

ฤทธิ์สงบนิ่งของปลาคูอุยเทศและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ
สารสกัดจากกานพลูและขี้เหล็ก

SEDATIVE ACTIVITY ON HYBRID CATFISH AND
ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF EXTRACT FROM
Syzygium aromaticum (L.) AND *Senna siamea* (Lam.)

สุริยา วงศ์เผ่าสกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ฤทธิ์สงบนิ่งของปลาคูอุยเทศและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ
สารสกัดจากกานพลูและขี้เหล็ก

สุริยา วงศ์เผาสกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ฤทธิ์สงบนิ่งของปลาอุกอุยเทศและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัด
กานพลูและจี่เหล็ก

Sedative Activity on Hybrid Catfish and Antibacterial Activity of
Extracts from *Syzygium aromaticum* (L.) and *Senna siamea*
(Lam.)

ชื่อ – นามสกุล

นายสุริยา วงศ์เผาสกุล

สาขาวิชา

ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์นพรัตน์ พุทธกาล, วท.ค.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์เลอลักษณ์ เสถียรรัตน์, วท.ค.

ปีการศึกษา

2560

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(อาจารย์ฉลนภา แก้วภา, ปร.ค.)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ชูศรี ตลับมูข, Ph.D.)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เลอลักษณ์ เสถียรรัตน์, วท.ค.)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นพรัตน์ พุทธกาล, วท.ค.)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อนุมัติวิทยานิพนธ์
ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโท

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สิริแซ พงษ์สวัสดิ์, วท.ค.)

วันที่ 25 เดือน กันยายน พ.ศ. 2560

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์สงบนิ่งของปลาคุอยเทศและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากกานพลูและใบเหล็ก
ชื่อ - นามสกุล	นายสุริยา วงศ์เฝ้าสกุล
สาขาวิชา	ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์นพรัตน์ พุทธกาล, วท.ด.
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์เลอลักษณ์ เสถียรรัตน์, วท.ด.
ปีการศึกษา	2560

บทคัดย่อ

งานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบเหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่อง GC-MS 2) เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบเหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์ต่อการสงบนิ่งของปลาคุอยเทศ 3) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัด ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* *Pseudomonas fluorescens* และ *Vibrio alginolyticus* โดยใช้วิธี Disc diffusion techniques

สารสกัดหยาบสมุนไพร 0.5 กรัม ถูกนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS จึงทำการทดลองโดยแบ่งปลาออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว ให้ได้รับสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารสกัดอัดเม็ดขนาด 25 มิลลิกรัมจำนวน 4 เม็ด แล้วทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *A. hydrophila* *P. fluorescens* และ *V. alginolyticus* โดยใช้วิธี Disc diffusion techniques

ผลการศึกษา 1) การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดด้วยเครื่อง GC-MS มีสารสำคัญปริมาณสูง คือ สารยูจินอล ในสารสกัดดอก และใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 46.71 เปอร์เซ็นต์ และ 61.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารสกัดดอก และใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบยูจินอล 62.53 เปอร์เซ็นต์ และ 79.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สารสกัดใบเหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์ พบสารสำคัญ คือ 2H-Pyran-2,6(3H)-dione 11.32 เปอร์เซ็นต์ และ n-Hexadecanoic acid 14.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ 2) ผลการสงบนิ่งปลาคุอยเทศของสารสกัดและสารสกัดอัดเม็ด พบว่าสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารสกัดอัดเม็ดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 25 มิลลิกรัม จำนวน 4 เม็ดต่อชั่วโมง มีฤทธิ์ทำให้ปลาคุอย

เทศเข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่งเร็วที่สุดที่เวลา 3.33 นาที และทำให้ปลาอุกอุยเทศอยู่ในอาการสงบนิ่งได้นาน 116.67 นาที สอดคล้องกับฤทธิ์ของสารสกัดอัลเม็ด ใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์มีฤทธิ์ทำให้ปลาอุกอุยเทศเข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่งได้เร็วที่สุด 8.87 นาที และอยู่ในระดับการสงบนิ่งได้นาน 111.13 นาที ซึ่งปลอดภัยต่อการขนส่งและอนุบาลลูกปลาวัยอ่อน 3) ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดจากใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ระดับความเข้มข้น 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *A. Hydrophila* *P. fluorescens* และ *V. alginolyticus* ได้ดีที่สุด โดยวัดโซนใสได้เท่ากับ 11.17 มิลลิเมตร 14 มิลลิเมตร และ 13.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ

คำสำคัญ : ปลาอุกอุยเทศ กานพลู จีเหล็ก ฤทธิ์สงบนิ่ง ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย



Thesis Title	Sedative Activity on Hybrid Catfish and Antibacterial Activity of Extracts from <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) and <i>Senna sianea</i> (Lam.)
Name-Surname	Mr. Suriya Wongpaosakul
Program	Applied Biology
Thesis Advisor	Assistant Professor Nopparat Buddhakala, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Assistant Professor Lerluck Steinrut, Ph.D.
Academic Year	2017

ABSTRACT

The objectives of this research were to 1) analyze the chemical compositions of clove flower, clove leaf and senna leaf ethanolic (50%, 95%) extracts using GC-MS 2) compare the sedative effects of all extracts and extracted pellets in hybrid catfish. 3) study the antibacterial activity of the extracts against *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens* and *Vibrio alginolyticus* using disc diffusion techniques.

First, 0.5 gram of crude medicinal plant extracts was detected for their chemical composition by using GC-MS. Hybrid catfish were then divided into 6 groups (6 fish in each group) and treated with the 6 extracts of clove flower, clove leaf and senna leaf extracted by 50% and 95% ethanolic solution at four different concentrations of 50, 100, 150 and 200 mg/L and 4 tablets of 25-mg extracted pellets. After that, their sedative response was investigated. Finally, the antibacterial activity of the crude extracts against *A. hydrophila*, *P. fluorescens* and *V. alginolyticus* was evaluated using disc diffusion techniques.

The results showed that 1) eugenol, the main bioactive compound, was found in clove flower and clove leaf ethanolic (50%) extracts at 46.71% and 61.66% respectively. Similarly, 62.53% and 79.62% of eugenol were also found in clove flower and clove leaf ethanolic (95%) extracts respectively. Moreover, 11.32% of 2H-Pyran-2,6(3H)-dione and 14.89% of n-Hexadecanoic acid were found in senna leaf ethanolic (50% and 95%) extracts respectively. 2) The clove leaf ethanolic (95%) extracts at the concentration of 200 mg/L induced the shortest sedation at 3.33 minutes and remained sedation for 116.67 minutes. Similarly, the 4 tablets of ethanolic (95%) extracted pellets at the dose of 25 mg induced the quickest sedation at 8.87 minutes

and remained sedation for 111.13 minutes. This would be ideal for safe transportation and nursery of juvenile hybrid catfish. 3) The concentration at 0.9 mg/L of clove leaf ethanolic (95%) extracts on antibacterial activity against *A. hydrophila*, *P. fluorescens* and *V. alginolyticus* indicated the highest inhibition zone at 11.17, 14.00 and 13.5 mm, respectively.

Keywords: hybrid catfish, clove, senna, sedative activity, antibacterial activity



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้ประสบความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความเมตตาช่วยเหลืออย่างดียิ่งของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพรัตน์ พุทธกาล อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เลอลักษณ์ เสถียรรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร.ชูศรี ตลับมูข และดร.คลนภา แก้วภา ผู้ซึ่งกรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา แก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการทำวิจัย ตรวจสอบและแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนเป็นกำลังใจและให้ความหวังใจด้วยดีเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณ คณะอาจารย์สาขาวิชาชีววิทยา ผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้วิจัย รวมทั้งให้คำแนะนำ ความหวังใจ และกำลังใจในการศึกษาวิจัย

ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยครั้งนี้ ทั้งทางด้านสถานที่ อุปกรณ์ และสารเคมีต่าง ๆ รวมทั้งให้กำลังใจและคำแนะนำในการปฏิบัติงาน

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อสิทธิชาติ คุณแม่สุทธิกานต์ วงศ์เผ่าสกุล ผู้เป็นที่รัก ผู้ซึ่งคอยหวังใจ ให้กำลังใจ ให้โอกาส และทุนในการศึกษาอันมีค่ายิ่ง

ความดีอันเกิดจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่บิดา มารดา ครูอาจารย์ ญาติพี่น้อง และผู้มีพระคุณทุกท่าน ผู้วิจัยมีความซาบซึ้งในความกรุณาอันดียิ่งจากทุกท่านที่กล่าวนามมา และขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

สุริยา วงศ์เผ่าสกุล

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	(3)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	(5)
กิตติกรรมประกาศ.....	(7)
สารบัญ.....	(8)
สารบัญตาราง.....	(10)
สารบัญภาพ.....	(12)
บทที่ 1 บทนำ.....	14
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	14
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	16
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	16
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	17
2.1 ปลาอุกอุยเทศ.....	17
2.2 การทำสลบปลา.....	18
2.3 แบคทีเรียก่อโรคในปลาและสัตว์น้ำ.....	21
2.4 กานพลู.....	22
2.5 สรรพคุณของกานพลู.....	23
2.6 จีเหือก.....	26
2.7 สรรพคุณของจีเหือก.....	27
2.8 การแปรรูปสมุนไพรและการอัดเม็ด.....	28
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารจากกานพลูและจีเหือก.....	30
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำสบนึ่งปลาและสัตว์น้ำ.....	31
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโต ของเชื้อจุลินทรีย์.....	33

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	35
3.1 วัสดุและอุปกรณ์.....	35
3.2 วิธีการทดลอง.....	36
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย.....	40
4.1 องค์ประกอบของสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก.....	40
4.2 การทดสอบฤทธิ์สงบนิ่งปลาคุยเทศ.....	44
4.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคปลาและสัตว์น้ำ.....	57
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	61
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	61
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	64
บรรณานุกรม.....	65
ภาคผนวก.....	69
ภาคผนวก ก.....	70
ภาคผนวก ข.....	73
ประวัติผู้วิจัย.....	83

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1 ระดับอาการในการตอบสนองต่อฤทธิ์ยาสลบของปลา.....	20
ตารางที่ 4.1 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาทิจ) ในการเข้าสู่อการตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกัน เมื่อใช้สารสกัดจากดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความ เข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอล ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	45
ตารางที่ 4.2 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาทิจ) ในการเข้าสู่อการตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกัน เมื่อใช้สารสกัดจากดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความ เข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอล ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.. ..	46
ตารางที่ 4.3 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาทิจ) ในการฟื้นปลาคูกอยเทศจากการสงบนิ่งเมื่อใช้ สารสกัดจากดอกกานพลูสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความ เข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	47
ตารางที่ 4.4 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาทิจ) ในการเข้าสู่อการตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกัน เมื่อใช้สารสกัดจากใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความ เข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอล ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	48
ตารางที่ 4.5 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาทิจ) ในการเข้าสู่อการตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกัน เมื่อใช้สารสกัดจากใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความ เข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอล ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.. ..	50
ตารางที่ 4.6 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาทิจ) ในการฟื้นปลาคูกอยเทศจากการสงบนิ่งเมื่อใช้ สารสกัดจากใบกานพลูสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความ เข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	51

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.7	ระยะเวลาเฉลี่ย (นาทิจ) ในการเข้าสู่การตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกัน เมื่อใช้สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความ เข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอล ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	52
ตารางที่ 4.8	ระยะเวลาเฉลี่ย (นาทิจ) ในการเข้าสู่การตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกัน เมื่อใช้สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความ เข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอล ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	53
ตารางที่ 4.9	ระยะเวลา (นาทิจ) ในการเข้าสู่การตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกันเมื่อใช้ สารสกัดใช้สารสกัดอัดเม็ดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วย เอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ขนาด 25 มิลลิกรัม จำนวน 4 เม็ด.....	55
ตารางที่ 4.10	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>A. hydrophila</i> ของสารสกัดจากดอก กานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์.....	58
ตารางที่ 4.11	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>P. fluorescens</i> ของสารสกัดจากดอก กานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์.....	59
ตารางที่ 4.12	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>V. alginolyticus</i> ของสารสกัดจากดอก กานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์.....	60

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1 ปลาอุกอุยเทศ (Hybrid catfish).....	17
ภาพที่ 2.2 ลักษณะของใบและดอกกานพลู ก. ใบ ข. ดอก.....	23
ภาพที่ 2.3 ลักษณะทั่วไปของขี้เหล็ก.....	27
ภาพที่ 4.1 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัด ด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS.....	40
ภาพที่ 4.2 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัด ด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS.....	41
ภาพที่ 4.3 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบกานพลูที่สกัด ด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS.....	42
ภาพที่ 4.4 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบกานพลูที่สกัด ด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS.....	42
ภาพที่ 4.5 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัด ด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS.....	43
ภาพที่ 4.6 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัด ด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS.....	44
ภาพที่ 4.7 ระยะเวลาในการสงบนิ่งของปลาอุกอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากดอกกานพลูที่สกัดด้วย เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	45
ภาพที่ 4.8 ระยะเวลาในการสงบนิ่งของปลาอุกอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากดอกกานพลูที่สกัดด้วย เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	47
ภาพที่ 4.9 ระยะเวลาในการสงบนิ่งของปลาอุกอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากใบกานพลูที่สกัดด้วย เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	49

สารบัญภาพ(ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4.10	ระยะเวลาในการสงบนิ่งของปลาอุกอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรเปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	50
ภาพที่ 4.11	ระยะเวลาในการสงบนิ่งของปลาอุกอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรเปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	52
ภาพที่ 4.12	ระยะเวลาในการสงบนิ่งของปลาอุกอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตรเปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	54
ภาพที่ 4.13	ระยะเวลาในการตอบสนองระดับอาการสงบนิ่งของปลาอุกอุยเทศ เมื่อใช้สารสกัดอัดเม็ดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ขนาด 25 มิลลิกรัมต่อเม็ดยาใช้จำนวน 4 เม็ด.....	56
ภาพที่ 5.1	เปรียบเทียบระยะเวลาในการตอบสนอง.....	63
ก.	สารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์	
ข.	สารสกัดอัดเม็ดของดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ (ขนาด 25 มิลลิกรัมต่อเม็ด จำนวน 4 เม็ด)	

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันการบริโภคอาหารประเภทเนื้อปลาเป็นที่นิยมกันมาก เนื่องจากปลาเป็นแหล่งอาหารประเภทโปรตีนที่มีคุณค่าทางอาหารสูง และมีปริมาณแคลอรีต่ำ ไขมันจากปลายังเป็นไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ที่มีโอเมก้าทรี (Omega 3) และโอเมก้าซิกซ์ (Omega 6) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของร่างกาย จึงมีผู้บริโภคนิยมรับประทานอาหารจำพวกปลาแทนเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะปลาคูอุยเทศ เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว ทนทานต่อโรค และปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ทั้งยังเป็นที่ยินยของคนทั่วไป เนื่องจากมีรสชาติดี และราคาถูก

ปลาคูอุยเทศเป็นปลาคูอุยเทศผสมระหว่างปลาคูเทศ (*Clarias gariepinus*) กับปลาคูอุย (*Clarias macrocephalus*) ทำให้มีลักษณะเด่นของแต่ละสายพันธุ์ คือ มีเนื้อแน่น และมีรสชาติดี จึงทำให้เกษตรกรหันมาเลี้ยงปลาคูอุยเทศมากขึ้น ทำให้เป็นที่ต้องการของตลาด และผู้บริโภคมีสูง จึงมีการเพิ่มจำนวนฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาคูอุยเทศมากขึ้น และมีการขนส่งลูกปลาคูอุยเทศจากแหล่งอนุบาลไปสู่ฟาร์มเพาะเลี้ยงเป็นจำนวนมาก ทำให้เกิดปัญหาจากการขนส่งลูกปลาคูอุยเทศตามมา ปัญหาที่มักพบในการขนส่งคือ ลูกปลาเกิดความเครียด กินอาหารน้อยลง เจริญเติบโตช้า และน้ำหนักลดลง บางตัวอาจติดเชื้อและตายในระหว่างการขนส่ง เพื่อช่วยลดปัญหาที่เกิดจากการขนส่งและปัญหาในการอนุบาลปลาวัยอ่อน จึงมีการทำสลับปลาซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในต่างประเทศ เนื่องจากระหว่างการขนส่งปลาอยู่ในอาการสงบนิ่งและไม่มีการตอบสนอง ไม่เครียดแต่ปลายังคงแข็งแรงเหมือนเดิม ไม่บอบช้ำ ไม่ต้องอาศัยอุปกรณ์ที่ยุ่งยาก ไม่เปลืองภาชนะในการขนส่ง และสามารถลำเลียงได้มากกว่าสภาพปกติ สารเคมีที่นิยมใช้ในการทำสลับปลาและสัตว์น้ำโดยทั่วไป ได้แก่ Tricane Methane Sulfonate (MS-222) และ Quinaldine เพราะมีประสิทธิภาพดี ราคาถูก และสามารถเตรียมได้ง่าย แต่การใช้สารเคมีดังกล่าวมักประสบปัญหาต่อปลาและผู้บริโภคในเรื่องของสารตกค้างในตัวปลา ทำให้ต้องระมัดระวังเรื่องความปลอดภัยของปลาต่อผู้บริโภค และการปนเปื้อนสารเคมีสู่สิ่งแวดล้อม เนื่องจาก MS-222 ต้องมีระยะหยุดใช้ภายหลังจากการฟักปลาหรือสัตว์น้ำเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 21 วัน ก่อนนำปลาไปปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติหรือนำไปบริโภค ซึ่งยาสลับดังกล่าวเป็นสารเคมีที่ทำให้เกิดการสะสมสารพิษตกค้างในเนื้อปลา เมื่อผู้บริโภครับประทานเนื้อปลาเป็นเวลานาน สารพิษเหล่านี้จะสะสมอยู่ในร่างกายที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค ในหลาย ๆ ประเทศจึงลดการใช้สารเคมีและหันมาใช้ยาสลับที่สกัดได้จากธรรมชาติทดแทนการใช้สารเคมีดังกล่าว เช่นการใช้

สารสกัดจากน้ำมันการพลูในการทำสลับปลาและสัตว์น้ำ [1] แต่จากการทดลองพบว่าการสลับสัตว์น้ำที่ใช้ความเข้มข้นสูงต่อลูกปลาและสัตว์น้ำวัยอ่อนก็มีโอกาสทำให้ปลาตายได้เช่นกัน เพื่อลดปัญหาดังกล่าวจึงมีการศึกษาวิจัยและค้นคว้าด้านสมุนไพรเพื่อทำให้ลูกปลาปลอดภัยจากการขนส่งและลดการติดเชื้อก่อโรคโดยใช้สมุนไพรที่ช่วยออกฤทธิ์ในการระงับประสาทแทนการสลับ ซึ่งสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการระงับประสาท หรือผ่อนคลาย ได้แก่ กานพลู และจี่เหล็ก เป็นต้น

กานพลู มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Syzygium aromaticum* (L.) Merr.&L.M.Perry มีชื่อสามัญเรียกว่า Clove หรือ Clove tree เป็นสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มีรสเผ็ดร้อนเพราะกานพลูมีสารออกฤทธิ์สำคัญคือยูจีนอล (Eugenol) [2] ซึ่งใช้เป็นยาชาเฉพาะที่ แก้ปวดฟัน ฆ่าเชื้อทางทันตกรรม เป็นยาระงับการชักกระตุก ทำให้ผิวหนังชา มีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ ทำให้อาการปวดท้องลดลง ขับน้ำดี ทำให้การย่อยอาหารดีขึ้น ช่วยลดอาการจุกเสียดที่เกิดจากการย่อยไม่สมบูรณ์ และสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียในทางเดินอาหารหลายชนิด [3] และมีรายงานพบว่ามีกานพลูไปใช้ในด้านประมงเพื่อทำการสลับสัตว์น้ำหลาย ๆ ชนิด การขนส่ง และไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้างในสัตว์น้ำ

จี่เหล็ก ชื่อวิทยาศาสตร์ *Senna siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby มีชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ ว่า จี่เหล็กแก่น (ราชบุรี) จี่เหล็กบ้าน (ลำปาง สุราษฎร์ธานี) ผักจี่ลี๋ มะจี่เหาะพะโด (แม่ฮ่องสอน) และยะหา (ปัตตานี) สารสำคัญที่มีปริมาณมากในจี่เหล็กคือ บาราคอล (Barakol) ($C_{13}H_{12}O$) เป็นผลึกสีเหลืองแกมเขียว ละลายได้ในน้ำสภาวะปกติ บาราคอลมีแนวโน้มที่จะใช้เป็นยาสงบประสาท และมีพิษน้อย [4] มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางในหนูขาวส่งผลทำให้นอนหลับดี มีฤทธิ์คลายและช่วยระงับประสาท [5] แต่หากได้รับสารดังกล่าวในปริมาณสูงมักก่อให้เกิดอาการง่วงซึมและมีผลต่อตับ สารบางชนิด เช่นฟลาโวนอยด์สามารถออกฤทธิ์ทำให้เส้นเลือดฝอยแตกได้ง่าย ผู้ป่วยที่เป็นความดันโลหิตสูงจึงไม่ควรรับประทาน

ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงทำการศึกษาหาองค์ประกอบทางเคมีของสกัดสารจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบจี่เหล็ก เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบ (Crude extract) และอัดเม็ดสารสกัดเพื่อป้องกันการเสื่อมฤทธิ์ของตัวยาในการเก็บรักษาเป็นเม็ดกานพลูและจี่เหล็กสำหรับการพักและอนุบาลลูกปลาและสัตว์น้ำต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1. วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก ที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เครื่อง GC-MS
2. เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู ใบขี้เหล็ก และสารยูจินอล ที่สกัดด้วย เอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ต่อการสงบนิ่งของปลาฉลามเทศในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน
3. เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดอัมเบ็ดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก ที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ในการสงบนิ่งของปลาฉลามเทศ ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน
4. เปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก ที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ชนิด *A. hydrophila* *P. fluorescens* และ *V. alginolyticus* ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ทำการทดลองโดยใช้ปลาฉลามเทศขนาดความยาว 7-10 เซนติเมตร น้ำหนักอยู่ระหว่าง 5-10 กรัม จำนวน 180 ตัวเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 30×60×30 เซนติเมตร จำนวน 9 ตู้ (เพื่อลดความเครียด) ก่อนการทดสอบทำการสุมปลาฉลามเทศเพื่อศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน (50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร) นำสารสกัดทุกชนิดไปอัดเม็ดและทดสอบฤทธิ์ในการสงบนิ่งปลาฉลามเทศที่ขนาดเม็ดละ 25 มิลลิกรัม จำนวน 4 เม็ดต่อชุดการทดลอง (n = 6) และนำสารสกัดไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลา ชนิด *A. Hydrophila* *P. fluorescens* และ *V. alginolyticus* โดยใช้วิธี Disc diffusion techniques ณ ห้องปฏิบัติการ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปลาดุกอุยเทศ

ปลาดุกอุยเทศ (Hybrid catfish) จัดเป็นปลาในสกุล *Clarias* ที่เกิดจากการผสมของปลาดุกเทศ (*Clarias gariepinus*) กับปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) เป็นปลาที่เจริญเติบโตรวดเร็ว สามารถกินอาหารได้ทุกชนิด มีความต้านทานโรคสูง [6] มีขนาดใหญ่กว่าปลาดุกอุย ลักษณะเนื้อนุ่มรับประทานรสชาติดี เป็นที่นิยมบริโภคในปัจจุบัน ปลาดุกอุยเทศมีลำดับการจัดจำแนกอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

Phylum : Chordata

Class : Pisces

Subclass : Teleostomi

Order : Nematognathi

Family : Clariidae

Genus : *C. macrocephalus* × *C. gariepinus*



ภาพที่ 2.1 ปลาดุกอุยเทศ (Hybrid catfish)

ลักษณะโดยทั่วไปของปลาดุกอุยเทศ สีของผิวหนังค่อนข้างเหลืองและเหลืองอมเทา มีจุดประตามบริเวณด้านข้างของลำตัวอย่างเด่นชัด เนื้อสีออกเหลือง มีมันมาก ลำตัวค่อนข้างทุ ส่วนปลายของกระดูกท้ายทอยมีลักษณะป้านและสั้น ส่วนปลาดุกด้านสีของลำตัวค่อนข้างคล้ำเล็กน้อย

เนื้อมีส่วนไขมันน้อย ส่วนหัวค่อนข้างแหลมและส่วนปลายของกระดูกท้ายทอยแหลมเป็นรูปสามเหลี่ยม สำหรับปลาดุกยักษ์สีของลำตัวเป็นสีเทา สีเทาอมเหลืองมีลายคล้ายหินอ่อนอยู่ทั่วตัว ส่วนหัวใหญ่และแบน กะโหลกศีรษะเป็นคุ่มไม่เรียบและส่วนปลายของกระดูกท้ายทอยแหลมเป็นรูปหยักแหลมมี 3 หยัก ส่วนลักษณะของปลาดุกอุยเทศนั้น ตัวโตเต็มวัยมีสีสันคล้ายปลาดุกอุยมาก สามารถสังเกตได้จากกะโหลกศีรษะ มีลักษณะค่อนข้างขรุขระและหยักแหลม ปลาดุกอุย ปลาดุกค่าน และปลาดุกยักษ์มีลักษณะแตกต่างกันดังกล่าว ปลาดุกอุยเทศเป็นปลาเศรษฐกิจซึ่งเป็นที่นิยมรับประทานของชาวไทยและต่างชาติมาก ทั้งในแง่ของปลาเนื้อและปลาแปรรูป ในปัจจุบันมีผู้นิยมเลี้ยงมากขึ้นทำให้ต้นทุนการเลี้ยงไม่สูงมากนัก และทำให้มีปลาเข้าสู่ตลาดได้ตลอดเวลา ขนาดได้มาตรฐาน ผู้บริโภคสามารถซื้อปลาที่มีราคาไม่แพง แนวโน้มตลาดและทิศทางของการเพาะเลี้ยงปลาดุกอุยเทศจึงเป็นไปอย่างสวยงาม เมื่อเกษตรกรทำการเลี้ยงปลาดุกอุยเทศเป็นเวลาประมาณ 5 เดือน ก็สามารถจำหน่ายได้ส่วนมากความนิยมในการบริโภคปลาดุกอุยเทศแบ่งตามขนาดได้ 3 ประเภท คือ ปลาขนาดเล็กจำนวน 3-5 ตัวต่อกิโลกรัมใช้ทำเป็นปลาหย่าง (เป็นขนาดปลาที่ถูกค้าต้องการมากที่สุด) ปลาขนาด 2 ตัวต่อกิโลกรัม เรียกว่าปลาโบ๊ แต่ไม่เป็นที่นิยมมากนัก เพราะมีขนาดใหญ่เกินความต้องการ และขนาดครึ่งกิโลกรัมขึ้นไปเรียกปลาหั่น แต่ราคาปลาไม่มีผู้ใดกำหนดยอมเป็นไปตามกลไกของการตลาด ขึ้นอยู่กับผลผลิตในตลาดมากหรือน้อย ถ้าปลาในตลาดมีจำนวนมากราคาก็ตกต่ำ แต่ถ้าปลาในตลาดมีจำนวนน้อยทำให้ราคาปลาสูงขึ้น และที่สำคัญที่สุดคือความต้องการของผู้บริโภคว่ามีมากหรือน้อยเพียงใดด้วย แต่ปัจจุบันมีผู้นิยมบริโภคปลาดุกอุยเทศเพิ่มขึ้น

เมื่อความต้องการบริโภคปลาดุกอุยเทศเพิ่มมากขึ้น เกษตรกรที่ทำการเลี้ยงปลาดุกอุยเทศจึงมีการเพิ่มจำนวนสูงขึ้น เมื่อมีการเลี้ยงมีจำนวนมากก็จะเกิดปัญหาในการอนุบาลลูกปลาและการขนส่ง เมื่อเกษตรกรส่งลูกปลาดุกอุยเทศจากฟาร์มเพาะเลี้ยงเป็นจำนวนมาก การขนส่งจึงทำให้ปลาเกิดความเครียด กระวนกระวาย วายน้ำตลอดเวลา ทำให้เงี่ยงของปลาดุกอุยเทศเสียดสีจนเกิดบาดแผลและส่งผลให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาทำให้ปลากินอาหารน้อย สุขภาพปลาไม่ดี และการเจริญเติบโตช้าไม่ทันความต้องการของตลาด

2.2 การทำสลบปลา

การทำสลบปลาหรือการระงับความรู้สึกสัตว์น้ำ และการสลยกรรมปลาเป็นวิธีการด้านการแพทย์ที่เป็นขั้นตอนที่เรียบง่าย นำมาใช้ในการศึกษาโครงสร้างของปลา เพื่อให้ปลามีความสมบูรณ์ แข็งแรงมากขึ้น ในการทำสลบปลาต้องอาศัยทักษะและหลักการขั้นพื้นฐานที่มีความถูกต้อง

และแม่นยำ เพื่อให้การวินิจฉัยหรือทดลอง เป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ [7] เมื่อปลามีการแสดง ความเครียดจึงต้องมีการระงับความรู้สึกเพื่อทำการสงบประสาท จึงเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ในการตอบสนองต่อสิ่งเร้าแตกต่างกันไปเพื่อเป็นการรักษาสมดุลภายในร่างกายอันส่งผลดีต่อสุขภาพ ปลาจึงควรอนุบาลและเลี้ยงปลาให้เป็นธรรมชาติมากที่สุด

สำหรับกลไกการสลบปลา เกิดจากปลาได้รับยาหรือสารสกัดผ่านทางเหงือกเข้าสู่กระแส เลือด จากนั้นถูกส่งไปยังระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้ยาหรือสารสกัดไปชะลอการส่งสัญญาณ ประสาท ปลาจึงเกิดการสูญเสียความสมดุลของร่างกาย มีการเคลื่อนไหวช้าลง หากปลาได้รับยาหรือ สารสกัดเกินขนาดมีผลทำระบบทางเดินหายใจและหัวใจทำงานผิดปกติ อาจส่งผลต่อการเสียชีวิตของ ปลาได้ [8]

2.2.1 สารเคมีที่นิยมใช้ในการทำสลบปลา

2.2.1.1 MS-222 หรือ Tricaine methane sulfonate ชื่อทางการค้าคือ Tricaine-STM และ FinquelTM เป็นผงผลึกสีขาว ละลายน้ำได้ 11 เปอร์เซ็นต์ของสารละลาย การดูดซึมและกำจัดออกจะ เกิดขึ้นที่บริเวณเหงือกเหงือก สารดังกล่าวทำให้เกิดการลดค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ การสร้าง สภาพความเป็นกรดทำให้ระคายเคืองและก่อให้เกิดผลข้างเคียงซึ่งเป็นอันตรายต่อปลา เพื่อป้องกัน ปัญหาดังกล่าว จึงต้องมีการเตรียม Stock solution ที่มี Sodium bicarbonate เป็นบัฟเฟอร์ที่ pH เท่ากับ 7 แต่ปัญหาหลักของ MS-222 คือ เมื่อปลาอยู่ในน้ำลึกจะเพิ่มระดับความเข้มข้นของ Plasma cortisol ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ความเครียดของปลา [9] อันส่งผลต่อสุขภาพปลาได้ง่าย

2.2.1.2 Benzocaine หรือ Ethyl aminobenzoate มีลักษณะคล้ายกับ MS-222 แต่ Benzocaine เกือบทั้งหมดไม่ละลายน้ำ ต้องทำละลายในเอทานอลหรืออะซิโตนก่อนนำไปใช้ (100 กรัมต่อลิตร) หากเก็บไว้นานกว่า 1 ปี ควรเก็บใส่ขวดทึบแสง ในสาร Benzocaine จะมีสภาพเป็น กลาง และเกิดปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดความเครียดมากกว่า MS-222 มีประสิทธิภาพคล้ายกับ MS-222 (25-100 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะไม่ปลอดภัยเมื่อสัมผัสนานมากกว่า 15 นาที และประสิทธิภาพของสารนี้ ลดลงเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิที่สูง [9]

2.2.1.3 Quinaldine เป็นสารที่มีสีค่อนข้างเหลือง จัดเป็นของเหลวประเภทน้ำมัน ไม่ สามารถละลายในน้ำได้ ก่อนใช้ต้องทำละลายในอะซิโตนหรือแอลกอฮอล์ มีประสิทธิภาพในการทำ สลบปลา แต่มีกลิ่นฉุนจัดเป็นสารก่อมะเร็ง Quinaldine แต่มีราคาถูกมักเป็นที่นิยมใช้ในการขนส่งปลา ของชาวประมง และกีฬาตกปลา สารอีกชนิดที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกัน คือ Quinaldine sulfonate เป็น สารสีเหลืองซีด เป็นผงละลายในน้ำ แต่มีราคาแพงกว่า Quinaldine หรือ MS-222 [9]

2.2.1.4 2-Phenoxyethanol มีลักษณะเป็นของเหลวประเภทน้ำมัน มีสีขุ่น สามารถละลายน้ำได้ปานกลาง แต่ละลายได้อย่างอิสระในเอทานอล สามารถแก้ปัญหาคาการติดเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่มาจากกาการผ่าตัดได้ ราคาไม่แพงมาก ก่อนนำมาใช้ควรทำเป็น Stock dilution สามารถเก็บไว้ได้ 3 วัน [9]

เนื่องจากการใช้สารเคมีเป็นประจำมักทำให้มีความเป็นพิษตกค้างในตัวปลาและสัตว์น้ำ เกษตรกรต้องระมัดระวังในการนำมาใช้ทำสลบสัตว์น้ำ สำหรับขนาดที่เหมาะสมใช้ในการทำสลบปลา ควรมีความปลอดภัยต่อปลา ผู้บริโภค และมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม มีประสิทธิภาพสูง หาซื้อได้ง่าย มีความสะดวกในการใช้ และประหยัดค่าใช้จ่าย ยาสลบสำหรับปลาที่ใช้ทั่วไปในปัจจุบันมักเป็นพวกสารเคมี ซึ่งมักก่อให้เกิดปัญหาการตกค้างสะสมในปลาและผู้บริโภคได้ จึงไม่ปลอดภัยต่อสัตว์เลี้ยงเพื่อเป็นอาหารของมนุษย์ ยกเว้น Finquel (MS-222) การใช้ MS-222 ต้องมีระยะหยุดใช้ยา (Withdrawal period) เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 21 วัน ก่อนนำปลาไปปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ หรือนำไปบริโภค [9] ในการตอบสนองต่อฤทธิ์ยาสลบของปลา (Stage of anesthesia in fish) แบ่งออกเป็น 4 ระดับอาการ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1.1 ระดับอาการในการตอบสนองต่อฤทธิ์ยาสลบของปลาและสัตว์น้ำ

Stage	Condition	Behavior / Response
1	Sedation	Motion & breathing reduced
2	Anesthesia	Partial loss of equilibrium, Reactive to touch stimuli
3	Surgical anesthesia	Total loss of equilibrium, No reactive to touch stimuli
4	Death	Breathing & heart beat stop, Overdose-eventual death

ที่มา : ดัดแปลงจาก Shawn [10]

2.2.2 ข้อควรระวังและความปลอดภัยในการทำสลบปลาด้วยสารเคมี

- 1) ควรนำปลามาพักในน้ำสะอาด แสงแด่ให้อาหารปลา 24 ชั่วโมง ก่อนการสลบปลา
- 2) น้ำสำหรับพักปลา น้ำที่ใช้ผสมยาสลบ และน้ำที่ทำการฟื้นฟูปลา ควรเป็นน้ำคุณภาพดีมา จากแหล่งเดียวกัน อุณหภูมิใกล้เคียงกัน
- 3) ระหว่างการสลบปลาควรเปิดเครื่องเพิ่มออกซิเจนอย่างพอเพียง

4) การแช่ปลาที่เข้าสู่การสลบแล้วในน้ำที่ผสมยาสลบนานเกินไปอาจทำให้ปลาตายได้

5) ควรปรึกษาผู้รู้หรือผู้เชี่ยวชาญก่อนการทำสลบปลา

6) ถ้าไม่สามารถหาเอทานอลได้ สามารถใช้ วอดก้า (Vodka) แทนได้ แต่มีราคาสูง

7) น้ำยาสลบปลา (Stock solution) สามารถเก็บไว้ได้นานประมาณ 6-12 เดือน แต่ควรเก็บไว้ในขวดแก้วสีทึบหรือเก็บไว้ในที่มีดซึ่งห่างจากความร้อน แสงแดด และเด็ก

8) ทุกครั้งที่ทำงานด้านสัตว์ทดลอง ควรสวมใส่ถุงมือที่มีขนาดเหมาะสม เพื่อเป็นการรักษาความปลอดภัยที่จะเกิดจากการบาดเจ็บและตระหนักถึงโรครูมิแพที่สามารถติดต่อถึงคนได้

9) ในการกำจัดการเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการสลบปลา ต้องมีการควบคุมให้ดี เพื่อลดการตกค้างของสารเคมีในคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม

2.2.3 ความเป็นพิษจากสารเคมี

ความเป็นพิษ หมายถึง พิษหรืออันตรายของสารเคมี ที่ได้รับการดื่มกินหรือสัมผัส ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาและสรีรวิทยาของสิ่งมีชีวิต ลักษณะการเกิดพิษของสิ่งมีชีวิตที่ได้รับพิษจะมีอาการเกิดพิษเฉียบพลัน พิษเรื้อรัง และพิษเฉพาะกิจ เช่น มะเร็ง การกลายพันธุ์ ภูมิคุ้มกันผิดปกติ เป็นต้น ในการทดสอบความเป็นพิษชนิดต่าง ๆ ในสัตว์ทดลองทำให้รู้ถึงลักษณะการเกิดพิษ เช่น พิษเฉียบพลันเกิดจากการได้รับพิษครั้งเดียวหรือหลายครั้งภายใน 24 ชั่วโมง พิษแบบกึ่งเฉียบพลันเกิดจากการได้รับพิษในปริมาณน้อยติดต่อกันเป็นเวลา 1 เดือน พิษแบบกึ่งเรื้อรังเกิดจากการได้รับพิษติดต่อกันเป็นเวลา 1-3 เดือน และพิษแบบเรื้อรังเกิดจากการได้รับพิษปริมาณน้อยติดต่อกันนาน 3 เดือน ขึ้นไป

2.3 แบคทีเรียก่อโรคในปลาและสัตว์น้ำ

2.3.1 โรคเนื้องา สาเหตุเกิดจากเชื้อ แอโรโมแนส ไฮโดรฟิลา (*Aeromonas hydrophila*) ลักษณะของเชื้อเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เป็นแบคทีเรียที่มีระดับความรุนแรงของการก่อโรคสูง ส่วนใหญ่เกิดหลังจากความเครียด และสิ่งที่ส่งผลให้สัตว์เหล่านั้นมีภาวะภูมิคุ้มกันต่ำลง เมื่อติดเชื้อทำให้มีอาการเลือดออก (Hemorrhage) ที่ผิวหนัง ช่องปาก และกล้ามเนื้อซึ่งมักเกิดร่วมกับการมีแผลหลุมที่ชั้น Epidermis บางครั้งอาจพบลักษณะเป็นแผลหลุมลึก นอกจากนี้ยังพบอาการตาโปน (Exophthalmus) และท้องมาร (Ascites) ได้ สามารถติดต่อกันได้โดยทำให้เกิดอาการต่าง ๆ ในคนได้แก่ โรคหนังเน่า (Myonecrosis), เซลล์เนื้อเยื่ออักเสบ (Cellulitis) และ

โรคผิวหนัง (Ecthyma gangrenosum) แผลอาจเริ่มด้วยลักษณะเป็นตุ่มนูนแดง ๆ มีจุดเลือดออกตรงกลางแตกเป็นแผลดำตรงกลาง [11]

2.3.2 โรคเฮโมราจิกเซปติซีเมีย (Haemorrhagic septicemia) สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* และ *Pseudomonas anguilliseptica* ลักษณะของเชื้อเป็นแบคทีเรียแกรมลบ แอโรบิก รูปร่างแท่งสั้น มีแฟลกเจลล่าแบบ Polar flagella อาการและรอยโรค คล้ายกับรอยโรคติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ซึ่งรอยโรคเด่นชัดที่พบได้แก่ การติดเชื้อในกระแสโลหิตซึ่งก่อให้เกิดจุดหรือมีเลือดออกที่อวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะคลีบ หาง และอาจพบแผลหลุมที่ผิวหนังด้วย การติดต่อกับคน (Zoonotic potency) อาจก่อโรคในคนได้ในกรณีที่คนป่วยมีภาวะบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน (Immunocompromised patient) [11]

2.3.3 โรคไวรัสโอซิส (Vibriosis) สาเหตุเกิดจากเชื้อ *V. anguillarum*, *V. ordalii*, *V. damsela*, *V. alginolyticus*, *V. salmonicida*, *V. vulnificus* และ *Vibrio* อื่น ๆ ลักษณะของเชื้อเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแบบแท่ง และแบบโค้งงอเล็กน้อย ไม่สร้างสปอร์ มีเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา อาการของโรคคล้ายกับโรคติดเชื้อ *A. hydrophila* ซึ่งรอยโรคเด่นชัด ได้แก่ การติดเชื้อในกระแสโลหิตจะก่อให้เกิดจุดหรือรอยเลือดออกที่อวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะคลีบและหาง อาจพบแผลที่ผิวหนัง ที่อาจก่อโรคในคนได้ในกรณีที่คนป่วยมีภาวะบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน (Immunocompromised patient) [11]

2.4 กานพลู

กานพลูมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Syzygium aromaticum* (L.) Merr.&L.M.Perry ชื่อสามัญว่า Clove หรือ Clove tree เป็นสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว เจริญเติบโตในพื้นที่ ๆ ความชื้นสูง ขึ้นในป่าดงดิบ เป็นพืชประจำถิ่นของประเทศฟิลิปปินส์ แต่ปัจจุบันประเทศแทนซาเนียเป็นผู้ผลิตกานพลูส่งออกประมาณร้อยละ 80 ของปริมาณที่มีการใช้กานพลูทั่วโลกและผลผลิตจากอินโดนีเซีย ศรีลังกา บราซิล และอินเดียตะวันตก [2]

การจัดลำดับทางด้านอนุกรมวิธานของกานพลู ตาม Merrill, L. and Perry, 2012 [12]

Kingdom Plantae

Phylum Angiosperms

Class Eudicots

Order Myrtales

Family Myrtaceae

Genus Syzygium

Species *S. aromaticum*

2.4.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกานพลู

2.4.1.1 ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงตัวตรงกันข้าม รูปรี หรือรูปไข่กลับแคบ ๆ กว้าง 8-11 เซนติเมตร ยาว 32-37 เซนติเมตร ปลายแหลมหรือเรียวแหลม ขอบเรียบ แผ่นใบด้านบนเป็นมัน

2.4.1.2 ลำต้น สูง 9-12 เมตร แตกกิ่งได้ถึง 20 เมตร แตกกิ่งต่ำ ลำต้นตั้งตรง เปลือกเรียบ สีเทา มีต่อมน้ำมันมาก เส้นแขนงใบข้างละ 15-20 เส้น ปลายเส้นโค้งจรดกับเส้นถัดไปก่อนถึงขอบใบ ก้านใบยาว 1-2.5 เซนติเมตร

2.4.1.3 ดอก ช่อดอกออกที่ปลายยอด ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร ก้านช่อดอกสั้นมาก แตกกิ่งยาวได้ถึง 1 เซนติเมตร ใบประดับรูปสามเหลี่ยม ยาว 2-3 มม. กลีบเลี้ยง 4 กลีบ โคนติดกันเป็นหลอดยาว 5-7 มม. กลีบดอก 4 กลีบ รูปขอบขนานหรือกลม ยาว 7-8 มม. มีต่อมน้ำมันมาก ร่วงง่าย เกสรเพศผู้จำนวนมาก ก้านชูอับเรณูยาวประมาณ 7 มม. ก้านเกสรเพศเมียยาวประมาณ 4 มม.

2.4.1.4 ผล รูปไข่กลับแกมรูปรี ยาว 2-2.5 เซนติเมตร แก่จัดสีแดง มี 1 เมล็ด

2.4.1.5 การขยายพันธุ์ ชอบขึ้นในดินร่วนซุย การระบายน้ำดี ความชื้นสูง ฝนตกชุก ขึ้นได้ดีบนพื้นที่ราบถึงที่สูงจากระดับน้ำทะเล 800-900 เมตร เป็นไม้พื้นเมืองของหมู่เกาะโมลุกกะ นำไปปลูกในเขตร้อนทั่วโลก ในประเทศไทยนำมาปลูกบ้างแต่ไม่แพร่หลาย [3]



(ก)



(ข)

ภาพที่ 2.2 ลักษณะของใบและดอกกานพลู

ก. ใบ

ข. ดอก

2.5 สรรพคุณของกานพลู

2.5.1 ประโยชน์ของกานพลู

กานพลูเป็นพืชสมุนไพรที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งส่วนของ ลำต้น ดอก ใบ และผล มีสรรพคุณดังต่อไปนี้

1) เปลือกต้น แก้ปวด ท้อง แก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ปวดท้อง

2) ใบ แก้ปวดมวน

3) ดอกตูม รับประทานขับลม ใช้แต่งกลิ่น ดอกกานพลูแห้งที่ยังไม่ได้สกัดเอาน้ำมัน ออก มักมีกลิ่นหอมจัด มีน้ำมันหอมระเหยมาก รสเผ็ด ช่วยขับลม แก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ปวดท้อง และแน่นจุกเสียด แก้โรคเหน็บชา แก้หืด แก้ไอ แก้น้ำเหลืองเสีย แก้เลือดเสีย ขับน้ำคาวปลา แก้ลม แก้อาการ บำรุงธาตุ ขับเสมหะ แก้เสมหะเหนียว ขับผายลม ขับลมในลำไส้ แก้ท้องเสียในเด็ก แก้ปากเหม็น แก้เลือดออกตามไรฟัน แก้รำมะนาด แก้ปวดฟัน

4) ผล ใช้เป็นเครื่องเทศ เป็นตัวช่วยให้มีกลิ่นหอม

5) ก้านดอก สามารถนำมาทำเป็นสีย้อมผ้าหรือจิ้วพระ และสีทำขนม

6) น้ำมันหอมระเหย ใช้เป็นยาชาเฉพาะที่ แก้ปวดฟัน ฆ่าเชื้อต่าง ๆ ในทางทันตกรรม เป็นยาระงับการชักกระตุก ทำให้ผิวหนังชา มีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ ทำให้อาการปวดท้องลดลง

ขับน้ำดี ทำให้การย่อยอาหารดีขึ้น ช่วยลดอาการจุกเสียดที่เกิดจากการย่อยไม่สมบูรณ์ และสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียในทางเดินอาหารหลายชนิด เช่น เชื้อโรครูปออยด์ บิดชนิดไม่มีตัว เป็นต้น

2.5.2 สารสำคัญของน้ำมันกานพลู

น้ำมันกานพลู (Clove oil) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากดอกกานพลูแห้ง โดยกระบวนการต้มกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) มีชื่อทางเคมีคือ Eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol) ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ 3 ชนิด คือ Eugenol 85 – 95 เปอร์เซ็นต์ Iso-eugenol และ Methyleugenol 5–15 เปอร์เซ็นต์ ส่วนน้ำมันกานพลูที่ได้จากลำต้นและใบของกานพลูมีสารประกอบและคุณสมบัติแตกต่างไปบ้างเล็กน้อย น้ำมันกานพลูมีส่วนประกอบหลักและความสำคัญทางเภสัชกรรม และทางการแพทย์ ดังนี้

1) Eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) เป็นของเหลวคล้ายน้ำมัน สีเหลืองอ่อน สกักได้น้ำมันหอมระเหย (Essential oils) โดยเฉพาะจากน้ำมันกานพลู (Clove) และซินนามอน (Cinnamon) ไม่สามารถละลายในน้ำมักละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ มีกลิ่นคล้ายกานพลู น้ำมันกานพลูโดยทั่วไปสกัดมาจากดอกแห้งของกานพลู ซึ่งมียูจีนอลในสัดส่วน 40-80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใบกานพลูมียูจีนอล ประมาณ 60-90 เปอร์เซ็นต์ มีประโยชน์ในการใช้ทำน้ำหอม แต่งกลิ่น ในทางการแพทย์ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ และระงับความรู้สึกเฉพาะที่ หรือยาชาใช้ผลิต ไอโซยูจีนอล เพื่อนำไปใช้ผลิตวานิลลิน เมื่อผสมกับสังกะสีออกไซด์ (Zinc oxide) Eugenol จะได้ซิเมนต์ที่ใช้ในงานทันตกรรม

2) Eugenyl acetate พบประมาณ 0.5-21 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ลดการอักเสบช่วยลดอาการแน่นจุกเสียดเนื่องจากแผลในกระเพาะอาหาร ระงับประสาท สงบอารมณ์ ลดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อ ลดการอักเสบ และต้านเชื้อรา

3) β -Caryophyllene พบประมาณ 4-21 เปอร์เซ็นต์ เป็นส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่พบในธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันจากลำต้น และดอกของกานพลู โรสแมรี ดอกสอปลี มักเป็นส่วนผสมของ Isocaryophyllene และ α -Humulene ซึ่งพบยากในธรรมชาติ เป็นสารเคมีที่ก่อให้เกิดกลิ่นฉุนในพริกไทยดำ ออกฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ และเป็นสารที่องค์การอาหารและยาอนุมัติให้เติมลงในอาหาร ประโยชน์ของ β -Caryophyllene คือ บรรเทาอาการปวดท้องจากการบีบตัวของลำไส้ ขับน้ำดี ช่วยย่อยอาหาร ลดอาการจุกเสียด ขับลม ท้องร่วง อหิวาตกโรค ระงับอาการกล้ามเนื้อกระตุก บรรเทาข้อต่ออักเสบ อาการเหงือกอักเสบ แผลในปาก อาการปวดฟัน

4) วานิลลิน (Vanillin) มีสูตรโมเลกุล $C_8H_8O_3$ มีหมู่ฟังก์ชัน (Functional group) ที่ประกอบด้วย อัลดีไฮด์ (Aldehyde) อีเทอร์ (Ether) และแอลกอฮอล์ (Alcohol) ในธรรมชาติสามารถ

สกัดได้จาก เมล็ดวานิลลา วานิลลินสังเคราะห์ขึ้นเพื่อใช้เป็นตัวแต่งกลิ่นในอาหาร เครื่องดื่ม และยา สารสกัดวานิลลาในธรรมชาติมีสารประกอบแตกต่างกันเป็นร้อยชนิด เนื่องจากวานิลลินที่ได้จากธรรมชาติมีราคาแพงมาก ดังนั้นวานิลลินที่ใช้ในอุตสาหกรรมจึงได้จากการสังเคราะห์เพื่อการค้าครั้งแรกตั้งต้นจาก Eugenol เมื่อผ่านกระบวนการ Isomerization ได้ไอโซ ยูจีนอล (Isoeugenol) และตามด้วยกระบวนการออกซิเดชันจะได้วานิลลิน

น้ำมันกานพลู ได้กลายเป็นยาเสพติดที่ได้รับความนิยมในการทำสลับ เนื่องจากมีราคาถูก มีความปลอดภัยต่อปลาและมนุษย์ โดยในประเทศออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และประเทศอื่น ๆ ในแถบเกาะทางใต้และทางตะวันตกของมหาสมุทรแปซิฟิก (Oceania countries) ได้รับรองการใช้น้ำมันกานพลูและอนุพันธ์ของน้ำมันกานพลูที่ผลิตในรูปแบบการค้าเพื่อใช้เป็นยาเสพติดในปลา ว่ามีความปลอดภัยสำหรับใช้ในปลาแซลมอนน้ำจืด โดยไม่ต้องมีระยะหยุดการใช้ยาก่อนนำปลาไปบริโภคหรือปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ปัจจุบันสหรัฐอเมริกายังไม่ได้มีการรับรองการใช้น้ำมันกานพลูเพื่อเป็นยาเสพติดสำหรับสัตว์น้ำ แต่ US.FDA. (U S Food and Drug Administration) เป็นหน่วยงานที่ดูแลสินค้าอาหารที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศได้รับรองให้ใช้น้ำมันกานพลูเป็นสารปรุงแต่งอาหาร (Food additive) ที่มีความปลอดภัยในอาหารมนุษย์ และกานพลูยังได้รับการขึ้นทะเบียนเป็นยาแผนโบราณจำนวน 1,347 ทะเบียน นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยการใช้ยาเสพติดจากกานพลูแทนการใช้สารเคมีในสัตว์น้ำ เช่น การขนย้ายสัตว์น้ำ ได้แก่ ปลา กุ้ง หอย เพื่อการบริโภคนั้น พบว่า การใช้น้ำมันกานพลูมีความปลอดภัยสูงทำให้ลดการสูญเสียและไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยง ซึ่งเป็นประโยชน์ในการขนย้ายสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ อันเนื่องจากสารสำคัญในกานพลู คือ ยูจีนอล

อย่างไรก็ตาม หากได้รับกานพลูทางปากในรูปแบบน้ำมันที่ไม่ละลายในปริมาณมาก หรือใช้กานพลูในบุหรี่ (Clove cigarettes) อาจก่อให้เกิดอาการข้างเคียงต่อผู้ใช้ เช่น อาเจียน เจ็บคอ หายใจลำบาก และมีของเหลวในปอด เป็นต้น การสัมผัสกับน้ำมันกานพลูในรูปแบบที่ไม่ละลายบ่อย ๆ อาจทำให้เกิดอาการผิวหนังอักเสบ หรือผิวหนังไหม้

2.6 จีเหلیل

จีเหلیل ชื่อวิทยาศาสตร์ *Senna siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby จัดอยู่ใน วงศ์ถั่ว (Fabaceae) และอยู่ในวงศ์ย่อยราชพฤกษ์ (Caesalpinioideae หรือ Caesalpinaceae) จีเหلیل มีชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ ว่า จีเหلیلแก่น (ราชบุรี) จีเหلیلบ้าน (ลำปาง, สุราษฎร์ธานี) ผักจี๊ด มะจี๊ดทะเลพะโค

(แม่ฮ่องสอน) ยะหา (ปัตตานี) จี้เหล็กใหญ่ (ภาคกลาง) จี้เหล็กหลวง (ภาคเหนือ) และจี้เหล็กจิ๋ว (ภาคใต้) เป็นต้น

การจัดลำดับทางด้านอนุกรมวิธานของจี้เหล็ก ตาม H.S.Irwin & Barneby

Kingdom Plantae

Phylum Angiosperms

Class Eudicots

Order Fabales

Family Fabaceae

Genus Senna

Species *S. siamea*

2.6.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของจี้เหล็ก

2.6.1.1 ต้นจี้เหล็กเป็นไม้ขนาดกลาง มีลำต้นสูงประมาณ 5-15 เมตร ลำต้นมีลักษณะบิดงอ เปลือกลำต้นมีสีเทาอมดำ เปลือกแตกเป็นร่องเล็ก ๆ ตามยาว ลำต้นแตกกิ่งจำนวนมาก เป็นทรงพุ่ม

2.6.1.2 ใบจี้เหล็กเป็นใบประกอบแบบขนนกชนิดใบคู่ (ใบสุดท้ายเป็นคู่) ใบแตกออกบริเวณกึ่ง เรียงสลับกันประกอบด้วยใบหลักยาวประมาณ 15-25 เซนติเมตร แต่ละใบหลักประกอบด้วยใบย่อย เรียงเป็นคู่ๆ 7-16 คู่ ใบย่อยมีรูปร่างรี โคนใบ และปลายใบมน แต่เว้าตรงกลางของปลายใบเล็กน้อย ใบยาวประมาณ 3.5-4 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร แผ่นใบ และขอบใบเรียบ เส้นใบมองเห็นไม่ค่อยชัดเจน ใบอ่อนหรือยอดอ่อนมีสีแดงเรื่อ ใบแก่มีสีเขียวสด ไม่มีขน

2.6.1.3 ผลจี้เหล็กเรียก ฟัก มีลักษณะแบนยาว ฟักอ่อนมีสีเขียว ฟักแก่มีสีน้ำตาลอมดำ ขนาดฟักกว้าง 1.5 เซนติเมตร ยาว 15-25 เซนติเมตร ภายในฟักมีเมล็ดเรียงตามความยาวของฟัก จำนวน 20-30 เมล็ด เมล็ดมีรูปร่างรีแบน สีน้ำตาลอมดำ [13]



ภาพที่ 2.3 ลักษณะทั่วไปของจี้เหล็ก

2.7 สรรพคุณของจี้เหล็ก

2.7.1 ประโยชน์ของจี้เหล็ก

เป็นพืชท้องถิ่นที่นิยมนำยอดอ่อน และดอกอ่อนมาทำอาหาร เนื่องจากยอดอ่อน และดอกอ่อน ให้รสขมเล็กน้อย นอกจากนั้น ทั้งยอดอ่อน ดอกอ่อน และส่วนอื่น ๆ ยังนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรรักษา และบรรเทาอาการต่าง ๆ ได้หลายโรค ดังนี้

- 1) ใบใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ ทั้งที่รับประทานเป็นอาหาร เช่น แกงจี้เหล็ก หรือนำใบมาตากแห้ง ก่อนบดใส่แคปซูล หรือนำใบมาต้มน้ำดื่ม (ต้มน้ำดื่มมีรสขมมาก)
- 2) สารในกลุ่มแอนทราควิโนน (Anthraquinones) ช่วยออกฤทธิ์กระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ ทำให้ขับถ่ายได้ง่ายขึ้น ซึ่งเป็นยาระบาย และแก้อาการท้องผูก
- 3) สารบาราคอล ช่วยในการนอนหลับและผ่อนคลาย ซึ่งต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสม
- 4) ใบมาต้มน้ำสำหรับอาบ ช่วยรักษาโรคผิวหนัง กำจัดเชื้อรา
- 5) ใบและดอกช่วยลดความดันโลหิต บำรุงเลือด
- 6) ใบบรรเทาอาการปวดหัวเรื้อรัง ปวดหัวข้างเดียว และบรรเทาอาการไมเกรน
- 7) ใบและดอกช่วยลดน้ำตาลในเลือด และบรรเทาอาการของโรคเบาหวาน
- 8) ใบและดอกบรรเทาอาการหอบหืด

ราก และเปลือกลำต้น (มีรสขม)

- 1) ใช้เป็นยาถ่ายพยาธิ ในลักษณะเดียวกันที่กล่าวข้างต้น
- 2) นำเปลือกมาต้มน้ำอาบในลักษณะเช่นเดียวกันกับใบ เพื่อรักษาโรคผิวหนัง
- 3) นำราก และเปลือกมาต้มน้ำดื่ม ช่วยอาการท้องเสีย
- 4) แก้ปวดเมื่อย แก้อาการเหน็บชาตามร่างกาย
- 5) บำรุงไต
- 6) บรรเทาอาการไข้หวัด แก้กั้วร้อน
- 7) รักษา และบรรเทาอาการเป็นริดสีดวง

สารสำคัญที่พบในใบและดอก ได้แก่ กลุ่มสารแอนทราควิโนน (Anthraquinones) กลุ่มสารไกลโคไซด์ (Glycosides) กลุ่มสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) กลุ่มสารโครโมน (Chromone) กลุ่มสารบาราคอล ($C_{13}H_{12}O$: ใช้ทำยาสลบ ขาดความเครียด) แอนไฮโดรบาราคอล (สารที่เปลี่ยนมาจากบาราคอลด้วยการกำจัดน้ำออกในโมเลกุล) สารอื่นที่อยู่ในกลุ่มสารข้างต้น คาสเซียมิน (Cassiamin) เป็นสารที่ให้รสขมหลัก

ข้อควรระวัง สารบาราคอลจากพืชที่รับประทานในปริมาณมาก อาจทำให้เกิดอาการง่วงซึม และมีผลทำลายเซลล์ตับ สารในกลุ่มสารฟลาโวนอยด์ ออกฤทธิ์ทำให้เส้นเลือดฝอยแตกได้ จึงไม่ควรรับประทานปริมาณมาก และผู้เป็นโรคความดันโลหิตสูงไม่ควรรับประทาน [14]

2.8 การแปรรูปสมุนไพรและการอัดเม็ด

ในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรในรูปแบบต่าง ๆ มากมาย เช่น ยาเม็ด ยาแคปซูล ยาเม็ดเคลือบ ยาน้ำ และยาครีม เป็นต้น โดยยาเม็ดเป็นรูปแบบที่ได้รับความนิยมมาก เนื่องจากมีความคงตัวดีทั้งทางกายภาพ ทางเคมี และเสถียรในใช้งาน สำหรับสูตรตำรับของยาสมุนไพรที่สามารถดกอัดเป็นเม็ดได้นั้น จำเป็นต้องมีคุณสมบัติที่สำคัญ 2 ประการ คือ ความสามารถในการเป็นของเหลวที่ดี เพื่อให้เม็ดยาแต่ละเม็ดมีขนาดคงที่ และความสามารถดกอัดเป็นยาเม็ดได้ดี

2.8.1 ส่วนประกอบของยาเม็ดสมุนไพร

ยาเม็ดสมุนไพร คือยาสมุนไพรที่ถูกอัดเม็ดให้มีรูปร่างแบนกลม วงรี เหลี่ยม มีสารต่างๆ ที่ใช้ในตำรับยาเม็ดสมุนไพร ส่วนประกอบของเม็ดยา มีดังนี้

- 1) สารยึดเกาะช่วยให้ผงยึดเกาะกัน นิยมใช้ในเทคนิคการทำแกรนูลเปียก โดยเตรียมเป็นสารละลายยึดเกาะ ได้แก่ พีวีพี (PVP: polyvinylpyrrolidone) อะเคเซีย เจลาตินปริมาณที่ใช้

ประมาณ 2- 4 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้งของตำรับ โดยเตรียมในความเข้มข้นที่เหมาะสม นอกจากนี้ แป้งเปียกความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก อาจเตรียมจากแป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพดโดย ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ใช้ประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์ ของผงสมุนไพร เป็นต้น

2) สารช่วยแตกตัว ช่วยให้อาเมตแตกตัวได้ดีในทางเดินอาหาร มีให้เลือกใช้ 2 แบบ แบบที่ 1 ออกฤทธิ์โดยการชุ่มน้ำ ราก่อนข้างถูก ได้แก่ แป้งชนิดต่าง ๆ อาจใช้ในปริมาณ 8-10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของตำรับแบบที่สองออกฤทธิ์โดยการพองตัว ราก่อนข้างแพง ได้แก่ คาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลสโซเดียม (Croscarmellose sodium) และ โซเดียมสตาร์ชกลัยโคเลต (Sodium starch glycolate) เป็นต้น แต่ใช้ในปริมาณน้อย ก็อาจใช้ในปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของตำรับ

3) สารช่วยตอตรง (Direct compression filler) ช่วยให้อาเมตสมุนไพรบางตำรับมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นและความกร่อนลดลง จากเดิมที่ตอกแล้วไม่ค่อยแข็ง ได้แก่ ไมโครคริสตอลลิน เซลลูโลส (Microcrystalline cellulose) เป็นต้น ข้อดีนอกเหนือจากนี้คือยาเมตจะแตกตัวได้เร็ว เพราะ การพองตัวของสารชนิดนี้

4) สารกลบรสกลบกลิ่น ในบางกรณี เช่น ยาเมตแก้ไอมะแว้งใช้เจลาตินและอะเกเซีย กลบรสขมและกลบกลิ่นยาสมุนไพร รวมทั้งใช้เป็นสารยึดเกาะสองชนิดนี้ในอัตราส่วนที่เหมาะสม

5) สารแต่งรสหวานหรือสารแต่งกลิ่น ช่วยในการปรับรส ปรับกลิ่นและปรับสีด้วยยา ช่วยให้อาเมตมีสีที่ดูน่ารับประทาน โภคสารแต่งรสหวานที่ใช้ได้แก่ ซูการ์โลส เป็นต้น สารแต่งกลิ่นอาจเป็น กลิ่นผลไม้ และสีที่ใช้ ต้องได้รับการยอมรับจากองค์การอาหารและยา ว่าปลอดภัยและไม่เป็นพิษ ปัจจุบันสารแต่งกลิ่นผลิตในรูปผงที่ง่ายต่อการเตรียมตำรับ แต่ต้องใส่ในปริมาณเล็กน้อย เพื่อไม่ให้ ขัดขวางการไหลหรือการตอกยาเมต เนื่องจากมีคุณสมบัติค่อนข้างเหนียว

6) สารหล่อลื่นแท้ช่วยให้ตอกยาเมตได้ง่าย ผิวเรียบเป็นมันลดแรงเสียดทานขณะตอก ยาเมต เช่น แมกนีเซียมสเตียเรตในปริมาณ 0.5 - 1.0 เปอร์เซ็นต์ ของตำรับ

7) สารช่วยไหล ช่วยให้ผงไหลดี ได้แก่ Fumed silicon dioxide ในปริมาณ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ของตำรับ เป็นต้น

8) สารกันติด ช่วยให้อาเมตไม่ติดปากและแม่พิมพ์ขณะตอก ได้แก่ แมกนีเซียม สเตียเรต ในปริมาณที่กล่าวมา ทาลค์ (Talc) หรือแป้งชนิดต่าง ๆ ในปริมาณที่เหมาะสม เป็นต้นเป็น ชนิดหนึ่งของสารหล่อลื่นเช่นเดียวกัน

ยาเมตเป็นรูปแบบยาที่ได้รับความนิยมใช้กันมาก เมื่อเปรียบเทียบกับยาชนิดอื่น เนื่องจาก มีความสะดวกในการเก็บรักษา การพกพาสะดวก การใช้งานง่าย ความคงตัวค่อนข้างดี

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารจากกานพลูและขี้เหล็ก

Raina *et al.* (2001) ศึกษาการสกัดน้ำมันกานพลูจากใบแห้ง โดยทำการสกัดด้วยวิธี Hydrodistillation ให้น้ำมันกานพลู 4.8 เปอร์เซ็นต์ ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี GC และ GC-MS พบว่า องค์ประกอบหลักที่พบคือ Eugenol 94.4 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วย β -Caryophyllene 2.9 เปอร์เซ็นต์ [15]

Lee and Shibamoto (2001) ศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสำคัญจากกานพลูที่แยกได้จากชิ้นส่วนตาข้าง โดยกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam-distillation) ภายใต้สภาวะ 55 องศาเซลเซียส ความดัน 95 มิลลิเมตรปรอท และทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี GC และ GC-MS พบว่าองค์ประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยจากตาข้างของกานพลูมี Eugenol 24.371 มิลลิกรัมต่อกรัม และสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ [16]

Alma *et al.* (2007) ศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากตาข้างของกานพลู โดยใช้วิธีการกลั่นไอน้ำ และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี GC และ GC-MS พบว่า องค์ประกอบหลักคือ Eugenol 87.00 เปอร์เซ็นต์ Eugenyl acetate 8.01 เปอร์เซ็นต์ และ β -Caryophyllene 3.56 เปอร์เซ็นต์ [17]

Banker *et al.* (2011) ศึกษาองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีในน้ำมันกานพลู โดยกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นไอน้ำ (Hydro-distillation) และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี GC และ GC-MS พบว่า มีสาร Eugenol เป็นองค์ประกอบหลักอยู่ระหว่าง 82.3-91.4 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วย Trans- β -Caryophyllene 6.3-12.7 เปอร์เซ็นต์ และมีสารอื่นที่เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ α -Humulene Eugenyl acetate และ Chavicol [18]

ดวงใจ พิสุทธิธรราช และ ธนากร เหมาะสกล (2018) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบขี้เหล็กในการสลับปลากัดฮาฟมูน นำปลากัดขนาด 1.13 ± 0.08 กรัม มาแช่ในน้ำผสมสารสกัดจากใบขี้เหล็กที่ระดับ 0 (ควบคุม), 250, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 มก./ล. สังเกตการตอบสนองและบันทึกระยะเวลาการสลับของปลากัดภายในเวลา 24 ชม. มี 5 ระยะ ดังนี้ ระยะปกติ ระยะมีการเคลื่อนไหว การหายใจลดลง ระยะสูญเสียการทรงตัวบางส่วน การตอบสนองต่อสิ่งเร้าบางส่วนหมดไป ระยะเสียการทรงตัวอย่างสมบูรณ์ ไม่ตอบสนองต่อสิ่งเร้าใดๆ และ ระยะหยุดหายใจ จากผลการทดลอง พบว่า ระดับของสารสกัดจากใบขี้เหล็ก ที่เหมาะสมที่ทำให้ปลากัดสลับอยู่ในระยะมีการเคลื่อนไหวและการหายใจลดลง เป็นเวลานาน 24 ชม. คือ 1,000 มก./ล. และเมื่อเปลี่ยนน้ำใหม่ปลากัดสามารถฟื้นตัวได้ภายในเวลา 5 นาที เมื่อเลี้ยงปลากัดต่อไปอีก 14 วัน เพื่อศึกษาอัตราการรอดตาย พบว่า

ปลากัดมีอัตราการรอดตาย 100 % และมีสุขภาพดี ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากใบ จีเหล็ก สามารถนำมาใช้เป็นยาสลับเพื่อควบคุมปลากัดระหว่างการขนส่งได้ [19]

วีระสิงห์ และคณะ (2543) ทดลองใช้น้ำเชื่อม (Syrup) จีเหล็ก และยาเม็ดจีเหล็กทาง คลินิก เพื่อรักษาอาการนอนไม่หลับ โดยใช้ยาดังกล่าวที่มี Anhydrobaracol 10 มิลลิกรัม มีผู้ป่วยหลัง การผ่าตัด 22 ราย ได้รับยาครั้งเดียวก่อนนอน และผู้ป่วยนอก 20 ราย ได้รับยาเม็ดไปรับประทาน 1 ครั้ง ก่อนนอน ผลการทดสอบพบว่า การนอนหลับดีขึ้น 59 และ 69 เปอร์เซ็นต์ ในผู้ป่วยที่ได้รับยา และยาเม็ดตามลำดับ พบผลข้างเคียงในกลุ่มที่ได้รับยาเม็ดเท่านั้น คือ อาการอึดอัดในท้องเล็กน้อย [8]

Thongsaard *et al.* (2541) ศึกษาบาราคอลในสัตว์ทดลองโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Elevated plus-maze ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ทดสอบการออกฤทธิ์ของยาลดอาการวิตกกังวล โดยทำการศึกษา เปรียบเทียบกับ Diazepam จากผลการศึกษาพบว่า เมื่อนับบาราคอล ขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าทางช่องท้องให้กับสัตว์ทดลอง พบว่าบาราคอลมีฤทธิ์ลดอาการวิตกกังวลได้ ซึ่งผลการทดสอบ พฤติกรรมของสัตว์ทดลองที่ได้รับบาราคอล คล้ายกับพฤติกรรมของสัตว์ทดลองที่ได้รับ Diazepam ที่มีผลต่อการเคลื่อนไหว ทำให้สัตว์ทดลองเคลื่อนไหวไม่ต่างไปจาก Diazepam [20]

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำสบึงปลาและสัตว์น้ำ

ณาดยา (2547) ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันกานพลู (Clove oil) ต่อเวลาการคลาย ตัวของกล้ามเนื้อเท้าหอยเป่าฮือไทย (*Halotis asinina*) เพื่อให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและลดการ บาดเจ็บของหอยเป่าฮือระหว่างเตรียมการขนส่ง พบว่า อัตราส่วนของน้ำมันกานพลู 1.0-1.5 มิลลิกรัม ต่อลิตร ทำให้กล้ามเนื้อเท้าหอยเป่าฮือคลายตัว ลดการเคลื่อนไหวและสามารถแกะออกจากแผ่นยึด เกาะได้ง่าย โดยกล้ามเนื้อเท้าหอยจะคลายตัวภายในเวลา 4.40 และ 4.19 นาที ตามลำดับ หลังจากนั้น ถูกหอยฟิ้นกลับสู่สภาวะปกติภายใน 4.49 และ 7.10 นาที ตามลำดับ ซึ่งเป็นเวลาที่เหมาะสม สำหรับการคัดเลือกขนาดของหอยเป่าฮือ ซึ่งทำให้ลดการบาดเจ็บและติดเชื้อได้ก่อนจัดส่งไปยังฟาร์มเลี้ยง [21]

บัณฑิตย์ และคณะ (2547) ศึกษาระดับความเข้มข้นของ Quinaldine sulfate และ 2-Phenoxy ethanol ในการทำสลับ ควบคุมระดับการสลับ และขนาดยาที่ทำให้ปลานิลวัยรุ่นถูกผสมตาย 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ขนาดยาสลับ Quinaldine sulfate และ 2-Phenoxyethanol ที่เหมาะสมในการทำ สลับ คือ 40 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนขนาดยา 2-Phenoxyethanol ความเข้มข้น 770 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เหมาะสมอยู่ที่ 0.75 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับขนาดของ

Quinaldine sulfate และ 2-Phenoxyethanol ที่สามารถทำให้ปลาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อครบ 72 ชั่วโมง อยู่ที่ 13.14 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.22 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ [22]

นาวัน และคณะ (2549) ศึกษาทดลองใช้น้ำมันกานพลู เป็นยาสลบในปลาน้ำจืดที่สำคัญทางเศรษฐกิจบางชนิด โดยทดลองในปลา 2 กลุ่ม คือ กลุ่มปลาขนาดเล็ก จำนวน 1 ชนิดคือ ลูกปลา ยี่สกเทศ ขนาดความยาว 3 – 5 ซม. และกลุ่มปลาขนาดใหญ่ (Sub-adult fish) จำนวน 7 ชนิด คือ ปลา นิล ปลานวลจันทร์เทศ ปลากดเหลือง ปลาตะเพียนขาว ปลาเทพา ปลาไน และปลาบึก พบว่า สารละลายน้ำมันกานพลูที่ระดับความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ปลาสลบใช้เวลาเฉลี่ย 1.57 นาที และฟื้นจากการสลบในเวลา 1.03 นาที โดยปลาทดลองทั้งหมดมีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการทดลองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับกลุ่มปลาขนาดใหญ่ (Sub-adult fish) ใช้ สารละลายน้ำมันกานพลู ที่มีความเข้มข้นต่างกัน ระหว่าง 60 - 220 มิลลิกรัมต่อลิตร [9]

วีระศักดิ์ และคณะ (2549) เปรียบเทียบฤทธิ์การสลบปลาคาร์พของน้ำมันกานพลูกับ ควินอลิน โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำมันกานพลูที่ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร และควินอลิน 35 มิลลิกรัม ต่อลิตร พบว่า น้ำมันกานพลูมีการเหนี่ยวนำให้สลบที่ 0.70 วินาที ส่วนควินอลินมีค่าเฉลี่ย 3.15 นาที ระยะ เวลาฟื้นตัวของปลาที่สลบด้วยน้ำมันกานพลู และควินอลินมีค่าเฉลี่ย 3.15 และ 2.63 นาที ตามลำดับ ผลต่ออัตราการหายใจพบว่า อัตราการหายใจขณะสลบและหลังการสลบของน้ำมันกานพลู มีอัตราการหายใจน้อยกว่าการสลบด้วยควินอลิน และผลของยาสลบต่อระดับน้ำตาลในเลือดพบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แสดงให้เห็นว่า น้ำมันกานพลูมีประสิทธิภาพเป็นยาสลบสำหรับปลาคาร์ พได้อย่างปลอดภัย [23]

दनัย และคณะ (2551) ศึกษาความเป็นพิษและประสิทธิภาพของน้ำมันกานพลูในการสลบ ปลากัดจีน พบว่า น้ำมันกานพลูมีพิษทำให้ปลากัดจีนตายได้ โดยค่า LC_{50} ของน้ำมันกานพลูที่มีผลต่อ ปลากัดจีนและความยาวเหยียด 5.5-6.5 เซนติเมตร มีค่าเท่ากับ 21.77 มิลลิกรัมต่อลิตร (ช่วงความ เชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในช่วง 19.64-23.95 มิลลิกรัมต่อลิตร) และน้ำมันกานพลูความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะที่สุดในการใช้ขนส่งปลากัดจีน เพราะสามารถทำให้ปลาสลบได้นานที่สุด ถึง 24 ชั่วโมง และฟื้นจากการสลบได้ภายในระยะเวลา 5 นาที หลังจากเปลี่ยนน้ำใหม่ [1]

Pirhonen and Schreck (2003) ศึกษาผลของยาสลบ Tricane methane sulfonate (MS-222) น้ำมันกานพลู และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ต่อปริมาณการกินอาหารและการตอบสนองต่อ (Steelhead) พบว่า ไม่มีความแตกต่างของการสลบปลา แต่มีผลกระทบต่อปริมาณการกินอาหารหลัง การฟื้นสลบ ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อการเพาะเลี้ยงหรือการวิจัย การได้รับยาสลบของ

ปลาเทราท์ที่มีอายุ 3 ชนิด ในเวลา 4, 24 และ 48 ชั่วโมง ปลาทั้งหมดกินอาหารได้ดีหลังจากการสลบ ใน 4 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามปลาที่ทดลองด้วยน้ำมันกานพลูและ MS-222 ต่ำกว่าชุดควบคุม Plasma cortisol มีความเข้มข้นสูงขึ้น หลังจากการสลบที่ 48 ชั่วโมง จึงสามารถใช้น้ำมันกานพลูแทนการใช้ MS-222 ได้ เนื่องจากมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน [24]

Zahl *et al.* (2009) ศึกษาผลของการวางซึมก่อนการใช้อาสาสลบที่มีผลต่อร่างกาย ได้แก่ น้ำหนัก อุณหภูมิ และความเครียดของปลา Atlantic cod (*Gadus morhua*) โดยใช้อาสาสลบ Benzocaine, MS-222 และ 2-phenoxyethanol ใช้ปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 99 ± 33 และ 1022 ± 274 กรัม ที่อุณหภูมิ น้ำ 8 และ 16 องศาเซลเซียส ทำการทดลองการสลบรายตัว และรายชุด พบว่า ปลามีการสลบที่เวลา 52 ± 6 ถึง 182 ± 16 วินาที และ 77 ± 26 ถึง 659 ± 46 วินาที ตามลำดับ ใช้เวลาในการฟื้นสลบเหมาะสมที่สุดในอุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส [25]

Agokei and Adebisi (2010) ศึกษาการใช้อาสาสูบเป็นยาชาในขั้นตอนการสลบปลา โดยใช้สารละลายที่สกัดด้วยน้ำและที่ทำการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ สลบปลานิลและปลานิลแดง ผลของความเข้มข้นของการสลบปลามีประสิทธิภาพ 75 เปอร์เซ็นต์ หลังจากปลาได้สัมผัสกับสารเป็นเวลานานน้อยกว่า 5 นาที ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายที่สกัดด้วยน้ำในการสลบปลาคือ 4-4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของสารละลายที่ทำการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ คือ 6-7 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำ การระงับความรู้สึกที่ใช้สารสกัดด้วยน้ำเหมาะสมกว่าการใช้สารที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำแต่มีระยะเวลาในการฟื้นปลาใกล้เคียงกัน [26]

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

สุภาพรณ์ (2559) ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบขี้เหล็กที่สกัดด้วย 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอลและน้ำกลั่นต่อการเติบโตของ *Bacillus subtilis* *Escherichia coli* *Pseudomonas* sp. และ *Staphylococcus aureus* โดยใช้วิธี Disc diffusion method ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 4.50 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเติบโตของ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยอยู่ที่ 8.33 ± 0.47 มิลลิเมตร และ สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้น 4.86 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียได้ทั้งหมด [27]

สาวิตรี (2547) ศึกษาการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของสารสกัดจากเครื่องเทศ และสมุนไพรบางชนิด พบว่า สกัดในน้ำกลั่นและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และศึกษาการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ามีเพียง 4 ชนิด ที่ให้ผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์คือสารสกัดจากหอมใหญ่และกระเทียม ยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิดได้ ในขณะที่สารสกัดจากหอมและพริกยับยั้งเฉพาะ *S. aureus* เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าในจานอาหารที่ทดสอบการยับยั้งเชื้อ *E. coli* จากสารสกัดหอมใหญ่ด้วยน้ำกลั่นและสารสกัดหอมใหญ่ด้วยเอทานอลนั้น เมื่อใส่สารลงไปบนจานอาหารที่เลี้ยงเชื้อ ในระยะห่างประมาณ 3 เซนติเมตร เกิดโซนใสที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อ [28]

จิราภรณ์ (2012) ศึกษาสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิดนำมาสกัดสารโดยใช้น้ำเมทานอลและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ได้นำมาศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 4 สายพันธุ์ได้แก่ *E. Coli* *K. Pneumonia* *S. Aureus* และ *S. epidermidis* ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดผักแว่นด้วยเมทานอลแสดงการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์ยับยั้ง 20.46 มิลลิเมตร และ 35.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดสระแหน่ด้วยน้ำและสารสกัดชะพลูด้วย เมทานอล แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของฤทธิ์ยับยั้ง 19.15 มิลลิเมตร และ 24.77 มิลลิเมตร ตามลำดับ [29]

อัจฉราและคณะ (2552) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบขี้เหล็กในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. และ *L. theobromae* เพื่อใช้เป็นแนวทางในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของกล้วยหอมทอง โดยการเลี้ยงเส้นใยและสปอร์เชื้อราบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ที่ผสมสารสกัดหยาบจากใบขี้เหล็กที่ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 500 1,000 5,000 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้งสองชนิดนี้ได้ ในขณะที่ที่ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Fusarium* sp. และ *L. theobromae* เท่ากับ 100 และ 64.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ [30]

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 พืชทดลอง

กานพลู ; *S. aromaticum* (L.) Merr.& L.M.Perry

ขี้เหล็ก ; *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby

3.1.2 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

A. hydrophila

P. flurescens

V. alginolyticus

3.1.3 ปลาที่ใช้ในการทดลอง

ปลาคูกอุยเทศ (*C. macrocephalus* × *C. gariepinus*)

3.1.4 อุปกรณ์

- กระบอกตวง
- กระดาษกรอง
- ขวดเตรียมสาร
- ขวดปรับปริมาตร
- เข็มฉีดยา
- เครื่องชั่งสารละเอียด
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง
- จานเพาะเชื้อ
- ซ้อนตักสารเคมี
- ชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหย
- ชุดออกซิเจน
- ตู้ปลา
- ตู้เย็น
- ถังใส่ปลา

- เทอร์โมมิเตอร์
- บีกเกอร์
- ไมโครปิเปต
- ไม้พันสำลี
- หลอดทดลอง
- เครื่องอัดเม็ด
- เครื่องปั่น

3.1.5 สารเคมี

- สารยูจินอล
- Tween 80
- อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Nutrient Agar (NA)
- อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Nutrient Both (NB)
- อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Nutrient Agar (NA) + Sodium chloride 1% (NaCl)
- อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Nutrient Both (NB) + Sodium chloride 1% (NaCl)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมปลาคุยกุเทศ

3.2.1.1 เตรียมตู้ปลาขนาด 30×60×30 เซนติเมตร เลี้ยงปลาไว้ก่อนการทดลองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อพักปลา โดยเตรียมน้ำประปาทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อกำจัดคลอรีน ทำความสะอาดตู้กระจกด้วยการฆ่าเชื้อโรคด้วยด่างทับทิมละลายน้ำที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร แช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการระบายน้ำทิ้ง ปล่อยให้ตู้ปลาแห้ง 3-4 วัน ก่อนทำการทดลอง เติมน้ำลงในตู้กระจกระดับความสูงของน้ำ 35 เซนติเมตร พักค้างคืนไว้ 1 คืน จึงเริ่มทำการทดลอง

3.2.1.2 นำปลาคุยกุเทศขนาด 8-10 มิลลิเมตร อายุประมาณ 2 เดือน จากสถานีประมงจังหวัดปทุมธานี มาอนุบาลไว้ในตู้ปลา เพื่อให้ปลาคุยกุเทศคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อม 1-2 วัน ให้อาหารปกติ 2 ครั้ง (เช้า-เย็น) จนกว่าจะเริ่มดำเนินการทดลองงดอาหาร 24 ชั่วโมง เพื่อควบคุมสภาพร่างกายปลาทุกตัว ให้พร้อมทำการสลับต่อไป ทั้งนี้เพื่อนำผลการทดลองไปประยุกต์ใช้กับสถานการณ์จริงในการขนส่งและอนุบาลปลาวย่ออ่อนได้เหมือนจริงจึงทดสอบในถุงพลาสติกแทนการใช้ภาชนะเลี้ยงปลาทั่วไป

3.2.2 การเตรียมสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบจี่เหล็ก

3.2.2.1 ดอกกานพลูใช้ดอกตูมที่แห้งแล้ว นำมาจากร้านจำหน่ายสมุนไพรจีนในเยาวราช ใบกานพลูใช้ใบสดนำมาอบจนแห้ง เก็บจากสวนสมุนไพรที่จังหวัดสระบุรี และใบจี่เหล็กใช้ส่วนใบสด นำมาจากสวนจี่เหล็กอุทัยธานี ชั่งน้ำหนักและอบที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส จึงทำการบดให้ละเอียด ใส่ถุงขาวบางเพื่อนำไปหมักในโหล โดยหมักด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ แยกกัน หมักทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน ทำการกลั่นด้วยถุงผ้าขาวบางให้สัมผัสตัวทำละลายโดยสม่ำเสมอ จากนั้นกรองเอากากทิ้งเหลือไว้เฉพาะส่วนใสแล้วทำการกรองซ้ำด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman no.1) ณ ชั้น 5 สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

3.2.2.2 นำส่วนที่กรองได้จากข้อ 1 มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสาร (Rotary evaporator) จนกระทั่งได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น มีลักษณะเหนียวและข้น ณ ห้องปฏิบัติการชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

3.2.2.3 นำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด

3.2.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อการสงบนิ่งปลาอุกอุยเทศ

3.2.3.1 วิธีการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดและสารสกัดอัดเม็ด ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

1) เป็นการทดลองเพื่อหาช่วงความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบจี่เหล็ก ที่ปลาอุกอุยเทศเข้าสู่การสงบนิ่งของ เพื่อนำไปใช้ในการในการทดสอบต่อไป

2) สารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบจี่เหล็ก ที่ได้จากการทดลองมาแบ่งเป็นช่วง 4 ความเข้มข้น และนำสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบจี่เหล็กมาทำเป็น Stock solution โดยแต่ละความเข้มข้นจะใช้ปลาอุกอุยเทศที่ขนาดไม่เกิน 8 – 10 เซนติเมตร 1 ตัว ใส่ลงในถุงพลาสติกที่มีสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบจี่เหล็ก เริ่มสังเกตระดับอาการของปลาในนาที่แรกที่ปลาตอบสนอง ระดับ เคลื่อนไหวช้า สงบนิ่ง และสลบ บันทึกระยะเวลาที่ปลาตอบสนองในระดับอาการนี้เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ หลังจากนั้นสังเกตที่เวลา 10 นาที 15 นาที 20 นาที 30 นาที และ 60 นาที และจากนั้นทุกครั้งช่วงโอมงจนครบ 120 นาที หลังจากนั้นนำปลาอุกอุยเทศไปใส่ในน้ำสะอาดที่ให้ออกซิเจน และจับเวลาจนกระทั่งปลาอุกอุยเทศฟื้นกลับมาว่ายน้ำตามปกติ

เมื่อเสร็จการทดลองนำปลาอุกอุยเทศที่ฟื้นจากการทดลองมาเลี้ยงต่อเป็นเวลา 2 วัน เพื่อดูอาการข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นกับปลาอุกอุยเทศ

3) บันทึกข้อมูลระยะเวลาที่ปลาแสดงอาการต่าง ๆ และนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ

3.2.3.2 วิธีการทำการอัดเม็ดสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก

นำส่วนประกอบของสารสกัดอัดเม็ดประกอบด้วย แป้งข้าวโพด 20 กรัม น้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร Tween 80 4 กรัม และสารสกัด 2,000 มิลลิกรัม นำส่วนผสมทุกอย่างมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปตอกเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ดด้วยมือและนำไปอบให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 4-6 ชั่วโมง และบรรจุในขวดทึบแสงที่ผ่านการทำความสะอาดเรียบร้อยแล้ว

3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดอัดเม็ดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กต่อการสงบนิ่งปลาอุกอุยเทศ

นำปลาอุกอุยเทศมาทำการทดสอบโดยทำการวัดขนาดและชั่งน้ำหนักปลาอุกอุยเทศทุกตัวที่นำมาทำการทดสอบใส่ปลาอุกอุยเทศ 1 ตัว ต่อถุงพลาสติก 1 ถุง ที่ละลายสารสกัดอัดเม็ดไว้ 4 เม็ด ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมอยู่ สังเกตพฤติกรรมของปลาที่เปลี่ยนแปลงไปพร้อมทั้งจับเวลาที่เข้าสู่การตอบสนองในระดับอาการเคลื่อนไหวช้า สงบนิ่ง และสลบ และบันทึกระยะเวลาที่ปลาอุกอุยเทศตอบสนองในระดับอาการสงบนิ่ง (นาทิจ) เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดกับสารสกัดอัดเม็ด หลังจากนั้นสังเกตที่เวลา 10 นาที 15 นาที 20 นาที 30 นาที และ 60 นาที และจากนั้นทุกครั้งชั่วโมงจนครบ 120 นาที หลังจากนั้นนำปลาอุกอุยเทศไปใส่ในน้ำสะอาดที่ให้ออกซิเจน และจับเวลาจนกระทั่งปลาอุกอุยเทศฟื้นกลับมาว่ายน้ำตามปกติ เมื่อเสร็จการทดลองนำปลาอุกอุยเทศที่ฟื้นจากการทดลองมาเลี้ยงต่อเป็นเวลา 2 วัน เพื่อดูอาการข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นกับปลาอุกอุยเทศ

3.2.5 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ด้วยวิธี Disc diffusion techniques

Disc diffusion techniques เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการแพร่ของสาร โดยสารสกัดที่ต้องการตรวจสอบจะแพร่จากจุดเริ่มต้นออกไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* *P. fluorescens* และ *V. alginolyticus* โดยความเข้มข้นของสารละลายด้านแบคทีเรียจะเป็นสัดส่วนกับระยะห่างในการแพร่ ดังนั้นในความเข้มข้นหนึ่ง พบว่า เชื้อแบคทีเรียสามารถเกิดการ

ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้ผลที่เกิดขึ้นคือปรากฏเป็นโซนใส (Inhibition zone) หลังจากบ่มครบตามเวลาที่กำหนด อาจกล่าวได้ว่าความกว้างของโซนใสบอกถึงความสามารถของการละลายสารสกัดว่าสามารถต้านได้มากน้อยเพียงใด และผลที่ได้สามารถนำไปเป็นแนวทางในการเลือกสารสกัดที่นำไปพัฒนาเพื่อผลิตเป็นยารักษาโรคโดยเลือกจากสารที่สามารถให้ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้มาก แต่ถ้าไม่เกิดโซนใสหรือเกิดโซนใสนขนาดเล็กกว่ากำหนดถือว่าดื้อยา (Resistance) [3]

3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ มีดังต่อไปนี้

- 1) ค่าเฉลี่ย (Mean) ของระยะเวลาเข้าสู่อาการสงบนิ่งและระยะเวลาตอบสนองในระดับอาการสงบนิ่ง
- 2) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation)
- 3) ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) ในแผนการทดลองแบบ CRD ส่วนการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ ของระดับความเข้มข้นของสารสกัดโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

4) การคำนวณปริมาณน้ำหนักรายยาในแต่ละเม็ด

$$\begin{aligned}
 \text{ตัวยา (สารสกัด)} &= A \\
 \text{สารยึดเกาะที่ใช้} &= B \\
 \text{น้ำหนักรายยาเมื่อทำเสร็จแต่ละเม็ด} &= C \\
 \text{น้ำหนักรายยาแต่ละเม็ด} &= \frac{A}{A+B} \times C
 \end{aligned}$$

การบันทึกข้อมูล

- 1) บันทึกจำนวนหลอดทดสอบที่แสดงระยะเวลาในการเข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่ง ระยะเวลาที่หลอดทดสอบนิ่ง และพ้นจากอาการสงบนิ่ง
- 2) บันทึกผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวัดจากความกว้างที่เชื้อแบคทีเรียถูกยับยั้งการเจริญเติบโต แสดงถึงความกว้างของโซนใสหน่วยเป็นเซนติเมตร
- 3) บันทึกผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและสรุปผลเพื่อนำเสนอและจัดทำรูปเล่มรายงาน

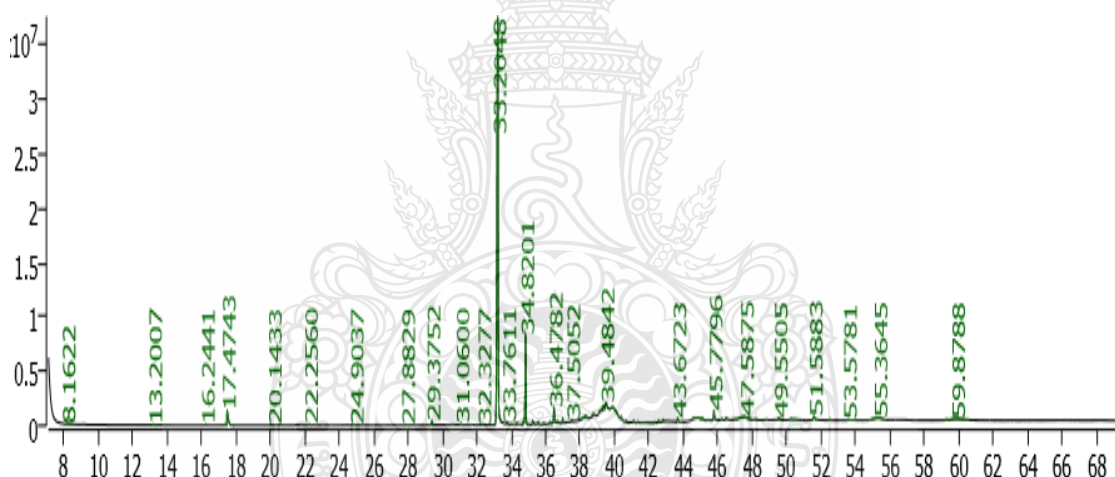
บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

4.1 องค์ประกอบของสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกกานพลู

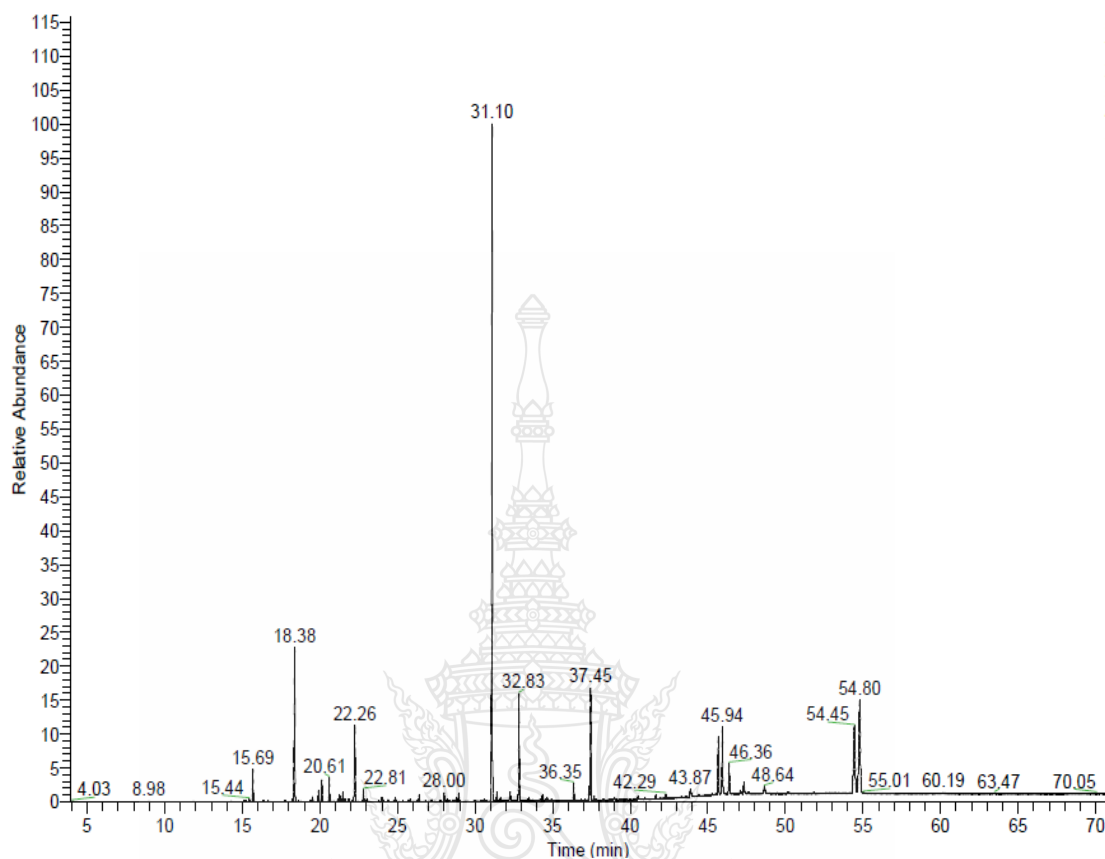
4.1.1.1 จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่อง GC-MS พบสารสำคัญจำนวน 66 ชนิด สารที่เป็นองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด ได้แก่ Eugenol 46.71 เปอร์เซ็นต์ (RT=33.19), n-Hexadecanoic acid 5.54 เปอร์เซ็นต์ (RT=45.78), และ Octadecatrienoic acid, 4.51 เปอร์เซ็นต์ (RT=53.58) ส่วนอีก 63 ชนิดเป็นสารที่พบได้ในปริมาณเล็กน้อย ดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล

50 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

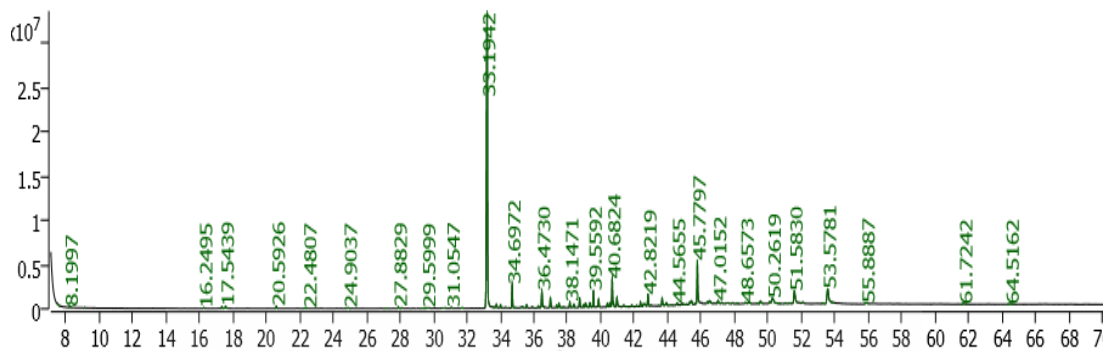
4.1.1.2 จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่อง GC-MS พบสารสำคัญจำนวน 10 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด ได้แก่ Eugenol 62.53 เปอร์เซ็นต์ (RT=31.10) Trans-Caryophyllene 18.85 เปอร์เซ็นต์ (RT=18.38) Aceteugenol 10.74 เปอร์เซ็นต์ (RT= 37.45) ส่วนอีก 7 ชนิดเป็นสารที่พบได้ในปริมาณเล็กน้อย ดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

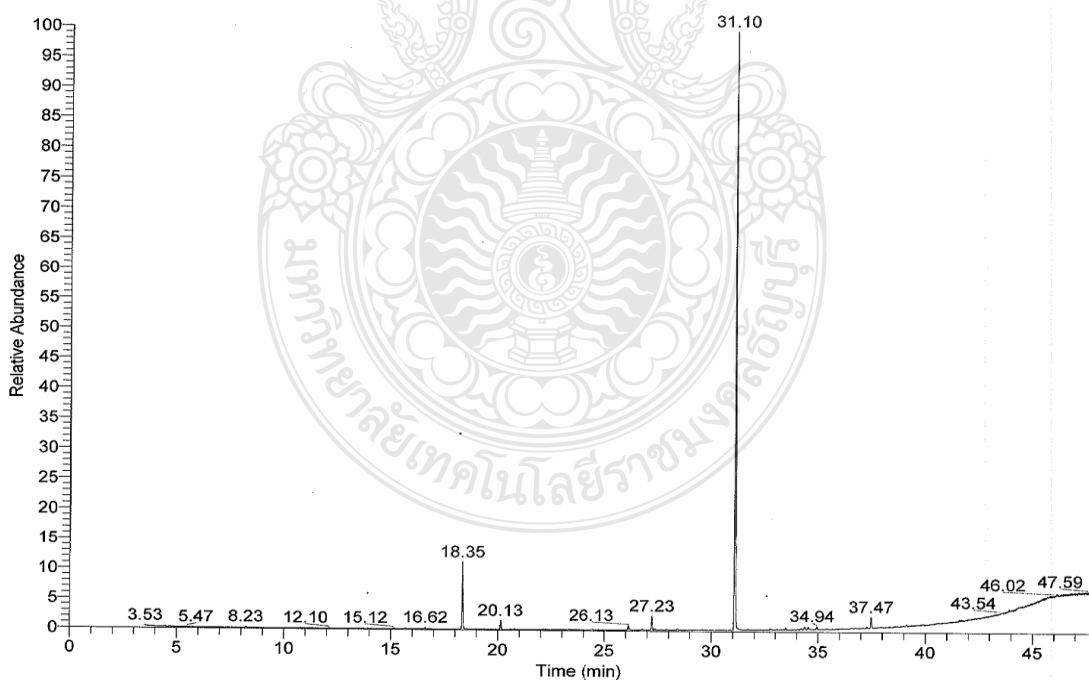
4.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบกานพลู

4.1.2.1 จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่อง GC-MS พบสารสำคัญจำนวน 101 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิดได้แก่ Eugenol 61.66 เปอร์เซ็นต์ (RT=33.20) Hexadecanoic acid 8.94 เปอร์เซ็นต์ (RT=34.69) และ n-Hexadecanoic acid 5.54 เปอร์เซ็นต์ (RT=45.78) ส่วนอีก 98 ชนิดเป็นสารที่พบได้ในปริมาณเล็กน้อย ดังภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

4.1.2.2 จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่อง GC-MS พบสารสำคัญจำนวน 30 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิดได้แก่ Eugenol 79.62 เปอร์เซ็นต์ (RT=31.80) Trans-Caryophyllene 8.92 เปอร์เซ็นต์ (RT=18.39) Caryophyllene oxide 2.04 เปอร์เซ็นต์ (RT= 37.47) ส่วนอีก 27 ชนิดเป็นสารที่พบได้ในปริมาณเล็กน้อย ดังภาพที่ 4.4

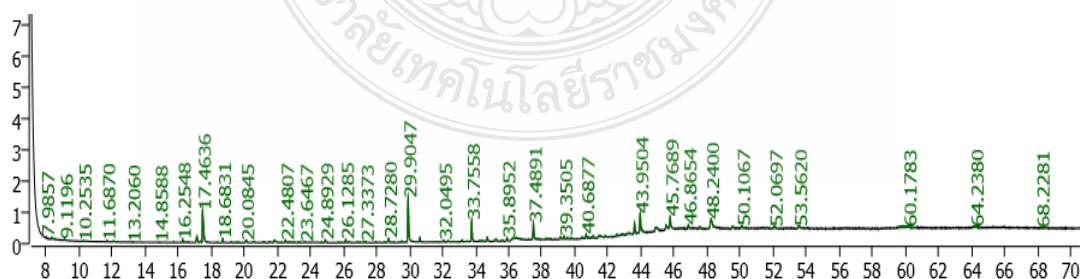


ภาพที่ 4.4 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบสำคัญของสารสกัดดอกและใบกานพลูที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดกานพลูทั้ง 4 ชนิด พบปริมาณสารยูจินอลสูงที่สุดจนถึงต่ำที่สุด ตามลำดับ ดังนี้ สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบยูจินอล 79.62 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบ ยูจินอล 62.53 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ พบยูจินอล 61.66 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ พบยูจินอลปริมาณต่ำที่สุด คือ 46.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องมาจากส่วนโครงสร้างและหน้าที่ของใบกานพลูและดอกกานพลูมีลักษณะแตกต่างกัน โดยใบกานพลูมีหน้าที่สังเคราะห์แสงและสะสมสารอาหาร ส่วนดอกกานพลูมีหน้าที่สะสมอาหารเก็บไว้เพื่อต้นอ่อนใช้ในเจริญเติบโตภายในเมล็ด จึงมีองค์ประกอบสารสำคัญบางชนิดแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Alma *et al.* จากประเทศตุรกีพบสารยูจินอลในน้ำมันกานพลูถึง 87 เปอร์เซ็นต์ และยังพบสารรองอีกหลายชนิด เนื่องจากตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นสูงเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถละลายกลุ่มสารได้ดีกว่าเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ [15] นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานของ Banker *et al.* ซึ่งพบปริมาณสารยูจินอลในน้ำมันดอกกานพลู 82.3 - 91.4 เปอร์เซ็นต์ [30] สารดังกล่าวมีฤทธิ์เป็นยาชาเฉพาะที่และยังมีผลต่อการระงับความรู้สึก

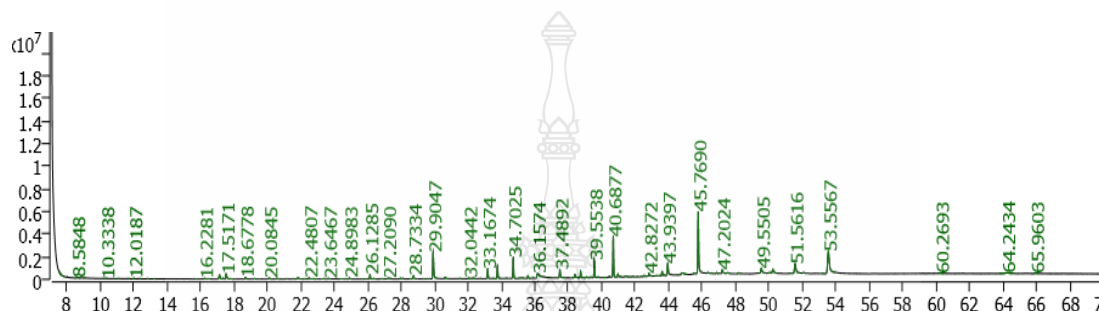
4.1.3 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบขี้เหล็ก

4.1.3.1 จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่อง GC-MS พบสารสำคัญจำนวน 129 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด ได้แก่ 2H-Pyran-2,6(3H)-dione 11.32 เปอร์เซ็นต์ (RT=29.47) Acetic acid 10.71 เปอร์เซ็นต์ (RT=17.76) และ 4-(1-Pyrrolyl) butanoic acid 6.08 เปอร์เซ็นต์ (RT=43.95) ส่วนอีก 126 ชนิดเป็นสารที่พบได้ในปริมาณเล็กน้อย ดังภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

4.1.3.2 จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วย เอทานอล 95เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่อง GC-MS พบสารสำคัญจำนวน 131 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิดได้แก่ n-Hexadecanoic acid 14.89 เปอร์เซ็นต์ (RT=45.77) Octadecatrienoic acid 12.61 เปอร์เซ็นต์ (RT=53.19) 2H-Pyran-2,6(3H)-dione 7.13 เปอร์เซ็นต์ (RT= 29.90) ส่วนอีก 128 ชนิดเป็นสารที่พบได้ในปริมาณเล็กน้อย ดังภาพที่ 4.6 นอกจากนี้ยังพบสารยูจีนอล 2.12 เปอร์เซ็นต์ (RT 33.17)



ภาพที่ 4.6 Mass spectrum องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

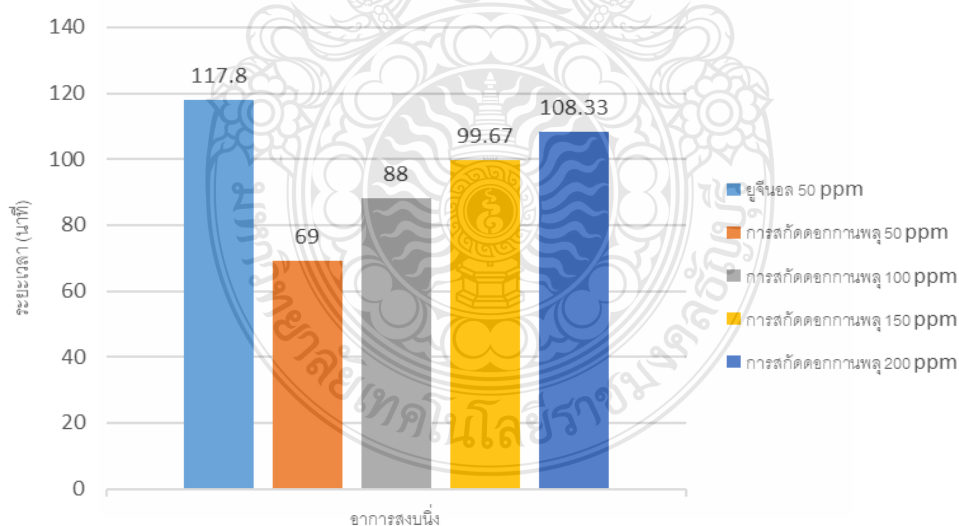
4.2 การทดสอบฤทธิ์สงบนิ่งปลาคูอุยเทศ

4.2.1 การทดสอบฤทธิ์สงบนิ่งของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ และการฟื้นความรู้สึกปลาคูอุยเทศสู่การว่ายน้ำปกติของ พบว่าสารสกัดดอกกานพลูที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ออกฤทธิ์ในระดับอาการต่าง ๆ ได้แตกต่างกัน โดยใช้เวลาเข้าสู่ระดับอาการเคลื่อนไหวช้า 19.33 นาที 15 นาที 7 นาที และ 4.88 นาที ตามลำดับ แล้วจึงเข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่งที่เวลา 50.67 นาที 32 นาที 20.33 นาที และ 11.67 นาที ตามลำดับ และในระหว่างการทดสอบ 120 นาที ปลาคูอุยเทศมีอาการสงบนิ่งได้นาน 69 นาที 88 นาที 99.67 นาที และ 108.33 นาที ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับยูจีนอลที่สงบนิ่งนานที่สุด 117.8 นาที ดังตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.7 แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ทุกระดับความเข้มข้นปลาคูอุยเทศไม่เกิดระดับอาการสลบ แม้ทิ้งไว้เป็นเวลา 120 นาที เมื่อนำปลาคูอุยเทศไปฟื้นความรู้สึกในน้ำสะอาดที่ให้ออกซิเจน ปลาคูอุยเทศสามารถกลับมาว่ายน้ำได้ตามปกติภายในเวลา 1 นาที

ตารางที่ 4.1 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาที) ในการเข้าสู่การตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกันเมื่อใช้สารสกัดจากดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่ม	ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ระยะเวลาแสดงระดับอาการของลูกปลาอุกยูเทศ (นาที)			
		เคลื่อนไหวช้า	นิ่ง	สลบ	N
1	1 เปอร์เซ็นต์ Tween 80	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	6
2	ยูจินอล (50)	0.93 ± 0.90^a	2.12 ± 0.57^a	6.32 ± 0.81	6
3	สารสกัดดอกกานพลู (50)	19.33 ± 2.46^c	50.67 ± 2.4^c	ไม่สลบ	6
4	สารสกัดดอกกานพลู (100)	15.00 ± 1.34^d	32.00 ± 2.70^d	ไม่สลบ	6
5	สารสกัดดอกกานพลู (150)	7.00 ± 0.85^c	20.33 ± 1.78^c	ไม่สลบ	6
6	สารสกัดดอกกานพลู (200)	4.88 ± 1.40^b	11.67 ± 1.67^b	ไม่สลบ	6

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน (a,b,c,d และ e) ในแนวนั่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



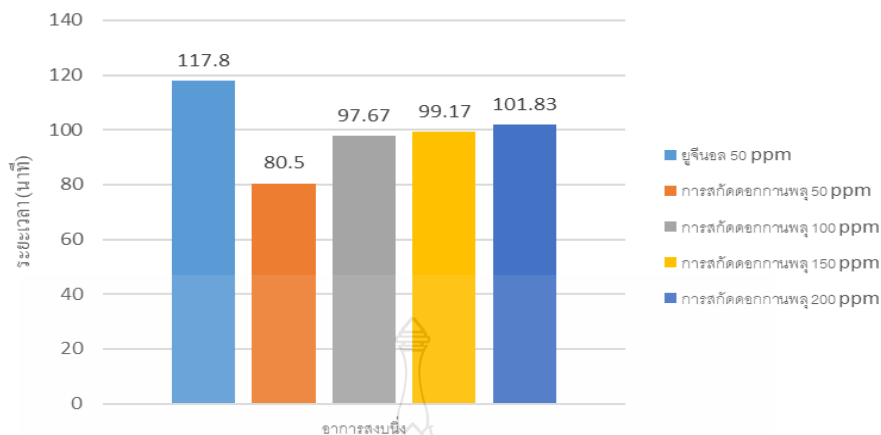
ภาพที่ 4.7 ระยะเวลาในการสงบนิ่งของปลาอุกยูเทศเมื่อใช้สารสกัดจากดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ต่อการสงบนิ่งและการฟื้นความรู้สึกปลาอุกอุยเทศ พบว่าสารสกัดดอกกานพลูที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีฤทธิ์ต่อการเข้าสู่ระดับอาการต่าง ๆ แตกต่างกัน โดยใช้เวลาเข้าสู่ระดับอาการเคลื่อนไหวช้า 9.50 นาที 7.17 นาที 4.33 นาที และ 3.50 นาที ตามลำดับ เข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่งที่เวลา 37.83 นาที 22.33 นาที 20.83 นาที และ 17.17 นาที ตามลำดับ และ ปลาอุกอุยเทศตอบสนองในระดับอาการสงบนิ่งได้นาน 80.50 นาที 97.67 นาที 99.17 นาที และ 101.83 นาที ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานยูจินอลที่สงบนิ่งนานที่สุด 117.8 นาที แต่อย่างไรก็ตามพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปลาอุกอุยเทศไม่เกิดระดับอาการสลบ แม้ทิ้งไว้เป็นเวลา 120 นาที แต่ที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าสู่ระดับอาการสลบด้วยใช้เวลา 45.33 นาทีและ 34.33 นาที ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.8 และเมื่อนำปลาอุกอุยเทศไปฟื้นความรู้สึกจากอาการสงบนิ่งในน้ำสะอาดพบว่าปลาอุกอุยเทศใช้ระยะเวลาในการกลับเข้าสู่อาการว่ายน้ำปกติ 2.80 นาที 3.55 นาที 56.33 นาที และ 70.83 นาที ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาที) ในการเข้าสู่การตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกันเมื่อใช้สารสกัดจากดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอล ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่ม	ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ระยะเวลาแสดงระดับอาการของลูกปลาอุกอุยเทศ (นาที)			
		เคลื่อนไหวช้า	นิ่ง	สลบ	N
1	1 เปอร์เซ็นต์ Tween 80	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	6
2	ยูจินอล (50)	0.93 ± 0.90 ^a	2.12 ± 0.57 ^a	6.32 ± 0.81	6
3	สารสกัดดอกกานพลู (50)	9.50 ± 0.33 ^c	39.50 ± 0.12 ^c	ไม่สลบ	6
4	สารสกัดดอกกานพลู (100)	7.17 ± 0.07 ^d	22.33 ± 0.54 ^d	ไม่สลบ	6
5	สารสกัดดอกกานพลู (150)	4.33 ± 0.10 ^c	20.83 ± 0.38 ^c	44.00 ± 0.77	6
6	สารสกัดดอกกานพลู (200)	3.50 ± 0.42 ^b	18.17 ± 0.82 ^b	33.83 ± 0.17	6

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน (a,b,c,d และ e) ในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.8 ระยะเวลาสงบนิ่งของปลาคูอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับ สารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.3 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาท) ในการฟื้นปลาคูอุยเทศจากการสงบนิ่งเมื่อใช้สารสกัดจากดอก กานพลูสกัดด้วยเอทานอล 95เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่ม	ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ระยะเวลาแสดงระดับอาการของปลาคูอุยเทศ (นาท)			
		มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวช้า	ว่ายน้ำปกติ	N
1	1 เปอร์เซ็นต์ Tween 80	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	6
2	ยูจินอล (50)	0.30 ± 0.58^a	2.02 ± 0.77^b	3.16 ± 0.68^b	6
3	สารสกัดดอกกานพลู (50)	0.22 ± 0.16^a	1.01 ± 0.33^a	2.80 ± 0.77^a	6
4	สารสกัดดอกกานพลู (100)	0.83 ± 0.31^a	1.05 ± 0.48^a	3.55 ± 0.91^b	6
5	สารสกัดดอกกานพลู (150)	11.17 ± 1.75^b	47.83 ± 1.81^c	56.33 ± 0.88^c	6
6	สารสกัดดอกกานพลู (200)	17.00 ± 1.40^c	56.67 ± 1.25^d	70.83 ± 0.24^d	6

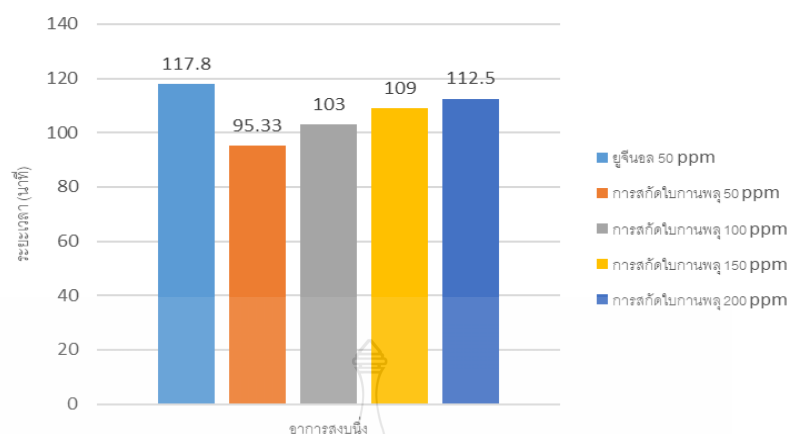
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน (a,b,c,d และ e) ในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.2.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ต่ออาการสงบนิ่งปลาดุกอุยเพศ พบว่าสารสกัดใบกานพลูระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีฤทธิ์ทำให้ปลาดุกอุยเพศตอบสนองในระดับอาการต่าง ๆ ในระยะเวลาแตกต่างกัน โดยเข้าสู่ระดับอาการเคลื่อนไหวช้า 7.83 นาที 6.5 นาที 4.33 นาที และ 3 นาที ตามลำดับ เข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่งที่เวลา 24.667 นาที 17 นาที 20.83 นาที 11 นาที และ 7.5 นาที ตามลำดับ ปลาดุกอุยเพศมีอาการสงบนิ่งได้นาน 95.33 นาที 103 นาที 109 นาที และ 112.50 นาที ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับยูจินอลที่มีระยะเวลาสงบนิ่งนานที่สุด คือ 117.8 นาที ดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.9 และเมื่อนำปลาดุกอุยเพศไปฟื้นความรู้สึกในน้ำสะอาดที่ให้ออกซิเจนปลาดุกอุยเพศสามารถกลับมาว่ายน้ำได้ตามปกติภายในเวลา 1 นาที

ตารางที่ 4.4 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาที) ในการเข้าสู่การตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกันเมื่อใช้สารสกัดจากใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่ม	ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ระยะเวลาแสดงระดับอาการของลูกปลาดุกอุยเพศ (นาที)			
		เคลื่อนไหวช้า	นิ่ง	สลบ	N
1	1 เปอร์เซ็นต์ Tween 80	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	6
2	ยูจินอล (50)	0.93 ± 0.90^a	2.12 ± 0.57^a	6.32 ± 0.81	6
3	สารสกัดใบกานพลู (50)	7.83 ± 0.87^c	24.67 ± 0.88^c	ไม่สลบ	6
4	สารสกัดใบกานพลู (100)	6.50 ± 0.38^d	17.00 ± 0.53^d	ไม่สลบ	6
5	สารสกัดใบกานพลู (150)	4.33 ± 0.84^c	11.00 ± 0.88^c	ไม่สลบ	6
6	สารสกัดใบกานพลู (200)	3.00 ± 0.37^b	7.50 ± 0.01^b	ไม่สลบ	6

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน (a,b,c,d และ e) ในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



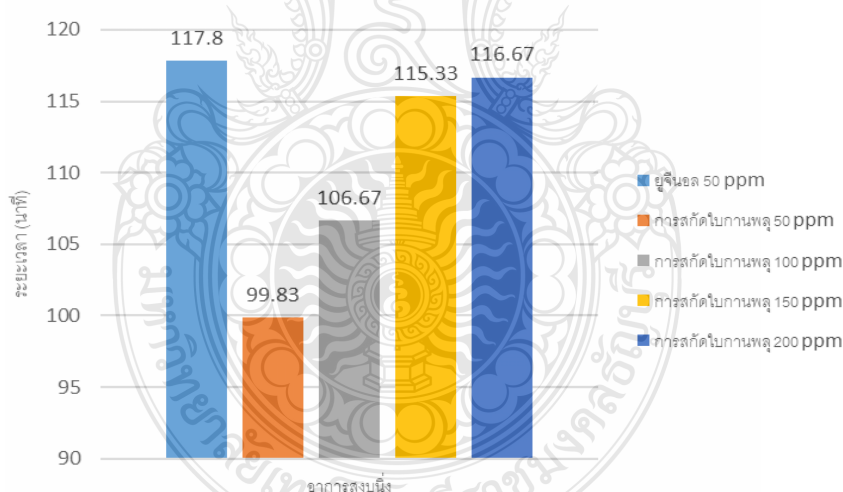
ภาพที่ 4.9 ระยะเวลาในการสงบนิ่งของปลาคูอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจีนอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.2.4 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ต่ออาการสงบนิ่งปลาคูอุยเทศ พบว่าสารสกัดดอกกานพลูที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีฤทธิ์ทำให้ปลาคูอุยเทศตอบสนองในระดับอาการต่าง ๆ ได้แตกต่างกัน โดยใช้เวลาเข้าสู่ระดับอาการเคลื่อนไหวช้า 4.50 นาที 4.50 นาที 3.67 นาที และ 2.33 นาที ตามลำดับ เข้าสู่อาการสงบนิ่งที่เวลา 20.17 นาที 13.33 นาที 4.67 นาที และ 3.33 นาที ตามลำดับ เข้าสู่อาการสลบ 55.83 นาที 20.67 นาที 7.00 นาที และ 4.50 นาที ตามลำดับ ปลาคูอุยเทศมีอาการสงบนิ่งได้นาน 99.83 นาที 106.67 นาที 115.33 นาที และ 116.67 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับยูจีนอลที่สงบนิ่งนานที่สุด คือ 117.8 นาที ดังตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.10 สำหรับการฟื้นปลาคูอุยเทศภายหลังการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้ระยะเวลาในการฟื้นปลา 67.50 นาที 48.67 นาที 67.50 นาที และ 112.50 นาที ตามลำดับ ปลาคูอุยเทศจึงกลับมาว่ายน้ำได้ตามปกติ ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.5 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาทีก) ในการเข้าสู่การตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกันเมื่อใช้สารสกัดจากใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอล ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่ม	ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ระยะเวลาแสดงระดับอาการของลูกปลาอุกอุยเทศ (นาทีก)			
		เคลื่อนไหวช้า	นิ่ง	สลบ	N
1	1 เปอร์เซนต์ Tween 80	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	6
2	ยูจินอล (50)	0.93 ± 0.90^a	2.12 ± 0.57^a	6.32 ± 0.81^b	6
3	สารสกัดใบกานพลู (50)	4.50 ± 0.27^d	20.17 ± 0.97^e	55.83 ± 0.58^e	6
4	สารสกัดใบกานพลู (100)	4.50 ± 0.40^d	13.33 ± 0.51^d	20.67 ± 0.81^d	6
5	สารสกัดใบกานพลู (150)	3.67 ± 0.40^c	4.67 ± 0.51^c	7.00 ± 0.94^c	6
6	สารสกัดใบกานพลู (200)	2.33 ± 0.25^b	3.33 ± 0.25^b	4.50 ± 0.27^a	6

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน (a,b,c,d และ e) ในแนวนั่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.10 ระยะเวลาสงบนิ่งของปลาคูกอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.6 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาทีก) ในการฟื้นฟูปลาดุกอุยทดสอบจากการสงบนิ่งเมื่อใช้สารสกัดจากใบ กานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่ม	ชนิดและระดับความเข้มข้น ของสารสกัด (ppm)	ระยะเวลาแสดงระดับอาการของปลาดุกอุยทดสอบ (นาทีก)			
		มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวช้า	ว่ายน้ำปกติ	N
1	1 เปอร์เซ็นต์ Tween 80	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	6
2	ยูจินอล (50)	0.30 ± 0.58^a	2.02 ± 0.77^a	3.16 ± 0.68^a	6
3	สารสกัดใบกานพลู (50)	19.50 ± 0.93^d	51.50 ± 0.52^d	67.50 ± 0.88^c	6
4	สารสกัดใบกานพลู (100)	6.50 ± 0.52^b	16.83 ± 0.63^b	48.67 ± 0.93^b	6
5	สารสกัดใบกานพลู (150)	14.00 ± 1.14^c	37.00 ± 1.94^c	67.50 ± 1.69^c	6
6	สารสกัดใบกานพลู (200)	36.50 ± 1.50^e	54.50 ± 1.91^d	112.50 ± 1.75^d	6

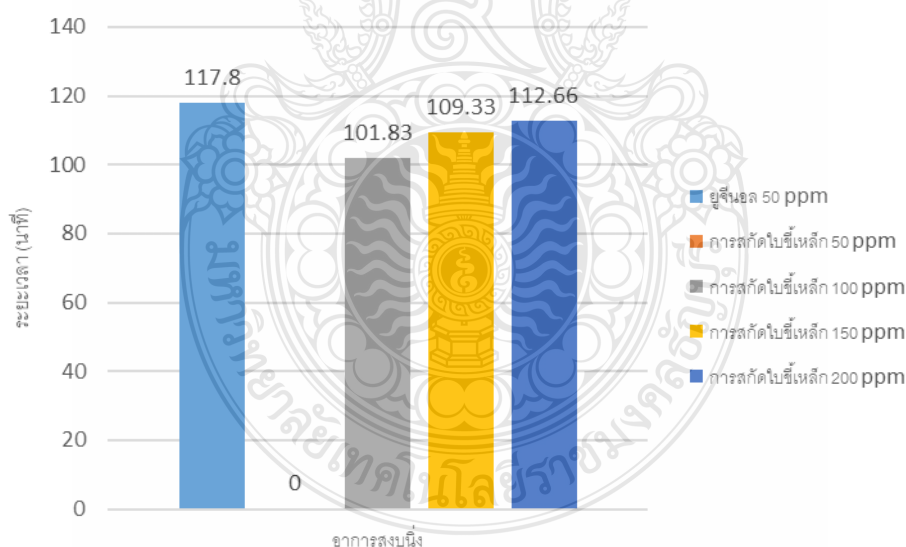
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน (a,b,c,d และ e) ในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.2.5 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ต่ออาการสงบนิ่งปลาดุกอุยทดสอบพบว่าสารสกัดใบขี้เหล็กที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีฤทธิ์ทำให้ปลาดุกอุยทดสอบตอบสนองในระดับอาการต่าง ๆ ได้แตกต่างกัน โดยใช้เวลาเข้าสู่ระดับอาการเคลื่อนไหวช้า 14.5 นาที 3.33 นาที 2.67 นาที และ 1.33 นาที ตามลำดับ เข้าสู่ระดับอาการนิ่ง 18.17 นาที 10.67 นาที 5 นาที และ 7.34 นาที ตามลำดับ ปลาดุกอุยทดสอบมีการตอบสนองในระดับอาการสงบนิ่งได้เป็นเวลา 101.83 นาที 109.33 นาที และ 112.66 นาที ยกเว้นความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ปลาดุกอุยทดสอบไม่เข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่ง แต่ปลามีพฤติกรรมตอบสนองแบบการเคลื่อนไหวอย่างช้า ๆ ดังตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.11 แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัดใบขี้เหล็กด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้ปลาดุกอุยทดสอบตอบสนองถึงระดับการสลบ แม้ทิ้งไว้เป็นเวลา 120 นาที เมื่อทำการฟื้นฟูปลาดุกอุยทดสอบในน้ำสะอาดที่ให้ออกซิเจน ปลาดุกอุยทดสอบสามารถกลับมาว่ายน้ำได้ตามปกติภายในเวลา 1 นาที

ตารางที่ 4.7 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาที) ในการเข้าสู่ระดับอาการตอบสนองได้ที่แตกต่างกันเมื่อใช้สารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่ม	ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ระยะเวลาแสดงระดับอาการของลูกปลาดุกอุยเทศ (นาที)			
		เคลื่อนไหวช้า	นิ่ง	สลบ	N
1	1 เปอร์เซ็นต์ Tween 80	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	6
2	ยูจินอล (50)	0.93 ± 0.90^a	2.12 ± 0.57	6.32 ± 0.81	6
3	สารสกัดใบขี้เหล็ก (50)	14.50 ± 0.10^c	ไม่นิ่ง	ไม่สลบ	6
4	สารสกัดใบขี้เหล็ก (100)	3.33 ± 0.44^d	18.17 ± 0.22	ไม่สลบ	6
5	สารสกัดใบขี้เหล็ก (150)	2.67 ± 0.24^c	10.67 ± 0.11	ไม่สลบ	6
6	สารสกัดใบขี้เหล็ก (200)	1.33 ± 0.91^b	7.34 ± 0.72	ไม่สลบ	6

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน (a,b,c,d และ e) ในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



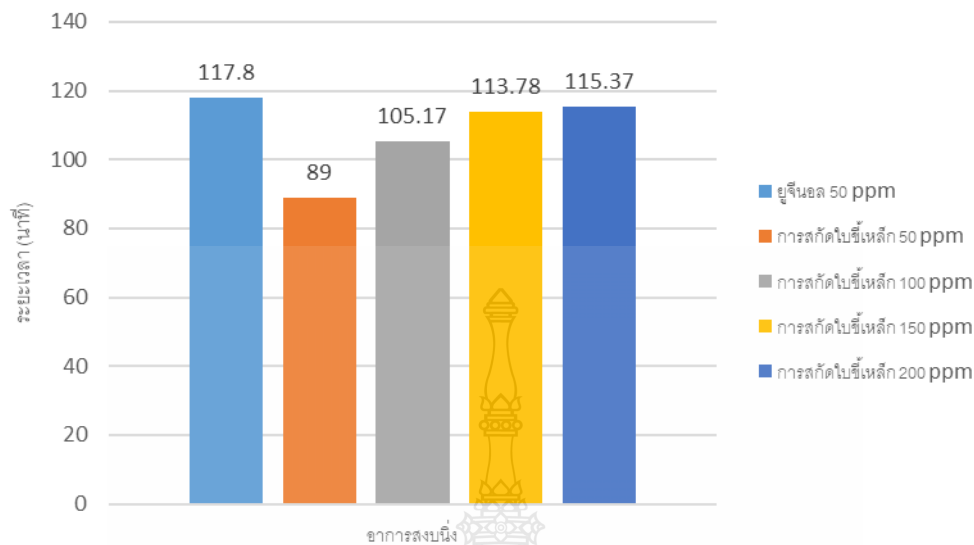
ภาพที่ 4.11 ระยะเวลาสงบนิ่งของปลาดุกอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.2.6 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ต่ออาการสงบนิ่งปลาดุกอุยเพศ พบว่าสารสกัดใบขี้เหล็กที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีฤทธิ์ช่วยทำให้ปลาดุกอุยเพศตอบสนองต่อระดับอาการต่าง ๆ ได้แตกต่างกัน โดยใช้เวลาเข้าสู่ระดับอาการเคลื่อนไหวช้า 13.67 นาที 3.50 นาที 2.67 นาที และ 1.33 นาที ตามลำดับ เข้าสู่ระดับอาการนิ่ง 31 นาที 14.83 นาที 6.22 นาที และ 4.63 นาที ตามลำดับ ปลาดุกอุยเพศมีอาการสงบนิ่งได้ 89 นาที 105.17 นาที 113.78 นาที และ 115.37 นาที ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.12 แต่อย่างไรก็ตาม ทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัดไม่ทำให้ปลาดุกอุยเพศสลบ แม้ทิ้งไว้เป็นเวลา 120 นาที และเมื่อทำการฟื้นฟูปลาดุกอุยเพศในน้ำสะอาดที่ให้ออกซิเจนปลาดุกอุยเพศสามารถกลับมาว่ายน้ำได้ตามปกติภายในเวลา 1 นาที

ตารางที่ 4.8 ระยะเวลาเฉลี่ย (นาที) ในการเข้าสู่การตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกันเมื่อใช้สารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารยูจินอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่ม	ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารสกัด (ppm)	ระยะเวลาแสดงระดับอาการของลูกปลาดุกอุยเพศ (นาที)			
		เคลื่อนไหวช้า	นิ่ง	สลบ	N
1	1 เปอร์เซ็นต์ Tween 80	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	6
2	ยูจินอล (50)	0.93 ± 0.90^a	2.12 ± 0.57^a	6.32 ± 0.81	6
3	สารสกัดใบขี้เหล็ก (50)	13.67 ± 0.22^c	31.00 ± 0.22^c	ไม่สลบ	6
4	สารสกัดใบขี้เหล็ก (100)	3.50 ± 0.61^d	14.83 ± 0.71^d	ไม่สลบ	6
5	สารสกัดใบขี้เหล็ก (150)	2.67 ± 0.10^c	6.22 ± 0.84^c	ไม่สลบ	6
6	สารสกัดใบขี้เหล็ก (200)	1.33 ± 0.37^b	4.63 ± 0.33^b	ไม่สลบ	6

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน (a,b,c,d และ e) ในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 4.12 ระยะเวลาสงบนิ่งของปลาดุกอุยเทศเมื่อใช้สารสกัดจากใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยไอเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับ สารยูจีนอลที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.2.7 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดอัดเม็ดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก ต่ออาการสงบนิ่งปลาดุกอุยเทศ

4.2.7.1 จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดอัดเม็ดดอกกานพลู และใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ในการทำการสงบนิ่งของแต่ละความเข้มข้นมาทำการอัดเม็ดและนำไปทดสอบการสงบนิ่งปลาดุกอุยเทศ พบว่าสารสกัดอัดเม็ดดอกกานพลู และใบกานพลู ที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ขนาด 25 มิลลิกรัมต่อเม็ดยาใช้จำนวน 4 เม็ด สามารถนำมาสงบนิ่งปลาดุกอุยเทศได้ โดยเข้าสู่ระดับอาการเคลื่อนไหวช้าใช้เวลา 5.17 และ 4.17 นาที ตามลำดับ แล้วจึงเข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่งซึ่งสารสกัดอัดเม็ดใบกานพลูใช้เวลา 10.74 นาที ในระหว่างการทดสอบ 120 นาที ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ปลาดุกอุยเทศมีอาการสงบนิ่งได้ 109.26 นาที แต่สารสกัดอัดเม็ดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่เข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่ง แต่จะแสดงอาการเคลื่อนไหวช้าจนเสร็จสิ้นการทดลอง การทดสอบฤทธิ์สงบนิ่งปลาดุกอุยเทศของสารสกัดอัดเม็ดดอกกานพลู และ ใบกานพลู ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ขนาด 25 มิลลิกรัมต่อเม็ดยาใช้จำนวน 4 เม็ด พบว่า ปลาดุกอุยเทศเข้าสู่ระดับอาการเคลื่อนไหวช้าใช้เวลา 2.17 และ 1.33 นาที

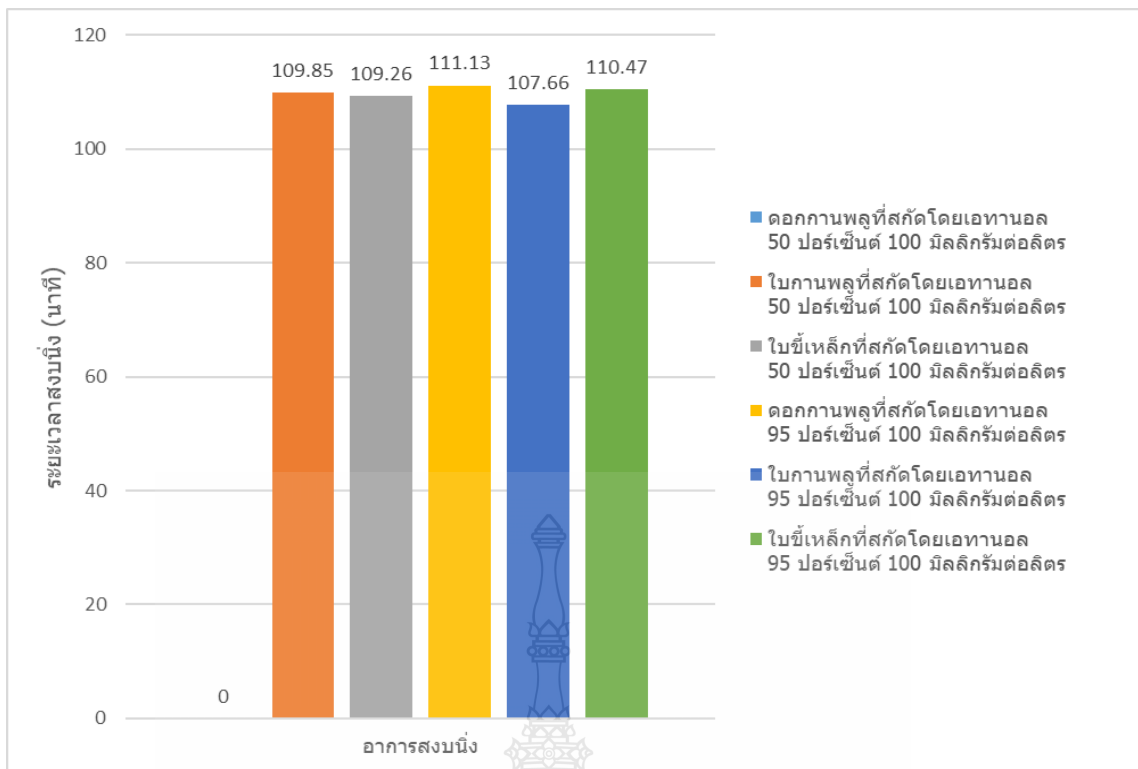
ตามลำดับ เข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่ง 10.15 และ 8.87 นาที และในระหว่างการทดสอบ 120 นาที ปลา
 คุกอยเทศมีอาการสงบนิ่งได้ 1.09.85 และ 111.13 นาที ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.13 และ
 ทุกระดับความเข้มข้นปลาคุกอยเทศไม่เกิดระดับอาการสลบ แม้ทิ้งไว้เป็นเวลา 120 นาที เมื่อนำปลา
 คุกอยเทศไปฟื้นฟูความรู้สึกในน้ำสะอาดที่ให้ออกซิเจน ปลาคุกอยเทศสามารถกลับมาว่ายน้ำได้
 ตามปกติภายในเวลา 1 นาที

4.2.7.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดอัมเบ็ดจากใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ
 95 เปอร์เซ็นต์ ต่ออาการสงบนิ่งของปลาคุกอยเทศ ขนาด 25 มิลลิกรัมต่อเมื่อยาใช้จำนวน 4 เม็ด พบว่า
 ปลาคุกอยเทศเข้าสู่ระดับอาการเคลื่อนไหวช้า 5.67 และ 1.50 นาที ตามลำดับ แล้วจึงเข้าสู่ระดับอาการ
 นิ่ง 12.34 และ 9.53 นาที และในระหว่างการทดสอบ 120 นาที ปลาคุกอยเทศมีอาการสงบนิ่งได้
 107.66 และ 110.47 นาที ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.13 เมื่อนำปลาคุกอยเทศไปฟื้นฟู
 ความรู้สึกในน้ำสะอาดที่ให้ออกซิเจน ปลาคุกอยเทศสามารถกลับมาว่ายน้ำได้ตามปกติภายในเวลา
 1 นาที

ตารางที่ 4.9 ระยะเวลา (นาที) ในการเข้าสู่การตอบสนองในระดับอาการที่แตกต่างกันเมื่อใช้สารสกัด
 ใช้สารสกัดอัมเบ็ดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วย เอทานอล 50 และ
 95 เปอร์เซ็นต์ ขนาด 25 มิลลิกรัม จำนวน 4 เม็ด

กลุ่ม	ชนิดของสารสกัดอัมเบ็ด	ระยะเวลาแสดงระดับอาการของปลาคุกอยเทศ (นาที)			
		เคลื่อนไหวช้า	นิ่ง	สลบ	N
1	แป้ง + ทวิน	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	ว่ายน้ำปกติ	6
2	ดอกกานพลู 50 เปอร์เซ็นต์	5.17 ± 0.71 ^c	ไม่นิ่ง	ไม่สลบ	6
3	ดอกกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์	2.17 ± 0.71 ^a	10.15 ± 0.49 ^c	ไม่สลบ	6
4	ใบกานพลู 50 เปอร์เซ็นต์	4.17 ± 1.11 ^b	10.74 ± 1.26 ^d	ไม่สลบ	6
5	ใบกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์	1.33 ± 0.49 ^a	8.87 ± 0.49 ^a	ไม่สลบ	6
6	ใบขี้เหล็ก 50 เปอร์เซ็นต์	5.67 ± 0.77 ^c	12.34 ± 1.40 ^c	ไม่สลบ	66
7	ใบขี้เหล็ก 95 เปอร์เซ็นต์	1.50 ± 0.52 ^a	9.53 ± 0.71 ^b	ไม่สลบ	

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน (a,b,c,d และ e) ในแนวดัง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.13 ระยะเวลาในการตอบสนองระดับอาการสงบนิ่งของปลาอุกอุยเทศ เมื่อใช้สารสกัดอัลเม็ด ดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ขนาด 25 มิลลิกรัมต่อเม็ดยา แต่ละชุดการทดลองใช้จำนวน 4 เม็ด

เนื่องจากสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารสำคัญยูจีนอลแตกต่างกันจึงส่งผลต่อพฤติกรรมการตอบสนองของปลาอุกอุยเทศแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) มีระยะเวลาในการเข้าสู่ระดับอาการแต่ละระดับของปลาอุกอุยเทศได้เร็วขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น ซึ่งสารตัวอย่างดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูง เมื่อนำข้อมูลจากการทดลองไปวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบทางสถิติ พบว่าสารสกัดดอกกานพลูทุกความเข้มข้นมีผลต่อระยะเวลาในการสงบนิ่งปลาอุกอุยเทศแตกต่างกัน ด้วยระยะเวลาในการเข้าสู่อาการสลบน้อยลงเมื่อความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบเพิ่มขึ้น เมื่อใช้ Tween 80 เป็นตัวทำละลายของสารสกัดดอกกานพลูพบว่าปลาไม่มีอาการกระวนกระวาย หรืออาการผิดปกติใด ๆ และสามารถว่ายน้ำได้ตามปกติตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง อาจเนื่องมาจาก Tween 80 เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการละลายสารสกัดจากสมุนไพรและผสมอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิด [31] ใช้ในการละลายโปรตีน เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร [32] ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ทั้งนี้ยังต้องทำการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานยูจีนอลที่ทำการทดลองในครั้งก่อนด้วยเพราะเป็นสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ต่อการเข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่งจนถึงอาการสลบของปลาอุกอุยเทศได้ใน

ระยะเวลารวดเร็วกว่าสารสกัดสมุนไพร แต่จากการสังเกตพบว่าหากใช้ในปริมาณน้อยก็ไม่ปรากฏอาการความเป็นพิษและปลอดภัยต่อระบบไหลเวียนโลหิตระบบหายใจและระบบประสาทของปลา เมื่อปลาสัมผัสกับสารยูจินอลในสารละลายกานพลูซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ MS-222 แต่ควรคำนึงถึงความปลอดภัยจึงต้องมีความระมัดระวังสารตกค้างต่อปลาอุกอุยเทศ

สารสำคัญที่มีปริมาณมากในขี้เหล็กคือบาราคอล (3a, 4-Dihydro-3a, 8-dihydroxy-2, 5-dimethyl-1, 4-Dioxaphenylene) เป็นสารที่ได้จากปฏิกิริยาของ 5-Acetyl-7-hydroxy-2-methylchromone กับกรดและสามารถสกัดได้จากใบสดอ่อนของต้นขี้เหล็ก เปลือกคลอไรด์ของบาราคอลคือ แอนไฮโดรบาราคอลไฮโดรคลอไรด์แสดงฤทธิ์เบี่ยงเบนในทางสงบประสาทในหนูขาวจากการทำปฏิกิริยาไฮโดรีเนชันของแอนไฮโดรบาราคอลไฮโดรคลอไรด์ ด้วยโซเดียมไฮโอไดด์ และมีคลอรามินที่เป็นตัวออกซิไดซ์ เมื่อทำการทดลองฤทธิ์เบี่ยงเบนในทางสงบประสาทของสารผลิตภัณฑ์ พบว่าบาราคอลมีแนวโน้มที่จะใช้เป็นยาสงบประสาท และมีพิษน้อย [4] มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางในหนูขาว ทำให้นอนหลับได้ดีมีฤทธิ์คล้ายเครียด [5]

4.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาและสัตว์น้ำ

4.3.1 จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* ได้ดีที่สุดคือสารสกัดจากใบกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาสารสกัดดอกกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดใบขี้เหล็ก 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถสร้าง Inhibition zone ได้ 11.17 ± 0.75 มิลลิเมตร 9.5 ± 0.84 มิลลิเมตร และ 9 ± 0.63 มิลลิเมตร ดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* ของสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์

สารสกัด	ค่าเฉลี่ย Inhibition zone (มิลลิเมตร)				
	0.1 ppm	0.3 ppm	0.5 ppm	0.7 ppm	0.9 ppm
Tween 80	0	0	0	0	0
สารสกัดดอกกานพลู 50 เปอร์เซ็นต์	0	0	6 ± 0.00	6.67 ± 0.52	7.5 ± 0.55
สารสกัดดอกกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์	0	6.33 ± 0.52	6.83 ± 0.75	8.33 ± 0.52	9.5 ± 0.84
สารสกัดใบกานพลู 50 เปอร์เซ็นต์	0	6.17 ± 0.41	7.33 ± 0.52	7.67 ± 0.52	8.67 ± 0.52
สารสกัดใบกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์	6.33 ± 0.52	7.17 ± 0.41	7.67 ± 0.52	9.33 ± 0.52	11.17 ± 0.75
สารสกัดใบขี้เหล็ก 50 เปอร์เซ็นต์	0	0	6 ± 0.00	6.5 ± 0.55	7.33 ± 0.52
สารสกัดใบขี้เหล็ก 95 เปอร์เซ็นต์	0	6 ± 0.00	6.33 ± 0.52	7.67 ± 0.52	9 ± 0.63

4.3.2 จากการศึกษากิจกรรมของสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก ที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. fluorescens* ได้แตกต่างกัน โดยสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. fluorescens* ได้ดีที่สุดคือสารสกัดจากใบกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์ ลองลงมา สารสกัดใบกานพลู 50 เปอร์เซ็นต์ และ สารสกัดดอกกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถสร้าง Inhibition zone ได้ 14 ± 0.89 มิลลิเมตร 11.83 ± 0.41 มิลลิเมตร และ 9.17 ± 0.41 มิลลิเมตร ดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. fluorescens* ของสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์

สารสกัด	ค่าเฉลี่ย Inhibition zone (มิลลิเมตร)				
	0.1 ppm	0.3 ppm	0.5 ppm	0.7 ppm	0.9 ppm
Tween 80	0	0	0	0	0
สารสกัดดอกกานพลู 50 เปอร์เซ็นต์	0	0	6.5 ± 0.55	7.5 ± 0.55	8 ± 0.63
สารสกัดดอกกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์	6 ± 0.00	6.67 ± 0.52	7.5 ± 0.55	8.67 ± 0.52	9.17 ± 0.41
สารสกัดใบกานพลู 50 เปอร์เซ็นต์	6.67 ± 0.52	7.17 ± 0.41	8.5 ± 0.55	10.17 ± 0.75	11.83 ± 0.41
สารสกัดใบกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์	7.67 ± 0.52	8.33 ± 0.52	9.17 ± 0.75	11 ± 0.89	14 ± 0.89
สารสกัดใบขี้เหล็ก 50 เปอร์เซ็นต์	0	0	0	0	0
สารสกัดใบขี้เหล็ก 95 เปอร์เซ็นต์	0	0	6.33 ± 0.52	7.5 ± 0.55	7.67 ± 0.52

4.3.3 จากการศึกษากิจกรรมของสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *V. alginolyticus* ได้แตกต่างกัน โดยสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *V. alginolyticus* ได้ดีที่สุดคือสารสกัดจากใบกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์ ลองลงมา สารสกัดดอกกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์ และ สารสกัดใบกานพลู 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถสร้าง Inhibition zone ได้ 13.5 ± 0.55 มิลลิเมตร 12.5 ± 0.55 มิลลิเมตร และ 11.17 ± 0.75 มิลลิเมตร ดังตารางที่ 4.12

จากการศึกษากิจกรรมของสารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก ที่สกัดด้วยเอทานอล 50เปอร์เซ็นต์ และ 95เปอร์เซ็นต์ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *A. hydrophila* *P. fluorescens* และ *V. alginolyticus* ด้วยวิธี Disc diffusion techniques โดยเปรียบเทียบความกว้างของโซนใสบริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) พบว่า สารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. Hydrophila* *P. fluorescens* และ *V. alginolyticus* ได้แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของทัศนีย์และจิตรา (2016) ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรไทย 7 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน จิง กระเทียม มะกรูด ฟ้าทะลายโจร กะเพรา และทองพันชั่ง โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด

ได้แก่ เอทานอลและเมทานอลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต ของเชื้อ *A. hydrophila* พบว่าขมิ้นชันที่ใช้ เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 2.93 ± 0.60 เซนติเมตร โดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัด ยิ่งสารสกัดมีความเข้มข้นสูงก็สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดี [33]

ตารางที่ 4.12ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *V. alginolyticus* ของสารสกัดจากดอกกานพลูใบ กานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์

สารสกัด	ค่าเฉลี่ย Inhibition zone (มิลลิเมตร)				
	0.1 ppm	0.3 ppm	0.5 ppm	0.7 ppm	0.9 ppm
Tween 80	0	0	0	0	0
สารสกัดดอกกานพลู 50 เปอร์เซ็นต์	6.33 ± 0.52	6.67 ± 0.52	7.33 ± 0.85	8.83 ± 0.75	9.83 ± 0.98
สารสกัดดอกกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์	7 ± 0.63	7.5 ± 0.55	8.33 ± 0.52	9.67 ± 0.52	12.5 ± 0.55
สารสกัดใบกานพลู 50 เปอร์เซ็นต์	6.67 ± 0.52	8.17 ± 1.17	8.83 ± 0.41	10 ± 0.89	11.17 ± 0.75
สารสกัดใบกานพลู 95 เปอร์เซ็นต์	7.5 ± 0.55	8.83 ± 0.75	10 ± 0.89	11.67 ± 0.52	13.5 ± 0.55
สารสกัดใบขี้เหล็ก 50 เปอร์เซ็นต์	6.33 ± 0.52	6.67 ± 0.52	7.83 ± 0.98	8.33 ± 0.82	9.33 ± 1.1
สารสกัดใบขี้เหล็ก 95 เปอร์เซ็นต์	7.17 ± 0.75	7.67 ± 0.52	8.5 ± 0.55	9 ± 0.63	10.67 ± 0.82

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 จากการศึกษาวิจัยเพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบสำคัญของสารสกัดจากดอกและใบ กานพลูด้วยตัวทำละลายเอทานอล สรุปได้ดังนี้

1. สารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ พบสารสำคัญจำนวน 66 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือ Eugenol 46.71 เปอร์เซ็นต์ n-Hexadecanoic acid 5.54 เปอร์เซ็นต์ และ Octadecatrienoic acid 4.51 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบสารปริมาณเล็กน้อยจำนวน 63 ชนิด

2. สารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบสารสำคัญจำนวน 10 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือ Eugenol 62.53 เปอร์เซ็นต์ Trans-caryophyllene 18.85 เปอร์เซ็นต์ และ Aceteugenol 10.74 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบสารปริมาณเล็กน้อยจำนวน 7 ชนิด

3. สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ พบสารสำคัญจำนวน 101 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือ Eugenol 61.66 เปอร์เซ็นต์ Hexadecanoic acid 8.94 เปอร์เซ็นต์ และ n-Hexadecanoic acid 5.54 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบสารปริมาณเล็กน้อยจำนวน 98 ชนิด

4. สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบสารสำคัญจำนวน 30 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือ Eugenol 79.62 เปอร์เซ็นต์ Trans-caryophyllene 8.92 เปอร์เซ็นต์ และ Caryophyllene oxide 2.04 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบสารปริมาณเล็กน้อยจำนวน 27 ชนิด

5.1.2 จากการศึกษาวิจัยเพื่อการวิเคราะห์หาองค์ประกอบสำคัญของสารสกัดจากใบี่เหล็ก ด้วยตัวทำละลายเอทานอล สรุปได้ดังนี้

1. สารสกัดใบี่เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ พบสารสำคัญจำนวน 129 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือ 2H-Pyran-2,6(3H)-dione 11.32 เปอร์เซ็นต์ Acetic acid 10.71 เปอร์เซ็นต์ และ 4-(1-Pyrrolyl)butanoic acid 6.08 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบสารปริมาณเล็กน้อยจำนวน 126 ชนิด

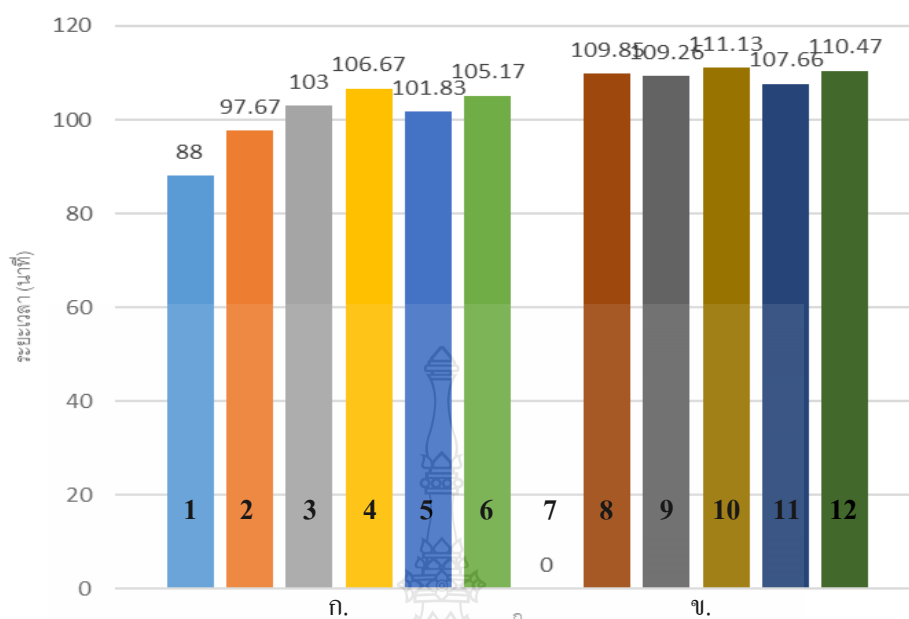
2. สารสกัดใบี่เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบสารสำคัญจำนวน 131 ชนิด มีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือ n-Hexadecanoic acid 14.89 เปอร์เซ็นต์ Octadecatrienoic acid

12.61 เปอร์เซ็นต์ และ 2H-Pyran-2,6(3H)-dione 7.13 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบสารปริมาณเล็กน้อย จำนวน 128 ชนิด

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสำคัญในปริมาณน้อยของสารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95เปอร์เซ็นต์ คือ ยูจีนอล 2.12 เปอร์เซ็นต์

5.1.3 จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานยูจีนอล 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการสงบนิ่งปลาอุกอุยเทศ พบว่าสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก มีฤทธิ์ในการสงบนิ่งปลาอุกอุยเทศได้ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานยูจีนอล สารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ เข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่ง 50.67 นาที 32 นาที 20.33 นาที และ 11.67 นาที ตามลำดับ ปลาอุกอุยเทศมีอาการสงบนิ่งได้นาน 69 นาที 88 นาที 99.67 นาที และ 108.33 นาที ตามลำดับ สารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่งที่เวลา 37.83 นาที 22.33 นาที 20.83 นาที และ 17.17 นาที ตามลำดับ ปลาอุกอุยเทศมีอาการสงบนิ่งได้นานเป็นเวลา 80.50 นาที 97.67 นาที 99.17 นาที และ 101.83 นาที ตามลำดับ สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50เปอร์เซ็นต์ เข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่ง 24.667 นาที 17 นาที 20.83 นาที 11 นาที และ 7.5 นาที ตามลำดับ ปลาอุกอุยเทศมีอาการสงบนิ่งได้นาน 95.33 นาที 103 นาที 109 นาที และ 112.50 นาที ตามลำดับ สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สู่อารมณ์สงบนิ่งที่เวลา 20.17 นาที 13.33 นาที 4.67 นาที และ 3.33 นาที ตามลำดับ ปลาอุกอุยเทศมีอาการสงบนิ่งได้นาน 99.83 นาที 106.67 นาที 115.33 นาที และ 116.67 นาที สารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50เปอร์เซ็นต์ เข้าสู่ระดับอาการนิ่งโดยใช้เวลา 18.83 นาที 7.67 นาที 5 นาที และ 3.67 นาที ตามลำดับ ปลาอุกอุยเทศสามารถมีอาการสงบนิ่งได้เป็นเวลา 101.83 นาที 112.33 นาที และ 114.66 นาที ยกเว้นความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ไม่เข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่ง สารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เข้าสู่ระดับอาการนิ่งโดยใช้เวลา 31 นาที 14.83 นาที 5 นาที และ 3.33 นาที ตามลำดับ ปลาอุกอุยเทศมีอาการสงบนิ่งได้ 89 นาที 105.17 นาที 115 นาที และ 115.37 นาที ตามลำดับ

5.1.4 จากการศึกษาฤทธิ์ในการสงบนิ่งปลาอุกอุยเทศของสารสกัดอัดเม็ดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก โดยในสารสกัดอัดเม็ด 1 เม็ด มีสารสกัดอยู่ขนาด 25 มิลลิกรัมใช้จำนวน 4 เม็ด ซึ่งเหมาะต่อการนำไปใช้ทำสงบนิ่งปลาขนาดเล็กที่สุด เมื่อนำไปทำการทดสอบสงบนิ่งปลาอุกอุยเทศ พบว่าสารสกัดอัดเม็ดใบกานพลูมีฤทธิ์ทำให้ปลาอุกอุยเทศเข้าสู่อาการสงบนิ่งได้เร็วกว่าสารสกัดอัดเม็ดชนิดอื่น ๆ โดยใช้เวลา 8.87 นาที และอยู่ในระดับอาการสงบนิ่ง 111.13 นาที ดังภาพที่ 5.1



ภาพที่ 5.1 เปรียบเทียบระยะเวลาในการตอบสนองการเข้าสู่ระดับอาการสงบนิ่ง

ก. สารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์

1. สารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์
2. สารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
3. สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์
4. สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
5. สารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์
6. สารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

ข. สารสกัดอัดเม็ดของดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็ก ที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ (ขนาด 25 มิลลิกรัมต่อเม็ด จำนวน 4 เม็ด)

7. สารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์
8. สารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
9. สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์
10. สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
11. สารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์
12. สารสกัดใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ ค่า 0 ในตารางแสดงถึงการเคลื่อนไหวซ้ำของปลาที่ถูกยดลดการทดลองในเวลา 2 ชั่วโมง

5.1.5 จากการศึกษาวิธี Disc diffusion techniques บริเวณยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) พบว่า สารสกัดจากดอกกานพลู ใบกานพลู และใบขี้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล 50 และ 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อ *A. Hydrophila* *P. fluorescens* และ *V. alginolyticus* ได้แตกต่างกัน โดยสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* *P. fluorescens* และ *V. alginolyticus* ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถวัด Inhibition zone ได้ 11.17 มิลลิเมตร 14 มิลลิเมตร และ 13.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรละลายสารสกัดดอกกานพลู ใบกานพลู และขี้เหล็ก ในตัวทำละลาย (Tween 80) ในอัตราส่วน 1:1 ก่อนนำไปใช้ [34]
2. ควรศึกษาวิธีการสกัดแบบใหม่ ๆ เพื่อให้มีเปอร์เซ็นต์ของสารยูจินอลสูงขึ้น
3. ในขั้นตอนการอัดเม็ดยาควรทดสอบกับสารยัดเกาะหลาย ๆ ชนิด เพื่อให้เม็ดยาจับและยึดเกาะกันได้ดียิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

- [1] คนัย สมใจ อรุมา พาลเลื่อ และสมหมาย เชี่ยววาริสังจะ. (2551). ความเป็นพิษและประสิทธิภาพของน้ำมันกานพลูในการสลบปลากัดจีน. *วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ*, 11 (2), 30-38.
- [2] กลุ่มพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร. (2545). *คู่มือพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ*. พิมพ์ครั้งที่ 2 ชุดที่ 1-5. กรุงเทพฯ: กองส่งเสริมพืชสวน.
- [3] ประเทืองศรี สิ้นชัยศรี. (2545). การผลิตสมุนไพรและเครื่องเทศ. กรมส่งเสริมการเกษตร.
- [4] พิกุล จันทรโยธา. (2531). *ฤทธิ์ของบาราคอลสารสกัดจากใบของต้นจี่เหล็กต่อระบบประสาทที่ส่วนกลาง*. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [5] Thongsaard W., C. Deachapunya, S. Pongsakorn, E.A. Boyd, G.W. Bennett and C.A.Marden. (1996). Barakol : A Potential Anxiolytic Extracted from Cassia siamea. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 53(3):753-758.
- [6] มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, สมศักดิ์ ล้วนปรีดา, สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัย ลาวัณยวุฒิ และสุภาพ แก้วละเอียด. (2531). การเพาะและอนุบาลปลาดุกอุยเทศ. *วารสารการประมง*, 41. 535-544.
- [7] Weber, S., Weisse, C., Schwarz, T., Innis, C. and Klide, A.M. (2009). Anesthesia, Diagnostic Imaging and Surgery of Fish. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians*, pp 1-8.
- [8] วีระสิงห์ เมืองมัน ศศิธร เจริญบุรณ์ วนิดา จันทรเทพเทวัญ ชญา พิศาลพงษ์. (2543). การทดสอบทางคลินิก: การใช้ยาน้ำเชื่อมจี่เหล็กและยาเม็ดจี่เหล็กช่วยให้นอนหลับ. *วารสารสมุนไพร*, 7(1).18-22.
- [9] นาวัน มหาวงศ์ เมธา คชาภิชาติ ปฏิพัทธ์ อภิชนกุล และประโยชน์ บุญประเสริฐ. (2549). การทดลองเบื้องต้นในการใช้น้ำมันกานพลูเป็นยาสลบในปลาน้ำจืดที่สำคัญทางเศรษฐกิจบางชนิด. สำนักงานประมงจังหวัดพะเยา ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดพะเยา.
- [10] Shawn, D.C., Rober, M.D. and James, H.T. (2004). Anesthetics in Aquaculture. *Southern Regional Aquaculture Center Publication*, Vol 3900. pp 6.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [11] ชาญณรงค์ รอดคำ. (2559). โรคสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย. **การประชุมวิชาการ (Proceedings) ทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 33**. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ ฯ: โรงพิมพ์ตรีธรรมสาร.
- [12] Merril, L. and Perry. “กานพลู,” [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://th.wikipedia.org/wiki/2555>. [สืบค้นเมื่อ 29 เมษายน 2555]
- [13] ดร.กฤษณา ไกรสินธุ์. (2542). จี๋เหล็ก สมุนไพรคลายเครียด. นิตยสารหมอชาวบ้าน, เล่มที่ 24. คอลัมน์เรื่องน่ารู้, พฤษภาคม.
- [14] วิชวีวรรณ ทองสะอาด สุนันท์ ชัยชนะกุล และ Marsden CA. (2543). การศึกษาผลของสารบาราคอลที่สกัดได้จากใบและดอกจี๋เหล็กต่อการหลั่งสาร 5-HT จากเนื้อเยื่อสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูขาวในหลอดทดลอง. รวมบทคัดย่องานวิจัย การแพทย์แผนไทยและทิศทางการวิจัยในอนาคต สถาบันการแพทย์แผนไทย.
- [15] Raina, V.K., Srivastava, S.K., Aggarwal, K.K., Syamasunder, K.V. and Kumar, S. (2001). Essential oil composition of *Syzygium aromaticum* leaf from Little Andaman, India. **Flavour and Fragrance Journal**, Vol 16. pp 334-336.
- [16] Lee, K. G. and Shibamoto, T. (2001). Antioxidant properties of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry]. **Food Chemistry**, Vol 74. pp 443-44.
- [17] Alma, H., Murat, E., Nitz, S. and Kollmannsberger, H. .Chemical composition and content of essential oil from the bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum* L.). **Bioresearch**, Vol 2 (2). pp 265-269.
- [18] Banker, R., Kumer, A. and Puri, S. (2011). Phytochemical constituent of *Syzygium aromaticum* L.,” **International Journal of Current Research**, Vol 3 (7). pp 215-217.
- [19] ดวงใจ พิสุทธิธาราชัย และ ธนากร เหมาะสม (2018). ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบจี๋เหล็กในการลดน้ำตาลกลูโคสในพลาสมา. **แก่นเกษตร 46 ฉบับพิเศษ 1**. น. 926-930
- [20] Thongsard W, Pongsakorn S, Marsden CA, “Proposed mechanisms of action of barakol on brain dopamine receptors. (2541). **การประชุมวิชาการสรีรวิทยา ครั้งที่ 27 เรื่อง สรีรวิทยากับสมุนไพรเพื่อชีวิต**. เชียงใหม่.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [21] ฉายา อุทัยรัตน์. (2547). อัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันกานพลู (clove oil) ต่อเวลาการคลายตัวของกล้ามเนื้อเท้าหอยเป่าฮือไทย (*Haliotis asinina*). บทความวิจัย หน่วยปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีการเพาะและเลี้ยงหอยเป่าฮือไทย.
- [22] บัณฑิตย เต็งเจริญกุล คมกริช พิมพ์ศักดิ์ และอุไร เต็งเจริญกุล. (2547). ระดับของยาสลบ quinaldine sulfate และ 2-phenoxyethanol ในการนำสลบ ควบคุมระดับการสลบ และขนาดยาที่ทำให้ปลาฉลามวัยรุ่นลูกผสมตาย 50 เปอร์เซ็นต์. วารสารวิจัย มข, 9 (2). 49-58.
- [23] วีระศักดิ์ เฟื่องฟูง ชวลิต ตั้งสมบุญกิตติ พลวรุษ มิตรวัดนากุล สุกัญญา แซ่เตียว ศิริรัฐ เอี่ยมบุญและวารยา วงศ์นิมิตรกุล. (2549). การเปรียบเทียบฤทธิ์สลบของน้ำมันกานพลูกับควินอลดินในปลาการ์ฟ. การประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 32. สัตวแพทย์สมาคมแห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์.
- [24] 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**, Vol 220. pp 507-514.
- [25] Zahl, I.H., Kiessling, A., Samuelsen, O.B. and Hansen, M.K. (2009). Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) – Effect of pre-anaesthesia sedation, and importance of body weight, temperature and stress. **Aquaculture**, Vol 295. pp 52-59.
- [26] Agokei, O.E. and Adebisi, A.A. (2010). Tobacco as an anesthetic for fish handling procedures **Journal of Medicinal Plants Research**, Vol 4 (14). pp 1396-1399.
- [27] สุภาภรณ์ ปิ่นปิ่น อุไรวรรณ วิจารย์กุล และ นฤมล เกื้อนกุล. การศึกษาผลของสารสกัดจากใบจีเหล็กต่อการเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคและ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ต่าง ๆ. การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 14, (น.119).

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [28] สวัสดิ์ วทัญญูไพศาล และ พนมพร ภาณุทัต.(2547). ผลของสารสกัดจากเครื่องเทศและสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 28. สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์.
- [29] จิราภรณ์บุราครและเรือนแก้ว ประพฤติ. ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิด. ฉบับที่ 1 : 11-22.
- [30] อัจฉรา นัตรแก้ว อภิรดี อุทัยรัตนกิจ ชิตติมา วงษ์ชีรี และ ผ่องเพ็ญ จิตอารีรัตน์. (2009). ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบไม้แห้งต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium sp.* และ *Lasiodiplodia theobromae* สาเหตุโรคข้าวเหนียวของกล้วย0. *Agricultural Sci. J*, **40**(3). 33-36.
- [31] Banker GS, Anderson NR. Tablets. In: Lachman L, Kanig JL, eds. (1986). The theory and practice of industrial pharmacy. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 293 – 345.
- [32] Fisher, H. W. and Harris, H. (1962). The isolation of nuclei from animal cells in culture. **Proceeding of the Royal Society Biological Sciences. Vol 156**, 521.
- [33] ทศนีย์ นลวชัย และ จิตรา ดวงแก้ว. (2559). ผลของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเจริญเติบโตของเชื้อ *Aromonas hydrophila*. คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ, 124 แผ่นเกษตร: 44 ฉบับพิเศษ 1.
- [34] ชูศรี ตลับมูข. (2556). พืชสมุนไพร ตอน สมุนไพรไทยลดเบาหวาน. ขอนแก่น: โรงพิมพ์คัลลัง นานาวิทยา.

ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
สูตรอาหารพะละเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์



1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)

สูตรอาหาร

Beef extract	3	กรัม
Peptone	3	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
ปรับ pH เป็น 6.8 – 7.0		

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารแต่ละชนิดตามปริมาณที่กำหนด
2. ค่อย ๆ เติมน้ำและคนให้อาหารแต่ละชนิดและมีการให้ความร้อนจนอาหารแต่ละชนิดเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร
3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB)

สูตรอาหาร

Beef extract	3	กรัม
Peptone	3	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
ปรับ pH เป็น 6.8 – 7.0		

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารแต่ละชนิดตามปริมาณที่กำหนด
2. ค่อย ๆ เติมน้ำและคนให้อาหารแต่ละชนิดและมีการให้ความร้อนจนอาหารแต่ละชนิดเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร
3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) + Sodium chloride 1% (NaCl)

สูตรอาหาร

Beef extract	3	กรัม
Peptone	3	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับ pH เป็น 6.8 – 7.0

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารแต่ละชนิดตามปริมาณที่กำหนด
2. ค่อย ๆ เติมน้ำและคนให้อาหารแต่ละชนิดและมีการให้ความร้อนจนอาหารแต่ละชนิดเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร
3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) + Sodium chloride 1% (NaCl)

สูตรอาหาร

Beef extract	3	กรัม
Peptone	3	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับ pH เป็น 6.8 – 7.0

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารแต่ละชนิดตามปริมาณที่กำหนด
2. ค่อย ๆ เติมน้ำและคนให้อาหารแต่ละชนิดและมีการให้ความร้อนจนอาหารแต่ละชนิดเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร
3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข
ข้อมูลดิบในสไลด์ทุกชุด



ตารางที่ 1 ค่าข้อมูลดิบในการสับปลาอุกอุยเทศ ของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหว ซ้ำ	นิ่ง	สลบ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไหว ซ้ำ	ว่ายน้ำปกติ
1	19	48	-	-	-	-
2	21	51	-	-	-	-
3	23	52	-	-	-	-
4	17	49	-	-	-	-
5	16	49	-	-	-	-
6	20	55	-	-	-	-

ตารางที่ 2 ค่าข้อมูลดิบในการสับปลาอุกอุยเทศ ของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหว ซ้ำ	นิ่ง	สลบ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไหว ซ้ำ	ว่ายน้ำปกติ
1	14	33	-	-	-	-
2	15	35	-	-	-	-
3	13	35	-	-	-	-
4	17	31	-	-	-	-
5	16	30	-	-	-	-
6	15	28	-	-	-	-

ตารางที่ 3 ค่าข้อมูลดิบในการสับปลาคูยกยเทศ ของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหว ซ้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไหว ซ้ำ	ว่ายน้ำปกติ
1	6	20	-	-	-	-
2	7	22	-	-	-	-
3	6	23	-	-	-	-
4	8	18	-	-	-	-
5	8	19	-	-	-	-
6	7	20	-	-	-	-

ตารางที่ 4 ค่าข้อมูลดิบในการสับปลาคูยกยเทศ ของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหว ซ้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไหว ซ้ำ	ว่ายน้ำปกติ
1	3	12	-	-	-	-
2	6	13	-	-	-	-
3	6	14	-	-	-	-
4	3	9	-	-	-	-
5	5	11	-	-	-	-
6	6	11	-	-	-	-

ตารางที่ 5 ค่าข้อมูลดิบในการสับปลาคูยกยเทศ ของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหว ซ้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไหว ซ้ำ	ว่ายน้ำปกติ
1	5	22	56	19	50	66
2	4	17	54	17	53	69
3	5	19	55	21	51	69
4	4	22	57	22	52	69
5	5	21	56	18	52	67
6	4	20	57	20	51	65

ตารางที่ 6 ค่าข้อมูลดิบในการสับปลาคูยกยเทศ ของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหว ซ้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไหว ซ้ำ	ว่ายน้ำปกติ
1	4	12	19	6	9	47
2	5	14	21	8	13	51
3	4	13	19	7	12	50
4	4	13	20	6	12	49
5	5	15	23	5	11	46
6	5	13	22	7	14	49

ตารางที่ 7 ค่าข้อมูลดิบในการสับปลาคูยกยเทศ ของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหว ซ้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไหว ซ้ำ	ว่ายน้ำปกติ
1	3	4	5	12	36	63
2	3	3	5	12	38	65
3	4	5	6	13	40	66
4	3	5	9	15	35	72
5	4	5	8	18	42	70
6	5	6	9	14	31	69

ตารางที่ 8 ค่าข้อมูลดิบในการสับปลาคูยกยเทศ ของสารสกัดดอกกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหว ซ้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไหว ซ้ำ	ว่ายน้ำปกติ
1	2	3	4	35	54	110
2	3	4	5	40	60	118
3	2	4	5	38	57	113
4	3	3	4	32	49	109
5	2	3	4	35	52	110
6	2	3	5	39	55	115

ตารางที่ 9 ค่าข้อมูลดิบในการสับปลาคูยกยเทศ ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหว ซ้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไหว ซ้ำ	ว่ายน้ำปกติ
1	8	24	-	-	-	-
2	7	26	-	-	-	-
3	8	26	-	-	-	-
4	8	25	-	-	-	-
5	9	24	-	-	-	-
6	7	23	-	-	-	-

ตารางที่ 10 ค่าข้อมูลดิบในการสับปลาคูยกยเทศ ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหว ซ้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไหว ซ้ำ	ว่ายน้ำปกติ
1	7	18	-	-	-	-
2	6	16	-	-	-	-
3	6	16	-	-	-	-
4	7	18	-	-	-	-
5	7	18	-	-	-	-
6	6	16	-	-	-	-

ตารางที่ 11 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอวยเทศ ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหวน้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวน้ำ	ว่ายน้ำปกติ
	ช้า				ช้า	
1	5	12	-	-	-	-
2	5	11	-	-	-	-
3	4	11	-	-	-	-
4	4	10	-	-	-	-
5	5	12	-	-	-	-
6	3	10	-	-	-	-

ตารางที่ 12 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอวยเทศ ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหวน้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวน้ำ	ว่ายน้ำปกติ
	ช้า				ช้า	
1	3	8	-	-	-	-
2	2	7	-	-	-	-
3	4	8	-	-	-	-
4	4	8	-	-	-	-
5	2	7	-	-	-	-
6	3	7	-	-	-	-

ตารางที่ 13 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาตุกอุยเทศ ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหวน้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวน้ำ	วายน้ำปกติ
	ช้า				ช้า	
1	9	39	-	-	-	-
2	10	38	-	-	-	-
3	9	37	-	-	-	-
4	9	38	-	-	-	-
5	10	36	-	-	-	-
6	10	39	-	-	-	-

ตารางที่ 14 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาตุกอุยเทศ ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหวน้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวน้ำ	วายน้ำปกติ
	ช้า				ช้า	
1	6	21	-	-	-	-
2	7	22	-	-	-	-
3	8	25	-	-	-	-
4	8	22	-	-	-	-
5	7	24	-	-	-	-
6	7	20	-	-	-	-

ตารางที่ 15 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอุยเทศ ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหวน้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวน้ำ	วายน้ำปกติ
	ช้า				ช้า	
1	4	22	45	12	48	52
2	5	19	47	11	50	58
3	4	21	45	11	46	58
4	4	21	42	12	47	57
5	4	22	48	10	47	57
6	5	20	45	11	49	56

ตารางที่ 16 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอุยเทศ ของสารสกัดใบกานพลูที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหวน้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวน้ำ	วายน้ำปกติ
	ช้า				ช้า	
1	3	16	31	18	57	70
2	3	17	37	16	57	69
3	4	18	35	15	55	70
4	3	16	33	18	56	72
5	4	17	33	16	55	70
6	4	19	37	19	60	74

ตารางที่ 17 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอุยเทศ ของสารสกัดใบชื้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหวน้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวน้ำ	วายน้ำปกติ
	ช้า				ช้า	
1	16	-	-	-	-	-
2	15	-	-	-	-	-
3	13	-	-	-	-	-
4	13	-	-	-	-	-
5	14	-	-	-	-	-
6	16	-	-	-	-	-

ตารางที่ 18 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอุยเทศ ของสารสกัดใบชื้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหวน้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวน้ำ	วายน้ำปกติ
	ช้า				ช้า	
1	3	19	-	-	-	-
2	4	1	-	-	-	-
3	3	17	-	-	-	-
4	3	18	-	-	-	-
5	3	19	-	-	-	-
6	4	19	-	-	-	-

ตารางที่ 19 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอุยเทศ ของสารสกัดใบชื้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไห ช้า	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไห ช้า	ว้ยน้ำปกติ
1	2	8	-	-	-	-
2	3	7	-	-	-	-
3	2	8	-	-	-	-
4	2	9	-	-	-	-
5	4	7	-	-	-	-
6	3	7	-	-	-	-

ตารางที่ 20 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอุยเทศ ของสารสกัดใบชื้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล
50 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไห ช้า	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไห ช้า	ว้ยน้ำปกติ
1	1	3	-	-	-	-
2	2	5	-	-	-	-
3	1	3	-	-	-	-
4	1	4	-	-	-	-
5	1	4	-	-	-	-
6	2	3	-	-	-	-

ตารางที่ 21 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอวยเทศ ของสารสกัดใบชื้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหวน้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวน้ำ	ว่ายนํ้าปกติ
	ช้า				ช้า	
1	12	28	-	-	-	-
2	14	32	-	-	-	-
3	14	30	-	-	-	-
4	15	33	-	-	-	-
5	14	30	-	-	-	-
6	13	33	-	-	-	-

ตารางที่ 22 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอวยเทศ ของสารสกัดใบชื้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไหวน้ำ	นิ่ง	สลับ	มีการตอบสนอง	เคลื่อนไหวน้ำ	ว่ายนํ้าปกติ
	ช้า				ช้า	
1	3	8	-	-	-	-
2	3	9	-	-	-	-
3	4	9	-	-	-	-
4	3	10	-	-	-	-
5	4	8	-	-	-	-
6	4	9	-	-	-	-

ตารางที่ 23 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอุยเทศ ของสารสกัดใบชื้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไห ช้า	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไห ช้า	ว่ายน้ำปกติ
1	3	6	-	-	-	-
2	3	5	-	-	-	-
3	2	5	-	-	-	-
4	4	5	-	-	-	-
5	2	4	-	-	-	-
6	2	5	-	-	-	-

ตารางที่ 24 ค่าข้อมูลดิบในการสับลาดูกอุยเทศ ของสารสกัดใบชื้เหล็กที่สกัดด้วยเอทานอล
95 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลำดับ	เคลื่อนไห ช้า	นิ่ง	สลับ	มีการ ตอบสนอง	เคลื่อนไห ช้า	ว่ายน้ำปกติ
1	1	3	-	-	-	-
2	1	3	-	-	-	-
3	2	4	-	-	-	-
4	1	3	-	-	-	-
5	2	4	-	-	-	-
6	1	3	-	-	-	-

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นายสุริยา วงศ์เฝ้าสกุล
วัน เดือน ปีเกิด	19 กันยายน 2530
สถานที่ที่สามารถติดต่อได้	12 หมู่ 17 แขวงบางระมาด เขตตลิ่งชัน กรุงเทพฯ 10170
การศึกษา	- ปีการศึกษา 2547 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนโพธิสารพิทยากร - ปีการศึกษา 2555 สำเร็จการศึกษาวิทยาสาตรบัณฑิต (ชีววิทยา) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
เบอร์โทรศัพท์	095-8262891
อีเมล	suriya_wo@mail.rmutt.ac.th

