

## اثرات بیهوش کننده اسانس میخک بارگذاری شده با نانو ذرات آهن در ماهی آنجل

مصطفی غفاری<sup>۱\*</sup>، علی خسروانی زاده<sup>۲</sup>، احمد قرایی<sup>۳</sup>، حسن صالحی<sup>۴</sup>، بهروز ابطحی<sup>۵</sup> و عبدالعلی راهداری<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۲۲

### خلاصه

تعداد ۵۰ عدد ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*) با میانگین وزنی  $1/89 \pm 0/2$  گرم و میانگین طولی  $5/22 \pm 0/8$  سانتی متر در دمای  $26 \pm 2$  سانتی گراد و  $pH=7 \pm 1$  به صورت تصادفی به پنج گروه ۱۰ عددی تقسیم شدند. ماهیان گروه‌های در چهار گروه به ترتیب با غلظت‌های ۱۲، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون اسانس میخک بارگذاری شده با نانو ذرات آهن و گروه پنجم به عنوان گروه شاهد با غلظت ۵۰ قسمت در میلیون اسانس میخک به شیوه حمام دادن بیهوش شدند. زمان‌های رسیدن به مراحل از دست رفتن تعادل، بیهوشی، بازگشت تعادل و احیا کامل در آنان اندازه‌گیری و ثبت شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد کمترین غلظت مورد نیاز اسانس میخک بارگذاری شده با نانو ذرات آهن جهت بیهوش نمودن ماهی آنجل در زمان توصیه شده (حداکثر زمان القاء بیهوشی ۳ دقیقه) غلظت ۱۲ ppm می‌باشد. زمان بازگشت کامل ماهیان بیهوش شده با این غلظت، مناسب و حدود ۵ دقیقه بود. مشاهده رفتار ماهیان بیهوش شده تا ۹۶ ساعت پس از بیهوشی مویب بی خطر بودن اسانس میخک بارگذاری شده با نانو ذرات آهن در غلظت‌های بکار رفته برای ماهی آنجل است، زیرا هیچ گونه اثر نامطلوب جانبی شامل تغییرات رفتاری و مشکلات تنفسی در ماهیان بیهوش شده مشاهده نگردید. همچنین در طول مدت فوق‌الذکر هیچ گونه تلفاتی در ماهیان رخ نداد.

کلمات کلیدی: اسانس میخک، بیهوشی، ماهی آنجل، نانو ذرات آهن

### مقدمه

تلفات ناشی از چنین فعالیت‌هایی ضروری به نظر می‌رسد (شریف‌پور و همکاران ۱۳۸۱). از اسانس گیاه میخک (Clove oil) در صنعت عطرسازی، صابون‌سازی، تهیه خمیر دندان و محلول‌های دهان‌شویه، طب سنتی (زرگری ۱۳۷۶، میرحیدر ۱۳۷۲) و همچنین به عنوان مسکن در دندانپزشکی استفاده می‌گردد (Wicker 1993). اسانس میخک به عنوان آنتی‌اکسیدان (Rajakumar and Rao 1993)، داروی ضد قارچ (Karapmar 1990)، داروی ضد ویروس

هدف اصلی ارزی‌پروری را می‌توان تولید ماهی در کوتاه‌ترین زمان با کمترین هزینه تلقی کرد که جز با افزایش حداکثری سرعت و بازده رشد به صورت همزمان تحقق نپذیرفته و لازمه آن پرهیز از مواجهه حیوان با تنش‌های محیطی است (Ross and Ross 2008). در مراکز تکثیر و پرورش ماهی برای کاهش تنش و آرام‌سازی ماهیان مولد طی اجرای عملیات تکثیر، جراحی و حمل و نقل ماهیان و نیز برای اهداف تحقیقاتی استفاده از مواد آرام بخش برای به حداقل رساندن صدمات و

E-mail: Ghaffarimostafa@yahoo.com (نویسنده مسئول)

\*۱ استادیار گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون دانشگاه زابل

۲ کارشناس ارشد گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون دانشگاه زابل

۳ استادیار گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین المللی هامون دانشگاه زابل

۴ دانشیار گروه مطالعات اقتصادی، موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران

۵ دانشیار گروه زیست دریا، دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی، تهران

سلول‌های بیولوژیکی، انتقال کنترل شده داروهای ضدسرطان و جداسازی‌های سلولی مغناطیسی داشته باشند (Gupta and Gupta 2005, Mahmoudi et al. 2010). در این مطالعه برای اولین بار از نانو ذرات آهن به عنوان حامل اسانس میخک جهت کاهش غلظت مورد نیاز و عوارض جانبی احتمالی آن برای القاء بیهوشی در ماهی آنجل استفاده شد.

