บทนำรวม

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

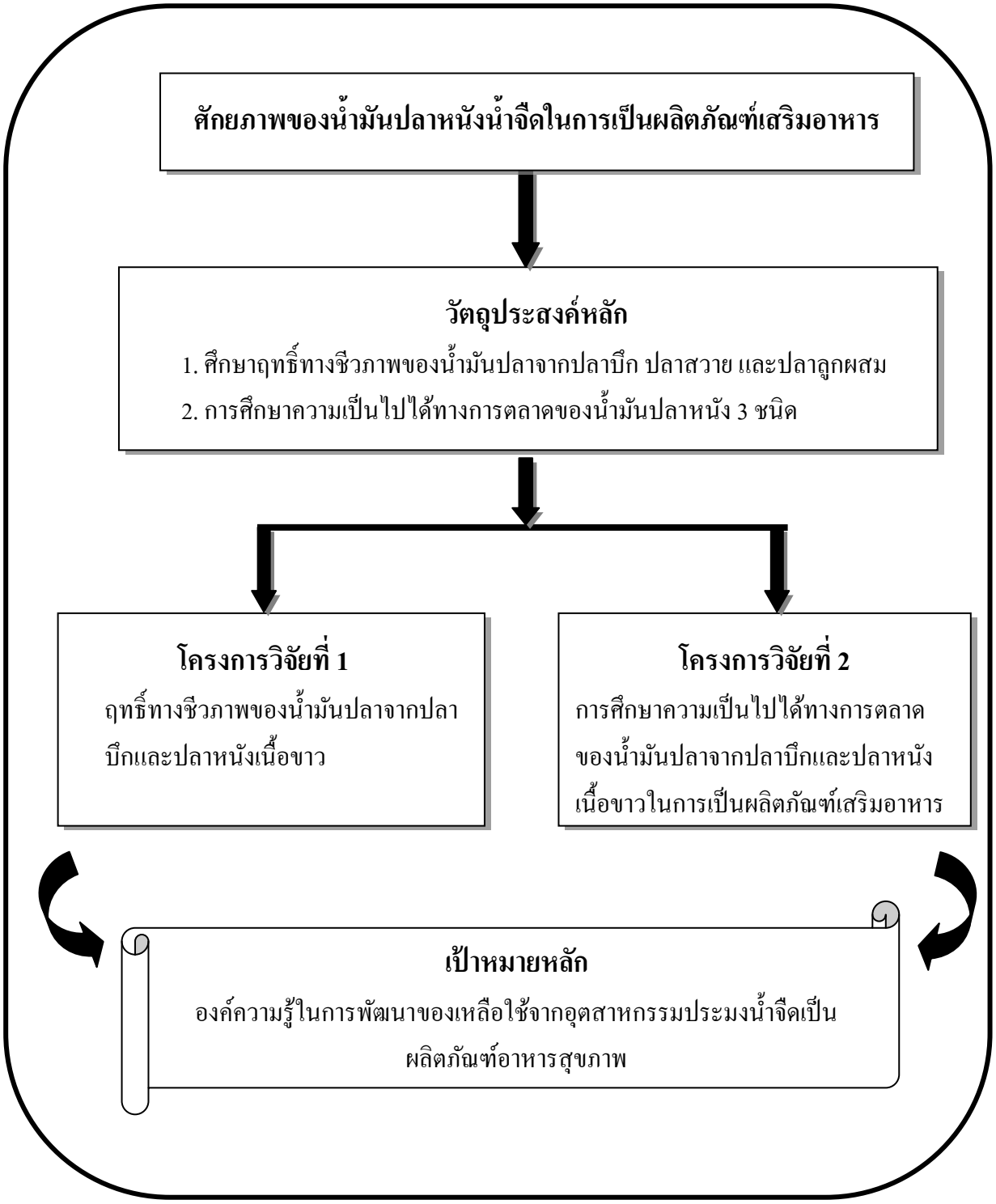
ปัจจุบันมีการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงปลาบึก และปลาหนัง เช่น ปลาเผาะ ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสมเนื้อขาว (พ่อเผาะ x แม่สวาย) เพิ่มมากขึ้น เนื่องมาจากความต้องการบริโภคปลาเป็นอาหารสุขภาพที่มีมากขึ้นทั้งตลาดในประเทศและต่างประเทศ ปลาบึกและปลาหนังมีกรดไขมันหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย โดยเฉพาะ กรดไขมัน omega-3 ชนิด DHA (docosahexaenoic acid) และ EPA (eicosapentaenoic acid) ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโต การพัฒนาของสมอง และช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ อย่างไรก็ตามการบริโภคมักจะนิยมบริโภคเฉพาะเนื้อปลาเท่านั้น ยังมีของเหลือใช้ที่ไม่ได้ถูกนำไปใช้เป็นประโยชน์หรือเพิ่มคุณค่า ประเทศไทยมีโรงงานอุตสาหกรรมหลายแห่งที่ส่งออกปลาเนื้อขาวในรูปปลาแล่เนื้อ (fillet) จึงทำให้มีไขมันที่เป็นของเหลือจากการแล่เนื้ออยู่เป็นจำนวนมาก และไม่ถูกนำไปใช้ประโยชน์ให้คุ้มค่า ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการวิจัยเพื่อเพิ่มมูลค่าจากไขมันในส่วนเหลือใช้ของปลากลุ่มนี้ให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านเภสัชกรรมและด้านอาหารเพื่อสุขภาพ โดยจะทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ และศึกษาความเป็นไปได้ทางการตลาดของไขมันจากปลาบึก ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสมเนื้อขาว เพื่อประเมินศักยภาพทางการตลาดของผลิตภัณฑ์น้ำมันปลาจากปลาหนังทั้ง 3 ชนิด

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันปลาจากปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม
2. การศึกษาความเป็นไปได้ทางการตลาดของน้ำมันปลาจากปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสมในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

3. รายละเอียดความเชื่อมโยงกับโครงการวิจัยย่อย

ปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสมมีกรดไขมันชนิด omega-3 เหมือนกับปลาทะเล การนำไขมันที่เหลือใช้จากปลาหนังทั้ง 3 ชนิด โดยนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจะทำให้ได้องค์ความรู้ ที่สนับสนุนการเพิ่มมูลค่าเชิงพาณิชย์ให้กับปลากลุ่มนี้ได้เป็นอย่างดี ส่วนการศึกษาความเป็นไปได้ทางการตลาด (Marketing Feasibility Study) ของผลิตภัณฑ์น้ำมันจากปลาหนังน้ำจืด เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของการบริหารจัดการผลผลิตงานวิจัย เพื่อทำให้เกิดคุณค่าเพิ่ม (Value Creation) ทำให้เห็นทิศทางของผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เกิดขึ้นว่าสามารถเข้าสู่การแข่งขันในเชิงธุรกิจได้หรือไม่ เป็นการเตรียมความพร้อมของผลิตภัณฑ์ที่จะผลักดันสู่การใช้งานในเชิงพาณิชย์ โดยสรุปแผนงานวิจัยแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แผนภูมิสรุปแผนงานวิจัยทั้งชุดโครงการ

4. ประโยชน์ที่ได้รับ

4.1 องค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยมุ่งสร้างมูลค่าเพิ่มแก่ของเหลือใช้จากอุตสาหกรรมประมง ที่มีเป้าหมายในการนำผลสำเร็จไปพัฒนาแปลงเป็นนวัตกรรมเชิงพาณิชย์ โดยสามารถนำไขมันที่เหลือใช้จากปลาน้ำจืดไปพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ

4.2 กระตุ้นให้ผู้บริโภคชาวไทยหันมาบริโภคปลาหนังน้ำจืดให้มากขึ้น ซึ่งจะเป็นผลดีทั้งในด้านการลดค่าใช้จ่ายในการดูแลสุขภาพของประชาชน และทำให้ประชาชนมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น โดยการนำเสนอผลงานวิจัยในระดับชาติ หรือการเผยแพร่บทความวิชาการผ่านสื่อต่างๆ

4.3 เป็นการสร้างโอกาส อาชีพ เพิ่มรายได้ให้แก่ กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาโดยตรง และ ส่งผลทางอ้อมในการช่วยให้กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงปลากลุ่มนี้เป็นทางเลือกอาชีพที่มั่นคงต่อไป

4.4 สามารถนำความรู้พื้นฐานที่ได้จากผลการวิจัยครั้งนี้ไปทำการศึกษาในเชิงลึกต่อไป

4.5 สามารถสร้างและส่งเสริมนักวิจัยหน้าใหม่อย่างน้อย 3 คน

4.6 ได้ผลงานวิจัยตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติอย่างน้อย 1 เรื่อง

4.7 ได้นำเสนอผลงานวิจัยในวารสารระดับนานาชาติอย่างน้อย 1 เรื่อง

4.8 เกิดความร่วมมือในระดับมหาวิทยาลัย

5. หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

5.1 โรงงานแปรรูปผลิตภัณฑ์ประมง

5.2 ผู้ผลิตอาหารสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

5.3 เกษตรกรและฟาร์มผู้เลี้ยงปลา

5.4 ผู้บริโภคที่รักสุขภาพ

โครงการวิจัยที่ 1

ฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันปลาจากปลาบึกและปลาหนังเนื้อขาว

บทนำ

ปัจจุบันมีการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงปลาบึก และปลาหนัง เช่น ปลาเผาะ ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสมเนื้อขาว (พ่อเผาะ x แม่สวาย) เพิ่มมากขึ้น เนื่องมาจากความต้องการบริโภคปลาเป็นอาหารสุขภาพที่มีมากขึ้นทั้งตลาดในประเทศและต่างประเทศ ปลาบึกและปลาหนังมีกรดไขมันหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย โดยเฉพาะ กรดไขมัน omega-3 ชนิด DHA (docosahexaenoic acid) และ EPA (eicosapentaenoic acid) ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโต การพัฒนาของสมอง และช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ อย่างไรก็ตามการบริโภคมักจะนิยมบริโภคเฉพาะเนื้อปลาเท่านั้น ยังมีของเหลือใช้ที่ไม่ได้ถูกนำไปใช้เป็นประโยชน์หรือเพิ่มคุณค่า เช่น ไขมันปลาซึ่งพบภายในบริเวณช่องท้องมีอยู่เป็นจำนวนมาก อีกทั้งประเทศไทยมีโรงงานอุตสาหกรรมหลายแห่งที่ส่งออกปลาเนื้อขาวในรูปปลาแล่เนื้อ (fillet) จึงทำให้มีไขมันที่เป็นของเหลือจากการแล่เนื้ออยู่เป็นจำนวนมาก และไม่ถูกนำไปใช้ประโยชน์

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการวิจัยเพื่อเพิ่มมูลค่าจากไขมันในส่วนเหลือใช้ของปลากลุ่มนี้ให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านเภสัชกรรมและด้านอาหารเพื่อสุขภาพ โดยจะทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของไขมันในปลาบึก ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสมเนื้อขาว ผลจากการทำวิจัย จะทำให้ได้องค์ความรู้สนับสนุนการนำปลาบึก ปลาสวาย และกลุ่มปลาหนังลูกผสมเนื้อขาวมาพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ (functional food) และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (nutraceutical product) เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มและนำไปสู่การใช้ประโยชน์จากปลากลุ่มนี้ได้ทั้งตัว และ ส่งผลโดยตรงในการเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาบึก ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสมเนื้อขาว นอกจากนี้ยังเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับประเทศได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันปลาจากปลาบึกและปลาหนังเนื้อขาว
2. ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของน้ำมันปลา

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ปลาบึกเป็นปลาน้ำจืดที่มีถิ่นกำเนิดเดิมในลุ่มแม่น้ำโขงเท่านั้น เป็นปลาที่เจริญเติบโตดีที่สุด เนื้อปลาบึกนอกจากมีรสชาติดีแล้ว ยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูงอีกด้วย โดยประกอบไปด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และกรดไขมันหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ได้แก่กรดไขมันชนิด omega-3, omega-6 และomega-9 (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2551)

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของปลาบึกขนาด 20-30 กิโลกรัม จากบ่อเลี้ยง จรัลฟาร์ม อ. พาน จ.เชียงราย ต่อเนื้อปลา 100 กรัม (หน่วย: มิลลิกรัม/100 กรัม)

รายการวิเคราะห์	เนื้อปลา	เนื้อส่วนท้อง	ไขมัน	หนังปลา
โปรตีน (%)	20.0	17.5	0.1	33.5
ไขมัน (%)	5.7	24.8	85.7	2.2
กรดไขมันทั้งหมด	3,900	19,360	40,070	-
กรดไขมันอิ่มตัว	1,720	8,330	16,610	-
กรดไขมันไม่อิ่มตัว ตำแหน่งเดียว	1,300	6,550	13,980	-
กรดไขมันไม่อิ่มตัว หลายตำแหน่ง	850	4,390	9,480	-
กรดโอเลอิก	1,080	5,340	11,420	-
กรดไลโนเลอิก	420	2,050	4,580	-
EPA	0	140	390	-
DHA	150	740	1,520	-

หมายเหตุ ที่มากองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง รายงานผลการวิเคราะห์คุณค่าอาหาร เลขที่อ้างอิง BT/230549/01

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบปริมาณโคเลสเตอรอล และไขมันโอเมก้า-3 ชนิด DHA และ EPA

ชนิดปลา	โคเลสเตอรอล	DHA (มิลลิกรัม/100 กรัม)	EPA (มิลลิกรัม/100 กรัม)
ปลาทูน่า	-	2877	1288
ปลาสวายลูกผสม (Thai Panga Fish)	10	1890	680
ปลาแมกเคอเรล	-	1718	1214
ปลาซาร์ดีน	-	1136	1381
ปลาเทราต์	-	983	247
ปลาแซลมอล	-	820	492
ปลาช่อน	44	710	160
ปลาทู	76	778	636

แหล่งที่มา: ข้อมูลจากสถาบันอาหาร เว็บไซต์: http://www.nfi.or.th

จากตารางที่ 1 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของปลาบึกจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดเชียงราย ส่วนตารางที่ 2 แสดงค่าของกรดไขมัน EPA และ DHA ของปลาลูกผสมเปรียบเทียบกับปลาทะเล โดยพบว่าปริมาณสัดส่วนของ DHA:EPA ของปลาบึกจากตารางที่ 1 มีสูงกว่าปลาลูกผสมและปลาทะเลจากตารางที่ 2 โดยทั่วไปน้ำมันปลา (fish oil) จะมีกรดไขมัน DHA 12% EPA 18% นักวิทยาศาสตร์จึงสนใจว่ากรดไขมันชนิดไหนใน 2 ตัวนี้ทำงานได้ผลดีกว่ากัน มีงานวิจัยผลการศึกษาเกี่ยวกับกรดไขมัน DHA และ EPA สรุปได้ดังนี้ การบริโภคกรดไขมัน DHA ชนิดเดียวจะสามารถเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมัน EPA ได้ และพบกรดไขมันชนิดนี้มีความเข้มข้นสูงในอวัยวะที่สำคัญคือ สมอง เซลล์ประสาท จอภาพนัยตา (retina) และลูกอัณฑะ ส่วนการบริโภคกรดไขมัน EPA ชนิดเดียวมีคุณสมบัติทำให้ความเข้มข้นของเลือดลดลง และเม็ดเลือดแดงปรับรูปร่างได้ง่าย ซึ่งเป็นผลดีต่อสุขภาพของหัวใจ ป้องกันการเกิดโรคของหลอดเลือดและหัวใจ แต่จะมีผลต่อการแข็งตัวของเกร็ดเลือด (platelet aggregration) เนื่องจาก กรดไขมัน EPA จะเพิ่มเวลาทำให้เลือดหยุดไหลให้นานขึ้นกว่ากรดไขมัน DHA ซึ่งเป็นข้อควรระวังในการรับประทานน้ำมันปลา ดังนั้น กรดไขมัน DHA จึงเป็นกรดไขมันจำเป็นที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและสำคัญมากกว่ามากกว่ากรดไขมันที่จำเป็นชนิดอื่น โดยเฉพาะมีความสำคัญมากต่อการพัฒนาสมอง และจอประสาทตา หากบกพร่องจะทำให้เกิดโรคได้ (สมศักดิ์, 2551)

สมาคมโรคหัวใจของสหรัฐอเมริกาแนะนำให้คนทั่วไปรับประทานอาหารหรืออาหารเสริม ที่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่งชนิด omega -3 เป็นกรดไขมันจำเป็น เช่น EPA และ DHA เนื่องจากสามารถช่วยลดอัตราการตายจากโรคหลอดเลือดหัวใจได้ (DeFilippis and Sperling, 2006)

กรดไขมันชนิด omega-3 และ omega-6 เป็นกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับร่างกาย แต่ร่างกายไม่สามารถผลิตเองต้องได้รับจากสารอาหาร น้ำมันปลาจากตับของปลาเนื้อขาว เช่น ปลาค็อด หรือเนื้อของปลาที่มีมันมาก เช่น ปลาแซลมอล มีกรดไขมันชนิด omega-3 (กรด linolenic) ชนิดกรด docosahexaenoic (DHA) และ กรด eicosapentaenoic (EPA) ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยลดไขมันในเลือด ป้องกันการเกิดโรคหัวใจชลอขบวนการอักเสบ พัฒนาสมองของทารกในช่วงสามเดือนสุดท้ายของการตั้งครรภ์ และพัฒนาการมองเห็นภาพ และการได้ยินของเด็กที่กำลังเจริญเติบโต (Carlson et al., 1994; Horrocks and Yeo, 1999; เออร์เซล, 2548) ส่วนกรดไขมันชนิด omega-6 (กรด linoleic) พบมากในอาหารจำพวกปลาและน้ำมันพืช มีคุณสมบัติช่วยลดอาการผิวหนังอักเสบ และบรรเทาอาการปวดประจำเดือน (เออร์เซล, 2548)

น้ำมันจากปลาทะเล เช่น ปลาแซลมอล ปลาซาร์ดีน ปลาเทราต์ ได้รับความนิยมในการบริโภคเป็นอย่างมากในรูปผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ เนื่องจากมี กรดไขมันชนิด omega-3 ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับร่างกาย และมีคุณสมบัติป้องกันโรคหัวใจ โดยสามารถลดระดับ Triglyceride ในกระแสเลือด ลดระดับความดันโลหิต ลดการเต้นผิดปกติของหัวใจได้ (Horrocks and Yeo, 1999; เออร์เซล, 2548) นอกจากนี้มีรายงานวิจัยพบว่าการบริโภคน้ำมันปลาช่วยให้ความจำดีขึ้นอีกด้วย (Gustafson et al., 2008; Whelan, 2008) ส่วนเนื้อ และน้ำมันจากปลาบึกซึ่งพบกรดไขมันชนิด omega-3 เช่นกัน ยังไม่มีการรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพหรือฤทธิ์ทางยาเลย และจากความเชื่อเรื่องการบริโภคเนื้อปลาบึกว่าจะทำให้อายุยืน

และมีสติปัญญาเฉียบแหลมดังในอดีตให้ฉายาปลาบึกว่าเป็นปลาขงเบ้ง จึงควรจะมีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันจากปลาบึกเพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนการใช้ประโยชน์อย่างแท้จริง

โรคเรื้อรังบางชนิดมีสาเหตุมาจากสารอนุมูลอิสระ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน โรคเบาหวาน โรคมะเร็งรวมถึงภาวะชราก่อนวัยอันควร ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เกิดขึ้นได้จากเมตาบอลิสซึมของร่างกาย หรือเกิดจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น ควันบุหรี่ ความเครียด รังสี ยาบางชนิด และมลพิษต่างๆ เป็นต้น โดยอนุมูลอิสระ (free radicals) หรือ Reactive Oxygen Species จัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีและในภาวะที่มีสารอนุมูลอิสระมากไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น (Oxidative stress) และจากสาเหตุดังกล่าวจะส่งผลให้เกิดการถูกทำลายของดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน อย่างไรก็ตามร่างกายมีระบบควบคุมสมดุลของระดับอนุมูลอิสระ โดยมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ที่ทำลายอนุมูลอิสระโดยจับกับสารอนุมูลอิสระทำให้เกิดการลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้น หรือยับยั้งการเกิด ปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยร่างกายจะมี ระบบควบคุมสมดุลของระดับอนุมูลอิสระ 2 แบบ คือ ระบบที่เป็นเอนไซม์ (Enzymatic antioxidants) ได้แก่ superoxide dismutase, glutathione peroxidase และ catalase เป็นต้น และระบบที่ไม่ใช่เอนไซม์ (Non-enzymatic antioxidants) ได้แก่ ascorbic acid , tocopherol, glutathione (GSH), carotenoids และ flavonoids เป็นต้น ดังนั้นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจึงได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก

มีรายงานการวิจัยพบว่า กรดไขมัน DHA ที่เยื่อหุ้มเซลสมองในหนูที่แก่ตัวขึ้นลดลงเกิดจากเนื้อสมองถูกทำลายจากอนุมูลอิสระ (Shiro et.al., 1996) ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจะช่วยป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เหล่านี้ได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้นำน้ำมันจาก ไขมันปลาบึก (crude oil) มาทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นในการทดลอง DPPH Assay ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ พบว่า crude oil ของปลาบึกในขนาด 0.6-1 กรัม สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ 15-91 % ดังนั้นไขมันปลาบึกจึงมีศักยภาพเหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

อนุมูล superoxide radicals ($O_2^{-\bullet}$)เป็นอนุมูลที่สำคัญและมีการสร้างขึ้นได้ในกระบวนการต่างๆของร่างกาย และยังเป็นตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆอีกมากมาย การศึกษาความสามารถในการจับกับ $O_2^{-\bullet}$ วิธีนี้ทำโดยการสังเคราะห์ $O_2^{-\bullet}$ จากปฏิกิริยา ออกซิเดชันของสารในระบบ Phenazine methosulphate (PMS) – Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) อนุมูล $O_2^{-\bullet}$ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับสาร Nitroblue tetrazolium (NBT) เกิดเป็นสารสีน้ำเงิน ถ้าสารสกัดทดสอบมีความสามารถในการยับยั้ง $O_2^{-\bullet}$ radical จะทำให้สีจางลงได้ (Nikishimi *et al*., 1972)

ปัจจุบันมีการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงปลาบึกและปลาหนังเนื้อขาว เช่น ปลาสวายลูกผสม ปลาเผาะมากขึ้น เนื่องมาจากความต้องการของผู้บริโภคที่มีมากขึ้นทั้งตลาดในประเทศและต่างประเทศ อย่างไรก็ตามการบริโภคมักจะนิยมบริโภคเฉพาะเนื้อปลาเท่านั้น ยังมีของเหลือใช้ที่ไม่ได้ถูกนำไปใช้เป็นประโยชน์หรือเพิ่มคุณค่า เช่น ไขมันปลาซึ่งพบภายในบริเวณช่องท้อง ลำไส้ และยังพบไขมันแทรกอยู่ในเนื้อปลาเป็น

จำนวนมาก จึงควรมีการทำวิจัยเพื่อเพิ่มมูลค่าของไขมันในส่วนเหลือใช้เหล่านี้ ให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านเภสัชกรรมและด้านอาหารเพื่อสุขภาพ

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

1. จัดหาและเตรียมน้ำมันปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสมเพื่อการทดสอบ โดยเลือกใช้วิธีการบีบ (Pressing) ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและนิยมใช้กันมาก ได้รับความอนุเคราะห์ก้อนไขมันปลาบึกจากจรัลฟาร์ม อ.พาน จ.เชียงราย ก้อนไขมันปลาสวายจากบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ ประเทศเวียดนาม และก้อนไขมันปลาหนังลูกผสมจากไทยปังก้าฟาร์ม อ.ยางตลาด จ.กาฬสินธุ์

โดยนำส่วนของก้อนไขมันปลาที่เหลือจากการแล่เนื้อไปนึ่งด้วยไอน้ำที่ 90-100 องศาเซลเซียส (^{o}C) เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำเข้าเครื่อง hydraulic press บีบขณะที่ยังร้อนอยู่เพื่อแยกส่วนที่เป็นของเหลวออกจากกาก แล้วดูดเฉพาะส่วนของน้ำมันที่อยู่ที่ผิวหน้ามารวมใส่หลอด centrifuge นำน้ำมันที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,700 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้น้ำมันดิบ (crude oil) อยู่ในส่วนบนของหลอด แล้วนำไปศึกษาลักษณะทางกายภาพ เช่น สี ความหนืด ความถ่วงจำเพาะ ความขุ่น จุดควัน (smoke point) และ การปนเปื้อนของน้ำ เป็นต้น และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป ขั้นตอนการเตรียม crude oil แสดงในรูปที่ 2

รูปที่ 2 การเตรียมน้ำมันปลา (crude oil)

2. การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันใช้วิธีการของ OECD Test Guideline 425 (OECD, 2006) ทำการป้อน crude oil จากปลา 3 ชนิดในขนาด 5 กรัม/กก. ในหนูเพศเมียที่อดอาหารมาแล้ว 1 คืน จำนวน 5 ตัว ป้อนน้ำกลั่นเป็นกลุ่มควบคุม สังเกตอาการทุกๆ 15 นาทีจนครบ 4 ชม. หากไม่พบอาการผิดปกติ ให้สังเกต

ต่อไปจนครบ 14 วัน ชั่งน้ำหนัก และสังเกตอาการของหนูทุกวัน โดยมีการให้น้ำและอาหารตามปกติ เมื่อครบ 14 วัน ทำการผ่าซาก (atopsy) เพื่อดูความผิดปกติของอวัยวะภายใน โดยเปรียบเทียบกับหนูขาวกลุ่มควบคุม

3. ศึกษาลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ (crude oil) ปลาบึก ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสม ได้แก่ สี ความหนืด ความขุ่น ความถ่วงจำเพาะ การปนเปื้อนของน้ำ จุดหลอมเหลว และจุดควัน

วิธีการทดลอง

3.1 การวัดค่าสี (L*, a* b*) ของ crude oil ซึ่งมีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้องขณะทำการทดลอง (30 ^{o}C) และที่มีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง Tri-Stimulus colorimeter (JUKI: model JC801)

3.2 การวัดค่าความหนืดของ crude oil ที่มีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง VISCOTESTER (ROIN: model VT-04) และการวัดความหนืดโดยการไหลผ่านช่อง (Orifice) โดยวัดระยะเวลาที่ crude oil ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ไหลผ่านช่องเปิดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.2 มิลลิเมตร ที่ระดับความสูง 30 เซนติเมตร

3.3 การวัดค่าความขุ่นของ crude oil ที่มีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง Turbidimeter (HACH: model 2100 N)

3.4 การวัดค่าความถ่วงจำเพาะของ crude oil ที่มีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้ขวดวัดความถ่วงจำเพาะ (Specific-gravity bottle) ขนาด 100 มิลลิลิตร

3.5 การวัดการปนเปื้อนของน้ำใน crude oil ด้วยวิธี Air oven method หรือ AOSC method Ca 2c-25 (O'Brien, 2004)

3.6 การวัดจุดหลอมเหลว (Melting point) ของ crude oil โดยดัดแปลงจากวิธี Softening point หรือ AOSC method Cc 3-25 (O'Brien, 2004)

3.7 การวัดจุดควัน (Smoke point) ของ crude oil โดยดัดแปลงจาวิธี AOSC method Cc 9a-48 (O'Brien, 2004)

4. ตรวจหาชนิดและปริมาณกรดไขมันที่พบใน crude oil ของปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม โดยการทำ GC (Gas-chromatography) ด้วยวิธีการ AOAC official method 996.06 fat (2001) ภายใต้ condition ดังนี้ Injection prot: 250 ^{o}C, FID Detector: 250 ^{o}C, Oven Temperature profile: Initial temp. 140 ^{o}C; hold 5 min., Increase temp. 3 ^{o}C/min. to 250 ^{o}C; hold 17 min., Run time: 55 min., Cappillary column: Supelco SP-2560, GCFID: Agilent Model 6890N

5. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสม โดยทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล ABTS (Scavenging activity of ABTS radical cation) โดยดัดแปลงวิธีการของ Re et al. (1999) ดังนี้ ผสมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร กับสารละลาย $K_2S_2O_8$ ความเข้มข้น 140 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 88 ไมโครลิตร ในขวดสีชา ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด

เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จะได้ stock ABTS radical cation ก่อนการทดสอบเจือจาง stock ABTS radical cation ด้วย 95% แอลกอฮอล์ ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.700 ± 0.05 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เริ่มการทดสอบโดยเตรียมตัวอย่าง crude oil ของปลาบึก สวาย และลูกผสมที่ความเข้มข้น 21.25-170, 19-95 และ 17-136 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง และใช้ 95% แอลกอฮอล์ เป็นชุดควบคุม ต่อมาเติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาทีแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร หลังจากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณหา % inhibition ตามสมการดังนี้

$$\% \text{ Inhibition} = [(Abs._{control} - Abs._{test\ sample}) / Abs._{control}] \times 100$$

$Abs._{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

$Abs._{test\ sample}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ

6. การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระและตรวจระดับไขมันในเลือดของหนูขาวที่บริโภคน้ำมันปลาบึก ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสม

วิธีการทดลอง

ทำการเหนี่ยวนำให้หนูเกิดภาวะไขมันในเลือดสูงด้วยการให้อาหารที่มีไขมันสูง (ปริมาณไขมัน 60% ของจำนวนพลังงานทั้งหมดในอาหาร) เป็นเวลา 1 สัปดาห์จากนั้นให้ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสมร่วมด้วย เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยสัตว์ทดลอง จะได้รับอาหารไขมันสูงต่อเนื่องจนสิ้นสุดการทดลอง ทำการบันทึกน้ำหนักทุกวัน ตรวจระดับน้ำตาล และไตรกลีเซอไรด์ทุกๆ 4 สัปดาห์ตลอดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวัดระดับน้ำตาล glucose, Triglyceride (TG), Free Fatty Acid (FFA), Cholesterol (Cho), High density lipoprotein cholesterol (HDL), Glutathione (GSH) Malondehyde (MDA) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้อาหารปกติ และกลุ่ม positive control ที่ได้รับอาหารปกติร่วมกับน้ำมันปลา (fish oil) ในขนาด 0.5 มล./กก. โดยการป้อนเข้าปากทุกวัน น้ำมันปลาที่ใช้ในการทดลองมีขายในท้องตลาดยี่ห้อ Biogrow fish oil เป็นสินค้านำเข้าจากประเทศนิวซีแลนด์ มีขนาด 500 และ 1,000 มก./แคปซูล ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า 3 ชนิด docosahexaenoic acid (DHA) และ eicosapentaenoic acid (EPA) ในปริมาณ 120 และ 180 มก.% ตามลำดับ

การวิเคราะห์ทางชีวเคมีในพลาสมา

ทำการตรวจวัดระดับพลาสมา glucose, triglyceride (TG) และ cholesterol โดยใช้เทคนิค enzymatic test โดยใช้ commercial kit และทำการตรวจวัดระดับพลาสมา insulin ใช้เทคนิคการตรวจวัดวิธี ELISA โดยใช้ commercial kit โดยมีรายละเอียดดังนี้

การวัดระดับกลูโคสในพลาสมา โดยใช้วิธี enzymatic colorimetric method ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotech ประเทศไทย โดยมีหลักการคือ กลูโคสในตัวอย่างที่ทดสอบจะถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์ glucose oxidase ไปเป็น gluconate และ hydrogenperoxide (H_2O_2) ต่อมา peroxides ของ H_2O_2 จะทำปฏิกิริยากับ chromogen แล้วเกิดสารสีแดงขึ้น (red-chinonimin) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 505 nm ด้วย spectrophotometer (UV-1700, UV-visible spectrophotometer, Shimadzu) ปริมาณสีที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณกลูโคสที่มีอยู่ในตัวอย่างที่ทดสอบ โดยนำมาเปรียบเทียบกับค่ากลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (standard curve of the glucose concentration)

การวัดระดับไตรกลีเซอไรด์ (TG) ในพลาสมา โดยใช้วิธี enzymatic colorimetric method ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Biotech ประเทศไทย โดยมีหลักการคือ TG ในตัวอย่างที่ทดสอบจะถูกไฮโดรไลซ์โดยเอนไซม์ lipoprotein lipase ไปเป็น glycerol และ free fatty acids จากนั้น glycerol จะถูกออกซิไดซ์ไปเป็น DAP และ H_2O_2 จากนั้นเอนไซม์ peroxides ใน substrate-chromogen solution จะเร่งการเกิดปฏิกิริยาเกิดสีขึ้น (color complex-quinonimine) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 505 nm ด้วย spectrophotometer ปริมาณสีที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ TG ที่มีอยู่ในตัวอย่างที่ทดสอบ โดยนำมาเปรียบเทียบกับ ค่า TG ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (standard curve of triglyceride or glycerol concentration)

การวัดระดับกรดไขมัน (FFA) ในพลาสมา โดยใช้วิธี enzymatic colorimetric method ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท NEFA C, Wako Pure Chemical ประเทศญี่ปุ่น โดยมีหลักการคือ FFA ในตัวอย่างที่ทดสอบจะถูกเปลี่ยนไปเป็น Acyl-CoA โดยเอนไซม์ Acyl-CoA syntase จากนั้น Acyl-CoA จะถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็น H_2O_2 และทำปฏิกิริยากับ substrate-chromogen solution เกิดสารสีม่วงขึ้น จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 nm ด้วย spectrophotometer ปริมาณสีที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ FFA ที่มีอยู่ในตัวอย่างที่ทดสอบ โดยนำมาเปรียบเทียบกับค่า FFA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (standard curve of triglyceride or glycerol concentration)

การวัดระดับอินซูลิน (insulin) ในพลาสมา โดยใช้วิธี Sandwich ELIZA method จากชุดน้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท LINCO Research ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นวิธีตรวจวัดระดับปริมาณอินซูลินโดยมีหลักการ คือ เคลือบพื้นผิวของ solid phase ด้วย anti-rat-insulin antibody เติม antigen หรือสารตัวอย่างลงไปทำปฏิกิริยา ทำการล้างส่วนเกินที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยาออก แล้วเติม antibody ซึ่งติดฉลากด้วยเอ็นไซม์ peroxidase ลงไปทำปฏิกิริยาอีกชั้นหนึ่ง จากนั้นใส่ substrate ให้ เอ็นไซม์ย่อย แล้วดูสีที่เปลี่ยนแปลง โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 590 nm ด้วย spectrophotometer ปริมาณสีที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณอินซูลินที่มีอยู่ในตัวอย่างที่ทดสอบ โดยนำมาเปรียบเทียบกับค่าอินซูลินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (standard curve of insulin concentration)

วิธีการทดสอบความทนทานต่อกลูโคส ภายหลังสัตว์ทดลองถูกอดอาหารเป็นเวลา 12 - 14 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างเลือด (~0.5 มล.) เป็นค่าเริ่มต้น ณ นาทีที่ 0 โดยการตัดหางหนู จากนั้นป้อนสารละลาย

กลูโคส (ขนาด 2 g/kg BW) เข้าปากทันทีและทำการเก็บตัวอย่างเลือด ณ นาทีที่ 15, 30, 60, 90 และ 120 หลังจากป้อนสารละลายกลูโคส ตัวอย่างเลือดจะถูกนำมาปั่นเพื่อแยกพลาสมา โดยพลาสมาที่ได้จะถูกเก็บไว้ที่ -70°C เพื่อตรวจหาระดับกลูโคสและอินซูลิน

ความไวในการตอบสนองของเนื้อเยื่อร่างกายต่ออินซูลิน (whole body insulin resistance) จะประเมินโดยใช้ HOMA index (HOMA = ผลคูณของระดับอินซูลิน (uU/ml)และระดับกลูโคส (mmol/l)ในพลาสมา /22.5) ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของระดับกลูโคสในพลาสมาหลังจากป้อนสารละลายกลูโคสในการทดสอบความทนทานกลูโคสโดยจะแสดงในค่าของพื้นที่ใต้กราฟ (area under curve, AUC)

การตรวจประเมินภาวะ oxidative stress โดยการวัดระดับ GSH และ lipid peroxides (วัดปริมาณ malondehyde) ใช้วิธี enzymatic test โดยใช้ commercial kit รายละเอียด ดังนี้

<u>การวัดปริมาณกลูตาไธโอน</u> นำพลาสมามาละลายในสารละลายจากบัฟเฟอร์ด้วยเครื่อง homogenizer ที่อุณหภูมิ 4 °C จากนั้นนำเอา homogenate มาทำการปั่นแยกเอาส่วน supernatant หาปริมาณกลูตาไธโอนโดยนำส่วนของ supernatant ของตัวอย่างที่เตรียมมาตกตะกอนโปรตีนแล้วมาเติมสารละลายบัฟเฟอร์ที่ประกอบด้วย ß-NADPH และ glutathione reductase ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์พอครบเวลาทำการเติมสารละลาย 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic)acid นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร โดยใช้ชุดน้ำยาตรวจ เทียบหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีน

<u>การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์จากปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น</u> นำพลาสมามาละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ด้วยเครื่อง homogenator ที่อุณหภูมิ 4°C จากนั้นตกตะกอนโปรตีนด้วย trichloroacetic acid ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำมาทำการปั่นแยกเอาส่วน supernatant เพื่อมาทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid ที่อุณหภูมิ 100°C จากนั้นทำการแยกผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาด้วยบิวทานอลผสม pyridine นำไปทำการปั่นแยกส่วนสารละลายและบิวทานอลออกจากกัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยใช้ชุดน้ำยาตรวจโดยเทียบหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีน

การเตรียมสัตว์ทดลอง

หนูขาวเพศผู้พันธุ์ wistar น้ำหนักตัว 200 - 250 กรัม สั่งซื้อจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล จ.นครปฐม เลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิและแสงสว่าง อาหารสัตว์ทดลองจัดซื้อจากบริษัท เพอร์เฟคคอมพาเนียน จำกัด จ.กรุงเทพมหานคร โดยแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มกลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว ได้แก่

กลุ่มที่ 1: กลุ่มหนูควบคุม (normal control: ND)

กลุ่มที่ 2 : กลุ่มหนูได้รับอาหารไขมันสูง (High fat diet control: HFC)

กลุ่มที่ 3 : กลุ่มหนูได้รับอาหารไขมันสูง ร่วมกับ positive control of fish oil (High fat diet+ positive fish oil: HF+)

กลุ่มที่ 4: กลุ่มหนูได้รับอาหารไขมันสูง ร่วมกับไขมันปลาบึก
(High fat diet+ ไขมันปลาบึก: HFบึก)
กลุ่มที่ 5: กลุ่มหนูได้รับอาหารไขมันสูง ร่วมกับไขมันปลาสวาย
(High fat diet+ ไขมันปลาสวาย: HFสวาย)
กลุ่มที่ 6: กลุ่มหนูได้รับอาหารไขมันสูง ร่วมกับไขมันปลาลูกผสม
(High fat diet+ ไขมันปลาลูกผสม: HFลูกผสม)

สัตว์ทดลองในกลุ่มที่ 2, 3, 4, 5, และ6 จะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะอ้วน โดยการให้อาหารไขมันสูง คิดเป็นปริมาณไขมัน 60 % ของจำนวนพลังงานทั้งหมดในอาหาร ส่วนประกอบของอาหารไขมันสูงอ้างอิงมาจาก Wilkes, Bonen and Bell (1998) โดยให้เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สูตรอาหารหนูแสดงในตารางที่ 3 สัตว์ทดลองทุกกลุ่มจะได้รับอาหารและน้ำอย่างเพียงพอ ทำการบันทึกน้ำหนักทุกสัปดาห์ตลอดการทดลอง ในสัปดาห์ที่ 12 หลังการให้สารสกัดสัตว์ทดลองจะถูกทดสอบความทนต่อกลูโคส ด้วยวิธี oral glucose tolerance test (glucose 2 g/kg BW) ภายหลังการทดสอบความทนต่อกลูโคสหนึ่งสัปดาห์ สัตว์ทดลองจะถูกทำให้สลบโดยการฉีดสาร thiopental เข้าทางช่องท้องหลังจากอดอาหารมาแล้ว 12 ชม. ทำการผ่าตัดเปิดทรวงอกและช่องท้อง เก็บตัวอย่างเลือดและเนื้อเยื่อต่างๆ ได้แก่ หัวใจ หลอดเลือด และตับ ไขมันในช่องท้องท้อง (visceral fat) ตัวอย่างเลือดจะถูกปั่นเพื่อแยกพลาสมา จากนั้นพลาสมาและเนื้อเยื่อจะถูกเก็บไว้ที่ -70°C เพื่อวิเคราะห์ในภายหลัง

ตารางที่ 3 สูตรอาหารหนูปกติและอาหารไขมันสูง

ส่วนประกอบ	**อาหารปกติ**		**อาหารไขมันสูง**	
	g	%E	g	%E
คาร์โบไฮเดรต	49.53	51.99	19.08	14.27
ไขมัน	8.37	19.77	35.22	59.28
โปรตีน	26.90	28.24	35.36	26.45
วิตามินและเกลือแร่	6.54	-	9.92	-
เส้นใย	3.43	-	4.32	-
ผลรวม	94.77	100	103.9	100
พลังงาน (Kcal/g)	4.02		5.15	

พลังงาน/กรัม (kcal/g): คาร์โบไฮเดรต = 4; ไขมัน = 9; โปรตีน = 4

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลทั้งหมดจะแสดงในรูปของ mean ± SE ข้อมูลจะถูกเปรียบเทียบ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้สถิติ One way ANOVA ตามด้วย post hoc test เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan โดยค่า $p < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

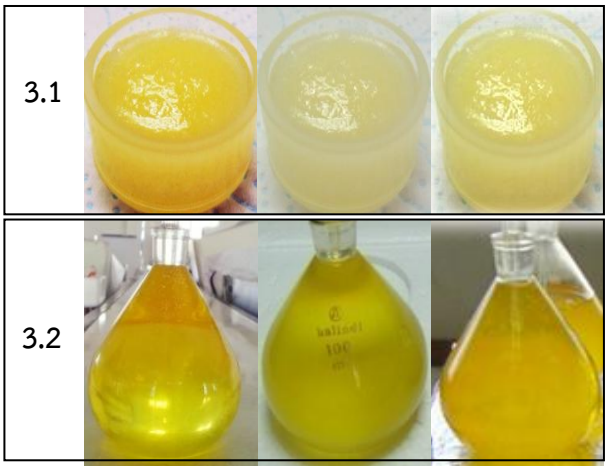
ผลการวิจัย

1. การเตรียม crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสม

ไขมันปลาบึก 1 กิโลกรัม ได้ปริมาณ crude oil เท่ากับ 370 มล. ส่วนไขมันปลาสวาย 1 กิโลกรัม ได้ปริมาณ crude oil เท่ากับ 460 มล. และไขมันปลาลูกผสม 1 กิโลกรัม ได้ปริมาณ crude oil เท่ากับ 360 มล. แสดงลักษณะของ crude oil ของปลาสวาย ปลาลูกผสม และปลาบึก ในรูปที่ 3

2. การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสม

ไม่พบความผิดปกติของหนูที่ได้รับ crude oil จากปลา 3 ชนิด ตลอดการทดลองจนครบ 14 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวปกติที่ได้รับน้ำกลั่น ไม่พบความแตกต่างของน้ำหนักตัวที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) หลังจากหนูขาวได้รับ crude oil จากปลาทั้ง 3 ชนิด



รูปที่ 3 crude oil ของปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม (เรียงตามลำดับ)
3.1 ที่อุณหภูมิห้อง (30 °C) 3.2 อุณหภูมิ 40 °C

3. ลักษณะทางกายภาพของ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาหนังลูกผสม

ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม แสดงดังตารางที่ 4 และรูปที่ 3 พบว่า ในส่วนของสีของ crude oil ในสถานะของแข็งที่อุณหภูมิห้อง (30 ^{o}C) นั้น crude oil จากปลาสวายจะมีค่าความสว่าง (L*) สูงกว่า crude oil จากปลาบึกและปลาลูกผสม ส่วน crude oil จากปลาสวายมีค่าสีแดง (a*) มากกว่า crude oil จากปลาบึกและปลาลูกผสมเล็กน้อย และ crude oil จากปลาบึกมีค่าสีเหลือง (b*) มากกว่า crude oil จากปลาลูกผสมและปลาสวายตามลำดับ ในขณะที่ค่าสีของ crude oil จากปลาทั้งสามชนิดในสถานะของเหลวที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C มีค่าใกล้เคียงกัน

ในส่วนของความหนืดที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C พบว่า crude oil จากปลาสวายมีความหนืดมากที่สุด รองลงมา ได้แก่ crude oil จากปลาลูกผสม และปลาบึก ตามลำดับ ส่วนผลการวัดความข้นที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C พบว่า crude oil จากปลาสวายมีความข้นน้อยกว่า crude oil จากปลาลูกผสมและปลาบึก

crude oil จากปลาบึกมีความถ่วงจำเพาะที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C สูงกว่า crude oil จากปลาสวายและปลาลูกผสมตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์การปนเปื้อนของน้ำซึ่งพบว่า crude oil จากปลาบึกมีการปนเปื้อนของน้ำมากกว่า crude oil จากปลาสวายและปลาลูกผสม เนื่องจากน้ำมีความถ่วงจำเพาะสูงกว่าไขมัน การมีน้ำปนเปื้อนในปริมาณที่มากกว่าจึงอาจเป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้น้ำมันดิบมีค่าความถ่วงจำเพาะสูงกว่า

จากผลการวัดจุดหลอมเหลวจะเห็นได้ว่า จุดหลอมเหลวของ crude oil จากปลาทั้งสามชนิดมีค่าอยู่ในช่วง 30 - 33 ^{o}C จึงทำให้ crude oil มีสถานะเป็นของแข็งเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 30 ^{o}C ในขณะที่ทำการทดลอง อย่างไรก็ตามไขมันและน้ำมันจะไม่มีจุดหลอมเหลวที่คงที่เหมือนสารบริสุทธิ์ เนื่องจากไขมันและน้ำมันเป็นสารประกอบที่มีความซับซ้อน ซึ่งจะค่อยๆ อ่อนตัวลงจนกระทั่งเปลี่ยนสถานะเป็นของเหลวอย่างสมบูรณ์ และการวัดจุดหลอมเหลวของไขมันยังมีปัจจัยอื่นๆ เข้ามามีอิทธิพลร่วมด้วย เช่น สภาวะของตัวอย่าง ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง และ ระดับของการหลอมเหลว เป็นต้น (O’Brien, 2004)

ผลการวัดจุดควันพบว่า crude oil จากปลาบึกมีจุดควันสูงกว่า crude oil จากปลาลูกผสมและปลาสวาย จึงอาจสามารถอนุมานได้ว่า crude oil จากปลาบึกมีกรดไขมันอิสระ กรดไขมันโมเลกุลต่ำ โมโนกลีเซอไรด์ และ ไดกลีเซอไรด์ ซึ่งทนต่อการระเหยเป็นควันได้น้อยกว่าไตรกลีเซอไรด์ (O’Brien, 2004) เป็นส่วนประกอบอยู่ในปริมาณที่ต่ำกว่า crude oil จากปลาลูกผสมและปลาสวาย ตามลำดับ

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า น้ำมันดิบจากปลาบึก ปลาลูกผสม และปลาสวายในการทดลองนี้ มีสมบัติทางกายภาพต่างๆ ดังต่อไปนี้ คือ สีของน้ำมันดิบหรือ crude oil ในสถานะของแข็งที่อุณหภูมิห้อง (30 ^{o}C) ความหนืด ความข้น และความถ่วงจำเพาะที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C การปนเปื้อนของน้ำ จุดหลอมเหลว และจุดควัน แตกต่างกันบ้างเล็กน้อย

ตารางที่ 4 สมบัติทางกายภาพของ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม

	ปลาบึก	ปลาสวาย	ปลาลูกผสม
ค่าสี			
เมื่อมีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง (30 °C)			
L*	84.30 ± 0.91	97.36 ± 1.00	82.66 ± 3.10
a*	38.16 ± 0.29	39.20 ± 0.54	34.55 ± 0.88
b*	83.18 ± 0.11	60.39 ± 0.63	68.33 ± 1.51
เมื่อมีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิ 40 °			
L*	58.12 ± 0.14	58.57 ± 0.20	58.29 ± 0.03
a*	-13.76 ± 0.34	-13.74 ± 0.34	-14.10 ± 0.23
b*	-40.77 ± 0.05	-40.69 ± 0.17	-40.47 ± 0.12
ค่าความหนืดที่อุณหภูมิ 40 °C			
วัดด้วย VISCOTESTER (พอยส์, Poise)	0.30	0.40	0.35
วัดด้วย Orifice (วินาที)	24	65	57
ค่าความขุ่น	4.64 ± 0.27	3.27 ± 0.24	4.48 ± 0.26
ที่อุณหภูมิ 40 °C (NTU)			
ค่าความถ่วงจำเพาะ			
ที่อุณหภูมิ 40 °C	0.9142 ± 0.0016	0.9078 ± 0.0017	0.9027 ±
(กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร)			0.0031
การปนเปื้อนของน้ำ (ร้อยละ)	0.200 ± 0.002	0.184 ± 0.117	0.075 ± 0.001
จุดหลอมเหลว (°C)	29.9 ± 2.0	32.1 ± 1.2	33.0 ± 1.5
จุดควัน (°C)	204.3 ± 5.5	168.0 ± 11.3	192.3 ± 8.5

ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เมื่อทำการทดลอง 3 - 5 ซ้ำ

4. การตรวจหาชนิดและปริมาณกรดไขมันที่พบใน crude oil ของปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม

จากการส่งตรวจ crude oil ของปลาทั้ง 3 ชนิด ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จ.เชียงใหม่ ซึ่ง crude oil ของปลาทั้ง 3 ชนิดที่นำไปส่งตรวจถูกแยกมา 100 กรัม จาก crude oil ทั้งหมดที่เตรียมไว้ใช้ตลอดการทดลอง โดยชนิดและปริมาณกรดไขมันแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ชนิดและปริมาณของกรดไขมันใน crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม

ชนิดกรดไขมัน	ปริมาณ (g/100g)		
(fatty acid composition)	**ปลาบึก**	**ปลาสวาย**	**ปลาลูกผสม**
ไขมันอิ่มตัว (Saturated fat)	**47.43**	**45.06**	**44.00**
Lauric acid (C12:0)	0.32	0.44	0.31
Tridecanoic acid (C13:0)	0.13	-	0.01
Myristic acid (C14:0)	5.41	3.86	3.60
Pentadecanoic acid (C15:0)	1.13	0.13	0.26
Palmitic acid (C16:0)	27.86	30.52	28.21
Heptadecanoic acid (C17:0)	1.28	0.14	0.34
Stearic acid (C18:0)	8.19	9.30	10.44
Arachidic acid (C20:0)	0.50	0.20	0.21
Heneicosanoic acid (C21:0)	0.14	0.04	0.06
Behenic acid (C22:0)	0.48	0.09	0.13
Tricosanoic acid (C23:0)	1.81	0.26	0.34
Lignoceric acid (C24:0)	0.17	0.07	0.09
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounaturated fatty acid)	**25.15**	**39.51**	**37.6**
Myristoleic acid (C14:1)	0.05	0.02	0.03
Palmitoleic acid (C16:1n7)	4.43	0.90	1.77
trans-9-Elaidic acid (C18:1n9t)	0.39	0.06	0.08
cis-9-Oleic acid (C18:1n9c)	16.07	37.28	34.47
cis-11-Eicosenoic acid (C20:1n11)	3.34	1.15	1.04
Erucic acid (C22:1n9)	0.72	0.05	0.10
Nervonic acid (C24:1n9)	0.11	0.05	0.11

ตารางที่ 5 (ต่อ) ชนิดและปริมาณของกรดไขมันใน crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม

ชนิดกรดไขมัน (fatty acid composition)	ปริมาณ (g/100g)		
	ปลาบึก	**ปลาสวาย**	**ปลาลูกผสม**
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunaturated fatty acid)	**22.54**	**10.51**	**13.49**
cis-9,12-Linolenic acid (C18:2n6)	5.33	8.37	8.37
γ- Linolenic acid (C18:3n6)	0.37	0.26	0.10
α- Linolenic acid (C18:3n3)	7.84	0.59	0.93
cis-11,14-Eicosadienoic acid (C20:2)	0.60	0.41	0.36
cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid (C20: 3n6)	0.51	0.52	0.26
cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid (C20:3n3)	0.27	0.04	0.06
Arachidonic acid (C20: 4n6)	0.10	0.04	0.04
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid (C20: 5n3)	3.23	0.07	0.65
4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid (C22:6n3)	4.24	0.13	2.72
ไขมันไม่อิ่มตัว (Unaturated fat)	**47.69**	**50.02**	**51.09**
ไขมันทรานส์ (Trans fat)	0.44	0.06	0.08

crude oil จากปลาบึก 100 กรัม พบว่า มีไขมันอิ่มตัว (Saturated fat) มีปริมาณทั้งหมด 47.43 กรัม ปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fat) ทั้งหมด 47.69 กรัม ซึ่งประกอบด้วย กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated Fatty Acid; MUFA) 25.15 กรัม มีกรดโอเมก้า-9 เช่น กรดโอเลอิก Oleic acid ในปริมาณ 16.07 กรัม ส่วน กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acid; PUFA) มีปริมาณทั้งหมด 22.54 กรัม และเป็นกรดไขมันชนิดโอเมก้า -3 ได้แก่ α-linolenic acid (ALA) 7.84 กรัม Eicosapentaenoic Acid (EPA) 3.23 กรัม และ Docosahexaenoic Acid (DHA) 4.24 กรัม มีกรดไขมันชนิดโอเมก้า-6 ได้แก่ กรดไลโนเลนิก (γ-Linolenic acid, cis-9,12-Linolenic acid) 5.70 กรัม

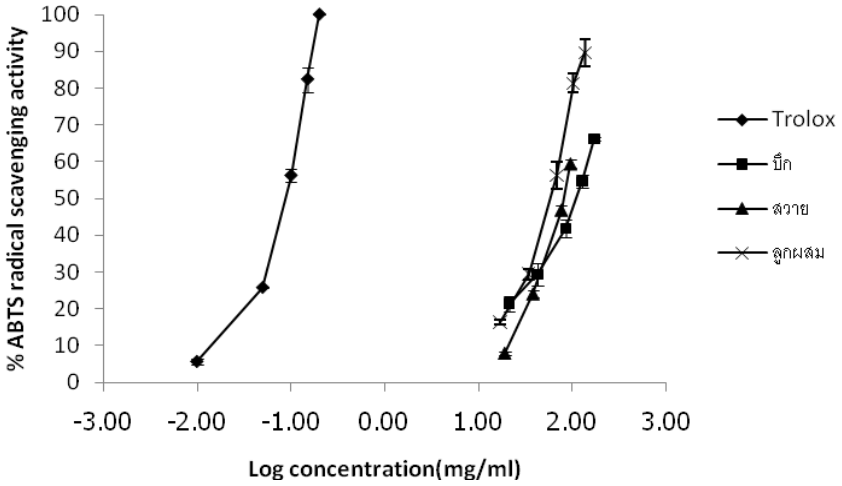
crude oil จากปลาสวาย 100 กรัม พบว่า Saturated fat มีปริมาณทั้งหมด 45.06 กรัม ปริมาณ Unsaturated fat ทั้งหมด 50.02 กรัม ซึ่งประกอบด้วย MUFA 39.51 กรัม มีกรดโอเมก้า-9 เช่น กรดโอเลอิก Oleic acid ในปริมาณ 37.28 กรัม ส่วน PUFA มีปริมาณทั้งหมด 10 .51 กรัม และเป็นกรดไขมันชนิดโอเมก้า-3 ได้แก่ ALA 0.59 กรัม EPA 0.07 กรัม และ DHA 0.13 กรัม มีกรดไขมันชนิดโอเมก้า -6 ได้แก่ กรดไลโนเลนิก (γ-Linolenic acid, cis-9,12-Linolenic acid) 8.63 กรัม

crude oil จากปลาลูกผสม 100 กรัม พบว่า Saturated fat มีปริมาณทั้งหมด 44.00 กรัม ปริมาณ Unsaturated fat ทั้งหมด 51.09 กรัม ซึ่งประกอบด้วย MUFA 37.60 กรัม มีกรดโอเมก้า-9 เช่น กรดโอเลอิก

Oleic acid ในปริมาณ 34.47 กรัม ส่วน PUFA มีปริมาณทั้งหมด 13 .49 กรัม และเป็นกรดไขมันชนิดโอเมก้า-3 ได้แก่ ALA 0.93 กรัม EPA 0.65 กรัม และ DHA 2.72 กรัม มีกรดไขมันชนิดโอเมก้า -6 ได้แก่ กรดไลโนเลนิก (γ-Linolenic acid, cis-9,12-Linolenic acid) 8.47 กรัม

สรุปจากตารางที่ 5 พบว่า กรดไขมันชนิดโอเมก้า-3 ใน crude oil จากปลาบึก มีปริมาณ ALA, DHA และ EPA มากที่สุด รองลงมาคือ crude oil จากปลาลูกผสมและปลาสวายตามลำดับ

5. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล ABTS ของปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสมเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน trolox ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4 และตารางที่ 6



รูปที่ 4 ฤทธิ์กำจัดอนุมูล ABTS ของปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสมเปรียบเทียบกับ trolox

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ขจัดอนุมูล ABTS ของ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม

Crude oil	**TEAC** (mM Trolox/gram of sample**)**
ปลาบึก	3.21 ± 0.08
ปลาสวาย	4.53 ± 0.19
ปลาลูกผสม	6.00 ± 0.36

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± SE)

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity

ความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระในหลอดทดลองพบว่า crude oil จากปลาลูกผสม ปลาสวาย และปลาบึก มีฤทธิ์จากมากไปหาน้อย โดยมีค่า TEAC จากเรียงจากสูงมาต่ำตามลำดับ

6. การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในสัตว์ทดลอง

ผลของ crude oil ต่อน้ำหนักตัว และ Visceral fat ของสัตว์ทดลอง

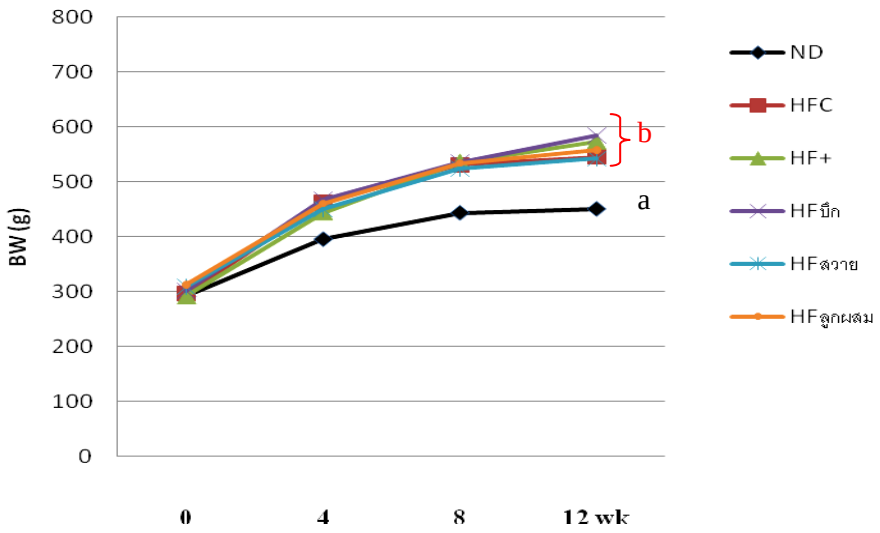
หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียวมีน้ำหนักตัว (BW) เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติภายใน 12 สัปดาห์ (p<0.05) ส่วนหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก สวาย และปลาลูกผสม พบว่ามีน้ำหนักตัวที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูง (p>0.05) เช่นเดียวกับกลุ่มหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ fish oil ที่เป็น positive control ที่สัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 ผลแสดงในตารางที่ 7 และรูปที่ 5

ตารางที่ 7 น้ำหนักของหนูขาวตลอด 12 สัปดาห์

Group	Body weight (g)			
	0	**4**	**8**	**12 wk**
ND	292.0 ± 3.7[a]	396.0 ± 12.4[a]	444.0 ± 15.3[a]	451.0 ± 12.0[a]
HFC	297.0 ± 4.8[a]	462.5 ± 12.0[b]	531.3 ± 8.5[b]	546.0 ± 14.0[b]
HF+	291.7 ± 3.3[a]	444.2 ± 7.9[b]	536.7 ± 12.0[b]	573.0 ± 16.0[b]
HFบึก	301.7 ± 4.6[a]	468.3 ± 13.0[b]	535.8 ± 17.6[b]	585.0 ± 15.0[b]
HFสวาย	309.2 ± 4.7[a]	450.8 ± 12.6[b]	525.0 ± 16.3[b]	542.5 ± 18.0[b]
HFลูกผสม	303.3 ± 9.6[a]	460.8 ± 16.0[b]	534.2 ± 22.4[b]	558.5 ± 19.0[b]

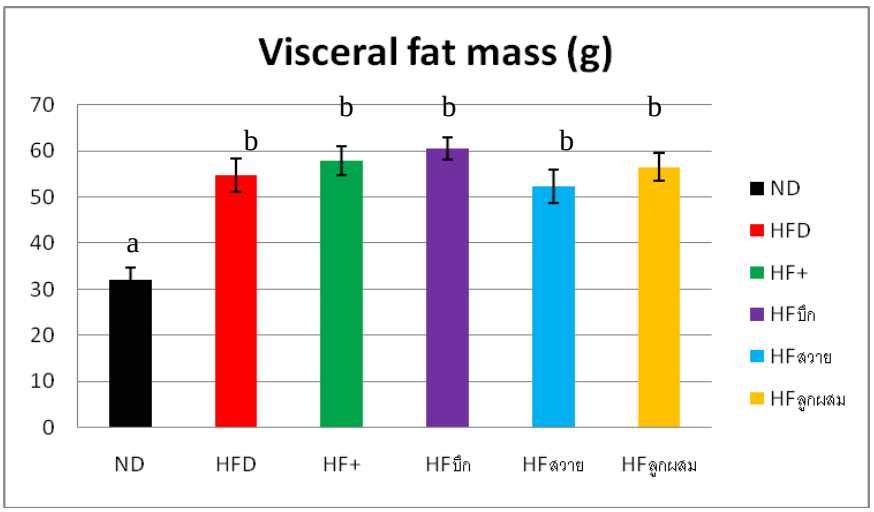
ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SE, n = 10

ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

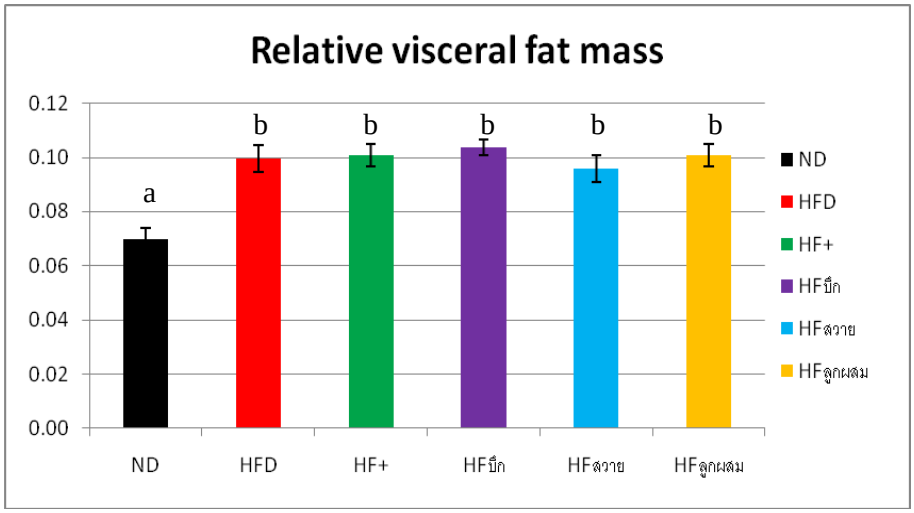


รูปที่ 5 น้ำหนักของหนูขาวตลอด 12 สัปดาห์

ดังแสดงในตารางที่ 7 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (12 สัปดาห์) พบว่าการให้อาหารไขมันสูงมีผลเพิ่มน้ำหนักตัว (21%) ในหนูขาวอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูขาวควบคุม ($p < 0.05$ vs. ND) ซึ่งสอดคล้องกับค่าของไขมันสะสมในช่องท้อง (visceral fat) ที่แสดงในรูปที่ 6 ที่เพิ่มสูงขึ้น (70.9 %) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูขาวควบคุม และเมื่อคำนวณค่า relative visceral fat mass (คำนวณจาก visceral fat mass /BW) พบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีค่า relative visceral fat mass ที่มากกว่า (42.3 %) หนูขาวปกติควบคุมอย่างมีนัยสำคัญซึ่งแสดงให้เห็นว่าหนูขาวกลุ่มให้อาหารไขมันสูงมีภาวะอ้วน (obesity) เกิดขึ้น โดยผลการทดลองแสดงในรูปที่ 7 และการให้ crude oil จากปลาชนิดต่างๆ รวมทั้ง positive fish oil (HF+) ก็ไม่มีผลช่วยลดน้ำหนักตัว visceral fat หรือ relative visceral fat mass แต่อย่างใด



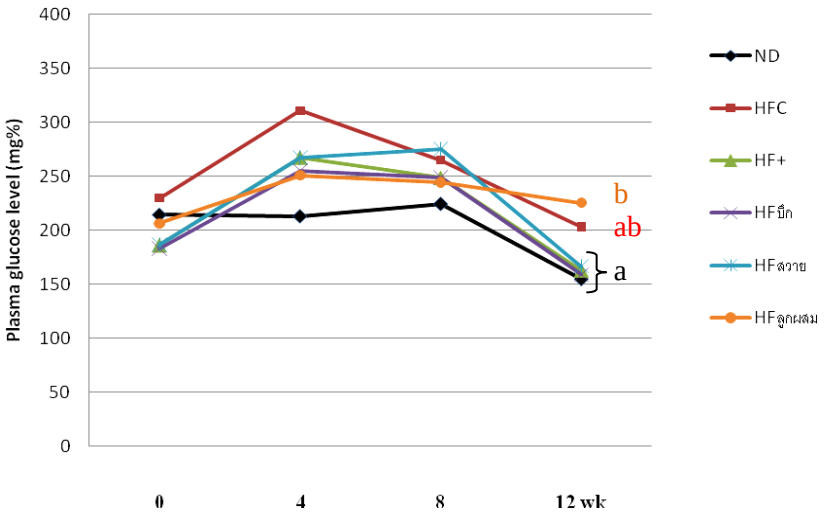
รูปที่ 6 ไขมันสะสมในช่องท้อง (visceral fat) ของสัตว์ทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง



รูปที่ 7 ค่า relative visceral fat mass เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ผลของ crude oil ต่อฤทธิ์ในการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด

หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียวมีระดับน้ำตาลในเลือด (plasma glucose level) เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ตลอด 12 สัปดาห์ โดยแสดงในรูปและตารางที่ 8 และหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย ปลาลูกผสม และ fish oil มีระดับน้ำตาลในเลือดลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ที่สัปดาห์ที่ 4 และมีแนวโน้มลดลงในสัปดาห์ที่ 8 และในสัปดาห์ที่ 12 หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และ fish oil มีระดับน้ำตาลในเลือดลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) โดยหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึกสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับไขมันจาก fish oil และปลาสวายตามลำดับ



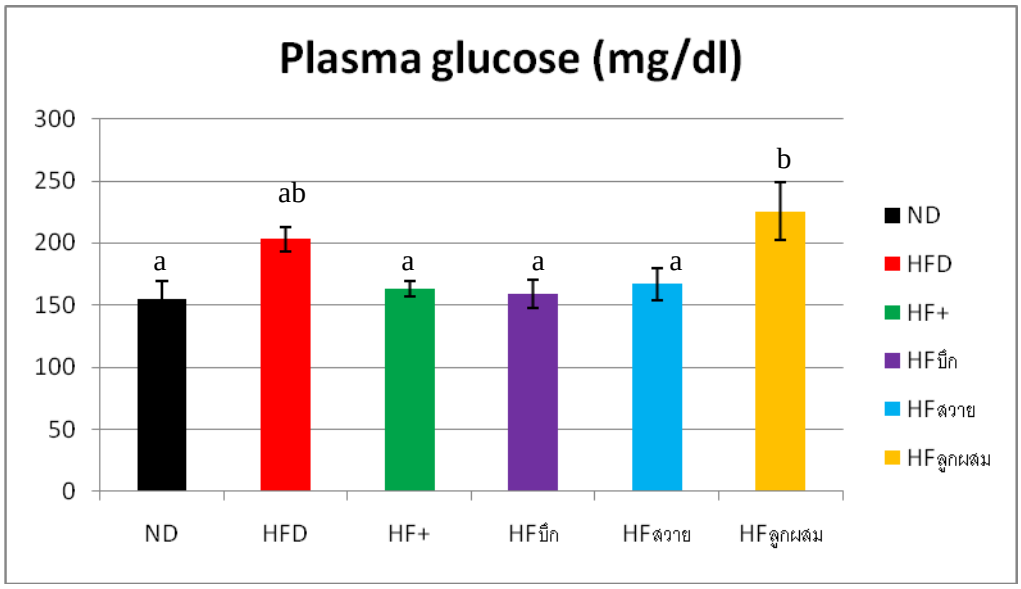
รูปที่ 8 ระดับกลูโคสในเลือดหนูขาวตลอด 12 สัปดาห์

ตารางที่ 8 ระดับกลูโคสในเลือดหนูขาวตลอด 12 สัปดาห์

Group	Glucose level (mg%)			
	0	**4**	**8**	**12 wk**
ND	214.5 ± 14.0 [a]	213.2 ± 9.0 [a]	224.6 ± 12.2 [a]	155.2 ± 20.0 [a]
HFC	230.0 ± 10.1 [a]	310.9 ± 17.7 [c]	265.1 ± 9.7 [b]	203.2 ± 15.0 [ab]
HF+	186.5 ± 16.7 [a]	267.5 ± 7.0 [b]	248.8 ± 9.8 [ab]	163.2 ± 10.0 [a]
HFบึก	183.0 ± 9.0 [a]	255.4 ± 12.3 [b]	249.1 ± 8.7 [ab]	159.2 ± 15.0 [a]
HFสวาย	186.8 ± 7.3 [a]	267.1 ± 10.5 [b]	275.1 ± 12.1 [b]	166.9 ± 15.0 [a]
HFลูกผสม	206.6 ± 5.9 [a]	251.0 ± 10.2 [b]	244.5 ± 8.2 [ab]	225.6 ± 36.0 [b]

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SE, n = 6-8

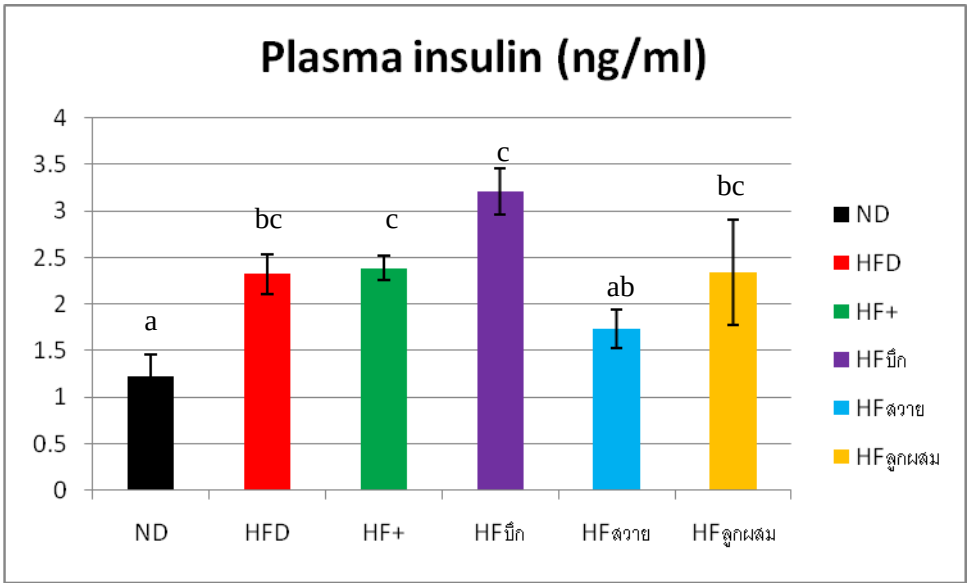
ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 9 ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด (mg/dL) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

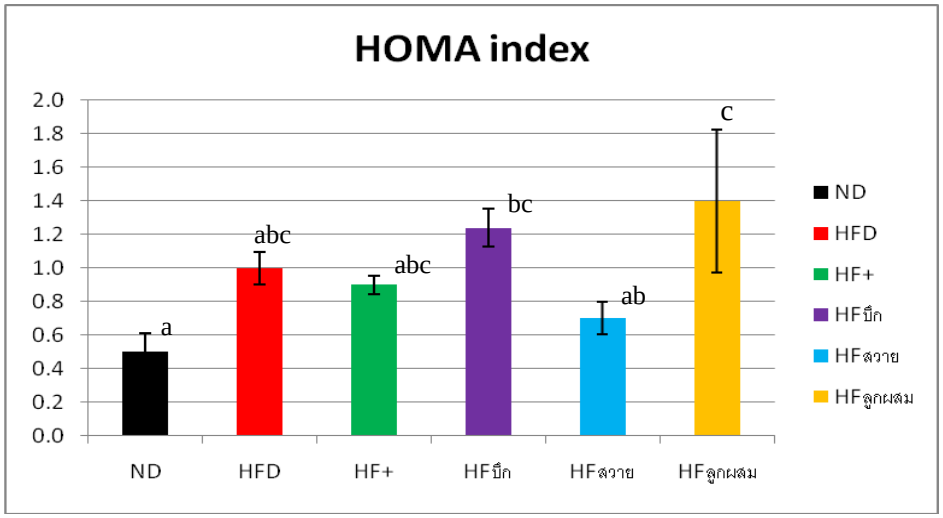
รูปที่ 9 พบว่าการให้อาหารไขมันสูงต่อเนื่องในระยะยาวเป็นเวลา 12 สัปดาห์นั้นมีผลเพิ่มระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของหนูขาวถึงประมาณ 31.1% ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูขาวกลุ่มควบคุม แสดงถึงความผิดปกติในการควบคุมสมดุลของกลูโคสในเลือดและเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินในหนูขาว อย่างไรก็ตามพบว่าหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และ fish oil สามารถลดระดับของ glucose ให้กลับสู่ค่าปกติเท่าๆกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติ

รูปที่ 10 แสดงระดับของฮอร์โมนอินซูลินในเลือดในสัปดาห์ที่ 12 ที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (88%) ในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูขาวกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) ส่วนในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึกพบค่า insulin เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง

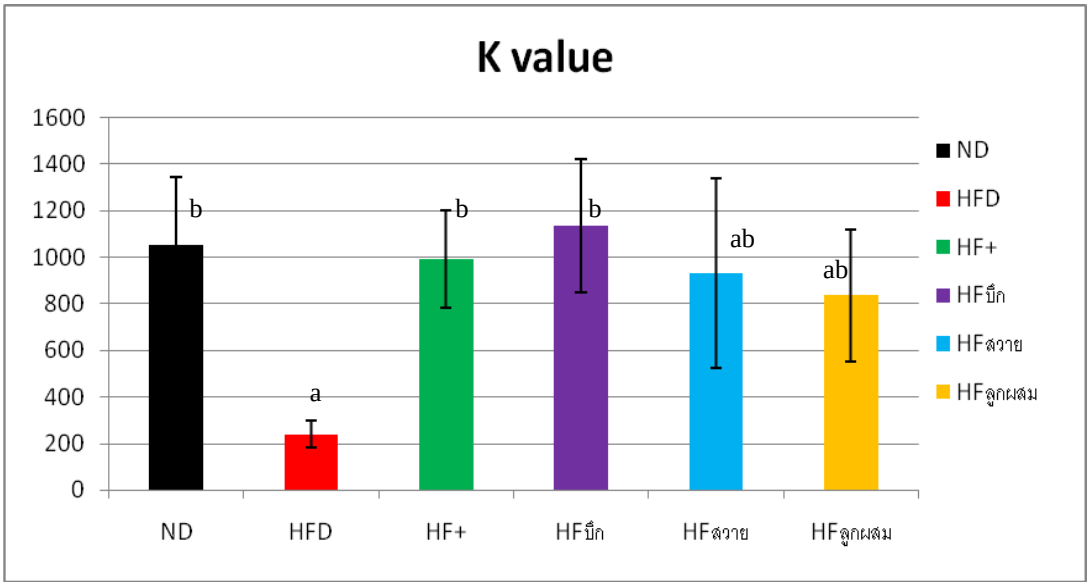


รูปที่ 10 ระดับฮอร์โมนอินซูลินในเลือดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

จากรูปที่ 11 และ 12 แสดงค่า HOMA index (ค่าบ่งชี้ถึงค่า insulin resistance) และค่า K value (ค่า insulin sensitivity) ในสัปดาห์ที่ 12 โดยพบว่า หนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียวมีค่าของ HOMA index ที่เพิ่มสูงขึ้น (103%) และมีค่าของ K value ที่ลดลง (77.3%) เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ซึ่งบอกถึงการเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินในหนูขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงตลอด 12 สัปดาห์



รูปที่ 11 ค่า HOMA index เมื่อสิ้นสุดการทดลอง



รูปที่ 12 แสดง K value เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

สำหรับผลของการให้ crude oil จากปลาชนิดต่างๆนั้นพบว่า หนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาปึกมีค่าของทั้ง HOMA index และ K value สูงขึ้น(รูปที่ 11 และ 12) ส่วนหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาสวายพบว่า พบว่า หนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาสวายเท่านั้นที่ค่าของ HOMA index ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงเพียงอย่างเดียว (รูปที่ 11) ส่วนค่าของ K value นั้นพบว่าในกลุ่มหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับไขมันปลาปึก และ positive fish oil control มีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว ส่วน crude oil จากปลาสวายและปลาลูกผสมมีแนวโน้มค่า K value สูงขึ้นเช่นกัน (รูปที่ 12)

ผลของ crude oil ต่อฤทธิ์ในการลดระดับไขมันในเลือด

ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด

หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียวมีระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (plasma triglyceride level, TG) เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติตลอด 12 อาทิตย์ ส่วนหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาปึก ปลาสวาย ปลาลูกผสม และ fish oil ในช่วงเริ่มต้นการทดลองมีระดับ TG ในเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุมเนื่องจากได้รับอาหารไขมันสูงมาเป็นเวลา 2 อาทิตย์ก่อนเริ่มการทดลอง (0 wk) ส่วนในช่วงสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 สัปดาห์ พบว่า หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาสวายและปลาลูกผสมมีระดับ TG ในเลือดลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อเทียบกับหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียวโดยสามารถลดระดับ TG ได้กลับสู่ค่าปกติโดยมีค่าไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุม ((p>0.05) ผลการทดลองพบว่า crude oil จากปลาลูกผสม

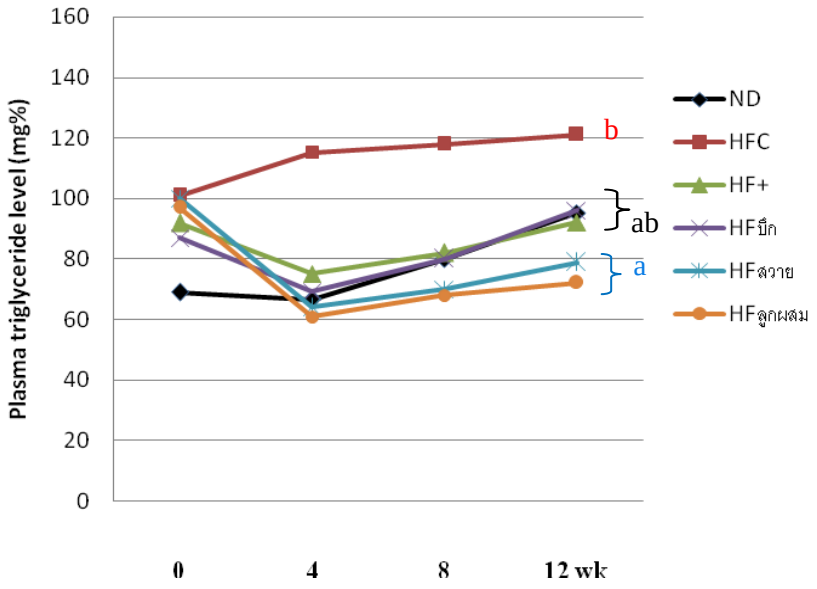
สามารถลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ดีที่สุด ส่วนหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก และ fish oil มีแนวโน้มที่จะช่วยลดระดับของ triglyceride ได้เช่นกัน โดยแสดงผลในตารางที่ 9 รูปที่ 13 และ 14 อย่างไรก็พบว่าระดับ TG ในเลือดของหนูขาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกกลุ่มแม้แต่หนูกลุ่มควบคุม เนื่องจากหนูขาวมีอายุมากขึ้น

ตารางที่ 9 ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของหนูขาวตลอด 12 สัปดาห์

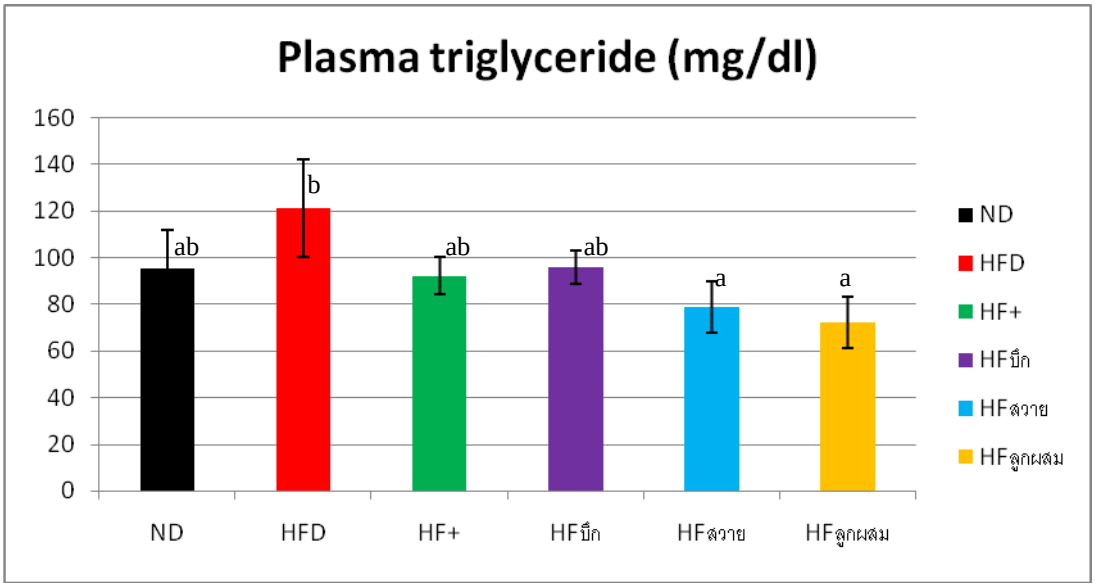
Group	Triglyceride level (mg%)			
	0	**4**	**8**	**12 wk**
ND	69.0 ± 5.6 [a]	66.6 ± 0.7 [a]	80.0 ± 5.0 [a]	95.3 ± 16.7 [ab]
HFC	101.0 ± 10.2 [b]	115.3 ± 14.4 [b]	118.0 ± 10.0 [b]	121.1 ± 20.9 [b]
HF+	92.0 ± 8.6 [ab]	75.1 ± 2.1 [a]	82.0 ± 5.0 [a]	92.2 ± 8.0 [ab]
HFบึก	87.0 ± 10.4 [ab]	69.2 ± 3.2 [a]	80.0 ± 4.2 [a]	96.0 ± 7.1 [ab]
HFสวาย	100.0 ± 8.8 [b]	64.0 ± 2.2 [a]	70.0 ± 5.6 [a]	78.8 ± 11.2 [a]
HFลูกผสม	97.0 ± 12.0 [b]	61.0 ± 3.6 [a]	68.0 ± 5.8 [a]	72.2 ± 11.1 [a]

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SE, n = 6-8

ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



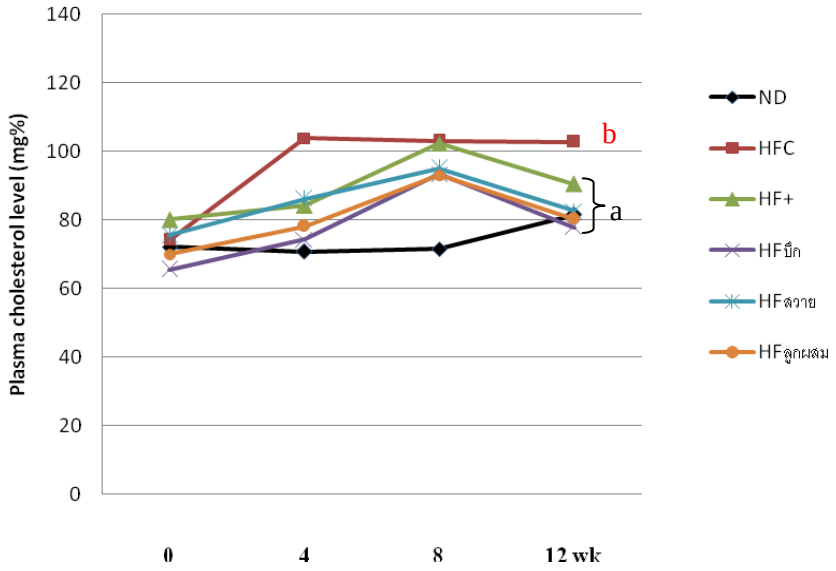
รูปที่ 13 ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดหนูขาวตลอด 12 สัปดาห์



รูปที่ 14 ระดับ triglyceride ในเลือดหนูขาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ระดับโคเลสเตอรอลในเลือด

หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียวมีระดับโคเลสเตอรอล (CHO) ในเลือดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวที่ได้รับอาหารปกติ ตลอด 12 สัปดาห์ ส่วนในหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จาก ปลาบึก ปลาลูกผสม และ fish oil มีระดับ CHO ในเลือดต่ำลงแตกต่างจากหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียวในสัปดาห์ที่ 4 และ 12 ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 1 5 และตารางที่ 10 โดยพบว่าหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก สามารถลดระดับ CHO ได้ดีที่สุด



รูปที่ 15 ระดับโคเลสเตอรอลในเลือดหนูขาวตลอด 12 สัปดาห์

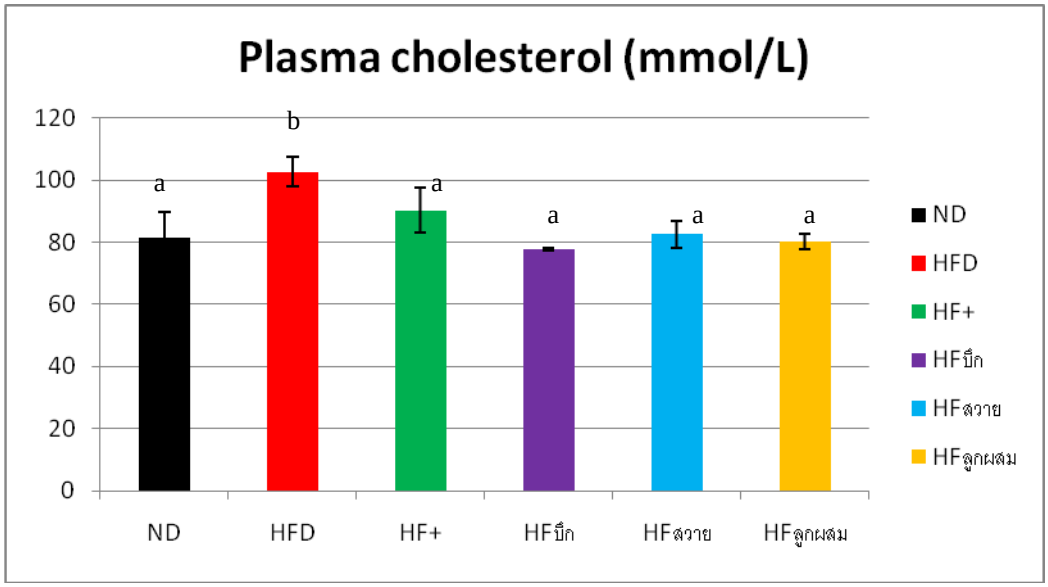
ตารางที่ 10 ระดับโคเลสเตอรอลในเลือดของหนูขาวตลอด 12 สัปดาห์

Group	Chlolesterol level (mg%)			
	0	4	8	12 wk
ND	72.0 ± 5.0 [a]	70.7 ± 3.3 [a]	71.5 ± 3.6 [a]	81.4 ± 8.1 [a]
HFC	74.0 ± 4.8 [a]	103.7 ± 4.7 [b]	103.0 ± 10.1 [b]	102.7 ± 4.8 [b]
HF+	80.0 ± 10.5 [a]	84.1 ± 3.2 [a]	102.3 ± 9.3 [b]	90.3 ± 7.2 [a]
HFบึก	65.4 ± 8.8 [a]	74.2 ± 3.8 [a]	93.3 ± 6.6 [ab]	77.7 ± 0.6 [a]
HFสวาย	75.4 ± 12.0 [a]	86.0 ± 10.5 [ab]	95.0 ± 9.1 [ab]	82.5 ± 4.4 [a]
HFลูกผสม	70.0 ± 10.0 [a]	78.0 ± 7.3 [a]	93.0 ± 4.4 [ab]	80.2 ± 2.6 [a]

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SE, n = 6-8

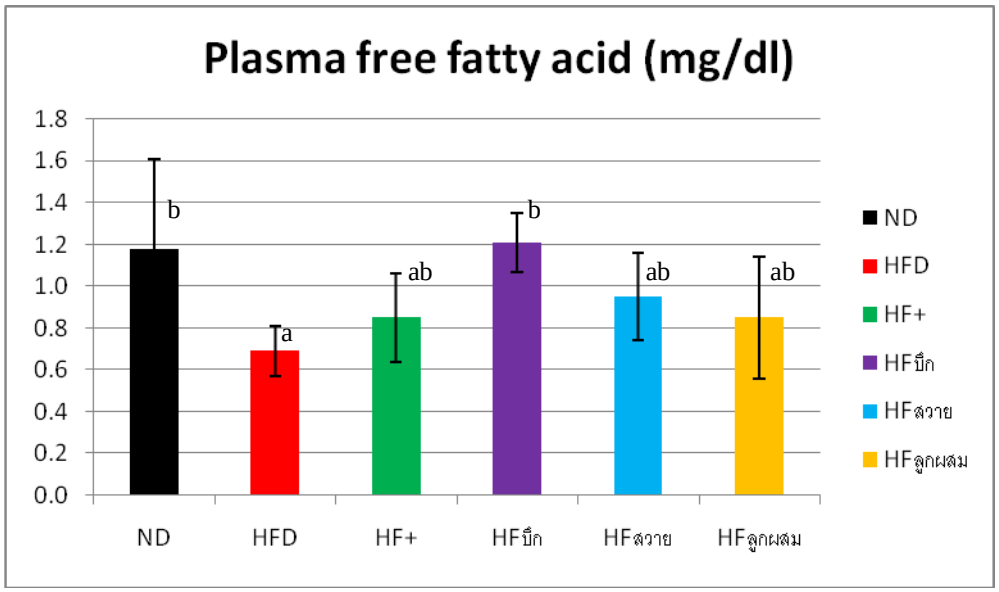
ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากรูปที่ 16 พบว่า ในสัปดาห์ที่ 12 หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย ปลาลูกผสม และ fish oil สามารถลดระดับของ cholesterol ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงเพียงอย่างเดียว ($p<0.05$)



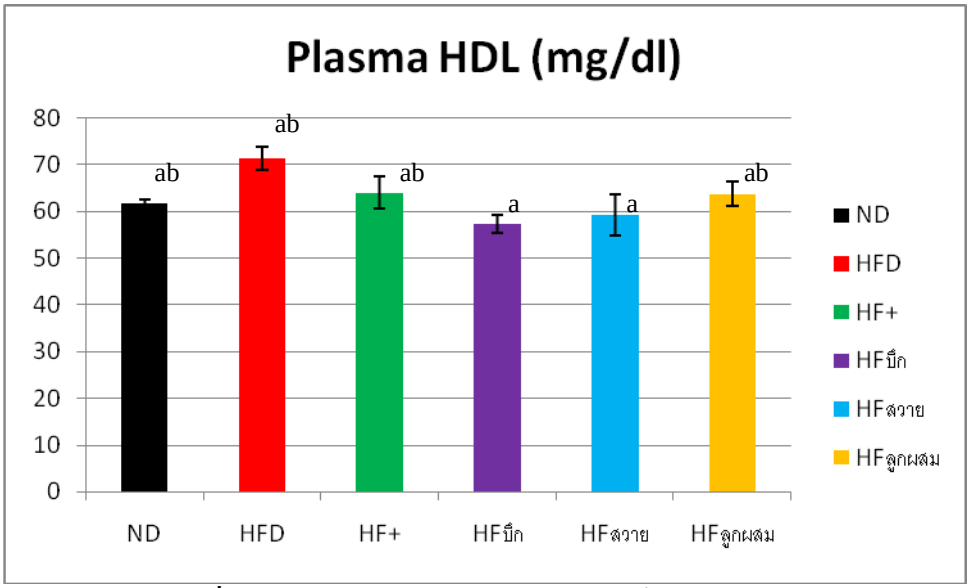
รูปที่ 16 ระดับ cholesterol ในเลือดหนูขาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

จากรูปที่ 17 พบว่า ในสัปดาห์ที่ 12 หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาสวาย ปลาลูกผสม และ fish oil มีแนวโน้มที่จะช่วยลดระดับของ free fatty acid (FFA) ให้กลับเข้าสู่ค่าปกติใกล้เคียงกับหนูขาวกลุ่มควบคุม (p>0.05) ส่วนหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึกมีค่า FFA ไม่ต่างจากหนูขาวกลุ่มควบคุม



รูปที่ 17 ระดับ free fatty acid ในเลือดหนูขาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

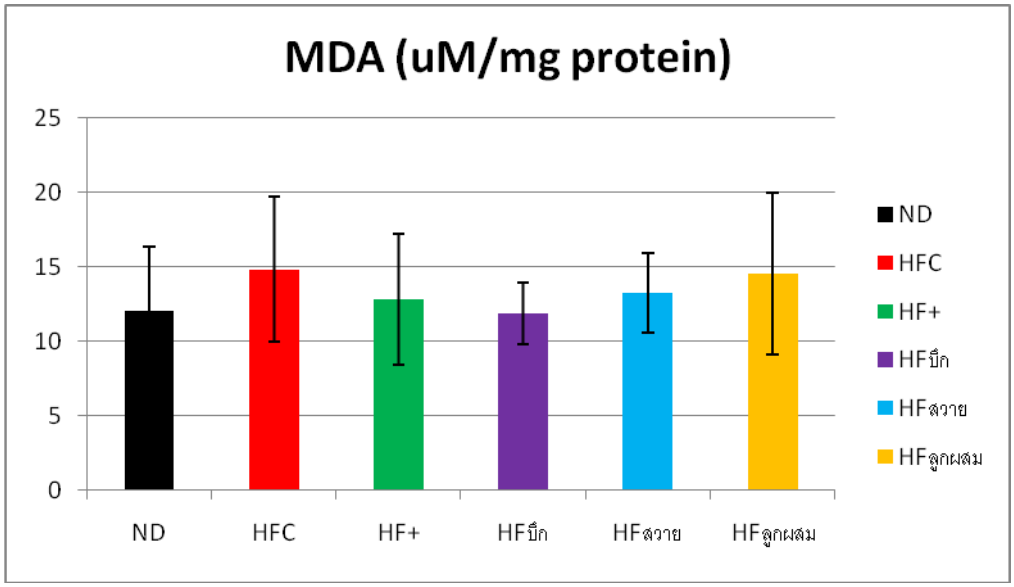
จากรูปที่ 18 พบว่า ในสัปดาห์ที่ 12 หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึกและปลาสวายสามารถลดระดับของ HDL ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงเพียงอย่างเดียว (p<0.05) อย่างไรก็ตามค่า HDL ที่ลดลงนั้นไม่มีความแตกต่างจากหนูขาวกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติ



รูปที่ 18 ระดับ HDL ในเลือดหนูขาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

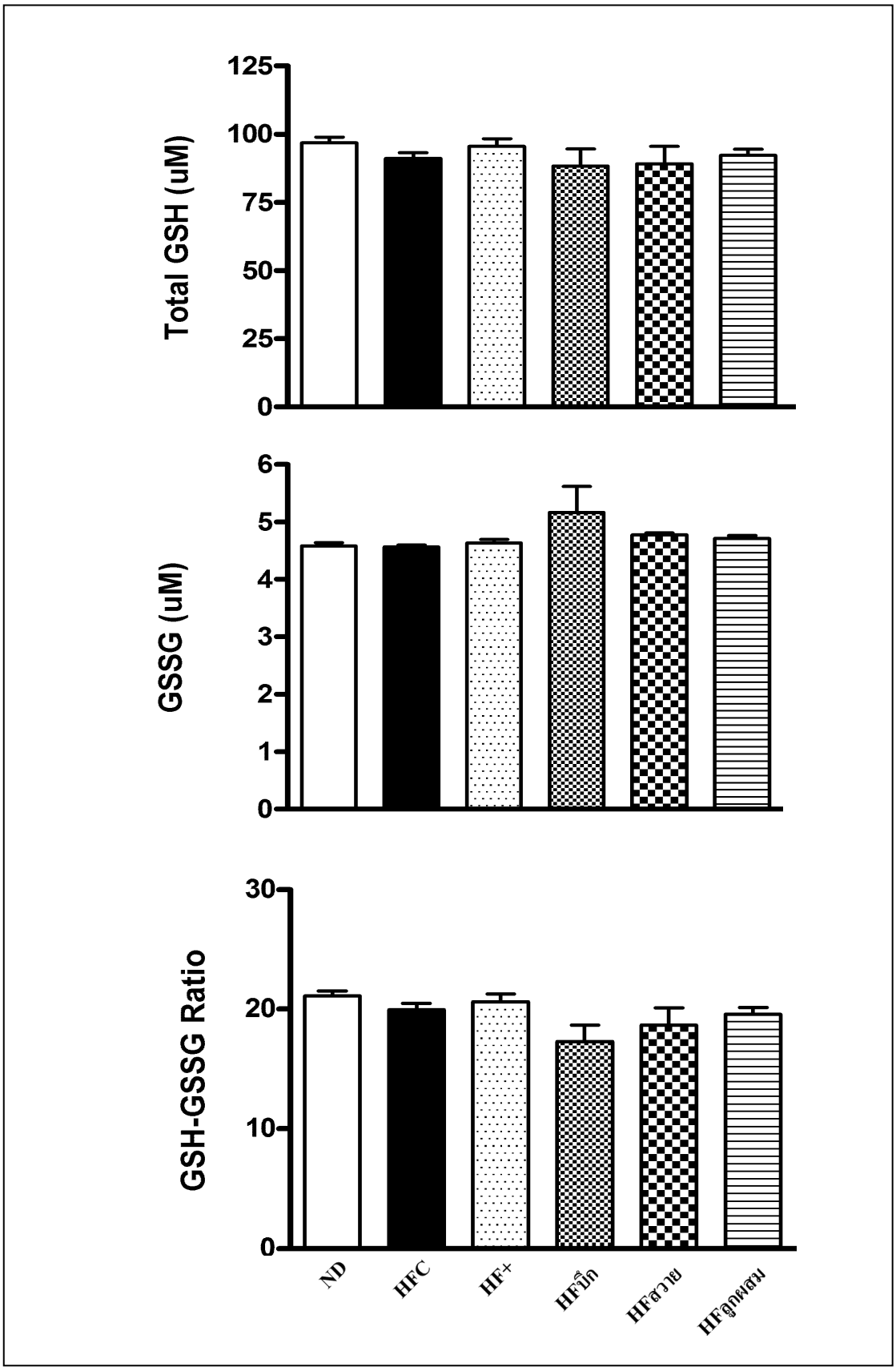
ภาวะ oxidative stress

จากการวัดระดับ plasma MDA เพื่อประเมินภาวะ oxidative stress ในหนูขาวหลังสิ้นสุดการทดลองที่สัปดาห์ที่ 12 ผลแสดงในรูปที่ 19 พบว่า หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูง มีแนวโน้มระดับ MDA ในเลือดเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวปกติ (p>0.05) และหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และ fish oil มีแนวโน้มระดับ MDA ในเลือดลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูง และหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึกสามารถลดระดับ MDA ในเลือดได้ดีที่สุดซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับหนูกลุ่มปกติ



รูปที่ 19 ระดับ lipid peroxides ในเลือดหนูขาวในสัปดาห์ที่ 12

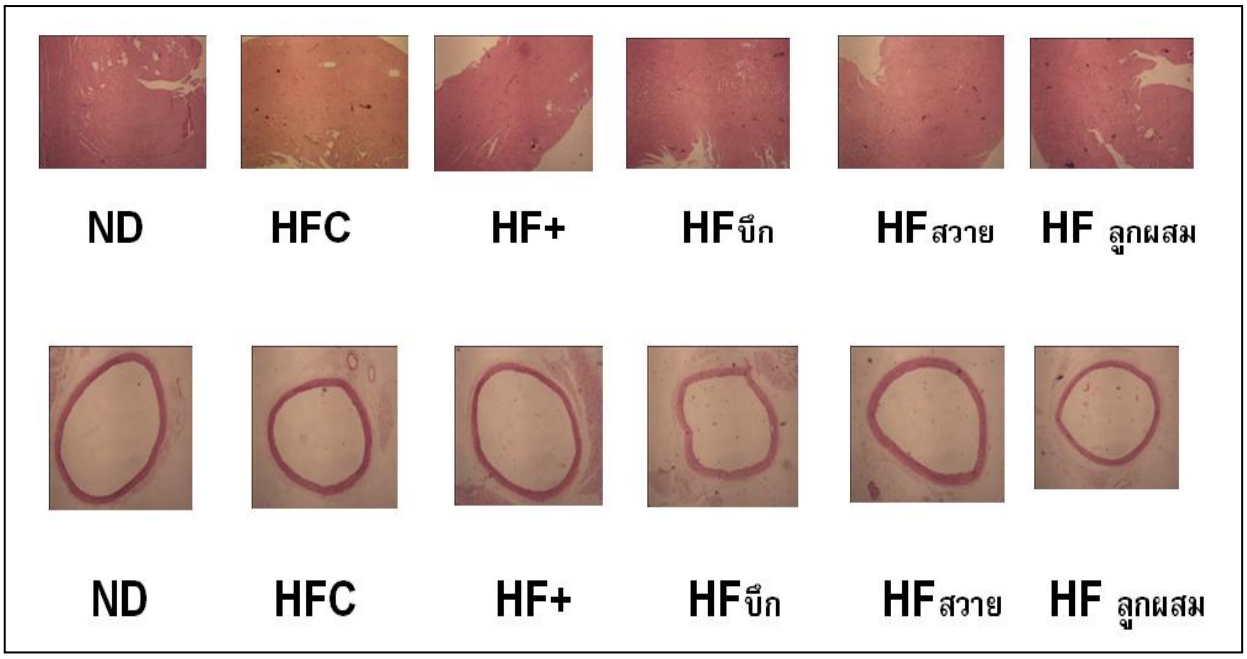
ทำการตรวจวัดระดับของเอนไซม์กลูตาไทโอนที่สัปดาห์ที่ 12 หลังสิ้นสุดการทดลองในหนูขาวเพื่อประเมินภาวะ oxidative stress เนื่องจากเมื่อร่างกายเกิดภาวะ oxidative stress ระดับของ GSSG (oxidised glutathione) จะมีเพิ่มมากขึ้น ส่วนระดับ GSH (reduced glutathione) จะลดลง ดังนั้นอัตราส่วนของ GSH/GSSG จะลดลงตามไปด้วย ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 20 พบว่า ระดับของ GSH ในหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงไม่มีความแตกต่างกับหนูขาวปกติ (p>0.05) ส่วนระดับของ GSSG มีเพียงหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูง และหนูขาวกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติ ส่วนค่า GSH/GSSG พบว่าหนูขาวกลุ่มควบคุมและหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ fish oil และ crude oil จากปลาลูกผสมมีค่าสูงใกล้เคียงกัน ในขณะที่หนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึกมีค่าต่ำสุด อย่างไรก็ตามทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



รูปที่ 20 ระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในเลือดของหนูขาวในสัปดาห์ที่ 12

ผลการตรวจพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (histology)

พยาธิสภาพ ของหัวใจ พบว่า ไม่มีความ ความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ทั้งในหัวใจของหนูขาวกลุ่มควบคุมและหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง ส่วนในหลอดเลือดมี hypertrophy เล็กน้อยในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงทั้ง 6 กลุ่ม อย่างไรก็ตามพบว่า ไม่มีความแตกต่างของพยาธิสภาพของหลอดเลือดในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับการได้รับ crude oil ชนิดต่างๆ และ fish oil โดยผลการทดลองแสดงในรูปที่ 21



รูปที่ 21 พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อหัวใจ (บน) และหลอดเลือด (ล่าง)

อภิปรายและวิจารณ์ผล

ก้อนไขมันจากสวายสามารถนำมาเตรียมได้ crude oil มากที่สุด รองลงมาคือ ปลาลูกผสม และปลาบึก โดยได้ % yield (ปริมาณ crude oil ในไขมัน 100 กรัม) เป็น 46, 36 และ14% ตามลำดับ โดยสัดส่วนของไขมันอิ่มตัวต่อไขมันไม่อิ่มตัวเป็น 47.43: 47.69 กรัม จาก crude oil ปลาบึก 100 กรัม และ 45.06:50.02 กรัม จาก crude oil ปลาสวาย 100 กรัม ส่วนใน crude oil จากปลาลูกผสม 100 กรัม พบสัดส่วนของไขมันอิ่มตัวต่อไขมันไม่อิ่มตัวเป็น 44.00: 51.09 กรัม และพบกรดไขมันชนิดโอเมก้า -3 ใน crude oil จากปลาบึก มีปริมาณ ALA, DHA และ EPA มากที่สุด รองลงมาคือ crude oil จากปลาลูกผสมและปลาสวายตามลำดับ จากผลของ % yield ปริมาณสัดส่วนของไขมันอิ่มตัวต่อไขมันไม่อิ่มตัว และ ปริมาณกรดไขมันชนิดโอเมก้า -3 จึงเห็นได้ว่าไขมันจากปลาสวายและปลาลูกผสมมีความเป็นไปได้ในการนำมาพัฒนาต่อยอดเป็น

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (nutraceutical product ; fish oil capsule) ได้มากกว่าไขมันจากปลาบึก ส่วนไขมันจากปลาบึกน่าจะใช้เป็นข้อมูลในการเพิ่มมูลค่าให้กับคุณภาพเนื้อที่มีไขมันแทรกและสนับสนุนให้ผู้บริโภครับประทานเนื้อปลาบึกที่มีไขมันแทรกเป็นอาหารสุขภาพ (functional food) แทนการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

การให้อาหารไขมันสูงแก่หนูขาวพบว่า หนูขาวเริ่มมีภาวะอ้วนตั้งแต่ในสัปดาห์ที่ 4 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 12 โดยพบว่าอาหารไขมันสูงมีผลเพิ่มน้ำหนักตัว และไขมันในช่องท้อง (visceral fat) และการให้ crude oil จากปลาชนิดต่างๆ รวมทั้ง fish oil ไม่มีผลช่วยลดน้ำหนักตัว visceral fat หรือ relative visceral fat mass แต่อย่างใด

การให้อาหารไขมันสูงแก่หนูขาวตลอด 12 สัปดาห์ มีผลเพิ่มระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของหนูขาว ตั้งแต่ในสัปดาห์ที่ 4 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 12 ซึ่งแสดงถึงความผิดปกติในการควบคุมสมดุลของกลูโคสในเลือด โดยสาเหตุอาจเกิดได้ทั้งจากความผิดปกติของการหลั่งหรือการออกฤทธิ์ฮอร์โมนอินซูลินจากตับอ่อนก็ได้ แต่สำหรับในการศึกษานี้คาดว่าน่าจะเกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ฮอร์โมนอินซูลินมากกว่า เนื่องจากหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีระดับของฮอร์โมนอินซูลินในเลือดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และสอดคล้องกับค่าของ HOMA index ซึ่งบ่งชี้ถึงค่า insulin resistance และค่า K value ซึ่งแสดงถึงค่า insulin sensitivity จากการทดสอบด้วยวิธี insulin sensitivity test ที่พบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีค่าของ HOMA index ที่เพิ่มสูงขึ้น และมีค่าของ K value ที่ลดลง จากข้อมูลทั้งหลายเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการให้อาหารไขมันสูงต่อเนื่องเป็นเวลา 12 สัปดาห์นั้นทำให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินในหนูขาว สำหรับผลของการให้ crude oil จากปลาชนิดต่างๆ นั้น พบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และ fish oil ที่ใช้เป็นกลุ่ม positive control มีแนวโน้มของการลดลงของค่าระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด โดยส่วนใหญ่ไม่มีผลต่อระดับของฮอร์โมนอินซูลินในเลือด ยกเว้นหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึกมีผลเพิ่มการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน ส่วนค่า HOMA index ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาสวายเท่านั้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงเพียงอย่างเดียว ส่วนค่า K value นั้นพบว่าในกลุ่มหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึกและ fish oil มีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าการให้ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และ fish oil จะช่วยเพิ่มความไวของฮอร์โมนอินซูลิน หรือเพิ่ม insulin sensitivity ได้โดยอาจเป็นกลไกหนึ่งที่ช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด

การให้อาหารไขมันสูงต่อเนื่องในระยะยาวเป็นเวลา 12 สัปดาห์ในหนูขาวทำให้มีการเปลี่ยนแปลงระดับของไขมันชนิดต่างๆในเลือดเพิ่มขึ้น 26-28 % ได้แก่ ระดับของ triglyceride (+27.3%), cholesterol (+25.9%) และ free fatty acids (+27.1%) ซึ่งบ่งชี้ว่ามีภาวะ dyslipidemia ในหนูขาว และการให้ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม มีผลช่วยควบคุมระดับของไขมันชนิดต่างๆ ในเลือดให้กลับเข้าสู่ค่าปกติใกล้เคียงกับในหนูขาวกลุ่มควบคุม โดยมีประสิทธิผลที่ไม่แตกต่างไปจากหนูขาวกลุ่มที่ใช้เป็น positive

control ที่ได้รับ fish oil ร่วมกับอาหารไขมันสูง จึงบ่งชี้ได้ว่า crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม ไม่ได้มีผลเพิ่มความผิดปกติในการควบคุมระดับไขมันในเลือด แต่ในทางตรงข้ามกลับมีฤทธิ์ในแง่ของ hypolipidemic effect ดังนั้นไขมันจากปลาดังกล่าวข้างต้นจึงมีศักยภาพสูงในการที่จะพัฒนาต่อยอดเพื่อเป็นอาหารสุขภาพและเป็นประโยชน์ในคนอ้วนที่มีภาวะ dyslipidemia ร่วมด้วย หรือในคนที่มีภาวะ metabolic syndrome ซึ่งน่าจะทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป อย่างไรก็ตามพบว่า หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงตลอด 12 สัปดาห์ พบว่า ระดับ TG ในเลือดของหนูขาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกกลุ่มแม้แต่หนูกลุ่มควบคุม เนื่องจากหนูขาวมีอายุมากขึ้น

อนุมูลอิสระมีความสำคัญในทางชีวภาพ มีบทบาทในการเกิดการอักเสบ และการทำลายเนื้อเยื่อ มีผลต่อความเสื่อมหรือการแก่ของเซลล์ ทำให้เป็นต้นเหตุของการเกิดโรค (โอภา และคณะ , 2549) ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชัน หรือขจัดสารอนุมูลอิสระ แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ ประเภทแรกจะยับยั้งหรือป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ superoxide dismutase, glutathione peroxidase และ catalase เป็นต้น ส่วนอีกประเภทหนึ่งคือ สารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ วิตามินอี เบต้า -แคโรทีน วิตามินซี สารประกอบฟีโนลิก (phenolic compounds) และสารกลุ่ม flavanoids เป็นต้น ในภาวะที่มีสารอนุมูลอิสระในร่างกายมีมากไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress) โรคเรื้อรังหลายชนิดมีสาเหตุมาจากภาวะเครียดออกซิเดชั่น เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือดที่มีสาเหตุมาจากการบริโภคอาหารไขมันอิ่มตัวมากเกินไป โรคเบาหวาน โรคไขข้ออักเสบ โรคมะเร็ง เป็นต้น ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงทำการประเมินผลการให้ crude oil จากปลาทั้ง 3 ชนิด ต่อ ภาวะ oxidative stress โดยประเมินจากการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นและหาเอนไซม์ที่ป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ

การเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นและภาวะถูกออกซิไดส์มีบทบาทสำคัญในการเกิดและพัฒนาของโรค ปริมาณลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นที่เกิดขึ้นมากจึงเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงภาวะถูกออกซิไดส์ที่มากเกินสมดุล การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) เป็นวิธีที่หาผลผลิตที่เกิดจากการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน ทำได้โดยการเติมกรดไทโบอาร์บิทูริก ในสีภาวะกรด MDA จะทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์ทูริกที่ได้เป็นสารสีเรียกว่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) หนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และ fish oil มีแนวโน้มระดับ MDA ในเลือดลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูง

ในร่างกายมีกลูตาไทโอนที่เป็นเอนไซม์ป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระอยู่ใน 2 รูปแบบ คือ กลูตาไทโอนในรูปรีดิวส์ (GSH) และกลูตาไทโอนในรูปออกซิไดส์ (GSSG) เมื่อร่างกายเกิดภาวะ oxidative stress ระดับของ GSSG (reduced glutathione) จะมีเพิ่มมากขึ้น และอัตราส่วนของ GSH/GSSG จะลดลง พบว่าหนูขาวกลุ่มควบคุมและหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับ fish oil และ crude oil จากปลาลูกผสมมีค่าสูงใกล้เคียงกัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า หนูขาวที่ได้รับ crude oil จากปลาบึก ปลาสวาย และปลาลูกผสม มีแนวโน้มทำให้ภาวะ oxidative stress ในหนูขาวดีขึ้น

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ก้อนไขมันจากปลาหนังทั้ง 3 ชนิด คือ ปลาบึก ปลาสวายและปลาลูกผสม เมื่อนำมาทำเป็นน้ำมันดิบ (crude oil) และทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ พบว่า crude oil จากปลาทั้ง 3 ชนิด สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด (anti-hyperglycemia) ช่วยเพิ่มความไวของฮอร์โมนอินซูลิน (insulin sensitivity) มีฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือด (hypolipidemic effect) และช่วยลดภาวะ oxidative stress ในหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูง โดยเป็น การเพิ่มมูลค่าจากไขมันในส่วนเหลือใช้ของปลาหนังกลุ่มนี้ ให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food)

ปัจจุบัน ประเทศไทยมีโรงงานอุตสาหกรรมหลายแห่งที่ส่งออกปลาหนังเนื้อขาว เช่น ปลาสวายและปลาลูกผสมเป็นจำนวนมากในรูปปลาแล่เนื้อ (fillet) จึงทำให้มีไขมันที่เป็นของเหลือจากการแล่เนื้ออยู่และการนำไปใช้ประโยชน์ ยังไม่คุ้มค่า ดังนั้นก้อนไขมันจาก ปลาสวายและปลาลูกผสม จึงมีความเป็นไปได้ในการนำมาพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (nutraceutical product) ในรูปแบบ fish oil ชนิดแคปซูลเจล มากกว่าไขมันจากปลาบึกที่ยังมีปัญหาทางด้านการเพาะเลี้ยงที่ต้องใช้เวลานาน และเป็นสัตว์อนุรักษ์ตามอนุสัญญาว่าด้วยการอนุรักษ์พันธุ์พืชและสัตว์ป่า CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) ซึ่งได้กำหนดว่าปลาบึกเป็นสัตว์น้ำที่ใกล้จะสูญพันธุ์ (endangered species) ห้ามการส่งออกแต่สามารถจำหน่ายและบริโภคภายในประเทศได้ อีกทั้งปริมาณน้ำมันที่แยกได้มี % yield น้อยกว่าปลาสวายและปลาลูกผสม อย่างไรก็ตามสามารถนำฤทธิ์ชีวภาพและคุณค่าทางโภชนาการจากงานวิจัยครั้งนี้มาเพิ่มมูลค่าให้กับปลาบึก ซึ่งช่วยเพิ่มมูลค่าทางการตลาดให้กับเกษตรกรและฟาร์มที่เพาะเลี้ยงปลาบึกเชิงพาณิชย์ หากได้รับการส่งเสริมและประชาสัมพันธ์ให้รับประทานปลาบึกเป็นอาหารสุขภาพ

ผลจากการทำวิจัยในครั้งนี้ ทำให้ได้องค์ความรู้สนับสนุนการนำปลา หนังทั้ง 3 ชนิด มาพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ (functional food) และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (nutraceutical) เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มและนำไปสู่การใช้ประโยชน์จากปลากลุ่มนี้ได้ทั้งตัว อีกทั้งสามารถส่งเสริมสุขภาพให้แก่ผู้บริโภคอย่างเป็นรูปธรรมต่อไป ซึ่งจะส่งผลโดยตรงในการเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาบึกและปลาหนังเนื้อขาว นอกจากนี้ยังเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับประเทศได้อีกด้วย

บรรณานุกรม

เกรียงศักดิ์ และคณะ. 2551. คู่มือฐานการเรียนรู้ปลาบึก. โครงการวิจัยปลาบึกแบบบูรณาการ.คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

สมศักดิ์ วรคามิน. 2551. Amazing Omega-3 โอเมก้า-3 น้ำมันปลา. กรุงเทพฯ

เออณ์เซล อแมนดา. 2548. คู่มือดูแลสุขภาพและวิตามินและเกลือแร่. กรุงเทพฯ: ซีเอ็ดยูเคชั่น. (สรจักร ศิริบริรักษ์, ผู้แปล)

โอภา วัชรคุปต์ ปรีชา บุญจูง จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. พี.เอส.พริ้นท์. กรุงเทพฯ.

AOAC official method 996.06 Fat. (Total, Saturated, and Unstaurated) in Foods, 2001.

Carlson SE, Werkman SH, Peepes JM, Wilson WM. Long-chain fatty acids and early visual and cognitive development of preterm infants. Eur J Clin Nutr 1994; 48:S27–30.

DeFilippis AP, Sperling LS. Understanding omega-3. Am Heart J 2006; 151:564-70.

Gustafson KM, Colombo J, Carlson SE. Docosahexaenoic acid and cognitive function: Is the link mediated by the autonomic nervous system?. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2008; 79 (3-5):135-40.

Hasan E, Ersin F, Salih O, Sadik S, Birsen O, Omer A and Ozge A. Effect of fish oil supplementation on plasma oxidant/antioxidant status in rats. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. 2004; 71 (3): 149-152.

Hoffmann, g. 1989. The chemistry and technology of edible oil and fats and their high fat products. Academic Press. New York. 384 pp.

Horrocks LA, Yeo YK. Health benefits of docosahexanenoic acid (DHA). Pharmacol Res 1999; 40: 211–25.

O'Brien, R.D. 2004. Fats and oils: formulation and processing for application. 2nd ed. Boca Raton : CRC Press. 592p.

OECD/OCDE 425. OECD guidelines for the testing of chemicals. Adopted : 23 March 2006.

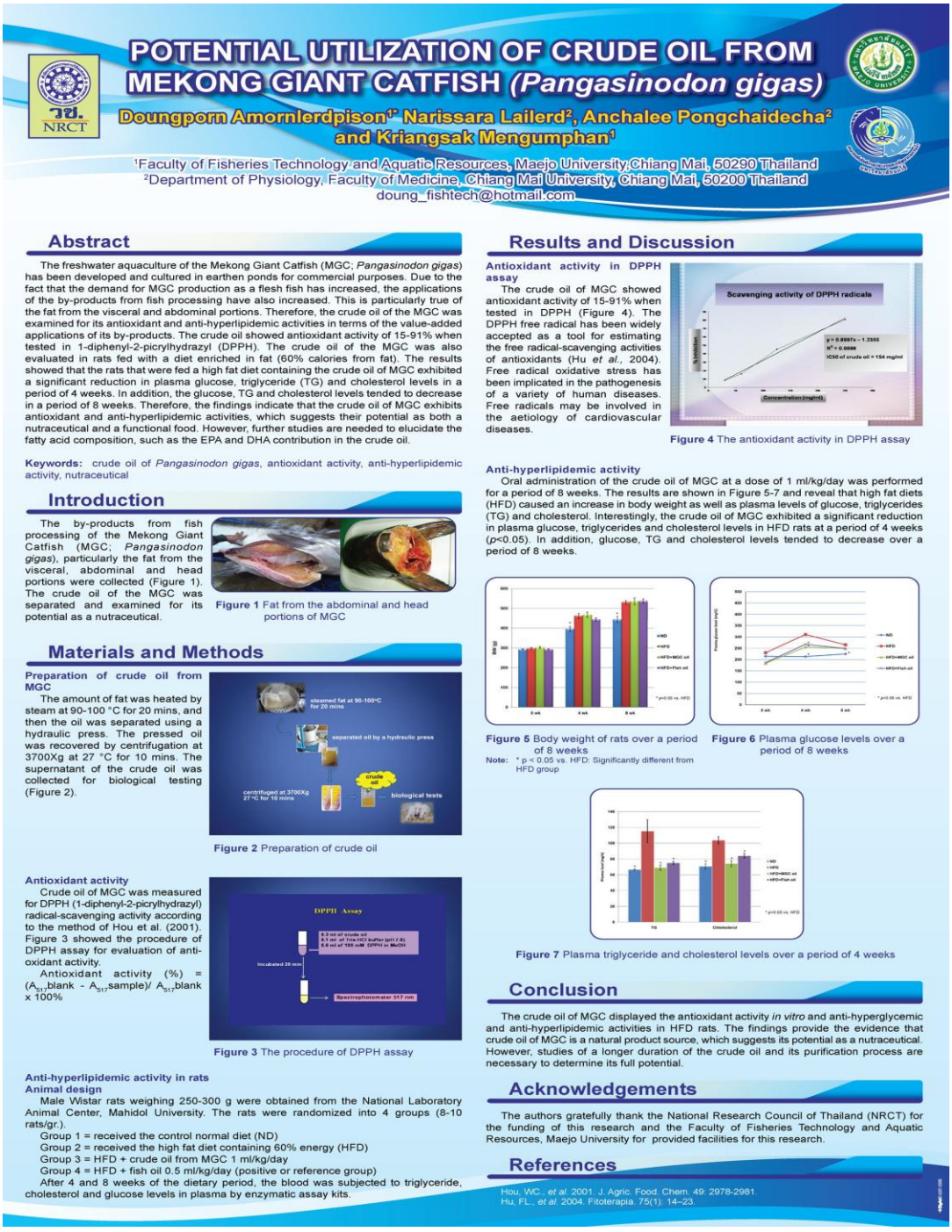
Stansby, Maurice E. 1990. Fish oils in nutrition. Van Nostrand Reinhold. New York. 313 pp.

Whelan J. (n-6) and (n-3) Polyunsaturated fatty acids and the aging brain: food for thought.J Nutr. 2008; 138 (12):2521-2.

ภาคผนวก

1. การเสนอผลงานระดับนานาชาติที่ประเทศจีน

Doungporn Amornlerdpison, Narissara Lailerd, Anchalee Pongchaidecha and Kriangsak Mengumphan. Potential utilization of crude oil from Mekong giant catfish (*Pangasinodon gigas*). 9th Asian Fisheries and Aquaculture Forum (9AFAF) “Better Science, Better Fish, Better Life”, Shanghai Ocean University, Shanghai, China 21st – 25th April 2011.



POTENTIAL UTILIZATION OF CRUDE OIL FROM MEKONG GIANT CATFISH (*Pangasinodon gigas*)

Doungporn Amornlerdpison[1*] Narissara Lailerd[2], Anchalee Pongchaidecha[2] and Kriangsak Mengumphan[1]

[1]Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, 50290 Thailand
[2]Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200 Thailand
doung_fishtech@hotmail.com

Abstract

The freshwater aquaculture of the Mekong Giant Catfish (MGC; *Pangasinodon gigas*) has been developed and cultured in earthen ponds for commercial purposes. Due to the fact that the demand for MGC production as a flesh fish has increased, the applications of the by-products from fish processing have also increased. This is particularly true of the fat from the visceral and abdominal portions. Therefore, the crude oil of the MGC was examined for its antioxidant and anti-hyperlipidemic activities in terms of the value-added applications of its by-products. The crude oil showed antioxidant activity of 15-91% when tested in 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). The crude oil of the MGC was also evaluated in rats fed with a diet enriched in fat (60% calories from fat). The results showed that the rats that were fed a high fat diet containing the crude oil of MGC exhibited a significant reduction in plasma glucose, triglyceride (TG) and cholesterol levels in a period of 4 weeks. In addition, the glucose, TG and cholesterol levels tended to decrease in a period of 8 weeks. Therefore, the findings indicate that the crude oil of MGC exhibits antioxidant and anti-hyperlipidemic activities, which suggests their potential as both a nutraceutical and a functional food. However, further studies are needed to elucidate the fatty acid composition, such as the EPA and DHA contribution in the crude oil.

Keywords: crude oil of *Pangasinodon gigas*, antioxidant activity, anti-hyperlipidemic activity, nutraceutical

Introduction

The by-products from fish processing of the Mekong Giant Catfish (MGC; *Pangasinodon gigas*), particularly the fat from the visceral, abdominal and head portions were collected (Figure 1). The crude oil of the MGC was separated and examined for its potential as a nutraceutical.

Figure 1 Fat from the abdominal and head portions of MGC

Materials and Methods

Preparation of crude oil from MGC

The amount of fat was heated by steam at 90-100 °C for 20 mins, and then the oil was separated using a hydraulic press. The pressed oil was recovered by centrifugation at 3700Xg at 27 °C for 10 mins. The supernatant of the crude oil was collected for biological testing (Figure 2).

Figure 2 Preparation of crude oil

Antioxidant activity

Crude oil of MGC was measured for DPPH (1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical-scavenging activity according to the method of Hou et al. (2001). Figure 3 showed the procedure of DPPH assay for evaluation of anti-oxidant activity.

Antioxidant activity (%) = (A_{517}blank - A_{517}sample)/ A_{517}blank x 100%

Figure 3 The procedure of DPPH assay

Anti-hyperlipidemic activity in rats

Animal design

Male Wistar rats weighing 250-300 g were obtained from the National Laboratory Animal Center, Mahidol University. The rats were randomized into 4 groups (8-10 rats/gr.).

Group 1 = received the control normal diet (ND)
Group 2 = received the high fat diet containing 60% energy (HFD)
Group 3 = HFD + crude oil from MGC 1 ml/kg/day
Group 4 = HFD + fish oil 0.5 ml/kg/day (positive or reference group)

After 4 and 8 weeks of the dietary period, the blood was subjected to triglyceride, cholesterol and glucose levels in plasma by enzymatic assay kits.

Results and Discussion

Antioxidant activity in DPPH assay

The crude oil of MGC showed antioxidant activity of 15-91% when tested in DPPH (Figure 4). The DPPH free radical has been widely accepted as a tool for estimating the free radical-scavenging activities of antioxidants (Hu *et al.*, 2004). Free radical oxidative stress has been implicated in the pathogenesis of a variety of human diseases. Free radicals may be involved in the aetiology of cardiovascular diseases.

Figure 4 The antioxidant activity in DPPH assay

Anti-hyperlipidemic activity

Oral administration of the crude oil of MGC at a dose of 1 ml/kg/day was performed for a period of 8 weeks. The results are shown in Figure 5-7 and reveal that high fat diets (HFD) caused an increase in body weight as well as plasma levels of glucose, triglycerides (TG) and cholesterol. Interestingly, the crude oil of MGC exhibited a significant reduction in plasma glucose, triglycerides and cholesterol levels in HFD rats at a period of 4 weeks (p<0.05). In addition, glucose, TG and cholesterol levels tended to decrease over a period of 8 weeks.

Figure 5 Body weight of rats over a period of 8 weeks

Figure 6 Plasma glucose levels over a period of 8 weeks

Note: * p < 0.05 vs. HFD: Significantly different from HFD group

Figure 7 Plasma triglyceride and cholesterol levels over a period of 4 weeks

Conclusion

The crude oil of MGC displayed the antioxidant activity *in vitro* and anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic activities in HFD rats. The findings provide the evidence that crude oil of MGC is a natural product source, which suggests its potential as a nutraceutical. However, studies of a longer duration of the crude oil and its purification process are necessary to determine its full potential.

Acknowledgements

The authors gratefully thank the National Research Council of Thailand (NRCT) for the funding of this research and the Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University for provided facilities for this research.

References

Hou, WC., *et al.* 2001. J. Agric. Food. Chem. 49: 2978-2981.
Hu, FL., *et al.* 2004. Fitoterapia. 75(1): 14–23.

POTENTIAL UTILIZATION OF CRUDE OIL FROM MEKONG GIANT CATFISH (*Pangasinodon gigas*)

Doungporn Amornlerdpison[1]* Narissara Lailerd[2], Anchalee Pongchaidecha[2] and Kriangsak Mengumphan[1]

[1]Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, 50290 Thailand

[2]Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200 Thailand

doung_fishtech@hotmail.com

Abstract

The aquaculture industry has become a highly important economic sector, especially in Asia. The freshwater aquaculture of the Mekong Giant Catfish (MGC; *Pangasinodon gigas*) has been developed and cultured in earthen ponds for commercial purposes. Due to the fact that the demand of MGC production as a flesh fish has increased, the amount of by-products from fish processing have also been augmented, particularly the fat from the visceral and abdominal portions. Therefore, the crude oil of the MGC was examined for its antioxidant and anti-hyperlipidemic activities in terms of the value-added applications of the by-products. The crude oil showed antioxidant activity of 15-91% when tested in 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). The crude oil of the MGC was also evaluated in rats fed with a diet enriched in fat (60% calories from fat). The results showed that the rats fed a high fat diet containing the crude oil of MGC for 10 weeks showed a significant reduction in plasma triglyceride levels, whereas glucose levels tended to decrease in rats fed with a high fat diet. Therefore, the findings indicate that the crude oil of MGC exhibits antioxidant and anti-hyperlipidemic activities, which suggests their potential as both a nutraceutical and a functional food. However, further studies are needed to elucidate the fatty acid composition, such as the EPA and DHA contribution in the crude oil.

Keywords: crude oil of *Pangasinodon gigas*, antioxidant activity, anti-hyperlipidemic activity, nutraceutical

2. จัดทำ *manuscripts* ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

Mj. Int. J. Sci. Tech. **20...**, ..(..), 1-x (manuscripts)

Maejo International

Journal of Science and Technology

ISSN 1905-7873

Available online at www.mijst.mju.ac.th

Full Paper

Fatty acid composition and specific physical properties of crude lipids of some freshwater catfish

Wiwat Wangcharoen[1]*, Doungporn Amornlerdpison[2], Kriangsak Mengumphan[2]

[1]Faculty of Engineering and Agricultural Industry, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand
[2]Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand
*Corresponding author, e-mail: wiwat@mju.ac.th

Received: / Accepted: / Published:

Abstract: Fatty acid composition and some physical properties of the crude lipids extracted from adipose tissues of some commercialized freshwater catfish, including the Mekong Giant Catfish (*Pangasinodon gigas*), the Striped Catfish (*Pangasius hypophthalmus*) and a hybrid catfish (*Pangasianodon hypophthalmus* x *Pangasius bocourti*) were carried out. Their contents of saturated fatty acids and unsaturated fatty acid were almost equal. Their n-3 fatty acid contents were 15.58, 0.83 and 4.36 g per 100 g, respectively. Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) contents were 3.23:4.24, 0.07:0.13 and 0.65:2.72 g per 100 g, respectively. Omega-6 fatty acid contents were 6.36, 9.19 and 8.77 g per 100 g, respectively. Their studied physical properties were not much different and they were kept in solid form at room temperature (30 $\pm$ 2 °C) since their melting points were 29.9 $\pm$ 2.0, 32.1 $\pm$ 1.2 and 33.0 $\pm$ 1.5 °C, respectively.

Key words: Fatty acid, physical property, fish lipid, *Pangasinodon gigas*, *Pangasius hypophthalmus*, hybrid catfish

---

Introduction

It is becoming apparent that regular consumption of seafoods and marine oils containing long chain polyunsaturated n-3 fatty acids lowers the overall incidence of, as well as the rate of death from cardiovascular heart disease. The biochemical basis for the cardioprotective effects of n-3 fatty acids are probably multifactorial and may collectively result in increased heart rate variability (antiarrhythmic), reduced atheroma development (antiatherogenic), and decreased platelet reactivity/aggregation (antithrombotic), which may be mediated by the substrate competition between n-3 fatty acids and arachidonic acid (20:4, n-6) for cyclooxygenase (COX) enzymes that produce prostaglandins and thromboxanes [1]. In addition, n-3 fatty acids, namely eicosapentaenoic acid (20:5n-3) or EPA, and docosahexaenoic acid (22:6n-3) or DHA still have other health benefits related to immune system and renal disorders, inflammation, allergies and cancer. DHA also plays an important role in brain development and retinal function of the fetus and in infants [2]. The official medical recommendation that people should eat fish twice a week in order to lower their chance of experiencing cardiovascular heart disease, was first announced by the United Kingdom Department of Health in 1994 [3], followed by The American Heart Association in 2002 [4]. Currently, the general public is recommended to consume two fatty fish meals per week (0.3-0.5 g per day of EPA and DHA). Patients with coronary heart disease should have 1 g per day of EPA and DHA, whereas patients with hypertriglyceridemia should take 3 to 5 g per day of EPA and DHA under a physician's supervision [5].

Actually, n-3 fatty acids found in marine animals originate from their food sources. There are thousands of species of phytoplankton and algae, some producing no long chain n-3 fatty acids, and others with small or large proportions of EPA and DHA [6], and they are eventually transferred through the food web and incorporated into the lipids of marine animals [7]. Freshwater fish could be seen as a good source of n-3 fatty acids, as well [8], however, freshwater fish oils contain n-6 fatty acids with totals roughly equal to n-3 fatty acids, whilst marine fish oils have lower contents of n-6 fatty acids [9]. The contents of n-3 fatty acids of some freshwater fish in the USA and Thailand are 0.3 – 6.2 and 0.02 – 0.46 g per 100 g serving, respectively [10-11].

Nowadays, the freshwater catfish family (Pangasiidae), which include the Mekong Giant Catfish (*Pangasinodon gigas*), the Striped Catfish (*Pangasius hypophthalmus*) and the hybrid catfish (*Pangasianodon hypophthalmus* x *Pangasius bocourti*), is commercially produced throughout the Mekong River region and at inland freshwater aquaculture farms [12-14]. It has become one of the most popular freshwater fish species in European and US markets, because its flesh is white and of mild flavor, it is virtually boneless and its price is extremely competitive [13]. In the preparation of fish for today's consumer market, up to 50% of the whole fish is commonly discarded as waste, but this waste could be better utilized in several ways, such as by methods of recovery of the flesh, in the extraction of oils, enzymes, vitamins, or flavour materials, and through the production of gelatin or the intermediate moisture animal feed process [15].

The crude fat content of the head and adipose tissue of some freshwater catfish in the Mekong region at Nong Khai Province were reported at 44.62-67.44 %, suggesting its high potential to be used in fish oil production [16]. Therefore, this work was aimed at the study of fatty acid composition and some physical properties of the crude lipids extracted from the adipose tissues, a kind of waste, of 3 commercialized freshwater catfish, including the Mekong Giant Catfish, the Striped Catfish and a hybrid catfish, to find out their potentials to be usd as raw materials for the manufacturing of fish oils containing long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids.

Materials and Methods

Raw materials

- Frozen adipose tissues of the Mekong Giant Catfish (*Pangasinodon gigas*) from Charun Farm, Chiang Rai, Thailand
- Frozen adipose tissues of he Striped Catfish (*Pangasius hypophthalmus*) from Charoen Pokphand Food Farm, Vietnam
- Frozen adipose tissues of the hybrid catfish (*Pangasianodon hypophthalmus* x *Pangasius bocourti*) from Thai Panga Farm, Kalasin, Thailand

Oil extraction

Frozen adipose tissues were steamed at 80-100 °C for 20 min. Hot adipose tissues were put in a filter sack and squeezed by screw compressor. Squeezed liquid was centrifuged at 4,000 rpm for 10 min to separate the solid particles. % yield of crude lipids was calculated. Lipid samples were stored in a freezer until they were used for chemical and physical property analysis.

Chemical analysis

Lipid samples were sent to the Central Laboratory (Thailand) Co Ltd., Chiang Mai Branch, for fatty acid composition analysis by an in-house method based on AOAC (2005) 996.06 [17].

Physical property analysis

These following physical properties of lipid samples were measured or analyzed with 3 replications.

- Colour (L*, a*, b*) at room temperature (30 $\pm$ 2 °C) and 40 °C was measured by Tri-Stimulus Colorimeter (JUKI: model JC801).
- Viscosity at 40 °C was measured by Viscotester (ROIN: model VT-04) and measuring time when 50 ml oil sample flows through a 0.2 mm orifice at 30 cm height.
- Turbidity at 40 °C was measured by Turbidimeter (HACH: model 2100 N).
- Specific gravity at 40 °C was measured by 100 ml Specific-gravity bottle.
- Water contamination was analyzed by Air oven method or AOSC method Ca 2c-25 [18].
- Melting point was analyzed by modified AOSC method Cc 3-25 [18].
- Smoke point was analyzed by modified AOSC method Cc 9a-48 [18].

Results and Discussion

Yields of crude lipids extracted from the adipose tissues of the Mekong Giant Catfish, the Striped Catfish and the hybrid catfish were 39.4, 48.0 and 47.6% (w/w), respectively. Frozen lipid samples were thawed in a water bath at 40 °C before total analysis. Since lipid samples would become a solid form if kept at room temperature (30 $\pm$ 2 °C), almost all analysis was done at 40 °C. The solid form state of the lipid samples could be explained by almost equal amounts of saturated and unsaturated fatty acids in Table 1, and the fact that their melting points were found to be at about 30°C in Table 2. The main reason for the high melting points of the crude lipids in this study could be described by their compositions containing 27.86 – 30.52 % palmitic acid, 8.19 – 10.44 % stearic acid and 3.60 – 5.41 % myristic acid, and for which the melting points of palmitic acid, stearic acid and myristic acid are 62.9, 69.9 and 54.4 °C, respectively [19].

Omega-3 fatty acid contents of the crude lipids of the Mekong Giant Catfish, the Striped Catfish and the hybrid catfish were 15.58, 0.83 and 4.36 g per 100 g, respectively.

EPA and DHA contents of each of them were 3.23:4.24, 0.07:0.13 and 0.65:2.72 g per 100 g, respectively. And their n-6 fatty acid contents were measured at 6.36, 9.19 and 8.77 g per 100 g, respectively. The results of the analysis of the Striped Catfish in this study were found to be a bit higher than the previous reports [16], which was based on the lipid samples extracted from a mixture of head and adipose tissues by a different procedure. Emphasis on the contents of n-3 fatty acid, especially EPA and DHA, the crude lipids of the Mekong Giant Catfish could be considered as being the best, followed by those of both the hybrid and the Striped Catfish, respectively. However, contents of n-3 fatty acid, especially EPA and DHA, of the crude lipids in this study were still lower than in the fish oils from other popular fish specie,s such as menhaden, herring, cod, capelin, sardines, skipjack tuna, butterfish, yellowtail flounder, winter flounder, haddock, halibut, mackerel, and salmon [1].

Changes in composition of the animal lipids could be manipulated through feeding [20]. Therefore, n-3 fatty acids contents of commercialized freshwater catfish may be improved by farming with supplemented feeds which contain n-3 fatty acids, especially EPA and DHA, such as some species of *Chlorella*, *Gonyaulox*, *Phaeodactylum* or *Spirulina* [21-22]. In addition, the supplementation of *Spirulina* in the feed of the Mekong Giant Catfish resulted in a higher weight gain, red blood cell count and the number of mature brood stock, which resulted in a significant benefit to reproduction [23].

Table 1 Fatty acid composition of crude lipids of 3 commercialized freshwater catfish

Fatty acid composition (g per 100g)	Mekong giant catfish	Striped catfish	Hybrid catfish
Capric acid (C10:0)	-	0.01	-
Undecanoic acid (C11:0)	0.01	-	-
Lauric acid (C12:0)	0.32	0.44	0.31
Tridecanoic acid (C13:0)	0.13	-	0.01
Myristic acid (C14:0)	5.41	3.86	3.60
Pentadecanoic acid (C15:0)	1.13	0.13	0.26
Palmitic acid (C16:0)	27.86	30.52	28.21
Heptadecanoic acid (C17:0)	1.28	0.14	0.34
Stearic acid (C18:0)	8.19	9.30	10.44
Arachidonic acid (C20:0)	0.50	0.20	0.21
Heneicosanoic acid (C21:0)	0.14	0.04	0.06
Behenic acid (C22:0)	0.48	0.09	0.13
Tricosanoic acid (C23:0)	1.81	0.26	0.34
Lignoceric acid (C24:0)	0.17	0.07	0.09
Saturated fatty acid	**47.43**	**45.06**	**44.00**

Table 1 (cont.) Fatty acid composition of crude lipids of 3 commercialized freshwater catfish

Fatty acid composition (g per 100g)	Mekong giant catfish	Striped catfish	Hybrid catfish
Myristoleic acid (C14:1)	0.05	0.02	0.03
Palmitoleic acid (C16:1n7)	4.43	0.90	1.77
cis-10-Heptadecenoic acid (C17:1n10)	0.04	-	-
trans-9-Elaidic acid (C18:1n9t)	0.39	0.06	0.08
cis-9-Oleic acid (C18:1n9c)	16.07	37.28	34.47
cis-11-Eicosenoic acid (C20:1n11)	3.34	1.15	1.04
Erucic acid (C22:1n9)	0.72	0.05	0.10
Nervonic acid (C24:1n9)	0.11	0.05	0.11
Monounsaturated fatty acid	**25.15**	**39.51**	**37.60**
trans-Linolelaidic acid (C18:2n6t)	0.05	-	-
cis-9,12-Linoleic acid (C18:2n6)	5.33	8.37	8.37
γ-Linolenic acid (C18:3n6)	0.37	0.26	0.10
α-Linolenic acid (C18:3n3)	7.84	0.59	0.93
cis-11,14-Eicosadienoic acid (C20:2)	0.60	0.41	0.36
cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid (C20:3n6)	0.51	0.52	0.26
cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid (C20:3n3)	0.27	0.04	0.06
Arachidonic acid (C20:4n6)	0.10	0.04	0.04
cis-13,16-Docosadienoic acid (C22:2)	-	0.08	-
cis-5,8,11,14,17-Ecosapentaenoic acid (C20:5n3)	3.23	0.07	0.65
4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid (C22:6n3)	4.24	0.13	2.72
n-3 fatty acid	**15.58**	**0.83**	**4.36**
n-6 fatty acid	**6.36**	**9.19**	**8.77**
Polyunsaturated fatty acid	**22.54**	**10.51**	**13.49**
Unsaturated fatty acid	**47.69**	**50.02**	**51.09**

Physical characteristics of lipids were dependent on their composition [20]. In this study, they were not found to be much different. Crude lipids in solid form of the Mekong Giant Catfish were found to be a more intense yellow, as shown in Figure 1 and were found to have a higher b* value in Table 2. Crude lipids at 40 °C of the Striped Catfish were found to be rather viscous when compared to those of both the hybrid and the Mekong Giant Catfish, respectively. And the smoke point of the crude lipids at 40 °C of the Striped Catfish was also lower. Other studied properties were not found to be evidently different (Table 2).

(a) (b) (c)

Figure 1 Crude lipids in liquid and solid forms of the Mekong Giant Catfish, the Striped Catfish and the hybrid catfish

Table 2 Some physical properties of crude lipids of 3 commercialized freshwater catfish

	Mekong Giant Catfish	Striped Catfish	Hybrid Catfish
Colour			
Solid form at room temperature	(30 ± 2°C)		
L*	84.30 ± 0.91	97.36 ± 1.00	82.66 ± 3.10
a*	38.16 ± 0.29	39.20 ± 0.54	34.55 ± 0.88
b*	83.18 ± 0.11	60.39 ± 0.63	68.33 ± 1.51
Liquid form at 40 °C			
L*	58.12 ± 0.14	58.57 ± 0.20	58.29 ± 0.03
a*	-13.76 ± 0.34	-13.74 ± 0.34	-14.10 ± 0.23
b*	- 40.77 ± 0.05	- 40.69 ± 0.17	- 40.47 ± 0.12
Viscosity at 40 °C			
Viscotester (Poise)	0.30 ± 0.00	0.40 ± 0.00	0.35 ± 0.00
Orifice (sec)	24 ± 3	65 ± 5	57 ± 4
Turbidity at 40 °C (NTU)	4.64 ± 0.27	3.27 ± 0.24	4.48 ± 0.26
Specific gravity at 40 °C (g per cm^2)	0.9142 ± 0.0016	0.9078 ± 0.0017	0.9027 ± 0.0031
Water contamination (%)	0.200 ± 0.002	0.184 ± 0.117	0.075 ± 0.001
Melting point (°C)	29.9 ± 2.0	32.1 ± 1.2	33.0 ± 1.5
Smoke point (°C)	204.3 ± 5.5	168.0 ± 11.3	192.3 ± 8.5

Conclusions

Crude lipids of the Mekong Giant Catfish, the Striped Catfish and the hybrid catfish proved that they contained n-3 fatty acids, but in lower amounts than other popular fish species used for fish oil production. In order to use them as raw materials for the manufacturing of fish oils containing long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids, further study is needed, such as in the field of feed supplementation [20] with n-3 fatty acids, especially EPA and DHA, and in the methods applied for separating the unwanted fatty acids, such as chromatography, fractional or molecular distillation, enzymatic splitting, low-temperature crystallization, the solubility differences of fatty acid salts, supercritical fluid extraction, and urea complexation [2, 21].

Acknowledgements

The authours are grateful to National Research Council of Thailand (NRCT) for funding this project, and to the Faculty of Engineering and Agricultural Industry and Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University for providing some of the facilities required. We acknowledge Charun Farm, Chiang Rai, Thailand; Charoen Pokphand Food Farm, Vietnam and Thai Panga Farm, Kalasin, Thailand for their support of providing adipose samples.

References

1. F. Shahidi and H. Miralaikbari, in “Nutraceutical and specialty lipids and their co-products” (Ed. F. Shahidi), CRC press, Boca Raton, FL, **2006**, 227-250.
2. U. N. Wanasundara, J. Wanasundara and F. Shahidi, in “Seafoods – quality, technology and nutraceutical applications” (Eds. C. Alasalvar and T. Taylor), Springer, New York, **2002**, 157-174.
3. U.K. Department of Health, Report on Health and Social Subjects no. 46, “Nutritional aspects of cardiovascular disease”, Report of the Cardiovascular Review Group Committee in Medical Aspects of Food Policy, HMSO, London, **1994**.
4. P.M. Kris-Etherton, W.S. Harris, and L.J. Apple, “Fish composition, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease”, Circulation, **2002**, 106, 2747-2757.
5. A. Saremi and R. Arora, “The utility of omega-3 fatty acids in cardiovascular disease”, Am. J. Ther., **2009**, 16(5), 421-436.
6. G.M. Pigott and B.W. Tucker, “Science opens new horizon for marine lipids in human nutrition”, Food Rev. Int., **1987**, 3, 105-138.
7. G. Holmer, in “Marine biogenic lipids, fats and oils” (Ed. R.G. Ackman), CRC Press, Boca Raton, FL, **1989**, 140-174.
8. Chippewa Ottawa Treaty Fishery Management Authority, “Freshwater fish source of omega-3 fatty acids, **1999**, Retrieved August 18, 2011, from: http://www.1836cora.org/pdf/freshwaterfishbenefits.pdf
9. R.G. Ackman and W.M.N. Ratnayake, in “Omega-3 fatty acids in health and disease” (Eds. R.S. Lees and M. Karel), Marcel Dekker, New York, **1990**, 215-233.
10. Anon, “Fish is healthy eating!”, **2003**, Retrieved August 18, 2011, from: http://www.1836cora.org/pdf/Fish_is_Healthy_Eating_2003.pdf

11. K. Sukaudchasakul and N. Nathai, "Omega-3 and Omega-6", Folk Doctor, **2011**, Retrieved August 18, 2011, from: http://health-pmk.org/knowledge/knowledge022/383-010.pdf (in Thai)
12. K. Mengumphun, N. Wangchai and D. Amornlerdpison, "Effect of extender type, sperm volume, cryoprotectant concentration, cryopreservation and time duration of motility, survival and fertilization rates of Mekong giant catfish sperm" Maejo Int. J. Sci. Technol., **2010**, 4(03), 417-427.
13. Anon, "Pangasius the basa fish: recipes, cooking, preparation", **(n.d.),** Retrieved August 19, 2011, from: http://www.pangasius.org/
14. Anon, "TPF Thai Panga Farm" , **(n.d.),** Retrieved August 19, 2011, from: http://www.thaipanga.com/indexen.html
15. T. Taylor and C. Alasalvar, in "Seafoods – quality, technology and nutraceutical applications" (Eds. C. Alasalvar and T. Taylor), Springer, New York, **2002**, 123-136.
16. B. Hemung, A. Visetsunthorn and S. Pariwat, "Chemical properties and fatty acid profile of lipids extracted from freshwater fish spicies", Food Innovation Asia Conference 2010 Poster presentation proceedings, **2010**, SP4-01, 669-675.
17. AOAC, "Official method 996.06: fat (total, saturated, and unsaturated) in foods", AOAC International 18th Edn., **2005**, Ch4, 20-25.
18. R.D. O'Brien, "Fats and oils: formulation and processing for application" 2nd Edn., CRC Press, Boca Raton, FL, **2004 .**
19. J. Beare-Rogers, A. Dieffenbacher and J.V. Holm, "Lexicon of lipid nutrition", Pure Appl. Chem., **2001**, 73(4), 685-744.
20. A.J. Wright and A.G. Marangoni, in "Handbook of functional lipids" (Ed. C.C. Akoh), CRC Press, Boca Raton, FL, **2006**, 135-162.
21. J.E. Kinsella, in "Omega-3 fatty acids in health and disease" (Eds. R.S. Lees and M. Karel), Marcel Dekker, New York, **1990**, 157-200.
22. S. Ötleş and R. Pire, "Fatty acid composition of *Chlorella* and *Spirulina* microalgae species" J. AOAC Int., **2001**, 84(6), 1708-1713.
23. K. Meng-Umphan and J. Saengkrachang, "Production of generation-2 Mekong giant catfish (*Pangasinodon gigas*) cultured with *Spirulina sp.*" Maejo Int. J. Sci. Technol., **2008**, 2(03), 559-567.

© 2011 by Maejo University, San Sai, Chiang Mai, 50290 Thailand. Reproduction is permitted for noncommercial purposes.