แบบสรุปย่อการวิจัย

---

1. รายละเอียดเกี่ยวกับแผนงานวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง การวิจัยและพัฒนาเลือดจระเข้พันธุ์ไทยเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ

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

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

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 โทรศัพท 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

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณประจำปีงบประมาณ 2551 งบประมาณที่ได้รับ 3,209,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 ถึง กันยายน 2552

2. ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

อาหาร สิ่งแวดล้อม และพันธุกรรมเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเกิดโรคและการติดเชื้อโรคต่างๆ แหล่งพลังงานที่สำคัญของร่างกายจากโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน มาจากอาหาร ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมีส่วนสำคัญต่อการต้านทานการเกิดโรค งานวิจัยจำนวนมากให้ความสนใจในการวิเคราะห์หาสารอาหารจำเพาะที่อาจมีอันตรกิริยากับระบบภูมิคุ้มกันนี้ เสริมสร้างความแข็งแรงให้กับระบบฯ อันจะมีผลต่อการเสริมสร้างสุขภาพโดยรวมในประชากรทั่วไป หรืออาจเป็นแนวทางในการเยียวยาเพื่อการป้องกันหรือรักษาความผิดปกติต่างๆ ที่เกิดขึ้นในร่างกายของมนุษย์ เลือดเป็นสารน้ำที่สำคัญมาก และจัดเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของร่างกายสัตว์ โดยมีระบบไหลเวียนเลือดนำสารอาหารที่สำคัญไปเลี้ยงยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิวัฒนาการของสัตว์แต่ละชนิด เลือดสัตว์เป็นสารน้ำที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่ถูกใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมาเป็นเวลานาน ทั้งในลักษณะของส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพและเสริมสร้างความแข็งแรงให้กับร่างกาย 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 ผู้บริโภคนิยมใช้เนื้อเลือด และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ของจระเข้เป็นอาหาร อาหารเสริม และเครื่องยาสัตววัตถุ จระเข้จัดเป็นสัตว์สมุนไพรที่สำคัญ ซึ่งประชากรชาวเอเชียโดยเฉพาะในจีน ฮ่องกง และไต้หวัน มีความเชื่อว่า

การบริโภคเนื้อจระเข้ 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 ในกระบวนการผลิตของอุตสาหกรรมจระเข้เหล่านี้มีการชำแหละจระเข้ และมีเลือดเป็นผลิตผลเหลือใช้จากกระบวนการผลิต ซึ่งถ้าปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำจะกลายเป็นของเสียเกิดสภาวะแวดล้อมเป็น

พิษ จระเข้ถูกใช้เป็นสัตว์สมุนไพรและเครื่องยาสัตววัตถุในการรักษาทางการแพทย์แผนไทยมานานตั้งแต่อดีตที่มีจระเข้พันธุ์ไทยและจระเข้น้ำเค็มอาศัยอยู่ในธรรมชาติเป็นจำนวนมาก แพทย์แผนไทยรู้จักใช้เครื่องยาที่ได้จากจระเข้หลายอย่างที่สำคัญ ได้แก่ เขี้ยวจระเข้ น้ำมันจระเข้ ดีจระเข้ และหนังจระเข้ ข้อมูลการใช้ประโยชน์จากเลือดจระเข้ที่ได้เป็นเพียงคำบอกเล่าจากบรรพบุรุษและคนรู้จักที่น่าเชื่อถือ ตรงข้ามกับกับในประเทศจีน ชาวจีนรู้จักใช้ประโยชน์จากส่วนต่างๆ ของจระเข้มากกว่า 2,000 ปี โดยใช้ดี เลือด กระดูก และหนัง เป็นยา 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 ที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันที่ได้

รับมาตั้งแต่กำเนิด 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

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 แล้วจดสิทธิบัตรเพื่อคุ้มครองความคิดและการค้นพบเหล่านี้ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเดือนมีนาคมของปี ค. ศ. 2007 องค์กรความร่วมมือเพื่อการวิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมภายในประเทศ (Rural Industries Research and Development Corporation) ของรัฐบาลออสเตรเลีย ได้รายงานการศึกษาวิจัยผลิตภัณฑ์ใหม่จาก

สัตว์ 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 มีความเป็นไปได้ในการสัมฤทธิ์ผลต่ออาการผิดปกติ 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

3. วัตถุประสงค์การวิจัย

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

4. ระเบียบวิธีการวิจัย (โดยย่อ)

ในแผนงานวิจัยฯ (ปีที่ 1) นี้ ประกอบด้วยโครงการวิจัยจำนวน 6 โครงการย่อยที่ศึกษาคุณสมบัติของเลือดจระเข้ในแง่มุมต่างๆ อันจะนำมาซึ่งองค์ความรู้ใหม่ที่สำคัญเกี่ยวกับเลือดจระเข้

สายพันธุ์ไทยของเราเอง โดยมีโครงการบริหาร ทำหน้าที่ในการประสานโครงการย่อยต่างๆ ในแผนงานวิจัยฯ

4.1 โครงการวิจัยที่ 1: การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, หัวหน้าโครงการ รศ. ดร. จินดาวรรณ สิรันทวิเนติ)

การศึกษาวิจัยของปีที่ 1 จากระยะเวลาวิจัยทั้งหมด 3 ปี โดยทำการศึกษาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ โดยเฉพาะสารอินทรีย์ในกลุ่มของโปรตีนของเลือดจระเข้หรือจากส่วนแยกต่างๆ 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)

4.2 โครงการวิจัยที่ 2: การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต (หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, หัวหน้าโครงการ รศ. ดร. วิน เชยชมศรี)

ศึกษาการบริจาคเลือดจระเข้ 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

4.3 โครงการวิจัยที่ 3: ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของเลือดและส่วนประกอบของเลือดจากจระเข้พันธุ์ไทย (หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ , หัวหน้าโครงการ ผศ. ดร. ราตรี ลีละวงค์เทวัญ)

<u>การทดลองที่ 1</u> การทดสอบฤทธิ์เลือดครบแห้ง (Freeze dried whole blood; FDWB) ซีรัมสด (Fresh serum ;FS) และซีรัมแห้ง (Freeze dried serum; FDS) ของจระเข้พันธุ์ไทย ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (antibacterial activity) สายพันธุ์มาตรฐานและการยับยั้งการเจริญของรา (antifungal activity) โดยแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Staphylococcus aurease* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 นำไปทดสอบกับเลือดและส่วนประกอบของเลือดจระเข้เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยวิธี Microtitre plate-based antibacterial assay เชื้อราที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ เชื้อราก่อโรคและเชื้อราฉวยโอกาส ซึ่งพบเป็นสาเหตุในการก่อโรคทางการแพทย์ได้บ่อย เช่น *Candida albicans* และ *Cryptococcus neoformans* ซึ่งจัดเป็นเชื้อราชั้นต่ำหรือยีสต์ (yeast) นำ *Candida albicans* และ *Cryptococcus neoformans* มาทดสอบกับเลือดและส่วนประกอบของเลือดจระเข้เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราประเภทยีสต์ด้วยวิธี Broth microdilution antifungal susceptibility testing of yeasts ตามแนวทางของ CLSI M27 A2 ส่วนราสาย *Aspergillus sp.* ทดสอบกับเลือดและส่วนประกอบของเลือดจระเข้เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราประเภทราสาย ด้วยวิธี Broth microdilution antifungal susceptibility testing of molds ตามแนวทางของ CLSI M38 การทดสอบหาฤทธิ์ของเลือดและส่วนประกอบของเลือดจระเข้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย และเชื้อราโดยการหาค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

<u>การทดลองที่2</u> การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของส่วนประกอบของเลือดจระเข้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal bactericidal concentration; MBC) และ เชื้อรา (Minimal fungicidal concentration; MFC) นำตัวอย่างส่วนประกอบของเลือดที่ให้ผลบวกจากการหาค่า MIC มาหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 ได้ ซึ่งระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีเชื้อเจริญได้เลยถือเป็นค่า MBC นำตัวอย่างส่วนประกอบของเลือดที่ให้ผลบวกจากการหาค่า MIC มาหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *Cryptococcus neoformans* และ *Aspergillus* sp. โดยระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีเชื้อเจริญได้เลยถือเป็นค่า MFC

4.4 โครงการวิจัยที่ 4: การศึกษาฤทธิ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกินของแมโครเฟจและลิมโฟไซต์ (หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, หัวหน้าโครงการ ดร. กัลยา อารีย์)

การศึกษาฤทธิ์ของส่วนประกอบเลือดจระเข้ประเภทต่างๆ ในการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการกลืนกิน (phagocytosis) ของแมโครเฟจ รวมทั้งการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนและการหลั่งไซโทไคน์ (cytokine) ของ human peripheral blood mononuclear cell (85% lymphocyte) โดยนำตัวอย่างเลือดจระเข้น้ำจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ได้แก่ fresh whole blood (FWB), freeze dried whole blood (DWB), fresh serum/plasma (FS/FP), and freeze dried serum/plasma (DS/DP) มาศึกษาประสิทธิภาพในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกิน (phagocytosis) ของแมโครเฟจ (ดัดแปลงจาก Wan *et al*., 2007 และ Campbell *et al*., 1994) รวมทั้งการเพิ่มจำนวนของ human PBMC (ดัดแปลงจาก Attanavanich and Kearney, 2004) และการทดสอบการหลั่งอินเทอร์ลิวคิน 2 (IL-2) โดยใช้ human IL-2 ELISA development kit

4.5 โครงการวิจัยที่ 5: สารยับยั้งแองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ในเลือดจระเข้ไทย (หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, หัวหน้าโครงการ ดร. สิรินดา กุสุมภ์)

การใช้สารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติง (ACE inhibitor) เป็นวิธีหนึ่งที่ได้ผลในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง ดังนั้นจึงทำการศึกษาการผลิตเปปไตด์ที่สามารถเป็น ACE inhibitor จากเลือดจระเข้ไทย การย่อยด้วยเอนไซม์เปปซินและทริปซินที่สภาวะต่างๆ ถูกใช้ในการทดลองผลิต ACE inhibitory peptide จากเลือด ทดสอบความสามารถเป็นสารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซิน โดยใช้วิธีการของ Nakamura และคณะ ซึ่งเป็นการดัดแปลงมาจาก Cushman และ Cheung ใช้การทดสอบ activity ของ สารที่ได้เทียบกับ activity ของ ACE เมื่อไม่มีตัวยับยั้ง โดยใช้ Hippuryl-histidyl-leucine เป็นสารตั้งต้น รายงานผลเป็น % inhibition ของสารสกัด โดยการคำนวณ activity ของ ACE เมื่อไม่มีตัวยับยั้ง ว่าเป็น 0 % inhibition

4.6 โครงการวิจัยที่ 6: การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการสมานแผลของสารสกัดจากเลือดจระเข้ (หน่วยงานที่รับผิดชอบ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, หัวหน้าโครงการ พญ.ดร.บริสุทธิ์ แสนมโน หาญพานิช)

การหายของแผลมีได้สามลักษณะคือ การหายแบบปฐมภูมิ (Primary wound healing) การหายแบบทุติภูมิ (Secondary wound healing) และการหายแบบตติยภูมิ (Tertiary wound healing) ทั้งสามระยะจะมีกลไกตามธรรมชาติเพื่อซ่อมแซม คือ 1. ระยะอักเสบ (Inflammatory phase) 2. การสมาน แผลระยะที่มีการแบ่งตัวของเซลล์บริเวณบาดแผลเพื่อ

เสริมสร้างเนื้อเยื่อที่หายไป (Proliferate phase) และ 3. การหายระยะปรับโครงสร้างของแผล (Remodeling phase) ในการหายของแผลระยะที่ 2 ที่มีการแบ่งตัวของเซลล์บริเวณบาดแผลเพื่อเสริมสร้างเนื้อเยื่อที่หายไป (Proliferate phase) มีความสำคัญในการสร้างเนื้อเยื่อทดแทนในชั้นหนังแท้ (dermis) และชั้นหนังกำพร้า (epidermis) ดังนั้นการศึกษาการแบ่งตัวของเซลล์ชั้น dermis และ epidermis หรือเซลล์ Fibroblast และ Keratinocyte ตามลำดับ สามารถนำมาทดสอบนอกร่างกาย (*in vitro* experiment) ถึงการหายของแผลได้เพื่อบอกแนวโน้มการหายของแผล ดังนั้นจึงศึกษาผลของเลือดจระเข้ (ส่วนน้ำเลือดชนิดซีรัม (serum) และพลาสมา (plasma)) ที่มีต่อการหายของแผลโดยศึกษาผลของเลือดจระเข้ต่อเซลล์ (cytotoxicity test) โดยการทดสอบในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด fibroblast และ Keratinocyte และการทดสอบผลต่อการหายของแผลในสัตว์ทดลอง (Re-epithelization in animal model) คือหนูทดลอง Balb C mice model โดยใช้ครีม (cream base) ที่ผสมสารที่จะทดสอบ ได้แก่ serum, plasma และ เฮพาริน (heparin) สังเกตผลการสมานแผลเปรียบเทียบกับการสมานบาดแผลด้วยยามาตรฐานที่ใช้ทำแผล (zinc paste) และ cream base ทำการรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์และประเมินผลฤทธิ์ทางชีวภาพของเลือดจระเข้ต่อการหายของแผล

5. ผลการวิจัย

5.1 โครงการวิจัยที่ 1: การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย

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) รองลงมา คือ 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) ซึ่งพบในส่วนของซีรัมมีปริมาณของวิตามินเอมากกว่าในเลือดครบเกือบห้าเท่า 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 ใน

ส่วนเม็ดเลือด 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

5.2 โครงการวิจัยที่ 2: การพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต

การประเมินผลการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต จระเข้กลุ่มละ 3 ตัว ตามช่วงระยะเวลาในการเจาะแต่ละครั้ง คือ ที่เจาะเก็บเลือดทุก 4, 8 และ 12 สัปดาห์ และจระเข้กลุ่มควบคุม 3 ตัว เจาะ 10 มิลลิลิตรต่อตัว ทุก 4 สัปดาห์ โดยพิจารณาจากพฤติกรรมการกินอาหารการอยู่ร่วมกัน ผลการตรวจค่าทางโลหิตวิทยา ชีวเคมี และปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอล พบว่ากลุ่มทดลองมีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p> 0.05$) ดังนั้นในการบริจาคเลือดจระเข้ การเจาะเลือดแต่ละครั้งสามารถเจาะได้ไม่น้อยกว่า 100 มิลลิลิตร และมีช่วงห่างของระยะเวลาไม่น้อยกว่า 12 สัปดาห์ ซึ่งปริมาณการเจาะเลือดที่เหมาะสมในแต่ละครั้งควรมีการศึกษาต่อไป

5.3 โครงการวิจัยที่ 3: ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของเลือดและส่วนประกอบของเลือดจากจระเข้พันธุ์ไทย

การทดสอบฤทธิ์เลือดครบแห้ง (Freeze dried whole blood; FDWB) ซีรัมสด (Fresh serum ;FS) และซีรัมแห้ง (Freeze dried serum; FDS) ของจระเข้พันธุ์ไทยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานและเชื้อรา พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *S. typhimurium* ATCC 13311 และ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ในซีรัมสด 80 mg/ml (Fresh serum ;FS) คิดเป็นร้อยละ 23.30, 10.00, 40.00, 70.00 และ 86.67 ตามลำดับ และเซรัมแห้ง 100 mg/ml

(Freeze dried serum; FDS) คิดเป็นร้อยละ 30.00, 10.00, 43.33, 76.67 และ 90.00 ตามลำดับ โดย MIC/MBC อยู่ระหว่าง 12.50-100.00 mg/ml และ 25.00-100.00 mg/ml ตามลำดับ โดยมี cefazolin หรือ ceftaxidime เป็นสารควบคุมซึ่งให้ค่า MIC/MBC ต่อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ระหว่าง 0.97-31.25 μg/ml/1.95-62.50 μg/ml และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เช่น *C. neoformans* 250309 และ *Aspergillus niger* ของ FS คิดเป็นร้อยละ 90.00 และ 80.00 ตามลำดับ และ FDS คิดเป็นร้อยละ 100.00 และ 83.33 ตามลำดับ โดย MIC อยู่ระหว่าง 25.00-100.00 mg/ml โดยมี amphotericin B เป็นสารควบคุมซึ่งให้ค่า MIC 3.90 -7.81 μg/ml แต่อย่างไรก็ตามไม่พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในเลือดครบแห้ง 100 mg/ml และ ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและฤทธิ์ฆ่าเชื้อราทั้งใน FS และ FDS จากผลการทดลองที่ได้แสดงว่า FS และ FDS มีศักยภาพในการเป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิดได้

5.4 โครงการวิจัยที่ 4: การศึกษาฤทธิ์ของเลือดจระเข้พันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*) ในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกินของแมโครเฟจและลิมโฟไซต์

ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของกระบวนการกลืนกินของแมโครเฟจ (RAW 264.7) พบว่า เลือดจระเข้ทุกประเภทที่ใช้ทดสอบ ยกเว้น fresh whole blood (FWB) สามารถกระตุ้นให้ RAW 264.7 มีประสิทธิภาพในการกลืนกินแบคทีเรีย ทั้งชนิดแกรมบวก (*S. aureus*) และแกรมลบ (*E. coli*) เพิ่มสูงขึ้น โดยประสิทธิภาพการกลืนกิน *E. coli* เพิ่มสูงกว่าการกลืนกิน *S. aureus* เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งพบว่า RAW 264.7 มีการกลืนกิน *E. coli* เพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมประมาณ 2-9 เท่า ในขณะที่การกลืนกิน *S. aureus* เพิ่มขึ้น 1.5-3 เท่า และในบรรดาผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้ที่ใช้ทดสอบพบว่า 10 mg/ml freeze dried serum/plasma มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกินของเซลล์มากที่สุด โดยมีค่า phagocytic index ต่อ *S. aureus* เท่ากับ 505 ± 100 และ ต่อ *E. coli* เท่ากับ 387 ± 118 ค่าดังกล่าวของกลุ่มควบคุมเท่ากับ 163 ± 47 และ 41 ± 8 ตามลำดับ และเมื่อใช้แบคทีเรียที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสงในการทดสอบ และวิเคราะห์ด้วย flow cytometer สามารถตรวจพบฤทธิ์ของเลือดจระเข้ ในการเพิ่มประสิทธิภาพของการะบวนการกลืนกินของเซลล์ได้เช่นกัน นอกจากนี้เมื่อใช้ TransFluoSpheres fluorescent microspheres แทนการใช้แบคทีเรีย พบว่าเลือดจระเข้ทุกประเภท ยกเว้น FWB ช่วยให้เซลล์สามารถกลืนกินอนุภาค microspheres ได้เพิ่มขึ้น 2 ถึง 3 เท่า เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และเลือดจระเข้จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกินลดลงเมื่อนำไป heat inactivate ก่อนการทดสอบ สำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ PBMC ของมนุษย์ ด้วยการวัดระดับ BrdU ที่ถูกนำไปสร้าง DNA ภายในเซลล์นั้น พบว่าทั้ง fresh serum และ freeze dried serum สามารถกระตุ้นให้ PBMC มีการเพิ่มจำนวน ถึงแม้ว่าเลือดจระเข้จะเป็นพิษต่อเซลล์ในความเข้มข้นที่สูง โดยระดับการเพิ่มจำนวน

ของเซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นจาก 3.12% fresh serum และ 3.12 mg/ml freeze dried serum มีค่าใกล้เคียงกับระดับการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นจาก 0.8 μg/ml PHA ซึ่งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ระดับนี้อาจทำให้ตรวจไม่พบปริมาณ IL-2 ที่หลั่งจาก lymphocyte แต่อย่างไรก็ตามยังต้องมีการทดสอบที่แน่ชัดต่อไป เมื่อศึกษาคุณสมบัติของเลือดจระเข้ในการเสริมประสิทธิภาพกระบวนการกลืนกินของเซลล์ การกระตุ้นการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและการหลั่งไซโทไคน์ของ PBMC ดังกล่าวข้างต้น พบว่า ตัวอย่างเลือดจระเข้ชนิดซีรัมหรือพลาสมาระเหิดแห้งมีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มประสิทธิภาพการกลืนกินของเซลล์ ทั้งการกลืนกินแบคทีเรียและการกลืนกินอนุภาค microspheres ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ที่สำคัญน่าจะเป็นส่วนประกอบของน้ำเลือดมากกว่าเม็ดเลือด โดยเกิดขึ้นได้ทั้งแบบที่อาศัย และไม่อาศัยกระบวนการ opsonization นอกจากนี้ซีรัมในปริมาณความเข้มข้นต่ำยังสามารถกระตุ้นให้ PBMC เพิ่มจำนวนได้อีกด้วย

5.5 โครงการวิจัยที่ 5: สารยับยั้งแองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ในเลือดจระเข้ไทย

จากการศึกษาการผลิตเปปไตด์ที่สามารถเป็น ACE inhibitor จากเลือดจระเข้ไทยการย่อยด้วยเอนไซม์เปปซินและทริปซินที่สภาวะต่างๆ ถูกใช้ในการทดลองผลิต ACE inhibitory peptide จากเลือด ผลการทดลองพบว่า ACE inhibitor ที่มีฤทธิ์สูง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 447.35 μg/ml สามารถผลิตได้จากการใช้เอนไซม์เปปซินย่อยเลือดจระเข้เป็นเวลา 10 ชั่วโมง โดยส่วนของ Blood cell ที่แยกมาได้จากเลือดให้ฤทธิ์ที่สูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 404.12 μg/ml จากการศึกษาการจำลองสภาวะการย่อยอาหารในร่างกายมนุษย์พบว่า การรับประทานเลือดจระเข้สามารถผลิต ACE inhibitory peptide ได้เช่นกัน แต่ ACE inhibitory peptide ที่ผลิตได้มีฤทธิ์ต่ำกว่าเปปไตด์ที่ได้จากการใช้เอนไซม์เปปซิน

5.6 โครงการวิจัยที่ 6: การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการสมานแผลของสารสกัดจากเลือดจระเข้

การศึกษาผลของเลือดจระเข้ที่มีต่อการหายของแผลทั้งผลในหลอดทดลองและในร่างกาย (*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 เพราะเฮพารินมีผลเร่งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้ด้วยตัวมันเอง

6. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

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

6.2 ในการศึกษาเพื่อพัฒนากระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต ควรมีการศึกษาปริมาณเลือดที่มากขึ้นต่อไป เพื่อให้ได้ปริมาณ ที่มากและไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพของจระเข้

6.3 ซีรัมสด และซีรัมแห้งจากจระเข้พันธุ์ไทย มีศักยภาพในการเป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิดได้ ควรมีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ได้จาก Clinical isolate เนื่องจากเชื้อนี้มีความสำคัญทางการแพทย์ เป็นเชื้อก่อโรค และก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล รวมทั้งมีปัญหาการดื้อยาค่อนข้างมาก

6.4 ผลิตภัณฑ์เลือดจระเข้ทุกประเภท ยกเว้นเลือดครบสด มีคุณสมบัติในการเพิ่มประสิทธิภาพการกลืนกินของแมโครเฟจ โดยซีรัมหรือพลาสมาระเหิดแห้งมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นกระบวนการกลืนกินของเซลล์มากที่สุด อย่างไรก็ตามควรมีการทดสอบว่า คอมพลีเมนท์เป็นปัจจัยหลักในการเพิ่มประสิทธิภาพการกลืนกินของแมโครเฟจอย่างแท้จริงหรือไม่ หรือยังมีปัจจัยอื่นใดเกี่ยวข้องหรือไม่ อย่างไร นอกจากนี้ควรมีการทดสอบฤทธิ์ในการเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยโรคติดเชื้อต่าง ๆ

6.5 จากการศึกษาสารยับยั้งแองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติงเอนไซม์ในเลือดจระเข้ไทย โดยการจำลองสภาวะการย่อยอาหารในร่างกายมนุษย์พบว่า การรับประทานเลือดจระเข้สามารถผลิต ACE inhibitory peptide ได้ อย่างไรก็ตามควรมีการทดสอบฤทธิ์การลดความดันโลหิตทางคลินิก (Clinical Trial) ของเปปไตด์ที่ผลิตได้ เพื่อยืนยันการใช้เลือดจระเข้เป็นแหล่งผลิตของสารยับยั้งเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ตติง

6.6 การพัฒนาสารสกัดจากเลือดจระเข้เพื่อนำไปใช้ทางคลินิกควรจะต้องผ่านระบบการคัดกรองความบริสุทธิ์ของสารสกัดและความปลอดภัยที่อาจเกิดจากการปนเปื้อนทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์จากสัตว์

6.7 เนื่องด้วยปัญหาเรื่องสภาวะเศรษฐกิจที่ตกต่ำในปี พ. ศ. 2551-2552 มีผลกระทบต่ออุตสาหกรรมจระเข้ เป็นอุปสรรคต่อปริมาณตัวอย่างจระเข้ที่ใช้ในการวิจัย จึงจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างเลือดจระเข้ในปริมาณที่พอเหมาะกับงานวิจัยในโครงการต่างๆ ของแผนงานวิจัยฯ การวิจัยในขั้นต่อไปในปีที่ 2 ประกอบด้วย โครงการวิจัยต่อเนื่องจากโครงการที่ 1-2 และโครงการที่จะเริ่ม

ดำเนินการในปีที่ 2 ได้แก่ โครงการย่อยที่ 7 (การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์ต้านเชื้อ HIV และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเลือดจระเข้) โครงการย่อยที่ 8 (ผลของเลือดจระเข้ต่อการงอกของเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง และการปกป้องเซลล์ในภาวะเครียด จากอนุมูลอิสระ) โครงการย่อยที่ 9 (การพัฒนาไส้กรอกลดความดันไขมันต่ำเสริมใยอาหารเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ จากสารสกัดเลือดจระเข้ไทย) และโครงการย่อยที่ 11 การศึกษาทางคลินิกของผลิตภัณฑ์จากเลือดจระเข้แห้งเพื่อการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในคน การวิจัยในขั้นต่อไปดังกล่าว จึงควรมีการเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ สะสมไว้ก่อน และมีการนำการเจาะเก็บเลือดปริมาณมากเข้ามาช่วยในการเจาะเก็บเลือดจระเข้ เพื่อจะสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยให้เป็นไปได้ด้วยดี และประกันความเสี่ยงจากสภาวะเศรษฐกิจที่อาจผันผ่วน ซึ่งเป็นปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงจระเข้และอุตสาหกรรมจระเข้ในประเทศไทย

7. การนำไปใช้ประโยชน์

7.1 ผลงานวิจัยที่ได้จากแผนงานวิจัยฯ นำไปใช้เป็นข้อมูลทางวิชาการจากการศึกษาทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนองค์ประกอบหรือสารที่สำคัญ รวมถึงฤทธิ์หรือสรรพคุณที่มีอยู่ในเลือดจระเข้ โดยเฉพาะเลือดจระเข้พันธุ์ไทยซึ่งมีถิ่นกำเนิดและสามารถเพาะเลี้ยงได้อย่างดีในประเทศไทยของเรา สำหรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารวัตถุดิบจากเลือดจระเข้พันธุ์ไทย

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

7.3 การใช้ผลงานวิจัยที่ได้จากโครงการที่ 5 (สาร ACE ที่มีต่อความดันโลหิต) เป็นแนวทางการศึกษาและผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพ (Functional food) ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกลดความดันไขมันต่ำเสริมใยอาหาร ของโครงการย่อยที่ 9 (การพัฒนาไส้กรอกลดความดันไขมันต่ำเสริมใยอาหารเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ จากสารสกัดเลือดจระเข้ไทย)

7.4 การนำข้อมูลที่ได้จากการวิจัยของโครงการที่ 2 ประกอบเข้าในรายละเอียดการประดิษฐ์ เรื่อง “กระบวนการเจาะเก็บเลือดจระเข้โดยไม่ทำลายชีวิต และผลิตภัณฑ์ของจระเข้บริจาคเลือดที่ได้จากกรรมวิธีนี้” ของการขอรับอนุสิทธิบัตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เลขที่คำขอ 0903001362 ลงวันที่ 20 พฤศจิกายน 2552 ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการนำเลือดจระเข้ไปใช้เชิงพาณิชย์อย่างยั่งยืนในอนาคต