### روش کار

#### تهیه اسانس

اسانس میخک (حاوی حداقل ۸۰ درصد یوگنول) از غنچه‌های خشک شده درخت میخک (*Eugenia cairyophyllata*) توسط پژوهشکده گیاهان دارویی تهیه و به منظور جلوگیری از تنزل کیفی ناشی از تابش نور<sup>۱</sup> در ظرف تیره و دربسته و در دمای ۱۹ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه شیمی تجزیه دانشگاه زابل منتقل گردید.

#### بارگذاری اسانس با نانو ذرات

نانو ذرات آهن با استفاده از فرآیند ته نشینی شیمیایی تهیه شدند برای این منظور، مخلوطی از کلرید آهن سه ظرفیتی (۲ گرم)، کلرید آهن دو ظرفیتی (۵/۲ گرم) و اسید هیدروکلریک ۱۲ مولار (۰/۸۵ میلی‌لیتر) در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شدند. سپس مخلوط حاصل به صورت قطره قطره به ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول NaOH ۱/۵ مولار اضافه و به شدت هم زده شد. پس از انجام واکنش، نانو ذرات ته نشین شده به وسیله میدان مغناطیسی از مخلوط جدا شدند و پس از چهار بار شستشو با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به کمک آون خشک شدند. ۱/۵ گرم اسانس حل شده در مقدار کمی اتانول با ۵۰۰ میلی‌گرم از نانو ذرات آهن به دست آمده بارگذاری شد (خسروانی زاده و همکاران ۱۳۹۰، Karimi et al. 2011, Tavallali 2011).

(Siddiqui 1996) و داروی ضد باکتری (Moleyar and Narasimham 1992) نیز مطرح است. بیش از ۳۰ سال است که از اسانس میخک و مشتقات آن به دلیل ایجاد بیهوشی در غلظت‌های پایین، ایجاد و بازگشت از بیهوشی به صورت آرام و بدون هیجان، عدم تلفات و رفتارهای غیرطبیعی پس از بازگشت از بیهوشی در آبزیان، قیمت ارزان نسبت به بیهوش کننده‌هایی نظیر MS۲۲۲، دسترسی آسان، دفع سریع از بدن، عدم سمیت مقادیر مصرفی، سازگاری با محیط زیست، عدم تحرک و شلی عضلات و عدم سمیت برای مصرف کننده انسانی (سلطانی و همکاران ۱۳۸۳، شریف‌پور و همکاران ۱۳۸۱) به عنوان داروی بیهوش کننده برای ماهیان تجاری استفاده می‌شود. در ایران نیز تاکنون از اسانس میخک برای بیهوشی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (ابطحی و همکاران ۱۳۸۱، سلطانی و همکاران ۱۳۸۳، شریف‌پور و همکاران ۱۳۸۱)، تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (ابطحی و همکاران ۱۳۸۱، محمدی ارانی ۱۳۸۵) و ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (ابطحی و همکاران ۱۳۸۱، سلطانی و همکاران ۱۳۸۰) استفاده شده است.

دارورسانی کنترل شده در بدن از مقوله‌های بسیار مهم در صنعت داروسازی است. در روش‌های معمول مصرف دارو، دارو در سراسر بدن توزیع و تمام بخش‌های بدن تحت اثرات آن قرار خواهد گرفت و عوارض جانبی دارو بروز خواهد کرد. لذا در مواردی باید مقادیر بیشتری دارو تجویز شود. با فناوری نانو می‌توان به دارورسانی هدفمند دست یافت و زمان، مکان و سرعت آزادسازی دارو را کنترل نمود و ضمن کاهش عوارض جانبی، کارایی بالاتری را به دست آورد (معتکف کاظمی، ۱۳۸۸). نانو ذرات آهن در صنعت، کشاورزی و پزشکی اهمیت بسیار زیادی دارند و می‌توانند کاربردهای بالقوه زیادی در فروسیال‌ها، تصویرسازی‌های رنگی، کاتالیست‌ها، ضبط کننده‌های مغناطیسی، سردسازی مغناطیسی، سم‌زدایی از

