หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบัน มลภาวะที่เกิดที่เกิดจากน้ำมันในทะเล เป็นปัญหาที่ทวีความสำคัญขึ้นเป็นลำดับ อันเนื่องมาจาก การขนส่ง การสำรวจ และการขุดเจาะน้ำมันในทะเล มีโอกาสที่จะเกิดอุบัติเหตุได้ เช่นการอับปางของเรือขนส่งน้ำมันขนาดใหญ่ Amoco Cadiz, Andros Patria, การรั่วไหลจากฐานขุดเจาะ Ecofisk การรั่วไหลจากคลังน้ำมัน Sullom Voe และท่อส่งน้ำมันในฮองกง (Mar. poll. Bull 10:2 Feb,1979) ล้วนเป็นอุบัติเหตุที่ได้เกิดขึ้นแล้วในรอบปี ซึ่งได้นำความเสียหายอย่างมากมายสู่ระบบเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้กิจการอุตสาหกรรมหลายชนิดยังเป็นสาเหตุแห่งการสะสมของสารน้ำมันในแหล่งน้ำ เช่นกิจการกลั่นน้ำมัน กิจการประมง การขนส่ง

สำหรับในน่านน้ำไทย ได้เกิดอุบัติเหตุที่ทำให้เกิดการรั่วไหลของน้ำมันลงสู่อ่าวไทยหลายครั้ง เช่น เรือวิสาหกิจ ในปี 2517 (น้ำมังคละกุล, 2519) เรือ Seiyu Maru ในปี 2520, เรือ Jayawang, เรือDelta Sigma, และเรือ Palm Star Cherry ในปี 2521 (รุ่งอุทัย, 2521) และยังมีรายงานถึงการพบน้ำมันดินตามชายหาดทั่วอ่าวไทยและด้านมหาสมุทรอินเดีย (สาครินทร์ และศักดินิมิตร 2521) และการตรวจปริมาณพาราฟินในน้ำและดิน (ศวิตชาติ 2521) แสดงให้เห็นว่า จะเป็นปัญหาที่สำคัญในอนาคตได้ ทั้งนี้เพราะในอ่าวไทย มีกิจการที่ก่อให้เกิดปัญหามลภาวะของน้ำมันอยู่พร้อมบริบูรณ์ เช่น การกลั่นน้ำมัน การขนน้ำมัน การขุดเจาะ กิจการประมง กิจการขนส่ง ส่วนทางด้านมหาสมุทรอินเดียก็เป็นส่วนหนึ่งของช่องแคบมะละกา ซึ่งเป็นทางลำเลียงน้ำมันสำคัญของโลกสายหนึ่ง จากตะวันออกกลางไปญี่ปุ่น และขณะนี้ก็เป็นเขตที่ได้รับผลกระทบของสารปิโตรเลียมมากที่สุดแห่งหนึ่ง

นับตั้งแต่เกิดกรณีเรือบรรทุกน้ำมัน Terry canyon ในปี 1967 ขึ้น ปัญหามลภาวะของน้ำมันได้ถูกหยิบยกขึ้นมาศึกษาและพิจารณาหาทางป้องกันอย่างจริงจังในระดับชาติเพราะมีความแน่ใจแล้วว่า สามารถที่จะทำลายธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมได้ทั้งหมด แม้กระทั่งทะเลซึ่งเคยคิดว่าจะทิ้งอะไรลงไปก็ได้โดยไม่เกิดความเสียหาย

มีการศึกษาอย่างกว้างขวางถึงลักษณะการคงอยู่ การแพร่กระจาย ผลกระทบของน้ำมันชนิดต่าง ๆ ต่อสิ่งแวดล้อม และได้มีการให้ความสำคัญกับการศึกษาค้นคว้าหาวิธีการกำจัดคราบน้ำมันจากน้ำทะเล ซึ่งเป็นสิ่งที่ก่อความเสียหายอย่างมากในปัจจุบัน

การศึกษาในเรื่องผลกระทบจึงนับว่าเป็นเรื่องที่น่าจะให้ความสนใจและให้การสนับสนุนให้มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในอ่าวไทย ซึ่งเป็นเขตที่มีกิจการประมงทะเล และกิจการเพาะเลี้ยง เป็นรายได้หลักอันหนึ่งของประชากร

