

ผลของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อไข่และวัยอ่อนของกิ้งก่ากรม



นางสาวปุกุชร์สมิ์ ก่อเจริญวัฒน์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)

are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECT OF BIODIESEL AND DIESEL ON EGG AND LARVAL STAGES OF
Macrobrachium rosenbergii

Miss Pucharas Gorcharoenwat



A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Environmental Science

(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2014

Copyright of Chulalongkorn University

| | |
|---------------------------------|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | ผลของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อไข่และวัยอ่อนของกิ้งก่ามกราม |
| โดย | นางสาวปุกฤษ์สรณ์ ก่อเจริญวัฒน์ |
| สาขาวิชา | วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก | รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิตวิรกุล |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม | รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งปรีชา |

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุนทร ชูตินธรานนท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาจอง ประทัตสุนทรสาร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิตวิรกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งปรีชา)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิตินธรรมยง)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ)

บุญศรี ส้ม ก่อเจริญวัฒน์ : ผลของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อไข่และวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม (EFFECT OF BIODIESEL AND DIESEL ON EGG AND LARVAL STAGES OF *Macrobrachium rosenbergii*) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิดาวรกุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร.สมใจ เพ็งปรีชา, 108 หน้า.

ศึกษาส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล (WSF ไบโอดีเซล) และน้ำมันดีเซล (WSF ดีเซล) ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 and 20 psu ต่อไข่และวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม พบว่าเวลาฟักไข่ของกุ้งก้ามกรามมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิโดยที่ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ระยะเวลาฟักไข่เท่ากับ 19, 17, 16 และ 15 วัน ตามลำดับ โดยไม่พบผลของส่วนที่ละลายน้ำของไบโอดีเซลและดีเซลต่อระยะเวลาฟักของไข่กุ้ง สำหรับอัตราการรอดชีวิตของลูกกุ้งหลังฟักพบสูงในชุดควบคุมและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล แต่มีแนวโน้มการรอดลดต่ำลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น 34 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล (33.36 ± 0.73 เปอร์เซ็นต์) และไม่พบอัตราการรอดของลูกกุ้งหลังฟักที่ความเข้มข้น 100% ส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล แต่ความเข้มข้น 50% ส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล อัตรารอดเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น 34 องศาเซลเซียส (37.39 ± 0.58 เปอร์เซ็นต์) ส่วนอัตราการตายของลูกกุ้งระยะต่างๆพบว่าลูกกุ้งระยะที่ I-III มีการตายเพิ่มขึ้นเมื่อขนาดเพิ่มขึ้น และพบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล มีความเป็นพิษต่ำกว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล การตายของลูกกุ้งที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส พบต่ำกว่าอุณหภูมิอื่นๆ ส่วนผลของความเค็มต่อลูกกุ้งระยะที่ I-III พบว่าความเค็มมีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ I-II ต่ำกว่าระยะที่ III ลูกกุ้งระยะโพสลาวาร์พบการตายของลูกกุ้งต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ และส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล ก่อให้เกิดการตายกับลูกกุ้งมากกว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล การศึกษาครั้งนี้พบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีลักษณะขาวขุ่นเป็นอิมัลชันในน้ำและคราบน้ำมันขนาดเล็กลอยอยู่บนผิวน้ำ ไปขัดขวางการเคลื่อนไหวและหายใจของลูกกุ้ง สำหรับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลมีลักษณะเป็นเงาวาวที่ผิวน้ำ และรวมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ และความเป็นพิษต่อลูกกุ้งเกิดจากสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันดีเซล ส่วนการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งในระยะโพสลาวาร์ พบว่าปัจจัยของอุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งมากกว่าผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันทั้งสองชนิด โดยการเปลี่ยนแปลงหลักของเนื้อเยื่อเหงือกได้แก่ gill lamella disorganization, vacuolar degeneration และ hemocytic infiltration

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อนิสิต

ปีการศึกษา 2557

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5287796920 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEYWORDS: BIODIESEL / DIESEL / TEMPERATURE / MACROBRACHIUM ROSENBERGII

PUNCHARAS GORCHAROENWAT: EFFECT OF BIODIESEL AND DIESEL ON EGG AND LARVAL STAGES OF *Macrobrachium rosenbergii*. ADVISOR: ASSOC. PROF.SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF.SOMCHAI PENGPRECHA, Ph.D., 108 pp.

A study of the effect of water soluble fraction of biodiesel (WSF biodiesel) and diesel (WSF diesel) at temperature of 25, 28, 31 and 34°C and salinity 10, 15 and 20 psu on hatchability and survival of larval *Macrobrachium rosenbergii* was conducted. The incubation period of *M. rosenbergii* eggs was related to the temperature; 25, 28, 31 and 34°C at 19, 17, 16 and 15 days, respectively. There was no effect of WSF of biodiesel and diesel on hatching period. Highest hatching survival was found in no oil group and WSF biodiesel treatment. A reduction tend of hatching survival while, the temperature increased (34°C), especially, at WSF biodiesel (33.36±0.73%). Moreover, there was no hatching survival at 100%WSF diesel, but 50%WSF diesel, which increased temperature (34°C), the hatching survival was increased (37.39±0.58%). The mortality of prawn larvae stages (I-III) shown that the mortality increased with higher larval stages. The toxicity of WSF of biodiesel was lower than that of WSF diesel on larvae. At temperature 28 and 31°C, lower mortality were found company to other temperatures. Salinity effect on larvae stages demonstrated lower effect on larvae stage I-II than on stage III. Postlarvae showed lower mortality (less than 20%) but WSF biodiesel showed higher effect on postlarvae than diesel one. In addition, WSF biodiesel like a milky solution with thinner film over the surface which obstructed movement and gas exchange of the larvae. WSF diesel was glossy and homogeneously into the water which chemical compositions were toxic to the larvae. Gill histopathological alteration showed that only temperatures cause more effect on gill lamellae than WSF of oils. The dominant gill lesion showed gill lamella disorganization, vacuolar degeneration and hemocytic infiltration.

Field of Study: Environmental Science

Academic Year: 2014

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณครอบครัวอันได้แก่ คุณพ่อสันติ ก่อเจริญวัฒน์ ถึงแม้ว่าจะไม่ได้ช่วยให้กำลังใจจนจบการศึกษา ขอขอบคุณ คุณแม่สมจิตร ก่อเจริญวัฒน์ น้องชายคุณวรพต ก่อเจริญวัฒน์ และญาติมิตร สำหรับกำลังใจและทุนการศึกษา

ขอบคุณบริษัทบางจากไบโอฟูเอลในความอนุเคราะห์น้ำมันปาล์มไบโอดีเซล บริษัท ปตท จำกัด มหาชน ในความอนุเคราะห์น้ำมันดีเซล ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด ชลบุรีในความอนุเคราะห์ลูกพันธุ์กุ้งก้ามกราม ขอขอบคุณศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีทางชีวภาพทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับสถานที่ทดลองและเงินทุนสนับสนุนการทำการวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล สำหรับความอนุเคราะห์สถานที่ทำการศึกษาทั้งทางเคมีและชีวภาพ ขอขอบคุณหลักสูตรสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม และขอบคุณทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรดิตรกุล และรองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งปรีชา สำหรับคำแนะนำในการศึกษาครั้งนี้ ขอขอบคุณอาจารย์คณะกรรมการสอบได้แก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาจอง ประทัดสุนทรสาร รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิตติธรรมยง รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ และดร.ณรงค์ศักดิ์ พ่วงลาภ สำหรับคำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์และแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณ ดร.พิกุล จิรวาณิชไพศาล ในความอนุเคราะห์และคำแนะนำในเรื่องเนื้อเยื่อเหงือกกุ้ง

ขอบคุณคุณอิงอร ทองคำดี คุณปรีชา เสนสิทธิ์ คุณเสรี ดอนเหนือ คุณสุนันทา ฉัตรไทยวัฒนา คุณเกศกนก สุดปรางค์ คุณจันทร์เลขา ภู่ทองคำ และเพื่อน พี่ น้องที่หลักสูตรสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม และภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ขอขอบคุณพี่สาว คุณสุนีรัตน์ รัตนะ และขอบคุณ คุณศิลปชัย เสนารัตน์ สำหรับคำแนะนำในการเขียนเล่มวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณทุกท่านสำหรับ ความกรุณา ความช่วยเหลือ และคำแนะนำ ในการทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

| | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | จ |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ฉ |
| สารบัญ..... | ช |
| สารบัญตาราง..... | ญ |
| สารบัญรูป..... | ฎ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ | 2 |
| 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 2 |
| บทที่ 2 ปรีทัศน์วรรณกรรม | 3 |
| 2.1 น้ำมันไบโอดีเซล..... | 3 |
| 2.2 น้ำมันดีเซล..... | 5 |
| 2.3 การร่วไหลของน้ำมัน ผลกระทบ และการขจัดคราบน้ำมัน..... | 5 |
| 2.3.1 การร่วไหลของน้ำมัน | 5 |
| 2.3.2 การแพร่กระจายของน้ำมันในน้ำ | 6 |
| 2.3.3 ผลกระทบจากน้ำมันร่วไหล | 7 |
| 2.3.4 วิธีการขจัดคราบน้ำมัน | 7 |
| 2.4 ผลกระทบของน้ำมันร่วไหลในสิ่งแวดล้อมต่อสิ่งมีชีวิต | 8 |
| 2.4.1 ความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมัน..... | 8 |
| 2.4.2 ความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมันปิโตรเลียม | 8 |
| 2.4.3 ความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล..... | 11 |

| | |
|---|----|
| 2.5 การรับน้ำมันเข้าสู่ร่างกายของสัตว์น้ำ..... | 12 |
| 2.6 ผลของน้ำมันไบโอดีเซลและน้ำมันดีเซลต่อสิ่งมีชีวิต | 13 |
| 2.6.1 การศึกษาการย่อยสลายของน้ำมันไบโอดีเซล | 13 |
| 2.6.2 ความเป็นพิษของน้ำมันไบโอดีเซลและน้ำมันดีเซลต่อสิ่งมีชีวิต | 14 |
| 2.6.3 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อความเป็นพิษของน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำ..... | 21 |
| 2.7 ชีววิทยากุ้งก้ามกราม..... | 21 |
| 2.7.1 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการพัฒนาของไข่และวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม | 23 |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... | 25 |
| 3.1 การเตรียมน้ำสำหรับการทดลอง | 25 |
| 3.1.1 น้ำจืด..... | 25 |
| 3.1.2 น้ำเค็ม | 25 |
| 3.2 การหาความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล | 25 |
| 3.2.1 การเตรียมน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำ (Water soluble fraction, WSF)..... | 25 |
| 3.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันที่ละลายในน้ำ | 26 |
| 3.3 การเตรียมพ่อแม่พันธุ์กุ้งและลูกกุ้งวัยอ่อนระยะต่างๆ | 26 |
| 3.4 การศึกษาผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันต่อวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม | 27 |
| 3.4.1 การศึกษาผลของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำต่อการฟักไข่ของกุ้งก้ามกราม | 27 |
| 3.4.2 การศึกษาผลของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำต่อวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม | 28 |
| บทที่ 4 ผลการทดลอง..... | 32 |
| 4.1 ความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล | 32 |
| 4.2 ความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0 psu ต่อการฟักของไข่กุ้งก้ามกราม | 33 |
| 4.3 ความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ต่อลูกกุ้งวัยอ่อน | 36 |

| | |
|---|-----|
| 4.4 ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ต่อการเปลี่ยนแปลงพลาสมาของเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งระยะโพสลาวาร์..... | 47 |
| บทที่ 5 วิจัยรณผลการทดลอง | 53 |
| 5.1 ความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมัน | 53 |
| 5.2 ความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0 psu ต่อไขกุ้งก้ามกราม..... | 53 |
| 5.3 ความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ต่อลูกกุ้งก้ามกราม | 57 |
| 5.4 ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ต่อการเปลี่ยนแปลงพลาสมาของเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งระยะโพสลาวาร์..... | 62 |
| บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา..... | 64 |
| รายการอ้างอิง | 66 |
| ภาคผนวก ก..... | 77 |
| ภาคผนวก ข..... | 79 |
| ภาคผนวก ค..... | 81 |
| ภาคผนวก ง | 95 |
| ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ | 108 |

สารบัญตาราง

| | | |
|---------------|---|----|
| ตารางที่ 2.1 | องค์ประกอบและเปอร์เซ็นต์กรดไขมันในน้ำมันปาล์มไปโอดีเซล | 4 |
| ตารางที่ 2.2 | องค์ประกอบสารเคมีในส่วนของน้ำของน้ำมันดีเซล | 10 |
| ตารางที่ 2.3 | โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดีเซลและส่วนที่ละลายน้ำ | 11 |
| ตารางที่ 2.4 | ระดับการตอบสนองของสิ่งมีชีวิตเมื่อสัมผัสกับน้ำมันหรือผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียม | 13 |
| ตารางที่ 2.5 | การย่อยสลายของน้ำมันไปโอดีเซลและดีเซลภายในระยะเวลา 28 วัน | 14 |
| ตารางที่ 2.6 | ความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปิโตรเลียม (WSF) ต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน | 17 |
| ตารางที่ 2.7 | ความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปิโตรเลียม (WSF) ต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน (ต่อ) | 18 |
| ตารางที่ 2.8 | ความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไปโอดีเซล (WSF) ต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน | 19 |
| ตารางที่ 2.9 | ความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไปโอดีเซล (WSF) ต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน (ต่อ) | 20 |
| ตารางที่ 2.10 | การตายของไรน้ำ (<i>D. magna</i>) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันความเข้มข้นต่างๆที่ เวลา 24 ชั่วโมง | 21 |
| ตารางที่ 2.11 | พัฒนาการของลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนจนถึงระยะโพสลาวาร์ | 23 |
| ตารางที่ 4.1 | การละลายของน้ำมันไปโอดีเซลและดีเซล ค่าเฉลี่ย+SE (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu | 32 |
| ตารางที่ 4.2 | ผลของอุณหภูมิและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไปโอดีเซล และดีเซลต่อ ระยะเวลาฟักเป็นตัวของไขกุ้งก้ามกราม (ค่าเฉลี่ย+ SE) | 33 |
| ตารางที่ 4.3 | ผลของอุณหภูมิและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไปโอดีเซลและดีเซลต่อ เปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้ง (ค่าเฉลี่ย+SE) | 34 |
| ตารางที่ 4.4 | ผลของอุณหภูมิและน้ำมันและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไปโอดีเซลและดีเซล ต่อ การรอดหลังจากฟักเป็นตัวของไขกุ้งก้ามกราม (ค่าเฉลี่ย+SE) | 35 |
| ตารางที่ 4.5 | ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไปโอดีเซลและดีเซลต่อการเปลี่ยนแปลงของ เนื้อเยื่อเหงือกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาวาร์เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 96 ชั่วโมง | 49 |

ตารางที่ 5.1 ระยะเวลาฟักไข่ของกิ้งก่ามกราคมที่อุณหภูมิต่างกัน..... 54



สารบัญรูป

| | |
|---|----|
| รูปที่ 2.1 ปริมาณการใช้น้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อวันตั้งแต่ปีพ.ศ. 2555-2557 | 3 |
| รูปที่ 2.2 กระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชัน | 4 |
| รูปที่ 2.3 พฤติกรรมของน้ำมันเมื่อรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ | 6 |
| รูปที่ 2.4 กลไกการรับสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตในน้ำ | 12 |
| รูปที่ 2.5 วงจรชีวิตของกุ้งก้ามกราม | 22 |
| รูปที่ 4.1 รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้งในส่วนของน้ำของน้ำมัน (ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส | 34 |
| รูปที่ 4.2 รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การตายของเปอร์เซ็นต์การรอดหลังฟักของไขกุ้งในส่วนของน้ำของน้ำมัน (ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส | 36 |
| รูปที่ 4.3 อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ I ในส่วนของน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง | 37 |
| รูปที่ 4.4 อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ I ในส่วนของน้ำของน้ำมันดีเซลอุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง | 39 |
| รูปที่ 4.5 รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ I ในส่วนของน้ำของน้ำมัน (ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส | 40 |
| รูปที่ 4.6 อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ในส่วนของน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลอุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง | 41 |
| รูปที่ 4.7 อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ในส่วนของน้ำของน้ำมันดีเซลอุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง | 42 |

- รูปที่ 4.8** รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ II ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน (ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส..... 43
- รูปที่ 4.9** อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ III ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลอุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง..... 44
- รูปที่ 4.10** อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ III ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลอุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง..... 45
- รูปที่ 4.11** รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ III ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน (ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส 46
- รูปที่ 4.12** อัตราการตายของลูกกุ้งโพสลาวาร์ ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ที่เวลา 96 ชั่วโมง..... 46
- รูปที่ 4.13** รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะโพสลาวาร์ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน (ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส..... 47
- รูปที่ 4.14** เนื้อเยื่อเหงือกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาวาร์ในชุดควบคุมที่อุณหภูมิต่างๆ (ก-ข) = 25 องศาเซลเซียส (ค-ง) = 28 องศาเซลเซียส (จ-ฉ) = 31 องศาเซลเซียสและ (ช-ซ) = 34 องศาเซลเซียส สเกลบาร์ (ก, จ = 50 μm) (ข, ค, ง, ฉ, ช, ซ = 20 μm) HC = hemocyte, HI = hemocytic infiltration, HTH = hypertrophy of hemocyte, HPH = hyperplasia of hemocyte, LD = lamellae disorganization, PC = Pillar cell, SH = swelling of hematocytes, VD = vacuolar degeneration..... 50
- รูปที่ 4.15** เนื้อเยื่อเหงือกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาวาร์ที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิต่างๆ (ก-ข) = 25 องศาเซลเซียส (ค-ง) = 28 องศาเซลเซียส (จ-ฉ) = 31 องศาเซลเซียสและ (ช-ฉ) = 34 องศาเซลเซียส สเกลบาร์ (ก, จ = 50 μm) (ข, ค, ง, ฉ, ช, ซ = 20 μm) HI = hemocytic infiltration, HTH = hypertrophy of hemocyte, LD = lamellae disorganization, PH = pyknotic nuclei of hemocytes, VD = vacuolar degeneration 51

รูปที่ 4.16 เนื้อเยื่อเหงือกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาवारที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน
 ดีเซลที่อุณหภูมิต่างๆ (ก-ง) = 25 องศาเซลเซียส (จ-ช) = 28 องศาเซลเซียส (ซ-ฉ) =
 31 องศาเซลเซียส และ (ญ-ฎ) = 34 องศาเซลเซียส สเกลบาร์ (ก, จ, ญ = 50 μm) (ข,
 ค, ง, ฉ, ช, ซ, ฒ, ฎ, ฏ = 20 μm) HI = hemocytic infiltration, LD = lamellae
 disorganization, PH = pyknotic nuclei of hemocytes, VD = vacuolar
 degeneration..... 52



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ความต้องการพลังงานที่เพิ่มขึ้นในปัจจุบันนำมาซึ่งการค้นหาลังงานทดแทน ไบโอดีเซลเป็นพลังงานทดแทนที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันปิโตรเลียมดีเซลและสามารถใช้ทดแทนกันได้ มีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และสามารถเกิดใหม่ทดแทนได้ในระยะเวลาอันสั้น สำหรับประเทศไทยไบโอดีเซลผลิตจากน้ำมันปาล์มโดยทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ ผ่านกระบวนการทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน ทั้งนี้กฎหมายให้น้ำมันปาล์มไบโอดีเซลเป็นส่วนประกอบของน้ำมันดีเซลหมุนเร็วที่จำหน่ายทั่วไปร้อยละ 3-5 หรือน้ำมันดีเซลบี3 (3% ไบโอดีเซลและ 97% ดีเซล) และ บี5 (5% ไบโอดีเซลและ 95% ดีเซล) ส่งผลให้ปริมาณการใช้น้ำมันไบโอดีเซลบริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ (B100) ประมาณ 2.75 ล้านลิตรต่อวัน ต่างจากน้ำมันดีเซลที่มีปริมาณการใช้ประมาณ 57.10 ล้านลิตรต่อวัน (กระทรวงพลังงาน, 2558)

การใช้น้ำมันทั้งสองชนิดกันอย่างแพร่หลายนั้นย่อมมีโอกาสเกิดการรั่วไหลลงสู่สิ่งแวดล้อม โดยกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติ (2556) รายงานการรั่วไหลของน้ำมันตั้งแต่พ.ศ. 2516-2554 พบ 215 ครั้ง บริเวณหลักในการรั่วไหล ได้แก่ แม่น้ำเจ้าพระยา ปากแม่น้ำเจ้าพระยา อ่าวไทยตอนบน ชายฝั่งจังหวัดสงขลา ภูเก็ต และสตูล เป็นต้น สาเหตุการรั่วไหลของน้ำมันส่วนใหญ่เกิดจากการขนส่ง การกักเก็บ การถ่ายเท และอุบัติเหตุเรือล่ม อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการรั่วไหลของน้ำมันไบโอดีเซลแต่มีโอกาสรั่วไหลจากกระบวนการผลิต การกักเก็บ และการขนส่ง เมื่อน้ำมันรั่วไหลลงในแหล่งน้ำหรือทะเลจะมีบางส่วนละลายน้ำ จมลงสู่พื้นดิน และระเหยไปในอากาศ โดยความเป็นพิษของน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำสามารถเข้าสู่ร่างกายของสัตว์น้ำได้โดยการหายใจ การกินอาหาร และการซึมผ่านผิวหนัง ความเป็นพิษที่เกิดขึ้นอาจเป็นพิษเฉียบพลันโดยมักเกิดขึ้นทันทีหลังจากสัตว์น้ำสัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน ส่งผลให้สัตว์น้ำตายทันทีหรือตายภายในระยะเวลาอันสั้นภายใน 96 ชั่วโมง ส่วนความเป็นพิษระยะยาวเกิดจากส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันยังคงตกค้างอยู่ในมวลน้ำหรือผิวดิน โดยสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ในบริเวณนั้นได้รับอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานอาจมากกว่าหนึ่งเดือนหรือนานเป็นปี ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงในส่วนของเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำ ระบบสืบพันธุ์ หรือในระดับก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมในร่างกาย

การรายงานความเป็นพิษของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลต่อสัตว์น้ำวัยอ่อนหรือที่เป็นแพลงก์ตอนสัตว์โดยแสดงค่าความเป็นพิษที่ก่อให้เกิดความตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC50) ณ เวลาต่างๆกัน เช่น ไรน้ำ *Daphnia magna* มีค่า LC50-24 ชั่วโมง เท่ากับ 1.78 มิลลิกรัมต่อลิตร (Khan

et al, 2007) กุ้ง *Palaemonetes pugio* มีค่า LC50-96 ชั่วโมง เท่ากับ 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (Anderson et al, 1974) และ *Peanes monodon* มีค่า LC50-96 ชั่วโมง เท่ากับ 40.31 มิลลิกรัมต่อลิตร (สมควร ไขแก้ว, 2545) โดยส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลมักมีความเป็นพิษสูงกว่าส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล เช่น ไรน้ำ *D. magna* มีค่า LC50-48 ชั่วโมง เท่ากับ 3.27 มิลลิกรัมต่อลิตร (Birchall et al, 1995) ลูกกุ้ง *Mysidopsis bahia* มีค่า LC50-96 ชั่วโมง เท่ากับ 122 มิลลิกรัมต่อลิตร (Wedel, 1999) และปลาเทราต์วัยอ่อน *Oncorhynchus mykiss* มีค่า LC50-96 ชั่วโมง เท่ากับ 455.28 มิลลิกรัมต่อลิตร (Khan et al, 2007)

การศึกษาในครั้งนี้มีความสนใจศึกษาผลกระทบของน้ำมันไบโอดีเซลที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศไทยต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ ซึ่งเป็นสิ่งที่จำเป็นและยังไม่มีข้อมูลในเรื่องผลกระทบของน้ำมันปาล์มไบโอดีเซลต่อสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะอย่างยิ่งสิ่งแวดล้อมในน้ำทั้งนี้การศึกษาส่วนใหญ่เป็นข้อมูลของต่างประเทศ โดยเลือกศึกษากับกุ้งก้ามกรามซึ่งเป็นสัตว์ท้องถิ่นและเป็นสัตว์เศรษฐกิจของประเทศไทย ที่มีวงจรชีวิตช่วงวัยอ่อนอาศัยอยู่บริเวณเอสทูรี และมักได้รับผลกระทบจากการประกอบกิจกรรมของมนุษย์เช่น เป็นเส้นทางคมนาคมและท่าจอดเรือของเรือโดยสารและเรือขนส่งสินค้า ซึ่งเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำได้เป็นอย่างมาก ดังนั้นการศึกษถึงผลกระทบของน้ำมันต่อสัตว์น้ำวัยอ่อนที่อาศัยอยู่บริเวณเอสทูรีจึงเป็นสิ่งจำเป็นในการประเมินผลกระทบในเบื้องต้น

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความเป็นพิษของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อไข่และวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

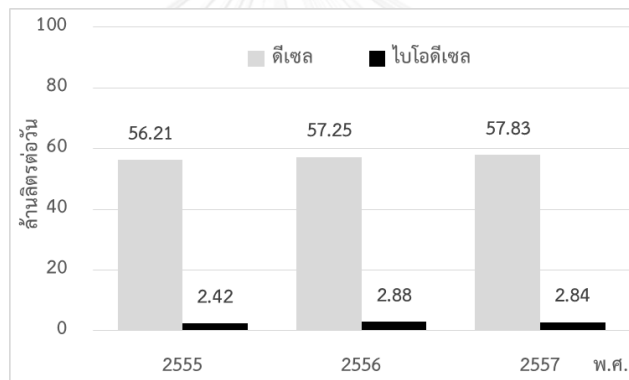
เป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับผลกระทบของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามและการจัดการสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2

ปรีทัศน์วรรณกรรม

2.1 น้ำมันไบโอดีเซล

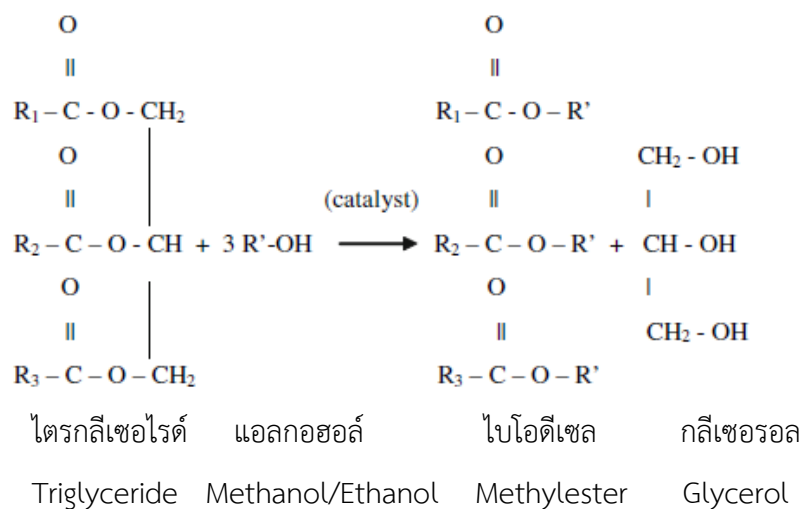
การใช้ไบโอดีเซลเป็นพลังงานทดแทนอย่างหนึ่งที่ใช้กันแพร่หลายในประเทศไทย โดยรัฐบาลร่วมส่งเสริมการใช้อย่างต่อเนื่องเพื่อทดแทนเชื้อเพลิงฟอสซิลที่มีความต้องการเพิ่มมากขึ้น และเพื่อความยั่งยืนทางด้านพลังงานและความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันปริมาณการใช้น้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตจากน้ำมันปาล์มมีสูงถึง 2.75 ล้านลิตรต่อวัน ส่วนน้ำมันดีเซลที่มีปริมาณการใช้สูงอย่างต่อเนื่องประมาณ 57.10 ล้านลิตรต่อวัน (รูปที่ 2.1) (กระทรวงพลังงาน, 2558) โดยรัฐบาลออกกฎหมายให้น้ำมันปาล์มไบโอดีเซลเป็นส่วนประกอบของน้ำมันดีเซลหมุนเร็วที่กำหนดขายทั่วไปร้อยละ 3-5 หรือ น้ำมันดีเซลบี3 (3% ไบโอดีเซลและ 97% ดีเซล) และ บี5 (5% ไบโอดีเซลและ 95% ดีเซล)



รูปที่ 2.1 ปริมาณการใช้น้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อวันตั้งแต่ปีพ.ศ. 2555-2557
ที่มา: กระทรวงพลังงาน (2558)

การผลิตน้ำมันไบโอดีเซล

น้ำมันไบโอดีเซลเป็นน้ำมันเชื้อเพลิงที่ผลิตจากน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์ผ่านกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (transesterification process) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์กับแอลกอฮอล์ (เมทานอลหรือเอทานอล) โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นกรด (H_2SO_4) หรือเบส (NaOH) เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างของน้ำมันจากไตรกลีเซอไรด์ ให้เป็นโมโนแอลคิลเอสเทอร์ที่มีโมเลกุลเล็กลง ดังเช่น เมทิลเอสเทอร์หรือเอทิลเอสเทอร์ และกลีเซอรอลเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้ (by product) (รูปที่ 2.2)



รูปที่ 2.2 กระบวนการทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน

ที่มา: Knothe et al (2005)

มาตรฐานน้ำมันไบโอดีเซลของประเทศไทย

ในประเทศไทยน้ำมันไบโอดีเซลส่วนใหญ่ผลิตจากน้ำมันปาล์มซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นที่ขึ้นในเขตร้อนชื้น โดยมีกรดไขมันต่างๆเป็นองค์ประกอบหลัก (ตารางที่ 2.1) แบ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัวร้อยละ 47 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวร้อยละ 51.1 นอกจากนี้องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันไบโอดีเซลขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันพืชหรือน้ำมันสัตว์ที่นำมาผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซล

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบและเปอร์เซ็นต์กรดไขมันในน้ำมันปาล์มไบโอดีเซล

| กรดไขมัน | โครงสร้างทางเคมี | ปริมาณกรดไขมัน (%) |
|--------------------------------------|---|--------------------|
| ปาล์มมิติก (16:0) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ | 42.6 |
| ปาล์มมิโตเลอิก (16:1) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ | 0.3 |
| สเตียริก (18:0) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$ | 4.4 |
| โอเลอิก (18:1) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ | 40.5 |
| ลิโนเลอิก (18:2) | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ | 10.1 |
| ลิโนเลนิก (18:3) | $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ | 0.2 |
| กรดไขมันอื่นๆ | | 1.9 |
| กรดไขมันอิ่มตัวต่อกรดไขมันไม่อิ่มตัว | | $47/51.1 = 0.92$ |

ที่มา: Robles-Medina et al (2009)

2.2 น้ำมันดีเซล

น้ำมันดีเซลประกอบด้วยไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว 75% (ประกอบด้วย พาราฟิน n, iso และ ไซโคลพาราฟิน) และอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (แนฟทาลิน และอัลคิลเบนซีน) 25% มีค่าองค์ประกอบสารเคมีโดยเฉลี่ย $C_{12}H_{23}$ ตั้งแต่คาร์บอน $C_{10}H_{20}$ ถึง $C_{15}H_{28}$ (ATSDR, 1995) น้ำมันดีเซลที่ใช้เป็นเชื้อเพลิงแบ่งเป็น 2 ประเภทได้แก่ น้ำมันดีเซลที่ใช้กับรถยนต์และเรือเรียกว่า ดีเซลหมุนเร็ว ส่วนที่ใช้กับเครื่องยนต์ในโรงงานอุตสาหกรรมเรียกว่า ดีเซลหมุนช้าหรือน้ำมันซีโล้

สำหรับมาตรฐานคุณภาพของน้ำมันไบโอดีเซลกำหนดตามประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่อง กำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน เพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไบโอดีเซลที่เรียกว่าไบโอดีเซลชนิด B100 ตามประกาศในพระราชกฤษฎีกา เมื่อวันที่ 23 พฤษภาคม 2550 ส่วนมาตรฐานของน้ำมันดีเซลกำหนดตามประกาศในพระราชกฤษฎีกา เมื่อวันที่ 23 พฤษภาคม 2550 (ภาคผนวก ก ตารางที่ 1) (ธุรกิจพลังงานกรม, 2550)

2.3 การรั่วไหลของน้ำมัน ผลกระทบ และการขจัดคราบน้ำมัน

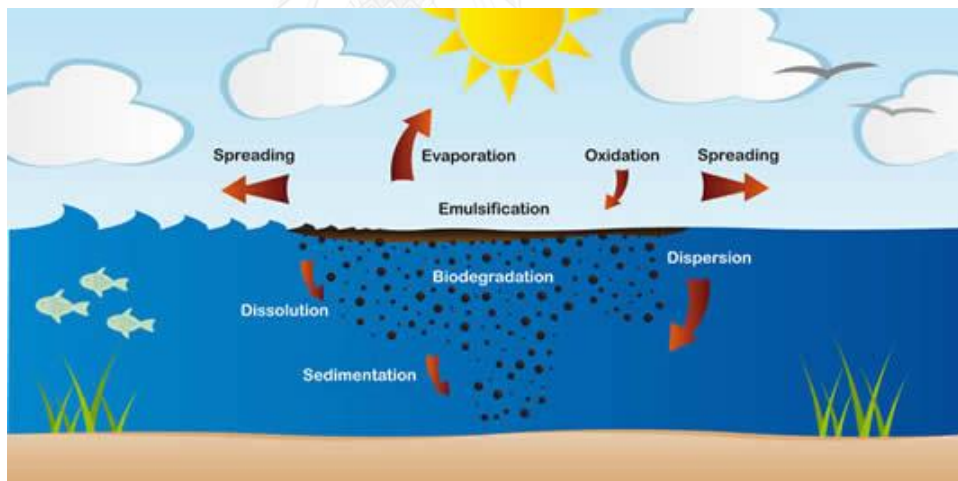
2.3.1 การรั่วไหลของน้ำมัน

ในปัจจุบันไม่มีรายงานการรั่วไหลของน้ำมันไบโอดีเซลในประเทศไทย แต่การศึกษาผลกระทบของน้ำมันไบโอดีเซลเป็นสิ่งที่จำเป็นและมีความสำคัญ ทั้งนี้เพื่อเตรียมตัวป้องกันความเสียหายที่เกิดขึ้นได้ทันเวลา โดยรายงานเหตุการณ์น้ำมันรั่วไหลในแหล่งน้ำ บริเวณแม่น้ำลำคลองและชายฝั่งทะเลระหว่างปี พ.ศ. 2519 – 2554 พบ 215 ครั้ง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการรั่วไหลในปริมาณเล็กน้อย (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) ส่วนการรั่วไหลปริมาณมาก 20,000 ลิตรขึ้นไป ระหว่างปี พ.ศ. 2540 – 2553 พบ 9 ครั้ง ส่วนใหญ่เกิดในทะเล ชายฝั่งท่าเทียบเรือ อุบัติเหตุระหว่างการขนถ่ายน้ำมัน และอุบัติเหตุอื่นๆ (กรมเจ้าท่า, 2556) โดยการรั่วไหลของน้ำมันครั้งใหญ่ที่สุดเกิดขึ้นเมื่อเดือนกรกฎาคม พ.ศ.2556 เกิดขึ้นในขั้นตอนกระบวนการขนถ่ายน้ำมันดิบระหว่างเรือกับโรงกลั่นน้ำมันบริเวณชายฝั่งมาตาพุด จังหวัดระยอง จำนวน 50,000 ลิตร กระแสลมได้พัดพาคราบน้ำมันเข้าสู่ชายหาดของอ่าวพร้าวของเกาะเสม็ดเป็นระยะทางกว่า 600 เมตร และระยะทางในทะเลประมาณ 200 เมตร ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อสถานท่องเที่ยว การปนเปื้อนของน้ำมันในอาหารทะเล และนอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำและสัตว์หน้าดินบริเวณนี้ อย่างไรก็ตามการรั่วไหลของน้ำมันสามารถเกิดได้ตามธรรมชาติจากการรั่วของแหล่งน้ำมันใต้ดิน หรือเกิดจากกิจกรรมและการกระทำของมนุษย์ เช่น อุบัติเหตุจากเรือ การขุดเจาะน้ำมัน การลักลอบปล่อยทิ้งสู่แหล่งน้ำ และการขนส่งทางทะเล เป็นต้น ในปัจจุบันการนำเข้าน้ำมันจากต่างประเทศเพิ่มขึ้นเพราะการพัฒนาเศรษฐกิจทำให้