## ماهی

تعداد ۵۰ عدد ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*) نر و ماده با میانگین وزنی  $1/89 \pm 0/2$  گرم و میانگین طول  $5/22 \pm 0/8$  سانتی متر به صورت تصادفی از سالن تکثیر و پرورش ماهیان زیتنی اداره کل شیلات سیستان واقع در شهرستان زهک در  $6/5$  کیلومتری جنوب شرقی شهرستان زابل با مختصات جغرافیایی  $31$  درجه طولی و  $61$  درجه عرضی صید و به صورت تصادفی در  $5$  گروه  $10$  تایی تقسیم و به تانک‌های جداگانه منتقل شدند. به منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید، ماهیان به مدت یک هفته در تانک‌های  $300$  لیتری حاوی  $250$  لیتر آب نگهداری شدند. در طول مدت سازگاری و انجام آزمایش فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی آب شامل درجه حرارت، pH، نیتريت، آمونیاک و دی‌اکسیدکربن اندازه‌گیری و ثبت می‌گردید.

## بیهوشی

چهار گروه از ماهیان با غلظت‌های  $12 \text{ ppm}$ ،  $25 \text{ ppm}$ ،  $50 \text{ ppm}$  و  $100 \text{ ppm}$  اسانس میخک بار شده بر نانو ذرات آهن به شیوه حمام بیهوش شدند. ماهیان گروه پنجم نیز به عنوان گروه شاهد با غلظت  $50 \text{ ppm}$  اسانس میخک معمولی بیهوش شدند. بیهوشی در آکواریوم  $40$  لیتری محتوی  $20$  لیتر محلول بیهوشی که از ترکیب آب و ماده بیهوشی در غلظت‌های ذکر شده به دست آمده بود صورت گرفت. پس از انتقال هر یک از ماهیان به آکواریوم حاوی ماده بیهوشی زمان‌های رسیدن به مراحل از دست رفتن تعادل و بیهوشی سبک (جدول ۱) با دقت دهم ثانیه توسط کرنومتر ثبت شد.

جدول ۱: طبقه بندی مراحل مختلف بیهوشی در ماهیان (Keene et al. 1998)

مرحله	رفتار ماهی
از دست رفتن تعادل	فقدان کامل تعادل، افزایش موقتی تعداد تنفس، واکنش پذیر نسبت به محرک های لمسی قوی
بیهوشی سبک	از دست رفتن کامل تونیسیته عضلات، عدم پاسخ گویی به محرک های خارجی، ضربان قلب آهسته
بازگشت تعادل	بازگشت کامل تعادل، افزایش تعداد تنفس
احیا کامل	شنا عادی، واکنش پذیر نسبت به انواع محرک های خارجی

## بررسی آماری

برای انجام محاسبات، آنالیزهای آماری (واریانس یک طرفه) و ترسیم نمودارها از نرم‌افزارهای Microsoft Office Excell 2003 و SPSS 16 استفاده شد.

## نتایج

اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکیوشیمیایی آب در طول مدت سازگاری و انجام آزمایش تغییرات بسیار ناچیزی را نشان داد و فاکتورهای مذکور در حد توصیه شده بودند.

ماهیان پس از بیهوش شدن تا مرحله بیهوشی سبک، با استفاده از ساچوک به آکواریومی دیگر حاوی  $300$  لیتر آب فاقد ماده بیهوشی که به خوبی هوادهی می‌شد منتقل شده و زمان‌های مربوط به مراحل مختلف بازگشت از بیهوشی شامل مراحل بازگشت تعادل و احیاء کامل ثبت گردید. ماهیان احیاء شده به مدت  $96$  ساعت برای رویت هر نوع اثر سوء ناشی از بیهوشی مانند شنای غیر طبیعی و مرگ و میر به دقت تحت نظر قرار گرفتند.

بیهوشی سبک در ماهی، مدت زمان لازم برای بازگشت تعادل ماهی و مدت زمان لازم برای احیاء کامل ماهی در جدول ۲ آمده است.

