การศึกษาความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงสองประเภทที่มีต่อปลาไน

ปริญญานิพนธ์

ของ

ประชาติ วัชรบัณฑิต

หอสมุดกลาง
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ป 2 ร.ก. 19

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

มีนาคม 2519

การศึกษาความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงสองประเภท ที่มีต่อปลาไน (*Cyprinus carpio* Linn.)

บทคัดย่อ

โดย

ประชาติ วัชรบัณฑิต

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

11 มีนาคม 2519

จุดมุ่งหมายของการศึกษาครั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงประเภท technical grade และ commercial grade ของออลดริน ดีลดรินและเอ็นดรินที่มีต่อปลาไน (Cyprinus carpio Linn.)

ปลาที่ใช้ทดลองมีอายุประมาณ 60 วัน ความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ยาฆ่าแมลงประเภท commercial grade ของออลดรินและดีลดรินจากผลิตภัณฑ์ของบริษัทเจียไต๋และเอ็นดรินจากผลิตภัณฑ์ของบริษัทเชลล์โดยมีเปอร์เซนต์ของสารออกฤทธิ์คือ ออลดิน 40 % ดีลดริน 50 % และเอ็นดริน 20 %

ศึกษาหาค่า LC_{50} ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงและหาปริมาณพิษตกค้างในปลาที่ LC_{50} ในเวลา 48 ชั่วโมง

จากการศึกษาพบว่าความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงประเภท commercial grade ของออลดรินและดีลดรินมีผลทำให้ปลาตายมากกว่า technical grade ของออลดรินและดีลดรินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ .001 ส่วนประเภท commercial grade และ technical grade ของเอ็นดรินไม่ทำให้ปลาตายต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ .05 ค่า LC_{50} ของยาฆ่าแมลงปรากฏผลดังนี้

ออลดรินประเภท	technical grade	75	ppb
ออลดรินประเภท	commercial grade	43	ppb
ดีลดรินประเภท	technical grade	68	ppb
ดีลดรินประเภท	commercial grade	36	ppb
เอ็นดรินประเภท	technical grade	4.4	ppb
เอ็นดรินประเภท	commercial grade	3.8	ppb

ค่าเฉลี่ยของปริมาณพิษตกค้างที่ LC_{50} ดังนี้

ออลดรินประเภท	technical grade	10.06	ppm
ออลดรินประเภท	commercial grade	7.25	ppm
ดีลดรินประเภท	technical grade	7.99	ppm
ดีลดรินประเภท	commercial grade	3.21	ppm

เอ็นดรินประเภท technical grade 1.12 ppm

เอ็นดรินประเภท commercial grade 1.15 ppm

STUDY ON TOXICITY OF TWO GRADES OF INSECTICIDES TO FISH, *CYPRINUS CARPIO* LINN.

ABSTRACT

BY

PRACHAT WATCHARABUNDIT

Presented in partial fultillment of the requirements

for the Master of Education Degree

Srinakharinwirot University

The purpose of this study was to compare the toxicity of technical and commercial grade insecticides of aldrin, dieldrin and endrin to fish (Cyprinus carpio Linn)

Fish that were used in this experiment were approximately 60-day old and the body length were approximately 3 centimeters. Commercial grades aldrin, dieldrin were supplied by Chiet a Company and endrin was supplied by Shell Chemical Company in Bangkok. The percentages of active ingredient were: aldrin 40%, dieldrin 50% and endrin 20%.

The LC_{50} values were determined by using 48 hours test periods. The same hours were also employed to detect the insecticide residues in fish at the LC_{50} level.

It was found that the toxicity of commercial grades aldrin and dieldrin caused higher mortality to fish than technical grades of aldrin and dieldrin at the level of statistical significance of .001. The commercial and technical grades of endrin developed no difference in mortality to fish at the level of statistical significance of .05. The LC_{50} values of tested insecticides are as follows:

technical aldrin	75	ppb
commercial aldrin	43	ppb
technical dieldrin	68	ppb
commercial dieldrin	36	ppb
technical endrin	1.4	ppb
commercial endrin	3.8	ppb

The mean values of residual insecticide quantity at LC_{50} were as follows:

technical aldrin	10.06	ppm
commercial aldrin	7.25	ppm
technical dieldrin	7.99	ppm
commercial dieldrin	3.21	ppm
technical endrin	1.12	ppm
commercial endrin	1.15	ppm

กณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....ประธาน

.....กรรมการ

11 มีนาคม 2519

ประกาศคุณูปการ

การทำปริญญานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลงด้วยดีเนื่องจากได้รับความช่วยเหลือจาก ดร.ประยูร ดีมา ดร.เทียนชัย ธงสินธุศักดิ์ แห่งศึกวิจัยวัตถุมีพิษ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ อาจารย์เกษร พะลัง คณะวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร ผู้เขียนขอขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ศึกวิจัยวัตถุมีพิษทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือและร่วมมือเป็นอย่างดี และขอขอบคุณ คุณอุดมศักดิ์ แสงอรุณ คุณนารี แซ่ลี้ คุณนิตยา วงศ์คำและทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ

ประชาติ วัชรบัณฑิต

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	บทนำ	1
	คำนำ	1
	ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	3
	สมมุติฐานของการศึกษาค้นคว้า	3
	ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	3
	ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	4
	คำจำกัดความศัพท์เฉพาะ	4
	เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้า	6
2	ทฤษฎี	11
	หลักการของโครมาโตกราฟี่	11
	หลักการของแก๊สลิควิดโครมาโตกราฟี่	11
	ส่วนประกอบของเครื่อง GLC	12
3	การดำเนินการทดลอง	17
	วิธีการทดลอง	17
4	ผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล	23
	ผลการทดลองหา LC_{50}	23
	ผลการทดลองหาปริมาณพิษตกค้างของยาฆ่าแมลงในปลา	35
	การวิเคราะห์ข้อมูล	38
	อภิปรายผลการทดลอง	43

บทที่ หน้า

5 บทย่อ สรุปผลและข้อเสนอแนะ..... 45

บรรณานุกรม

ภาคผนวก

บัญชีตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงเวลาการเสียการทรงตัวของปลา(ทดลองด้วยออลดริน).... ..	23
2	แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายใน 48 ชั่วโมง(ทดลองด้วย ออลดรินประเภท technical grade).....	24
3	แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายใน 48 ชั่วโมง(ทดลองด้วย ออลดรินประเภท commercial grade)...	25
4	แสดงเวลาการเสียการทรงตัวของปลา(ทดลองด้วยดีลดริน).	27
5	แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายใน 48 ชั่วโมง(ทดลองด้วย ดีลดรินประเภท technical grade)...	28
6	แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายใน 48 ชั่วโมง(ทดลองด้วย ดีลดรินประเภท commercial grade).....	29
7	แสดงเวลาการเสียการทรงตัวของปลา(ทดลองด้วยเอ็นดริน)... ...	31
8	แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายใน 48 ชั่วโมง(ทดลองด้วย เอ็นดรินประเภท technical grade)....	32
9	แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายใน 48 ชั่วโมง(ทดลองด้วย เอ็นดรินประเภท commercial grade).....	33
10	แสดงปริมาณพิษตกค้างของออลดริน..	35
11	แสดงเปอร์เซนต์ในการตรวจวิเคราะห์เปรียบเทียบพิษตกค้างของ ออลดริน...	35
12	แสดงปริมาณพิษตกค้างของดีลดริน.....	36
13	แสดงเปอร์เซนต์ในการตรวจวิเคราะห์เปรียบเทียบพิษตกค้างของ ดีลดริน..	36
	ปริมาณพิษตกค้างของเอ็นดริน.....	37

ตารางที่		หน้า
15	แสดงเปอร์เซนต์ในการตรวจวิเคราะห์เปรียบเทียบพิษตกค้างของเอ็นดริน	37
16	แสดงการหาค่าเฉลี่ยปริมาณพิษตกค้างของออลดรินประเภท technical grade	40
17	แสดงการหาค่าเฉลี่ยปริมาณพิษตกค้างของออลดรินประเภท commercial grade	41
18	แสดงการหาค่าเฉลี่ยปริมาณพิษตกค้างของดีลดรินประเภท technical grade	41
19	แสดงการหาค่าเฉลี่ยปริมาณพิษตกค้างของดีลดรินประเภท commercial grade	42
20	แสดงการหาค่าเฉลี่ยปริมาณพิษตกค้างของเอ็นดรินประเภท technical grade	42
21	แสดงการหาค่าเฉลี่ยปริมาณพิษตกค้างของเอ็นดรินประเภท commercial grade ....:	43
22	แสดงปริมาณพิษตกค้างของออลดริน.....	60
23	แสดงปริมาณพิษตกค้างของดีลดริน..... .	60
24	แสดงปริมาณพิษตกค้างของเอ็นดริน.....	61
25	แสดงเปอร์เซนต์ recovery ของออลดริน.	68
26	แสดงเปอร์เซนต์ recovery ของดีลดริน.....	68
27	แสดงเปอร์เซนต์ recovery ของเอ็นดริน.....	68

บัญชีภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดง Gas Chromatographic System	13
2	แสดงลักษณะการ spot ยาฆ่าแมลง	21
3	แสดงจุดที่ spot และแนวที่ดูดเพื่อนำไปสะกัด	22
4	แสดงการหาค่า LC_{50} ของออลดริน	26
5	แสดงการหาค่า LC_{50} ของดีลดริน	3`
6	แสดงการหาค่า LC_{50} ของเอ็นดริน	34
7	แสดง linear range ของอออลดริน	53
8	แสดง linear range ของดีลดริน	54
9	แสดง linear range ของเอ็นดริน	55
1.	แสดง peak ของ standard aldrin	7'
11	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical aldrin ซ้ำที่ 1	7'
12	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical aldrin ซ้ำที่ 2	71
13	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical aldrin ซ้ำที่ 3	71
14	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial aldrin ซ้ำที่ 1	72
15	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial aldrin ซ้ำที่ 2	72
16	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial aldrin ซ้ำที่ 3	73
17	แสดง peak ของ standard dieldrin	74
18	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical dieldrin ซ้ำที่ 1	74
19	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical dieldrin ซ้ำที่ 2	74
20	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical dieldrin ซ้ำที่ 3	75
21	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial dieldrin ซ้ำที่ 1	76
22	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial dieldrin ซ้ำที่ 2	76

ภาพที่		หน้า
23	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial dieldrin ซ้ำที่ 3	77
24	แสดง peak ของ standard endrin	78
25	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical endrin ซ้ำที่ 1	78
26	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical endrin ซ้ำที่ 2	79
27	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical endrin ซ้ำที่ 3	79
28	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial endrin ซ้ำที่ 1	8
29	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial endrin ซ้ำที่ 2	8
30	แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial endrin ซ้ำที่ 3	81

บทที่ 1

บทนำ

คำนำ

ปัจจุบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้เจริญก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว นำความเจริญ ความสมบูรณ์พูนสุขและความสะดวกสบายมาสู่มนุษย์อย่างมหาศาล แต่ในขณะเดียวกันก็ก่อให้เกิดปัญหาขึ้นหลายอย่าง ปัญหาเหล่านี้เกิดจากการนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์ไปใช้อย่างไม่ระมัดระวัง ซึ่งถ้าหากมนุษย์ปล่อยปละละเลยไม่แก้ไขให้ทันท่วงทีก็จะเกิดความเสียหายอย่างร้ายแรงถึงขั้นที่มนุษย์ชาติอาจจะดำรงอยู่ต่อไปไม่ได้

หลายๆประเทศทั่วโลกกำลังประสบกับปัญหาหนึ่งที่น่าวิตกอย่างยิ่ง และกำลังได้รับความสนใจอย่างมากก็คือปัญหาเรื่องสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ (Pollution) อันได้แก่น้ำเสียหรือน้ำเป็นพิษ อากาศเป็นพิษและดินเป็นพิษ พิชิต สกุลพราหมณ์ (3) ได้กล่าวว่า ในภาวการณ์ปัจจุบันพลเมืองได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว การปฏิบัติภารกิจและการพัฒนาอุตสาหกรรมมีมากขึ้น ทำให้กากหรือของเสียต่างๆถูกปล่อยทิ้งอย่างขาดความระมัดระวังทวีจำนวนมากขึ้นทั้งในน้ำ ในอากาศและในดินคือมากเกินกว่าที่ธรรมชาติจะสามารถรับไว้ได้ และธรรมชาติไม่สามารถเปลี่ยนแปลงให้ดีขึ้นได้ จึงทำให้มนุษย์และสัตว์ต้องได้รับอันตรายจากพิษหรือความสกปรกเหล่านั้นเพิ่มปริมาณมากยิ่งขึ้น

น้ำเป็นสิ่งจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตเพราะน้ำใช้ประโยชน์ต่างๆได้มากมาย แหล่งน้ำเป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์บางจำพวก เป็นที่สะสมอาหารของมนุษย์และสัตว์ เมื่อน้ำเสียหรือน้ำเป็นพิษย่อมจะบั่นทอนทำลายชีวิตและสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ มูลเหตุที่ทำให้น้ำเป็นพิษคือการปล่อยสารเคมีออกมากับน้ำระบายของโรงงานอุตสาหกรรมเช่น ปรอท ตะกั่ว สารหนู แคดเมียมและมังกานีส หรือการทิ้งขยะ

มูลฝอยรวมทั้งการที่น้ำชะเอาวัตถุมีพิษที่ใช้ในการเกษตร(Pesticides)จากพืชและดินลงสู่แม่น้ำ ลำคลอง

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ประชาชนไม่น้อยกว่า 32 ล้านคน จากจำนวนทั้งหมด 40 ล้านคนประกอบอาชีพการเกษตร พื้นที่ของประเทศประมาณ 80 ล้านไร่ก็เป็นพื้นที่ที่ใช้เพื่อการเกษตรและสินค้าออกที่ทำรายได้ให้ประเทศปีละไม่ต่ำกว่า 10,000 ล้านบาทหรือมากกว่า 90 เปอร์เซนต์นั้นก็ได้จากผลิตผลการเกษตรที่สำคัญคือ ข้าว ข้าวโพด ไม้สัก ยาง ปอ ไหมฯลฯ (2) ในการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรนั้นศัตรูพืชนับเป็นอุปสรรคที่สำคัญ และศัตรูพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างใหญ่หลวงให้แก่เกษตรกรรมของประเทศทุกๆปีก็คือ แมลงศัตรูพืช (insect pests)ซึ่งพบว่ามีอยู่ประมาณ 10,000 ชนิดเช่น หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยแป้ง หนอนแก้วส้ม บวนแดงฝ้าย เป็นต้น ด้วยเหตุดังกล่าวนี้เองกสิกรจึงใช้ยาฆ่าแมลง (insecticides) เช่น ดีดีที (1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethane) ออลดริน (1,2,3,4,10,10,- hexachloro - 1,4,4a,5,8,8a - hexahydro-1,4- endo- exo-5,8-dimethanonaphthalene) ดีลดริน (1,2,3,4,10,10-hexachloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-endo -exo-5,8-dimethanonaphthalene) ซาบาริล (1-naphthyl-N-methyl-carbamate) มาลาไธออน (0,0-dimethyl S-(1,2,-dicarbethoxyethyl) phosphorodithioate) ในการป้องกันและกำจัดแมลงที่เป็นศัตรูพืช เมื่อมีการใช้ยาฆ่าแมลงเหล่านี้บ่อยครั้งขึ้นและใช้เป็นเวลานานๆจะทำให้ยาฆ่าแมลงตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้แก่ ในพืช ในดิน ในน้ำดังเช่นที่คลองกำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี พบว่ามีปริมาณพิษตกค้างของดีลดริน (Dieldrin) 4.1 พีพีบี (ppb) (1) ซึ่งถ้าไม่ทำการแก้ไขและป้องกันหรือทำแต่ไม่ทันการ ปริมาณพิษตกค้างก็จะเพิ่มมากขึ้นจนเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ ส่วนที่ตกค้างอยู่ในน้ำก็จะเป็นอันตรายต่อชีวิตและสุขภาพของสัตว์เลือดเย็นเช่น ปลา ปู กุ้ง หอย ซึ่งในที่สุดย่อมส่งผลสะท้อนมาสู่มนุษย์อย่างไม่มีปัญหา เพื่อเป็นการป้องกันมิให้

ปัญหาเหล่านี้เกิดขึ้นในอนาคต ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงบางชนิด เพื่อจะได้ทราบว่ายาฆ่าแมลงชนิดใดและปริมาณเท่าไรที่จะเป็นอันตรายต่อสัตว์เลือดเย็นเช่นปลา จะได้นำผลแห่งการวิจัยครั้งนี้ไปใช้เป็นเกณฑ์ตัดสินว่าแหล่งน้ำแหล่งใดมีปริมาณพิษตกค้างมากพอที่จะเป็นอันตรายต่อสัตว์ที่อาศัยอยู่เพื่อจะได้หาการแก้ไขต่อไป และจะเป็นข้อมูลประกอบการแนะนำการใช้ยาฆ่าแมลงของกสิกร

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

เพื่อจะได้ทราบถึงความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงประเภท Technical grade เปรียบเทียบกับประเภท Commercial grade ของ ออลดริน (Aldrin) ดีลดริน (Dieldrin) และเอ็นดริน (Endrin) ที่มีต่อสัตว์เลือดเย็นเช่น ปลา

สมมติฐานของการศึกษาค้นคว้า

ยาฆ่าแมลงประเภท Technical grade กับ Commercial grade น่าจะมีพิษต่อปลาต่างกัน

ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

1. ผลของการศึกษาค้นคว้าทำให้ทราบถึงความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงประเภท Technical grade และ Commercial grade ของ ออลดริน (Aldrin) ดีลดริน (Dieldrin) และเอ็นดริน (Endrin) ที่มีต่อปลา

2. นำผลแห่งการศึกษาค้นคว้านี้ไปใช้เป็นเกณฑ์ตัดสินว่าแหล่งน้ำแหล่งใดมีพิษตกค้างของยาฆ่าแมลงมากพอที่จะเป็นอันตรายต่อสัตว์เลือดเย็นเช่น ปลา และเพื่อเป็นข้อมูลประกอบการแนะนำการใช้ยาฆ่าแมลงของกสิกร

3. เทคนิคและวิธีการที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สามารถนำไปใช้ใน

การเรียนการสอนวิชาเคมีระดับบุกมศึกษาได้

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. ศึกษาเฉพาะ ออลดริน (Aldrin) ดีลดริน (Dieldrin) เอ็นดริน (Endrin) ประเภท Technical grade กับประเภท Commercial grade คือ

-ออลดริน (Aldrin) 40 % (บริษัทเจียไต๋ส่งเสริมเกษตรกรรม)

-ดีลดริน (Dieldrin) 50 % (บริษัทเจียไต๋ส่งเสริมเกษตรกรรม)

-เอ็นดริน (Endrin) 20 % (บริษัทเชลล์แห่งประเทศไทย)

หมายเหตุ จากการตรวจวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงประเภท Commercial grade พบว่ามี ออลดริน = 33.6 % ดีลดริน = 50 % และเอ็นดริน = 20 %

2. ศึกษาเฉพาะปลาไนขนาดความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร อายุประมาณ 2 เดือน

3. ศึกษาความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงภายในเวลา 48 ชั่วโมง

4. วิเคราะห์หาปริมาณพิษตกค้างของยาฆ่าแมลงในปลาที่ LC_{50} โดยใช้แก๊สลิควิดโครมาโตกราฟฟี่ (Gas-Liquid Chromatography)

คำจำกัดความศัพท์เฉพาะ

1. ความเป็นพิษ (Toxicity) หมายถึงผลของยาฆ่าแมลงที่ทำให้ปลาตายหรือเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม

2. ยาฆ่าแมลง (Insecticides) หมายถึงวัตถุมีพิษที่ใช้ป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช

3. ปลาไน หมายถึงปลาไน (Cyprinus carpio Linn.) ที่มีความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร อายุประมาณ 60 วัน

4. linear range หมายถึงช่วงความเป็นเส้นตรงของความเข้มข้นของยาฆ่าแมลงเมื่อตรวจวิเคราะห์ด้วย GLC

5. technical grade หมายถึงวัตถุมีพิษที่มีสารออกฤทธิ์(active ingredient) เพียงอย่างเดียว

6. commercial grade หมายถึงวัตถุมีพิษที่ผลิตขึ้นโดยมีสารออกฤทธิ์ผสมกับสารที่ไม่ออกฤทธิ์(innert ingredient)

7. ppb(part per billion) หมายถึงหน่วยเปรียบเทียบปริมาณวัตถุมีพิษเป็นส่วนในสารตัวอย่างหนึ่งพันล้านส่วน

8. ppm (part per million) หมายถึงหน่วยเปรียบเทียบปริมาณวัตถุมีพิษเป็นส่วนในสารตัวอย่างหนึ่งล้านส่วน

9. LC_{50}(Median Lethal Concentration) หมายถึงค่าเฉลี่ยของวัตถุมีพิษที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซนต์

10.GLC(Gas Liquid Chromatography) หมายถึงการแยกสารโดยใช้ก๊าซเป็นตัวพา (carrier) ผ่านไปบน solid support ที่มี stationary phase ซึ่งเป็นของเหลว(liquid) หุ้มอยู่ แล้วบันทึกปริมาณของสารบนแผ่น chromatogram

11. TLC(Thin Layer Chromatography) หมายถึงขบวนการแยกสารที่ผสมรวมกันอยู่โดยใช้เครื่องมือที่เป็นแผ่นแก้วฉาบด้วย adsorbent ที่เหมาะสม โดยอาศัยหลักที่ว่าการเคลื่อนที่ของสารมีอัตราเร็วต่างกันในสภาวการณ์ที่กำหนดให้ ทั้งนี้เนื่องมาจาก adsorbent มีความสามารถในการ adsorb สารแต่ละชนิดไม่เท่ากัน

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้า

ก. การศึกษาความเป็นพิษ

1. งานวิจัยต่างประเทศ

Alabaster (1958) ได้ศึกษาหาค่าเฉลี่ยความเป็นพิษของสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดวัชพืชภายในเวลา 48 ชั่วโมง (Median Tolerance Limit, TL_{m48}) ที่มีต่อปลาเทราท์ (Salmo trutta) สำหรับ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) 2,4,5-T (2,4,5-trichlorophenoxyacctic acid) และวัตถุมีพิษที่มีสารเคมีทั้งสองชนิดเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย ปรากฏว่ามีความแตกต่างกันตั้งแต่ 9.5-250 ppm. ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสูตรของวัตถุมีพิษที่มีจำหน่าย (10)

Davis และ Haracastle (1959) ได้ทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้กับปลาบลูกิลล์ (Lepomis macrochirus) พบว่าค่าเฉลี่ยความเป็นพิษของ 2,4-D เท่ากับ 39 ppm. MCPA (4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid) เท่ากับ 20 ppm. 2,4-DB(4(2,4-dichlorophenoxy)butyric acid) เท่ากับ 20 ppm.และ 2,3,6-TBA(2,3,6-trichlorobenzoic acid) เท่ากับ 1800 ppm. (13).

Davis และ Hughes (1963) ได้ทำการค้นคว้าทดลองหาค่าความแตกต่างของความเป็นพิษของสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดวัชพืช ซึ่งผลิตออกจำหน่ายในสูตรต่างๆ เมื่อทดลองกับปลาบลูกิลล์ชันพิชแล้วปรากฏว่า 2,4-D และ 2,4,5-Tในรูปเอสเทอร์ (ester)มีค่า TL_{m24} ประมาณ 1.8-10 ppm. ซึ่งขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของเอสเทอร์ที่มีอยู่ในสารเคมีนั้น ส่วน 2,4-D และ 2,4,5-T ในรูปเกลือไดเมทิลอะมีน (dimethylamine salts) นั้นมีค่า TL_{m24} เท่ากับ 162-542 ppm.และ 144 ppm. ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่าง MCPA และ 2,4-Dในรูปเกลืออะมีนแล้วปรากฏว่า TL_{m24} ของ MCPA เท่ากับ 163.5 ppm.และ 2,4-Dเท่ากับ 8 ppm.(14)

Buhler และ Shank (1970) ได้ทำการทดลองดูอิทธิพลของน้ำหนักตัวของ

สัตว์ทดลองเกี่ยวกับการเกิดพิษเรื้อรังทางปากกับดีดีที โดยทดลองกับปลาโคโฮแซลมอน(Oncorhychus kisutch)พบว่าเวลาเฉลี่ยที่ทำให้ปลามีชีวิตอยู่ได้เป็นปฏิภาคโดยตรงกับขนาดและน้ำหนักตัวของปลาโคโฮแซลมอนซึ่งมีอายุเท่ากันและกินอาหารที่มีดีดีทีผสมอยู่ และพบว่าดีดีทีจะมีพิษต่อปลาที่มีอายุน้อยมากกว่าปลาที่มีอายุแก่กว่า (11) ในปีเดียวกันนี้เอง Sander (1970) ได้ทดสอบความเป็นพิษของวัตถุมีพิษที่ใช้กำจัดวัชพืชจำนวน 37 ชนิดกับสัตว์พวกกุ้งน้ำจืด(Crustaceans) จานวน 6 ชนิด พบว่าวัตถุมีพิษไดโคลน(2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone) มีพิษมากที่สุด โดยมีค่าจำกัดเฉลี่ยที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซนต์ (TL_{50} Modion Tolcrance Limit)อยู่ในช่วง 0.025 ถึง 3.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สารพวกไกลคอลบิวทิลอีเทอร์เอสเทอร์(glycol butyl ether ester)ของ 2,4-D แสดงความเป็นพิษอยู่ในช่วงกว้างสำหรับพวกกุ้ง ซึ่งพบว่าในเวลา 48 ชั่วโมงค่า TL_{50} อยู่ในช่วง 0.10 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (22) นอกจากนี้ Grent (1970)ยังได้ศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังของเอ็นดริน (1,2,3,4,10,10-hexachloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-endo-endo-5,8-dimethanonaphthalene)ที่มีต่อปลาโกลด์ฟิช (Carassius auratus)ตัวผู้ โดยผสมเอ็นครินลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาเป็นเวลา 3-4 เดือน แล้วศึกษาผลที่มีต่อความเจริญเติบโต การพัฒนาของต่อมโกนาด (gonad) หน้าที่ของต่อมไทรอยด์ (thyroid) คุณลักษณะของซีรั่ม (serum) ปริมาณไขมันในร่างกาย พฤติกรรมและอัตราการตาย พบว่าเอ็นดรินขนาด 4.3 ถึง 43 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมต่อวันไม่มีผลอย่างใดต่อปลาเลยซึ่งสังเกตได้จากอัตราการเจริญเติบโตและการเพิ่มขึ้นของไขมัน เอ็นดรินขนาด 143 ถึง 430 ไมโครกรัมทำให้ปลาตาย อัตราการเจริญเติบโตลดลง ความสูงของเซลล์ไทรอยด์ต่ำลงแล้วยังลดปริมาณไขมันและการผลิตสเปอร์ม (sperm) (16)

Carlson (1971) ได้ศึกษาถึงผลของเซฟวิน (Sevin หรือCarbaryl)ที่มีต่อการตาย การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของปลาฟิาเทดมินโนว์ (Pimephales

promelas)ซึ่งมีอายุประมาณ 6 เดือนที่ 5 ความเข้มข้นจาก 0.008 ถึง 0.68 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ 0.68 มิลลิกรัมต่อลิตรการผลิตไข่โดยเฉลี่ยลดลง การออกไข่ก็ต่ำกว่าอีก 4 ความเข้มข้นและทำให้ปลาตายเพิ่มขึ้น ส่วนที่ความเข้มข้น 0.008,0.017,0.062 และ 0.21 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่ทำให้ปลาตาย ไม่มีผลต่อการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโต ค่า TL_{50} ในเวลา 96 ชั่วโมงของปลาอายุ 2 เดือน เท่ากับ 9.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณความเข้มข้นของเซฟวินที่เป็นพิษต่อปลาในน้ำที่มีความกระด้าง 45.2 มิลลิกรัมต่อลิตร pH 7.5 อยู่ระหว่าง 0.21 ถึง 0.68 มิลลิกรัมต่อลิตร (12)

2. งานวิจัยภายในประเทศ

มนู โพธารส (2502)ได้ศึกษาพิษของยาปราบแมลงศัตรูข้าวที่มีต่อปลาในนา โดยฉีดดีลดริน 50 เปอร์เซนต์(ผงละลายน้ำ)ลงไป 2500 ส่วนต่อล้านส่วนในนาขนาด 25 ไร่สองแปลงซึ่งปล่อยปลาไน (Cyprinus carpio)กับปลากระดี่นาง (Trichogaster microlepis)ชนิดละ 25 ตัวในแต่ละแปลงไว้ก่อนแล้ว 15 วัน ผลของการศึกษาพบว่าหลังจากฉีดยาไปแล้ว 2 วันปลากระดี่นางตาย 5 ตัว ปลาไนตาย 7 ตัว เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าในนาทั้งสองแปลงมีปลากระดี่นางเหลือ 1 ตัว ปลาไนเหลือ 3 ตัวซึ่งคิดเป็นเปอร์เซนต์ที่ปลาตายเท่ากับ 96 เปอร์เซนต์ นอกจากนี้ยังทดลองในห้องปฏิบัติการโดยใช้ปลาไนขนาดรุ่น 5 ตัว ขนาดเล็ก 10 ตัว และกุ้ง 10 ตัว พบว่าเมื่อฉีดดีลดริน 50 เปอร์เซนต์ในอัตรา 2500 ส่วนไปแล้ว 3 วันสัตว์ทดลองตายหมด (4)

อำนวย แท่นทอง (2507)ได้ศึกษาพิษของยาฆ่าแมลงบางชนิดที่มีต่อปลา โดยพบว่าเอ็นดรินขนาด 0.0005ppm.ปลาที่ใช้ทดลองคือ ปลาตุก ปลาหมอ ปลาสลิด ปลาไนและปลาช่อนไม่มีอาการผิดปกติ แต่ที่ขนาด 0.005ppm.ปลาตุก ปลาไน ปลาช่อน ปลาสลิดและปลาหมอเริ่มตายตามลำดับเวลาคือ 2 ชั่วโมง 14 นาที, 2 ชั่วโมง 38.5 นาที, 2 ชั่วโมง 41 นาที, 2 ชั่วโมง 54.5 นาทีและ 3 ชั่วโมง 3.5 นาที เอ็นดรินขนาด 0.05ppm. ปลาไน ปลาช่อน ปลาสลิด ปลาหมอและ

ปลาดุกเริ่มตายนับแต่เริ่มทดลองเป็นเวลา 20, 22, 24, 26 และ 35 นาทีตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าดีลดรินขนาด 0.005 ถึง 0.1125 ppm. ไม่ทำให้ปลาตายเลยแก่ที่ 0.225ppm. ปลาไน ปลาช่อนเริ่มตายเวลา 1 ชั่วโมง 31 นาที ส่วนปลาสลิด ปลาดุกและปลาหมอเริ่มตายเวลา 1 ชั่วโมง 55 นาที, 2 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง 18.5 นาทีตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 0.45ppm. พบว่าปลาไน ปลาสลิด ปลาช่อน ปลาดุกและปลาหมอตายหมดเมื่อเวลา 1 ชั่วโมง 52.5 นาที, 1 ชั่วโมง 55 นาที, 2 ชั่วโมง 1.5 นาที, 2 ชั่วโมง 6 นาทีและ 2 ชั่วโมง 33 นาทีตามลำดับ (9)

ข. <u>การศึกษาวิธีสะกัดพิษตกค้าง</u>

1. <u>งานวิจัยต่างประเทศ</u>

Hamence และคณะ (1965) ได้ตรวจหาดีดีทีในเนื้อสัตว์โดยใช้อะซีโตน (acetone) สะกัดแล้วแยกชั้น (partition) ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) นำไปทำให้สะอาด (cleanup) โดยผ่านอะลูมินาคอลัมน์ (alumina column) พบว่ามีเปอร์เซนต์การนากลับ (recovery) ของดีดีทีอยู่ระหว่าง 82 ถึง 105 เปอร์เซนต์ (17)

Robertson และ Tyo (1966) ได้สะกัดหอยนางรมด้วยอะซีโตไนไตรล์ (acetonitrile) แล้วแยกชั้นด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ พบว่ามีเปอร์เซนต์การนากลับของดีดีที ดีดีอี (2,2-bis(p-chlorophenyl)-1,1-dichloroethane) เฮพตาคลอร์ (1,4,5,6,7,8-heptachloro-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-methanoindane) ซึ่งเมื่อตรวจวิเคราะห์ด้วยแก๊สลิควิดโครมาโตกราฟฟี่แล้วเท่ากับ 97 ถึง 115 เปอร์เซนต์ (21)

Porter และคณะ (1970) ได้รายงานว่าการสะกัดพิษตกค้างของวัตถุมีพิษพวกคลอรีเนเตท (chlorinated pesticide) จากปลาและจากเนื้อ โดยนามาบดแล้วสะกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ ทำการแยกชั้นด้วยสารละลายผสม

ของปิโตรเลียมอีเทอร์กับอะซีโตไนไตรล์ นำไปทำให้สะอาดโดยการผ่านบนฟลอริซิลคอลัมน์ (Florisil column)นั้นมีประสิทธิภาพเหมือนๆกันกับสะกัดด้วยซอกซ์เลท (Soxhlet)ซึ่งใช้คลอโรฟอร์ม(chloroform)ผสมกับเมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol)ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 และพบว่าทั้งสองวิธีมีเปอร์เซนต์การนำกลับอยู่ระหว่าง 90 ถึง 102 เปอร์เซนต์ (20)

Erney (1974)ได้ศึกษาวิธีเพื่อวิเคราะห์วัตถุมีพิษพวกคลอริเนเตดในปลา Erney เสนอว่าให้เอาปลามาทำให้แห้งโดยใส่โซเดียมซัลเฟต (sodium sulphate Na_2SO_4)เพื่อดูดน้ำ แล้วนำไปยัด (pack)ลงในโครมาโตกราฟที่คอลัมน์สะกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ นำส่วนที่สะกัดได้แล้วไปทำให้สะอาดโดยผ่านไปบนคอลัมน์ที่มีฟลอริสิล (florisil)และซิลิกาเจล (silica gel) (15)

2. <u>งานวิจัยภายในประเทศ</u>

วราภรณ์ อาจองค์ (2515)ได้ศึกษาหาปริมาณดีดีทีในหอยนางรม โดยนำไปบดด้วยเครื่องบดแล้วสะกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ ทำการแยกชั้นด้วยอะซีโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ ไปทำให้สะอาดโดยผ่านบนฟลอริซิลคอลัมน์ พบว่ามีเปอร์เซนต์การนำกลับมาได้ 90, 85, 92 เปอร์เซนต์ของ ดีดีที ดีดีดี ทีดีอีตามลำดับ (6)

สุนีย์ ครุฑานุช (2517)ได้ศึกษาหาปริมาณพิษตกค้างของดีดีทีในปลาน้ำจืดเขตกรุงเทพมหานคร โดยสะกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ในซอกซ์เลท แล้วนำไปแยกชั้นด้วยอะซีโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ แล้วทำให้สะอาดโดยผ่านไปบนฟลอริซิลคอลัมน์ (8)

บทที่ 2

ทฤษฎี

หลักการของโครมาโตกราฟี (Chromatography) (7)

โครมาโตกราฟีคือวิธีการแยกสารให้บริสุทธิ์ โดยใส่สารที่ต้องการแยกลงในตัวกลาง (medium) แล้วผ่านของเหลวหรือก๊าซไปในตัวกลางนี้ซึ่งจะชะ (elute) สารต่างๆออกไปด้วยอัตราเร็วต่างๆกัน ดังนั้นโครมาโตกราฟีจึงเกี่ยวกับการไล่สารซึ่งติดกับตัวกลางออกมาโดยใช้ตัวชะนั่นเอง อัตราการเคลื่อนที่ของสารต่างๆนี้จะขึ้นอยู่กับแรงดึงดูดทั้งทางกายภาพและทางเคมีระหว่างสารเหล่านั้นกับตัวกลางและตัวชะ

หลักการของแก๊สลิควิดโครมาโตกราฟี (Gas Liquid Chromatography)

ในการแยกสารด้วย GLC ก็อาศัยหลักการแยกของโครมาโตกราฟี โดยใช้ของเหลว (liquid) เป็นตัวกลางแล้วใช้ก๊าซเป็นตัวชะ ซึ่งของเหลวที่เป็นตัวกลางนี้จะอยู่บนตัวรองรับ (solid support) เมื่อฉีดสารเข้าไปในทางเดินของก๊าซ สารจะผ่านเข้าสู่ column อัตราการเคลื่อนที่ของสารนี้ขึ้นอยู่กับการแบ่งละลาย (partition) ของสารระหว่างของเหลวกับก๊าซ และจะวิ่งไปด้วยอัตราเร็วแตกต่างกันของสารแต่ละชนิดไปยังเครื่องตรวจ (detector) แล้วส่งสัญญาณไปยังเครื่องบันทึก (recorder)

ส่วนประกอบของเครื่อง GLC (18)

1. ก๊าซตัวพา (carrier gas)

ก๊าซตัวพาเป็นตัวชะสารให้ผ่าน column ไปยังเครื่องวัด (detector) โดยมีเครื่องควบคุมความดันปรับให้ก๊าซไหลด้วยที่ที่อุณหภูมิหนึ่งๆ อัตราการไหลที่คงที่ของก๊าซจะชะสารออกมาในช่วงเวลาหนึ่งซึ่งเรียกว่า retention time

โดยทั่วไปใช้ ไฮโดรเจน ฮีเลียม ไนโตรเจนเป็นก๊าซตัวพา ซึ่งคุณสมบัติของก๊าซตัวพามีดังนี้

1. เป็นก๊าซเฉื่อยเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดปฏิกริยากับสารตัวอย่างหรือกับตัวทำละลาย
2. การแพร่ของก๊าซต่ำ
3. บริสุทธิ์
4. เหมาะสำหรับเครื่องวัดที่ใช้

2. หน่วยฉีดสาร (Injection port)

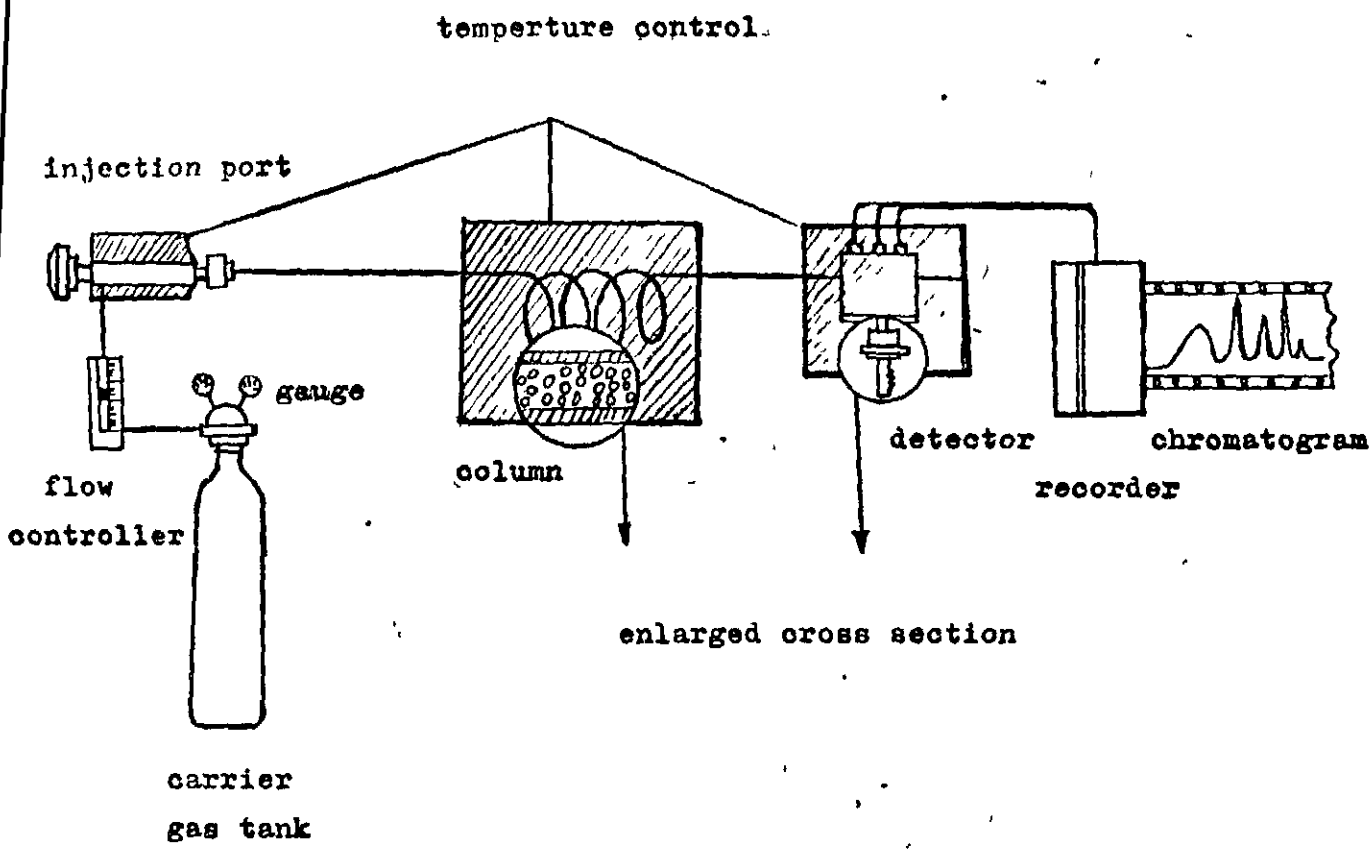
เป็นตำแหน่งที่จะฉีดสารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งจะต่ออยู่กับ column อุณหภูมิที่หน่วยฉีดสารต้องสูงพอที่จะทำให้สารระเหยโดยเร็วเพื่อป้องกันมิให้เกิดการสูญเสียประสิทธิภาพอันเนื่องจากวิธีการฉีด แต่อุณหภูมินั้นก็ต้องไม่สูงจนทำให้สารเกิดการสลายตัว

3. Column

การแยกสารจะเกิดขึ้นภายใน column สำหรับกรณี GLC การแยกสารขึ้นกับชนิดและปริมาณของตัวกลางที่เป็นของเหลว (liquid phase) ตัวรองรับที่เป็นของแข็ง (solid support) ความยาวและอุณหภูมิของ column

ตัวกลางที่เป็นของเหลว (liquid phase)

ตัวกลางที่เลือกใช้จะต้องมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกันกับสารที่เราต้องการ



ภาพที่ 1 แสดง Gas Chromatographic System

แยกเพราะเอนสารพวกไฮโดรคาร์บอนจะแยกได้ดีกับตัวกลางที่เป็นของเหลวพวกไฮโดรคาร์บอน สารพวก polar compound จะแยกได้ดีกับตัวกลางที่เป็นของเหลวพวก polar solvent ดังนั้นตัวกลางที่เป็นของเหลวก็ควรมีคุณสมบัติดังนี้

1. เป็นตัวทำละลายที่ดี ถ้าหากการละลายตำสารจะถูกชะออกเร็วการแยกก็ไม่ดี
2. สามารถละลายสารได้ต่างๆกัน
3. ไม่ระเหย
4. มีความคงตัวต่อความร้อน

ตัวรองรับ(solid support)

วุกมุ่งหมายก็เพื่อใช้ของแข็ง (solid phase) เป็นตัวรองรับให้กับตัวกลางที่เป็นของเหลว (liquid phase) ดังนั้นคุณสมบัติของตัวรองรับนี้ดังนี้

1. เฉื่อยเพื่อหลีกเลี่ยงการดูดซับ
2. มีความแข็งสูง
3. มีพื้นที่ผิวมาก
4. รูปร่างสม่ำเสมอและมีขนาดเดียวกัน

ระบบปรับอุณหภูมิของ column (column temperature cortroller)

อุณหภูมิของ column จะต้องสูงพอเพื่อให้การวิเคราะห์สำเร็จในช่วงของเวลาหนึ่ง แต่ต้องต่ำพอเพื่อให้เกิดการแยกตามต้องการ การเพิ่มของอุณหภูมิจะลดเวลาการวิเคราะห์ และถ้าลดอุณหภูมิลงทุกๆ 30 องศาเซลเซียส(°C) จะทำให้ retention time เพิ่มเป็น 2เท่า ที่อุณหภูมิต่ำทำให้สัมประสิทธิ์ของการแบ่งละลายของของเหลวที่เป็นตัวกลางสูงขึ้นทำให้เกิดการแยกได้ดี

ความยาวของ column

ถ้าความยาวของ column เพิ่มขึ้นจะช่วยให้การแยกสารเกิดดีขึ้น

4. เครื่องวัด(detector)

เป็นตัววัดสารที่แยกออกมาจาก column การวัดของเครื่องวัดจะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นและอัตราเร็วของมวลสารที่ถูกชะออกมา

คุณสมบัติของเครื่องวัดที่ต้องการ

1. มีความว่องไวสูง
2. มีระดับของ noise ต่ำ
3. มี linearity ของ response กว้าง

อุณหภูมิของเครื่องวัด(detector temperature)

เครื่องวัดและส่วนของเครื่องวัดที่ต่อกับ column จะต้องร้อนมากพอเพื่อไม่ให้สารและตัวกลางเกิดการกลั่นตัว

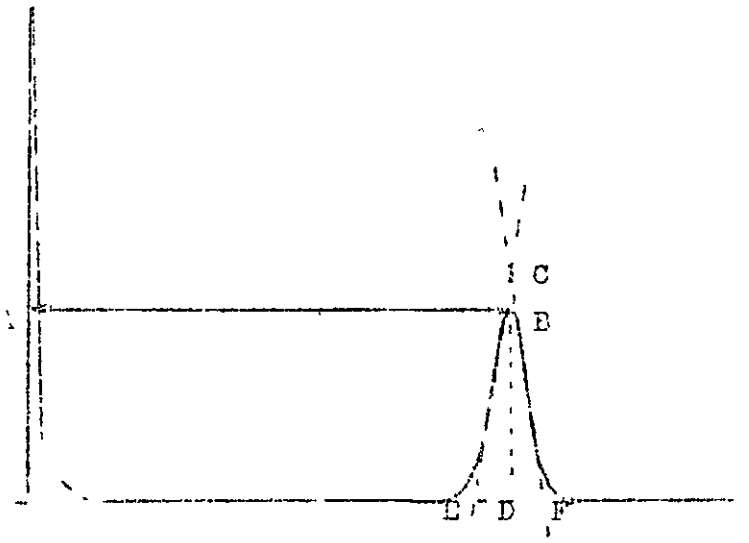
Electron Capture Detector(Ni^{63} หรือ C^{14})

เมื่อไนโตรเจนซึ่งเป็นกาซตัวพาผ่านไปยังเครื่องวัด แล้ว Ni^{63} หรือ C^{14} เครื่องวัดจะปล่อยรังสีเบต้าออกไป ionize โมเลกุลของไนโตรเจน ทำให้ได้ slow electron ออกมาแล้ว electron จะวิ่งไปยังขั้วบวกเป็นผลให้เกิดกระแสไฟฟ้า ถ้าสารตัวอย่างโมเลกุลของสารที่แยกออกมาจาก column กับ electron ได้กระแสไฟฟ้าก็จะลดลง ซึ่งการสูญเสียกระแสไฟฟ้าเป็นการวัดปริมาณของสาร

ชนิดของการวิเคราะห์ด้วย GLC

1. คุณภาพวิเคราะห์(Qualitative Analysis) โดยเปรียบเทียบค่า retention time(เวลาที่กาซตัวพาชะสารผ่านcolumn)ของสารที่จะวิเคราะห์กับสารมาตรฐาน ถ้าเป็นสารชนิดเดียวกันจะมีค่า retention time เท่ากัน

2. ปริมาณวิเคราะห์(Quantitative Analysis) โดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้ peak ของสารที่จะวิเคราะห์กับสารมาตรฐาน



AB คือ retencion time

CD คือ ส่วนสูงของสามเหลี่ยมของ peak

EF คือ ฐานของสามเหลี่ยมของ peak

พื้นที่ของ peak เท่ากับ $\frac{1}{2}$ × ฐาน × สูง

บทที่ 3

การดำเนินการทดลอง

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. ทดลองหาเปอร์เซนต์ recovery ของยาฆ่าแมลงแต่ละชนิด

2. การทดลองหา LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง

– เตรียมสารละลายของยาฆ่าแมลงทั้งประเภท technical grade และ commercial grade โดยละลายใน acetone 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในน้ำ 2 ลิตร ทำเป็น 3 ซ้ำ ยาฆ่าแมลงแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นเป็น ppb ดังนี้

ออลดริน 25, 37.5, 50, 75, 100, 150, 200

ดีลดริน 16, 14, 32, 48, 64, 96

เอ็นดริน 1, 2, 3, 4, 5, 6

ส่วน control ใช้ acetone 5 มิลลิลิตร ละลายในน้ำ 2 ลิตร

– เลือกปลาที่มีอายุประมาณ 2 เดือน และมีความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ใส่ลงในอ่างทดลองอ่างละ 10 ตัว

– สังเกตพฤติกรรมของปลา 1 – 6 ชั่วโมงแรก แล้วบันทึกผล

– บันทึกจำนวนปลาที่ตายในเวลา 48 ชั่วโมง

– นำจำนวนเปอร์เซนต์ปลาที่ตายไป plot ลงในกระดาษ log probit เพื่อหาค่า LC_{50}

3. การทดลองเพื่อหาพิษตกค้างของยาฆ่าแมลงที่ระดับ LC_{50} ในปลา

– เตรียมสารละลายของยาฆ่าแมลงทั้งประเภท technical grade และ commercial grade ใน acetone 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในน้ำ 2 ลิตร ให้เป็นความเข้มข้นที่ระดับ LC_{50} และมี control โดยใช้ acetone 5 มิลลิลิตร ละลายในน้ำ 2 ลิตร

– เลือกปลาที่มีอายุประมาณ 2 เดือน และมีขนาดความยาวประมาณ 2 เซนติเมตรใส่ลงในอ่างทดลองอ่างละ 10 ตัว

– เก็บปลาที่ตาย และเมื่อครบ 48 ชั่วโมง ก็เก็บปลาทั้งที่ตายและไม่ตายของแต่ละซ้ำ แยกกันไปทำการทดลองในตอน ก. ข. และ ค. ตามลำดับ

ก. <u>การสะกัด</u> (Extraction)

ดัดแปลงวิธีการสะกัดบางเล็กน้อยจาก Pesticide Analytical Manual Vol I (19)

ชั่งปลาของแต่ละซ้ำ คือ 50 ตัว ใส่ลงในเครื่องบด (Waring Blendor) เติม anhydrous Na_2SO_4 100 กรัม และ petroleum ether 100 มิลลิลิตร ลงไปบดที่ความเร็วต่ำ นาน 2 นาที ขูดปลาที่ติดอยู่ที่ฝาและด้านข้างของเครื่องบดลงไปบดต่ออีก 2 ครั้ง ๆ ละ 2 นาที กรอง petroleum ether ด้วย Buchner funnel ขนาด 150 มิลลิลิตร โดยใช้ suction ลงใน flask ขนาด 500 มิลลิลิตร สะกัด sample ในเครื่องบดอีก 2 ครั้ง โดยแต่ละครั้งใช้ petroleum ether 100 มิลลิลิตร และบดนาน 4 นาที หลังจากบดไปได้ 2 นาที ขูด sample ที่ฝาและด้านข้างของเครื่องบดแล้วบดต่ออีก 2 นาที เมื่อสะกัดเสร็จให้กรอง petroleum ether ลงใน flask อันเดิม แล้วนำ sample ในเครื่องบดใส่ลงใน Buchner funnel ล้างด้วย petroleum ether อีก 4 ครั้ง และไปรวมกับครั้งแรก

นำ petroleum ether ที่สะกัดได้ไปผ่าน anhydrous Na_2SO_4 ใน Buchner funnel ขนาด 30 มิลลิลิตร ลงสู่ Kuderna-Danish Evaporative Concentrator แล้วล้าง flask และ Buchner funnel ด้วย petroleum ether นำ Kuder-Danish Evaporative Concentrator ไปตั้งบน Steam bath เพื่อระเหย petroleum ether ให้ crude product ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร โดยใช้ petroleum ether ปริมาณเล็กน้อยช่วยการละลาย ระเหย petroleum ether ทั้งหมดในบีกเกอร์บน steam bath แล้วทำ partition ต่อไป

ข. <u>Partitioning</u>

ละลาย crude product ในบีกเกอร์ด้วย petroleum ether จำนวน 15 มิลลิลิตร แล้วเทใส่ลงในกรวยแยก (separator) ขนาด 125 มิลลิลิตร เติม–

acetonitrile ที่อิ่มตัวด้วย petroleum ether 30 มิลลิลิตร แล้วเขย่าอย่างแรง เป็นเวลา 1 นาที (ทำอย่างเดียวกันนี้อีก 3 ครั้ง) ถ่ายชั้นของ acetonetrile ลงในกรวยแยกขนาด 1 ลิตร ซึ่งมีน้ำอยู่ 650 มิลลิลิตร สารละลาย NaCl ที่อิ่มตัว 40 มิลลิลิตร และ petroleum ether 100 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 – 45 วินาที แล้วถ่ายส่วนที่เป็น aqueous layer ลงในกรวยแยกขนาด 1 ลิตร ใบที่สองเติม petroleum ether ลงไป 100 มิลลิลิตร แล้วเขย่าอย่างเร็ว 15 วินาที ทิ้งส่วนที่เป็น aqueous layer เอา petroleum ether ไปรวมลงในกรวยแยกอันแรก ล้าง petroleum ether ด้วยน้ำ 2 ครั้ง ๆ ละ 100 มิลลิลิตร แล้วทิ้งส่วนที่เป็นน้ำไป ริน petroleum ether ผาน anhydrous Na_2SO_4 ซึ่งอยู่ใน Buchner funnel (ขนาด 30 มิลลิลิตร) ลงใน Kuderna-Danish Evaporative concentrator และล้างกรวยแยกกับ Buchner funnel ครั้งละ 10 มิลลิลิตร 3 ครั้ง ระเหย petroleum ether ให้เหลือ 5 – 10 มิลลิลิตร แล้วนำไป cleanup ต่อไป

ค. <u>Cleanup</u>

เตรียม Florisil column โดยใส่ Florisil (80 - 100 mesh) ซึ่งอบที่ 130°C เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง ลงไปใน column (30 มิลลิเมตร × 500 มิลลิเมตร) 26 กรัม ตอนบนของ Florisil ใน column เติม anhydrous Na_2SO_4 ลงไปให้สูงกว่าระดับของ Florisil ครึ่งนิ้ว แล้ว prewet ด้วย petroleum ether 60 – 80 มิลลิลิตร ปล่อยให้ petroleum ether ไหลในอัตรา 5 มิลลิลิตร ต่อนาที จนกระทั่ง petroleum ether เหลืออยู่เหนือระดับ Na_2SO_4 ประมาณ 1 เซนติเมตร จึงริน sample ที่ผานการ partition แล้วลงไป แล้วใช้ 6 % diethyl ether ใน petroleum ether เป็นตัวชะสำหรับออลดริน (Aldrin) และใช้ 15 % diethyl ether ใน petroleum ether เป็นตัวชะสำหรับดีลดริน (Dieldrin) และเอ็นดริน (Endrin) นำส่วนของ sample ที่ผานการ cleanup ไประเหยใน Kuderna-Danish Evaporative Concentrator จนเหลือประมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วริน sample ลงในขวดและปรับระดับ sample ให้เป็น 20 มิลลิลิตร

เพื่อนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วย GLC และ TLC

การวิเคราะห์ด้วย GLC

1. ทำ Standard curve เพื่อหา Linear range ของอลดรีน (Aldrin) ดีลดรีน (Dieldrin) และ เอ็นดรีน (Endrin)

2. ฉีด sample และ standard โดยใช้ความเข้มข้นที่อยู่ใน linear range ของยาฆ่าแมลงแต่ละชนิด โดยมี condition ของเครื่อง Gas Chromatography แบบ tracor 222 ดังนี้

Column : 3% ov-1 on 100-120 mesh Chromatosorb W, AW, DMCS

N_2 flow rate

Carrier : 100 c.c./min.

Purge : 20 c.c./min.

Detector : Electron Capture (Ni^{63})

Temperature

Column : 200 °C

Inlet : 225 °C

Detector: 275 °C

Attenuation : 32 x 10^2

คำนวณปริมาณของยาฆ่าแมลงโดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้ peak ของสารใน sample กับ standard

การวิเคราะห์เปรียบเทียบ (confirmation) ด้วย TLC

ก. การเคลือบแผ่นกระจกด้วยตัวดูดซับ (Adsorbent)

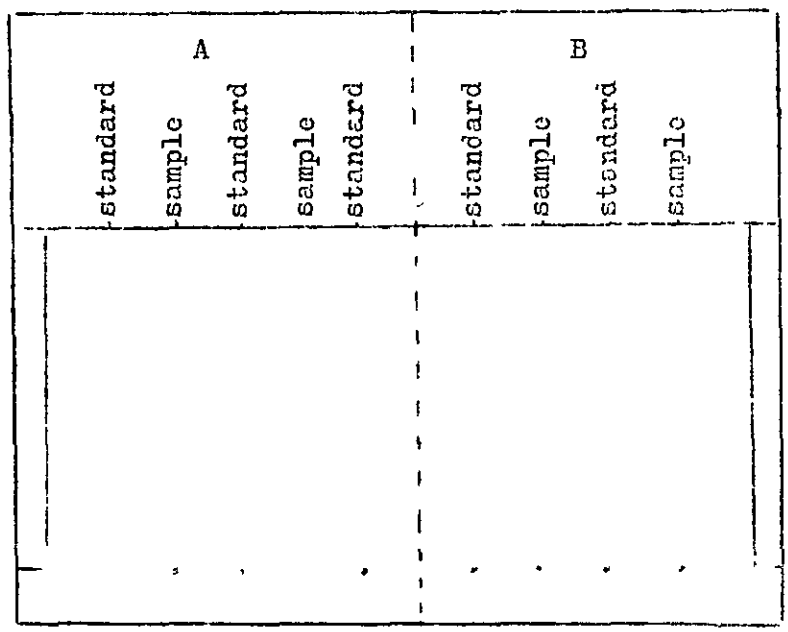
ใช้ Silica gel G 25 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask เติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี ระวังอย่าให้เกิด

เป็นฟองอากาศ เทส่วนผสมลงใน Spreader แล้วกอยลากไปตามแผ่นกระจกซึ่งเตรียมไว้บนฐานรองรับแล้วอย่างสม่ำเสมอ

กระจกที่เคลือบผิวเสร็จแล้วให้ตั้งทิ้งไว้จนผิวที่เคลือบแห้งแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 130°C เป็นเวลา 45 นาที

ช. การวิเคราะห์ด้วย TLC

นำ plate ที่เตรียมไว้มาแบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วน A และ B spot สารมาตรฐาน (standard) และสารตัวอย่าง (Sample) ดังภาพ

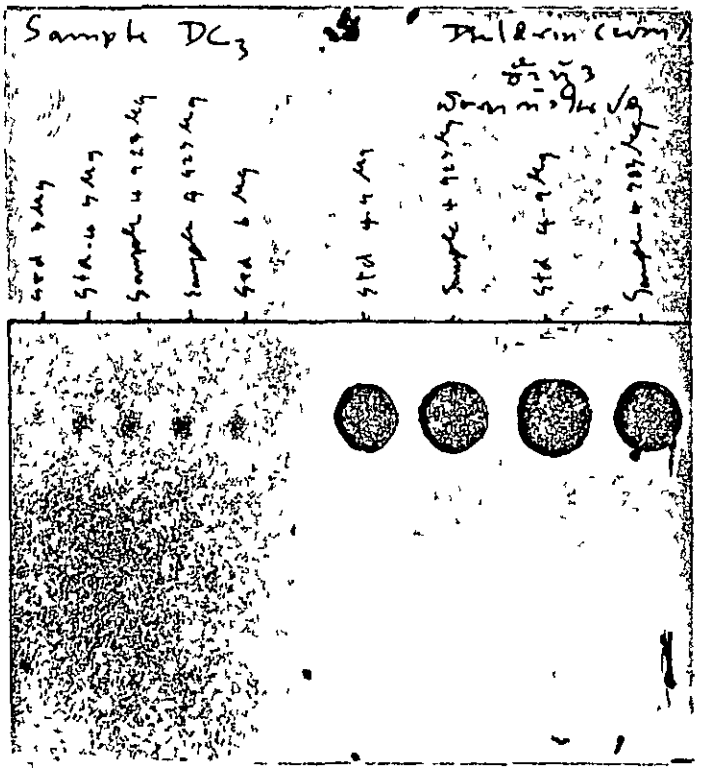


ภาพที่ 2 แสดงลักษณะการ spot สาร ในส่วน A และ B

นำแผ่นกระจกที่ spot แล้ว ไป develop ใน TLC developing tank ซึ่งมี mobile phase คือ n-heptane สำหรับ ออลดริน และใช้ Chloroform ผสมกับ diethyl ether ในอัตรา 9 ต่อ 1 สำหรับดีลดริน และ เอ็นดริน เมื่อ develop จน mobile phase ขึ้นถึง solvent front เอากระจกเคลือบออก และไปผึ่งอากาศให้แห้ง ใช้ aluminum foil ปิดส่วน B ไว้ spray ส่วน A ด้วย $ZnCl_2$ นำไปทำให้แห้งแล้วอบด้วย UV light เป็นเวลา 5 นาที

60823

นำแผ่นกระจกที่อบด้วย UV light แล้วมาขูด Silica gel G ในตอน B ตรงส่วนที่ตรงกับแนวในตอน A (ดังภาพที่ 3) ทั้งของสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง ทำการสะกัดสารใน Silica gel G ด้วย n-hexane ในหลอดทดลองขนาด 16 มิลลิเมตร x 150 มิลลิเมตร ทิ้งให้ Silica gel G ตกตะกอนจึงรินส่วนที่เป็น n-hexane ลงในขวด(ทำอย่างนี้อีก 3 ครั้ง)แล้วปรับระดับ n-hexane ในขวดให้เป็น 20 มิลลิลิตรเพื่อนำไปตรวจด้วย GLC ต่อไป



ภาพที่ 3 แสดงจุดที่ spot และแนวที่ขูดเพื่อนำไปสะกัด

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองหา LC_{50} ของยาฆ่าแมลงออลดริน (Aldrin)

พบว่าออลดริน (Aldrin) ประเภท technical grade และ commercial grade หากใช้ความเข้มข้นที่สูง จะทำให้ปลาว่ายพลาน เสียการทรงตัว และตายในที่สุด ผลของการทดลองความเป็นพิษของออลดรินแสดงอยู่ในตาราง 1, 2 และ 3

ตารางที่ 1 แสดงเวลาการเสียการทรงตัวของปลา (อุณหภูมิน้ำ = 28.5° pH น้ำ = 7.2)

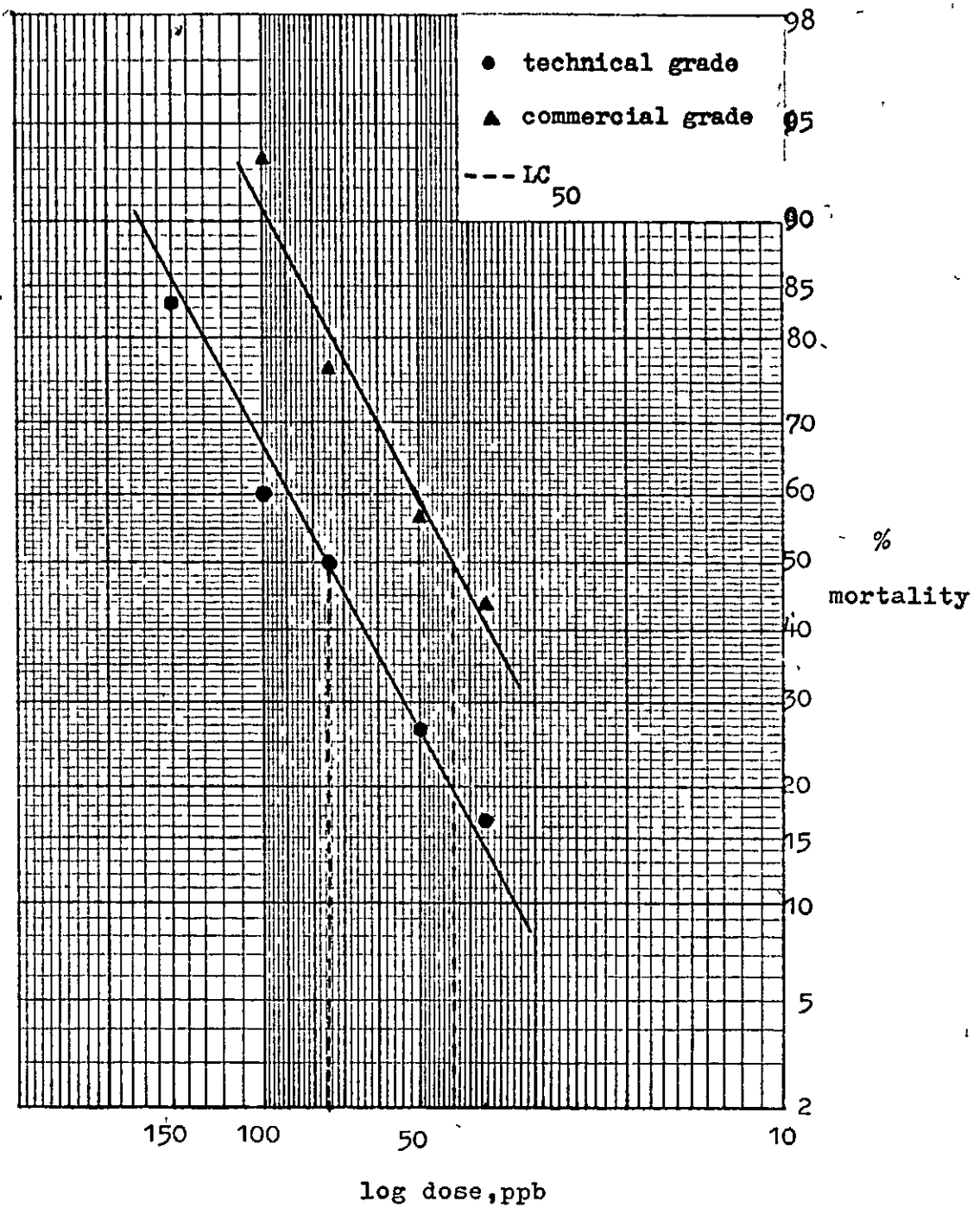
Dose, ppb	ปลาเสียการทรงตัวเมื่อชั่วโมงที่	
	technical grade	commercial grade
200	3	2
150	3	2
100	4	3
75	4	3
50	4	4
37.5	–	4
25	–	–

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายในเวลา 48 ชั่วโมง
(หลังจากได้รับยาฆ่าแมลงอัลดริน(Aldrin)ประเภท technical grade)

Dose, ppb	จำนวนปลาที่ตาย			จำนวนปลาที่ตาย	%ปลาที่ตาย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ทั้ง 3 ซ้ำ	
200	10	9	10	29	96.7
150	9	7	9	25	83.3
100	7	6	5	18	60.0
75	6	5	4	15	50.0
50	2	4	2	8	26.7
37.5	1	2	2	5	16.7
25	–	–	–	–	–

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายในเวลา 48 ชั่วโมง
(ทดลองด้วยออลดริน(Aldrin)ประเภท commercial grade)

Dose,ppb	จำนวนปลาที่ตาย			จำนวนปลาที่ตาย	%ปลาที่ตาย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ทั้ง 3 ซ้ำ	
200	10	10	10	30	100
150	10	10	10	30	100
100	10	10	8	28	93.3
75	9	6	8	23	76.7
50	4	7	6	17	56.7
37.5	5	4	4	13	43.3
25	–	–	–	–	–



ภาพที่ 4 แสดงการหาค่า LC_{50} ของ aldrin ประเภท technical grade และ commercial grade กับโดย plot เปอร์เซนต์ปลาที่ตายกับค่า log ความเข้มข้น

ผลการทดลองหา LC_{50} ของยาฆ่าแมลงดีลดริน (Dieldrin)

พบว่าดีลดริน (Dieldrin) ประเภท technical grade และ commercial grade ในปริมาณที่สูง จะมีผลทำให้ปลาว่ายพลานเสียการทรงตัวและตายในที่สุด ผลการทดลองความเป็นพิษของดีลดรินแสดงอยู่ในตารางที่ 4, 5 และ 6

ตารางที่ 4 แสดงเวลาการเสียการทรงตัวของปลา (อุณหภูมิน้ำ = 29° ซ. pH น้ำ = 7.2)

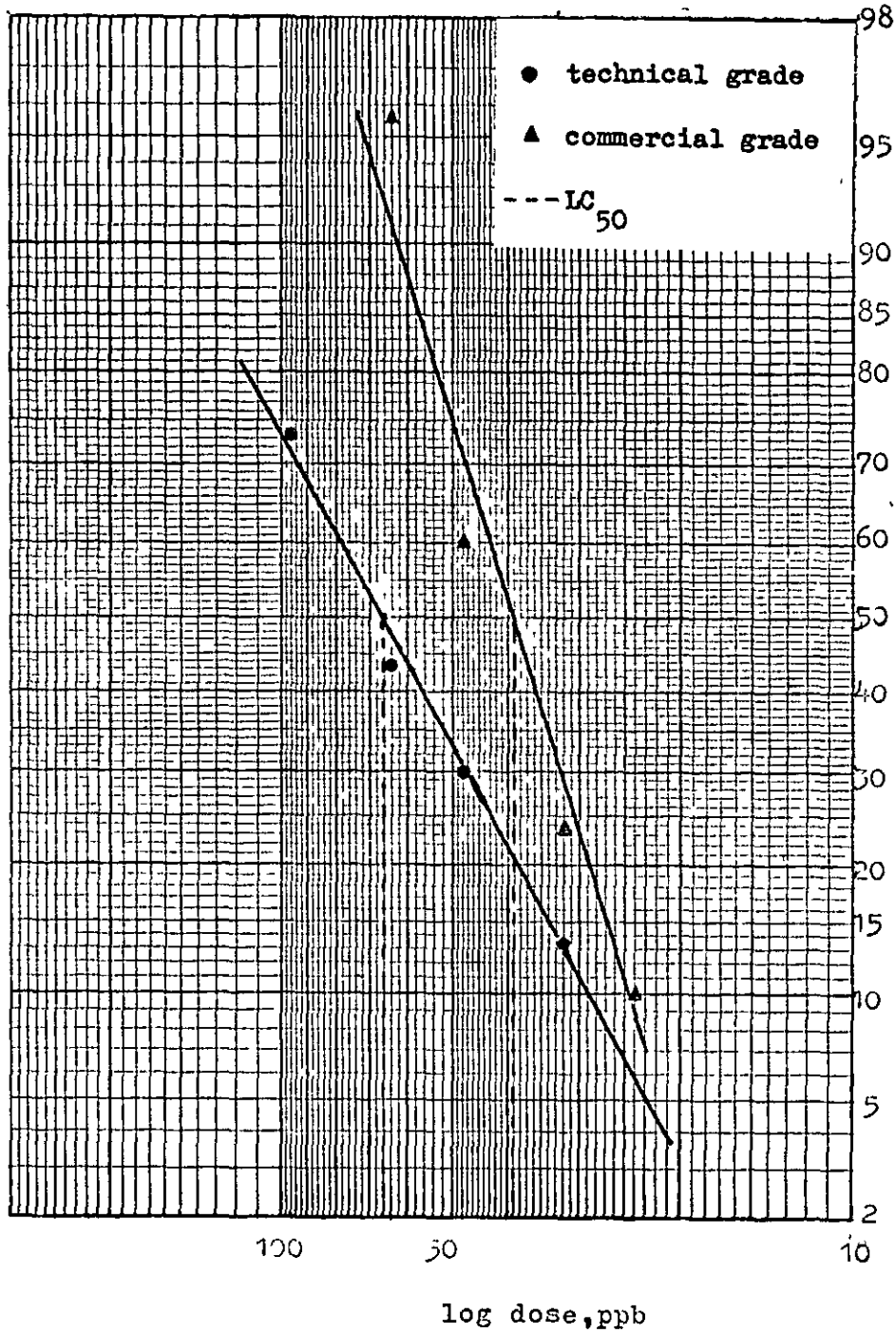
Dose, ppb	ปลาเสียการทรงตัวเมื่อชั่วโมงที่	
	technical grade	commercial grade
96	3	2
64	3	3
48	4	4
32	5	4
24	5	5
16	–	–

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายในเวลา 48 ชั่วโมง
(ทดลองด้วยดีลดริน(Dieldrin)ประเภท technical grade)

Dose, ppb	จำนวนปลาที่ตาย			จำนวนปลาที่ตาย	%ปลาที่ตาย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ทั้ง 3 ซ้ำ	
96	6	9	7	22	73.3
64	5	4	4	13	43.3
48	3	3	3	9	30.0
32	1	2	1	4	13.3
24	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายในเวลา 48 ชั่วโมง
(ทดลองกับยดีลดรีน(Dieldrin)ประเภท commercial grade)

Dose, ppb	จำนวนปลาที่ตาย			จำนวนปลาที่ตาย	%ปลาที่ตาย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ทั้ง 3 ซ้ำ	
96	10	10	10	30	100
64	10	9	10	29	96.7
48	7	5	6	18	60
32	2	3	2	7	23.3
24	1	1	1	3	10
16	–	–	–	–	–



ภาพที่ 5 แสดงการหาค่า LC_{50} ของ dieldrin ประเภท technical grade และ commercial grade โดย plot เปอร์เซนต์ปลาที่ตายกับค่า log ความเข้มข้น

ผลการทดลองหา LC_{50} ของยาฆ่าแมลงเอ็นดริน (Endrin)

พบว่าเอ็นดริน (Endrin) ประเภท technical grade กับ commercial grade ในปริมาณที่สูงจะมีผลทำให้ปลาว่ายพล่าน เสียดุลยการทรงตัว และตายในที่สุด ผลของการทดลองความเป็นพิษของเอ็นดรินอยู่ในตารางที่ 7, 8 และ 9

ตารางที่ 7 แสดงเวลาการเสียการทรงตัวของปลา (อุณหภูมิน้ำ = 29° ซ. pH น้ำ = 7.2)

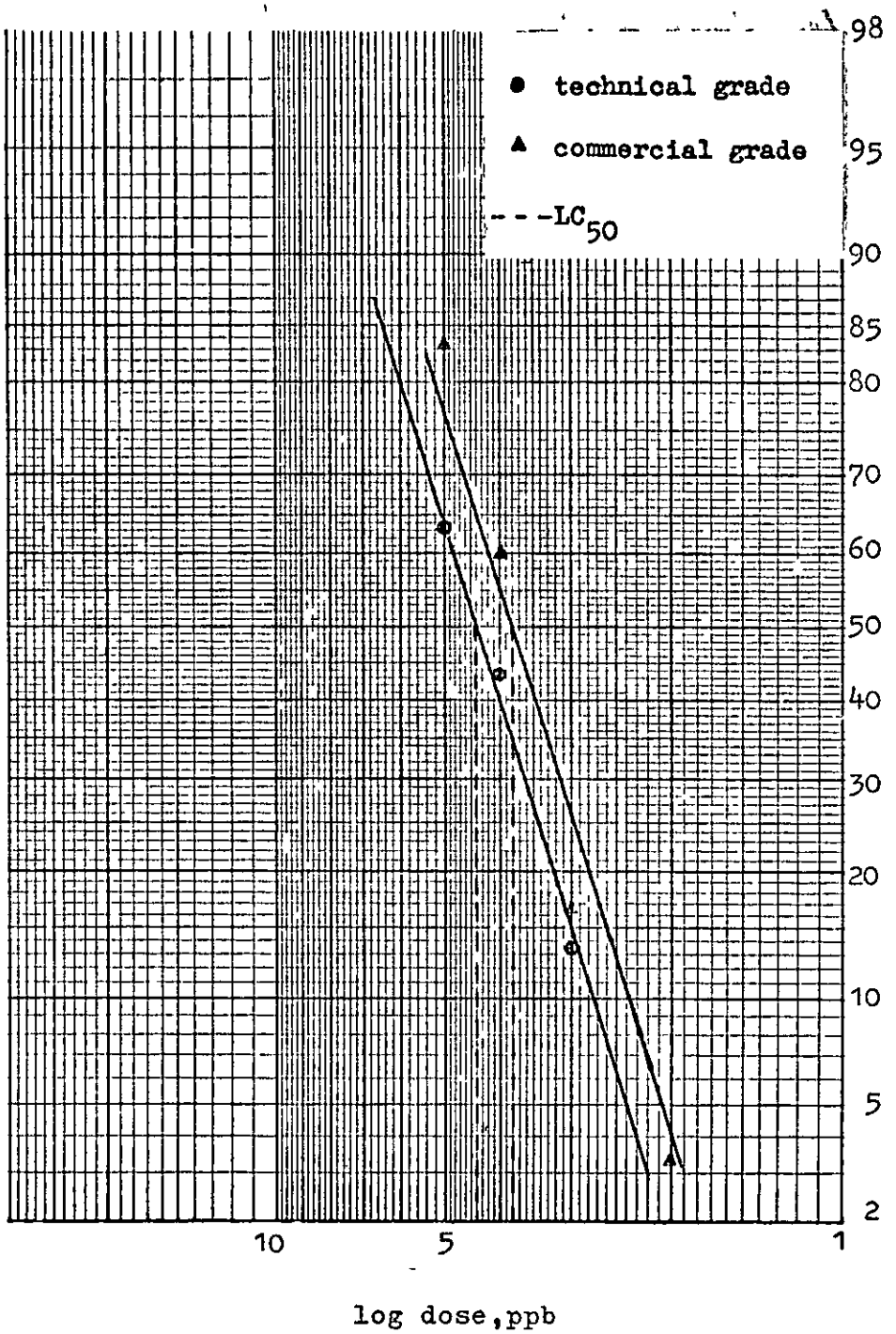
Dose, ppb	ปลาเสียการทรงตัวเมื่อชั่วโมงที่	
	technical grade	commercial grade
6	3	3
5	4	4
4	5	5
3	5	5
2	–	–
1	–	–

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายในเวลา 48 ชั่วโมง
(ทดลองด้วยเอ็นดริน(Endrin)ประเภท technical grade)

Dose, ppb	จำนวนปลาที่ตาย			จำนวนปลาที่ตาย	ร้อยปลาที่ตาย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ทั้ง 3 ซ้ำ	
6	10	10	10	30	100
5	5	7	7	19	63 3
4	4	4	5	13	43.3
3	1	2	1	4	13.3
2	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-

ตารางที่ 9 แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ปลาที่ตายในเวลา 48 ชั่วโมง
(ทดลองด้วยเอ็นดริน(Endrin)ประเภท commercial grade)

Dose, ppb	จำนวนปลาที่ตาย			จำนวนปลาที่ตาย	%ปลาที่ตาย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ทั้ง 3 ซ้ำ	
6	10	10	10	30	100
5	8	8	9	25	83.3
4	6	5	7	18	60
3	2	1	2	5	16.7
2	–	1	–	1	3.3
1	–	–	–	–	–



ภาพที่ 6 แสดงการหาค่า LC_{50} ของ endrin ประเภท technical grade และ commercial grade โดย plot เปอร์เซนต์ปลาที่ตายกับค่า log ความเข้มข้น

ผลการทดลองหาปริมาณพิษตกค้างของยาฆ่าแมลงในปลาโดยใช้ค่า LC_{50}

1. ออลดริน (Aldrin)

พบว่าหากใช้ค่า LC_{50} ของออลดริน (Aldrin) ทั้งประเภท technical grade และ commercial grade กับปลาไน จะมีปริมาณพิษตกค้างดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณพิษตกค้างของออลดริน (Aldrin) ซึ่งตรวจด้วย GLC โดยใช้ค่า LC_{50} ทดลองกับปลาไนเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ประเภท	ปริมาณพิษตกค้าง, ppm		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
technical grade	10.50	10.63	8.86
commercial grade	7.01	6.82	7.92

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณเป็นเปอร์เซนต์ในการตรวจวิเคราะห์เปรียบเทียบพิษตกค้างของออลดรินในปลา ซึ่ง cleanup ด้วย TLC และตรวจปริมาณด้วย GLC

ซ้ำที่	technical grad		commercial grade	
	% Standard	% Sample	% Standard	% Sample
1	81.8	80.0	88.4	82.8
2	85.3	87.7	86.0	84.1
3	84.2	84.8	90.1	86.7

2. ดีลดริน (Dieldrin)

พบว่าหากใช้ค่า LC_{50} ของดีลดริน (Dieldrin) ทั้งประเภท technical grade และ commercial grade มีปริมาณพิษตกค้าง ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงปริมาณพิษตกค้างของดีลดริน (Dieldrin) ซึ่งตรวจด้วย GLC โดยใช้ค่า LC_{50} ทดลองกับปลาไน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ประเภท	ปริมาณพิษตกค้าง,		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
technical grade	9.74	7.84	6.38
commercial grade	1.98	4.06	3.58

ตารางที่ 13 แสดงปริมาณเป็นเปอร์เซนต์ในการตรวจวิเคราะห์เปรียบเทียบพิษตกค้างของดีลดรินในปลาซึ่ง cleanup ด้วย TLC และตรวจปริมาณด้วย GLC

ซ้ำที่	technical grade		commercial grade	
	% Standard	% Sample	% Standard	% Sample
1	88.7	88.1	89.3	90.2
2	90.0	84.3	91.1	89.2
3	96.5	92.8	94.5	89.0

3. เอ็นดริน (Endrin)

พบว่าที่ LC_{50} ของเอ็นดริน (Endrin) ทั้งประเภท technical grade และ commercial grade มีปริมาณพิษตกค้างดังตาราง

ตารางที่ 14 แสดงปริมาณพิษตกค้างของเอ็นดริน (Endrin) ซึ่งตรวจด้วย GLC โดยใช้ค่า LC_{50} ทดลองกับปลาไน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ประเภท	ปริมาณพิษตกค้าง, ppm.		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
technical grade	1.48	1.27	.62
commercial grade	1.06	1.21	1.17

ตารางที่ 15 แสดงปริมาณเป็นเปอร์เซนต์ในการตรวจวิเคราะห์เปรียบเทียบพิษตกค้างของเอ็นดรินในปลา ซึ่ง cleanup ด้วย TLC และตรวจปริมาณด้วย GLC

ซ้ำที่	technical grade		commercial grade	
	% Standard	% Sample	% Standard	% Sample
1	88.5	86.3	92.3	90.0
2	90.2	87.4	86.4	86.8
3	90.8	84.8	89.8	90.0

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การเปรียบเทียบความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงประเภท technical grade กับ commercial grade โดยใช้ Chi-square (χ^2) ซึ่งมีสูตรตามตารางสำเร็จแบบ 2×2 (5)

	A	B	
X	a	b	a+b
Y	c	d	c+d
	a+c	b+d	N

$$\text{สูตร} = \frac{(|ad-bc|-\frac{1}{2}N)^2 N}{(a+b)(a+c)(b+d)(c+d)}$$

1.1 การเปรียบเทียบความเป็นพิษของอลดริน (Aldrin) ประเภท technical grade กับ commercial grade จากข้อมูลตารางที่ 1

	ตาย	ไม่ตาย	
technical grade	100	110	210
commercial grade	141	69	210
รวม	241	179	420

พบว่าอลดริน (Aldrin) ประเภท technical grade และ commercial grade มีผลทำให้ปลาตายต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ .001

1.2 การเปรียบเทียบความเป็นพิษของดีลดริน(Dieldrin)ประเภท technical grade กับ commercial grade จากข้อมูลตารางที่ 2

	ตาย	ไม่ตาย	รวม
technical grade	48	132	180
commercial grade	87	93	180
รวม	135	225	360

พบว่าดีลดริน(Dieldrin)ประเภท technical grade และ commercial grade ให้ผลทำให้ปลาตายต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ .001

1.3 การเปรียบเทียบความเป็นพิษของเอ็นดริน(Endrin)ประเภท technical grade กับ commercial grade จากข้อมูลตารางที่ 3

	ตาย	ไม่ตาย	รวม
technical grade	66	114	180
commercial grade	79	101	180
รวม	145	215	360

พบว่าเอ็นดริน(Endrin)ประเภท technical grade และ commercial grade ไม่มีผลทำให้ปลาตายต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ .05

2. การหาค่าเฉลี่ย($\bar{X}$)ปริมาณพิษตกค้างของยาฆ่าแมลงแต่ละชนิดทั้งประเภท technical grade และ commercial grade โดยใช้สูตร

$$\bar{X} = \frac{\Sigma X}{N}$$

$\bar{X}$ = ค่าเฉลี่ย, ppm

X = ผลรวมของปริมาณพิษตกค้างของยาฆ่าแมลง, ppm

N = จำนวนกลุ่มตัวอย่าง

X' = ปริมาณพิษตกค้างของแต่ละซ้ำ, ppm

2.1 การหาค่าเฉลี่ยของออลดริน(Aldrin)

ตารางที่ 16 แสดงการหาค่าเฉลี่ยของออลดริน(Aldrin)ประเภท technical grade

ตัวอย่างปลาซ้ำที่	X	ΣX	N	$\bar{X}$
1	10.50			
2	10.83			
3	8.86			
		30.19	3	10.06

ตารางที่ 17 แสดงการหาค่าเฉลี่ยของออลดริน(Aldrin)ประเภท commercial grade

ตัวอย่างปลาซ้ำที่	X	ΣX	N	$\bar{X}$
1	7.01			
2	6.82			
3	7.92			
		21.75	3	7.25

2.2 การหาค่าเฉลี่ยของดีลดริน(Dieldrin)

ตารางที่ 18 แสดงการหาค่าเฉลี่ยของดีอดริน(Dieldrin)ประเภท technical grade

ตัวอย่างปลาซ้ำที่	X	ΣX	N	$\bar{Y}$
1	9.74			
2	7.84			
3	6.38			
		23.96	3	7.99

ตารางที่ 19 แสดงการหาค่าเฉลี่ยของดีลดริน(Dieldrin)ประเภท commercial grade

ตัวอย่างปลาซ้ำที่	X	ΣX	N	$\bar{X}$
1	1.98			
2	4.06			
3	3.58			
		9.62	3	3.21

2.3 การหาค่าเฉลี่ยของเอ็นดริน(Endrin)

ตารางที่ 20 แสดงการหาค่าเฉลี่ยของเอ็นดริน(Endrin)ประเภท technical grade

ตัวอย่างปลาซ้ำที่	X	ΣX	N	$\bar{X}$
1	1.48			
2	1.27			
3	.62			
		3.37	3	1.12

ตารางที่ 21 แสดงการหาค่าเฉลี่ยของเอ็นดริน(Endrin)ประเภท commercial grade .

ตัวอย่างปลาซ้ำที่	X	ΣX	N	$\bar{X}$
1	1.08			
2	1.21			
3	1.17			
	.	3.46	3	1.15

อภิปรายผลการทดลอง

1. จากการศึกษาพบว่ายาฆ่าแมลงอลดริน(Aldrin)และดีลดริน(Dieldrin) ประเภท commercial grade มีความเป็นพิษโดยทำให้ปลาตายยากกว่าประเภท technical grade อย่างมีนัยสำคัญที่ .001 ซึ่งอาจเนื่องมาจาก inert ingredient ที่ผู้ผลิตได้เติมลงไปเพื่อผลประโยชน์ในทางการค้าและการใช้นั้นมีผลในการเพิ่มพิษของactive ingredient อย่างเชื่อมั่นได้ 99.9 เปอร์เซนต์ ส่วนยาฆ่าแมลงเอ็นดริน(Endrin) พบว่าทั้งประเภท commercial grade กับ technical grade ไม่มีผลที่จะทำให้ปลาตายแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ .05 ก็แสดงว่า inert ingredient ที่ผู้ผลิตได้เติมลงไปไม่มีผลในการเพิ่มพิษของ active ingredient; อย่างเชื่อมั่นได้ 95 เปอร์เซนต์

2. ปริมาณพิษแตกต่างของยาฆ่าแมลงในแต่ละซ้ำของชนิดและประเภทเดียวกันแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากความสมบูรณ์แข็งแรงของปลาที่ใช้ทดลองไม่เท่ากัน จากการทดลองยังพบว่าปลาตัวใหญ่บางตัวตายก่อนปลาตัวเล็ก จึงเป็นไปได้ว่า

ปริมาณยาฆ่าแมลงต่อน้ำหนักตัวของปลาตัวที่ตายก่อนน่าจะน้อยกว่าปลาตัวที่ตายทีหลัง ทำให้สัดส่วนปริมาณยาฆ่าแมลงต่อน้ำหนักตัวของปลากลาดเกลื่อนไป

<u>ความผิดพลาดของการทดลอง</u>

1. ความผิดพลาดเนื่องจากปลาที่เลือกมาทดลอง คือไม่อาจเลือกปลาที่มีขนาด น้ำหนัก และความสมบูรณ์แข็งแรงเท่ากันได้ จึงทำให้ผลการทดลองกลากเกลื่อนไป

2. ความผิดพลาดอันเนื่องจากปลาที่ใช้เป็นกลุ่มตัวอย่าง (sample) ในการทดลองมีจำนวนน้อย ดังนั้นเมื่อเกิดการผิดพลาดแต่เพียงเล็กน้อยก็ย่อมจะมีผลต่อผลของการทดลองมาก

3. ความผิดพลาดเนื่องจากการชั่งยาฆ่าแมลงในการทดลองปลา การชั่งน้ำหนักปลา การเตรียมสารละลายต่างๆซึ่งถือเป็น personal error

4. ความผิดพลาดเนื่องจากวิธีการสะกัดหาพิษตกค้าง และการใช้เครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์

บทที่ 5

บทย่อ สรุปผล และข้อเสนอแนะ

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

เพื่อจะได้ทราบถึงความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงประเภท technical grade เปรียบเทียบกับ commercial grade ของ aldrin dieldrin และ endrin ที่มีต่อสัตว์เลือดเย็น เช่น ปลา

สมมุติฐานของการศึกษาค้นคว้า

วัตถุมีพิษประเภท technical grade กับ commercial grade จะมีพิษต่อปลาต่างกัน

กลุ่มตัวอย่าง

- ใช้ปลาในขนาดความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร อายุประมาณ 60 วัน

ยาฆ่าแมลงที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า

- ยาฆ่าแมลงที่ใช้คือ aldrin, dieldrin และ endrin ประเภท technical grade กับ commercial grade คือ
  - aldrin 40 % (บริษัทเจียไต๋ส่งเสริมเกษตรกรรม)
  - dieldrin 50 % (บริษัทเจียไต๋ส่งเสริมเกษตรกรรม)
  - endrin 20 % (บริษัทเชลล์แห่งประเทศไทย)

เครื่องมือที่ใช้ตรวจวิเคราะห์

เครื่อง Gas Liquid Chromatography แบบ tracor 222 ณ ศูนย์วิจัยวัตถุมีพิษ กรมวิชาการเกษตร เกษตรกลาง บางเขน กรุงเทพมหานคร

วิธีดำเนินการ

1. หาเปอร์เซนต์ recovery ของยาฆ่าแมลงแต่ละชนิด

2. หา LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง โดยใช้ปลาไน 10 ตัว ต่อน้ำ 2 ลิตร ทำเป็น 3 ซ้ำ

3. หาปริมาณพิษตกค้างโดยใช้ค่า LC_{50} โดยตรวจวิเคราะห์ด้วย GLC

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Chi-square (x^2) เพื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงประเภท technical grade กับ commercial grade และใช้ Mean ($\bar{X}$) ในการหาค่าปริมาณเฉลี่ยของพิษตกค้างในปลา

ผลการทดลอง

1. ยาฆ่าแมลง aldrin ประเภท commercial grade มีความเป็นพิษโดยทำให้ปลาตายมากกว่าประเภท technical grade อย่างมีนัยสำคัญที่ .001

2. ยาฆ่าแมลง dieldrin ประเภท commercial grade มีความเป็นพิษโดยทำให้ปลาตายมากกว่าประเภท technical grade อย่างมีนัยสำคัญที่ .001

3. ยาฆ่าแมลง endrin ประเภท commercial grade กับ technical grade ไม่ทำให้ปลาตายต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญที่ .05

4. ปริมาณพิษตกค้างโดยเฉลี่ยของยาฆ่าแมลง aldrin ประเภท technical grade เท่ากับ 10.06 ppm. ประเภท commercial grade เท่ากับ 7.25 ppm.

5. ปริมาณพิษตกค้างโดยเฉลี่ยของยาฆ่าแมลง dieldrin ประเภท technical grade เท่ากับ 7.99 ppm. ประเภท commercial grade เท่ากับ 3.21 ppm

6. ปริมาณพิษตกค้างโดยเฉลี่ยของยาฆ่าแมลง endrin ประเภท technical grade เท่ากับ 1.12 ppm ประเภท commercial grade เท่ากับ 1.15 ppm.

7. ค่า LC_{50} ของยาฆ่าแมลง aldrin ประเภท technical grade เท่ากับ 75 ppb ประเภท commercial grade เท่ากับ 44 ppb

8. ค่า LC_{50} ของยาฆ่าแมลง dieldrin ประเภท technical grade เท่ากับ 66 ppb ประเภท commercial grade เท่ากับ 38 ppb

9. ค่า LC_{50} ของยาฆ่าแมลง endrin ประเภท technical grade เท่ากับ 4.4 ppb ประเภท commercial grade เท่ากับ 3.8 ppb

ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาความเป็นพิษของวัตถุมีพิษที่มีต่อปลา ควรใช้ปลาทดลองหลายๆ ชนิดและมีจำนวนมากพอ และควรศึกษาความเป็นพิษที่มีต่อปลาโดยแปรตามขนาดและอายุของปลาด้วย

2. การศึกษาความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงที่ต่อปลาควรสร้างสภาวะแวดล้อมให้คล้ายคลึงกับสภาพความเป็นจริงเช่นอาจมีน้ำไหลหมุนเวียนมีพืชและสัตว์อื่นอยู่ด้วย หรืออาจเป็นการเลียนแบบธรรมชาติซึ่งเรียก microcosm system ทั้งนี้เพื่อให้ผลที่ได้ใกล้เคียงกับธรรมชาติมากที่สุด

3. เนื่องจากในปัจจุบันได้มีการใช้วัตถุมีพิษกันอย่างแพร่หลาย ดังนั้นควรจะมีการศึกษาความเป็นพิษของวัตถุมีพิษอื่นๆด้วย และควรจะได้ศึกษาถึงปริมาณพิษตกค้างของวัตถุมีพิษในแหล่งน้ำต่างๆว่ามีปริมาณมากน้อยเพียงใด และมากพอที่จะเป็นอันตรายต่อสัตว์เลือดเย็นเช่นปลาหรือไม่

4. ควรให้การศึกษาแก่ประชาชนเกี่ยวกับอันตรายจากวัตถุมีพิษที่ใช้กันทั่วๆไป และแนะนาการใช้อย่างถูกต้องเพื่อความปลอดภัยของสิ่งมีชีวิตในสภาพแวดล้อม

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

(1) นวลศรี ทยาพัชร "งานศึกษาวิจัยวัตถุมีพิษตกค้างในน้ำ" รายงานการวิจัย กรมวิชาการเกษตร โรเนียว, 8 หน้า 2517

(2) ประยูร ดีนา, ดร. "วัตถุมีพิษที่ใช้ในการเกษตรและการสาธารณสุข" เอกสารทางวิชาการที่ 14 กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 513 หน้า 2517

(3) พิธิต สกุลพราหมณ์ ราชพฤกษ์ 12 41-43 2516

(4) มนู โพธารส "พิษของยาปราบแมลงศัตรูข้าวที่มีต่อปลาในนา" วิทยานิพนธ์การประมงบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 32 หน้า 2502

(5) ล้วน สายยศ สถิติวิทยาทางการศึกษา หน้า 231 2515

(6) วราภรณ์ อาจองค์ "การหาปริมาณสะสมของสารดีดีทีในหอยนางรมโดยวิธีแกสลิควิดโครมาโตกราฟี่" จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 67 หน้า 2502

(7) สิรินทร์ วิโมกข์สันต์,ดร. ชีวเคมี 519 หน้า 2515

(8) สุนีย์ ครุฑานุช "การหาปริมาณพิษตกค้างของดีดีทีในปลาน้ำจืดในเขตกรุงเทพมหานคร" รายงานฉบับที่ 1 สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ประยุกต์แห่งประเทศไทย 16 หน้า 2517

(9) อำนวย แน่นทอง "พิษของยาฆ่าแมลงบางชนิดที่มีต่อปลา" วิทยานิพนธ์การประมงบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 12 หน้า 2517

(10) Alabaster, J.S., Weed Control Conf., Proc., 4 th Brit. pp. 84, 1958

(11) Buhler, D.R., W.E. Shanks, J. Fish. Res. Bd. Canada 27(2):347-358, 1970

(12) Carlson, A.R., J. Fish. Res. Bd. Canada, 29:583-587, 1971

(13) Davis, J.T., V.S., Haracastle, Weeds, 7:397, 1959

(14) Davis, J.T., J.S., Hughes, S. Weed Conf., pp. 337, 1963

(15) Erney, D.R., J.A.O.A.C., 57:576-579, 1974

(16) Grant, B.F., P.M., Mehrle, J. Fish. Res. Bd. Canada, 27:2225-2232, 1970

(17) Hamence, J.H., P.S., Hall, D.J., Cavery, Analyst, 90:649-654, 1965

(18) McNair, H.M., E.J., Bonelli, Basic Gas Chromatography 301 pp., 1969

(19) Pesticide Analytical Manual Vol. I, 640 pp., 1971

(20) Porter, M.L., S.J.V., Young, J.A., Burke, J.A.O.A.C., 53:1300-1303, 1970

(21) Robertson, E.A., R.M., Tyo, J. Ass. Offic. Agr. Chemists, 49(3):683-684, 1966

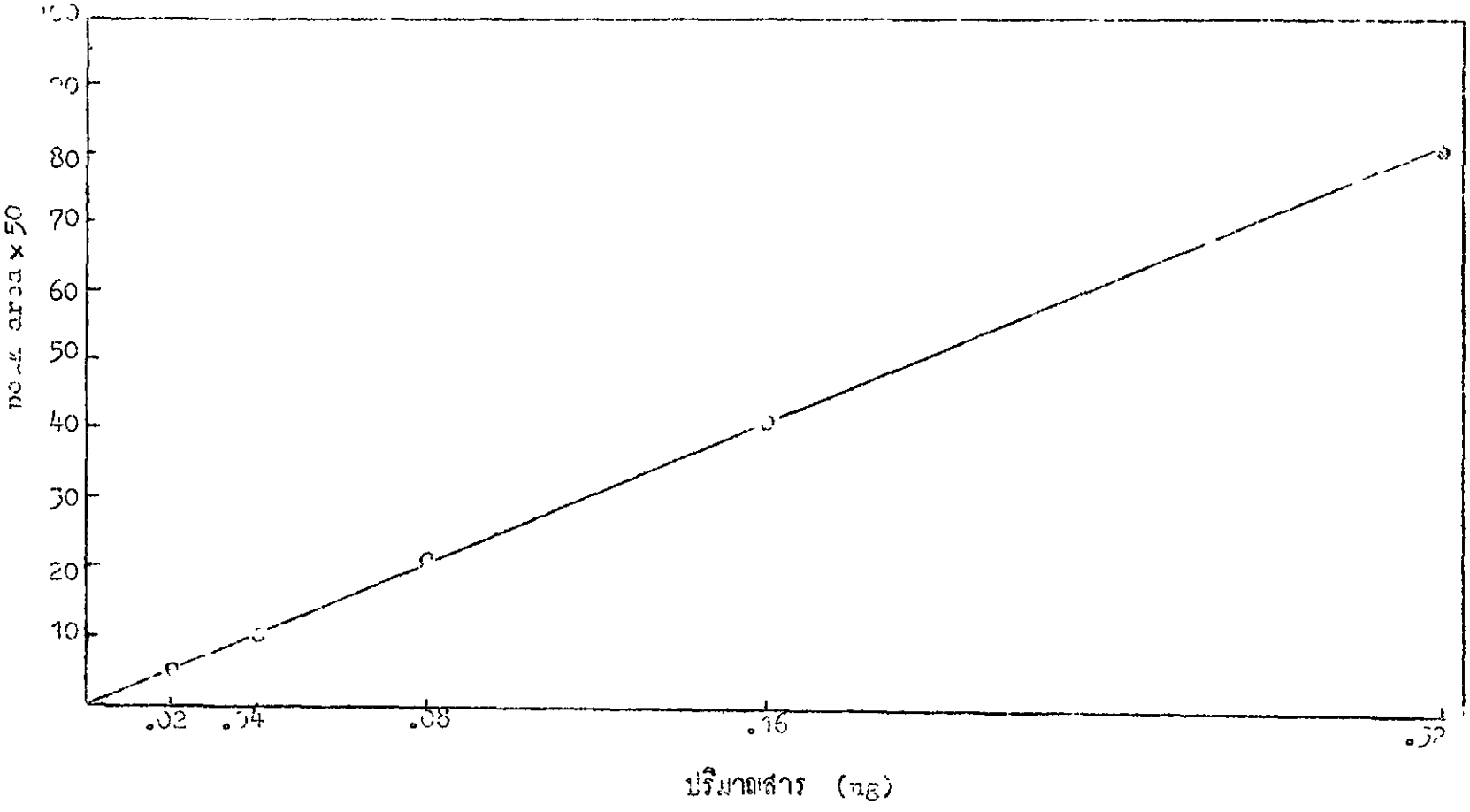
(22) Sanders, H.O., J. Water Pollution Control Federation, 42:1544-1550, 1970

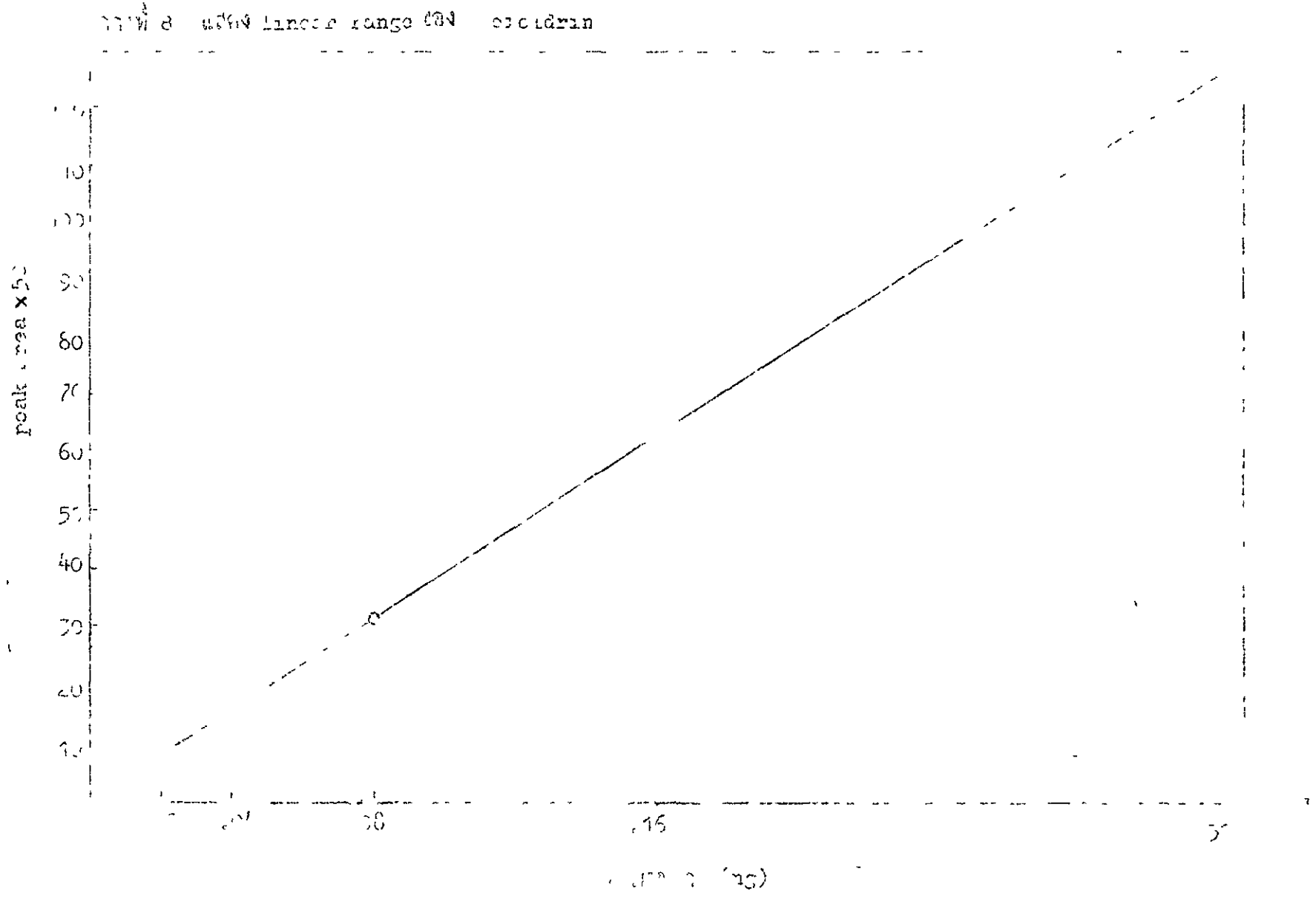
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

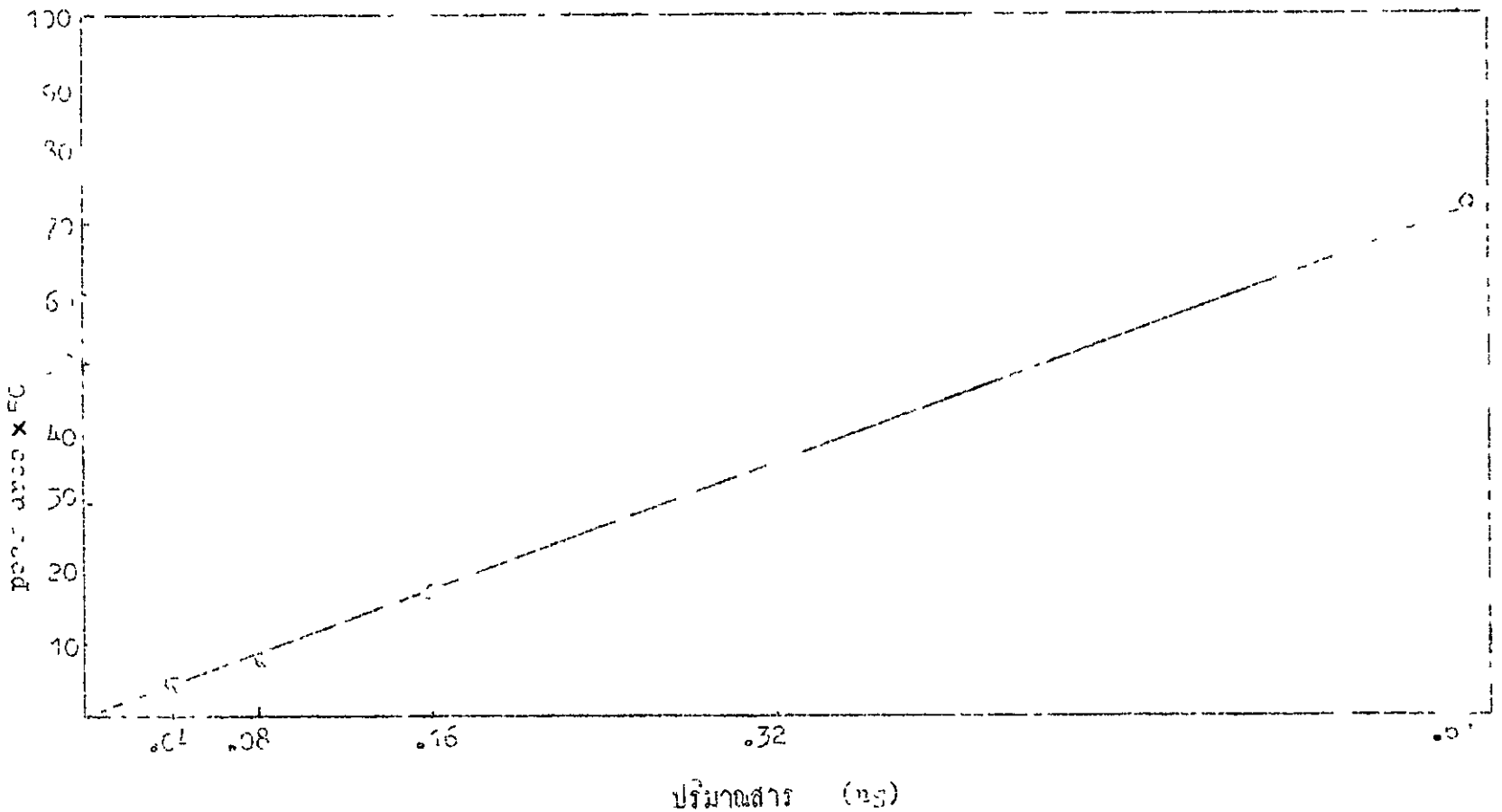
Standard curve ของยาฆ่าแมลง

ภาพที่ 7 แสดง linear range ของ aldrin




peak area x 50
80
70
60
50
40
30
20
10
20
15

ภาพที่ 9 แสดง linear r _ec หนึ่ง endr_a



ภาคผนวก ข.

การกำนวณปริมาณพิษตกค้าง

ตัวอย่างการคำนวณพิษตกค้างของ aldrin (Sample ซ้ำที่ 1 technical grade)

(1) น.น. ปลาที่ใช้ทำการสะกัด = 11.3453 g.

(2) ปริมาณ sample ที่สะกัดมาได้ = 20 ml.

(3) ดูดจาก (2) มา 50 μl ทำเป็น = 16 ml.

(4) ฉีดเข้า GLC โดยเอามาจาก (3) = 4 μl.

พ.ท. peak sample = 0.38 cm^2

พ.ท. peak ของ Standard .16 ng = 0.8175 cm^2

วิธีคำนวณ

พ.ท. 0.81675 cm^2 มีปริมาณสาร = 0.16 ng

พ.ท. 0.38 cm^2 มีปริมาณสาร = $\frac{0.16 \times 0.38}{0.81675}$ ng.

sample 4 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.16 \times 0.38}{0.81675}$ ng.

sample 16000 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.16 \times 0.38 \times 16000}{0.81675 \times 4}$ ng.

sample 50 μl มีปริมาณสาร $\frac{0.16 \times 0.38 \times 1600}{0.81675 \times 4}$ ng

sample 20000 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.16 \times 0.38 \times 16000 \times 20000}{0.81675 \times 4 \times 50}$

= 119106.21 ng.

= 119.10621 mg

∴ ปริมาณพิษตกค้างของ aldrin = $\frac{119.10621}{11.3454}$ ppm.

= 10.50 ppm.

ตัวอย่างการคำนวณพิษตกค้างของ dieldrin (sample ซ้ำที่ 3 technical grade)

(1) น.น. ปลาที่ใช้ทำการสะกัด = 13.6580 g.

(2) ปริมาณ sample ที่สะกัดมาได้ = 20 ml.

(3) ดูดจาก (2) มา 100 μl ทำเป็น = 20 ml.

(4) ฉีดเข้า GLC โดยเอามาจาก (3) = 4 μl

พ.ท. peak sample = 0.69 cm^2

พ.ท. peak ของ standard .08 ng = 0.63375 cm^2

วิธีคำนวณ

พ.ท. .63375 cm^2 มีปริมาณสาร = .08 ng.

พ.ท. .69 cm^2 มีปริมาณสาร = $\frac{.08 \times .69}{.63375}$ ng.

sample (3) 4 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.08 \times 0.69}{0.63375}$ ng

sample (3) 20000 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.08 \times 0.69 \times 20000}{0.63375 \times 4}$ ng.

sample(2) 100 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.08 \times 0.69 \times 20000}{0.63375 \times 4}$ ng.

sample (2) 20000 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.08 \times 0.69 \times 20000 \times 20000}{0.63375 \times 4 \times 100}$ ng.

= 87100.591 ng.

= 87.100591 μg.

∴ ปริมาณพิษตกค้างของ dieldrin = $\frac{87.100591}{13.6580}$ ppm.

= 6.38 ppm.

ตัวอย่างการคำนวณพิษตกค้างของ endrin (sample ซ้ำที่ 2 technical grade)

(1) น.น. ปลาที่ใช้ทำการสะกัด = 14.1848 g.

(2) ปริมาณ sample ที่สะกัดมาได้ = 20 ml.

(3) ดูดจาก (2) มา 1 ml. ทำเป็น = 10 ml.

(4) ฉีดเข้า GLC โดยเอามาจาก (3) = 4 μl

พ.ท. peak ของ sample = 0.4 cm^2

พ.ท. peak ของ standard .32 ng. = 0.356 cm^2

วิธีคำนวณ

พ.ท. .356 cm^2 มีปริมาณสาร = 0.32 ng.

พ.ท. .49 cm^2 มีปริมาณสาร = $\frac{0.32 \times 0.4}{0.356}$ ng.

sample 4 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.32 \times 0.4}{0.356}$ ng.

sample 10000 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.32 \times 0.4 \times 10000}{0.356 \times 4}$ ng.

sample 1000 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.32 \times 0.4 \times 10000}{0.356 \times 4}$ ng.

sample 20000 μl มีปริมาณสาร = $\frac{0.32 \times 0.4 \times 10000 \times 20000}{0.356 \times 4 \times 1000}$ ng

= 17977.528 ng.

= 17.977528 μg.

∴ ปริมาณพิษตกค้างของ endrin = $\frac{17.977528}{14.1848}$ ppm.

= 1.27 ppm.

ตารางที่ 22 แสดงปริมาณพิษตกค้างของ aldrin ในปลาที่ LC_{50}

ประเภท	sample ซ้ำที่	น.น.ปลา,g	พ.ท. peak ต่อ 4 μl, cm^2	ปริมาณพิษตกค้าง	
				μg	ppm.
techmical grade	1	11.3453	.3800	119.1062	10.50
	2	10.5930	.3660	114.7181	10.83
	3	11.6328	.3290	103.1209	8.86
commercial grade	1	12.8526	.2875	90.1133	7.01
	2	12.0016	.2611	81.8228	6.82
	3	12.5871	.3180	99.6731	7.92

ตารางที่ 23 แสดงปริมาณพิษตกค้างของ dieldrin ในปลาที่ LC_{50}

ประเภท	sample ซ้ำที่	น.น.ปลา,g	พ.ท. peak ต่อ 4 μl, cm^2	ปริมาณพิษตกค้าง	
				μg	ppm.
technical grade	1	14.8073	1.142	144.1578	9.74
	2	14.0107	.87	109.8225	7.84
	3	13.6580	.6900	87.1006	6.38
commercial grade	1	13.5783	.2126	26.8308	1.98
	2	14.4792	.4655	58.7613	4.06
	3	13.7379	.3900	49.2308	3.58

ตารางที่ 24 แสดงปริมาณพิษตกค้างของ endrin ในปลาที่ LC_{50}

ประเภท	sample ที่	น.น.ปลา,g	พ.ท. peak ที่ 4 μl, cm^2	ปริมาณพิษตกค้าง	
				μ g	ppm.
technical grade	1	16.7308	.5500	24.7191	1.48
	2	14.1848	.4000	17.9775	1.27
	3	10.2018	.1400	6.292	.62
commercial grade	1	14.7966	.3560	16.0000	1.08
	2	21.3018	.5735	25.7753	1.21
	3	16.9505	.4400	19.7753	1.17

ภาคผนวก ก.

การคำนวณค่าสถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูล

1.การเปรียบเทียบความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงประเภท technical grade กับ commercial grade โดยใช้ Chi-square ซึ่งมีสูตรโดยยึดการสร้างสำเร็จแบบ 2×2

	A	B	รวม
X	a	b	a b
Y	c	d	c d
รวม	a c	b d	

A แทนจำนวนปลาที่ตาย

B แทนจำนวนปลาที่ไม่ตาย

X แทนยาฆ่าแมลงประเภท technical grade

Y แทนยาฆ่าแมลงประเภท commercial grade

a แทนจำนวนปลาที่ตายของ technical grade

b แทนจำนวนปลาที่ไม่ตายของ technical grade

c แทนจำนวนปลาที่ตายของ commercial grade

d แทนจำนวนปลาที่ไม่ตายของ commercial grade

N แทนจำนวนปลาที่ใช้ทั้งหมดทั้งของ technical grade และ commercial grade

λ^2 แทนค่าของ Chi-square

$$\lambda^2 = \frac{N(ad-bc-N/2)^2}{(a+b)(a+c)(b+d)(c+d)}$$

การวิเคราะห์เปรียบเทียบความเป็นพิษของ Aldrin ประเภท technical grade เปรียบเทียบกับ commercial grade

	ตาย	ไม่ตาย	รวม
technical grade	100	110	210
commercial grade	141	69	210
รวม	214	179	420

$$\chi^2 = \frac{(|100 \times 69 - 110 \times 141| - \frac{420}{2})^2 \, 420}{210 \times 241 \times 179 \times 210}$$

$$= \frac{(|6900 - 15510| - 210)^2 \, 420}{210 \times 241 \times 179 \times 210}$$

$$= \frac{(8610 - 210)^2 \, 420}{210 \times 241 \times 179 \times 210}$$

$$= \frac{70560000 \times 420}{210 \times 241 \times 179 \times 210}$$

$$= 15.58$$

df = 1 .001 = 10.83 (เปิดตาราง Chi-square)

การวิเคราะห์เปรียบเทียบความเป็นพิษของ dieldrin ประเภท technical grade กับ commercial grade

	ตาย	ไม่ตาย	รวม
technical grade	48	132	180
commercial grade	87	93	180
รวม	135	225	360

$$\chi^2 = \frac{\left(\left|48 \times 93 - 132 \times 87\right| - \frac{360}{2}\right)^2 360}{135 \quad 225 \times 180 \times 180}$$

$$= \frac{\left(\left|4464 - 11484\right| - 180\right)^2 360}{135 \times 225 \times 180 \times 180}$$

$$= \frac{(7020 - 180)^2 360}{135 \times 225 \times 180 \times 180}$$

$$= \frac{46785600 \times 360}{135 \times 225 \times 180 \times 180}$$

$$= 17.114$$

df = 1 .001 = 10.83 (เปิดตาราง Chi-square)

การวิเคราะห์เปรียบเทียบความเป็นพิษของ endrin ประเภท technical grade กับ commercial grade

	ตาย	ไม่ตาย	รวม
technical grade	66	114	180
commercial grade	79	101	180
รวม	145	215	360

$$= \frac{(|66 \times 101 - 114 \times 79| - \frac{360}{2})^2 \, 360}{180 \times 145 \times 215 \times 180}$$

$$= \frac{(|6666 - 9006| - 180)^2 \, 360}{180 \times 145 \times 215 \times 180}$$

$$\frac{(2340 - 180)^2 \, 360}{180 \times 145 \times 215 \times 180}$$

$$= \frac{4665608 \times 360}{180 \times 145 \times 215 \times 180}$$

$$= 1.66$$

df = 1 .05 = 3.84 (เปิดตาราง Chi-square)

ภาคผนวก ง.

ผลการหาเปอร์เซนต์ recovery

ผลการทำ Recovery

ตารางที่ 25 แสดงเปอร์เซนต์ recovery ของ aldrin

ครั้งที่ ทำที่	ปริมาณที่ใส่ µg	ปริมาณที่ตรวจพบ µg	% recovery
1	10	9.000	90.00
2	10	8.800	88.00
3	10	8.658	86.58

ตารางที่ 26 แสดงเปอร์เซนต์ recovery ของ dieldrin

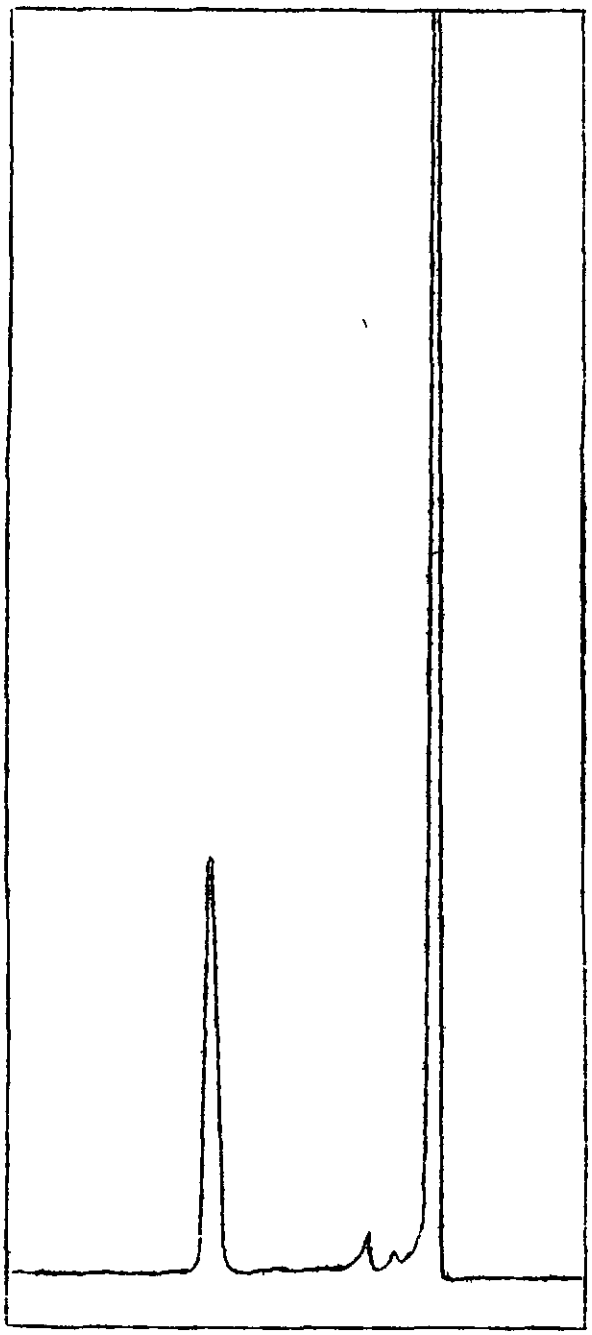
ครั้งที่ ทำที่	ปริมาณที่ใส่ µg	ปริมาณที่ตรวจพบ µg	% recovery
1	10	9.425	94.25
2	10	9.900	99.00
3	10	8.800	88.00

ตารางที่ 27 แสดงเปอร์เซนต์ recovery ของ endrin

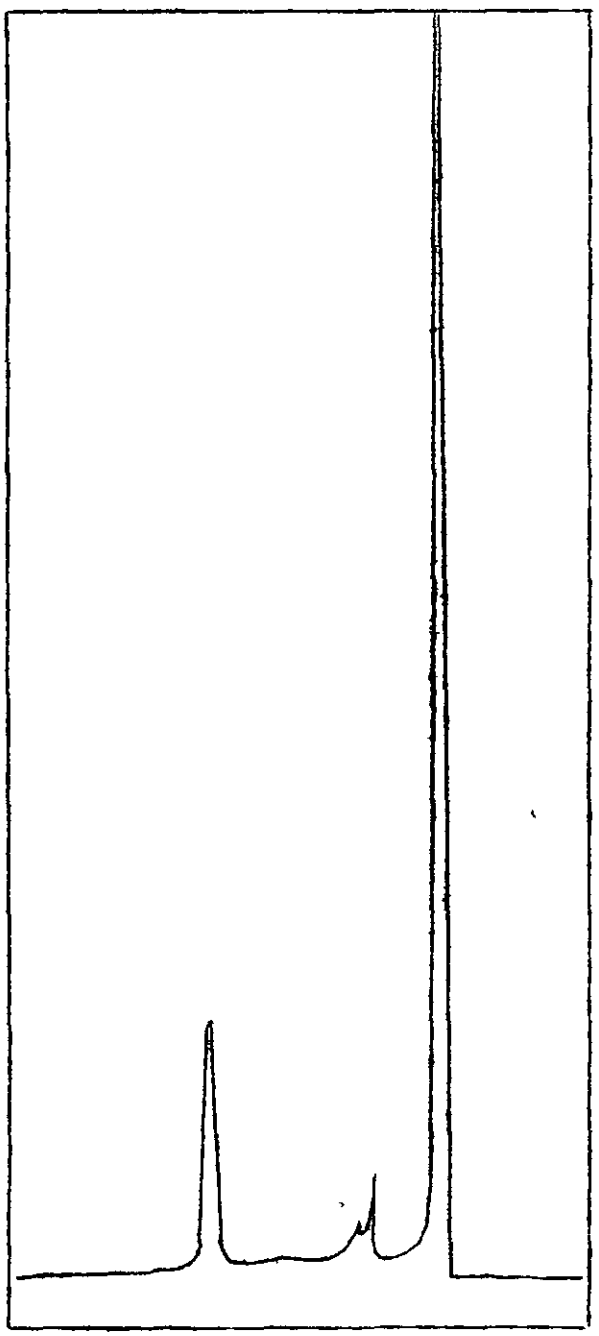
ครั้งที่ ทำที่	ปริมาณที่ใส่ µg	ปริมาณที่ตรวจพบ µg	% recovery
1	10	9.580	95.80
2	10	9.850	98.50
3	10	8.400	84.00

ภาคผนวก จ.

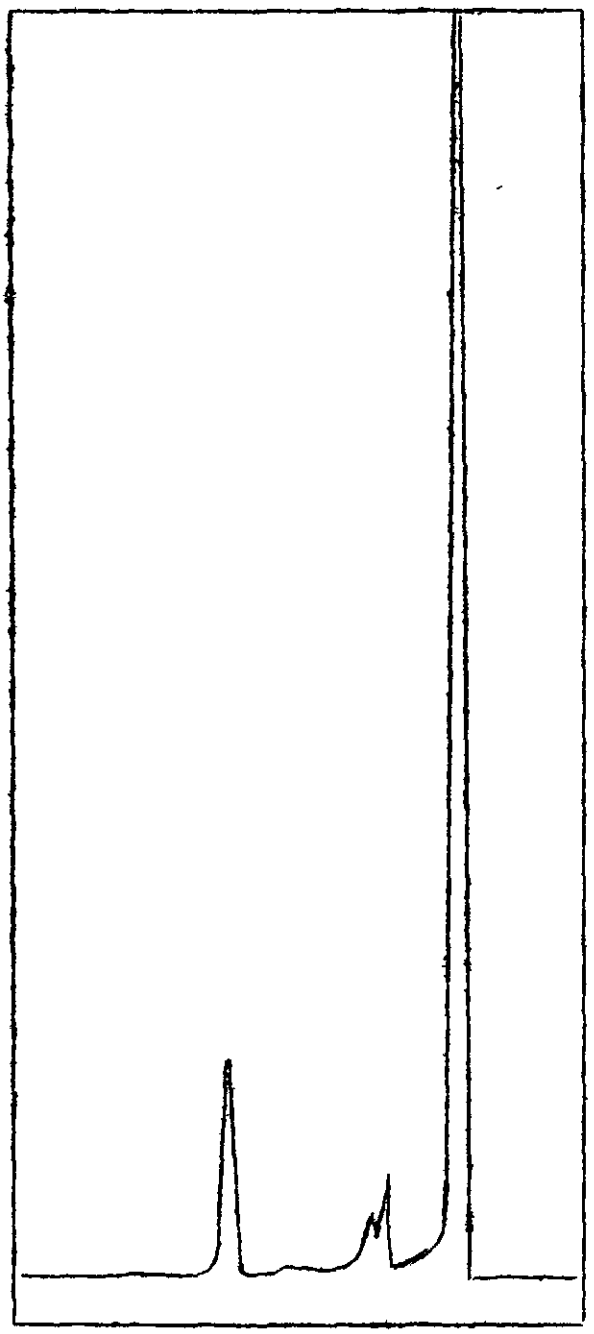
peak ของยาฆ่าแมลงที่ตกค้างอยู่ในปลา



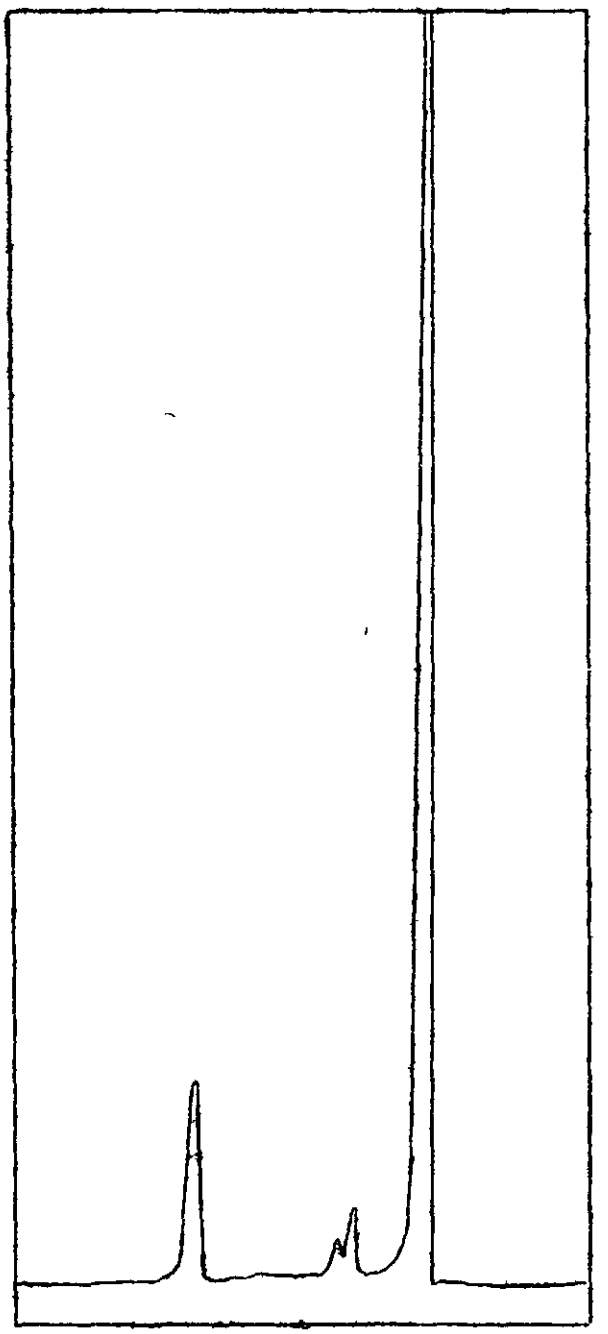
ภาพที่ 10 แสดง peak ของ standard aldrin ที่ความเข้มข้น .16 ng.



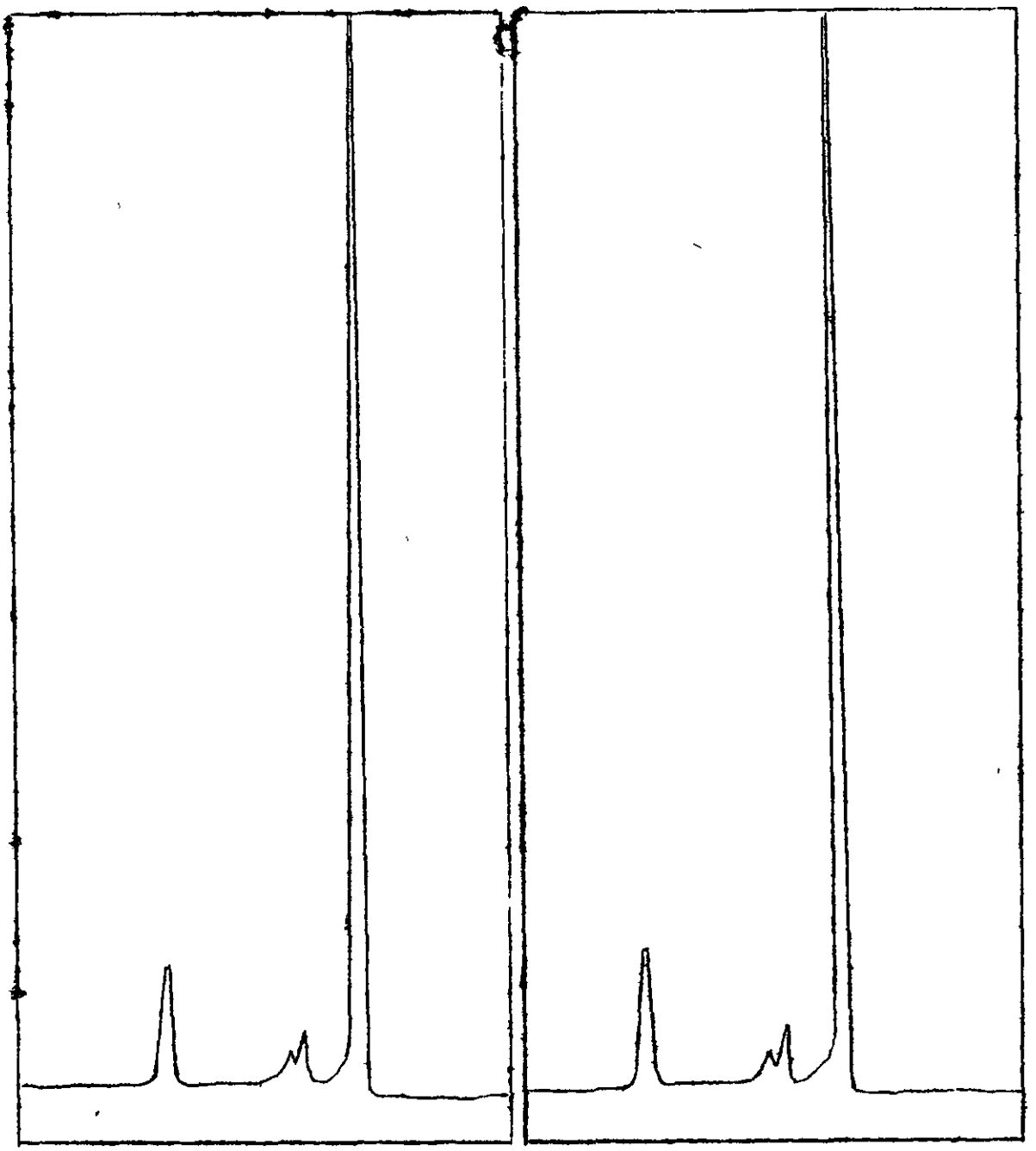
ภาพที่ 11 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical aldrin ซ้ำที่ 1



ภาพที่ 12 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical aldrin ชั้นที่ 2

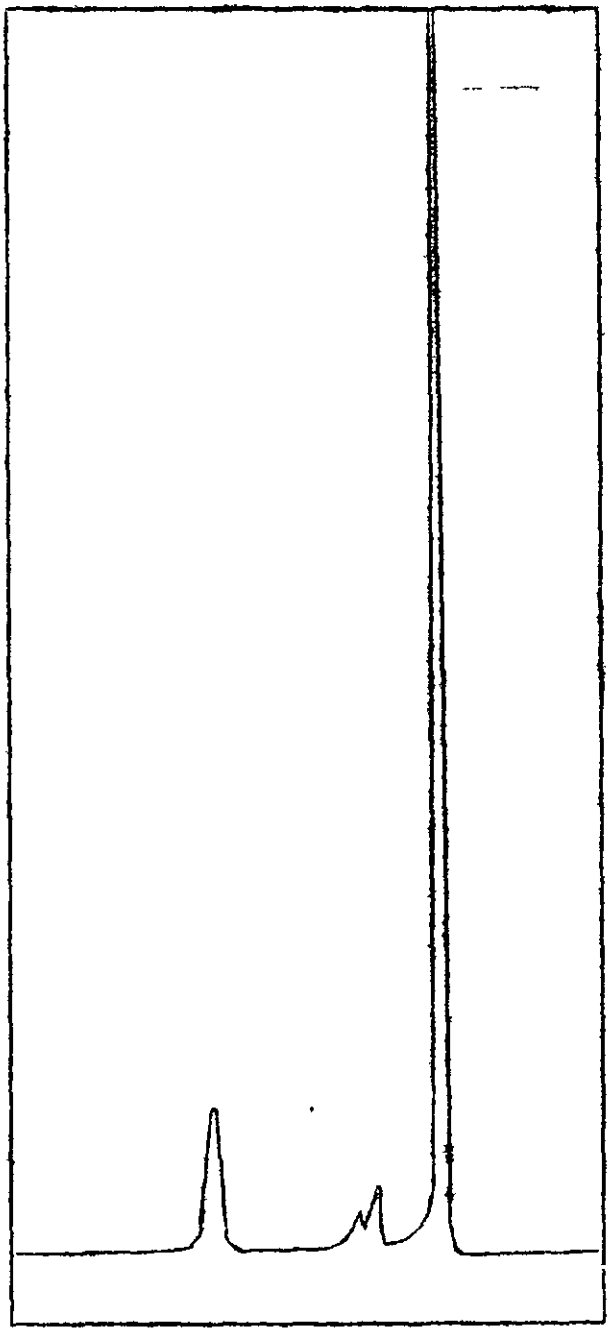


ภาพที่ 13 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical aldrin ชั้นที่ 3

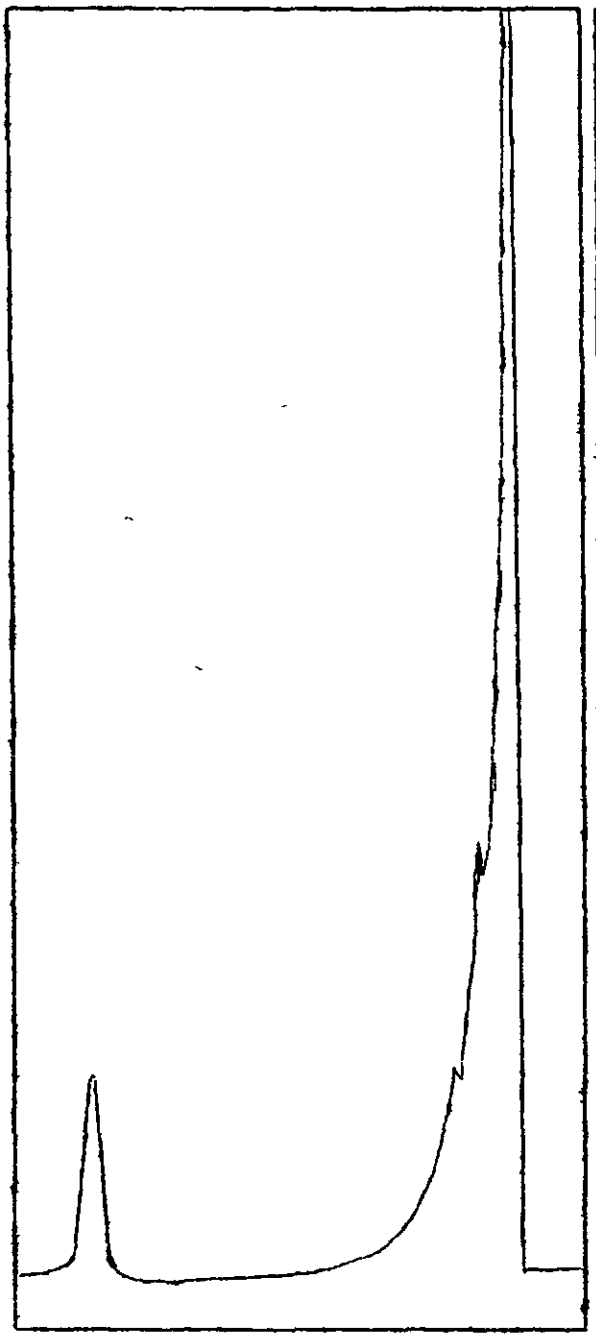


ภาพที่ 14 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial aldrin ซ้ำที่ 1

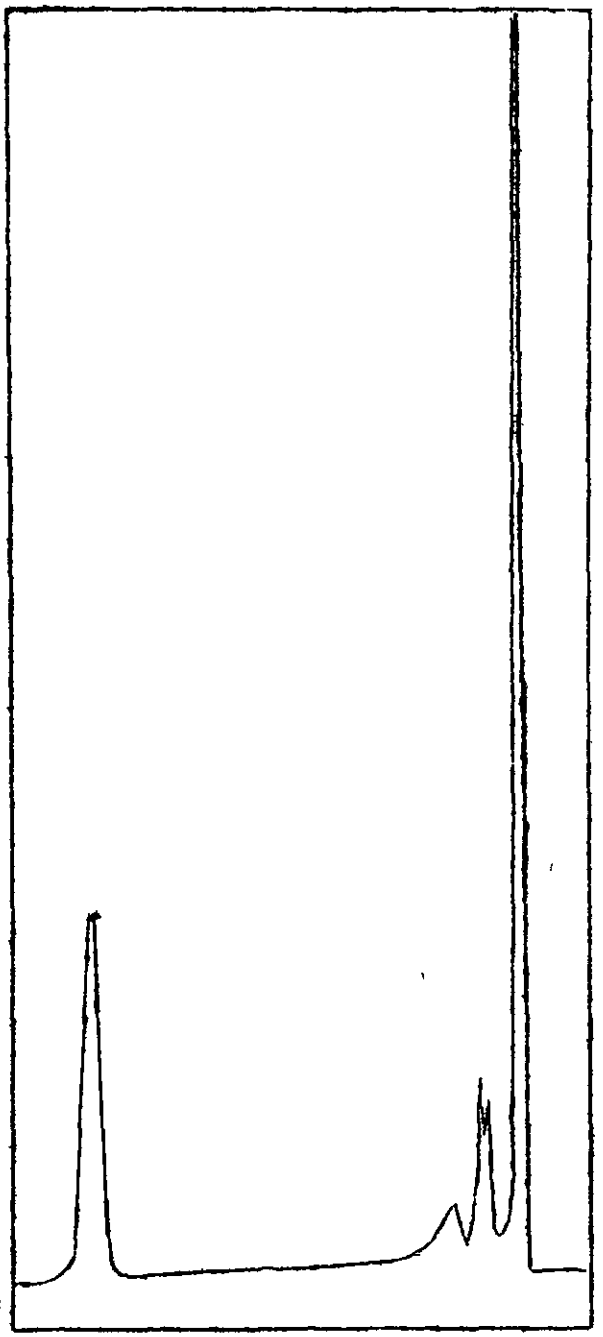
ภาพที่ 15 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial aldrin ซ้ำที่ 2



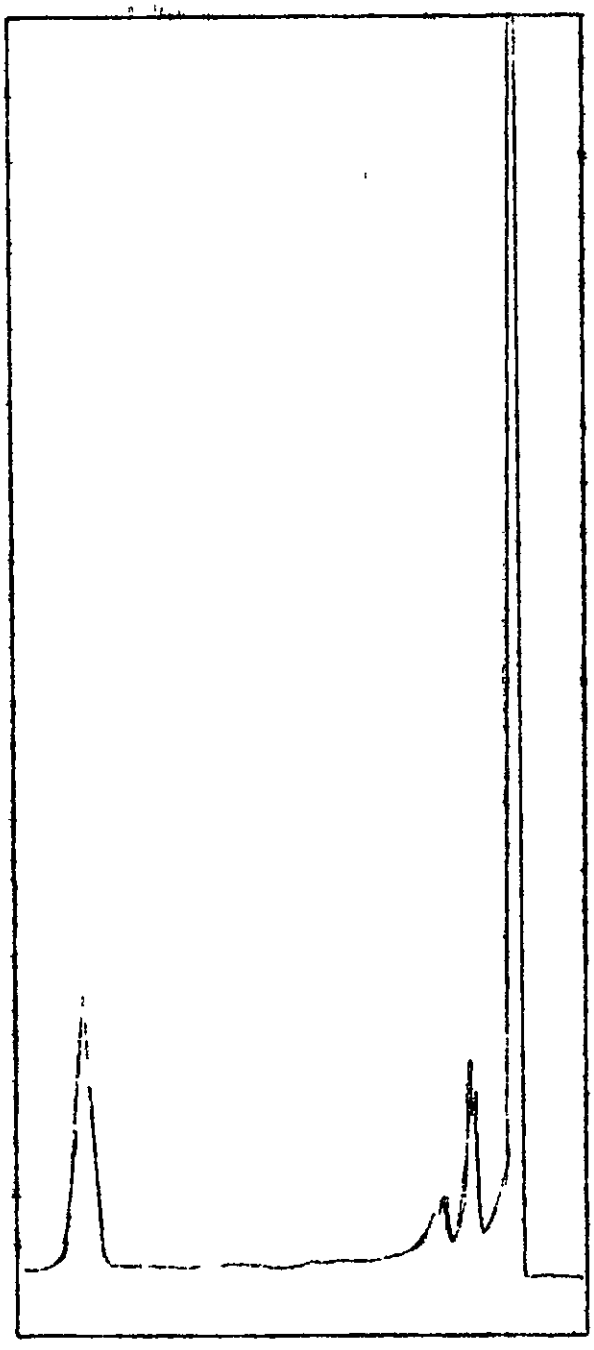
ภาพที่ ๓6 แสดง peak ปริมาณพิษตกค้างของ commercial aldrin ซ้ำที่ 3



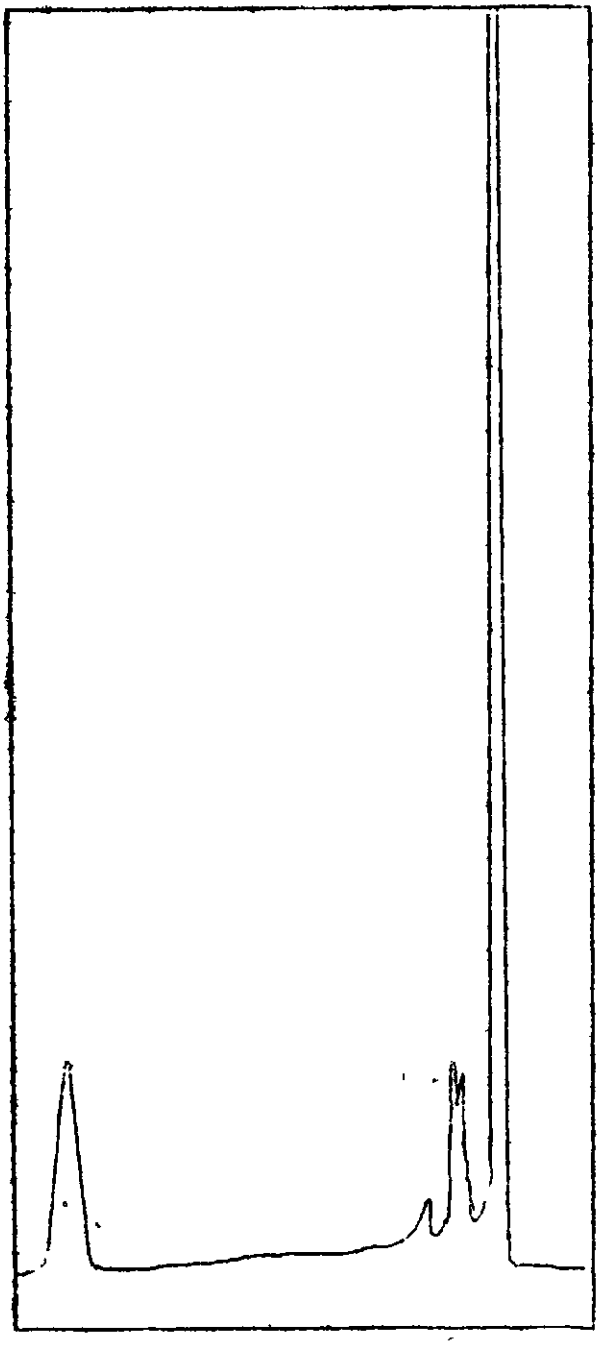
ภาพที่ 17 แสดง peak ของ standard dieldrin ที่ความเข้มข้น .08 ng.



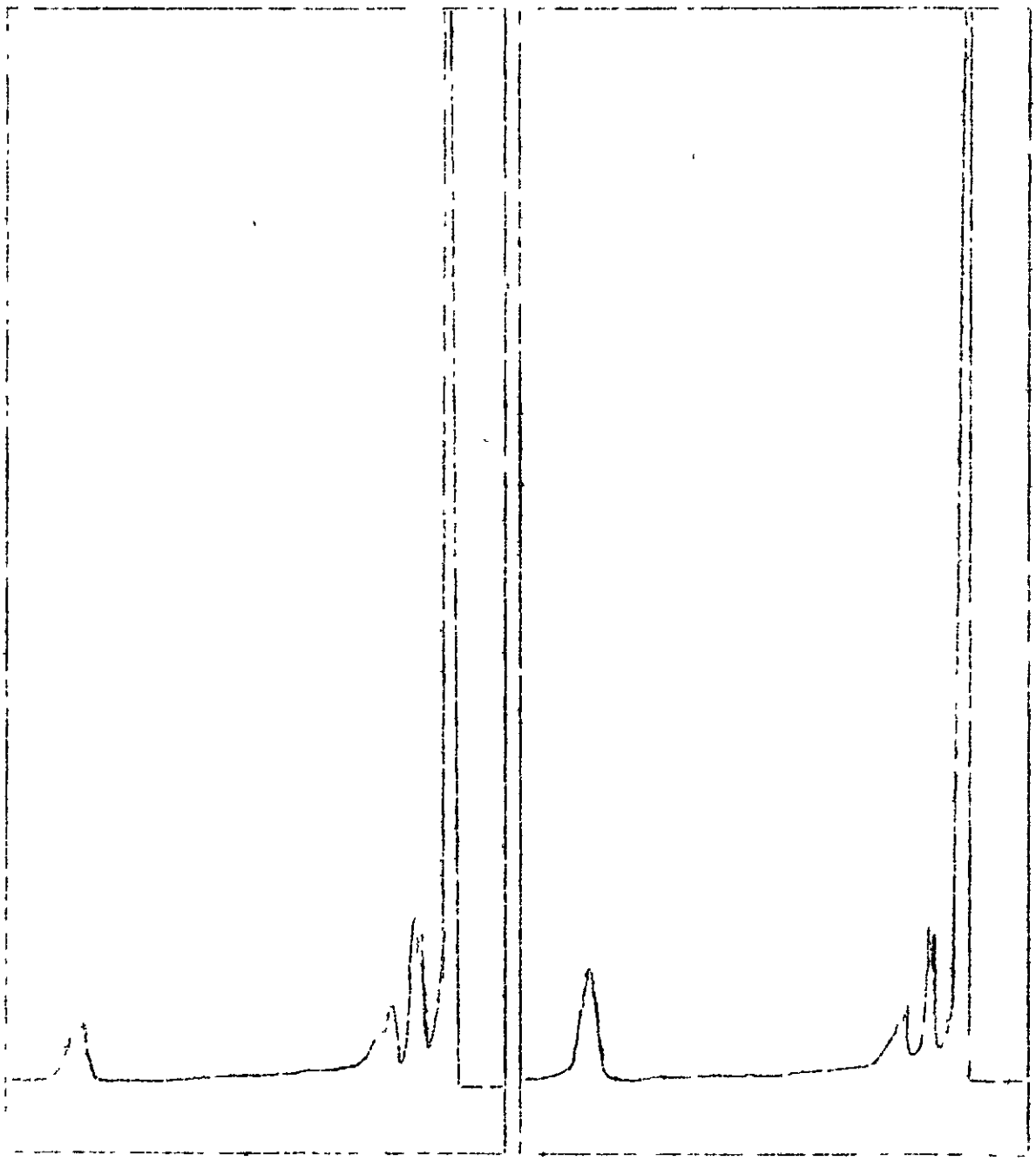
ภาพที่ 18 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical dieldrin ซ้ำที่ 1



ภาพที่ 19 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical dieldrin ชั้นที่ 2

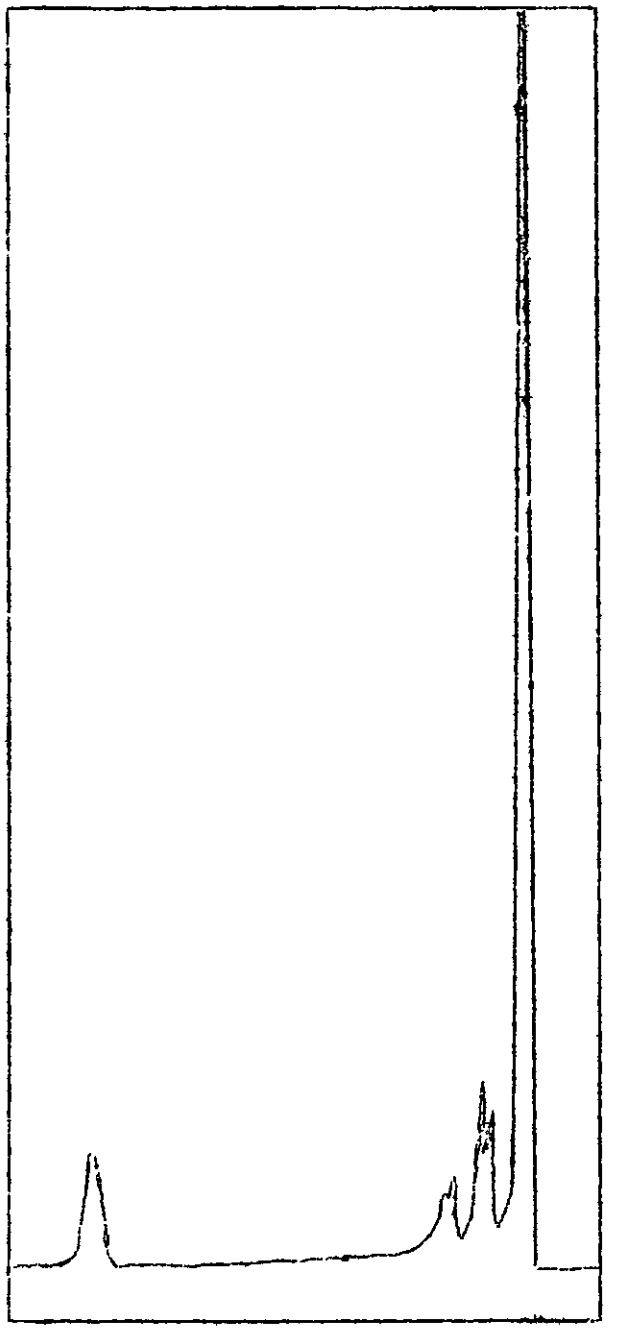


ภาพที่ 20 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical dieldrin ชั้นที่ 3

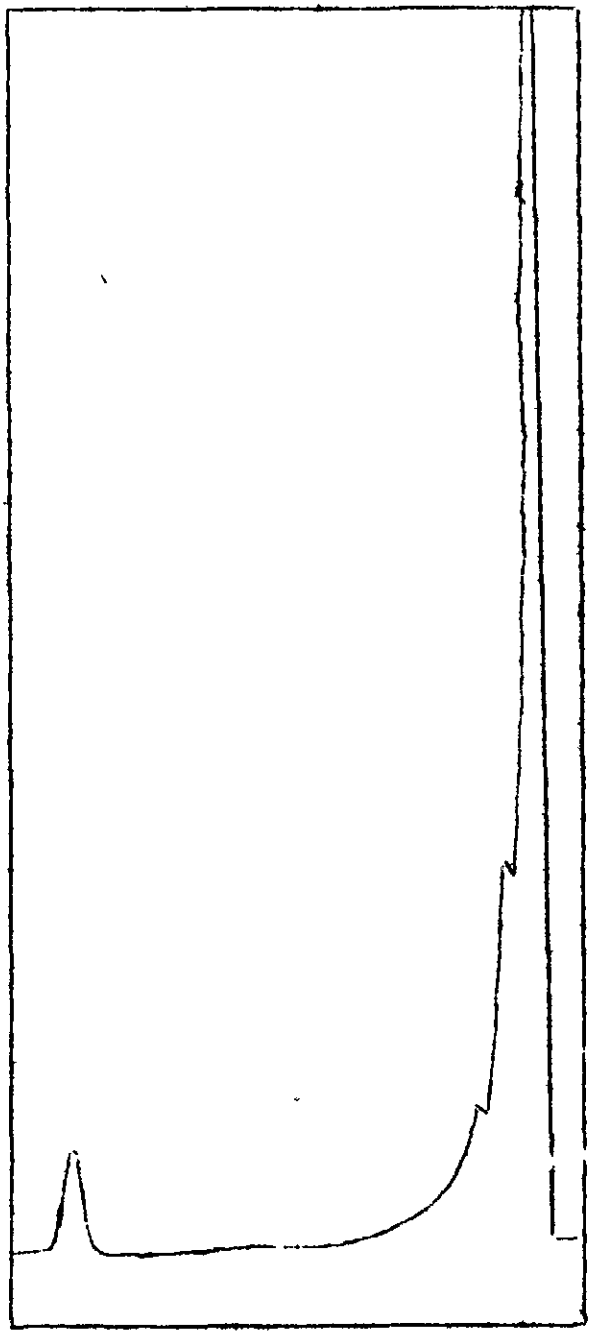


ภาพที่ 21 แสดง peak ของน้ำมากพิษจากท้างของ commercial cadlrin ซ้ำที่ 1

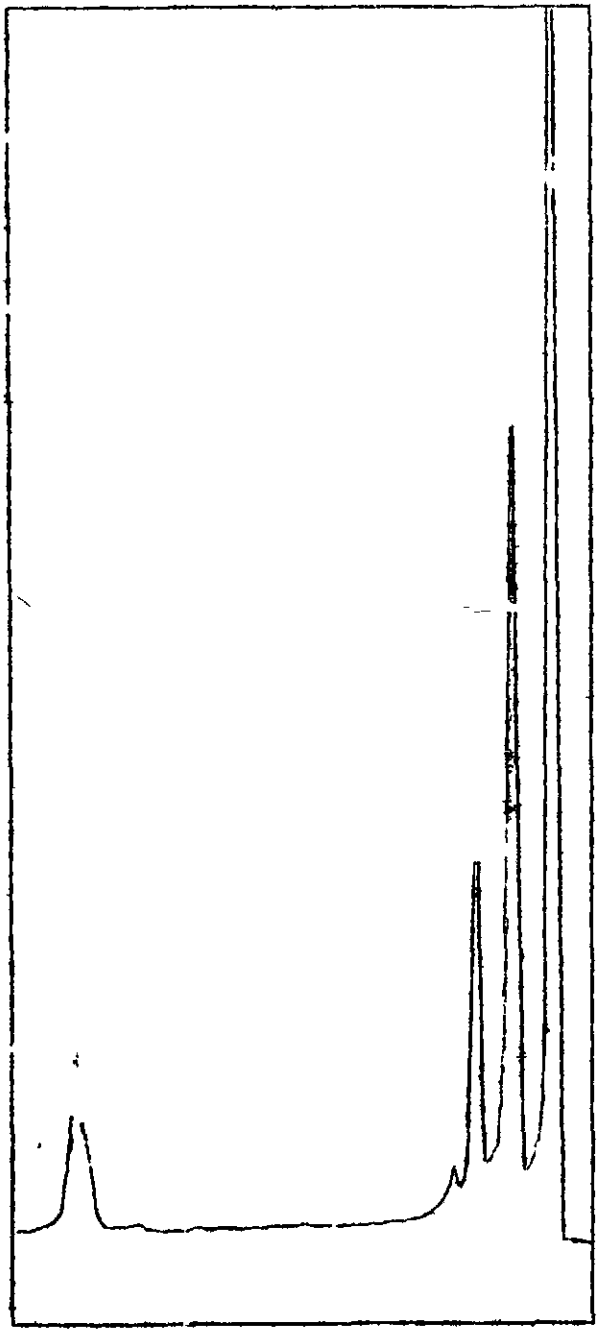
ภาพที่ 22 แสดง peak ของปริมาณ[illegible] commercial Gelbrin ซ้ำที่ 2



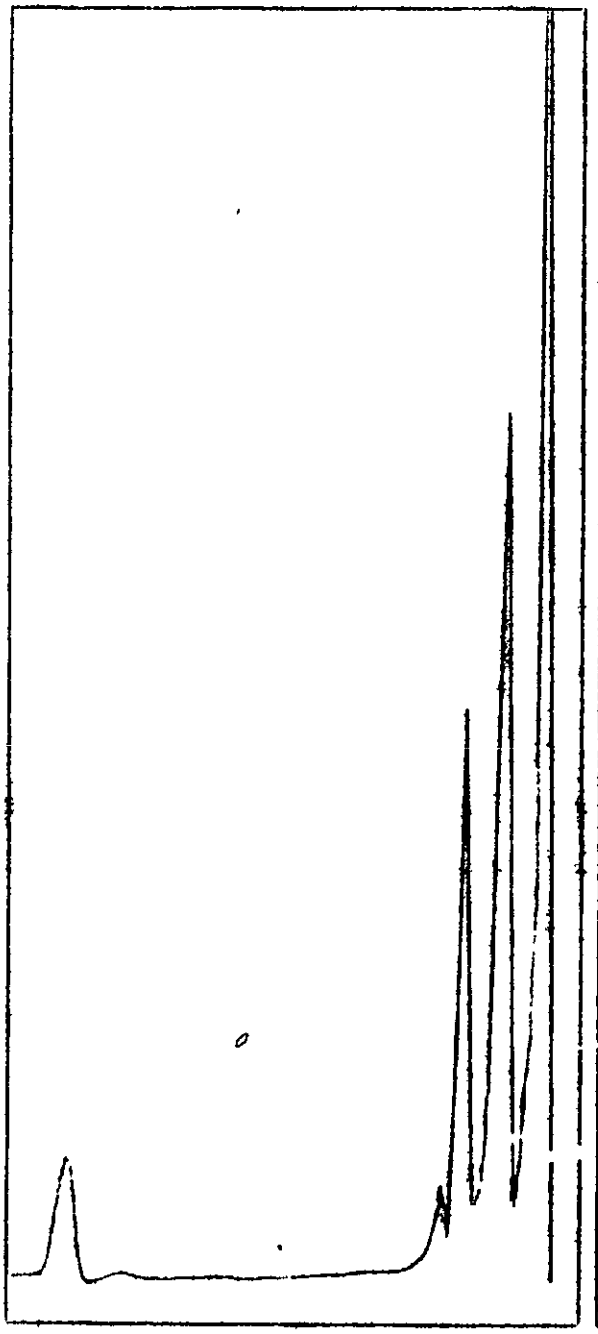
ภาพที่ 23 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้าง
ของ commercial dieldrin
ซ้ำที่ 3



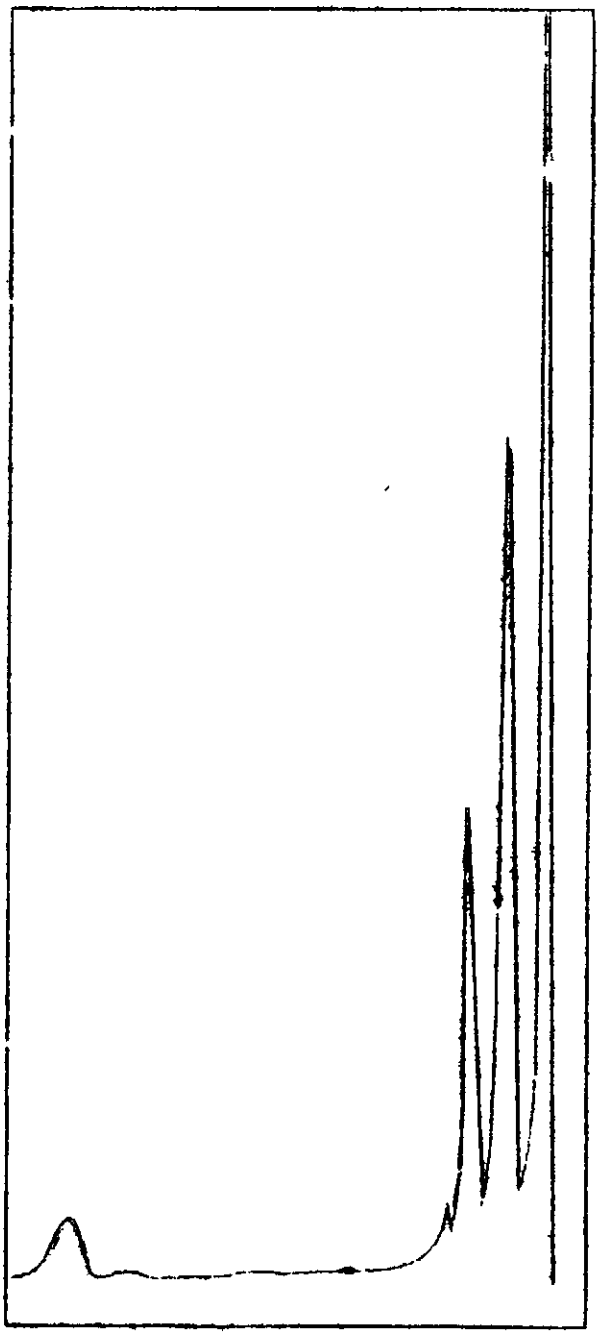
ภาพที่ 24 แสดง peak ของ standard endrin ที่ความเข้มข้น .32 ng.



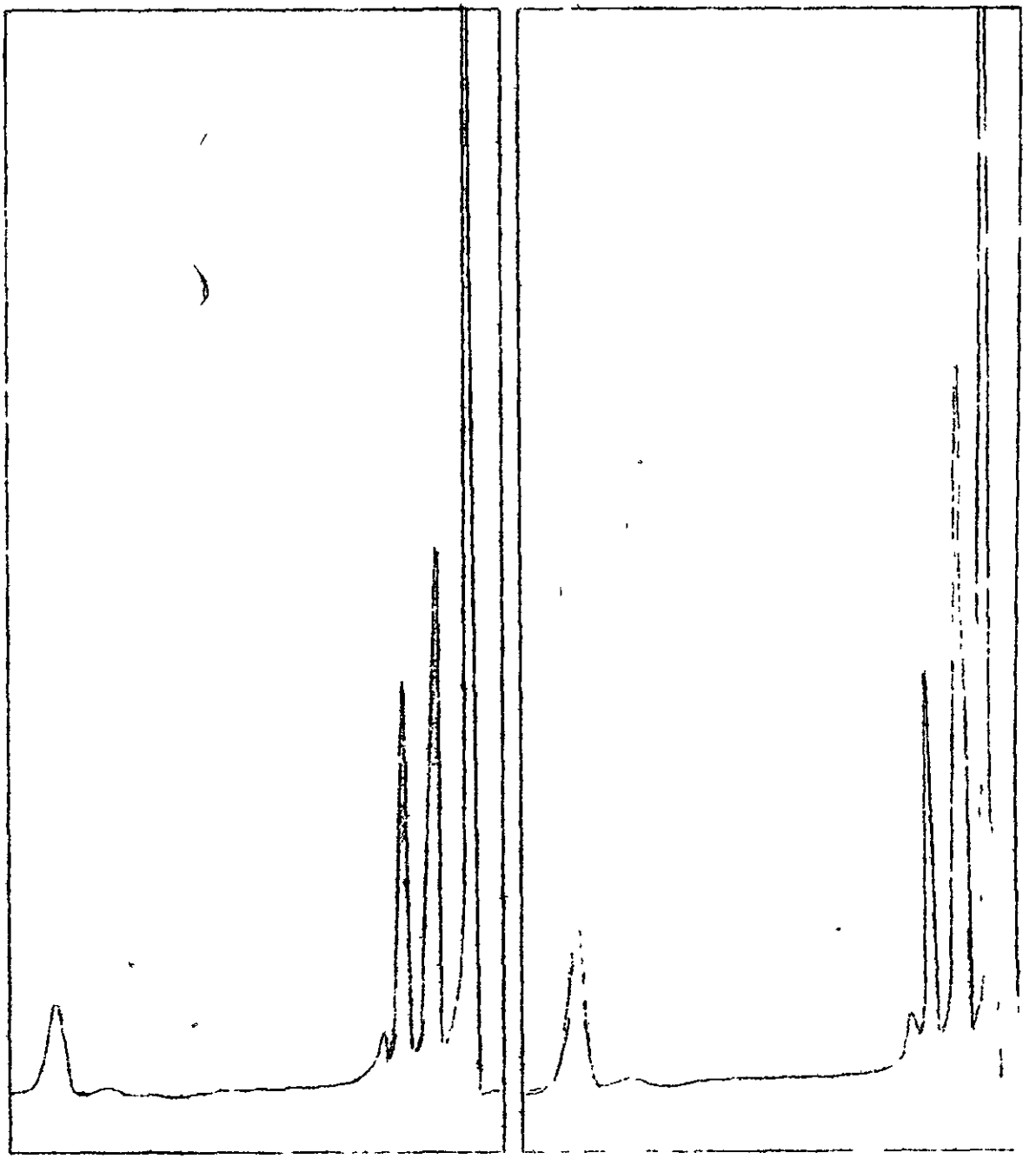
ภาพที่ 25 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้าง ของ technical endrin ซ้ำที่ 1



ภาพที่ 26 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical endrin ชั้นที่ 2

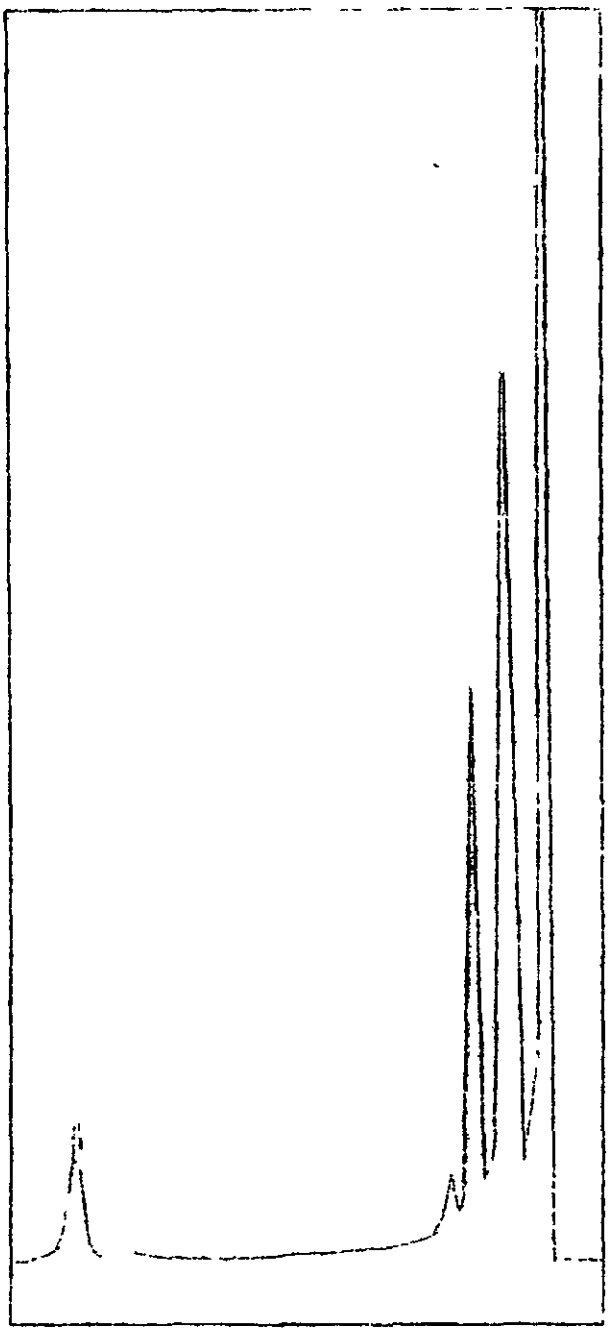


ภาพที่ 27 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ technical endrin ชั้นที่ 3



ภาพที่ 28 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้างของ commercial endrin ซ้ำที่ 1

ภาพที่ 29 แสดง peak ปริมาณพิษตกค้างของ commercial endrin ซ้ำที่ 2



ภาพที่ 30 แสดง peak ของปริมาณพิษตกค้าง
ของ commercial endrin
ซ้ำที่ 3