มีความต้องการพลังงานเพิ่มขึ้น ทำให้พบการรั่วไหลของน้ำมันจากการทำกิจกรรมของมนุษย์แม้ว่ามีมาตรการป้องกันแล้วก็ตาม

2.3.2 การแพร่กระจายของน้ำมันในน้ำ

การรั่วไหลของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำจะเกิดการแพร่กระจายของน้ำมันออกเป็นคราบน้ำมัน (oil slick) อย่างรวดเร็วและเป็นบริเวณกว้างขวาง โดยอัตราการความเร็วในการแพร่กระจายนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมันซึ่งน้ำมันดิบมีอัตราการแพร่กระจายช้ากว่าน้ำมันสำเร็จรูป และขึ้นกับปัจจัยแวดล้อมต่างๆ ได้แก่ กระแสลม กระแสน้ำ และคลื่น เป็นต้น น้ำมันที่รั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำจะเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ โดยน้ำมันบางส่วนระเหยไป บางส่วนละลายน้ำได้อย่างจำกัด บางส่วนแขวนลอยอยู่ในน้ำในรูปอิมัลชัน และบางส่วนจับตัวกันจมลงสู่พื้นท้องน้ำ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตทั้งทางตรงและทางอ้อม (รูปที่ 2.3) (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, 2556b) โดยความรุนแรงของผลกระทบจากการรั่วไหลของน้ำมันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างได้แก่ ชนิดน้ำมัน ปริมาณ น้ำมันรั่วไหล สภาพภูมิศาสตร์ของบริเวณที่เกิดรั่วไหล กระแสน้ำ กระแสลม การขึ้นลงของน้ำทะเล แสงแดด อุณหภูมิ ตลอดจนความหลากหลายและความสมบูรณ์ของทรัพยากรรอบบริเวณนั้น



รูปที่ 2.3 พฤติกรรมของน้ำมันเมื่อรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ

ที่มา: ITOPF (2013)

ทั้งนี้ประเทศไทยมี “แผนป้องกันและขจัดมลพิษทางน้ำเนื่องจากน้ำมันแห่งชาติ” ดูแลโดยคณะกรรมการป้องกันและขจัดมลพิษทางน้ำเนื่องจากน้ำมัน (กปน.) ซึ่งจัดตั้งขึ้นเมื่อวันที่ 6 มกราคม 2538 โดยระเบียบสำนักนายกรัฐมนตรีว่าด้วยการป้องกันและขจัดมลพิษทางน้ำเนื่องจากน้ำมัน พ.ศ. 2538 มีโครงสร้างการทำงานร่วมกับหน่วยงานต่างๆ ได้แก่ ศูนย์ควบคุมการปฏิบัติการ ศูนย์ประสานงาน และหน่วยปฏิบัติการ เป็นต้น (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556)

2.3.3 ผลกระทบจากน้ำมันรั่วไหล

คราบน้ำมันที่เกิดขึ้นจากการรั่วไหลลงสู่ทะเลมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและทางเคมี ซึ่งทำให้ปริมาณน้ำมันที่เปราะเปื้อนลดน้อยลงด้วยกระบวนการต่างๆดังนี้ (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, 2556a)

1. การกระจายตัวของน้ำมันโดยกระแสน้ำและกระแสนลมทำให้น้ำมันที่จับเป็นแผ่นฟิล์มเกิดการแตกออกเป็นเม็ดเล็กๆ

2. การระเหยของน้ำมัน น้ำมันดิบมีองค์ประกอบที่มีจุดเดือดต่ำและสูงปนกัน ดังนั้นสารที่มีจุดเดือดต่ำจะระเหยไปก่อน ถ้ามีความเร็วลมเข้ามาช่วยก็จะทำให้การระเหยมีอัตราสูงขึ้นโดยจะระเหยไปในรูป aerosol ส่วนน้ำมันที่มีจุดเดือดสูงระเหยได้น้อยจะรวมตัวกับน้ำมีลักษณะเป็นก้อนสีดำ

3. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีมีอยู่ 2 ลักษณะ ได้แก่ atmospheric oxidation เกิดจากการเติมออกซิเจนจากอากาศและน้ำลงในน้ำมัน และการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย ทั้งนี้อัตราการย่อยสลายขึ้นอยู่กับปัจจัยสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ออกซิเจน อาหาร และอุณหภูมิ

4. การกระจายที่ชายฝั่ง น้ำมันที่พัดเข้าฝั่งส่วนที่เบาจะระเหยไป ส่วนที่หนักจะจับที่พื้นและซึ่มลงในดินหรือทรายตามแนวชายหาด

นอกจากนี้ น้ำมันอาจแขวนลอยอยู่ในน้ำในรูปของ colloidal บางส่วนละลายอยู่ในน้ำ บางส่วนซึ่มลงสู่ก้นพื้นของแหล่งน้ำ และบางส่วนถูกดูดซึ่มเข้าไปในสิ่งมีชีวิต ส่วนคราบน้ำมันที่ลอยอยู่บนผิวน้ำจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ทำให้ออกซิเจนในน้ำลดลง และปิดกั้นการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืช สาหร่าย และพืชน้ำตื้นต่างๆ เปลี่ยนแปลงสภาวะการย่อยสลายของแบคทีเรียในน้ำ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดล้วนส่งผลเสียต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำที่อาศัยอยู่บริเวณนั้น ได้แก่ ปลา สัตว์หน้าดิน ปะการัง รวมถึงนกน้ำ เกิดการสะสมสารพิษในห่วงโซ่อาหารที่เริ่มตั้งแต่ผู้ผลิตหรือแพลงก์ตอนพืช ผู้บริโภคขั้นต้น ได้แก่ แพลงก์ตอนสัตว์ ปลา จนถึงผู้บริโภคขั้นสุดท้ายซึ่งก็คือมนุษย์ นอกจากนี้คราบน้ำมันยังส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมท่องเที่ยว ประมงและการเพาะเลี้ยงชายฝั่ง เช่น สัตว์น้ำตายจากคราบน้ำมัน ขาดออกซิเจน ชายหาดสกปรกจากคราบน้ำมัน ทำลายทัศนียภาพ มีกลิ่นเหม็น ไม่เหมาะกับการท่องเที่ยวและพักผ่อน ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจในชุมชนท้องถิ่นและระดับประเทศ

2.3.4 วิธีการจัดการคราบน้ำมัน

การจัดการคราบน้ำมันที่รั่วไหลพิจารณาพร้อมกับปัจจัยอื่นๆดังต่อไปนี้ ได้แก่ ชนิดของน้ำมัน ปริมาณการรั่วไหล ทิศทางและความเร็วของกระแสน้ำ กระแสนลม สภาพอากาศ ลักษณะทางภูมิศาสตร์และสิ่งแวดล้อม ซึ่งแบ่งเป็น 8 วิธีดังนี้ (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, 2556a)

1. การปล่อยให้สลายตัวตามธรรมชาติ เหมาะสมในกรณีที่มีการรั่วไหลจำนวนเล็กน้อย และชนิดของน้ำมันที่รั่วไหลสามารถสลายตัวเองได้ดีในธรรมชาติ
2. การกักและเก็บ ทำได้โดยใช้ทุ่นน้ำมัน (boom) จำกัดขอบเขตการแพร่กระจายของน้ำมัน ให้มีความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้น แล้วใช้เครื่องเก็บน้ำมัน (skimmer) เก็บคราบน้ำมัน
3. ใช้สารเคมีจัดคราบน้ำมันเป็นวิธีการที่ใช้สารเคมีจัดคราบน้ำมันบนผิวน้ำได้ในระยะเวลาอันสั้น เช่น การใช้สารเคมีที่ทำให้น้ำมันแตกตัวเป็นโมเลกุลเล็กๆ (oil dispersant) หรือสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactant) ซึ่งสารจัดคราบน้ำมันอาจมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและประเทศไทยอนุญาตให้ใช้ได้ตามกฎหมาย
4. การเผาสามารถใช่วิธีนี้ได้ก่อนที่คราบน้ำมันจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมี และคราบน้ำมันต้องมีความหนาตั้งแต่ 3 มิลลิเมตรขึ้นไป
5. การทำความสะอาดชายฝั่ง เป็นวิธีจัดคราบน้ำมันในกรณีที่คราบน้ำมันถูกพัดเข้าหาฝั่ง โดยใช้คนและอุปกรณ์เข้าเก็บรวบรวมคราบน้ำมัน และใช้อุปกรณ์ช่วยเก็บคราบน้ำมัน
6. การทำให้จม วิธีนี้เมื่อพ่นสารเคมีกำจัดคราบน้ำมันลงไปใต้น้ำ ทำให้คราบน้ำมันจับตัวกัน และจมลงสู่พื้น ซึ่งมีผลกระทบต่อสัตว์หน้าดิน
7. การใช้วัสดุดูดซับ ในอดีตใช้ขี้เถ้าหรือฟางข้าวแต่เกิดปัญหาการดูดซับน้ำมากกว่าดูดซับคราบน้ำมัน ปัจจุบันใช้ใยสังเคราะห์ที่คิดค้นมาแทนและเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับน้ำมันได้
8. การตักและการช้อน ใช้เวลาและแรงงานมากเหมาะสำหรับการรั่วไหลในปริมาณไม่มาก

2.4 ผลกระทบของน้ำมันรั่วไหลในสิ่งแวดล้อมต่อสิ่งมีชีวิต

2.4.1 ความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมัน

น้ำมัน หมายถึง น้ำมันดิบ น้ำมันปิโตรเลียม หรือน้ำมันที่เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มาจากพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของลิปิด (ไขมัน น้ำมัน และไข) มีคุณสมบัติสำคัญคือ เกือบไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ น้ำมันประกอบด้วยกรดไขมันที่แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ละลายน้ำหรือมีขั้ว (polar) ได้แก่บริเวณหมู่คาร์บอกซิล และส่วนที่ไม่ละลายน้ำหรือไม่มีขั้ว (non-polar) เมื่อนำกรดไขมันเขย่ากับรวมกับน้ำ กรดไขมันจะกระจายตัวเป็นหยดน้ำมันเล็กๆในน้ำ เรียกว่าไมเซลล์ โดยหันเอาด้านที่ไม่มีขั้วเข้าด้านในและเอาส่วนที่มีขั้วจับกับน้ำ

2.4.2 ความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมันปิโตรเลียม

น้ำมันปิโตรเลียมเมื่อผ่านกระบวนการกลั่นลำดับส่วนได้เป็นน้ำมันเชื้อเพลิงที่ประกอบด้วยไฮโดรเจนและคาร์บอนเป็นส่วนใหญ่ มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำและมีน้ำหนักเบากว่าน้ำมักลอยอยู่ด้านบน

ของผิวน้ำ โดย Zemo and Graf (1993) กล่าวว่าน้ำมันปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนประกอบด้วย 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ แอลเคน แอลคีน และอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน และมีความสามารถในการละลายน้ำแตกต่างกันไปดังต่อไปนี้

1. แอลเคนหรือพาราฟินมีความเป็นพิษต่ำและละลายน้ำได้เพียงเล็กน้อย (<0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร) เพราะสายคาร์บอนแบบเส้นตรงสามารถเกิดการย่อยสลายได้ง่าย
2. แอลคีนหรือโอเลฟิน มีความเป็นพิษต่ำเนื่องจากละลายน้ำได้น้อย (<0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร) และทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้ง่ายดังนั้นจึงย่อยสลายได้อย่างรวดเร็ว (Gilbert & Calabrese, 1990)
3. อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน สามารถละลายน้ำได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับแอลเคนและแอลคีน (เบนซีน โทลูอีน เอทิลเบนซีน และไซลีน (BTEX) มากกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเบนซีน C3 เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร) และมีความเป็นพิษสูงสุดในกลุ่มผลิตภัณฑ์น้ำมัน เนื่องจากอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนละลายน้ำได้ดีทำให้สิ่งมีชีวิตในน้ำสามารถรับเข้าไปได้ง่าย เช่น เบนซีน เป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ ส่วนอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนอื่นๆ สามารถละลายน้ำได้ปานกลาง เช่น แนฟทาลีน 30 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร ส่วนแอนทราซีนละลายน้ำได้เพียงเล็กน้อย <0.001 มิลลิกรัมต่อลิตร

นอกจากนี้ Law et al (1999) รายงานว่าการรั่วไหลของน้ำมันดีเซลและแก๊สโซลีนในน้ำมีความเป็นพิษเฉียบพลันมากกว่าการรั่วไหลของน้ำมันดิบ เพราะน้ำมันดีเซลและแก๊สโซลีนประกอบด้วยสารที่ระเหยได้ในปริมาณน้อย จึงสามารถแพร่กระจายลงไปในน้ำได้ดีกว่าพวกน้ำมันเชื้อเพลิงชนิดอื่นๆ โดยน้ำมันดิบและน้ำมันที่ผ่านกระบวนการกลั่นแยกประเภทเป็นน้ำมันเชื้อเพลิงชนิดต่างๆ มีความสามารถในการละลายน้ำคล้ายคลึงกัน โดยทั่วไปน้ำมันดีเซลประกอบด้วยแอลเคน C10 ถึง C24 (โดยเฉพาะ n-alkanes) สารอะโรมาติกที่ละลายน้ำได้เล็กน้อย ได้แก่ เบนซีน (C3-C5) แนฟทาลีน (C0-C8) แอนทราซีน (C0-C5) เป็นต้น โลหะหนัก 2-3 ชนิด และสารเติมแต่งที่ทำให้น้ำมันมีคุณภาพดีขึ้น โดยผลการศึกษการละลายน้ำของน้ำมันดีเซลด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี พบองค์ประกอบหลัก ได้แก่ เบนซีน 0.34% โทลูอีน 0.77% เอทิลเบนซีน 0.13% ไซลีน 0.87% รวมทั้งหมด 2.14 % (Dunlap & Beckmann, 1988) และเปรียบเทียบการศึกษาของ Rodrigues et al (2010) พบว่าปริมาณสารต่างๆมีค่าใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 2.2) นอกจากนี้ Lee et al (1992) รายงานองค์ประกอบหลักของโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดีเซลและส่วนที่ละลายน้ำ (ตารางที่ 2.3) นอกจากนี้ Yassine et al (2012b) พบว่าการละลายน้ำของน้ำมันดีเซลแสดงปฏิกิริยาดังชุดกันเองของไฮโดรคาร์บอนและไม่จับคู่กับน้ำ ซึ่งการไม่จับคู่กันของไฮโดรคาร์บอนและน้ำมีความสำคัญต่อคุณสมบัติที่เรามองเห็นได้เช่น เกิดเป็นแรงตึงผิวของไฮโดรคาร์บอนที่พื้นผิวของน้ำ การรวมตัวกันของโมเลกุลไม่มีขั้วที่เกิดการจับคู่กันแบบไม่ชอบน้ำ และคุณสมบัติของแรงตึงผิวเป็นตัวผลักดันให้เกิดการรวมตัวของโมเลกุลไม่มีขั้วและตกตะกอนออกจากน้ำ และส่วนโมเลกุลน้ำจับตัวกันเองแน่นขึ้นอีก

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบสารเคมีในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล

| สารประกอบ | Detection limited | WSF ดีเซล (มิลลิกรัมต่อลิตร) | |
|---|-------------------|------------------------------|------------------------|
| | | Dunlap and Beckmann (1988) | Rodrigues et al (2010) |
| Benzene | 0.5 | 0.344 | 0.289 |
| Ethylbenzene | 0.5 | 0.139 | 0.290 |
| Toluene | 0.5 | 0.777 | 0.754 |
| Xylene | 0.5 | 0.875 | 1.772 |
| M-tert-But. ether | 0.5 | BDL* | - |
| Ethylene-dibromide | 0.005 | BDL* | - |
| Total.Pet.hydrocarbons | 0.5 | 0.0168 | - |
| Napthalene | 0.5 | 0.0066 | 0.031 |
| 1-methyl naphthalene | 0.5 | 0.0662 | - |
| 2-methyl naphthalene | 0.5 | 0.108 | - |
| Fluoranthene | - | - | 0.0035 |
| Phenanthrene | - | - | 0.0039 |
| Total monocyclic aromatic hydrocarbon (BTEX)** | - | 2.135 | 3.105 |
| Total Napthalene*** | - | 0.1808 | 0.031 |
| Total polycyclic aromatic hydrocarbon**** | - | - | 0.0384 |

*BDL: น้อยกว่าที่จะตรวจวัดได้

** benzene, toluene, ethylbenzene และ xylene

*** naphthalene, 1-methyl naphthalene และ 2-methyl naphthalene

**** naphthalene, Fluoranthene และ Phenanthrene

ตารางที่ 2.3 โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดีเซลและส่วนที่ละลายน้ำ

| สารประกอบ | ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร) | |
|---------------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| | น้ำมันดีเซล | ส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล (WSF) |
| Naphthalene | 350-1500 | 0.08-0.3 |
| 1-Methylnaphthalene | 2000-4000 | 0.13-0.17 |
| 2-Methylnaphthalene | 3500-9000 | 0.18-0.34 |
| acenaphthene | 100-600 | 0.004-0.014 |
| fluorene | 350-900 | 0.012-0.026 |
| phenanthrene | 100-1500 | 0.015-0.025 |
| anthracene | 100-300 | 0.0004-0.002 |
| fluoranthene | 1.5-125 | LOD-0.0005 |

หมายเหตุ *LOD คือค่าต่ำกว่าค่าที่สามารถตรวจวัดได้

ที่มา: Lee et al (1992)

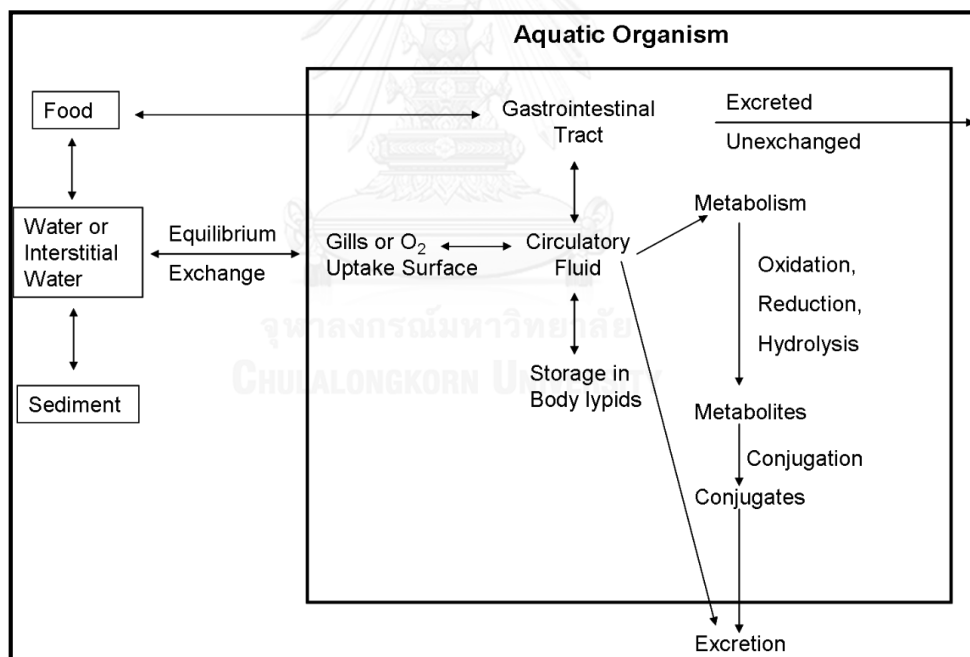
2.4.3 ความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล

น้ำมันไบโอดีเซลสามารถในการละลายน้ำได้อย่างจำกัดเช่นเดียวกับน้ำมันดีเซล (Yassine et al, 2012b) ส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลขึ้นกับชนิดของน้ำมันที่นำมาผลิตเป็นไบโอดีเซล โดยมีองค์ประกอบคาร์บอนของกรดไขมันที่แตกต่างกัน ส่วนใหญ่ไบโอดีเซลมีองค์ประกอบคาร์บอนของกรดไขมันอยู่ในช่วง C16-C22 และมีความไม่อิ่มตัวของกรดไขมันที่แตกต่างกัน (Knothe, 2005) ไบโอดีเซลมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีกว่า n-alkanes เนื่องจากคาร์บอกซิลเอสเทอร์ก็รูปที่มีพันธะคู่อยู่ทำให้มีคุณสมบัติของความมีขั้วสูงกว่าน้ำมันดีเซล และสามารถจับคู่ระหว่างพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้ (Yassine et al, 2012b) แต่ขณะเดียวกันพันธะก็ทำให้เกิดการ autoxidative ได้ง่ายทำให้ไบโอดีเซลไม่เสถียร (Fang & McCormick, 2006) และเกิดสารพลอยได้ เช่น ethoxylated hydrocarbons และอัลดีไฮด์ (aldehydes) ซึ่งสารพลอยได้เหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของน้ำได้ (Yassine et al, 2012b) นอกจากนี้การมีคุณสมบัติทั้งมีขั้วและไม่มีขั้วของไบโอดีเซลทำให้สามารถเพิ่มการคงสภาพของการเป็นสารแขวนลอยของน้ำมันในน้ำ โดยโมเลกุลหันด้านที่มีขั้วจับกับโมเลกุลน้ำ และคงตัวแขวนลอยในน้ำในรูปไมโครอิมัลชัน การจับกันของพื้นผิวน้ำมันกับน้ำทำให้สามารถเคลื่อนไปในมวลน้ำได้ นอกจากนี้ยังทำให้ส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลผสมไบโอดีเซล

สามารถคงตัวได้นานขึ้นในมวลน้ำในรูปของสารแขวนลอย โดยการละลายน้ำของไบโอดีเซลพบสายคาร์บอนแอลเคน C12-C36 สามารถละลายได้ดีกว่าแอลเคนสายสั้น แต่อย่างไรก็ตามพันธะคู่ของหมู่คาร์บอกซิลทำให้ไบโอดีเซลที่รั่วไหลลงในน้ำสามารถย่อยสลายได้ง่ายกว่าน้ำมันปิโตรเลียม (Yassine et al, 2012a)

2.5 การรับน้ำมันเข้าสู่ร่างกายของสัตว์น้ำ

น้ำมันที่รั่วไหลในมวลน้ำ ปนเปื้อนกับอาหารหรือตะกอนดิน เข้าสู่ร่างกายของสัตว์น้ำผ่านเข้าทางปากและเหงือก ซึ่งเมื่อสัตว์กินน้ำหรืออาหารที่ปนเปื้อนน้ำมันกินเข้าไปก็จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดบริเวณทางเดินอาหาร และเก็บสะสมในไขมันของร่างกาย เมื่อผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมจะถูกกำจัดออกจากร่างกาย หรือผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารและกำจัดออกนอกร่างกาย (รูปที่ 2.3) โดยกระบวนการตอบสนองของสิ่งมีชีวิตเมื่อสัมผัสกับน้ำมันหรือแบ่งเป็น 4 ระดับ ได้แก่ ระดับเซลล์ ระดับสิ่งมีชีวิต ระดับประชากร และระดับกลุ่มสิ่งมีชีวิต (ตารางที่ 2.4)



รูปที่ 2.4 กลไกการรับสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตในน้ำ

ที่มา: Chaisuksant et al (1999)

ตารางที่ 2.4 ระดับการตอบสนองของสิ่งมีชีวิตเมื่อสัมผัสกับน้ำมันหรือผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

| ระดับการตอบสนอง | ลักษณะการตอบสนอง |
|---|---|
| ระดับเซลล์ (Biochemical or Cellular level) | 1. กระทบการเมแทบอลิซึมของเซลล์ 2. การกำจัดสารพิษออกจากร่างกาย (Detoxification) |
| ระดับสิ่งมีชีวิต (Organism) | 1. กระทบการเมแทบอลิซึมเปลี่ยนแปลง 2. พฤติกรรมเปลี่ยนแปลง 3. การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ลดลง 4. การทำงานของโครงสร้างต่างๆขาดประสิทธิภาพอาจนำไปสู่การเกิดโรค |
| ระดับประชากร (Population) | 1. เกิดการเปลี่ยนแปลงของพลวัตประชากร (Population Dynamics) 2. ประชากรเกิดการปรับตัวนำไปสู่ความเครียด |
| ระดับสังคมสิ่งมีชีวิต (Community) | 1. องค์ประกอบทางด้านชนิดพันธุ์เปลี่ยนแปลงไป 2. การหมุนเวียนของพลังงานในระบบลดลง 3. เกิดการปรับตัวของระบบนิเวศ |

ที่มา: Capuzzo et al (1988)

2.6 ผลของน้ำมันไบโอดีเซลและน้ำมันดีเซลต่อสิ่งมีชีวิต

2.6.1 การศึกษาการย่อยสลายของน้ำมันไบโอดีเซล

การศึกษาของ Zhang et al (1995) พบว่าไบโอดีเซลสามารถย่อยสลายได้ถึงร้อยละ 88 ภายในระยะเวลา 28 วัน โดยวัดจากอัตราการเกิดคาร์บอนไดออกไซด์จากการย่อยสลายของจุลินทรีย์ ซึ่งใกล้เคียงกับแตรีกโทส (ชุดควบคุม) ส่วนน้ำมันดีเซลย่อยสลายได้ 18-26% นอกจากนี้พบว่าน้ำมันดีเซลผสมไบโอดีเซลที่มีสัดส่วนของดีเซลเพิ่มขึ้นระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 การย่อยสลายของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลภายในระยะเวลา 28 วัน

| น้ำมัน | การย่อยสลาย (%) |
|--|-----------------|
| แตรีกโทส (ชุดควบคุม) | 87.79 |
| น้ำมันไบโอดีเซลเรบซีต | 88.94 |
| น้ำมันไบโอดีเซลถั่วเหลือง | 85.54 |
| น้ำมันดีเซล 2-D | 26.24 |
| น้ำมันไบโอดีเซลเรบซีตบริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ | 84.37 |
| น้ำมันไบโอดีเซลเรบซีตร้อยละ 80 ต่อดีเซลร้อยละ 20 | 67.82 |
| น้ำมันดีเซล | 18.18 |

ที่มา: Zhang et al (1995)

2.6.2 ความเป็นพิษของน้ำมันไบโอดีเซลและน้ำมันดีเซลต่อสิ่งมีชีวิต

การศึกษาความเป็นพิษของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อสิ่งมีชีวิตในสภาวะแวดล้อมบนบก โดย Peterson and Möller (2004) พบว่าน้ำมันไบโอดีเซลมีความเป็นพิษต่อเมล็ดถั่วน้อยกว่าน้ำมันดีเซล โดยน้ำมันไบโอดีเซลถั่วเหลืองสามารถยับยั้งการเจริญของเมล็ดถั่วภายในระยะเวลา 2-3 สัปดาห์ แต่น้ำมันดีเซลสามารถยับยั้งการเติบโตของเมล็ดตั้งแต่สัปดาห์แรกหลังจากที่เมล็ดเจริญขึ้น นอกจากนี้ Lapinskiene` et al (2006) พบว่าน้ำมันไบโอดีเซลเรบซีตมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในดินน้อยกว่าดีเซล โดยระดับความเป็นพิษของน้ำมันไบโอดีเซลเรบซีตและดีเซลต่อจุลินทรีย์ในดินเท่ากับ 12 และ 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

การศึกษาความเป็นพิษของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อสิ่งมีชีวิตในสภาวะแวดล้อมในน้ำ (ตารางที่ 2.6-2.10) โดยแสดงค่า คือค่าความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันที่ก่อให้เกิดการตายของสัตว์ทดลองเป็นจำนวน 50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมด ณ เวลาต่างๆกัน โดยค่า LC50 ต่ำ และระยะเวลาสั้นแสดงว่ามีความเป็นพิษรุนแรงมากกว่าค่า LC50 สูง และระยะเวลานานเพิ่มขึ้น โดยการศึกษาความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปิโตรเลียมดังเช่น น้ำมันดิบต่อไขกุ้งก้ามกราม พบว่าค่าความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ทำให้การเติบโตผิดปกติ 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 12 วัน (EC50-12 วัน) เท่ากับ 16.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปิโตรเลียมชนิดอื่นๆ ได้แก่ น้ำมันดีเซล น้ำมันดิบและน้ำมันเบอร์ 2 ต่อสัตว์น้ำวัยอ่อนเช่น ไรน้ำ ลูกกุ้งวัยอ่อน

หอย และลูกปลาวัยอ่อน เป็นต้น พบว่าความเป็นพิษสูงเมื่อสัตว์น้ำวัยอ่อนขนาดเล็ก เช่น ไรน้ำมีค่า LC50-24 ชม.เท่ากับ 1.78 มิลลิกรัมต่อลิตร (Khan et al, 2007) และความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำจะลดลงเมื่อสัตว์ทดลองมีขนาดใหญ่ขึ้นดังเช่น กุ้งกุลาดำระยะโพสลาवार 10 และ 30 ที่มีค่า LC50-96 ชั่วโมง เท่ากับ 148.967 และ 206.724 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2.6-2.7) สำหรับความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำเช่น แพลงก์ตอนพืช ไซเม่นทะเล ไรน้ำ ลูกกุ้ง และลูกปลาวัยอ่อน (ตารางที่ 2.8-2.9) พบว่าความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไบโอดีเซลที่สามารถยับยั้งการเติบโตของแพลงก์ตอนพืชได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC50) ภายในเวลา 36 ชั่วโมง เท่ากับ 93.52 เปอร์เซ็นต์ และการเติบโตของปกติไซเม่นทะเล 50 เปอร์เซ็นต์ (EC50) ภายในเวลา 36 ชั่วโมง เท่ากับ 22.25 เปอร์เซ็นต์ (Leite et al, 2011) การศึกษาส่วนใหญ่พบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีความเป็นพิษต่ำกว่าดีเซล และความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลแตกต่างกันตามชนิดของวัตถุดิบที่นำมาผลิตน้ำมันไบโอดีเซลอีกด้วย นอกจากนี้คุณสมบัติการเป็นอิมัลชันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล ส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตน้ำโดยส่วนที่ละลายน้ำมาเคลือบจับตามลำตัวและบริเวณเหงือกของสิ่งมีชีวิตในน้ำส่งผลต่อการเคลื่อนที่และการหายใจ ซึ่งเป็นผลกระทบทางกายภาพของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล (Birchall et al, 1995; Wedel, 1999) สำหรับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลสามารถรวมเป็นเนื้อเดียวกันได้กับมวลน้ำและความเป็นพิษเป็นผลของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบ โดยสิ่งมีชีวิตสามารถซึมรับเข้าสู่ร่างกายแล้วสามารถขับถ่ายบางส่วนออกจากร่างกายด้วยกระบวนการเมตาบอลิซึม แต่อย่างไรก็ตามความเป็นพิษที่เกิดขึ้นมีความรุนแรงต่อสิ่งมีชีวิตโดยส่วนใหญ่พบค่า LC50 ต่ำ (ตารางที่ 2.6-2.7)

นอกจากนี้ความเป็นพิษของน้ำมันดีเซลผสมไบโอดีเซล เช่น Knothe et al (2005) พบว่าส่วนที่ละลายน้ำมันดีเซลผสมน้ำมันไบโอดีเซลเรปซีตร้อยละ 80 ต่อ 20 มีความเป็นพิษต่อไรน้ำมากกว่าน้ำมันดีเซลเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 2.8) เช่นเดียวกับ Khan et al (2007) พบว่าน้ำมันดีเซลผสมไบโอดีเซล 5 เปอร์เซ็นต์ (B5) มีความเป็นพิษสูงสุดและมากกว่าน้ำมันดีเซล (D100) และน้ำมันอื่นๆได้แก่ น้ำมันดีเซลผสมไบโอดีเซล B50 น้ำมันไบโอดีเซล (B100) และน้ำมันดีเซลผสมไบโอดีเซล B20 (ตารางที่ 2.10) เพราะฉะนั้นน้ำมันดีเซลผสมน้ำมันไบโอดีเซลเมื่อรั่วไหลลงไปในแหล่งน้ำจะเกิดการระเหยของน้ำมันผสมดังกล่าวได้ยาก และสามารถคงตัวแขวนลอยในน้ำได้นานเนื่องจากคุณสมบัติการคงตัวในน้ำในรูปอิมัลชันของน้ำมันไบโอดีเซล (Wedel, 1999) และมักมีความเป็นพิษมากกว่าดีเซล (Khan et al, 2007; Knothe et al, 2005) นอกจากนี้ Yassine et al (2012a) พบว่าน้ำมันดีเซลผสมน้ำมันไบโอดีเซลล้วนเหลือองในอัตราส่วนต่างๆกัน ที่อัตราส่วนน้ำมันไบโอดีเซลมากกว่าน้ำมันดีเซลทำให้ความเป็นพิษของน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำต่อแบคทีเรีย *Vibrio fischeri* เกิดจากปฏิกิริยา autoxidation ของน้ำมันไบโอดีเซล ในขณะที่อัตราส่วนน้ำมันไบโอดีเซลต่อดีเซลความเป็นพิษเกิดจากสารประกอบอะโรมาติกของน้ำมันดีเซลและมีความเป็นพิษเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย และ

ผลการตรวจวัดส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่ 24 ชั่วโมง พบว่า กรดไขมัน C18:1 และ C18:3 เป็นพิษสูงสุดแต่ C18:2 ไม่มีพิษ ซึ่งปฏิกิริยา autoxidation ของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลสามารถพบในน้ำมันไบโอดีเซลแล้วเหลือทั้งในแบบที่เป็นน้ำมันอิมัลชันและไม่อิมัลชัน นอกจากนี้ การผลิตน้ำมันไบโอดีเซลด้วยกระบวนการทรานเอสเทอร์ริฟิเคชันอาจเป็นปัจจัยหนึ่งทำให้เกิดความเป็นพิษของน้ำมันไบโอดีเซลในน้ำมันมากกว่าชนิดหรือแหล่งที่มาของน้ำมันไบโอดีเซลนั้นๆ

สำหรับการศึกษาความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (subchronic effect) พบว่ามีผลต่อการลอกคราบ การกินอาหาร การขับถ่าย และการเจริญเติบโตโดย สุวัจน์ ชุณหรัตน์ (2549) รายงานความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลที่ 96 ชั่วโมง มีผลต่อการลอกคราบโดยกึ่งกุลาดำระยะโพสลาวาร์ 10 และโพสลาวาร์ 30 โดยมีอัตราการลอกคราบนานกว่าปกติ แต่ไม่มีผลต่ออัตราการหายใจ ส่วนการกินอาหาร ประสิทธิภาพการดูดซึม การเจริญเติบโตลดลงตามระดับความเข้มข้นของน้ำมันที่เพิ่มขึ้น และการขับถ่ายของกึ่งกุลาดำทั้งสองระยะมีค่าสูงกว่าปกติ สมควร ไช้แก้ว (2545) ศึกษาความเป็นพิษที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลและน้ำมันเตา มีผลทำให้กึ่งกุลาดำกินอาหารลดลง มีผลต่อการลอกคราบ ทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ และส่งผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ โดยพบว่าเนื้อเยื่อเหงือกได้รับผลกระทบมากที่สุด เหงือกมีอาการบวม น้ำ ไปงของเหงือก

ตารางที่ 2.6 ความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปิโตรเลียม (WSF) ต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน

| สัตว์ทดลอง | น้ำมัน | ความเป็นพิษ | ที่มา |
|---|-------------|---|--------------------------|
| ไข่กุ้ง (เพาะฟัก) <i>Macrobrachium rosenbergii</i> | น้ำมันดิบ | EC50-12 วัน 16.6 มก./ล. | Law and Shazili (1995) |
| ไร่น้ำ <i>D. magna</i> | น้ำมันดีเซล | LC50-24 ชม. 1.78 มก./ล. | Khan et al (2007) |
| ไร่น้ำ <i>D. magna</i> | น้ำมันดีเซล | LC50 1.43 มก./ล. | Wedel (1999) |
| ไร่น้ำ <i>D. magna</i> | น้ำมันดีเซล | EC50-48 ชม. 1.56 | Knothe et al (2005) |
| กุ้ง <i>P. pugio</i> | น้ำมันดีเซล | LC50-96 ชม. 3.5 มก./ล. | Anderson et al (1974) |
| กุ้งระยะโพสลาวาร์ <i>Panaeus aztecus</i> | น้ำมันดีเซล | LC50-96 ชม. 4.9 มก./ล. | |
| ลูกกุ้ง <i>Mysidopsis almyra</i> | น้ำมันดีเซล | LC50-48 ชม. 0.9 มก./ล. | |
| ลูกกุ้ง <i>M. bahia</i> | น้ำมันดีเซล | LC50 2.9 มก./ล. 5.9 มก./ล. | Wedel (1999) |
| กุ้งกุลาดำ <i>P. monodon</i> | น้ำมันดีเซล | LC50-96 ชั่วโมง 40.31 มก./ล. | สมควร ไช้แก้ว (2545) |
| กุ้งกุลาดำ <i>P. monodon</i> ระยะโพสลาวาร์ 10 ระยะโพสลาวาร์ 30 | น้ำมันดีเซล | LC50-96 ชั่วโมง 148.967 มก./ล. 206.724 มก./ล. | สุวัจน์ ชุณหรัตน์ (2549) |

หมายเหตุ มิลลิกรัมต่อลิตร: มก./ล.