نتایج به دست آمده از بیهوشی ماهی آنجل در غلظت‌های مختلف اسانس میخک بارگذاری شده با نانو ذرات آهن و پارامترهای زمانی مختلف شامل مدت زمان لازم برای از دست رفتن تعادل ماهی، مدت زمان لازم برای ایجاد

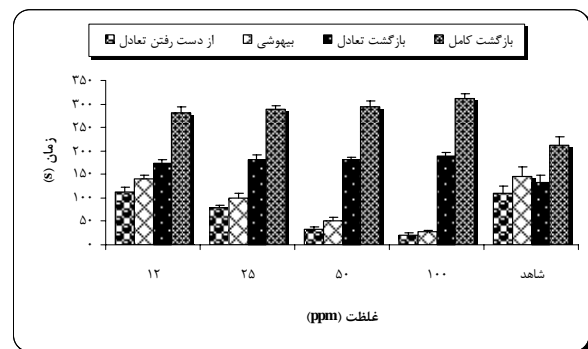
جدول ۲: میانگین و انحراف معیار زمان‌های رسیدن به مراحل مختلف بیهوشی و بازگشت از آن در ماهی آنجل تحت تاثیر اسانس میخک بارگذاری شده با نانو ذرات آهن

مراحل / گروه‌ها	غلظت ۱۰۰ppm	غلظت ۵۰ppm	غلظت ۲۵ppm	غلظت ۱۲ppm	شاهد
زمان از دست رفتن تعادل (ثانیه)	۲۰/۴ ± ۴/۷ <sup>a*</sup>	۳۳/۱ ± ۴/۶ <sup>b</sup>	۷۹/۸ ± ۵/۹ <sup>c</sup>	۱۱۲/۳ ± ۹/۷ <sup>d</sup>	۱۰۹/۵ ± ۱۴/۷ <sup>d</sup>
زمان القاء بیهوشی سبک (ثانیه)	۲۸/۹ ± ۲/۱ <sup>a</sup>	۵۱/۷ ± ۷/۱ <sup>b</sup>	۱۰۰/۲ ± ۹/۲ <sup>c</sup>	۱۴۰/۲ ± ۷/۲ <sup>d</sup>	۱۴۶/۴ ± ۱۸/۵ <sup>d</sup>
زمان بازگشت تعادل (ثانیه)	۱۹۰/۸ ± ۷/۱ <sup>c</sup>	۱۸۱/۲ ± ۵/۱ <sup>ab</sup>	۱۸۲/۵ ± ۹/۱ <sup>bc</sup>	۱۷۳/۳ ± ۸/۱ <sup>a</sup>	۱۳۲/۱ ± ۱۴/۹ <sup>ab</sup>
زمان بازگشت کامل (ثانیه)	۳۱۱/۱ ± ۱۲/۱ <sup>c</sup>	۲۹۳/۳ ± ۱۴/۴ <sup>ab</sup>	۲۸۹/۵ ± ۹/۵ <sup>ab</sup>	۲۸۰/۴ ± ۱۳/۸ <sup>a</sup>	۲۱۱/۸ ± ۱۸/۸ <sup>bc</sup>

\* حروف متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی دار ( $p < 0.05$ ) بین گروه‌هاست.

با نانو ذرات آهن در غلظت به کار گرفته شده در این پژوهش برای ماهی آنجل می‌باشد زیرا هیچ گونه اثر جانبی شامل تغییرات ظاهری مانند تغییر رنگ، تغییرات رفتاری مانند مشکل در شنا و مشکلات تنفسی در ماهیان در معرض داروی بیهوشی قرار گرفته مشاهده نشد. همچنین در طول مدت مذکور هیچ گونه تلفاتی در ماهیان رخ نداد.

با توجه به نتایج به دست آمده (جدول ۲ و نمودار ۱) کمترین غلظت برای ایجاد بیهوشی در آنجل ۱۲ ppm بود که به طور میانگین طی مدت زمان ۱۴۰/۲ ثانیه موجب بیهوشی ماهی شد. همچنین زمان لازم برای بازگشت واکنش پذیری ماهی نسبت به محرک‌های خارجی در این دوز ۲۸۰/۴ ثانیه بود.



نمودار ۱: مقایسه اثرات غلظت‌های مختلف اسانس میخک بارگذاری شده با نانو ذرات آهن بر فرآیند بیهوشی در ماهی آنجل.

