บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การประเมินความเที่ยงตรงของวิธีการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในซีรั่มและในสมองของปลานิล

3.1.1 ตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในซีรั่ม ที่รวบรวมได้จากปลานิล 3 ตัวรวมกัน โดยทำการวัดทั้งหมด 20 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร แสดงผลที่ได้ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงค่าความเที่ยงตรงของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในซีรั่มของปลานิล

จำนวนครั้งที่	ChE activity	จำนวนครั้งที่	ChE activity
1	0.46	11	0.47
2	0.49	12	0.51
3	0.45	13	0.47
4	0.45	14	0.42
5	0.45	15	0.44
6	0.45	16	0.43
7	0.47	17	0.43
8	0.46	18	0.46
9	0.46	19	0.45
10	0.45	20	0.44

ค่าเฉลี่ย	0.46
SE	0.02
%CV	4.34

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรส คือ umoles substrate hydrolyzed/min/ml

3.1.2 ตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองที่รวบรวมได้จากปลานิล 3 ตัวรวมกัน โดยทำการวัดทั้งหมด 20 ครั้งนำมาหาค่าเฉลี่ย ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน และค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร แสดงผลที่ได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงค่าความเที่ยงตรงของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองของปลานิล

จำนวนครั้งที่	ChE activity	จำนวนครั้งที่	ChE activity
1	43.50	11	52.59
2	44.28	12	50.03
3	52.51	13	45.37
4	54.77	14	40.03
5	45.52	15	47.08
6	51.35	16	48.24
7	54.84	17	45.91
8	44.67	18	50.80
9	43.81	19	47.78
10	47.46	20	44.43

ค่าเฉลี่ย	47.75
SE	0.91
%CV	8.502

หน่วยสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรส คือ μmoles substrate hydrolyzed/min/g

3.1.3 เก็บตัวอย่างซีรั่มและสมองของปลานิลที่อุณหภูมิ -20°C แล้วนำตัวอย่างมาวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสทุกสัปดาห์จนครบ 6 สัปดาห์ พบว่าสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสไม่ต่างจากสัปดาห์ที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ตารางแสดงการเปรียบเทียบค่าความคงตัวของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในซีรั่มและสมอง เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ $-20^{\circ}C$ เป็นเวลา 1-6 สัปดาห์ โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์สมรรถนะของเอนไซม์ที่วัดได้เทียบกับสัปดาห์แรก

สัปดาห์	ซีรั่ม		สมอง	
	ChE activity[a]	%	ChE activity[b]	%
1	0.354	100	49.40	100
2	0.340	96.04	48.93	99.05
3	0.340	96.04	47.53	96.21
4	0.340	96.04	46.60	94.33
5	0.335	94.63	45.67	92.45
6	0.330	93.22	44.74	90.57

a μmoles substrate hydrolyzed/min/ml

b μmoles substrate hydrolyzed/min/g

3.2 การศึกษา Recovery (%) ของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในซีรั่มและในสมองของปลานิล

จากการศึกษา % Recovery ของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในซีรั่มและในสมองแสดงผลที่ได้ดังตารางที่ 7-9 วิธีคำนวณดังภาคผนวก ก.

ตารางที่ 7 แสดง Recovery (%) ของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสโดยการเปรียบเทียบผลของการตรวจวัดสมรรถนะใน Standard enzyme

Standard enzyme* activity (unit**/ml)	ΔA ที่วัดได้[a]	ΔA ที่ควรจะเป็น[b]	% recovery
0.225	0.046	0.048	95.83
0.45	0.091	0.097	93.81
0.9	0.183	0.193	94.82
1.8	0.366	0.386	94.82

* Standard enzyme EC Number: 2325792, C7512 = 0.36 unit/mg

** unit = μmole of acetylcholine hydrolyzed to choline & acetate/min at pH 8, 37°C

ตารางที่ 8 แสดง Recovery (%) ของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในซีรั่มของปลานิล

	ค่า ΔA ที่วัดได้[a]	ค่า ΔA ที่ควรจะเป็น[b]	ค่าเปอร์เซ็นที่วัดได้ (Percentage recovery)
ปริมาณบัฟเฟอร์ 3 มิลลิลิตร ซีรั่มปลา 50 ไมโครลิตร ใส่ standard enzyme 50 ไมโครลิตร ในความเข้มข้น			
0.225 หน่วยสากล/มล.	0.085	0.089	95.00
0.045 หน่วยสากล/มล.	0.110	0.110	100.00
0.9 หน่วยสากล/มล.	0.165	0.152	108.50
1.8 หน่วยสากล/มล.	0.242	0.232	104.30

ตารางที่ 9 แสดง Recovery (%) ของการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองของปลานิล

	ค่า ΔA ที่วัดได้ [a]	ค่า ΔA ที่ควรจะเป็น [b]	ค่าเปอร์เซ็นที่วัดได้ (Percentage recovery)
ปริมาณบัฟเฟอร์ 3 มิลลิลิตร สมองปลา 50 ไมโครลิตร ใส่ standard enzyme 50 ไมโครลิตร ในความเข้มข้น			
0.225หน่วยสากล/มล.	0.086	0.083	103.60
0.045หน่วยสากล/มล.	0.097	0.104	93.20
0.9หน่วยสากล/มล.	0.138	0.146	94.50
1.8หน่วยสากล/มล.	0.212	0.226	93.80

a = Determinate value ได้จากการวัดค่าดูดกลืนแสงโดยตรง

b = Theoretical value ได้จากการคำนวณจากสูตร

$$R = \frac{\Delta A}{1.36 \times 10^{4}} \times \frac{1}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง/ปริมาตรทั้งหมด}} \times C_0$$

3.3 การศึกษาพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) ของเมธามิโดฟอสในปลานิล

3.3.1 อาการทั่วไปของปลานิลที่ได้รับสารเมธามิโดฟอส

เมื่อให้ปลานิลสัมผัสเมธามิโดฟอสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และบันทึกผลการทดลองเป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าพิษของเมธามิโดฟอสมีความรุนแรงเพิ่มขึ้นตามขนาดของเมธามิโดฟอสที่ได้รับโดยสรุปอาการแยกเป็นกลุ่มดังนี้

กลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ไม่ได้รับเมธามิโดฟอส)

อาการภายนอกปกติ ว่ายน้ำไปมาปกติ กินอาหารได้

กลุ่มที่ได้รับเมธามิโดฟอสที่ความเข้มข้น 15 ppm

อาการภายนอกไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม มีบางตัวสีคล้ำขึ้น ครีบหลังแผ่กางออก กินอาหารได้แต่น้อยกว่ากลุ่มควบคุม

กลุ่มที่ได้รับเมธามิโดฟอสที่ความเข้มข้น 30 ppm

อาการทั่วไปคล้ายกลุ่ม 15 ppm แต่ลำตัวดำคล้ำกว่า ครีบหลังแผ่ตั้งตรง เริ่มมีปลาตายชั่วโมงที่ 48 กินอาหารได้น้อยกว่ากลุ่มควบคุม

กลุ่มที่ได้รับเมธามิโดฟอสที่ความเข้มข้น 45 ppm

หลังได้รับสารปลามีอาการตื่นเต้นกระวนกระวาย (hyperexcitability) ปลาบางตัวแสดงอาการลำตัวเอียงขณะว่ายน้ำ และไม่ค่อยกินอาหาร ลำตัวคล้ำขึ้น มีจุดเลือดออกตรงบริเวณเหงือก ลำตัว หาง ครีบกางอ้าเกือบตลอด หลังจากนั้นปลาจะไม่ค่อยมีกิจกรรม จะมาอยู่ใกล้ๆ กับหัวทราย เริ่มมีปลาตายชั่วโมงที่ 24 น้ำขุ่น

กลุ่มที่ได้รับเมธามิโดฟอสที่ความเข้มข้น 60 ppm

อาการเหมือนกลุ่ม 45 ppm แต่อาการต่างๆ รุนแรงกว่า บางตัวว่ายน้ำหงายท้อง บางตัวลอยตัวอยู่นิ่งๆ ลำตัวคล้ำกว่ากลุ่ม 45 ppm จุดเลือดออกตามผิวหนังมากกว่ากลุ่ม 45 ppm ปลาไม่กินอาหาร เมื่อเวลาผ่านไปปลาเริ่มมีอาการตัวเกร็ง ลำตัวงอ บางครั้งมีกระตุกๆ ปลาที่ตายมีเมือกมาก

กลุ่มที่ได้รับเมธามิโดฟอสที่ความเข้มข้น 75 ppm

ปลาไม่กินอาหาร เริ่มมีปลาตายชั่วโมงที่ 24 ปลามีอาการกระสับกระส่าย ว่ายน้ำไปมาตลอด บางครั้งว่ายชนตู้ ลำตัวคล้ำมากขึ้น เมือกตามตัวมาก ครีบแผ่ตั้งกางออกตลอดเวลา เมื่อเวลาผ่านไปปลาเริ่มอยู่นิ่งๆ กับที่ ไม่ว่ายน้ำบางครั้งมีลำตัวงอ เกร็ง สลับว่ายน้ำหงายท้องปลาตกใจง่ายขึ้น จุดเลือดออกตามลำตัวและหางมีมากกว่ากลุ่ม 60 ppm

กลุ่มที่ได้รับเมธามิโดฟอสที่ความเข้มข้น 90 ppm

อาการทั่วไปเหมือนกลุ่ม 75 ppm แต่อาการต่างๆรุนแรงกว่า มีจุดเลือดออกมากกว่าลำตัวคล้ำมากมีเมือกตามลำตัวมาก ว่ายน้ำแบบไม่มีทิศทางปลาตายหมดในเวลา 48 ชั่วโมง

ผลการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของเมธามิโดฟอสต่อปลานิลในเวลา 96 ชั่วโมง และวิเคราะห์ผลจาก probit analysis ปรากฏว่าได้ค่า LC_{50} ที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง และอัตราการตายสะสมแสดงในตารางที่ 10 และ 11

ตารางที่ 10 แสดงค่า Median lethal concentration ของสารเมธามิโดฟอสต่อปลานิลภายในเวลา 96 ชั่วโมง

ระยะเวลา(ชั่วโมง)	LC_{50} (ppm)	95% confidence limits(ppm)
24	70.72±3.0	57.92-86.85
48	55.30±7.16	38.85-67.20
72	46.13±4.15	33.20-55.75
96	43.36±2.58	33.20-54.21

ตารางที่ 11 แสดงอัตราการตายสะสมของปลานิลที่สัมผัสสารเมธามิโดฟอสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนปลา /ครั้ง (ตัว)	การตายสะสมในระยะเวลาหลังสัมผัสสาร											
		24hr.			48hr.			72hr.			96hr.		
		ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3
0(control)	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	10	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2	0	0
30	10	0	0	0	0	1	1	3	2	2	3	2	2
45	10	0	3	2	0	7	3	3	8	5	4	8	5
60	10	2	4	3	6	7	4	7	9	5	7	9	7
75	10	5	6	3	9	9	8	10	9	10	10	9	10
90	10	10	8	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10

3.4 การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลัน (subacute toxicity) ของเมธามิโดฟอสในปลานิล

3.4.1 อาการทั่วไปของปลา

เมื่อปลานิลสัมผัสเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm เป็นเวลา 24, 48, 72, 96 ชั่วโมงและ 30 วัน พบว่าความรุนแรงของการแสดงความเป็นพิษของเมธามิโดฟอสเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่ปลาได้สัมผัสกับเมธามิโดฟอส สรุปอาการเป็นกลุ่มดังนี้

อาการทั่วไปของปลานิลกลุ่มที่ไม่ได้รับเมธามิโดฟอส หรือกลุ่มควบคุม

อาการทั่วไปปกติ ปลาว่ายน้ำปกติ กินอาหารได้ ลำตัวไม่มีเมือก

อาการทั่วไปของปลานิลภายหลังสัมผัสเมธามิโดฟอสที่ขนาดความเข้มข้น 10 ppm ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

กลุ่มที่สัมผัสสาร 24 ชั่วโมง ปลามีลักษณะภายนอกปกติ กินอาหารได้

กลุ่มที่สัมผัสสาร 48 ชั่วโมง ปลามีลักษณะภายนอกปกติ บางตัวว่ายน้ำน้อยลง กินอาหารได้น้อยลงกว่าวันแรก

กลุ่มที่สัมผัสสาร 72 ชั่วโมง ปลาบางตัวสีคล้ำขึ้นเล็กน้อย กินอาหารได้น้อยลง ลำตัวมีเมือกมากขึ้น ว่ายน้ำน้อยลง

กลุ่มที่สัมผัสสาร 96 ชั่วโมง ปลากินอาหารได้น้อย ลำตัวมีเมือก ลำตัวคล้ำขึ้น ไม่ค่อยว่ายน้ำ มักอยู่นิ่ง ๆ

กลุ่มที่สัมผัสสาร 30 วัน หลังจากสัมผัสสารเมธามิโดฟอสได้ 7 วัน ปลาว่ายน้ำน้อยลง ปลามีอาการตกใจง่าย ไม่ค่อยกินอาหาร จะว่ายน้ำอยู่ใกล้ ๆ ออกซิเจน ลำตัวมีเมือกมาก ลำตัวคล้ำมากขึ้น เมื่อผ่านไป 10 วันเริ่มมีปลาตาย ลักษณะปลาที่ตายครีบกางอ้าออก เมื่อผ่านไป 20 วัน ปลาว่ายน้ำน้อยลง จะลงมาอยู่นิ่ง ๆ ใกล้ ๆ กับบริเวณที่หัวทรายลอยอยู่ ปลากางครีบออกตลอดเวลา กินอาหารได้น้อยลงเรื่อย ๆ จนวันหลัง ๆ ปลาไม่กินอาหารเลย ปลาบางตัวที่ไม่ได้อยู่ใกล้ ๆ ออกซิเจนจะลอยตัวอยู่นิ่ง ๆ เหนือน้ำ

I20280944

3.4.2 ผลของสารเมธามิโดฟอสต่อสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในซีรั่มและในสมองของปลานิล

สารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลา 24, 48 ,72, 96 ชั่วโมง และ 30 วันมีผลทำให้สมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในซีรั่มและสมองของปลานิลลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมดังแสดงในตารางที่ 12 ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย โดยเปอร์เซนต์การยับยั้ง (%inhibition) จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่สัมผัสสารเมธามิโดฟอส สมรรถนะของเอนไซม์ในซีรั่มจะถูกยับยั้งมากกว่าในสมองดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 12 แสดงค่าสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในซีรั่มและสมองของปลานิลกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารเมธามิโดฟอส ความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลาต่าง ๆ

ระยะเวลา	ChE activity ในซีรั่ม[a]	ChE activity ในสมอง[a]
กลุ่มควบคุม	0.96±0.050[b]	38.29±0.72[c]
24 ชั่วโมง	0.07±0.004[d*]	11.95±0.85[d*]
48 ชั่วโมง	0.04±0.002[d*]	10.92±0.41[d*]
72 ชั่วโมง	0.03±0.003[d*]	9.17±0.42[d*]
96 ชั่วโมง	0.03±0.001[d*]	8.03±0.35[d*]
30 วัน	0.02±0.002[d*]	6.62±0.37[d*]

a MEAN ± SE ; μmoles substrate hydrolyzed/min/ml (serum)

a MEAN ± SE ; μmoles substrate hydrolyzed/min/g (brain)

b n = 65

c n = 35

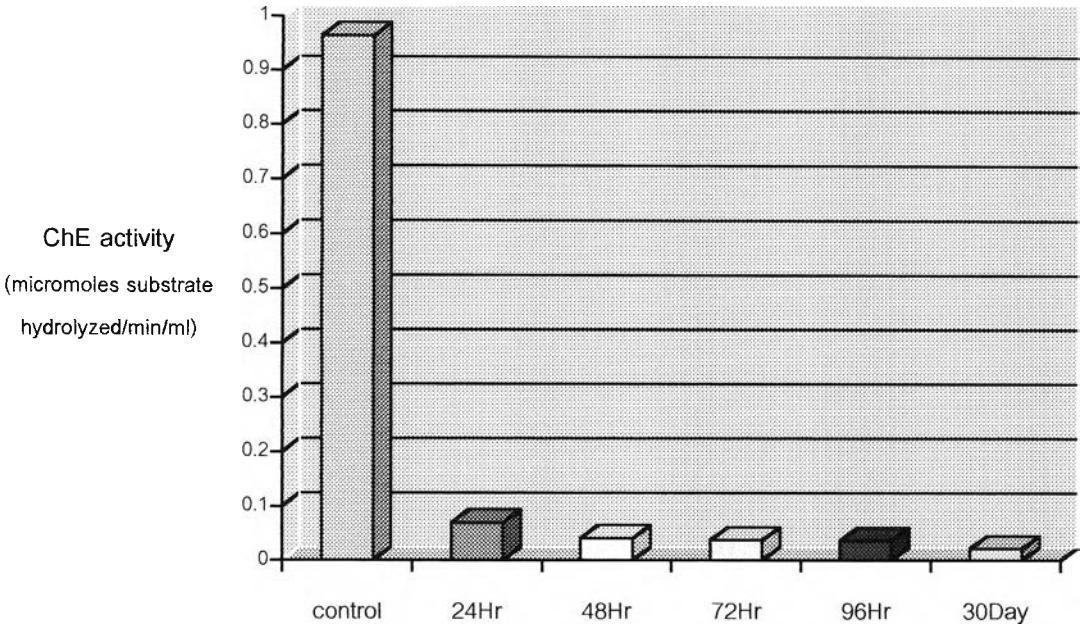
d n = 30

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.05$

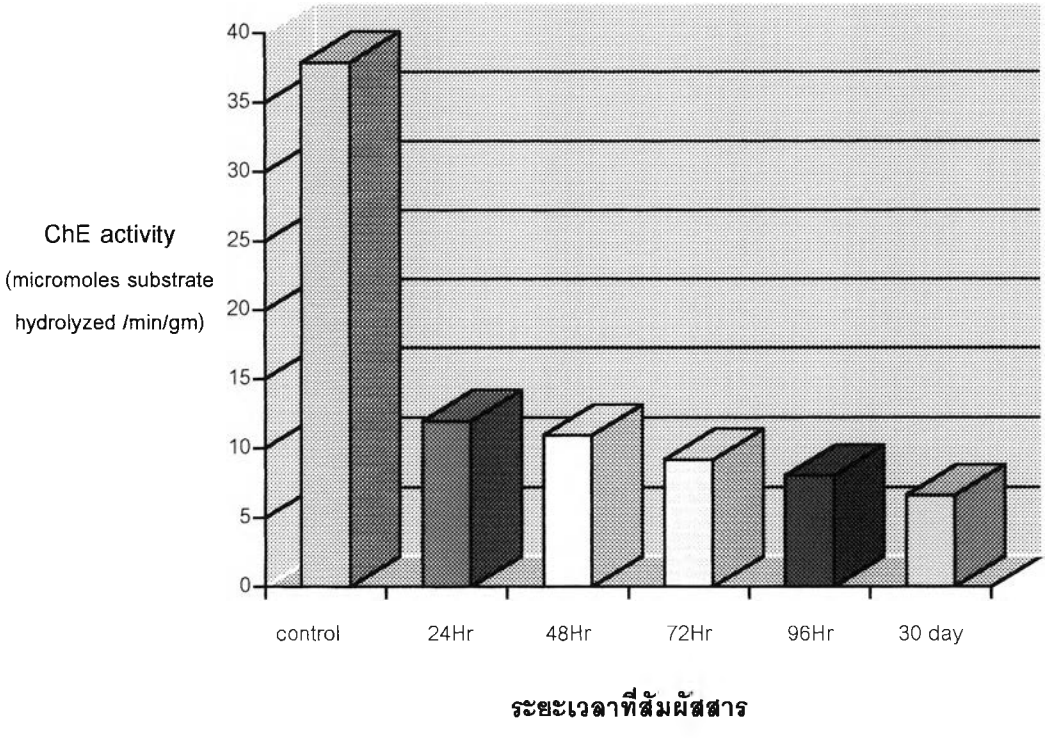
ตารางที่ 13 แสดงการยับยั้งสมรรถนะของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในซีรั่มและสมองของปลานิลกลุ่มที่ได้รับสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลาต่าง ๆ

ระยะเวลา	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%inhibition)	
	ในซีรั่ม	ในสมอง
24 ชั่วโมง	92.13±0.39	68.43±2.24
48 ชั่วโมง	95.510±.19	71.18±1.09
72 ชั่วโมง	95.63±0. 31	75.80±1.12
96 ชั่วโมง	95.63±0.09	78.81±0.93
30 วัน	97.75±0.20	82.53±0.98

n = 30



รูปที่ 4 แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในซีรั่มของปลานิลกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลาต่าง ๆ

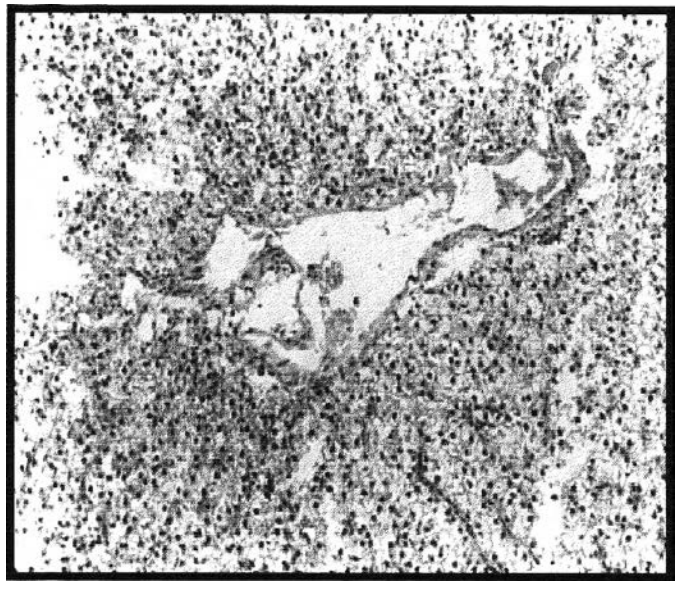


รูปที่ 5 แสดงสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองของปลานิลกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่เวลาต่าง ๆ

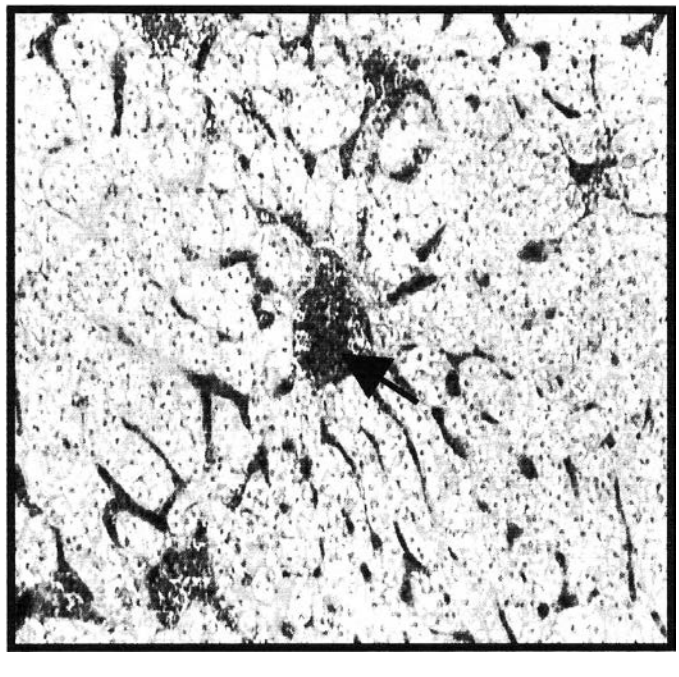
3.4.3 ผลของสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิสภาพของตับ กล้ามเนื้อ และเหงือกที่ระยะเวลาต่าง ๆ

การศึกษาจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อตับ กล้ามเนื้อ และเหงือกในปลานิลที่สัมผัสสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm เป็นระยะเวลา 24, 48, 72, 96 ชั่วโมง และ 30 วัน ด้วยกล้องจุลทรรศน์ลำแสงธรรมดา พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสกับสารเมธามิโดฟอส ความเป็นพิษของเมธามิโดฟอสที่ความเข้มข้น 10 ppm ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิสภาพของกล้ามเนื้อ แต่พบการอักเสบของเนื้อเยื่อตับและเหงือก ซึ่งการอักเสบที่พบไม่สามารถแสดงถึงความสัมพันธ์ของรอยโรคและระยะเวลาที่สัมผัสสาร กล่าวคือ จุลพยาธิสภาพที่พบในปลานิลที่สัมผัสสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm เป็นเวลา 24, 48, 72, 96 ชั่วโมง และ 30 วัน ไม่มีความแตกต่างกันหรือไม่สามารถบอกได้ว่ารอยโรคที่เกิดขึ้นเกิดที่ระยะเวลาใด (รูปที่ 6-11)

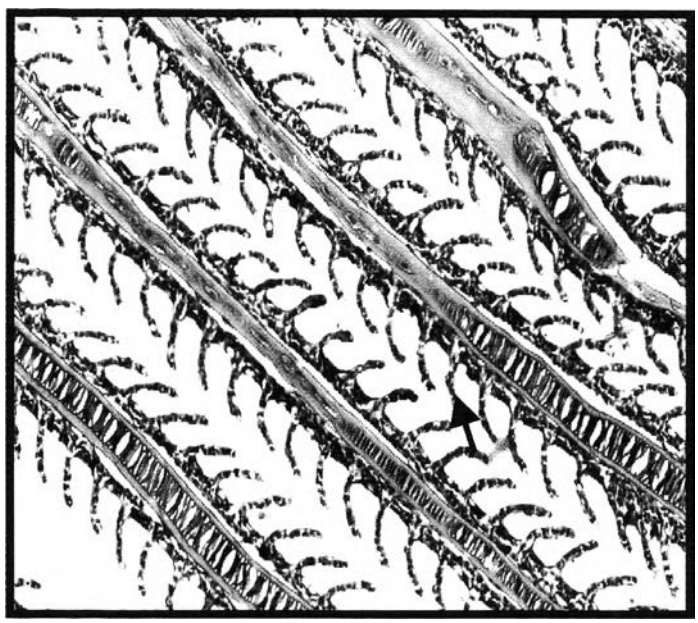
รูปที่ 6 จุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อตับจากปลานิล แสดงถึงเซลล์ตับที่มีลักษณะกลม มองดูเป็นช่องว่างกระจายอยู่ทั่วไป เนื่องจากบริเวณไซโตพลาสซึมเซลล์ตับเป็นที่สะสมของไขมันและไกลโคลเจน ซึ่งจะหลุดออกเมื่อผ่านขบวนการในการเตรียมแผ่นเนื้อเยื่อทำให้เห็นเป็นช่องว่างของเซลล์กระจายอยู่ทั่วไป (Hematoxylin & Eosin 100x)



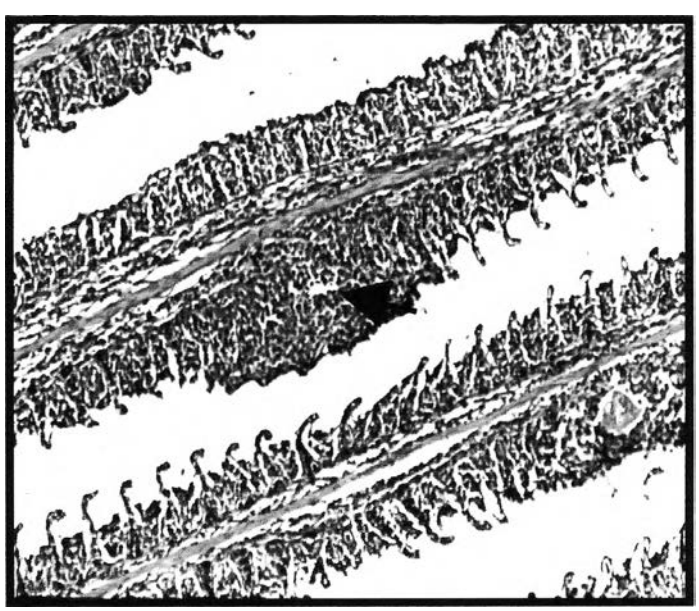
รูปที่ 7 จุลพยาธิสภาพของตับปลานิลที่ได้รับสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น10 ppm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แสดงการเกิดหย่อมเนื้อตายกระจายทั่วไปในบริเวณเนื้อเยื่อตับและการอักเสบของเนื้อเยื่อบุผิวท่อตับ(ศรชี้) (Hematoxylin & Eosin 100x)



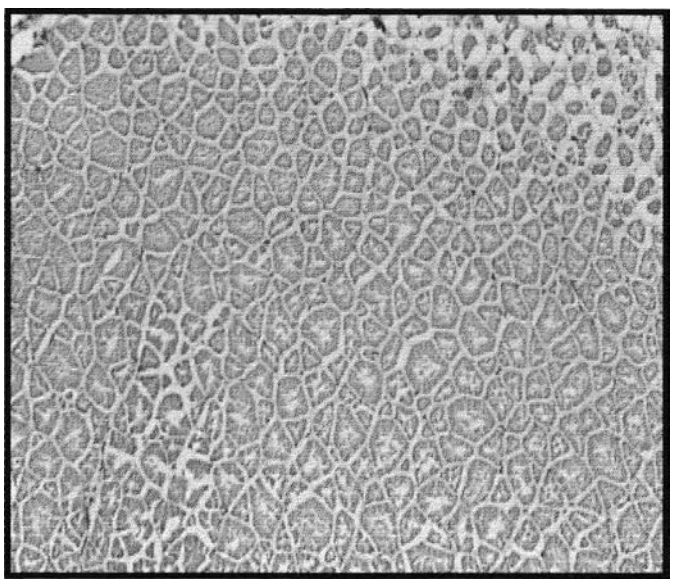
รูปที่ 8 แสดงลักษณะปกติของเหงือกปลานิล ซี่เหงือก(primary lamella) มีลักษณะเป็นเยื่อบุผิวหลายชั้นห่อหุ้มกระดูกอ่อนที่เป็นโครงสร้างและมีกิ่งเหงือกศรชี้(secondary lamella) เรียงตัวแยกออกมาจากซี่เหงือกทั้งสองข้าง (Hematoxylin & Eosin 100x)



รูปที่ 9 จุลพยาธิสภาพของเหงือกปลานิลที่สัมผัสสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm แสดงการอักเสบของเนื้อเยื่อเหงือกอย่างรุนแรง และการแทรกของเซลล์เม็ดเลือดขาวบริเวณที่มีการอักเสบ กิ่งเหงือกมีลักษณะบวมและเสียสภาพของโครงสร้างเหงือก(Hematoxylin & Eosin 400x)



รูปที่ 10 แสดงลักษณะกล้ามเนื้อลายตัดตามขวางของปลานิลมีการเรียงตัวปกติ ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่สัมผัสสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่ระยะเวลาต่าง ๆ (Hematoxylin & Eosin 100x)



รูปที่ 11 แสดงลักษณะกล้ามเนื้อลายตัดตามยาวของปลานิลมีการเรียงตัวปกติ ไม่พบการอักเสบของเนื้อเยื่อทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่สัมผัสสารเมธามิโดฟอสความเข้มข้น 10 ppm ที่ระยะเวลาต่าง ๆ (Hematoxylin & Eosin 100x)