

การใช้น้ำมันกานพลูในการควบคุมระดับการสลบเพื่อการขนส่งลูกปลาแอฟริกา

Evaluation of Clove Oil as Anesthetic Maintenance for Transportation of Juvenile African Catfish (*Clarias gariepinus*)

ดุสิต เอื้ออำนวย¹ อารีวรรณ สังข์เพชร¹ อัจฉริยา สันติประเสริฐ¹ และรุ่งตะวัน ยมหล้า¹

บทคัดย่อ

ศึกษาการใช้น้ำมันกานพลูเพื่อควบคุมการสลบในการขนส่งลูกปลาแอฟริกา (*Clarias gariepinus*) (น้ำหนักเฉลี่ย 2.85 ± 0.29 กรัม) จากการทดสอบความเป็นพิษของน้ำมันกานพลูโดยใช้วิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง พบว่าค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน LC_{50} ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ($24\text{-hr } LC_{50}$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 17.37 (15.12-19.61) มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ควบคุมให้ลูกปลาแอฟริกาสลบอยู่ในระยะแรก (sedation) มีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งลูกปลาจะแสดงอาการสลบระยะแรกภายในเวลา 37.44 ± 3.7 นาที และมีระยะเวลาในการฟื้นตัวจากการสลบภายในเวลา 1.27 ± 0.43 นาที ตลอดทดลองระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ค่าอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของก่อนและหลังในแต่ละการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบ โดยมีค่าอุณหภูมิในช่วง 22 ถึง 23 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดเป็นด่างในช่วง 7.12 ถึง 7.16 และเมื่อนำลูกปลามาจำลองการขนส่ง เป็นเวลา 16 ชั่วโมง พบว่าอัตราการรอดในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ใช้น้ำมันกานพลูความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ปริมาณแอมโมเนียในกลุ่มควบคุมสูงกว่ากลุ่มที่ใช้น้ำมันกานพลู อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากข้อมูลขั้นต้นสามารถแสดงถึงความเป็นไปได้ในการนำน้ำมันกานพลูที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวมาใช้เป็นยาสลบสำหรับการควบคุมระดับการสลบในลูกปลาแอฟริกาเพื่อสวัสดิภาพของสัตว์ที่ดี รวมทั้งสามารถช่วยลดการขับถ่ายของเสียในรูปของแอมโมเนียของลูกปลาในระหว่างการขนส่ง

คำสำคัญ : น้ำมันกานพลู การควบคุมการสลบ ปลาแอฟริกา

Abstract

The anesthetic effects of clove oil were studied in juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) with average weight of 2.85 ± 0.29 grams. Acute lethality of clove oil on fish were measured by using a static bioassay and probit analysis. The estimated 24 h LC_{50} of clove oil on juvenile African catfish was approximately 17.37 (15.12-19.61) mg/l at the 95% confidence interval. The appropriated clove oil concentration to induce of sedation stage anesthesia in African catfish was 15 mg/l. The induction time was 37.44 ± 3.7 minutes and recovery time after anesthesia with clove oil was 1.27 ± 0.43 minutes (after being placed in clean water). During the exposure period (24 hours), water temperature (22 to 23 °C) and pH (7.12 to 7.16) in each experiment were changed in a narrow range. Clove oil efficiency during transportation was evaluated in 16 hours using appropriated concentration of 15 mg/l in juvenile African catfish. The result showed that the final survival rate between control and treatment group was not significantly different ($p \geq 0.05$). The ammonia concentration at the end of transportation in control group was significantly higher than

¹ หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

treatment group. These findings show that clove oil could be an anesthetic maintenance for African catfish which could improve animal welfare and had potential to reduce fish excretion during transportation.

Keywords: clove oil, anesthetic maintenance, African catfish (*Clarias gariepinus*)

