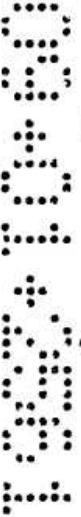


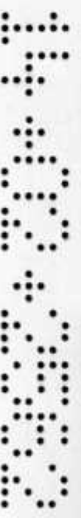
บทสรุปการประดิษฐ์

กรรมวิธีการผลิตแคลลัสกานพลูอัดเม็ดสำหรับพักและขนส่งปลา ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสกานพลู การสกัดสารจากแคลลัสกานพลู กระบวนการอัดเม็ดแคลลัสกานพลู และการนำไปใช้ในการส่งประสาทและการพักปลา สำหรับการขนส่งปลาได้อย่างปลอดภัย



ข้อถ้อยสิทธิ

1. กรรมวิธีการผลิตแคลลัสกานพลูอัดเม็ดสำหรับพักและขนส่งปลา ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้
 - 5 ก. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสกานพลู นำชิ้นส่วนกานพลูไปการฟอกฆ่าเชื้อโดยแช่ในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที ย้ายลงสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaClO^-) ที่ความเข้มข้น 5-10% หยอดสารจับใบและเขย่าเป็นเวลา 10 นาที จึงย้ายชิ้นส่วนกานพลูลงสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaClO^-) ที่ความเข้มข้น 3-5% เติมหยอดจับใบ 1-2 หยด และเขย่าเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นให้นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรวีวูดดีแพลนท์มีเดีย (Woody plant medium; WPM) ที่เติมฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโตในระดับความเข้มข้น 0.5-1 มิลลิกรัม เป็นเวลา 3-5 เดือน
 - 10 ข. การสกัดสารจากแคลลัสกานพลู นำแคลลัสกานพลูมาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาทำการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 70-95% จากนั้นทำการกรอง แล้วจึงนำสารที่กรองได้ไปทำการระเหยตัวทำละลายแอลกอฮอล์
 - 15 ค. กระบวนการอัดเม็ดแคลลัสกานพลู ทำการชั่งแบ่งข้าวโพด 15-20 กรัม เตรียมสารทวิน 80 (Tween 80) เป็นตัวทำละลาย 0.5-1% น้ำกลั่น และสารสกัดกานพลูที่ได้จากการสกัด 50-100 ส่วนในล้านส่วน (ppm) มาผสมให้กลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปอัดเม็ดและนำไปอบให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4-6 ชั่วโมง



รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

กรรมวิธีการผลิตแคลสสากานพลูอัดเม็ดสำหรับพักและขนส่งปลา

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

- 5 สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับกรรมวิธีการผลิตแคลสสากานพลูอัดเม็ดสำหรับพักและขนส่งปลา

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

10 กานพลู (*Syzygium aromaticum*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีสรรพคุณทางยาสูง สารสกัดดอกกานพลูแห้งและใบกานพลูมีสารยูจินอล (Eugenol) ในปริมาณสูงถึง 65-70% และ 78-80% ส่วนน้ำมันกานพลูมีสารยูจินอลถึง 69.88% ซึ่งสารยูจินอลมีฤทธิ์เป็นยาชา แก้ปวดฟัน ดับกลิ่นปาก ลดอาการอักเสบ และฆ่าเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด ในกระบวนการอุตสาหกรรมนิยมใช้กานพลูผสมในเครื่องเทศ และเป็นส่วนผสมในตำรับยาไทยหลายตำรับ นอกจากนี้กานพลูยังมีสรรพคุณทางยาอื่น ๆ คือ น้ำมันกานพลูความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน (ppm) สามารถนำไปใช้ในการทำสลบปลาความยาวขนาด 7-10 เซนติเมตร ได้นานถึง 53.83 ± 1.4 นาที และปลาฟื้นจากอาการสลบสามารถว่ายน้ำได้เป็นปกติภายในเวลา 6.5 ± 0.42 นาที โดยปลอดภัย และจากการ

15 ประเมินประสิทธิภาพของน้ำมันกานพลู เพื่อใช้เป็นยาสลบปลาทอง (*Carassius auratus*) พบว่า ค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันกานพลูในการใช้เป็นยาสลบปลาทองภายในระยะเวลา 120 นาที อยู่ที่ค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันกานพลูในการใช้เป็นยาสลบปลาทองภายในระยะเวลา 120 นาที อยู่ที่ค่าความเข้มข้น

20 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และช่วยเพิ่มอัตราการรอดตายให้กับปลาทองโดยการใช้อยาสสลบในระหว่างการขนส่งสัตว์น้ำได้ (ดร.ทัศนีย์ นลวชัย, 2559) อีกทั้งยังพบว่ามีการใช้น้ำมันกานพลูในการสลบปลาอีกหลายชนิด เช่น ปลาแหลมอน 30 ส่วนในล้านส่วน (ppm), ปลาทอง 15.5-100 ส่วนในล้านส่วน (ppm), ปลากัดจีน 15 ส่วนในล้านส่วน (ppm), ปลาสลิด 25 ส่วนในล้านส่วน (ppm), ปลาดุกอเมริกัน 100 ส่วนในล้านส่วน (ppm), ปลาคาร์พ 15-40 ส่วนในล้านส่วน (ppm) เป็นต้น (Chiayvareesajja et al., 2008; Javahery et al., 2012) ทั้งนี้เพื่อใช้ในการสลบ สงบประสาท และลดอาการเครียดกับปลาที่เกิดขึ้นในระหว่างการขนส่งสัตว์น้ำในระยะทางไกลซึ่งมักพบปัญหาด้านความเครียด การเจริญเติบโตช้า และการเกิดแผลที่ผิวหนังของปลา อีกทั้งในการขนส่งปลาในปริมาณมากๆ มักใช้สารเคมีในการทำสลบหรือพักปลา แต่ต้องพักปลาเป็นเวลา 21 วัน ก่อนการบริโภค จึงมักไม่ทันต่อความต้องการของตลาด และพบปัญหาสารตกค้างสู่ผู้บริโภค ดังนั้นกรรมวิธีการเตรียมแคลสส

25 อัดเม็ดกานพลูจึงมีความสำคัญต่อการอนุบาลลูกปลา การพักปลา และการขนส่งปลาที่ปลอดภัยไม่มีสารพิษตกค้างต่อผู้บริโภค

ซึ่งน้ำมันกานพลูที่พบในท้องตลาดทั่วไปจะมีอายุการเก็บรักษาระยะสั้นได้เพียง 6-8 เดือน ก็จะทำให้ฤทธิ์ในการสงบประสาทลดลง และไม่ละลายในน้ำจึงต้องทำละลายน้ำมันกานพลูก่อนการใช้งานทุกครั้ง

30 นอกจากนี้ยังพบปัญหาในการจัดหาดอกกานพลูเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมที่ไม่เพียงพอ จึงมีการนำเข้าดอกกานพลูแห้งในราคาสูงถึงกิโลกรัมละ 700-800 บาท เนื่องจากต้นกานพลูเป็นไม้ยืนต้นที่ต้องทำการเพาะปลูกและการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ซึ่งในประเทศไทยยังไม่ได้รับความนิยมในการปลูกมากนัก เพราะต้นกานพลูมักเจริญได้ดีบนพื้นที่ราบถึงที่สูงจากระดับน้ำทะเล 800-900 เมตร โดยสาเหตุที่เกษตรกรไม่นิยมปลูกต้นกานพลูเพราะต้นกานพลูเจริญเติบโตช้า ช่วงระยะเวลาในการออกดอกสั้น เมล็ดที่ได้จากผลกานพลูที่เก็บเกี่ยวใหม่ ๆ มีอัตราการ

35 การงอกสูงถึงร้อยละ 90 หลังจากนั้นใน 1 สัปดาห์การงอกของเมล็ดจะลดลงอย่างรวดเร็วและมีอัตราการรอดชีวิตต่ำมาก ซึ่งทางผู้ประดิษฐ์ได้นำผลการศึกษาวิจัยในครั้งที่ผ่านมาปรับปรุงพัฒนา พบว่า ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนตาข้างของกานพลูด้วยสูตรอาหารวูดี้ดีแพลนท์มีเดียม (Woody plant medium; WPM) ที่เติม

ฮอโรโมนควบคุมการเจริญเติบโต 0.1-1.0 ส่วนในล้านส่วน (ppm) จะทำให้เกิดการกระตุ้นการเจริญเติบโต
ขึ้นส่วนของตาข้าง และใบกานพลูให้พัฒนาเป็นแคลลัสได้ดี พบปริมาณสารยูจินอลในแคลลัสสกัด 2.23-3.57%
และ 2.05-5.5% ตามลำดับ ซึ่งสามารถนำมาใช้สกัดทดแทนกานพลูแบบยีนต้นโตเต็มวัยได้

ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

5 กรรมวิธีการผลิตแคลลัสกานพลูอัดเม็ดสำหรับพักและขนส่งปลา ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสกานพลู การสกัดสารจากแคลลัสกานพลู กระบวนการอัดเม็ดแคลลัสกานพลู
และการนำไปใช้ในการสงบประสาทและการพักปลา

ความมุ่งหมายของการประดิษฐ์นี้ เพื่อผลิตแคลลัสกานพลูอัดเม็ดสำหรับพักและขนส่งปลาได้อย่าง
ปลอดภัย อีกทั้งยังเป็นการแก้ปัญหาการขาดแคลนกานพลูและลดต้นทุนในการนำเข้ากานพลูเพื่อประโยชน์
10 ทางอุตสาหกรรม เกษษกรรม และด้านการประมงที่จำเป็นต่อการอนุบาลลูกปลา การขนส่ง และการพักปลาได้
อย่างปลอดภัย

การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

กรรมวิธีการผลิตแคลลัสกานพลูอัดเม็ดสำหรับพักและขนส่งปลา ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสกานพลู ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

15 ก. ขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนกานพลู โดยการแช่ชิ้นส่วนกานพลูในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา
1 นาที ย้ายลงสารละลายคลอโรกซ์หรือสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaClO^-) ความเข้มข้น 5-10%
หยดสารจับใบ 1-2 หยด เขย่าเบา ๆ เป็นเวลา 10 นาที จึงย้ายชิ้นส่วนกานพลูลงสารละลายคลอโรกซ์
ความเข้มข้น 3-5% เดิมสารจับใบ 1-2 หยด ทำการเขย่าเบา ๆ เป็นเวลา 10 นาที และย้ายชิ้นส่วน
กานพลูลงในจานแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

20 ข. ขั้นตอนการเตรียมสูตรอาหาร วัสดุดีแพลนท์มีเดียม (Woody plant medium; WPM) เพื่อทำสต็อก
(Stock) A, B, C, และ D จึงทำการดวงสารจากสต็อก (Stock) ต่าง ๆ และทำการปรับสภาพความเป็น
กรด-ด่าง (pH) ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่าง 6.7-5.70 แล้วปรับ
ปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จึงบรรจุอาหารใส่ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

25 ค. การเพาะเลี้ยงแคลลัสกานพลู โดยนำชิ้นส่วนใบ และตาข้างของกานพลูที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในข้อ 1
มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรวัสดุดีแพลนท์มีเดียม (Woody plant medium; WPM) ที่เติมฮอโรโมนควบคุม
การเจริญเติบโตในระดับความเข้มข้น 0.5-1 มิลลิกรัม เป็นเวลา 3-5 เดือน ทำการปรับสูตรอาหาร
เพาะเลี้ยงให้เหมาะสมเพื่อพัฒนาและเพิ่มปริมาณแคลลัส

30 2. การสกัดสารจากแคลลัสกานพลู โดยการนำแคลลัสกานพลูมาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาทำการสกัด
ด้วยแอลกอฮอล์ 70-95% ทำการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 0 จึงนำสารที่กรองได้ไปทำการระเหยตัวทำ
ละลายแอลกอฮอล์ เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบที่แห้งเก็บไว้ทำการทดสอบฤทธิ์ต่อการสลบปลา ส่วนอีก 0.5
มิลลิกรัม ส่งไปทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสำคัญด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปคโตร
สโคปี (GC-MS) ต่อไป

35 3. กระบวนการอัดเม็ดแคลลัสกานพลู โดยทำการชั่งแป้งข้าวโพด 15-20 กรัม เตรียมสารทวิน 80 (Tween 80)
เป็น ตัวทำละลาย 0.5-1% น้ำกลั่น และสารสกัดดอกกานพลู 50-100 ส่วนในล้านส่วน (ppm) นำส่วนผสม
ทุกอย่างมาผสมให้กลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปอัดเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ดด้วยมือ จึงนำไปอบให้แห้ง
ด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4-6 ชั่วโมง เก็บใส่ขวด
ทึบแสง ที่ผ่านการทำความสะอาดเรียบร้อยแล้ว

4. การนำไปใช้ในการสงบประสาทและการพักปลา โดยการนำแคลล์สแกนพลูอัดเม็ดมาทำการสลบปลาขนาดความยาว 5-8 เซนติเมตร และการฟื้นสลบของปลาตก ในชุดทดสอบที่บรรจุน้ำขนาด 1 ลิตรต่อปลา 1 ตัว ทำการทดสอบชุดละ 5 ชั่วโมง เพื่อพักปลาให้อยู่ในระยะสงบนิ่ง (Sedative activity) พร้อมบันทึกระยะเวลาในการสงบนิ่ง จึงนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบข้อมูลทางสถิติทดสอบด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปแบบสถิติ คอลแพ็คเก็ทฟอร์เดอะโซเซียลไซน์ (SPSS) ซึ่งเป็นการสังเกตอาการของปลาในระดับต่าง ๆ ดังนี้ อาการเคลื่อนไหวช้า การสงบนิ่ง และการสลบ จึงทำการฟื้นจากอาการนิ่ง การเคลื่อนไหวช้า จนว่ายน้ำเป็นปกติ ด้วยการเติมออกซิเจนให้แก่ลูกปลา จึงพักปลาเพื่อประโยชน์ต่อการอนุบาลลูกปลา และสัตว์น้ำโดยปลอดภัย

วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด

- 10 ดังได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

