

โครงการวิจัยย่อยที่ 2

การตอบสนองทางสรีรวิทยาจากความเครียดของปลาบางชนิดหลังทำการสลบด้วย
สมุนไพรนาโนเทคโนโลยี

Stress Response of Some Fish after Anesthetization with Medicinal Plant
Nanotechnology

นายสุรัชย์ พิกุลแก้ว¹ นายอนุชา สรณวงศ์² นางสาวประภาวดี ไพรินทร์²

¹ ภาควิชาคลินิกสัตว์บริโภคน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โทรศัพท์ 053-948023
โทรสาร 053-948062

² ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โทรศัพท์ 053-948045 โทรสาร 053-948065

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยย่อยที่ 2

การตอบสนองทางสรีรวิทยาจากความเครียดของปลาบางชนิดหลังทำการสลบด้วยสมุนไพรนาโนเทคโนโลยี

Stress Response of Some Fish after Anesthetization with Medicinal Plant Nanotechnology

งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 งบประมาณที่ได้รับ 737,500 บาท ระยะเวลาทำวิจัย 1 ปี 11 เดือน ตั้งแต่ กรกฎาคม 2555 ถึง มิถุนายน 2557

ชื่อคณะผู้วิจัย

นายสุรชัย พิภูลแก้ว¹ นายอนุชา สชนวงศ์² นางสาวประภาวดี ไพรินทร์²

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์การสลบปลาของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรหลายชนิด ได้แก่ น้ำมันโหระพา น้ำมันยี่หระ น้ำมันกะเพราขาว น้ำมันแมงลัก น้ำมันกระวาน น้ำมันรอกหุ้มเมล็ดจันทร์เทศ น้ำมันเมล็ดจันทร์เทศ และน้ำมันข่า ผลการศึกษาพบว่าน้ำมันข่ามีคุณสมบัติในการทำสลบที่เหมาะสมที่สุด จากนั้นศึกษาการสลบและการตอบสนองทางสรีรวิทยาจากความเครียดของปลาบางชนิดหลังทำการสลบด้วยสมุนไพรนาโนเทคโนโลยี โดยแบ่งปลาแบบสุ่มออกเป็น 4 กลุ่ม ในปลาคาร์พ กลุ่มที่ 1 ได้รับสาร MS-222 ในความเข้มข้น 75, 100 และ 125 มก./ลิตร กลุ่มที่ 2 ได้รับน้ำมันข่าในความเข้มข้น 300, 500 และ 700 มก./ลิตร กลุ่มที่ 3 ได้รับน้ำมันข่าไมโครอิมัลชันในความเข้มข้น 200, 300 และ 400 มก./ลิตร กลุ่มที่ 4 ได้รับน้ำมันข่านาโนอิมัลชันในความเข้มข้น 100, 200 และ 300 มก./ลิตร ในปลานิล กลุ่มที่ 1 ได้รับสาร MS-222 ในความเข้มข้น 130, 150 และ 170 มก./ลิตร กลุ่มที่ 2 ได้รับน้ำมันข่าในความเข้มข้น 700, 800 และ 900 มก./ลิตร กลุ่มที่ 3 ได้รับน้ำมันข่าไมโครอิมัลชันในความเข้มข้น 700, 800 และ 900 มก./ลิตร กลุ่มที่ 4 ได้รับน้ำมันข่านาโนอิมัลชันในความเข้มข้น 300, 500 และ 700 มก./ลิตร ผลการศึกษาพบว่าการเหนี่ยวนำการสลบเฉลี่ยในระดับ 3 ภายในเวลาประมาณ 2 นาทีของปลาคาร์พ ประกอบด้วยความเข้มข้น 500 มก./ลิตรของน้ำมันข่า (144.55 ± 18.22 วินาที) 300 มก./ลิตรของน้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน (129.25 ± 14.80 วินาที) และ 200 มก./ลิตรของน้ำมันข่านาโนอิมัลชัน (101.20 ± 10.84 วินาที) ส่วนการเหนี่ยวนำการสลบเฉลี่ยในระดับ 3 ภายในเวลาประมาณ 3 นาทีของปลานิล ประกอบด้วย ความเข้มข้น 800 มก./ลิตรของน้ำมันข่า (189.00 ± 16.69 วินาที), 700 มก./ลิตรของน้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน (209.65 ± 16.70 วินาที) และ 500 มก./ลิตรของน้ำมันข่านาโนอิมัลชัน (207.80 ± 20.54 วินาที) นอกจากนี้ยังพบว่าในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 มีระดับฮอร์โมนคลอดิซอลและระดับกลูโคสในเลือดสูงกว่ากลุ่มที่ถูกทำสลบด้วยน้ำมันข่า น้ำมันข่ารูปแบบไมโครอิมัลชันและน้ำมันข่ารูปแบบนาโนอิมัลชัน ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างทางสถิติของจำนวนเม็ดเลือดขาวและระดับแลคเตทในเลือด สรุปได้ว่าไมโครอิมัลชันและนาโนอิมัลชัน

ของน้ำมันข่าที่ได้มีประสิทธิภาพ ทำให้ระยะเวลาเหนี่ยวนำการสลบน้อยลงกว่าน้ำมันข่าและช่วยลดระดับฮอร์โมนคลอดิซอลในเลือดและระดับกลูโคสในเลือด

The objectives of this study were to evaluate a fish anesthetization of essential oils from various medicinal plants including, sweet-basil oil, tree basil oil, holy basil oil, hairy basil oil, siam cardamom oil, nutmeg oil, mace oil and galangal oil. The results showed that galangal oil was the most suitable anesthetic properties. Then, anesthetization and stress response of some fish were studied after anesthetization with medicinal plant nanotechnology. Fish were randomly divided into 4 groups. In koi carp, group 1 was treated with 75, 100 and 125 mg/l of MS-222, group 2 was treated with 300, 500 and 700 mg/l of galangal oil, group 3 was treated with 200, 300 and 400 mg/l of galangal oil microemulsion and group 4 was treated with 100, 200 and 300 mg/l of galangal oil nanoemulsion. In tilapia, group 1 was treated with 130, 150 and 170 mg/l of MS-222, group 2 was treated with 700, 800 and 900 mg/l of galangal oil, group 3 was treated with 700, 800 and 900 mg/l of galangal oil microemulsion and group 4 was treated with 300, 500 and 700 mg/l of galangal oil nanoemulsion. The results showed that the induction to stage 3 of anesthesia within about 2 min including 500 mg/l of galangal oil (144.55 ± 18.22 sec), 300 mg/l of galangal oil microemulsion (129.25 ± 14.80 sec) and 200 mg/l of galangal oil nanoemulsion (101.20 ± 10.84 sec) for koi carp and the induction to stage 3 of anesthesia within about 3 min including 800 mg/l of galangal oil (189.00 ± 16.69 sec), 700 mg/l of galangal oil microemulsion (209.65 ± 16.70 sec) and 500 mg/l of galangal oil nanoemulsion (207.80 ± 20.54 sec) for tilapia. Moreover, MS-222 anesthetized fish significantly increased plasma cortisol and glucose level ($p < 0.05$) when compared with group 2, group 3 and group 4. However, no significant difference in white blood cell count and plasma lactate in all treatments. In conclusion, microemulsion and nanoemulsion of galangal oil can decrease the induction time of anesthesia which is more effective than galangal oil and also reduce increasing of plasma cortisol and glucose level.

¹ ภาควิชาคลินิกสัตว์บก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โทรศัพท์ 053-948023 โทรสาร 053-948062

² ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โทรศัพท์ 053-948045 โทรสาร 053-948065

คำสำคัญ

น้ำมันหอมระเหย สมุนไพร น้ำมันข่า นาโนอิมัลชัน ไมโครอิมัลชัน การสลบปลา การตอบสนอง
ของความเครียด คอร์ติซอลฮอร์โมน ค่าเคมีในเลือด

Keywords

Essential oil, Medicinal plant, Galangal oil, Nanoemulsion, Microemulsion, Fish
anesthetization, Stress response, Cortisol hormone, Blood chemistry

บทที่ 1

บทนำ

การจับบังคับปลามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากปลาเป็นสัตว์ที่ดิ้นหนีได้ง่ายทำให้การควบคุมโดยใช้มือมีความยุ่งยากและต้องอาศัยความชำนาญ ดังนั้นการจับบังคับปลาอย่างเหมาะสมจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ (Ross and Ross, 1999) ซึ่งการจับบังคับโดยการใช้อาสาสลบมีข้อดีว่าการจับบังคับโดยไม่ใช้อาสาสลบหรืออุปกรณ์ต่างๆ ก็คือช่วยลดการบาดเจ็บและความเครียดซึ่งจะส่งผลต่อสุขภาพปลาและผลผลิตได้ รวมทั้งยังช่วยประหยัดเวลาในการจัดการอีกด้วย (Ross, 2001; Stoskopf, 1993; Cooke et al., 2004) ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) จัดเป็นปลาที่มีความสำคัญในแง่ของการเพาะเลี้ยงเพื่อการบริโภคของไทย ซึ่งในกระบวนการเพาะเลี้ยงจะมีการจับบังคับ เช่น ในช่วงการผสมพันธุ์ หรือการขนส่งลูกปลา ส่วนปลาคาร์พ (*Cyprinus carpio koi*) เป็นปลาสวยงามที่นิยมเลี้ยง มีราคาแพง ซึ่งมักพบปัญหาการป่วยเป็นโรคเสมอในทางคลินิก นอกจากนี้การใช้ปลาความเข้มข้นเล็กน้อยงานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ เช่น ปลาม้าลาย (*Danio rerio*) การจับบังคับควบคุมเพื่อการตรวจร่างกายและรักษาจึงมีความสำคัญ วัตถุประสงค์ในการสลับปลาอาจใช้เพื่อการขนส่งปลาเพื่อลดความเครียด และลดอัตราการตายของปลาก่อนนำไปเลี้ยง อาสาสลบในปลามีอยู่หลายชนิดแตกต่างกันที่ประสิทธิภาพของอาสาสลบ วิธีใช้ผลข้างเคียง และราคา เป็นต้น (Mylonas et al., 2005; Pirhonen and Schreck, 2003) สารไตรเคนมีเทนซัลโฟเนต (Tricaine methanesulfonate; MS-222) มีลักษณะเป็นผงสีขาว ละลายในน้ำได้ดี มีความปลอดภัยสูง ทำให้ปลาเข้าสู่ระยะการสลบและฟื้นสลบได้เร็ว (Ross and Ross, 1999; Treves-Brown, 2000) และเป็นอาสาสลบที่ยอมรับจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา ให้ใช้ในปลาสำหรับการบริโภค (Ross, 2001; Stoskopf, 1993) สารควินอลีน เป็นของเหลวสีเหลือง ไม่ละลายในน้ำ มีกลิ่นฉุน อันตรายต่อผู้ใช้ แต่มีราคาถูกและเป็นที่ยอมรับ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสมุนไพรบางชนิด คือน้ำมันกานพลู (clove oil) ที่สกัดมาจากดอกของต้นกานพลู (*Eugenia aromatica*) มีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือ ยูจีนอล (eugenol) สามารถใช้ควบคุมหรือสลบปลาได้ (Mylonas et al., 2005; Pirhonen and Schreck, 2003) และใช้กันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ (Mylonas et al., 2005; Pirhonen and Schreck, 2003)

จากการสืบค้นข้อมูลทางพืชสมุนไพรไทยพบว่าในพืชสมุนไพรไทยพื้นบ้านหลายชนิดมีสารออกฤทธิ์ หรือ ยูจีนอลและจากการทดสอบเบื้องต้นพบว่าน้ำมันหอมระเหยข่าสามารถใช้สลบปลาได้ นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยข่าให้ต้นทุนในการผลิตที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยกานพลู เนื่องจากข่าเป็นพืชสมุนไพรไทยที่ ปลูกง่าย เจริญเร็ว จึงหาวัตถุดิบได้ง่าย หากต้องเตรียมผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรมซึ่งต้องผลิตในปริมาณมาก จะไม่มีปัญหาด้านวัตถุดิบ นอกจากนั้นข่าทำให้ร้อยละผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยที่ 0.5 (w/w) (เทียบจากน้ำหนักพืชสด) (Pripdeevech et al., 2009) และใช้ระยะเวลาในการกลั่นสั้น (ประมาณ 2 ชั่วโมง) จึงทำให้ประหยัดพลังงานกว่าการกลั่นจากกานพลู ซึ่งต้องใช้เวลากลั่นถึง 10-15 ชั่วโมง จึงจะได้น้ำมันออกมาหมด นอกจากนั้น ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้จากกานพลู ยังมี

ความแปรปรวนมาก ตั้งแต่ 1 ถึง 10% (เทียบจากน้ำหนักพืชแห้ง) เนื่องจากคุณภาพของสมุนไพรกานพลูที่นำเข้าจากแต่ละแหล่งไม่สามารถควบคุมได้ มีผู้ตั้งข้อสังเกตว่า กานพลูที่มีขายในประเทศไทยปัจจุบันนี้ บางแห่งถูกปลอมปนด้วยกากกานพลูที่มีการสกัดน้ำมันออกแล้ว โดยสัดส่วนของการปลอมปนจะแตกต่างกันในกลุ่มผู้ขาย และที่สำคัญกานพลูไม่ได้เป็นพืชสมุนไพรไทย มีความพยายามเพาะปลูกพืชนี้ในไทย แต่ก็ยังไม่ประสบความสำเร็จมากนัก ดังนั้นวัตถุดิบกานพลูจึงต้องนำเข้าจากต่างประเทศแทบทั้งสิ้น ทำให้ประเทศไทยต้องเสียดุลการค้าระหว่างประเทศมากขึ้นหากนำกานพลูมาใช้ ในทางตรงกันข้าม หากใช้น้ำมันจากข่าซึ่งเป็นพืชสมุนไพรไทยมาใช้ นอกจากจะเป็นการลดการนำเข้ากานพลูแล้ว ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่พืชไทยอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามอาจพบฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ของน้ำมันข่าในการสลับปลา เนื่องจากเป็นน้ำมันที่ไม่สามารถละลายลงในน้ำได้ ต้องใช้ตัวทำละลาย ซึ่งตัวทำละลายที่นิยมใช้คือ แอลกอฮอล์ที่ระดับความบริสุทธิ์ต่างๆ อย่างไรก็ตามยาสลับแต่ละชนิดมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน เช่น ในเรื่องของการออกฤทธิ์ ความปลอดภัย รวมทั้งกลไกในการลดความเครียดของปลาให้มากที่สุด หรือแม้กระทั่งราคา น้ำมันข่าสกัดจากพืชสมุนไพรที่หาได้ง่ายในไทย มนุษย์สามารถบริโภคได้ การใช้น้ำมันข่าเพื่อละลายลงในน้ำเพื่อใช้ในการสลับปลาพบว่าต้องใช้ตัวทำละลายในการละลายน้ำมันข่า ได้แก่ แอลกอฮอล์ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพในการสลับได้ รวมทั้งยังมีความยุ่งยากในการใช้ และอาจมีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในการสลับได้ ปัจจุบันนาโนเทคโนโลยีเข้ามามีบทบาทมาก ซึ่งประโยชน์จากเทคโนโลยีดังกล่าว ทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายในการละลายน้ำมันข่าเมื่อใช้สลับปลา อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ได้มากกว่าสารสกัดธรรมดาเนื่องจากอนุภาคมีขนาดเล็กมากในระดับไมครอน ดังนั้นกรอบแนวความคิดในการศึกษารั้วนี้ เพื่อศึกษาถึงผลของน้ำมันข่าในรูปแบบนาโนอิมัลชันและไมโครอิมัลชัน ต่อประสิทธิภาพการสลับรวมถึงการตอบสนองทางสรีระวิทยาของความเครียด โดยเปรียบเทียบผลการศึกษากับยาสลับที่มีราคาแพง ยาสลับที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบันแต่มีอันตรายที่มีวางจำหน่ายในท้องตลาด ซึ่งคณะผู้วิจัยคาดว่าน้ำมันข่าในรูปแบบนาโนอิมัลชันและหรือไมโครอิมัลชัน จะมีประสิทธิภาพและความเหมาะสมในการสลับปลามากที่สุดเมื่อพิจารณาถึงการตอบสนองทางสรีระวิทยาของความเครียด ราคา และความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ทั้งนี้เพื่อเป็นการส่งเสริมให้เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ หันมาใช้ยาสลับในการจับบังคับ รวมทั้งเพื่อการขนส่งเพื่อลดความเสียหายที่เกิดจากการเก็บเกี่ยวผลผลิตอีกด้วย

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาถึงการสลับปลาชนิดต่างๆ ด้วยสารเคมี คือ สารไตรเคน มิเทนซัลโฟเนต น้ำมันข่าที่ต้องใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย รวมทั้งน้ำมันข่าที่ได้พัฒนาในรูปแบบไมโครอิมัลชันและนาโนอิมัลชัน ซึ่งเป็นรูปแบบที่สามารถละลายลงในน้ำได้ทันทีทำให้ง่ายต่อการใช้ อีกทั้งคณะผู้วิจัยเชื่อว่ารูปแบบสารละลายดังกล่าวยังมีผลเสียต่อสุขภาพของปลาน้อยกว่า โดยทำการศึกษาถึงกลไกในการลดความเครียด พฤติกรรมในการสลับ สมรรถนะการเจริญเติบโต เพื่อบ่งบอกถึงยาสลับที่พึงประสงค์มากที่สุด อันจะเป็นการพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของประเทศไทยในอนาคต

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ความเครียดในปลา ส่งผลเสียต่อสุขภาพสัตว์น้ำอย่างมาก ความเครียดเกิดจากการกระตุ้นของปัจจัยภายนอก หรือ stressor ซึ่งได้แก่ คุณภาพน้ำที่ไม่ดี อุณหภูมิในน้ำไม่เหมาะสม หรือการรบกวนจากศัตรู รวมทั้งการจับบังคับของมนุษย์ เมื่อมีความเครียดเกิดขึ้นต่อมใต้สมองจะเกิดการหลั่งฮอร์โมน ACTH (adrenocorticotropin hormone) ในกระแสเลือดทำให้เกิดการสร้างสเตียรอยด์ฮอร์โมน 2 ชนิด คือ ฮอร์โมนคอร์ติซอล และฮอร์โมน catecholamine จากไตส่วนหน้า (Hoskonen and Pirhonen, 2004; Hoskonen and Pirhonen, 2006) การทำงานของฮอร์โมนคอร์ติซอลเกิดจากการทำงานผ่าน glucocorticoid receptor และ mineralocorticoid receptor (Ross, 2001) จากนั้นฮอร์โมนเหล่านี้จะมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของร่างกาย เช่น ระดับกลูโคสในเลือดสูงขึ้น เร่งการสร้างกลูโคสจากสารอื่น รวมทั้งเพิ่มแรงดันเลือดเพื่อให้ร่างกายปรับตัวกับสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไป แต่หากยังมีปัจจัย stressor มากขึ้น จะมีผลเสียต่อร่างกาย คือ ระบบภูมิคุ้มกันทำงานลดลง การเจริญเติบโตหยุดชะงัก (ในปลารุ่น) การกินอาหารลดลง การทำงานของระบบสืบพันธุ์ไม่ดี (ในพ่อ-แม่พันธุ์) ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุโน้มนำของการติดเชื้อในปลาทุกชนิด (Brown, 1993; Wager et al., 2003) ความเครียดของปลาไม่ได้แสดงออกทางภายนอกได้เหมือนสัตว์อื่น ทำให้เกษตรกรและนักวิชาการบางส่วนไม่ได้คำนึงถึงการจับบังคับปลาที่ถูกต้อง เนื่องจากคิดว่าการสลบปลาเป็นสิ่งที่ไม่มีควมจำเป็น ยุ่งยาก เป็นไปไม่ได้ ค่าใช้จ่ายสูง รวมทั้งไม่แน่ใจในความปลอดภัยของยาสลบต่อการบริโภค ซึ่งเป็นไปได้ว่าปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอาจเกิดมาจากสาเหตุโน้มนำดังกล่าว

การสลบปลามีหลายวิธีแต่วิธีที่นิยม คือ การใช้สารเคมี เนื่องจากมีประสิทธิภาพดี วัตถุประสงค์ในการสลบปลามีหลายอย่าง เช่น การซึมเพื่อการขนส่ง การผสมเทียม การฉีดยาและรักษาโรค หรือการผ่าตัด เป็นต้น เมื่อให้ยาสลบลงในน้ำปลาจะแสดงอาการสลบ (Griffiths, 2000; Guenette et al., 2006) โดยแบ่งออกเป็น 4 ระดับ คือ ระดับที่ 1 เพลน 1 (light sedation) ปลายังตอบสนองต่อการมองเห็นและการสัมผัส หายใจปกติและทรงตัวปกติระดับที่ 1 เพลน 2 (light narcosis) ปลายังมีการตื่นตัว หายใจเร็ว เริ่มสูญเสียการทรงตัวแต่ยังพยายามทรงตัว ระดับที่ 2 (deep narcosis) ปลาเริ่มหายใจลดลง เริ่มสูญเสียการทรงตัว กล้ามเนื้อเริ่มหย่อน ตอบสนองต่อการสัมผัสหรือการเคลื่อนไหวที่รุนแรง ระดับที่ 3 เพลน 1 (light anesthesia) กล้ามเนื้อหย่อน การหายใจลดลง ระดับที่ 3 เพลน 2 (surgical anesthesia) ไม่มีการตอบสนองต่างๆ การหายใจช้ามาก อัตราการเต้นของหัวใจช้า ระดับที่ 4 (medullary collapse) ไม่พบการเคลื่อนไหวของแผ่นปิดเหงือก และหัวใจหยุดทำงาน (Stoskopf, 1993) โดยทั่วไปการสลบปลามักทำเพื่อลดความเครียดในขณะขนส่ง หรือการสลบที่ลึกขึ้น (ในระดับ 3 เพลน 2) เพื่อใช้ในการทำงานที่ต้องใช้เวลานาน เช่น การเก็บเลือด การเก็บตัวอย่าง หรือการผสมเทียม เป็นต้น ปลาแต่ละชนิดจะมีการตอบสนองต่อชนิดและความเข้มข้นของยาสลบที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอกตัวปลา เช่น ในปลาคาร์พ

(*Cyprinus carpio koi*) ต้องใช้น้ำมันกานพลูความเข้มข้น 25 - 100 มก./ลิตร แต่ในปลาคออเมริกัน (channel catfish; *Ictalurus punctatus*) ต้องใช้ที่ความเข้มข้น 100 - 150 มก./ลิตร (Ross, 2001)

ข่า หรือชื่อทั่วไป คือ ข่าหลวง ข่าตาแดง มีชื่อสามัญ คือ Galangal และชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Alpinia galanga* เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae เป็นไม้ล้มลุก มีรสขม เผ็ดร้อน ข่า พบปลูกมากในประเทศแถบเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียง จากการศึกษพบว่าสารสำคัญในสารสกัดข่าประกอบไปด้วย 1'-acetoxyChavicol acetate และ 1'-acetoxyeugenol acetate และจากการศึกษาของ Mahae และ Chaiseri, 2009 พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากข่า ที่สกัดด้วยไอน้ำจากข่าสด พบสารออกฤทธิ์สำคัญดังนี้ methyl eugenol จำนวน 4,130.38 ug/g และ eugenol จำนวน 728.30 ug/g จึงมีความเป็นไปได้สูงว่าสามารถมาใช้ในการสลบปลาได้ สารยูจีนอล (eugenol; 4-allyl-2-methoxyphenol) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) (Mylonas et al., 2005; Iversen et al., 2003; Treves-Brown, 1993) มีฤทธิ์ทำให้การเปิด-ปิดของแผ่นปิดเหงือกลดลงโดยลดการทำงานของสมองส่วนเมดัลลา (medulla) ที่ควบคุมการหายใจ ส่งผลให้การเดินของหัวใจลดลงและปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงที่เหงือกลดลง ส่งผลให้เกิดสภาวะ hypoxia ตามมา (Iversen et al., 2003) ส่วน MS-222 หรือ Tricaine methane sulfonate เป็นสารที่คล้ายกับสารเบนโซเคน (Brown, 1993) การที่สารทั้งสองนี้ทำให้ปลาเข้าสู่สภาวะสลบได้นั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าสาร MS 222 มีคุณสมบัติเป็น asphyxiant ซึ่งจะทำให้ร่างกายมีออกซิเจนลดลง และทำให้เกิดสภาวะเมตาโบลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจนตามมา (Stoskopf, 1993)

จากการศึกษาของ Wagner et al., (2002) พบว่าปลาเรนโบว์เทราต์ (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) สามารถสลบได้ถึงระดับ 3 ได้โดยใช้ MS-222 ในความเข้มข้น 60 มก./ลิตร ซึ่งการตอบสนองต่อความเข้มข้นของยาสลบที่แตกต่างกันของปลาแต่ละชนิดอาจเกิดจาก สัดส่วนของพื้นที่เหงือกกับน้ำหนักตัว เนื่องจากเหงือกเป็นอวัยวะสำคัญในดูดซึมและกำจัดยาสลบออก ไขมันในร่างกาย หรือสุขภาพ เป็นต้น (Tsantilas et al., 2005) ส่วนพฤติกรรมในการสลบของกลุ่ม MS-222 มักไม่พบการกระวนกระวายในระหว่างสลบเหมือนกับกลุ่มน้ำมันสมุนไพรเนื่องจากลักษณะของสาร MS-222 สามารถละลายน้ำได้ง่าย ดูดซึมและกำจัดออกที่บริเวณเยื่อเหงือก (Kolanczyk et al., 2003) ได้ดีกว่าน้ำมันสมุนไพรซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันต้องใช้ตัวทำละลายที่เป็นแอลกอฮอล์ก่อนการสลบ ซึ่งอาจส่งผลต่อคุณภาพของการละลายในน้ำได้ จากการรายงานของ Pirhonen and Schreck (2003) พบว่าระยะเวลาการฟื้นสลบของกลุ่มน้ำมันสมุนไพรจะนานกว่ากลุ่ม MS-222 ในปลาคาร์พ และปลาเรนโบว์เทราต์ ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการควบคุมปลาในการทำกิจกรรมต่างๆ เช่น การรีดไข่ หรือการเก็บเลือด เป็นต้น (Mylonas et al., 2005) ส่วนสาร MS-222 จะถูกกำจัดออกได้รวดเร็วกว่า ทำให้ปลาทดลองใช้เวลาในการฟื้นสลบน้อยกว่าน้ำมันสมุนไพร (Ross, 2001; Ross and Ross, 1999)

การเลือกชนิดและความเข้มข้นของยาสลบในอุดมคติ (Ideal anesthetic agent) สำหรับปลานั้นควรมีลักษณะดังนี้ คือ ทำให้ปลาเข้าสู่สภาวะสลบที่ระดับ 3 ภายใน 3 - 5 นาที และมีการฟื้นสลบในช่วงเวลาน้อยกว่า 10 นาที ราคาถูก ไม่มีสารตกค้าง ปลอดภัยกับคนและปลา (Tsantilas et al., 2005; Ross, 2001) แต่

อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของยาสลบดังกล่าว ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของ
ความเครียดในปลาด้วยเพื่อบ่งบอกถึงความเหมาะสมของยาสลบดังกล่าวต่อไป

บทที่ 3

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

1. สัตว์ทดลอง

การเตรียมสัตว์ทดลอง

การใช้ปลาทดลองในการศึกษาครั้งนี้ ได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการจรรยาบรรณสัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เลขที่อนุญาต อ.19/2555 โดยปลาทดลองทุกชนิดจะถูกกักโรคและเลี้ยงภายใต้มาตรฐานการเลี้ยงสัตว์น้ำของห้องปฏิบัติการสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ก. สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาพฤติกรรมการสลบและฟื้นสลบ

ปลาทดลองที่ใช้ในการศึกษานี้ประกอบด้วย กลุ่มปลาสวยงามนำมาจากร้านขายปลาสวยงามในเขตจังหวัดเชียงใหม่ จำนวนชนิดละ 400 ตัว ได้แก่

1. ปลาทอง (*Carassius auratus*) คละเพศ น้ำหนักเฉลี่ย 8.00 ± 0.35 กรัม มีความยาวทั้งหมดเฉลี่ยคือ 7.78 ± 0.36 เซนติเมตร (ภาพที่ 44)
2. ปลาการ์ป (*Cyprinus carpio koi*) คละเพศ น้ำหนักเฉลี่ย 26.36 ± 0.94 กรัม มีความยาวทั้งหมดเฉลี่ยคือ 14.55 ± 0.48 เซนติเมตร (ภาพที่ 45)
3. ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) แปลงเพศ น้ำหนักเฉลี่ย 42.85 ± 2.67 กรัม มีความยาวทั้งหมดเฉลี่ยคือ 14.51 ± 0.54 เซนติเมตร (ภาพที่ 46)



ภาพที่ 44 แสดงปลาทองทดลองสำหรับการศึกษาพฤติกรรมการสลบและฟื้นสลบ



ภาพที่ 45 แสดงปลาคาร์พทดลองสำหรับการศึกษาพฤติกรรมการสลบและฟื้นสลบ



ภาพที่ 46 แสดงปลานิลทดลองสำหรับการศึกษาพฤติกรรมการสลบและฟื้นสลบ

การทดสอบการสลบเบื้องต้นจากสมุนไพรรไทยชนิดต่างๆ โดยใช้ปลาทองกลุ่มละ 10 ตัว ต่อสมุนไพรร 1 ชนิด ที่ในการศึกษาครั้งนี้ โดยใช้กลุ่มละ 10 ตัว

การทดสอบด้วยน้ำมันข่า ปลาทดลองได้แก่ ปลาคาร์พ และปลานิล นำมาสุ่มแบบสมบูรณเพื่อแบ่งปลาทดลองออกเป็น 15 กลุ่มๆละ 20 ตัว ดังนี้

กลุ่มที่ 1 - 3 ปลาทดลองได้รับน้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ (ในอัตราส่วน 1:10) ที่ความเข้มข้นของน้ำมันข่า 3 ระดับในหน่วย มก./ลิตร

กลุ่มที่ 4 - 6 ปลาทดลองได้รับน้ำมันข่าในรูปแบบไมโครอิมัลชันที่ความเข้มข้นของน้ำมันข่า 3 ระดับในหน่วย มก./ลิตร

กลุ่มที่ 7 - 9 ปลาทดลองได้รับน้ำมันข่าในรูปแบบนาโนอิมัลชันสูตร 2 ที่ความเข้มข้นของน้ำมันข่า 3 ระดับในหน่วย มก./ลิตร

ข. สัตว์ทดลองสำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของความเครียดและการตกค้างในเนื้อของปลาทดลอง

1. ปลาคาร์พ คณะเพศ น้ำหนักเฉลี่ย 291.88 ± 13.64 กรัม มีความยาวรวมเฉลี่ยคือ 28.59 ± 0.86 เซนติเมตร
2. ปลานิลแปลงเพศ น้ำหนักเฉลี่ย 545.16 ± 9.17 กรัม มีความยาวรวมเฉลี่ยคือ 29.25 ± 0.47 เซนติเมตร

ค. ลัทธิทดลองสำหรับการซึมเพื่อการขนส่งของลูกปลาทดลองหลังจากได้รับยาสลบชนิดต่างๆ

1. ลูกปลานิลแปลงเพศ อายุประมาณ 40 วัน น้ำหนักเฉลี่ย 1.34 ± 0.07 กรัม มีความยาวรวมเฉลี่ยคือ 4.25 ± 0.22 เซนติเมตร

2. การศึกษาพฤติกรรมระยะเวลาการสลบและระยะเวลาการฟื้นสลบ

แบ่งปลาทดลองออกเป็นกลุ่ม โดยนำปลาทดลองทีละตัวใส่ลงในตู้ปลาสำหรับทำสลบ (Induction tank) ที่มีน้ำกรองสะอาดที่ผ่านการตรวจคุณภาพน้ำปริมาตร 1 ลิตร (ขนาดภาชนะ 10 X 10 X 15.5 เซนติเมตร) จากนั้นนำปลาทดลองลงในบ่อสลบโดยจะบันทึกผลการทดลองครั้งนี้ คือ บันทึกระยะเวลาขณะที่ปลาอยู่ในระดับสลบที่ระดับต่างๆ ตามตารางที่ 83 เป็นวินาที สังเกตพฤติกรรมการว่ายน้ำ และการทรงตัว และการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายนอก คือ ระยะเวลาตั้งแต่ปลาลงบ่อสลบจนกระทั่งปลาสลบอยู่ในระดับ 4 หากปลาทดลองไม่เข้าสู่สภาวะสลบ ที่ระดับ 4 (ตรวจสอบโดยการหนีบโคนครีบทองด้วยปากคีบ ปลาเมื่ออัตราการหายใจลดลง และนอนนิ่งอยู่กับบ่อ) ภายใน 30 นาทีจะถือว่าปลาไม่สามารถเข้าสู่สภาวะสลบได้ และจะนำปลาลงสู่บ่อฟื้นสลบทันที (ตารางที่ 83) (ภาพที่ 47)

นำปลาทดลองที่สลบอยู่ในระดับ 4 ลงสู่ตู้ปลาสำหรับฟื้นสลบ (recovery tank) ที่มีน้ำกรองสะอาด ปริมาตร 5 ลิตร (ภาชนะความเข้มข้น 15.5 X 25.5 X 18 เซนติเมตร) โดยมีการให้ออกซิเจนตลอดเวลา สังเกตและบันทึกผลการทดลองในการฟื้นสลบ ดังนี้ การว่ายน้ำและการทรงตัว และการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายนอก บันทึกระยะเวลาการฟื้นสลบ แต่ละระดับตามตารางที่ 84 เป็นวินาที โดยระดับ 3 เป็นระยะเวลาตั้งแต่ปลาลงถึงฟื้นสลบจนกระทั่งปลาอยู่ในสภาวะปกติ (ตรวจสอบโดยปลาทดลองอยู่ในสภาวะที่สามารถทรงตัวและว่ายน้ำได้ตามปกติ) (ภาพที่ 47)

ตารางที่ 83 แสดงพฤติกรรมของระดับการสลบในปลา (Small, 2003)

ระยะ	คำอธิบาย	การตอบสนองทางพฤติกรรม
1	Sedation	ตอบสนองต่อการกระตุ้นภายนอกลดลง
2	Partial loss of equilibrium	ปลาสูญเสียการทรงตัวบางส่วน ว่ายน้ำไร้ทิศทาง
3	Total loss of equilibrium	ปลาสูญเสียการทรงตัวทั้งหมด อาจหงายท้อง และไม่มี การเคลื่อนที่ของลำตัว ไม่มีการตอบสนองเมื่อใช้ forceps หนีบบริเวณ caudal peduncle
4	Medullary collapse	แผ่นปิดเหงือกไม่ขยับ (ตาย)

ตารางที่ 84 แสดงพฤติกรรมของระดับการฟื้นสลบในปลา (Iwama and Ackerman, 1994)

ระยะ	คำอธิบาย	การตอบสนองทางพฤติกรรม
1	Start of movement	ปลายังคงนอนที่พื้นบ่อ
2	Regular breathing	ตอบสนองต่อการกระตุ้นที่รุนแรง ว่ายน้ำเอียง รักษาสมดุลไม่ได้
3	Total recovery of equilibrium	ตอบสนองต่อการกระตุ้นเล็กน้อย ว่ายน้ำได้ปกติ



ภาพที่ 47 แสดงการศึกษาพฤติกรรมระยะเวลาการสลบและระยะเวลาการฟื้นสลบ
ในปลาทองทดลอง

3. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของความเครียด

เก็บตัวอย่างเลือดจากปลาทดลอง 2 ชนิด คือ ปลานิลและปลาคาร์พ โดยปลาทดลองแบ่งเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 50 ตัว คือ

1. กลุ่มที่ได้รับยาสลบไตรเคนมีเทนซัลโฟเนต (MS-222)
2. กลุ่มที่ได้รับน้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์
3. กลุ่มที่ได้รับน้ำมันข่าในรูปแบบไมโครอิมัลชัน

4. กลุ่มที่ได้รับน้ำมันข้าวในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

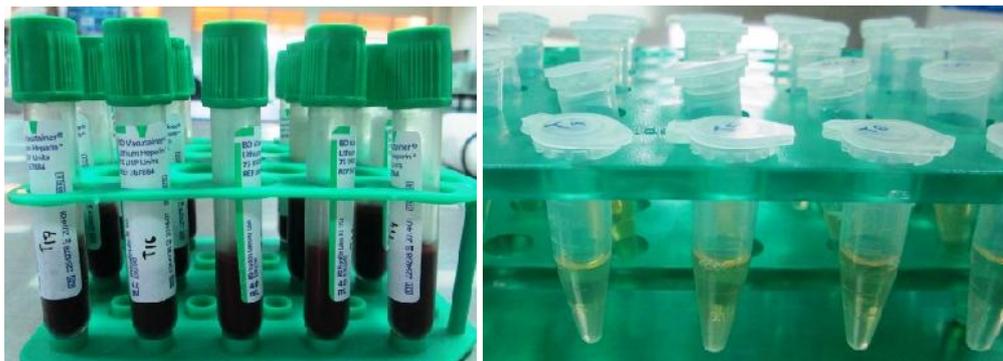
ทำการสลบปลาทดลองจนกระทั่งปลาสลบอยู่ในระดับ 4 จากนั้นทำการเจาะเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำใหญ่ใต้แนวกระดูกสันหลัง (caudal vessel) (ภาพที่ 48 และ 49) ที่บริเวณโคนหาง ณ เวลาที่ 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที (ช่วงเวลาละ 10 ตัว) โดยวิธีการปลอดเชื้อตัวละ 1.5 มิลลิลิตร ใช้เข็มขนาด 21 (1.5 นิ้ว) นำเลือดมา 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดแก้วที่ปลอดเชื้อและมีสารกันเลือดแข็งตัว (anti-coagulant) ชนิด Lithium Heparin^N 75 USP units (BD vacutainer®) บรรจุอยู่ เอียงหลอดกลับไปมาเบาๆเพื่อให้เลือดและสารกันเลือดแข็งตัวผสมกัน จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ 4°C เพื่อการวิเคราะห์ต่อไป แบ่งเลือดมา 0.5 มิลลิลิตร เพื่อเก็บตัวอย่างพลาสมา โดยนำมาปั่นที่ความเร็วประมาณ 3000-3500 รอบต่อนาทีนาน 15 นาที แยกพลาสมาใส่หลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตรปลอดเชื้อ ปิดฝาให้สนิท จากนั้นเก็บตัวอย่างพลาสมาที่ได้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปทำการวิเคราะห์



ภาพที่ 48 แสดงการเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำใหญ่ใต้แนวกระดูกสันหลัง (Caudal vessel) ที่บริเวณโคนหางในปลาการ์ฟ



ภาพที่ 49 แสดงการเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำใหญ่ใต้แนวกระดูกสันหลัง (Caudal vessel) ที่บริเวณโคนหางในปลานิล



ภาพที่ 50 แสดงตัวอย่างเลือดทั้งหมด (whole blood) และซีรัมของปลาทดลอง

เลือดส่วนที่สองจำนวน 0.5 มิลลิลิตร เก็บในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ปลอดภัยที่ไม่มีสารกั้นการแข็งตัวของเลือดเคลือบ ทิ้งให้เลือดแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องใช้เวลาประมาณ 30-60 นาที นำไปปั่นแยกซีรัมที่ความเร็วประมาณ 2500-3000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที จากนั้นนำซีรัมที่ได้เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปตรวจหาฮอร์โมนคอร์ติซอลต่อไป (ภาพที่ 50)

การศึกษาองค์ประกอบเลือดปลา

ทำการศึกษาค้นหาจำนวนเม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell Count, RBC) เม็ดเลือดขาว (White Blood Cell Count, WBC) ค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) และปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit, Hct หรือ packed cell volume, PCV) ตามวิธีของ Kenneth et al. (2003) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ ใช้ปิเปตสำหรับเจือจางเลือด (RBC diluting pipette) ดูดเลือดที่เจาะใหม่ๆ ให้ถึงขีด 0.5 และดูดสาร Yokoyama' fluid ด้วยสายยางเพื่อเจือจางเลือด จนกระทั่งถึงขีด 101 ตรงปลายปิเปต ถอดสายยางออกจากนั้นใช้นิ้วหัวแม่มือกับนิ้วชี้ปิดปลายปิเปตทั้งสองข้างเข้าไปมาในแนวนอนประมาณ 2-3 นาที หยดของเหลวลงบนสไลด์นับเม็ดเลือด (Hemocytometer) ที่มีแผ่นปิดสไลด์ (cover glass) ปิดอยู่นับจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 200 เท่า นำผลที่ได้มาคำนวณหาจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวต่อเลือด 1 ลูกบาศก์มิลลิลิตร ส่วนค่าฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ศึกษาโดยดูการเกิดผลิตภัณฑ์ cyanmethemoglobin ซึ่งแปรผันตรงกับปริมาณฮีโมโกลบิน ด้วยการใช้ Drabkins fluid ผสมกับตัวอย่าง ทิ้ง incubate นาน 3 นาที จากนั้นนำไปวัดด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร อ่านค่าเป็นกรัมต่อเดซิลิตร (g/dl) ส่วนการวัดปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นคือ นำเลือดใส่ในหลอดคาปิลลารีสำหรับหาค่าฮีมาโตคริต (microhaematocrit capillary tube) ประมาณ 3 ใน 4 ของหลอด จำนวน 2 หลอดต่อตัวอย่าง ปิดปลายด้านหนึ่งของหลอดด้วยดินน้ำมัน นำหลอดคาปิลลารีเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องฮีมาโตคริตเซนติฟิวส์ (haematocrit centrifuge) ที่ความเร็ว 10,000-15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที วัดปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วย Micro hematocrit tube reader ค่าที่วัดได้เป็นเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต

การตรวจวัดระดับกลูโคส (plasma glucose)

การตรวจวัดกลูโคสด้วยเครื่องกลูโคมิเตอร์ (Accu-check®, Roche) (ภาพที่ 51) ซึ่งมีหลักการไบโอเซนเซอร์ (biosensor) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์สองชนิด คือ กลูโคสดีไฮโดรจีเนส (glucose dehydrogenase) โดยจะเปลี่ยนกลูโคสในเลือดไปเป็น gluconolactone โดยใช้โคแฟกเตอร์ชนิด pyrroloquinoline quinone (PQQ) เพื่อปลดปล่อยอิเล็กตรอนที่ขั้วอิเล็กโทรดหรือสารมีสีที่แปรตามความเข้มข้นของกลูโคสในเลือด



ภาพที่ 51 แสดงเครื่องตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือด

การวัดระดับแลคเตทในเลือด (plasma lactate)

วิเคราะห์ปริมาณแลคเตทด้วยเครื่องอัตโนมัติ โดยใช้พลาสมาที่แยกได้ใส่ในหลอดเฉพาะที่มีแถบรหัสปริมาตร 4 ไมโครลิตร เครื่องจะผสมสารเคมีและตรวจโดยระบบอัตโนมัติภายในเครื่องเป็นระบบปิดที่มีอ่างน้ำสำหรับ ปรับอุณหภูมิและเครื่องวัดแสงอยู่ภายใน โดยมีหลักการคือ ใช้เอนไซม์ lactate dehydrogenase ที่เปลี่ยน แลคเตทเป็นไพรูเวทโดยมี nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) เป็น coenzyme จากนั้นวัดการดูดกลืนแสงของ NADH ที่เพิ่มขึ้นและมีปริมาณแปรตามปริมาณแลคเตทโดยตรงด้วยเครื่องวัดแสงภายในตัวเครื่องอัตโนมัติที่ความยาวคลื่นแสง 340 นาโนเมตร

การวัดระดับฮอร์โมนคอติซอลในเลือด (Plasma cortisol)

ขั้นตอนและวิธีการตรวจวิเคราะห์ฮอร์โมน

ใช้การตรวจวิเคราะห์ฮอร์โมนด้วยวิธี single direct antibody competitive EIA ตามคู่มือการตรวจห้องปฏิบัติการฮอร์โมนคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ก. ขั้นตอนการหาปริมาณแอนติบอดีและปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม

ทำการเคลือบแอนติบอดีต่อต้านฮอร์โมนคอร์ติซอลในอัตราเจือจางที่เตรียมไว้ ปริมาตรหลุมละ 50 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทชนิด 96 หลุม ยี่ห้อ NUNC (Apogen, Denmark) ปิดเพลทด้วยพลาสติก และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสข้ามคืน เทสารละลายในไมโครเพลททิ้ง ล้างเพลทจำนวน 5 ครั้งด้วยสารละลายสำหรับล้างเพลท (0.15 M NaCl, 0.05% Tween-20) เพื่อให้แอนติบอดีส่วนเกินหลุดออก สกัดน้ำ

ส่วนเกินจากเพลท หลังจากนั้น เติมสารตัวอย่างมาตรฐานที่มีปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลต่ำ หรือสารละลาย บัฟเฟอร์ หลุมละ 50 ไมโครลิตร เปรียบเทียบกับสารตัวอย่างมาตรฐานที่มีปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอล ระดับสูง หรือความเข้มข้น 1,000 นาโนกรัมต่อหลุม หลังจากนั้นใส่ฮอร์โมนคอร์ติซอลที่ติดฉลากด้วย เอนไซม์ (HRP-คอร์ติซอล) ในอัตราส่วนที่เตรียมไว้ หลุมละ 50 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง ล้างด้วยสารละลายสำหรับล้างเพลท จำนวน 5 ครั้ง หลังจากนั้นเป็นการเติมสารทำให้เกิดสีและอ่าน ผล (0.5 M H₂O₂, 40 ไมโครลิตร, ABTS 125 ไมโครลิตร, citrate buffer 12.5 มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 30-60 นาที อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรด้วยเครื่อง ELISA Reader Sunrise (Tecan, ออสเตรีย) (ภาพที่ 52) นำผลไปสร้างกราฟ คัดเลือกอัตราการเจือจาง แอนติบอดี และเอนไซม์ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียง 1.0



ภาพที่ 52 แสดงเครื่อง ELISA Reader

ข. การพัฒนากราฟมาตรฐาน

เคลือบแอนติบอดีต่อต้านฮอร์โมนคอร์ติซอล ในอัตราเจือจางที่เตรียมไว้ปริมาตรหลุมละ 50 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทชนิด 96 หลุม ปิดเพลทด้วยพลาสติก และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซ้ำมคิน เติสารละลายในไมโครเพลททิ้ง ล้างเพลทจำนวน 5 ครั้งด้วยสารละลายสำหรับล้างเพลทเพื่อให้ แอนติบอดีส่วนเกินหลุดออก สลัดน้ำส่วนเกินจากเพลท หลังจากนั้นเติมสารตัวอย่างมาตรฐานที่มีปริมาณ ฮอร์โมนคอร์ติซอล 0, 3.9, 7.8, 15.6, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 พิโคกรัมต่อหลุม หลุมละ 50 ไมโครลิตร หลังจากนั้นใส่ฮอร์โมนคอร์ติซอลที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ (HRP-คอร์ติซอล) ในอัตราส่วนที่ เตรียมไว้ หลุมละ 50 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง ล้างด้วยสารละลายสำหรับล้างเพลท จำนวน 5 ครั้ง หลังจากนั้นเป็นการเติมสารทำให้เกิดสีและอ่านผล ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 30 ถึง 60 นาที อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร นำผลไปสร้างกราฟมาตรฐานจาก ตามความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

ค. ขั้นตอนการทดสอบวิเคราะห์

เป็นการตรวจสอบอัตราความเข้มข้นที่ควรใช้ในการตรวจวัดจากตัวอย่าง สุ่มตัวอย่างจากทั้งหมด หรือนำตัวอย่างทุกตัวอย่าง ปริมาตร 100 ไมโครลิตร มารวมกันเป็นตัวอย่างรวม หลังจากนั้นนำตัวอย่างรวมไปเจือจาง เป็น 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024, 1:2048, 1:4096, 1:8192 โดยการใส่สารละลายบัฟเฟอร์ 200 ไมโครลิตรลงไปก่อนในแต่ละหลอด หลังจากนั้นนำตัวอย่างรวมใส่ลงไปหลอดละ 200 ไมโครลิตร ใส่ลงไปหลอดที่ 1:2 ปั่นให้เข้ากันดี แล้วดูดสารละลายที่ได้ 200 ไมโครลิตรไปใส่ในหลอดที่ 1:4 ทำเหมือนเดิมจนครบทุกหลอด นำตัวอย่างแต่ละความเจือจางไปวัดวิเคราะห์หาระดับฮอร์โมนคอร์ติซอล แล้วนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานในขั้นตอนที่ 2 ค่าเจือจางที่ใช้ในการวัดวิเคราะห์ตัวอย่างสกัดที่เหมาะสม คือ ค่าที่มีร้อยละการจับคู่ (% binding) เท่ากับร้อยละ 50

ง. ขั้นตอนการวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอล

ทำการเคลือบแอนติบอดีต่อต้านฮอร์โมนคอร์ติซอล ในอัตราเจือจางที่คำนวณได้จากขั้นตอนที่ 1 ปริมาตรหลุมละ 50 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทชนิด 96 หลุม ปิดเพลทด้วยพลาสติก และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสข้ามคืน เติสารละลายในไมโครเพลททิ้ง ล้างเพลทจำนวน 5 ครั้งด้วยสารละลายสำหรับล้างเพลทเพื่อให้แอนติบอดีส่วนเกินหลุดออก สกัดน้ำส่วนเกินจากเพลท หลังจากนั้น เติสารตัวอย่างมาตรฐานที่มีปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอล 0, 3.9, 7.8, 15.6, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร หลุมละ 50 ไมโครลิตร หลังจากนั้นใส่ฮอร์โมนคอร์ติซอลที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ (HRP-คอร์ติซอล) ในอัตราส่วนที่คำนวณได้จากขั้นตอนที่ 1 หลุมละ 50 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง ล้างด้วยสารละลายสำหรับล้างเพลท จำนวน 5 ครั้ง หลังจากนั้นเป็นการเติมสารทำให้เกิดสีและอ่านผลปริมาณ 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 30-60 นาที อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร นำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาระดับความเข้มข้นในระดับนาโนกรัมต่อมิลลิลิตรของตัวอย่าง

จ. ขั้นตอนการแปลผล

นำข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ ลงในโปรแกรม Magellan (Tecan, ออสเตรีย) เพื่อคำนวณค่าการดูดกลืนแสงกลับเป็นระดับฮอร์โมนคอร์ติซอล โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาระดับความเข้มข้น ในระดับ ng/ml เนื่องจากคอร์ติซอลจับกับแอนติบอดี ทำให้ HRP จับกับแอนติบอดีได้น้อย ดังนั้นสารละลายซับสเตรตจึงจับกับ HRP ได้น้อยตามไปด้วย สีที่เห็นจึงจางและมีค่าการดูดกลืนแสงต่ำ

5. การตรวจหาการตกค้างของยูจินอลในเนื้อปลานิลทดลองหลังการทำสลบด้วยวิธี Gas Chromatography / Mass Spectrometer (GC / MS)

การเก็บตัวอย่างเนื้อปลา

ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อปลานิลหลังจากการสลบด้วยน้ำมันฆ่า ไมโครอิมัลชันและนาโนอิมัลชันของน้ำมันฆ่า ณ ชั่วโมงที่ 0, 4, 12, 24, และ 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 53) และเก็บตัวอย่างไว้ในอุณหภูมิ 20 องศา

เซลเซียสจนกว่าจะนำมาสกัดและตรวจวิเคราะห์สารตกค้าง ในแต่ละชั่วโมงทำการเก็บตัวอย่างจากปลา จำนวน 3 ตัวอย่าง เพื่อการตรวจวิเคราะห์



ภาพที่ 53 แสดงปลาทดลองที่อยู่ในถังสลับเพื่อใช้ในการศึกษาสารตกค้าง

วิธีการสกัดแยกสารตกค้างจากเนื้อปลา

การสกัดสารตกค้างจากเนื้อปลาใช้วิธี soxhlet extraction (ภาพที่ 54) โดยนำตัวอย่างเนื้อปลาแช่แข็งวางทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเพื่อให้น้ำแข็งละลาย ทำการบดเนื้อปลาให้ละเอียดและชั่งเนื้อปลาแต่ละตัวอย่างประมาณ 10 กรัม โดยนำเนื้อปลาที่ชั่งแล้วบรรจุลงใน extraction thimbles (Whatman™, 41x 123 mm) และผสม anhydrous sodium sulphate (99% purity, Merck) ปริมาณ 2 กรัมลงไปใน thimbles เพื่อช่วยในการดูดซับน้ำ ทำการผสม anhydrous sodium sulphate ให้เข้ากัน ปิดด้านบนของ thimbles ด้วย glass microfibre filter (55 mm, whatman™) ทำการสกัดด้วย dichloromethane ปริมาณ 200 มิลลิลิตร โดยตั้ง sockhet ไว้ใน water bath ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสนาน 8 ชั่วโมง จึงทำการนำ dichloromethane ที่ผ่านการสกัดมาระเหยโดยใช้เครื่องระเหยระบบสูญญากาศ (Eyela Type N-1000, Tokyo Rikakikai Co., LTD.) ให้เหลือปริมาณประมาณ 200 ไมโครลิตรเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography - Mass spectrometry (GC-MS) เพื่อหาปริมาณสารสำคัญซึ่งเป็นสาระสำคัญในน้ำมันข่าโดยเทียบกับ standard curve ของสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นช่วง 0.1-1 มก./มล.

Condition GC

Gas Chromatography system: Agilent 6890 (ภาพ 55)

Detector: Mass Spectrometer (Hewlett-Packard 5973)

Capillary column:

Model number: HP 19091J-433

HP-5 5% Phenyl Methyl Siloxane

Max temperature: 280 °C

Nominal length: 30.0 m

Nominal diameter: 250 μm

Nominal film thickness: 0.25 μm

Mode: Constant flow

Initial flow: 1 ml/min

Nominal init pressure: 8.81 psi

Carrier gas: Helium (99.99% purity), linear velocity: 25 cm/s



ภาพ 54 แสดงวิธีการสกัดแบบ Soxhlet extraction



ภาพ 55 แสดงเครื่อง Gas Chromatography Mass spectrometer (GC-MS)

Method Gas GC

Mode: Splitless mode

Injection volume: 1 μ lOven: Initial temp: 70 $^{\circ}$ CMaximum temp: 280 $^{\circ}$ C

Initial time: 3.00 min

Equilibration time: 0.50 min

Rate	Final temp	Final time
3.00	188	0.00
20.00	280	3.00

Post temp: 0 $^{\circ}$ C

Post time: 0.00 min

Run time: 49.93 min

รายละเอียด และสภาวะการทำงานของเครื่อง GC-MS

Column	Agilent J&W USA [®] 0.25 μ m, 300x0.250mm
Mobile phase	Helium gas (UHP grade)
Flow rate	1.0 ml/min
Injection volume	1 μ l
Run time	49.93 min
Detection	HEWLETT Packard HP [®] Mass Selective Detector

6. การศึกษาการซึมเพื่อการขนส่งของลูกปลาทดลองหลังจากได้รับยาสลบชนิดต่างๆ

แบ่งลูกปลาออกเป็น 12 กลุ่มการทดลอง ดังนี้

กลุ่มที่ 1-3 ได้รับน้ำสะอาด (ที่ความหนาแน่นปลา 100, 150 และ 200 ตัว)

กลุ่มที่ 4-6 น้ำมันข่ากับตัวทำละลายแอลกอฮอล์ในระดับเพื่อการขนส่ง (ที่ความหนาแน่นปลา 100, 150 และ 200 ตัว)

กลุ่มที่ 7-9 น้ำมันข่าในรูปแบบไมโครอิมัลชันในระดับเพื่อการขนส่ง (ที่ความหนาแน่นปลา 100, 150 และ 200 ตัว)

กลุ่มที่ 10-12 น้ำมันข่าในรูปแบบนาโนอิมัลชันในระดับเพื่อการขนส่ง (ที่ความหนาแน่นปลา 100, 150 และ 200 ตัว) และทำการศึกษาดังนี้



ภาพที่ 56 แสดงลูกปลานิลในถุงพลาสติกที่มีน้ำสะอาดและออกซิเจนบริสุทธิ์

โดยใส่ลูกปลานิลในถุงพลาสติกที่มีน้ำสะอาด 4 ลิตรและมีออกซิเจนบริสุทธิ์ 12 ลิตร (ภาพที่ 56) พร้อมเคลื่อนที่ถุงพลาสติกในแนวตั้งและแนวนอนทุก 15-20 นาที เป็นเวลานาน 4 ชั่วโมง (Carneiro et al., 2009) โดยในระหว่างการทดลองหากพบว่าการตายของปลาทดลองมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จะยุติการทดลองทันที จากนั้นทำการตรวจคุณภาพน้ำ ได้แก่ ค่าแอมโมเนีย ไนไตรท์ กรด-เบส และค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และปลาทดลองจะถูกเลี้ยงต่อเป็นเวลา 2 สัปดาห์ สังเกตลักษณะอาการของปลาตลอดการทดลอง

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การศึกษาพฤติกรรมระยะเวลาการสลบและระยะเวลาการฟื้นสลบ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองเชิงเส้นโดยนัยทั่วไป (Generalized linear model) โดยมี Model ดังนี้ ระยะเวลาการสลบ = type + concentration + time + all interaction เมื่อ type = กลุ่มน้ำมันข้าวกับเอทานอลบริสุทธิ์ความเข้มข้นต่างๆ กลุ่มน้ำมันข้าวไมโครอิมัลชันความเข้มข้นต่างๆ และกลุ่มน้ำมันข้าวนาโนอิมัลชันความเข้มข้นต่างๆ, time = ระยะ SII, SIIIa, SIIIb SIV และ ระยะเวลาการฟื้นสลบ, treatment × time = อิทธิพลร่วมระหว่าง treatment และ time, error มีคุณสมบัติ NID (0, σ^2) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างคู่ที่ทำการทดสอบ (Multiple comparison) โดยกำหนดคู่เทียบไว้ล่วงหน้า (preplan) กำหนดระดับนัยสำคัญ = 0.05

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของความเครียด

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองเชิงเส้นโดยนัยทั่วไป (generalized linear model) โดยมี Model ดังนี้ blood parameter = type + concentration + time + all interaction เมื่อ type = กลุ่มน้ำมันข้าวกับเอทานอลบริสุทธิ์ กลุ่มน้ำมันข้าวไมโครอิมัลชัน กลุ่มน้ำมันข้าวนาโนอิมัลชันสูตร และกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222, time = 1, 2, 3, 4, 5, treatment × time = อิทธิพลร่วมระหว่าง treatment และ time, error มีคุณสมบัติ NID (0, σ^2) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างคู่ที่ทำการทดสอบ (multiple comparison) โดยกำหนด

โครงสร้างของความแปรปรวนร่วม (covariance) เป็นแบบ compound symmetry ใช้วิธีการของ bonferroni โดยกำหนดระดับนัยสำคัญ $=0.05$

การตรวจหาการตกค้างของสารสำคัญ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีการสร้างแบบจำลองเชิงเส้นโดยนัยทั่วไป (generalized linear model) โดยมี model ดังนี้ euginal concentration = treatment x time + (treatment + time + error) เมื่อ treatment = กลุ่มน้ำมันข่ากลุ่มต่างๆ Time = ระยะเวลา 0, 2, 4, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง treatment × time = อิทธิพลร่วมระหว่าง treatment และ time, error มีคุณสมบัติ NID (0, σ^2) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างคู่ที่ทำการทดสอบ (multiple comparison) โดยกำหนดคู่เทียบไว้ล่วงหน้า (preplan) และปรับค่าด้วยวิธีการ bonferroni test กำหนดระดับนัยสำคัญ $=0.05$

ในทุกการวิเคราะห์ข้อมูล การวิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรมทางสถิติ R (R Core Team, 2012) โดยเขียนชุดคำสั่งจากแพ็คเกจ nlme (Pinheiro et al., 2012) และแพ็คเกจ contrast (Kuhn et al., 2012)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การศึกษาพฤติกรรมและระยะเวลาการสลบ และพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นสลบ

1.1 การทดสอบฤทธิ์การสลบจากน้ำมันสมุนไพรไทยชนิดต่างๆ

ทำการศึกษาศักยภาพการสลบจากน้ำมันสมุนไพร 8 ชนิด โดยคำนึงถึงระยะเวลาการสลบและการฟื้นสลบที่สั้นที่สุด และปลอดภัยกับปลาทดลอง ใช้ปลาทองทดลองจำนวน 10 ตัว ต่อน้ำมันแต่ละชนิด (N = 10) โดยใช้ในการความเข้มข้น 400 มก.ต่อลิตร ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 85

ตารางที่ 85 แสดงผลการสลบของปลาทดลองจากน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรชนิดต่างๆ (N = 10)

ชนิดน้ำมันหอมระเหย	ระยะเวลาการสลบ (นาที; mean ± sd)	ระยะเวลาการฟื้นสลบ (นาที; mean ± sd)
น้ำมันโหระพา	4.77 ± 0.46	4.70 ± 0.82
น้ำมันยี่ห่วย	4.12 ± 0.70	4.16 ± 0.91
น้ำมันกะเพราขาว	2.37 ± 0.08	7.73 ± 0.73 *
น้ำมันแมงลัก	3.53 ± 0.32	9.02 ± 0.88
น้ำมันกระวาน	8.10 ± 0.39	4.24 ± 0.78
น้ำมันรอกหุ้มเมล็ดจันทร์เทศ	6.16 ± 0.26	4.05 ± 0.28
น้ำมันเมล็ดจันทร์เทศ	4.56 ± 0.41	4.34 ± 1.11
น้ำมันข่า	3.35 ± 1.29	3.47 ± 2.13

* = ปลาตายจำนวน 1 ตัว

ผลการทดลองจากตารางดังกล่าวข้างต้นพบว่าน้ำมันที่ให้ ระยะเวลาการสลบ น้อยที่สุด 3 อันดับแรก คือ น้ำมันกะเพราขาว น้ำมันข่า และน้ำมันแมงลัก โดยให้ ระยะเวลาการสลบ เท่ากับ 2.37 ± 0.08 , 3.35 ± 1.29 และ 3.53 ± 0.32 นาที ตามลำดับ

ส่วนน้ำมันที่ให้ ระยะเวลาการฟื้นสลบ สั้นที่สุดคือสามารถฟื้นสลบได้เร็วที่สุด ได้แก่ น้ำมันข่า โดยให้ ระยะเวลาการฟื้นสลบ เท่ากับ 3.47 ± 2.13 นาที รองลงมาเป็นน้ำมันหลายๆ ชนิดที่ให้ ระยะเวลาการฟื้นสลบ ใกล้เคียงกัน ได้แก่ น้ำมันรอกหุ้มเมล็ดจันทร์เทศ น้ำมันยี่ห่วย น้ำมันกระวาน น้ำมันเมล็ดจันทร์เทศ และน้ำมันโหระพา โดยให้ ระยะเวลาการฟื้นสลบ เท่ากับ 4.05 ± 0.28 , 4.16 ± 0.91 , 4.24 ± 0.78 , 4.34 ± 1.11 และ 4.70 ± 0.82 นาที ตามลำดับ ผลการทดลองยังพบว่าน้ำมันกะเพราขาว และน้ำมันแมงลัก ซึ่งให้ ระยะเวลาการสลบ ดีที่สุด กลับให้ ระยะเวลาการฟื้นสลบ นานที่สุดคือ 9.02 ± 0.88 และ 7.73 ± 0.73 นาที ตามลำดับ น้ำมันกะเพราขาวทำให้ปลาตายจำนวน 1 ตัว หลังจากการฟื้นสลบ สำหรับน้ำมันข่า พบว่าเป็น

น้ำมันที่ทำให้ปลาสลบได้เร็ว และปลาไม่มีอาการกระตุกก่อนสลบ ปลาจึงไม่ทรมาน และภายหลังจากการหยุดให้น้ำมันฆ่า พบว่าปลาสามารถฟื้นได้ว่าเป็นปรกติภายในเวลาเพียง 3.47 ± 2.13 นาที ผลการทดลองนี้เป็นการยืนยันประสิทธิภาพของน้ำมันฆ่าที่สามารถทำให้ปลาสลบได้ดีที่สุด เนื่องจากสามารถทำให้ปลามีพฤติกรรมการสลบเป็นไปตามที่ต้องการ คือสลบได้เร็วและไม่มีอาการผิดปกติ และฟื้นได้เร็วภายหลังจากหยุดการให้สารสลบ

นอกจากนี้ได้นำฆ่าที่ปลุกจากแหล่งต่างๆ ในภาคเหนือ รวมทั้งหมด 3 แหล่ง มาทำการกลั่นสกัดน้ำมันหอมระเหยและเปรียบเทียบฤทธิ์การสลบปลา พบว่าฆ่าจากแหล่งปลุกต่าง ๆ ให้ผลการทดลองคล้ายกัน คือสามารถสลบปลาได้ แต่ประสิทธิภาพต่างกันเล็กน้อย โดยน้ำมันฆ่าจากแหล่งที่ 1, 2 และ 3 ให้ระยะเวลาการสลบ เท่ากับ 3.12 ± 0.22 , 3.35 ± 1.29 และ 4.46 ± 0.55 นาที ตามลำดับ และให้ ระยะเวลาการฟื้นสลบ เท่ากับ 2.68 ± 0.43 , 3.47 ± 2.13 และ 2.34 ± 0.47 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 86 จากผลการทดลองนี้จึงสรุปว่าควรนำฆ่าจากแหล่งที่ 1 มาใช้ในการวิจัยขั้นต่อไป

ตารางที่ 86 เปรียบเทียบผลการสลบปลาของน้ำมันฆ่าจากแหล่งต่าง ๆ (N = 10)

น้ำมันฆ่าจากแหล่งต่างๆ	ระยะเวลาการสลบ (นาที; mean \pm sd)	ระยะเวลาการฟื้นสลบ (นาที; mean \pm sd)
แหล่งที่ 1	3.12 ± 0.22	2.68 ± 0.43
แหล่งที่ 2	3.35 ± 1.29	3.47 ± 2.13
แหล่งที่ 3	4.46 ± 0.55	2.34 ± 0.47

1.2 การศึกษาพฤติกรรมและระยะเวลาการสลบ และพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นสลบในปลาการ์

พทดลอง

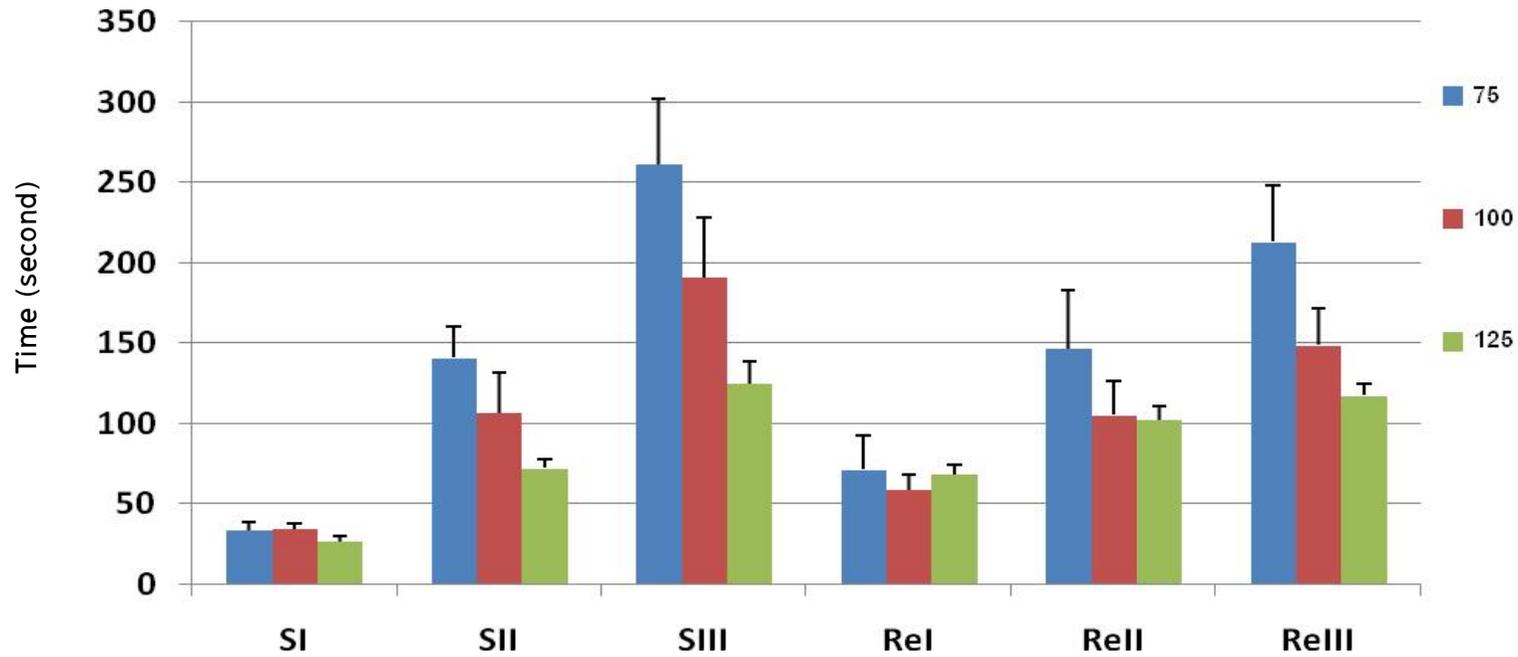
ทำการศึกษาดังชนิดของยาสลบชนิดต่างๆ ได้แก่ สาร MS-222, น้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์, น้ำมันฆ่ารูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันฆ่ารูปแบบนาโนอิมัลชัน โดยทำการศึกษาใน 3 ความเข้มข้นของยาสลบชนิดต่างๆ คือ ระดับต่ำ ระดับกลาง และระดับสูง แสดงดังตารางที่ 87

ตารางที่ 87 แสดงความเข้มข้นของยาสลบชนิดต่างๆ ในปลาการ์พ

ชนิดปลาทดลอง	ระดับต่ำ (มก.ต่อลิตร)	ระดับกลาง (มก.ต่อลิตร)	ระดับสูง (มก.ต่อลิตร)
สาร MS-222	75	100	125
น้ำมันฆ่า	300	500	700
น้ำมันฆ่าไมโครอิมัลชัน	200	300	400
น้ำมันฆ่านาโนอิมัลชัน	100	200	300

พฤติกรรมและระยะเวลาการสลบ และพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นสลบของสาร MS-222 ในปลา คาร์พ

การศึกษาพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลบเฉลี่ยของระดับ 3 ของสาร MS-222 ความเข้มข้น 75 มก./ลิตร, 100 มก./ลิตร และ 125 มก./ลิตร เป็น 261.13 ± 40.61 วินาที, 190.80 ± 37.37 วินาที และ 124.85 ± 13.57 วินาที ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 57 และตารางที่ 88 โดยพบว่าเมื่อใช้สาร MS-222 ในความเข้มข้นสูงขึ้นไปจะทำให้ระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลบสั้นลง อย่างไรก็ตามพบว่าระยะเวลาการฟื้นสลบเฉลี่ยที่ระดับ 3 ของทุกระดับความเข้มข้นมีค่าใกล้เคียงกับระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลบ คือ สาร MS-222 ความเข้มข้น 75 มก./ลิตร, 100 มก./ลิตร และ 125 มก./ลิตร เป็น 213.17 ± 34.99 วินาที, 148.90 ± 22.45 วินาที และ 117.55 ± 7.01 วินาที ตามลำดับ



ภาพที่ 57 กราฟแสดงระยะเวลาการสลายและพื้นที่สลายเฉลี่ยของปลาการ์ตูนที่ได้รับสาร MS-222 ในความเข้มข้นต่างๆ

75 = ได้รับสาร MS-222 ความเข้มข้น 75 มก./ ลิตร, 100 = ได้รับสาร MS-222 ความเข้มข้น 100 มก./ ลิตร และ 125 = ได้รับสาร MS-222 ความเข้มข้น 125 มก./ ลิตร
(ระยะเวลาการสลาย; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการฟื้นฟู; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII= ระดับ 3)

ตารางที่ 88 แสดงระยะเวลาการสลับและพื้นสลับเฉลี่ยในปลาการ์ฟที่ได้รับสาร MS-222 ในความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)			ระยะเวลาการพื้นสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
75 มก./ลิตร	33.65 \pm 5.22	140.91 \pm 19.64	261.13 \pm 40.61	71.65 \pm 20.71	146.61 \pm 36.21	213.17 \pm 34.99
100 มก./ลิตร	34.35 \pm 3.73	106.80 \pm 24.78	190.80 \pm 37.37	59.10 \pm 9.54	105.45 \pm 20.70	148.90 \pm 22.45
125 มก./ลิตร	26.5 \pm 3.94	72.45 \pm 5.71	124.85 \pm 13.57	68.35 \pm 6.39	102.10 \pm 9.05	117.55 \pm 7.01

พฤติกรรมและระยะเวลาการสลับ และพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นฟูของน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ น้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันข้าวรูปแบบนาโนอิมัลชันในปลาแคร์พ

การศึกษาในขั้นตอนนี้ แสดงผลการทดลองในภาพที่ 58-60 และตารางที่ 89-91 พบว่าความเข้มข้นระดับต่ำของน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ น้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันข้าวรูปแบบนาโนอิมัลชัน เป็น 300 มก.ต่อลิตร 200 มก.ต่อลิตร และ 100 มก.ต่อลิตร โดยพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 เป็น 230.90 ± 18.29 วินาที 231.60 ± 29.61 วินาที และ 338.95 ± 33.87 วินาที ตามลำดับ โดยพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของทุกระดับของน้ำมันข้าวรูปแบบนาโนอิมัลชันนานกว่า น้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์และน้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชัน ($p < 0.05$) ส่วนระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยทุกระดับของกลุ่มน้ำมันข้าวในรูปแบบนาโนอิมัลชันมีแนวโน้มสั้นกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ($p < 0.05$) โดยระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยของระดับ 3 ในกลุ่มน้ำมันข้าวรูปแบบนาโนอิมัลชัน เท่ากับ 190.40 ± 25.69 วินาที

ความเข้มข้นระดับกลางของน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ น้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันข้าวรูปแบบนาโนอิมัลชัน เป็น 500 มก.ต่อลิตร 300 มก.ต่อลิตร และ 200 มก.ต่อลิตร โดยพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 เป็น 144.55 ± 18.12 วินาที 129.25 ± 14.80 วินาที และ 239.45 ± 31.93 วินาที ตามลำดับ โดยพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 2 และระดับ 3 ของน้ำมันข้าวรูปแบบนาโนอิมัลชันนานกว่าน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์และน้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชัน ($p < 0.05$) ส่วนระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยทุกระดับของกลุ่มน้ำมันข้าวในรูปแบบนาโนอิมัลชันและน้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชันมีแนวโน้มสั้นกว่ากลุ่มน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ($p < 0.05$) โดยระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยของระดับ 3 ของกลุ่มน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ นานที่สุด เท่ากับ 378.70 ± 17.09 วินาที

ความเข้มข้นระดับสูงของน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ น้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันข้าวรูปแบบนาโนอิมัลชัน เป็น 700 มก.ต่อลิตร 400 มก.ต่อลิตร และ 300 มก.ต่อลิตร โดยพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 เป็น 103.75 ± 13.93 วินาที 110.70 ± 21.00 วินาที และ 101.20 ± 10.84 วินาที ตามลำดับ โดยพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 ของกลุ่มน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ น้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชัน และระดับของน้ำมันข้าวรูปแบบนาโนอิมัลชันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่กลุ่มน้ำมันข้าวรูปแบบนาโนอิมัลชันมีแนวโน้มสั้นกว่า ส่วนระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยทุกระดับของน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์นานกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ($p < 0.05$) โดยระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยของระดับ 3 นานที่สุดของกลุ่มน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์เท่ากับ 418.85 ± 14.52 วินาที

ตารางที่ 89 แสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยในปลาคาร์พที่ได้รับน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ในความเข้มข้นต่างๆ

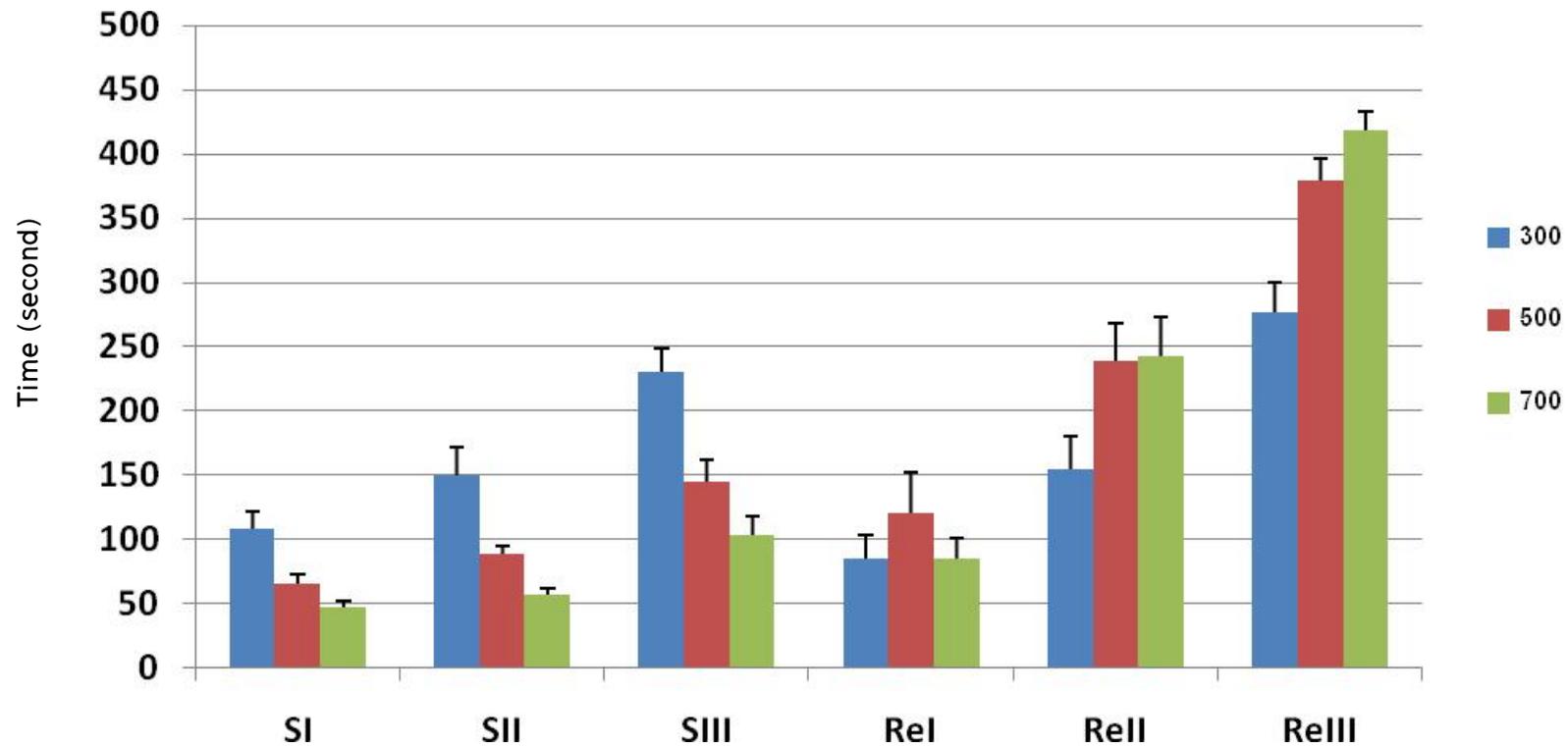
ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)			ระยะเวลาการฟื้นฟูสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
300 มก./ลิตร	108.70 \pm 12.79	149.90 \pm 21.63	230.90 \pm 18.29	85.85 \pm 17.23	155.15 \pm 24.73	276.80 \pm 23.24
500 มก./ลิตร	66.15 \pm 6.69	88.55 \pm 6.48	144.55 \pm 18.12	120.60 \pm 32.24	238.55 \pm 29.23	378.70 \pm 17.09
700 มก./ลิตร	47.00 \pm 5.04	57.55 \pm 4.63	103.75 \pm 13.93	84.85 \pm 15.71	242.75 \pm 30.42	418.85 \pm 14.52

ตารางที่ 90 แสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยในปลาคาร์พที่ได้รับน้ำมันข้าวในรูปแบบไมโครอิมัลชันในความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)			ระยะเวลาการฟื้นฟูสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
200 มก./ลิตร	68.60 \pm 10.67	133.95 \pm 11.15	231.60 \pm 29.61	34.60 \pm 8.27	133.05 \pm 19.06	274.10 \pm 19.04
300 มก./ลิตร	57.05 \pm 13.98	83.05 \pm 14.67	129.25 \pm 14.80	30.55 \pm 5.85	138.55 \pm 17.80	273.50 \pm 30.35
400 มก./ลิตร	53.40 \pm 8.47	79.95 \pm 8.62	110.70 \pm 21.00	38.45 \pm 6.10	140.80 \pm 20.59	269.70 \pm 37.77

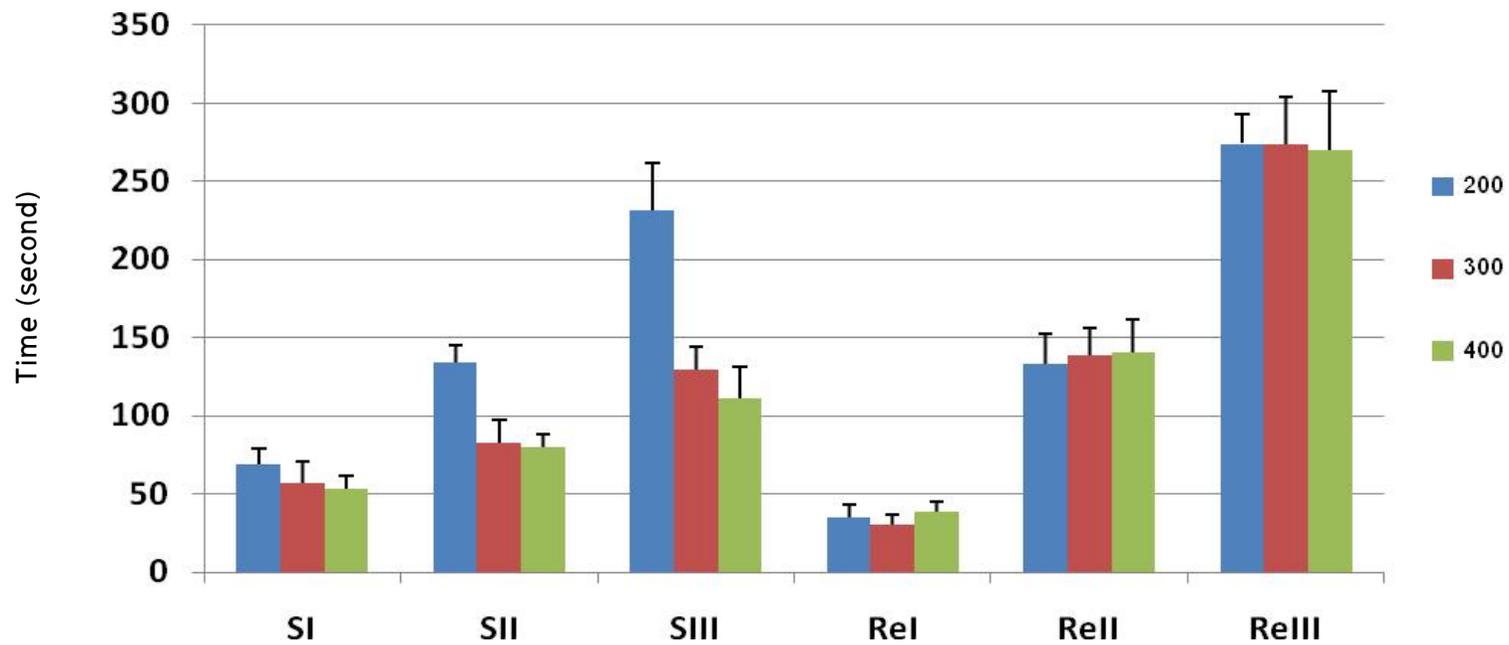
ตารางที่ 91 แสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยในปลาคาร์พที่ได้รับน้ำมันข้าวในรูปแบบนาโนอิมัลชันในความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)			ระยะเวลาการฟื้นฟูสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
100 มก./ลิตร	81.25 \pm 8.40	227.15 \pm 23.52	338.95 \pm 33.87	26.25 \pm 8.55	85.80 \pm 9.01	190.40 \pm 25.69
200 มก./ลิตร	73.20 \pm 9.69	138.65 \pm 16.02	239.45 \pm 31.93	25.80 \pm 8.03	123.90 \pm 15.86	278.45 \pm 25.64
300 มก./ลิตร	56.75 \pm 6.91	77.00 \pm 9.74	101.20 \pm 10.84	51.25 \pm 10.29	152.15 \pm 15.61	283.30 \pm 33.64



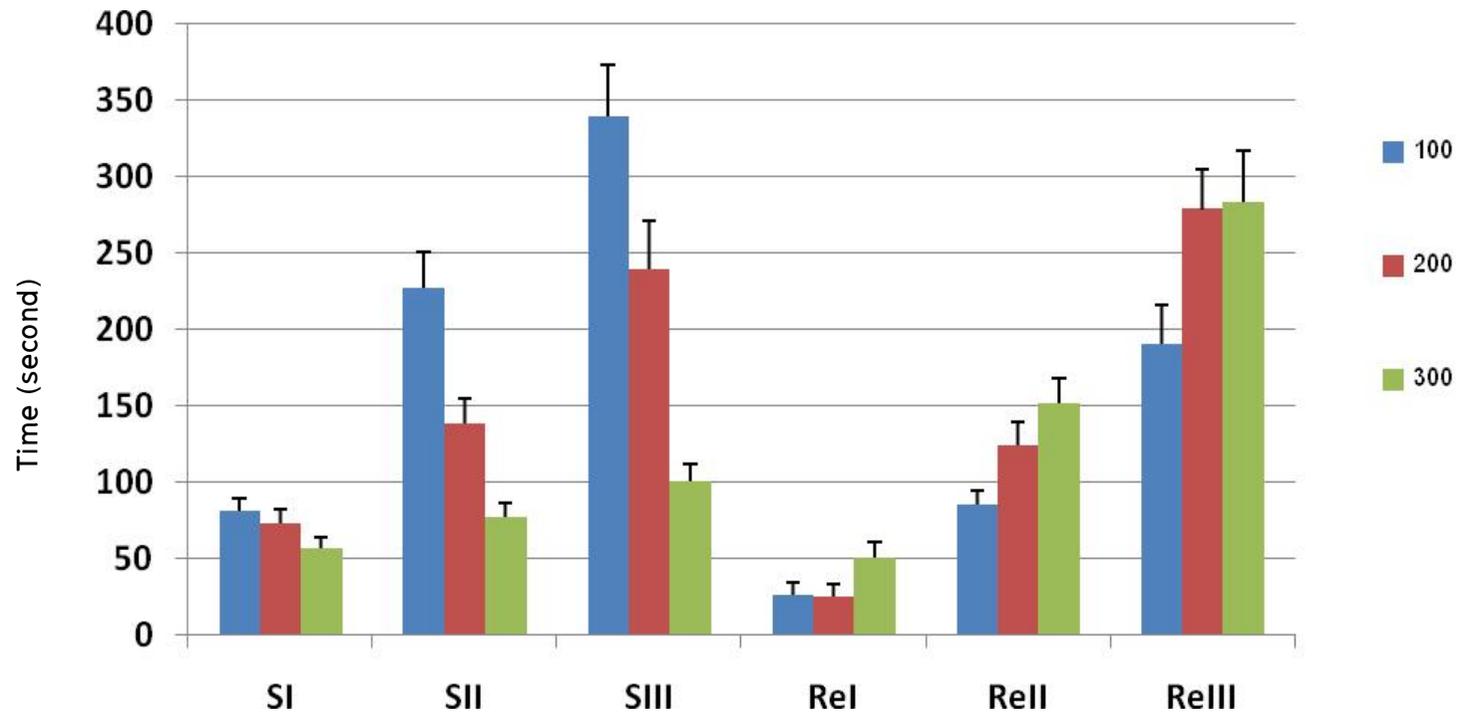
ภาพที่ 58 กราฟแสดงระยะเวลาการสลับและพื้นสลับเฉลี่ยของปลาการ์ตูนที่ได้รับน้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ในความเข้มข้นต่างๆ

300 = ได้รับน้ำมันฆ่า ความเข้มข้น 300 มก./ ลิตร, 500 = ได้รับน้ำมันฆ่า ความเข้มข้น 500 มก./ ลิตร และ 700 = ได้รับน้ำมันฆ่า ความเข้มข้น 700 มก./ ลิตร
(ระยะเวลาการสลับ; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการพื้นสลับ; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII = ระดับ 3)



ภาพที่ 59 กราฟแสดงระยะเวลาการสลับและพื้นสลับเฉลี่ยของปลาการ์ตูนที่ได้รับน้ำมันฆ่าไมโครอิมัลชันในความเข้มข้นต่างๆ

200 = ได้รับน้ำมันฆ่าไมโครอิมัลชัน ความเข้มข้น 200 มก./ ลิตร, 300 = ได้รับน้ำมันฆ่าไมโครอิมัลชัน ความเข้มข้น 300 มก./ ลิตร และ 400 = ได้รับน้ำมันฆ่าไมโครอิมัลชัน ความเข้มข้น 400 มก./ ลิตร (ระยะเวลาการสลับ; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการพื้นสลับ; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII = ระดับ 3)



ภาพที่ 60 กราฟแสดงระยะเวลาการสลับและพื้นสลับเฉลี่ยของปลาการ์ปที่ได้รับน้ำมันฆ่าในรูปแบบนาโนอิมัลชันในความเข้มข้นต่างๆ

100 = ได้รับน้ำมันฆ่านาโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 100 มก./ ลิตร, 200 = ได้รับน้ำมันฆ่านาโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 200 มก./ ลิตร และ 300 = ได้รับน้ำมันฆ่านาโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 300 มก./ ลิตร (ระยะเวลาการสลับ; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการพื้นสลับ; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII = ระดับ 3)

1.2 การศึกษาพฤติกรรมและระยะเวลาการสลับและพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นสลับในปลานิล

ทดลอง

ทำการศึกษถึงชนิดของยาสลับชนิดต่างๆ ได้แก่ สาร MS-222, น้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์, น้ำมันฆ่ารูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันฆ่ารูปแบบนาโนอิมัลชัน โดยทำการศึกษาใน 3 ความเข้มข้นความเข้มข้นของยาสลับชนิดต่างๆ คือ ระดับต่ำ ระดับกลาง และระดับสูง แสดงดังตารางที่ 92

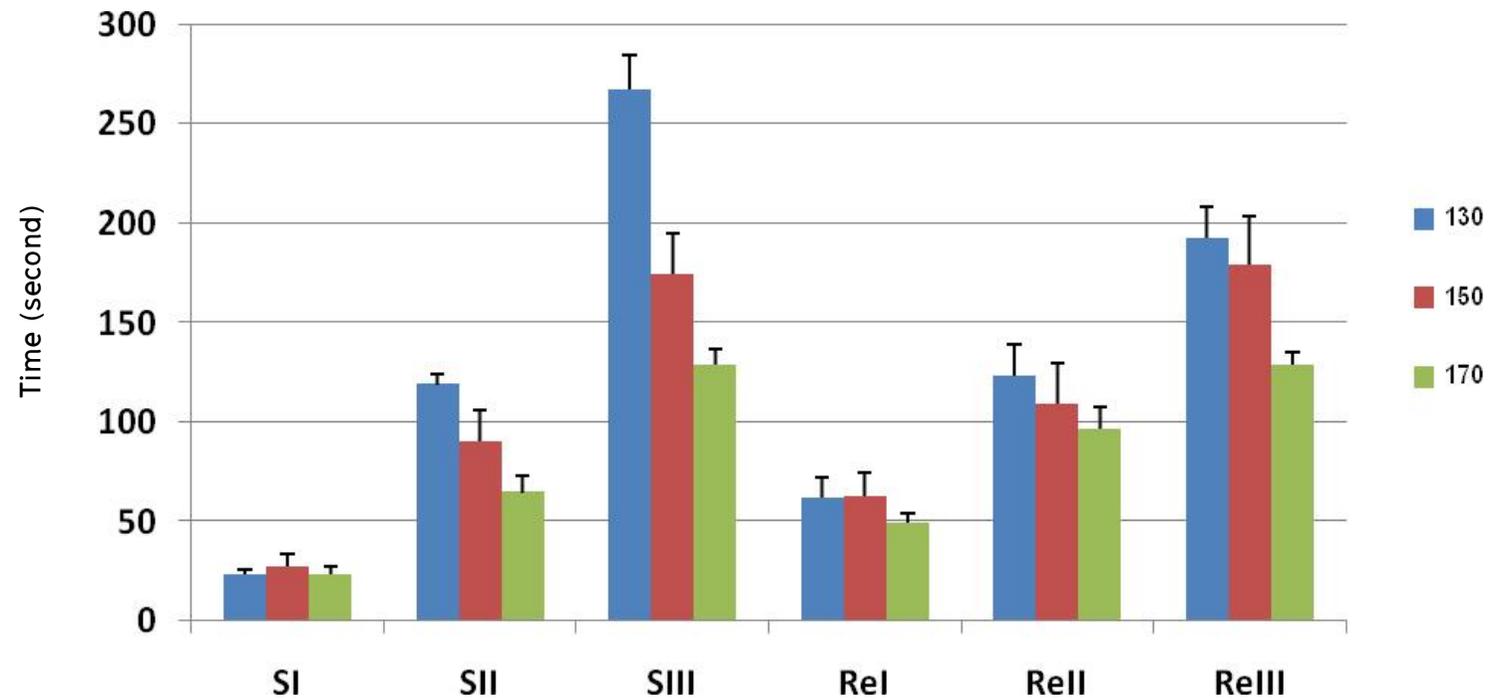
ตารางที่ 92 แสดงความเข้มข้นของยาสลับชนิดต่างๆ ในปลานิล

ชนิดปลาทดลอง	ระดับต่ำ (มก.ต่อลิตร)	ระดับกลาง (มก.ต่อลิตร)	ระดับสูง (มก.ต่อลิตร)
สาร MS-222	130	150	170
น้ำมันฆ่า	700	800	900
น้ำมันฆ่าไมโครอิมัลชัน	700	800	900
น้ำมันฆ่านาโนอิมัลชัน	300	500	700

พฤติกรรมและระยะเวลาการสลับ และพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นสลับของสาร MS-222 ในปลานิลทดลอง

นิททดลอง

ผลการทดลองในขั้นตอนนี้แสดงในภาพที่ 61 และตารางที่ 93 ซึ่งพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 ของสาร MS-222 ความเข้มข้น 130 มก./ลิตร, 150 มก./ลิตร และ 170 มก./ลิตร เป็น 267.05 ± 17.69 วินาที, 174.45 ± 20.79 วินาที และ 129.05 ± 8.06 วินาที ตามลำดับ โดยพบว่าเมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้นของสาร MS-222 จะทำให้ระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับสั้นลง ส่วนระยะเวลาการฟื้นสลับเฉลี่ยที่ระดับ 3 ของทุกระดับความเข้มข้นมีเท่ากับ คือ สาร MS-222 ความเข้มข้น 75 มก./ลิตร, 100 มก./ลิตร และ 125 มก./ลิตร เป็น 192.45 ± 15.71 วินาที, 179.40 ± 24.50 วินาที และ 129.10 ± 5.96 วินาที ตามลำดับ โดยเมื่อมีความเข้มข้นสาร MS-222 สูงขึ้นจะมีระยะเวลาการฟื้นสลับเฉลี่ยที่สั้นลง



ภาพที่ 61 กราฟแสดงระยะเวลาการสลับและพื้นสลับเฉลี่ยของปลานิลที่ได้รับสาร MS-222 ในความเข้มข้นต่างๆ

130 = ได้รับสาร MS-222 ความเข้มข้น 130 มก./ ลิตร, 150 = ได้รับสาร MS-222 ความเข้มข้น 150 มก./ ลิตร และ 170 = ได้รับสาร MS-222 ความเข้มข้น 170 มก./ ลิตร
(ระยะเวลาการสลับ; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการพื้นสลับ; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII = ระดับ 3)

ตารางที่ 93 แสดงระยะเวลาการสลบและฟื้นสลบเฉลี่ยในปลาชนิดที่ได้รับสาร MS-222 ในความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลบเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)			ระยะเวลาการฟื้นสลบเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
130 มก./ลิตร	23.20 \pm 2.73	119.00 \pm 5.53	267.05 \pm 17.69	61.75 \pm 10.33	123.30 \pm 16.17	192.45 \pm 15.71
150 มก./ลิตร	27.45 \pm 6.57	90.55 \pm 15.37	174.45 \pm 20.79	62.90 \pm 11.61	109.15 \pm 20.73	179.40 \pm 24.50
170 มก./ลิตร	23.20 \pm 4.06	64.80 \pm 8.64	129.05 \pm 8.06	49.15 \pm 5.01	96.40 \pm 11.33	129.10 \pm 5.96

พฤติกรรมและระยะเวลาการสลับ และพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นฟูของน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ น้ำมันข้ารูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันข้ารูปแบบนาโนอิมัลชันในปลาฉลาม

ผลการศึกษาในขั้นตอนนี้แสดงในภาพที่ 62 ถึงภาพที่ 64 และตารางที่ 94 ถึงตารางที่ 96 พบว่าความเข้มข้นระดับต่ำของน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ น้ำมันข้ารูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันข้ารูปแบบนาโนอิมัลชัน เป็น 300 มก.ต่อลิตร 200 มก.ต่อลิตร และ 100 มก.ต่อลิตร และพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 เป็น 256.90 ± 19.11 วินาที 209.65 ± 16.70 วินาที และ 244.00 ± 23.73 วินาที ตามลำดับ โดยพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของทุกระดับของน้ำมันข้ารูปแบบไมโครอิมัลชันเร็วกว่าน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์และน้ำมันข้ารูปแบบนาโนอิมัลชัน ($P < 0.05$) ส่วนระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยทุกระดับของกลุ่มน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์มีแนวโน้มมากกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ($p < 0.05$) โดยระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยของระดับ 3 ในกลุ่มน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ เท่ากับ 437.80 ± 21.12 วินาที

ความเข้มข้นระดับกลางของน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ น้ำมันข้ารูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันข้ารูปแบบนาโนอิมัลชัน เป็น 500 มก.ต่อลิตร 300 มก.ต่อลิตร และ 200 มก.ต่อลิตร พบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 เป็น 189.00 ± 16.69 วินาที 206.75 ± 21.47 วินาที และ 207.80 ± 20.54 วินาที ตามลำดับ โดยพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 2 ของน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ เร็วกว่าทุกกลุ่ม ($p < 0.05$) แต่เมื่อเข้าสู่ระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 ของทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยของระดับ 1 และ ระดับ 2 ของกลุ่มน้ำมันข้าในรูปแบบนาโนอิมัลชันและน้ำมันข้ารูปแบบไมโครอิมัลชันมีแนวโน้มสั้นกว่ากลุ่มน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ($p < 0.05$) ส่วนระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยของระดับ 3 ของกลุ่มน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์นานที่สุด เท่ากับ 553.75 ± 20.15 วินาที ความเข้มข้นระดับสูงของน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ น้ำมันข้ารูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันข้ารูปแบบนาโนอิมัลชัน เป็น 700 มก.ต่อลิตร 400 มก.ต่อลิตร และ 300 มก.ต่อลิตร โดยพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 เป็น 150.80 ± 14.20 วินาที 206.00 ± 12.06 วินาที และ 152.00 ± 10.63 วินาที ตามลำดับ พบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 2 และระดับ 3 ของกลุ่มน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์และน้ำมันข้ารูปแบบนาโนอิมัลชันเร็วกว่าน้ำมันข้ารูปแบบไมโครอิมัลชัน ($p < 0.05$) ส่วนระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยทุกระดับของน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์นานกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ($p < 0.05$) โดยระยะเวลาการฟื้นฟูเฉลี่ยของระดับ 3 นานที่สุดของกลุ่มน้ำมันข้าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์เท่ากับ 537.70 ± 35.43 วินาที

ตารางที่ 94 แสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยในปลานิลที่ได้รับน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ในความเข้มข้นต่างๆ

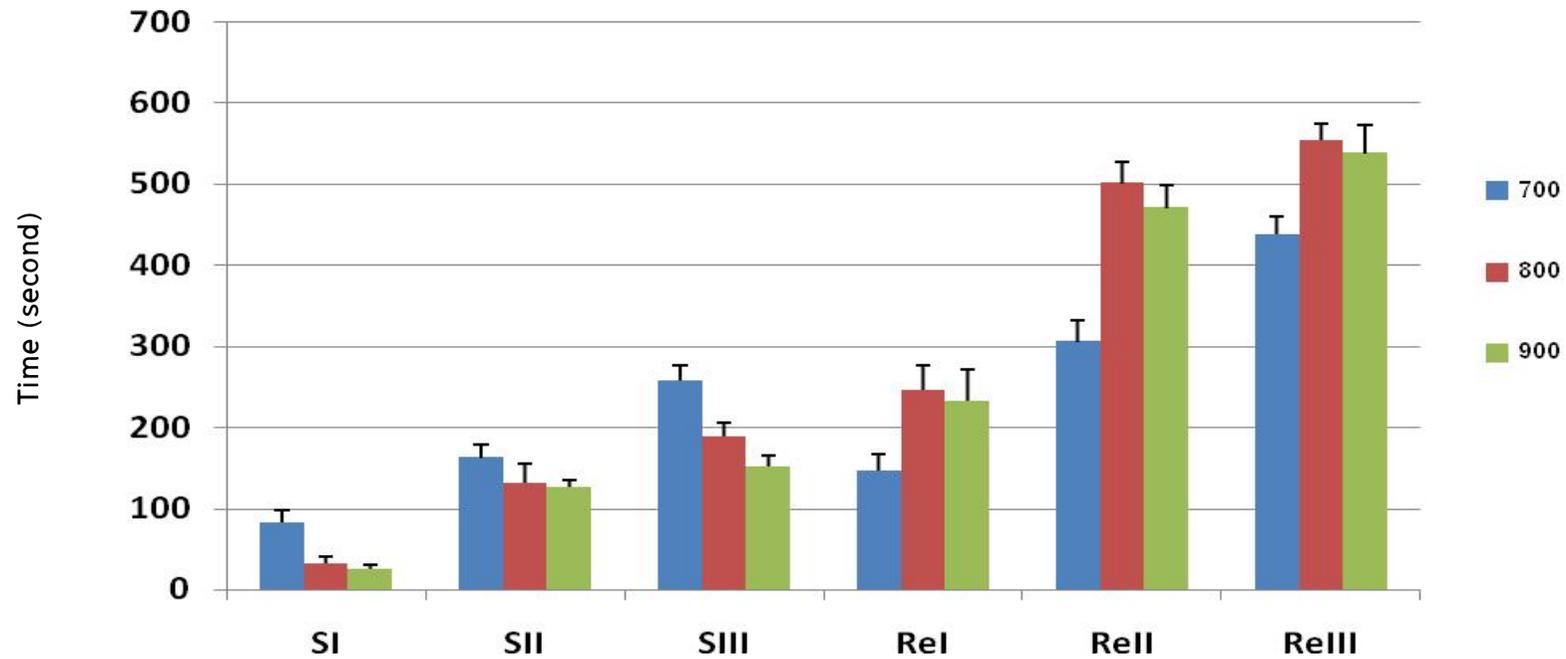
ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)			ระยะเวลาการฟื้นฟูสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
700 มก./ลิตร	82.40 \pm 15.32	162.40 \pm 15.44	256.90 \pm 19.11	146.80 \pm 20.74	305.65 \pm 25.75	437.80 \pm 21.12
800 มก./ลิตร	32.10 \pm 8.87	132.00 \pm 22.85	189.00 \pm 16.69	245.60 \pm 30.47	500.70 \pm 27.18	553.75 \pm 20.15
900 มก./ลิตร	25.40 \pm 4.42	125.65 \pm 8.36	150.80 \pm 14.20	233.05 \pm 37.77	470.65 \pm 28.27	537.70 \pm 35.43

ตารางที่ 95 แสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยในปลานิลที่ได้รับน้ำมันข้าวในรูปแบบไมโครอิมัลชันในความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)			ระยะเวลาการฟื้นฟูสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
700 มก./ลิตร	26.90 \pm 5.03	156.65 \pm 17.74	209.65 \pm 16.70	38.35 \pm 7.26	238.90 \pm 27.87	319.65 \pm 24.64
800 มก./ลิตร	18.40 \pm 4.49	172.95 \pm 29.35	206.75 \pm 21.47	89.30 \pm 22.10	262.20 \pm 61.74	427.35 \pm 60.27
900 มก./ลิตร	10.90 \pm 2.00	193.10 \pm 11.57	206.00 \pm 12.06	213.50 \pm 31.41	406.20 \pm 23.59	465.95 \pm 26.33

ตารางที่ 96 แสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยในปลานิลที่ได้รับน้ำมันข้าวในรูปแบบนาโนอิมัลชันในความเข้มข้นต่างๆ

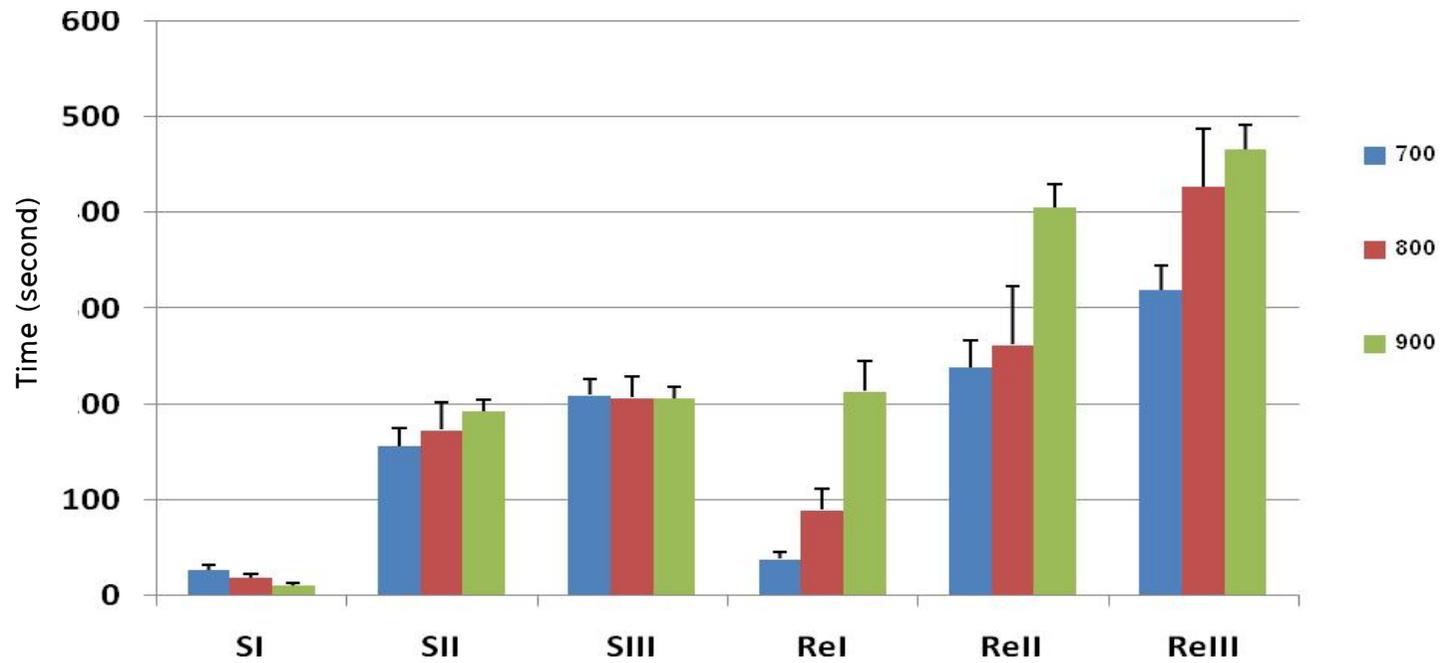
ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)			ระยะเวลาการฟื้นฟูสลับเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
300 มก./ลิตร	30.00 \pm 5.98	215.35 \pm 28.91	244.00 \pm 23.73	169.30 \pm 37.04	247.40 \pm 36.72	353.30 \pm 29.12
500 มก./ลิตร	22.65 \pm 5.05	195.45 \pm 19.27	207.80 \pm 20.54	189.00 \pm 20.44	305.95 \pm 32.35	420.80 \pm 36.56
700 มก./ลิตร	18.55 \pm 3.33	140.35 \pm 11.81	152.00 \pm 10.63	169.50 \pm 16.74	348.50 \pm 26.84	436.30 \pm 25.91



ภาพที่ 62 กราฟแสดงระยะเวลาการสลับและพื้นสลับเฉลี่ยของปลานิลที่ได้รับน้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ในความเข้มข้นต่างๆ

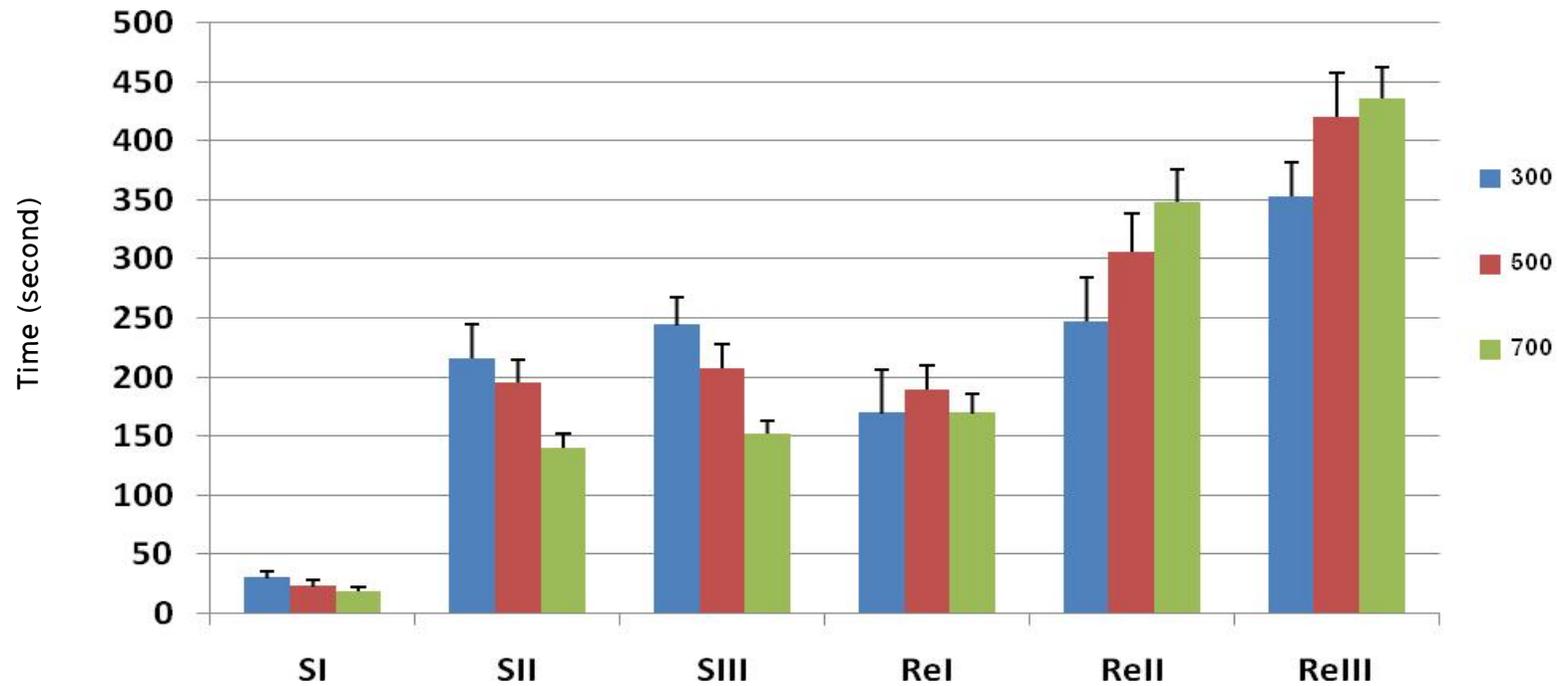
700 = ได้รับน้ำมันฆ่า ความเข้มข้น 700 มก./ ลิตร, 800 = ได้รับน้ำมันฆ่า ความเข้มข้น 800 มก./ ลิตร และ 900 = ได้รับน้ำมันฆ่า ความเข้มข้น 900 มก./ ลิตร

(ระยะเวลาการสลับ; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการพื้นสลับ; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII= ระดับ 3)



ภาพที่ 63 กราฟแสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยของปลานิลที่ได้รับน้ำมันข้าวโมโครอิมัลชันในความเข้มข้นต่างๆ

700 = ได้รับน้ำมันข้าวโมโครอิมัลชัน ความเข้มข้น 700 มก./ ลิตร, 800 = ได้รับน้ำมันข้าวโมโครอิมัลชัน ความเข้มข้น 800 มก./ ลิตร และ 900 = ได้รับน้ำมันข้าวโมโครอิมัลชัน ความเข้มข้น 900 มก./ ลิตร (ระยะเวลาการสลับ; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการพื้นที่สลับ; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII= ระดับ 3)

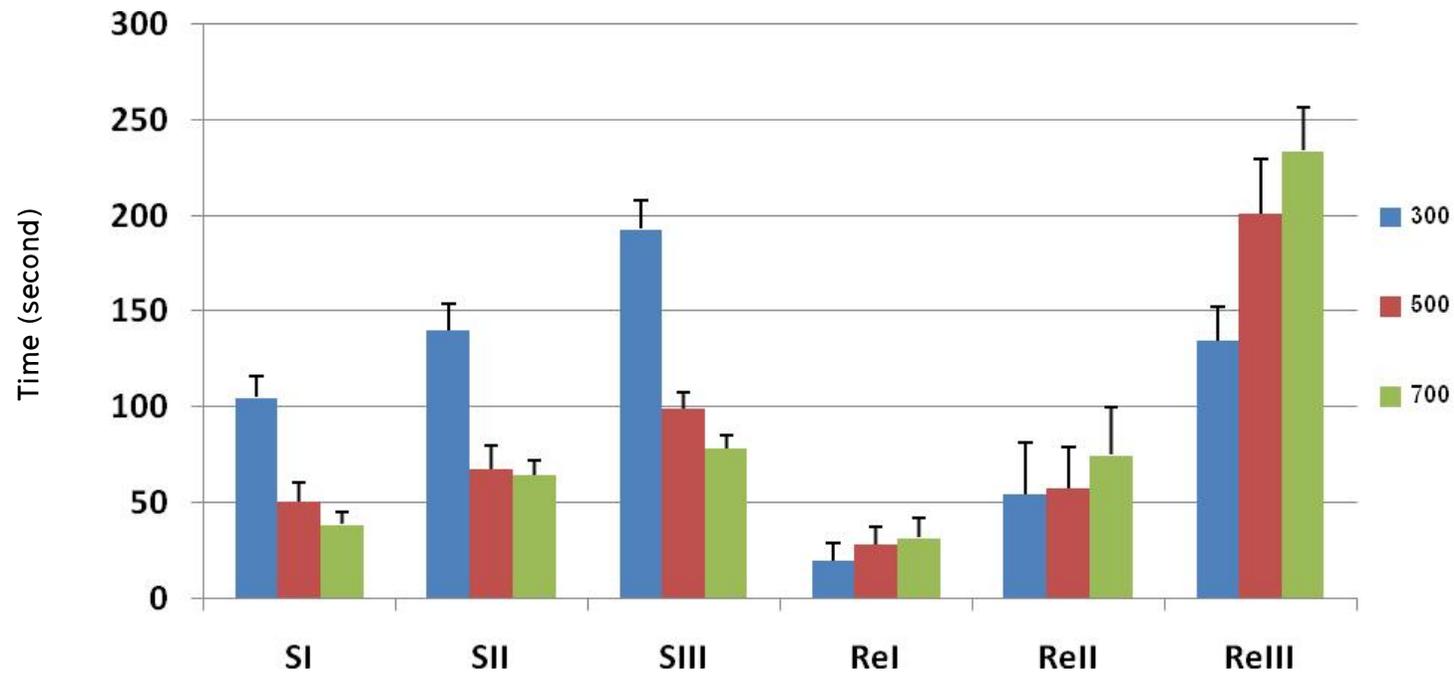


ภาพที่ 64 กราฟแสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยของปลานิลที่ได้รับน้ำมันข้าวโนอิมัลชันในรูปแบบนาโนอิมัลชันในความเข้มข้นต่างๆ

300 = ได้รับน้ำมันข้าวโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 300 มก./ ลิตร, 500 = ได้รับน้ำมันข้าวโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 500 มก./ ลิตร และ 700 = ได้รับน้ำมันข้าวโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 700 มก./ ลิตร (ระยะเวลาการสลับ; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการพื้นที่สลับ; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII= ระดับ 3)

พฤติกรรมและระยะเวลาการสลบ และพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นสลบในปลาคาร์พที่ได้รับสาร 1,8-cineole บริสุทธิ์

เมื่อทำการศึกษาพฤติกรรมและระยะเวลาการสลบ และพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นสลบในปลาคาร์พด้วยสาร 1,8-cineole บริสุทธิ์ (Merck Millipore®) ได้ผลการศึกษาแสดงใน ภาพที่ 65 และตารางที่ 97 พบว่าปลาคาร์พทดลองสามารถสลบและฟื้นสลบได้ โดยทำการศึกษาใน 3 ระดับความเข้มข้นของสาร 1,8-cineole บริสุทธิ์ คือ 300 มก./ ลิตร 500 มก./ ลิตร และ 700 มก./ ลิตร ผลการศึกษาพบว่าระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลบเฉลี่ยของทุกระดับเร็วขึ้นตามความเข้มข้นของสาร 1,8-cineole บริสุทธิ์ ที่เพิ่มขึ้น ได้แก่ 193.05 ± 14.66 วินาที, 99.45 ± 8.26 วินาที และ 78.60 ± 6.92 วินาที ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาการฟื้นสลบเฉลี่ยทุกระดับจะนานขึ้นในกลุ่มที่ได้สาร 1,8-cineole บริสุทธิ์ ในความเข้มข้นที่สูงขึ้น ได้แก่ 134.65 ± 17.61 วินาที 201.10 ± 28.19 วินาที และ 233.80 ± 22.74 วินาที ในกลุ่มที่ได้รับสาร 1,8-cineole บริสุทธิ์ ที่ 300 มก./ลิตร 500 มก./ ลิตร และ 700 มก./ ลิตร ตามลำดับ



ภาพที่ 65 กราฟแท่งแสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยของปลาการ์ตูนที่ทำสลับด้วยสาร 1,8-cineole ในความเข้มข้นต่างๆ

300 = ได้รับสาร 1,8-cineole ความเข้มข้น 300 มก./ ลิตร, 500 = ได้รับสาร 1,8-cineole ความเข้มข้น 500 มก./ ลิตร และ 700 = ได้รับสาร 1,8-cineole ความเข้มข้น 700 มก./ ลิตร

(ระยะเวลาการสลับ; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการพื้นที่สลับ; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII= ระดับ 3)

ตารางที่ 97 แสดงระยะเวลาการสลายและพื้นที่สลายเฉลี่ยในปลาการ์ปที่ทำสลายด้วยสาร 1,8-cineole ในความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลายเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)			ระยะเวลาการฟื้นสลายเฉลี่ย (วินาที; mean \pm SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
300 มก./ลิตร	105.00 \pm 10.94	140.00 \pm 13.98	193.05 \pm 14.66	19.90 \pm 8.93	54.65 \pm 27.15	134.65 \pm 17.61
500 มก./ลิตร	50.85 \pm 9.72	67.6 \pm 12.59	99.45 \pm 8.26	28.15 \pm 9.24	57.85 \pm 21.35	201.10 \pm 28.19
700 มก./ลิตร	38.65 \pm 6.75	64.65 \pm 7.50	78.60 \pm 6.92	31.85 \pm 9.95	74.90 \pm 25.43	233.80 \pm 22.74

การศึกษาพฤติกรรมและระยะเวลาการสลับ และพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นฟูสลับในปลาคาร์พที่ ได้รับน้ำมันข้าวแบบไมโครอิมัลชัน และรูปแบบนาโนอิมัลชันที่เก็บไว้ในอุณหภูมิต่างกัน

ทำการศึกษาพฤติกรรมและระยะเวลาการสลับ และพฤติกรรมระยะเวลาการฟื้นฟูสลับในปลาคาร์พที่
ได้รับน้ำมันข้าวที่เก็บไว้ในอุณหภูมิต่างกันนาน 180 วัน ได้แก่ อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ
อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ได้ผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 98 ถึงภาพที่ 99 และตารางที่ 66 ถึงตารางที่
67

ผลการศึกษาของน้ำมันข้าวแบบไมโครอิมัลชันในความเข้มข้น 300 มก./ลิตร พบว่าระยะเวลาการ
เหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 ของกลุ่มน้ำมันข้าวที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส คือ 129.25 ± 14.80 วินาที, 145.20 ± 21.53 วินาที และ 159.10 ± 10.76 วินาที
ตามลำดับ โดยระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 ในกลุ่มน้ำมันข้าวแบบไมโครอิมัลชันที่
เก็บที่อุณหภูมิห้องเร็วกว่าน้ำมันข้าวแบบไมโครอิมัลชันที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และน้ำมันข้าว
แบบไมโครอิมัลชันที่เก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ($p < 0.05$) ส่วนระยะเวลาการฟื้นฟูสลับเฉลี่ยระดับ 3
ของกลุ่มน้ำมันข้าวที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส คือ
 273.50 ± 30.35 วินาที, 241.65 ± 30.04 วินาที และ 244.50 ± 25.93 วินาที ตามลำดับ โดยระยะเวลาการฟื้นฟู
สลับเฉลี่ยระดับ 3 ในกลุ่มน้ำมันข้าวแบบไมโครอิมัลชันที่เก็บที่อุณหภูมิห้องนานกว่า ($p < 0.05$) กลุ่มน้ำมัน
ข้าวแบบไมโครอิมัลชันที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่เก็บที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

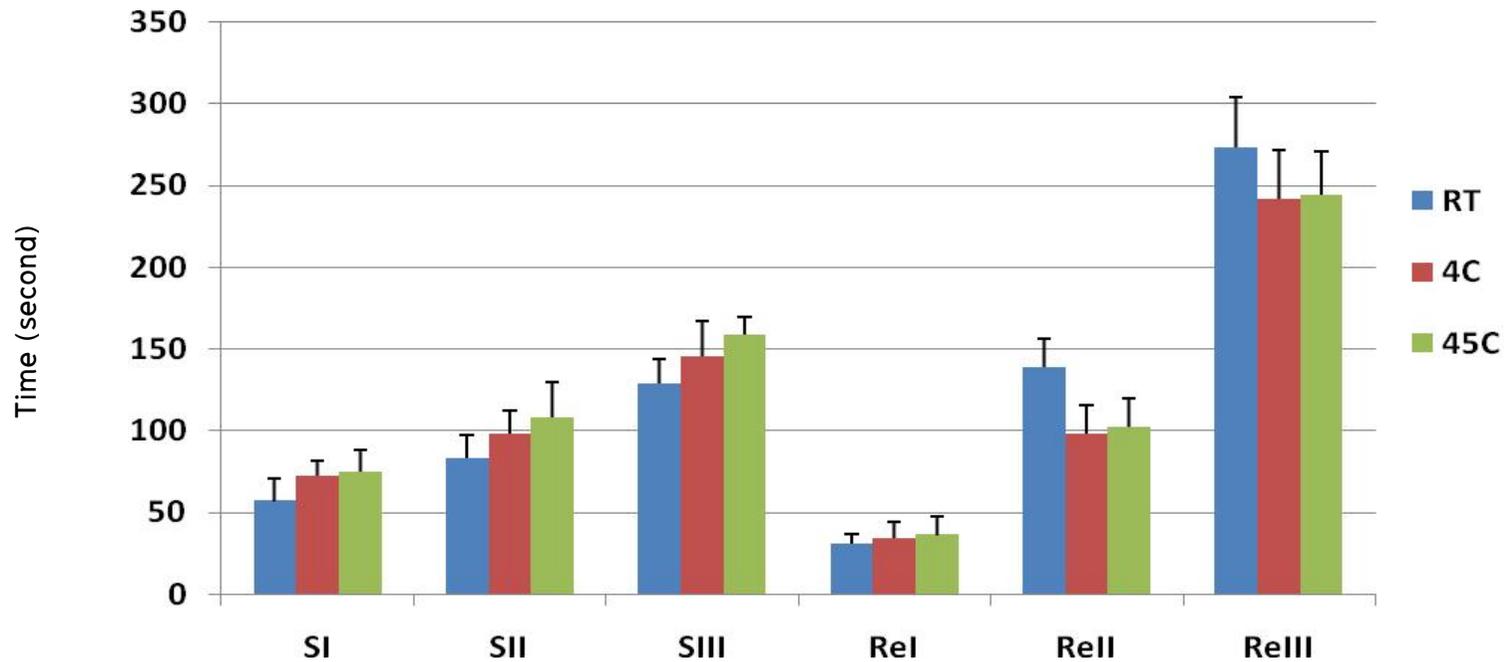
ผลการศึกษาของน้ำมันข้าวแบบนาโนอิมัลชันในความเข้มข้น 200 มก./ลิตร พบว่าระยะเวลาการ
เหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 ของกลุ่มน้ำมันข้าวที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส คือ 239.45 ± 31.93 วินาที, 232.30 ± 19.02 วินาที และ 243.70 ± 20.11 วินาที
ตามลำดับ โดยระยะเวลาการเหนี่ยวนำการสลับเฉลี่ยของระดับ 3 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทุกกลุ่มการ
ทดลอง ส่วนระยะเวลาการฟื้นฟูสลับเฉลี่ยระดับ 3 คือ 278.45 ± 25.64 วินาที, 269.20 ± 25.92 วินาที และ
 305.50 ± 27.95 วินาที ตามลำดับ

ตารางที่ 98 แสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยในปลาการ์ฟที่ทำสลับด้วยน้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชันในความเข้มข้น 300 มก./ลิตร ที่ถูกเก็บในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลับเฉลี่ย (วินาที; mean ± SD)			ระยะเวลาการฟื้นฟูสลับเฉลี่ย (วินาที; mean ± SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
อุณหภูมิห้อง	57.05 ± 13.98	83.05 ± 14.67	129.25 ± 14.80	30.55 ± 5.85	138.55 ± 17.80	273.50 ± 30.35
4 องศาเซลเซียส	72.30 ± 9.08	98.30 ± 13.63	145.20 ± 21.53	33.95 ± 10.48	98.35 ± 17.16	241.65 ± 30.04
45 องศาเซลเซียส	74.75 ± 13.34	108.45 ± 21.33	159.10 ± 10.76	36.20 ± 11.40	102.25 ± 17.66	244.50 ± 25.93

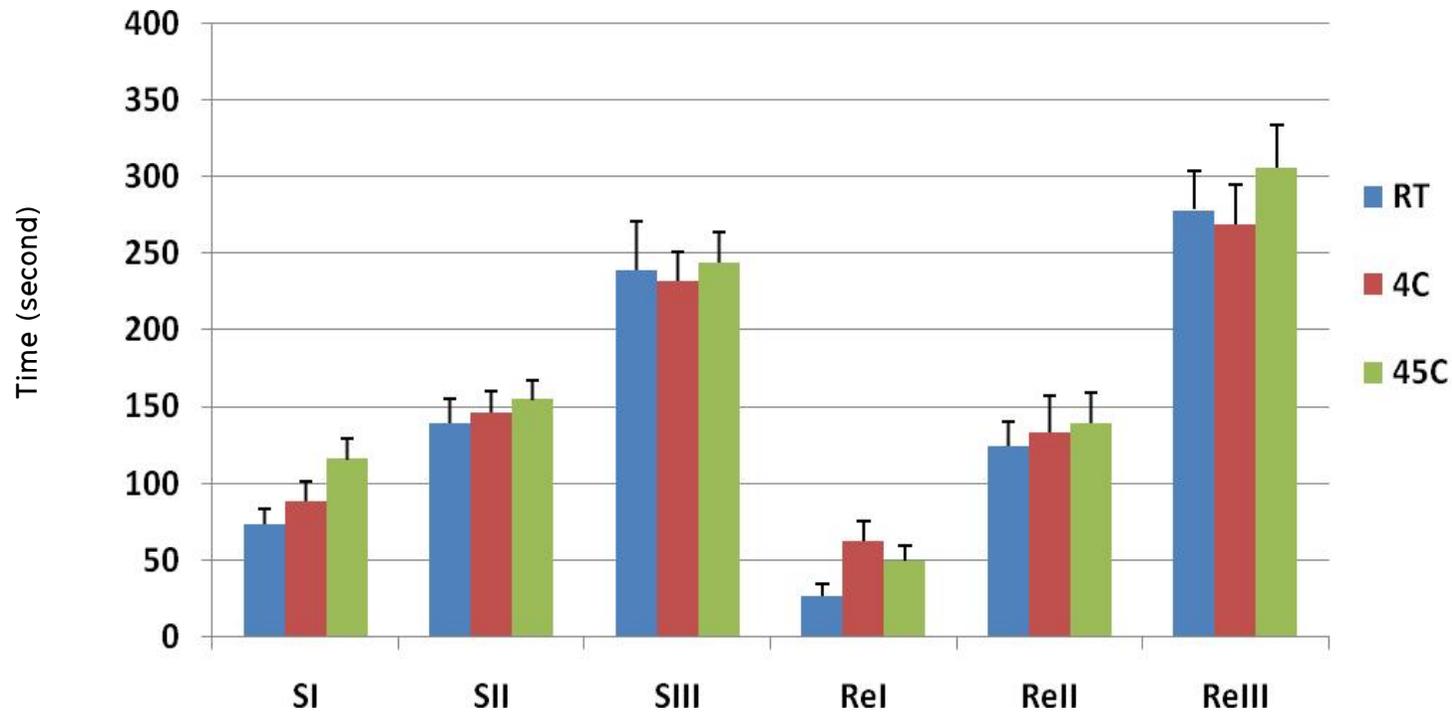
ตารางที่ 99 แสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยในปลาการ์ฟที่ทำสลับด้วยน้ำมันข้าวรูปแบบนาโนอิมัลชันในความเข้มข้น 200 มก./ลิตร ที่ถูกเก็บในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของ สารสำคัญ	ระยะเวลาการสลับเฉลี่ย (วินาที; mean±SD)			ระยะเวลาการฟื้นฟูสลับเฉลี่ย (วินาที; mean±SD)		
	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3	ระดับ 1	ระดับ 2	ระดับ 3
อุณหภูมิห้อง	73.20 ± 9.69	138.65 ± 16.02	239.45 ± 31.93	25.80 ± 8.03	123.90 ± 15.86	278.45 ± 25.64
4 องศาเซลเซียส	88.20 ± 13.27	145.85 ± 14.45	232.30 ± 19.02	62.40 ± 12.75	133.30 ± 23.53	269.20 ± 25.92
45 องศาเซลเซียส	115.55 ± 13.21	154.55 ± 12.63	243.70 ± 20.11	48.85 ± 10.69	138.85 ± 19.96	305.50 ± 27.95



ภาพที่ 66 กราฟแท่งแสดงระยะเวลาการสลับและพื้นสลับเฉลี่ยของปลาการ์ตูนที่ทำสลับด้วยน้ำมันข้าวแบบไมโครอิมัลชันในความเข้มข้น 300 มก./ลิตร ที่ถูกเก็บในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

300 = ใ้รับน้ำมันข่านาโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 300 มก./ ลิตร, 500 = ใ้รับน้ำมันข่านาโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 500 มก./ ลิตร และ 700 = ใ้รับน้ำมันข่านาโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 700 มก./ ลิตร (ระยะเวลาการสลับ; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการพื้นสลับ; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII= ระดับ 3)



ภาพที่ 67 กราฟแท่งแสดงระยะเวลาการสลับและพื้นที่สลับเฉลี่ยของปลาการ์ฟที่ทำสลับด้วยน้ำมันจำรูปแบบนาโนอิมัลชันในความเข้มข้น 200 มก./ลิตร ที่ถูกเก็บในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

300 = ใ้รับน้ำมันข่านาโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 300 มก./ ลิตร, 500 = ใ้รับน้ำมันข่านาโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 500 มก./ ลิตร และ 700 = ใ้รับน้ำมันข่านาโนอิมัลชัน ความเข้มข้น 700 มก./ ลิตร (ระยะเวลาการสลับ; SI = ระดับ 1, SII = ระดับ 2, SIII = ระดับ 3, ระยะเวลาการพื้นที่สลับ; ReI = ระดับ 1, ReII = ระดับ 2, ReIII= ระดับ 3)

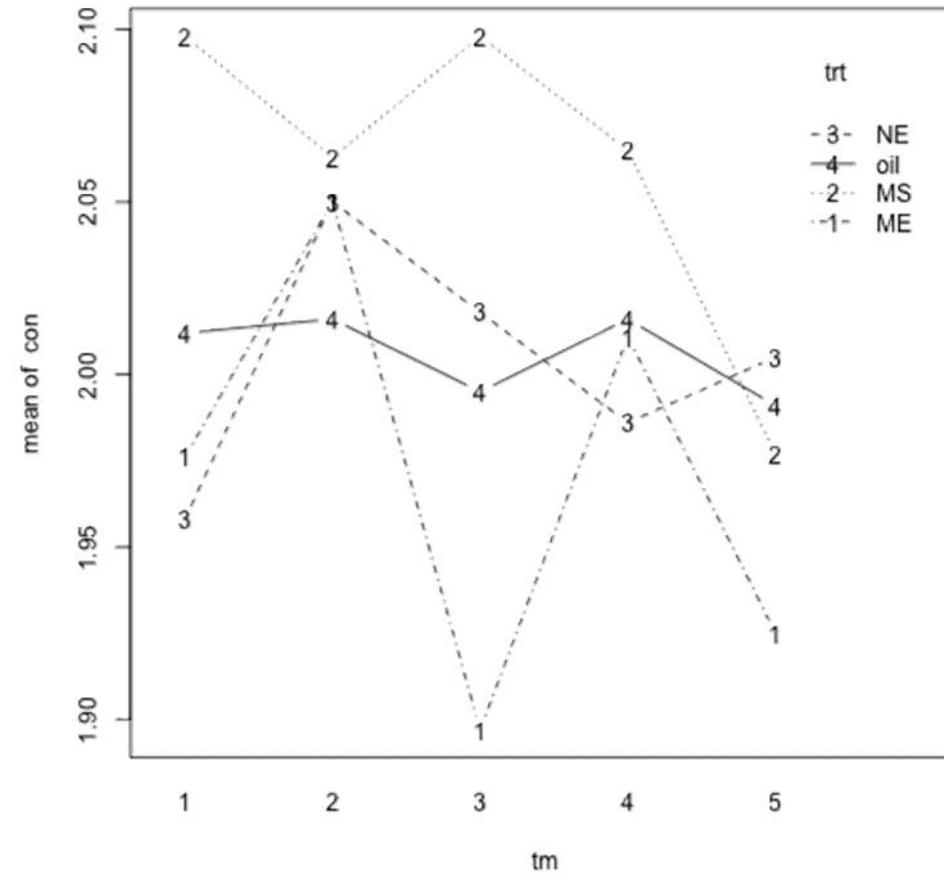
การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของความเครียด

ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของความเครียด หลังจากทำสลับปลาทดลองด้วยยาสลับชนิดต่างๆ โดยเลือกใช้ในความเข้มข้นระดับกลางของยาสลับแต่ละชนิดและตามชนิดของปลา ผลการศึกษาคือเป็นดังนี้

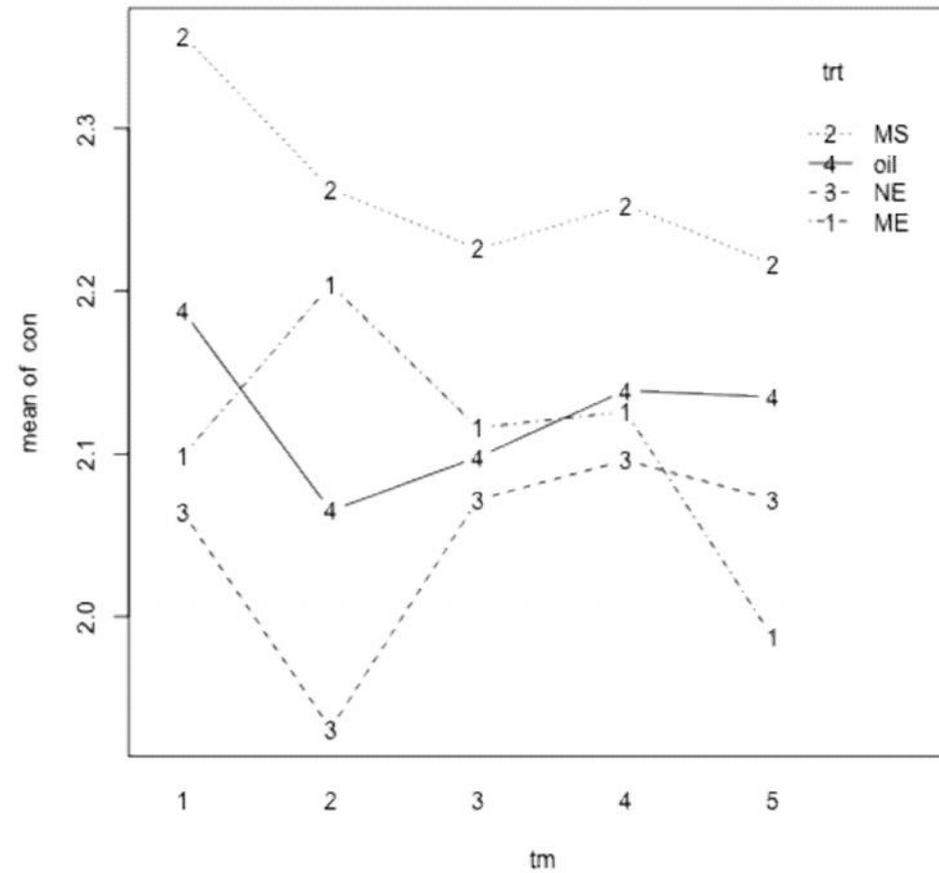
การศึกษาจำนวนเม็ดเลือดแดง

ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลาคาร์พในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 กลุ่มที่ได้รับน้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ กลุ่มน้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชัน และกลุ่มน้ำมันข้าวในรูปแบบนาโนอิมัลชันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละช่วงเวลาของการทดสอบ โดยพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลาคาร์พมีค่าระหว่าง 1.93 ± 0.42 ถึง 2.06 ± 0.09 ($\times 10^6$ cells/ul) (ภาพที่ 68 และตารางที่ 100)

ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงในปลานิลพบว่าในช่วงนาที่ที่ 30 กลุ่มน้ำมันข้าวในรูปแบบนาโนอิมัลชันมีค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงน้อยกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามในช่วงเวลาที่ 60 นาที และ 90 นาที ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกกลุ่มการทดลอง พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลานิลมีค่าระหว่าง 1.96 ± 0.25 ถึง 2.38 ± 0.14 ($\times 10^6$ cells/ul) (ภาพที่ 69 และตารางที่ 101)



ภาพที่ 68 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลาการพีที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆ ที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) (Oil = น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME = น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS = สาร MS-222 NE = น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที



ภาพที่ 69 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลานิลที่ได้รับยาสดชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) (Oil = น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME = น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS = สาร MS-222 NE = น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที

ตารางที่ 100 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลาคาร์พทดลองที่ได้รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) ($\times 10^6$ cells/ul)

	1*	2	3	4	5
	(Mean \pm SD)				
สาร MS-222	2.11 \pm 0.27	2.06 \pm 0.09	2.10 \pm 0.12	2.07 \pm 0.14	1.98 \pm 0.19
น้ำมันข้าว	2.01 \pm 0.14	2.02 \pm 0.33	2.00 \pm 0.29	2.02 \pm 0.13	1.99 \pm 0.16
น้ำมันข้าวไมโครอิมัลชัน	1.98 \pm 0.20	2.05 \pm 0.26	1.90 \pm 0.29	2.01 \pm 0.21	1.93 \pm 0.42
น้ำมันข้าวนาโนอิมัลชัน	1.96 \pm 0.20	2.05 \pm 0.23	2.02 \pm 0.29	1.99 \pm 0.14	2.01 \pm 0.20

ตารางที่ 101 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลานิลทดลองที่ได้รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) ($\times 10^6$ cells/ul)

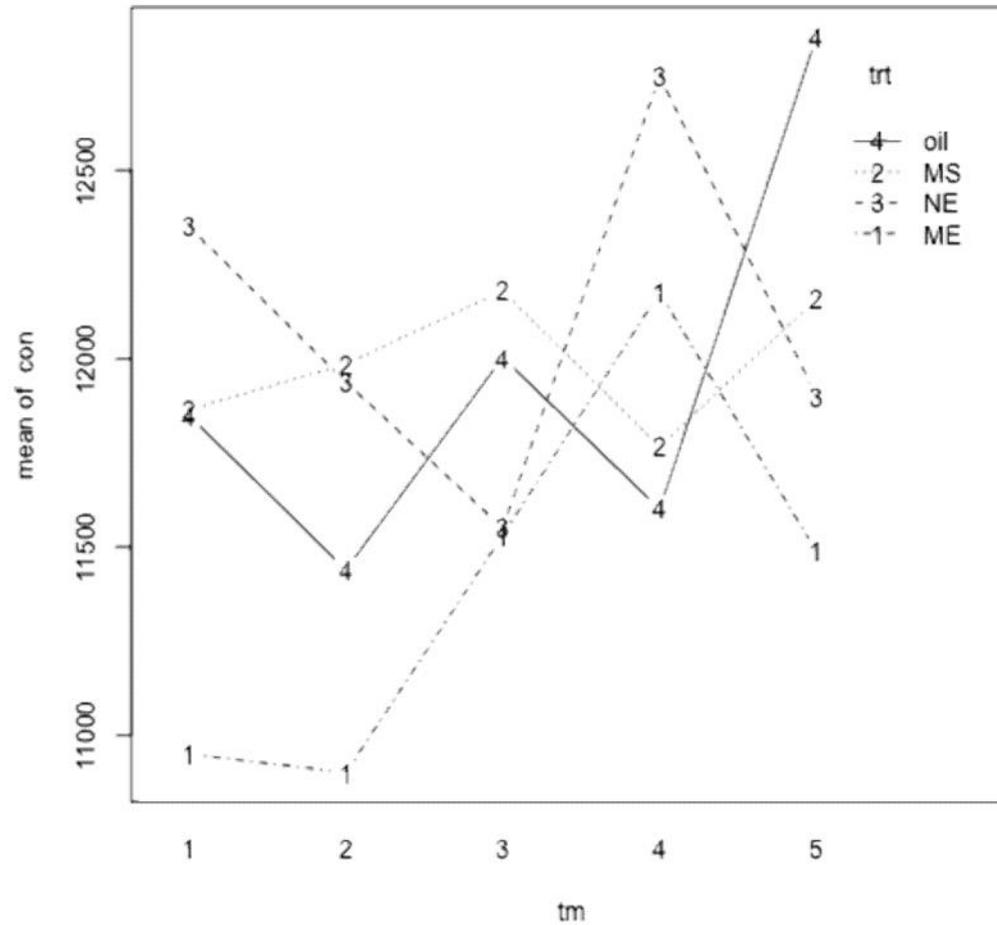
	1*	2	3	4	5
	(Mean \pm SD)				
สาร MS-222	2.38 \pm 0.14	2.27 \pm 0.22	2.18 \pm 0.17	2.28 \pm 0.17	2.24 \pm 0.19
น้ำมันข้าว	2.21 \pm 0.11	2.10 \pm 0.06	2.13 \pm 0.09	2.15 \pm 0.09	2.18 \pm 0.10
น้ำมันข้าวไมโครอิมัลชัน	2.14 \pm 0.11	2.06 \pm 0.39	2.11 \pm 0.14	2.18 \pm 0.30	1.97 \pm 0.30
น้ำมันข้าวนาโนอิมัลชัน	1.99 \pm 0.22	1.96 \pm 0.25	2.01 \pm 0.38	2.11 \pm 0.37	2.08 \pm 0.26

*1. ระยะเวลาที่ 0 นาที 2. ระยะเวลาที่ 30 นาที 3. ระยะเวลาที่ 60 นาที 4. ระยะเวลาที่ 90 นาที 5. ระยะเวลาที่ 120 นาที

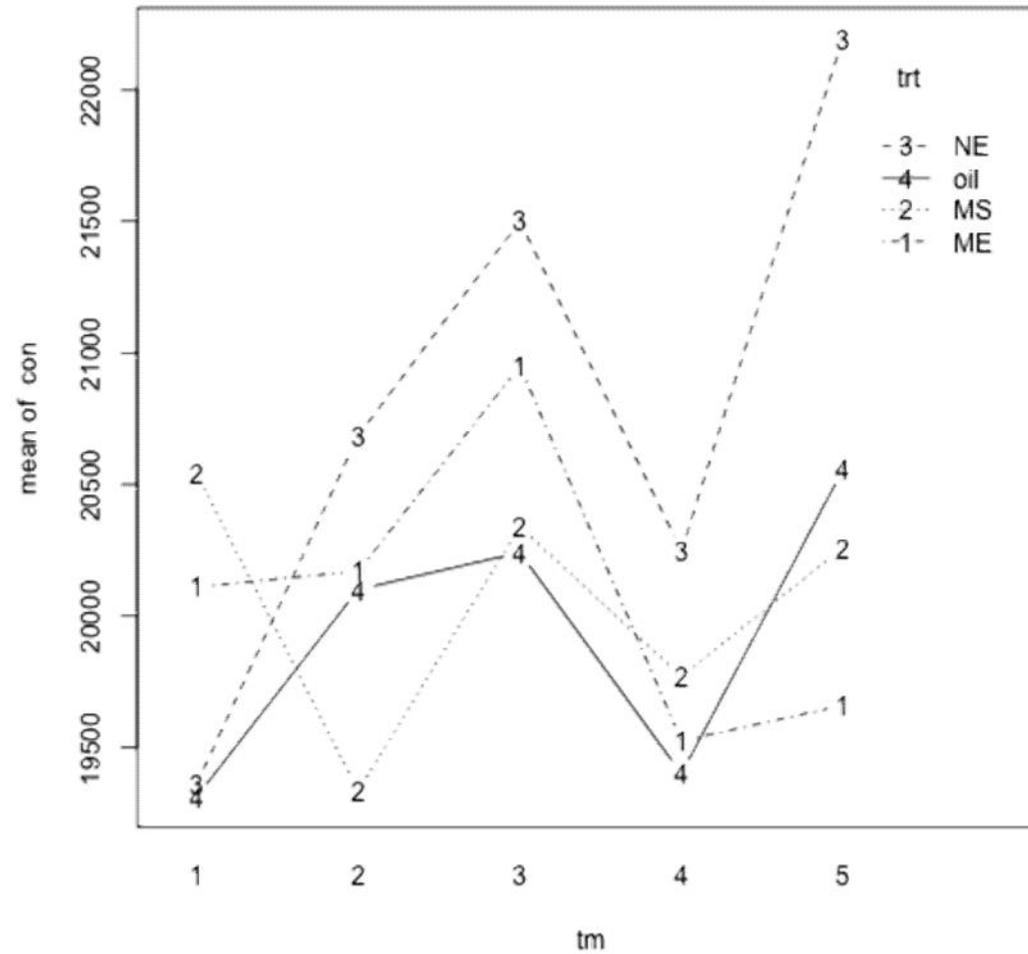
การศึกษาจำนวนเม็ดเลือดขาว

ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวของปลาการ์พีในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 กลุ่มที่ได้รับน้ำมันงาที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ กลุ่มน้ำมันงารูปแบบไมโครอิมัลชัน และกลุ่มน้ำมันงาในรูปแบบนาโนอิมัลชันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละช่วงเวลาของการทดสอบ โดยพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวของปลาการ์พีมีค่าระหว่าง $10,900 \pm 3,440$ ถึง $12,855 \pm 4,616$ (cells/ul) (ภาพที่ 70 และตารางที่ 102)

ส่วนค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวในปลานิลพบว่าในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 กลุ่มที่ได้รับน้ำมันงาที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ กลุ่มน้ำมันงารูปแบบไมโครอิมัลชัน และกลุ่มน้ำมันงาในรูปแบบนาโนอิมัลชันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละช่วงเวลาของการทดสอบ โดยพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวของปลานิลมีค่าระหว่าง $19,313 \pm 3,383$ ถึง $22,195 \pm 3,127$ (cells/ul) (ภาพที่ 71 และตารางที่ 103)



ภาพที่ 70 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวของปลาคร๊าฟที่รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) (Oil = น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME = น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS= สาร MS-222 NE= น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที



ภาพที่ 71 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวของปลานิลที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆที่เวลาต่าง ๆ กัน (N = 10) (Oil = น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME = น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS = สาร MS-222 NE = น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที

ตารางที่ 102 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวของปลาкарพ์ทดลองที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10) (cells/ul)

	1 *	2	3	4	5
	(Mean ± SD)				
สาร MS-222	11,956 ± 2,729	11,986 ± 2,322	12,180 ± 4,391	11,766 ± 4,620	12,158 ± 3,538
น้ำมันปลา	11,849 ± 4,120	11,439 ± 4,667	12,003 ± 5,647	11,600 ± 2,939	12,855 ± 4,616
น้ำมันปลาไมโครอิมัลชัน	10,950 ± 4,219	10,900 ± 3,440	11,530 ± 4,016	12,175 ± 5,159	11,488 ± 4,735
น้ำมันปลานาโนอิมัลชัน	12,350 ± 7,986	11,938 ± 4,342	11,550 ± 6,731	12,750 ± 6,020	11,900 ± 4,370

ตารางที่ 103 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือดขาวของปลานิลทดลองที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10) (cells/ul)

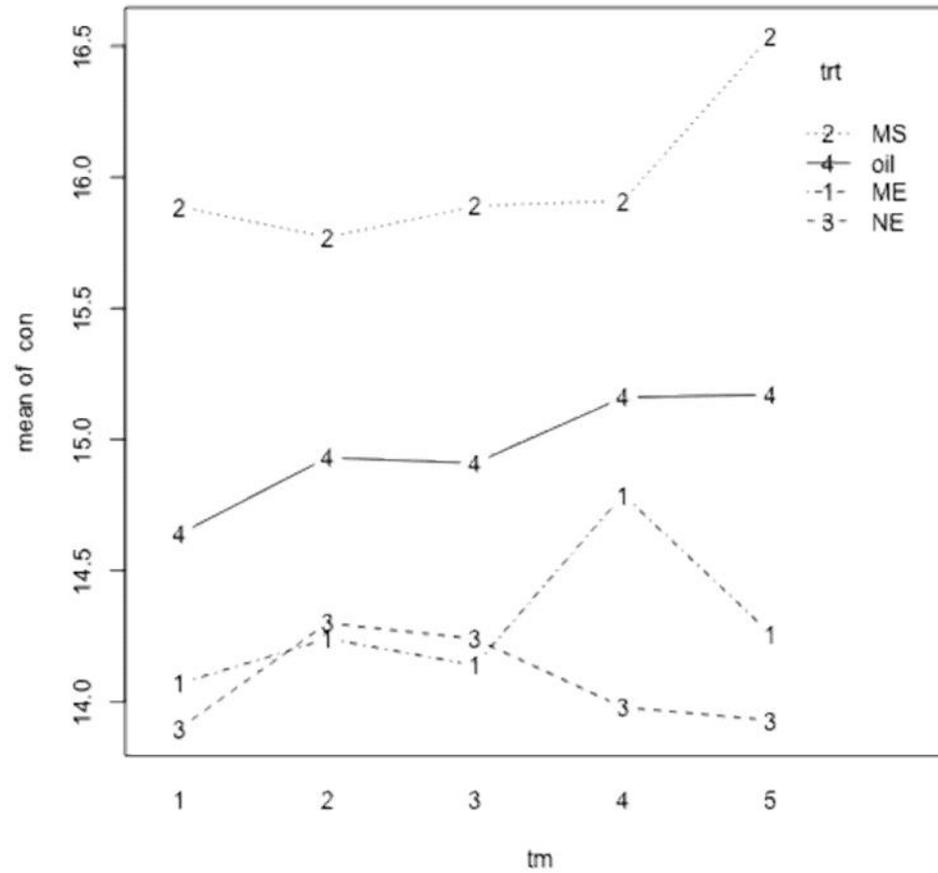
	1 *	2	3	4	5
	(Mean ± SD)	((Mean ± SD)	((Mean ± SD)	(Mean ± SD)	(Mean ± SD)
สาร MS-222	20,883 ± 3,223	19,335 ± 3,415	20,340 ± 2,881	19,770 ± 4,470	20,260 ± 3,593
น้ำมันปลา	19,313 ± 3,383	20,100 ± 4,891	20,240 ± 2,761	19,400 ± 3,978	20,555 ± 2,616
น้ำมันปลาไมโครอิมัลชัน	20,110 ± 2,641	20,170 ± 3,490	20,950 ± 2,723	19,525 ± 6,334	19,660 ± 3,312
น้ำมันปลานาโนอิมัลชัน	19,363 ± 4,899	20,685 ± 2,662	21,500 ± 3,127	20,248 ± 4,383	22,195 ± 3,127

* 1. ระยะเวลาที่ 0 นาที 2. ระยะเวลาที่ 30 นาที 3. ระยะเวลาที่ 60 นาที 4. ระยะเวลาที่ 90 นาที 5. ระยะเวลาที่ 120 นาที

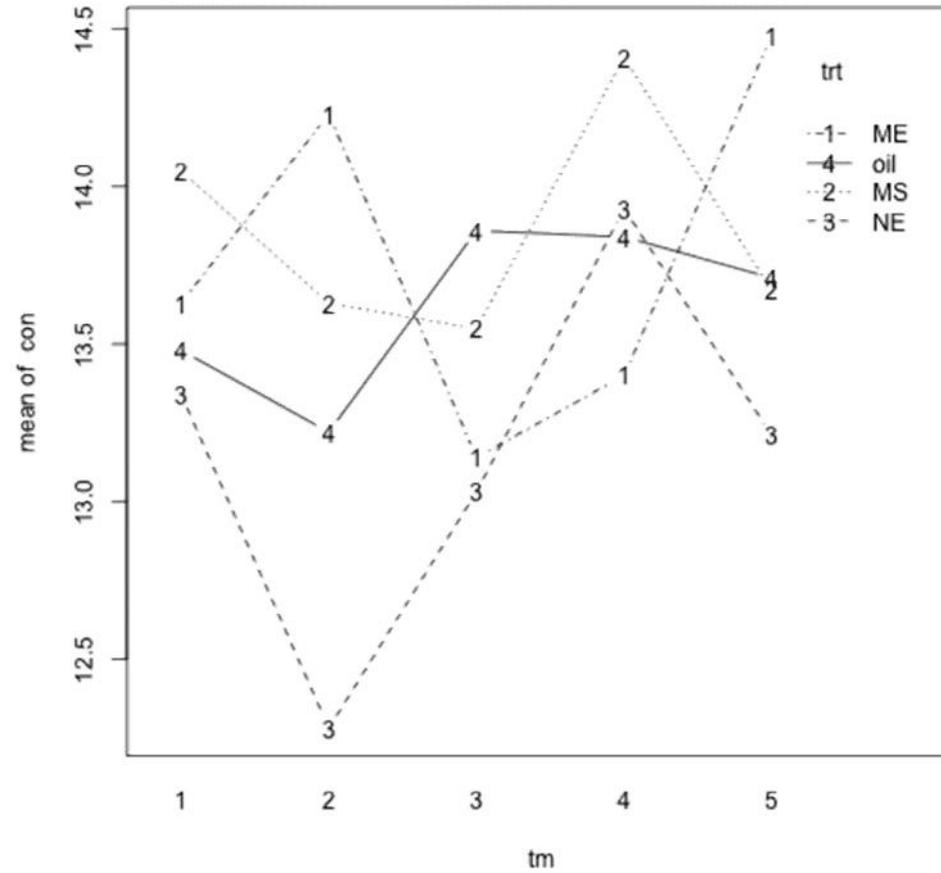
การศึกษาค่าฮีโมโกลบิน

ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินของปลาкарพ์พบว่าในเวลา 120 นาที กลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 มีค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินมากกว่ากลุ่มน้ำมันข้าวรูปแบบไมโครอิมัลชัน และกลุ่มน้ำมันข้าวในรูปแบบนาโนอิมัลชัน ($p < 0.05$) คือ 16.54 ± 2.16 (g/dl) นอกจากนี้พบว่าค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินของปลาкарพ์มีค่าระหว่าง 13.90 ± 2.34 ถึง 16.54 ± 2.16 (g/dl) (ภาพที่ 72 และตารางที่ 3.87)

ส่วนค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินในปลานิลพบว่า ในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 กลุ่มที่ได้รับน้ำมันข้าวที่ทำการละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ กลุ่มน้ำมันข้าวแบบไมโครอิมัลชัน และกลุ่มน้ำมันข้าวในรูปแบบนาโนอิมัลชันไม่แตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละช่วงเวลาของการทดสอบ และค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินของปลานิลมีค่าระหว่าง 12.28 ± 2.20 ถึง 14.48 ± 1.95 (g/dl) (ภาพที่ 72 และตารางที่ 3.88)



ภาพที่ 72 แสดงค่าเฉลี่ยซีโม โกลบินของปลาคร๊าฟที่รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) (Oil = น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME = น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS = สาร MS-222 NE = น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที



ภาพที่ 73 แสดงค่าเฉลี่ยอีโมโกลบินของปลานิลที่ได้รับยาสบชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) (Oil = น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME = น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS = สาร MS-222 NE = น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที

ตารางที่ 104 แสดงค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินของปลาคาร์พทดลองที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) (g/dl)

	1 *	2	3	4	5
	(Mean ± SD)				
สาร MS-222	15.83 ± 3.10	15.77 ± 2.24	15.89 ± 2.64	15.91 ± 3.09	16.54 ± 2.16
น้ำมันข้าว	14.64 ± 1.97	14.93 ± 1.93	14.91 ± 2.12	15.16 ± 2.45	15.17 ± 3.00
น้ำมันข้าวไมโครอิมัลชัน	14.07 ± 1.88	14.24 ± 1.77	11.14 ± 2.60	14.79 ± 2.62	14.26 ± 1.94
น้ำมันข้าวนาโนอิมัลชัน	13.90 ± 2.34	14.30 ± 1.85	14.24 ± 2.58	13.98 ± 1.63	13.93 ± 2.65

ตารางที่ 105 แสดงค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินของปลานิลทดลองที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) (g/dl)

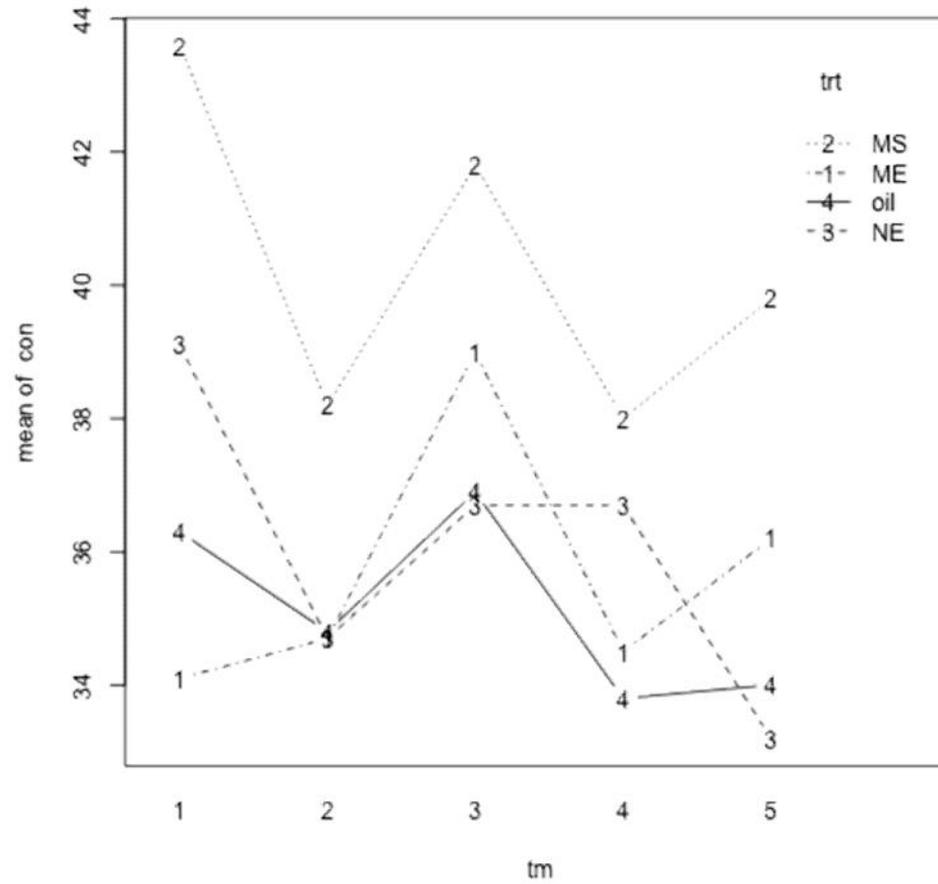
	1 *	2	3	4	5
	(Mean ± SD)				
สาร MS-222	13.97 ± 1.44	13.63 ± 1.43	13.55 ± 2.32	14.41 ± 2.06	13.67 ± 1.91
น้ำมันข้าว	13.48 ± 1.82	13.22 ± 2.82	13.86 ± 2.78	13.84 ± 2.64	13.71 ± 2.40
น้ำมันข้าวไมโครอิมัลชัน	13.63 ± 2.53	14.23 ± 1.95	13.14 ± 3.15	13.40 ± 2.52	14.48 ± 1.95
น้ำมันข้าวนาโนอิมัลชัน	13.34 ± 1.75	12.28 ± 2.20	13.03 ± 2.11	13.93 ± 2.05	13.21 ± 2.08

*1. ระยะเวลาที่ 0 นาที 2. ระยะเวลาที่ 30 นาที 3. ระยะเวลาที่ 60 นาที 4. ระยะเวลาที่ 90 นาที 5. ระยะเวลาที่ 120 นาที

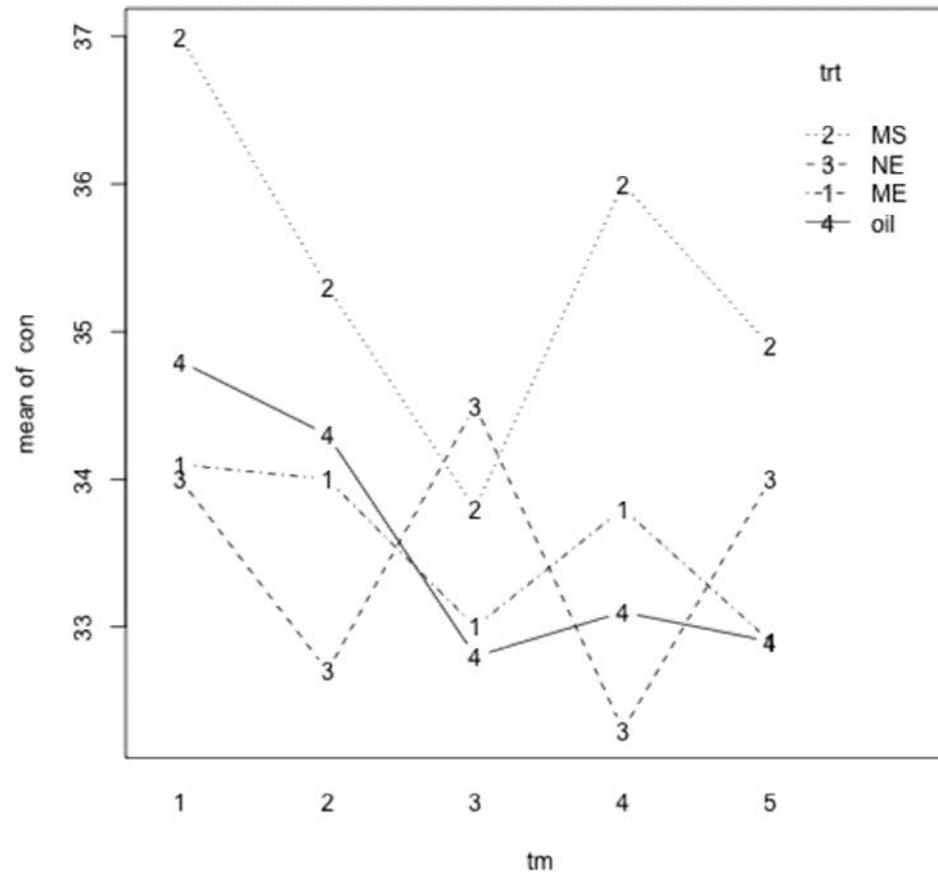
การศึกษาปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

ค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลาการ์พ์พบว่าในเวลา 30 นาที, 60 นาที และ 90 นาที กลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 มีค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นมากกว่าทุกกลุ่มการทดลองแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ คือ 38.20 ± 5.07 , 41.80 ± 6.58 และ 38.00 ± 2.71 (%) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในเวลา 120 นาที ในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 มีค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นมากกว่ากลุ่มน้ำมันข่านาโนอิมัลชัน คือ 39.80 ± 7.11 (%) นอกจากนี้พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลาการ์พ์มีค่าระหว่าง 33.20 ± 8.24 ถึง 42.56 ± 7.43 (%) (ภาพที่ 74 และตารางที่ 106)

ส่วนค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในปลานิลพบว่า ในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 ในทุกช่วงการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลานิลมีค่าระหว่าง 29.00 ± 4.81 ถึง 37.44 ± 2.83 (%) (ภาพที่ 75 และตารางที่ 107)



ภาพที่ 74 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลาการ์ตูนที่ได้รับยาผสมชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) (Oil = น้ำมันงาที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME = น้ำมันงาไมโครอิมัลชัน MS = สาร MS-222 NE = น้ำมันงานาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที



ภาพที่ 75 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลานิลที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) (Oil = น้ำมันข้าวที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME = น้ำมันข้าวไมโครอิมัลชัน MS = สาร MS-222 NE = น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที

ตารางที่ 106 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลาการพัดคลองที่ได้รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10) (%)

	1 *	2	3	4	5
	(Mean ± SD)				
สาร MS-222	42.56 ± 7.43	38.20 ± 5.07	41.80 ± 6.58	38.00 ± 2.71	39.80 ± 7.11
น้ำมันงา	36.30 ± 4.64	34.80 ± 4.21	36.90 ± 5.30	33.80 ± 5.83	34.00 ± 4.22
น้ำมันงาไมโครอิมัลชัน	34.10 ± 8.03	34.70 ± 6.85	39.00 ± 6.88	34.50 ± 7.32	36.20 ± 7.51
น้ำมันงานาโนอิมัลชัน	39.10 ± 6.72	34.70 ± 7.94	36.70 ± 7.60	36.70 ± 9.51	33.20 ± 8.24

ตารางที่ 107 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลานิลทดลองที่ได้รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10) (%)

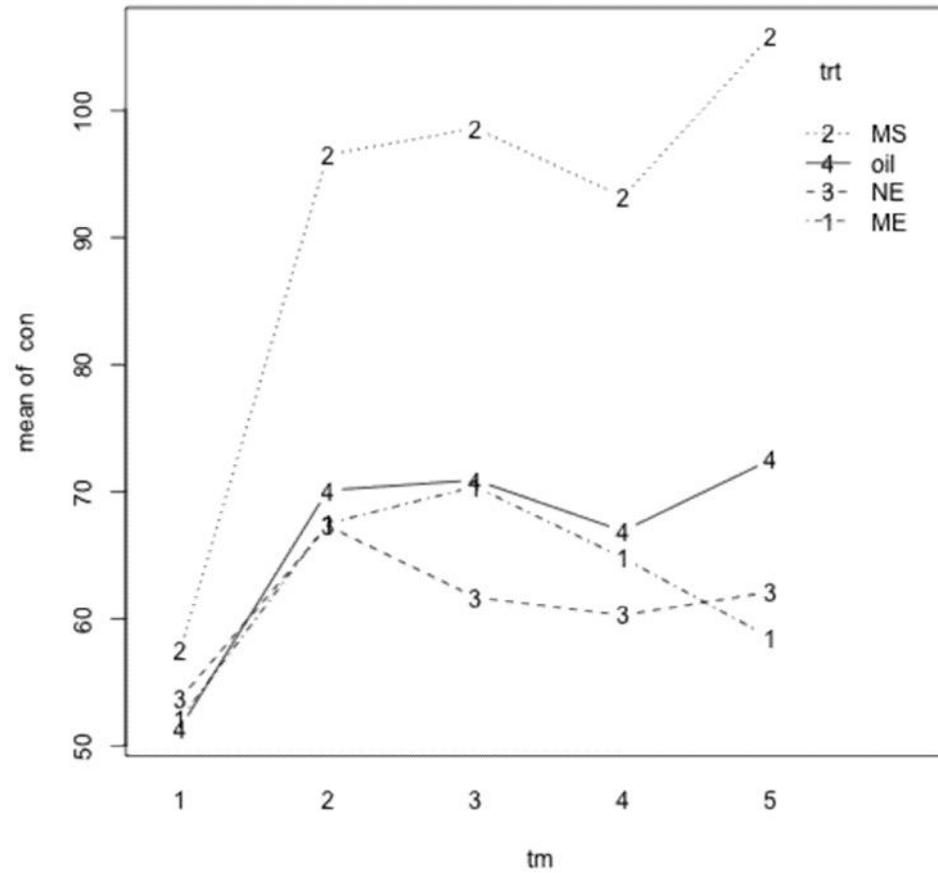
	1 *	2	3	4	5
	(Mean ± SD)				
สาร MS-222	37.44 ± 2.83	35.30 ± 4.81	33.80 ± 3.16	36.33 ± 3.86	34.90 ± 2.81
น้ำมันงา	34.80 ± 5.49	34.30 ± 2.83	32.80 ± 3.08	33.10 ± 4.51	32.90 ± 3.00
น้ำมันงาไมโครอิมัลชัน	34.10 ± 4.23	34.00 ± 5.79	33.00 ± 4.16	33.80 ± 5.43	32.90 ± 5.36
น้ำมันงานาโนอิมัลชัน	34.00 ± 6.55	32.70 ± 4.00	29.00 ± 4.81	32.30 ± 4.19	34.00 ± 5.42

*1. ระยะเวลาที่ 0 นาที 2. ระยะเวลาที่ 30 นาที 3. ระยะเวลาที่ 60 นาที 4. ระยะเวลาที่ 90 นาที 5. ระยะเวลาที่ 120 นาที

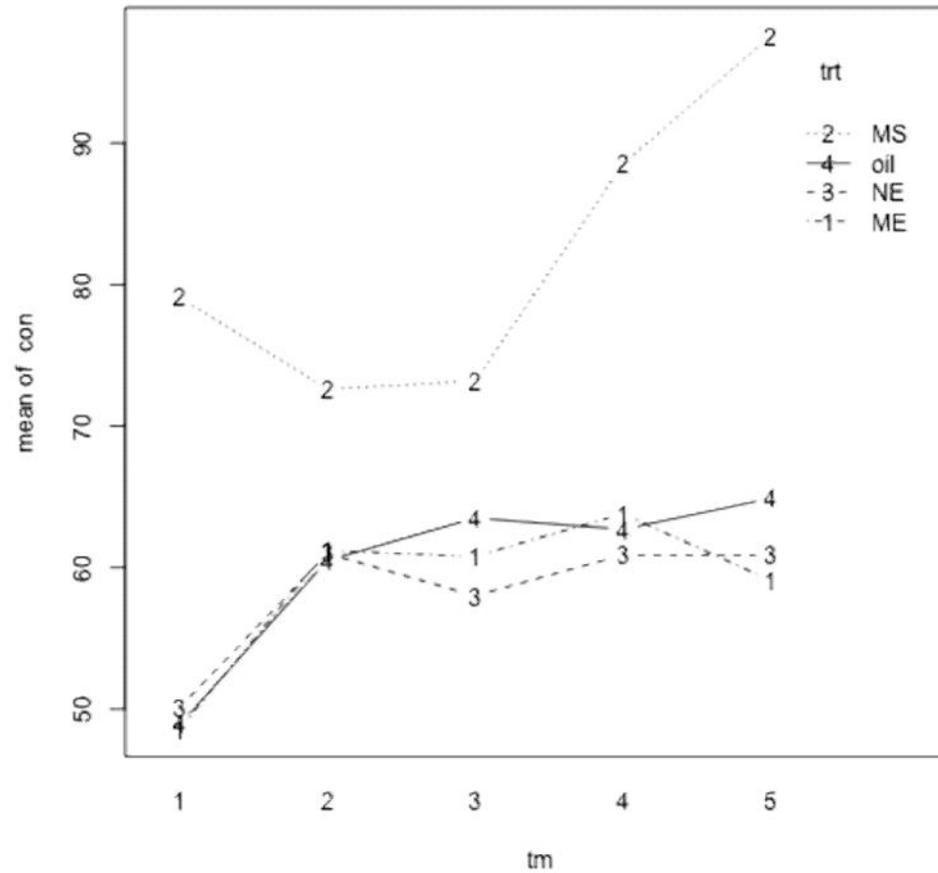
การศึกษาระดับกลูโคสในเลือด

ค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดของปลาการพีพบว่า ในเวลาที่ 30 นาที, 60 นาที, 90 นาที และ 120 นาที กลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 มีค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดมากกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ($p < 0.05$) คือ 96.50 ± 12.16 , 98.60 ± 12.00 , 93.20 ± 22.00 และ 105.90 ± 22.31 (mg/dl) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดในเวลา 0 นาที ในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 มีค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดมากกว่ากลุ่มอื่น คือ 58.33 ± 15.32 (mg/dl) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้พบว่าค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดของปลาการพีมีค่าระหว่าง 51.40 ± 21.86 ถึง 105.90 ± 22.31 (mg/dl) (ภาพที่ 76 และตารางที่ 108)

ส่วนค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดในปลานิลพบว่า ในเวลาที่ 0 นาที, 90 นาที และ 120 นาที กลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 มีค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดมากกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ($p < 0.05$) คือ 76.11 ± 18.88 , 88.50 ± 15.01 และ 97.60 ± 22.48 (mg/dl) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดในเวลา 30 นาที ในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 มีค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดมากกว่ากลุ่มอื่น คือ 72.60 ± 18.39 (mg/dl) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดของปลานิลมีค่าระหว่าง 48.60 ± 18.40 ถึง 97.60 ± 22.48 (mg/dl) (ภาพที่ 77 และตารางที่ 109)



ภาพที่ 76 แสดงค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดของปลาการพีที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10) (Oil= น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME= น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS= สาร MS-222 NE= น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4.เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที



ภาพที่ 77 แสดงค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดของปลานิลที่ได้รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10) (Oil= น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME= น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS= สาร MS-222 NE= น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที

ตารางที่ 108 แสดงค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดของปลาкарพ์ทดลองที่ได้รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10)

	1 *	2	3	4	5
	(Mean ± SD)				
สาร MS-222	58.33 ± 15.32	96.50 ± 12.16	98.60 ± 12.00	93.20 ± 22.00	105.90 ± 22.31
น้ำมันข่า	51.40 ± 21.86	70.10 ± 22.61	70.90 ± 19.07	66.90 ± 13.43	72.50 ± 16.69
น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน	52.10 ± 16.40	67.50 ± 17.17	70.40 ± 19.91	64.80 ± 14.87	58.80 ± 22.08
น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน	53.70 ± 24.82	67.30 ± 22.26	61.70 ± 24.80	60.30 ± 21.91	62.10 ± 26.99

ตารางที่ 109 แสดงค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดของปลานิลทดลองที่ได้รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10)

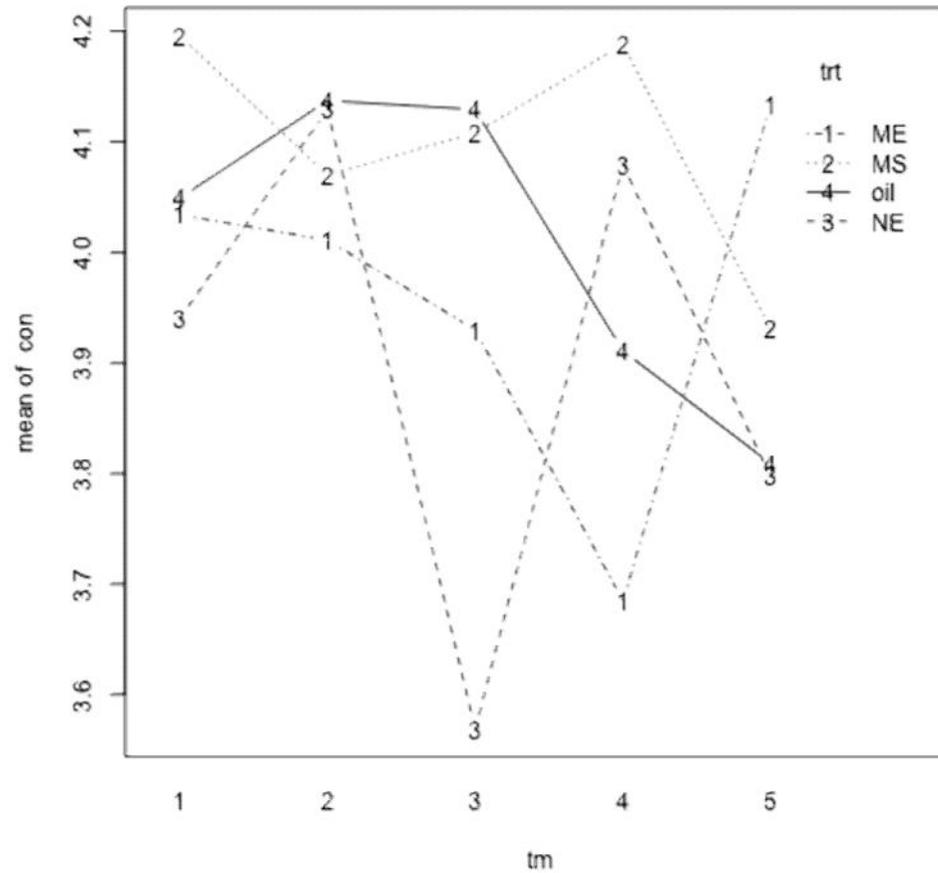
	1 *	2	3	4	5
	(Mean ± SD)				
สาร MS-222	76.11 ± 18.88	72.60 ± 18.39	73.20 ± 13.79	88.50 ± 15.01	97.60 ± 22.48
น้ำมันข่า	48.90 ± 8.90	60.50 ± 16.87	63.50 ± 15.34	62.70 ± 17.55	64.90 ± 25.27
น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน	48.60 ± 18.40	61.20 ± 17.92	60.80 ± 18.37	63.80 ± 20.07	59.10 ± 19.58
น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน	50.10 ± 8.16	61.00 ± 14.05	58.00 ± 16.71	60.90 ± 15.58	60.90 ± 16.53

*1. ระยะเวลาที่ 0 นาที 2. ระยะเวลาที่ 30 นาที 3. ระยะเวลาที่ 60 นาที 4. ระยะเวลาที่ 90 นาที 5. ระยะเวลาที่ 120 นาที

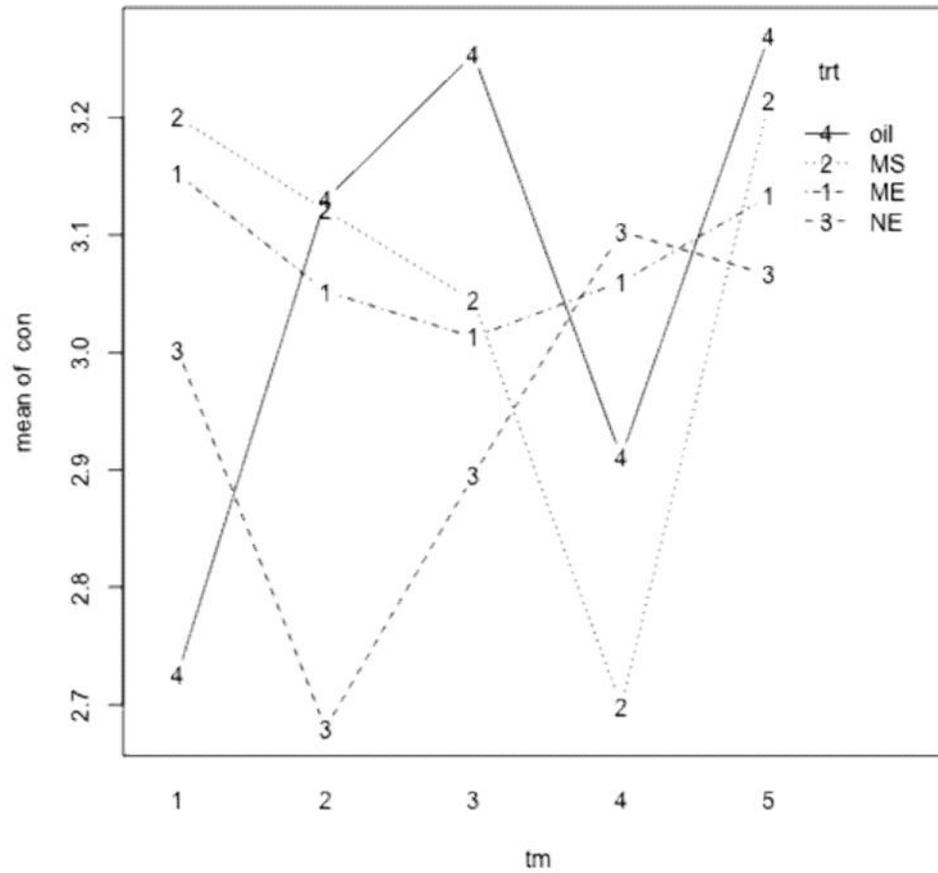
การศึกษาระดับแลคเตทในเลือด

ค่าเฉลี่ยระดับแลคเตทในเลือดของปลาการ์พ์พบว่า กลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 กลุ่มที่ได้รับน้ำมันงาที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ กลุ่มน้ำมันงารูปแบบไมโครอิมัลชัน และกลุ่มน้ำมันงาในรูปแบบนาโนอิมัลชันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในแต่ละช่วงเวลาของการทดสอบ นอกจากนี้พบว่าค่าเฉลี่ยระดับกลูโคสในเลือดของปลาการ์พ์มีค่าระหว่าง 3.57 ± 1.52 ถึง 4.27 ± 1.35 (mmol/L) (ภาพที่ 78 และตารางที่ 110)

ค่าเฉลี่ยระดับแลคเตทในเลือดของปลานิลพบว่า กลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 กลุ่มที่ได้รับน้ำมันงาที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ กลุ่มน้ำมันงารูปแบบไมโครอิมัลชัน และกลุ่มน้ำมันงาในรูปแบบนาโนอิมัลชันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในแต่ละช่วงเวลาของการทดสอบ และค่าเฉลี่ยระดับแลคเตทในเลือดของปลานิลมีค่าระหว่าง 2.68 ± 1.22 ถึง 3.27 ± 1.38 (mmol/L) (ภาพที่ 79 และตารางที่ 111)



ภาพที่ 78 แสดงค่าเฉลี่ยระดับแลคเตทในเลือดของปลาการพีที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10) (Oil= น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME= น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS= สาร MS-222 NE= น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที



ภาพที่ 79 แสดงค่าเฉลี่ยระดับแลคเตทในเลือดของปลานิลที่ได้รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N = 10) (Oil = น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME = น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS = สาร MS-222 NE= น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4.เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที

ตารางที่ 110 แสดงค่าเฉลี่ยระดับแลคเตทในเลือดของปลาการพื้ทดลองที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆ ที่เวลาต่างๆ กัน (N = 10) (mmol/L)

	1 *	2	3	4	5
	(Mean ± SD)				
สาร MS-222	4.27 ± 1.35	4.07 ± 1.06	4.11 ± 1.11	4.19 ± 1.29	3.93 ± 1.33
น้ำมันงา	4.05 ± 1.39	4.14 ± 1.21	4.13 ± 1.18	3.91 ± 1.33	3.81 ± 0.92
น้ำมันงาไมโครอิมัลชัน	4.03 ± 1.59	4.01 ± 1.40	3.93 ± 0.77	4.03 ± 1.59	4.13 ± 1.45
น้ำมันงานาโนอิมัลชัน	3.94 ± 1.08	4.13 ± 1.21	3.57 ± 1.52	4.08 ± 1.26	3.80 ± 1.77

ตารางที่ 111 แสดงค่าเฉลี่ยระดับแลคเตทในเลือดของปลานิลทดลองที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆ ที่เวลาต่างๆ กัน (N = 10) (mmol/L)

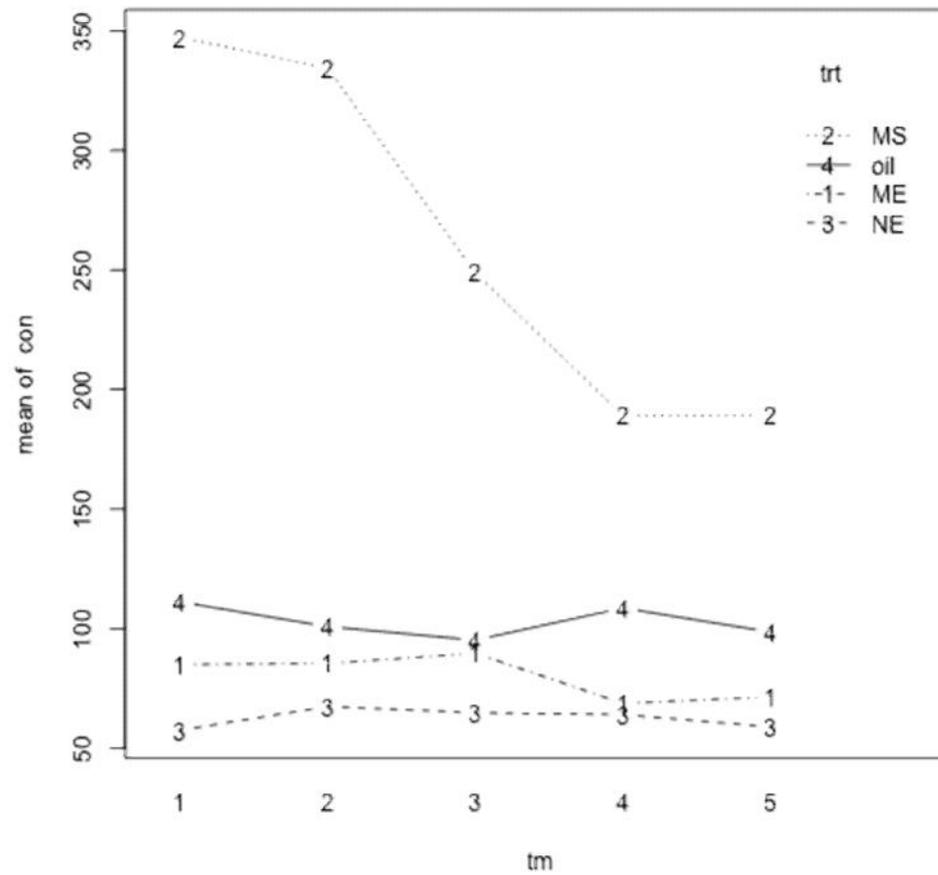
	1 *	2	3	4	5
	(Mean ± SD)				
สาร MS-222	3.03 ± 0.64	3.24 ± 1.25	2.77 ± 1.28	2.75 ± 1.02	3.10 ± 1.34
น้ำมันงา	2.73 ± 0.93	3.13 ± 0.73	3.25 ± 1.22	2.91 ± 1.25	3.27 ± 1.38
น้ำมันงาไมโครอิมัลชัน	3.15 ± 1.13	3.05 ± 0.87	3.01 ± 1.20	3.06 ± 1.35	3.13 ± 1.59
น้ำมันงานาโนอิมัลชัน	3.00 ± 1.19	2.68 ± 1.22	2.90 ± 0.79	3.10 ± 1.32	3.07 ± 0.80

*1. ระยะเวลาที่ 0 นาที 2. ระยะเวลาที่ 30 นาที 3. ระยะเวลาที่ 60 นาที 4. ระยะเวลาที่ 90 นาที 5. ระยะเวลาที่ 120 นาที

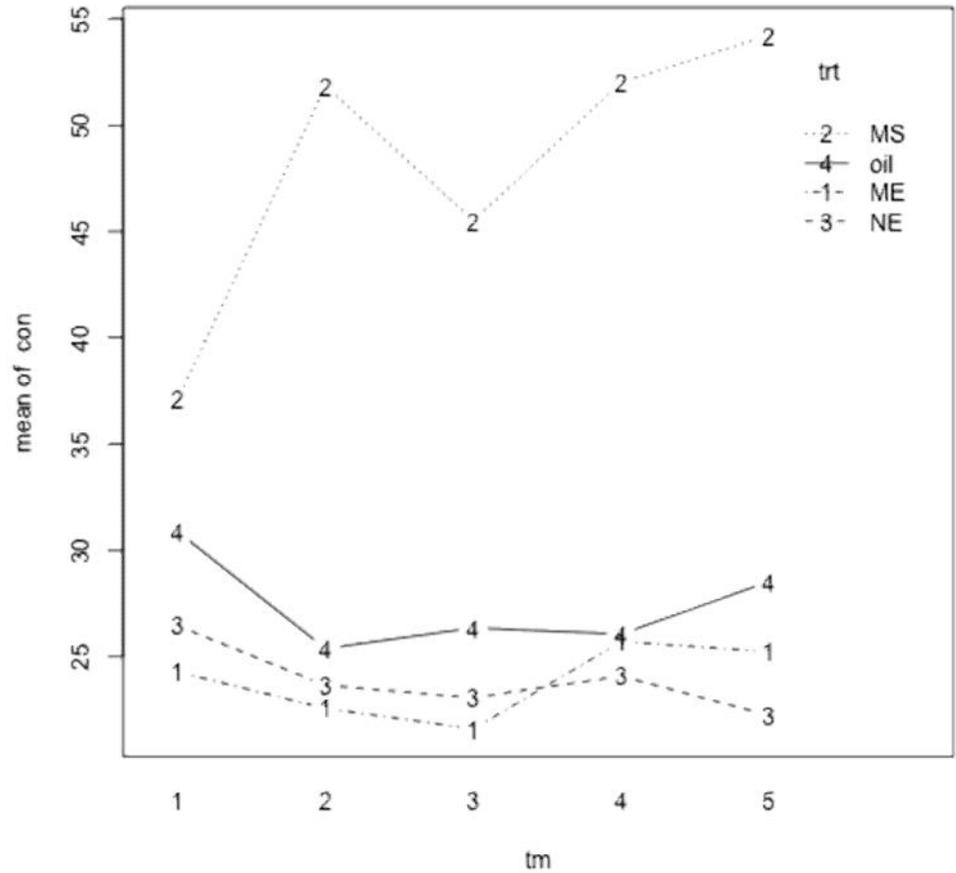
การศึกษาระดับฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือด

ค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือดของปลาการ์ป ในเวลาที่ 0 นาที, 30 นาที, 60 นาที, 90 นาที และ 120 นาที ในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 มีค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือดมากกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ($p < 0.05$) คือ 339.22 ± 08.41 , 334.50 ± 55.28 , 248.80 ± 82.81 , 189.00 ± 51.39 และ 189.30 ± 75.32 (ng/ml) ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มที่ได้รับน้ำมันฆ่ารูปแบบนาโนอิมัลชันในช่วง เวลาที่ 0 และ 90 นาทีของการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือดน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ($p < 0.05$) นอกจากนี้พบว่าค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอเลสเตอรอลของปลาการ์ปมีค่าระหว่าง 57.40 ± 26.44 ถึง 339.22 ± 108.41 (ng/ml) (ภาพที่ 80 และตารางที่ 112)

ค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือดของปลานิลพบว่า ในเวลาที่ 30 นาที, 60 นาที, 90 นาที และ 120 นาที ในกลุ่มที่ได้รับสาร MS-222 มีค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือดมากกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ($p < 0.05$) คือ 38.10 ± 11.17 , 51.84 ± 12.61 , 45.50 ± 13.32 , 52.02 ± 13.66 , และ 54.22 ± 9.97 (ng/ml) และค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอเลสเตอรอลของปลานิลมีค่าระหว่าง 21.59 ± 7.46 ถึง 54.22 ± 9.97 (ng/ml) (ภาพที่ 81 และตารางที่ 113)



ภาพที่ 80 แสดงค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือดของปลาการพีที่ได้รับยาสลับชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10) (Oil= น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME= น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน MS= สาร MS-222 NE= น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที



ภาพที่ 81 แสดงค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือดของปลานิลที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆที่เวลาต่างๆกัน (N=10) (Oil= น้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ME= น้ำมันฆ่าไมโครอิมัลชัน MS= สาร MS-222 NE= น้ำมันฆ่านาโนอิมัลชัน) 1. เวลาที่ 0 นาที 2. เวลาที่ 30 นาที 3. เวลาที่ 60 นาที 4. เวลาที่ 90 นาที 5. เวลาที่ 120 นาที

ตารางที่ 112 แสดงค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอติซอลในเลือดของปลาการพื้ทดลองที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆ ที่เวลาต่างๆ กัน (N = 10)

	1 (Mean ± SD)	2 (Mean ± SD)	3 (Mean ± SD)	4 (Mean ± SD)	5 (Mean ± SD)
สาร MS-222	339.22 ± 108.41	334.50 ± 55.28	248.80 ± 82.81	189.00 ± 51.39	189.30 ± 75.32
น้ำมันข่า	111.20 ± 45.67	100.80 ± 22.40	95.10 ± 21.55	108.60 ± 7.55	98.5 ± 22.85
น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน	84.90 ± 28.63	85.40 ± 36.37	89.70 ± 21.44	68.70 ± 27.28	71.50 ± 23.11
น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน	57.40 ± 26.44	67.40 ± 24.95	64.80 ± 22.30	64.00 ± 26.84	58.90 ± 19.43

ตารางที่ 113 แสดงค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอติซอลในกระแสเลือดของปลานิลทดลองที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆ ที่เวลาต่างๆ กัน (N = 10)

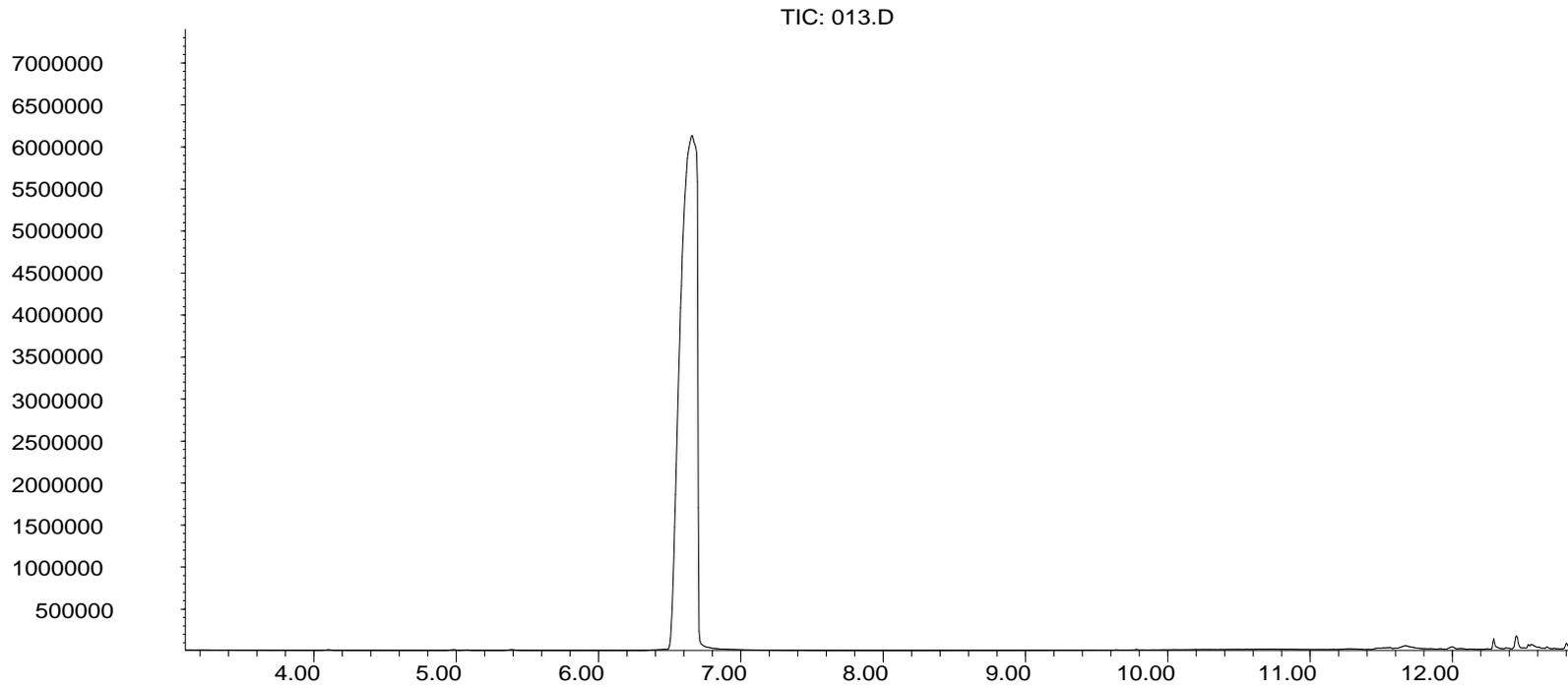
	1 (Mean ± SD)	2 (Mean ± SD)	3 (Mean ± SD)	4 (Mean ± SD)	5 (Mean ± SD)
สาร MS-222	38.10 ± 11.17	51.84 ± 12.61	45.50 ± 13.32	52.02 ± 13.66	54.22 ± 9.97
น้ำมันข่า	30.88 ± 9.01	25.37 ± 10.15	26.34 ± 17.76	26.05 ± 10.87	28.52 ± 19.33
น้ำมันข่าไมโครอิมัลชัน	24.27 ± 10.16	22.56 ± 10.63	21.59 ± 7.46	25.70 ± 11.87	25.23 ± 16.90
น้ำมันข่านาโนอิมัลชัน	26.44 ± 12.38	23.64 ± 16.49	23.06 ± 17.77	24.07 ± 17.32	22.24 ± 14.82

1. ระยะเวลาที่ 0 นาที 2. ระยะเวลาที่ 30 นาที 3. ระยะเวลาที่ 60 นาที 4. ระยะเวลาที่ 90 นาที 5. ระยะเวลาที่ 120 นาที

การตรวจหาการตกค้างของสารสำคัญในเนื้อปลา

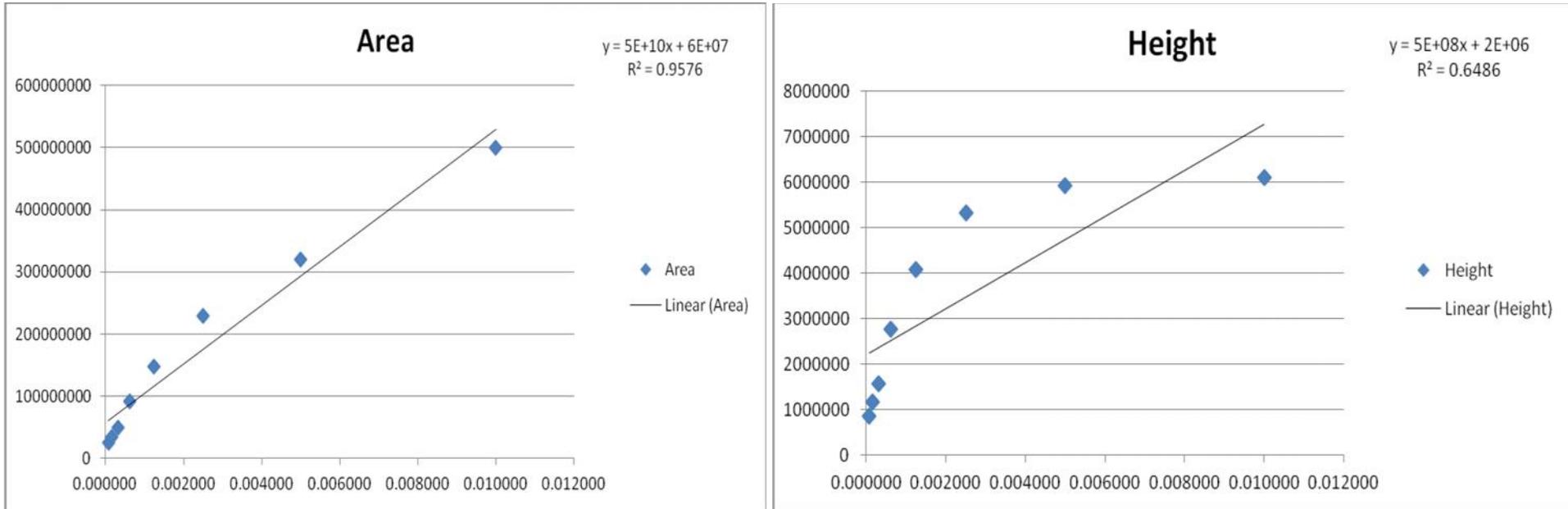
ทำการศึกษาวิเคราะห์สารสำคัญที่ตกค้างในเนื้อปลาด้วยวิธี Gas Chromatography / Mass Spectrometer (GC/MS) ผลการศึกษาพบสารสำคัญ ได้แก่ 1,8-cineole โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน 1,8-cineole และ 1,8-cineole ที่ได้จากเนื้อปลาที่สลบโดยน้ำมันข่ามี retention time ณ เวลา 6.51 นาที โดยแสดงดังภาพที่ 82 อย่างไรก็ตามยังพบสาร chavicol มี retention time ณ เวลา 15.32 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ปริมาณ 1,8-cineole ตกค้างในเนื้อปลาภายหลังการใช้น้ำมันข่า ตำรับไมโครอิมัลชันและนาโนอิมัลชันของน้ำมันข่าในการสลบปลาแสดงดังภาพที่ 84 พบว่าเมื่อสิ้นสุดการแช่ปลาในยาสลบความเข้มข้นของสาร 1,8-cineole ในเนื้อปลามีปริมาณลดลงในเวลาที่เพิ่มขึ้นตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทั้งสามตำรับ (ดังภาพที่ 85, ตาราง 115) การตกค้างของ 1,8-cineole ในเนื้อปลาที่ใช้น้ำมันข่านาโนอิมัลชันและไมโครอิมัลชันมีความแตกต่างกัน ($P < 0.0001$) (ตารางที่ 114) โดยเมื่อภายหลังสลบปลาด้วยน้ำมันข่านาโนอิมัลชันและไมโครอิมัลชัน พบความเข้มข้นเฉลี่ยของสาร 1,8-cineole ณ ชั่วโมงที่ 0 คือ 2.85 ± 1.50 , 4.91 ± 1.13 , 5.74 ± 1.21 มก./กก.ตามลำดับ โดยปริมาณความเข้มข้นเฉลี่ยของ 1,8-cineole ในเนื้อปลาที่สลบด้วยน้ำมันข่าและนาโนอิมัลชันไม่สามารถตรวจพบ ณ ชั่วโมงที่ 24 เป็นต้นไป ส่วนเนื้อปลาจากปลาที่ใช้ไมโครอิมัลชันในการสลบตรวจไม่พบสาร 1,8-cineole ณ ชั่วโมงที่ 48 เป็นต้นไป (ภาพ 86) เมื่อทำการทดสอบทางสถิติพบว่าความเข้มข้นของสาร 1,8-cineole ณ ชั่วโมงที่ 0 และ 24 ในเนื้อปลาที่สลบด้วยน้ำมันข่าน้อยกว่าไมโครอิมัลชันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ความเข้มข้นของ 1,8-cineole ในเนื้อปลาที่สลบด้วยนาโนอิมัลชัน และไมโครอิมัลชัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติส่วนในชั่วโมงที่ 2 และ 24 พบปริมาณการตกค้างของ 1,8-cineole ในเนื้อปลาที่สลบด้วยไมโครอิมัลชันมากกว่านาโนอิมัลชันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 115

Abundance



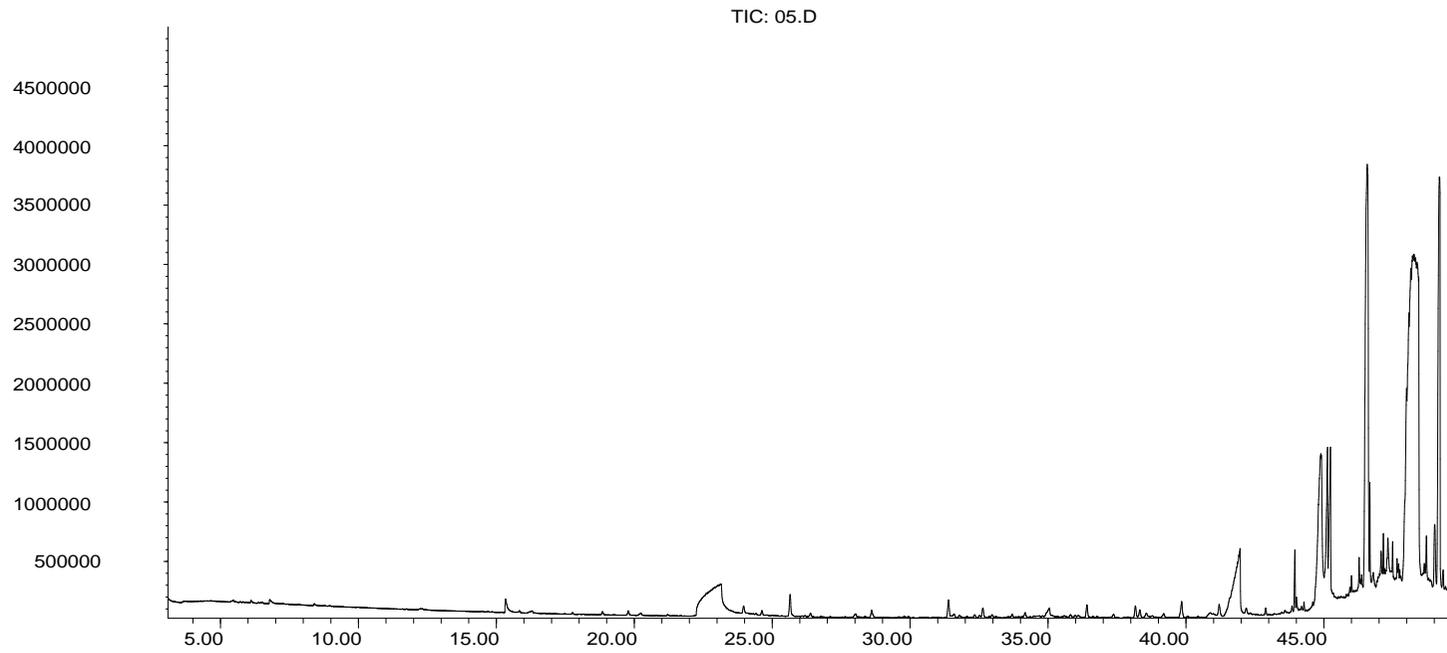
Time-->

ภาพที่ 82 แสดงตัวอย่างโครมาโตแกรมสารละลาย 1,8-cineole มาตรฐานความเข้มข้น 0.01µl



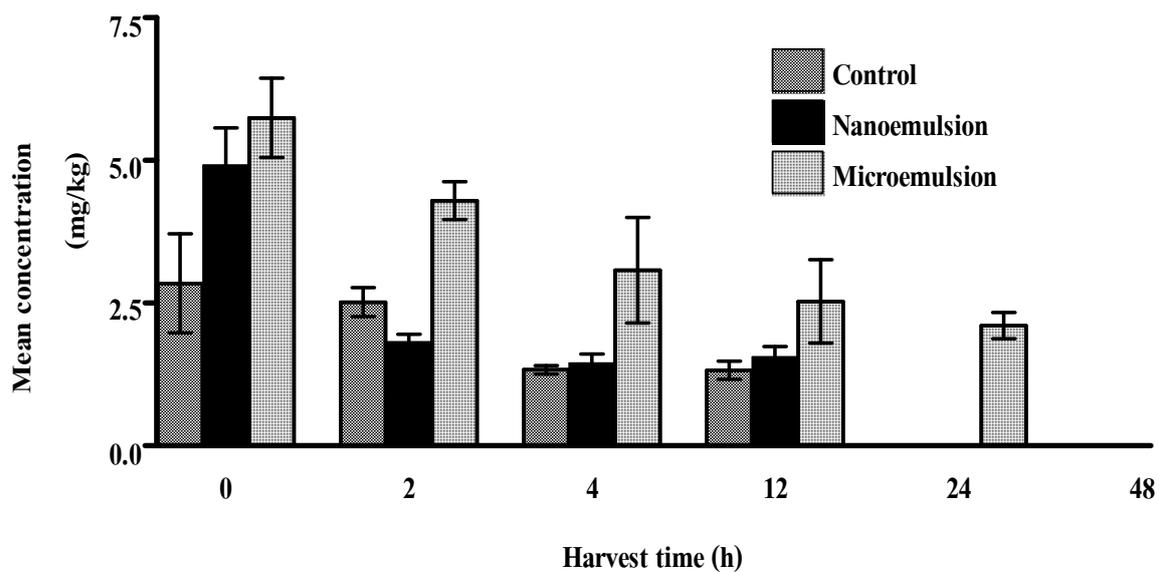
ภาพที่ 83 แสดงกราฟมาตรฐานของสาร 1,8-cineole

Abundance

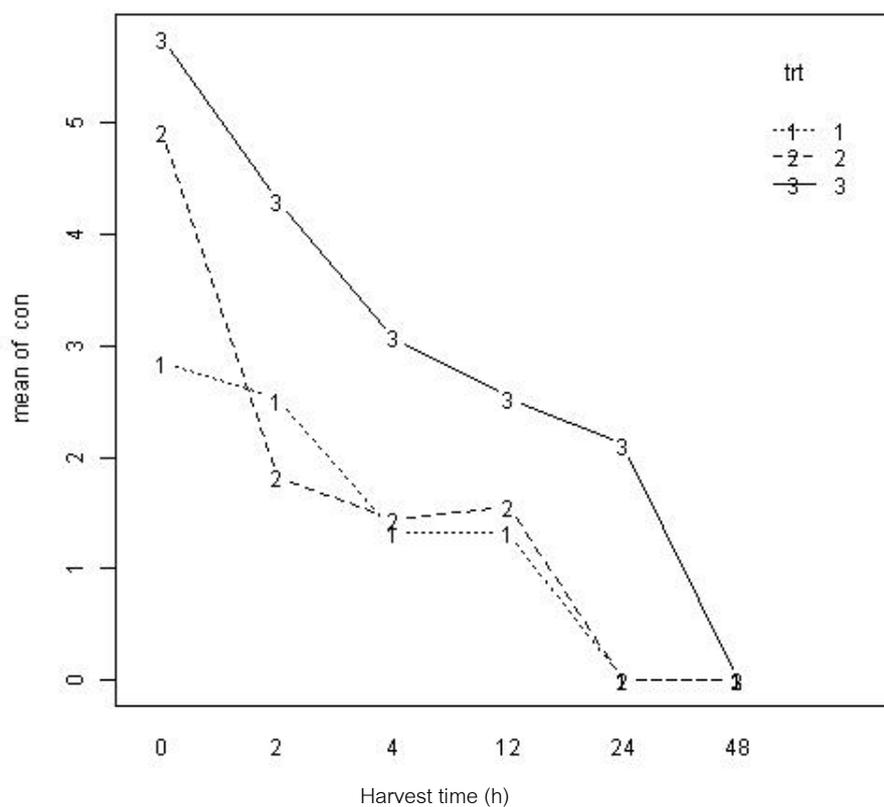


Time-->

ภาพที่ 84 แสดงตัวอย่างโครมาโตแกรมสารสกัดจากเนื้อปลา



ภาพที่ 85 กราฟแท่งแสดงความเข้มข้นของสาร 1,8-cineole ภายหลังจากการสลบปลาด้วยน้ำมันข้าว
รูปแบบนาโนอิมัลชันและไมโครอิมัลชัน



ภาพที่ 86 กราฟเส้นแสดงแนวโน้มของการลดลงของปริมาณสาร 1,8-cineole ตกค้าง ณ เวลาต่างๆ
(1) control (2) nanoemulsion (3) microemulsion

ตารางที่ 114 ผลการทดสอบทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างของปริมาณการตกค้างของสาร 1,8-cineole ในเนื้อปลา

	numDF	F-value	p-value
Interception	1	4426.886	<0.0001
Treatment	2	2768.905	<0.0001
Time	5	133.710	<0.0001
Treatment:time	10	54.351	<0.0001

สาร 1,8-cineole เป็นสารสำคัญที่พบมากที่สุดที่น้ำมันข่าในการใช้สลบปลาเพื่อบริโภค เช่น ปลานิล แม้ว่ายังไม่มียางงานการเกิดอันตรายจากสารดังกล่าวต่อผู้บริโภค อย่างไรก็ตามการตรวจสอบการตกค้างของน้ำมันข่าโดยใช้สาร 1,8-cineole เป็นตัวชี้วัดจึงเป็นกระบวนการที่ควรตรวจสอบเนื่องจากมีรายงานว่าสาร 1,8-cineole ตกค้างอาจส่งผลกระทบต่อรสชาติของเนื้อปลาได้ (Stone and Tostin, 1999) จากผลการทดลองซึ่งใช้น้ำมันข่าตำรับนาโนอิมัลชันและไมโครอิมัลชันของน้ำมันข่าในการสลบนิลที่ความเข้มข้น 200 มก./ลิตร พบว่าหลังจากนำปลาออกจากยาสลบทั้ง 3 ตำรับ การตกค้างของสาร 1,8-cineole มีปริมาณลดลงหลังจากเสร็จสิ้นการสลบในระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยน้ำมันข่าและตำรับนาโนอิมัลชันมีการตกค้างของสาร 1,8-cineole สั้นกว่าตำรับไมโครอิมัลชัน คือที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งต่างจากรายงานของ Kildea และคณะ (2004) ซึ่งทำการสลบปลากระพงขาวด้วยน้ำมันสมุนไพร คือ น้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้น 50 มก./ลิตร และ 15 มก./ลิตร พบว่าปริมาณยูจีนอลถูกกำจัดออกจากร่างกายจนต่ำกว่าปริมาณที่สามารถตรวจวัดได้หลังจากสิ้นสุดการสลบปลาในอุณหภูมิห้องที่ 48 ชั่วโมงซึ่งช้ากว่าในงานวิจัยนี้ อย่างไรก็ตามการดูดซึม การขับออกของยาในปลาส่วนใหญ่ มักผ่านทางเหงือกของปลาเป็นหลักและขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของปลา ลักษณะของยา ความเข้มข้นและวิธีการบริหารยา และอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม เป็นต้น จึงทำให้ในแต่ละการทดลองให้ผลที่แตกต่างกัน (Hikasa et al., 1986) นอกจากนี้ Kildea และคณะ (2004) รายงานผลของอุณหภูมิในการดูดซึมและการขับออกของยา โดยพบว่าในอุณหภูมิสูงการกำจัดออกของยาในปลาสามารถเกิดได้เร็วกว่าในสิ่งแวดล้อมที่อุณหภูมิต่ำ เนื่องจากในอุณหภูมิสูงการระบายอากาศบริเวณเหงือกและอัตราการเต้นของหัวใจของปลาจะสูงขึ้นและส่งผลเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของยาสลบ (permeability) บริเวณเหงือกปลาได้

ตารางที่ 115 ผลการทดสอบทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างของปริมาณการตกค้างของสาร 1,8-cineole ในเนื้อปลาแยกตามระยะเวลา

ระยะเวลาหลังจาก สลบปลา (ชั่วโมง)	เปรียบเทียบความเข้มข้นระหว่างกลุ่ม		Adjust p-value
0	น้ำมันข่า	นาโนอิมัลชัน	0.0558
0	น้ำมันข่า	ไมโครอิมัลชัน	0.003*
0	นาโนอิมัลชัน	ไมโครอิมัลชัน	1.6704
2	น้ำมันข่า	นาโนอิมัลชัน	2.1594
2	น้ำมันข่า	ไมโครอิมัลชัน	0.1422
2	นาโนอิมัลชัน	ไมโครอิมัลชัน	0.0138*
4	น้ำมันข่า	นาโนอิมัลชัน	5.2896
4	น้ำมันข่า	ไมโครอิมัลชัน	0.159
4	นาโนอิมัลชัน	ไมโครอิมัลชัน	0.2232
12	น้ำมันข่า	นาโนอิมัลชัน	4.5822
12	น้ำมันข่า	ไมโครอิมัลชัน	0.711
12	นาโนอิมัลชัน	ไมโครอิมัลชัน	1.2192
24	น้ำมันข่า	นาโนอิมัลชัน	6
24	น้ำมันข่า	ไมโครอิมัลชัน	0.0498*
24	นาโนอิมัลชัน	ไมโครอิมัลชัน	0.0498*
48	น้ำมันข่า	นาโนอิมัลชัน	6
48	น้ำมันข่า	ไมโครอิมัลชัน	6
48	นาโนอิมัลชัน	ไมโครอิมัลชัน	6

จากผลการศึกษาพบว่ารูปแบบของตำรับมีผลต่อการตกค้างของสารสาร 1,8-cineole ในเนื้อปลา โดยพบว่าปริมาณการตกค้างเริ่มต้น ณ เวลาที่ 0 ของตำรับนาโนอิมัลชันมีปริมาณน้อยที่สุดและตำรับไมโครอิมัลชันมีปริมาณมากที่สุด นอกจากนี้ตำรับนาโนอิมัลชันยังมีการตกค้างของสารสาร 1,8-cineole ในระยะเวลาที่สั้นกว่าตำรับไมโครอิมัลชัน

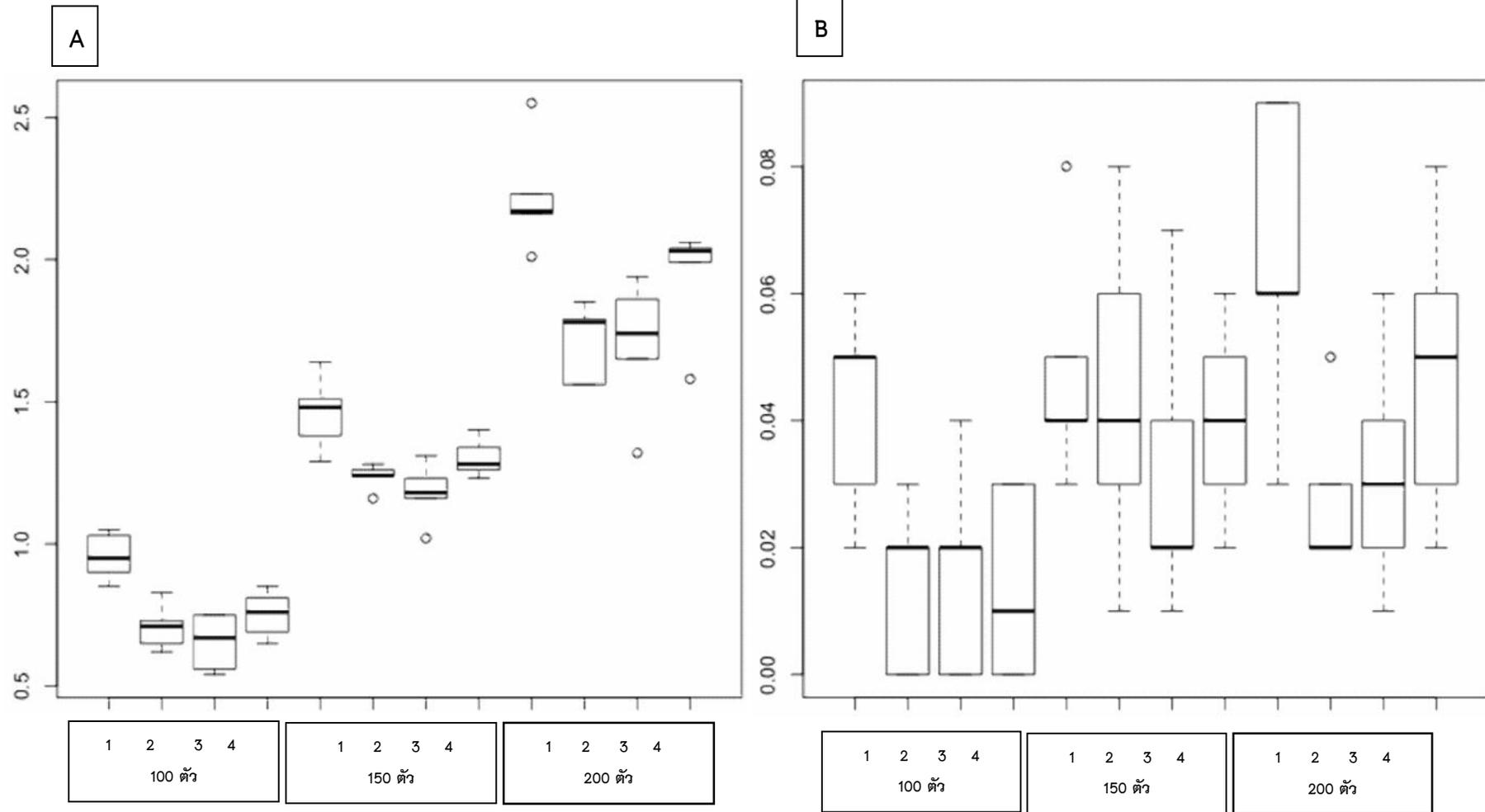
ในทางเภสัชกรรม ไมโครอิมัลชันเป็นระบบนำส่งยาที่ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าสามารถเพิ่มการซึมผ่านของยา เพิ่ม bioavailability ของยา เพิ่มการกระจายตัวของยาและเพิ่มประสิทธิภาพของยา เป็นต้น (Kreilgaard, 2002) ความสามารถในการเพิ่มการซึมของยาผ่านทางผิวหนังของไมโครอิมัลชันเนื่องจากส่วนผสมในตำรับมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำทำให้สามารถซึมผ่านผิวหนังทั้งในส่วนที่เป็น lipophilic และ hydrophilic อีกทั้งการเคลื่อนตัวของยาภายในตำรับต่างส่งผลให้ระดับของยาที่ผ่านทางผิวหนังซึ่งมีการเรียงตัวกันอย่างหนาแน่นสูงขึ้นได้ (Kreilgaard, 2002) แม้ยังไม่มีการศึกษาการซึมผ่าน

ของไมโครอิมัลชันในสัตว์น้ำ เช่น ปลา แต่เมื่อทำการสลบปลาด้วยตำรับไมโครอิมัลชันของน้ำมันข้าวพบว่าระยะเวลาในการสลบปลาเกิดได้เร็วกว่า แต่การตกค้างในเนื้อปลาสูงกว่าและยาวนานกว่าในตำรับอื่น อาจเป็นไปได้ว่า ด้วยคุณสมบัติของอนุภาคน้ำมันที่มีขนาดเล็กมาก โดยในงานวิจัยนี้ขนาดของอนุภาคไมโครอิมัลชันอยู่ที่ประมาณ 11.61 ± 0.06 นาโนเมตร ประกอบกับคุณสมบัติที่ทำให้ตำรับสามารถแทรกผ่านทั้งส่วนที่ไม่ชอบน้ำและชอบน้ำในร่างกาย ทำให้มีการแทรกซึมของยาผ่านทางเหงือกได้ในปริมาณที่มากกว่า และเกิดการกระจายตัวของยาในอวัยวะส่วนอื่นๆ ของปลาซึ่งสังเกตได้จากปริมาณการตกค้างของสาร 1,8-cineole ภายหลังการสลบ ณ ชั่วโมงที่ 0 มากกว่าตำรับอื่น นอกจากนี้ด้วยคุณสมบัติของตำรับไมโครอิมัลชันซึ่งมีอนุภาคขนาดเล็กและยังมีการเคลื่อนตัวอย่างอิสระ นอกจากการที่มีปริมาณสารที่ถูกดูดซึมผ่านทางเหงือกของปลามากแล้ว อาจมีสารบางส่วนสามารถแทรกผ่านระหว่างเกล็ดของปลาและผ่านผิวหนังของปลาเข้าไปสะสมในกล้ามเนื้อได้มากกว่าในตำรับอื่น ในขณะที่เมื่อทำการสลบปลาด้วยน้ำมันข้าวและตำรับนาโนอิมัลชันพบว่าปริมาณสาร 1,8-cineole ตกค้างเริ่มต้นมีปริมาณน้อยกว่าตำรับไมโครอิมัลชันซึ่งสะท้อนถึงความสามารถในการแทรกผ่านหรือการดูดซึมของสารสำคัญผ่านทางเหงือกและกระจายตัวในร่างกายเกิดได้น้อยกว่าตำรับไมโครอิมัลชัน สาเหตุอาจเนื่องมาจากน้ำมันข้าวละลายน้ำได้น้อย ส่งผลต่อการเข้าถึงบริเวณเหงือกของปลา อีกทั้งตำรับนาโนอิมัลชันแม้จะมีอนุภาคขนาดเล็กแต่ก็ยังมีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าตำรับไมโครอิมัลชัน ซึ่งเมื่อปริมาณการดูดซึมน้อยกว่าก็ส่งผลต่อการตกค้างของสาร 1,8-cineole เริ่มต้นน้อยกว่า และส่งผลถึงระยะเวลาในการจับยาซึ่งใช้เวลาน้อยกว่าตำรับไมโครอิมัลชัน

การศึกษาการซึมเพื่อการขนส่งของลูกปลาทดลองหลังจากได้รับยาสลบชนิดต่างๆ

ทำการซึมลูกปลาเพื่อการขนส่งโดยใช้น้ำมันฆ่าความเข้มข้น 150 พีพีเอ็มของรูปแบบน้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ น้ำมันฆ่ารูปแบบไมโครอิมัลชัน และน้ำมันฆ่าในรูปแบบนาโนอิมัลชัน ในความหนาแน่นของลูกปลานิลที่แตกต่างกันคือ 100 150 และ 200 ตัว ต่อน้ำ 4 ลิตร ต่อถุงการบรรจุ ผลการศึกษาพบว่าลูกปลาทุกกลุ่มที่ได้รับน้ำมันฆ่าความเข้มข้น 150 พีพีเอ็ม จะมีการตอบสนองต่อภายนอกลดลง ว่ายน้ำช้าลง และหายใจช้าลง ส่วนกลุ่มที่ได้รับน้ำสะอาดเพียงอย่างเดียวจะยังคงมีการตอบสนองจากภายนอก ว่ายน้ำอย่างรวดเร็ว และหายใจอย่างรวดเร็ว

หลังจากสิ้นสุดการทดลองที่ 4 ชั่วโมง พบว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับเพียงน้ำสะอาดที่ความหนาแน่น 200 ตัวมีอัตราการตายที่ 4.2 ± 1.2 % เมื่อทำการตรวจคุณภาพน้ำหลังจาก ผลการศึกษาพบว่าค่าแอมโมเนียในน้ำจะพบสูงขึ้นเมื่อมีความหนาแน่นปลามากขึ้น และจะพบว่าค่าแอมโมเนียในน้ำจะมีมากในกลุ่มได้รับน้ำสะอาด ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับน้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ กลุ่มที่ได้รับน้ำมันฆ่ารูปแบบไมโครอิมัลชัน และกลุ่มน้ำมันฆ่ารูปแบบนาโนอิมัลชัน ที่ความหนาแน่น 100 ตัว พบว่าค่าไนไตรท์ในน้ำจะมีมากในกลุ่มได้รับน้ำสะอาด ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับทุกกลุ่มการทดลอง ค่ากรด-เบสในน้ำพบว่าที่ความหนาแน่น 100 ตัว กลุ่มที่ได้รับน้ำสะอาดมีค่ากรดเบสในน้ำสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$) ส่วนที่ความหนาแน่น 150 และ 200 ตัว กลุ่มที่ได้รับน้ำมันฆ่ารูปแบบไมโครอิมัลชัน และกลุ่มน้ำมันฆ่ารูปแบบนาโนอิมัลชันมีค่ากรดเบสในน้ำสูงกว่ากลุ่มอื่น ($p < 0.05$) ส่วนค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำพบว่าที่ความหนาแน่นของลูกปลา 150 ตัว และ 200 ตัว ในกลุ่มที่ได้รับน้ำสะอาดเพียงอย่างเดียวมีแนวโน้มค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำกว่ากลุ่มการทดลองอื่น ($p < 0.05$) และเมื่อทำการเลี้ยงลูกปลาทดลองต่อไป 2 สัปดาห์พบว่าลูกปลามีอัตราการเจริญเติบโตปกติในทุกกลุ่มการทดลองและไม่พบอัตราการตาย (ภาพที่ 87 ถึงภาพที่ 88 และตารางที่ 116 ถึงตารางที่ 119)



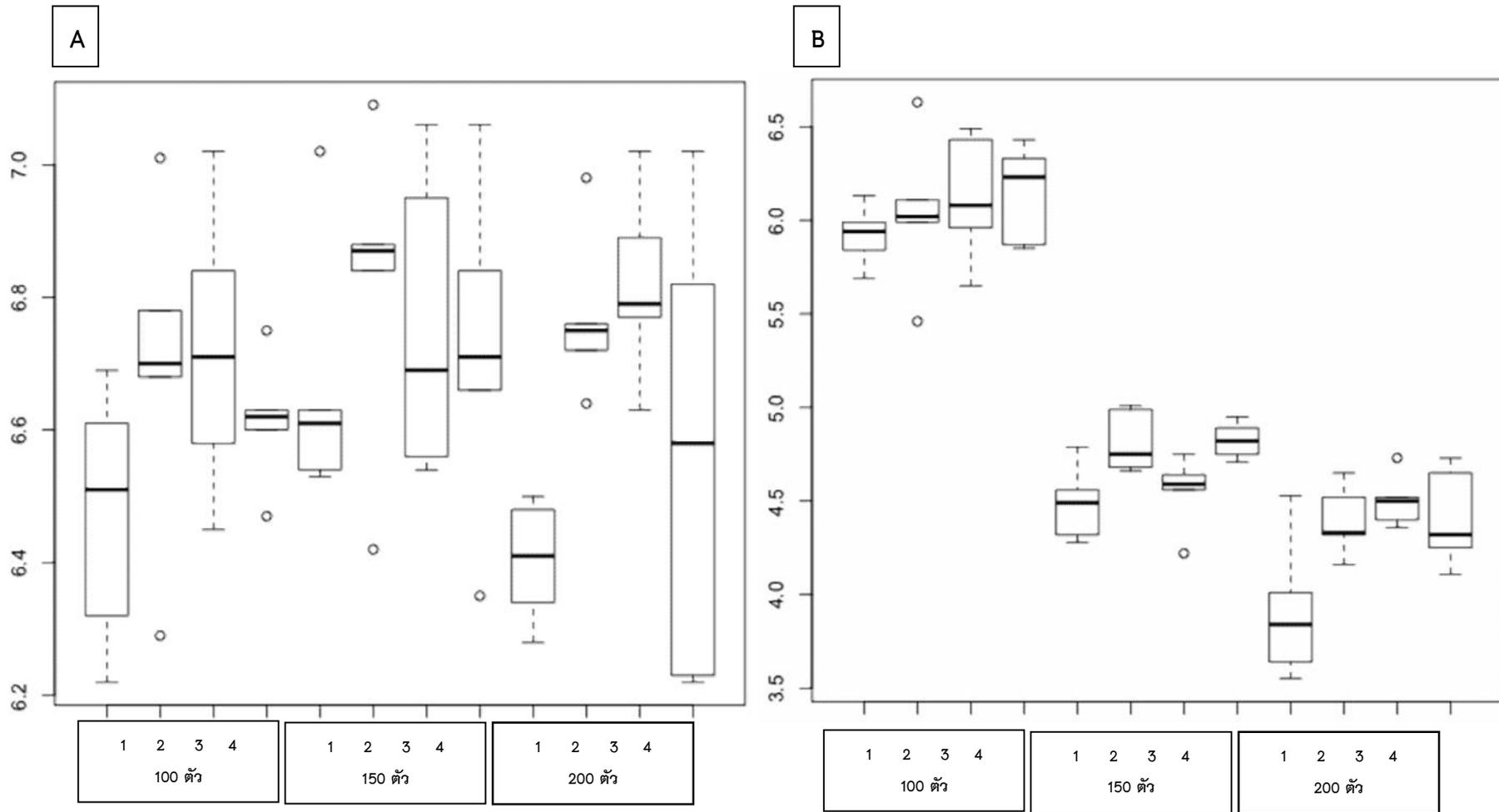
ภาพที่ 87 แสดงผลการทดสอบทางสถิติของค่าแอมโมเนียในน้ำ (A) และค่าไนไตรท์ในน้ำ (B) โดย 1 = ได้รับน้ำสะอาด, 2 = ได้รับน้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์, 3 = ได้รับน้ำมันฆ่าในรูปแบบไมโครอิมัลชัน, 4 = ได้รับน้ำมันฆ่าในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

ตารางที่ 116 แสดงค่าแอมโมเนียรวมในน้ำเฉลี่ยหลังจากทำการซึบปลานิลทดลองด้วยยาสลับชนิดต่างๆ และที่ระดับความหนาแน่นต่างๆ (N = 5)

	น้ำสะอาด (Mean ± SD)	น้ำมันข้าว (Mean ± SD)	น้ำมันข้าวไมโครอิมัลชัน (Mean ± SD)	น้ำมันข้าวนาโนอิมัลชัน (Mean ± SD)
ความหนาแน่นที่ 100 ตัว	0.96 ± 0.08	0.75 ± 0.08	0.71 ± 0.08	0.65 ± 0.10
ความหนาแน่นที่ 150 ตัว	1.46 ± 0.13	1.30 ± 0.07	1.24 ± 0.05	1.18 ± 0.11
ความหนาแน่นที่ 200 ตัว	2.22 ± 0.20	1.94 ± 0.20	1.71 ± 0.14	1.70 ± 0.24

ตารางที่ 117 แสดงค่าไนโตรเจนรวมในน้ำเฉลี่ยหลังจากทำการซึบปลานิลทดลองด้วยยาสลับชนิดต่างๆ และที่ระดับความหนาแน่นต่างๆ (N = 5)

	น้ำสะอาด (Mean ± SD)	น้ำมันข้าว (Mean ± SD)	น้ำมันข้าวไมโครอิมัลชัน (Mean ± SD)	น้ำมันข้าวนาโนอิมัลชัน (Mean ± SD)
ความหนาแน่นที่ 100 ตัว	0.04 ± 0.02	0.01 ± 0.02	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.02
ความหนาแน่นที่ 150 ตัว	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.03	0.03 ± 0.02
ความหนาแน่นที่ 200 ตัว	0.07 ± 0.03	0.05 ± 0.03	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.02



ภาพที่ 88 แสดงผลการทดสอบทางสถิติของค่ากรด-เบสในน้ำ (A) และค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (B) โดย 1 = ได้รับน้ำสะอาด, 2 = ได้รับน้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์, 3 = ได้รับน้ำมันฆ่าในรูปแบบไมโครอิมัลชัน, 4 = ได้รับน้ำมันฆ่าในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

ตารางที่ 118 แสดงค่ากรด-เบสในน้ำเกลือหลังจากทำการซิมป์ลานิลทดลองด้วยยาสลับชนิดต่างๆและที่ระดับความหนาแน่นต่างๆ (N = 5)

	น้ำสะอาด (Mean ± SD)	น้ำมันข้าว (Mean ± SD)	น้ำมันข้าวไมโครอิมัลชัน (Mean ± SD)	น้ำมันขานาโนอิมัลชัน (Mean ± SD)
ความหนาแน่นที่ 100 ตัว	6.47 ± 0.20	6.61 ± 0.10	6.69 ± 0.26	6.72 ± 0.22
ความหนาแน่นที่ 150 ตัว	6.67 ± 0.20	6.72 ± 0.26	6.82 ± 0.24	6.76 ± 0.23
ความหนาแน่นที่ 200 ตัว	6.40 ± 0.09	6.57 ± 0.35	6.77 ± 0.13	6.82 ± 0.15

ตารางที่ 119 แสดงค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำเกลือหลังจากทำการซิมป์ลานิลทดลองด้วยยาสลับชนิดต่างๆและที่ระดับความหนาแน่นต่างๆ (N = 5)

	น้ำสะอาด (Mean ± SD)	น้ำมันข้าว (Mean ± SD)	น้ำมันข้าวไมโครอิมัลชัน (Mean ± SD)	น้ำมันขานาโนอิมัลชัน (Mean ± SD)
ความหนาแน่นที่ 100 ตัว	5.92 ± 0.16	6.14 ± 0.27	6.04 ± 0.42	6.12 ± 0.35
ความหนาแน่นที่ 150 ตัว	4.49 ± 0.20	4.82 ± 0.10	4.82 ± 0.17	4.55 ± 0.20
ความหนาแน่นที่ 200 ตัว	3.91 ± 0.39	4.41 ± 0.27	4.40 ± 0.19	4.50 ± 0.14

บทที่ 6

อภิปรายและวิจารณ์ผล

น้ำมันหอมระเหยสมุนไพรที่นิยมใช้ในการสลับปลา คือ น้ำมันกานพลู เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์คือ ยูจีนอล ทำให้มีการศึกษากันเป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามการศึกษารังนี้พบว่าน้ำมันซ่าสามารถสลับปลาได้โดยสารสำคัญในน้ำมันซ่า คือ 1,8-cineole ซึ่งยังไม่มีรายงานถึงผลของสารดังกล่าวต่อฤทธิ์การสลับปลา สาร 1,8-cineole มีชื่อพ้องหลายชื่อ เช่น eucalyptol และ cajeputol เป็นต้น จัดอยู่ในกลุ่ม monoterpene พบได้ในสมุนไพรที่มนุษย์ใช้ปรุงอาหาร เช่น basil, rosemary, sage, cardamom, ginger และ peppermint เป็นต้น แต่พบมากในน้ำมันยูคาลิปตัสซึ่งมี 1,8-cineole มากกว่า 80% นอกจากนี้ 1,8-cineole ยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ในคนใช้รักษา severe pulmonary diseases เช่น asthma ซึ่งไปออกฤทธิ์ mucolytic, bronchodilating, และ anti-inflammatory properties นอกจากนี้ ยังรักษา acute sinusitis มีการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากซ่าสามชนิด ได้แก่ *Alpinia malaccensis*, *Alpinia galanga* และ *Alpinia officinarum* มีส่วนประกอบถึง 60 ชนิด โดยสารสำคัญหลัก คือ 1,8-cineole (21.6%), Chavicol (17.7%) และ α -bisabolene (15.6%) ส่วนน้ำมันหอมระเหยจาก *A. officinarum* มีส่วนประกอบ 53 ชนิด โดยส่วนประกอบสำคัญคือ α -bisabolene (10.6%) α -trans-bergamotene (7.9%) และ β -sesquiphellandrene (6.9%) นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยจาก *A. malaccensis* มี 41 ชนิด โดยสารสำคัญหลัก คือ 1,8-cineole (11.9%) linalool (9%) และ fenchyl acetate (8.6%) สัดส่วนของสารกลุ่ม oxygenated monoterpenes พบมากใน *A. galanga* oil (72%) และ *A. malaccensis* oil (45%), ในขณะที่ sesquiterpene hydrocarbons พบมากใน *A. officinarum* essential oil (47%) (Pripdeevech et al., 2009)

มีรายงานถึงผลของสาร 1,8-cineole ที่ออกฤทธิ์ระงับประสาท โดย Araujo et al. (2009) ได้ทำการศึกษาถึงผลของน้ำมันหอมระเหยจากใบของปุดนาหรือปุดนา (*Alpinia zerumbet*) ในหนูทดลอง โดยปุดนาอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เป็นพืชตระกูลขิงซ่า พบได้ทั่วไปตามริมห้วยหนอง คลองบึง ในพื้นที่ราบของภาคใต้ เชื่อว่าเหง้าของปุดนาเป็นส่วนผสมของยาอายุวัฒนะและยาเสริมสมรรถนะทางเพศของผู้ชาย ส่วนในประเทศบราซิลใช้เป็นยาขับน้ำ ลดความดัน และใช้ในการชิม สารสำคัญจากน้ำมันสมุนไพรดังกล่าวประกอบด้วย terpinen-4-ol จำนวน 25.7 % และ 1,8-cineole, 24.61 % การศึกษาโดยการฉีดน้ำมันหอมระเหยจากใบของปุดนาเข้าช่องท้องในหนูในความเข้มข้น 50 หรือ 100 mg/kg หลังจากนั้น 30 นาทีทำการทดสอบพฤติกรรมต่างๆ ผลการศึกษาพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบของปุดนามีผลโดยตรงต่อพฤติกรรมโดยมีพฤติกรรมต่างๆลดลง เช่น การเคลื่อนที่ การทำความสะอาดตัว มีผลทำให้การทำงานของระบบสั่งการ (motor activity) และเสริมฤทธิ์กับสาร pentobarbital โดยทำให้สัตว์สามารถหลับได้ยาวนานขึ้น มีความเป็นไปได้ว่าสารดังกล่าวก่อกำหนดการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) สรุปว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบของปุดนามีคุณสมบัติกดประสาท (depressant) และมีความเป็นไปได้ในฤทธิ์ระงับประสาท

(antipsychotic activity) ส่วนการศึกษาครั้งนี้ถือเป็นรายงานผลน้ำมันฆ่าต่อการศึกษาในปลาครั้งแรก อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่นอน ส่วนมากจะพบการศึกษาในน้ำมันดอกการพลู โดยพบว่าน้ำมันกานพลูทำให้อัตราการหายใจลดลง เนื่องจากการกดการทำงานของ respiratory center ที่สมองส่วน medullar oblongata และส่งผลกระทบต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง เนื่องจากเหงือกเป็นอวัยวะหลักในการนำเข้าและกำจัดออกของยาขับออกจากร่างกาย ดังนั้นการทำงานของเหงือกจึงส่งผลกระทบต่อการทำงานของยาขับเช่นกัน อุณหภูมิของน้ำส่งผลต่อการหายใจในปลาของปลา โดยเมื่ออุณหภูมิน้ำเพิ่มขึ้นปลาจะมีอัตราการหายใจที่เร็วขึ้น ในทางตรงกันข้ามอัตราการหายใจของปลาจะลดลงเมื่ออุณหภูมิของน้ำลดลงเช่นกัน ในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงจะมีผลทำให้ยาขับซึมเข้าในร่างกายมากขึ้นเนื่องจากอัตราการหายใจเร็วและอัตราการเต้นของหัวใจสูงขึ้นนั่นเอง (Javahery et.al., 2012) อีกหนึ่งสมมุติฐานของการลดการหายใจหรือหยุดหายใจและการเกิดสภาวะ medullary collapse ในปลาบางชนิด คือ น้ำมันกานพลูมีคุณสมบัติเป็น neurotoxic และ hepatotoxic ซึ่งรายงานในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Sladkya, 2001)

การศึกษาพฤติกรรมระยะเวลาการสลบและระยะเวลาการฟื้นสลบ พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันฆ่ามีความสัมพันธ์ต่อระยะเวลาในการเหนียวน้ำให้เกิดการสลบ และระยะเวลาการฟื้นสลบ โดยน้ำมันฆ่าในความเข้มข้นสูงจะทำให้ระยะเวลาในการเหนียวน้ำให้เกิดการสลบสั้นกว่า กลุ่มน้ำมันฆ่าในความเข้มข้นต่ำสอดคล้องกับการทดลอง Hoseini และ Ghelichpour (2011) ที่ทำการศึกษาในปลา Beluga (*Huso huso* (L.)) โดยแบ่งกลุ่มดังนี้ กลุ่มควบคุมคือกลุ่มที่ไม่ได้รับยาขับ กลุ่มอื่นคือกลุ่มที่ได้รับน้ำมันกานพลูในความเข้มข้น 300, 500, 700, 1,800 และ 3,000 พีพีเอ็มตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของน้ำมันกานพลูมีความสัมพันธ์ต่อระยะเวลาในการเหนียวน้ำให้เกิดการสลบและระยะเวลาการฟื้นสลบ โดยน้ำมันกานพลูในความเข้มข้นสูงจะทำให้ระยะเวลาในการเหนียวน้ำให้เกิดการสลบสั้นกว่ากลุ่มน้ำมันกานพลูในความเข้มข้นต่ำ Woody และคณะ (2002) ศึกษาผลของน้ำมันกานพลูความเข้มข้น 20, 50 และ 80 พีพีเอ็มเพื่อทำการสลบภายใน 3 นาที และฟื้นสลบภายใน 10 นาที ในปลา sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) ที่จับได้จากธรรมชาติ ผลการศึกษาพบว่าปลาที่รับความเข้มข้น 110 พีพีเอ็ม ไม่สามารถฟื้นสลบได้ภายใน 15 นาที ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อระยะเวลาในการเหนียวน้ำให้เกิดการสลบ ระยะเวลาการฟื้นสลบ ดังนี้ คือ เพศ ความเข้มข้นของน้ำมันกานพลูความยาวและความลึกของตัวปลา ผลการศึกษาพบว่าระยะเวลาในการเหนียวน้ำให้เกิดการสลบมีความสัมพันธ์กับความยาวของตัวปลาที่น้ำมันกานพลูในความเข้มข้น 20, 50 และ 80 พีพีเอ็ม แต่ที่น้ำมันกานพลูในความเข้มข้น 110 พีพีเอ็ม ไม่มีความสัมพันธ์ดังกล่าว ส่วนความยาวของตัวปลา ไม่มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการฟื้นสลบในทุกความเข้มข้นของน้ำมันกานพลู สรุปว่าน้ำมันกานพลูในความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม เหมาะสมสำหรับการทำสลบปลา sockeye salmon ตั้งแต่ขนาดตัว 400 ถึง 550 มิลลิเมตร ในช่วงน้ำที่มีอุณหภูมิเท่ากับ 9–10 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Cunha และคณะ (2010) และ Park และคณะ (2011) ศึกษาระยะเวลาในการเหนียวน้ำให้เกิดการสลบและระยะเวลาการฟื้นสลบของน้ำมันกานพลูและลิโดเคนไฮโดรคลอไรด์ (lidocaine-HCl) ในปลา marine medaka (*Oryzias dancena*) ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน คือ ที่ 23, 26 และ 29 องศาเซลเซียส รวมทั้งความเข้มข้นของยาสลบทั้ง 2 ชนิดที่

แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้น 50, 75, 100, 125, 150 และ 175 พีพีเอ็ม และลิโดเคนไฮโดรคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 300, 400, 500, 600, 700 และ 800 พีพีเอ็ม ผลการศึกษาพบว่าระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบจะสั้นลงเมื่อความเข้มข้นของยาสลบสูงขึ้นและอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยให้ผลเช่นเดียวกันของยาสลบทั้งสองชนิด ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการในการทำสลบปลาใน 1 นาทีของน้ำมันกานพลูที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียสคือ 125 พีพีเอ็ม ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียสคือ 100 พีพีเอ็มและที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียสคือ 75 พีพีเอ็ม ส่วนลิโดเคนไฮโดรคลอไรด์ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียสคือ 800 พีพีเอ็ม และที่อุณหภูมิ 26 และ 29 องศาเซลเซียสคือ 700 พีพีเอ็ม นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบและระยะเวลาการฟื้นสลบในปลา marine medaka ขนาดเล็กจะมีสั้นกว่าปลา marine medaka ที่มีขนาดใหญ่กว่า ระยะเวลาการฟื้นสลบจะสั้นเมื่อได้รับน้ำมันกานพลูในความเข้มข้นน้อยแต่นานขึ้นเมื่อได้รับน้ำมันกานพลูในความเข้มข้นที่มากขึ้น การใช้น้ำมันกานพลูในความเข้มข้น 12.5 มก./ลิตร จะช่วยลดความเครียด ลดอัตราการตายในระหว่างการจับบังคับและการขนส่ง เนื่องจากปลาสามารถยังมีกิจกรรมการว่ายน้ำ การหายใจ (Piper et al., 2001; Cook et al., 2004) ความเข้มข้นของน้ำมันกานพลูที่เหมาะสมสำหรับการสลบคือ ระหว่าง 50 ถึง 100 มก./ลิตร และ 10 ถึง 30 มก./ลิตร สำหรับวัตถุประสงค์ในการจับบังคับ คุณภาพน้ำที่มีผล เช่น อุณหภูมิ กรด-เบส ความเค็ม และความกระด้าง อาจมีผลต่ออัตราการเมตาโบลิซึม การรักษาสมดุลย์กรด-เบสของร่างกาย รวมทั้งการรักษาสมดุลย์ของไอออน (Iwama et al., 1989; Schoettger 1967; Heisler 1988; Perry and Gilmour 2006) โดยอุณหภูมิมิผลต่อการสลบมากที่สุด และกรด-เบสของน้ำมีผลต่อการสลบน้อยที่สุด อย่างไรก็ตามในปลาที่อยู่ในสภาวะสิ่งแวดล้อมที่เป็นกรดอาจมีผลต่อสุขภาพปลาได้ ดังนั้นควรมีการตรวจกรด-เบสของน้ำก่อน เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่มากกว่าอุณหภูมิปกติ 2 องศาเซลเซียสอาจมีผลต่อระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบและระยะเวลาการฟื้นสลบ เมื่อละลายยาสลบลงในน้ำ และใช้ในการสลบปลามากกว่าหนึ่งตัวอาจส่งผลให้ระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบระยะเวลาการฟื้นสลบเปลี่ยนแปลงไปได้ เนื่องจากการสลายตัวหรือถูกเจือจางของสารสำคัญในน้ำ รวมทั้งสารคัดหลั่งต่างๆที่ออกมาจากตัวปลา เช่น เลือดหรือเมือก (Summerfelt and Smith 1990; Burka et al., 1997; Schoettger 1967) ดังนั้นเพื่อเป็นการควบคุมการทดลองในการศึกษาครั้งนี้ มีการเปลี่ยนน้ำที่ผสมยาสลบแล้วในปลาทดลองทุกๆสามตัว เพื่อลดความคลาดเคลื่อนดังกล่าว และผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของน้ำมันข่ามีความสัมพันธ์ ต่อระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบและระยะเวลาการฟื้นสลบ และน้ำมันข่าในรูปแบบไมโครอิมัลชันและน้ำมันข่าในรูปแบบนาโนอิมัลชันเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบสั้นกว่า น้ำมันข่ารูปแบบที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าน้ำมันข่าในรูปแบบนาโนอิมัลชันจะเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบที่สั้นกว่า น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์

ระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบและระยะเวลาการฟื้นสลบของปลา silver catfish (*Rhamdia quelen*) ด้วยสารยูจีนอล จากนั้นทำการจับบังคับเพื่อวัดร่างกาย (biometry) และเก็บเลือดที่ 0, 1 และ 4 ชั่วโมงหลังการจับบังคับ ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของสารยูจีนอลที่เหมาะสมในการสลบคือ

20 – 50 มก./ลิตร และพบว่าในกลุ่มที่ไม่ได้รับยาสลบในช่วง 4 ชั่วโมงที่ 4 ของการจับบังคับ มีฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือด สูงกว่าช่วง 0 และพบว่าในกลุ่มที่ได้รับสารยูจินอลความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม ในช่วง 4 มีฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมทุกระยะเวลาการทดลอง สรุปได้ว่าสารยูจินอลสามารถยับยั้งฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในเลือด

การใช้ยาสลบในปลาประโยชน์เพื่อการควบคุมที่ง่าย โดยลดการบาดเจ็บ นอกจากนี้ยาสลบยังช่วยลดหรือยับยั้ง hypothalamo–pituitary –interrenal (HPI) axis ที่เกี่ยวกับ handling stress ซึ่งการทำงานของ (HPI) axis ในระหว่างที่มีความเครียดจะทำให้เกิดการหลั่งของฮอร์โมนคอเลสเตอรอล และเกิด secondary stress responses ตามมา เช่น การเพิ่มขึ้นของกลูโคสและแลคเตทในกระแสเลือด (Rotllant et al., 2001; Skjervold et al., 2001) โดยการเพิ่มขึ้นดังกล่าวส่งผลต่อคุณภาพของเนื้อปลา (Skjervold et al., 1999, 2001; Silva and Nunez, 2001) การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนคอเลสเตอรอลยังส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้ทำงานได้ลดลง ดังมีรายงานในปลาหลายชนิด เช่น ในปลา salmonid fish (Maule et al., 1989; Pickering and Pottinger, 1989) และปลา channel catfish (Davis et al., 2002) การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบันมักจะมีอาการเครียดที่หนาแน่น ดังนั้นส่งผลให้คุณภาพน้ำมีค่าแอมโมเนียสูงแต่มีออกซิเจนที่ละลายในน้ำน้อย ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้ปลาเกิดความเครียด (Boyd, 1982; Fries et al., 1993; Abdalla and Romaine, 1996; Torrains et al., 2003) มีการศึกษาของ Tomasso และคณะ (1981a) พบว่าเมื่อปลา channel catfish ได้รับสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ และมีแอมโมเนียสูงนาน 24 ชั่วโมง จะพบการสูงขึ้นของฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในกระแสเลือดอย่างรวดเร็วและจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า น้ำมันฆ่าสามารถป้องกันการสูงขึ้นของฮอร์โมนคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของความเครียด โดยการศึกษาค่าเลือดต่างๆพบว่า เมื่อทำการสลบปลาด้วยสาร MS-222 มีผลเปลี่ยนแปลงทางค่าเลือด คือ ระดับกลูโคสและระดับคอเลสเตอรอลในเลือดมีมากกว่ากลุ่มที่ทำสลบด้วยน้ำมันฆ่า ทั้งในปลาคาร์พและปลานิล ส่วนค่าฮีโมโกลบินและปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นมีมากกว่ากลุ่มที่ทำสลบด้วยน้ำมันฆ่าในปลาคาร์พแต่ไม่แสดงผลแตกต่างกันในปลานิล ส่วนจำนวนเม็ดเลือดแดงมีแนวโน้มสูงในกลุ่มที่ทำสลบด้วยสาร MS-222 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ทำสลบด้วยน้ำมันฆ่า แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างกันของกลุ่มที่ทำสลบด้วยสาร MS-222 และกลุ่มที่ทำสลบด้วยน้ำมันฆ่าในค่าระดับแลคเตทและจำนวนเม็ดเลือดขาว ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hoseini และ Ghelichpour 2011 ที่ทำการศึกษาในปลา Beluga (*Huso huso* (L.)) โดยแบ่งกลุ่มดังนี้ กลุ่มควบคุมคือกลุ่มที่ไม่ได้รับยาสลบ กลุ่มอื่นคือกลุ่มที่ได้รับน้ำมันกานพลูในความเข้มข้น 300, 500, 700, 1,800 และ 3,000 พีพีเอ็มตามลำดับ พบว่าผลทางโลหิตวิทยา ค่า white blood cell (WBC) และค่า differential leukocyte count ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกกลุ่มการทดลอง ในกลุ่มที่ได้รับน้ำมันกานพลูในความเข้มข้น 300-700 พีพีเอ็ม พบว่าค่า hematocrit (Hct), hemoglobin (Hb), red blood cell (RBC) และ mean corpuscular hemoglobin concentration มีสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำมันกานพลูในความเข้มข้น 1,800 และ 3,000 พีพีเอ็ม และกลุ่มควบคุม ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับน้ำมันกานพลูในความเข้มข้น 3,000 และ 1,800 พีพีเอ็ม มีค่า mean corpuscular hemoglobin ต่ำกว่ากลุ่มอื่น

และมีการรายงานของ Gholipourkanani และ Ahadizadeh (2013) ถึงการศึกษาทางโลหิตวิทยาพบว่าค่า Total RBC, WBC, HCT, MCH, MCV และ leukogram indices ของปลาทองในกลุ่มที่ทำสลบด้วย propofol ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับน้ำมันกานพลู อย่างไรก็ตามค่า MCHC (%) และ Hb (g/dl) ในกลุ่ม propofol น้อยกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับน้ำมันกานพลูอย่างมีนัยสำคัญ Kristan et al. (2012) ศึกษาผลของยาสลบ Propiscin, 2-phenoxyethanol, clove oil และ tricaine methane sulphonate (MS 222) ต่อการเปลี่ยนแปลง haematological และ biochemical blood profiles ในปลา pikeperch (*Sander lucioperca* L.) โดยทำการเจาะเลือดที่ 10 นาที หลังจากสลบ และ 24 ชั่วโมงหลังจากสลบ ผลการศึกษาพบว่าค่า erythrocyte count และค่า haematocrit น้อยลงอย่างมีนัยสำคัญที่ 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับยาสลบ 2-phenoxyethanol โดยเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับยาสลบ ส่วน mean corpuscular haemoglobin concentration เพิ่มขึ้นในกลุ่ม 2-phenoxyethanol และกลุ่ม Propiscin เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับยาสลบ ส่วนกลุ่ม 2-phenoxyethanol, MS 222, Propiscin และกลุ่มน้ำมันกานพลู มีค่า leukocyte count ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับยาสลบ ค่ากลูโคสในเลือดของกลุ่ม น้ำมันกานพลูและ MS 222 สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับยาสลบ สรุปได้ว่าน้ำมันกานพลูมีผลกระทบน้อยกว่า MS 222 ในการทำสลบปลา pikeperch ส่วน Propiscin และ 2-phenoxyethanol ไม่เหมาะสมต่อการจับบังคับในปลา pikeperch อย่างไรก็ตาม Sladky และคณะ (2012) ศึกษาพบว่า การสลบด้วยน้ำมันกานพลูจะทำให้ระยะเวลาในการเหนียวน้ำให้เกิดการสลบสั้นกว่า และระยะเวลาการฟื้นสลบนานกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่ม tricaine methanesulfonate ในปลา red pacu (*Piaractus brachipomus*) ในระหว่างการทำสลบจะทำให้ mixed venous-arterial PO₂ ลดลง ในขณะที่ PCO₂ เพิ่มขึ้น เมื่อเกิดการเพิ่มขึ้นของ PCO₂ จะพบที่เกิดสภาวะ respiratory acidosis การทำสลบทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ กลูโคส, โพแทสเซียม และ โซเดียมในเลือด รวมทั้งการเพิ่มขึ้นของ Hct และ hemoglobin และยังพบว่าปลา ที่ทำสลบด้วยยูจินอลมีการตอบสนองต่อเข็มที่จิ้มใต้ผิวหนัง (hypodermic needle puncture) มากกว่ากลุ่มที่ทำสลบด้วย tricaine methanesulfonate

น้ำมันกานพลูที่ความเข้มข้นมากกว่า 20 พีพีเอ็ม สามารถป้องกันการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนคลอดิซอลในพลาสมาของปลาแอตแลนติกแซลมอน อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถอธิบายกลไกดังกล่าวได้ แต่เชื่อว่าน้ำมันกานพลูออกฤทธิ์รับกวนที่สมองส่วน hypothalamus (Iversen et al., 2003) ระดับคลอดิซอลในปลาที่ไม่เครียดอยู่ระหว่าง 5 ถึง 51 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อเกิดความเครียดระดับคลอดิซอลอาจไปถึง 30 ถึง 309 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Davidson et al., 2000) ส่วนในปลา silver catfish ระดับคลอดิซอลในปลาที่ไม่เครียดอยู่ระหว่าง 23.80 ± 5.45 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และในสภาวะ chronic stress อยู่ระหว่าง 55.23 ± 11.44 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร การเพิ่มขึ้นของระดับคลอดิซอลในเลือดมักขึ้นอยู่กับชนิดของปัจจัยความเครียดที่ได้รับ เช่นในปลา rainbow trout ที่สัมผัสกับอากาศนาน 30 วินาที ส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนคลอดิซอลในเลือดภายใน 30 นาทีหลังจากสัมผัสอากาศ (Sloman et al., 2001) ในปลา silver catfish ที่ได้รับสารยูจินอลพบว่า มีระดับฮอร์โมนคลอดิซอลในพลาสมาต่ำกว่าในทุกช่วงเวลา เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับยาสลบและจับบังคับด้วยมือเปล่า Small (2003) ทำการศึกษาการยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนคลอดิ

ซอลในปลา channel catfish (*Ictalurus punctatus*) ด้วยยาสลบชนิดต่างๆ ได้แก่ metomidate ความเข้มข้น 6 พีพีเอ็ม, สาร tricaine methanesulfonate ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม, สาร quinaldine ความเข้มข้น 30 พีพีเอ็ม และน้ำมันกานพลู ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ผลการศึกษาพบว่าระดับพลาสมาคลอติซอลของปลาที่ได้รับ metomidate และน้ำมันกานพลูยังคงอยู่ที่ baseline ใน 30 นาทีหลังจากทำการสลบ ส่วนระดับพลาสมาคลอติซอลของปลาที่ได้รับสาร tricaine methanesulfonate และ quinaldine มีระดับพลาสมาคลอติซอลสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับ metomidate (ระดับพลาสมาคลอติซอลของปลาที่ได้รับสาร tricaine methanesulfonate สูงกว่า 8 เท่า ส่วนกลุ่ม quinaldine มีระดับพลาสมาคลอติซอลสูงกว่า 4 เท่า) อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาในปลา sunshine bass หลังจากทำการสลบด้วย น้ำมันกานพลู, Aqui-S®, metomidate, MS-222, quinaldine, และ quinaldine sulfate ผลการศึกษาพบว่าทุกกลุ่มที่ได้รับยาสลบชนิดต่างๆ มีค่าพลาสมาคลอติซอลและน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับสาร metomidate

ระบบไมโครอิมัลชันมีประโยชน์ในการพัฒนายาที่ละลายน้ำได้ยาก เนื่องจากคุณสมบัติอนุภาคที่มีขนาดเล็กอยู่ในช่วง 20–200 นาโนเมตร (Azeem et al., 2009) เนื่องจากมีสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม ช่วยในการเพิ่มพื้นที่ผิวทำให้การรวมตัวกันของวัฏภาคน้ำกับวัฏภาคน้ำมันดียิ่งขึ้น (Deshpande et al., 2001) โดยการศึกษาของระบบไมโครอิมัลชันของน้ำมันข่าครั้งนี้ใช้ทวิน 20 เป็นสารลดแรงตึงผิว และใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมคือ เอทานอลและไอโซโพรพานอล โดยกล่าวว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็กนี้สามารถแทรกซึมผ่านเข้าไปในอวัยวะเป้าหมายได้ดีกว่า (Vyas et al., 2002) เช่น มีการพัฒนาระบบไมโครอิมัลชันของยา theophylline ทำให้มีอัตราการส่งผ่านทางผิวหนังได้ดีกว่าตำรับธรรมดา (Zhao et al., 2006) เช่นเดียวกับตำรับไมโครอิมัลชันของยา lidocaine (Sintov and Shapiro, 2004) และตำรับไมโครอิมัลชันยา hydrocortisone (El maghraby, 2008) ซึ่งเพิ่มการซึมผ่านของตัวยาในผิวหนังของมนุษย์ เป็นต้น ผลการวิเคราะห์หาขนาดอนุภาคของตำรับไมโครอิมัลชันพบว่าอยู่ในช่วงนาโนเมตร และมีการกระจายขนาดอยู่ในช่วงแคบ ขนาดอนุภาคของทุกตำรับถือว่ามีความเล็กมากคืออยู่ในช่วงไม่เกิน 70 นาโนเมตร สอดคล้องกับรายงานว่าขนาดอนุภาคไมโครอิมัลชันของน้ำมันตะไคร้ที่ใช้ Brij 97, Tween 20, Triton X-114 และ Tween 85 มีค่าเท่ากับ 9.5, 91.9, 11.4 และ 78.6 นาโนเมตร ตามลำดับ Kim และคณะ (2009) รายงานว่าขนาดอนุภาคไมโครอิมัลชันของน้ำมัน tea tree (*Melaleuca alternifolia*) ที่ใช้ sucrose laurate เป็นสารลดแรงตึงผิวหลัก มีค่าเท่ากับ 9.25–9.74 นาโนเมตร ดังนั้นในผลการทดลองนี้ จึงคล้ายตามผลการทดลองหลายๆ รายงานเกี่ยวกับขนาดของไมโครอิมัลชัน ส่วนระบบนาโนอิมัลชันเป็นรูปแบบยาเตรียมที่เป็น dispersion ของหยดน้ำมันในน้ำ (O/W) หรือหยดน้ำในน้ำมัน (W/O) ห่อหุ้มหยดด้วยสารลดแรงตึงผิว นาโนอิมัลชันมีขนาดหยดอนุภาคภายในเล็กมาก มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณไม่เกิน 1 ไมครอน นาโนอิมัลชันสามารถเตรียมได้โดยการพัฒนาสุตรตำรับให้เหมาะสม และใช้แรงคั่นช่วยในการทำให้วัฏภาภายในมีขนาดเล็กลง นาโนอิมัลชันมีลักษณะคล้ายกับอิมัลชันโดยทั่วไป แต่มีความความคงสภาพมากกว่าและสามารถกักเก็บตัวยาได้ในปริมาณที่มากกว่า อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพในการรักษามากกว่าด้วย ทั้งนี้เนื่องจากนาโนอิมัลชันมีขนาดอนุภาคภายในที่เล็กกว่ามาก อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีการศึกษาถึงการส่งผ่าน

ยารูปแบบไมโครอิมัลชันในสัตว์น้ำ ซึ่งมีอวัยวะในการดูดซึมตัวยาแตกต่างกับสัตว์ชนิดอื่นๆ คือ เหงือก การออกฤทธิ์ของยาสลายเมื่อละลายลงไปในน้ำ พบว่าจะถูกดูดซึมและแพร่กระจายผ่านรอยต่อของแองเกล็ดที่บริเวณ secondary lamella เข้าสู่ afferent artery และไปออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลางซึ่งอยู่ใกล้กับบริเวณเหงือก (Ross and ross, 2008) เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยละลายลงในน้ำ พบว่าสารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยสามารถดูดซึมผ่านเหงือก และผิวหนัง โดยเฉพาะในปลาที่ไม่มีเกล็ดซึ่งที่ผิวหนังจะมีเส้นเลือดมาเลี้ยงจำนวนมาก เมื่อสารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยผ่านเหงือกจะเข้าสู่กระแสเลือดและกระจายตัวไปทั่วร่างกาย เนื่องจากหอมระเหยมีคุณสมบัติเป็น lipophilic ทำให้หอมระเหยสามารถเข้าสู่เนื้อเยื่อไขมันและสมองได้

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ผลของน้ำมันฆ่าในรูปแบบไมโครอิมัลชันและน้ำมันฆ่ารูปแบบนาโนอิมัลชัน มีการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบที่สั้นกว่าน้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากอนุภาคของตำรับไมโครอิมัลชันมีขนาดเล็กกว่า แตกต่างจากน้ำมันฆ่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์เมื่อละลายลงในน้ำปริมาณน้อย ซึ่งจะเกิดเป็นลักษณะคอลลอยด์คือเป็นสารเนื้อเดียวแต่ไม่ตกตะกอน โดยอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลาง คือ 1×10^{-7} ถึง 1×10^{-4} เซนติเมตร ซึ่งจะมีลักษณะขุ่น คือมีขนาดอนุภาคมากกว่าความยาวคลื่นแสงที่ตามองเห็นได้ (Azeem et al., 2009) จึงอาจเป็นไปได้ว่าระบบไมโครอิมัลชันเพิ่มการละลาย ของน้ำมันฆ่าและอาจส่งผลให้สารสำคัญสามารถซึมผ่านเหงือกปลาไปออกฤทธิ์ได้ดีกว่า น้ำมันฆ่าในรูปแบบไมโครอิมัลชันและน้ำมันฆ่าในรูปแบบนาโนอิมัลชันเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบสั้นกว่า ด้วยเหตุนี้จึงอาจทำให้ช่วยลดปริมาณของน้ำมันฆ่าที่ใช้ในการสลบลงได้ และช่วยประหยัดต้นทุนการผลิตสัตว์น้ำ นอกจากนี้ยังใช้ต้นทุนในการผลิตน้ำมันฆ่าในรูปแบบไมโครอิมัลชันที่ต่ำอีกด้วย อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของการนำไปใช้จริงเพื่อให้เห็นผลเป็นรูปธรรม ทั้งนี้เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์ในการพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

บทที่ 7

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. น้ำมันข่ามีสารสำคัญ 2 ชนิด คือ 1,8-cineole และ 4-allylphenyl acetate และพบว่าสาร 1,8-cineole ในน้ำมันข่ามีผลทำให้ปลาเกิดการสลบ แต่ยังไม่ทราบกลไกการทำงานที่ชัดเจน
2. ปลาแต่ละชนิดตอบสนองต่อความเข้มข้นของยาสลบแต่ละชนิดแตกต่างกัน โดยพบว่าสาร MS-222 มีระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบภายในเวลาประมาณ 3 นาที ในปลาคาร์พต้องใช้ความเข้มข้น 100 มก.ต่อลิตร ส่วนปลานิลต้องใช้ความเข้มข้น 150 มก.ต่อลิตร
3. น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ มีระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบภายในเวลาประมาณ 5 นาที ในปลาคาร์พต้องใช้ความเข้มข้น 500 มก.ต่อลิตร ส่วนปลานิลต้องใช้ความเข้มข้น 900 มก.ต่อลิตร
4. ไมโครอิมัลชันและนาโนอิมัลชันของน้ำมันข่าที่พัฒนาขึ้นได้ผลิตภัณฑ์ที่สามารถใช้สลบปลาทั้งสองชนิดได้โดยลดความเข้มข้นของน้ำมันข่าลง โดยพบว่าระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบภายในเวลาประมาณ 3 นาที ในปลาคาร์พต้องใช้ความเข้มข้น 200 มก.ต่อลิตร ส่วนปลานิลต้องใช้ความเข้มข้น 700 มก.ต่อลิตร สำหรับไมโครอิมัลชัน และมีระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบภายในเวลาประมาณ 5 นาที ในปลาคาร์พต้องใช้ความเข้มข้น 200 มก.ต่อลิตร ส่วนปลานิลต้องใช้ความเข้มข้น 500 มก.ต่อลิตร สำหรับระบบนาโนอิมัลชัน
5. น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ไมโครอิมัลชัน และนาโนอิมัลชันของน้ำมันข่าสามารถช่วยลดคอรัโมนคลอดิซอลในกระแสเลือดของปลาทั้งสองชนิดได้ เมื่อเทียบกับการใช้สาร MS-222
6. สาร 1,8-cineole ที่ตกค้างในเนื้อปลาพบอยู่ในระดับต่ำ เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง
7. น้ำมันข่าที่ทำละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ ไมโครอิมัลชันและนาโนอิมัลชันของน้ำมันข่าในความเข้มข้น 150 มก.ต่อลิตร สามารถใช้ซึ่มลูกปลานิลเพื่อขนส่งได้

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการศึกษาวิจัยครั้งแรกที่พบว่าสารในน้ำมันข่าใช้ในการสลบปลาได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญดังกล่าวในน้ำมันข่า รวมทั้งควรมีการศึกษาถึงผลของน้ำมันข่าต่อการสลบปลาเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ เพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆในการควบคุมปลา

บรรณานุกรม

- เสริมศิริ วินิจฉัยกุล นันทวัน บุญยะประกัศ สุวรรณ ชีระวรพันธุ์ วิสุดา สุวิทย์วัฒน์ อรณูช โชคชัยเจริญพร จินรภา โปธิกสิกร ศิริพร เหลียงกอบกิจ ปารณัฐ สุขสุทธิ และ พนิดา ใหญ่ ธรรมชาติ. 2539. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน (1), นันทวัน บุญยะประกัศ (บรรณาธิการ). กรุงเทพฯ: ประชาชน. 211-224.
- Becker, A.G., Parodi, T.V., Heldwein, C.G., Zeppenfeld, C.C., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B. (2012). Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(3): 789-96.
- Brown, L.A. (1993). Anesthesia and restraint. In: *Fish Medicine*. 1st ed., edited by M.K. Stoskopf. W.B. Saunders, Philadelphia : USA. p. 79 - 90.
- Brown, J., Walker S., Steinman K. (2003). *Endocrine Manual for Reproductive Assessment of Domestic and Non-domestic species*. Virginia.
- Cho, G.K. and Heath, D.D. (2000). Comparison of tricaine methanesulphonate (MS-222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquaculture research*, 31: 537-46.
- Cooke, S.J., Suski, C.D., Ostrand, K.G., Tufts, B.L. and Wahl, D.H. (2004). Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, 239: 509 - 29.
- de Araújo, F.Y., Silva, M.I., Moura, B.A., de Oliveira, G.V., Leal, L.K., Vasconcelos, S.M., Viana, G.S., de Moraes, M.O., de Sousa, F.C., Macêdo, D.S. (2009). Central nervous system effects of the essential oil of the leaves of *Alpinia zerumbet* in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61: 1521-27.
- Griffiths, S.P.G. (2000). The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. *Journal of Fish Biology*, 57: 1453-64.
- Guenette, S. A., Beaudry, F., Marier, J. F., Vachon, P. (2006). Pharmacokinetics and anesthetic activity of eugenol in male Sprague-Dawley rats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* , 29: 265-70.
- Holloway, A.C., Keene, J.L., Noakes, D.G. and Moccia, R.D. (2004). Effects of clove oil and MS-222 on blood hormone profiles in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum. *Aquaculture Research*, 35: 1025-30.

- Hoskonen, P. and Pirhonen, J. (2004). Short Communication : The effect of clove oil sedation on oxygen consumption of six temperate-zone fish species. *Aquaculture Research*, 35: 1002 - 05.
- Hoskonen, P. and Pirhonen, J. (2006). Effects of repeated handling, with or without anaesthesia, on feed intake and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 37: 409-15.
- Zalachoras, I., Kagiava, A., Vokou, D., Theophilidis, G. (2010). Assessing the Local Anesthetic Effect of Five Essential Oil Constituents. *Planta Medica*, 76: 1647– 53.
- Iversena, M., Finstada, B., McKinley, R.S. and Eliassen, R.A. (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: 549 – 66.
- Kildea, M.A., Allan, G.L. and Kearney, R.E. (2004). Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 232: 265 – 77.
- Kolanczyk, R.C., Fitzsimmons P.N., McKim, Sr, J.M., Erickson, R.J. and Schmieder, P.K., (2003). Effects of anesthesia (tricaine methanesulfonate, MS222) on liver biotransformation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 64: 177 – 84.
- Galindo, L.A., Pultrini Ade, M., Costa, M. (2010). Biological effects of *Ocimum gratissimum* L. are due to synergic action among multiple compounds present in essential oil. *Journal of Natural Medicines*, 64(4): 436-41.
- Mahae, N. and Chaiseri, S. (2009). Antioxidant Activities and Antioxidative Components in Extracts of *Alpinia galanga* (L.) Sw. *Kasetsart Journal: Natural Sciences*, 43: 358 - 69.
- da Cunha, M.A., de Barros, F.M.C., de Oliveira Garcia, L., de Lima Veeck, A.P., Heinzmann, B.M., Loro V.L., Emanuelli, T., Baldisserotto, B. (2010). Short communication; Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 306: 403 - 6.
- Mylonas, C.C., Cardinaletti, G., Sigelaki, I. and Polzonetti-Magni, A. (2005). Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of european sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. *Aquaculture*. 246 : 467 - 81.
- Pripdeevech, P., Nuntawong, N., and Wongpornchai, S. (2009). Composition of essential oil from the rhizomes of three *Alpinia* species grown in Thailand. *Chemistry of Natural Compounds*: 45(4): 562 - 64.

- Pirhonen, J. and Schreck, C.B. 2003. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 220 : 507 - 514.
- Pripdeevech, P., Nuntawong, N., and Wongpornchai, B. (2009). Composition of essential oils from the rhizomes of three *Alpinia* species grown in Thailand. *Chemistry of Natural Compounds*. 45(4): 562-4.
- Azambuja, C.R., Mattiazzi, J., Riffel, A.P.K., Finamor, I.A., Garcia, L.O., Heldwein, C.G., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., Pavanato, M.A., Llesuy, S.F. (2011). Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. *Aquaculture*, 319: 156–61.
- Ross, L.G. and Ross, B. (1999). Anaesthetic of fish. I. inhalation anaesthesia. In: *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals*. 2nd ed., Blackwell Science, Cornwall : UK. p. 58 - 69.
- Ross, L.G. (2001). Restraint, anaesthesia and euthanasia. In: *BSAVA Manual of Ornamental Fish*. 2nd ed., edited by H.W. Wildgoose. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester : England. p. 75 - 83.
- Small, B.C. (2003). Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 218: 177–185.
- Soto, C.G. and Burhanuddin. (1995). Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture*, 136: 149 – 52.
- Stoskopf, M. (1993). Anaesthesia. In: *Aquaculture for Veterinarians Fish Husbandry and Medicine*. 1st ed., edited by L. Brown. Pergamon press, Exteter : UK. p. 164 - 165.
- Treves-Brown, K.M. Anaesthetics. In: *Applied Fish Pharmacology*. 1st ed. Kluwer Academic publishers, Dordrecht : The Netherlands. p. 206 - 219.
- Tsantilas, H., Galatos, A.D., Athanassopoulou, F., Prassinou, N.N. and Kousoulaki, K. (2006). Efficacy of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for two size classes of white sea bream, *Diplodus sargus* L., and sharp snout sea bream, *Diplodus puntazzo* C. *Aquaculture*. 253 : 64–70.
- Wagner, E., Arndt, R. and Hilton, B. (2002). Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. *Aquaculture*, 211: 353 – 366.

Wagner, G.N., Singer, T.D. and McKinley, R.S. (2003). The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Research*, 34: 1139-46.

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัยย่อยที่ 2

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายสุรชัย พิกุลแก้ว
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr.Surachai Pikulkaew
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 1009 01465 791
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ถนนเลียบคลองชลประทาน หมู่ 4 ตำบลแม่เหียะ
อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50100
โทรศัพท์ 053-948023 โทรศัพท์มือถือ 0841-555-900 โทรสาร 053-274710
ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ s.pikul@chiangmai.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	สาขา / วิชาเอก	ชื่อสถาบัน	ประเทศ
ตรี	สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต	สัตวแพทยศาสตร์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
เอก	PhD.	Comparative endocrinology	University of Padua	ITALY

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. การตรวจหาเชื้อคอกซ์แซอร์ปัสไวรัส (เคเอชวี) ในปลาการ์ปในจังหวัดเชียงใหม่โดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส แหล่งงบประมาณจาก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปี 2548
2. การตรวจหาเชื้อคอกซ์แซอร์ปัสไวรัส (เคเอชวี) ในปลาการ์ป (*Cyprinus carpio koi*) โดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสต่อ ไทมิดีน ไคเนส ยีนส์ (Thymidine Kinase Gene) แหล่งงบประมาณจากชมรมคนรักปลาการ์ปแห่งประเทศไทย ปี 2549
3. ปริมาณของออกซิโทซินต่อการรีด และคุณภาพน้ำเชื้อในปลาตุกเทศ (*Clarias gariepinus*) เพศผู้ และคุณภาพของตัวอ่อน แหล่งงบประมาณจากคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปี 2549

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

1. **Pikulkaew S., Wongsathein D.** The Effect of DDT Congener on Reproductive Function in Male Guppy (*Poecilia reticulata*). The 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction. Organized by Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, August 4-6, 2005. และ วันวิชาการ ครั้งที่ 1 วิถีวิจัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 8-10 ธันวาคม 2548.
2. Matura Y., Srichaiwong T., Treerattanawareesin S., Wongsathein D., Khattiya R, **Pikulkaew S.** The effect of 17-alpha methyltestosterone (17-alpha Methyltestosterone or 17MT) on reproductive function in female guppy (*Poecilia reticulata*). The 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction. Organized by Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, August 4-6, 2005.
3. **Pikulkaew S., Banlunara W., Meeyam T., Khattiya R.** The Detection of koi herpesvirus (KHV) in koi (*Cyprinus carpio koi*) in Chiang Mai, Thailand. The 1st Scientific Meeting of the Asian Zoo & Wildlife Medicine. Organized by College of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok, Thailand, October 28 -30, 2005.
4. รัชต์ ชัดติยะ, สุวดี ตริรัตนวารีสิน, ธนารักษ์ ศรีไชยวงศ์, เยาประกา มาธุระ, **สุรัชย์ พิกุลแก้ว** และ ภูติภว วงศ์เสถียร. ความชุกและปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อพยาธิภายนอกของปลานิลแดง (*Oreochromis sp.*) ในกระชังริมแม่น้ำปิง เขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน การประชุมวิชาการสาขาสัตวบาล/สัตวศาสตร์/สัตวแพทย์ ครั้งที่ 5 เรื่อง การผลิตสัตว์อย่างยั่งยืน (Sustainable Livestock Production), จัดโดยคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 14-15 พฤศจิกายน 2548.
5. **Pikulkaew S., Wongsathein D.** The Effect of DDT Congener on Reproductive Function in Male Guppy (*Poecilia reticulata*). CMU Journal. Vol. 5 No. 2 May - August 2006, 219-228.
6. **สุรัชย์ พิกุลแก้ว รัชต์ ชัดติยะ ทองกรมีแย้ม.** รายงานสัตว์ป่วย : การติดเชื้อคอกซ์เซอร์ปัสไวัสในปลาการ์ฟ (*Cyprinus carpio koi*) ในจังหวัดเชียงใหม่ วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย. ปีที่ 18 ฉบับที่ 2 เมษายน-มิถุนายน 2549, 39-46.
7. **สุรัชย์ พิกุลแก้ว ทองกร มีแย้ม วรณา ศิริมานะพงษ์ และ ศรุดา ติวะนันทกร.** การตรวจหาเชื้อคอกซ์เซอร์ปัสไวัส (เคอชวี) ในปลาการ์ฟ (*Cyprinus carpio koi*) โดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสต่อไทมิดีน ไคเนส ยีนส์ (Thymidine Kinase Gene). การประชุมวิชาการประมงครั้งที่ 1 คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 22 - 23 ธันวาคม 2549. และ วันวิชาการ ครั้งที่ 2 วิจัยตามรอยพระยุคลบาทมหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 8-10 ธันวาคม 2549.
8. Songkaew A, Chokboonmongkol C, Khattiya R, Wongsathein D, Mengumpun K and **Pikulkaew S.** 2009. Duration and Behavior of Anesthesia and Recovery in Mekong Giant Catfish

- (*Pangasianodon gigas*) after Anesthetized with Clove Oil and Tricaine Methanesulfonate (MS - 222). Thai J. Vet. Med. 39(1): 53-58.
9. **Pikulkaew S**, Meeyam T, Banlunara W. 2009. The Outbreak of Koi Herpesvirus (KHV) in Koi (*Cyprinus carpio koi*) from Chiang Mai Province, Thailand. Thai Journal of Veterinary Medicine. 39; 53-58.
 10. **Pikulkaew S.**, De Nadai A., Belvedere P., Colombo L., Dalla Valle L. 2010. Expression analysis of steroid hormone receptor mRNAs during zebrafish embryogenesis. General and Comparative Endocrinology. 165; 215–220.
 11. **Pikulkaew S.**, Banlunara W., Meeyam T., Khattiya R. The Detection of koi Herpesvirus (KHV) in Koi (*Cyprinus carpio koi*) in Chiang Mai, Thailand. The 1st Scientific Meeting of the Asian Zoo & Wildlife Medicine. Organized by College of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok, Thailand, October 28 - 30, 2005.
 12. **Pikulkaew S.**, De Nadai A., Belvedere P., Colombo L., Dalla Valle L. 2008 Expression of steroid hormone receptor mRNAs in zebrafish (*DANIO RERIO*) embryos at different development stages. 24th European comparative endocrinologist. Genoa, Italy. September 2-6, 2008. / Bio Ph.D & Post Doc Day'09. University of Padua, Padua. April 3rd 2009.
 13. Andrea Celeghin, Benato Francesca, **Pikulkaew Surachai**, Colombo Lorenzo, Dalla Valle Luisa. The knockdown of the maternal estrogen receptor-beta2 mRNA affects embryo transcript contents and larval development in zebrafish. 25th Conference of European Comparative Endocrinologists (CECE 2010). University of Pécs Medical school, Hungary. August 31- September 4, 2010.
 14. Francesca Benato, **Pikulkaew Surachai**, Celeghin Andrea, Belvedere Paola, Dalla Valle Luisa, Colombo Lorenzo. Possible mechanisms of developmental alterations in zebrafish embryogenesis by morpholino knockdown of the glucocorticoid receptor. 25th Conference of European Comparative Endocrinologists (CECE 2010). University of Pécs Medical school, Hungary. August 31- September 4, 2010.

ผู้ร่วมวิจัยคนที่ 1

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นายอนุชา สธนวงศ์
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr Anucha Sathanawongs
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 2006 01097 72 9
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ถนนเลียบคันคลองชลประทาน หมู่ 4 ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง
จังหวัดเชียงใหม่ 50100
โทรศัพท์ 053-948046 โทรสาร 053-274710
E-mail: sathanawongs@gmail.com

5. ประวัติการศึกษา

ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	สาขา / วิชาเอก	ชื่อสถาบัน	ประเทศ
ตรี	สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยม)	สัตวแพทยศาสตร์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
โท	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	วิทยาศาสตร์ สุขภาพ	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	ไทย
เอก	PhD.	Biotechnology	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	ไทย

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ
งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :

1. DOUNGPUNTA J., SANTHI A., **SATHANAWONGS A.**, JARUJINDA Y. and ORANRATNACHAI A. 2009. Five fold increase in derivation rates of mouse embryonic stem cells after supplementation of the media with multiple factors. *Theriogenology*, 72: 232-242.
2. **SATHANAWONGS A.**, ROJANASTHIEN S., and ORANRATNACHAI A. 2007. Responsiveness of rabbits to superovulation treatment by injection of hMG and appropriate timing of hCG injection. *J. Thai. Vet Med. Assoc.*, 58 (3): 26-37.
3. **SATHANAWONGS A.**, ROJANASTHIEN S., ORANRATNACHAI A., TEEPATIMAKORN S., THIJAE K, and SUMRETPRASONG J. 2006. Effect of hCG follicle stimulation on number and developmental competence of bovine oocytes. *Chiang Mai Veterinary Journal*, 4 (1): 51-56.
4. **SATHANAWONGS A.**, ROJANASTHIEN S., ORANRATNACHAI A. and SUMRETPRASONG J. 2005. Effect of FSH treatment on number of bovine oocytes retrieved by non-ultrasound guided transvaginal ovum pick-up and their developmental competence. *Reprod Fert and Dev.*, 17(2): 277.

5. **Sathanawongs A.**, Kittavornrat A., Ruttanapumma R., Phutikanit N., Techakumphu and Adulyanubab. 2002. The effect of different concentrations of ethylene glycol on ultra-rapid freezing of pig oocytes. *Thai J Vet Med.*, 32(1): 25-34.
6. Oral presentation “The effect of ethylene glycol plus Equex STM paste® on canine frozen-thawed semen quality” by Kittima Lewchalermvong, Pichanun Teantub, **Anucha Sathanawongs**, and Jureerat Sumretprasong at Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok from 27 to 28 April 2009.
7. Oral presentation “Parthenogenesis-Derived Rabbit Embryos and Embryonic Stem Cells” **Anucha Sathanawongs**, Amorn Santhi, Jamjit Dongpunta, Suvichai Rojanasthien, and Apichart Oranratnachai in the 4th World Congress on Regenerative Medicine 2009 at Bangkok Convention Centre, Bangkok, Thailand from 12 to 14 March 2009.
8. Poster presentation “Zona-Free Nuclear Transfer of Asian Elephant Fibroblasts into Rabbit Oocytes” by **Anucha Sathanawongs**, Yada Jarujinda, Suvichai Rojanasthien, and Apichart Oranratnachai in the 4th World Congress on Regenerative Medicine 2009 at Bangkok Convention Centre, Bangkok, Thailand from 12 to 14 March 2009.
9. Poster presentation “Evaluation of activation treatment and sperm treatment for developmental competence following bovine intracytoplasmic sperm injection” by **Sathanawongs A.**, Sumretprasong J., Rojanastien S., and Oranratnachai A. in Proc. 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction, Chiang Mai, Thailand. 4-6 August 2005.
10. Poster presentation “Effect of FSH treatment on number of bovine oocytes retrieved by non-ultrasound guided transvaginal ovum pick-up and their developmental competence” by **A. Sathanawongs**, S. Rojanasthien, A. Oranratnachai, and J. Sumretprasong in the 31st Annual Conference of the International Embryo Transfer Society at the Radisson SAS Falconer Hotel & Conference Center in Copenhagen, Denmark from 8 to 12 January 2005.
11. Oral presentation “Effect of FSH and hCG follicle stimulation on number and developmental competence of bovine oocytes.” by **Sathanawongs A.**, Rojanasthien S., Oranratnachai A., Teepatimakorn S., Thijae K. and Sumretprasong J. in Proc. 30th Annual Conference of Thai Vet Med Assoc, Bangkok, November 10-12, 2004.
12. Poster presentation “Non-ultrasound guided transvaginal ovum pick-up (OPU) in the cow: Preliminary report” by **Sathanawongs A.**, Rojanastien S., Oranratnachai A., Jariyanoravisse

J., Thijae K., and Sumretrpramong J. in Proc. 27th Annual Conference of Thai Vet Med Assoc. , Bangkok, October 9-11, 2002.

ผู้ร่วมวิจัยคนที่ 2

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว ประภาวดี ไพรินทร์
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Prapawadee Pirintr
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 5099 00995 11 2
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์-สาธารณสุข
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ถนนเลียบคันคลองชลประทาน หมู่ 4 ตำบลแม่เหีะ อำเภอเมือง
จังหวัดเชียงใหม่ 50100
โทรศัพท์ 053-948046 โทรสาร 053-274710
e-mail: ppawadee@chiangmai.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	สาขา / วิชาเอก	ชื่อสถาบัน
ตรี	สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต	สัตวแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
โท	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สัตววิทยาทางสัตวแพทย์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. Comparison of Hemagglutination Test with Polymerase Chain Reaction for the detection of canine parvovirus in fecal specimens. (2002)
2. การเปรียบเทียบระดับสารคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมของสุนัขปกติและสุนัขที่เป็นโรคข้อต่อ(สะโพก)เสื่อม. 2547

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

1. Detection of Canine Parvovirus in Canine Fecal Samples by Hemagglutination Test and Seminested Polymerase Chain Reaction. The 11th International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians and OIE Seminar on Biotechnology, November 9-13, 2003.