โครงการวิจัยย่อยที่ 2

เรื่อง

การสกัดน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย)
เพื่อเพิ่มมูลค่าและการใช้ประโยชน์เป็นอาหารปลา

Extraction of fish oil from hybrid catfish
(*Pangasius larnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*)
for value added and utilization as pellet fish feed

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการย่อยที่ 2 การสกัดน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) เพื่อเพิ่มมูลค่าและการใช้ประโยชน์เป็นอาหารปลา

Extraction of fish oil from hybrid catfish (*Pangasius larnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*) for value added and utilization as pellet fish feed

1. บทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ (Abstract)

ก้อนไขมันจากเศษเหลืออุตสาหกรรมประมงน้ำหนัก 1 กก. สามารถสกัดได้น้ำมันปลาน้ำจืดปริมาตร 270 มล. จากนั้นนำน้ำมันปลาที่ได้ไปทดสอบลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติทางเคมี พบว่า น้ำมันปลาที่ได้มีสีเหลืองใส มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานทั้งค่ากรด ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าไอโอดีน และค่าไขมันอิสระ นอกจากนี้ยังมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวมีค่าใกล้เคียงกับน้ำมันปลาจากปลาทะเลในท้องตลาด ส่วนค่าไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนยังมีค่าน้อยกว่าน้ำมันปลาจากปลาทะเล โดยเฉพาะกรดไขมันโอเมก้า 3 ที่มีปริมาณน้อยกว่ามาก ส่วนปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในกลุ่มโอเมก้า 9 (กรดโอเลอิก) ในน้ำมันปลาที่สกัดได้ มีปริมาณสูงกว่าน้ำมันปลาจากปลาทะเล 2-3 เท่า จากนั้นได้ทำการปรับปรุงคุณภาพน้ำมันด้วยเทคนิคทางเคมี พบว่า ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิด EPA และ DHA รวมถึงปริมาณกรดไขมัน total n-3 มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามค่าใช้จ่ายในการปรับปรุงคุณภาพกรดไขมันนั้นมีราคาแพง น้ำมันปลาน้ำจืดได้ถูกนำไปศึกษาผลการเจริญเติบโตของปลาหนังที่ได้รับอาหารเม็ดเสริมน้ำมันปลาเป็นเวลา 5 เดือน พบว่า ปลาหนังในหน่วยการทดลองที่ให้อาหารผสมน้ำมันปลาในระดับ 1.5% มีการเจริญเติบโตดีที่สุด และยังช่วยเพิ่มปริมาณไขมันโอเมก้า 3, 6 และ 9 ในเนื้อปลาได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามกลไกการเจริญเติบโตของปลาหนังไม่มีผลต่อการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชั่น เนื่องจากไม่มีผลลดระดับของการเกิดภาวะลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (ระดับ MDA) ในพลาสมา ผลจากการทดลองสรุปได้ว่า น้ำมันปลาที่สกัดจากก้อนไขมันที่เป็นเศษเหลือจากการแปรรูปอุตสาหกรรมประมงน้ำจืดสามารถนำมาใช้ทดแทนน้ำมันปลาจากปลาทะเลที่มีราคาแพงและต้องนำเข้าจากต่างประเทศได้ ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และเพิ่มมูลค่าปลาน้ำจืดได้เป็นอย่างดี

คำสำคัญ: กรดไขมันโอเมก้า การเพิ่มมูลค่า น้ำมันปลาจากปลาน้ำจืด เศษเหลือ อาหารปลา

Abstract

By product from fisheries industry was extracted to freshwater fish oil (FFO) volume of 270 ml from waste of adipose tissue 1 kg. The FFO was evaluated the physical and chemical properties. It was found that FFO performed clear yellow solution and showed the standard level, including acid value, peroxide value, iodine value and free fatty acid. Moreover, the FFO contained amount of saturated fatty acid which similar to marine fish oil (MFO) from commercial brand. However, the amount of polyunsaturated fatty acid (PUFA) was also less than the brand, especially the amount of omega-3 fatty acids. Interestingly, FFO exhibited the quantity of the monounsaturated fatty acid, omega- 9 (oleic acid) which higher than 2-3 times from the MFO. The quality of the FFO was improved with chemical technique. The results showed that the amounts of PUFA content increased, including EPA, DHA and total n-3 fatty acid. However, the cost of the fatty acids improving was expensive. The FFO was studied on growth performances in hybrid catfish for 5 months. Results revealed that catfish treated with 1.5% FFO supplemented feed increased growth significantly different from all treatments ($p<0.05$). It also increased the amount of omega 3, 6 and 9 in flesh. However, the mechanism of FFO on growth was ineffective on oxidative stress due to it could not reduce the level of lipid peroxidation (MDA) in plasma. The findings provide that the potential development of the fish oil from by-product of freshwater fishery industry can replace marine fish oil which expensive cost and imported from overseas. In addition, the FFO could reduce the costs of aquaculture and value added of by-product of freshwater fish.

Keywords: by product, fish feed, freshwater fish oil, omega, value added

2. บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ประเทศไทยมีโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผลิตภัณฑ์ทางการประมงหลายแห่งที่ส่งออกปลาหนังเนื้อขาวในรูปปลาแล่เนื้อ (fillet) จึงทำให้มีไขมันที่เป็นของเหลือจากการแล่เนื้ออยู่เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะไขมันปลาภายในบริเวณช่องท้อง ซึ่งไขมันเหล่านี้ไม่ถูกนำไปใช้ประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่าเท่าที่ควร จากการที่คณะผู้วิจัยได้ทำโครงการวิจัยเรื่อง “ศักยภาพของน้ำมันปลาหนังน้ำจืดในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร” โดยมีสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ให้การสนับสนุนทุนในปีงบประมาณ 2553 ผลการศึกษาพบว่าก้อนไขมันปลาหนังลูกผสมกลุ่มปลาสวายที่ได้จากเศษเหลือในการแปรรูปจากอุตสาหกรรมส่งออกปลาเนื้อขาว 1 กก.ได้ปริมาณน้ำมันดิบ (crude oil) เท่ากับ 360 มล. และจาก crude oil 100 กรัม มีส่วนประกอบของไขมันไม่อิ่มตัวเท่ากับ 51.09 กรัม ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิดกรดไขมันชนิดโอเมก้า-3 ได้แก่ ALA (alpha-linolenic acid), EPA และ DHA และกรดไขมันชนิดโอเมก้า-6 ได้แก่ กรดไลโนเลนิก (gamma-Linolenic acid) นอกจากนี้ crude oil จากปลาหนังกลุ่มนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองในแบบจำลองการกำจัดอนุมูล ABTS อีกด้วย จากนั้นได้ทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในหนูขาวพบว่า ผลจากการให้ crude oil ปลาหนังในขนาด 1 มล./กก./วัน ร่วมกับการให้อาหารไขมันสูงต่อเนื่องเป็นเวลา 12 สัปดาห์ในหนูขาว พบว่า ช่วยควบคุมระดับของกลูโคสและไขมันชนิดต่างๆ ในเลือดให้กลับเข้าสู่ค่าปกติใกล้เคียงกับในหนูขาวกลุ่มควบคุม โดยมีประสิทธิผลที่ไม่แตกต่างไปจากหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ fish oil ที่มีวางขายในท้องตลาดที่มีราคาแพงใช้เป็น positive control

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะนำ crude oil ดังกล่าวมาเพิ่มมูลค่าเป็นอาหารปลาเสริมโอเมก้า 3 โดยคาดหวังว่าจะทำให้ได้องค์ความรู้สนับสนุนการนำเศษไขมันเหลือใช้จากอุตสาหกรรมแปรรูปปลาหนังเนื้อขาวมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในสัตว์น้ำ เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่ม และพัฒนาปลาให้เป็นอาหารสุขภาพ (functional food) และศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันปลาที่เพิ่มปริมาณ polyunsaturated fatty acid หรือกรดไขมันโอเมก้า 3 จากปลาลูกผสมนำไปสู่การใช้ประโยชน์จากเศษเหลือใช้จากปลากลุ่มนี้ได้อย่างเป็นรูปธรรม ซึ่งนอกจากจะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มผลผลิตเชิงพาณิชย์ยังเป็นการสร้างจุดต่างของผลิตภัณฑ์ที่จะช่วยเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันในตลาดได้เป็นอย่างดี

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันปลาที่เพิ่มปริมาณ polyunsaturated fatty acid จากปลาหนังลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย)

2. เพื่อศึกษาผลการเสริมน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) ที่สกัดได้จากเศษเหลือทางการประมงต่อการเจริญเติบโต ระบบต้านอนุมูลอิสระ และองค์ประกอบของสารอาหารในเนื้อปลาหนังลูกผสม (ปลาบึก x ปลาสวาย)

3. ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

คณะผู้วิจัยได้ทำโครงการวิจัยเรื่อง “ศักยภาพของน้ำมันปลาหนังน้ำจืดในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร” โดยมีสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ให้การสนับสนุนทุนในปีงบประมาณ 2553 ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 2-1 พบว่า น้ำมันดิบ (crude oil) จากปลาลูกผสมกลุ่มปลาสวาย (*Pangasius* sp.) ปริมาณ 100 กรัม มีกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) ทั้งหมด 44.00 กรัม ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ทั้งหมด 51.09 กรัม ซึ่งประกอบด้วย monounsaturated fatty acid (MUFA) 37.60 กรัม กรดไขมัน omega-9 เช่น กรดโอเลอิก (oleic acid) ในปริมาณ 34.47 กรัม ส่วน polyunsaturated fatty acid (PUFA) มีปริมาณทั้งหมด 13.49 กรัม และเป็นกรดไขมัน omega-3 ได้แก่ ALA 0.93 กรัม EPA 0.65 กรัม และ DHA 2.72 กรัม มีกรดไขมัน omega-6 ได้แก่ กรดไลโนเลนิก (γ-linolenic acid, cis-9,12-linolenic acid) 8.47 กรัม (ดวงพร และคณะ, 2553)

ตารางที่ 2-1 ชนิดและปริมาณของกรดไขมันใน crude oil จากปลาหนังลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย)

ชนิดกรดไขมัน (fatty acid composition)	**ปริมาณ** (g/100g)
ไขมันอิ่มตัว (saturated fat)	44.00
ไขมันไม่อิ่มตัว (unaturated fat)	51.09
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounaturated fatty acid) โอเมก้า 9	37.60
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunaturated fatty acid)	13.49
โอเมก้า 3	4.36
โอเมก้า 6	8.77

หมายเหตุ: วิเคราะห์ไขมันด้วยวิธีการ AOAC official method 996.06 fat (2001)

ตารางที่ 2-2 การเปรียบเทียบปริมาณโคเลสเตอรอล และกรดไขมันโอเมก้า 3 ชนิด DHA และ EPA จากเนื้อปลา

ชนิดปลา	โคเลสเตอรอล	DHA (mg/100g)	EPA (mg/100g)
ปลาทูน่า	-	2877	1288
ปลาสวายลูกผสม	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 2-2 แสดงปริมาณของกรดไขมันโอเมก้า 3 ชนิด EPA และ DHA ของปลาหนังลูกผสม เปรียบเทียบกับปลาทะเล ผลจากตารางที่ 2-1 และ 2-2 พบว่า กรดไขมันโอเมก้า 3 ชนิด EPA และ DHA ของปลาหนังลูกผสมมีปริมาณสูงเมื่อเทียบกับปลาชนิดอื่นจึงมีศักยภาพเหมาะสมในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันปลา

กรดไขมันชนิด omega-3 และ omega-6 เป็นกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับร่างกาย แต่ร่างกายไม่สามารถผลิตเองต้องได้รับจากสารอาหาร น้ำมันปลาจากตับของปลาเนื้อขาว เช่น ปลาค็อด หรือเนื้อของปลาที่มีมันมาก เช่น ปลาแซลมอล มีกรดไขมันชนิด omega-3 ชนิดกรด docosahexaenoic acid (DHA) และกรด eicosapentaenoic acid (EPA) ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยลดไขมันในเลือด ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ ชลอกระบวนการอักเสบ พัฒนาสมองของทารกในช่วงสามเดือนสุดท้ายของการตั้งครรภ์ พัฒนาการมองเห็นภาพและการได้ยินของเด็กที่กำลังเจริญเติบโต (Carlson *et al*., 1994; Horrocks and Yeo, 1999) ส่วนกรดไขมันชนิด omega-6 (กรด linoleic) พบมากในอาหารจำพวกปลาและน้ำมันพืช มีคุณสมบัติช่วยลดอาการผิวหนังอักเสบ และบรรเทาอาการปวดประจำเดือน (เออร์เซล, 2548) จากคุณสมบัติของน้ำมันปลา ทำให้ได้รับความนิยมในการบริโภคเป็นอย่างมากในรูปผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ

น้ำมันปลา (fish oil) ที่จำหน่ายในท้องตลาดจะมีกรดไขมันที่ใช้กำหนดมาตรฐาน 2 ตัว คือ กรดไขมันชนิด DHA 12% และ EPA 18% โดย 1 แคปซูล ขนาด 1,000 มิลลิกรัม (มก.) ประกอบด้วย DHA 120 มก. และ EPA 180 มก. การบริโภคกรดไขมัน DHA ชนิดเดียวจะสามารถเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมัน EPA ได้ และพบกรดไขมัน DHA มีความเข้มข้นสูงในอวัยวะที่สำคัญคือ สมอง เซลล์ประสาท จอภาพนัยตา (retina) และลูกอัณฑะ ส่วนการบริโภคกรดไขมัน EPA ชนิดเดียวมีคุณสมบัติทำให้ความเข้มข้นของเลือดลดลง และเม็ดเลือด

แดงปรับรูปร่างได้ง่าย ซึ่งเป็นผลดีต่อสุขภาพของหัวใจ ป้องกันการเกิดโรคของหลอดเลือดและหัวใจ แต่จะมีผลต่อการแข็งตัวของเกร็ดเลือด (platelet aggregration) เนื่องจาก กรดไขมัน EPA จะเพิ่มเวลาทำให้เลือดหยุดไหลให้นานขึ้น ซึ่งเป็นข้อควรระวังในการรับประทานน้ำมันปลา ดังนั้น กรดไขมัน DHA จึงเป็นกรดไขมันจำเป็นที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและสำคัญมากกว่ามากกว่ากรดไขมันที่จำเป็นชนิดอื่น โดยเฉพาะมีความสำคัญมากต่อการพัฒนาสมอง และจอประสาทตา หากบกพร่องจะทำให้เกิดโรคได้ (สมศักดิ์, 2551) สมาคมโรคหัวใจของสหรัฐอเมริกาแนะนำให้คนทั่วไปรับประทานอาหารหรืออาหารเสริมที่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมก้า3 เป็นกรดไขมันจำเป็น เช่น EPA และ DHA เนื่องจากสามารถช่วยลดอัตราการตายจากโรคหลอดเลือดหัวใจได้ (DeFilippis and Sperling, 2006)

โดยทั่วไปปลาใช้ไขมันเป็นแหล่งพลังงาน โครงสร้างเซลล์ และบำรุงรักษาสภาพของผนังเซลล์ ในเนื้อเยื่อของปลามีไขมันไม่อิ่มตัวปริมาณมากซึ่งมีบทบาทในการควบคุมการไหลของสารเข้าออกเซลล์ ช่วยลำเลียงวิตามินที่ละลายในไขมัน เช่น วิตามิน A, D, E และ K กรดไขมันเป็นโครงสร้างสำคัญของฮอร์โมนเพศซึ่งมีบทบาทต่อการสืบพันธุ์ มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของปลา ปริมาณไขมันที่เหมาะสมในอาหารปลาไม่ควรเกิน 12% อาหารปลาส่วนใหญ่ต้องผสมน้ำมันปลาเพื่อให้ได้ปริมาณกรดไขมันที่จำเป็นในอาหารเพียงพอ (อุธร, 2550) มีรายงานการวิจัยของ Manning *et al*. (2006) ในลูกปลา channel catfish น้ำหนักประมาณ 50-60 กรัม ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมด้วยน้ำมันปลาระดับ 1.5% โดยมีไขมันรวมในสูตรอาหารในระดับ 3% เลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่ามีการสะสมของไขมัน omega-3 เพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีรายงานการวิจัยของ Chen *et al*. (2008) ในปลา rainbow trout น้ำหนักประมาณ 240 กรัม ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมไขมัน omega-3 จาก flaxseed oil ในระดับ 8.5 และ 15% เลี้ยงเป็นเวลา 120 วัน พบว่า มีการสะสมของไขมัน omega-3 เพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่เดือนที่ 2 หรือ วันที่ 60 ของการทดลองไปจนถึง 120 วัน

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่เมื่อมีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่จึงทำให้โมเลกุลนั้นไม่เสถียรจึงพยายามจับอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงให้มีอิเล็กตรอนครบคู่เพื่อความเสถียรเมื่อโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงถูกดึงอิเล็กตรอนออกไปต้องไปจับเอาอิเล็กตรอนจากอะตอมหรือโมเลกุลข้างเคียงตัวอื่นต่อๆไปเป็นอย่างนี้ต่อเนื่องไปเป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่โดยไม่มีที่สิ้นสุด เพื่อให้ตัวอะตอมหรือโมเลกุลมีความเสถียร และถ้าหากอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ 2 ตัวจับคู่กันพอดี จะเปลี่ยนเป็นมีโมเลกุลที่เสถียร เช่น hydrogen radical, hydroxyl radical และ superoxide anion radical อนุมูลอิสระเกิดได้ทั้งภายในและภายนอกร่างกาย ถ้าอนุมูลอิสระมีมากทำให้เกิดสภาวะเสื่อมระดับเซลล์เสียหายได้หลายรูปแบบ เช่น การเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อตลอดจนอาจทำลายโครงสร้างทางเคมีของ DNA หรือ โครโมโซม อนุมูลอิสระสร้างความเสียหายต่อชีวโมเลกุลมากโดยเฉพาะการออกซิไดซ์ไขมันซึ่งเป็น ส่วนประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพได้ สิ่งมีชีวิตจะมีระบบป้องกันการทำลายเซล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระอยู่ปริมาณหนึ่ง ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติในร่างกายมีหลายชนิด ได้แก่ เอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) พบในเม็ดเลือดแดง

เอนไซม์ catalase (CAT) พบในไซโตซอลของเซลล์ และสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ แต่สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีปริมาณจำกัด เมื่อร่างกายมีอนุมูลอิสระมากขึ้น จะเกิดการขาดความสมดุลระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระและอนุมูลอิสระในร่างกาย ดังนั้นจึงควรหาแหล่งอาหารหรือสิ่งที่ช่วยเพิ่มเสริมให้ร่างกายมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น เช่น วิตามิน ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน เกลือแร่ ได้แก่ ทองแดงและสังกะสี ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ SOD และซีลีเนียมเป็นส่วนประกอบของ เอนไซม์ glutathioneperoxidase (GSH) สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ได้แก่ โคเอนไซม์เอนไซม์คิวเทน สารสกัดจากเมล็ดองุ่น สารสกัดจากเปลือกสน และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ซึ่งเป็นสารประกอบที่หาได้จากการเมทาบอไลท์ในพืชทั่วไปประกอบด้วยสารประกอบสำคัญ ได้แก่ โปรแอนโทไซยานิดินส์ (proanthocyanidins) อนุพันธ์ของกรดแกลลิก (gallic acids) และอนุพันธ์ของกรดเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิกส์ (hexahydroxydiphenic acid) โดยสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญคือ ฟลาโวนอยด์ ประกอบด้วย catechin, proanthocyanins, anthocyanidins, flavone, flavonols และglycosides (โอภาและคณะ, 2549)

สาเหตุที่ทำให้ปลาเกิดความเครียด ได้แก่ อาหาร คุณภาพน้ำ ความหนาแน่นในการปล่อยปลาในกระชัง และสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ความเครียดมีผลทำให้อนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร ถูกปล่อยออกมาในรูปของโมเลกุลที่ไม่ครบวงจรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี จึงพร้อมที่จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลตัวอื่น มีบทบาทในการก่อให้เกิดการอักเสบ และการทำลายเนื้อเยื่อ มีผลต่อความเสื่อมของเซลล์ ทำให้เกิดการตายของปลา ในภาวะที่มีสารอนุมูลอิสระมากไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress) เกิดขึ้น โดยอาจเป็นผลมาจากการสร้างสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และ/หรือมีการลดลงของสารและเอนไซม์ที่ต้านอนุมูลอิสระลดลงในตัวปลา ภาวะ oxidative stress มีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม การปนเปื้อนจากสารพิษหรือโลหะหนัก การได้รับอาหารไม่เพียงพอ ทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระที่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxic effect) หรือต่อ membrane phospholipids ที่มีทั่วตัวปลา อาทิเช่น การเกิด lipid peroxidation ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีนต่างๆ ทั้งที่อยู่ในเซลล์และที่อยู่ที่ผนังของเซลล์ได้ เช่น ภาวะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระตัวหนึ่งทำให้มีการเพิ่มขึ้นของภาวะ lipid peroxidation จากสาเหตุดังกล่าวจะส่งผลให้เกิดการทำลายของไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอขึ้น โดยปกติในตัวปลาจะมีกลไกที่จะลดสารอนุมูลอิสระโดยอาศัยเอนไซม์ที่มีบทบาทเกี่ยวกับการทำลายสารอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) และ glutathione peroxidase (GSH-Px) เพื่อปกป้องเซลล์จากภาวะ oxidative stress ได้ (van der Oost, *et al*, 2003).

มีการศึกษาวิจัยจำนวนมากพบว่า การเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (lipid peroxidation, LPO) และภาวะถูกออกซิไดส์มีบทบาทสำคัญในการเกิดและพัฒนาของโรค ปริมาณ LPO ที่เกิดขึ้นมากใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงภาวะถูกออกซิไดส์ที่มากเกินสมดุล วิธีที่หาผลผลิตที่เกิดจากการเกิด LPO คือ การวัดระดับ malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นดัชนีที่ใช้อย่างกว้างขวางเพราะการหาปริมาณเป็นวิธีที่ง่ายไม่ซับซ้อน การ

หาปริมาณ MDA ที่เกิดขึ้นทำได้โดยการเติมกรดไทโบอาร์บิทูริก ในสภาวะกรด MDA จะทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์ทูริกที่ได้เป็นสารสี เรียกว่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) (โอภา และคณะ, 2549)

4. ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

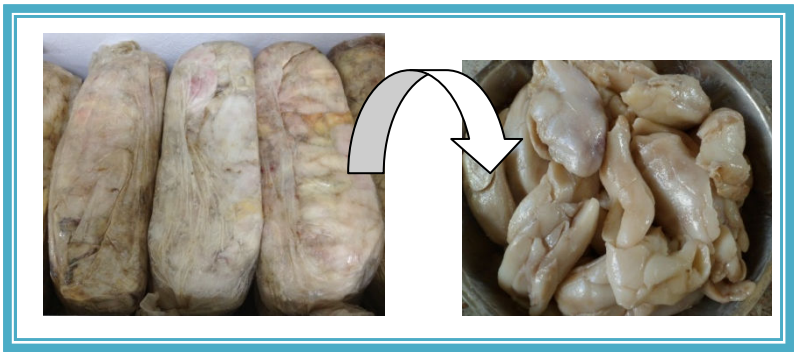
4.1 การสกัดน้ำมันปลา

1) เก็บรวบรวมก้อนไขมัน เพื่อทำการแยกเป็นน้ำมันปลาหนังลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) โดยได้รับความอนุเคราะห์ก้อนไขมันจากบริษัท Sea International Frozen Product Co., Ltd ซึ่งเป็นบริษัทในเครือของบริษัทไทยปังก้าฟาร์ม จ.กาฬสินธุ์ เป็นภาคเอกชนในระดับอุตสาหกรรมการส่งออกที่เกี่ยวกับการแปรรูปทางการประมงแบบครบวงจรทั้งการเลี้ยงและการจำหน่ายผลิตภัณฑ์แปรรูปเนื้อปลาหนังเพื่อการส่งออกต่างประเทศ แสดงลักษณะปลาหนังลูกผสมและก้อนไขมันในภาพที่ 2-1 และ 2-2 ตามลำดับ โดยก้อนไขมันได้มาจากปลาหนังลูกผสมฯอายุประมาณ 8 เดือน-1 ปี ขนาดน้ำหนัก 1-1.5 กก.

2) การแยกน้ำมันจากก้อนไขมันปลาหนังลูกผสม โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Chantachum *et al*. (2000) ดังนี้ ใช้วิธีการบีบ (pressing) โดยเริ่มจากนำก้อนไขมันที่แช่แข็งที่ 4 องศาเซลเซียส ($^{\circ}$C) นำมาละลายด้วยความร้อนผ่านไอน้ำ โดยการนึ่งที่อุณหภูมิ 95-100°C นาน 20 นาที และนำตัวอย่างขณะยังร้อนกรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อแยกกาก จะได้น้ำมันดิบ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงต่อด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 5,000 รอบ/นาที (rpm) ที่ 20°C เป็นเวลา 10 นาทีจะได้น้ำมันดิบใสอยู่ส่วนบนของหลอด centrifuge เก็บตัวอย่างที่เป็นน้ำมันดิบที่อุณหภูมิห้องเพื่อการวิเคราะห์ต่อไป แสดงขั้นตอนการสกัดน้ำมันปลาในภาพที่ 2-3

3) การแยกสิ่งปนเปื้อนในน้ำมันปลา โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Kawashima *et al.* (2006) ดังนี้ ในน้ำมันดิบที่สกัดแยกได้จากก้อนไขมันจากข้อ 1) โดยนำเอาเฉพาะส่วนใสด้านบนที่ไม่เป็นไขมาแยกเอาสารปนเปื้อนออกด้วยการใช้ตัวดูดซับ (adsorbents) โดยใช้ activated carbon ในการทดลองใช้ตัวดูดซับที่มีพื้นที่ผิวการดูดซับ 1,200 m^2/g โดยการผสมน้ำมันปลาน้ำหนัก 15 กรัม และ activated carbon 20 มก. นำมาผสมให้เข้ากันด้วย magnetic stirrer ใน beaker ใช้เวลา 24 ชั่วโมง และนำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 เพื่อแยกน้ำมันดิบออกจาก activated carbon นำน้ำมันปลาจากขั้นตอนนี้ไปวิเคราะห์หาส่วนประกอบของชนิดและปริมาณกรดไขมัน โดยส่งวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จ.เชียงใหม่ ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี In house method TE-CH-208 base on AOAC (2012) 996.06 และทำการเตรียมน้ำมันปลาจากขั้นตอนสกัดนี้สำหรับทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในโครงการย่อย 1-3 (ภาพที่ 2-3)

ภาพที่ 2-1 ปลาหนังลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) จากบริษัทไทยปังก้าฟาร์ม จ.กาฬสินธุ์



ภาพที่ 2-2 ก้อนไขมันเศษเหลือจากการแปรรูป

ภาพที่ 2-3 การสกัดน้ำมันปลาเพื่อการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ

4) การเพิ่มปริมาณ polyunsaturated fatty acid โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Gamez-Meza *et al*. (2003) ดังนี้

1) Chemical hydrolysis

ตัวอย่างน้ำมันดิบที่ผ่านการแยกสิ่งเจือปนนำมาผ่านกระบวนการ saponification โดยใช้ 400 มิลลิลิตร (ml) ของ KOH 7 โมลาร์ใน 70% ethanol และรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 90 °C นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำกลั่น 480 ml และสกัดส่วนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาด้วยตัวทำละลาย hexane โดยสกัด 2 ครั้ง ๆ ละ 700 ml ส่วนที่เป็นชั้น aqueous นำมาปรับความเป็นกรดให้ได้ที่ pH = 1 ด้วย HCl 3 โมลาร์จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในกรวยแยกและสกัดส่วนที่เป็นกรดไขมันด้วยตัวทำละลาย hexane 400 ml และนำชั้นของตัวทำละลาย hexane ที่มีกรดไขมัน อยู่นั้นมากำจัดน้ำที่หลงเหลืออยู่ด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นระเหยตัวทำละลาย hexane ออกด้วยเครื่อง rotator evaporator ที่ 40 °C ภายใต้สภาวะสุญญากาศ ส่วนกรดไขมันที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -30 °C ภายใต้สภาวะบรรยากาศไนโตรเจน และเข้าสู่กระบวนการตรวจสอบปริมาณกรดไขมันที่ได้โดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ urea ในข้อ 3

2) Enzymatic hydrolysis

เอนไซม์ที่ใช้คือ lipases เป็นคะตะลิสต์ที่เร่งกระบวนการ hydrolysis ใน triacylglycerols ให้ได้กรดไขมัน โดยเป็นเอนไซม์ที่ได้จาก *Pseudomonas cepacia* และตรึงเอนไซม์บน ceramic ที่มี crude protein 10% ในการทดลองนำตัวอย่างน้ำมันดิบที่ผ่านการแยกสิ่งเจือปน แล้ว 12 ml ผสมใน phosphate buffer (18 ml ของสารละลายบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ pH 7 และ 0.7% v/v Triton X-100) และใส่ไว้ในขวดแก้ว ในส่วนของเอนไซม์นำมาละลายใน 3 ml ของ phosphate buffer 0.1 โมลาร์ pH 7 และนำมาผสมกับตัวอย่างน้ำมันดิบที่เตรียมไว้ และผ่านก๊าซไนโตรเจนลงในขวดแก้ว และปิดฝาขวดให้สนิทและหุ้มด้วย parafilm นำไปใส่ในเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 40 °C พร้อมคนตลอดเวลา จากนั้นสกัดส่วน glycerides ออกจากตัวอย่างด้วยการใส่สารละลาย KOH 30% ใน ethanol เข้มข้น 0.5 โมลาร์ 3.5 ml และสกัดด้วยตัวทำละลาย hexane 10 ml ทำสารละลายให้เป็นกรดที่ pH 1.0 ด้วย 4 โมลาร์ HCl และสกัดส่วนกรดไขมันที่อยู่ในชั้น aqueous สกัดด้วยตัวทำละลาย hexane 10 ml และระเหยตัวทำละลาย hexane และเก็บตัวอย่างที่ -30°C ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจนและสามารถนำไปทดลองการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ urea ในข้อ 3

3) Urea complexation

กรดไขมันที่ได้จากการทำ chemical hydrolysis นำมาผสมกับยูเรีย 25 กรัม ใน 95% ethanol ปริมาตร 100 ml และให้ความร้อนพร้อมคนตลอดเวลากระทั่งได้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกัน และแบ่งสารละลายใส่หลอด centrifuge และแช่ในน้ำแข็งทันที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5°C นาน 8 ชั่วโมง จากนั้นแยกส่วนที่เป็นผลึกที่เกิดขึ้นด้วยการทำ centrifugation ที่ 6,000xg นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 5°C ส่วนสารละลายใสด้านบนหรือ supernatant เก็บที่อุณหภูมิ -30 °C นาน 12 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายส่วนใส

มาปรับความเป็นกรดให้ได้ค่า pH = 4 จากนั้นใส่น้ำกลั่นอุณหภูมิ 65 °C และตัวทำละลาย hexane ปริมาตรเท่ากันลงไป คนสารละลายให้เข้ากันเป็นเวลา 30 นาที และแยกชั้นของตัวทำละลาย hexane จากชั้น aqueous และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotator evaporator ที่ 40 °C ภายใต้สภาวะสุญญากาศ คำนวณปริมาณกรดไขมันที่ได้ และวิเคราะห์กรดไขมันด้วยเทคนิค gas chromatography (GC)

4.2 การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในสัตว์ทดลอง

1) เตรียมอาหารเม็ดที่มีระดับโปรตีน 30% โดยผสมน้ำมันปลา 3 ขนาด คือ 0.5, 1, 1.5% โดยมีไขมันรวมในสูตรอาหารในระดับ 3% กับวัตถุดิบทำอาหารปลาซึ่งประกอบด้วย ปลาป่น กากถั่วเหลือง ปลายข้าว และรำข้าว กำหนดอัตราอาหารที่ให้ตลอดการทดลองเป็น 3% ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง (09.00-10.00 น. และ 15.00-16.00 น.)

2) เตรียมปลาหนังลูกผสมอายุประมาณ 1 เดือน ที่มีขนาดใกล้เคียงประมาณ 50-60 กรัม จากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ อัตราการปล่อย 30 ตัว/ตารางเมตร โดยนำปลามาพักให้ปรับตัวในบ่อเลี้ยง ก่อนให้อาหารด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปเป็นเวลาอย่างน้อย 7 วัน เพื่อให้ปลาปรับสภาพ

3) เตรียมกระชังโดยใช้อวนมุ้งฟ้า ขนาดกระชัง 1.2x1.2x1.2 ลบ.ม. และติดตั้งกระชังโดยแขวนให้กระชังลึก 1 เมตร และห่างกันประมาณ 1 เมตร จำนวน 12 กระชัง

4) ศึกษาผลการเจริญเติบโตของปลาหนังที่ได้รับอาหารเม็ดเสริมน้ำมันปลา 3 ขนาด โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) แบ่งการทดลองเป็น 4 หน่วยการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

หน่วยการทดลองที่ 1 อาหารเม็ดเสริมน้ำมันปลาหนังลูกผสม 0%
หน่วยการทดลองที่ 2 อาหารเม็ดเสริมน้ำมันปลาหนังลูกผสม 0.5%
หน่วยการทดลองที่ 3 อาหารเม็ดเสริมน้ำมันปลาหนังลูกผสม 1.0%
หน่วยการทดลองที่ 4 อาหารเม็ดเสริมน้ำมันปลาหนังลูกผสม 1.5%

ทำการประเมินการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสมของทุกหน่วยการทดลองที่เลี้ยงในกระชัง เช่น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการแลกอาหารเป็นเนื้อ จากแต่ละหน่วยการทดลองทุก 2-4 สัปดาห์ ตรวจอัตราการรอดทุก 4 สัปดาห์ และเลี้ยงนานไม่น้อยกว่า 12 สัปดาห์

การคำนวณการเจริญเติบโต

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น = น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง-น้ำหนักเริ่มต้น

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน = $\frac{\text{น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง-น้ำหนักเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาเลี้ยง}}$

อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) = $\frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{จำนวนวัน}}$

อัตราการแลกอาหารเป็นเนื้อ (FCR) = $\frac{\text{น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$

5) ศึกษาผลของการเสริมน้ำมันปลาหนังลูกผสมต่อระบบต้านอนุมูลอิสระในปลาหนัง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อวัดเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ glutathione (GSH) เก็บตัวอย่างอวัยวะ ได้แก่ ตับและไต เพื่อวัดระดับ malondehyde (MDA) ที่บ่งบอกภาวะ oxidative stress และเก็บตัวอย่างสมองเพื่อวัดระดับโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสม โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดของปลาหนังลูกผสมที่มีน้ำหนักประมาณ 500 – 800 กรัม จาก 4 หน่วยการทดลองๆ ละ 3 ตัว เก็บเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณแนวขอดหางของปลาปริมาณ 1 มล. โดยก่อนเก็บเลือดจะทำให้ปลาสลบด้วยน้ำมันกานพลูผสมน้ำในอัตราส่วน 0.5 มล. ต่อน้ำ 5 ลิตร แล้วนำปลามาแช่ในสารละลายดังกล่าวเป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้ปลาสลบ จากนั้นจึงทำการเก็บเลือดเพื่อนำไปวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป

การวิเคราะห์ทางชีวเคมี

<u>การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเนื้อเยื่อตับและไต</u> เพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา lipid peroxidation นำเนื้อเยื่อตับและไต ใส่ในสารละลายบัฟเฟอร์และบดด้วยเครื่อง homogenizer ที่อุณหภูมิ 4 ℃ จากนั้นทำการปั่นแยกส่วนสารละลาย นำส่วน supernatant และพลาสมามาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป และวัดเทียบหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีนซึ่งหาได้จากวิธี bradford assay

6) วิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารอาหารในอาหารปลาและเนื้อปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยวิธีการดังต่อไปนี้

วิเคราะห์โปรตีนโดย micro-kjeldahl

วิเคราะห์ไขมันโดยวิธี dichloromethane extraction ตาม soxlhet method

วิเคราะห์เยื่อใย โดยวิธี fritted glass crucible

วิเคราะห์เถ้า โดยการเผาใน muffle furnace 550 $^{\circ}$C 12 ชม.

วิเคราะห์ความชื้น โดยการอบแห้งในตู้อบ 105 $^{\circ}$C 24 ชม. ตามวิธีการของ AOAC (1990)

วิเคราะห์ค่า pH ของเนื้อปลาโดยใช้ pH meter

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

1.คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2.ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

3.ห้องปฏิบัติการกลาง เครื่องมือรวม คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

4.ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

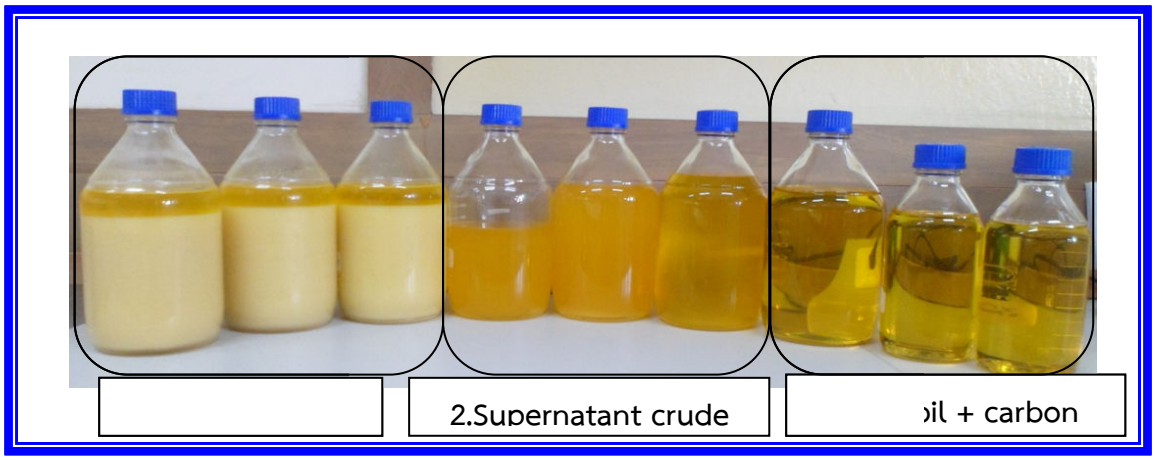
การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SE) ข้อมูลจะถูกเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้สถิติ analysis of variance (ANOVA) ตามด้วย post hoc test ด้วยวิธีของ Tukey โดยค่า $p<0.05$ ถือว่ามีระดับนัยสำคัญ

5. ผลการวิจัย

5.1 การเตรียมน้ำมันปลาเพื่อทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ

ได้รับก้อนไขมันจากบริษัท Sea International Frozen Product Co., Ltd. เป็นจำนวน 380 กก. นำมาสกัดน้ำมันปลา โดยก้อนไขมัน 1 กก. สามารถสกัดได้น้ำมันปลาที่แยกเป็นส่วนใสและไม่เป็นไขที่อุณหภูมิห้องได้ 270 มล. (ภาพที่ 2-4) นำส่วนนี้ไปทดสอบลักษณะทางกายภาพ ปริมาณและชนิดของกรดไขมัน และฤทธิ์ชีวภาพ



ภาพที่ 2-4 น้ำมันปลาที่สกัดได้ก้อนไขมันปลาหนังลูกผสม

5.2 การตรวจหาชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำมันปลาน้ำจืด

ทำการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันจากตัวอย่างน้ำมันปลาที่สกัดได้ตามขั้นตอนในภาพที่ 2-3 โดยการส่งวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จ.เชียงใหม่ ผลแสดงในตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำมันปลา

ชนิดกรดไขมัน (fatty acid composition)	**ปริมาณ** (g/100g)		
	น้ำมันปลา	**น้ำมันปลา +carbon**	**น้ำมันปลา แบรนด์บูธ**
ไขมันอิ่มตัว (saturated fat)	**42.99**	**35.93**	**35.27**
caprylic acid (C8:0)	not detected	not detected	0.43
capric acid (C10:0)	not detected	not detected	0.36
lauric acid (C12:0)	0.25	0.21	0.13
tridecanoic acid (C13:0)	not detected	not detected	0.04
myristic acid (C14:0)	4.09	2.71	9.03
pentadecanoic acid (C15:0)	0.26	0.20	0.61
palmitic acid (C16:0)	30.34	26.23	19.24
heptadecanoic acid (C17:0)	0.30	0.27	0.50
stearic acid (C18:0)	7.43	6.01	3.69
arachidic acid (C20:0)	0.16	0.13	0.27
heneicosanoic acid (C21:0)	0.02	0.03	0.05
behenic acid (C22:0)	0.06	0.06	0.13
tricosanoic acid (C23:0)	0.03	0.03	0.04
lignoceric acid (C24:0)	0.05	0.05	0.75
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounaturated fatty acid)	**42.57**	**46.97**	**23.78**
myristoleic acid (C14:1)	0.04	0.08	0.06
palmitoleic acid (C16:1n7)	2.72	4.67	10.85
trans-9-elaidic acid (C18:1n9t)	Not detected	Not detected	Not detected
cis-9-oleic acid (C18:1n9c)	38.57	41.19	11.24
cis-11-eicosenoic acid (C20:1n11)	1.09	0.90	0.92
erucic acid (C22:1n9)	0.10	0.08	0.17
nervonic acid (C24:1n9)	0.05	0.05	0.54
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunaturated fatty acid)	**14.46**	**17.09**	**40.97**
cis-9,12-linolenic acid (C18:2n6)	10.29	12.45	4.47
γ-linolenic acid (C18:3n6)	0.29	0.35	0.34

ตารางที่ 2-3 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำมันปลา (ต่อ)

