

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

ภาคผนวก ก  
การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

### การทดสอบระดับความเป็นพิษ (Toxicity Test)

การทดสอบระดับความเป็นพิษแบบกึ่งเฉียบพลัน (Subacute Toxicity) เพื่อศึกษาปริมาณความเข้มข้นของสารที่ทำให้ปลาตาย 50% (Lethal Concentration Fifty:  $LC_{50}$ ) ในเวลา 96 ชั่วโมง ( $LD_{50}$  96-hr) มีขั้นตอนดังนี้

1. ละลายสารประกอบฟิเอเอชแต่ละชนิด ด้วยอะซิโตนในไตรท์ อัตราส่วน 0.2 มิลลิลิตรต่อลิตร (คัดแปลงมาจาก Jonsson et al., 2004)
2. เทสารประกอบฟิเอเอชที่ละลายด้วยอะซิโตนในไตรท์ ลงในตู้ที่เลี้ยงปลานิลไว้ ซึ่งการทดสอบระดับความเป็นพิษในครั้งนี้จะใช้ปลานิลไม่ต่ำกว่า 10 ตัวต่อกลุ่ม ขนาด และปริมาณสารเคมีที่ใช้จะมากกว่า 3 ขนาด
3. นำค่าที่ได้ไปทำการกราฟเพื่อหาค่า  $LD_{50}$  96-hr และค่า NOEL

### การสกัดตัวอย่าง

การสกัดตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ระดับปฏิกิริยา EROD และการวิเคราะห์โปรตีนในตับของปลา คัดแปลงมาจากวิธีของ ICES. (1998) ซึ่งคัดแปลงมาจาก Burke & Mayer (1974)

ตารางที่ 27 สารละลายที่ใช้ในการสกัดตัวอย่าง (Homogenizing Buffer) สำหรับการวิเคราะห์ระดับปฏิกิริยา EROD และการวิเคราะห์โปรตีนในตับของปลา

| สารเคมี                                | Concentration |
|----------------------------------------|---------------|
| $K_2HPO_4 / KH_2PO_4$ (pH 7.5)         | 100 mM        |
| Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) | 1 mM          |
| Dithiothreitol                         | 1 mM          |
| KCl                                    | 150 mM        |
| Distilled Water (น้ำกลั่น)             |               |

### วิธีการเตรียม Homogenizing buffer

ชั่ง  $K_2HPO_4 / KH_2PO_4$  (pH 7.5) 17.42 / 13.61 กรัม, Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) 0.2923 กรัม, Dithiothreitol 0.1543 กรัม และ KCl 11.1825 กรัม ผสมให้เข้ากันในสภาพที่เป็นของแข็ง ละลายด้วยน้ำกลั่นเพียงเล็กน้อยแล้วกววนให้เข้ากัน จากนั้นค่อย ๆ เติมน้ำกลั่นลงไปปรับจนได้ปริมาตร 1 ลิตร เก็บสารละลายไว้ในขวดสีชา

## การวิเคราะห์

### 1. การวิเคราะห์ระดับของปฏิกิริยา EROD ในตับ

ตารางที่ 28 สารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ระดับปฏิกิริยา EROD ในตับ คัดแปลงมาจากวิธีของ ICES. (1991) ซึ่งดัดแปลงมาจาก Burke & Mayer (1974)

| สารเคมี                                                                                | Concentration |
|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Tris-NaCl (TN) Buffer<br>(102 mM $K_2HPO_4$ / 102 mM $KH_2PO_4$ (pH 7.5) + 102 mM KCl) | 102 mM        |
| Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (NADPH)                                    | 100 mM        |
| 7-Ethoxyresorufin ละลายใน Dimethylsulphoxide (DMSO)                                    | 0.4 mM        |
| Distilled Water (น้ำกลั่น)                                                             |               |

#### วิธีการเตรียม

##### 1. Tris-NaCl (TN) buffer

ละลาย  $K_2HPO_4$  /  $KH_2PO_4$  (pH 7.5) 17.77/13.88 กรัม และ KCl 7.60 กรัม ในน้ำกลั่น เพียงเล็กน้อยละลายให้เข้ากันดีแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดสีชา

##### 2. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)

ละลาย NADPH 83.34 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

##### 3. 7-Ethoxyresorufin

ละลาย 7-Ethoxyresorufin 0.0965 กรัม ใน DMSO 500 ml ละลายให้เข้ากันดีแล้วปรับปริมาตรด้วย DMSO จนครบ 1 ลิตร เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดสีชา

ข้อควรระวัง เนื่องจากการวิเคราะห์ระดับปฏิกิริยา EROD ในตับ ทำการวิเคราะห์ใน Micro Titer Plate จึงใช้ปริมาตรสารละลายเพียงเล็กน้อยเวลาเตรียมสารละลายควรเตรียมในปริมาตรน้อย ๆ การตรวจวัดระดับปฏิกิริยา EROD ในตับ โดยวัดจากการเรืองแสง และเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย Resorufin มีวิธีการดังนี้

### วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Resorufin

ละลาย Resorufin Standards 0.0188 กรัม ใน 0.1 M ของ Phosphate Buffer หรือ 0.1 M ของ NaCl (ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ 0.1 M ของ NaCl เตรียมโดยละลาย NaCl 5.8 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร) ปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร จะได้เป็น Stock Resorufin เข้มข้น 80  $\mu\text{M}$

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Resorufin ให้มีความเข้มข้น 20  $\mu\text{M}$  โดยการดูด Stock Resorufin เข้มข้น 80  $\mu\text{M}$  มา 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย 0.1 M ของ NaCl จนครบ 1 ลิตร จะได้เป็น Stock Resorufin เข้มข้น 20  $\mu\text{M}$  สำหรับการทำการฟลูออโรเมตริกมาตรฐานนำสารละลายมาตรฐาน Resorufin ที่มีความเข้มข้น 20  $\mu\text{M}$  มาเจือจางโดย Tris-NaCl (TN) Buffer ให้มีความเข้มข้นอย่างน้อย 9 ระดับ ในช่วง 0-20  $\mu\text{M}$  โดยใช้สูตรการคำนวณ  $N_1V_1 = N_2V_2$  เจือจางสารมาตรฐาน Resorufin ให้ได้ความเข้มข้นดังนี้

ตารางที่ 29 สารละลายมาตรฐาน Resorufin ดัดแปลงมาจากวิธีของ ICES. (1991) ซึ่งดัดแปลงมาจาก Burke & Mayer (1974)

| Final amount per Well (pmol) | Concentration ( $\mu\text{M}$ ) | vol. of 20 $\mu\text{M}$ Stock ( $\mu\text{l}$ ) | vol. of 20 $\mu\text{M}$ Buffer ( $\mu\text{l}$ ) |
|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 50                           | 5                               | 250.00                                           | 750.00                                            |
| 25                           | 2.5                             | 125.00                                           | 875.00                                            |
| 5                            | 0.5                             | 25.00                                            | 975.00                                            |
| 2                            | 0.2                             | 10.00                                            | 990.00                                            |
| 1                            | 0.1                             | 5.00                                             | 995.00                                            |
| 0.5                          | 0.05                            | 2.50                                             | 997.50                                            |
| 0.2                          | 0.02                            | 1.00                                             | 999.00                                            |
| 0.1                          | 0.01                            | 0.50                                             | 999.50                                            |
| 0.05                         | 0.005                           | 0.25                                             | 999.75                                            |

### 2. การวิเคราะห์โปรตีนในตับ

ดัดแปลงมาจากวิธีของ Bradford Protein Assay (1998) โดยใช้ BCA Protein Assay Reagent Kit กราฟมาตรฐาน โปรตีนของ Bovine Serum Albumin (BSA) ที่ความเข้มข้นในช่วง 0-0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

### วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐานโปรตีนของ Bovine Serum Albumin (BSA)

1. เจือจางโปรตีนของ Bovine Serum Albumin (BSA) ให้มีความเข้มข้น 1

มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการดูดโปรตีนของ Bovine Serum Albumin (BSA) เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มา 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร จะได้เป็นโปรตีนของ Bovine Serum Albumin (BSA) ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทำการหาปริมาณโปรตีนของ Bovine Serum Albumin (BSA)

2. นำโปรตีนของ Bovine Serum Albumin (BSA) ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ

มิลลิลิตร มาเจือจางโดยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นอย่างน้อย 6 ระดับ ในช่วง 0-0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้สูตรการคำนวณ  $N_1 V_1 = N_2 V_2$  เพื่อเจือจางสารมาตรฐานโปรตีนของ Bovine Serum Albumin (BSA) ให้ได้ความเข้มข้นดังนี้

ตารางที่ 30 สารมาตรฐานโปรตีนของ Bovine Serum Albumin (BSA) ดัดแปลงมาจากวิธีของ Bradford Protein Assay (1998)

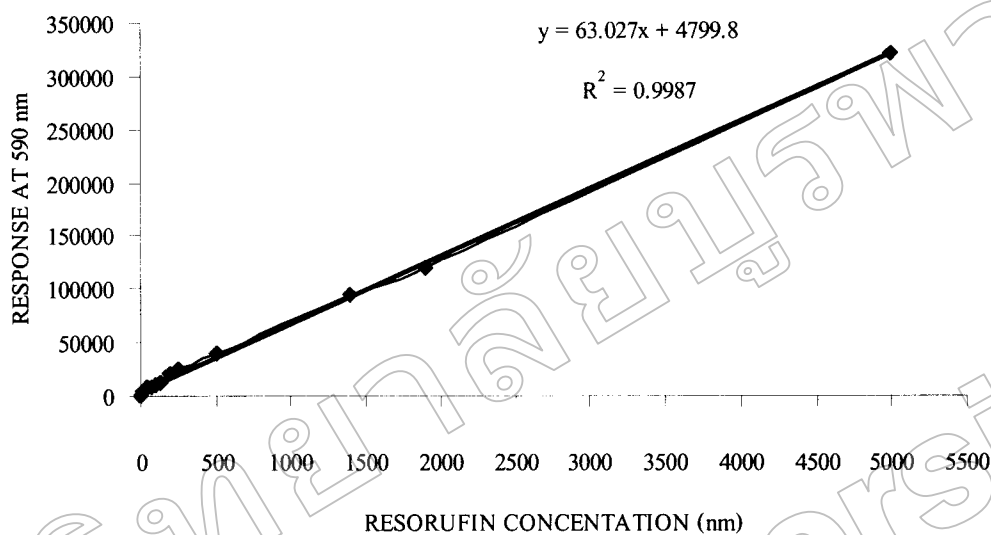
| BSA (mg/ml) | BSA ( $\mu$ l) from Stock 1 mg/ml | Distilled Water ( $\mu$ l) |
|-------------|-----------------------------------|----------------------------|
| 0           | 0                                 | 100                        |
| 0.1         | 10                                | 90                         |
| 0.2         | 20                                | 80                         |
| 0.4         | 40                                | 60                         |
| 0.6         | 60                                | 40                         |
| 0.8         | 80                                | 20                         |

ข้อควรระวัง เนื่องจากการวิเคราะห์โปรตีนในตัวอย่างต้องทำการเจือจางก่อนทำการตรวจวัด เลือกใช้หลอดแบบ Y shap เพื่อเป็นการประหยัดสารเคมี และอาจต้องมีการเจือจางเพื่อลดความเข้มข้นลงให้อยู่ช่วงที่สามารถตรวจวัดได้แล้วทำการคำนวณกลับ

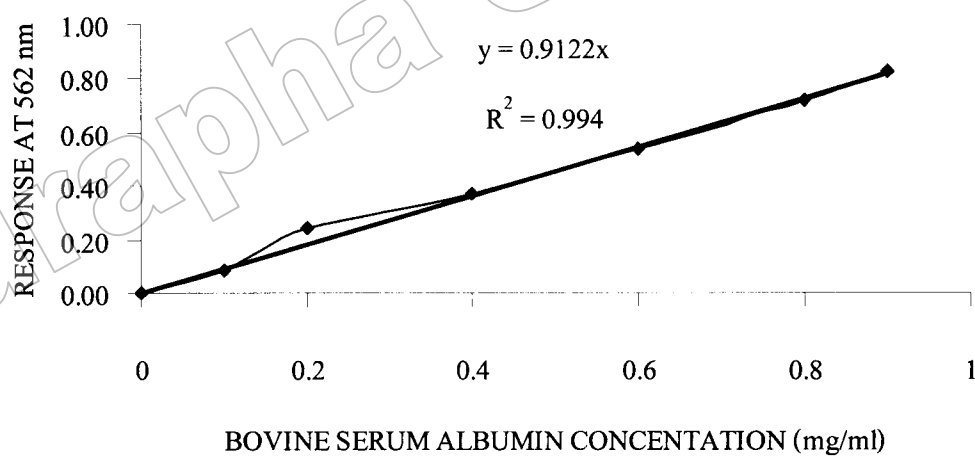
มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

ภาคผนวก ข  
กราฟมาตรฐาน

## กราฟมาตรฐาน



ภาพที่ 50 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลาย Resorufin



ภาพที่ 51 แสดงกราฟมาตรฐานโปรตีนของ Bovine Serum Albumin (BSA)



ภาคผนวก ค  
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

## การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. การทดสอบความแตกต่างของระดับการเรืองแสงของฟิเอเอซเมตาบอไลต์ในน้ำดีของปลา ระหว่างกลุ่มควบคุมที่เติมด้วยอะซิโตนในไตรท์ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมอะซิโตนในไตรท์

### 1.1 แนนพาทินเมตาบอไลต์ในน้ำดี

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Bile metabolite

| Source          | Type I Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|-----------------|-----------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model | 5.291 <sup>a</sup>    | 5  | 1.058       | 1.956  | .268 |
| Intercept       | 15.203                | 1  | 15.203      | 28.102 | .006 |
| TIMES           | 2.764                 | 4  | .691        | 1.277  | .409 |
| CONTROL         | 2.527                 | 1  | 2.527       | 4.671  | .097 |
| Error           | 2.164                 | 4  | .541        |        |      |
| Total           | 22.658                | 10 |             |        |      |
| Corrected Total | 7.455                 | 9  |             |        |      |

a. R Squared = .710 (Adjusted R Squared = .347)

### 1.2 ฟีนานทรินเมตาบอไลต์ในน้ำดี

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Bile metabolite

| Source          | Type I Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|-----------------|-----------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model | 21.793 <sup>a</sup>   | 5  | 4.359       | .837   | .584 |
| Intercept       | 62.617                | 1  | 62.617      | 12.030 | .026 |
| TIMES           | 18.249                | 4  | 4.562       | .876   | .549 |
| CONTROL         | 3.544                 | 1  | 3.544       | .681   | .456 |
| Error           | 20.820                | 4  | 5.205       |        |      |
| Total           | 105.230               | 10 |             |        |      |
| Corrected Total | 42.614                | 9  |             |        |      |

a. R Squared = .511 (Adjusted R Squared = -.099)

### 1.3 ไพรีนเมตาบอไลต์ในน้ำดี

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Bile metabolite

| Source          | Type I Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|-----------------|-----------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model | 6.099 <sup>a</sup>    | 5  | 1.220       | 4.848   | .076 |
| Intercept       | 40.294                | 1  | 40.294      | 160.132 | .000 |
| TIMES           | 1.865                 | 4  | .466        | 1.853   | .282 |
| CONTROL         | 4.234                 | 1  | 4.234       | 16.825  | .015 |
| Error           | 1.007                 | 4  | .252        |         |      |
| Total           | 47.399                | 10 |             |         |      |
| Corrected Total | 7.106                 | 9  |             |         |      |

a. R Squared = .858 (Adjusted R Squared = .681)

2. การทดสอบความแตกต่างของระดับ EROD ในตับของปลา ระหว่างกลุ่มควบคุมที่เติมด้วยอะซิโตนในไตรท์ 0.2 มิลลิตรต่อลิตร และกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมอะซิโตนในไตรท์

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: EROD activity

| Source          | Type I Sum of Squares  | df | Mean Square | F       | Sig. |
|-----------------|------------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model | 7.734E-03 <sup>a</sup> | 5  | 1.547E-03   | 1.832   | .171 |
| Intercept       | .205                   | 1  | .205        | 242.891 | .000 |
| TIMES           | 7.725E-03              | 4  | 1.931E-03   | 2.288   | .111 |
| CONTROL         | 8.450E-06              | 1  | 8.450E-06   | .010    | .922 |
| Error           | 1.182E-02              | 14 | 8.441E-04   |         |      |
| Total           | .225                   | 20 |             |         |      |
| Corrected Total | 1.955E-02              | 19 |             |         |      |

a. R Squared = .396 (Adjusted R Squared = .180)

3. การทดสอบความแตกต่างของสัดส่วนระหว่างน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว (%LSI) ของปลา ระหว่างกลุ่มควบคุมที่เติมด้วยอะซิโตนในไตรท์ 0.2 มิลลิตรต่อลิตร และกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมอะซิโตนในไตรท์

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: %LSI

| Source          | Type I Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|-----------------|-----------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model | .279 <sup>a</sup>     | 5  | 5.573E-02   | 2.865   | .165 |
| Intercept       | 10.899                | 1  | 10.899      | 560.378 | .000 |
| TIMES           | .215                  | 4  | 5.366E-02   | 2.759   | .175 |
| CONTROL         | 6.400E-02             | 1  | 6.400E-02   | 3.290   | .144 |
| Error           | 7.780E-02             | 4  | 1.945E-02   |         |      |
| Total           | 11.256                | 10 |             |         |      |
| Corrected Total | .356                  | 9  |             |         |      |

a. R Squared = .782 (Adjusted R Squared = .509)

4. การทดสอบความแตกต่างของระยะเวลา และความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอล  
แต่ละชนิดต่อการเรียงแสงของฟีนอลเมตาบอไลต์ในน้ำดีของปลา

#### 4.1 แนพทาลิน (แนพทาลินเมตาบอไลต์ในน้ำดี)

##### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Bile metabolite

| Source          | Type I Sum of Squares  | df | Mean Square | F      | Sig. |
|-----------------|------------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model | 11443.162 <sup>a</sup> | 8  | 1430.395    | 10.747 | .000 |
| Intercept       | 13202.470              | 1  | 13202.470   | 99.197 | .000 |
| TIMES           | 3659.224               | 4  | 914.806     | 6.873  | .002 |
| CONC            | 7783.938               | 4  | 1945.985    | 14.621 | .000 |
| Error           | 2129.485               | 16 | 133.093     |        |      |
| Total           | 26775.117              | 25 |             |        |      |
| Corrected Total | 13572.647              | 24 |             |        |      |

a. R Squared = .843 (Adjusted R Squared = .765)

#### 4.2 ฟีนนทรีน (ฟีนนทรีนเมตาบอไลต์ในน้ำดี)

##### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Bile metabolite

| Source          | Type I Sum of Squares    | df | Mean Square | F      | Sig. |
|-----------------|--------------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model | 2478337.189 <sup>a</sup> | 8  | 309792.149  | 6.574  | .001 |
| Intercept       | 1236121.476              | 1  | 1236121.476 | 26.232 | .000 |
| TIMES           | 472396.299               | 4  | 118099.075  | 2.506  | .083 |
| CONC            | 2005940.890              | 4  | 501485.222  | 10.642 | .000 |
| Error           | 753965.012               | 16 | 47122.813   |        |      |
| Total           | 4468423.676              | 25 |             |        |      |
| Corrected Total | 3232302.200              | 24 |             |        |      |

a. R Squared = .767 (Adjusted R Squared = .650)

#### 4.3 ไพรีน (ไพรีนเมตาบอไลต์ในน้ำดี)

##### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Bile metabolite

| Source          | Type I Sum of Squares    | df | Mean Square | F      | Sig. |
|-----------------|--------------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model | 1684733.495 <sup>a</sup> | 8  | 210591.687  | 7.980  | .000 |
| Intercept       | 1129514.082              | 1  | 1129514.082 | 42.799 | .000 |
| TIMES           | 380324.819               | 4  | 95081.205   | 3.603  | .028 |
| CONC            | 1304408.676              | 4  | 326102.169  | 12.356 | .000 |
| Error           | 422260.056               | 16 | 26391.253   |        |      |
| Total           | 3236507.633              | 25 |             |        |      |
| Corrected Total | 2106993.551              | 24 |             |        |      |

a. R Squared = .800 (Adjusted R Squared = .699)

5. การทดสอบความแตกต่างระหว่างระยะเวลาในการสัมผัสน้ำมันทางการค้าในแต่ละชนิดต่อระดับการเรืองแสงระดับของพีเอเอชเมตาบอไลต์ในน้ำคึของปลา

### 5.1 น้ำมันเครื่อง API SG/ CD

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Bile metabolite

| Source          | Type I Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|-----------------|-----------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model | 2722.542 <sup>a</sup> | 6  | 453.757     | 6.646  | .009 |
| Intercept       | 2104.442              | 1  | 2104.442    | 30.822 | .001 |
| TIMES           | 1666.397              | 4  | 416.599     | 6.102  | .015 |
| PAHS            | 1056.145              | 2  | 528.072     | 7.734  | .014 |
| Error           | 546.225               | 8  | 68.278      |        |      |
| Total           | 5373.209              | 15 |             |        |      |
| Corrected Total | 3268.767              | 14 |             |        |      |

a. R Squared = .833 (Adjusted R Squared = .708)

### 5.2 น้ำมันเบนซิน 91

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Bile metabolite

| Source          | Type I Sum of Squares  | df | Mean Square | F      | Sig. |
|-----------------|------------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model | 54386.234 <sup>a</sup> | 6  | 9064.372    | 12.340 | .001 |
| Intercept       | 47648.998              | 1  | 47648.998   | 64.867 | .000 |
| TIMES           | 47412.513              | 4  | 11853.128   | 16.136 | .001 |
| PAHS            | 6973.722               | 2  | 3486.861    | 4.747  | .044 |
| Error           | 5876.478               | 8  | 734.560     |        |      |
| Total           | 107911.711             | 15 |             |        |      |
| Corrected Total | 60262.712              | 14 |             |        |      |

a. R Squared = .902 (Adjusted R Squared = .829)

### 5.3 น้ำมันดีเซล

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Bile metabolite

| Source          | Type I Sum of Squares    | df | Mean Square | F       | Sig. |
|-----------------|--------------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model | 1718892.561 <sup>a</sup> | 6  | 286482.094  | 50.653  | .000 |
| Intercept       | 1205164.207              | 1  | 1205164.207 | 213.085 | .000 |
| TIMES           | 1683614.906              | 4  | 420903.727  | 74.420  | .000 |
| PAHS            | 35277.655                | 2  | 17638.828   | 3.119   | .100 |
| Error           | 45246.301                | 8  | 5655.788    |         |      |
| Total           | 2969303.069              | 15 |             |         |      |
| Corrected Total | 1764138.862              | 14 |             |         |      |

a. R Squared = .974 (Adjusted R Squared = .955)

6. การทดสอบความแตกต่างของระยะเวลา และความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอล  
แต่ละชนิดต่อระดับปฏิกิริยา EROD ในตับของปลา

### 6.1 แนพทาลิน

#### EROD activity

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Time | N  | Subset |        |        |
|------|----|--------|--------|--------|
|      |    | 1      | 2      | 3      |
| 0 hr | 10 | .13620 |        |        |
| 6 hr | 10 | .14520 |        |        |
| 1 d  | 10 | .17840 | .17840 |        |
| 5 d  | 10 |        | .20770 |        |
| 9 d  | 10 |        |        | .26110 |
| Sig. |    | .163   | .203   | 1.000  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.567E-03.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.

#### EROD activity

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Conc     | N  | Subset |        |        |        |
|----------|----|--------|--------|--------|--------|
|          |    | 1      | 2      | 3      | 4      |
| 0 ppm    | 10 | .11770 |        |        |        |
| 0.12 ppm | 10 | .15870 | .15870 |        |        |
| 0.50 ppm | 10 |        | .18230 | .18230 |        |
| 2.00 ppm | 10 |        |        | .21550 | .21550 |
| 8.00 ppm | 10 |        |        |        | .25440 |
| Sig.     |    | .078   | .304   | .151   | .094   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.567E-03.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.

## 6.2 ฟีนนทรีน

**EROD activity**Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Time | N  | Subset |        |        |
|------|----|--------|--------|--------|
|      |    | 1      | 2      | 3      |
| 0 hr | 10 | .15510 |        |        |
| 6 hr | 10 |        | .57800 |        |
| 1 d  | 10 |        | .69570 | .69570 |
| 5 d  | 10 |        | .71610 | .71610 |
| 9 d  | 10 |        |        | .83960 |
| Sig. |    | 1.000  | .141   | .120   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.536E-02.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.

**EROD activity**Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Conc      | N  | Subset |        |        |
|-----------|----|--------|--------|--------|
|           |    | 1      | 2      | 3      |
| 0 ppm     | 10 | .14290 |        |        |
| 0.047 ppm | 10 |        | .60950 |        |
| 0.188 ppm | 10 |        | .67750 | .67750 |
| 0.750 ppm | 10 |        | .73360 | .73360 |
| 3.000 ppm | 10 |        |        | .82100 |
| Sig.      |    | 1.000  | .202   | .121   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.536E-02.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.

## 6.3 ไพริน

**EROD activity**Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Time | N  | Subset |        |        |        |
|------|----|--------|--------|--------|--------|
|      |    | 1      | 2      | 3      | 4      |
| 0 hr | 10 | .10560 |        |        |        |
| 6 hr | 10 |        | .33070 |        |        |
| 1 d  | 10 |        |        | .56710 |        |
| 5 d  | 10 |        |        | .68170 | .68170 |
| 9 d  | 10 |        |        |        | .82640 |
| Sig. |    | 1.000  | 1.000  | .164   | .081   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3.270E-02.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.

**EROD activity**Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Conc      | N  | Subset |        |
|-----------|----|--------|--------|
|           |    | 1      | 2      |
| 0 ppm     | 10 | .10060 |        |
| 0.004 ppm | 10 |        | .52960 |
| 0.016 ppm | 10 |        | .53360 |
| 0.063 ppm | 10 |        | .61390 |
| 0.250 ppm | 10 |        | .73380 |
| Sig.      |    | 1.000  | .071   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3.270E-02.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.



7. การทดสอบความระหว่างระยะเวลาในการสัมผัสน้ำมันทางการค้าแต่ละชนิดต่อระดับปฏิกิริยา EROD ในตับของปลา

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: EROD activity

| Source          | Type I Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|-----------------|-----------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model | 2.461 <sup>a</sup>    | 7  | .352        | 15.203  | .000 |
| Intercept       | 6.300                 | 1  | 6.300       | 272.454 | .000 |
| OIL             | 1.342                 | 3  | .447        | 19.349  | .000 |
| TIMES           | 1.118                 | 4  | .280        | 12.093  | .000 |
| Error           | .740                  | 32 | 2.312E-02   |         |      |
| Total           | 9.500                 | 40 |             |         |      |
| Corrected Total | 3.200                 | 39 |             |         |      |

a. R Squared = .769 (Adjusted R Squared = .718)

### EROD activity

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Time | N | Subset |        |        |
|------|---|--------|--------|--------|
|      |   | 1      | 2      | 3      |
| 0 hr | 8 | .10463 |        |        |
| 6 hr | 8 |        | .32625 |        |
| 1 d  | 8 |        | .46125 | .46125 |
| 5 d  | 8 |        |        | .52675 |
| 9 d  | 8 |        |        | .56537 |
| Sig. |   | 1.000  | .085   | .369   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.312E-02.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

8. การทดสอบความแตกต่างของระยะเวลา และความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอล  
แต่ละชนิดต่อสัดส่วนระหว่างน้ำหนักต่อน้ำหนักตัว (%LSI) ของปลา

### 8.1 แนพทาลีน

#### %LSI

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Time | N | Subset |        |        |         |         |
|------|---|--------|--------|--------|---------|---------|
|      |   | 1      | 2      | 3      | 4       | 5       |
| 0 hr | 5 | .75200 |        |        |         |         |
| 6 hr | 5 |        | .84200 |        |         |         |
| 1 d  | 5 |        |        | .94800 |         |         |
| 5 d  | 5 |        |        |        | 1.04800 |         |
| 9 d  | 5 |        |        |        |         | 1.11400 |
| Sig. |   | 1.000  | 1.000  | 1.000  | 1.000   | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.031E-03.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

#### %LSI

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Conc     | N | Subset |        |         |
|----------|---|--------|--------|---------|
|          |   | 1      | 2      | 3       |
| 0 ppm    | 5 | .83800 |        |         |
| 0.12 ppm | 5 |        | .93000 |         |
| 0.50 ppm | 5 |        | .93600 |         |
| 2.00 ppm | 5 |        | .96600 |         |
| 8.00 ppm | 5 |        |        | 1.03400 |
| Sig.     |   | 1.000  | .435   | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.031E-03.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

## 8.2 ฟิสิกส์

## %LSI

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Time | N | Subset |         |         |         |
|------|---|--------|---------|---------|---------|
|      |   | 1      | 2       | 3       | 4       |
| 0 hr | 5 | .78600 |         |         |         |
| 6 hr | 5 |        | .97000  |         |         |
| 1 d  | 5 |        | 1.03200 | 1.03200 |         |
| 5 d  | 5 |        |         | 1.11800 |         |
| 9 d  | 5 |        |         |         | 1.25400 |
| Sig. |   | 1.000  | .230    | .103    | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 6.180E-03.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

## %LSI

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Conc      | N | Subset |         |         |
|-----------|---|--------|---------|---------|
|           |   | 1      | 2       | 3       |
| 0 ppm     | 5 | .88400 |         |         |
| 0.047 ppm | 5 | .97400 | .97400  |         |
| 0.188 ppm | 5 |        | 1.05600 |         |
| 0.750 ppm | 5 |        | 1.05600 |         |
| 3.000 ppm | 5 |        |         | 1.19000 |
| Sig.      |   | .089   | .255    | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 6.180E-03.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

## 8.3 ไพรีน

## %LSI

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Time | N | Subset |         |         |         |         |
|------|---|--------|---------|---------|---------|---------|
|      |   | 1      | 2       | 3       | 4       | 5       |
| 0 hr | 5 | .88200 |         |         |         |         |
| 6 hr | 5 |        | 1.11800 |         |         |         |
| 1 d  | 5 |        |         | 1.26200 |         |         |
| 5 d  | 5 |        |         |         | 1.41400 |         |
| 9 d  | 5 |        |         |         |         | 1.68000 |
| Sig. |   | 1.000  | 1.000   | 1.000   | 1.000   | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1.003E-02.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

## %LSI

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Conc      | N | Subset  |         |         |
|-----------|---|---------|---------|---------|
|           |   | 1       | 2       | 3       |
| 0 ppm     | 5 | 1.12400 |         |         |
| 0.004 ppm | 5 | 1.17600 | 1.17600 |         |
| 0.016 ppm | 5 | 1.25200 | 1.25200 |         |
| 0.063 ppm | 5 |         | 1.33000 |         |
| 0.250 ppm | 5 |         |         | 1.47400 |
| Sig.      |   | .139    | .066    | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1.003E-02.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

9. การทดสอบความแตกต่างระหว่างระยะเวลาในการสัมผัสน้ำมันทางการค้าแต่ละชนิด  
ต่อสัดส่วนระหว่างน้ำหนักต่อน้ำหนักตัว (%LSI) ของปลา

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: %LSI

| Source          | Type I Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|-----------------|-----------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 3.047 <sup>a</sup>    | 7  | .435        | 17.366   | .000 |
| Intercept       | 42.282                | 1  | 42.282      | 1687.131 | .000 |
| OIL             | 1.579                 | 3  | .526        | 21.001   | .000 |
| TIMES           | 1.468                 | 4  | .367        | 14.640   | .000 |
| Error           | .301                  | 12 | 2.506E-02   |          |      |
| Total           | 45.630                | 20 |             |          |      |
| Corrected Total | 3.347                 | 19 |             |          |      |

a. R Squared = .910 (Adjusted R Squared = .858)

### %LSI

Student-Newman-Keuls<sup>a,b</sup>

| Time | N | Subset |         |
|------|---|--------|---------|
|      |   | 1      | 2       |
| 0 hr | 4 | .95750 |         |
| 6 hr | 4 |        | 1.42750 |
| 1 d  | 4 |        | 1.50250 |
| 5 d  | 4 |        | 1.64250 |
| 9 d  | 4 |        | 1.74000 |
| Sig. |   | 1.000  | .068    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type I Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2.506E-02.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

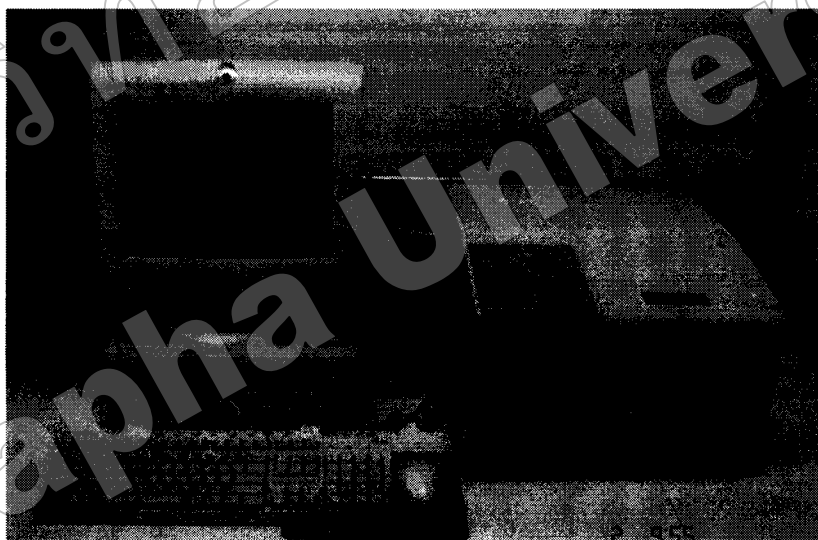
มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

ภาคผนวก ง  
อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

## อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง



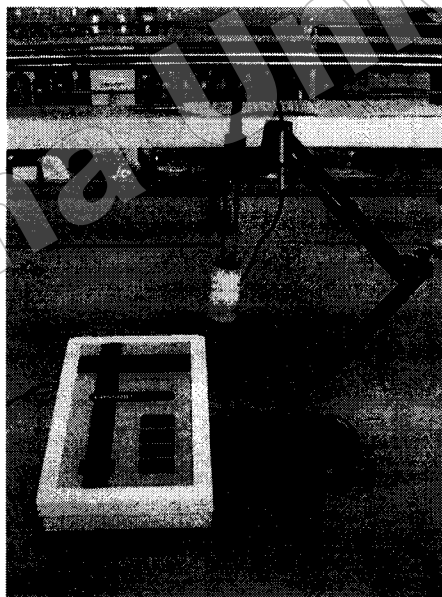
ภาพที่ 52 Micro Titer Plate



ภาพที่ 53 เครื่อง Spectrofluorometer รุ่น JASCO FP-6200



ภาพที่ 54 เครื่องซั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง AND Model Hr-200

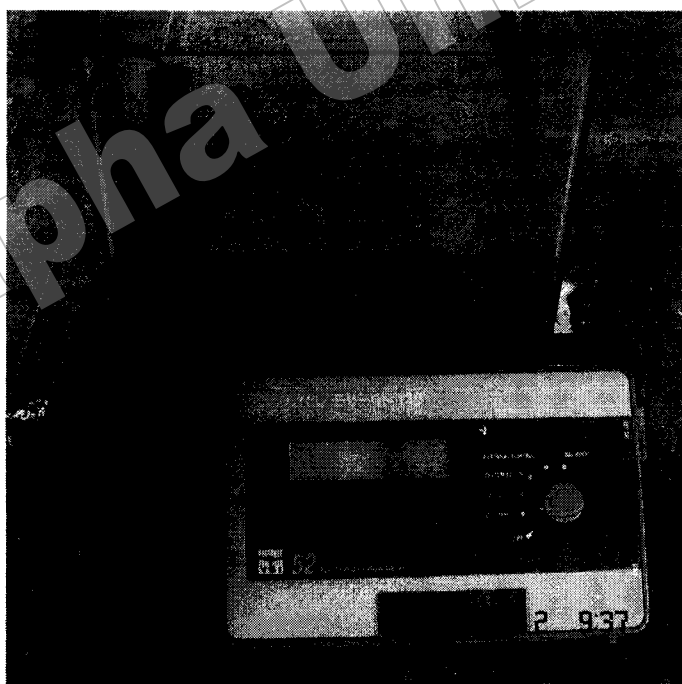


ภาพที่ 55 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (Multi-Parameter Analyzer) CONSORT C380





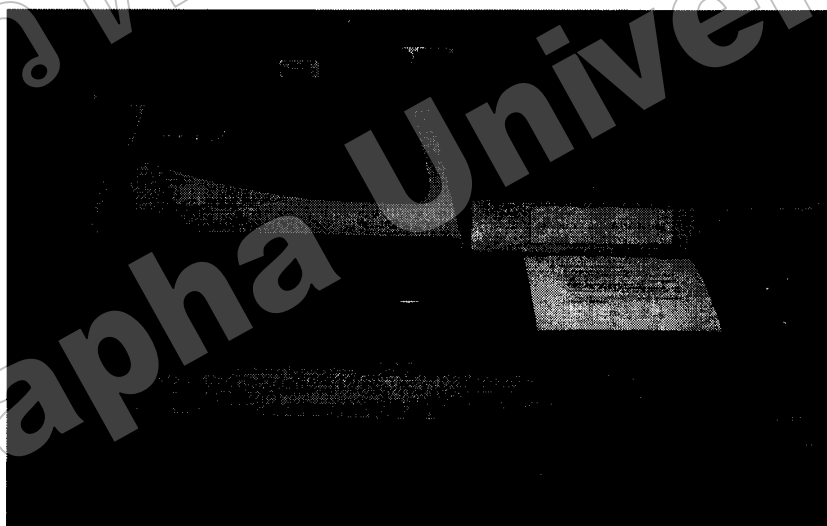
ภาพที่ 56 เครื่องบดละเอียด (Homogenizer) Pro 200



ภาพที่ 57 เครื่องวัดการละลายของออกซิเจนในน้ำ (Dissolved Oxygen Meter) YSI Model 52



ภาพที่ 58 เครื่อง UV/ VIS Spectrophotometer (Spectro Xelios)



ภาพที่ 59 เครื่อง Automate Microplate Reader (Wallac<sup>®</sup> Victor<sup>2</sup> V 1420 Multilable HTS Counter)



ภาพที่ 60 เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (High Speed Refrigerated Centrifuge) รุ่น 6930