

อิทธิพลของผงซักฟอกที่มีต่อปลานิล

Effects of Detergents on Nile Tilapia (*Tilapia nilotica* Linn.)

ชาญยุทธ คงภิรมย์ขึ้น¹, ชลอ ลิ้มสุวรรณ², ไมตรี คงสวัสดิ์³

สุปราณี ชินบุตร³ และ จารุวรรณ สมศิริ³

Chanyut Kongpiromchean, Chalor Limsuwan, Maitree Duangsawasdi,

Supranee Chinabut and Charuwan Somsiri

ABSTRACT

Static bioassay was used to determine the acute toxicity of three synthetic detergents on Nile tilapia (*Tilapia nilotica*). The 96-hour LC₅₀ with 95 percent confidence intervals of Fab (hard detergent), White magic and Fab (soft detergent) were estimated at 19.5 (18.66–20.37), 12.6 (12.04–13.18) and 9.2 (8.81–9.61) ppm respectively.

There were no significant differences in growth during 12 weeks period between the controls and fish exposed to Fab (soft detergent) at concentrations 0.5 and 3.0 ppm but growth of the fish exposed to Fab at 7.0 ppm was significantly lower than the control, 0.5 and 3.0 ppm groups. No histological changes were observed in gills, liver, kidney, intestine and muscle of fish exposed to Fab (soft detergent) at the concentrations of 0.5, 3.0 and 7.0 ppm for 12 weeks.

บทคัดย่อ

การศึกษาพิษเฉียบพลันของผงซักฟอก 3 ชนิด ที่มีต่อปลานิล (*Tilapia nilotica*) คือ แป็บชนิดเก่าซึ่งเป็นประเภท hard detergent, White magic และแป็บชนิดใหม่ซึ่งเป็นประเภท soft detergent โดยใช้วิธีชีววิเคราะห์ในน้ำนิ่งได้ค่า 96 ชั่วโมง LC₅₀ และระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 19.5 (18.66–20.37), 12.6 (12.04–13.18) และ 9.28 (8.81–9.61) ppm ตามลำดับ

การเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงไว้ในน้ำที่มีแป็บชนิดใหม่ 0.5 และ 3.0 ppm ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 12 สัปดาห์ แต่ปลานิลที่เลี้ยงในน้ำที่มีแป็บชนิดใหม่ 7.0 ppm จะ

เจริญเติบโตน้อยกว่ากลุ่มควบคุม 0.5 และ 3.0 ppm อย่างมีนัยสำคัญ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือก ตับ ไต ลำไส้ และกล้ามเนื้อ ของปลาที่เลี้ยงในแป็บชนิดใหม่ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 3.0 และ 7.0 ppm นาน 12 สัปดาห์

คำนำ

ผงซักฟอก (synthetic detergent) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีความสามารถในการซักฟอกชำระล้างสิ่งสกปรกออกจากเสื้อผ้าและภาชนะต่าง ๆ องค์ประกอบสำคัญของผงซักฟอก คือ สารลดแรงตึงผิว (surfactant) ผงซักฟอกแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ตามลักษณะของสารลดแรงตึงผิว คือ hard

1 คณะเกษตรศาสตร์ วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา วิทยาเขตบางพระ

2 ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Dept. of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart Univ.

3 สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง

detergent ซึ่งมี ABS (alkyl benzene sulfonate) เป็นสารลดแรงตึงผิวและ soft detergent ซึ่งมี LAS (linear alkyl benzene sulfonate) เป็นสารลดแรงตึงผิว ปัจจุบันนี้มีการใช้ผงซักฟอกกันอย่างแพร่หลาย ทำให้ปริมาณของผงซักฟอกที่ลงไปในพื้นที่น้ำมีมาก ซึ่งอาจจะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำโดยตรง หรือทำให้สิ่งแวดล้อมเสียไป ได้มีการศึกษาถึงความเป็นพิษเฉียบพลันของผงซักฟอกทั้งสองประเภทต่อปลาชนิดต่าง ๆ กันอย่างกว้างขวางในต่างประเทศ (Eisler, 1965; Hokanson and Smith, 1971; Dolen and Hendricks, 1976) นอกจากนั้นยังพบว่าผงซักฟอกชนิดที่มี ABS เป็นสารลดแรงตึงผิว มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของปลา (Lemke and Mount, 1963) อัตราการเจริญเติบโตและเนื้อเยื่อของผิวหนังปลาผิดปกติ

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาถึงผลของผงซักฟอกบางชนิด เช่น fastac ซึ่งนิยมใช้ผสมกับยาปราบศัตรูพืช เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้ยาเปียกในพืชและแทรกซึมไปส่วนต่าง ๆ ของพืช พบว่ามีผลทำให้อัตราการฟักของไข่ปลาบางชนิดลดลง (ประวิทย์, 2518) และทำให้การเจริญเติบโตลดลงด้วย (วัฒนา, 2518) ผงซักฟอกที่มีจำหน่ายในท้องตลาดทั่วไป เช่น แปปิ บรีส เพค และรินโซ พบว่าจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและการผสมพันธุ์ของหอยขม (ประสิทธิ์, 2521) ส่วนความเป็นพิษเฉียบพลันของผงซักฟอกชนิดต่าง ๆ ที่มีต่อสัตว์น้ำมีการศึกษาโดยอุไรวรรณ (2517), Buapetch (1982) และ ธนาภรณ์ (2526)

สำหรับประเทศไทยในปัจจุบันได้เปลี่ยนการใช้ผงซักฟอกประเภท hard detergent ซึ่งสลายตัวมากในธรรมชาติมาเป็น soft detergent ซึ่งสลายตัวได้ง่ายกว่า ทำให้การสะสมในแหล่งน้ำมีน้อย วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้านี้ ใช้ปลานิล (*Tilapia nilotica*) ซึ่งเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง เป็นสัตว์ทดลองเพื่อหาความเป็นพิษของผงซักฟอกแปปิชนิดเก่าซึ่งเป็น hard detergent กับ white magic และแปปิชนิดใหม่ซึ่งเป็น soft detergent ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง

และผลกระทบของผงซักฟอกแปปิชนิดใหม่ในระดับความเข้มข้นที่ไม่ทำให้ปลาตาย ที่มีต่อการเจริญเติบโตและลักษณะทางเนื้อเยื่อของปลานิล ในระยะเวลา 12 สัปดาห์

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน

การดำเนินการทดลอง ใช้วิธีชีววิเคราะห์ในน้ำนิ่ง (static bioassay) และวิธีการทดลองส่วนใหญ่ตามวิธีของ Sprague (1969) โดยคำนวณหาความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 96 ชั่วโมง (LC50) ตามวิธีของ Litchfield and Wilcoxon (1949) ผงซักฟอกที่ใช้ทดลองมี 3 ชนิดคือ แปปิชนิดเก่า, white magic และแปปิชนิดใหม่ ปลานิลที่ใช้ทดลองมีขนาดความยาว 2.5–3.0 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.35–0.5 กรัม นำมาเลี้ยงเพื่อให้คุ้นเคยกับสภาพห้องทดลอง 2 สัปดาห์ ระหว่างเลี้ยงให้อาหารวันละ 2 ครั้ง งดให้อาหารก่อนการทดลอง 2 วัน และตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองในโถแก้วทรงกระบอก บรรจุน้ำบาดาล 5 ลิตร น้ำบาดาลที่ใช้ทดลองผ่านการฟักและเติมอากาศประมาณ 7 วัน มีคุณสมบัติดังนี้ คือ อุณหภูมิ 27–29 องศาเซลเซียส ออกซิเจน (DO) 7.2–7.6 ppm ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) 8.4–8.7 ความเป็นด่าง (alkalinity) 186–202 ppm และความกระด้าง (hardness) 72–84 ppm

การศึกษาผลของแปปิชนิดใหม่ต่อการเจริญเติบโต

ใช้ผงซักฟอกแปปิชนิดใหม่ทดลอง 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.5, 3.0 และ 7.0 ppm ระดับละ 2 ซ้ำ และกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ผงซักฟอก ปลานิลที่ใช้ทดลองมีขนาดความยาว 7–8 เซนติเมตร น้ำหนัก 6–8 กรัม ทดลองในตู้กระจกขนาด 45 × 100 × 45 เซนติเมตร³ บรรจุน้ำบาดาล 120 ลิตร ใส่ปลาตู้ละ 20 ตัว เติมอากาศโดยใช้ air pump ตลอดเวลา อุณหภูมิของน้ำระหว่างการทดลอง 27–29 องศาเซลเซียส ให้อาหารประมาณ 3% ของน้ำหนักตัว โดย

ให้เวลาเช้าและเย็น เปลี่ยนน้ำทุกระยะ 2 วัน พร้อมกับใส่สารละลายผงซักฟอกลงไปใหม่ เพื่อรักษา ระดับความเข้มข้นให้คงที่ ซึ่งวัดน้ำหนักปลา นิลตามระยะเวลาดังนี้ คือ 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Analysis of Variance และ Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torrie, 1960) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ระหว่างการทดลอง บันทึกรูปพฤติกรรมต่าง ๆ ของปลาที่ฉีดไปจากปกติ และศึกษาคุณสมบัติของน้ำหลังจากใส่ผงซักฟอก ลงไปแล้วเป็นเวลา 1, 24 และ 48 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์ หาค่าออกซิเจน ความเป็นด่าง ความเป็นกรดเป็นด่าง และความกระด้างของน้ำตามวิธีของ Swingle (1969)

การศึกษาผลของแอมโมเนียต่อเนื้อเยื่อ

วิธีการดำเนินการเหมือนกับการศึกษาอัตราการเจริญเติบโต โดยใช้ปลานิลขนาดเดียวกันใส่ตู้ละ 20 ตัว ทำการเก็บตัวอย่างครั้งละ 5 ตัว จากตู้ที่มีความเข้มข้นของผงซักฟอกต่าง ๆ และจากกลุ่มควบคุมเมื่อครบ 3, 6, 9 และ 12 สัปดาห์ คอปลา ตัวอย่างในน้ำยาบัพเฟอร์ฟอร์มาลินเข้มข้น 10% นานอย่างน้อย 24 ชั่วโมง แล้วนำชิ้นส่วนของอวัยวะต่าง ๆ คือ หัวใจ ตับ ไต ลำไส้ และกล้ามเนื้อ ไปผ่านขั้นตอนการศึกษาเนื้อเยื่อ โดยฝังตัวอย่างใน พาราฟาสต์ ตัดด้วยเครื่องมือโครโมม หนา 5-6 ไมครอน ย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน แล้วทำเป็นสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อต่อไป

ผลและวิจารณ์

พิษเฉียบพลันของผงซักฟอกต่อปลานิล

จากการศึกษาพบว่า ค่า LC₅₀ และช่วงแห่งความเชื่อมั่น 95% ในเวลา 96 ชั่วโมง ของผงซักฟอก แอมโมเนียใหม่ white magic และแอมโมเนียเก่าที่มีค่า เท่ากับ 9.2 (8.81-9.61) 12.6 (12.04-13.18) และ 19.5 (18.66-20.37) ppm ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบค่า LC₅₀ จะพบว่าแอมโมเนียใหม่ จะมีค่าต่ำที่สุด ซึ่งหมายความว่าความเป็นพิษเฉียบพลัน

ตารางที่ 1 ค่า 96 ชั่วโมง LC₅₀ และช่วงแห่งความเชื่อมั่น 95% ของผงซักฟอกแอมโมเนียใหม่ white magic และแอมโมเนียเก่าที่มีต่อปลานิล

ผงซักฟอกที่ใช้ทดลอง	ค่า 96 ชั่วโมง
แอมโมเนียใหม่ (soft detergent)	9.2 (8.81-9.61)
white magic (soft detergent)	12.6 (12.04-13.18)
แอมโมเนียเก่า (hard detergent)	19.5 (18.66-20.37)

รุนแรงที่สุดและมีค่าใกล้เคียงกับ white magic ซึ่งเป็น soft detergent เช่นเดียวกัน ส่วนแอมโมเนียเก่า ซึ่งเป็น hard detergent จะมีความเป็นพิษเฉียบพลัน น้อยที่สุด ซึ่งจะสอดคล้องกับ Swedmark *et al.* (1971) ที่รายงานว่า soft detergent มีความเป็นพิษเฉียบพลันรุนแรงกว่า hard detergent ส่วน Henderson *et al.* (1959) รายงานว่า soft detergent จะมีความเป็นพิษมากกว่า hard detergent ประมาณ 2-4 เท่า ธนาภรณ์ (2526) พบว่า soft detergent มีความเป็นพิษต่อไรแดงมากกว่า hard detergent เช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับค่า 96 ชั่วโมง LC₅₀ ของแอมโมเนียเก่าต่อปลาตะเพียนขาวที่ Buapetch (1982) รายงานไว้ คือ 18.1 ppm จะเห็นว่าใกล้เคียงกับการศึกษาในครั้งนี้ คือ 19.5 ppm เมื่อนำค่าพิษเฉียบพลันไปประเมินค่าความปลอดภัยตามวิธีของ Sprague (1969) ซึ่งได้จากการทดลองครั้งนี้ จะได้ค่า MATC (maximum allowable toxicant concentration) ของผงซักฟอกแอมโมเนียเก่า 1.95 ppm, white magic 1.26 ppm และแอมโมเนียใหม่ 0.92 ppm ตามลำดับ

ผลของแอมโมเนียใหม่ต่อการเจริญเติบโต

การเจริญเติบโตของปลานิลในทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 2 แต่หลังจากสัปดาห์ที่ 4, 6, 8, 10 และ 12 การเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงในน้ำที่มีผงซักฟอก 7.0 ppm จะต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 0.5 และ 3.0 ppm (ตารางที่ 2) ซึ่งจากการสังเกตจะพบว่าปลาที่อยู่ในน้ำที่มีผงซักฟอก 7.0 ppm กินอาหารน้อยลงและจะมีเศษอาหารเหลืออยู่มาก ผลการศึกษาครั้งนี้คล้าย

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของปลานิล (น้ำหนักเฉลี่ยเป็นกรัม) ที่เลี้ยงในน้ำที่มีปริมาณผงซักฟอกแปปิชนิดใหม่ (soft detergent) ระดับต่าง ๆ กัน เป็นระยะเวลานาน 12 สัปดาห์

ความเข้มข้น (ppm)	ตู้ที่	น้ำหนักเฉลี่ย* (กรัม) ในสัปดาห์ที่						
		0	2	4	6	8	10	12
กลุ่มควบคุม	1	7.70	10.30	14.30	18.45	22.30	26.25	30.05
	2	7.80	10.70	14.75	18.80	22.80	26.50	30.55
	เฉลี่ย	7.75 ^a	10.50 ^a	14.53 ^a	18.63 ^a	22.55 ^a	26.38 ^a	30.30 ^a
0.5	1	7.80	10.60	14.55	18.55	22.60	26.40	30.25
	2	7.70	10.35	14.35	18.45	22.35	26.50	30.20
	เฉลี่ย	7.75 ^a	10.48 ^a	14.45 ^a	18.50 ^a	22.48 ^a	26.45 ^a	30.25 ^a
3.0	1	7.90	10.45	14.40	18.35	22.10	26.05	29.75
	2	7.80	10.40	14.15	17.95	21.75	25.60	29.20
	เฉลี่ย	7.85 ^a	10.425 ^a	14.28 ^a	18.150 ^a	21.93 ^a	25.83 ^a	29.48 ^a
7.0	1	7.80	10.20	13.60	17.00	20.25	23.85	27.30
	2	7.70	10.15	13.70	17.30	20.85	24.30	27.90
	เฉลี่ย	7.75 ^a	10.18 ^a	13.65 ^b	17.15 ^b	20.55 ^b	24.08 ^b	27.60 ^b

*ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละ column หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

กับที่วัฒนา (2518) ทดลองใช้ fastac ซึ่งเป็นผงซักฟอกประเภทที่ใช้กับยาปราบศัตรูพืช ที่ระดับความเข้มข้น 5.6, 11.2, 16.8 และ 22.4 ppm พบว่าปลานิลกินอาหารน้อยลง นอกจากนั้น Foster *et al.* (1966) และ Abel (1974) รายงานว่าผงซักฟอกจะทำให้ปลากินอาหารน้อยลง ทำให้การเจริญเติบโตลดลง ส่วน Granmo (1972) พบว่า LAS จะทำให้การเจริญเติบโตของตัวอ่อนของหอยลดลง ซึ่งประสิทธิ์ (2521) ทดลองผงซักฟอก 4 ชนิดกับตัวอ่อนของหอยชมพูพบว่าจะทำให้การเจริญเติบโตลดลง และเปลือกหอยนี้มีลักษณะบางใส สำหรับการศึกษาคุณสมบัติของน้ำ ระหว่างการทดลองในช่วงเวลาทุกระยะ 2 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันมากนักในทุกกลุ่มทดลองและในแต่ละช่วงเวลา

ผลของแปปิชนิดใหม่ต่อเนื้อเยื่อ

จากการศึกษาเนื้อเยื่ออวัยวะต่าง ๆ ของปลานิลที่เลี้ยงในน้ำที่มีผงซักฟอกทุกระดับความ

เข้มข้น ตลอดระยะเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งคล้ายกับรายงานของ Lemke and Mount (1963) ในการศึกษา ABS ที่ระดับ 3, 6 และ 13.5 ppm จะทำให้ปลา bluegill (*Lepomis macrochirus*) เจริญเติบโตลดลง แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของตับม้าม และลำไส้ นอกจากจะมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยที่เหงือกที่ระดับความเข้มข้น 6 และ 13.5 ppm แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm ซึ่งความเข้มข้นที่กล่าวมานี้เป็นความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวซึ่งเป็นองค์ประกอบของผงซักฟอกประมาณ 20% โดยน้ำหนักหรือมากกว่า ดังนั้น เมื่อคิดรวมเป็นน้ำหนักในรูปของผงซักฟอกแล้วอาจสูงถึง 15 ppm หรือมากกว่า ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้ผงซักฟอกแปปิแบบใหม่ ความเข้มข้นสูงเพียง 7 ppm ซึ่งเมื่อคิดเป็นปริมาณของสารลดแรงตึงผิวจะมีระดับความเข้มข้นที่น้อยมาก จึงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในอวัยวะต่าง ๆ

หรืออาจจะเนื่องมาจากระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองเพียง 12 สัปดาห์ ไม่นานพอที่ระดับความเข้มข้นของผงซักฟอกที่ใช้ทดลอง จะทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อ

เอกสารอ้างอิง

- ประวิทย์ สุรนิรนาถ. 2518. ผลของ Fastac ต่ออัตราการฟักไข่ของปลาสกุล *Labeo* 3 ชนิด. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 24 น.
- ประสิทธิ์ กลิ่นภิรมย์. 2521. อิทธิพลของผงซักฟอกบางชนิดที่มีต่อตัวอ่อนหอยขม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ธนาภรณ์ จิตตपालพงศ์. 2526. พิษเฉียบพลันของผงซักฟอกที่มีต่อไรแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วัฒนา เครือคล้าย. 2518. การศึกษาอิทธิพลของสารพิษบางชนิดที่มีต่อการเจริญเติบโตของปลานิล ปลาไน และปลาหมอเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อุไรวรรณ ปัญญ. 2517. การศึกษาอิทธิพลของสารพิษบางชนิดที่มีต่อสัตว์น้ำ และสิ่งแวดล้อมบางชนิดในน้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Abel, P.D. 1974. Toxicity of synthetic detergents to fish and aquatic invertebrates. *J. Fish. Biol.* 6:279–298.
- Buapetch, M. 1982. Acute toxicity of some detergents on the freshwater fish, *Puntius gonionotus* (Bleeker). M.S. Thesis, Mahidol. Univ., Bangkok.
- Cairns, J. and A. Scheier. 1966. The influence of exposure to ABS detergent upon the blood chloride regulation of pumpkinseed. *Prog. Fish-Cult.* 28:128–132.
- Dolen, J.M. and A.C. Hendricks. 1976. The lethality of an intact and degraded LAS mixture to bluegill sunfish and a snail. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* 48:2570–2577.
- Eisler, R. 1965. Some effect of a synthesis detergent on estuarine fishes. *Trans. Am. Fish. Soc.* 96:26–31.
- Foster, N.R., A. Scheier and J. Cairns, Jr. 1966. Effects of ABS on feeding behavior of flagfish, *Jordanella floridae*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 95:109–110.
- Granmo, A. 1972. Development and growth of eggs and larvae of *Mytilus edulis* expose to a linear dodecylbenzene sulfonate, LAS. *Mar. Biol.* 15:356–358.
- Henderson, C., Q.H. Pickering and J.M. Cohen 1959. The toxicity of synthetic detergents and soaps to fish. *Sewage Ind. Wastes.* 31:295–306.
- Hokanson, K.E. and L.L. Smith. 1971. Some factors influencing toxicity of linear alkylate sulfonate (LAS) to the bluegill. *Trans. Am. Fish. Soc.* 100:1–12.
- Lemke, A.E. and D.T. Mount. 1963. Some effects of alkyl benzene sulfonate on the bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Trans. Am. Fish Soc.* 92:373–378.
- Litchfield, J.T. and F. Wilcoxon. 1949. A Simplified method of evaluations dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96:99–113.
- Sprague J.B. 1969. Measurement of pollution toxicity to fish. I. Bioassay methods for acute toxicity. *Water Res.* 3:793–821.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1960. Principles and Procedures in Statistics. McGraw-Hill, New York. 481 p.

Swedmark, M., B. Braaten, E. Emanuelssen and A. Granmo. 1971. Biological effect of surface active agents on marine animals. Mar. Biol. 9:183:201.

Swingle, H.S. 1969. Method for Analysis for Water, Organic Matter and Pond Bottom Soils Used in Fisheries Research. Auburn University. 119 p.