ชนิดกรดไขมัน (fatty acid composition)	**ปริมาณ** (g/100g)		
	น้ำมันปลา	**น้ำมันปลา +carbon**	**น้ำมันปลาแบรนด์บูธ**
α- linolenic acid (C18:3n3)	1.04	1.48	0.83
cis-11,14-eicosadienoic acid (C20:2)	0.65	0.63	0.52
cis-8,11,14-eicosatrienoic acid (C20: 3n6)	0.86	0.83	0.20
cis-11,14,17-eicosatrienoic acid (C20:3n3)	0.15	0.16	0.09
arachidonic acid (C20: 4n6)	0.49	0.59	1.23
cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid (C20: 5n3)	0.20	0.21	20.98
4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid (C22:6n3)	0.44	0.34	12.25
ไขมันไม่อิ่มตัว (unaturated fatty acid)	**57.03**	**64.06**	**64.75**
omega-3	1.83	2.20	34.15
omega-6	11.93	14.23	6.24
omega-9	38.72	41.32	11.94
ไขมันทรานส์ (trans fat)	not detected	not detected	not detected

จากตารางที่ 2-3 น้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสม 100 กรัม พบว่า มีส่วนประกอบของไขมันอิ่มตัวปริมาณทั้งหมด 42.99 กรัม ปริมาณไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมด 57.03 กรัม ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว 42.57 กรัม โดยเป็นกรดโอเมก้า-9 เช่น กรดโอเลอิกในปริมาณ 38.57 กรัม ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนมีปริมาณทั้งหมด 14.46 กรัม โดยมีกรดไขมันชนิดโอเมก้า-3 ได้แก่ ALA 1.04 กรัม EPA 0.20 กรัม และ DHA 0.44 กรัม มีกรดไขมันชนิดโอเมก้า-6 ได้แก่ กรดไลโนเลนิก (γ-linolenic acid, cis-9,12-linolenic acid) 0.29 กรัม โดยเมื่อแยกเอาสารปนเปื้อนออกด้วยการใช้ตัวดูดซับ (adsorbents) ด้วยการใช้ activated carbon พบว่า ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวลดลงมีค่าใกล้เคียงกับน้ำมันปลาแบรนด์บูธ ส่วนปริมาณไขมันไม่อิ่มตัวเพิ่มขึ้น เมื่อนำน้ำมันปลาผสมกับ activated carbon อย่างไรก็ตาม ค่าไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนยังมีค่าน้อยกว่าน้ำมันปลาแบรนด์บูธ โดยเฉพาะกรดไขมันโอเมก้า 3 ที่มีปริมาณน้อยกว่ามาก อย่างไรก็ตาม พบปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในกลุ่มโอเมก้า-9 (กรดโอเลอิก) ในน้ำมันปลาที่สกัดได้ในปริมาณสูงกว่าแบรนด์บูธถึง 2 เท่า

ตารางที่ 2-4 การเปรียบเทียบชนิดและปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจากน้ำมันปลาหนังหลายชนิด

ชนิดของน้ำมันปลา	ปริมาณกรดไขมัน (g/100g)		
	Omega-3	Omega-6	Omega-9
น้ำมันปลาลูกผสม 1	2.20	14.23	41.32
น้ำมันปลาลูกผสม 2	4.3	8.47	37.60
น้ำมันปลาลูกผสม 3	0.80	12.28	40.48
น้ำมันปลาลูกผสม 4	0.10	11.71	37.95
น้ำมันปลาสวาย	0.79	8.63	39.51
น้ำมันปลาบึก	15.31	5.70	25.15
น้ำมันปลาแบรนด์บูธ	34.15	6.24	11.94

หมายเหตุ: ปลาลูกผสม 1 หมายถึง น้ำมันปลาที่ผ่าน activate carbon ใช้ในโครงการปัจจุบัน วช. 2556
ปลาลูกผสม 2 หมายถึง น้ำมันปลาที่วิเคราะห์ในโครงการ วช. ปี 2553
ปลาลูกผสม 3 หมายถึง น้ำมันปลาที่วิเคราะห์ในโครงการ สกว. ปี 2555
ปลาลูกผสม 4 หมายถึง น้ำมันปลาที่วิเคราะห์ในโครงการ สกว. ปี 2556

ได้ทำการเปรียบเทียบจากรายงานการวิจัยของ ดวงพรและคณะ (2553, 2555, 2556) ที่แสดงในตารางที่ 2-4 โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เหมือนกัน พบว่า ปริมาณกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 ในปลาหนังลูกผสมมีค่าแตกต่างกันในแต่ละปีที่ทำการวิเคราะห์ ทั้งนี้เนื่องมาจากมีการเปลี่ยนแปลงอาหารที่ให้และยังพบว่ามีปริมาณของไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 น้อยกว่าน้ำมันปลาจากปลาบึกและจากแบรนด์บูธมาก ส่วนปริมาณกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 6 และ 9 พบว่า ในน้ำมันปลาจากปลาลูกผสมและปลาสวายมีปริมาณไขมันทั้ง 2 ชนิดมากกว่าน้ำมันปลาจากปลาบึกและจากแบรนด์บูธ โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 9 มีค่ามากว่าน้ำมันปลาแบรนด์บูธประมาณ 3 เท่า

5.3 คุณสมบัติทางกายภายและทางเคมีของน้ำมันปลา

ตัวอย่างที่ใช้ คือ น้ำมันปลาที่สกัดได้ และนำมาแยกสิ่งปนเปื้อนในน้ำมันปลาด้วย activated carbon ตามภาพที่ 2-4 (3.fish oil + carbon) **นำไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี รวมทั้งนำไปใช้ในการทดลองฤทธิ์ชีวภาพในโครงการย่อยที่ 2-4 ต่อไป**

1) สมบัติทางกายภาพ

1.1) สี น้ำมันปลาที่ได้มีสีเหลืองใส ลักษณะโปร่งใส

1.2) ความหนืด โดยในการศึกษาค่าความหนืดจะทดลองที่สามอุณหภูมิคือ 30, 40 และ 50°C โดยใช้เครื่องมือ Ostwald viscometer ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2-5 โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นน้ำมันจะมีความหนืดลดลง

ตารางที่ 2-5 ค่าความหนืดของน้ำมันปลา

อุณหภูมิ (°C)	ความหนืด
30	56.45 ± 0.17
40	38.82 ± 0.00
50	29.46 ±0.47

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, วัด 3 ซ้ำ

2) สมบัติทางเคมี

2.1) ค่าของกรด (acidity value, AV)

ค่าของกรดของไขมันหรือน้ำมัน คือ มิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ในการทำให้กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมัน หรือน้ำมันจำนวน 1 กรัมเป็นกลาง ซึ่งนิยมเทียบเป็นร้อยละของกรดโอเลอิก ดังนั้น **ค่า AV จะเป็นตัวชี้บ่งภาวะการหืนของไขมัน และน้ำมัน ถ้าค่า AV สูง แสดงว่าไตรกลีเซอไรด์** ถูกไฮโดรไลซ์เป็นกรดไขมันอิสระมาก แสดงว่า เกิดการหืนมาก เนื่องจาก hydrolytic acidity มาก ในการทดลองนี้ได้หาค่ากรดของน้ำมัน 4 ชนิดประกอบด้วยน้ำมันปลาที่สกัดได้ และตัวอย่างน้ำมันปลาในตลาดอีก 3 แบรนด์ คือ ยูนิซิตี้ แอมเวย์ และบูธ ตามลำดับ ได้ผลการทดลองเปรียบเทียบดังตารางที่ 2-6

ตารางที่ 2-6 ค่ากรดของตัวอย่างน้ำมันปลาชนิดต่าง ๆ

ชนิดน้ำมันปลา	**AV value** (มก./น้ำมัน 1 กรัม)
น้ำมันปลาที่สกัดได้	4.48 ± 0.00
น้ำมันปลาแบรนด์ยูนิซิตี้	4.86 ± 0.65
น้ำมันปลาแบรนด์แอมเวย์	5.23 ± 0.65
น้ำมันปลาแบรนด์บูธ	2.61 ± 0.64

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, วัด 3 ซ้ำ

จากผลการทดลองพบว่า ค่ากรดที่ได้ของตัวอย่างน้ำมันปลาที่สกัดได้ยังอยู่ในค่าเกณฑ์มาตรฐาน และอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับค่ากรดของน้ำมันปลาที่มียี่ห้อ หรือแบรนด์ในท้องตลาด โดยมาตรฐานน้ำมันสำหรับบริโภคตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้ ดังนี้ ต้องมีค่ากรดไม่เกิน 4.0 มก. สำหรับน้ำมันซึ่งทำโดยวิธีธรรมชาติ และไม่เกิน 6.0 มก. สำหรับน้ำมันซึ่งทำโดยผ่านกรรมวิธีทางเคมี

2.2) ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value; PV)

ค่าเปอร์ออกไซด์ หมายถึง มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ทำปฏิกิริยากับไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัม **ถ้าค่าเปอร์ออกไซด์ต่ำ แสดงว่าน้ำมันมีคุณภาพดี** ในทางตรงกันข้าม ถ้าค่าเปอร์ออกไซด์สูง จะทำให้เกิดการเหม็นหืนของน้ำมันหรือไขมันได้ง่าย เนื่องจากมีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวประกอบอยู่มาก ในการทดลองนี้ ได้ค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมัน 3 ชนิดประกอบด้วย น้ำมันปลาที่สกัดได้ และตัวอย่างน้ำมันปลาในตลาดอีก 2 แบรนด์ คือ ยูนิซิตี้ และแอมเวย์ ตามลำดับ ได้ผลการทดลองเปรียบเทียบดังตารางที่ 2-7

จากผลการทดลองพบว่า ค่าเปอร์ออกไซด์ที่ได้ของตัวอย่างน้ำมันปลาที่สกัดได้ยังอยู่ในค่าเกณฑ์มาตรฐาน และอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับค่ากรดของน้ำมันปลาที่มียี่ห้อหรือแบรนด์ในท้องตลาดมาตรฐาน โดยน้ำมันสำหรับบริโภคตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขต้องมีค่าเปอร์ออกไซด์ไม่เกิน 10 มก. ต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม

ตารางที่ 2-7 ค่าเปอร์ออกไซด์ของตัวอย่างน้ำมันปลาชนิดต่าง ๆ

ชนิดน้ำมันปลา	**Peroxide value** (มก./น้ำมัน 1 กก.)
น้ำมันปลาที่สกัดได้	1.07 ± 0.40
น้ำมันปลายี่ห้อยูนิซิตี้	1.53 ± 0.15
น้ำมันปลายี่ห้อแอมเวย์	4.5 ± 0.43

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, วัด 3 ซ้ำ

2.3) ค่าไอโอดีน (Iodine number หรือ Iodine value; IN หรือ IV)

ค่าไอโอดีน คือ กรัมของไอโอดีนที่เข้าไปทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลของไขมัน หรือน้ำมัน 100 กรัม ค่า IV เป็นตัวชี้บ่งว่าไขมันหรือน้ำมัน มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็น ส่วนประกอบอยู่ในโมเลกุลมากน้อยเพียงใด **ถ้าค่า IV สูงแสดงว่ามีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว เป็นส่วนประกอบมาก**และจะเกิดการหืนชนิดที่เกิดจากการมีออกซิเจนในปฏิกิริยาได้ง่ายขึ้น ในการทดลองนี้ได้หาค่าไอโอดีนของน้ำมัน 4 ชนิดประกอบด้วย น้ำมันปลาที่สกัดได้ และตัวอย่างน้ำมันปลาในตลาดอีก 3 แบรนด์ คือ ยูนิซิตี้ แอมเวย์ และบูธ ตามลำดับ ได้ผลการทดลองเปรียบเทียบดังตารางที่ 2-8

ตารางที่ 2-8 ค่าไอโอดีนของน้ำมันปลาแต่ละชนิด

ชนิดน้ำมันปลา	**Iodine number**
น้ำมันปลาที่สกัดได้	4.49 ± 0.24
น้ำมันปลาแบรนด์ยูนิซิตี้	0.85 ± 0.36
น้ำมันปลาแบรนด์แอมเวย์	1.99 ± 0.09
น้ำมันปลาแบรนด์บูธ	0.93 ± 0.22

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, วัด 3 ซ้ำ

จากผลการทดลองพบว่า ค่าไอโอดีนของตัวอย่างน้ำมันปลามีค่าสูงกว่าน้ำมันปลาที่ได้จากท้องตลาด ซึ่งน่าจะสอดคล้องกับสัดส่วนของ fatty acid composition ที่พบว่า สัดส่วนของไขมันอิ่มตัวมีในปริมาณสูงกว่าส่วนไขมันไม่อิ่มตัว โดยน้ำมันสำหรับบริโภคตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ต้องมีค่าไอโอดีนระหว่าง 6 ถึง 11 โดยสรุปแล้วน้ำมันปลาที่สกัดได้ มีสมบัติทางเคมีที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำมันสำหรับบริโภคตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข

มาตรฐานของน้ำมันและไขมันตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข

น้ำมันที่สกัดด้วยวิธีธรรมชาติ และผ่านกรรมวิธี มักมีสารประกอบชนิดอื่นเจือปนมาด้วย เช่น สารพวกที่มีคุณสมบัติเหมือนไขมัน ได้แก่ ฟอสโฟลิปิด สารประกอบเชิงซ้อนของไขมันและโปรตีน (fat-protein complex) กรดไขมันอิสระ คาร์โบไฮเดรต รงควัตถุต่างๆ แวกซ์ กลีเซอไรด์ เป็นต้น สิ่งเหล่านี้ต้องกำจัดออกเพื่อให้น้ำมันบริสุทธิ์ และใช้บริโภคได้โดยประกาศตามกระทรวงสาธารณสุข น้ำมันและไขมันต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

1. ค่าของกรด (acid value) คิดเป็นมิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ต่อน้ำมัน 1 กรัม
    1.1 ไม่เกิน 4.0 มิลลิกรัม สำหรับน้ำมันซึ่งทำโดยวิธีธรรมชาติ
    1.2 ไม่เกิน 6.0 มิลลิกรัม สำหรับน้ำมันซึ่งทำโดยวิธีกรรมวิธี
2. ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) คิดเป็นมิลลิกรัมสมมูล ต่อน้ำมัน 1 กิโลกรัม ได้ไม่เกิน 10
3. ค่าไอโอดีนแบบวิจส์ (iodin value, Wij) มีค่าไอโอดีนระหว่าง 6 ถึง 11

2.4) การวิเคราะห์ค่า free fatty acid (FFA)

ค่า FFA แสดงถึงความไม่บริสุทธิ์ของน้ำมันปลาและมักพบในน้ำมันปลาที่ยังไม่ผ่านกระบวนปรับปรุงคุณภาพหรือการทำให้บริสุทธิ์ **ค่าเปอร์เซ็นต์ของ FFA ที่สูงจึงแสดงถึงความไม่บริสุทธ์ของน้ำมันปลา** ในการทดลองนี้จึงนำน้ำมันปลาที่ผ่านกระบวนการสกัดนำมาวิเคราะห์ปริมาณ free fatty acid เปรียบเทียบกับน้ำมันปลาทางการค้าได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2-9

ผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณ FFA พบว่า น้ำมันปลาที่สกัดได้มีปริมาณ % FFA ในระดับต่ำ พบในระดับใกล้เคียงกับน้ำมันปลาทางการค้า และปริมาณ % FFA อยู่ในระดับปริมาณ FFA ที่ยอมรับได้ที่ช่วงระหว่าง 1.8% - 3.5% ขณะที่น้ำมันปลาแบรนด์บูธ มีปริมาณ %FFA ที่ต่ำกว่าช่วงระดับที่ยอมรับได้ จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าเทคนิคที่ใช้ในการสกัดน้ำมันปลาจากวัตถุดิบตั้งต้นที่เป็นก้อนไขมันเป็นเทคนิคที่มีความเหมาะสมสามารถช่วยกำจัดสิ่งเจือปนจากวัตถุดิบบางส่วน และทำให้ได้น้ำมันปลาที่บริสุทธิ์มากขึ้น ค่าการวิเคราะห์ % FFA ที่ได้จึงอยู่ในระดับต่ำ และปรากฏในช่วงที่ยอมรับได้

ตารางที่ 2-9 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ free fatty acid (FFA)

ชนิดน้ำมันปลา	**ปริมาณ FFA (%)**
น้ำมันปลาที่สกัดได้	2.25 ± 0.65
น้ำมันปลาแบรนด์แอมเวย์	2.63 ± 0.65
น้ำมันปลาแบรนด์ยูนิซิตี้	2.44 ± 0.65
น้ำมันปลาแบรนด์บูธ	1.31 ± 0.64

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, วัด 3 ซ้ำ

5.4 การเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว

การเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว เป็นกระบวนการเพิ่มความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยใช้เทคนิคทางเคมี และเทคนิคการใช้เอนไซม์ร่วมกับเทคนิคทางเคมี ดังรายละเอียดโดยย่อดังนี้คือ

1) เทคนิคทางเคมี ประกอบด้วยขั้นตอนการนำน้ำมันปลาที่สกัดได้สังเคราะห์ด้วยการใช้สารเคมีเพื่อสกัด free fatty acid และเข้าสู่กระบวนการ urea complexation

2) เทคนิคการใช้เอนไซม์ร่วมกับเทคนิคทางเคมี ประกอบด้วยขั้นตอนการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์เพื่อสกัด free fatty acid และเพิ่มความเข้มข้นกรดไขมันไม่อิ่มตัวให้มากขึ้น ก่อนนำเข้าสู่กระบวนการ urea complexation โดยในการทดลองเลือกใช้เอนไซม์ไลเปส 3 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์ *Candida rugosa* เอนไซม์ lipase PS from *Burkholderia cepacia* เอนไซม์ lipase PS-IM (immobilized) เป็นต้น

เมื่อได้น้ำมันปลาจากเทคนิคทั้ง 1) และ 2) นำมาวิเคราะห์ค่าไอโอดีน (ผลแสดงดังตารางที่ 2-10) และวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันโดยใช้เทคนิคทางสเปคโทรสโคปี

ตารางที่ 2-10 ค่าไอโอดีนของน้ำมันปลา

น้ำมันปลา	**ค่าไอโอดีน**
น้ำมันปลาที่สกัด	3.18±0.22
น้ำมันปลาที่สกัด + TBHQ	10.91±0.28
น้ำมันปลาที่สกัดด้วย**เทคนิคทางเคมี**	26.46±0.17
น้ำมันปลาที่สกัดด้วย**เทคนิคการใช้เอนไซม์ร่วมกับเทคนิคทางเคมี**	
- เอนไซม์ *Candida rugosa*	12.95±0.22
- เอนไซม์ lipase PS from *Burkholderia cepacia*	6.65±0.08
- เอนไซม์ lipase PS-IM (immobilized)	14.35±0.12
น้ำมันปลาแบรนด์แอมเวย์	8.52±0.07
น้ำมันปลาแบรนด์ยูนิซิตี้	12.67±0.16
น้ำมันปลาแบรนด์บูธ	8.56±0.37

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, วัด 3 ซ้ำ

TBHQ (tertiary butyl hydroquinone) คือ สารกันหืน

ผลการทดลองพบว่า ค่าไอโอดีนของน้ำมันปลาที่สกัดได้ก่อนนำมาเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวนั้นมีค่าไอโอดีนที่ต่ำ โดยค่าไอโอดีนที่พบในน้ำมันปลาที่สกัดอยู่ที่ 3.18 และเมื่อนำมาเติมสารกันหืน ค่าไอโอดีนอยู่ที่ 10.91 ซึ่งค่าไอโอดีนต่ำกว่าที่วิเคราะห์ได้จากน้ำมันปลาทางการค้าในแบรนด์ที่ 2 แต่ใกล้เคียงกับค่าไอโอดีนของน้ำมันปลาแบรนด์ที่ 1 (8.52) และ 3 (8.56) ตามลำดับ และเมื่อทำการปรับปรุงคุณภาพโดยมีจุดมุ่งหมายในการเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวโดยใช้เทคนิค 2 เทคนิค ผลการทดลองพบว่า

1) **เทคนิคทางเคมี** พบว่า ค่าไอโอดีนสูงขึ้นอย่างชัดเจนวิเคราะห์ได้ที่ 26.46 ดังนั้นมีความเป็นไปได้ว่าน้ำมันปลาที่ผ่านกระบวนการนี้จะมีคุณภาพมากขึ้น และมีความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวมากขึ้น

2) **เทคนิคการใช้เอนไซม์ร่วมกับเทคนิคทางเคมี** โดยใช้เอนไซม์ 3 ชนิด ดังนี้

2.1) เอนไซม์ *Candida rugosa*

ค่าไอโอดีนสูงขึ้นอย่างชัดเจนวิเคราะห์ได้ที่ 12.95 มีค่าใกล้เคียงกับน้ำมันแบรนด์ที่ 2 และให้ค่าสูงกว่าน้ำมันปลาแบรนด์ที่ 1 และ 3 ดังนั้นมีความเป็นไปได้ว่าน้ำมันปลาที่ผ่านกระบวนการนี้จะมีคุณภาพมากขึ้นและมีความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวมากขึ้น

2.2) เอนไซม์ lipase PS from *Burkholderia cepacia*

ค่าไอโอดีนสูงขึ้นมากกว่าค่าที่ได้จากน้ำมันปลาที่สกัดได้และที่เติมสาร TBHQ โดยวิเคราะห์ได้ที่ 6.65 แต่พบว่า ยังน้อยกว่าน้ำมันปลาทั้ง 3 แบรนด์

2.3) เอนไซม์ lipase PS-IM (immobilized)

ค่าไอโอดีนสูงขึ้นอย่างชัดเจนวิเคราะห์ได้ที่ 14.35 ค่าที่ได้สูงกว่าค่าไอโอดีนที่วิเคราะห์ได้จากน้ำมันปลาทั้ง 3 แบรนด์ ดังนั้นมีความเป็นไปได้ว่าน้ำมันปลาที่ผ่านกระบวนการนี้จะมีคุณภาพมากขึ้นและมีความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวมากขึ้น

อย่างไรก็ตามเปรียบเทียบเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้นระหว่าง **เทคนิคทางเคมี**และ**เทคนิคการใช้เอนไซม์ร่วมกับเทคนิคทางเคมี** โดยพิจารณาจากค่าไอโอดีนพบว่า เทคนิคทางเคมีให้ผลค่าไอโอดีนที่ดีมากอย่างชัดเจนเปรียบเทียบกับน้ำมันปลาทางการค้าและน้ำมันปลาที่ใช้เทคนิคเอนไซม์ร่วมกับทางเคมี น้ำมันปลาที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพจากเทคนิคทั้งสองนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบไขมันโดยเทคนิคทางสเปคโทรสโคปีให้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2-11

องค์ประกอบกรดไขมันของน้ำมันปลาที่สกัด และที่ได้ผ่านกระบวนการเพิ่มความเข้มข้นด้วยกระบวนการ 2 รูปแบบคือ เทคนิคทางเคมี และเทคนิคการใช้เอนไซม์ร่วมกับเทคนิคทางเคมี แสดงให้เห็นชัดเจนถึงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันโดยพบว่า ทั้งสองเทคนิคที่ใช้เพิ่มความเข้มข้นกรดไขมันนั้นสามารถลดปริมาณองค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัวที่เดิมปรากฏในน้ำมันปลาที่สกัดได้และยังไม่ได้ผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพ โดยพบว่ากรดไขมันอิ่มตัวหลายชนิดเช่น กรด myristic acid (C14:0) กรด palmitic acid (C16:0) และกรด stearic acid (C18:0) เป็นต้น ไม่ปรากฏในน้ำมันปลาที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพ และพบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) ได้แก่ กรด oleic (C18:1) มีปริมาณลดลงอีกด้วย โดยเฉพาะเมื่อทำการปรับปรุงคุณภาพด้วยเทคนิคการใช้เอนไซม์ร่วมกับเทคนิคทางเคมี ขณะที่กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนหรือกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว (PUFA) ได้แก่ C20:5(n-3) (eicosapentaenoic acid, EPA), C22:6 (n-3) (docosahexaenoic acid, DHA) พบในปริมาณมากขึ้นจากเดิมที่ไม่มีหรือมีน้อยมากในน้ำมันปลาก่อนการปรับปรุงคุณภาพ

ตารางที่ 2-11 องค์ประกอบกรดไขมันในน้ำมันปลา (%peak area)

กรดไขมัน	น้ำมันปลาสกัด + TBHQ	การเพิ่มความเข้มข้นกรดไขมันไม่อิ่มตัว			
		เทคนิคทางเคมี	เทคนิคเอนไซม์และเคมี		
			Candida rugosa	lipase PS	lipase PS-IM
C14:0	3.12	-	-	-	-
C16:0	18.80	-	-	-	-
C18:0	6.83	-	-	-	-
C18:1	5.48	1.21	0.50	0.47	0.54
C18:2	1.86	1.62	1.52	1.50	1.61
C20:5(*n*-3)	0.00	0.73	0.33	0.23	0.45
C22:6 (*n*-3)	0.11	1.16	0.45	0.25	0.38
Total *n*-3	0.11	1.89	0.78	0.48	0.83

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ปรากฏ

1. กรดไขมันอิ่มตัวประกอบด้วย C14:0 (myristic acid), C16:0 (palmitic acid), C18:0 (stearic acid)

2. กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวประกอบด้วย C18:1 (oleic acid)

3. กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนประกอบด้วย C18:2 (palmitoleic acid), C20:5(*n*-3) (eicosapentaenoic acid), C22:6 (*n*-3) (docosahexaenoic acid)

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพเทคนิคในการปรับปรุงคุณภาพโดยการใช้เอนไซม์ร่วมกับเทคนิคทางเคมี ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้เอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์ *Candida rugosa* เอนไซม์ lipase PS และเอนไซม์ lipase PS-IM ตามลำดับ พบว่า เอนไซม์ชนิดตรึงคือ lipase PS-IM มีประสิทธิภาพดีกว่าเอนไซม์ที่ไม่ถูกตรึง คือ lipase PS (เป็นลักษณะ soluble enzyme) และให้ปริมาณ EPA+DHA (total *n*-3) สูงกว่า อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดเอนไซม์ soluble enzyme ระหว่างเอนไซม์ *Candida rugosa* และเอนไซม์ lipase PS พบว่า เอนไซม์ *Candida rugosa* มีประสิทธิภาพดีกว่าในการเพิ่มความเข้มข้นของ EPA+DHA (total *n*-3) และให้ปริมาณ EPA+DHA (total *n*-3) สูงกว่า โดยสรุปพบว่า เอนไซม์ชนิดตรึงคือ lipase PS-IM มีประสิทธิภาพดีในการเพิ่มความเข้มข้นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน ประกอบกับให้น้ำหนักผลผลิตมากที่สุดในกลุ่มของน้ำหนักผลผลิตที่ได้จากเอนไซม์ทั้งสามชนิด และมีข้อดีคือสามารถนำกลับมาใช้ได้

อีกครั้ง โดยผ่านกระบวนการ activate ที่เหมาะสม แยกออกจากผลผลิตได้ง่าย แต่ข้อเสียเรื่องการควบคุมสภาวะการทดลองใช้เวลา 8-24 ชั่วโมง ทำมีต้นทุนสูง

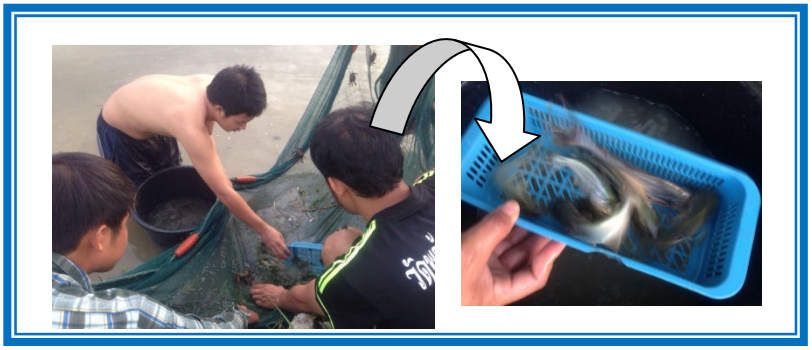
เมื่อเปรียบเทียบเทคนิคการเพิ่มความเข้มข้นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนระหว่างการใช้เทคนิคทางเคมีและเทคนิคการใช้เอนไซม์ร่วมกับเทคนิคทางเคมี พบว่า เทคนิคทางเคมีให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงกว่า (น้ำหนักผลผลิต 15, 7.4 และ 4.6% ตามลำดับ สำหรับเทคนิคทางเคมี เทคนิคการใช้เอนไซม์ lipase PS-IM และเอนไซม์ *Candida rugosa*) และควบคุมสภาวะการทดลองได้ง่ายกว่า ตลอดจนให้ปริมาณ EPA+DHA (total *n*-3) สูงกว่าเทคนิคการใช้เอนไซม์ PS-IM 56.08% และสูงกว่าเทคนิคการใช้เอนไซม์ *Candida rugosa* 58.73% ตามลำดับ ทำให้เทคนิคทางเคมีมีจุดเด่นและเป็นเทคนิคที่สามารถนำมาปรับปรุงและเพิ่มคุณภาพน้ำมันปลาได้ดีเพื่อลดกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว และพร้อมกับเพิ่มความเข้มข้นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนให้มีปริมาณสูงขึ้น อย่างไรก็ตามเทคนิคทางเคมี มีค่าใช้จ่ายในการปรับปรุงคุณภาพมีราคาสูงมาก 500-600 บาท/กรัม ส่วนถ้าใช้ทั้ง 2 วิธีร่วมกันค่าใช้จ่ายในการปรับปรุงคุณภาพ 200-300 บาท/กรัม

5.5 การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในปลาหนังลูกผสม (ปลาบึก x ปลาสวาย)

1) เตรียมกระชังโดยใช้อวนมุ้งฟ้า ขนาดกระชัง 1.2x1.2x1.2 ลบ.ม. จำนวน 12 กระชัง แสดงในภาพที่ 2-5

ภาพที่ 2-5 กระชังเลี้ยงปลา ณ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2) เตรียมปลาหนังลูกผสม (ปลาบึก x ปลาสวาย) อายุประมาณ 1 เดือน ที่มีขนาดใกล้เคียงประมาณ 30 กรัม จากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ แสดงในภาพที่ 2-6



ภาพที่ 2-6 ลูกปลาหนังลูกผสม (ปลาบึก x ปลาสวาย) อายุ 1 เดือน

3) เตรียมอาหารเม็ดที่มีระดับโปรตีน 30% โดยผสมน้ำมันปลา 3 ขนาด คือ 0.5, 1, 1.5% โดยมีไขมันรวมในสูตรอาหารในระดับ 3% วัตถุดิบทำอาหารปลาซึ่งประกอบด้วย ปลาป่น กากถั่วเหลือง ปลายข้าว และรำข้าว กำหนดอัตราอาหารที่ให้ตลอดการทดลองเป็น 3% ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง (09.00-10.00 น. และ 15.00-16.00 น.) แสดงส่วนผสมของอาหารปลาในตารางที่ 2-12 โดยมีระดับของน้ำมันปลาที่แตกต่างกัน 4 ระดับ และทำการตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบทุกชนิดก่อนการทดลอง เพื่อควบคุมพลังงานอาหารและเปอร์เซ็นต์โปรตีนให้มีค่าเริ่มต้นอยู่ในระดับเดียวกัน

ตารางที่ 2-12 สูตรอาหารปลาผสมน้ำมันปลา

วัตถุดิบ	**สูตรอาหารผสมน้ำมันปลา**			
	0%	**0.5%**	**1%**	**1.5%**
ปลาป่น	15	15	15	15
กากถั่วเหลือง	37	39	37	37
ปลายข้าว	26	31	26	23
รำละเอียด	20	13	20	22
น้ำมันปลา	0	0.5	1	1.5
น้ำมันปาล์ม	1	0	0	0
วิตามิน (premix)	1	1	1	1
พลังงาน (Kcal/g)	**407.35**	**405.81**	**407.35**	**406.82**
โปรตีน (%)	**28.34±0.11**	**28.64±0.25**	**29.99±0.40**	**29.80±0.20**

การเปรียบเทียบระดับสารอาหารในอาหารปลา 4 สูตร เป็นเวลา 4 เดือน โดยแสดงระดับของโปรตีน และไขมัน ในตารางที่ 2-13 และ 2-14 ผลจากการวิเคราะห์พบว่า ระดับโปรตีนในอาหารปลาเริ่มลดลงเฉพาะในสูตรที่ไม่มีน้ำมันปลาเมื่อเก็บอาหารไว้นาน 3 เดือน ส่วนระดับไขมันในอาหารปลาเริ่มลดลงในเดือนที่ 3 ของทุกสูตร ยกเว้นสูตรที่มีน้ำมันปลาผสม 1.5% ส่วนระดับความชื้น เถ้า และเยื่อใย ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเก็บอาหารไว้นาน 4 เดือน

ตารางที่ 2-13 การเปรียบเทียบระดับโปรตีนในอาหารปลา 4 สูตร เป็นเวลา 4 เดือน

เดือนที่	ระดับโปรตีนในอาหารผสมน้ำมันปลา			
	0%	0.5%	1%	1.5%
0	30.23 ± 0.29^{ab}	30.30 ± 0.67^{a}	31.82 ± 0.73^{a}	31.38 ±0.84^{a}
1	32.06 ± 1.96^{a}	31.38 ± 1.01^{a}	30.67 ± 0.04^{a}	32.83 ± 0.29^{a}
2	28.88 ± 0.84^{ab}	29.80 ± 0.66^{a}	32.70 ± 1.27^{a}	31.59 ± 2.13^{a}
3	25.41 ± 0.80^{b}	27.39 ± 1.57^{a}	30.52 ± 0.03^{a}	31.59 ± 2.13^{a}
4	26.15 ± 1.53^{b}	25.24 ± 2.12^{a}	30.38 ± 0.08^{a}	30.79 ± 0.18^{a}

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, วัด 3 ซ้ำ

$^{a-b}$ ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างกันของระดับโปรตีนในคอลัมน์เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p< 0.05$

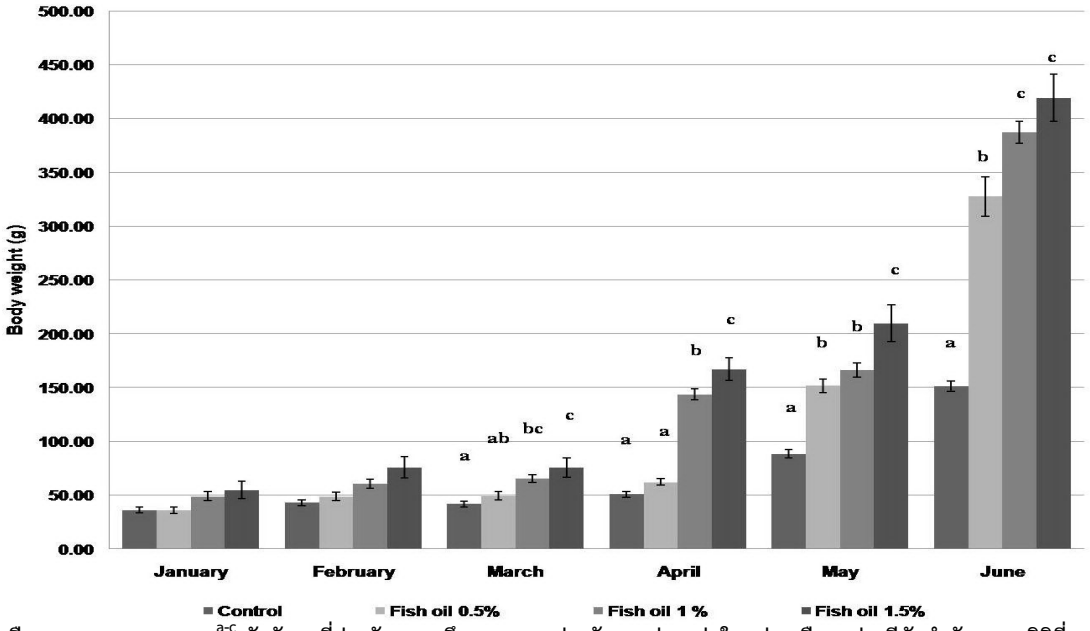
ตารางที่ 2-14 การเปรียบเทียบระดับไขมันในอาหารปลา 4 สูตร เป็นเวลา 4 เดือน

เดือนที่	ระดับไขมันในสูตรอาหารผสมน้ำมันปลา			
	0%	0.5%	1%	1.5%
0	9.18 ± 0.14^{a}	8.85 ± 0.09^{a}	8.85 ± 0.09^{a}	9.02 ± 0.08^{a}
1	8.65 ± 0.11^{ab}	9.93 ± 0.04^{a}	8.48 ± 0.36^{ab}	7.61 ± 0.59^{a}
2	8.65 ± 0.03^{ab}	9.57 ± 0.33^{a}	9.31 ± 0.32^{a}	8.77 ± 0.37^{a}
3	8.71 ± 0.18^{ab}	5.76 ± 0.28^{b}	7.49± 0.14^{c}	7.73 ±0.55^{a}
4	8.12 ± 0.18^{b}	5.86 ± 0.41^{b}	7.60 ± 0.13^{bc}	6.60 ±0.93^{a}

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, วัด 3 ซ้ำ

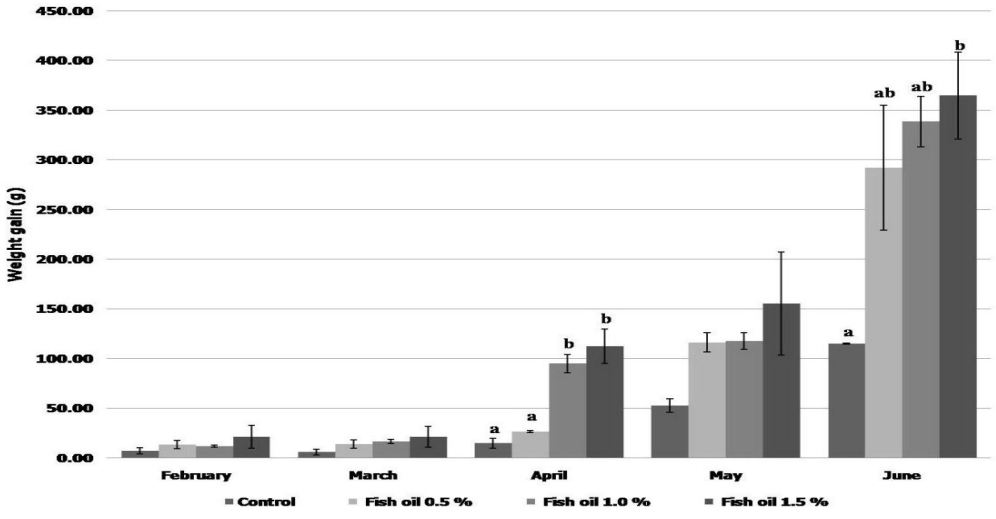
$^{a-b}$ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างกันของระดับไขมันในคอลัมน์เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p< 0.05$

4) ศึกษาผลการเจริญเติบโตของปลาหนังที่ได้รับอาหารเม็ดเสริมน้ำมันปลา ผลแสดงในภาพที่ 2-7 ถึง 2-10 จากการเลี้ยงปลาหนังลูกผสมเป็นเวลา 5 เดือน พบว่า ปลาหนังทุกหน่วยการทดลองที่มีน้ำมันปลาผสมอยู่มีการเจริญเติบโตดีกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยเฉพาะหน่วยการทดลองที่ให้อาหารผสมน้ำมันปลาในระดับ 1.0 และ 1.5% ที่แสดงทั้งค่าน้ำหนักตัว (body weight) การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว (weight gain) และการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวต่อวัน (ADG) ตั้งแต่เดือนที่ 3-5 ส่วนค่าการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ของทุกหน่วยการทดลองไม่ต่างกัน โดยทุกหน่วยการทดลองมีอัตรารอด 100%



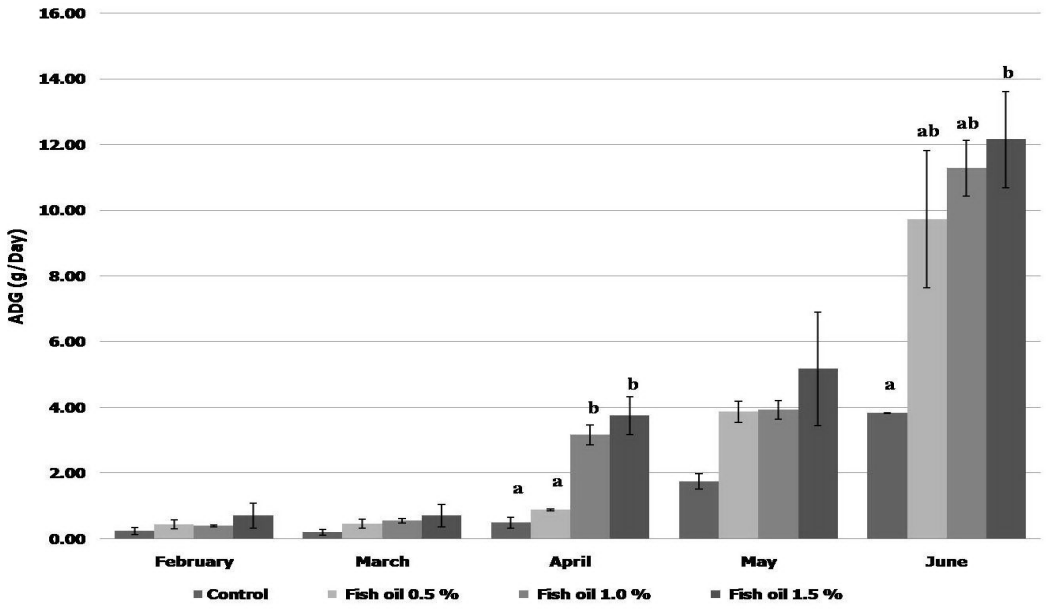
ค่าที่แสดงคือ Mean±SE, n=30, [a-c] ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มในแต่ละเดือนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p< 0.05

