

2-phenoxyethanol 對點帶石斑苗之麻醉

摘 要

不同濃度的 2-phenoxyethanol 對石斑苗的麻醉，不論大小型石斑苗，麻醉誘導時間皆隨著濃度增加有下降的趨勢，但麻醉誘導時間下降至濃度 700 ppm 即達飽和，且與濃度為 800 ppm 之組無顯著差異。在 200 ppm 時，大小型石斑苗 70% 都無法在 30 分內達到尾部完全停止擺動。小型石斑苗恢復時間以濃度為 300 ppm 組的時間較長，且與各濃度組間有顯著差異；大型石斑苗則以濃度為 400 ppm 組的時間最長。24 小時毒性實驗結果發現，小型石斑苗在濃度為 100 ppm 以上開始死亡，大型石斑苗則在 150 ppm 以上才有死亡現象發生，兩者的半致死濃度 (LC_{50}) 分別為 185 及 232 ppm。石斑苗暴露於空氣中之死亡以小型石斑苗最嚴重，在空氣中 15 分鐘後，死亡率已達 50%，而大型石斑苗暴露 20-30 分鐘之死亡率約 30%。

關鍵詞：2-phenoxyethanol，點帶石斑，麻醉

水產養殖上使用麻醉劑之主要目的約有兩種⁽¹⁾，一是以高濃度快速使魚體失去活動能力，俾進行各種處理，如生物測定、人工授精、外科手術或其他的實驗等；另一為低濃度的使用以降低魚類代謝速率，減少氧氣消耗及含氮廢物的產生⁽²⁾，常應用在活魚運輸的過程中，藉以提高輸送魚類的存活率。

石斑魚苗之輸送，除一般魚類於運送流程中會有的問題外，還常因運送前馴化之斷食及其大吃小的習性，容易於運輸過程中發生殘食現象，導致嚴重損失。為了減少運送成本及提高活存率，使用麻醉劑降低其代謝速率，防止水質惡化與殘食行為之發生，不失為一種可行的方法。目前，在魚類進行各種實驗操作或運輸時，2-phenoxyethanol (又稱 Ethylene glycol monophenyl ether，分子量 138.16；以下簡稱 2-PE)，是一種常用的麻醉劑 (Anesthetic)，具有麻醉誘導時間 (Induction time) 與恢復時間 (Recovery time) 短、恢復後死亡率低、並有殺菌能力及價格低廉等優點^(3,4)，適合被選為石斑苗之運輸用。為了瞭解其運用在石斑苗麻醉及活魚輸送時添加的濃度，除了進行不同濃度與毒性下對魚體的反應試驗，並探討經麻醉後，魚體在不動狀

態下，於空氣中能否維持較長生命力，希望有助於日後石斑苗活魚的輸送。

材料與方法

一、材料

本實驗所使用的點帶石斑 *Epinephelus coioides* 為本所台南分所自行繁殖培育之石斑苗。試驗前，先撈捕於室內 290 公升之塑膠桶內，馴化二至三日 (海水鹽度 34-35 ppt，水溫 29-30 °C)。馴化期間，未予餵食。魚體有大小兩種體型，小型石斑苗體長 (全長) 為 26.35 ± 0.29 mm，體重為 0.275 ± 0.010 g；大型石斑苗體長則為 43.67 ± 0.54 mm，體重 1.272 ± 0.052 g。本實驗所使用之 2-PE 純度為 99%，由德國 Ferak 藥廠所製造。

二、方法

(一)、不同濃度之麻醉誘導及恢復時間

在含有 800 cc 海水之 $22 \times 11.5 \times 7$ cm³ 塑膠盒內添加 2-PE，濃度間隔為 100 ppm，由 200 至 800

ppm 共 7 組濃度。採取一次一尾實驗魚的方式置入麻醉桶內，觀察其行為變化，待魚體麻醉至尾部完全停止擺動時，取出並記錄麻醉誘導時間。略加沖洗後，改置另一含有乾淨海水之塑膠盒中恢復，俟其行為恢復至可自由游動後，記錄恢復時間，每組 8 尾。麻醉及恢復期間，水桶內均不打氣。實驗所得數據，以變方分析 (ANOVA) 檢測，若達 5% 顯著差異，則以 Tukey's honestly significant difference test 加以檢定⁽⁵⁾。最低合適麻醉濃度 (Optimal anesthetic concentration) 為魚體能在 3 分鐘內麻醉，5 分鐘內恢復之最低濃度⁽⁶⁾。

