

พิษของสารไพรีทรอยด์ต่อสมรรถนะของเอนไซม์โกลีซีนเอสเทอเรสในปลานิล

นางสาว ปิยะนุช ปิ้ว



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-346-645-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 1045064 ๒

PYRETHROID TOXICITY ON CHOLINESTERASE ACTIVITY IN TILAPIA *Oreochromis niloticus*

MISS. PIYANUT PEEBUA

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Environmental Science

Inter-Departmental Program in Environmental Science

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2000

ISBN 974-346-645-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์

พิษของสารไพรีทรอยด์ต่อสมรรถนะการทำงานของเอนไซม์โกลีตินเอส
เทอเรสในปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

โดย

นางสาว ปิยะนุช ปีบัว

สาขาวิชา

วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ สพ.ญ.ดร. เจนนุช ว่องธวัชชัย

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

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

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิชิตน์ พัฒนผลไพบุลย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ สพ.ญ.ดร. เจนนุช ว่องธวัชชัย)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรจิตติวรกุล)

นางสาวปิยะนุช ปิ้ว : พิษของสารไพรีทรอยด์ต่อสมรรถนะการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในปลาไนล. (Pyrethroid Toxicity on Cholinesterase Activity in *Tilapia Oreochromis niloticus*)
อ. ที่ปรึกษา : อ.สพ.ญ.ดร. เจนนุช ว่องธวัชชัย, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. จิรศักดิ์
ตั้งตรงไพโรจน์ , 100 หน้า. ISBN 974-346-645-2.

การศึกษาพิษเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ชนิด cypermethrin ในปลาไนขนาดน้ำหนักตัว 35-40 กรัม โดยให้ปลาสัมผัสกับสารความเข้มข้น 0, 50, 75, 100, 125, 150 ไมโครกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าพิษเฉียบพลันของสารต่อปลามีความรุนแรงตามความเข้มข้นของสาร คือ ปลาแสดงอาการเครียดลำตัวสีคล้ำ แต่ยังไม่เคลื่อนไหวปกติเมื่อสัมผัสสารที่ความเข้มข้นต่ำ (50 ไมโครกรัมต่อลิตร) ปลากลุ่มที่สัมผัสสารที่ความเข้มข้นสูง (75-150 ไมโครกรัมต่อลิตร) แสดงการเคลื่อนไหวผิดปกติ กล้ามเนื้อเกร็ง กระตุก และบางตัวมีอาการรุนแรงถึงตาย พบค่า Median lethal concentration (LC₅₀) ที่ 96 ชั่วโมง เท่ากับ 59.41 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยวิธีทดสอบแบบ Probit

การศึกษาพิษรองเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ โดยให้ปลาสัมผัสกับสารที่ความเข้มข้น 7.5, 15 และ 30 ไมโครกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าปลาสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้โดยไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ ที่สังเกตได้จากภายนอก การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาไม่พบรอยโรคที่สัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารไพรีทรอยด์ที่ปลาได้รับ แต่จากการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส ในวันที่ 14 และ 30 หลังจากสัมผัสกับสาร พบว่าสมรรถนะของเอนไซม์ในซีรัมของปลาทุกกลุ่มที่สัมผัสสารไพรีทรอยด์ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) อัตราการลดลงของสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ cypermethrin ที่ปลาได้รับ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าปลาไนทนทานต่อสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มไพรีทรอยด์ เมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์น้ำชนิดอื่นหรือสัตว์จำพวกแมลงจากที่มีผู้รายงานไว้ การตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสในซีรัมปลาไนสามารถบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของสารไพรีทรอยด์ในแหล่งน้ำได้ในระดับต่ำถึง 7.5 ไมโครกรัมต่อลิตร และเป็นวิธีการที่สามารถตรวจวัดในขณะที่ยังมีชีวิต

ภาควิชา สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพแคว้นลุ่ม
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพแคว้นลุ่ม
ปีการศึกษา 2543

ลายมือชื่อนิติต ปิยะนุช ปิ้ว
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา จิรศักดิ์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม จิรศักดิ์

4172364523 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

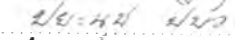
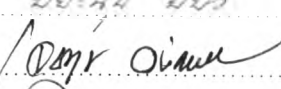
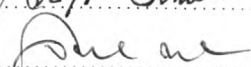
KEY WORD: PYRETHROID / CHOLINESTERASE ACTIVITY / Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

PIYANUT PEEBUA : PYRETHROID TOXICITY ON CHOLINESTERASE ACTIVITY IN TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) THESIS ADVISOR : JANENUJ WONGTAVATCHAI, D.V.M., M.S., PhD., THESIS COADVISOR : JIRASAK TANGTRONGPIROS, D.V.M., PhD, [100] pp. ISBN 974-346-645-2.

Different concentration of pyrethroid pesticide *Cypermethrin* (0, 50, 75, 100, 125 and 150 ppb) was exposed to 35-40 gm sized tilapia (*Oreochromis niloticus*). After a 96 hr static bath exposure, a median lethal concentration (LC50) was determined by an application of Probit test. Degree of cypermethrin toxicity depended on the exposure concentration, with a median lethal concentration of 59.41 ppb. Fish exposed to 50 ppb of cypermethrin showed stress sign with dark coloration, but possessed normal movement. Fish exposed to higher concentration showed abnormal movement, indicating cholinergic overload, or death, depending on the dose.

Subacute toxicity study, approached by an exposure to 7.5, 15 and 30 ppb of cypermethrin for 30 days, revealed no death or abnormality of the exposed fish. Histological lesions of gill, spleen and blood morphology did not correlate with the exposed concentration. Serial measurements of cholinesterase activity in serum sampled on 15 and 30 days post exposure presented a significant reduction ($p < 0.05$).

From the results, tilapia appears to be more tolerant to pyrethroid pesticide than many other aquatic animals have been reported. The result supports the application of cholinesterase activity assay for detection of pesticide exposure, particularly when a field population exposed to low concentration of pyrethroid pesticide, as low as 7.5 ppb. The experiment also indicates that nondestructive, serial measurements of cholinesterase activity are valuable biomarkers of pesticide contamination in living inhabitants.

Department Environmental Science Student's signature 
Field of study Environmetal Science Advisor's signature 
Academic year 2000 Co-advisor's signature 



กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ สพ.ญ.ดร. เจนนุช ว่องธวัชชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และข้อเสนอแนะต่างๆที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัยนี้ ตลอดจนเสียสละเวลาอันมีค่าช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ สพ.ญ.ดร. ปิยะรัตน์ ศุภชลัสน์ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ ที่กรุณาอนุญาตให้ผู้วิจัยใช้สารเคมี สถานที่ และอุปกรณ์ต่างๆ ตลอดจนเสียสละเวลาอันมีค่าช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ รวมทั้งคำชี้แนะที่เป็นประโยชน์ ตลอดระยะเวลาการวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร. อัจฉรา ธวัชสิน ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ ที่กรุณาเสียสละเวลาอันมีค่าช่วยตรวจสอบแก้ไข และแนะนำการวิเคราะห์ทางด้านสถิติที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ คณาจารย์ประจำหลักสูตรสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อมทุกท่าน ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และความเอาใจใส่ในตัวลูกศิษย์ตลอดการศึกษานี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ในศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์ สถานที่ในการเลี้ยงสัตว์ทดลอง ห้องทดลอง ตลอดจนงานวิจัย รวมถึงความช่วยเหลือต่างๆ ความเป็นกันเองที่มีให้แก่ผู้วิจัย ผู้วิจัยได้รับความประทับใจและความรู้สึกที่ดีมากๆ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาชีวเคมี คณะสัตวแพทยศาสตร์ ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์และสถานที่ ตลอดจนความเป็นกันเองที่มีให้ ผู้วิจัยได้รับความประทับใจและความรู้สึกที่ดีมาก

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนในการวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่เป็นแรงผลักดันให้มีกำลังกาย กำลังใจ และความมานะพยายามในการศึกษามาตลอด รวมถึงพี่ๆที่กลุ่มทุกคนที่คอยดูแล เอาใจใส่ และเป็นกำลังใจให้แก่ผู้วิจัยตลอดมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ต
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มไพรีทรอยด์.....	3
คุณสมบัติทางฟิสิกส์และคุณสมบัติทางเคมีของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มไพรีทรอยด์.....	6
สารไซเพอร์มีทริน.....	7
การใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มไพรีทรอยด์.....	10
ความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มไพรีทรอยด์.....	16
ความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มไพรีทรอยด์ต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ.....	20
เอนไซม์โมลินเอสเทอเรส.....	31
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
สัตว์ทดลอง เครื่องมือและสารเคมี.....	35
วิธีดำเนินการทดลอง	
การศึกษาพิษเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ในปลานิล.....	38
การศึกษาพิษรองเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ในปลานิล.....	40
การวัดสมรรถนะของเอนไซม์โมลินเอสเทอเรสในซีรัมของปลานิล	
การวัดสมรรถนะของเอนไซม์โมลินเอสเทอเรสในซีรัม.....	41
การวัดปริมาณโปรตีนในซีรัม.....	43
การศึกษาทางโลหิตวิทยา.....	43
การศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเหงือก ตับ และกล้ามเนื้อ.....	45
สถิติที่ใช้ในการวิจัย.....	46

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4. ผลการทดลอง	
ศึกษาพิษเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ในปลานิล	
อาการทั่วไป.....	47
ค่า Median lethal concentration ภายในเวลา 96 ชั่วโมง.....	50
ศึกษาความเป็นพิษรองเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ในปลานิล	
อาการทั่วไป.....	51
ผลต่อสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โกลตาไมนเอสเทอเรส.....	52
ผลต่อลักษณะทางจุลพยาธิของเนื้อเยื่อต่างๆ.....	63
5. อภิปรายและสรุปผลการทดลอง.....	71
รายการอ้างอิง.....	77
ภาคผนวก.....	84
ประวัติผู้เขียน.....	100

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ชื่อทางเคมี ชื่อทางการค้า และสูตรโมเลกุลของสารกลุ่มไพรีทรอยด์.....	5
2 คุณสมบัติทางฟิสิกส์และคุณสมบัติทางเคมีของสารกลุ่มไพรีทรอยด์.....	6
3 คุณสมบัติทางฟิสิกส์และคุณสมบัติทางเคมีของสาร Cypermethrin.....	7
4 แสดงการปนเปื้อนของสารไพรีทรอยด์ในสิ่งแวดล้อม.....	11
5 แสดงค่า Median lethal concentration (LC ₅₀) ในหนูทดลอง.....	17
6 แสดงค่า Median lethal concentration (LC ₅₀) ของสารไพรีทรอยด์ต่อผึ้ง <i>Apis mellifera</i>	19
7-9 แสดงค่า Median lethal concentration (LC ₅₀) ของสารไพรีทรอยด์ต่อสิ่งมีชีวิตใน แหล่งน้ำ.....	21
10 แสดงคุณภาพน้ำที่ใช้ระหว่างทำการทดลอง.....	48
11 แสดงอัตราการตายสะสมของปลานิลที่สัมผัสสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin ความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 96 ชั่วโมง.....	49
12 แสดงค่า Median lethal concentration (LC ₅₀) ของสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin ในปลานิลที่ได้รับสารในเวลา 96 ชั่วโมง.....	50
13 แสดงสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โกลด์สเตท และค่าฮีมาโตคริต ในปลานิลกลุ่ม ควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 30 วัน	53
14 แสดงสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โกลด์สเตท และค่าฮีมาโตคริต ในปลานิล ในวันที่ 14 และ 30 ของการสัมผัสสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin เปรียบเทียบ กับกลุ่มควบคุม.....	59

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
1	สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มไพรีทรอยด์..... 4
2	แสดงขบวนการย่อยสลายสารไพรีทรอยด์..... 12
3	แสดงการย่อยสลายสารไพรีทรอยด์ ชนิด Allethrin ด้วยแสงอาทิตย์..... 13
4	แสดงขบวนการ Metabolism ของสารไพรีทรอยด์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม..... 14
5	แสดงขบวนการย่อยสลายสารไพรีทรอยด์ในดิน..... 15
7	แสดงความสัมพันธ์ของการลดลงของสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โกลีเทนเอสเทอเรส ปลานิล กับปริมาณสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin ที่ปลาได้รับ..... 54
8	แสดงสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โกลีเทนเอสเทอเรส ในปลานิลกลุ่มควบคุมและ กลุ่มที่ได้รับสาร ไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วัน..... 55
9	แสดงสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โกลีเทนเอสเทอเรสต่อปริมาณโปรตีน ในปลานิลกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสาร ไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin ที่ความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 30 วัน..... 55
10	แสดงปริมาณโปรตีนในซีรัม ของปลานิลกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin ที่ความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 30 วัน..... 56
11	แสดงค่าฮีมาโตคริต ของปลานิลกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin ที่ความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 30 วัน..... 56
12	แสดงสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โกลีเทนเอสเทอเรส ของปลานิล ในวันที่ 14 และ 30 ของการสัมผัสสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin เปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุม..... 60
13	แสดงสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โกลีเทนเอสเทอเรสต่อปริมาณโปรตีน ของปลานิล ในวันที่ 14 และ 30 ของการสัมผัสสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม..... 60
14	แสดงปริมาณโปรตีนในซีรัม ของปลานิล ในวันที่ 14 และ 30 ของการสัมผัส สารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม..... 61
15	แสดงค่าฮีมาโตคริต ของปลานิล ในวันที่ 14 และ 30 ของการสัมผัสสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม..... 61

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า	
16	ปลานิลกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่สัมผัสสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin ความเข้มข้น 150 ไมโครกรัมต่อลิตร.....	62
17	แสดงแผ่นฟิล์มของเมดเลือดขาวของปลานิลกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่สัมผัสสาร ไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin.....	64
18	แสดงจุลกายวิภาคของกล้ามเนื้อลายบริเวณลำตัวของปลานิลกลุ่มควบคุม และ กลุ่มที่สัมผัสสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin.....	65
19-21	แสดงจุลกายวิภาคของซีเหงือก ปลานิลปลานิลกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่สัมผัสสาร ไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin.....	66-68
22	แสดงจุลกายวิภาคของท่อตับในปลานิลกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่สัมผัสสาร ไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin.....	69
23	แสดงจุลกายวิภาคของม้ามในปลานิลกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่สัมผัสสาร ไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin.....	70