1.บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

แนฟทาลีน (Naphthalene) เป็นสารอินทรีย์ชนิดหนึ่งในกลุ่มโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: PAH) ในธรรมชาติสามารถพบได้จาก น้ำมันดิบ และถ่านหิน มีประโยชน์ในการใช้ทำลูกเหม็นกันแมลง น้ำยาดับกลิ่นในห้องน้ำ (Stohs *et al.,*2002) รวมทั้งเป็นสารเคมีที่สำคัญในอุตสาหกรรมหลายอย่าง เช่นสีย้อม (พิมพ์จิต, 2540; Nigam *et al*., 1998) เรซิน ฟอกหนัง ยาฆ่าแมลงพวกคาร์บาริล (Nigam *et al*., 1998) พลาสติก (Science International, 1995 อ้างโดย West *et al*., 2001) และน้ำมันหล่อลื่น (วารุณี, 2535) สารชนิดนี้ปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำได้หลายทางทั้งจากกระบวนการตามธรรมชาติ เช่น ไฟไหม้ป่า (Neff *et al*., 1979 อ้างโดย Kim *et al*., 1999) และกระบวนการที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ เช่น การเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของเชื้อเพลิงที่เป็นสารอินทรีย์ พวกถ่านหิน น้ำมัน การระบายของเสียและน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม ชุมชน น้ำชะผิวดินและถนน รวมทั้งการรั่วไหลของสารปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์จากปิโตรเลียม โดยเฉพาะน้ำมัน (Jackson *et al*., 1994)

ถึงแม้ว่าแนฟทาลีนสามารถสลายได้จากกระบวนการตามธรรมชาติ แต่ยังคงพบตกค้างในดิน (Kim *et al*., 1999) และน้ำ (van Hattum *et al*., 1998) นอกจากนี้ยังมีการสะสมในพืช (Kipopoulou *et al*., 1999; Meharg *et al*., 1998) และสัตว์ (van Hattum *et al*,m 1998) โดยพบแนฟทาลีนทั้งในผักกินใบและผักกินหัว เช่น คะน้า กะหล่ำปลี และแครอทที่ปลูกในเขตอุตสาหกรรม (Kipopoulou *et al*., 1999) รวมทั้งพืชที่ขึ้นในบริเวณที่ปกคลุมด้วยควันไฟจากการเผาไหม้ของพลาสติกพวกโพลีโพรไพลีน (Polypropylene) (Meharg *et al*., 1998) ส่วนการสะสมในสัตว์พบได้ในหอยนางรม (*Crassostrea virginica*) (Jackson *et al*., 1994; Norena-Barroso *et al*., 1999) ไส้เดือนทะเล (*Neanthes areaceodentata*) (Rossi and Anderson, 1977) และไอโซพอดน้ำจืด (van Hattum *et al*., 1998) รวมทั้งยังสามารถถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหาร โดยพบแนฟทาลีนในไข่ของนก Herring Gull (*Larus argentatus*), Cormorant (*Phalacrocorax carbo*), Shag (*P. aristotelis*) และ Chough (*Pyrrhocorax pyrrhocorax*) ที่อาศัยอยู่บริเวณชายฝั่งทะเล (Shore *et al*., 1999) เป็นต้น

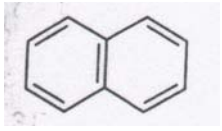
แนฟทาลีนสามารถละลายน้ำได้ดีที่สุดในกลุ่ม PAH มีความเป็นพิษสูงโดยทำให้การดูดซึมคาร์บอนของสาหร่ายลดลง และทำให้การเจริญเติบโตของสัตว์น้ำลดลงเช่นกัน (Geiger and Buikema, 1982) นอกจากนี้ Environmental Protection Agency,1988 (อ้างโดย Pacheco and Santos, 2002) ได้จัดแนฟทาลีนและของเสียที่มีแนฟทาลีนปนอยู่ด้วยถือว่าเป็นของเสียอันตราย ดังนั้น จึงทำให้แนฟทาลีนเป็นสารที่มีความเสี่ยงสูงต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำและการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำ

ในปัจจุบันได้มีการส่งเสริมให้มีการพัฒนาประเทศในด้านต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นด้านอุตสาหกรรม เกษตรกรรม ทำให้มีการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงโดยเฉพาะน้ำมันเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ รวมทั้งการส่งเสริมอุตสาหกรรมปิโตรเคมีอย่างต่อเนื่อง เหล่านี้ล้วนเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของแนฟทาลีนในสิ่งแวดล้อม การวิจัยครั้งนี้จึงให้ความสำคัญในผลของแนฟทาลีนต่ออมีบา (*Amoeba proteus*) เพื่อเป็นตัวแทนสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่อาศัยอยู่ในน้ำจืด ทั้งนี้ ผลที่ได้อาจนำไปประกอบเป็นแนวทางหนึ่งในการศึกษาต่อไป เพื่อเป็นการป้องกันและจัดการปัญหามลพิษทางน้ำจากการปนเปื้อนของแนฟทาลีน

การตรวจเอกสาร

แนฟทาลีน

แนฟทาลีนเป็นสารอินทรีย์ชนิดหนึ่งในกลุ่ม PAH สารในกลุ่มนี้เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดไม่อิ่มตัว และมีวงแหวนเบนซีน (benzene ring) เป็นองค์ประกอบ (วรรณ์ธนา, 2540) แนฟทาลีนมีขนาดโมเลกุลเล็กที่สุดในกลุ่มนี้ ประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 2 วงเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเดี่ยว (Vipulanandan and Ren, 2000) (รูปที่ 1) มีน้ำหนักโมเลกุล 128.16 เมื่อบริสุทธิ์มีลักษณะเป็นผลึก ไม่มีสี มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จุดเดือด 218 องศาเซลเซียส (Clar, 1964) ความสามารถในการละลายน้ำ (solubility) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสประมาณ 30 - 40 มิลลิกรัม/ลิตร (Josephy and Rast, 1948 อ้างโดย USEPA, 1980; Mitcheli, 1926 อ้างโดย USEPA, 1980)



รูปที่1 สูตรโครงสร้างของแนฟทาลีน

ที่มา: พิมพ์จิต, 2540.

อมีบาชนิด *Amoeba proteus*

A. proteus เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวพวกโปรติสต์ เซลล์มีขนาดประมาณ 600 ไมครอน ในธรรมชาติสามารถพบได้ทั่วไปตามบริเวณที่ตื้นริมฝั่งลำธาร บึง และทะเลสาบ โดยจะเกาะอยู่ที่ใต้ใบของพืชน้ำ (Andresen, 1973) มักไม่พบลอยตัวเป็นอิสระอยู่ในน้ำเพราะชอบเคลื่อนที่ด้วยการคืบคลานไปบนวัสดุ การเคลื่อนที่อาศัยการสร้างเท้าเทียม (pseudopodia) ซึ่งเกิดจากการไหลของไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ไปในทิศทางที่ต้องการ ประโยชน์ของเท้าเทียมนอกจากใช้ในการเคลื่อนที่แล้วยังใช้ในการจับและกินอาหารด้วย (Pechenik, 2000) *A. proteus* จะกินโปรติสต์ที่มีขนาดเล็กกว่าและแบคทีเรียเป็นอาหาร ในขณะเดียวกันก็จะเป็นเหยื่อของสัตว์กินเนื้อที่มีขนาดใหญ่กว่า ดังนั้น *A. proteus* จึงเป็นตัวเชื่อมโยงห่วงโซ่อาหารในระบบนิเวศน้ำจืด (Ord and Al-Atia, 1979) อมีบามีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแบ่งตัวออกเป็น 2 ส่วน (binary fission) ในสภาวะที่มีอาหารสมบูรณ์อมีบาจะแบ่งตัวภายใน 2 - 3 วัน (เชาว์ และ พรรณี, 2541)

อมีบามีการตอบสนองต่อสิ่งเร้าเหมือนสิ่งมีชีวิตอื่น ปฏิกิริยาตอบสนองของอมีบามีหลายอย่าง เช่น ปฏิกิริยาในการกินอาหาร การเคลื่อนที่ การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การป้องกันตัวจากสภาพที่ไม่เหมาะสม เป็นต้น ถ้าเป็นปฏิกิริยาในทางบวกอมีบาจะเคลื่อนที่เข้าหาสิ่งเร้า แต่ถ้าเป็นปฏิกิริยาทางลบอมีบาจะเคลื่อนที่หนี ในกรณีสิ่งเร้าที่มีความรุนแรง เช่น แสง หรือกระแสไฟฟ้าจะทำให้อมีบาหยุดเคลื่อนที่ หดตัว และมีลักษณะกลม และถ้าสิ่งเร้านั้นไม่ทำให้อมีบาตายเมื่อเวลาผ่านไปอมีบาจะเริ่มเคลื่อนที่อีกครั้งในทิศทางตรงข้ามกับสิ่งเร้า (Engelmann, 1869 อ้างโดย Bovee and Jahn, 1973)

A. proteus นิยมนำมาใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาด้านชีววิทยาของเซลล์ (Cell Biology) พิษวิทยา (Toxicology) และพิษวิทยาทางนิเวศวิทยา (Ecotoxicology) ซึ่งในการศึกษาด้านพิษวิทยานั้นมีการศึกษาในสารหลายชนิด เช่น มอร์ฟีน (morphine) และเอนโดฟิน (endorphin) (Mayers and Couillard, 1991) ในการใช้อมีบา *A. proteus* เป็นตัวแทนในการศึกษานั้นมีข้อดีหลายอย่าง คือ ขนาดใหญ่ เลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้ ง่ายในการจัดการ จึงทำให้เหมาะที่จะใช้ศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับจุดที่สารเคมีทำปฏิกิริยาภายในเซลล์ และสามารถศึกษาได้ทุกระดับ

ทั้งทางกายวิภาค ทางเคมีและทางพันธุกรรม (Ord, 1970)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความเป็นพิษเฉียบพลันของแนฟทาลีนต่อสาหร่ายสีเขียว (*Selenastrum capricornutum*) ที่ได้รับแนฟทาลีนเป็นเวลา 4 ชั่วโมงมีค่าระดับความเข้มข้นที่มีผลทำให้สาหร่ายตายร้อยละห้าสิบ (Median lethal concentration: LC_{50}) เท่ากับ 2.41 - 3.92 มิลลิกรัม/ลิตร และพบว่าที่ความเข้มข้น 2.83- 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร มีผลทำให้การดูดซึมคาร์บอนลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (Millemann *et al*., 1984) ความเป็นพิษของแนฟทาลีนต่ออาร์โทรปอด เช่น ไรน้ำจืดชนิด *Daphnia pulex* มีค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงเท่ากับ 2.92-3.98 มิลลิกรัม/ลิตร (Geiger and Buikema, 1982) และ LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงของไรน้ำจืดชนิด *Dapnia magna* มีค่าเท่ากับ 1.75-2.50 มิลลิกรัม/ลิตร และมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง ส่วนในอาร์โทรปอดชนิดอื่น เช่น โคพีพอด (*Eurytemera affinis*) มีค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 19.8 มิลลิกรัม/ลิตร (Ott, *et al*., 1978) แอมฟิปอด (*Gammarus minus*) ในช่วงตัวเต็มวัยและริ้น (C*hironomus tentans*) ในระยะตัวอ่อนมีค่า LC_{50}ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 3.93 และ 2.80 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ส่วนความเป็นพิษของแนฟทาลีนต่อหอยฝาเดียว (*Physa gyrina*) มีค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงเท่ากับ 3.74 – 5.79 มิลลิกรัม/ลิตร ปลา fathead minow (*Pimephales promelas*) ในระยะวัยอ่อน (juvenile) มีค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 1.99 มิลลิกรัม/ลิตร ตัวอ่อนของปลา largemout bass (*Micropterus salmmoides*) มีค่า LC_{50} ที่ 7 วัน เท่ากับ 0.31 – 9.70 มิลลิกรัม/ลิตร และปลา rainbow trout (*Oncorchynchus mykiss*) มีค่า LC_{50} ที่ 7 วัน เท่ากับ 0.12 มิลลิกรัม/ลิตร (Millemann *et al*., 1984) ส่วนค่า LC_{50} ที่ 72 และ 96 ชั่วโมง ต่อปลา crimson-spotted rainbowfish (*Melanotacnia fluviatilis*) วัยอ่อนมีค่าเท่ากับ 1.21 และ 0.51 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (Pollino and Holdway, 2002)

ผลของแนฟทาลีนต่อองค์ประกอบภายในเซลล์ มีการศึกษาดังนี้ Schirmer *et al*. (1998) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของ PAH 16 ชนิดต่อเซลล์ที่เพาะเลี้ยงจากเหงือกของปลา rainbow trout โดยศึกษาความเป็นพิษต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ไมโตคอนเดรียและไลโซโซม พบว่า มี PAH 5 ชนิด มีพิษโดยตรงต่อองค์ประกอบของเซลล์รวมทั้งแนฟทาลีนด้วย สำหรับแนฟทาลีนมีค่า EC_{50} (Effective Concentration) ที่ 2 ชั่วโมง เท่ากับ 48 µM และ Moore (1979) ศึกษาการตอบสนองของหอยแมลงภู่ (*Mytilus edulis*) ต่อ PAH ชนิดต่าง ๆ รวมทั้งแนฟทาลีน วัดการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ NADPH neotetrazolium reductase ในเซลล์เม็ดเลือดแดง และความเสถียรของ

ไลโซโซม (lysosomal stability) ในเซลล์ของระบบย่อยอาหาร ซึ่งวัดจากระยะเวลาในการปล่อยเอนไซม์ N-acetyl-β-hexosaminidase ออกจากไลโซโซมสู่ไซโตพลาสซึม พบว่า แนฟทาลีนความเข้มข้น 0.02 M และ 2-methylnaphthalene ความเข้มข้น 0.02 M ไม่ทำให้ระดับเอนไซม์ NADPH neotetrazolium reductase เกิดการเปลี่ยนแปลง ในขณะที่ 2,3-dimethylnaphthalene ความเข้มข้น 0.02 M ทำให้ระดับเอนไซม์นี้เพิ่มขึ้น ส่วนผลของแนฟทาลีนต่อไลโซโซม พบว่า แนฟทาลีนความเข้มข้น 0.02 M ไม่ทำให้ไลโซโซมเกิดการเปลี่ยนแปลง แต่ 2-methylnaphthalene ความเข้มข้น 0.02 M และ 2,3-dimethylnaphthalene ความเข้มข้น 0.02 M ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเยื่อหุ้มไลโซโซมโดยยอมให้สารผ่านออกได้มากขึ้น นอกจากนี้ van Winkle *et al.* (1999) ศึกษาความเป็นพิษของแนฟทาลีนต่อเซลล์เยื่อบุผิวของหลอดลมในหนู พบว่า หนูที่ได้รับแนฟทาลีนความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีการเปลี่ยนแปลงในระยะเริ่มแรก คือ เมื่อได้รับแนฟทาลีนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เซลล์ที่ไม่มีซีเลีย (cilia) มีช่องว่างในไซโตพลาสซึมบริเวณใกล้กับนิวเคลียสเกิดขึ้น จำนวนไมโตคอนเดรียเพิ่มมากขึ้นกระจายอยู่ในไซโตพลาสซึมทั้งด้านฐานและด้านบนของเซลล์ นอกจากนี้ ด้านบนของเซลล์ปรากฏมี secretory granules และ SER (smooth endoplasmic reticulum) มีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อหนูได้รับแนฟทาลีนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ความผิดปกติจะรุนแรงกว่า SER มีลักษณะบวมอย่างเห็นได้ชัด ไมโตคอนเดรียมีจำนวนมากกระจายทั่วเซลล์และมีไมโตคอนเดรียบางส่วนกำลังเกิดการย่อยสลาย

ส่วนในด้านความเป็นพิษเรื้อรังของแนฟทาลีน มีการศึกษาพิษเรื้อรังของแนฟทาลีนต่อระบบสืบพันธุ์ในปลา Atlantic croaker พบว่า ปลาที่ได้รับแนฟทาลีนความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 ppm เป็นเวลา 5 - 8 สัปดาห์ มีการพัฒนาของไข่ช้ากว่าปกติ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองปลาที่ได้รับแนฟทาลีนมีการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์จนกระทั่งถึงระยะสมบูรณ์เพศเพียง 44 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (Thomas และ Budiantara, 1995)

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาระดับความเป็นพิษเฉียบพลันของแนฟทาลีนต่ออมีบา (*Amoeba proteus*)
2. ศึกษาผลของแนฟทาลีนต่อไลโซโซมในอมีบา (*Amoeba proteus*)