(二)、2-PE 對石斑苗之 24 小時毒性

以 24 公升方形塑膠桶內裝 10 公升海水，加入 2-PE 濃度為 0、50、100、150、200、250、300、400 ppm 共 8 組，採雙重複。每桶置 10 尾石斑苗，待 24 小時後，計算各桶內石斑苗死亡率。鎮靜濃度 (Sedative concentration) 為魚體經麻醉環境 24 小時後，再於清水中恢復 24 小時，未有死亡的濃度⁽⁷⁾。半致死濃度 (Median lethal concentration, LC₅₀) 乃依據 Finney⁽⁸⁾之 probit 法，且利用 BASIC

程式計算求出⁽⁹⁾。

(三)、2-PE 對石斑苗暴露空氣中之影響

參考不同濃度之麻醉試驗結果，石斑苗先以 400 ppm 之 2-PE 麻醉 2 分鐘，再將魚置於以海水浸濕之面紙上，直接暴露於空氣中，在 5、10、15、20、25、30 分鐘時，分別將暴露於空氣中之石斑苗再放回打氣之海水中復甦，經 2 小時後，計算每時間點之石斑苗死亡率。對照組之石斑苗則不經麻醉直接撈出馴化桶置於浸濕海水之面紙上，暴露於空氣中 15、20、25、30 分鐘時，再分別將魚放回打氣之海水中復甦，經 2 小時後，計算每時間點之死亡尾數。試驗皆採雙重複每組 10 尾魚。

結果

一、不同濃度的 2-PE 處理實驗

不同濃度的 2-PE 對石斑苗的麻醉誘導時間及恢復時間如 Table 1 所示。

Table 1. The induction time and recovery time caused by different concentration of 2-phenoxyethanol in grouper. Mean±SEM, n=8.

2-PE concentration (ppm)	Induction time (min)	Recovery time (min)
Small size (26.35±0.29 mm)		
200	*	-
300	3.68±0.15 ^a	2.15±0.12 ^a
400	2.12±0.20 ^b	1.17±0.13 ^b
500	1.46±0.13 ^c	1.20±0.07 ^b
600	0.98±0.09 ^d	1.38±0.13 ^b
700	0.70±0.04 ^d	1.52±0.1 ^b
800	0.69±0.05 ^d	1.42±0.10 ^b
Large size (43.67±0.54 mm)		
200	*	-
300	3.75±0.22 ^a	1.71±0.08 ^{bcd}
400	2.03±0.14 ^b	2.07±0.11 ^a
500	1.37±0.08 ^c	1.47±0.08 ^d
600	1.12±0.06 ^c	1.76±0.11 ^{bc}
700	0.75±0.03 ^d	1.70±0.12 ^{bcd}
800	0.74±0.01 ^d	1.99±0.09 ^{ab}

Remark : 1. *Both small size and large size grouper almost have 70% could not reach anesthetic stage in 30 minutes. °

2. The same superscripts are not significantly different (p>0.05).

不論大小體型，之石斑苗，在 200 ppm 時，被麻醉效果不明顯，大部份都無法在 30 分內達到尾部完全停止擺動。之後，大抵上隨著 2-PE 濃度上升，麻醉誘導時間有下降的趨勢，在 400 ppm 以上時，麻醉誘導時間均少於 3 分鐘，然麻醉誘導時間下降至濃度 700 ppm 即達到飽和，且與 800 ppm 之組無顯著差異。大小體型石斑苗恢復時間均在 3 分鐘內，對小型石斑苗言，300 ppm 組的時間最長為 2.15 分鐘，且與各濃度組間有顯著差異，而在大型石斑苗，則是以 400 ppm 之組的 2.07 分鐘較長。由上述之麻醉誘導時間及恢復時間顯示，濃度為 400 ppm 以上皆能作為兩石斑苗之麻醉濃度。

二、石斑苗在 2-PE 中之 24 小時毒性實驗

大小型石斑苗在 2-PE 各濃度中 24 小時之死亡率，小型石斑苗在 100 ppm 以上即開始有死亡，濃度為 200 ppm 之死亡率則超過 50%，300 ppm 以上無活存者；而大型石斑苗要在濃度為 150 ppm 以上，才開始有死亡，250 ppm 之死亡率超過 50%，400 ppm 時無活存者。利用對數濃度與 Probit 死亡率之相對關係 (Fig. 1)，計算兩者的半致死濃度 (LC_{50}) 分別為 185 及 232 ppm。

由不同濃度與毒性實驗得知，2-PE 對不同體型石斑苗之濃度比較 (Table 2)，最低合適麻醉濃度兩者無差異且皆為 400 ppm，24 小時之安全鎮靜濃度與半致死濃度，大型石斑苗都比小型石斑苗高出約 50 ppm。

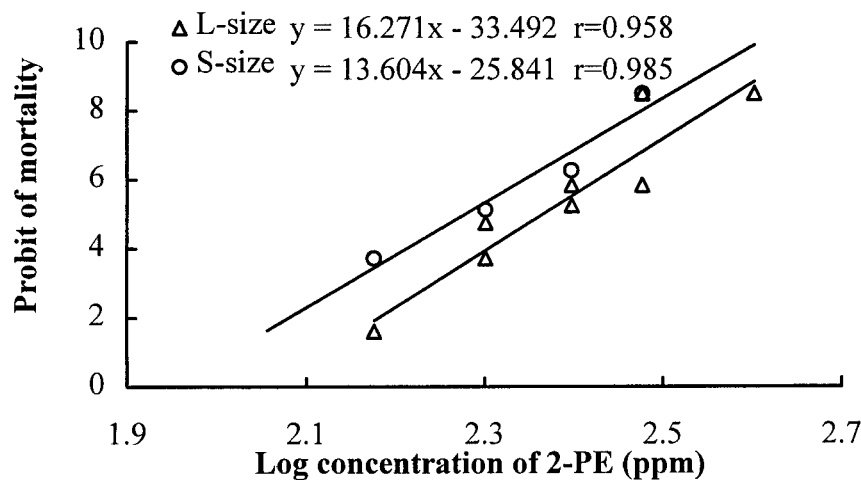


Fig. 1. Relationship between probit of mortality and log 2-phenoxyethanol concentration (ppm) in juvenile grouper exposed for 24 hours.

Table 2. The optimal anesthetic concentration, 24 hours sedative concentration and 24 h LC_{50} (95% confidence limits) of grouper calculated from 2-phenoxyethanol treated.

Conc. (ppm) / Size	Small size	Large size
	26.35±0.29 mm	43.67±0.54 mm
Optimal anesthetic conc.	400	400
24 h sedative conc.	100	150
24 h LC_{50}	185	232
(95% confidence limits)	(174.5 - 195.9)	(224.9 - 239.5)

三、2-PE 對石斑苗暴露空氣中死亡之影響

石斑苗暴露於空氣中之死亡率 (Fig. 2)，未經麻醉處理之石斑苗，不論大小體型在空氣中暴露 30 分鐘內其死亡率皆很低，大型石斑苗未見死亡，只有小型石斑苗在 25 及 30 分鐘時有 10%

死亡率。經麻醉處理之石斑苗，除 5 分鐘組及大型石斑苗 10 分鐘組沒有死亡外，其餘各組皆較對照組高。其中，又以小型石斑苗死亡情形最嚴重，在空氣中暴露 15 分鐘時，死亡率已達 50%，而大型石斑苗暴露 20-30 分鐘之死亡率約都為 30%。

