บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

สารเคมีต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อมไม่ว่าจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ หรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้นมา อาจเป็นพิษหรือเป็นอันตรายต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในระบบนิเวศได้ในระดับหนึ่ง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการประเมินความเป็นพิษของสารเคมีต่างๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการตัดสินใจในการนำสารเคมีนั้นมาใช้ประโยชน์ รวมทั้งการดำเนินกิจกรรมต่างๆ ที่อาจทำให้สารเคมีนั้นแพร่กระจายเข้าสู่สิ่งแวดล้อม

การประเมินความเป็นพิษทำได้โดยการทดสอบสารพิษนั้นกับสัตว์ทดลอง โดยให้สัตว์ทดลองรับสารพิษปริมาณต่าง ๆ กัน แล้วตรวจวัดอาการที่เกิดขึ้นกับสัตว์ทดลอง สามารถแบ่งการทดสอบออกได้เป็น

1. การทดสอบสารพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity test) เป็นการทดสอบเพื่อตรวจวัดผลหรืออาการที่สัตว์ทดลองตอบสนองต่อสารพิษ ภายหลังจากได้รับสารพิษปริมาณมากเพียงครั้งเดียว หรือหลายครั้งในช่วงเวลาสั้น ๆ ประมาณ 24-96 ชั่วโมง โดยทั่วไปมักแสดงค่าความเป็นพิษแบบเฉียบพลันด้วย สัญญลักษณ์ LC_{50} (Median Lethal Concentration) ซึ่งหมายถึงปริมาณหรือความเข้มข้นต่ำสุดของสารพิษ ที่ทำให้ประชากรสัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซนต์ สารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ มักต้องทำการทดสอบเพื่อหาค่าดังกล่าว ก่อนนำไปใช้หรือจำหน่าย

2. การทดสอบความเป็นพิษแบบก่อนเกิดอาการเรื้อรัง (Subchronic Toxicity Test) เป็นการทดสอบโดยให้สัตว์ทดลองได้รับสารพิษในปริมาณต่ำกว่าปริมาณที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย แต่ได้รับซ้ำ ๆ กันหลาย ๆ ครั้ง และต่อเนื่องกันแล้วตรวจผลต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น เช่น อัตราการตาย การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว การกินอาหาร การทดสอบนี้นอกจากจะทราบความเป็นพิษของสารพิษที่ปริมาณหรือความเข้มข้น ต่าง ๆ กันแล้ว ยังมีประโยชน์ต่อการจัดระดับและปริมาณ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความเข้มข้น สำหรับการทดสอบความเป็นพิษแบบเรื้อรังต่อไป

3. การทดสอบความเป็นพิษแบบเรื้อรัง (Chronic test) เป็นการทดสอบความเป็นพิษคล้าย ๆ กับ ข้อ 2. แต่เป็นการทดสอบในระยะเวลายาวนานกว่า การทดสอบแบบนี้ เป็นการทดสอบดูความเป็นพิษในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ความเป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogenicity) ความเป็นสารกลายพันธุ์ (Mutagenicity) ความเป็นสารก่อให้เกิดลูกวิรูป (Teratogenicity)

ผลที่ได้จากการทดสอบความเป็นพิษแบบต่าง ๆ ข้างต้น จะถูกนำมาเปรียบเทียบเพื่อประเมินอันตรายที่อาจเกิดขึ้นและกำหนดระดับความปลอดภัยของสารพิษนั้น โดยพิจารณาจากชนิดของสัตว์ทดลอง กลไกการออกฤทธิ์ของสารพิษ และควรพิจารณาถึงผลในการอยู่รอด การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ การอยู่อย่างสะดวกสบายรวมถึงผลิตผลทั้งหมด (Tarzwell, 1962) และสัตว์น้ำต้องสามารถเจริญเติบโตได้ดี มิใช่เพียงมีชีวิตอยู่รอดเท่านั้น (Doudoroff, 1957) ซึ่งโดยทั่วไปการประเมินค่าระดับที่ปลอดภัย (safe level) ของสารพิษจะพิจารณาจาก

การตายที่เกิดขึ้นน้อยมาก ของสัตว์น้ำที่รับสารพิษติดต่อกันเป็นเวลานาน

การสังเกตพฤติกรรมของสัตว์น้ำในแหล่งน้ำที่มีสารพิษเจือปนอยู่

การสังเกตสัตว์น้ำในห้องปฏิบัติการ ว่าไม่มีผลของพิษรองเฉียบพลัน (Sublethal) หรือพิษเรื้อรัง (Chronic effects) เกิดขึ้น

<u>การหาค่า LC_{50}</u>

วิธีการทางสถิติที่นิยมใช้ในการหาค่า LC_{50} คือวิธีโพรบิต (Probit Analysis) ตามวิธีการของ Finney (1974) โดยให้สิ่งมีชีวิตหรือสัตว์ทดลองจำนวนหนึ่ง ได้รับสารพิษหรือตัวกระตุ้น (stimuli) ชนิดใดชนิดหนึ่ง จะพบว่า จำนวนสิ่งมีชีวิตที่แสดงอาการหรือตอบสนอง (response) ต่อสารพิษจะแตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งเรียกว่า Biological variation โดยตัวที่อ่อนแอหรือว่องไวต่อการตอบสนอง (sensitivity) จะแสดงอาการก่อนเมื่อได้รับสารพิษ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ ส่วนตัวที่แข็งแรงหรือทนทานต่อสารพิษจะแสดงอาการเมื่อได้รับสารพิษที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นหรือปริมาณ (dose)

และการตอบสนองของสิ่งมีชีวิตนี้ จะมีลักษณะเป็นเส้นโค้งซิกมอยด์ (sigmoid curve) ซึ่งเรียกว่า Dose-response curve ดังรูปที่ 2.1

ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารพิษกับการตอบสนองของสิ่งมีชีวิตนี้ เมื่อนำมาแจกแจงความถี่ จะได้เป็นรูปโค้งระฆังคว่ำ (normal freguency distribution) ดังแสดงในรูปที่ 2.2 โดยกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ทางซ้ายสุดของเส้นโค้งนี้คือ พวกที่ตอบสนองได้ว่องไวที่สุดต่อสารพิษ และพวกที่อยู่ทางขวาสุด คือพวกที่ทนทานต่อสารพิษ

ประชากรของสิ่งมีชีวิตที่มีการแจกแจงความถี่แบบโค้งปกติ (normal frequency distribution นี้ มีค่า $\mu+1\sigma$ $\mu+2\sigma$ และ $\mu+3\sigma$ เท่ากับ 68.3 95.5 และ 97.7 เปอร์เซนต์ของประชากรทั้งหมดตามลำดับ เมื่อ μ คือค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นทั้งหมด และค่าσ คือส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐานของความเข้มข้น

เนื่องจากค่า LC_{50} จากโค้งซิกมอยด์ ตามรูปที่ 2.1 จำเป็นต้องมีค่า ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและเปอร์เซนต์การตอบสนองจำนวนมากจึงจะได้ค่าที่ถูกต้อง เพื่อแก้ปัญหานี้จึงต้องพยายามเปลี่ยนเส้นโค้งนี้ให้เป็นเส้นตรง ซึ่งทำได้โดยการเปลี่ยนค่าความน่าจะเป็นในการตอบสนองให้อยู่ในรูปของเทอม Normal Equivalent Deviation (N.E.D) โดยสมการนี้

$$Y' = \frac{(x-\mu)}{\sigma} \qquad \text{--------(1)}$$

ดังนั้นเมื่อ $x = \mu$ จะได้ $Y' = 0$

Y' = N.E.D ของค่า P ใด ๆ ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 เมื่อ $\mu = 0$ และ $\sigma = 1$

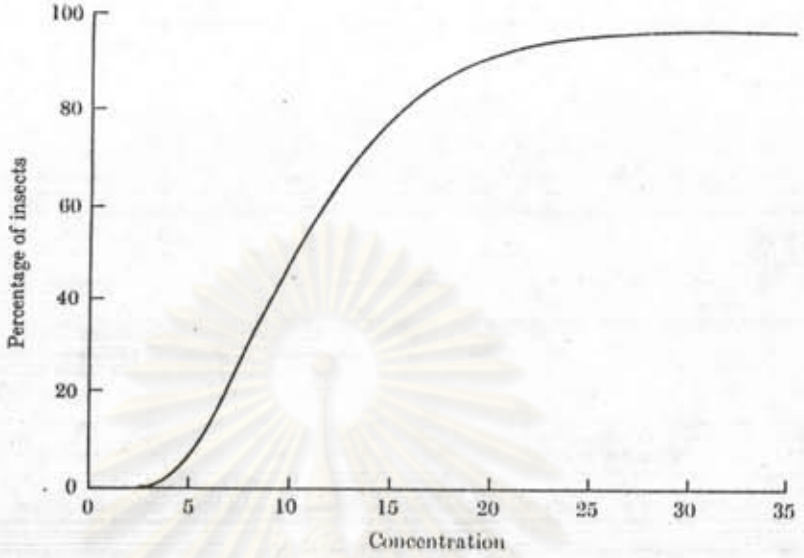
x = ค่า log ของความเข้มข้นใด ๆ

ถ้าให้ $b = \frac{1}{\sigma}$ และ $a = -\frac{\mu}{\sigma}$

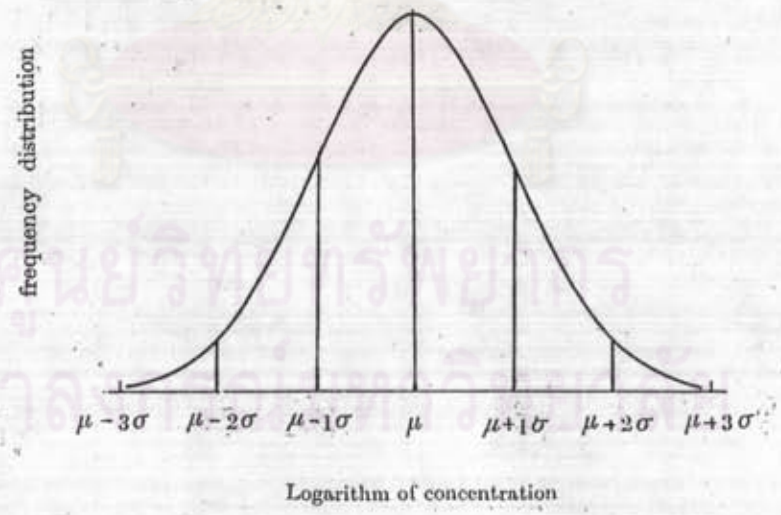
ดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างค่า N.E.D. กับค่าความเข้มข้นจะเป็นสมการเส้นตรงคือ

$$Y' = a' + bx \qquad \text{-------(2)}$$

จากสมการ (2) จะเห็นว่า Y' จะมีค่าอยู่ระหว่าง $-\infty$ ถึง $+\infty$ และจะมีค่าเป็นลบ เมื่อค่า $P<0.5$ ดังนั้นเพื่อความสะดวกในการหาค่าทางสถิติ จึงใช้ค่าโพรบิตแทนค่า N.E.D.



รูปที่ 2.1 ความเข้มข้นและเปอร์เซนต์การตอบสนองของแมลง (Finney, 1971)



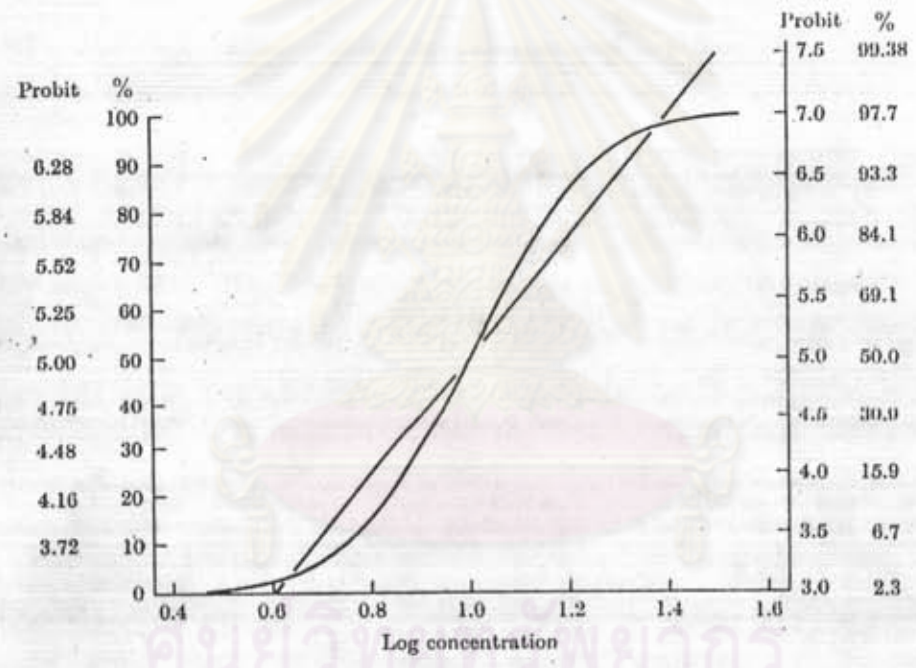
รูปที่ 2.2 ความเข้มข้นของสารพิษกับการตอบสนองของสิ่งมีชีวิต (Finney, 1971)

โดยให้ Probit (y) = 5 + Y′

หรือ $y = 5 + a + bx$ -------(3)

ถ้าให้ $a' = 5 + a$ ดังนั้น $y = a' + bx$ -------(4)

จะเห็นว่าสมการ (4) ยังคงเป็นสมการเส้นตรง ดังนั้นการหาค่า LC_{50} จึงหาได้จากกราฟเส้นตรง (Probit line) ระหว่างความเข้มข้นและค่าโพรบิต ดังแสดงในรูปที่ 2.3 โดยการเปลี่ยนค่าเปอร์เซนต์การตอบสนองเป็นค่าโพรบิตเสียก่อน โดยดูจากตารางสำเร็จ (Finney, 1971)



รูปที่ 2.3 กราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นและค่าโพรบิต (Finney, 1971)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การหาค่า LC_{50} ของสารมลพิษที่มีต่อสัตว์น้ำ

การหาค่า LC_{50} มักมีวัตถุประสงค์ เพื่อหาข้อมูลไปใช้ในการกำหนดมาตราฐานของน้ำทิ้งจากกิจกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรม เกษตรกรรม เหมืองแร่ เป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้ในการประเมินผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำในกรณีที่สารมลพิษเหล่านี้ปะปนอยู่ในแหล่งน้ำ รายละเอียดในการศึกษามีดังนี้ (ประสงค์ โรจน์เลิศจรรยา, 2531)

1. <u>สัตว์ทดลอง</u> ควรเลือกสัตว์ทดลองที่มีคุณสมบัติดังนี้

1.1 เป็นสัตว์ที่มีความว่องไวในการตอบสนอง หรือ แสดงอาการรวดเร็วและเด่นชัดเมื่อได้รับสารมลพิษ (sensitivity species)

1.2 มีการแพร่กระจายอยู่ทั่วไป และเป็นสัตว์ที่อาศัยอยู่ในท้องถิ่นนั้น ๆ

1.3 มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น เป็นอาหารของมนุษย์หรือสัตว์น้ำทั่วๆ ไป หรือมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศ

1.4 สามารถเลี้ยงหรือเพาะขยายพันธุ์ได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ

1.5 มีสุขภาพแข็งแรงปราศจากโรค หรือพาราสิต ที่ทำอันตรายต่อมันได้

1.6 มีอายุหรือขนาดเท่า ๆ กัน โดยทั่ว ๆ ไปขนาดไม่ควรแตกต่างกันเกิน 50 เปอร์เซนต์ (APHA, 1985)

2. <u>การนำพาสัตว์ทดลอง</u> ต้องระมัดระวังในการนำพาหรือขนส่งมิให้สัตว์ทดลองอ่อนแอหรือตาย โดยต้องพยายามจัดสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม เช่น ให้ออกซิเจน ควบคุมอุณหภูมิของน้ำ และจำนวนสัตว์ทดลองมิให้หนาแน่นเกินไป

3. <u>การนำมาเลี้ยงเพื่อให้เคยชินกับสภาพในห้องปฏิบัติการ</u> มีจุดมุ่งหมายคือ

3.1 เพื่อให้สัตว์ทดลอง มีโอกาสปรับตัวให้เคยชินกับสภาพแวดล้อมใหม่ เพราะการเปลี่ยนสภาพแวดล้อมในทันที มักกระตุ้นให้สัตว์มีอาการกระวนกระวาย และเคลื่อนไหวผิดปกติ ซึ่งทำให้การดูดซึมและการตอบสนองต่อสารพิษเร็วผิดปกติ หากนำไปทดลองทันที

3.2 เพื่อตรวจดูว่าสัตว์ทดลองอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์หรือไม่ เช่น มีโรคติดต่อเกิดขึ้นหรือไม่ มีอัตราการตายผิดปกติหรือไม่ สำหรับวิธีการเลี้ยงมีดังต่อไปนี้

3.2.1 ต้องจัดสภาพแวดล้อม ให้เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ โดยการควบคุมพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในน้ำ เช่น ออกซิเจนในน้ำ ค่าพีเอช ความกระด้างของน้ำให้เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของสัตว์แต่ละชนิด

3.2.2 โดยทั่วไปมักเลี้ยงไว้อย่างน้อย 7 วัน ก่อนนำไปทดลอง (Doudoroff et al., 1951)

3.2.3 ต้องกำจัดของเสียออกทุกวัน

3.2.4 ในระหว่างการเลี้ยงหากพบสัตว์มีอาการผิดปกติ เนื่องจากเชื้อโรคหรือตายมากกว่า 10 เปอร์เซนต์ของประชากรทั้งหมด ไม่ควรนำสัตว์นั้นมาทดลอง เพราะจะทำให้ผลการทดลองผิดจากความเป็นจริง

3.2.5 สำหรับการทดลองในน้ำนิ่ง (static bioassay) ต้องงดให้อาหารสัตว์ทดลองก่อนนำมาทดลอง 2 วัน เพื่อให้สัตว์ทดลองอยู่ในสภาพอย่างเดียวกันทุกตัว และป้องกันการเน่าเสียของน้ำ อันเนื่องจากมูลสัตว์ในระหว่างการทดลอง และถ้าในระหว่างการอดอาหาร สัตว์ทดลองตายเกิน 10 เปอร์เซนต์ ไม่ควรนำสัตว์กลุ่มนั้นมาทดลอง (APHA, 1985)

4. <u>น้ำที่ใช้ในการทดลอง</u>

4.1 น้ำประปาที่ใช้ในการทดลองหรือใช้ในการเจือจางสารพิษ ควรตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 7 วัน เพื่อให้คลอรีนในน้ำระเหยไป

4.2 ต้องตรวจวัดพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในน้ำ เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ออกซิเจนละลาย ความกระด้าง ก่อน ระหว่างและหลังการทดลอง เพราะพารามิเตอร์ต่าง ๆ เหล่านี้มีผลต่อการดำรงชีวิต และการตอบสนองต่อสารพิษของสัตว์ทดลอง

4.3 ปริมาตรน้ำหรือสารละลายที่ใช้ในการทดลอง ขึ้นอยู่กับขนาด และจำนวนสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในแต่ละชุดการทดลอง โดยทั่วไปประมาณ 1 กรัมต่อ 2 ลิตรต่อวัน ถึง 1 กรัมต่อ 10 ลิตรต่อวัน

5. <u>ภาชนะที่ใช้ในการทดลอง</u> โดยทั่วไปมักใช้ภาชนะที่ทำมาจากพลาสติก แก้ว หรือสแตนเลส ในการเลือกใช้ภาชนะจะต้องคำนึงถึงชนิดของสารพิษที่ใช้ในการทดลองเช่น โลหะหนักควรใช้ภาชนะที่ทำจากพลาสติกหรือแก้ว เพราะไม่ทำปฏิกิริยาเคมีกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริค 10 เปอร์เซนต์ ที่ใช้ในการทำความสะอาดภาชนะในระหว่างการทดลอง

6. <u>การทดลอง</u> แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

6.1 Small Scale Exploratory Test เป็นการทดลองเบื้องต้นเพื่อหาระดับ

ความเข้มข้นอย่างคร่าว ๆ ที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย ตั้งแต่ 0 ถึง 100 เปอร์เซนต์ ของประชากรทั้งหมด

6.2 Full Scale Exploratory Test โดยการนำช่วงความเข้มข้นของสารพิษจากการทดลองเบื้องต้น มาจัดระดับความเข้มข้นใหม่ โดยมีวิธีการดังนี้

6.2.1 แบ่งช่วงความเข้มข้นของสารพิษออกเป็น 5 ระดับความเข้มข้น และ 1 ชุดควบคุม โดยการทำการทดลอง 2 หรือ 3 ซ้ำ (replication)

6.2.2 ใส่สัตว์ทดลองลงไปในแต่ละภาชนะ 10 ตัว หรือมากกว่า ถ้าสัตว์ทดลองมีขนาดเล็ก

7. การหาค่า LC_{50} โดยวิธีโพรบิต

ในการประเมินความเป็นพิษของสารพิษต่อสัตว์น้ำ จะแสดงความเป็นพิษในเทอมของ LC_{50} ซึ่งหมายถึงปริมาณความเข้มข้นของสารพิษต่ำสุด ที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซนต์ของประชากรทั้งหมด แต่เนื่องจากการทดลองมีระยะเวลาเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย จึงแสดงค่า LC_{50} ในรูปต่าง ๆ คือ 24-h LC_{50} 48-h LC_{50} และ 96-h LC_{50} ซึ่งวิธีการคำนวณหาค่าดังกล่าวจะใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS-X Release 3.0 วิเคราะห์ วิธีการดังแสดงในภาคผนวก ก

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเรื่องที่ศึกษา

1. ชีววิทยาบางประการของสัตว์ทดลอง

1.1 ปลาตะเพียนขาว (Puntius gonionotus, Bleeker) เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย อาศัยอยู่ตามแม่น้ำ ลำคลอง หนองบึง ทั่วประเทศไทย จากสถิติปริมาณสัตว์น้ำจืดในปี พ.ศ. 2523 รวมทั้งสิ้น 143,895 กิโลกรัม เป็นปลาตะเพียนขาวถึง 15,441 กิโลกรัม (พินิจ สีหพิทักษ์เกียรติ และโยธิน ลีลานนท์, 2527) จังหวัดที่มีการเลี้ยงมาก คือ ขอนแก่นและมหาสารคาม (กรมประมง, 2523) ลักษณะทางอนุกรมวิธานของปลาตะเพียนขาว มีดังต่อไปนี้

Phylum Chordata

Class Osteichtyes

Order Cyprinidae

Genus Puntius

Species Gonionotus

แหล่งกำเนิดและที่อยู่อาศัย ปลาตะเพียนขาวเป็นปลาที่ชอบอาศัยอยู่ตาม แม่น้ำลำคลองที่มีกระแสน้ำไหลอ่อน ๆ ชอบน้ำค่อนข้างใส Hora and Pillay (1962) กล่าวว่าปลาตะเพียนขาวเป็นปลาน้ำจืดอาศัยอยู่ตามแม่น้ำ แต่สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำกร่อย ซึ่งมีความเค็มถึง 7 ส่วนในพันส่วน พบในบริเวณที่สูงกว่าระดับน้ำทะเล 800 เมตรอุณหภูมิเหมาะสมสำหรับปลาชนิดนี้อยู่ระหว่าง 25 ถึง 37 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดที่ปลาชนิดนี้พอจะอยู่ได้ประมาณ 15 องศาเซลเซียส

การแพร่กระจายในประเทศไทยนั้น Suvitti Chote (1950) พบปลาตะเพียนขาวตามแม่น้ำในจังหวัดต่าง ๆ เช่น แม่น้ำป่าสักที่ท่าหลวง แม่น้ำเจ้าพระยาที่โพธาราม แม่น้ำนครนายก แม่น้ำสีกุกที่บ้านแดง คลองบ้านโพธิ์ที่ธนบุรี แม่น้ำเจ้าพระยาที่ปากเกร็ด แม่น้ำปิงที่เชียงใหม่ แม่น้ำแม่กลองที่ราชบุรี นอกจากนี้ สมโภชน์ อัคคะทวีวัฒน์ และคณะ (2519) พบการแพร่กระจายของปลาตะเพียนขาวในแม่น้ำปิงตอนบน แม่น้ำโขง แม่น้ำมูล กว๊านพะเยา บึงบอระเพ็ด หนองหาร เขื่อนภูมิพล เขื่อนสิริกิติ์ เขื่อนอุบลรัตน์ อ่างเก็บน้ำอูน อ่างเก็บน้ำลำตะคอง ส่วนในภาคใต้ไม่มีรายงาน

การกินอาหาร Hora and Pillay (1962) กล่าวว่าลูกอ่อนปลาตะเพียนขาวกินสาหร่ายเซลเดียวและแพลงตอนสัตว์ขนาดเล็ก ดังนั้นลูกปลาตะเพียนจึงจัดอยู่ในพวก plankton feeder พินิจ และ โยธิน (2522) พบว่าลูกปลาตะเพียนขาวที่เลี้ยงในบ่ออายุ 32 วัน จะเปลี่ยนนิสัยการกินอาหาร มากินใบสาหร่ายหางกระรอก คือ อยู่ในระยะที่เปลี่ยนนิสัยการกินอาหารจาก plankton feeder มาเป็น vegetable feeder นอกจากนั้น พินิจ และ โยธิน ยังรายงานว่าอาหารในกระเพาะของลูกปลาขนาด 2.7 เซนติเมตร ซึ่งเป็นขนาดที่กินสาหร่ายหางกระรอก พบว่ามีใบสาหร่ายหางกระรอก 2.7 เปอร์เซนต์ ของอาหารทั้งหมด และนอกจากนี้ ยังพบสาหร่ายสีเขียว

แกมน้ำเงินและดินทราย ทำให้ทราบว่าลูกปลาขนาดนี้มีนิสัยการกินอาหารบนผิวดินระดับตื้นใต้น้ำคือ เป็นพวก brower อีกด้วย ส่วนปลาตะเพียนขาวขนาดใหญ่ วีระ ฐปนฐา และมาโนช์ เบญจกาญน์ (2516) รายงานว่าเป็นปลากินพืชขนาดใหญ่เป็นส่วนใหญ่ (herbivor fish) ถึงแม้จะมีอาหารอย่างอื่นผสมด้วย เช่น สาหร่าย (algae) และสัตว์ขนาดเล็กก็ตาม

1.2 ไรน้ำแดง (Moina macrocopa, Straus) เป็นสัตว์น้ำขนาดเล็กพบอาศัยอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ นำมาใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงลูกปลาวัยอ่อนชนิดต่างๆ ให้มีอัตราการรอดตายสูง เนื่องจากไรน้ำแดงมีคุณค่าทางอาหารสูง โดยมีโปรตีน (crude protein) ร้อยละ 67 ถึง 70 เปอร์เซนต์ (ธรรมนูญ โรจนะบุรานนท์ และ ฉวีวรรณ อภิสิทธิไพศาล, 2523) และไม่ทำให้เกิดปัญหาคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาล เกิดการเปลี่ยนแปลง จนเป็นอันตรายต่อลูกปลาเหมือนกับการใช้อาหารผสม หรืออาหารสำเร็จรูป Edmonson, (1966) จัดลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรน้ำแดงไว้ดังนี้

Phylum Arthropoda

Class Crustacea

Order Cladocera

Family Daphniae

Genus Moina

Species macrocopa

ไรน้ำแดงเป็นสัตว์น้ำจำพวก Crustacean มีขนาด 0.4 ถึง 1.8 มิลลิเมตร ตัวมีสีแดงเรื่อๆ ถ้าอยู่รวมกันเป็นจำนวนมากจะมองเห็นสีแดงชัดเจน โดยเฉพาะในน้ำที่มีออกซิเจนละลายอยู่น้อยมาก ไรน้ำแดงเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ ลำตัวอ้วนเกือบกลมมีขนาดเฉลี่ย 1.25 มิลลิเมตร เพศผู้มีขนาดเล็กและค่อนข้างยาวกว่า มีขนาดเฉลี่ย 0.6 มิลลิเมตร ตัวอ่อนที่ออกจาก brood chamber ของแม่ใหม่ๆ มีขนาด 0.38 ถึง 0.5 มิลลิเมตร (สันทนา ดวงสวัสดิ์, 2529)

ไรน้ำแดงมีส่วนหัวกว้าง มีตารวมขนาดใหญ่ มีแอ่งที่ซอกคอ (cervial sinus) หนวดคู่แรกมีขนาดใหญ่ สั้นไม่แบ่งเป็นปล้อง ตรงปลายหนวดคู่แรก มีขนเล็ก ๆ มีขนเล็ก ๆ 5 ถึง 6 เส้น ตรงกึ่งกลางหนวดมีขนรับความรู้สึก (sense hair) 1 เส้นหนวดคู่ที่ 2 มีขนาดใหญ่ ตรงปลายแบ่งเป็น 2 แขนง แต่ละแขนงจะมีจำนวนปล้องไม่เท่ากัน โดยแขนงแรกมี 3 ปล้อง

แขนงที่ 2 แบ่งเป็น 4 ปล้อง ส่วนฝาด้านท้องมีหนามเล็ก ๆ ที่ post-abdomen มีหนามแหลม 9 อันเรียงกันเป็นแถว หนามอันแรกอยู่ใกล้ฐานของ post-abdominal spine ซึ่งมีขนาดใหญ่ ปลายแยกเป็น 2 แฉกเรียกว่า bident ไรน้ำแดงเพศผู้มีขาคู่แรกมีลักษณะงอเป็นตะขอ (hook) และหนวดคู่แรกมีขนาดเล็กยาวกว่าเพศเมีย ปลายหนวดมีขนซึ่งมีตะขอเล็ก ๆ อยู่ประมาณ 5 เส้น ไรน้ำแดงเพศเมียตัวโตเต็มวัยส่วนมากจะเห็นตัวอ่อนอยู่ใน brood chamber ประมาณ 4 ถึง 5 ตัว แต่ถ้าสภาวะไม่เหมาะสม ไรน้ำแดงเพศเมียจะสร้างไข่ ที่เรียกว่า resting egg ภายใน brood chamber ซึ่งมองเห็นไข่ สีขาวขุ่นอยู่ภายใน 2 ฟอง

การแพร่ขยายพันธุ์ ไรน้ำแดงเพศเมียจะสร้างถุงไข่ (brood sac หรือ brood chamber อยู่ทางส่วนหลังของลำตัว ถุงนี้เป็นที่สร้างไข่และตัวอ่อนจะเจริญเติบโตในถุงนี้ ไข่ในถุงจะเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนได้ โดยไม่ต้องผสมพันธุ์จากเชื้อตัวผู้ เรียกว่า parthenogenetic egg และจะทำให้เกิดไรน้ำแดงเพศเมียเท่านั้น ในสภาวะปกติ แต่ถ้าสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น มีประชากรหนาแน่นเกินไป อาหารไม่เพียงพอ มีของเสียที่ขับถ่ายออกมามาก ไข่ชนิด parthenogenetic egg จะทำให้เกิดเฉพาะไรน้ำแดงเพศผู้ หลังจากเกิดไรน้ำแดงเพศผู้แล้ว ไรน้ำแดงเพศเมียจะสร้างไข่อีกชนิดหนึ่งเรียกว่า resting egg ไข่ชนิดนี้ต้องได้รับการผสมพันธุ์กับเชื้อตัวผู้แล้วไข่จะสร้างเปลือกหุ้มตัวเรียกว่า ephipium ซึ่งมีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีมาก ลักษณะของ resting egg จะมีขนาดใหญ่กว่า parthenogenetic egg แต่มีจำนวนไข่น้อยกว่า คือมีเพียง 2 ใบและมีสีขาวขุ่น

การเจริญเติบโตของไรน้ำแดงจากตัวอ่อนที่หลุดออกมาจาก brood chamber ของแม่จนเป็นตัวเต็มวัยและสามารถผลิตลูกได้ใช้เวลาประมาณ 48 ถึง 60 ชั่วโมง และจะมีการลอกคราบ 1 ครั้ง ไรน้ำแดงแต่ละตัวจะผลิตลูกได้ประมาณ 2 ครั้ง ใช้ระยะเวลาห่างกัน 24 ถึง 36 ชั่วโมง ในการให้ลูกแต่ละครั้งเฉลี่ยประมาณ 8 ถึง 14 ตัว หลังจากให้ลูกครั้งที่ 2 แล้ว ไรน้ำแดงตัวแม่ก็จะตาย รวมเวลาวงจรชีวิตปกติของไรน้ำแดงตั้งแต่เกิดจนตายใช้เวลาประมาณ 96 ถึง 144 ชั่วโมงหรือ 4 ถึง 6 วัน (ห้องทดลองอุณหภูมิประมาณ 27 ถึง 29 องศาเซลเซียส)

อาหารโดยทั่วไป ไรน้ำแดงจะกินอาหารจำพวกสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ ที่อยู่ในน้ำ ได้แก่ บัคเตรี แพลงค์ตอนพืชและอินทรียสารเน่าเปื่อย นอกจากนี้ยังตรวจพบบัคเตรีแบบแท่ง (bacillus)

018700

แบบกลม (cocus) และ Euglena sp. และ Chlorella sp. ในทางเดินอาหารของไรน้ำแดง ด้วย ชนิดของอาหารที่พบในทางเดินอาหารของไรน้ำแดง พบว่าขึ้นอยู่กับแหล่งน้ำที่ไรน้ำแดงอาศัยอยู่เช่น ถ้าไรน้ำแดงอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่มีบัคเตรีอาศัยอยู่มากก็จะพบบัคเตรีอยู่ในทางเดินอาหารไรน้ำแดงมากเช่นเดียวกัน

องค์ประกอบอาหารในตัวไรน้ำแดง สันทนา ดวงสวัสดิ์ (2529) รายงานว่าเมื่อนำไรน้ำแดงมาหาองค์ประกอบอาหาร พบว่า มีโปรตีน 74.09 เปอร์เซนต์ คาร์โบไฮเดรต 12.25 เปอร์เซนต์ ไขมัน 10.19 เปอร์เซนต์ และเถ้า 3.48 เปอร์เซนต์

คุณสมบัติของน้ำบริเวณที่พบไรน้ำแดงหนาแน่น สันทนา รายงานว่าน้ำที่พบไรน้ำแดงหนาแน่น ส่วนมากมีสีเหลืองปนน้ำตาล ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีน้อยมาก คือ 0.5 ถึง 4.4 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนีย (NH_3) อยู่ระหว่าง 1 ถึง 29 มิลลิกรัมต่อลิตร ซิลิกา (Si) 8 ถึง 19 มิลลิกรัมต่อลิตร และแคลเซียม 70 ถึง 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเรื่องที่ศึกษา

ปัจจุบันงานวิจัยทางด้านพิษรองเฉียบพลัน (Sublethal effects) ยังมีอยู่จำนวนน้อย ส่วนมากจะเป็นงานวิจัยเกี่ยวกับ พิษเฉียบพลัน (Acute toxicity test) ซึ่งเท่าที่รวบรวมมามีดังต่อไปนี้

ช่วยชูศรี ศรีภูมิ่น (2524) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อปลาดุกด้าน โดยทำการศึกษาที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ค่า LC_{50} เท่ากับ 15.6 มิลลิกรัมต่อลิตร

Arthur et al. (1987) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของแอมโมเนียในระยะเวลา 96 ชั่วโมง ต่อปลา 2 ชนิดคือ Rainbow trout, Cannel Catfish และ Cladoceran พบว่า มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.26 0.5 และ 1.27 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Tomasso and Carmichael (1986) ศึกษาความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อ Guadalupe bass ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่า ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 12.7 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบว่า ความเป็นพิษของแอมโมเนียเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่างของสาร

เพิ่มขึ้น

จากผลการศึกษาข้างต้น สรุปได้ว่าแอมโมเนียมีพิษต่อสัตว์น้ำ ดังนั้นในการทดลองจะใช้น้ำที่มีปริมาณแอมโมเนีย อยู่ในระดับที่ยอมให้ทดลองได้คือ 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร (EPA, 1973)

ชูชาติ ชัยรัตน์ (2528) ศึกษาความเป็นพิษของปรอทและตะกั่วต่อปลากระพงขาว ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าค่า LD_{50} ของปรอทและตะกั่ว เท่ากับ 0.1128, 128.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Sastry and Gupta (1978) ทดสอบความเป็นพิษของเมอร์คิวรีคลอไรด์ พบว่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเซลล์ของปลา Teleost fish โดยทดลองในระยะเวลา 5, 10, 15, 20 และ 30 วัน

Katz (1971a, b) และ Cairns, Vanderschalic, and Watlake (1975) เชื่อว่าสาเหตุแห่งการตายของปลา เนื่องมาจากการสะสมของโลหะหนักที่เหงือก ทำให้ระบบหายใจขัดข้อง และเกิดการสำลักน้ำ เป็นเหตุให้ปลาตายได้ นอกจากนี้ Katz (1971a) รายงานว่า ปลาที่ตายด้วยพิษของโลหะหนัก จะมีอาการของความกดดันทางระบบหายใจอย่างรุนแรง

Ellis (1937) รายงานว่า ปลาเงินปลาทองจะตายในน้ำกระด้างที่มีความเข้มข้นของตะกั่วสูงถึง 62.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่พีเอช 7.8

Goodman (1951) พบว่า ความเข้มข้นของสังกะสี ระหว่าง 5-15 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงจะเป็นพิษต่อปลา Ranbow trout

Phromsuthirak (1973) พบว่า TL_{50} ในเวลา 48 ชั่วโมง ของ three spined stickleback ต่อปรอท ทองแดง สังกะสี เหล็ก แคดเมียม และตะกั่ว คือ 0.115 0.35 1.25 1.17 1.97 และ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Khangarot และ Ray (1987) รายงานว่า ความเป็นพิษของโลหะหนักต่าง ๆ ต่อ Daphnia magna เรียงตามลำดับดังนี้คือ Hg>Ag>Cu>Zn>Cr>Cd>Pb>Ni ส่วนความเป็นพิษต่อ Salmo gairdneri เรียงตามลำดับดังนี้คือ Ag=Hg>Cu>Zn>Cd>Pb>Cr>Ni

Bandouin and Scoppa (1974) รายงานว่า ความเป็นพิษของโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ต่อ Daphnia hylalina เรียงตามลำดับคือ Hg>Cu>Cr>Zn>Cd>Pb>Co>Mg>Sr>Cs>ca

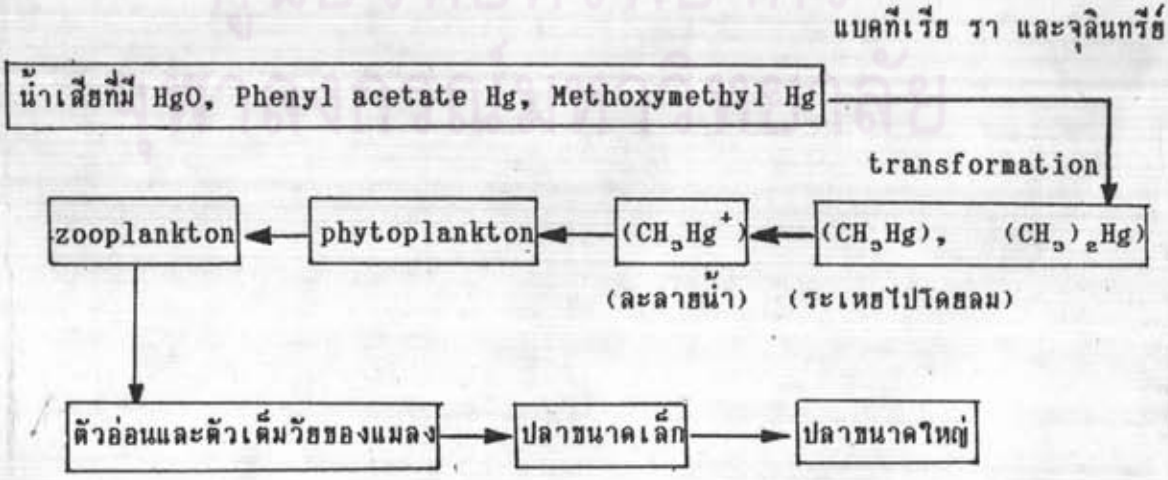
Wong and Wong (1990) รายงานว่า ในปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับไรน้ำแดง

Moina macrocopa ยังมีจำนวนน้อยกว่า Daphnia sp. แต่ไรน้ำแดงเป็นแพลงตอนสัตว์น้ำจืดที่มีความสำคัญในระบบนิเวศ และมีความไวในการตอบสนองต่อโลหะหนัก ใกล้เคียงกัน

3. การแพร่กระจายของปรอทและตะกั่วในแหล่งน้ำธรรมชาติ

3.1 การแพร่กระจายของปรอท มีสาเหตุส่วนใหญ่มาจากกิจกรรมของมนุษย์ โดยเฉพาะ ทางด้านอุตสาหกรรม รูปแบบของปรอทที่ถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ มีทั้งหมด 5 รูปด้วยกัน คือ Hg^{2+}, Hg°, $C_6H_5Hg^{+}$, CH_3Hg^{+}, $CH_3O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}Hg^{+}$ (Jernelov, 1969) เมื่อสารปรอทลงสู่แหล่งน้ำแล้ว บางส่วนจะเข้าไปติดกับอินทรีย์วัตถุที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ โดยมันจะเหนี่ยวนำให้ปรอทมาเกาะติด แล้วตกตะกอนลงสู่ก้นแม่น้ำ นอกจากนี้ปรอทยังสามารถแทรกซึมเข้าไปติดอยู่กับวัตถุใกล้เคียงได้ และพบว่าประมาณ 70 เปอร์เซนต์ ของปรอทที่มีความเข้มข้น 500 ppb สามารถซึมซับเข้าไปในผิวแก้วที่บรรจุอยู่ได้ ในระยะเวลา 5 ถึง 10 วัน สารอินทรีย์ของปรอทนั้น ไม่มีอยู่ในสภาพธรรมชาติ แต่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารอนินทรีย์ของปรอทไปเป็นปรอทอินทรีย์ เช่นเมื่อมีการปล่อย $HgCl_2$ จากอุตสาหกรรมผลิตโซดาไฟ และก๊าซคลอรีนลงสู่แหล่งน้ำ จุลินทรีย์ในน้ำจะเปลี่ยน $HgCl_2$ ให้กลายเป็นสารอินทรีย์ของปรอท เช่น ไดเมทธิลเมอร์คิวรี สารนี้มีความเป็นพิษสูงและสามารถเข้าไปสะสมในตัวปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ ได้ง่าย และสามารถถ่ายทอดตามห่วงโซ่อาหารมาสู่มนุษย์ได้ ดังรูปที่ 2.4

(ดัดแปลงจาก Ramade, 1979)



รูปที่ 2.4 แผนภาพการถ่ายทอดของปรอทที่ปะปนอยู่ในน้ำเสียมาสู่มนุษย์

3.2 การแพร่กระจายของตะกั่วในน้ำ การเจือปนของตะกั่วในแหล่งน้ำนั้น เกิดจากฝุ่นละอองของสารตะกั่ว ที่กระจายอยู่ในบรรยากาศ ตามใบไม้ ต้นไม้ หลังคาบ้าน พื้นผิวถนน แล้วถูกชะล้างลงสู่แหล่งน้ำโดยน้ำฝน นอกจากนี้ยังเกิดจากการปล่อยน้ำทิ้ง จากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีสารตะกั่วปะปนออกมา รูปแบบของตะกั่วในน้ำขึ้นอยู่กับ จุดปล่อยของเสียที่มีตะกั่วเจือปนออกมา และแหล่งน้ำที่รองรับ เมื่อใช้ขนาดเป็นเกณฑ์ในการแบ่ง สามารถแยกได้ 3 รูปแบบ คือ soluble lead, colloid lead, และ particulate lead soluble lead ที่ลงสู่แหล่งน้ำ มาจากการชะล้างโดยน้ำฝน (washout) จากบรรยากาศ ส่วน colloid และ particle lead มาจากน้ำไหลล้น (run off) ในเขตเมือง และการทำเหมืองแร่ ตะกั่วในรูปไอออนอิสระ มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาและรวมตัวกับสารอื่น ๆ ตะกั่วในรูปนี้จึงเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต (Harrison and Laxen, 1981) แต่ตะกั่วในรูป colloid จะไม่เป็นพิษ นอกจากนี้คอลลอยด์อนินทรีย์เช่น ซิลิกา อะลูมินา แมงกานีสไดออกไซด์ และของแข็งอื่น ๆ สามารถดูดซับตะกั่วที่เป็นไอออนอิสระได้ ทำให้ความเป็นพิษของตะกั่วไอออนลดลง สมรัตน์ อินดีพิช (2527) กล่าวว่าความเป็นพิษของโลหะ ขึ้นอยู่กับสภาวะหรือรูปแบบของโลหะนั้น ๆ โดยทั่วไปแล้วโลหะที่อยู่ในสภาพอิออนอิสระ จะมีความเป็นพิษมากกว่าโลหะที่อยู่ในสภาพสารประกอบ และพบว่ารูปแบบของตะกั่วในน้ำจืดจะพบอยู่ในรูป $PbCO_3$ และ $Pb(OH)_2CO_3$ ซึ่ง $Pb(CO)_3$ มีความสามารถในการละลายสูงกว่า $Pb(OH)_2CO_3$ ดังสมการ แสดงค่าคงที่ของการละลาย (K_{sp}) ดังต่อไปนี้

$$PbCO_3 \longrightarrow Pb^{2+} + CO_3^{2-}, \quad K_{sp} = 10^{-13.2} \text{ at } 25\ ^{\circ}c$$

$$Pb(OH)_2(CO_3)_2 \longrightarrow 3Pb^{2+} + 2OH^- + 2CO_3^{2-}, \quad K_{sp} = 10^{-46.8} \text{ at } 25\ ^{\circ}c$$