รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

แผนงานวิจัยเรื่อง

การวิจัยและพัฒนาเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ

Research and Development of Siamese Crocodile Blood as Food Supplement for Health

(ปีที่ 1 เล่มที่ 1/3)

โดย

นางสาวจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ นายวิน เชยชมศรี นางราตรี ลีละวงค์เทวัญ นางกัลยา อารีย์
นางสาวสิรินดา กุสุมภ์ นางบริสุทธิ์ แสนมโน หาญพานิช นางอรุณพร อิฐรัตน์
นางสาวดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์ นางสาวเยาวดี คุปตะพันธ์ นายเอกวิทย์ ตรีเนตร
นางสาววิภาภรณ์ ณ ถลาง นางบุญเกื้อ วัชรเสถียร และ นางสาวสุวรพร แซ่ลิ้ม

ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
โครงการบัณฑิตศึกษา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ฝ่ายวิจัยโภชนาการและสุขภาพ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ศูนย์การแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทย์สาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2551

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปี พ.ศ. 2551

ขอขอบคุณ รศ. น.สพ. ปานเทพ รัตนากร ศูนย์เฝ้าระวังและติดตามโรคจากสัตว์ป่าสัตว์ต่างถิ่น และสัตว์อพยพ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล จ. นครปฐม ที่ปรึกษาโครงการที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ

และคณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณวิสาชิณี รุ่งทวีชัย ห้างหุ้นส่วนจำกัด วานิไทย และฟาร์มจระเข้รุ่งทวีชัย อ. ดอนตูม จ. นครปฐม ที่ให้การสนับสนุนวัตถุดิบเลือดจระเข้พันธุ์ไทย วัสดุอุปกรณ์ และข้อมูลต่างๆ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างเพื่อการศึกษาในงานวิจัยของแผนงานวิจัยในปีที่ 1 นี้ให้สำเร็จ และบรรลุวัตถุประสงค์ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

ชื่อแผนงานวิจัย การวิจัยและพัฒนาเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ
Research and Development of Siamese Crocodile Blood as Food Supplement for Health

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2551 (แผนงานสนับสนุนการวิจัยรองรับการเปลี่ยนแปลงและพลวัตโลกเพื่อแก้ปัญหาสำคัญของชาติอย่างสมดุลและยั่งยืน)

จำนวนเงิน 3,209,000 บาท (สามล้านสองแสนเก้าพันบาทถ้วน)

ระยะเวลาทำการวิจัย 12 เดือน (ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 – กันยายน 2552)

ชื่อผู้วิจัย

1. นางสาวจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ
   ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
   โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3262
2. นายวิน เชยชมศรี
   ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
   โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3264
3. นางราตรี ลีละวงค์เทวัญ
   สาขาวิชาจุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยา สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก
   มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2926-9710 ต่อ 971
4. นางกัลยา อารีย์
   สาขาจุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยา สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์
   มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ โทรศัพท์ 02-926-9710-1
5. นางสาวสิรินดา กุสุมภ์
   ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
   มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ โทรศัพท์ 02-564-4440 ต่อ 2550
6. นางบริสุทธิ์ แสนมโน หาญพานิช
   สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
   โทรศัพท์ 02-929-9806
7. นางสาวดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์
   ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
   มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2942-8629-35 ต่อ 906

8. นางสาวเยาวดี คุปตะพันธ์
ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2942-8629-35 ต่อ 905
9. นายเอกวิทย์ ตรีเนตร
โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3264
10. นางสาววิภาภรณ์ ณ ถลาง
ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2942-8629-35
11. นางบุญเกื้อ วัชรเสถียร
ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3234
12. นางอรุณพร อิฐรัตน์
ศูนย์การแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
โทรศัพท์ 02-9269749
13. นางสาวสุวรพร แซ่ลิ้ม
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
โทรศัพท์ 02-9269830

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการเพิ่มมูลค่า พัฒนา และใช้ประโยชน์เลือดจระเข้เพิ่มมากขึ้น แต่ยังขาดความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ที่มีอยู่ในเลือด รวมถึงส่วนต่างๆ ที่แยกจากเลือดจระเข้พันธุ์ไทย การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญโดยเจาะเก็บเลือดจากจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) อายุ 2-4 ปี ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากภาคต่างๆ (กลาง ตะวันออก และใต้) พบว่าในเลือดครบโปรตีนมีปริมาณมากที่สุด (87.4 g/100g) รองลงมาคือ ไขมัน (2.4 g/100g) และคาร์โบไฮเดรต (0.6 g/100g) ส่วนในซีรัมพบมีโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ปริมาณ 69.0, 8.2 และ 6.9 g/100g ตามลำดับ โดยในเลือดครบมีโปรตีน ฟอสฟอรัส และเหล็กมากกว่าในซีรัม วิตามินที่พบในเลือดจระเข้ปริมาณมากที่สุดได้แก่ วิตามินซี รองลงมา คือ วิตามินบี2, วิตามินบี6, วิตามินบี1, และ วิตามินบี12 ตามลำดับ วิตามินที่พบปริมาณน้อยที่สุดคือ วิตามินเอ องค์ประกอบทางเคมีในเลือดจระเข้ฯ ที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันเด่นชัด กรดอะมิโนที่พบปริมาณมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ Glutamic acid (9960.25 mg/100g), Leucine (7761.15 mg/100g), Aspartic acid (7538.34 mg/100g), Lysine (7508.79 mg/100g) และ Alanine (5442.63 mg/100g) ตามลำดับ กรดอะมิโนที่พบปริมาณน้อยที่สุด 3 อันดับสุดท้าย ได้แก่ Tryptophan (1006.58 mg/100g), Methionine (1197.69 mg/100g) และ Isoleucine (2054.58 mg/100g) ตามลำดับ การศึกษารูปแบบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ในภาวะที่มีเมอร์เคปโทเอทานอลเป็นสารรีดิวซ์ ที่ 10% (w/v) ของเจลส่วนแยก พบความแตกต่างของรูปแบบโปรตีนจากตัวอย่างเลือดจระเข้ส่วนที่แตกต่างกัน

การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดโดยไม่ทำลายชีวิตจากจระเข้พันธุ์ไทย (*C. siamensis*) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง เจาะเก็บเลือดจระเข้จากแอ่งเลือดดำหลังกระโหลก ปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อตัว และทิ้งมีช่วงห่างของระยะการเจาะเก็บเลือดแต่ละครั้ง ไม่น้อยกว่า 12 สัปดาห์ โดยไม่มีผลกระทบกับการดำรงชีวิตของจระเข้ ซึ่งปริมาณการเจาะเลือดที่เหมาะสมในแต่ละครั้งควรมีการศึกษาต่อไป

การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของเลือดครบแห้ง (FD-WB) และส่วนประกอบของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (ซีรัม (S) และซีรัมแห้ง (FD-S)) โดยใช้เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานและเชื้อรา พบว่า FD-WB (100 mg/ml) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราได้ อีกทั้ง S และ FD-S (100 mg/ml) นั้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ อย่างไรก็ตาม S และ FD-S มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *S. typhimurium* ATCC 13311 และ *P. aeruginosa*

ATCC 27853 ได้ และยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. neoformans* และ *Aspergillus* sp. ได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* แต่อย่างไรก็ตามทั้ง S และ FD-S ไม่สามารถฆ่าเชื้อรา ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าซีรัมสด และซีรัมแห้ง มีศักยภาพในการเป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิดได้

การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันประกอบด้วยภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด (innate immunity) และภูมิคุ้มกันปรับใช้ (adaptive immunity) ซึ่งทำหน้าที่ร่วมกันในการกำจัดจุลชีพที่อาจเป็นอันตรายต่อร่างกาย ในบรรดาเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันที่มีอยู่หลากหลาย แมโครเฟจ (macrophage) และลิมโฟไซต์ (lymphocyte) เป็นเซลล์ที่มีหน้าที่สำคัญในการเป็นศูนย์กลางของการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ จากการศึกษาการกระตุ้นให้เซลล์เหล่านี้ทำหน้าที่อย่างเหมาะสม โดยใช้เลือดจระเข้และส่วนต่างๆ ที่แยกจากเลือดจระเข้ พบว่าซีรัมจระเข้และพลาสมาระเหิดแห้งมีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มประสิทธิภาพการกลืนกินแบคทีเรียและอนุภาค microspheres ของเซลล์ แสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ที่สำคัญน่าจะเป็นส่วนประกอบของน้ำเลือด

แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ (Angiotensin converting enzyme, ACE) เป็นเอนไซม์ที่พบในระบบเรนนิน-แองจิโอเทนซิน มีหน้าที่ในการควบคุมความดันโลหิต สมดุลน้ำและอิเลคโตรไลท์ของร่างกาย การใช้สารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติง (ACE inhibitor) เป็นวิธีหนึ่งที่ได้ผลในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตเปปไตด์ที่สามารถเป็น ACE inhibitor จากเลือดจระเข้ไทย โดยใช้การย่อยด้วยเอนไซม์เปปซินและทริปซินที่สภาวะต่างๆ ผลการศึกษาพบว่า ACE inhibitor ที่มีฤทธิ์สูง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 447.35 µg/ml สามารถผลิตได้จากการใช้เอนไซม์เปปซินย่อยเลือดจระเข้เป็นเวลา 10 ชั่วโมง โดยส่วนของเม็ดเลือดที่แยกมาได้จากเลือดจระเข้ให้ฤทธิ์ที่สูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 404.12 µg/ml จากการศึกษาการจำลองสภาวะการย่อยอาหารในร่างกายมนุษย์พบว่า การรับประทานเลือดจระเข้สามารถผลิต ACE inhibitory peptide ได้เช่นกัน แต่ ACE inhibitory peptide ที่ผลิตได้มีฤทธิ์ต่ำกว่าเปปไตด์ที่ได้จากการใช้เอนไซม์เปปซิน

จากการสังเกตการสมานบาดแผลของผิวหนังจระเข้ภายหลังการต่อสู้กัน จึงได้ทำการศึกษาผลของเลือดจระเข้ที่มีต่อการหายของแผลทั้งผลในหลอดทดลอง และในร่างกาย (*in vitro – in vivo* effect) โดยศึกษาพิษต่อเซลล์ของเลือดจระเข้ (cytotoxicity test) ต่อเซลล์ไฟโบรบลาส (fibroblast) และเซลล์เคอราติโนไซท์ (keratinocyte) และผลต่อการหายของแผลในหนูทดลอง (Re-epithelization in animal model) จากการศึกษาพบว่า ผลการทดลองทั้ง *in vitro* และ *in vivo* เลือดจระเข้ทั้งซีรัมและพลาสมามีผลดีกว่าชุดควบคุมใน *in vitro* effect แต่ไม่แตกต่างใน *in vivo* model และผลจากพลาสมา ที่เหนือกว่าซีรัม น่าจะเป็นผลจากเฮพาริน (heparin) มากกว่า เพราะเฮพารินมี

ผลเร่งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้ด้วยตัวมันเอง อย่างไรก็ตามการพัฒนาสารสกัดจากเลือดจระเข้เพื่อนำไปใช้ในทางคลินิก ควรจะต้องผ่านระบบการคัดกรองความบริสุทธิ์ของสารสกัดและความปลอดภัยที่อาจเกิดจากการปนเปื้อนทางชีวภาพจากผลิตภัณฑ์จากสัตว์

คำสำคัญ : จระเข้ เลือดจระเข้ สัตว์สมุนไพร องค์ประกอบทางเคมี โปรตีน เพปไทด์ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เพปไทด์ต้านจุลชีพ ภูมิคุ้มกัน การรักษาบาดแผล ฤทธิ์ต้านความดัน ผลิตภัณฑ์จระเข้ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ

Abstract

Recently, crocodile blood has been added value, developed and increase in its use. However, the knowledge about chemical compositions and biological properties of Siamese crocodile blood and its fractions has been limited. The analyses of crocodile blood main chemical compositions were collected from Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) in ages of 2-4 years those were captived in difference parts (Middle, Easthern and Southern parts). Results shows that in whole blood the protein had the highest concentration (87.4 g/100g), followed by total fat (2.4 g/100g) and total carbohydrate (0.6 g/100g). The serum demonstrated protein, total carbohydrate and total fat concentrations in amount of 69.0, 8.2 และ 6.9 g/100g, respectively. In addition, crocodile whole blood had higher levels of protein, phosphorus and iron than in serum. Analysis vitamin components of crocodile blood samples (whole blood, serum) revealed vitamin-C had the highest concentration follow by vitamin-B2, vitamin-B6, vitamin-B1 and vitamin-B12, respectively. Vitamin-A was the lowest content in crocodile bloods. No major differences were observed between blood chemical composition and captive places of crocodile. The five major amino acids were Glutamic acid (9960.25 mg/100g), Aspartic acid (7538.34 mg/100g), Lysine (7508.79 mg/100g) and Alanine (5442.63 mg/100g). The three minor amino acids were Tryptophan (1006.58 mg/100g), Methionine (1197.69 mg/100g) and Isoleucine (2054.58 mg/100g). The protein patterns of crocodile blood were studied by SDS-PAGE method in mercaptoethanol-reducing condition at 10% (w/v) separating gel. The pattern was distinct in difference of crocodile blood types.

The donation of crocodile blood was studied by development of blood collection process on animal life maintains in captive Siamese crocodile (*C. siamensis*). The blood collection at the anterior dorsal sinus in a 100 milliliters volume every 12 weeks was not effect the life style of crocodile blood donors. However, the optimal blood volume has remained to be elucidated.

The antibacterial and antifungal activities of freeze-dried (FD-WB) and blood components (serum, S and freeze-dried serum, FD-S) Siamese crocodile blood were studied against the ATCC strains of bacteria and fungus. The result showed FD-WB (100 mg/ml) could not inhibit bacteria and fungus. In addition, S and FD-S (100 mg/ml) could not inhibit gram positive bacteria. However, S and FD-S inhibited gram negative bacteria such as *E. aerogenes*

ATCC 13048, *E. coli* ATCC 25922*, K. pneumoniae* ATCC 27736, *S. typhimurium* ATCC 13311 and *P. aeruginosa* ATCC 27853, and inhibit *C. neoformans* and *Aspergillus* sp., but could not inhibit *C. albicans*. Both S and FD-S did not have minimum fungicidal concentration; MFC. The result showed that the FS and FDS from Siamese Crocodile have a potential of antibacterial and antifungal agent.

The immune system is a crucial defense mechanism of the body that fights infection. It is made up of a wide variety of effector cells and molecules. As parts of the immune system, phagocytes and lymphocytes have central roles in innate and adaptive immunity, respectively. Hence, appropriate stimulation of those cells in a certain circumstances will help the body to battle against harmful microbe. The Siamese crocodile blood and its fractions induced the phagocytic activity of macrophage, cell proliferation, and cytokine secretion from human PBMC, were investigated. The results show that crocodile serum and freeze-dried plasma blood was the most efficient blood products for induction of bacterial and microspheres phagocytic activity of the cells. This effect is possibly caused by the substances inside the serum rather than the blood cells.

Angiotensin converting enzyme (ACE), a multifunctional enzyme present in the rennin-angiotensin system, has a prominent role in the regulations of blood pressure as well as water and electrolyte balance. One of the successful remedy for hypertensive management is an application of angiotensin converting enzyme inhibitor (ACE inhibitor). This study was focused on the production of ACE inhibitory peptide from Siamese crocodile blood. Various peptic and tryptic hydrolysis conditions were applied to generate ACE inhibitory peptide from the blood. The results showed that potent ACE inhibitors can be obtained from 10-hour hydrolysis of pepsin with an IC_{50} of 447.35µg/ml. A blood cell portion of the crocodile blood yielded the highest ACE inhibitory activity with an IC_{50} of 404.12µg/ml. Digestive condition model indicated that ACE inhibitory peptides can be produced from a consumption of crocodile blood. However, the peptides obtained from the digestive condition possessed weaker ACE inhibitory activity than did peptides derived from the peptic hydrolysis.

Base on the observation of healing process on crocodile skin after fighting without any intervention, crocodile blood extraction to wound healing both *in vitro* and *in vivo* result were done. The cytotoxicity test to fibroblast and keratinocyte in vitro and re-epitheliration in animal model were examined. All results showed both serum and plasma of crocodile blood may have some proliferative effect *in vitro* test and plasma showed superior result. Anyways, in animal

model either serum or plasma of crocodile blood failed to accelerate wound healing compare to control site; Zinc paste. Moreover the superior effect of plasma seemed like that was the effect from heparin. Literature reviews showed heparin has its own proliferative effect. However, before developing an animal product for real clinical applications needs to purify the product and also prove of it will not carry animal biological product contamination to human.

Key word: Crocodile, Crocodile blood, Medicinal animal, Chemical compound, Protein, Peptide, Carbohydrate, Lipid, Antimicrobial peptide, Immunity, Wound healing, ACE-inhibitor, Crocodile product, Functional food

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อ	I
Absract	V
สารบัญตาราง	XIII
สารบัญภาพ	XV
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	XXI
บทนำรวม	1
สรุปภาพรวมของแผนงาน	13
ประวัติและผลงานวิจัยที่สำคัญของนักวิจัยและคณะ	17

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 : การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (ปีที่ 1 เล่มที่ 1/3)

บทคัดย่อ	47
Absract	49
บทนำ	51
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	53
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย	58
ผลการวิจัยและอภิปรายผล	64
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	88
บรรณานุกรม	89

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 : การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต (ปีที่ 1 เล่มที่ 1/3)

บทคัดย่อ	99
Absract	99
บทนำ	101
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	102
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย	107
ผลการวิจัยและอภิปรายผล	110
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	120

หน้า

บรรณานุกรม 123
ภาคผนวก 126

โครงการวิจัยย่อยที่ 3 : ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของเลือดและส่วนประกอบของเลือดจากจระเข้พันธุ์ไทย
(ปีที่ 1 เล่มที่ 2/3)

บทคัดย่อ 137
Absract 137
บทนำ 139
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 140
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย 142
ผลการวิจัยและอภิปรายผล 150
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 166
บรรณานุกรม 166
ภาคผนวก 168

โครงการวิจัยย่อยที่ 4 : การศึกษาฤทธิ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกินของแมโครเฟจและลิมโฟไซต์
(ปีที่ 1 เล่มที่ 2/3)

บทคัดย่อ 173
Absract 175
บทนำ 177
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 178
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย 180
ผลการวิจัยและอภิปรายผล 185
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 198
บรรณานุกรม 199

หน้า

โครงการวิจัยย่อยที่ 5 : สารยับยั้งแองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ในเลือดจระเข้ไทย (ปีที่ 1 เล่มที่ 2/3)

บทคัดย่อ 207

Absract 207

บทนำ 29

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 210

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย 216

ผลการวิจัยและอภิปรายผล 220

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 226

บรรณานุกรม 227

โครงการวิจัยย่อยที่ 6 : การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการสมานแผลของสารสกัดจากเลือดจระเข้ (ปีที่ 1 เล่มที่ 3/3)

สารบัญตาราง

หน้า

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 : การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย

ตารางที่

1	วิธีทดสอบสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และสารต้านอนุมูลอิสระในการทดลองที่ 1	61
2	ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากเลือดครบ (whole blood) จระเข้พันธุ์ไทย ภาคกลาง (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)	67
3	ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากน้ำเลือด (serum) จระเข้พันธุ์ไทย ภาคกลาง (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)	68
4	ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากเลือดครบ (whole blood) จระเข้พันธุ์ไทย ภาคตะวันออก (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)	69
5	ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากน้ำเลือด (serum) จระเข้พันธุ์ไทย ภาคตะวันออก (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)	70
6	ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากเลือดครบ (whole blood) จระเข้พันธุ์ไทย ภาคใต้ (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)	71
7	ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากน้ำเลือด (serum) จระเข้พันธุ์ไทย ภาคใต้ (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)	72
8	การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเลือดครบ (whole blood) และน้ำเลือด (serum) ของจระเข้พันธุ์ไทย ที่เพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคใต้)	73
9	ชนิดของกรดอะมิโนในเลือดครบของจระเข้พันธุ์ไทย	74

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 : การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต

ตารางที่

1	ความยาวเฉลี่ย (mean ± SE กิโลกรัม) ของจระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย	112
2	น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE กิโลกรัม) ของจระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย	113
3	ค่าทางชีวเคมีบางประการของจระเข้ในช่วงสัปดาห์ที่ 1, 6 และ 12 ของการทดลอง	117
4	ค่าโลหิตวิทยาของจระเข้ ในช่วงสัปดาห์ที่ 1, 6 และ 12 ของการทดลอง	118

โครงการวิจัยย่อยที่ 3 : ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของเลือดและส่วนประกอบของเลือดจากจระเข้พันธุ์ไทย

ตารางที่

1	การทดสอบหาฤทธิ์ของเลือดครบแห้ง (100 mg/ml) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ	151
2	การทดสอบหาฤทธิ์ของเลือดครบแห้ง (100 mg/ml) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก	152
3	การทดสอบหาฤทธิ์ของซีรัมสดในการยั บยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ	154

ตารางที่

4	การทดสอบหาฤทธิ์ของซีรัมสดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก	155
5	การทดสอบหาฤทธิ์ของซีรัมแห้ง (100 mg/ml) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ	156
6	การทดสอบหาฤทธิ์ของซีรัมแห้ง (100 mg/ml) ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก	157
7	การทดสอบหาค่า MIC (mg/ml) จากซีรัมสดและซีรัมแห้งจากตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย	159
8	การเปรียบเทียบค่า MIC และ MBC (mg/ml) จากตัวอย่างซีรัมแห้ง	159
9	การทดสอบหาฤทธิ์ของซีรัมสดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 3 ชนิด	161
10	การทดสอบหาฤทธิ์ของซีรัมแห้งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 3 ชนิด	162
11	การทดสอบหาค่า MIC (mg/ml) จากซีรัมสดและซีรัมแห้งจากตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา	163
12	การทดสอบหาค่า MFC (mg/ml) จากซีรัมสดและซีรัมแห้งจากตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา	163
13	การทดสอบหาฤทธิ์ของซีรัมสดและซีรัมแห้งในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ	164
14	ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* จากซีรัมจระเข้แห้ง (100 mg/ml)	165
15	การทดสอบหาฤทธิ์ของซีรัมสดและซีรัมแห้งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. neoformans* และ *Aspergillus* sp.	165

โครงการวิจัยย่อยที่ 4 : การศึกษาฤทธิ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกินของแมโครเฟจและลิมโฟไซต์

ตารางที่

1	ร้อยละของ RAW 264.7 ที่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อสัมผัสกับตัวอย่างเลือดจระเข้	185

โครงการวิจัยย่อยที่ 5 : สารยับยั้งแองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ในเลือดจระเข้ไทย

ตารางที่

1	ระดับของความดันโลหิตในลักษณะต่างๆ	210
2	ACE inhibitory activity ของ Hemoglobin ของเลือดหมูที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ต่างๆ	215
3	ACE inhibitory activity ของส่วนต่างๆ ที่แยกได้จาก Gel filtration chromatography	216
4	เปปไตด์ที่มีสมบัติเป็น ACE inhibitory activity ใน hemoglobin ของเลือดหมู	216
5	ACE inhibition ของ Hydrolysate ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ Pepsin และ Trypsin	222
6	% ACE inhibition ของส่วนประกอบเลือดจระเข้ที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Pepsin 10 ชั่วโมง	223
7	ความสามารถในการเป็นสารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงของเลือดจระเข้ whole blood ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ pepsin ที่อุณหภูมิ 37 °C และ pH 2 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตามด้วยเอนไซม์ pancreatin ที่อุณหภูมิ 37 °C และ pH 7.6 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง	224
8	ACE inhibition ของส่วนประกอบเลือดจระเข้ที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Pepsin และตามด้วย Pancreatin	224

โครงการวิจัยย่อยที่ 6 : การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการสมานแผลของสารสกัดจากเลือดจระเข้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

1. แผนภูมิแสดงกรอบแนวคิดของแผนงานวิจัยฯ 12

โครงการวิจัยย่อยที่ 1 : การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย

ภาพที่

1 รูปแบบของโปรตีนจากส่วนเม็ดเลือดของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ (M) และตัวเมีย (F) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดยที่ Lane 1 แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) ซึ่งด้านซ้ายของแต่ละแถบโปรตีนแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) Lanes 1-4 แสดงรูปแบบโปรตีนของจระเข้เพศผู้ Lanes 5-8 แสดงรูปแบบโปรตีนของจระเข้เพศเมีย 76

2 รูปแบบของโปรตีนจากเลือดครบของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ (M) และตัวเมีย (F) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดยที่ Lane 1 แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) ซึ่งด้านซ้ายของแต่ละแถบโปรตีนแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) Lanes 1-4 แสดงรูปแบบโปรตีนของจระเข้เพศผู้ Lanes 5-8 แสดงรูปแบบโปรตีนของจระเข้เพศเมีย 77

3 รูปแบบของโปรตีนจากเลือดครบของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ (M) และตัวเมีย (F) โดยผ่านกระบวนการทำระเหิดแห้ง (Freeze-dry) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดยที่ Lane 1 แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) ซึ่งด้านซ้ายของแต่ละแถบโปรตีนแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) Lanes 1-4 แสดงรูปแบบโปรตีนในเลือดทั้งหมดของตัวผู้ Lanes 5-8 แสดงรูปแบบโปรตีนในเลือดทั้งหมดของตัวเมีย 78

4 รูปแบบของโปรตีนจากซีรัมของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ (M) และตัวเมีย (F) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดยที่ Lane 1 แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) ซึ่งด้านซ้ายของแต่ละแถบโปรตีนแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) Lanes 1-4 แสดงรูปแบบซีรัมของตัวผู้ Lanes 5-8 แสดงรูปแบบซีรัมของตัวเมีย 79

ภาพที่ หน้า

5 รูปแบบของโปรตีนจากซีรัมของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ (M) และตัวเมีย (F) โดยผ่านกระบวนการทำระเหิดแห้ง (Freeze-der or lyophilizer) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดยที่ Lane 1 แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) ซึ่งด้านซ้ายของแต่ละแถบโปรตีนแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) Lanes 1-4 แสดงรูปแบบซีรัมของตัวผู้ Lanes 5-8 แสดงรูปแบบซีรัมของตัวเมีย 80

6 รูปแบบของโปรตีนจากเลือดทั้งหมด (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B) ของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ โดยเป็นตัวอย่างสด (FR) หรือโดยผ่านขบวนการทำระเหิดแห้ง (FD) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดย Mr คือโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker) ซึ่งแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) 81

7 รูปแบบของโปรตีนจากเลือดครบ (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B) ของจระเข้พันธุ์ไทยตัวเมีย โดยเป็นตัวอย่างสด (FR) หรือโดยผ่านขบวนการทำระเหิดแห้ง (FD) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดย Mr คือโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker) แสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) 82

8.1 การเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคใต้(Sp) ภาคกลาง (Mp) และ ภาคตะวันออก (Ep)) แยกตามตัวอย่างเลือดจระเข้ (เลือดครบ (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B)) ของจระเข้พันธุ์ไทยเพศผู้ โดย Mr คือโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker,) น้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) 84

8.2 การเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคใต้(Sp) ภาคกลาง (Mp) และ ภาคตะวันออก (Ep)) แยกตามตัวอย่างเลือดจระเข้ (เลือดครบ (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B)) ของจระเข้พันธุ์ไทยเพศเมีย โดย Mr คือโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker,) น้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) 85

9.1 การเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคใต้(Sp) ภาคกลาง (Mp) และ ภาคตะวันออก (Ep)) แยกตามตัวอย่างเลือดจระเข้ (เลือดครบ (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B)) ผ่านกระบวนการทำแห้ง Freeze dry ของจระเข้พันธุ์ไทยเพศผู้ โดย Mr คือโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker,) น้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) 86

9.2 การเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคใต้(Sp) ภาคกลาง (Mp) และ ภาคตะวันออก (Ep)) แยกตามตัวอย่างเลือดจระเข้ (เลือดครบ (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B)) ผ่านกระบวนการทำแห้ง Freeze dry ของจระเข้พันธุ์ไทยเพศเมีย โดย Mr คือโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker,) น้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) 87

โครงการวิจัยย่อยที่ 2 : การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต

ภาพที่		หน้า
1	การเจาะเลือดจระเข้โดยใช้กระบอกเจาะเก็บเลือด	110
2	การเจาะเลือดจระเข้โดยใช้กระบอกเจาะเก็บเลือดต่อเชื่อมกับข้อต่อ 3 ทาง	111
3	การเจาะเลือดจระเข้โดยใช้ หัวเข็มประดิษฐ์ ด้านหนึ่งต่อกับเข็มเจาะเลือด เบอร์ 16 อีกด้านหนึ่งต่อกับท่อยางซิลิโคน และใช้เครื่องปั้มแบบบีบรัด ปั้มเลือดเข้าขวดเก็บเลือด จำนวน 100 มิลลิลิตร	111
4	ก. จระเข้น้ำจืดพันธ์ไทยอายุ 4-5 ปี ที่มีสุขภาพดี ที่นำมาคัดเพื่อจำแนกเข้ากลุ่มทดลอง ข. จระเข้ที่ได้เลือกเข้ากลุ่มทดลองและทำเครื่องหมายติดหางจระเข้ (ลูกศร)	112
5	เครื่องวัดอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ในบ่อทดลอง	113
6	แผนภูมิอุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส) บริเวณบ่อเลี้ยงในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 12	114
7	แผนภูมิความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์) บริเวณบ่อเลี้ยงในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึงสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง	114
8	ก) พฤติกรรม อาบแดด และ ข) พฤติกรรมลงเล่นน้ำ ของจระเข้น้ำจืดพันธ์ไทยในบ่อทดลอง	115
9	ปริมาณอาหารเฉลี่ย (กิโลกรัม) ที่จระเข้กินต่อสัปดาห์ ของจระเข้กลุ่มที่ 1 และ 2 และจระเข้กลุ่มที่ 3 และ 4	116
10	ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮอร์โมนคอร์ติซอล (µg%) ในช่วงสัปดาห์ที่ 1 และ 12 ของ จระเข้กลุ่มที่ 1 และ 2 และจระเข้กลุ่มที่ 3 และ 4	119

โครงการวิจัยย่อยที่ 3 : ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของเลือดและส่วนประกอบของเลือดจากจระเข้พันธุ์ไทย

ภาพที่		
1	โครงสร้างของ Resazurin	146
2	การเปลี่ยนจาก resazurin เป็น resorufin	147
3	ผลการทดสอบหาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากซีรัมสด	153
4	ผลการทดสอบการหาค่า MIC (mg/ml) จากซีรัมแห้ง ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. aeruginosa*	158
5	ผลการทดสอบหาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. neoformans* จากซีรัมสด	160

โครงการวิจัยย่อยที่ 4 : การศึกษาฤทธิ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกินของแมโครเฟจและลิมโฟไซต์

ภาพที่		
1	การเปลี่ยนแปลงของ RAW 264.7 หลังจากบ่มร่วมกับ fresh whole blood (FWB) RAW 264.7 บ่มร่วมกับ FWB เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (B) เปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุม (control RAW 264.7) (A) (100X)	185

ภาพที่		หน้า
2	กราฟแสดง Phagocytic index ของ RAW 264.7 ที่ได้จากการกลืนกิน *S. aureus* และ *E. coli* เมื่อบ่มร่วมกับเลือดจระเข้ RAW 264.7 ได้รับการกระตุ้นด้วย 10% fresh whole blood (FWB), 10% fresh serum/fresh plasma (FS/FP), 10 mg/ml dried whole blood (DWB), 10 mg/ml dried serum/dried plasma (DS/DP) หรือ PBS และบ่มร่วมกับ *S .aureus* **(A)** หรือ *E .coli* **(B)** โดยมีอัตราส่วนแบคทีเรีย:แมโครเฟจ = 10:1 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำเซลล์มาย้อมสี Gram stain แล้วนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์...	187
3	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แสดงการกลืนกิน *S. aureus* และ *E. coli* ของ RAW 264.7 เมื่อบ่มร่วมกับเลือดจระเข้ RAW 264.7 ได้รับการกระตุ้นด้วย 10% FS (**B** และ **D**) หรือ PBS (**A** และ **C**) และบ่มร่วมกับ *S. aureus* (**A** และ **B**) หรือ *E. coli* (**C** และ**D**) โดยมีอัตราส่วนแบคทีเรีย:แมโครเฟจ = 10:1 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ย้อมด้วย Gram stain และถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100X	188
4	Density plot แสดงการกลืนกิน *S. aureus* และ *E. coli* ของ RAW 264.7 RAW 264.7 ได้รับการกระตุ้นด้วย 10% fresh serum (FS) (**C** และ **E**) หรือ PBS (B และ D) และบ่มร่วมกับ *S. aureus*-FITC (**B** และ **C**) หรือ *E. coli*-FITC (**D** และ **E**) โดยมีอัตราส่วนแบคทีเรีย:แมโครเฟจ = 10:1 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และวิเคราะห์ด้วย flow cytometer	189
5	Dot plot แสดงการกลืนกิน TransFluoSphere fluorescent microspheres ของ RAW 264.7 RAW 264.7 ได้รับการกระตุ้นด้วย 10% fresh whole blood (FWB), 10% fresh serum (FS), 10 mg/ml dried whole blood (DWB), 10 mg/ml dried serum (DS) หรือ PBS และบ่มร่วมกับ 20 particles/cell TransFluoSphere fluorescent microspheres เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำเซลล์มาวัดปริมาณ microspheres ที่ถูกกลืนกินโดย flow cytometer ซึ่ง microspheres ที่ถูกกลืนกินเข้าไปในเซลล์จะทำให้เซลล์มีการเรืองแสง และแถบเซลล์ที่มีความเข้มของแสงในแกน Y แสดงถึงปริมาณ particle ที่ถูกกลืนกินในแต่ละเซลล์	190
6	กราฟแสดงปริมาณเซลล์ที่กลืนกินอนุภาค TransFluoSphere fluorescent microspheres และ Phagocytic index ของ RAW 264.7 RAW 264.7 ได้รับการบ่มร่วมกับ 10% fresh whole blood (FWB), 10% fresh serum (FS), 10 mg/ml dried whole blood (DWB), 10 mg/ml dried serum (DS) หรือ PBS และ 20 particles/cell microspheres เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำเซลล์มาวัดปริมาณ microspheres ที่ถูกกลืนกินโดยใช้ flow cytometer (**A**) แสดงร้อยละของเซลล์ที่กลืนกินอนุภาค mocrospheres และ (**B**) แสดงค่า phagocytic index ที่ได้จากการคำนวณ ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณ microsphere ที่ถูกกลืนกินทั้งหมด	191
7	ภาพถ่ายจาก fluorescent microscope แสดงการกลืนกิน TransFluoSphere fluorescent microspheres ของ RAW 264.7 RAW 264.7 ได้รับการกระตุ้นด้วย 10% fresh serum (**B**) หรือ PBS (**A**) และบ่มร่วมกับ 20 particles/cell Transfluorosphere เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำมาดูด้วยกล้อง fluorescent microscope (60X)	192

ภาพที่ หน้า

8 Histogram แสดงปริมาณของ human PBMC ที่ตายจากการบ่มร่วมกับ fresh serum (FS) หรือ phytohemagglutinin (PHA) PBMC ได้รับการบ่มร่วมกับ FS และ PHA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำเซลล์มาย้อมด้วย 2 μg/ml propidium iodide (PI) และวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ตาย (PI positive cell) โดย flow cytometer 194

9 กราฟแสดงปริมาณ cell proliferation เมื่อบ่ม human PBMC ร่วมกับ fresh serum (FS), dried serum (DS), phytohemagglutinin (PHA) หรือ PBS Human PBMC ที่แยกจากเลือดของอาสาสมัครด้วย Histopaque-1077 ได้รับการบ่มร่วมกับ 3.12% FS, 3.12 mg/ml DS, 0.39 – 25 μg/ml PHA หรือ PBS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบ่มกับ BrdU ต่ออีก 24 ชั่วโมง และนำเซลล์มาวัดปริมาณ BrdU ที่เซลล์นำไปสังเคราะห์ DNA ด้วยวิธี ELISA และวัดการดูดกลืนของแสงที่ 370 nm โดยมี reference wavelength ที่ 492 nm 196

โครงการวิจัยย่อยที่ 5 : สารยับยั้งแองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ในเลือดจระเข้ไทย

ภาพที่

1 การควบคุมความดันโลหิตโดยกลไกของเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติง 212

2 ACE inhibitor บางชนิดที่ใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน 213

3 การเปลี่ยนแปลงของ Systolic blood pressure (SBP) และ Diastolic blood pressure (DBP) ของผู้ป่วยที่ให้นมเปรี้ยว Calpis เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (□) กับ placebo ผู้ป่วยที่ให้นมเปรี้ยวที่ได้จากการเติมกรด (■)(Nakamura *et al*., 1995) 214

4 Gel filtration chromatography ของ hemoglobin ของเลือดหมูที่ย่อยด้วยเอนไซม์ Pepsin 215

5 ความสามารถในการเป็นสารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงของเลือดจระเข้ whole blood ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ pepsin ที่อุณหภูมิ 37 °C และ pH 2 ที่ความเข้มข้นของ hydrolysate 3000 μg/ml 221

6 ความสามารถในการเป็นสารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงของเลือดจระเข้ whole blood ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ trypsin ที่อุณหภูมิ 37 °C และ pH 7.5 ที่ความเข้มข้นของ hydrolysate 3000 μg/ml 221

โครงการวิจัยย่อยที่ 6 : การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการสมานแผลของสารสกัดจากเลือดจระเข้

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

สัญลักษณ์

β	beta
α	alpha

คำย่อที่ใช้

EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
HIV-I	Human immunodeficiency virus type 1
WNV	West Nile virus
HSV-I	Herpes simplex virus type I
SDS-PAGE	SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis
FPLC	Fast protein liquid chromatography
HPLC	High performance liquid chromatography
18G	18Gauge
$^{\circ}C$	Degree celcieus
0.75% NaCl	normal saline
T-CM	Thai Compendium of methods for food analysis
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BHA	Butylated hydroxyanisole
BHT	butylated hydroxytoluene
TBHQ	tert-Butylhydroquinone
GC	Gas Chromatography
ICP	inductively coupled plasma
MALDI-TOF MS	Matrix-assisted laser desorption/ionization–time of flight mass spectrometry
WB, FWB	เลือดครบจระเข้ fresh whole blood
WB-FD, FDWB, DWB	เลือดครบจระเข้แห้ง Freeze dried whole blood

คำย่อที่ใช้

S, FS	ซีรัมจระเข้ Fresh serum
S-FD, FDS, DS	ซีรัมจระเข้แห้ง Freeze dried serum
FP	fresh plasma
DP	freeze dried plasma
BC	ส่วนเม็ดเลือดจระเข้
CBB	Coomassie Brilliant Blue
GABA	Gamma-aminobutyric acid
Pb	สารตะกั่ว (Lead)
As	สารหนู (Arsenic)
IGF-1	Insulin like growth factor
RIA	Radioimmuno-assays
BUN	Blood Urea Nitrogen
ALT	Alanine transaminase
AST	aspartate aminotransferase
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematocrit/ Pack cell volume
RBC	Red blood cell
WBC	White blood cell
MCV	Mean corpuscular volume
MCH	Mean corpuscular hemoglobin
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration
ATCC	American Type Culture Collection
NaF	Sodium fluoride
DNA	Deoxyribonucleic acid
RP-HPLC	Reversed phase HPLC
MIC	Minimal Inhibitory Concentration
MBC	Minimal bactericidal concentration
MFC	Minimal fungicidal concentration

คำย่อที่ใช้

SDW	sterile distilled water
MHB	Mueller-Hinton broth
OD	optical density
CFU	colony-forming unit
SDA	Sabouraud dextrose agar
PDA	Potato dextrose agar
IL-2	Interleukin-2
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
μ_m	micrometer
μg, ug	microgram
G, mg	Gram, miligram
μM	micromolar
CD	Cluster of differentiation
NK cell	เซลล์เอ็นเค Natural killer cell
ELISA,	Enzyme link immunosorbence assay
FCS	Fetal café serum
FACS	fluorescence-activated cell sorter
FITC	fluorescein isothiocyanate
DMSO	Dimethyl sulfoxide
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
PHA	Phytohemagglutinin
ACE	Angiotensin converting enzyme
IC_{50}	The half maximal inhibitory concentration
HHL	Hippuryl-histidyl-leucine
SFM	Serum Free Medium
DMEM	Dulbecco's modified Eagle media
MTT	3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

บทนำรวม

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา (ภาพรวมทั้งแผนงาน)

อาหาร สิ่งแวดล้อม และพันธุกรรมเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเกิดโรคและการติดเชื้อโรคต่างๆ แหล่งพลังงานที่สำคัญของร่างกายจากโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน มาจากอาหาร ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมีส่วนสำคัญต่อการต้านทานการเกิดโรค งานวิจัยจำนวนมากให้ความสนใจในการวิเคราะห์หาสารอาหารจำเพาะที่อาจมีอันตรกิริยากับระบบภูมิคุ้มกันนี้ เสริมสร้างความแข็งแรงให้กับระบบฯ อันจะมีผลต่อการเสริมสร้างสุขภาพโดยรวมในประชากรทั่วไป หรืออาจเป็นแนวทางในการเยียวยาเพื่อการป้องกันหรือรักษาความผิดปกติต่างๆ ที่เกิดขึ้นในร่างกายของมนุษย์ สารน้ำจากสัตว์ที่สำคัญและเป็นที่ยอมรับในการใช้เป็นแหล่งอาหาร และมีการประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารรูปแบบต่างๆ รวมถึงจากใช้ประโยชน์จากส่วนประกอบก็คือ น้ำนม (Hartmann and Meisel, 2007) นอกจากน้ำนมแล้วในสัตว์ยังมีเลือดเป็นสารน้ำที่สำคัญมาก และจัดเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของร่างกายสัตว์ โดยมีระบบไหลเวียนเลือดนำสารอาหารที่สำคัญไปเลี้ยงยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิวัฒนาการของสัตว์แต่ละชนิด เลือดสัตว์เป็นสารน้ำที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่ถูกใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมาเป็นเวลานาน ทั้งในลักษณะของส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพและเสริมสร้างความแข็งแรงให้กับร่างกาย (Petczn'ska and Libelt, 1999) การบริโภคเลือดที่ผ่านขั้นตอนเพื่อเป็นอาหาร (edible blood) รวมถึงการนำองค์ประกอบที่สำคัญที่มีอยู่ในเลือดมาประยุกต์ใช้ หรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆ เช่น ซุป สกัด ผลิตภัณฑ์ยา และอาหารเสริม ฯลฯ

จระเข้พันธุ์ไทย (Siamese crocodile, *Crocodylus siamensis*) เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศที่ประชาชนนิยมเลี้ยงเพื่อการค้า เนื่องจากเลี้ยงง่าย โตเร็ว ค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงดูต่ำ ใช้เวลาในการดูแลน้อย และทำรายได้ดีให้แก่เกษตรกร จระเข้เป็นสัตว์ป่าคุ้มครอง ตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 ที่สามารถซื้อขายได้ตามอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้สูญพันธุ์ (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, CITES) ประเทศไทยมีฟาร์มที่ได้รับการรับรองจาก CITES มากกว่า 20 ฟาร์ม และฟาร์มเกษตรกรรายย่อยไม่ต่ำกว่า 2,000 ราย ซึ่งปัจจุบันจำนวนจระเข้ในประเทศทั้งหมดมีมากกว่าล้านตัว มีการค้าจระเข้มากขึ้นในรอบสิบปีที่ผ่านมา ส่งขายทั้งภายในและต่างประเทศไม่ต่ำกว่าปีละ 5000 ตัว ทำรายได้เข้าสู่ประเทศไม่ต่ำกว่าปีละ 1,000 ล้านบาทต่อปี ประเทศที่นิยมบริโภคจระเข้ได้แก่ จีน เกาหลี ฮ่องกง ไต้หวัน ผู้บริโภคนิยมใช้เนื้อ

เลือด และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ของจระเข้เป็นอาหาร อาหารเสริม และเครื่องยาสัตววัตถุ จระเข้จัดเป็นสัตว์สมุนไพรที่สำคัญ ซึ่งประชากรชาวเอเชียโดยเฉพาะในจีน ฮ่องกง และไต้หวัน มีความเชื่อว่าการบริโภคเนื้อจระเข้ และเลือดจระเข้ จะช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ป้องกันการเกิดโรคภูมิแพ้ และโรคหอบเหนื่อยได้

จระเข้เป็นสัตว์ดึกดำบรรพ์ที่สามารถปรับตัว และอยู่รอดมาจนถึงปัจจุบัน เป็นสัตว์ที่หายใจด้วยปอด แต่เมื่อหายใจแต่ละครั้งสามารถดำรงชีวิตอยู่ใต้น้ำได้เป็นเวลานาน และจากพฤติกรรมการดำรงชีวิตของจระเข้พบว่า เมื่อจระเข้ได้รับบาดเจ็บจากการกัดกันหรือสาเหตุอื่นๆ ทำให้เกิดบาดแผลขนาดใหญ่และลึก สามารถอาศัยอยู่ในน้ำได้โดยที่ระบบภูมิคุ้มกันของจระเข้สามารถต่อต้านการบุกรุกของเชื้อแบคทีเรีย และจุลชีพอื่นๆ ที่อยู่ในน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ และบาดแผลก็หายได้ในระยะเวลาอันสั้น ในทางตรงกันข้ามถ้าเป็นกรณีของคนเมื่อเกิดบาดแผลและยังแช่อยู่ในน้ำตลอดเวลา จะเกิดการติดเชื้อที่บาดแผลและเสียชีวิตจากเชื้อแบคทีเรียได้ในระยะเวลาอันสั้น จึงเห็นได้ว่าเลือดจระเข้ที่กระจายหล่อเลี้ยงทุกส่วนของร่างกายจระเข้นั้นน่าจะมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญทั้งในส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ รวมถึงแร่ธาตุต่างๆ ทำหน้าที่เป็นสารอาหาร สารภูมิคุ้มกัน สารออกฤทธิ์ต้านสภาวะต่างๆ จากที่ได้กล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่า จระเข้มีระบบภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพมากในการต่อต้านการติดเชื้อแบคทีเรียต่างๆ ได้ดี คุณสมบัติในการต้านจุลชีพนี้จัดเป็นภูมิคุ้มกันที่ได้รับมาตั้งแต่กำเนิด ที่สามารถค้นพบได้ในสัตว์หลายชนิด เช่น แมลง กุ้ง ปลา กบ วัว หมู ลิง คน ฯลฯ โดยสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ (anti-microbial constituents or factors) เหล่านี้พบได้ในเลือด ทั้งในส่วนของน้ำเลือด และเม็ดเลือดชนิดต่างๆ จากรายงานการศึกษาวิจัยต่างๆ พบว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่พบในน้ำเลือดนั้น อาจเกิดขึ้นได้จากองค์ประกอบของคอมพลีเมนต์ในเลือด หรือจากสารโปรตีนขนาดสั้นๆ (เพปไทด์) ที่ถูกสร้างจากเซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์ที่ช่วยในกระบวนการการแข็งตัวของเลือด (เกล็ดเลือด/ ทรอมโบไซด์) นอกจากนี้ยังพบว่าปัจจัยต่างๆ ในน้ำเลือดที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือด ยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย และปิดแผลได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ในการเพาะเลี้ยงจระเข้ไม่มีการใช้ยาและวัคซีน ไม่มีการใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโต ไม่มีรายงานการติดเชื้อโรคที่สำคัญในจระเข้ เช่น โรคปากและเท้าเปื่อย โรคแอนแทรกซ์ โรควัวบ้า โรคไข้หวัดนก ฯลฯ ซึ่งต่างไปจากสัตว์อื่นๆ ในอุตสาหกรรมปศุสัตว์ เช่น ไก่ วัว กระบือ สุกร ซึ่งจะเห็นได้ว่าเลือดจระเข้เป็นแหล่งของวัตถุดิบที่มีค่าและมีความสำคัญต่อการนำมาใช้และประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์มากกว่าเลือดสัตว์อื่นๆ

ประเทศไทย เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยและมีการเพาะเลี้ยงจระเข้พันธุ์ไทย อยู่เป็นจำนวนมากกระจายอยู่ทั่วประเทศ อุตสาหกรรมจระเข้ในไทยมีฐานหลักอยู่ที่การผลิตหนังและเครื่องหนัง โดยมีเนื้อ กระดูก เครื่องใน และการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากจระเข้เหล่านี้เป็นผลิตผลรองลงมา ใน

กระบวนการผลิตของอุตสาหกรรมจระเข้เหล่านี้มีการชำแหละจระเข้ และมีเลือดเป็นผลิตผลเหลือใช้จากกระบวนการผลิต ซึ่งถ้าปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำจะกลายเป็นของเสียเกิดสภาวะแวดล้อมเป็นพิษ จระเข้ถูกใช้เป็นสัตว์สมุนไพรและเครื่องยาสัตววัตถุในการรักษาทางการแพทย์แผนไทยมานานตั้งแต่อดีตที่มีจระเข้พันธุ์ไทยและจระเข้น้ำเค็มอาศัยอยู่ในธรรมชาติเป็นจำนวนมาก แพทย์แผนไทยรู้จักใช้เครื่องยาที่ได้จากจระเข้หลายอย่างที่สำคัญ ได้แก่ เขี้ยวจระเข้ น้ำมันจระเข้ ดีจระเข้ และหนังจระเข้ ข้อมูลการใช้ประโยชน์จากเลือดจระเข้ที่ได้เป็นเพียงคำบอกเล่าจากบรรพบุรุษและคนรู้จักที่น่าเชื่อถือ ตรงข้ามกับกับในประเทศจีน ชาวจีนรู้จักใช้ประโยชน์จากส่วนต่างๆ ของจระเข้มากกว่า 2,000 ปี โดยใช้ดี เลือด กระดูก และหนัง เป็นยาสมุนไพร (ชยันต์ และ วิเชียร, 2546) เมื่อจระเข้ในธรรมชาติมีจำนวนลดลงและมีพัฒนาการของการเพาะเลี้ยงจระเข้ในประเทศไทยที่ดีมากขึ้น ทำให้เกิดการใช้ประโยชน์จากจระเข้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเหล่านี้ ดังนั้นผู้ประกอบการในอุตสาหกรรมจระเข้หลายรายมีการส่งออกเลือดจระเข้พันธุ์ไทยในลักษณะเลือดแห้งที่ได้จากการอบแห้งด้วยความร้อนส่งออกไปยังประเทศจีน ไต้หวัน หรือฮ่องกง เพื่อใช้เป็นยาสมุนไพรหรือส่วนผสมของตำรับยาจีน คนไทยซึ่งอยู่ในประเทศไทยที่มีการเพาะเลี้ยงจระเข้พันธุ์ไทยอยู่ภายในประเทศมีการใช้ประโยชน์จากเลือดที่ถูกทิ้งไปในกระบวนการอุตสาหกรรมจระเข้แต่ละวันน้อยมาก

ปัญหาของการใช้เลือดจระเข้เป็นยาสมุนไพร เครื่องยาสัตววัตถุ หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ ที่มีอยู่ในวงแคบ ไม่แพร่หลาย อาจเนื่องมาจาก

1) การขาดข้อมูลทางวิชาการจากการศึกษาทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนองค์ประกอบหรือสารที่สำคัญ รวมถึงฤทธิ์หรือสรรพคุณที่มีอยู่ในเลือดจระเข้ โดยเฉพาะเลือดจระเข้พันธุ์ไทยซึ่งมีถิ่นกำเนิดและสามารถเพาะเลี้ยงได้อย่างดีในประเทศไทยของเรา

2) กระบวนการผลิตที่ไม่สะอาดและรูปแบบของผลิตภัณฑ์ที่ไม่เหมาะสม โดยแต่เดิมมีกระบวนการผลิตฯ ได้เลือดจระเข้จากการตัดส่วนคอจระเข้ให้เลือดไหลลงมาในภาชนะรองเลือด เก็บเลือดใส่ถาด แล้วใช้การตากแห้งตามธรรมชาติโดยใช้แสงอาทิตย์ ซึ่งต่อมาได้พัฒนามาใช้การอบด้วยความร้อนสูงในตู้อบ ให้อยู่ในรูปเลือดจระเข้แห้งที่เป็นแผ่น หรือผงหยาบ บริโภคด้วยการกินโดยตรง หรือผสมกับน้ำผึ้ง

3) การขาดการสนับสนุนและส่งเสริมงานวิจัย การผลิต และใช้ผลิตภัณฑ์จากเลือดจระเข้ของภาครัฐและเอกชน อย่างจริงจัง

4) การประชาสัมพันธ์และให้ข้อมูลที่ถูกต้องกับผู้บริโภคมีน้อย ไม่กว้างขวาง ทั้งนี้ปัญหาในข้อนี้จะแก้ไขได้ หากไม่มีปัญหาในข้อที่กล่าวแล้วข้างต้น

จากปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะที่เกิดขึ้นในคนและในสัตว์ ตลอดจนการเกิดโรคชนิดใหม่ๆ ที่มีสาเหตุมาจากไวรัส เช่น โรคเอดส์ (AIDS), โรคซาร์ (SAR), โรคไข้หวัดนก (Bird flu) ฯลฯ

รวมถึงอัตราการเกิดโรคไม่ติดเชื้อ เช่น มะเร็ง เบาหวาน ความดันโลหิตสูง ฯลฯ ที่มีสูงขึ้น ทำให้นักวิทยาศาสตร์จำนวนมากทั่วโลกให้ความสนใจในการศึกษาวิจัย ที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันที่ได้รับมาตั้งแต่กำเนิด ทั้งในด้านองค์ประกอบและกลไกการทำงานฯ จากเหตุผลที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นถึงลักษณะการดำรงชีวิต คุณสมบัติ และการทำงานที่ดีภายในร่างกายของจระเข้ คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาในจระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย มาอย่างต่อเนื่อง (วิน และคณะ, 2546; Siruntawineti *et al*., 2003; Siruntawineti *et al*., 2004a; Siruntawineti *et al*., 2004b; Chaychomsri *et al*., 2004a; Chaeychomsri *et al*., 2004b; Siruntawineti *et al*., 2004c; Siruntawineti *et al*., 2005) ในลักษณะโครงการวิจัยเดี่ยวต่างๆ เลือดจระเข้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นเลือดจระเข้แห้ง ไม่พบปรสิตทั้งในเลือดและในลำไส้ของจระเข้ เมื่อทดสอบความเป็นพิษหรือมีการทดสอบความปลอดภัยหลังการบริโภคทั้งในแบบเฉียบพลัน กึ่งเรื้อรัง และระยะเรื้อรังในหนูทดลอง พบว่ามีความปลอดภัยสูง ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีของหนูทดลองที่บริโภคเลือดจระเข้อยู่ในเกณฑ์ที่ปกติ รวมทั้งยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในร่างกายสัตว์ทดลองที่กินเลือดจระเข้ด้วย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเบื้องต้นถึงสารต้านจุลชีพจากซีรัม และส่วนสกัดของเม็ดเลือดขาวจระเข้พันธุ์ไทย (สุวิทย์ และ สมปอง, 2550) ในขณะเดียวกันนักวิทยาศาสตร์จากประเทศอเมริกา และออสเตรเลีย ซึ่งมีจระเข้ป่าและจระเข้เพาะเลี้ยงชนิดจระเข้อเมริกันหรืออัลลิเกเตอร์ (American Alligator, *Alligator mississippiensis*) และจระเข้ออสเตรเลีย (*Crocodylus johnstoni*) ตามลำดับ อยู่มากภายในประเทศ ก็มีการรายงานวิจัยที่คล้ายคลึงกันในจระเข้ดังกล่าว เนื่องจากความพร้อมและศักยภาพทางวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีของประเทศทั้งสองมีมากกว่าในประเทศไทย ทำให้การศึกษาวิจัยพื้นฐานและประยุกต์เกี่ยวกับเลือดจระเข้ในการหาสารออกฤทธิ์ต้านเนื้องอก ไวรัส และเสริมภูมิคุ้มกันของนักวิจัยจากทั้งสองประเทศจึงมีออกมาอย่างมากในช่วงเจ็ดปีที่ผ่านมา (Roche' *et al*., 2003 ; Merchant *et al,* 2003, 2004, 2005a, 2005b, 2005c, 2006a, 2006b, 2006c, 2006d, 2006e, 2007)

ในการสืบค้นข้อมูลสิทธิบัตรพบว่า ได้มีการจดสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้องกับเลือดจระเข้ และส่วนประกอบ ในกลุ่มประเทศยุโรป ประเทศอเมริกา และประเทศออสเตรเลีย เพื่อใช้เป็นในการต้านเนื้องอก (WO03007874, 2003 ; US20040247589, 2004 ; AU2002354891, 2004) ในประเทศจีนเพื่อใช้เป็นอาหารเม็ดกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านมะเร็ง (CN1465351, 2004) การประยุกต์เลือดจระเข้ในกระบวนการเพื่อเตรียมยาและอาหารเสริมสุขภาพต่อต้านมะเร็ง ไวรัส และเสริมภูมิคุ้มกัน (CN1634147, 2005) ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าต่างประเทศให้ความสนใจ การค้นพบคุณสมบัติที่ดีที่มีในเลือดจระเข้ และนำประโยชน์จากเลือดจระเข้ที่ได้ประดิษฐ์คิดค้นมาพัฒนาเป็นยาสมุนไพรและผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพเป็นการบำบัดรักษาโรคมะเร็ง โรคติดเชื้อไวรัส แล้วจดสิทธิบัตรเพื่อ

คุ้มครองความคิดและการค้นพบเหล่านี้ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเดือนมีนาคมของปีนี้ องค์กรความร่วมมือเพื่อการวิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมภายในประเทศ (Rural Industries Research and Development Corporation, 2007) ของรัฐบาลออสเตรเลีย ได้รายงานการศึกษาวิจัยผลิตภัณฑ์ใหม่จากสัตว์ 5 ชนิด ได้แก่ จระเข้ นกอีมู แพะ จิงโจ้ และกระต่าย ซึ่งในประเทศออสเตรเลียมีจระเข้น้ำจืดและจระเข้น้ำเค็มในธรรมชาติ และฟาร์มจระเข้จำนวนมาก มีเลือดเป็นผลิตผลเหลือทิ้งที่มีปริมาณประมาณ 10–20 ตัน/ปี โดยสมมุติจากเลือด 0.6-1.25 กิโลกรัมต่อจระเข้หนึ่งตัว ที่ได้จากการชำแหละจระเข้ 16,000 ตัว/ปี มีการให้ความสำคัญกับโอกาสที่จะทำตลาด และใช้ประโยชน์ทางการค้าและธุรกิจในอนาคตของเลือดจระเข้และผลิตภัณฑ์ที่มีศักยภาพในการขนส่งออกซิเจนของฮีโมโกลบินจระเข้ และผลิตภัณฑ์ยาที่ได้มาจากเลือดจระเข้ และได้รายงานข้อมูลของไทยในการส่งออกเลือดจระเข้แห้งในรูปแคปซูลไปยังประเทศจีน

สำหรับปัญหาในข้อ 2) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตที่ไม่สะอาดและรูปแบบของผลิตภัณฑ์ที่ไม่เหมาะสมนั้น ได้มีการศึกษาวิจัยและพัฒนากระบวนการเก็บและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ภายใต้การสนับสนุนโครงการวิจัย (IRPUS) จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ฝ่ายอุตสาหกรรม (ฝ่าย 5) (จินดาวรรณ และคณะ, 2548, 2549) โดยได้วิจัยกระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้ปริมาณมากจากอุปกรณ์เจาะเก็บเลือดที่จำเพาะ ซึ่งต่อมาได้พัฒนาเป็นเข็มเจาะ (คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0601001179, 16 มิถุนายน 2549 ; คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0801000372, 25 มกราคม 2551) ทำให้ได้เลือดที่สะอาด อยู่ในระบบปิดปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อโรค เก็บในขวดแก้วขนาดใหญ่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาก่อนแล้ว จากนั้นนำเลือดจระเข้ดังกล่าวมาผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ และใช้กระบวนการทำแห้งเลือดจระเข้ไทยโดยใช้การระเหิดแห้งภายใต้ความเย็น (freeze-dry, lyophilization) (อนุสิทธิบัตรเลขที่ 5074, 4 กันยายน 2552) เพื่อการรักษาคุณภาพที่ดีของสารอาหารต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนโปรตีนและเปปไทด์ของเลือดจระเข้ และเมื่อเลือดจระเข้แห้งแล้วนำมาทำให้เป็นผงบรรจุในรูปของแคปซูล เพื่อสะดวกในการบริโภคและใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (เลือดจระเข้แคปซูล) ซึ่งปัจจุบันได้รับเลขสารบบ 10-1-04752-1-0001 จากคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ของกระทรวงสาธารณสุข เพื่อการจำหน่ายแล้ว ในช่วงที่ผ่านมาได้มีการประชาสัมพันธ์ผ่านทาง สกว. ไปยังสื่อวิทยุ โทรทัศน์ และสื่อสิ่งพิมพ์ เกี่ยวกับแคปซูลเลือดจระเข้แห้ง ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากงานวิจัย ทำให้ผู้บริโภคที่เป็นผู้ชมหรือผู้อ่านเกิดความสนใจ และติดต่อมาเพื่อทดลองใช้เป็นจำนวนมาก ทั้งนี้เป็นกลุ่มผู้บริโภคที่เคยมีประสบการณ์เดิม จากการบริโภคเลือดจระเข้แห้งมาก่อนแล้ว และกลุ่มผู้บริโภครายใหม่ที่ต้องการทดลองใช้เพื่อการบำบัดรักษาโรคต่างๆ ที่สำคัญคือ โรคโลหิตจาง โรคหอบหืด โรคมะเร็ง โรคเอดส์ โรคเบาหวาน และโรคความดันโลหิตสูง ซึ่งผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้ข้อมูลตอบรับที่ดีต่อผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้แห้ง

เมีความเป็นไปได้ในการสัมฤทธิ์ผลต่ออาการผิดปกติ หรืออาการป่วยของผู้ป่วยที่ขอรับบริการวิชาการจากผลงานวิจัยที่ได้เป็นอย่างดี ทำให้เกิดโจทย์วิจัยใหม่ๆ ที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติที่ดีที่น่าจะมีอยู่ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย

จากผลกระทบของปัญหาและสถานภาพของงานวิจัยเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ความสนใจและการตื่นตัวในการใช้ประโยชน์จากเลือดสัตว์สมุนไพร (จระเข้) ของต่างประเทศดังกล่าวข้างต้น เป็นการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของวัตถุดิบธรรมชาติที่ได้จากทรัพยากรจระเข้ที่มีอยู่ในประเทศภายใต้ทฤษฎีเศรษฐกิจพอเพียง ลดมลพิษทางน้ำของสิ่งแวดล้อมจากการทิ้งเลือดจระเข้ไปอย่างเปล่าประโยชน์ ในระหว่างกระบวนการของอุตสาหกรรมจระเข้ ตลอดจนสถานการณ์ของการเกิดโรคติดเชื้อ (เช่น โรคเอดส์) และโรคไม่ติดเชื้อต่างๆ (เช่น โรคโลหิตจาง โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ) ของประเทศไทยที่มีเพิ่มและรุนแรงมากขึ้น ค่าใช้จ่ายที่เพิ่มสูงขึ้นมากของการนำเข้ายาและผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากต่างประเทศ และแนวโน้มที่ดีของการใช้สารจากธรรมชาติเพื่อการบำบัดรักษาโรค รวมถึงการประยุกต์ใช้ประโยชน์ของการแพทย์แผนไทยในส่วนที่เกี่ยวข้องกับสัตว์สมุนไพร และการพัฒนาตำรับยาในอนาคต จึงเกิดการเชื่อมโยงการทำงานวิจัยร่วมกันของหลายๆ สถาบันทางด้านการเกษตร วิทยาศาสตร์ และการแพทย์ เพื่อให้เกิดศักยภาพในการได้มาซึ่งองค์ความรู้ต่างๆ ที่สำคัญของเลือดจระเข้ ซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์จากผลงานวิจัยที่ดี และให้ทันกับสถานการณ์ของโลก ใช้ประโยชน์ในการป้องกันโรคและการรักษาสุขภาพ โดยริเริ่มเป็นโครงการวิจัยแบบบูรณาการของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ ตามแผนงานวิจัยฉบับนี้

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย (ภาพรวมทั้งแผนงาน)

วัตถุประสงค์ของแผนงานวิจัยฯ ในปีที่ 1 เพื่อวิจัยศึกษาองค์ความรู้ต่างๆ ที่สำคัญของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ได้แก่ องค์ประกอบทางเคมี กระบวนการเจาะเก็บเลือดโดยไม่ทำลายชีวิต ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ฤทธิ์ในการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวมนุษย์ สารยับยั้งแองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ในเลือดจระเข้ไทย ฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการสมานแผลของสารสกัดจากเลือดจระเข้ ซึ่งผลจากงานวิจัยต่างๆ ของโครงการย่อยในแผนงานวิจัยนี้จะเป็นแนวทางสู่การใช้ประโยชน์เป็นการผลิตผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่สะอาดมีคุณภาพ เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่ภาคเอกชน และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันกับต่างประเทศ ตลอดจนเพื่อสนับสนุนอุตสาหกรรมการผลิตจระเข้ เพิ่ม

มูลค่าให้กับจระเข้ ส่งเสริมรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงจระเข้ และเป็นการใช้ประโยชน์ที่ยั่งยืนของทรัพยากรจระเข้ของไทย

3. รายละเอียดความเชื่อมโยงระหว่างโครงการวิจัยย่อย

ในแผนงานวิจัยฯ (ปีที่ 1) นี้ ประกอบด้วยโครงการวิจัยที่ศึกษาคุณสมบัติของเลือดจระเข้ในแง่มุมต่างๆ อันจะนำมาซึ่งองค์ความรู้ใหม่ที่สำคัญเกี่ยวกับเลือดจระเข้สายพันธุ์ไทยของเราเอง (แสดงดังในแผนภูมิกรอบแนวคิด) ได้แก่ องค์ประกอบทางเคมีของส่วนประกอบของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยและการวิเคราะห์โปรตีนของเลือดครบและส่วนแยกต่างๆ ของเลือดจระเข้ *(โครงการวิจัยที่ 1)* การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต *(โครงการวิจัยที่ 2)* ฤทธิ์ต้านจุลชีพ *(โครงการวิจัยที่ 3)* ฤทธิ์เพิ่มหรือกระตุ้นภูมิคุ้มกัน *(โครงการวิจัยที่ 4)* สารยับยั้งแองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ (ACE) ที่มีต่อความดันโลหิต *(โครงการวิจัยที่ 5)* ความสามารถของเลือดจระเข้ในการสมานหรือรักษาบาดแผล *(โครงการวิจัยที่ 6)* และโครงการบริหาร ซึ่งเป็นโครงการประสานโครงการย่อยต่างๆ ในแผนงานวิจัยฯ *(โครงการวิจัยที่ 10)*

โครงการย่อยที่ 1. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย
(Study on Chemical Compositions of Siamese Crocodile Blood)
หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
หัวหน้าโครงการ รศ. ดร. จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ

โครงการย่อยที่2. การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต
(Process Development for Crocodile Blood Collection with Crocodile Life Maintaining
หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
หัวหน้าโครงการ รศ. ดร. วิน เชยชมศรี

โครงการย่อยที่3. ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของเลือดและส่วนประกอบของเลือดจากจระเข้พันธุ์ไทย (Antibacterial and Antifungal Activities of Blood and Blood Components from Siamese Crocodile)
หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
หัวหน้าโครงการ ผศ. ดร. ราตรี ลีละวงค์เทวัญ

โครงการย่อยที่4. การศึกษาฤทธิ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกินของแมโครเฟจและลิมโฟไซต์ (Study on the Effects of Siamese Crocodile Blood (*Crocodylus siamensis*) on Macrophage Phagocytosis and Lymphocyte Activation)

หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

หัวหน้าโครงการ ดร. กัลยา อารีย์

โครงการย่อยที่5. สารยับยั้งแองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ในเลือดจระเข้ไทย (Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor in Siamese Crocodile Blood)

หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

หัวหน้าโครงการ ดร. สิรินดา กุสุมภ์

โครงการย่อยที่ 6. การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการสมานแผลของสารสกัดจากเลือดจระเข้ (Study of Wound Healing Effect of Crocodile Blood Extract)

หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

หัวหน้าโครงการ พญ.ดร.บริสุทธิ์ แสนมโน หาญพานิช

โครงการย่อยที่ 10. <u>โครงการบริหาร</u>

หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หัวหน้าโครงการ รศ. ดร. จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ

สาระสังเขปของแต่ละโครงการวิจัยดังนี้

1) โครงการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ที่สำคัญต่างๆ ที่มีอยู่ในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย และส่วนแยกต่างๆ ของเลือดจระเข้ฯ ทั้งในกลุ่มอินทรีย์สาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และกลุ่มอนินทรีย์สาร ได้แก่ วิตามิน แร่ธาตุต่างๆ รวมถึงการศึกษาวิเคราะห์ในรายละเอียดของอินทรีย์สารที่มีสัดส่วนมากที่สุดในร่างกายคือ โปรตีน โดยอาศัยเทคนิคทางโปรติโอมิกส์ และชีวเคมีอื่นๆ เป็นเครื่องมือในการศึกษา เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญทางวิชาการจากการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ สนับสนุนองค์ประกอบหรือสารที่สำคัญ รวมถึงฤทธิ์หรือสรรพคุณที่มีอยู่ในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย สามารถนำข้อมูลจากการวิจัยและศึกษานี้ไปใช้อธิบายและเชื่อมโยงกับโครงการวิจัยอื่นๆ ในแผนงานวิจัยนี้ และเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพโดยใช้เลือดจระเข้หรือสารสกัดจากเลือดจระเข้เป็นส่วนประกอบ *(การดำเนินงานวิจัย ปีงบประมาณ 2551 - 2553)*

2) โครงการศึกษาการพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้พันธุ์ไทย โดยไม่ทำลายชีวิต ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาในระยะยาวต่อเนื่อง ในแง่ของระยะเวลาและปริมาณเลือดที่

เหมาะสมในการเจาะแต่ละครั้ง ที่ไม่กระทบต่อสุขภาพของจระเข้ผู้ให้เลือด ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐาน เป็นทางเลือกหนึ่งในการแก้ปัญหาการขาดแคลนเลือดจระเข้ในอนาคตเมื่อมีความต้องการวัตถุดิบเพิ่มมากขึ้น ใช้ประกอบการวางแผนการผลิตให้เพียงพอกับความต้องการของตลาด และยังใช้จระเข้เป็นพ่อแม่พันธุ์ เป็นทางเลือกใหม่ให้กับกลุ่มผู้บริโภคที่ไม่ต้องการทำลายชีวิตจระเข้ และเป็นการใช้ประโยชน์จากจระเข้อย่างยั่งยืน*(การดำเนินงานวิจัย ปีงบประมาณ 2551 - 2553)*

3) โครงการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของเลือดและส่วนประกอบของเลือดจากจระเข้พันธุ์ไทย เปรียบเทียบฤทธิ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย(antibacterial activity) และการยับยั้งการเจริญของรา (antifungal activity) จาก เลือดครบแห้งเยือกแข็ง (Freeze dried whole blood) ซีรัมสด (Fresh serum) ซีรัมแห้ง (Freeze dried serum) ด้วยวิธี Modified Disc diffusion assay เพื่อหา Minimium inhibition concentration (MIC) และศึกษาประเภทของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยแบบใดที่เหมาะสมในการผลิตเพื่อจำหน่ายซึ่งยังคงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและราได้ ใช้อธิบายฤทธิ์หรือสรรพคุณที่ดีของผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้ และนำไปประยุกต์ใช้เพื่อการออกแบบผลิตภัณฑ์เสริมสร้างสุขภาพ (Functional foods) ในอนาคต

4) โครงการศึกษาฤทธิ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกินของแมโครเฟจและลิมโฟไซต์ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับความสามารถและประสิทธิภาพขององค์ประกอบในเลือดจระเข้ในส่วนของภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิดของจระเข้ฯ เพื่อการประโยชน์ในทางเภสัชวิทยาของเลือดจระเข้สายพันธุ์ไทย และนำผลที่ได้มาเป็นข้อมูลพื้นฐานของการนำไปใช้ศึกษาทางคลินิกในคนต่อไป ตลอดจนเป็นแนวทางในการศึกษาขั้นลึกถึงสารออกฤทธิ์และกลไกการทำงานที่เกี่ยวข้องในอนาคตใช้เป็นแหล่งข้อมูลในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีเลือดจระเข้เป็นส่วนผสม

5) โครงการศึกษาสารยับยั้งแองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ในเลือดจระเข้ไทย โดยศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เลือดจระเข้ของไทยเป็นแหล่งสกัดสาร ACE inhibitor ซึ่งใช้เป็นยาลดความดันเลือดสูง อันจะเป็นประโยชน์ในทางเภสัชวิทยาของเลือดจระเข้ และใช้เป็นแหล่งข้อมูลในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสร้างสุขภาพ

6) โครงการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการสมานแผลของสารสกัดจากเลือดจระเข้ โดยศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเลือดจระเข้ต่อเซลล์ผิวหนัง keratinocytes และ Fibroblasts และการสมานแผลในสัตว์ทดลอง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสร้างสุขภาพผิวหนัง และช่วยในการสมานแผล

10) โครงการบริหาร เป็นโครงการประสานโครงการย่อยต่างๆ ในแผนงานวิจัย ดำเนินการเรื่องการจัดประชุมเพื่อประเมินผลและติดตามงาน การจัดทำรายงานความก้าวหน้า และเป็นศูนย์กลางของจัดการเจาะเก็บเลือดจระเข้พันธุ์ไทย เตรียมตัวอย่างจระเข้ และส่วนแยกต่างๆ ของเลือดจระเข้ ซึ่งต้องใช้ร่วมกันหลายโครงการย่อย เพื่อลดงบประมาณ

4. ประโยชน์ที่ได้รับ

4.1 ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีผลต่อสุขภาพและเป็นที่ยอมรับของสากลและสามารถขายไปยังต่างประเทศได้ ดังต่อไปนี้

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

- แคปซูลเลือดจระเข้แห้งสำหรับผู้ที่ต้องการบำรุงร่างกาย 1 ผลิตภัณฑ์
- ทราบองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้และส่วนแยกต่างๆ
- แนวทางการผลิตภัณฑ์เสริมอาหารรูปแบบใหม่จากส่วนแยกต่างๆ ที่มีสารออกฤทธิ์

ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพ (Functional food)

- ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกลดไขมันเสริมใยอาหาร
- ทราบฤทธิ์ของสารสำคัญในเลือดจระเข้และส่วนแยกต่างๆ ตลอดจนสารที่สกัดได้จากเลือดจระเข้ ในการป้องกันและช่วยรักษาโรค เช่น โรคติดเชื้อ โรคมะเร็ง โรคความดัน โรคเบาหวาน โรคโลหิตจาง
- ทราบผลของการใช้สารสกัดจากเลือดจระเข้ในสร้างความแข็งแรงของเซลล์ผิวหนังและการสมานแผล

4.2 ได้แนวทางในการพัฒนาเป็นตำรับยาและผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับผู้ป่วยโดยเฉพาะที่มีปัญหาเรื่องโลหิตจาง ความดัน เบาหวาน มะเร็ง โรคติดเชื้อ ที่มีงานวิจัยทางคลินิกรองรับจนใช้ในโรงพยาบาลได้

4.3 เป็นการสร้างงานแก่ภาคเกษตรกรและภาคอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงจระเข้

4.4 มีนักวิจัยที่มีความหลากหลายมาคิดงาน และทำงานบูรณาการ ซึ่งกันและกัน

4.5 ได้สิทธิบัตรจากการเตรียมผลิตภัณฑ์ และผลงานตีพิมพ์อย่างน้อย 5 ผลงาน

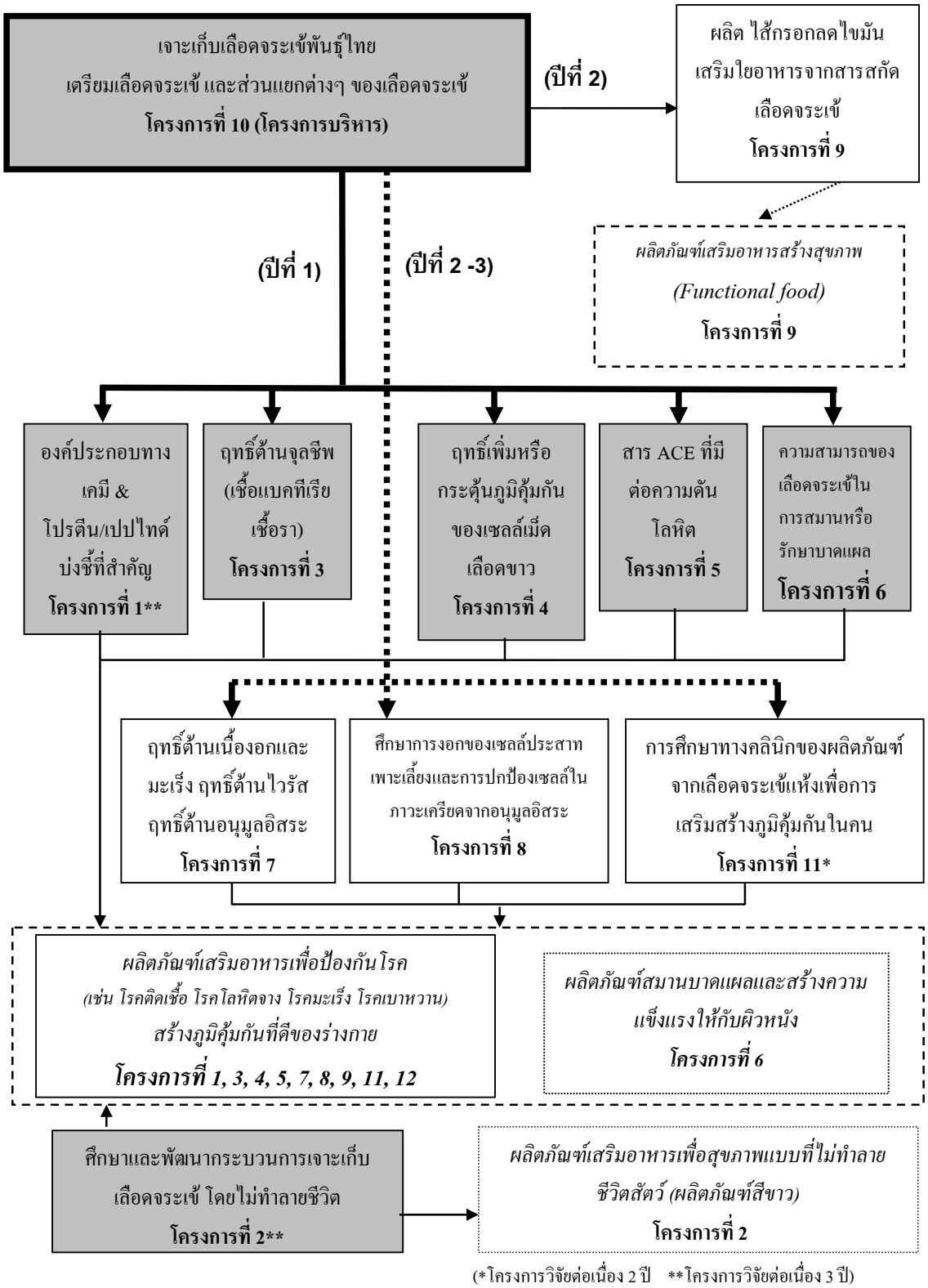
5. หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

5.1 หน่วยงานรัฐ

กระทรวงสาธารณสุข สภาวิจัย สถาบันการศึกษา (องค์ความรู้และผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ)

5.2 หน่วยงานเอกชน

ฟาร์มและบริษัทที่เกี่ยวข้องกับจระเข้	(องค์ความรู้ การพัฒนากระบวนการผลิตเพื่อใช้เลือดเป็นวัตถุดิบที่สะอาดมีคุณภาพ)
บริษัทและโรงงานที่มีธุรกิจสมุนไพร	(มีผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีมาตรฐานและมีข้อพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ที่สามารถแข่งขันได้ในตลาดโลก)



ภาพที่ 1. แผนภูมิแสดงกรอบแนวคิดของแผนงานวิจัยฯ

สรุปภาพรวมของแผนงาน

1. สรุปเรื่องราวในการวิจัยในภาพรวม

แผนงานวิจัย “การวิจัยและพัฒนาเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ” ในปีที่ 1 ได้รับการจัดสรรงบประมาณและสนับสนุนทุนวิจัย “แผนงานสนับสนุนการวิจัยรองรับการเปลี่ยนแปลงและพลวัตโลกเพื่อแก้ปัญหาสำคัญของชาติอย่างสมดุลและยั่งยืน” ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2551 จากภารกิจโครงการและประสานงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เป็นการทำงานบูรณาการซึ่งกันและกันของคณะผู้วิจัยจากสองสถาบันการศึกษาสองแห่ง คือ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่มีความหลากหลายมาคิด และร่วมทำงานกัน โดยได้รับความร่วมมือจากภาคเอกชนเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงจระเข้พันธุ์ไทยที่สนับสนุนวัตถุดิบเลือดจระเข้และตัวจระเข้ในการศึกษาวิจัยในโครงการวิจัยต่างๆ ทั้ง 6 โครงการการศึกษา โดยมีโครงการที่ 10 ทำหน้าที่ในการประสานโครงการย่อยต่างๆ ในแผนงานวิจัย เป็นศูนย์กลางของจัดการเจาะเก็บเลือดจระเข้พันธุ์ไทย เตรียมตัวอย่างจระเข้ และส่วนแยกต่างๆ ของเลือดจระเข้ ซึ่งต้องใช้ร่วมกันหลายโครงการย่อย เพื่อลดงบประมาณ การดำเนินการศึกษาในโครงการต่างๆ ดำเนินไปด้วยดี บรรลุวัตถุประสงค์ของการวิจัยที่ได้ตั้งไว้ ทั้งนี้โดยมีความล่าช้าบ้างในโครงการวิจัยย่อยที่ 6 ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบฤทธิ์ของสารจากเลือดจระเข้ใน ต่อการสมานบาดแผลในหนูทดลอง ผลการศึกษาของโครงการที่ 1 (องค์ประกอบทางเคมี และโปรตีน/เปปไทด์บ่งชี้ที่สำคัญ), โครงการที่ 3 (ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (แบคทีเรีย และ เชื้อรา)), โครงการที่ 4 (ฤทธิ์เพิ่มหรือกระตุ้นภูมิคุ้มกันของเซลล์เม็ดเลือดขาว) และ โครงการที่ 5 (สาร ACE ที่มีต่อความดันโลหิต) เป็นข้อมูลที่สำคัญในการสนับสนุนคุณสมบัติที่ดีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย เป็นแนวทางสำหรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพสร้างภูมิคุ้มกันที่ดีของร่างกาย และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อป้องกันโรค เช่น โรคติดเชื้อ โรคโลหิตจาง โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูงต่อไป ผลการศึกษาของโครงการที่ 6 แสดงให้เห็นถึงความสามารถของเลือดจระเข้ในการสมานหรือรักษาบาดแผล เป็นแนวทางสำหรับผลิตภัณฑ์จากวัตถุดิบเลือดจระเข้ในการสมานบาดแผลและสร้างความแข็งแรงให้กับผิวหนัง ผลการศึกษาของโครงการที่ 2 ให้ข้อมูลสำคัญเพื่อพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้ โดยไม่ทำลายชีวิต ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อเนื่องต่อไปในปีที่ 2-3 อันจะนำไปสู่ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพแบบที่ไม่ทำลายชีวิตสัตว์ (ผลิตภัณฑ์สีขาว) ในอนาคต

2. ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป

เนื่องด้วยปัญหาเรื่องสภาวะเศรษฐกิจที่ตกต่ำในปี พ. ศ. 2551-2552 มีผลกระทบต่ออุตสาหกรรมจระเข้ เป็นอุปสรรคต่อปริมาณตัวอย่างจระเข้ที่ใช้ในการวิจัย จึงจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างเลือดจระเข้ในปริมาณที่พอเหมาะกับงานวิจัยในโครงการต่างๆ ของแผนงานวิจัยฯ การวิจัยในขั้นต่อไปในปีที่ 2 ประกอบด้วย โครงการวิจัยต่อเนื่องจากโครงการที่ 1-2 และโครงการที่จะเริ่มดำเนินการในปีที่ 2 ได้แก่ โครงการย่อยที่ 7 (การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเลือดจระเข้) โครงการย่อยที่ 8 (ผลของเลือดจระเข้ต่อการงอกของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง และการปกป้องเซลล์ในภาวะเครียด จากอนุมูลอิสระ) โครงการย่อยที่ 9 (การพัฒนาไส้กรอกลดไขมันเสริมใยอาหารเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ จากสารสกัดจากเลือดจระเข้ไทย) และโครงการย่อยที่ 11 การศึกษาทางคลินิกของผลิตภัณฑ์จากเลือดจระเข้แห้งเพื่อการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในคน การวิจัยในขั้นต่อไปดังกล่าว จึงควรมีการเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ สะสมไว้ก่อน และมีการนำการเจาะเก็บเลือดปริมาณมากเข้ามาช่วยในการเจาะเก็บเลือดจระเข้ เพื่อจะสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยให้เป็นไปได้ด้วยดี และประกันความเสี่ยงจากสภาวะเศรษฐกิจที่อาจผันผ่วน ซึ่งเป็นปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงจระเข้และอุตสาหกรรมจระเข้ในประเทศไทย

3. ประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลงานวิจัยที่ได้

3.1 ผลงานวิจัยที่ได้จากแผนงานวิจัยฯ นำไปใช้เป็นข้อมูลทางวิชาการจากการศึกษาทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนองค์ประกอบหรือสารที่สำคัญ รวมถึงฤทธิ์หรือสรรพคุณที่มีอยู่ในเลือดจระเข้ โดยเฉพาะเลือดจระเข้พันธุ์ไทยซึ่งมีถิ่นกำเนิดและสามารถเพาะเลี้ยงได้อย่างดีในประเทศไทยของเรา สำหรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารวัตถุดิบจากเลือดจระเข้พันธุ์ไทย

3.2 การใช้ผลงานวิจัยที่ได้จากโครงการที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้และส่วนแยกต่างๆ โครงการที่ 3 ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (แบคทีเรีย และ เชื้อรา และโครงการที่ 4 ฤทธิ์เพิ่มหรือกระตุ้นภูมิคุ้มกันของเซลล์เม็ดเลือดขาว เป็นข้อมูลในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารรูปแบบใหม่จากส่วนแยกต่างๆ ที่มีสารออกฤทธิ์ ทางชีวภาพ

3.3 การใช้ผลงานวิจัยที่ได้จากโครงการที่ 5 (สาร ACE ที่มีต่อความดันโลหิต) เป็นแนวทางการศึกษาและผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพ (Functional food) ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกลดไขมันเสริมใยอาหาร ของโครงการย่อยที่ 9 (การพัฒนาไส้กรอกลดไขมันเสริมใยอาหารเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ จากสารสกัด จากเลือดจระเข้ไทย)

3.4 การนำข้อมูลที่ได้จากการวิจัยของโครงการที่ 2 ประกอบเข้าในรายละเอียดการประดิษฐ์ เรื่อง “กระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต และผลิตภัณฑ์ของจระเข้บริจาคเลือดที่ได้จากกรรมวิธีนี้” ของการขอรับอนุสิทธิบัตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เลขที่คำขอ 0903001362 ลงวันที่ 20 พฤศจิกายน 2552 (แสดงในภาคผนวกของโครงการที่ 2)

ประวัติและผลงานวิจัยที่สำคัญของนักวิจัยและคณะ

1. นางสาวจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ

Miss. Jindawan Siruntawineti

(ผู้รับผิดชอบแผนงานวิจัย/ หัวหน้าโครงการวิจัยย่อยที่ 1/ ผู้ร่วมวิจัยในโครงการย่อยที่ 2-5)

เลขหมายประจำตัวประชาชน 5 3099 90056 69 1

ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 9

หน่วยงาน/ ที่อยู่/ โทรศัพท์/ โทรสาร/ e-mail

ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

50 ถ. พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

โทรศัพท์: 0 2562 5555, 0 2562 5444 ต่อ 3262

โทรสาร: 0 2562 5555, 0 2562 5444 ต่อ 3202

E-mail: fscijws@ku.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อ ปริญญา และชื่อเต็ม	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2531	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	เทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย
2534	ปริญญาโท	วท.ม. (วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต)	พยาธิวิทยาคลินิก	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2545	ปริญญาเอก	Ph.D. (Docter of Philosophy)	Agricultural Sciences	University of Tsukuba	JAPAN

สาขาวิชาที่ชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา

ชีววิทยาของเซลล์และโมเลกุล โลหิตวิทยา ภูมิคุ้มกัน สรีรวิทยา

Cell and Molecular Biology, Hematology, Immunology, Physiology

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

วิน เชยชมศรี จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ บุญเกื้อ วัชรเสถียร มณี ตันติรุ่งกิจ สุดาวรรณ เชยชมศรี ยศพงษ์ เต็มศิริพงศ์ และเริงฤทธิ์ สัปปพัน. 2546. ประสิทธิภาพของซีรัมจระเข้น้ำจืดพันธุ์

ไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย. **วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด**. 15 (ฉบับเพิ่มเติมที่ 1). S120.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W., Vajarasathira, B., Tuntirungkij, M. and Temsiripong, Y. 2003. Complement Activity of Thai Freshwater Crocodile (*Crocodylus siamensis*) serum. *In*: **Proceeding of the 29th Congress on Science and Technology of Thailand.** 20-22 October, 2003. Khon Kaen.

Siruntawineti J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira, T. Ong-aat, and Y. Temsiripong. 2004. Efficacy of Siamese Crocodile (*Crocodylus siamensis*) Serum on Bacterial Growth Inhibition. *In*: **Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group.** 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira, A. Ritwichai, T. Ong-aat, and Y. Temsiripong. 2004. Blood Parasites of *Crocodylus siamensis* in Thailand. *In*: **Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group.** 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Chaeychomsri,W., J. Siruntawineti, B. Vajarasathira, K. Komoljindakul, T. Ong-aat, and Y. Temsiripong. 2004. Intestinal Parasites of Freshwater Crocodile, *Crocodylus siamensis*, in Thailand. *In*: **Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group.** 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, A. Pokharatsiri, B. Vajarasathira, N. Chitchuankij, and Y. Temsiripong. 2004. Crocodile Blood as Food Supplememt: Its Effects on Hematological Values in Wistar Rats. *In*: **Proceeding of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand.** 19-21 October, 2004. Bangkok.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, A. Pokharatsiri, B. Vajarasathira, N. Chitchuankij, and Y. Temsiripong. 2004. Effects of Crocodile Blood Consumption on Biochemical Changes in Wistar Rats. *In*: **Proceeding of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand.** 19-21 October, 2004. Bangkok.

จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ วิน เชยชมศรี และบุญเกื้อ วัชรเสถียร. การเคลื่อนสู่ขั้วไฟฟ้าแบบเอสดีเอส-พอลิอะคริลาไมด์เจลเพื่อศึกษาซีรัมโปรตีนจากจระเข้พันธุ์ไทย หนูวิสตาร์ และคน. **วารสารเทคนิคการแพทย์** ปีที่ 33 ฉบับที่ 1 (ฉบับเสริม) เมษายน 2548. หน้า 303.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira, and Y. Temsiripong. 2005. Evidence for Primary Immune Response to Salmonella paratyphi A in Wistar Rats after Feeding by

crocodile Blood. *In*: **Proceeding of the 31st Congress on Science and Technology of Thailand.** 18-20 October, 2005. Nakhon Ratchasima.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, B. Vajarasathira, and Y. Temsiripong. 2005. Mortality of Crocodile Embryonated Eggs during Artificial Incubation. *In*: **Proceeding of the 31st Congress on Science and Technology of Thailand.** 18-20 October, 2005. Nakhon Ratchasima.

จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ วินเชยชมศรี และบุญเกื้อ วัชรเสถียร. 2549. การใช้เอสดีเอส-พอลิอะคริลาไมล์เจลอีเล็กโตรฟอเรซิสเพื่อศึกษาซีรัมโปรตีนจากจระเข้พันธุ์ไทย หนูวิสตาร์ และคน. **วารสารเทคนิคการแพทย์** 34(1). หน้า 1444-1455.

ชูศักดิ์ เศรษฐ์สัมพันธ์ ปิยะรัตน์ ตั้งเสถียร วินเชยชมศรี และจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ. กระบวนการที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้แห้ง. บูธเลขที่ I309. เลขที่โครงงาน I 4803024. **งานนิทรรศการแสดงผลงานพัฒนาเทคโนโลยีทุนปริญญาตรี สกว. ครั้งที่ 4 (IRPUS Exhibition 49)** วันที่ 31 มีนาคม – 2 เมษายน 2549. ณ MCC Hall ห้างสรรพสินค้าเดอะมอลล์ งามวงศ์วาน ชั้น 4 กรุงเทพฯ. ได้รับรางวัลประเภทบูธดีเด่น

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira and Y. Temsiripong. Development and Evaluation of Dried Siamese Crocodile Blood Product. *In*: **Proceeding of the 32nd Congress on Science and Technology of Thailand.** 10-12 October 2006, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, B. Vajarasathira and Y. Temsiripong. Safety Evaluation of Crocodile Blood Diet. *In*: **Proceeding of the 32nd Congress on Science and Technology of Thailand.** 10-12 October 2006, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

สุจิโรตถ์ โตรักตระกูล วินเชยชมศรี และจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ. การเก็บรักษาและคุณภาพของผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้แห้ง. บูธเลขที่ F1. เลขที่โครงงาน I24903003. **งานนิทรรศการแสดงผลงานพัฒนาเทคโนโลยีทุนปริญญาตรี สกว. ครั้งที่ 5 (IRPUS Exhibition 50)** วันที่ 20 – 22 เมษายน 2550 ณ รอยัลพารากอนฮอล์ ชั้น 5 สยามพารากอน กรุงเทพฯ. ได้รับรางวัลประเภทบูธดีเด่น

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, D. Hengsawadi, Y. Cuptapun, B. Vajarasathira and E. Threenet. Influence of Iron Supplementation from Dried Crocodile Blood on Reproductive Performance in Iron Deficiency Anemia Female Rats. *In*: **Proceeding of**

the 33nd Congress on Science and Technology of Thailand. 18-20 October 2007, Walailak University, Nakhon Si Thammarat.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, D. Hengsawadi, Y. Cuptapun, B. Vajarasathira and Y. Temsiripong. Efficiency of Freeze-dried Crocodile Blood in Iron Deficiency Anemia Male Rats. *In*: **Proceeding of the 33nd Congress on Science and Technology of Thailand.** 18-20 October 2007, Walailak University, Nakhon Si Thammarat.