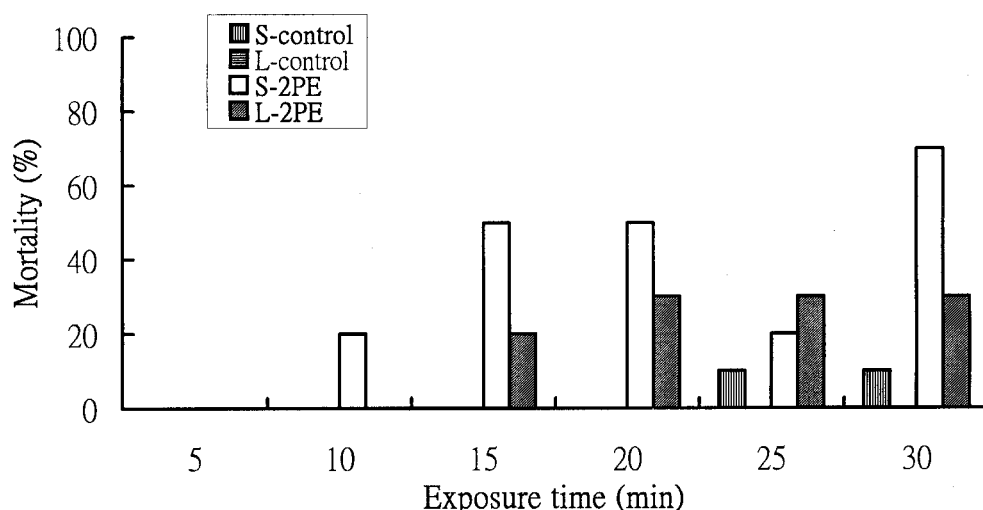


Fig. 2. The mortality of juvenile grouper directly exposed to air in different time.

討論

爲了考慮容易觀察及實際操作方便，本試驗除參照 Schoettger & Julian⁽¹⁰⁾之麻醉分期外，還以實驗魚體實際進入麻醉環境後至魚體尾部不動，且置回恢復環境後，實驗魚尚可恢復來修正麻醉狀態，應用此種麻醉狀態有利於測量石斑苗的各項參數及麻醉誘導時間。由實驗顯示，隨著 2-PE 濃度昇高，麻醉誘導時間漸減，此情形在虹鱔⁽⁴⁾、鱈魚⁽¹¹⁾、黃錫鯛⁽¹²⁾、金魚⁽¹³⁾及黑鯛⁽¹⁴⁾等均可見，此可能是因爲 2-PE 濃度愈高，單位時間內進入被麻醉魚體內的麻醉劑量也較高，在魚體內會較快達到被麻醉所需的臨界濃度 (Critical concentration)。因此，魚體會較快被麻醉⁽¹⁵⁾。另由上述魚種之恢復時間也可看出，恢復時間與 2-PE 濃度間不一定有明顯的線性關係^(4,11,14)，這在本實驗中亦有同樣現象。考慮麻醉誘導時間及恢復時間，Marking and Meyer⁽⁶⁾認爲，一種

應用在水產上的理想麻醉藥物應符合時間上的要求，且能在 3 分鐘內麻醉，5 分鐘內恢復爲最佳。對石斑苗而言，濃度爲 400 ppm 是符合上述條件的最低 2-PE 濃度。

麻醉劑因爲具有降低魚類代謝速率，減少氧氣消耗及毒性物質累積等功能，因此，常被添加在活魚運輸過程中。Guo and Chen⁽¹⁶⁾發現，2-PE (220 ppm) 添加於運送熱帶魚的運魚袋內時，在降低耗氧及減緩水質惡化方面，比其他種類之麻醉劑 (MS-222, Quinaldine sulfate and Metomidate) 有更好的效果。至於添加濃度，應以使魚停留在鎮靜狀態且未有死亡之濃度爲佳⁽⁷⁾。依Takashima⁽⁷⁾的調查，2-PE 對許多魚類的 24 小時鎮靜濃度多半在 170-300 ppm 之間，本實驗在大小型石斑苗所得之 2-PE 鎮靜濃度，分別爲 150 及 100 ppm，比上述濃度略低。我們也由實驗得知，石斑苗的 24 小時半致死濃度分別爲 232 及 185 ppm，以大型石斑苗較高。有

