

ภาคผนวก ก

การรั่วไหลของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำ

## การรั่วไหลของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำ

อุบัติเหตุการรั่วไหลของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำอาจเกิดขึ้นได้ในระหว่างการขุดเจาะ การผลิต การลำเลียง การสูบน้ำขึ้น การเก็บในถังที่คลังน้ำมัน และการขนส่ง เป็นต้น (สมรัตน์ ยินดีพิช , 2534ก : 16 และปริกมาศ สุวรรณสิงห์, 2522 : 1)

ในปี พ.ศ. 2532 ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจากแหล่งต่าง ๆ ที่ลงสู่ทะเล จากการประมาณการพบว่า มาจากการคมนาคมขนส่ง 0.555 ล้านตันต่อปี จากโรงกลั่นน้ำมัน การขุดเจาะน้ำมัน และจุดขนถ่ายน้ำมัน 0.18 ล้านตันต่อปี จากแหล่งอื่น ๆ 1.38 ล้านตันต่อปี และจากแหล่งธรรมชาติ 0.25 ล้านตันต่อปี รวมเป็นปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่คาดว่ารั่วไหลลงสู่ทะเล 2.365 ล้านตันต่อปี (ตาราง 12) (Clark , 1997)

ตาราง 12 ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ลงสู่ทะเลในปี พ.ศ. 2532

แหล่ง	ปริมาณ (ล้านตันต่อปี)	ปริมาณรวม (ล้านตันต่อปี)
<b>การคมนาคมขนส่ง</b>		
การขนถ่ายน้ำมัน	0.158	
อุบัติเหตุจากเรือบรรทุกน้ำมัน	0.121	
น้ำมันจากท้องเรือและน้ำมันเชื้อเพลิง	0.252	
กิจการอยู่เรือ	0.004	
อุบัติเหตุทางน้ำที่ไม่ใช่เรือบรรทุกน้ำมัน	0.020	
		0.555
<b>สิ่งก่อสร้างถาวร</b>		
โรงกลั่นน้ำมัน	0.10	
การขุดเจาะน้ำมันนอกชายฝั่ง	0.05	
จุดขนถ่ายน้ำมัน	0.03	
		0.18
<b>แหล่งอื่น ๆ</b>		
น้ำทิ้งจากชุมชน	0.70	
น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม	0.20	
น้ำท่าจากเมือง	0.12	
น้ำท่าจากแม่น้ำ	0.04	
จากบรรยากาศ	0.30	
ขุดลอกท่าเรือ	0.02	
		1.38
<b>แหล่งธรรมชาติ</b>		0.25
<b>ปริมาณรวมทั้งหมด</b>		<b>2.365</b>
<b>สารไฮโดรคาร์บอนที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์ขึ้น</b>		
ผลผลิตจากแพลงก์ตอนพืชในทะเล		<b>26,000</b>
จากบรรยากาศ		<b>100-4,000</b>

ที่มา : ดัดแปลงจาก Clark . (1997)

ภาคผนวก ข

การควบคุมและวิธีการกำจัดน้ำมันที่รั่วไหล

## การควบคุมและวิธีการกำจัดน้ำมันที่รั่วไหล

### ขั้นตอนพื้นฐานในการควบคุมและกำจัดคราบน้ำมันประกอบด้วย

เมื่อน้ำมันเกิดรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ จำเป็นต้องมีการดำเนินการควบคุมและกำจัดอย่างถูกต้องตามขั้นตอนและวิธีการ โดยเลือกใช้วิธีการ อุปกรณ์ และเครื่องมือ ให้ถูกต้องและเหมาะสม เพื่อลดผลกระทบที่จะเกิดขึ้นให้เหลือน้อยที่สุดและเร็วที่สุด ก่อนเริ่มดำเนินการจะต้องมีการประเมินสถานการณ์และปัญหาเพื่อคาดการณ์ปริมาณน้ำมันที่จะต้องกำจัดและต้องมีการสำรวจสภาพพื้นที่ ขั้นตอนพื้นฐานในการควบคุมและกำจัดคราบน้ำมันประกอบด้วย (การปิโตรเลียมแห่งประเทศไทย, ม.ป.ป.)

1. **จำกัด (Limitation)** เป็นขั้นตอนเริ่มแรกที่จะต้องกระทำ เป็นการหยุดหรือระงับการรั่วไหล โดยการปิดจุดรั่วไหล ปิดวาล์วท่อน้ำมัน หยุดการสูบน้ำมัน ซึ่งรวมถึงการแจ้งเตือนภัยแก่ผู้ที่เกี่ยวข้องและย้ายอุปกรณ์หรือวัสดุที่อาจก่อให้เกิดประกายไฟให้ห่างจากจุดที่น้ำมันรั่วไหลด้วย ทั้งนี้เพื่อป้องกันอุบัติเหตุที่อาจเกิดตามมา เช่น การระเบิด การเกิดอัคคีภัย เป็นต้น

2. **ควบคุม (Containment)** คือ ขั้นตอนในการควบคุมน้ำมันที่รั่วไหลไม่ให้แผ่กระจายเป็นบริเวณกว้าง โดยใช้อุปกรณ์เครื่องมือจำพวกทุ่นดักน้ำมัน (Boom) เป็นต้น

3. **เคลื่อนย้าย (Removal)** คือ การเคลื่อนย้ายน้ำมันออกจากพื้นที่ซึ่งจะต้องคำนึงถึงความรวดเร็วเป็นสำคัญ วิธีการเคลื่อนย้ายมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น การเก็บ (Skimming) การดูดซับ (Sorbing) การเผา (Burning) การแตกตัว (Dispersing) การจมตัว (Sinking) การย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradation) เป็นต้น ในบางกรณีการเคลื่อนย้ายน้ำมันอาจจำเป็นต้องใช้หลายวิธีในลักษณะผสมผสานกัน เนื่องจากปัจจัยสภาพแวดล้อมอาจไม่เอื้ออำนวยต่อการใช้วิธีการใดวิธีการหนึ่งเพียงอย่างเดียว

4. **การกวาดเก็บขั้นสุดท้าย (Final clean-up)** คือ การกำจัดและกวาดเก็บคราบน้ำมันภายหลังจากผ่านขั้นตอนของ Removal แล้ว ซึ่งขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนสุดท้ายและเน้นการกวาดเก็บคราบน้ำมันตามชายฝั่งหรือชายหาด (Stranded oil) อย่างไรก็ตามหากขั้นตอน Removal สามารถเคลื่อนย้ายและเก็บกวาดน้ำมันในแหล่งน้ำได้หมด ก็ไม่จำเป็นต้องดำเนินการในขั้นตอนนี้

## วิธีการกำจัดน้ำมันที่รั่วไหล

การกำจัดคราบน้ำมันในแหล่งน้ำทำได้หลายวิธีตามความเหมาะสมของแต่ละพื้นที่ แต่ปกติแล้วสามารถออกเป็น 3 วิธีหลัก คือ

1. **วิธีการทางกายภาพ (Physical Method)** เป็นวิธีควบคุม กำจัด และกวาดเก็บน้ำมันด้วยกลวิธีหรือใช้อุปกรณ์เครื่องมือ อุปกรณ์แต่ละชนิดมีหลักการและประสิทธิภาพในการทำงานแตกต่างกัน และในบางพื้นที่อาจจำเป็นต้องใช้เครื่องมือมากกว่า 1 ชนิด ปฏิบัติงานในลักษณะต่อเนื่องหรือผสมผสานกัน ซึ่งจะประกอบด้วยเครื่องมือและกลวิธีดังต่อไปนี้ (ชรัตน์รุ่งเรืองศิลป์, 2533 : 3-8 และ Wardley – Smith, 1983)

ก. **วัสดุดูดซับ (Sorbent, Absorbent)** อาจทำมาจากสารสังเคราะห์หรือเส้นใยพืชเพื่อใช้ซับน้ำมันที่ลอยอยู่บนผิวน้ำ อาจจะใช้วัสดุที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น เช่น เศษผ้า ฟางข้าว หญ้าแห้ง ต้นอ้อ เป็นต้น