คำนำ

ปลาตู้แอฟริกา หรือปลาดุกยักษ์ (*Clarias gariepinus*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกา ได้ถูกนำเข้ามาประเทศไทยผ่านประเทศลาวในช่วงปี พ.ศ. 2528 เพื่อเป็นพ่อพันธุ์สำหรับการผลิตปลาดุกลูกผสม หรือ บิ๊กอู๋ (กรมประมง, มปป.) จากการลงสำรวจฟาร์มเพาะลูกพันธุ์ปลาในเขตจังหวัดนครนายกและฉะเชิงเทราช่วงเดือน มิถุนายนถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2556 จากเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาดุกได้เปลี่ยนมาเลี้ยงปลาดุกแอฟริกาแทนปลาดุก ลูกผสม เพราะคุณลักษณะของอัตราการเติบโตที่รวดเร็วทำให้ใช้ระยะเวลาการเลี้ยงเพียง 3 ถึง 4 เดือน ในขณะที่เดียวกัน ได้รับการยอมรับเพิ่มขึ้นจากกลุ่มผู้บริโภค ส่งผลให้จำนวนลูกพันธุ์ปลาดุกแอฟริกาเป็นที่ต้องการเพิ่มขึ้น โดยบริเวณ พื้นที่ภาคกลางของประเทศไทยถือเป็นแหล่งผลิตลูกพันธุ์ปลาที่สำคัญ โดยลูกพันธุ์จะถูกขนส่งไปยังภูมิภาคอื่นด้วย วิธีการบรรจุลูกปลาลงในลังพลาสติก มีการใช้เกลือแกงเพื่อลดความเครียด หากขนส่งโดยใช้ระยะเวลานานเกินกว่า 6 ชั่วโมงจะต้องมีการลดปริมาณของเสียโดยการเปลี่ยนถ่ายน้ำในระหว่างการขนส่ง ซึ่งในระหว่างการเคลื่อนย้ายบางครั้งอาจส่งผลกระทบต่อทำให้สัตว์น้ำเครียด ได้รับบาดเจ็บ อ่อนแอ และตายได้ การใช้ยาสลบเพื่อทำให้สัตว์น้ำสงบลด การเคลื่อนไหวและควบคุมปริมาณของเสียในช่วงการขนส่งถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจใช้กันอย่างแพร่หลาย โดย ยาสลบที่นิยมใช้มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด เช่น 2-phenoxyethanol metomidate MS-222 และ สารละลายน้ำมันกานพลู (clove oil) ที่มีการศึกษาและทดลองใช้ในการขนส่งและลดความเครียดในสัตว์น้ำ (Weber *et al.*, 2009) น้ำมันกานพลู (clove oil) เป็นสารธรรมชาติที่สกัดจากพืชมีความปลอดภัยต่อมนุษย์ไม่ติดค้าง ราคาถูกและสามารถเสื่อมสลายเอง ตามธรรมชาติ โดยในน้ำมันกานพลูมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญประกอบด้วย eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol) 70 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ eugenol acetate น้อยกว่า 17 เปอร์เซ็นต์ และ cartiofilen-5 12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งออกฤทธิ์เป็นยาสลบ ในสัตว์น้ำ (Hermanini and Tangendjaja, 1998) ปัจจุบันมีการใช้น้ำมันกานพลูสำหรับกิจกรรมต่างๆ ที่เกี่ยวกับการ เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะในการขนส่ง ไม่ว่าจะเป็ปลาใน *Cyprinus carpio* L. (Velisek *et al.*, 2005) ปลาเทราท์ *Oncorhynchus mykiss* และปลาทอง *Carassius auratus* (Perdikaris *et al.*, 2010) ปลากัดจีน (दनัย และคณะ, 2551) และในกึ่งทะเล *Fenneropenaeus indicus* (Akbari *et al.*, 2010) รวมทั้งมีการทดสอบ ประสิทธิภาพของน้ำมันกานพลูเพื่อเป็นยาสลบในปลาดุกแอฟริกาอายุรุ่นขนาด 6-10 กรัม ว่ามีค่าเหมาะสมที่ทำให้ปลา สลบโดยสมบูรณ์อยู่ที่ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (Ögretmen and Gökçek, 2013) แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูลด้านการใช้น้ำมัน กานพลูเพื่อควบคุมการสลบในระยะแรก โดยเฉพาะการใช้ในระหว่างการขนส่งลูกปลาดุกแอฟริกาเพื่อควบคุมการตื่น ตกใจ การขับถ่ายของเสีย และลดปัญหาด้านคุณภาพน้ำยังไม่มีการรายงาน ดังนั้นการศึกษานี้จึงเล็งเห็นถึงความเป็น ไปได้ในการใช้้ำมันกานพลู เพื่อยกระดับกระบวนการขนส่งปลาดุกแอฟริกาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ทั้งในด้านการ ลดความบอบช้ำของตัวปลา และการลดการดำเนินการในขั้นตอนการเปลี่ยนถ่ายน้ำในระหว่างการขนส่ง