關 2-PE 對魚類的毒性，知道的並不多，就鎮靜濃度與半致死濃度，本實驗都以大型石斑苗有較高容忍度顯示，2-PE 對石斑魚苗的毒性濃度可能與魚體大小有關。

石斑苗暴露於空氣中之情形，雖然未麻醉魚體在暴露空氣期間較會掙扎，似乎應該較容易死亡，但結果顯示，不論魚體大小都以經 2-PE 麻醉處理比未麻醉處理魚體死亡嚴重，而且不能在空氣中暴露過久，否則隨時間增加死亡率急速變大，此與一般認為魚體經麻醉後，在魚體不動狀態下更能維持較長生命力大不相同。此一現象可能係受限於魚體對麻醉藥的排除方式所致，通常麻醉藥作用在魚體身上時，以 2-PE 對虹鱒的麻醉為例⁽¹⁷⁾，其由鰓進入後，很快地散佈在腦、肝、腎及膽囊中，其中腦部又以小腦累積濃度最高，於清水恢復時主要也透過鰓、腎的排除及經由代謝作用去除。雖麻醉藥在體內的半衰期 (Half life) 都不長^(17,18,19,20)，然而，一旦魚體離開水中，鰓功能大減，對麻醉藥的排除方式就無法順利進行，2-PE 存在各組織中，尤其是肝、腎、腦和吸收很快的小腦，此時就無法順利的排除，反而因時間延滯而加速組織受損或失去功能造成死亡。由於 2-PE 麻醉對魚類之毒性尚不明，Umehara et al.⁽²¹⁾曾提到，2-PE 會造成虹鱒鰓表皮細胞腫大、肝細胞肥大、血紅素值和血容積比 (Hemocrit, HCT) 變小等，但是否與此致死機制有關，則有待深入探討。

謝辭

本研究得力於台南分所同仁王村藤及張丁仁兩位先生鼎力協助，行政院農業委員會經費支持 (計畫編號為 86 科技-1.12-漁-03)，及其他未具名審查者提供寶貴意見，謹此誌謝。

參考文獻

1. Itazawa, Y. and T. Takeda (1989) Anesthesia of fish I. Anesthesia and respiration 1. Fish. Res., **8**(2): 41-44.
2. Piper, R. G., I. B. McElwain, L. E. Orme, J. P. McCraren, L. G. Fowler and J. R. Leonard (1982) Fish Hatchery Management: transportation of live fishes. United States Department of the Internal Fish and Wildlife Service. Washington DC, U. S. A., 348-371.
3. Gilderus, P. A. and L. L. Marking (1987) Comparative efficacy of 16 anesthetic chemicals on rainbow trout. N. Am. J. Fish. Manage., **7**: 288-292.
4. Takashima, N., H. Kasai, H. Asakawa and Y. Yamada (1982) 2-phenoxyethanol as an anesthetic for fish. Suisanzoshoku, **30**: 48-51. (in Japanese)
5. Zar, J. H. (1984) Biostatistical analysis. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, U. S. A., 162-205.
6. Marking, L. L. and F. P. Meyer (1985) Are better anesthetic needed in fisheries. Fisheries, **10**(6): 2-5.
7. Takashima, F. (1989) Anesthesia of fish II. Practice of anesthesia 1. Fish. Res., **8**(4): 50-53. (in Japanese)
8. Finney, D. J. (1971) Probit analysis. 3rd edition, Cambridge University Press, London, 333 pp.
9. Trevors, J. V. and C. W. Lusty (1985) A basic microcomputer program for calculating LD50 values. Water Air Soil Pollut., **24**: 431-442.
10. Schoettger, R. A. and A. M. Julian (1967) Efficacy of MS-222 as an anesthetic on four salmonids. U.S. Fish. Wildl. serv. Invest. Fish. Control, **13**: 1-15.
11. Mattson, N. S. and T. H. Riple (1989) Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gradus morhua*) in Comparison with benzocaine, MS-222, chlorobutanol and 2-phenoxyethanol. Aquaculture, **83**: 89-94.
12. 許晉榮, 葉信利, 朱永桐, 丁雲源 (1994) 2-phenoxyethanol 對黃鰱的麻醉作用. 水產研究, **2**(2): 41-49.
13. Weyl, O., H. Kaiser and T. Hecht (1996) On the efficacy and mode of action of 2-phenoxyethanol as an anesthetic for goldfish, *Carassius auratus* (L.), at different temperatures and concentrations. Aquacult. Res., **27**: 757-764.
14. 許晉榮, 楊家禎, 葉信利 (1996) 2-phenoxyethanol 對黑鯛血紅素及血糖值的影響. 臺南水試研報第壹號, 25-34.
15. Oikawa, S., T. Takeda and Y. Itazawa (1994) Scale effects of MS-222 on a marine teleost porgy *Pagrus major*. Aquaculture, **121**: 369-379.
16. Guo, F. C. and T. W. Chen (1995) Effects of anesthetics on the water parameters in a simulated transport experiment of platfish *Xiphophorus maculatus* (Günther). Aquacult. Res., **26**: 265-271.
17. Imamura-Kojima, H., F. Takashima and T. Yoshida (1987) Absorption, distribution and excretion of 2-

- phenoxyethanol in rainbow trout. Nippon Suisan Gakkaishi, **53**: 1339-1342. (in Japanese)
18. Ikeda, Y., H. Ozaki and Y. Sekizawa (1974) Absorption, distribution and excretion of ^3H -2-amino-4-phenylthiazole, a piscine anesthetic, in carp and crucian carp. Nippon Suisan Gakkaishi, **40**: 339-350.
19. Allen, J. L. (1988) Residues of benzocaine in rainbow trout, largemouth bass, and fish meal. Prog. Fish. Cult., **50**: 59-60.
20. Houston, A. (1990) Blood and circulation. In Methods for fish biology, (R. C. Schreck and P. B. Moyle eds.). Am. Fish. Soc., Bethesda, U. S. A., 273-334.
21. Umehara, M., K. Saki and F. Takashima (1986) Histopathological and hematological studies on the effects of sustained anesthesia in rainbow trout. Suisanzoshoku, **34**: 185-191. (in Japanese)

Shinn-Lih Yeh, Jinn-Rong Hseu, Yeong-Torng Chu
and Yun-Yuan Ting

Tainan Branch, Taiwan Fisheries Research
Institute, 4 Haipu, Chicu 724, Taiwan.

(Accepted 26 June 1996)



The Anesthetic Effect of 2-phenoxyethanol in Juvenile Grouper *Epinephelus coioides*

Abstract

The anesthetic induction time of 2-phenoxyethanol to juvenile grouper *Epinephelus coioides* decreased when the concentration of 2-PE becomes high from the range 300 to 700 ppm. The recovery time of small size grouper was the longest at 300 ppm of 2-PE concentration, and 400 ppm in large size grouper. We calculated three application concentrations in juvenile grouper for 2-PE treated. There included the optimal anesthetic concentration was 400 ppm in both size groupers. Twenty-four hour's sedative concentrations was 100 and 150 ppm, and 24 h LC₅₀ were 185 and 232 ppm of small size and large size grouper. The mortality of S-2PE grouper is begin over 50% when directly exposed to air in 15 minutes. The large size grouper (L-2PE) all below 30 % in 20-30 minutes air exposed. In each size control grouper, their mortality is all below 10% during 30 minutes exposed to air.

Keywords: 2-phenoxyethanol, *Epinephelus coioides*, Anesthetic response