บทที่ 4

ผลการทดลอง

จากการศึกษาพิษเฉียบพลันของทองแดงต่อลูกปลากะพงขาว ภายในเวลา 96 ชั่วโมง และใช้แคดเมียมเป็นสารอ้างอิง โดยทำการศึกษาทั้งหมด 3 ครั้ง ได้ผลดังนี้

ขนาดของสัตว์ทดลองที่ใช้

การทดลองพิษเฉียบพลันของทองแดงต่อลูกปลากะพงขาว ใช้ลูกปลากะพงขาว อายุ 30-40 วัน ความยาว 1 นิ้ว การทดลองครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 ลูกปลากะพงขาว มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 0.50, 0.50 และ 0.59 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ช่วงน้ำหนักของลูกปลากะพงขาวที่ใช้ในการทดลองพิษเฉียบพลันของทองแดง

การทดลองครั้งที่	น้ำหนัก (กรัม)	ค่าเฉลี่ย±S.D, n= 10
1	0.45-0.51	0.50±0.02
2	0.47-0.52	0.50±0.02
3	0.55-0.61	0.59±0.02

คุณภาพน้ำบางประการในการทดสอบพิษเฉียบพลันของทองแดง

คุณภาพน้ำที่ทำการตรวจวัดได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิของน้ำ และความเค็ม พบว่า ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ มีค่าอยู่ระหว่าง 5.74 ถึง 7.69 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นกรด-เบสของน้ำ มีค่าอยู่ระหว่าง 7.29 ถึง 8.07 และอุณหภูมิของน้ำ มีค่าอยู่ระหว่าง 27.6 ถึง 29.4 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 คุณภาพน้ำที่วัดได้จากการทดลองพิษเฉียบพลันของทองแดง ภายใน 96 ชั่วโมง

คุณภาพน้ำ	การทดลองครั้งที่			
	1	2	3	เฉลี่ย
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ มิลลิกรัมต่อลิตร	5.1-7.3	6.1-7.9	6.1-7.9	5.1-7.9
ความเป็นกรด-เบส	6.9-8.1	7.4-8.1	7.6-8.0	6.9-8.1
อุณหภูมิในน้ำ องศาเซลเซียส	28.6-30.5	26.8-28.8	27.4-28.8	26.8-30.5
ความเค็ม ส่วนในพันส่วน	5	5	5	5

พิษเฉียบพลันของทองแดงต่อลูกปลากะพงขาว

จากการศึกษาพบว่า ลูกปลากะพงขาวมีอัตราการตายสะสมเพิ่มขึ้น และพบการตกตะกอนของทองแดง ตั้งแต่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นไป ทำให้ความเข้มข้นของทองแดงที่มีอยู่จริงในน้ำลดลง ดังตารางที่ 6 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ ได้ค่าความเข้มข้นของทองแดงที่ทำให้ลูกปลากะพงขาวตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 96 ชั่วโมง มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.7±0.47 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 อัตราการตายสะสมของลูกปลากะพงขาวในสารละลายทองแดง

การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้นทองแดงที่เตรียม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นที่มีอยู่จริงก่อนการทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราการตายสะสม(%) ภายในเวลา (ชั่วโมง)				ความเข้มข้นที่มีอยู่จริงสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)
			24	48	72	96	
1	Control	<0.01	0	0	0	0	<0.01
	0.56	0.68±0.03	0	13.3	33.3	50	0.66±0.03
	1.00*	1.52±0.01	0	0*	6.7	13	1.14±0.06
	1.80*	2.23±0.03	0	0*	6.7	13	1.14±0.03
	3.20*	3.48±0.09	10*	20	36.7	60	2.38±0.00
	5.60*	6.49±0.23	100*	100	100	100	3.82±0.02

ตารางที่ 6 (ต่อ)

การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้นทองแดงที่เตรียม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นที่มีอยู่จริงก่อนการทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราการตายสะสม(%) ภายในเวลา (ชั่วโมง)				ความเข้มข้นที่มีอยู่จริงสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัมต่อลิตร)
			24	48	72	96	
2	Control	0.08	0	0	0	0	0.06
	0.56	0.45±0.01	0	15	55	60	0.48±0.02
	1.00	0.66±0.01	0	20	55	65	0.71±0.01
	1.80*	1.24±0.04	0	5*	20	25	0.80±0.02
	3.20*	1.97±0.02	0	5*	20	30	0.79±0.05
	5.60*	3.53±0.01	25*	30	65	75	1.87±0.02
	8.70*	5.25±0.04	100*	100	100	100	3.33±0.03
	10.00*	10.68±0.08	100*	100	100	100	3.75±0.22
3	Control	0.02	0	0	0	0	0.09
	0.56	0.28±0.01	0	6.7	20	43.3	0.29±0.01
	1.00	0.37±0.05	0	6.7	20	46.7	0.37±0.07
	1.80*	0.99±0.02	0	10*	16.7	23.3	0.73±0.01
	3.20*	1.73±0.01	0	10*	16.7	23.3	0.76±0.01
	5.60*	3.17±0.02	10*	20	33.3	53.3	1.79±0.02

*ความเข้มข้นของทองแดงที่พบการตกตะกอน

ตารางที่ 7 ค่า 96-h LC_{50} ของทองแดงต่อลูกปลากะพงขาว

การทดลองครั้งที่	96-h LC_{50} (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ช่วงแห่งความเชื่อมั่น 95 % (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	3.08	2.61-3.63
2	2.17	1.51-3.13
3	2.85	1.76-4.63
ค่าเฉลี่ย±S.D.	2.70±0.47	

พิษเฉียบพลันของแคดเมียมต่อลูกปลากะพงขาว ที่ใช้แคดเมียมเป็นสารอ้างอิง

จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำ พบว่า ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ มีค่าอยู่ระหว่าง 5.6 ถึง 7.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นกรด-เบสของน้ำ มีค่าอยู่ระหว่าง 7.6 ถึง 8.1 และอุณหภูมิมีค่าอยู่

ระหว่าง 27.6 ถึง 29.4 องศาเซลเซียส และพบว่าอัตราการตายสะสมของลูกปลากะพงขาวเพิ่มขึ้น และได้ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแคดเมียม ที่ทำให้ลูกปลากะพงขาวตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 96 ชั่วโมง (96-h LC_{50}) เท่ากับ 0.39±0.22 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ค่า 96-h LC_{50} ของแคดเมียมต่อลูกปลากะพงขาว

การทดลองครั้งที่	96-h LC_{50} (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ช่วงแห่งความเชื่อมั่น 95 % (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	0.63	0.49-0.81
2	0.32	none
3	0.21	none
ค่าเฉลี่ย±S.D.	0.39±0.22	

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของลูกปลากะพงขาวเนื่องจากพิษของทองแดง

นำลูกปลากะพงขาวที่ไม่ตายจากการทดสอบพิษเฉียบพลันของทองแดง ภายใน 96 ชั่วโมง จากการทดลองครั้งที่ 1 มาศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของอวัยวะต่าง ๆ ของลูกปลากะพงขาว

1. ลักษณะของเหงือก ตับและไตของลูกปลากะพงขาวในชุดควบคุม

1.1 ลักษณะเหงือกของลูกปลากะพงขาวในชุดควบคุม

เหงือกของลูกปลากะพงขาวในแต่ละข้างช่องแก้มประกอบด้วยแผงเหงือก 4 แผง (Gill Arches) ในแต่ละแผงเหงือก ประกอบด้วยเส้นซี่เหงือก (Gill Filament) อยู่จำนวนมาก ในแต่ละเส้นซี่เหงือก มีแผ่นโครงสร้างที่เรียกว่า เซกัลดารี ลามีลา (Secondary Lamellae) 2 แถว ที่ตั้งเฉียงออกในแต่ละเส้นซี่เหงือก ในแต่ละแผ่นเซกัลดารี ลามีลา มีเยื่อบุ (Epithelium) ปกคลุมอยู่ โดยที่เซลล์อีพิเทอร์เลียล (Epithelial Cells) มีลักษณะเซลล์รูปกระสวยและเซลล์พิลล่าร์ (Pillar Cells) มีลักษณะเซลล์รูปตัวซีแบ่งช่องเส้นเลือดฝอย (Capillary Channels) ออกจากกัน แต่ละช่องมีเม็ดเลือดแดง (Erythrocytes) อยู่ช่องละ 1 เซลล์ และที่ฐานของแผ่นเซกัลดารี ลามีลา จะพบเซลล์คลอไรด์ (Chloride Cells) เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสขนาดใหญ่รูปรี ไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) ไม่ติดสี และยังพบเซลล์เมือก (Mucus Cells) เป็นเซลล์ที่ขอบเขตเยื่อหุ้มไม่ชัดเจน ไซโตพลาสซึมติดสี และมีขนาดเล็กกว่าเซลล์คลอไรด์ (ภาพที่ 1A-C)

1.2 ลักษณะตับของลูกปลากะพงขาวในชุดควบคุม

ตับประกอบด้วยเซลล์ที่เรียกว่า เฮปาโตไซร์ (Hepatocytes) มีรูปร่างหลายเหลี่ยม มีนิวเคลียสกลมกลางเซลล์และภายในนิวเคลียสพบกรานูลขนาดเล็ก เซลล์ตับจะเรียงตัวหนาแน่น และเส้นเลือดฝอย (Bloods Sinusoids) แทรกเซลล์ตับ (ภาพที่ 2A)

1.3 ลักษณะไตของลูกปลากะพงขาวในชุดควบคุม

ท่อส่วนต้นเป็นกระเปาะเรียกว่า Bowman's Capsule ซึ่งหุ้มกลุ่มเส้นเลือดฝอย ที่เรียกว่า กลูเมอรูรัส (Glomerulus) และท่อไตฝอย (Renal Tubule) ประกอบด้วย ท่อขดส่วนต้น (Proximal Segment) มีลักษณะเซลล์ทรงกระบอกเรียงตัวชั้นเดียว นิวเคลียสกลมกลางเซลล์ ท่อขดส่วนปลาย (Distal Segment) เป็นท่อรีขนาดใหญ่กว่าท่อขดส่วนต้น เซลล์ทรงกระบอก เรียงตัวชั้นเดียว และท่อขดตรง (Collecting Duct) มีหน้ากว้างมากกว่าท่อขดส่วนปลาย (Distal Segment) (ภาพที่ 3A)

2. ลักษณะเหงือก ตับและไตของลูกปลากะพงขาวเนื่องจากพิษทองแดง

2.1 ลักษณะเหงือกของลูกปลากะพงขาวเนื่องจากพิษทองแดง

ทุกระดับความเข้มข้นของทองแดง พบเซลล์โคนโดไซต์ (Chondocytes) ที่แกนกลาง เส้นซี่เหงือก มีลักษณะบวม เซลล์โคนโดไซต์บวมมีรูปร่างไม่แน่นอน นิวเคลียสของเซลล์ โคนโดไซต์บางเซลล์ถูกทำลาย บางบริเวณของเส้นซี่เหงือก พบว่ามีเซลล์เม็ดเลือดมาอยู่รวมกลุ่ม กัน (Blood Congestion or Aneurism) นอกจากนี้เซลล์เยื่อบุผิวบวมน้ำ (Edema of Epithelial Cells) และพบว่าเกิดการเชื่อมต่อกันระหว่างเซกัลดารี ลามีลา ซึ่งมีผลให้เซลล์คลอไรด์ และเซลล์เมือก ถูกทำลาย (Necrosis) (ภาพที่ 1 D ถึง I) และที่ความเข้มข้นของทองแดง 3.48 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังสังเกตพบว่าเซลล์คลอไรด์บวมและเพิ่มจำนวนมากขึ้น (Hypertrophy and Hyperplasia of Chloride Cells) (ภาพที่ 1 J-M)

ที่ความเข้มข้นของทองแดง เท่ากับ 3.48 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิด การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพของเหงือกของลูกปลากะพงขาวมากที่สุด รองลงมา คือ ที่ความเข้มข้นของทองแดงเท่ากับ 0.68 มิลลิกรัมต่อลิตร น้อยที่สุด คือที่ความเข้มข้น 1.52 และ2.23 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 9)

2.2 ลักษณะตับของลูกปลากะพงขาวเนื่องจากพิษทองแดง

ในทุกความเข้มข้นของทองแดง แสดงผลคล้ายคลึงกัน (ตารางที่ 9) พบว่า เซลล์เฮปาโตไซต์บวมและถูกทำลายเป็นบางบริเวณของตับ และเกิดช่องว่างขึ้นระหว่างเซลล์ตับ (ภาพที่ 2B-E)

2.3 ลักษณะไตของลูกปลากะพงขาวเนื่องจากพิษทองแดง

ในทุกความเข้มข้นของทองแดง แสดงผลคล้ายคลึงกัน (ตารางที่ 9) พบว่าเซลล์ท่อขดส่วนต้นและท่อขดส่วนปลายมีลักษณะบวม (ภาพที่ 3C-F)

ตารางที่ 9 ลักษณะเหงือก ตับและไตของลูกปลากะพงขาวเนื่องจากพิษทองแดง ภายใน 96 ชั่วโมง

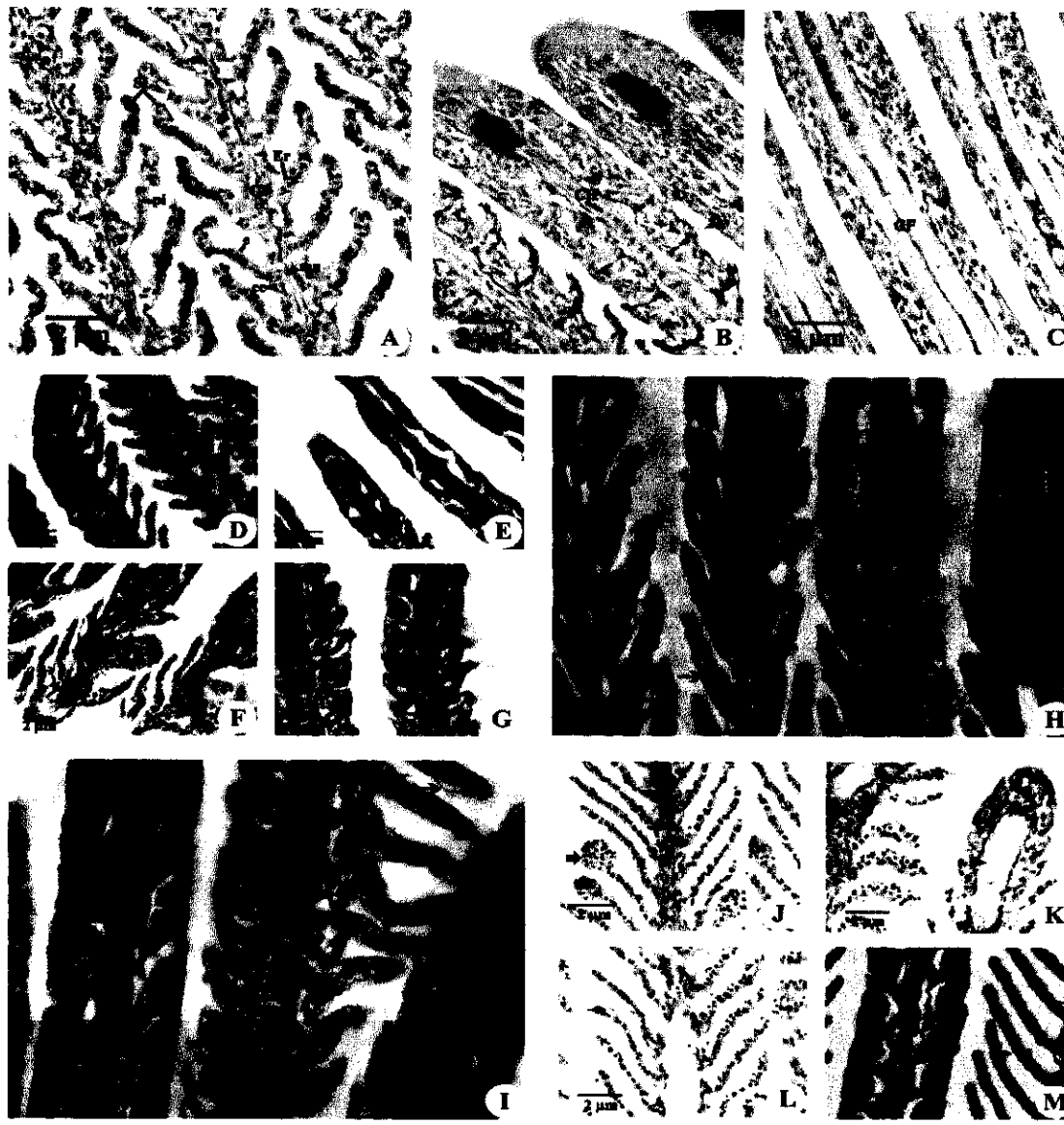
ชนิดของเนื้อเยื่อ	ความเข้มข้นของทองแดง (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
ลักษณะเหงือก	Control	0.68	1.52	2.23	3.48
เซลล์โคนโดไซต์บวม	-	+++	+++	+++	+++
เซลล์อีพิเทอร์เลียลบวมน้ำ	-	+++	+++	+++	+++
เม็ดเลือดรวมตัว	-	++	+	+	++
เซลล์คลอไรด์ และเซลล์เมือก ถูกทำลาย	-	++	+	+	++
เซกัลคารี ลามีลาเชื่อมต่อกัน	-	++	+	+	++
เซลล์คลอไรด์เพิ่มขนาดและแบ่งตัว	-	-	-	-	+++
ลักษณะตับ	Control	0.68	1.52	2.23	3.48
เซลล์ตับบวม	-	++	++	++	++
เซลล์ตับถูกทำลาย	-	++	++	++	+++
เกิดช่องว่างระหว่างเซลล์ตับ	-	++	++	++	++
ลักษณะไต	Control	0.68	1.52	2.23	3.48
เซลล์ท่อขดส่วนต้นและท่อขดส่วนปลายบวม	-	+	+	+	+

– หมายถึง ไม่พบเปลี่ยนแปลง

\+ หมายถึง พบเล็กน้อย

++ หมายถึง พบปานกลาง

+++ หมายถึง พบมาก



ภาพที่ 3 ลักษณะทางพยาธิสภาพของเหงือกลูกปลากะพงขาว (ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์x100)

A-C เหงือกในชุดควบคุม

D-G เหงือกที่สัมผัสกับทองแดง 0.68 มิลลิกรัมต่อลิตร

H เหงือกที่สัมผัสกับทองแดงที่ 1.52 มิลลิกรัมต่อลิตร

I เหงือกที่สัมผัสกับทองแดงที่ 2.23 มิลลิกรัมต่อลิตร

J-M เหงือกที่สัมผัสกับทองแดงที่ 3.48 มิลลิกรัมต่อลิตร

GF = เส้นซี่เหงือก

SL = เซกัลคารี ลามีลา

Er = เม็ดเลือดแดง

Pi = เซลล์พิลล่า

e = เซลล์อีพิเทียร์เลียล

cc = เซลล์คลอไรด์

mu = เซลล์เมือก

CH = เซลล์โคนโดไซต์

▶ = เซลล์คอนโดไซต์บวม

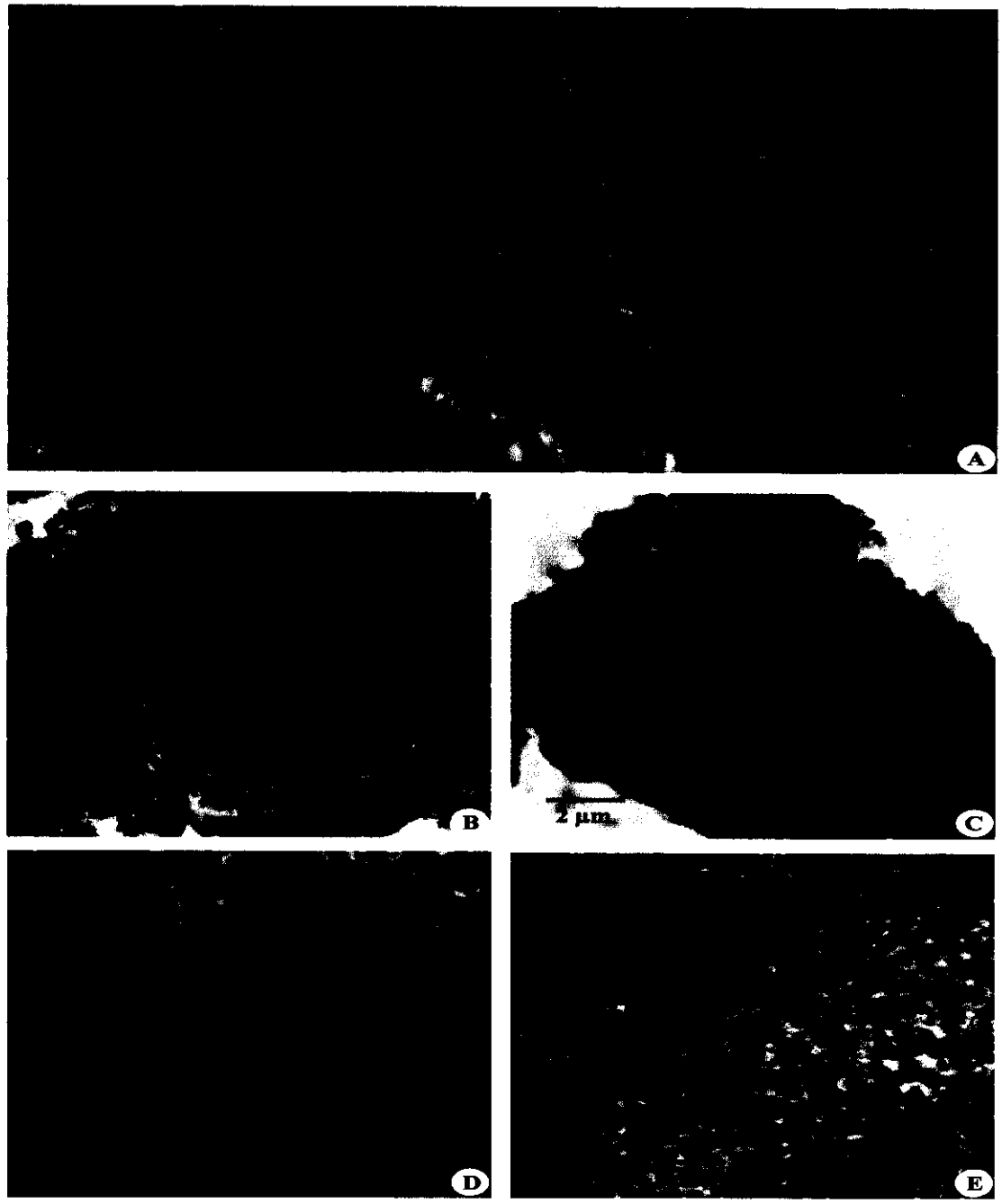
✸ = เม็ดเลือดมารวมตัว

➔ = เซลล์อีพิเทอร์เลียลบวม

⟶ = เซกัลคารี ลามีล่าเชื่อมกัน

➢ = เซลล์คลอไรด์และเซลล์เมือกถูกทำลาย

➡ = เซลล์คลอไรด์เพิ่มจำนวน



ภาพที่ 4 ลักษณะทางพยาธิสภาพของตับลูกปลากะพงขาว (ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์x100)

A ตับลูกปลาในชุดควบคุม

B ตับลูกปลาที่ทดลองกับทองแดง 0.68 มิลลิกรัมต่อลิตร

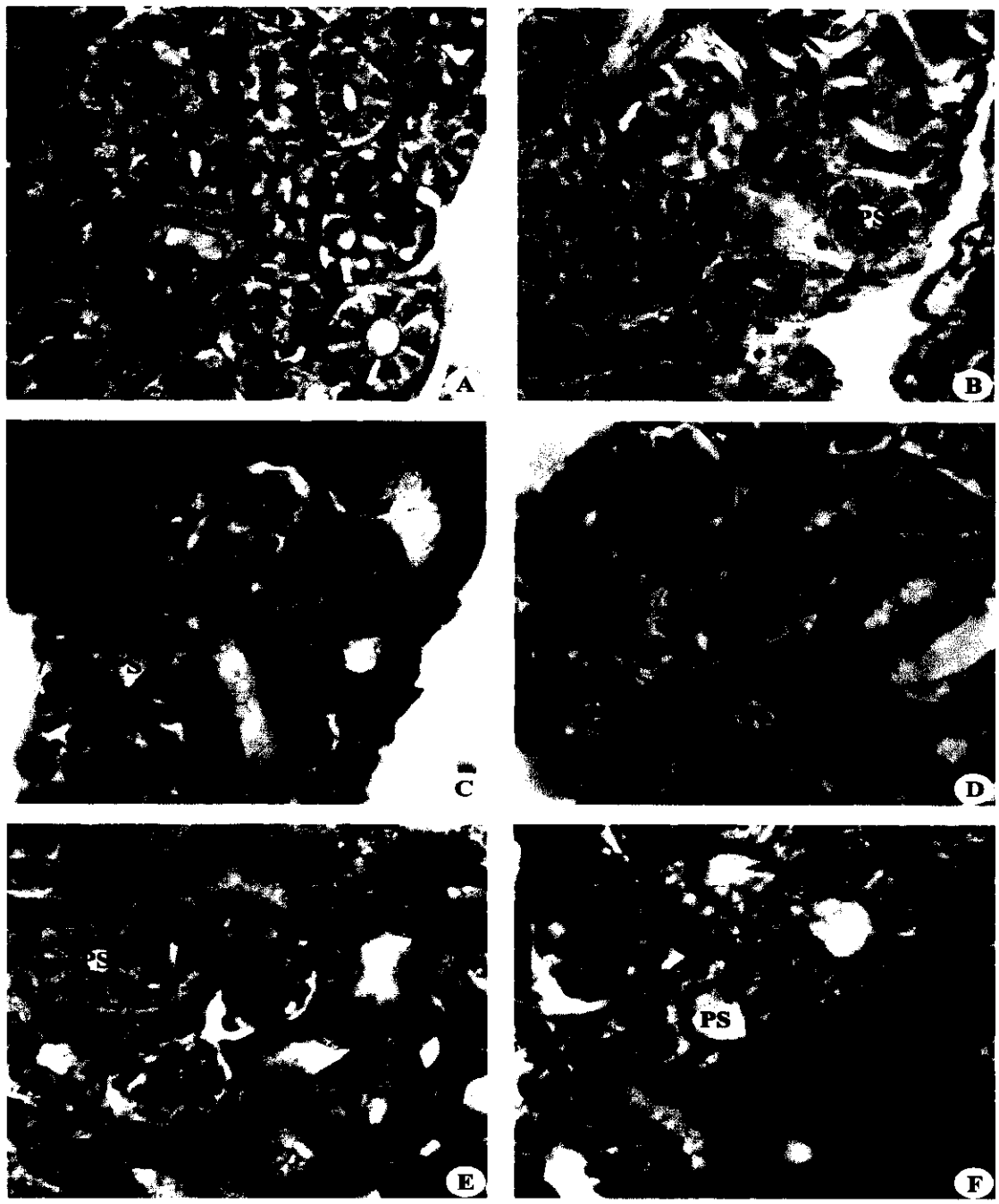
C ตับลูกปลาที่ทดลองกับทองแดง 1.52 มิลลิกรัมต่อลิตร

D ตับลูกปลาที่ทดลองกับทองแดง 2.23 มิลลิกรัมต่อลิตร

E ตับลูกปลาที่ทดลองกับทองแดง 3.48 มิลลิกรัมต่อลิตร

HC = เซลล์เฮปาโตไซต์ ➔ = ช่องว่างที่เกิดขึ้น

BS = เส้นเลือดฝอย ▶ = เซลล์ตับถูกทำลาย



ภาพที่ 5 ลักษณะทางพยาธิสภาพของไตลูกปลากะพงขาว (ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์x100)

A-B ไตลูกปลาในชุดควบคุม

C ไตลูกปลาปลาที่ทดสอบด้วยทองแดง 0.68 มิลลิกรัมต่อลิตร

D ไตลูกปลาที่ทดลองกับทองแดง 1.52 มิลลิกรัมต่อลิตร

E ไตลูกปลาที่ทดลองกับทองแดง 2.23 มิลลิกรัมต่อลิตร

F ไตลูกปลาที่ทดลองกับทองแดง 3.48 มิลลิกรัมต่อลิตร

G = กลูเมอรูลัส

PS = ท่อขดส่วนต้น