**بحث**  
در پژوهش حاضر در تمام غلظت‌های به کار گرفته شده اسانس گل میخک بارگذاری شده بر نانو ذرات آهن، زمان القاء بیهوشی کمتر از ۳ دقیقه و مدت زمان لازم برای احیاء کامل ماهی ۴ تا ۶ دقیقه و به طور میانگین ۵ دقیقه بود. با توجه به اینکه توصیه شده است ماده بیهوش کننده مطلوب برای ماهیان بایستی به ترتیب زمان‌های القاء و احیاء کامل ۳ و ۵ دقیقه را داشته باشد (خسروانی زاده و همکاران ۱۳۹۰) غلظت‌های به کار گرفته شده در این مطالعه همگی معیارهای لازم برای یک بیهوش کننده مناسب را به نمایش گذاشتند. بنابراین می‌توان اسانس

مشاهده رفتار ماهیان بیهوش شده تا ۹۶ ساعت پس از بیهوشی موید بی‌خطر بودن اسانس میخک بارگذاری شده

است به نحوی که در کمترین زمان و با کمترین حرکات سرپوش آبخشی (حرکات تهویه آبخشی) القاء بیهوشی صورت می‌گیرد و در عین حال علت فرآیند بازگشت از بیهوشی سریع در گروه‌های بیهوشی را نیز می‌توان به همین خاصیت مرتبط دانست. از سویی به نظر می‌رسد نانو ذرات سبب ارتقاء قدرت جذب اسانس میخک توسط مغز ماهی شده‌اند، زیرا با دوزهای کمتری بیهوشی در ماهیان القاء شده و نیاز به ماده بیهوشی کاهش یافته است. در خصوص هر دو مقوله یعنی افزایش عبورپذیری از آبخش‌ها و ارتقاء جذب ماده بیهوشی در مغز و شناخت میزان دقیق تأثیر هر کدام نیاز به انجام مطالعات تکمیلی می‌باشد.

علی‌رغم مزایای برشمرده در مورد اسانس میخک یکی از مشکلاتی که استفاده از اسانس میخک به ویژه در فضاهای کوچک و بدون تهویه می‌تواند برای محقق یا کارگر استفاده کننده از آن ایجاد کند سر درد، حالت تهوع و خستگی ناشی از بوی این ماده است (Velisek et al. 2005). از دیگر معایب اسانس میخک شاخص درمانی نسبتاً پایین یا نسبت غلظت درمانی به غلظت سمی پایین آن است، که در مطالعه Velisek و همکاران در سال ۲۰۰۵ روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان این نسبت ۱:۲/۷ تعیین شد در حالی که نسبت مطلوب آن باید ۱:۴ یا بیشتر باشد. در مطالعه حاضر غلظت ۱۰۰ppm که حدوداً ۸ برابر دوز توصیه شده (۱۲ ppm) است نیز هیچ گونه تلفاتی در ماهیان ایجاد نکرد. ممکن است اسانس میخک روی حس بویایی ماهیان به خصوص آزاد ماهیان اثر منفی داشته باشد، این اثر ممکن است فرآیند مهاجرت آزاد ماهیان رود کوچ از دریا به محل تولدشان را مختل کند (Woody et al. 2002). با توجه به اینکه اطلاعات درباره اثرات اسانس میخک روی فیزیولوژی ماهیان هنوز بسیار محدود بوده و ممکن است برای برخی مطالعات مفید نباشد (Anderson et al. 1997). لذا منطقی به نظر می‌رسد که تا حد امکان از غلظت‌های کمتر این ماده استفاده کرد. همچنین، مؤثر بودن بارگذاری این اسانس