EC50: ความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ทำให้การเติบโตผิดปกติ 50%

LC50: ความเข้มข้นของสารเคมีที่ก่อให้เกิดการตาย 50% ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

ตารางที่ 2.7 ความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปิโตรเลียม (WSF) ต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน (ต่อ)

| สัตว์ทดลอง | น้ำมัน | ความเป็นพิษ | ที่มา |
|--|---|---|----------------------------------|
| กุ้งวัยอ่อนระยะ 6-8 <i>M. rosenbergii</i> | น้ำมันดิบ | LC50-48 ชั่วโมง 3.6 มก./ล. | Law and Shazili (1995) |
| ลูกกุ้ง <i>Lucifer faxoni</i> | น้ำมันเบอร์ 2 Non-exposed oil Exposed oil | LC50-96 ชม. 3.2 มก./ล. 6.2 มก./ล. | Lee et al (1978) |
| หอยวัยอ่อน <i>Mytilus edulis</i> | น้ำมันดีเซล | LC50-10 วัน 30-35 ไมโครกรัม ต่อลิตร | Strömngren and Nielsen (1991) |
| ลูกปลา <i>Menidia beryllina</i> | น้ำมันดีเซล | LC50 39 มก./ล. 27 มก./ล. | Wedel (1999) |
| ปลาวัยอ่อน <i>Odontesthes argentinensis</i> | น้ำมันดีเซล | LC50-96 ชม. 13.46 มก./ล. | Rodrigues et al (2010) |
| ปลาเทราต์วัยอ่อน <i>O. mykiss</i> | น้ำมันดีเซล | LC50-24 ชม. 578.13 มก./ล. LC50-96 ชม. NC | Khan et al (2007) |
| ปลาเทราต์ <i>O. mykiss</i> | น้ำมันดีเซล ซัลเฟอร์ต่ำมาก น้ำมันดีเซล ซัลเฟอร์ต่ำ | LC50-48 ชั่วโมง 3,300 มก./ล. >25,000 มก./ล. | Hollebone et al (2008) |

หมายเหตุ มิลลิกรัมต่อลิตร: มก./ล.

LC50: ความเข้มข้นของสารเคมีที่ก่อให้เกิดการตาย 50% ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

NC: not calculate

ตารางที่ 2.8 ความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันใบโอดีเซล (WSF) ต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน

| ชนิดสัตว์ทดลอง | ชนิดน้ำมัน | ความเป็นพิษ | ที่มา |
|--|-------------------------|---|------------------------|
| แพลงก์ตอนพืช <i>Tetraselmis chuii</i> | น้ำมันละหุ่ง | IC50-36 ชั่วโมง (%) 48.32 | Leite et al (2011) |
| | น้ำมันปาล์ม | 93.52 | |
| | น้ำมันปรุงอาหาร | 56.74 | |
| ไข่เม่นทะเล <i>Echinometra lucunter</i> | น้ำมันละหุ่ง | EC50-36 ชั่วโมง (%) 4.22 | |
| | น้ำมันปาล์ม | 22.25 | |
| | น้ำมันปรุงอาหาร | 8.95 | |
| ไรน้ำ <i>D. magna</i> | น้ำมันสัตว์ | LC50-48 ชั่วโมง (5,100-11,000) 7,500 มก./ล. | Hollebone et al (2008) |
| | ถั่วเหลือง | (5100-11000) 7,500 มก./ล. | |
| | คาร์โนลา | (14,000->2,500) 24,650 มก./ล. | |
| | | | |
| ไรน้ำ <i>D. magna</i> | เรบซีตเอทิลเอสเทอร์ | EC50-48 ชั่วโมง 4.11 | Knothe et al (2005) |
| | เรบซีตเมทิลเอสเทอร์ | 3.07 | |
| | ถั่วเหลืองเมทิลเอสเทอร์ | 2.13 | |
| | เรบซีตเอทิลเอสเทอร์ | | |
| | ต่อดีเซล (20:80) | 0.37 | |
| | เรบซีตเอทิลเอสเทอร์ | | |
| ต่อดีเซล(50:50) | 2.75 | | |

หมายเหตุ มิลลิกรัมต่อลิตร: มก./ล.

EC50: ความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ทำให้การเติบโตผิดปกติ 50%

IC50: ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งได้ 50% ของการเติบโต

LC50: ความเข้มข้นของสารเคมีที่ก่อให้เกิดการตาย 50% ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

ตารางที่ 2.9 ความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล (WSF) ต่อสัตว์น้ำวัยอ่อน (ต่อ)

| ชนิดสัตว์ทดลอง | ชนิดน้ำมัน | ความเป็นพิษ | ที่มา |
|---|-------------------------|---|-----------------------|
| ไรน้ำ <i>D. magna</i> แอมฟิพอด <i>Gammarus pulex</i> <i>Tymnaea peregra</i> | เรบซีด | LC50-48h 5.24 ก./ล. LC50-96h 1 ก./ล. LC50-72h 100 ก./ล. | Birchall et al (1995) |
| ไรน้ำ <i>D. magna</i> | ปรุงอาหาร | LC50-24 ชม. 4.65 มก./ล. | Khan et al (2007) |
| ไรน้ำ <i>D. magna</i> | เรบซีด ปรุงอาหาร | LC50 23 มก./ล. 4.65 มก./ล. | Wedel (1999) |
| ลูกกุ้ง <i>M. bahia</i> | ถั่วเหลือง ปรุงอาหาร | LC50 122 มก./ล. 124 มก./ล. | |
| ลูกปลา <i>M. beryllina</i> | ถั่วเหลือง ปรุงอาหาร | LC50 578 มก./ล. 736 มก./ล. | |
| ปลาเทราต์วัยอ่อน <i>O. mykiss</i> | ปรุงอาหาร | LC50-24 ชม. 1073.54 มก./ล. LC50-96 ชม. 455.28 มก./ล. | Khan et al (2007) |

หมายเหตุ กรั้มต่อลิตร: ก./ล.

มิลลิกรั้มต่อลิตร: มก./ล.

LC50: ความเข้มข้นของสารเคมีที่ก่อให้เกิดการตาย 50% ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด

ตารางที่ 2.10 การตายของไร่น้ำ (*D. magna*) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

| ความเข้มข้น (มก./ล.) | เปอร์เซ็นต์การตาย | | | | |
|----------------------|-------------------|------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | ดีเซล (D100) | ไบโอดีเซล (B100) | 5% ไบโอดีเซลต่อ 95% ดีเซล (บี5) | 50% ไบโอดีเซลต่อ 50% ดีเซล (บี50) | 80% ไบโอดีเซลต่อ 20% ดีเซล (บี20) |
| 1.57 | 40.00 | 34.17 | 45.00 | 42.50 | 40.00 |
| 3.13 | 75.00 | 45.00 | 60.00 | 55.00 | 40.56 |
| 6.25 | 85.00 | 55.00 | 80.00 | 75.00 | 60.00 |
| 12.5 | 90.00 | 60.00 | 90.00 | 80.00 | 65.00 |
| 25 | 90.00 | 70.00 | 90.00 | 80.00 | 71.67 |
| 50 | 90.00 | 71.67 | 100.00 | 85.00 | 69.43 |

หมายเหตุ มิลลิกรัมต่อลิตร: มก./ล.

ที่มา: Khan et al (2007)

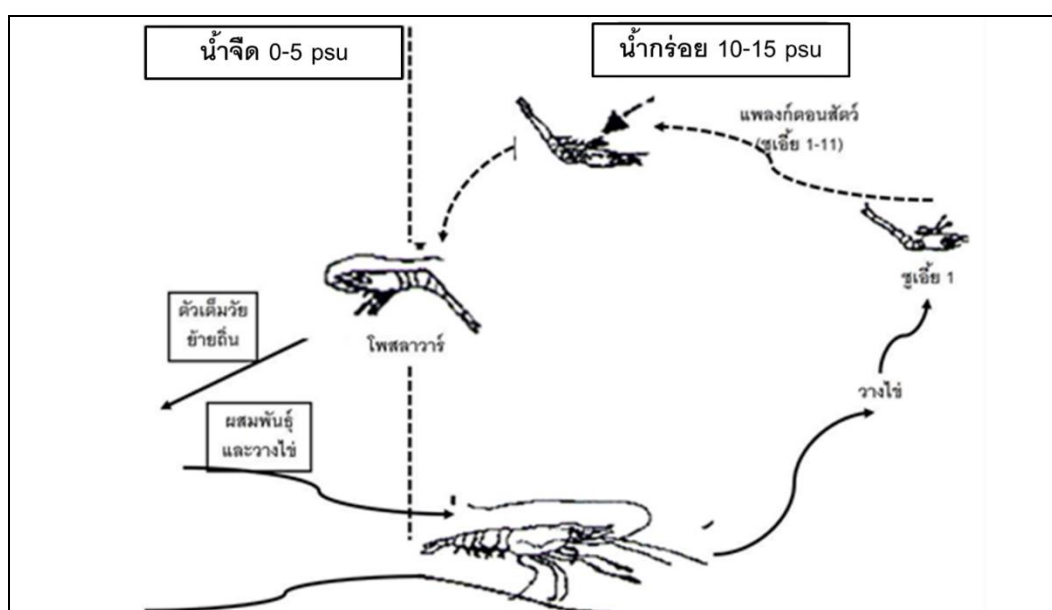
2.6.3 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อความเป็นพิษของน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำ

อุณหภูมิ และความเค็มมีผลต่อความเป็นพิษของน้ำมันดิบ โดยการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิทำให้ความเป็นพิษของน้ำมันดิบเปลี่ยนแปลงไป และมีผลต่อความหนืด การละลาย และการคงอยู่ของน้ำมันในน้ำ (Rice et al, 1977) การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิทำให้อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนละลายน้ำได้มากขึ้นความเป็นพิษจึงเพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันสัตว์น้ำมีการหายใจเพิ่มขึ้นทำให้เมทาบอลิซึมและแอ็คทिवิตีเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน (Neff & Anderson, 1981) นอกจากนี้ความเค็มที่เพิ่มขึ้นกลับทำให้น้ำมันดิบละลายน้ำได้ลดลง ความเป็นพิษของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันลดลงเช่นกัน (Percy & Mullin, 1977; Shaw, 1976)

2.7 ชีววิทยากุ้งก้ามกราม

กุ้งก้ามกราม เป็นสัตว์ท้องถิ่นของประเทศไทยและพบแพร่กระจายอยู่ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นิยมนำมาบริโภคเป็นอาหารและเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย กุ้งก้ามกรามเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและจัดเป็นกุ้งน้ำจืดขนาดใหญ่ อยู่ในไฟลัม Arthropoda ชั้น Crustacean วงศ์ Palaemonidae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *M. rosenbergii* de Man กุ้งก้ามกรามมีเปลือกหุ้มเป็นโครงร่างอยู่ภายนอก (exoskeleton) ที่มีสารไคติน (chitin) เป็นองค์ประกอบ

(ภาคผนวก ข รูปที่ 1) เลือดมีสีน้ำเงิน เนื่องจากมี hemocyanin เป็นองค์ประกอบ หายใจด้วยเหงือก ตัวเต็มวัยดำรงชีวิตในน้ำจืด เมื่อถึงเวลาวางไข่จะเคลื่อนตัวมาอยู่บริเวณน้ำกร่อย (รูปที่ 2.5) เนื่องจาก กุ้งวัยอ่อนจำเป็นต้องอาศัยอยู่ในน้ำกร่อย ไข่ของกุ้งก้ามกรามมีลักษณะกลมรีเล็กน้อยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6-0.8 มิลลิเมตร อยู่บริเวณขาว่ายน้ำบริเวณท้องของกุ้งก้ามกรามเพศเมียและไข่ที่ได้รับการผสมกับน้ำเชื้อของเพศผู้แล้ว จะมีสีส้มในระยะแรกและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนเป็นสีเทาดำในระยะเวลาประมาณ 17-19 วัน หลังจากนั้นจะฟักออกเป็นตัวภายใน 1-3 วัน ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำ (ภาคผนวก ข รูปที่ 2)



รูปที่ 2.5 วงจรชีวิตของกุ้งก้ามกราม

ที่มา: สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง (2554)

ในธรรมชาติลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนมักอาศัยอยู่บริเวณปากแม่น้ำหรือเอสทูรี ซึ่งบริเวณนี้เป็นน้ำกร่อย และมีอุดมสมบูรณ์ไปด้วยอาหารเนื่องจากได้รับอิทธิพลทั้งจากน้ำจืดและน้ำเค็ม เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยและหลบภัยที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสัตว์น้ำวัยอ่อนหลากหลายชนิด ดังนั้นในการอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนในโรงเพาะเลี้ยงนิยมปรับระดับความเค็มให้เหมาะสมแก่การเติบโตของลูกกุ้งวัยอ่อนซึ่งอยู่ในช่วง 12-15 psu การลอกคราบและเปลี่ยนแปลงรูปร่างของลูกกุ้งนับตั้งแต่ฟักออกเป็นตัวจนกระทั่งเจริญเติบโตถึงระยะโพสลาวาร์ที่มีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย ประมาณ 12 ครั้ง (Uno & Soo, 1969) (ตารางที่ 2.11) โดยลอกคราบครั้งแรกเมื่ออายุ 2 วัน ลอกคราบครั้งที่สองเมื่ออายุ 4-5 วัน ลอกคราบครั้งที่สามเมื่ออายุ 7-8 วัน และลอกคราบครั้งที่ 4 เมื่ออายุ 12 วัน

ตารางที่ 2.11 พัฒนาการของลูกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนจนถึงระยะโพสลาวาร์

| ระยะกุ้ง | อายุ (วัน) | ลักษณะเด่น |
|-----------|------------|--|
| 1 | 1 | ตาเกาะกับส่วนหัว (seesile eyes) |
| 2 | 2 | มีก้านตา (stalked eyes) |
| 3 | 3-4 | มีส่วนหาง (uropods) |
| 4 | 4-6 | กริมิฟิน 2 ซี่ |
| 5 | 5-8 | หางส่วนที่เรียกว่า telson แคบและยาว |
| 6 | 7-10 | มีตุ่มขาว่ายน้ำ |
| 7 | 11-17 | ขาว่ายน้ำยาวขึ้นประกอบด้วย 2 ท่อน |
| 8 | 13-20 | มีขนที่ขาว่ายน้ำ (setae) |
| 9 | 15-22 | มีขาขนาดเล็กตรงข้อที่สองของขาว่ายน้ำ |
| 10 | 17-23 | กริมิฟิน 3-4 ซี่ |
| 11 | 23-35 | กริมิฟินขึ้นครบ |
| โพสลาวาร์ | 23-35 | มีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัยและว่ายน้ำไปด้านหน้าเหมือนตัวเต็มวัย |

ที่มา: Uno and Soo (1969)

2.7.1 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการพัฒนาของไข่และวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม

ระบบนิเวศในแหล่งน้ำมีปัจจัยสิ่งแวดล้อมได้แก่ อุณหภูมิ และความเค็มมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตและการแพร่กระจายของสัตว์น้ำโดยเฉพาะสัตว์น้ำวัยอ่อน และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Kinne, 1971) ในธรรมชาติกุ้งก้ามกรามอาศัยอยู่ในช่วงอุณหภูมิน้ำประมาณ 25-34 องศาเซลเซียส และพบว่าอุณหภูมิและความเค็มมีผลต่อการพัฒนาของไข่และระยะเวลาในการฟักเป็นตัว (Johnson, 1967; Nelson et al, 1977) โดย Manush et al (2006) พบว่าที่อุณหภูมิ 25, 29, 33 องศาเซลเซียส ลูกกุ้งฟักเป็นตัวภายใน 14, 13, 11 วัน แต่ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส ลูกกุ้งตายภายใน 9 วัน ซึ่งมีช่วงอุณหภูมิของการรอดชีวิตกว้างมากกว่าการศึกษาของ Sebastian (1996) ส่วนความเค็มของน้ำมีผลต่อการลอกคราบน้อยกว่าอุณหภูมิ โดยธรรมชาติกุ้งก้ามกรามเป็นสัตว์สองน้ำและสามารถอาศัยอยู่ได้ในช่วงความเค็มกว้าง โดยวัยอ่อนเจริญเติบโตบริเวณน้ำกร่อยที่มีน้ำความเค็มช่วง 10-15 psu และเมื่อเจริญเติบโตจนเป็นกุ้งก้ามกรามวัยรุ่นจะเดินทางไปสู่ น้ำจืดเพื่อเจริญเติบโตต่อไป นอกจากนี้ผลการศึกษาถึงผลของอุณหภูมิและความเค็มต่ออัตราเมตาบอลิซึมของกุ้งก้ามกรามระยะวัย

อ่อน โดย Nelson et al (1977) รายงานการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งก้ามกรามระยะวัยรุ่นที่ อุณหภูมิ 20, 27 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0, 7, 14, 20 และ 28 psu พบว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส อัตราการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นโดย อยู่ในช่วง 0.7-0.9 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อชั่วโมง ส่วนที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส พบอัตราการ บริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งลดลงจาก 1.7 เป็น 1.2 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อชั่วโมง เมื่อความเค็มเพิ่มขึ้น พบอัตราการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งลดลงสูงสุดที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส โดยลดลงจาก 3.2 เป็น 1.7 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อชั่วโมง และนอกจากนี้พบว่าที่ความเค็ม 0 psu การบริโภคออกซิเจน ของลูกกุ้งเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ส่วน Stephenson and Knight (1980) พบว่าการบริโภค ออกซิเจนของลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาวาร์ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และความเค็มต่างกัน 0, 7, 14 และ 28 psu พบว่าลูกกุ้งที่ความเค็มต่ำมีการบริโภคออกซิเจนสูงกว่าที่ความเค็มเพิ่มขึ้นและ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นพบการบริโภคออกซิเจนเพิ่มขึ้นเช่นกัน

สำหรับการปนเปื้อนของน้ำมันบริเวณชายฝั่งซึ่งเป็นแหล่งอนุบาลสัตว์น้ำตามธรรมชาติ ย่อม ส่งผลถึงประชากรสัตว์น้ำตัวเต็มวัยที่จะเป็นพ่อแม่พันธุ์ต่อไปในอนาคต และในที่สุดอาจนำมาซึ่งการ สูญพันธุ์ได้ โดยการศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาผลของน้ำมันไบโอดีเซลที่รั่วไหลลงในแหล่งน้ำต่อสัตว์น้ำ วัยอ่อน เพราะปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้น้ำมันไบโอดีเซลอย่างแพร่หลายแต่ไม่มีข้อมูลการศึกษา ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยสัตว์น้ำวัยอ่อนที่เป็นกรณีศึกษาคือกุ้งก้ามกรามที่เป็นสัตว์ท้องถิ่นและมี วงจรชีวิตช่วงวัยอ่อนอาศัยอยู่บริเวณชายฝั่งเป็นตัวแทนการศึกษาของสัตว์น้ำวัยอ่อนบริเวณนี้ นอกจากนี้กุ้งก้ามกรามยังเป็นสัตว์เศรษฐกิจของประเทศไทย ซึ่งทำให้สามารถหาลูกพันธุ์เพื่อ การศึกษาได้ง่าย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมน้ำสำหรับการทดลอง

3.1.1 น้ำจืดใช้สำหรับอนุบาลพ่อแม่พันธุ์กุ้ง การทดลองการฟักของไขกุ้ง และการทดลองลูกกุ้งระยะโพสลาวาร์

เตรียมโดยนำน้ำประปามาให้อากาศเพื่อให้คลอรีนที่มีอยู่ในน้ำหมดไปอย่างน้อยเป็นเวลา 7 วัน และเสริมแคลเซียมโดยการนำเปลือกหอยมาแช่ไว้ในน้ำเพื่อช่วยในการสร้างเปลือกของกุ้ง และให้อากาศตลอดเวลาจนกระทั่งนำมาใช้ทดลอง ก่อนนำมาใช้ให้กรองน้ำผ่านกระดาษกรอง GF/C ขนาดรูกรอง 1.2 ไมโครเมตร

3.1.2 น้ำเค็มใช้สำหรับการทดลองลูกกุ้งวัยอ่อนในระยะที่ I-III

น้ำเค็ม 3 ระดับ ได้แก่ 10, 15 และ 20 psu เตรียมจากน้ำความเค็มสูง 120 psu เจือจางด้วยน้ำจืดที่ปราศจากคลอรีนให้ได้ระดับความเค็มที่ต้องการ และให้อากาศตลอดเวลาจนกระทั่งนำมาใช้ทดลอง ก่อนนำมาใช้ให้กรองน้ำผ่านกระดาษกรอง GF/C ขนาดรูกรอง 1.2 ไมโครเมตร

หมายเหตุ สำหรับน้ำจืดและน้ำเค็มที่ใช้สำหรับสต็อกพ่อแม่พันธุ์กุ้งและลูกกุ้งไม่จำเป็นต้องนำมากรองผ่านกระดาษกรอง GF/C แต่ให้กรองผ่านถุงกรองที่มีขนาดรูกรอง 10-20 ไมโครเมตร

3.2 การหาความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล

น้ำมันปาล์มไบโอดีเซลได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทบางจากไบโอดีเซล จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ส่วนน้ำมันดีเซลได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน)

3.2.1 การเตรียมน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำ (Water soluble fraction, WSF)

วิธีการเตรียมสารละลายน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำดัดแปลงจาก Anderson et al (1974) โดยน้ำมัน 1 ส่วน ผสมกับน้ำที่เตรียมไว้ 9 ส่วน ในภาชนะมีฝาปิดเขย่าแบบ horizontal rotation ที่ระดับความแรง 180 rpm และอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยเครื่อง shaking incubator ยี่ห้อ Vision Scientific CO. LTD. ระหว่างเขย่าปิดปากขวดเพื่อป้องกันการหกและระเหยของน้ำมันส่วนที่ระเหยง่าย (Volatile oil) และใช้พลาสติกสีดำคลุมรอบขวดเพื่อป้องกันการถูกออกซิไดซ์โดยแสง จากนั้นตั้งทิ้งไว้เพื่อให้แยกชั้นอย่างสมบูรณ์ (ประมาณ 2 ชั่วโมง) ส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันจะอยู่ที่ชั้นน้ำมันเรียกว่า น้ำมันส่วนที่ละลายน้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ (100%WSF) โดยนำไป

เจือจางด้วยน้ำจืดหรือน้ำทะเลที่เตรียมไว้เพื่อให้ได้ความเข้มข้นตามระดับที่ต้องการและนำไปทดสอบความเป็นพิษในขั้นตอนต่อไป

3.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันที่ละลายในน้ำ

การตรวจสอบความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมันหรือ 100%WSF ด้วยวิธี partition-gravimetric method (5520B) (APHA, 1995) โดยน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร สกัดด้วยเฮกเซน 200 มิลลิลิตรด้วยการเขย่าด้วยเครื่อง shaker incubator ที่ 28 องศาเซลเซียส ความแรง 180 rpm นาน 5 นาที ตั้งทิ้งให้แยกชั้นโดยเฮกเซนจะลอยอยู่ชั้นบนของสารละลายน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำ และสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำเฮกเซนที่มีน้ำมันที่สกัดได้มากำจัดน้ำด้วย NaSO_4 และนำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาดรูกรอง 1.2 ไมโครเมตร นำไประเหยหรือเก็บไว้ในขวดสีชาจนกว่าจะนำไประเหย การระเหยน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำใส่ขวดระเหยที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้ว และระเหยเฮกเซนด้วยเครื่อง rotator evaporator ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำขวดระเหยไปทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ และนำไปชั่งน้ำหนักขวดด้วยตาชั่ง 4 ตำแหน่ง การคำนวณปริมาณน้ำมันที่ละลายในน้ำ 100 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังสมการที่ (1)

$$\text{น้ำมันที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = (A-B) \times 1000 / 200 \dots \dots \dots (1)$$

$$A = \text{น้ำหนักขวดที่มีน้ำมันหลังระเหย}$$

$$B = \text{น้ำหนักขวดเปล่า}$$

3.3 การเตรียมพ่อแม่พันธุ์กุ้งและลูกกุ้งวัยอ่อนระยะต่างๆ

พ่อแม่พันธุ์กุ้งสำหรับนำมาจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดนครปฐมเพื่อนำมาผสมให้ได้ไข่กุ้งระยะแรกสำหรับใช้ในการศึกษา กุ้งที่นำมาจากฟาร์มเอกชนทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคโดยการแช่ในน้ำความเค็ม 30 psu เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงในบ่ออนุบาลขนาด 250 ลิตร ที่มีระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดที่ให้อากาศและเสริมแคลเซียมด้วยเปลือกหอยนางรม การให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เช้าเย็น โดยให้อาหารในปริมาณที่พอดีกับความต้องการของพ่อแม่พันธุ์กุ้งหรือ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักกุ้ง การให้อาหารไม่ควรให้มีเศษอาหารเหลือโดยสังเกตจากปริมาณอาหารที่เหลือในวันแรก ถ้าหากกินหมดก็ให้ในปริมาณเท่าเดิม แต่ถ้ามีอาหารเหลือให้ลดปริมาณลง สังเกตการเจริญเติบโตของแม่กุ้งทุกวัน และเมื่อแม่พันธุ์กุ้งมีไข่สีส้มซึ่งเป็นระยะแรกให้แยกกุ้งตัวนั้นออกมา นำแม่กุ้งมาทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคติดตามนำมาแช่ในน้ำความเค็ม 30 psu และนำไข่กุ้งไปใช้สำหรับการทดลองได้ โดยนำไข่กุ้งจากบริเวณหน้าท้องของแม่กุ้งอย่างระมัดระวังเพื่อไม่ให้ไข่บอบช้ำเพื่อศึกษาในขั้นตอนต่อไป

การเตรียมลูกพันธุ์กุ้งระยะที่ I อายุ 1-4 วัน เตรียมโดยนำแม่กุ้งที่มีไข่แก่ซึ่งมีสีเทานำมาฆ่าเชื้อโดยแช่ในน้ำความเค็ม 30 psu และแยกไข่ในตัวเดียวในน้ำความเค็ม 15 psu ทั้งนี้เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการฟักเป็นตัว ให้อาหารแม่กุ้งวันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น หากมีอาหารเหลือให้ดูดทิ้งและเปลี่ยนน้ำ 1 ส่วนใน 3 ส่วน ทุกวัน เมื่อลูกกุ้งฟักเป็นตัวให้แยกลูกกุ้งออกมาเลี้ยงในถังที่มีน้ำความเค็ม 15 psu ให้อาร์ทีเมียซึ่งเป็นอาหารมีชีวิตแก่ลูกกุ้งทันทีทั้งนี้เพื่อเพิ่มอัตราการรอดของลูกกุ้ง และนำไปศึกษาในขั้นต่อไป การเตรียมลูกพันธุ์กุ้งระยะที่ II อายุ 5-12 วัน และลูกกุ้งระยะที่ III อายุ 10-17 วัน นำมาจากฟาร์มที่มีมาตรฐานการผลิตสูงจากจังหวัดฉะเชิงเทรา ส่วนลูกกุ้งระยะโพสลาวาร์ที่เพิ่งคว่ำ 1-2 วัน ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด ตำบลบางพระ จังหวัดชลบุรี

3.4 การศึกษาผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันต่อวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม

3.4.1 การศึกษาผลของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำต่อการฟักไข่ของกุ้งก้ามกราม

การออกแบบการทดลอง

การศึกษาการฟักเป็นตัวของไข่กุ้งก้ามกรามโดยมีแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) แบ่งการทดลองเป็นส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไบโอดีเซลและน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ความเค็ม 0 psu และอุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส

การทดลองทำใน multi-well plate ขนาด 24 หลุม การทดลองแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและน้ำมันดีเซล ที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม (น้ำจืด) โดยใส่ลงใน multi-well plate ปริมาตรหลุมละ 2 มิลลิลิตร ไข่กุ้งนำออกจากส่วนท้องของแม่กุ้งอย่างระมัดระวังให้ไข่บอบช้ำ ตรวจสอบความสมบูรณ์ของไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และไข่กุ้งจำนวน 5 ฟองต่อ 1 หลุม ทั้งหมดจำนวน 24 หลุม และนำมาศึกษาที่ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส โดยช่วงเวลาสว่างและมีมืดเท่ากับ 12:12 ชั่วโมง ตรวจสอบพัฒนาการและการเปลี่ยนแปลงของไข่กุ้งทุกวันและเปลี่ยนน้ำที่ใช้ทดลอง 50 เปอร์เซ็นต์ หากพบไข่กุ้งไม่พัฒนาหรือตายโดยจะเปลี่ยนสีจากสีใสเป็นสีขาวขุ่นให้นำไข่กุ้งฟองนั้นออก และจดบันทึกการพัฒนาของไข่ การตาย และการฟักเป็นตัวของไข่กุ้งในแต่ละหน่วยการทดลอง นำผลการฟักเป็นตัวของไข่กุ้งมาเปรียบเทียบระยะเวลาการฟักเป็นตัวที่อุณหภูมิต่างกัน และชนิดน้ำมันที่ต่างกันโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA และใช้ Duncan เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างทรีตเมนต์ ส่วนผลของปัจจัยที่มีผลต่อการฟักเป็นตัวแสดงโดยกราฟ 3 มิติ

3.4.2 การศึกษาผลของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำต่อวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม

การออกแบบการทดลอง

การศึกษาผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไบโอดีเซลและน้ำมันดีเซลต่อลูกกุ้งวัยอ่อน โดยมีแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) (ความเข้มข้นของน้ำมัน X ความเค็ม X อุณหภูมิ) โดยส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไบโอดีเซล (ความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์) และน้ำมันดีเซล (ความเข้มข้น 20, 50 และ 80 เปอร์เซ็นต์) ต่อลูกกุ้งวัยอ่อน 4 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ I อายุ 1-5 วัน ระยะที่ II อายุ 6-10 วัน ระยะที่ III อายุ 15-20 วัน และโพสลาเวียร์ ดังแสดงในภาคผนวก ข รูปที่ 3 ที่ความเค็ม 3 ระดับ ได้แก่ 10, 15 และ 20 psu และอุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส

(1) การศึกษาผลของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำต่อวัยอ่อนของกุ้งก้ามกรามระยะ 1-3

การทดลองทำในสภาพพลาสติกขนาด 18 หลุม การทดลองแบ่งเป็นชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 20, 50 และ 80 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุมที่ 3 ระดับความเค็ม ได้แก่ 10, 15 และ 20 psu ใส่สารละลายดังกล่าวลงในสภาพพลาสติกปริมาตรหลุมละ 10 มิลลิลิตร ใส่ลูกกุ้ง 1 ตัวต่อหลุม เพื่อป้องกันการกินกันเอง โดยมี 6 ทริตเมนต์ ปิดฝาภาชนะด้วยแผ่นพลาสติกเจาะรูเพื่อป้องกันการกระโดดหนีของลูกกุ้ง นำสภาพพลาสติกของแต่ละชุดการทดลองมาศึกษาที่อุณหภูมิ ได้แก่ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส โดยช่วงเวลาสว่างและมีมืดเท่ากับ 12:12 ชั่วโมง

ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงและการตายของลูกกุ้งที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ให้อาร์ทีเมียเป็นอาหาร ประมาณ 15-20 ตัวต่อหลุม ดูแลสิ่งปฏิกูล และอาหารที่ตกค้าง เปลี่ยนสารละลายน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ ของสารละลายทั้งหมดทุกวัน และจัดบันทึกการเปลี่ยนแปลงและการตายสะสมที่ระยะเวลาดังกล่าว การตัดสินใจการตายของกุ้งเมื่อลูกกุ้งนอนอยู่กันหลุมหรือเมื่อใช้ปิเปตพลาสติกเป่าลมแล้วไม่มีการเคลื่อนไหว ผลการศึกษาที่ได้นำมาทดสอบปัจจัย (ความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน, ความเค็ม และอุณหภูมิ) ที่มีผลต่อการตายของลูกกุ้งโดยใช้การวิเคราะห์แบบ ANOVA และแสดงผลของปัจจัยที่มีผลต่อลูกกุ้งวัยอ่อนโดยกราฟ 3 มิติ

(2) การศึกษาผลของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำต่อวัยอ่อนของกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาวาร์ที่มีอายุประมาณ 20 วันขึ้นไป

การออกแบบการทดลอง

การศึกษาผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันต่อลูกกุ้งวัยอ่อนระยะโพสลาวาร์โดยมีแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) แบ่งการทดลองเป็นผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไบโอดีเซลและน้ำมันดีเซล (ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์) ต่อลูกกุ้งวัยอ่อนระยะโพสลาวาร์ ความเค็ม 0 psu และอุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส

การทดลองทำในถาดพลาสติกขนาด 18 หลุม การทดลองแบ่งเป็นชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม (น้ำจืด) ใส่สารละลายดังกล่าวลงใน multi-well plate ปริมาตรหลุมละ 10 มิลลิลิตร ใส่ลูกกุ้ง 1 ตัวต่อหลุม เพื่อป้องกันการกินกันเอง โดยแต่ละชุดการทดลองใช้กุ้ง 6 ทรีตเมนต์ ปิดฝาถาดด้วยแผ่นพลาสติกเจาะรูเพื่อป้องกันการกระโดดหนีของลูกกุ้ง นำมาศึกษาที่ 4 ระดับอุณหภูมิได้แก่ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส โดยช่วงเวลาสว่างและมีมืดเท่ากับ 12:12 ชั่วโมง

ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงและการตายของลูกกุ้งที่เวลาต่างๆได้แก่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ให้อาร์ทีเมียเป็นอาหาร ประมาณ 15-20 ตัวต่อหลุม ดูดสิ่งปฏิกูล และอาหารที่ตกค้าง เปลี่ยนสารละลายน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ ของสารละลายทั้งหมดทุกวัน และจดบันทึกการเปลี่ยนแปลงและการตายสะสมที่ระยะเวลาดังกล่าว การตัดสินใจการตายของกุ้งเมื่อลูกกุ้งนอนอยู่กันหลุมหรือเมื่อใช้ปิเปตพลาสติกเป่าลมแล้วไม่มีการเคลื่อนไหว ผลการศึกษาที่ได้นำมาทดสอบปัจจัย (ความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน และ อุณหภูมิ) ที่มีผลต่อการตายของลูกกุ้งโดยใช้การวิเคราะห์แบบ ANOVA และแสดงผลของปัจจัยที่มีผลต่อลูกกุ้งวัยอ่อนโดยกราฟ 3 มิติ

(3) การเก็บตัวอย่างกุ้งระยะโพสลาวาร์เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือก

เมื่อทดลองเสร็จที่ 96 ชั่วโมง นำกุ้งวัยอ่อนระยะโพสลาวาร์ที่มีชีวิตรอดมารักษาสภาพเนื้อเยื่อด้วยน้ำยาเดวิสสัน เพื่อศึกษาผลของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำต่อเนื้อเยื่อเพราะเหงือกเป็นอวัยวะส่วนแรกสัมผัสกับน้ำหรือสิ่งปนเปื้อนในแหล่งน้ำที่สัตว์น้ำนั้นๆอาศัยอยู่

สำหรับขั้นตอนการเก็บสัตว์ทดลองและเนื้อเยื่อเห็งอกมีดังต่อไปนี้

1. เก็บตัวอย่างลูกกึ่งเพื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา ในน้ำยาเดวิสสันโดยปริมาตรน้ำยาต้องสืบท่าของปริมาตรกึ่งตัวนั้นเช่น กึ่งมีปริมาตร 10 มิลลิลิตร หนัก 10 กรัม ต้องใช้น้ำยาต้อง 100 มิลลิลิตร การเตรียมน้ำยาต้องเดวิสสัน (Davidson's AFA) (Clarke et al, 1990) เก็บรักษาตัวอย่างนาน 24-72 ชั่วโมง (กึ่งใหญ่ต้องนานขึ้น) หากต้องส่งตรวจทาง in situ hybridization ควรต้องเพียง 24 ชั่วโมง น้ำยาเดวิสสันเตรียมโดยนำเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 330 มิลลิลิตร ผสมฟอร์มมาลิน 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 220 มิลลิลิตร (จากFormaldehyde 37-39 เปอร์เซ็นต์) ผสม glacial acetic acid ปริมาตร 115 มิลลิลิตร น้ำประปาหรือน้ำกลั่น ปริมาตร 335 มิลลิลิตร และเก็บน้ำยาต้องเดวิสสันไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2. หลังจากต้องด้วยน้ำยาเดวิสสันให้รักษาสภาพเนื้อเยื่อด้วย เอทิลแอลกอฮอล์ 70% นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น เปลี่ยนน้ำยารักษาสภาพ (เอทิลแอลกอฮอล์ 70%) อีกครั้งเพื่อรักษาสภาพเนื้อเยื่อเห็งอกกึ่งได้จนกว่านำมาศึกษาในลำดับต่อไป

3. การหล่อขึ้นรูปตัวอย่างด้วยพาราฟินและ dehydration โดยนำตัวอย่างใส่ลงในแบบพิมพ์ และนำไปผ่านหรือแช่ตัวอย่างลงในสารละลายต่างๆดังนี้ เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 ชั่วโมง และเปลี่ยนในเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 24 ชั่วโมง เปลี่ยนลงในเอทิลแอลกอฮอล์ 90 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง ครั้งละ 50 นาที และเปลี่ยนลงในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง ครั้งละ 50 นาที ย้ายลงในเอทิลแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง ครั้งละ 50 นาที นำตัวอย่างลงในน้ำยาไปโอเคลีย 2 ครั้ง ครั้งละ 50 นาที จากนั้นแช่แว๊กร้อน 1.30 ชั่วโมง และเปลี่ยนลงในแช่แว๊กร้อนอีกบีกเกอร์อีก 1 ชั่วโมง นำเข้าบล็อกเพื่อฝังตัวอย่างในพาราฟินทำให้เย็น และเก็บบล็อกตัวอย่างแช่ในตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส

4. นำตัวอย่างที่อยู่ในบล็อกพาราฟินออกจากตู้แช่เย็น -20 องศาเซลเซียส เพื่อตัดแผ่นเนื้อเยื่อมาตัดให้ความหนาประมาณ 5 ไมโครเมตร ด้วยเครื่องไมโครทอมแบบใช้มือหมุนในการตัดรุ่น Leica RM2235 rotary microtome นำชิ้นตัวอย่างที่ตัดแล้วแช่ลงในอ่างน้ำอุ่น 60 องศาเซลเซียส เพื่อให้แผ่นตัวอย่างคลี่ออก เลือกแผ่นตัวอย่างวางลงบนแผ่นสไลด์อย่างเบาๆ จากนั้นวางแผ่นสไลด์ตัวอย่างให้สะอาดน้ำที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมง นำแผ่นสไลด์ไปฝังบนฮอทเพลทที่ความร้อน 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5. การย้อมสีเนื้อเยื่อใช้สีมาตรฐานที่ใช้กันทั่วไปในห้องปฏิบัติการ เช่น Modified Mayer's Hematoxylin และ Phloxine/eosin; H&E (Stephenson & Knight, 1980) ดังนี้ โดยแช่ใน Toluene 5 นาที 2 ครั้ง ต่อมาแช่ 100% alcohol 3 นาที 2 ครั้ง และแช่ 95% alcohol 3 นาที 2 ครั้ง นำไปล้างน้ำ 2 นาที ย้อมสี path I 2 นาที ล้างน้ำ 5 นาที นำไปย้อมสี blueing solution dilute 10-20 ครั้ง ล้างน้ำ 2 นาที จุ่มใน 95% alcohol 10-20 ครั้ง ย้อมสี path II 1 นาที และจุ่มใน 95%

alcohol 10-20 ครั้ง เปลี่ยนไปจุ่มในภาชนะอีกใบที่มี 95% alcohol จุ่ม 10-20 ครั้ง และจุ่มใน 100% alcohol 10-20 ครั้ง เปลี่ยนไปจุ่มในภาชนะอีกใบที่มี 100% alcohol จุ่ม 10-20 ครั้ง นำไปแช่ใน toluene+alcohol (1:1) 2 นาที เปลี่ยนไปแช่ใน toluene 2 นาที และเปลี่ยนไปแช่ในภาชนะอีกใบที่มี Toluene อีก 2 นาที แช่ใน histosove 2 นาที และเปลี่ยนไปแช่ในภาชนะอีกใบที่มี histosove อีก 2 นาที และแช่ใน Toluene 2 นาที และเปลี่ยนไปแช่ในภาชนะอีกใบที่มี toluene อีก 2 นาที

6.ตัวอย่างหลังจากย้อมสีแล้วให้นำมา Mounting (DPX) เพื่อทำเป็นสไลด์ถาวร โดย DPX Mountant เป็นสารละลายผสมระหว่าง distyrene และ xylene มีคุณสมบัติเป็นสารเรซินสังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติแห้งเร็ว ใช้เชื่อมปิดระหว่างแผ่นสไลด์ที่ย้อมสีแล้วและกระจกปิดสไลด์ เพื่อเก็บรักษาเนื้อเยื่อตัวอย่างเป็นสไลด์ถาวร

7.นำเนื้อเยื่อไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus BX51) และบันทึกภาพด้วยกล้องดิจิทัล (Olympus DP71) และโปรแกรม DPManager

8.ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของเนื้อเยื่อเห็งือกเปรียบเทียบกับตาราง semi quantitative ที่จัดแบ่งเป็น 4 ระดับความรุนแรง ได้แก่ ไม่เปลี่ยนแปลง, เล็กน้อย, ปานกลาง และ รุนแรง ทั้งนี้แบ่งตามการศึกษาของ (Di Giulio & Hinton, 2008) และ (Jahanbakhshi & Hedayall, 2013)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล

การศึกษาความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิห้องหรือ 28 องศาเซลเซียส ที่ความเค็มต่างๆกัน ได้แก่ 0 (น้ำจืด), 10, 15 และ 20 psu ผลการศึกษาพบว่าการละลายน้ำของน้ำมันทั้งสองชนิดในน้ำความเค็ม 0 psu ที่ความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีค่า 628.45 ± 53 และ 891.40 ± 210.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และไม่มี ความแตกต่างของการละลาย ส่วนการละลายน้ำของน้ำมันดีเซลมีค่า 407.63 ± 49.49 และ 1585.81 ± 139.13 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ มีการละลายมากกว่าความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$) และน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถละลายน้ำได้ดีกว่าไบโอดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนการละลายน้ำของน้ำมันทั้งสองชนิดในน้ำในน้ำเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่ความเข้มข้น 20, 50 และ 80 เปอร์เซ็นต์ พบการละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล มีค่าอยู่ในช่วง 155.10-584.00 และ 231.00-535.50 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.1) โดยน้ำมันทั้งสองชนิดสามารถละลายในน้ำจืดได้มากกว่าน้ำเค็ม ลักษณะของน้ำมันไบโอดีเซลส่วนที่ละลายน้ำเป็นสีขุ่นขาว ด้านบนผิวน้ำมันลอยบ้างเล็กน้อย สำหรับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำและผิวน้ำมันเงา

ตารางที่ 4.1 การละลายของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล ค่าเฉลี่ย \pm SE (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu

| ประเภทสาร | ความเค็ม | | |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 10 psu | 15 psu | 20 psu |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | 215.33 ± 56.43^b | 155.10 ± 10.54^b | 297.67 ± 58.32 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | 384.38 ± 46.34^{aB} | 337.80 ± 56.78^{aB} | 584.00 ± 75.40^{AB} |
| 20%WSF ดีเซล | 231.00 ± 33.05^{bB} | 387.58 ± 42.15^{aA} | 307.30 ± 45.31^{AB} |
| 50%WSF ดีเซล | 334.50 ± 20.39^{ab} | 432.10 ± 82.74^a | 480.00 ± 139.09 |
| 80%WSF ดีเซล | 434.50 ± 12.54^a | 465.40 ± 24.68^a | 535.50 ± 66.69 |

หมายเหตุ ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a, b, c) แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแนวตั้ง และตัวอักษรยกตัวใหญ่ (A, B, C) แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแนวนอนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2 ความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0 psu ต่อการฟักของไขกุ้งก้ามกราม

ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0 psu ต่อการพัฒนาของไขกุ้งก้ามกราม พบว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจึงมีผลต่อระยะเวลาการฟักของไขได้แก่ 19, 17, 16 และ 15 วัน ตามลำดับ โดยที่อุณหภูมิต่ำใช้เวลาในการฟักเป็นตัวของไขกุ้งนานกว่าที่อุณหภูมิสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยไม่พบผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันทั้งสองชนิดต่อระยะเวลาในการฟักเป็นตัวของไขกุ้งก้ามกราม (ตารางที่ 4.2) และ (ภาคผนวก ค ตารางที่ 1 และตารางที่ 2)

ตารางที่ 4.2 ผลของอุณหภูมิและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไบโอดีเซล และดีเซลต่อระยะเวลาฟักเป็นตัวของไขกุ้งก้ามกราม (ค่าเฉลี่ย \pm SE)

| อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | ระยะเวลาฟักเป็นตัวของไขกุ้งก้ามกราม (วัน) | | | | |
|----------------------------|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | ชุดควบคุม | 50%WSF ไบโอดีเซล | 100%WSF ไบโอดีเซล | 50%WSF ดีเซล | 100%WSF ดีเซล |
| 25 | 19.00 \pm 0.00 ^a | 19.00 \pm 0.00 ^a | 19.00 \pm 0.00 ^a | 18.96 \pm 0.02 ^a | 19.00 \pm 0.00 ^a |
| 28 | 17.21 \pm 0.07 ^b | 17.33 \pm 0.04 ^b | 17.00 \pm 0.00 ^b | 17.62 \pm 0.04 ^b | 17.63 \pm 0.05 ^b |
| 31 | 16.96 \pm 0.02 ^c | 16.92 \pm 0.03 ^c | 16.37 \pm 0.04 ^c | 16.92 \pm 0.03 ^c | 16.58 \pm 0.05 ^c |
| 34 | 15.00 \pm 0.00 ^d | 15.00 \pm 0.00 ^d | 14.54 \pm 0.21 ^c | 15.00 \pm 0.00 ^d | 14.96 \pm 0.02 ^d |

หมายเหตุ ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a, b, c) แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้งก้ามกรามแสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่าชุดควบคุมที่ปราศจากน้ำมันมีการฟักของไขกุ้งสูงสุด 99-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีการฟักของไขกุ้ง 94-99 และ 69-94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีการฟักของไขกุ้ง 97-99 และ 89-98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยอัตราการฟักเป็นตัวต่ำสุดพบในชุดการทดลองที่มีส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไบโอดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส เท่ากับ 64.66 \pm 14.95 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่าอุณหภูมิสูง 34 องศาเซลเซียส มีผลให้การฟักของไขกุ้งลดลงในชุดการทดลองที่ได้รับผลจากส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันทั้งสองชนิดโดยอุณหภูมิเสริมความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน แต่ไม่มีผลต่อการฟักของไขในชุดควบคุมแสดงว่าส่วนที่ละลายน้ำทั้งสองชนิดน้ำมันมีผลต่อการฟักสำเร็จของไขกุ้ง และผลการวิเคราะห์สถิติพบว่าความเข้มข้น และอุณหภูมิร่วมกับความเข้มข้น มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้งที่สัมพันธ์กับส่วนที่ละลาย

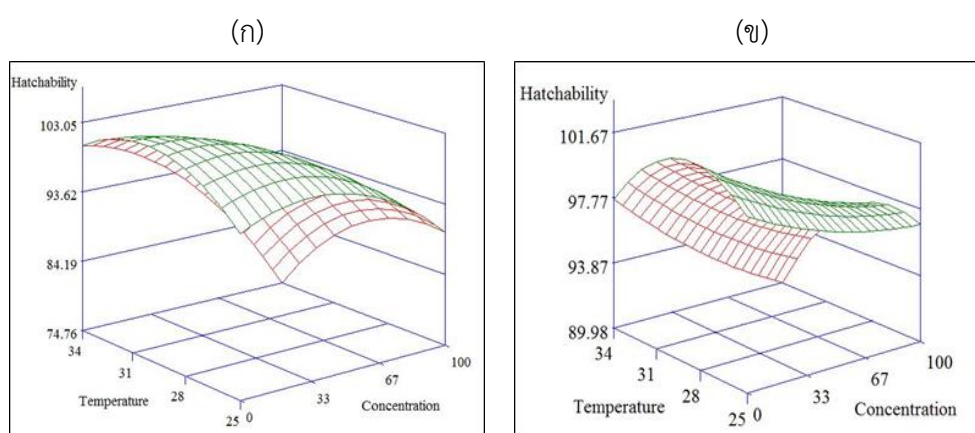
ของน้ำมันไบโอดีเซล ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 3) สำหรับเปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายของน้ำมันดีเซล พบปัจจัยที่มีผลต่อการฟักของไขกุ้ง ได้แก่ ความเข้มข้น และอุณหภูมิ ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4.3 ผลของอุณหภูมิและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไบโอดีเซลและดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้ง (ค่าเฉลี่ย \pm SE)

| อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส) | เปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) | | | | |
|--------------------------------|--|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | ชุดควบคุม | 50%WSF ไบโอดีเซล | 100%WSF ไบโอดีเซล | 50%WSF ดีเซล | 100%WSF ดีเซล |
| 25 | 99.17 \pm 0.15 ^A | 97.55 \pm 0.28 ^A | 88.13 \pm 0.18 ^{aB} | 100.00 \pm 0.00 ^{abA} | 95.89 \pm 0.38 ^{abA} |
| 28 | 100.00 \pm 0.00 ^A | 94.90 \pm 0.42 ^{AB} | 89.14 \pm 0.77 ^{aB} | 98.33 \pm 0.18 ^{abA} | 94.60 \pm 0.43 ^{abAB} |
| 31 | 100.00 \pm 0.00 | 96.55 \pm 0.62 | 99.19 \pm 0.15 ^a | 96.55 \pm 0.26 ^{ab} | 99.19 \pm 0.15 ^a |
| 34 | 100.00 \pm 0.00 ^A | 97.47 \pm 0.18 ^A | 64.66 \pm 1.37 ^{bB} | 90.15 \pm 0.71 ^{bA} | 89.09 \pm 0.55 ^{bA} |

หมายเหตุ ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a, b, c) แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

กราฟสามมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้ง อุณหภูมิ และความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล พบว่าการเพิ่มขึ้นอุณหภูมิและของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้งลดลง (รูปที่ 4.1ก) ส่วนอุณหภูมิและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้งพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การฟักเป็นตัวอยู่ในช่วง 28 และ 31 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลเพิ่มขึ้นมีผลให้เปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้งลดลง (รูปที่ 4.1ข)



รูปที่ 4.1 รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้งในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน (ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส

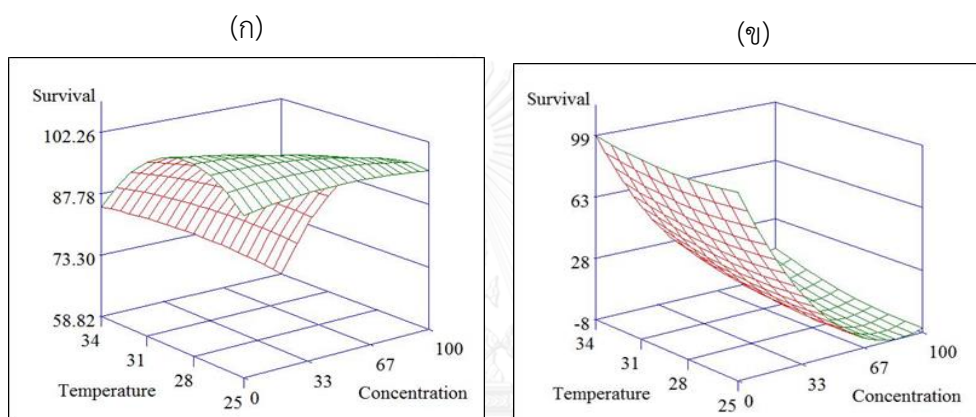
อัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวของไข่อุ้งก้ามกรามแสดงดังตารางที่ 4.4 พบอัตราการรอดสูงสุดในชุดควบคุมประมาณ 87-98 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดหลังฟัก 73-96 และ 33-93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดหลังฟัก 0-42 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส พบการรอดหลังฟักเป็นตัวของไข่อุ้งก้ามกรามลดลง ทั้งในชุดควบคุมและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล และไม่พบการรอดของลูกกุ้งในชุดการทดลองของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ กลับพบว่าอัตราการรอดของลูกกุ้งเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่ามีการระเหยของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลบางส่วนออกไปจากในน้ำทำให้มีความเป็นพิษลดน้อยลง แต่อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลก็ยังมีพิษรุนแรงต่อลูกกุ้งที่ฟักออกมาเพราะลูกกุ้งตายทันทีหลังฟัก นอกจากนี้พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นมีผลให้อัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวของไข่อุ้งก้ามกรามลดลงทั้งในชุดควบคุมและชุดการทดลองส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล แต่มีอัตราการรอดของลูกกุ้งเพิ่มขึ้นในชุดความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซล ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า อุณหภูมิ ความเข้มข้น และอุณหภูมิร่วมกับความเข้มข้น ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 5) เป็นปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวของไข่อุ้งก้ามกรามในชุดการทดลองของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล ส่วนอุณหภูมิ ความเข้มข้น และอุณหภูมิร่วมกับความเข้มข้นปัจจัยที่มีผลต่อการรอดชีวิตของลูกกุ้ง ในชุดการทดลองส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซล ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 6)

ตารางที่ 4.4 ผลของอุณหภูมิและน้ำมันและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปาล์มไบโอดีเซลและดีเซลต่อการรอดหลังจากฟักเป็นตัวของไข่อุ้งก้ามกราม (ค่าเฉลี่ย+SE)

| อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส) | อัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวของไข่อุ้งก้ามกราม (เปอร์เซ็นต์) | | | | |
|--------------------------------|---|---------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| | ชุดควบคุม | 50%WSF ไบโอดีเซล | 100%WSF ไบโอดีเซล | 50%WSF ดีเซล | 100% WSF ดีเซล |
| 25 | 97.50±0.15 ^{aAB} | 96.75±0.24 ^{aA} | 83.91±0.14 ^{aB} | 0.83±0.15 ^{bC} | 0.00±0.00 ^C |
| 28 | 98.39±0.30 ^{aA} | 93.11±0.71 ^{aAB} | 86.58±0.66 ^{aB} | 0.00±0.00 ^{bC} | 0.00±0.00 ^C |
| 31 | 96.75±0.41 ^{aA} | 93.32±0.72 ^{aA} | 93.38±0.73 ^{aA} | 10.65±1.01 ^{bB} | 0.00±0.00 ^C |
| 34 | 86.72±0.71 ^{bA} | 73.05±0.60 ^{bC} | 33.36±0.73 ^{bC} | 37.39±0.58 ^{aC} | 0.00±0.00 ^D |

หมายเหตุ ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a, b, c) ในแนวตั้ง และตัวอักษรยกตัวเล็ก (A, B, C) ในแนวนอนแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

กราฟสามมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวของไขกุ้ง อุณหภูมิ และความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล พบว่าอุณหภูมิที่ทำให้มีอัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวของไขกุ้งสูงสุดอยู่ในช่วง 28 และ 31 องศาเซลเซียส ส่วนความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลทำให้อัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวของไขกุ้งลดลง (รูปที่ 4.2ก) ส่วนอุณหภูมิและความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นและความเข้มข้นต่ำของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลทำให้อัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวของไขกุ้งเพิ่มขึ้น และอัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวของไขกุ้งลดลง เมื่อความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลเพิ่มขึ้น ในทุกๆอุณหภูมิ (รูปที่ 4.2ข)



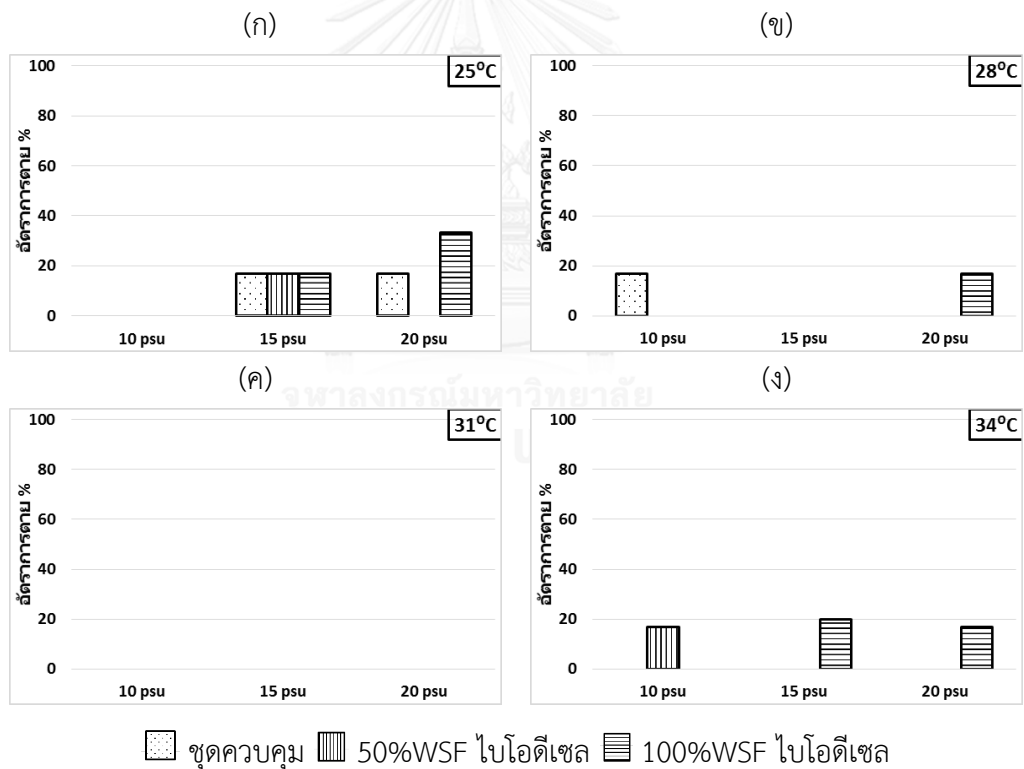
รูปที่ 4.2 รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การตายของเปอร์เซ็นต์การรอดหลังฟักของไขกุ้งในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน (ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส

4.3 ความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ต่อลูกกุ้งวัยอ่อน

ผลของน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลความเข้มข้น 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และดีเซลความเข้มข้น 20, 50 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ต่อลูกกุ้งวัยอ่อนระยะต่างๆได้แก่ ระยะที่ I (อายุประมาณ 2 วัน) , ระยะที่ II (อายุประมาณ 8 วัน), ระยะที่ III (อายุประมาณ 13 วัน) และโพสลาวาร์ (อายุประมาณ 22 วัน) ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0, 10, 15 และ 20 psu ภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (รูปที่ 4.3-4.9)

(1) ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่ I

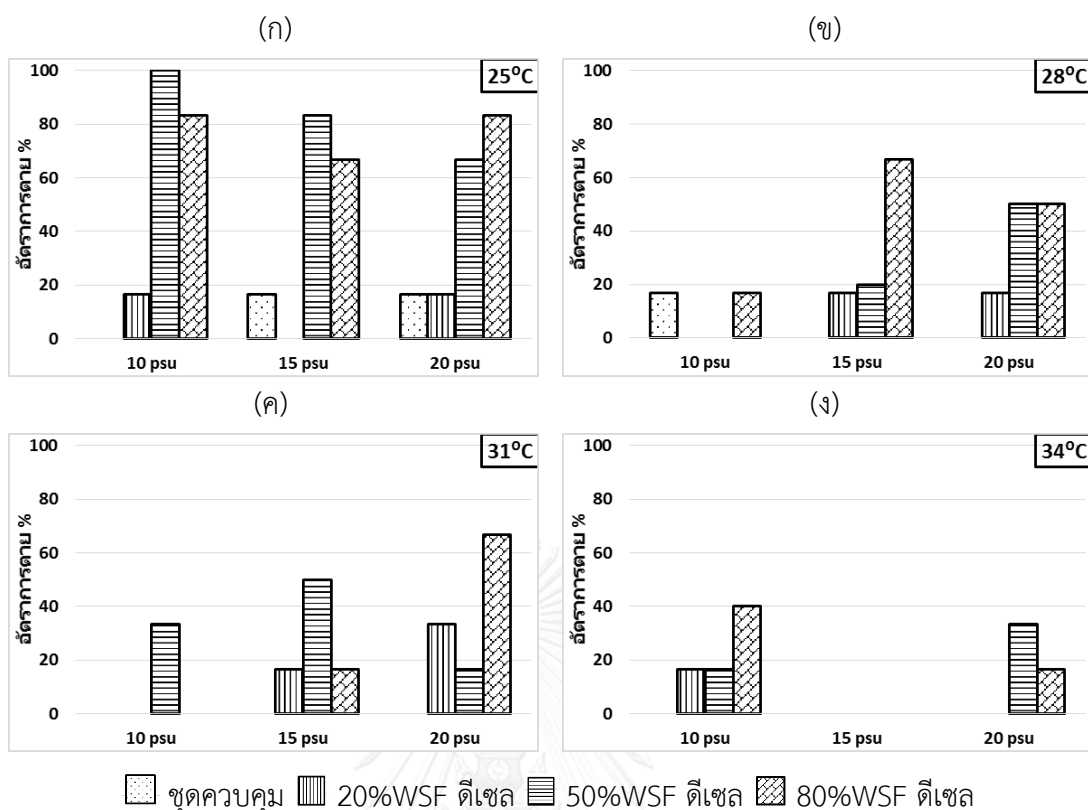
ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0, 10, 15 และ 20 psu ต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ I ภายในเวลา 96 ชั่วโมง พบว่า อัตราการตายของลูกกุ้งในทุกๆอุณหภูมิค่อนข้างต่ำอยู่ในช่วง 20-40 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการตายของลูกกุ้งที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.3) ผลของอุณหภูมิและเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลต่อลูกกุ้งระยะที่ I ที่อุณหภูมิต่ำสุด 25 องศาเซลเซียส พบการตายของลูกกุ้งมากกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ (รูปที่ 4.3ก) และอุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส ไม่พบการตายของลูกกุ้งระยะที่ I ซึ่งอุณหภูมินี้อาจมีความเหมาะสมที่สุดต่อการรอดชีวิตของลูกกุ้งระยะดังกล่าว (รูปที่ 4.3ค) ส่วนความเค็มพบว่าไม่มีผลเพียงเล็กน้อยต่อลูกกุ้งระยะที่ I โดยเฉพาะอย่างยิ่งในชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส ผลการวิเคราะห์สถิติพบว่าไม่มีปัจจัยใดมีผลให้เกิดความตายแก่ลูกกุ้งระยะที่ I ($p > 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 7)



รูปที่ 4.3 อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ I ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง

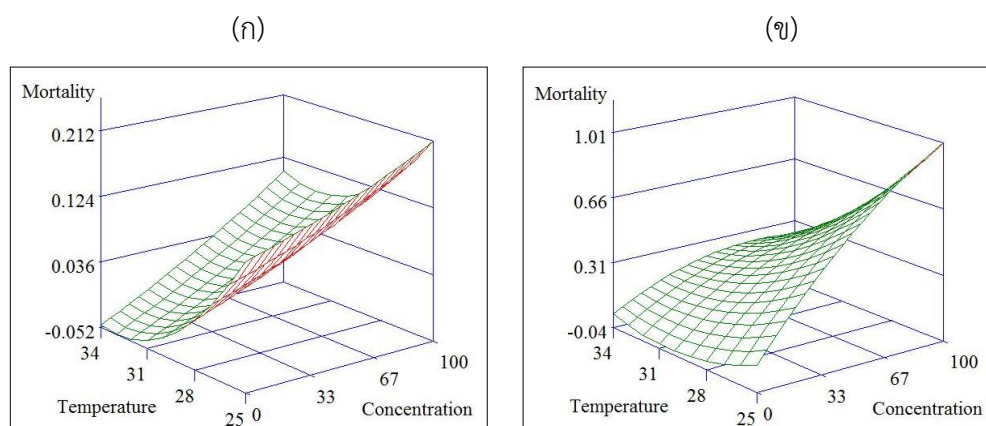
ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ I ภายในเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าอัตราการตายของลูกกุ้งต่ำสุดที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.4ง) ส่วนการตายสูงสุดพบที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.4ก) เพราะอุณหภูมิต่ำการระเหยของน้ำมันเกิดได้น้อยกว่าที่อุณหภูมิสูง โดยที่อุณหภูมิสูงพบอัตราการรอดของลูกกุ้งเพิ่มขึ้น ส่วนความเค็มมีผลต่อการตายของลูกกุ้งโดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบการตายของลูกกุ้งสูงในทุกความเค็ม (รูปที่ 4.4ก) ส่วนอุณหภูมิอื่นผลของความเค็มมีแนวโน้มไม่ชัดเจนแต่ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส ความเค็ม 15 psu ไม่พบการตายเกิดขึ้น (รูปที่ 4.4ง) และผลการวิเคราะห์สถิติพบอุณหภูมิ ความเข้มข้น และอุณหภูมิร่วมกับความเข้มข้น เป็นปัจจัยที่มีผลทำให้เกิดความตายแก่ลูกกุ้งระยะที่ I ($p < 0.05$) (รูปที่ 4.5 และภาคผนวก ค ตารางที่ 8)

กราฟสามมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ I อุณหภูมิ และความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล พบว่าผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล พบการตายของลูกกุ้งที่อุณหภูมิต่ำมากกว่าที่อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น (4.5ก) ส่วนผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซล พบว่าอุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นต่ำมีการตายของลูกกุ้งเกิดขึ้นต่ำที่สุด และที่ความเข้มข้นสูงขึ้นก็พบการตายของลูกกุ้งเกิดขึ้นต่ำเช่นกัน และที่อุณหภูมิต่ำมีแนวโน้มการตายเกิดขึ้นมากกว่าที่อุณหภูมิสูง (4.5ข)



รูปที่ 4.4 อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ I ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลอุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่ เวลา 96 ชั่วโมง

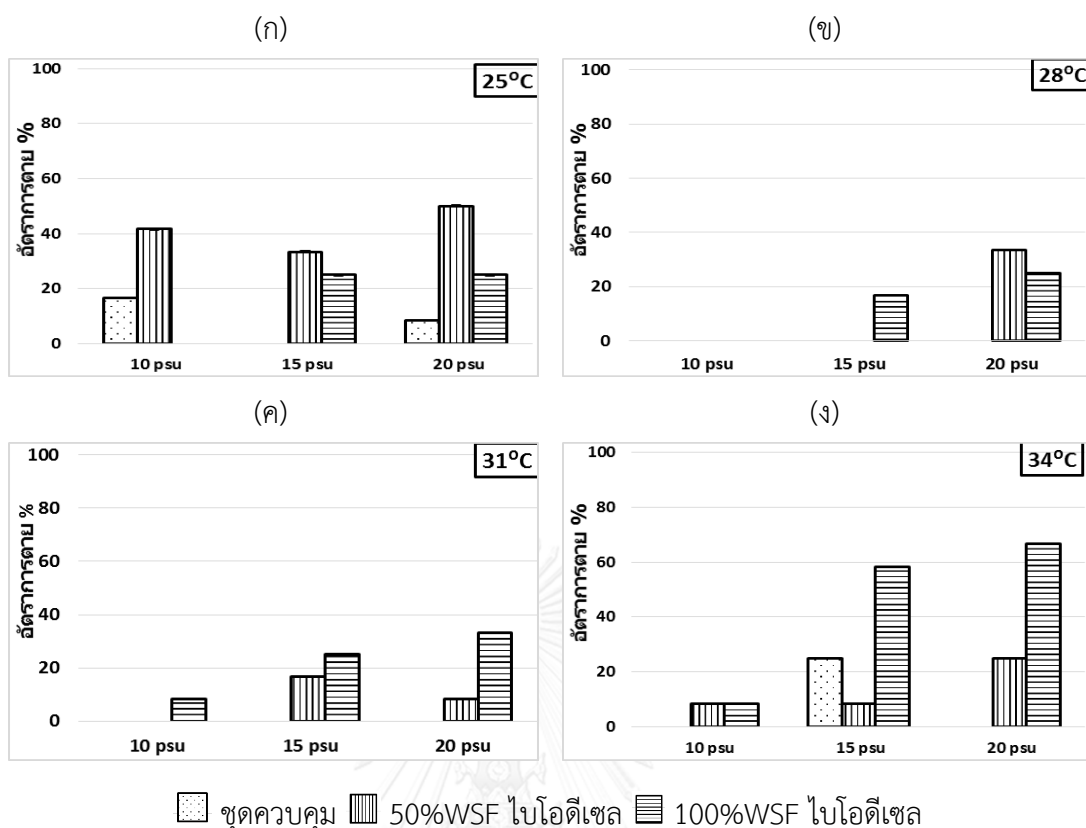
สรุป ความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล ความเค็ม และอุณหภูมิ ไม่มีผลต่อการตายของกุ้งระยะที่ I และพบการตายของลูกกุ้งต่ำกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.3) ส่วนความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล และอุณหภูมิ เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการตายของกุ้งระยะที่ I และพบการตายของลูกกุ้งลดลงเมื่ออุณหภูมิสูง 34 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อุณหภูมิอาจมีผลต่อการคงตัวและการระเหยของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันทั้งสองชนิด โดยเฉพาะน้ำมันดีเซลที่พบการตายของลูกกุ้งลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (รูปที่ 4.4) นอกจากนี้ส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลมีความเป็นพิษมากกว่าไบโอดีเซล



รูปที่ 4.5 รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ I ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน
(ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส

(2) ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่ II

ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ภายในเวลา 96 ชั่วโมง พบการตายของลูกกุ้งดำที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.6ข-ค) และเมื่อความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลเพิ่มขึ้นพบลูกกุ้งตายเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 25 และ 34 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.6ก และ รูปที่ 4.6ง) แสดงให้เห็นว่าลูกกุ้งสามารถอาศัยอยู่และรอดชีวิตได้ดีที่อุณหภูมิ 28-31 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.6ข-ค) และบางอุณหภูมิไม่พบการตายของลูกกุ้งชุดควบคุม ส่วนความเค็มและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีผลต่อลูกกุ้งที่อุณหภูมิ 25 และ 34 องศาเซลเซียส มากกว่าที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.6) สำหรับผลการวิเคราะห์สถิติพบอุณหภูมิ ความเข้มข้น อุณหภูมิร่วมกับความเข้มข้น ความเค็ม และความเค็มร่วมกับความเข้มข้น เป็นปัจจัยที่มีผลทำให้เกิดความตายแก่ลูกกุ้งระยะที่ II ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 9)

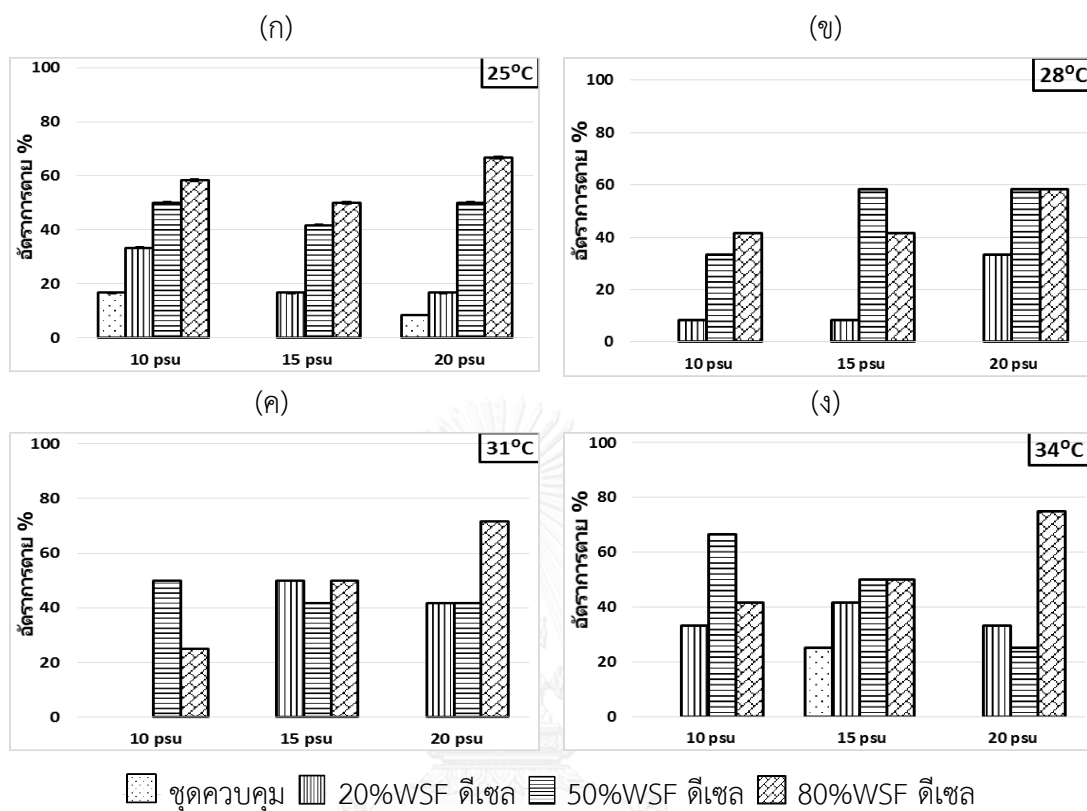


รูปที่ 4.6 อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลอุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง

ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ภายในเวลา 96 ชั่วโมง ซึ่งผลของอุณหภูมิและส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซล พบการตายของลูกกุ้งใกล้เคียงกันในทุกอุณหภูมิและไม่พบการตายของลูกกุ้งในชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส ดังรูปที่ 4.7ข-ค ส่วนความเค็มและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล พบแนวโน้มการตายของลูกกุ้งเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้นในทุกๆอุณหภูมิ (รูปที่ 4.7) และผลการวิเคราะห์สถิติพบความเข้มข้น และอุณหภูมิ ร่วมกับความเค็ม เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดความตายแก่ลูกกุ้งระยะที่ II ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 10)

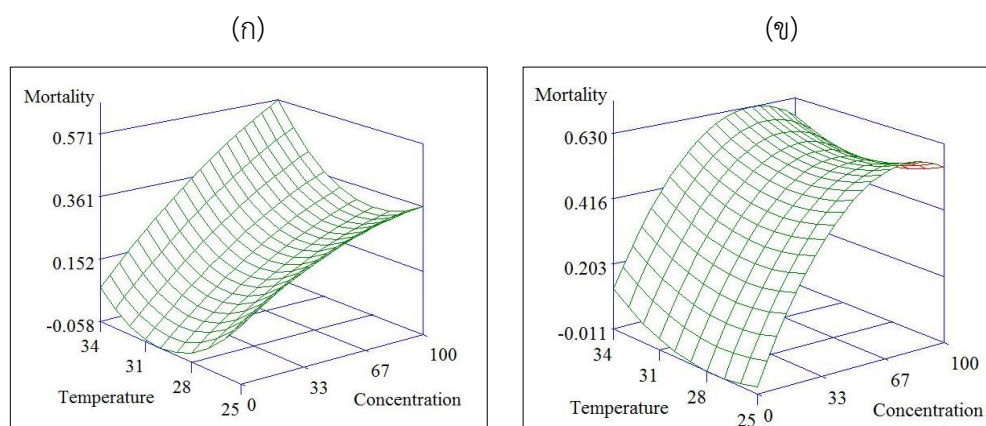
กราฟสามมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ II อุณหภูมิ และความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล โดยชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล พบว่าอุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นต่ำมีการตายของลูกกุ้งเกิดขึ้นต่ำที่สุด (4.8ก) ส่วนความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลทำ

ให้ลูกกุ้งตายเพิ่มขึ้นส่วนการตายเกิดขึ้นต่ำสุดพบที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นต่ำ (4.8ข)



รูปที่ 4.7 อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลอุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง

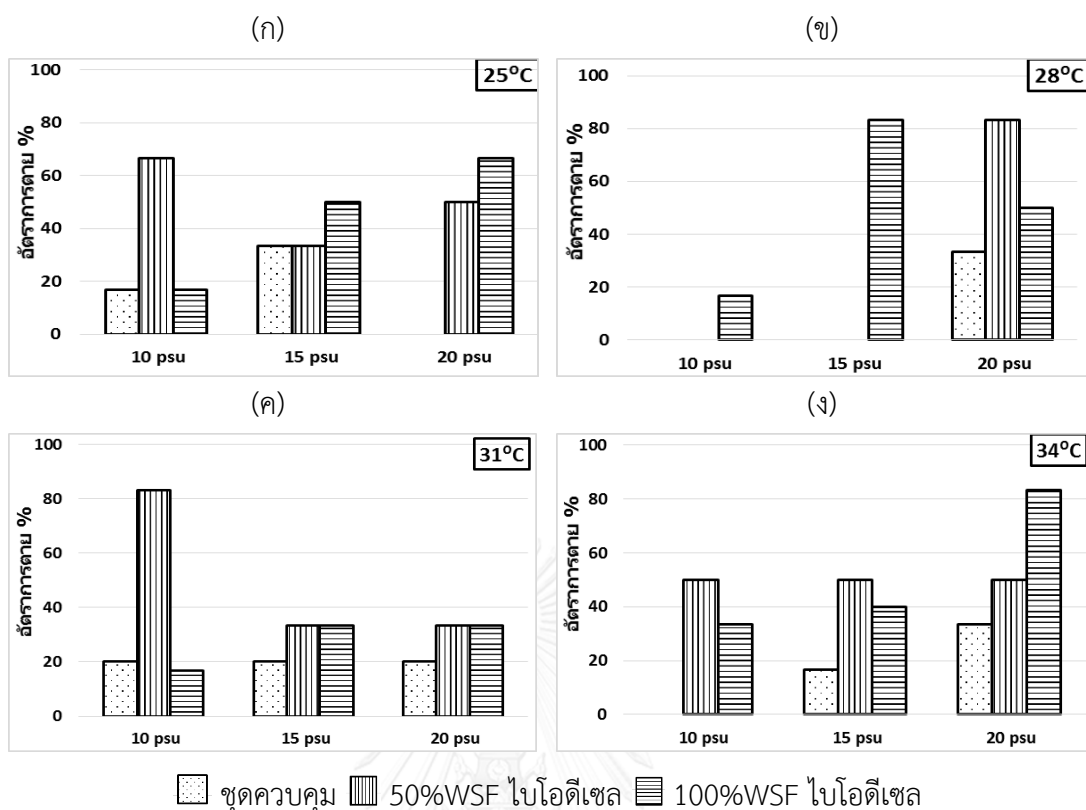
สรุป ความเข้มข้น ของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล อุณหภูมิ ความเค็ม อุณหภูมิ ร่วมกับความเข้มข้น และความเค็มร่วมกับความเข้มข้น มีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ($p < 0.05$) และพบการตายของลูกกุ้งที่อุณหภูมิ 25 และ 34 องศาเซลเซียส มากกว่าที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.6) ส่วนการทดลองส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซล พบความเข้มข้น และอุณหภูมิร่วมกับความเค็ม เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ($p < 0.05$) (รูปที่ 4.7) นอกจากนี้พบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลมีความเป็นพิษมากกว่าไบโอดีเซล และการตายของลูกกุ้งระยะที่ II สูงกว่าลูกกุ้งระยะที่ I ทั้งในชุดการทดลองที่เป็นส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล



รูปที่ 4.8 รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ II ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน (ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส

(3) ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่ III

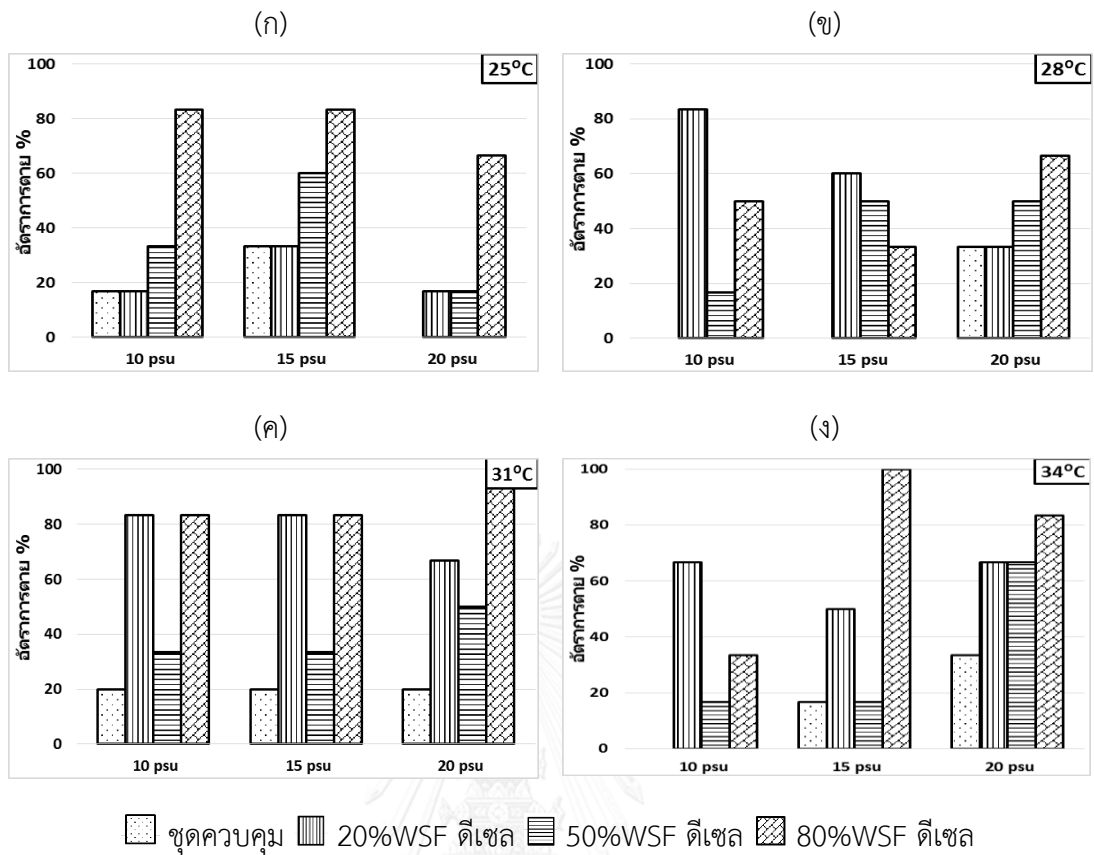
ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ III ภายในเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าเมื่อความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลพบการตายของลูกกุ้งเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 25 และ 34 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.9ก และรูปที่ 4.9ง) และมีการตายต่ำที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.9ข-ค) ส่วนความเค็มที่เพิ่มขึ้นมีแนวโน้มไม่ชัดเจนโดยบางอุณหภูมิไม่พบการตายของลูกกุ้งตายในชุดควบคุม (รูปที่ 4.9) และผลการวิเคราะห์สถิติพบความเข้มข้น และความเค็ม เป็นปัจจัยที่มีผลทำให้เกิดความตายแก่ลูกกุ้งระยะที่ III ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 11)



รูปที่ 4.9 อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ III ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลอุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง

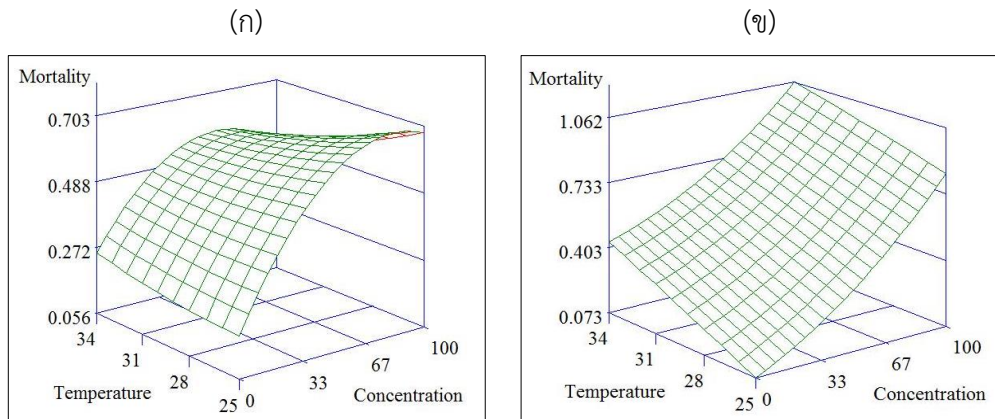
ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ III ภายในเวลา 96 ชั่วโมง พบการตายของลูกกุ้งสูงในทุกอุณหภูมิ (รูปที่ 4.10) ลูกกุ้งในชุดควบคุมของบางอุณหภูมิและความเค็มไม่มีการตายเกิดขึ้น และผลการวิเคราะห์สถิติพบความเข้มข้นเป็นปัจจัยเดียวที่มีผลทำให้เกิดความตายแก่ลูกกุ้งระยะที่ III ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 12)

กราฟสามมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ III อุณหภูมิ และความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล พบว่าทุกอุณหภูมิมีผลไม่ต่างกันและเมื่อความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลเพิ่มขึ้นพบการตายเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.11ก) ส่วนผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลพบการตายเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.11ข)



รูปที่ 4.10 อัตราการตายของลูกกุ้งระยะที่ III ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลอุณหภูมิ (ก) 25, (ข) 28, (ค) 31 และ (ง) 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 96 ชั่วโมง

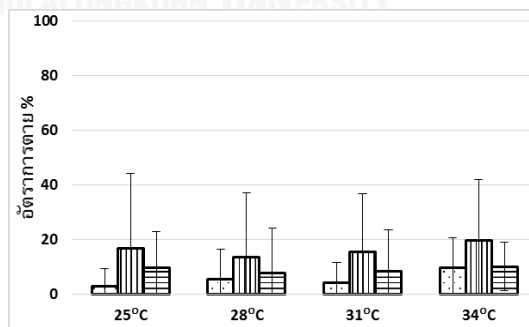
สรุป ชุดการทดลองส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล พบความเข้มข้น และความเค็ม มีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ III อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนชุดการทดลองส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซล พบความเข้มข้น ปัจจัยเดียวที่มีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ III ($p < 0.05$) นอกจากนี้พบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลมีความเป็นพิษมากกว่าไบโอดีเซล และพบการตายของลูกกุ้งระยะที่ III มีสูงกว่าลูกกุ้งระยะที่ II และลูกกุ้งระยะที่ I



รูปที่ 4.11 รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ III ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน (ก) ไอโซออคทีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส

(4) ลูกกุ้งระยะโพสลาวาร์

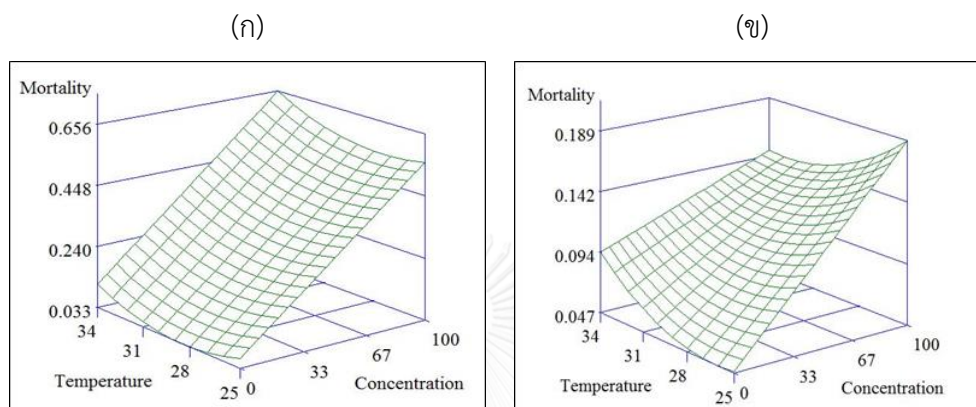
ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไอโซออคทีเซล และดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ต่อลูกกุ้งวัยอ่อนระยะโพสลาวาร์ที่เวลา 96 ชั่วโมง พบอัตราการตายของลูกกุ้งค่อนข้างต่ำประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ และส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไอโซออคทีเซล มีผลให้อัตราการตายของลูกกุ้งสูงกว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล นอกจากนี้อุณหภูมิสูง 34 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำ 25 องศาเซลเซียส มีการตายของลูกกุ้งมากกว่าที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.12) และผลการวิเคราะห์สถิติพบความเข้มข้นเพียงปัจจัยที่มีผลทำให้เกิดความตายแก่ลูกกุ้งระยะโพสลาวาร์ทั้งสองชุดการทดลอง ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 13 และตารางที่ 14)



■ ชุดควบคุม ■ WSF ไอโซออคทีเซล ■ WSF ดีเซล

รูปที่ 4.12 อัตราการตายของลูกกุ้งโพสลาวาร์ ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไอโซออคทีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ที่เวลา 96 ชั่วโมง

กราฟสามมิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของลูกกุ้งระยะโพสลาวาร์ อุณหภูมิ และความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล พบว่าการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่ทำให้ลูกกุ้งตายเพิ่มขึ้น และพบการตายเกิดขึ้นต่ำที่ความเข้มข้นต่ำและอุณหภูมิต่ำ (รูปที่ 4.13ก) ส่วนความเข้มข้นสูงของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลและอุณหภูมิต่ำมีผลให้ลูกกุ้งตายมากกว่าอุณหภูมิสูง (รูปที่ 4.13ข)



รูปที่ 4.13 รูปสามมิติของเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะโพสลาวาร์ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน (ก) ไบโอดีเซล (ข) ดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส

4.4 ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล และอุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ต่อการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งระยะโพสลาวาร์

ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลภายใต้อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียสต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งก้ามกรามวัยอ่อนระยะโพสลาวาร์ พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งแสดงดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.14-4.16 ลักษณะโดยทั่วไปของเหงือกกุ้งก้ามกรามประกอบด้วย แกนเหงือก (gill axis) และซี่เหงือก (gill lamella) ซึ่งวางตัวทอดยาวตลอดทั้งสองฝั่งของแกนเหงือก โดยซี่เหงือกจะมีเนื้อเยื่อบางๆ หุ้มอยู่เรียกว่า (gill epithelium) และภายในซี่เหงือกประกอบด้วยฮีโมไซท์ (hemocyte) ทำหน้าที่แลกเปลี่ยนก๊าซเหมือนเม็ดเลือดแดง ซึ่งฮีโมไซท์จะมีลักษณะกลมและภายในมีนิวเคลียสที่มีรูปร่างกลม ย้อมติดสีเบส (basophilic stain) ซึ่งมีสีฟ้า ซึ่งพบได้บริเวณตรงกลางของซี่เหงือก ส่วนของเหลวรอบๆ นิวเคลียสคือไซโตพลาสซึม (cytoplasm) จะย้อมติดสีกรด (eosinophilic stain) ซึ่งมีสีแดง นอกจากนี้พบเซลล์รูปร่างรีเรียกว่า พิลลาเซลล์ (pillar cell) อยู่ที่ริมขอบเซลล์ซี่เหงือกและย้อมติดสีเบส (basophilic stain) มีหน้าที่แลกเปลี่ยนน้ำและแร่ธาตุ ส่วนช่องว่างระหว่างเหงือกเรียก inter lamella space (ILS) ดังแสดงในลูกกุ้งชุดควบคุม (รูปที่ 4.14)

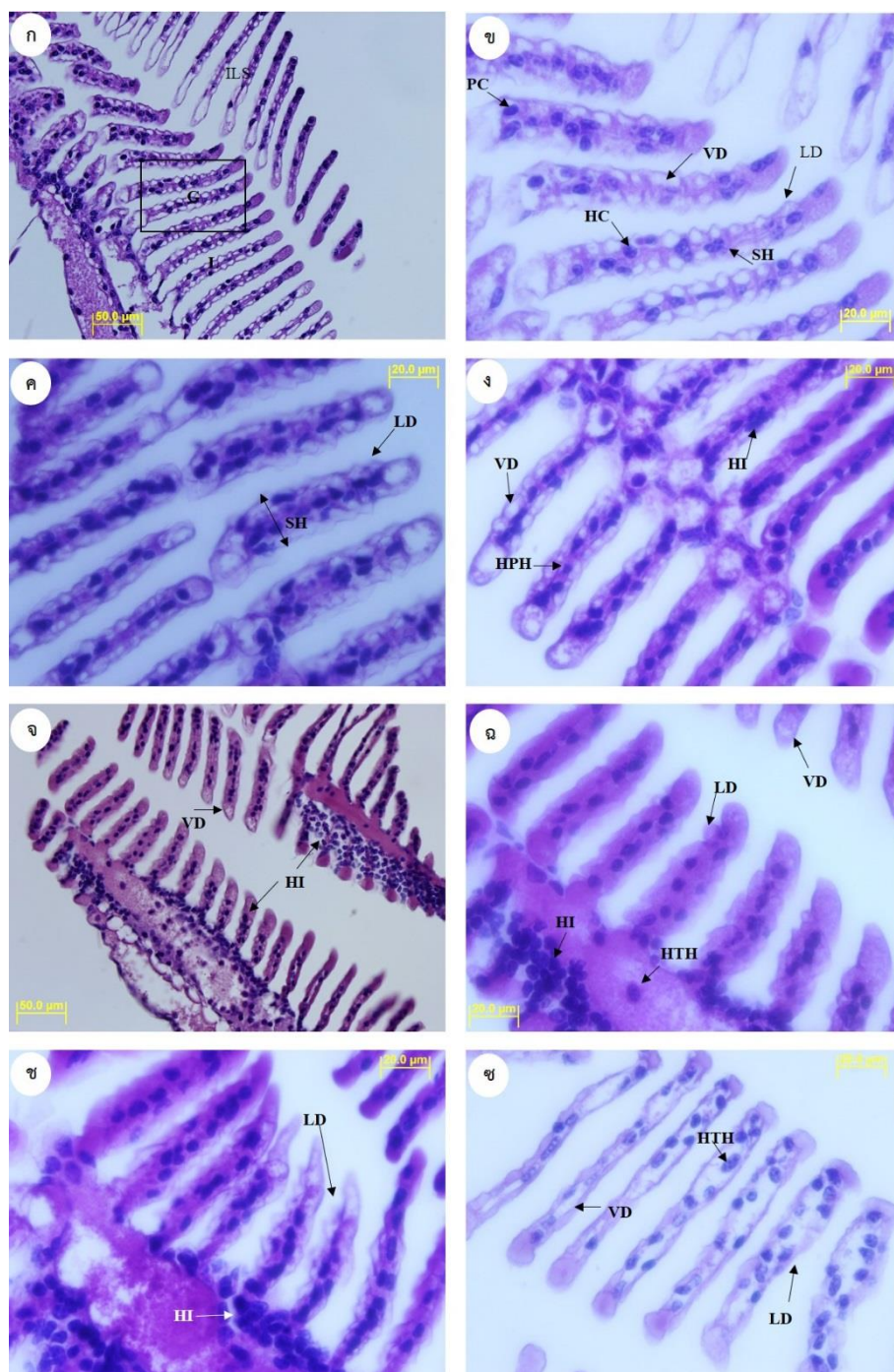
การศึกษาในครั้งนี้พบอุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกโดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นพบการจัดเรียงของเซลล์ต่างๆในเนื้อเยื่อผิดไปจากเดิมที่ปกติ (gill lamella disorganization) เกิดการบวมของเซลล์เม็ดเลือดและมีการสะสมของโปรตีนในเซลล์ (swelling of hemocyte) พบการสูญเสียสายของเซลล์ฮีโมไซท์และเกิดถุงแวคิวโอลภายในไซโตพลาสซึม (vacuolar degeneration) เกิดการรวมตัวกันของฮีโมไซท์ (hemocytic infiltration) การขยายขนาดของฮีโมไซท์ (hypertrophy of hemocyte) และมีการเพิ่มจำนวนของฮีโมไซท์เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย (hyperplasia of hemocyte) ดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.14 สำหรับผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิต่างๆ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกโดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นพบการจัดเรียงของเซลล์ต่างๆในเนื้อเยื่อผิดไปจากเดิมที่ปกติ (gill lamella disorganization) นิวเคลียสภายในฮีโมไซท์แต่กมองเห็นเป็นนิวเคลียสหลายอันและฮีโมไซท์มีขนาดใหญ่ขึ้น (pyknotic nuclei of hemocytes) พบการสูญเสียสายของเซลล์ฮีโมไซท์และเกิดถุงแวคิวโอลภายในไซโตพลาสซึม (vacuolar degeneration) เกิดการรวมตัวกันของฮีโมไซท์ (hemocytic infiltration) และพบการขยายขนาดของฮีโมไซท์เพียงเล็กน้อย (hypertrophy of hemocyte) ดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.15 ส่วนผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลที่อุณหภูมิต่างๆ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกโดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นพบการจัดเรียงของเซลล์ต่างๆในเนื้อเยื่อผิดไปจากเดิมที่ปกติ (gill lamella disorganization) นิวเคลียสภายในฮีโมไซท์แต่กมองเห็นเป็นนิวเคลียสหลายอันและฮีโมไซท์มีขนาดใหญ่ขึ้น (pyknotic nuclei of hemocytes) พบการสูญเสียสายของเซลล์ฮีโมไซท์และเกิดถุงแวคิวโอลภายในไซโตพลาสซึม (vacuolar degeneration) เกิดการรวมตัวกันของฮีโมไซท์ (hemocytic infiltration) และพบการขยายขนาดของฮีโมไซท์เพียงเล็กน้อย (hypertrophy of hemocyte) ดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.16 ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในชุดควบคุมซึ่งได้รับผลของอุณหภูมิเพียงอย่างเดียวมากกว่าชุดการทดลองที่ได้รับผลกระทบจากส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันที่พบเพียงบางอุณหภูมิเท่านั้นที่มีอาการดังกล่าวนี้ในขั้นรุนแรง ดังเช่นชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของไบโอดีเซลเกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.15 จ-ฉ) ส่วนชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของดีเซลเกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.16 ฉ-ฐ) ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิเพียงอย่างเดียวสามารถส่งผลกระทบต่อการทำงานของเนื้อเยื่อเหงือกได้มากกว่าชุดการทดลองที่ได้รับผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำไปเคลือบเหงือกไว้ทำให้ได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิต่อเนื้อเยื่อเหงือกน้อยลง แต่อย่างไรก็ตามการเคลือบของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำอาจมีผลต่อการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนก่อให้เกิดความตายแก่ลูกกุ้งได้เช่นกัน

ตารางที่ 4.5 ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาเวียร์เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 96 ชั่วโมง

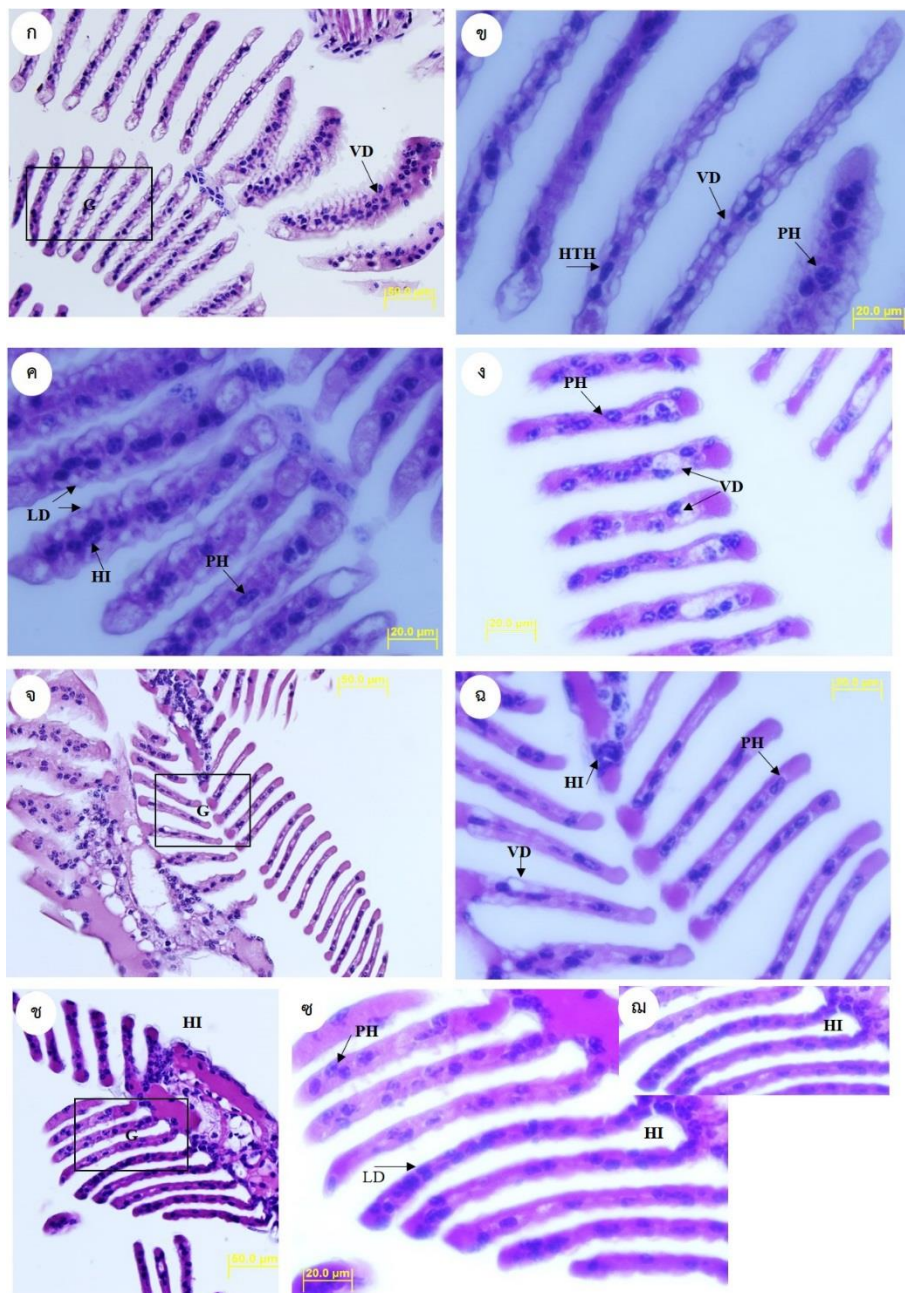
| Histopathological alterations | Control | | | | WSF of biodiesel | | | | WSF of diesel | | | |
|-------------------------------|---------|------|------|------|------------------|------|------|------|---------------|------|------|------|
| | 25°C | 28°C | 31°C | 34°C | 25°C | 28°C | 31°C | 34°C | 25°C | 28°C | 31°C | 34°C |
| Gill lamella disorganization | + | +++ | +++ | ++ | - | +++ | - | + | + | - | +++ | + |
| Pyknotic nuclei of hemocytes | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | ++ |
| Swelling of hemocyte | ++ | ++ | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vacuolar degeneration | +++ | ++ | - | - | +++ | ++ | + | - | ++ | ++ | ++ | ++ |
| Hemocytic infiltration | - | + | ++ | + | - | + | + | + | - | - | +++ | + |
| Hypertrophy of hemocyte | - | - | +++ | + | + | - | - | - | - | - | - | + |
| Hyperplasia of hemocyte | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

หมายเหตุ คะแนนการเปลี่ยนแปลง: ไม่เปลี่ยนแปลง (-) เล็กน้อย (+) ปานกลาง (++) และ

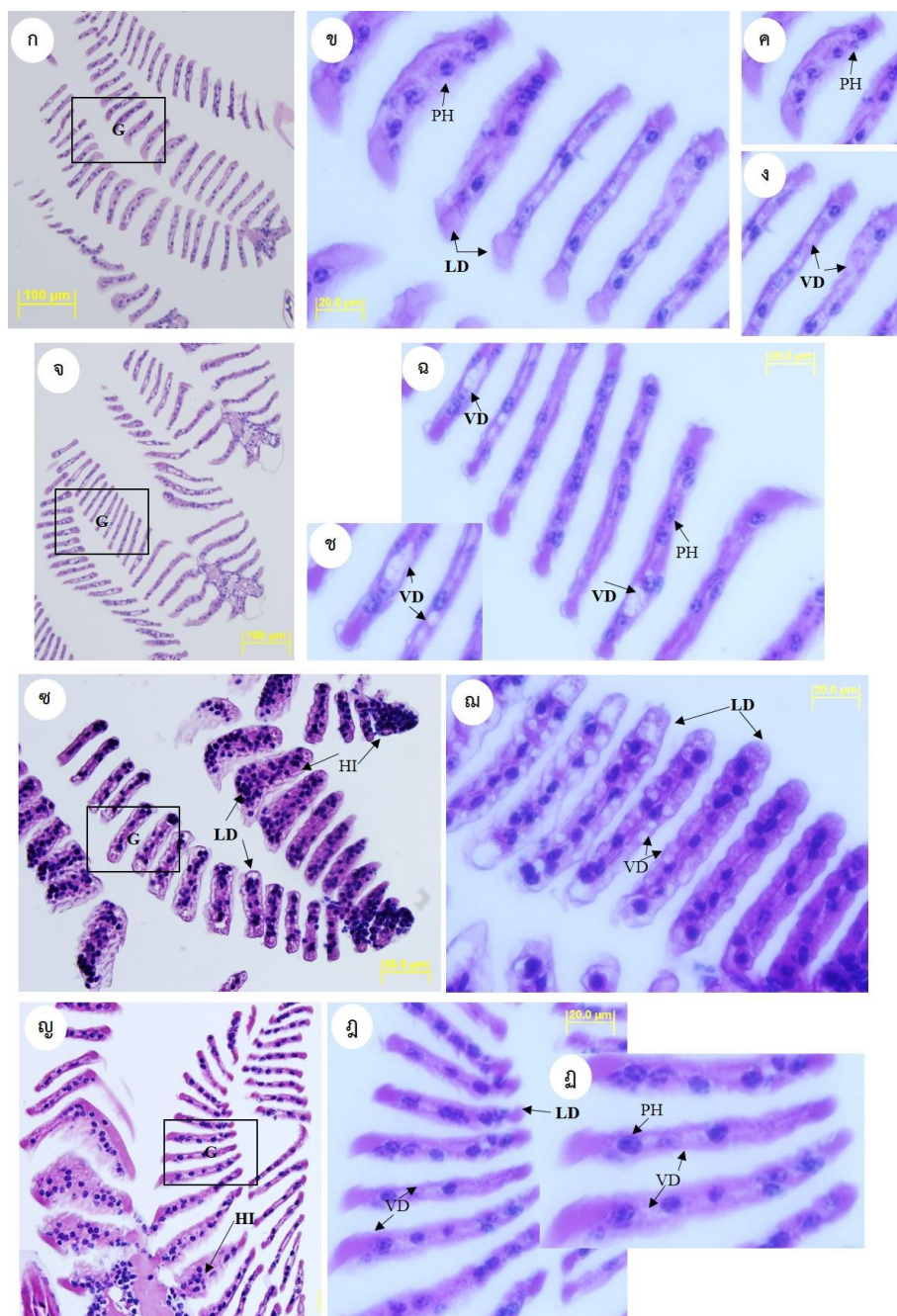
รุนแรง (+++)



รูปที่ 4.14 เนื้อเยื่อเหงือกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาจารย์ในชุดควบคุมที่อุณหภูมิต่างๆ (ก-ข) = 25 องศาเซลเซียส (ค-ง) = 28 องศาเซลเซียส (จ-ฉ) = 31 องศาเซลเซียสและ (ช-ซ) = 34 องศาเซลเซียส สเกลบาร์ (ก, จ = 50 μm) (ข, ค, ง, ฉ, ช, ซ = 20 μm) HC = hemocyte, HI = hemocytic infiltration, HTH = hypertrophy of hemocyte, HPH = hyperplasia of hemocyte, LD = lamellae disorganization, PC = Pillar cell, SH = swelling of hematocytes, VD = vacuolar degeneration



รูปที่ 4.15 เนื้อเยื่อเหงือกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาเวียร์ที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิต่างๆ (ก-ข) = 25 องศาเซลเซียส (ค-ง) = 28 องศาเซลเซียส (จ-ฉ) = 31 องศาเซลเซียสและ (ช-ฉ) = 34 องศาเซลเซียส สเกลบาร์ (ก, จ = 50 μm) (ข, ค, ง, ฉ, ช, ซ = 20 μm) HI = hemocytic infiltration, HTH = hypertrophy of hemocyte, LD = lamellae disorganization, PH = pyknotic nuclei of hemocytes, VD = vacuolar degeneration



รูปที่ 4.16 เนื้อเยื่อเหงือกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาจารย์ที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลที่
 อุณหภูมิต่างๆ (ก-ง) = 25 องศาเซลเซียส (จ-ช) = 28 องศาเซลเซียส (ซ-ฉ) = 31 องศา
 เซลเซียส และ (ญ-ฉ) = 34 องศาเซลเซียส สเกลบาร์ (ก, จ, ญ = 50 µm) (ข, ค, ง, ฉ, ช,
 ซ, ฉ, ฉ, ฉ = 20 µm) HI = hemocytic infiltration, LD = lamellae disorganization,
 PH = pyknotic nuclei of hemocytes, VD = vacuolar degeneration

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ความสามารถในการละลายน้ำของน้ำมัน

การละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) ระดับความเค็มต่างกัน ได้แก่ 0 (น้ำจืด), 10, 15 และ 20 psu พบการละลายของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลในน้ำจืดได้มากกว่าที่ความเค็มอื่นๆ โดยส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ มีการละลายเท่ากับ 891.40 ± 210.24 และ 1585 ± 139.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการละลายของน้ำมันทั้งสองชนิดในน้ำเค็มพบว่าเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นการละลายน้ำของน้ำมันก็เพิ่มขึ้นโดยพบการละลายสูงสุดที่ความเค็ม 20 psu (ตารางที่ 4.1) ซึ่งการละลายเพิ่มขึ้นของน้ำมันในน้ำที่ความเค็มเพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากปฏิกิริยา salting in (Whitehouse, 1984) แต่อย่างไรก็ตามน้ำมันส่วนใหญ่มีความสามารถในการละลายน้ำได้อย่างจำกัด (Guard et al., 1983; Krop et al., 1997; Coates et al., 1985; Yassine et al., 2012) การศึกษาในครั้งนี้พบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีลักษณะเป็นอิมัลชัน สีขุ่นขาว ด้านบนผิวน้ำมีคราบไขมันลอยอยู่ด้านบนเพียงเล็กน้อย ส่วนน้ำมันดีเซลส่วนที่ละลายน้ำมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำและด้านบนของผิวน้ำมีลักษณะมันเงา ทั้งนี้ลักษณะของน้ำมันทั้งสองชนิดเป็นเช่นเดียวกับรายงานผลการศึกษาของ Birchall et al (1995) และ Demello et al (2007) นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีความเป็นพิษน้อยกว่าดีเซลเพราะองค์ประกอบของน้ำมันไบโอดีเซลเป็นกรดไขมัน (ตารางที่ 2.1) แต่ดีเซลเป็นไฮโดรคาร์บอนสายโซ่ตรง และพวกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่สามารถละลายน้ำได้ดีและมีความเป็นพิษสูง (Zemo & Graf, 1993)

5.2 ความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0 psu ต่อไขกุ้งก้ามกราม

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยเดียวมีผลต่อระยะเวลาการฟักของไขกุ้งก้ามกราม ส่วนปัจจัยอื่นได้แก่ ส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน และความเค็ม ไม่มีผลต่อระยะเวลาการฟักของไขกุ้งก้ามกราม โดยที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ใช้เวลาฟักไขนาน 19, 17, 16 และ 15 วัน ตามลำดับ โดยอุณหภูมิสูงสุด 34 องศาเซลเซียส ใช้เวลาฟักไขสั้นที่สุดและน้อยกว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนที่อุณหภูมิต่ำสุด 25 องศาเซลเซียส ใช้เวลาฟักไขนานที่สุดและนานกว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4.2) เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมารายงานว่าอุณหภูมิมิมีผลต่อระยะเวลาในการฟักไขกุ้งก้ามกราม โดยอุณหภูมิต่ำใช้เวลาในการ

ฟักไข่นานกว่าอุณหภูมิสูง (ตารางที่ 5.1) (Habashy & Hassan, 2011; Manush et al, 2006; Ogasawara, 1984) แต่เมื่ออุณหภูมิสูงเกินกว่าขอบเขตการพัฒนาของไข่ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส ทำให้การฟักไข่ไม่สำเร็จและตายภายในเวลา 9 วัน (Manush et al, 2006) นอกจากนี้ การศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไม่มีผลต่อระยะเวลาฟักไข่ของกิ้งก่ามกราม เช่นเดียวกับ Bechmann et al (2010) รายงานว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดิบดิบบาเรนไม่มีผลต่อการฟักของไข่กิ้งและไม่มีผลต่อจำนวนไข่ต่อแม่กิ้ง (อุณหภูมิ 4.5 ± 0.5 องศาเซลเซียส) แต่ลูกกิ้งที่หลังฟักเป็นตัวอ่อนและยังคงสัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันภายใน 24 ชั่วโมง จะมีการตายเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 5.1 ระยะเวลาฟักไข่ของกิ้งก่ามกรามที่อุณหภูมิต่างกัน

| อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | ระยะเวลาการฟัก (วัน) | ที่มา |
|-------------------------|----------------------|---------------------------|
| 26 | 25 | Ogasawara (1984) |
| 28-28.5 | 20 | |
| 32 | 17 | |
| 25 | 13.5 | Manush et al (2006) |
| 29 | 13 | |
| 33 | 11 | |
| 36 | ตายภายใน 9 วัน | |
| 24 | 23 | Habashy and Hassan (2011) |
| 34 | 17 | |
| 25 | 19 | การศึกษาครั้งนี้ |
| 28 | 17 | |
| 31 | 16 | |
| 34 | 15 | |

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าลูกกิ้งที่รอดชีวิตหลังจากฟักจะว่ายน้ำอย่างเป็นอิสระอยู่ในมวลน้ำ และการเปอร์เซ็นต์ฟักของไข่กิ้งลดลงเมื่อความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยพบการฟักของไข่กิ้งต่ำสุดเท่ากับ 64.66 ± 1.37 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลองที่มีส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิสูง 34 องศาเซลเซียส ซึ่งต่ำกว่าชุดการทดลองที่มีส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ (ตารางที่ 4.3) ทั้งนี้ในชุดการทดลองที่มีส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีลักษณะเป็นอิมัลชันซึ่งอาจจะไปอุดตันการแลกเปลี่ยนออกซิเจนของเปลือกไข่ ส่วนที่อุณหภูมิสูงมีผลต่อเมทาบอลิซึมเพิ่มขึ้น ความต้องการพลังงานเพิ่มขึ้น (Kinne, 1963; Kinne, 1964) และอัตราการหายใจเพิ่มขึ้น มีความต้องการออกซิเจนเพิ่มขึ้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการฟักของไข่ในชุดการทดลองที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและโดยเฉพาะอย่างยิ่งไข่ที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลที่พบว่าผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันทั้งสองชนิดส่งผลให้ลูกกุ้งในบางชุดการทดลองฟักออกมาเป็นตัวแล้วตายในทันที

สำหรับอัตราการรอดหลังจากฟักเป็นตัวของไข่กุ้งก้ามกรามลดลงเมื่อความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิสูง 34 องศาเซลเซียส มีอัตราการรอดของลูกกุ้งหลังฟักค่อนข้างต่ำซึ่งเท่ากับ 33.36 ± 7.92 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลมีความเป็นพิษสูงกว่าไบโอดีเซลโดยที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ โดยพบลูกกุ้งตายทั้งหมด แต่ชุดการทดลองที่มีส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 50% เปอร์เซ็นต์ พบลูกกุ้งมีอัตราการรอดเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส พบอัตราการรอดเท่ากับ 37.39 ± 6.35 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.4) ทั้งนี้เนื่องมาจากอุณหภูมิมีผลต่อการระเหยของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลทำให้พบการรอดชีวิตของลูกกุ้งเพิ่มขึ้น โดยรายงานการศึกษาของ Lindén et al (1979) พบว่าแนฟทาลินที่เป็นองค์ประกอบหลักของไฮโดรคาร์บอนระเหยได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มากกว่าที่ 20 และ 25 องศาเซลเซียส โดยแนฟทาลินระเหยออกจากในน้ำประมาณ 30-60 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 24 ชั่วโมง หรือลดลงจาก 0.646 ppm เป็น 0.1938-0.3876 ppm นอกจากนี้ Rice et al (1976) ยังพบว่าสารอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนสามารถคงตัวในน้ำเย็นได้ดีกว่าในน้ำอุ่น สำหรับความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล เป็นผลมาจากสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบได้แก่ ไฮโดรคาร์บอนและอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ส่วนความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล เป็นผลมาจากการอุดตันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันที่เปลือกไข่ส่งผลให้เกิดการแลกเปลี่ยนก๊าซภายในและภายนอกเป็นไปอย่างยากลำบาก นอกจากนี้ยังไม่มีรายงานผลของความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลต่อการฟักของไข่กุ้งแต่มีรายงานความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันละหุ่ง น้ำมันปาล์ม และน้ำมันปรุงอาหาร ต่อไข่แม่ทะเล โดยแสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษที่ทำให้ไข่มีการพัฒนาผิดปกติมีค่า EC50-96 ชั่วโมง เท่ากับ 4.22, 22.25 และ 8.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Leite et al, 2011) นอกจากนี้ยังมีรายงานผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันชนิดอื่นๆต่อไข่กุ้ง เช่น Law et al (1999) พบความเป็นพิษของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดิบต่อการฟักของไข่กุ้งก้ามกรามในระบบการเลี้ยงแบบน้ำไหลที่อุณหภูมิ 26-27 องศาเซลเซียส ความเค็ม 12 psu ภายใน

ระยะเวลา 12 วัน แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษที่ทำให้ไข่มีการพัฒนาผิดปกติมีค่า EC50-48 ชั่วโมง เท่ากับ 16.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน Fisher and Foss (1993) รายงานว่าไข่กุ้ง *P. pugio* อายุ 2 วัน ที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันเบอร์ 2 ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ พบไข่กุ้งตายภายในวันที่ 6-7 ส่วนไข่กุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาในการฟักเป็นตัวเพิ่มเป็น 14-15 วัน และไข่กุ้งตายเมื่อถึงเวลาใกล้ฟักและมีอัตราการตายมากกว่าไข่กุ้งสัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุมไข่ฟักเป็นตัวภายใน 12-14 วัน ส่วน Lavarias et al (2004) ไม่พบความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดิบต่อไข่กุ้ง *Macrobrachium borellii* แต่พบความเป็นพิษในระยะยาวต่อไข่กุ้งที่เริ่มแบ่งตัวจนกระทั่งฟักเป็นตัวอ่อนกุ้ง โดยจะลดอัตราการรอดชีวิตของไข่กุ้งทั้งระหว่างฟักและหลังฟักเป็นตัวทั้งนี้ไข่กุ้งมีคุณสมบัติเป็นเยื่อเลือกผ่านให้สารพิษสามารถแพร่กระจายเข้ามาภายในได้ Fisher and Foss (1993) กล่าวว่าผลร่วมกันของอุณหภูมิและส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันทำให้มีการแพร่ของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันผ่านเปลือกไข่และเกิดกระบวนการเมทาบอลิซึมสารพิษขึ้น โดยอุณหภูมิสูงทำให้ไข่กุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของสารผสมของน้ำมันและสารขจัดคราบน้ำมันเกิดการตายเร็วขึ้น และเช่นเดียวกับ Bechmann et al (2010) พบว่าการตายของตัวอ่อนในไข่กุ้งหรือการตายของตัวอ่อนหลังจากฟักเป็นตัวเป็นผลมาจากสารเคมีที่ผ่านเข้าสู่เปลือกไข่สู่ตัวอ่อนกุ้ง แม้ว่าเปลือกไข่มีกระบวนการจำกัดการซึมผ่านของสารเคมีเข้าสู่เปลือกไข่ แต่เมื่อใกล้ฟักเป็นตัวสารเคมีสามารถซึมผ่านได้มากขึ้นดังเช่นการศึกษากุ้ง *P. pugio* (Rayburn & Fisher, 1997) และ Glas et al (1997) กล่าวว่าเปลือกไข่กุ้งมีความเป็นเยื่อเลือกผ่านเพิ่มขึ้น 2-3 วัน ก่อนฟักเป็นตัว นอกจากนี้ไข่ปลาแซลมอนสีชมพู (Heintz et al, 1999) ไข่เม่นทะเล (Pillai et al, 2003) และไข่หอยนางรม (Geffard et al, 2003) สามารถสะสมสารประกอบโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่ผ่านเข้ามาทางเปลือกไข่ไว้ได้ด้วย สำหรับ Lindén et al (1980) กล่าวว่าความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ปลาเพิ่มขึ้นเพราะไม่มีการใช้ไข่แดงในการพัฒนาร่างกาย และเมื่อความเข้มข้นของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น การตายของไข่ปลาในระยะพัฒนาเป็นตัวอ่อนเพิ่มขึ้นและเกิดความผิดปกติของแนวกระดูกสันหลังปลา (scoliosis และ lordosis) และจะมีผลต่อการดำรงชีวิตและการรอดชีวิตของปลาในระยะต่อไป เช่นเดียวกับ Middaugh et al (1998) รายงานผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดิบ Alaska north slope ที่บางส่วนได้มีการสลายตัวไปด้วยแบคทีเรียต่อไข่ปลาแปซิฟิกเฮอริง *Clupea pallasii* พบว่าทำให้การเต้นของหัวใจปลาในระยะพัฒนาจากไข่เป็นวัยอ่อนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ภายในเวลา 4-48 ชั่วโมง และลูกปลาที่ฟักออกมาส่วนใหญ่ตายภายใน 5-8 วัน เพราะความผิดปกติของกระดูกสันหลังมีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหาร

5.3 ความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ต่อลูกกุ้งก้ามกราม

(1) **ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่ I** พบว่าอัตราการตายของลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการตายของลูกกุ้งของทุกชุดการทดลองที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส (รูป 4.3) และผลการวิเคราะห์สถิติพบว่า อุณหภูมิ ความเค็ม และความเข้มข้นของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลไม่มีต่อผลการตายของลูกกุ้ง ($p>0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 7) ส่วนอัตราการตายของลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล พบว่าการตายของลูกกุ้งลดลงที่อุณหภูมิสูง 34 องศาเซลเซียส ส่วนการตายสูงสุดพบที่อุณหภูมิต่ำ 25 องศาเซลเซียส (รูป 4.4) และผลการวิเคราะห์สถิติพบว่า อุณหภูมิ ความเข้มข้น และอุณหภูมิร่วมกับความเข้มข้น มีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ I ($p<0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 8)

(2) **ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่ II** พบว่าอัตราการตายของลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส ต่ำกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ และไม่พบการตายของลูกกุ้งในชุดควบคุม (รูปที่ 4.6) และผลการวิเคราะห์สถิติพบว่าอุณหภูมิ ความเข้มข้น อุณหภูมิร่วมกับความเข้มข้น และความเข้มข้นร่วมกับความเค็ม มีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ($p<0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 9) ส่วนลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลพบว่าอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส มีการตายต่ำกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ (รูปที่ 4.7) และผลการวิเคราะห์สถิติพบว่าความเข้มข้น และอุณหภูมิร่วมกับความเค็ม มีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ($p<0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 10)

(3) **ลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่ III** พบว่าอัตราการตายของลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส ต่ำกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ ส่วนที่อุณหภูมิ 25 และ 34 องศาเซลเซียส แนวโน้มการตายของลูกกุ้งเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นและความเค็มเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.9) และผลการวิเคราะห์สถิติพบว่า ความเข้มข้น และความเค็ม มีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ III ($p<0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 11) ส่วนอัตราการตายของลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลพบว่าอัตราการตายสูงในทุกอุณหภูมิแต่ไม่พบการตายของลูกกุ้งในชุดควบคุมในบางชุดการทดลอง (รูปที่ 4.10) และผลการวิเคราะห์สถิติพบว่าความเข้มข้นเป็นปัจจัยเดียวที่มีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะที่ III ($p<0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 12)

(4) **ลูกกุ้งระยะโพสลาเวียร์** พบอัตราการตายของลูกกุ้งในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ และลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีการตายสูงกว่าที่ได้รับผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล และที่อุณหภูมิ 28 และ 31 องศาเซลเซียส

มีการตายของลูกกุ้งต่ำกว่าอุณหภูมิอื่นๆ (รูปที่ 4.12) และจากผลการวิเคราะห์สถิติพบว่าความเข้มข้นเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการตายของลูกกุ้งระยะโพสลาฟอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาคผนวก ค ตารางที่ 13 และตารางที่ 14)

สรุปผลการศึกษาผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม พบการตายของลูกกุ้งระยะที่ I-III ที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีการตายต่ำกว่าลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล และอัตราการตายของลูกกุ้งเพิ่มขึ้นตามระยะลูกกุ้งที่เจริญเติบโตขึ้นดังรูปที่ 4.3-4.4 รูปที่ 4.6-4.7 และรูปที่ 4.9-4.10 สาเหตุการตายของลูกกุ้งในชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลเกิดจากลักษณะทางกายภาพของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่เป็นอิมัลชันขุ่น และมีแผ่นไขมันขนาดเล็กลอยด้านบนผิวน้ำ โดยส่วนที่เป็นอิมัลชันจะเกาะตามลำตัว เหงือก ทำให้การเคลื่อนไหวและการหายใจ เป็นไปอย่างลำบาก เช่นเดียวกับสาเหตุการตายของสัตว์ทดลองอื่นๆ ที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลดังแสดงในตารางที่ 2.8-2.9 นอกจากนี้ส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลสามารถคงตัวอยู่ในน้ำได้ดี เนื่องจากพันธะคู่ของคาร์บอกซิลิกกรุปแตกตัวจับกับไฮโดรเจนของน้ำ (Fang & McCormick, 2006; Knothe et al, 2005; Yassine et al, 2012b) การคงตัวอยู่ได้นานในน้ำของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีผลต่อสัตว์น้ำโดยเฉพาะสัตว์น้ำวัยอ่อนที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยตนเอง ดังการศึกษาของ Hollebhone et al (2008) รายงานส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล (ถั่วเหลือง, คาโนลาร์ และน้ำมันสัตว์) พบการตายของลูกกุ้งเป็นผลมาจากลักษณะทางกายภาพของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่ทำให้ลูกกุ้งเคลื่อนลำบากและปิดกั้นการหายใจ และมีความเป็นพิษต่ำกว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล (ซัลเฟอร์ต่ำและซัลเฟอร์ต่ำมาก) 5-10 เท่า (ตารางที่ 2.6-2.7) โดยการศึกษาครั้งนี้พบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกับน้ำและด้านบนผิวน้ำเป็นมันวาว และสาเหตุการตายของลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลเกิดจากความ เป็นพิษของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันดีเซลเช่นเดียวกับรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ (Hollebhone et al, 2008; Khan et al, 2007; Wedel, 1999) ซึ่งประกอบด้วยไฮโดรคาร์บอนสายโซ่ตรง และพวกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่สามารถละลายน้ำได้ดีและมีความเป็นพิษสูง (Zemo & Graf, 1993) โดยระดับความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจากมากไปน้อย ได้แก่ อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ไสโคลอัลเคน (Cycloalkane) แอลคีนหรือโอลิฟิน (Olefins) และแอลเคน (Alkane) ตามลำดับ (Anderson et al, 1974; Zemo & Graf, 1993; สมควร ไขแก้ว, 2545) สำหรับ Khan et al (2007) รายงานความเป็นพิษของน้ำมันไบโอดีเซลผสมดีเซลพบว่า อัตราส่วนของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลมีผลต่อความเป็นพิษ โดยโรน้ำที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล และน้ำมันผสมที่มีอัตราส่วนของไบโอดีเซลมากกว่าสาเหตุการตายของโรน้ำเกิด

จากส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล ส่วนน้ำมันผสมที่มีอัตราส่วนดีเซลมากกว่าสาเหตุการตายของไรน้ำเกิดจากความเป็นพิษของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบ และผลการทดสอบความเป็นพิษส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อไรน้ำวัยอ่อนภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันจากมากไปน้อยดังนี้ น้ำมันไบโอดีเซล 5% ต่อดีเซล 95% (B5) ดีเซล (D100) ไบโอดีเซล 50% ต่อดีเซล 50% (B50) ไบโอดีเซล 80% ต่อดีเซล 20% (B20) และไบโอดีเซล (B100) (ตารางที่ 2.10)

นอกจากนี้ขนาดและช่วงวัยของสิ่งมีชีวิตในน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้สัตว์น้ำได้รับผลกระทบจากสารพิษแตกต่างกัน ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าความเป็นพิษของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลเพิ่มขึ้นเมื่อระยะของลูกกุ้งเพิ่มขึ้น (ลูกกุ้งระยะที่ I-III) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Tatem et al (1978) พบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันเบอร์ 2 ต่อลูกกุ้งสองชนิดได้แก่ *Penaeus aztecuz* และ *Penaeus setiferus* พบลูกกุ้งในระยะแรกซึ่งมีขนาดเล็กกว่ามีความทนทานต่อส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันได้มากกว่าลูกกุ้งที่พัฒนาเป็นระยะโตเพิ่มขึ้น โดยกุ้ง *P. aztecuz* ขนาด 9-11, 25-33 และ 55-70 มิลลิเมตร มีค่า LC50-96 ชั่วโมง เท่ากับ 6.6, 3.7 และ 2.9 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนกุ้ง *P. setiferus* ขนาด 9-11 และ 40-54 มิลลิเมตร มีค่า LC50-96 ชั่วโมง เท่ากับ 1.4 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้ลูกกุ้งขนาดใหญ่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิตมากกว่าลูกกุ้งที่มีขนาดเล็ก ดังนั้นเมื่อส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันเคลือบตามตัวหรือบริเวณเหงือกทำให้การหายใจเป็นไปอย่างยากลำบากและไม่สามารถนำออกซิเจนเข้าไปหล่อเลี้ยงร่างกายได้อย่างเพียงพอ

สำหรับอุณหภูมิเป็นปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อกระบวนการตอบสนองทางชีวภาพ เช่น อัตราการหายใจ อัตราการกิน อัตราการเผาผลาญของร่างกาย และอัตราการเติบโต การศึกษาครั้งนี้ในทุกๆ อุณหภูมิของทุกชุดการทดลองพบว่าเมื่อกุ้งมีขนาดเพิ่มขึ้นการตายเพิ่มขึ้นจากระยะ I-III และผลการวิเคราะห์สถิติพบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการฟักของไข่ การรอดชีวิตหลังจากฟัก การตายของลูกกุ้งระยะที่ I ที่สัมพันธ์กับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล และการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ที่สัมพันธ์กับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากุ้งที่ระยะเพิ่มขึ้นมีการตายสูงอาจมีความเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิที่เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลให้กุ้งที่ตัวโตกว่ามีความต้องการออกซิเจนเพิ่มขึ้น และมีอัตราการเผาผลาญของร่างกายเพิ่ม โดยการตายของลูกกุ้งระยะที่โตเพิ่มขึ้นอาจเป็นผลมาจากความไม่เพียงพอของออกซิเจนที่ไปเลี้ยงร่างกาย เพราะน้ำมันที่ละลายในน้ำนอกจากจะปิดกั้นการละลายของออกซิเจนลงในน้ำแล้ว อุณหภูมิสูงจะไปลดการละลายของออกซิเจนลงในน้ำ (Cairns et al, 1975) นอกจากนี้ อุณหภูมิมีผลต่อการระเหยและคงตัวในน้ำของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลหรือน้ำมันปิโตรเลียมอื่นๆ (Lindén et al, 1979; Rice et al, 1976) โดยผลการศึกษาการฟักของไข่กุ้งและการรอดชีวิตของลูกกุ้งหลังจากฟักออกจากไข่ และผลการศึกษาของลูกกุ้งระยะที่ I ที่พบว่าอุณหภูมิ

เพิ่มขึ้นเป็น 31 และ 34 องศาเซลเซียส พบการรอดชีวิตของลูกกุ้งเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.4) เนื่องจากอุณหภูมิสูงมีการระเหยของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลทำให้ความเป็นพิษในน้ำลดลง ส่วนอุณหภูมิต่ำพบการคงตัวของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำได้นานกว่าที่อุณหภูมิสูงทำให้สัตว์น้ำได้รับสารพิษเพิ่มขึ้น โดยการระเหยของน้ำมันที่อุณหภูมิสูงพบในชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซล ส่วนการคงตัวของน้ำมันที่อุณหภูมิต่ำพบได้ทั้งในชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล แต่มีผลชัดเจนในส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลเพราะมีคุณสมบัติที่สามารถคงตัวในน้ำได้นานของพันธะคู่ของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลสามารถจับกับโมเลกุลของออกซิเจนในน้ำและคงตัวได้นานกว่า (Fang & McCormick, 2006; Knothe et al, 2005; Yassine et al, 2012b) สำหรับผลการศึกษาของ Tatem et al (1978) พบว่าผลของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันเบอร์ 2 และน้ำมันดิบ S. Louisiana ต่อลูกกุ้ง *P. pugio* มีความเป็นพิษเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ที่อุณหภูมิ 21, 24, 28 และ 32 องศาเซลเซียส มีค่า LC50-96 ชั่วโมงของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันเบอร์ 2 เท่ากับ 3.5, 1.9, 1.2 และ 1.6 ไมโครกรัมต่อลิตร และน้ำมันดิบ S. Louisiana เท่ากับ <19.8, 15.9, - และ 10.7 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับผลการศึกษาในครั้งนี้อย่างพบว่าการตายของลูกกุ้งระยะที่ I-III ในส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันทั้งสองชนิดพบอุณหภูมิมีผลต่อการตายของลูกกุ้งมากกว่าความเค็ม แต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมัน อุณหภูมิและความเค็ม มีผลต่อลูกกุ้งมีขนาดโตขึ้นหรือลูกกุ้งระยะที่ III มากกว่าลูกกุ้งระยะที่ II และระยะที่ I

ส่วนความเค็มเป็นอีกหนึ่งปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำแต่การศึกษานี้พบความเค็มมีผลเพียงเล็กน้อยต่อการตายของลูกกุ้งในระยะที่ I-III โดยจากการวิเคราะห์สถิติพบว่า ความเค็มมีผลก่อให้เกิดการตายของลูกกุ้งระยะที่ II ที่สัมพันธ์กับส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลเพียงการทดลองเดียว ($p < 0.05$) แม้ว่าผลของความเค็มต่อการตายของลูกกุ้งในการศึกษานี้ไม่ชัดเจนนัก แต่รายงานการศึกษาของ Tatem et al (1978) พบว่าความเป็นพิษของน้ำมันเบอร์ 2 ต่อลูกกุ้ง *P. pugio* พบความเป็นพิษที่ความเค็ม 15 ต่ำกว่า 5 psu โดยมีค่า LC50-96 ชั่วโมง เท่ากับ 3.5 และ 1.9 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วน Laughlin and Neff (1979) รายงานผลของน้ำมันส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันเบอร์ 2 ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 20 และ 30 psu ต่อไข่ปลา *Fundulus heteroclitus* พบว่าอุณหภูมิมีผลมากกว่าความเค็ม แต่ที่อุณหภูมิและความเค็มสุดต่าง เช่น อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเค็ม 20 psu พบการตายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Stephenson and Knight (1980) พบว่าการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งก้ามกรามระยะโพสลาวาร์ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ที่ความเค็มต่างกัน 0, 7, 14 และ 28 psu

พบว่าลูกกุ้งที่ความเค็มต่ำมีการบริโภคมอกออกซิเจนสูงกว่าที่ความเค็มเพิ่มขึ้นและน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นพบ การบริโภคมอกออกซิเจนเพิ่มขึ้นเช่นกัน

ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลต่อลูกกุ้งระยะโพสลาร์พบว่าส่วนที่ ละลายน้ำของน้ำมันทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษค่อนข้างต่ำโดยก่อให้เกิดการตายประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ลูกกุ้งระยะโพสลาร์ซึ่งมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัยและสามารถว่ายน้ำไปมาได้ เมื่อสัมผัส กับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลซึ่งมีลักษณะเป็นอิมัลชัน และมีคราบน้ำมันขนาดเล็กอยู่ ด้านบนผิวน้ำ และการเคลือบเกาะตามลำตัวและเหงือกของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซล ส่งผลเพียงเล็กน้อยต่อลูกกุ้งที่สามารถว่ายน้ำมาที่ผิวน้ำเพื่อสัมผัสอากาศโดยตรง สำหรับผลของส่วนที่ ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกับน้ำและความเป็นพิษเกิดจากไฮโดรคาร์บอนที่ องค์ประกอบ โดยลูกกุ้งระยะโพสลาร์เมื่อสัมผัสกับส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลอาจรับเข้าไป ในร่างกาย แต่เนื่องจากลูกกุ้งระยะนี้มีการพัฒนาจนเหมือนตัวเต็มวัยดังนั้นสารเคมีแปลกปลอมที่เข้าสู่ ร่างกายของลูกกุ้งอาจสามารถกำจัดออกจากร่างกายผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมและขับถ่ายออกมา ดังแสดงในรูปที่ 2.4 (Chaisuksant et al, 1999) นอกจากนี้พบว่าผลของอุณหภูมิที่ 28 และ 31 องศาเซลเซียส ทำให้ลูกกุ้งตายน้อยกว่าอุณหภูมิอื่นๆ เช่นเดียวกับลูกกุ้งวัยอ่อนทั้ง 3 ระยะก่อนหน้านั้น ที่พบว่ามีการตายต่ำที่อุณหภูมิทั้งสองนี้สอดคล้องกับรายงานผลการศึกษาของ Chen and Kou (1996) และ Manush et al (2006) กล่าวว่ากุ้งก้ามกรามเติบโตได้ดีที่สุดในช่วง 28-31 องศา เซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิน้ำตามธรรมชาติของประเทศไทยประมาณ 28 ± 2 องศาเซลเซียส แต่อย่างไร ก็ตามการเติบโตหรือรอดชีวิตของลูกกุ้งยังขึ้นกับอุณหภูมิของแหล่งที่อยู่อาศัยของพ่อแม่พันธุ์แม่พันธุ์ กุ้งอีกด้วยนอกจากนี้ Bhattacharyya et al (2003) กล่าวว่า การหกรั่วไหลของน้ำมันไปทั่วผิวน้ำ อาจจะไปปิดกั้นการแลกเปลี่ยนออกซิเจนระหว่างอากาศและมวลน้ำได้ และน้ำมันเกาะเหงือกของ สิ่งมีชีวิตซึ่งจะมีผลต่อการขาดออกซิเจนและการหายใจ นอกจากนี้อุณหภูมิยังเพิ่มการละลายน้ำของ น้ำมันและเพิ่มกระบวนการเผาผลาญ (เมตาบอลิซึม) ของสิ่งมีชีวิต (Micheal & Brown, 1978) ทั้งนี้ การปิดกั้นการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนจากอากาศลงสู่น้ำของน้ำมันย่อมมีผลต่อการตายของลูกกุ้ง เช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามความเป็นพิษของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไม่ได้ขึ้นกับชนิดของน้ำมันเท่านั้น แต่ยังขึ้นกับชนิดและวัยหรือระยะของสัตว์ ทั้งนี้พบว่าระยะแพลงก์ตอนของครัสเตเชียเน้นมักจะมีความ อ่อนไหวและอ่อนแอกว่าตัวเต็มวัย (Katz 1973, Neff et al, 1976; Laughlin et al, 1978; Laughlin and Neff, 1979) ส่วน Lavarias et al (2004) รายงานว่าโพสลาร์ของ กุ้ง *Macrobrachium Borelli* มีความอ่อนไหวต่อส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดิบมากกว่าตัวเต็มวัย เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่าลูกกุ้งวัยอ่อนระยะที่ I-III มีการตายมากกว่าลูกกุ้งระยะโพสลาร์ ที่ร่างกายมีการพัฒนาจนมีลักษณะและพฤติกรรมเหมือนตัวเต็มวัย นอกจากนี้การศึกษาที่ผ่านมา ยังพบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันมีผลต่อการลอกคราบของสิ่งมีชีวิตพวกครัสเตเชียเน้นที่มีระยะวัย

อ่อนหลายระยะดังเช่น ลูกปู ที่อาศัยอยู่ในแหล่งปนเปื้อนของน้ำมัน พบว่าเมื่อถึงเวลาลอกคราบการเจริญเติบโตลดลงเพราะมีความอ่อนไหวต่อการมลพิษดังกล่าว (Laughlin et al, 1978) สรุปได้ว่าการปนเปื้อนของน้ำมันในแหล่งน้ำซึ่งเป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำ สามารถลดอัตราการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตในน้ำ และลดความสามารถในการพัฒนาระยะของวัยอ่อนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยเพื่อสืบพันธุ์ต่อไป และมีผลในระยะยาวซึ่งอาจทำให้สัตว์น้ำเหล่านี้สูญพันธุ์ได้ในที่สุด

5.4 ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล ที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ต่อการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งระยะโพสลาฟาร์

การศึกษาพบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกในชุดควบคุมที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ภายใน 96 ชั่วโมง เกิดการเปลี่ยนแปลงมากกว่าชุดการทดลองที่ได้รับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมัน โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหลักกับชุดควบคุม ได้แก่ การจัดเรียงเซลล์ในเนื้อเยื่อเหงือกผิดปกติ (gill lamella disorganization) เซลล์เม็ดเลือดแดงบวม มีการสะสมของโปรตีนภายในเซลล์และขอบเซลล์ไม่เรียบ (swelling of hemocyte) มีการสร้างถุงแควิวโกลในเนื้อเยื่อเหงือก (vacuolar degeneration) เกิดการรวมตัวของเม็ดเลือดแดง (hemocytic infiltration) นิวเคลียสในฮีโมไซต์บวมพอง (hypertrophy of hemocyte) และมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดแดง (hyperplasia of hemocyte) ซึ่งเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยกับเนื้อเยื่อเหงือกที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาของ Saber (2011) ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อปลาใน *Cyprinus carpio* พบว่าที่อุณหภูมิสูง 31 องศาเซลเซียส เหงือกปลาเกิดการคั่งของเลือด (hemorrhage หรือ hemocytic infiltration) ส่วนที่อุณหภูมิต่ำ 18 องศาเซลเซียส เหงือกปลาเกิดการจัดเรียงตัวที่ผิดปกติ (lamellar disorganization) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะไปมีผลต่อความผิดปกติของเหงือกจนไม่สามารถแลกเปลี่ยนแก๊สได้ตามปกติ สำหรับเหงือกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส ภายใน 96 ชั่วโมง พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหมือนกันได้แก่ การจัดเรียงเซลล์ในเนื้อเยื่อเหงือกผิดปกติ (gill lamella disorganization) เกิดการตายของเม็ดเลือดแดง (pyknotic nuclei of hemocyte) สร้างถุงแควิวโกลในเนื้อเยื่อเหงือก (vacuolar degeneration) มีการรวมตัวของเม็ดเลือดแดง (hemocytic infiltration) และนิวเคลียสในฮีโมไซต์บวมพองเพียงเล็กน้อย (hypertrophy of hemocyte) ดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.15-4.16 การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกกุ้งมีอาการเช่นเดียวกับที่พบในรายงานการศึกษาของ สมควร ไช้แก้ว (2545) ที่พบว่ากุ้งกุลาดำที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลนาน 6 สัปดาห์ พบการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดในเนื้อเยื่อเหงือก (hemocytic infiltration) และพบว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลมีความเป็นพิษรุนแรงน้อยกว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันเตาซึ่งส่งผลให้กิ่งเหงือก (secondary lamella) มีอาการบวมน้ำ

(telangiectasis) นิวเคลียสขวมพอง (hypertrophic nuclei) และเนื้อเยื่อบางส่วนมีการเสื่อมสลาย (degeneration) และพบความเป็นพิษรุนแรงที่สุดในชุดการทดลองส่วนที่ละลายน้ำของสารขจัดคราบไขมันซึ่งพบเริ่มมีการหลุดลอกของเยื่อหุ้ม เพราะเหงือกเป็นอวัยวะส่วนแรกที่สัมผัสโดยตรงกับน้ำและมลพิษที่ปนเปื้อนในน้ำ และมีความไวต่อการตอบสนองกับสารพิษและเกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านพยาธิสภาพมากที่สุด เนื่องจากเนื้อเยื่อเหงือกมีเซลล์บุผิวบางปกคลุมและสัมผัสกับน้ำตลอดเวลาทำให้เหงือกได้สัมผัสกับสารพิษตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา (Lawson et al, 1994; Sousa & Petriella, 2005) โดย Ekanem et al (2011) รายงานความเป็นพิษของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดิบไนจีเรียต่อกุ้งน้ำจืด *M. macrobranchion* และ *M. vollenhovenii* พบว่าการตายของกุ้งที่ 96 ชั่วโมง มีความสัมพันธ์กับการขาดความสามารถในการแลกเปลี่ยนแก๊ส เป็นผลให้หายใจไม่ออกและตายในที่สุด ส่วน Baden (1982) พบว่ากุ้ง *Palaemon adspersus* ที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดิบเป็นเวลา 14 วัน มีอัตราการบริโภคออกซิเจนเพิ่มขึ้นแม้ความเข้มข้นของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันอยู่ในระดับต่ำ

ส่วนความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลต่อการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกปลาซึ่งมีชื่อเรียกการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกที่จำเพาะแตกต่างกันไป ดังเช่นการศึกษาของ Simonato et al (2008) รายงานความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลต่อปลานีโอทอโรปิคอล (*Prochilodus lineatus*) ภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือก ได้แก่ การเพิ่มจำนวนของเซลล์เนื้อเยื่อเหงือก (hyperplasia of gill epithelium) การหดตัวของแองเจเลือด (sinus constriction) การขยายตัวของเนื้อเยื่อเหงือก (epithelial hypertrophy of gill epithelium) การคั่งของเม็ดเลือด (blood congestion) การขยายตัวของเหงือก (dilation of the marginal channel) การหดตัวของเนื้อเยื่อเหงือก (epithelial lifting of lamella) การหดตัวของเหงือก (lamellar fusion) การเรียงตัวผิดปกติของเซลล์ในเนื้อเยื่อเหงือก (lamella disorganization) ทั้งนี้การยกตัวขึ้น (epithelial lifting) ของเซลล์เนื้อเยื่อเหงือกเป็นผลมาจากการปรับตัวของสิ่งมีชีวิตขณะที่การคั่งของเลือด (aneurysm) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงของฟิลลาร์เซลล์เพื่อปกป้องเนื้อเยื่อเหงือกจากสารเคมีแปลกปลอม ซึ่งส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลต่อปลา *P. lineatus* ทำให้เกิดความผิดปกติทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกและรบกวนการทำงานตามปกติของเนื้อเยื่อเหงือกแต่ไม่มีผลต่อสมดุลแร่ธาตุของปลา (osmotic homeostasis) ทั้งนี้การบวม การยกขึ้นของเนื้อเยื่อเหงือก และการแบ่งเซลล์ที่มากเกินไปผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือกอาจเป็นผลมาจากการปรับตัวของสิ่งมีชีวิตต่อสภาวะความเครียดที่เกิดขึ้น (Mallatt, 1985)

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษา

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0, 10, 15 และ 20 psu ต่อไข่และวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0 psu พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการฟักของไข่กุ้งโดยที่อุณหภูมิสูง 34 องศาเซลเซียส ไข่กุ้งฟักออกมาเร็วที่สุดภายใน 15 วัน ส่วนที่อุณหภูมิต่ำสุด 25 องศาเซลเซียส ไข่กุ้งฟักช้าที่สุดในระยะเวลา 19 วัน โดยส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไม่มีผลต่อระยะเวลาในการฟัก แต่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การฟักและอัตราการรอดหลังจากฟักเป็นตัว นอกจากนี้พบว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นเป็นผลให้การฟักของไข่กุ้งลดลงโดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส และส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ มีการฟักต่ำสุดที่ 64.66 ± 14.95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอัตราการรอดหลังจากฟักเป็นตัวพบว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นมีผลให้ลูกกุ้งมีอัตราการลดลงโดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส และส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการลดลงเป็น 33.36 ± 0.73 เปอร์เซ็นต์ สำหรับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการรอดชีวิตของลูกกุ้งหลังฟักเป็นตัว แต่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ลูกกุ้งมีการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส มีการรอดชีวิตของลูกกุ้งเพิ่มขึ้นเป็น 37.39 ± 0.58 เปอร์เซ็นต์ โดยอุณหภูมิสูงทำให้เกิดการระเหยของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลมีผลให้การรอดชีวิตของลูกเพิ่มขึ้น

2. ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ต่อลูกกุ้งระยะต่างๆกันพบลูกกุ้งในแต่ละระยะมีอัตราการตายที่แตกต่างกัน โดยลูกกุ้งระยะที่ I มีอัตราการตายต่ำสุด และอัตราการตายของลูกกุ้งเพิ่มขึ้นเมื่อระยะของลูกกุ้งเพิ่มขึ้น โดยลูกกุ้งระยะที่ III มีอัตราการตายสูงสุด ทั้งนี้เพราะว่าเมื่อลูกกุ้งมีขนาดใหญ่ขึ้นความต้องการออกซิเจนเพิ่มขึ้นและมีอัตราเมตาบอลิซึมเพิ่มสูงขึ้น มีการใช้พลังงานมากขึ้น ดังนั้นเมื่อถูกรบกวนด้วยมลพิษจากน้ำมันทำให้กระบวนการต่างๆในร่างกายถูกขัดขวาง

นอกจากนี้การแลกเปลี่ยนของออกซิเจนจากอากาศลงมาในน้ำลดลงเพราะน้ำมันส่วนที่ละลายน้ำได้ไปเคลือบผิวหน้าด้านบนหรือผสมรวมลงไปในมวลน้ำ ทำให้ลูกกุ้งหายใจลำบาก โดยเมื่ออุณหภูมิน้ำสูงขึ้นนอกจากจะเป็นการเร่งอัตราเมตาบอลิซึมของลูกกุ้งและทำให้การละลายของออกซิเจนลงในน้ำลดลง

3. ผลของส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 0 psu มีผลน้อยมากต่อลูกกุ้งระยะโพสลาวาร์ โดยพบลูกกุ้งมีการตายต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลมีการตายมากกว่าลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันดีเซลเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้ส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลที่เกาะตามเหงือกกุ้งอาจไปขัดขวางการหายใจของลูกกุ้ง

4. เนื้อเยื่อเหงือกกุ้งระยะโพสลาวาร์ที่ได้สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซล มีการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพ ได้แก่ gill lamella disorganization, pyknotic nuclei of hemocytes, swelling of hemocyte, vacuolar degeneration, hemocytic infiltration, hypertrophy of hemocyte, hyperplasia of hemocyte นอกจากนี้ลูกกุ้งที่สัมผัสกับส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันมีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพน้อยกว่าลูกกุ้งที่สัมผัสกับอุณหภูมิต่างๆกัน (ชุดควบคุม) ทั้งนี้เพราะว่าส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันอาจไปเคลือบเหงือกไว้และปกป้องเหงือกจากอิทธิพลของอุณหภูมิ แต่อย่างไรก็ตามน้ำมันที่เคลือบผิวเหงือกไว้ทำให้การหายใจลำบากและเกิดการตายในที่สุด

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาการฟักเป็นตัวของไข่กุ้งก้ามกรามแบบซีวิวิทยาที่น่าจะควรแยกไข่กุ้งออกเป็นฟองเดี่ยวๆเพื่อให้ไข่กุ้งได้รับออกซิเจนอย่างทั่วถึงและป้องกันการเน่าของไข่กุ้ง
2. ควรศึกษาเพิ่มเติมความเป็นพิษเรื้อรังกับกุ้งตัวเต็มวัยเพื่อดูผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบสืบพันธุ์
3. เพื่อความชัดเจนของการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกควรศึกษาเพิ่มเติมกับกุ้งระยะโพสลาวาร์และเป็นระดับความเป็นพิษแบบเรื้อรัง
4. ควรนำการศึกษาที่ได้ในครั้งนี้มาระบุไว้ในข้อควรระวังของกระบวนการผลิต การขนส่ง และการใช้น้ำมันไบโอดีเซล

รายการอ้างอิง



- Anderson J, Neff J, Cox B, Tatum H, Hightower G (1974) Characteristics of dispersions and water soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish. *Marine Biology* **25**: 75-88
- ATSDR. (1995) Toxicological Profile for Fuel Oils; In Services, Department of Health and Human Services. Government Printing Office: Atlanta, GA.
- Baden SP (1982) Oxygen consumption rate of shrimp exposed to crude oil extract. *Marine Pollution Bulletin* **13**: 230-233
- Bechmann RK, Larsen BK, Taban IC, Hellgren LI, Møller P, Sanni S (2010) Chronic exposure of adults and embryos of *Pandalus borealis* to oil causes PAH accumulation, initiation of biomarker responses and an increase in larval mortality. *Marine Pollution Bulletin* **60**: 2087-2098
- Bhattacharyya S, Klerks PL, Nyman JA (2003) Toxicity to freshwater organisms from oil and oil spill chemical treatments in laboratory microcosm. *Environmental pollution* **122**: 205-215
- Birchall C, Newman JR, Greaves MP. (1995) Degradation and phytotoxicity of biodiesel oil. Long Ashton Research Station, Bristol, UK, p. 50.
- Cairns JRJ, Heath AG, Parker BC (1975) Temperature influence on chemical toxicity to aquatic organisms. *Water Pollution Control Federation* **47**: 267-279
- Capuzzo JM, Moore MN, Widdows J (1988) Effects of toxic chemicals in the marine environment: predictions of impacts from laboratory studies. *Aquatic Toxicology* **11**: 303-311
- Chaisuksant Y, Yu Q, Connell DW (1999) The internal critical level concept of nonspecific toxicity. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **162**: 1-41
- Chen JC, Kou TT (1996) Effects of temperature on oxygen consumption and nitrogenous excretion of juvenile *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* **145**: 295-303
- Clarke A, Brown JH, Holmes LJ (1990) The biochemical composition of eggs from *Macrobrachium rosenbergii* in relation to embryonic development. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* **96**: 505-511

- Demello JA, Carmichael CA, Peacock EE, Neson RK, Arey JS, Reddy CM (2007) Biodegradation and environmental behavior of biodiesel mixtures in the sea: An initial study. *Marine pollution bulletin* **54**: 894-904
- Di Giulio RT, Hinton DE (2008) *The toxicology of fishes*, New York, USA: Taylor and Francis.
- Dunlap LE, Beckmann DD (1988) Soluble hydrocarbons analysis from kerosene/diesel and organic chemicals in ground water: prevention, detection and restoration. In *In Proceedings of the Conference on Petroleum Hydrocarbons*. Dublin Ohio: National water well association
- Ekanem AP, Asuquo FE, Ndick EJ (2011) Toxicity of crude oil to fresh water shrimp, *Macrobrachium macrobrachion* and *Macrobrachium vollehovenii*, from Nigerian coastal water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **86**: 394-397
- Fang H, McCormick R (2006) Spectroscopic Study of Biodiesel Degradation Pathways. *SAE International*: 5
- Fisher WS, Foss SS (1993) A simple test for toxicity of Number 2 fuel oil and oil dispersants to embryos of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Marine Pollution Bulletin* **26**: 385-391
- Geffard O, Geffard A, His E, Budzinski H (2003) Assessment of the bioavailability and toxicity of sediment-associated polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals applied to *Crassostrea gigas* embryos and larvae. *Marine Pollution Bulletin* **46**: 481-490
- Gilbert CE, Calabrese EJ (1990) A critical evaluation of indicator compound methodologies for no. 2 fuel oil. In *In Petroleum contaminated soils*, Kostecki PT, Calabrese EJ (eds), Vol. 3, pp 253-282. Lewis Publishers Inc
- Glas PS, Courtney LA, Rayburn JR, Fisher WS (1997) Embryonic Coat of the Grass Shrimp *Palaemonetes pugio*. *Biological Bulletin* **192**: 231-242
- Habashy MM, Hassan MMS (2011) Effects of temperature and salinity on growth and reproduction of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea Decapoda) in Egypt. *International journal of environmental science and engineering (IJESE)* **1** 83-90

- Heintz RA, Short JW, Rice SD (1999) Sensitivity of fish embryos to weathered crude oil: Part II. Increased mortality of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) embryos incubating downstream from weathered Exxon valdez crude oil. *Environmental Toxicology and Chemistry* **18**: 494-503
- Hollebone BP, Fieldhouse B, Landriault M, Doe K, Jackman P (2008) Aquoues solubility, dispersibility and toxicity of biodiesels. In *International Oil Spill Conference Proceedings*, Vol. 2008, pp 929-936.
- ITOPF. (2013) Fate of oil spilled at sea showing the main weathering processes.
- Jahanbakhshi A, Hedayall A (2013) Gill histopathological changes in great sturgeon after exposure to crude and water soluble fraction of diesel oil. *Comparative Clinical Pathology* **22**: 1083-1086
- Johnson S. (1967) Some factors influencing the distribution of freshwater prawns in Malaya. *Proc. Symp. Crustacea Mar. Biol. Assoc, India*, Vol. 1, pp. 418-433.
- Khan N, Warith MA, Luk G (2007) A comparison of acute toxicity of biodiesel, biodiesel blends, and diesel on aquatic organisms. *Air and Waste Management* **57**: 286-296
- Kinne O (1963) The effects of temperature and salinity on marine and brackish water animals: Temperature. *Oceanography and Marine Biology*: 301-440
- Kinne O (1964) The effects of temperature and salinity on marine and brackish water animals: Salinity and temperature-salinity combinations. *Oceanography and Marine Biology, An Annual Review*: 281-339
- Kinne O (1971) Salinity : Invertebrate. In *Marine Ecology 1 2 p* (ed), pp 821-955. London: Wiley-Interscience
- Knothe G, Van Gerpen JH, Krahl J (2005) *The biodiesel handbook*, Vol. Champaign II: AOCS Press.
- Lapinskiene` A, Martinkus P, Re`bždaite` V (2006) Eco-toxicological studies of diesel and biodiesel fuels in aerated soil. *Environmental Pollution* **142**: 432-437
- Laughlin RBJ, Neff JM (1979) Interactive effects of salinity and temperature and polycyclic aromatic hydrocarbons on the survival and development rate of larvae of the mud crab *Rhithropanopeus harrisii*. *Marine biology* **53**: 281-291

- Laughlin RBJ, Young LGL, Neff JM (1978) A long-term study of the effect of water-soluble fractions of No.2 fuel oil on the survival, development rate, and growth of the mud crab *Rhithropanopeus harrisi*. *Marine Biology* **47**: 87-95
- Lavarias S, Heras H, Pollero RJ (2004) Toxicity, uptake, and release of the water-soluble fraction of crude oil in different developing stages of the prawn *Macrobrachium borellii*. *Archives of environmental contamination and toxicology* **47**: 215-222
- Law A, Wong Y, Chung D, Abol-Munafi A (1999) Effects of water soluble fraction of a Malaysian crude oil and some selected aromatic hydrocarbons on *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) egg hatchability in brackish water. In *ASEAN Marine Environmental Management: Towards Sustainable Development and Integrated Management of the Marine Environment in ASEAN*, pp 71-76. Malaysia
- Law AT, Shazili NAM (1995) *Toxicity of a Malaysian crude oil to Macrobrachium rosenbergii (de Man) larvae in brackish water*, Singapore: EVS Environment Consultants, Vancouver and national Science and Technology Broad.
- Lawson SL, Jones MB, Moate RM (1994) Structural variability and distribution of cells in a posterior gill of *Carcinus maenas* (Decapoda, Brachyura). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **74**: 771-785
- Lee LS, Hagwall M, Delfino JJ, Rao PSC (1992) Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Diesel Fuel into Water. *Environmental Science and technology* **26**: 2104-2110
- Lee WY, Winters K, Nicol JAC (1978) Biological effects of the water-soluble fractions of a NO.2 fuel oil on the planktonic shrimp, *Lucifer faxoni*. *Environmental Pollution* **15**: 167-183
- Leite MBNL, De Araújo MMS, Nascimento IA, Da Cruz ACS, Pereira SA, Do Nascimento NC (2011) Toxicity of water-soluble fractions of biodiesel fuels derived from castor oil, palm oil, and waste cooking oil. *Environmental Toxicology Chemistry* **30**: 893-897

- Lindén O, Laughlin Jr R, Sharp JR, Neff JM (1980) The combined effect of salinity, temperature and oil on the growth pattern of embryos of the killifish, *Fundulus heteroclitus* Walbaum. *Marine Environmental Research* **3**: 129-144
- Lindén O, Sharp JR, Laughlin R, Neff JM (1979) Interactive effects of salinity, temperature and chronic exposure to oil on the survival and developmental rate of embryos of the estuarine Killifish *Fundulus heteroclitus*. *Marine Biology* **51**: 101-109
- Mallatt J (1985) Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **42**: 630-648
- Manush SM, Pal AK, Das T, Mukherjee SC (2006) The influence of temperatures ranging from 25 to 36°C on developmental rates, morphometrics and survival of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) embryos. *Aquaculture* **256**: 529-536
- Micheal AD, Brown B (1978) Effects of laboratory procedure on fuel oil toxicity. *Environment Pollution* **15**: 277- 287
- Middaugh DP, Shelton ME, McKenney JCL, Cherr G, Chapman PJ, Courtney LA (1998) Preliminary Observations on Responses of Embryonic and Larval Pacific Herring, *Clupea pallasii*, to Neutral Fraction Biodegradation Products of Weathered Alaska North Slope Oil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **34**: 188-196
- Neff JM, Anderson JW (1981) Accumulation and release of petroleum hydrocarbons. In *Response of marine animals to petroleum and specific petroleum hydrocarbons*, 93-141. London: Applied Science Publishers
- Nelson SG, Armstrong DA, Knight AW, Li HW (1977) The effects of temperature and salinity on the metabolic rate of juvenile *Macrobrachium rosenbergii* (CRUSTACEA: PALAEMONIDAE). *Comparative Biochemistry and Physiology* **56A**: 533-537
- New MB, Singholka S (1985) Freshwater prawn farming: a manual for the culture of *Macrobrachium rosenbergii*. *FAO Fisheries Technical Paper No 225 Rev 1 Rome*

- Ogasawara YF (1984) *Ecology of prawns and shrimp*. In: (Ed.), *Prawns of Japan and the world*. : Oxford&IBH Publishing Co. Pvt. Ltd.,
- Percy JA, Mullin TC (1977) Effects of crude oil on the locomotory activity of Arctic marine invertebrates. *Marine Pollution Bulletin* **8**: 35-40
- Peterson CL, Möller G. (2004) Biodegradability, BOD, COD and toxicity of biodiesel fuels *Biodiesel fuel education*, University of Idaho. Department of biological and agricultural engineering and department of food science and toxicology.
- Pillai MC, Vines CA, Wikramanayake AH, Cherr GN (2003) Polycyclic aromatic hydrocarbons disrupt axial development in sea urchin embryos through a β -catenin dependent pathway. *Toxicology* **186**: 93-108
- Rayburn JR, Fisher WS (1997) Developmental Toxicity of Three Carrier Solvents Using Embryos of the Grass Shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **33**: 217-221
- Rice SD, Short JW, Karinen JF (1976) Toxicity of Cook Inlet crude oil and No. 2 fuel oil to several Alaskan marine fishes and invertebrates. In *Source, effect and sinks of hydrocarbons in the aquatic environment*, pp 395-406. Washington, DC, USA: American institute of biological sciences
- Rice SD, Short JW, Karinen JF (1977) A review of comparative oil toxicity and comparative animal sensitivity. In *Fate and effects of petroleum Hydrocarbons in marine organisms and ecosystems*, Wolfe DA (ed), pp 78-94. New York, USA: Pergamon Press
- Robles-Medina A, Gonzales-Moreno P, Esteban-Cerdan L, Molina-Grima E (2009) Biocatalysis: Towards ever greener biodiesel production. *Biotechnology Advances* **27** 398-408
- Rodrigues RV, Miranda-Filho KC, Gusmao EP, Moreira CB, Romano LA, Sampaio LA (2010) Deleterious effect of water-soluble fraction of petroleum, diesel and gasoline on marine pejerrey *Odontesthes argentinensis* larvae *Science of the total environment* **408**: 2054-2059
- Sebastian CD (1996) A manual on seed production and farming of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. In India Go (ed.). The Marine Products Export Development Authority, Ministry of Commerce, p. 58.

- Shaw DG (1976) Hydrocarbon in water column. In *Fate and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems and Organisms*, p 478. Olympic Hotel, Seattle, Washington
- Simonato JD, Guedes CL, Martinez CB (2008) Biochemical, physiological and histological changes in the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to diesel oil. *Ecotoxicol Environ Safety* **69**: 112-120
- Sousa LG, Petriella AM (2005) Gill Morphology and ultraculture of the prawn, *Palaemonetes argentine nobli*, 1901 (Decapoda, Caridea). *Crustacea* **78**: 409-420
- Stephenson MJ, Knight AW (1980) The effect of temperature and salinity on oxygen consumption of postlarvae of *Macrobrachium rosenbergii* (De man) (Crustacea: Palaemonidae). *Comparative biochemistry and physiology* **67A**: 699-703
- Strømngren T, Nielsen MV (1991) Spawning frequency, growth and mortality of *Mytilus edulis* Larvae, exposed to copper and diesel oil *Aquatic Toxicology* **21**: 171-180
- Tatem JW, Cox BA, Anderson JW (1978) The toxicity of oils and petroleum hydrocarbons to estuarine crustaceans. *Estuarine and Coastal Marine Science* **6**: 365-373
- Uno Y, Soo KC (1969) Larval development of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) reared in the laboratory. *Journal of the Tokyo University of Fisheries* **55**: 179-190
- Wedel RV. (1999) Technical handbook for marine biodiesel in recreational boats. *Marine biodiesel and education project for San Francisco Bay and Northern California*. CytoCulture International, Inc., Point Richmond, CA, pp. Cytoculture international-environment biotechnology.
- Whitehouse BG (1984) The effect of temperature and salinity on the aqueous solubility of polynuclear aromatic hydrocarbons. *Marine chemistry* **14**: 319-332
- Yassine MH, Wu s, Suidan MT, Venosa AD (2012a) Microtoxic aquatic toxicity of petrodiesel and biodiesel blends: The role of biodiesel's autotoxidation products. *Environmental Toxicology and Chemistry* **31** 2757-2762

- Yassine MH, Wu S, Suidan MT, Venosa AD (2012b) Partitioning behavior of petrodiesel/biodiesel blends in water. *Environ Sci Technol* **46**: 7487–7494
- Zemo DA, Graf TE. (1993) The importance and benefit of fingerprint characterization in site investigation and remediation focusing on petroleum hydrocarbons. Vol. 2013.
- Zhang X, Peterson CL, Reese D, Haws R, Möller G (1995) Biodegradability of Biodiesel in the Aquatic Environment. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers* **41**: 1423-1430
- กรมเจ้าท่า. 2556. สถิติน้ำมันรั่วไหล (Oil spill).
http://www.md.go.th/safety_environment/04_4.php. Accessed 20 กันยายน 2556.
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2556. น้ำมันรั่วไหลในทะเล
<http://marinegiscenter.dmcr.go.th/km/oilspill01/#.U6vqOUA7tLN> Accessed 20 กันยายน 2556.
- กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติ. 2556. น้ำมันรั่วไหล (Oil Spill).
<http://www.mkh.in.th/index.php/2010-03-22-18-05-34/2011-08-24-04-53-01>
Accessed 15 วันที่ 15 มีนาคม 2556.
- กระทรวงพลังงาน. 2558. ปริมาณการจำหน่ายน้ำมันไบโอดีเซล ปี100 เพื่อผลิตเป็นน้ำมันดีเซลหมุนเร็ว <http://www.doeb.go.th/info/data/datadistribution/biodieselB100.pdf>
Accessed 17 เมษายน 2558.
- ธุรกิจพลังงานกรม. 2550. รายละเอียดแนบท้ายประกาศกรมธุรกิจพลังงาน เรื่องกำหนดลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน พ.ศ. 2550 ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 124 ตอนพิเศษ 62 ง, ธุรกิจพลังงานกรม.
- เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต. 2556a. ปัญหามลพิษจากการรั่วไหลของน้ำมัน.
http://www.royin.go.th/upload/246/FileUpload/2643_3360.pdf Accessed 20 สิงหาคม 2556.
- เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต. 2556b. ปัญหามลพิษจากการรั่วไหลของน้ำมัน.
http://www.royin.go.th/upload/246/FileUpload/2643_3360.pdf Accessed 20 สิงหาคม 2556.

- สมควร ไช้แก้ว. 2545. ผลกระทบของน้ำมันและสารเคมีกำจัดคราบน้ำมันต่อกุ้งกุลาดำ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
- สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง. 2554. การเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามตามมาตรฐาน GAP. http://www.fisheries.go.th/train-gr/km_freshwater/index.htm 12 มีนาคม 2554.
- สุวัจน์ ชุณหะวัณ. 2549. ผลของความเป็นพิษของน้ำมันดีเซล น้ำมันเตา และน้ำมันหล่อลื่น ส่วนที่ละลายน้ำต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาบางประการของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* (Fabricius), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 ลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน พ.ศ. 2550 และ
ลักษณะและคุณภาพของดีเซล พ.ศ. 2550

| คุณสมบัติเชื้อเพลิง | ไบโอดีเซล | ดีเซล | ดีเซลบี 5 |
|---|-----------|-----------|-----------|
| เมทิลเอสเทอร์ | 96.5% | - | 4-5 |
| ความหนาแน่น (15°C) กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร | 860-900 | - | - |
| ความถ่วงจำเพาะ(15.6°C) | - | 0.81-0.87 | 0.81-0.87 |
| ความหนืด ณ (40°C) เซนติสโตกส์ | 3.5-5.0 | 1.8-4.1 | 1.8-4.1 |
| จุดวาบไฟ (°C) | >120 | >52 | >52 |
| จุดไหลเท (°C) | - | <10 | <10 |
| กำมะถัน | <0.0010% | <0.005% | <0.005% |
| กากถ่าน | <0.30% | <0.05 | <0.05 |
| ค่าซีเทน | >51 | >47 | >47 |
| เถ้าซิลิเกต | <0.02% | <0.01 | <0.01 |
| น้ำ | <0.050% | <0.05 | <0.05 |
| สิ่งปนเปื้อนทั้งหมด | <0.0024 | | |
| การกัดกร่อนแผ่นทองแดง | หมายเลข1 | หมายเลข1 | หมายเลข1 |
| เสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยา ซีวโมง ออกซิเดชัน (110°C) | >6 | - | 25 |
| การกลั่น (°C) | - | <357 | <357 |
| ค่าความเป็นกรด | <0.50 | - | - |
| ค่าไอโอดีน | <120 | - | - |

ที่มา: กระทรวงพลังงาน, 2550

หมายเหตุ 1/ วิธีทดสอบอาจใช้วิธีอื่นที่เทียบเท่าก็ได้

2/ ใช้สารประกอบ 1,4 dialkylamino anthraquinone

ตารางที่ 1 ลักษณะและคุณภาพของไบโอดีเซลประเภทเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน พ.ศ. 2550 และ
ลักษณะและคุณภาพของดีเซล พ.ศ. 2550 (ต่อ)

| คุณสมบัติเชื้อเพลิง | ไบโอดีเซล | ดีเซล | ดีเซลปี 5 |
|---|---|-------|-----------|
| กรดลิโนเลนิกเมทิลเอสเทอร์ | <12.0% | - | - |
| เมทานอล | <0.20% | - | - |
| โมนอกลิเซอไรด์ | <0.80% | - | - |
| ไดกลีเซอไรด์ | <0.20% | - | - |
| ไตรกลีเซอไรด์ | <0.20% | - | - |
| กลีเซอรินอิสระ | <0.02% | - | - |
| โลหะกลุ่ม 1 (โซเดียมและโปแตสเซียม) | 5.0 | - | - |
| และโลหะกลุ่ม 2 (แคลเซียมและแมกนีเซียม) | 5.0 | - | - |
| มิลลิกรัม/กิโลกรัม | | | |
| ฟอสฟอรัส | <0.0010% | - | - |
| สี | - | - | เขียว |
| ความขุ่น | - | 0-4 | - |
| การหล่อลื่น | - | <460 | <460 |
| สารเติมแต่ง (ถ้ามี) | ให้เป็นไปตามที่ได้รับความเห็นชอบจากอธิบดีกรมธุรกิจพลังงาน | | |

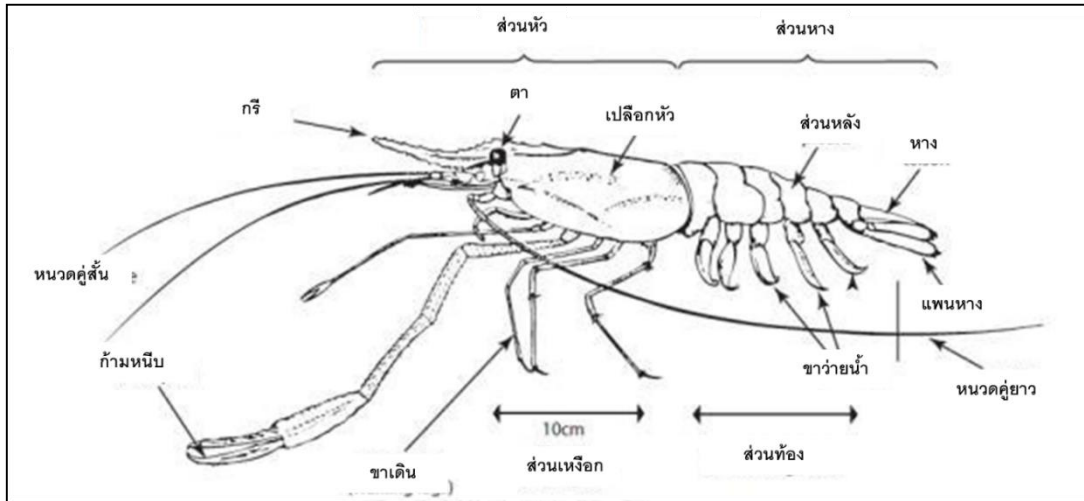
ที่มา: กระทรวงพลังงาน, 2550

หมายเหตุ 1/ วิธีทดสอบอาจใช้วิธีอื่นที่เทียบเท่าก็ได้

2/ ใช้สารประกอบ 1,4 dialkylamino anthraquinone

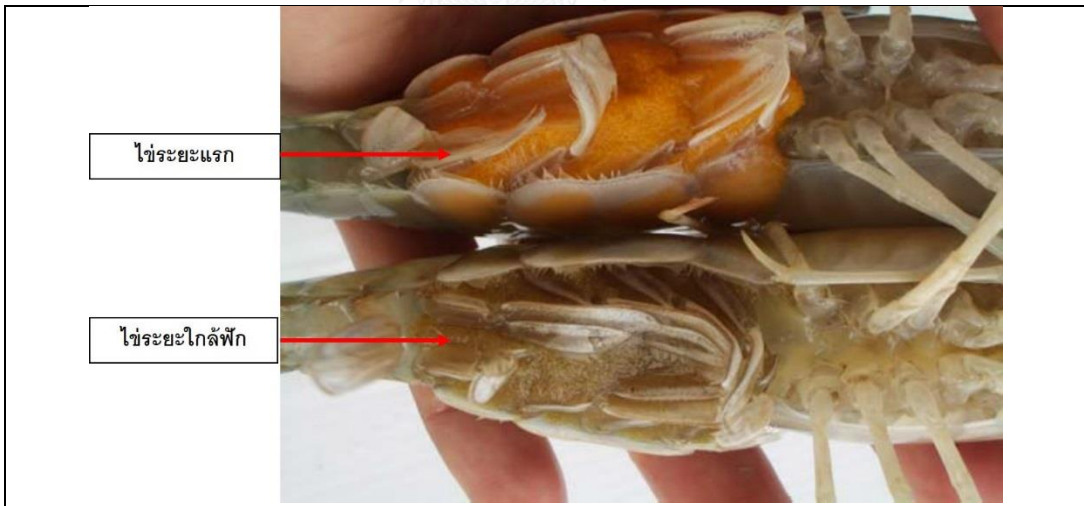
ภาคผนวก ข

ชีววิทยาของกุ้งก้ามกราม



รูปที่ 1 กุ้งก้ามกราม

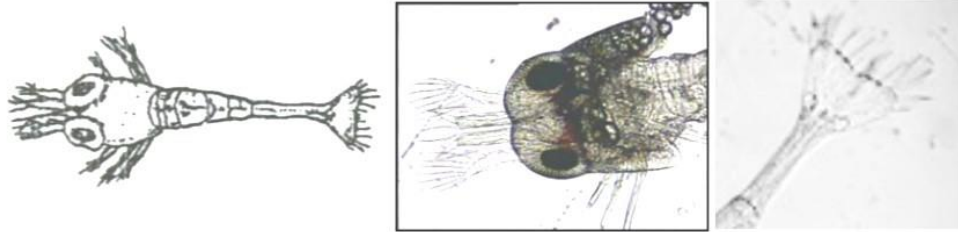
ที่มา: New and Singholka (1985)



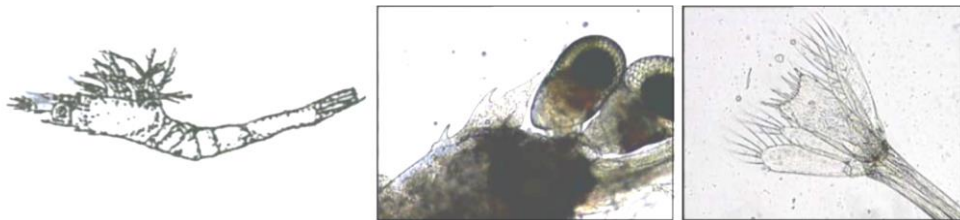
รูปที่ 2 ระยะของไข่กุ้งก้ามกราม

ที่มา: สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง (2554)

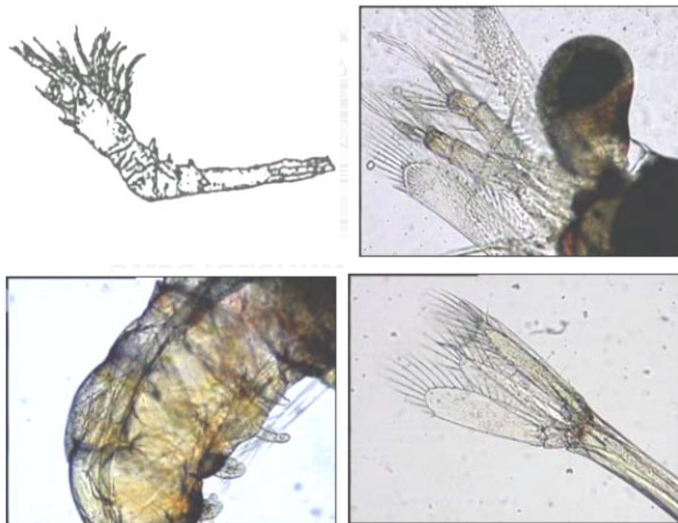
การแบ่งระยะวัยอ่อนของกุ้งก้ามกรามโดยการศึกษาในครั้งนี้แบ่งเป็น 4 ระยะหลัก ตามพัฒนาการของตัวอ่อนโดยอ้างอิงจาก Uno and Soo (1969) และสำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง (2554)



ลูกกุ้งระยะที่ 1 อายุ 1-5 วัน



ลูกกุ้งระยะที่ 2 อายุ 7-12 วัน



ลูกกุ้งระยะที่ 3 อายุ 13-17 วัน



ลูกกุ้งระยะที่ 4 (ระยะโพสลาวาร์) อายุประมาณ 20 วัน ลูกกุ้งมีวัยระต่าง ๆ ครอบเห็มนตัวเต็มวัย

รูปที่ 3 ระยะวัยอ่อนของกุ้งก้ามกราม

ภาคผนวก ค

ตารางที่ 1 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลต่อเวลาในการฟักของไข่กุ้งก้ามกราม (วัน)

The SAS System

2015 5

17:00 Friday, June 4,

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Concentration | 3 | 0 50 100 |

Number of observations 48

The SAS System

17:00 Friday, June 4, 2015 6

The GLM Procedure

Dependent Variable: day

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 11 | 120.0000000 | 10.9090909 | Infty | <.0001 |
| Error | 36 | 0.0000000 | 0.0000000 | | |
| Corrected Total | 47 | 120.0000000 | | | |

R-Square Coeff Var Root MSE day Mean
1.000000 0 0 17.00000

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 120.0000000 | 40.0000000 | Infty | <.0001 |
| Concentration | 2 | 0.0000000 | 0.0000000 | . | . |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 0.0000000 | 0.0000000 | . | . |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 120.0000000 | 40.0000000 | Infty | <.0001 |
| Concentration | 2 | 0.0000000 | 0.0000000 | . | . |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 0.0000000 | 0.0000000 | . | . |

ตารางที่ 2 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลต่อเวลาในการฟอกของไขกึ่งกำมะถาม (วัน)

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Concentration | 3 | 0 50 100 |

Number of observations 48

The SAS System 17:00 Friday, June 4, 2015 8

The GLM Procedure

Dependent Variable: day

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 11 | 136.9166667 | 12.4469697 | 149.36 | <.0001 |
| Error | 36 | 3.0000000 | 0.0833333 | | |
| Corrected Total | 47 | 139.9166667 | | | |
| R-Square | | | | | |
| Coeff Var | | | | | |
| Root MSE | | | | | |
| day Mean | | | | | |
| | | | | | |

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 133.5833333 | 44.5277778 | 534.33 | <.0001 |
| Concentration | 2 | 1.1666667 | 0.5833333 | 7.00 | 0.0027 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 2.1666667 | 0.3611111 | 4.33 | 0.0022 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 133.5833333 | 44.5277778 | 534.33 | <.0001 |
| Concentration | 2 | 1.1666667 | 0.5833333 | 7.00 | 0.0027 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 2.1666667 | 0.3611111 | 4.33 | 0.0022 |

ตารางที่ 3 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้งก้ามกราม

The SAS System

00:34 Thursday, June 3, 2015 19

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|----------------------|
| Temperature | 5 | 25 28 31 34 100 |
| Concentration | 5 | 0 50 60 100 100.0031 |

Number of observations 46

The SAS System

00:34 Thursday, June 3, 2015 20

The GLM Procedure

Dependent Variable: Hatchability

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|-----------|----------------|-------------------|---------|--------|
| Model | 13 | 3516.377081 | 270.490545 | 7.73 | <.0001 |
| Error | 32 | 1120.224442 | 35.007014 | | |
| Corrected Total | 45 | 4636.601523 | | | |
| R-Square | Coeff Var | Root MSE | Hatchability Mean | | |
| 0.758395 | 6.258745 | 5.916673 | 94.53448 | | |

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 4 | 262.253188 | 65.563297 | 1.87 | 0.1394 |
| Concentration | 3 | 2305.909817 | 768.636606 | 21.96 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 948.214077 | 158.035679 | 4.51 | 0.0020 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 295.492090 | 98.497363 | 2.81 | 0.0549 |
| Concentration | 3 | 1997.511715 | 665.837238 | 19.02 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 948.214077 | 158.035679 | 4.51 | 0.0020 |

ตารางที่ 4 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การฟักของไขกุ้งก้ามกราม

The SAS System

00:34 Thursday, June 3, 2015 21

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Concentration | 3 | 0 50 100 |

Number of observations 48

The SAS System

00:34 Thursday, June 3,

2015 22

The GLM Procedure

Dependent Variable: Hatchability

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|-----------|----------------|-------------------|---------|--------|
| Model | 11 | 674.882142 | 61.352922 | 5.04 | 0.0001 |
| Error | 36 | 438.269650 | 12.174157 | | |
| Corrected Total | 47 | 1113.151792 | | | |
| R-Square | Coeff Var | Root MSE | Hatchability Mean | | |
| 0.606280 | 3.592169 | 3.489148 | 97.13208 | | |

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 274.3419417 | 91.4473139 | 7.51 | 0.0005 |
| Concentration | 2 | 229.8402167 | 114.9201083 | 9.44 | 0.0005 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 170.6999833 | 28.4499972 | 2.34 | 0.0523 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 274.3419417 | 91.4473139 | 7.51 | 0.0005 |
| Concentration | 2 | 229.8402167 | 114.9201083 | 9.44 | 0.0005 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 170.6999833 | 28.4499972 | 2.34 | 0.0523 |

ตารางที่ 5 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวของ
ไขกุ้งก้ามกราม

The SAS System

00:34 Thursday, June 3, 2015 23

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values | Temperature | 4 | 25 | 28 | 31 | 34 |
|---------------|--------|--------|-------------|-----|----|----|----|----|
| Concentration | 3 | 0 | 50 | 100 | | | | |

Number of observations 48

The SAS System

00:34 Thursday, June 3, 2015 24

The GLM Procedure

Dependent Variable: Survival

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------|---------------|--------|
| Model | 11 | 8097.310950 | 736.119177 | 18.20 | <.0001 |
| Error | 36 | 1456.364850 | 40.454579 | | |
| Corrected Total | 47 | 9553.675800 | | | |
| R-Square | | Coeff Var | Root MSE | Survival Mean | |
| 0.847560 | | 7.113338 | 6.360391 | 89.41500 | |

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 5368.820850 | 1789.606950 | 44.24 | <.0001 |
| Concentration | 2 | 1263.054162 | 631.527081 | 15.61 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 1465.435937 | 244.239323 | 6.04 | 0.0002 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 5368.820850 | 1789.606950 | 44.24 | <.0001 |
| Concentration | 2 | 1263.054162 | 631.527081 | 15.61 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 1465.435937 | 244.239323 | 6.04 | 0.0002 |

ตารางที่ 6 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดหลังพักเป็นตัวของไขกุ้ง
ก้ามกราม

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 25

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Concentration | 3 | 0 50 100 |

Number of observations 48

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 26

The GLM Procedure

Dependent Variable: Survival

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 11 | 89680.27240 | 8152.75204 | 325.22 | <.0001 |
| Error | 36 | 902.45820 | 25.06828 | | |
| Corrected Total | 47 | 90582.73060 | | | |

| R-Square | Coeff Var | Root MSE | Survival Mean |
|----------|-----------|----------|---------------|
| 0.990037 | 13.83100 | 5.006824 | 36.20000 |

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 816.58223 | 272.19408 | 10.86 | <.0001 |
| Concentration | 2 | 84582.04020 | 42291.02010 | 1687.03 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 4281.64997 | 713.60833 | 28.47 | <.0001 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 816.58223 | 272.19408 | 10.86 | <.0001 |
| Concentration | 2 | 84582.04020 | 42291.02010 | 1687.03 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 4281.64997 | 713.60833 | 28.47 | <.0001 |

ตารางที่ 7 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งก้ามกราม
ระยะที่ 1

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 1

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Salinity | 3 | 10 15 20 |
| Concentration | 3 | 0 50 100 |

Number of observations 216

NOTE: Due to missing values, only 214 observations can be used in this analysis.

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: Mortality

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|--------|-----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 35 | 1.77694704 | 0.05076992 | 0.87 | 0.6845 |
| Error | 178 | 10.43333333 | 0.05861423 | | |

Corrected Total 213 12.21028037

R-Square 0.145529
Coeff Var 398.5400
Root MSE 0.242104
Mortality Mean 0.060748

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.23508820 | 0.07836273 | 1.34 | 0.2639 |
| Concentration | 2 | 0.06752525 | 0.03376262 | 0.58 | 0.5632 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 0.20178457 | 0.03363076 | 0.57 | 0.7509 |
| Salinity | 2 | 0.00775967 | 0.00387983 | 0.07 | 0.9360 |
| Temperature*Salinity | 6 | 0.48459283 | 0.08076547 | 1.38 | 0.2258 |
| Salinity*Concentrati | 4 | 0.54521093 | 0.13630273 | 2.33 | 0.0582 |
| Temper*Salini*Concen | 12 | 0.23498560 | 0.01958213 | 0.33 | 0.9820 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.23312983 | 0.07770994 | 1.33 | 0.2675 |
| Concentration | 2 | 0.07188962 | 0.03594481 | 0.61 | 0.5427 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 0.20995755 | 0.03499293 | 0.60 | 0.7325 |
| Salinity | 2 | 0.00589319 | 0.00294659 | 0.05 | 0.9510 |
| Temperature*Salinity | 6 | 0.49544518 | 0.08257420 | 1.41 | 0.2136 |
| Salinity*Concentrati | 4 | 0.54448875 | 0.13612219 | 2.32 | 0.0585 |
| Temper*Salini*Concen | 12 | 0.23498560 | 0.01958213 | 0.33 | 0.9820 |

ตารางที่ 8 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งก้ามกรามระยะที่ 1

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 3

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|------------------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Salinity | 3 | 10 15 20 |
| Concentration | 4 | 0 20 50 80 |
| Number of observations | | 288 |

NOTE: Due to missing values, only 282 observations can be used in this analysis.

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 4

The GLM Procedure

Dependent Variable: Mortality

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|--------|-----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 47 | 21.08156028 | 0.44854384 | 3.50 | <.0001 |
| Error | 234 | 30.00000000 | 0.12820513 | | |

Corrected Total 281 51.08156028

R-Square 0.412704
 Coeff Var 150.7048
 Root MSE 0.358057
 Mortality Mean 0.237589

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 4.41151295 | 1.47050432 | 11.47 | <.0001 |
| Concentration | 3 | 7.88923099 | 2.62974366 | 20.51 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 9 | 3.49560392 | 0.38840044 | 3.03 | 0.0019 |
| Salinity | 2 | 0.38912524 | 0.19456262 | 1.52 | 0.2214 |
| Temperature*Salinity | 6 | 1.14142565 | 0.19023761 | 1.48 | 0.1844 |
| Salinity*Concentrati | 6 | 0.29541588 | 0.04923598 | 0.38 | 0.8888 |
| Temper*Salini*Concen | 18 | 3.45924565 | 0.19218031 | 1.50 | 0.0910 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 4.78380691 | 1.59460230 | 12.44 | <.0001 |
| Concentration | 3 | 7.84963415 | 2.61654472 | 20.41 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 9 | 3.65204353 | 0.40578261 | 3.17 | 0.0013 |
| Salinity | 2 | 0.35801907 | 0.17900954 | 1.40 | 0.2496 |
| Temperature*Salinity | 6 | 1.21771554 | 0.20295259 | 1.58 | 0.1528 |
| Salinity*Concentrati | 6 | 0.28738780 | 0.04789797 | 0.37 | 0.8953 |
| Temper*Salini*Concen | 18 | 3.45924565 | 0.19218031 | 1.50 | 0.0910 |

ตารางที่ 9 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งก้ามกราม
ระยะที่ II

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 5

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Salinity | 3 | 10 15 20 |
| Concentration | 3 | 0 50 100 |

Number of observations 432

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 6

The GLM Procedure

Dependent Variable: Mortality

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|-----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 35 | 13.79629630 | 0.39417989 | 3.59 | <.0001 |
| Error | 396 | 43.50000000 | 0.10984848 | | |
| Corrected Total | 431 | 57.29629630 | | | |

R-Square 0.240789
Coeff Var 210.5581
Root MSE 0.331434
Mortality Mean 0.157407

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 1.83333333 | 0.61111111 | 5.56 | 0.0010 |
| Concentration | 2 | 3.11574074 | 1.55787037 | 14.18 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 3.06944444 | 0.51157407 | 4.66 | 0.0001 |
| Salinity | 2 | 1.89351852 | 0.94675926 | 8.62 | 0.0002 |
| Temperature*Salinity | 6 | 0.79166667 | 0.13194444 | 1.20 | 0.3047 |
| Salinity*Concentrati | 4 | 1.95370370 | 0.48842593 | 4.45 | 0.0016 |
| Temper*Salini*Concen | 12 | 1.13888889 | 0.09490741 | 0.86 | 0.5841 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 1.83333333 | 0.61111111 | 5.56 | 0.0010 |
| Concentration | 2 | 3.11574074 | 1.55787037 | 14.18 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 3.06944444 | 0.51157407 | 4.66 | 0.0001 |
| Salinity | 2 | 1.89351852 | 0.94675926 | 8.62 | 0.0002 |
| Temperature*Salinity | 6 | 0.79166667 | 0.13194444 | 1.20 | 0.3047 |
| Salinity*Concentrati | 4 | 1.95370370 | 0.48842593 | 4.45 | 0.0016 |
| Temper*Salini*Concen | 12 | 1.13888889 | 0.09490741 | 0.86 | 0.5841 |

ตารางที่ 10 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งก้ามกราม
ระยะที่ II

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 7

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Salinity | 3 | 10 15 20 |
| Concentration | 4 | 0 20 50 80 |

Number of observations 576

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 8

The GLM Procedure

Dependent Variable: Mortality

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|-----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 47 | 29.3732639 | 0.6249631 | 3.40 | <.0001 |
| Error | 528 | 96.9166667 | 0.1835543 | | |
| Corrected Total | | 575 | 126.2899306 | | |

R-Square Coeff Var Root MSE Mortality Mean
0.232586 131.9663 0.428432 0.324653

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.58854167 | 0.19618056 | 1.07 | 0.3618 |
| Concentration | 3 | 20.65798611 | 6.88599537 | 37.51 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 9 | 0.79340278 | 0.08815586 | 0.48 | 0.8881 |
| Salinity | 2 | 0.31597222 | 0.15798611 | 0.86 | 0.4235 |
| Temperature*Salinity | 6 | 2.40625000 | 0.40104167 | 2.18 | 0.0431 |
| Salinity*Concentrati | 6 | 1.58680556 | 0.26446759 | 1.44 | 0.1969 |
| Temper*Salini*Concen | 18 | 3.02430556 | 0.16801698 | 0.92 | 0.5599 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.58854167 | 0.19618056 | 1.07 | 0.3618 |
| Concentration | 3 | 20.65798611 | 6.88599537 | 37.51 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 9 | 0.79340278 | 0.08815586 | 0.48 | 0.8881 |
| Salinity | 2 | 0.31597222 | 0.15798611 | 0.86 | 0.4235 |
| Temperature*Salinity | 6 | 2.40625000 | 0.40104167 | 2.18 | 0.0431 |
| Salinity*Concentrati | 6 | 1.58680556 | 0.26446759 | 1.44 | 0.1969 |
| Temper*Salini*Concen | 18 | 3.02430556 | 0.16801698 | 0.92 | 0.5599 |

ตารางที่ 11 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันโปไอติเซลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งก้ามกราม
ระยะที่ III

The SAS System

00:34 Thursday, June 3, 2015 9

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Salinity | 3 | 10 15 20 |
| Concentration | 3 | 0 50 100 |

Number of observations 216

NOTE: Due to missing values, only 215 observations can be used in this analysis.

The SAS System

00:34 Thursday, June 3, 2015 10

The GLM Procedure

Dependent Variable: Mortality

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|-----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 35 | 13.03720930 | 0.37249169 | 1.86 | 0.0047 |
| Error | 179 | 35.80000000 | 0.20000000 | | |
| Corrected Total | 214 | 48.83720930 | | | |

R-Square 0.266952 Coeff Var 128.2012 Root MSE 0.447214 Mortality Mean 0.348837

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.26523166 | 0.08841055 | 0.44 | 0.7232 |
| Concentration | 2 | 3.60524483 | 1.80262242 | 9.01 | 0.0002 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 1.40790927 | 0.23465155 | 1.17 | 0.3226 |
| Salinity | 2 | 1.33378228 | 0.66689114 | 3.33 | 0.0379 |
| Temperature*Salinity | 6 | 1.52020376 | 0.25336729 | 1.27 | 0.2749 |
| Salinity*Concentrati | 4 | 1.54366851 | 0.38591713 | 1.93 | 0.1074 |
| Temper*Salini*Concen | 12 | 3.36116898 | 0.28009742 | 1.40 | 0.1692 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.26800243 | 0.08933414 | 0.45 | 0.7200 |
| Concentration | 2 | 3.58469170 | 1.79234585 | 8.96 | 0.0002 |
| Temperatu*Concentrat | 6 | 1.40198626 | 0.23366438 | 1.17 | 0.3253 |
| Salinity | 2 | 1.32828144 | 0.66414072 | 3.32 | 0.0384 |
| Temperature*Salinity | 6 | 1.51309737 | 0.25218290 | 1.26 | 0.2777 |
| Salinity*Concentrati | 4 | 1.53846618 | 0.38461655 | 1.92 | 0.1085 |
| Temper*Salini*Concen | 12 | 3.36116898 | 0.28009742 | 1.40 | 0.1692 |

ตารางที่ 12 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งก้ามกราม
ระยะที่ III

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 11

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Salinity | 3 | 10 15 20 |
| Concentration | 4 | 0 20 50 80 |

Number of observations 288

NOTE: Due to missing values, only 287 observations can be used in this analysis.

The SAS System 00:34 Thursday, June 3, 2015 12

The GLM Procedure

Dependent Variable: Mortality

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|-----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 47 | 22.09082462 | 0.47001755 | 2.32 | <.0001 |
| Error | 239 | 48.46666667 | 0.20278940 | | |
| Corrected Total | 286 | 70.55749129 | | | |

R-Square 0.313090 Coeff Var 103.3938 Root MSE 0.450321 Mortality Mean 0.435540

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.83879019 | 0.27959673 | 1.38 | 0.2499 |
| Concentration | 3 | 12.56982802 | 4.18994267 | 20.66 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 9 | 2.81227177 | 0.31247464 | 1.54 | 0.1343 |
| Salinity | 2 | 0.48306478 | 0.24153239 | 1.19 | 0.3057 |
| Temperature*Salinity | 6 | 1.64478231 | 0.27413039 | 1.35 | 0.2350 |
| Salinity*Concentrati | 6 | 0.44245630 | 0.07374272 | 0.36 | 0.9014 |
| Temper*Salini*Concen | 18 | 3.29963124 | 0.18331285 | 0.90 | 0.5743 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.80596708 | 0.26865569 | 1.32 | 0.2669 |
| Concentration | 3 | 12.57048468 | 4.19016156 | 20.66 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 9 | 2.81155734 | 0.31239526 | 1.54 | 0.1344 |
| Salinity | 2 | 0.47965737 | 0.23982868 | 1.18 | 0.3083 |
| Temperature*Salinity | 6 | 1.63703421 | 0.27283904 | 1.35 | 0.2377 |
| Salinity*Concentrati | 6 | 0.44473521 | 0.07412253 | 0.37 | 0.9003 |
| Temper*Salini*Concen | 18 | 3.29963124 | 0.18331285 | 0.90 | 0.5743 |

ตารางที่ 13 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งก้ามกราม
ระยะโพสลาวาร์

The SAS System

00:34 Thursday, June 3, 2015 13

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Concentration | 2 | 0 50 |

Number of observations 288

NOTE: Due to missing values, only 281 observations can be used in this analysis.

The SAS System

00:34 Thursday, June 3,

2015 14

The GLM Procedure

Dependent Variable: Mortality

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|-----------------|-----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 7 | 5.16901126 | 0.73843018 | 5.24 | <.0001 |
| Error | 273 | 38.45376454 | 0.14085628 | | |
| Corrected Total | 280 | 43.62277580 | | | |

| R-Square | Coeff Var | Root MSE | Mortality Mean |
|----------|-----------|----------|----------------|
| 0.118493 | 195.2993 | 0.375308 | 0.192171 |

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.33490763 | 0.11163588 | 0.79 | 0.4989 |
| Concentration | 1 | 4.76181496 | 4.76181496 | 33.81 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 3 | 0.07228868 | 0.02409623 | 0.17 | 0.9159 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.33867828 | 0.11289276 | 0.80 | 0.4940 |
| Concentration | 1 | 4.77923836 | 4.77923836 | 33.93 | <.0001 |
| Temperatu*Concentrat | 3 | 0.07228868 | 0.02409623 | 0.17 | 0.9159 |

ตารางที่ 14 ผลของส่วนที่ละลายในน้ำของน้ำมันดีเซลต่อเปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งก้ามกรามระยะ
โพสลาจารย์

The SAS System

00:34 Thursday, June 3, 2015 17

The GLM Procedure

Class Level Information

| Class | Levels | Values |
|---------------|--------|-------------|
| Temperature | 4 | 25 28 31 34 |
| Concentration | 2 | 0 100 |

Number of observations 288

NOTE: Due to missing values, only 285 observations can be used in this analysis.

The SAS System

00:34 Thursday, June 3, 2015 18

The GLM Procedure

Dependent Variable: Mortality

| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
|--------|-----|----------------|-------------|---------|--------|
| Model | 7 | 0.83045358 | 0.11863623 | 1.19 | 0.3075 |
| Error | 277 | 27.57656396 | 0.09955438 | | |

Corrected Total 284 28.40701754

| R-Square | Coeff Var | Root MSE | Mortality Mean |
|----------|-----------|----------|----------------|
| 0.029234 | 281.0121 | 0.315522 | 0.112281 |

| Source | DF | Type I SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.07834551 | 0.02611517 | 0.26 | 0.8525 |
| Concentration | 1 | 0.67380683 | 0.67380683 | 6.77 | 0.0098 |
| Temperatu*Concentrat | 3 | 0.07830125 | 0.02610042 | 0.26 | 0.8526 |

| Source | DF | Type III SS | Mean Square | F Value | Pr > F |
|----------------------|----|-------------|-------------|---------|--------|
| Temperature | 3 | 0.07501898 | 0.02500633 | 0.25 | 0.8605 |
| Concentration | 1 | 0.66997248 | 0.66997248 | 6.73 | 0.0100 |
| Temperatu*Concentrat | 3 | 0.07830125 | 0.02610042 | 0.26 | 0.8526 |

ภาคผนวก ง

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ I ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|-------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 50.00±0.29 | 100.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 83.33±0.17 | 83.33±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 50.00±0.22 | 66.67±0.21 | 66.67±0.21 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 66.67±0.21 | 83.33±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 50.00±0.22 | 66.67±0.21 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 83.33±0.17 | 83.33±0.17 | 83.33±0.17 |

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ I (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|-------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.667±0.17 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 20.00±0.20 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 50.00±0.22 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 66.67±0.21 | 66.67±0.21 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 | 50.00±0.22 |

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ I (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 50.00±0.22 | 50.00±0.22 | 50.00±0.22 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 50.00±0.22 | 66.67±0.21 |

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ I (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 20.00±0.20 | 20.00±0.20 | 20.00±0.20 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 40.00±0.24 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ II (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 16.67±0.11 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 16.67±0.11 | 41.67±0.15 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 33.33±0.14 | 33.33±0.14 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 33.33±0.14 | 50.00±0.15 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 25.00±0.13 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 25.00±0.13 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 25.00±0.13 | 25.00±0.13 | 33.33±0.14 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 16.67±0.11 | 16.67±0.11 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 16.67±0.11 | 16.67±0.11 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 25.00±0.13 | 50.00±0.15 | 50.00±0.15 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.14 | 41.67±0.15 | 41.67±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 50.00±0.15 | 50.00±0.15 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 50.00±0.15 | 58.33±0.14 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.14 | 41.67±0.15 | 50.00±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.14 | 58.33±0.15 | 66.67±0.15 |

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ II (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 16.67±0.11 | 33.33±0.14 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 16.67±0.11 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 25.00±0.13 | 25.00±0.13 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 8.33±0.08 | 8.33±0.08 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 16.67±0.11 | 33.33±0.14 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 33.33±0.14 | 33.33±0.14 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 25.00± | 41.67±0.15 | 58.33±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 33.33±0.14 | 58.33±0.15 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 25.00±0.13 | 33.33±0.14 | 41.67±0.15 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.14 | 41.67±0.15 | 41.67±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.14 | 58.33±0.15 | 58.33±0.15 |

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ II (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 16.67±0.11 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 8.33±0.08 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 8.33±0.08 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 16.67±0.11 | 25.00±0.13 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 25.00±0.13 | 33.33±0.14 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 16.67±0.11 | 50.00±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 25.00±0.13 | 41.67±0.15 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.14 | 33.33±0.14 | 50.00±0.15 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 41.67±0.15 | 41.67±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 25.00±0.13 | 41.67±0.15 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 21.43±0.13 | 25.00±0.13 | 25.00±0.13 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 25.00±0.13 | 41.67±0.15 | 50.00±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 36.36±0.14 | 45.45±0.15 | 72.73±0.15 |

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ II (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 16.67±0.11 | 25.00±0.13 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 8.33±0.08 | 8.33±0.08 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 8.33±0.08 | 8.33±0.08 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 25.00±0.13 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 50.00±0.15 | 58.33±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 66.67±0.14 | 66.67±0.14 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 16.67±0.11 | 33.33±0.14 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 41.67±0.15 | 41.67±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 33.33±0.14 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 41.67±0.15 | 66.67±0.14 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 9.09±0.08 | 27.27±0.13 | 50.00±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 8.33±0.08 | 25.00±0.13 | 25.00±0.13 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 25.00±0.13 | 41.67±0.15 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 25.00±0.13 | 41.67±0.15 | 50.00±0.15 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.11 | 66.67±0.14 | 75.00±0.13 |

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ III (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 50.00±0.22 | 66.67±0.21 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 50.00±0.22 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 50.00±0.22 | 33.33±0.22 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 66.67±0.24 | 66.67±0.21 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 20.00±0.17 | 60.00±0.22 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 83.33±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 83.33±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 66.67±0.21 |

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ III (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 50.00±0.22 | 83.33±0.17 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 83.33±0.17 | 83.33±0.17 | 83.33±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 | 50.00±0.22 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 66.67±0.21 | 83.33±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 60.00±0.22 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 50.00±0.22 | 50.00±0.22 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 50.00±0.22 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 50.00±0.22 | 50.00±0.22 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 66.67±0.21 | 66.67±0.21 |

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ III (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 31 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|-------------|-------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 20.00±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 20.00±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 20.00±0.17 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 83.33±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 66.67±0.21 | 66.67±0.21 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 66.67±0.21 | 66.67±0.21 |
| 20% ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 50.00±0.22 | 83.33±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 | 66.67±0.21 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 50.00±0.21 | 50.00±0.21 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 50.00±0.22 | 83.33±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 | 83.33±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะที่ III (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของน้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส และความเค็ม 10, 15 และ 20 psu ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| ชุดการทดลอง | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|-------------|-------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| ชุดควบคุม | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 20.00±0.20 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 | 33.33±0.21 |
| 50%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 50.00±0.22 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 50.00±0.22 | 50.00±0.22 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 50.00±0.22 | 50.00±0.22 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 20.00±0.17 | 40.00±0.21 | 40.00±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 83.33±0.17 | 83.33±0.21 |
| 20%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 | 66.67±0.21 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 33.33±0.21 | 50.00±0.22 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 50.00±0.22 | 66.67±0.21 | 66.67±0.21 |
| 50%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 | 16.67±0.17 |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 16.67±0.17 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 66.67±0.21 | 66.67±0.21 |
| 80%WSF ดีเซล | | | | |
| 10 psu | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 33.33±0.21 | 33.33± |
| 15 psu | 0.00±0.00 | 83.33±0.17 | 100.00±0.00 | 100.00±0.00 |
| 20 psu | 0.00±0.00 | 66.67±0.21 | 83.33±0.17 | 83.33±0.17 |

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์การตายของลูกกุ้งระยะโพสลาวาร์ (ค่าเฉลี่ย±SE) ในส่วนที่ละลายน้ำของ น้ำมันไบโอดีเซลและดีเซลที่อุณหภูมิ 25, 28, 31 และ 34 องศาเซลเซียส และเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

| อุณหภูมิ | เวลา (ชั่วโมง) | | | |
|-------------------|----------------|------------|------------|------------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| 25 องศาเซลเซียส | | | | |
| ชุดควบคุม | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 2.78±0.33 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | 0.00±0.00 | 1.39±0.16 | 9.72±1.15 | 16.67±1.96 |
| 100%WSF ดีเซล | 0.00±0.00 | 1.39±0.16 | 8.33±0.98 | 9.72±1.15 |
| 28 องศาเซลเซียส | | | | |
| ชุดควบคุม | 0.00±0.00 | 2.78±0.33 | 2.78±0.33 | 5.56±0.65 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | 0.00±0.00 | 1.39±0.16 | 9.17±1.08 | 13.61±1.60 |
| 100%WSF ดีเซล | 0.00±0.00 | 1.19±0.14 | 4.17±0.49 | 6.94±0.82 |
| 31 องศาเซลเซียส | | | | |
| ชุดควบคุม | 0.00±0.00 | 1.39±0.16 | 4.17±0.49 | 4.17±0.49 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | 0.00±0.00 | 10.28±1.21 | 15.83±1.87 | 15.83±1.87 |
| 100%WSF ดีเซล | 0.00±0.00 | 4.17±0.49 | 5.56±0.65 | 8.33±0.98 |
| 34 องศาเซลเซียส | | | | |
| ชุดควบคุม | 0.00±0.00 | 2.78±0.33 | 6.75±0.80 | 9.52±1.12 |
| 100%WSF ไบโอดีเซล | 0.00±0.00 | 1.19±0.14 | 15.14±1.78 | 19.58±2.31 |
| 100%WSF ดีเซล | 0.00±0.00 | 2.58±0.30 | 4.17±0.49 | 10.00±1.18 |

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวปญฺชรัสมิ์ ก่อเจริญวัฒน์ เกิดเมื่อวันที่ 18 เดือนกันยายน พ.ศ.2525 ที่จังหวัดสงขลา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เมื่อปี พ.ศ.2547 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาโทวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ.2551 และเข้าศึกษาต่อระดับปริญญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ.2552 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ.2558



