

## **Neilikkaöljy – uusi vaihtoehto kalojen nukutukseen**

Petri Hoskonen ja Juhani Pirhonen

Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos, kalatalouden osasto

Kalanviljelyssä ja kalabiologisissa tutkimuksissa on oleellista pystyä käyttämään nukutusaineita tehokkaasti ja oikein. Elävätkin kalat saadaan nukuttamalla tilaan, jossa ne ovat liikkumattomia, tajuttomia ja myös niiden refleksitoiminta on lakannut. Tällöin kalojen käsittely on helpompaa ja kalojen stressaantuminen ja vahingoittuminen vähäisempää. Altistus nukutusaineelle voi aiheuttaa kalalle stressiä, mutta nukutus on silti yleensä hyödyllinen toimenpide, sillä se suojelee kalaa mahdolliselta vahingoittumiselta ja vakavammilta stressitekijöiltä käsittelyiden aikana. Yleensä kalat nukutetaan esimerkiksi lypsyn, rokotuksen, yksilömittausten tai merkinnän yhteydessä. Pitkäkestoisten kalakuljetusten yhteydessä voidaan käyttää nukutusaineita pieninä pitoisuuksina kalojen rauhoittamiseksi ja aineenvaihdunnan hidastamiseksi. Suomessa kalojen rauhoittaminen on harvoin tarpeellista, koska vedet ovat viileitä ja kuljetusmatkat yleensä lyhyitä.

### **Nukutus kylvettämällä**

Yleisimmin käytetty nukutusmenetelmä on kalan kylvettäminen nukutusaineliuoksessa. Kalan hengittäessä nukutusaineliuos huuhtelee kalan kiduksia, ja nukutusaineen vaikuttava ainesosa siirtyy kidusten valtimoihin ja verenkierron mukana vaikutusalueelleen keskushermostoon. Nukutusainetta voi imeytyä kalan verenkiertoon myös ihon kautta. Nukutuksen syvyys riippuu nukutusaineen vaikuttavan ainesosan pitoisuudesta keskushermostossa, mikä taas riippuu käytetystä nukutusaineen pitoisuudesta ja altistusajasta. Helppoja tai nopeita toimenpiteitä varten riittää usein kalojen kevyt nukutus, jolloin virkoaminen on nopeampaa.

Kun nukutetulle kalalle on tehty tarvittavat toimenpiteet, se siirretään virkoamaan puhtaaseen veteen. Virkoamisvaiheessa nukutusaine ja siitä kalan elimistössä syntyneet aineenvaihduntatuotteet poistuvat pääosin kidusten kautta, ja vähäisemmässä määrin myös ihon tai munuaisten kautta. Kaikkien toimenpiteiden aikana on huolehdittava, että kalan kidukset ja iho pysyvät kosteina ja että nukutus- ja virkoamisaltaissa riittää happea. Jos käytettävissä ei ole ilmastuslaitteita, esimerkiksi maasto-olosuhteissa, on nukutusaineliuos tehtävä riittävän usein uudelleen ja myös virkoamisvesi vaihdettava riittävän useasti.

Nukutusaineina kaloille on käytetty kymmeniä erilaisia kemikaaleja ja kaasuja. Useimpiin niistä liittyy kuitenkin riskejä tai ongelmia, jotka rajoittavat niiden käyttöä. Yleisessä käytössä olevia nukutustapoja kaloille onkin vain muutama. Käytettävän nukutusaineen valintaan vaikuttavat useat eri tekijät: 1) voimassaolevat säädökset, 2) aineen saatavuus, 3) tehokkuus suhteessa hintaan, 4) käytön helppous, 5) turvallisuus käyttäjälle, kohdekalalle ja ympäristölle sekä 6) tutkimuksen luonne tai aineen käyttötarkoitus. Suomessa virallisesti tuotantoeläimille hyväksytyt nukutusaineet kalojen kohdalla ovat MS-222, bentsokaiini ja neilikkaöljy; millään niistä ei ole Suomessa virallista varoaikaa.

### **MS-222 ja bentsokaiini**

MS-222 on maailmanlaajuisesti yleisimmin käytössä oleva kalojen nukutusaine. Useissa maissa MS-222:lla nukutettuja kaloja on kuitenkin pidettävä karanteenissa varsin pitkiäkin aikoja ennen käyttöä ihmisravinnoksi tai vapautusta luonnonvesistöihin. Esimerkiksi Yhdysvalloissa karanteeniaika on kolme viikkoa. MS-222:n valmistaja suosittelee kahden

viikon varoaikaa elintarvikkeeksi menevälle kalalle. MS-222:n saatavuus voi olla ongelmallista; Suomessa sitä saa ostaa vain Lääkelaitoksen erikoisluvalla. MS-222 on lisäksi kallis (n. 1000 €/kg) ja luultavasti myös karsinogeeninen nukutusaine. Bentsokaiini on kemialliselta rakenteeltaan MS-222:n kaltainen ja myös sen ostoon tarvitaan resepti. Se on kuitenkin MS-222:ta halvempi nukutusaine ja sitä käytetään yleisesti varsinkin kalanpoikasten nukutuksissa. Sekä MS-222 että bentsokaiini ovat hyvin rasvaliukoisia, joten vanhoilla tai mätiä sisältävillä kaloilla virkoamisajat voivat olla pidentyneitä. Perinteisiin nukutusaineisiin liittyvien ongelmien vuoksi kalanviljelyssä ja kalabiologisessa tutkimuksessa olisi tarvetta uudelle, ihanteellisen nukutusaineen ominaisuudet paremmin täyttävälle nukutusaineelle. Viime vuosina suurta mielenkiintoa on herättänyt erityisesti neilikkaöljy ja tutkimustuloksia neilikkaöljyn soveltuvuudesta eri kalalajien nukkuttamiseen julkaistaan useita kertoja vuodessa.

### **Neilikkaöljy**

Neilikkaöljy on luonnontuote, jota saadaan tisleenä neilikkapuiden (*Eugenia caryophyllata* ja *E. aromatica*) rungosta, lehdistä ja nupuista. Neilikkaöljyn tärkein nukutuksissa vaikuttava ainesosa on eugenol, jota se sisältää noin 70-95 %. Eugenol ja siitä muodostuneet aineenvaihduntatuotteet häviävät nopeasti ihmisen verenkierrosta ja kudoksista, eikä niitä pidetä myrkyllisinä tai karsinogeenisina. Neilikkaöljyä onkin käytetty vuosikymmenien ajan mm. kipulääkkeenä hammaslääketieteessä ja paikallisiin särkyihin sekä mausteena ruoissa. Luonnontuotteena neilikkaöljy ei aiheuta ympäristöriskiä ja sen voi olettaa hajoavan nopeasti luonnossa. Neilikkaöljyä on helposti saatavilla moneen muuhun nukutusaineeseen verrattuna: sitä saa reseptivapaasti esimerkiksi luontaistuotekaupoista.

Nukutusaineena neilikkaöljy on tehokas ja helppokäyttöinen, mutta virkoamisajat voivat olla melko pitkiä muihin yleisesti käytettyihin nukutusaineisiin verrattuna. Neilikkaöljy on edullinen (n. 100 €/litra) nukutusaine. Neilikkaöljyä on käytetty nukutusaineena yleensä pitoisuuksissa 25-100 mg/l kalalajista ja halutusta nukutuksen syvyydestä riippuen. Nukahdusvaiheessa kalat ovat yleensä hyvin rauhallisia moniin muihin nukutusaineisiin verrattuna. Liian suurina nukutuspitoisuuksina käytettäessä kaloilla voi kuitenkin ilmetä hyperaktiivisuutta, esimerkiksi pään ravistelua. Neilikkaöljy on turvallinen nukutusaine kaloille, ja sen turvakerroin on varsin suuri. Neilikkaöljyllä nukutettujen kalojen on todettu ruokailevan, uivan ja käyttäytyvän normaalisti pian nukutuksen jälkeen. Tietyn kalalajin nukahdus- ja virkoamisajoissa neilikkaöljyllä nukutettaessa on vaihtelua eri tutkimusten välillä, mikä johtunee koejärjestelyjen erilaisuudesta. Neilikkaöljyn voimakkaasta ja helposti tarttuvasta hajusta johtuen on mahdollista, että se ei sovellu elintarvikkeeksi tarkoitettujen kalojen lopetukseen ennen teurastusta.

