

พิษเฉียบพลันของแอมโมเนียต่อลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

ที่เลี้ยงในระดับ pH ต่างกัน

Acute Toxicity of Ammonia on Tilapia Fingerling (*Oreochromis niloticus*)

Cultured at Different pH Levels

ทัศนีย์ นลวชัย* และศศิธร สีสุข

Thasanee Nonwachai* and Sasithon Sisuk

คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ พระนครศรีอยุธยา 13000
Faculty of Agricultural Technology and Agro-Industry, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi
Phranakhon Si Ayutthaya, Thailand 13000

*Corresponding author: tsnnonwachai@gmail.com

Received: June 07, 2021

Revised: July 22, 2022

Accepted: August 22, 2022

Abstract

Acute toxicity of ammonia on tilapia fingerling (*Oreochromis niloticus*) cultured at pH 5, 7 and 9 was studied by using static bioassay methods to determine the median lethal concentration of ammonia that kill half of tilapia fingerling population within 24 hours (24-hr LC₅₀). Ten tilapia fingerlings with average size of 3 cm were placed in a 2.5 l test jar containing 2 l of water. Treatments which included 3 levels of pH 5, 7 and 9. Behavior and mortality rate of tilapia fingerlings were observed in this study within 24 hours. Probit analysis was performed for evaluating the median lethal concentration. The 24-hr LC₅₀ of ammonia at pH 5, 7 and 9 were found to be 2.35 (1.07-5.21), 10.54 (6.34-18.76 and 1.56 (0.72-3.43) ppm respectively. The results from this study showed that different pH levels had an effect on levels of ammonia toxicity and mortality rate of tilapia fingerling. At pH 9, ammonia was most toxic to tilapia fingerling, followed by pH 5 and 7, respectively.

Keywords: acute toxicity, ammonia, pH, tilapia fingerling

บทคัดย่อ

การศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียต่อลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่เลี้ยงในระดับ pH 5, 7 และ 9 โดยใช้วิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (Static bioassay) เพื่อหาระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ทำให้ลูกปลานิลตายครึ่งหนึ่ง (Median lethal concentration)

ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (24-hr LC₅₀) ทำการทดลองโดยนำลูกปลานิลขนาดความยาวเฉลี่ย 3 ซม. ใส่ในโหลทดลองขนาดความจุ 2.5 ลิตร (10 ตัว/โหล) บรรจุน้ำ 2 ลิตร ที่มี pH 3 ระดับ ได้แก่ pH 5, 7 และ 9 สังเกตพฤติกรรมและอัตราการตายของลูกปลานิลภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้ลูกปลานิลตายครึ่งหนึ่งด้วยการวิเคราะห์โพรบิต (Probit)

analysis) พบว่า ที่ระดับ pH 5, 7 และ 9 มีค่า 24-hr LC_{50} ของแอมโมเนียเท่ากับ 2.35 (1.07-5.21), 10.54 (6.34-18.76 และ 1.56 (0.72-3.43) ppm ตามลำดับ ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าระดับ pH ที่แตกต่างกันมีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียและอัตราการตายของลูกปลานิล โดยระดับ pH 9 จะทำให้แอมโมเนียมีความเป็นพิษต่อลูกปลานิลมากที่สุด รองลงมาคือ ระดับ pH 5 และ 7 ตามลำดับ

คำสำคัญ: พิษเฉียบพลัน แอมโมเนีย pH ลูกปลานิล

คำนำ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ถือว่าเป็นปลาเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยมีลักษณะเด่น คือ ส่วนหัวเล็ก ลำตัวกว้าง สันหนาและมีการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ เพื่อให้ได้ผลผลิตสูง ในปัจจุบันมีการเลี้ยงปลานิลอย่างแพร่หลาย และเพื่อเป็นการเพิ่มผลผลิตเกษตรกรจึงมักเลี้ยงปลานิลในอัตราความหนาแน่นสูงซึ่งเป็นสาเหตุให้สภาพแวดล้อมภายในบ่อเลี้ยงมีความเสื่อมโทรมลงจากการสะสมของเสียจากอาหารเหลือและสิ่งขับถ่ายของสัตว์น้ำในรูปของสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษต่อปลา ได้แก่ แอมโมเนียและไนไตรท์ซึ่งจะอยู่ในรูปที่เป็นพิษมากเมื่อมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) สูงขึ้น (Nonwachai and Wanjing, 2016)

แอมโมเนียเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ เกิดจากการย่อยสลายอินทรีย์ที่มาจากอาหารขับถ่ายของสิ่งมีชีวิต ซากของสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว และอาหารสัตว์น้ำที่เหลือตกค้าง แอมโมเนียที่พบอยู่ในน้ำจะแบ่งเป็นสองรูปแบบคือ แอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ และแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) ซึ่งไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ในการวัดแอมโมเนียทั่วไปจะวัดรวมทั้งสองรูปความเป็นพิษของแอมโมเนียจะขึ้นอยู่กับค่า pH อุณหภูมิ

และปริมาณเกลือแร่ โดยปริมาณแอมโมเนียจะเพิ่มขึ้นตามค่า pH และอุณหภูมิที่สูงขึ้น เมื่อปริมาณแอมโมเนียในน้ำสูงขึ้นจะมีผลทำให้การขับถ่ายแอมโมเนียของปลาทำได้น้อยลง ทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อ ส่งผลให้พิษของเลือดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้แอมโมเนียยังเป็นสาเหตุให้เนื้อเยื่อต่าง ๆ ใช้ออกซิเจนเพิ่มมากขึ้น และลดความสามารถของเลือดในการขนส่งออกซิเจน แอมโมเนียในความเข้มข้นระดับต่ำ ที่ไม่ทำให้ปลาตายมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อของไต ม้าม ต่อมไทรอยด์ และเลือดของปลา และทำให้ปลาอ่อนแอ ติดโรคร่ายและการเจริญเติบโตลดลง (Thongdon-A, 2013) ที่ผ่านมามีการศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียในสัตว์น้ำหลายงานวิจัย เช่น การศึกษาของ Keratethaweek et al. (2013) พบว่าค่า LC_{50} ของแอมโมเนียต่อปลานิลที่ 24 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 42.78 (39.89-45.67) ppm Prasertsom (2004) ทำการทดลองพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียต่อลูกปลากะพงขาวขนาด 3.7 นิ้ว ในเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่า ค่า LC_{50} ของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH_3-N) มีค่าเท่ากับ 1.28, 1.14, 0.96 และ 0.78 ppm ตามลำดับโดยมีความเข้มข้นที่ปลอดภัย (Safe concentration) เท่ากับ 0.064, 0.057, 0.048 และ 0.039 ppm ตามลำดับ ทั้งนี้ งานวิจัยส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียเพียงอย่างเดียวโดยไม่ได้อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างแอมโมเนียและค่า pH

ดังนั้นการศึกษานี้จะเป็นการศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียต่อลูกปลานิลที่เลี้ยงในระดับ pH ต่างกัน ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างแอมโมเนียและ pH ผลจากการศึกษาครั้งนี้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของสัตว์น้ำ เพิ่มประสิทธิภาพในการเลี้ยงสัตว์น้ำให้ประสบความสำเร็จต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกปลานิลความยาวเฉลี่ย 3 เซนติเมตร จำนวน 3,000 ตัว จากแหล่งจำหน่ายพันธุ์ปลาที่จังหวัดอุทัยธานี มาพักไว้ในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 500 ลิตร เป็นระยะเวลา 3 วัน เพื่อปรับสภาพให้อาหาร 2 มื้อต่อวัน (เช้า-เย็น) มีการให้ออกซิเจนตลอดเวลา ก่อนทำการทดลองจะงดให้อาหารก่อนการทดลอง 1 วัน

การเตรียมน้ำ

นำน้ำประปา (ที่ทำให้ปราศจากคลอรีนแล้ว ตรวจสอบคลอรีน ที่ตกค้างโดยใช้ชุดทดสอบคลอรีน) มาปรับระดับ pH ให้ได้ระดับ pH ที่ระดับ 5, 7 และ 9 โดยใช้สาร CH_3COOH (Acetic acid) ในการลดระดับ pH และใช้ Sodium hydroxide ในการเพิ่มระดับ pH เติมน้ำใส่ ถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 500 ลิตร โดยค่อย ๆ เติมน้ำที่ใช้สำหรับปรับระดับ pH ลงในถังจนได้ระดับ pH ที่ต้องการ วัดระดับ pH โดยใช้ pH meter (pH meter ORION Model Sa520) ในการวัดค่า pH ก่อนนำน้ำไปใช้ในการทดลอง

การเตรียมแอมโมเนียรวม

อบแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ทั้งให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน (Stock solution) ของแอมโมเนีย โดยละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ 38.2 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 10,000 มก./ลิตร Ammonia-N และทำให้เจือจางด้วยน้ำที่เตรียมไว้สำหรับทดลองให้ได้ความเข้มข้นของแอมโมเนียตามที่ต้องการ (Nonwachai, 2012) โดยใช้สูตร

$$(N_1V_1) \text{ Stock solution} = (N_2V_2) \text{ Dilution}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลาย (mg/l ammonia-N)

V = ปริมาตรของสารละลาย (หน่วยเป็นมิลลิลิตร)

การศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียต่อลูกปลานิลที่เลี้ยงในระดับ pH ต่างกัน 3 ระดับ ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

นำลูกปลานิลมาทดลองเพื่อหาค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงโดยใช้วิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (Static bioassay) ตามวิธีของ American Public Health Association [APHA] (1992) การทดลองประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ได้แก่

การทดลองขั้นต้น (Range finding test)

หาระดับความเข้มข้นช่วงกว้าง คือระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ลูกปลานิลตาย 100 เปอร์เซ็นต์และระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้ลูกปลานิลมีชีวิตรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยกำหนดความเข้มข้นของแอมโมเนียออกเป็น 15 ระดับ ดังนี้

pH 5 ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 และ 50 ppm

pH 7 ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 และ 50 ppm

pH 9 ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 และ 50 ppm

ทำการทดลองโดยเติมน้ำแอมโมเนียในโหลทดลองขนาด 2.5 ลิตร ที่ใส่น้ำประปาที่ปรับค่า pH ต่างกัน 3 ระดับ ปริมาณ 2 ลิตร หลังจากนั้นใส่ลูกปลานิลลงไปโหลละ 10 ตัว ในทุกโหลควบคุมปริมาณออกซิเจนให้อยู่ที่ 4 มก./ลิตร ตลอดระยะเวลาการทดลอง แต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 ซ้ำ สังเกตและบันทึกผลจำนวนลูกปลานิลที่ตายภายใน 24 ชั่วโมง โดยใช้เกณฑ์การตัดสินว่าสัตว์ทดลองตายจากการหยุดเคลื่อนไหว (Throp and Lake, 1974) นำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปจัดระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองอย่างละเอียดต่อไป

การทดลองอย่างละเอียด (Definitive test)

จัดระดับความเข้มข้นซึ่งอยู่ในช่วงที่ลูกปลานิลรอดตายและตาย 100 เปอร์เซ็นต์จากการทดลองขั้นต้น

เพื่อหาระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ทำให้ลูกปลานิลตายครึ่งหนึ่งภายใน 24 ชั่วโมง โดยการนำผลการทดลองขึ้นต้นมาจัดระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียออกเป็น 7 ระดับโดยใช้วิธีลอการิทึมในแต่ละระดับ pH ดังนี้

pH 5 ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 0.1, 0.34, 1.15, 3.90, 13.25 และ 45 ppm

pH 7 ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 1, 2.19, 4.79, 10.46, 22.85 และ 50 ppm

pH 9 ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 0.05, 0.18, 0.65, 2.33, 8.39 และ 30 ppm

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองขึ้นต้นเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองนำเปอร์เซ็นต์การตายของลูกปลานิลในแต่ละระดับความเข้มข้นไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้ลูกปลานิลตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 24 ชั่วโมง (24-hr LC₅₀) โดยการวิเคราะห์แบบโปรบิทตามวิธีของ Finney (1971)

ผลการวิจัยและวิจารณ์

การศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียต่อลูกปลานิลที่เลี้ยงในระดับ pH ต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 5, 7 และ 9 ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า จากการทดลองขึ้นต้น

ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของแอมโมเนียที่ระดับ pH 5, 7 และ 9 ที่ทำให้ปลานิลตาย 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 45, 50 และ 30 ppm ตามลำดับ และระดับความเข้มข้นสูงสุดของแอมโมเนียที่ทำให้ลูกปลานิลรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 0.1, 1 และ 0.05 ppm ตามลำดับ (Table 1) เมื่อนำค่าที่ได้มาจัดระดับความเข้มข้นในการทดลองขึ้นละเอียด โดยกำหนดความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ระดับ pH 5 ออกเป็น 7 ระดับ ได้แก่ 0, 0.1, 0.34, 1.15, 3.90, 13.25 และ 45 ppm พบว่าลูกปลานิลมีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 0.00 ± 0.00 , 0.00 ± 0.00 , 36.67 ± 5.77 , 36.67 ± 5.77 , 56.66 ± 5.77 , 80.00 ± 10.00 และ 100.00 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กำหนดความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ระดับ pH 7 ออกเป็น 7 ระดับ ได้แก่ 0, 1, 2.29, 4.79, 10.46, 22.85 และ 50 ppm พบว่ามีอัตราการตายสะสมของลูกปลานิลเท่ากับ 0.00 ± 0.00 , 0.00 ± 0.00 , 20.00 ± 10.00 , 36.67 ± 5.77 , 46.66 ± 5.77 , 66.66 ± 5.77 และ 100.00 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และกำหนดความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ระดับ pH 9 ออกเป็น 7 ระดับ ได้แก่ 0.05, 0.18, 0.65, 2.33, 8.39 และ 30 ppm พบว่ามีอัตราการตายสะสมของลูกปลานิลเท่ากับ 0.00 ± 0.00 , 0.00 ± 0.00 , 23.33 ± 5.77 , 30.00 ± 10.00 , 50.00 ± 10.00 , 83.33 ± 11.55 และ 100.00 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2)

Table 1 Cumulative mortality of Tilapia fingerling (*Oreochromis niloticus*) after exposure to ammonia at pH 5, 7 and 9 for 24 hours (range finding test)

Ammonia (ppm)	Replication			Total	Average	Percent
	1	2	3			
pH 5						
0 (control)	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.05	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.1	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.5	1	0	1	2	0.67	6.67±0.58
1	3	1	2	6	2.00	20.00±1.00
5	4	2	3	9	3.00	30.00±1.00
10	5	3	5	13	4.33	43.33±1.15
15	6	4	6	16	5.33	53.33±1.15

Table 1 (Continued)

Ammonia (ppm)	Replication			Total	Average	Percent
	1	2	3			
20	6	5	7	18	6.00	60.00±1.00
25	7	6	8	21	7.00	70.00±1.00
30	7	7	8	22	7.33	73.33±0.58
35	8	8	9	25	8.33	83.33±0.58
40	9	9	9	27	9.00	90.00±0.00
45	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00
50	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00
pH 7						
0 (control)	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.05	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.1	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.5	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
1	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
5	1	1	2	4	1.33	13.33±0.58
10	1	2	2	5	1.67	16.67±0.58
15	2	3	3	8	2.67	26.67±0.58
20	3	4	5	12	4.00	40.00±1.00
25	5	4	5	14	4.67	46.67±0.58
30	6	5	7	18	6.00	60.00±1.00
35	7	6	8	21	7.00	70.00±1.00
40	8	9	8	25	8.33	83.33±0.58
45	9	9	9	27	9.00	90.00±0.00
50	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00
pH9						
0 (control)	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.05	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.1	0	1	0	1	0.33	3.33±0.58
0.5	1	1	2	4	1.33	13.33±0.58
1	2	3	4	9	3.00	30.00±1.00
5	4	3	3	10	3.33	33.33±0.58
10	4	5	6	15	5.00	50.00±1.00
15	5	6	5	16	5.33	53.33±0.58
20	6	7	7	20	6.67	66.67±0.58
25	9	8	8	25	8.33	83.33±0.58
30	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00
35	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00
40	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00
45	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00
50	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00

Table 2 Cumulative mortality of Tilapia fingerling (*Oreochromis niloticus*) after exposure to ammonia at pH 5, 7 and 9 for 24 hours (definitive test)

Ammonia (ppm)	Replication			Total	Average	Percent
	1	2	3			
pH 5						
0 (control)	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.1	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.34	4	3	3	10	3.33	33.33±0.58
1.15	4	4	3	11	3.67	36.67±0.58
3.90	6	5	6	17	5.67	56.67±0.58
13.25	7	8	7	22	7.33	73.33±0.58
45	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00
pH 7						
0 (control)	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
1	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
2.19	1	2	3	6	2.00	20.00±1.00
4.79	3	4	4	11	3.67	36.67±0.58
10.46	5	5	4	14	4.67	46.67±0.58
22.85	7	6	7	20	6.67	66.67±0.58
50	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00
pH 9						
0 (control)	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.05	0	0	0	0	0.00	0.00±0.00
0.18	2	3	2	7	2.33	23.33±0.58
0.65	4	3	2	9	3.00	30.00±1.00
2.33	5	6	4	15	5.00	50.00±1.00
8.39	7	9	9	25	8.33	83.33±1.15
30	10	10	10	30	10.00	100.00±0.00

เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การตายของลูกปลานิลในแต่ละระดับความเข้มข้นไปคำนวณหาความเข้มข้นที่ทำให้ลูกปลานิลตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 24 ชั่วโมง พบว่าค่า 24-hr LC₅₀ ของแอมโมเนียต่อลูกปลานิลที่เลี้ยงในระดับ pH 9 มีค่าน้อยที่สุด เท่ากับ 1.56 (0.72-3.43) ppm รองลงมา ได้แก่ ระดับ pH 5 และ 7 ซึ่งมี ค่า 24-hr LC₅₀ เท่ากับ 2.35 (1.07-5.21) และ 10.54 (6.34-18.76) ppm ตามลำดับ (Table 3) แสดงให้เห็นว่าระดับ pH 9 จะทำให้แอมโมเนียมีความเป็นพิษต่อลูกปลานิล

มากที่สุด รองลงมา คือ ระดับ pH 5 และ 7 ตามลำดับ ผลจากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับ pH มีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย และอัตราการตายของลูกปลานิล ในขณะที่การศึกษาก่อนหน้าจะเป็นการศึกษาเฉพาะพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียเพียงปัจจัยเดียว เช่น Keratethaweek et al. (2013) รายงานความเป็นพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียในลูกปลานิลที่น้ำหนักเฉลี่ย 0.23 กรัม พบว่ามีค่า 24-hr LC₅₀ เท่ากับ 42.78 (39.89-45.67) ppm Kaewmanee (2009)

รายงานค่าความเป็นพิษของแอมโมเนียในลูกปลานิล ขนาดเฉลี่ย 0.23 กรัม มีค่า 24-hr LC₅₀ ของแอมโมเนีย เท่ากับ 40.66 (39.53-41.83) ppm Chervinski (1982) รายงานว่าความเข้มข้นของแอมโมเนีย 2.4 ppm ทำให้ ปลานิลตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 48 ชั่วโมง Robert *et al.* (1978) ศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียในปลา

cutthroat trout (*Salmo clarki*) ขนาด 1-3 g พบว่าค่า LC₅₀ มีค่าอยู่ระหว่าง 0.5-0.8 ppm ในระยะเวลา 96 ชม. และ 0.3-0.6 ppm ใน 36 วัน ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่า LC₅₀ ของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำอาจมีความแตกต่างกันซึ่งมี สาเหตุมาจากชนิดและขนาดของสัตว์น้ำ รวมทั้ง ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง

Table 3 The 24-hr LC₅₀ of ammonia on Tilapia fingerling (*Oreochromis niloticus*) at pH 5, 7 and 9

pH	LC ₅₀ (ppm)	Lower limit (ppm)	Upper limit (ppm)
5	2.35	1.07	5.21
7	10.54	6.34	18.76
9	1.56	0.72	3.43

ปลานิลสามารถทนต่อ pH ระหว่าง 4.0-11.0 แต่ พบว่าค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 7.0-10.0 (Hiranwattana *et al.*, 1993; Kongprasert, 2000) ค่า pH ระหว่าง 9-11 จะทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตที่ ลดลง และหาก pH มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 11 จะทำให้เกิด ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำและทำให้สัตว์น้ำตายได้ (Boyd and Tucker, 1998) ค่า pH ที่ระดับน้อยกว่า 6.5 จะมีผล ทำให้ปลาหรือสัตว์น้ำที่ได้รับการสัมผัสเป็นเวลานาน เกิด สภาพการเจริญเติบโตช้าหรือมีผลทำลายระบบสืบพันธุ์ ของสัตว์น้ำเหล่านั้น และหากค่า pH มีระดับที่ต่ำกว่า 4 จะ ทำให้สัตว์น้ำตายได้ pH (Boyd, 1982) นอกจากนี้ pH ยังมี ผลทางอ้อมให้เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ Dent (1986) ได้ รายงานว่าที่ ระดับ pH ต่ำ จะมีผลทำให้ปริมาณ อะลูมิเนียมไอออน (Al³⁺) เหล็กไอออน (Fe²⁺) และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) ซึ่งเป็นไอออนและสารประกอบที่มี ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำละลายอยู่มากกว่าในระดับ pH ที่สูงกว่า

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับความเข้มข้นของ แอมโมเนียที่ทำให้ลูกปลานิลที่เลี้ยงในระดับ pH 5, 7 และ 9 เกิดการตายจะมีระดับความเข้มข้นเริ่มตั้งแต่ 0.5, 5 และ

0.1 ppm ตามลำดับ โดยลูกปลานิลที่เลี้ยงในระดับ pH 7 จะมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของแอมโมเนียมาก ที่สุด ในขณะที่ลูกปลาที่เลี้ยงในระดับ pH 9 และ 5 จะมี อัตราการตายของลูกปลาที่สูงกว่า ทั้งนี้เนื่องจากที่ระดับ pH 9 ความเป็นพิษของแอมโมเนียจะมีค่าสูงขึ้น การที่ pH ของน้ำสูงขึ้น แอมโมเนียจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่เป็นพิษมาก ขึ้น คือ NH₃ เช่น ที่ระดับ pH 7.4 มีปริมาณแอมโมเนียที่อยู่ใน รูปที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ 1.73 เปอร์เซ็นต์ เมื่อ pH เพิ่มขึ้น ที่ระดับ 8.4 พบว่ามีค่าแอมโมเนียที่เป็นพิษมากกว่า pH 7.4 ถึง 8 เท่า ในขณะที่ปริมาณแอมโมเนียรวมมีค่าเท่ากัน แอมโมเนียที่เป็นพิษขึ้นกับปริมาณ ammonia-N, pH, ความเค็ม และอุณหภูมิ (Nonwachai, 2012) ที่ระดับ pH 5 แม้จะไม่ทำให้แอมโมเนียมีความเป็นพิษเพิ่มขึ้น แต่ใน ระดับ pH 5 นั้นเป็นระดับที่ไม่เหมาะสมกับการเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากน้ำมีความเป็นกรดสูง ประกอบกับเมื่อปลา ได้รับแอมโมเนียในระดับความเข้มข้นที่สูง จึงทำให้ลูกปลา นิลได้รับผลกระทบทั้งจาก pH ที่เป็นกรดและแอมโมเนีย ที่ทำอันตรายต่อเนื่องต่าง ๆ ของปลา ทำให้ลูกปลานิล มีอัตราการตายที่สูงรองลงมาจากระดับ pH 9

Chen and Cheng (1993) รายงานว่า แอมโมเนีย ที่ระดับความเข้มข้น 0.4 ppm สามารถทำให้กุ้งตายได้ ภายในระยะเวลา 10 ชั่วโมง Wajsbroet *et al.* (1991) รายงานค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมไนโตรเจนและ แอมโมเนียอิสระ ($\text{NH}_3\text{-N}$) ที่ปลอดภัยสำหรับปลา Seabream (*Sparus aurata*) ไว้ที่ 1.2 และ 0.064 ppm ตามลำดับ Mac Intyre *et al.* (2008) ได้รายงานค่าความ ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำเมื่อสัมผัสกับแอมโมเนีย (NH_3) แบบ Intermittent และคงที่ไว้ที่ 0.05 และ 0.03 ppm ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียในน้ำสูงขึ้น จะมีผลทำให้การขับถ่ายแอมโมเนียของปลาทำได้น้อยลง เกิดการสะสมของแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อ ส่งผลให้ pH ของเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่งจะมีผลกระทบต่อปฏิกิริยาชีวเคมี ต่าง ๆ และความคงสภาพของเนื้อเยื่อ เป็นอันตรายต่อ เจริญกรรมถึงเยื่อต่าง ๆ ที่ทำหน้าที่สร้างเมือกปกคลุมตัว โดยจะไปขัดขวางการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนจากเหงือก สูระบบไหลเวียนโลหิต และก่อให้เกิดการระคายเคือง ต่อผิวหนังสัตว์น้ำ ทำให้เกิดบาดแผล เช่น แผลหลุม เกิด จุดเลือดสีแดง มีรอยข้ำเป็นจ้ำ และเป็นโรคผิวหนังต่าง ๆ เป็นต้น ส่งผลให้สัตว์น้ำอ่อนแอ เกิดการติดเชื้อจากโรคชนิด ต่าง ๆ และทำให้สัตว์น้ำตายในที่สุด นอกจากนี้ปลาที่ได้รับ แอมโมเนียในระดับที่สูงเกินไป จะมีปฏิกิริยาตอบสนองด้าน พฤติกรรม โดยปลาจะมีการเคลื่อนไหวช้าลง และมักจะ ลอยหัวขึ้นมาหายใจอยู่บริเวณผิวน้ำ บริเวณลำตัวหรือครีบ จะเป็นรอยแดง เหงือกเปลี่ยนเป็นสีม่วงคล้ำและอาจมี เลือดออก ปลาจะหยุดกินอาหารและจะเคลื่อนไหวน้อยลง (Laongsirirong *et al.*, 2000; Chansue, 2010; Thongdon-A, 2013) ดังนั้นหากสัตว์น้ำสัมผัสกับแอมโมเนียที่มีความเข้มข้น สูงจะทำให้มีอัตราการตายที่สูงขึ้นตามไปด้วย

บ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในธรรมชาติปริมาณ แอมโมเนียจะมีการเปลี่ยนแปลงตามคุณสมบัติของน้ำ เช่น การสะสมของเสียภายในบ่อ จากอาหารเหลือ สิ่งขับถ่ายของ สัตว์น้ำ หรือแพลงก์ตอนที่ตาย โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณ แอมโมเนียในน้ำจะมีการสะสมเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ตาม ระยะเวลาในการเลี้ยง ทำให้สัตว์น้ำสามารถปรับตัวให้เข้ากับ

ปริมาณแอมโมเนียที่เปลี่ยนแปลงไปได้ ระดับความเข้มข้น ของแอมโมเนียที่ทำให้สัตว์น้ำตาย ปกติอยู่ในช่วง 0.4-2.0 ppm ในรูปของ NH_3 (Limsuwan, 2000) ปลาที่อยู่ในน้ำ ที่มีแอมโมเนียสูงแต่ไม่ถึงระดับที่ทำให้ตายนาน ๆ จะทำให้ ไวต่อการเกิดโรคต่าง ๆ ระดับแอมโมเนียในน้ำเลี้ยงปลาทั่วไป ควรมีค่าไม่เกิน 0.5 ppm (Asawaketmanee, 2006)

จากการสังเกตพฤติกรรมของลูกปลานิล พบว่าลูก ปลานิลที่เลี้ยงในระดับ pH 5 และ 9 ที่ได้รับแอมโมเนียเมื่อ ผ่านไป 2 ชั่วโมง ลูกปลานิลจะมีการขับเมือกออกมาเป็น จำนวนมาก มีการลอยหัวขึ้นมาหายใจบริเวณผิวน้ำ และมีการว่ายน้ำคางส่ว้น ส่วนลูกปลานิลที่เลี้ยงในระดับ pH 7 ลูกปลานิลจะมีการลอยหัวขึ้นมาหายใจบริเวณผิวน้ำ มีการ ว่ายน้ำแบบคางส่ว้น แต่ไม่พบการขับเมือกของลูกปลา นอกจากนี้ยังพบว่าเหงือกของลูกปลานิลที่ได้รับแอมโมเนีย ในระดับความเข้มข้นสูงจะมีการเปลี่ยนสีเป็นสีม่วงคล้ำ ส่วน ลูกปลาในชุดควบคุม (ปลาที่เลี้ยงในน้ำที่มีการปรับระดับ pH แต่ไม่มีการใส่แอมโมเนีย) พบว่าลูกปลานิลที่เลี้ยงในระดับ pH 5 และ 9 ลูกปลาจะมีการขับเมือกออกมาและมีการลอย หัวขึ้นมาหายใจบริเวณผิวน้ำ แต่จะไม่พบการตายของลูก ปลาตลอดระยะเวลาการทดลอง ส่วนลูกปลานิลที่เลี้ยงใน ระดับ pH 7 พบว่า ลูกปลามีการว่ายน้ำเป็นปกติและไม่พบ การตายของลูกปลาตลอดระยะเวลาการทดลอง

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบันเป็นการเพาะเลี้ยง ที่เน้นการปล่อยลูกปลาลงเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นสูง เพื่อให้ได้ผลผลิตปริมาณมาก การเลี้ยงในรูปแบบนี้เกษตรกร จำเป็นจะต้องให้อาหารในปริมาณมาก ส่งผลให้มีการตกค้าง ของอาหารเหลือภายในบ่อ รวมทั้งสิ่งขับถ่ายของสัตว์น้ำ จำนวนมาก ซึ่งจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของแอมโมเนีย หากขาด การจัดการที่ดีจะทำให้เกิดผลกระทบต่อสัตว์น้ำตามมา โดย ในช่วงระหว่างการเลี้ยงปริมาณแอมโมเนียรวมที่สามารถ ตรวจวัดได้จะอยู่ที่ 1.5 ppm และอาจสูงถึง 3.1 ppm (Nonwachai and Wanjing, 2016) ประกอบกับถ้าเกษตรกร ไม่ได้ควบคุมคุณภาพน้ำโดยเฉพาะในด้านของ pH ให้อยู่ใน ระดับที่เหมาะสม จะทำให้ปลา มีอัตราการรอดตายต่ำส่งผล ให้เกษตรกรได้ผลผลิตที่ไม่เป็นไปตามเป้าหมาย

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาค้นคว้าพบว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับ pH มีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย และอัตราการตายของลูกปลานิล โดยระดับ pH 9 จะทำให้แอมโมเนียมีความเป็นพิษต่อลูกปลานิลมากที่สุด รองลงมา คือ ระดับ pH 5 และ 7 โดยค่า 24-hr LC₅₀ ของแอมโมเนียต่อลูกปลานิลที่เลี้ยงในระดับ pH 9, 5 และ 7 มีค่าเท่ากับ 1.56 (0.72-3.43), 2.35 (1.07-5.21) และ 10.54 (6.34-18.76) ppm ตามลำดับ ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำควรควบคุมปริมาณแอมโมเนีย และระดับ pH ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำให้อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม เพื่อป้องกันไม่ให้สัตว์น้ำได้รับอันตราย และทำให้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเกิดประสิทธิภาพและมีความยั่งยืน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเทคโนโลยี การเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ศูนย์หันตรา ที่สนับสนุนการใช้อุปกรณ์ และสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- American Public Health Association (APHA). 1992. **Standard Method for the Examination of Water and Wastewater**. 18th. Washington, D.C: American Public Health Association. 1360 p.
- Asawaketmanee, N. 2006. **Freshwater Fish Culture**. Songkhla: Faculty of Agricultural Technology, Songkhla Rajabhat University. 168 p. [in Thai]
- Boyd, C.E. 1982. **Water Quality Management for Pond Fish Culture**. New York: Elsevier Scientific Publishing Company. 318 p.
- Boyd, C.E. and C.S. Tucker. 1998. **Pond Aquaculture Water Quality Management**. Boston: Kluwer Academic Publishers. 700 p.
- Chansue N. 2010. **Fish Disease: Internal Medicine and Clinical Practice**. Bangkok: Holistic Publishing. 691 p. [in Thai]
- Chen, J.C. and S.Y. Cheng. 1993. Studies on hemocyanin and haemolymph protein levels of *Penaeus japonicus* based on sex, size and moulting cycle. **Comp. Biochem. Physiol.** 106: 293-296.
- Chervinski, J. 1982. Environmental Physiology of Tilapia. pp. 119-128. *In* Pullin, R.S.V. and R.H. Lowe-McConnell. (eds.). The Biology and Culture of Tilapia. *In* **ICLARM Conference Proceedings 7**. Manila: International Center for Living Aquatic Resources Management.
- Dent, D. 1986. **Acid Sulphate Soils: A Baseline for Research and Development**. Netherlands: International Institute for Land Reclamation and Improvement. 204 p.
- Finney, D.J. 1971. **Probit Analysis**. 3rd edition. Cambridge: Cambridge University. 331 p.
- Hiranwattana, S., B. Sricharoenham and R. Pitipornchai. 1993. **Tilapia Cage Culture in Dokgrai Reservoir, Rayong Province**. 33 p. *In* Research Report. Bangkok: Inland Fisheries Research Institute, Department of Fisheries. [in Thai]

- Kaewmanee, C. 2009. **Substitution of Fish Meal with Plant Protein in Diets on Nursing of Tilapia (*Oreochromis* spp.) Growth Performance, Ammonia Excretion and Disease Resistance after Transportation.** Master Thesis. Kasetsart University. 207 p. [in Thai]
- Keratethaweesuk A., O. Jintasataporn and Y. Musig. 2013. Acute Toxicity of Metaldehyde and Acute Toxicity of Ammonia Plus Metaldehyde in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). pp. 449-456. *In Proceedings of 51st Kasetsart University Annual Conference, 5-7 February 2013.* Bangkok: Kasetsart University. [in Thai]
- Kongprasert, C. 2000. **Fish Farming.** 1st. Bangkok: Kasetsart Book Publishing. 223 p. [in Thai]
- Laongsiriwong, N., K. Silpachan and L. Laongsiriwong. 2000. **Ammonia and Aquaculture.** 8 p. *In Research Report.* Songkhla: Coastal Aquaculture Research and Development Division. [in Thai]
- Limsuwan C. 2000. **Thai Shrimp 2000.** Bangkok: Charanrat Printing House. 260 p. [in Thai]
- Mac Intyre, C.M., T. Ellis, B.P. North and J.F. Turnbull. 2008. **The Influences of Water Quality on the Welfare of Farmed Rainbow Trout: A Review; In Fish Welfare.** Singapore: Blackwell Publishing Ltd. 299 p.
- Nonwachai T. 2012. **Effects of Dissolved Oxygen, Ammonia and pH Levels on Feed Intake, Growth, Survival, Non-Specific Immune Characteristic of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and Challenged with *Vibrio harveyi*.** Doctoral Dissertation. Kasetsart University. 129 p. [in Thai]
- Nonwachai T. and S. Wanjing. 2016. Effect of pH levels and ammonia on survival rate of red hybrid tilapia larvae (*Oreochromis* sp.). **Khon Kaen Agriculture Journal** 44(1): 644-645. [in Thai]
- Prasertsom S. 2004. **Acute Toxicity of Ammonia on Sea Bass Fry (*Lates calcarifer*, Bloch).** 19 p. *In Research Report.* Songkhla: Coastal Aquaculture Research and Development Division. [in Thai]
- Robert, V.T., R.C. Russo and C.E. Smith. 1978. Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. **Trans. Am. Fish. Soc.** 107(2): 361-368.
- Thongdon-A.R. 2013. **Study on Diseases and Parasites in Cage-cultured Red Hybrid Tilapia (*Oreochromis* sp.).** Doctoral Dissertation. Kasetsart University. 178 p. [in Thai]
- Throp, F.J. and P.S. Lake. 1974. Toxicity bioassays of cadmium and zinc on the freshwater shrimp, *Paratya tasmanensis*. **Marine and Freshwater Research** 25: 97-104.
- Wajsbrot, N., A. Gasith, M.D. Krom and D.M. Popper. 1991. Acute toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* under reduced oxygen levels. **Aquaculture.** 164: 227-288.