

พิษของสารโมโนบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินและไตรบิวทิลทิน ต่อการเกิด
Imposex ของหอยหวานในบริเวณอ่าวอุดม จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย
Imposex occurrence of *Babylonia areolata* in response to monobutyltin,
dibutyltin and tributyltin in Ao Udom coastal area, Chon Buri province,
Thailand

ธีรนาถ สุวรรณเรือง^{*}, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย^{**}, นิตยา ไชยเนตร^{***} และ สุนันทิต นิมรัตน์^{****}

^{*}โครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

^{**}ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

^{***}ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

^{****}ภาควิชาจุลชีววิทยา และโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Theeranat Suwanaruang^{*}, Verapong Vuthiphandchai^{**}, Nitaya Chaiyanet^{***},
Subuntith Nimrat^{****}

^{*}Environmental Science Program, Burapha University

^{**}Department of Aquatic Science, Burapha University

^{***}Department of Biotechnology Science, Burapha University

^{****}Department of Microbiology, and Environmental Science Program, Burapha University

บทคัดย่อ

การศึกษานอกของสารโมโนบิวทิลทิน ไดบิวทิลทินและไตรบิวทิลทิน ต่อการเกิด Imposex ในหอยหวาน จำนวน 200 ตัวที่เพาะเลี้ยงในบริเวณอ่าวอุดม จังหวัดชลบุรี เป็นเวลา 12 เดือน ระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2551 ถึง มีนาคม พ.ศ. 2552 ผลการศึกษาพบว่าเมื่อหอยหวานปราศจากสารพิษทั้ง 3 ชนิดในเดือนแรกของการปล่อยหอยหวานในทะเลดังกล่าว หลังจากนั้นพบการเกิดของสารเหล่านี้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการทดลอง โดยพบการสะสมในปริมาณสูงมากหลังเลี้ยงได้ 6 เดือนจนถึงจุดการทดลอง โดยมีปริมาณระหว่าง $47.79 \pm 5.06 - 550.54 \pm 238.01$, $158.31 \pm 58.74 - 577.76 \pm 118.19$ และ $103.78 \pm 46.06 - 588.29 \pm 23.04$ ng/g ตามลำดับ การสะสมของสารประกอบดังกล่าวในเนื้อเยื่อของหอยหวานมีความสัมพันธ์กับการเกิด Imposex ในหอยหวาน นอกจากนี้ระยะเวลาในการสัมผัสและความเข้มข้นของสารประกอบเหล่านี้ในเนื้อเยื่อของหอยหวานที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ระดับความรุนแรงของ Imposex เพิ่มขึ้นด้วย ในเดือนแรกของการทดลองหอยหวานที่เลี้ยงไม่เกิด Imposex หลังจากนั้น 2 เดือน หอยหวานเกิด Imposex ในระยะที่ 1 เป็นจำนวน 10% ของหอยหวานทั้งหมด และพัฒนาเข้าสู่ระยะที่ 2 ในเดือนที่ 3 ถึงเดือนที่ 6 โดยเพิ่มขึ้น 20% ของหอยหวานทั้งหมด และเริ่มเป็น 30% และ 40% ในเดือนที่ 3 และเดือนที่ 6 ตามลำดับ จากนั้นความรุนแรงของการเกิด Imposex พัฒนาเข้าสู่ระยะที่ 3 ในเดือนที่ 3 และเดือนที่ 6

10 ปีการศึกษา 2544-2545 และปีการศึกษา 2546-2547 ได้มีการเก็บตัวอย่างน้ำจากบริเวณชายฝั่ง จังหวัดชลบุรี การปนเปื้อนของสารประกอบออร์แกนิกฟอสฟอรัสในหอยทากน้ำจืดในบริเวณดังกล่าว สัมพันธ์กับระดับของสารประกอบออร์แกนิกฟอสฟอรัสในน้ำ และได้ทำการศึกษากฎหมายที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการปนเปื้อนของสารประกอบออร์แกนิกฟอสฟอรัสในน้ำ

คำสำคัญ: สารประกอบออร์แกนิกฟอสฟอรัส การปนเปื้อนของสารประกอบออร์แกนิกฟอสฟอรัสในน้ำ

Abstract

This study was aimed to investigate imposex occurrence of Babylon snail (*Babylonia areolata*) in response to monobutyltin (MBT), dibutyltin (DBT) and tributyltin (TBT). Two hundred uncontaminated snails from a nursery farm were cultured in Ao Udom coast, ChonBuri province, Thailand for 12 months (April, 2008 to March, 2009). The results showed that bioaccumulation of MBT, DBT, and TBT in the snail tissues increased rapidly after 6 months of exposure until the end of the study period (from 47.79 ± 5.06 to 550.54 ± 238.01 , 156.31 ± 58.74 to 577.76 ± 119.19 and 103.78 ± 46.06 to 588.29 ± 23.04 ng/g, respectively). The bioaccumulation of these compounds in the snail tissues was related to imposex occurrence. Additionally, exposure periods to and concentrations of these compounds influenced the development of imposex stages. Ten percent of the specimen demonstrated the first stage of imposex 2 month after the exposure and developed to the second stage after 3 to 6 months. The third stage of imposex was shown in 40% of the specimen after 9 to 10 months and increased to 50% after 11 to 12 months. This finding revealed that the coastal area of Ao Udom, Chon Buri province was contaminated with butyltin compounds which induced imposex in the Babylon snail reared in that area. The authors suggest that governmental institutions concerned should be aware of coastal contamination of butyltin compounds and the application of antifouling paint containing TBT should be controlled by an enactment of a law.

Keywords: Butyltin compound, Imposex, *Babylonia areolata*, Environmental toxicology

บทนำ

สารประกอบไตรบิวทิลทิน (Tributyltin; TBT) เป็นสารประกอบชนิดหนึ่งในกลุ่มของสารประกอบกลุ่มบิวทิลทิน (Butyltin; BTs) และรวมทั้งสารไดบิวทิลทิน (Dibutyltin; DBT) สารโมโนบิวทิลทิน (Monobutyltin; MBT)¹ สารประกอบไตรบิวทิลทิน เป็นสารประกอบดีบุกอินทรีย์ที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นเท่านั้นไม่สามารถเกิดเองได้ตามธรรมชาติ^{2, 3} และมีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าสิ่งมีชีวิตที่มีประสิทธิภาพสูง ดังนั้นจึงได้มีการนำสารประกอบไตรบิวทิลทินไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น ใช้เป็นสารรักษาเนื้อไม้⁴ และเป็นสารป้องกันราเมือก⁵ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปี ค.ศ. 1960 ได้มีการนำสารประกอบไตรบิวทิลทินเป็นส่วนผสมในสีกันเพรียงสำหรับทาเรือเพื่อป้องกันการเกาะของสิ่งมีชีวิต เช่น เพรียงและสาหร่าย เป็นต้น จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้สารไตรบิวทิลทินปนเปื้อนและสะสมในสิ่งแวดล้อมทางทะเลอย่างกว้างขวาง และมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในทะเลเป็นอย่างมาก ได้แก่ สาหร่ายขนาดเล็ก สัตว์จำพวกหอย สัตว์จำพวกกุ้งและปู ปลาและกลุ่มสัตว์พวกที่ไม่มีกระดูกสันหลัง⁴ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิด Imposex ในหอยฝาเดียว⁶ ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารประกอบไตรบิวทิลทินแม้มีเพียงปริมาณที่ต่ำในระดับนาโนกรัมก็สามารถทำให้เกิด Imposex ในหอยฝาเดียวได้⁷

จากการค้นพบว่าสารประกอบไตรบิวทิลทินก่อให้เกิดผลกระทบดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงทำให้องค์กรทางทะเลระหว่างประเทศ (International Maritime Organization; IMO) ได้กำหนดห้ามใช้สีที่มีสารประกอบไตรบิวทิลทินเป็นส่วนประกอบในสีกันเพรียง โดยมีประเทศสมาชิกให้สัตยาบันเกี่ยวกับการใช้สารไตรบิวทิลทิน ได้กำหนดห้ามใช้สีที่มีส่วนผสมของสารไตรบิวทิลทินตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2546 และห้ามสีที่มีส่วนผสมของไตรบิวทิลทินอยู่บนตัวเรือตั้งแต่วันที่ 1

มกราคม พ.ศ. 2551 แต่อย่างไรก็ตามในประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้าน เช่น มาเลเซีย สิงคโปร์ อินโดนีเซียและฟิลิปปินส์ยังไม่มีกฎหมายในการควบคุมการใช้สารไตรบิวทิลทินเป็นส่วนผสมในสีกันเพรียง^{2, 10} จึงทำให้นำมาพบการปนเปื้อนของสารดังกล่าวในสิ่งแวดล้อมในประเทศไทยและอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและระบบนิเวศในทะเลรวมทั้งประชากรไทยอีกด้วย²

ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อทำการศึกษาถึงการปนเปื้อนสารไตรบิวทิลทิน ไคบิวทิลทิน และโมโนบิวทิลทิน บริเวณอ่าวอุดม จังหวัดชลบุรีเป็นโดยใช้หอยหวานเป็นตัวแทนของสัตว์น้ำเนื่องจากหอยหวานเป็นสัตว์น้ำที่พบอยู่ทั่วไปตามบริเวณชายฝั่งทะเลของอ่าวไทยและชายฝั่งทะเลอันดามัน⁸ ซึ่งการสะสมของสารบิวทิลทินทั้งสามชนิดนี้สามารถเกิดพิษเหนี่ยวนำทำให้หอยหวานเกิด Imposex ได้⁹ และมีความเสี่ยงที่เข้าสู่ร่างกายมนุษย์ที่เป็นผู้บริโภคในห่วงโซ่อาหารและเกิดความเป็นพิษของสารบิวทิลทินต่อมนุษย์ เช่น สามารถยับยั้งการจับและเข้าทำลายเซลล์แปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรคของเม็ดเลือดขาว¹⁰ อีกทั้งยังเหนี่ยวนำให้การทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเซลล์ Natural killer สูญเสียไป¹¹ กระทบการทำงานของไมโทคอนเดรีย และมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์อะโรมาเตส (Aromatase) เป็นต้น¹² จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งที่จะศึกษาการสะสมพิษของสารบิวทิลทินและการเกิด Imposex ในหอยหวานเพื่อเป็นการป้องกัน และควบคุมความเสี่ยงที่จะเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ต่อไป

วิธีการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง^{2, 13} นำหอยหวานเพศเมียที่มีอายุประมาณ 1 ปี ขนาด 4-5 เซนติเมตร จำนวน 200 ตัว จากสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดตราด ซึ่งเป็นหอยหวานที่สะอาดปราศจากสารไตรบิวทิลทิน มาเลี้ยงในตาข่ายไนล่อนทะเล บริเวณอ่าวอุดม จังหวัดชลบุรี และทำการสุ่มตัวอย่างหอยหวานจำนวน 10 ตัว ทุกเดือนเป็นเวลา 12 เดือน เพื่อตรวจดูการเกิด

Imposex และการสะสมของสารโมโนบิวทิลทิน ไค- บิวทิลทินและ ไตรบิวทิลทินในเนื้อหอยหวานต่อไป





2. การศึกษาการเกิด Imposex ในหอยหวาน¹⁴ นำตัวอย่างหอยหวานที่สุ่มเลือกจำนวน 10 ตัว จากข้อ 1 มาศึกษาการเกิด Imposex ตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2551 - เดือนมีนาคม พ.ศ. 2552 โดยพิจารณาการเกิด อวัยวะเพศผู้เทียม (Pseudopenis) ในหอยเพศเมียและ วัดความยาวของอวัยวะเพศผู้เทียมด้วย Vernier Caliper (รุ่น sld; เมืองจินหัว, มณฑลเจ้อเจียง, ประเทศ

จีน) แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิด Imposex ดังสมการต่อไป

$$\% \text{ การเกิด Imposex} = \left(\frac{\text{จำนวนหอยหวาน ที่เกิด Imposex}}{\text{จำนวนหอยที่สุ่มมาทั้งหมด (n=10)}} \right) \times 100$$

ส่วนระดับการเกิด Imposex นั้นโดย พิจารณาจากลักษณะของ อวัยวะเพศผู้เทียม และความ ยาวของอวัยวะเพศผู้เทียม โดยแบ่งระดับของการพัฒนา ของอวัยวะเพศผู้เทียม ออกเป็นระดับดังแสดงในตาราง ที่ 1

ตารางที่ 1 ระดับการเกิด Imposex¹⁴

ระดับของ Imposex	ลักษณะการเกิด Imposex	
0	ไม่เกิดลักษณะเพศผู้ (ไม่มีอวัยวะเพศผู้เทียม) หรือไม่มีการเกิด Imposex	
1	พบติ่งเนื้อเล็ก ๆ บริเวณที่มีอวัยวะเพศผู้เทียมในหอยเพศเมีย	
2	ติ่งเนื้อ มีลักษณะใหญ่ขึ้นและโครงสร้างเปลี่ยนแปลง	
3	มีการพัฒนาของติ่งเนื้อ มีโครงสร้างคล้ายกับอวัยวะเพศผู้แต่มี ขนาดเล็กกว่าอวัยวะเพศผู้โตเต็มวัย	

3. การวิเคราะห์สารโมโนบิวทิลทิน ไคบิวทิลทิน ไตรบิวทิลทิน (ดัดแปลงมาจาก Iwata et al., 1994¹⁵)

(1) นำตัวอย่างเนื้อหอยที่บดละเอียดมา ประมาณ 10 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล และสารละลาย 0.1% ไทโรฟโลนในอะซิโตน ปริมาตร 10 และ 20 มิลลิลิตร

(2) จากนั้นเติมน้ำสารไตรฟลูออโรฟลูออโรคลอไรด์ 10 ไมโครลิตรซึ่งเป็นสารมาตรฐานภายใน (Internal Standard) จากนั้นจึงทำการสกัดตัวอย่างกับสารละลาย ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาทีสองรอบ

(3) เติมน้ำสารละลาย 0.1% ไทโรฟโลนใน เบนซีน ปริมาตร 25 และน้ำกลั่นที่ล้างด้วยเฮกเซน (น้ำ กลั่นที่ผสมด้วยเฮกเซน โดยผสมให้เข้ากันแล้วผ่านกรวย แยกจะแบ่งออกเป็นสองชั้นเลือกเอาส่วนที่เป็นน้ำกลั่น ออกมาใช้) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

(4) จากนั้นผสมตัวอย่างกับสารละลายเขย่า สารละลายทั้งหมดให้เข้ากันนาน 15 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ ให้แยกชั้นนานประมาณ 15 นาที เพื่อให้แยกชั้นของ 0.1% ไทโรฟโลนในเบนซีน จึงนำสารละลายที่แยกชั้นได้ ใส่ลงในไซโลในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำ สารละลาย 0.1% ไทโรฟโลนในเบนซีนใหม่ลงไปอีก 25 มิลลิลิตร ทำการสกัดอีกครั้งเขย่านาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ ให้แยกชั้นประมาณ 1 ชั่วโมง

(5) เมื่อทำการแยกชั้นของสารละลาย 0.1%

ไตรโพลีนในเบนซีน มารวมกับสารละลายครั้งแรก เติมผงโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส เพื่อกำจัดน้ำออกจากสารละลาย (ตั้งไว้ประมาณ 30 นาที) จากนั้นกรองสารละลาย แล้วนำมาลดปริมาตรด้วยเครื่องกลั่นระเหยแห้ง (Rotary Evaporator) ให้เหลือประมาณ 3-5 มิลลิลิตร

(6) ถ่ายสารละลายไปใส่หลอดที่มีฝาปิด

ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายไพโรฟอสเฟตแมกนีเซียมคลอไรด์ 2 มิลลิลิตร เขย่าหลอดในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วหุ้ดปฏิบัติการด้วยสารละลาย 1 นอร์มอล ของกรดซัลฟิวริก 10 มิลลิลิตร

(7) ถ่ายสารละลายจากข้อ 5. ไปใส่ในกรวย

แยกขนาด 200 มิลลิลิตร ที่มี 20 มิลลิลิตรของ 10% เบนซีนในเฮกเซน และ 40 มิลลิลิตรของน้ำกลั่นที่ล้างด้วยเฮกเซนแล้ว ล้างสารละลายที่ค้างอยู่ในหลอดด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร เขย่านาน 15 นาที แล้วทิ้งไว้ให้แยกชั้นดี แยกชั้นของ 10% เบนซีนใน เฮกเซน ไปลดปริมาตรโดยใช้ เครื่องกลั่นระเหยแห้งให้เหลือประมาณ 3-5 มิลลิลิตร

(8) นำสารละลายที่ได้ไปผ่านแท่งคอลัมน์

ของฟลูออริลที่ในเฮกเซนเป็นตัวทำสารละลายเคลื่อนที่ จากนั้น นำสารละลายที่ได้ไปลดปริมาตรด้วย เครื่องกลั่นระเหยแห้งให้เหลือประมาณ 3-5 มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) ที่ต่อกับเฟลมโฟโตเมตริก ดีเทคเตอร์ (Flame Photometric Detector; Perkin Elmer, Autosystem XL, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

ผลการวิจัย

ปริมาณสารโมโนโบทิลทิน ไดโบทิลทิน และ ไตรโบทิลทิน ในเนื้อเยื่อหอยหวาน

จากการศึกษาปริมาณสารโบทิลทินในเนื้อเยื่อหอยหวานที่ทดสอบความเป็นพิษบริเวณอำเภอชุม จังหวัดชลบุรี เป็นระยะเวลา 1 ปี พบว่าไม่มีการตรวจพบสารประกอบโบทิลทินทั้งสามชนิด ในเดือนเมษายน พ.ศ. 2551 หลังจากนั้นในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง สิงหาคม พ.ศ. 2551 สารไตรโบทิลทินที่สะสมในเนื้อเยื่อหอยหวานยังคงมีปริมาณน้อยกว่า 10 ng/g ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการเปลี่ยนแปลงของสารไตรโบทิลทินเป็นสารไดโบทิลทิน และสารโมโนโบทิลทินตามลำดับ ในขณะที่เดือนกันยายน พ.ศ. 2551 ถึง มีนาคม พ.ศ. 2552 การสะสมของสารไตรโบทิลทินมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นโดยมีปริมาณระหว่าง $47.79 \pm 5.06 - 550.54 \pm 238.01$ ng/g สำหรับการสะสมของสารไดโบทิลทิน และโมโนโบทิลทินในเนื้อเยื่อหอยหวานพบว่าในเดือนพฤษภาคม ถึง สิงหาคม พ.ศ. 2551 สารทั้งสองชนิดนี้มีปริมาณไม่สูงนักโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง $15.83 \pm 13.81 - 169.82 \pm 59.35$ และ น้อยกว่า $10 - 321.60 \pm 273.79$ ng/g ตามลำดับ หลังจากนั้นการสะสมของสารทั้งสองชนิดนี้มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกับสารไตรโบทิลทินโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง $156.31 \pm 58.74 - 577.76 \pm 119.19$ และ $103.78 \pm 46.06 - 588.29 \pm 23.04$ ng/g ตามลำดับ ซึ่งการสะสมของสารไตรโบทิลทิน ไดโบทิลทิน และโมโนโบทิลทินจะมีปริมาณสูงสุดในเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2552 ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณสารโมโนบิวทิลทิน ไคบิวทิลทิน และไตรบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยหวาน

ฤดูกาล	เดือน	MBT (ng/g)	DBT (ng/g)	TBT (ng/g)	% Imposex			
					Stage 0 (ไม่เกิด Imposex)	Stage 1	Stage 2	Stage 3
ร้อน	เม.ย.-51	< 10	< 10	< 10	100	0	0	0
	พ.ค.-51	321.60 ± 273.79	169.82 ± 59.35	< 10	90		0	0
ฝน	มิ.ย.-51	27.00 ± 38.18	168.57 ± 48.49	< 10	80	0		0
	ก.ค.-51	107.51 ± 172.10	15.83 ± 13.81	< 10	90		0	0
	ส.ค.-51	< 10	21.61 ± 24.50	< 10	80	0		0
	ก.ย.-51	164.00 ± 6.79	271.60 ± 37.44	131.26 ± 17.88	80	0		0
	ต.ค.-51	175.53 ± 14.22	183.87 ± 28.78	47.79 ± 5.06	70	0		0
หนาว	พ.ย.-51	103.78 ± 46.06	156.31 ± 58.74	219.52 ± 87.62	60	0		0
	ธ.ค.-51	379.60 ± 27.37	461.07 ± 67.96	475.47 ± 73.30	60	0	0	
	ม.ค.-52	435.70 ± 76.79	412.42 ± 104.46	466.52 ± 119.81	60	0	0	
	ก.พ.-52	588.29 ± 23.04	577.76 ± 119.19	550.54 ± 238.01	50	0	0	
ร้อน	มี.ค.-52	450.36 ± 18.95	423.54 ± 26.33	443.26 ± 0.36	50	0	0	

หมายเหตุ: จำนวนตัวอย่าง 3 ซ้ำ (ปริมาณ TBT, DBT และ MBT) ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

% Imposex คัดจากหอยหวานที่เก็บในแต่ละเดือนเดือนละ 10 ตัว

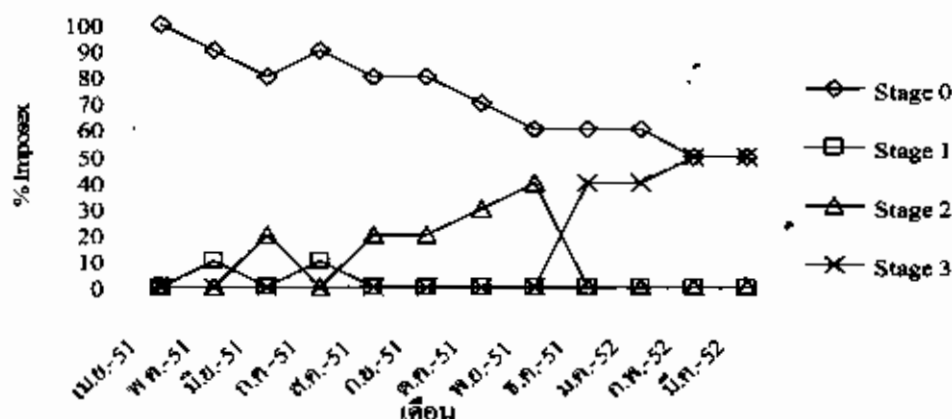
การเกิด Imposex ในหอยหวาน

จากการตรวจติดตามพัฒนาการการเกิด Imposex ในหอยหวาน พบว่าในช่วงเดือนแรกของการ

ทดลองไม่พบการเกิด Imposex ในหอยหวาน แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป ความรุนแรงของการเกิด Imposex จะแสดงให้เห็นมากยิ่งขึ้น โดยในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง กันยายน พ.ศ. 2551 หอยหวานเกิด Imposex ใน

ระยะที่ 1 เพิ่มขึ้นอีก โดยคิดเป็น 10% จากนั้นการเกิด Impossex จะพัฒนาเข้าสู่ระยะที่ 2 ในช่วงเดือนสิงหาคม - กันยายน พ.ศ. 2551 โดยคิดเป็น 20% และเพิ่มเป็น 30% และ 40% ในเดือนตุลาคมและพฤศจิกายน พ.ศ. 2551 ตามลำดับ จากนั้นความรุนแรงของการเกิด

Impossex จะพัฒนาเข้าสู่ระยะที่ 3 ในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2551 ถึงมกราคม พ.ศ. 2552 คิดเป็น 40% และเพิ่มขึ้นเป็น 50% ในเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม พ.ศ. 2552 ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 เปอร์เซนต์การเกิด impossex ของหอยหวานเทศเมี่ยงที่เพาะเลี้ยงบริเวณอ่าวอุดม จ.ชลบุรี

สรุปและอภิปรายผล

จากการตรวจติดตามปริมาณสารโมโนบิวทิลทิน ไคบิวทิลทิน และไตรบิวทิลทิน ในเนื้อเยื่อหอยหวาน บริเวณอ่าวอุดม จังหวัดชลบุรี เป็นเวลา 1 ปี พบว่าหอยหวานมีการสะสมของสารประกอบดังกล่าวอยู่ในช่วงน้อยกว่า $10 - 588.29 \pm 23.04$, น้อยกว่า $10 - 577.76 \pm 119.19$ และ น้อยกว่า $10 - 550.54 \pm 238.01$ ng/g ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบกับการรายงานของกรมควบคุมมลพิษพบว่าบริเวณอ่าวอุดมจากรายงานโครงการการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำทะเล มีการปนเปื้อนของสารไตรบิวทิลทินในสัตว์พวกหอยในปี 2548 อยู่ที่ 97 ng/g^2 แสดงให้เห็นว่าบริเวณอ่าวอุดมยังคงมีกิจกรรมทางเรือ และเป็นเส้นทางที่มีเรือสัญจรไปมาจึงมีโอกาสที่จะทำให้มีการสะสมของสารไตรบิวทิลทินอยู่ในปัจจุบัน

จากการศึกษางานวิจัยอื่น ๆ พบว่าสารประกอบบิวทิลทินทั้งสามชนิดคือสารโมโนบิวทิลทิน ไคบิวทิลทิน และไตรบิวทิลทิน ถูกตรวจพบในหอยหลายชนิดในหลายภูมิภาคของประเทศไทย เช่น ตำบลบ้านอำเภอ จังหวัดชลบุรี ตำบลบางคาวา อำเภอหนองจิก และตำบลตันหยงลูโละ อำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี นอกจากนี้หอยหวานที่จำหน่ายในท้องตลาดก็ตรวจพบสารชนิดนี้เช่นเดียวกัน¹⁶ การศึกษาครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นว่า การสะสมของสารประกอบบิวทิลทินทั้งสามชนิด มีปริมาณแปรผันตามฤดูกาลโดยมีการสะสมในปริมาณสูงในช่วงฤดูหนาวและฤดูร้อน ซึ่งอาจเป็นเพราะในช่วงฤดูฝนที่มีปริมาณสารพิษทั้ง 3 ชนิดมีปริมาณน้อยกว่าช่วงฤดูหนาวและฤดูร้อนอาจจะเกิดจากในช่วงฤดูฝน จะมีน้ำจืดปริมาณมากไหลมาสู่น้ำทะเลทำให้มีน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งเจือจางจึงจะทำให้สารบิวทิลทินมีความเข้มข้นลดลง¹⁷

นอกจากนั้นการเกิด Imposex ในหอยหวาน น่าจะเกิดจากปัจจัยอย่างน้อย 2 ประการคือปริมาณการสะสมของสารพิษซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการศึกษาการเกิด Imposex ภายในระยะเวลาเพียง 1 เดือนและพัฒนาการเกิด Imposex สัมพันธ์กับปริมาณของสารพิษที่สะสมนอกจากนั้นระยะเวลาในการสัมผัสสารพิษดังกล่าวพบว่าหอยหวานจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิด Imposex ได้ด้วยสารประกอบบิวทิลทินทั้งสามชนิด พบว่าในปริมาณต่ำระดับนาโนกรัม⁷ การเกิด Imposex จะมีระดับความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการสัมผัสของสาร บิวทิลทินกับหอยหวานเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Eva and Patricai (2002) ที่รายงานว่าสารไตรบิวทิลทินและสารไดบุกอินทรีชนิดอื่นที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า 2 ng/l¹⁸ และสารไดบิวทิลทินและโมโนบิวทิลทินในปริมาณเพียง 86 ng/l¹⁹ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด Imposex ได้และเมื่อระยะเวลาในการสัมผัสกับสารกลุ่มนี้เพิ่มมากขึ้น จะทำให้เกิด Imposex ในระยะที่รุนแรงขึ้น ความเป็นพิษเรื้อรังของสารบิวทิลทินที่เหนี่ยวนำให้หอยหวานเกิด Imposex นี้เกิดจากสารไตรบิวทิลทินจะกระตุ้นทำให้เกิดปัจจัยที่ทำให้เปลี่ยนแปลงทางสรีระ (Penial Morphogenetic Factor) ทำให้เกิดลักษณะอวัยวะเพศผู้จากปมประสาทที่เท้า (Pedal Ganglia) ของหอย ซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมของจุดรวมระหว่างปมประสาทและสมอง (Cerebropleura) ทำให้ปล่อยฮอร์โมนเพศผู้ (Testosterone) ออกมาเพิ่มขนาดของ อวัยวะเพศผู้เทียมในหอยเพศเมีย^{6, 20} อวัยวะที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะไปขวางท่อน้ำไข ทำให้ท่อน้ำไขอุดตันหอยเพศเมีย จึงทำให้เป็นหมันและไม่สามารถวางไข่ได้ เมื่อไข่มีการสะสมมากขึ้นทำให้ท่อน้ำไขแตกออก จึงเป็นสาเหตุของการตายของหอยและจำนวนประชากรของหอยชนิดนั้น ๆ ลดลง^{21, 22}

สารไตรบิวทิลทินนอกจากจะเป็นพิษต่อหอยหวาน ดังแสดงในการศึกษาครั้งนี้และยังพบว่าสารชนิดนี้เป็น

สารที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตอีกหลากหลายชนิดยกตัวอย่าง เช่น ความเป็นพิษเฉียบพลันต่อหนูจากผลการศึกษาของ Hoch (2002) และ Kannan et al., (1999) ที่พบว่าหนูทดลองเมื่อได้รับพิษของสารไตรบิวทิลทินจะมีค่า LD₅₀ เท่ากับ 4 mg/kg^{23, 24} และในกรณีพิษแบบเรื้อรังที่ทำให้สิ่งมีชีวิตเกิดความผิดปกติไปจากเดิมนั้นพบว่าปริมาณสารไตรบิวทิลทินเพียง 1-2 ng/l มีผลต่อสาหร่าย แพลงก์ตอน สัตว์พวกหอย และ ตัวอ่อนของปลาบางชนิดเมื่อได้รับสัมผัสสารไตรบิวทิลทินในระยะเวลาสั้น ๆ ในระยะเวลา 96 ชั่วโมงเมื่อได้รับสารไตรบิวทิลทิน 500 ng/l^{19, 23} นอกจากนี้ยังพบสารบิวทิลทินในสัตว์ชนิดต่าง ๆ แล้วนั้นยังพบว่ามีการพบสารบิวทิลทินในเลือดและอวัยวะต่าง ๆ เช่น หัวใจ ตับ ไต กระเพาะอาหารของคน²⁴ โดยการปนเปื้อนสารพิษดังกล่าวเนื่องจากการบริโภคอาหารและผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำที่มีการปนเปื้อนของสารไตรบิวทิลทินนั่นเอง²⁵ นอกจากนี้การได้รับสารบิวทิลทินของคนนั้นยังเกิดได้จากการประกอบอาชีพที่เสี่ยงต่อการสัมผัสสารพิษชนิดนี้โดยตรง เช่น พนักงานที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสีทาถนนเพรียงและสารทาเนือไม้ที่มีสารไตรบิวทิลทิน เป็นองค์ประกอบ และชาวประมงที่ใช้สีทาถนนเพรียงเป็นต้น¹⁰ จากการศึกษาความเป็นพิษต่อมนุษย์พบว่าสารไตรบิวทิลทินมีผลทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาว และกระตุ้นการสร้างเซลล์เนื้องอกและทำลายเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกายมนุษย์^{22, 24} นอกจากนี้สารไตรบิวทิลทินยังสามารถยับยั้งการจับและเข้าทำลายเซลล์แปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรคของเม็ดเลือดขาว¹⁰ อีกทั้งยังเหนี่ยวนำให้การทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเซลล์ Natural killer (NK cell) สูญเสียไป¹¹ รวมทั้งมีการรบกวนการทำงานของไมโทคอนเดรีย¹³

นอกจากสารไตรบิวทิลทินที่เป็นสารตั้งต้นที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์และมนุษย์แล้ว สารไดบิวทิลทินและสารโมโนบิวทิลทิน ซึ่งเป็นสารเมแทบอไลต์ของสารไตรบิวทิลทิน ยังมีความเป็นพิษต่อสัตว์หลายชนิด

รวมทั้งมนุษย์²⁶ มีความเป็นพิษต่อการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์และความอยู่รอดของสัตว์น้ำจำนวนมาก โดยเฉพาะหอยฝาเดียว¹⁹ และมีพิษต่อการยับยั้งการดูดซึมของออกซิเจนในไมโทคอนเดรีย และยับยั้งการดำเนินการของเอนไซม์อะโรมาเตส (Aromatase) ในมนุษย์²⁷ ขณะที่สารโมโนบิวทิลทินพบว่า ไม่มีความเป็นพิษในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม²⁵ จากการรายงานที่ผ่านมาพบสารบิวทิลทินทั้งสามชนิดปนเปื้อนในดิน น้ำ และสิ่งมีชีวิต และสารเหล่านี้สามารถผ่านห่วงโซ่อาหารและมีผลต่อคนที่เป็นผู้บริโภคลำดับสุดท้ายของห่วงโซ่อาหารได้^{13, 26} โดยสารบิวทิลทินทั้งสามชนิดสามารถปนเปื้อนกับน้ำดื่มและผลิตภัณฑ์อาหารทะเลจากรายงานบางฉบับยังพบว่าสารไตรบิวทิลทิน และยังพบว่าสารไตรบิวทิลทินนี้มีผลต่อการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอสโตรเจน (Oestrogen) ของหญิงมีครรภ์ ดังนั้นจึงมีผลโดยตรงต่อรกของหญิงมีครรภ์ซึ่งเป็นอวัยวะเป้าหมายของสารพิษดังกล่าว¹³

จากการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าทะเลบริเวณอ่าวอุดม จังหวัดชลบุรีมีการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันในแต่ละฤดู และสามารถดูดซึมเข้าไปในหอยหวานได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นจากผลการศึกษา ผู้บริโภคหอยหวานที่มีการปนเปื้อนด้วยสารพิษทั้ง 3 ชนิดในทะเลหรือดินตะกอนในทะเลควรตระหนักถึงพิษภัยที่อาจเกิดขึ้นจากการบริโภคสัตว์น้ำดังกล่าว หน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรตระหนักถึงปัญหานี้และควรมีมาตรการเร่งด่วนที่จะจัดการเนื่องจากพบการสะสมในปริมาณที่สูง นอกจากนี้ควรมีการตรวจติดตามและตรวจสอบการเกิด Imposex ในหอยฝาเดียวบริเวณที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของสารไตรบิวทิลทิน รวมทั้งเก็บตัวอย่างดินตะกอนและน้ำทะเลในบริเวณนั้นมาวิเคราะห์เพื่อเป็นแนวทางในการกำหนดมาตรฐานเกี่ยวกับการใช้สีกันเปรียงที่มีส่วนผสมของสารไตรบิวทิลทินในประเทศไทยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Fent K., Looser PW. Bioaccumulation and bioavailability of tributyltin chloride: influence of pH and humic acids. *Water Research* 1995; 29(7): 1631-37.
2. กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. โครงการติดตามตรวจสอบคุณภาพ น้ำทะเล. กรมควบคุมมลพิษกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม; 2549.
3. Cheung KC., Wong MH, Yung YK. Toxicity assessment of sediments containing tributyltin around Hong Kong harbour. *Toxicology Letters* 2003; 137(1-2): 121-31.
4. Evans SM., Dowson M, Day J, Frid CJ, Gil ME, Pattisina LA, Porter J. Domestic waste and TBT pollution in coastal areas of Ambon Island (Eastern Indonesia). *Marine Pollution Bulletin* 1995a; 30(2): 109-15.
5. Evans SM., Leksono T, Mckinne PD. Tributyltin pollution: a diminishing problem following legislation limiting the use of TBT-based anti-fouling paints. *Marine Pollution Bulletin* 1995b; 30(1): 14-21.
6. Foale S. An evaluation of the potential of gastropod imposex as a bioindicator of tributyltin pollution in Port Phillip Bay, Victoria. *Marine Pollution Bulletin* 1993; 26(10): 546-52.
7. Ten Halers-Ljabbes CC, Kemp JF, Boon JP. Imposex in whelks (*Buccinum undatum*) from the open North Sea: reaction to shipping traffic intensities. *Marine Pollution Bulletin* 1994; 258(5): 311-13.

8. นิลนาจ ชัยชนาวีสุทธิ, ศิรสา กฤษณะพันธุ์. คู่มือการเพาะเลี้ยงหอยหวาน: หลักการและแนวปฏิบัติ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2545.
9. สุบัณฑิต นิยมรัตน์, กณิกนันต์ ศรีสวัสดิ์, พงษ์รัตน์ คำรงโรจน์วัฒนา, วีรพงศ์ วุฒิปันธุ์ชัย. สถานการณ์การใช้สารไตรบิวทิลทินและการเกิด imposex ของหอยกลุ่ม Gastropod ในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 2549; 11(1): 97-104.
10. Gui-Bin J, Qun-Fang Z, Bin H. Sex change in the female dog-whelk, *Nucella lapillus*, induced by tributyltin from antifouling paints. *Journal of Marine Biological Assessment* UK 2000; 715-31.
11. Kannan K, Falandyz J. Butyltin residues in sediment, fish, fish-eating birds, harbour porpoise and human tissues from the Polish Coast of the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 1997; 34: 203-07.
12. Ladislao BA. Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT) contaminated marine environment. *Environmental International* 2008; 34: 292-308.
13. Azumi K, Nakamura S, Kitamura SI, Jung SJ, Kanehira K, Iwata H, Tanabe S, Suzuki S. Accumulation of organotin compounds and marine birnavirus detection in Korean ascidians. *Fisheries Science* 2007; 73: 263-69.
14. Mensink BP, Hans KA., Dick AV, Cato C, Ten HT, Jan HK, et. Al. Imposex induction in laboratory reared juvenile *Buccinum undatum* by tributyltin (TBT). *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2002; 11: 49-65.
15. Iwata H, Tanabe S, Miyazaki N, Tatsukawa R. Detection of butyltin compound residues in the blubber of marine mammals. *Marine Pollution Bulletin* 1994; 28(10): 607-12.
16. Swennen C, Sampantarak U, Ruttanadukul N. TBT-pollution in the Gulf of Thailand: A re-inspection of imposex incidence after 10 years. *Marine Pollution Bulletin* 2009; 58(4): 526-32.
17. Tebbing ARD. Organotins and water quality-some lessons to be learned. *Marine Pollution Bulletin* 1985; 16(10): 363-89.
18. Eva O, Patricia M. Mechanisms of imposex induction in the mud snail, *Ilyanassa obsoleta* : TBT as a neurotoxin and aromatase inhibitor. *Marine Environmental Research* 2002; 54: 715-18.
19. Bech M. Imposex and tributyltin contamination as a consequence of the establishment of a marina, and increasing yachting activities at Phuket Island, Thailand. *Environmental Pollution* 2002; 117: 421-29.
20. Gibbs PE, Bryan GW De Mora, editors. TBT-induced imposex in neogastropod snails: masculinization to mass extinction. In *Tributyltin: case study of an environmental contaminant*. United Kingdom: Cambridge University Press Cambridge Press; 1996. p. 211-36.
21. Lemghich I, Benajiba MH. Survey of imposex in prosobranch mollusks along the northern Mediterranean coast of Morocco. *Ecological Indicators* 2007; 7(2): 209-14.
22. Smith PJ, Luitjen JGA, Kimmer OR. Toxicological data on organotin compounds. ITRI Publication No. 538, International Tin Research Institute London; 1978.

23. Hoch M. Organotin compounds in the environment. *Applied Geochemistry* 2002; 16(7-8): 719-43. *
24. Kannan K, Senthilkumar K, Giesy JP. Occurrence of butyltin compounds in human blood. *Environmental Science and Technology* 1999; 33: 1776 – 9.
25. Whalen MM, Loganathan BG, Kannan K. Immunotoxicity of environmentally relevant concentrations of butyltins on human natural killer cells in vitro. *Environmental Research* 1999; 81: 108-16.
26. Hongxia L, Guolan H, Shugui D. Toxicity and accumulation of tributyltin chloride on Tilapia. *Applied Organometallic Chemistry* 1998; 12: 109-19.
27. Heidrich DD, Steckelbroeck S, Klingmuller D. Inhibition of human cytochrome P450 aromatase activity by butyltins. *Steroids* 2001; 66: 763-69.