ข. **วัสดุทำให้งม (Sinking)** โดยใช้วัสดุที่มีอนุภาคขนาดเล็กโปรยหรือฉีดลงบนผิวน้ำมัน ทำให้เกิดการเกาะติดหรือยึดติดกับมวลน้ำมันและจมลงท้องน้ำ หลังจากนั้นอาจใช้เรือขูดคราเอาตะกอนไปกำจัดต่อไป วัสดุที่ใช้โปรยลงไป ได้แก่ ทรายละเอียด ผงปูนขาว ขี้เถ้า ยิปซัม แต่วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ ไม่ควรใช้เมื่อมีกระแสน้ำแรง เพราะกระแสน้ำอาจพัดพาตะกอนไปตกทับแหล่งที่อยู่ของสัตว์น้ำ

ค. **การใช้วัสดุดักจับ (Netting)** โดยการใช้ตาข่ายดักจับคราบน้ำมันที่ลอยบนผิวน้ำ จะได้ผลดีเมื่อใช้กับคราบน้ำมันที่มีความหนืดมาก หรือใช้กับพวกตะกอนน้ำมัน (Tarball)

ง. **ทุ่นดักน้ำมัน (Boom)** เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับควบคุมหรือกักน้ำมันให้อยู่ในบริเวณพื้นที่ที่กำหนดหรือไม่ให้แพร่กระจายออกไปจากพื้นที่ควบคุม ขนาดของทุ่นดักน้ำมันในการใช้งานมักพิจารณาจากลักษณะการลอยตัวในน้ำ (ภาพประกอบ 30) นั่นคือ กำหนดตามความสูงของทุ่นดักน้ำมันส่วนที่อยู่เหนือน้ำ ซึ่งเรียกว่า ฟรีบอร์ด (Freeboard) กับความลึกของทุ่นดักน้ำมันส่วนที่จมอยู่ใต้น้ำซึ่งรวมทั้งแถบชาย (Skirt) จะเรียกว่า คราฟท์ (Draft) วัสดุที่ใช้ทำทุ่นดักน้ำมันโดยทั่วไปจะมีความคงทนต่อสภาวะการใช้งาน คือ คงทนต่อน้ำมัน น้ำทะเล โอโซน และแสงอุลตราไวโอเลต วัสดุที่นิยมใช้กันมากจะเป็นประเภทพลาสติก หรือสารโพลีเอทิลีนชนิดทนน้ำมัน เช่น ไนลอน โพลีเอสเตอร์ พีวีซี และโพลียูรีเทน เป็นต้น

จ. **เครื่องเก็บกวาดน้ำมัน (Oil Spill Recovery Skimmer)** เป็นเครื่องมือที่ใช้หลักการของความแตกต่างของความถ่วงจำเพาะระหว่างน้ำมันกับน้ำ โดยที่ตัว Skimmer จะลอยอยู่บนผิวน้ำและมีช่องเปิดเชื่อมติดกับปั๊มดูดน้ำมัน โดยมี Weir เป็นตัวแยกน้ำมันออกจากน้ำให้ไหลเข้าปั๊มดูดน้ำมัน (ภาพประกอบ 31) นอกจากนี้ยังมี Skimmer อีกหลายประเภทที่ใช้หลักการทำงาน

แบบอื่นเช่น ใช้วัสดุดูดซับน้ำมันมารีดน้ำมันออกไปเก็บยังถังเก็บน้ำมัน Skimmer มีหลายแบบ เช่น Weir Skimmer, Disc Skimmer, Drum Fin, Belt Skimmer, Oleophilic Rope Skimmer และ Dip Skimmer เป็นต้น



ก. River or Lake Boom



ข. Tidal Boom



ค. Offshore Boom



ง. Open sea Boom

ภาพประกอบ 30 ลักษณะของทุ่นดักน้ำมันบางประเภท

ที่มา : ก. <http://www.globalspill.com.au/graphics/g039.jpg>

ข. [http://www.globalspill.com.au/graphics/S\\_gs1080.jpg](http://www.globalspill.com.au/graphics/S_gs1080.jpg)

ค. <http://www.offshore-technology.com/contractors/environmental/lamor/images/lamor5.jpg>

ง. <http://www.globalspill.com.au/graphics/g030.jpg>



ก. Disc Skimmer



ข. Weir Skimmer



ค. Brush Skimmer

ภาพประกอบ 31 ลักษณะของ Oil Skimmer ประเภทต่าง ๆ

ที่มา: ก. [http://www.globalspill.com.au/skimmers/disc\\_skim\\_1.jpg](http://www.globalspill.com.au/skimmers/disc_skim_1.jpg)

ข. [http://www.globalspill.com.au/skimmers/weir\\_skim\\_3.jpg](http://www.globalspill.com.au/skimmers/weir_skim_3.jpg)

ค. [http://www.globalspill.com.au/brush/brush\\_skim\\_B.jpg](http://www.globalspill.com.au/brush/brush_skim_B.jpg)

## 2. วิธีการทางเคมี (Chemical method)

สารเคมีขจัดคราบน้ำมัน (Oil Dispersant) มีส่วนประกอบของสารลดแรงตึงผิว (Surfactant) และตัวทำละลายปิโตรเลียม (Petroleum-Based Solvent) บางชนิดยังมีส่วนผสมของสารที่สามารถควบคุมการแผ่กระจายของคราบน้ำมันที่แตกตัวในน้ำ โดยสารเคมีขจัดคราบน้ำมันจะทำให้ความแตกต่างของแรงตึงผิวระหว่างน้ำมันกับน้ำลดลงจนแรงตึงผิวของน้ำมันใกล้เคียงกับน้ำแล้วโดนคลื่นลมพัดพาให้กระจายเป็นหยดเล็ก ๆ และยังช่วยป้องกันการรวมตัวของหยดน้ำมัน

## 3. วิธีการทางชีวภาพ (Biological method)

วิธีนี้เป็นการใช้สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในน้ำ เช่น แบคทีเรีย รา ยีสต์ และสาหร่าย เข้าย่อยสลายคราบน้ำมัน โดยที่สิ่งมีชีวิตเหล่านี้จะใช้ไฮโดรคาร์บอนในน้ำในกระบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolism) ซึ่งจะต้องใช้เวลาในการย่อยสลายคราบน้ำมันค่อนข้างนาน (อรอุตฉิม อัมพุลทรัพย์, 2536)

ภาคผนวก ค

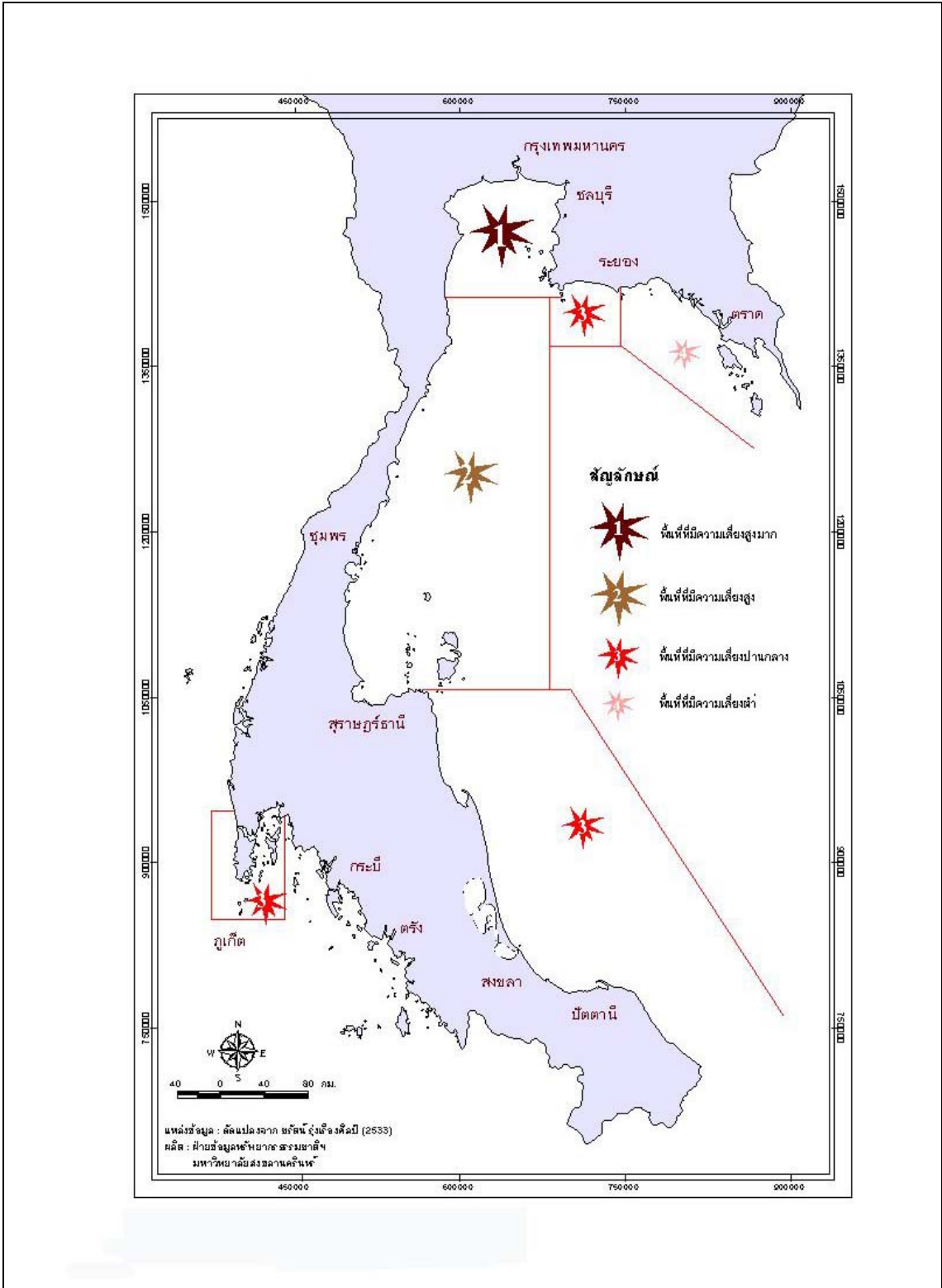
พื้นที่ชายฝั่งทะเลของประเทศไทยที่มีความเสี่ยงต่อการรั่วไหลของน้ำมัน



## พื้นที่ชายฝั่งทะเลของประเทศไทยที่มีความเสี่ยงต่อการรั่วไหลของน้ำมัน

การขนส่งน้ำมันปริมาณมาก ๆ ในประเทศไทยยังใช้การขนส่งทางทะเลเป็นหลัก พื้นที่ตามเส้นทางและปริมาณของเรือบรรทุกน้ำมันที่ผ่านเข้าออกจึงเป็นพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการรั่วไหลของน้ำมัน ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 4 ระดับ ดังภาพประกอบ 32 (ชรรัตน์ รุ่งเรืองศิลป์, 2533 : 8-10 ) คือ

- ก. ระดับที่ 1 พื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูงมาก ได้แก่ บริเวณแม่น้ำเจ้าพระยาบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาถึงชายฝั่งทะเลด้านตะวันออกของอ่าวไทยตอนบน
- ข. ระดับที่ 2 พื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูง คือบริเวณด้านใต้อ่าวไทยตอนบนถึงอ่าวบ้านดอนจังหวัดสุราษฎร์ธานี
- ค. ระดับที่ 3 พื้นที่ที่มีความเสี่ยงปานกลาง คือบริเวณชายฝั่งทะเลอำเภอสตูลหีบ จังหวัดชลบุรี ชายฝั่งจังหวัดสงขลา และบริเวณชายฝั่งทะเลรอบเกาะภูเก็ต
- ง. ระดับที่ 4 พื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่ำ คือบริเวณชายฝั่งทะเลอำเภอเมือง จังหวัดระยอง ถึงจังหวัดตราด



ภาพประกอบ 32 พื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการรั่วไหลของน้ำมัน  
 ที่มา : ดัดแปลงจาก ทรัพย์สิน รุ่งเรืองศิลป์ (2533)

ภาคผนวก ง

ประเภทและโครงสร้างทั่วไปของไฮโดรคาร์บอนที่สำคัญในน้ำมัน

## ประเภทและโครงสร้างทั่วไปของไฮโดรคาร์บอนที่สำคัญในน้ำมัน

ที่มา : ปราโมทย์ ไชยเวช (2537)

ภาคผนวก จ

ตัวอย่างประเภทของสารประกอบกำมะถัน ออกซิเจน

และไนโตรเจนในน้ำมัน

ตัวอย่างประเภทของสารประกอบกำมะถัน ออกซิเจน และไนโตรเจนในน้ำมัน

ก. สารประกอบกำมะถัน

ข. สารประกอบออกซิเจน

ค. สารประกอบไนโตรเจน

ที่มา : ปราโมทย์ ไชยเวช (2537)

ภาคผนวก จ

การพิจารณาใช้สารเคมีจัดการบน้ำมัน



## การพิจารณาใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมัน

การใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมันอาจจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตในน้ำได้ ดังนั้นกรมควบคุมมลพิษ (2539) จึงได้แบ่งสถานการณ์สำหรับการใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมันไว้ดังต่อไปนี้ คือ

### 1. สถานการณ์ที่ไม่ควรใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมันเลย มีดังต่อไปนี้

- ก. ในบริเวณน้ำตื้นซึ่งไม่มีการไหลเวียนของน้ำ เช่น อ่าวปิด
- ข. ในแหล่งน้ำที่ใช้สำหรับการบริโภค
- ค. ในแหล่งเพาะพันธุ์สัตว์น้ำ
- ง. บริเวณแหล่งปะการัง
- จ. บริเวณแหล่งหญ้าทะเล
- ฉ. บริเวณป่าชายเลน

### 2. การใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมันในบริเวณแหล่งที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตหรือบริเวณที่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม สรุปประเด็นที่ใช้ในการพิจารณาได้ดังต่อไปนี้

ก. **บริเวณกลางทะเล** เนื่องจากกลางทะเลเป็นบริเวณน้ำลึก และอยู่ห่างไกลจากชายฝั่ง ผลของสารเคมีขจัดคราบน้ำมันต่อสิ่งมีชีวิตบริเวณนั้นจะน้อย หากประเมินว่าคราบน้ำมันกลางทะเลจะไม่เคลื่อนเข้าสู่ชายฝั่งอย่างแน่นอนก็ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมัน

ข. **แหล่งที่อยู่อาศัยของนกน้ำ และแนวปะการัง** การใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมันเพื่อป้องกันไม่ให้คราบน้ำมันแพร่กระจายไปยังบริเวณที่เป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์ดังกล่าว และเพื่อป้องกันไม่ให้คราบน้ำมันปนเปื้อนสัตว์เหล่านั้นจึงมีความจำเป็นต้องใช้แต่ต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และต้องไม่พ่นสารเคมีขจัดคราบ น้ำมันไปยังสัตว์เหล่านั้นโดยตรง

ค. **บริเวณแหล่งหญ้าทะเล** เป็นบริเวณที่ไม่ควรใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมันเลย ยกเว้นใช้ในกรณีที่มีน้ำตื้นเกินกว่า 10 เมตร และได้มีการประเมินแล้วว่าคราบน้ำมันจะไม่ก่อผลกระทบต่อแหล่งทรัพยากรชายฝั่งอื่น ๆ ที่มีความสำคัญยิ่งกว่า

ง. **บริเวณหาดทราย หาดเลน และป่าชายเลน** เพื่อไม่ให้มีการตกค้างของสารเคมีควรใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมันในปริมาณที่เหมาะสมก่อนช่วงน้ำขึ้น

การใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมันจะต้องมีการพิจารณาให้รอบคอบก่อนใช้โดยขั้นตอนการดำเนินการใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมันนั้นสรุปได้ดังภาพประกอบ 33



ภาคผนวก ข

การเตรียมน้ำยาดอง Davidson และเตรียมสีย้อม Hematoxylin และ Eosin

## การเตรียมน้ำยาดอง Davidson และเตรียมสีย้อม Hematoxylin และ Eosin

### 1. น้ำยาดอง Davidson (Davidson's fixative) (Bell and Lightner, 1988)

95% Ethyl alcohol	330 ml
100% Formalin (Formaldehyde 37-39%)	220 ml
Glacial Acetic Acid	115 ml
Tap Water	335 ml

ผสมเข้าด้วยกัน จะได้น้ำยาดอง Davidson ปริมาตร 1,000 ml (เก็บที่อุณหภูมิห้อง)

### 2. Hematoxylin และ Eosin (H&E) (Humason, 1979)

#### การเตรียม Mayer's hematoxylin

Hematoxylin Crystals	4 g
Distilled Water	2,000 ml
Sodium iodate	0.8 g
Potassium หรือ Ammonium Alum	200 g
Citric Acid	4 g
Chloral Hydrate	200 g

ละลาย Alum ในน้ำกลั่น แล้วเติม Hematoxylin ลงไป คนให้ละลาย จึงเติม Sodium iodate ผสมให้เข้ากัน เติม Citric Acid และ Chloral Hydrate คนให้เข้ากัน เขย่าจนสารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ได้สีม่วงอมแดง (Red-Dish Violet) ควรทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ก่อนนำมาใช้

#### การเตรียม Eosin

Eosin Y, CI 45380	1 g
70% Ethyl Alcohol	1000 ml
Glacial Acetic Acid	5 ml

ผสมเข้าด้วยกัน แล้วเติม Glacial Acetic Acid 2-3 หยดก่อนใช้

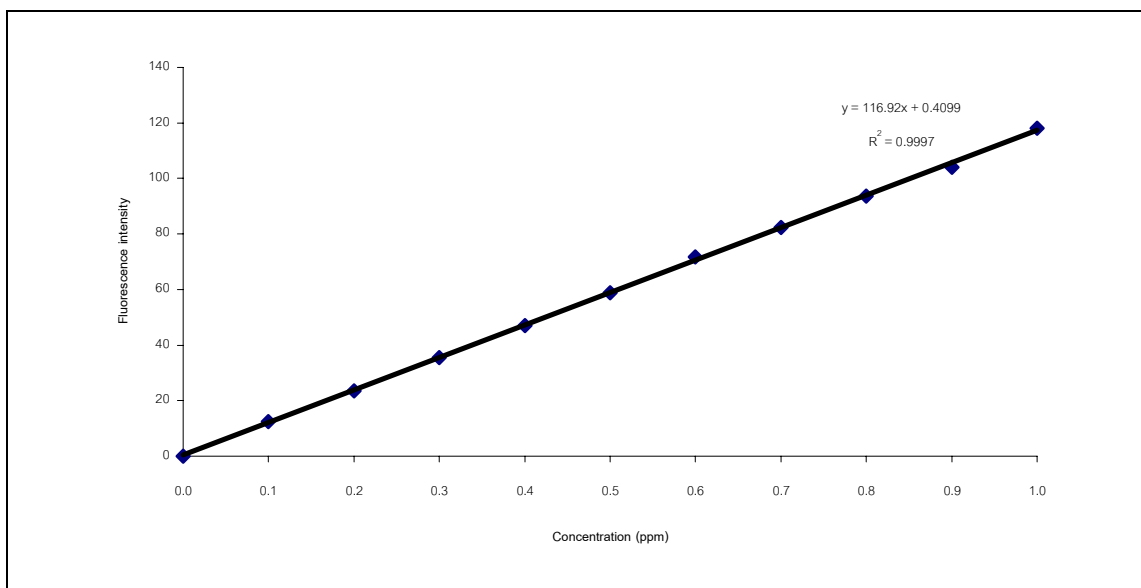
ภาคผนวก ข

การเตรียมกราฟลิเบรชันของสารมาตรฐาน Chrysene

ตาราง 13 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Fluorescence Intensity กับความเข้มข้นของ Chrysene ด้วยเครื่อง Spectrofluorometer

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไครซีน (mg/L)	ค่า Fluorescence Intensity
0	0.09
0.1	12.42
0.2	23.59
0.3	35.54
0.4	46.95
0.5	58.82
0.6	71.78
0.7	82.40
0.8	93.67
0.9	104.11
1.0	118.18

ค่าที่ได้จากตารางนำมาเขียนกราฟแสดง Calibration Curve of Standard Chrysene ได้ดังภาพประกอบ 34

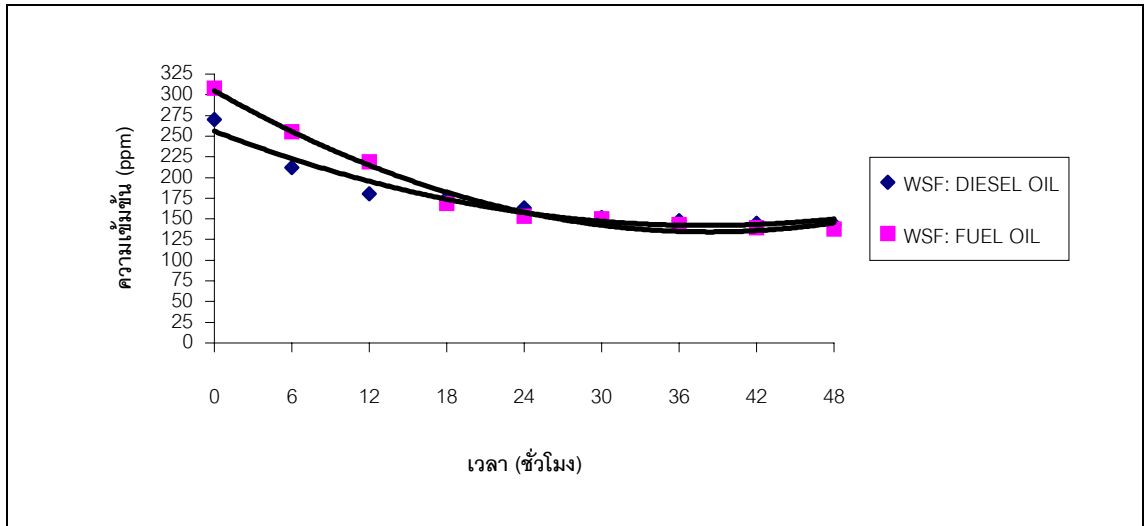


ภาพประกอบ 34 กราฟคาลิเบรชัน (Calibration Curve) ของสารมาตรฐาน Chrysene

## ภาคผนวก ฅ

การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของน้ำมันเตา และ  
น้ำมันดีเซลส่วน(ที่ละลายน้ำ) เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง

การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของน้ำมันเตา และน้ำมันดีเซล (ส่วนที่ละลายน้ำ) เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง แสดงไว้ในภาพประกอบ 35



ภาพประกอบ 35 การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของน้ำมันเตา และน้ำมันดีเซล (ส่วนที่ละลายน้ำ) เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง



ภาคผนวก ๑

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

IOC/UNESCO (1984)





















ภาคผนวก ก

การเก็บตัวอย่างกุ้งกุลาดำเพื่อศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อ

### การเก็บตัวอย่างกึ่งกลาดำเพื่อศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อ มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ฉีดน้ำยาของ Davidson เข้าในตัวกึ่ง เพื่อให้ น้ำยาซึมเข้าสู่อวัยวะที่ต้องการเก็บคองนั้น โดยใช้เข็มฉีดยาขนาด 1 ml ฉีดน้ำยา Davidson ให้เต็มกระบอกฉีดยา จากนั้นใช้ปลายเข็มแทงเข้าไปในบริเวณส่วนหัวและลำตัว โดยให้แน่ใจว่าน้ำยาได้ถูกฉีดเข้าสู่ส่วนของตับกึ่ง (Hepatopancreas) และอวัยวะอื่น ๆ

2. ใช้มีดผ่าตัดหรือกรรไกรตัดส่วนหัวของกึ่ง และกลัมน้ำอสุจิในตัวคองในขวดซึ่งบรรจุน้ำยา Davidson โดยให้น้ำยาท่วมตัวอย่าง อย่างน้อย 72 ชั่วโมง เพื่อให้ น้ำยาซึมเข้าสู่อวัยวะต่าง ๆ ได้ทั่วถึง

3. หลังจากแช่ตัวอย่างในน้ำยาของ Davidson 72 ชั่วโมง หากยังต้องการเก็บตัวอย่างที่ต้องการศึกษาต่อไปโดยไม่ต้องการทำ Dehydration ก็ให้เปลี่ยนลงไปแช่ไว้ใน 50% Alcohol แทน จะเก็บรักษาไว้ได้นานหลายเดือน

### ขั้นตอนการ Dehydration จนถึง Embedding

1. นำตัวอย่างที่ต้องการศึกษาซึ่งอยู่ในน้ำยาของ Davidson หรือ 50% Alcohol มาตกแต่ง (Trim) โดยใช้กรรไกรและมีดผ่าตัดเปิดส่วนหัวของกึ่ง และตัดส่วนที่ต้องการศึกษาให้โดยขนาดไม่โตนัก ตกแต่งให้สวยงามเพื่อสะดวกต่อการ Embed และนำไปตัด Section ต่อไป

2. นำตัวอย่างเหล่านั้นไปผ่านขั้นตอนด้วยเครื่อง Automatic Tissue Processor ซึ่งมีขั้นตอนดังตาราง 14

ตาราง 14 ขั้นตอนการนำตัวอย่างด้วยเครื่อง Automatic Tissue Processor

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (ชั่วโมง)
1	50% Alcohol	1
2	70% Alcohol	1
3	70% Alcohol	1
4	95% Alcohol	1
5	95% Alcohol	1
6	Absolute Alcohol	1
7	Isopropyl Alcohol	1
8	Isopropyl Alcohol	1
9	Xylene	1

ตาราง 14 (ต่อ)

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (ชั่วโมง)
10	Xylene	1
11	Paraplast	1
12	Paraplast	1

3. นำตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนในข้อ 2 ไป Embed ด้วย Paraplast จากนั้นนำ Block ไปแช่ในตู้เย็นเพื่อให้แข็งที่จะนำไปตัด Section ต่อไป

4. ตบแต่ง ตัวอย่างที่อยู่ใน Block (จากข้อ 3) ให้มีขนาดไม่โตมากนัก ประมาณว่าให้เหมาะกับขนาด Slide และ Cover Glass ปิดได้สนิท จากนั้นนำไปตัดด้วยเครื่อง Microtome ให้ได้ความหนาประมาณ 3-4 ไมครอน นำไปลอยในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส

5. ใช้แผ่น Slide ซ้อนตัวอย่างที่สมบูรณ์นำไปวางไว้ในตู้อบ (Oven) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส อบข้ามคืนเพื่อให้ตัวอย่างยึดติดแผ่น Slide ดีขึ้น

6. นำตัวอย่างซึ่งขณะนี้ติดแน่นอยู่บนแผ่น Slide (Paraffin Section) (จากข้อ 5) ไปผ่านขบวนการย้อมสี ซึ่งในการศึกษาเนื้อเยื่อทั่วไปจะย้อมด้วยสี Hematoxylin และ Eosin (H&E) โดยมีขั้นตอนดังตาราง 15

ตาราง 15 ขั้นตอนการย้อมสี Hematoxylin และ Eosin (H&E)

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (นาที)
1	Xylene	5
2	Xylene	5
3	Absolute Alcohol หรือ Isopropyl Alcohol	1
4	Absolute Alcohol หรือ Isopropyl Alcohol	1
5	50% Alcohol	1
6	70% Alcohol	1
7	95% Alcohol	1
8	แช่น้ำกลั่น	3
9	Hematoxylin	1-2
10	ผ่านน้ำประปา	10
11	แช่น้ำกลั่น	1

ตาราง 15 (ต่อ)

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (ชั่วโมง)
12	Eosin	3
13	70% Alcohol	0.5
14	95% Alcohol	0.5
15	95% Alcohol	0.5
16	Absolute Alcohol	0.5
17	Absolute Alcohol	0.5
18	Xylene	1
19	Xylene	1

7. Mount Slide ด้วยน้ำยา Eukitt (Permount)

ผล : นิวเคลียสติดสีน้ำเงิน ไซโตพลาสซึมติดสีชมพูถึงแดง

ภาคผนวก ฎ

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่า  $LC_{50}$  และ  
ช่วงแห่งความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

## การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่า LC50 และช่วงแห่งความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากข้อมูลความเข้มข้นและอัตราการตายในแต่ละระดับ สามารถนำมาประเมินค่าความเข้มข้นที่ทำให้กุ้งกุลาดำตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC<sub>50</sub>) และช่วงแห่งความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีวิเคราะห์แบบโพรบิต (Probit Analysis) ตามวิธีการของ Finney (1971) และปรีชา สมมณี (2520) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ซึ่งเขียนโดย โชคชัย เหลืองธูวปราณีต (2531) ตามตัวอย่างต่อไปนี้

กำหนดให้	x	=	log ของระดับความเข้มข้นของสารเคมีขจัดคราบน้ำมันชนิด OD 4000
	r	=	จำนวนกุ้งกุลาดำที่ตายเนื่องจากสารเคมีขจัดคราบน้ำมันชนิด OD 4000
	n	=	จำนวนกุ้งทดลองทั้งหมด
	p	=	เอ็มไพริคัลของอัตราการตาย (empirical value) = r/n
	y*	=	เอ็มไพริคัลโพรบิต ได้จากการเปลี่ยนค่าเอ็มไพริคัลของอัตราการตายโดยใช้ตาราง 16
	Y	=	ค่าโพรบิตที่คาดคะเน (expected probit) ได้จากวิธีปรับเส้นตรงด้วยสายตา หรือคำนวณจากเส้นถดถอย (y* = a+bx)
	Y <sub>0</sub> และ Y <sub>1</sub>	=	ค่าโพรบิตต่ำสุด (minimum probit) และค่าโพรบิตสูงสุด (maximum probit) ตามลำดับ ได้จากตาราง 17
	A	=	ช่วง (range) ได้จากตาราง 17
	y	=	ค่าโพรบิตสำหรับการคำนวณ (working probit) ได้จากการคำนวณจากค่าโพรบิตที่คาดคะเนได้จากสูตร $y = Y_0 + pA$ หรือ $y = Y_1 - (1-p)A$
	w	=	สัมประสิทธิ์ของการถ่วงน้ำหนัก (weighting - coefficient) ได้จากตาราง 18
	W	=	น้ำหนัก = nw



### วิธีการ

ความเข้มข้นของสารเคมีจัดคราบน้ำมัน ชนิด OD 4000 (C) ซึ่งมีอยู่ 5 ระดับ จำนวนกึ่งที่ตาย (r) และจำนวนกึ่งที่ใช้ในการทดลอง (n) แสดงไว้ในตาราง 15

คำนวณค่า x จาก  $x = \log C$  และ p จาก  $p = r/n$  นำค่า p มาเปิดตาราง 16 เพื่อหาค่าเอ็มไพริกัลโพรบิท ( $y^*$ ) ในกรณีที่  $p = 1$  จะหาค่าเอ็มไพริกัลไม่ได้ ในกรณีนี้ไม่จำเป็นต้องนำค่านี้นำมาใช้ในการคำนวณหาค่าคาดคะเนของโพรบิท

ประมาณค่าคาดคะเนโพรบิทจากข้อมูล  $y^*$  และ x ด้วยวิธี plot กราฟ และปรับเส้นตรงด้วยสายตา โดยให้น้ำหนักของแต่ละจุดเท่ากัน หรือคำนวณจากสมการถดถอยอย่างง่าย ( $y^* = a+bx$ ) เมื่อได้แล้วให้ประมาณค่าคาดคะเนโพรบิท (Y) จากกราฟหรือจากสมการถดถอยอย่างง่ายนั้น

### ตัวอย่างการคำนวณโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์

ตาราง 16 วิธีการคำนวณค่าความลาดและจุดตัดแกนตั้ง ตามวิธีวิเคราะห์แบบโพรบิท

C	x	r	n	p(r/n)	$y^*$	Y
3.00	0.4771	3.00	10.00	0.30	4.48	4.27
5.00	0.6990	3.00	10.00	0.30	4.48	5.01
7.000	0.8451	8.00	10.00	0.80	5.84	5.50
9.00	0.9542	8.00	10.00	0.80	5.84	5.86
11.00	1.0414	10.00	10.00	1.00	-	6.15

### การคำนวณครั้งที่ 1

X	y	W	Wx	Wx <sup>2</sup>	Wxy	Wy	Wy <sup>2</sup>	Y
0.4771	4.490	5.231	2.496	1.191	11.207	23.488	105.466	4.15
0.6990	4.499	6.366	4.450	3.110	20.017	28.638	128.834	5.03
0.8451	5.808	5.818	4.917	4.155	28.556	33.790	196.242	5.61
0.9542	5.841	4.842	4.620	4.409	26.988	28.282	165.211	6.05
1.0414	6.758	3.874	4.035	4.202	27.265	26.181	176.922	6.39
		26.131	20.517	17.067	114.033	140.380	772.675	

$$\begin{aligned}
S_{xx} &= 0.9573288 \\
S_{xy} &= 3.81173 \\
S_{yy} &= 18.53198 \\
\bar{X} &= 0.7851655 \\
\bar{Y} &= 5.372161 \\
b &= 3.98163 \\
a &= 2.245923 \\
Y &= 2.245923 + 3.98163X
\end{aligned}$$

การคำนวณครั้งที่ 2

x	y	W	Wx	Wx <sup>2</sup>	Wxy	Wy	Wy <sup>2</sup>	Y
0.4771	4.520	4.859	2.318	1.106	10.478	21.960	99.250	4.14
0.6990	4.498	6.364	4.448	3.109	20.011	28.629	128.788	5.04
0.8451	5.824	5.552	4.692	3.965	27.326	32.335	188.329	5.63
0.9542	5.820	4.234	4.040	3.855	23.511	24.639	143.397	6.07
1.0414	6.9348	3.045	3.172	3.303	21.990	21.116	146.411	6.43
		24.054	18.670	15.338	103.317	128.680	706.174	

$$\begin{aligned}
S_{xx} &= 0.8473234 \\
S_{xy} &= 3.440025 \\
S_{yy} &= 17.78735 \\
\bar{X} &= 0.7761662 \\
\bar{Y} &= 5.349609 \\
b &= 4.059873 \\
a &= 2.198473 \\
Y &= 2.198473 + 4.059873X
\end{aligned}$$

การคำนวณครั้งที่ 3

x	y	W	Wx	Wx <sup>2</sup>	Wxy	Wy	Wy <sup>2</sup>	Y
0.4771	4.523	4.827	2.303	1.099	10.417	21.833	98.746	4.14
0.6990	4.498	6.363	4.448	3.109	20.007	28.624	128.758	5.04
0.8451	5.827	5.504	4.652	3.931	27.104	32.072	186.872	5.63
0.9542	5.813	4.141	3.952	3.771	22.970	24.072	139.928	6.07
1.0414	6.959	2.932	3.053	3.180	21.248	20.404	141.998	6.43
		23.768	18.407	15.089	101.747	127.004	696.302	

$$S_{xx} = 0.8332596$$

$$S_{xy} = 3.385872$$

$$S_{yy} = 17.64905$$

$$\bar{X} = 0.7744706$$

$$\bar{Y} = 5.343555$$

$$b = 4.063406$$

$$a = 2.196566$$

$$Y = 2.196566 + 4.063406X$$

For df = 3

Chi-square (p = 0.05) = 7.81

Chi-square = 3.890876

For Linearity test by Chi-square test at df = 3 isn't significant!

SLOPE(B) = 4.063406

VARIANCE OF SLOPE 1.200106

INTERCEPT(A) = 2.196566

ED50 = 4.89691

LOGED50 = .6899221

VARIANCE OF LOGED50 = 3.067772E-03

95% Confidence Interval of ED50 = 3.350974 to 6.154127

Approximate 95% Confidence Interval of ED50 = 3.813842 to 6.287551

ตาราง 17 การเปลี่ยนอัตราให้เป็นโปรบิท

อัตรา	.00	.01	.02	.03	.04	.05	.06	.07	.08	.09
.00	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
.01	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.06	4.01	4.05	4.08	4.12
.02	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
.03	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
.04	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
.05	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
.06	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
.07	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
.08	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
.09	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

ตาราง 18 ค่าโปรบิทต่ำสุด ( $Y_0$ ) โปรบิทสูงสุด ( $Y_1$ ) ช่วง (A) และสัมประสิทธิ์ของการถ่วงน้ำหนัก (w)

Expected probit (Y)	Minimum working ( $Y_0$ )	Range (A)	Maximum working ( $Y_1$ )	Expected probit (Y)	Weighing coefficient
1.1	0.8579	5033.8402	9.1421	8.9	0.00082
1.2	0.9522	3425.2797	9.0478	8.8	0.00118
1.3	1.0462	2354.1580	8.9538	8.7	0.00167
1.4	1.1400	1634.2486	8.8600	8.6	0.00235
1.5	1.2334	1145.8917	8.7666	8.5	0.00327
1.6	1.3266	811.5439	8.6734	8.4	0.00451
1.7	1.4194	580.5282	8.5806	8.3	0.00614
1.8	1.5118	419.4475	8.4882	8.2	0.00828
1.9	1.6038	306.1081	8.3962	8.1	0.01104
2.0	1.6954	225.6395	8.3046	8.0	0.01457
2.1	1.7866	167.9957	8.2134	7.9	0.01903
2.2	1.8772	126.3352	8.1228	7.8	0.02458
2.3	1.9673	95.9607	8.0327	7.7	0.03143

ตาราง 18 (ต่อ)

Expected probit (Y)	Minimum working ( $Y_0$ )	Range (A)	Maximum working ( $Y_1$ )	Expected probit (Y)	Weighing coefficient
2.4	2.0568	73.6216	7.9432	7.6	0.03977
2.5	2.1457	57.0506	7.8543	7.5	0.04949
2.6	2.339	44.6538	7.7661	7.4	0.06168
2.7	2.3214	35.3020	7.6786	7.3	0.07564
2.8	2.4081	28.1892	7.5919	7.2	0.09179
2.9	2.4938	22.7357	7.5062	7.1	0.11026
3.0	2.5786	18.5216	7.4214	7.0	0.13112
3.1	2.6624	15.2402	7.3376	6.9	0.15436
3.2	2.7449	12.6662	7.2551	6.8	0.17994
3.3	2.8261	10.6327	7.1739	6.7	0.20774
3.4	2.9060	9.0154	7.0940	6.6	0.23753
3.5	2.9842	7.7210	7.0158	6.5	0.26907
3.6	3.0606	6.6788	6.9394	6.4	0.30199
3.7	3.1351	5.8354	6.8649	6.3	0.33589
3.8	3.2074	5.1497	6.7926	6.2	0.37031
3.9	3.2773	4.5903	6.7227	6.1	0.40474
4.0	3.3443	4.1327	6.6557	6.0	0.43863
4.1	3.4083	3.7582	6.5917	5.9	0.471044
4.2	3.4687	3.4519	6.5313	5.8	0.50260
4.3	3.5251	3.2025	6.4749	5.7	0.53159
4.4	3.5770	3.0010	6.4230	5.6	0.55788
4.5	3.6236	2.8404	6.3764	5.5	0.58099
4.6	3.6643	2.7154	6.3357	5.4	0.60052
4.7	3.6982	2.6220	6.3018	5.3	0.61609
4.8	3.7241	2.5573	6.2759	5.2	0.62742
4.9	3.7407	2.5192	6.2593	5.1	0.63431
5.0	3.7467	2.5066	6.2533	5.0	0.63662

ตาราง 18 (ต่อ)

Expected probit (Y)	Minimum working ( $Y_0$ )	Range (A)	Maximum working ( $Y_1$ )	Expected probit (Y)	Weighing coefficient
5.1	3.7401	2.5192	6.2599	4.9	0.63431
5.2	3.7187	2.5573	6.2813	4.8	0.62742
5.3	3.6798	2.6220	6.3202	4.7	0.61609
5.4	3.6203	2.7154	6.3797	4.6	0.60052
5.5	3.5360	2.8404	6.4640	4.5	0.58099
5.6	3.4220	3.0010	6.5780	4.4	0.55788
5.7	3.2724	3.2025	6.7276	4.3	0.53159
5.8	3.0794	3.4519	6.9206	4.2	0.50260
5.9	2.8335	3.7582	7.1665	4.1	0.47144
6.0	2.5229	4.1327	7.4771	4.0	0.403863
6.1	2.1325	4.5903	7.8675	3.9	0.40474
6.2	1.6429	5.1497	8.3571	3.8	0.37301
6.3	1.0295	5.8354	8.9705	3.7	0.33589
6.4	0.2606	6.6786	9.7394	3.6	0.30199
6.5	-0.7051	7.7210	10.7051	3.5	0.26907

ภาคผนวก ฐ

อัตราการตายสะสมของกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ  
ของสารทดลองแต่ละชนิด

ตาราง 19 อัตราการตายสะสมของกิ้งกูด้า (*P. monodon*) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารทดลองแต่ละชนิด (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

สารทดลอง	ความเข้มข้น (mg/L)	เวลา (ชั่วโมง)							
		12	24	36	48	60	72	84	96
ชุดควบคุม	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
OD 4000	3.00	0.00	2.00±4.47	2.00±4.47	6.00±8.94	14.00±5.55	16.00±5.48	16.00±5.48	16.00±5.48
	5.00	4.00±5.48	16.00±5.48	16.00±5.48	20.00±0.00	22.00±4.47	26.00±5.48	26.00±5.48	34.00±5.48
	7.00	26.00±5.48	48.00±8.37	50.00±7.07	62.00±4.47	64.00±5.48	70.00±7.07	70.00±7.07	76.00±5.48
	9.00	60.00±7.07	70.00±7.07	70.00±7.07	80.00±7.07	80.00±7.07	80.00±5.48	80.00±5.48	80.00±5.48
	11.00	66.00±11.40	84.00±11.40	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
WSF: Fuel Oil	19.20±3.35	0.00	6.00±5.48	16.00±5.48	18.00±4.47	18.00±4.47	18.00±4.47	18.00±4.47	18.00±4.48
	35.40±3.91	4.00±5.48	16.00±5.48	20.00±0.00	26.00±5.48	26.00±5.48	30.00±0.00	30.00±0.00	32.00±4.48
	48.80±5.40	8.00±5.48	24.00±8.94	30.00±7.07	42.00±4.47	42.00±4.47	46.00±5.47	46.00±5.48	48.00±4.48
	63.80±4.09	22.00±7.07	42.00±16.43	60.00±23.45	66.00±19.49	72.00±16.43	82.00±13.04	84.00±11.40	84.00±11.40
	79.20±5.22	36.00±5.48	54.00±5.48	70.00±7.07	82.00±10.95	90.00±7.07	92.00±4.48	96.00±5.48	96.00±5.48
WSF: Diesel Oil	41.40±5.08	0.00	10.00±0.00	26.00±5.48	42.00±8.37	44.00±11.40	44.00±11.40	44.00±11.40	44.00±11.40
	57.60±4.28	4.00±5.48	16.00±5.48	32.00±8.37	46.00±8.94	50.00±0.00	58.00±8.37	60.00±7.07	64.00±11.40
	93.60±10.31	14.00±5.48	30.00±7.70	36.00±5.48	54.00±8.94	58.00±4.47	68.00±8.37	74.00±5.48	82.00±4.47
	134.40±4.29	28.00±8.37	66.00±8.94	74.00±11.40	86.00±5.48	92.00±8.37	96.00±5.48	100.00±0.00	100.00±0.00
	164.40±10.43	36.00±13.42	62.00±4.47	84.00±11.40	96.00±5.48	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00



ภาคผนวก ๓

ระดับความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการทดลอง

ตาราง 20 ระดับความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการทดลองที่มีผลให้กุ้งกุลาดำตายร้อยละ 50 (Median Lethal Concentration, LC<sub>50</sub>) ในเวลาต่างๆ

สารทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ค่า LC <sub>50</sub> (mg/L)	ช่วงแห่ง ความ เชื่อมั่นที่ 95%	ไคแอสควร์ (X <sup>2</sup> )	ความเอียง (Slope)	ชั้นแห่ง ความเป็น อิสระ
สารเคมี ขจัดคราบ น้ำมัน ชนิด OD 4000	12	8.92±0.56	7.53-10.58	1.3644	6.4793	3
	24	7.33±0.50	6.16-8.72	1.0200	5.9386	3
	36	6.99±0.35	6.00-8.14	2.3418	6.8062	3
	48	6.27±0.30	5.34-7.37	1.8555	6.8979	3
	60	5.88±0.36	4.86-7.10	2.8069	5.3007	3
	72	5.51±0.32	4.55-6.69	2.6424	5.3574	3
	84	5.51±0.32	4.55-6.69	2.6424	5.3574	3
	96	4.97±0.34	3.97-6.27	2.5473	4.5303	3
น้ำมันเตา ส่วนที่ ละลายน้ำ	12	97.38±16.09	58.87-171.13	0.4642	5.2785	3
	24	84.07±24.57	46.48-173.74	0.9692	3.1527	3
	36	59.95±9.47	40.88-88.80	3.2467	2.7283	3
	48	49.00±5.14	36.00-66.99	3.0027	3.0545	3
	60	46.40±1.95	35.39-60.90	2.6502	3.2823	3
	72	41.92±3.22	32.79-53.62	3.1082	3.8149	3
	84	41.07±3.09	32.44-52.02	3.9094	4.1136	3
	96	40.31±2.41	31.79-51.18	3.6267	4.0942	3
น้ำมันดีเซล ส่วนที่ ละลายน้ำ	12	212.91±49.40	111.44-448.24	0.4573	3.9206	3
	24	119.15±8.21	86.17-165.08	1.1477	3.0995	3
	36	86.37±7.32	62.44-119.69	3.1707	2.7034	3
	48	58.84±4.47	40.16-86.84	3.1095	2.7790	3
	60	54.39±5.54	37.90-79.25	4.1711	3.2611	3
	72	49.71±7.78	34.77-72.77	2.7214	3.5041	3
	84	48.59±6.32	35.09-68.02	2.2428	3.9255	3
	96	47.80±5.23	35.25-65.20	1.3529	4.2787	3

ภาคผนวก ๓

การประเมินค่าระดับเริ่มเป็นพิษจากเส้นโค้งความเป็นพิษ (Toxicity Curve)

## การประเมินค่าระดับเริ่มเป็นพิษจากเส้นโค้งความเป็นพิษ (Toxicity Curve)

จากข้อมูลความเข้มข้นที่ทำให้กึ่งกลตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ( $LC_{50}$ ) ภายในระยะเวลาต่าง ๆ กัน สามารถนำมาประมาณค่าระดับเริ่มเป็นพิษของสารได้ โดยศึกษาจากเส้นโค้งความเป็นพิษตามรายละเอียดของวิธีการที่อธิบายไว้ในเส้นโค้งความเป็นพิษแบบเอ็กโปเนนเชียลที่มีขีดจำกัดล่าง (ปรีชา สมมติ, 2525) ตามตัวอย่างดังต่อไปนี้

กำหนดให้

M	=	มาตรฐานของความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตายภายในเวลาที่กำหนด (ppm)
H	=	ช่วงเวลาต่าง ๆ ที่กำหนด (ชั่วโมง)
a	=	มาตรฐานของระดับเริ่มเป็นพิษ (median threshold concentration)
k	=	อัตราการเพิ่มความรุนแรงของสารพิษ
c	=	ค่าคงที่

### วิธีการ

เส้นโค้งความเป็นพิษ หรือเส้นโค้งที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารพิษกับเวลาที่กึ่งกลตายได้รับนั้น สามารถเขียนได้ในรูปของเส้นโค้งความเป็นพิษแบบเอ็กโปเนนเชียลที่มีขีดจำกัดล่าง โดยมี a เท่ากับมาตรฐานของระดับเริ่มเป็นพิษ ดังสมการ

$$M = a + ce^{-kH}$$

การปรับเส้นโค้งเพื่อให้เหมาะสมกับข้อมูลมากที่สุด ใช้วิธีการเปลี่ยนแปลงสมการเส้นโค้งให้เป็นสมการเส้นตรงก่อน จากนั้นจึงค่อยปรับเส้นตรงให้เหมาะสมกับข้อมูลมากที่สุด สมการเส้นโค้งเมื่อแปลงเป็นสมการเส้นตรงแล้ว จะได้ดังนี้

$$\ln(M-a) = \ln c - kH$$

เนื่องจาก a เป็นตัวไม่รู้ค่า ในการปรับเส้นตรงตามสมการจำเป็นจะต้องแปรเปลี่ยนค่า a จนกว่าจะได้เส้นตรงที่เหมาะสมกับข้อมูลมากที่สุด การเลือกค่า a ที่จะใช้ในการปรับเส้นตรงเส้นแรก อาจสังเกตจากการลดลงของค่า M ถ้าค่า M ลดลงจากซ้ำ ๆ อาจใช้ค่า M ที่น้อยที่สุด หรือค่าที่ใกล้เคียงกับค่าดังกล่าว แต่ถ้า M ลดลงอย่างรวดเร็ว ควรเลือก a ที่มีค่าต่ำกว่า M ที่น้อยที่สุดมาก ๆ ส่วนแนวทางในการเปลี่ยนค่า a ที่ใช้ในการปรับเส้นตรง อาจสังเกตจากผลการกำหนดจุด (plot) ข้อมูล  $\ln(M-a)$  และ H บนกระดาษกราฟหรือข้อมูล  $\ln(M-a)$  และ H บนกระดาษกราฟ semi logarithm

จากการแปรเปลี่ยนค่า a พบว่า a = 4.53 จะสามารถปรับเส้นตรงให้เหมาะสมกับข้อมูลมากที่สุด ดังตาราง 20

$$r = \frac{\sum xy - (\sum x)(\sum y)/n}{\sqrt{[\sum x^2 - (\sum x)^2/n][\sum y^2 - (\sum y)^2/n]}}$$

$$r = \frac{36.99223 - (432)(3.395561)/8}{\sqrt{29376 - (432)^2/8}[5.138708 - (3.395561)^2/8]}$$

$$= -0.96$$

จากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์พบว่า การเปลี่ยนแปลงข้อมูลความเข้มข้นตามวิธีนี้ทำให้ตัวแปร H และ ln (M-4.53) มีความสัมพันธ์แบบเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01)

$$k = \frac{\sum xy - \sum x \sum y / n}{\sum x^2 - (\sum x)^2 / n}$$

ในรูปของสมการเส้นตรง สามารถคำนวณหาความลาด (-k) และจุดตัดแกนตั้ง (Inc) ได้จาก

$$k = \frac{36.99223 - (432)(3.395561)/8}{29376 - (432)^2/8}$$

$$= -0.0242$$

$$\text{Inc} = \bar{Y} - k\bar{x}$$

$$= 0.42446 - (-0.0242)(54)$$

$$= 1.731$$

$$c = 5.65$$

เส้นโค้งความเป็นพิษของสารเคมีขจัดคราบน้ำมันต่อกิ้งกูดำ

$$M = 4.53 + 5.65 e^{-0.0242H}$$

ค่ามัธยฐานของระดับเริ่มเป็นพิษของสารเคมีขจัดคราบน้ำมันจากตัวอย่างนี้ เท่ากับ 4.53 ppm

ตาราง 21 วิธีการคำนวณเพื่อหาค่าผลรวมต่าง ๆ

H (x) ชั่วโมง	M (ppm)	M-4.534	ln (M-4.534) (y)	xy	x <sup>2</sup>	y <sup>2</sup>
12	8.9216	4.3916	1.479694	17.75632	144	2.189493
24	7.3287	2.7987	1.029155	24.69972	576	1.059160
36	6.9892	2.4592	0.899836	32.39410	1296	0.809705
48	6.2694	1.7394	0.553540	26.56993	2304	0.306407
60	5.8738	1.3438	0.295501	17.73009	3600	0.087321
72	5.5132	0.9832	-0.016943	-1.219876	5184	0.000287
84	5.5132	0.9832	-0.016943	-1.423189	7056	0.000287
96	4.9668	0.4368	0.828280	-79.51487	9216	0.686048
432	51.3759	15.1359	3.395561	36.99223	29376	5.138708

ภาคผนวก ฅ

น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำทุกสองสัปดาห์

ตาราง 22 น้ำหนักฝุ่นละเอียด (กรัม) ต่อตัวทุกสองสัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ชุดการทดลอง*	สัปดาห์ที่			
	0	2	4	6
T1	1.55±0.06 <sup>a</sup>	3.14±0.05 <sup>a</sup>	4.56±0.16 <sup>a</sup>	6.82±0.17 <sup>a</sup>
T2	1.56±0.02 <sup>a</sup>	2.96±0.05 <sup>b</sup>	3.33±0.11 <sup>b</sup>	5.58±0.05 <sup>b</sup>
T3	1.55±0.02 <sup>a</sup>	2.56±0.02 <sup>cde</sup>	3.18±0.04 <sup>bc</sup>	5.23±0.07 <sup>c</sup>
T4	1.57±0.03 <sup>a</sup>	2.54±0.01 <sup>def</sup>	3.07±0.03 <sup>cd</sup>	3.77±0.03 <sup>c</sup>
T5	1.54±0.02 <sup>a</sup>	2.58±0.05 <sup>cd</sup>	3.03±0.20 <sup>cd</sup>	5.65±0.08 <sup>b</sup>
T6	1.54±0.02 <sup>a</sup>	2.51±0.03 <sup>ef</sup>	2.75±0.04 <sup>ef</sup>	3.99±0.07 <sup>c</sup>
T7	1.55±0.03 <sup>a</sup>	2.50±0.02 <sup>f</sup>	2.77±0.03 <sup>ef</sup>	3.58±0.06 <sup>d</sup>
T8	1.56±0.02 <sup>a</sup>	2.61±0.02 <sup>c</sup>	2.91±0.05 <sup>c</sup>	4.87±0.13 <sup>c</sup>
T9	1.55±0.03 <sup>a</sup>	2.56±0.02 <sup>ef</sup>	2.76±0.03 <sup>ef</sup>	3.43±0.08 <sup>d</sup>
T10	1.55±0.02 <sup>a</sup>	2.52±0.02 <sup>ef</sup>	2.63±0.06 <sup>f</sup>	3.22±0.13 <sup>c</sup>

ในสัปดาห์เดียวกันค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* T1 = Control, T2 = 25% LTC Diesel Oil (WSF), T3 = 50% LTC Diesel Oil (WSF), T4 = 75% LTC Diesel Oil (WSF), T5 = 25% LTC OD 4000, T6 = 50% LTC OD 4000, T7 = 75% LTC OD 4000, T8 = 25% LTC Fuel Oil (WSF), T9 = 50% LTC Fuel Oil (WSF), T10 = 75% LTC Fuel Oil (WSF)



ภาคผนวก ต

คุณภาพน้ำก่อนการทดลอง และหลังการทดลอง

ตาราง 23 การเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำก่อนการทดลอง และหลังการทดลอง (เมื่อทำการทดลองครบ 96 ชั่วโมง)

สารเคมี	ความเข้มข้น (mg/L)	pH		ปริมาณออกซิเจนละลาย (DO) (mg/L)		อุณหภูมิ (°C)	
		ก่อนทดลอง	หลังทดลอง	ก่อนทดลอง	หลังทดลอง	ก่อนทดลอง	หลังทดลอง
OD 4000	0	7.92±0.083	7.38±0.152	7.94±0.055	5.58±0.853	26	26
	3	7.82±0.124	6.93±0.493	7.94±0.055	3.52±0.383	26	26
	5	8.02±0.036	7.34±0.029	7.90±0.100	2.72±0.383	26	26
	7	8.04±0.018	7.47±0.080	8.02±0.130	2.80±0.158	26	26
	9	8.01±0.020	7.43±0.106	8.10±0.071	2.86±0.378	26	26

หมายเหตุ

ทำการทดลองที่ระดับความเค็มของน้ำเท่ากับ 15 psu

ตาราง 23 (ต่อ)

สารเคมี	ความเข้มข้น (mg/L)	pH		ปริมาณออกซิเจนละลาย (DO) (mg/L)		อุณหภูมิ (°C)	
		ก่อนทดลอง	หลังทดลอง	ก่อนทดลอง	หลังทดลอง	ก่อนทดลอง	หลังทดลอง
	0	7.90±0.015	7.25±0.131	7.72±0.295	4.38±0.890	26	25
Water Soluble	35.0	7.87±0.030	6.95±0.219	7.52±1.130	3.10±0.416	26	25
Fraction of Fuel	38.5	7.80±0.042	7.15±0.078	7.18±0.879	3.64±0.623	26	25
Oil (WSF)	45.0	7.85±0.026	7.17±0.050	8.24±0.581	3.64±0.378	26	25
	61.0	7.85±0.026	7.33±0.081	7.86±0.625	3.54±0.378	26	25

หมายเหตุ

ทำการทดลองที่ระดับความเค็มของน้ำเท่ากับ 15 psu

ตาราง 23 (ต่อ)

สารเคมี	ความเข้มข้น (mg/L)	pH		ปริมาณออกซิเจนละลาย (DO) (mg/L)		อุณหภูมิ (°C)	
		ก่อนทดลอง	หลังทดลอง	ก่อนทดลอง	หลังทดลอง	ก่อนทดลอง	หลังทดลอง
Water Soluble of Diesel Oil (WSF)	0.00	7.85±0.124	7.40±0.130	7.88±0.130	4.98±0.148	25	25
	45.67	7.83±0.153	7.35±0.139	7.78±0.286	3.32±0.259	25	25
	54.67	7.79±0.387	7.24±0.243	7.98±0.192	2.92±0.277	25	25
	93.33	7.92±0.193	6.89±0.305	7.88±0.192	2.92±0.148	25	25
	144.67	7.74±0.244	7.35±0.142	7.84±0.270	2.94±0.152	25	25

**หมายเหตุ**

ทำการทดลองที่ระดับความเค็มของน้ำเท่ากับ 15 psu