گل میخک بارگذاری شده بر نانو ذرات آهن را یک بیهوش کننده مناسب برای ماهی آنجل به شمار آورد. با عنایت به اینکه دوز مؤثر بیهوش کننده غلظتی است که کوتاهترین القاء و سریع‌ترین احیا را داشته باشد (Keene et al. 1998) و با در نظر گرفتن صرفه اقتصادی، غلظت ۱۲ppm دوز مؤثر این دارو تشخیص داده شد. ضمن اینکه در غلظت‌های بالاتر زمان بازگشت از بیهوشی افزایش یافته که در مواردی که تعداد ماهیانی که قصد بیهوش کردن آنها را داریم زیاد باشند و امکانات محدود، می‌تواند ایجاد مشکل نماید و عملیات تکثیر یا پرورش را دچار وقفه نماید که ممکن است خسارات اقتصادی به دنبال داشته باشد (Woody et al. 2002). از عوامل مؤثر بر زمان القاء در ماهیان بیهوشی می‌توان به غلظت ماده بیهوشی، سن ماهی، پارامترهای آب (مانند میزان pH و دما) یونیزاسیون ماده بیهوشی و قابلیت انحلال آن در چربی اشاره کرد (Sonawane and Kulkarni 2001, Ross and Ross 2008, Keene et al. 1998). درجه یونیزاسیون و قابلیت انحلال ماده بیهوشی در چربی می‌تواند نقش مهمی در القاء بیهوشی ایفا کند، زیرا منطقه اصلی ورود و خروج بیهوش کننده‌ها در ماهیان آبخش‌ها هستند و میزان عبور این مواد از آبخش‌ها و میزان جذب آنها در مغز رابطه مستقیمی با درجه یونیزاسیون و قابلیت انحلال آنها در چربی دارد (Ross and Ross 2008, Keene et al. 1998). در واقع، تأثیر همه عوامل فوق بر میزان عبورپذیری و نفوذپذیری ماده بیهوشی از آبخش‌ها (زیرا منطقه اصلی ورود و خروج بیهوش کننده‌ها در ماهیان آبخش‌ها هستند) و میزان جذب ماده بیهوشی عبور کرده از آبخش‌ها در مغز می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده در پژوهش خسروانی‌زاده و همکاران در سال ۱۳۹۰ روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به نظر می‌رسد به کارگیری نانو ذرات آهن در کنار اسانس میخک میزان عبورپذیری این ماده از آبخش‌ها را افزایش می‌دهد. گواه این ادعا، القاء سریع بیهوشی در ماهیان در معرض قرار گرفته با اسانس میخک بارگذاری شده بر نانو ذرات آهن

به نسبت ۱۰ به یک با اسانس میخک مخلوط شده و مورد استفاده قرار می‌گیرند (Keene et al. 1998) که خود این حلال‌ها ممکن است اثرات جانبی را در ماهی به خصوص در صورت تکرار بیهوشی ایجاد نمایند. در این بررسی بدون استفاده از هیچ یک از این دو راه کار متداول، نتایج مطلوبی به دست آمد.

مقایسه نتایج به دست آمده در این پژوهش در خصوص بیهوشی ماهی آنجل با اسانس میخک بارگذاری شده با نانو ذرات آهن و اسانس میخک معمولی بیانگر این واقعیت است که بارگذاری اسانس میخک با نانو ذرات آهن ۴ برابر قدرت عملکرد دارو را ارتقاء داده و نیاز کمتری به مصرف اسانس میخک وجود دارد. این افزایش قدرت عملکرد در پژوهش‌های آتی با بهینه شدن ساخت دارو و استفاده از سایر سامانه‌های دارورسانی به خصوص سامانه‌های نانو مقیاس می‌تواند بیشتر صورت پذیرد. ضرورتی که علاوه بر رفع نیازهای داخلی و قطع وابستگی دارویی می‌تواند با صادرات برای کشور ارزآوری به دنبال داشته باشد و به عنوان الگویی در ارتقاء قدرت عملکرد سایر داروها مورد مصرف در صنعت تکثیر و پرورش آبزیان به کار گرفته شود.

با نانو ذرات آهن در این پژوهش، یکی از راه‌های کاستن از غلظت مورد نیاز این ماده می‌تواند استفاده از نانو ذرات باشد. برای استفاده از داروی بیهوشی به روش غوطه‌وری که متداول‌ترین روش ایجاد بیهوشی است (Ross and Ross 2008) بایستی دارو را در آب حل نمود، حال آن که اسانس میخک در آب نامحلول یا کم محلول است. برای مقابله با این مشکل دو راه پیشنهاد می‌شود، ساده‌ترین راه افزودن دمای آبی است که اسانس در آن حل خواهد شد. علی‌رغم آسان بودن، این راه حل در همه موارد قابل استفاده نخواهد بود به خصوص در مورد ماهیان سردآبی زیرا، دمای آب در فصول تکثیر آزاد ماهیان باید کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد باشد. در حالی که در دماهای پایین‌تر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد حلالیت اسانس میخک در آب به شدت کاهش می‌یابد (محمدی‌ارانی ۱۳۸۵)، قابل ذکر است دمای اکثر کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مناطق سردسیری حتی در فصول غیر از تکثیر به ندرت به ۱۵ درجه سانتی‌گراد می‌رسد.

راه حل دوم استفاده از حلال‌هایی مثل اتانول و استون است که معمولاً در دمای کمتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد و

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مدیریت و پرسنل اداره کل شیلات سیستان و پژوهشکده تالاب بین المللی هامون دانشگاه زابل به خاطر تامین بخشی از هزینه‌های این پژوهش و همکاری و مساعدت در مراحل مختلف انجام پژوهش تشکر به عمل می‌آید. همچنین از زحمات و مساعدت‌های جناب آقای دکتر مصطفی خواجه استادیار گروه شیمی و سرکار خانم افسانه برخوردار کارشناس دانشکده علوم دانشگاه زابل تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

### منابع

خسروانی‌زاده علی، غفاری مصطفی، خواجه مصطفی، ابطحی بهروز، صالحی حسن، زکی‌پوررحیم‌آبادی اسحاق و احمدی‌پورنظام‌آبادی خلیل (۱۳۹۰). استفاده از اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) بارگذاری شده بر نانوذرات آهن جهت القا بیهوشی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، مجله علمی شیلات ایران، شماره ۴، صفحات ۴۳-۵۲.

ابطحی بهروز، شریف‌پور عیسی، آقاجانپور محمود، رسولی علی، فقیه‌زاده سقراط، امیدبیگی رضا و نظری رجب‌محمد (۱۳۸۱). مقایسه LC<sub>50</sub> اسانس میخک و MS<sub>۲۲۲</sub> در بچه ماهیان تاسماهی ایرانی، قزل‌آلای رنگین‌کمان و کپور معمولی، مجله علمی شیلات ایران، شماره ۱۱، صفحات ۱-۱۲.

- Anderson W.G., McKinley R.S. and Colavecchia M. (1997). The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *North American Journal of Fisheries Management*, 17: 301-307.
- Gupta A.K. and Gupta M. (2005). Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26: 3995-4021.
- Karapmar M. (1990). Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 10: 193-200.
- Karimi M.A., Mohammadi S.Z., Mohadesi A., Hatefi-Mehrjardi A., Mazloum-Ardakani M., Sotudehnia Korani L. et al. (2011). Determination of silver (I) by flame atomic absorption spectrometry after separation/preconcentration using modified magnetite nanoparticles. *Scientia Iranica, Transactions F: Nanotechnology*, 18: 790-796.
- Keene J.L., Noakes D.L.G., Moccia R.D. and Soto C.G. (1998). The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29: 89-101.
- Mahmoudi M., Simchi A. and Imani M. (2010). Recent Advances in Surface Engineering of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 7: 1-27.
- Moleyar V. and Narasimham P. (1992). Antibacterial activity of essential oil components. *International Journal of Food Microbiology*, 16: 337-342.
- Rajakumar D.V. and Rao M.N.A. (1993). Dehydrozingerone and isoeugenol as inhibitors of lipid peroxidation and as free radical scavengers. *Biochemical Pharmacology*, 46: 2067-2072.
- Ross L.G. and Ross B. (2008). *Anaesthesia and Sedation of Aquatic Animals*. 3rd ed. Blackwell Science, Oxford, pp: 1-10.
- Siddiqui Y.M. (1996). Effect of essential oils on the enveloped viruses: antiviral activity of oregano and clove oils on herpes simplex virus type I and Newcastle disease virus. *Medical Science Research*, 24: 185-186.
- Sonawane U.D. and Kulkarni G.N. (2001). Anaesthetic effects of clove oil and sodium bicarbonate on the fry of *Liza parsia*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 3 (2): 49-62.
- زرگری علی (۱۳۷۶). گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ چهارم، صفحات ۳۲۷-۳۱۹.
- سلطانی مهدی، امیدبگی رضا، رضوانی سهراب، مهربانی محمدرضا و چیت‌ساز حسین (۱۳۸۰). مطالعه اثرات هوشبری اسانس و عصاره گل میخک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت برخی شرایط کیفی آب، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۴، صفحات ۸۹-۸۵.
- سلطانی مهدی، غفاری مصطفی، خضرائی‌نیا پروانه و بکایی سعید (۱۳۸۳). مطالعه اثرات بیهوشی اسانس گل میخک هندی بر پارامترهای هماتولوژیک، برخی آنزیم‌های خون و آسیب‌شناسی بافت‌های مختلف ماهی کپور معمولی، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۹، شماره ۳، صفحات ۲۹۹-۲۹۵.
- شریف‌پور عیسی، سلطانی مهدی، عبدالحی حسین و قیومی راضیه (۱۳۸۱). اثر بیهوش کنندگی اسانس گل میخک (*Eugenia caryophyllata*) در شرایط مختلف pH و درجه حرارت در بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، مجله علمی شیلات ایران، شماره ۴، صفحات ۷۴-۵۹.
- محمدی‌ارانی مجتبی (۱۳۸۵). بررسی اثر اسانس میخک (*Eugenia caryophyllata*) بر بیهوشی بچه تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، فصل‌نامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۲، شماره ۳، صفحات ۱۸۸-۱۶۲.
- معتکف‌کاظمی نگار (۱۳۸۸). نانو حامل‌ها در سیستم‌های دارورسانی، ماهنامه فناوری نانو، شماره ۱۴۸، صفحات ۳۸-۴۱.
- میرحیدر حسین (۱۳۷۲). معارف گیاهی، دفتر نشر فرهنگ اسلامی، جلد دوم، چاپ اول، صفحات ۴۲۱-۴۱۶.

- Tavallali H. (2011). Alumina-coated magnetite nanoparticles for solid phase extraction of Cd in water samples. *International Journal of Chem Tech Research*, 3 (3): 1647-1651.
- Velisek J., Svobodova Z. and Piackova V. (2005). Effects of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *ACTA Veterinaria BRNO*, 74: 139-146.
- Wicker P. (1993). Local anaesthesia in the operating theatre. *Nursing times*, 90: 34-35.
- Woody C.A., Nelson J. and Ramstad K. (2002). Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trails. *Journal of Fish Biology*, 60: 340-347.



## Anesthetic effects of clove oil essence loaded on the iron nanoparticles in Angel fish (*Pterophyllum scalare*)

Ghafari M.<sup>1</sup>, Khosravanizadeh A.<sup>2</sup>, Gharayi A.<sup>1</sup>, Salehi H.<sup>3</sup>, Abtahi B.<sup>4</sup> and Rahdari A.<sup>2</sup>

Received: 13.04.2012

Accepted: 12.12.2012

### Abstract

In the present study fifty number angel fish (*Pterophyllum scalare*) with a mean length of  $5.8 \pm 0.3$  cm in  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , and  $\text{pH} = 7 \pm 1$  randomly allocated in five groups. Fish of four groups were anesthetized with 12, 25, 50, and 100ppm clove (*Eugenia caryophyllata*) oil essence loaded on iron nanoparticles by immersion method, and fifth group as indicator were anesthetized by 50 ppm clove oil. Loss of equilibrium, light anesthesia, regaining equilibrium and complete recovery times were precisely recorded. Statistical analysis showed that minimum dose required for induce anaesthesia by clove oil loaded on the iron nanoparticles was 12 ppm in angel fish at recommended time (maximum time for induce anaesthesia: 3 min). The time of complete recovery in this dose was about 5 min. Fish behaviors monitoring at 96 hours after anesthesia demonstrated clove oil loaded on iron nanoparticles is safe for angel fish, Because in this study revealed no abnormalities such as apparent changes (color change), behaviors changes (ataxia) and tachy ventilation.

**Key words:** Anesthesia, Angel fish, Clove oil, Iron nanoparticles

---

1- Assistant Professor, Department of Fishery, Institute of Hamoon Intentional Wetland Zabol University, Zabol, Iran

2- MSc, Department of Fishery, Institute of Hamoon intentional Wetland Zabol University, Zabol, Iran

3- Associate Professor, Department of Economics Studies, Iranian Fisheries Research Organization (IFRO), Tehran, Iran

4- Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran