

## บทคัดย่อ

การเพิ่มมูลค่าและใช้ประโยชน์จากเลือดจระเข้มีเพิ่มมากขึ้น แต่ยังคงขาดความรู้พื้นฐานจากงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) รวมถึงส่วนต่างๆ ที่แยกจากเลือดจระเข้ การวิจัยนี้เป็นงานวิจัยในปีที่ 2 ของกรอบระยะเวลาวิจัยทั้งหมด 3 ปี การศึกษาโปรตีโอมของซีรัมจระเข้ ทำการกำจัด Albumin และ Ig G ออกจากซีรัมจระเข้ แล้วแยกชนิดโปรตีนด้วยเทคนิค 2-Dimensional electrophoresis (2DE) ร่วมกับ Mass spectrometry พบว่าตัวอย่างซีรัมแบบสดและที่ผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยความเย็นจัดให้รูปแบบโปรตีนไม่แตกต่างกัน ไม่สามารถกำจัดโปรตีนโมเลกุลใหญ่ออกได้ทั้งหมด ผลจากการศึกษาด้วย 2DE พบ 90 จุดโปรตีน ในช่วง 20 – 200 kDa ที่ pI 3 – 10 (30 จุดโปรตีน อยู่ในช่วงเป็นกรด (acidic) 45 จุดโปรตีน อยู่ในช่วงเป็นกลาง (neutral) 15 จุดโปรตีน อยู่ในช่วงเป็นเบส (basic)) จุดโปรตีนทั้งหมด 16 จุดโปรตีนถูกวิเคราะห์หาชนิดของโปรตีน ด้วยหลักการ MALDI-TOF/MS ผลการศึกษาเหล่านี้เป็นข้อมูลเอกลักษณ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยในด้านโปรตีโอมของซีรัมจระเข้พันธุ์ไทย การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดโดยไม่ทำลายชีวิตจากจระเข้พันธุ์ไทย ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง เป็นงานวิจัยในปีที่ 2 ของกรอบระยะเวลาวิจัยทั้งหมด 3 ปี โดยศึกษาปริมาณเลือดในตัวจระเข้พันธุ์ไทย ที่มีน้ำหนักเฉลี่ย  $22.71 \pm 0.81$  กิโลกรัม จำนวน 30 ตัว พบปริมาณเลือดเฉลี่ย  $598.33 \pm 23.17$  มิลลิลิตร การเจาะเก็บเลือดจากจระเข้ น้ำหนักเฉลี่ย 27 กิโลกรัม ความยาวเฉลี่ย 191 เซนติเมตร หรืออายุประมาณ 4-5 ปี จำนวน 20 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 5 ตัว *กลุ่มควบคุม* เจาะเก็บเลือด 10 มิลลิลิตร ทุกสัปดาห์จำนวน 12 สัปดาห์ *กลุ่มทดลองที่ 1* ดูดเลือดปริมาณ 150 มิลลิลิตร สัปดาห์ที่ 1 และ 12 และเจาะเก็บเลือด 10 มิลลิลิตร สัปดาห์ที่ 2-11 *กลุ่มทดลองที่ 2* ดูดเลือดปริมาณ 150 มิลลิลิตร สัปดาห์ที่ 1 และ 12 และเจาะเก็บเลือด 10 มิลลิลิตร สัปดาห์ที่ 4 และ 8 *กลุ่มทดลองที่ 3* ดูดเลือดปริมาณ 150 มิลลิลิตร สัปดาห์ที่ 1 และ 12 พบว่าจระเข้กลุ่มทดลองที่ 1-3 หลังการเจาะเก็บเลือดดังกล่าว ค่าทางโลหิตวิทยาไม่มีความแตกต่างจากจระเข้กลุ่มควบคุมที่เจาะ 10 มิลลิลิตร ( $p > 0.05$ ) ในทุกช่วงเวลาของการทดลอง แสดงให้เห็นว่าจระเข้สามารถเสริมสร้างเม็ดเลือดได้ดีและเร็ว ผลการตรวจค่าชีวเคมี แสดงให้เห็นว่า การเจาะเลือดปริมาณ 150 มิลลิลิตรหรือประมาณ 25% ของเลือดทั้งหมดในร่างกาย ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพจระเข้ การศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากเลือดจระเข้ไทย ฤทธิ์ต้านเชื้อเอชไอวีของผลิตภัณฑ์จากจากเลือดจระเข้ โดยใช้วิธี SRB กับเซลล์มะเร็ง 4 ชนิด คือ เต้านม (MCF-7) ปอด (COR-L23) ตับ (HepG2) และปากมดลูก (Hela) พบว่าเลือดจระเข้ในส่วนของ Whole blood ซีรัม และพลาสมา (PE) ที่ละลายด้วยตัวทำละลายต่างๆ เช่น PBS, DMSO, 95% Ethanol, 10% HCl และ 10% NaHCO<sub>3</sub> ไม่มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งทั้งสิ้นชนิด โดยค่า IC<sub>50</sub> > 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งตัวอย่าง

เลือดจระเข้ที่ละลายด้วย 10% HCl มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากกว่าตัวอย่างที่เลือดจระเข้ละลายด้วยตัวทำละลายตัวอื่น ส่วนฤทธิ์ต้าน HIV-1 protease และฤทธิ์ต้าน HIV-1 integrase (HIV-1 IN) ไม่มีฤทธิ์ต้าน HIV-1 protease และ HIV-1 integrase ( $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$ ) และตัวอย่างเลือดจระเข้ไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH มีค่า  $EC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$  ส่วนฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยการศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง Nitric Oxide วิธี Griess reagent ตัวอย่างเลือดจระเข้ไม่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ แต่มีการยับยั้งฤทธิ์ต้านการก่อภูมิแพ้ จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ พบว่า ตัวอย่างเลือดจระเข้มีฤทธิ์ต้านการก่อภูมิแพ้ที่ดีที่สุด และการสกัดเลือดจระเข้ควรอยู่ในภาวะกรด การศึกษาผลของซีรัมจากเลือดจระเข้ต่อการงอกใยประสาทในเซลล์เพาะเลี้ยง PC12 และหาปริมาณโปรตีน MEK1 (วิธี Enzyme Immunoassay) โดยใช้ซีรัมจากเลือดจระเข้ 10 ตัว เพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว ทำแห้งด้วยวิธี freeze-dried พบซีรัมแห้งเลือดจระเข้ขนาดความเข้มข้นที่มีผลให้เซลล์ตายร้อยละ 50 ( $IC_{50}$ ) เป็น 25.26 mg/ml ซีรัมแห้งขนาดความเข้มข้น 4 mg/ml มีผลเพิ่มปริมาณเซลล์มากขึ้น และมีผลให้เซลล์งอกใยประสาทได้ร้อยละ  $9.04 \pm 3.42$  ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ให้ nerve growth factor (NGF) 2 ng/ml แต่น้อยกว่ากลุ่มที่ให้ NGF 50 ng/ml ค่าร้อยละการงอกใยประสาทเป็น  $3.05 \pm 1.32$  และ  $14.81 \pm 3.79$  ตามลำดับ (นัยสำคัญ  $p < 0.5$ ) กลุ่มเซลล์ที่มีการงอกใยประสาทนี้ และกลุ่มที่ให้ NGF 50 ng/ml มีการสร้างโปรตีน MEK-1 เพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมเป็นร้อยละ  $204 \pm 28.91$  และ  $253.26 \pm 34.2$  ต่างจากกลุ่มควบคุม (นัยสำคัญ  $p < 0.5$ ) และการศึกษาการผลิตไขมัน กรองเครื่องเทศไขมันต่ำที่มีการเสริมใยอาหารจากสมุนไพรและอินนูลิน และเสริมสารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติง จากเลือดจระเข้ไฮโดรไลเซท การศึกษาชนิดและอัตราส่วนของเครื่องเทศและสมุนไพรพบว่า สูตรที่ได้รับคะแนนการยอมรับสูงที่สุดคือ สูตรที่มีปริมาณกระชายสูงกว่า และมีขมิ้นผงและผิวมะกรูดที่ต่ำกว่าสูตรอื่นๆ เมื่อนำสูตรนี้มาแปรอัตราส่วนมันหมูแข็งและอินนูลินเป็น 5 ระดับ คัดเลือกอัตราส่วนของอินนูลินที่เหมาะสมจากการวัดการเสียน้ำหนักหลังปรุงสุก (cooking loss) ค่าความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability) ค่าสี ค่าลักษณะเนื้อสัมผัส ด้านความแข็ง (hardness) ความยืดหยุ่น (springiness) และความสามารถในการยึดเกาะของตัวอย่าง (cohesiveness) และการประเมินผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส รสชาติ ความชุ่มน้ำ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม พบว่าไส้กรอกไขมันต่ำที่เสริมอินนูลิน 6% ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุด เมื่อแทนไขมันด้วยเลือดจระเข้ไฮโดรไลเซทพบว่า สูตรที่ลดไขมันลงเหลือ 15% ได้รับการยอมรับสูงที่สุด มีน้ำ ไขมัน โปรตีน เส้นใย คาร์โบไฮเดรต และเถ้า 65, 3.5, 16.5, 0.72 และ 7.5 % โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และจากนั้นศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสูตรที่ได้รับคัดเลือก โดยการบรรจุผลิตภัณฑ์ในถุงพลาสติก LDPE ปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคตลอดการเก็บ และสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานกว่า 7 วัน

**คำสำคัญ:** จระเข้ เลือดจระเข้ สัตว์สมุนไพร องค์ประกอบทางเคมี โปรตีน เพปไทด์ เพปไทด์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านเอดส์ มะเร็ง เอดส์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระ ภูมิคุ้มกัน การรักษาบาดแผล ฤทธิ์ต้านเนื้องอก ฤทธิ์ต้านความดัน ผลต่อสมอง ผลิตภัณฑ์จระเข้ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