ภาคภูมิ บุศยพลากร จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ และ วิน เชยชมศรี ประสิทธิภาพของเลือดจระเข้แห้งในหนูทดลองที่เป็นโรคโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็ก **รายงานวิจัยภายใต้โครงการ IRPUS ประจำปีการศึกษา 2550 โครงงานที่ I250B03009. และ "งานแสดงผลงานพัฒนาเทคโนโลยีทุนปริญญาตรี สกว. ครั้งที่ 6**" ในระหว่างวันที่ 28-30 มีนาคม 2551 ณ รอยัลพารากอนฮอล์ ชั้น 5 สยามพารากอน.

ณัฐนรี ปิติมล วิน เชยชมศรี และ จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ. การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต เพื่อนวัตกรรมของผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้. **รายงานวิจัยภายใต้โครงการ IRPUS ประจำปีการศึกษา 2550 โครงงานที่ I250B03011. และ "งานแสดงผลงานพัฒนาเทคโนโลยีทุนปริญญาตรี สกว. ครั้งที่ 6**" ในระหว่างวันที่ 28-30 มีนาคม 2551 ณ รอยัลพารากอนฮอล์ ชั้น 5 สยามพารากอน ได้รับรางวัล ชนะเลิศอันดับสอง ประเภท Professional Vote กลุ่มวิทยาศาสตร์สุขภาพและชีววิทยา

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, D. Hengsawadi, Y. Cuptapan and B. Vajarasathira. 2008. Efficiency of Freeze – dried Crocodile Blood in Iron Deficiency Anemia Male Rats. *In*: **Proceeding of the 19th Working Meeting of the IUCN-SSC Crocodile Specialist Group.** 2 – 7 June 2008, Santa Cruz, Bolivia.

Pitimol, N, P. Budsayaplakorn, J. Siruntawineti and W. Chaeychomsri. 2008. Development of Crocodile Blood Collection Process on Animal Life Maintains for Innovation of Crocodile Blood Product. *In*: **Proceeding of the 19th Working Meeting of the IUCN-SSC Crocodile Specialist Group.** 2 – 7 June 2008, Santa Cruz, Bolivia.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, N. Pitimol and P. Budsayaplakorn. Donation of Crocodile Blood for Food Supplement production. *In*: **Proceeding of the 34th Congress on Science and Technology of Thailand.** 31 October – 2 November 2008, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

2. นายวิน เชยชมศรี

Mr. Win Chaeychomsri

(หัวหน้าโครงการวิจัยย่อยที่ 2/ ผู้ร่วมวิจัยในโครงการย่อยที่ 1, 3-5)

เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 1199 00004 52 7

ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 9

หน่วยงาน/ ที่อยู่/ โทรศัพท์/ โทรสาร/ e-mail

ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

50 ถ. พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

โทรศัพท์: 0 2562 5555, 0 2562 5444 ต่อ 3264

โทรสาร: 0 2562 5555, 0 2562 5444 ต่อ 3202

E-mail: fsciwcc@ku.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อ ปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2523	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	ชีววิทยา	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	ไทย
2532	ปริญญาโท	วท.ม. (วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต)	อายุรศาสตร์เขตร้อน	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2550	ปริญญาเอก	ปร.ด. (ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต)	เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย

สาขาวิชาที่ชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา

โลหิตวิทยา จุลทรรศน์อิเลกโตรนศาสตร์ ภูมิคุ้มกันวิทยา ปรสิตวิทยา วิทยาหนอนพยาธิ เทคโนโลยีชีวภาพของสัตว์

Haematology, Electron Microscopy, Immunology, Parasitology, Nematology, Animal biotechnology

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

สุดาวรรณ เชยชมศรี มณี ตันติรุ่งกิจ วิน เชยชมศรี และ ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2546. การผลิตนิวคลีโอโพลีฮีโดรไวรัสของหนอนเจาะสมอฝ้ายในเซลล์หนอนเจาะฝักข้าวโพดที่เลี้ยงแบบแขวนลอย, น. 34-41. *ใน* **เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41**, สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

สุดาวรรณ เชยชมศรี มณี ตันติรุ่งกิจ วิน เชยชมศรี และ ทิพย์วดี อรรถธรรม. 2547. การเพิ่มปริมาณของนิวคลีโอโพลีฮีโดรไวรัสหนอนกระทู้หอมในเซลล์เพาะเลี้ยง, น. 183-190. *ใน* **เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 42**, สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

วิน เชยชมศรี และ ทัศนีย์ บุญประคอง. 2545. การตรวจหาหนอนพยาธิในปลาที่เลี้ยงในระบบบ่อบำบัดน้ำเสีย **วารสารสิ่งแวดล้อม มก.** 1: 98-101.

วิน เชยชมศรี จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ บุญเกื้อ วัชรเสถียร มณี ตันติรุ่งกิจ สุดาวรรณ เชยชมศรี ยศพงษ์ เต็มศิริพงศ์ และเริงฤทธิ์ สัปปพัน. 2546. ประสิทธิภาพของซีรัมจระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย. **วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด.** 15 (ฉบับเพิ่มเติมที่ 1). S120.

Siruntawineti, J., W Chaeychomsri, B. Vajarasathira, M. Tuntirungkij, and Y. Temsiripong. 2003. Complement Activity of Thai Freshwater Crocodile (*Crocodylus siamensis*) serum. *In*: P**roceeding of the 29th Congress on Science and Technology of Thailand.** 20-22 October, 2003. Khon Kaen.

Siruntawineti J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira, T. Ong-aat, and Y. Temsiripong. 2004. Efficacy of Siamese Crocodile (*Crocodylus siamensis*) Serum on Bacterial Growth Inhibition. *In*: **Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group.** 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira, A. Ritwichai, T. Ong-aat, and Y. Temsiripong. 2004. Blood Parasites of *Crocodylus siamensis* in Thailand. *In*: **Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group.** 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, B. Vajarasathira, K. Komoljindakul, T. Ong-aat, and Y. Temsiripong. 2004. Intestinal Parasites of Freshwater Crocodile, *Crocodylus siamensis*, in Thailand. *In*: **Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group.** 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, A. Pokharatsiri, B. Vajarasathira, N. Chitchuankij, and Y. Temsiripong. 2004. Crocodile Blood as Food Supplememt: Its Effects on Hematological Values in Wistar Rats. *In*: **Proceeding of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand.** 19-21 October, 2004. Bangkok.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, A. Pokharatsiri, B. Vajarasathira, N. Chitchuankij, and Y. Temsiripong. 2004. Effects of Crocodile Blood Consumption on Biochemical Changes in Wistar Rats. *In*: **Proceeding of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand.** 19-21 October, 2004. Bangkok.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, B. Vajarasathira, and Y. Temsiripong. 2005. Mortality of Crocodile Embryonated Eggs during Artificial Incubation. *In*: **Proceeding of the 31st Congress on Science and Technology of Thailand.** 18-20 October, 2005. Nakhon Ratchasima.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira, and Y. Temsiripong. 2005. Evidence for Primary Immune Response to Salmonella paratyphi A in Wistar Rats after Feeding by crocodile Blood. *In*: **Proceeding of the 31st Congress on Science and Technology of Thailand.** 18-20 October, 2005. Nakhon Ratchasima.

จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ วิน เชยชมศรี และบุญเกื้อ วัชรเสถียร. 2549. การใช้เอสดีเอส-พอลิอะคริลาไมล์เจลอีเล็กโตรฟอเรซิสเพื่อศึกษาซีรัมโปรตีนจากจระเข้พันธุ์ไทย หนูวิสตาร์ และคน. **วารสารเทคนิคการแพทย์** 34 (1). หน้า 1444-1455.

ชูศักดิ์ เศรษฐ์สัมพันธ์ ปิยะรัตน์ ตั้งเสถียร วิน เชยชมศรี และจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ. กระบวนการที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้แห้ง. บูธเลขที่ I309. เลขที่โครงงาน I 4803024. **งานนิทรรศการแสดงผลงานพัฒนาเทคโนโลยีทุนปริญญาตรี สกว. ครั้งที่ 4 (IRPUS Exhibition 49)** วันที่ 31 มีนาคม – 2 เมษายน 2549. ณ MCC Hall ห้างสรรพสินค้าเดอะมอลล์ งามวงศ์วาน ชั้น 4กรุงเทพฯ. ได้รับรางวัลประเภทบูธดีเด่น

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira and Y. Temsiripong. Development and Evaluation of Dried Siamese Crocodile Blood Product. *In*: **Proceeding of the 32nd Congress on Science and Technology of Thailand.** 10-12 October 2006, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, B. Vajarasathira and Y. Temsiripong. Safety Evaluation of Crocodile Blood Diet. *In*: **Proceeding of the 32nd Congress on Science and Technology of Thailand.** 10-12 October 2006, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

สุจิโรตถ์ โตรักตระกูล วิน เชยชมศรี และจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ. การเก็บรักษาและคุณภาพของผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้แห้ง. บูธเลขที่ F1. เลขที่โครงงาน I24903003. **งานนิทรรศการแสดงผลงานพัฒนาเทคโนโลยีทุนปริญญาตรี สกว. ครั้งที่ 5 (IRPUS Exhibition 50)** วันที่

20 – 22 เมษายน 2550 ณ รอยัลพารากอนฮอล์ ชั้น 5 สยามพารากอน กรุงเทพฯ. ได้รับรางวัลประเภทบูธดีเด่น

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, D. Hengsawadi, Y. Cuptapan, B. Vajarasathira and Y. Temsiripong. EFFICIENCY OF FREEZE-DRIED CROCODILE BLOOD IN IRON DEFICIENCY ANEMIA MALE RATS. *In*: **Proceeding of the 33rd Congress on Science and Technology of Thailand.** 18-20 October 2007, Walailak University, Nakhon Si Thammarat.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, D. Hengsawadi, Y. Cuptapun, B. Vajarasathira and Y. Temsiripong. Efficiency of Freeze-dried Crocodile Blood in Iron Deficiency Anemia Male Rats. *In*: **Proceeding of the 33nd Congress on Science and Technology of Thailand.** 18-20 October 2007, Walailak University, Nakhon Si Thammarat.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, D. Hengsawadi, Y. Cuptapun, B. Vajarasathira and E. Threenet. Influence of Iron Supplementation from Dried Crocodile Blood on Reproductive Performance in Iron Deficiency Anemia Female Rats. *In*: **Proceeding of the 33nd Congress on Science and Technology of Thailand.** 18-20 October 2007, Walailak University, Nakhon Si Thammarat.

Chaeychomsri, W., P. Tabthipwon, N. Noparatnaraporn and V. Siripholavat. 2008. Development of Microsatellite Markers for Siamese Crocodile (*Crocodylus siamensis*). **Kasetsart Journal Natural Science.** 42 (2) : 256-262.

Chaeychomsri, W., S. Chaeychomsri, M. Tuntirungkij, P. Tabthipwan, N. Noparatnaraporn and V. Siripholavat. 2008. Development of Microsatellite Markers for Siamese Crocodile (*Crocodylus siamensis*). *In*: **Proceeding of the 34th Congress on Science and Technology of Thailand.** 31 October – 2 November 2008, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, N. Pitimol and P. Budsayaplakorn. Donation of Crocodile Blood for Food Supplement production. *In*: **Proceeding of the 34th Congress on Science and Technology of Thailand.** 31 October – 2 November 2008, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

3. นาง ราตรี ลีละวงค์เทวัญ

Mrs Ratree Leelawnogtawon

(หัวหน้าโครงการวิจัยย่อยที่ 3)

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 31301 00572 409

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

สาขาจุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยา สถานพรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12121
โทรศัพท์ที่ทำงาน 0-2926-9710 โทรศัพท์เคลื่อนที่ 0-86819-3768
โทรสาร 0-2926-9711
E-mail: ratree@tu.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2531	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	เทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย
2536	ปริญญาโท	วท.ม. (วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต)	จุลชีววิทยาทางการแพทย์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2545	ปริญญาเอก	ปร.ด. (ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต)	จุลชีววิทยาและอิมมูโนโลยี	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

พันธุวิศวกรรม (genetic engineering technology), oral vaccine

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

Ratree Leelawongtawon, Srinuan Somroop, Urai Chaisri, et al. CpG DNA, Liposome and Refined Antigen Oral Cholera Vaccine. **Asian pacific journal of Allergy and Immunology**, 2003; 21: 231-239. ทุน สกว. ศ.ดร. วันเพ็ญ ชัยคำภา

Aree Taylor and Ratree Leelawongtawon " The Retrospective Study of the Epidemiology of Dengue virus in fection in Thammasat Hospital during 2000-2002" **Journal of The**

Medical Technologist Association of Thailand, 2007;35(1) in published ทุนวิจัยเสริมหลักสูตร ม.ธรรมศาสตร์

Ratree Leelawongtawon, Aree Taylor, Kalaya Aree "The Study of Coliform bacteria in Drinking Water from Cafeteria at Thammasat University Rasit Campus during May to July 2005" **The Journal of Thammasat University Medical School**, 2006; 6(4): 434-440.ทุนวิจัยเสริมหลักสูตร ม.ธรรมศาสตร์

4. นาง กัลยา อัตนวานิช-อารีย์

Mrs. Kalaya Attanavanich-Aree

(หัวหน้าโครงการวิจัยย่อยที่ 4)

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 4-1101-00012-34-7

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ระดับ 7 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
ถนนพหลโยธิน ต. คลองหนึ่ง อ. คลองหลวง จ. ปทุมธานี 12120
โทรศัพท์ 02-926-9710
โทรสาร 02-926-9711
E-mail: Kalaya@tu.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา และชื่อเต็ม	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2532	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	เทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2536	ปริญญาโท	วท.ม. (วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต)	ชีวเคมี	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2546	ปริญญาเอก	Ph.D. (Doctor of Philosophy)	Microbiology	The University of Alabama at Birmingham	USA

สาขาวิชาที่มีความเชี่ยวชาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

ภูมิคุ้มกันวิทยาระดับเซลล์ (cellular immunology)

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

ราตรี ลีละวงค์เทวัญ อารี เทเลอร์ กัลยา อารีย์. การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มในน้ำดื่มสาธารณะจากโรงอาหารในมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึงกรกฎาคม พ.ศ. 2548. 2549. **ธรรมศาสตร์เวชสาร** 6, 434-437.

Attanavanich K. and Kearney J.F. Marginal zone, but not follicular B cells, are potent activators of naive CD4 T cells. 2004**. J Immunol**, 172, 803-811.

5. นางสาว สิรินดา กุสุมภ์

Miss Sirinda Kusump

(หัวหน้าโครงการวิจัยย่อยที่ 5)

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 1020 02404 51 1

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
โทร. 02-564-4440 ต่อ 2550 โทรสาร 02-564-4486
E-mail: sirinda@tu.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2535	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	เทคโนโลยีการอาหาร	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2538	ปริญญาโท	วท.ม. (วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต)	เทคโนโลยีการอาหาร	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2549	ปริญญาเอก	Ph.D. (Doctor of Philosophy)	Food Science and Technology	University of Alberta	Canada

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

เคมีนมและการแปรรูปผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสร้างสุขภาพ

Dairy Chemistry and Technology Functional foods

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

Kusump, S., Silva-Hernandez, E.R., and Ozimek, L. (2007) Isolation of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from casein hydrolysates by ultrafiltration. **Milchwissenschaft.** 62(3): 260-263

Kusump, S., and Ozimek, L., (2006) Probiotic *Lactobacillus casei* ADA03 as a starter culture released angiotensin converting enzyme inhibitors from bovine milk, **Milchwissenschaft.** In press.

Kusump, S., and Ozimek, L. (2002) Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from bovine milk, *In* : **Food Science and Product Technology** (Eds. T. Nakano, and L. Ozimek) Research Signpost, India, 127-139

6. นางบริสุทธิ์ แสนมโน หาญพานิช

Mrs. Borisut Sanmano Hanpanich (former name: Borisut Sanmano)..

(หัวหน้าโครงการวิจัยย่อยที่ 6)

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-5099-01140-67-6

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

โครงการบัณฑิตศึกษา คณะแพทยศาสตร์…….

โทรศัพท์ (ที่ทำงาน) 02-9269806 โทรศัพท์ (มือถือ) 084-1234207

E-mail : sborisut@yahoo.com

ประวัติการศึกษา

2001 – 2005 Ph.D. (Medical Science) Department of dermatology
Juntendo University, Tokyo
Thesis entitled "Engraftment of umbilical cord epithelial cells in athymic mice: an attempt to improve reconstructed skin equivalents as epithelial composites"

2000 Dermatology fellow Department of dermatology
Juntendo University, Tokyo

1992-1988 Medical Diploma (MD) Faculty of Medicine
Chulalongkorn University, Bangkok

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

Tissue engineering (skin), Applied dermatology, Anti-aging, Regenerative Medicine

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

Borisut Sanmano, Masayuki Mizoguchi, Yasushi Suga, Shigaku Ikeda and Hideoki Ogawa: Engraftment of umbilical cord epithelial cells in athymic mice: an attempt to improve reconstructed skin equivalents as epithelial composites. **J Dermatol Sci.** 2005; 37:29-39. มี impact factor 1.480.

Masayuki Mizoguchi, Yasushi Suga**,** Borisut Sanmano, Shigaku Ikeda and Hideoki Ogawa: Organotypic culture and surface plantation using umbilical cord epithelial cells: Morphogenesis and expression of differentiation markers mimicking cutaneous epidermis. **J Dermatol Sci.** 2004; 35(3):199-206. มี impact factor 1.480.

Borisut Sanmano, Masayuki Mizoguchi, Masataro Hiruma, and Hideoki Ogawa: Combination therapy consisting of minimal week-pulse oral terbinafine plus topical application of terbinafine cream in treament of onychomycosis. **J Dermatolog Treat.** 2004; 15(4): 246-252. มี impact factor 0.301.

Borisut Sanmano, Masayuki Mizoguchi, Masataro Hiruma, and Hideoki Ogawa: Abbreviated oral itraconazole therapy. **Mycoses.** 2003; 46(8):298-303. มี impact factor 0.805.

Shigaku Ikeda, Masayuki Mizoguchi, Borisut Sanmano, Yasushi Suga, and Hideoki Ogawa: Clinical trial of human amniotic membranes on ulcerated skin surface in epidermolysis bullosa. **The journal of Activity of the rare and intractable Skin diseases** (Phemphigus, Epidermolysis Bullosa, and generalized Pustular Psoriasis). Research Committee of the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare, Tokyo. 2002. 27-31.

Masayuki Mizoguchi, Borisut Sanmano,Yasushi Suga, Shigaku Ikeda, and Hideoki Ogawa**:** Reconstructed skin equivalent using umbilical cord epithelial cells. **The Meeting of Activity of the rare and intractable Skin diseases** (Phemphigus, Epidermolysis Bullosa, and generalized Pustular Psoriasis). Research committee of the ministry of Health, Labor and Welfare of Japan, Tokyo, July 5, 2001

Borisut Sanmano, Masayuki Mizoguchi, Yasushi Suga, and Hideoki Ogawa: Trial Development of Skin Equivalent Using umbilical cord Derived-Epithelial Cells. **The 26th Annual Meeting of Japanese Society for Investigative Dermatology**, Ehime, September 7-8, 2001

Masayuki Mizoguchi, Borisut Sanmano, Yasushi Suga, Shigaku Ikeda, and Hideoki Ogawa: Clinical trial of human amniotic membranes on ulcerated skin surface in epidermolysis bullosa. **The Meeting of Activity of the rare and intractable Skin diseases** (Phemphigus, Epidermolysis Bullosa, and generalized Pustular Psoriasis). Research committee of the ministry of Health, Labor and Welfare of Japan, Tokyo, January 18, 2002.

Borisut Sanmano, Masayuki Mizoguchi, Masataro Hiruma, and Hideoki Ogawa: Case Report Tinea capitis in Japanese Girl. **The 772nd Tokyo Regional Meeting of Dermatological Society**, Tokyo, April 20, 2002

Borisut Sanmano, Masayuki Mizoguchi, Masataro Hiruma, and Hideoki Ogawa: Tinea Capitis in two Japanese Girls caused by *M. canis*. **The 46th Annual Meeting of Japanese Society for Medical Mycology**, Tokyo, September 28-29, 2002

Borisut Sanmano, Masayuki Mizoguchi, Masataro Hiruma, and Hideoki Ogawa: Minimal week-pulse terbenafine in the treatment of onychomycosis. **The 55th Annual Meeting of Western Japanese Society for Investigative Dermatology**, Ehime, October 25-26, 2003.

Borisut Sanmano, Masayuki Mizoguchi, Yasushi Suga, Shigaku Ikeda, and Hideoki Ogawa**:** Morphogenesis and Differentiation of Umbilical Cord and Epithelial Cells grafted on Nude mice mimicking cutaneus epidermis. **The 29th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology (JSID)**, Kyoto, April 14-16, 2004.

Borisut Sanmmano, Maho Kondo, Yumi Shiraki, Masataro Hiruma, Shigaku Ikeda, Hideoki Ogawa: A case of chromomycosis caused by *Fonsecaea pedrosoi* and a review of reported cases of dematiaceous fungal infection in Japan. The **third Congress of Asia-Pacific Society for Medical Mycology (APSMM)**, Bangkok, March 4-6, 2005.

7. นางสาวดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์

Miss. Duangchan Hengsawadi

(ผู้ร่วมวิจัยโครงการย่อยที่ 1)

เลขหมายประจำตัวประชาชน 5 1002 00012 49 5

ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย ชำนาญการ ระดับ 8

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ 10900
50 ถ. พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทรศัพท์: 02-942-8629-35 ต่อ 906
โทรสาร: 02-940-6455
E-mail: ifcduh@ku.ac,th

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อ ปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
1979	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	ชีววิทยา	-	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	ไทย
1987	ปริญญาโท	M.Sc. (Master of Sciences)	Applied Nutrition	-	University of Indonesia	Indonesia

สาขาวิชาที่ชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา

การทดสอบความปลอดภัยในอาหาร การประเมินคุณค่าทางโภชนาการ

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

Hengsawadi, D.,Tangkanakul. P., Ruamrak. M., Auttaviboonkul, P., Niyomwit,B., TitaTan, Y., Onhem, S., and Phongpipatpong, M. *In*: **Proceedings of the 4 th KU – NPUST Bilateral Conference " Food for Health : The Magic of Asian Agriculture** " Bangkok Thailnd Novenber 6 – 8, 2006

Hengsawadi, D.,Wattanasiritham, L., Ruamrak. M.,., TitaTan, Y., Onhem, S., Sikkamondhol, and C., Srichayet, P " Nutritional Research and Development of Food Products Using Thai Herbs fot Value Added of Health " . *In*: **the Proceedings of the 33rd Congress on Science and Technology of Thailand**, Nakornsrithamrat Thailand October 18-20, 2007

Chaeychomsri., W., Siruntawineti, J., Hengsawadi, D., Cuptapun, Y.,Vajarasathira, B., and Temsiripong, Y. " Efficiency of Freeze – Dried Crocodile Blood in ion Deficiency Anemea Male Rats". *In*: **the Proceedings of the 33rd Congress on Science and Technology of Thailand**, Nakornsrithamrat Thailand October 18-20, 2007

Siruntawineti, J., Chaeychomsri., W., Hengsawadi, D., Cuptapun, Y., Vajarasathira, B., and Threenet, E. " Influence of Ion Supplementation from Dried Crocodile Blood on Reproductive Performance in ion Deficiency Anemea Female Rats". *In:* **the Proceedings of the 33rd Congress on Science and Technology of Thailand**, Nakornsrithamrat Thailand October 18-20, 2007

Cuptapun, Y., Hengsawadi, D., Mesomya, W., Jittanoonta, P., Siripanporn, J and Saengprakai ,J. 2007. Study on Chemical Composition and Shelf Life of High Calcium and High Fiber of Food Bar Products. *In*: **the Proceedings of the 33rd Congress on Science and Technology of Thailand**, Nakornsrithamrat Thailand October 18-20, 2007

Cuptapun, Y., Hengsawadi, D. and Mesomya, W. 2007. Nutritional Evaluation of Nutritious Breakfast Products. *In*: **the Proceedings of the 33rd Congress on Science and Technology of Thailand**, Nakornsrithamrat Thailand October 18-20, 2007

Cuptapun, Y., Hengsawadi, D and Mesomyaw 2006. Utilization of Some Edible Insects in Thailand : Nutritional Qualities and Health Aspects : *In*: **The 4th KU-NPUST Bilateral Conference "Food for Health : The Magic of Asian Agriculture"** November 6-8, 2006. Abstract. และรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยทุนอุดหนุน มก. ปีงบประมาณ 2547

Cuptapun, Y., Hengsawadi, D., Mesomya, W. and Jittanoonta, P. 2003. Effect of Fermented Soybean (Thua Nao) on Nutritional Status and Heatth Aspects in Rat. *In*: **Symposium Abstract The 1st International Symposium and Workshop on Insight into the World of Indigenous Fermented Foods for Technology Development and Food Safety** August 13-15, 2003, P-12 and full paper.

Mesomya, W., Pakpeankitvatana, V., Komindr, S., Leelahagul, P., Cuptapun, Y., Hengsawadi, D., Tammarate, P. and Tangkanakul, P. 2004 Effect of Health Food from Cereal and Nata De Coco on Serum Lipids in Human. Abstract in **10th World Congress on Clinical Nutrition** November 30-December 3, 2004, Phuket, Thailand and full paper.

วันเพ็ญ มีสมญา ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์ เยาวดี คุปตะพันธ์ ผ่องศรี จิตตนูนท์ และวิภาภรณ์ ณ ถลาง 2546 เรื่องผลของน้ำมันปลาจากปลาป่นนอร์เวย์ต่อระดับไขมันในเลือดหนูทดลอง **วารสารเกษตรนเรศวร** ปีที่ 7 ฉบับที่ 1 ตุลาคม 2546 – กันยายน 2547 หน้า 117-129

วันเพ็ญ มีสมญา ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์ เยาวดี คุปตะพันธ์ สร้อยทอง สายหยุดทอง กรุณา วงษ์กระจ่าง ธีระ ทองเผือก สมโภชน์ ใหญ่เอี่ยม และเพลินใจ ตังคณะกุล 2546 การศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ใยอาหารสูงเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จากท้องตลาด เรื่องเต็ม **การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 41 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์** หน้า 388-397

Mesomya,W.,Chotmethepirom,S.,Cuptapun,Y.,Hengsawadi,D.,Jittanoonta, P., Na-Thalang, V., and Sringam, S.2003. Effect of Coconut Oil Compared with Rice Bran Oil on Serum Lipid in Experimental Rats. Presented at **29th Congress on Science and Technology of Thailand**, October20 – 22 , 2003 and full paper.

8. นางสาวเยาวดี คุปตะพันธ์

Miss. YAOVADEE CUPTAPUN

(ผู้ร่วมวิจัยโครงการย่อยที่ 1)

เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 1005 02556 22 0

ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย ชำนาญการ ระดับ 8

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ 10900
50 ถ. พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทรศัพท์: 02-942-8629-35 ต่อ 905
โทรสาร: 02-940-6455
E-mail: ifrydc@ku.ac,th

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อ ปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2522	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	ชีววิทยา	-	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย
2527	ปริญญาโท	M.Sc. (Master of Sciences))	Applied Nutrition	-	University of Indonesia	Indonesia

สาขาวิชาที่ชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา

การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของอาหารโดยใช้สัตว์ทดลอง
การทดสอบความปลอดภัยของอาหารโดยใช้สัตว์ทดลอง

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

Cuptapun, Y., Hengsawadi, D., Mesomya, W., Jittanoonta, P., Siripanporn, J and Saengprakai ,J. 2007. Study on Chemical Composition and Shelf Life of High Calcium and High Fiber of Food Bar Products. *In:* **the Proceedings of the 33rd Congress on Science and Technology of Thailand**, Nakornsrithamrat Thailand, October 18-20, 2007.

Cuptapun, Y., Hengsawadi, D. and Mesomya, W. 2007. Nutritional Evaluation of Nutritious Breakfast Products. *In*: **the Proceedings of the 33rd Congress on Science and Technology of Thailand**, Nakornsrithamrat Thailand, October 18-20, 2007

Cuptapun, Y., Hengsawadi, D and Mesomyaw 2006. Utilization of Some Edible Insects in Thailand : Nutritional Qualities and Health Aspects : *In*: **The 4th KU-NPUST Bilateral Conference "Food for Health : The Magic of Asian Agriculture"** November 6-8, 2006. Abstract. และรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยทุนอุดหนุน มก. ปีงบประมาณ 2547

Cuptapun, Y., Hengsawadi, D., Mesomya, W. and Jittanoonta, P. 2003. Effect of Fermented Soybean (Thua Nao) on Nutritional Status and Heatth Aspects in Rat. *In*: **Symposium Abstract The 1st International Symposium and Workshop on Insight into the World of Indigenous Fermented Foods for Technology Development and Food Safety,** August 13-15, 2003, P-12 and full paper.

Mesomya, W., Pakpeankitvatana, V., Komindr, S., Leelahagul, P., Cuptapun, Y., Hengsawadi, D., Tammarate, P. and Tangkanakul, P. 2004 Effect of Health Food from Cereal and Nata De Coco on Serum Lipids in Human. Abstract in **10th World Congress on Clinical Nutrition** November 30-December 3, 2004, Phuket, Thailand and full paper.

วันเพ็ญ มีสมญา ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์ เยาวดี คุปตะพันธ์ ผ่องศรี จิตตนูนท์ และวิภาภรณ์ ณ ถลาง 2546 เรื่องผลของน้ำมันปลาจากปลาป่นนอร์เวย์ต่อระดับไขมันในเลือดหนูทดลอง **วารสารเกษตรนเรศวร** ปีที่ 7 ฉบับที่ 1 ตุลาคม 2546 – กันยายน 2547 หน้า 117-129

วันเพ็ญ มีสมญา ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์ เยาวดี คุปตะพันธ์ สร้อยทอง สายหยุดทอง กรุณา วงษ์กระจ่าง ธีระ ทองเผือก สมโภชน์ ใหญ่เอี่ยม และเพลินใจ ตังคณะกุล 2546 การศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ไยอาหารสูงเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จากท้องตลาด เรื่องเต็ม **การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 41 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์** หน้า 388-397

Mesomya,W.,Chotmethepirom,S.,Cuptapun,Y.,Hengsawadi,D.,Jittanoonta, P., Na-Thalang, V., and Sringam, S.2003. Effect of Coconut Oil Compared with Rice Bran Oil on Serum Lipid in Experimental Rats. Presented at **29th Congress on Science and Technology of Thailand**, October 20 – 22, 2003 and full paper.

9. นายเอกวิทย์ ตรีเนตร

Mr. Ekawit Threenet

(ผู้ร่วมวิจัยโครงการย่อยที่ 1)

เลขหมายประจำตัวประชาชน -

ตำแหน่งปัจจุบัน นักศึกษาปริญญาเอกสาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
50 ถ. พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทรศัพท์: 0 2562 5555, 0 2562 5444 ต่อ 3264
โทรสาร: 0 2562 5555, 0 2562 5444 ต่อ 3202
E-mail: ekawit73@hotmail.com

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อ ปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2540	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	ชีววิทยา	ชีววิทยา	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	ไทย
2543	ปริญญาโท	วท.ม. (วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต)	พิษวิทยา	พิษวิทยา	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย

สาขาวิชาที่ชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา

Biochemistry, Animal Biotechnology

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

Ekawit Threenet and Noppamars Wongwitdacha. Effects of stress on the plus maze behaviour of carbamazepine-treated rats. **The International Journal of Neuropsycho-pharmacology** 2000;3 Suppl 1:S295.

Noppamars Wongwitdacha and Ekawit Threenet. Social isolation rearing alters the anxiolytic profile valproic acid in the rats elevated plus maze. **The International Journal of Neuropsycho-pharmacology** 2000;3 Suppl 1:S295.

Wongwitdacha N., Threenet E., Soo-Ampon S. and Thaidee H. Effects of light intensity on locomotor activity in isolation and socially reared rats. **Neurosci Letters** 2000;43 (Suppl1):S108.

Wongwitdacha N., Threenet E. Decreased sensitivity to the antidepressant-like effect of carbamazepine following social isolation in the rats. **Neurosci Letters** 2000;43 (Suppl1):S30.

10. นางสาววิภาภรณ์ ณ ถลาง

Miss. Vipaporn Na Thalang

(ผู้ร่วมวิจัยโครงการย่อยที่ 2)

เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 1007 01137 01 4

ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย (ชำนาญการ) ระดับ 8

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
ตู้ปณฝ. 1024 เกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10903
โทรศัพท์ 0 2942 8629-35 โทรสาร 0 2561 1970
E-mail: ifrvpn@ku.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2520	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	สัตววิทยา	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2522	ปริญญาตรี	สพ.บ. (สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต)	สัตวแพทยศาสตร์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2525	ปริญญาโท	วท.ม. (วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต)	สาธารณสุขศาสตร์	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2538	ปริญญาตรี	Dr. med. vet. (Doctor Medicinae Veterinariae)	Medicinae Veterinariae	Veterinary College, Hannover	Germany

สาขาวิชาที่ชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา

โภชนาการและความปลอดภัยของอาหาร (Nutrition and Food Safety)

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

Roy, M.K., Nakahara, K., Na Thalang, V., Trakoontivakorn, G. , Takenaka, M. , Isobe, S. , Tsushida, T. 2007. Baicalein, a flavonoid extracted from a methanolic extract of Oroxylum indicum inhibits proliferation of a cancer cell line in vitro via induction of apoptosis. **Pharmazie** 62 (2), pp. 149-153 (แหล่งทุน – Japan International Research Center for Agricultural Sciences - JIRCAS)

Molay Kumar Roy, Na Thalang V. , Trakoontivakorn G. and Nakahara K. 2005. Mahamine, a carbazole alkaloid from *Micromelum minutum*, inhibits cell growth and induces apoptosis in U937 cells through a mitochondrial dependent pathway. **British Journal of Pharmacology** No. 145: pp 145-155. (แหล่งทุน - JIRCAS)

Molay Kumar Roy, Na Thalang V. , Trakoontivakorn G. and Nakahara K. 2004. Mechanism of mahamine induced apoptosis in human leukemia cells (HL-60). **Biochemical Pharmacology** No. 67 : pp 41-51. (แหล่งทุน - JIRCAS)

Jeong Hwa Hong, Manochai B., Trakoontivakorn G. and Na Thalang V. 2004. Fibrinolytic activity of Thai indigenous vegetables. **Kasetsart J. (Nat.Sci.).** No. 38 : pp 241-246. (แหล่งทุน – ร่วมกับบริษัท Nutra Tech.)

Na Thalang V., Trakoontivakorn G. and Nakahara K. 2001. Determination of Antioxidant Activity of Some Commonly Leafy Vegetables in Thailand. **JIRCAS Journal** No. 9 : pp 39-46. (แหล่งทุน - JIRCAS)

11. นางบุญเกื้อ วัชรเสถียร

Mrs. Boongeua Vajarasathira

เลขหมายประจำตัวประชาชน 5 1006 99014 41 7

ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 9

หน่วยงาน/ ที่อยู่/ โทรศัพท์/ โทรสาร/ e-mail

ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
50 ถ. พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทรศัพท์: 0-2562-5555 ต่อ 3234 โทรสาร: 2562-5555 ต่อ 3202

E-mail: fscibov@ku.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2518	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตร์บัณฑิต)	สัตววิทยา	สัตววิทยา	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2520	ปริญญาโท	วท.ม. (วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต)	สัตววิทยา	สัตววิทยา	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2529	ปริญญาเอก	Ph.D. (Docter of Philosophy)	Entomology	Entomology	Purdue University	U.S.A.

สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา

Insect Ecology, Biological Control of Insects

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

วิน เชยชมศรี จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ บุญเกื้อ วัชรเสถียร มณี ตันติรุ่งกิจ สุดาวรรณ เชยชมศรี ยศพงษ์ เต็มศิริพงศ์ และเริงฤทธิ์ สัปปพัน. 2546. ประสิทธิภาพของซีรัมจระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด. 15 (ฉบับเพิ่มเติมที่ 1). S120.

Siruntawineti, J., W Chaeychomsri, B. Vajarasathira, M. Tuntirungkij, and Y. Temsiripong. 2003. Complement Activity of Thai Freshwater Crocodile (*Crocodylus siamensis*) serum. *In*: Proceeding of the 29th Congress on Science and Technology of Thailand. 20-22 October, 2003. Khon Kaen.

Siruntawineti J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira, T. Ong-aat, and Y. Temsiripong. 2004. Efficacy of Siamese Crocodile (*Crocodylus siamensis*) Serum on Bacterial Growth Inhibition. *In*: Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group. 24–29 May 2004, Darwin Australia

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira, A. Ritwichai, T. Ong-aat, and Y. Temsiripong. 2004. Blood Parasites of *Crocodylus siamensis* in Thailand. *In*: Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group. 24–29 May 2004, Darwin Australia

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, B. Vajarasathira, K. Komoljindakul, T. Ong-aat, and Y. Temsiripong. 2004. Intestinal Parasites of Freshwater Crocodile, *Crocodylus siamensis*,

in Thailand. *In*: Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group. 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, A. Pokharatsiri, B. Vajarasathira, N. Chitchuankij, and Y. Temsiripong. 2004. Crocodile Blood as Food Supplememt: Its Effects on Hematological Values in Wistar Rats. *In*: Proceeding of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand. 19-21 October, 2004. Bangkok.

จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ วิน เชยชมศรี และบุญเกื้อ วัชรเสถียร. การเคลื่อนสู่ขั้วไฟฟ้าแบบเอสดีเอส-พอลิอะคริลาไมด์เจลเพื่อศึกษาซีรัมโปรตีนจากจระเข้พันธุ์ไทย หนูวิสตาร์ และคน. วารสารเทคนิคการแพทย์ ปีที่ 33 ฉบับที่ 1 (ฉบับเสริม) เมษายน 2548. หน้า 303.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira, and Y. Temsiripong. 2005. Evidence for Primary Immune Response to Salmonella paratyphi A in Wistar Rats after Feeding by crocodile Blood. *In*: Proceeding of the 31st Congress on Science and Technology of Thailand. 18-20 October, 2005. Nakhon Ratchasima.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, B. Vajarasathira, and Y. Temsiripong. 2005. Mortality of Crocodile Embryonated Eggs during Artificial Incubation. *In*: Proceeding of the 31st Congress on Science and Technology of Thailand. 18-20 October, 2005. Nakhon Ratchasima.

จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ วินเชยชมศรี และบุญเกื้อ วัชรเสถียร. 2549. การใช้เอสดีเอส-พอลิอะคริลาไมล์เจลอีเล็กโตรฟอเรซิสเพื่อศึกษาซีรัมโปรตีนจากจระเข้พันธุ์ไทย หนูวิสตาร์ และคน. วารสารเทคนิคการแพทย์ 34(1). หน้า 1444-1455.

Siruntawineti, J., W. Chaeychomsri, B. Vajarasathira and Y. Temsiripong. DEVELOPMENT AND EVALUATION OF DRIED SIAMESE CROCODILE BLOOD PRODUCT. *In*: Proceeding of the 32nd Congress on Science and Technology of Thailand. 10-12 October 2006, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, B. Vajarasathira and Y. Temsiripong. SAFETY EVALUATION OF CROCODILE BLOOD DIET. *In*: Proceeding of the 32nd Congress on Science and Technology of Thailand. 10-12 October 2006, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

Chaeychomsri, W., J. Siruntawineti, D. Hengsawadi, Y. Cuptapun, B. Vajarasathira and Y. Temsiripong. Efficiency of Freeze-dried Crocodile Blood in Iron Deficiency Anemia Male Rats. *In*: Proceeding of the 33nd Congress on Science and Technology of Thailand. 18-20 October 2007, Walailak University, Nakhon Si Thammarat.

12. นางอรุณพร อิฐรัตน์

Mrs. Arunporn Itharat

(ผู้ร่วมวิจัยโครงการวิจัยย่อยที่ 6/ ที่ปรึกษาโครงการวิจัยย่อยที่ 5)

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน

ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 9

หน่วยงานที่สังกัดและที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ศูนย์การแพทย์แผนไทยประยุกต์
คณะแพทย์สาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
คลองหลวง ปทุมธานี
โทรศัพท์/โทรสาร 02-9269749
E-mail : iarunporn@yahoo.com

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2524	ปริญญาตรี	ภ.บ. (เภสัชศาสตรบัณฑิต)	-	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2529	ปริญญาโท	ภ.ม. (เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต)	เภสัชเวท	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2545	ปริญญาเอก	Ph.D. (Docter of Philosophy)	Pharmacognosy	King's College, London	อังกฤษ
2439	-	Certificate of British counsil training course	Cytotoxicity testing on plants extract	King's College, London	อังกฤษ
2546	เภสัชกรรมแผนไทย	บภ.			
2546	เวชกรรมแผนไทย	บว.			

สาขาที่ชำนาญพิเศษ

เภสัชเวท และวิชาเกี่ยวสมุนไพร ยาพื้นบ้าน การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพร

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

Saetung, A., Itharat, A., Dejsukum, C, Wattanapiromsakul, C. , Keawpradub, K., Ratanasuwan, P. Cytotoxic Activity of Thai Medicinal Plants for Cancer Treatment . **Songklanakarin J. Sci. Technol**., 2005, 27(supplement.2): 469-478.

Chirunthorn. R., Supavita, T., Intaraksa, N., Kummee, S. , Junkong,N., Chisorn, B., Itharat, A. Study on Biological Activities of Mansao hymenaea (DC.) A. Gentry leaf extracts. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 2005, 27(supplement.2):489-495.

Ungphaiboon, S., Supavita, T., Singchangchai, P., Sungkarak, S., Rattanasuwan, P., Itharat, A. Study on Antioxidant and Antimicrobial Activities of Turmeric Clear Liquid Soap for Wound Treatment of HIV Patients **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 2005, 27 (supplement.2): 569-578.

Wattanasit, S., Siriwattananukul, Y., Itharat, A., Chondumrongkul, S. Effect of Andrographis paniculata leaves and Psidium guajava leaves for enhance growth efficiency of broilers **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 2005, 27 (supplement.2): 587-596.

Wattanapiromsakul, C., Wangsintaweekul, B., Sangprapan, P., Itharat, A. and Keawpradub, N. Goniothalamin, a cytotoxic compound, isolated from Goniothalamus macrophyllus (Blume) Hook. f. & Thomson var. macrophyllus. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 2005, 27 (supplement.2): 479-487.

Tewtrakul, S., Itharat, A.,Ratnasuwan, P. Anti HIV1 protease and HIV1 integrase of Thai traditional plants known as Hua-Khao-Yen J. **Ethnopharmacology** 2005, 105: 312-315.

Phongpaichit , S, Kummee, S., Nilrat,L. and Itharat, A., Antimicrobial activity of oil from the root of Cinnamomum porrectum S**ongklankarin J.Sci.Technol** 2007 29: 11-16.

Reanmongkol,W and Itharat, A. Antipyretic activity of the extracts of Hibiscus sabdariffa calyces L. in experimental animals. **Songklankarin J.Sci.Technol** 2007 29: 29-36.

Reanmongkol, W. , Itharat, A and Bouking, P. Investigation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the extracts from the rhizome of Dioscorea membranacea Pierre in experimental animals. **Songklankarin J.Sci.Technol** 2007 29: 49-58.

Reanmongkol, W., Itharat, A and Bouking, P. Evaluation of the anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of the extracts from Smilax corbularia Kunth rhizomes in mice and rats (in vivo) **Songklankarin J.Sci.Technol** 2007 29: 59-68.

Sirikatitham, A, Chuchom, T and Itharat, A Development of the chromatographic fingerprint analysis of dioscorealides and dioscoreanone from Dioscorea membranacea Pierre. **Songklankarin J.Sci.Technol** 2007 29: 87-94.

Tewtrakul, S., Itharat, A., Nitric oxide inhibitory substances from the rhizomes of Dioscorea membranacea. **J. Ethnopharmacology** 2007, 109(3):412-416.

Tewtrakul, S., Itharat, A., Anti-allergic substances from the rhizomes of Dioscorea membranacea. **Bioorg Med Chem** 2006; 14(24): 8707-8711.

Sae-Yun A, Ovatlarnporn C, Itharat A, Wiwattanapatapee R. Extraction of rotenone from Derris elliptica and Derris malaccensis by pressurized liquid extraction compared with maceration. **J Chromatogr A.** 2006, 1125 (2): 172-176.

ผลงานวิจัยที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

Katpanyapong W,Siriwatananukul Y, Itharat A,Ngampongsai W The effects of *Andrographis paniculata* and *Psidium guajava* leaves on growth and feed efficiency of diarrheic piglets. **J of Thai Traditional Medicine,** 5: 33-42, 2001.

Siriwatttananukul, Y., Reungrum, S., Itharat, A., Wattanasit. (2003) Uses of Stevia (Stevia rebaudiana) in suckling and weaned diet. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 25 (1): 19-27.

อรุณพร อิฐรัตน์ เพชรน้อย สิงห์ช่างชัย ปรานี รัตนสุวรรณ วิศิษย์ เกตุปัญญาพงค์ สุมิตรา จันทร์ทอง โครงการพัฒนาวัตถุดิบสมุนไพรจังหวัดสงขลา รายงานวิจัย สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (2540-2544) **(หัวหน้าโครงการ)**

อรุณพร อิฐรัตน์ และคณะ โครงการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเทพธาโรครบวงจร สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา เครือข่ายวิจัยภาคใต้ตอนล่าง ประจำปี 2549 **(หัวหน้าโครงการ)**

13. นางสาวสุวรพร แซ่ลิ้ม

Miss. Suvaraporn Sae-Lim

(ผู้ร่วมวิจัยโครงการวิจัยย่อยที่ 6)

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-1306-00581-741

ตำแหน่งปัจจุบัน เจ้าหน้าที่วิจัย

หน่วยงานที่สังกัดและที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

งานวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

โทรศัพท์ (ที่ทำงาน) 02-926-9830 โทรศัพท์ (มือถือ) 081-925-9279….

E-mail: suvaraporns@hotmail.com

ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2543	ปริญญาตรี	วท.บ. (วิทยาศาสตรบัณฑิต)	ชีววิทยา	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร	ไทย

สาขาวิชาที่มีความเชี่ยวชาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

Flow cytometer, การตรวจวิเคราะห์ด้าน Clinical chemistry และ Serology ในเลือด

ผลงานวิจัยที่สำคัญ

1. Pimolvan Tappayuthpijarn, Arunporn Itharat, **Suvaraporn Saelim**, Sakultala Uttama. Proliferation enhancing effect of rice extracts on neuronal PC12 cells. Planta Medica, 2009 ; 75 : 940.
2. Pimolvan Tappayuthpijarn, Arunporn Itharat, **Suvaraporn Saelim**, Sakultala Uttama, Vanussaya Suangkavatin. Enhancing cell proliferation and protection hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in PC12 cells by rice extracts. Journal of Thai Pharmacology, 2010; 32(1) : 90-3.

