวจวัดระดับเอนไซม์ GOT, GPT โดยใช้วิธี Sigma-Frankel Test Set No. 10901 และ 11001 ตามลำดับ และตรวจวัดระดับเอนไซม์ ALP, GGT โดยใช้วิธี IFCC method, Biosystems S.A.COD 11564 และ COD 11520 ตามลำดับ

3.2.3.3 การตรวจวิเคราะห์เนื้อเยื่อทางจุลพยาธิวิทยา

3.2.3.3.1 เก็บตัวอย่างตับ ไต ม้าม ลำไส้ และเหงือกของปลานิล แช่ใน 10% buffer formalin เพื่อรักษาสภาพของเนื้อเยื่อ

3.2.3.3.2 แช่เนื้อเยื่อในสารละลายแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 50 % และค่อยๆ ปรับเพิ่มความเข้มข้นจนถึง 100 % (absolute alcohol) เพื่อดึงน้ำออกจากเซลล์

3.2.3.3.3 แช่เนื้อเยื่อในสารละลาย xylene เพื่อดึงแอลกอฮอล์ออกจากเนื้อเยื่อ

วางชิ้นเนื้อเยื่อลงในเบ้า (embedding mould) แล้วเติม paraplast เหลวลงไปจนเต็มเบ้าวางบนถาดเครื่องให้ความร้อนทิ้งไว้จน paraplast แข็ง ถอดเบ้าออกตบแต่ง tissue block ให้มีขนาดพอดีกับสไลด์ที่จะใช้วางแผ่นเนื้อเยื่อแล้วนำไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ (microtome) ให้มีความหนาประมาณ 5-7 ไมครอน นำไปลอยในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 45-50 °C ใช้แผ่นสไลด์อุ่นแผ่นเนื้อเยื่อที่ลอยอยู่ในน้ำขึ้นมา นำสไลด์ไปอบที่อุณหภูมิ 45 °C เพื่อให้แผ่นเนื้อเยื่อเกาะติดกับแผ่นสไลด์ได้ดียิ่งขึ้น

3.2.3.3.4 นำแผ่นสไลด์ที่ได้ไปย้อมสี Haematoxylin และ Eosin (H&E)

3.2.3.4 การตรวจวิเคราะห์สารอะฟลาทอกซินตกค้าง

3.2.3.4.1 นำ ELISA plate มาเตรียมไว้ที่อุณหภูมิห้อง

3.2.3.4.2 หยดสารพินมาตรฐานอะฟลาทอกซินระดับความเข้มข้นต่างๆ ลงใน plate ที่หุ้มสารพินมาตรฐาน และหยดสารสกัดตัวอย่างปริมาณ 50 µl. ลงในหลุมตัวอย่าง

3.2.3.4.3 หยดเอนไซม์คอนจูเกต ปริมาณ 50 µl. ลงในหลุมทดสอบทุกหลุม บ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

3.2.3.4.4 เทสารในหลุมทดสอบทิ้งโดยการคว่ำ plate ล้างด้วย washing buffer ทุกหลุม 3 ครั้ง คว่ำ plate ลงบนกระดาษซับกระดาษให้แห้ง

3.2.3.4.5 หยด substrate solution ปริมาณ 100 µl. ลงในหลุมทดสอบทุกหลุม บ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

3.2.3.4.6 หยด stop solution ปริมาณ 100 µl. ลงในหลุมทดสอบทุกหลุมและนำไปอ่านค่าความเข้มของสีด้วย ELISA Reader ที่ช่วงความยาวคลื่น 450 nm

3.2.3.5 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ใช้ชุดทดสอบ pH ตรวจสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ ชุดทดสอบไนไตรต์ และชุดทดสอบแอมโมเนียม ในการตรวจหาค่าไนไตรต์และค่าแอมโมเนียม และตรวจหาค่าบีโอดี

3.3 ขั้นตอนการทดลอง

3.3.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาค่าปกติของปลาชนิดที่ไม่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 และศึกษาสถานะแวดล้อมในการเลี้ยงปลาชนิด

ปลานิลอายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 30 g จำนวน 10 ตัวนำมาเลี้ยงในตู้เลี้ยงปลาทดลองเป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้ปลาปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม ให้กินอาหารปลาสำเร็จรูปชนิดเม็ดวันละ 2 ครั้ง เมื่อครบ 7 วันทำการเก็บตัวอย่างปลานิลทั้ง 10 ตัว โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดและซีรัม เพื่อตรวจค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเอนไซม์ตับ

เก็บตัวอย่างน้ำจากตู้ปลาทดลองนำไปตรวจคุณภาพของน้ำ โดยวัดค่า Biochemical Oxygen Demand (B.O.D.) ค่าแอมโมเนีย ค่าไนไตรต์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และทำการจดบันทึกอุณหภูมิของน้ำในตู้เลี้ยงปลานิลก่อนและหลังการทดลอง

3.3.2 การทดลองที่ 2 การหาค่า Median lethal doses (LD₅₀) ของปลาชนิดที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1

ปลานิลอายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 30 g จำนวน 70 ตัว แบ่งเป็น 7 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว นำมาเลี้ยงในตู้ปลาทดลองเป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้ปลาปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม ศึกษาหาค่า Median Lethal Doses (LD₅₀) ในเวลา 24, 48, 72, และ 96 hr. โดยปลานิลได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุมได้รับน้ำมันมะกอก), 250, 500, 1,000, 1,500, 2,500 และ 5,000 ppb

สังเกตและบันทึกอาการของปลานิลในกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ความเข้มข้นต่างๆ กันและกลุ่มควบคุมที่ 24, 48, 72 และ 96 hr. บันทึกจำนวนปลาที่ตายในแต่ละกลุ่มเพื่อนำมาคำนวณหาค่า LD₅₀ ที่ชั่วโมงต่างๆ ด้วยโปรแกรมหลักการวิเคราะห์โพรบิต (probit analysis) และตรวจคุณภาพน้ำก่อนและหลังการทดลอง

3.3.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว

ปลานิลอายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 30 g จำนวน 84 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 21 ตัว ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (Negative control) ให้น้ำมันมะกอกโดยการป้อนให้ปลาทุกตัวที่ระดับความเข้มข้น 1 µl/g (BW) ครั้งเดียว

กลุ่มที่ 2 กลุ่มทดลองให้อะฟลาทอกซินบี 1 โดยการป้อนให้ปลาทุกตัวที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb ครั้งเดียว

กลุ่มที่ 3 กลุ่มทดลองให้อะฟลาทอกซินบี 1 โดยการป้อนให้ปลาทุกตัวที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb ครั้งเดียว

กลุ่มที่ 4 กลุ่มทดลองให้อะฟลาทอกซินบี 1 โดยการป้อนให้ปลาทุกตัวที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb ครั้งเดียว

ทำการเก็บตัวอย่างปลานิล กลุ่มละ 3 ตัว หลังจากได้รับสารพิษที่เวลา 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr. (7 ครั้ง) โดยทำการเก็บเลือดและซีรัมเพื่อตรวจค่าทางโลหิตวิทยา ค่าเอนไซม์ตับ เก็บเนื้อเยื่อเหงือก ตับ ม้าม ลำไส้ และไต เพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยา เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อเพื่อตรวจวัดปริมาณสารพิษตกค้างในกล้ามเนื้อ และทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระหลังจากป้อนสารพิษแล้ว 24 hr. โดยทำการเก็บอุจจาระทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน เพื่อตรวจหาอะฟลาทอกซินบี 1 ตกค้างในอุจจาระ

3.3.4 การทดลองที่ 4 การศึกษาความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน

ปลานิลอายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 30 g จำนวน 120 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆละ 30 ตัว ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (Negative control) ให้น้ำมันมะกอกโดยการป้อนให้ปลาทุกตัวทุกวัน ติดต่อกัน 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 1 $\mu\text{l/g}$ (BW)

กลุ่มที่ 2 กลุ่มทดลองให้อะฟลาทอกซินบี 1 โดยการป้อนให้ปลาทุกตัวทุกวันติดต่อกัน 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb

กลุ่มที่ 3 กลุ่มทดลองให้อะฟลาทอกซินบี 1 โดยการป้อนให้ปลาทุกตัวทุกวันติดต่อกัน 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb

กลุ่มที่ 4 กลุ่มทดลองให้อะฟลาทอกซินบี 1 โดยการป้อนให้ปลาทุกตัวทุกวันติดต่อกัน 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb

ทำการเก็บตัวอย่างปลานิลกลุ่มละ 3 ตัว หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้ายเป็นเวลา 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. (10 ครั้ง) โดยทำการเก็บเลือดและซีรัมเพื่อตรวจค่าทางโลหิตวิทยา ค่าเอนไซม์ตับ เก็บเนื้อเยื่อเหงือก ตับ ม้าม ลำไส้และไต เพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยา เก็บตัวอย่างกล้ามเนื้อเพื่อตรวจวัดปริมาณสารพิษตกค้างในกล้ามเนื้อและทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระหลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย โดยทำการเก็บอุจจาระทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 10 วัน เพื่อตรวจหาสารอะฟลาทอกซินบี 1 ตกค้างในอุจจาระ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

- 3.4.1 การวิเคราะห์ผลทางโลหิตวิทยา หาค่าเฉลี่ยของจำนวนเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดในปลาแต่ละกลุ่ม เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองโดยใช้ one way analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
- 3.4.2 การวิเคราะห์ผลเอนไซม์ตับ หาค่าเฉลี่ยของเอนไซม์ตับแต่ละชนิดในปลาแต่ละกลุ่ม เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองโดยใช้ one way - ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
- 3.4.3 การวิเคราะห์ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา เปรียบเทียบระดับความรุนแรงของรอยโรคที่ตรวจพบที่เนื้อเยื่อต่างๆ และร้อยละของความรุนแรงที่พบ
- 3.4.3.1 ระดับความรุนแรงของรอยโรคที่ตับ แบ่งเป็น 4 ระดับ ดังนี้
- ไม่พบรอยโรค
 - + พบการลดลงของการสร้าง vacuole ในเซลล์ตับ (Decreasing vacuolization of hepatocyte)
 - ++ พบลักษณะของนิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างต่างกัน (Pleomorphic nucleus)
 - +++ พบลักษณะการตายของนิวเคลียส (Pyknotic nucleus)
- 3.4.3.2 ระดับความรุนแรงของรอยโรคที่ไต แบ่งเป็น 4 ระดับ ดังนี้
- ไม่พบรอยโรค
 - + พบลักษณะเซลล์ของท่อไตบวมและไซโตพลาสซึมติดสีขุ่น (Cloudy swelling)
 - ++ พบการเพิ่มขึ้นของ hyaline droplets
 - +++ พบการเพิ่มของเซลล์ท่อไตเสื่อมสภาพ (renal hemopoietic necrosis) และนิวเคลียสของเซลล์เสื่อมสภาพ (karyopyknosis) ของ hemopoietic cell ระหว่าง renal tubule
- 3.4.3.3 ระดับความรุนแรงของรอยโรคที่ม้าม แบ่งเป็น 4 ระดับ ดังนี้
- ไม่พบรอยโรค
 - + พบการเพิ่มขึ้นของ melanomacrophage
 - ++ พบ melanomacrophage มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น
 - +++ พบจุดเนื้อตาย (necrotic foci) แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อม้าม

3.4.3.4 ระดับความรุนแรงของรอยโรคที่ลำไส้ แบ่งเป็น 4 ระดับ ดังนี้

- ไม่พบรอยโรค
- + พบการอักเสบของเยื่อเมือก พบ Eosinophilic granulocyte และ mononuclear cell
- ++ พบ Eosinophilic granulocyte, mononuclear cell และการลอกหลุดของเยื่อผนังลำไส้
- +++ พบ Eosinophilic granulocyte, mononuclear cell และการลอกหลุดของเยื่อผนังลำไส้จนถึงชั้น lamina propria

3.4.3.5 ระดับความรุนแรงของรอยโรคที่เหงือก แบ่งเป็น 4 ระดับ ดังนี้

- ไม่พบรอยโรค
- + พบการอักเสบของ secondary lamella มีการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดขาว
- ++ พบลักษณะของ secondary lamella บิดเบี้ยวผิดปกติ (distortion)
- +++ พบการเกิด secondary lamella necrosis

3.4.4 การวิเคราะห์ผลของอะฟลาทอกซินตกค้าง โดยการอ่านความเข้มของสีของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance Value) ด้วยเครื่องอ่าน ELISA Reader ที่ช่วงคลื่น 450 nm เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน

3.4.5 การวิเคราะห์ผล LD_{50} ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ในการวิเคราะห์ Probit test ซึ่งจะรายงานค่า LD_{50} ในช่วงต่างๆ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.4.6 การวิเคราะห์ผลการตรวจคุณภาพน้ำ ใช้ชุดทดสอบ pH ตรวจค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ ชุดทดสอบไนไตรต์ และชุดทดสอบแอมโมเนียม ในการตรวจหาค่าไนไตรต์และค่าแอมโมเนียม ตรวจหาค่าบีโอดี และอุณหภูมิของน้ำ

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาค่าปกติของปลานิลที่ไม่ได้รับสารอะฟลาทอกซินบี 1 และศึกษา สภาวะแวดล้อมในการเลี้ยงปลานิล

ผลการศึกษาค่าปกติของปลานิลซึ่งทำการตรวจวัดค่าเม็ดเลือดขาวของปลานิลจำนวน 10 ตัว มีค่าดังนี้ ค่าร้อยละของเม็ดเลือดขาวชนิด โมโนไซต์, ลิมโฟไซต์ และนิวโทรฟิล มีค่าดังแสดงในตารางที่ 2 และค่าเอนไซม์ glutamic pyruvic transaminase (GPT), glutamic oxaloacetic-transaminase (GOT), alkaline phosphatase (ALP) และ gamma glutamyl transferase (GGT) ในเลือดปลานิล มีค่าดังแสดงในตารางที่ 3 คุณภาพน้ำก่อนและหลังการทดลองซึ่งทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), ค่าแอมโมเนียม (NH_4^+), ค่าไนไตรต์ (NO_2^-), ค่าบีโอดี (BOD) และอุณหภูมิ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยของเม็ดเลือดขาวในปลานิลปกติ

ชนิดเม็ดเลือดขาว	ค่า Mean \pm SD (%)
Monocytes	8.7 \pm 3.86
Lymphocytes	29.2 \pm 2.52
Neutrophils	62.1 \pm 3.81

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของเอนไซม์ตับในปลานิลปกติ

ชนิดเอนไซม์	ค่า Mean \pm SD (U/L)
GPT	22.7 \pm 8.45
GOT	62.2 \pm 38.34
ALP	31.7 \pm 13.78
GGT	4.8 \pm 4.01

ตารางที่ 4 แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลอง

พารามิเตอร์	ค่าก่อนการทดลอง	ค่าหลังการทดลอง
อุณหภูมิ (°C)	26-27	26-27
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7	7.6
ค่าแอมโมเนียม (NH ₄ ⁺) (ppm)*	0.0	2
ค่าไนไตรต์ (NO ₂ ⁻) (ppm)	0.0	3
ค่าบีโอดี (BOD) (mg/l)	7	19

* ความเข้มข้นของแอมโมเนียมแปรผลเป็นความเข้มข้นของแอมโมเนียดังตารางที่ 1 ภาคผนวก ก หน้า 101

4.2 การทดลองที่ 2 การหาค่า Median Lethal Doses (LD₅₀) ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี 1

4.2.1 การศึกษาค่า Median Lethal Doses (LD₅₀) ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี 1

ปลานิลอายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 30 g จำนวน 70 ตัว แบ่งเป็น 7 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว ได้รับอะฟลาทอกซิน บี 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน บันทึกผลการทดลองเป็นเวลา 96 hr. พบว่าพิษของอะฟลาทอกซิน บี 1 มีความรุนแรงเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของอะฟลาทอกซิน บี 1 ที่ได้รับ โดยสรุปอาการแยกเป็นกลุ่มดังนี้

กลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ไม่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี 1)

อาการภายนอกปกติ ว่ายน้ำไปมาปกติ กินอาหารได้

กลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppb

อาการภายนอกไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ว่ายน้ำไปมาปกติ กินอาหารได้ เริ่มมีปลาตาย ชั่วโมงที่ 72

กลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppb

ปลายังคงว่ายน้ำไปมา ไม่ค่อยกินอาหาร ปลาบางตัวลอยนิ่งอยู่กับที่ เริ่มมีปลาตาย ชั่วโมงที่ 48

กลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppb

ไม่ค่อยกินอาหาร ปลาบางตัวลอยนิ่งอยู่กับที่ เริ่มมีปลาตาย ชั่วโมงที่ 48

กลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppb

ไม่ค่อยกินอาหาร ปลาบางตัวแสดงอาการลำตัวเอียงขณะว่ายน้ำ บางตัวลอยนิ่งอยู่กับที่ บางตัวว่ายน้ำมาที่ผิวน้ำ เริ่มมีปลาตาย ชั่วโมงที่ 24 น้ำในตู้เลี้ยงเริ่มขุ่น (รูปที่ 1)

กลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 2500 ppb

ปลาบางตัวแสดงอาการลำตัวเอียงขณะว่ายน้ำ บางตัวลอยตัวนิ่งๆ บางตัวว่ายน้ำขึ้นมาที่ผิวน้ำ ไม่ค่อยกินอาหาร บริเวณเหงือกมีจุดเลือดออก พบการเปื่อยที่ผิวหนังและครีบ เริ่มมีปลาตาย ชั่วโมงที่ 24 ปลาที่ตายมีเมือกมาก น้ำในตู้เลี้ยงมีลักษณะขุ่น (รูปที่ 2)

กลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 5000 ppb

ปลาไม่ค่อยกินอาหาร ปลาบางตัวลอยตัวนิ่งๆ ปลาบางตัวแสดงอาการลำตัวเอียงขณะว่ายน้ำ เหงือกมีจุดเลือดออก ผิวน้ำและครีบเปื่อย บางตัวว่ายน้ำขึ้นมาที่ผิวน้ำ เริ่มมีปลาตาย ชั่วโมงที่ 24 น้ำในตู้เลี้ยงขุ่น (รูปที่ 3)

ผลการศึกษาค่า Median Lethal Doses (LD_{50}) ของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อปลานิลในเวลา 96 hr. มีค่าเท่ากับ 2,120.08 ppb และการวิเคราะห์ผลจาก probit analysis ปรากฏว่าได้ค่า LD_{50} ที่ 24, 48, 72 และ 96 hr. (ตารางที่ 6) และอัตราการตายสะสมเป็นเวลา 96 hr. (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 แสดงอัตราการตายสะสมของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นเวลา 96 hr.

ความเข้มข้น (ppb)	จำนวนปลา (ตัว)	จำนวนปลาตายสะสมในระยะเวลาได้รับสาร (ตัว)			
		24 hr.	48 hr.	72 hr.	96 hr.
0 (ควบคุม)	10	0	0	0	0
250	10	0	0	1	2
500	10	0	1	2	4
1000	10	0	1	2	4
1500	10	1	2	3	5
2500	10	1	2	4	6
5000	10	2	3	5	8

ตารางที่ 6 แสดงค่า Median Lethal Doses (LD_{50}) ของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อปลานิล ภายในเวลา 96 hr.

ระยะเวลา (hr.)	LD_{50} (ppb)	95% confidence limits (ppb)
24	7241.52	4792.38-44711.31
48	6471.74	4108.08-39205.78
72	4277.63	2864.16-10721.30
96	2120.08	1283.14-3523.24



รูปที่ 1 ปลานิลได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 1,500 ppb แสดงอาการลำตัวเอียงขณะว่ายน้ำ บางตัวลอยนิ่งอยู่กับที่



รูปที่ 2 ปลานิลได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 2,500 ppb แสดงอาการ
ว่ายน้ำมาที่ผิวน้ำ ผิวหนังและครีบเปื่อย เมื่อตรวจดูที่เหงือกพบจุดเลือดออกทั่วไป



รูปที่ 3 ปลานิลได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 5,000 ppb พบว่าปลากิน
อาหารลดลง ผอม ผิวหนังและครีบเปื่อย เมื่อตรวจดูที่เหงือกพบจุดเลือดออกทั่วไป

4.2.2 คุณภาพน้ำระหว่างทำการทดลอง

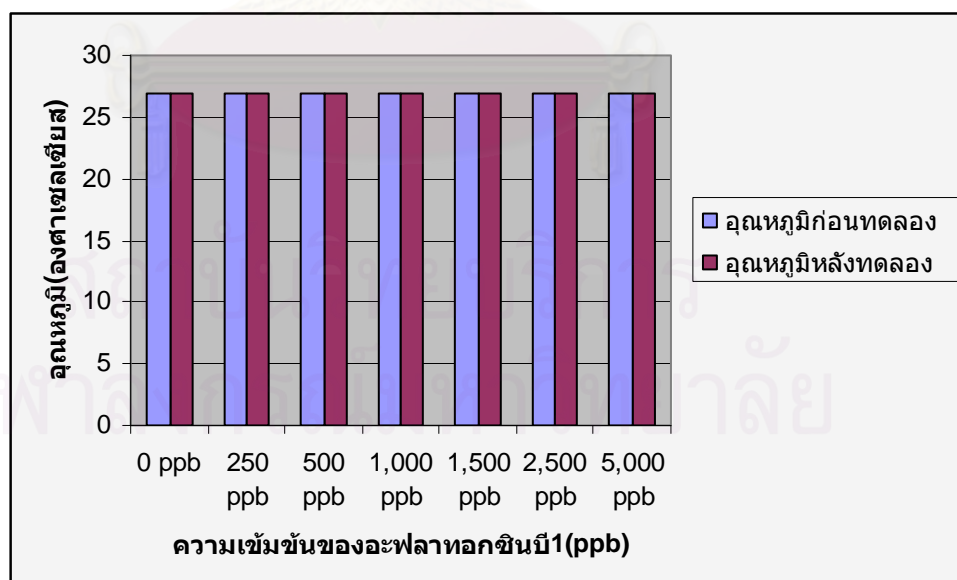
ผลการตรวจคุณภาพน้ำหลังการทดลองของกลุ่มปลาชนิดที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 0 (กลุ่มควบคุม), 250 , 500, 1,000, 1,500, 2,500 และ 5,000 ppb พบว่าอุณหภูมิในระหว่างทำการทดลองของทุกกลุ่มความเข้มข้นคงที่อยู่ที่ 27 ° C (รูปที่ 4)

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนการทดลองมีค่าเท่ากับ 7 และค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำเลี้ยงปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีค่าต่ำสุด-สูงสุด 7.6-8 (รูปที่ 5)

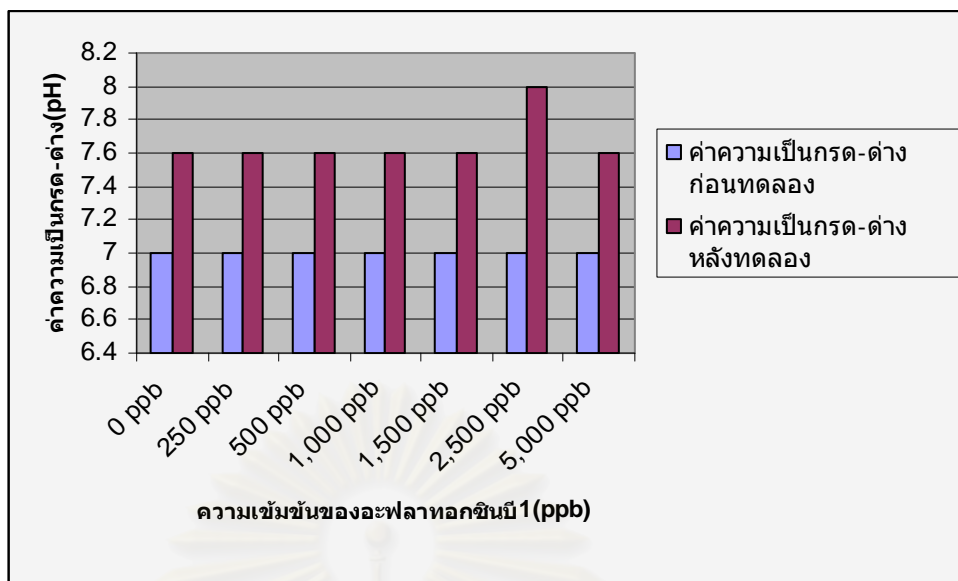
ค่าแอมโมเนียในน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนการทดลองมีค่าเท่ากับ 0 ppm และค่าแอมโมเนียในน้ำเลี้ยงปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีค่าต่ำสุด-สูงสุด 1-3 ppm (รูปที่ 6)

ค่าไนไตรต์ในน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนการทดลองมีค่าเท่ากับ 0 ppm และค่าไนไตรต์ในน้ำเลี้ยงปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีค่าต่ำสุด-สูงสุด 0.5-3 ppm (รูปที่ 7)

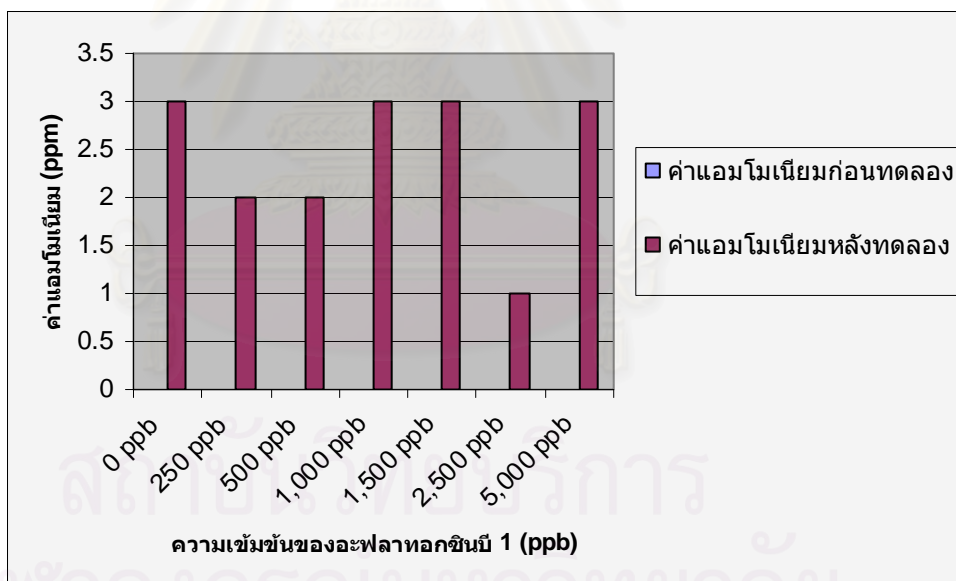
ค่าบีโอดีในน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนการทดลองมีค่าเท่ากับ 7 mg/l และค่าบีโอดีในน้ำเลี้ยงปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีค่าต่ำสุด-สูงสุด 17-37 mg/l (รูปที่ 8)



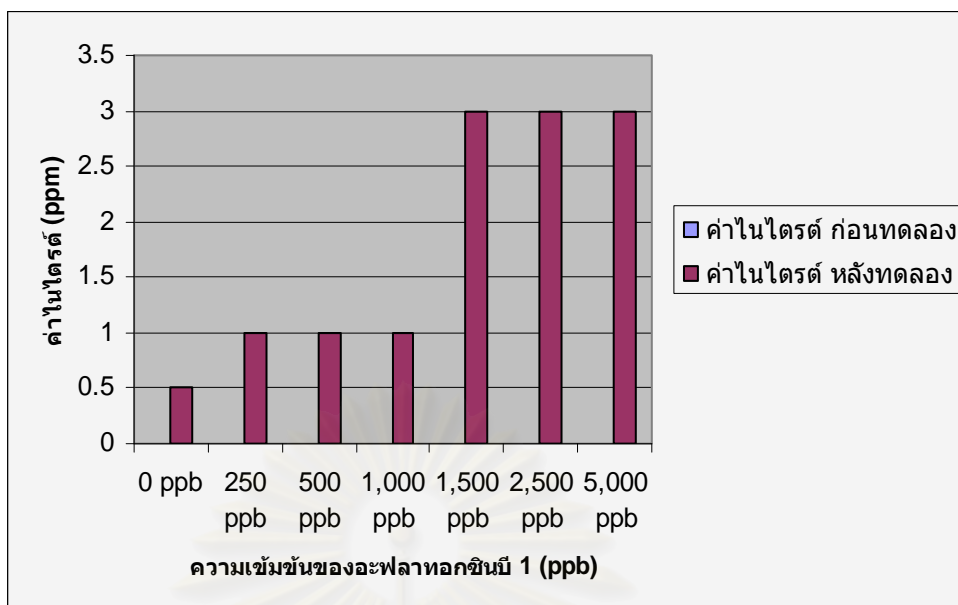
รูปที่ 4 แสดงอุณหภูมิของน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนและหลังการทดลอง



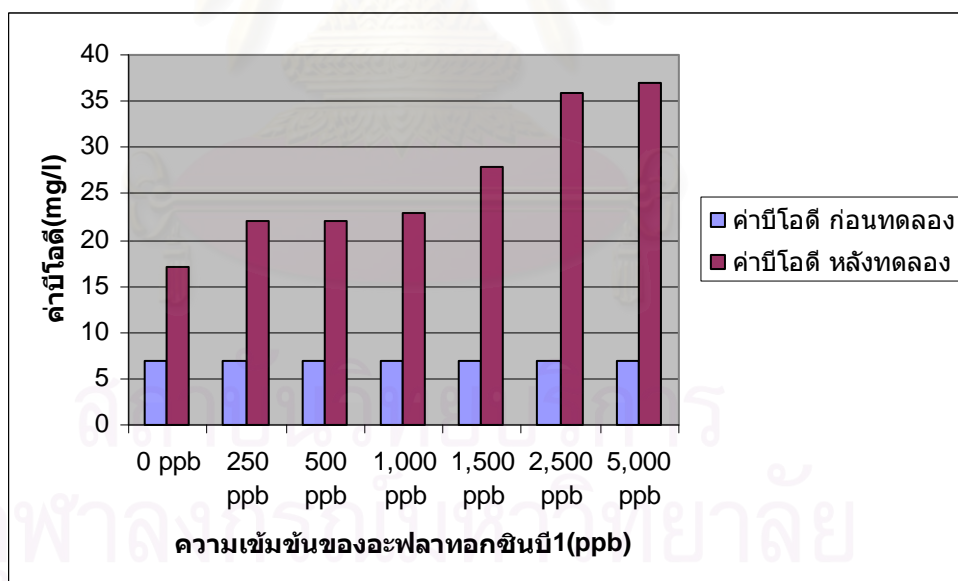
รูปที่ 5 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนและหลังการทดลอง



รูปที่ 6 แสดงค่าแอมโมเนียมในน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนและหลังการทดลอง



รูปที่ 7 แสดงค่าไนเตรตในน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนและหลังการทดลอง



รูปที่ 8 แสดงค่าบีโอดีของน้ำเลี้ยงปลานิลก่อนและหลังการทดลอง

4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิลที่ ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว

4.3.1 ผลการทดลองค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาว

โมโนไซต์ (รูปที่ 9, ตารางที่ 7)

ในชั่วโมงที่ 72 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 96 และ 144 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 168 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

นิวโทรฟิล (รูปที่ 10, ตารางที่ 8)

ในชั่วโมงที่ 24 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 48-168 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ลิมโฟไซต์ (รูปที่ 11, ตารางที่ 9)

ในชั่วโมงที่ 24 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 48-168 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

4.3.2 ผลการทดลองค่าเอนไซม์ตับ

เอนไซม์ ALP พบว่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรกหลังได้รับสารพิษในทุก ระดับความเข้มข้น และเริ่มลดลงในชั่วโมงที่ 96 ส่วนเอนไซม์ GOT และ GPT พบสูงขึ้นกว่ากลุ่ม ควบคุมในชั่วโมงที่ 48 และลดลงสู่ระดับปกติในชั่วโมงที่ 72 แต่เอนไซม์ GGT นั้นไม่พบการ เปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดเจน

GPT (รูปที่ 12, ตารางที่ 10)

ในชั่วโมงที่ 48 และ 72 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 40 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

GOT (รูปที่ 13, ตารางที่ 11)

ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 และ 40, 80 และ 160 ppb ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 96 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 144 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 168 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ALP (รูปที่ 14, ตารางที่ 12)

ในชั่วโมงที่ 24-72 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 96 และ 120 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 40 ppb ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

GGT (รูปที่ 15, ตารางที่ 13)

ในชั่วโมงที่ 72 และ 120 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160, 80 และ 80 ppb ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 24 และ 96 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb และ 40, 160 ppb ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบจำนวนโมนิไซต์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี1 ครั้งเดียวที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	จำนวนโมนิไซต์ (%) (mean \pm SD.)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	3.0 \pm 2.17 ^a	3.5 \pm 1.33 ^a	3.0 \pm 2.12 ^a	2.5 \pm 1.23 ^a
48	2.3 \pm 1.58 ^a	2.44 \pm 1.81 ^a	2.6 \pm 1.65 ^a	2.3 \pm 1.32 ^a
72	2.3 \pm 1.73 ^a	3.1 \pm 1.76 ^a	4.0 \pm 1.65 ^{ab}	4.3 \pm 1.65 ^{ac}
96	2.7 \pm 1.48 ^a	2.7 \pm 1.20 ^a	4.3 \pm 2.17 ^{ab}	2.4 \pm 1.23 ^a
120	2.8 \pm 2.26 ^a	3.7 \pm 1.85 ^a	3.4 \pm 1.50 ^a	3.1 \pm 1.61 ^a
144	2.8 \pm 1.69 ^a	3.7 \pm 2.04 ^a	4.2 \pm 1.98 ^{ab}	3.5 \pm 2.24 ^a
168	1.6 \pm 1.00 ^a	3.4 \pm 1.50 ^{ab}	3.6 \pm 2.17 ^{ac}	3.4 \pm 2.12 ^{ad}

^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบจำนวนนิวโทรฟิลของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียวที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	จำนวนนิวโทรฟิล (%) (mean \pm SD.)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	55.6 \pm 4.94 ^a	54.4 \pm 3.39 ^a	69.3 \pm 2.34 ^{ab}	60.6 \pm 3.31 ^{ac}
48	56.2 \pm 4.14 ^a	68.1 \pm 2.89 ^{ab}	69.3 \pm 4.50 ^{ac}	71.0 \pm 2.78 ^{ad}
72	57.1 \pm 3.95 ^a	71.4 \pm 2.50 ^{ab}	76.6 \pm 3.00 ^{ac}	75.7 \pm 3.70 ^{ad}
96	54.6 \pm 4.84 ^a	74.2 \pm 4.29 ^{ab}	79.3 \pm 4.79 ^{ac}	80.5 \pm 2.55 ^{ad}
120	56.3 \pm 3.46 ^a	76.8 \pm 3.01 ^{ab}	78.6 \pm 4.69 ^{ac}	83.0 \pm 3.31 ^{ad}
144	57.6 \pm 2.69 ^a	80.1 \pm 5.08 ^{ab}	82.7 \pm 5.14 ^{ac}	80.8 \pm 3.17 ^{ad}
168	57.4 \pm 4.24 ^a	78.3 \pm 4.60 ^{ab}	80.4 \pm 4.15 ^{ac}	82.8 \pm 4.45 ^{ad}

^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

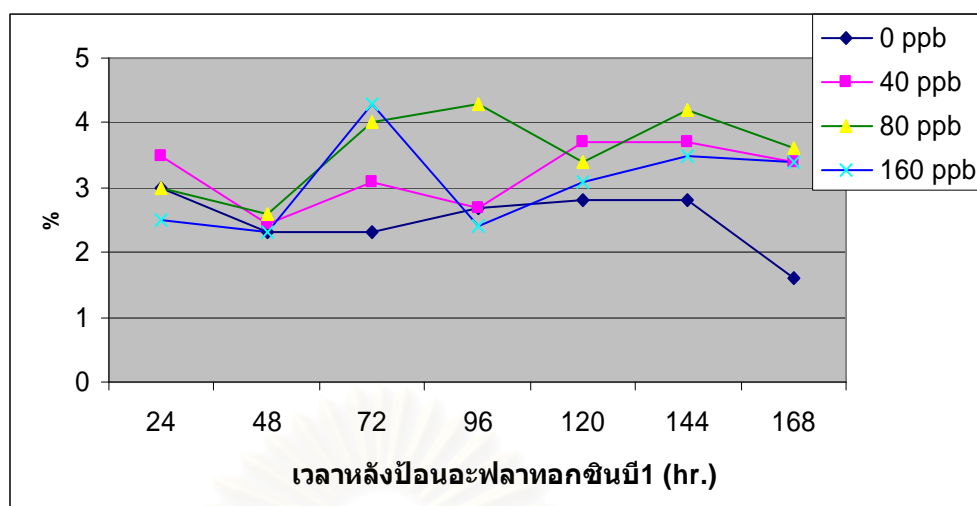
ตารางที่ 9 เปรียบเทียบจำนวนลิฟไฟซ์ของปลาชนิดที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี 1 ครั้งเดียวที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	จำนวนลิฟไฟซ์ (%) (mean \pm SD.)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	40.2 \pm 2.10 ^a	42.0 \pm 2.91 ^a	27.6 \pm 2.12 ^{ab}	36.7 \pm 3.73 ^{ac}
48	41.4 \pm 3.08 ^a	28.6 \pm 2.87 ^{ab}	28.0 \pm 4.92 ^{ac}	26.6 \pm 2.44 ^{ad}
72	40.5 \pm 3.00 ^a	25.4 \pm 2.40 ^{ab}	19.3 \pm 2.17 ^{ac}	19.8 \pm 3.65 ^{ad}
96	42.5 \pm 3.84 ^a	23.1 \pm 4.04 ^{ab}	15.4 \pm 3.64 ^{ac}	17.0 \pm 1.93 ^{ad}
120	40.7 \pm 3.56 ^a	19.2 \pm 2.10 ^{ab}	17.8 \pm 3.37 ^{ac}	13.8 \pm 3.91 ^{ad}
144	39.4 \pm 2.18 ^a	14.5 \pm 3.35 ^{ab}	13.0 \pm 4.21 ^{ac}	15.5 \pm 3.28 ^{ad}
168	40.8 \pm 3.82 ^a	18.2 \pm 3.30 ^{ab}	15.8 \pm 3.01 ^{ac}	13.6 \pm 2.64 ^{ad}

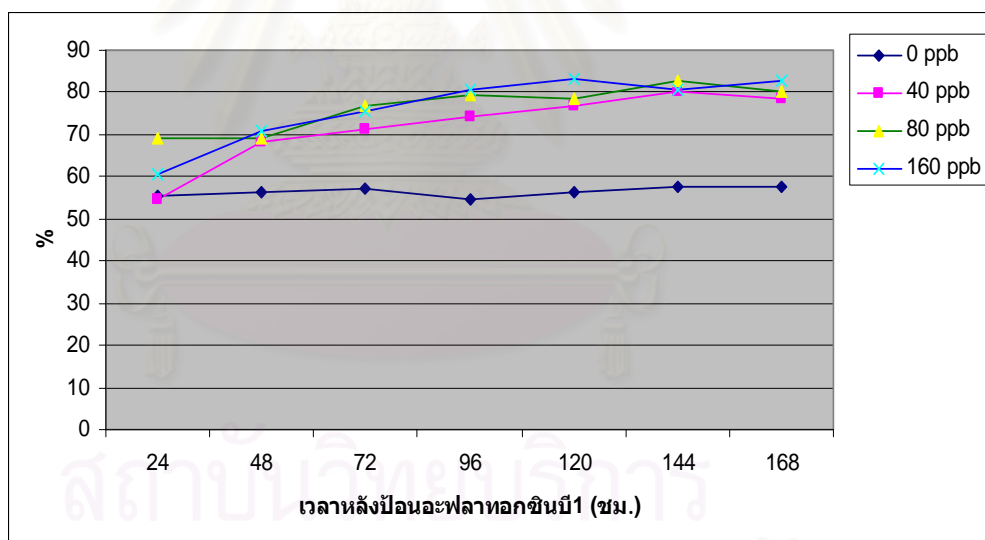
^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

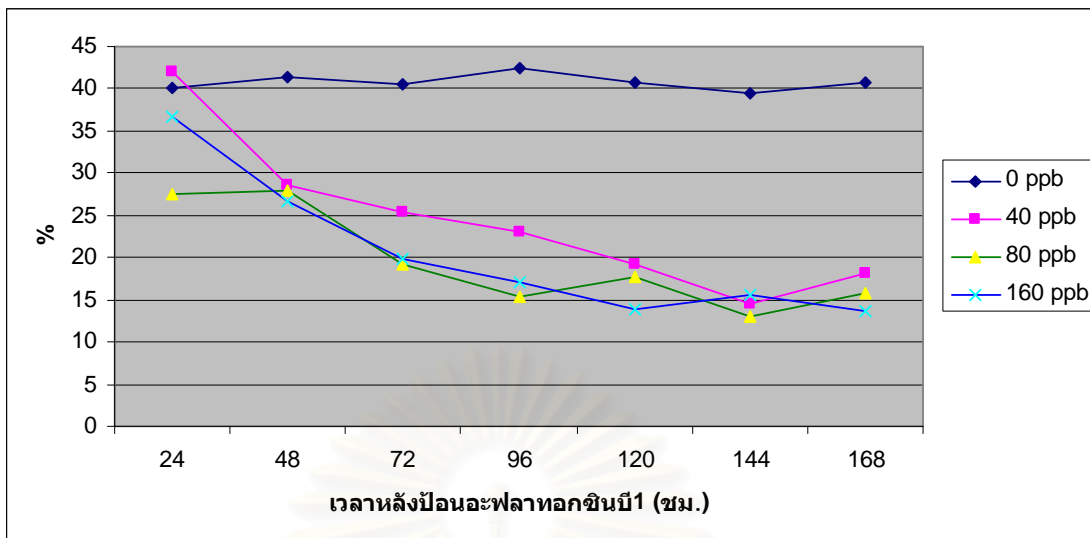
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 9 เปรียบเทียบจำนวนโมนิไซด์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.



รูปที่ 10 เปรียบเทียบจำนวนนิวโทรฟิลของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.



รูปที่ 11 เปรียบเทียบจำนวนลิโอฟไซท์ ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบค่า GPT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	ค่า GPT (U/L) (mean±SD)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	19.2±14.14 ^a	16.1±2.97 ^a	19.8±13.92 ^a	18.1±12.32 ^a
48	17.7±11.17 ^a	25.5±21.73 ^a	36.2±21.85 ^{ab}	13.3±4.24 ^a
72	16.3±8.26 ^a	30.4±20.67 ^{ab}	19.7±9.40 ^a	18.5±12.05 ^a
96	14.6±7.59 ^a	11.7±4.84 ^a	22.1±13.28 ^a	19.3±10.60 ^a
120	11.7±5.19 ^a	9.4±3.46 ^a	16.2±6.75 ^a	10.4±4.55 ^a
144	12.3±6.38 ^a	14.4±14.30 ^a	19.2±17.10 ^a	9.1±4.80 ^a
168	10.0±4.33 ^a	9.1±3.01 ^a	7.4±1.81 ^a	16.7±17.73 ^a

^{ab} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบค่า GOT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	ค่า GOT (U/L) (mean \pm SD)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	40.0 \pm 30.28 ^a	69.2 \pm 51.53 ^{ab}	27.4 \pm 23.23 ^{ac}	20.2 \pm 27.25 ^{ad}
48	16.7 \pm 18.41 ^a	31.5 \pm 24.81 ^{ab}	36.1 \pm 37.79 ^{ac}	30.8 \pm 26.84 ^{ad}
72	36.3 \pm 26.06 ^a	37.8 \pm 38.07 ^a	45.2 \pm 43.56 ^a	34.1 \pm 38.99 ^a
96	54.6 \pm 18.38 ^a	45.6 \pm 29.00 ^a	34.6 \pm 23.23 ^{ab}	23.6 \pm 23.21 ^{ac}
120	62.4 \pm 15.06 ^a	51.6 \pm 35.01 ^a	71.6 \pm 36.92 ^a	71.1 \pm 52.39 ^a
144	45.5 \pm 38.07 ^a	21.6 \pm 34.32 ^{ab}	52.5 \pm 34.35 ^a	39.0 \pm 30.78 ^a
168	74.5 \pm 60.67 ^a	70.2 \pm 39.9 ^a	34.2 \pm 28.90 ^{ab}	64.1 \pm 44.71 ^a

^{abcd} ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบค่า ALP ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	ค่า ALP (U/L) (mean \pm SD)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	20.6 \pm 11.46 ^a	30.0 \pm 19.71 ^{ab}	34.3 \pm 13.36 ^{ac}	20.8 \pm 6.35 ^a
48	15.1 \pm 10.63 ^a	27.2 \pm 5.42 ^{ab}	35.0 \pm 15.04 ^{ac}	24.5 \pm 9.91 ^{ad}
72	8.7 \pm 3.89 ^a	23.6 \pm 14.55 ^{ab}	21.6 \pm 14.98 ^{ac}	28.1 \pm 14.46 ^{ad}
96	17.7 \pm 6.72 ^a	20.0 \pm 7.29 ^a	28.0 \pm 7.82 ^{ab}	21.6 \pm 7.44 ^a
120	13.1 \pm 14.33 ^a	27.2 \pm 16.73 ^{ab}	21.8 \pm 17.09 ^a	15.8 \pm 6.37 ^a
144	18.0 \pm 10.71 ^a	14.5 \pm 10.66 ^a	20.5 \pm 10.78 ^a	22.2 \pm 7.83 ^a
168	35.3 \pm 14.21 ^a	35.6 \pm 10.11 ^a	29.7 \pm 9.37 ^a	32.5 \pm 15.33 ^a

^{abcd} ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

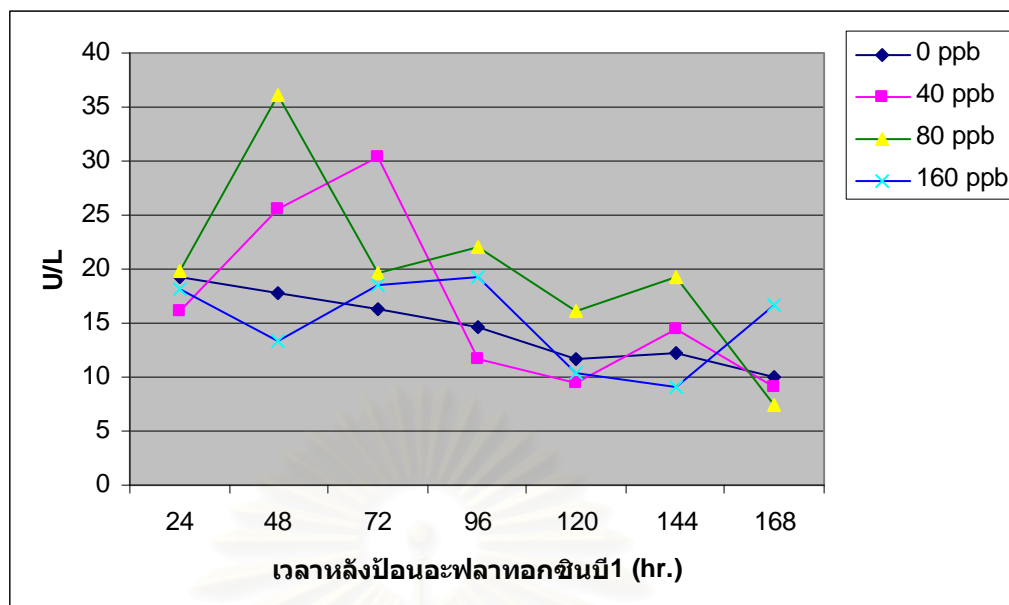
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบค่า GGT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

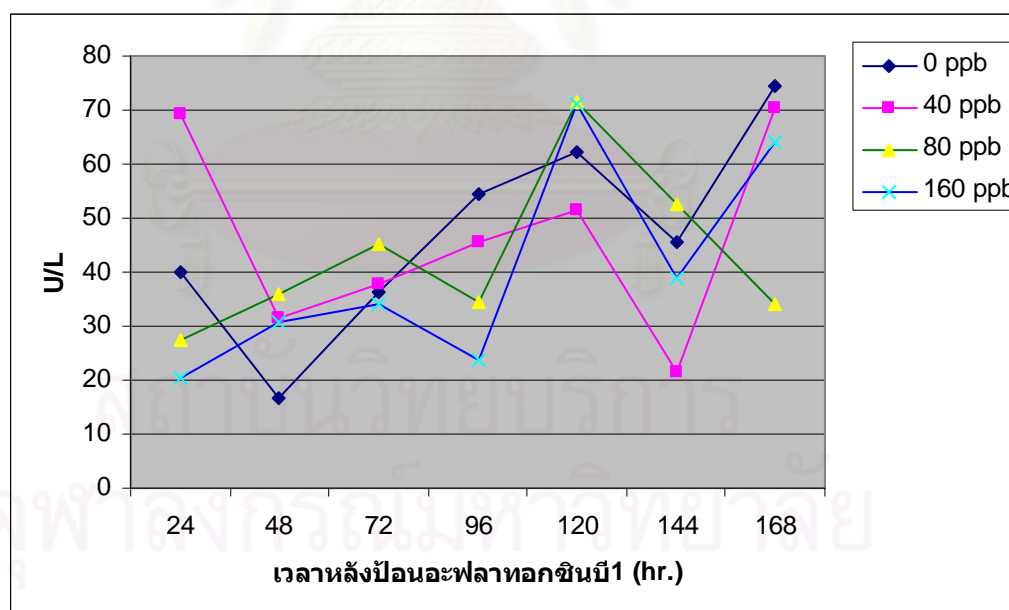
เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	ค่า GGT (U/L) (mean \pm SD)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	5.6 \pm 5.88 ^a	3.7 \pm 2.56 ^a	4.1 \pm 4.66 ^a	2.5 \pm 1.98 ^{ab}
48	2.3 \pm 1.02 ^a	2.7 \pm 1.82 ^a	1.8 \pm 1.30 ^a	1.64 \pm 0.57 ^a
72	2.5 \pm 1.86 ^a	1.8 \pm 1.52 ^a	4.1 \pm 6.46 ^{ab}	1.9 \pm 1.56 ^a
96	5.6 \pm 2.83 ^a	3.2 \pm 1.37 ^{ab}	4.5 \pm 2.01 ^a	3.3 \pm 1.90 ^{ac}
120	2.0 \pm 0.88 ^a	1.7 \pm 0.42 ^a	4.4 \pm 3.66 ^{ab}	2.6 \pm 1.23 ^a
144	3.7 \pm 3.14 ^a	2.7 \pm 2.46 ^a	3.9 \pm 1.89 ^a	4.1 \pm 3.53 ^a
168	3.1 \pm 2.15 ^a	4.3 \pm 2.73 ^a	2.8 \pm 2.36 ^a	4.7 \pm 2.59 ^a

^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

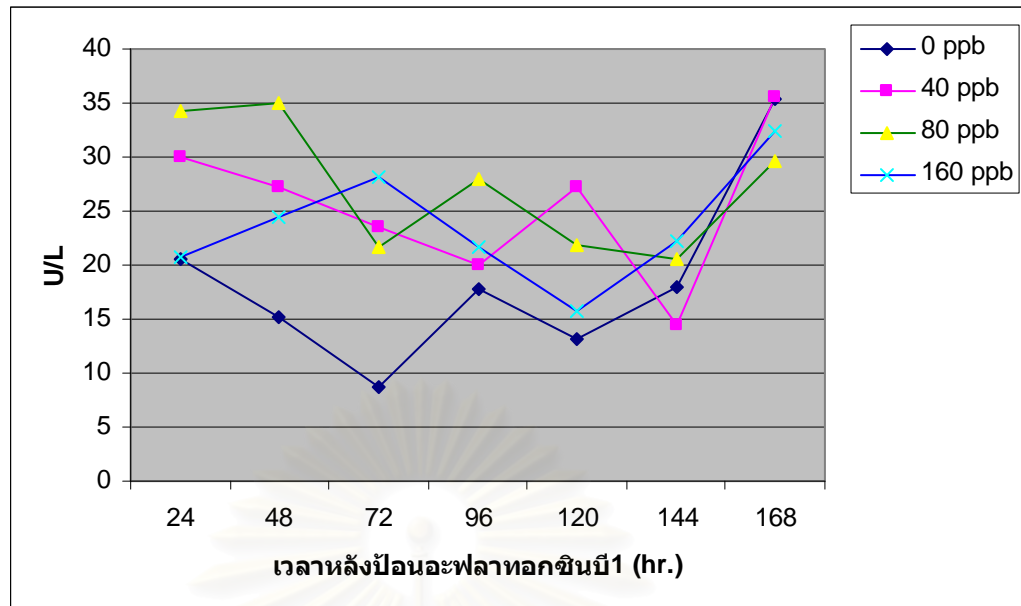
ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)



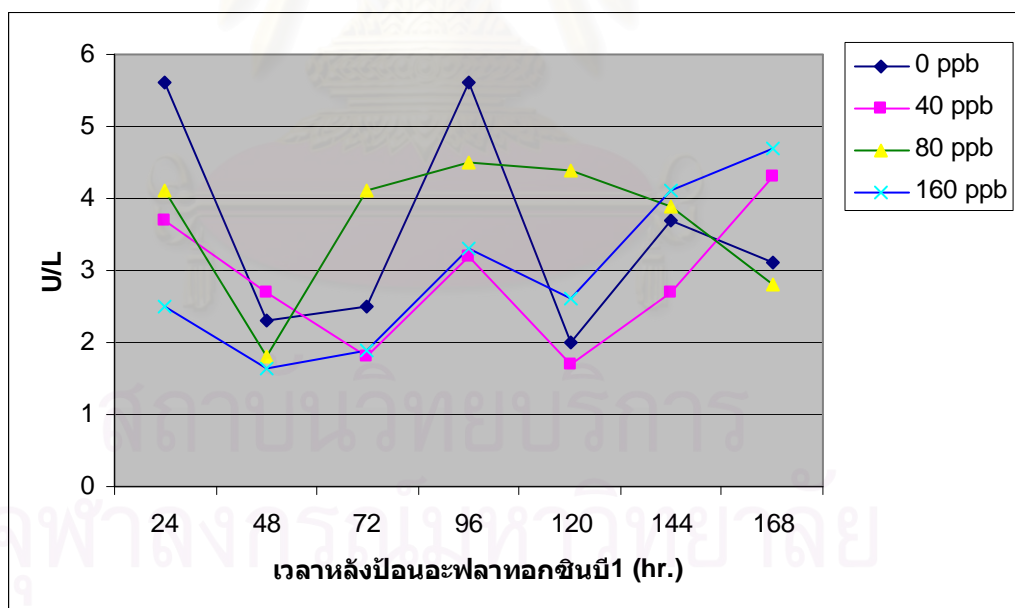
รูปที่ 12 เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GPT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.



รูปที่ 13 เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GOT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.



รูปที่ 14 เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ ALP ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.



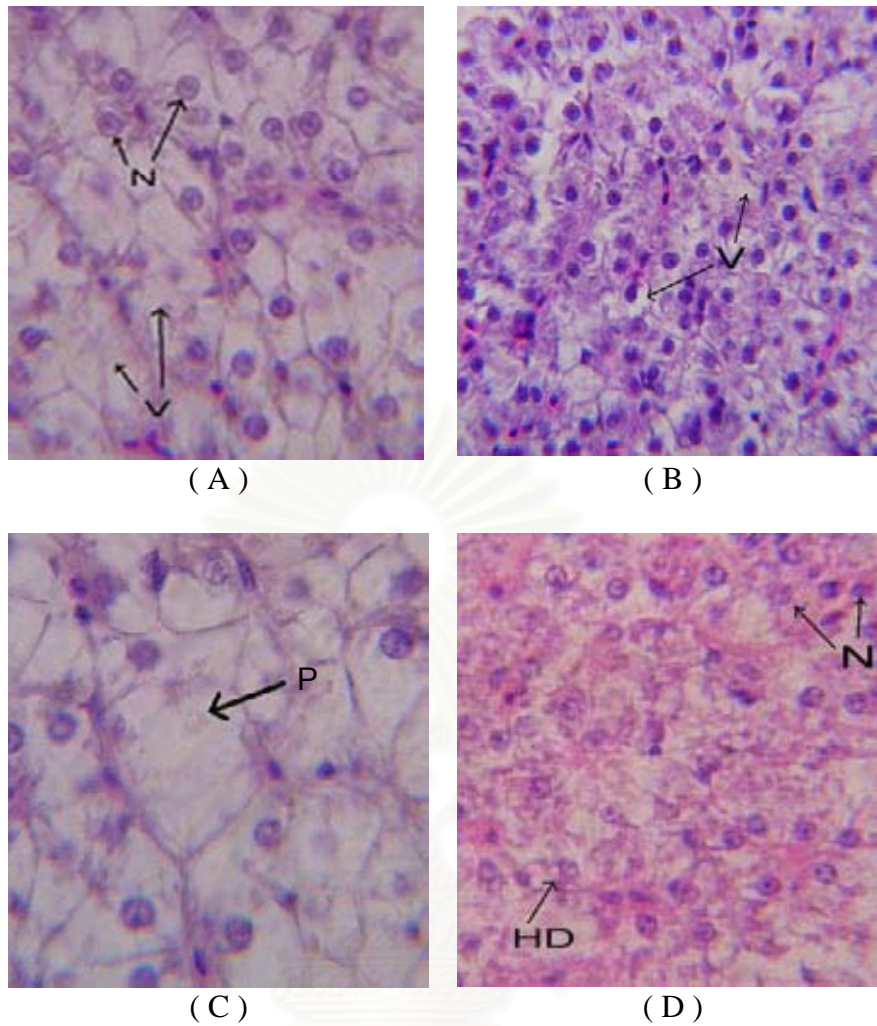
รูปที่ 15 เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GGT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

4.3.3 ผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา

จากการทดลองที่ 3 ศึกษาความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิลโดยให้ปลานิลได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 โดยการกินเพียงครั้งเดียวที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน 0, 40, 80 และ 160 ppb ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของกลุ่มปลานิลทุกกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 เริ่มพบความผิดปกติที่ตับ ไต ม้าม ลำไส้ ที่เวลา 24 hr. หลังจากได้รับสารพิษ การเปลี่ยนแปลงที่ตับพบ hepatocellular vasculization ลดลง ลักษณะของนิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างต่างกัน (Pleomorphic nucleus) มีการเสื่อมสภาพของเซลล์ตับแบบมีไขมันแทรก (fatty degeneration) เซลล์ตับถูกทำลาย (hepatocyte degeneration) เซลล์ตับบางส่วนตาย (hepatocyte necrosis) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาและระดับความเข้มข้นของสารที่ได้รับสูงขึ้นและลดลงหลังจากเวลา 168 hr. (รูปที่ 16, ตารางที่ 14) การเปลี่ยนแปลงที่ไตพบ hyaline droplets และ vacuolation เซลล์ท่อไตบวม และพบการเสื่อมสภาพของท่อไตทั้งส่วน proximal และ distal convoluted tubule กระจายทั่วไป (Generalize degeneration of proximal and distal convoluted tubule) (รูปที่ 17, ตารางที่ 15)

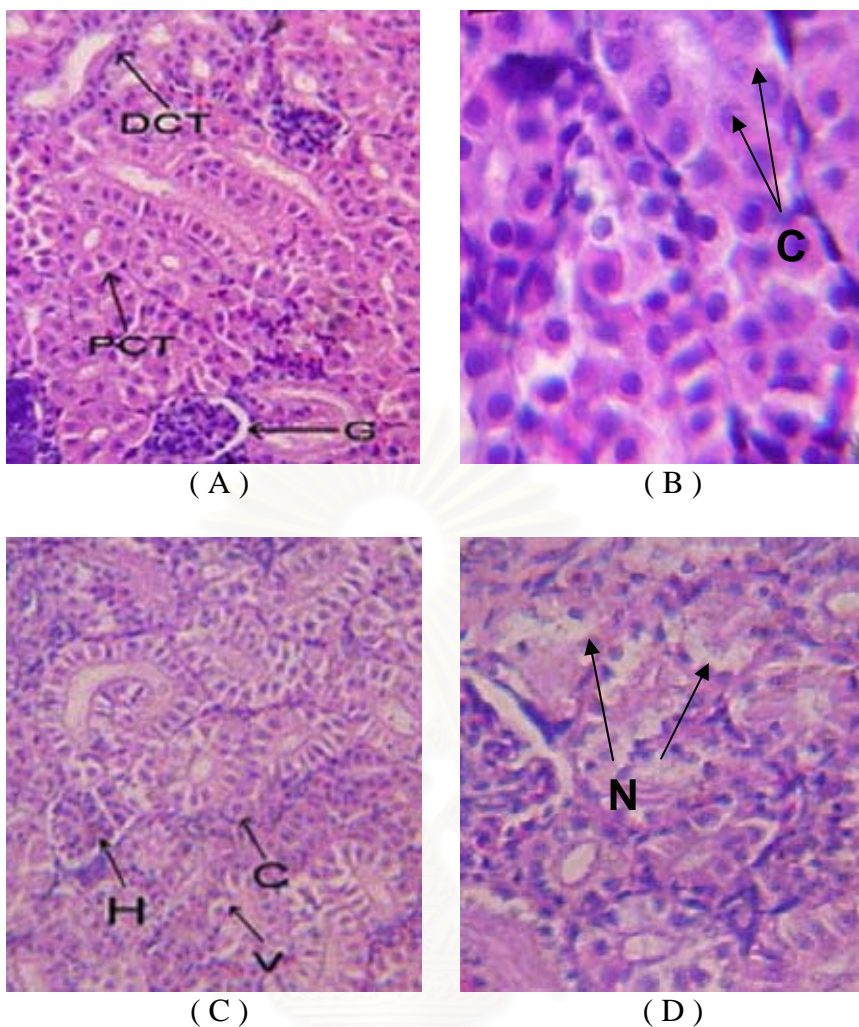
การเปลี่ยนแปลงที่ม้ามพบการเพิ่มขึ้นของmelanomacrophage โดยพบรวมกลุ่มอยู่ใน Melanomacrophage center (MMCs) (รูปที่ 18, ตารางที่ 16) การเปลี่ยนแปลงที่ลำไส้พบ eosinophilic granule ใน submucosa และมีการลอกหลุดของเยื่อผนังลำไส้ (รูปที่ 19, ตารางที่ 17) ส่วนที่เหงือกนั้นจะเริ่มสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 160 ppb ที่ 24 hr. ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่าจะพบการเปลี่ยนแปลงที่ 48 และ 72 hr. ตามลำดับ โดยพบการบวมอักเสบของ primary และ secondary lamella การ torsion และ fusion ของ secondary lamella (รูปที่ 20, ตารางที่ 18)

นอกจากผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาแล้วจากการสังเกตพบว่าปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 โดยการป้อนครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb ไม่มีความผิดปกติที่สังเกตเห็นทางอาการภายนอก ปลาทุกตัวกินอาหารและว่ายน้ำเป็นปกติไม่แตกต่างจากปลาในกลุ่มควบคุม



รูปที่ 16 ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับของปลานิล

- (A) ปลานิลปกติ Uniform nuclei (N) และ Prominent cytoplasmic vacuolus (V) (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (B) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb หลังได้รับสาร 48 ชั่วโมง พบ Hepatocellular vasculization (V) มีขนาดลดลง (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (C) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb หลังได้รับสาร 72 ชั่วโมง พบลักษณะของนิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างต่างกัน (Pleomorphic nucleus) (P) (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (D) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb หลังได้รับสาร 72 ชั่วโมง พบเซลล์ตับถูกทำลาย (hepatocyte degeneration) (HD) และ เซลล์ตับบางส่วนตาย (hepatocyte necrosis) (N) (Hematoxylin & Eosin 400X)



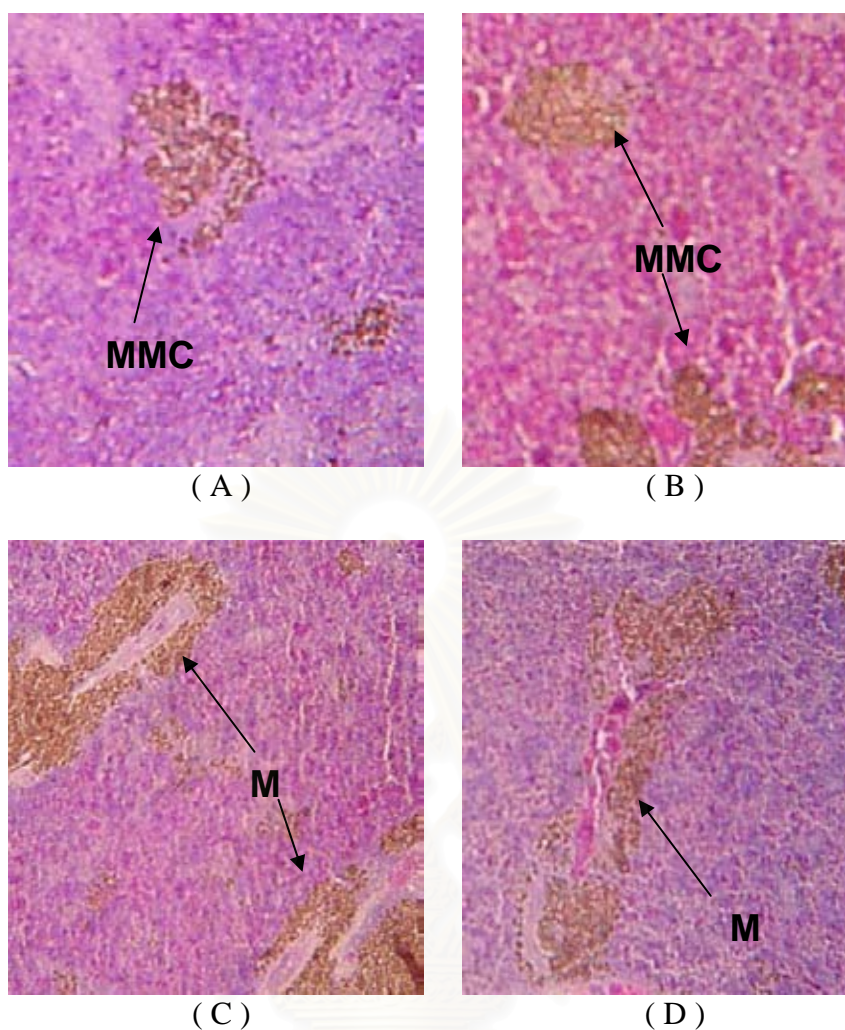
รูปที่ 17 ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อไตของปลานิล

(A) ลักษณะของ proximal convoluted tubule (PCT) distal convoluted tubule (DCT) และ Glomerulus (G) ของปลานิลปกติ (Hematoxylin & Eosin 100X)

(B) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb หลังได้รับสาร 48 ชั่วโมง พบการเสื่อมสภาพของท่อไต และเซลล์บวม cloudy swelling (C) (Hematoxylin & Eosin 400X)

(C) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb หลังได้รับสาร 72 ชั่วโมง พบ hyaline droplets (H), cloudy swelling(C) และ vacuolation (V) (Hematoxylin & Eosin 100X)

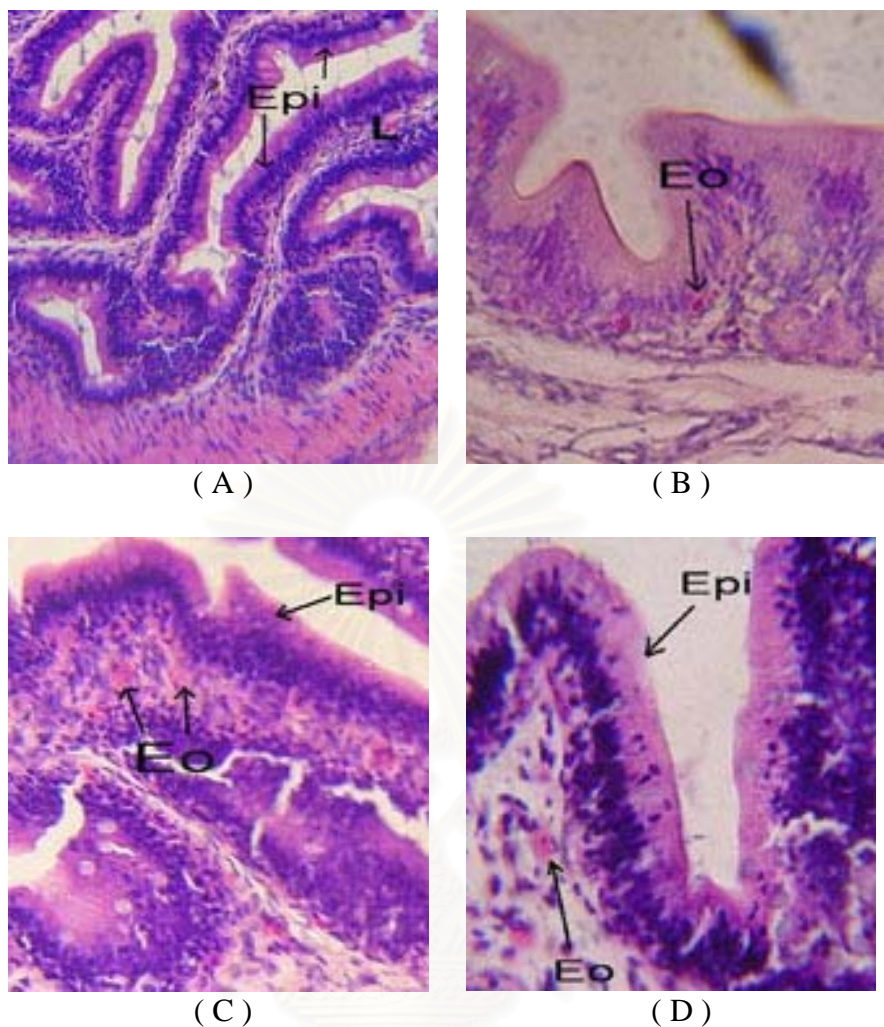
(D) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb หลังได้รับสาร 72 ชั่วโมง พบเซลล์ท่อไตเสื่อมสภาพและถูกทำลาย (necrosis) (N) (Hematoxylin & Eosin 100X)



รูปที่ 18 ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของม้ามของปลานิล

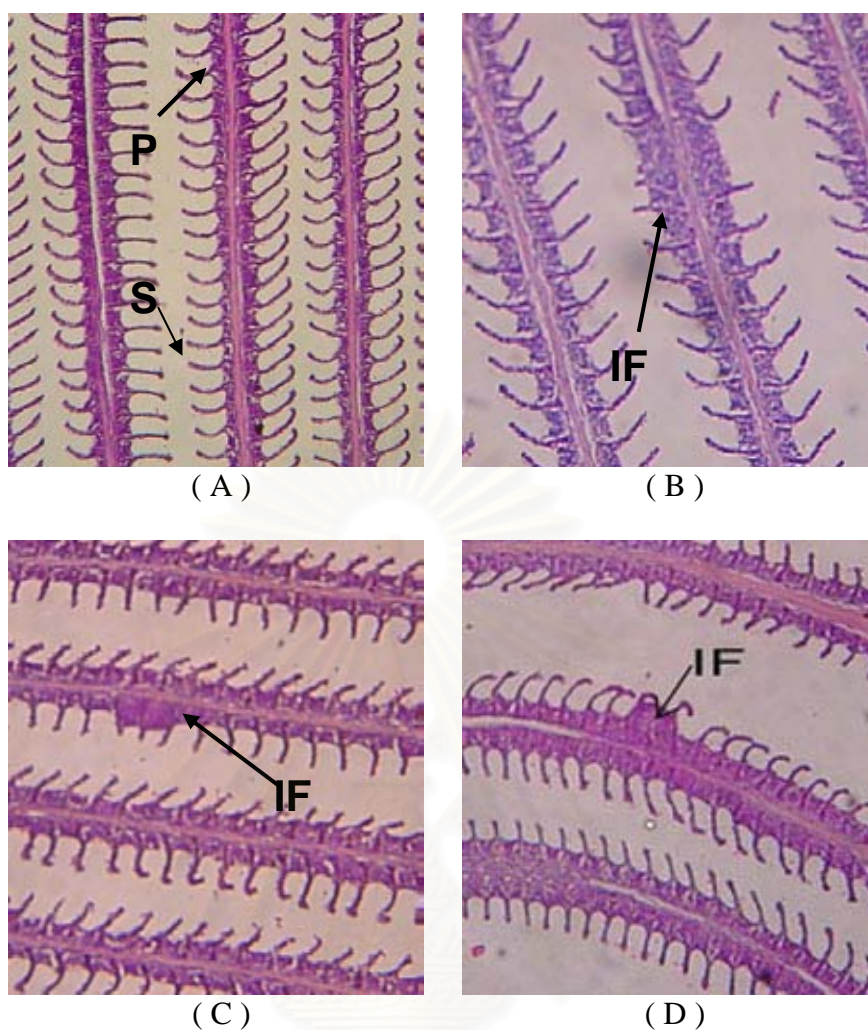
(A) ลักษณะของ Melanomacrophage center (MMC_s) ในม้ามของปลานิลปกติ

(B), (C) และ (D) ลักษณะของ Melanomacrophage (M) ในม้ามของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb ตามลำดับ พบการเพิ่มขึ้นของ melanomacrophage (Hematoxylin & Eosin 100X)



รูปที่ 19 ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาเยื่อเมือกผนังลำไส้ของปลานิล

- (A) ลักษณะของเยื่อเมือกผนังลำไส้ (Epithelium) (Epi) ของปลานิลปกติ (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (B) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb หลังได้รับสาร 48 ชั่วโมง พบ Eosinophilic granule(Eo)ใน submucosa (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (C) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb หลังได้รับสาร 72 ชั่วโมง พบ Eosinophilic granule(Eo)ใน submucosa (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (D) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb หลังได้รับสาร 72 ชั่วโมง พบ Eosinophilic granule(Eo)ใน submucosa และ เยื่อเมือกลำไส้ลอกหลุด (Hematoxylin & Eosin 400X)



รูปที่ 20 ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาโครงสร้างเหงือกของปลานิล

- (A) ปลานิลปกติพบซี่เหงือก (primary lamella) (P) มีลักษณะเป็นเชื่อบุผิวหลายชั้นต่อหุ้มกระดูกอ่อนที่เป็นโครงสร้างและมีกิ่งเหงือก (secondary lamella) (S) เรียงตัวแยกออกมาจากซี่เหงือกทั้งสองข้าง (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (B) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb พบการอักเสบ การหนาตัวของเชื่อบุผิว และการแทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อของเม็ดเลือดขาว (secondary gill lamella inflammation) (IF) (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (C) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb พบการอักเสบ การหนาตัวของเชื่อบุผิว และการแทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อของเม็ดเลือดขาว (secondary gill lamella inflammation) (IF) (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (D) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb พบการอักเสบการหนาตัวของเชื่อบุผิว และการแทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อของเม็ดเลือดขาว (secondary gill lamella inflammation) (IF) (Hematoxylin & Eosin 400X)

ตารางที่ 14 ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลา (hr.)	ร้อยละของจำนวนปลาที่พบรอยโรครระดับต่างๆ			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	-	+ 66.60%	+ 100%	++ 33.30%
48	-	+ 100%	+++ 33.30%	++ 66.60%
72	-	++ 100%	++ 66.60%	+++ 100%
96	-	++ 66.60%	++ 100%	+++ 66.60%
120	-	++ 66.60%	++ 33.30%	+++ 33.30%
144	-	++ 33.30%	++ 33.30%	++ 33.30%
168	-	+ 100%	+ 100%	+ 100%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 15 ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของไตในปลาชนิด ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลา (hr.)	ร้อยละของจำนวนปลาที่พบรอยโรคระดับต่างๆ			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	-	+	+	+
		66.60%	100%	100%
48	-	+	++	++
		66.60%	66.60%	33.30%
72	-	+	++	+++
		100%	33.30%	66.60%
96	-	+	++	++
		100%	66.60%	100%
120	-	+	++	++
		100%	33.30%	66.60%
144	-	+	+	+
		100%	100%	100%
168	-	+	+	+
		100%	100%	100%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 16 ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของม้ามในปลาไนที่ ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลา (hr.)	ร้อยละของจำนวนปลาที่พบรอยโรคระดับต่างๆ			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
48	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
72	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
96	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
120	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
144	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
168	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของลำไส้ในปลาชนิด ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลา (hr.)	ร้อยละของจำนวนปลาที่พบรอยโรครระดับต่างๆ			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	-	+ 66.60%	+ 100%	+ 100%
48	-	+ 33.30%	+ 100%	+ 100%
72	-	+ 66.60%	++ 33.30%	++ 66.60%
96	-	+ 100%	++ 33.30%	++ 66.60%
120	-	+ 100%	+ 100%	++ 33.30%
144	-	+ 100%	+ 100%	+ 100%
168	-	+ 100%	+ 100%	+ 100%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเหงือกในปลานิล ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

เวลา (hr.)	ร้อยละของจำนวนปลาที่พบรอยโรครระดับต่างๆ			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	-	-	-	+ 33.30%
48	-	-	+ 66.60%	+ 100%
72	-	+ 33.30%	+ 33.30%	+ 66.60%
96	-	-	+ 33.30%	+ 100.00%
120	-	+ 33.30%	+ 66.60%	+ 33.30%
144	-	+ 66.60%	+ 66.60%	+ 66.60%
168	-	-	+ 33.30%	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3.4 ผลการศึกษาการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1

4.3.4.1 การตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกลัมน้ำเนื้อปลานิล (รูปที่ 21)

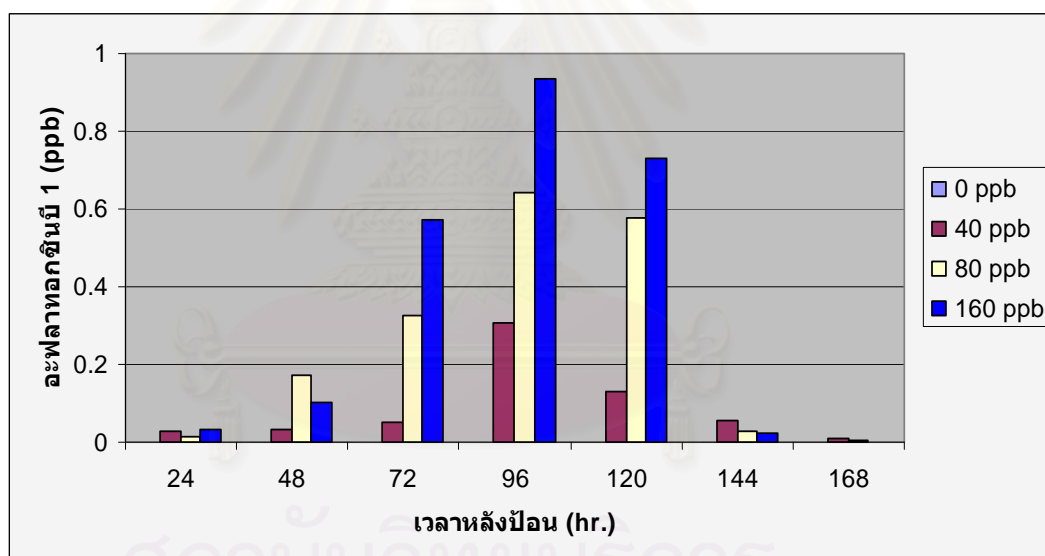
ในช่วงเวลาที่ 24 จนถึงชั่วโมงที่ 96 การตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ตรวจพบในกลุ่มที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 160 ppb มากกว่าในกลุ่มที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb และพบปริมาณสูงสุด 0.93 ± 0.35 ppb ในเวลา 96 hr.