Neilikkaöljyn suurimmaksi heikkoudeksi mainitaan sen valoherkkyys, joten sitä tulee säilyttää tummassa pullossa suojassa valolta. Neilikkaöljy ei liukene kunnolla alle 15 °C veteen, joten liukenemisen parantamiseksi neilikkaöljy liuotetaan ennen käyttöä puhtaaseen etanoliin. Etanolilla ei ole todettu mitään vaikutusta kaloihin niillä pitoisuuksilla, joille kalat altistuvat neilikkaöljynukutusten yhteydessä. Markkinoilla on myös neilikkaöljystä kehitettyjä kaupallisia kalojen nukutusvalmisteita, jotka voidaan sekoittaa suoraan makeaan tai suolaiseen veteen ilman liuottimia.

### **Pro gradu –tutkimus**

Jyväskylän yliopiston bio- ja ympäristötieteiden laitoksella on juuri valmistunut pro gradu –tutkielma neilikkaöljyn sopivuudesta yleisimpien suomalaisten viljelykalojen eli kirjolohen, järvitaimenen, merilohen ja siian nukutus- ja rauhoitusaineeksi. Vertailun

vuoksi tutkimuksessa olivat mukana myös särki ja ahven. Tutkimus tehtiin yhteistyössä RKTL:n Laukaan kalantutkimus ja vesiviljely –yksikön kanssa. Olvi -säätiö tuki tutkielman valmistumista myöntämällään stipendillä.

Tutkimuksessa neilikkaöljy todettiin toimivaksi ja turvalliseksi nukutusaineeksi kirjolohelle, järvitaimenelle, merilohelle, siialle, ahvenelle ja särjelle tietyin rajoituksin. Kuolleisuutta havaittiin nukutettaessa ahvenia kylmässä vedessä (5 °C) 80 mg/l tai suuremmilla pitoisuuksilla. Lämpimämmässä vedessä (10-20 °C) nämäkin pitoisuudet olivat turvallisia. Yksikesäisten siikojen nukuttaminen pitoisuudella 40 mg/l aiheutti kuolleisuutta. Yksivuotiaille ja vanhemmille siiolle se ja suuremmatkin pitoisuudet olivat turvallisia. Jokin pienempi pitoisuus (esimerkiksi 10-20 mg/l) voisi olla turvallinen myös yksikesäisten siikojen nukuttamiseen, mutta tämä vaatii vielä lisäselvityksiä. Toistuvat altistukset neilikkaöljylle eivät aiheuttaneet kuolleisuutta millään em. lajilla. Peräkkäisinä päivinä tehdyissä nukutuksissa nukahdus- ja virkoamisajat eivät poikenneet toisistaan, joten kalat eivät herkistyneet neilikkaöljylle.

Neilikkaöljy oli kaikille lajeille tehokas nukutusaine, mutta virkoamisajat olivat etenkin kylmässä vedessä varsin pitkät (kuva 1). Nukahdusvaihe oli lähes poikkeuksetta rauhallinen; siialla ja ahvenella havaittiin kuitenkin hyperaktiivisuutta suurimmilla kokeiluilla pitoisuuksilla. Kalalajien välillä oli merkitseviä eroja nukahdus- ja virkoamisajoissa. Jopa lähisukulaiset merilohi ja järvitaimen erosivat huomattavasti toisistaan. Lämpötilan nousu lyhensi merkittävästi kaikkien lajien nukahdus- ja virkoamisaikoja, mutta vaikutuksen voimakkuudessa oli eroja. Lämpötilan nousu 5:stä 20 °C:een vaikutti voimakkaimmin ahvenen, särjen ja siian nukahdus- ja virkoamisaikoihin (kuva 1). Sekä lajien- että yksilöidenvälinen hajonta nukahdus- ja virkoamisajoissa oli suurempaa 5:ssä kuin 20 °C:ssä. Sopiva nukutuspitoisuus on siis määritettävä kullekin lajille erikseen ja myös veden lämpötila on syytä ottaa huomioon. Tämän tutkimuksen perusteella suositellut nukutuspitoisuudet on esitetty taulukossa 1.

Kalayskilön massan vaikutusta nukahdus- ja virkoamisaikoihin tutkittiin em. lohikaloilla nukuttamalla yksikesäisiä sekä yksi- ja kaksivuotiaita kaloja neilikkaöljyn pitoisuudella 40 mg/l 15 °C lämpötilassa. Kirjolohella suuremmat yksilöt nukahtivat keskimäärin hitaammin kuin pienet ja siialla päinvastoin. Merilohella ja järvitaimenella yksilön koko ei vaikuttanut merkittävästi nukahdusaikoihin. Millään lajilla yksilön koko ei vaikuttanut virkoamisaikoihin.

Neilikkaöljynukutuksen vaikutusta em. lohikaloiden hapenkulutukseen ja fysiologiaan tutkittiin respiometrillä ja bioelektronisella monitorointilaitteella. Vain merilohella nukutuksen jälkeinen hapenkulutus oli merkittävästi suurempaa kuin ennen nukutusta tai yksi vuorokausi nukutuksen jälkeen. Nukutuksella ei todettu mitään käytännössä merkitseviä vaikutuksia kalojen nukutuksen jälkeiseen fysiologiaan.

Neilikkaöljyn soveltuvuutta kalojen rauhoittamiseen tutkittiin simuloimalla kuusi tuntia kestävää kalakuljetusta ja vertaamalla kontrollikaloiden ja rauhoitettujen kalojen hapenkulutuksia. Merilohella, järvitaimenella, särjellä ja ahvenella rauhoitettujen kalojen hapenkulutus kolme tuntia kokeen aloittamisesta oli pienempää kuin kontrollikaloiden, mutta vain ahvenella ero säilyi kokeen loppuun asti. Kirjolohella ja siialla neilikkaöljyrauhoitus ei vaikuttanut hapenkulutukseen. Pitoisuus, joka ei ollut riittävän suuri rauhoittamaan kalaa, toimi vain ylimääräisenä ärsykkeenä ja kohotti hapenkulutusta. Rauhoitettujen kalojen värinsäätelymekanismi ei toiminut normaalisti. Tulosten perusteella näyttää siltä, että neilikkaöljyn käytöstä rauhoitusaineena kuljetuksen aikana ei siis juurikaan olisi hyötyä.

## Yhteenveto

Ensimmäiset raportit eugenolia sisältävien tuotteiden käytöstä kalojen nukutusaineina ovat jo ainakin 30 vuotta vanhoja, mutta vasta viime vuosina neilikkaöljyn soveltuvuutta kalojen nukuttamiseen on alettu tutkia laajemmin. Tästä syystä tutkimustietoa on vielä varsin vähän tarjolla moniin perinteisiin nukutusaineisiin verrattuna. Tämän tutkimuksen ja aiempien julkaisujen perusteella neilikkaöljy on hyvä vaihtoehto kalojen nukutusaineeksi, monessa suhteessa jopa parempi kuin MS-222 tai muut yleisesti käytetyt nukutusaineet. Toki neilikkaöljylläkin on omat heikkoutensa. Vaikka neilikkaöljy onkin tehokas ja nukahdusajat ovat vertailukelpoisia esimerkiksi MS-222:n kanssa, niin virkoamisajat ovat usein selvästikin pidempiä. Neilikkaöljyllä nukutettaessa olisikin käytettävä pienintä vielä riittävän tehokasta pitoisuutta lyhyempien virkoamisaikojen ja suuremman turvakertoimen vuoksi. Kenttätöissä on syytä varmistua myös siitä, että nukutetut kalat ovat vironneet nukutuksesta kunnolla ennen vapauttamista.

Monissa kalanviljely- ja tutkimuslaitoksissa voi olla vaikeaa siirtyä perinteisistä nukutusaineista ja työtavoista uuteen, mutta turvallisenä, tehokkaana, helppokäyttöisenä ja edullisena luonnontuotteena neilikkaöljyn käytön voi uskoa edelleen yleistyvän kun tietoisuus sen anesteettisista ominaisuuksista leviää.

## Kirjallisuutta

Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D. & Soto, C.G. 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 29: 89-101.

Pirhonen, J. & Schreck, C.B. 2003. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO<sub>2</sub> on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 220: 507-514.

Ross, L.G. & Ross, B. 1999. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 2 painos. Blackwell Science ltd. Oxford. 159 s.

Taulukko 1. Suositeltavat neilikkaöljyn nukutuspitoisuudet (mg/l) kirjolohelle, järvitaimenelle, merilohelle, siialle, ahvenelle ja särjelle 5 - 20 °C lämpötiloissa.

	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C
Kirjolohi	80	40	40	40
Järvitaimen	80	40	40	40
Merilohi	80-100	80	80	60
Siika <sup>a</sup>	80	80	80	60
Ahven	40-60 <sup>b</sup>	80	80	60
Särki	120	100	80	60

<sup>a</sup> = neilikkaöljyä ei suositella yksikesäisten siikojen nukuttamiseen  
<sup>b</sup> = nukahtaminen hidasta, mutta suuremmilla pitoisuuksilla kuolleisuuden riski kasvaa

### Nukutus- tai rauhoitusliuoksen valmistus neilikkaöljystä

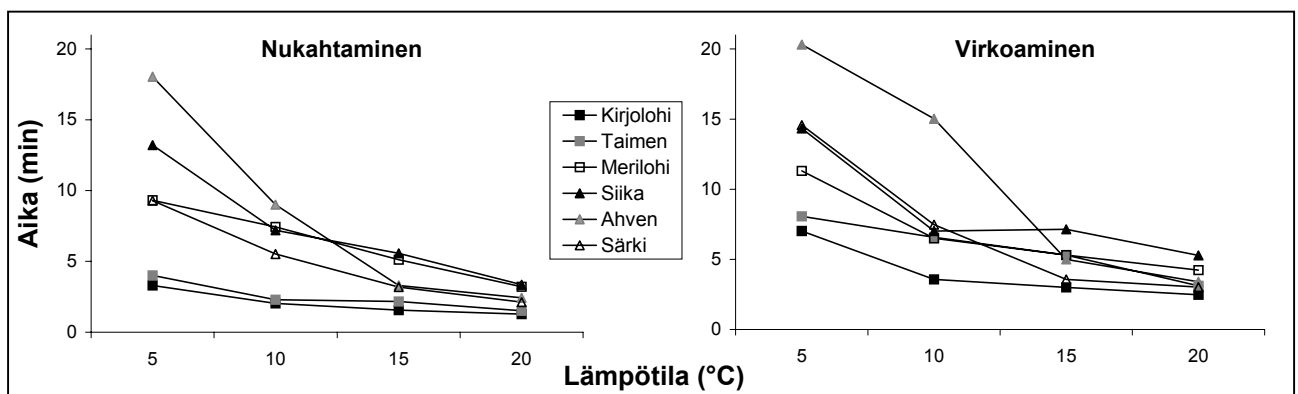
#### Varastoliuoksen valmistus:

Sekoita keskenään huolellisesti yksi osa neilikkaöljyä ja yhdeksän osaa 95 prosenttista etanolia. Säilytä varastoliuosta tummassa pullossa valolta suojassa. Neilikkaöljyn tiheys on noin 1 g/ml, joten 1 ml tätä varastoliuosta sisältää noin 100 mg neilikkaöljyä.

#### Nukutus- tai rauhoitusliuoksen valmistus:

Sekoita huolellisesti nukutusaltaassa olevaan veteen sopiva määrä varastoliuosta. Alla olevassa taulukossa on esitetty varastoliuoksen annostelu millilitroina eri vesitilavuuksiin halutun nukutuspitoisuuden saamiseksi. Varastoliuosta on kätevä annostella sopivan kokoisella lääkeruiskulla.

Vesitilavuus (l)	Haluttu nukutuspitoisuus (mg/l)					
	10	20	40	60	80	100
5	0,5	1	2	3	4	5
10	1	2	4	6	8	10
20	2	4	8	12	16	20
30	3	6	12	18	24	30
40	4	8	16	24	32	40
50	5	10	20	30	40	50
60	6	12	24	36	48	60
70	7	14	28	42	56	70
80	8	16	32	48	64	80
90	9	18	36	54	72	90
100	10	20	40	60	80	100



Kuva 1. Kirjoloheen, järvitaimenen, merilohen, siian, ahvenen ja särjen keskimääräiset nukahdus- ja virkoamisajat neljässä eri lämpötilassa neilikkaöljypitoisuudella 40 mg/l nukutettaessa.