<u>วัตถุประสงค์</u>

1. เพื่อหาค่า พิษเฉียบพลันของ น้ำมันดิบ, น้ำมันดีเซล, และเบนซิน ต่อกุ้งแชบ๊วยขาว ในลักษณะของความเข้มข้นของสารต่าง ๆ ดังกล่าวในน้ำทะเลที่ฆ่ากุ้งได้ 50 เปอร์เซนต์ ในระยะเวลาที่กำหนด (Lethal Concentration in 24, 48 and 96 hours period or 24-hr LC_{50} 48-hr LC_{50} and 96-hr LC_{50})

2. เพื่อทราบผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงพิษเฉียบพลันของปริมาณน้ำมันดิบ, น้ำมันดีเซล, และเบนซิน ต่อกุ้งแชบ๊วยขาว

3. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบ พิษเฉียบพลันของ น้ำมันดิบ, น้ำมันดีเซล และเบนซิน ต่อกุ้ง 2 วัย คือวัยรุ่นและวัยอ่อน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การศึกษามลภาวะของน้ำมันในอ่าวไทย ยังอยู่ในระยะที่เริ่มดำเนินการ เอกสารรายงานอยู่ในลักษณะของการบันทึกเหตุการณ์และปริมาณความเข้มข้นของสารในน้ำ

การศึกษาพิษของน้ำมันในห้องทดลองเป็นงานค่อนข้างใหม่ สำหรับประเทศไทย ไม่มีวิธีการที่ถือเป็นมาตรฐาน ฉะนั้นในการศึกษาทดลอง ผู้ศึกษาทดลองจึงต้องคิดปรับปรุงวิธีการขึ้นมาให้เหมาะสมกับสภาวะที่เกิดขึ้นในเขตที่ศึกษาหรือเขตที่จะนำข้อมูลไปใช้ งานทดลองนี้ได้เสนอวิธีการที่มีรากฐานจากการทดลองที่ทำในต่างประเทศ ซึ่งทดลองที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิปกติของอ่าวไทย

การศึกษาในห้องทดลอง ทำให้ได้ข้อมูลที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่พอจะประมาณให้ทราบถึง ความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเมื่อเกิดการรั่วไหลของน้ำมันลงสู่ทะเลและแหล่งน้ำ

การศึกษานี้ทำให้ทราบถึงพิษของน้ำมันดิบ, น้ำมันดีเซล, และเบนซีนต่อกุ้ง ซึ่งอาจใช้เป็นดรรชนีบ่งถึงความเป็นพิษที่จะเกิดกับสัตว์ทะเล ในกรณีที่เกิดอุบัติเหตุน้ำมันรั่วไหลสู่ทะเล และลักษณะความเป็นพิษของน้ำมันชนิดต่าง ๆ ทั้งสาม ซึ่งเป็นตัวแทนของน้ำมันดิบ น้ำมันที่กลั่นแล้ว และ Aromatic Hydrocarbon ในน้ำมัน

การศึกษาเอกสาร

ลักษณะของสารทดลอง

น้ำมันดิบ (Crude oil or Petroleum) คือสารที่ประกอบด้วย Hydrogen และ Carbon เป็น Hydrocarbon มีมากกว่า 97% และมีส่วนประกอบอื่นคือ Sulphur compound, Oxygen compound และ Nitrogen compound ส่วนประกอบแต่ละชนิดจะไม่คงที่ ขึ้นอยู่กับแหล่งของน้ำมันดิบ

Hydrocarbon ในน้ำมัน มี 4 ชนิด ตามลักษณะของโมเลกุล (Blumer et. al. 1971; Butler and Berkes 1972; โรจนสุนทร 2518 ; ศวิตชาติ 2521)

Aliphatic Hydrocarbon เป็นสารประกอบHydrocarbon ที่อิ่มตัว อาจเป็น branch chain หรือ Straight chain คาร์บอนแต่ละอะตอมจะต่อกับไฮโดรเจน 4 อะตอม มีสูตรโครงสร้างเป็น C_nH_{2n+2} หรือเรียกว่าพวก Alkanes เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ชนิดหนึ่งของน้ำมันดิบ ถ้าน้ำมันดิบมี Hydrocarbon ชนิดนี้มาก จะเรียกว่า Paraffin base crude oils