ภายหลังจากชั่วโมงที่ 96 ระดับการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกลัมน้ำเนื้อจะลดลงจนถึงสิ้นสุดการทดลองในทุกกลุ่ม

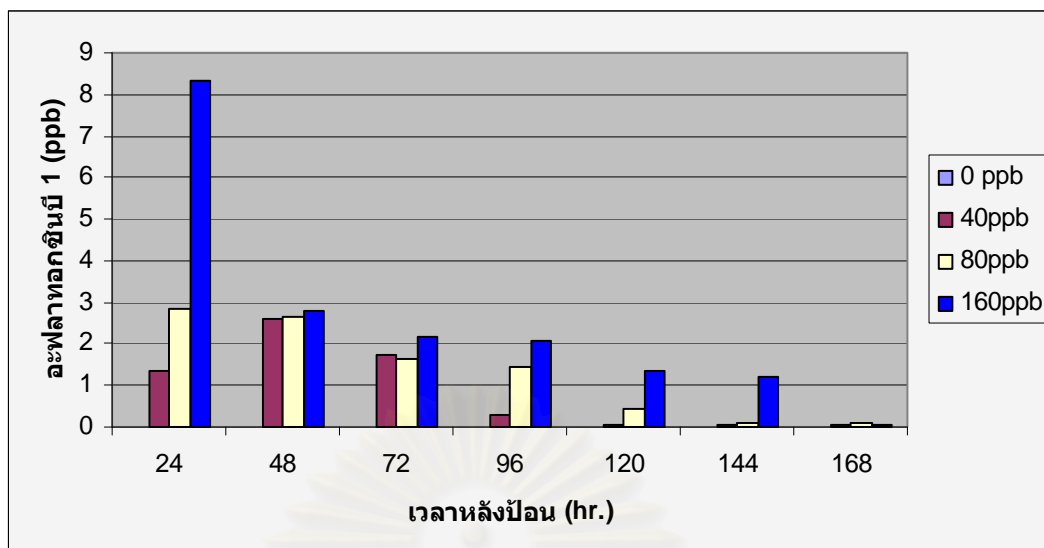
กลุ่มปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb จะพบการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกลัมน้ำเนื้อมากที่สุดที่เวลา 96 hr.

4.3.4.2 การขับออกของอะฟลาทอกซินบี 1 ในอุจจาระปลานิล (รูปที่ 22)

พบปริมาณสูงสุด 8.32 ppb ในเวลา 24 hr. ระดับการขับออกของอะฟลาทอกซินบี 1 ทางอุจจาระจะลดลงจนถึงสิ้นสุดการทดลองในทุกกลุ่ม



รูปที่ 21 แสดงปริมาณการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกลัมน้ำเนื้อของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.



รูปที่ 22 แสดงปริมาณการขับออกของอะฟลาทอกซินบี 1 ในอุจจาระของปลานิลที่ได้รับ อะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 hr.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 การทดลองที่ 4 การศึกษาความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิลที่ ได้รับอะ ฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน

4.4.1 ผลการทดลองค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาว

โมนไซท์ (รูปที่ 23, ตารางที่ 19)

ในชั่วโมงที่ 24 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 72 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

นิวโทรฟิล (รูปที่ 24, ตารางที่ 20)

ในชั่วโมงที่ 24 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 48-96 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 120-240 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ลิมโฟไซท์ (รูปที่ 25, ตารางที่ 21)

ในชั่วโมงที่ 24 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 48 และ 72 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 96-240 ปลาที่ได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

4.4.2 ผลการทดลองค่าเอนไซม์ตับ

เอนไซม์ GOT ของปลานิลที่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb จะสูงกว่ากลุ่มควบคุมในชั่วโมงที่ 192 ถึง 240 ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 40 ppb จะสูงกว่ากลุ่มควบคุมในชั่วโมงที่ 216 และ 240 ตามลำดับ ส่วนเอนไซม์ GPT ALP และ GGT ไม่พบความเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน

ALP (รูปที่ 28, ตารางที่ 24)

ในชั่วโมงที่ 24 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 และ 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 168 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

GGT (รูปที่ 29, ตารางที่ 25)

ในชั่วโมงที่ 48, 96 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 72 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) และที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 144 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40, 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 120, 168 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ในชั่วโมงที่ 192, 216 ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมีค่าลดลง ($P < 0.05$)

ตารางที่ 19 เปรียบเทียบจำนวนโมนิไซต์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	จำนวนโมนิไซต์ (%) (mean±SD.)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	1.6±1.32 ^a	2.2±1.20 ^a	3.4±1.74 ^{ab}	2.4±1.33 ^a
48	2.3±1.80 ^a	2.4±1.66 ^a	2.5±1.23 ^a	2.6±1.22 ^a
72	3.1±2.08 ^a	3.4±1.74 ^a	2.6±1.58 ^a	4.2±1.78 ^{ab}
96	2.7±1.85 ^a	2.8±1.45 ^a	3.2±1.56 ^a	2.8±1.36 ^a
120	4.3±2.59 ^a	3.5±2.45 ^a	4.0±1.65 ^a	3.1±1.61 ^a
144	3.0±2.23 ^a	3.0±1.50 ^a	3.6±1.65 ^a	3.3±2.00 ^a
168	3.2±1.98 ^a	3.1±1.61 ^a	3.4±1.50 ^a	3.5±2.06 ^a
192	3.0±2.34 ^a	3.6±1.27 ^a	3.4±1.81 ^a	3.1±2.20 ^a
216	3.5±2.06 ^a	3.8±1.96 ^a	3.5±2.06 ^a	3.1±1.90 ^a
240	3.3±1.58 ^a	3.4±1.50 ^a	3.3±1.58 ^a	3.8±2.20 ^a

^{ab} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 20 เปรียบเทียบจำนวนนิวโทรฟิลของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	จำนวนนิวโทรฟิล (%) (mean±SD.)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	56.7±2.33 ^a	56.3±2.29 ^a	57.1±2.20 ^a	70.5±2.55 ^{ab}
48	56.0±3.57 ^a	56.8±2.31 ^a	60.0±2.54 ^{ab}	60.5±3.43 ^{ac}
72	55.4±4.82 ^a	57.1±2.20 ^a	70.6±2.73 ^{ab}	76.7±3.11 ^{ac}
96	57.0±3.24 ^a	59.5±2.87 ^a	74.2±4.29 ^{ab}	79.7±3.73 ^{ac}
120	55.0±4.97 ^a	68.6±2.17 ^{ab}	76.6±3.00 ^{ac}	83.0±3.31 ^{ad}
144	57.7±3.83 ^a	70.4±2.45 ^{ab}	80.2±5.23 ^{ac}	80.7±3.30 ^{ad}
168	57.0±3.04 ^a	73.2±4.60 ^{ab}	78.6±4.69 ^{ac}	81.8±4.88 ^{ad}
192	56.1±2.75 ^a	76.6±3.00 ^{ab}	83.2±5.04 ^{ac}	86.1±4.83 ^{ad}
216	55.2±4.14 ^a	80.2±5.23 ^{ab}	81.8±4.88 ^{ac}	81.4±4.18 ^{ad}
240	55.0±4.03 ^a	78.7±4.76 ^{ab}	86.4±4.55 ^{ac}	80.2±5.78 ^{ad}

^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

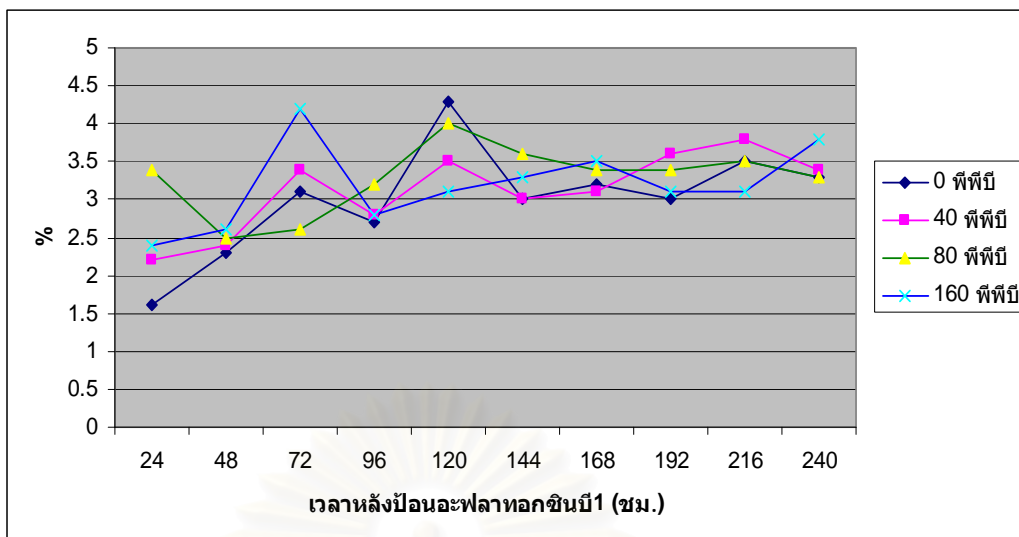
ตารางที่ 21 เปรียบเทียบจำนวนลิโมนโฟไซต์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	จำนวนลิโมนโฟไซต์ (%) (mean±SD.)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	41.5±2.78 ^a	41.4±2.35 ^a	39.4±1.74 ^a	27.0±2.23 ^{ab}
48	41.6±2.78 ^a	40.6±2.29 ^a	37.4±2.78 ^{ab}	36.7±3.73 ^{ac}
72	40.3±2.12 ^a	39.4±1.74 ^a	27.1±2.36 ^{ab}	19.0±2.50 ^{ac}
96	40.2±2.33 ^a	37.5±2.83 ^{ab}	22.5±3.46 ^{ac}	17.3±2.78 ^{ad}
120	40.6±3.53 ^a	27.7±2.58 ^{ab}	19.3±2.17 ^{ac}	13.8±3.91 ^{ad}
144	42.2±3.03 ^a	26.5±2.50 ^{ab}	15.4±3.64 ^{ac}	15.8±2.75 ^{ad}
168	39.7±2.16 ^a	23.6±4.06 ^{ab}	17.8±3.37 ^{ac}	14.5±4.39 ^{ad}
192	40.8±2.97 ^a	19.3±2.17 ^{ab}	13.3±4.33 ^{ac}	10.7±4.65 ^{ad}
216	41.2±3.66 ^a	15.4±3.64 ^{ab}	14.5±4.39 ^{ac}	15.4±3.20 ^{ad}
240	41.6±3.20 ^a	17.7±3.45 ^{ab}	10.2±3.30 ^{ac}	15.4±3.64 ^{ad}

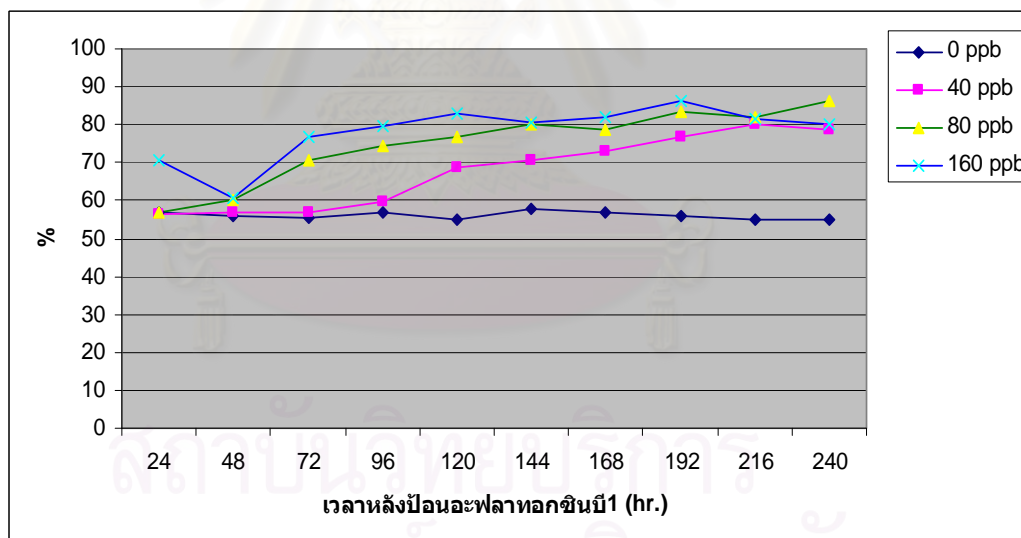
^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

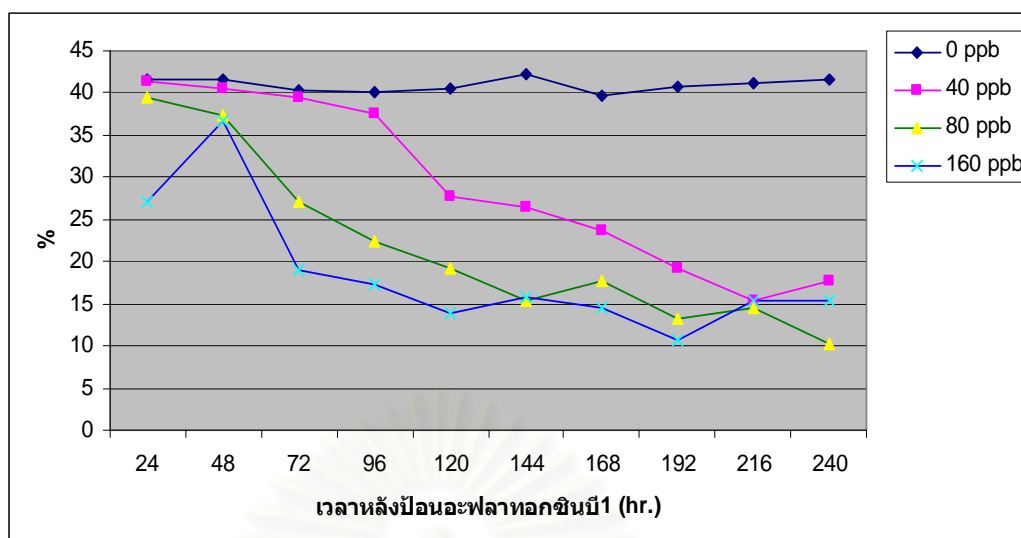
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 23 เปรียบเทียบจำนวนโมโนไฮด์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย



รูปที่ 24 เปรียบเทียบจำนวนนิโตรฟีลของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย



รูปที่ 25 เปรียบเทียบจำนวนคลอโรฟิลล์ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 22 เปรียบเทียบค่า GPT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	ค่า GPT (U/L) (mean±SD)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	14.5±5.17 ^a	13.3±4.76 ^a	11.7±5.35 ^a	9.1±4.51 ^{ab}
48	17.5±10.53 ^a	12.4±11.75 ^a	10.3±5.47 ^a	10.7±4.17 ^a
72	23.5±10.15 ^a	33.5±23.70 ^{ab}	25.2±24.61 ^a	27.2±16.6 ^a
96	29.22±15.36 ^a	14.5±3.74 ^{ab}	31.8±27.99 ^a	15.4±7.05 ^{ac}
120	19.0±13.06 ^a	13.0±5.40 ^a	19.6±15.90 ^a	11.4±5.2 ^a
144	28.5±20.89 ^a	10.8±7.72 ^{ab}	10.0±4.35 ^{ac}	27.0±20.88 ^a
168	22.4±23.01 ^a	9.6±5.72 ^{ab}	17.4±19.46 ^a	26.8±19.07 ^a
192	39.5±13.34 ^a	28.4±26.33 ^a	11.8±6.5 ^{ab}	24.4±18.01 ^a
216	30.8±16.28 ^a	15.4±4.50 ^{ab}	17.7±13.51 ^{ac}	13.3±5.14 ^{ad}
240	10.6±7.31 ^a	19.8±13.58 ^a	11.2±4.20 ^a	15.4±13.48 ^a

^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 23 เปรียบเทียบค่า GOT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	ค่า GOT (U/L) (mean±SD)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	76.8±54.23 ^a	49.5±27.55 ^a	45.3±27.35 ^a	43.8±32.55 ^a
48	50.6±24.04 ^a	41.7±33.62 ^a	54.5±23.44 ^a	56.8±25.88 ^a
72	63.8±25.96 ^a	45.2±17.46 ^{ab}	55.7±38.42 ^a	53.3±21.6 ^a
96	61.3±20.63 ^a	48.2±29.31 ^{ab}	89.4±45.57 ^{ac}	39.8±34.71 ^{ad}
120	77.4±31.70 ^a	55.2±22.65 ^{ab}	71.5±38.14 ^a	56.0±20.44 ^{ac}
144	81.4±43.39 ^a	58.6±15.15 ^{ab}	51.0±13.82 ^{ac}	79.5±50.31 ^a
168	76.0±36.55 ^a	60.5±32.97 ^a	59.1±35.96 ^a	71.1±50.70 ^a
192	68.6±13.28 ^a	75.11±56.84 ^a	52.6±26.41 ^a	102.2±55.91 ^{ab}
216	57.2±13.0 ^a 3	105.3±40.54 ^{ab}	91.6±52.16 ^{ac}	65.5±35.76 ^a
240	50.7±30.74 ^a	74.8±26.71 ^{ab}	63.7±23.33 ^a	82.6±31.86 ^{ac}

^{abcd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 24 เปรียบเทียบค่า ALP ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	ค่า ALP (U/L) (mean±SD)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	25.5±13.52 ^a	18.8±9.51 ^{ab}	21.0±9.64 ^a	13.4±9.74 ^{ac}
48	28.0±9.65 ^a	19.3±13.39 ^a	25.7±9.83 ^a	34.4±13.24 ^a
72	26.3±15.68 ^a	21.5±13.89 ^a	28.0±12.18 ^a	21.2±10.90 ^a
96	25.3±18.34 ^a	21.1±11.38 ^a	23.6±10.87 ^a	19.7±6.22 ^a
120	29.0±12.93 ^a	22.3±11.42 ^a	22.3±8.88 ^a	18.2±13.89 ^a
144	29.0±13.78 ^a	21.0±8.33 ^a	35.2±19.16 ^a	33.5±20.07 ^a
168	32.4±19.24 ^a	25.4±27.18 ^a	32.2±12.21 ^a	52.6±23.54 ^{ab}
192	33.4±12.50 ^a	35.5±24.07 ^a	34.8±16.4 ^a	28.5±9.76 ^a
216	34.6±13.50 ^a	43.4±17.70 ^a	40.3±18.20 ^a	48.8±15.44 ^a
240	37.1±20.88 ^a	41.0±21.05 ^a	39.6±11.15 ^a	40.3±14.40 ^a

^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

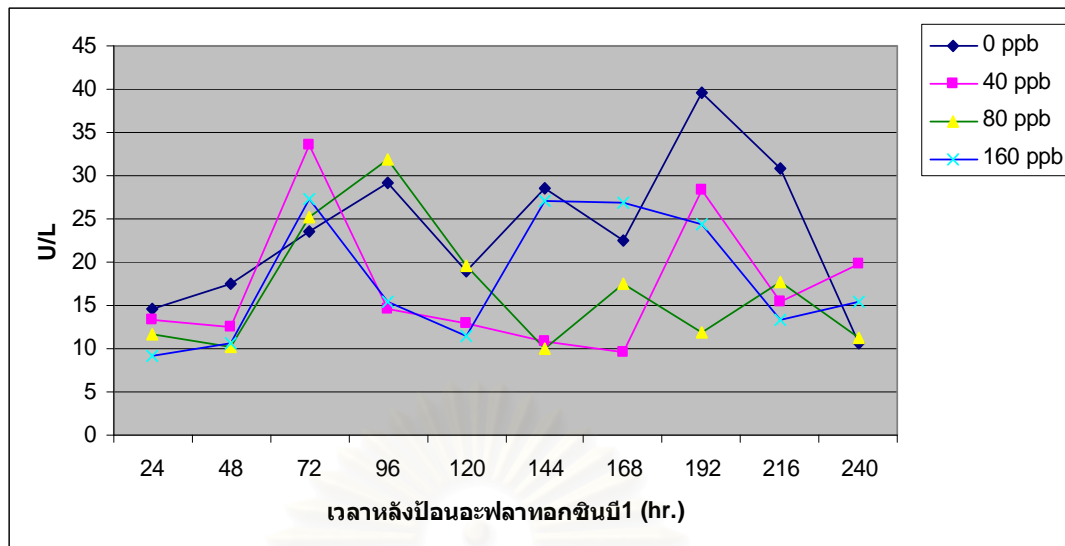
ตารางที่ 25 เปรียบเทียบค่า GGT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลาหลังป้อนสาร (hr.)	ค่า GGT (U/L) (mean±SD)			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	4.7±2.32 ^a	4.8±2.69 ^a	5.4±4.14 ^a	6.9±4.16 ^a
48	2.4±1.18 ^a	1.56±1.03 ^a	3.3±1.52 ^a	4.8±2.00 ^{ab}
72	4.2±2.49 ^a	3.1±2.07 ^a	6.4±3.16 ^{ab}	2.6±2.41 ^{ac}
96	2.5±2.11 ^a	3.4±2.72 ^a	3.2±1.71 ^a	4.6±3.21 ^{ab}
120	5.02±3.54 ^a	2.08±1.33 ^{ab}	5.5±4.79 ^a	5.3±4.56 ^a
144	8.1±6.89 ^a	4.8±3.23 ^{ab}	7.6±5.37 ^a	5.2±3.00 ^{ac}
168	6.3±3.02 ^a	3.1±2.38 ^{ab}	5.1±2.41 ^a	5.4±3.45 ^a
192	5.1±3.97 ^a	3.0±2.77 ^a	4.9±2.58 ^a	1.2±0.92 ^{ab}
216	5.2±2.31 ^a	4.2±1.76 ^a	4.2±4.16 ^a	2.4±1.54 ^{ab}
240	4.4±4.51 ^a	3.5±2.14 ^a	3.1±1.72 ^a	4.0±1.69 ^a

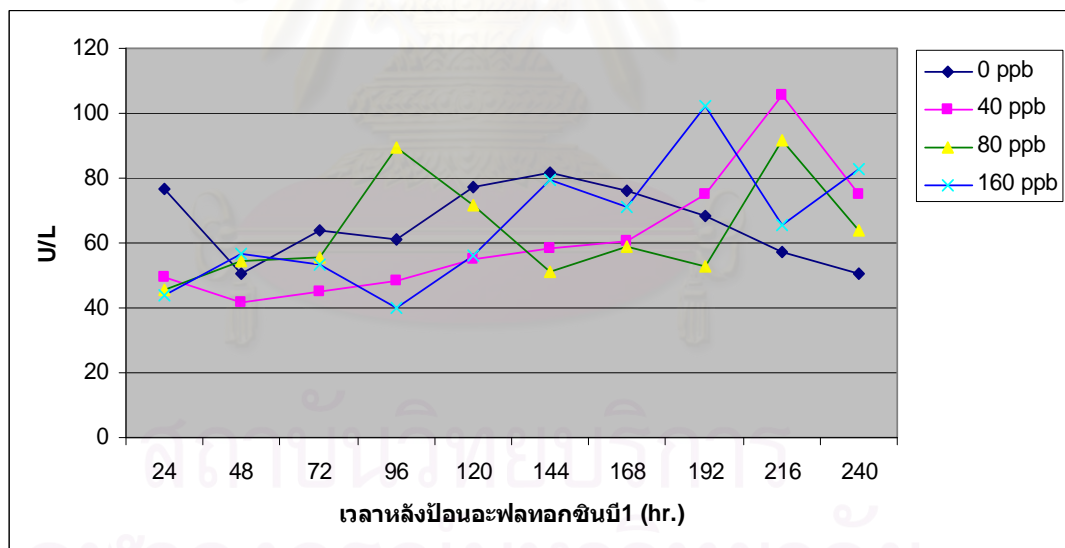
^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

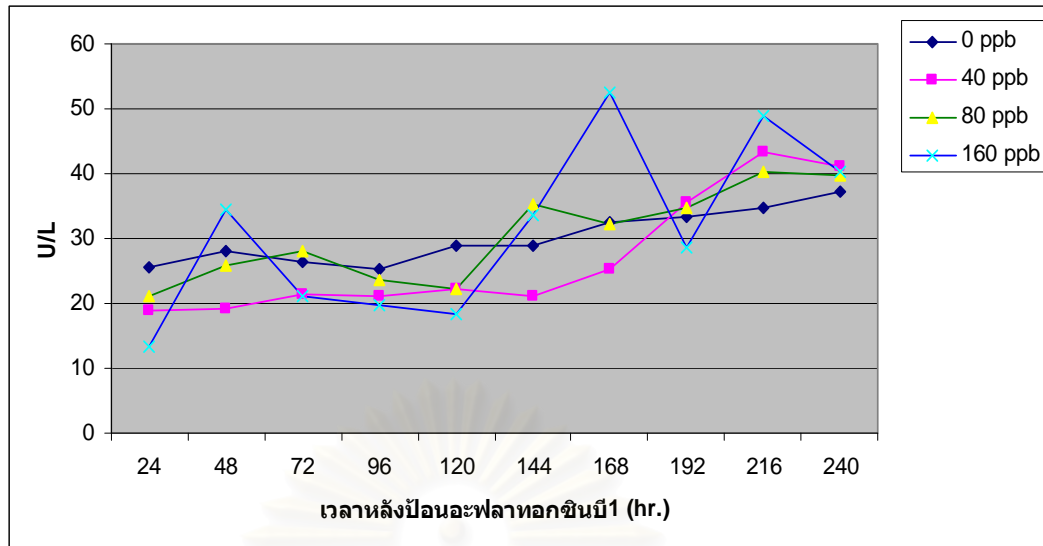
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



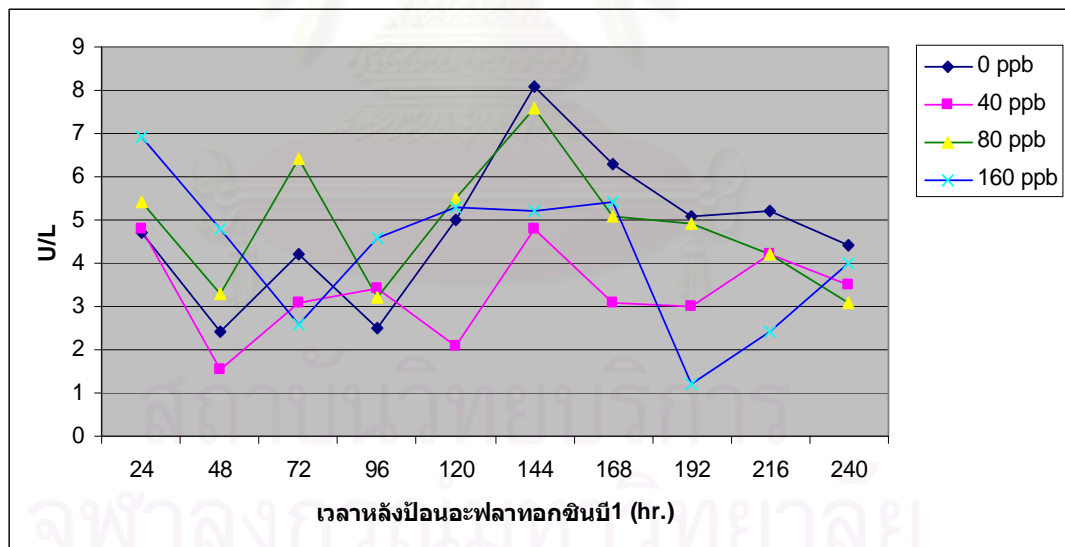
รูปที่ 26 เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GPT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย



รูปที่ 27 เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GOT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย



รูปที่ 28 เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ ALP ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย



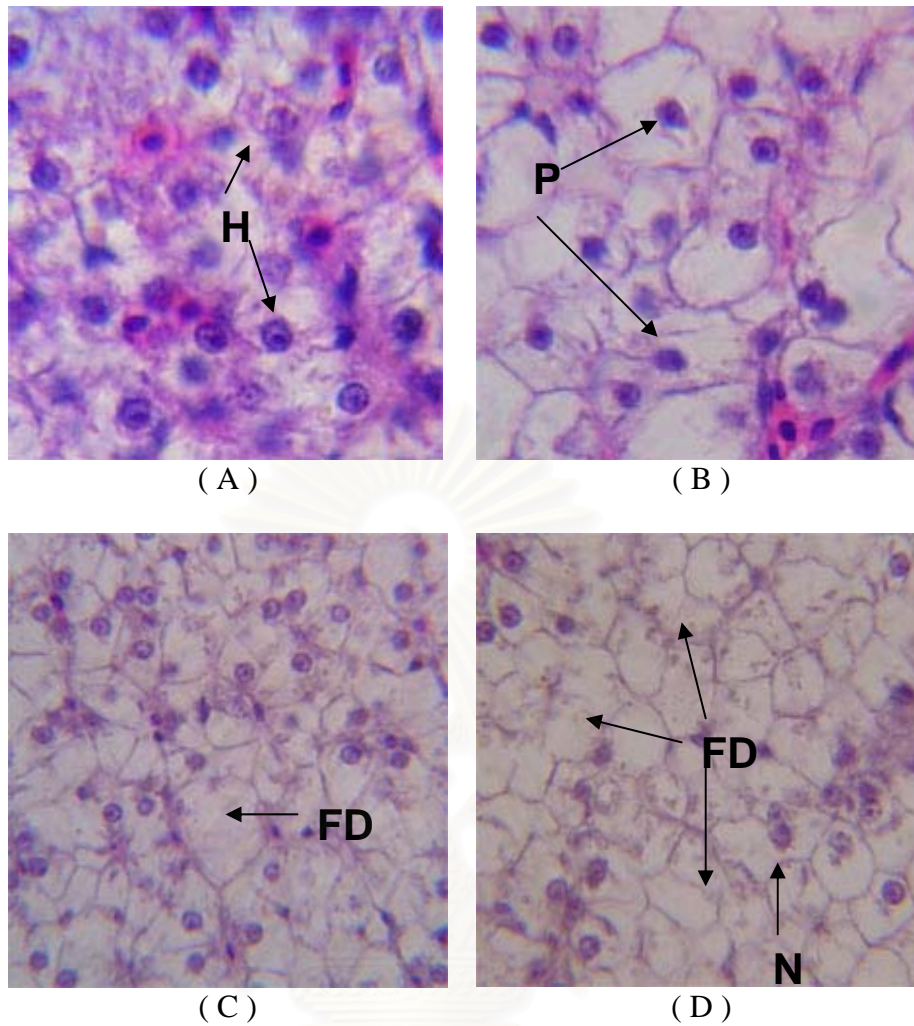
รูปที่ 29 เปรียบเทียบค่าเอนไซม์ GGT ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

4.4.3 ผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา

จากการทดลองที่ 4 ศึกษาความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ที่ให้ปลานิลได้รับทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาไม่พบความผิดปกติในตับ ไต ลำไส้ และเหงือกของปลานิลกลุ่มควบคุม ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ตรวจพบความผิดปกติของตับ ม้าม ไต ลำไส้ และเหงือก ที่ 24 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย โดยความผิดปกติที่พบยังคงพบได้แม้ไม่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 แล้วเป็นเวลา 10 วัน ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่พบได้มีได้แก่ ลักษณะของนิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างต่างกัน และพบการเสื่อมสภาพของเซลล์ตับแบบมีไขมันแทรก (fatty degeneration) เซลล์ตับถูกทำลาย (hepatocyte degeneration) เซลล์ตับบางส่วนตาย (hepatocyte necrosis) (รูปที่ 30, ตารางที่ 26) ้ไตพบ hyaline droplets vascuolation necrosis การเสื่อมสภาพของท่อไตทั้งส่วน proximal และ distal convoluted tubule กระจายทั่วไป (Generalize degeneration of proximal and distal convoluted tubule) และ karyopyknosis (รูปที่ 31, ตารางที่ 27) ที่ม้าม พบการเพิ่มขึ้นของ melanomacrophage โดยพบรวมกลุ่มอยู่ใน Melanomacrophage center (MMCs) (รูปที่ 32, ตารางที่ 28) และที่ลำไส้ พบ eosinophilic granule ใน submucosa พบการอักเสบของลำไส้และมีการลอกหลุดของเยื่อผนังลำไส้ (รูปที่ 33, ตารางที่ 29) ส่วนที่เหงือก พบการบวมอักเสบของ primary และ secondary lamella การ torsion และ fusion ของ secondary lamella (รูปที่ 34, ตารางที่ 30) โดยที่ม้ามนั้นในปลานิลกลุ่มที่ไม่ได้รับสารพิษแต่ได้รับเฉพาะน้ำมันมะกอกติดต่อกัน 7 วัน มีการตรวจพบ melanomacrophage เพิ่มขึ้นด้วย (รูปที่ 32, ตารางที่ 28)

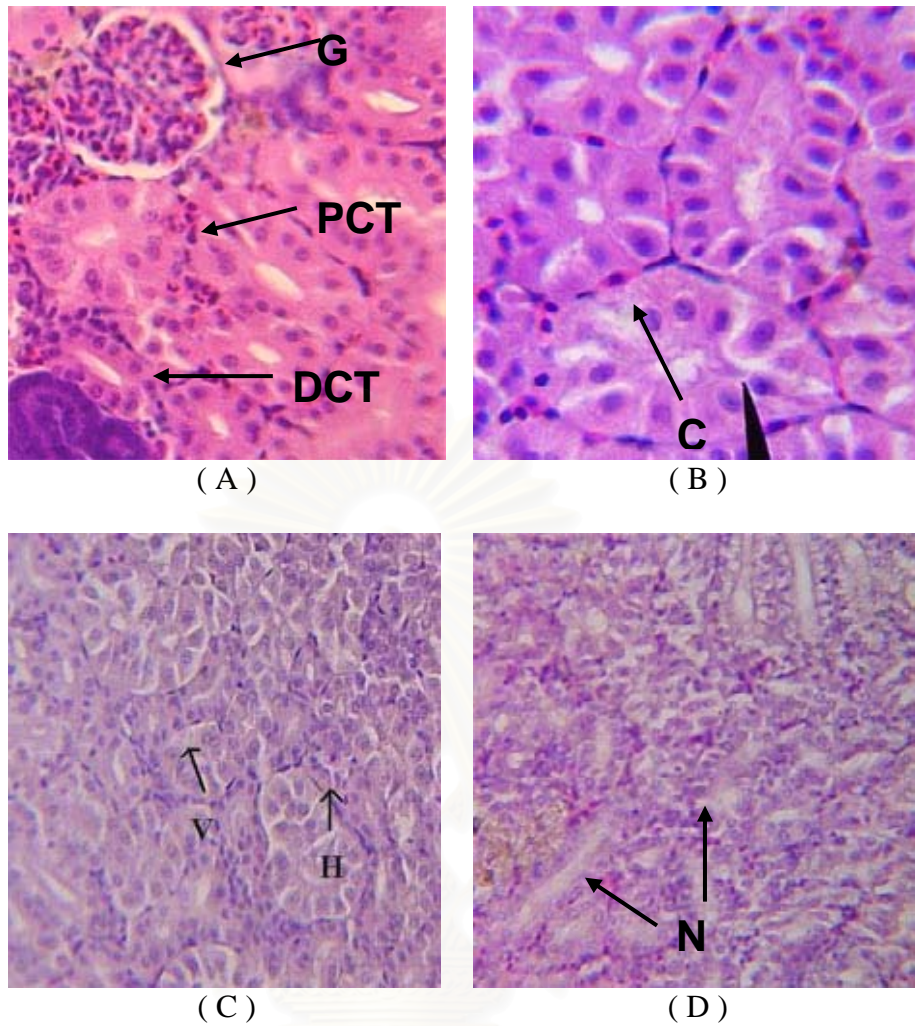
นอกจากผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาแล้ว พบว่าปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 โดยการป้อนติดต่อกันทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ไม่แสดงอาการผิดปกติภายนอกมีอาการไม่แตกต่างจากปลาในกลุ่มปกติที่ไม่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี 1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



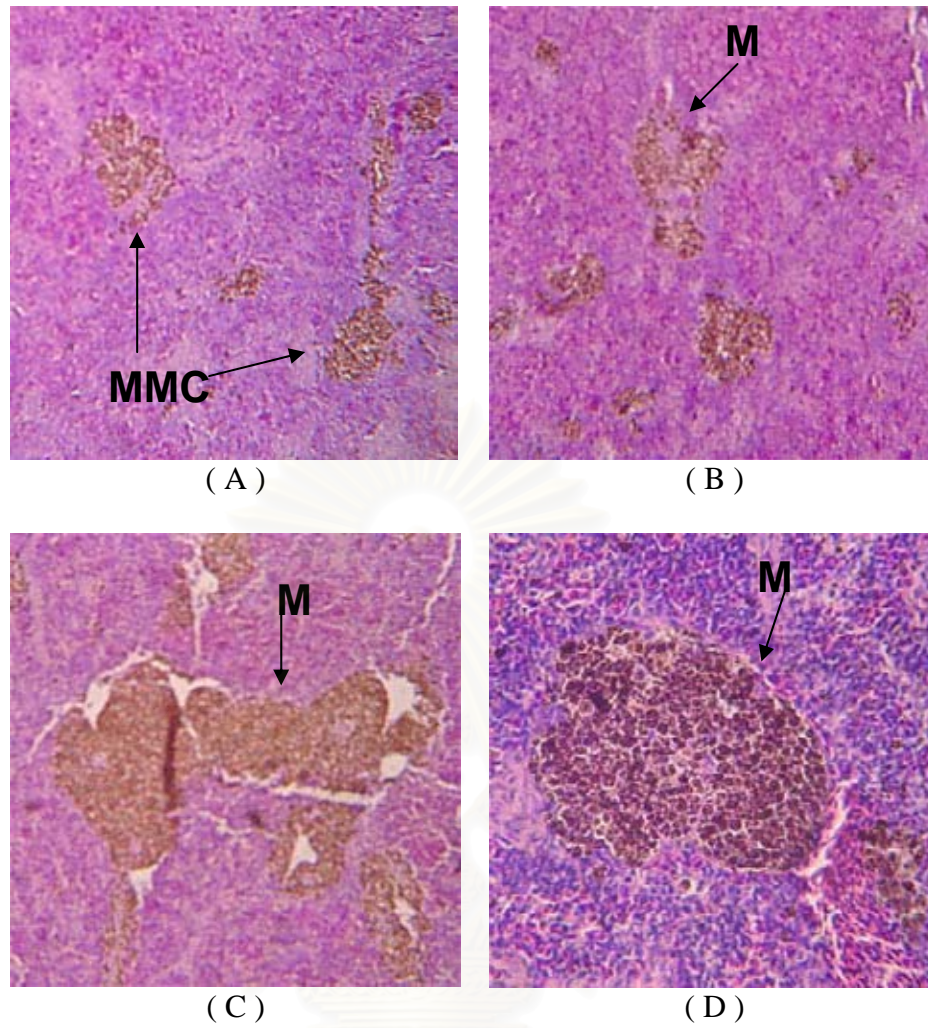
รูปที่ 30 ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับของปลานิล

- (A) ปลานิลปกติ พบเซลล์ตับ (hepatocyte) (H) (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (B) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb หลังได้รับสาร 24 ชั่วโมง พบลักษณะของนิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างต่างกัน (Pleomorphic nucleus) (P) (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (C) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb หลังได้รับสาร 48 ชั่วโมง พบลักษณะของนิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างต่างกัน (Pleomorphic nucleus) (P) และเซลล์ไขมันแทรกในเนื้อเยื่อเซลล์ตับ(fatty degeneration) (FD) (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (D) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb หลังได้รับสาร 72 ชั่วโมง พบเซลล์ตับถูกทำลาย (hepatocyte degeneration, Necrosis) (N) และเซลล์ตับบางส่วนตาย (hepatocyte necrosis) (N) และเสื่อมสภาพของเซลล์ตับแบบมีไขมันแทรก (fatty degeneration) (FD) (Hematoxylin & Eosin 400X)



รูปที่ 31 ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อไตของปลานิล

- (A) ลักษณะของ proximal convoluted tubule (PCT), distal convoluted tubule (DCT) และ glomerulus (G) ของปลานิลปกติ (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (B) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb หลังได้รับสาร 24 ชั่วโมง พบการเสื่อมสภาพของท่อไตและ การบวมของเซลล์ (Cloudy swelling) (C) (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (C) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb หลังได้รับสาร 48 ชั่วโมง พบลักษณะ vasculature necrosis (V) และ hyaline droplets (H) (Hematoxylin & Eosin 100X)
- (D) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb หลังได้รับสาร 72 ชั่วโมง พบ Karyopyknosis และ necrosis (N) (Hematoxylin & Eosin 100X)



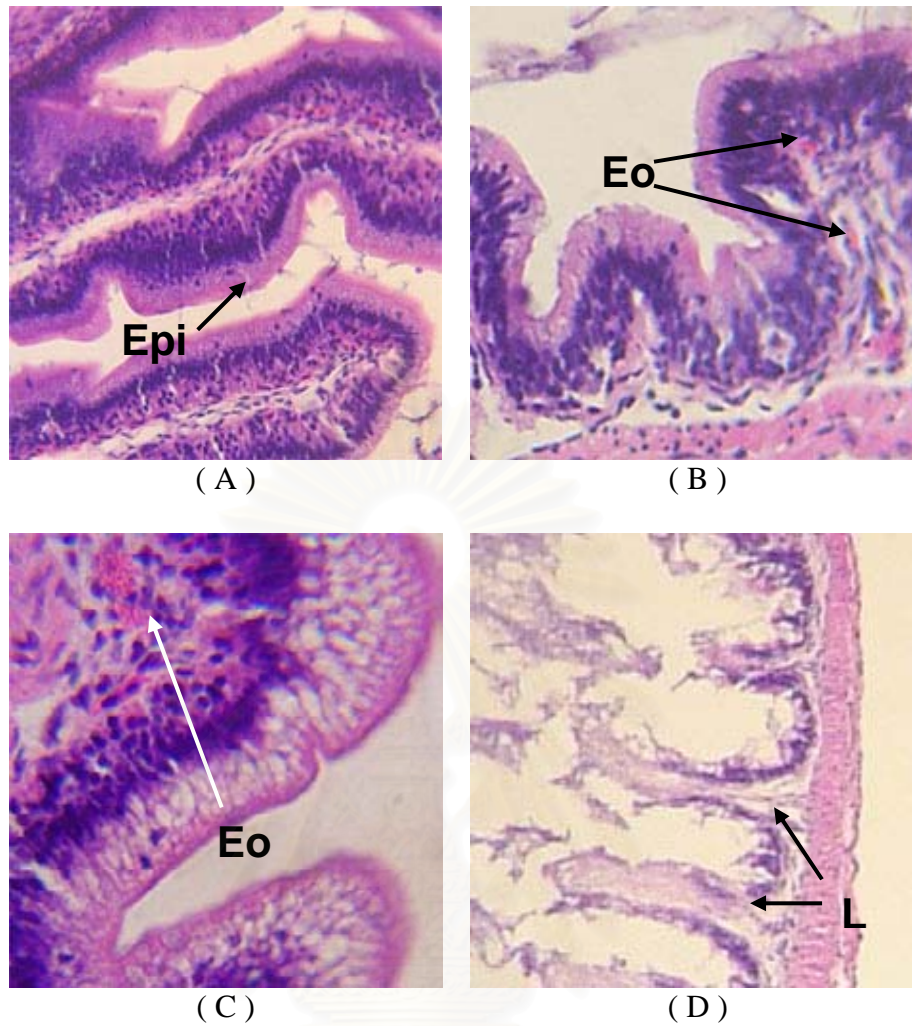
รูปที่ 32 ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาของม้ามของปลานินล

(A) ลักษณะของ Melanomacrophage center (MMC_(s)) ในม้ามของปลานินลปกติ

(B), (C) และ (D) ลักษณะของ Melanomacrophage (M) ในม้ามของปลานินลที่ได้รับอะฟลาทอกซิน

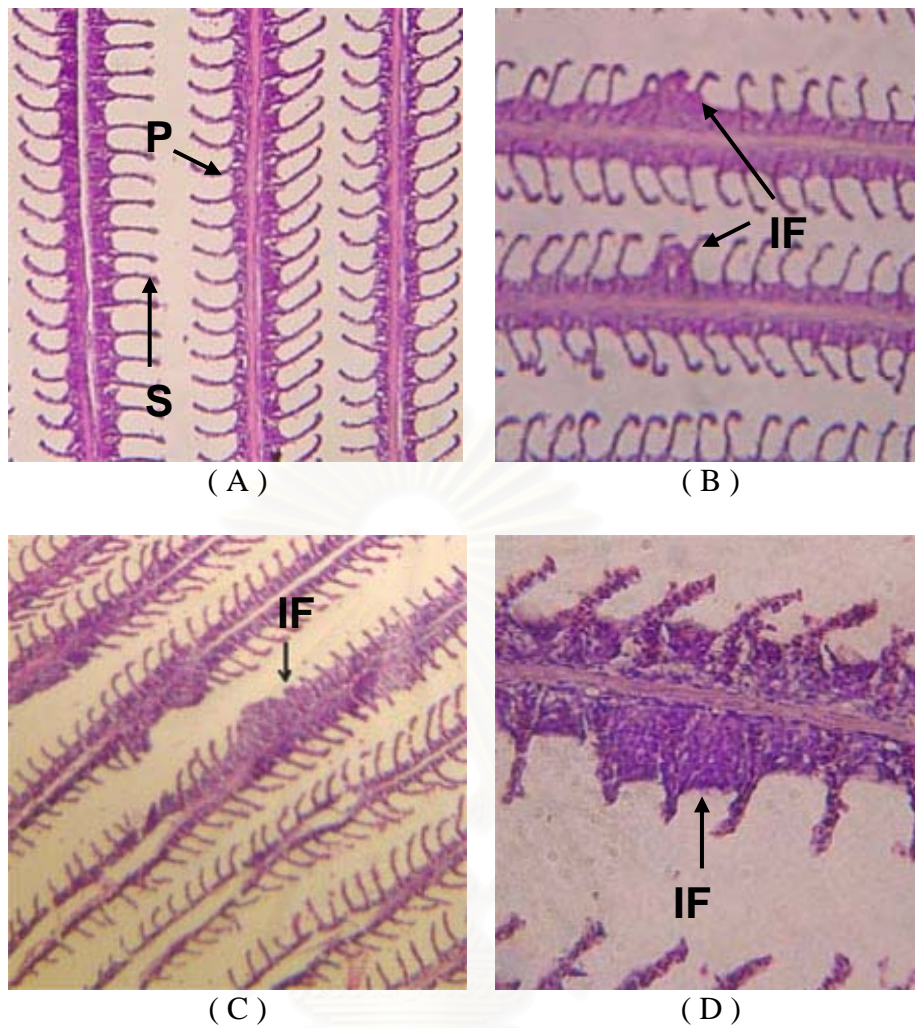
บี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb ตามลำดับ พบการเพิ่มขึ้นของ

melanomacrophage (Hematoxylin & Eosin 100X)



รูปที่ 33 ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาเยื่อบุผนังลำไส้ของปลานิล

- (A) เยื่อบุผนังลำไส้ของปลานิลปกติ (Epithelium) (Epi) (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (B) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb หลังได้รับสาร 24 ชั่วโมง พบ Eosinophilic granule(Eo) ที่ Villus ของเยื่อบุผนังลำไส้ (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (C) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb หลังได้รับสาร 48 ชั่วโมง พบ Enteritis และ Eosinophilic granule (Eo) ใน submucosa (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (D) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb หลังได้รับสาร 48 ชั่วโมง พบการลอกหลุดของเยื่อบุลำไส้จนถึงชั้น Lamina propria (L) (Hematoxylin & Eosin 400X)



รูปที่ 34 ภาพแสดงจุลพยาธิวิทยาโครงสร้างเหงือกปลานิลปกติ

- (A) ปลานิลปกติพบซี่เหงือก (primary lamella) (P) มีลักษณะเป็นเชื่อบุผิวหลายชั้นห่อหุ้มกระดูกอ่อนที่เป็น โครงสร้างและมีกิ่งเหงือก (secondary lamella) (S) เรียงตัวแยกออกมาจากซี่เหงือกทั้งสองข้าง (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (B) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb พบการอักเสบ (inflammation) (IF) ของ primary lamella และ secondary lamella (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (C) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb พบการอักเสบ (inflammation) (IF) ของ primary lamella และ secondary lamella (Hematoxylin & Eosin 400X)
- (D) ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb พบการอักเสบการหนาตัวของเชื่อบุผิว (inflammation) (IF) และการแทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อของเม็ดเลือดขาว (Hematoxylin & Eosin 400X)

ตารางที่ 26 ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของตับในปลาไนที่ ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลา (hr.)	ร้อยละของจำนวนปลาที่พบรอยโรคระดับต่างๆ			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	-	+	+	++
		100%	100%	66.60%
48	-	++	++	++
		33.30%	66.60%	66.60%
72	-	++	++	+++
		66.60%	33.30%	33.30%
96	-	+++	+++	+++
		33.30%	33.30%	66.60%
120	-	+++	++	++
		33.30%	33.30%	66.60%
144	-	++	++	++
		33.30%	66.60%	33.30%
168	-	++	++	+
		33.30%	33.30%	100%
192	-	+	+	+
		100%	100%	100%
216	-	+	+	+
		100%	100%	100%
240	-	+	+	+
		100%	100%	100%

ตารางที่ 27 ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของไตในปลาไนที่ ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลา (hr.)	ร้อยละของจำนวนปลาที่พบรอยโรคระดับต่างๆ			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	-	+	+	++
		100%	100%	66.60%
48	-	+	++	++
		100%	66.60%	66.60%
72	-	++	++	+++
		33.30%	66.60%	33.30%
96	-	+++	++	+++
		33.30%	100%	33.30%
120	-	++	++	++
		66.60%	66.60%	33.30%
144	-	++	++	+
		33.30%	33.30%	100%
168	-	++	+	+
		33.30%	100%	100%
192	-	+	+	+
		100%	100%	100%
216	-	+	+	+
		100%	100%	100%
240	-	+	+	+
		100%	100%	100%

ตารางที่ 28 ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของม้ามในปลาไนที่ ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลา (hr.)	ร้อยละของจำนวนปลาที่พบรอยโรคระดับต่างๆ			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
48	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
72	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
96	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
120	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
144	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
168	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
192	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
216	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%
240	+	+	+	+
	100%	100%	100%	100%

ตารางที่ 29 ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของลำไส้ในปลาไนที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลา (hr.)	ร้อยละของจำนวนปลาที่พบรอยโรคระดับต่างๆ			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	-	+	+	+
		66.60%	100%	100%
48	-	+	++	++
		100%	66.60%	33.30%
72	-	++	++	++
		33.30%	33.30%	66.60%
96	-	+	++	+
		66.60%	33.30%	100%
120	-	++	++	+
		33.30%	33.30%	100%
144	-	+	++	+
		100%	33.30%	100%
168	-	+	++	+
		100%	33.30%	100%
192	-	++	+	+
		33.30%	100%	100%
216	-	+	+	+
		100%	100%	100%
240	-	+	+	+
		100%	100%	100%

ตารางที่ 30 ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเหงือกในปลานิล ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

เวลา (hr.)	ร้อยละของจำนวนปลาที่พบรอยโรคระดับต่างๆ			
	0 ppb	40 ppb	80 ppb	160 ppb
24	-	+	+	+
		33.30%	66.60%	33.30%
48	-	+	++	-
		33.30%	33.30%	
72	-	+	+	++
		33.30%	33.30%	66.60%
96	-	++	+	+
		33.30%	66.60%	33.30%
120	-	++	++	+
		33.30%	33.30%	100%
144	-	+	++	+
		33.30%	33.30%	100%
168	-	++	+	+
		33.30%	66.60%	66.60%
192	-	+	+	+
		33.30%	66.60%	100%
216	-	+	+	+
		66.60%	100%	100%
240	-	+	+	+
		100%	100%	100%

4.4.4 ผลการศึกษาการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1

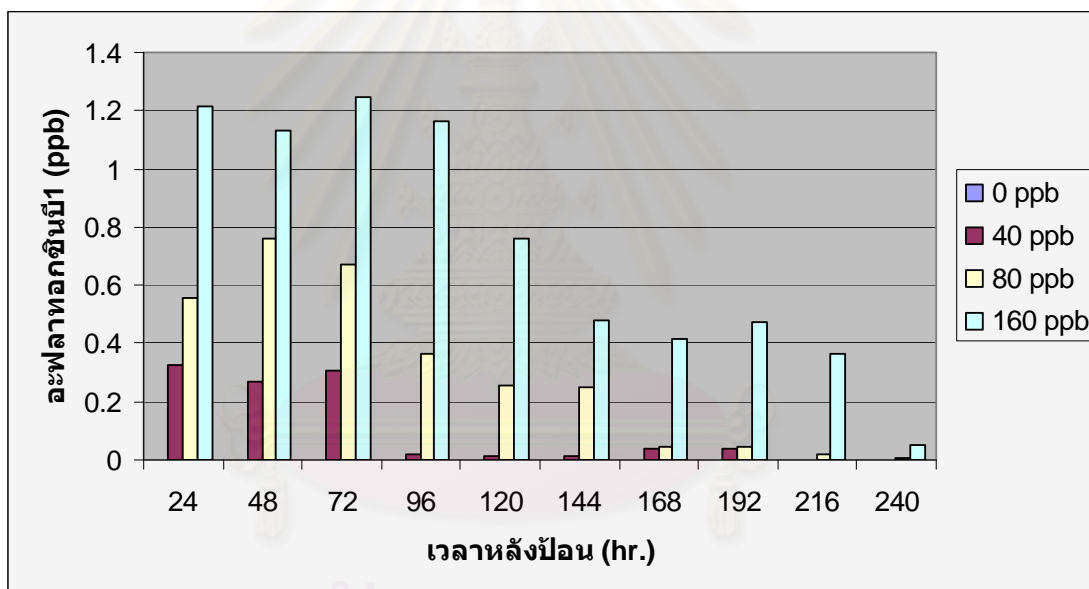
4.4.4.1 การตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกล้ามเนื้อปลานิล (รูปที่ 35)

ระดับของอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ตกค้างในกล้ามเนื้อ พบปริมาณสูงสุด 1.31 ± 0.33 ppb ในเวลา 72 hr. ระดับการตกค้างจะลดลงจนสิ้นสุดการทดลองในทุกกลุ่ม

กลุ่มของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 160 ppb จะพบการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกล้ามเนื้อมากกว่ากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb

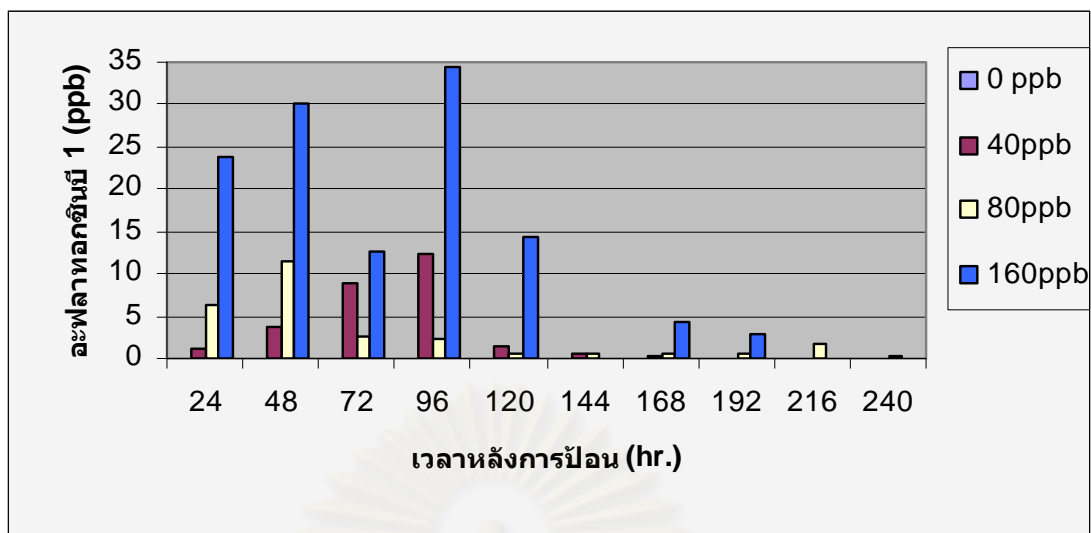
4.4.4.2 การขับออกของอะฟลาทอกซินบี 1 ในอุจจาระปลานิล (รูปที่ 36)

พบปริมาณสูงสุด 34.53 ppb ในเวลา 96 hr. ภายหลังจากชั่วโมงที่ 96 ระดับการขับออกของอะฟลาทอกซินบี 1 ทางอุจจาระจะลดลง จนสิ้นสุดการทดลองในทุกกลุ่ม



รูปที่ 35 แสดงปริมาณการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกล้ามเนื้อของปลานิลที่ได้รับ

อะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย



รูปที่ 36 แสดงปริมาณการขับออกของอะฟลาทอกซินบี 1 ในอุจจาระของปลาที่ได้รับ อะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80 และ 160 ppb ตรวจสอบ ที่ 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 และ 240 hr. หลังจากได้รับสารพิษครั้งสุดท้าย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

การปนเปื้อนของสารพิษที่ผลิตจากเชื้อราโดยเฉพาะอะฟลาทอกซินในวัตถุดิบอาหารสัตว์ นับเป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ และก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก การศึกษาครั้งนี้ได้นำเสนอถึงความเป็นพิษและการตกค้างของสารพิษอะฟลาทอกซิน บี 1 ในปลานิลที่ได้รับสารอะฟลาทอกซินบี 1 ในระดับต่างๆ กัน ซึ่งผลการศึกษานี้พบว่าปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ในระดับสูง (1,500 ถึง 5,000 ppb) จะมีพฤติกรรมการว่ายน้ำผิดปกติ การกินอาหารลดลง อัตราการตายเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับระดับของสารพิษและความไวต่อสารพิษในปลาแต่ละชนิดซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chavez-Sanchez และคณะ (1944) พบว่าปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ในระดับ 940 ถึง 30,000 ppb เป็นเวลา 25 วัน ปลาจะกินอาหารน้อยลง และมีพฤติกรรมที่เชื่องซึม เนื่องจากสารพิษอะฟลาทอกซินจะส่งผลกระทบต่อระบบการทำงานของร่างกายทั้งในส่วนของตับ ไต และระบบทางเดินอาหาร และปลานิลที่กินอาหารที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปริมาณ 1,800 ppb นาน 75 วัน จะทำให้การเจริญเติบโตลดลงซึ่งคล้ายกับในปลาคอดอเมริกันที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ในระดับ 7,520 ถึง 30,000 ppb ในการศึกษาของ Jantrarotai และคณะในปี 1990 และจากการทดลองครั้งนี้หาค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LD_{50}) ของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิลได้ค่า LD_{50} ที่ 96 hr. เท่ากับ 2,120.08 ppb ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาของ Bauer และคณะ (1968) ซึ่งค่า LD_{50} ของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลาเรนโบว์เทราต์ มีค่าเท่ากับ 810 ppb แสดงว่าค่า LD_{50} ในปลาจะมีค่าแตกต่างกันแปรผันตามปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิด ขนาด อายุ ความไวต่อการเกิดพิษ เป็นต้น จากการทดลองครั้งนี้แสดงว่าปลานิลมีความไวต่อการเกิดพิษน้อยกว่าปลาเรนโบว์เทราต์

ค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาวในปลานิลนั้นจัดเป็นข้อมูลพื้นฐานทางสรีรวิทยาที่สำคัญ และเนื่องจากปลาเป็นสัตว์เลือดเย็น อุณหภูมิของร่างกายและองค์ประกอบของเลือดจะเปลี่ยนแปลงตามสภาวะแวดล้อม ผลการทดลองนี้ศึกษาในปลาที่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ในระดับ 40 80 และ 160 ppb ครั้งเดียว และได้รับสารพิษติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน พบว่าปลาที่ได้รับสารพิษมีจำนวนโมโนไซต์ และนิวโทรฟิลเพิ่มสูงขึ้น ส่วนจำนวนลิมโฟไซต์ลดลง จากการทดลองนี้แสดงว่าเมื่อปลานิลได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 จะทำให้เกิดภาวะ neutrophilia, monocytosis และ lymphopenia เนื่องจากเมื่อเกิดการอักเสบกลไกการป้องกันตัวเองของปลาต่อการติดเชื้อก็คือเซลล์เม็ดเลือดขาว เช่น นิวโทรฟิล โมโนไซต์ จะเคลื่อนตัวเข้ามาทำลายเชื้อหรือสิ่งแปลกปลอม ส่วนลิมโฟไซต์เป็นเม็ดเลือดขาวที่จะลดลงในสัตว์ป่วย เนื่องจากเมื่อเกิด acute

systemic infection recirculation lymphocyte จะถูกจับในต่อมน้ำเหลือง ทำให้เกิด lymphopenia ในระยะสั้นๆ (เกลียว, 2540)

ค่าเอนไซม์ที่ใช้ในการตรวจหาความผิดปกติของตับนั้นมีอยู่หลายชนิด ในการทดลองนี้ได้ทำการตรวจเอนไซม์ทั้งหมด 4 ชนิด คือ GPT(Glutamic pyruvic transaminase), GOT (Glutamic oxaloacetic transaminase), ALP(Alkaline phosphatase) และ GGT (Gamma glutamyltransferase) ซึ่งแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะต่อความผิดปกติแตกต่างกัน GPT และ GOT จะถูกปล่อยออกมามากในกระแสเลือดเมื่อเซลล์ตับเกิดการอักเสบหรือถูกทำลาย (inflammation & necrosis) โดย GPT และ GOT มีความไวต่อการทำลายเซลล์ตับอย่างเฉียบพลันและอย่างรวดเร็ว ตามลำดับ ส่วน ALP และ GGT จะถูกปล่อยออกมาเมื่อเซลล์ท่อน้ำดีในตับเกิดการอุดตัน ซึ่ง ALP เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารพิษและตับถูกทำลายร่วมด้วย ส่วน GGT มีความจำเพาะในการวินิจฉัยโรคตับและทางเดินท่อน้ำดีได้ดีกว่า ALP แต่น้อยกว่า GPT และ GOT แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองครั้งนี้ค่าเอนไซม์ที่สูงขึ้นแสดงความผิดปกติของเซลล์ตับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ยังมีความแปรปรวนในระหว่างการทดลองเพราะมีปัจจัยที่ทำให้ค่าไม่สม่ำเสมอ เช่น เกิดการทำลายเม็ดเลือด เลือดมีไขมันมาก เป็นต้นซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Cameron (1989) ศึกษาค่าปกติของเอนไซม์ GPT และ GOT ในปลาเรนโบว์เทราต์มีค่าเท่ากับ 7-23 UL และ 196-511 UL ส่วนค่าเฉลี่ยของ GOT 680±313 UL และค่าเฉลี่ยของ ALP คือ 50±23 UL ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่าเอนไซม์เหล่านี้มีความแปรปรวนสูง นอกจากนี้พบว่าค่า GOT มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสูง อาจเป็นเพราะเอนไซม์ GOT สามารถถูกปล่อยออกมาได้จากเซลล์ของหลายอวัยวะ เช่น หัวใจ กล้ามเนื้อ ไต ม้าม ตับอ่อน และเม็ดเลือดแดง (พรเพ็ญ, 2549)

การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของปลาที่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb ครั้งเดียว และติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน พบการเสื่อมสภาพของเซลล์ตับแบบมีไขมันแทรก (fatty degeneration) กระจายทั่วไป เกิดการตายของเซลล์ตับ และลักษณะของนิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างต่างกัน (Pleomorphic nucleus) พบการเสื่อมสภาพของท่อไต การลอกหลุดบางส่วนของเยื่อผนังลำไส้ และการบวมอักเสบของซีเหงือก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Jantrarotai และ Lovell (1990) พบว่าปลาคอดอเมริกัน (Channel catfish, *Ictalurus punctatus*) ที่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ผสมอาหารขนาด 10,000 พีพีบี นาน 10 สัปดาห์ พบการตายของเซลล์ตับ และการตายของ gastric gland ในส่วนของกระเพาะอาหารของปลา และสอดคล้องกับการทดลองของ Tuan และคณะ (2002) พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมอะฟลาทอกซินบี 1 ขนาด 10,000 ppb จะพบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิสภาพเฉพาะในเซลล์ตับ โดยพบลักษณะการลดลงของ Vacuole ในเซลล์ตับ ลักษณะการตายของนิวเคลียส (Pyknotic nucleus) และลักษณะของนิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างต่างกัน (Pleomorphic nucleus) จากการทดลองนี้แสดงว่าสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 เป็นสารที่มีพิษต่อตับ (Hepatotoxic agent) และมีฤทธิ์เป็นสารก่อมะเร็งในตับ

(Hepatocarcinogen) โดยรอยโรคที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากการที่สารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ถูกกระบวนการสันดาป (Metabolism) โดยเอนไซม์ไซโตโครม พี450 (Cytochrome P450 enzyme) ภายในเซลล์ตับได้สารอะฟลาทอกซินบี 1-8, 9-อีพอกไซด์ ที่ไม่คงตัวซึ่งเป็นสารที่มีพิษต่อยีน (Genotoxicity) โดยสามารถจับตัวอย่างแน่นกับโมเลกุลขนาดใหญ่โดยเฉพาะ ดีเอ็นเอ และสารดังกล่าวยังมีผลทำให้จำนวนโรโบโซมและไมโทคอนเดรียภายในเซลล์ลดจำนวนลงทำให้การทำงานของเซลล์ตับเสียไป (อนงค์, 2546; Gallagher EP. and Eaton DL., 1995) นอกจากนี้พบลักษณะของ Melanomacrophage centers (MMCs) ในม้ามซึ่งไม่แสดงถึงพยาธิสภาพเพราะ Melanomacrophage centers คือ macrophage ที่รวมกันอยู่เป็นกลุ่มเก็บกินเม็ดสี melanin แบบที่เรียกว่า ceroid หรือสารอื่นๆ จะพบอยู่บริเวณเนื้อเยื่อระหว่างไต ม้าม ตับ และต่อมเพศ โดยจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นในกรณีที่มีอายุมากขึ้น และเกิดความเครียด (อัจฉริยา, 2547) จากการทดลองครั้งนี้ปลาในกลุ่มควบคุมที่ป้อนน้ำมันมะกอกติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน มี Melanomacrophage เพิ่มจำนวนมากเช่นเดียวกับในกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินเพราะเกิดจากภาวะเครียดที่มีการจับปลานิลทุกวันซึ่งจัดเป็นส่วนที่เกิดการสะสมอยู่ที่เนื้อเยื่อเท่านั้น

จากการวิเคราะห์ปริมาณของอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ตกค้างในกล้ามเนื้อปลานิลของกลุ่มปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว และติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน พบว่าการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับ 160 ppb จะตกค้างในกล้ามเนื้อ มากกว่าในกลุ่มที่ได้รับ อะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับ 40 และ 80 ppb แต่ปริมาณการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในทุกระดับลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งอยู่ในปริมาณที่ต่ำมากจนไม่พบปริมาณการตกค้างในกล้ามเนื้อเลย ส่วนการจับออกของอะฟลาทอกซินบี 1 ทางอุจจาระในปลานิลของทั้งสองกลุ่มการทดลอง พบว่าระดับการจับออกพบปริมาณมากในระยะแรกๆ และลดลงจนสิ้นสุดการทดลองในทุกระดับเช่นเดียวกัน ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาขับออกของสารพิษในเวลา 7 วัน และ 10 วัน พบว่ามีระดับปริมาณการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในกล้ามเนื้อน้อยมากจนถึงไม่พบและจัดว่าอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าอาจจะมีการเปลี่ยนแปลงของอะฟลาทอกซินบี 1 ไปอยู่ในรูปของเมแทบอลิท์ (metabolites) อื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับ Hussain และคณะ (1993) ตรวจไม่พบอะฟลาทอกซินบี 1 จี 1 และจี 2 ตกค้างในกล้ามเนื้อปลาวอลอาย (walleye fish) ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ในระดับ 50 และ 100 ppb เป็นเวลา 2 สัปดาห์ และไม่พบอะฟลาทอกซินตกค้างในกล้ามเนื้อปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี 1 ในระดับ 50 100 500 1,000 และ 2,500 ppb เป็นเวลา 5 สัปดาห์ (อรอุษา, 2548)

จากการทดลองนี้แสดงว่าปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ปนเปื้อนในอาหารที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb มีกลไกในการกำจัดและขับสารพิษออกจากร่างกายในเวลา 7-10 วัน เพื่อลดความเป็นพิษได้ นอกจากนี้ประเทศไทยได้กำหนดให้มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในอาหารได้ไม่เกิน 20 ppb (เขวามาลย์, 2543) ผลจากการศึกษาครั้งนี้ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ

ในการบริหารจัดการสุขภาพปลาเพื่อลดผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นจากการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในอาหารสัตว์น้ำได้

5.2 สรุปผลการวิจัย

1. ค่า LD_{50} ของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิลอายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 30 g. ที่ 96 hr. เท่ากับ 2,120.80 ppb โดยทำการศึกษาในสภาวะแวดล้อมของคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลองคือ อุณหภูมิ 27 °C, ความเป็นกรด-ด่าง 7.6-8, ค่าแอมโมเนีย 1-3 ppm, ค่าไนไตรต์ 0.5-3 และค่าบีโอดี 17-37 mg/l
2. อาการที่เกิดจากความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินบี 1 มีความรุนแรงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารพิษและระยะเวลาที่ได้รับสารพิษ ปลานิลทดลองหาค่า LD_{50} ที่ 96 hr. ได้รับ อะฟลาทอกซินบี 1 ที่ 1,500 ppb แสดงอาการลำตัวเอียงขณะว่ายน้ำ บางตัวลอยนิ่งอยู่กับที่ ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ 2,500 ppb แสดงอาการว่ายน้ำขึ้นมาที่ผิวน้ำ ผิวน้ำ และครีบเปื่อย เมื่อตรวจดูที่เหงือกพบจุดเลือดออกทั่วไป ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ 5,000 ppb พบว่าปลากินอาหารลดลง ผอม ผิวน้ำและครีบเปื่อย เมื่อตรวจที่เหงือกพบจุดเลือดออกทั่วไป
3. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อค่าทางโลหิตวิทยาพบว่า ปลานิลที่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 ในระดับ 40 80 และ 160 ppb ครั้งเดียว และติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน พบว่าจำนวนโมโนไซต์ และนิวโทรฟิลเพิ่มสูงขึ้น ส่วนจำนวนลิมโฟไซต์ลดลง จากการทดลองนี้แสดงว่าเมื่อปลานิลได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินบี 1 จะทำให้เกิดภาวะ neutrophilia , monocytosis และ lymphopenia
4. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อค่าเอนไซม์ตับพบว่าค่าการเพิ่มของค่าเอนไซม์ที่เห็นได้เด่นชัดในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว และติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb คือเอนไซม์ GPT และ GOT เนื่องจากสารพิษอะฟลาทอกซินส่งผลให้เกิดการอักเสบและทำลายเซลล์ตับ และในกลุ่มที่ได้รับเพียงครั้งเดียวจะพบการเปลี่ยนแปลงในระยะเวลาที่สั้นกว่ากลุ่มที่ได้รับติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน
5. อะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์ตับโดยทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์ตับแบบมีไขมันแทรก (fatty degeneration) เซลล์ตับถูกทำลาย (hepatocyte degeneration) เซลล์ตับบางส่วนตาย (hepatocyte necrosis) ผลต่อไตโดยทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของท่อไตทั้งส่วน proximal และ distal convoluted tubule กระจายทั่วไป (generalize degeneration of proximal and distal convoluted tubule) ผลต่อม้าม โดยทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ melanomacrophage โดยพบรวมกลุ่มอยู่ใน Melanomacrophage center (MMCs) ผลต่อลำไส้ โดยทำให้เกิดการลอกหลุดของเยื่อผนังลำไส้ และผลต่อเหงือก โดยทำให้เกิดการบวมอักเสบของ primary

และ secondary lamella การ torsion และ fusion ของ secondary lamella ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb ครั้งเดียว และติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน ไม่มีความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์ตับ ไต ม้าม ลำไส้ ยกเว้นเหงือก โดยพบว่าเมื่อหยุดให้อะฟลาทอกซินบี 1 แล้วเป็นเวลา 7-10 วัน ปลายังคงแสดงความผิดปกติที่เกิดจากรอยโรคดังกล่าว ยกเว้นรอยโรคที่เหงือกตรวจไม่พบที่ระดับความเข้มข้น 40 และ 160 ppb โดยให้ครั้งเดียวที่เวลา 168 hr. แสดงว่าอวัยวะเหล่านี้ยังกลับคืนสู่สภาพปกติไม่ได้ในระยะเวลา 7-10 วัน หลังหยุดให้สารพิษแล้ว

6. ปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 40, 80 และ 160 ppb ครั้งเดียว และติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน พบปริมาณการตกค้างสูงสุดในกล้ามเนื้อของปลานิลที่ได้รับที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb ปริมาณ 0.93 ± 0.35 ppb ที่ 96 hr. และ 1.31 ± 0.33 ppb ที่ 72 hr. ตามลำดับ จากนั้นปริมาณการตกค้างจะลดลงจนสิ้นสุดการทดลองในทุกระดับความเข้มข้น การขับออกของอะฟลาทอกซินในอุจจาระปลานิล พบว่าปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb ทั้งได้รับครั้งเดียวและติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน จะมีปริมาณการขับออกสูงสุด 8.32 ppb ที่ 24 hr. และ 34.53 ที่ 96 hr. ตามลำดับ และปริมาณการขับออกจะลดลงตลอดการทดลองในทุกระดับความเข้มข้น แสดงว่าตรวจไม่พบการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในเวลา 7-10 วัน หลังจากหยุดให้สารพิษ

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. การตรวจวัดเอนไซม์ตับเพื่อบ่งชี้ถึงความผิดปกติของเซลล์ตับหากมีการแตกของเม็ดเลือดแดงในขณะที่เก็บตัวอย่างอาจทำให้ค่าเอนไซม์ที่ได้ต่างจากความเป็นจริง ดังนั้นในขั้นตอนการเจาะเลือดและการเก็บตัวอย่างซีรั่มควรทำด้วยความระมัดระวัง
2. ขนาด อายุ และน้ำหนักของปลา มีผลกับการตอบสนองต่อสารพิษอะฟลาทอกซิน ดังนั้นในการศึกษาควรเลือกปลาที่มีความแตกต่างกันน้อยที่สุดเพื่อให้ผลในการศึกษาที่ถูกต้อง
3. การเก็บตัวอย่างทางจุลพยาธิวิทยาจะต้องดำเนินการอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำมีอัตราการสลายตัวเอง (autolysis) ค่อนข้างเร็ว โดยเฉพาะในที่มีอุณหภูมิสูงซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการวินิจฉัยพยาธิสภาพได้

ปัจจุบันการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในวัตถุดิบอาหารสัตว์และผลผลิตทางการเกษตรยังคงเป็นปัญหาสำคัญสำหรับประเทศไทย ซึ่งอยู่ในภูมิภาคเขตร้อนชื้นและมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดเชื้อราที่สร้างสารพิษนี้ได้ อันตรายที่จะเกิดขึ้นต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อมจึงไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ แต่อย่างไรก็ตาม การควบคุม ป้องกัน และตรวจสอบอาหารให้ปลอดภัยจากสารพิษก่อนนำมาบริโภค รวมทั้งระยะเวลาที่จะตรวจไม่พบสารพิษตกค้างในอาหาร จึงใช้เป็นข้อมูลสำคัญในการประเมินความปลอดภัยหรือความเสี่ยงอันตรายของผู้บริโภค รวมทั้งประเมิน

ความสูญเสียหรือความคุ้มทุนของอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ได้ จากการทดลองครั้งนี้สามารถให้ข้อมูลเพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาให้มีคุณภาพผลผลิตที่ปลอดจากสารพิษอะฟลาทอกซินตกค้างและได้มาตรฐานอย่างสม่ำเสมอ รวมทั้งเผยแพร่เป็นความรู้ให้แก่เกษตรกรและผู้เกี่ยวข้อง นำไปใช้ให้เกิดประโยชน์เพื่อแก้ไขปัญหาและลดอันตรายที่จะเกิดขึ้นจากการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินได้อย่างดียิ่ง



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เกรียงศักดิ์ ไพโรหิรัญกิจ. 2539. เอกสารประกอบการสอนวิชาโลหิตวิทยาคลินิกทางสัตวแพทย์.

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: 83-87.

คณาวัฒน์ หรินทรานนท์. 2542. การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาและการขับออกทางอุจจาระของอะฟลาทอกซินบี1 ภายหลังให้ลูกไก่กระทงกินครั้งเดียว. วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิต สาขาวิชาพยาธิชีววิทยาทางสัตวแพทย์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จักรกริสน์ เนื่องจำนงค์. 2540. อาการเป็นพิษของสัตว์ที่ได้รับสารพิษจากเชื้อรา. ในการประชุมวิชาการเรื่อง สารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์, หน้า 91-93. 13-14 มีนาคม ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เฉลียว ศาลากิจ. 2548. โลหิตวิทยาทางสัตวแพทย์. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์อักษรสมัย.

ดวงจันทร์ สุขประเสริฐ และวนิดา ยุธยาติ. 2545. สารพิษอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศ. วารสารสุขภาพอาหาร 4 (กุมภาพันธ์-พฤษภาคม): 33-37.

นพดล สุกระกาญจน์. 2549. คู่มือปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ: 59-71.

พรเพ็ญ ศรีสวัสดิ์. 2549. พยาธิวิทยาคลินิก. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์เดือนตุลา จำกัด.

ภัทนีย์ เล็กศรีสมพงษ์. 2540. สารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์. ในการประชุมวิชาการเรื่อง สารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์, หน้า 85-89. 13-14 มีนาคม ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มนกานต์ อินทรกำแหง, พิภพ สดสี, ไพศาล หมั่นเดช, ชีระยุทธ แก้วอมตวงศ์, จิโรจ ศศิปรียจันทร์, อนงค์ บินทวิหค และ อัจฉริยา ไสละสูต .2545. การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาเคมี และจุลพยาธิวิทยาเอนไซม์ของตับภายหลังการกินอะฟลาทอกซินบี1ครั้งเดียวในลูกไก่กระทง. เวชสารสัตวแพทย์ 32 (มีนาคม): 36-44.

เขาวมาลัย คำเจริญ. 2543. ความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินต่อปลาสัตว์. กรุงเทพฯ: กรมปลาสัตว์.

วิมล เหมะจันทร์. 2540. ชีววิทยาปลา. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศุภกิจ อังศุภากร. 2540. โรคของสัตว์เศรษฐกิจที่เกิดจากสารพิษจากเชื้อรา ณ พ.ศ.2540. ในการประชุมวิชาการเรื่อง สารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์, หน้า 109-117. 13-14 มีนาคม ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุนทรี่ อภิบาล. 2549. พยาธิวิทยาคลินิก. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์เดือนตุลา จำกัด.

- โสมทัต วงศ์สว่าง. 2540. การกกระบบภูมิคุ้มกันโดยสารพิษจากเชื้อรา. ในการประชุมวิชาการ เรื่อง สารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์, หน้า 135-138. 13-14 มีนาคม ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อัจฉริยา ไสละสูต. 2547. การชันสูตรซากสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล ปอยท์ กราฟิค.
- อุดม เรืองนพคุณ. 2547. การเลี้ยงปลานิล. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: อักษรสยามการพิมพ์.
- อนงค์ บินทวิหค. 2540. สารพิษอะฟลา:ความสัมพันธ์ระหว่างความเป็นพิษกับการเกิดมะเร็งตับในสัตว์ปีก. ในการประชุมวิชาการเรื่อง สารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์, หน้า 119-133. 13-14 มีนาคม ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อนงค์ บินทวิหค. 2546. สารพิษจากเชื้อรา:อะฟลาทอกซิน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อมรา ชินภูติ และ ชวลิต ตริกรุณาสวัสดิ์. 2547. คู่มือ การใช้ชุดตรวจสอบสารอะฟลาทอกซินสำเร็จรูป DOA-Aflatoxin ELISA Test kit. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด.
- อรรณ นวิภาพ. 2540. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับเชื้อรา. ในการประชุมวิชาการเรื่อง สารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์, หน้า 13-31. 13-14 มีนาคม ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อรอุษา อุดัน โน, สุชาสินี ไชยศิลป์สังข์, นพดล ศุภระกาญจน์ และกิจการ สุภมาตย์. 2548. ผลของอะฟลาทอกซินบี 1 ต่อปลานิลแดงแปลงเพศ. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 27: 187-197.
- อรัญญา พลพรพิสิฐ. 2544. เอกสารประกอบการสอนวิชา Aquatic animal medicine. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- Anonymous. (n.d.) [online]. Available from: <http://www.aflatoxin.info/health.asp> [2005, Aug 3]
- Anonymous. (n.d.) [online]. Available from: http://www.rdi.ku.ac.th/FOODS/Varapa-aflatoxin/index_aflatoxin.html [2004, Sep 11]
- Anonymous. (n.d.) [online]. Available from: <http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap41.html> [2004, Sep 11]
- Bauer D.H., Lee D.J. and Sinnhuber R.O. 1968. Acute toxicity of aflatoxin B 1 and G 1 in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 15(2): 415-419.

- Bintvihok A., Shoya S., Sutherat S., Nagasawa S. and Sato M. 1991. Effects of aflatoxin B1 in ducklings: Effects on liver lesions. *ACIAR Proceedings* 36: 233-235.
- Bintvihok A., Kiatipattanasakul A. and Doi K. 1997. Acute toxicity of aflatoxin B1 in three species of domestic fowls. *J. Toxicol. Pathol.* 10:149-152.
- Cameron, D., 1989. Evaluation of Current Physiological and Nutritional Status of Salmonids in Tasmania. *Fin Fish Workshop* : 260-269.
- Chavez-Sanchez Ma.C., Martinez Palacios C. A. and Osorio Moreno I. 1994. Pathological effects of feeding young *Oreochromis niloticus* diets supplemented with different levels of aflatoxin B1. *Aquaculture*. 127(1): 49-60.
- El-Elaimy I.A., Sakr S.A., El-Saadany M.M. and Gabr S.A. 1993. Electron microscopic study of the liver of *Oreochromis niloticus* exposed to neopybuthrin. *Bull Environ Contam. Toxicol*: 682-688.
- Ellis W.O., Smith J.P., Simpson B.K. and Oldman J.H. 1991. Aflatoxicosis in fowl : occurrences, biosynthesis, effects on organisms, detection and method control. *Critical Rev. Food Sci and Nutr.* 30: 403-439.
- Ellis R.W., Clement M., Tibbetts A. and Winfree R. 2000. Reduction of the bioavailability of 20 µg/kg aflatoxin in trout feed containing clay. *Aquaculture*. 183:179-188.
- Espada Y., Damingo M., Gomez J. and Calvo M.A. 1992. Pathological lesions following an experimental intoxication with aflatoxin B1 in broiler chickens. *Res. Vet. Sci.* 53: 275-279.
- Gallagher E.P. and Eaton D.L. 1995. In vitro biotransformation of aflatoxin B1 (AFB1) in channel catfish. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 132: 82-90.
- Hardy R.W., Koshio S. and Watanabe T. 2001. Effects of aflatoxin B1 on growth performance, blood components, immune function and histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon Fabricius*). *Aquaculture Research*. 32:388-398.
- Hussain M., Wilson T. and Summerfelt R.C. 1993. Effect of aflatoxin-contaminated feed on morbidity and residues in walleye fish. *Veterinary and Human Toxicology*. 35(5): 396-398.
- Jantrarotai W. and Lovell R.T. 1990. Subchronic Toxicity of Dietary Aflatoxin B1 to channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*. 2: 248-254.
- Klatphan S. 2004. Aflatoxin [Online]. Development of Aflatoxin Analysis Laboratory. Available from: <http://www.ku.ac.th/kaset60/Theme04/theme-04-34/index-04-34.html> [2004, Sep 11]

- Leeson S., Diaz G. and Summers J.D. 1995. Aflatoxins. Poultry Metabolic Disorder and Mycotoxins: 249-298.
- Lim H.A., Lim S.L. and Ibrahim C.O. 2001. Contamination of palm kernel meal with *Aspergillus flavus* affects its nutritive value in pelleted feed for tilapia, *Oreochromis mossambicus* . Aquaculture Research. 32: 895-905.
- Ostrowski-Meissner H.T., LeaMaster B.R., Duerr E.O. and Walsh W.A. 1994. Sensitivity of the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, to aflatoxin B1. Aquaculture. 131: 155-164.
- Pongpratum K. 2004. Aflatoxin [Online]. Available from: <http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/kanokrat.html> [2004, Sep 11]
- Tuan N.A., Grizzle J.M., Lovell R.T., Manning B.B. and Rottinyhavs G.E. 2002. Growth and hepatic lesions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing aflatoxin B1. Aquaculture. 212: 311-319.
- Wang J.S. and Tang L. 2004. Epidemiology of aflatoxin exposure and human liver cancer. Journal Toxicology. 23(2/3): 249-271.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การศึกษาค่าปกติของปลาชนิดที่ไม่ได้รับสารอะฟลาทอกซินบี 1 และศึกษาสภาวะแวดล้อมในการเลี้ยงปลาชนิด

*ตารางที่ 1 แสดงระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียอิสระ (NH_3) : ppm ที่ pH ต่างๆ

ค่าแอมโมเนียจากการเทียบสี (total Ammonium : ppm)	ค่าพีเอช (pH) ที่ 28° ซ.						
	7.0	7.6	8.0	8.3	8.6	9.0	9.3
0.25	0.00	0.00	0.02	0.04	0.06	0.10	0.14
0.5	0.00	0.01	0.03	0.07	0.11	0.21	0.29
1	0.00	0.01	0.06	0.13	0.21	0.41	0.57
2	0.01	0.06	0.13	0.25	0.44	0.82	1.14
3	0.02	0.09	0.21	0.39	0.64	1.24	1.71
5	0.03	0.15	0.33	0.65	1.09	2.06	2.85
10	0.07	0.30	0.66	1.30	2.18	4.12	5.70

□ ปลอดภัย

□ อันตรายริบแก้ไข

□ อันตรายมาก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

การหาค่า Median Lethal Doses (LD₅₀) ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี 1

ที่ 24 ชั่วโมง

* * * * * PROBIT ANALYSIS * * * * *

DATA Information

7 unweighted cases accepted.
 0 cases rejected because of missing data.
 1 case is in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Parameter estimates converged after 15 iterations.
 Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CON	.00032	.00014	2.19567

	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-2.30531	.48485	-4.75469

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 2.255 DF = 5 P = .813

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Observed and Expected Frequencies

	Number of CON Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	10.0	.0	.106	-.106	.01057
250.00	10.0	.0	.130	-.130	.01302
500.00	10.0	.0	.159	-.159	.01593
1000.00	10.0	.0	.235	-.235	.02346
1500.00	10.0	1.0	.338	.662	.03379
2500.00	10.0	1.0	.656	.344	.06559
5000.00	10.0	2.0	2.377	-.377	.23774

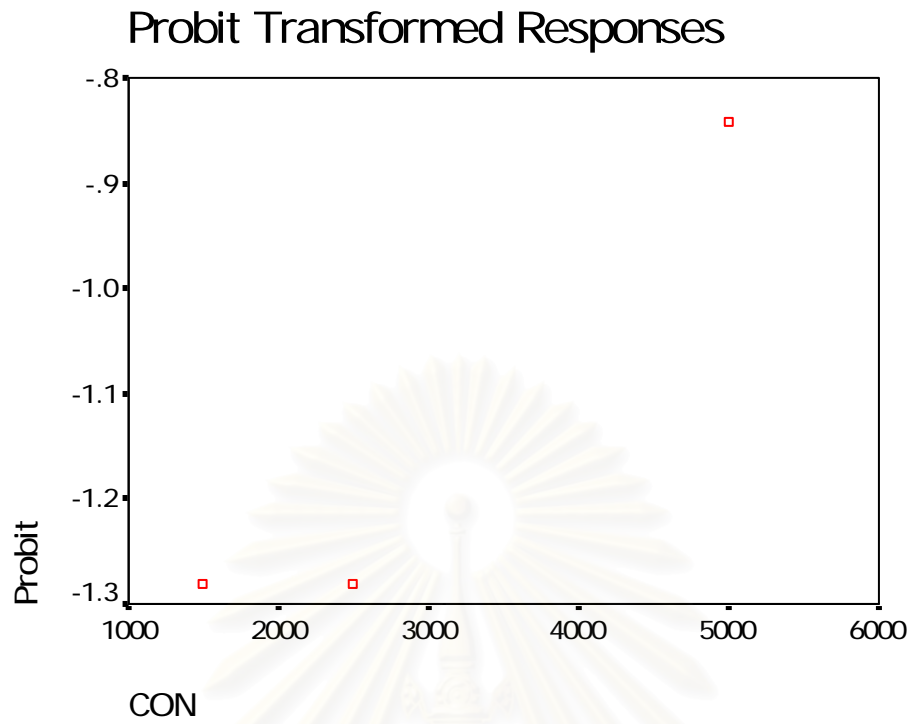
* * * * * PROBIT ANALYSIS * * * * *

Confidence Limits for Effective CON

95% Confidence Limits

Prob	CON	Lower	Upper
.01	-66.09001	-24249.14865	1808.05600
.02	790.20829	-16485.12240	2474.44388
.03	1333.50211	-11670.45860	3008.60755
.04	1742.20089	-8175.86190	3537.72541
.05	2074.64581	-5493.36049	4128.20538
.06	2357.60866	-3413.81038	4834.47650
.07	2605.71172	-1833.12481	5696.41117
.08	2827.85842	-669.69927	6720.06071
.09	3029.89195	168.37420	7871.04453
.10	3215.86415	774.29790	9096.05132
.15	3985.83875	2260.62212	15190.26852
.20	4597.79015	2929.87919	20545.78547
.25	5122.78997	3376.55183	25267.83248
.30	5594.25603	3727.93089	29558.12341
.35	6031.13959	4028.52620	33558.72710
.40	6445.69937	4299.04810	37369.62244
.45	6846.79076	4551.13769	41066.35124
.50	7241.52299	4792.38161	44711.31870
.55	7636.25523	5028.44089	48361.47081
.60	8037.34661	5264.16068	52074.56942
.65	8451.90639	5504.32109	55915.82625
.70	8888.78996	5754.35865	59966.98768
.75	9360.25602	6021.36520	64341.65112
.80	9885.25583	6315.92557	69215.81040
.85	10497.20723	6656.35137	74900.15862
.90	11267.18183	7081.21073	82055.84068
.91	11453.15403	7183.35055	83784.63136
.92	11655.18757	7294.12859	85662.91060
.93	11877.33427	7415.72963	87728.38465
.94	12125.43733	7551.30282	90035.43169
.95	12408.40017	7705.64423	92666.91151
.96	12740.84510	7886.62645	95758.91067
.97	13149.54387	8108.65495	99560.59673
.98	13692.83769	8403.10029	104614.97887
.99	14549.13599	8865.80274	112582.69055

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่ 48 ชั่วโมง

* * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * *

DATA Information

7 unweighted cases accepted.
 0 cases rejected because of missing data.
 1 case is in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Parameter estimates converged after 12 iterations.
 Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CON	.00025	.00011	2.22360
	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-1.60918	.30971	-5.19582

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 2.516 DF = 5 P = .774

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * *

Observed and Expected Frequencies

CON	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	10.0	.0	.538	-.538	.05379
250.00	10.0	.0	.609	-.609	.06093
500.00	10.0	1.0	.688	.312	.06879
1000.00	10.0	1.0	.868	.132	.08683
1500.00	10.0	2.0	1.082	.918	.10819
2500.00	10.0	2.0	1.617	.383	.16168
5000.00	10.0	3.0	3.572	-.572	.35720

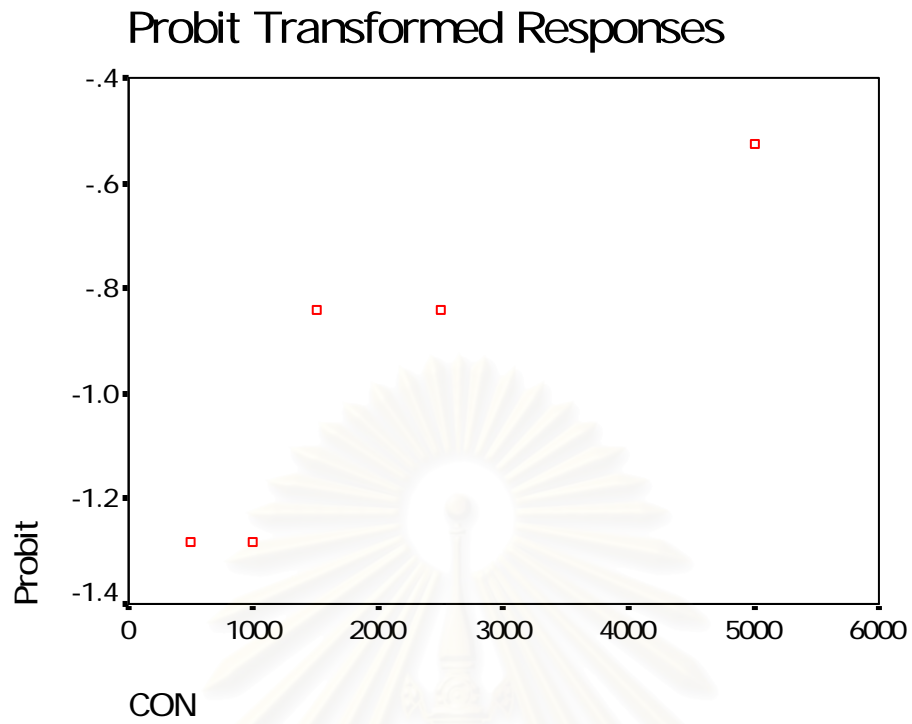
-

* * * * * PROBIT ANALYSIS * * * * *

Confidence Limits for Effective CON

Prob	95% Confidence Limits		
	CON	Lower	Upper
.01	-2884.30887	-40318.34326	-262.34925
.02	-1787.97655	-31147.74631	397.72939
.03	-1092.38885	-25355.62487	842.85643
.04	-569.12531	-21022.71926	1201.98989
.05	-143.49079	-17523.71462	1519.59708
.06	218.79104	-14574.30779	1818.72636
.07	536.44133	-12022.53664	2115.28588
.08	820.85928	-9780.20455	2423.29417
.09	1079.52603	-7795.14400	2757.66617
.10	1317.62919	-6038.52962	3136.09325
.15	2303.43991	-458.57055	6395.77627
.20	3086.93101	1381.75807	11580.91496
.25	3759.09661	2179.16067	16810.73776
.30	4362.72210	2700.87771	21701.65539
.35	4922.07107	3113.43385	26304.71193
.40	5452.83855	3471.16910	30706.30263
.45	5966.36222	3798.25290	34983.92177
.50	6471.74417	4108.08338	39205.78840
.55	6977.12612	4409.56164	43436.00726
.60	7490.64980	4709.69733	47740.57450
.65	8021.41727	5015.02629	52194.57150
.70	8580.76625	5332.72945	56892.48101
.75	9184.39173	5672.00161	61965.84353
.80	9856.55734	6046.44678	67618.62375
.85	10640.04844	6479.51635	74211.02149
.90	11625.85915	7020.54830	82509.63163
.91	11863.96232	7150.70953	84514.51186
.92	12122.62906	7291.91855	86692.73539
.93	12407.04701	7446.97040	89088.02393
.94	12724.69731	7619.89423	91763.43077
.95	13086.97913	7816.82699	94815.03411
.96	13512.61366	8047.84364	98400.62929
.97	14035.87719	8331.38243	102809.12957
.98	14731.46490	8707.60417	108670.15631
.99	15827.79722	9299.23899	117909.19709

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่ 72 ชั่วโมง

***** PROBIT ANALYSIS *****

DATA Information

7 unweighted cases accepted.
0 cases rejected because of missing data.
1 case is in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Parameter estimates converged after 9 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CON	.00028	.00010	2.74803
	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-1.18532	.25337	-4.67832

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 2.659 DF = 5 P = .752

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

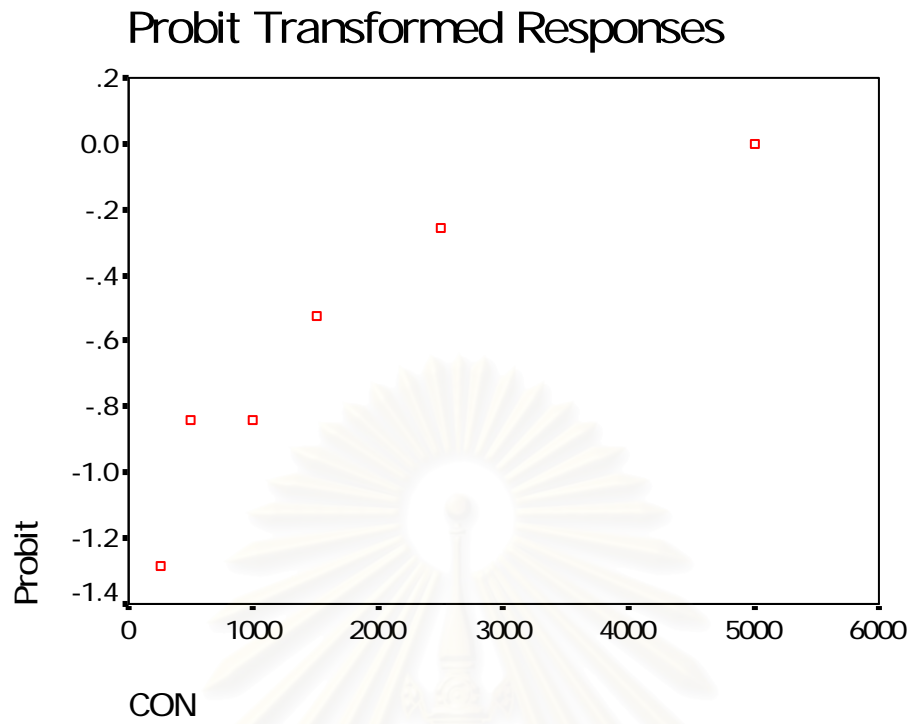
Observed and Expected Frequencies

CON	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	10.0	.0	1.179	1.179	.11794
250.00	10.0	1.0	1.322	-.322	.13220
500.00	10.0	2.0	1.476	.524	.14760
1000.00	10.0	2.0	1.819	.181	.18188
1500.00	10.0	3.0	2.207	.793	.22075
2500.00	10.0	4.0	3.112	.888	.31116
5000.00	10.0	5.0	5.793	-.793	.57933

***** PROBIT ANALYSIS *****

Confidence Limits for Effective CON

Prob	95% Confidence Limits		
	CON	Lower	Upper
.01	-4117.75420	-19128.78846	-1462.48430
.02	-3133.99199	-15731.19235	-855.28666
.03	-2509.82640	-13582.89164	-462.67412
.04	-2040.29095	-11972.44468	-161.69103
.05	-1658.36008	-10667.40646	88.07164
.06	-1333.27692	-9561.25311	305.29805
.07	-1048.24258	-8595.93084	500.32095
.08	-793.02833	-7736.21848	679.55929
.09	-560.92118	-6959.13371	847.35860
.10	-347.26617	-6248.88190	1006.87415
.15	537.32267	-3393.95020	1753.01168
.20	1240.36583	-1333.29926	2554.37641
.25	1843.51426	106.51839	3569.91337
.30	2385.16020	1041.91318	4839.50290
.35	2887.07588	1666.35909	6258.30358
.40	3363.34478	2132.76827	7730.73560
.45	3824.14045	2519.46556	9219.88960
.50	4277.63038	2864.16528	10721.30027
.55	4731.12031	3186.96539	12244.61054
.60	5191.91598	3500.40991	13807.01731
.65	5668.18488	3813.96161	15432.30681
.70	6170.10056	4136.42681	17153.08820
.75	6711.74649	4477.91370	19016.58563
.80	7314.89493	4852.49438	21097.35956
.85	8017.93809	5283.72374	23528.14588
.90	8902.52693	5820.53926	26592.39958
.91	9116.18194	5949.46436	27333.24184
.92	9348.28909	6089.25690	28138.33340
.93	9603.50334	6242.67355	29023.86744
.94	9888.53768	6413.68752	30013.19864
.95	10213.62083	6608.34968	31141.91623
.96	10595.55171	6836.59267	32468.47414
.97	11065.08716	7116.59275	34099.90411
.98	11689.25274	7487.93709	36269.47301
.99	12673.01496	8071.59313	39690.61072



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่ 98 ชั่วโมง

***** PROBIT ANALYSIS *****

DATA Information

7 unweighted cases accepted.
 0 cases rejected because of missing data.
 1 case is in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Parameter estimates converged after 12 iterations.
 Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CON	.00038	.00011	3.51344
	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-.80959	.22894	-3.53622

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 4.590 DF = 5 P = .468

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

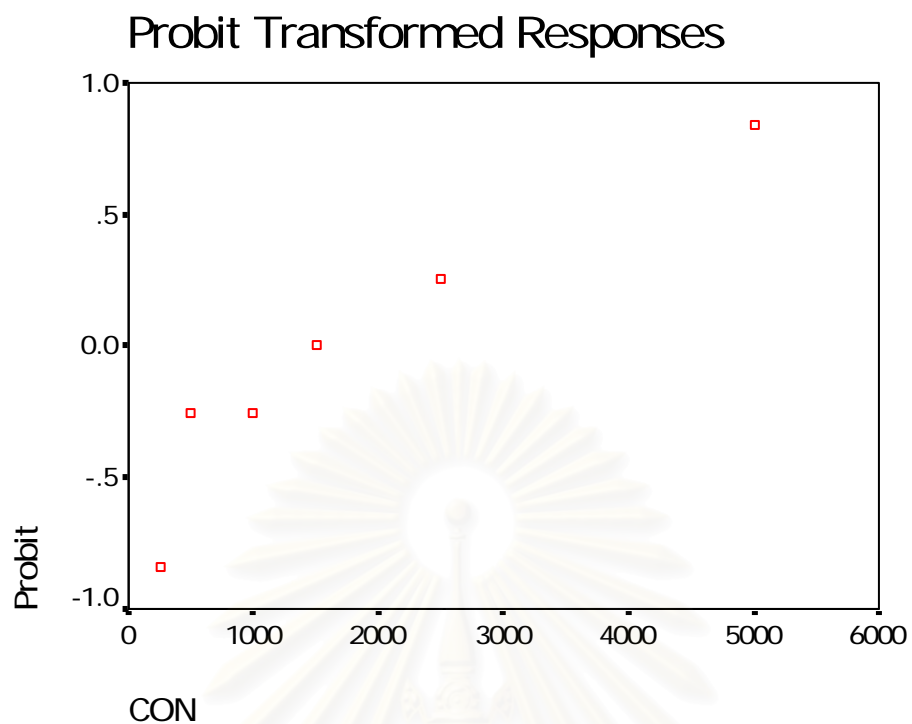
Observed and Expected Frequencies

CON	Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	10.0	.0	2.091	-2.091	.20909
250.00	10.0	2.0	2.376	-.376	.23758
500.00	10.0	4.0	2.681	1.319	.26807
1000.00	10.0	4.0	3.344	.656	.33443
1500.00	10.0	5.0	4.064	.936	.40641
2500.00	10.0	6.0	5.577	.423	.55768
5000.00	10.0	8.0	8.643	-.643	.86428

—

Confidence Limits for Effective CON

Prob	CON	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-3971.95741	-10978.97519	-1903.61256
.02	-3258.09864	-9380.63712	-1429.17517
.03	-2805.17814	-8369.18900	-1125.51372
.04	-2464.46370	-7610.14559	-895.25142
.05	-2187.31878	-6994.18744	-706.48570
.06	-1951.42492	-6471.17583	-544.55090
.07	-1744.59216	-6013.74262	-401.42011
.08	-1559.39808	-5605.23664	-272.19265
.09	-1390.97148	-5234.74153	-153.64072
.10	-1235.93453	-4894.69837	-43.51527
.15	-594.04009	-3500.70285	426.30752
.20	-83.88274	-2417.95445	824.86283
.25	353.78684	-1520.89118	1198.62625
.30	746.82765	-757.82791	1576.80462
.35	1111.03854	-107.16083	1983.66799
.40	1456.63905	441.07641	2438.92375
.45	1791.01155	898.29831	2952.59293
.50	2120.08270	1283.14382	3523.24539
.55	2449.15385	1617.59198	4144.29520
.60	2783.52634	1921.18470	4811.59355
.65	3129.12686	2209.26243	5527.00881
.70	3493.33774	2494.16725	6299.63445
.75	3886.37855	2787.40474	7147.63860
.80	4324.04813	3102.43419	8103.43584
.85	4834.20548	3459.55489	9227.61885
.90	5476.09992	3898.94150	10652.05055
.91	5631.13688	4003.87921	10997.28144
.92	5799.56348	4117.46385	11372.74385
.93	5984.75755	4241.90868	11786.03245
.94	6191.59032	4380.40150	12248.10365
.95	6427.48417	4537.79451	12775.65704
.96	6704.62909	4722.04941	13396.12601
.97	7045.34354	4947.73072	14159.75040
.98	7498.26404	5246.54945	15176.04125
.99	8212.12280	5715.37148	16779.99468



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การศึกษาความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิลที่ได้รับ
อะฟลาทอกซินบี 1 ครั้งเดียว

ผลการตรวจคุณภาพน้ำ

ตารางที่ 2 แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลองที่ระดับความเข้มข้น 0 ppb

พารามิเตอร์	ค่าก่อนการทดลอง	ค่าหลังการทดลอง
อุณหภูมิ (°C)	26-27	26-27
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7	7.4
ค่าแอมโมเนียม (NH_4^+) (ppm)	0.0	0
ค่าไนไตรต์ (NO_2^-)	0.0	0.1
ค่าบีโอดี (BOD) (mg/l)	7	8

ตารางที่ 3 แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลองที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb

พารามิเตอร์	ค่าก่อนการทดลอง	ค่าหลังการทดลอง
อุณหภูมิ (°C)	26-27	26-27
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7	7.6
ค่าแอมโมเนียม (NH_4^+) (ppm)	0.0	0
ค่าไนไตรต์ (NO_2^-)	0.0	0.1
ค่าบีโอดี (BOD) (mg/l)	7	9

ตารางที่ 4 แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลองที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb

พารามิเตอร์	ค่าก่อนการทดลอง	ค่าหลังการทดลอง
อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	26-27	26-27
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7	7.4
ค่าแอมโมเนียม (NH_4^+) (ppm)	0.0	0
ค่าไนไตรต์ (NO_2^-)	0.0	0.1
ค่าบีโอดี (BOD) (mg/l)	7	9

ตารางที่ 5 แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลองที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb

พารามิเตอร์	ค่าก่อนการทดลอง	ค่าหลังการทดลอง
อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	26-27	26-27
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7	7.4
ค่าแอมโมเนียม (NH_4^+) (ppm)	0.0	0
ค่าไนไตรต์ (NO_2^-)	0.0	0.1
ค่าบีโอดี (BOD) (mg/l)	7	9

ภาคผนวก ง

การศึกษาความเป็นพิษและการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี 1 ในปลานิลที่ได้รับ
อะฟลาทอกซินบี 1 ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน

ผลการตรวจคุณภาพน้ำ

ตารางที่ 6 แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลองที่ระดับความเข้มข้น 0 ppb

พารามิเตอร์	ค่าก่อนการทดลอง	ค่าหลังการทดลอง
อุณหภูมิ (°C)	26-27	26-27
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7	7.6
ค่าแอมโมเนียม (NH ₄ ⁺) (ppm)	0.0	0
ค่าไนไตรต์ (NO ₂ ⁻)	0.0	0
ค่าบีโอดี (BOD) (mg/l)	7	8

ตารางที่ 7 แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลองที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb

พารามิเตอร์	ค่าก่อนการทดลอง	ค่าหลังการทดลอง
อุณหภูมิ (°C)	26-27	26-27
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7	7.6
ค่าแอมโมเนียม (NH ₄ ⁺) (ppm)	0.0	0
ค่าไนไตรต์ (NO ₂ ⁻)	0.0	0.1
ค่าบีโอดี (BOD) (mg/l)	7	9

ตารางที่ 8 แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลองที่ระดับความเข้มข้น 80 ppb

พารามิเตอร์	ค่าก่อนการทดลอง	ค่าหลังการทดลอง
อุณหภูมิ (°C)	26-27	26-27
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7	7.6
ค่าแอมโมเนียม (NH_4^+) (ppm)	0.0	0
ค่าไนไตรต์ (NO_2^-)	0.0	0.1
ค่าบีโอดี (BOD) (mg/l)	7	9

ตารางที่ 9 แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลทดลองที่ระดับความเข้มข้น 160 ppb

พารามิเตอร์	ค่าก่อนการทดลอง	ค่าหลังการทดลอง
อุณหภูมิ (°C)	26-27	26-27
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7	7.6
ค่าแอมโมเนียม (NH_4^+) (ppm)	0.0	0
ค่าไนไตรต์ (NO_2^-)	0.0	0.5
ค่าบีโอดี (BOD) (mg/l)	7	9

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

การตรวจวิเคราะห์สารอะฟลาทอกซินตกค้าง

อุปกรณ์ที่ต้องเตรียม

1. เมทธานอล 70%
2. เครื่องบด
3. เครื่องชั่ง
4. เครื่องปั่นน้ำผลไม้ชนิดโถแก้ว หรือเครื่องเขย่า
5. เครื่องแก้วสำหรับกรอง และเจือจางสารสกัด
6. กระดาษกรองเบอร์ 4 (Whatman[®])
7. ไมโครปิเปตขนาด 50-200 และ 100-1,000 μl พร้อมปิเปตทิว
8. เครื่อง ELISA Reader อ่านที่ความยาวคลื่น 450 nm

การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. การเตรียม washing buffer

นำ washing buffer ในขวดมาเจือจางเป็น 0.01 M PBS-T โดยเติมน้ำกลั่น 900 ml. สำหรับนำไปใช้ในการเจือจางสารสกัดตัวอย่าง และใช้ล้าง Micro ELISA plate เก็บไว้ อุณหภูมิ 5 °C

2. การเตรียม substrate solution

ผสม substrate A และ substrate B ในอัตราส่วน 1:1 ควรเตรียมในปริมาณที่ต้องการเท่านั้นและใช้ภายใน 1 hr.

ตัวอย่างเช่น ต้องการหยดในหลุมทั้งหมด 8 หลุม จะต้องใช้ substrate ทั้งหมด = 8 x 100 μl ดังนั้นต้องใช้ substrate A และ substrate B อย่างละ 400 μl

3. สารพิษมาตรฐาน

สารอะฟลาทอกซินบี 1 มาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.2, 0.5, 1, 2 และ 5 ppb

4. การเตรียม enzyme conjugate

เติม conjugate buffer 1 ml. ลงไปในหลอด เอนไซม์ คอนจูเกต 1 หลอด เขย่าเล็กน้อยให้เป็นเนื้อเดียวกัน หรือกลับหลอดขึ้นลงให้เข้ากัน ถ้าใช้ไม่หมดส่วนที่เหลือสามารถเก็บในหลอดเดิมปิดฝาให้สนิทแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 5 °C สำหรับใช้ในครั้งต่อไปได้ ส่วนเอนไซม์คอนจูเกตหลอดที่ยังไม่ได้เจือจางให้เก็บไว้ที่ 0 °C

5. Stop solution

0.5 M Phosphoric acid

6. วิธีการสกัดตัวอย่าง

บดให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันก่อนนำมาสกัด ถ้าตัวอย่างถูกเก็บไว้ในตู้เย็น หรือตู้แช่แข็ง ต้องนำมาวางไว้ให้มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องเสียก่อนจึงนำไปสกัดได้ วิธีการสกัดทำได้ ดังนี้

6.1 ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วปริมาณ 20 g ใส่ใน flask

6.2 เติม 100 ml. ของ 70% เมทานอล (methanol) ลงใน flask (อัตราส่วนของตัวอย่าง ต่อ 70% เมทานอล เท่ากับ 1:5)

6.3 ปิดปาก flask ด้วยจุกยางหรือแผ่นพาราฟิล์ม แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

6.4 ตัวอย่างที่ได้จากการปั่นหรือเขย่า ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที แล้วจึงนำส่วนใสมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 เก็บส่วนที่กรองได้ไว้ในหลอดแก้วที่สะอาดปิดสนิทสารสกัดที่กรองได้นี้จะมีความเข้มข้นเป็น 1:5 เพื่อให้ทำการเจือจางสารสกัดเป็น 1:20 เท่า โดยใช้สารละลาย washing buffer (0.01M PBS-T)

6.5 ตรวจสอบปริมาณสารพิษตกค้าง ดังนี้

6.5.1 วางแผนการใช้ plate หรือ stripe ว่าจะใช้สารพิษมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น และจะใส่สารสกัดตัวอย่างในหลุมใด

6.5.2 หยดสารพิษมาตรฐานอะฟลาทอกซิน ระดับความเข้มข้น 0, 0.2, 0.5, 1, 2 และ 5 ppb ปริมาณ 50 μ l ลงในหลุมทดสอบ (stripe 8 หรือ 12) และหยดสารสกัดตัวอย่างที่เจือจางแล้ว ปริมาณ 50 μ l ลงในหลุมทดสอบ6.5.3 หยดเอ็นไซม์ คอนจูเกต (AFB1- HRP conjugate) ที่เจือจางใน Conjugate Buffer แล้ว ปริมาณ 50 μ l ตามลงไปทุกหลุมทดสอบ เขย่าเล็กน้อยแล้วบ่มไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที

6.5.4 หลังจากครบเวลาการบ่มแล้วเทสารในหลุมทดสอบทิ้งโดยการคว่ำหลุม

6.5.5 ล้างหลุมทดสอบโดยเติม washing buffer (PBS-T) ลงในหลุมให้เต็มทุกหลุม แล้วคว่ำทิ้ง ทำการล้างอย่างน้อย 3 ครั้ง

6.5.6 หยด substrate solution ที่เตรียมใหม่ๆ ปริมาณ 100 μ l ลงในหลุมทดสอบทุกหลุม แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 5-10 นาที จะเกิดปฏิกิริยาเป็นสีฟ้า ตามลำดับความเข้มข้นของสารพิษ ตัวอย่างที่มีสีฟ้าเข้มแสดงว่าไม่มีสารพิษหรือมีน้อย และตัวอย่างที่มีสีฟ้าจางหรือขาว แสดงว่ามีสารพิษมาก

6.5.7 หยุดปฏิกิริยาโดยเติม stop solution (0.5 M Phosphoric acid) ปริมาณ 100 μ l ลงในหลุมทดสอบทุกหลุมปฏิกิริยาจะเปลี่ยนจากสีฟ้า เป็นสีเหลือง และอ่านค่าความเข้มของสีด้วย ELISA Reader ที่ช่วงความยาวคลื่น 450 nm ควรอ่านปฏิกิริยาภายใน 60 นาที หลังจากหยุดปฏิกิริยา

การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

การวิเคราะห์หาค่าบีโอดี (BOD)

การวิเคราะห์หาค่าบีโอดี (BOD) เป็นการวัดความสกปรกของน้ำเสียโดยวัดปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ชนิดที่ย่อยสลายได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน การหาค่าบีโอดีเป็นกระบวนการทดสอบทางชีววิทยาเพื่อหาปริมาณค่าออกซิเจนซึ่งแบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำเสียภายใต้สภาวะที่เหมือนกับที่เกิดขึ้นในธรรมชาติที่สุด

การเก็บและรักษาตัวอย่างน้ำ

หลังจากเก็บตัวอย่างควรจะทำวิเคราะห์ทันที แต่ถ้าไม่สามารถทำได้ ควรนำตัวอย่างน้ำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เมื่อจะนำตัวอย่างที่แช่เย็นมาวิเคราะห์ต้องปล่อยให้ตัวอย่างมีอุณหภูมิห้องเสียก่อน

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดบีโอดี (BOD Bottle) ขนาด 250-300 ml. พร้อมจุกปิดสนิท ส่วนใหญ่ใช้ขวดที่ทำพิเศษเพื่อการทำ DO โดยเฉพาะขวดที่ใช้ต้องสะอาดปราศจากสารอินทรีย์ การทำความสะอาดควรล้างด้วยสารละลายกรดโครมิก (Chromic Acid) แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด ฉีดน้ำกลั่นล้างอีกหลายๆ ครั้ง คว่ำให้แห้ง
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 20 ± 1 °C และต้องมีlid
3. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ เช่น กระจกตวง บิวเรต ขวดรูปกรวย เป็นต้น
4. เครื่องจ่ายลม แบบเดียวกับที่ใช้กับตู้เลี้ยงปลาสวยงามและหัวทราย

สารเคมี

1. น้ำกลั่น
ต้องมีคุณภาพสูง ควรมีทองแดงน้อยกว่า 0.001 mg/l ปราศจากคลอรีน คลอรามิน สารอินทรีย์ กรดและด่าง (pH ต้องเป็นกลาง)
2. สารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์
ละลายโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 8.5 g ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟสเฮปตะไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 33.4 g ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟส (K_2HPO_4) 21.75 g และแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 1.7 g ในน้ำกลั่น 500 ml. แล้วเจือจางให้เป็น 1 L

3. สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต
ละลายแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปต้าไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 22.5 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 L
4. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์
ละลายแคลเซียมคลอไรด์ปราศจากน้ำ (anhydrous CaCl_2) 27.5 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 L
5. สารละลายเฟริกคลอไรด์
ละลายเฟริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 0.25 g แล้วเจือจางให้เป็น 1 L
6. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต
ละลายแมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 364 g หรือแมงกานีสซัลเฟตเตตราไฮเดรต ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 480 g หรือแมงกานีสซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 400 g ในน้ำกลั่นกรองแล้วเจือจางเป็น 1 L
7. สารละลายอัลคาไล-ไอโอดิด-เอไซด์ (Alkali-Iodide-Azide reagent)
ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 500 g (หรือโปแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 700 g) และโซเดียมไอโอดิด (NaI) 135 g (หรือโปแทสเซียมไอโอดิด 150 g) ในน้ำกลั่นเจือจางเป็น 1 L และละลายโซเดียมเอไซด์ (NaN_3) 10 g ในน้ำกลั่น 40 ml. แล้วเติมลงในสารละลายข้างต้น
8. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (36N)
9. น้ำแป้ง
ละลายแป้ง 5 g ในน้ำต้ม 800 ml. เติมน้ำให้ได้ 1 L ต้มให้เดือด 2-3 นาที ตั้งค้างคืน ใช้แต่น้ำใส เติมกรดแซลลิไซลิก (Salicylic acid) 1.25 g ต่อน้ำแป้ง 1 L
10. สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.1 N
ละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 24.82 g ในน้ำต้มที่เย็นแล้ว เติมน้ำได้ปริมาณ 1 L เก็บรักษาโดยการเติมคลอโรฟอร์ม 5 ml. หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 g ต่อบริการละลาย 1 L
11. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.0250 N
เตรียมโดยเจือจางสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.1 N จำนวน 250 ml. ด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 L เก็บรักษาโดยการเติมคลอโรฟอร์ม 5 ml. หรือใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 g ต่อบริการละลาย 1 L สารละลายนี้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอน (Standardization) ด้วยสารละลายมาตรฐานไดโครเมต

12. สารละลายมาตรฐาน โปแตสเซียมไดโครเมต 0.0250 N

ละลายโปแตสเซียมไดโครเมตที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 103 °C นาน 2 hr. จำนวน 1.226 g ต่อน้ำกลั่น 1 L

13. สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.025 N

ละลายโซเดียมซัลไฟต์ปราศจากน้ำ (Na_2SO_3) 1.575 g ในน้ำกลั่น 1 L (สารละลายนี้ไม่อยู่ตัว ต้องเตรียมในวันที่จะใช้เท่านั้น)

วิธีวิเคราะห์แบบเจือจาง**วิธีเตรียมน้ำเจือจาง (Dilution water)**

น้ำเจือจางหมายถึงน้ำสะอาดซึ่งมีออกซิเจนละลายอยู่มากหรือเกือบอิ่มตัว วิธีเตรียมทำได้โดยการพ่นอากาศเข้าไปในน้ำ น้ำสำหรับเจือจางจะต้องมี pH ที่เหมาะสมและมีสารที่จำเป็นแก่การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

วิธีเตรียมมีดังนี้

1. ตวงน้ำกลั่นให้มากกว่าปริมาตรที่จะใช้ 1 L ใส่ขวดแอสไพเรเตอร์ ที่สะอาด
2. เป่าอากาศที่สะอาดเพื่อเพิ่มออกซิเจนในน้ำ อย่างน้อย 1 hr.
3. เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์และเฟริกคลอไรด์ อย่างละ 1 ml. ต่อน้ำเจือจาง 1 L

วิธีวิเคราะห์

1. การเลือกปริมาณตัวอย่างที่จะใช้ ถ้าไม่ทราบค่าบีโอดีโดยประมาณของตัวอย่างน้ำ ต้องหาซีโอดีก่อน หรืออาจจะดูจากค่า Rapid COD (ซีโอดีอย่างง่าย) พร้อมกับพิจารณาลักษณะของตัวอย่างน้ำ แหล่งเก็บตัวอย่างน้ำร่วมด้วย เพื่อประมาณค่าบีโอดี เช่น น้ำตัวอย่างที่มีค่าของแข็งละลายมาก ควรจะมีค่าบีโอดี ร้อยละ 60-70 ของซีโอดี หรือเมื่อทราบว่าเป็นน้ำเสียชุมชนก็ควรจะมีค่าบีโอดี ระหว่าง 100-300 mg/l และควรจะมีการใช้ออกซิเจนอย่างน้อย 2 mg/l เมื่อทราบค่าบีโอดีโดยประมาณ ควรเลือกปริมาณตัวอย่างที่คาดว่าจะให้ค่าบีโอดีอยู่ในช่วงที่กำหนดแล้วจึงเลือกปริมาณตัวอย่างที่ใช้ให้สูงและต่ำกว่าที่อยู่ติดกัน เช่น ประมาณค่าบีโอดีไว้ประมาณ 100 mg/l จะเลือกใช้ปริมาณตัวอย่าง 10 ml. เลือกสูงขึ้นไปเป็น 5 ml. และต่ำลงเป็น 20 ml.
2. เมื่อเลือกปริมาณตัวอย่างได้แล้ว ปิดตัวอย่างตามจำนวนที่เลือกไว้ลงขวดบีโอดี ขนาด 300 ml. อย่างละ 2 ขวด เติมน้ำสำหรับใช้เจือจางจนเต็มขวดบีโอดี ต้องระมัดระวังพยายามอย่าให้เกิดฟองอากาศปิดฝาให้แน่น นำขวดบีโอดีขวดหนึ่งของแต่ละปริมาตรที่เลือก มาหาค่าออกซิเจนละลายที่มีเริ่มต้น สมมติเป็น DO_0 ส่วนอีกขวดนำไปปมที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 20 °C เป็นเวลา 5 วัน

3. เมื่อครบ 5 วัน นำขวดบีโอดีที่บ่มไว้มาหาค่าออกซิเจนละลายที่เหลืออยู่ สมมติเป็น DO_5 การคำนวณค่าบีโอดี ดังนี้

$$\text{ค่าบีโอดี (mg ออกซิเจน/L)} = (DO_0 - DO_5) \times \text{อัตราส่วนเจือจาง}$$

เมื่อ DO_0 = ค่าออกซิเจนละลายที่ไตเตรตได้ในวันแรก

DO_5 = ค่าออกซิเจนละลายที่ไตเตรตได้ในวันที่ 5

อัตราเจือจาง = $\frac{\text{ปริมาตรน้ำเต็มขวดบีโอดี (300 ml.)}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้}}$

การตรวจวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – ด่างของน้ำ

ใช้ชุดทดสอบ pH

วิธีใช้

1. ล้างหลอดทดลองด้วยน้ำตัวอย่างที่จะวัดแล้วเติมจนถึงขีด 5 ml.
2. หยคน้ำยาจากขวด solution A 4 หยด แล้วเขย่าให้ผสมกัน
3. เปรียบเทียบสีในหลอดกับแผ่นสีมาตรฐานเพื่ออ่านค่า pH

การตรวจวิเคราะห์ค่าไนไตรต์

ใช้ชุดทดสอบไนไตรต์

วิธีใช้

1. ล้างหลอดใส่น้ำตัวอย่างด้วยน้ำที่วัดหลายๆ ครั้ง แล้วตวงมา 5 ml.
2. หยด Solution A 5 หยด เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้อย่างน้อย 1 นาที
3. เติมผง Powder B 1 ช้อน โดยใช้ช้อนที่จัดไว้ให้ เขย่าให้ละลาย
4. เปรียบเทียบสีที่เกิดขึ้นกับสีมาตรฐาน หลังจากทิ้งไว้ 3-5 นาที
5. ล้างภาชนะด้วยน้ำสะอาดก่อนทิ้งไว้ให้แห้งและเก็บเข้ากล่องทดสอบ

การตรวจวิเคราะห์ค่าแอมโมเนียม

ใช้ชุดทดสอบแอมโมเนียม

1. ล้างหลอดใส่น้ำตัวอย่างด้วยน้ำที่วัด และเติมจนถึงขีด 5 ml.
2. เติม Solution A 5 หยด เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1 นาที
3. เติม Powder B 1 ช้อน (โดยตักให้เต็มช้อนแล้วปาดกับคอขวด) แล้วเขย่าให้ละลาย
4. เติม Solution C 5 หยด เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 5-10 นาที แล้วเปรียบเทียบกับแผ่นสีมาตรฐาน ความเข้มข้นแอมโมเนียม (NH_4^+) คิดเป็นหน่วย ppm.

การตรวจวิเคราะห์เนื้อเยื่อทางจุลพยาธิวิทยา

วิธีการย้อมสี Wright-Giemsa's stain

1. นำแผ่นฟิล์มเลือดบางที่แห้งแล้ว มาทำให้คงสภาพด้วย 100% เมทิลแอลกอฮอล์ นาน 3 นาที แล้วปล่อยให้แห้ง
2. ย้อมด้วยสี Wright-Giemsa นาน 6-7 นาที
3. นำไปแช่ในบัฟเฟอร์ นาน 3 นาที
4. นำมาล้างด้วยน้ำประปาแบบไหลตลอดเบาๆ จนไม่เห็นสีละลายปนออกมา
5. นีคล้างด้วย 10 % เอทิลแอลกอฮอล์ เพื่อล้างตะกอนสีที่อาจเกาะติดอยู่
6. ปล่อยให้แห้ง
7. นำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

วิธีทางจุลพยาธิวิทยา

1. เตรียมชิ้นเนื้อ ตัดชิ้นเนื้อส่วนที่ต้องการศึกษาคือ ตับ ไต ม้าม ลำไส้ และเหงือก โดยตัดให้มีขนาดความหนาของชิ้นเนื้อไม่เกิน 4 mm.
2. นำชิ้นเนื้อบรรจุใน embedding cassette แล้วผ่านขั้นตอนการดึงน้ำออก clearing และ infiltration ด้วยเครื่อง automatic tissue processor จากนั้นนำชิ้นเนื้อมาทำเป็นแท่งด้วยพาราฟิน
3. นำแท่งตัวอย่างมาตัดด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ ให้มีความหนาประมาณ 5 – 6 ไมครอน แล้วนำไปลอยบนน้ำอุ่น อุณหภูมิ 40 – 45 °C เลือกตัวอย่างที่สมบูรณ์โดยการช้อนชิ้นมาจากน้ำด้วยสไลด์ นำไปวางบนเครื่องอุ่นสไลด์ที่อุณหภูมิ 40 – 45 °C ทิ้งไว้อย่างน้อย 2 ชั่วโมง ถึงตลอดคืน เนื้อเยื่อที่ติดสไลด์แล้วนำไปย้อมสีตามขั้นตอนดังนี้ คือ ละลายพาราฟินด้วยไซลีน จากนั้นผ่านขั้นตอนการคืนน้ำเข้า (hydration) ด้วยแอลกอฮอล์จากความเข้มข้นสูงไปต่ำแล้วย้อมสี Haematoxylin และ Eosin (H&E) จากนั้นนำไปผ่านขบวนการดึงน้ำออกอีกครั้ง (dehydration) ด้วยแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นต่ำไปสูงแช่ในไซลีนแล้วทำการเมาท์สไลด์ด้วยสาร permount
4. อ่านผล นำสไลด์ถาวรที่ได้มาศึกษาลักษณะต่างๆ ของเนื้อเยื่อดังกล้องจุลทรรศน์ถ้าแสงธรรมดา และบันทึกผลการทดลอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวเบญจมาศ บุญศาสตร์ เกิดเมื่อวันที่ 25 มิถุนายน พ.ศ.2519 ที่จังหวัดชัยนาท สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนชัยภูมิภักดีชุมพล อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ เข้าศึกษาระดับอุดมศึกษาที่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ปีการศึกษา 2538 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตรบัณฑิต เมื่อปีการศึกษา 2544 และเข้าศึกษาต่อในระดับมหาบัณฑิตหลักสูตรเภสัชวิทยาทางสัตวแพทยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2546 ถึง 2549



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย