

ผลกิ่งเรื้อรังของสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. ต่อตับและไตของปลานิล  
*Oreochromis niloticus* Linn.



นางสาวดาราทพร รินทะรักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-1371-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SUBCHRONIC EFFECTS OF *Nicotiana tabacum* Linn. LEAF EXTRACT ON LIVER AND  
KIDNEY OF TILAPIA *Oreochromis niloticus* Linn.



Miss Daraporn Rintarak

สถาบันวิทยบริการ

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

Department of Biology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-1371-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์      ผลกิ่งเรื้อรังของสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. ต่อตับและไตของ  
ปลาไน *Oreochromis niloticus* Linn.  
โดย                              นางสาวดาราทพร รินทะรักษ์  
สาขาวิชา                      สัตววิทยา  
อาจารย์ที่ปรึกษา              รองศาสตราจารย์ ดร. กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ

---

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการ  
ศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย โพธิ์พิจริต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(ศาสตราจารย์ ดร. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ ดร. กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ)

.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประคอง ตั้งประพฤทธิกุล)

.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัทธ์ณี สิงห์อาษา)

คาราพร รินทะรักษ์ : ผลกึ่งเรื้อรังของสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. ต่อตับและไตของปลานิล *Oreochromis niloticus* Linn. ( SUBCHRONIC EFFECTS OF *Nicotiana tabacum* Linn. LEAF EXTRACT ON LIVER AND KIDNEY OF TILAPIA *Oreochromis niloticus* Linn.)

อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ, 138 หน้า, ISBN 974-17-1371-1

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิล *Oreochromis niloticus* Linn. ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. เป็นเวลานาน 8 เดือน โดยทำการทดลองหาค่าความเป็นพิษเฉียบพลันตามวิธี Acute Static Toxicity Test ใช้ลูกปลานิลอายุ 1 เดือน แบ่งการทดลองออกเป็นกลุ่มทดสอบสารสกัดใบยาสูบกับกลุ่มควบคุม โดยทำการทดลองกลุ่มละ 3 ซ้ำ ทำการทดลองหาค่า LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง โดยใช้โปรแกรมโพรบิท ได้ค่าความเข้มข้นเท่ากับ 838.46 ไมโครลิตร/ ลิตร และจากค่าดังกล่าว นำมาคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบที่จะใช้ในการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังได้ค่าความเข้มข้นเท่ากับ 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร (มีปริมาณนิโคติน 0.034 มิลลิกรัม/ ลิตร) ทำการทดลองโดยนำปลานิลมาเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 เดือน สุ่มจับปลาโดยไม่ระบุเพศ จำนวนกลุ่มละ 30 ตัว ทุกเดือน เก็บตัวอย่างตับและไตของปลา ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองมาซึ่งนำหนักตับ ดองรักษาสภาพและทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ผลการศึกษา % R ของตับ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองและ กลุ่มควบคุมในเดือนเดียวกัน พบว่าทุกเดือน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของตับปลากลุ่มทดลอง ในเดือนที่ 1 พบว่าช่องไขว้ของหลอดเลือดแดงจำนวนมากตั้งอัดแน่นอยู่ภายใน เซลล์ตับบางเซลล์มีการสะสมไฮยาลินกรานูลและแควิวโอลไขมัน เซลล์มีลักษณะบวม ในเดือนที่ 2 และ 3 พบว่าเซลล์ตับสะสมไฮยาลินกรานูลและแควิวโอลไขมันเพิ่มมากขึ้น เริ่มมีการตายของเซลล์ตับเป็นหย่อมๆ โดยเฉพาะเซลล์ตับที่อยู่รอบๆบริเวณตับอ่อนและใกล้หลอดเลือด พบมีการสลายของนิวเคลียสและบางเซลล์นิวเคลียสติดสีเข้มและพบการแทรกของเซลล์มาโครฟาจบริเวณเซลล์ตับที่เกิดความเสียหาย การเปลี่ยนแปลงในเดือนที่ 4 และ 5 พบว่าเกิดการสะสมแควิวโอลไขมันเพิ่มมากขึ้นและรุนแรงในไซโทพลาสซึมของเซลล์ตับ จนเห็นเป็นช่องว่างขนาดใหญ่ โดยเฉพาะเซลล์ตับที่อยู่รอบๆตับอ่อน พบการตายของเซลล์ตับ โดยการสลายของนิวเคลียส เซลล์อะซินาร์ของตับอ่อน มีการสะสมไฮยาลินกรานูล และแควิวโอลไขมัน และบางเซลล์มีลักษณะบวมพอง พบเซลล์มาโครฟาจ แทรกเข้ามาบริเวณเซลล์ตับและเซลล์ตับอ่อนที่เสียหาย และพบเซลล์อิโอสिनอฟิลิก กรานูลาร์ บริเวณหลอดเลือด ในเดือนที่ 6 และ 7 พบการตายของเซลล์ตับเพิ่มมากขึ้น โดยพบว่านิวคลีโอลัสมีการหดตัวและรวมกลุ่มกัน อยู่ที่ขอบของนิวเคลียส จนเห็นเป็นสีทึบ เซลล์ของตับอ่อนสะสมแควิวโอลไขมันมากขึ้นทั่วทั้งตับอ่อน มีการแทรกของเซลล์มาโครฟาจทั้งในบริเวณเซลล์ตับและเซลล์ตับอ่อน การเปลี่ยนแปลงในเดือนที่ 8 พบว่ามีการเกิดซิสทีซึนในเนื้อตับ มีการแทรกของเซลล์เม็ดเลือดขาวและมาโครฟาจเป็นจำนวนมาก รอบๆซิสทีซึน ส่วนการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไตตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 8 พบว่ามีการหดตัวของโกลเมอรูลัส โดยพบว่าในช่วงเดือนที่ 6-8 โกลเมอรูลัสมีการหดตัวมาก เซลล์ท่อไตส่วนต้นมีลักษณะบวมและพบการสะสมไฮยาลินกรานูลและแควิวโอลไขมัน โดยมีการสะสมเพิ่มมากขึ้นในเดือนที่ 4 ถึงเดือนที่ 8 ตามลำดับ มีการแทรกของเซลล์มาโครฟาจตั้งแต่เดือนที่ 2 เป็นต้นไป จนถึงเดือนที่ 8 โดยพบมากขึ้นในช่วงเดือนที่ 7 และ 8 และในเดือนที่ 8 ยังพบว่ามีการแทรกของเซลล์อิโอสिनอฟิลิก กรานูลาร์ จำนวนมาก อยู่ภายในหลอดเลือด ใกล้กับเซลล์ที่เกิดความเสียหาย

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ ของเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิลมีความเสียหายรุนแรง สัมพันธ์กับระยะเวลาที่ปลาได้รับสารสกัดใบยาสูบ สรุปได้ว่าสารสกัดใบยาสูบมีผลทำให้เกิดความเสียหายในลักษณะกึ่งเรื้อรังต่อเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิล



ภาควิชา.....ชีววิทยา.....	ลายมือชื่อ.....
สาขาวิชา.....สัตววิทยา.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา.....2545.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

# # 4172570423 MAJOR: ZOOLOGY

KEY WORD: *Nicotiana tabacum* Linn. / HISTOPATHOLOGY/ *Oreochromis niloticus* Linn. /

TILAPIA / TOXICITY/ SUBCHRONIC

DARAPORN RINTARAK : SUBCHRONIC EFFECTS OF *Nicotiana tabacum* Linn.

LEAF EXTRACT ON LIVER AND KIDNEY OF TILAPIA *Nicotiana tabacum* Linn.

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. KINGKAEW WATTANASIRMKIT, Ph.D. 138 pp.

ISBN 974-17-1371-1

Histopathological alteration of tilapia *Oreochromis niloticus* Linn. Liver and kidney after long term exposure for 8 months to *Nicotiana tabacum* Linn. leaf extract was studied. Acute static toxicity tests were carried out on young tilapia at 1 month old for treatment and control groups, each group consists of 3 replication. The  $LC_{50}$  at 96 hours was analyzed by probit analysis, it was determined at 838.46  $\mu$ l/l. and from the application value, a sublethal concentration for subchronic toxicity test was calculated at 0.68  $\mu$ l/l. (nicotine content 0.034 mg/l) the subjects were exposed to this sublethal concentration for 8 months. The both sexes were randomly selected (n=30) in every month, the liver and kidney of treated and control groups were fixed and taken for conventional histological method and the liver was weighted. The comparative of the % relative liver weight between treated and control group in the same month were determined. ( $P \leq 0.05$ )

Results obtained showed that the histopathological alteration of liver at 1 month revealed sinusoid dilation and blood congestion, hydropic swelling of hepatocyte, hyaline droplet and fat vacuolation in cytoplasm of some hepatocyte. For 2 and 3 months exposure, the hepatocyte increased hyaline droplet and fat vacuolation, focal necrosis of peripancreatic hepatocyte and which near blood vessels, karyolysis and pyknosis of nucleus. There were macrophage invasion near inflammatory site. For 4 and 5 months exposure, fat vacuolation were change to severe. There were a large space of fat vacuole near pancreatic tissue, karyolysis, hyaline droplet and fat accumulation in acinar cells were determined. Macrophage invasion in both hepatocyte and acinar cell, Eosinophilic granular cells (EGCs) were found near blood vessels. For 6-7 months exposure, there were increased hepatocyte necrosis, perichromatin clumping and vacuolation in pancreas. Macrophage and EGCs invasion near inflammatory area. At 8 months of exposure, cyst were determined, blood congestion and macrophage invasion near cyst area. For histological change of kidney since 1-8 months, showed golmerulus contraction, especially, at 6-8 months of exposure. There were blood congestion and hydropic swelling of proximal tubules, hyaline droplet accumulation and fat vacuolation, tubular necrosis of proximal tubules. Since 2-8 months for exposure, were found macrophage invasion near inflammatory site and there were changed from mild to severe. At 8 months of exposure, there were found EGCs invasion inflammatory blood vessels.

The severity of change were depended on the duration of treatment, it can be conclude that tobacco leaf extract caused subchronic effects on liver and kidney of tilapia.

Department.....Biology.....

Field of study.....zoology.....

Academic year.....2002.....

Student's signature.....

Advisor's signature.....

Co-advisor's signature.....--.....

## กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำในการวิจัยตลอดจนช่วยตรวจสอบและแก้ไขข้อผิดพลาดของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จนสมบูรณ์และถูกต้อง พร้อมด้วยได้ให้กำลังใจมาตลอดการทำวิจัย ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประคอง ตั้งประพฤษกุล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัชนี สิงห์อาษา กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. อารมณ แสงวนิชย์ ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและผลิตรายการชาติ และ ดร. รัตนภรณ์ พรหมศรัทธา ที่กรุณาช่วยเหลือและให้คำแนะนำตลอดจนให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการวิเคราะห์สารนิโคติน ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณ คุณสัมพันธ์ สุวรรณรัตน์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาท่านอื่นๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและความสะดวก เกี่ยวกับการเบิกจ่ายวัสดุอุปกรณ์ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความเอื้อเฟื้อวัสดุอุปกรณ์บางส่วน รวมถึงห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ด้วย

ขอขอบพระคุณ สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ( สสวท. ) ที่กรุณาให้ทุนการศึกษาและทุนในการทำวิจัย และขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนเงินบางส่วนในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่กรุณาสนับสนุนด้านการเงินในการศึกษา รวมทั้งได้ให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านมาโดยตลอด ขอขอบคุณน้องๆ และญาติพี่น้องทุกคน สำหรับกำลังใจที่มีให้เสมอมา และสำหรับพี่ๆ ที่ได้เคยให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ข้าพเจ้าขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

## สารบัญ

### หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูป.....	ฉ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 บทสอบสวนเอกสาร.....	7
3 วัตถุประสงค์ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง.....	26
4 ผลการทดลอง.....	32
5 อภิปรายผลการทดลอง.....	72
6 สรุปผลและข้อเสนอแนะ.....	77
รายการอ้างอิง.....	79
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก.....	88
ภาคผนวก ข.....	91
ภาคผนวก ค.....	93
ภาคผนวก ง.....	103
ภาคผนวก จ.....	111
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	139



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงจำนวนปลาที่ตาย และเปอร์เซ็นต์การตาย ของการทำ Range- finding test.....	33
4.2 แสดงจำนวนปลาที่ตาย และเปอร์เซ็นต์การตาย ของการทำ Definitive test.....	36
4.3 แสดงค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบยาสูบ ต่อปลานิลดำ <i>Oreochromis niloticus</i> Linn.....	36
4.4 แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตับ น้ำหนักตัว และ% Relative liver weight ของปลานิล <i>Oreochromis niloticus</i> ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบ <i>N. tabacum</i> ที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร ตั้งแต่เดือนที่1-6 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	38
4.5 แสดงจำนวนปลานิลที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับ ภายหลังจาก ได้รับสารสกัดใบยาสูบความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร ตั้งแต่เดือนที่1-เดือนที่8.....	46
4.6 แสดงจำนวนปลานิลที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไต ภายหลังจาก ได้รับสารสกัดใบยาสูบความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร ตั้งแต่เดือนที่1-เดือนที่8.....	49
4.7 แสดงผลของความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับปลานิล ภายหลังจาก ได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร ตั้งแต่เดือนที่ 1-เดือนที่8.....	51
4.8 แสดงผลของความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตปลานิล ภายหลังจาก ได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร ตั้งแต่เดือนที่ 1-เดือนที่8.....	52
4.9 แสดงสมบัติทางกายภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงปลานิลตลอดการทดลอง 8 เดือน.....	53



## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 รูปยาสูบพันธุ์ <i>Nicotiana tabacum</i> Linn.....	9
2.2 แสดงรูปวาดอนุกรมวิธานของยาสูบ <i>Nicotiana tabacum</i> Linn.....	10
2.3 แผนภาพแสดงโครงสร้างทางเคมีของนิโคติน.....	15
2.4 แสดงลักษณะของปลานิลดำ <i>Oreochromis niloticus</i> Linn.....	21
2.5 แสดงลักษณะและส่วนประกอบของหน่วยไตในไตซุดกลาง.....	22
2.6 แสดงตำแหน่งของไต ซุดต่างๆ.....	23
4.1 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของปลานิลกับค่าความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบ ในช่วงเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง.....	34
4.2 กราฟแสดงค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน LC50 ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ของสารสกัดใบยาสูบต่อปลานิล.....	35
4.3 ภาพถ่ายแสดงลักษณะของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มควบคุม .....	54
4.4 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 1 เดือน.....	55
4.5 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 2 เดือน.....	56
4.6 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 3 เดือน.....	57
4.7 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 4 เดือน.....	58
4.8 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 5 เดือน.....	59
4.9 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 6 เดือน.....	60
4.10 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 7 เดือน.....	61
4.11 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 8 เดือน.....	62
5.1 ภาพถ่ายแสดงลักษณะของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มควบคุม.....	63

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
5.2 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 1 เดือน.....	64
5.3 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 2 เดือน.....	65
5.4 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 3 เดือน.....	66
5.5 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 4 เดือน.....	67
5.6 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 5 เดือน.....	68
5.7 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 6 เดือน.....	69
5.8 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 7 เดือน.....	70
5.9 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 8 เดือน.....	71

## บทที่ 1

### บทนำ

ความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และการพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรม ที่เจริญรุดหน้าอย่างรวดเร็วในปัจจุบัน ยังผลให้มีการนำเอาสารเคมีหลายชนิดมาใช้ในด้านต่างๆเป็นจำนวนมาก ทำให้โลกประสบปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษโดยทั่วไป รวมถึงการมีสารพิษตกค้างทั้งในดิน น้ำ และอากาศ สาเหตุหนึ่งของปัญหาดังกล่าวมาจากการทำการเกษตร ซึ่งเกษตรกรมักใช้สารเคมีป้องกันและกำจัดแมลง ติดต่อกันเป็นเวลานาน การใช้สารเคมีป้องกันและกำจัดแมลงดังกล่าว มีผลกระทบให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในสภาพแวดล้อม และในผลผลิตการเกษตร อันอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคทั้งทางตรงและทางอ้อมได้ ( กุสุมา นวลวัฒน์, 2544) นอกจากนี้ปัญหาจากการใช้สารเคมีป้องกันและกำจัดแมลงติดต่อกันเป็นเวลานาน ทำให้เกิดการดื้อยาของแมลงศัตรูพืช ส่งผลให้เกษตรกรต้องเพิ่มปริมาณการใช้สารเคมีดังกล่าวขึ้นเรื่อยๆ หรือนำสารเคมีหลาย ๆ ชนิดมารวมกัน ซึ่งในบางกรณีไม่อาจควบคุมแมลงศัตรูพืชให้ต่ำกว่าระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจได้ (เกษม สร้อยทอง, 2540)

การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทยมีมานานไม่น้อยกว่าสามทศวรรษ มีการศึกษาผลตกค้างในสิ่งแวดล้อมของสารฆ่าศัตรูพืช โดยเก็บตัวอย่างสัตว์น้ำ ได้แก่ ปลาหางนกยูง ปลานิล ปลาตะเพียนขาว ปลายี่สกเทศ และแพลงก์ตอนพืช พบว่ามีการปนเปื้อนของสารพวกดีลทริน และดีดีที มากที่สุด ( สมิง เก้าเจริญ และยุพา สีสลาฤทธิ์ , 2537 ) แนวทางหนึ่งในการลดความเสี่ยงอันเกิดจากผลกระทบของสารเคมีป้องกันและกำจัดศัตรูพืชตกค้างในสิ่งแวดล้อม คือการลดการใช้โดยหาวิธีอื่นเข้ามาทดแทน ดังนั้นเพื่อลดปัญหามลภาวะดังกล่าว จึงมีการนำสารสกัดจากพืชมาใช้แทนสารเคมีสังเคราะห์ในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช พืชที่สามารถนำมาสกัดเป็นสารป้องกันและกำจัดศัตรูพืชมีหลายชนิดด้วยกัน โดยเฉพาะในกลุ่มของสารกำจัดแมลง เช่น สารไพรีทริน (pyrethrins) ที่ได้จากดอกไพรีทรัม ( Pyrethrum หรือ insect flowers ) สารโรทีโนน (rotenones) จากไลต์นิน หรือหางไหล สารสตริกนิน ( strychnine ) จากเมล็ดของต้นแสลงใจ และ อาซาดีแรคติน ( azadirachtin ) จากสะเดาอินเดีย ( Indian neem tree ) เป็นต้น ( เอมอร โสมนะพันธุ์, 2535 ) พืชที่น่าสนใจซึ่งมีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงอีกชนิดหนึ่งคือ ยาสูบ ( tobacco, *Nicotiana tabacum* Linn. )

ยาสูบ จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae เป็นไม้พุ่มเมืองของอเมริกาใต้ แต่ในปัจจุบันมีการปลูกกันทั่วโลก เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพนิเวศหลายประเภท เป็นพืชชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาใช้เป็นสารกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ดี เนื่องจากมีอัลคาลอยด์หลายชนิด ชนิดที่มีความสำคัญและมีปริมาณมากคือ นิโคติน ( nicotine ) จัดเป็นอัลคาลอยด์กลุ่ม pyridine และ pyrrolidine ซึ่งปริมาณสูงสุดของนิโคตินมีในก้านและเส้นใบของยาสูบ

ในใบยาสูบมีนิโคตินอยู่ร้อยละ 2-8 โดยรวมอยู่กับการกดซิทริก และมาลิก นอกจากนิโคตินแล้ว ในใบยาสูบยังมีสารอัลคาลอยด์ที่มีโครงสร้างสัมพันธ์กับนิโคติน และมีคุณสมบัติในการฆ่าแมลงเช่นเดียวกัน คือ นอร์นิโคติน (nornicotine) ซึ่งพบใน *N. glutinosa* และ แอนาเบซิน (anabasine) พบใน *N. glauca* สารเหล่านี้รวมเรียกว่า นิโคตินอยด์ (nicotinoids) นิโคตินหลังจากถูกดูดซึมจะถูกทำลายกลายเป็นโคตินีน (cotinine) (Ramaprasad และคณะ, 1998)

นิโคตินสามารถสกัดได้จากใบยาสูบที่นำมาผลิตเป็นบุหรี่ ซิการ์ และยาเส้น สารนิโคตินไม่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา ไม่มีการนำนิโคตินมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ (วีณา จิรัจฉริยากุล, 2535) นิโคตินเมื่อสัมผัสกับเยื่อบุอ่อน ผิวหนัง หรือโดยการสูดดม จะถูกดูดซึมและจับกับ nicotinic receptor ในร่างกาย และจะแสดงฤทธิ์คล้าย choline (cholinomimetic) นิโคตินปริมาณน้อยมีฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลางและส่วนปลาย ปริมาณสูงจะทำให้เป็นอัมพาตได้ นิโคตินเป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงมีค่า LD<sub>50</sub> เท่ากับ 50-60 มิลลิกรัมในหนูแรท เมื่อให้ทางปาก นอกจากนี้ยังพบว่านิโคตินมีพิษร้ายแรงที่สุดรองจากกรดไฮโดรไซยานิก (HCN) ปริมาณของสารนิโคตินที่ทำให้คนตายเนื่องจากระบบหายใจเป็นอัมพาตคือ 50-100 มิลลิกรัม (Sim, 1966) ผลข้างเคียงคือทำให้คลื่นไส้เล็กน้อย ปวดศีรษะ และอ่อนเพลีย และเนื่องจากนิโคตินเป็นสารพิษที่สามารถออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทอัตโนมัติที่บริเวณ sympathetic และ parasympathetic ganglia ซึ่งมีผลให้กล้ามเนื้อเป็นอัมพาต จึงมีการนำมาใช้เป็นสารฆ่าแมลง (เอมอร์ โสมนะพันธ์, 2535)

คุณสมบัติในการฆ่าแมลงของยาสูบเป็นที่รู้จักกันมาตั้งแต่ศตวรรษที่ 18 โดยในปี ค.ศ. 1763 ได้มีการใช้ยาสูบในรูปของยาชง เพื่อใช้ในการกำจัดเพลี้ย สารกลุ่มนิโคตินอยด์ มีกลไกการออกฤทธิ์เป็นสารพิษแบบสัมผัสออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการส่งผ่านสัญญาณระหว่างเซลล์ประสาท มีรายงานว่าทั้งนิโคตินและแอนาเบซิน มีความเป็นพิษต่อมนุษย์ด้วย สำหรับในประเทศไทยมีการใช้สารสกัดจากใบยาสูบในการกำจัดและควบคุมศัตรูพืชหลายชนิดเช่น ใช้เป็นสารฆ่าแมลง ขับไล่แมลง สารฆ่ารา และฆ่าไร นอกจากนี้ยังใช้ในการกำจัดเพลี้ยไฟไรหลายชนิด ได้แก่ ส้ม มะนาว พืชสวนได้แก่ เพลี้ยในต้นกล้วย (Hilderbrand และคณะ, 1993) และ (El-Gayer และคณะ, 1975)

วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล และ ชัยณรงค์ รัตนกรिताกุล (2536) พบว่าใบยาสูบมีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงได้หลายชนิดเช่น เพลี้ยอ่อน หนอนกะหล่ำ หนอนผีเสื้อ ตัวง ไร เพลี้ยไฟ ราสนิมในถั่ว และข้าวสาลี โรคราของมันฝรั่ง และไวรัสโรคใบหงิก นอกจากนี้การนำใบยาสูบแก่ๆแช่น้ำ แล้วนำมารดต้นพืช สามารถกำจัดแมลงกลางคืนและเพลี้ยได้ผลดี (สุรัตน์วดี จิระจินดา และคณะ, 2537) การศึกษาคุณสมบัติในการฆ่าแมลง ของสาร อัลคาลอยด์ ที่สกัดจากใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. ต่อแมลง red flour beetle (*Tribolium castaneum*) ซึ่งศึกษาโดย Archana และคณะ (1995) พบว่า การฉีดพ่นสารสกัดจากใบยาสูบชนิดนี้สามารถ ทำให้เกิดการตาย



ของตัวอ่อนแมลง red flour beetle ได้ถึง 100 % โดยศึกษาที่ระดับความเข้มข้น 20,000 -50,000 ppm ปัจจุบันนิโคตินเป็นสารฆ่าแมลงที่มีความสำคัญทางการเกษตรชนิดหนึ่ง ในประเทศสหรัฐอเมริกา มีการใช้นิโคตินเป็นสารฆ่าแมลง โดยใช้ในรูปของสารละลาย 40 % ของนิโคตินซัลเฟต มีชื่อทางการค้าว่า " Black Leaf 40 " เฉพาะในสหรัฐอเมริกา มีการใช้สารนิโคตินเป็นสารฆ่าแมลงปีละกว่า 500 ตัน ( Natori และคณะ, 1981)

นอกจากการศึกษาคุณสมบัติในการกำจัดแมลงศัตรูพืชของยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. แล้วยังมีผู้ทำการศึกษาด้านอื่น ๆ อีก คือ Yildiz และคณะ ( 1999) ศึกษาความเป็นพิษ ของนิโคตินบริสุทธิ์เปรียบเทียบกับ Smokeless Tobacco extract ( STE ) ที่มีปริมาณเท่ากัน ในเซลล์ Chinese Hamster Ovary ( CHO cells:  $5 \times 10^5$  cells/5 ml media ) โดยการวัดปริมาณของ glutathion และ malondialdehyde ที่เปลี่ยนแปลงไป พบว่า ทุกกลุ่มที่ทดสอบด้วย STE มีระดับของ glutathion ลดลง และระดับของ malondialdehyde เพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มที่ทดสอบด้วยนิโคตินบริสุทธิ์ อย่างมีนัยสำคัญ จึงสามารถสรุปได้ว่า STE มีความเป็นพิษสูงกว่านิโคตินบริสุทธิ์ ในปี ค.ศ.1974 Crowe and Swerczek ได้ทำการศึกษา พบว่าสารที่สกัดจากใบและก้านของยาสูบ โดยการสกัดด้วยน้ำ สามารถทำให้ลูกสุกรเกิดอวัยวะ (teratogenesis ) เช่นเดียวกับที่ Bush and Crowe (1989) ศึกษาพบว่าสารที่ทำให้เกิดการอวัยวะขึ้นในลูกของสุกร ลูกวัว และลูกแกะ คือ อัลคาลอยด์กลุ่มไพรีดีน ได้แก่ แอนาเบซิน และ แอนาตาบิน โดย อัลคาลอยด์แอนาเบซิน พบได้มากใน *Nicotiana glauca* ซึ่งเป็นพืชพื้นเมืองของอเมริกาใต้ ต่อมาในปี 1993 Jacob และคณะ ศึกษาการวัดปริมาณอัลคาลอยด์จากใบยาสูบ ซึ่งได้แก่ anabesine, anatabine, normicotine และ metanicotine โดยทำการวัดจากปัสสาวะของผู้ที่สูบบุหรี่ พบว่า วิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการวัดปริมาณอัลคาลอยด์เหล่านี้คือ วิธีโครมาโตกราฟี โดยการใส่ 5 % phenylmethylsilicone capillary column สามารถวัดปริมาณอัลคาลอยด์ได้แม้มีเพียงปริมาณน้อย 1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เกี่ยวกับการศึกษาความเป็นพิษของสารนิโคติน ซึ่งเป็นอัลคาลอยด์ที่มีอยู่ในปริมาณมากในใบและก้านของยาสูบนั้น พบว่าหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับนิโคตินโดยทางระบบหายใจ เมื่อทำการวัดระดับกลูโคส เอนไซม์แกสตริน ( gastrin ) และโคเลซิสโตคินิน ( cholecystokinin ) ในเลือดแล้วพบว่า ไม่มีความแตกต่างจากหนูแรทกลุ่มที่ไม่ได้รับสารนิโคตินแต่อย่างใด แต่เมื่อศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ตับอ่อนของหนูแรทที่ได้รับสารนิโคตินพบว่า บริเวณ exocrine pancreas มีการสะสมแคลคิโอลไขมันและมีการบวมน้ำที่ acinar cells ส่วนบริเวณ Islets of Langerhan ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ ( Chowdhury และคณะ, 1992) นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าหนูแรทที่ได้รับสารนิโคตินอย่างต่อเนื่องในขณะตั้งครรภ์ทำให้เกิดการแท้งของตัวอ่อน และในกรณีที่ไม่เกิดการตายของตัวอ่อน ลูกหนูที่เกิดมามีลักษณะไม่แข็งแรง และมีน้ำหนักน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับสารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( Martin และคณะ , 1979) เกี่ยวกับผลของนิโคตินต่อระบบหายใจ Ola และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษารูปแบบของการหายใจที่เปลี่ยนแปลงไปของลูกแกะ หลังจากการคลอด โดยการให้สารนิโคตินแก่แม่แกะที่ตั้งครรภ์ปริมาณ 0.5 มิลลิกรัม/1 กิโลกรัมของน้ำหนักตัวแม่แกะ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ให้สารนิโคติน พบว่าในกลุ่มที่ทดสอบสารนิโคติน ลูกแกะที่คลอดออกมามีรูปแบบการหายใจแตกต่างจากกลุ่มลูกแกะปกติคือ ลูก

เกาะกลุ่มทดสอบนิโคตินมี tidal volumes ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แต่มีอัตราการหายใจสูงกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญ โดยสอดคล้องกับที่ Brain และคณะ ( 2002) ศึกษาและพบว่าสารนิโคตินมีผลในการเพิ่มอัตราการหายใจในไมโทคอนเดรีย ( mitochondrial respiration ) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของตับ โดยศึกษาตับปลากระดุกแฉิ่งสกุล Tilapia ( *Tilapia mossambica* ) ทำการศึกษาโดย Joshi และ Desai ( 1988) ทดสอบสาร monochrotophos ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 ppm. ศึกษาผลต่อตับปลาพบว่าสาร monochrotophos มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนของตับปลาลดลง 45% หลังจากที่ปลาได้รับสารติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน ปริมาณ DNA, RNA ลดลงหลังจากได้รับสารเพียง 2 วัน และมีการเพิ่ม 5' -Nucleotidase activity อย่างไวก็ตามการเปลี่ยนแปลงต่างๆที่เกิดขึ้นสามารถกลับสู่สภาพปกติได้หลังจากที่ปลาได้รับสาร 10 วัน

จากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบยาสูบ รวมถึงอัลคาลอยด์ที่มีในใบยาสูบที่กล่าวมาข้างต้นให้เห็นว่า สารสกัดใบยาสูบน่าจะมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีการนำมาใช้เป็นสารป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช อาจมีการตกค้างและมีการปนเปื้อนลงในแหล่งน้ำเกษตรกรรม และเป็นอันตรายต่อปลาได้ ดังที่วันทนา และคณะ (2543) ได้ศึกษาผลกระทบของการใช้สารฆ่าแมลงชนิดเม็ดต่อปลาในนาข้าว โดยทำการศึกษาผลของสารฆ่าแมลง 3 ชนิดได้แก่ Carbofuran, Fipronil และ Cartap/isoprocarb ต่อปลานิลดำและปลาสวายที่เลี้ยงในนาข้าว พบว่า Carbofuran มีผลให้ปลานิลดำและปลาสวายที่เลี้ยงในกระชังในนาข้าวมีการตายสูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า Carbofuran และ Cartap เท่านั้นที่มีผลทำให้ระดับของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส ( cholinesterase) ในสมองปลาลดลง ส่วนผลการตกค้างพบว่าสารฆ่าแมลงทั้ง 3 ชนิดมีการตกค้างทั้งในน้ำและดินตะกอนในปริมาณที่น้อยมาก สรุปได้ว่าสารมีการสลายตัวอย่างรวดเร็ว ดังนั้นในการศึกษาคั้งนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาถึงผลกระทบของสารสกัดใบยาสูบที่มีต่อปลานิลเนื่องจากปลานิลเป็นปลาเศรษฐกิจ ที่เลี้ยงง่าย โตเร็วและมีความสำคัญในแง่ของแหล่งโปรตีนราคาถูก หาซื้อได้ง่าย และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั่วไป ปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงปลานิลทั่วประเทศ ส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงในบริเวณที่ทำการเกษตรแบบผสมผสาน ดังนั้นหากมีการปนเปื้อนของสารพิษต่างๆลงในแหล่งน้ำ ปลานิลจึงน่าจะได้รับผลกระทบโดยตรง อีกทั้งการใช้ปลาในการศึกษาความเป็นพิษนั้นมักใช้ปลาที่เป็นที่รู้จักกันดีหาง่าย และเป็นที่ยอมรับนำมาบริโภคเช่นปลาตะเพียน ปลาไน ปลาดุกและปลานิล (พาลาก สีหเสนี และ วินิจ ต้นสกุล, 2530 อ่างใน กัลยา จันอาจ ,2540 ) เช่นการทดสอบความเป็นพิษของสารประกอบปรอท โดย Kirubagaran และ Joy (1988) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของไตที่เกิดขึ้นหลังได้รับสารประกอบปรอท 3 ชนิดได้แก่ methylmercuric chloride, mercuric chloride และ Emisan 6 โดยทำการศึกษากับปลาดุก *Clarias batrachus* Linn. พบว่า methylmercuric chloride มีความเป็นพิษสูงกว่าสารประกอบปรอทอีกสองชนิด โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของไต คือ ลูเมน (lumen) แคบลงและอัดแน่นไปด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงและสารที่ถูกขับออกมาจากเซลล์ท่อไต มีการสะสมไขมันในเซลล์ท่อไตส่วนต้น อย่างไรก็ตาม เซลล์สามารถกลับคืนสู่สภาวะปกติได้เมื่อทำการทดลองนานเป็นเวลา 180 วัน และนอกจากนี้มีการศึกษาความเป็นพิษของแคดเมียม โดยใช้ปลากระดุก

แข็ง *Tilapia mossmbica* ที่ Rani and Ramamurthi (1988) ทำการศึกษาพยาธิสภาพของตับปลาที่เกิดขึ้นภายหลังได้รับสาร  $CdCl_2$  พบว่ามีการคั่งเม็ดเลือดแดงในหลอดเลือด เซลล์ตับมีการสะสมแวคคิวโอลไขมันและการตายของเซลล์ตับอ่อนบริเวณ acinar cells ด้วย

จากการสืบสวนเอกสารจะเห็นได้ว่า แม้จะมีการศึกษาความเป็นพิษ รวมไปถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบยาสูบเป็นจำนวนมาก แต่ยังไม่พบการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดใบยาสูบอันเนื่องมาจากการใช้เป็นสารป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช ซึ่งอาจมีการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมและเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตอื่น โดยเฉพาะสิ่งมีชีวิตที่สำคัญในแหล่งน้ำดังเช่น ปลานิล ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ ของเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิลที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้นต่ำ 0.68 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 8 เดือน โดยศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เนื่องจากตามธรรมชาติร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะมีกระบวนการทำลายสารพิษ หรือเปลี่ยนแปลงสารพิษให้มีความเป็นพิษน้อยลง โดยเซลล์ของตับเป็นแหล่งใหญ่และสำคัญที่สุดของกระบวนการทำลายสารพิษที่เข้าสู่ร่างกาย ส่วนไตก็เป็นอวัยวะที่สำคัญในการขับสารพิษออกจากร่างกาย ดังนั้นทั้งตับและไตจึงน่าจะเป็นอวัยวะที่ได้รับผลกระทบโดยตรง และสามารถบ่งชี้ความผิดปกติได้ดีที่สุด (มณีรัตน์ จิระสถาพร ,2538)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* ที่มีผลต่อปลานิล *Oreochromis niloticus*
2. เพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิล *Oreochromis niloticus* ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* ที่ระดับความเข้มข้นต่ำเป็นระยะเวลานาน 8 เดือน ในห้องปฏิบัติการ

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* ต่อปลานิล *Oreochromis niloticus*
2. ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิล *Oreochromis niloticus* ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ เป็นเวลานาน 8 เดือน สำหรับนำไปประเมินความเหมาะสมในการกำหนดปริมาณการใช้ทางด้านเกษตรกรรมต่อไป
3. เพื่อเป็นประโยชน์ในการนำไปเป็นข้อมูลในการประยุกต์ใช้ประเมินและปรับเปลี่ยนปริมาณสารสกัดจากธรรมชาติที่ใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช เพื่อความปลอดภัยต่อสัตว์น้ำอื่นๆ ตามความเหมาะสม และเป็นประโยชน์ในการนำมาประยุกต์ใช้ในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารพิษในแหล่งน้ำ

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 2

### สอบสวนเอกสาร

มนุษย์รู้จักนำผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มาใช้ในการควบคุมศัตรูพืชและสัตว์รบกวนมาช้านานแล้ว นับตั้งแต่มนุษย์เริ่มรู้จักการเพาะปลูกพืชพันธุ์ธัญญาหารเพื่อใช้บริโภค มนุษย์ก็เริ่มคิดค้นหาวิธี ที่จะควบคุมและกำจัดศัตรูพืช ยาฆ่าแมลงและสารกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ได้มาจากการศึกษาสมุนไพรที่มีประวัติการใช้เบื่อปลาและกำจัดแมลงในการใช้พื้นบ้านของท้องถิ่นต่าง ๆ แม้ว่าปัจจุบันจะมีการสังเคราะห์สารเคมีขึ้นเป็นจำนวนมาก เพื่อใช้ในการปราบปรามและป้องกันศัตรูพืชเศรษฐกิจ ตลอดจนใช้ช่วยในการเก็บรักษาผลผลิตทางเกษตรกรรม คิดเป็นมูลค่ามหาศาลในแต่ละปีก็ตาม แต่ผลเสียที่ติดตามมากก็คือการเกิดมลภาวะและพิษตกค้างจากสารเคมีเหล่านี้ จึงได้มีความพยายามที่จะนำผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาใช้แทนสารสังเคราะห์ เนื่องจากสารธรรมชาติมีการสลายตัวได้ง่ายกว่า จึงไม่ทำให้เกิดปัญหาด้านมลภาวะซึ่งนับวันก็จะเป็นปัญหาที่เพิ่มความสำคัญยิ่งขึ้น ศัตรูของพืชที่มีความสำคัญทางเกษตรกรรมได้แก่วัชพืช เชื้อรา เพลี้ย หนอน ดักแด้ แมลงต่างๆ เช่น ตั๊กแตนสีน้ำตาล ดั้ว แมงมุม หอย หนู และกระต่าย เป็นต้น (วินัย รัตนปกรณ์ชัย และอนันต์ วัฒนธัญญกรรม, 2525) การปราบปรามและป้องกันศัตรูพืชที่นิยมใช้โดยทั่วไปมีอยู่ 3 วิธีดังนี้

1. วิธีทางเกษตรกรรม ได้แก่การปลูกพืชหมุนเวียนโดยอาศัยหลักที่ว่าพืชต่างชนิดกันจะถูกรบกวนโดยแมลงหรือสัตว์ต่างชนิดกัน ดังนั้นการปลูกพืชต่างชนิดหมุนเวียนกันไปทุก 1 หรือ 2 วิธีดังกล่าว ใช้ได้เฉพาะกับศัตรูพืชที่มีวงจรชีวิตสั้น เช่น พวงข้าว ข้าวโพด และถั่วต่างๆ
2. วิธีทางชีวภาพ การควบคุมศัตรูพืชโดยวิธีทางชีวภาพ อาจใช้ไวรัสหรือแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในแมลง หรือปล่อยแมลงที่เป็นหมัน (sterile insects) เข้าไปปะปนกับแมลงที่เป็นศัตรูพืช ซึ่งวิธีนี้ให้ผลดีในการควบคุมจำนวนของแมลงวันทอง บางชนิด (เอมอร โสมนะพันธุ์, 2535)
3. วิธีทางเคมี เป็นวิธีที่มีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางที่สุด เนื่องจากเป็นวิธีที่สิ้นเปลืองน้อยที่สุด สารเคมีที่นำมาใช้ในการกำจัดศัตรูพืชและสัตว์รบกวน มีทั้งที่เป็นสารสังเคราะห์และผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ ในบรรดาสารเคมีที่ใช้กำจัดศัตรูพืชและสัตว์รบกวนอยู่ในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติรวมอยู่ด้วยหลายชนิด โดยเฉพาะในกลุ่มของสารกำจัดแมลง เช่นสารที่ได้จากดอกไพรีทรัม นิโคตินจากใบยาสูบ และโรติโนนจากโลตี้น เป็นต้น และในกลุ่มของสารกำจัดสัตว์กัดแทะ เช่น สติกนีนจากแสลงใจ นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มที่จะนำสารจำพวกไฟโตอเล็กซิน (phytoalexins) มาใช้ในการป้องกันและกำจัดเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคในพืชอีกด้วย

## สารกำจัดแมลงจากธรรมชาติ (Natural Insecticides)

สารกำจัดแมลงอาจแบ่งออกตามลักษณะการออกฤทธิ์ ได้เป็น 3 พวกด้วยกันคือ

1. ยาพิษสัมผัส (contact poisons) หมายถึง สารพิษที่สามารถฆ่าแมลงได้เมื่อแมลงสัมผัสกับสารนั้นๆ ตัวอย่างเช่น นิโคติน ไพรีทริน เป็นต้น
2. ยาพิษเมื่อเข้าสู่กระเพาะ (stomach poisons) เป็นสารที่ออกฤทธิ์เมื่อแมลงกินสารเข้าไป ได้แก่ สารจำพวกอารซินิค โรติโนน
3. สารยับยั้งการกิน (feeding deterrents) การที่แมลงจะกินพืชชนิดใดนั้น ขึ้นอยู่กับว่าพืชนั้นผลิตสารกระตุ้นการกินในแมลงหรือไม่ ในทางตรงกันข้ามแมลงจะไม่กินพืชที่สร้างสารยับยั้งการกินในแมลงชนิดนั้น ซึ่งสารกลุ่มหลังนี้มีแนวโน้มที่จะมีบทบาทในการป้องกันพืชจากแมลงรบกวนในอนาคต

## ยาสูบ

### อนุกรมวิธานของยาสูบ

Family Solanaceae

Genus *Nicotiana*

Species *Nicotiana tabacum*

### ชื่อพ้อง

*Nicotiana virginica* C. Agardh (1819), *N. mexicana* Schlecht. (1847), *N. pilosa*

Moe.&Sessé ex Dun (1852).(PROSEA, 2543)

### ชื่อพื้นเมือง

อังกฤษ: tobacco. ฝรั่งเศส: tabac, tabaccommun. อินโดนีเซีย: tembakau, tabako, bako.

มาเลเซีย: tembakau. ไทย: ยาสูบ (ทั่วไป), จะวู้ว (เขมร-สุรินทร์)

## ข้อมูลด้านพฤกษศาสตร์และลักษณะทั่วไป

ยาสูบจัดเป็นไม้ล้มลุก สูง 1-2.5 เมตร หรืออาจสูงถึง 3 เมตร (รูปที่ 2.1 ก) ลำต้นขนาดใหญ่ ตั้งตรง ไม้แตกกิ่งแขนง ยกเว้นเมื่อเด็ดยอด มีระบบรากแก้วสมบูรณ ใบและลำต้นสีเขียวปกคลุมด้วยขน ขนบางส่วนมีลักษณะเป็นต่อมเหนียว ใบเรียงเวียน มี 20-30 ใบในแต่ละต้น ไม่มีก้านใบ แผ่นใบรูปไข่แกมรูปใบหอกหรือรูปรี ขนาด 5-50 ซม. X 5-25 ซม. ขอบใบเรียบ มีลักษณะเป็นคลื่นเล็กน้อย แผ่นใบไปถึงลำต้น ตามปกติมีหูใบในส่วโคนใบ แขนงใบแตกออกสองด้านของเส้นกลางใบ ดอกออกเป็นช่อ มีใบประดับรองรับ กลีบดอกรูปดอกเข็ม ปกติสีชมพูอ่อน (รูปที่ 2.1 ข) เกสรเพศผู้ 5 อัน รั้งไข้อยู่เหนือวงกลีบ มี 2 ช่อ มีเมล็ดจำนวนมาก จำนวน 2000-5000 เมล็ดในแต่ละผล (Alex และคณะ, 1980) เมล็ดรูปไข่ไปจนถึงรูปกลม (รูปที่ 2.2)



ก.



ข.

รูปที่ 2.1 รูปยาสูบพันธุ์ *N. tabacum* Linn. (PROSEA, 2543)

ก. แสดงต้นและใบยาสูบ ลักษณะเป็นไม้ล้มลุก สูง 1-3 เมตร

ข. แสดงดอกยาสูบซึ่งมีสีชมพูอ่อน



รูปที่ 2.2 แสดงรูปวาดทางอนุกรมวิธานของยาสูบ *N. tabacum* Linn. ( PROSEA,2543)

### ถิ่นกำเนิดและการกระจายพันธุ์

มีการพัฒนายาสูบเป็นพืชปลูกในอเมริกากลางและอเมริกาใต้ มานานกว่า 2000 ปี และไม่มีต้นที่ขึ้นอยู่ตามธรรมชาติที่แท้จริง อาจเกิดมาจากการผสมข้ามระหว่างต้นพ่อแม่ที่มีโครโมโซม 2 ชุด คือ *N. sylvestris* Sp. & Comes และ *N. otophora* Griseb. หรือ *N. tomentosiformis* Goodsp. ที่พบขึ้นอยู่ตามธรรมชาติในแถบตะวันตกเฉียงเหนือของอาร์เจนตินา มีการนำยาสูบเข้าไปปลูกครั้งแรกในยุโรปประมาณปี ค.ศ. 1560 และในอเมริกาเหนือในปี ค.ศ. 1612 (เวอร์จิเนีย) จีน ญี่ปุ่นและในช่วงต้นคริสต์ศตวรรษที่ 17 ในอินเดีย มีการผลิตยาเส้นเวอร์จิเนียในรัฐทางตะวันออกเฉียงใต้ของอเมริกาเหนือและยาเส้น Spanish จากหมู่เกาะในแถบคาบิเบียนและอเมริกาใต้ ยาสูบส่วนใหญ่ที่ผลิตในเอเชีย ใช้เพื่อการบริโภคในท้องถิ่น มีการส่งไปจำหน่ายต่างประเทศเพียงเล็กน้อย จนกระทั่งมีการพัฒนาการปลูกยาสูบ เพื่อให้ในอุตสาหกรรมการผลิตซิการ์ในชวาและตะวันออกเฉียงเหนือของสุมาตราหลังปี ค.ศ. 1860

ใบยาสูบที่ผ่านการบ่มมีการนำไปใช้ประโยชน์สำหรับสูบ เคี้ยวหรือสูดดมกลิ่นและรสชาติและโดยเฉพาะเพื่อการกระตุ้นและการเป็นสารเสพติดอย่างอ่อนของสารนิโคติน ผลผลิตของใบยาสูบมากกว่า 90% ใช้ผลิตบุหรี่ส่วนใหญ่เป็นพวกบ่มไอร้อนเป็นพันธุ์เวอร์จิเนีย รวมทั้งจำพวกใบยาเบอร์เลย์ฝั่งลมสีอ่อน หรือใบยาแมรี่แลนด์ซึ่งตามปกติมีรสขมและใช้เป็นส่วนผสม บุหรี่ที่ผลิตในอเมริกามีส่วนผสมของใบยาเวอร์จิเนีย เบอร์เลย์ และใบยาแมรี่แลนด์ (Rice และคณะ ,1973) ในอินโดนีเซียมีการใช้ใบยาสูบสดบดละเอียดเป็นส่วนผสม



ของสมุนไพรใช้รักษาแผลและแผลเน่าเปื่อย (เรณู และคณะ, 2530) เคยมีการสกัดสารนิโคตินจากใบยาสูบ *N. tabacum* และโดยเฉพาะจากใบ *N. rustica* ที่มีปริมาณนิโคตินสูงกว่าเพื่อนำไปใช้ประโยชน์เป็นสารป้องกันและกำจัดแมลง

ใบยาสูบสดมีความชื้น 85-90% ในขั้นตอนการบ่มใบยาความชื้นในใบลดลงเหลือ 12-15 % องค์ประกอบของน้ำหนักแห้งของใบยาบ่มไอร้อนประกอบด้วย น้ำตาล 18-20% แป้ง 5-8% และโปรตีน 2% ใบยาที่ฟุ้งลมให้แห้งมีน้ำตาลเพียงเล็กน้อยแต่มีโปรตีน 3-15% สารอัลคาลอยด์สำคัญในใบยาสูบ ได้แก่ สารนิโคติน ใบยาที่บ่มโดยการฟุ้งลมมีนิโคติน 1.0-1.5% เปรียบเทียบกับ 1.5-2.5% ในใบยาบ่มไอร้อนและสูงถึง 4% ในใบยาเบอร์เลย์ (สุนทรี วรพณี และวิมลมาศ พวงนาค, 2524) ปริมาณของนิโคตินเป็นตัวกำหนดความคูลของใบยาสูบ แต่รสชาติและคุณภาพของรสชาติมีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนมากกว่า น้ำมันหอมและเรซิน ที่มีอยู่ในต่อมขนเป็นตัวกำหนดกลิ่นหอมของยาสูบ ใบยาสูบที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตบุหรี่มีอยู่ 2 ชนิดด้วยกันคือ

### 1. พันธุ์เวอร์จิเนีย (Virginian tobacco)

ได้จากใบของ *Nicotiana tabacum* Linn. ซึ่งเป็นพืชพื้นเมืองในแถบร้อนของสหรัฐอเมริกา เชื่อว่าเป็นพันธุ์ผสม ที่ได้จากสายพันธุ์ที่ขึ้นเองตามธรรมชาติ ชาวอินเดียนแดงซึ่งเป็นชนพื้นเมืองในทวีปอเมริกา รู้จักปลูกต้นยาสูบและนำใบยาสูบบ่มมาเป็นบุหรี่ นำมาเคี้ยวและทำเป็นยาสูบ

### 2. พันธุ์ตุรกี (Turkish tobacco)

ได้จากใบของ *N. rustica* ซึ่งเป็นพันธุ์พื้นเมืองของตะวันออกกลาง ในใบยาสูบมีนิโคตินอยู่ ร้อยละ 2-8 โดยรวมอยู่กับกรดซิตริกและมาลิก การสกัดนิโคตินในทางอุตสาหกรรมสามารถทำได้โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) จากใบยาสูบที่เหลืทิ้งจากอุตสาหกรรมการทำบุหรี่

พรรณไม้ในสกุล *Nicotiana* มีอยู่ประมาณ 65 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นพรรณไม้พื้นเมืองในทวีปอเมริกาและมี 2-3 ชนิด ในออสเตรเลีย ส่วนใหญ่มีโครโมโซม 2 ชุด ( $2n=24$ ) ยกเว้นที่เป็น amphidiploid 9 ชนิดรวมทั้ง *N. tabacum* และ *N. rustica* (Ausloos และคณะ, 1995) นอกจากนี้พบใน *Nicotiana* spp. ชนิดต่าง ๆ แล้วยังพบนิโคตินในพืชอื่น ๆ ในวงศ์ Solanaceae เช่น *Duboisia*, *Anthocercis*, *Cyphanthera* และในพืชวงศ์อื่น เช่น *Erythroxylum* spp. และ *Asclepias syriaca* เป็นต้น (Jongsma และ Bolter, 1997)

ยาสูบมีสารประกอบไนโตรเจนหมู่ที่หนึ่งที่เรียกว่า อัลคาลอยด์ ซึ่งมีนิโคตินเป็นส่วนใหญ่ นิโคตินเป็นองค์ประกอบที่ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะตัวแก่ยาสูบ อาจกล่าวได้อีกว่านิโคตินคือยาสูบ ความซับซ้อนของใบยาเกิดจากต้นเหตุ 2 ประการ คือ

1. พันธุกรรม ยาสูบเป็นพืชตระกูล Solanaceae อยู่ใน genus *Nicotiana* ซึ่งมีพันธุ์ต่างๆ (species) รวมกันอยู่มากกว่า 65 พันธุ์ ทั่วไปเข้าใจกันว่ามีเพียง *N. tabacum* และ *N. rustica* ซึ่งปลูกสำหรับใช้เป็นยาสูบ *N. tabacum* เพาะปลูกกันอย่างกว้างขวางทั่วโลกเป็นการค้า ส่วน *N. rustica* ปลูกกันแถบยุโรปตะวันออก *N. tabacum* เป็นพันธุ์ผสมโดยธรรมชาติระหว่าง *N. sylvestris* และ *N. otophora* หรือ *N. tomentosiformis* พืชที่ได้จากการผสมพันธุ์นั้นมีระดับของความแตกต่างสูงมาก *N. tabacum* ได้รับความพิสูจน์แล้วว่า ปรับตัวได้ง่ายมาก จากงานวิจัยของนักพฤกษศาสตร์ในอดีตถึงปัจจุบัน กล่าวว่า ยาสูบทุกประเภท ทุกพันธุ์ ที่ปลูกกันทั่วโลก ได้จากพันธุ์ผสมโดยธรรมชาติของ *N. tabacum* (Wynder และคณะ ,1967)

Wynder และคณะ (1967) ได้ทำการทดลองความแตกต่างกันทางพันธุกรรม โดยทำการปลูกยาสูบเวอร์จิเนียสายพันธุ์เก่า 50 พันธุ์ แบ่งเป็น 2 รุ่น ดินปลูกเป็นดินร่วนปนทราย (sandy loam) ภาวะแวดล้อมเหมือน การเพาะปลูก การใส่ปุ๋ย การเก็บเกี่ยว การบ่มเหมือนกันแต่ผลผลิตที่ได้ต่อเอเคอร์ระหว่างพันธุ์ต่างกัน และผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบเคมีเช่น สารประกอบไนโตรเจน น้ำตาล ส่วนที่ละลายในปิโตรเลียมอีเทอร์และกรดละลายน้ำต่างๆ กัน การศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างกันมากทางพันธุกรรมที่มีอยู่ภายในพันธุ์ผสม *N. tabacum*

2. ภาวะแวดล้อม ยาสูบปลูกกันได้ทั่วโลก แสดงว่าปรับตัวได้ต่อช่วงกว้างของดินและภาวะอากาศ ไบยาที่ผลิตได้ แต่ละแหล่งก็มีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวกับดิน ฝนฟ้าอากาศปริมาณ และการกระจายของน้ำฝน อุณหภูมิ ระยะเวลาและความเข้มของแสง ปัจจัยเหล่านี้ นอกจากเปลี่ยนแปลงไปแต่ละบริเวณที่ปลูกยาสูบ ยังเปลี่ยนแปลงได้แต่ละปี คุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของไบยาที่ผลิตได้จึงมีความแตกต่างกัน

### องค์ประกอบเคมีในไบยาสูบ

ไบยาสูบทุกประเภทสามารถสังเคราะห์องค์ประกอบเคมีต่างๆ ขึ้นได้เหมือนกันหมด แต่แตกต่างกันที่ปริมาณมากน้อยเท่านั้น องค์ประกอบเคมีที่ยาสูบสังเคราะห์ขึ้นจากอาหารในดินและแสงแดด แบ่งออกได้เป็น 8 หมู่ ดังต่อไปนี้

1. องค์ประกอบไนโตรเจน

องค์ประกอบไนโตรเจนในไบยาสูบแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มไม่ละลายน้ำ มีโปรตีน



ไนโตรเจน และกลุ่มละลายน้ำได้แก่ แอลคาลอยด์ทั้งหมด หมู่กรดอะมิโน แอลฟาอะมิโนไนโตรเจนเอมีน แอลบูมิน ไนเตรท และแอมโมเนีย

สารประกอบไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กับคุณภาพของใบยาทางกลีนิรต เมื่อเผาไหม้ให้ควันเป็นต่างถ้ามีปริมาณมากเกินไปโปรสซูนแรง แอลคาลอยด์ในยาสูบมีรวมกันอยู่มากชนิด ส่วนใหญ่คือนิโคติน ส่วนน้อยคือนอร์นิโคติน แอนาตาปีน แอนาเบซิน และอื่น ๆ อีก นิโคตินสร้างขึ้นที่รากแล้วไปสะสมกันอยู่ที่ใบ นอร์นิโคตินถ้ามีปริมาณสูง ทำให้กลีนิรตของใบยาสูบแปลกไป Minimum Standard Program ในสหรัฐอเมริกาจึงกำหนดให้พันธุ์ใหม่ ๆ ไม่ควรมีนิโคตินเกิน 8% ของแอลคาลอยด์ทั้งหมด (Rice และคณะ ,1973)

## 2. องค์ประกอบคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตรูปต่างๆ ที่พบในใบยาแก่มีประมาณ 25-50% ของปริมาณสารแห้งทั้งหมด (Gamer,1951) ปริมาณน้ำตาลในใบยาที่มีความสัมพันธ์กับกลีนิรตของควันบุหรี่ ในการเผาไหม้ของบุหรี่ สารประกอบน้ำตาลจะให้ควันเป็นกรดระเหย ไปลดความเป็นต่างของควันที่เกิดจากการเผาไหม้ของสารประกอบไนโตรเจน ฉะนั้นความสมดุลระหว่างปริมาณน้ำตาลกับสารประกอบไนโตรเจน จึงมีความสำคัญต่อคุณภาพใบยา

## 3. กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์ประกอบด้วยกรดชนิดต่างๆ หลายสิบชนิด แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มกรดไม่ระเหย มีอยู่ 90% ของกรดทั้งหมดในใบยา (Kallianos,1976) ได้แก่ กรดมาลิก ซิตริค อ็อกซาลิก มาโลนิค และกลุ่มกรดระเหย ให้ผลต่อความหอมของควันบุหรี่ ( Kawano และคณะ, 1998) จากการวิจัยของ Resnik (1957) ได้ศึกษาปริมาณกรดไม่ระเหย ในใบยาบ่มไอร้อนชั้นคุณภาพดีและคุณภาพต่ำ ผลปรากฏว่า ใบยาชั้นดีมีกรดอ็อกซาลิกและซิตริคน้อยกว่าใบยาคุณภาพต่ำ

## 4. แร่ธาตุต่างๆ ในใบยา

แร่ธาตุอาหารต่างๆ ที่มีอยู่ในใบยาสูบ แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้

- 4.1 ธาตุอาหารหลัก ได้แก่ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม และกำมะถัน
- 4.2 ธาตุอาหารรอง ได้แก่ อลูมิเนียม โบรอน คลอรีน ทองแดง เหล็ก แมงกานีส โมลิบดีนัม โซเดียม ซิลิกอน และสังกะสี
- 4.3 ธาตุอาหารโครงสร้าง ได้แก่ คาร์บอน ออกซิเจน และไฮโดรเจน

## 5. สารหอมในใบยาสูบ

สารหอมในใบยาเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกลุ่มใหญ่ เกิดขึ้นจากการสังเคราะห์ของใบยา

ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย เรซิน และแวกซ์ สารประกอบทั้งหมดนี้ปรากฏที่ต่อมขนของใบยา มีลักษณะเป็นยางเหนียว

#### 6. องค์ประกอบฟีนอลิก

องค์ประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์ต่อสีและความหอมของใบยา แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ

6.1 Polyphenol ส่วนมากเป็นคลอโรเจนิก รูติน และสโคโปเลติน

6.2 Simplephenol เป็นฟีนอลที่ระเหยได้ เช่น ฟีนอล เครซอล ยูเกนอล และไกวคอลล

ผลงานวิจัยใบยาบ่มไอร้อนซึ่งศึกษาโดย Wilkinson และคณะ (1954) พบว่าปริมาณคลอโรเจนิก แอซิดและรูตินมีความสัมพันธ์โดยตรงกับตำแหน่งใบยาบนลำต้น และมีปริมาณสูงในใบยาชั้นดี

#### 7. องค์ประกอบฟิกเมนต์

เม็ดสีในใบยาสูบส่วนใหญ่ประกอบด้วย

โคลโรฟิล เอ	โคลโรฟิล บี	(สีเขียว)	} แคโรทีนอยด์
แคโรทีน		(สีเหลือง)	
แซนโทฟิล		(สีเหลือง)	

สีของใบยาในไร่ แสดงถึงภาวะการเจริญเติบโต โดยทั่วไปปริมาณโคลโรฟิลในใบยาสดมี 0.5-4% ปริมาณแคโรทีนและแซนโทฟิลมีประมาณ 1/5-1/3 ของโคลโรฟิลในใบยาแก่ (Tso,1972)

Wolf (1962) ศึกษาปริมาณโคลโรฟิลเอ โครโรฟิล บี ในใบยาเตอร์กิช บ่มไอร้อน และเบอร์เลย์ สรุปว่าใบยาบ่มไอร้อนมีโคลโรฟิลสูงกว่าใบยาเตอร์กิชและใบยาทั้งสองประเภทนี้มีโคลโรฟิลสูงกว่าใบยาเบอร์เลย์

#### 8. เอ็นไซม์

เอ็นไซม์ที่มีในใบยาสูบได้แก่ hydrolase, dehydrogenase, oxidase และ peroxidase ปฏิกริยาของเอ็นไซม์ในยาสูบมักแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ของ *Nicotiana* ระยะเวลาเจริญเติบโต ส่วนต่างๆ ของต้นยาและภาวะแวดล้อม



protease inhibitors (PIs) ซึ่งสามารถยับยั้งการกินหรือการกัดแทะของแมลงศัตรูพืชได้ (Jongsma และคณะ, 1994) โดยมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีต่างๆ ภายในต้นพืชแต่ละชนิดดังกล่าว อย่างไรก็ตามแมลงกินพืชและกลไกการป้องกันตัวเองของพืชดังกล่าว มีวิวัฒนาการร่วมกันมากกว่าพันปี (Liang และคณะ, 1994)

นอกจากนิโคตินแล้ว ยังมีแอลคาลอยด์ที่มีโครงสร้างสัมพันธ์กับนิโคตินและมีคุณสมบัติฆ่าแมลงเช่นเดียวกัน คือ นอร์นิโคติน ซึ่งพบใน *N. glutinosa* และแอนาเบซิน พบใน *N. glauca* และ *Anabasis aphylla* เหล่านี้รวมเรียกว่า นิโคตินอยด์ แม้ว่าสาร 2 ชนิดหลังจะมีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงต่ำกว่านิโคตินแต่ก็มีการใช้เป็นยาฆ่าแมลงเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะแอนาเบซิน มีการสกัดขึ้นอุตสาหกรรมในประเทศสหภาพโซเวียตรัสเซียด้วย (Ramaprasad และคณะ, 1998)

### กลไกการออกฤทธิ์

สารกลุ่มนิโคตินอยด์เป็นสารพิษแบบสัมผัส ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการส่งผ่านสัญญาณระหว่างเซลล์ประสาท ทั้งนิโคตินและแอนาเบซินเป็นพิษต่อคนด้วย

### ประโยชน์

นิโคตินและสารกลุ่มนิโคตินอยด์เป็นยาฆ่าแมลงที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย ในสหรัฐอเมริกามีการใช้นิโคตินเป็นยาฆ่าแมลง โดยใช้ในรูปของสารละลาย 40% ของนิโคตินซัลเฟต มีชื่อทางการค้าว่า “Black Leaf 40” นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นยารมควัน (fumigant) ซึ่งมักนิยมนำนิโคตินในรูปอิสระ เมื่อใช้เป็นยาพิษสัมผัส นิโคตินจะให้ผลดีเมื่ออยู่ในรูปของสบู่ เช่น อนุพันธ์ laurate หรือ naphthenate สารผสมระหว่างนิโคตินกับเบนโทนีนที่มีการใช้เป็น stomach poison เฉพาะในสหรัฐอเมริกามีการใช้นิโคตินเป็นยาฆ่าแมลงปีละกว่า 500 ตัน (Natori และคณะ, 1981)

### การสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณ

นิโคตินสกัดได้จากใบยาสูบที่นำมาผลิตบุหรี่ยี่ห้อและยาเส้น นอกจากนี้ ยังได้นิโคตินจากการผลิตยาเส้นชนิดปราศจากนิโคติน เมื่อผสมใบยาสูบกับแอมโมเนียและผ่านไอน้ำจะทำให้ปริมาณนิโคตินลดลง

นิโคตินเป็นสาร dibasic ในสูตรโครงสร้างมี tertiary N 2 อะตอม N – Pyridine มีคุณสมบัติเป็นด่างอ่อน N – pyrrolidine เป็นด่างแก่ การเติมโปรตอน (protonation) จะทำให้เกิด hyper – และ hypsochromic shift ใน UV – spectrum ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่นำมาใช้วิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในใบยาสูบ โดยวัดค่า extinction

ที่  $\lambda$  259 nm ที่แตกต่างกันในสถานะที่เป็นกลางและต่าง การแยกนิโคติน มักใช้การกลั่นแบบไอน้ำ เนื่องจากนิโคตินระเหยง่าย จึงนิยมใช้วิธี gas chromatography ในการวิเคราะห์ (Pelletiev, 1970)

### คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา

ไม่มีการนำนิโคตินมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์นิโคตินเมื่อสัมผัสกับเยื่อบุอ่อน ผิว หรือสูดดม ถูกดูดซึมและจับกับ nicotinic receptor ในร่างกาย แสดงฤทธิ์เป็น cholinomimetic นิโคตินขนาดน้อย กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) และส่วนปลาย (peripheral nervous system) (วีณา วิรัชชริยา กุล, 2535) นิโคตินปริมาณสูงจะทำให้เป็นอัมพาต มีพิษร้ายแรงที่สุด รองจากกรดไฮโดรไซยานิก (HCN) มีความเป็นพิษสูงมีค่า  $LD_{50}$  เท่ากับ 50-60 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม ในหนูแรท เมื่อให้ทางปาก (Sim, 1966) นิโคตินในรูปอิสระสามารถดูดซึมผ่านเยื่อเมือกและทางผิวหนังได้ ส่วนเกลือของนิโคตินไม่สามารถซึมผ่านได้

ปริมาณที่ทำให้คนตายเนื่องจากระบบหายใจเป็นอัมพาตเท่ากับ 50-100 มิลลิกรัม อันตรายจากนิโคติน คือ การทำงานของหัวใจผิดปกติ และอาการปวดเค้นหน้าอก การไหลเวียนโลหิตผิดปกติ ตาพร่ามัว และโรคกระเพาะอาหารอักเสบ นอกจากนี้มีสารอื่นในบุหรี่ ที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งที่ปอดและกระเพาะอาหาร (วีณา วิรัชชริยา กุล, 2533) นิโคตินหลังจากถูกดูดซึม จะถูกทำลายกลายเป็นโคตินิน นิโคตินมีผลข้างเคียงทำให้คลื่นไส้เล็กน้อย ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย และปวดขากรรไกร สารนิโคตินมีผลกับประสาทส่วนกลางและส่วนปลายในบางจุด เช่นเดียวกับกับอะซิติลโคลีน เป็นสารกระตุ้นให้เกิดการหลั่งอดรีนาลิน ทำให้หัวใจเต้นช้าลงและความดันโลหิตเพิ่มขึ้น นิโคตินจัดเป็นสารเสพติดที่สำคัญมากชนิดหนึ่ง การสูบบุหรี่ทำให้มีการสูดดมเอาน้ำมันดิน (tars) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งเข้าไปด้วย มีความสัมพันธ์อย่างชัดเจนระหว่างการสูบบุหรี่และการเกิดมะเร็งในปอดและลำคอ โรคหัวใจและโรคทางเดินหายใจ ( Ji และคณะ, 1995)

### ความเป็นพิษของยาสูบและสารนิโคติน

การศึกษาความเป็นพิษของยาสูบและสารนิโคตินรวมถึงอัลคาลอยด์อื่นๆ ที่มีในยาสูบนั้นมีผู้ทำการศึกษาไว้หลายด้านดังนี้

#### ความเป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืช

จากการศึกษาของ Archna และคณะ (1995) พบว่าอัลคาลอยด์ที่ได้จากใบยาสูบ *N. tabacum* มีคุณสมบัติในการเป็นสารฆ่าแมลงและสามารถยับยั้งการกินอาหารของแมลง *Tribolium costaneum* ได้โดยมีค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 21,508 ppm. นอกจากนั้นสารสกัดที่ได้จากยาสูบยังสามารถกำจัดหนอนไผ่ฝัก หนอนกระทุ้ และ



เพื่อย่อยในพืชตระกูลกะหล่ำได้ผลดี โดยพบว่าสารสกัดจากพืชดังกล่าว มีศักยภาพในการควบคุมความเสียหายของพื้นที่ใบในอัตราที่เท่าเทียมกับสารเคมีสังเคราะห์ (สุรัตน์วดี จิระจินดา และคณะ, 2537) ไบยาซูบนอกจากจะมีนิโคตินซึ่งเป็นอัลคาลอยด์ที่มีอยู่เป็นปริมาณมากแล้ว ยังพบว่าในเมล็ดมี สารซาโปนิน (furostanol saponin) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารฆ่ารา (fungicidal activity) ได้แก่ 26-desgluco ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ saponin B ส่วน monolesmosidie ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ saponin A แต่ไม่มีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลง โดยพบว่าสาร saponin ทั้ง 2 ชนิด จะสะสมมากในเมล็ดแก่ของยาสูบและมีปริมาณลดลงต่ำสุดในขณะที่ไม่ถึงดอก (Sabine และคณะ, 1990)

### ความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

จากรายงานการศึกษาของ Ramesh และคณะ (1997) ศึกษาความเป็นพิษของสารนิโคติน ที่สกัดจากไบยาซูบต่อ หนูขาว (albino rat) เพศผู้ ภายหลังได้รับสารนิโคติน 0.4 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 100 กรัม จำนวน 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้รับนิโคติน ทางปากและฉีดเข้าทางผิวหนัง เปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุม พบว่า Epididymis และ Vas deferens ของหนูแรท ที่ได้รับนิโคตินทั้ง 2 กลุ่มมีน้ำหนักลดลง และปริมาณโคเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น ขณะที่ปริมาณโปรตีน DNA และ RNA รวมถึงจำนวนสเปิร์มลดลง นอกจากนี้การรับนิโคตินเข้าไปโดยทางระบบหายใจสามารถทำให้เกิดความผิดปกติต่อระบบสืบพันธุ์ได้เช่นกัน จากการศึกษาของ Chowdhury และคณะ (1992) พบว่าหนูแรทเพศผู้ พันธุ์ Sprague-Dawley มีความผิดปกติเกิดขึ้นที่ตับอ่อน ภายหลังจากได้รับสารนิโคตินเข้าไปทางระบบหายใจ เป็นเวลานาน 21 วัน โดยได้รับวันละ 2 ครั้ง เมื่อวัดปริมาณ กลูโคส เอนไซม์แกสตรินและ cholecystokinin ในเลือดพบว่าไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมแต่สามารถตรวจพบสารนิโคตินในเลือดในกลุ่มทดลองเท่านั้นนอกจากนี้ยังพบว่าตับอ่อนของกลุ่มทดลองมีความผิดปกติคือเกิดการบวม มีการสะสม vacuole และมีการหดของนิวเคลียส การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวพบเฉพาะตับอ่อนส่วน exocrine แต่ไม่พบความผิดปกติใดๆ ที่ส่วน Islet of Langerhans

การเปรียบเทียบความเป็นพิษของนิโคตินบริสุทธิ์กับ Smokeless Tobacco Extract (STE) ได้มีผู้ทำการศึกษาไว้เช่นกัน โดยทำการศึกษาใน Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells (Yildiz และคณะ, 1999) โดยการวัดระดับปริมาณของ Glutathion และ Malondialdehyde ที่เปลี่ยนแปลงไป พบว่า STE มีความเป็นพิษสูงกว่านิโคตินบริสุทธิ์อย่างมีนัยสำคัญ

เกี่ยวกับความเป็นพิษของนิโคตินต่อตับอ่อน Chowdhury และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าสารนิโคตินสามารถชักนำให้เกิดมะเร็งที่ตับอ่อนได้ โดยอธิบายว่าเมื่อสารนิโคตินกระตุ้นให้เกิดความเสียหายที่ตับอ่อนแล้ว จะมีการชักนำให้เกิดการปลดปล่อยแคลเซียมภายในเซลล์ของตับอ่อนออกมาในปริมาณ

มากและมีผลทำให้เซลล์เป็นพิษและเซลล์มีการตายในที่สุด และในขณะที่ตับอ่อนเกิดความเสียหายจะมีผลไปกระตุ้นและ เหนี่ยวนำ protooncogene-H-ras, ซึ่งสามารถทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ cytosolic calcium ภายในเซลล์ จากผลการศึกษาดังกล่าว การเกิดมะเร็งที่ตับอ่อนมีผลเนื่องมาจากการกระตุ้นและการเกิด mutation ของ H-ras gene

จากการศึกษาของ Brian และคณะ (2002) ก็พบว่านิโคตินสามารถทำให้ปริมาณแคลเซียมภายในเซลล์เพิ่มขึ้น โดยได้ทำการศึกษาผลของสารนิโคตินต่อ Isolated perfused liver ของหนูแรท โดยการแช่ในสารละลายนิโคติน 85  $\mu\text{M}$ . และ 850  $\mu\text{M}$ . พบว่ามีผลทำให้ mitochondrial respiration เพิ่มขึ้น 10% และ 27% ตามลำดับ เกี่ยวกับผลของนิโคตินต่อความผิดปกติของระบบหายใจ ( Ji และคณะ, 1995) นอกจากนี้สัตว์ทดลองที่ได้รับสารโดยตรงแล้ว ยังส่งผลถึงตัวอ่อนหรือลูกในครรภ์ด้วย Ola และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษารูปแบบของการหายใจที่เปลี่ยนแปลงไปของลูกแกะเกิดใหม่ ภายหลังจากที่แม่แกะได้รับสารนิโคตินเข้าไปเป็นเวลานาน 5 สัปดาห์ก่อนคลอด พบว่าลูกแกะแรกเกิดมีรูปแบบการหายใจที่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมคือ ลูกแกะกลุ่มทดลองนิโคตินมี tidal volumes ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แต่มีอัตราการหายใจสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ สารนิโคตินสามารถตรวจพบได้ทั้งทางเลือดและปัสสาวะ ( Kristy และคณะ, 1996) โดยในมารดาที่ได้รับสารนิโคตินขณะตั้งครรภ์สามารถวัดปริมาณของสารนิโคตินและ cotinine ได้ทางเลือดและปัสสาวะและสามารถตรวจวัด DNA alkylation ได้โดยใช้วิธี competitive RIA และ HPLC (Kopplin และคณะ, 1995) (Dempsy และคณะ, 2002) และพบว่าสารนิโคตินมีครึ่งชีวิต (half-life) น้อยกว่า นิโคติน คือ 8.8 ชั่วโมง และ 16.6 ชั่วโมง ตามลำดับ (Dempsey และคณะ 2002) โดยพบว่านิโคตินบางส่วนอาจมีการซึมออกมาทางผิวหนังได้ (Benowitz และ Jacob, 1994)

Bnait และ Seller (1995) ได้ทำการศึกษาผลของสารนิโคตินต่อ Embryo ของหนู mouse ที่มีการตั้งครรภ์เป็นเวลา 9 วัน ศึกษาโดยใช้ Scanning and transmissim electron microscopy พบว่า เอมบริโอมีความผิดปกติที่บริเวณ neural plate, ectoderm, pericardium และหัวใจ โดยพบว่า mitochondria ของ neural tube ยึดยาวมีการเพิ่มขนาดและ cristae หลุดซึ่งมีผลทำให้เอมบริโอ เกิดสภาวะที่เนื้อเยื่อมีปริมาณออกซิเจนต่ำกว่าปกติ (anaxia) นอกจากนี้ในมารดาที่ได้รับนิโคตินขณะตั้งครรภ์ยังส่งผลกระทบต่อพัฒนาการของปอดของเอมบริโออีกด้วย (Selman และคณะ, 1996)



## ปลานิล

### อนุกรมวิธานของปลานิล

Phylum	Vertebrata
Class	Osteichthyes
Order	Perciformes
Family	Cichlidae
Genus	<i>Oreochromis</i>
Species	<i>Oreochromis niloticus</i>

ชื่อสามัญ : Nile mouth-Brooder และ Nile tilapia

ชื่อไทย : ปลานิลดำ

### ลักษณะทางชีววิทยา

ปลานิลเป็นปลาพื้นเมืองของทวีปแอฟริกา แต่ได้นำเข้ามาสู่ประเทศไทยในปี พ.ศ. 2508 โดยเจ้าฟ้า อากิฮิโตะ มงกุฎราชกุมารแห่งประเทศญี่ปุ่น ได้จัดส่งปลานิลจำนวน 50 ตัวมาทูลเกล้าฯ ถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว (ทศนีย์ ภูมิทัตน์, 2524) นับแต่นั้นเป็นต้นมาปลานิลก็ได้รับความสนใจนำไปขยายพันธุ์เลี้ยงทั่วทุกภาคของประเทศไทย ทั้งนี้เพราะปลานิลเลี้ยงง่ายโตเร็วทั้งยังมีรสชาติอร่อยอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงปลานิลในประเทศไทยยังไม่ก้าวหน้าเท่าที่ควร ทั้งนี้เพราะราคาปลานิลค่อนข้างต่ำ ซึ่งต่างกับการเลี้ยงในหลายประเทศเช่น อิสราเอล ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน ซึ่งการเลี้ยงปลานิลได้กลายเป็นอุตสาหกรรมใหญ่ ทั้งนี้เพราะประชาชนในประเทศเหล่านั้นนิยมบริโภคปลานิลนั่นเอง (อุทัยรัตน์ ณ นคร, 2538)

ปลานิลจัดเป็นปลากินพืช (herbivorous fish) ตามธรรมชาติโดยทั่วไปแล้ว ปลานิลกินอาหารได้ทุกชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งชอบกินสาหร่ายเศษซากเน่าเปื่อย แพลงค์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ ตลอดจนสัตว์หน้าดินอื่นๆ ปลานิลเป็นปลาที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี แม้ในน้ำกร่อย สามารถทนต่ออุณหภูมิและความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำในช่วงกว้าง มีลำตัวสั้นป้อมแบนด้านข้าง ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาล ริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน ครีบหลังติดต่อกันเป็นครีบเดี่ยวประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 15-18 อัน และก้านครีบอ่อน 12-14 อัน ครีบหางตัดตรง (ซาญชัย แสนศรีมหาชัย, 2522) ปลานิลเพศผู้เจริญเติบโตดีกว่าปลานิลเพศเมียโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเจริญพันธุ์แล้ว ลักษณะของปลานิลแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะของปลานิลดำ *Oreochromis niloticus* Linn.

การผสมพันธุ์ของปลานิล เริ่มจากการที่ปลาตัวผู้จะเริ่มขุดหลุมตื้น ๆ ที่ก้นบ่อและคอยเฝ้ารักษาอาณาเขต กระทั่งเมื่อมีปลาตัวเมียว่ายน้ำมาใกล้ตัวผู้จะเข้าเกี้ยวพาราสีและนำตัวเมียมายังรังหรือหลุมที่ขุดไว้ หลังจากเกี้ยวพาราสีสักครู่ปลาทั้งสองก็ผสมพันธุ์ ไข่ที่ผสมแล้วเมื่อตกสู่ก้นรัง ปลาตัวเมื่อก็จะอมไว้ในปาก และว่ายน้ำหนีไป เมื่อไข่ฟักออกเป็นตัวแล้วลูกปลาก็ยังคงอยู่ในปากแม่โดยจะออกมาหากินข้างนอกบ้าง จนกว่าอายุประมาณ 2 สัปดาห์ จึงออกจากปากแม่ ( Morrison และคณะ, 2001) ปลานิลที่มีขนาดความยาว 10 เซนติเมตร ขึ้นไปจึงจะดูเพศได้ชัดเจน และสามารถสืบพันธุ์ได้เมื่อมีอายุประมาณ 4 เดือนขึ้นไป ปลานิลตัวเมียวางไข่ได้ครั้งละประมาณ 500-600 ฟอง และสามารถวางไข่ได้ 2-3 เดือนต่อครั้ง ดังนั้นในระยะเวลา 1 ปี ปลานิลจะสามารถแพร่พันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ในประเทศไทยนิยมเลี้ยงปลานิลด้วยวัสดุเหลือใช้ เช่น กากมะพร้าว เศษผัก หรือมูลไก่ จึงทำให้การเจริญเติบโตไม่ดีนักและเนื่องจากคนไทยนิยมบริโภคปลาใหญ่ (ขนาดประมาณ 500 กรัม) จึงต้องเลี้ยงนานถึง 1 ปีในการเลี้ยงโดยการใส่ปุ๋ยและให้อาหารผสมที่ประกอบด้วยรำละเอียด ปลาข้าวและผักต้มจะได้ผลผลิตปลา 690 กิโลกรัม/ไร่/ปี (สำราญ ดำรงค์รัตน์ และประสิทธิ์ เกษสัญชัย, 2531) นอกจากนั้นแล้วยังนิยมเลี้ยงปลานิลร่วมกับการเลี้ยงไก่หรือหมูซึ่งพบว่าได้ผลดีโดยได้ผลผลิตสูงถึง 500-600 กิโลกรัม/ไร่ (Diana และคณะ, 1985)

ความแตกต่างระหว่างเพศ เห็นได้ชัดเจนจากลักษณะของติ่งเพศ โดยเพศเมียมีติ่งเพศปลายมน ช่องเปิดบนติ่งเพศมีถึง 2 ช่อง คือ ช่องเปิดที่ปลายติ่งเป็นทางออกของปัสสาวะส่วนช่องเปิดตามขวางบริเวณกึ่งกลางของติ่งเพศ เป็นทางออกของไข่ ส่วนปลาตัวผู้ติ่งเพศยาวเรียวยาวปลายแหลม ช่องเปิดมีเพียงช่องเดียวที่ปลายติ่ง สำหรับสีสนั้นปลาตัวผู้ส่วนใหญ่มักมีสีคล้ำเป็นสีแดงอมม่วง ตัวเมียส่วนใหญ่ได้คางมีสีเหลือง แต่มีบ้างเช่นกันที่พบว่าตัวผู้อาจมีสีเหลืองที่ได้คาง จึงไม่ควรใช้ลักษณะสีในการแยกเพศ

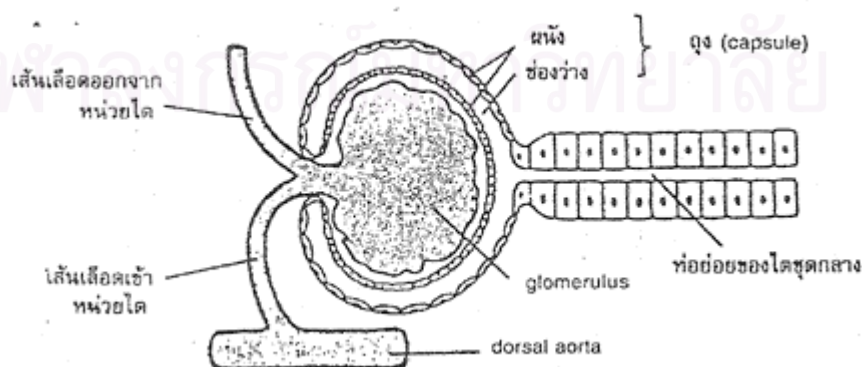
## ตับ (liver)

เป็นต่อมที่มีขนาดใหญ่ กินเนื้อที่ในช่องท้องเกือบทั้งหมด ภายในตับมีไขมันเป็นจำนวนมาก ตับปลาส่วนใหญ่มีสีเหลือง มีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันไป หน้าที่ของตับ คือ ช่วยเก็บอาหารพวกน้ำตาลและไขมันไว้ใช้ในยามขาดแคลน ตับจะช่วยในการย่อยอาหารโดยการสร้างน้ำย่อยไปให้ลำไส้ (วิมล เหมะจันทร์, 2540) และช่วยเก็บของเสียจากน้ำดี โดยมีท่อต่อกันเรียกว่า cystic duct ตับปลานิลอยู่ภายในช่องท้องของปลานิล มีรูปร่างเรียวยาว ทอดยาวไป ตามช่องท้อง ตับปลานิลกลุ่มควบคุมมีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลอ่อน ไม่มีการแบ่งเป็นพูอย่างชัดเจน

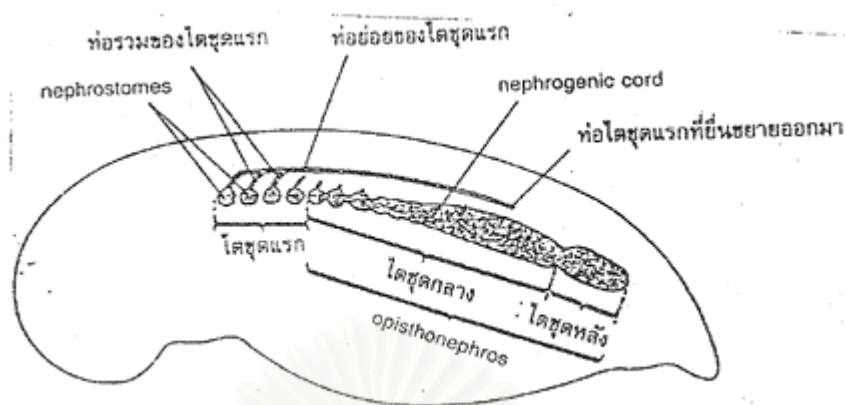
## ไต (Kidney)

ไตประกอบด้วยหน่วยเล็ก ๆ หลายหน่วย แต่ละหน่วยเรียกว่า nephron แต่ละ nephron ประกอบด้วย renal corpuscle หรือ malpighian body และท่อไต ท่อไตจะต่อกับท่อรวมและนำออกสู่ภายนอกโดย mesonephric duct ในส่วนของ malpighian body ประกอบด้วย glomerulus ซึ่งภายในมีเส้นเลือดฝอยขดไปมา โดยมีทั้งเส้นเลือดแดงและเส้นเลือดดำและถูกห่อหุ้มไว้ใน kidney cell บาง ๆ เรียกว่า Bowman's capsule (รูปที่ 2.5) ทั้ง glomerulus และ Bowman's capsule รวมกันทำหน้าที่เป็นเครื่องกรองที่มีความละเอียดมาก (ultrafilter) ช่วยกรองของเสียออกจากเลือดและดูดเอาเกลือแร่ สารที่เป็นประโยชน์และน้ำบางส่วนกลับเข้าสู่กระแสเลือด

ไตของปลาทั่ว ๆ ไปแบ่งออกเป็น 3 ชุด (รูปที่ 2.6) ได้แก่ pronephros ซึ่งเป็นไตชุดแรก อยู่ทางส่วนหน้าสุดของไต เมื่อปลาเจริญเติบโตขึ้น mesonephros ซึ่งอยู่ตรงกลางจะทำหน้าที่แทน ไตชุดที่ 3 คือ metanephros ซึ่งจะช่วยทำหน้าที่ควบคู่ไปกับไตชุดที่ 2 (วิมล เหมะจันทร์, 2540)



รูปที่ 2.5 ลักษณะและส่วนประกอบของหน่วยไตในไตชุดกลาง (วิมล เหมะจันทร์, 2540)



รูปที่ 2.6 ตำแหน่งของไตชุดต่างๆ (วิมล เหมะจันทร์, 2540)

### การศึกษาความเป็นพิษของสารต่างๆ ที่มีผลต่อปลา

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในเซลล์ของปลาภายหลังจากได้รับสารต่างๆ มีการศึกษากันมาก เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดในระดับเซลล์ เป็นตัวบ่งชี้และเป็นพื้นฐานสำคัญของการเกิดพิษ (Moslen, 1991) และ (Damjanov, 1996) ซึ่งจะปรากฏให้เห็นในระดับเนื้อเยื่อ อวัยวะ รวมไปถึงระบบต่างๆ ในร่างกายต่อไป

กลไกการออกฤทธิ์ของสารฆ่าแมลงต่อปลามีการศึกษาพบว่า สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน เช่น ดีดีทีมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โซเดียมโพแทสเซียม เอ-ที-พี-เอส (Na-K-ATPase) ในผนังลำไส้ส่วนมิวโคซา ถึง 60% ในปลาไหล และ 38% ในปลาตาเดียว (Grant และ Mehrle, 1970) ยับยั้งการรับออกซิเจนของไมโทคอนเดรียของตับปลา bluegill, *Lepomis macrochirus* (Tsigouri และ Tyrnou, 2000) นอกจากนี้สารฆ่าแมลงในกลุ่มนี้ยังมีผลต่อระบบประสาทของปลา โดยทำให้การเคลื่อนไหวไม่ประสานกัน กระวนกระวาย และหายใจขัด (Holden, 1965) และ Foster และคณะ, 1999)

สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต มีฤทธิ์ไปลดการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (ChE) ในเนื้อเยื่อสมองของปลาโดยถ้าการกระตุ้นของ ChE ลดลงเหลือ 40-70% ของการกระตุ้นปกติ จะมีผลทำให้ปลาตาย (สุธรรม สิทธิชัยเกษม, 2528), Eaton (1970) พบว่าปลา bluegill ที่ได้รับสารมาลาไรธอน จะแสดงอาการทางครึ่งออกจนสุดก่อนตาย Brown (1978) รายงานว่า ปลาที่ได้รับสารมาลาไรธอน ระดับความเข้มข้นต่ำเพียง 10 ppm เป็นเวลานาน อาจให้ลูกปลาที่มีความผิดปกติทางโครงสร้างของ

กระดูกสันหลัง ในกรณีที่ได้รับสารปริมาณน้อยๆ ปลาจะไม่แสดงอาการเจ็บป่วยถึงตายแต่มีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม เช่น การกินอาหารลดลง การหายใจขัด ซึ่งมีผลให้ปลามีภูมิคุ้มกันต้านต่อโรคต่ำลง ( Pal และ Konar, 1987) สำหรับปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อฤทธิ์ของสารฆ่าแมลงทั้ง 2 กลุ่มนี้ ในการยับยั้งการทำงานของ ChE คือ ความเข้มข้นของสาร ( Garcia และคณะ, 2000) ระยะเวลาที่ปลาสัมผัสกับสาร ชนิดของปลา คุณสมบัติทางเคมีของสารและของน้ำ ( Lapner และคณะ, 2000)

วันทนา และคณะ (2543) ศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลงชนิดเม็ด 3 ชนิด ได้แก่

Carbofuran, Fipronil และ Cartap ที่มีผลต่อปลาช้วย (*Pangasius sutchi*) และปลานิลดำ (*Oreochromis nilotiaus*) ที่เลี้ยงในนาข้าวหลังหว่านสารฆ่าแมลงนาน 24 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ ระดับเอนไซม์โคลีนิเนสเทอเรส พร้อมทั้งกับตัวอย่างน้ำและดินตะกอนในแปลงทดลอง เพื่อวิเคราะห์หาสารพิษตกค้าง พบว่าแปลงที่หว่านสาร Carbofuran ในอัตรา 4 และ 8 กก./ไร่ มีผลทำให้ปลานิลดำและปลาช้วยตายมากที่สุด สำหรับแปลงที่หว่านสาร Fipronil และ Cartap และแปลงที่ไม่หว่านสารเปอร์เซ็นต์การตายของสัตว์ทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และผลการตรวจหาระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนิเนสเทอเรสในสมองปลา พบว่าสาร Carbofuran มีผลทำให้ระดับการทำงานของเอนไซม์ในสมองปลานิลและปลาช้วยลดลงเมื่อปลาถูกขังในกระชังนาน 2 วัน แต่ระดับการทำงานจะเพิ่มขึ้นเมื่อขังนาน 7 วันขึ้นไป ส่วนสารอีก 2 ชนิดไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ผลตกค้างของสาร พบว่าสาร Carbofuran ตกค้างในน้ำและดินตะกอนในปริมาณ 0.30-0.01 ppm. และ 0.20-0.02 ppm. ตามลำดับ แต่สาร Fipronil และ Cartap พบปริมาณน้อยมาก แสดงว่ามีการสลายตัวอย่างรวดเร็ว

เพื่อที่จะศึกษาถึงผลตกค้างของสารฆ่าแมลงในสิ่งแวดล้อม มีการเก็บตัวอย่างสัตว์น้ำ นก

และผลผลิตการเกษตร ทดสอบในปี พ.ศ. 2519 สำหรับในปลาที่ใช้ศึกษาได้แก่ ปลาหางนกยูง ปลาไน ปลานิล ปลาตะเพียนขาว ปลายี่สกเทศ พบว่าสารฆ่าแมลงที่มีผลตกค้างมากที่สุด คือ สารพอกดีลตริน และดีดีที (สมิง เก้าเจริญ และ ยุพา ลีลาฤทธิ์, 2537) ส่วนการศึกษาพยาธิสภาพของตับปลาที่ได้รับผลกระทบจากสารฆ่าแมลงนั้น Desai และคณะ (1984) รายงานไว้ว่า monocrotophos ซึ่งเป็นสารฆ่าแมลงประเภทออร์แกโนฟอสเฟต ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 ppm. มีผลทำให้เกิดพยาธิสภาพในตับปลา *Tilapia mussamolica* คือ เซลล์ตับมีการสะสม Vacuole และมีการตาย (necrosis) เกิดขึ้นส่วนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเซลล์ตับ พบว่าสาร monocrotophos มีผลทำให้ระดับโปรตีนในเลือดปลาลดลง 45% ภายหลังปลาได้รับสารดังกล่าว นาน 5 วันแต่สามารถกลับคืนสภาวะปกติได้ภายในเวลา 10-30 วัน นอกจากนี้ผลของ monocrotophos ยังทำให้ระดับ DNA, RNA และ 5'-Nucleotidase ลดลงอีกด้วย (Joshi และ Desai, 1984)



Rani และ Ramamurthi (1988) ศึกษาผลของสารแคดเมียมคลอไรด์ต่อปลา *Tilapia mossambica* รายงานว่า ระดับความเข้มข้นที่ทำให้ตาย (lethal concentration) ของสารแคดเมียมคลอไรด์ มีค่าเท่ากับ 50 ppm. และระดับความเข้มข้นที่ไม่ทำให้ปลาตาย (sublethal concentration) เท่ากับ 5 ppm. และเมื่อทำการศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับของปลา พบว่ามีการคั่งของเม็ดเลือดแดงภายในหลอดเลือด (blood congestion) เซลล์ตับมีการสะสม vacuole และมีการตายของเซลล์ตับอ่อน เซลล์ตับมีปริมาณไขมันเปลี่ยนแปลงไป โดยพบว่าการสะสมไขมันมากขึ้นภายใน cytoplasm ของเซลล์ตับที่อยู่รอบๆ ตับอ่อน นอกจากนี้สารแคดเมียมยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของไตและเหงือกของปลา stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) โดยมีรายงานว่า สารแคดเมียม 2-6 มิลลิกรัม มีผลทำให้เกิดความเสียหายระดับเซลล์ของเนื้อเยื่อดังกล่าวเป็นสาเหตุให้ปลาเกิดการตายในระยะต่อมา (Oronsaye, 1988) โดย Kirubagaran และ Joy (1988) พบว่าสารประกอบปรอทในระดับความเข้มข้น ที่ไม่ทำให้ปลาตายมีผลทำให้เนื้อเยื่อไตเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพดังนี้ คือ เซลล์ท่อไตส่วนต้น (proximal tubules) ของปลาดุก *Clarias batrachus* มีขนาดใหญ่และบวมทำให้ท่อลูเมน ( lumen) แคบและเต็มไปด้วยสารที่ถูกหลั่งออกมามากมาย ระยะต่อมาพบว่า glomerulus หดตัว และเมื่อทำการทดลองเป็นเวลานาน 3 เดือนพบว่าเซลล์ท่อไตมีการสะสม vacuole ภายใน cytoplasm และพบว่าเนื้อเยื่อไตมีการฝ่อลีบ (atrophy) ไปในที่สุด

## บทที่ 3

### วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการทดลอง

#### 3.1 วัสดุ อุปกรณ์

##### 3.1.1 สัตว์ทดลอง

ใช้ปลานิลดำ *Oreochromis niloticus* Linn. ทั้ง 2 เพศจากศูนย์ประมงน้ำจืด สถานีเพาะพันธุ์ปลาบางไทร จ. ปทุมธานี โดยการนำลูกปลานิลดำที่มีอายุประมาณ 2 สัปดาห์มาอนุบาลในตู้เลี้ยงปลาขนาดกว้าง 20 นิ้ว ยาว 42 นิ้ว สูง 20 นิ้ว ใส่ น้ำ 250 ลิตร ให้อาหารผสมสำหรับปลานิล เลี้ยงเพื่อให้ปรับสภาพประมาณ 1-2 สัปดาห์ จากนั้นทำการคัดเลือกปลานิลที่มีลักษณะสมบูรณ์ แข็งแรง ขนาดใกล้เคียงกัน แล้วจึงทำการสุ่มตัวอย่างจากกลุ่มนี้เพื่อนำไปทำการทดลองต่อไป โดยปลานิลที่เริ่มทำการทดลองจะมีอายุ 1 เดือน น้ำหนักโดยเฉลี่ย 2.2 กรัม ความยาวโดยเฉลี่ย 2.5 เซนติเมตร และงดให้อาหารก่อนการทดลอง 24 ชั่วโมง

##### 3.1.2 อาหารสัตว์ทดลอง

เป็นอาหารผสมชนิดสำเร็จรูปสำหรับปลานิล ชนิดเม็ดลอยน้ำ จากบริษัทซีพี

##### 3.1.3 การเตรียมน้ำสำหรับเลี้ยงปลา

ใช้น้ำประปาที่ผ่านการกรองและตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน เพื่อให้คลอรีนระเหย

##### 3.1.4 สารที่ใช้ทดลอง

สารสกัดจากใบยาสูบ *Nicotiana tabacum*. สถานที่ปลูกจาก จ. เพชรบูรณ์ก่อนการทดลอง นำใบยาสูบแห้งมาแช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ในน้ำชนิดเดียวกับที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลดำ อัตราส่วน ยาสูบ 1 กิโลกรัม ต่อน้ำ 15 ลิตร (วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล และ ชัยณรงค์ รัตนกริฑากุล, 2536) เมื่อครบ 24 ชั่วโมงแล้ว จึงนำมากรองด้วยผ้าขาวบางเก็บส่วนของเหลวที่กรองได้เพื่อใช้ในการเตรียมความเข้มข้นต่างๆ สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป และนำของเหลวที่กรองได้จำนวน 4 ตัวอย่างไปสกัดด้วย dichloromethane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) เพื่อนำไปวัดปริมาณนิโคตินทั้งหมดด้วยเครื่อง gas chromatography model 5890 A series II ณ สำนักวิจัยและผลิตสารธรรมชาติ

##### 3.1.5 สารเคมี

สารเคมีสำหรับการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาทางฮิสโตเคมี ใช้ analytical reagent grade (A.R.grade)



- 10 % Neutral buffer formalin
- 70 %, 90 % , 95 % Ethyl alcohol
- N-butanol , - Xylene
- Paraplast , - Egg albumin

สารเคมีสำหรับย้อมสี Heamatoxylin & Eosin ( H & E ) ใช้ analytical reagent grade

(A.R.grade)

- Haematoxylin
- 0.5 % Eosin
- Xylene
- N-butanol
- 95 %, 90 %, 70 % Ethyl alcohol
- Differentiator ( 70 % Ethyl alcohol + Conc. Acetic acid )
- Permout

3.1.6 อุปกรณ์ สำหรับการเลี้ยงปลาและเตรียมเนื้อเยื่ออยู่ในภาคผนวก ก.

## 3.2 วิธีดำเนินการทดลอง

### 3.2.1 การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบยาสูบ

เพื่อกำหนดค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง ( 50 % lethal concentration at 96 hours ) โดยการทำ Acute Static Toxicity Test ( ASTM, 1980 ) และวิเคราะห์หาค่า  $LC_{50}$  ด้วยโปรแกรมโพรบิท ( Probit analysis ) ( Finney, 1971 )

ทำการทดลองในโหลแก้วทรงกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้ว สูง 14 นิ้ว ความจุ 12 ลิตร เต็ม น้ำสำหรับกลุ่มควบคุม หรือสารสกัดใบยาสูบสำหรับกลุ่มทดลองตามความเข้มข้นที่ต้องการ ให้ได้ปริมาตร 10 ลิตร จากนั้นจึงนำลูกปลานิลอายุ 1 เดือนที่ทำการคัดเลือกไว้มาทำ Range -finding test และ Definitive test ดังต่อไปนี้

**Range -finding test** เป็นการหาช่วงความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบที่ทำให้ปลานิลดำตายมากกว่าและน้อยกว่า 50 % กำหนดความเข้มข้น 5 ระดับ ดังนี้ คือ 0.1, 1.0, 10, 100 และ 1,000 ไมโครลิตร/ ลิตร ตามลำดับ รวมทั้งทำการทดลองชุดควบคุมน้ำ โดยแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว นับจำนวนปลาที่ตายภายในเวลา 24 , 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พร้อมบันทึกผลการทดลอง

**Definitive test** นำผลที่ได้จากการทำ Range –finding test มาทำการทดลองเพื่อหาความเข้มข้นที่ทำให้ปลาตาย 50 % โดยกำหนดระดับความเข้มข้นให้ละเอียดยิ่งขึ้น 5 ระดับ ดังนี้ 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครลิตร/ ลิตร ตามลำดับ ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทำ Range –finding test นับจำนวนปลาที่ตายและบันทึกผลการทดลองทุกๆ 24 ชั่วโมง จนครบ 96 ชั่วโมง จึงนำข้อมูลที่ได้มาหาค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง โดยวิธี Probit analysis ต่อไป

**การหาค่า Application factor ( AF )** นำค่า  $LC_{50}$  ที่ได้มาคำนวณหาค่า Application factor ( AF ) เพื่อกำหนดค่าความเข้มข้นในการทดลองหาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังที่ระดับความเข้มข้นต่ำ เป็นเวลานาน 8 เดือน ( Subchronic level toxicity test ) ต่อไป ซึ่งค่า Application factor สามารถคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$AF = MATC / LC_{50} \text{ 96 hrs.}$$

MATC = ค่าความเข้มข้นสูงสุดของสารพิษที่ยอมรับได้

ค่า MATC ได้จากการคำนวณโดยมีช่วงอยู่ระหว่างความเข้มข้น 2 ระดับ

คือ NOEC = ค่าความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่มีผลต่อการตายของสัตว์ทดลอง

และ LOEC = ค่าความเข้มข้นสูงสุดที่มีผลต่อการตายของสัตว์ทดลองน้อยที่สุด

### 3.2.2 การศึกษาผลของสารสกัดใบยาสูบที่มีต่อเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิลภายหลังได้รับสารที่ระดับความเข้มข้นต่ำเป็นเวลานาน 8 เดือน

- เริ่มการทดลองโดยใช้ปลานิลที่อายุประมาณ 1 เดือน แบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม จำนวน 1 ซ้ำและกลุ่มทดสอบสารสกัดใบยาสูบความเข้มข้น 0.68 มิลลิกรัม/ ลิตร จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 500 ตัว โดยเลี้ยงปลาในตู้ปลาขนาดกว้าง 20 นิ้ว ยาว 42 นิ้ว และสูง 20 นิ้ว ใส่น้ำปริมาตร 300 ลิตร ให้อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ดลอยน้ำ ทุกวันๆ ละ 2 เวลา ช่วงเช้า และช่วงเย็น และทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำใหม่ทุกๆ 3 วัน โดยใส่สารสกัดใบยาสูบความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร ทุกครั้งที่ทำการเปลี่ยนน้ำ เป็นเวลานาน 8 เดือน สังเกตอาการของปลานิล เช่นการว่ายน้ำ และการกินอาหารเปรียบเทียบระหว่างปลาทั้ง 2 กลุ่ม
- ในแต่ละเดือน ทำการเก็บตัวอย่างปลาขึ้นมาจากตู้ปลาที่ทำการทดลองทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง โดยการสุ่มเก็บกลุ่มละ 30 ตัว นำมาวัดขนาดความยาว ความกว้าง ซึ่งน้ำหนักตัวปลา และแยกเอาตับปลาทั้งหมดมาซึ่งน้ำหนักเพื่อศึกษา % Relative liver

weight เปรียบเทียบค่าแตกต่างทางสถิติ ระหว่างตับปลากลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง โดยใช้ Student T – Test

- ทุกๆเดือนที่ทำการเก็บตัวอย่าง หลังจากซึ่งนำหนักและวัดขนาดตัวปลาแล้วนำตับและไตมาดองด้วย 10 % buffer formalin ก่อนนำไปผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงต่อไป

### 3.3 วิธีการเก็บข้อมูลทางกายภาพของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลา

ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองเป็นเวลานาน 8 เดือน ทำการเก็บข้อมูลทางกายภาพของน้ำที่ใช้ทำการทดลองเพื่อศึกษาสมบัติบางประการของน้ำเลี้ยงปลา ดังนี้

1. วัดอุณหภูมิ ( temperature ) ของน้ำที่ใช้เลี้ยงปลา ทั้ง 2 กลุ่ม เดือนละ 2 ครั้ง โดยการวัดวันที่ 1 และ วันที่ 3 ของการเปลี่ยนน้ำ รวมทั้งวัดอุณหภูมิห้อง ณ วันที่ทำการเปลี่ยนน้ำด้วย
2. วัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ( Dissolved Oxygen ) ของน้ำที่เลี้ยงปลา ทั้ง 2 กลุ่ม โดยวัดเดือนละ 2 ครั้ง ในวันที่ 1 และวันที่ 3 ของการเปลี่ยนน้ำ
3. วัดค่าความเป็นกรด- ด่าง ( pH ) ของน้ำเลี้ยงปลา ทั้ง 2 กลุ่ม เดือนละ 2 ครั้ง ในวันที่ 1 และ วันที่ 3 ของการเปลี่ยนน้ำเช่นเดียวกัน

### 3.4 วิธีการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

#### 3.4.1 การเตรียมสไลด์ถาวรเนื้อเยื่อโดยวิธีพาราฟิน ( Paraffin Method )

ตัดแบ่งเนื้อเยื่อตับขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรและเนื้อเยื่อไตมาดองด้วย 10 % buffer formalin แล้วนำไปแช่ ในน้ำยาต่างๆดังนี้

70 % Ethyl alcohol ( 1 hr. )



90 % Ethyl alcohol ( 1 hr. )



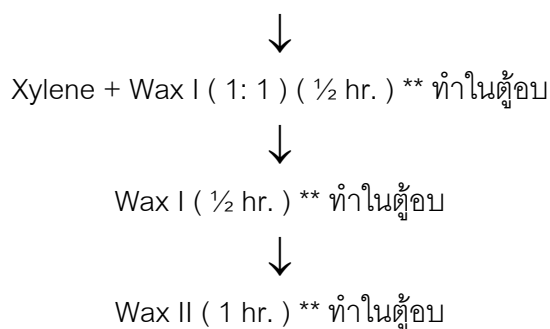
95 % Ethyl alcohol ( 2 change over night )



n- butanol ( 1 hr. )



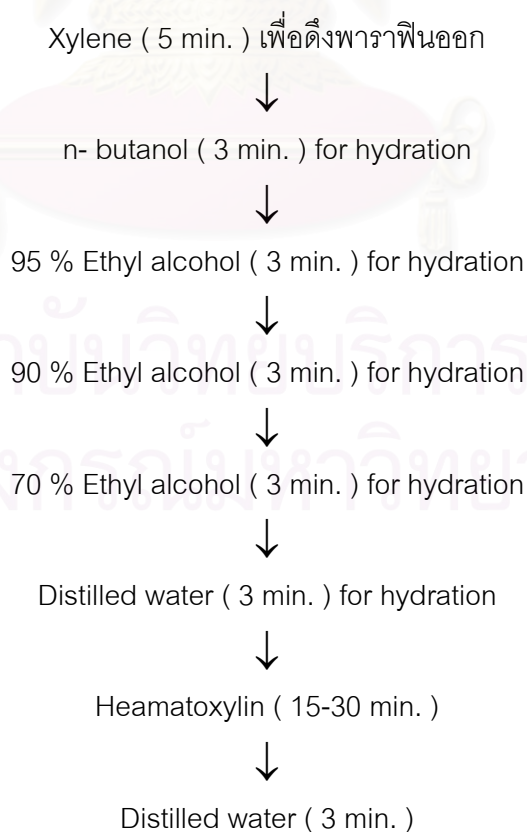
Xylene ( 1 hr. )

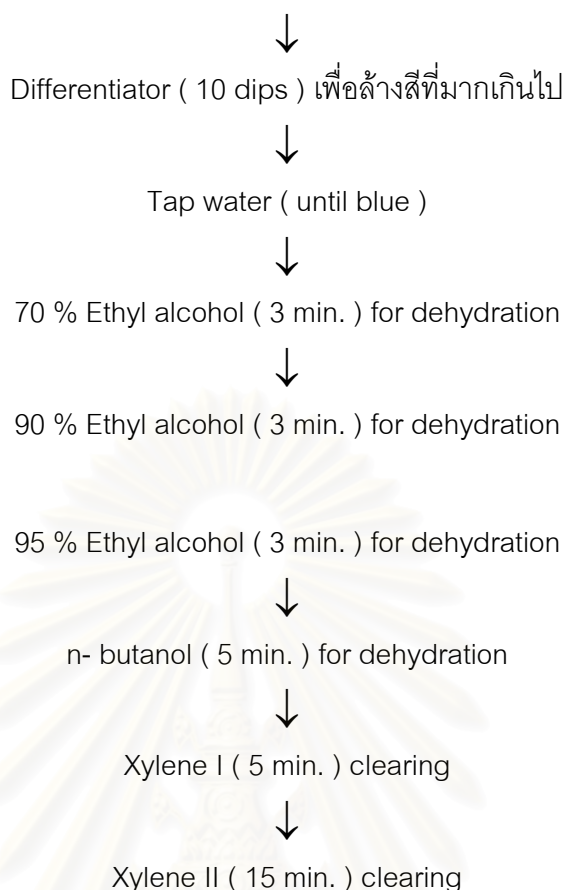


จากนั้นจึงฝังชิ้นเนื้อเยื่อลงใน Wax III หรือ paraplast แล้วจึงนำมาตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ ( Rotary microtome ) ให้บาง 5 ไมโครเมตร จากนั้นติดลงบนกระจกสไลด์ โดยอาศัย egg albumin ช่วยให้แถบเนื้อเยื่อ ( ribbon ) ติดกับกระจกสไลด์ได้ดี วางสไลด์เนื้อเยื่อบน warm plate ที่อุณหภูมิ ประมาณ 40 องศาเซลเซียส เพื่อช่วยให้แถบเนื้อเยื่อยึดตัว ก่อนนำไปย้อมสีศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงต่อไป

### 3.4.2 วิธีการย้อมสี Heamatoxylin & Eosin ( H & E )

นำสไลด์เนื้อเยื่อ ที่เตรียมไว้มาย้อมสี โดยผ่านขั้นตอนและน้ำยาต่างๆ ดังนี้  
( วิธีการเตรียมน้ำยาอยู่ในภาคผนวก ข.)





mount ด้วย permount แล้วนำสไลด์เข้าตู้อบให้แห้งก่อนนำมาศึกษาเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงต่อไป

### 3.5 การวิเคราะห์ผล

3.5.1 วิเคราะห์ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันที่ 96 ชั่วโมง (  $LC_{50}$  96 hrs. ) และสร้างกราฟเส้นตรงของ Dosage mortality regression line โดยใช้โปรแกรม Probit analysis (Finney,1971))

3.5.2 วิเคราะห์และเปรียบเทียบค่าแตกต่างทางสถิติของ % Relative liver weight ของตับปลา ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองตั้งแต่เดือนที่1-6 โดยใช้ Student T- Test

3.5.3 วิเคราะห์และศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิล ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 8 ของการทดลอง บันทึกผลพร้อมทั้งถ่ายภาพ

3.5.4 บันทึกข้อมูลและสังเกตอาการของปลานิลทั้ง 2 กลุ่ม เปรียบเทียบกัน

3.5.5 เก็บข้อมูลทางกายภาพต่างๆ ของน้ำที่ใช้เลี้ยงปลา ทั้ง 2 กลุ่ม พร้อมบันทึกผล



## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในสารสกัดใบยาสูบ *N. tabacum* โดยวิธี gas chromatography

น้ำสารสกัดใบยาสูบ *N. tabacum* 100 % ( อัตราส่วน ใบยาสูบ 1 กิโลกรัม : น้ำ 15 ลิตร ) จำนวน 4 ตัวอย่าง เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินด้วยวิธี gas chromatography พบว่าในน้ำสารสกัดใบยาสูบ 100 % จำนวน 2 มิลลิลิตร มีนิโคตินอยู่ 184.6, 204.5, 206.5 และ 211.9 ppm ตามลำดับ ( วิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography model 5890 A series II ณ สำนักวิจัยและผลิตสารธรรมชาติ : ดู chromatogram ในภาคผนวก ง ) ซึ่งปริมาณนิโคตินที่วิเคราะห์ได้มีค่าใกล้เคียง ดังนั้นในน้ำสารสกัดใบยาสูบ 100 % จำนวน 2 มิลลิลิตร มีปริมาณนิโคตินโดยเฉลี่ย

$$= \frac{84.6+204.5+206.5 +211.9}{4} \text{ ppm}$$

4

$$= 201.88 \text{ ppm}$$

การทำ Range- finding test กำหนดค่าความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบเป็น 5 ระดับดังนี้ 0.1, 1, 10, 100 และ 1,000 ไมโครลิตร/ ลิตร โดยเตรียมจากน้ำสารสกัดใบยาสูบ 100 % ที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครลิตร/ ลิตร ดังนั้นในแต่ละความเข้มข้น 5 ระดับที่ใช้ทำการทดลอง จะมีปริมาณนิโคตินอยู่เท่ากับ 0.010, 0.100, 1.000, 10.094 และ 100.940 ppm ตามลำดับ

การทำ Definitive test ซึ่งเป็นการนำผลการทดลองที่ได้จากการทำ Range- finding test มากำหนดค่าความเข้มข้น 5 ระดับให้ละเอียดยิ่งขึ้นคือ 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครลิตร/ ลิตร โดยเตรียมจากน้ำสารสกัดใบยาสูบ 100 % ที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครลิตร/ ลิตร ดังนั้นในแต่ละความเข้มข้น 5 ระดับที่ใช้ทำการทดลอง จะมีปริมาณนิโคตินอยู่เท่ากับ 20.188, 40.376, 60.564, 80.752 และ 100.940 ppm ตามลำดับ

## 2. ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบยาสูบ *N. tabacum* ต่อปลานิล *Oreochromis niloticus*

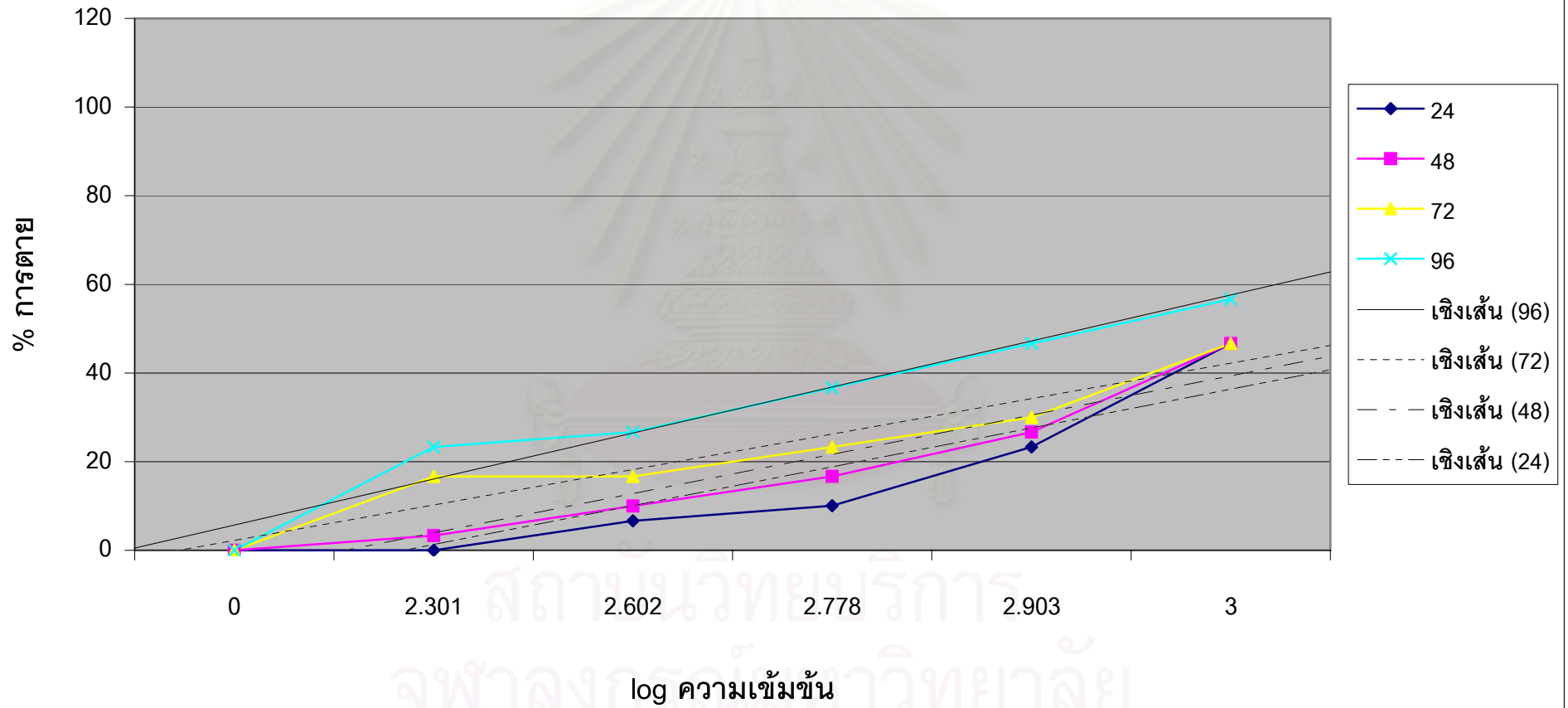
โดยใช้ปลานิลดำ อายุ 1 เดือน เพื่อหาค่า  $LC_{50}$  ทดสอบ 96 ชั่วโมง โดยวิธี Static Acute Toxicity Test โดยการทำให้ Range-Finding Test พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบ 100 ไมโครลิตร/ ลิตร (มีนิโคติน 10.094 ppm) ลูกปลานิลมีอัตราการตาย 36.67 % และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ไมโครลิตร/ ลิตร (มีนิโคติน 100.94 ppm) ลูกปลานิลมีอัตราการตาย 100% (ตารางที่ 4.1) ดังนั้นจึงนำค่าความเข้มข้นระหว่าง 100 - 1000 ไมโครลิตร/ ลิตร มาแบ่งย่อยเพื่อทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่มีผลต่อการตายของปลานิล 50% โดยทำการทดสอบ Definitive Test ต่อไป

ตารางที่ 4.1 แสดงจำนวนปลาที่ตาย และเปอร์เซ็นต์การตาย ของการทำ Range-Finding Test

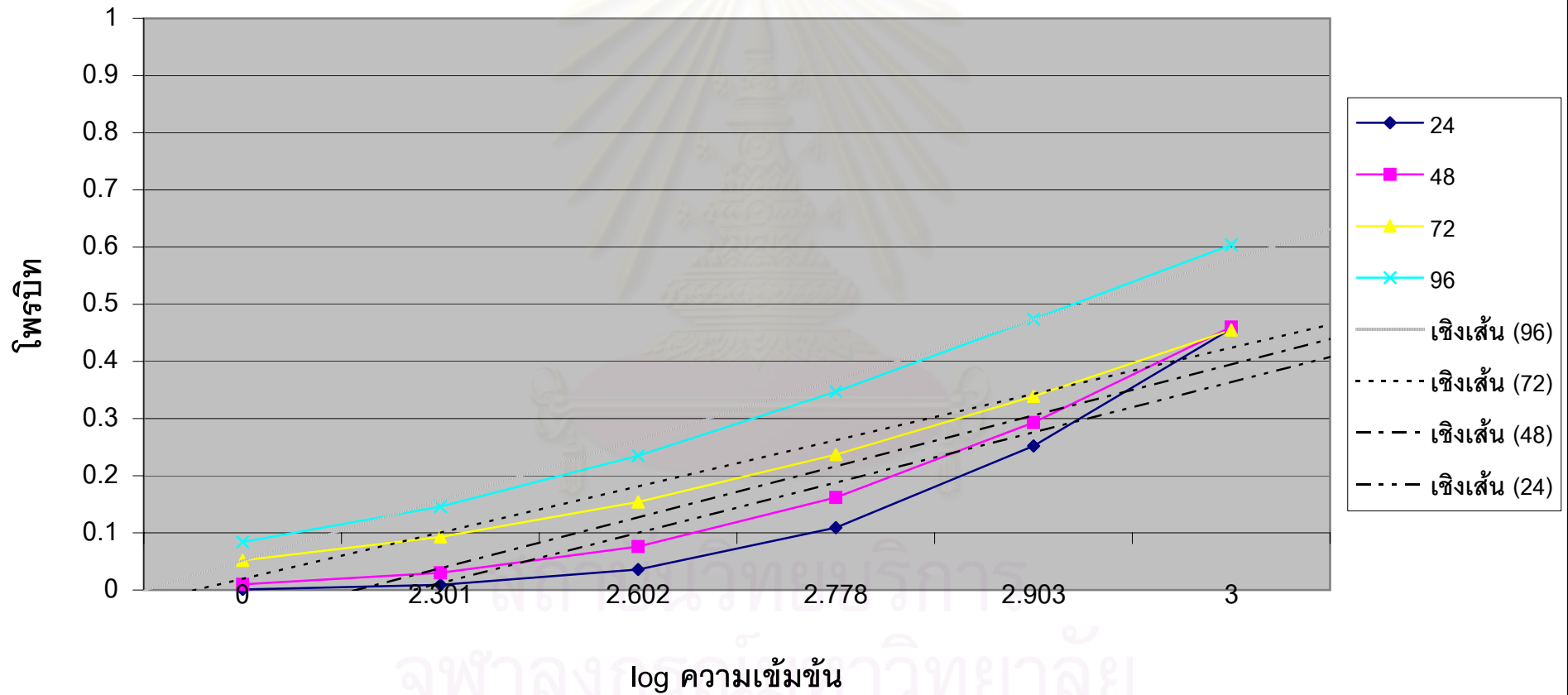
ความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบ ไมโครลิตร/ ลิตร	จำนวนปลาทั้งหมด (ตัว)	จำนวนปลาที่ตายภายใน 96 ชั่วโมง	เปอร์เซ็นต์การตาย (%)
control	30	0	0
0.1	30	0	0
1	30	1	3.33
10	30	6	20
100	30	11	36.67
1,000	30	30	100

การทดสอบหาค่า  $LC_{50}$  โดยทำ Definitive Test พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบ ที่มีผลทำให้ลูกปลานิลดำตาย 50% ในเวลา 96 ชั่วโมงอยู่ระหว่าง 800-1000 ไมโครลิตร/ ลิตร (ตารางที่ 4.2) และเมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์การตายและค่าความเข้มข้นไปวิเคราะห์ โดยใช้โปรแกรม Probit analysis เพื่อหาค่า  $LC_{50}$  และสร้างกราฟเส้นตรงของ Dosage mortality regression line (รูปที่ 4.1 และ 4.2)

รูปที่ 4.1 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของปลานิลกับค่า log ความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบ ใน  
ช่วงเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน LC 50 ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ของสารสกัด  
ใบยาสูบต่อปลานิล *Oreochromis niloticus*



ปรากฏว่าได้ค่า  $LC_{50}$  ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชม.เท่ากับ 1138.15, 1077.18, 1074.05 และ 838.46 ไมโครลิตร/ ลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 แสดงจำนวนปลาที่ตาย และเปอร์เซ็นต์การตาย ของการทำ Definitive Test

ความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบ ไมโครลิตร/ ลิตร	จำนวนปลาทั้งหมด		เปอร์เซ็นต์การตาย (%)
	(ตัว)	จำนวนปลาที่ตายภายใน 96 ชั่วโมง	
control	30	0	0
200	30	7	23.33
400	30	8	26.67
600	30	11	36.67
800	30	14	46.67
1,000	30	17	56.67

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบยาสูบต่อปลานิลดำ *Oreochromis niloticus* Linn.

เวลา (ชั่วโมง)	$LC_{50}$ (ไมโครลิตร/ลิตร)	ค่าพิสัยของ $LC_{50}$	
		ต่ำสุด(ไมโครลิตร/ลิตร)	สูงสุด(ไมโครลิตร/ลิตร)
24	1138.15	976.32	1492.15
48	1077.18	921.47	1393.07
72	1074.05	883.72	1507.4
96	838.46	705.53	1064.66



### 3. ผลการคำนวณค่า Application Factor

เมื่อได้ค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชม. ซึ่งวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม Probit analysis ซึ่งได้ค่าเท่ากับ 838.46 ไมโครลิตร/ลิตร มาคำนวณหาค่า Application Factor (AF) ในการกำหนดค่าความเข้มข้นที่จะใช้ในการทดลองความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดใบยาสูบที่มีต่อปลานิลเป็นเวลานาน 8 เดือน โดยคำนวณจากสูตร

$$AF = MATC/LC_{50} \text{ 96 ชั่วโมง}$$

โดย MATC = ค่าความเข้มข้น สูงสุดของสารพิษที่ยอมรับได้ ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่างความเข้มข้น 2 ระดับคือค่าความเข้มข้นสูงสุด ที่ไม่มีผลต่อการตายของปลา (NOEC) และค่าความเข้มข้นสูงสุดที่มีผลต่อการตายของปลาน้อยที่สุด (LOEC) ซึ่งจากผลการวิเคราะห์โดยใช้ Probit analysis (ภาคผนวก ค.)

พบว่า NOEC =  $LC_0$  ค่าความเข้มข้นไม่ได้ และ LOEC =  $LC_9$  ซึ่งมีค่าเท่ากับ 22.77

ดังนั้น

$$MATC = LOEC = LC_9 = 22.77$$

แทนค่าในสูตร

$$\begin{aligned} AF &= MATC/LC_{50} \\ &= LC_9/LC_{50} \\ &= 22.77/838.46 \\ &= 0.03 \end{aligned}$$

ดังนั้น

$$\begin{aligned} MATC &= AF \times LC_9 \\ &= 0.03 \times 22.77 \\ &= 0.68 \end{aligned}$$

ดังนั้นค่าที่จะนำไปใช้ในการทดลองความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดใบยาสูบต่อปลานิล เป็นเวลานาน 8 เดือนเท่ากับ 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร ซึ่งมีปริมาณนิโคตินอยู่ 0.034 มิลลิกรัม/ลิตร

#### 4. ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว ของปลานิลกลุ่มทดลอง สารสกัดไวยาสุบและกลุ่มควบคุม

การศึกษา % R พบว่าตับปลาทั้งสองกลุ่มมีค่า % R อยู่ในช่วง 1-3 จากการศึกษพบว่า % R ที่มีค่ามากกว่า 2 เป็นตับที่มีลักษณะผิดปกติ ค่าเฉลี่ยของ % R ของกลุ่มควบคุมตั้งแต่เดือนที่ 1 –เดือนที่ 6 มีค่าเท่ากับ 1.658, 1.589, 1.590, 1.855, 2.256 และ 1.866 ตามลำดับ ส่วน % R ของกลุ่มทดลองตั้งแต่เดือนที่ 1-เดือนที่ 8 มีค่าเท่ากับ 2.629, 2.243, 3.679, 3.002, 2.885, 3.261 , 2.609 และ 2.630 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4 และภาคผนวก จ) และผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า % R ของปลานิลในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ในเดือนเดียวกัน ตั้งแต่เดือนที่ 1 –เดือนที่ 6 โดยกลุ่มทดลองจะมีค่า % R สูงกว่ากลุ่มควบคุมและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

**ตารางที่ 4.4** แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตับ น้ำหนักตัว และ % Relative liver weight ( % R)ของปลานิล *Oreochromis niloticus* ภายหลังจากได้รับสารสกัดไวยาสุบ *N. tabacum* ที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร ต่อลิตร ตั้งแต่เดือนที่ 1- เดือนที่ 6 เปรียบ เทียบกับกลุ่มควบคุม

เดือนที่	กลุ่มการทดลอง						ค่านัยสำคัญทางสถิติ
	น้ำหนักตัว (กรัม)		น้ำหนักตับ (กรัม)		% R (น.ตบ/น.ตัว)		
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	
1	3.057	4.804	0.049	0.130	1.658	2.629 *	$p < 0.05$
2	5.618	6.517	0.087	0.149	1.589	2.243 *	$p < 0.05$
3	8.196	3.667	0.131	0.137	1.590	3.679 *	$p < 0.05$
4	6.729	6.095	0.124	0.186	1.855	3.002 *	$p < 0.05$
5	10.051	13.979	0.219	0.402	2.256	2.885 *	$p < 0.05$
6	20.917	13.886	0.366	0.450	1.866	3.261 *	$p < 0.05$

#### หมายเหตุ

- จำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด ต่อกลุ่ม ต่อเดือน เท่ากับ 30 ตัว (N=30)
- ศึกษา %R ของตับปลานิลตั้งแต่การทดลองเดือนที่ 1-6

5. ผลของการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับของปลานิลภายหลังได้รับสารสกัดไบยาซูบ ที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 8 เดือน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

### 5.1 ลักษณะเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มควบคุม

จากการศึกษาเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มควบคุมภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่า ตับปลานิลตั้งแต่ เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 8 มีลักษณะเหมือนกัน คือ หุ้มด้วย simple squamous epithelium ภายในประกอบด้วยเซลล์ตับ (hepatocytes) ที่มีรูปร่างหลายเหลี่ยมมีนิวเคลียสรูปร่างกลม เห็นนิวเคลียสชัดเจน (รูปที่ 4.1B)

โครงสร้างของตับปลานิลประกอบด้วย hepatic plate ที่มีเซลล์ตับเรียงตัวขนานกัน คั่นด้วยช่องไซนูซอยด์ (sinusoid) ติดต่อกับ central vein ภายในตับมีท่อน้ำดี (รูปที่ 4.1A) ในตับปลานิลจะพบเซลล์ตับอ่อนแทรกอยู่ระหว่างเซลล์ตับโดยอยู่รอบเส้นเลือด (รูปที่ 4.1C) ซึ่งโครงสร้างของตับที่กล่าวมานี้ พบในปลานิลกลุ่มควบคุม แต่ในปลาบางตัวที่กินอาหารเต็มทีตามธรรมชาติ มักจะพบช่องว่างภายใน cytoplasm ซึ่งช่องว่างนี้เกิดจาก ไขมันและไกลโคเจนที่สะสมอยู่ถูกละลายออกไประหว่างขั้นตอนของ paraffin method (รูปที่ 4.1D)

### 5.2 ลักษณะเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง

ลักษณะของเนื้อเยื่อตับปลานิล ภายหลังได้รับสารสกัดไบยาซูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลานาน 1-8 เดือนมีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพดังนี้

#### ตับปลาหลังจากที่ได้รับสารสกัดไบยาซูบนาน 1 เดือน

การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับพบความผิดปกติบริเวณใกล้กับเส้นเลือด ดังนี้ เกิดการคั่งของเซลล์เม็ดเลือดแดง (blood congestion) ภายใน hepatic vein และในช่องไซนูซอยด์ที่เกิดการขยายขนาด (sinusoidal dilation) (รูปที่ 4.2B และ 4.2C ) เซลล์ตับมีการสะสม hyalin droplet และ fat vacuole ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ (รูปที่ 4.2D,E) นอกจากนี้ในเซลล์ตับบางเซลล์ยังมีลักษณะบวม (hydropic swelling) เห็นนิวเคลียสเป็นสีจาง ไซโตพลาสซึมติดสีจาง เซลล์มีรูปร่างกลมใส (รูปที่ 4.2 B,C,D) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

### ตับปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 2 เดือน

การเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดในเดือนนี้คือมีการขยายตัวของช่องไซนูซอยด์ (sinusoid dilation) และพบเม็ดเลือดแดงคั่งอัดแน่นในช่องไซนูซอยด์และ hepatic vein เป็นจำนวนมาก (รูปที่ 4.3B,D,F) ลักษณะดังกล่าวพบได้ทั่วไปทั้งเนื้อเยื่อตับ พบการแทรกของเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte บริเวณ hepatic vein และบริเวณที่เกิดการเสียหายของเซลล์ตับ (รูปที่ 4.3B) นอกจากนี้ยังพบ Eosinophilic granular cells บริเวณใกล้หลอดเลือด (รูปที่ 4.3C) มีการตายของเซลล์ตับบริเวณใกล้กับเส้นเลือดและช่องไซนูซอยด์ โดยนิวเคลียสของเซลล์ตับมีการหดตัวจนเห็นเป็นสีทึบ (pyknotic nucleus) (รูปที่ 4.3C) และเกิดการสลายตัวของนิวเคลียสในเซลล์ตับบางเซลล์ (รูปที่ 4.3B,F) นอกจากนี้ ยังพบการสะสม hyalin granules และ fat vacuoles ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ตับบางเซลล์ (รูปที่ 4.3E) รวมถึงเซลล์ตับมีลักษณะบวม (รูปที่ 4.3G)

### ตับปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 3 เดือน

การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดและการขยายของช่องไซนูซอยด์ยังคงสังเกตได้ทั่วไปและพบการคั่งของเม็ดเลือดแดงภายในหลอดเลือดและช่องไซนูซอยด์ (รูปที่ 4.4B,D,E) ยังคงพบการสะสมของ hyalin droplet และ fat vacuoles ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ตับ (รูปที่ 4.4B,C,D) พบการตายของเซลล์ตับ บริเวณที่อยู่ใกล้เส้นเลือด โดยการสลายตัวของนิวเคลียส (karyolysis) (รูปที่ 4.4C,F) เซลล์ตับบางเซลล์มีลักษณะบวม (รูปที่ 4.4D) นอกจากนี้ยังพบ Eosinophilic granular cells บริเวณ ใกล้กับหลอดเลือด (รูปที่ 4.4C,F)

### ตับปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 4 เดือน

การเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดในเดือนนี้ คือ มีการสะสม fat vacuole จำนวนมากทั่วเนื้อตับ (fatty liver) จนมีการรวมเป็นแควคิวโอลขนาดใหญ่บริเวณใกล้กับตับอ่อน (รูปที่ 4.5B) พบการสะสม hyalin droplet ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ตับน้อยลงกว่าเดือนที่ผ่านมา เซลล์ตับมีการตายทั่วไป โดยนิวเคลียสสลายไป เซลล์ตับเรียงตัวไม่เป็น hepatic plate (รูปที่ 4.5D) ส่วนการคั่งอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงและการตายของเซลล์ตับยังพบทั่วไป นอกจากนี้ยังพบ Eosinophilic granular cells บริเวณ central vein ของเนื้อเยื่อตับ (รูปที่ 4.5C,E)

### ตับปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 5 เดือน

การเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดคือมีการตายของเซลล์ตับเป็นจำนวนมากกว่าเดือนที่ผ่านมาทั้งการตายเป็นหย่อมๆ และการตายทั่วไป โดยเฉพาะเซลล์ตับที่อยู่รอบหลอดเลือดและรอบตับอ่อน (peripancreatic necrosis) (รูปที่ 4.6C,F) โดยพบนิวเคลียสติดสีเข้ม (pyknotic nucleus) และพบว่าเซลล์ตับบางเซลล์มีการสลายตัวของนิวเคลียส (karyolysis) (รูปที่ 4.6C) เซลล์ตับมีการสะสม fat vacuole เป็นจำนวนมากจนรวมเป็นช่องว่างขนาดใหญ่ (รูปที่ 4.6B,C) บางเซลล์ยังคงพบการสะสม hyalin droplet ในเดือนนี้ยังคงพบการบวม (hydropic swelling) ของเซลล์ตับและเซลล์ของท่อน้ำดี (รูปที่ 4.6F) พบการแทรกของเซลล์ macrophage บริเวณขอบเซลล์ของตับอ่อน (รูปที่ 4.6F)

### ตับปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 6 เดือน

การเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดในเดือนนี้คือเกิดการตายของเซลล์ตับมากขึ้นกว่าเดือนที่ผ่านมา โดยพบว่านิวเคลียสมีการสลายตัว (รูปที่ 4.7B) การตายส่วนใหญ่เกิดบริเวณที่อยู่ใกล้กับเส้นเลือดและใกล้กับตับอ่อน พบ macrophage จำนวนมากแทรกในเนื้อเยื่อตับที่เกิดความเสียหาย (รูปที่ 4.7C) ยังคงพบการคั่งของเม็ดเลือดแดงภายในช่องไซนูซอยด์และเส้นเลือด พบเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีลักษณะบวม (รูปที่ 4.7C) และมีการแทรกของกลุ่มเซลล์ Eosinophilic granular cells จำนวนมากบริเวณด้านในของ central vein (รูปที่ 4.7D,E)

### ตับปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 7 เดือน

การเปลี่ยนแปลงส่วนใหญ่ได้แก่เกิดการตายทั่วไปและของเซลล์ตับ ช่องไซนูซอยด์มีการขยายตัวและมีเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในช่องไซนูซอยด์และเส้นเลือด มีเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีลักษณะบวม อยู่ภายในช่องไซนูซอยด์ (รูปที่ 4.8B) เซลล์ตับบริเวณรอบๆ มีการสะสม hyaline droplet และเกิดการตายเป็นหย่อมๆ (รูปที่ 4.8B,C) พบ macrophage จำนวนมากบริเวณที่เกิดการเสียหายของเซลล์ตับ (รูปที่ 4.8C) เซลล์ตับบางเซลล์มีการหดตัวของนิวเคลียส และบางเซลล์พบว่านิวเคลียสมีการสลายตัว (รูปที่ 4.8C)



## ตับปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 8 เดือน

มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับที่เห็นได้ชัดเจน คือพบช่องว่างขนาดใหญ่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อตับ ซึ่งเป็นลักษณะของการเกิด cyst การเปลี่ยนแปลงบริเวณดังกล่าวพบการคั่งอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงจำนวนมาก (รูปที่ 4.9C) มีเซลล์เม็ดเลือดขาวเข้ามาแทรก และเซลล์ตับบริเวณดังกล่าวมีการสะสม hyaline droplet ปริมาณมาก (รูปที่ 4.9B) เซลล์ตับมีการตายเป็นหย่อมๆ รอบหลอดเลือด และมีการแทรกของเซลล์ macrophage บริเวณใกล้เคียงกับตับอ่อน

6. ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตของปลานิล ภายหลังได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ ลิตร เป็นเวลานาน 8 เดือนเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสง

### 6.1 ลักษณะเนื้อเยื่อไตของปลานิลกลุ่มควบคุม

จากการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อไตของปลานิลกลุ่มควบคุม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสง พบว่า ประกอบด้วย กลุ่มเส้นเลือดฝอยเรียกว่า glomerulus อยู่ภายใน Bowman's capsule ซึ่งมีผนัง 2 ชั้น ชั้นนอกเป็น เซลล์รูปร่างแบนบาง หนาชั้นเดียว (simple squamous epithelium) (รูปที่ 5.1 A) โครงสร้างของเนื้อเยื่อไตปลานิลประกอบด้วยท่อไตส่วนต้น (proximal tubule) ไปด้วยเซลล์ชนิด low columnar epithelium ที่มี microvilli เรียกบริเวณนี้ว่า brush border และส่วนท่อไตส่วนท้าย (distal tubule) รูปร่างคล้ายลูกบาศก์ (cuboidal) ที่ไม่มี microvilli (รูปที่ 5.1B) ลักษณะของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มควบคุมตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 6 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆ นอกจากมีเลือดคั่งอยู่ใน glomerulus เพียงเล็กน้อย (รูปที่ 5.1 C)

### 6.2 ลักษณะเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง

เนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลองสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลานาน 8 เดือนมีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพดังนี้

#### ไตปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 1 เดือน

ลักษณะไตปลานิลที่สังเกตได้ในเดือนนี้ คือพบว่ามีเม็ดเลือดแดงจำนวนมากอัดแน่นอยู่รอบๆท่อไต (รูปที่ 5.2 B,C) glomerulus มีการหดตัวเล็กน้อย (รูปที่ 5.2 D,E,F) พบการสะสม hyaline droplet ในเซลล์ท่อ

ไตส่วนต้น ( proximal tubule) (รูปที่ 5.2 D,E) และนอกจากนี้ยังพบการบวมน้ำ (hydropic swelling) ของเซลล์ท่อไตส่วนต้นและพบ hydropic vacuole ใน glomerulus และในไซโตพลาสซึมของเซลล์ท่อไตส่วน proximal tubule (รูปที่ 5.2E,F)

### ไตปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 2 เดือน

การเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดในช่วงเดือนนี้คือ พบการสะสมของ hyaline droplet เป็นจำนวนมาก ในเซลล์ท่อไตส่วนต้น (รูปที่ 5.3,B,C,D,E) โดยเฉพาะบริเวณที่อยู่ใกล้หลอดเลือด และพบ hydropic vacuole สะสมในเซลล์ท่อไตส่วนต้นบางเซลล์ (รูปที่ 5.3C) นอกจากนี้ยังพบว่า glomerulus มีการหดตัว (รูปที่ 5.3 E) พบเซลล์ Macrophage แทรกอยู่บริเวณเนื้อเยื่อไตส่วนที่ใกล้กับหลอดเลือด

### ไตปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 3 เดือน

พบการบวมของเซลล์ท่อไตส่วน proximal tubule และมีการสะสม hyalin droplet มากในเซลล์ท่อไตส่วนดังกล่าว (รูปที่ 5.4,B,C,D) รวมทั้งมีการตายเป็นหย่อมๆ ของเซลล์ท่อไตส่วนต้น(รูปที่ 5.4,B,C) โดยพบว่า นิวเคลียสมีการสลายไป (karyolysis) ในเซลล์ท่อไตบางเซลล์มีลักษณะบวมพอง (รูปที่ 5.4C) และพบว่ามี brush border ถูกทำลายในเซลล์ท่อไตส่วนต้น (รูปที่ 5.4 E) พบ glomerulus มีการหดตัวมากจนเห็นเป็นสีเข้ม (รูปที่ 5.4B) พบการแทรกของเซลล์ macrophage เข้ามาบริเวณ ท่อไตที่เสียหาย (รูปที่ 5.F)

### ไตปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 4 เดือน

พบการเปลี่ยนแปลงคือ พบการขยายตัวของเส้นเลือดระหว่างท่อไต และเส้นเลือดบริเวณท่อไตมีการคั่งของเซลล์เม็ดเลือดแดง (รูปที่ 5.5B) มีการหดตัวของ glomerulus (รูปที่ 5.5C) พบการสะสม hyaline droplet และ hydropic vacuole จำนวนมากในเซลล์ท่อไตส่วนต้น (proximal tubules) (รูปที่ 5.5B,D,E) บางเซลล์มีลักษณะบวมพอง พบการตายของเซลล์ท่อไตส่วนต้นในบริเวณใกล้เส้นเลือดและบริเวณที่เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว (รูปที่ 5.5E) ตลอดจนพบที่มีการแทรกของเซลล์ macrophage ตามบริเวณที่เนื้อเยื่อไตเกิดความเสียหาย (รูปที่ 5.5F)

### ไตปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 5 เดือน

ในเซลล์ท่อไตส่วนต้น (proximal tubule) มีการสะสม hydropic vacuole เป็นจำนวนมาก ในบางเซลล์มีลักษณะบวมพอง พบโครมาตินมีการรวมกลุ่มไปอยู่ที่ขอบเซลล์และบางเซลล์เริ่มมีการทำลายที่บริเวณ brush border (รูปที่ 5.6B,C) โดยลักษณะดังกล่าวพบมากในบริเวณใกล้กับหลอดเลือด และมีการคั่งของเม็ดเลือดระหว่างท่อไต (รูปที่ 5.6B) มีการหดตัวของ glomerulus กลุ่มเส้นเลือดภายใน glomeruleu มีลักษณะบวม (รูปที่ 5.6D) นอกจากนี้ยังพบเซลล์ macrophage ตามบริเวณที่เนื้อเยื่อไตเกิดความเสียหาย (รูปที่ 5.6E,F)

### ไตปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 6 เดือน

การเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดในเดือนนี้ พบว่าหลอดเลือดมีการคั่งของเม็ดเลือดแดง มีการตายของเซลล์ท่อไตส่วนดังกล่าว โดยพบว่านิวเคลียสสลายไป (รูปที่ 5.7B) พบ hydropic vacuole เป็นจำนวนมาก ในเซลล์ท่อไตส่วนต้น (รูปที่ 5.7C) พบการคั่งของเซลล์เม็ดเลือดแดงจำนวนมากตามเส้นเลือด รูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดแดงบวมพอง (รูปที่ 5.7C) นอกจากนี้พบ glomerulus มีการหดตัวเล็กน้อยถึงปานกลาง (รูปที่ 5.7D) นอกจากนี้ยังพบการแทรกของ macrophage บริเวณเนื้อเยื่อไตอีกด้วย (รูปที่ 5.7D)

### ไตปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 7 เดือน

การเปลี่ยนแปลงในเดือนนี้พบการสะสม hyaline droplet และ hydropic vacuole เป็นจำนวนมาก โดยลักษณะดังกล่าวพบมากในบริเวณใกล้กับหลอดเลือด (รูปที่ 5.8B,C,D) นอกจากนี้ยังพบการคั่งของเซลล์เม็ดเลือดแดงจำนวนมากตามเส้นเลือด เซลล์ท่อไตส่วนต้น เกิดการตายเป็นหย่อมๆ โดยพบว่าเซลล์มีลักษณะบวมพองและนิวเคลียสมีสีเข้มในบางเซลล์ (รูปที่ 5.8C,D) มีการหดตัวของหลอดเลือด glomerulus ปานกลาง (รูปที่ 5.8E) พบการแทรกของเซลล์ macrophage ตามบริเวณที่เนื้อเยื่อไตเกิดความเสียหาย

### ไตปลาภายหลังจากที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบนาน 8 เดือน

พบการสะสมของ hyaline droplet เป็นจำนวนมากในเซลล์ท่อไตส่วน proximal tubule (รูปที่ 5.9A,B,C) และพบว่ามีการตายเป็นหย่อมๆของเซลล์ท่อไตส่วนต้น (รูปที่ 5.9C,E) การสะสม hyaline droplet ส่วนใหญ่มักพบมากบริเวณใกล้กับเส้นเลือด เซลล์ท่อไตบางเซลล์มีลักษณะบวมพองและมีการทำลายที่บริเวณ brush border (รูปที่ 5.9D) glomerulus มีการหดตัวมากจนเห็นเป็นสีทึบ ภายใน Bowman 's capsule

(รูปที่ 5.9E) และมีการแทรกของเซลล์ macrophage บริเวณใกล้กับเนื้อเยื่อไตที่อยู่ใกล้กับเส้นเลือด และพบกลุ่มเซลล์ Eosinophilic granular cells เข้ามาแทรกตามบริเวณรอบๆ หลอดเลือดของเนื้อเยื่อไต (รูปที่ 5.9F)

### ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาตลอดการทดลอง เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดลอง

โดยการวัดอุณหภูมิ วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved Oxygen D.O.) ตลอดการทดลองตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 6 (สำหรับกลุ่มควบคุม) และเดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 8 (สำหรับกลุ่มทดลอง) ดังแสดงผลในตารางที่ 4.9 พบว่า

- อุณหภูมิเฉลี่ยของน้ำในอ่างเลี้ยงปลาทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองมีอุณหภูมิใกล้เคียงกัน คือ กลุ่มควบคุมมีค่า 28.25 องศาเซลเซียส และกลุ่มทดลองมีค่า 28.37 องศาเซลเซียส
- อุณหภูมิเฉลี่ยของอากาศตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 8 มีค่า 28.65 องศาเซลเซียส
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาตลอดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกันในทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองคือ กลุ่มควบคุมมีค่าระหว่าง 7.3-7.4 และกลุ่มทดลองมีค่า 7.2-7.5
- ค่าเฉลี่ยของปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (D.O.) ของกลุ่มควบคุมมีค่า 5.36 มิลลิกรัม/ลิตรและกลุ่มทดลองมีค่า 5.39 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งปริมาณออกซิเจนละลายของทั้ง 2 กลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4.5 แสดงจำนวนปลานิลที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับ

ภายหลังได้รับสารสกัดใบยาสูบความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลาดังแต่เดือนที่1-เดือนที่8

เดือนที่	กลุ่มควบคุม						กลุ่มทดลอง							
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8
จำนวนสัตว์ทดลองที่นำมาศึกษา	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	8	8
1.การขยายตัวของช่องไซนุซอยด์														
ไม่พบ	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0
พบน้อย	0	0	0	0	0	0	2	2	2	1	1	1	1	1
พบปานกลาง	0	0	0	0	0	0	2	1	1	2	2	1	1	1
พบมาก	0	0	0	0	0	0	1	2	2	2	2	3	3	3
2. การคั่งของเลือดในไซนุซอยด์และเส้นเลือด														
ไม่พบ	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0
พบน้อย	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
พบปานกลาง	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	1	1	1	1
พบมาก	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	3	3	3	3
3.มีการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวและมาโครฟาจ														
ไม่พบ	5	5	5	5	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0
พบน้อย	0	0	0	0	0	0	3	3	1	1	0	0	1	0
พบปานกลาง	0	0	0	0	0	0	1	2	2	2	2	2	1	3
พบมาก	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	3	3	3	2



ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

เดือนที่	กลุ่มควบคุม						กลุ่มทดลอง							
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8
จำนวนสัตว์ทดลองที่นำมาศึกษา	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	8	8
4. เซลล์ตับมีการสะสมไฮยาลินกรานูล														
ไม่มีการสะสม	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0
สะสมน้อย	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	1	1	1	1
สะสมปานกลาง	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	3	2	2	2
สะสมมาก	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2
5. เซลล์ตับมีการสะสมแวกคิวโกลไขมัน														
ไม่มีการสะสม	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0
สะสมน้อย	0	0	0	0	0	0	3	2	1	1	1	1	0	0
สะสมปานกลาง	0	0	0	0	0	0	2	2	2	1	1	1	1	1
สะสมมาก	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3	3	3	4	4

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

เดือนที่	กลุ่มควบคุม						กลุ่มทดลอง							
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8
จำนวนสัตว์ทดลองที่นำมาศึกษา	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	8	8
6.การแทรกตัวของมาโครฟาจในเซลล์ตับ														
ไม่พบ	5	5	5	5	5	5	2	5	1	0	0	0	0	0
พบน้อย	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0
พบปานกลาง	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	3	2	2	2
พบมาก	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	2	3	3
7. การตายของเซลล์ตับ														
ไม่พบ	5	5	5	5	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0
พบน้อย	0	0	0	0	0	0	3	1	1	1	1	1	0	0
พบปานกลาง	0	0	0	0	0	0	2	3	2	2	2	2	2	2
พบมาก	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2	2	2	3	3

ตารางที่ 4.6 แสดงจำนวนปลานิลที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไต

ภายหลังได้รับสารสกัดใบยาสูบความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลาดังแต่เดือนที่1-เดือนที่8

เดือนที่	กลุ่มควบคุม						กลุ่มทดลอง							
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8
จำนวนสัตว์ทดลองที่นำมาศึกษา	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	8	8
1.การสะสมไฮยาลินการนูลบริเวณเซลล์ท่อไตส่วนต้น														
ไม่มีการสะสม	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0
สะสมน้อย	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	1	1	1
สะสมปานกลาง	0	0	0	0	0	0	3	3	2	1	1	1	1	1
สะสมมาก	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2	3	3	3
2.การสะสมแควคิวโอลไขมันบริเวณเซลล์ท่อไตส่วนต้น														
ไม่มีการสะสม	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0
สะสมน้อย	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	1	1	1	1
สะสมปานกลาง	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	1	1	1
สะสมมาก	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	2	3	3	3
3.การบวมนำของเซลล์บริเวณท่อไตส่วนต้น														
ไม่พบ	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0
พบน้อย	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
พบปานกลาง	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3	3	3
พบมาก	0	0	0	0	0	0	3	3	2	2	2	1	1	1

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

เดือนที่	กลุ่มควบคุม						กลุ่มทดลอง							
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8
จำนวนสัตว์ทดลองที่นำมาศึกษา	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	8	8
4.มีการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวและมาโครฟาจ														
ไม่พบ	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0
พบน้อย	0	0	0	0	0	0	2	2	1	2	1	2	2	2
พบปานกลาง	0	0	0	0	0	0	3	3	4	2	3	2	3	3
พบมาก	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
5.การตายของเซลล์ท่อไตส่วนต้น														
ไม่พบ	5	5	5	5	5	5	1	1	1	0	0	0	0	0
พบน้อย	0	0	0	0	0	0	3	2	1	1	1	1	1	1
พบปานกลาง	0	0	0	0	0	0	1	2	3	3	4	2	3	2
พบมาก	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1	2
6. การหดตัวของ โกลเมอรูลัส														
ไม่พบ	5	5	5	5	5	5	1	1	0	0	0	0	0	0
พบน้อย	0	0	0	0	0	0	3	3	3	2	2	2	1	1
พบปานกลาง	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3	2	2	3	3
พบมาก	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1

**ตารางที่ 4.7** แสดงผลของความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับปลานิล

ภายหลังได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร ตั้งแต่เดือนที่ 1-เดือนที่8

เดือนที่	กลุ่มควบคุม						กลุ่มทดลอง							
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8
1.การขยายตัวของช่องไซนุซอยด์	--	--	--	--	--	--	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++
2. การคั่งของเลือดในไซนุซอยด์และเส้นเลือด	--	--	--	--	--	--	+	++	++	++	++	++	+++	+++
3.การแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวบริเวณเนื้อเยื่อตับ	--	--	--	--	--	--	+	+	++	++	++	++	+++	+++
4. เซลล์ตับมีการสะสมไฮยาลินกรานูล	--	--	--	--	--	--	+	++	++	++	++	++	++	++
5. เซลล์ตับมีการสะสมเวคคิวโอลไขมัน	--	--	--	--	--	--	+	++	++	++	++	+++	+++	+++
6.การแทรกตัวของมาโครฟาจบริเวณเซลล์ตับ	--	--	--	--	--	--	+	+	++	++	++	+++	++	++
7. การตายของเซลล์ตับ	--	--	--	--	--	--	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++

**หมายเหตุ** จำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด 30 ตัว

-- ไม่พบการเปลี่ยนแปลง

+ พบการเปลี่ยนแปลง รุนแรงน้อย คิดเป็น 1/3 ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

++ พบการเปลี่ยนแปลง รุนแรงปานกลาง คิดเป็น 2/3 ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

+++ พบการเปลี่ยนแปลง รุนแรงมาก คิดเป็น 3/4 ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.8 แสดงผลของความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตปลานิล

ภายหลังได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร ตั้งแต่เดือนที่ 1-เดือนที่ 8

เดือนที่	กลุ่มควบคุม						กลุ่มทดลอง							
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8
1.การสะสมไฮยาลินการนูลบริเวณเซลล์ท่อไตส่วนต้น	--	--	--	--	--	--	+	++	++	++	++	+++	+++	+++
2.การสะสมแวกคิวโกลไขมันบริเวณเซลล์ท่อไตส่วนต้น	--	--	--	--	--	--	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
3.การบวมน้ำของเซลล์บริเวณท่อไตส่วนต้น	--	--	--	--	--	--	+	++	++	++	++	++	++	++
4.การแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวบริเวณเนื้อเยื่อ	--	--	--	--	--	--	--	+	+	+	+++	+++	+++	+++
5. เซลล์ท่อไตส่วนต้นหดตัว	--	--	--	--	--	--	+	++	+	+	++	++	+++	+++
6.การตายของเซลล์ท่อไตส่วนต้น	--	--	--	--	--	--	+	+	+	+	++	++	++	++
7. การหดตัวของ โกลเมอรูลัส	--	--	--	--	--	--	+	++	++	++	++	++	+++	+++

หมายเหตุ จำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด 30 ตัว

-- ไม่พบการเปลี่ยนแปลง

+ พบการเปลี่ยนแปลง รุนแรงน้อย คิดเป็น 1/3 ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

++ พบการเปลี่ยนแปลง รุนแรงปานกลาง คิดเป็น 2/3 ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

+++ พบการเปลี่ยนแปลง รุนแรงมาก คิดเป็น 3/4 ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 4.9 แสดงสมบัติทางกายภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงปลานิลตลอดการทดลอง 8 เดือน

ปัจจัยทางกายภาพของน้ำ	ค่าพิสัย		ค่าเฉลี่ย	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
1. อุณหภูมิของน้ำ (องศาเซลเซียส)	28-28.6	27.7-29	28.25	28.37
2. อุณหภูมิห้อง (องศาเซลเซียส)	28.3-29	28.3-29	28.65	28.65
3. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	7.3-7.4	7.2-7.5	7.35	7.35
4. ปริมาณออกซิเจนละลาย (DO) มิลลิกรัม/ ลิตร	5.31-5.4	5.35-5.43	5.36	5.39

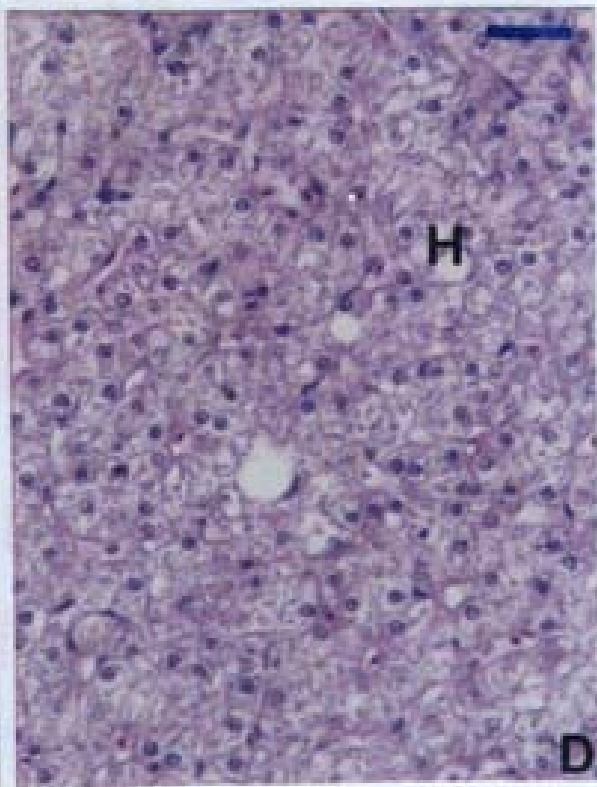
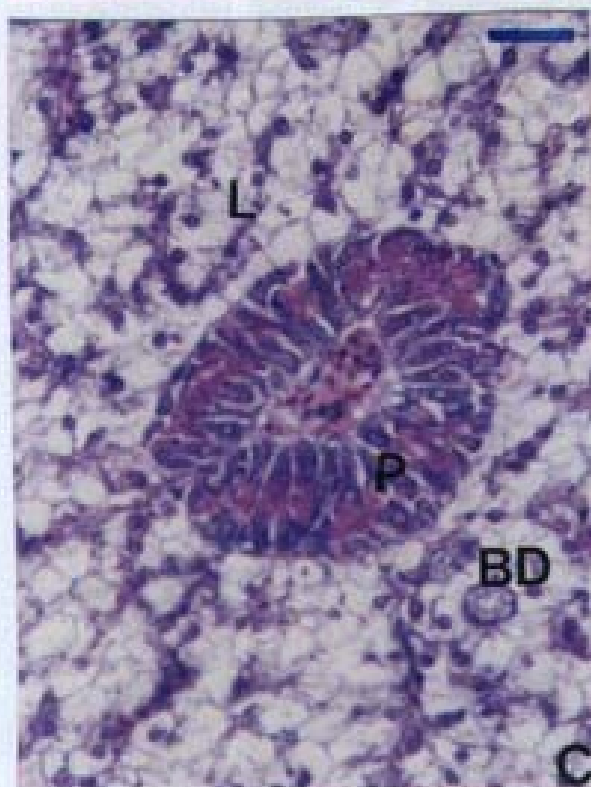
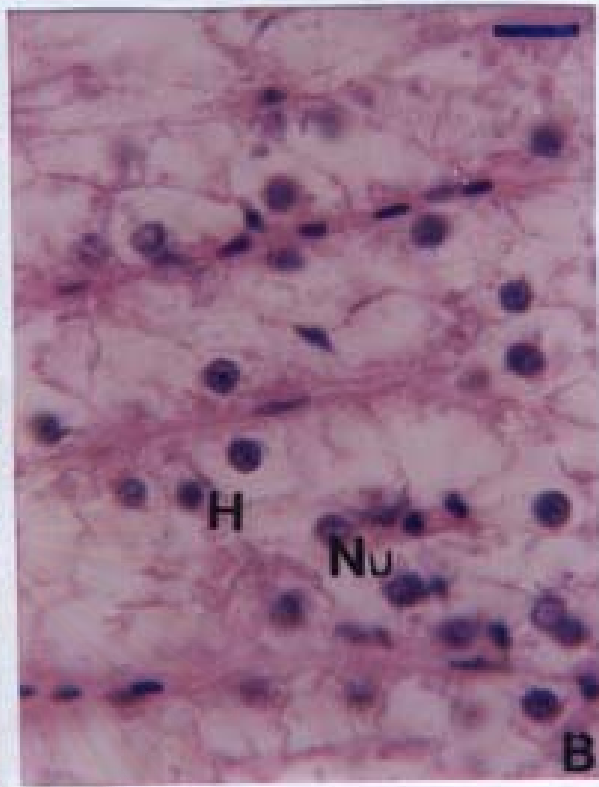
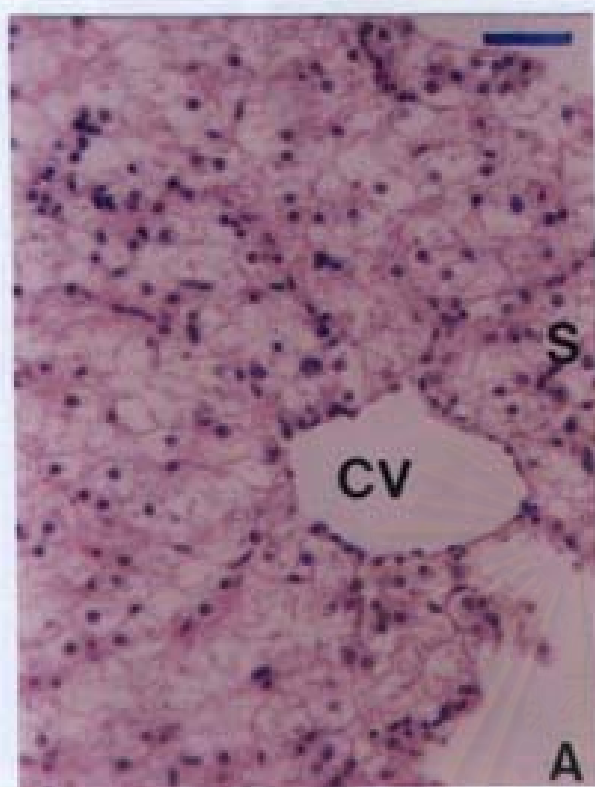
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.3 ภาพถ่ายแสดงลักษณะของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มควบคุม

- A. แสดงโครงสร้างของตับปลานิลปกติ ประกอบด้วย hepatic Plate มีเซลล์ตับเรียงกันคั่นด้วยช่องไซนัสชอยด์ (S) ที่แยก จาก central vein (CV) ในแนวรัศมี
- B. แสดงลักษณะตับปกติของปลานิล ประกอบด้วยเซลล์ตับ (H) รูปร่างหลายเหลี่ยม มีนิวเคลียสรูปร่างกลม เห็นนิวคลีโอลัส (Nu) ชัดเจน
- C. แสดงลักษณะเนื้อเยื่อตับปลานิล (L) ที่มีการแทรกตัวของตับอ่อน (P) อยู่ภายในเนื้อเยื่อตับและพบท่อน้ำดี (BD) แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับด้วย
- D. แสดงลักษณะเนื้อเยื่อตับปลานิลปกติที่กินอาหารเต็มได้ตามธรรมชาติ ไซโทพลาสซึมของเซลล์ตับ (H) มีลักษณะเป็นช่องว่างจากการที่สารพวก lipid และ glycogen ละลายไปขณะเตรียม paraffin section

หมายเหตุ	ย้อมสี H& E
ภาพ A	Bar scale = 50 $\mu\text{m}$ .
ภาพ B	Bar scale = 10 $\mu\text{m}$ .
ภาพ C,D	Bar scale = 25 $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.4 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 1 เดือน

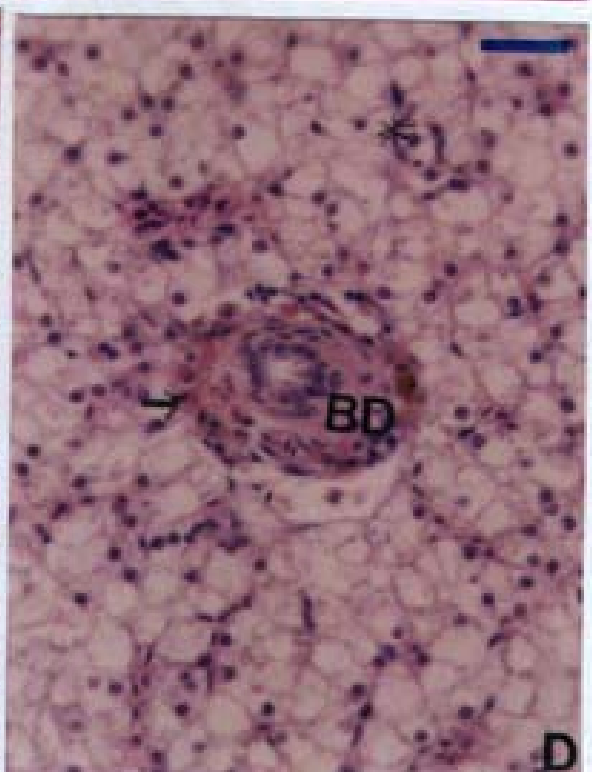
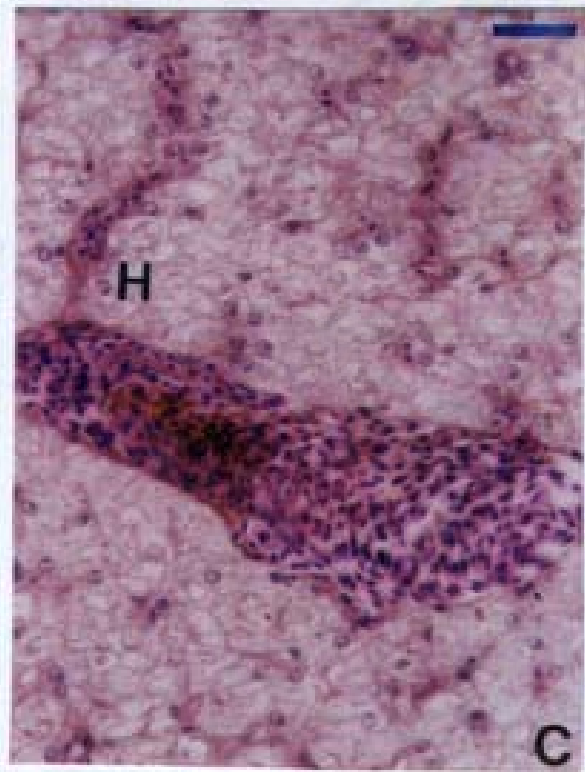
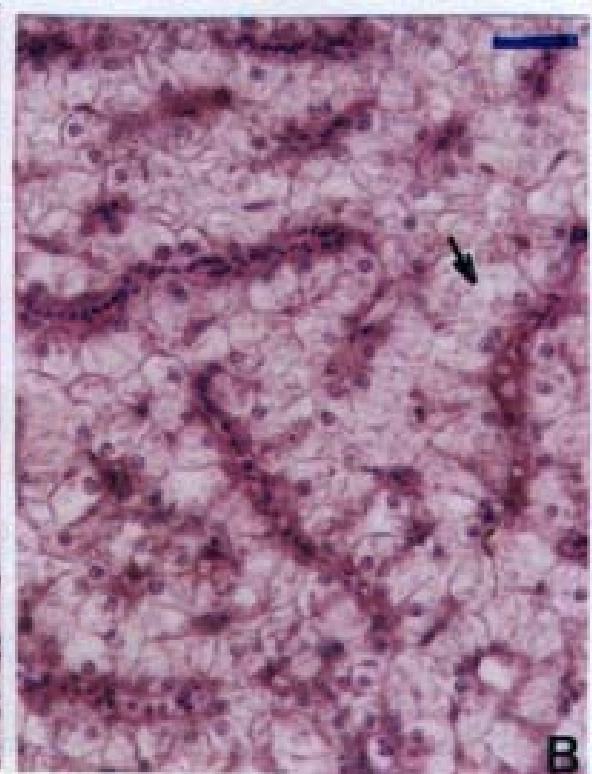
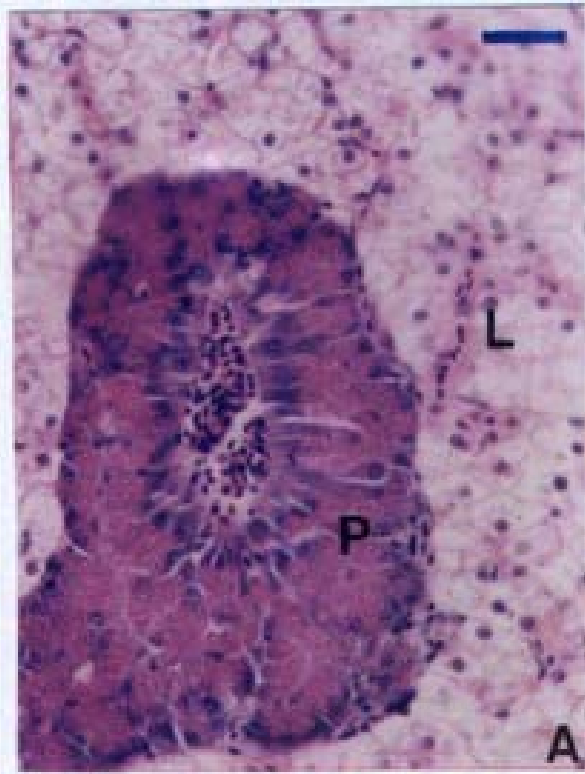
- A. ภาพเซลล์ตับของปลานิลปกติ กลุ่มควบคุม 1 เดือน ตับอ่อน (P) แทรกอยู่ในเนื้อตับ (L)
- B. แสดงเซลล์ตับ มีลักษณะบวม (hydropic swelling) (↑)
- C. แสดง hepatic vein ที่มีการคั่งของเม็ดเลือดแดงจำนวนมาก (\*) และเซลล์ตับที่อยู่รอบ ๆ เส้นเลือดบวม (H)
- D. แสดงการสะสม hyaline droplet ของเนื้อเยื่อตับที่อยู่บริเวณรอบท่อน้ำดี (BD) (↑) และเซลล์ตับที่อยู่รอบ ท่อน้ำดีมีการบวม (\*)

หมายเหตุ

ย้อมสี H& E

Bar scale = 25  $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.5 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตรเป็นเวลานาน 2 เดือน

- A. ภาพเซลล์ตับ (H) ของปลานิลปกติ กลุ่มควบคุม 2 เดือน แสดงตับอ่อน (P) แทรกอยู่ในเนื้อตับ (L)
- B. ภาพ hepatic vein ที่ผิดปกติ และพบเซลล์ lymphocyte ( $\uparrow$ ) แทรกเข้ามา บริเวณที่เกิดการตายของเซลล์ตับ โดยนิวเคลียสของเซลล์ตับบางเซลล์เริ่มมีการสลาย (karyolysis) (หัวลูกศร)
- C. ภาพของเนื้อเยื่อตับที่อยู่รอบ ๆ central vein ถูกทำลายนิวเคลียสของเซลล์ตับสลายไป (\*) ในเซลล์ตับบางเซลล์พบนิวเคลียสติดสีเข้ม ( $\uparrow$ ) และพบ Eosinophilic granular cells (EGCs) จำนวนมากล้อมรอบเส้นเลือดที่เกิดการเสียหาย (หัวลูกศร)
- D. ภาพเซลล์ตับที่มีลักษณะบวมพอง ( $\uparrow$ ) บริเวณใกล้หลอดเลือดที่ขยายตัวและคั่งไปด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงจำนวนมาก (\*)
- E. ภาพเซลล์ตับที่ผิดปกติ มีการสะสม hyaline droplet (\*) ภายในไซโทพลาสซึมของเซลล์ตับบางเซลล์ และบางเซลล์ตับมีการสะสม fat vacuole ( $\uparrow$ )
- F. แสดงการตายของเซลล์ตับรอบ ๆ หลอดเลือดโดยพบนิวเคลียสของเซลล์ตับสลายไป (\*)

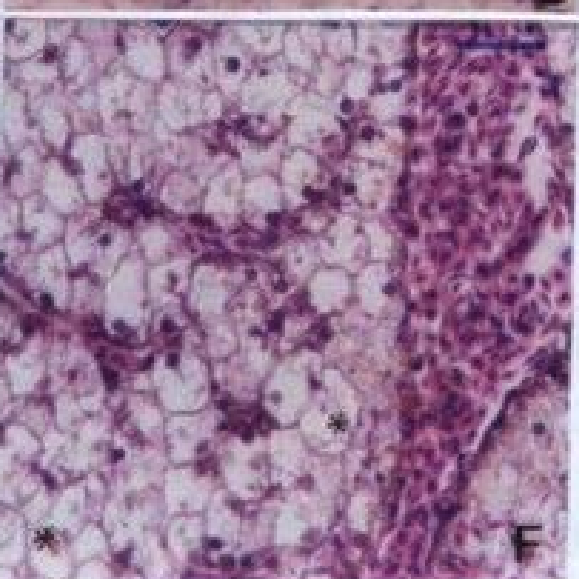
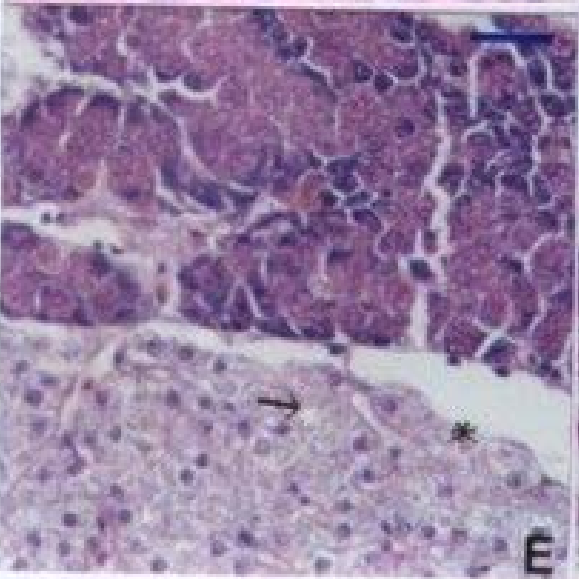
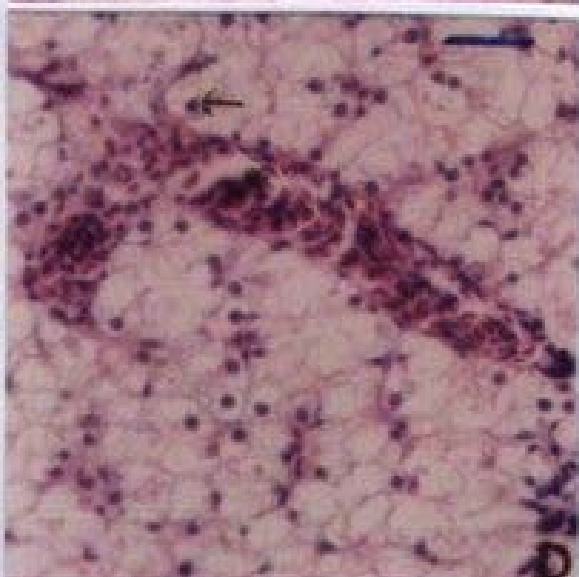
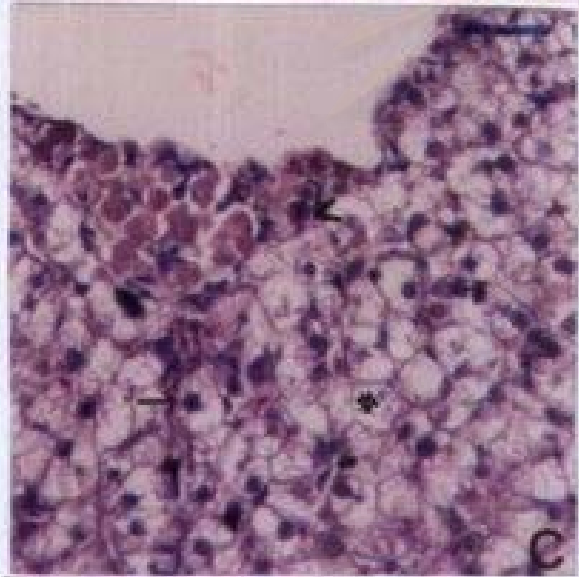
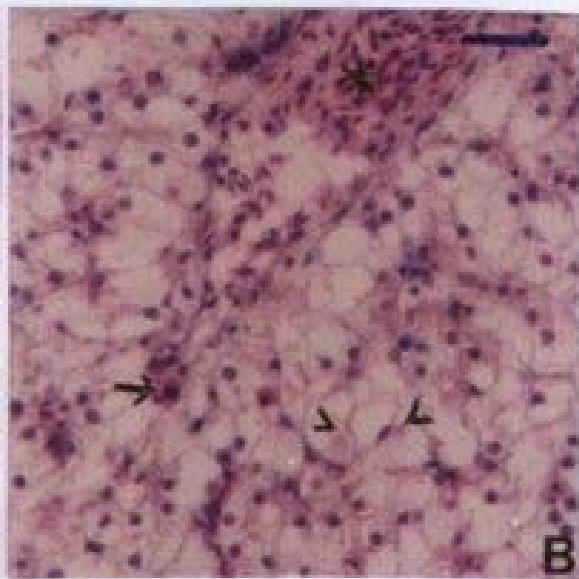
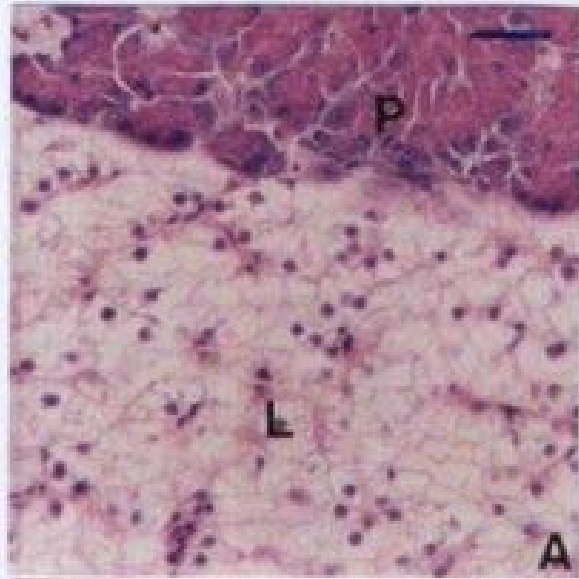
หมายเหตุ

ย้อมสี H& E

Bar scale = 25  $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





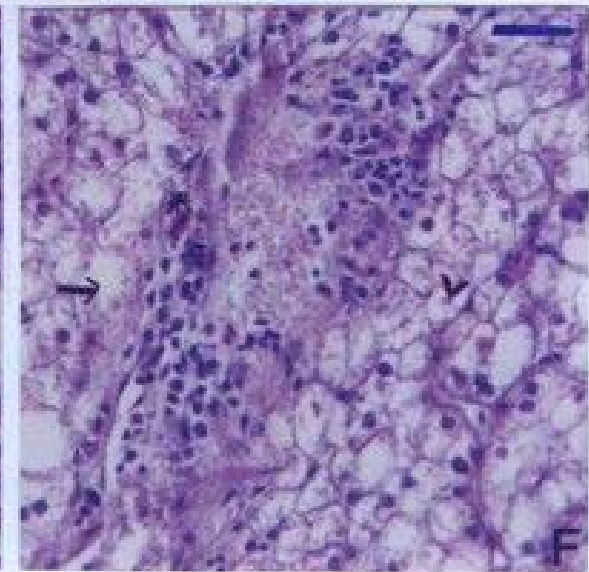
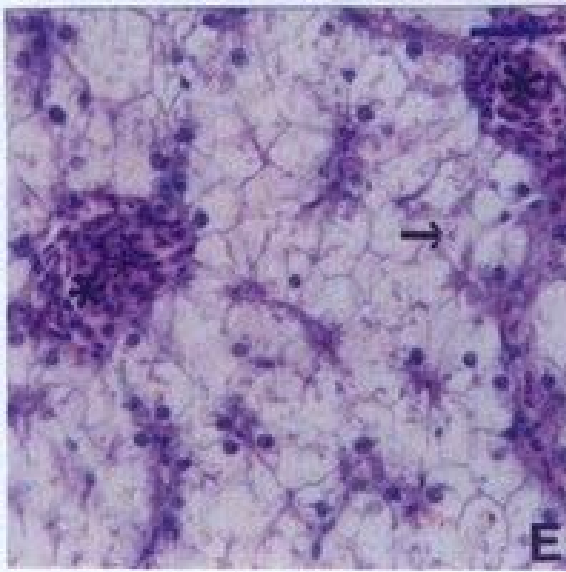
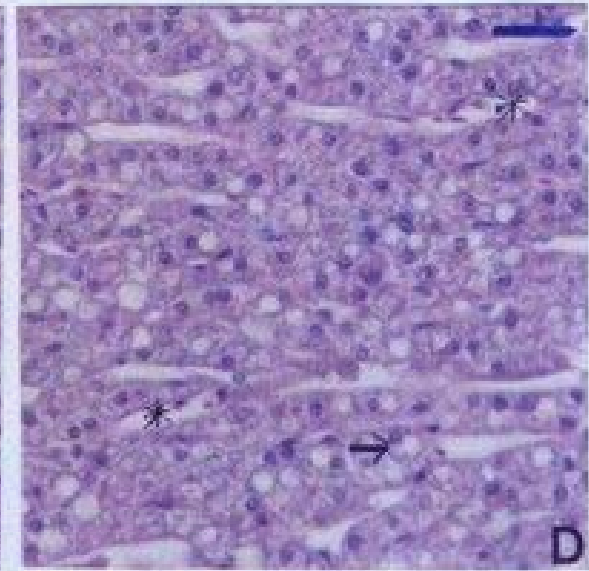
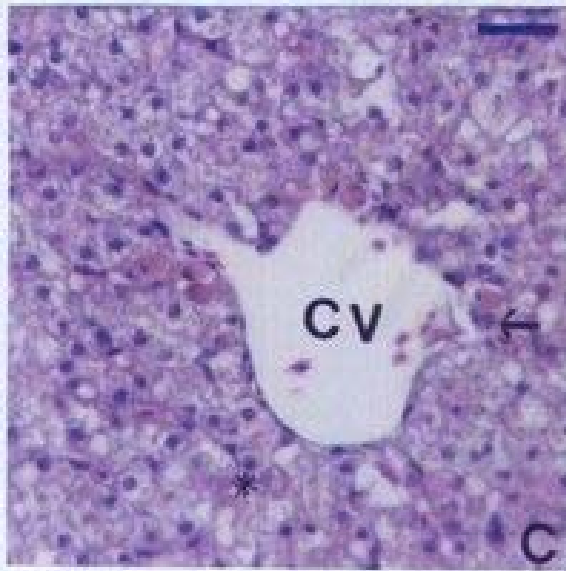
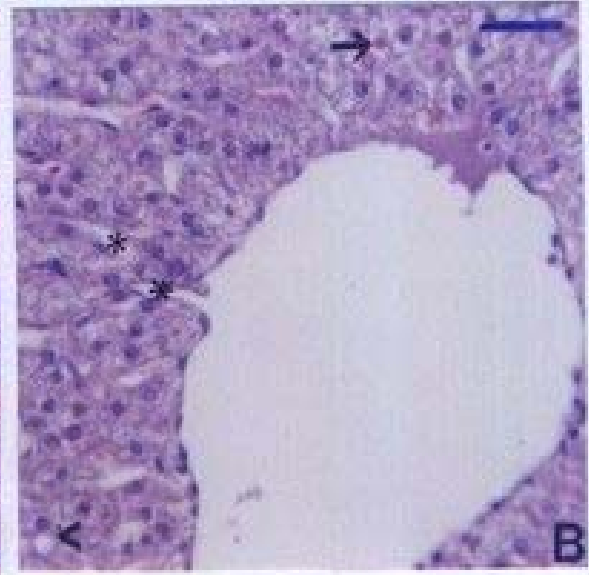
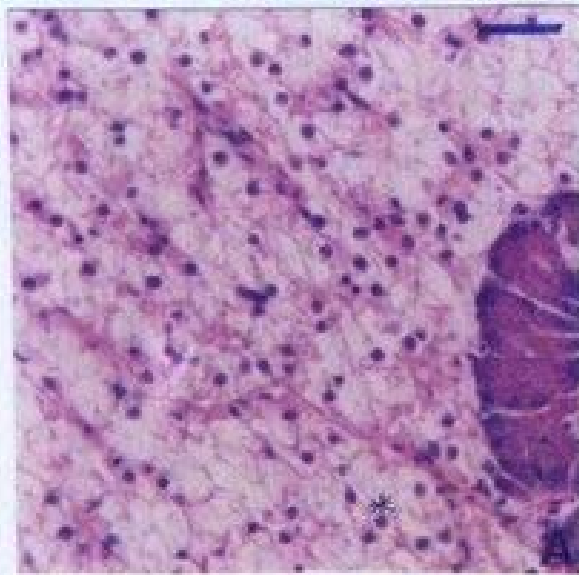
รูปที่ 4.6 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตรเป็นเวลานาน 3 เดือน

- A. ภาพแสดงเซลล์ตับของปลานิลปกติกลุ่มควบคุม 3 เดือน เซลล์ตับมีรูปร่างหลายเหลี่ยม มีนิวเคลียสอยู่ตรงกลางเซลล์ (\*)
- B. แสดงช่องไซโทซอลด์ที่มีการขยาย (\*) เซลล์ตับบริเวณรอบ ๆ central vein มีการสะสม hyaline droplet (↑) และบางเซลล์สะสม fat vacuole (หัวลูกศร)
- C. แสดงเซลล์ตับที่นิวเคลียสมีการสลายตัว (\*) ลักษณะเช่นนี้มักพบบริเวณรอบ ๆ หลอดเลือด (CV) เซลล์ตับมีการสะสม fat vacuole และมีการแทรกของเซลล์ EGCs รอบหลอดเลือด (↑)
- D. แสดงช่องไซโทซอลด์ที่มีการขยายตัวและพบเม็ดเลือดแดงอยู่จำนวนน้อย (\*) เซลล์ตับมีการสะสม fat vacuole ทั่วไปทั้งเนื้อตับ บางเซลล์มีลักษณะบวมพอง (↑)
- E. แสดงการคั่งอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงภายในหลอดเลือด (\*) และพบการตายของเซลล์ตับระหว่างช่องไซโทซอลด์ (↑) โดยนิวเคลียสมีการสลายตัว
- F. แสดง hepatic vein ที่มีการแทรกตัวของ EGCs (\*) เข้ามาในหลอดเลือด พบการตายของเซลล์ตับเป็นหย่อม ๆ รอบหลอดเลือด (↑) โดยนิวเคลียสมีการสลายตัว (หัวลูกศร)

หมายเหตุ ย้อมสี H& E

Bar scale = 25  $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.7 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังได้รับสารสกัดไบยาซูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตรเป็นเวลานาน 4 เดือน

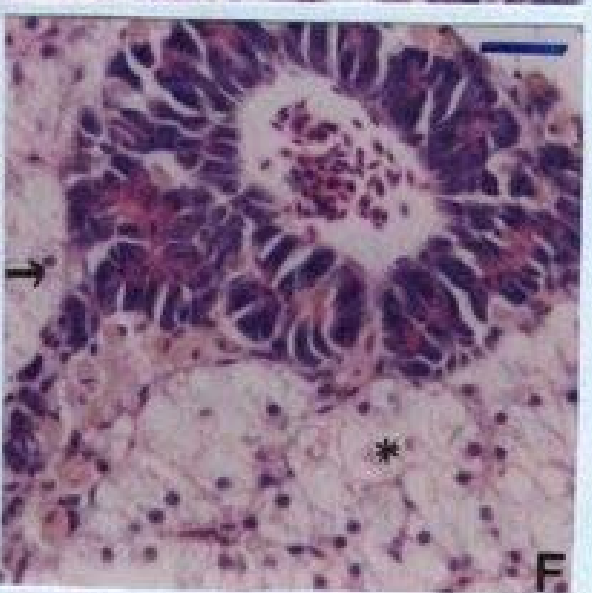
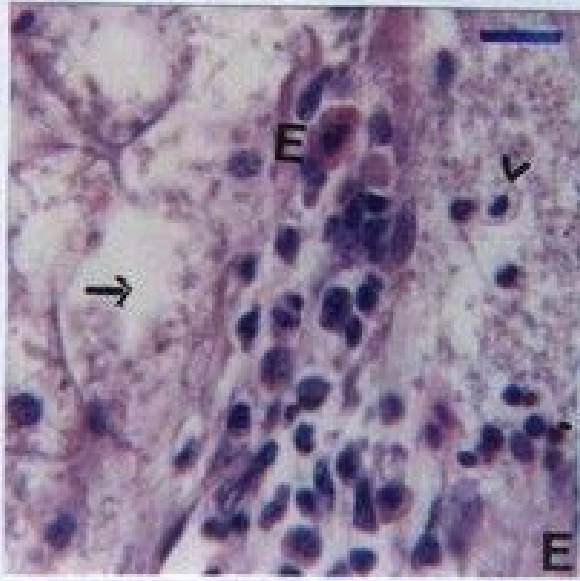
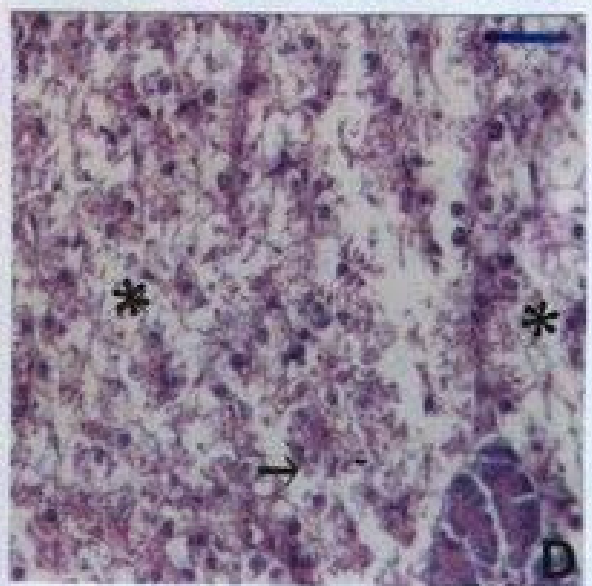
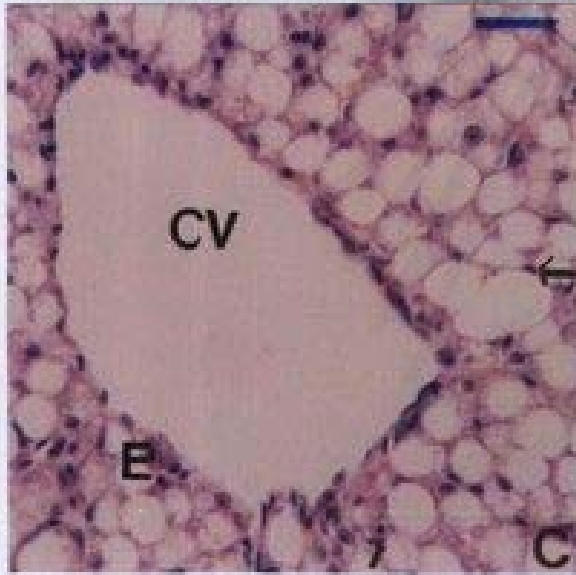
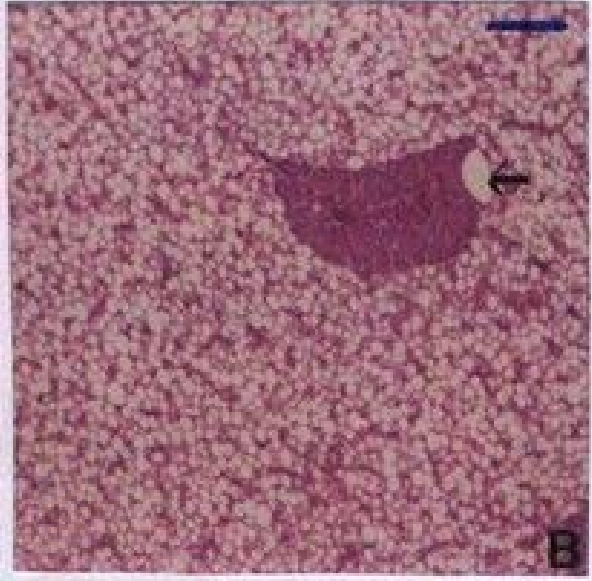
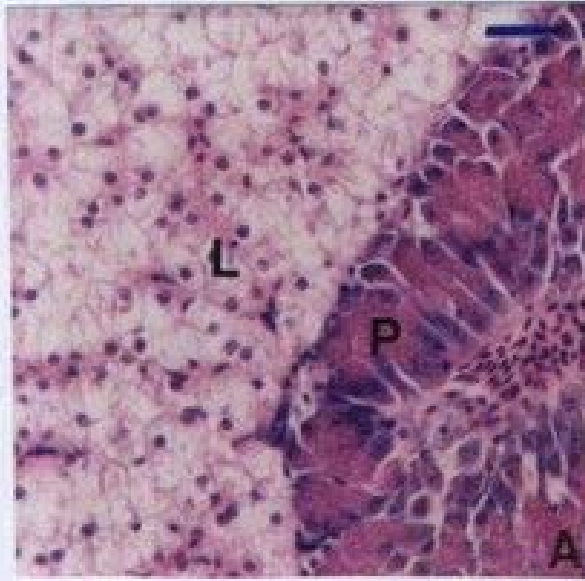
- A. ภาพแสดงเซลล์ตับของปลานิลปกติ กลุ่มควบคุม 4 เดือน ตับอ่อน (P) แทรกอยู่ในเนื้อตับ (L)
- B. ภาพกำลังขยายต่ำแสดงลักษณะเนื้อเยื่อตับที่มีการสะสม fat vacuole จำนวนมากทั่วเนื้อตับ และแสดง fat vacuole ขนาดใหญ่บริเวณใกล้กับตับอ่อนที่แทรกอยู่ในเนื้อตับ (↑)
- C. ภาพกำลังขยายสูงแสดง central vein (CV) ที่มีการแทรกตัวของ EGCs (E) บริเวณรอบ ๆ ผนังด้านในของ central vein และเซลล์ตับรอบ ๆ central vein มีการสะสม fat vacuole และต้นนิวเคลียสไปอยู่ขอบเซลล์ (↑)
- D. แสดงเซลล์ตับที่ตาย (\*) อยู่ทั่วไป และเรียงตัวไม่เป็น hepatic plate บางเซลล์มีการสลายตัวของนิวเคลียส (↑)
- E. แสดงหลอดเลือดที่มีการแทรกตัวของเซลล์ EGCs (E) ภายในหลอดเลือด และเซลล์ตับที่อยู่รอบ ๆ หลอดเลือดเกิดการตายโดยนิวเคลียสสลายไป (↑) เซลล์เม็ดเลือดแดงบางเซลล์มีลักษณะบวม (หัวลูกศร)
- F. แสดงการตายของเซลล์ตับบริเวณรอบ ๆ ตับอ่อน (peripancreatic necrosis) โดยนิวเคลียสสลายไป (\*) เซลล์ตับบางเซลล์มีลักษณะบวมน้ำ (↑)

หมายเหตุ                      ย้อมสี H& E

ภาพ A,C,D,F      Bar scale =      25       $\mu\text{m}$ .

ภาพ B                      Bar scale =      50       $\mu\text{m}$ .

ภาพ E                      Bar scale =      10       $\mu\text{m}$ .





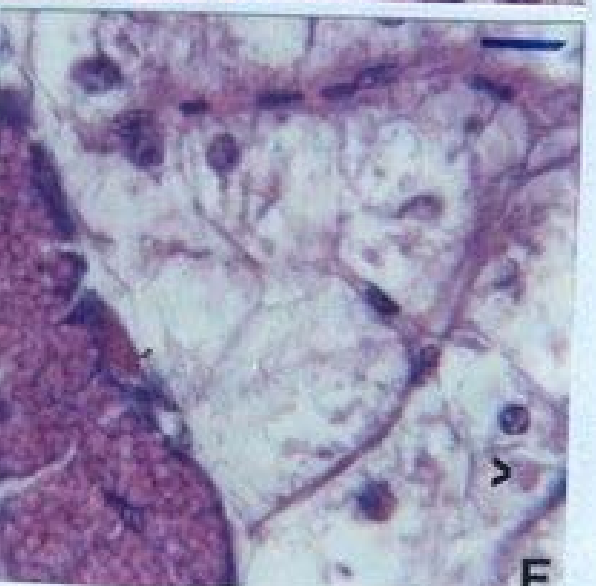
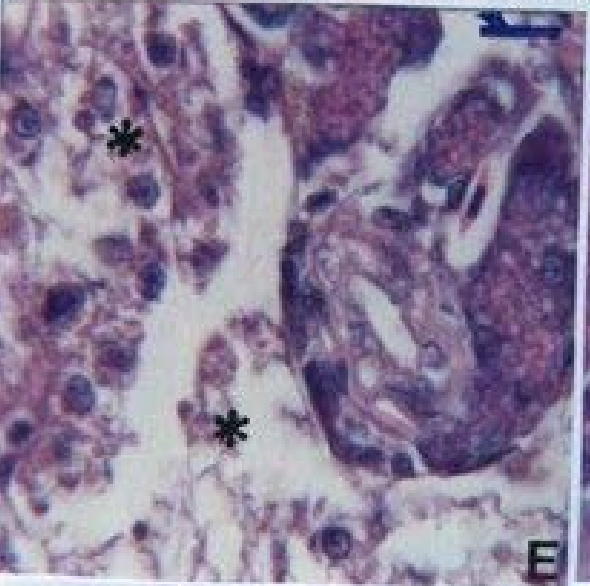
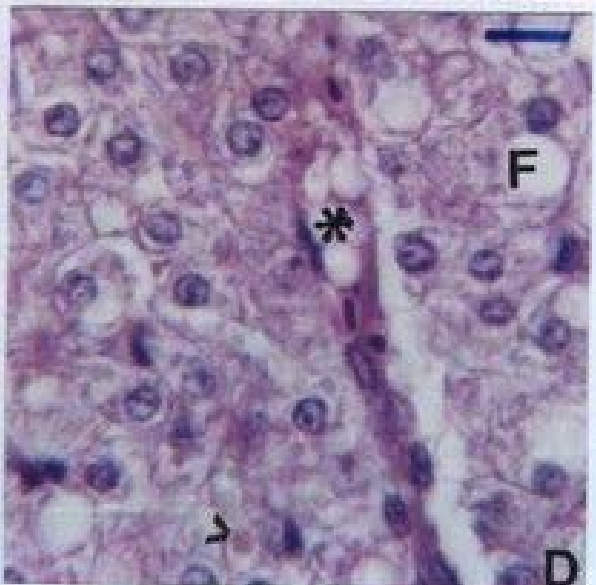
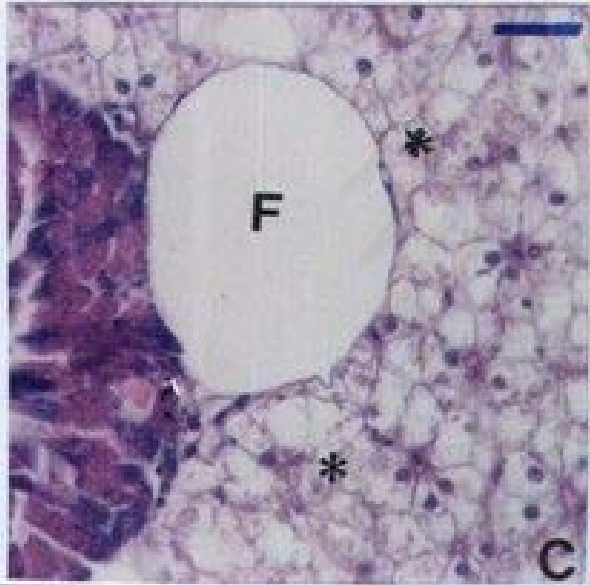
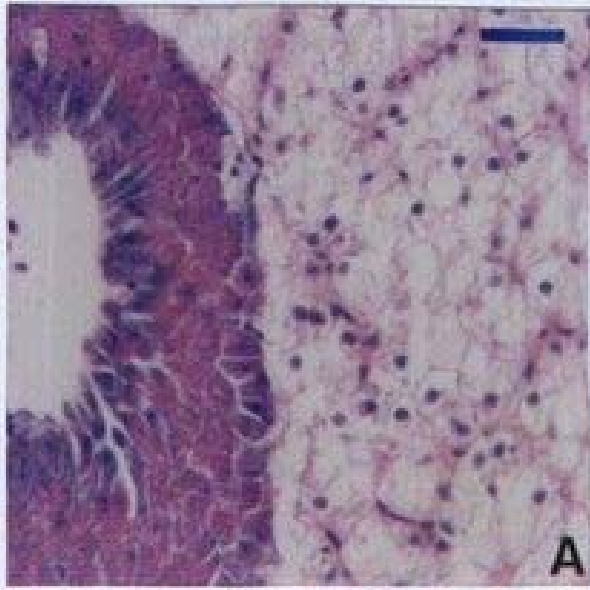
รูปที่ 4.8 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลองภายหลังได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 5 เดือน

- ภาพแสดงเซลล์ตับของปลานิลปกติ กลุ่มควบคุม 5 เดือน
- ภาพกำลังขยายต่ำแสดงการสะสม fat vacuole ของเซลล์ตับ พบทั่วไปและมีการรวมเป็น fat vacuole ขนาดใหญ่บริเวณรอบเนื้อเยื่อตับอ่อน (↑)
- ภาพกำลังขยายสูงแสดง fat vacuole ขนาดใหญ่ (F) บริเวณใกล้กับตับอ่อน พบการตายของเซลล์ตับ บางเซลล์บริเวณรอบตับอ่อนโดยนิวเคลียสมีการสลายตัว (\*)
- แสดงการสะสม fat vacuole ภายในเส้นเลือด (\*) เซลล์ตับบริเวณรอบ ๆ เส้นเลือดมีการสะสม hyaline droplet (หัวลูกศร) และ fat vacuole (F)
- แสดงการตายของเซลล์ตับบริเวณใกล้ตับอ่อน (peripancreatic necrosis) พบการสลายตัวของนิวเคลียสของเซลล์ตับ (\*)
- แสดงการตายของเซลล์ที่อยู่ใกล้ตับอ่อนโดยบางเซลล์มีการสลายตัวของนิวเคลียส (หัวลูกศร)

หมายเหตุ	ย้อมสี H& E
ภาพ A,C,E	Bar scale = 25 $\mu\text{m}$ .
ภาพ B	Bar scale = 50 $\mu\text{m}$ .
ภาพ D,F	Bar scale = 10 $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 4.9 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 6 เดือน

- A. ภาพแสดงเซลล์ตับของปลานิลปกติกลุ่มควบคุม 6 เดือน
- B. แสดงการสะสม hyaline granule (\*) ภายในเซลล์ตับ และมีการตายของเซลล์ตับในลักษณะที่นิวเคลียสเซลล์ตับมีการสลายตัว (↑)
- C. แสดงการแทรกตัวของเซลล์ Eosinophilic granular cells (EGCs) (E) บริเวณเนื้อเยื่อตับ ที่เกิดการตายรอบ ๆ หลอดเลือด (BV) ที่คั่งอัดแน่นไปด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดง (\*) เซลล์เม็ดเลือดแดงบางเซลล์มีลักษณะบวม (หัวลูกศร)
- D. แสดงการแทรกตัวของกลุ่มเซลล์ EGCs (↑) บริเวณ central vein (CV) และพบเซลล์ตับมีการตายในลักษณะที่นิวเคลียสสลายไป (\*)
- E. ภาพกำลังขยายสูงของกลุ่มเซลล์ EGCs (↑) ที่อยู่ชิดด้านในของ central vein (CV)

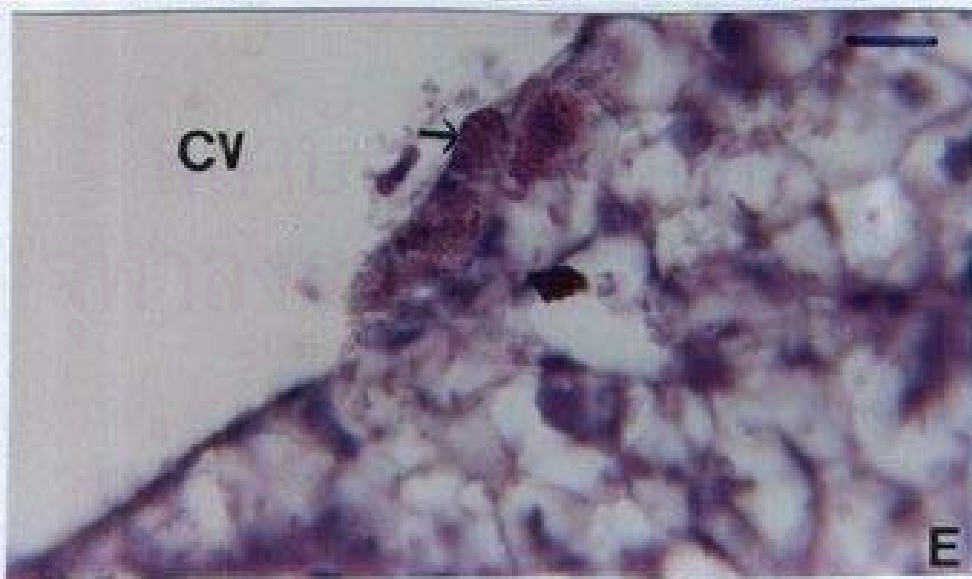
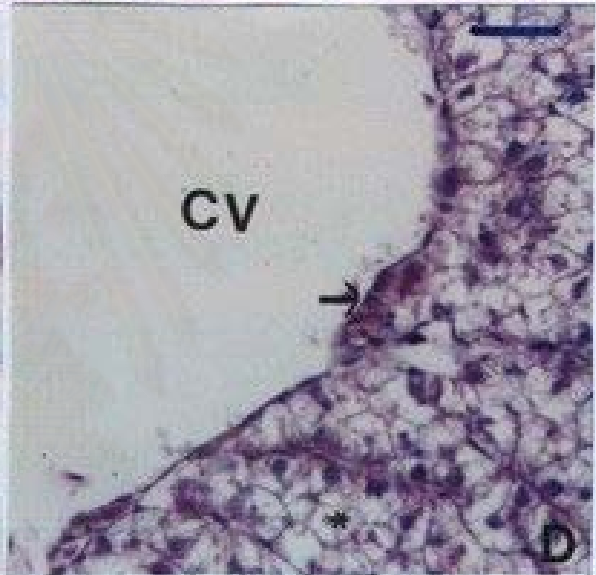
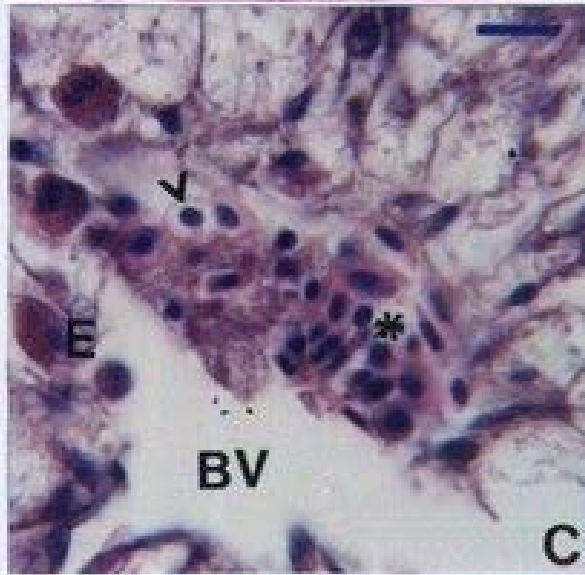
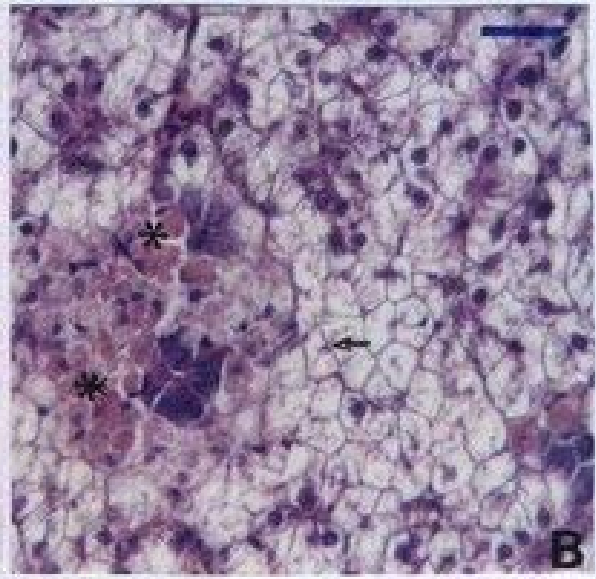
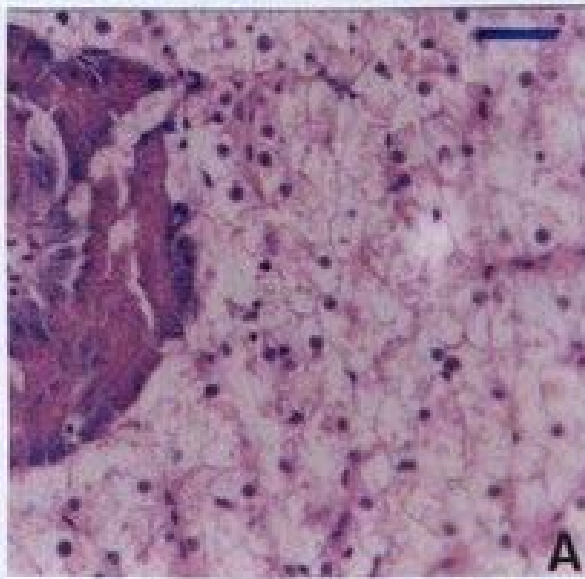
หมายเหตุ

ย้อมสี H& E

ภาพ A,B,D Bar scale = 25  $\mu\text{m}$ .

ภาพ C,E Bar scale = 10  $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



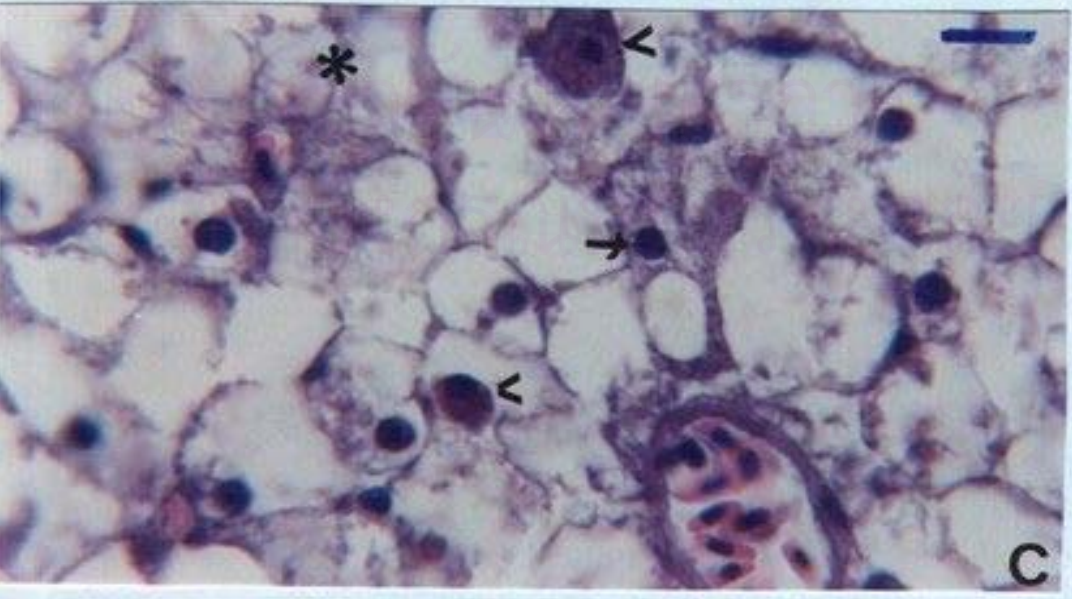
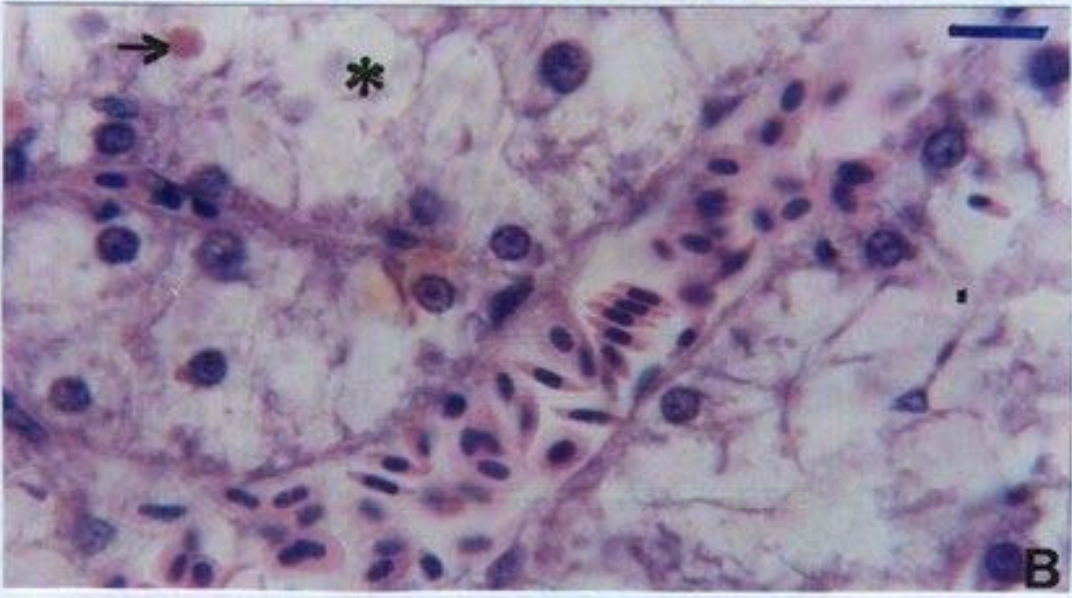
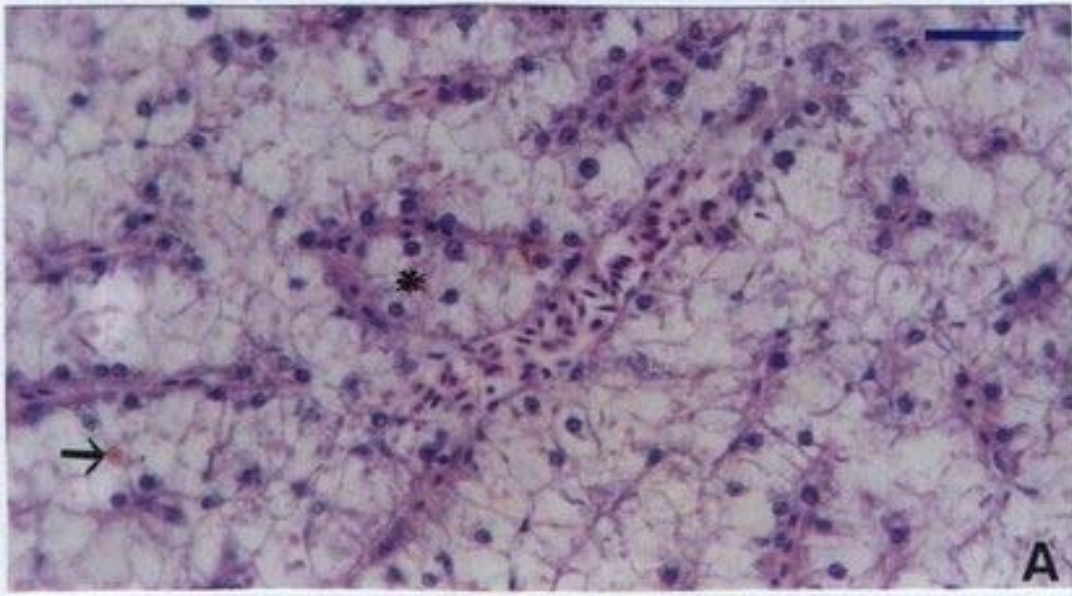
รูปที่ 4.10 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลองภายหลังได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 7 เดือน

- A. แสดงเซลล์ตับที่อยู่ใกล้กับหลอดเลือดมีการสะสม hyaline droplet (↑) เซลล์ตับบางเซลล์มีลักษณะบวม (\*)
- B. ภาพกำลังขยายสูงแสดงเซลล์ตับมีการสะสม hyaline droplet (↑) และเกิดการตายของเซลล์ตับเป็นหย่อม ๆ (\*) ใกล้ช่องไซนัสชอยด์
- C. แสดงเซลล์ตับที่มีนิวเคลียสหดตัวติดสีเข้ม (↑) และบางเซลล์มีการสลายตัวของนิวเคลียส (\*) พบการแทรกของเซลล์ macrophage (หัวลูกศร) บริเวณที่เกิดการเสียหาย

หมายเหตุ	ย้อมสี H& E
ภาพ A	Bar scale = 25 $\mu\text{m}$ .
ภาพ B,C	Bar scale = 10 $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





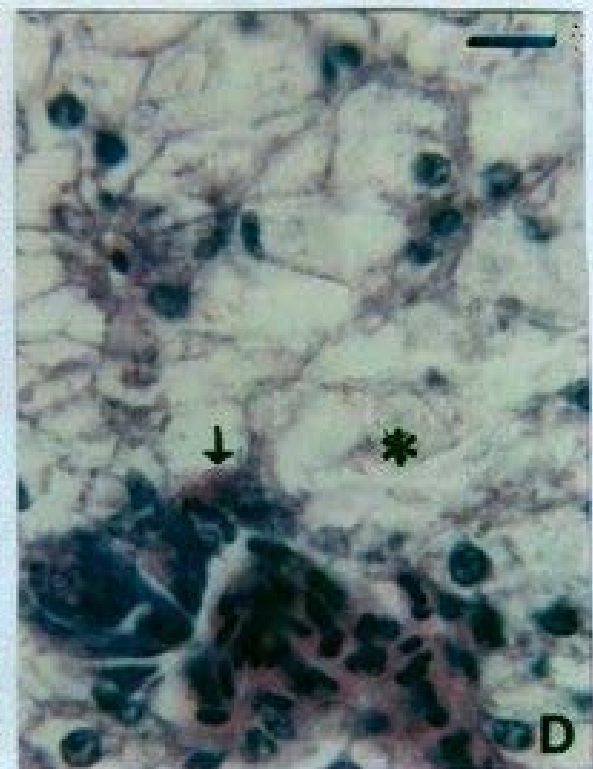
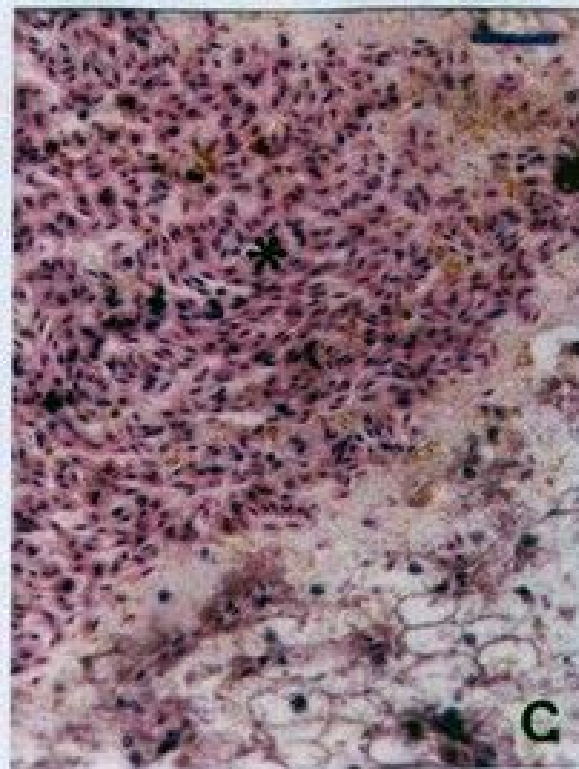
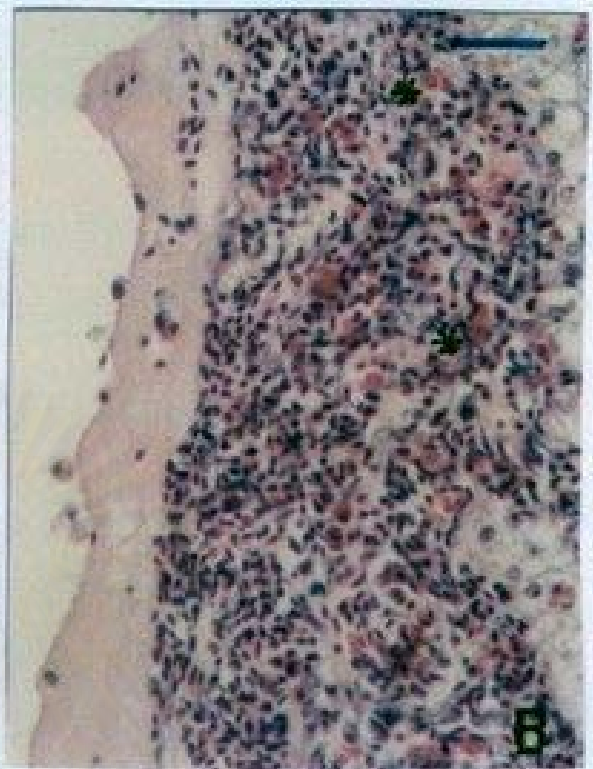
รูปที่ 4.11 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 8 เดือน

- A. ภาพกำลังขยายต่ำแสดงช่องว่างขนาดใหญ่ภายในเนื้อเยื่อตับ (↑) เป็นลักษณะของ cyst ที่เกิดขึ้น
- B. ภาพกำลังขยายสูงมีการสะสม hyaline granule ของเซลล์ตับรอบ ๆ cyst (\*) เป็นจำนวนมาก
- C. ภาพกำลังขยายสูงบริเวณที่เกิดการคั่งของเม็ดเลือดแดง (\*) ใกล้กับบริเวณรอบ ๆ ที่เกิด cyst
- D. ภาพแสดงการตายเป็นหย่อม ๆ ของเซลล์ตับ (\*) รอบหลอดเลือดที่มีการคั่งอัดแน่นด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดง มีการแทรกตัวของ macrophage (↑) บริเวณใกล้กับตับอ่อน

หมายเหตุ	ย้อมสี H& E
ภาพ A	Bar scale = 50 $\mu\text{m}$ .
ภาพ B,C	Bar scale = 25 $\mu\text{m}$ .
ภาพ D	Bar scale = 50 $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

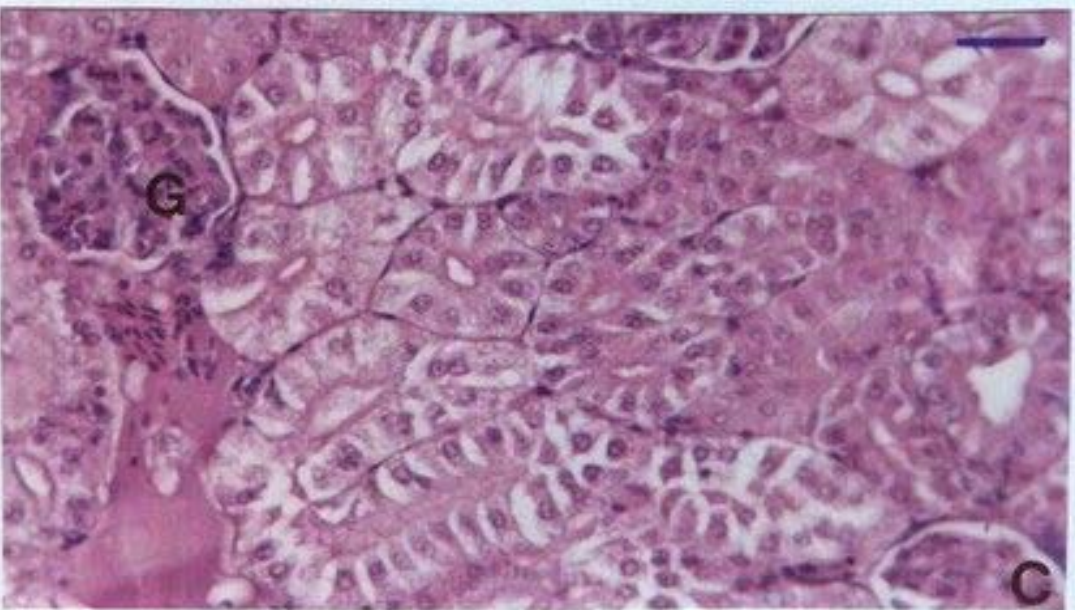
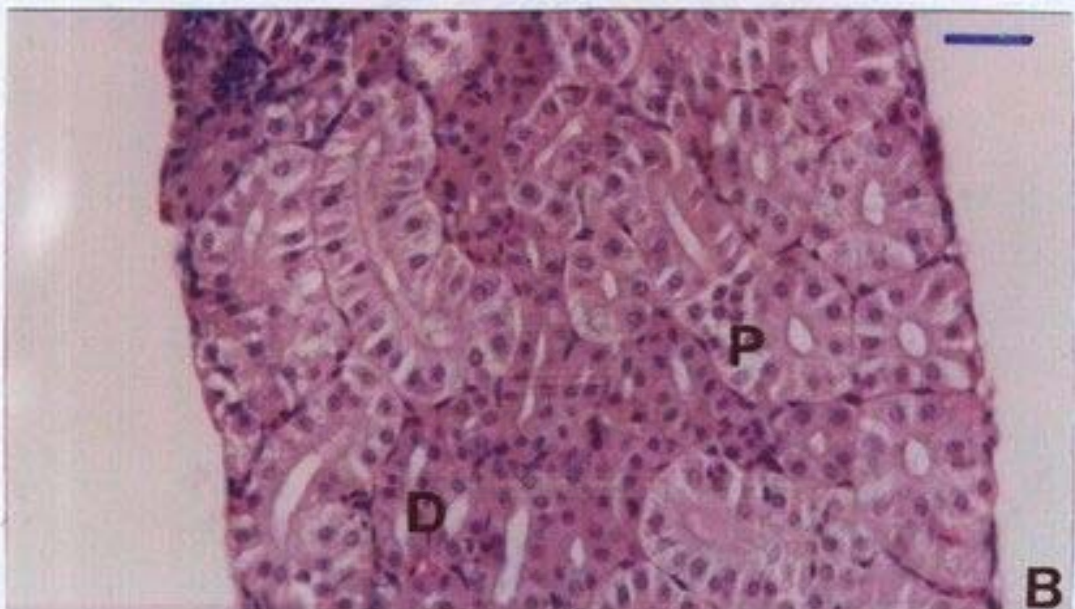
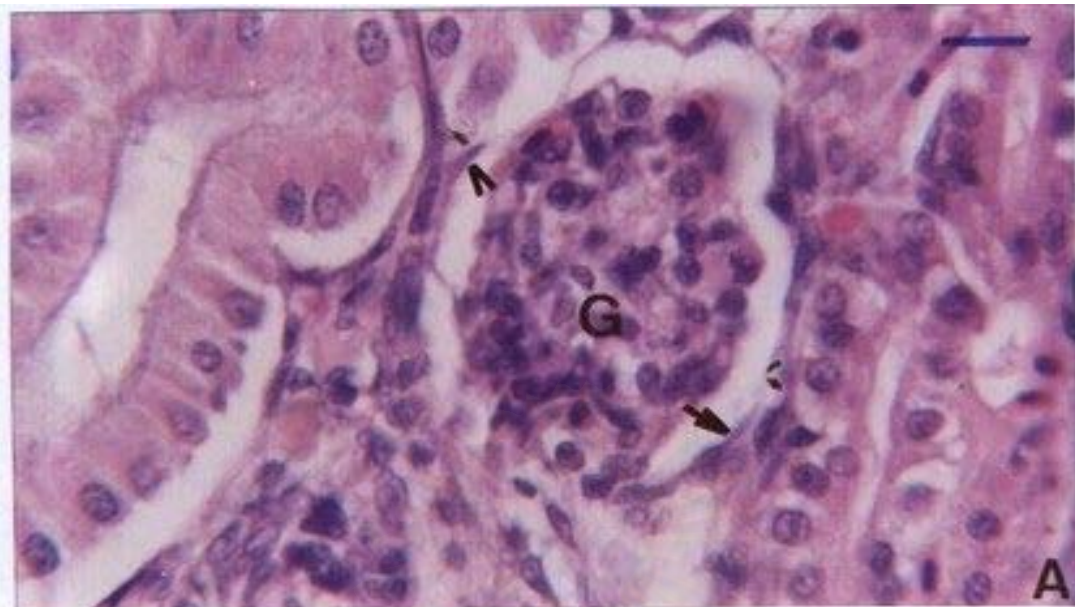




รูปที่ 5.1 ภาพถ่ายแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มควบคุม

- A. แสดงเนื้อเยื่อไตซึ่งประกอบด้วยกลุ่มเส้นเลือดฝอยที่เรียกว่า glomerulus (G) อยู่ใน Bowman's capsule (↑) หุ้มด้วยเยื่อหุ้ม 2 ชั้น โดยชั้นนอกเป็น simple squamous epithelium ที่มีลักษณะเป็นเซลล์รูปร่างแบนบาง หนาชั้นเดียว (หัวลูกศร)
- B. แสดงท่อไตของปลานิลปกติ ประกอบด้วยท่อไตส่วนต้น (P) ซึ่งเป็นเซลล์รูปร่างทรงกระบอกที่มี brush border และท่อไตส่วนท้าย (D) บุด้วยเซลล์รูปร่างลูกเต๋า
- C. แสดง glomerulus ของไตปลานิลปกติ

หมายเหตุ	ย้อมสี H& E
ภาพ A	Bar scale = 10 $\mu\text{m}$ .
ภาพ B,C	Bar scale = 25 $\mu\text{m}$ .



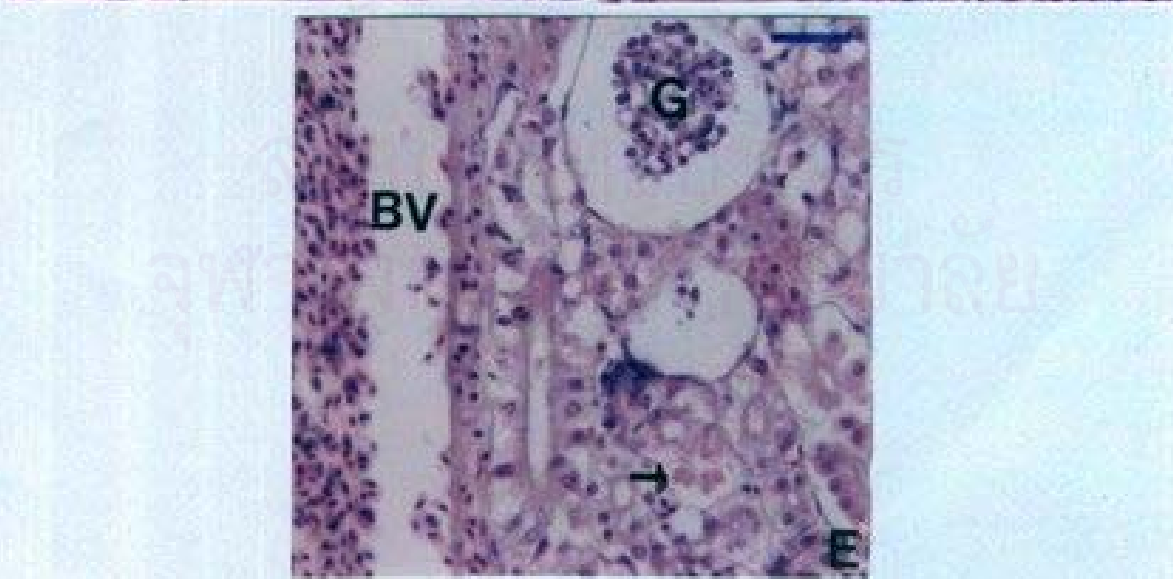
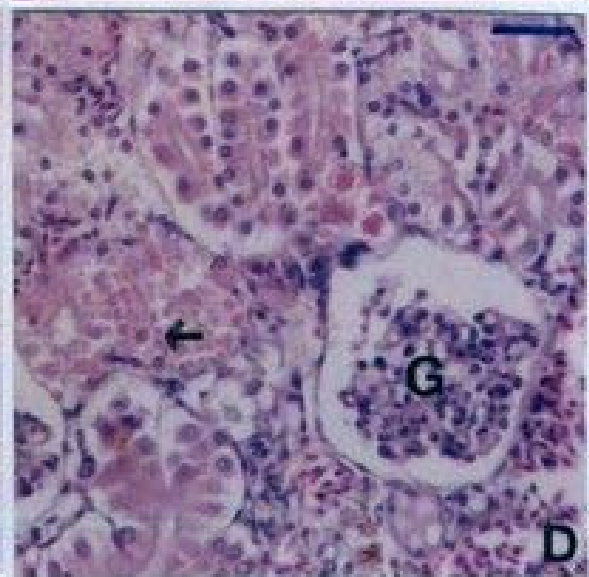
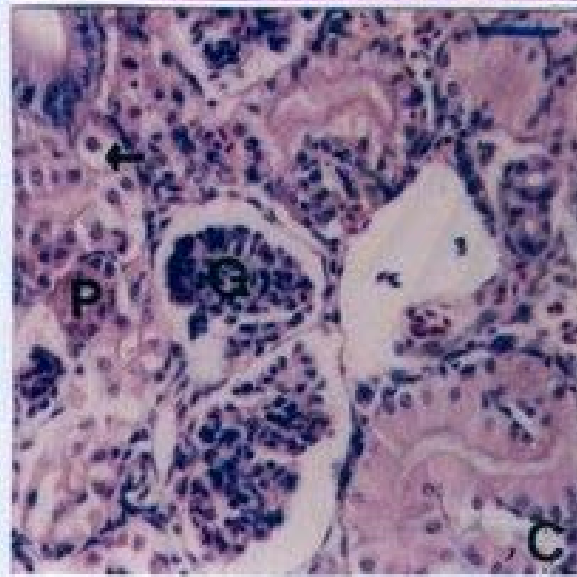
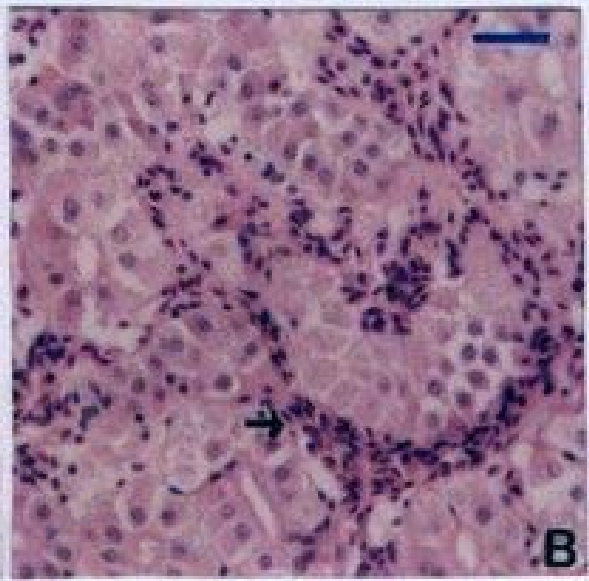
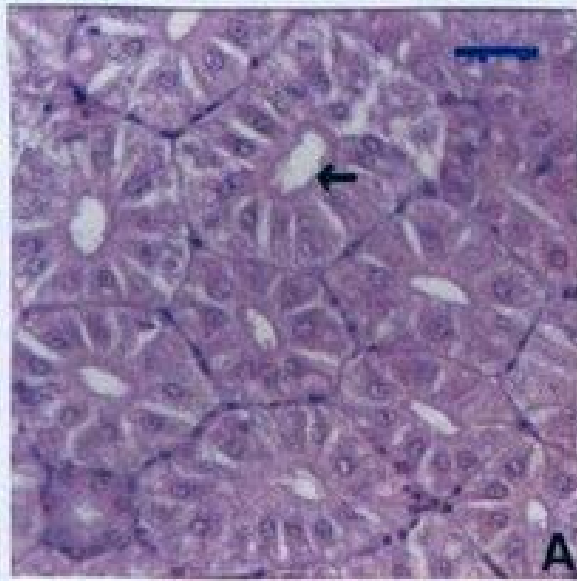
รูปที่ 5.2 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 1 เดือน

- A. ภาพไตปลานิลปกติ ของปลานิลกลุ่มควบคุม 1 เดือน แสดงท่อไตส่วนต้นบุด้วยเซลล์รูปร่างทรงกระบอกเห็น brush border ชัดเจน (↑)
- B. แสดงเซลล์เม็ดเลือดแดงจำนวนมากบริเวณรอบๆท่อไต (↑) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม
- C. แสดงการสะสม hyaline droplet บริเวณเซลล์ท่อไตส่วนต้น (P) พบ glomerulus มีการหดตัว (G) เล็กน้อย พบการบวมน้ำ ของเซลล์ท่อไตส่วนต้น (↑)
- D. แสดงเซลล์ท่อไตส่วนต้นถูกทำลาย และมีการสะสม hyaline droplet เป็นจำนวนมาก (↑) พบ vacuole ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ท่อไตส่วนต้น
- E. แสดงเซลล์ท่อไตส่วนต้นที่มีการสะสม hyaline droplet (↑) ในไซโทพลาสซึมของเซลล์บริเวณใกล้กับหลอดเลือด (BV) และพบ glomerulus (G) มีการหดตัว

หมายเหตุ	ย้อมสี H& E
ภาพ A	Bar scale = 10 $\mu\text{m}$ .
ภาพ B,C,D,E	Bar scale = 25 $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 5.3 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 2 เดือน

- A. ภาพไตปลานิลปกติ ของปลานิลกลุ่มควบคุม 2 เดือน
- B. ภาพแสดง vacuole จำนวนมากในไซโทพลาสซึม (\*) ของเซลล์ท่อไตส่วนต้น เกิดการบวมของเซลล์ท่อไตส่วนต้น (↑)
- C. แสดงการสะสม hyaline droplet จำนวนมากภายในไซโทพลาสซึมของเซลล์ท่อไตส่วนต้น (\*) และ glomerulus มีการหดตัว (G)

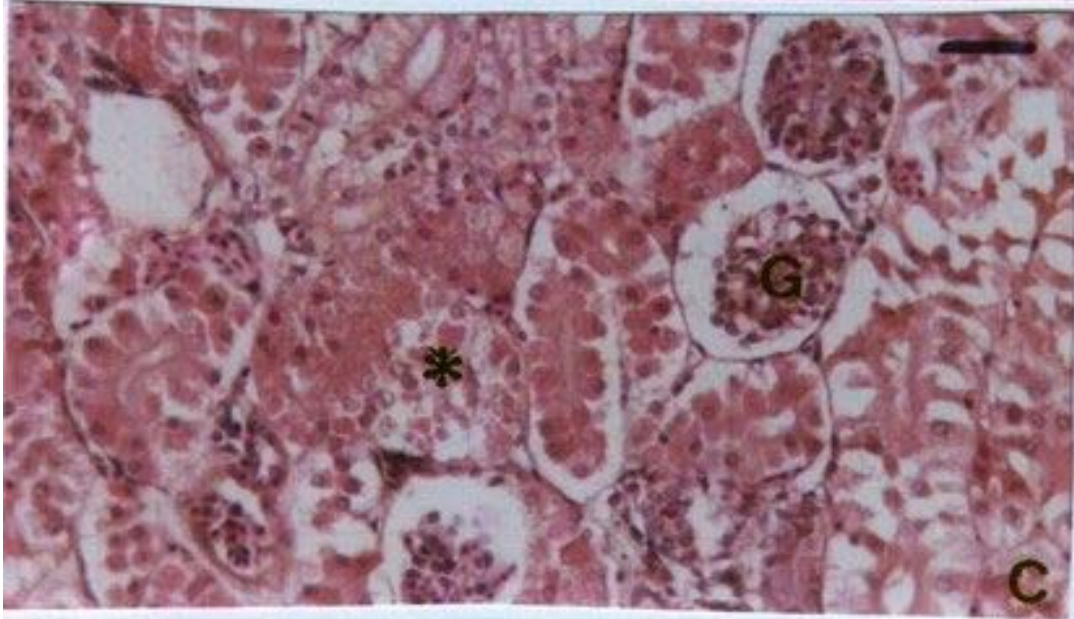
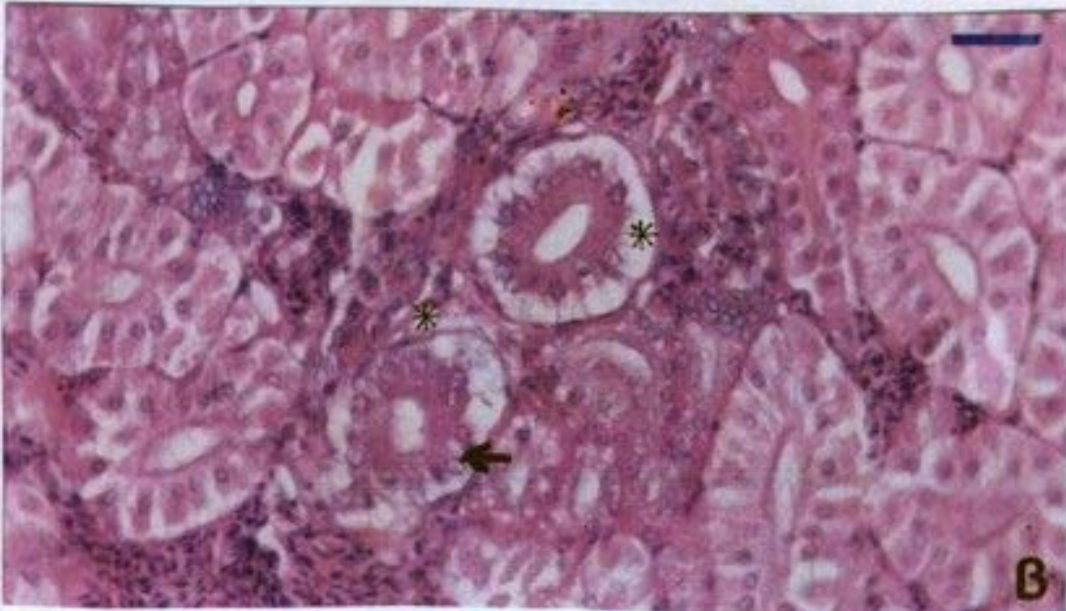
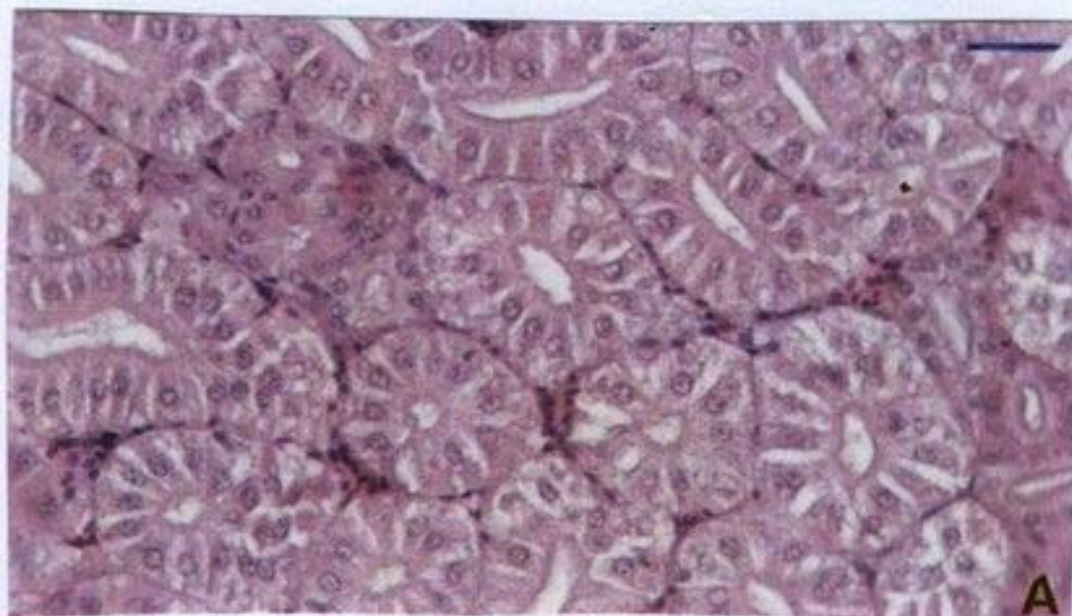
หมายเหตุ

ย้อมสี H& E

Bar scale = 10  $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 5.4 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 3 เดือน

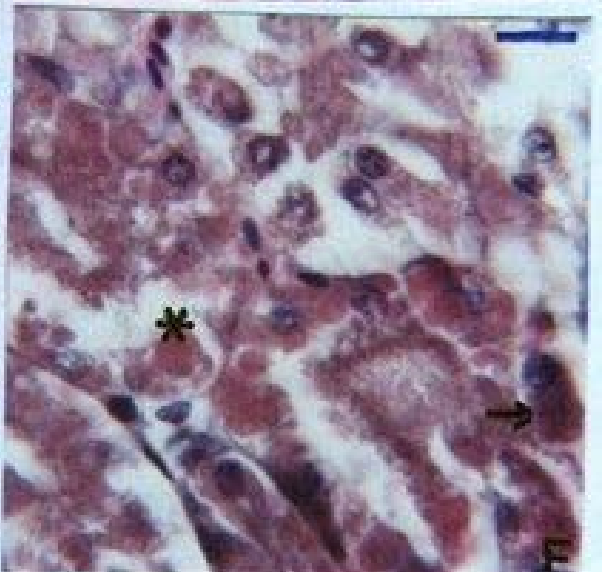
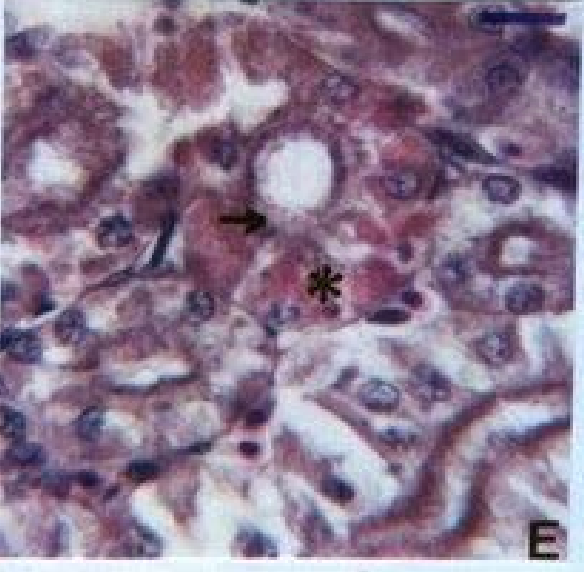
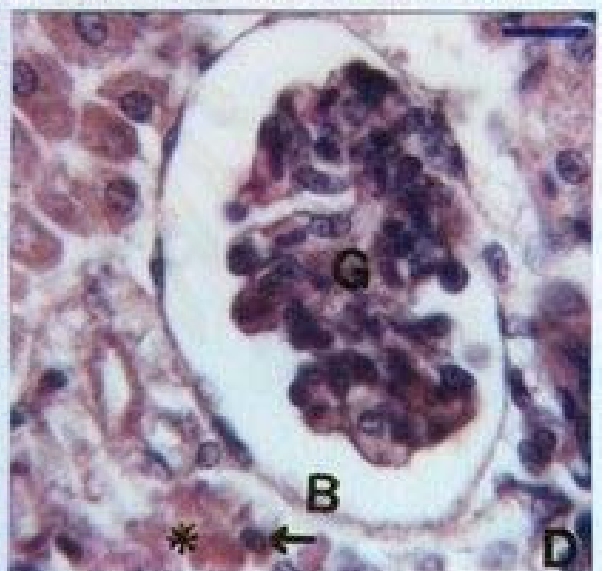
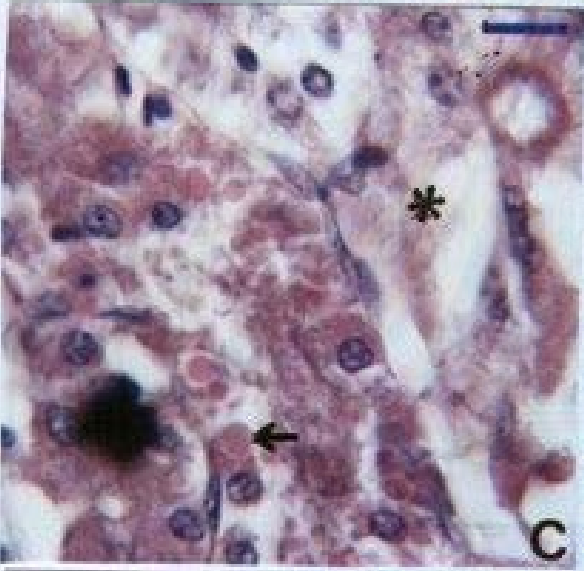
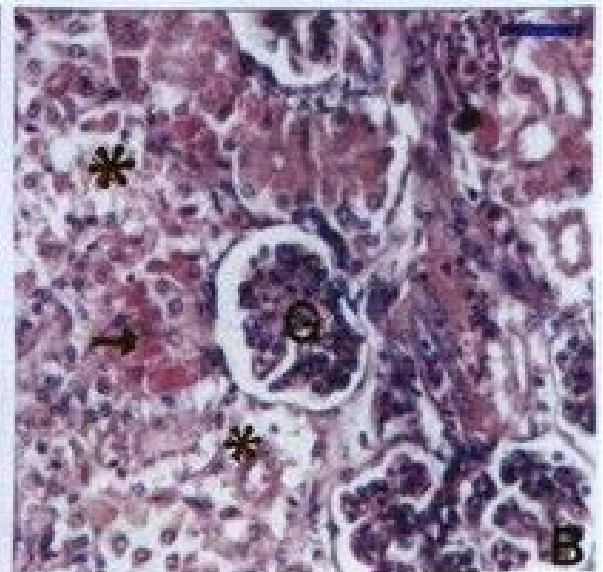
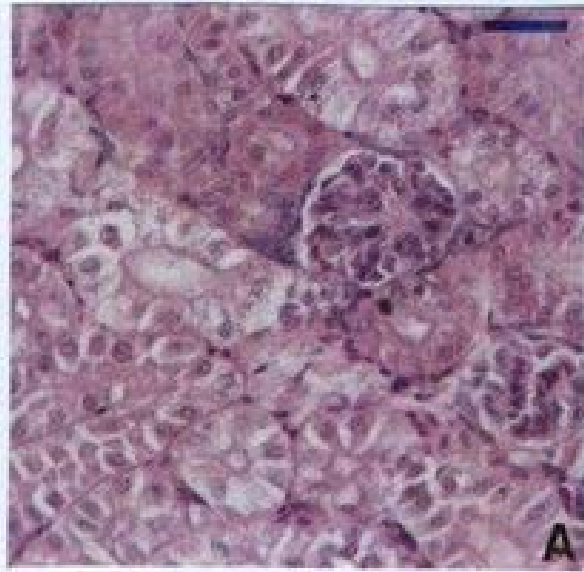
- A. ภาพไตปลานิลปกติ ของปลานิลกลุ่มควบคุม 3 เดือน
- B. ภาพแสดงขดเลือดภายใน glomerulus มีการหดตัว (G) เซลล์ท่อไตส่วนต้นสะสม hyaline droplet ปริมาณมาก (↑) เกิดการตายเป็นหย่อม ๆ ของเซลล์ท่อไตส่วนต้น (\*)
- C. ภาพกำลังขยายสูงแสดง hyaline droplet ที่สะสมอยู่ภายในไซโทพลาสซึมของเซลล์ท่อไตส่วนต้น (↑) เกิดการตายเป็นหย่อม ๆ ของเซลล์ท่อไต พบการสลายตัวของนิวเคลียส (\*)
- D. แสดงภาพขดเลือด glomerulus (G) หดตัวภายใน Bowman's capsule (B) นิวเคลียสของเซลล์ท่อไตส่วนต้นเกิดการหดตัวติดสีเข้ม (↑) มีการสะสม hyaline droplet ในบางเซลล์ (\*)
- E. แสดงการสะสม hyaline droplet จำนวนมากในเซลล์ท่อไตส่วนต้นบางเซลล์ (\*) brush border ถูกทำลาย (↑)
- F. แสดงเซลล์ macrophage (↑) แทรกเข้ามาบริเวณที่มีการเสียหายของเซลล์ท่อไตส่วนต้นที่มีการสะสม hyaline droplet (\*) และเกิดการตายของเซลล์ท่อไตส่วนต้นเป็นหย่อม ๆ

หมายเหตุ ย้อมสี H& E

ภาพ A,B Bar scale = 25  $\mu\text{m}$ .

ภาพ C,D,E,F Bar scale = 10  $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



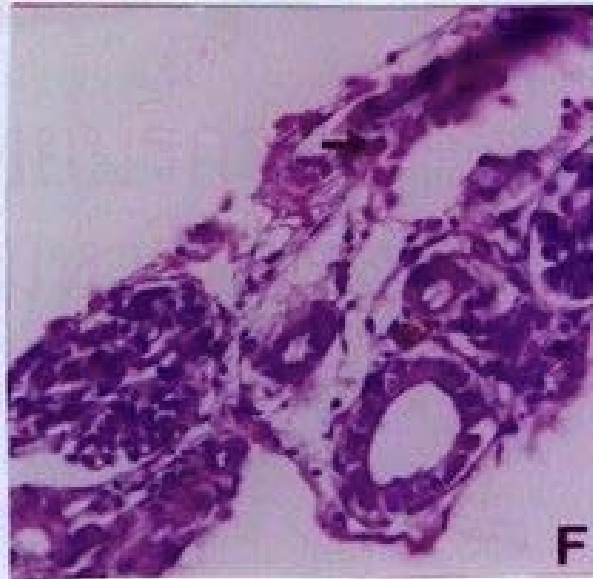
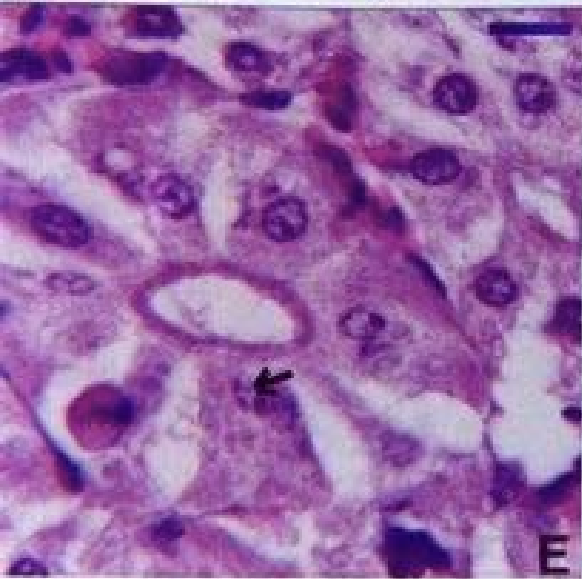
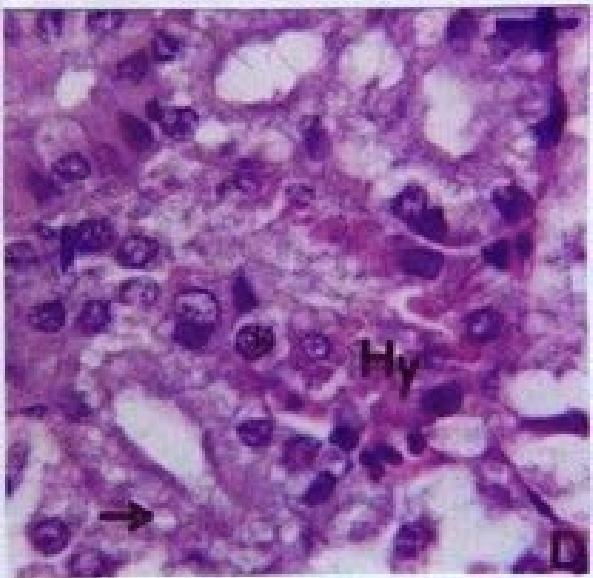
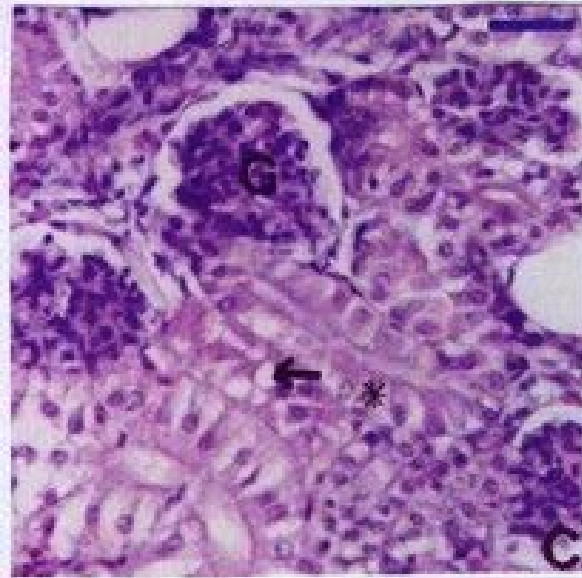
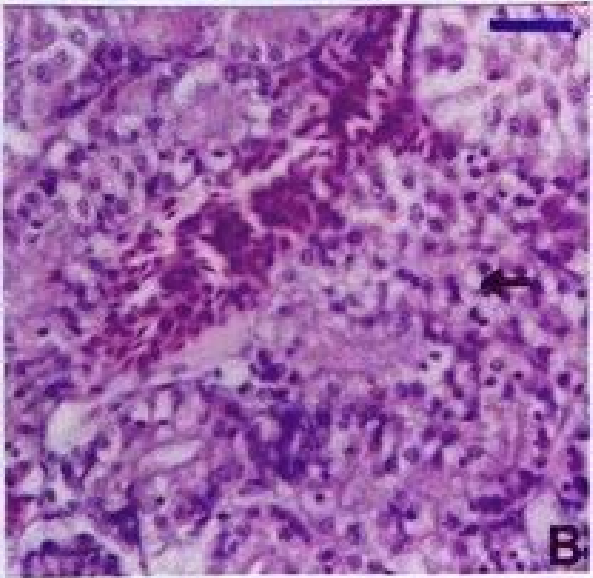
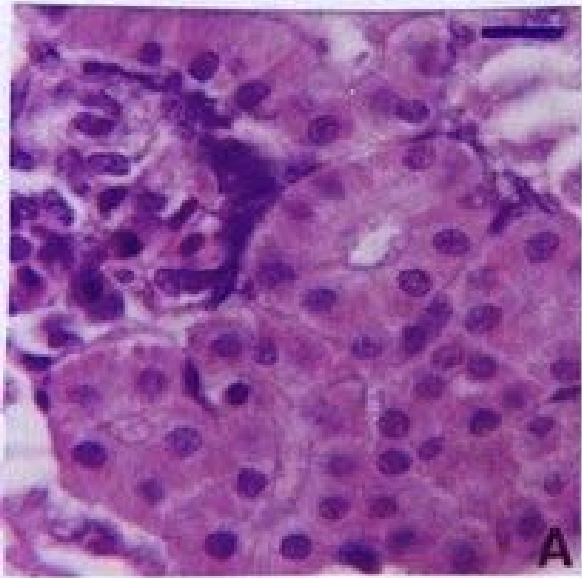


รูปที่ 5.5 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 4 เดือน

- A. ภาพไตปลานิลปกติ ของปลานิลกลุ่มควบคุม 4 เดือน
- B. แสดงเส้นเลือดรอบท่อไตมีการคั่งของเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์ท่อไตบางเซลล์มีลักษณะบวมพอง (↑)
- C. แสดงการหดตัวของ glomerulus (G) ภายใน Bowman's capsule เซลล์ท่อไตส่วนต้นมี hydropic vacuole อยู่ภายในเซลล์ (↑) พบนิวเคลียสมีลักษณะบวมพอง (\*)
- D. ภาพกำลังขยายสูงแสดงเซลล์ท่อไตส่วนต้น มีการเกิด hydropic vacuolation (↑) และ hyaline droplet (Hy) ปริมาณมาก บางเซลล์นิวเคลียสมีลักษณะบวม (\*)
- E. แสดงท่อไตส่วนต้นที่มีเซลล์ตายในลักษณะที่นิวเคลียสสลายตัวไป (↑)
- F. ภาพกำลังขยายต่ำแสดงการแทรกของเซลล์ macrophage (↑) บริเวณเนื้อเยื่อไตที่เกิดความเสียหาย

หมายเหตุ	ย้อมสี H& E
ภาพ A,D,E	Bar scale = 10 $\mu\text{m}$ .
ภาพ B,C	Bar scale = 25 $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5.6 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 5 เดือน

- A. ภาพไตปลานิลปกติ ของปลานิลกลุ่มควบคุม 5 เดือน
- B. แสดงเซลล์ท่อไตส่วนต้นมี hydropic vacuole เป็นจำนวนมาก (↑) บางเซลล์เกิดการบวม (\*) ลักษณะดังกล่าวมักพบรุนแรงบริเวณใกล้หลอดเลือด (BV)
- C. ภาพกำลังขยายสูงแสดงนิวเคลียสของเซลล์ท่อไตส่วนต้นมีลักษณะบวมและพบโครมาตินมีการรวมกลุ่มกันไปอยู่ที่ขอบเยื่อหุ้มนิวเคลียส (perinuclear chromatin clumping) (↑) และมีการทำลายที่บริเวณ brush border ในท่อไตส่วนต้นบางท่อ (\*)
- D. ภาพกำลังขยายสูงแสดงการหดตัวของหลอดเลือด glomerulus (G) และบริเวณเซลล์ท่อไตส่วนต้นมี hydropic vacuole (↑)
- E. ภาพแสดงเซลล์ macrophage (↑) แทรกเข้ามาบริเวณที่ glomerulus หดตัวและมีการหลุดของเยื่อหุ้มไต (\*)
- F. ภาพกำลังขยายสูงของเซลล์ macrophage (↑) ที่แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อไตที่เกิดความเสียหาย

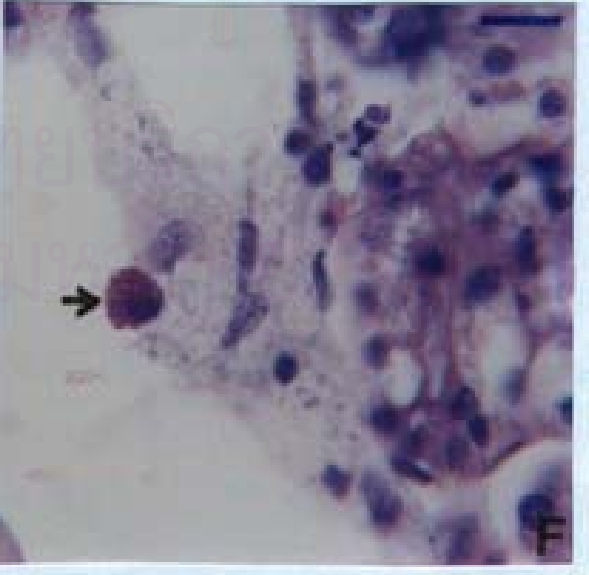
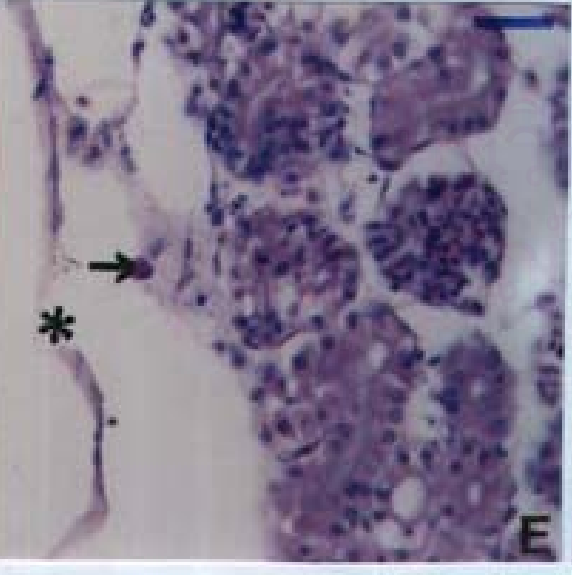
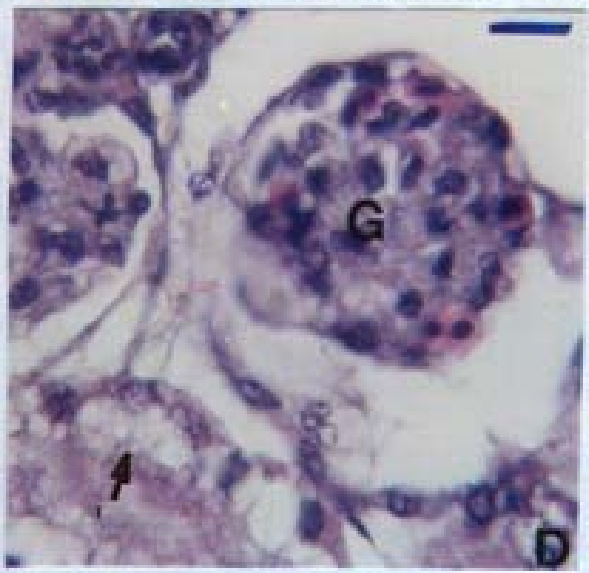
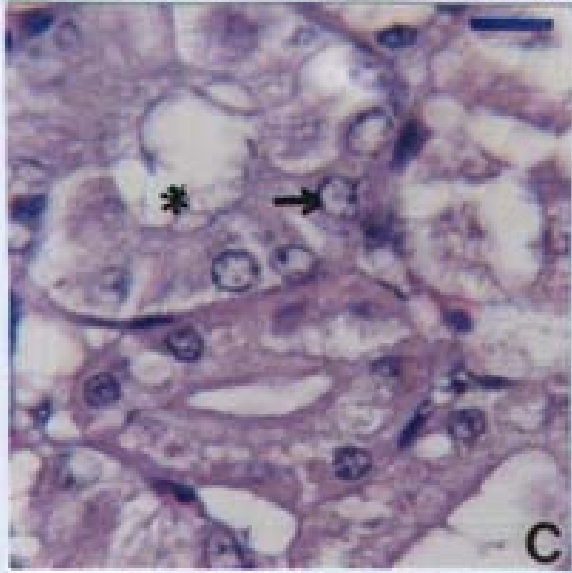
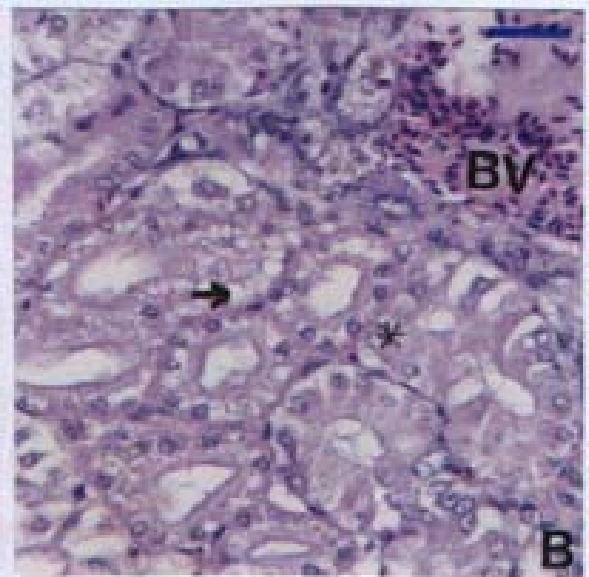
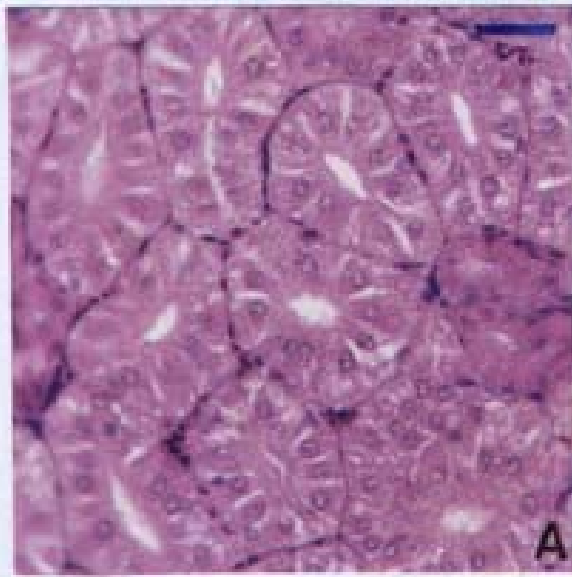
หมายเหตุ      ย้อมสี H& E

ภาพ A,B,E      Bar scale = 25       $\mu\text{m}$ .

ภาพ C,D,F      Bar scale = 10       $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



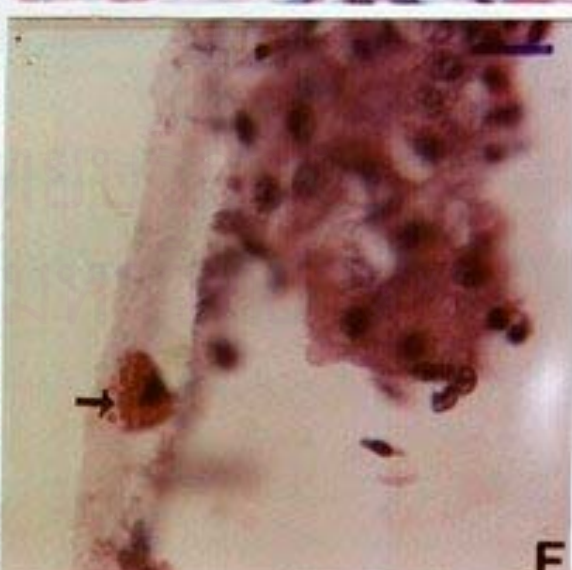
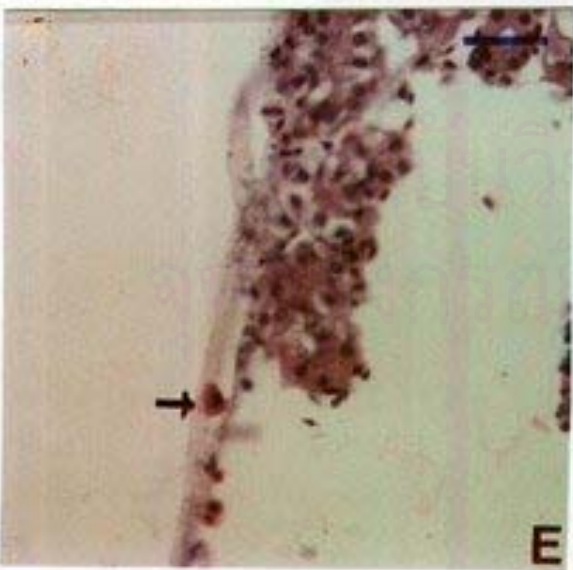
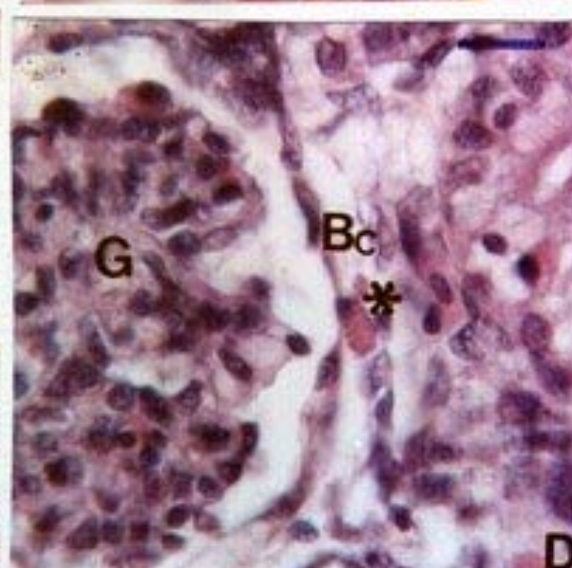
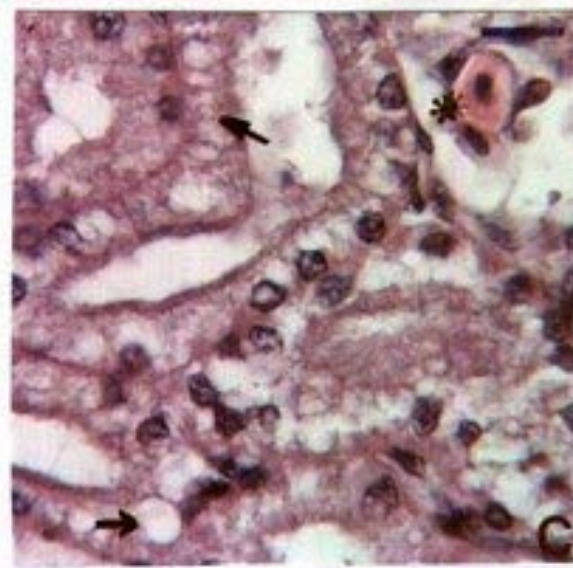
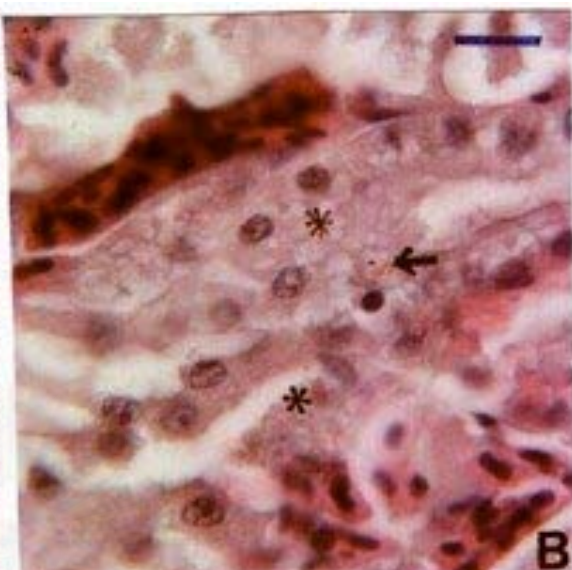
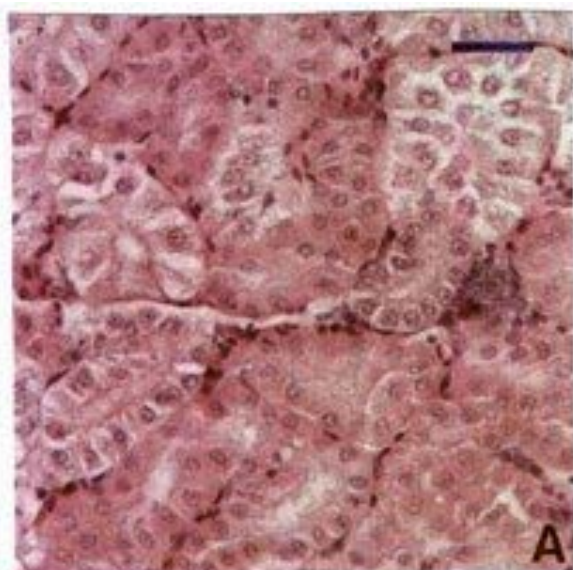


รูปที่ 5.7 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 6 เดือน

- A. ภาพไตปลานิลปกติ ของปลานิลกลุ่มควบคุม 6 เดือน
- B. ภาพแสดงการคั่งของเซลล์เม็ดเลือดแดง พบนิวเคลียสของเซลล์ท่อไตมีการสลายตัว (↑) และมีการสะสม hydropic vacuole (\*) ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ท่อไตส่วนต้น
- C. แสดง hydropic vacuole ภายในเซลล์ท่อไต (↑) พบเม็ดเลือดแดงที่มีลักษณะบวมพอง (\*)
- D. แสดง macrophage (\*) บริเวณใกล้ Bowman's capsule (Bc)
- E. ภาพกำลังขยายต่ำแสดงเซลล์ macrophage (↑) แทรกเข้ามาบริเวณเยื่อหุ้มไต
- F. ภาพกำลังขยายสูงแสดงเซลล์ macrophage (↑) ที่แทรกเข้ามาบริเวณเยื่อหุ้มไต

หมายเหตุ	ย้อมสี H& E
ภาพ A	Bar scale = 25 $\mu\text{m}$ .
ภาพ E	Bar scale = 50 $\mu\text{m}$ .
ภาพ B,C,D,F	Bar scale = 10 $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



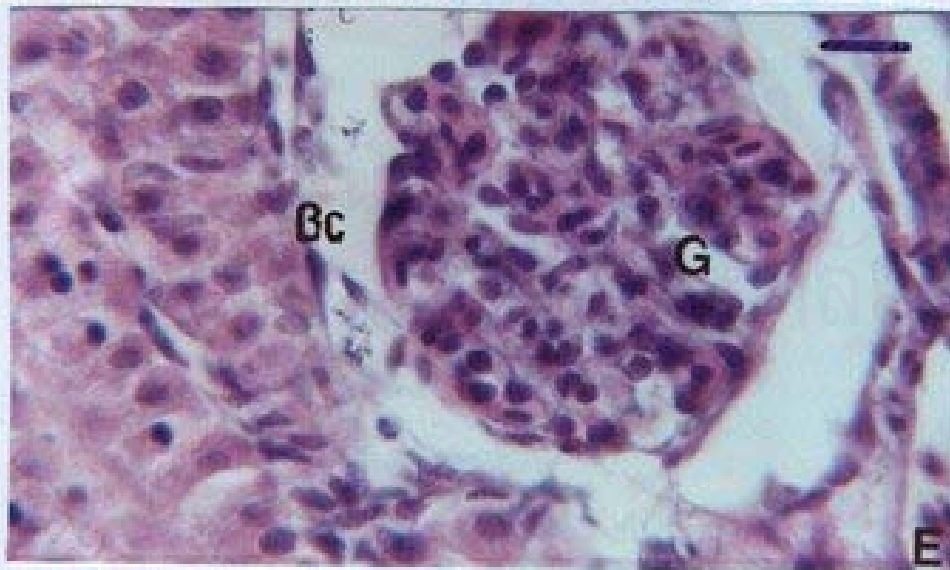
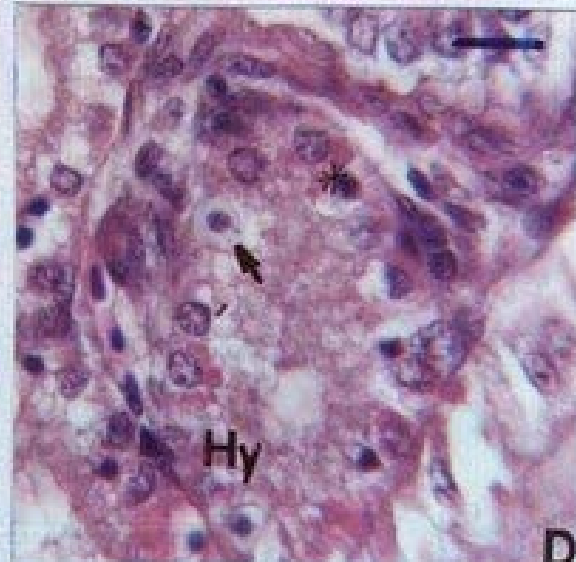
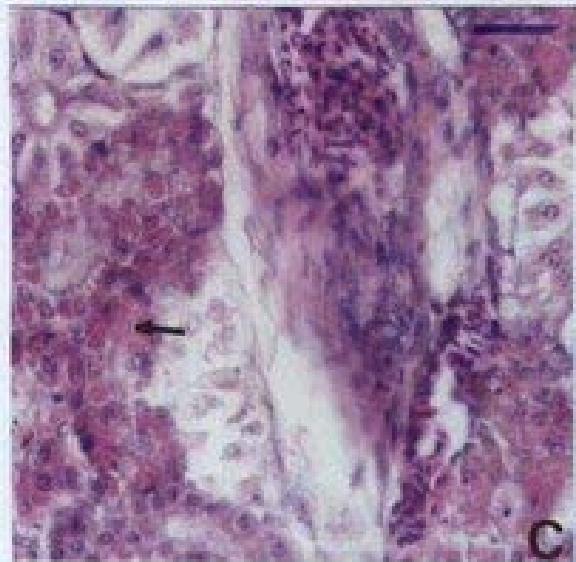
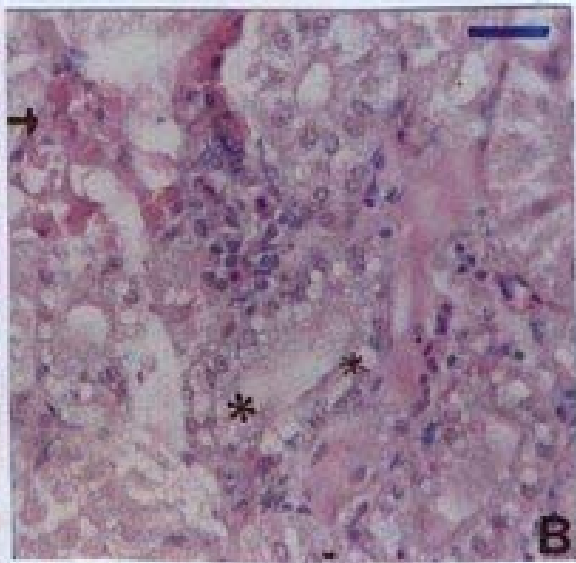
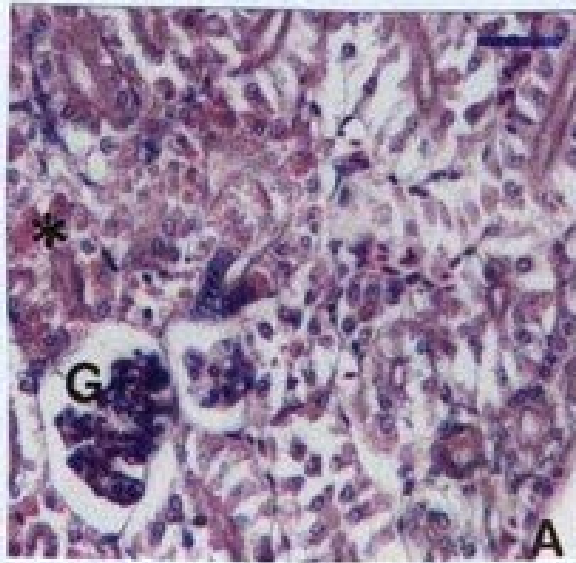


รูปที่ 5.8 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 7 เดือน

- A. ภาพแสดง glomerulus มีการหดตัว (G) และพบว่าเซลล์ท่อไตส่วนต้นถูกทำลายและพบ hyaline droplet จำนวนมาก (\*)
- B. ภาพแสดงเซลล์ท่อไตส่วน proximal tubules มีการสะสม hyaline droplet (↑) และมี hydropic vacuole (\*)
- C. แสดงบริเวณที่มีการสะสม hyaline droplet ปริมาณมากในเซลล์ท่อไตส่วนต้นและเกิดการเสียหายรุนแรง (↑)
- D. ภาพแสดงการสะสม hyaline droplet (Hy) และเซลล์ตาย พบนิวเคลียสของเซลล์ท่อไตส่วนต้นมีทั้งการหดตัวเห็นเป็นสีทึบ (\*) และบางเซลล์มีลักษณะบวม (↑)
- E. แสดงขาดเลือด glomerulus มีการหดตัว (G) และเกิดช่องว่างระหว่าง Bowman's capsule (Bc)

หมายเหตุ	ย้อมสี H& E
ภาพ A,B,C	Bar scale = 25 $\mu\text{m}$ .
ภาพ D,E	Bar scale = 10 $\mu\text{m}$ .

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5.9 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อไตปลานิลกลุ่มทดลอง ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 8 เดือน

- A. แสดง glomerulus ที่เกิดการหดตัวเล็กน้อยจนเห็นช่องว่างระหว่าง Bowman's capsule (\*) และท่อไตมี hyaline droplet (↑)
- B. ภาพการสะสม hyaline droplet ปริมาณมากในไซโทพลาสซึมของเซลล์ท่อไตส่วนต้น (↑)
- C. ภาพกำลังขยายสูงแสดง hyaline droplet (↑) ที่สะสมในไซโทพลาสซึมของเซลล์ท่อไต และพบการตายท่อเซลล์ท่อใกล้เคียงกันเป็นหย่อม ๆ (\*)
- D. ภาพแสดงเซลล์ท่อไตส่วนต้นที่มีลักษณะบวมพอง (↑) เป็นจำนวนมากและเริ่มมีการหลุดของ brush border (\*)
- E. แสดงกลุ่ม glomerulus ที่เกิดการหดตัวมากจนเห็นเป็นสีทึบ (G) ภายใน Bowman's capsule (Bc) มีพบเซลล์ท่อไตส่วนต้นที่บริเวณรอบ ๆ มีการตายเกิดขึ้น (\*)
- F. แสดงการแทรกตัวของเซลล์ Eosinophilic granular cells (↑) บริเวณรอบ ๆ หลอดเลือดของเนื้อเยื่อไต

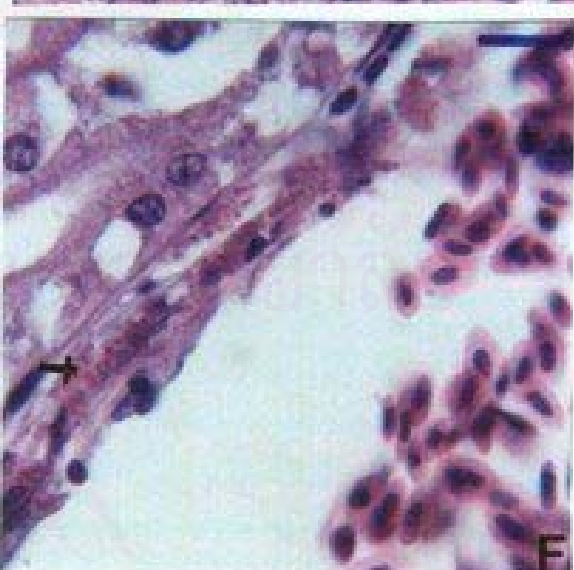
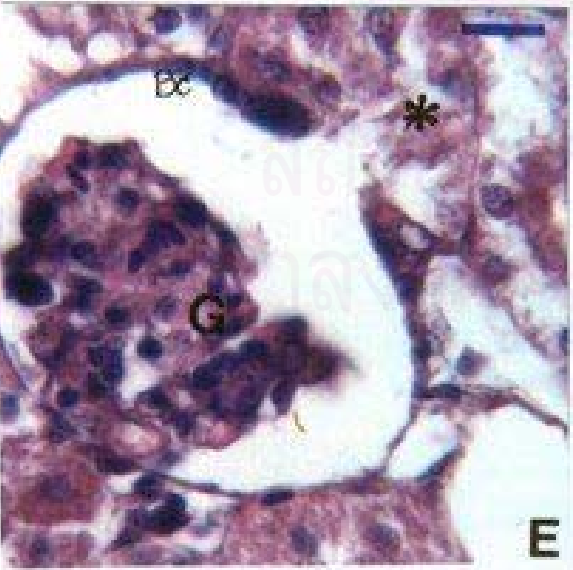
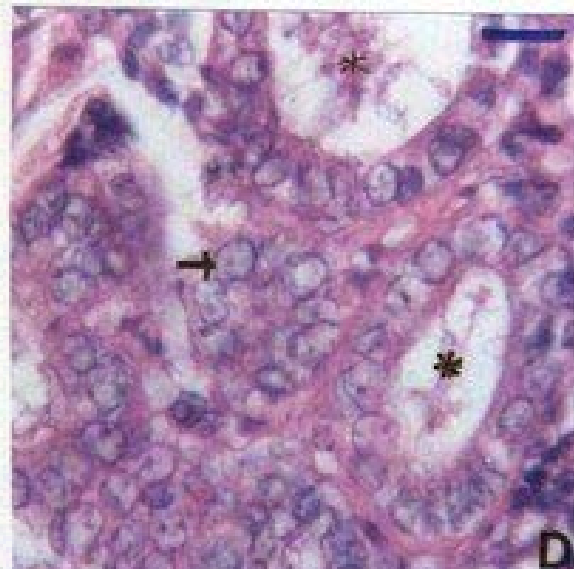
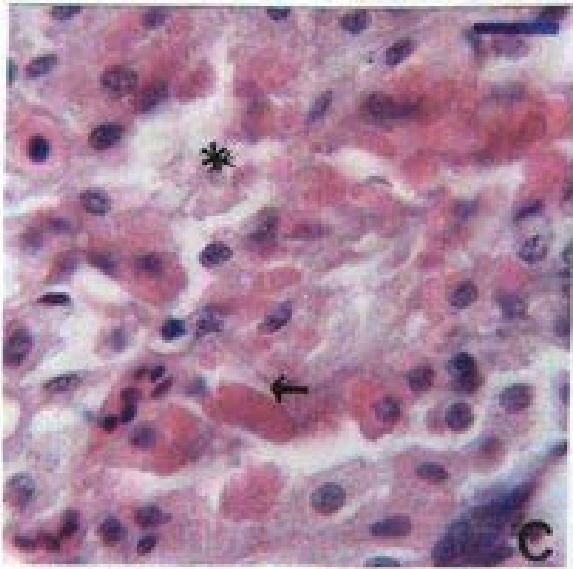
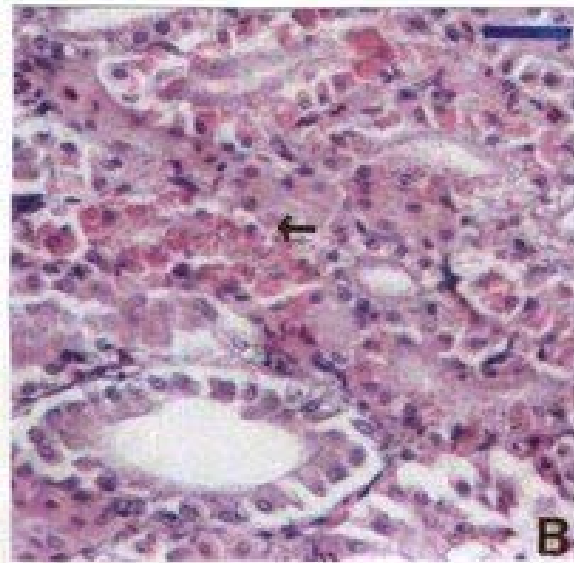
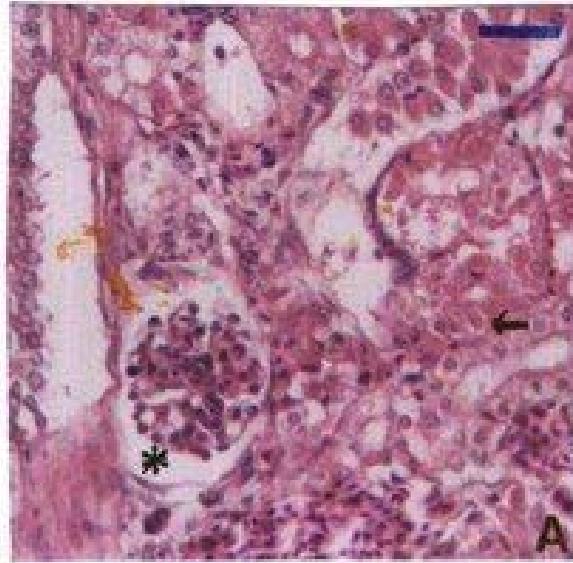
หมายเหตุ      ย้อมสี H& E

ภาพ A,B      Bar scale = 25      μm.

ภาพ C,D,E,F      Bar scale = 10      μm.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





## บทที่ 5

### อภิปรายผลการทดลอง

#### 1. ความเป็นพิษของสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. ต่อเนื้อเยื่อตับและไตของปลาไนล *Oreochromis niloticus* Linn.

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. ที่ 96 ชั่วโมง พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ไมโครลิตร/ลิตร ของสารสกัดใบยาสูบ มีผลทำให้ลูกปลาไนลดำตาย 100% และผลจากการวิเคราะห์ค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงของสารสกัดใบยาสูบพบว่ามีความเข้มข้นเท่ากับ 838.46 ไมโครลิตร/ลิตร และเมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินด้วยเครื่อง gas chromatography พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบ 838.46 ไมโครลิตร/ลิตร มีนิโคตินอยู่ 84.63 มิลลิกรัม/ ลิตร ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวมีค่าแตกต่างจากที่มีผู้เคยทำการศึกษาในสัตว์ทดลองที่ต่างชนิดกัน โดยพบว่าความเข้มข้นที่มีผลต่อการตายของตัวอ่อนแมลง red flour beetle (*Tribolium castaneum*) ที่ 50 % ( $LC_{50}$ ) มีค่าเท่ากับ 21,508 ppm. ที่ 24 ชั่วโมง (Archana และคณะ, 1995) และพบว่าที่ระดับความเข้มข้น ของสารนิโคตินที่มีผลต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูแรทเพศผู้ มีค่าเท่ากับ 0.4 มิลลิกรัม/ น้ำหนักตัวหนูแรทเพศผู้ 100 กรัม (Ramesh และคณะ, 1998) และความเป็นพิษของสารนิโคตินที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารต่างๆในรังไข่ในหนูแฮมสเตอร์เพศเมีย มีค่าเท่ากับ 4 มิลลิกรัม/ลิตร (Yildiz และคณะ, 1999) ในการศึกษาครั้งนี้ได้มีการเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดใบยาสูบโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วนยาสูบ 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 15 ลิตร (วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล และ ชัยณรงค์ รัตนกริธากุล, 2536) ซึ่งอัตราส่วนดังกล่าวเป็นอัตราส่วนที่มีการใช้จริงในการเกษตร โดยวัตถุประสงค์เพื่อการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชหลายชนิดด้วยกัน อย่างไรก็ตาม การใช้ น้ำเป็นตัวทำละลายนั้น คุณสมบัติของน้ำก็เป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของสารกำจัดแมลง โดยอาจจะทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์หรือลดฤทธิ์ของสารดังกล่าวได้ (ดำรง เวชกิจ, 2543)

#### 2. ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว (% Relative liver weight) ของปลาไนลกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบสารสกัดใบยาสูบ

จากการศึกษาพบว่า ตับปลาไนลอยู่ภายในช่องท้องของปลาไนล มีรูปร่างเรียวยาว ทอดไปตามช่องท้อง ตับปลาไนลกลุ่มควบคุมมีสีเหลืองถึงสีน้ำตาลอ่อน ไม่มีการแบ่งเป็นพูอย่างชัดเจน ซึ่งลักษณะดังกล่าวแตกต่างจากตับปลาตุ๊กตากลุ่มสมบึกอูย (Wattanasirmit, 1993 อ้างใน กัลยา จันอาจ, 2450) ส่วนตับปลาไนลกลุ่มทดลอง พบว่าตั้งแต่เดือนที่ 2 ของการทดสอบสารสกัดใบยาสูบ ตับปลามีลักษณะเปื่อยยุ่ย บางตัวพบ

ว่ามีจุดแดง สีซีด และมีสีเขียวคล้ำ และในเดือนที่ 8 ในปลาทดลองบางตัว พบว่าเนื้อตับมีตุ่มใสทั่วเนื้อตับ ลักษณะดังกล่าวน่าจะเป็นผลเนื่องมาจากการอักเสบเกิดขึ้น และจากการศึกษาเนื้อเยื่อตับภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่า ตับปลานิล ประกอบด้วยเซลล์ตับ (hepatocyte) ที่มีการสะสมไกลโคเจนและไขมันอยู่ภายในไซโตพลาสซึม ซึ่งเป็นลักษณะของตับปลาปกติที่กินอาหารเต็มที่ตามธรรมชาติ เซลล์ตับมีการเรียงตัวกันขนานกับช่องไซนูซอยด์ (sinusoid) ซึ่งเชื่อมต่อกับ central vein เรียกโครงสร้างนี้ว่า hepatic plate และมีเส้นเลือด hepatic portal vein แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับ โครงสร้างของตับปลานิลดังกล่าวแตกต่างจากตับของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งจะประกอบด้วย structural unit ที่เรียกว่า hepatic lobule ที่มีลักษณะเป็น polyhedral prism (Weiss, 1988) พบว่าในตับปลานิลไม่มีโครงสร้างแบบนี้

การศึกษา % R พบว่าตับปลาทั้งสองกลุ่มมีค่า % R อยู่ในช่วง 1-3 และพบว่าตับปลานิลที่มีค่า % R มากกว่า 2 เป็นตับที่มีลักษณะผิดปกติ และผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า % R ของปลานิลในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ในเดือนเดียวกัน ตั้งแต่เดือนที่ 1 – เดือนที่ 6 โดยกลุ่มทดลองจะมีค่า % R สูงกว่ากลุ่มควบคุมและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) สอดคล้องกับการศึกษาของกัลยา จันอาจ (2540) ซึ่งศึกษาผลของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาต่อเนื้อเยื่อตับปลานิล พบว่า % R ของกลุ่มทดลองแตกต่างกับกลุ่มควบคุมโดยมีค่า % R สูงกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองและลดลงในช่วงท้ายของการทดลอง

### 3. การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับปลานิล ภายหลังได้รับสารสกัดใบยาสูบ ที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร

พบความเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดในช่วงเดือนแรกคือ มีการขยายตัวของช่องไซนูซอยด์ และเส้นเลือด hepatic vein ภายในเส้นเลือดพบมีการคั่งอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงจำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบการสะสม hydropic vacuole อยู่ภายในช่องไซนูซอยด์อีกด้วย ส่วนเซลล์ตับพบว่ามีลักษณะบวมพอง บางเซลล์มีการสะสม hyalin droplet และ fat vacuole ในปริมาณน้อย ท่อน้ำดีมีการสะสม hyalin droplet เม็ดเลือดแดงที่อยู่ภายในตับอ่อนมีลักษณะบวมพอง

มีการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นมาในเดือนที่ 2 และ 3 ของการทดลองคือ พบการสะสม ของ hyalin droplet และ fat vacuole ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ตับมากขึ้น มีการตายของเซลล์ตับบริเวณที่อยู่ใกล้กับหลอดเลือด และตับอ่อน ในลักษณะที่นิวเคลียสมีการสลายไป พบการแทรกของเซลล์ Eosinophilic granular cells (EGCs) ตามหลอดเลือดที่มีการอักเสบ และพบการแทรกของเซลล์ macrophage มายังบริเวณเซลล์ตับที่เกิดความเสียหาย ในช่วงเดือนที่ 4 และ 5 พบการสะสม fat vacuole ในเนื้อเยื่อตับใน

ปริมาณมาก กว่าเดือนที่ผ่านมา จนเห็น fat vacuole ขนาดใหญ่ พบกลุ่มเซลล์ EGCs และ macrophage มากขึ้นตามท่อเลือดและบริเวณที่เกิดความเสียหายของเซลล์ตับ ในปลาบางตัวพบว่าเซลล์ตับมีการตายเกิดขึ้นทั่วไป โดยพบว่าบางเซลล์มีนิวเคลียสสลายไป และบางเซลล์มีนิวเคลียสติดสีเข้มเนื่องจากการหดตัวของเส้นใยโครมาตินภายในนิวเคลียส (perinuclear chromatin clumping) พบเซลล์ของท่อน้ำดีมีลักษณะบวมและมี hydropic vacuole ยังคงพบการแทรกของเซลล์ macrophage ตามเนื้อเยื่อที่เกิดความเสียหาย

ในช่วงเดือนที่ 6 และ 7 ของการทดลองพบว่ามีการแทรกของกลุ่มเซลล์ EGCs เป็นจำนวนมากตาม central vein และมีการแทรกของ macrophage มากขึ้นตามเนื้อเยื่อที่เกิดความเสียหาย ช่องไซนูซอยด์ที่ต่อกับ central vein มีการขยายตัวเป็นช่องว่างขนาดใหญ่ และมีกลุ่มเซลล์ EGCs อยู่ภายในช่องว่างดังกล่าว เซลล์เม็ดเลือดแดงภายในเส้นเลือดมีลักษณะบวมพอง พบการตายเป็นหย่อมๆ ของเซลล์ตับที่อยู่รอบตับอ่อนและหลอดเลือดต่างๆ ในเดือนที่ 8 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นมาในเดือนนี้ คือมีการ เกิด cyst ในเนื้อเยื่อตับ เห็นเป็นช่องว่างขนาดใหญ่ในเนื้อเยื่อตับ มีการแทรกของเซลล์เม็ดเลือดขาว และ macrophage เป็นจำนวนมาก เซลล์ตับมีการตายเพิ่มขึ้น โดยมักพบบริเวณใกล้กับเส้นเลือดหรือช่องไซนูซอยด์และ บริเวณใกล้ตับอ่อน มีการสะสม hydropic vacuole เป็นจำนวนมาก ทั่วไปทั้งตับอ่อน นอกจากนี้ยังพบการแทรกของ macrophage เข้าไปในเนื้อเยื่อตับอ่อนด้วย

การเปลี่ยนแปลงของตับปลาที่เกิดขึ้นตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึง เดือนที่ 8 ภายหลังจากที่ปลา นิลได้รับสารสกัดใบยาสูบ สอดคล้องกับการศึกษาของ Desai และคณะ (1984) ที่ได้ทำการศึกษาค้นคว้าผลของ Monocrotophos ต่อเนื้อเยื่อตับปลา *Tilapia mossambica* โดยพบว่าภายหลังจากที่ปลาได้รับสาร Monocrotophos ที่เข้มข้น 2.5 ppm. เป็นเวลา 2 วัน ตับปลามีการเปลี่ยนแปลงดังนี้ เซลล์ตับเกิดการตาย และพบการเกิด vacuolation ขึ้นเช่นเดียวกับการศึกษาความเป็นพิษของแคดเมียมคลอไรด์ต่อเนื้อเยื่อตับของปลา *Tilapia mossambica* พบว่าในช่วงแรกของการเปลี่ยนแปลงพบการคั่งของเม็ดเลือดแดง ภายในช่องไซนูซอยด์และเส้นเลือดที่เกิดการขยาย รวมถึงพบการสะสม fat vacuole ภายในเซลล์ตับด้วย การเปลี่ยนแปลงขั้นต่อมาคือพบการตายของเซลล์ตับอ่อนและมีการสะสม fat vacuole ของเซลล์ตับที่อยู่รอบๆ ตับอ่อนอีกด้วย (peripancreatic hepatocyte) (Rani และ Ramamurthi, 1988) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของ Monocrotophos ในตับปลา *Tilapia mossambica* (Joshi และ Desei, 1987) และการศึกษาของ Cheng และคณะ (2001) จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าบริเวณที่เกิดความเสียหายของเซลล์ตับและตามหลอดเลือดต่างๆ มักจะพบกลุ่มเซลล์ EGCs เป็นจำนวนมาก ซึ่งผลที่เกิดขึ้นดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Matsuyama และ Iida (1999) ที่ได้ทำการศึกษาเนื้อเยื่อ Peritonium /Swim bladder ของปลานิล *Oreochromis niloticus* Linn. พบว่าบริเวณเนื้อเยื่อที่เกิดการอักเสบดังกล่าวจะพบการแทรกของกลุ่มเซลล์ Eosinophilic granular cells (EGCs) เป็นจำนวนมาก หลังจากนั้น กลุ่มเซลล์ดังกล่าวจะเกิดกระบวนการ



degranulation เพื่อดึงดูดให้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil เข้ามาจัดการกับบริเวณที่เกิดการอักเสบนั้น ต่อ โดยการทำงานของกลุ่มเซลล์ EGCs ดังกล่าวในปลา จะมีลักษณะคล้ายกับการทำงานของ Mast cells ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

#### 4. การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตปลาไนล ภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร

การเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดในเดือนแรกคือ พบการคั่งของเม็ดเลือดแดงเป็นจำนวนมากระหว่างท่อไตและพบการสะสม hyaline droplet ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ท่อไตส่วนต้นบางเซลล์มีลักษณะบวมและพบว่ามีการหดตัวของ glomerulus มีการสะสม hydropic vacuole ภายใน glomerulus ในเดือนที่ 2- เดือนที่ 8 มีการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นมาคือ พบการแทรกของ macrophage ตามบริเวณเนื้อเยื่อที่เสียหาย พบการสะสม hyaline droplet เป็นปริมาณมากในเซลล์ท่อไตส่วนต้น โดยเฉพาะช่วงเดือนท้ายๆ ของการทดลอง ขดเลือดใน glomerulus หดตัวมากขึ้นจนเห็นเป็นสีทึบ มีการตายของเซลล์ท่อไตส่วนต้นบางเซลล์ในลักษณะนิวเคลียสสลายไป และเซลล์ท่อไตมีลักษณะบวม นอกจากนี้ยังพบการทำลายที่บริเวณ brush border ของไตส่วนต้นโดยเฉพาะช่วงเดือนที่ 6- 8 ของการทดลอง และพบมีการแทรกของกลุ่มเซลล์ EGCs เป็นจำนวนมากรอบหลอดเลือดของไต ในเดือนที่ 8 ของการทดลอง

ความเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไตปลาไนลภายหลังจากได้รับสารสกัดใบยาสูบที่เกิดขึ้นดังกล่าวพบว่ามีเกิดกับท่อไตส่วนต้น โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงกับท่อไตส่วนท้าย เนื่องจากเซลล์ที่บริเวณท่อไตส่วนต้นได้รับสารพิษต่างๆมากกว่าเซลล์ท่อไตส่วนท้าย ( Schnellmann,1991) สอดคล้องกับการศึกษาของ Reimschuessel และคณะ (1989) ที่ศึกษาผลของ Hexachlobutadien ต่อเนื้อเยื่อไตปลา *Carassius auratus* ที่พบความเสียหายเกิดขึ้นเฉพาะในท่อไตส่วนต้น โดยความเสียหายที่เกิดขึ้นได้แก่ พบเซลล์ท่อไตส่วนต้นมีลักษณะบวมพอง (swelling) และพบการสะสม fat vacuole และ hyalin droplet ในเซลล์ของท่อไตส่วนต้นเท่านั้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Oronsaye (1988) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิของเนื้อเยื่อไตและเหงือกของปลา Stickleback (*Gasterosteus aculeatus* Linn.) ที่ได้รับสารแคดเมียมพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไตเฉพาะในท่อไตส่วนต้นเท่านั้น แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆในท่อเซลล์ท่อไตส่วนท้าย การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้แก่ พบการบวมของเซลล์ท่อไตและมีการสะสม Fat vacuole ภายในไซโทพลาสซึมของท่อไต, glomerulus เกิดการหดตัว ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเหล่านี้ มีผลทำให้ เซลล์ท่อไตมีการตายเกิดขึ้น เช่นเดียวกับที่ Kirubagaran และ Joy (1987) ได้ศึกษาผลของสารประกอบปรอทต่อเนื้อเยื่อไตปลาตุ๊ก และ Hans และคณะ (2001) ศึกษาการสะสมของสารแคดเมียม ในเนื้อเยื่อปลาคาร์ป (*Cyprinus carpio*) พบว่า อวัยวะที่มีการสะสมแคดเมียมมากที่สุด คือ ไตรองลงมาคือ ตับและเหงือกตาม



ลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Imagawa และคณะ ( 1990) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิสภาพของปลาแคร์ป (*Cyprinus carpio*) หลังได้รับสารเมทิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นสูง พบว่าอวัยวะที่ได้รับ ความเสียหายมากที่สุดคือ ไตส่วนต้น เนื่องจากมีหน้าที่หลักในการทำลายสารพิษที่เข้าสู่ร่างกาย ส่วนการเปลี่ยนแปลงที่ตับไม่รุนแรงเท่าบริเวณไตส่วนต้น



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 6

### สรุปผล และข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการทดลอง

1. การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบยาสูบที่ 96 ชั่วโมง ( $LC_{50}$  96 Hrs.) โดยใช้โปรแกรม Probit Analysis ได้ค่าความเข้มข้นที่ทำให้ ลูกปลานิลตาย 50 % มีค่าเท่ากับ 838.46 ไมโครลิตร/ลิตร (มีปริมาณนิโคตินอยู่ 84.63 มิลลิกรัม/ ลิตร) และเมื่อนำค่า  $LC_{50}$  ที่ได้มาคำนวณหา ระดับความเข้มข้นที่จะใช้ในการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. ต่อเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิล *Oreochromis niloticus* Linn. เพื่อทำการทดลอง เป็นเวลานาน 8 เดือน ได้ค่าความเข้มข้นเท่ากับ 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร (มีปริมาณนิโคตินอยู่ 0.034 มิลลิกรัม/ ลิตร)
2. การวิเคราะห์และเปรียบเทียบค่าทางสถิติของ % Relative liver weight (%R) ระหว่างตับปลากลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง พบว่า % R ของตับปลากลุ่มทดลองมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ
3. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิลภายหลังได้รับสารสกัดใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 0.68 ไมโครลิตร/ลิตร เป็นเวลานาน 8 เดือน โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า เนื้อเยื่อตับและไตของปลานิลมีการเปลี่ยนแปลงเสียหาย โดยที่ความรุนแรงเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ปลานิลได้รับสารสกัดใบยาสูบ
4. การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิล พบว่าไม่มีการ regenerate ในช่วงทำย ๆ ของการทดลอง ในทางกลับกัน กับพบว่าในช่วงเดือนที่ 8 ที่ปลานิลได้รับสารสกัดใบยาสูบมีการเกิด cyst ที่เนื้อเยื่อตับ ลักษณะภายนอกที่สังเกตได้คือ พบว่าตับปลานิลที่ได้รับสารสกัดใบยาสูบเป็นเวลา 8 เดือนมีลักษณะตุ่มใส ๆ ทั่วเนื้อตับ
5. จากผลการวิจัยครั้งนี้ เป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ในการประเมินและปรับเปลี่ยนปริมาณสารสกัดธรรมชาติที่ใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืช เนื่องจากปลานิลที่ใช้ในการทดลองเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพดังกล่าว

### ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาความเป็นพิษแบบเรื้อรัง ของสารสกัดใบยาสูบ เนื่องจากการได้รับสารเป็นเวลานาน อาจทำให้เกิดเนื้องอกชนิดต่างๆ รวมถึงความผิดปกติในระดับพันธุกรรมของสัตว์ทดลอง
2. ควรทำการศึกษาค่าความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสารสกัดใบยาสูบที่ทำการทดลองในครั้งนี้นี้กับสารสกัดใบยาสูบในรูปของ crude extract เปรียบเทียบ ค่าความเป็นพิษเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุน สำหรับนำไปประเมินความเหมาะสมในการกำหนดปริมาณการใช้ทางด้านเกษตรกรรมต่อไป
3. เพื่อความสมบูรณ์มากขึ้นควรทำการทดลองใน field study เพิ่มเติม เปรียบเทียบความเป็นพิษของสารสกัดใบยาสูบที่ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการกับแหล่งเกษตรกรรมจริง เพื่อที่จะวิเคราะห์ความเป็นพิษตกค้างของสารสกัดในน้ำและดินตะกอน อันอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อสัตว์หน้าดิน และสัตว์น้ำอื่น ๆ และเพื่อเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์และสมบูรณ์มากขึ้นในด้านอื่นๆ ต่อไป

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- กัลยา จันอาจ.2540. จุลพยาธิวิทยาในเนื้อเยื่อตับของปลานิล *Oreochromis niloticus* ที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดา *Azadirachta indica* เป็นระยะเวลาสั้น.วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต.จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 171 หน้า.
- กุสุมา นวลวัฒน์. 2544. การทำลายและความเสียหายเนื่องจากแมลงศัตรูผลิตผลเกษตร.วารสารกัญและสัตววิทยา. 23(2) : 115-119.
- เกษม สร้อยทอง. 2540. คู่มือการกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 23-25.
- ชาญชัย แสสนศรีมหาชัย. 2522. การเพาะพันธุ์ปลานิล. เอกสารวิชาการฉบับที่ 10. กรมประมง. กรุงเทพฯ.
- ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, ธีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และ ปัญญา เต็มเจริญ.2539. หลักการทางพิษวิทยา. ภาควิชาสัตววิทยา และภาควิชาพยาธิวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาลัยมหิดล.
- ดำรง เวชกิจ. 2543. น้ำกับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช. วารสารกัญและสัตววิทยา. 22(4) : 350-351.
- ทัศนีย์ ภูมิทัศน์. 2524. ชีวประวัติของปลานิล. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 7 : 2524.สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- พาลาภ สิงหเสนี และ วินิจ ต้นสกุล. 2530. การศึกษาข้อมูลการใช้ปลาน้ำจืดในประเทศไทยเพื่อเป็นสัตว์ทดลองทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีในห้องปฏิบัติการ. ใน กัลยา จันอาจ.2540. จุลพยาธิวิทยาในเนื้อเยื่อตับของปลานิล *Oreochromis niloticus* ที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดา *Azadirachta indica* เป็นระยะเวลาสั้น.วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต.จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 171 หน้า.
- มนีรัตน์ จิรสถาพร. 2538. บทความพิเศษการเกิดและการทำลายพิษ. วารสารเภสัชศาสตร์. 21(4) : 35-37.
- เรณู โภยสุขโข, ธีระวุธ ปิ่นทอง และจงกลณี วัฒนาเพิ่มพูน. 2530. งานวิจัยสมุนไพรในประเทศไทย. ฝ่ายเภสัชจลนศาสตร์ กองวิจัยการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.
- วันดี กฤษณพันธ์. 2535. พฤษเคมีเบื้องต้น. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาลัยมหิดล.
- วันทนา ศรีรัตนศักดิ์, วิภา ตั้งนิพนธ์, ภาณุญา จำรัสกุล และ อรพิน วัฒนเนสก์.2543. ผลกระทบของการใช้สารฆ่าแมลงชนิดเม็ดต่อปลาในนาข้าว. วารสารกัญและสัตววิทยา.22 (4) : 285-298.
- วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล และชัยณรงค์ กฤษากุล. 2536. การพัฒนาสารออกฤทธิ์จากพืชในการควบคุมโรคพืช. วารสารเกษตรก้าวหน้า. 8(6) : 72-76.
- วินัย รัตนปรณ์ชัย และ อนันต์ วัฒนธัญญกรรม. 2525. คู่มือการกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทย. กองกัญและ

สัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วิมล เหมะจันทร์. 2540. ชีววิทยาปลา. กรุงเทพมหานคร. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วีณา วิรัจฉิยากุล. 2533. สมุนไพรกับโรคมะเร็ง. ยาจากสมุนไพร. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 199-234.

วีณา วิรัจฉิยากุล. 2535. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่แสดงฤทธิ์ต่อระบบประสาท. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สมิง เก่าเจริญ และ ยุพา ลีลาพฤทธิ. 2537. สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต. กองควบคุมวัตถุพิษ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข.

สำราญ ดำรงรัตน์ และประสิทธิ์ เกษสัญชัย. 2531. การเลี้ยงปลานิล. กองบำรุงพันธุ์สัตว์น้ำ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 9 หน้า.

สุธรรม สิทธิชัยเกษม. 2528. ยาปราบศัตรูพืชในน้ำ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร. 52 หน้า.

สุนทรี วรณีก และวิมลมาศ พวงนาค. 2524. ยาสูบที่ใช้ผลิตบุหรี่ยิกาแรต. เอกสารวิชาการ. ฝ่ายวิจัย โรงงานยาสูบ กระทรวงการคลัง กรุงเทพมหานคร.

สุรัตน์วดี จิระจินดา, ชัยณรงค์ รัตนกริษากุล และ อุดม แก้วสุวรรณ. 2537. การควบคุมแมลงศัตรูผักโดยสารสกัดจากพืช. สรุปผลการดำเนินการวิจัยทุนอุดหนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โครงการ KIP. 101-103.

อุทัยรัตน์ ณ นคร. 2538. การเพาะพันธุ์ปลา. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 130 หน้า.

เอมอร โสมนะพันธ์. 2532. อินคอลลแอลคาลอยด์. เภสัชวินิจฉัย เล่ม 1. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

เอมอร โสมนะพันธ์. 2535. สาขาแมลงจากธรรมชาติ. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

PROSEA. 2543. ทรัพยากรในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ 16 : พืชที่ให้สารกระตุ้น. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

### **ภาษาอังกฤษ**

Alex, J.F., Cayouette, R., Mulligan, G.A. 1980. Common and botanical names of weeds in Canada. Revised. Agric. Can. Publ., Ottawa, Canada.

American Society for Testing and Materials. 1980. Standard practice for conducting toxicity tests with fishes macroinvertebrates and amphibians. ASTM E 729-80, Philadelphia : ASTM.



- Archna,T., Kumar, M.L. and Saxena, R.C. 1995. Effect of *Nicotiana tabacum* on *Tribolium castaneum*. Inter. J. Phamacog. 33(4) : 348-350.
- Ausloos,G.R.J., Proost, P., Vandamme,J. and Vendrig, J.C. 1995. Proteinase- inhibitor-II is developmentally regulated in *Nicotiana* flowers. Physio. Plant. 94(4) : 701-707.
- Benowitz,N.L., and Jacob, P. 1994. Metabolism of nicotine to cotinine studied by a dual stable isotope method. Clin. Pharmacol.Ther. 56(5) : 483-493.
- Bnait, K.S. and Seller, M.J. 1995. Ultrastructural change in 9 days old mouse embryos following maternal tobacco smoke inhalation. Exp. Toxicol. Pathol.47(6) : 453-461.
- Brian,J.D., Blair, U.B. and Ranald, G.T. 2002. Nicotine increase hepatic oxygen uptake in the isolated perfused rat liver by inhibiting glycolysis. Phamacol. Exp. Ther. 301(9) : 930-937.
- Brown, A.W.A. 1978. Ecology of pesticides. A Wiley Interscience publication, John-Wiley A & Son, New York.
- Bush,L.P. and Crowe, M.W. 1989. *Nicotiana* alkaloids. Toxicants of plant origin. Vol. I USA : CRC Press, Inc.
- Cheng, Y.D., Liu, T.Y. and Lin, S.Y.2001. Cyanide- induced alterations to the biophysical conformations of the isolated fish liver. Ecotoxicol. 10(2) : 71-77.
- Chowdhury, P., MacLeod, S., Udupa , K.B. and Rayford, P.L. 2002. Pathophysiological effects of nicotine on the pancreas : an update. Exp. Biol. Med.227 : 445-454.
- Chowdhury, P., Rayford, P.L. and Chang, L.V. 1992. Induction of pancreatic acinar pathology via inhalation of nicotine. Exp. Biol. Med. 201(2) : 159-164.
- Crowe, M.W. 1969. Skeletal anomalies in pigs associated with tobacco. Mod. Vet. Pract.: 54-55.
- Crowe, M.W. and Swerczek, T.W. 1974. Congenital arthrogyrosis in offspring of sows fed tobacco ( *Nicotiana tabacum*) Am. J. Vet. Res. 35 : 1071-1073.
- Damjanov, I. 1996. Histopathology. Williams & Wilkins (eds.) USA.
- Dempsey, D., Jacob,P. and Benowitz, N.L. 2002. Accelerated metabolism of nicotine and cotinine in pregnant smokers. Phamacol. Exp. Ther. 301(2) : 594-598.
- Desai, A.K., Joshi, U.M. and Ambadkar,P.M. 1984. Histological observations on the liver of *Tilapia mossambica* after exposure to monocrotophos, an organophosphorus insecticide. Toxicol. Lett. 21(3) : 325-331.
- Diana, J.S., Chang, W.Y.W., Ottey, D.R. and Chaupaehuk, W. 1985. Production system for commonly cultural fresh water fishes of South- East Asia. 25-26.

- Eaton, J.G. 1970. Chronic malathion toxicity to the blue gill (*Lepomis macrochirus*) Water Res. 4: 673-684.
- El-Gayer, F., El-Shazif, A., Klafagay, S. and Watson, W. 1975. Ecological approach to pest management. J. Appl. Entomol. 78 : 49-55.
- Finney, D.J. 1971. Probit analysis. London : Cambridge Univ. Press.
- Foster, E.P., Drake, D, and Farlow, R. 1999. Polychlorinated dibenzo-p-dioxin and polychlorinated dibenzofuran congener profile in fish, crayfish, and sediment collected near a wood treating facility and a bleached Kraft pulp mill. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 62 : 39-46.
- Garcia, A.M., Sabater, M.C., Mendoza, M.T. and Crasco, J.M. 2000. Exposure to organophosphate pesticides in a general population living in a rice growing area : An exploratory study. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 65 : 764-771.
- Gamer, W.W. 1951. The production of tobacco. The Blakistan Co. New York. Pp.152.
- Grant, B.F. and Mehrle, P.M. 1970. Chronic endrin poisoning in goldfish, *Cassius auratus*. J. Fish Res. Bd. Can. 27 : 2225-2232.
- Hans, D.S., Bart, D.W., Richard, L. and Ronny, B. 2001. Dynamics (Cd,Zn)- methallothioneins in gills, liver and kidney of common carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure. Aquatic. Toxicol. 52 : 269-281.
- Heath, R.L., McDonald, G., Christeller, J.T., Lee, M., Bateman, K., West, J. and Anderson, M.A. 1997. Proteinase inhibitors from *Nicotiana glauca* enhance plant resistance to insect pests. J. Insect. Physiol. 43(9) : 833-842.
- Henley, J.M. and Oswald, R.E. 1987. Two distinct nicotine binding sites in goldfish brain, identification and characterization of putative neuronal nicotinic acetylcholine receptor subtypes. J. Biol. Chem. 262(14) : 6691-6698.
- Hilderbrand, D.F., Brown, G.C., Jackson, D.M. and Hamiltonkemp, T.R. 1993. Effects of some leaf- emitted volatile compounds on aphid population increase. J. Chem. Ecol. 19(9) : 1875-1887.
- Holden, A.V. 1965. Contamination of freshwater by persistent insecticides and their effects on fish. Ann. Appl. Biol. 55 : 332-335.
- Imagawa, T., Hashimoto, Y., Kon, Y. and Sugimura, M. 1990. Vascularization and related distribution of leukocytes in carp *Cyprinus carpio* L. head kidney. J. Fish Biol. 37 : 357-366.

- Jacob, P., Yu, L., Liang, G., Shulgin, A.T., and Benowitz, N.L. 1993. Gas chromatographic mass spectrometric method for determination of anabasine, anatabine and other tobacco alkaloids in urine of smokers and smokeless tobacco users. J. Chromatogr. 19(1) : 49-61.
- Ji, S., Tosaka, T., Whitfield, B.H., Katchman, A.N., Knollmann, B.C. and Ebert, S.N. Differential rate responses to nicotine in rat heart : evidence for two classes of nicotinic receptors. Pharmacol. Exp. Ther. 301(3) : 893-899.
- Jongsma, M.A., Bakker, P.L., Visser, B. and Stiekema, W.J. 1994. Trypsin- inhibitor activity in mature tobacco plant is mainly induced locally in response to insect attack, wounding and virus infection. Planta. 195(1) : 29-35.
- Jongsma, M.A. and Bolter, C. 1997. The adaptation of insects to plant protease inhibitors. J. Insect. Physiol. 43(10) : 885-895.
- Joshi, U.M. and Desai, A.K. 1987. Biochemical changes in the liver of fish , *Tilapia mossambica* during continuous exposure to monocrotophos. Ecotox. Environ. Safety. 15 : 272-276.
- Kallianos, A.G. 1976. Phenolic and acids in leaf and their relationship of smoking quality and aroma. Rec. Adv. Tob. Sci. 2 : 61-69.
- Kawano, T., Sahashi, N., Takahashi, K., Uozumi, N. and Muto, S. 1998. Salicylic acid induces extracellular superoxide generation followed by an increase in cytosolic calcium ion in tobacco suspension culture: the earliest events in salicylic acid signal transduction. Plant Cell Physiol. 39(7) : 721-730.
- Kirubakaran, R. and Joy, K.P. 1988. Toxic effects of three mercurial compounds on survival and histology of the kidney of the catfish *Clarias batrachus* (L.). Ecotox. Environ. Safety. 15 : 171-179.
- Kopplin, A., Eberle, A., Gertrud, G., Hienz, K., Peter, N. and Uwe, K. 1995. Urinary excretion of 3- methyladenine and 3-ethyladenine after controlled exposure to tobacco smoke. Carcinogenesis. 16(11) : 2637-2641.
- Kristy, L.A., Camella, S. G., Borukhova, A., Akerka, S.A., Rajaram, G., Randall, H., Stoner, G.D. and Hecht, S.S. 1996. Metabolite of a tobacco specific nitrosamine in the urine of the smokeless tobacco users ,relationship between urinary biomarkers and oral leukoplakia. Cancer Epidemiol. Biomarker Prev. 5(7) : 521-525.
- Lapner, K.N., Montpetit, C.J. and Perry, S.F. 2000. Desensitisation of chromaffin cell nicotinic

- receptors does not impede catecholamine secretion during acute hypoxia in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Exp. Biol. 203(10) : 1589-1597.
- Liang, X.Y., Zhu, Y.X., Mi, J.J. and Chen, Z.L. 1994. Production of virus resistance and insect tolerance transgenic tobacco plants. Plant Cell Reports. 14(2) : 141-144.
- Martin, J.C., Martin, D.D., Radow, B. and Day, H.E. 1979. Life span and pathology in offspring following nicotine and methamphetamine exposure. Exp. Aging. Res. 5 (6) : 509-522.
- Matsuyama, T. and Iida, T. 1999. Degranulation of eosinophilic granular cells with possible involvement in neutrophil migration to site of inflammation in tilapia. Dev. Comp. Immunol. 23(6) : 451-457.
- Mcmanus, M.T., White, D.W.R., and McGregor, P.G. 1994. Accumulation of a chymotrypsin inhibitor in transgenic tobacco can affect the growth of insect pests. Transgenic Research. 3 (1) : 50-58.
- Morrison, C.M., Miyake, T. and Wright, J.R. 2001. Histological study of the development of the embryo and early larva of *Oreochromis niloticus*. J. Morphol. 247(2) : 172-195.
- Moslen, M.T. 1991. Toxic responses of the liver. In M.O. Andur, J. Doull and C.D. Klaassen (eds.) Casarett and Doull's Toxicology, the basic science of poisons 6<sup>th</sup> edition. New York: Pergamon Press. pp.471-490.
- Natori, S., Lkekawa, N. and Suzuki, M. 1981. Advances in natural products chemistry. John Wiley & Sons.
- Ola, H., Joseph, M. and Hakan, W.S. 2002. Altered breathing pattern after prenatal nicotine exposure in the young lamp. Am. J. Res. Critical Care Med. 166 : 92-97.
- Oronsaye, J.A.O. 1988. Histological changes in the kidneys and gills of the stickleback, *Gasteroteus aculeatus* L., exposure to dissolved cadmium in hard water. Ecotox. Environ. Safety. 17 : 279-290.
- Pal, A.K. and Konar, S.K. 1987. Long term effects of organophosphorus insecticides methyl parathion on fish. Environ. Ecol. 5 : 564-571.
- Pelletier, S.W. 1970. Chemistry of the alkaloids. New York : Van Nostrand Reinhold Co.
- Ramaprasad, G., Sreedhar, U., Sitaramaiah, S., Rao, S.N. and Satyanarayana, V.V. 1998. Efficacy of imidacloprid, a new insecticide for controlling *Myzus nicotianae* on flue cured Virginia tobacco. (*Nicotiana tabacum*) Indian J. Agri. Sci. 68(3) : 165-167.
- Ramesh, L., Londonkar, P., Srinivasreddy, P., Somanathreddy, P. and Patil, S.B. 1997. Nicotine

- induced inhibition of activities of accessory reproductive ducts in male rats.  
J. Ethnopharmacol. 60 : 215-221.
- Rani, A.U. and Ramamurthi, R. 1988. Histopathological alteration in the liver of fresh water teleost *Tilapia mossambica* in response to cadmium toxicity. Ecotox. Environ. Safety. 17 : 221-226.
- Reimschuessel, R., Bennett, R.O., May, E.B. and Lipsky, M.M. 1989. Renal histopathological changes in the goldfish (*Carassius auratus*) after sublethal exposure to hexachlorobutadiene. Aquatic Toxicol. 15 : 169-180.
- Resnik, F.E. 1957. Chromatography of organic acids in flue-cured tobacco. Tob. Sci. 1 : 23-24.
- Rice, T.C., Gooden, D.T. and Price, E.L. 1973. Measured crop performance tobacco. Dep. of crop science . N.C. State Univ.
- Sabine, G., Ernst, S. and Jorgen, K. 1990. Biological activities of furostanol saponins from *Nicotiana tabacum*. Phytochem. 29(8) : 2485-2490.
- Schnellmann, R.G. 1991. Toxic responses of the kidney. In M.O. Andur, J. Doull and C.D. Klaassen (eds.) Casarett and Doull's Toxicology, the basic science of poisons 6<sup>th</sup> edition. New York: Pergamon Press. pp.491-512.
- Selman, M., Montano, M., Ramos, C., Vanda, B., Becerial, C., Delgado, J., Sansores, R., Barrios, R. and Pardo, A. 1996. Tobacco smoke- induced lung emphysema in guinea pigs is associated with increased interstitial collagenase. Am. J. Physiol. 271 : 734-743.
- Sim, K.S. 1966. Medicinal plants alkaloids. 2<sup>nd</sup> ed., univ. Toronto Press. Canada.
- Takahama, U. 1998. Ascorbic acid – dependent regulation of redox levels of chlorogenic acid and its isomers in the apoplast of leaves of *Nicotiana tabacum* Linn. Plant cell Physiol. 39 (7) : 681-689.
- Tsigouri, A.D. and Tyrpnou, A.E. 2000. Determination of organochlorine compounds in fish oil and fish liver oil by capillary gas chromatography and electron capture detection. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 65 : 244-252.
- Tso, T.C. 1972. Physiology and biochemistry of tobacco plants . Dowden, Hutchinson & Roses , Inc. pp. 209,307.
- Wattanasirmit, K. 1993. Histological studies on the effects of triphenyltin hydroxide pesticide to liver and kidney of catfish (hybrid of *Clarias gariepinus* and *C. macrocephalus*) Doctoral dissertation department of biology, graduate school, Mahidol university.



- Weiss, L. 1988. Cell and tissue biology. 6 th ed. Baltimore : Urban & Schwarzenberg, Inc.
- Wilkinson, F.B. 1954. Chlorogenic and caffeic acids in certain standard grades of U. S. type 12 tobacco. pp. 200
- Wolf, F. 1962. Aromatic or oriental tobacco. Duke University press. Durham, North Carolina. pp. 178-181.
- Wynder, E.L., Bacot, M. and Hoffman, D. 1967. Tobacco and tobacco smoke. Academic Press. New York and London. pp. 14.
- Yildiz, D., Liu, Y.S., Ercal, N. and Armstrong, D.W. 1999. Comparison of pure nicotine and smokeless tobacco extract- induced toxicities and oxidative stress. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 37 : 434-439.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

### วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

#### หมวดวัสดุอุปกรณ์

##### 1. อุปกรณ์สำหรับเลี้ยงปลาไนล์

- 1.1 โหลแก้วกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 นิ้ว สูง 14 นิ้ว ความจุ 12 ลิตร จำนวน 25 ใบ
- 1.2 อ่างเลี้ยงปลาขนาดความกว้าง 20 นิ้ว ความยาว 42 นิ้ว และสูง 20 นิ้ว จำนวน 4 อ่าง
- 1.3 ชุดอุปกรณ์สำหรับให้ออกซิเจนในน้ำขณะทำการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย เครื่องอัดอากาศ ท่อยางและลูกหินอากาศ จำนวน 8 ชุด
- 1.4 ชุดอุปกรณ์สำหรับการเปลี่ยนถ่ายน้ำที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งประกอบด้วยเครื่องดูดน้ำและสายยางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 นิ้ว จำนวน 2 ชุด
- 1.5 สวิงตักปลาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ~ 3 นิ้ว และ 12 นิ้ว
- 1.6 ชั้นน้ำสำหรับคัดแยกปลาไนล์ จำนวน 25 ใบ
- 1.7 ผ้าขาวบางสำหรับปิดปากโหล และอ่างเลี้ยงปลาขณะทำการทดลอง

##### 2. อุปกรณ์สำหรับวัดคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำในอ่างเลี้ยงปลา

- 2.1 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
- 2.2 เครื่องวัดอุณหภูมิ
- 2.3 เครื่องวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ
- 2.4 บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 4 ใบ
- 2.5 ขวดน้ำกลั่น

##### 3. อุปกรณ์สำหรับเก็บข้อมูลปลาไนล์ที่ใช้ทดลอง

- 3.1 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยมสามตำแหน่ง สำหรับชั่งน้ำหนักตัว และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยมสองตำแหน่ง สำหรับชั่งน้ำหนักตัวปลา
- 3.2 ไม้บรรทัดและ เวอร์เนีย สำหรับวัดขนาดตัวปลา
- 3.3 ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด
- 3.4 ขวดเก็บตัวอย่าง ขนาด 8 ออนซ์ จำนวน 420 ขวด
- 3.5 ฟู่กัน และ petridish จำนวน 2 ชุด

4. อุปกรณ์สำหรับเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาโดยวิธีเตรียมสไลด์ถาวร ( paraffin method )

- 4.1 ตู้อบอุณหภูมิ 37- 60 °C
- 4.2 เครื่องตัดเนื้อเยื่อ Rotary microtome
- 4.3 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 4.4 ขวดแก้ว vial ขนาด 30 มิลลิลิตร
- 4.5 ปากคีบปลายมน
- 4.6 ขวดแก้วสำหรับใส่น้ำยาเคมี
- 4.7 ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด พร้อมฟู่กันและ petridish จำนวน 1 ชุด
- 4.8 สไลด์แก้ว และแผ่นแก้วปิดสไลด์
- 4.9 บล็อกเหล็ก สำหรับฝังชิ้นเนื้อเยื่อพาราฟิน
- 4.10 บล็อกไม้สำหรับติดชิ้นเนื้อเยื่อ
- 4.11 ไข่มุดสำหรับตัดเนื้อเยื่อพาราฟิน
- 4.12 ขวดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร พร้อมหลอดหยด ( dropper )
- 4.13 กล่องกระดาษสำหรับเก็บเนื้อเยื่อที่ตัดแล้ว
- 4.14 water bath หรือ warm plate อุณหภูมิ 38 – 40 °C
- 4.15 กล่องไม้สำหรับเก็บสไลด์

5. อุปกรณ์สำหรับย้อมสีเนื้อเยื่อ

- 5.1 ชุด Jar สำหรับย้อมสี 1 ชุด
- 5.2 ตะแกรงสำหรับใส่สไลด์ที่จะย้อมสี
- 5.3 เข็มเขี่ย
- 5.4 ปากคีบปลายมน
- 5.5 กระดาษทิชชู และ ก้านสำลี
- 5.6 ตู้อบ สำหรับอบสไลด์ที่ย้อมสีแล้ว
- 5.7 แผ่นแก้วปิดสไลด์ ( cover glass )

**ข. หมวดสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง**

1. สารเคมีสำหรับการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาทางฮิสโตเคมี
  - 1.1 10 % Neutral buffer formalin
  - 1.2 70 % , 90 % , 95 % Ethyl alcohol
  - 1.3 N-butanol
  - 1.4 Xylene
  - 1.5 Paraplast
  - 1.6 Egg albumin
2. สารเคมีสำหรับย้อมสี Heamatoxylin & Eosin ( H & E )
  - 2.1 Haematoxylin
  - 2.2 0.5 % E0sin
  - 2.3 Xylene
  - 2.4 N-butanol
  - 2.5 95 % , 90 % , 70 % Ethyl alcohol
  - 2.6 Differentiator ( 70 % Ethyl alcohol + Conc. Acetic acid )
  - 2.7 Permount

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ภาคผนวก ข

## การเตรียมสารละลายสำหรับการทดลอง

## 1. การเตรียมน้ำยารักษาสภาพของเซลล์ ( Fixative )

10 % Neutral buffer formalin

สูตร	37 –40 % Formalin	100	มิลลิลิตร
	น้ำกลั่น	900	มิลลิลิตร
	Sodium phosphate monobasic ( $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )	4	กรัม
	Sodium phosphate dibasic ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	6.5	กรัม

## วิธีผสม

เติม Sodium phosphate monobasic 4 กรัม ในน้ำกลั่น คนจนละลาย แล้วจึงเติม Sodium phosphate dibasic 6.5 กรัม คนจนกระทั่งละลายหมด จากนั้นเติม Formalin เข้มข้น 37 –40 % จำนวน 100 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 1 ลิตร คนให้เข้ากัน เก็บใส่ขวดแก้ว ปิดฝาและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

## 2. การเตรียมสารละลายสำหรับย้อมสีเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาทางฮิสโตเคมี

Ehrlich acid Haematoxylin

สูตร	Heamatoxylin	8	กรัม
	95 % Ethyl alcohol	400	มิลลิลิตร
	Potass or Ammonia alum	8	กรัม
	น้ำกลั่น	400	มิลลิลิตร
	Glycerin	400	มิลลิลิตร
	Glacial acetic acid	40	มิลลิลิตร

## วิธีผสม

1. ละลาย Heamatoxylin 8 กรัม ใน 95 % Ethyl alcohol จำนวน 400 มิลลิลิตร ใน Water bath จากนั้นนำไปกรอง

2. ละลายสาร Ammonia alum ในน้ำอุ่น

3. ผสมสารทั้งหมด ในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร ปิดปากขวดด้วยจุกสำลี แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ให้รับแสง ทุกวันเป็นเวลานานอย่างน้อย 6 สัปดาห์ จึงจะสามารถนำไปใช้ได้

0.5 % Eosin Y

สูตร	Eosin Y (yellow)	0.5	กรัม
	95 % Ethyl alcohol	100	มิลลิลิตร



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แสดงค่า Probit analysis ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ของสารสกัดใบยาสูบ

Probit 24 hrs.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

DATA Information

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

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Parameter estimates converged after 16 iterations.

Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model:  $PROBIT(p) = \text{Intercept} + BX$ ):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CONC	.00280	.00057	4.89483
Intercept	-2.90613	.45401	-6.40108

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 1.182 DF = 4 P = .881

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

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Observed and Expected Frequencies

CONC	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	30.0	.0	.055	-.055	.00183
200.00	30.0	.0	.284	-.284	.00948
400.00	30.0	2.0	1.110	.890	.03699
600.00	30.0	3.0	3.297	-.297	.10990

800.00	30.0	7.0	7.568	-.568	.25227
1000.00	30.0	14.0	13.714	.286	.45713

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Confidence Limits for Effective CONC

95% Confidence Limits			
Prob	CONC	Lower	Upper
.01	207.17926	-180.29033	384.37532
.02	304.58968	-21.68677	457.79469
.03	366.39347	78.10561	505.21343
.04	412.88606	152.55459	541.50563
.05	450.70419	212.58801	571.55162
.06	482.89336	263.21190	597.59946
.07	511.11696	307.15455	620.88292
.08	536.38783	346.07257	642.15786
.09	559.37068	381.04952	661.92399
.10	580.52643	412.83393	680.53069
.15	668.11688	538.75255	763.24470
.20	737.73099	629.68103	838.13081
.25	797.45370	699.53487	910.53114
.30	851.08654	755.98137	981.83327
.35	900.78535	803.90469	1052.28811
.40	947.94467	846.43074	1122.09134
.45	993.57186	885.57320	1191.62876
.50	1038.47564	922.69158	1261.46719
.55	1083.37943	958.78501	1332.33057
.60	1129.00661	994.67819	1405.11727
.65	1176.16593	1031.15353	1480.97122
.70	1225.86475	1069.07326	1561.42964
.75	1279.49759	1109.53924	1648.71229
.80	1339.22030	1154.17755	1746.32814
.85	1408.83441	1205.78651	1860.53378
.90	1496.42486	1270.24808	2004.70484
.91	1517.58061	1285.75529	2039.58873
.92	1540.56345	1302.57860	2077.50851
.93	1565.83433	1321.05111	2119.22897
.94	1594.05793	1341.65298	2165.85320
.95	1626.24710	1365.11560	2219.06231
.96	1664.06523	1392.63969	2281.61763
.97	1710.55781	1426.42279	2358.57572
.98	1772.36161	1471.25155	2460.95807
.99	1869.77203	1541.75478	2622.47778

Probit 48 hrs.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

DATA Information

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

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Parameter estimates converged after 14 iterations.  
 Optimal solution found.

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

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CONC	.00221	.00045	4.95929

	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-2.31331	.33272	-6.95263

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = .667 DF = 4 P = .955

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

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Observed and Expected Frequencies

CONC	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	30.0	.0	.311	-.311	.01035
200.00	30.0	1.0	.921	-.079	.03069
400.00	30.0	3.0	2.299	.701	.07663
600.00	30.0	5.0	4.865	.135	.16218
800.00	30.0	8.0	8.807	-.807	.29358
1000.00	30.0	14.0	13.801	.199	.46002

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*



## Confidence Limits for Effective CONC

Prob	95% Confidence Limits		
	CONC	Lower	Upper
.01	-5.89123	-483.17610	212.92578
.02	117.29357	-283.64604	305.37103
.03	195.45038	-157.96873	364.94269
.04	254.24470	-64.11526	410.44480
.05	302.06935	11.63881	448.04575
.06	342.77563	75.58045	480.58703
.07	378.46708	131.13534	509.62879
.08	410.42452	180.38261	536.12773
.09	439.48853	224.68106	560.71743
.10	466.24200	264.96811	583.84203
.15	577.00850	424.80240	686.54892
.20	665.04221	540.10262	779.90811
.25	740.56729	628.15878	870.86314
.30	808.39115	698.84295	960.93655
.35	871.24006	758.62510	1050.12026
.40	930.87753	811.62991	1138.46949
.45	988.57748	860.46208	1226.39898
.50	1045.36261	906.84562	1314.60880
.55	1102.14774	952.03111	1404.01667
.60	1159.84769	997.04544	1495.76400
.65	1219.48516	1042.86379	1591.29968
.70	1282.33407	1090.56538	1692.56396
.75	1350.15793	1141.53557	1802.35134
.80	1425.68301	1197.82607	1925.07204
.85	1513.71672	1262.97522	2068.58230
.90	1624.48323	1344.42939	2249.66931
.91	1651.23669	1364.03532	2293.47503
.92	1680.30070	1385.30933	2341.08917
.93	1712.25814	1408.67344	2393.47127
.94	1747.94959	1434.73603	2452.00532
.95	1788.65587	1464.42383	2518.80044
.96	1836.48052	1499.25834	2597.32096
.97	1895.27484	1542.02430	2693.91058
.98	1973.43165	1598.78793	2822.39592
.99	2096.61646	1688.09023	

วิทยาลัยบริการ  
เทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัย

Probit 72 hrs.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

DATA Information

6 unweighted cases accepted.

0 cases rejected because of missing data.

1 case is in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Parameter estimates converged after 11 iterations.

Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model:  $(\text{PROBIT}(p)) = \text{Intercept} + \text{BX}$ ):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CONC	.00151	.00035	4.31474

	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-1.62124	.23906	-6.78178

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 3.816 DF = 4 P = .432

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

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

observed and Expected Frequencies

	Number of	Observed	Expected			
CONC	Subjects	Responses	Responses	Residual	Prob	
.00	30.0	.0	1.574	-1.574	.05248	
200.00	30.0	5.0	2.806	2.194	.09353	
400.00	30.0	5.0	4.634	.366	.15447	
600.00	30.0	7.0	7.114	-.114	.23713	
800.00	30.0	9.0	10.187	-1.187	.33956	
1000.00	30.0	14.0	13.665	.335	.45550	

## \*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

## Confidence Limits for Effective CONC

Prob	CONC	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-467.12539	-1381.52137	-111.13197
.02	-286.53138	-1054.58899	17.03239
.03	-171.95027	-848.04539	99.23308
.04	-85.75537	-693.34287	161.74164
.05	-15.64247	-568.08814	213.17137
.06	44.03463	-462.01993	257.48939
.07	96.35976	-369.54630	296.87505
.08	143.21068	-287.27421	332.66724
.09	185.81972	-212.98862	365.75638
.10	225.04141	-145.16528	396.77166
.15	387.42968	126.81323	534.01145
.20	516.49072	324.60896	661.44944
.25	627.21361	471.80627	793.27371
.30	726.64618	583.44356	932.20642
.35	818.78528	672.84934	1074.99108
.40	906.21628	749.38900	1218.77746
.45	990.80678	818.59319	1362.74125
.50	1074.05612	883.72127	1507.40145
.55	1157.30547	946.89500	1654.01601
.60	1241.89597	1009.71823	1804.36076
.65	1329.32697	1073.63309	1960.77193
.70	1421.46606	1140.18727	2126.40820
.75	1520.89864	1211.33917	2305.82630
.80	1631.62152	1289.97287	2506.21418
.85	1760.68257	1381.05374	2740.36703
.90	1923.07084	1495.02816	3035.61091
.91	1962.29253	1522.47617	3107.00152
.92	2004.90156	1552.26523	3184.58719
.93	2051.75248	1584.98752	3269.92918
.94	2104.07762	1621.49675	3365.27925
.95	2163.75471	1663.09341	3474.06881
.96	2233.86762	1711.91280	3601.93388
.97	2320.06252	1771.86333	3759.19443
.98	2434.64363	1851.45967	3968.34238
.99	2615.23764	1976.72954	4298.16925

วิทยาลัยบริการ  
นันทน์มหาวิทยาลัย

Probit 96 hrs.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

DATA Information

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

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Parameter estimates converged after 9 iterations.  
 Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model:  $(PROBIT(p)) = \text{Intercept} + BX$ ):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
CONC	.00164	.00033	5.03508
Intercept		Standard Error	Intercept/S.E.
	-1.37819	.21493	-6.41220

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 4.937 DF = 4 P = .294

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

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Observed and Expected Frequencies

	Number of	Observed	Expected	Residual	Prob
CONC	Subjects	Responses	Responses		
.00	30.0	.0	2.522	-2.522	.08407
200.00	30.0	7.0	4.410	2.590	.14699
400.00	30.0	8.0	7.066	.934	.23555
600.00	30.0	11.0	10.426	.574	.34754

800.00 30.0 14.0 14.244 -.244 .47479  
 1000.00 30.0 17.0 18.141 -1.141 .60469

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Confidence Limits for Effective CONC

Prob	CONC	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-576.84632	-1329.12913	-236.81866
.02	-411.00169	-1060.26231	-114.75893
.03	-305.77859	-890.16287	-36.82802
.04	-226.62335	-762.55113	22.14382
.05	-162.23667	-659.03400	70.39804
.06	-107.43349	-571.17650	111.72180
.07	-59.38182	-494.37536	148.18735
.08	-16.35729	-425.83085	181.05965
.09	22.77181	-363.70846	211.17178
.10	58.79020	-306.73889	239.10425
.15	207.91598	-73.96150	357.84398
.20	326.43643	105.16592	458.09122
.25	428.11641	251.21547	551.72026
.30	519.42818	372.72378	645.45072
.35	604.04215	474.50151	743.12380
.40	684.33253	560.96681	845.91780
.45	762.01440	636.66676	953.32843
.50	838.46465	705.53879	1064.66382
.55	914.91490	770.56583	1179.84420
.60	992.59677	833.97899	1299.54161
.65	1072.88715	897.60937	1425.17053
.70	1157.50111	963.22419	1559.00652
.75	1248.81288	1032.88364	1704.58584
.80	1350.49287	1109.47660	1867.67147
.85	1469.01331	1197.85692	2058.66581
.90	1618.13909	1308.12947	2299.91038
.91	1654.15749	1334.64863	2358.29325
.92	1693.28658	1363.41688	2421.75953
.93	1736.31112	1395.00430	2491.58893
.94	1784.36279	1430.23264	2569.62727
.95	1839.16596	1470.35356	2658.68760
.96	1903.55265	1517.42196	2763.39055
.97	1982.70789	1575.19880	2892.19729
.98	2087.93099	1651.87689	3063.54956
.99	2253.77562	1772.49774	3333.85526



## T-Test

## Group Statistics

	GR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
MO1	1.00	30	1.6586	.56910	.10390
	2.00	30	2.6290	.78460	.14325
MO2	1.00	30	1.5893	.46081	.08413
	2.00	30	2.2436	.66799	.12196
MO3	1.00	30	1.5901	.57740	.10542
	2.00	30	3.6791	1.33838	.24435
MO4	1.00	30	1.8554	.50537	.09227
	2.00	30	3.0017	1.05474	.19257
MO5	1.00	30	2.2559	.82226	.15012
	2.00	30	2.8850	.63642	.11619
MO6	1.00	30	1.8656	.72430	.13224
	2.00	30	3.2614	.72078	.13160

## Means

## Report

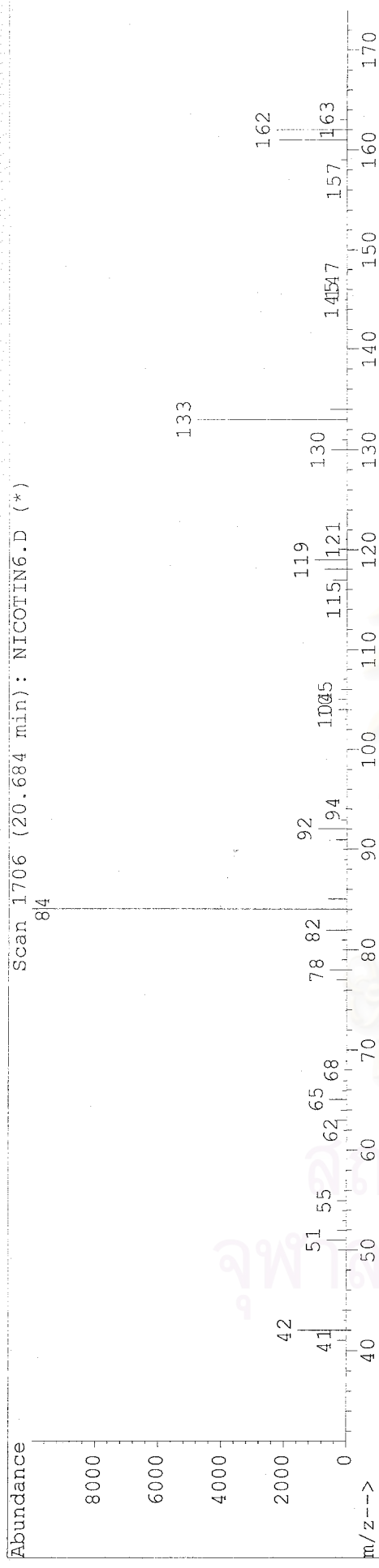
GR		MO1	MO2	MO3	MO4	MO5	MO6
1.00	Mean	1.6586	1.5893	1.5901	1.8554	2.2559	1.8656
	N	30	30	30	30	30	30
	Std. Deviation	.56910	.46081	.57740	.50537	.82226	.72430
	Sum	49.76	47.68	47.70	55.66	67.68	55.97
	Minimum	.42	.81	.59	.78	.19	.67
	Maximum	2.77	2.41	2.64	3.26	3.73	3.55
2.00	Mean	2.6290	2.2436	3.6791	3.0017	2.8850	3.2614
	N	30	30	30	30	30	30
	Std. Deviation	.78460	.66799	1.33838	1.05474	.63642	.72078
	Sum	78.87	67.31	110.37	90.05	86.55	97.84
	Minimum	.79	.96	1.67	.82	2.01	1.92
	Maximum	3.97	3.81	7.44	6.05	4.58	4.83
Total	Mean	2.1438	1.9164	2.6346	2.4285	2.5705	2.5635
	N	60	60	60	60	60	60
	Std. Deviation	.83735	.65768	1.46755	1.00320	.79501	1.00427
	Sum	128.63	114.99	158.08	145.71	154.23	153.81
	Minimum	.42	.81	.59	.78	.19	.67
	Maximum	3.97	3.81	7.44	6.05	4.58	4.83

Independent Samples Test

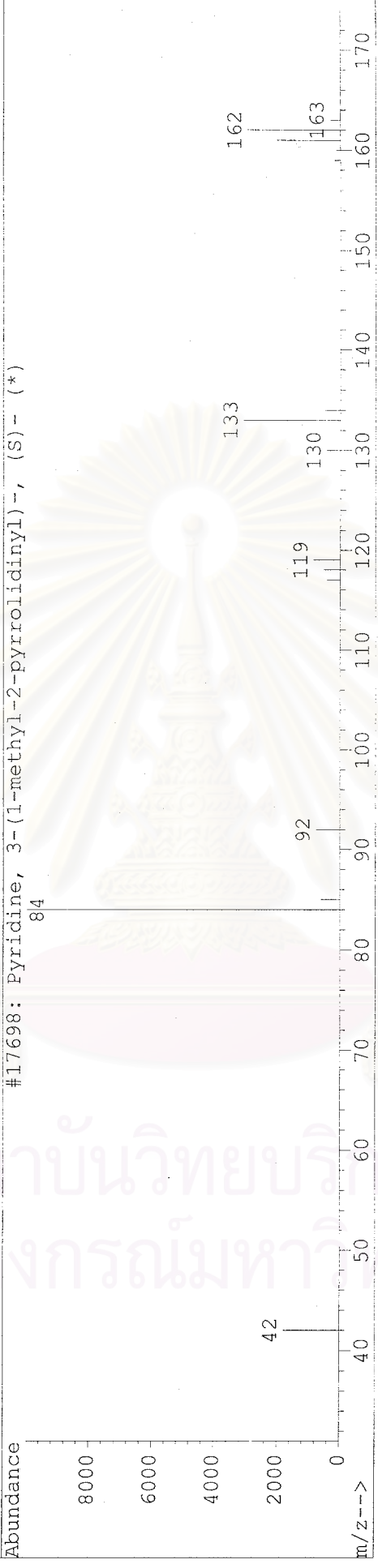
		t-test for Equality of Means							95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
MO1	Equal variances assumed	1.802	.185	-5.483	58	.000	-.9703	.17696	-1.32456	-.61610
	Equal variances not assumed			-5.483	52.899	.000	-.9703	.17696	-1.32529	-.61537
MO2	Equal variances assumed	2.597	.112	-4.416	58	.000	-.6543	.14816	-.95091	-.35776
	Equal variances not assumed			-4.416	51.505	.000	-.6543	.14816	-.95171	-.35696
MO3	Equal variances assumed	9.742	.003	-7.850	58	.000	-2.0889	.26612	-2.62164	-1.55623
	Equal variances not assumed			-7.850	39.434	.000	-2.0889	.26612	-2.62703	-1.55084
MO4	Equal variances assumed	14.538	.000	-5.368	58	.000	-1.1463	.21353	-1.57373	-.71887
	Equal variances not assumed			-5.368	41.649	.000	-1.1463	.21353	-1.57733	-.71527
MO5	Equal variances assumed	2.794	.100	-3.314	58	.002	-.6291	.18984	-1.00913	-.24913
	Equal variances not assumed			-3.314	54.569	.002	-.6291	.18984	-1.00964	-.24862
MO6	Equal variances assumed	.000	.994	-7.482	58	.000	-1.3958	.18656	-1.76927	-1.02239
	Equal variances not assumed			-7.482	57.999	.000	-1.3958	.18656	-1.76927	-1.02239

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Scan 1706 (20.684 min): NICOTINE.D (\*)



#17698: Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-, (S)- (\*)



ภาคผนวก ง

แสดง chromatogram

ผลการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน

nicotin

Calibration Last Updated: Fri Oct 18 18:14:53 2002  
 Quantitation Report - Summary

## Information from Data File:

File Name: C:\HPCHEM\1\DATA\NICOTIN5.D  
 Operator: Promsattha  
 Date: 18 Oct 102 7:08 pm using AcqMethod RAT4  
 Sample Name: nicotin sample 2 ml ---->10 ml in CH2Cl2,rep  
 Info:  
 Number: 1  
 Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\RAT4.M

## Quantitation Settings:

Reference Peak Window: 10.00 Percent  
 Non-Reference Peak Window: 5.00 Percent  
 Correlation Window: 0.02 Minutes  
 Default Multiplier: 1.00  
 Default Sample Concentration: 0.00  
 Peak Type Decoding:  
 \* -> Time Reference Peak  
 m -> Manually re-integrated  
 00X -> Compound references ISTD X

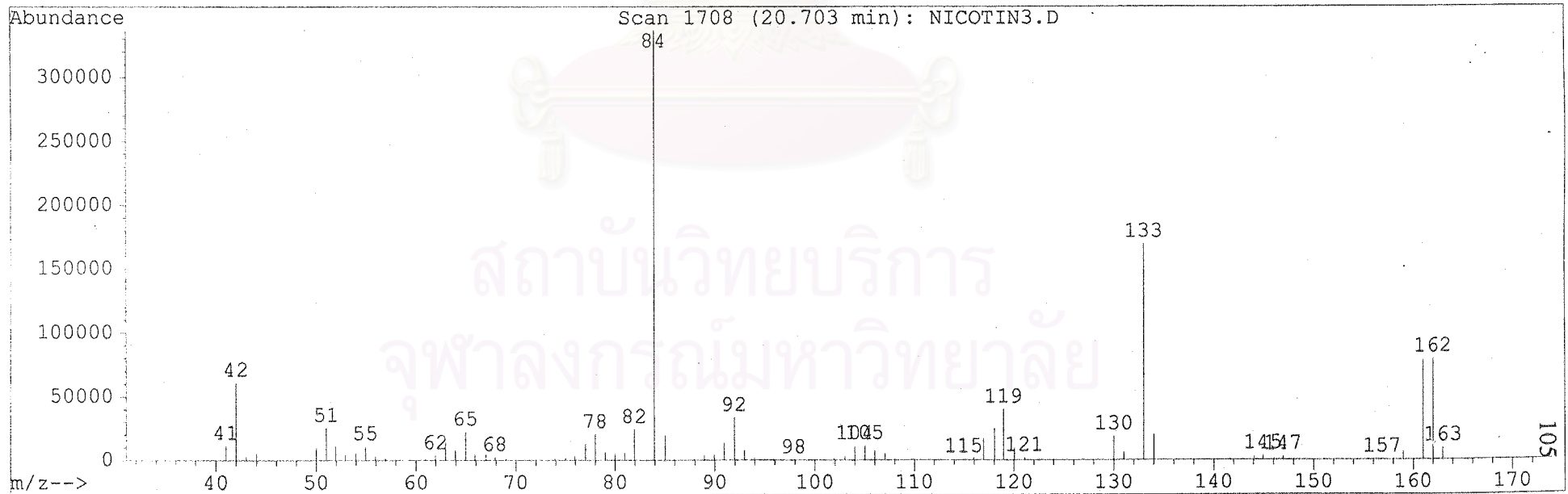
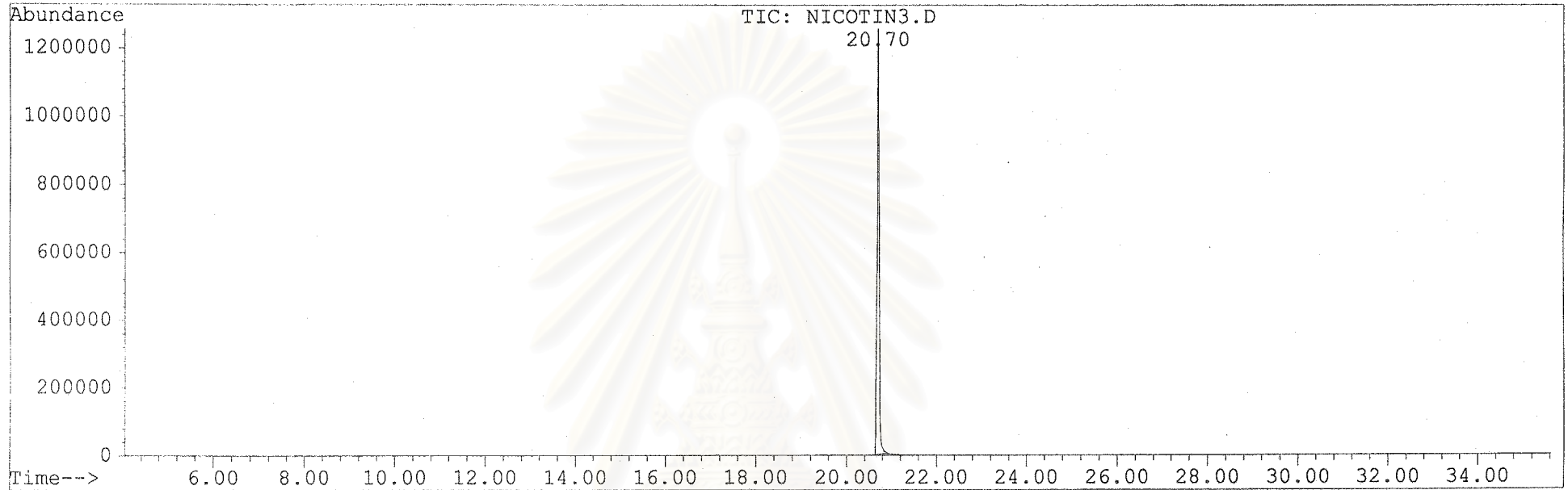
Compound	Ret Time	Concentration	Peak Type
nicotin	20.69	184.6 ppm	

OF REPORT

Fri Oct 18 19:44:39 2002

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Acquired : 18 Oct 102 3:43 pm using AcqMethod RAT4  
Instrument : 5971 - In  
Sample Name: nicotin sample 2 ml-->10 ml in CH2Cl2, rep3  
Misc Info :  
Vial Number: 1





nicotin

Calibration Last Updated: Fri Oct 18 18:14:53 2002  
 Quantitation Report - Summary

## Information from Data File:

File Name: C:\HPCHEM\1\DATA\NICOTIN3.D  
 Analyst: Promsattha  
 Date: 18 Oct 102 3:43 pm using AcqMethod RAT4  
 Sample Name: nicotin sample 2 ml-->10 ml in CH2Cl2, rep3  
 Info:  
 Number: 1  
 Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\RAT4.M

## Quantitation Settings:

Reference Peak Window: 10.00 Percent  
 Non-Reference Peak Window: 5.00 Percent  
 Correlation Window: 0.02 Minutes  
 Default Multiplier: 1.00  
 Default Sample Concentration: 0.00  
 Peak Type Decoding:  
 \* -> Time Reference Peak  
 m -> Manually re-integrated  
 00X -> Compound references ISTD X

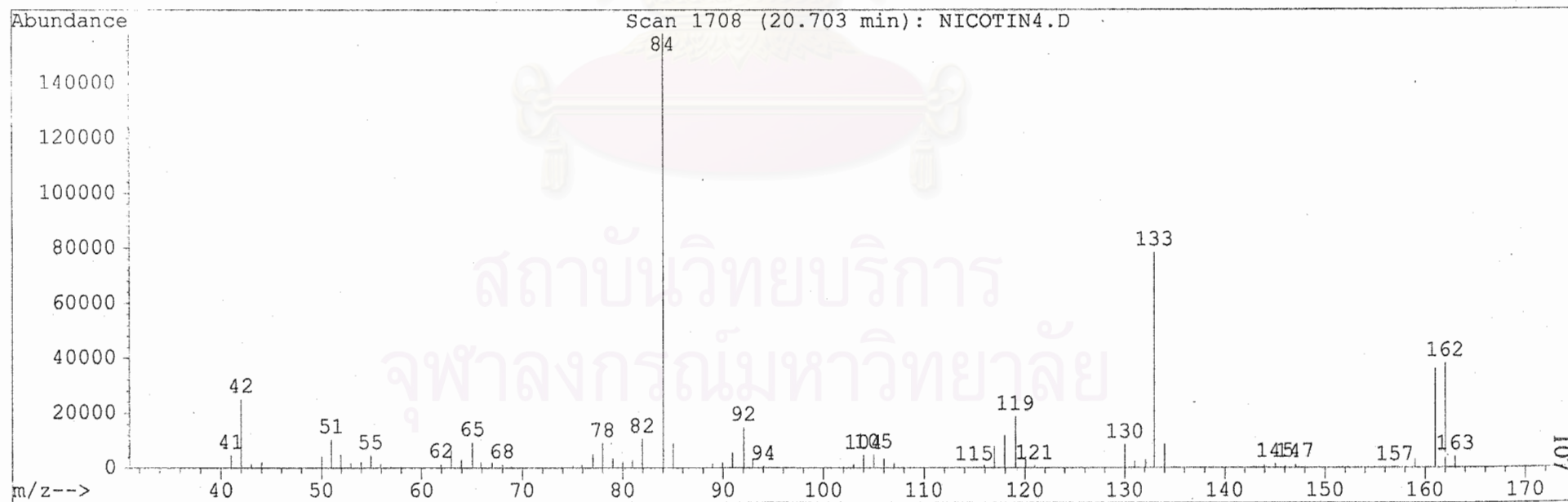
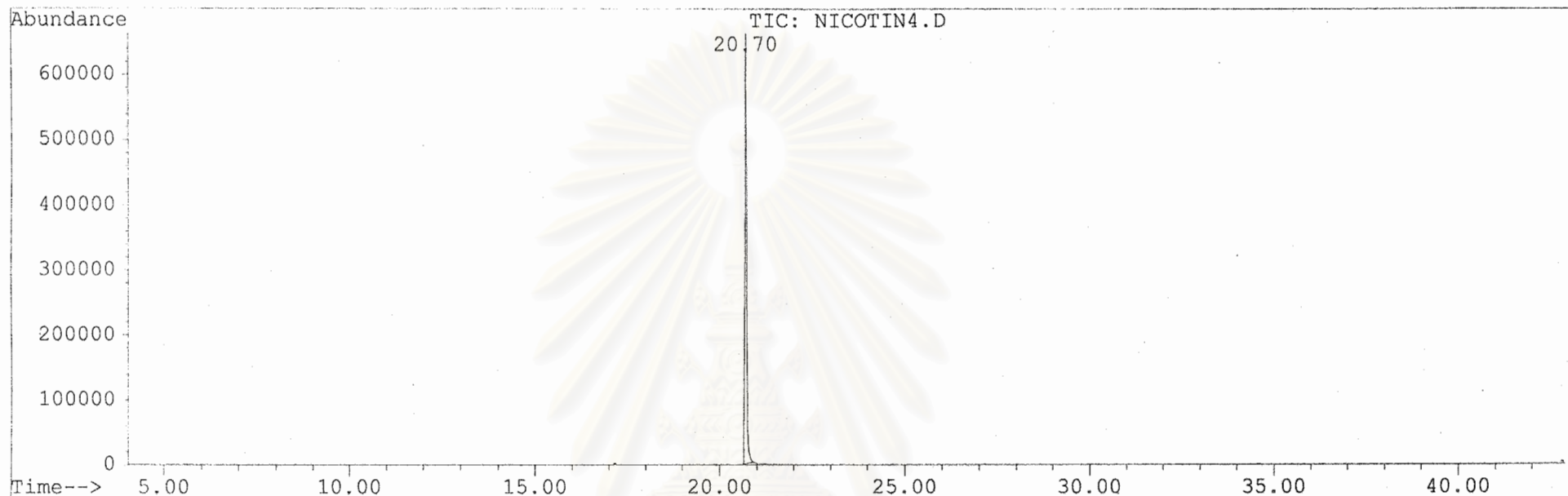
Compound	Ret Time	Concentration	Peak Type
nicotin	20.70	204.5 ppm	

OF REPORT

Fri Oct 18 18:19:28 2002

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Acquired : 18 Oct 102 6:18 pm using AcqMethod RAT4  
Instrument : 5971 - In  
Sample Name: nicotin sample 2 ml ---->10 ml in CH2Cl2  
Misc Info :  
Vial Number: 1



nicotin

Calibration Last Updated: Fri Oct 18 18:14:53 2002  
 Quantitation Report - Summary

## Information from Data File:

File Name: C:\HPCHEM\1\DATA\NICOTIN4.D  
 Operator: Promsattha  
 Date: 18 Oct 102 6:18 pm using AcqMethod RAT4  
 Sample Name: nicotin sample 2 ml ---->10 ml in CH2Cl2  
 Info:  
 Number: 1  
 Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\RAT4.M

## Quantitation Settings:

Reference Peak Window: 10.00 Percent  
 Non-Reference Peak Window: 5.00 Percent  
 Correlation Window: 0.02 Minutes  
 Default Multiplier: 1.00  
 Default Sample Concentration: 0.00  
 Peak Type Decoding:  
 \* -> Time Reference Peak  
 m -> Manually re-integrated  
 00X -> Compound references ISTD X

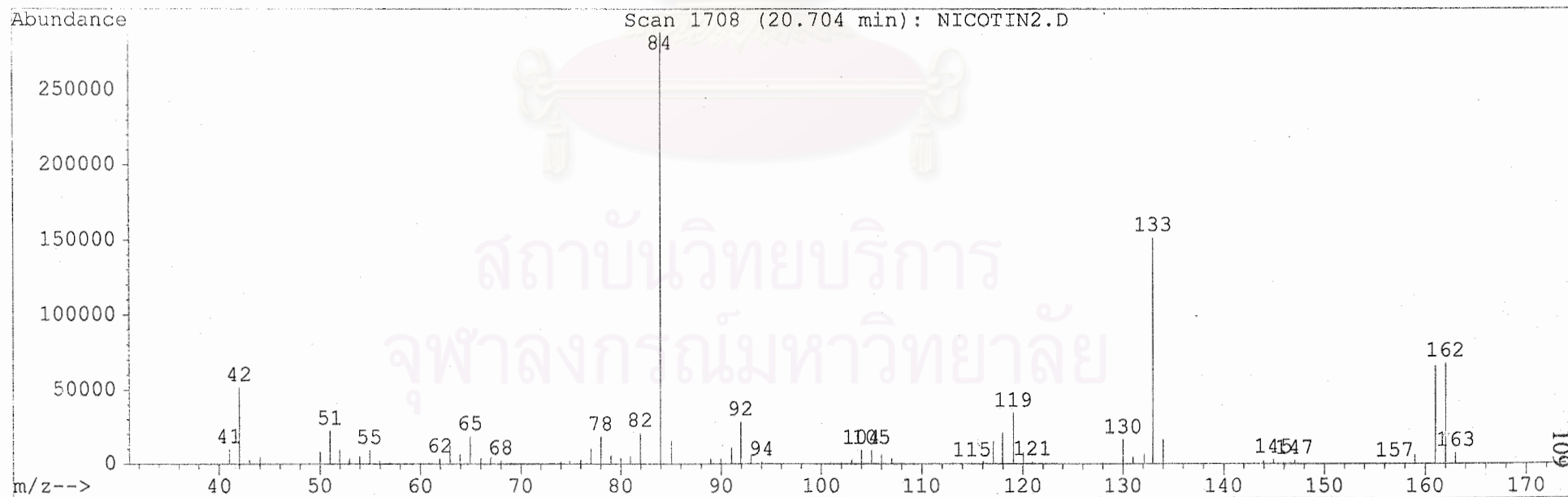
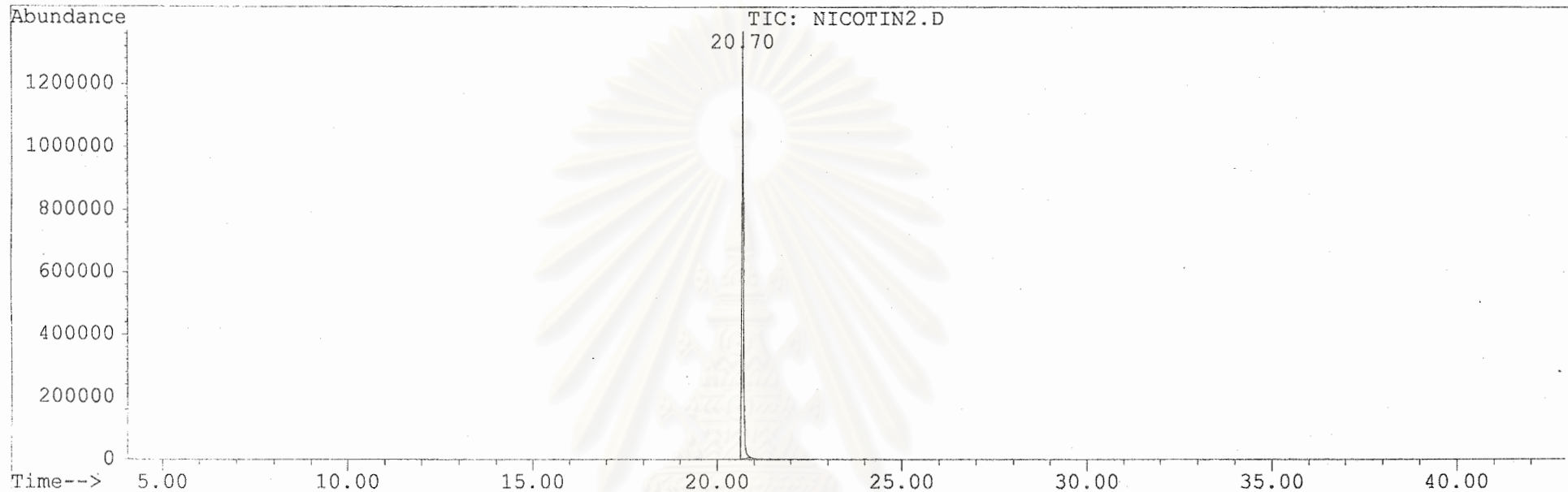
Compound	Ret Time	Concentration	Peak Type
nicotin	20.70	206.5 ppm	

OF REPORT

Fri Oct 18 19:02:36 2002

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Operator : Promsattha  
Acquired : 18 Oct 102 2:36 pm using AcqMethod RAT4  
Instrument : 5971 - In  
Sample Name: sample nicotin rep2, 2 ml -->10 ml CH2Cl2  
Misc Info :  
Vial Number: 1



nicotin

Calibration Last Updated: Fri Oct 18 18:14:53 2002  
 Quantitation Report - Summary

## Information from Data File:

File Name: C:\HPCHEM\1\DATA\NICOTIN2.D  
 Operator: Promsattha  
 Date: 18 Oct 102 2:36 pm using AcqMethod RAT4  
 Sample Name: sample nicotin rep2, 2 ml -->10 ml CH2Cl2  
 Info:  
 Number: 1  
 Method: C:\HPCHEM\1\METHODS\RAT4.M

## Quantitation Settings:

Reference Peak Window: 10.00 Percent  
 Non-Reference Peak Window: 5.00 Percent  
 Correlation Window: 0.02 Minutes  
 Default Multiplier: 1.00  
 Default Sample Concentration: 0.00  
 Peak Type Decoding:  
 \* -> Time Reference Peak  
 m -> Manually re-integrated  
 00X -> Compound references ISTD X

Compound	Ret Time	Concentration	Peak Type
nicotin	20.70	211.9 ppm	

END OF REPORT

Fri Oct 18 18:17:22 2002

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ภาคผนวก จ. แสดงข้อมูลทั่วไปของปลาชนิดที่ทำการทดลอง

## กลุ่มควบคุม 1 เดือน

หมายเหตุ

\* ตับสีน้ำตาลซีด

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกาง	ครีบอก
1	1.42	-	4.7	2.05	0.024	1.170731707	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
2	1.65	-	5.2	3.01	0.076	2.524916944	สีดำเข้ม	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
3	1.58	-	4.9	3.14	0.038	1.210191083	สีดำเข้ม	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
4	1.53	-	4.4	2.97	0.071	2.390572391	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
5	1.38	-	3.9	2.22	0.021	0.945945946	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
6	1.47	-	4.8	2.27	0.027	1.189427313	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
7	1.65	-	5	3.54	0.066	1.86440678	สีดำเข้ม	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
8	1.43	-	4.7	2.16	0.009	0.416666667	สีดำจางๆ	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
9 *	1.45	-	4.8	2.32	0.061	2.629310345	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
10	1.39	-	3.8	2.18	0.024	1.100917431	สีดำเข้ม	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
11	2.2	-	6.8	7.6	0.13	1.710526316	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
12	1.34	-	3.5	2.1	0.041	1.952380952	สีดำจางๆ	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
13	1.62	-	4.9	3.33	0.051	1.531531532	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
14	1.47	-	4.6	2.39	0.042	1.757322176	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
15	1.51	-	4.2	2.86	0.054	1.888111888	สีดำจางๆ	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
16	1.34	-	3.3	2.42	0.041	1.694214876	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
17	1.42	-	4	2.35	0.044	1.872340426	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
18	1.64	-	5.1	2.16	0.051	2.361111111	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
19	2.22	-	7.1	7.7	0.084	1.090909091	สีดำเข้ม	สีแดงเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
20	2.27	-	7.2	7.9	0.074	0.936708861	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม

กลุ่มควบคุม 1 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักดับ(กรัม)	นน.ดับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
21	1.48	-	4.7	2.85	0.072	2.526315789	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
22	1.24	-	3.1	2.2	0.061	2.772727273	สีดำเข้ม	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
23	1.34	-	3.4	2.41	0.041	1.701244813	สีดำจางๆ	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
24	1.37	-	3.6	2.18	0.024	1.100917431	สีดำจางๆ	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
25	1.39	-	3.6	2.22	0.038	1.711711712	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
26	1.26	-	3.1	2.23	0.034	1.524663677	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
27	1.41	-	4.2	2.44	0.044	1.803278689	สีดำจางๆ	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
28	1.29	-	3.2	2.18	0.037	1.697247706	สีดำปานกลาง	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
29	1.35	-	3.4	2.51	0.034	1.354581673	สีดำเข้ม	สีส้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม
30	1.54	-	4.5	3.84	0.051	1.328125	สีดำเข้ม	สีส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
ค่าเฉลี่ย =	1.5216667		4.45666667	3.057666667	0.048833333	1.658635253				

กลุ่มควบคุม 2 เดือน

หมายเหตุ

\* ตับสีน้ำตาลซีด

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
1	1.75	-	5.3	3.05	0.058	1.901639344	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
2	1.93	-	6.6	4.82	0.076	1.576763485	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
3 *	1.85	-	6.5	4.02	0.097	2.412935323	สีดำจางๆ	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
4	1.84	-	6.2	3.84	0.068	1.770833333	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
5	2.01	-	7.1	6.74	0.105	1.557863501	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
6	2.05	-	7.4	6.79	0.133	1.958762887	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
7	2.25	-	7.9	8.47	0.147	1.73553719	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
8 *	2.43	-	8.8	9.99	0.202	2.022022022	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
9	2.08	-	7.4	8.23	0.129	1.567436209	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
10	2.25	-	8.4	8.86	0.158	1.783295711	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
11	1.88	-	6.82	5.02	0.088	1.752988048	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
12	1.78	-	6.52	4.11	0.092	2.238442822	สีดำจางๆ	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
13	1.98	-	6.51	4.1	0.088	2.146341463	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
14	1.77	-	5.84	3.84	0.064	1.666666667	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
15	1.64	-	5.61	3.8	0.035	0.921052632	สีดำจางๆ	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
16 *	2.04	-	7.13	6.8	0.07	1.029411765	สีดำปนเขียว	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
17	1.62	-	6.33	4.09	0.068	1.662591687	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
18	1.85	-	5.41	4.1	0.091	2.219512195	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
19	1.77	-	4.95	2.47	0.056	2.267206478	สีดำจางๆ	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
20	1.82	-	6.45	4.05	0.049	1.209876543	สีดำเข้มปนเขียว	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม

กลุ่มควบคุม 2 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
21	2.17	-	7.51	7.81	0.084	1.075544174	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
22	2.04	-	7.14	7.03	0.088	1.251778094	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
23	2.06	-	7.98	8.02	0.091	1.134663342	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
24	1.95	-	6.32	3.88	0.071	1.829896907	สีดำจางๆ	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
25	1.85	-	7.06	6.7	0.068	1.014925373	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
26	1.64	-	5.58	4.01	0.074	1.845386534	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
27	2.04	-	7.34	7.44	0.077	1.034946237	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
28	1.99	-	6.51	6.29	0.084	1.3354531	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
29	2.04	-	7.4	7.53	0.061	0.810092961	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
30	1.47	-	4.98	2.65	0.025	0.943396226	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
ค่าเฉลี่ย =	1.928		6.6996667	5.618333333	0.086566667	1.589242075				

กลุ่มควบคุม 3 เดือน

หมายเหตุ

\* ตับสีน้ำตาลซีด

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	น.น.ตับ/น.น.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกวาง	ครีบกอก
1	2.21	-	7.1	12.3	0.221	1.796747967	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
2	2.31	-	7.6	13.68	0.242	1.769005848	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
3	1.6	-	5.6	6.8	0.103	1.514705882	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
4	1.48	-	5.5	7.91	0.176	2.225031606	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
5 *	1.33	-	6.8	10.02	0.264	2.634730539	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
6 *	1.71	-	5.8	7.85	0.192	2.445859873	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
7	1.81	-	5.7	6.54	0.092	1.406727829	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
8	1.98	-	6.2	9.88	0.156	1.578947368	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
9	1.75	-	5.4	9.5	0.167	1.757894737	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
10	1.74	-	5.4	5.62	0.123	2.1886121	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
11	2.01	-	6.4	8.88	0.172	1.936936937	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
12	1.52	-	4.8	6.31	0.102	1.616481775	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
13	1.68	-	5.3	6.01	0.081	1.347753744	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
14	1.68	-	5.4	5.12	0.051	0.99609375	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
15 *	1.71	-	5.6	6.99	0.173	2.474964235	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
16	2.04	-	6.4	7.98	0.154	1.929824561	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
17	2.06	-	6.6	7.67	0.146	1.903520209	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
18	2.02	-	6.5	6.7	0.109	1.626865672	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
19	1.74	-	5.8	7.27	0.125	1.719394773	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
20	1.74	-	5.9	9.07	0.211	2.326350606	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม



กลุ่มควบคุม 3 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
21	1.69	-	5.3	13.05	0.138	1.057471264	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
22	1.39	-	3.8	9.97	0.071	0.712136409	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
23	2.07	-	6.7	9.75	0.094	0.964102564	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
24	1.71	-	5.7	7.83	0.168	2.14559387	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
25	1.65	-	6.2	8.56	0.067	0.78271028	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
26	1.74	-	5.9	8.21	0.12	1.461632156	สีดำเข้มปนเขียว	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
27	1.87	-	6.3	6.67	0.072	1.07946027	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
28	2.13	-	7.3	6.96	0.045	0.646551724	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
29	1.71	-	5.8	5.94	0.035	0.589225589	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
30	2	-	6.4	6.84	0.073	1.067251462	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
ค่าเฉลี่ย =	1.80266667		5.97333333	8.196	0.131433333	1.590086187				

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## กลุ่มควบคุม 4 เดือน

หมายเหตุ

\* ตับสีน้ำตาลซีด

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกาง	ครีบอก
1	2.12	1.32	8.9	13.08	0.215	1.643730887	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
2 *	2.11	1.13	7.2	6.3	0.168	2.666666667	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออกที่โคน	สีแดง เลือดออกที่โคนครีบอก
3 *	1.85	1.14	6.3	4.4	0.119	2.704545455	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออกที่โคน	สีส้ม
4	2.02	1.17	7.8	8.9	0.14	1.573033708	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม
5 *	2.14	1.15	7.4	6.99	0.158	2.26037196	สีดำจางๆ	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
6 *	2.01	1.2	7.8	9.15	0.205	2.240437158	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดง	สีส้ม
7	2.01	1.25	7.9	9.73	0.139	1.428571429	สีดำจางๆ	สีแดง	สีแดง	สีแดง
8	1.99	0.91	5.9	3.8	0.055	1.447368421	สีดำจางๆ	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
9	2.22	0.92	6.7	6.74	0.088	1.305637982	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
10	2.14	1.24	8.5	12.66	0.251	1.982622433	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
11	1.86	1.2	7.9	8.98	0.184	2.048997773	สีดำจางๆ	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
12	1.85	1.02	6.1	4.52	0.066	1.460176991	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
13 *	1.78	0.95	6.5	4.67	0.103	2.205567452	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
14 *	2.12	0.94	7.2	6.17	0.201	3.257698541	สีดำเข้ม	สีแดง	สีแดง	สีแดง
15	2.05	0.92	6.4	5.32	0.102	1.917293233	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีแดง	สีแดง
16	2.41	1.15	8.3	10.02	0.192	1.916167665	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีแดง	สีแดง
17	1.95	0.94	6.6	5.52	0.071	1.286231884	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
18	1.98	0.92	5.8	3.07	0.072	2.345276873	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
19	1.85	0.93	5.9	5.44	0.105	1.930147059	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
20	1.76	0.96	5.8	5.29	0.103	1.947069943	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีส้ม	สีแดง

กลุ่มควบคุม 4 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
21	2.28	1.08	7.7	5.45	0.089	1.633027523	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
22	1.74	0.94	6.6	5.46	0.114	2.087912088	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
23	1.89	0.94	6.1	5.41	0.042	0.776340111	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
24	1.82	0.96	6.3	5.88	0.121	2.057823129	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
25	1.56	0.83	5.6	4.24	0.073	1.721698113	สีดำจางๆ	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
26	2.12	1.15	7.1	7.26	0.104	1.432506887	สีดำจางๆ	สีแดง	สีแดง	สีแดง
27	2.08	1.17	5.9	9.02	0.157	1.740576497	สีดำจางๆ	สีแดง	สีแดง	สีแดง
28	1.75	0.92	6.5	7.64	0.087	1.138743455	สีดำจางๆ	สีแดง	สีแดง	สีแดง
29	1.69	0.91	5.3	7.51	0.131	1.744340879	สีดำจางๆ	สีแดง	สีแดง	สีแดง
30	1.75	0.9	5.9	3.24	0.057	1.759259259	สีดำจางๆ	สีแดง	สีส้ม	สีแดง
ค่าเฉลี่ย =	1.9633333		6.7966667	6.72866667	0.123733333	1.855328048				

กลุ่มควบคุม 5 เดือน

หมายเหตุ

\* ตับสีน้ำตาลซีด

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
1	2.95	1.92	8.9	12.93	0.345	2.668213457	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
2	2.89	1.51	8.4	11.28	0.308	2.730496454	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
3	2.71	1.32	8.5	10.94	0.238	2.175502742	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
4	2.68	1.32	8.3	10.12	0.244	2.411067194	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
5	1.91	1.82	6.4	14.43	0.151	1.046431046	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
6	2.95	1.42	9.5	13.86	0.344	2.481962482	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
7	2.62	1.34	8.3	10.01	0.23	2.297702298	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
8 *	2.56	1.32	8.4	9.4	0.146	1.553191489	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
9	1.92	1.22	6.8	4.53	0.169	3.730684327	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
10	1.77	0.87	6.6	3.27	0.109	3.333333333	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
11	2.71	1.32	5.9	12.01	0.416	3.463780183	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
12	2.71	1.37	8.8	10.49	0.166	1.582459485	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
13	2.12	1.07	8.2	5.55	0.105	1.891891892	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
14	1.82	1.05	6.6	4.98	0.148	2.97188755	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
15	1.74	0.81	5.9	12.05	0.023	0.190871369	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
16 *	2.34	1.71	4.5	19.55	0.636	3.253196931	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
17	2.72	1.31	10.3	11.52	0.141	1.223958333	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
18	2.69	1.34	8.6	11.73	0.346	2.94970162	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
19	2.44	1.21	8.8	7.75	0.225	2.903225806	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
20	2.02	1.06	7.9	8.45	0.193	2.284023669	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม

กลุ่มควบคุม 5 เดือน

กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	หนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	ตับ/นน.ตัว(กรัม)	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบท่าง	ครีบอก	สีแดงแกมส้ม
21	2.46	1.26	6.5	8.79	0.234	2.662116041	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
22	2.51	1.24	7.9	8.89	0.128	1.439820022	สีดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
23	2.26	1.22	8.4	8.61	0.183	2.12543554	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
24	2.31	1.23	7.6	7.56	0.253	3.346560847	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
25	1.92	1.04	7.3	5.21	0.102	1.957773512	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
26	3.15	1.71	6.5	16.9	0.174	1.029585799	สีดำเข้มปนเขียว	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
27	2.85	1.92	9.5	12.94	0.241	1.86244204	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
28	2.94	1.47	9.2	13.25	0.288	2.173584906	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
29	2.23	1.16	8.9	6.77	0.148	2.186115214	สีดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	สีแดงแกมส้ม
30	2.28	1.22	7.4	7.77	0.136	1.75032175	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม	
ค่าเฉลี่ย =	2.4393333		7.826667	10.05133333	0.219	2.255911244				



## กลุ่มควบคุม 6 เดือน

หมายเหตุ

\* ตั้บสีน้ำตาลซีด

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตั้บ(กรัม)	นน.ตั้บ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตั้ว	เหงือก	ครี๊บหาง	ครี๊บออก
1	3.52	1.67	11.2	24.49	0.464	1.894650878	สีด้าปนน้ำเงินเข้ม	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
2 *	2.91	1.43	10.2	20.52	0.464	2.261208577	สีด้าปนเขียว	สีแดงสด	แดงเข้ม มีเลือดที่โคน	เลือดออกที่โคนครี๊บ
3	3.33	1.56	10.9	21.13	0.406	1.921438713	สีด้าปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
4	2.84	1.51	9.6	18.41	0.325	1.765344921	สีด้าปานกลาง	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม
5	2.81	1.33	9	16.35	0.341	2.085626911	สีด้าปานกลาง	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม
6	2.98	1.51	11.1	23.46	0.267	1.138107417	สีด้าปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
7	3.41	1.64	11.1	21.97	0.178	0.810195721	สีด้าเข้ม	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
8	3.52	1.71	11.2	23.82	0.244	1.024349286	สีด้าปนเขียว	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
9	2.92	1.45	9.3	13.65	0.306	2.241758242	สีด้าปานกลาง	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม
10	2.61	1.32	9.1	11.71	0.241	2.058070026	สีด้าปานกลาง	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม
11	4.15	2.12	12.9	40.18	0.427	1.06271777	สีด้าปนเขียว	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
12	3.98	1.91	12.9	35.05	0.766	2.185449358	สีด้าปนเขียว	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
13	2.93	1.43	10.2	16.81	0.426	2.53420583	สีด้าปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
14	2.64	1.34	8.4	10.31	0.21	2.03685742	สีด้าปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
15 *	2.46	1.21	8.3	9.33	0.293	3.140407288	สีด้าเข้ม	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
16	3.93	1.96	12.5	33.12	0.348	1.050724638	สีด้าปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
17	3.73	1.93	12.1	26.41	0.447	1.692540704	สีด้าปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
18	3.36	1.59	12.8	22.86	0.54	2.362204724	สีด้าปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
19 *	3.22	1.63	10.5	18.01	0.639	3.548028873	สีด้าเข้ม	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
20 *	3.06	1.62	10.1	17.68	0.581	3.286199095	สีด้าเข้ม	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม

กลุ่มควบคุม 6 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกาง	ครีบอก
21 *	3.22	1.65	11.7	22.45	0.616	2.743875278	สีดำปานกลาง	สีแดงแกมส้ม	แดงเข้ม มีเลือดที่โคน	เลือดออกที่โคนครีบอก
22	3.31	1.59	10.8	20.38	0.289	1.418056919	สีดำปานกลาง	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม
23	3.21	1.64	10.5	32.19	0.351	1.090400746	สีดำปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
24	2.63	1.31	9.6	11.09	0.221	1.992786294	สีดำเข้ม	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
25	2.41	1.31	8.9	10.04	0.129	1.284860558	สีดำเข้ม	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
26	2.96	1.74	13.8	29.54	0.197	0.666892349	สีดำปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
27	3.11	1.63	12.2	24.34	0.296	1.216105177	สีดำปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
28	3.36	1.76	11.5	23.96	0.456	1.903171953	สีดำปนเขียว	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
29	2.74	1.41	10.1	15.96	0.302	1.892230576	สีดำเข้ม	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีแดงแกมส้ม
30	2.54	1.22	8.9	12.29	0.204	1.659886086	สีดำเข้ม	สีแดงสด	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม
ค่าเฉลี่ย =	3.1266667		10.71333	20.917	0.3658	1.865611744				

กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 1 เดือน

หมายเหตุ

\* ดัชนีแสดงเป็นจำๆ

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	น.ตบ/น.น.ตัว(กรัม)%F	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
1	1.47	-	4.7	2.01	0.02	0.995024876	สีดำปานกลาง	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีส้มปานกลาง	สีส้ม
2	1.55	-	5.2	3.05	0.087	2.852459016	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
3	1.64	-	5.3	2.85	0.049	1.719298246	สีดำจางๆ	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้มปานกลาง	สีส้ม
4	1.38	-	3.9	2.74	0.067	2.445255474	สีดำปานกลาง	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้มปานกลาง	สีส้ม
5	1.95	-	6.5	4.16	0.114	2.740384615	สีดำเข้ม	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
6	1.47	-	5	2.35	0.064	2.723404255	สีดำจางๆ	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
7	1.31	-	3.5	2.7	0.07	2.592592593	สีดำจางๆ	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	สีส้ม
8	1.59	-	4.9	3.76	0.096	2.553191489	สีดำจางๆ	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	สีส้ม
9	1.34	-	3.7	3.02	0.1	3.311258278	สีดำปานกลาง	สีแดงมีเลือดออก	สีส้มมีเลือดออกที่โคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
10	1.58	-	4.9	2.84	0.093	3.274647887	สีดำเข้ม	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
11	1.95	-	6.7	4.06	0.09	2.216748768	สีดำปานกลาง	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้มมีเลือดออกที่โคน	สีส้ม
12	2.07	-	6.4	4.56	0.12	2.631578947	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้มมีเลือดออกที่โคน	สีส้ม
13	2.09	-	6.6	5.23	0.15	2.868068834	สีดำปานกลาง	สีแดงมีเลือดออก	สีส้มมีเลือดออกที่โคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
14	1.98	-	6.5	4.26	0.14	3.286384977	สีดำจางๆ	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
15	1.87	-	5.9	3.25	0.092	2.830769231	สีดำจางๆ	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
16	2.11	-	7.6	8.04	0.193	2.400497512	สีดำเข้ม	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีส้มมีเลือดออกที่โคน	สีส้ม
17	2.16	-	7.5	8.5	0.196	2.305882353	สีดำปนเขียว	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีส้มมีเลือดออกที่โคน	สีส้ม
18	2.05	-	7.2	8.06	0.247	3.064516129	สีดำปนเขียว	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
19	2.15	-	6.8	6.85	0.233	3.401459854	สีดำปานกลาง	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
20	2.2	-	7	6.82	0.252	3.695014663	สีดำเข้ม	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก

กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 1 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	น.ตับ/น.น.ตัว(กรัม)%F	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
21	2.2	-	7	7.02	0.279	3.974358974	สีดำปนเขียว	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
22	2.11	-	7.3	7.07	0.087	1.230551627	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้มปานกลาง	สีส้ม
23	1.98	-	6.8	5.96	0.151	2.533557047	สีดำปานกลาง	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีส้มปานกลาง	สีส้ม
24	2.15	-	7.3	6.68	0.261	3.907185629	สีดำปานกลาง	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
25	2	-	6.3	5.92	0.201	3.39527027	สีดำเข้ม	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง เลือดออกโคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
26	1.89	-	6.7	5.32	0.109	2.04887218	สีดำเข้ม	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีส้มปานกลาง	สีส้ม
27 *	1.83	-	6.5	5.32	0.16	3.007518797	สีดำปานกลาง	สีแดงมีเลือดออก	สีส้มมีเลือดออกที่โคน	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
28	1.64	-	6.2	3.95	0.077	1.949367089	สีดำเข้ม	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีส้มปานกลาง	สีส้ม
29	1.63	-	6.5	4.07	0.032	0.786240786	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้มปานกลาง	สีส้ม
30	1.69	-	6.1	3.71	0.079	2.129380054	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้มปานกลาง	สีส้ม
ค่าเฉลี่ย =	1.834333		6.083333	4.804333333	0.1303	2.629024682				

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
1	2.11	-	6.7	5.24	0.126	2.404580153	สีดำปานกลาง	สีแดงซีดมีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
2	2.01	-	6.6	4.98	0.084	1.686746988	สีดำเข้ม	สีแดงไม่มีเลือด	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
3	1.92	-	6.5	4.8	0.079	1.645833333	สีดำจางๆ	สีแดงไม่มีเลือด	สีแดง	สีแดง ไม่มีเลือดออก
4	2	-	6.4	4.85	0.086	1.773195876	สีดำปานกลาง	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
5	1.83	-	5.6	4.55	0.065	1.428571429	สีดำเข้ม	สีแดงไม่มีเลือด	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
6	1.89	-	5.8	4.81	0.078	1.621621622	สีดำเข้ม	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีแดง	สีแดง ไม่มีเลือดออก
7	1.85	-	5.7	3.21	0.049	1.526479751	สีดำปานกลาง	สีแดงไม่มีเลือด	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
8 *	1.81	-	4.8	2.94	0.112	3.80952381	สีดำจางๆ	สีแดงมีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
9	1.84	-	5.4	4.38	0.042	0.95890411	สีดำปานกลาง	สีแดงไม่มีเลือด	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
10	1.89	-	5.4	4.56	0.067	1.469298246	สีดำเข้ม	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
11	1.62	-	6.4	6.18	0.13	2.103559871	สีดำปานกลาง	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีแดง	สีแดง ไม่มีเลือดออก
12	1.78	-	6.6	6.31	0.148	2.34548336	สีดำจางๆ	สีแดงซีดมีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
13	1.82	-	6.5	6.01	0.124	2.063227953	สีดำเข้ม	สีแดงไม่มีเลือด	สีแดง	สีแดง ไม่มีเลือดออก
14	1.77	-	5.9	5.12	0.117	2.28515625	สีดำปานกลาง	สีแดงซีดมีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
15	1.64	-	5.6	4.13	0.104	2.518159806	สีดำจางๆ	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
16 *	2.04	-	7.2	7.98	0.241	3.020050125	สีดำปนเขียว	สีแดงมีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
17	2.13	-	7.5	7.67	0.148	1.929595828	สีดำเข้ม	สีแดงซีดมีเลือดออก	สีแดง	สีแดง ไม่มีเลือดออก
18	1.98	-	6.5	6.7	0.153	2.28358209	สีดำเข้ม	สีแดงมีเลือดออก	สีส้ม	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
19	2.11	-	7.4	7.27	0.203	2.792297111	สีดำจางๆ	สีแดงไม่มีเลือด	สีแดง	สีแดง ไม่มีเลือดออก
20	2.27	-	8.1	9.07	0.194	2.138919515	สีดำเข้มปนเขียว	สีแดงมีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก



กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 2 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
21	2.48	-	9.3	13.05	0.259	1.98467433	สีดำเข้มปนเขียว	สีแดงไม่มีเลือด	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
22	2.43	-	8.6	9.97	0.178	1.785356068	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
23	2.24	-	7.8	9.75	0.274	2.81025641	สีดำจางๆ	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีแดง	สีแดง ไม่มีเลือดออก
24	2.15	-	7.5	7.83	0.288	3.67816092	สีดำจางๆ	สีแดงมีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
25	2.25	-	8.2	8.56	0.259	3.025700935	สีดำปานกลาง	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
26	2.06	-	7.9	8.21	0.171	2.082825822	สีดำเข้มปนเขียว	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีแดง	สีแดง ไม่มีเลือดออก
27	2.14	-	7.3	6.67	0.21	3.148425787	สีดำจางๆ	สีแดงมีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
28	2.06	-	7.3	6.96	0.163	2.341954023	สีดำปานกลาง	สีแดงมีเลือดออก	สีแดง	สีแดง ไม่มีเลือดออก
29	2.04	-	7.4	6.91	0.127	1.837916064	สีดำเข้ม	ซีด ไม่มีเลือดออก	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
30	1.88	-	7.4	6.84	0.192	2.807017544	สีดำปานกลาง	สีแดงมีเลือดออก	สีส้ม	สีส้ม เลือดออกที่โคนครีบอก
ค่าเฉลี่ย	2.001333		6.8433333	6.517	0.149033333	2.243569171				

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	น.ตบ/น.ตว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกาง	ครีบก
1	1.7	-	5.5	2.88	0.12	4.166666667	สีอ่อน	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม มีเลือดออก
2	2	-	6.4	4.46	0.24	5.381165919	สีดำเข้ม	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม	สีส้ม มีเลือดออก
3	2.1	-	6.6	4.24	0.14	3.301886792	สีดำปานกลาง	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม มีเลือดออก
4	2.2	-	6.7	4.84	0.36	7.438016529	สีดำเข้ม	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
5	1.9	-	6.5	4.16	0.14	3.365384615	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
6	1.7	-	5.8	2.72	0.09	3.308823529	สีอ่อน	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม มีเลือดออก
7	1.9	-	5.9	3.08	0.07	2.272727273	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม มีเลือดออก
8	1.6	-	5.6	2.4	0.04	1.666666667	สีอ่อน	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
9 *	1.5	-	4.8	2.04	0.12	5.882352941	สีอ่อน	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก
10	1.6	-	5.2	2.13	0.07	3.286384977	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม มีเลือดออก
11	2.1	-	6.5	5.13	0.23	4.483430799	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
12	2.1	-	6.7	4.51	0.26	5.764966741	สีดำเข้ม	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
13	1.9	-	6.7	4.06	0.09	2.216748768	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
14	1.7	-	5.8	3.05	0.12	3.93442623	สีอ่อน	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก
15	1.8	-	5.7	2.85	0.1	3.50877193	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก
16	2	-	6.4	4.52	0.16	3.539823009	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
17	1.8	-	5.9	3.25	0.11	3.384615385	สีอ่อน	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
18	1.8	-	5.8	2.85	0.05	1.754385965	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
19	1.5	-	5.1	2.11	0.05	2.369668246	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
20	2.6	-	7.8	8.78	0.28	3.189066059	สีดำแกมเขียว	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก

กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 3 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
21	2.2	-	6.5	5.65	0.2	3.539823009	สีดำเข้ม	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก
22	2	-	6.1	4.41	0.14	3.174603175	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก
23	2	-	6.1	4.18	0.13	3.110047847	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
24	1.8	-	5.9	3.79	0.11	2.90237467	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
25	1.8	-	5.5	3.33	0.09	2.702702703	สีอ่อน	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
26 *	1.8	-	5.9	3.57	0.16	4.481792717	สีดำเข้ม	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก
27	1.7	-	5.6	3.3	0.09	2.727272727	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
28	1.6	-	5.2	2.45	0.08	3.265306122	สีดำเข้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก
29	1.7	-	5.2	2.7	0.11	4.074074074	สีอ่อน	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก
30 *	1.7	-	5.2	2.59	0.16	6.177606178	สีอ่อน	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก
ค่าเฉลี่ย =	1.86		5.9533333	3.667666667	0.137	3.679052742				

กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 4 เดือน หมายเหตุ

\* เนื้อตับเปื่อยยุ่ยสีน้ำตาลซีดมาก

\*\* ตับสีแดงเข้ม

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	น.ตับ/น.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกาง	ครีบกอก
1	2.16	1.16	6.9	5.7	0.201	3.526315789	ดำแกมเขียว	สีแดงเข้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
2	2.06	1.11	6.5	5.31	0.179	3.370998117	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
3	2.11	1.06	7.1	5.41	0.104	1.922365989	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
4	2.09	1.19	6.7	5.42	0.143	2.638376384	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
5	1.83	0.92	6.4	4.04	0.158	3.910891089	ดำจางๆ	สีส้ม	สีส้มอ่อน	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
6 *	2.05	1.5	8.2	8.94	0.36	4.026845638	ดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
7	2.11	1.08	8.3	9.78	0.22	2.249488753	ดำแกมเขียว	สีแดงเข้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก
8	2.01	1.02	6.6	5.65	0.214	3.787610619	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
9 *	1.53	0.82	5.5	4.13	0.25	6.053268765	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
10	1.87	1	6.5	3.42	0.028	0.81871345	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
11	2.6	1.33	8.5	11.5	0.313	2.72173913	ดำเข้มแกมเขียว	สีแดงเข้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
12	2.39	1.22	7.4	7.74	0.256	3.30749354	ดำแกมเขียว	สีแดงแกมส้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก
13	2.12	1.11	7.2	6.15	0.223	3.62601626	ดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
14	1.95	1.01	6.7	5.24	0.125	2.385496183	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้มอ่อน	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
15	1.89	0.84	6.3	4.11	0.075	1.824817518	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้มอ่อน	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
16	2.48	1.32	7.9	8.8	0.163	1.852272727	ดำแกมเขียว	สีแดงเข้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
17	2.17	1.05	7.9	7.76	0.272	3.505154639	ดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
18	1.91	1.02	6.6	4.31	0.068	1.577726218	ดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีแดง	สีส้ม มีเลือดออก
19	1.72	0.88	6.5	4.53	0.105	2.317880795	ดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
20	1.77	0.87	5.9	3.22	0.075	2.329192547	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้มอ่อน	สีส้ม ไม่มีเลือดออก

กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 4 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกาง	ครีบอก
21	2.28	1.22	7	6.84	0.134	1.959064327	ดำแกมเขียว	สีแดงเข้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
22	2.17	1.17	7	6.53	0.258	3.950995406	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้มอ่อน	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
23 **	2.18	1.15	6.7	6.04	0.253	4.188741722	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้มอ่อน	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
24 **	2.11	1.06	6.5	5.9	0.249	4.220338983	ดำเข้ม	สีแดงเข้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
25	1.87	0.96	6.3	4.44	0.104	2.342342342	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้มอ่อน	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
26 **	1.58	1.32	8.4	11.17	0.406	3.6347359	ดำแกมเขียว	สีแดงเข้ม	สีส้ม มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
27 **	2.32	1.13	6.9	7.09	0.265	3.737658674	ดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีส้มอ่อน	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
28	2.04	1.12	6.5	5.58	0.159	2.849462366	ดำเข้ม	สีแดงแกมส้ม	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
29	1.86	1.07	6.3	4.35	0.128	2.942528736	ดำเข้ม	สีแดงเข้ม	สีแดง	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
30	1.81	0.94	5.6	3.76	0.093	2.473404255	ดำจางๆ	สีแดงแกมส้ม	สีส้มอ่อน	สีส้ม ไม่มีเลือดออก
ค่าเฉลี่ย	2.034667		6.893333333	6.095333333	0.186033333	3.001731229				



id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกาง	ครีบกอก
1	3.54	1.77	4.3	21.03	0.513	2.439372325	สีดำแกมเขียว	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
2	3.09	1.55	9.5	16	0.503	3.14375	สีดำเข้มมาก	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
3	2.72	1.36	8.4	10.78	0.274	2.54174397	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
4	2.34	1.32	7.9	8.52	0.231	2.711267606	สีดำปานกลาง	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
5	2.36	1.32	7.5	8.51	0.24	2.820211516	สีดำปานกลาง	เหงือกขีด	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
6	2.84	1.61	9.4	14.54	0.42	2.888583219	สีดำแกมเขียว	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก
7	2.74	1.43	8.5	11.31	0.312	2.75862069	สีดำเข้มมาก	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
8 **	2.42	1.21	7.8	8.07	0.282	3.494423792	สีดำปานกลาง	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม
9	2.34	1.31	7.5	7.94	0.176	2.216624685	สีดำเข้มมาก	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
10	2.41	1.22	7.4	7.12	0.194	2.724719101	สีดำปานกลาง	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
11	2.95	1.92	9	13.88	0.348	2.507204611	สีดำเข้มมาก	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
12	2.73	1.34	8.3	11.06	0.321	2.902350814	สีดำแกมเขียว	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง
13	2.73	1.52	8.9	9.65	0.194	2.010362694	สีดำเข้มมาก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
14	2.33	1.21	7.3	7.01	0.187	2.667617689	สีดำปานกลาง	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
15	2.34	1.27	7.3	7.16	0.199	2.779329609	สีดำปานกลาง	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง
16	3.14	1.55	9	15.18	0.332	2.187088274	สีดำแกมเขียว	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
17	3.51	2.76	10	20.9	0.514	2.459330144	สีดำแกมเขียว	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง
18	2.61	1.24	7.5	8.41	0.19	2.25921522	สีดำเข้มมาก	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
19	2.71	1.15	7.5	6.88	0.214	3.110465116	สีดำปานกลาง	เหงือกขีด	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
20	2.28	1.21	6.8	6.2	0.19	3.064516129	สีดำปานกลาง	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม

กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 5 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
21	3.16	1.55	9.8	16.77	0.461	2.74895647	สีดำแกมเขียว	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง
22 *	3.13	1.54	8.9	15.74	0.698	4.434561626	สีดำแกมเขียว	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
23	2.84	1.46	8.9	12.76	0.27	2.115987461	สีดำเข้มมาก	เหงือกซีด	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
24 *	2.56	1.33	8.2	10.25	0.447	4.36097561	สีดำเข้มมาก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
25 *	2.56	1.35	7.8	9.6	0.44	4.583333333	สีดำปานกลาง	เหงือกซีด	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
26	4.37	2.16	12.5	36.54	1.057	2.892720307	สีดำแกมเขียว	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง
27	3.81	1.83	11.5	27.82	0.822	2.954708843	สีดำปนเขียว	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีแดง
28	3.81	1.86	11	26.92	0.737	2.737741456	สีดำเข้มมาก	เหงือกซีด	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
29	3.51	1.66	9.9	20.42	0.548	2.683643487	สีดำเข้มมาก	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
30	3.76	1.81	10.1	22.41	0.751	3.351182508	สีดำแกมเขียว	สีแดง มีเลือดออก	สีแดง มีเลือดออก	สีส้ม มีเลือดออก
ค่าเฉลี่ย	2.921333		8.613333333	13.97933333	0.402166667	2.885020277				

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบท่าง	ครีบอก
1	3.03	1.61	9.2	13.893	0.43	3.095083855	สีดำเข้มมาก	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
2	2.75	1.36	9.1	12.66	0.43	3.396524487	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
3	2.57	1.45	8.9	11.727	0.283	2.413234416	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
4	2.65	1.36	8.5	10.259	0.396	3.860025344	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
5	2.51	1.31	8.1	8.782	0.223	2.539284901	สีดำปานกลาง	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
6	3.33	1.63	10.6	21.725	0.595	2.738780207	สีดำแกมเขียว	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
7	3.14	1.64	9.9	17.289	0.568	3.28532593	สีดำเข้มมาก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
8	2.65	1.33	8.5	11.009	0.383	3.47897175	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
9	2.78	1.43	8.3	10.992	0.358	3.256914119	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
10	2.61	1.32	8.4	10.022	0.329	3.282777889	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
11	3.21	1.52	10.2	17.31	0.76	4.390525708	สีดำเข้มมาก	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
12	3.11	1.46	9.5	15.476	0.461	2.978805893	สีดำเข้มมาก	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
13	2.84	1.43	8.9	12.315	0.299	2.427933415	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
14	2.67	1.36	8.3	10.655	0.394	3.697794463	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
15	2.53	1.39	8.1	10.114	0.401	3.964801266	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
16	3.62	1.86	11.5	25.016	0.804	3.213943076	สีดำแกมเขียวเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
17 *	3.45	1.52	8.5	14.333	0.363	2.532617038	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
18	2.73	1.41	8.9	12.274	0.236	1.922763565	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
19 *	2.52	1.36	8.5	9.59	0.385	4.01459854	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
20	2.41	1.32	7.8	8.603	0.247	2.87109148	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม

กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 6 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%F	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกาง	ครีบอก
21	3.42	1.71	10.8	21.923	0.422	1.924919035	สีดำแกมเขียวเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
22	3.02	1.51	9	13.943	0.407	2.919027469	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
23	3.21	1.65	9.1	15.323	0.707	4.613978986	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
24	2.65	1.37	8.4	10.867	0.386	3.552038281	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
25	2.65	1.36	7.6	8.897	0.324	3.64167697	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
26	3.61	1.74	10.9	26.22	1.058	4.035087719	สีดำแกมเขียวเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
27	3.22	1.61	9	15.471	0.441	2.850494474	สีดำเข้มมาก	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
28	3.17	1.71	9.1	16.121	0.468	2.903045717	สีดำเข้มมาก	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
29	3.02	1.64	8.5	12.932	0.415	3.209093721	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
30	3.89	1.42	8.1	10.831	0.523	4.828732342	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
ค่าเฉลี่ย	= 2.965667		9.0066667	13.88573333	0.449866667	3.261329735				

กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 7 เดือน      หมายเหตุ      \* เนื้อดัมมีสีคล้ำๆ

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักดับ(กรัม)	น.ดับ/น.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกาง	ครีบกอก
1	3.74	1.72	10.9	24.43	0.644	2.636103152	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบก
2	3.74	1.87	10.9	26.37	0.796	3.018581722	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบก
3	3.21	1.65	10.2	19.69	0.446	2.265109192	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
4	3.05	1.55	10.1	16.15	0.332	2.055727554	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
5	3	1.54	9.9	14.71	0.283	1.923861319	สีดำจางๆ	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
6	3.62	1.8	10.4	22.54	0.444	1.969831411	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
7	3.27	1.62	10	17.93	0.343	1.91299498	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
8	3.22	1.61	9.8	17.86	0.52	2.911534155	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
9	3.24	1.59	9.2	15.8	0.328	2.075949367	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
10	3.02	1.51	9.8	15.83	0.339	2.141503474	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
11	3.68	1.84	11	26.66	1.158	4.343585896	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบก
12	3.41	1.63	10.2	19.71	0.561	2.846270928	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
13	3.15	1.55	9.3	15.4	0.464	3.012987013	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
14	3	1.56	8.7	13.31	0.395	2.967693464	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
15	2.58	1.41	8.6	10.75	0.231	2.148837209	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
16 *	3.24	1.75	10.5	21.17	0.696	3.287671233	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
17	3.55	1.82	11.5	25.04	0.564	2.252396166	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
18	3.01	1.46	10	16.83	0.56	3.327391563	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
19	3.25	1.68	10	18.57	0.485	2.611739365	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบก
20	3.12	1.65	9.9	18.52	0.515	2.780777538	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม



กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 7 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	น.ตับ/น.ตัว(กรัม)%F	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
21	3.76	1.94	13	32.78	0.935	2.852348993	สีดำแกมเขียว	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
22	3.25	1.64	10.7	19.97	0.701	3.510265398	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
23	3.06	1.66	10.4	18.88	0.449	2.378177966	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
24	2.91	1.59	10.2	17.08	0.499	2.921545667	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
25	3.43	1.49	9.8	15.22	0.41	2.693823916	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
26	3.2	1.76	11	23.8	0.635	2.668067227	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	มีเลือดออกที่โคนครีบอก
27	2.97	1.62	10.3	17.88	0.365	2.041387025	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
28	3.06	1.7	10	16.46	0.374	2.27217497	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
29	3.04	1.56	9.4	15.71	0.337	2.14513049	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
30	3.01	1.52	9.5	15.84	0.363	2.291666667	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
ค่าเฉลี่ย	3.226333		10.17333	19.02966667	0.505733333	2.608837834				

กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 8 เดือน

หมายเหตุ

\* เนื้อดำมีสีแดงเข้ม คล้ำเลือด, \*\* เนื้อดำเขียวคล้ำ, \*\*\* เนื้อดำสีแดงเข้มมีตุ่มใสๆ

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	น.ตบ/น.ตว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบกาง	ครีบกอก
1 *	3.95	2.01	12.8	39.01	0.962	2.46603435	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
2 *	3.52	1.93	11.7	28.62	0.569	1.988120196	สีดำแกมเขียว	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
3	3.53	1.88	11.8	29.91	0.706	2.360414577	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
4	3.27	1.74	11.1	22.86	0.432	1.88976378	สีดำแกมเขียว	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
5	3.07	1.65	10.2	19.32	0.516	2.670807453	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
6 **	3.56	1.86	12.2	30.05	1.073	3.570715474	สีดำเข้มมาก	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
7	3.41	1.88	12.1	26.68	0.564	2.113943028	สีดำเข้มมาก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
8	3.31	1.85	11.5	22.88	0.418	1.826923077	สีดำปานกลาง	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
9	3.11	1.65	11.1	20.22	0.231	1.142433234	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
10	3.11	1.59	10.9	19.69	0.509	2.585068563	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
11	3.62	2.04	13.4	37.78	0.974	2.578083642	สีดำแกมเขียว	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
12	3.37	1.84	12.1	28.79	0.484	1.681139284	สีดำเข้มมาก	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
13	3.28	1.87	11.8	25.96	0.802	3.089368259	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
14	3.49	1.82	11.3	24.47	0.526	2.149570903	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
15	2.95	1.65	10.3	17.82	0.272	1.52637486	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
16	3.86	2.14	13.4	41.87	0.961	2.295199427	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
17	3.64	1.94	12.4	31.38	0.727	2.316762269	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
18	3.31	1.75	11.3	26.2	0.583	2.22519084	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
19	3.25	1.63	10.5	21.07	0.647	3.070716659	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	เลือดออกที่โคนครีบก
20	3.2	1.68	10.4	20.34	0.479	2.354965585	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม

กลุ่มทดสอบสารนิโคตินเป็นเวลานาน 8 เดือน (ต่อ)

id	กว้าง (ซ.ม.)	หนา (ซ.ม.)	ยาว (ซ.ม.)	น้ำหนักตัว(กรัม)	น้ำหนักตับ(กรัม)	นน.ตับ/นน.ตัว(กรัม)%R	สีของลำตัว	เหงือก	ครีบทาง	ครีบอก
21 ***	3.73	2.16	12.8	33.25	1.846	5.551879699	สีดำแกมเขียวเข้ม	มีเลือดออกที่โคนครีบอก	มีเลือดออกที่โคนหาง	เลือดออกที่โคนครีบอก
22	3.24	1.72	11.8	24.62	0.558	2.266450041	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีแดง
23	3.47	1.76	12.1	28.79	0.618	2.146578673	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
24	3.36	1.81	11.7	25.13	0.529	2.105053721	สีดำเข้ม	สีแดง ไม่มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
25	3.43	1.91	11.2	25.17	0.738	2.932061979	สีดำเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีส้ม
26	3.84	2.04	13.5	36.79	0.889	2.416417505	สีดำแกมเขียวเข้ม	แดงเข้ม มีเลือดออก	สีส้ม ไม่มีเลือดออก	สีส้ม
27 ***	3.95	1.79	12.4	31.68	1.783	5.628156566	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	เลือดออกที่โคนครีบอก
28	3.95	1.74	11.7	29.55	1.059	3.583756345	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
29	3.65	1.67	11.5	23.37	0.818	3.50021395	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	สีแดง
30	3.62	1.71	11.8	27.33	0.786	2.875960483	สีดำปานกลาง	แดงเข้ม มีเลือดออก	มีเลือดออกที่โคนหาง	เลือดออกที่โคนครีบอก
ค่าเฉลี่ย =	3.468333		11.76	27.35333333	0.7353	2.630270814				

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวดารารพร รินทะรักษ์ เกิดเมื่อวันที่ 18 กันยายน พ. ศ. 2518 ที่ อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปีการศึกษา 2541 โดยรับทุนเป็นนักศึกษาในโครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท. ) จากสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ( สสวท. ) จากนั้นเข้ารับการศึกษาต่อ ระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ในบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อภาคปลาย ปีการศึกษา 2541



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย