



รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- ชฎาพร ถาวรพานิชกิจ. 2534. การสังเคราะห์อนุพันธ์ดีบุกอินทรีย์บอแรก. วิทยานิพนธ์ในภาควิชาเคมี. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 180 หน้า.
- ประสงค์ โรจน์เลิศจรรยา. 2531. พิษวิทยาและสารมลพิษในสิ่งแวดล้อม. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยศิลปากร. 43 หน้า
- พรสวรรค์ วิสุทธิวิเศษ. 2536. เอกสารประกอบการบรรยายพิเศษเรื่อง Eco-Biotoxicological Studies of Organotin Pesticides. ภาควิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วทัญญู เทียนทอง. 2536. การสังเคราะห์สารประกอบดีบุกอินทรีย์ที่มีหมู่อะมิโนอัลคิล. วิทยานิพนธ์. ภาควิชาเคมี. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 184 หน้า.

ภาษาอังกฤษ

- American Public Health Association. 1985. Standard method for the examination of water and wastewater. 17 th ed. Washington, D.C. American Public Health Association.
- Beaumont, A.R. and Budd, M.D. 1984. High mortality of the larvae of the common mussel at low concentration of tributyltin. Mar. Poll. Bull. 15(11): 402-405. cited by. Michael, R. Ecotoxicity of Tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington, D.C. 4: 1443-1455.
- Blunden, S.J. and Chapman, A. 1986. Organotin compound in the environment. Organometallic compounds in the environment. Harlow, Essex, Logman Group Ltd. 111-159
- Brook, L.T., Call, D.J., Poirier, S.H., Markee, T.P., Lindberg, C.A., McCauley, D.J. and Simonson P.G. 1986. Acute toxicity and chronic effects of bis(tri-n- butyltin) oxide to several species of freshwater organisms. Battelle Memorial Research Institute. Columbus. pp. 20.

- Bryan, G.W. and Gibbs, P.E. 1991. Impact of low concentration of tributyltin(TBT) on marine organisms: A Review. Metal Ecotoxicology : Concept and Application. Eds M.C. Newman & A.W. McIntosh, Lewis Publishers Inc. Boston. 323-361.
- _____. Gibbs, P.E., Hummerstone, L.G. and Burt, G.R. 1986. The decline of the gastropod *Necella lapillus* around southwest England. Evidence for the effect of tributyltin form anti-fouling paint. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 611-640. cited by Michael, R. Ecotoxicity of Tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington, D.C. 4: 1443-1455.
- Champ, M.A. and Pugh, W.L. 1987. Tributyltin anti-fouling paint. Oceans 87 Proceedings. Washington, D.C. 4. 1296-1308.
- Chliamovitch, Y.P. and Kuhn, C. 1977. Behavioural haematological and histological studies on acute toxicity of bis (tri-n-butyltin) oxide on *Salmo gairdneri* Richardson and *Tilapia rendalli* Boulenger. J. Fish. Biol. 10: 575-587. cited by Michael, R. Ecotoxicity of tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington, D.C. 4: 1443-1455.
- Davidson, B.M., Valkirs, A.O. and Seligman, P.F. 1986. Acute and chronic effect of tributyltin on the mysid *Acanthomysis sculpta*. Organotin Symposium of the Oceans 86 Conference and exposition. Washington, D.C. 4: 1219-1255.
- Dobson, S. 1990. Tributyltin compounds. World Health Organization. Finland. pp. 273.
- Duncan, J. 1980. The toxicity of molluscicides. The organotins. Pharmac. Ther. 10: 407-429. cited by Michael, R. Ecotoxicity of Tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington D.C. 4: 1443-1455.
- Ebdon, L., Karen, E. and Steve, H. 1988. The variation of tributyltin levels with time in selected estuaries prior to the introduction of regulations covering the use of tributyltin based anti-fouling paints. The Science of the total Environment. 207-233.
- Emund, M.N. 1988. Ambient water quality criteria for tributyltin center for Lake Superior Environmental Studies, University of Wisconsin-Superior Environmental Studies, pp 71.

- Finney, D.J. 1971. Probit analysis. 3rd.ed. Great Britain: University Printing House Cambridge.
- Foster, R.B. 1981. Use of Asiatic clam larvae in aquatic hazard evaluations. Ecology assessments of effluent impacts on communities of indigenous aquatic organisms. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, 280-288. cited by Emund, M.N. 1988. Ambient water quality criteria for tributyltin-1988. Center for Lake Superior Environmental Studies, University of Wisconsin-Superior. pp. 71.
- Gibbs, P.E. and Bryan, G.W. 1986. Reproductive failure in population of the dogwhelk, *Necella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 767-777. cited by Michael, R. Ecotoxicity of tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington, D.C. 4: 1443-1455.
- Hinga, K.R., Adelman, D., Pilson, M.E.Q. 1987. Radiolabeled butyltin studies in the merl enclosed ecosystem. 1987. Oceans 87 Proceedings. Washington, D.C. 4: 1416-1419.
- Kram, M.L., Stang, P.M. and Seligman, P.F. 1989. Adsorption and desorption of tributyltin in sediments of San Diego Bay and Pearl Harbor, Apply. Organometal. Chem. 3: 523-536.
- Laughlin, R.B. and French, W.J. 1980. Comparative study of the acute toxicity of a homologous series of trialkyltins to larval shore crabs, *Hemigrapsus nudus*, and lobster, *Homarus americanus*. Bull. Envir. Contam. Toxicol. 25: 802-809. cited by Michael, R. Ecotoxicity of tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington D.C. 4: 1443-1455.
- _____ and Liden, O. 1985. Fate and effects of organotin compounds. Ambio. 88-94.
- Lee, R.F., Aldis, O.V. and Peter, F.S. 1987. Fate of tributyltin in estuarine waters. Oceans 87 Proceedings. Washington D.C. 1411-1415.
- Matthias, C.L., Bellama, J.M. and Brinckman, F.E. 1987. Determination of tributyltin in estuarine water using bonded C-18 silica solid phase extraction, hydride derivatization and GC-FPD. Oceans 87 Proceedings. Washington D.C. 4. 1344-1347.

- Meador, R.J. 1986. An analysis of photobehavior of *Daphnia magna* exposed to tributyltin. Organotin Symposium of the Oceans 86 Conference and exposition. Washington, D.C. 4: 1213-1218.
- Michael, R. 1987. Ecotoxicity of tributyltin. Oceans 87 Proceedings. Washington, D.C. 4: 1443-1455.
- Michael, P. 1989. Automatization of a hydried generation/ A.A.S. system - An improvement for organotin analysis. Oceans 87 Proceedings. Washington D.C. 1340-1343.
- M&T Chemical Company. 1976. Acute toxicity of tributyltin oxide to *Daphnia magna*. unpublished study. EPA. Accession No. 136469. cited by Michael, R. Ecotoxicity of Tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington D.C. 4: 1443-1455.
- _____. 1977. Toxicity of tri-n-butyltin oxide to bluegill (*Lepomis macrochirus*). unpublished study. EPA. Accession No. 136469. cited by Michael, R. Ecotoxicity of Tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington D.C. 4: 1443-1455.
- RIVM. 1989. Investigation into the toxicity of TBTO for a number of freshwater organism. National Institute of Public Health and Environmental Hygiene. Bilthoven. pp. 48. cited by. Dobson, S. 1990. Tributyltin compounds. World Health Organization. Finland. pp. 273.
- Ritchie, L.S., Lopez, V.A. and Cora, J.M. 1974. Prolong applications of an organotin againsts *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma monsoni*. Molluscicides in Schistosomiasis control. Academic Press. New York. 77-88. cited by. Michael, R. Ecotoxicity of Tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington D.C. 4: 1443-1455.
- Short, J.W. and Thrower, F.P. 1986. Tri-n-butyltin caused mortality of chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, on transfer to a TBT-treated marine net pen. Proceeding of the Organotin Symposium, Oceans' 86 Conference. Washington, D.C. 1202-1205.
- Thain, J.E. 1983. The acute of bis(tributyltin) oxide to the adults and larvae of some marine organisms. International Council for the Exploration of the sea. pp. 28. cited by. Michael, R. Ecotoxicity of Tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington D.C.



- _____ and Waldock, M.J. 1985. The growth of bivalve spats exposed to organotin leachates from anti-fouling paints. International Council for the Exploration of the sea. cited by. Michael, R. Ecotoxicity of Tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington, D.C. 4: 1443-1455.
- _____, Waldock, M.J. and Waite, M.E. 1987. Toxicity and degradation studies of tributyltin (TBT) and Dibutyltin (DBT) In the aquatic environment. Oceans 87 Proceedings. Washington D.C. 1398-1404.
- Unger, M.A., MacIntyre, W.G. and Huggett, R.J. 1980. Sorption behaviour of tributyltin on estuarine and freshwater sediments. Environ. Toxicol. Chem. 7: 907-915.
- _____, William, G.M. and Robert, J. H. 1987. Equilibrium sorption of tributyltin chloride by Chesapeake Bay sediments Oceans 87 Proceedings. Washington D.C. 1381-1385.
- _____, William, G.M. and Huggelt, R.J. 1988. Sorption behaviors of tributyltin on estuarine and freshwater sediments. Environ. Toxicol. Chem. 7:907-915.
cited by. Bryan G.W. and Gibbs. 1991. Impact of low concentration of tributyltin (TBT) on marine organism:A review. Metal Ecotoxicity : concept and application. Eds M.C. Newman&A.W. McIntosh, Lewis Publisher Inc. Boston. pp. 361.
- Uren, S.C. 1983. Acute toxicity of bis(tributyltin) oxide to a copepod. Mar. Poll. Bull. 14: 303-306. cited by. Michael, R. Ecotoxicity of Tributyltin. Oceans 87 proceeding. Washington, D.C. 4: 1443-1455.
- Waldock, M.J.,Thain J.E.,Smith, D. and Mitton, S. 1990. The degradation of TBT in estuarine sediment. Proceedings of the 3rd international organotin symposium. Monaco. 46-48. cited by. Bryan G.W. and Gibbs. 1991. Impact of low concentration of tributyltin (TBT) on marine organism:A review. Metal Ecotoxicity : concept and application. Eds M.C. Newman&A.W. McIntosh, Lewis Publisher Inc. Boston. pp. 361.
- Ward, G.S.,Cramm, G.C.,Parrish, P.R.Trachman, H. and Slesinder, A. 1981. Bioaccumulation and chronic toxicity of bis (tri-n-butyltin) oxide (TBTO): Test with a salt-water fish. Aquatic Toxicology and Hazard Assessment. American Society for testing and material. Philadelphia. 183-200.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

เทคนิคการทดลองสารพิษด้วยวิธีชีววิเคราะห์

สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 แบบ คือ

1. ใช้ช่วงระยะเวลาในการทดลองเป็นเกณฑ์ อาจแบ่งได้เป็น 3 แบบ คือ

1.1 ชีววิเคราะห์ในช่วงเวลาสั้น

ชีววิเคราะห์ในช่วงเวลาสั้น (Short-term bioassay) เป็นการทดลองชีววิเคราะห์โดยมีช่วงระยะเวลาในการทดลองสั้นๆ โดยปกติใช้เวลาประมาณ 24-96 ชั่วโมง แต่บางครั้งอาจยาวเกินถึง 14 วันก็ได้ ซึ่งขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการทดลองว่าจะต้องการศึกษาอะไร แต่โดยทั่วไปจากการทดลองชีววิเคราะห์ในช่วงเวลาสั้นๆนี้ จะใช้ศึกษาหาระดับความเป็นพิษอย่างคร่าวๆ ในช่วงที่ทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 0-100 และใช้สัตว์ทดลองจำนวน 5 ตัวหรือมากกว่า ซึ่งขึ้นกับขนาดภาชนะที่จะใช้สำหรับใส่สัตว์ทดลอง เพราะถ้าสัตว์ทดลองมีขนาดใหญ่ ก็จำเป็นต้องใช้ภาชนะที่มีขนาดใหญ่ด้วยเหมือนกัน เพื่อป้องกันความเครียด (Stress) ที่อาจเกิดขึ้นได้ หรือถ้าสัตว์ทดลองมีขนาดเล็กก็จะสามารถใส่สัตว์ทดลองได้มากขึ้น นอกจากนี้ การทดลองชีววิเคราะห์ในช่วงเวลาสั้นๆ อาจเลือกวิธีการทดลองว่าจะเป็นแบบ ชีววิทยาในน้ำนิ่ง (Static bioassay) หรือชีววิทยาน้ำนิ่งแบบเปลี่ยนน้ำ (Static with renewal bioassay) หรือชีววิทยาในน้ำไหล (Flow-through bioassay) ก็ได้ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับความอยู่คงตัวของสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ขนาดของสัตว์ทดลอง ตลอดจนพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น ปริมาณออกซิเจน ถ้าสัตว์ทดลองมีความต้องการออกซิเจนสูง ก็จะต้องมีการเปลี่ยนสารละลาย เพื่อเพิ่มออกซิเจนให้สัตว์ทดลอง หรือถ้าสัตว์ทดลองมีขนาดเล็ก การป้องกันการหลุดลอดออกไปของสัตว์ทดลองก็ทำได้ยาก ดังนั้นอาจไม่จำเป็นต้องเปลี่ยน สารละลายทุก 24 ชั่วโมงก็ได้ แต่ก็ควรเปลี่ยนสารละลายใหม่ทุก 96 ชั่วโมง (APHA, 1981)

1.2 ชีววิเคราะห์ในช่วงระยะเวลาปานกลาง

วิธีชีววิเคราะห์ในช่วงระยะเวลาปานกลาง (Intermediated-term bioassay) เป็นการทดลองทางพิษวิทยาที่ใช้ช่วงระยะเวลาอยู่ในช่วง 15-90 วัน ซึ่งการทดลองชีววิเคราะห์แบบนี้ มักจะใช้กับสัตว์ทดลองที่มีช่วงชีวิตยาวนาน หรือในระหว่างการเติบโตมีการเปลี่ยนแปลงร่างกายไปตามสภาพวงจรชีวิต และส่วนใหญ่จะใช้ศึกษาผลของการตอบสนองของสัตว์ทดลองต่อสารพิษ ในช่วงเกือบจะไม่มีอาการตอบสนอง (asymptotic) ตามระยะเวลาทดลองที่เพิ่มขึ้น (APHA, 1981)

1.3 ชีววิเคราะห์ในช่วงเวลายาวนาน

ชีววิเคราะห์ในช่วงเวลายาวนาน (Long-term or partial or complete life cycle bioassay) เป็นการทดลองเพื่อศึกษาสารพิษต่อสัตว์ทดลองตลอดช่วงชีวิต เช่น จากไข่ (Egg) จนเป็นตัวเต็มวัย (adult) และออกไข่มาในรุ่นต่อมา หรือในสัตว์ที่มีวงชีวิตสั้น เช่น ไรน้ำแดง ก็จะศึกษาตลอดจนช่วงชีวิตในหลายๆรุ่น เพื่อหาระดับความเข้มข้นสูงสุดที่จะไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติขึ้นในสัตว์ทดลอง โดยจะศึกษาในเรื่องการสืบพันธุ์ (reproduction) การเจริญเติบโต (Growth) การออกไข่ (Spawning) การฟักไข่ (Hatching) การมีชีวิตรอดของตัวอ่อน (Survival of larva) รวมทั้งพฤติกรรม (Behavior) และการสะสมสารมลพิษในร่างกาย (Accumulation) ซึ่งในการศึกษาในช่วงระยะเวลา ยาวนานนั้นจะต้องนำเอาปัจจัยทางสภาพแวดล้อมมาพิจารณาด้วย เพื่อควบคุมการทดลองให้มีสภาพใกล้เคียงธรรมชาติให้มากที่สุด เพราะปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิในแต่ละฤดูกาล จะมีผลอย่างมากในการผสมพันธุ์ วางไข่และการฟักเป็นตัวของสัตว์ทดลองหลายชนิด และต้องควบคุมความเข้มข้นของสารพิษที่ใช้ทดลอง ให้มีการเปลี่ยนแปลงได้ไม่เกินร้อยละ 10-15 ไม่ว่าจะเกิดจากการตกตะกอน (Precipitation) หรือเหตุอื่นใดก็ตาม (APHA, 1981)

2 ใช้ความแตกต่างของการเกิดพิษเป็นเกณฑ์

อาจแบ่งได้เป็น 3 แบบ คือ

2.1 การทดสอบสารพิษแบบเฉียบพลัน

การทดสอบสารพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity test) เป็นการทดสอบเพื่อตรวจวัดผลหรืออาการที่สัตว์ทดลองตอบสนองสารพิษ ภายหลังจากได้รับสารพิษปริมาณมากเพียงครั้งเดียว หรือหลายครั้งในช่วงระยะเวลาสั้นๆ ประมาณ 24-96 ชั่วโมง โดยทั่วไปมักจะแสดงความเป็นพิษด้วยสัญลักษณ์ "LC₅₀" (Median lethal concentration) ซึ่งหมายถึง ปริมาณหรือความเข้มข้นต่ำสุดของสารพิษที่ทำให้ประชากรสัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 ซึ่งสารเคมีต่างๆที่มีการสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ ต้องทำการทดสอบเพื่อหาค่าดังกล่าวก่อนที่จะนำไปผลิตหรือจำหน่าย

2.2 การทดสอบสารพิษก่อนเกิดอาการเรื้อรัง

การทดสอบสารพิษก่อนเกิดอาการเรื้อรัง (Sub-chronic toxicity test) เป็นการทดสอบโดยให้สัตว์ทดลองได้รับสารพิษในปริมาณต่ำกว่าปริมาณที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย แต่ได้รับซ้ำๆกันหลายครั้ง และต่อเนื่องกัน และตรวจผลการตอบสนองต่างๆที่เกิดขึ้น เช่น อัตราการตาย การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว การเคลื่อนที่ และพฤติกรรมกรกินอาหาร การทดสอบนี้เป็นประโยชน์ต่อการวัดระดับ และการเลือกระดับความเข้มข้นของสารพิษในแต่ละชนิดให้เหมาะสมกับสัตว์ทดลองสำหรับการทดสอบระดับความเป็นพิษแบบเรื้อรังด้วย เพราะในการทดลองหาพิษเรื้อรัง ความเป็นพิษของสารพิษที่ใช้ต้องไม่ทำให้สัตว์ทดลองตาย แต่ต้องสูงพอที่จะกระตุ้นให้สัตว์ทดลองค่อยๆรับสารพิษ แล้วแสดงผลตอบสนองในด้านต่างๆภายหลัง

2.3 การทดสอบสารพิษแบบเรื้อรัง

การทดสอบสารพิษแบบเรื้อรัง (Chronic toxicity test) เป็นการทดสอบสารพิษเพื่อตรวจวัดการตอบสนองในสัตว์ทดลอง หลังจากได้รับสารพิษในขนาดความเป็นพิษต่ำๆ เป็นระยะเวลา นานๆ โดยปกติจะใช้ศึกษาความเป็นพิษที่จะเกิดขึ้นกับระบบต่างๆของสัตว์ทดลอง เช่น การทำให้เกิดความผิดปกติในระบบสืบพันธุ์ ทำให้สัตว์ทดลองให้ลูกที่มีรูปร่างผิดปกติ หรือกระตุ้นให้เกิดมะเร็งขึ้นในสัตว์ทดลอง ดังนั้น การตอบสนองสารพิษแบบเรื้อรัง จึงเป็นการศึกษาทดลองที่มุ่งเน้นถึงความเป็นพิษของสารพิษ ว่าเป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogen) หรือทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (Mutagenicity) หรือว่าเป็นสารที่ก่อให้เกิดความวิรูป (Teratogenicity)

3. แบ่งตามวิธีการควบคุมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

3.1 ชีววิเคราะห์แบบไม่เปลี่ยนน้ำ

ชีววิเคราะห์แบบไม่เปลี่ยนน้ำ (Static bioassay) เป็นวิธีทางชีววิเคราะห์ที่ใช้หาปริมาณสารพิษที่ทำให้สัตว์ทดลองแสดงอาการตอบสนองได้ง่ายที่สุด มักใช้หาค่า LC_{50} และ EC_{50} (Median effect concentration) ในสัตว์ทดลองที่มีขนาดเล็กและวงชีวิตไม่ยาวนาน โดยตลอดช่วงเวลาที่ใช้ทดลอง ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายสารละลายที่ใช้ทดลองเลยซึ่งวิธีการนี้มีข้อดีข้อเสียดังนี้

ข้อดี

1. สามารถทำได้ง่ายในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไป
2. ค่าใช้จ่ายไม่สูงนัก
3. ปริมาณสารละลายหรือสารพิษที่นำมาใช้ทดลองไม่มากนัก
4. วิธีการและอุปกรณ์ที่ใช้ไม่มีความซับซ้อนยุ่งยาก

ข้อเสีย

1. ระดับความเข้มข้นของสารพิษ ในการทดลองอาจเปลี่ยนแปลงได้ เช่น สารเคมีอาจถูกย่อยสลายโดยปัจจัยอื่น หรือ สารเคมีอาจถูกดูดซับโดยผิวของภาชนะที่ทำการทดลอง
2. มีการสะสมของสารพิษต่างๆที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของสัตว์ทดลองและแบคทีเรียต่างๆ
3. ปริมาณออกซิเจนในสารละลายที่ใช้ทดลองอาจลดน้อยลง เนื่องจากสัตว์ทดลองใช้ไป และถูกใช้ไปในกระบวนการทางชีวเคมีของแบคทีเรียต่างๆ

3.2 ชีววิเคราะห์แบบน้ำไหล

ชีววิเคราะห์แบบน้ำ

การทดลองมีการหมุนเวียนสารละลายที่ใช้ทดลองตลอดเวลา หรือเป็นช่วงเวลาที่คงที่ โดยไม่ต้องเคลื่อนย้ายสัตว์ทดลอง ซึ่งมีข้อดีและข้อเสียดังนี้

ข้อดี

1. เป็นวิธีการที่ดีและเป็นระบบที่ถูกประยุกต์ให้ใกล้เคียงกับความเป็นจริงที่สุด
2. สามารถควบคุมระดับความเข้มข้นของสารพิษในสารละลายที่ใช้ทดลอง ได้ค่อนข้างคงที่ตลอดการทดลอง
3. ไม่มีการสะสมของเสียต่างๆ จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของสัตว์ทดลอง
4. ควบคุมปริมาณออกซิเจน ที่สัตว์ทดลองต้องการใช้ได้คงที่
5. สามารถทำการทดลองได้เป็นระยะเวลาอันยาวนาน ตลอดวงจรชีวิตของสัตว์ทดลองได้ เช่น ปลา กุ้ง เป็นต้น

ข้อเสีย

1. ต้องการอุปกรณ์และเครื่องมือที่ซับซ้อนยุ่งยาก และใช้เทคนิคสูง
2. มีราคาแพง
3. ต้องใช้สารละลายที่ใช้ทดลองในปริมาณมาก

3.3 ซิววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง เปลี่ยนน้ำ

ซิววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง เปลี่ยนน้ำ (Static with renewal bioassay) เป็นการทดลองที่มีการเปลี่ยนถ่ายสัตว์ทดลอง ไปสู่ภาชนะที่มีสารละลายใหม่ หรือมีการเปลี่ยนถ่ายสารละลายใหม่โดยไซฟอน (Siphon) สารละลายเก่าออก แล้วเปลี่ยนสารละลายใหม่แทนโดยไม่มีการเคลื่อนย้ายสัตว์ทดลองไปภาชนะใหม่ ซึ่งมีข้อดีและข้อเสียดังนี้

ข้อดี

1. ทำได้ง่ายและสะดวก ไม่ต้องใช้เทคนิคมากนัก
2. มีค่าใช้จ่ายไม่สูงมาก
3. ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการทดลองไม่มากนัก และควบคุมความเข้มข้นของสารละลายได้คงที่
4. เป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อน จึงไม่ต้องการเครื่องมือและอุปกรณ์ไม่มากนัก



ข้อเสีย

1. ต้องมีการเปลี่ยนถ่ายสารละลายใหม่ตามช่วงเวลา
2. ขณะทำการเปลี่ยนสารละลาย อาจทำให้สัตว์ทดลองเครียดได้



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

อธิบายศัพท์

ชีววิเคราะห์ (Bioassay) หมายถึง เทคนิคอย่างหนึ่งในการศึกษาทดลองโดยใช้สิ่งมีชีวิตเป็นตัวทดสอบ กับระดับความเข้มข้นของสาร แล้วสังเกตผลกระทบที่เกิดขึ้นกับสิ่งมีชีวิตนั้น จากนั้นนำมาแปลความหมายเทียบกับตัวมาตรฐานหรือตัวควบคุม โดยใช้สถิติช่วยในการวางแผนการทดลอง การวิเคราะห์ข้อมูล และการตัดสินใจผลที่ได้จากการทดลอง

พิษเฉียบพลัน (Acute toxicity) หมายถึงผลกระทบของสารพิษ ซึ่งระดับความเข้มข้นของสารพิษที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย หลังจากได้รับสารพิษครั้งเดียวหรือหลายครั้งในระยะเวลาอันสั้น โดยปกติภายใน 96 ชั่วโมง

พิษรองเฉียบพลัน (Sublethal toxicity) ซึ่งหมายถึงผลกระทบของสารพิษซึ่งระดับความเข้มข้นของสารละลายที่ไม่ทำให้สัตว์ทดลองตายในระหว่างการทดลองหาค่าพิษเฉียบพลัน หรือตายทันทีในระยะเวลาอันสั้น แต่อาจก่อให้เกิดผลกระทบอันสั้น แต่อาจก่อให้เกิดผลกระทบในด้านต่างๆ เช่นรูปร่างลักษณะ การสืบพันธุ์ การเจริญเติบโต และจำนวนประชากรในระยะเวลายาว

Median lethal concentration (LC_{50}) คือ ระดับความเข้มข้นของสารละลายที่ทำให้ประชากรสัตว์ทดลองตายร้อยละ 50 มักใช้กับสัตว์น้ำ เพราะไม่ได้รับสารพิษโดยตรง แต่ดำรงชีวิตอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีสารพิษอยู่ในความเข้มข้นที่สามารถทำให้ประชากรสัตว์ทดลองนั้นตาย

Incipient lethal concentration (LC_{50}) คือระดับความเข้มข้นของสารละลายที่ทำให้ประชากรสัตว์ทดลองนั้นตาย

Effective concentration (EC) คือระดับความเข้มข้นของสารละลายที่ทำให้ประชากรสัตว์ทดลองแสดงผลกระทบออกมาในลักษณะที่เป็นการตอบสนองที่เฉพาะเจาะจง เช่น เสียการทรงตัว เป็นอัมพาต เป็นต้น ซึ่งเมื่อมีการใช้ EC ต้องบ่งลงไปว่าต้องการศึกษาอะไร

Median tolerance limit (Tlm) คือ ระดับความเข้มข้นของสารละลายที่ทำให้ประชากรสัตว์ทดลองมีชีวิตอยู่ได้ร้อยละ 50 สำหรับการทดสอบเกี่ยวกับ Lethality TL_{50} ก็จะมี ความหมายเช่นเดียวกับ LC_{50} แต่ TL_{10} จะเท่ากับ LC_{50}

Safe concentration (SC) คือระดับความเข้มข้นสูงสุด ของสารพิษที่ไม่แสดงผลกระทบให้ปรากฏหลังจากสัตว์ทดลองได้รับสารพิษมานานกว่า 1 รุ่น โดย SC จะกำหนดหน้าที่เป็นตัวตัดสินขั้นพื้นฐานสำหรับเพื่อหามาตรฐานสำหรับเพื่อหามาตรฐานคุณภาพน้ำสำหรับสารพิษในแหล่งน้ำนั้น

Maximum allowable toxicant concentration (MATC) หมายถึงระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารพิษที่ยอมรับได้ ซึ่งปรากฏอยู่ในน้ำ โดยไม่ปรากฏว่ามีอันตรายที่มีนัยสำคัญต่อการใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆของน้ำ

Application factor (AF) คืออัตราส่วนระหว่าง MATC และ incipient LC_{50} ใช้สำหรับทำนายความปลอดภัยจากค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน และใช้ในการควบคุมปริมาณสารพิษชนิดต่างๆในแหล่งน้ำธรรมชาติ

No observable adverse effect level (NOAEL) คือระดับความเข้มข้นของสารพิษซึ่งสัตว์ทดลองสามารถมีชีวิตอยู่ได้ตลอดโดยไม่สามารถสังเกตผลกระทบที่เกิดขึ้น

Acute chronic ratio (ACR) คืออัตราส่วนระหว่าง 96-hr LC_{50} กับ NOAEL ใช้สำหรับทำนายระดับความเข้มข้น ซึ่งสัตว์ทดลองสามารถทนอยู่ได้ โดยไม่สามารถสังเกตผลกระทบที่เกิดขึ้นในการทดลองพิษเรื้อรัง

ภาคผนวก ค

ตัวอย่างการคำนวณโดยใช้โปรแกรม SPSS-PC

การวิเคราะห์โพรบิท (probit analysis)

การวิเคราะห์โพรบิทเพื่อหาระดับ LC_{50} จากการทดลองหาพิษเฉียบพลันของสารประกอบ บีส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์ ที่มีต่อกิ้งกูดาค่ายอ่อนที่ระยะต่างๆ ในระยะเวลาต่างๆ ได้ใช้โปรแกรม SPSS-PC โดยการเขียนข้อมูลและคำสั่ง ตามรูปแบบและข้อกำหนดของการใช้โปรแกรม เมื่อเครื่องคอมพิวเตอร์คำนวณผลเรียบร้อยแล้ว จะได้ค่าระดับ LC_{50} ที่ระยะเวลาต่างๆ ที่ต้องการ โดยถูกต้อง และรวดเร็วกว่าการเขียนบนกระดาษกราฟโพรบิท นอกจากนี้ ผลลัพธ์ที่ได้จากการประมวลผล ยังระบุค่าช่วงแห่งความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ของค่าระดับ LC_{50} ที่ได้อีกด้วย โดยที่เราไม่จำเป็นต้องทำการคำนวณให้ยุ่งยากและเสียเวลา ตัวอย่างการใช้โปรแกรมนี้ วิเคราะห์ค่าโพรบิท มีดังต่อไปนี้



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



1. การใส่ข้อมูล

จากข้อมูลตารางที่ 4.1 (ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง) เขียนข้อมูลและคำสั่งดังต่อไปนี้

title test nauplius.

data list free/ no total conc nres.

begin data.

1 30 0.47 4

2 30 0.70 8

3 30 0.93 16

4 30 1.17 17

5 30 1.40 26

6 30 1.63 30

end data.

probit nres of total with conc.

finish.

2. การเรียกผลลัพธ์ที่ประมวลเสร็จเรียบร้อยแล้ว

CONFIDENCE LIMIT FOR EFFECTIVE CONC

Prob	CONC	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	.30918	.08021	.47538
.02	.34992	.10431	.51717
.03	.37850	.12318	.54582
.04	.40153	.13954	.56859
.05	.42130	.15441	.58794
.06	.43888	.16827	.60504

Prob	CONC	Lower	Upper
.07	.45491	.18142	.62054
.08	.46975	.19404	.63485
.09	.48367	.20624	.64828
.10	.49685	.20812	.66089
.15	.55533	.27464	.71708
.20	.60669	.32903	.76699
.25	.65452	.38323	.81462
.30	.70067	.43823	.86235
.35	.74653	.49458	.91207
.40	.79243	.55254	.96573
.45	.83973	.61210	1.02561
.50	.88903	.67301	1.09459
.55	.94123	.73485	1.17636
.60	.99740	.79723	1.27567
.65	1.05899	.86008	1.39873
.70	1.12802	.92402	1.55410
.75	1.20757	.99059	1.75483
.80	1.30276	1.06272	2.02348
.85	1.42324	1.14579	2.40494
.90	1.59078	1.25127	3.00855
.91	1.63412	1.27718	3.17822
.92	1.68254	1.30559	3.37431
.93	1.73744	1.33717	3.60493
.94	1.80088	1.37293	3.88238
.95	1.87605	1.41439	4.22642
.96	1.96840	1.46412	4.67163
.97	2.08818	1.52690	5.28636



Prob	CONC	Lower	Upper
.98	2.25876	1.61344	6.23482
.99	2.55635	1.75778	8.09663

Duncan's multiple range test

เป็นวิธีการทดสอบค่าเฉลี่ยของกลุ่มประชากรว่า ค่าเฉลี่ยของกลุ่มประชากรคู่ใดที่แตกต่างกัน โดยนำข้อมูลที่ได้มาเขียนข้อมูลและคำสั่ง ตามรูปแบบและข้อกำหนดของการใช้โปรแกรม เมื่อเครื่องคอมพิวเตอร์คำนวณผลเสร็จเรียบร้อยแล้ว ผลลัพธ์ที่ได้จะมีค่าความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการเขียนข้อมูลมีดังนี้

Title test Hatching.

data list free/ no conc egg.

begin data.

1	1	60
1	2	40
1	3	30
1	4	35
1	5	30
1	6	20
1	1	60
1	2	30
1	3	30
1	4	35
1	5	30
1	6	20
1	1	60

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1	2	20
1	3	30
1	4	30
1	5	35
1	6	22.5

end data.

oneway egg by conc(1,6)/ranges duncan/stat all.

การเรียกผลลัพธ์ที่ได้ คอมพิวเตอร์จะทำการประมวลและแสดงผลลัพธ์ตามที่เราต้องการ



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

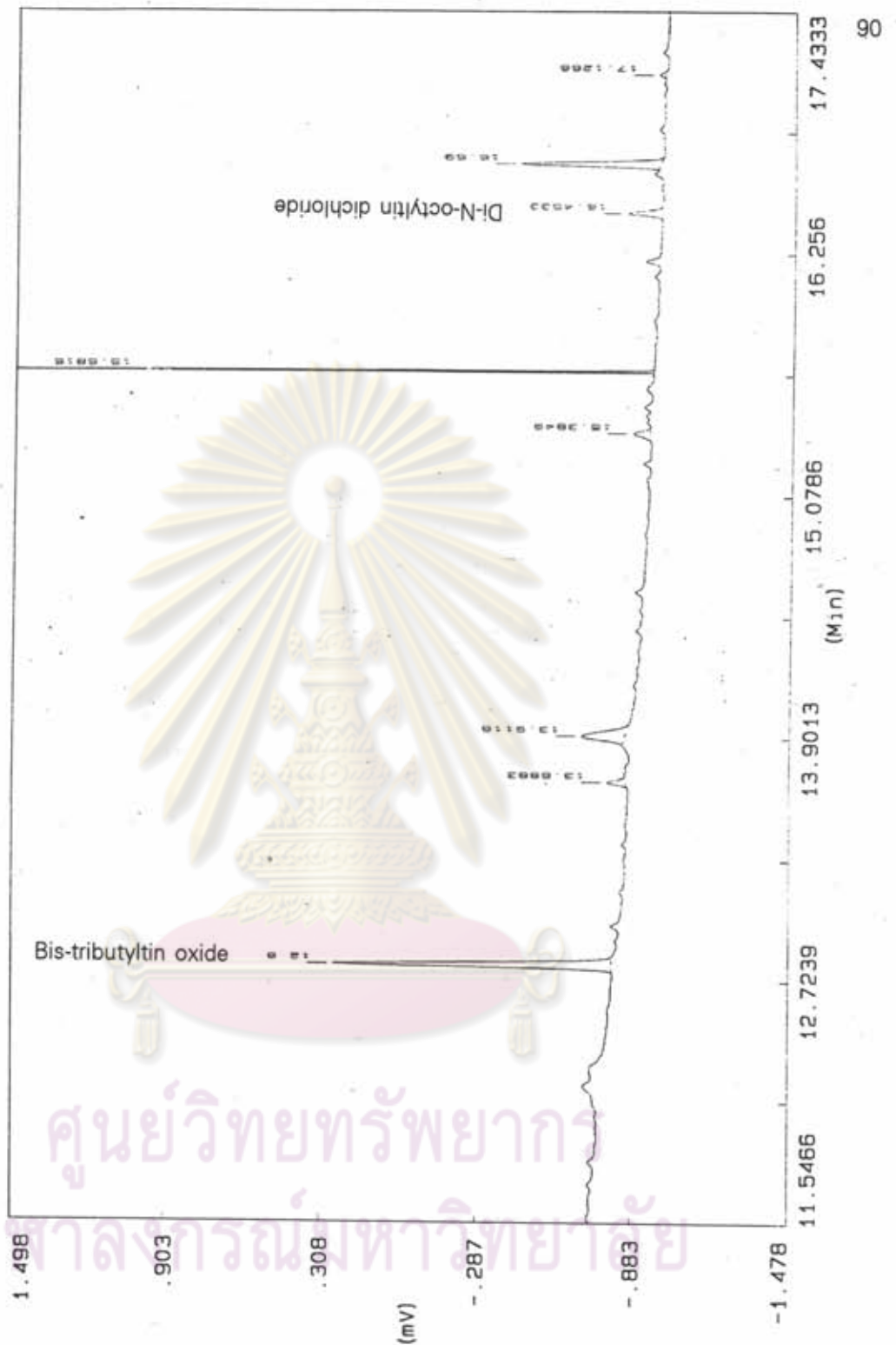
ภาคผนวก ง

กราฟมาตรฐานของสารประกอบบีส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์

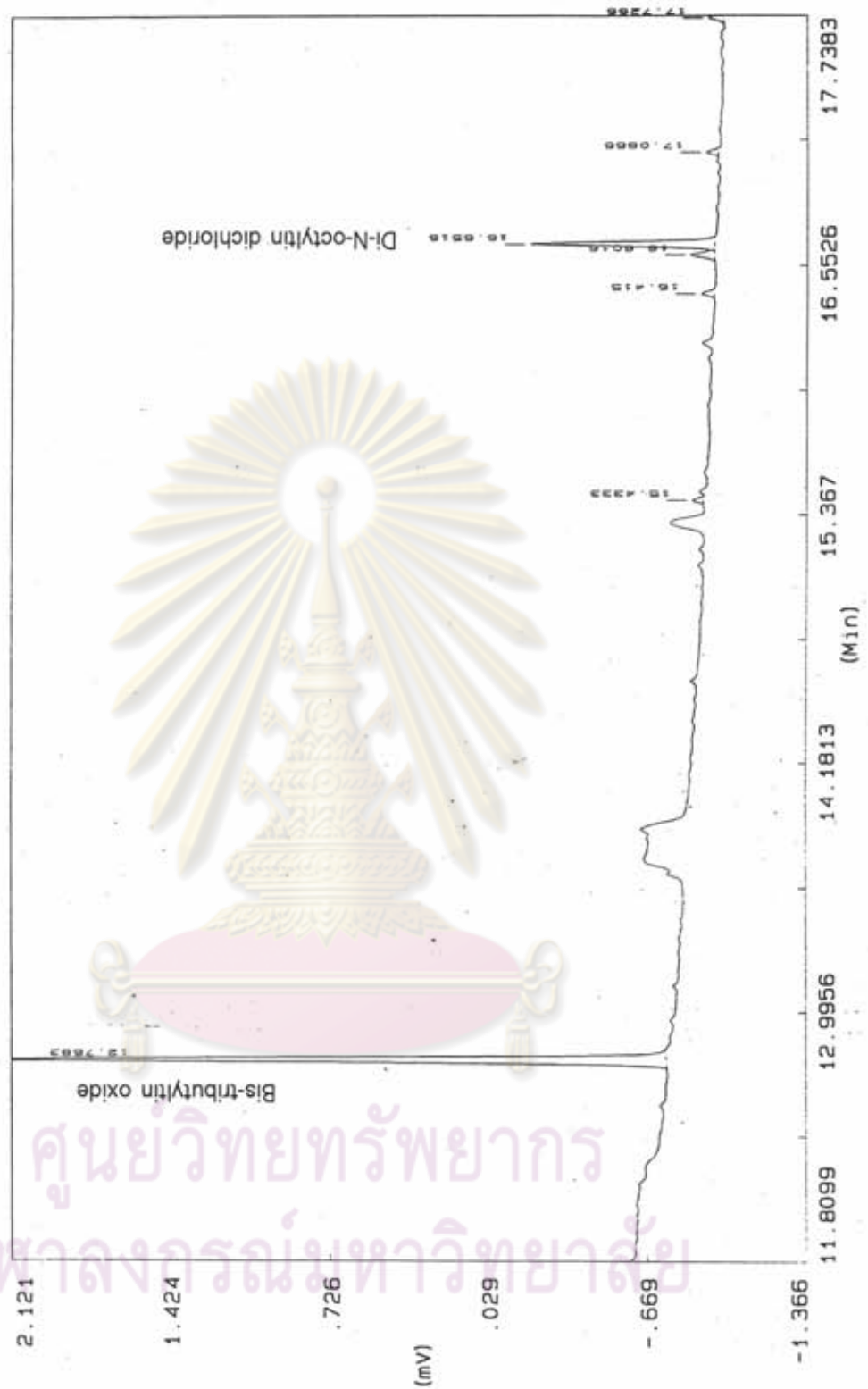
การหากราฟมาตรฐานของสารประกอบบีส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์จากการใช้พื้นที่ใต้กราฟระหว่างสารประกอบบีส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์ต่อพื้นที่ใต้กราฟของสารประกอบไดออกทิลทินไดคลอไรด์ โดยการใส่สารประกอบไดออกทิลทินไดคลอไรด์เป็นสารละลายมาตรฐานภายใน เพื่อความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์โดยเครื่องแกสโครมาโตกราฟฟี และลดความผิดพลาดจากกระบวนการสกัดสารประกอบบีส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์จากน้ำทะเลตัวอย่าง โดยลักษณะกราฟที่ได้แสดงดังนี้



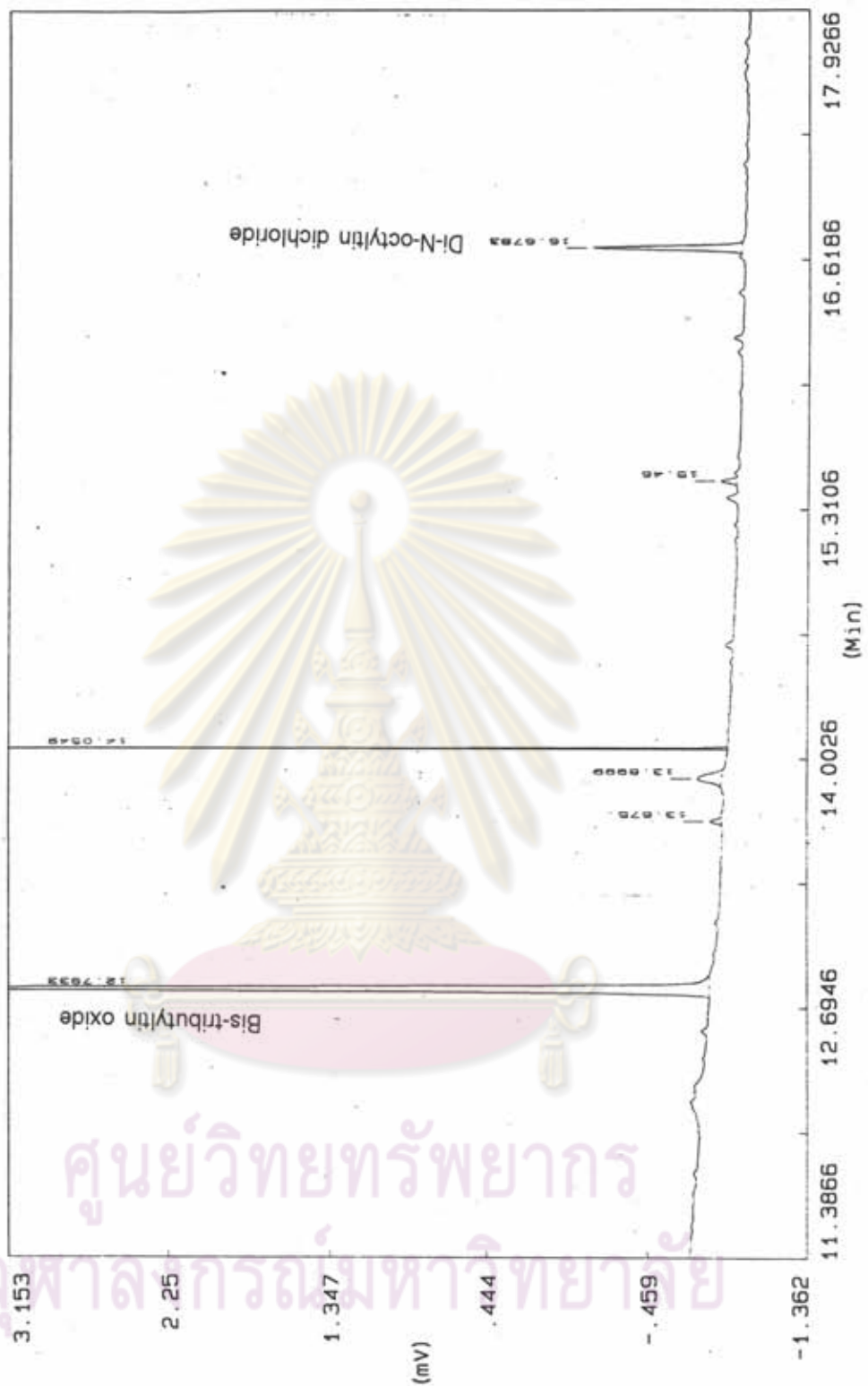
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 22 กราฟแสดงพื้นที่ใต้กราฟระหว่างสารประกอบบิส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์กับสารประกอบไดออกทิลทินไดคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นของสารประกอบบิส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์ 19.5 ไมโครกรัมต่อลิตร



รูปที่ 23. กราฟแสดงพื้นที่ใต้กราฟระหว่างสารประกอบบิส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์กับสารประกอบไดออกทิลทินไดคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นของสารประกอบบิส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์ 39.1 ไมโครกรัมต่อลิตร



รูปที่ 24 กราฟแสดงพื้นที่ใต้กราฟระหว่างสารประกอบบิส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์กับสารประกอบไดออกทิลทินไดคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นของสารประกอบบิส-ไตรบิวทิลทินออกไซด์ 58.6 ไมโครกรัมต่อลิตร



ประวัติผู้เขียน

นายทรงกฤษณ์ ประภักดี เกิดเมื่อวันที่ 26 มิถุนายน พ.ศ. 2513 ที่จังหวัดปราจีนบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี ศึกษาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาศึกษาศาสตร์ คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เมื่อปี พ.ศ. 2534 และเข้าศึกษาต่อหลักสูตร ศึกษาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาศึกษาศาสตร์สภาวะแวดล้อม คณะศึกษาศาสตร์ จฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2535



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย