



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง

พิษเฉียบพลันของยาเหลืองที่มีต่อลูกปลาสด (*Xiphophorus helleri*), ลูกปลาหางนกยูง

(*Poecilia reticulata*) และลูกปลานิล (*Tilapia nilotica* Linn.)

Acute Toxicity of Acriflavine on Fry of Swordtail (*Xiphophorus helleri*), Guppy

(*Poecilia reticulata*), and Nile Tilapia (*Tilapia nilotica* Linn.)

โดย

นางสาว พวงเพชร แสนทวีสุข

ได้รับพิจารณาเห็นชอบโดย
อาจารย์ที่ปรึกษา

(ดร. ปวีณา ทวีถักการ)

มท

พ.ศ. ๒๕๔๓

๒๕๔๓

ภาควิชารับรองแล้ว

17050

13 พ.ย. 2543

(อาจารย์สมชาย หวังวิบูลย์กิจ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ ๒๗ เดือน ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๔๓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เรื่อง

พิษเฉียบพลันของยาเหลืองที่มีต่อลูกปลาสด (*Xiphophorus helleri*), ลูกปลาหางนกยูง(*Poecilia reticulata*) และลูกปลานิล (*Tilapia nilotica* Linn.)Acute Toxicity of Acriflavine on Fry of Swordtail (*Xiphophorus helleri*), Guppy(*Poecilia reticulata*), and Nile Tilapia (*Tilapia nilotica* Linn.)

โดย



T099423

นางสาว พวงเพชร แสนทวีสุข

ป.พ.

พ 4729พ

2543

เสนอ

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน.....99423

วัน,เดือน,ปี.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

พิษเฉียบพลันของยาเหลืองที่มีต่อลูกปลาสด (*Xiphophorus helleri*), ลูกปลาหางนกยูง

(*Poecilia reticulata*) และลูกปลานิล (*Tilapia nilotica* Linn.)

Acute Toxicity of Acriflavine on Fry of Swordtail (*Xiphophorus helleri*), Guppy

(*Poecilia reticulata*), and Nile Tilapia (*Tilapia nilotica* Linn.)

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของยาเหลืองต่อลูกปลา 3 ชนิดคือ ลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง ลูกปลานิล ขนาดความยาวเฉลี่ย 2.12 เซนติเมตร 2.02 เซนติเมตร และ 2.02 เซนติเมตร และ น้ำหนักเฉลี่ย 0.17 กรัม 0.14 กรัม และ 0.37 กรัม ตามลำดับ โดยใช้การทดลองชีววิเคราะห์ในน้ำนิ่ง ในตู้ทดลองขนาด 14.3x27x11.4 เซนติเมตร และได้วิเคราะห์ความเป็นพิษของยาเหลืองในปลาทั้ง 3 ชนิด ในรูปแบบพื้นฐานความเข้มข้นที่ทำให้ปลาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ภายในเวลา 48 ชั่วโมงโดยใช้วิธีของ Litchfield และ Wilcoxon (1949) พบว่าค่าความเข้มข้นสูงสุดของยาเหลืองที่ไม่ทำให้ลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และลูกปลานิลตายที่ 48 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 9, 6 และ 3 ppm ตามลำดับและค่าความเป็นพิษเฉียบพลันที่ทำให้ปลาทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 48 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 10.4 (9.76-11.07), 10.5 (8.95-12.31), และ 6.6 (5.67-7.67) ppm ตามลำดับ ค่าความกระด้าง ความเป็นด่าง และความเป็นกรดเป็นด่าง ตลอดจนการทดลองในลูกปลาทั้ง 3 ชนิดมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ส่วนคุณสมบัติของน้ำเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิของอากาศและอยู่ในช่วง 27-29.8, 26.4-29.8 และ 28.7-29.8 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แต่ยังคงอยู่ในช่วงที่เหมาะสมในการดำรงชีวิต ส่วนค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่าลดลงในกลุ่มควบคุมเล็กน้อยส่วนกลุ่มการทดลองที่ใส่ยาเหลืองแสดงค่าลดลงมากกว่า โดยมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือและแนะนำทั้งในด้านการทดลองและการเรียน ตลอดจน อาจารย์สมณฑล แก่นมณี และ อาจารย์นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมเพื่อให้ปัญหาพิเศษเล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น รวมถึงผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ที่ได้กรุณาตรวจทานแก้ไขจนได้เป็นรูปเล่มปัญหาพิเศษขึ้น

ขอขอบคุณ คุณนิพนธ์ จิตตำนาน และ คุณบุปผา จงพัฒน์ ที่กรุณาเอื้อเฟื้ออุปการะตลอดการทดลอง

ขอขอบคุณ คุณกิตติศักดิ์ สุกใส คุณกาหลง นิยมสุข คุณจุฑารัตน์ แสงกุล พิจุ และคุณพวง ที่ช่วยเหลือขณะทำการทดลอง และหาข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการทดลองในครั้งนี้ และเพื่อนๆ ทุกคนในภาควิชาที่คอยลุ้นจนจบการศึกษา

ขอขอบคุณ พี่ต๋อง คุณ โหวต น้องเอ็ด น้องสัน ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องคอมพิวเตอร์จนปัญหาพิเศษเสร็จสิ้นลงได้ และบุคคลสำคัญคือ คุณจรินทร์ เจริญยศ ที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา

ขอบคุณปัญหาพิเศษเล่มนี้ที่ทำให้ข้าพเจ้าได้นั่งรถไฟฟ้าเกือบทุกวันเพื่อมาแก้ไขที่สุขุมวิท 24 และขอบคุณขนส่งมวลชนกรุงเทพฯที่ทำให้ข้าพเจ้าเดินทางโดยปลอดภัยในทุกวัน

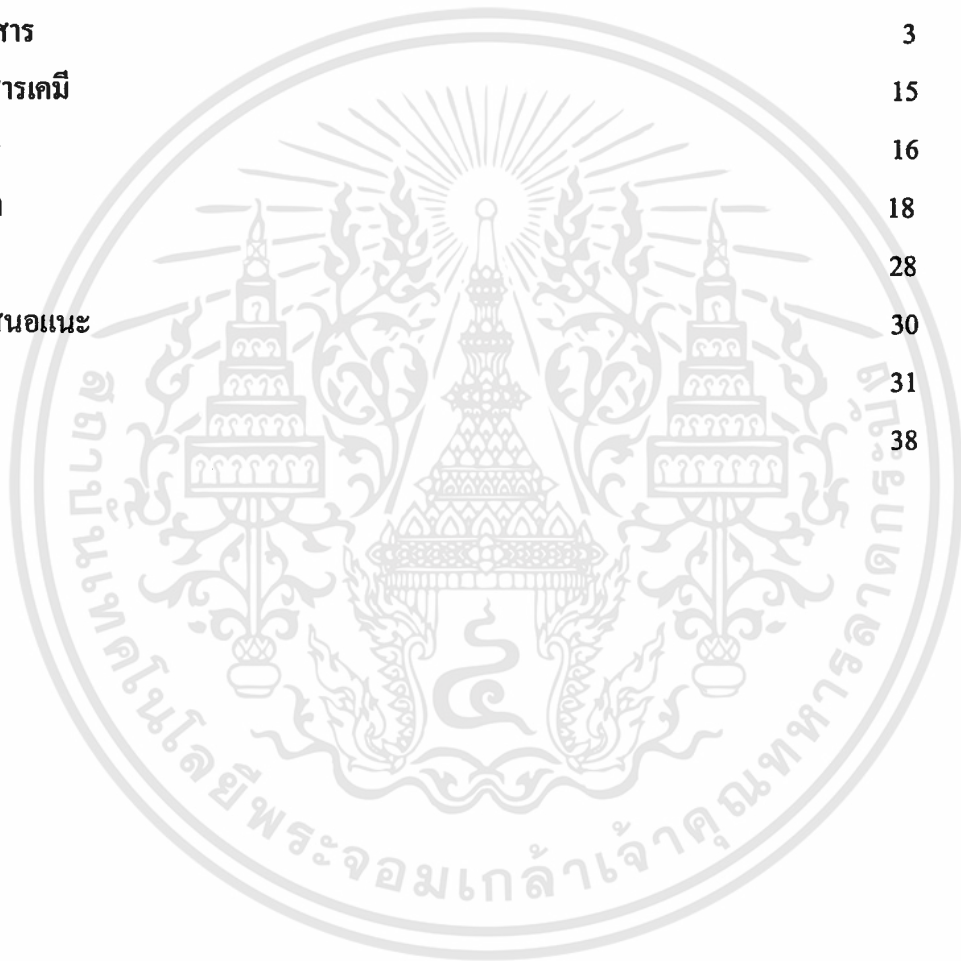
สุดท้าย ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณผู้มีพระคุณของข้าพเจ้า อันได้แก่ คุณพ่อสมชาย ทองไทย คุณแม่จันทา ทองไทย คุณน้ำกัณหา คุณมิและสามี คุณเทอดศักดิ์ ทองไทย ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา

นางสาวพวงเพชร แสนทวีสุข

5 ตุลาคม 2543

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และสารเคมี	15
วิธีการทดลอง	16
ผลการทดลอง	18
วิจารณ์	28
สรุปและข้อเสนอแนะ	30
เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก	38



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. เปรอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลาสด ที่ระดับความเข้มข้นของยาเหลืองต่างกัน ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง	20
2. เปรอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลาหางนกยูง ที่ระดับความเข้มข้นของยาเหลืองต่างกัน ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง	20
3. เปรอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลานิล ที่ระดับความเข้มข้นของยาเหลืองต่างกัน ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง	21
4. ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของยาเหลืองต่อลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และลูกปลานิล ที่เวลา 48 ชั่วโมง	21
5. คุณภาพน้ำระหว่างทำการทดลองของลูกปลาสด ในน้ำที่มีระดับยาเหลืองต่างกัน	22
6. คุณภาพน้ำระหว่างทำการทดลองของลูกปลาหางนกยูง ในน้ำที่มีระดับยาเหลืองต่างกัน	23
7. คุณภาพน้ำระหว่างทำการทดลองของลูกปลานิล ในน้ำที่มีระดับยาเหลืองต่างกัน	24
ตารางผนวกที่	
1. การวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ของยาเหลือง (ppm) ในลูกปลาสด ตามวิธีของ Litchfield และ Wilcoxon (1949)	39
2. การวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ของยาเหลือง (ppm) ในลูกปลาหางนกยูง	41
3. การวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ของยาเหลือง (ppm) ในลูกปลานิล	42

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาเหลืองกับเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลาสด ที่เวลา 48 ชั่วโมง	25
2. ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาเหลืองกับเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลาหางนกยูง ที่เวลา 48 ชั่วโมง	26
3. ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาเหลืองกับเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลานิล ที่เวลา 48 ชั่วโมง	27



พิษเฉียบพลันของยาเหลืองที่มีต่อลูกปลาสอด (*Xiphophorus helleri*), ลูกปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*) และลูกปลานิล (*Tilapia nilotica* Linn.)

Acute Toxicity of Acrifravine on Swordtail (*Xiphophorus helleri*), Guppy (*Poecilia reticulata*), and Nile Tilapia (*Tilapia nilotica* Linn.)

คำนำ

ปัจจุบันธุรกิจการประมงเป็นอาชีพที่ได้รับความนิยมมากในช่วงระยะเวลาไม่นานมานี้ เนื่องจากปลาเป็นสินค้าประมงประเภทหนึ่ง ที่มีราคาดีและมีแนวโน้มการขยายตัวทางด้านการตลาดทั้งในและต่างประเทศสูง ประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อน มีภูมิประเทศและภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของปลาสวยงาม (เกียรติศักดิ์, 2531 และ Ornamental fish and plants development institute, 1990) ทำให้มีความหลากหลายของชนิดปลาสูงและมีสีสันสวยงาม จึงเป็นแหล่งปลาที่สวยงามที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก นอกจากนี้ประเทศไทยยังประสบความสำเร็จด้านวิชาการสามารถเพาะพันธุ์ปลาได้หลายชนิด ตลอดจนมีเกษตรกรที่มีประสบการณ์และความชำนาญสามารถเพาะพันธุ์ปลาได้เป็นจำนวนมาก ทำให้ประเทศไทยมีศักยภาพเพียงพอที่จะขยายตัวทางด้านธุรกิจปลาสวยงามได้อีกมาก ทั้งนี้กรมประมงยังได้มีโครงการที่จะส่งเสริมและพัฒนาธุรกิจปลาสวยงามของไทยให้มีความเจริญก้าวหน้าและสามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศให้มากขึ้น จนก้าวขึ้นสู่ศูนย์กลางการผลิตและส่งออกปลาสวยงามของภูมิภาคนี้ในอนาคต(พินิจและคณะ, 2540)ในปัจจุบันมีชาวต่างชาติซึ่งส่วนใหญ่จะมาจากตะวันออกกลางและปากีสถานเข้ามาซื้อปลาครั้งละจำนวนมากๆเพื่อส่งกลับไปจำหน่ายยังประเทศของตน เฉลี่ยในแต่ละสัปดาห์ คิดเป็นมูลค่าประมาณ 600,000-1,000,000 บาท(พินิจและคณะ, 2540)สำหรับปลานิลพบว่าเป็นสัตว์น้ำจืดที่มีผลผลิตมากที่สุดตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาโดยจำนวนผลผลิตรวมในปี 2538 สูงถึง 76.054 ตัน หรือร้อยละ 38.8 ของปริมาณการผลิตทั้งหมดคิดเป็นมูลค่า 1,340 ล้านบาท(กลุ่มสถิติและสารสนเทศการประมง, 2541)จึงเป็นสัตว์น้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างยิ่ง

เนื่องจากประเทศไทยมีการซื้อขายและจำหน่ายปลาอย่างคึกคักสำหรับปลาสวยงามจะมีผู้ขายปลีกจากทั่วประเทศมาซื้อปลาไปจำหน่ายซึ่งตลาดขายส่งปลาสวยงามอยู่ที่ตลาดชั้นเคย์ปลาฯ บริเวณสวนจตุจักร กรุงเทพมหานคร ซึ่งการรวบรวมลูกปลาจะมีผู้รวบรวมในท้องถิ่นหมุนเวียนเข้าไปซื้อปลาถึงฟาร์มเกษตรกรแล้วจึงทำการขนส่งเข้ามาขาย สิ่งที่เป็นปัญหาและอุปสรรคและมีผลต่อการตลาดภายในประเทศคือ คุณภาพของปลาแต่ละชนิด ขนาดและความสมบูรณ์ยังไม่ดีพอต่อความต้องการของตลาด และปัญหาที่สำคัญต่ออัตราการรอดของปลามากที่สุดคือ มีการพักผ่อนปลาในระยะสั้นเกินไปทำให้ปลาเกิดการเครียดและบอบช้ำ ทำให้ผู้ซื้อปลาไปจำหน่ายหรือไปเลี้ยงเกิดการสูญเสียค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงมีการใช้ยาเหลืองเพื่อลดอัตราการบอบช้ำของปลาระหว่างการขนส่งเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่งและโยกย้ายเพื่อกำจัดเชื้อโรคที่ติดมากับตัวปลาก่อนปล่อยลงเลี้ยง แต่เนื่องจากยาเหลืองมีราคาค่อนข้างแพงมากจึงไม่นิยมใช้ในบ่อปลาที่มีขนาดใหญ่จะใช้กันเฉพาะในโรงเพาะฟักลูกปลาหรือปลาสวยงามเท่านั้น ดังนั้นในการทดลองหาความเป็นพิษเฉียบพลันของยาเหลืองในครั้งนี้จึงได้ใช้ลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และลูกปลานิล ซึ่งเป็นปลาสวยงามและปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและนิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายมาใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของยาเหลือง และประเมินหาค่าความเข้มข้นของยาเหลืองที่ไม่เป็นอันตรายต่อปลาทั้ง 3 ชนิด ผลการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์แก่นักวิชาการที่จะใช้แนะนำเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบความเข้มข้นที่ปลอดภัยของยาเหลืองที่ใช้ในการแช่รักษา ลูกปลาสด (*Xiphophorus helleri*), ลูกปลาหางนกยูง *Poecilia reticulata*) และลูกปลานิล (*Tilapia nilotica* Linn.)
2. เพื่อทราบถึงระดับความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อลูกปลาทั้ง 3 ชนิด
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับพิษเฉียบพลันของยาเหลืองที่ใช้ในการแช่รักษาลูกปลาทั้ง 3 ชนิด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงระดับความเข้มข้นของยาเหลืองที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อลูกปลาทั้ง 3 ชนิด
2. ให้ประกอบการพิจารณาการใช้อาหารเหลืองที่เหมาะสมในการรักษาโรคและขนส่งในลูกปลาทั้ง 3 ชนิด

การตรวจเอกสาร

1. ยาฆ่าเชื้อ (Antiseptic)

คือ สารเคมีที่ทำลาย หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพที่ทำให้เกิดโรค ใช้กับผิวหนังหรือเยื่อเมือกของสิ่งมีชีวิต และใช้ภายนอกร่างกาย โดยไม่ทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อบริเวณนั้น(บุพิน,2537)

1.1 คุณสมบัติของยาฆ่าเชื้อที่ดี (ภาควิชาเภสัชวิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,2523)

- 1.1.1 มีฤทธิ์ทำลายจุลชีพได้ทุกชนิด
 - 1.1.2 ออกฤทธิ์ได้รวดเร็ว และมีฤทธิ์อยู่ได้นาน
 - 1.1.3 ละลายหรือผสมกับน้ำได้ง่าย และมีความคงตัวสูง
 - 1.1.4 ฤทธิ์ไม่เสียไปเพื่อถูกกับสบู่ หรือสารอินทรีย์ เช่น เลือด หนอง ฯลฯ
 - 1.1.5 ไม่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อของร่างกาย และไม่ขัดทางกลไกของร่างกายที่ช่วยให้แผลหายเร็ว
 - 1.1.6 ถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือดได้น้อย และไม่ทำให้เกิดการแพ้
 - 1.1.7 สามารถแทรกซึมเข้าไปในสิ่งของที่ต้องการทำให้ปราศจากเชื้อได้ดี และไม่ทำลายสิ่งของเหล่านั้น
 - 1.1.8 ไม่มีสี และกลิ่นฉุนไม่พึงประสงค์
 - 1.1.9 ราคาถูก
- ปัจจุบันยังไม่มียาฆ่าเชื้อที่มีคุณสมบัติดังกล่าวครบถ้วน

1.2 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อ (ภาควิชาเภสัชวิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,2523)

- 1.2.1 ความสะอาด เครื่องมือ เครื่องใช้ที่มีคราบเลือดหรือคราบน้ำมันติดอยู่ ควรทำความสะอาดสะอาดก่อน
- 1.2.2 ยาที่ใช้
 - 1.2.2.1 ความเข้มข้น โดยทั่วไป ถ้าความเข้มข้นสูงจะออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และถ้าความเข้มข้นต่ำจะออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย หรือถ้ามีสารอินทรีย์ เช่น ซีรัม หรือหนองอยู่บริเวณนั้นต้องเพิ่มความเข้มข้น แต่ต้องระวังพิษต่อเนื้อเยื่อ ส่วนเครื่องมือต้องเจดให้แห้งก่อนแช่ลงในน้ำยา และควรแช่ให้จมอยู่ในผิวของน้ำยา
 - 1.2.2.2 เวลาที่ใช้สัมผัสกับจุลชีพ ใช้เวลาให้พอเหมาะ โดยไม่ทำให้ระคายเคืองต่อผิวหนังหรือเป็นผลเสียต่อเครื่องมือ
 - 1.2.2.3 สถานะความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิและปริมาณของสารอินทรีย์ ความสามารถ

ในการฆ่าเชื้อของน้ำยาจะเพิ่มเพื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ในกรณีที่เป็นกรด pH 3-6 จะออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และ pH ที่ต่ำกว่า 3 น้ำยาจะฆ่าแบคทีเรียได้ นอกจากนี้หนอง หรือเลือดที่อยู่บริเวณนั้น อาจทำให้กระบวนการทำลายเชื้อช้าลง

1.2.2.4 คุณภาพของยา ต้องทราบคุณสมบัติของตัวยาแต่ละชนิดว่าเสื่อมสภาพช้าหรือเร็วแค่ไหน และตรวจสอบให้มั่นใจก่อนใช้

1.2.3 จุลชีพ

1.2.3.1 จำนวนชนิดของเชื้อโรค ร่างกายจะเกิดการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้เมื่อรับเชื้อจำนวน 5×10^6 เซลล์ แต่กรณีเชื้อ *Salmonella Typhoo* และ Hepatitis B virus จำนวนน้อยกว่า 10 เซลล์ ก็อาจจะทำให้ติดเชื้อได้

1.2.3.2 ระยะของเชื้อโรค โดยทั่ว ๆ ไปเชื้อโรคที่อยู่ในระยะที่มีการเจริญเติบโต และแบ่งตัวจะถูกทำลายได้ง่ายกว่าที่อยู่ในลักษณะสปอร์ และแบคทีเรียแกรมบวกก็ถูกทำลายได้ง่ายกว่าชนิดแกรมลบ

1.3 การจำแนกกลุ่มยาฆ่าพวก Antiseptic นั้น อาศัยชนิดและลักษณะโครงสร้างเคมีเป็นหลัก แบ่งออกได้ดังนี้

1.3.1 Heavy metals ส่วนมากเป็นสารอินทรีย์และอนินทรีย์ที่เป็นอนุพันธ์ของปรอทและเงิน เช่น $HgCl_2$, $AgNO_3$, metaphor (ปรอท) , merthiolate (ปรอท) , phenylmercuric nitrate (ปรอท) และ silver proteinate (Argyrol) เป็นต้น

กลไกการออกฤทธิ์ : dissociated metallic ions ไปทำให้โปรตีนตกตะกอน สำหรับสารปรอทอาจจะออกฤทธิ์โดยจับกับ thiol Group ของเอนไซม์ที่สำคัญและทำให้เอนไซม์เหล่านั้น inactive

1.3.2 Halogen compounds : ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบไอโอดีน และคลอรีน เช่น $NaClO$ (Daikin's solution , Milton) , $CaCOCl_2$ (bleaching powder) , tincture iodine , azochloramide และ chloramine

กลไกการออกฤทธิ์ : ตกตะกอนโปรตีนและรบกวนการทำงานของเอนไซม์ ส่วนสารคลอรีน สามารถรวมตัวกับน้ำเกิด hypochlorous acid ซึ่งก็มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรค

1.3.3 Phenol : cresol, resorcinol , hexylresorcinol , thymol , pentachloroprophenol , hexachlorophene , oil of cloves (มี phenolic compound eugenol อยู่)

กลไกการออกฤทธิ์ : denature microbial protein ทำให้การควบคุมการผ่านเข้าออกของสารที่ผนังเซลล์ เพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงมีการรั่วไหลออกของกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential amino acids) ต่าง ๆ ออกจากเซลล์

1.3.4 Surface active agents :

1.3.4.1 Anionic surfactants : fatty acid soap, sodium acetyl sulfate , triethanolamine และ lacryl sulfate

1.3.4.2 Cationic surfactants : cetylpyridium chloride และ benzalkonium chloride

กลไกการออกฤทธิ์ : เพิ่มการผ่านเข้าออกของสารที่ผนังเซลล์และทำให้เกิดการรั่วออกของ microbial enzymes, coenzymes และ metabolic intermediates ต่าง ๆ จากเซลล์

1.3.5 Alcohols และ aldehydes : 70% ethyl alcohol , 50% isopropyl alcohol , formaldehyde (40% formalin) และ polypropylene glycol

กลไกการออกฤทธิ์ : ตกตะกอนโปรตีน (precipitate proteins) และเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitor) สำหรับ 70% ethyl alcohol นั้นใช้เป็น skin antiseptic กันแพร่หลายและพบว่าถ้าความเข้มข้นมากหรือน้อยกว่านี้ ฤทธิ์ของการฆ่าเชื้อจะลดลง ปกติสามารถฆ่า vegetative forms ของแบคทีเรีย แต่ไม่มีผลต่อพวกสปอร์

1.3.6 กรด : benzoic , boric และ acetic acid ฯลฯ

กลไกการออกฤทธิ์ : เปลี่ยน enzymatic activity ของจุลินทรีย์

1.3.7 Oxidizing agent : hydrogen peroxide (H₂O₂), potassium permanganate

กลไกการออกฤทธิ์ : เป็นแบบ oxidization เช่น hydrogen peroxide จะปล่อยออกซิเจน release oxygen ออกมาใช้ออกซิไดส์ พวกสารอินทรีย์กลุ่มนี้ออกฤทธิ์เร็วแต่ระยะเวลาการออกฤทธิ์สั้น

1.3.8 Dyes : aridine des , poflavine , arilavine , brilliant green, gentian violet etc.

กลไกการออกฤทธิ์ : ยกตัวอย่างเช่น พวก acridine derivatives นั้นเชื่อว่าไปรวมตัวกับไฮโดรเจนไอออน (hydrogen ions) สำหรับจับกับ anionic receptor group ของ เอ็นไซม์ ที่ช่วยในการหายใจ (respiratory enzymes) ของแบคทีเรีย กลุ่มยา acridine derivatives ฆ่าได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

2. คุณสมบัติบางประการของสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.1 .ลักษณะทางเคมีและเภสัช

2.1.1 ชื่อทางการค้า (Trade name)

Acriflavine

ชื่ออื่นๆ

neutral acriflavine, euflavine, trypaflavine, neutroflavine

2.1.2 สูตรทางเคมี (Formulating)

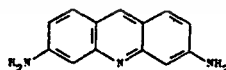
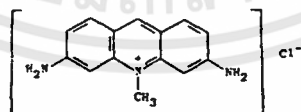
$C_{14}H_{14}N_3Cl_3 \cdot HCl = 296.1$

ที่มา จำลอง (2481 และ 2493)

เป็นส่วนผสมของไฮโดรคลอไรด์ของ 2 : 8 - ไคอะมิโน - 10 - เมทริลอะคริดิเนียมคลอไรด์ กับ 2,8 ไคอะมิโนอะคริดีน จะได้การผสมเมธิลเลชันบางส่วนของไดอะเซทิล ไคอะมิโนอะคริดีน และใช้กรดเกลือ ไฮโดรไลซิสอีกทีหนึ่ง มีลักษณะเป็นผงผลึกสีแดงปนส้มหรือแดง ไม่มีกลิ่น มีรสกรด เมื่อละลายน้ำมีสีเหลืองปนส้มเป็นเลื่อมเหลือง เมื่อเจือจางจะเรืองแสง ตกตะกอนเมื่อเจือจางหรือตั้งทิ้งไว้ (Martha *et al*, 1989)

สารละลาย	น้ำ	แอลกอฮอล์	กรีเซอร์ลิน	อีเทอร์, คลอโรฟอร์ม
	1:3	1:40	1:4	ไม่ละลาย

2.1.3 สูตรโครงสร้าง



3,6-Diamino-10-methylacridinium chloride ผสมกับ 3,6- acridinediamine

ที่มา กระทรวงสาธารณสุข (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 หมวดยา

Antiseptic and disinfectants

ตามบัญชียาหลักแห่งชาติ ลำดับที่ 27 (1)

2.1.5 คุณสมบัติ

สารละลาย 1% ในน้ำมี pH 1-2

2.2 ข้อมูลทางคลินิก

2.2.1 ประโยชน์ทางการแพทย์ (Therapeutic use)

ใช้รักษาแผลติดเชื้อ เป็นขาระงับเชื้อสำหรับทาภายนอก

2.2.2 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Rhamacological Action)

เป็นยาฆ่าเชื้อโรคอย่างแรงและมีอำนาจพิเศษในการฆ่าเชื้อโรคชนิด ทริพาโนโซม จะมีอำนาจฆ่าเชื้อโรคมกขึ้นถ้าแผลมีน้ำเหลืองของโลหิตอยู่ด้วย เหมาะสำหรับใช้ในแผลที่มีหนอง (จำลอง , 2481) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง โดยการยับยั้ง adenine-containing factors ยาจะมีฤทธิ์ลดลงเมื่อถูกหนอง (กระทรวงสาธารณสุข, 2529 และ ธิดา, 2523) นอกจากนี้ยาเหลืองยังเป็นพวก เอคริดีน ดาย (acridine dyes) ใช้ทาแผลเรื้อรัง โดยมี ฤทธิ์ต่อจุลชีพในภาวะต่าง (วิทย์ , ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์)

2.2.3 ขนาดการใช้ยา (Dose)

2.2.3.1 เป็นยาฆ่าเชื้อ 0.1% 2-3 ครั้งต่อวัน

2.2.3.2 รักษาแผลสด ใช้ยาตามตำหรับต่อไปนี้(วิทย์ , ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์)

Acriflavin 0.01 g , Sodium Chloride 0.90 g : Purified Water to 100.00 ml

2.2.4 ข้อห้ามใช้ (Contraindication)

2.2.4.1 ห้ามใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานเพราะแผลจะหายช้า

2.2.4.2 ยาใช้ภายนอก ห้ามรับประทาน

2.2.5 อาการข้างเคียงหรือฤทธิ์แทรกซ้อน (Side Effects)

อาจเกิดการแพ้แสงได้

2.2.6 ปฏิกริยาระหว่างยากับยาหรือยากับอาหาร

Sodium chloride : Acriflavine ผสมเข้ากันได้กับน้ำเกลือ 0.9% แต่จะตกตะกอนหลังจากผสมแล้ว 24 ชั่วโมง และถ้าความเข้มข้นของน้ำเกลือสูงกว่า 5% จะตกตะกอนทันที

3. ความเป็นพิษของยาเหลือง

จากที่กล่าวมา การใช้ยาเหลืองนิยมนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางในการป้องกันการติดเชื้อจากแบคทีเรีย(จำลอง,2481; กระทรวงสาธารณสุข,2529; ชลอ,2528) แต่เนื่องจากยาเหลืองมีราคาแพงมากจึงไม่นิยมใช้ในบ่อเลี้ยงปลาที่มีขนาดใหญ่ ใช้กันเฉพาะในโรงเพาะฟักลูกปลาหรือปลาสวยงาม (ชลอ,2528) ผู้ใช้จึงต้องระมัดระวังในการเลือกระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมกับชนิดของปลา ซึ่งพบว่าความเป็นพิษเฉียบพลันของยาเหลืองที่ทำให้ลูกปลา African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell) ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 24 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 10ml/l และพบว่าที่ระดับความเข้มข้นนี้สามารถควบคุมปรสิตภายนอกได้มากที่สุด แต่ไม่สามารถนำไปใช้กับลูกปลา African catfish ได้ (Obiekecie and Okafor, 1995)

4. ความไวของการตอบสนองต่อสารเคมีของปลาและปัจจัยที่เกี่ยวข้อง

Meteliev *et al.* (1983) อ้างตาม วินิจ (2528) ได้ให้ความหมายของความไว (sensitirity) ของปลาทดลองไว้ว่า ความไวเป็นช่วงระยะเวลาที่ปลาเริ่มแสดงอาการตอบสนองต่อความเข้มข้นของสารเคมีในระดับที่เริ่มเป็นพิษมากที่สุดต่อระบบการทำงานอวัยวะต่าง ๆ ในตัวปลา

ปลาแต่ละชนิดจะมีความไว และการตอบสนองต่อสารเคมีไม่เท่ากัน แม้จะเป็นเวลาชนิดเดียวกันก็ตาม ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องและมีอิทธิพลต่อความไวของปลานี้ ได้แก่

4.1 แหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ

ปลาที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำไหลช้า ๆ และเป็นปลาที่มีระดับของเมตาบอลิซึมต่ำ เช่น ปลาชับ (chub) และ ปลาคาร์ฟ (carp) จะมีความต้านทานต่อองค์ประกอบของสภาวะแวดล้อม และความเป็นพิษของสารเคมีได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่มีระดับของเมตาบอลิซึมสูง และอาศัยอยู่ในน้ำไหลแรง เช่น ปลาเทร้าท์ (trout) และปลาเพิช (perch) เป็นต้น

4.2 ชนิดของปลา

มีรายงานของนักวิจัยหลายท่านซึ่งได้ทำการศึกษาและแบ่งปลาที่อาศัยอยู่ในน้ำออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ โดยพิจารณาจากเกณฑ์ความไวและการตอบสนองต่อสารเคมีของปลานั้น ซึ่ง

Meteliev *et al.* (1983) อ้างตาม วินิจ (2528) ได้รวบรวมไว้ดังนี้

กลุ่มที่ 1 มีความไวสูงมาก (very highly sensitive) คือ brown trout และ rainbow trout

กลุ่มที่ 2 มีความไวสูง (highly sensitive) คือ ปลา perch และปลา ruff

กลุ่มที่ 3 มีความไว (sensitive) ได้แก่ ปลา bleak , roach และ pike

กลุ่มที่ 4 มีความไวน้อย (midly sensitive ได้แก่ ปลา carp , ปลา tench และปลา crucian

carp

สำหรับความไวของปลาน้ำจืดต่อสารเคมีในประเทศไทยมีรายงานไว้ไม่มากนัก เช่น ปลาตะเพียนขาวไวต่อสารเคมีกลุ่มโลหะหนักสูง (ประมาณและประไพศิริ , 2520) และขาม่าแมลงบางกลุ่ม (วรวิทย์ และคณะ , 2527) ปลากาคำไวมากต่อสารเคมีกลุ่มโลหะหนัก และขาม่าแมลงบางชนิด (Mutamara et al., 1978) เป็นต้น

4.3 ขนาดและอายุของปลา

โดยปกติปลาที่มีขนาดเล็กอายุน้อยจะมีความไวต่อสารเคมีสูงกว่าปลาที่มีขนาดใหญ่และอายุมากกว่าในปลาชนิดเดียวกัน แต่ในบางกรณีพบว่า ไข่ปลาและตัวอ่อนที่ฟักออกมาใหม่มีความต้านทาน ต่อสารเคมีดีกว่าปลาที่มีขนาดใหญ่ (Metelev et al., 1983. Vacharasanthrub, 1981. อ้างตาม วินิจ , 2522)

อย่างไรก็ตามนักวิจัยหลายท่านพบว่าช่วงอายุ และขนาดของปลาที่มีความไวต่อสารเคมีสูงสุด มักจะอยู่ในช่วงที่เป็นลูกปลาวัยอ่อน และ/หรือ ลูกปลาขนาดเล็ก (larvae และ fry stages)

4.4 เพศของปลา

แม้ว่ายังไม่มีการศึกษาให้เห็นอย่างชัดเจนว่าปลาเพศผู้หรือเพศเมียในปลาชนิดเดียวกันนั้นเพศใดมีความไวต่อสารเคมีมากกว่ากัน แต่ก็มีรายงานว่าปลาจะมีความไวต่อสารเคมีเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังการวางไข่ใหม่ ๆ ส่วนในระหว่างการวางไข่นั้น ปลาจะมีความต้านทานต่อสารเคมีสูงสุด (Metelev et al , 1987)

4.5 สุขภาพและประวัติการได้รับสารเคมีของปลา

โดยทั่วไปจะพบว่าความต้านทานต่อสารเคมีในตัวปลาขึ้นอยู่กับสภาพทางสรีรวิทยาของปลาเอง ปลาที่อดอาหาร ซุปพอม และมีโรคพยาธิรบกวน จะมีความต้านทานต่อสารเคมีลดลง นอกจากนี้ ปลาที่ได้รับผลกระทบโดยตรงจากสารเคมีในน้ำทิ้งหรือน้ำเสีย โดยเฉพาะผงซักฟอกมาก่อนจะมีความต้านทานต่อสารเคมีลดลงเช่นกัน (Metelev et al , 1983 อ้างตาม วินิจ , 2528)

5. สัตว์ทดลอง

5.1 ปลาซอด (*Xiphophorus Helleri*)

ปลาชนิดนี้มีชื่อสามัญเรียกกันทั่วไปว่า Swordtail

ถิ่นอาศัย ตั้งแต่ทางตอนใต้ของเม็กซิโกจนถึงประเทศกัวเตมาลา (Andrews, 1980; Hans, 1984 และ Macdonald Illustrated, 1990) ขนาดที่พบในธรรมชาติมีความยาวถึง 5 นิ้ว แต่ในที่เลี้ยงโตเต็มที่ประมาณ 3.2 นิ้ว อุณหภูมิที่เลี้ยงประมาณ 22-26 องศาเซลเซียส สภาพน้ำโดยทั่วไปจะมีค่าความกระด้างและความเป็นด่างปานกลางจนถึงมาก พีเอชอยู่ในช่วง 7-8 (Andrews, 1980 และ Hans, 1984)

ลักษณะรูปร่างแบนข้าง ส่วนหัวจะแบนลงและแหลม ริมฝีปากล่างจะยื่นยาวออกไปสำหรับปลาตัวผู้ปลายหางด้านล่างจะยื่นแหลมออกไปมีลักษณะคล้ายดาบ ส่วนตัวเมียหางจะกลมมน ลำตัวจะมีสีแดงส้มถึงแดงสด ลำตัวด้านท้องจะมีสีเขี้ยวอมดำตั้งแต่เหงือกจรดปลายหางด้านล่างที่ยื่นแหลมออกไป ครีบจะมีสีเหลืองอมส้มจนถึงแดง ช่วงคอจะมีสีขาวบรอนด์ เกร็ดจะมีความวาวเล็กน้อยโดยเฉพาะช่วงท้อง การแพร่พันธุ์โดยการออกลูกเป็นตัว การสังเกตเพศปลาโดยดูจากหางด้านล่างของปลาตัวผู้ที่ยื่นออกมา และสีสันจะสดสวยกว่าตัวเมีย ส่วนปลาตัวเมียลำตัวจะอ้วนป้อมสั้นกว่า โดยเฉพาะช่วงที่ผสมพันธุ์ท้องจะอูมเปล่งออกมา

อุปนิสัยของปลาชนิดนี้รักความสงบสามารถเลี้ยงรวมกับปลาชนิดอื่นที่ไม่ดุร้ายได้ในที่เลี้ยง ควรปลูกต้นไม้บ้างเพื่อให้เป็นที่หลบซ่อนของปลา นอกจากนี้แล้วปลาชนิดนี้ยังไม่ชอบแสงสว่างมากนัก อาหารของปลาชนิดนี้ได้แก่ ลูกน้ำ ไรทะเล หนอนแดง อาหารสำเร็จรูป สาหร่าย และพืชน้ำ (เกียรติศักดิ์, 2531)

5.2 ปลาหางนกยูง (*Poecilia Reticulata*)

ปลาชนิดนี้มีชื่อสามัญเรียกกันทั่วไปว่า Guppy และ Million Fish (สุภาพและคณะ, 2516; Macdonald Illustrated, 1990 และ Ornamental Fish And Plants Development Institute, 1990)

ปลาชนิดนี้มีถิ่นกำเนิดในหมู่เกาะคาริเบียน ของเซนต์ลูเชีย (Saint Lucia) , บาร์บาดอส (Barbados) , ไทรินิแดด (Trinidad) ถึงภาคเหนือของอเมริกาใต้ เช่น เวเนซุเอลา (Venezuela) , เกยานา (Guyana) และบราซิลตอนเหนือ (North Brazil) รวมทั้งตอนเหนือของอเมซอน (North Amazon) สำหรับในประเทศไทยได้นำเข้ามาเพื่อเลี้ยงปลาตู้สวยงาม และกำจัดตัวอ่อนของยุง ยังไม่มีรายงานการแพร่กระจายพันธุ์ตามแหล่งน้ำของไทยที่แน่นอนแต่อาจพบได้ตามคูคลอง แหล่งน้ำคราบบางแห่ง รวมทั้งแหล่งขายปลาตู้สวยงามทั่วไป (ทวีศักดิ์, 2527 พาลาก และวินิจ, 2527)

ลักษณะทั่วไปมีลำตัวค่อนข้างยาว ครีบหลัง และครีบหางมีลักษณะเป็นแผ่นใหญ่ ซึ่งมีรูปร่าง และสีสันแตกต่างกันไปตามลักษณะการคัดพันธุ์ ไม่มีเส้นข้างตัว ส่วนหัวแบนลง ปากมีขนาดเล็ก และ อยู่ตรงกลาง (ทวิศักดิ์ , 2527)ปลาเพศผู้จะมีขนาดเล็ก ความยาวสุดไม่เกิน 3 ซม. รูปร่างแบบบาง ครีบ หลังและครีบหางแผ่กว้างและยาว มีสีสันสวยงามกว่าปลาเพศเมีย มีอวัยวะภายนอกบอเพศ เรียกว่า โคโนโปเดียม (Gonopodium) ซึ่งเปลี่ยนแปลงมาจากครีบกัน ใช้สำหรับถ่ายน้ำเชื้อให้ปลาเพศเมียเวลา ผสมพันธุ์ ส่วนปลาเพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่า ความยาวสุดไม่เกิน 6 เซนติเมตร ลำตัวมีสีอ่อน หรือจาง กว่าเพศผู้ ส่วนท้องกลม (Maurice , 1975 ; Gohm, 1978 และ Ramshorts, 1978 อ้างตาม วินิจ , 2528) ปลาหางนกยูงจะเจริญเติบโตเร็วมากและสมบูรณ์เพศเมื่ออายุได้ 3 เดือน แต่พ่อแม่พันธุ์ที่จะนำมาใช้ เพาะขยายพันธุ์ควรมีอายุอย่างน้อย 5-6 เดือนเป็นปลาที่มีการผสมพันธุ์ภายในและออกลูกเป็นตัว (Ovo - viviparous) แม่ปลาจะออกลูกครั้งละ 30-60 ตัว ทุกระยะเวลา 30-40 วัน เป็นเวลาหลายเดือน ลูกปลา หางนกยูงที่ออกจากท้องแม่ปลาใหม่ ๆ จะมีความยาวสุดเพียง 0.8 เซนติเมตร กินตะไคร่น้ำ แพลงก์ตอน ฟีซ และไรน้ำขนาดเล็กเป็นอาหาร

ปลาชนิดนี้สามารถกินอาหารได้หลายประเภททั้งพืชและสัตว์ขนาดเล็ก ทั้งมีชีวิตและตายแล้ว เช่นสาหร่าย ตะไคร่น้ำ ตัวอ่อนของแมลง ไรน้ำ ลูกกุ้ง และลูกปลาขนาดเล็ก เป็นต้น และยังสามารถกิน อาหารสำเร็จรูปได้ทุกประเภทอีกด้วย

ในต่างประเทศ นิยมใช้ปลาหางนกยูงเป็นสัตว์ทดลองในห้องปฏิบัติการด้านชีววิทยาอย่างกว้าง ขวางทั้งในด้านสรีรวิทยา พฤติกรรมการผสมพันธุ์ พันธุกรรมและการทดลองความเป็นพิษของสารเคมี นอกจากนี้ National Academy of Science (1974) ของสหรัฐอเมริกา ได้แนะนำให้ใช้ปลาชนิดนี้เป็น สัตว์ทดลองมาตรฐานในการใช้ทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีในห้องปฏิบัติการวชิษวิทยา

5.3 ปลานิล (*Tilapia Nilotica* Linn.)

ปลานิลที่ชื่อสามัญว่า Niletilapia (มานพและคณะ, 2536)

เป็นปลาที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในพวกสกุล *Tilapia* ด้วยกัน คือมีความยาวถึง 40-50 เซนติเมตร ปลานิลสามารถอาศัยได้ในแหล่งน้ำจืดทั่วไปหรือแม้แต่ที่ชายทะเลที่มีความเค็มสูงถึง 20 ppt เนื่องจาก ปลานิลมีความอดทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีเจริญเติบโตรวดเร็วขยายพันธุ์ได้ง่าย สามารถแพร่พันธุ์ใน แหล่งน้ำธรรมชาติหรือทำนบปลาที่มีความลึกไม่มากนักก็ได้ผลดีเป็นที่น่าพอใจเช่นเดียวกัน

แหล่งกำเนิดและการแพร่กระจายปลานิลเป็นปลาพื้นเมืองของแอฟริกา พบได้ทั่วไปตามหนอง บึงและทะเลสาบในประเทศซูดาน ยูกันดา การแพร่กระจายเป็นไปอย่างกว้างขวางทั้งในแอฟริกากลาง และตะวันออก รวมทั้งอเมริกาและใต้ นอกจากนี้ยังมีผู้นำปลานิลไปเลี้ยงเกือบทั่วเอเชีย ซึ่งนำเข้าไป ประเทศไทย โดยมกุฎราชกุมารแห่งประเทศญี่ปุ่น ได้ทูลเกล้าถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว และ

ทรงพระกรุณาโปรดเกล้า ฯ พระราชทานพันธุ์ปลาเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงและแพร่ขยายพันธุ์ปลาเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงและแพร่ขยายพันธุ์ไปตามสถานีประมงน้ำจืดทั่วประเทศประเทศไทย

ลักษณะทั่วไป ปลานิลมีรูปร่างคล้ายปลาหมอเทศ ลำตัวป้อม หัวเล็กขอบตามีสีแดง ด้านหลังหนามีสีเขียวปนน้ำตาล มีจุดสีเข้ม 1 จุด ที่กระดูกแก้ม บนลำตัวมีลายพาดขวางประมาณ 9-10 ลาย ครีบลหลังติดต่อกันเป็นครีบเดียว ครีบบางตัดตรง ซอบอาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูง ปลานิลตัวผู้และตัวเมียมีลักษณะคล้ายกันมาก จะสังเกตความแตกต่างระหว่างเพศได้โดยการดูช่องเพศที่อยู่ใกล้ ๆ ช่องทวาร ตัวผู้จะมีติ่งเพศ (Genital Papilla) ยื่นยาวค่อนข้างแหลม ส่วนตัวเมียมีติ่งเพศค่อนข้างใหญ่ และกลมมน ปลานิลที่มีขนาดความยาว 10 เซนติเมตรขึ้นไป จึงจะดูเพศได้ชัดเจนและสามารถสืบพันธุ์ได้เมื่อมีอายุประมาณ 4 เดือน ขึ้นไป

นิสัยการกินอาหาร ปลานิลเป็นปลาที่กินอาหารได้ทั้งประเภทพืชและเนื้อสัตว์ ลูกปลากินขนาดเล็กจะกินพวกแพลงก์ตอน ตัวอ่อนแมลงและอินทรีย์วัตถุ ที่สลายตัวบริเวณก้นบ่อปลากินขนาดใหญ่จะกินพวกพืชชั้นสูงจำพวกจำพวกสาหร่าย และแหนได้ นับว่าเป็นการควบคุมการเจริญเติบโตของวัชพืช ได้อีกทางหนึ่งด้วย

6. ชนิดของปลาน้ำจืดมาตรฐานที่นิยมใช้เป็นสัตว์ทดลองในประเทศต่าง ๆ

6.1 APHA/AWWA/WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater . 15TH edition. Washington, D.C. 20036, USA.1980

ปลาที่ควรเลือกใช้ใช้เป็นสัตว์ทดลองทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีนั้น ควรเลือกชนิดที่มีความไวต่อสารเคมีมากที่สุดของชนิดปลาที่มีความสำคัญที่พบในแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากสารเคมีหรือน้ำทิ้งที่ระบายสู่แหล่งน้ำนั้น โดยตรง วงศ์และชนิดของปลาน้ำจืดที่แนะนำให้ใช้ได้แก่

Clupeidae :	<i>Alosa pseudoharengus</i>	Alewife
	<i>Dorosoma petense</i>	threadfin shad
Salmanidae :	<i>Coregonus artedii</i>	Lake herring
	<i>Coregonus clupeaformis</i>	lake whitefish
	<i>Prosopium williamsoni</i>	mountain whitefish
	<i>Oncorhynchus gorboscha</i>	pink salmon
	<i>Oncorhynchus keta</i>	chum salmon
	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	coho salmon
	<i>Oncorhynchus nerka</i>	sockeye salmon

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	chinook salmon
	<i>Salmo clarki</i>	cutthroat trout
	<i>Salmo gairdneri</i>	rainbow trout
	<i>Salmo trutta</i>	atlantic salmon
	<i>Salvelinus fontinalis</i>	brown trout
	<i>Salvelinus namaycush</i>	brook trout
Osmeridae :	<i>Osmerus mordax</i>	rainbow smelt
Esocidae :	<i>Esox lucius</i>	northern pike
Cyprinidae :	<i>Carassius auratus</i>	goldfish
	<i>Cyprinus carpio</i>	carp
	<i>Notropis atherinoides</i>	emerald shiner
	<i>Norysoleucas orysoleucas</i>	golden shiner
	<i>Pimephales notatus</i>	bluntnose minnow
	<i>Pimephales promelas</i>	fathead minnow
Catostomidae :	<i>Catostomus commersoni</i>	white sucker
Ictaluridae :	<i>Ictalurus melas</i>	black bullhead
	<i>Ictalurus natalis</i>	yellow bullhead
	<i>Ictalurus nebulosus</i>	brown bullhead
	<i>Ictalurus punctatus</i>	channel catfish
Cyprinodontidae :	<i>Jordenella floridae</i>	flagfish
Poeciliidae :	<i>Gambusia affinis</i>	mosquitofish
	<i>Poecilia reticulata</i>	guppy
Percichthyidae :	<i>Morone chrysops</i>	white bass
Centrarchidae :	<i>Lepomis macrochirus</i>	bluegill
	<i>Micropterus dolomieu</i>	smallmouth bass
Percidae :	<i>Perca flavescens</i>	yellow perch

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2 American society for testing materials. Standards method of test for evaluating acuter toxicity of industrial water to freshwater fishes. ASTM B 1345-59 (1970)

ได้เสนอแนะให้ใช้ปลาชนิดใดก็ได้เป็นสัตว์ทดลอง โดยควรเป็นชนิดที่อยู่ในแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากสารเคมีหรือน้ำเสียที่ปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ และควรเป็นชนิดที่สามารถนำมาเลี้ยงดูภายใต้สภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการได้เป็นอย่างดี วงศ์ที่ได้รับการเสนอแนะให้เลือกใช้เป็นสัตว์ทดลองได้แก่ Centrarchidae, Salmonidae, Cyprinidae, Catostomidae โดยนำปลาที่จะใช้ทดลองมาปรับสภาพในห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 10 วัน ขนาดของปลาที่ใช้ทดลองใหญ่ที่สุดไม่ควรมากกว่า 1.5 เท่าของขนาดเล็กสุดในการทดลองแต่ละครั้ง และต้องไม่มีปลาตายหรือเป็นโรคเกินกว่า 10% ของจำนวนปลาทั้งหมดภายใน 4 วันก่อนหน้าการทดลองสำหรับชนิดของปลาน้ำจืดที่นิยมใช้เป็นสัตว์ทดลองในงานทดลองประจำได้แก่

<i>Oncorhynchus kisutch</i>	coho salmon
<i>Salvelinus namaycush</i>	brook trout
<i>Osmerus mordax</i>	rainbow smelt
<i>Lepomis macrochirus</i>	bluegill
<i>Carssius auratus</i>	goldfish
<i>Pimehpales promels</i>	fathead minnow
<i>Ictalurus punctatus</i>	channal catfish

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

- ลูกปลาสด น้ำหนักเฉลี่ย 0.17 กรัม ความยาวเฉลี่ย 2.12 เซนติเมตร
- ลูกปลาหางนกยูง น้ำหนักเฉลี่ย 0.14 กรัม ความยาวเฉลี่ย 2.02 เซนติเมตร
- ลูกปลานิล น้ำหนักเฉลี่ย 0.37 กรัม ความยาวเฉลี่ย 2.77 เซนติเมตร

2. ยาเหลือง (Acriflavine) ของวิทยาศาสตร์

3. ตู้กระจกขนาด 50x100x50 cm³ และขนาด 14.3x27x 11.4 cm³

4. เครื่องให้อากาศ

5. อาหารปลา

6. อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

- เทอร์โมมิเตอร์
 - เครื่องวัดปริมาณออกซิเจนในน้ำ
 - เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง
 - อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการหาความกระด้าง (Hardness)
 - อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการหาค่าความเป็นด่าง (Alkalinity)
- วิธีการทดลองดำเนินการตามวิธีของ Litchfield และ Wilcoxon (1949) โดยคำนวณในรูปมรชฐาน ที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 48 ชั่วโมง (LC₅₀)

2. การเตรียมการทดลอง

2.1 ปลาทดลอง 3 ชนิด ได้แก่ ลูกปลาสด และลูกปลาหางนกยูง อายุประมาณ 2 เดือน และลูกปลานิลอายุประมาณ 1 เดือน ลูกปลาสดและลูกปลาหางนกยูงได้จากการนำแม่พันธุ์ที่ได้รับการผสมแล้วจากโรงเพาะฟักในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงมาจำนวน ชนิดละ 10 ตัว นำมาใส่ไว้ในกระชังเพาะฟักในตู้ปลาห้องปฏิบัติการทำการอนุบาลลูกปลาที่ฟักออกมาจนอายุได้ 2 เดือน ก่อนการทดลองนำไปปรับสภาพให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมในตู้ทดลองก่อน ให้เวลาอย่างน้อย 4 วัน

ปลานิล ได้จากฟาร์ม ช้างพันธุ์ปลา ถนนคลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร ลูกปลาอายุ 1 เดือน ขนาดความยาวเฉลี่ย 2.77 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 0.37 กรัม จำนวน 500 ตัว นำมาปรับสภาพเพื่อให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนทำการทดลอง และปรับสภาพในตู้ทดลองเป็นเวลาอย่างน้อย 4 วัน ก่อนการทดลองเช่นกันก่อนเริ่มทำการทดลอง ทำการงดให้อาหารล่วงหน้าก่อน 2 วัน และไม่ให้อาหารตลอดการทดลอง

2.2 ภาชนะทดลอง ใช้ตู้ปลาขนาด 14.3x27x11.4 เซนติเมตร บรรจุน้ำปริมาตร 4 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 น้ำทดลอง ใช้น้ำประปาจากบ่อกักน้ำของโรงเพาะพัก ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงโดยทำการพักน้ำไว้ในห้องปฏิบัติการ และให้อากาศตลอดเวลาอย่างน้อย 2 วัน ก่อนนำมาใช้ทดลอง

2.4 การเตรียมสารละลายสำหรับทดลอง

ยาเหลือง ชนิดน้ำ ของบริษัทวิทยาสรรม ซึ่งมีปริมาณสารละลายเข้มข้น (Stock Solution)

1 กรัม/500มิลลิลิตร หรือ 2000 ppm นำมาคำนวณปริมาตรและระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตามที่ต้องการ โดยใช้สูตร

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

โดย N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายเข้มข้น (Stock Solution)

V_1 = ปริมาตรของสารละลายเข้มข้น

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายเจือจางที่ต้องการใช้ (Diluted Solution)

V_2 = ปริมาตรของสารละลายเจือจางที่ต้องการ

3. แผนการทดลอง

แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ

3.1 การทดลองเบื้องต้น (Preliminary) เป็นการทดลองเพื่อหาระดับความเข้มข้นช่วงกว้างที่ทำให้ปลาทดลองไม่ตาย และตายหมด เพื่อจะได้นำข้อมูลมาใช้กำหนดความเข้มข้นของสารที่เหมาะสมในการทดลองอย่างละเอียดกำหนดค่าประมาณจากการตรวจเอกสาร แบ่งเป็น 6 ระดับความเข้มข้นพร้อมกลุ่มควบคุม ระดับความเข้มข้นละ 2 ชั่วโมง ใช้ปลาทดลองตู้ละ 10 ตัวทำการชั่งน้ำหนักปลาก่อนการทดลองทุกครั้ง สังเกตผลการทดลองภายใน 48 ชั่วโมง บันทึกอาการและจำนวนปลาตายตลอด 48 ชั่วโมง เมื่อพบปลาดายนำขึ้นทันที

3.2 การทดลองอย่างละเอียด (Full – Scale Tests) เป็นการทดลองจริง โดยนำผลการทดลองเบื้องต้นกลับมาใช้พิจารณาจัดระดับความเข้มข้นตามวิธีของ Litchfield และ Wilcoxon (1949) สังเกตเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลาทั้ง 3 ชนิด ในแต่ละระดับความเข้มข้นตลอดการทดลองเพื่อนำไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้ปลาทั้ง 3 ชนิดตาย 50 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 48 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำโดยวิเคราะห์ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ (pH) ความกระด้างของน้ำ (Hardness) และความเป็นด่างของน้ำ (Alkalinity)ตามวิธีวิเคราะห์ของ APHA *et al* (1980) และไมตรีและจารุวรรณ (2528) ก่อนเริ่มการทดลอง หลังใส่สาร 30 นาที และสิ้นสุดการทดลอง เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำที่อาจจะเกิดขึ้นหลังจากการใส่สาร

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้รับจากการทดลองไปคำนวณค่ามัธยฐานความเป็นพิษ (Median Lethal

Concentration) ของยาเหลือง โดยวิธีของ Litchfield และ Wilcoxon (1949)

5. สถานที่ และระยะเวลาในการทดลอง

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการของภาควิชา วิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระยะเวลาในการทดลองตั้งแต่วันที่ 1 สิงหาคม 2542 ถึง 9 เมษายน 2543



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัด **99423** และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ผลการศึกษาระดับความเป็นพิษเฉียบพลันของยาเหลืองที่ทำให้ปลาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ที่เวลา 48 ชั่วโมง ต่อ ลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และลูกปลานิล ในระดับความเข้มข้นของยาเหลือง 6 ระดับพบว่า

ในลูกปลาสด ในกลุ่มควบคุมและที่ระดับความเข้มข้น 9 ppm พบว่าไม่มีการตายของปลาตลอดการทดลอง ขณะที่ระดับความเข้มข้น 9.51 10.05 10.62 11.22 และ 11.86 ppm มีเปอร์เซ็นต์การตายของลูกปลาสดที่เวลา 48 ชั่วโมง 20% 35% 65% 80% และ 90% ตามลำดับ โดยเริ่มสังเกตเห็นปลาตายในชั่วโมงที่ 18 และทยอยตายเรื่อยๆจนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 1) ลูกปลาที่ตายจะมีสีซีดขาว มีเมือกเกาะตามตัวมี ส่วนมากปลาที่ตายพบนอนอยู่พื้นตู้ทดลอง จากอัตราการตายดังกล่าวนำมาคำนวณค่า 48 ชั่วโมง LC_{50} ได้เท่ากับ 10.4 (9.76-11.07) ppm ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และค่าฟังก์ชันความลาดเอียง (slope function) เท่ากับ 1.1004 (1.059-1.143) (ภาพที่ 1)

ลูกปลาหางนกยูง พบว่าไม่มีการตายของลูกปลาหางนกยูงในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ใช้ยาเหลืองความเข้มข้น 6 ppm ที่ระดับความเข้มข้น 7.29 ppm ลูกปลาหางนกยูงจะเริ่มตายที่เวลา 42 ชั่วโมงมีเปอร์เซ็นต์การตายทั้งหมดเพียง 5 % เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 8.87 10.78 และ 13.12 ppm มีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเท่ากับ 35% 55% และ 85% ตามลำดับ ส่วนในระดับความเข้มข้นสูงสุดคือ 15.95 ppm ลูกปลาหางนกยูงจะเริ่มตายที่เวลา 18 ชั่วโมงและลูกปลาจะตายหมดที่เวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 2) ลูกปลาที่ตายจะมีสีตัวเข้มขึ้น ครีบบานออก ปากอ้า บางตัวตายอยู่พื้นตู้ทดลองบางตัวลอยขึ้นมาผิวน้ำ จากอัตราการตายดังกล่าวนำมาคำนวณค่า 48 ชั่วโมง LC_{50} ได้เท่ากับ 10.50 (8.95-12.31) ppm ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และค่าฟังก์ชันความลาดเอียง (slope function) เท่ากับ 1.1803 (1.142-1.219) (ภาพที่ 2)

ลูกปลานิล พบว่าไม่มีการตายของลูกปลานิลในกลุ่มควบคุม ขณะที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ 3 ppm เริ่มมีการตายเกิดขึ้นที่เวลา 42 ชั่วโมง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมเท่ากับ 5 % ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 3.81 4.84 6.16 และ 7.82 ppm มีเปอร์เซ็นต์การตายที่เวลา 48 ชั่วโมง มีค่า 15 % 35 % 40 % 65% และ 80% ตามลำดับ โดยเริ่มพบปลาตายที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 18 เป็นต้นไปจนสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 3) ลูกปลาที่ตายจะมีสีเข้ม บางตัวมีเลือดคั่งบริเวณหัว จากอัตราการตายดังกล่าวนำมาคำนวณค่า 48 ชั่วโมง LC_{50} ได้เท่ากับ 6.6 (5.67-7.76) ppm ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และค่าฟังก์ชันความลาดเอียง (slope function) เท่ากับ 1.774 (1.341-2.355) (ภาพที่ 3)

การศึกษาพฤติกรรมของลูกปลาที่ตอบสนองต่อยาเหลืองในลูกปลาทั้ง 3 ชนิดพบว่า การตอบสนองของลูกปลาทั้ง 3 ชนิดคล้ายกันคือ ที่ระดับความเข้มข้นสูงๆพบว่า เมื่อปล่อยปลาลงในสารละลายลูกปลาจะมีอาการตื่นตกใจ ว่ายน้ำไปมารวดเร็ว ขณะที่กลุ่มควบคุมยังคงว่ายน้ำเป็นปกติ หลังจากทดลองไปได้ 18 ชั่วโมง เริ่มสังเกตเห็นการตายโดยลูกปลาจะหยุดนิ่งและส่วนใหญ่น้ำลอยขึ้นมาลอยคอที่ผิวน้ำ โดยลูกปลาที่ใกล้ตายจะว่ายน้ำขึ้นลงอย่างรวดเร็ว ต่อมาจะเสียชีวิตโดยจะว่ายน้ำตะแคงหรือขึ้นๆ ลงๆ จนตกลงสู่พื้นภาชนะทดลองและตายในที่สุด ลักษณะของลูกปลาทายปากจะอ้า กระพุ้งแก้มกางออก ลำตัวมีเมือกมากและมีตะกอนของยาเหลืองเกาะตามครีบและลำตัว ปลาที่ตายบางตัวมีเลือดคั่งที่ส่วนหัวด้วย

ลักษณะทางกายภาพของน้ำภายหลังการใส่สารพบตะกอนขนาดเล็กสีน้ำตาลเกาะที่ภาชนะทดลองโดยจำนวนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของยาเหลือง คุณภาพน้ำที่ใช้ในการทดลองในปลาทั้ง 3 ชนิด มีค่าปริมาณความเป็นกรดเป็นด่าง ความกระด้าง และความเค็มต่าง เปลี่ยนแปลงบ้างเล็กน้อย (ตารางที่ 5-7) คือเพิ่มขึ้นหรือลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้นหรือในบางกลุ่มจะไม่มี การเปลี่ยนแปลงเลย ค่าความเป็นด่างในลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และลูกปลานิล เมื่อเริ่มการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดมีค่าระหว่าง 96-120 ppm 82-132 ppm และ 90-122 ppm ตามลำดับ และมีค่าความกระด้างอยู่ระหว่าง 88-122 ppm 82-124 ppm และ 84-120 ppm ตามลำดับ

อุณหภูมิของน้ำระหว่างทำการทดลองแปรเปลี่ยนตามอุณหภูมิอากาศ โดยอุณหภูมิของน้ำเมื่อเริ่มการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลองในลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และลูกปลานิลมีค่าอยู่ในช่วง 27-29.8, 27.2-29.8 และ 28.7-29.8 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แต่ยังคงอยู่ในช่วงที่เหมาะสมในการดำรงชีวิต

ปริมาณค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำในลูกปลาสด มีค่าลดลงเล็กน้อยในกลุ่มควบคุมและลดเพิ่มมากขึ้นในกลุ่มการทดลองที่ใส่ยาเหลืองโดยลดลงมากที่สุดในระดับความเข้มข้นสูงสุดซึ่งเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำเท่ากับ 7.85 ml/l และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าลดลงเท่ากับ 5.54 ml/l ซึ่งค่าที่ลดลงเท่ากับ 2.31 ml/l (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลาสด ที่ระดับความเข้มข้นของยาเหลือ
ต่างกัน ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของยาเหลือ (ppm)	จำนวนปลา (ตัว)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสม (ชั่วโมงต่างๆ)				
		1	18	24	42	48
กลุ่มควบคุม	20	0	0	0	0	0
9	20	0	0	0	0	0
9.51	20	0	0	5	10	20
10.05	20	0	5	15	30	35
10.62	20	0	15	25	55	65
11.22	20	0	15	45	75	80
11.86	20	0	0	60	75	90

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลาหางนกยูง ที่ระดับความเข้มข้นของยาเหลือ
ต่างกัน ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของยาเหลือ (ppm)	จำนวนปลา (ตัว)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสม (ชั่วโมงต่างๆ)				
		1	18	24	42	48
กลุ่มควบคุม	20	0	0	0	0	0
6	20	0	0	0	0	0
7.29	20	0	0	0	5	5
8.87	20	0	0	0	0	35
10.78	20	0	5	30	35	55
13.12	20	0	15	30	65	85
15.95	20	0	20	100	100	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลานิล ที่ระดับความเข้มข้นของยาเหลือ
ต่างกัน ในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของยาเหลือ (ppm)	จำนวนปลา (ตัว)	เปอร์เซ็นต์การตายสะสม (ชั่วโมงต่างๆ)				
		1	18	24	42	48
กลุ่มควบคุม	20	0	0	0	0	0
3	20	0	0	0	5	5
3.81	20	0	5	10	15	15
4.84	20	0	15	15	35	35
6.16	20	0	15	30	35	40
7.82	20	0	30	35	65	65
9.94	20	0	35	55	80	80

ตารางที่ 4 ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของยาเหลือต่อลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และ
ลูกปลานิล ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ชนิดของปลา	LC และช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ที่เวลา 48 ชั่วโมง	ค่าฟังก์ชันความเอียงและช่วงแห่ง ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 48 ชั่วโมง
ลูกปลาสด	10.4 (9.76-11.07)	1.1004 (1.059-1.143)
ลูกปลาหางนกยูง	10.5 (8.95-12.31)	1.1803 (1.142-1.219)
ลูกปลานิล	6.6 (5.67-7.67)	1.774 (1.341-2.355)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 คุณภาพน้ำระหว่างทำการทดลองของลูกปลาสอด ในน้ำที่มีระดับยาเหลือต่างกัน

ระดับความเข้มข้นของยาเหลือ	อุณหภูมิ (C)	pH	DO	ความเป็นด่าง	ความกระด้าง
ก่อนการทดลอง	29.8	7.74	7.97	56	110
หลังใส่สาร					
Controll	29.8	7.63	7.85	59	104
9 ppm	29.7	7.5	7.8	60	122
9.51 ppm	29.7	7.52	7.91	59	110
10.05 ppm	29.7	7.41	7.58	55	110
10.62 ppm	29.5	7.36	7.4	51	98
11.22 ppm	29.5	7.3	7.71	52	106
11.86 ppm	29.8	7.19	7.6	59	116
สิ้นสุดการทดลอง					
Controll	27	7.58	7.52	52	110
9 ppm	27.2	7.43	6.91	59	116
9.51 ppm	27	7.31	6.72	57	110
10.05 ppm	27	7.59	6.7	48	88
10.62 ppm	27	7.62	6.68	49	90
11.22 ppm	27.1	7.33	6.39	53	104
11.86 ppm	27.2	7.5	5.45	54	112

หมายเหตุ ค่าที่วัดมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้น pH และอุณหภูมิ

ตารางที่ 6 คุณภาพน้ำระหว่างทำการทดลองของลูกปลาหางนกยูง ในน้ำที่มีระดับ
ยาเหลืองต่างๆ กัน

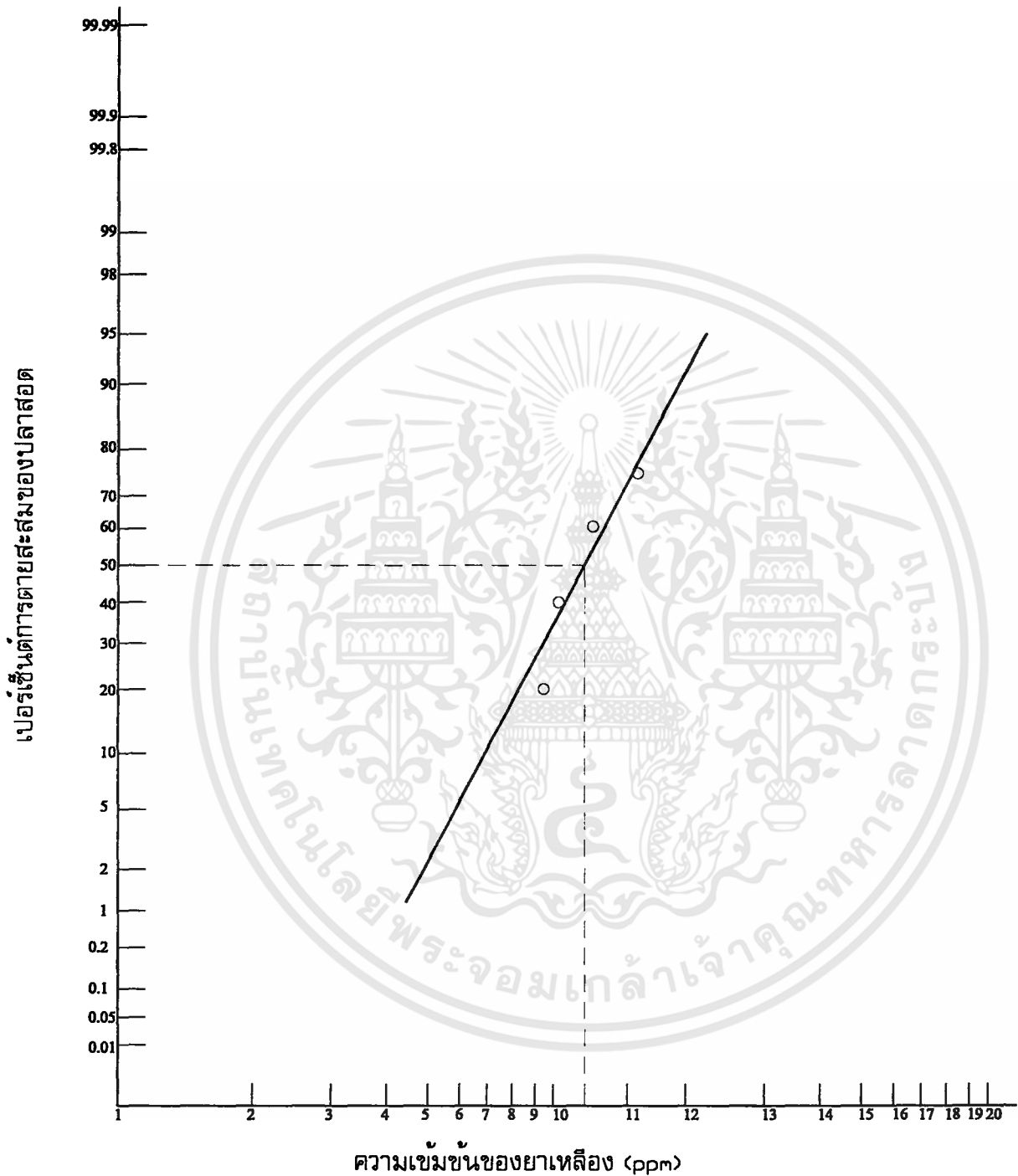
ระดับความเข้มข้นของยาเหลือง อุณหภูมิ (C)	pH	ความเป็นด่าง	ความกระด้าง	
ก่อนการทดลอง	29.2	7.14	56	104
หลังใส่สาร				
Controll	29.8	6.94	52	102
6 ppm	29	7.12	61	124
7.29 ppm	28.9	7.24	46	82
8.87 ppm	29	7.22	51	112
10.78 ppm	29	7.19	56	118
13.12 ppm	29.2	7.25	41	102
15.95 ppm	29.2	7.17	51	106
สิ้นสุดการทดลอง				
Controll	26.9	7.06	56	118
6 ppm	26.4	7.28	56	118
7.29 ppm	26.4	7.32	55	104
8.87 ppm	26.4	7.43	58	118
10.78 ppm	26.5	7.2	57	112
13.12 ppm	26.5	7.31	52	106
15.95 ppm	26.4	7.34	54	112

หมายเหตุ ค่าที่วัดมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้น pH และอุณหภูมิ

ตารางที่ 7 คุณภาพน้ำระหว่างทำการทดลองของลูกปลานิล ในน้ำที่มีระดับยาเหลือต่างๆ

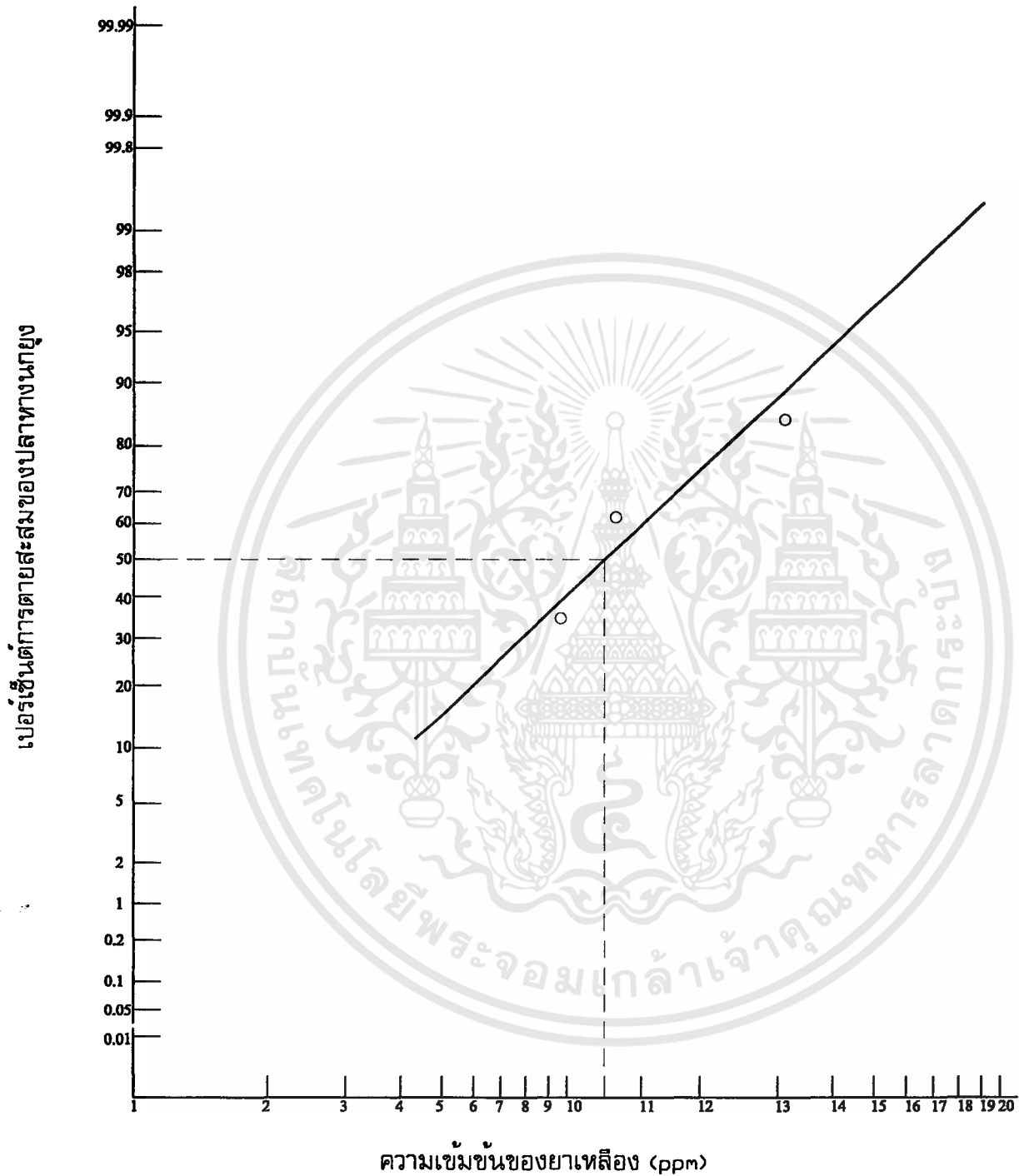
ระดับความเข้มข้นของยาเหลือ	อุณหภูมิ (C)	pH	ความเป็นด่าง	ความกระด้าง
ก่อนการทดลอง	29	7.71	60	122
หลังใส่สาร				
Controll	28.9	7.49	59	120
3 ppm	29.5	7.52	52	102
3.81 ppm	29.7	7.84	52	104
4.84 ppm	29.8	7.71	58	118
6.16 ppm	29.8	7.42	61	120
7.82 ppm	28.9	7.47	54	102
9.94 ppm	28.9	7.33	52	118
สิ้นสุดการทดลอง				
Controll	28.8	7.69	58	120
3 ppm	28.8	7.73	45	82
3.81 ppm	28.8	7.61	59	110
4.84 ppm	28.7	7.53	59	84
6.16 ppm	28.9	7.56	48	96
7.82 ppm	28.9	7.39	49	96
9.94 ppm	28.9	7.42	55	112

หมายเหตุ ค่าที่วัดมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้น pH และอุณหภูมิ



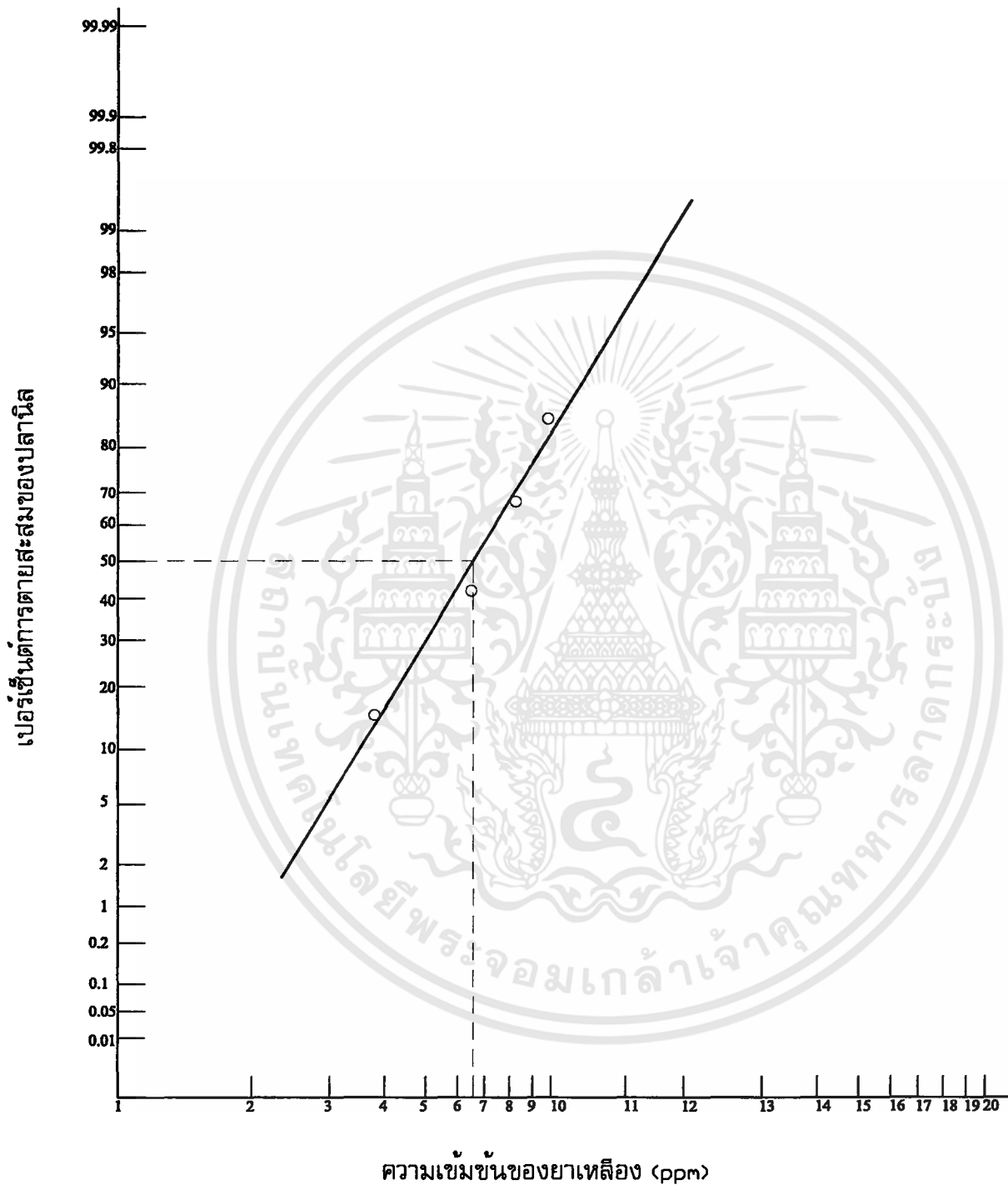
ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาเหลือกับ
เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลาสด ที่เวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาเหลือกับเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลาทางนกกุ้ง ที่เวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาเหลือกับเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของลูกปลานิล ที่เวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์

ความเป็นพิษเฉียบพลันของยาเหลืองที่มีต่อลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และลูกปลานิล ในเวลา 48 ชั่วโมง อยู่ในช่วงที่มีความแตกต่างกันไม่มากนัก โดยสามารถเรียงลำดับความเป็นพิษเฉียบพลันจากความเป็นพิษมากไปหาความเป็นพิษน้อยได้ดังนี้ ลูกปลานิล 6.6 (5.67-7.67) ลูกปลาสด 10.4 (9.76-11.07) และปลาหางนกยูง 10.50 (8.95-12.31) (ตารางที่ 4) ซึ่งจะเห็นได้ว่าปลาต่างชนิดกันจะมีความทนทานต่อความเป็นพิษของสารเคมีต่างกัน แม้จะเป็นปลาชนิดเดียวกันก็ตามขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องและมีอิทธิพลต่อความไวของปลานั้นๆ (Metclev et. Al., 1983 อ้างตาม วินิจ, 2528) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาทดลองของ Obickezic และ Okafor (1995) ซึ่งหาความเป็นพิษเฉียบพลันของยาเหลืองที่ทำให้ลูกปลา *Clarias gariepinus* (Burchell) ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 24 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 10 ml/l และพบว่าที่ระดับความเข้มข้นนี้สามารถนำมาใช้ควบคุมปรสิตภายนอกได้แต่ไม่สามารถนำมาใช้กับลูกปลา *Clarias gariepinus* (Burchell) อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้ความเข้มข้นที่ปลอดภัยที่ไม่ทำให้ลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และลูกปลานิลตายมีค่าเท่ากับ 9 ppm 6 ppm และน้อยกว่า 3 ppm ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าระดับความเข้มข้นที่ Untergasser (1989) แนะนำให้ใช้รักษาโรค Ich และ Oodinium ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm และ 20 ppm ตามลำดับ หรือที่แนะนำให้ใช้ป้องกันเชื้อแบคทีเรียที่ ความเข้มข้น 10 ppm (ชโล, 2528) ในลูกปลาสดและลูกปลาหางนกยูงระดับความเข้มข้นที่ไม่ทำให้ลูกปลาตายนั้น สามารถใช้รักษาโรค Columnalis, Costia, Trichodina ได้ ซึ่งพบว่าสามารถรักษาโรคดังกล่าวได้ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm แช่ 2-4 วัน ในภาชนะแยก (Untergasser, 1989) แต่ไม่สามารถใช้ได้กับลูกปลานิล และพบว่าระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการลำเลียง ขนส่ง ชั่ง วัดปลา และป้องกันการติดเชื้อระยะเริ่มต้นสามารถใช้ได้กับสำหรับลูกปลาทั้ง 3 ชนิดมีค่าเท่ากับ 1-3 ppm (ชโล, 2528 และ Untergasser, 1989) อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นดังกล่าวอาจไม่สามารถป้องกันเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *Pseudomonas fluorescense* เนื่องจากค่า MIC ของยาเหลืองต่อเชื้อทั้ง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 125 ppm และ 150 ppm ตามลำดับ (จันทิมา, 2542) ซึ่งอยู่ในระดับที่สูงมากลูกปลาทั้ง 3 ชนิดไม่สามารถทนได้ ดังนั้นความเข้มข้นดังกล่าวจึงอาจไม่จำเป็นที่จะใช้ในการลำเลียง ขนส่ง ชั่ง วัดปลา เพื่อป้องกันการติดเชื้อระยะเริ่มต้น แต่ควรหาสารเคมีชนิดอื่นหรือยาชนิดอื่นที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อ เพื่อลดการสูญเสียในการใช้ยาหรือสารเคมีโดยใช่เหตุ

ลักษณะและอาการของปลาที่ตอบสนองต่อยาเหลืองพบว่าปลาทดลองแสดงลักษณะและอาการที่ตอบสนองต่อพิษของยาเหลืองคล้ายคลึงกันกล่าวคือหลังจากปล่อยปลาลงในยาเหลืองใหม่ๆ ปลาจะมีอาการตื่นตกใจ วายน้ำไปมาอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะปลาสด การเปิดปิดของกระพุ้ง

แก้มเร็วขึ้น(operculum movement) แสดงว่าอัตราการหายใจของปลาเพิ่มขึ้น(Lanzing, 1963 และ Wedemeyer และ Yasutake, 1974 อ้างตาม เต็มดวง, 2529) ซึ่งเร็วกว่าปลาในกลุ่มควบคุมอย่างเห็นได้ชัดเจน ต่อจากนั้นปลาจะเริ่มว่ายน้ำขึ้น-ลงระหว่างผิวน้ำ กลางน้ำ และพื้นตู้ทดลองและมีอาการพักตัวอยู่หนึ่งซึ่งอาจเป็นการปรับตัวเพื่อลดปริมาณการใช้ออกซิเจนใต้น้ำน้อยลง(วินิจ, 2528) ต่อมาปลาจะแสดงอาการผิดปกติมากขึ้น โดยเริ่มสูญเสียการทรงตัว ไม่สามารถควบคุมทิศทางการว่ายน้ำได้ สุดท้ายปลาจะหมดแรงและตกลงสู่พื้นตู้ทดลอง การหายใจค่อยๆช้าลงมาก กระพุ้งแก้มเปิดอ้าอยู่หนึ่งไม่เคลื่อนไหวและตายในที่สุด โดยตะกอนของยาเหลืองจับอยู่บริเวณเหงือก ครีบ และลำตัวของปลาที่ตาย เนื่องจากคุณสมบัติของยาเหลืองจะตกตะกอนเมื่อถูกเจือจาง (กระทรวงสาธารณสุข, 2531) อาการดังกล่าวจะสังเกตเห็นได้ชัดเจนในตู้ที่มีความเข้มข้นของยาเหลืองมาก สำหรับปลาบางตัวที่ตายพบว่ามีเลือดคั่งอยู่บริเวณหัวซึ่งอาการเหล่านี้ อาจเกิดจากปลาได้รับออกซิเจนต่ำกว่าปกติเป็นเวลานาน(hypoxia) (ตีบสิน, 2523) หรือเนื่องจากความเป็นพิษของยาเหลืองโดยตรงร่วมกับตะกอนที่จับอยู่ตามเหงือกทำให้รับออกซิเจนได้น้อยลง

คุณภาพน้ำระหว่างทำการทดลองในปลาทั้ง 3 ชนิด มีค่าปริมาณความเป็นกรดเป็นเบส ความกระด้าง และความเป็นด่าง เปลี่ยนแปลงบ้างเล็กน้อย (ตารางที่ 5-7) คือเพิ่มขึ้นหรือลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้นหรือในบางกลุ่มจะไม่มีเปลี่ยนแปลงเลย แต่อย่างไรก็ตามค่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นดังกล่าวยังอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำเช่นเดียวกับอุณหภูมิของน้ำไม่ส่งผลโดยตรงต่อการตายของลูกปลา

ปริมาณค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำในลูกปลาสดมีค่าลดลงเล็กน้อยในกลุ่มควบคุมส่วนกลุ่มการทดลองที่ได้ยาเหลืองแสดงค่าลดลงมากกว่า โดยมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และลูกปลาสดเมื่อเริ่มการทดลองที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำเท่ากับ 7.60 ml/l และเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.54 ml/l แม้ว่ามีค่าลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจนปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่เหลือยังคงอยู่ในช่วงที่สามารถดำรงชีวิตได้และการตายของปลาไม่น่ามีสาเหตุมาจากปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลง

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาระดับความเป็นพิษเฉียบพลันของยาเหลืองที่ทำให้ปลาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และลูกปลานิล และการประเมินค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย สรุปผลได้ดังนี้

1. ค่า 48 ชั่วโมง LC_{50} ที่ช่วงความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ของยาเหลืองที่มีต่อลูกปลาสด ลูกปลาหางนกยูง และลูกปลานิล มีค่าเท่ากับ 10.4, 10.5 และ 6.6 ppm ตามลำดับ
2. จากการเปรียบเทียบค่า 48 ชั่วโมง LC_{50} ของปลาทั้ง 3 ชนิด พบว่าลูกปลาหางนกยูงมีค่า 48 ชั่วโมงที่ LC_{50} มากที่สุด รองลงมาคือลูกปลาสด และปลานิล ตามลำดับ แสดงว่ายาเหลืองมีพิษเฉียบพลันรุนแรงต่อลูกปลานิลมากที่สุด รองลงมาคือลูกปลาสด และปลาหางนกยูง ตามลำดับ
3. ค่าความเข้มข้นสูงสุดของยาเหลืองที่ไม่ทำให้ลูกปลาทั้ง 3 ชนิดตายที่เวลา 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 9, 6 และน้อยกว่า 3 ppm ตามลำดับ
4. สำหรับลูกปลาสดและลูกปลาหางนกยูงระดับความเข้มข้นที่ไม่ทำให้ลูกปลาทายนั้นสามารถใช้รักษาโรค Columnalis, Costia, Trichodina ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm ใช้นาน 2-4 วัน
5. ควรมีการทดลองศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีระหรือทางพยาธิสภาพของปลาภายหลังที่สัมผัสกับยาเหลืองเพื่อหาผลกระทบของสารเคมีต่อตัวปลา อันเป็นสาเหตุการตายที่แท้จริง
6. สำหรับคำแนะนำต่างๆ ไปที่ให้ใช้ยาเหลืองในความเข้มข้น 1-3 ppm ไม่สามารถป้องกันและรักษาโรค Columnalis, Costia และ Trichodina ได้

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. 2529. คู่มือบัญญัติยาหลักแห่งชาติ เล่มที่ 2. กระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพฯ. 433-444

กลุ่มสถิติและสารสนเทศการประมง. 2541. สถิติผลผลิตการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ปี พ.ศ. 2538. เอกสารฉบับที่ 9/2542. กองเศรษฐกิจการประมง, กรุงเทพฯ. 57 น.

เกียรติศักดิ์ พงศ์พนิช. 2531. ศาสตร์และศิลป์แห่งการเลี้ยงปลา. แอล. ซี. กรู๊ป. เขตธนบุรี, กรุงเทพฯ. 157 น.

จันทิมา ดำรงวุฒิ. 2542. การทดสอบประสิทธิภาพและค่า MIC ของ Acriflavine ต่อ *Aeromonas hydrophila* และ *Pseudomonas fluorescens*. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 44 น.

จำลอง สุวคนธ์. 2481. สยามเภสัชต้นตำรับ. คณะแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 933 น.

จำลอง สุวคนธ์. 2593. ไทยเภสัชต้นตำรับ. คณะเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 352 น.

ชลอ ถัมสุวรรณ. 2528. โรคปลา เอกสารประกอบการสอนวิชาชีววิทยาประมง. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 227 น.

ณัฐกานต์ แถวไรสง. 2542. พิษเฉียบพลันของผงซักฟอกที่มีต่อลูกปลาตะเพียนขาว (*Puntius goninotus* Bleeker.) ลูกปลานิล (*Tilapia nilotica* Linn.) และลูกปลาชี่สกเทศ (*Labco rohita* Boche.). วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 75 น.

เต็มดวง พึ่งขจรบุญ. 2529. ความเป็นพิษของฟอร์มาลินในระดับที่ไม่ทำให้ปลาตายต่อปลาน้ำจืดบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 77 น.

ทวีศักดิ์ ทรงศิริกุล. 2527. คู่มือการจำแนกครอบครัวปลาไทย. คณะประมง,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 255 น.

ธิดา นิงสานนท์. 2523. สารพัดยา เล่ม 3. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล. 224 น.

ปรีชา สมมณี. 2520. การวิเคราะห์ความเป็นพิษของสารที่มีต่อสัตว์น้ำโดยวิธีโปรบิท.
ภาควิชาชีววิทยาประมง, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 19 น.

ประมาณ พรหมสุทธิรักษ์ และประไพสิริ สิริกาญจน์. 2520. ผลของโลหะหนักต่อปลาน้ำจืดบาง
ชนิด. ภาควิชาชีววิทยาประมง, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 23 น.

พาลาก สิงหเสนี และ วินิจ ต้นสกุล. 2528. การใช้ปลาน้ำจืดเพื่องานทดสอบความเป็นพิษของสาร
เคมีในประเทศไทย. รายงานผลการวิจัยเสนอในที่ประชุมวิชาการเรื่องทรัพยากรสิ่งมีชีวิต
ทางน้ำ. 7-8 มีนาคม 2528. คณะกรรมการปฏิบัติการวิจัยทรัพยากรสัตว์น้ำ,
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. อ้างตาม วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของ
ปลาชิวหนวดยาว (*Esomus metallicus* Ahl.) ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 102 น.

พินิจ สีสัพทักษณ์เกียรติ, วิทยา หวังเจริญพร, กำชัย ลาวัณยวุฒิ และ ชัชวาล จตุพร. 2540.
การทำธุรกิจปลาสวยงามของไทย. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืดแห่งชาติ. กรมประมง,
กรุงเทพฯ. 98 น.

ภาควิชาเภสัชวิทยา. 2523. ตำราเภสัชวิทยา (Textbook of Pharmacology). คณะแพทยศาสตร์,
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 399 น.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ,
กำชัย ลาวัณยวุฒิ, วีระ วชิรกร โยธิน และ ดร. วิมล จันทโรทัย. 2536. การพัฒนาการเพาะ
เลี้ยงปลาน้ำจืด. เอกสารเผยแพร่ ฉบับที่ 23. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืด, กรม
ประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 95 น.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และ จารุวรรณ สมศิริ. 2528. คุณสมบัติของน้ำและวิธีวิเคราะห์สำหรับการวิจัย
ทางการประมง. ฝ่ายวิจัยสิ่งแวดล้อมสัตว์น้ำ, สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง,
กรุงเทพฯ. 115 น.

ยุพิน สังกรินทะ. 2537. เกษษวิทยา. ภาควิชาเกษษวิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล.
719 น.

วิทย์ เทียงบูรณธรรม. ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์. Dictionary of Drugs and New Drugs ii Thailand.
ภาควิชาเกษษวิทยา, คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 1226 น.

วรวิทย์ ชีวาพร, รุจิวรรณ พานิชชัยกุล และพรพรรณ เลิศทวีสินธุ์. 2527. การวัดความร้ายแรงของ
สารอันตรายโดยใช้ปลาและแพลงก์ตอนพืชเป็นตัวประเมินผลทางชีววิทยา.
คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, วิทยาเขตพลศึกษา. อ้างตาม
วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชิวหนวดขาว
(*Esomus metallicus*Ahl.)ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 102 น.

วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชิวหนวดขาว(*Esomus metallicus*Ahl.)
ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 102 น.

สมโภชน์ อัครทวีวัฒน์. 2523. ครอบครัปลาน้ำจืดที่มีคุณค่าของไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่
5/2523. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง. 201 น.

สุภาพ มงคลประสิทธิ์, สุรีย์ วิมลโลหการ และ ประจิดร วงศ์รัตน์. 2516. คู่มือประกอบการเรียน
วิชาอนุกรมวิธานของปลา. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 263 น.

สุภาพ มงคลประสิทธิ์, สุรีย์ วิมลโลหการ และ ทวีศักดิ์ ทรงศิริกุล. 2537. ปลาเมืองไทย.
ภาควิชาชีววิทยาประมง, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 120 น.

สืบสิน สนธิรัตน์. 2523. สรีรวิทยาปลา. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 64-69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศูนย์ยาฝ่ายวิชาการ. 2523. ตู้ยาประจำบ้าน. สโมสรนิสิตเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 300 น.

อัมพวัน อภิสริยะกุล. 2541. คู่มือเภสัชวิทยา บัญชียาหลัก. คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 222 น.

American Public Health Association. 1980. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association Inc., Washington D. C. 1134 p.

American society for testing materials. 1970. Standard method of test for evaluating acuter Toxicity of industrial water to freshwater. ASTMB 1345-59. อ้างตาม วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชีวหนวดขาว (*Esomus metallicus* Ahl.). ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 102 น.

American society for testing materials. 1970. Standard method of test for evaluating acuter toxicity of industrial water to freshwater. ASTMB 1345-59. อ้างตาม วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชีวหนวดขาว (*Esomus metallicus* Ahl.). ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 102 น.

Andrew, C. 1980. All About Tropical Fish. Harrap Ltd., London. 480 p.

Dick, M. 1993. Aquarium Fish. Dorling Kindersley, London. 304 p.

Gohm, d. 1978. Tropic Fish. The Hamyn Publishing Group Ltd., New York. 58-59. อ้างตาม วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชีวหนวดขาว (*Esomus metallicus* Ahl.). ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 102 น.

Hans, F. 1984. The Freshwater Aquarium. Orbis Publishing, London. 288 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Jensen, A. L. 1972. Standard Error of LC50 and Sample Size in Fish Bioassay. *Wat. Res.* 6:85-89.
- Lanzing, W. J. R. 1963. Observation on Malachite Green in Relation to its Application to Fish Disease. *Hydrobiological.* 25:426-441. อ้างตาม เต็มดวง พึ่งขจรบุญ. 2529. ความเป็นพิษของฟอร์มาลินในระดับที่ไม่ทำให้ปลาตายต่อปลาน้ำจืดบางชนิด. *วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.* 77 น.
- Litchfield, J. T., Jr. and F. Wilcoxon. 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiment. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96: 99-113.
- Macdonald Illustrated. 1990. *The Macdonald Encyclopedia of Aquaria.* A Macdonald & Co. (Publishers) Ltd., London. 295 p.
- Martha, W., L. S. Dolores, B. M. David and E. G. Leslie. 1989. *He merck index an encyclopedia of chemical and drugs.* Eighth edition. U.S.A. 1713 p.
- Mauric, R. B. 1975. *Encyclopedia of Fish.* Octopus Books Ltd., London. 97-98. อ้างตาม วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชิวหนวดยาว (*Esomus metallicus* Ahl.) ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา. *วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.* 102 น.
- Metelev, V. V., A. I. Kanaev and N. G. Dzaskhova. 1983. *Water Toxicology.* Amerind publishing CO. Pvt. Ltd., New Dehi. อ้างตาม วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชิวหนวดยาว (*Esomus metallicus* Ahl.) ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา. *วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.* 102 น.

Mutamara, S., N. C.Thank. and Traichaiyaporn. S.1978. A Preliminary Study on the Use of Chao Phraya River Fish as Pollution Bioassay Organism. Research Report No. 93 Asian Institute of Technology, Bangkok. อ้างตาม วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชิวหนวดยาว(*Esomus metallicus*Ahl.).ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 102 น.

National Academy of Science. 1974. In fish : Guidelines for Breeding, Care, and Management of Laboratory Animals. A Reporter for Subcommitte of Fish Standard,Committee of Standard. Institute of Laboratory Animals Resources, Nation Research Council, Washington . อ้างตาม วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชิวหนวดยาว (*Esomus metallicus*Ahl.). ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 102 น.

Obiekezic. A., N. Okafor. 1995. Toxicity of four commonly used chemotherapeetic compounds to Fry of the *African catfish, Clarias gariepinus*(Burchell). Aquaculture Research. 26:6, 441-445.

Ornamental Fish And Plants Devenlopment Institute. 1990. Ornamental Fish And Plants FromThailand. Deparment of Fisheries, Thailand. 23 p.

Ramshort, J. D. Van. 1978. The Complete Aquarium Encyclopedia Tropical Freshwater Fish. Elsevier Phaidan and Imprint of Fnaidan Press Ltd., Oxford. อ้างตาม วินิจ ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชิวหนวดยาว (*Esomus metallicus*Ahi.).ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 102 น.

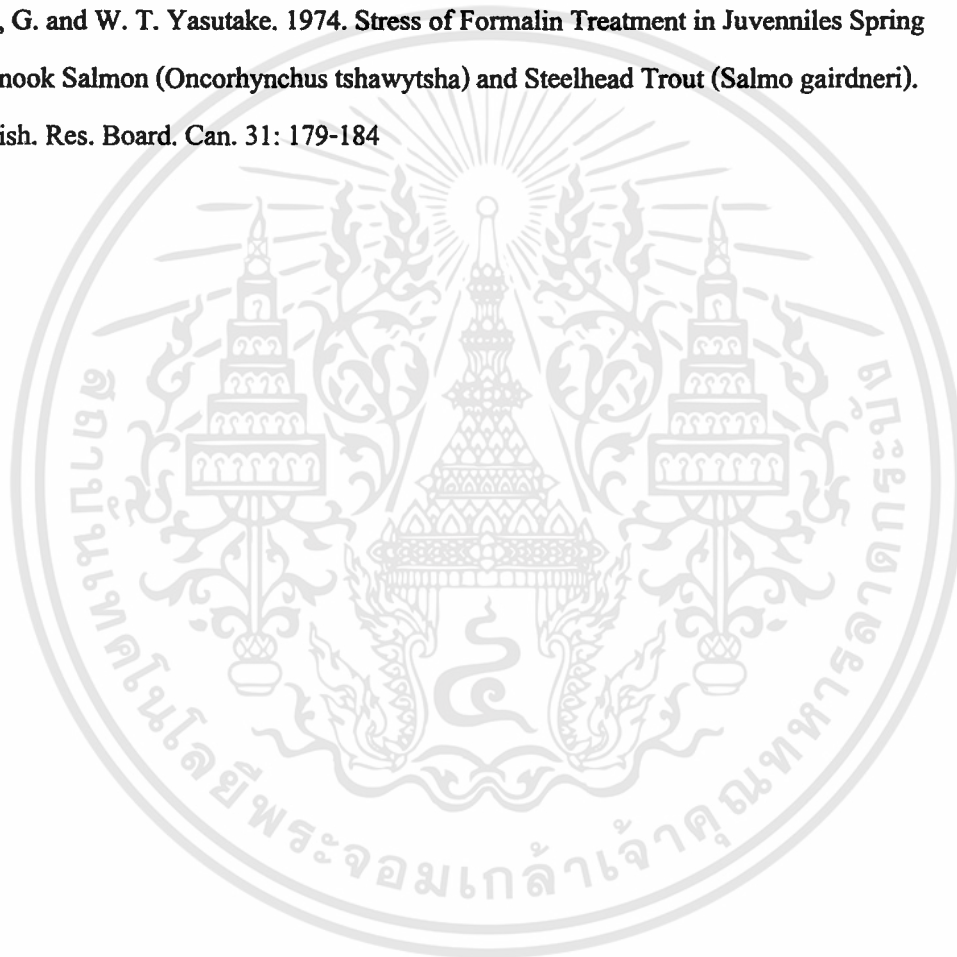
Seymour, S.B. 1983. Disinfection Sterilization and Preservation. University of Florida Gainesville, Florida. 405 p.

Sprague, J. B. 1969. Measurement of Pollutant Toxicity to Fish I. Bioassay Method for Acute Toxicity. Wat. Res. 3 : 739-821.

Utergasser, D. 1989. Handbook of fish diseases. T. F. H. Publication, Canada. 160 p.

Vachavasanthrub, S. 1981. Effect of Mercury on Developmental Stages of the Freshwater Fish, *Puntius gonionotus* (Bleeker). Master's Thesis, Department of Environmental Biology, Graduate School, Mahidol University. 1981. อ้างตาม วินิก ต้นสกุล. 2528. การประเมินความเหมาะสมของปลาชีวหนวดขาว(*Esomus metallicus*Ahl.).ในการใช้เป็นสัตว์ทดลองทางพิษวิทยา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.102น.

Wedemeyer, G. and W. T. Yasutake. 1974. Stress of Formalin Treatment in Juveniles Spring Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and Steelhead Trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Board. Can. 31: 179-184



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 การวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ของยาเกลือ (ppm) ในลูกปลาสด ตามวิธีของ Litchfield และ Wilcoxon (1949)

ความเข้มข้น ของสาร ละลาย (ppm)	จำนวนปลา ตายต่อจำนวน ปลาทดลอง	ค่าสังเกต % ตาย (O)	ค่าคาดหวัง % ตาย (E)	ค่าสังเกตลบ ค่าคาดหวัง (O-E)	$(O-E)^2/E(100-E)$
9.00	0/20	0 (0.3)	1	-0.7	0.0049
9.51	4/20	20	19	1	0.00064
10.05	7/20	35	40	-5	0.0104
10.62	13/20	65	62	3	0.0038
11.22	16/20	85	76	4	0.0087
11.86	18/20	90	86	4	0.0132
				รวม	0.0416

สัญลักษณ์ที่ใช้

K = จำนวนระดับความเข้มข้นที่ใช้

n = $k-2$ = degree of freedom ของ X^2

LC_{50} , LC_{84} , LC_{16} = ความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50, 84 และ 16 เปอร์เซ็นต์

S = ค่าฟังก์ชันความลาดเอียง

$f_{LC_{50}}$, f_s = ค่าแฟกเตอร์ของ LC_{50} และ S

N = จำนวนสัตว์ทดลองที่ใช้และอยู่ระหว่าง LC_{16} และ LC_{84}

R = อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นสูงสุด และความเข้มข้นต่ำสุด

A = ค่าที่คำนวณมาจาก S และ R

ในการทดลองถ้าค่า X^2 น้อยกว่าค่าที่ได้จากตารางแสดงว่าค่าการเบี่ยงเบนของจุดไปจากเส้นตรง มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ดังนั้นสามารถใช้เส้นตรงนี้ในการประมาณค่า LC_{50} ได้

$$X^2 = 0.0416 \times \text{จำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด} / K$$

$$= 0.0416 \times 120 / 6 = 0.832$$

$$n = K - 2 = 4 \text{ เปิดตาราง } X^2 \text{ เมื่อ } n=4 = 9.49$$

0.832 น้อยกว่า 9.49 ดังนั้นข้อมูลที่ไ้จากการกระจายของจุดแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

ดังนั้น จากกราฟ จะได้ $LC_{16} = 7.8$

$$LC_{50} = 10.4$$

$$LC_{84} = 11.7$$

$$S = (LC_{84}/LC_{50} + LC_{50}/LC_{16}) / 2$$

$$S = (11.7/10.4 + 10.4/7.8) / 2 = 1.229$$

$$F_{LC50} = S^{2.77/\sqrt{n}} = 1.229^{2.77/\sqrt{80}} = 1.065$$

การคำนวณขีดจำกัดของ LC_{50} ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

$$\text{ขีดจำกัดบน} = LC_{50} \times f_{LC50} = 10.4 \times 1.065 = 11.07$$

$$\text{ขีดจำกัดล่าง} = LC_{50} / f_{LC50} = 10.4 / 1.065 = 9.76$$

ดังนั้น จะได้ LC_{50} ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% = 10.4 (9.76 – 11.07)

$$R = \text{ความเข้มข้นสูงสุด} / \text{ความเข้มข้นต่ำสุด} = 11.86 / 9 = 1.317$$

$$A = \text{antilog} [(1.1 (\log s)^2) / \log R]$$

$$= \text{antilog } 1.1 (\log 1.1004) / \log 1.317 = 1.036$$

$$fs = A^{10(k-1)/k\sqrt{n}} = 1.317^{1.075} = 1.039$$

$$\text{ขีดจำกัดบนของ } S = S \times fs = 1.1004 \times 1.039 = 1.143$$

$$\text{ขีดจำกัดล่างของ } S = S / fs = 1.1004 / 1.039 = 1.059$$

ดังนั้น จะได้ฟังก์ชันความลาดเอียงที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 % = 1.1004 (1.059-1.143)

ตารางภาคผนวกที่ 2 การวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ของยาเหลือง (ppm) ในลูกปลาหางนกยูง

ความเข้มข้น ของสาร ละลาย (ppm)	จำนวนปลา ตายต่อจำนวน ปลาทดลอง	ค่าสังเกต % ตาย (O)	ค่าคาดหวัง % ตาย (E)	ค่าสังเกตลบ ค่าคาดหวัง (O-E)	$(O-E)^2/E(100-E)$
6.00	0/20	0 (0.3)	1	-0.7	0.0049
7.29	1/20	5	10	5	0.0277
8.87	7/20	35	34	1	0.00044
10.78	11/20	55	62	-7	0.020
13.12	17/20	85	84	-1	0.00074
15.95	20/20	100(98)	94	-4	0.028
				รวม	0.10538

$$X^2 = 0.10538 \times \text{จำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด}/K$$

$$= 0.10538 \times 120/6 = 2.1076$$

$$n = K - 2 = 4 \text{ เปิดตาราง } X^2 \text{ เมื่อ } n=4 = 9.49$$

2.1076 น้อยกว่า 9.49 ดังนั้นข้อมูลที่ได้การกระจายของจุดแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ
ดังนั้น จากกราฟ จะได้ $LC_{16} = 5.5$

$$LC_{50} = 10.5$$

$$LC_{84} = 12.8$$

$$S = (LC_{84}/LC_{50} + LC_{50}/LC_{16}) / 2$$

$$S = (12.8/10.5 + 10.5/5.5) / 2 = 1.564$$

$$F_{LC50} = S^{2.77} \sqrt{N} = 1.564^{2.77} \sqrt{60} = 1.173$$

การคำนวณขีดจำกัดของ LC_{50} ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

$$\text{ขีดจำกัดบน} = LC_{50} \times f_{LC50} = 10.5 \times 1.173 = 12.31$$

$$\text{ขีดจำกัดล่าง} = LC_{50} / f_{LC50} = 10.5 / 1.173 = 8.95$$

ดังนั้น จะได้ LC_{50} ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% = 10.5 (8.95 – 12.31)

$$R = \text{ความเข้มข้นสูงสุด} / \text{ความเข้มข้นต่ำสุด} = 15.95 / 6 = 2.658$$

$$A = \text{antilog} [(1.1 (\log s)^2) / \log R]$$

$$= \text{antilog } 1.1 (\log 1.1803) / \log 2.658 = 1.031$$

$$fs = A^{10(k-1)/k\sqrt{n}} = 1.031^{10(6-1)/6\sqrt{60}} = 1.033$$

$$\text{ขีดจำกัดบนของ } S = S \times fs = 1.1803 \times 1.033 = 1.219$$

$$\text{ขีดจำกัดล่างของ } S = S / fs = 1.1803 / 1.033 = 1.142$$

ดังนั้น จะได้พิงก์ชั้นความลาดเอียงที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 % = 1.1803(1.142-1.219)

ตารางภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ของยาเหลือง (ppm) ในลูกปลานิล

ความเข้มข้น ของสาร ละลาย (ppm)	จำนวนปลา ตายต่อจำนวน ปลาทดลอง	ค่าสังเกต % ตาย (O)	ค่าคาดหวัง % ตาย (E)	ค่าสังเกตลบ ค่าคาดหวัง (O-E)	$(O-E)^2/E(100-E)$
3.00	1/20	5	10	-5	0.0277
3.81	3/20	15	17	-2	0.00028
4.84	7/20	35	30	5	0.0119
6.16	8/20	40	44	-4	0.0064
7.82	12/20	65	60	5	0.0104
9.94	14/20	80	74	6	0.0187
				รวม	0.07538

$$X^2 = 0.07538 \times \text{จำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด} / K$$

$$= 0.07538 \times 120 / 6 = 1.5076$$

$$n = K - 2 = 4 \text{ เปิดตาราง } X^2 \text{ เมื่อ } n=4 = 9.49$$

1.5076 น้อยกว่า 9.49 ดังนั้นข้อมูลที่ได้การกระจายของจุดแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

ดังนั้น จากกราฟ จะได้ $LC_{16} = 3.8$

$$LC_{50} = 6.6$$

$$LC_{84} = 10.1$$

$$S = (LC_{84}/LC_{50} + LC_{50}/LC_{16}) / 2$$

$$S = (10.1/6.6 + 6.6/3.8) / 2 = 1.633$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$F_{LC_{50}} = S^{2.77/\sqrt{n}} = 1.633^{2.77/\sqrt{80}} = 1.163$$

การคำนวณขีดจำกัดของ LC_{50} ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

$$\text{ขีดจำกัดบน} = LC_{50} \times f_{LC_{50}} = 6.6 \times 1.163 = 7.67$$

$$\text{ขีดจำกัดล่าง} = LC_{50} / f_{LC_{50}} = 6.6 / 1.163 = 5.67$$

ดังนั้น จะได้ LC_{50} ที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% = 6.6(5.67 – 7.67)

$$R = \text{ความเข้มข้นสูงสุด} / \text{ความเข้มข้นต่ำสุด} = 9.94 / 3 = 3.313$$

$$A = \text{antilog} [(1.1 (\log s)^2) / \log R]$$

$$= \text{antilog } 1.1 (\log 1.7774) / \log 3.313 = 1.354$$

$$f_s = A^{10(k-1)/k\sqrt{n}} = 1.354^{10(6-1)/6\sqrt{80}} = 1.325$$

$$\text{ขีดจำกัดบนของ } S = S \times f_s = 1.7774 \times 1.325 = 2.355$$

$$\text{ขีดจำกัดล่างของ } S = S / f_s = 1.7774 / 1.325 = 1.341$$

ดังนั้น จะได้พิงก์ชั้นความลาดเอียงที่ช่วงความเชื่อมั่น 95 % = 1.7774(1.341-2.355)