ภาพที่ 2-7 ผลของการเสริมน้ำมันปลาต่อน้ำหนักตัว (body weight) ของปลาหนังลูกผสม



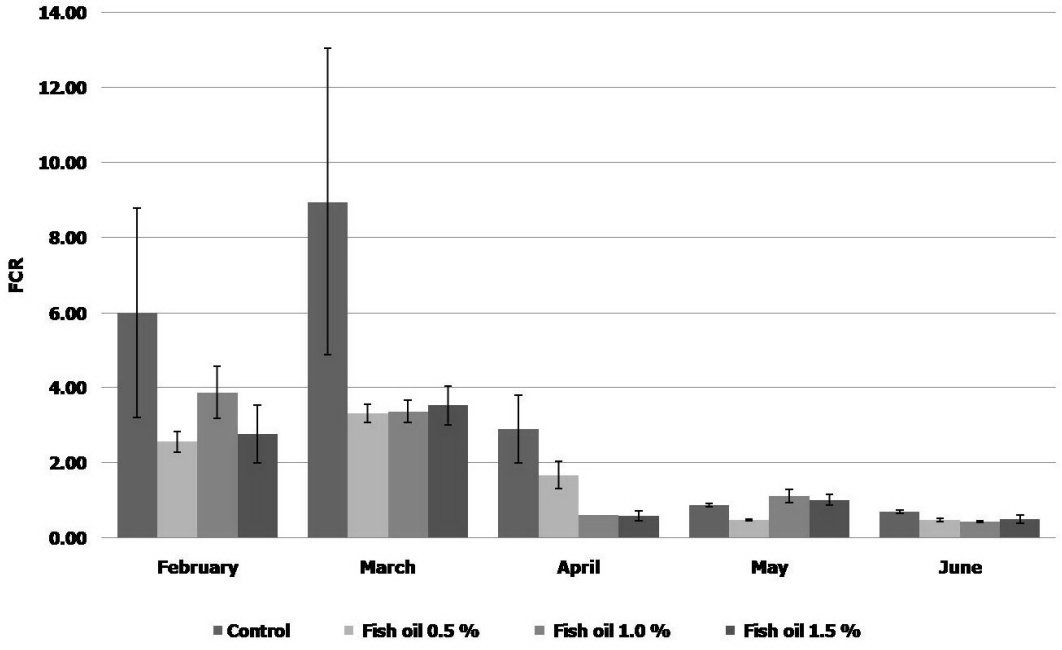
ค่าที่แสดงคือ Mean±SE, n=30, [a-b] ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มในแต่ละเดือนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p< 0.05

ภาพที่ 2-8 ผลของการเสริมน้ำมันปลาต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว (weight gain) ของปลาหนังลูกผสม



ค่าที่แสดงคือ Mean±SE, n=30, $^{a-b}$ ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มในแต่ละเดือนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p< 0.05$

ภาพที่ 2-9 ผลของการเสริมน้ำมันปลาต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวต่อวัน (ADG) ของปลาหนังลูกผสม



ค่าที่แสดงคือ Mean±SE, n=30, $^{a-b}$ ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มในแต่ละเดือนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p< 0.05$

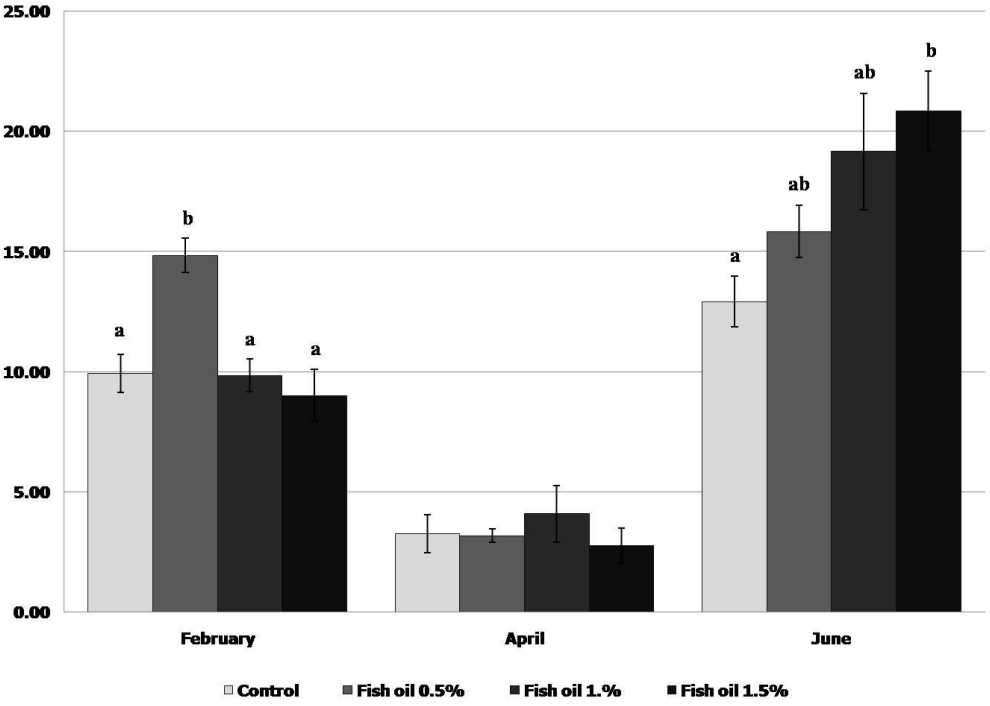
ภาพที่ 2-10 ผลของการเสริมน้ำมันปลาต่อการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ในปลาหนังลูกผสม

1:control, 2: Fish oil 0.5%, 3: Fish oil 1.0%, 4: Fish oil 1.5%

ภาพที่ 2-11 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างกันที่อายุ 5 เดือน

ในภาพที่ 2-11 แสดงการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่างกันที่อายุ 5 เดือน พบว่า ปลาหนังที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมน้ำมันปลาที่ระดับ 1.5% มีการเจริญเติบโตดีที่สุด

5) ผลของการเสริมน้ำมันปลาหนังลูกผสมต่อระบบต้านอนุมูลอิสระในปลาหนัง โดยทำการประเมินภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาหนังลูกผสมโดยการตรวจวัดปริมาณผลผลิตของการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ที่แสดงในรูปแบบของระดับ malondialdehyde (MDA level)



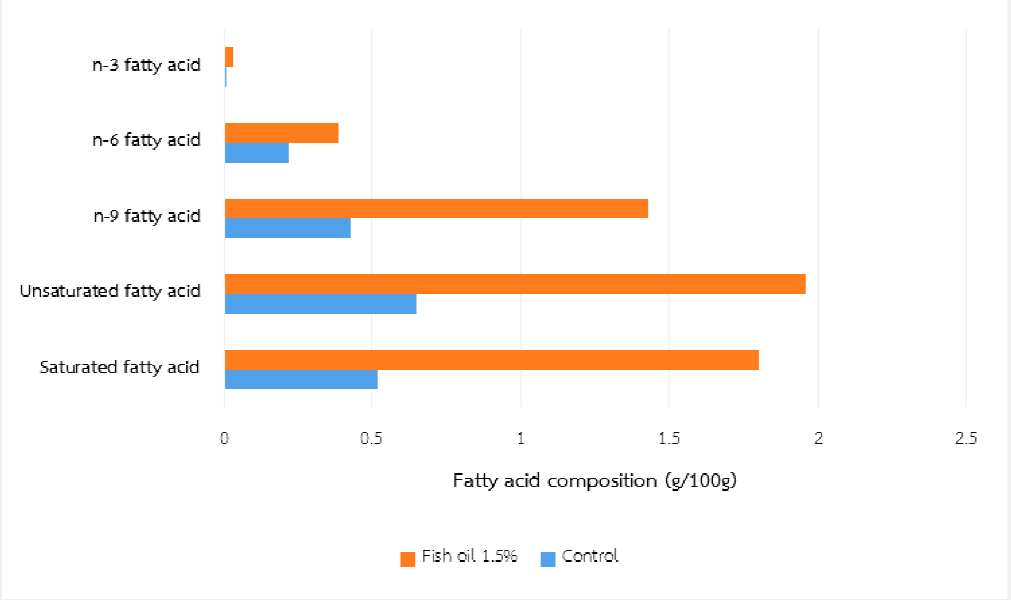
ค่าที่แสดงคือ Mean±SE, n=30, $^{a-b}$ ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มในแต่ละเดือนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p< 0.05$

ภาพที่ 2-12 ผลของการเสริมน้ำมันปลาต่อลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในพลาสมาของปลาหนังลูกผสม

จากการเลี้ยงปลาหนังลูกผสมนาน 5 เดือน พบว่า ระดับของ MDA ในพลาสมาของปลาหนังลูกผสมเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 1 ของการทดลอง (กุมภาพันธ์) เฉพาะในหน่วยการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันปลาระดับ 0.5% ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับทุกหน่วยการทดลอง ส่วนในเดือนที่ 3 (เมษายน) ระดับของ MDA ในทุกหน่วยการทดลองไม่แตกต่างกัน และในเดือนที่ 5 (มิถุนายน) พบว่า ค่า MDA ในหน่วยการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันปลาระดับ 1.5% มีค่ามากกว่าทุกหน่วยการทดลอง

6) วิเคราะห์หาองค์ประกอบของไขมันในเนื้อปลา (ปลาบึก x ปลาสวาย)

ปริมาณกรดไขมันในเนื้อปลาหนังลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมน้ำมันปลาน้ำจืดแสดงเฉพาะในหน่วยการทดลองที่ได้รับน้ำมันปลา 1.5% เท่านั้น เนื่องจากปลายังมีขนาดเล็กอยู่น้ำหนักประมาณ 400 กรัม ซึ่งไม่ได้ขนาดตลาดที่ต้องหนักประมาณ 1 -1.5 กก. ถึงจะได้เนื้อคุณภาพดี อย่างไรก็ตามพบว่า ในปลาหนังที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันปลามีค่าปริมาณกรดไขมันทุกชนิดทั้งกรดไขมันอิ่มตัว และกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะกรดไขมันชนิดโอเมก้า 3, 6 และ 9 มีค่ามากกว่าปลาหนังในกลุ่มควบคุม แสดงผลในภาพที่ 2-13



ภาพที่ 2-13 ปริมาณกรดไขมันในเนื้อปลาหนังลูกผสม (ปลาบึก x ปลาสวาย)

6. อภิปรายและวิจารณ์ผล

ก้อนไขมัน 1 กก. สกัดได้น้ำมันปลาที่แยกเป็นส่วนใสและผ่านการแยกสิ่งปนเปื้อนด้วยตัวดูดซับได้น้ำมันปลาปริมาตร 270 มล. จากนั้นจะนำน้ำมันปลาที่สกัดได้ไปทดสอบลักษณะทางกายภาพ และคุณสมบัติทางเคมี พบว่า น้ำมันปลาที่ได้มีสีเหลืองใส มีค่ากรด ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าไอโอดีน และค่าไขมันอิสระ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน เมื่อเทียบน้ำมันปลาที่มีแบรนด์ทางการค้าในท้องตลาด จึงนำน้ำมันปลาที่สกัดได้ไปทดสอบฤทธิ์ชีวภาพต่อไปในสัตว์ทดลอง ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของกรดไขมัน พบว่า น้ำมันปลาที่สกัดได้มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวมีค่าใกล้เคียงกับน้ำมันปลาที่มีแบรนด์ในท้องตลาด ส่วนค่าไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนยังมีค่าน้อยกว่าน้ำมันปลาแบรนด์ฯ โดยเฉพาะกรดไขมันโอเมก้า 3 ที่มีปริมาณน้อยกว่ามาก อย่างไรก็ตามพบปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในกลุ่มโอเมก้า 9 (กรดโอเลอิก) ในน้ำมันปลาที่สกัดได้มีในปริมาณสูงกว่าน้ำมันปลาแบรนด์ฯ 2-3 เท่า

ทำการปรับปรุงคุณภาพน้ำมันปลาต่อไปอีกเพื่อเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวด้วยการปรับปรุงคุณภาพด้วยเทคนิคทางเคมี พบว่า ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิด EPA และ DHA รวมถึงปริมาณกรดไขมัน total *n*-3 มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น และเพิ่มในปริมาณสูงกว่าเทคนิคการใช้เอนไซม์ไลเปสร่วมกับเทคนิคทางเคมี ส่วนในกลุ่มของเอนไซม์ไลเปส ชนิดที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการเพิ่มความเข้มข้น DHA คือ เอนไซม์ไลเปสชนิด *Candida rugosa* และถ้าพิจารณาในภาพรวมของ total *n*-3 พบว่า เอนไซม์ไลเปส ชนิดตรึง ดีกว่าในรูปแบบสารละลาย อย่างไรก็ตามค่าใช้จ่ายในการปรับปรุงคุณภาพกรดไขมันนั้นมีราคาแพง

ศึกษาคุณภาพของอาหารปลา 4 สูตร เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ระดับไขมันในอาหารปลาเริ่มลดลงในเดือนที่ 3 ของทุกสูตร ยกเว้นสูตรที่มีน้ำมันปลาผสม 1.5% ส่วนระดับโปรตีนลดลงเฉพาะสูตรควบคุม ดังนั้นเพื่อรักษาคุณค่าทางโภชนาการควรเก็บอาหารปลาไว้ไม่เกิน 3 เดือน

การศึกษาผลการเจริญเติบโตของปลาหนังที่ได้รับอาหารเม็ดเสริมน้ำมันปลาจากปลาน้ำจืด เป็นเวลา 5 เดือน พบว่า ปลาหนังในหน่วยการทดลองที่ให้อาหารผสมน้ำมันปลาในระดับ 1.5% มีการเจริญเติบโตดีที่สุด และยังช่วยเพิ่มปริมาณไขมันโอเมก้า 3, 6 และ 9 ในเนื้อปลาได้อีกด้วย โดยผลการทดลองยังสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Manning *et al*. (2006) ในลูกปลา channel catfish ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมน้ำมันปลาจากปลาทะเลในระดับ 1.5% โดยมีไขมันรวมในสูตรอาหารในระดับ 3% เลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่ามีการสะสมของไขมัน โอเมก้า 3 เพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และรายงานการวิจัยของ Chen *et al*. (2008) ในปลา rainbow trout ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมไขมันโอเมก้า 3 จาก flaxseed oil ในระดับ 8.5 และ 15% เลี้ยงเป็นเวลา 120 วัน พบว่า มีการสะสมของไขมันโอเมก้า 3 เพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่วันที่ 60 ของการทดลองไปจนถึง 120 วัน อย่างไรก็ตาม กลไกการเจริญเติบโตของปลาหนังไม่มีผลต่อการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชั่น เนื่องจากไม่มีผลลดระดับของการเกิดภาวะลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (ระดับ MDA) และยังมีผลเพิ่มภาวะดังกล่าวอีกด้วย เนื่องจากการเพิ่มอาหารที่มีไขมันไม่อิ่มตัวมากขึ้น ซึ่งมีผลต่อการเกิดภาวะลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นที่มากขึ้นนั่นเอง

7. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้และการใช้ประโยชน์

ก้อนไขมันจากเศษเหลือในอุตสาหกรรมแปรรูปปลาน้ำจืดถูกนำมาสกัดน้ำมันปลา โดยก้อนไขมัน 1 กก. สามารถสกัดได้น้ำมันปลาที่แยกเป็นส่วนใสและไม่เป็นไขที่อุณหภูมิห้องได้ 270 มล. ซึ่งมีสมบัติทางเคมีและกายภาพที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำมันสำหรับบริโภคตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข จากนั้นนำมาผสมในอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงปลาหนัง พบว่า น้ำมันปลาที่ระดับ 1.5% ให้ผลเพิ่มน้ำหนักตัวของปลาดีที่สุด และยังช่วยเพิ่มการสะสมปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนในเนื้อปลาได้มากกว่าทุกหน่วยการทดลอง ผลจากการทดลองสรุปได้ว่า น้ำมันปลาที่สกัดจากก้อนไขมันที่เป็นเศษเหลือจากการแปรรูปอุตสาหกรรมประมงน้ำจืดสามารถนำมาใช้ทดแทนน้ำมันปลาจากปลาทะเลที่มีราคาแพงและต้องนำเข้าจากต่างประเทศได้ ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และเพิ่มมูลค่าปลาน้ำจืดได้เป็นอย่างดี

8. ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาเพิ่มเติมชนิดและปริมาณของไขมัน (fatty acid profile) ของน้ำมันที่สกัดได้โดยเปรียบเทียบระหว่างก้อนไขมันที่ได้จากชนิดปลาและแหล่งที่มาที่แตกต่างกันคือ ปลาสวายและปลาลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) จากโรงงานอุตสาหกรรม ปลาสวายและปลาลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) จากการเลี้ยงที่คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2. การทำอาหารปลาผสมน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดได้จากปลาลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) จากการเลี้ยงที่คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และนำอาหารมาเลี้ยงในปลานิล ซึ่งเป็นตัวแทนของปลาเกล็ด และเป็นปลาเศรษฐกิจของประเทศ โดยเลี้ยงให้ได้ขนาดตลาด คือ 500-800 กรัม จากนั้นวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ คุณภาพเนื้อ และผลตอบแทนเชิงเศรษฐศาสตร์

3. ควรพัฒนาวิธีการสกัดน้ำมันปลาน้ำจืดจากระดับห้องปฏิบัติการ เป็นในระดับอุตสาหกรรม โดยเน้นการสกัดอย่างมีประสิทธิภาพด้วยเทคโนโลยีที่ไม่ซับซ้อนและต้นทุนต่ำ เพื่อเป็นแนวทางในการขยายสู่ระดับการผลิตในอุตสาหกรรม และพัฒนารูปแบบการบรรจุน้ำมันปลาน้ำจืดในรูปแบบแคปซูลเจล เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบทางคลินิกในมนุษย์

4. ควรทำการศึกษาทางคลินิกโดยเปรียบเทียบผลทางสุขภาพด้านระดับไขมันในเลือด ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในพลาสมา และประเมินผลชักนำให้เกิดโรคอ้วน (obesity induction) ที่อาจเกิดขึ้นจากการได้รับน้ำมันปลาน้ำจืดกับน้ำมันปลาทะเลเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในอาสาสมัครชาวไทย ทำให้เกิดข้อมูลที่เป็นประโยชน์และมีคุณค่าต่อสุขภาพของผู้บริโภค

9. บรรณานุกรม

ดวงพร อมรเลิศพิศาล, เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, นริศรา ไล้เลิศ, อัญชลี พงศ์ชัยเดชา, วุฒิพจน์ ศุภวิริยากร, ชุติมา ศรีมะเริง, วิวัฒน์ หวังเจริญ. รายงานฉบับสมบูรณ์เรื่อง ศักยภาพของน้ำมันปลาหนังน้ำจืดในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2553.

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

อุธร ฤทธิลึก. การเลี้ยงปลาเพื่อการค้า. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ. โอเดียนสโตร์. 2550. 248 หน้า.

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

โอภา วัชระคุปต์ ปรีชา บุญจง จันทนา บุณยรัตน์ มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. Radical scavenging Agents สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี. พีเอสพริ้น. 2549.

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

Carlson, S.E., S.H., Werkman, J.M., Peepes, and W.M., Wilson. 1994. Long-chain fatty acids and early visual and cognitive development of preterm infants. *Eur. J. Clin. Nutr.* 48 : S27-30.

Chantachum, S., S., Benjakul, and N., Sriwirat. 2000. Separation and quality of fish oil from precooked and non-precooked tuna heads. Food Chemistry. 69 : 289-294.

Chen, C.Yi., J., Nguyen, K., Semmens, S., Beamer, and J., Jaczynski. 2008. Effects of dietary alpha-tocopheryl acetate on lipid oxidation and alpha-tocopherol content of novel omega-3-enhanced farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. LWT - *Food. Sci. Technol.* 41(2) : 244-253.

DeFilippis, A.P., and L.S., Sperling. 2006. Understanding omega-3. *Am. Heart. J.* 151 : 564-570.

Gamez-Meza, N., J.A., Noriega-Rodriguez, L.A., Medina-Juarez, J., Ortega-Garcia, J., Monroy-Rivera, and F.J., Toro-Vazquez. 2003. Concentration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil by hydrolysis and urea complexation. *Food. Res. Inter.* 36 : 721-727.

Gustafson, K.M, J., Colombo, and S.E., Carlson. 2008. Docosahexaenoic acid and cognitive function: Is the link mediated by the autonomic nervous system? *Prostagl. Leukotri. Essen. Fatty. Acids.* 79(3-5) : 135-140.

Halliwell, B., J.M.C., Gutteridge, and C.E., Cross. 1992. Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now. *J. Lab. Clin. Med.* 119 : 598-620.

Hasan, E., F., Ersin, O., Salih, S., Sadik, O., Birsen, A., Omer, and A., Ozge. 2004. Effect of fish oil supplementation on plasma oxidant/antioxidant status in rats. *Prostagl. Leukotri. Essen. Fatty. Acids.* 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, L.A., and Y.K., Yeo. 1999. Health benefits of docosahexanenoic acid (DHA). *Pharmacol. Res.* 40 : 211-225.

Kawashima, A., R., Iwakiri, and K., Honda. 2006. Experiment study on the removal of dioxins and coplanar polychlorinated biphenyls (PCBs) from fish oil. *J. Agric. Food Chem.* 54 : 10294-10299.

Manning, B.B., M.H., Li, E.H., Robinson, and B.C., Peterson. 2006. Enrichment of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fillets with conjugated linoleic acid and omega-3 fatty acids by dietary manipulation. *Aquaculture.* 261 : 337–342.

Van der Oost, R., J., Beyer, and N.P.E., Vermeulen. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. *Environ. Toxicology. Pharma.* 13 : 57-149.

Manning, B.B., M.H., Li, E.H., Robinson, and B.C., Peterson. 2006. Enrichment of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fillets with conjugated linoleic acid and omega-3 fatty acids by dietary manipulation. *Aquaculture*. 261:337-342.

10. ภาคผนวก

MJU MAEJO UNIVERSITY ข่าวมหาวิทยาลัยแม่โจ้ MJU NEWS

2 นักวิจัยหญิงแม่โจ้โชว์ศักยภาพ.. คว้า 3 รางวัลใหญ่ เวที KIWI 2015 ประเทศเกาหลีใต้ อีกครั้ง

KIWIE Korea International Women's Invention Exposition 2015

ทีมนักวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ผลงานสุดยอดตระเวนรับรางวัลอย่างต่อเนื่อง ล่าสุด 2 นักวิจัยหญิง คว้าอีก 3 รางวัลใหญ่ จากงาน Korea International Women's Invention Exposition 2015 (KIWIE 2015) ณ กรุงโซล ประเทศเกาหลีใต้ **เมื่อวันที่ 15-18 พฤษภาคม 2558 ที่ผ่านมา**

รศ.ดร.ยงยุทธ ข้ามสี ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ แจ้งว่า "มหาวิทยาลัยแม่โจ้ได้ส่งทีมนักวิจัย เข้าร่วมแสดงนิทรรศการและประกวดผลงานวิจัยสิ่งประดิษฐ์ของนักวิจัยสตรี ในงาน Korea International Women's Invention Exposition 2015 (KIWIE 2015) ณ กรุงโซล ประเทศเกาหลีใต้ จำนวน 2 ผลงาน และปีนี้เราประสบความสำเร็จอีกครั้ง สามารถคว้ามาได้ ถึง 3 รางวัล คือเหรียญทอง เหรียญเงิน ของงาน (KIWIE 2015) และรางวัลพิเศษ TIIA Outstanding Diploma จากสมาคมนักประดิษฐ์ไต้หวัน ซึ่งเวทีนี้มีผลงานเข้าร่วมประกวดเป็นจำนวนมาก ถือว่าประสบความสำเร็จเกิน 100 เปอร์เซ็นต์"

ผลงานวิจัย เรื่อง **อาหารสัตว์น้ำผสมน้ำมันปลาน้ำจืดเพื่อการเจริญเติบโตและสุขภาพ** (Aquafeed : Floating Fish Feed for Aquaculture) โดย **อาจารย์ ดร.สุดาพร ดงศิริ และทีมงานนักวิจัย ได้แก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล, รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ** ได้รับ**รางวัลเหรียญทอง** งาน KIWIE 2015 ประเทศเกาหลีใต้ และรางวัลพิเศษ **TIIA Outstanding Diploma** จากสมาคมนักประดิษฐ์ไต้หวัน

ผลงานวิจัย เรื่อง **ผ้าอ้อมรักษ์โลกที่มีคุณสมบัติพิเศษ** (A Functional-Green Diaper) **โดย รองศาสตราจารย์ ดร.อรุณี คงดีอัลเดรด และทีมงาน คณะวิทยาศาสตร์** ได้รับ**รางวัลเหรียญเงิน** งาน KIWIE 2015 ประเทศเกาหลีใต้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำเนียร ยศราช อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้ กล่าวว่า " ขอแสดงความยินดีกับความสำเร็จในครั้งนี้ และขอบคุณทีมงานนักวิจัยทุกท่าน ที่ได้ทุ่มเท กำลังความสามารถ ศึกษาค้นคว้าวิจัยและสร้างนวัตกรรมใหม่ออกมาเพื่อพัฒนาวงการศึกษาและวงการเกษตรไทย ให้ก้าวสู่ระดับนานาชาติ"

งานประชาสัมพันธ์ กองกลาง
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ โทรศัพท์ 0 5387 3046-47

ภาพที่ 2-14 ผลงานอาหารสัตว์น้ำผสมน้ำมันปลาน้ำจืดได้รับรางวัลในการประกวดนวัตกรรมระดับนานาชาติ

ภาพที่ 2-15 ผลงานอาหารสัตว์น้ำผสมน้ำมันปลาน้ำจืดได้รับรางวัลในการประกวดนวัตกรรมระดับนานาชาติ

Chiang Mai J. Sci. 2015; 42(3) : 626-636
http://epg.science.cmu.ac.th/ejournal/
Contributed Paper

Fatty Acid Composition, Physical Properties, Acute Oral Toxicity and Antioxidant Activity of Crude Lipids from Adipose Tissue of Some Commercialized Freshwater Catfish

Wiwat Wangcharoen*[a], Kriangsak Mengumphan [b] and Doungporn Amornlerdpison [b]

[a] Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand.
[b] Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand.
*Author for Correspondence; e-mail: wiwat@mju.ac.th

Received: 18 December 2013
Accepted: 6 July 2014

ABSTRACT

Crude lipids extracted from the adipose tissues of some commercialized freshwater catfish, including the Mekong giant catfish (*Pangasianodon gigas*), striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) and hybrid catfish (*Pangasius larnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*) were carried out. Their saturated fatty acid and unsaturated fatty acid contents were not much different, but their polyunsaturated fatty acid contents were obviously different. Their n-3 fatty acid contents were 15.58, 0.83 and 4.36 g per 100 g, respectively, and their eicosapentaenoic acid (EPA):docosahexaenoic acid (DHA) contents were 3.23:4.24, 0.07:0.13 and 0.65:2.72 g per 100 g, respectively. Their n-6 fatty acid contents were 6.36, 9.19 and 8.77 g per 100 g, respectively. They were in solid and semi-solid form at room temperature with certain different physical properties. No sign of toxicity was observed for 14 days in female Wistar albino rats after receiving a dose of crude lipids at 5000 mg/kg. Their antioxidant activities by ABTS assay were 3.21, 4.53 and 6.00 mM Trolox per 1 g, respectively.

Keywords: fish lipid, fatty acid, physical property, acute oral toxicity, antioxidant activity, *Pangasianodon gigas*, *Pangasianodon hypophthalmus*, hybrid catfish

ภาพที่ 2-16 ผลงานการตีพิมพ์งานวิจัยน้ำมันปลาน้ำจืดในระดับนานาชาติ