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การเตรียมสัตว์ทดลอง ลูกปลาดุกแอฟริกาความยาวทั้งหมดเฉลี่ย 7.75 ± 0.36 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 2.85 ± 0.29 กรัม นำมาจากขุนข้างพันธุ์ปลา จังหวัดนครนายก โดยเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในห้องปฏิบัติการให้ปลาชิน กับสถานที่ทดลองอย่างน้อย 2 สัปดาห์ในระหว่างนี้มีการให้อาหารปลาดุกเม็ดสำเร็จรูปลดขนาดเล็กลงวันละ 2 ครั้ง เข้า เย็น และดูตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวันเพื่อรักษาระดับคุณภาพน้ำให้เหมาะสม ซึ่งในช่วงการปรับสภาพ

ลูกปลาจะถูกต้องมีอัตราอดเกินกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ จึงสามารถนำมาวางอาหาร 2 วันเพื่อใช้สำหรับการทดลอง

การเตรียมสารละลายน้ำมันกานพลู น้ำมันกานพลู (Srichand United Dispensary LTD., Thailand) มาเจือจางตามวิธีการของ Stoskopf (1993) โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วน 1:9 เพื่อให้ได้สารละลายน้ำมันกานพลูที่มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำมาใช้เตรียมสารละลายน้ำมันกานพลูในระดับความเข้มข้นต่างๆ ในการทดลองต่อไป

1. การศึกษาพิษเฉียบพลันของสารละลายน้ำมันกานพลู ที่ทำให้ลูกปลาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (24-hr LC₅₀)

การทดลองหาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารละลายน้ำมันกานพลู ที่ทำให้ปลาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ในน้ำนิ่ง (Litchfield and Wilcoxon, 1949) ทดลองในตู้กระจกปริมาตร 2 ลิตร แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอนคือ

1.1 การทดลองเบื้องต้น (preliminary test) ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 15, 18, 22, 24 และ 26 มิลลิกรัมต่อลิตร พร้อมกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารละลายน้ำมันกานพลู ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว พบว่าที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารละลายน้ำมันกานพลูที่ทำให้ปลาตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ปลาตาย 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ในช่วง 15 ถึง 22 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.2 การทดลองอย่างละเอียด (full – scale test) จากผลการทดลองเบื้องต้น ได้แบ่งความเข้มข้นออกเป็น 5 ระดับ คือ 15.0, 16.8, 18.6, 20.4 และ 22.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พร้อมกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารละลายน้ำมันกานพลู ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว โดยตลอดการศึกษาระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำการสังเกตและบันทึกลักษณะอาการของปลาที่ใช้ทดลอง และจำนวนปลาตาย รวมทั้งค่าคุณภาพน้ำที่สำคัญตลอดช่วงการศึกษาซึ่งมีค่าดังต่อไปนี้ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างค่าอยู่ระหว่าง 7.12 ถึง 7.51 ค่าอุณหภูมิมีค่าอยู่ระหว่าง 23.07 ถึง 23.67 องศาเซลเซียส และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 0.08 ถึง 3.12 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายน้ำมันกานพลูที่ใช้ในการขนส่ง

ทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับควบคุมการสลบระยะแรก (sedation) และการขนส่งโดยทดสอบที่ระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าความเข้มข้นที่ทำให้ปลารอด 100 เปอร์เซ็นต์ จากการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (การศึกษาที่ 1) จากนั้นนำช่วงความเข้มข้นที่ทำให้ปลาสลบมาแบ่งออกเป็น 3 ระดับ โดยความเข้มข้นที่ใช้คือ 11, 13 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ทดลองโดยนำปลาที่ปักไว้มาใส่ตู้กระจกปริมาตร 2 ลิตร จำนวนตู้ละ 1 ตัว ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ สังเกต และบันทึกเวลาการเข้าสู่การสลบ (induce stage) โดยแบ่งระยะการสลบ ได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้คือ การสลบระยะ sedation ปลาจะแสดงอาการเคลื่อนไหวที่ช้าลงและอยู่นิ่งที่บริเวณพื้นตู้แต่มีการเคลื่อนไหวบ้างเป็นบางครั้ง การสลบระยะ anesthesia ปลาส่วนใหญ่จะอยู่นิ่งและว่ายน้ำช้าลง มีเพียงบางตัวที่แสดงอาการเสียวสมดุ การสลบระยะ surgical anesthesia ปลาจะมีลักษณะสูญเสียการทรงตัว (หงายท้อง) และไม่มีกรตอบสนองต่อการกระตุ้น และระยะ Death ปลาจะหยุดหายใจและตาย (Kamble *et al.*, 2014) และสังเกตลักษณะอาการของลูกปลาที่เวลา 5, 10, 15, 30 และ 60 นาที และที่ 12 และ 24 ชั่วโมง เมื่อปลาสลบในระยะ sedation ตักปลาออกจากตู้ทดลองและนำมาใส่ในน้ำสะอาดเพื่อหาระยะเวลาที่ปลาฟื้นตัว (recovery stage) ซึ่งสามารถแบ่งได้ออกเป็น 3 ระยะ คือ ระยะที่ 1 เริ่มมีการเคลื่อนไหว แต่ปลายังคงนอนอยู่ที่พื้นของภาชนะ ระยะที่ 2 ปลาเริ่มมีการหายใจ และตอบสนองต่อการกระตุ้นที่รุนแรง แต่การทรงตัวยังไม่ปกติ และระยะที่ 3 ความสมดุลของร่างกายเข้าสู่ภาวะปกติปลาวายน้ำปกติ ตอบสนองต่อการกระตุ้นที่เล็กน้อยได้ (Theinpoint and Niegeers, 1965)

3. การจำลองการขนส่งลูกปลาจากแอฟริกาโดยใช้น้ำมันกานพลู

การศึกษาการจำลองการขนส่งปลาจากแอฟริกาโดยใช้น้ำมันกานพลูเป็นยาผสม ใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการศึกษาที่ 2 แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลองคือ กลุ่มควบคุมขนส่งโดยใช้น้ำประปาที่ปราศจากคลอรีน และชุดการทดลองที่ใช้น้ำประปาและน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ โดยใช้ลูกปลาจำนวน 490 ตัวต่อกล่องพลาสติกขนาด 20×34×15 เซนติเมตร ใส่น้ำปริมาตร 3 ลิตรต่อกล่อง ซึ่งความหนาแน่นที่ใช้ดังกล่าว (7,000 ตัวต่อตารางเมตร) ได้อ้างอิงจากฟาร์มผลิตลูกปลาเอกชน จังหวัดนครนายก การจำลองการขนส่งลูกปลาจะถูกทำขึ้นเพื่อเลียนแบบการขนส่งจริงโดยน้ำภายในภาชนะที่ขนส่งลูกปลาจะเกิดการเคลื่อนไหวเช่นเดียวกับการเคลื่อนที่ของยานพาหนะ โดยการจำลองจะทำการขึ้นแบบต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 16 ชั่วโมงของการศึกษา

เมื่อจำลองการขนส่งลูกปลาครบ 16 ชั่วโมง เปิดกล่องบรรจุลูกปลารับ และบันทึกอัตราการรอดของปลาในแต่ละกลุ่ม การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทำขึ้นก่อนและหลังการจำลองการขนส่ง โดยวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียตามวิธีวิเคราะห์มาตรฐานที่เสนออยู่ใน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, et al, 1995) ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter, WTW pH 3210) และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO meter, WTW Oxi 3210)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของน้ำมันกานพลูที่ทำให้ลูกปลาทาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (24-hr LC₅₀) ด้วยวิธี Probit analysis program (Raymond, 1987) ในส่วนข้อมูลคุณภาพน้ำ ระยะเวลาการสลบและการฟื้นตัวของลูกปลาแอฟริกา และอัตราการรอดของลูกปลาในการจำลองการขนส่ง และคุณภาพน้ำก่อนและหลังการจำลองการขนส่งมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (one – way analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาหาความเป็นพิษเฉียบพลันของน้ำมันกานพลู ที่ทำให้ลูกปลาแอฟริกาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (24-hr LC₅₀)

จากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารละลายน้ำมันกานพลูที่ทำให้ลูกปลาแอฟริกาจำนวนครึ่งหนึ่งตายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (24-hr LC₅₀) โดยทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 15.0, 16.8, 18.6, 20.4 และ 22.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าอัตราการตายของลูกปลาที่แต่ละความเข้มข้นมีค่าเท่ากับ 0.0, 16.7, 93.3, 100.0 และ 100.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำอัตราการตายดังกล่าวมาคำนวณค่า ที่ 24 ชั่วโมง LC₅₀ มีค่า 17.37 (15.12-19.61) มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ช่วงระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ ดนัย และคณะ (2551) ที่ได้ศึกษาความเป็นพิษอย่างเฉียบพลันของสารละลายน้ำมันกานพลูในปลากัดจีนที่เป็นปลาชนิดหนึ่งที่มีอวัยวะช่วยหายใจและสามารถอยู่ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำได้เช่นเดียวกับปลาดุก พบว่าค่า 24-hr LC₅₀ มีค่า 21.77 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่าสารละลายน้ำมันกานพลูมีความเป็นพิษในปลาดุกมากกว่าปลากัดจีน โดยตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมง ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่ามีค่าผันแปรค่อนข้างสูงอยู่ในช่วงระหว่าง 0.08-3.12 มิลลิกรัมต่อลิตร การลดลงของปริมาณออกซิเจนที่เกิดขึ้นนั้น เป็นผลมาจากปลาใช้ออกซิเจนในการหายใจ จากการทดลองนี้พบว่าในกลุ่มการทดลองจะมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งพบว่าค่าระดับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเมื่อสิ้นสุดของทั้งสองชุดการทดลองมีค่าต่ำกว่าระดับคุณภาพน้ำที่เหมาะสมแก่การดำรงชีวิตของสัตว์น้ำตามที่ ประวิทย์ (2522) ได้รายงานไว้

Table 1 The anesthesia stage of juvenile African catfish anesthetized with solvent clove oil at concentration of 15.0, 16.8, 18.6, 20.4 and 22.2 mg/l.

Clove oil concentration (mg/l)	Anaesthetizing time (minute)			
	Sedation (first stage)	Anesthesia (second stage)	Surgical Anesthesia (third stage)	Death (forth stage)
15.0	39	68	175	-
16.8	37	61	165	-
18.6	34	57	138	After 3 hours
20.4	29	54	102	After 3 hours
22.2	26	49	93	After 3 hours

2. การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายน้ำมันกานพลูที่ใช้ในการขนส่ง

การศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายน้ำมันกานพลูเพื่อใช้เป็นยาสลบในลูกปลาตู้แอฟริกา โดยหลักการเลือกระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมนั้น ต้องเป็นความเข้มข้นที่ไม่เป็นอันตราย และสามารถทำให้สัตว์น้ำเข้าสู่ระยะสลบได้อย่างรวดเร็ว และใช้เวลาการฟื้นตัวไม่นานนัก ซึ่งจากการทดลองหาค่าระดับความเป็นพิษเฉียบพลันของน้ำมันกานพลู ทำให้สามารถเลือกระดับความเข้มข้นได้ 3 ระดับคือ 11, 13 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนำลูกปลาดุกมาทดสอบความเข้มข้นแล้วพบว่า สารละลายน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้น 11 และ 13 มิลลิกรัมต่อลิตร ปลายังมีการเคลื่อนไหวและตื่นตัว ใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ลูกปลาจะมีการเคลื่อนไหวที่ลดลงอย่างรวดเร็ว และปลาจะแสดงอาการสลบระยะแรก (sedation) ภายในเวลาเฉลี่ย 37.44 นาที ซึ่งเร็วกว่าความเข้มข้นที่ 11 และ 13 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่จะแสดงอาการสลบระยะแรก (sedation) ภายในเวลา 120.47 นาที และ 62.22 นาที ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และในทางตรงกันข้ามระยะเวลาการฟื้นตัวของลูกปลาตู้แอฟริกาที่สลบด้วยสารละลายน้ำมันกานพลูที่ระดับความเข้มข้นต่ำจะมีระยะเวลาฟื้นตัวเร็วกว่าในความเข้มข้นสูง คือ ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายน้ำมันกานพลู 11 13 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร มีระยะเวลาฟื้นตัวเท่ากับ 0.61 0.82 และ 1.27 นาที ตามลำดับ แต่เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) (Figure 1) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารละลายน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้นสูงกว่าจะทำให้ลูกปลาตู้แอฟริกามีระยะเวลาในการสลบเร็วกว่าปลาที่ได้รับสารละลายน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้นต่ำกว่า ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลายน้ำมันกานพลูที่ระดับ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร จะถือว่าเป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้เป็นยาสลบในลูกปลาตู้แอฟริกา ขนาดความยาวเฉลี่ย 7.76 ± 0.36 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 2.85 ± 0.29 กรัม เนื่องจากลูกปลาจะแสดง อาการสลบระยะแรก (sedation) ได้เร็วกว่ากลุ่มอื่น และมีระยะเวลาฟื้นตัวที่ไม่แตกต่างกับระดับความเข้มข้นของสารละลายน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้นต่ำกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ดนัย และคณะ (2551) ที่ได้ศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายน้ำมันกานพลูที่ใช้สลบปลากัดจีน โดยพบว่าระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมมีค่า 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับสลบปลาคาร์พ (common carp) อยู่ในช่วง 30-50 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะใช้เวลาสลบประมาณ 5 นาที (Hajek *et al.*, 2006) ส่วนในปลาแซลมอน และปลาสเตอร์เจียนใช้สารละลายน้ำมันกานพลูสลบที่ความเข้มข้น 20-30 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยระยะเวลาการสลบอยู่ที่ 2 และ 4 นาที ตามลำดับ ซึ่งการใช้สารละลายน้ำมันกานพลูเพื่อเป็นยาสลบส่วนมากความเข้มข้นที่มีผลต่อการสลบของปลาจะอยู่ในช่วง 20-50 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นที่ใช้สลบจะ

แตกต่างกันออกไปตามชนิด ขนาดปลา และอุณหภูมิน้ำ (Hamackova *et al.*, 2006)

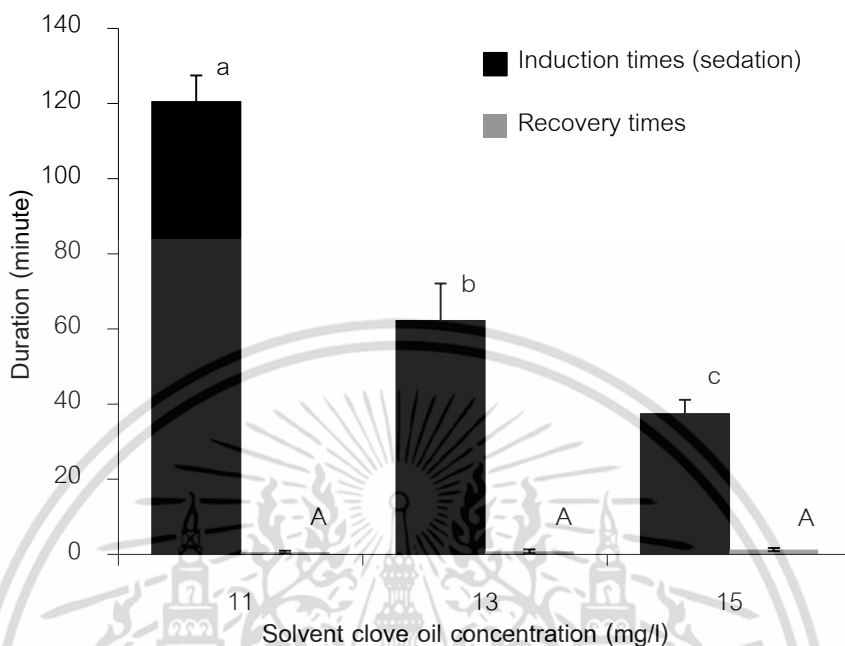


Figure 1 Induction and recovery time of juvenile African catfish anesthetized by solvent clove oil at concentration 11, 13 and 15 mg/l. Different superscripts in the same color bar indicate the significantly difference ($p < 0.05$)

3. ผลการศึกษาการจำลองการขนส่งลูกปลาดุกแอฟริกาโดยใช้สารละลายน้ำมันกานพลู

จากการจำลองการขนส่งลูกปลาดุกแอฟริกาขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 2.85 ± 0.29 กรัม โดยใช้ไขมันกานพลูที่มีความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 16 ชั่วโมงพบว่า อัตรารอดหลังการขนส่งปลาในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่สลบโดยใช้สารละลายน้ำมันกานพลู มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) ซึ่งมีรายงานการใช้ยาสลบ MS-222 ในการขนส่งปลากัดนั้นไม่สามารถช่วยเพิ่มอัตราการรอดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ยาสลบสามารถลดความบอบช้ำ และการเกิดบาดแผลในช่วงระหว่างการขนส่งได้ (สงครี, 2532)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำก่อนการจำลองการขนส่งของทั้งสองชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ย 6.62 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และหลังการทดลองปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำของกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่สลบด้วยสารละลายน้ำมันกานพลูมีค่า 0.06 ± 0.12 และ 0.86 ± 0.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ออกซิเจนที่ละลายในน้ำหลังการทดลองมีค่าต่ำลง เนื่องจากระหว่างการขนส่งปลามีการใช้ออกซิเจนในน้ำในระหว่างการขนส่ง ซึ่งจะเห็นว่าในกลุ่มที่ใช้ไขมันกานพลูปริมาณออกซิเจนมีค่าสูงกว่าเนื่องจากปลาสลบทำให้มีความต้องการใช้ออกซิเจนน้อยลงนอกจากนี้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างในน้ำก่อนการจำลองการขนส่งของทั้งสองชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ย 7.89 ± 0.00 และหลังการทดลองค่าความเป็นกรดเป็นด่างในน้ำของกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่สลบด้วยสารละลายน้ำมันกานพลูซึ่งหลังมีค่าลดลงเล็กน้อย ซึ่งค่าความเป็นกรดเป็นด่างของทั้งสองกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ย 7.25 ± 0.02 และ 7.27 ± 0.04 ตามลำดับ

Table 2 Survival rate of juvenile African catfish after anesthetized by solvent curve oil (15 mg/l) for 16 hours and after moving to normal water for 1 week.

Treatment	Survival rate after finish experiment (16 hours) (%)	Survival rate after moving to normal water for 1 week (%)
Control	99.52±0.09 ^a	92.83±2.80 ^a
Curve oil (15 mg/l)	99.59±0.29 ^a	94.76±1.40 ^a

Value are mean ± SD. Different superscripts in the same column indicate the significantly difference ($p < 0.05$).

ในขณะที่ปริมาณแอมโมเนียในน้ำก่อนการจำลองการขนส่งของทั้งสองชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ย 0.56 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และหลังการทดลองปริมาณแอมโมเนียในน้ำของกลุ่มควบคุม มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่สลบด้วยสารละลายน้ำมันกานพลูอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) มีค่าเฉลี่ย 105.29 ± 22.79 และ 79.02 ± 13.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ถึงแม้ว่าการจำลองการขนส่งลูกปลาตุ๊กแอฟริกาในครั้งนี้ไม่มีความแตกต่างกันในแง่ของอัตราการรอดระหว่างกลุ่มที่ใช้สารละลายน้ำมันกานพลู และกลุ่มควบคุม แต่จะเห็นได้ว่าการสลบปลาสามารถช่วยลดปริมาณการขับถ่ายของเสียได้เป็นอย่างดี ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Pattanasiri *et al.* (n.d.) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าแอมโมเนียในน้ำที่สลบปลากัดไทย (*Betta splendens*) ด้วยสารละลายน้ำมันกานพลู เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปริมาณแอมโมเนียของกลุ่มที่ไม่ได้ใช้สารละลายน้ำมันกานพลูมีค่าเพิ่มขึ้น 1.73 เท่า ในขณะที่กลุ่มที่สลบด้วยสารละลายน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้นเพียง 1.17 เท่า ดังนั้นการใช้สารละลายน้ำมันกานพลูเพื่อควบคุมระดับการสลบในระหว่างการขนส่งนั้นมีความคุ้มค่าช่วยลดปริมาณของเสียในน้ำ เมื่อปลาสลบจะทำให้เกิดความเครียดน้อยลง และสามารถลดปริมาณการขับถ่ายของเสียโดยเฉพาะปริมาณแอมโมเนียได้ จากการทดลองของ Akar (2011) ได้มีรายงานการใช้สารละลายน้ำมันกานพลูที่ระดับความเข้มข้นขนาด 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีส่วนช่วยลดการเกิดความเครียดในการขนส่งปลา Blue Tilapia (Akar, 2011) โดยพบว่าสารละลายน้ำมันกานพลูสามารถลดปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอล และกลูโคสในเลือด ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดความเครียดได้ (Iversen *et al.*, 2003)

สรุป

ผลการศึกษานี้พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันกานพลูในควบคุมการสลบในระยะแรกของปลาทูแอฟริกาขนาด 2.32 ± 0.51 กรัม มีค่าความเข้มข้นที่ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร จะใช้เวลาในการแสดงอาการสลบระยะแรกที่เวลา 37.44 นาที ระยะเวลาที่ทำให้ฟื้นตัวในน้ำ สะอาดอยู่ที่ 1.27 นาที และเมื่อจำลองการขนส่งปลาทูโดยใช้สารละลายน้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 16 ชั่วโมง พบว่าอัตราการรอดไม่แตกต่างกันกับชุดควบคุม แต่สามารถลดปริมาณแอมโมเนียในน้ำระหว่างการขนส่งได้ แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากน้ำมันกานพลูเพื่อเป็นยาสลบในลูกปลาทูแอฟริกา เนื่องจากสามารถหาได้ง่ายมีราคาถูก มีความปลอดภัยต่อผู้ใช้ และปลาสามารถฟื้นจากอาการสลบได้ภายในระยะเวลาอันสั้น

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. มปป. การเลี้ยงปลาทูบึกอยู่. เอกสารและคำแนะนำ. กรุงเทพฯ: กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ฝ่ายเผยแพร่ กองส่งเสริมการประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
 ดนัย สมใจ อรุมา พาลเสื่อ และสมหมาย เขียววารีสีจจะ. 2551. ความเป็นพิษและประสิทธิภาพของน้ำมันกานพลูในการสลบปลากัดจีน. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ ปีที่ 11 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม: 31-38.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ประวิทย์ สุรนิรมาน 2522. หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 144 น.
- สงครีมหาสวัสดิ์. 2532. การใช้เกลือแกงและยาสลบ MS-222 ในการขนส่งปลากัดขนาดวัยรุ่น. วารสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์ 23: 349-357.
- AHPA. (1995). Standard method for the examination of water and wastewater 19th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Akar, A. M. A. 2011. Effects of clove oil on the response of blue tilapia (*Oreochromis aureus*) by transportation stress. Journal of the Arabian Aquaculture Society 6(1): 77-86.
- Akbari, S., M.J. Khoshnod, H. Rajaian and M. Afshamasab. 2010. The use of eugenol as an anesthetic in transportation of with Indian shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) post larvae. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 10: 423-429.
- Hajek, G. J., B. Klyszejko and R. Dziaman. 2006. The anesthetic effect of clove oil on common carp, *Cyprinus carpio* L. Acta Ichthyologica et Piscatoria 36(2): 93-97.
- Hamackova, J., J. Kouril, P. Kozak and Z. Stupka. 2006. Clove oil as an anesthetic for different freshwater fish species. Bulgarian Journal of Agricultural Science 12: 185-194.
- Hermanini and B. Tangendaja. 1988. Analisis mutu minyak nilam dan minyak cengkeh secara kromatografi. Media Penelitian Sukamandi, 6: 57-65 (Indonesian).
- Iversen, M., B. Finstad, R. S. McKinley and R. A. Eliassen. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S™ and Benzoak® as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. Aquaculture 221 (1-4): 549-566.
- Kamble, A. D., V. P. Saini, M. L. Ojha. 2014. The efficacy of clove oil as anesthetic in common carp (*Cyprinus carpio*) and its potential metabolism reducing capacity. International Journal of Fauna and Biological Studies 1 (6): 1-6.
- Litchfield J. T. J. R. and F. Wilcoxon. 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics 96 (2): 99-113.
- Ögretmen, F. and K. Gökçek. 2013. Comparative efficacy of three anesthetic agents on juvenile african catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 13: 51-56.
- Pattanasiri, T., P. Suppakul and W. Tapahudee. (n.d.). Antianxiety activity of clove oil and its principal constituent, and possible application in active packaging for transportation of Siamese fighting fish. Kasetsart University, Bangkok.
- Perdikaris, C., C. Nathanailides, E. Gouva, U.U. Gabriel, K. Bitchava, F. Athanasopoulou, A. Paschou and I. Paschos. 2010. Size-relative effectiveness of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) and goldfish (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758). ACTA VET. BRNO 79: 481-490.
- Raymond, M. 1987. Probit analysis program. Institute des Sciences de L' Evolution. Montpellier Cedex, France.
- Stoskopf, M. 1993. Anaesthesia. In: Aquaculture for Veterinarians Fish Husbandry and Medicine. 1st ed., edited by L. Brown. Pergamon press, Exteter : UK. p. 161 - 168.
- Theinpoint, D. and C. J. E. Niemegeers. 1965. 7464- a new potent anesthetic in fish. International Zoo. Year Book, 5: 202-205
- Velisek, J., Z. Svobodova, V. Piackova, L. Groch and L. Nepechalava. 2005. Effects of clove oil anesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). Vet. Med. – Czech 50: 269-275.
- Weber, R. A., J. B. Peleteiro, L.O. Garcia Martín and M. Aldegunde. 2009. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). Aquaculture 288: 147-150.