Alicyclic Hydrocarbon เป็นสารประกอบ Hydrocarbon ที่อิ่มตัว แต่จับตัวกันแบบเป็นวง (Saturated cyclic compound or Cycloparaffins, C_nH_{2n}) น้ำมันดิบที่มี Hydrocarbon ชนิดนี้มาก เรียกว่า Naphthene base crude oils

Olefinic Hydrocarbon เป็น Hydrocarbon ที่ไม่อิ่มตัว มีสูตรโครงสร้างเป็น C_nH_{2n} อาจเป็น Straight chain หรือ Branch chain ก็ได้ มี Double หรือ Triple bond อยู่ ไม่มีในน้ำมันดิบ แต่จะพบได้ในน้ำมันที่กลั่นแล้ว อาจเรียกเป็น Aliphatic unsaturated

Hydrocarbon

Aromatic Hydrocarbon เป็น Unsaturated cyclic compound มี Benzene เป็นองค์ประกอบ มีสูตรโครงสร้างเป็น C_6H_{2n-6} เช่น Benzene, Toluene Xylene เป็น Hydrocarbon ที่มีอันตรายสูงสุด มีกลิ่นหอม

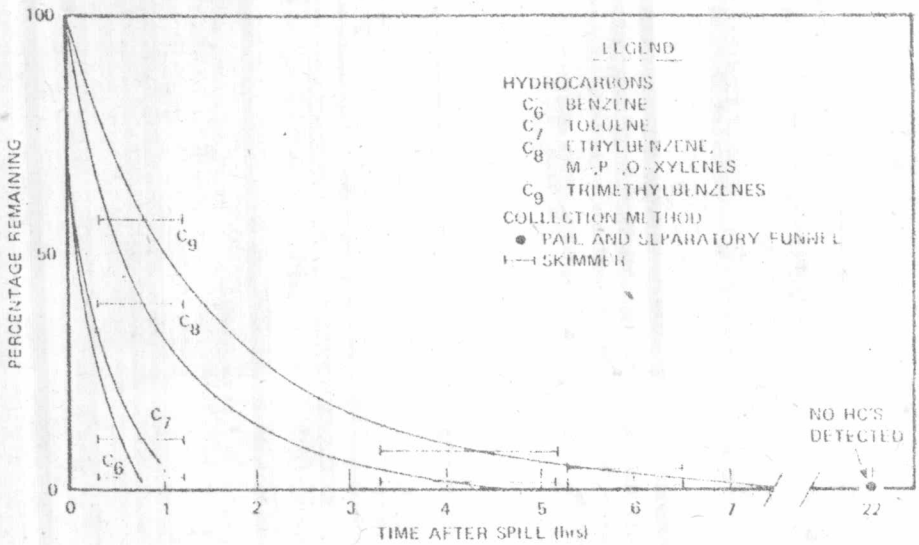
น้ำมันดีเซล เป็นน้ำมันที่กลั่นออกมาจากการกลั่นลำดับส่วนใน Topping Unit ที่อุณหภูมิประมาณ 232-343°c(450-650°F) และหน่วยการกลั่น Hydrotreating Unit (โรจนสุนทร, 2519) มี Normal cetane($C_{16}H_{34}$) เป็นองค์ประกอบหลัก

เบนซีน เป็นองค์ประกอบที่สำคัญและมีมากที่สุดในส่วนของ Aromatic hydrocarbon ในน้ำมันดิบ มีอยู่อย่างน้อย 20% ของ Aromatic ในน้ำมันดิบ (Brocksen and Bailey, 1973) เป็นตัวที่ละลายน้ำได้สูงถึง 2000 มก/ล ในน้ำกลั่น (Benville and Korn, 1974) และเป็นตัวละลายกรดไขมันและยังถูกดูดผ่าน (absorb) ซี่เหงือกของปลา เข้าไปยังเลือด (Brocksen and Bailey, 1973)

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำมันในน้ำทะเล

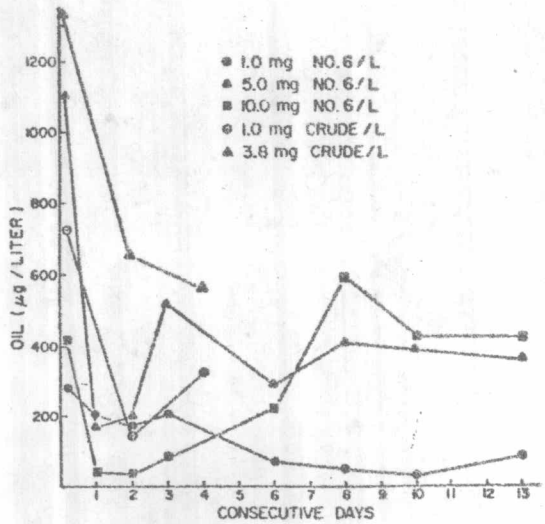
เมื่อน้ำมันถูกถ่ายลงในน้ำ จะมีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางฟิสิคส์และเคมี ทำให้ปริมาณลดลง ความเร็วของลมและคลื่น เป็นตัวทำให้น้ำมันกระจาย คลุมผิวน้ำเป็นชั้นบาง ๆ แล้วจะกระจายเป็นเม็ดเล็ก ๆ เรียกว่า oil-in water - emulsion Bacteria และ Zooplankton บางชนิด เป็นตัวทำให้ปริมาณลดลงเช่นกัน (Canover 1972)

Emulsion ของน้ำมันมีความสำคัญมาก เพราะประกอบด้วยน้ำมันที่แตกออกเป็นเม็ดเล็ก ๆ (Droplet) ทำให้สามารถกระจายออกไปอย่างกว้างขวางในทะเล Emulsion ที่เตรียมจากน้ำมัน 10 มิลลิลิตร สามารถกระจาย



รูปที่ 1 แสดงเปอร์เซนต์ของ Aromatic hydrocarbon ที่เหลืออยู่หลังจากการเกิดการรั่วไหลของน้ำมัน

(From McAuliffe 1977)



รูปที่ 2 แสดงผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของน้ำมันในน้ำทะเลตามระยะเวลา

(From Gordon et. al., 1973)

ได้ในเนื้อที่มากกว่าหนึ่งในสี่เอเคอร์ (Becher 1962; อ้างโดย Huang and Elliott, 1977) ก่อให้เกิดผลทางนิเวศน์วิทยาตามชนิดของน้ำมัน

น้ำมันอาจคงอยู่ในน้ำในรูปของ Dispersion, accommondation แล้วละลายในน้ำ พวก Aromatic จะละลายน้ำได้มากที่สุด

McAuliffe (1977) ได้ทดลองวัดปริมาณของHydrocarbon ตั้งแต่ C_2 ถึง C_{10} ของน้ำมันดิบโดยทดลองเทน้ำมันในน้ำทะเลที่อุณหภูมิ 11-14°c พบว่า เมื่อน้ำมันลงสู่ทะเลจะกระจายเป็นแผ่นฟิล์มบางคลุมผิวน้ำ ความหนาของแผ่นฟิล์มขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำมัน ความเร็วลม ทิศทางลม และกระแสน้ำ

C_2 ถึง C_{10} Hydrocarbon จะหายไปจากน้ำทะเลในเวลาเพียง 30 นาที นอกจาก C_9 เท่านั้นที่คงอยู่จนถึง 8 ชั่วโมง (รูปที่ 1)

Gordon et.al.(1973)รายงานว่า เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน ความเข้มข้นของน้ำมันดิบจะเหลือเพียง 9-15% ของความเข้มข้นเมื่อเริ่มต้นทดลอง (รูปที่ 2) ความเข้มข้นจะลดลงตามเวลา และขึ้นอยู่กับความแรงของการผสม (Turbulance) และอุณหภูมิ ถ้าอุณหภูมิสูง ความเข้มข้นก็จะลดลงเร็ว นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับความมากน้อยของความเข้มข้นเมื่อเริ่มต้นด้วย

Anderson et.al.(1974) พบว่าเมื่อผสมน้ำมันและน้ำในอัตรา 1:10 แล้วกวน 20 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 20±2°c แล้วนำสารที่ได้มาผสมน้ำอีกในอัตราส่วน 1:10 นำมาตรวจด้วย gas chromatography จะได้ค่าความเข้มข้นของ Tolal hydrocarbon ดังนี้

ชนิดของน้ำมัน	Tolal hydrocarbon (ppm)
South Louisiana crude	19.8
Bunker C residual	6.3
NO 2 Fuel oil	8.7
Kuwait Crude	10.4

และพบว่า Water soluble fraction ของน้ำมันดิบมีปริมาณของ Aliphalic และ Aromatic มากกว่าในน้ำมันที่กลั่นแล้ว ซึ่งมี Napthalene มากกว่า

ในการศึกษาปริมาณของ Benzene ในน้ำทะเลพบว่า ปริมาณของ Benzene ในน้ำจะหมดไปมากกว่า 70 เปอร์เซนต์ ในเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจากการระเหย (Benville and Korn 1977; Struhsaker et.al.1975)

พิษของน้ำมันต่อกุ้ง

ผลการศึกษา Acute toxic ของน้ำมันต่อกุ้ง มีผู้ทำการศึกษาหลายท่าน Well and Sprague (1976) รายงานว่า 96-hr LC_{50} ของ larvae ของกุ้งมังกร (Homarus americanus) มีค่าระหว่าง 0.86 mg/l ถึง 4.9mg/l ในน้ำมันดิบจาก Venezuela

Vanderhorst et.al.(1976) ศึกษากับกุ้ง Pandalus danae ได้ค่า 96-hr LC_{50} เท่ากับ 0.80 mg/l NO 2 Fuel oil

Lee et.al.(1978) ทดลองกับ Planktonic shrimp (Lucifer faxoni) ได้ค่า 96-hr LC_{50} เท่ากับ 3.2 ppm ใน NO 2 Fuel oil

Anderson et.al.(1974) ทำการทดลอง กุ้ง Palaemonetes pugio และ Penaeus aztecus (post larvae) กับน้ำมันดิบ และน้ำมันที่กลั่นแล้ว ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1 ค่า 96-hr LC_{50} มีค่าแตกต่างตั้งแต่มากกว่า 10 จนถึง 6000 ppm ในน้ำมันดิบ และตั้งแต่ 1.9 ถึง 9.4 ในน้ำมันที่กลั่นแล้ว และยังได้ทดลองกับ Crustacean และปลา ค่า 96-hr LC_{50} ก็มีความแปรผันมากเช่นกัน

ตารางที่ 1 การทดลองพิษเฉียบพลันของน้ำมันชนิดต่าง ๆ ต่อกุ้ง แสดงผลการทดลองด้วยค่า TL_m (ความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ตาย 50 เปอร์เซนต์ ในเวลาที่กำหนด) โดยคำนวนผล ด้วยวิธีการของLitchfield และWilcoxon (1949)

oil type	Statistical value	Palaemonetes pugio 24 h	48 h	96 h	Penaeus aztecus(post larvae) 24 h	48 h	96 h
South Louisiana cruds OWD	TL_m(ppm)	1,700	1,650	200	1000[b]	1000[b]	1000[b]
	95% C.I.	567-5,100	589-4,620	133-302			
	Slope f.	5.5	5.5	2.0			
WSF	TL_m(ppm)	16.8[b]	16.8[b]	16.8[b]	19.8[b]	19.8[b]	19.8[b]
	95% C.I.						
	Slope f.						
Kuwait crude OWD	TL_m(ppm)	13,500	9,000	6,000	-	-	-
	95% C.I.	6,750-27,000	3,462-23,400	2,400-15,000			
	Slope f.	3.1	6.4	4.3			
WSF	TL_m(ppm)	10.2[b]	10.2[b]	10.2[b]	-	-	-
Slope							
NO. 2 fuel oil OWD	TL_m(ppm)	3.8	3.4	3.0	9.4	9.4	9.4
	95% C.I.	3.0-4.9	2.8-4.2	2.7-3.3	7.6-11.6	7.6-11.6	7.6-11.6
	Slope f.	1.5	1.4	1.2	1.3	1.3	1.3
WSF	TL_m(ppm)	4.4	4.1	3.5	5.0	5.0	4.9
	95% C.I.	3.4-5.6	2.4-5.5	2.4-4.9	4.6-5.5	4.6-5.5	4.6-5.2
	Slope f.	1.5	1.8	1.9	1.1	1.1	1.1

ตารางที่ 1 (ต่อ) การทดลองพิษเฉียบพลันของน้ำมันชนิดต่าง ๆ ต่อกุ้ง แสดงผลการทดลองด้วยค่า TL_m (ความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ตาย 50 เปอร์เซนต์ ในเวลาที่กำหนด) โดยคำนวนผลด้วยวิธีการของ Litchfield และ Wilcoxon (1949)

oil type	Statistical value	Palaemonetes pugio			Penaeus aztecus(post larvae		
		24 h	48 h	96 h	24 h	48 h	96 h
Bunker C	TL_m(ppm)	3.2	2.8	2.6	3.8	3.5	1.9
residual	95% C.I.	2.4-4.3	2.1-3.8	2.0-3.3	3.3-4.5	2.9-4.1	1.0-3.5
WSF	Slope f.	1.4	1.4	1.4	1.3	1.2	1.9
DSS[a]	TL_m	135	108	108	-	-	-

b =ข้อมูลที่ได้ไม่อาจวิเคราะห์ผลทางสถิติได้โดยวิธีนี้

(Form Anderson. et al. 1974)

สำหรับเบนซีน ค่า 96-hr LC_{50} ต่อกุ้ง (Cragon sp) เท่ากับ 0.49-2.0 มิลลิลิตร/ลิตร (ppm) และต่อปลา เท่ากับ 2-11 มิลลิลิตร/ลิตร (Benville and Korn 1977; Meyerhoff 1975.)

การศึกษาผลกระทบต่อการดำรงชีวิต

Tatem (1977) พบว่าความเข้มข้นของ Hydrocarbon จาก NO 2 Fuel oil 3.0ppmทำให้ respiration rate ของกุ้ง Palaemonetes pugio ลดลงจากระดับปกติ ที่ระยะเวลา 5 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง แต่เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน respiration rate จะปรับตัวเข้าอยู่ในระดับปกติ และมีการสะสมของ Naphthalene ในเนื้อเยื่อของกุ้ง เมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง ปริมาณNapthhthalene ในเนื้อกุ้งจะมีมากกว่าในน้ำ 150 เท่า โดยที่ปริมาณจะลดลงเป็นลำดับ ในขณะที่ปริมาณในเนื้อเยื่อจะเพิ่มมากขึ้น

ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ความเข้มข้น 1.44 ppm มีผลทำให้การพักออกเป็นตัวของกุ้งชนิดนี้ลดลงเหลือเพียง 9 ตัว ในขณะที่การพักเป็นตัวในน้ำทะเลที่ไม่มีน้ำมันพักเป็นตัวได้ 45 ตัว

ความเข้มข้นที่ต่ำจะทำให้มีการเพิ่ม activity และเปลี่ยนแปลงลักษณะวิธีการว่ายน้ำของกุ้ง

Edwards (1978) ศึกษา Metabolism ของกุ้ง Cragon cragon ใน Water soluble fractionของน้ำมันดิบ รายงานว่าอัตราการเจริญเติบโตและการหายใจจะลดลง ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น แต่การตายจะเพิ่มขึ้น และมีการตายมากที่สุดที่อุณหภูมิ 20°c เมื่อเทียบกับอุณหภูมิ 10 และ 15 °c

Percy (1978) ศึกษาผลกระทบของน้ำมันดิบต่อการลอกคราบ พบว่า มีผลทำให้ระยะเวลาการลอกคราบนานออกไป เมื่อเทียบกับภาวะปกติ และพบว่า ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าความเข้มข้นที่ก่อให้เกิดพิษเฉียบพลัน จะมีผลต่อการเจริญเติบโต และพบว่า มีผลต่อ Metabolism (Percy 1976)

แต่ Christiansen (1978) รายงานว่า ความเข้มข้นของน้ำมันดิบ ตั้งแต่ 0.3 ถึง 3.0 ppm ไม่มีผลกระทบต่อการลอกคราบของปู (Hyas araneus)

Lee, et. al. (1978) รายงานว่า อัตราการหายใจของกุ้งขนาด 0.15 mm (Lucifer faxoni) จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ NO 2 Fuel oil จนกระทั่งถึงความเข้มข้น 30% (30% ของ Stock solution ที่เตรียมจากน้ำมันต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 8 ส่วน) อัตราการหายใจจะลดลง

Heitz. et. al. (1975) ศึกษาผลกระทบของน้ำมันดิบ การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Enzyme ของกุ้ง (Penaeus) ปลา (Mugil cephalus) และ หอยนางรม (Crassostrea virginica) ในระยะเวลา 4 วัน ศึกษา Enzyme จาก กล้ามเนื้อ ตับ สมอง และเหงือก ไม่พบการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Enzyme นอกจากในปลาเท่านั้นที่มีการเปลี่ยนแปลง 1 ชนิดจากจำนวนที่ตรวจ 12 ชนิด

Percy and Mullin (1977) รายงานว่า ความเข้มข้นขั้นต่ำกว่าความเข้มข้นที่ทำให้ปลาตาย ของน้ำมันดิบ ขัดขวางและทำลายการเคลื่อนไหวของ Arctic marine invertebrate

Bioassay Method คือการทดลองที่มีจุดมุ่งหมายเพื่อจะกำหนดค่าความเข้มข้นของสารหรือปริมาณของสารที่สามารถทำให้เกิดพิษต่อสัตว์ทดลอง โดยใช้กริยาการสนองตอบของสัตว์ต่อสารทดลองนั้นเป็นตัวชี้ถึงลักษณะความเป็นพิษ การตอบสนองอาจเป็นไปในรูปของ การตาย, การเสียการทรงตัว เป็นต้น (FAO 1977; Sprage 1973)

วิธีการวัดความเป็นพิษที่เหมาะสมวิธีหนึ่งคือ การวัดปริมาณการตอบสนอง โดยใช้ การตาย หรือการรอดตาย จะได้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารต่อเปอร์เซนต์การตาย (Brown 1973; Finney 1971; อ้างโดย Sitthichikasem 1975)

ถ้านำค่าความเข้มข้นของสารและเปอร์เซนต์การตายของสัตว์ทดลองมากำหนดจุดลงบนกราฟ จะได้เป็นรูปตัวเอส(Asymmetric Sigmoid curve) เมื่อเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของสารเป็นลอกการิธึมของความเข้มข้นและเปลี่ยนค่าเปอร์เซนต์การตายเป็น Probit แล้ว ก็สามารถจะลากเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารต่อการตายได้ โดยวิธีกำลังสองน้อยที่สุด (Weight least square method). (Bliss 1938;Finney 1971; อ้างโดย Sitthichikasem 1975)

Lichfield and Wilcoxon (1949) ได้ปรับปรุงวิธีการเขียนความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่อเปอร์เซนต์การตาย โดยสามารถนำข้อมูลการทดลองที่มีการตาย 100 เปอร์เซนต์ และศูนย์เปอร์เซนต์มาใช้อย่างได้ได้ผล พร้อมกับแสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95% ด้วยวิธีการที่ง่ายและรวดเร็ว

วิธีการของ Litchfield and Wilcoxon ได้เป็นที่ยอมรับของนักวิทยาศาสตร์แขนงนี้ และได้ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน (Andenson et.al. 1974; Lee et. al. 1978)

การศึกษาความเป็นพิษของสารต่อสัตว์ ศึกษาได้ใน 2 ลักษณะ คือ ลักษณะที่เกิดพิษโดยทันที หรือ "พิษเฉียบพลัน (Acute toxicity)" และลักษณะการเกิดผลกระทบในระยะเวลายาวนานออกไปโดยปกติประมาณหนึ่งในสิบของช่วงชีวิตหรือมากกว่า (Chronic effect)

การแสดงผลการศึกษาแสดงในลักษณะของความทนทานของสัตว์ทดลองต่อสารนั้น (TL or Tolelance limit) ใช้ค่าความเข้มข้นที่สัตว์ทดลองจำนวน 50 เปอร์เซนต์ สามารถทนอยู่ได้ในความเข้มข้นของสารนั้นคือค่า TL_{50} หรือ TL_m ปัจจุบันมีการยอมรับ การแสดงผลโดยใช้สัญญลักษณะ ความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองตายลงจำนวน 50 เปอร์เซนต์ = LC_{50}-Lethal concentration.

ในรายงานต่าง ๆ จะพบการแสดงผลในรูป LC_{50} ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (24-hr LC_{50}) แต่ U.S. Standard Method แนะนำให้ทำการทดลองต่อไปอีกอย่างน้อยถึง 48 ชั่วโมง การทดลองปัจจุบันนิยมแสดงผลที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง 96-hr LC_{50}(Sprage, 1969). ค่าตัวเลข TL_{50}, TL_m, LC_{50}ก็คือค่าเดียวกันนั่นเอง แต่อธิบายความหมายกันคนละลักษณะและตามความนิยม ในอเมริกาอาจยังใช้ค่า TL_m อยู่บ้าง แต่ทั่วไปจะพบการใช้สัญญลักษณ์ LC_{50} (Sprage 1973; Portman 1972)

การจัดระบบสารพิษตามค่าที่ได้จากการศึกษา 96-hr LC_{50} Sprage 1973 ได้เสนอระดับขั้นของสารพิษดังนี้

Partially nontoxic	: =	มากกว่า	10,000 mg/l
Slightly toxic	: =	1000 -	10,000 mg/l
Moderate toxic	: =	100 -	1,000 mg/l
Toxic	: =	1 -	100 mg/l
Very toxic	: =	น้อยกว่า	1 mg/l

วิธีการศึกษาในห้องทดลอง ที่นิยมมี 2 วิธี คือ การทดลองในน้ำนิ่ง (Static bioassay) ซึ่งอาจจะมีการเปลี่ยนน้ำหรือไม่เปลี่ยนน้ำก็ได้

และการทดลองในน้ำหมุนเวียน (Continuous flow or flow though) ซึ่งน้ำจะเปลี่ยนอยู่ตลอดเวลา

ความแตกต่างระหว่าง 2 วิธีนี้ มีไม่มากนัก ผลการทดลองทั้ง 2 วิธี อาจจะดีหรืออาจจะไม่ดี ขึ้นอยู่กับการจัดการทดลอง (Sprag 1973)

การทดลองในน้ำนิ่ง อาจให้ผลการทดลองดีกว่า (flow-through) เมื่อใช้ทดลองกับสารที่มีพิษมากและละลายทีละน้อยออกมาจากสารที่ไม่อยู่ตัวในกรณีนี้การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดลองจะมีความสำคัญมาก จะให้ผลในการทดลองแตกต่างกัน เพราะในการวัดพิษของสารที่ลักษณะที่แฝงอยู่ การทดลองในลักษณะนี้อาจใช้ได้ดีกับกรณีการรั่วไหลของน้ำมันซึ่งสัตว์จะประสพกับสารที่มีความเข้มข้นสูง แล้วความเข้มข้นก็จะค่อย ๆ ลดลง (FAO, 1977)

การทดลองพิษของน้ำมันและสารกระจายน้ำมัน นั้น ความมุ่งหมายในการทดลองมีความสำคัญยิ่ง เพราะต้องเลือกระหว่างการจัดการทดลองตาม Standard Type หรือจะจัดการทดลองเพื่อให้ได้สภาพใกล้เคียงกับเหตุการณ์ที่เกิดขึ้น (Portman, 1972)

การทดลองพิษเฉียบพลัน (Acute toxic) ของสารหลายชนิด พบว่า พิษเฉียบพลันจะมีผลอยู่ในระยะ 4 วัน (Sprag 1969)

Portman and Cornor (1968) พบเช่นเดียวกันว่า พิษของสารกระจายน้ำมัน จะแสดงในระยะ 4 วัน เกินจากนั้นผลก็จะไม่แตกต่างกัน

La Roche et. al. (1970) สรุปว่า ผลการทดลองของสารกระจายน้ำมันหลายชนิด ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง (96-hr LC_{50}) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผลการทดลองที่ 240 ชั่วโมง(240-hr LC_{50})

002320