รายงานการวิจัย

ที่ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยแผนงานสนับสนุนการวิจัยรองรับการเปลี่ยนแปลงและพลวัตโลกเพื่อแก้ปัญหาสำคัญของชาติอย่างสมดุลและยั่งยืน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2551

โครงการย่อยที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย

Study on Chemical Compositions of Siamese Crocodile Blood

หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ: นางสาวจินดาวรรณ สิรันทวิแนติ

ผู้ร่วมงานวิจัย: นายวิน เชยชมศรี

นางสาวดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์

นางสาวเยาวดี คุปตะพันธ์

นายเอกวิทย์ ตรีเนตร

โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย

Study on Chemical Compositions of Siamese Crocodile Blood

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปี 2551 จำนวนเงิน 822,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 ถึง กันยายน 2552 (ปีที่ 1)

ชื่อผู้วิจัย

นางสาวจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ Ph.D.(Agricultural Science) ภาควิชาสัตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3262

นายวิน เชยชมศรี ปร. ด. (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร). ภาควิชาสัตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3264

นางสาวดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์ศรี M. Sc. (Applied Nutrition). ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2942-8629-35 ต่อ 906

นางสาวเยาวดี คุปตะพันธ์ M. Sc. (Applied Nutrition). ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2942-8629-35 ต่อ 905

นายเอกวิทย์ ตรีเนตร วท.ม. (พิษวิทยา) โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3264

บทคัดย่อ

เลือดจระเข้ เป็นสารจากธรรมชาติที่อุดมไปด้วยสารอาหาร นิยมบริโภคกันอย่างกว้างขวางเป็นยาสมุนไพร และเครื่องยาสัตววัตถุในการรักษาของแพทย์แผนจีน ปัจจุบันมีการเพิ่มมูลค่า พัฒนาและใช้ประโยชน์เลือดจระเข้เพิ่มมากขึ้น แต่ยังขาดความรู้พื้นฐานจากงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย รวมถึงส่วนต่างๆ ที่แยกจากเลือดฯ ซึ่งไม่เคยมีการศึกษามาก่อน การวิจัยในครั้งนี้ศึกษาเกี่ยวข้องกับปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ โดยเฉพาะสารอินทรีย์ในกลุ่มของโปรตีนของเลือดจระเข้หรือจากส่วนแยกต่างๆ รายงานการวิจัยนี้เป็นผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยของในปีที่ 1 ของระยะเวลาวิจัยทั้งหมด 3 ปี โดยเจาะเก็บเลือดจากจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) อายุ 2-4 ปี ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง จากภาคกลาง (นครปฐม) ภาคตะวันออก (ฉะเชิงเทรา) และภาคใต้ (ปัตตานี) จำนวนภาคละ 60 ตัว (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว) ปริมาณ 110 มิลลิลิตร ต่อตัว เตรียมตัวอย่าง (เลือดครบ และส่วนซีรัม) ที่ผ่านการทำ Freeze dry ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด น้ำตาล โปรตีน (แฟคเตอร์ 6.25) ไขมันทั้งหมด ไขมันอิ่มตัว โคเลสเตอรอล (โดยใช้วิธีทดสอบตามหลักการของ Thai Compendium of methods for food analysis, 1st ed. 2003) และการทดสอบหาชนิดของกรดอะมิโนในเลือดครบของจระเข้ฯ โดยใช้วิธี Gas Chromatography/ HPLC (In house method based on AOAC (2005), 994.12) สารอนินทรีย์ ได้แก่ น้ำ เถ้า โซเดียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส คลอไรด์ แคลเซียม แมกนีเซียม วิตามินเอ วิตามินบี1, บี6, บี12 วิตามินซี (โดยใช้วิธีทดสอบตามหลักการของ Thai Compendium of methods for food analysis, 1st ed. 2003) โลหะหนัก (เหล็ก ตะกั่ว สารหนู) และสารต้านอนุมูลอิสระ (BHA BHT TBHQ) (โดยใช้วิธีทดสอบตามหลักการของ T-CM-037 Based on Food Chemistry, 2000) จากการศึกษาพบว่า ในเลือดครบโปรตีนมีปริมาณมากที่สุด (87.4 g/100g) รองลงมาคือ ไขมัน (2.4 g/100g) และคาร์โบไฮเดรต (0.6 g/100g) ส่วนในซีรัมพบมีโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ปริมาณ 69.0, 8.2 และ 6.9 g/100g ตามลำดับ โดยในเลือดครบมีโปรตีน ฟอสฟอรัส (547.0 mg/100g) และเหล็ก (132.1 mg/100g) มากกว่าในซีรัม ในเลือดจระเข้ (เลือดครบ, ซีรัม) วิตามินที่พบปริมาณมากที่สุดได้แก่ วิตามินซี (10.88, 8.66 mg/100g) รองลงมาคือ วิตามินบี2 (0.29, 0.50 mg/100g) , วิตามินบี6 (0.23, 0.23 mg/100g) วิตามินบี1 (0.11, 0.04 mg/100g) และ วิตามินบี12 (0.10, < 0.10 mg/100g) ตามลำดับ วิตามินที่พบปริมาณน้อยที่สุดคือ วิตามินเอ (661.15 ug/100g) ซึ่งพบในส่วนของซีรัมมีปริมาณของวิตามินเอมากว่าในเลือดครบเกือบห้าเท่า องค์ประกอบทางเคมีในเลือดจระเข้ฯ ที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันเด่นชัด กรดอะมิโนที่พบปริมาณมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ Glutamic acid (9960.25 mg/100g),

Leucine (7761.15 mg/100g), Aspartic acid (7538.34 mg/100g), Lysine (7508.79 mg/100g) และ Alanine (5442.63 mg/100g) ตามลำดับ กรดอะมิโนที่พบปริมาณน้อยที่สุด 3 อันดับสุดท้าย ได้แก่ Tryptophan (1006.58 mg/100g), Methionine (1197.69 mg/100g) และ Isoleucine (2054.58 mg/100g) ตามลำดับ การศึกษารูปแบบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ในภาวะที่มีเมอร์เคปโทเอทานอลเป็นสารรีดิวซ์ ที่ 10% (w/v) separating gel ของตัวอย่างจากจระเข้เพศผู้ และจระเข้เพศเมีย ในส่วนเม็ดเลือด เลือดครบ ซีรัม และตัวอย่างเลือดครบและซีรัมผ่านกระบวนการทำแห้งฟรีซดราย (Freeze dry) พบว่ารูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้ไม่แตกต่างกันตามเพศ กระบวนการทำแห้ง และแหล่งเมื่อเปรียบเทียบเพาะเลี้ยง พบความแตกต่างของรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้ จากตัวอย่างเลือดจระเข้ส่วนที่แตกต่างกัน (เลือดครบ ซีรัม และส่วนเม็ดเลือด) โดยโปรตีนจากตัวอย่างเลือดครบ (WB) พบ 7 แถบ ที่น้ำหนักโมเลกุล 119, 91, 67, 62, 59, 45 kDและ 25 kDa ตามลำดับ โปรตีนจากซีรัม (S) แยกได้เป็น 6 แถบ ที่น้ำหนักโมเลกุล 225, 121, 67, 62, 45 และ 25 kDa ตามลำดับ โปรตีนจากส่วนเม็ดเลือด (BC) แยกได้ปีน 2 แถบ ที่น้ำหนักโมเลกุล 45 และ 25 kDa แถบโปรตีนที่เข้มกว้างที่สุดคือ แถบโปรตีนแอลบูมิน (albumin) ที่น้ำหนักโมเลกุล 67 kDa

ผลการศึกษาเหล่านี้เป็นข้อมูลเอกลักษณ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยในด้านขององค์ประกอบทางเคมี ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานให้กับการต่อยอดในการศึกษาวิจัยปีที่ 2-3 สนับสนุนเชื่อมโยงกับโครงการวิจัยย่อยอื่นๆ ในแผนการวิจัยนี้ ตลอดจนมีประโยชน์นำไปสู่การศึกษาขั้นสูงและการประยุกต์ใช้เลือดจระเข้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพต่อไป

Abstract

Crocodile blood is a natural material and has been widely consumed not only for its nutritious composition, but also for its claimed medicinal value. Recently, it has been added value, developed and increase in its use. However, the basic research knowledge about chemical compositions of Siamese crocodile blood has been limited. The present study was for analysis of crocodile blood main chemical compositions especially for the organic substances as protein in crocodile blood and its fractions. This report was the resulte of the first year of studing in total of three years. The studied crocodile were captive in middle part (Nakhonpathom province), easthern part (Chachoengsao province) and southern part (Pattani province). The crocodile bloods were collected from Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) in ages of 2-4 years, 60 crocodiles/ province (30 males, 30 female), in amout of 110 milliliters/crocodile. The blood samples (whole blood and serum) were freeze-dried and analysed for their chemical compositions, including total carbohydrate, total sugar, protein (factor 6.25), total fat, saturated fat, cholesterol (by principle analysese of Thai Compendium of methods for food analysis, 1st ed. 2003) and amino acids profile in crocodile whole blood by Gas Chromatography/ HPLC method (In house method based on AOAC (2005), 994.12). The tested inorganic substances as moisture, ash, sodium, potassium, phosphorus, choride, calcium, magnesium, vitamin-A, -B1, -B2, -B6, -B12, -C (by principle analysese of Thai Compendium of methods for food analysis, 1st ed. 2003) and heavy metals (iron, , lead, arsenic) and anti-oxidants (BHA BHT TBHQ) (by principle analysese of T-CM-037 Based on Food Chemistry, 2000). Results shows that in whole blood the protein had the highest concentration (87.4 g/100g), followed by total fat (2.4 g/100g) and total carbohydrate (0.6 g/100g). The serum demonstrated protein, total carbohydrate and total fat concentrations in amount of 69.0, 8.2 และ 6.9 g/100g, respectively. It has also been observed that in crocodile whole blood had higher levels of protein, phosphorus (547.0 mg/100g) and iron (132.1 mg/100g) than in serum. Analysis vitamin components of crocodile blood samples (whole blood, serum) revealed vitamin-C had the highest concentration (10.88, 8.66 mg/100g), follow by vitamin-B2 (0.29, 0.50 mg/100g), vitamin-B6 (0.23, 0.23 mg/100g), vitamin-B1 (0.11, 0.04 mg/100g) and vitamin-B12 (0.10, < 0.10 mg/100g), respectively. Vitamin-A had the less ccontent that the amount in serum was higher about five times than in whole blood. No major

differences were observed between blood chemical composition and captive places of crocodile. The five major amino acids were Glutamic acid (9960.25 mg/100g), Aspartic acid (7538.34 mg/100g), Lysine (7508.79 mg/100g) and Alanine (5442.63 mg/100g). The three minor amino acids were Tryptophan (1006.58 mg/100g), Methionine (1197.69 mg/100g) and Isoleucine (2054.58 mg/100g). The whole blood, serum and blood cell fraction in both sexes of crocodile and also freeze-dried samples (whole blood and serum) were studied for their protein patterns. These protein samples were separated by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) in the condition that containing mercaptoethanol reducing agent. The concentration of polyacrylamide in the separating gel was 10% (w/v). The SDS-PAGE patterns of crocodile blood were not difference with sex, freeze-dry process and captive places of crocodile. In contrast, the pattern was distinct in whole blood, serum and blood cell fractions. The whole blood contained major proteins in 119, 91, 67, 62, 59, 45 and 25 kDa. The crocodile serum protein shows six bands of protein with molecular weight 225, 121, 67, 62, 45 and 25 kDa. The pattern for blood cell fraction was consisted of two bands with apparent molecular weights of 45 and 25 kDa. Protein profiles of crocodile blood showed a predominant band migrating similarly to serum albumin at 67-kDa protein bands.

These findings suggest the data of Siamese crocodile blood about chemical composition. It will be usefule as database for the continued research in the second to the third years of studying. The results may support and link to other research projects in this research plan. Further, these will be connected to advance research and applied the crocodile blood as substance for functional food development.

บทนำ

จระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีการเพาะเลี้ยงกันมากในประเทศ ไม่มีการใช้ยาและวัคซีน ไม่มีการใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโต ไม่มีรายงานการติดเชื้อโรคที่สำคัญในจระเข้ เช่น โรคปากและเท้าเปื่อย โรคแอนแทรกซ์ โรควัวบ้า โรคไข้หวัดนก ฯลฯ จระเข้เป็นสัตว์เลื้อยคลานดึกดำบรรพ์ที่อยู่รอดมาได้จนถึงปัจจุบัน การอยู่รอดของเผ่าพันธุ์ รวมถึงการปรับตัวของร่างกายจระเข้ที่แข็งแรง และพฤติกรรมจระเข้ในการรักษาบาดแผลที่ดีหลังการกัดกันเองแม้อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่สกปรกมีเชื้อโรคต่างๆ อยู่มากมาย แสดงให้เห็นถึงองค์ประกอบ คุณสมบัติ และความสามารถที่ดีของเลือดจระเข้ที่ไหลเวียนหล่อเลี้ยงร่างกาย เลือดเป็นสารน้ำที่สำคัญของร่างกาย ทำหน้าที่เป็นแหล่งอาหาร ประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสัตว์ ภายในเลือดมีเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ ได้แก่ เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และทรอมโบไซต์ ที่ทำหน้าที่ขนส่งสารอาหาร ออกซิเจน และของเสียต่างๆ การรักษาสมดุล และปกป้องของร่างกายในสภาวะต่างๆ รวมถึงการสร้างสารที่จำเป็นหลายชนิดออกมาในกระแสเลือด

เลือดถูกใช้ในลักษณะของส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพและเสริมสร้างความแข็งแรงให้กับร่างกาย มีการใช้เลือดสัตว์มาประกอบเป็นอาหารมาเป็นเวลานานในหลายประเทศ (Petczn'ska and Libelt, 1999) เลือดจระเข้ถูกใช้เป็นยาสมุนไพร และเครื่องยาสัตววัตถุในการรักษาของแพทย์แผนจีนมาเป็นเวลามากกว่า 2,000 ปี ทั้งนี้โดยความเชื่อว่าเลือดของจระเข้เป็นยาอายุวัฒนะที่เมื่อนำมาบริโภคสามารถเสริมภูมิคุ้มกัน และรักษาโรค เช่น โรคหอบหืดได้ (ชยันต์ และวิเชียร, 2546) ประเทศไทยมีการส่งออกเลือดจระเข้แห้งเพื่อใช้บริโภคเป็นยาสมุนไพร และเครื่องยาสัตววัตถุในตำรับยาจีนต่างๆ โดยมีตลาดที่สำคัญอยู่ที่ประเทศจีน เกาหลี ฮ่องกง และไต้หวัน จากรายงานการศึกษาวิจัยในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (วิน และคณะ, 2546 ; Siruntawineti *et al.*, 2003, 2004a) จระเข้อเมริกัน (อัลลิเกเตอร์) และจระเข้ออสเตรเลีย (Merchant *et al.*, 2003, 2004) พบว่ามีโปรตีนที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพอยู่เป็นจำนวนมาก โดยการทำหน้าที่ส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากภูมิคุ้มกันของสัตว์มีกระดูกสันหลังทั่วไปที่มีมาตั้งแต่กำเนิดและช่วยป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และโปรโตซัวได้

จากการเห็นประโยชน์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่มีการทิ้งไปโดยเปล่าประโยชน์ในขั้นตอนการชำแหละของอุตสาหกรรมจระเข้ ความสำคัญของเลือดจระเข้ที่น่าจะมีองค์ประกอบที่เป็นยาจากสัตว์สมุนไพรคือจระเข้ ที่ประเทศจีนนำเข้าไปใช้เป็นอาหารเสริม หรือเครื่องยาสัตววัตถุเพื่อการรักษาโรคต่างๆ มานาน (ชยันต์ และวิเชียร, 2546) ปัจจุบันได้มีการคิดค้นวิธีการเจาะเก็บ

เลือดปริมาณมากจากจระเข้ (คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0601001179, 16 มิถุนายน 2549) ทำให้ได้วัตถุดิบเลือดจระเข้ที่สะอาด การนำเลือดจระเข้มาทำให้แห้งภายใต้ความเย็นจัด (อนุสิทธิบัตรเลขที่ 5074, 4 กันยายน 2552) เพื่อพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับคนและมีการทดสอบความปลอดภัยหลังที่บริโภคแล้วพบว่ามีความปลอดภัยสูง รวมทั้งยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในร่างกายสัตว์ทดลองที่กินเลือดจระเข้ด้วย (Chaeychomsri *et al*., 2004a, 2004b, 2006; Siruntawineti *et al*., 2004b)

เมื่อได้มีการประชาสัมพันธ์ผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้แห้งที่ได้จากงานวิจัยดังกล่าวโดยความอนุเคราะห์จากฝ่ายประชาสัมพันธ์ของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ไปยังสื่อสิ่งพิมพ์ สื่อวิทยุ และสื่อโทรทัศน์ ได้มีผู้บริโภคจำนวนมากให้ความสนใจขอบริโภคผลิตภัณฑ์ดังกล่าว และจากการสอบถามและเก็บข้อมูลก่อนและหลังการบริโภคผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้แห้งจากผู้บริโภคที่มีปัญหาสุขภาพกลุ่มต่างๆ พบผลสัมฤทธิ์ที่ดีของเลือดจระเข้แห้งในกลุ่มผู้บริโภคที่เป็นโรคสำคัญหลายโรค ทั้งในกลุ่มโรคไม่ติดเชื้อ (เช่น โรคโลหิตจาง โรคภูมิแพ้ที่มีอาการหอบเหนื่อย โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง/ต่ำ) และกลุ่มโรคติดเชื้อ (เช่น โรคเอดส์) ซึ่งการประเมินนี้ได้พิจารณาร่วมกับผลข้อมูลทางการแพทย์ของผู้บริโภคซึ่งเป็นผู้ป่วยมีอยู่และอนุญาตให้รับทราบ จากการตรวจทางห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลเมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการบริโภคเลือดจระเข้แห้ง

ข้อมูลต่างๆ เหล่านี้ ทำให้คณะผู้วิจัยเกิดโจทย์การวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาและใช้ประโยชน์เลือดจระเข้เพิ่มมากขึ้น แต่การตอบโจทย์วิจัยเหล่านี้ยังไม่ชัดเจน ถ้าขาดความรู้พื้นฐานจากงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย รวมถึงส่วนต่างๆ ที่แยกจากเลือดฯ ซึ่งไม่เคยมีการศึกษาอย่างจริงจังมาก่อน อีกทั้งจระเข้ที่จะใช้ในการศึกษาวิจัยนี้เป็นจระเข้สายพันธุ์ไทยของเราเอง เราควรจะเห็นความสำคัญก่อนที่นักวิจัยต่างชาติจะเข้ามาศึกษาและใช้ประโยชน์ ผลจากการศึกษาวิจัยนี้สามารถบ่งบอกเอกลักษณ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ โดยเฉพาะสารอินทรีย์ในกลุ่มของโปรตีนของเลือดจระเข้หรือจากส่วนแยกต่างๆ การศึกษาวิจัยนี้มีระยะเวลา 3 ปี รายงานการวิจัยนี้เป็นผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยของโครงการวิจัยฯ ในปีที่ 1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยและรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานให้กับการต่อยอดในการศึกษาวิจัยปีที่ 2-3 เกี่ยวกับโปรตีนและเพปไทด์บ่งชี้ที่สำคัญของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ข้อมูลเอกลักษณ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยในด้านขององค์ประกอบทางเคมี โปรตีนและเพปไทด์บ่งชี้ที่สำคัญจากงานวิจัยนี้จะมีประโยชน์นำไปสู่การศึกษาขั้นสูง การประยุกต์ใช้ในการพัฒนาเป็น

ผลิตภัณฑ์อื่นๆ จากเลือดจระเข้ ตลอดจนใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนเชื่อมโยงกับโครงการวิจัยย่อยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับเลือดจระเข้ของแผนการวิจัยนี้

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

เลือดสัตว์ถูกใช้มาเป็นเวลานานหลายปี เพื่อเป็นส่วนประกอบทางโภชนการและทางการเสริมสร้างความแข็งแรงให้ร่างกาย เลือดประกอบด้วยสองส่วนที่สำคัญคือ น้ำเลือด (plasma) และเซลล์เม็ดเลือดต่างๆ (blood cells) ซึ่งทั้งสองแตกต่างกันด้วยคุณสมบัติทางเทคนิค และองค์ประกอบทางเคมี การศึกษาในเลือดสุกรซึ่งถูกใช้มากที่สุดเป็นส่วนประกอบในกระบวนการเนื้อต่างๆ พบว่าในน้ำเลือดมีโปรตีนน้อยและมีน้ำมากกว่าในส่วนของเซลล์เม็ดเลือด แต่โปรตีนที่พบในน้ำเลือดส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย (Petczyn'ska and Libelt, 1999) ในเลือดครบของลูกวัวมีโปรตีนมากและน้ำน้อยกว่าในวัวที่โตเต็มที่ ในน้ำเลือดลูกวัวประกอบด้วยน้ำมากกว่าในวัวแต่มีปริมาณโปรตีนที่ไม่แตกต่างกัน ในเม็ดเลือดแดงของลูกวัวมีโปรตีนน้อยและน้ำมากกว่า ถ้าไม่คำนึงถึงอายุในส่วนน้ำเลือดวัวมีโปรตีนน้อยกว่าเป็น 4 เท่า และมีน้ำมากกว่าประมาณ 1.5 เท่า เมื่อเทียบกับส่วนของเม็ดเลือดแดง โปรตีนที่พบในน้ำเลือดของทั้งสองประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของร่างกายสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำเลือดของลูกวัวและวัวจึงเป็นสารเสริมที่ดีของผลิตภัณฑ์เนื้อ (Betkot, 2001) ในเลือดครบของไก่มีโปรตีนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับในสุกร หรือลูกวัว แต่ไม่แตกต่างกับในวัว โดยในน้ำเลือดไก่มีโปรตีนน้อยและมีน้ำมากกว่าในสัตว์ดังกล่าว ในส่วนของเม็ดเลือดแดงของไก่และสุกรมีโปรตีนไม่แตกต่างกัน โดยมีโปรตีนและเถ้ามากกว่า น้ำน้อยกว่าในลูกวัวและวัว ปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในน้ำเลือดไก่ใกล้เคียงกับในวัว แต่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับในสุกร ในเม็ดเลือดแดงของไก่มีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นสูงที่สุด คุณค่าทางโภชนาการของน้ำเลือดไก่มีค่าสูงใกล้เคียงกับในวัว และมีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับในสุกร (Betkot & Petczynska Libelt, 2002)

การศึกษาน้ำเลือด (ซีรัม) ของอัลลิเกเตอร์ (*Alligator mississipiensis*) ซึ่งเป็นจระเข้ที่พบได้ในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่ามีสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 16 ชนิด ได้แก่ *Klebsiella oxytoca* (49131), *Providencia stuartii* (33672), *Escherichia coliform* (25922), *Proteus mirabilis* (43607), *Enterobacter aerogenes* (49469), *Salmonella typhimurium* (14028), *Pseudomonas aeruginosa* (27853), *Citrobacter freundii* (C109820), *Shigella sonnei* (25931), *Shigella dysenterae* (13313), *Salmonella poona* (4840), *Yersenia enterocolitica* (9610), *Staphylococcus pyrogenes* (19615), *Streptococcus epidermitis* (19615), *Staphylococcus aureus*

(6538), *and Enterococcus faecalis* (29212) แต่เมื่อนำน้ำเลือดของอัลลิเกเตอร์มาบ่มที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่าน้ำเลือดไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ และจากการที่สารโปรตีนบางชนิดที่มีชื่อว่า คอมพลีเมนต์ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาตั้งแต่เกิด สามารถถูกทำลายที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เมื่อใช้เวลานาน 30 นาที และจากผลการทดสอบทางภูมิคุ้มกันโดยใช้แอนติบอดีต่อคอมพลีเมนต์ของคน จึงสรุปผลได้ว่าคอมพลีเมนต์ในน้ำเลือดของอัลลิเกเตอร์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ และพบว่าน้ำเลือดของอัลลิเกเตอร์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าน้ำเลือดของมนุษย์ โดยที่น้ำเลือดของอัลลิเกเตอร์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 100% ในขณะที่น้ำเลือดของมนุษย์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้เพียง 35% (Merchant *et al*., 2003)

เนื้อเยื่อต่างๆ ของจระเข้หลายๆ ชนิดพันธุ์มีการแสดงประสิทธิภาพและขอบเขตที่กว้างของการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพ ตัวอย่างเช่น ในปี ค. ศ. 1999 Shaharbanay และคณะ ได้รายงานผลการศึกษาสารสกัดจากเนื้อเยื่อของจระเข้แม่น้ำไนล์ (Nile crocodile, *Crocodylus niloticus*) มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย ชนิดต่างๆ จากรายงานการศึกษาจำนวนมากทางห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นว่า ซีรัมของอัลลิเกเตอร์ (*Alligator mississippiensis*) ซึ่งเป็นจระเข้ที่มีถิ่นกำเนิดและพบมากในประเทศอเมริกา แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Merchant *et al*., 2003, 2005b) ฤทธิ์ต้านโพรโทซัว (Merchant *et al*., 2004) และฤทธิ์ต้านไวรัส (Merchant *et al*., 2005a) เช่นเดียวกับที่มีรายงานฤทธิ์ต้านจุลชีพในซีรัมของจระเข้พันธุ์ไทย (*C. siamensis*) (Siruntawineti *et al*., 2004) และไคแมน (*Caiman latirostris*) ซึ่งเป็นจระเข้ที่มีถิ่นกำเนิดและพบมากในประเทศแถบแอฟริกา (Merchant *et al*., 2006)

ซีรัมของอัลลิเกเตอร์มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Escherichia coli* ซึ่งสามารถลดอัตรการรอดชีวิตของแบคทีเรียนี้ได้เป็น 10 เท่า และมีขอบเขตของการออกฤทธิ์ที่มากกว่าในแบคทีเรียเมื่อเทียบกับซีรัมของคน ฤทธิ์เหล่านี้จะลดลงเมื่อมีการบ่มซีรัมด้วยเอนไซม์โปรติเอส (protease) ก่อนการทดสอบ แสดงให้เห็นว่าลักษณะการทำงานของสารจำพวกโปรตีน และเมื่อทำการบ่มซีรัมที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่ใช้ในการทำลายฤทธิ์การทำงานของโปรตีนที่สำคัญในระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิดคือ คอมพลีเมนต์ สามารถทำลายฤทธิ์ต้านแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดสอบได้เช่นกัน ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของซีรัมอัลลิเกเตอร์เกิดขึ้นได้รวดเร็วในหลอดทดลอง ภายในเวลา 5 นาที และมีฤทธิ์สูงสุดที่เวลา 20 นาที และมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิ ซึ่งการแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียมีน้อยลงเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส และได้ให้สมมุติฐานว่าคุณสมบัติของการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของซีรัมอัลลิเกเตอร์น่าจะเกิดจากการ

ทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ (Merchant *et al*., 2003) ซึ่งรายงานนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยในซีรัมของจระเข้พันธุ์ไทย (วิน และคณะ, 2546 ; Siruntawineti *et al*., 2003, 2004)

ต่อมาได้มีการศึกษาฤทธิ์ต้านโพรโทซัว *Naegleria gruberi* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง พบฤทธิ์ต้านโพรโทซัวของ 25% ซีรัมอัลลิเกเตอร์ และถ้าใช้ซีรัมที่ไม่ได้เจือจาง โพรโทซัวสามารถรอดชีวิตได้เพียง 16% ซึ่งถ้าโพรโทซัวมีความหนาแน่นสูงก็จะมีอัตราการรอดที่สูง ฤทธิ์ต้านโพรโทซัวมีขอบเขตของการออกฤทธิ์ที่กว้างโดยสามารถออกฤทธิ์ต่อ *Naegleria* 3 สายพันธุ์ และ *Acanthamoeba* 4 สายพันธุ์ ซึ่งโพรโทซัวเหล่านี้มีรายงานการต้านต่อฤทธิ์ทำลายเซลล์ของคอมพลีเมนต์ของคน ฤทธิ์ต้านโพรโทซัวนี้เกิดขึ้นได้ดีที่อุณหภูมิ 15 - 30 องศาเซลเซียส สามารถทำลายการออกฤทธิ์ด้วยความร้อนและมีคุณสมบัติเป็นสารโปรตีน ถูกยับยั้งการทำงานด้วยกรดอีทีลีนไดเอมีนทีทราอซิติก (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) ซึ่งทำให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ต้องการอิออนโลหะไดวาเลนต์ในการเกิดปฏิกิริยา และมีสมมุติฐานว่าคุณสมบัติของการออกฤทธิ์ต้านโพรโทซัวของซีรัมอัลลิเกเตอร์น่าจะเกิดจากการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์เช่นกัน (Merchant *et al*., 2004)

นอกจากนี้ยังพบการออกฤทธิ์ต้านไวรัสในซีรัมอัลลิเกเตอร์ โดยการทดสอบในระดับเซลล์ของไวรัส 3 ชนิดที่มีส่วนห่อหุ้ม (enveloped virus) ได้แก่ Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-I), West Nile virus (WNV) และ Herpes simplex virus type I (HSV-I) โดยมีค่าความเข้มข้นในการยับยั้งไวรัสได้ 50% (IC50) ที่ความเข้มข้นของซีรัมเป็น 0.9%, 4.3% และ 3.4% ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นของซีรัมในการลดการรอดชีวิตลง 50% (TC50) ต่อไวรัส HIV-I, WNV และ HSV-I เป็น 32.8%, 36.3% และ 39.1% ตามลำดับ การออกฤทธิ์ต้านไวรัส HIV-I ไวต่อการถูกทำลายด้วยความร้อน ซึ่งอาจเกิดจากการทำงานของคอมพลีเมนต์ ในขณะที่การออกฤทธิ์ต้านไวรัส WNV และ HSV-I ทนต่อการถูกทำลายด้วยความร้อนแสดงให้เห็นถึงกลไกในการออกฤทธิ์ต้านไวรัสแบบอื่นๆ ในซีรัมของอัลลิเกเตอร์ (Merchant *et al*., 2005a) ผลการวิจัยดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่าอัลลิเกเตอร์ ซึ่งเป็นสัตว์ดึกดำบรรพ์พวกเดียวกับจระเข้มีภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติที่มีมาแต่กำเนิดที่มีศักยภาพสูงในการทำลายไวรัสต่างๆ การออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียปรสิต รวมถึงไวรัส HIV-I ของอัลลิเกเตอร์มาจากการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ในซีรัมที่มีวิวัฒนาการมาอย่างยาวนาน

การศึกษาขั้นลึกในส่วนที่เกี่ยวข้องกับคอมพลีเมนต์ของซีรัมอัลลิเกเตอร์พบว่าการทำงานหลักน่าจะเกิดจาก alternate pathway และเมื่อทดสอบซีรัมอัลลิเกเตอร์ด้วยแอนติบอดีต่อ C3 ของคนพบการแสดงความเป็นแอนติเจนของโปรตีนที่คล้ายกับ C3 ของคน และเมื่อทดสอบด้วยวิธี SDS-PAGE และWestern blot analysis พบว่าซีรัมโปรตีนของอัลลิเกเตอร์มีน้ำหนักโมเลกุล

ใกล้เคียงกับ C3 ชนิดอัลฟาและบีต้าของคน ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงของแกะแตกได้ในเวลาที่รวดเร็ว และมีเกิดขึ้นได้ดีที่อุณหภูมิ 15 - 30 องศาเซลเซียส ผลของการวิจัยนี้สนับสนุนสมมุติฐานการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของซีรัมอัลลิเกเตอร์เกี่ยวข้องกับการทำงานของการตอบสนองทางภูมคุ้มกันที่อาศัยสารน้ำ (humoral immune response) คล้ายกับที่เกิดขึ้นในระบบภูมิคุ้มกับของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Merchant *et al*., 2005b) ซึ่งต้องการอิออนโลหะไดวาเลนต์คือ Ca2+ และ/หรือMg2+ ในทำปฏิกริยาให้เกิดการแตกของเซลล์เม็ดเลือดแดงแกะ (Merchant *et al*., 2005c) จระเข้น้ำจืดออสเตรเลีย (*C. johnstoni*) และจระเข้น้ำเค็ม (*C. porosus*) มีการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์แบบ alternate pathway เช่นเดียวกับในอัลลิเกเตอร์

เพปไทด์ต้านจุลชีพ (antimicrobial peptides) ถูกสกัดจากเม็ดเลือดขาวของสิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอตต่างๆ (Yeaman and Yount, 2003) โดยทั่วไปธรรมชาติของเพปไทด์ต้านจุลชีพมีความเป็นประจุบวกเพื่อที่จะสามารถเกิดอันตรกิริยากับฟอสฟอลิปิดที่มีประจุลบได้ เพปไทด์นี้อาจมีลักษณะเป็น amphipathic ทำให้มันสามารถเกิดอันตรกิริยากับส่วนใน (interior hydrophobic portions) ของเยื่อหุ้มเซลล์ ก่อตัวเป็นรูต่างๆ ที่เยื่อได้ การแสดงออกของเพปไทด์เหล่านี้เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อที่มีอันตรกิริยากับสิ่งแวดล้อม เช่น ปาก เยื่อบุลำไส้ ท่อทางเดินของอวัยวะสืบพันธุ์ และในเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดขาวสามารถสร้างสารต่อต้านจุลชีพได้หลายชนิดที่มีขอบเขตศักยภาพในการต่อต้านที่สูง ได้แก่ nitrous oxide, hydrogen peroxide และ cationic antimicrobial peptides (Ganz and Lehrer, 2001) คุณสมบัติในการต้านจุลชีพของเม็ดเลือดขาวมีบทบาทที่สำคัญสำหรับภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิดต่อการติดเชื้อที่เกิดภายนอกระบบไหลเวียนเลือด เม็ดเลือดขาวต่างๆ จะเคลื่อนย้ายตัวเองไปยังบริเวณที่มีการติดเชื้อ เกิดการแตกของแกรนูลเพื่อปล่อยสารต่อต้านจุลชีพที่ได้กล่าวข้างต้น ไปยังที่ที่มีการรุกรานจากเชื้อโรคในลักษณะแบบไม่จำเพาะ มีรายงานการพบเพปไทด์ที่มีศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพในผิวหนังกบ (Lorin *et al*., 2005) เม็ดเลือดขาวของคน (Garcia *et al*., 2001) และ เม็ดเลือดขาวของแพะ/แกะ (Shamova *et al*., 1999)

เมื่อเร็วๆ นี้ (Merchant *et al*., 2006) ได้มีรายงานการวิจัยว่าสารสกัดจากเม็ดเลือดขาวของอัลลิเกเตอร์ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส ซึ่งฤทธิ์ต้านจุลชีพต่างๆ เหล่านี้เกิดจากเพปไทด์ต้านจุลชีพที่มีความเป็นประจุบวก (cationic antimicrobial peptides) การศึกษานี้แยกเม็ดเลือดขาวออกจากเลือดครบของอัลลิเกเตอร์ป่า สกัดเม็ดเลือดขาวด้วยสารที่กรดความเข้มข้นต่างๆ ผ่านขั้นตอนการปั่นเหวี่ยงและกรองที่มีความละเอียดสูงมาก จนได้สารที่มีขนาดโมเลกุลอยู่ในช่วง 1-10 kDa ฤทธิ์ต้านจุลชีพเหล่านี้มีคุณสมบัติไวต่อโปรติเอส ทนต่อความร้อน และละลายได้ในสารละลายกรด สาร EDTA ความเข้มข้นสูงไม่มีผลการเกิดปฏิกิริยา การแสดงออกของเพปไทด์ต่างๆ ที่ได้จากเม็ดเลือดขาวของอัลลิเกเตอร์นี้มีความสำคัญต่อการนำไปใช้เป็นสารต้านจุลชีพเพื่อ

ใช้ทางคลินิกต่อไป สำหรับจระเข้พันธุ์ไทยได้มีรายงานการศึกษา (สุวิทย์ และ สมปอง, 2550) ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราจากสารสกัดเม็ดเลือดขาว โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 7 ชนิด และเชื้อรา 1 ชนิด คือ *Candida albican* เมื่อแยกบริสุทธิ์สารสกัดด้วยเทคนิค FPLC โดย Anion exchange column chromatography และนำไปแยกบริสุทธิ์ต่อด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งสารสกัดเม็ดเลือดขาวของจระเข้พันธุ์ไทยน่าจะมีโปรตีนหรือเปปไทด์ที่มีคุณสมบัติในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อราได้อย่างจำเพาะ

ในการนำเลือดจระเข้มาใช้ประโยชน์นั้นการศึกษาชนิดของโปรตีนในเลือดเป็นสิ่งจำเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะโปรตีน หรือเพปไทด์บ่งชี้ (Biomarker) ซึ่งพบว่ายังมีการค้นพบในปริมาณที่น้อยอยู่ในปัจจุบัน (Ward and Anderson, 1996) โดยปกติโปรตีนหรือเพปไทด์บ่งชี้ที่สำคัญมักมีขนาดน้อยกว่า 15,000 Da ในการศึกษาด้านโปรติโอมิกส์ (Tirumalai *et al*., 2003) ซึ่งโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเหล่านี้จะถูกนำมาทำการศึกษาด้วยวิธีการ two-dimensional gel electrophoresis ควบคู่กันกับการใช้ mass spectroscopy (MS) ในการช่วยในการวิเคราะห์ระบุชนิดของโปรตีนโมเลกุลต่ำเหล่านั้น (Kantor, 2002)

จากการสืบค้นข้อมูลสิทธิบัตรพบสิทธิบัตรเรื่องการใช้เพปไทด์จากสัตว์เลื้อยคลานเพื่อการรักษาโรคติดเชื้อ (Hoffman and Binah: United States Patent 5380664/ International Patent WO9917785, 1999) ซึ่งเป็นการใช้ประโยชน์จากส่วนของฮีโมโกลบินจากเม็ดเลือดแดงของสัตว์เลื้อยคลาน โดยเฉพาะในอัลลิเกเตอร์ ฮีโมโกลบิน ประกอบด้วย 4 สายของพอลิเพปไทด์ และ 4 heme prosthetic group ซึ่งมีธาตุเหล็กในสถานะ ferrous เป็นองค์ประกอบอยู่ภายใน โปรตีนกลอบิน (globin) 2 สาย ฮีโมโกลบินของสัตว์เลื้อยคลานพวกเต่า (Chelonia) จระเข้ (Crocodilia) และงู (Squamata) มีโครงสร้างที่จำเพาะ ฮีโมโกลบินของจระเข้และอัลลิเกเตอร์มีความพิเศษในการไม่ตอบสนองต่อสารอินทรีย์ฟอสเฟต แต่มีการควบคุมการทำงานหลักโดยไบคาร์บอเนตอิออน (bicarbonate ion) ซึ่งสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการจับกับออกซิเจนลดลง สิทธิบัตรนี้เกี่ยวข้องกับวิธีฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อราด้วยฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ได้จาก reptilian hemoglobin protein, ชิ้นส่วนของฮีโมโกลบินโปรตีนหรือเพปไทด์ สายของฮีโมโกลบินที่ปราศจากฮีม (heme free hemoglobin chains) หรือชิ้นส่วนของโปรตีนหรือเพปไทด์ผสมของสารดังกล่าว

สิทธิบัตรฤทธิ์ต้านเนื้องอกจากซีรัมของสัตว์เลื้อยคลาน (Binah *et a*l.: United States Patent 20040247589, 2004) เป็นการใช้ประโยชน์จากฤทธิ์ต้านเนื้องอกในซีรัมของสัตว์เลื้อยคลาน โดยเฉพาะในอัลลิเกเตอร์หรือจระเข้ องค์ประกอบหลักที่ออกฤทธิ์ในโปรตีนหรือเพปไทด์ของซีรัมที่สามารถยับยั้งการเติบโตของเซลล์เนื้องอกจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมที่ได้จากการเพาะเลี้ยง โดย

ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์ที่ปกติที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ส่วนแยกที่มีฤทธิ์จากซีรัมไม่แสดงความเป็นพิษในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมที่สุขภาพดี สารออกฤทธิ์ต้านเนื้องอกนี้ อาจใช้ในการป้องกัน การเฝ้าสังเกต และการบำบัดรักษาเนื้องอกหรือมะเร็ง

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

1. การกำหนดพื้นที่ ประชากรตัวอย่าง การสุ่มตัวอย่าง การเก็บข้อมูล

กำหนดพื้นที่แยกตามการเพาะเลี้ยงจากภาคต่างๆ ของไทย ได้แก่ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยใช้ตัวอย่างจระเข้พันธุ์ไทย (*C. siamensis*) อายุ 2-4 ปี ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ซึ่งจะนำมาชำแหละที่หน่วยงานเอกชนที่เพาะเลี้ยงจระเข้ ณ รุ่งทวีชัยฟาร์ม 31 หมู่ 9 ต. สามง่าม อ. ดอนตูม จ. นครปฐม

เก็บข้อมูลจระเข้ที่สำคัญ ได้แก่ เพศ อายุ น้ำหนัก ความยาวจากจมูกถึงหาง และข้อมูลการเลี้ยงจากฟาร์มเพาะเลี้ยงจระเข้

2. ตัวอย่างเลือดจระเข้ที่ใช้ในการวิจัย

2.1 การเจาะเก็บเลือดจระเข้

ทำการเจาะเลือดจระเข้ที่บริเวณแอ่งเลือดดำ หลังกระโหลกศรีษะ (anterior dorsal sinus) โดยใช้กระบอกฉีดยาพร้อมเข็มขนาด 18G ความยาว 1 ½ นิ้ว ปริมาณการเจาะเก็บเลือดจระเข้ขึ้นอยู่กับการศึกษาดังกล่าวต่อไป ดังนี้

2.2 การเตรียมตัวอย่าง

2.2.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้และส่วนต่าง ๆ

ได้แก่ เลือดครบจระเข้ (Whole blood) ส่วนซีรัม (น้ำเลือด) จระเข้ ที่ผ่านการทำ Freeze dry จากจระเข้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยการเจาะเลือดจระเข้ในแต่ละภาคจำนวน 60 ตัว (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว) ปริมาณ 110 มิลลิลิตร ต่อตัว

2.2.1.1 *เลือดครบจระเข้* ทำการรวมเลือดครบจากเลือดจระเข้ 50 มิลลิลิตร ต่อตัว จระเข้ ใส่ลงในขวดเก็บเลือด ผสมเลือดให้เข้ากันแล้วเก็บรักษาสภาพในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งอยู่ภายใน นำมาแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 °C จากนั้นนำมาผ่านการทำการระเหิดแห้งภายใต้ความเย็น (Freeze dry) ด้วยเครื่อง Freeze dryer (Lyophilization System, Inc., USA) ณ ห้างหุ้นส่วนจำกัด วานิไทย ห้อง 602 ชั้น 6 อาคารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แล้วเก็บรักษาสภาพเลือดครบจระเข้แห้งที่ได้ ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-5 °C เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

2.2.1.2 *ซีรัมจระเข้* นำตัวอย่างเลือดจระเข้ 54 มิลลิลิตร ต่อตัว ใส่ในหลอดเก็บเลือดที่มีตัวเร่งการแข็งตัว (Serum clot Activator) (VACUETTE, greiner bio-one, บริษัท กรุงเทพ อินเตอร์โปรดักส์ จำกัด) หลอดละ 9 มิลลิลิตร จำนวน 6 หลอดต่อตัว ผสมเลือดในแต่ละหลอดให้เข้ากันแล้วเก็บรักษาสภาพในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งอยู่ภายใน จากนั้นนำหลอดทดลองดังกล่าวมาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนที่เป็นซีรัม และเม็ดเลือดออกจากกัน โดยใช้ความเร็วของการปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ทำการแยกส่วนซีรัมด้านบนรวมใส่ในขวดเก็บเลือด นำมาแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 °C จากนั้นนำมาผ่านการ Freeze dry เช่นเดียวกับที่ได้กล่าวข้างต้น แล้วเก็บรักษาซีรัมแห้งที่ได้ ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-5 °C เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

2.2.2 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการศึกษาและวิเคราะห์โปรตีนของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย

ได้แก่ เลือดครบจระเข้ ซีรัมจระเข้ และส่วนเม็ดเลือด (Blood cell fraction) ที่ไม่ผ่านกระบวนการระเหิดแห้งภายใต้ความเย็นจัด (Freeze dry) และที่ผ่านการทำ Freeze dry จากจระเข้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยการเจาะเลือดจระเข้ในแต่ละภาคจำนวน 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 5 ตัว) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ต่อตัว

2.2.2.1 *เลือดครบจระเข้* นำเลือดจระเข้ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดเล็ก (microtube) หลอดละ 1 มิลลิลิตร โดยเก็บรักษาไว้ที่ตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 °C จากนั้นนำ microtube หนึ่งหลอดมาผ่านการทำการระเหิดแห้งภายใต้ความเย็น (Freeze dry) ด้วยเครื่อง Freeze dryer (Lyophilization System, Inc., USA) แล้วเก็บรักษาสภาพเลือดครบจระเข้แห้งที่ได้ ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-5 °C เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

2.2.1.2 *ซีรัมจระเข้* นำตัวอย่างเลือดจระเข้ ปริมาณ 18 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเก็บเลือดที่มีตัวเร่งการแข็งตัว (Serum clot Activator) (VACUETTE, greiner bio-one, บริษัท กรุงเทพ อินเตอร์โปรดักส์ จำกัด) จำนวน 2 หลอด หลอดละ 9 มิลลิลิตร ผสมเลือดในแต่ละหลอดให้เข้ากันแล้วเก็บรักษาสภาพในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งอยู่ภายใน จากนั้นนำหลอดทดลองดังกล่าวมาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนที่เป็นซีรัม และเม็ดเลือดออกจากกัน โดยใช้ความเร็วของการปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ทำการแยกส่วนซีรัมด้านบนใส่ใน microtube หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำมาแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 °C จากนั้นนำ microtube จำนวนครึ่งหนึ่ง มาผ่านการ Freeze dry เช่นเดียวกับที่ได้กล่าวข้างต้น แล้วเก็บรักษาซีรัมแห้งที่ได้ ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-5 °C เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

2.2.1.3 ส่วนเม็ดเลือด (Blood cell fraction) ล้างส่วนของเม็ดเลือดที่เหลือจากการแยกซีรัมในข้อ 2.2.1.2 ออกด้วยสารละลาย normal saline (0.75% NaCl) จำนวน 3 ครั้ง จากนั้นนำหลอดทดลองที่ผ่านการล้างดังกล่าวแล้วมาแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 °C

3. วิธีการวิเคราะห์

3.1 <u>การทดลองที่ 1</u>: การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้และส่วนต่าง ๆ โดยวิธีมาตรฐาน ที่สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และที่บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด กรุงเทพฯ (สำหรับการทดสอบหาชนิดของกรดอะมิโนในเลือดครบของจระเข้ฯ)

3.1.1 สารอินทรีย์ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด น้ำตาล โปรตีน (แฟคเตอร์ 6.25) ไขมันทั้งหมด ไขมันอิ่มตัว โคเลสเตอรอล (โดยใช้วิธีทดสอบตามหลักการของ Thai Compendium of methods for food analysis, 1st ed. 2003) (ตารางที่ 1) และการทดสอบหาชนิดของกรดอะมิโนในเลือดครบของจระเข้ฯ โดยใช้วิธี Gas Chromatography/ HPLC (In house method based on AOAC (2005), 994.12)

3.1.2 สารอนินทรีย์ ได้แก่ น้ำ เถ้า โซเดียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส คลอไรด์ แคลเซียม แมกนีเซียม วิตามินเอ วิตามินบี1, บี6, บี12 วิตามินซี (โดยใช้วิธีทดสอบตามหลักการของ Thai Compendium of methods for food analysis, 1st ed. 2003) โลหะหนัก (เหล็ก ตะกั่ว สารหนู) และสารต้านอนุมูลอิสระ (BHA BHT TBHQ) (โดยใช้วิธีทดสอบตามหลักการของ T-CM-037 Based on Food Chemistry, 2000) (ตารางที่ 1)

3.2 <u>การทดลองที่ 2</u>: การศึกษาและวิเคราะห์โปรตีนของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (ปีที่ 1)

โดยใช้การวิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิคทางชีวเคมี และวิธีทางโปรติโอมิกส์ในการระบุชนิดของโปรตีนและเพปไทด์บ่งชี้ที่สำคัญและแสดงออกในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย โดยตรวจหาชนิดของโปรตีนในเลือดจระเข้ด้วยเทคนิค 2-Dimentional electrophoresis และ MALDI-TOF MS

การวิจัยในปีที่ 1 เป็นการศึกษารูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานให้กับการต่อยอดในการศึกษาวิจัยปีที่ 2-3 เกี่ยวกับโปรตีนและเพปไทด์บ่งชี้ที่สำคัญของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ของปีที่ 2-3

3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.2.1.1 *เลือดครบจระเข้*

-นำตัวอย่างเลือดครบจระเข้ (WB) และเลือดครบจระเข้แห้ง (WB-FD) ที่ได้จากข้อ 2.2.1.1 มาตั้งทิ้งไว้ในกล่องน้ำแข็ง

-ละลายตัวอย่าง WB-FD ด้วยด้วยน้ำกลั่นที่ปลอดเชื้อ (sterile double distilled water) หลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

-ทำการสกัดโปรตีนโดยใช้สารละลายสกัด (Extraction solution) ที่มีองค์ประกอบของ 2% (w/v) SDS, 0.1 M DTT, 60 mM Tris-HCl, pH 7.5

ตารางที่ 1 วิธีทดสอบสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และสารต้านอนุมูลอิสระในการทดลองที่ 1

รายการวิเคราะห์		วิธีทดสอบ
<u>สารอินทรีย์</u>	คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	Calculation
	น้ำตาล	AOAC
	โปรตีน (แฟคเตอร์ 6.25)	Kjeldahl technique
	ไขมันทั้งหมด	Extraction
	ไขมันอิ่มตัว	GC
	โคเลสเตอรอล	GC
<u>สารอนินทรีย์</u>	ปริมาณน้ำ-ความชื้น	AOAC
	เถ้า	AOAC
	โซเดียม	ICP
	โพแทสเซียม	ICP
	แคลเซียม	ICP
	วิตามินเอ	HPLC
	วิตามินบี 1	HPLC
	วิตามินบี 2	HPLC
	วิตามินบี 6	Micro Assay
	วิตามินบี 12	Micro Assay
	เหล็ก	ICP
	สังกะสี	ICP
	ทองแดง	ICP
	ตะกั่ว	ICP
	สารหนู/ อาร์เซนิก	ICP
<u>สารต้านอนุมูลอิสระ</u>	BHA	HPLC
	BHT	HPLC
	TBHQ	HPLC

-ทำให้การโฮโมจิไนซ์ (Homoginization) ตัวอย่างทั้งสองแบบ ด้วยเครื่อง Homoginizer (Omni,) ที่ความเร็วต่ำ เป็นเวลา 30 วินาที

-ภายหลังจากการโฮโมจิไนซ์ นำตัวอย่างที่ได้ ไปต้มในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นทำการโฮโมจิไนซ์ครั้งที่สอง ขณะตัวอย่างอุ่น ที่ความเร็ว เป็นเวลา 15 วินาที

-นำตัวอย่าง-WB และ WB-FD มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (MIKRO22, Hettich, Germany) ที่ความเร็ว 20,000 รอบ/นาที นาน 15 นาที จากนั้นดูดของเหลวส่วนบนมาใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2.1.2 *ซีรัมจระเข้*

-นำตัวอย่างซีรัมจระเข้ (S) และซีรัมจระเข้แห้ง (S-FD) ที่ได้จากข้อ 2.2.1.2 มาตั้งทิ้งไว้ในกล่องน้ำแข็ง

-ละลายตัวอย่าง-S-FD ด้วยด้วยน้ำกลั่นที่ปลอดเชื้อ (sterile double distilled water) หลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

-ผสมตัวอย่าง S ให้เข้ากัน และนำตัวอย่าง-S และ S-FD มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (MIKRO22, Hettich, Germany) ที่ความเร็ว 5,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที จากนั้นดูดของเหลวส่วนบนมาใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2.1.3 *ส่วนเม็ดเลือดจระเข้*

-นำตัวอย่างส่วนเม็ดเลือดจระเข้ (BC) มา 0.1 กรัม ใส่ลงในหลอด microtube เติมสารละลายสกัด (Extraction solution) เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.1 หลอดละ 1 มิลลิลิตร จากนั้น Homoginization 2 ครั้ง ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.1 ดูดของเหลวส่วนบนจากตัวอย่างที่ได้หลังการปั่นเหวี่ยงมาใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2.2 การหาค่าความเข้มข้นของโปรตีนในตัวอย่างจากข้อ 3.2.1

ตามวิธีของ Bradford (1976) โดยใช้ Bio-Rad protein assay (Bio-Rad Laboratories, USA) เตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น โดยใช้ bovine serum albumin (BSA) เป็นสารละลายโปรตีนมาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำสารละลายโปรตีนมาตรฐานมาวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Lamda 25 UV/ VIS Spectrometer, Perkin Elmer, USA) ที่ความยาวคลื่นแสง 595 นาโนเมตร แล้วสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อใช้หาความเข้มข้นของโปรตีนในตัวอย่าง

3.2.3 การเตรียมตัวอย่างโปรตีนเพื่อการเคลื่อนสู่ขั้วไฟฟ้า

จากข้อ 3.2.2 เมื่อทราบค่าความเข้มข้นของโปรตีนที่ต้องการศึกษาแล้ว นำโปรตีนตัวอย่างของสัตว์ (ปริมาณของโปรตีน 20 ไมโครกรัม) และโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล (SDS-PAGE Molecular Weight Standards, Broad Range, Bio-Rad Laboratories, USA)

มาเจือจางด้วย SDS non-reducing sample buffer หรือ SDS reducing sample buffer ซึ่งมีเมอร์เคปโทเอทานอล (mercaptoethanol) เป็นสารรีดิวซ์ เพื่อให้โปรตีนอยู่ในภาวะที่ไม่มีสารรีดิวซ์ และในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ตามลำดับ โดยใช้ปริมาตรเป็นครึ่งหนึ่งจากปริมาตรของโปรตีนตัวอย่างของสัตว์และโปรตีนมาตรฐาน ผสมให้เข้ากัน ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ นำตัวอย่างโปรตีนที่มีส่วนผสมของ SDS reducing sample buffer มาตามในน้ำเดือดอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

3.2.4 การเคลื่อนสู่ขั้วไฟฟ้าโดยใช้เจลเอสดีเอส-โพลิอะคริลาไมด์ (SDS-PAGE)

โดยใช้ความเข้มข้นของเจลส่วนแยก (separating gel) ที่ 10% และเจลส่วนบน (stacking gel) ที่ 4.5% โดยใช้ชุดแผ่นแก้ว และchamber (miniPAGE Chamber AE-6530, (ATTO Corporation, Japan) ทำให้เกิดการเคลื่อนสู่ขั้วไฟฟ้า โดยใช้เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (electrophoresis power supply: EPS 301, Amersham Bioscience, Sweden) ปรับกระแสไฟฟ้าให้คงที่ที่ 40 มิลลิแอมแปร์ (ต่อสองชุดของชุดแผ่นแก้ว) ความต่างศักย์ 250 โวลต์

3.2.5 การย้อมสีเจลและการตรวจวิเคราะห์แถบโปรตีน

จากการทดลองที่กล่าวไปแล้ว เมื่อโปรตีนตัวอย่างเคลื่อนที่ถึงด้านล่างของเจล ปิดสวิทซ์เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า นำแผ่นเจลออกจากชุดกระจก แล้วย้อมด้วยสี Coomassie Brilliant Blue (CBB) ประมาณ 30 นาที โดยเขย่าเบาๆ ด้วยเครื่อง Rotary shaker (3D Rocking Plateform STR9, Stuart Scientific Co. Ltd., UK) ล้างสีย้อมออกด้วยน้ำกลั่น 2–3 ครั้ง จากนั้นล้างสีออกด้วยการแช่แผ่นเจลในสารละลายล้างสี (destained solution) เปลี่ยนสารละลายล้างสีเป็นระยะๆ จนกระทั่งสังเกตเห็นแผ่นเจลมีแถบโปรตีนติดสีน้ำเงินของ CBB ที่ชัดเจนและส่วนเจลพื้นหลังใส ล้างสารละลายสีออกด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง แล้วแช่แผ่นเจลไว้ในน้ำกลั่น บันทึกผลรูปแบบโปรตีนบนแผ่นเจล โดยใช้เครื่อง gel document system (Gel Doc XR System, BioRad., USA) วิเคราะห์เปรียบเทียบรูปแบบโปรตีน หาค่าของน้ำหนักโมเลกุลของแถบโปรตีน บันทึกตำแหน่งและคำนวณค่าน้ำหนักโมเลกุล โดยเปรียบเทียบการเคลื่อนที่ของโปรตีนนั้นๆ กับระยะทางการเคลื่อนที่ของโปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล โดยใช้ Quantity One 1-D Analysis Software. (BioRad, USA)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. <u>การทดลองที่ 1: การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้และส่วนต่าง ๆ</u>

ตัวอย่างจระเข้ที่ใช้ จระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย (*C. siamensis*) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ซึ่งนำมาชำแหละที่หน่วยงานเอกชนที่เพาะเลี้ยงจระเข้ (รุ่งทวีชัยฟาร์ม 31 หมู่ 9 ต. สามง่าม อ. ดอนตูม จ. นครปฐม)

-ภาคกลาง จากจังหวัดนครปฐม อายุ 2-4 ปี จำนวน 60 ตัว (เพศผู้ 30 ตัว, เพศเมีย 30 ตัว) น้ำหนักตัวเฉลี่ย 25.5 กิโลกรัม ความยาวจากจมูกถึงหาง 1.6 – 2.5 เมตร ข้อมูลการเลี้ยงอาหารหลักคือ โครงไก่

-ภาคตะวันออก จากจังหวัดฉะเชิงเทรา อายุ 2-4 ปี จำนวน 60 ตัว (เพศผู้ 30 ตัว, เพศเมีย 30 ตัว) น้ำหนักตัวเฉลี่ย 23.5 กิโลกรัม ความยาวจากจมูกถึงหาง 1.6 – 2.0 เมตร ข้อมูลการเลี้ยงอาหารหลักคือ โครงไก่

-ภาคใต้ จากจังหวัดปัตตานี อายุ 2-4 ปี เพศผู้ จำนวน 60 ตัว (เพศผู้ 30 ตัว, เพศเมีย 30 ตัว) น้ำหนักตัวเฉลี่ย 26.4 กิโลกรัม ความยาวจากจมูกถึงหาง 1.9 – 2.5 เมตร ข้อมูลการเลี้ยงอาหารหลักคือ โครงไก่ และปลา

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีฯ จากเลือดครบ (whole blood) และส่วนของน้ำเลือด (serum) ของจระเข้พันธุ์ไทย:-

-ภาคกลาง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

-ภาคตะวันออก ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5 ตามลำดับ

-ภาคใต้ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเลือดครบ (whole blood) และน้ำเลือด (serum) ของจระเข้พันธุ์ไทย ที่เพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคใต้) แสดงในตารางที่ 8 จากผลการศึกษาพบว่า โปรตีนเป็นสารอินทรีย์ภายในเลือดครบ และน้ำเลือดที่มีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต โดยทั่วไปองค์ประกอบทางเคมีในน้ำเลือดมักจะมีปริมาณมากกว่าเมื่อเทียบกับในเลือดครบ ยกเว้นโปรตีน ฟอสฟอรัส และเหล็กที่พบในเลือดครบมากกว่าในน้ำเลือด ทั้งนี้เนื่องจากในเลือดครบมีส่วนของแม็ดเลือดรวมอยู่ด้วย เม็ดเลือดของจระเข้ทุกชนิดมีนิวเคลียส เม็ดเลือดแดงเป็นเซลล์เม็ดเลือดที่พบมากที่สุดในกระแสเลือด เม็ดเลือดแดงมีองค์ประกอบของฮีโมโกลบิน ซึ่งประกอบด้วยฮีมและธาตุเหล็กที่มีประสิทธิภาพมากกว่า เมื่อเทียบกับฮีโมโกลบินของคนในการจับและนำส่งออกซิเจนให้กับเซลล์ในร่างกาย คนปกติมีธาตุเหล็กประมาณ 3-5 กรัม ร้อยละ 70 ของเหล็กอยู่ในเม็ดเลือดแดงหรือฮีโมโกลบิน เลือด

100 ลูกบาศก์เซนติเมตร มีธาตุเหล็กประมาณ 40-50 มิลลิกรัม ในเลือดแคลเซียมมักอยู่ในน้ำเลือด แต่ฟอสฟอรัส ส่วนใหญ่อยู่ในเม็ดเลือดแดง การวิเคราะห์ใช้ตัวอย่างเลือดที่ผ่านกระบวนการทำแห้งด้วย Freeze dry ดังนั้นจึงมีการแตกของเซลล์เม็ดเลือดทุกชนิด จึงทำให้มีการวิเคราะห์ปริมาณขององค์ประกอบต่างๆ ในเลือดครบ จึงพบสารดังกล่าวได้มากกว่าที่พบในซีรัมของจระเข้ นอกจากนี้ในเลือดจระเข้ (เลือดครบ และซีรัม) ชนิดของวิตามินที่พบปริมาณมากที่สุดคือ วิตามินเอ ซึ่งพบในส่วนของซีรัมมีปริมาณของวิตามินเอมากกว่าในเลือดครบเกือบห้าเท่า วิตามินเอมีส่วนช่วยในการเพิ่มภูมิต้านทานให้กับร่างกาย (Rumore, 1993) วิตามินที่พบรองลงมา ได้แก่ วิตามินซี วิตามินบี2/ วิตามินบี6 วิตามินบี1 และ วิตามินบี12 ตามลำดับ วิตามินซี เป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับเมแทบอลิสมของโฟเลทและกระตุ้นการ ดูดซึมเหล็ก วิตามินเอและซี ที่มีสรรพคุณช่วยต้านอนุมูลอิสระ มีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้างเม็ดเลือด วิตามินเอแตกต่างจากวิตามินซีตรงที่วิตามินซีละลายในน้ำและถูกขับถ่ายออกทางปัสสาวะ ร่างกายต้องการวิตามินซีเพื่อการสร้างและบำรุงกระดูก หลอดเลือด และผิวหนัง วิตามินเอและวิตามินซีมีส่วนช่วยในการเพิ่มภูมิต้านทานให้กับร่างกาย (Rumore, 1993 ; Wintergerst *et al*., 2006) แต่วิตามินเอจะสะสมอยู่ในร่างกาย วิตามินบี6 เป็นวิตามินที่ละลายในน้ำซึ่งมีส่วนช่วยให้ระบบหมุนเวียนโลหิตดีขึ้น รวมทั้งช่วยสร้างโปรตีน ฮอร์โมน และเซลล์เม็ดเลือดแดง (Calder and Kew, 2002 ; Maggini *et al*., 2007) องค์ประกอบทางเคมีในเลือดจระเข้ฯ ที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกัน

การทดสอบหาชนิดของกรดอะมิโนในเลือดครบของจระเข้ฯ โดยใช้วิธี Gas Chromatography/ HPLC ได้ผลการวิเคราะห์ที่แสดงกรดอะมิโนที่พบปริมาณมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ Glutamic acid (9960.25 mg/100g), Leucine (7761.15 mg/100g), Aspartic acid (7538.34 mg/100g), Lysine (7508.79 mg/100g) และ Alanine (5442.63 mg/100g) ตามลำดับ กรดอะมิโนที่พบปริมาณน้อยที่สุด 3 อันดับสุดท้าย ได้แก่ Tryptophan (1006.58 mg/100g), Methionine (1197.69 mg/100g) และ Isoleucine (2054.58 mg/100g) ตามลำดับ (ตารางที่ 9) กรดอะมิโน Glutamic acid (Glutamate) เป็นสารตั้งต้นที่สำคัญของ glutamine, proline, ornothine, arginine, glutathione, และ Gamma-aminobutyric acid (GABA) จัดเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (non essential amino acid) ถูกสร้างได้ในร่างกาย มีความสำคัญต่อร่างกายหลายอย่าง เช่น เป็นสารตั้งต้นให้กับ Glutamine ซึ่ง Glutamine อาจถูกเปลี่ยนกลับเป็น Glutamic acid ได้ เป็นองค์ประกอบของ Folic acid เป็นสารตั้งต้นของสารต้านอนุมูลอิสระ Glutathione มีความสำคัญต่อการทำงานของสมอง และต่อมลูกหมาก สามารถแหล่งพลังงานที่สำคัญ มีความสำคัญต่อเมแทบอลิซึมของสมอง น้ำตาล ไขมัน และกรดอะมิโนตัวอื่นๆ ปัจจุบันมีการเสริม L-glutamine เพื่อช่วยในการรักษา arthritis, autoimmune diseases, ความผิดปกติของการเจริญเติบโต ตลอดจนความเสียหายของเนื้อเยื่อจากการให้รังสีรักษาในผู้ป่วย

มะเร็ง กรดอะมิโน Leucine เป็นกรดอะมิโนจำเป็นไม่สามารถสังเคราะห์ได้เองในร่างกาย ช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และซ่อมแซมเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (เช่น กระดูกม ผิวหนัง และกล้ามเนื้อต่างๆ) เกี่ยวข้องกับการสร้าง Groowth hormone, การสมานบาดแผล และการควบคุมพลังงาน กรดอะมิโน Aspartic acid ถูกสร้างได้ในร่างกาย จัดเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น มีบทบาทสำคัญในกระบวนการ citric acid cycle (Krebs cycle) เมื่อมีการสังเคราะห์กรดอะมิโนตัวอื่นๆ เช่น asparagine, arginine, lysine, methionine, threonine และ isoleucine ช่วยในการรักษาภาวะซึมเศร้า (Depression) กรดอะมิโน lysine เป็นกรดอะมิโนจำเป็น มีคุณสมบัติช่วยต้านการติดเชื้อไวรัส เช่น เริม (Herpes infection) จำเป็นสำหรับการสร้างฮอร์โมน และการเติบโตของร่างกาย และซ่อมแซมกระดูกในเผู้ใหญ่และเด็ก

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากเลือดครบ (whole blood) จระเข้พันธุ์ไทย ภาคกลาง (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)

รายการวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์	หน่วย
<u>สารอินทรีย์</u>		
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	0.44	กรัม ต่อ 100 กรัม
น้ำตาล	0.16	กรัม ต่อ 100 กรัม
โปรตีน (แฟคเตอร์ 6.25)	84.77	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันทั้งหมด	1.82	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันอิ่มตัว	0.79	กรัม ต่อ 100 กรัม
โคเลสเตอรอล	684	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
<u>สารอนินทรีย์</u>		
ปริมาณน้ำ-ความชื้น	6.55	กรัม
เถ้า	5.42	กรัม
โซเดียม	1295.33	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ฟอสฟอรัส	547.00	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แคลเซียม	79.93	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แมกนีเซียม	22.50	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินเอ	148.00	ไมโครกรัม อาร์ อี ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี1	0.11	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี2	0.29	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี6	0.23	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี12	0.10	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินซี	10.88	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
เหล็ก	132.13	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ตะกั่ว	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารหนู/ อาร์เซนิก	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
<u>สารต้านอนุมูลอิสระ</u>		
BHA	<0.018	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
BHT	<0.019	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
TBHQ	<0.26	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากน้ำเลือด (serum) จระเข้พันธุ์ไทย ภาคกลาง (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)

รายการวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์	
สารอินทรีย์		
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	6.46	กรัม ต่อ 100 กรัม
น้ำตาล	0.37	กรัม ต่อ 100 กรัม
โปรตีน (แฟคเตอร์ 6.25)	67.85	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันทั้งหมด	5.28	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันอิ่มตัว	2.64	กรัม ต่อ 100 กรัม
โคเลสเตอรอล	1415	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
สารอนินทรีย์		
ปริมาณน้ำ-ความชื้น	8.19	กรัม
เถ้า	12.22	กรัม
โซเดียม	2975	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ฟอสฟอรัส	391.17	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แคลเซียม	124.10	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แมกนีเซียม	42.10	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินเอ	661.15	ไมโครกรัม อาร์ อี ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี1	0.02	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี2	0.39	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี6	0.20	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี12	<0.10	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินซี	8.66	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
เหล็ก	4.32	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ตะกั่ว	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารหนู/ อาร์เซนิก	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารต้านอนุมูลอิสระ		
BHA	<0.018	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
BHT	<0.019	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
TBHQ	<0.26	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากเลือดครบ (whole blood) จระเข้พันธุ์ไทย ภาคตะวันออก (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)

รายการวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์	หน่วย
<u>สารอินทรีย์</u>		
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	0.43	กรัม ต่อ 100 กรัม
น้ำตาล	0.29	กรัม ต่อ 100 กรัม
โปรตีน (แฟคเตอร์ 6.25)	86.96	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันทั้งหมด	2.44	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันอิ่มตัว	1.38	กรัม ต่อ 100 กรัม
โคเลสเตอรอล	819	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
<u>สารอนินทรีย์</u>		
ปริมาณน้ำ-ความชื้น	4.62	กรัม
เถ้า	5.55	กรัม
โซเดียม	1469.00	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ฟอสฟอรัส	341.20	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แคลเซียม	63.18	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แมกนีเซียม	27.93	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินเอ	87.68	ไมโครกรัม อาร์ อี ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี1	0.02	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี2	0.15	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี6	0.17	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี12	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินซี	3.16	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
เหล็ก	111.60	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ตะกั่ว	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารหนู/ อาร์เซนิก	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
<u>สารต้านอนุมูลอิสระ</u>		
BHA	0.03	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
BHT	<0.019	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
TBHQ	<0.26	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากน้ำเลือด (serum) จระเข้พันธุ์ไทยภาคตะวันออก (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)

รายการวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์	
สารอินทรีย์		
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	7.83	กรัม ต่อ 100 กรัม
น้ำตาล	0.93	กรัม ต่อ 100 กรัม
โปรตีน (แฟคเตอร์ 6.25)	68.33	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันทั้งหมด	6.88	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันอิ่มตัว	3.41	กรัม ต่อ 100 กรัม
โคเลสเตอรอล	1890	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
สารอนินทรีย์		
ปริมาณน้ำ-ความชื้น	5.96	กรัม
เถ้า	11	กรัม
โซเดียม	3243	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ฟอสฟอรัส	244	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แคลเซียม	141.40	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แมกนีเซียม	46.47	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินเอ	385.57	ไมโครกรัม อาร์ อี ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี1	0.02	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี2	0.42	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี6	0.23	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี12	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินซี	5.77	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
เหล็ก	7.1	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ตะกั่ว	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารหนู/ อาร์เซนิก	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารต้านอนุมูลอิสระ		
BHA	<0.018	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
BHT	<0.019	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
TBHQ	<0.26	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากเลือดครบ (whole blood) จระเข้พันธุ์ไทย ภาคใต้ (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)

รายการวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์	หน่วย
<u>สารอินทรีย์</u>		
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	0.62	กรัม ต่อ 100 กรัม
น้ำตาล	0.2	กรัม ต่อ 100 กรัม
โปรตีน (แฟคเตอร์ 6.25)	87.37	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันทั้งหมด	1.55	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันอิ่มตัว	0.8	กรัม ต่อ 100 กรัม
โคเลสเตอรอล	659	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
<u>สารอนินทรีย์</u>		
ปริมาณน้ำ-ความชื้น	4.31	กรัม
เถ้า	5.15	กรัม
โซเดียม	1260	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ฟอสฟอรัส	376.80	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แคลเซียม	55.55	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แมกนีเซียม	25.97	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินเอ	145.16	ไมโครกรัม อาร์ อี ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี1	0.04	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี2	0.16	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี6	0.18	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี12	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินซี	3.26	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
เหล็ก	82.07	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ตะกั่ว	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารหนู/ อาร์เซนิก	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
<u>สารต้านอนุมูลอิสระ</u>		
BHA	0.03	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
BHT	<0.019	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
TBHQ	<0.26	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากน้ำเลือด (serum) จระเข้พันธุ์ไทยภาคใต้ (เพศผู้ 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว)

รายการวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์	
สารอินทรีย์		
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	8.21	กรัม ต่อ 100 กรัม
น้ำตาล	0.58	กรัม ต่อ 100 กรัม
โปรตีน (แฟคเตอร์ 6.25)	69.80	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันทั้งหมด	4.90	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันอิ่มตัว	2.44	กรัม ต่อ 100 กรัม
โคเลสเตอรอล	1390	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
สารอนินทรีย์		
ปริมาณน้ำ-ความชื้น	6.20	กรัม
เถ้า	11.34	กรัม
โซเดียม	2872	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ฟอสฟอรัส	269.46	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แคลเซียม	135.20	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แมกนีเซียม	44.50	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินเอ	554.32	ไมโครกรัม อาร์ อี ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี1	0.04	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี2	0.50	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี6	0.19	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี12	น้อยกว่า 0.1	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินซี	5.95	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
เหล็ก	3.92	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ตะกั่ว	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารหนู/ อาร์เซนิก	น้อยกว่า 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารต้านอนุมูลอิสระ		
BHA	<0.018	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
BHT	<0.019	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
TBHQ	<0.26	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเลือดครบ (whole blood) และน้ำเลือด (serum) ของจระเข้พันธุ์ไทย ที่เพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคใต้)

รายการวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์						หน่วย
	เลือดครบ			น้ำเลือด			
	ภาคกลาง	ภาคตะวันออก	ภาคใต้	ภาคกลาง	ภาคตะวันออก	ภาคใต้	
สารอินทรีย์							
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	0.44	0.43	**0.62**	6.46	7.83	**8.21**	กรัม ต่อ 100 กรัม
น้ำตาล	0.16	0.29	0.20	0.37	0.93	0.58	กรัม ต่อ 100 กรัม
โปรตีน (แฟคเตอร์ 6.25)	84.77	86.96	**87.37**	67.85	68.33	**69.8**	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันทั้งหมด	1.82	**2.44**	1.55	5.28	**6.88**	4.9	กรัม ต่อ 100 กรัม
ไขมันอิ่มตัว	0.79	1.38	0.80	2.64	3.41	2.44	กรัม ต่อ 100 กรัม
โคเลสเตอรอล	684	819	659	1415	1890	1390	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
สารอนินทรีย์							
ปริมาณน้ำ-ความชื้น	6.55	4.62	4.31	8.19	5.96	6.2	กรัม
เถ้า	5.42	5.55	5.15	12.22	11.00	11.34	กรัม
โซเดียม	1295.33	**1469.00**	1260	2975	**3243**	2872	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ฟอสฟอรัส	**547.00**	341.20	376.8	**391.17**	244	269.46	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แคลเซียม	**79.93**	63.18	55.55	124.10	**141.40**	135.20	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
แมกนีเซียม	22.50	**27.93**	25.97	42.10	**46.47**	44.50	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินเอ	**148.00**	87.68	145.16	**661.15**	385.57	554.32	ไมโครกรัม อาร์ อี ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี1	**0.11**	0.02	0.04	0.02	0.02	**0.04**	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี2	**0.29**	0.15	0.16	0.39	0.42	**0.50**	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี6	**0.23**	0.17	0.18	0.20	**0.23**	0.19	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี12	**0.10**	<0.10	<0.10	<0.10	**<0.10**	< 0.1	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
วิตามินซี	**10.88**	3.16	3.26	**8.66**	5.77	5.95	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
เหล็ก	132.13	111.60	82.07	4.32	7.10	3.92	มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม
ตะกั่ว	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารหนู/ อาร์เซนิก	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	< 0.10	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
สารต้านอนุมูลอิสระ							
BHA	<0.018	<0.018	<0.018	<0.018	<0.018	<0.018	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
BHT	<0.019	<0.019	<0.019	<0.019	<0.019	<0.019	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม
TBHQ	<0.26	<0.26	<0.26	<0.26	<0.26	<0.26	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม

การทดสอบหาชนิดของกรดอะมิโนในเลือดครบของจระเข้ฯ โดยใช้วิธี Gas Chromatography/ HPLC ได้ผลการวิเคราะห์ที่แสดงกรดอะมิโนที่พบปริมาณมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ Glutamic acid (9960.25 mg/100g), Leucine (7761.15 mg/100g), Aspartic acid (7538.34 mg/100g), Lysine (7508.79 mg/100g) และ Alanine (5442.63 mg/100g) ตามลำดับ กรดอะมิโนที่พบปริมาณน้อยที่สุด 3 อันดับสุดท้าย ได้แก่ Tryptophan (1006.58 mg/100g), Methionine (1197.69 mg/100g) และ Isoleucine (2054.58 mg/100g) ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ชนิดของกรดอะมิโนในเลือดครบของจระเข้พันธุ์ไทย

รายการวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์	หน่วย
Alanine	**5442.63**	mg/ 100g
Arginine	4145.28	mg/ 100g
Aspartic acid	**7538.34**	mg/ 100g
Cystinne	2798.19	mg/ 100g
Glutamic acid	**9960.25**	mg/ 100g
Glycine	3164.57	mg/ 100g
Histidine	5226.33	mg/ 100g
Hydroxylysine	Not Detected	mg/ 100g
Hydroxyproline	Not Detected	mg/ 100g
Isoleucine	2054.58	mg/ 100g
Leucine	**7761.15**	mg/ 100g
Lysine	**7508.79**	mg/ 100g
Methionine	1197.69	mg/ 100g
Phenylalanine	3800.96	mg/ 100g
Proline	3802.51	mg/ 100g
Serine	4862.37	mg/ 100g
Threonine	3255.68	mg/ 100g
Tryptophan	1006.58	mg/ 100g
Tyrosine	3824.22	mg/ 100g
Valine	3756.28	mg/ 100g

2. <u>การทดลองที่ 2: การศึกษาและวิเคราะห์โปรตีนของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (ปีที่ 1)</u>

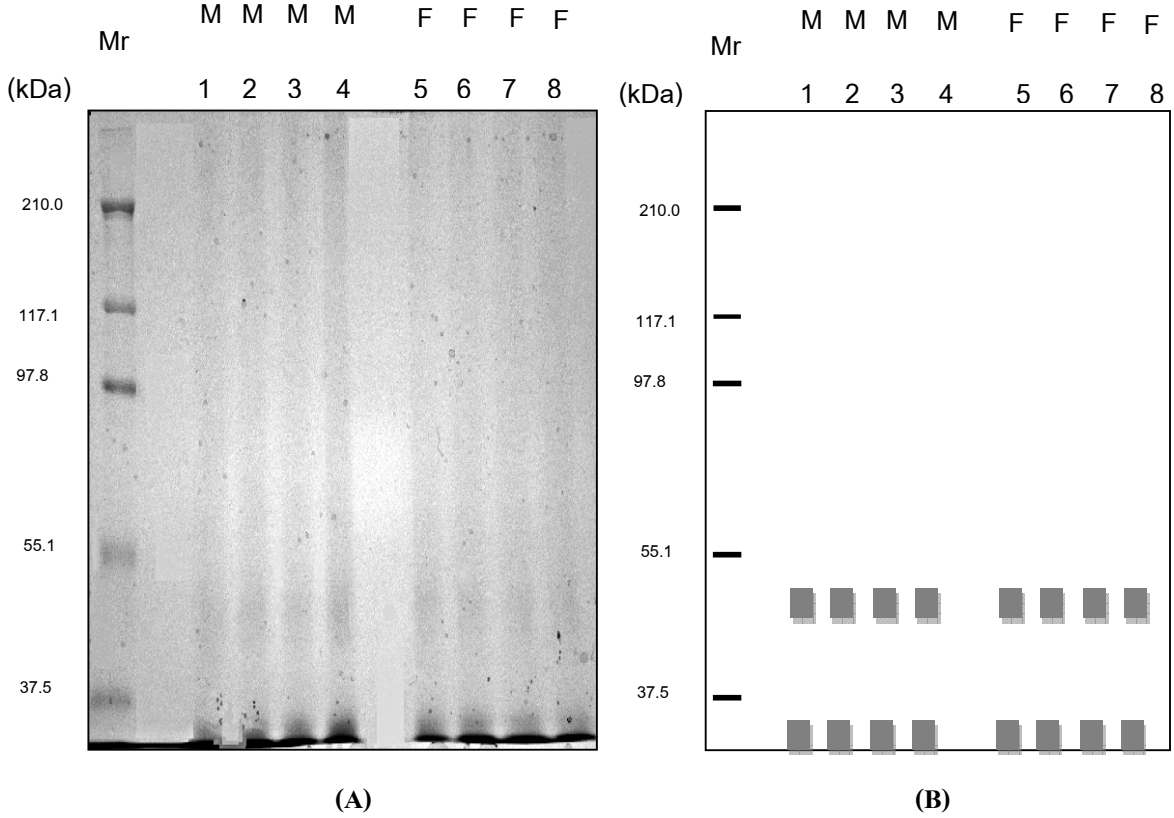
เพื่อให้การศึกษารูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทย ที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ ของประเทศไทย ได้แก่ ภาคใต้ ภาคกลาง และภาคตะวันออก ให้ผลที่ชัดเจนและครอบคลุมโปรตีนส่วนใหญ่ในเลือดจระเข้ที่ได้จากตัวอย่างเลือดครบ (WB) ซีรัม (S) และ ส่วนเม็ดเลือด (BC) ตลอดจนการศึกษาผลของการทำแห้งด้วยกระบวนการ Freeze dry ของตัวอย่างเลือดครบ (WB-FD) และซีรัม (S-FD) จึงได้ดำเนินการศึกษารูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคใต้ ก่อนแล้วจึงนำผลที่ได้มาพิจารณาดำเนินการศึกษารูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้จากภาคกลางและภาคตะวันออกต่อไป

2.1 <u>การศึกษารูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคใต้</u>

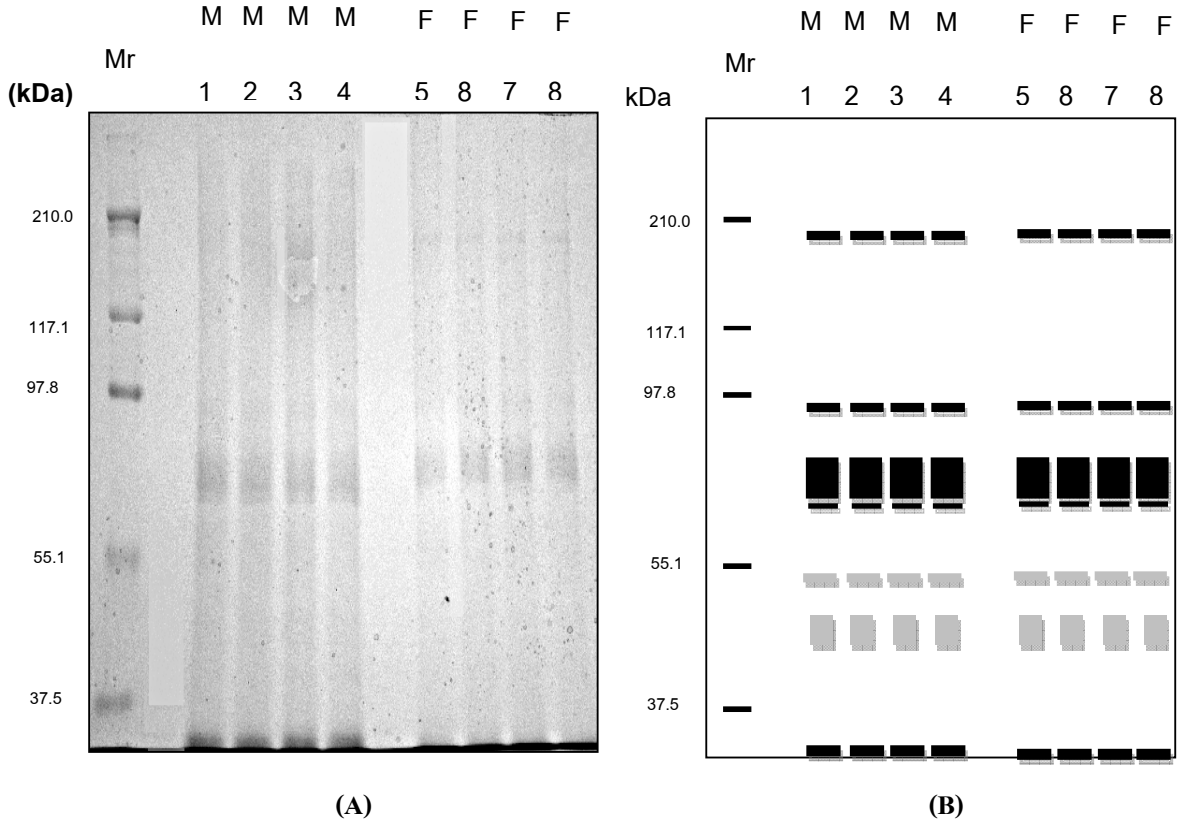
จากการศึกษาการใช้เอสดีเอส-พอลิอะคริลาไมล์เจลอีเล็กโตรฟอเรซิส (SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis, SDS-PAGE) เพื่อศึกษาซีรัมโปรตีนจากจระเข้พันธุ์ไทย หนูวิสตาร์ และคน (จินดาวรรณ และคณะ, 2549) แและการทดลองเบื้องต้น เพื่อการสกัดแยกโปรตีนที่ใช้ในการทดลอง (ส่วนซีรัม) ให้ผลที่คล้ายคลึงกันของการเคลื่อนสู่ขั้วไฟฟ้าแบบพอลิอะคริลาไมด์เจลของตัวอย่างโปรตีนในภาวะที่ไม่มีสารรีดิวซ์และภาวะที่มีสารรีดิวซ์ โดยที่ความเข้มข้นของเจลส่วนแยก (separating gel) ที่ 10% ครอบคลุมโปรตีนส่วนใหญ่ในเลือดจระเข้ ดังนั้นในการดำเนินการศึกษารูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคใต้ จึงเลือกใช้ SDS-PAGE ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ ที่ 10% separating gel

การศึกษาโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ในภาวะที่มีเมอร์เคปโทเอทานอลเป็นสารรีดิวซ์ที่ 10% separating gel ของตัวอย่างจากจระเข้เพศผู้ และจระเข้เพศเมีย 5 ในส่วนเม็ดเลือด (BC) (ภาพที่ 1), เลือดครบ (WB) (ภาพที่ 2), เลือดครบ (WB) ทำแห้งด้วยกระบวนการ Freeze dry (WB-FD) (ภาพที่ 3), ซีรัม (S) (ภาพที่ 4) และซีรัมทำแห้งด้วยกระบวนการ Freeze dry (S-FD) (ภาพที่ 5) พบว่าแถบโปรตีนจากตัวอย่างของเลือดส่วนต่างๆ ทั้งเพศผู้และเพศเมียให้ผลที่เหมือนกัน ทั้งนี้อาจเกิดจากจระเข้ที่ถูกใช้ในการทดลองนี้เป็นจระเข้ที่อยู่ช่วงอายุ 2 – 4 ปี ยังไม่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ โปรตีนในกลุ่มของฮอร์โมนเพศยังไม่แสดงออกเต็มที่ ดังนั้นรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเพศผู้และเพศเมียจึงไม่มีความแตกต่างกัน

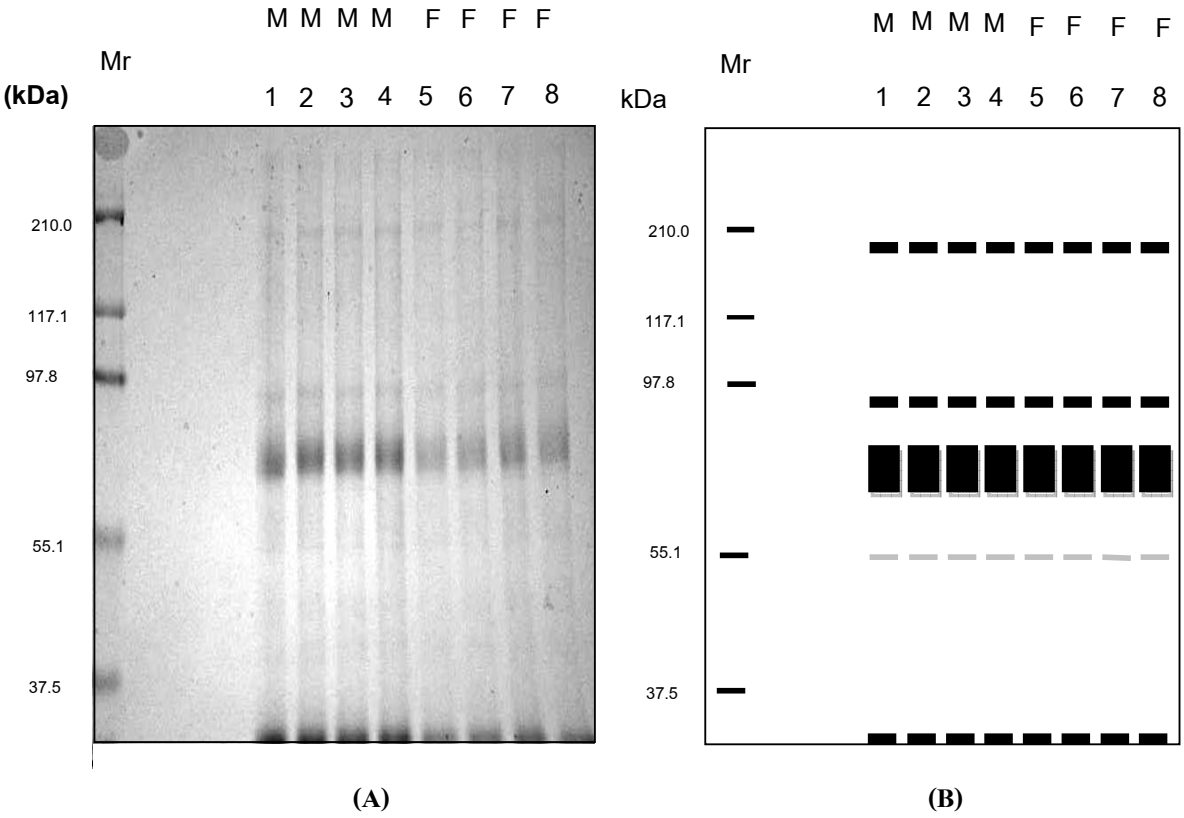
การศึกษาผลของการทำแห้งด้วยกระบวนการ Freeze dry ต่อรูปแบบของโปรตีนในเลือดจระเข้ ของตัวอย่างเลือดครบ (WB-FD) ซีรัม (S-FD) และส่วนเม็ดเลือด (BC) ในเพศผู้ (ภาพที่ 6) และจระเข้เพศเมีย (ภาพที่ 7) พบการทำแห้งด้วยกระบวนการ Freeze dry ไม่มีผลต่อโปรตีนจากตัวอย่างทั้งเพศผู้และเพศเมีย



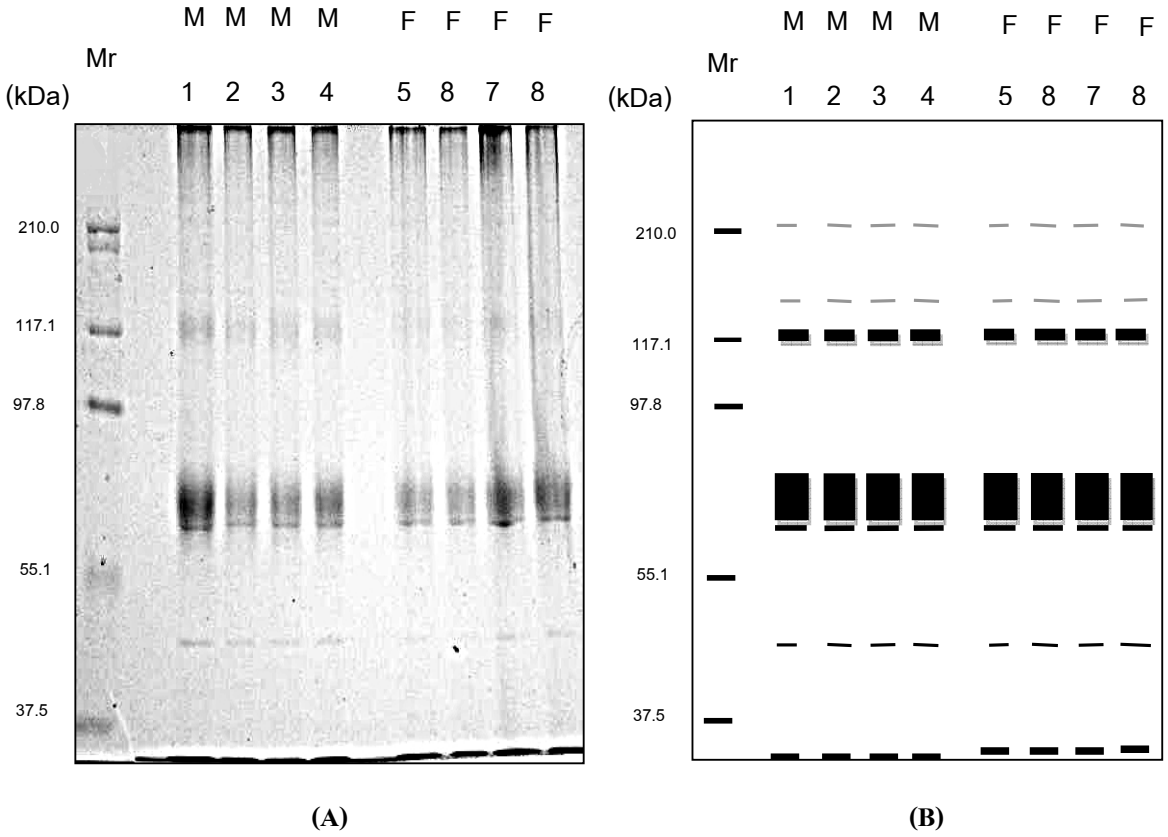
ภาพที่ 1 รูปแบบของโปรตีนจากส่วนเม็ดเลือดของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ (M) และตัวเมีย (F) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดยที่ Lane 1 แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) ซึ่งด้านซ้ายของแต่ละแถบโปรตีนแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) Lanes 1-4 แสดงรูปแบบโปรตีนของจระเข้เพศผู้ Lanes 5-8 แสดงรูปแบบโปรตีนของจระเข้เพศเมีย



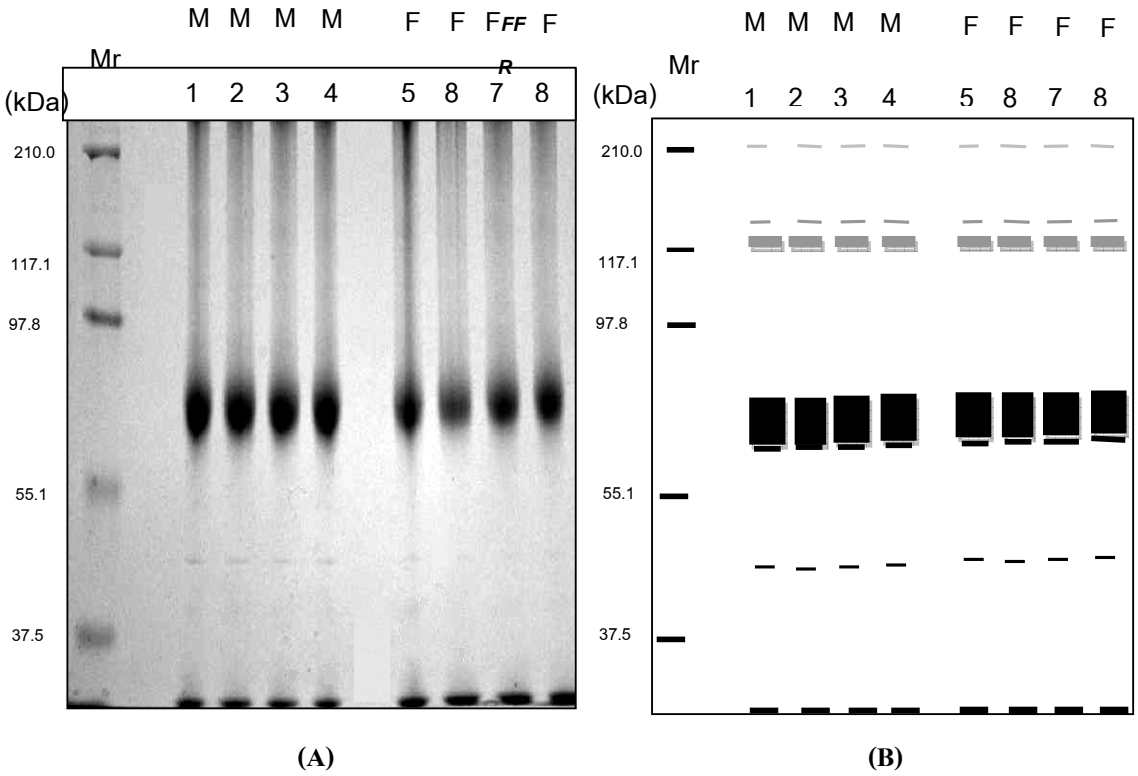
ภาพที่ 2 รูปแบบของโปรตีนจากเลือดครบของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ (M) และตัวเมีย (F) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดยที่ Lane 1 แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) ซึ่งด้านซ้ายของแต่ละแถบโปรตีนแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) Lanes 1-4 แสดงรูปแบบโปรตีนของจระเข้เพศผู้ Lanes 5-8 แสดงรูปแบบโปรตีนของจระเข้เพศเมีย



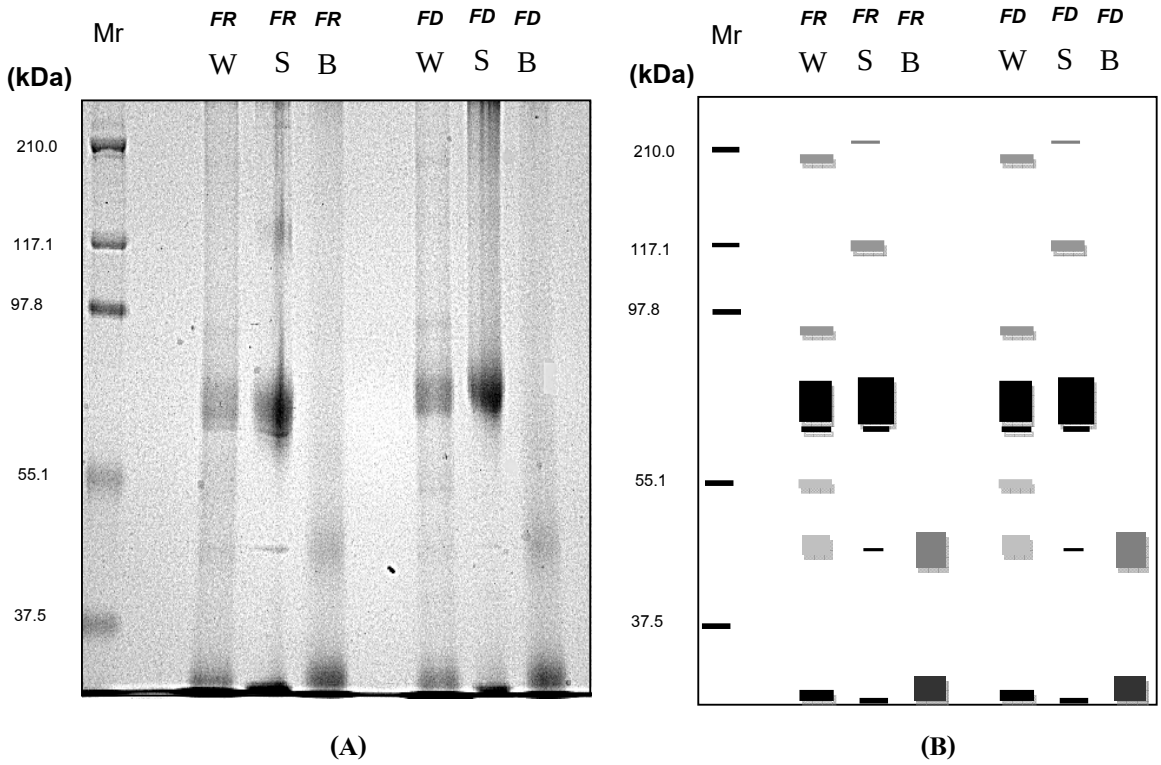
ภาพที่ 3 รูปแบบของโปรตีนจากเลือดครบของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ (M) และตัวเมีย (F) โดยผ่านกระบวนการทำระเหิดแห้ง (Freeze-dry) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดยที่ Lane 1 แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) ซึ่งด้านซ้ายของแต่ละแถบโปรตีนแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) Lanes 1-4 แสดงรูปแบบโปรตีนในเลือดทั้งหมดของตัวผู้ Lanes 5-8 แสดงรูปแบบโปรตีนในเลือดทั้งหมดของตัวเมีย



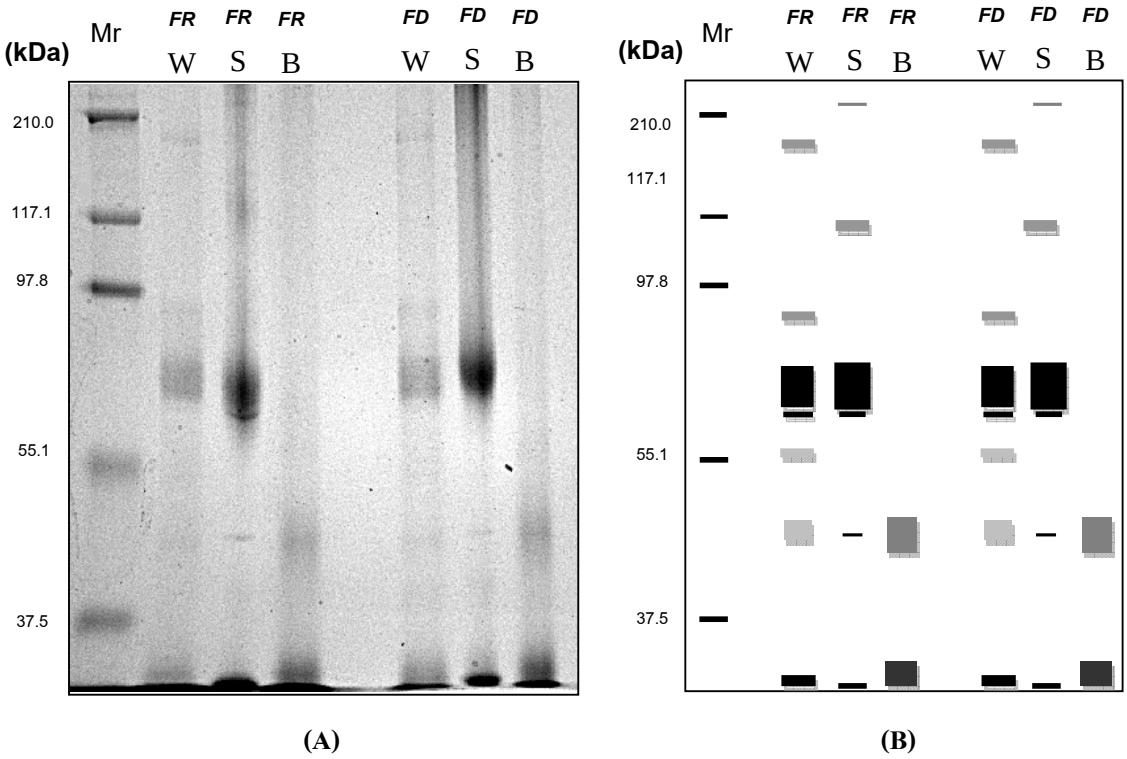
ภาพที่ 4 รูปแบบของโปรตีนจากซีรัมของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ (M) และตัวเมีย (F) ที่ได้จากภาคใต้ บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดยที่ Lane 1 แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) ซึ่งด้านซ้ายของแต่ละแถบโปรตีนแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) Lanes 1-4 แสดงรูปแบบซีรัมของตัวผู้ Lanes 5-8 แสดงรูปแบบซีรัมของตัวเมีย



ภาพที่ 5 รูปแบบของโปรตีนจากซีรัมของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ (M) และตัวเมีย (F) โดยผ่านกระบวนการทำระเหิดแห้ง (Freeze-der or lyophilizer) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดยที่ Lane 1 แสดงโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker, Mr) ซึ่งด้านซ้ายของแต่ละแถบโปรตีนแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa) Lanes 1-4 แสดงรูปแบบซีรัมของตัวผู้ Lanes 5-8 แสดงรูปแบบซีรัมของตัวเมีย



ภาพที่ 6 รูปแบบของโปรตีนจากเลือดทั้งหมด (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B) ของจระเข้พันธุ์ไทยตัวผู้ โดยเป็นตัวอย่างสด (FR) หรือโดยผ่านขบวนการทำระเหิดแห้ง (FD) ที่ได้จากภาคใต้บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดย Mr คือ โปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker) ซึ่งแสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa)



ภาพที่ 7 รูปแบบของโปรตีนจากเลือดครบ (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B) ของจระเข้พันธุ์ไทยตัวเมีย โดยเป็นตัวอย่างสด (FR) หรือโดยผ่านขบวนการทำระเหิดแห้ง (FD) ที่ได้จากภาคใต้ บน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition) **(A)** ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย **(B)** โดย Mr คือโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker) แสดงน้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa)

2.2 <u>การศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ</u>

การศึกษาโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ในภาวะที่มีเมอร์เคปโทเอทานอลเป็นสารรีดิวซ์ที่ 10% separating gel ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ ได้แก่ ภาคใต้ (Southern part, Sp) ภาคกลาง (Middle part, Mp) และภาคตะวันออก (Easthern part, Ep) ของตัวอย่างเลือดครบ (WB) ซีรัม (S) และ ส่วนเม็ดเลือด (BC) ผลการศึกษาจากจระเข้เพศผู้ แสดงดัง ภาพที่ 8.1 และจากจระเข้เพศเมีย แสดงดัง ภาพที่ 8.2

เมื่อนำตัวอย่างเลือดจระเข้ส่วนต่างๆ ผ่านกระบวนการ Freeze dry แล้วศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ รูปแบบโปรตีนจากจระเข้เพศผู้ และจากจระเข้เพศเมีย แสดงดังภาพที่ 9.1 และ 9.2 ตามลำดับ

จากผลการศึกษาดังกล่าวสังเกตได้ว่า รูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้ไม่แตกต่างกันตามเพศ กระบวนการทำแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในหัวข้อที่ 2.1 และเมื่อเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคใต้ ภาคกลาง และภาคตะวันออก) พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน

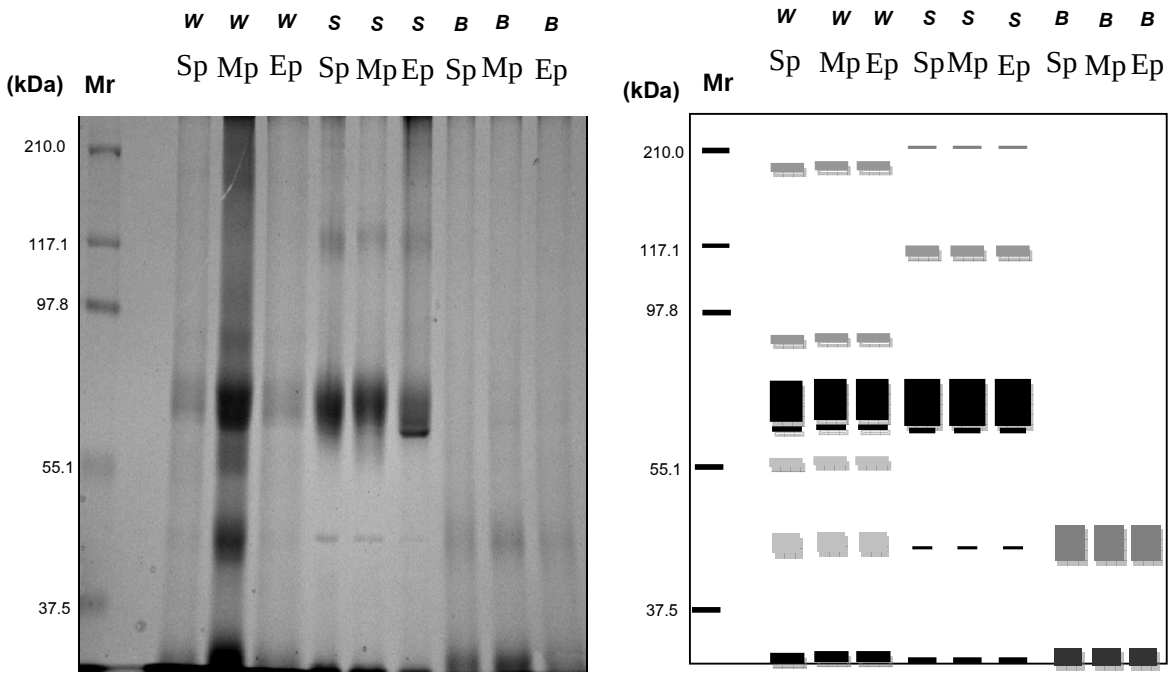
รูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้ มีความแตกต่างกันเฉพาะเมื่อศึกษาจากตัวอย่างเลือดจระเข้ในส่วนแยกที่แตกต่างกัน (เลือดครบ ซีรัม และส่วนเม็ดเลือด) โดยให้แถบโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 21 – 250 kDa ดังนี้

- โปรตีนจากตัวอย่างเลือดครบ (WB) พบ 7 แถบ ที่น้ำหนักโมเลกุล 119, 91, 67, 62, 59, 45 kDและ 25 kDa ตามลำดับ

- โปรตีนจากซีรัม แยกได้เป็น 6 แถบ ที่น้ำหนักโมเลกุล 225, 121, 67, 62, 45 และ 25 kDa ตามลำดับ

- โปรตีนจากส่วนเม็ดเลือด (BC) แยกได้ปีน 2 แถบ ที่น้ำหนักโมเลกุล 45 และ 25 kDa

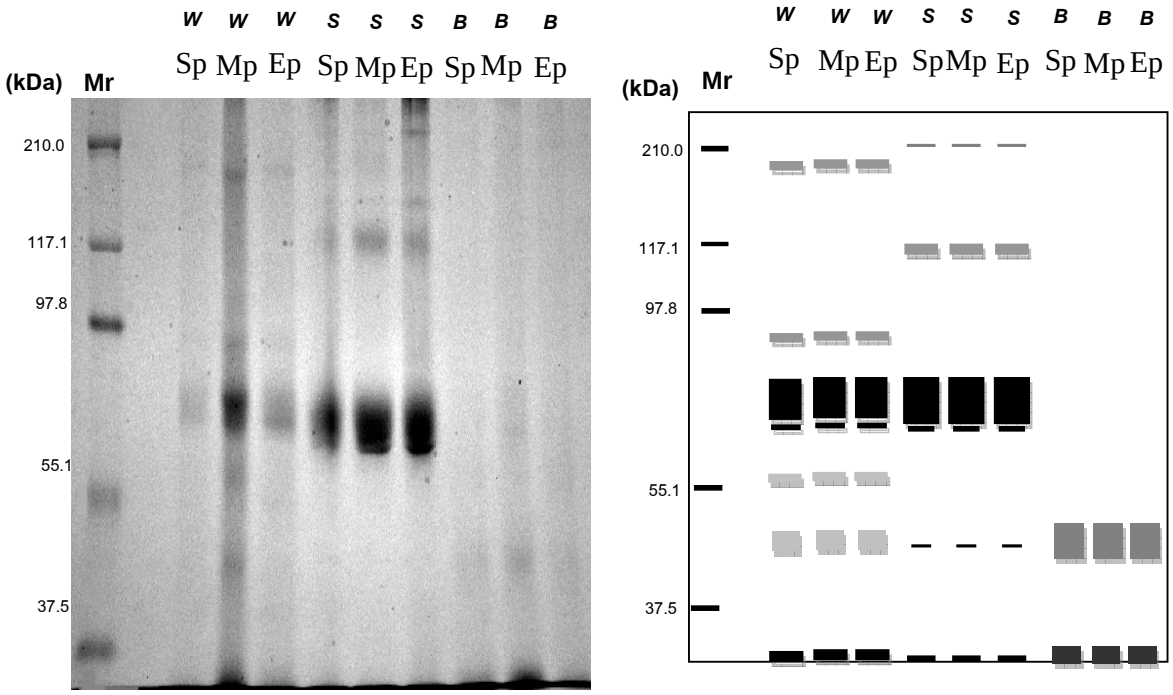
โดยแถบโปรตีนที่เข้มกว้างที่สุดคือ แถบโปรตีนแอลบูมิน (albumin) ที่น้ำหนักโมเลกุล 67 kDa ซึ่งสอดคล้องกับที่มีรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ในคน หนู และจระเข้ (จินดาวรรณ และคณะ, 2549)



ภาพที่ 8.1 การเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคใต้(Sp) ภาคกลาง (Mp) และ ภาคตะวันออก (Ep)) แยกตามตัวอย่างเลือดจระเข้ (เลือดครบ (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B)) ของจระเข้พันธุ์ไทยเพศผู้ โดย Mr คือ โปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker,) น้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa)

(A) รูปแบบโปรตีนบน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition)

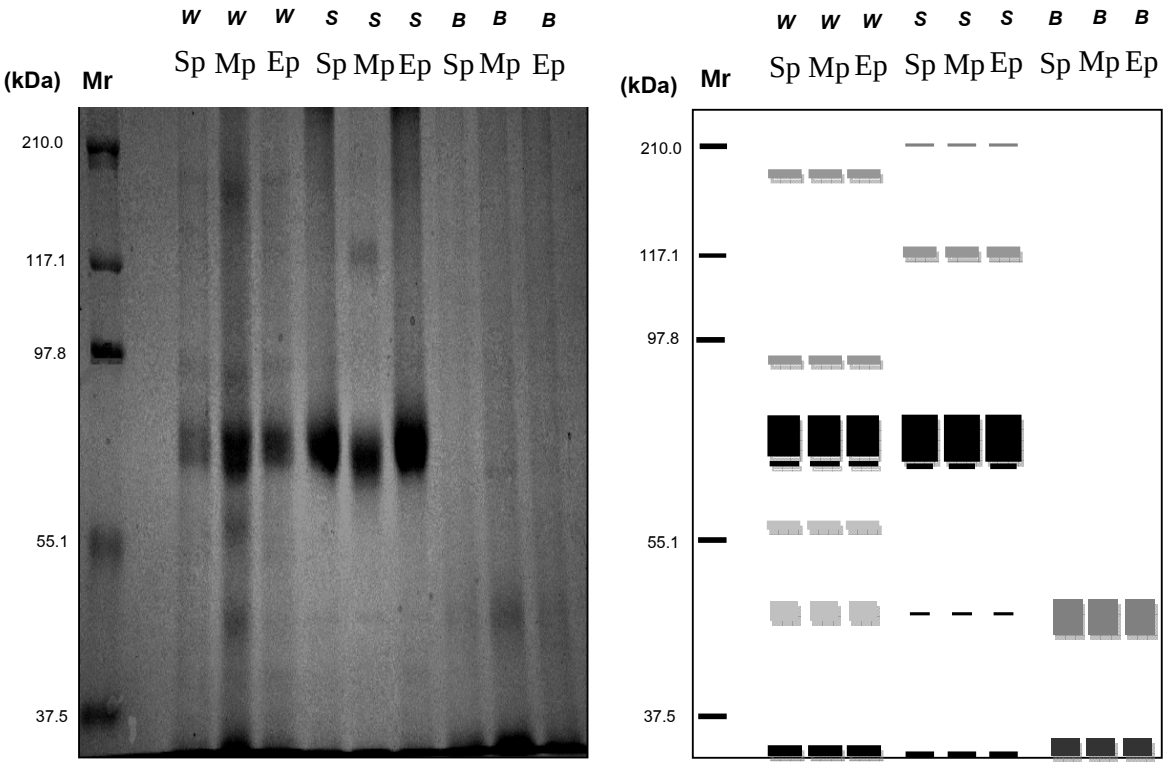
(B) ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย



ภาพที่ 8.2 การเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคใต้(Sp) ภาคกลาง (Mp) และ ภาคตะวันออก (Ep)) แยกตามตัวอย่างเลือดจระเข้ (เลือดครบ (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B)) ของจระเข้พันธุ์ไทยเพศเมีย โดย Mr คือ โปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker,) น้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa)

(A) รูปแบบโปรตีนบน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition)

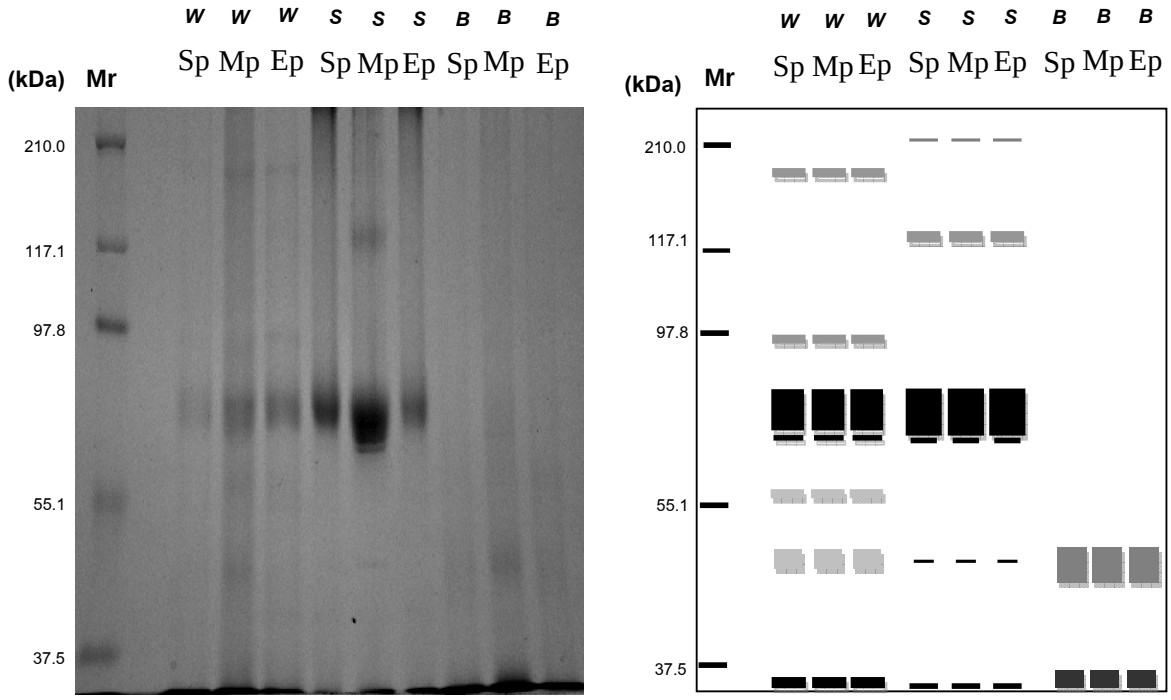
(B) ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย



ภาพที่ 9.1 การเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคใต้(Sp) ภาคกลาง (Mp) และ ภาคตะวันออก (Ep)) แยกตามตัวอย่างเลือดจระเข้ (เลือดครบ (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B)) ผ่านกระบวนการทำแห้ง Freeze dry ของจระเข้พันธุ์ไทยเพศผู้ โดย Mr คือโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker,) น้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa)

(A) รูปแบบโปรตีนบน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition)

(B) ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย



ภาพที่ 9.2 การเปรียบเทียบรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคใต้(Sp) ภาคกลาง (Mp) และ ภาคตะวันออก (Ep)) แยกตามตัวอย่างเลือดจระเข้ (เลือดครบ (W) ซีรัม (S) และเม็ดเลือด (B)) ผ่านกระบวนการทำแห้ง Freeze dry ของจระเข้พันธุ์ไทยเพศเมีย โดย Mr คือโปรตีนมาตรฐานที่ใช้เป็นเครื่องหมาย (standard protein marker,) น้ำหนักโมเลกุลมีหน่วยเป็นกิโลดาลตัน (kDa)

(A) รูปแบบโปรตีนบน SDS-PAGE เมื่อให้เจลส่วนแยกเป็น 10% ในภาวะที่มีสารรีดิวซ์ (reducing condition)

(B) ไดอะแกรมแสดงรูปแบบโปรตีนของภาพด้านซ้าย

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. สรุปผลการวิจัย

1) องค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้ในส่วนต่าง ๆ คือ จากเลือดครบ (whole blood) และส่วนของน้ำเลือด (serum) ของจระเข้พันธุ์ไทย มีความแตกต่างกัน โดยทั่วไปในน้ำเลือดมีปริมาณมากกว่าเมื่อเทียบกับในเลือดครบ ยกเว้นโปรตีน ฟอสฟอรัส และเหล็กที่พบในเลือดครบมากกว่าในน้ำเลือด

2) ในเลือดจระเข้ (เลือดครบ และซีรัม) ชนิดของวิตามินที่พบปริมาณมากที่สุดคือ วิตามินเอ โดยพบในมากว่าในเลือดครบ วิตามินที่พบรองลงมา ได้แก่ วิตามินซี วิตามินบี2/ วิตามินบี6 วิตามินบี1 และ วิตามินบี12 ตามลำดับ

3) องค์ประกอบทางเคมีในเลือดจระเข้ฯ ที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้) ไม่มีความแตกต่างกัน

4) ในเลือดจระเข้ประกอบด้วยกรดอะมิโนปริมาณมากที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ Glutamic acid (9960.25 mg/100g), Leucine (7761.15 mg/100g), Aspartic acid (7538.34 mg/100g), Lysine (7508.79 mg/100g) และ Alanine (5442.63 mg/100g) ตามลำดับ กรดอะมิโนที่พบปริมาณน้อยที่สุด 3 อันดับสุดท้าย ได้แก่ Tryptophan (1006.58 mg/100g), Methionine (1197.69 mg/100g) และ Isoleucine (2054.58 mg/100g) ตามลำดับ

5) การศึกษาโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE ในภาวะที่มีเมอร์เคปโทเอทานอลเป็นสารรีดิวซ์ ที่ 10% separating gel ของตัวอย่างจากจระเข้เพศผู้ และจระเข้เพศเมีย พบว่ารูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเพศผู้และเพศเมียจึงไม่มีความแตกต่างกัน

6) การทำแห้งด้วยกระบวนการ Freeze dry ไม่มีผลต่อโปรตีนจากตัวอย่างทั้งเพศผู้และเพศเมีย

7) รูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้พันธุ์ไทยที่ถูกเพาะเลี้ยงในภาคต่างๆ (ภาคใต้ ภาคกลาง และภาคตะวันออก) ไม่มีความแตกต่างกัน

8) ตัวอย่างเลือดจระเข้ในส่วนแยกที่แตกต่างกัน (เลือดครบ ซีรัม และส่วนเม็ดเลือด) แสดงรูปแบบโปรตีนในเลือดจระเข้ ที่แตกต่างกัน โดยโปรตีนจากตัวอย่างเลือดครบ (WB) พบ 7 แถบ ที่น้ำหนักโมเลกุล 119, 91, 67, 62, 59, 45 kDa และ 25 kDa ตามลำดับ โปรตีนจากซีรัม แยกได้เป็น 6 แถบ ที่น้ำหนักโมเลกุล 225, 121, 67, 62, 45 และ 25 kDa ตามลำดับ โปรตีนจากส่วนเม็ดเลือด (BC) แยกได้ปีน 2 แถบ ที่น้ำหนักโมเลกุล 45 และ 25 kDa แถบโปรตีนที่เข้มกว้างที่สุดคือ แถบโปรตีนแอลบูมิน (albumin) ที่น้ำหนักโมเลกุล 67 kDa

2. ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาโปรตีน โดยใช้เทคนิคโปรติโอมิกส์ (Proteomics) เพื่อจำแนกชนิดของโปรตีนภายในแถบโปรตีนที่ได้จากเลือดส่วนต่างๆ ตลอดจนควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของโปรตีน/เปปไทด์ที่มีขนาดเล็ก เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการเชื่อมโยงกับการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบจากเลือดจระเข้ของโครงการย่อยอื่นๆ ในแผนงานวิจัยฯ ซึ่งจะมีผลต่อการพัฒนาเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเป็นผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ อย่างเป็นรูปธรรมต่อไป

บรรณานุกรม

จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ วินเชยชมศรี และบุญเกื้อ วัชรเสถียร. 2549. การใช้เอสดีเอส-พอลิอะคริลาไมล์เจลอีเล็กโตรฟอเรซิสเพื่อศึกษาซีรัมโปรตีนจากจระเข้พันธุ์ไทย หนูวิสตาร์ และคน. *วารสารเทคนิคการแพทย์* 34(1). หน้า 1444-1455

ชยันต์ พิเชียรสุนทร และวิเชียร จีรวงส์. *คู่มือเภสัชกรรมแผนไทย เล่ม 3: เครื่องยาสัตววัตถุ*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อมรินทร์, 2546 : 150-167.

วิน เชยชมศรี จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ บุญเกื้อ วัชรเสถียร มณี ตันติรุ่งกิจ สุดาวรรณ เชยชมศรี ยศพงษ์ เต็มศิริพงศ์ และเริงฤทธิ์ สัปปพัน. 2546. ประสิทธิภาพของซีรัมจระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด*. 15 (ฉบับเพิ่มเติมที่ 1). S120.

สุวิทย์ รักมณี และ สมปอง ธรรมศิริรักษ์. 2550. การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราจากสารสกัดเม็ดเลือดขาวของจระเข้สายพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*). *รายงานการวิจัยโครงการอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรี ประจำปี 2549*. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ฝ่ายอุตสาหกรรม.

Betkot, Z. 2001. The nutritional value of cattle blood. *Medycyna WeterynaryJna* 57 (6) : 412-414.

Betkot, Z. and Petczyn'ska, E. 2002. Eating value of chicken blood. *Medycyna WeterynaryJna* 58 (3) : 208-210.

Binah, O., Ciechanover, A. and Maor, G. Anti-tumor activity from reptile serum. *United States Patent* 20040247589. December 2004.

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72 : 248-254.

Calder, P. C., Kew, S. 2002. The immune system: a target for functional foods?. *Br. J. Nutr.* 88 Suppl 2: S165-77.

Chaeychomsri,W., Siruntawineti, J., Vajarasathira, B., Komoljindakul, K., Ong-aat, T. and Temsiripong, Y. 2004a. Intestinal Parasites of Freshwater Crocodile, Crocodylus siamensis, in Thailand. In: *Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group*. 24–29 May, 2004. Darwin Australia.

Chaeychomsri, W., Siruntawineti, J., Pokharatsiri, A., Vajarasathira, B., Chitchuankij, N. and Temsiripong, Y. 2004b. Effects of Crocodile Blood Consumption on Biochemical Changes in Wistar Rats. In: *Proceeding of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand*. 19-21 October, 2004. Bangkok.

Chaeychomsri, W., Siruntawineti, J., Vajarasathira, B. and Temsiripong, Y. 2006. Safety Evaluation of Crocodile Blood Diet. In: *Proceeding of the 32nd Congress on Science and Technology of Thailand.* 10-12 October, 20063. Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

Flajnik, M. F. and L. Du Pasquier. 2004. Evolution of innate and adaptive immunity: can we draw a line. *Trends in Immunology*. 25 (12): 640-644.

Ganz, T. and Lehrer, R. 2001. Antimicrobial peptides in innate immunity. In: *Development of novel antimicrobial agents, emerging strategies.* Horizon Scientific Press : UK, pp. 138-147.

Garcia, J., Krause, A,. Schulz, S., Rodriguez-Jimenez, F., Kluver, E., Andermann, K., Forrsmann, U., Frimpong-Boateng, A., Bals, R. and Forssmann, W. 2001. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *FASEB. J.* 10 : 1819-1821.

Hartmann, R. and Meisel, H. 2007. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr Opin Biotech.* 18 : 163-169.

Hoffman, B. F. and Binah, O. Reptilian-derived peptides for the treatment of microbial infection. *United States Patent* 5380664/ *International patent* WO9917785. July 1999.

Ji, H., Reid, G. E., Moritz, R. L., Edds, J. S., Burgess, A. W. and Simpson, R. J. 1997. A two-dimensional gel database of human colon carcinoma proteins. *Electrophoresis* 18:605-613.

Kantor, A. B. 2002. Comprehensive phenotyping and biological marker discovery. *Dis. Marker*. 18: 91-97.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.

Lorin, C., Saidi, H., Belaid, A., Zairi, A., Baleux, F., Hocini, H., Belec, L., Hani, K. and Tangy, F. 2005. The antimicrobial peptide dermaseptin S4 inhibits HIV-1 infectivity in vitro. *Virology* 334 : 264-275.

Maggini, S., Wintergerst, E.S., Beveridge, S. and Hornig, D. H. 2007. Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses. *Br. J. Nutr.* 98 Suppl 1: S29-35.

Manso, M. A., Leonil, J., Jan, G. and Gagnaire, V. 2005. Application of proteomics to the characterisation of milk and diary products. *Int.Dair.* 15 : 845-855.

Merchant, M. E., Roche, C., Elsey, R. M. and Prudhomme, J. 2003. Antibacterial properties of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Comp. Biochem. Physio. B*. 136 : 505-513.

Merchant, M. E., Thibodeaux, D., Loubser, K. and Elsey, R. M. 2004. Amoebacidal effects of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *J. Parasit.* 90 : 1480-1483.

Merchant, M. E., Pallansch, M., Paulman, R. L., Wells, J. B., Nalca, A. and Ptak, R.. 2005a. Antiviral activity of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Antiv. Res.* 66 : 35-38.

Merchant, M. E., Roche, C., Thibodeaux, D. M. and Elsey, R. 2005b. Identification of alternative pathway serum complement activity in the blood of the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Comp. Biochem .Physio. B*. 141 : 281-288.

Merchant, M. E., Verret, B.and Elsey, R. M. 2005c. Role of divalent metal ions in serum complement activity of the the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Comp.Biochem. Physio. B*. 141 : 289-293.

Merchant, M. E., Leger, N., Jerkins, E., Mills, K., Pallansch, M. B., Paulman, R. L. and Ptak, R. 2006. Broad spectrum antimicrobial activity of leukocyte extracts from of the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Vet Immun. Immuno*. 110 : 221-228.

Perutz, M. F., Bauer, C., Gros, G., Leclercq, F., Vandecasserie, C., Schnek, A. G., Braunitzer, G., Friday, A. E. and Joysey, K. A. 1981. Allosteric Regulation of Crocodilian Haemoglobin. *Nature* 291, 682-684

Petczyn'ska, E. and Libelt, K. 1999. The biological value of slaughter-animals blood. *Medycyna WeterynaryJna* 55 (9) : 600-601.

Rumore, M. M. 1993. Vitamin A as an immunomodulating agent. *Clin Pharm.* 12 (7): 506-14.

Shaharbanay, M., Gollop, N., Ravin, S., Golomb, E., Demarco, L., Ferriera, P., Boson, W. and Friedman, E. 1999. Naturally occurring antibacterial activities of avian and crocodile tissues. *J. Antimicrob. Chemother.* 44 : 416-418.

Shamova, O., Brogden, K., Zhoa, C., Nguyen, T. and Kokryako, V. L. 1999. Purification and properties of praline-rich antimicrobial peptides from sheep and goat leukocyte. *Infect. Immun*. 67 : 4106-4111.

Simpson, R. J. *Proteins and Proteomics: A laboratory manual.Preparative two-dimension gel electrophoresis with immobilized pH gradients*. Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Habour : New York.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W, Vajarasathira, B., Tuntirungkij, M. and Temsiripong, Y. 2003. Complement Activity of Thai Freshwater Crocodile (Crocodylus siamensis) serum. In: *Proceeding of the 29th Congress on Science and Technology of Thailand*. 20-22 October, 2003. Khon Kaen.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W., Vajarasathira, B., Ong-aat, T. and Y. Temsiripong. 2004a. Efficacy of Siamese Crocodile (Crocodylus siamensis) Serum on Bacterial Growth Inhibition. In: *Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group*. 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W., Vajarasathira, B., Ritwichai, A., Ong-aat, T. and Temsiripong, Y. 2004b. Blood Parasites of Crocodylus siamensis in Thailand. In: *Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group*. 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W., Pokharatsiri, A., Vajarasathira, B., Chitchuankij, N. and Temsiripong, Y. 2004c. Crocodile Blood as Food Supplememt: Its Effects on

Hematological Values in Wistar Rats. In: *Proceeding of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand*. 19-21 October, 2004. Bangkok.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W., Vajarasathira, B. and Temsiripong, Y. 2005. Evidence for Primary Immune Response to Salmonella paratyphi A in Wistar Rats after Feeding by crocodile Blood. In: *Proceeding of the 31st Congress on Science and Technology of Thailand*. 18-20 October, 2005. Nakhon Ratchasima.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W., Vajarasathira, B. and Temsiripong, Y. 2006. Development and Evaluation of Dried Siamese Crocodile Blood Product. In: *Proceeding of the 32nd Congress on Science and Technology of Thailand*. 10-12 October 2006, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

Tirumalai, R. S., Chan, K. C., Prieto, D. A., Issaq H. J. and Corads, T. P. 2003. Characterization of the low molecular weight human serum proteome. *Mol. Cell. Proteomics* 2: 1096-1103.

Ward, J. B. and Anderson, R. E. 1996. Identification of needs in biomarker research. *Environ. Health Perspect*. 104 (Suppl 5): 895-900.

Wintergerst, E. S., Maggini, S. and Hornig, D. H. 2006. Immune-enhancing role of vitamin C and zinc and effect on clinical conditions. *Ann. Nutr. Metab.* 50 (2): 85-94.

Yeaman, M. and Yount, N. 2003. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol. Rev.* 55 : 27-55.

รายงานการวิจัย

ที่ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยแผนงานสนับสนุนการวิจัยรองรับการเปลี่ยนแปลงและพลวัตโลกเพื่อแก้ปัญหาสำคัญของชาติอย่างสมดุลและยั่งยืน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2551

โครงการย่อยที่ 2 การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจากจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต
Process Development for Crocodile Blood Collection with Crocodile Life Maintaining

หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ: นายวิน เชยชมศรี

ผู้ร่วมงานวิจัย: นางสาวจินดาวรรณ สิรันทวิแนติ
นางสาววิภาภรณ์ ณ ถลาง
นางบุญเกื้อ วัชรเสถียร

ที่ปรึกษาโครงการ: นายปานเทพ รัตนากร

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจากจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต

Process Development for Crocodile Blood Collection with Crocodile Life Maintaining

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปี 2551 จำนวนเงิน 399,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 3 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 ถึง กันยายน 2554 (ปีที่ 1)

ชื่อผู้วิจัย

นายวิน เชยชมศรี ปร. ด. (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร). ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3264

นางสาวจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ Ph.D.(Agricultural Science) ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3262

นางสาววิภาภรณ์ ณ ถลาง Dr. (Veterinary Medicine). ฝ่ายค้นคว้าและวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2942-8629-35

นางบุญเกื้อ วัชรเสถียร Ph. D. (Entomology). ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โทรศัพท์ 0-2562-5555, 0-2562- 5444 ต่อ 3234

บทคัดย่อ

เลือดจระเข้ เป็นสารจากธรรมชาติที่ถูกเพิ่มมูลค่าให้อยู่ในรูปแคปซูลเลือดจระเข้แห้ง เพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารบำรุงร่างกาย ในอนาคตหากมีการบริโภคที่มากขึ้น เลือดจระเข้อาจไม่เพียงพอ จึงได้ศึกษาการบริจาคเลือดจระเข้ โดยพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดโดยไม่ทำลายชีวิตจากจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง เจาะเก็บเลือดจระเข้จากแอ่งเลือดดำหลังกระโหลก ปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มทดลอง กลุ่มละ 3 ตัว ตามช่วงระยะเวลาในการเจาะแต่ละครั้ง คือ เจาะเก็บเลือดทุก 4, 8 และ 12 สัปดาห์ และจระเข้กลุ่มควบคุม 3 ตัว เจาะ 10 มิลลิลิตรต่อตัว ทุก 4 สัปดาห์ ประเมินผลโดยพิจารณาจากพฤติกรรมการกินอาหารการอยู่ร่วมกัน ผลการตรวจค่าทางโลหิตวิทยา ชีวเคมี และปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอล พบว่ากลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังนั้นในการบริจาคเลือดจระเข้ การเจาะเลือดแต่ละครั้งสามารถเจาะได้ไม่น้อยกว่า 100 มิลลิลิตร และมีช่วงห่างของระยะเวลาไม่น้อยกว่า 12 สัปดาห์ ซึ่งปริมาณการเจาะเลือดที่เหมาะสมในแต่ละครั้งควรมีการศึกษาต่อไป

Abstract

Crocodile blood is a natural material that has been added value in dried crocodile blood capsule form as food supplement. In the future, if this consumption is increasing, the crocodile bloods will not enough for supplying. Therefore, the donation of crocodile blood was studied by development of blood collection process on animal life maintains in captive Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*). By with collecting the anterior dorsal sinus blood in a 100 milliliters volume from 9 crocodiles, there were divided into 3 groups according to the duration time in each crocodile blood collection as following. The crocodiles that their bloods were collected every 4, 8 and 12 weeks. And the control group (n = 3) were taken 10 milliliters every 4 weeks. The results were evaluated by crocodile blood donor behaviors i.e. food feeding and social behaviors, determination of hematological and biochemical values, and the concentration of cortisol hormone. These data revealed no significant differences between control group and treated groups (p>0.05). Thus, for crocodile blood donation the blood collection might be taken at least 100 milliliters in volume and the duration time for each collection should not less than 12 weeks. However, the optimal blood volume has remained to be elucidated.

บทนำ

ปัจจุบันได้มีการคิดค้นวิธีการเจาะเก็บเลือดปริมาณมากจากจระเข้ (คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0601001179, 16 มิถุนายน 2549) ขณะที่จระเข้มีชีวิต ทำให้ได้วัตถุดิบเลือดจระเข้ที่สะอาด นำมาทำระเหิดแห้งภายใต้ความเย็นจัด (อนุสิทธิบัตรเลขที่ 5074, 4 กันยายน 2552) เพื่อพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับคน มีการทดสอบความปลอดภัยในสัตว์ทดลอง หลังจากที่ให้สัตว์ทดลองบริโภคแล้วพบว่ามีความปลอดภัยสูง รวมทั้งยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างในร่างกายสัตว์ทดลองที่กินเลือดจระเข้ด้วย (Chaeychomsri *et al*., 2004a, 2004b, 2006 ; Siruntawineti *et al*., 2004b) ซึ่งจระเข้ที่นำมาเจาะเก็บเลือดปริมาณมากจะต้องเสียชีวิตเพราะจะนำเข้าสู่กระบวนการชะแหละ นำเนื้อ และหนัง ส่งออกขายทั้งในและต่างประเทศ เมื่อมีการเผยแพร่ผลการวิจัยผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้แห้งที่ได้สู่ประชาชน โดยความอนุเคราะห์จากฝ่ายประชาสัมพันธ์ของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ไปยังสื่อสิ่งพิมพ์ สื่อวิทยุ และสื่อโทรทัศน์ ได้มีประชาชนจำนวนมากให้ความสนใจมาขอบริโภคผลิตภัณฑ์ดังกล่าว จากการสอบถามและเก็บข้อมูล ก่อนและหลังการบริโภคผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้แห้งจากผู้บริโภคที่มีปัญหาสุขภาพกลุ่มต่างๆ พบผลสัมฤทธิ์ที่ดีของเลือดจระเข้แห้งในกลุ่มผู้บริโภคที่เป็นโรคสำคัญหลายโรค ทั้งในกลุ่มโรคไม่ติดเชื้อ (เช่น โรคโลหิตจาง โรคภูมิแพ้ที่มีอาการหอบเหนื่อย โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง/ต่ำ) และกลุ่มโรคติดเชื้อ (เช่น โรคเอดส์) ซึ่งการประเมินนี้ได้พิจารณาร่วมกับผลข้อมูลทางการแพทย์ของผู้บริโภคซึ่งเป็นผู้ป่วยมีอยู่และอนุญาตให้รับทราบ จากการตรวจทางห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลเมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการบริโภคเลือดจระเข้แห้ง แต่มีผลสะท้อนกลับจากผู้บริโภคบางกลุ่มที่ไม่ต้องการให้จระเข้เสียชีวิตเพราะเป็นสัตว์ที่อายุยืน

ดังนั้นการศึกษาการพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจากจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต จึงเป็นสิ่งใหม่ที่ไม่เคยมีการศึกษาในจระเข้และเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะประเทศไทยที่ประชาชนส่วนมากนับถือศาสนาพุทธที่ไม่คิดที่จะเบียดเบียนชีวิตสัตว์ แต่มีปัญหาสุขภาพ ซึ่งการพัฒนานี้เป็นการนำวัสดุจากธรรมชาติโดยไม่มีการปรุงแต่งด้วยสารสกัดต่างๆ สารป้องกันโลหิตแข็งและเป็นการช่วยลดมลพิษจากการทิ้งเลือดลงสู่แหล่งน้ำ ในอุตสาหกรรมจระเข้ ซึ่งช่วยลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสีย เพิ่มมูลค่าเพิ่มให้แก่เลือดจระเข้ เกิดการค้าระหว่างประเทศนำรายได้เข้าสูประเทศได้

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

เลือดสัตว์ถูกใช้เป็นส่วนประกอบทางโภชนการและทางการเสริมสร้างความแข็งแรงให้ร่างกาย มาเป็นเวลานานหลายปี เลือดประกอบด้วยสองส่วนที่สำคัญคือ น้ำเลือด (plasma) และเซลล์เม็ดเลือดต่างๆ (blood cells) ซึ่งทั้งสองส่วนมีความแตกต่างกันด้วยคุณสมบัติทางชีวภาพ และองค์ประกอบทางเคมี การศึกษาในเลือดสุกรซึ่งถูกใช้มากที่สุดเป็นส่วนประกอบอาหารต่างๆ พบว่าในน้ำเลือดมีโปรตีนน้อยและมีน้ำมากกว่าในส่วนของเซลล์เม็ดเลือด แต่โปรตีนที่พบในน้ำเลือดส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย (Petczyn'ska and Libelt, 1999) ในเลือดของลูกวัวมีโปรตีนมากและน้ำน้อยกว่าในวัวที่โตเต็มที่ ในน้ำเลือดลูกวัวประกอบด้วยน้ำมากกว่าในวัวเต็มวัยแต่มีปริมาณโปรตีนที่ไม่แตกต่างกัน ในเม็ดเลือดแดงของลูกวัวมีโปรตีนน้อยและน้ำมากกว่า ถ้าไม่คำนึงถึงอายุในส่วนน้ำเลือดวัวมีโปรตีนน้อยกว่าเป็น 4 เท่า และมีน้ำมากกว่าประมาณ 1.5 เท่า เมื่อเทียบกับส่วนของเม็ดเลือดแดง โปรตีนที่พบในน้ำเลือดของทั้งสองประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของร่างกายสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำเลือดของลูกวัวและวัวจึงเป็นสารเสริมที่ดีของผลิตภัณฑ์เนื้อ (Betkot, 2001) ในเลือดของไก่มีโปรตีนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับในสุกร หรือลูกวัว แต่ไม่แตกต่างกับในวัว โดยในน้ำเลือดไก่มีโปรตีนน้อยและมีน้ำมากกว่าในสัตว์ดังกล่าว ในส่วนของเม็ดเลือดแดงของไก่และสุกรมีโปรตีนไม่แตกต่างกัน โดยมีโปรตีนและเถ้ามากกว่า น้ำน้อยกว่าในลูกวัวและวัวเต็มวัย ปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในน้ำเลือดไก่ใกล้เคียงกับในวัว แต่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับในสุกร ในเม็ดเลือดแดงของไก่มีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นสูงที่สุด คุณค่าทางโภชนาการของน้ำเลือดไก่มีค่าสูงใกล้เคียงกับในวัวและมีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับในสุกร (Betkot & Petczynska Libelt, 2002)

การศึกษาน้ำเลือด (ซีรัม) ของอัลลิเกเตอร์ (*Alligator mississipiensis*) ซึ่งเป็นจระเข้ที่พบได้ในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่ามีสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 16 ชนิด ได้แก่ *Klebsiella oxytoca* (49131), *Providencia stuartii* (33672), *Escherichia coliform* (25922), *Proteus mirabilis* (43607), *Enterobacter aerogenes* (49469), *Salmonella typhimurium* (14028), *Pseudomonas aeruginosa* (27853), *Citrobacter freundii* (C109820), *Shigella sonnei* (25931), *Shigella dysenterae* (13313), *Salmonella poona* (4840), *Yersenia enterocolitica* (9610), *Staphylococcus pyrogenes* (19615), *Streptococcus epidermitis* (19615), *Staphylococcus aureus* (6538) และ *Enterococcus faecalis* (29212) แต่เมื่อนำน้ำเลือดของอัลลิเกเตอร์มาบ่มที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่าน้ำเลือดไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ และจากการที่สารโปรตีนบางชนิดที่มีชื่อว่า คอมพลีเมนต์ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาตั้งแต่

เกิด สามารถถูกทำลายที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เมื่อใช้เวลานาน 30 นาที และจากผลการทดสอบทางภูมิคุ้มกันโดยใช้แอนติบอดีต่อคอมพลีเมนต์ของคน จึงสรุปผลได้ว่าคอมพลีเมนต์ในน้ำเลือดของอัลลิเกเตอร์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ และพบว่าน้ำเลือดของอัลลิเกเตอร์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าน้ำเลือดของมนุษย์ โดยที่น้ำเลือดของอัลลิเกเตอร์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 100% ในขณะที่น้ำเลือดของมนุษย์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้เพียง 35% (Merchant *et al*., 2003)

เนื้อเยื่อต่างๆ ของจระเข้หลายๆ ชนิดพันธุ์มีการแสดงประสิทธิภาพและขอบเขตที่กว้างของการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพ ตัวอย่างเช่น ในปี ค. ศ. 1999 Shaharbanay และคณะ ได้รายงานผลการศึกษาสารสกัดจากเนื้อเยื่อของจระเข้แม่น้ำไนล์ (Nile crocodile, *Crocodylus niloticus*) มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย ชนิดต่างๆ จากรายงานการศึกษาจำนวนมากทางห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นว่า ซีรัมของอัลลิเกเตอร์ (*Alligator mississippiensis*) ซึ่งเป็นจระเข้ที่มีถิ่นกำเนิดและพบมากในประเทศอเมริกา แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Merchant *et al*., 2003, 2005b) ฤทธิ์ต้านโพรโทซัว (Merchant *et al*., 2004) และฤทธิ์ต้านไวรัส (Merchant *et al*., 2005a) เช่นเดียวกับที่มีรายงานฤทธิ์ต้านจุลชีพในซีรัมของจระเข้พันธุ์ไทย (*C. siamensis*) (Siruntawineti *et al*., 2004) และไคแมน (*Caiman latirostris*) ซึ่งเป็นจระเข้ที่มีถิ่นกำเนิดและพบมากในประเทศแถบแอฟริกา (Merchant *et al*., 2006)

ซีรัมของอัลลิเกเตอร์มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Escherichia coli* ซึ่งสามารถลดอัตรการรอดชีวิตของแบคทีเรียนี้ได้เป็น 10 เท่า และมีขอบเขตของการออกฤทธิ์ที่มากกว่าในแบคทีเรียเมื่อเทียบกับซีรัมของคน ฤทธิ์เหล่านี้จะลดลงเมื่อมีการบ่มซีรัมด้วยเอนไซม์โปรติเอส (protease) ก่อนการทดสอบ แสดงให้เห็นว่าลักษณะการทำงานของสารจำพวกโปรตีน และเมื่อทำการบ่มซีรัมที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่ใช้ในการทำลายฤทธิ์การทำงานของโปรตีนที่สำคัญในระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิดคือ คอมพลีเมนต์ ก็สามารถทำลายฤทธิ์ต้านแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดสอบได้เช่นกัน ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของซีรัมอัลลิเกเตอร์เกิดขึ้นได้รวดเร็วในหลอดทดลอง ภายในเวลา 5 นาที และมีฤทธิ์สูงสุดที่เวลา 20 นาที และมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิ ซึ่งการแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียมีน้อยลงเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส และได้ให้สมมุติฐานว่าคุณสมบัติของการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของซีรัมอัลลิเกเตอร์น่าจะเกิดจากการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ (Merchant *et al*., 2003) ซึ่งรายงานนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยในซีรัมของจระเข้พันธุ์ไทย (วิน และคณะ, 2546 ; Siruntawineti *et al*., 2003, 2004)

ต่อมาได้มีการศึกษาฤทธิ์ต้านโพรโทซัว *Naegleria gruberi* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง พบฤทธิ์ต้านโพรโทซัวของ 25% ซีรัมอัลลิเกเตอร์ และถ้าใช้ซีรัมที่ไม่ได้เจือจาง โพรโทซัวสามารถรอดชีวิต

ได้เพียง 16% ซึ่งถ้าโพรโทซัวมีความหนาแน่นสูงก็จะมีอัตราการรอดที่สูง ฤทธิ์ต้านโพรโทซัวมีขอบเขตของการออกฤทธิ์ที่กว้างโดยสามารถออกฤทธิ์ต่อ *Naegleria* 3 สายพันธุ์ และ *Acanthamoeba* 4 สายพันธุ์ ซึ่งโพรโทซัวเหล่านี้มีรายงานว่าสามารถทนต่อการทำลายของคอมพลีเมนต์ของคน ฤทธิ์ต้านโพรโทซัวนี้เกิดขึ้นได้ดีที่อุณหภูมิ 15 - 30 องศาเซลเซียส สามารถถูกทำลายการออกฤทธิ์ด้วยความร้อนและมีคุณสมบัติเป็นสารโปรตีน ถูกยับยั้งการทำงานด้วยกรดอีทีลีนไดเอมีนทีทราอซิติก (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) ซึ่งทำให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ต้องการอิออนโลหะไดวาเลนต์ในการเกิดปฏิกิริยา และมีสมมุติฐานว่าคุณสมบัติของการออกฤทธิ์ต้านโพรโทซัวของซีรัมอัลลิเกเตอร์น่าจะเกิดจากการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์เช่นกัน (Merchant *et al*., 2004)

นอกจากนี้ยังพบการออกฤทธิ์ต้านไวรัสในซีรัมอัลลิเกเตอร์ โดยการทดสอบในระดับเซลล์ของไวรัส 3 ชนิดที่มีส่วนห่อหุ้ม (enveloped virus) ได้แก่ Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-I), West Nile virus (WNV) และ Herpes simplex virus type I (HSV-I) โดยมีค่าความเข้มข้นในการยับยั้งไวรัสได้ 50% (IC50) ที่ความเข้มข้นของซีรัมเป็น 0.9%, 4.3% และ 3.4% ตามลำดับ ความเข้มข้นของซีรัมในการทำลายไวรัสลง 50% (TC50) ต่อไวรัส HIV-I, WNV และ HSV-I เป็น 32.8%, 36.3% และ 39.1% ตามลำดับ การออกฤทธิ์ต้านไวรัส HIV-I ไวต่อการถูกทำลายด้วยความร้อน ซึ่งอาจเกิดจากการทำงานของคอมพลีเมนต์ ในขณะที่การออกฤทธิ์ต้านไวรัส WNV และ HSV-I ทนต่อการถูกทำลายด้วยความร้อนแสดงให้เห็นถึงกลไกในการออกฤทธิ์ต้านไวรัสแบบอื่นๆ ในซีรัมของอัลลิเกเตอร์ (Merchant *et al*., 2005a) ผลการวิจัยดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่าอัลลิเกเตอร์ ซึ่งเป็นสัตว์ดึกดำบรรพ์พวกเดียวกับจระเข้มีภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติที่มีมาแต่กำเนิดที่มีศักยภาพสูงในการทำลายไวรัสต่างๆ การออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ปรสิต รวมถึงไวรัส HIV-I ของอัลลิเกเตอร์มาจากการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ในซีรัมที่มีวิวัฒนาการมาอย่างยาวนาน

การศึกษาขั้นลึกในส่วนที่เกี่ยวข้องกับคอมพลีเมนต์ของซีรัมอัลลิเกเตอร์พบว่าการทำงานหลักน่าจะเกิดจาก alternate pathway และเมื่อทดสอบซีรัมอัลลิเกเตอร์ด้วยแอนติบอดีต่อ C3 ของคนพบการแสดงความเป็นแอนติเจนของโปรตีนที่คล้ายกับ C3 ของคน และเมื่อทดสอบด้วยวิธี SDS-PAGE และWestern blot analysis พบว่าซีรัมโปรตีนของอัลลิเกเตอร์มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับ C3 ชนิดอัลฟาและบีต้าของคน ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงของแกะแตกได้ในเวลาที่รวดเร็ว และมีเกิดขึ้นได้ดีที่อุณหภูมิ 15 - 30 องศาเซลเซียส ผลของการวิจัยนี้สนับสนุนสมมุติฐานการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของซีรัมอัลลิเกเตอร์เกี่ยวข้องกับการทำงานของการตอบสนองทางภูมคุ้มกันที่อาศัยสารน้ำ (humoral immune response) คล้ายกับที่เกิดขึ้นในระบบภูมิคุ้มกับของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Merchant *et al*., 2005b) ซึ่งต้องการอิออนโลหะไดวาเลนต์คือ Ca2+ และ/

หรือMg2+ ในทำปฏิกริยาให้เกิดการแตกของเซลล์เม็ดเลือดแดงแกะ (Merchant *et al*., 2005c) จระเข้น้ำจืดออสเตรเลีย (*C. johnstoni*) และจระเข้น้ำเค็ม (*C. porosus*) มีการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์แบบ alternate pathway เช่นเดียวกับในอัลลิเกเตอร์

เพปไทด์ต้านจุลชีพ (antimicrobial peptides) ถูกสกัดจากเม็ดเลือดขาวของสิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอตต่างๆ (Yeaman and Yount, 2003) โดยทั่วไปธรรมชาติของเพปไทด์ต้านจุลชีพมีความเป็นประจุบวกเพื่อที่จะสามารถเกิดอันตรกิริยากับฟอสฟอลิปิดที่มีประจุลบได้ เพปไทด์นี้อาจมีลักษณะเป็น amphipathic ทำให้มันสามารถเกิดอันตรกิริยากับส่วนใน (interior hydrophobic portions) ของเยื่อหุ้มเซลล์ ก่อตัวเป็นรูต่างๆ ที่เยื่อได้ การแสดงออกของเพปไทด์เหล่านี้เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อที่มีอันตรกิริยากับสิ่งแวดล้อม เช่น ปาก เยื่อบุลำไส้ ท่อทางเดินของอวัยวะสืบพันธุ์ และในเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดขาวสามารถสร้างสารต่อต้านจุลชีพได้หลายชนิดที่มีขอบเขตศักยภาพในการต่อต้านที่สูง ได้แก่ nitrous oxide, hydrogen peroxide และ cationic antimicrobial peptides (Ganz and Lehrer, 2001) คุณสมบัติในการต้านจุลชีพของเม็ดเลือดขาวมีบทบาทที่สำคัญสำหรับภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิดต่อการติดเชื้อที่เกิดภายนอกระบบไหลเวียนเลือด เม็ดเลือดขาวต่างๆ จะเคลื่อนย้ายตัวเองไปยังบริเวณที่มีการติดเชื้อ เกิดการแตกของแกรนูลเพื่อปล่อยสารต่อต้านจุลชีพที่ได้กล่าวข้างต้น ไปยังที่ที่มีการรุกรานจากเชื้อโรคในลักษณะแบบไม่จำเพาะ มีรายงานการพบเพปไทด์ที่มีศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพในผิวหนังกบ (Lorin *et al*., 2005) เม็ดเลือดขาวของคน (Garcia *et al*., 2001) และ เม็ดเลือดขาวของแพะ/แกะ (Shamova *et al*., 1999)

เมื่อปี ค. ศ. 2006 Merchant และคณะ (Merchant *et al*., 2006) ได้รายงานการวิจัยว่าสารสกัดจากเม็ดเลือดขาวของอัลลิเกเตอร์ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส ซึ่งฤทธิ์ต้านจุลชีพต่างๆ เหล่านี้เกิดจากเพปไทด์ต้านจุลชีพที่มีความเป็นประจุบวก (cationic antimicrobial peptides) การศึกษานี้แยกเม็ดเลือดขาวออกจากเลือดครบของอัลลิเกเตอร์ป่า สกัดเม็ดเลือดขาวด้วยสารที่กรดความเข้มข้นต่างๆ ผ่านขั้นตอนการปั่นเหวี่ยงและกรองที่มีความละเอียดสูงมาก จนได้สารที่มีขนาดโมเลกุลอยู่ในช่วง 1-10 kDa ฤทธิ์ต้านจุลชีพเหล่านี้มีคุณสมบัติไวต่อโปรติเอส ทนต่อความร้อนและละลายได้ในสารละลายกรด สาร EDTA ความเข้มข้นสูงไม่มีผลการเกิดปฏิกิริยา การแสดงออกของเพปไทด์ต่างๆ ที่ได้จากเม็ดเลือดขาวของอัลลิเกเตอร์นี้มีความสำคัญต่อการนำไปใช้เป็นสารต้านจุลชีพเพื่อใช้ทางคลินิกต่อไป สำหรับจระเข้พันธุ์ไทยได้มีรายงานการศึกษา (สุวิทย์ และสมปอง, 2550) ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราจากสารสกัดเม็ดเลือดขาว โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 7 ชนิด และเชื้อรา 1 ชนิด คือ *Candida albican* เมื่อแยกบริสุทธิ์สารสกัดด้วยเทคนิค FPLC โดย Anion exchange column chromatography และนำไปแยกบริสุทธิ์ต่อด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งสารสกัดเม็ดเลือดขาวของจระเข้

พันธุ์ไทยน่าจะมีโปรตีนหรือเปปไทด์ที่มีคุณสมบัติในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและเชื้อราได้อย่างจำเพาะ

จากการสืบค้นข้อมูลสิทธิบัตรพบสิทธิบัตรเรื่องการใช้เพปไทด์จากสัตว์เลื้อยคลานเพื่อการรักษาโรคติดเชื้อ (Hoffman and Binah: United States Patent 5380664/ International Patent WO9917785, 1999) ซึ่งเป็นการใช้ประโยชน์จากส่วนของฮีโมโกลบินจากเม็ดเลือดแดงของสัตว์เลื้อยคลาน โดยเฉพาะในอัลลิเกเตอร์ ฮีโมโกลบิน ประกอบด้วย 4 สายของพอลิเพปไทด์ และ 4 heme prosthetic group ซึ่งมีธาตุเหล็กในสถานะ ferrous เป็นองค์ประกอบอยู่ภายใน โปรตีนกลอบิน (globin) 2 สาย ฮีโมโกลบินของสัตว์เลื้อยคลานพวกเต่า (Chelonia) จระเข้ (Crocodilia) และงู (Squamata) มีโครงสร้างที่จำเพาะ ฮีโมโกลบินของจระเข้และอัลลิเกเตอร์มีความพิเศษในการไม่ตอบสนองต่อสารอินทรีย์ฟอสเฟต แต่มีการควบคุมการทำงานหลักโดยไบคาร์บอเนตอิออน (bicarbonate ion) ซึ่งสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการจับกับออกซิเจนลดลง สิทธิบัตรนี้เกี่ยวข้องกับวิธีฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อราด้วยฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ได้จาก reptilian hemoglobin protein, ชิ้นส่วนของฮีโมโกลบินโปรตีนหรือเพปไทด์ สายของฮีโมโกลบินที่ปราศจากฮีม (heme free hemoglobin chains) หรือชิ้นส่วนของโปรตีนหรือเพปไทด์ผสมของสารดังกล่าว

สิทธิบัตรฤทธิ์ต้านเนื้องอกจากซีรัมของสัตว์เลื้อยคลาน (Binah *et a*l.: United States Patent 20040247589, 2004) เป็นการใช้ประโยชน์จากฤทธิ์ต้านเนื้องอกในซีรัมของสัตว์เลื้อยคลาน โดยเฉพาะในอัลลิเกเตอร์หรือจระเข้ องค์ประกอบหลักที่ออกฤทธิ์ในโปรตีนหรือเพปไทด์ของซีรัมที่สามารถยับยั้งการเติบโตของเซลล์เนื้องอกจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมที่ได้จากการเพาะเลี้ยง โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์ที่ปกติที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ส่วนแยกที่มีฤทธิ์จากซีรัมไม่แสดงความเป็นพิษในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมที่สุขภาพดี สารออกฤทธิ์ต้านเนื้องอกนี้ อาจใช้ในการป้องกัน การเฝ้าสังเกต และการบำบัดรักษาเนื้องอกหรือมะเร็ง

นักวิจัยจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ได้คิดค้น ประดิษฐ์ และพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้ปริมาณมาก (คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0601001179, 16 มิถุนายน 2549 ; อนุสิทธิบัตรเลขที่ 5074, 4 กันยายน 2552 ; คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0801000372, 25 มกราคม 2551) ทำให้ได้วัตถุดิบเลือดจระเข้ที่สะอาดปลอดภัย สามารถขยายผลเชิงพาณิชย์ได้ และได้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบในรูปของแคปซูลเลือดจระเข้แห้ง เพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร บำรุงร่างกาย การเจาะเลือดเพื่อให้ได้วัตถุดิบดังกล่าวกระทำในจระเข้ก่อนการชำแหละ การเจาะเลือดปริมาณโดยจระเข้ไม่ตายยังไม่มีรายงานมาก่อน การเอาเลือดมาจากสัตว์โดยไม่ตาย มักพบในการบริจาคเลือดของสุนัข (DeLuca *et al*., 2006) แมว (Iazbik *et al*., 2007) ม้า (Malikides *et al*., 2001)

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

1. <u>พัฒนาวิธีการเจาะเก็บเลือดจระเข้ปริมาณมากโดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้ ที่สะอาดและปราศจากการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรีย</u>

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง ใช้จระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ที่มีอายุมากกว่า 4-5 ปี ขนาดความยาวเฉลี่ย มากกว่า 180 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยมากกว่า 25 กิโลกรัม จำนวน 9 ตัว ที่เพาะเลี้ยงในฟาร์มรุ่งทวีชัย จ. นครปฐม ทำการติดหมายเลขให้กับจระเข้ ทำการติดหมายเลขให้กับจระเข้ แบ่งจระเข้ออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1 กลุ่มทดลองที่ 1 จาะเก็บเลือดโดยใช้กระบอกเจาะเก็บเลือด ขนาด 20 มิลลิลิตร

2 กลุ่มทดลองที่ 2 เจาะเก็บเลือดโดยใช้กระบอกเจาะเก็บเลือด ขนาด 20 มิลลิลิตร ต่อกับท่อสามทาง เพื่อนำเลือดเข้าสู่ขวดเก็บเลือด เก็บข้อมูลระยะเวลาในการเจาะเก็บเลือด ความสะดวกในการเจาะเก็บเลือด ความสิ้นเปลือง

3 กลุ่มทดลองที่ 3 เจาะเก็บเลือดโดยใช้หัวเข็มประดิษฐ์ ด้านหนึ่งต่อกับเข็มเจาะเลือด เบอร์ 16 อีกด้านหนึ่งต่อกับท่อยางซิลิโคน และใช้เครื่องปั้มแบบบีบรัด ปั้มเลือดเข้าขวดเก็บเลือดขนาด 4 ลิตร (คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0601001179, 16 มิถุนายน 2549) เก็บข้อมูลระยะเวลาในการเจาะเก็บเลือด ความสะดวกในการเจาะเก็บเลือด ความสิ้นเปลือง

4. รวบรวมข้อมูลและประเมินผลการเจาะเก็บเลือดปริมาณมาก

2. <u>ศึกษาระยะเวลาและปริมาณเลือดจระเข้ที่เหมาะสม ที่สามารถเก็บได้จากจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้</u>

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

จระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย ที่มีอายุมากกว่า 4- 5 ปี ขนาดความยาวเฉลี่ย มากกว่า 180 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยมากกว่า 25 กิโลกรัม จำนวน 12 ตัว ที่เพาะเลี้ยงในฟาร์มรุ่งทวีชัย จ.นคาปฐม ทำการติดหมายเลขให้กับจระเข้ จัดกลุ่มจระเข้ออกเป็น 4 กลุ่ม คือ

1 **กลุ่มควบคุม** เจาะเก็บเลือด 10 มิลลิลิตร ทุก 4 สัปดาห์ โดยใช้กระบอกเจาะเก็บเลือด ขนาด 20 มิลลิลิตร

2 **กลุ่มทดลอง 1** ดูดเลือดปริมาณ 100 มิลลิลิตร ทุก 4 สัปดาห์ (ประเมินสุขภาพและพฤติกรรมก่อน) โดยใช้ หัวเข็มประดิษฐ์ ด้านหนึ่งต่อกับเข็มเจาะเลือด เบอร์ 16 อีกด้านหนึ่งต่อกับท่อยางซิลิโคน และใช้เครื่องปั้มแบบบีบรัด ปั้มเลือดเข้าขวดเก็บเลือดขนาด 4 ลิตร (คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0601001179, 16 มิถุนายน 2549)

3 **กลุ่มทดลอง 2** ดูดเลือดปริมาณ 100 มิลลิลิตร ทุก 8 สัปดาห์ (ประเมินสุขภาพและพฤติกรรมก่อน) โดยใช้ หัวเข็มประดิษฐ์ ด้านหนึ่งต่อกับเข็มเจาะเลือด เบอร์ 16 อีกด้านหนึ่งต่อกับท่อยางซิลิโคน และใช้เครื่องปั้มแบบบีบรัด ปั้มเลือดเข้าขวดเก็บเลือดขนาด 4 ลิตร (คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0601001179, 16 มิถุนายน 2549)

4 **กลุ่มทดลอง 3** ดูดเลือดปริมาณ 100 มิลลิลิตร ทุก 12 สัปดาห์ (ประเมินสุขภาพและพฤติกรรมก่อน) โดยใช้ หัวเข็มประดิษฐ์ ด้านหนึ่งต่อกับเข็มเจาะเลือด เบอร์ 16 อีกด้านหนึ่งต่อกับท่อยางซิลิโคน และใช้เครื่องปั้มแบบบีบรัด ปั้มเลือดเข้าขวดเก็บเลือดขนาด 4 ลิตร (คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0601001179, 16 มิถุนายน 2549)

2 วิธีการเจาะเก็บเลือด เพื่อศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือด

1. ใช้สำลีชุบ 70% แอลกอฮอล์ เช็ดบริเวณแอ่งเลือดดำหลังกระโหลก (anterior dorsal sinus)

2. ใช้เข็มเจาะเลือดบริเวณแอ่งเลือดดำหลังกระโหลก โดยนำเลือดที่ได้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1 นำเลือดปริมาตร 2 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดเก็บเลือดที่บรรจุสาร EDTA เขย่าหลอดเก็บเลือดให้เข้ากันดี เพื่อศึกษาค่าทางโลหิตวิทยา

ส่วนที่ 2 นำเลือดปริมาณ 8 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดเก็บเลือดที่บรรจุสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าชีวเคมีในเลือด และฮอร์โมน

3. เจาะเก็บเลือดปริมาณมากที่เหมาะสม ที่สามารถเจาะเก็บได้จากจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้ (คำขอสิทธิบัตรเลขที่ 0601001179, 16 มิถุนายน 2549)

1. ใช้สำลีชุบ 70% แอลกอฮอล์ เช็ดบริเวณแอ่งเลือดดำหลังกระโหลก (anterior dorsal sinus)

2. ใช้หัวเข็มประดิษฐ์ ด้านหนึ่งต่อกับเข็มเจาะเลือด เบอร์ 16 อีกด้านหนึ่งต่อกับท่อยางซิลิโคน และใช้เครื่องปั้มแบบบีบรัด ปั้มเลือดเข้าขวดเก็บเลือดขนาด 4 ลิตรที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ เจาะเลือดบริเวณแอ่งเลือดดำหลังกระโหลก โดยนำเลือดที่ได้มาเข้าสู่กรรมวิธีการผลิตเลือดจระเข้แห้ง (อนุสิทธิบัตรเลขที่ 5074)

3. ตรวจสอบคุณภาพของเลือดจระเข้แห้ง โดยตรวจการปนเปื้อนสารปรอท (Lead : Pb) สารหนู (Arsenic : As) ปริมาณเชื้อ *Escherichia col,i Staphylooccus aureus, Clostridium* spp. และ *Salmonella* sp.

4. รวบรวมข้อมูลและประเมินผลระยะเวลาและปริมาณเลือดจระเข้ที่เหมาะสม

3. ประเมินผลสุขภาพและพฤติกรรมจระเข้ก่อนและหลังการเจาะเก็บเลือด

3.1 การวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ วัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในบ่อเลี้ยง ตลอดการวิจัยครั้งนี้

3.2 การสังเกตพฤติกรรม หลังจากการเจาะเลือดทำการสังเกตพฤติกรรมการกินอาหาร และพฤติกรรมการเคลื่อนที่ ว่ามีความผิดปกติหรือไม่ ทำการบันทึกพฤติกรรมลงในใบบันทึกพฤติกรรม

3.3 การศึกษาค่าทางโลหิตวิทยา

1. ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน โดยวิธี Cyamethemoglobin

2. ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Packed Cell Volume or Hematocrit) โดยวิธี microhematocrit centrifugation

3. การนับจำนวนเม็ดเลือด ได้แก่ การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว และทรอมโบไซท์ โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer)

4. การนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวโดยวิธีการเสมียร์เลือด (Blood Smear)

3.4 การศึกษาค่าชีวเคมีในเลือดจระเข้

1. ศึกษาการทำงานของไตโดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Hitashi 912, Japan) ณ สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล อ.ศาลายา จ.นครปฐม

2. ศึกษาการทำงานของตับโดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Hitashi 912, Japan) ณ สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล อ.ศาลายา จ.นครปฐม

3. ศึกษาสภาวะน้ำตาลในเลือดโดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Hitashi 912, Japan) ณ สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล อ.ศาลายา จ.นครปฐม

4. ศึกษาระดับของปัจจัยการเจริญเติบโตคล้ายอินซูลินในเลือด โดยใช้ชุดทดสอบ IGF1 (Immunlite/Immulite-1000 IGF-1 LA. USA.)

5. การวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลโดยใช้วิธี Radioimmuno-assays (RIA)

4. พัฒนาแนวทางในการผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ

1. ประเมินผล การพัฒนาวิธีการเจาะเก็บเลือดจระเข้ปริมาณมากโดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้ เพื่อใช้ในการเจาะเก็บเลือดอปริมาณมากในศึกษาวิจัย

2. ประเมินผล ศึกษาระยะเวลาและปริมาณเลือดจระเข้ที่เหมาะสม ที่สามารถเก็บได้จากจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้

3. ประเมินผล สุขภาพและพฤติกรรมจระเข้ก่อนและหลังการเจาะเก็บเลือด

4. ร่างกรอบวิธีการผลิตเลือดจระเข้ระเหิดแห้ง จากจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้ เพื่อเป็นนวตกรรมใหม่ สำหรับอุตสาหกรรมจระเข้

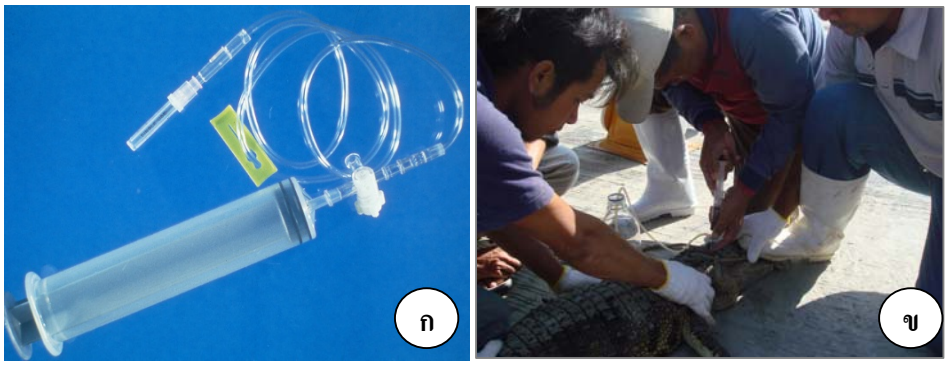
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. <u>การพัฒนาวิธีการเจาะเก็บเลือดจระเข้ปริมาณมากโดยไม่ทำลายชีวิต</u>

1.1 กลุ่มทดลองที่ 1 เจาะเก็บเลือดโดยใช้กระบอกเจาะเก็บเลือด ขนาด 20 มิลลิลิตร สามารถเจาะเลือดได้ปริมาณตามขนาดของกระบอกเก็บ ใช้เวลาประมาณ 15 วินาที โดยจระเข้มีชีวิตและมีพฤติกรรมปกติ

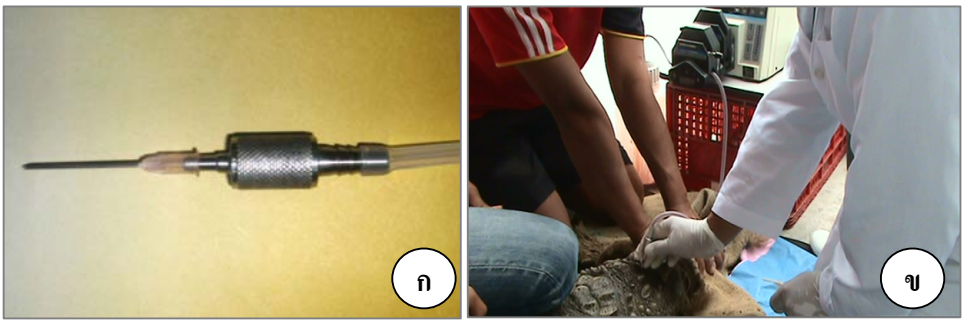
ภาพที่ 1 การเจาะเลือดจระเข้โดยใช้กระบอกเจาะเก็บเลือด

1.2 กลุ่มทดลองที่ 2 เจาะเก็บเลือดโดยใช้กระบอกเจาะเก็บเลือด ขนาด 20 มิลลิลิตร ต่อกับท่อสามทาง เพื่อนำเลือดเข้าสู่ขวดเก็บเลือด จำนวน 100 มิลลิลิตร ใช้เวลาประมาณ 2 นาที 30 วินาที ต่อครั้ง



ภาพที่ 2 การเจาะเลือดจระเข้โดยใช้กระบอกเจาะเก็บเลือดต่อเชื่อมกับข้อต่อ 3 ทาง

1.3 กลุ่มทดลองที่ 3 เจาะเก็บเลือดโดยใช้หัวเข็มประดิษฐ์ ด้านหนึ่งต่อกับเข็มเจาะเลือด เบอร์ 16 อีกด้านหนึ่งต่อกับท่อยางซิลิโคน และใช้เครื่องปั้มแบบบีบรัด ปั้มเลือดเข้าขวดเก็บเลือด จำนวน 100 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการเจาะประมาณ 30 วินาที

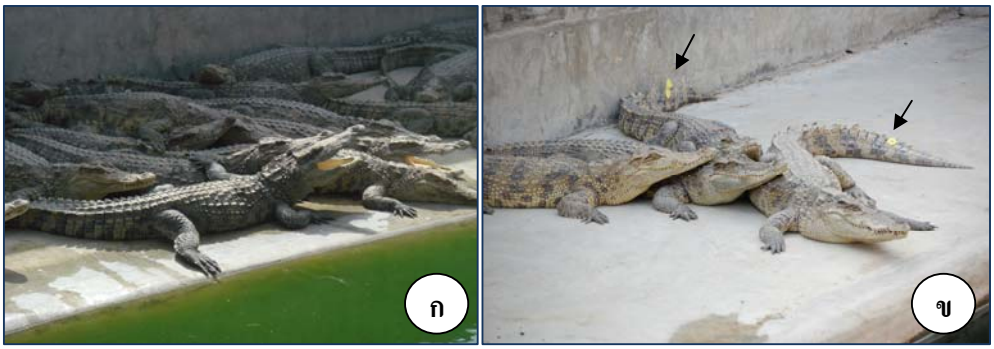


ภาพที่ 3 การเจาะเลือดจระเข้โดยใช้ หัวเข็มประดิษฐ์ ด้านหนึ่งต่อกับเข็มเจาะเลือด เบอร์ 16 อีกด้านหนึ่งต่อกับท่อยางซิลิโคน และใช้เครื่องปั้มแบบบีบรัด ปั้มเลือดเข้าขวดเก็บเลือด จำนวน 100 มิลลิลิตร

2. <u>ศึกษาปริมาณเลือดจระเข้และระยะเวลาที่เหมาะสม ที่สามารถเจาะเก็บได้จากจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้</u>

2.1 เตรียมตัวอย่างจระเข้ที่ใช้ในการทดลอง

จระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย ที่มีอายุ 4-5 ปี จำนวน 12 ตัว ขนาดความยาวเฉลี่ย 177.24 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 21.28 กิโลกรัม เมื่อเริ่มการทดลอง แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง โดยกลุ่มที่ 1 และ 2 เลี้ยงในบ่อเดียวกัน และ กลุ่ม 3 และ 4 เลี้ยงในบ่อเดียวกัน และเมื่อครบระยะ 12 สัปดาห์ของการทดลอง มีความยาวเฉลี่ย 176.92 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 21.39 กิโลกรัม รายละเอียดดังตารางที่ 1 และ 2



ภาพที่ 4 ก. จระเข้น้ำจืดพันธ์ไทยอายุ 4-5 ปี ที่มีสุขภาพดี ที่นำมาคัดเพื่อจำแนกเข้ากลุ่มทดลอง ข. จระเข้ที่ได้เลือกเข้ากลุ่มทดลองและทำเครื่องหมายติดหางจระเข้ (ลูกศร)

ตารางที่ 1 ความยาวเฉลี่ย (mean ± SE กิโลกรัม) ของจระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย

กลุ่มที่	สัปดาห์ที่	
(N=3)	1	12
1	183.0±1.15 $^{a, A}$	183.33±1.76 $^{a, A}$
2	175.67±3.18 $^{a, AB}$	176.50±3.50 $^{a, A}$
3	180.67±4.33 $^{a, A}$	178.33±4.18 $^{a, A}$
4	170.33±0.31 $^{a, B}$	169.50±0.50 $^{a, A}$
เฉลี่ย	177.24	176.92

หมายเหตุ

อักษรพิมพ์เล็กต่างกันในแถวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

อักษรพิมพ์ใหญ่ต่างกันในแถวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE กิโลกรัม) ของจระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย

กลุ่มที่	สัปดาห์ที่	
(N=3)	1	12
1	22.87±1.44$^{a, A}$	24.17±0.41$^{a, A}$
2	19.87±1.27$^{a, A}$	20.50±0.90$^{a, A}$
3	23.33±2.03$^{a, A}$	22.40±2.31$^{a, A}$
4	19.07±0.55$^{a, A}$	18.50±0.50$^{a, A}$
เฉลี่ย	21.28	21.39

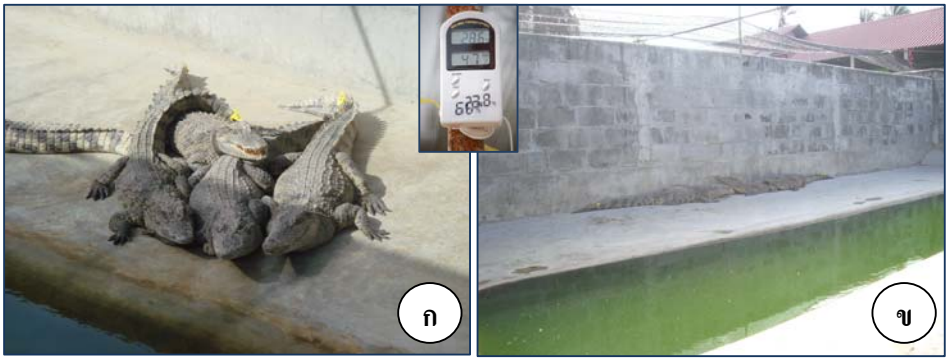
หมายเหตุ

อักษรพิมพ์เล็กต่างกันในแถวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

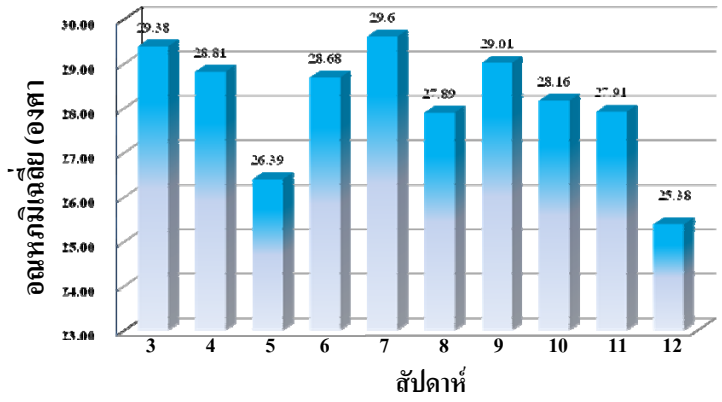
อักษรพิมพ์ใหญ่ต่างกันในแถวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

2.2. การวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์

อุณหภูมิภายในบ่อเลี้ยง สัปดาห์ที่ 3 ถึง 12 ของการทดลอง พบว่ามีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 28.12 องศาเซลเซียส

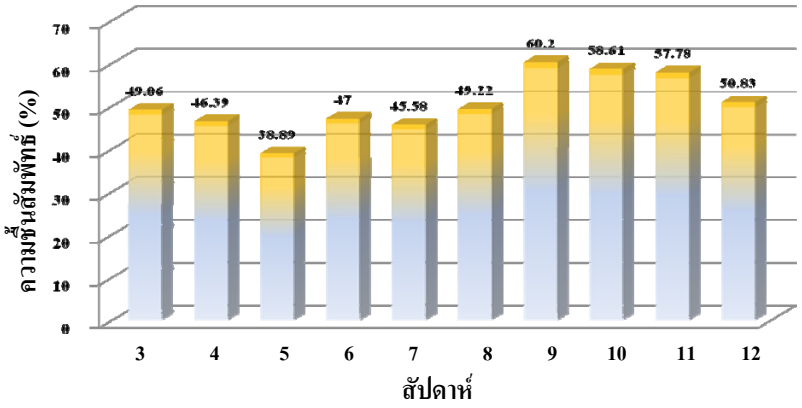


ภาพที่ 5 เครื่องวัดอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ในบ่อทดลอง



ภาพที่ 6 แผนภูมิอุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส) บริเวณบ่อเลี้ยงในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึง สัปดาห์ที่ 12

ความชื้นสัมพัทธ์ในบริเวณบ่อเลี้ยง สัปดาห์ที่ 3 ถึง 12 ของการทดลอง พบว่ามีค่าเฉลี่ยความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับ 50.35 %

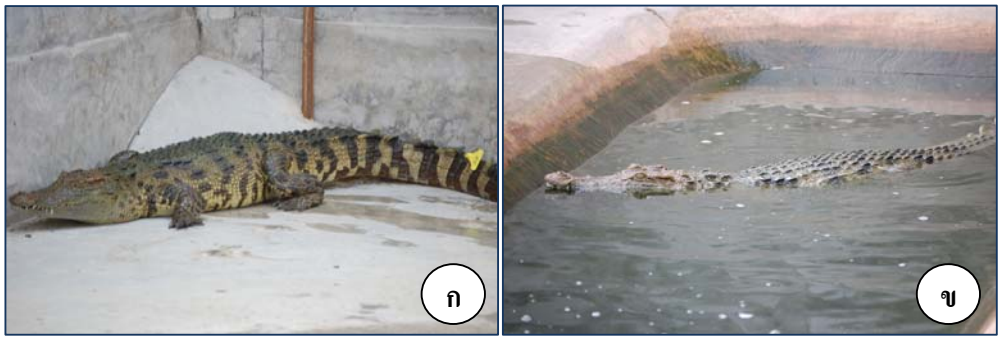


ภาพที่ 7 แผนภูมิความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์) บริเวณบ่อเลี้ยงในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึง สัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง

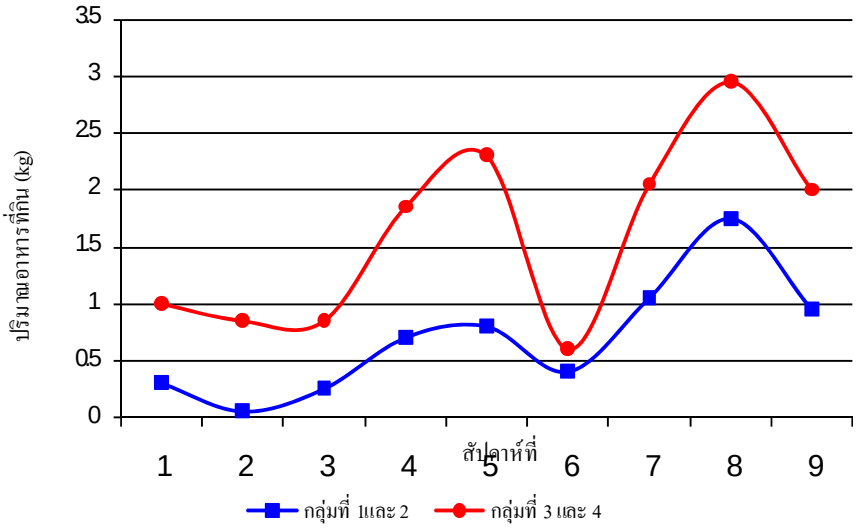
2.3 การสังเกตพฤติกรรม

หลังจากการเจาะเลือด พฤติกรรมการอาบแดด และการลงเล่นน้ำของจระเข้ในบ่อทดลองเป็นปกติ พฤติกรรมการกินอาหารกลุ่ม 1 และ 2 แสดงให้เห็นว่าหลังจากเจาะเลือด จระเข้จะหยุดกินอาหารทันทีในสัปดาห์ต่อมา เมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ จระเข้เริ่มกินอาหารในสัปดาห์ที่ 3 มีปริมาณอาหารเฉลี่ยสูงกว่าเมื่อเริ่มการทดลอง หลังการเจาะเลือดในสัปดาห์ที่ 4 จระเข้กินอาหารน้อยลง 1 สัปดาห์ และกลับมากินอาหารมากขึ้นในสัปดาห์ต่อไปทันที และเมื่อเจาะเลือดอีกในสัปดาห์ที่ 8 จระเข้ก็กินอาหารน้อยลงทันทีเช่นเดียวกับครั้งก่อน

พฤติกรรมการกินอาหารกลุ่ม 3 และ 4 แสดงให้เห็นว่าหลังจากเจาะเลือด 10 มิลลิลิตร เพื่อตรวจค่าเริ่มต้น จระเข้กินอาหารน้อยลงใน 2 สัปดาห์ต่อมา เมื่อเวลาผ่านไป 3 สัปดาห์ จระเข้เริ่มกินอาหารมากขึ้น ในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 หลังการเจาะเลือดกลุ่มที่ 1 และ 2 ในสัปดาห์ที่ 4 ส่งผลให้กลุ่ม 3 และ 4 กินอาหารน้อยลงในสัปดาห์ต่อมา และกลับมากินอาหารมากขึ้นใน 2 สัปดาห์ต่อมา และเมื่อเจาะเลือดอีกในสัปดาห์ที่ 8 จระเข้ก็กินอาหารน้อยลงทันทีเช่นเดียวกับครั้งก่อน เมื่อเจาะเลือดกลุ่มที่ 1 และ 2 รายละเอียดดังกราฟที่แสดง



ภาพที่ 8 ก) พฤติกรรม อาบแดด และ ข) พฤติกรรมลงเล่นน้ำ ของจระเข้น้ำจืดพันธ์ไทย ในบ่อทดลอง



ภาพที่ 9 ปริมาณอาหารเฉลี่ย (กิโลกรัม) ที่จระเข้กินต่อสัปดาห์ ของจระเข้กลุ่มที่ 1 และ 2 และจระเข้กลุ่มที่ 3 และ 4

2.4 ค่าทางชีวเคมี

ค่าทางชีวเคมีที่ศึกษา ได้แก่ Blood Urea Nitrogen (BUN), Creatinine, Triglyceride, Total protein, Albumin, Globulin, ALT, AST ค่าทางชีวเคมีบางประการของจระเข้ในช่วงสัปดาห์ที่ 1, 6 และ 12 ของการทดลอง แสดงดังตารางที่ 3

2.5 ค่าโลหิตวิทยา

ค่าโลหิตวิทยาของจระเข้ ในช่วงสัปดาห์ที่ 1, 6 และ 12 ของการทดลอง แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 3 ค่าทางชีวเคมีบางประการของจระเข้ในช่วงสัปดาห์ที่ 1, 6 และ 12 ของการทดลอง

ค่าทางชีวเคมี	กลุ่มที่ 1			กลุ่มที่ 2			กลุ่มที่ 3		กลุ่มที่ 4	
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 12
BUN (mg/dl)	1.23±0.20$^{a, A}$	2.10±0.84$^{a, A}$	1.40±0.32$^{a, A}$	2.60±0.70$^{a, A}$	2.10±0.50$^{a, A}$	2.10±0.40$^{a, A}$	1.50±0.15$^{a, A}$	1.50±0.50$^{a, A}$	1.85±0.15$^{a, A}$	1.90±0.0$^{a, A}$
Creatinine (mg/dl)	0.05±0.005$^{a, A}$	0.09±0.01$^{a, A}$	0.37±0.37$^{a, A}$	0.07±0.01$^{a, A}$	0.09±0.005$^{a, A}$	0.03±0.01$^{b, A}$	0.06±0.01$^{a, A}$	0.04±0.02$^{a, A}$	0.05±0.01$^{a, A}$	0.04±0.02$^{a, A}$
Cholesterol (mg/dl)	269.67±37.55$^{a, A}$	244.67±45.73$^{a, A}$	158.33±12.03^{a,A}	314.0±27.0$^{a, A}$	300.50±46.5$^{a, A}$	237.0±12.0$^{a, A}$	268.67±28.17$^{a, A}$	223.0±40.4$^{a, A}$	343.0±0.0$^{a, A}$	294.5±1.50$^{b, A}$
Triglyceride (mg/dl)	71.0±11.27$^{a, A}$	124.0±65.25$^{a, A}$	12.0±3.46$^{a, A}$	171.50±159.50$^{a, A}$	96.0±80.0$^{a, A}$	14.0±1.0$^{a, A}$	68.67±26.42$^{a, A}$	26.67±11.78$^{a, A}$	59.0±21.0$^{a, A}$	91.5±62.50$^{a, A}$
Total protein (g/dl)	6.07±0.89$^{a, A}$	5.85±0.88$^{a, A}$	4.61±1.02$^{a, A}$	7.1±0.42$^{a, A}$	7.24±0.19$^{a, A}$	7.14±0.47$^{a, A}$	6.88±0.16$^{a, A}$	7.25±0.06$^{a, A}$	6.60±0.21$^{a, A}$	7.18±0.50$^{a, A}$
Albumin (g/dl)	1.37±0.20$^{a, A}$	1.30±0.15$^{a, A}$	1.03±0.20$^{a, A}$	1.55±0.5$^{a, A}$	1.55±0.5$^{a, A}$	1.5±0.0$^{a, A}$	1.60±0.0$^{a, A}$	1.60±0.0$^{a, A}$	1.65±0.05$^{a, A}$	1.55±0.05$^{a, A}$
Globulin (g/dl)	4.70±0.70$^{a, A}$	4.53±0.75$^{a, A}$	3.53±0.81$^{a, A}$	5.55±0.35$^{a, A}$	5.70±0.20$^{a, A}$	5.65±0.45$^{a, A}$	5.27±0.15$^{a, A}$	5.67±0.07$^{a, A}$	49.5±0.15$^{a, A}$	5.65±0.45$^{a, A}$
AST (U/L)	57.30±9.67$^{a, A}$	53.87±12.11$^{a, A}$	35.60±4.27$^{a, A}$	64.80±21.60$^{a, A}$	40.50±11$^{a, A}$	39.35±15.65$^{a, A}$	48.77±4.27$^{a, A}$	33.33±1.89$^{b, A}$	48.40±9.20$^{a, A}$	42.10±1.30$^{a, A}$
ALT (U/L)	33.87±9.34$^{a, A}$	28.23±6.29$^{a, A}$	16.20±2.25$^{a, A}$	43.35±11.55$^{a, A}$	28.05±8.75$^{a, A}$	20.50±8.0$^{a, A}$	31.0±1.36$^{a, A}$	21.13±2.49$^{b, A}$	34.85±0.85$^{a, A}$	22.30±1.80$^{b, A}$

หมายเหตุ

อักษรพิมพ์เล็กต่างกันในแถวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในกลุ่มทดลองเดียวกัน ($p<0.05$)

อักษรพิมพ์ใหญ่ต่างกันในแถวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลองต่างกันที่เวลาเดียวกัน ($p<0.05$)

ตารางที่ 4 ค่าโลหิตวิทยาของจระเข้ ในช่วงสัปดาห์ที่ 1, 6 และ 12 ของการทดลอง

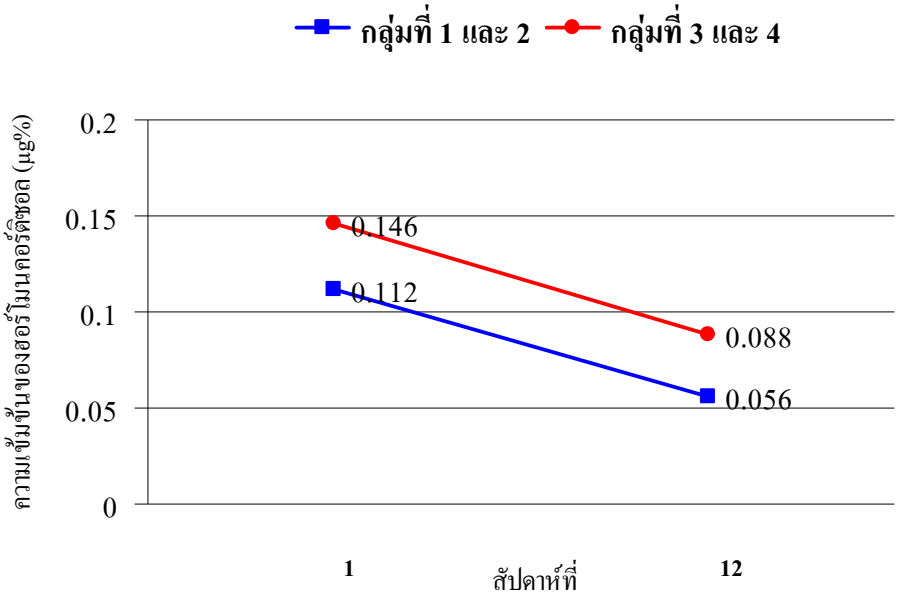
ค่าทางโลหิตวิทยา	กลุ่มที่ 1			กลุ่มที่ 2			กลุ่มที่ 3		กลุ่มที่ 4	
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 12
Hb (g/dl)	7.12±1.46^{a,A}	7.08±1.95^{a,A}	6.3±0.35^{a,A}	8.70±0.69^{a,A}	8.03±0.39^{a,A}	8.85±0.34^{a,A}	8.29±0.27^{a,A}	8.92±0.92^{a,A}	8.44±0.09^{a,A}	8.81±0.07^{a,A}
Hct (%)	22.50±2.50^{a,A}	21.23±3.35^{a,A}	19.67±1.42^{a,A}	22.83±3.90^{a,A}	24.50±1.0^{a,A}	27.75±0.75^{a,A}	25.67±1.76^{a,A}	26.50±1.76^{a,A}	26.67±0.33^{a,A}	27.75±0.25^{a,A}
RBC (10^5/mm^3)	5.98±0.03^{a,A}	6.55±0.70^{a,A}	5.23±0.23^{a,A}	8.22±0.83^{a,A}	6.35±1.15^{a,A}	8.13±0.58^{a,A}	7.35±0.30^{a,A}	7.68±1.53^{a,A}	8.53±0.64^{a,A}	7.35±0.90^{a,A}
MCV (fl)	376.40±40.27^{a,A}	339.08±72.25^{a,A}	394.72±55.28^{a,A}	296.11±64.36^{a,A}	395.96±55.96^{a,A}	342.61±15.02^{a,A}	349.35±2.67^{a,A}	363.23±48.17^{a,A}	315.50±20.03^{a,A}	382.88±43.49^{a,A}
MCH (pg)	119.90±16.74^{a,A}	113.45±26.68^{a,A}	120.97±9.95^{a,A}	106.52±4.38^{a,A}	129.64±17.35^{a,A}	109.13±3.59^{a,A}	112.83±1.51^{a,A}	120.64±12.07^{a,A}	99.88±6.19^{a,A}	121.82±15.88^{a,A}
MCHC (g/dl)	31.53±1.08^{a,A}	33.17±1.40^{a,A}	30.90±1.81^{a,A}	40.69±8.69^{a,A}	32.78±0.26^{a,A}	31.87±0.35^{a,A}	32.30±1.19^{a,A}	33.52±1.19^{a,A}	31.66±0.18^{a,A}	31.76±0.55^{a,A}
WBC (10^3/mm^3)	5.54±2.36^{a,A}	3.81±0.64^{a,A}	4.84±1.43^{a,A}	4.18±1.39^{a,A}	5.56±0.61^{a,A}	6.99±0.61^{a,A}	4.95±0.44^{a,A}	3.48±0.51^{a,A}	5.87±0.22^{a,A}	4.07±0.0^{b,A}
Differential leucocyte count										
Heterophil (%)	71.0±4.27^{a,A}	77.5±4.07^{a,A}	62.67±16.86^{a,A}	63.83±5.86^{ab,A}	77.50±0.50^{a,A}	46.5±2.0^{b,A}	58.83±4.06^{a,A}	52.50±2.89^{a,A}	64.0±4.50^{a,A}	52.0±14.0^{a,A}
Lymphocyte (%)	27.33±4.48^{a,A}	20.5±4.04^{a,A}	36.83±17.84^{a,A}	31.83±9.93^{a,A}	20.25±0.25^{a,A}	51.0±0.50^{b,A}	35.17±6.12^{a,A}	42.0±3.79^{a,A}	34.0±4.01^{a,A}	39.50±8.0^{a,A}
Eosinophil (%)	0.50±0.50^{a,A}	0.83±0.44^{a,A}	0.83±0.44^{a,A}	2.67±0.44^{a,B}	1.25±0.25^{a,A}	1.25±0.75^{a,A}	1.50±0.29^{a,AB}	2.0±1.04^{a,A}	1.0±0.50^{a,A}	1.0±1.0^{a,A}
Basophil (%)	0.17±0.17^{a,A}	1.17±0.73^{a,A}	1.0±0.50^{a,A}	0.50±0.0^{a,A}	1.0±1.0^{a,A}	0.75±0.75^{a,A}	0.17±0.17^{a,A}	1.67±0.88^{a,A}	0.5±0.29^{a,A}	2.25±1.25^{a,A}
Monophil (%)	1.0±0.58^{a,A}	0^{a,A}	0.67±0.17^{a,A}	1.17±0.73^{a,A}	0^{a,A}	0.5±0.0^{a,A}	1.0±0.29^{a,A}	1.17±0.17^{a,A}	0.33±0.33^{a,A}	3.0±1.50^{a,A}
Thrombocyte/100WBC	166.83±13.88^{a,A}	331.17±93.83^{a,A}	297.83±56.19^{a,A}	199.33±25.42^{a,A}	261.50±47.50^{a,A}	352.75±5.75^{a,A}	248.33±26.59^{a,A}	333.67±15.62^{a,A}	341.83±112.93^{a,A}	508.50±62.50^{a,A}

หมายเหตุ

อักษรพิมพ์เล็กต่างกันในแถวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในกลุ่มทดลองเดียวกัน ($p<0.05$)

อักษรพิมพ์ใหญ่ต่างกันในแถวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลองต่างกันที่เวลาเดียวกัน ($p<0.05$)

2.6 ฮอร์โมนคอร์ติซอล



ภาพที่ 10 ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮอร์โมนคอร์ติซอล (µg%) ในช่วงสัปดาห์ที่ 1 และ 12 ของจระเข้กลุ่มที่ 1 และ 2 และจระเข้กลุ่มที่ 3 และ 4

2.6 คุณภาพของเลือดจระเข้ระเหิดแห้ง

จากผลการศึกษาคุณภาพของเลือดจระเข้ระเหิดแห้ง พบว่า ผลผลิตที่ได้ ไม่พบ สารตะกั่ว (Lead : Pb) สารหนูทั้งหมด (Arsenic : As) *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* *Clostridium* spp. และ *Salmonella* sp.

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. <u>สรุปผลการวิจัย</u>

การชั่งน้ำหนักและวัดความยาวจระเข้ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของจระเข้ทุกกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันระหว่างสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง และไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองทั้ง 4 กลุ่ม (ตารางที่ 2) ความยาวเฉลี่ยของจระเข้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มทดลองทั้ง 4 กลุ่มในสัปดาห์ที่ 1 แต่ไม่มีความแตกต่างกันในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง (ตารางที่ 1)

การศึกษาเริ่มต้น มีการดำเนินงานที่ใช้เวลาในการเตรียมการค่อนข้างมาก เช่นการทำเครื่องหมายติดหางจระเข้ ต้องใช้เวลาในการจับนานพอสมควร และเมื่อเจาะเลือดจระเข้ จะเห็นว่า จระเข้กลุ่มที่ 1 และ 2 ที่เลี้ยงด้วยกัน และเป็นกลุ่มที่เจาะเลือดปริมาณมากตั้งแต่ช่วงแรก จระเข้เครียด มากโดยดูได้จากค่าฮอร์โมนคอร์ติซอลที่สูงกว่าสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง ส่วนกลุ่มที่ 3 และ 4 ซึ่งเลี้ยงในบ่อที่ติดกันก็มีลักษณะเครียดเช่นกันกับกลุ่ม 1 และ 2 เพราะเนื่องจากจระเข้เป็นสัตว์ที่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมมาก ขณะจับจระเข้จะมีการส่งเสียง ซึ่งจะส่งผลต่อจระเข้ บ่อข้างเคียงมาก แต่เมื่อเทียบการเจาะเลือดครั้งต่อๆ มา พบว่าจระเข้กลับมากินอาหารเร็วกว่าครั้งแรก มากอาจะเนื่องจากจระเข้มีความเคยชินกับการถูกจับ ทำให้ไม่เกิดความเครียดมาก (Huchzermeyer, 2003)

การสังเกตการเป็นอยู่ของจระเข้พบว่าจระเข้ขึ้นมาอาบแดด และว่ายน้ำตามปกติ พฤติกรรมการกินอาหาร พบว่าจระเข้กินอาหารลดน้อยลงในช่วง 2 สัปดาห์หลังจากการเจาะเลือด และกลับมากินอาหารอีกครั้งเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งจระเข้ทั้ง 2 บ่อมีแนวโน้มในการกินอาหารเป็นไปในทางเดียวกันแม้ว่าไม่มีการเจาะเลือดจระเข้ในบ่อที่ 2 (กลุ่มที่ 3 และ 4) เกิดจากการถูกรบกวน จากการจับและการส่งเสียงเตือนภัยเมื่อถูกรบกวน หรืออยู่ในอันตราย ซึ่งจากการศึกษาของ Britton (2001) พบว่าเสียงร้องจระเข้สามารถแบ่งออกเป็นเสียงร้องเมื่อออกจากไข่ เสียงร้องในการติดต่อสื่อสาร เสียงร้องขู่ เสียงร้องเมื่อรู้สึกโกรธ และเสียงร้องเตือนภัย เสียงร้องของจระเข้ใช้เสียงทั้งที่มนุษย์สามารถรับฟังได้และไม่สามารถรับฟังได้ ซึ่งเป็นเสียงความถี่ต่ำและสามารถเดินทางได้ไกลใช้ในสื่อสารในกลุ่มจระเข้ (Huchzermeyer, 2003) จระเข้จะกินอาหารเพิ่มขึ้นหลังจากการเจาะเลือดประมาณ 2 สัปดาห์ แต่ปริมาณอาหารที่กินน้อยกว่าบ่อที่ได้ทำการเจาะเลือดปริมาณมาก ทำให้ไม่สามารถเจาะเลือดจากจระเข้ตามช่วงระยะเวลาที่ตั้งไว้คือ การเจาะทุก 1 เดือน และเจาะทุก 2 เดือนได้

การเก็บข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์บริเวณบ่อเลี้ยงในช่วงสัปดาห์ที่ 3 ถึง 12 พบว่าอุณหภูมิเฉลี่ยบริเวณบ่อเลี้ยงสูงสุด เท่ากับ 29.60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุดในช่วงสัปดาห์เท่ากับ 25.38 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 6) ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยบริเวณบ่อเลี้ยงสูงสุด เท่ากับ 60.2 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยบริเวณบ่อเลี้ยงต่ำสุด 5 เท่ากับ 38.89 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 7) จะเห็นว่าอุณหภูมิและความชื้น เป็นสภาพโดยทั่วไปของประเทศในเขตร้อน และจระเข้ก็เป็นสัตว์เลือดเย็น ที่อาศัยอยู่ในเขต

ร้อนของโลก จะมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม โดยการใช้แหล่งน้ำในบ่อเลี้ยงเป็นตัวช่วย (Morgan, 2007) ซึ่งจะทำให้ภูมิคุ้นกันในร่างกายอยู่ในระดับปกติ

ค่าทางโลหิตวิทยา จากการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มการทดลอง และภายในกลุ่มการทดลองเดียวกันที่สัปดาห์ที่ 1, 6 และ 12 ของการทดลอง พบว่าส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) (ตารางที่ 4) แสดงให้เห็นว่าการเจาะเก็บเลือดปริมาณ 100 มิลลิลิตร ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลค่าทางโลหิตวิทยาของจระเข้ ซึ่งก็สอดคล้องกับการศึกษาในสัตว์หลายชนิดเช่น จากการศึกษาต่อการตอบสนองของค่าทางโลหิตวิทยาต่อการเจาะเก็บเลือดซ้ำทุก 3 สัปดาห์ในม้า พบว่าการเจาะเลือดไม่มีผลต่อค่าฮีมาโทคริท ฮีโมโกลบิน และจำนวนเม็ดเลือดแดง แม้ว่าค่าเหล่านี้จะลดลงในช่วงสัปดาห์แรกของการเจาะเลือด และค่อยๆเพิ่มขึ้นจนกระทั่งมีการเจาะครั้งต่อไป (Malikides *et al*., 2000)

ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล พบว่าความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลที่สัปดาห์ที่ 12 ลดลงจากสัปดาห์ที่ 1 ที่มีการเจาะเลือด ซึ่งจระเข้ทั้ง 2 บ่อเป็นไปในแนวทางเดียวกัน (ภาพที่ 10) แสดงให้เห็นว่าการเจาะเลือดปริมาณมากที่ใช้เวลาน้อยจะไม่ทำให้เกิดความเครียดกับจระเข้ ซึ่งโดยทั่วไปพบว่าความเครียดทำให้การสังเคราะห์ฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอรอยด์เพิ่มมากขึ้นในสัตว์มีกระดูกสันหลังส่วนมาก รวมทั้งสัตว์เลื้อยคลาน ซึ่งฮอร์โมนหลักในการบ่งบอกภาวะความเครียดคือ ฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน (Greenberg and Wingfield, 1987) Mahmoud *et al*. (1996) กล่าวว่าความเครียดจากการถูกจับและการเจาะเลือดติดต่อกันทำให้ฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนในเลือดของอัลลิเกเตอร์เพิ่มสูงขึ้น และพบฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันแต่ในระดับที่ต่ำ การศึกษาผลของความเครียดต่อระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนในไคมาน (*Caiman crocodilus*) พบว่าการเจาะเลือดทำให้ระดับฮอร์โมนเพิ่มขึ้นสูงสุดหลังจากการเจาะเลือดผ่านไป 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นมีระดับลดลง (Daniel, 1976)

ค่าทางชีวเคมี (ตารางที่ 3) พบว่าส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลอง และภายในกลุ่มการทดลองเดียวกันที่สัปดาห์ที่ 1, 6 และ 12 ของการทดลอง มีความแตกต่างกันของค่าทางชีวเคมีบางค่า ดังนี้ ค่าครีอาตินีนของจระเข้กลุ่มที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลองมีความแตกต่างกับค่าในสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 6 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่นที่เวลาเดียวกัน พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน คอเลสเตอรอลของกลุ่มที่ 4 แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบค่าระหว่างสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง คาดว่าอาจเกิดจากอาหารที่กิน เนื่องจากจระเข้ไม่ได้อดอาหารก่อนการเจาะเลือด ปริมาณคอเลสเตอรอลที่สูงยังแสดงให้เห็นว่าจระเข้มีการกินอาหาร AST และ ALT ในจระเข้กลุ่มที่ 3 แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบค่าระหว่างสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 12 อย่างไรก็ตาม AST และ ALT อยู่ในช่วงปกติเมื่อนำค่าเทียบกับค่าของจระเข้น้ำเค็ม (*Crocodylus porosus*) (ตารางที่ 3)

ปริมาณเลือดทั้งหมดของจระเข้ในร่างกายมีค่าประมาณ 4-5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (Huchzermeyer, 2003) การเจาะเลือดครั้งนี้เจาะเพียง 100 มิลลิลิตร ซึ่งประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของเลือดทั้งหมดในร่างกาย Malikides *et al*. (2001) ศึกษาผลกระทบของการเจาะเลือดปริมาณมากต่อการตอบสนองทางโลหิตวิทยา ทางชีวเคมี ระบบหมุนเวียนเลือดในม้า สรุปว่าปริมาณเลือดที่เหมาะสมที่สามารถเจาะได้จากม้าคือ ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณเลือดทั้งหมด การเจาะเลือดในปริมาณนี้พบว่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าต่างๆ แต่สามารถกลับสู่ภาวะปกติอย่างรวดเร็วภายใน 24-48 ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่าการเจาะเลือดทำให้อัตราการเต้นของหัวใจและอัตราการหายใจเพิ่มสูงขึ้นในช่วงเจาะเก็บเลือด แล้วลดลงหลังจากการเจาะเก็บเลือด 1-2 ชั่วโมง และกลับสู่ปกติหลังจากเจาะเลือด 31 วัน

การเจาะเลือดแต่ละครั้งจะมีการประเมินสุขภาพก่อนเสมอ ถ้าจระเข้ที่จับมาเจาะเลือดแล้วมีพฤติกรรมที่ไม่กินอาหาร จะไม่มีการเจาะเลือดครั้งต่อไป เพราะจระเข้ยังคงอยู่ในสภาวะเครียด และพฤติกรรมยังไม่ปกติถ้าจับมาเจาะจะทำให้จระเข้เครียดมาก จะส่งผลต่อสุขภาพจระเข้และชีวิตได้ การศึกษานี้เป็นการศึกษาที่ไม่เคยมีใครศึกษามาก่อน จึงต้องมีการประเมินสุขภาพจระเข้ก่อนเสมอ

จากผลการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต พบว่าจระเข้ที่ถูกเจาะเก็บเลือด 100 มิลลิลิตร และเลี้ยงต่อเป็นเวลา 12 สัปดาห์ มีพฤติกรรมการเป็นอยู่ที่ปกติ ค่าทางโลหิตวิทยา ค่าทางฮอร์โมน และค่าทางชีวเคมีไม่แตกต่างจากจระเข้ปกติ แสดงให้เห็นว่าการเจาะเลือดจระเข้ปริมาณ 100 มิลลิลิตรไม่มีผลต่อสุขภาพจระเข้ และผลจากการตรวจสารปรอท สารหนู และ *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* *Clostridium* spp. และ *Salmonella* sp. จากสถาบันค้นคว้าและวิจัยอาหารที่กระทรวงสาธารณสุขรับรอง ไม่พบ สารปนเปื้อและแบทีเรียดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าคุณภาพของเลือดที่เจาะเก็บได้มีคุณภาพที่เป็นที่ยอมรับของคณะกรรมการอาหารและยาได้ ซึ่งในเชิงพาณิชย์การที่จะนำเลือดจระเข้มาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร สามารถทำได้โดยไม่ทำลายชีวิต

แนวทางในการผลิตผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพโดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้มีความเป็นไปได้สูงมาก ซึ่ง ณ ขณะนี้สามารถเจาะเลือดได้ 100 มิลลิลิตร โดยไม่กระทบต่อสุขภาพของจระเข้ และช่วงระยะเวลาในการเจาะแต่ละครั้ง ห่างกันไม่น้อยกว่า 12 สัปดาห์ หรือ 3 เดือน ซึ่งเป็นนวัตกรรมในอุตสาหกรรมจระเข้ที่มีอยู่ในปัจจุบัน

2. <u>ข้อเสนอแนะ</u>

ควรมีการศึกษาปริมาณเลือดที่มากขึ้นต่อไปเพื่อให้ได้ปริมาณ ที่มากและไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพของจระเข้ ต่อไป

บรรณานุกรม

ชยันต์ พิเชียรสุนทร และวิเชียร จีรวงส์. *คู่มือเภสัชกรรมแผนไทย เล่ม 3: เครื่องยาสัตววัตถุ*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อมรินทร์, 2546 : 150-167.

วิน เชยชมศรี จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ บุญเกื้อ วัชรเสถียร มณี ตันติรุ่งกิจ สุดาวรรณ เชยชมศรี ยศพงษ์ เต็มศิริพงศ์ และเริงฤทธิ์ สัปปพัน. 2546. ประสิทธิภาพของซีรัมจระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด*. 15 (ฉบับเพิ่มเติมที่ 1). S120.

สุวิทย์ รักมณี และ สมปอง ธรรมศิริรักษ์. 2550. การศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราจากสารสกัดเม็ดเลือดขาวของจระเข้สายพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*). *รายงานการวิจัยโครงการอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรี ประจำปี 2549*. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ฝ่ายอุตสาหกรรม.

Betkot, Z. 2001. The nutritional value of cattle blood. *Medycyna WeterynaryJna* 57 (6) : 412-414.

Betkot, Z. and E., Petczyn'ska. 2002. Eating value of chicken blood. *Medycyna WeterynaryJna* 58 (3) : 208-210.

Binah, O., Ciechanover, A. and Maor, G. Anti-tumor activity from reptile serum. *United States Patent* 20040247589. December 2004.

Chaeychomsri, W., Siruntawineti, J., Pokharatsiri, A., Vajarasathira, B., Chitchuankij, N. and Temsiripong, Y. 2004b. Effects of Crocodile Blood Consumption on Biochemical Changes in Wistar Rats. In: *Proceeding of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand*. 19-21 October, 2004. Bangkok.

Chaeychomsri, W., Siruntawineti, J., Vajarasathira, B. and Temsiripong ,Y. 2006. Safety Evaluation of Crocodile Blood Diet. In: *Proceeding of the 32nd Congress on Science and Technology of Thailand.* 10-12 October, 20063. Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

Chaeychomsri,W., Siruntawineti, J., Vajarasathira, B., Komoljindakul, K., Ong-aat, T. and Temsiripong, Y. 2004a. Intestinal Parasites of Freshwater Crocodile, Crocodylus siamensis, in Thailand. In: *Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group*. 24–29 May, 2004. Darwin Australia.

DeLuca, L. A., Glass, S.G., Johnson R.E. and Burger, M. 2006. Description and evaluation of a canine volunteer blood donor program. *J. Applied Ani. Welfare Science* 9 (2) : 129-141.

Flajnik, M. F. and Pasquier, L. Du. 2004. Evolution of innate and adaptive immunity: can we draw a line?. *Trends in Immunology*. 25 (12): 640-644.

Ganz, T. and Lehrer, R. 2001. Antimicrobial peptides in innate immunity. In: *Development of novel antimicrobial agents, emerging strategies*. Horizon Scientific Press : UK, pp. 138-147.

Garcia, J., Krause, A., Schulz, S., Rodriguez-Jimenez, F., Kluver, E., Andermann, K., Forrsmann, U., Frimpong-Boateng, A., Bals, R. and Forssmann, W. 2001. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *FASEB J.* 10 : 1819-1821.

Hartmann, R. and Meisel, H. 2007. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. Curr Opin Biotech 18 : 163-169.

Hoffman, B. F. and Binah, O. Reptilian-derived peptides for the treatment of microbial infection. *United States Patent* 5380664/ *International patent* WO9917785. July 1999.

Iazbik, M.C., Ochoa, P.G., Westendorf, N., Charske, J. and Couto, C.G. 2007. Effects of blood collection for transfusion on arterial blood pressure, heart rate, and PCV in cats. *J. Vet. Inter. Med*. 21 (6) : 1181-1184.

Ji, H., Reid, G. E., Moritz, R. L., Edds, J. S., Burgess A. W. and Simpson, R. J. 1997. A two-dimensional gel database of human colon carcinoma proteins. *Electrophoresis* 18:605-613.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.

Lorin, C., Saidi, H., Belaid, A., Zairi, A., Baleux, F., Hocini, H., Belec, L., Hani K. and Tangy, F. 2005. The antimicrobial peptide dermaseptin S4 inhibits HIV-1 infectivity in vitro. *Virology* 334 : 264-275.

Malikides, N., Hodgson, J. L., Rose, R. J. and Hodgson, D. R. 2001. Cardiovascular, Haematological and Biochemical Responses after Large Volume Blood Collection in Horses. *Vet. J.* 162 (1) : 44-55.

Manso, M. A., Leonil, J., Jan G. and Gagnaire, V. 2005. Application of proteomics to the characterisation of milk and diary products. *Int. Dair. J*. 15 : 845-855.

Merchant, M. E., Verret B. and Elsey, R. M. 2005c. Role of divalent metal ions in serum complement activity of the the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Comp. Biochem. Physio. B.* 141 : 289-293.

Merchant, M. E., Roche, C., Thibodeaux, D. and Elsey, R. M. 2005b. Identification of alternative pathway serum complement activity in the blood of the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Comp. Biochem. Physio. B*. 141 : 281-288.

Merchant, M. E., Roche, C., Elsey, R. M. and Prudhomme, J. 2003. Antibacterial properties of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Comp. Biochem. Physio. B*. 136 : 505-513.

Merchant, M. E., Thibodeaux, D., Loubser K. and Elsey, R. M. 2004. Amoebacidal effects of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *J. Parasit*. 90 : 1480-1483.

Merchant, M. E., Pallansch, M., L. Paulman, R., Wells, J. B., Nalca A. and Ptak, R. 2005a. Antiviral activity of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Antiv. Res*. 66 : 35-38.

Merchant, M. E., Leger, N., Jerkins, E., Mills, K., Pallansch, M. B., Paulman R. L. and Ptak, R. 2006. Broad spectrum antimicrobial activity of leukocyte extracts from of the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Vet. Immun. Immuno*. 110 : 221-228.

Perutz, M. F., Bauer, C., Gros, G., Leclercq, F., Vandecasserie, C., Schnek, A. G., Braunitzer, G., Friday A. E. and Joysey, K. A. 1981. Allosteric Regulation of Crocodilian Haemoglobin. *Nature* 291, 682-684

Petczyn'ska, E. and Libelt, K. 1999. The biological value of slaughter-animals blood. *Medycyna WeterynaryJna* 55 (9) : 600-601.

Shaharbanay, M., Gollop, N., Ravin, S., Golomb, E., Demarco, L., Ferriera, P., Boson W. and Friedman, E. 1999. Naturally occurring antibacterial activities of avian and crocodile tissues. *J. Antimicrob. Chemother.* 44 : 416-418.

Shamova, O., Brogden, K., Zhoa, C., Nguyen T. and Kokryako, V. L. 1999. Purification and properties of praline-rich antimicrobial peptides from sheep and goat leukocyte. *Infect. Immun.* 67 : 4106-4111.

Siruntawineti J., Chaeychomsri, W., Vajarasathira, B., Ong-aat, T. and Temsiripong, Y. 2004a. Efficacy of Siamese Crocodile (*Crocodylus siamensis*) Serum on Bacterial Growth Inhibition. In: *Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group*. 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W., Vajarasathira, B. and Temsiripong, Y. 2006. Development and Evaluation of Dried Siamese Crocodile Blood Product. In: *Proceeding of the 32nd Congress on Science and Technology of Thailand.* 10-12 October 2006, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W, Vajarasathira, B., Tuntirungkij, M. and Temsiripong, Y. 2003. Complement Activity of Thai Freshwater Crocodile (Crocodylus siamensis) serum. In:

Proceeding of the 29th Congress on Science and Technology of Thailand. 20-22 October, 2003. Khon Kaen.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W., Pokharatsiri, A., Vajarasathira, B., Chitchuankij, N. and Temsiripong, Y. 2004c. Crocodile Blood as Food Supplememt: Its Effects on Hematological Values in Wistar Rats. In: *Proceeding of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand*. 19-21 October, 2004. Bangkok.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W., Vajarasathira, B., Ritwichai, A., Ong-aat, T. and Temsiripong, Y. 2004b. Blood Parasites of Crocodylus siamensis in Thailand. In: *Proceeding of the 17th Working Meeting of the Crocodile Specialist Group*. 24–29 May 2004, Darwin Australia.

Siruntawineti, J., Chaeychomsri, W., Vajarasathira, B. and Temsiripong, Y. 2005. Evidence for Primary Immune Response to Salmonella paratyphi A in Wistar Rats after Feeding by crocodile Blood. In: *Proceeding of the 31st Congress on Science and Technology of Thailand*. 18-20 October, 2005. Nakhon Ratchasima.

Yeaman, M. and Yount, N. 2003. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol. Rev*. 55 : 27-55.

ภาคผนวก

1. สำเนาใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์

2. สำเนาแบบฟอร์มการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. สำเนาคำขอรับอนุสิทธิบัตรการประดิษฐ์ “กรรมวิธีการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต และผลิตภัณฑ์ของจระเข้บริจาคเลือดที่ได้จากกรรมวิธีนี้” เลขที่คำขอ 0903001362 วันที่ 20 พฤศจิกายน 2552

สำเนาใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์

แบบฟอร์มใบรับรอง

ใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์

ID #...OACKU 00151

ชื่อข้อเสนอการวิจัย

(ภาษาไทย). การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจากจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต.

(ภาษาอังกฤษ) Process Development for Crocodile Blood Collection with Crocodile Life Maintaining

ชื่อ-สกุล ผู้เสนอข้อเสนอการวิจัย .....รศ.ดร. วิน เชยชมศรี.....

หน่วยงานที่สังกัด (คณะ/กอง) .....คณะวิทยาศาสตร์ .....

(มหาวิทยาลัย/กรม) .....มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.....

(กระทรวง) .....กระทรวงศึกษาธิการ.....

ข้อเสนอการวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์แล้ว เห็นว่ามีความสอดคล้องกับจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สภาวิจัยแห่งชาติ จึงเห็นสมควรให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์ ตามที่ข้อเสนอการวิจัยนี้ได้

ลงนาม .....
(.....)
ตำแหน่ง ประธานคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ของหน่วยงาน
วัน /เดือน /ปี ...18 ก.ค. 57...

ลงนาม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.สาพัลลี บุณยะวัฒน์)
ตำแหน่ง หัวหน้าส่วนราชการ
วัน /เดือน /ปี ...16 ก.ค. 57...

แบบฟอร์มการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

กระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต และผลิตภัณฑ์ของจระเข้บริจาคเลือดที่ได้จากกรรมวิธีนี้

2. บทสรุปการประดิษฐ์

การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับ กรรมวิธีของการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้ โดยใช้อุปกรณ์ประกอบเข็มเจาะเลือด (อุปกรณ์สำหรับเจาะเก็บเลือดปริมาณมาก คำขอสิทธิบัตรที่ 0601001179 ลงวันที่ 16 มีนาคม 2549) ซึ่งสามารถเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยรักษาชีวิตจระเข้ ไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพและการดำรงชีวิตที่ปกติของจระเข้นั้น ได้ปริมาณเลือดต่อครั้ง ไม่น้อยกว่า 100 มิลลิลิตร ระยะเวลาการเจาะเก็บเลือดจระเข้ในแต่ละครั้ง ไม่น้อยกว่า 12 สัปดาห์ ได้เลือดปริมาณมากจากจระเข้หลายๆ ตัว ทำให้ได้วัตถุดิบจากเลือดจระเข้ โดยจระเข้ไม่ตาย เกิดการใช้ประโยชน์ที่ยั่งยืน ในขั้นที่สูงกว่าการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยวิธีที่สืบทอดกันมา และการเจาะเก็บเลือดจระเข้ก่อนการชำแหละที่จระเข้ต้องตายในที่สุด

กรรมวิธีของการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้ ประกอบด้วย การเตรียมวัสดุอุปกรณ์สำหรับการเจาะเก็บเลือด, การเจาะเลือดโดยใช้อุปกรณ์ประกอบเข็มเจาะเลือด, การทำงานของปั๊มแบบบีบรูด ที่มีการควบคุมอัตราเร็วของปั๊มฯ เพื่อให้การไหลของเลือดมีอัตราเร็วที่เหมาะสม ไม่ทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิตของจระเข้, และการเคลื่อนที่ของเลือดในท่อซิลิโคนลงสู่ภาชนะเก็บเลือดที่มีลักษณะปิด

การประดิษฐ์นี้รวมถึงผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้ที่ได้จากจระเข้บริจาคเลือด ตามกระบวนการดังล่าว

3. ผู้ประดิษฐ์ เป็นบุคลากรของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(1) ชื่อ นายวิน เชยชมศรี **ตำแหน่ง** รองศาสตราจารย์ ระดับ 9
คณะ วิทยาศาสตร์ **ภาควิชา** สัตววิทยา
ที่อยู่ที่ทำงาน 50 ถ. พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
☎**ที่ทำงาน** 02-5625555 ต่อ 3264 แฟกส์ 02-5625555 ต่อ 3202 e-mail fsciwcc@ku.ac.th
(2) ชื่อ นางสาวจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ **ตำแหน่ง** รองศาสตราจารย์ ระดับ 9
คณะ วิทยาศาสตร์ **ภาควิชา** สัตววิทยา
ที่อยู่ที่ทำงาน 50 ถ. พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
☎**ที่ทำงาน** 02-5625555 ต่อ 3262 แฟกส์ 02-5625555 ต่อ 3202 e-mail fscijws@ku.ac.th

4. ผู้ประดิษฐ์ เป็นบุคลากรนอกมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

--

5. แหล่งเงินทุน หรือเงินสนับสนุน ที่ทำให้เกิดการประดิษฐ์นี้

(1) ชื่อแหล่งทุน ทุนสนับสนุนงานวิจัยสำหรับนักศึกษาปริญญาตรี (IRPUS)
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ฝ่ายอุตสาหกรรม (ฝ่าย 5)

ชื่อโครงการวิจัย "การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต
เพื่อนวัตกรรมของผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้"

ระยะเวลาวิจัย เริ่มต้นปี 2550 (กรกฎาคม) **สิ้นสุดปี** 2551 (มีนาคม)

งบประมาณการวิจัย จำนวน 80,000 **บาท**

(2) ชื่อแหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
ทุนอุดหนุนสนับสนุนการวิจัยรองรับการเปลี่ยนแปลงและพลวัตโลกเพื่อแก้ปัญหาสำคัญของชาติอย่างสมดุลและยั่งยืน

ชื่อแผนงานวิจัย "การวิจัยและพัฒนาเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ"

ชื่อโครงการวิจัย "การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต"

ระยะเวลาวิจัย เริ่มต้นปี 2551 (ตุลาคม) **สิ้นสุดปี** 2554 (กันยายน)

งบประมาณการวิจัย จำนวน 948,000 **บาท**

6. การเผยแพร่ผลงาน

-

7. การสืบค้นข้อมูลสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

☑ เคยสืบค้น ☐ ไม่เคยสืบค้น

เว็บไซต์ http://www. toryod.com

คำสำคัญ .Blood donation, Animal blood donation, Crocodile blood, Blood collection and apparatus

ผลลัพธ์ที่ได้ ไม่พบข้อมูลสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรที่เหมือน หรือคล้ายกับการประดิษฐ์

8. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการประดิษฐ์นี้

การประดิษฐ์นี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอุตสาหกรรมจระเข้ เพื่อการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้ ลดมลพิษจากการทิ้งเลือดลงสู่สิ่งแวดล้อมในขั้นการชำแหละจระเข้ การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับการเจาะเก็บเลือดจระเข้แต่ละครั้งในปริมาณที่พอเหมาะ โดยไม่ทำลายชีวิตจระเข้ ทำการเจาะเก็บเลือดในปริมาณที่เหมาะสมไปยังภาชนะเก็บเลือดที่มีลักษณะปิด การประดิษฐ์นี้สามารถเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยรักษาชีวิตจระเข้ และไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และการดำรงชีวิตที่ปกติของจระเข้นั้น ได้เลือดปริมาณมากจากจระเข้หลายๆ ตัว เมื่อถึงระยะเวลาหนึ่งๆ ที่เหมาะสมสามารถเจาะเก็บเลือดจากจระเข้ได้อีก ทำให้ได้วัตถุดิบจากเลือดจระเข้ โดยจระเข้ไม่ตาย การทำแห้งเลือดจระเข้ที่ได้จากบริจาคเลือด

ด้วยการระเหิดแห้งภายใต้ความเย็นจัด และผลิตภัณฑ์จากจระเข้บริจาคเลือดบรรจุใส่แคปซูลสำหรับการบริโภค การประดิษฐ์นี้จะเป็นฐานให้กับการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากเลือดจระเข้ในอนาคต ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากเลือดจระเข้แบบใหม่ที่ไม่ทำลายชีวิตจระเข้ ต่อจากผลิตภัณฑ์แคปซูลเลือดจระเข้แห้งที่ใช้วัตถุดิบเลือดครบของจระเข้ก่อนการชำแหละ นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมการเกษตร อุตสาหกรรมของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ได้จากเลือดจระเข้ รวมถึงเอื้อประโยชน์ต่อการวิจัยและพัฒนาในขั้นสูงขึ้นทางวิทยาศาสตร์การเกษตร วิทยาศาสตร์การอาหาร และเภสัชศาสตร์ ในจระเข้และสัตว์อื่นๆ

9. แนวทางการพัฒนาสู่เชิงพาณิชย์

- แผนการตลาด

☐ มี (กรุณาระบุ) ☑ ไม่มี

- การติดต่อกับองค์กรอื่น เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยี

☑ มี (กรุณาระบุ) ☐ ไม่มี

การถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ภาคเอกชนที่ให้ความร่วมมือสนับสนุนงานวิจัยจระเข้ ได้แก่ ห้างหุ้นส่วนจำกัด วานิไทย ซึ่งการดำเนินการจะอยู่ภายใต้เงื่อนไขการใช้ประโยชน์ทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลงชื่อ จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ

(รศ. ดร. จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ)

วันที่ 9 / พฤศจิกายน / 2552

สำเนาคำขอรับอนุสิทธิบัตรการประดิษฐ์ “กรรมวิธีการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต และผลิตภัณฑ์ของจระเข้บริจาคเลือดที่ได้จากกรรมวิธีนี้” เลขที่คำขอ 0903001362 วันที่ 20 พฤศจิกายน 2552 (หน้าที่ 1)

สำเนา

แบบ สป/สผ/อสป/001-ก
หน้า 1 ของจำนวน 2 หน้า

คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	**สำหรับเจ้าหน้าที่**
	วันรับคำขอ 20 พ.ย. 2552 / เลขที่คำขอ 0903001362
	วันยื่นคำขอ
	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ
☐ การประดิษฐ์ ☐ การออกแบบผลิตภัณฑ์ ☑ อนุสิทธิบัตร	ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ประเภทผลิตภัณฑ์
	วันประกาศโฆษณา / เลขที่ประกาศโฆษณา
ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535 และพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542	วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร / เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
	ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์

กรรมวิธีการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต
และผลิตภัณฑ์ของจระเข้บริจาคเลือดที่ได้จากกรรมวิธีนี้

2. คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์นี้เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างเดียวกันและเป็นคำขอลำดับที่ ในจำนวน คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน

3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร และที่อยู่ (เลขที่ ถนน ประเทศ)
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
50 ถ.พหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

3.1 สัญชาติ	ไทย
3.2 โทรศัพท์	02-942-8812-5
3.3 โทรสาร	02-942-8737
3.4 อีเมล์	-

4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐ ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ ☑ ผู้รับโอนโดยเฉพาะ ☐ ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น

5. ตัวแทน (ถ้ามี)/ที่อยู่ (เลขที่ ถนน จังหวัด รหัสไปรษณีย์)	4.1 ตัวแทนเลขที่
	4.2 โทรศัพท์
	4.3 โทรสาร
	4.4 อีเมล์

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ และที่อยู่ (เลขที่ ถนน ประเทศ)
นายวิน เชยชมศรี และนางสาวจินดาวรรณ สิรันทวิเนติ
สังกัดภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน 50 ถ.พหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม
ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้ถือว่าได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตรเลขที่ วันยื่น เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ
☐ คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง ☐ ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ ☐ ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ

หมายเหตุ ในกรณีที่ไม่อาจระบุรายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์นี้ โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียดเพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

สำเนาถูกต้อง

สำเนาคำขอรับอนุสิทธิบัตรการประดิษฐ์ “กรรมวิธีการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต และผลิตภัณฑ์ของจระเข้บริจาคเลือดที่ได้จากกรรมวิธีนี้” เลขที่คำขอ 0903001362 วันที่ 20 พฤศจิกายน 2552 (หน้าที่ 2)

แบบ สป/สผ/อสป/001-ก
หน้า 2 ของจำนวน 2 หน้า

8. การยื่นคำขอนอกราชอาณาจักร.

วันยื่นคำขอ	เลขที่คำขอ	ประเทศ	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	สถานะคำขอ
8.1				
8.2				
8.3				

8.4 ☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอสิทธิให้ถือว่าได้ยื่นคำขอนี้ในวันที่ได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรในต่างประเทศเป็นครั้งแรกโดย
☐ ได้ยื่นเอกสารหลักฐานพร้อมคำขอนี้ ☐ ขอยื่นเอกสารหลักฐานจากวันยื่นคำขอนี้

9. การแสดงการประดิษฐ์ หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรได้แสดงการประดิษฐ์ที่หน่วยงานของรัฐเป็นผู้จัด
วันแสดง วันเปิดงานแสดง ผู้จัด

10. การประดิษฐ์เกี่ยวกับจุลชีพ

10.1 เลขทะเบียนฝากเก็บ	10.2 วันที่ฝากเก็บ	10.3 สถาบันฝากเก็บ/ประเทศ

11. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอยื่นเอกสารภาษาต่างประเทศก่อนในวันยื่นคำขอนี้ และจะจัดยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ที่จัดทำเป็นภาษาไทยภายใน 90 วัน นับจากวันยื่นคำขอนี้ โดยขอยื่นเป็นภาษา
☐ อังกฤษ ☐ ฝรั่งเศส ☐ เยอรมัน ☐ ญี่ปุ่น ☐ อื่น ๆ

12. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้อธิบดีประกาศโฆษณาคำขอรับสิทธิบัตร หรือรับจดทะเบียน และประกาศโฆษณาอนุสิทธิบัตรนี้หลังจากวันที่ เดือน พ.ศ.
☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้ใช้รูปเขียนหมายเลข 1 ในการประกาศโฆษณา

13. คำขอรับสิทธิบัตรนี้ประกอบด้วย
ก. แบบพิมพ์คำขอ 2 หน้า
ข. รายละเอียดการประดิษฐ์ หรือคำพรรณนาแบบผลิตภัณฑ์ 6 หน้า
ค. ข้อถือสิทธิ 1 หน้า
ง. รูปเขียน 3 รูป 2 หน้า
จ. ภาพแสดงแบบผลิตภัณฑ์
☐ รูปเขียน รูป หน้า
☐ ภาพถ่าย รูป หน้า
ฉ. บทสรุปการประดิษฐ์ 1 หน้า

14. เอกสารประกอบคำขอ
☑ เอกสารแสดงสิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐ หนังสือรับรองการแสดงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์
☑ หนังสือมอบอำนาจ
☐ เอกสารรายละเอียดเกี่ยวกับจุลชีพ
☐ เอกสารการขอนับวันยื่นคำขอในต่างประเทศเป็นวันยื่นคำขอในประเทศไทย
☐ เอกสารอื่น ๆ

15. ข้าพเจ้าขอรับรองว่า
☑ การประดิษฐ์นี้ไม่เคยยื่นขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรมาก่อน
☐ การประดิษฐ์นี้ได้พัฒนาปรับปรุงมาจาก.....

16. ลายมือชื่อ (☑ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร; ☐ ตัวแทน)

(นายสามัคคี บุณยะวัฒน์)

หมายเหตุ บุคคลใดยื่นขอรับสิทธิบัตรการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ หรืออนุสิทธิบัตร โดยการแสดงข้อความอันเป็นเท็จแก่พนักงานเจ้าหน้าที่ เพื่อให้ได้ไปซึ่งสิทธิบัตร ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกินหกเดือน หรือปรับไม่เกินห้าพันบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