

นวัตกรรมน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีความเสี่ยง  
ต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม



ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต  
สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร  
มหาวิทยาลัยแม่โจ้  
พ.ศ. 2564

นวัตกรรมน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีความเสี่ยง  
ต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม



คุณูปการนี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

สำนักบริหารและพัฒนาระบบราชการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

นวัตกรรมการนำมันปลาจากปลาหางลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีความเสี่ยง  
ต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม

บุษรินทร์ ทองมี

ดุษฎีนิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต  
สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศรา ไส้เลิศ)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)

รองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน

อธิการบดี มหาวิทยาลัยแม่โจ้

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ....

ชื่อเรื่อง	นวัตกรรมน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีความเสี่ยง ต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม
ชื่อผู้เขียน	นางบุษรินทร์ ทองมี
ชื่อปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล

### บทคัดย่อ

เมตาบอลิกซินโดรมเป็นกลุ่มโรคที่มีลักษณะเกี่ยวข้องกับภาวะอ้วนลงพุง ความดันโลหิตสูง ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติและภาวะดื้อต่ออินซูลิน ส่งผลต่อการเพิ่มความเสียหายโดยตรงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจและโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งมีรายงานการศึกษาพบว่า อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) และการปรับเปลี่ยนวิถีชีวิต สามารถป้องกันภาวะเมตาบอลิกซินโดรมและปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (Freshwater fish oil: FFO) และน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (Buk Siam fish oil: BFO) ทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในการต้านการอักเสบและการต้านจุลชีพ และการศึกษาผลของ FFO ที่มีต่อองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมในอาสาสมัครที่มีภาวะเสี่ยง ผลการศึกษาพบว่าน้ำมันปลาทั้งน้ำจืดทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลืองที่อุณหภูมิห้อง มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) ไม่แตกต่างกัน แต่มีปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวแตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยทั้ง FFO และ BFO มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิดโอเมก้า 6 สูง ในขณะที่น้ำมันปลาทะเล (Marine fish oil: MFO) นั้นจะมีกรดไขมันโอเมก้า 3 ปริมาณสูง ซึ่งทั้ง FFO, BFO และ MFO พบปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว โอเมก้า 9 เท่ากับ 43.35, 46.69 และ 11.24 กรัมต่อ 100 กรัมตามลำดับ จะเห็นได้ว่าน้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิดนี้มีค่าโอเมก้า 9 สูงกว่าน้ำมันปลาทะเลถึงสี่เท่า ส่วนค่าสะaponification numbers) และค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) ของ FFO และ BFO อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนด และพบการปนเปื้อนโลหะหนักปริมาณที่น้อยมากหรือตรวจ ไม่พบเลย นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* ปริมาณน้อยที่สุดหรือตรวจไม่พบเลย

สำหรับฤทธิ์ต้านการอักเสบพบว่า FFO มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งและการแสดงออกของ mRNA ของ cytokines ที่ทำให้เกิดการอักเสบ ได้แก่ IL-6, IL-1 $\beta$  และ TNF- $\alpha$  และมีฤทธิ์ยับยั้งการแสดงออกและการหลั่งของสารสื่อกลางการอักเสบ ชนิด cyclooxygenase-2 และ prostaglandin E2 ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ RAW 264.7 ที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปพอลิแซ็กคาไรด์

(lipopolysaccharide) นอกจากนี้ FFO ยังช่วยลดการสร้าง apoptotic body และลดการทำลายของ DNA ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ RAW 264.7 ได้ ส่วนฤทธิ์ต้านจุลชีพ พบว่า FFO ไม่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบนผิวหนัง ได้แก่เชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Propionibacterium acnes*

จากการศึกษาฤทธิ์ของ FFO ในอาสาสมัครที่มีความเสี่ยงต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม จำนวน 33 คน โดยการให้ FFO ขนาด 2 กรัม/วัน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอาสาสมัครมีระดับ HDL-C และ fasting plasma glucose ในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (10.97, 5.42,  $p < 0.05$ ) แต่อย่างไรก็ตามระดับของ fasting plasma glucose ยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ ส่วนระดับของไขมันในเลือดชนิด LDL-C นั้นพบว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (-8.98,  $p < 0.05$ ) และระดับของ TG มีแนวโน้มลดลง (-1.49,  $p > 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าอาสาสมัครมีน้ำหนักตัว (-1.731 กก. [71.01, 69.28]) ดัชนีมวลกาย (-0.66 กก./ตร.ม. [26.62, 25.96]) เส้นรอบเอว (-2.87 ซม. [89.62, 86.75]) ความดันโลหิตซิสโตลิก (-4.03 mmHg [130.30, 126.27]) และความดันโลหิตไดแอสโตลิก (-2.31 mmHg [85.06, 82.75]) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการบริโภคน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดที่อุดมด้วยกรดไขมัน โอเมก้า 9 มีความปลอดภัยในมนุษย์ และสามารถช่วยลดปัจจัยด้านต่าง ๆ ที่พบในผู้ที่มีความเสี่ยงต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรมได้ แสดงให้เห็นศักยภาพที่จะนำมาใช้เพื่อบริโภคและต่อยอดในอุตสาหกรรมอาหารและยาได้ต่อไป

คำสำคัญ : น้ำมันปลา, โอเมก้า - 9, ปลาหนังน้ำจืดลูกผสม, ภาวะเมตาบอลิกซินโดรม, ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

<b>Title</b>	INNOVATIVE FISH OIL FROM FRESHWATER HYBRID CATFISH ON METABOLIC SYNDROME RISK IN HUMAN
<b>Author</b>	Mrs. Bussarin Tongmee
<b>Degree</b>	Doctor of Philosophy in Agricultural Interdisciplinary
<b>Advisory Committee Chairperson</b>	Associate Professor Dr. Doungporn Amornlerdpison

### ABSTRACT

Metabolic syndrome (MetS) is defined by a cluster of interconnected components characterized by abdominal obesity, hypertension, dyslipidemia and insulin resistance that directly increase the risk of coronary heart disease and diabetes mellitus type 2. It was found that dietary monounsaturated fatty acids and lifestyle modification are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. This study aimed to analyze for physical and chemical properties, anti-inflammatory activity and antimicrobial activity of freshwater hybrid catfish fish oil (FFO) and Buk-Siam Fish Oil (BFO) and to investigate the effects of FFO on metabolic risk factors in human. The results revealed that these fish oils appeared as a yellow liquid form at room temperature, their saturated fatty acid contents were not much different. On the other hand, their polyunsaturated fatty acid contents were obviously different. FFO and BFO were containing the rich of omega-6 series of PUFA while marine fish oil (MFO) was appeared rich of omega-3 series. FFO, BFO and MFO of omega-9 fatty acid contents were 43.35, 46.69 and 11.24 g per 100 g, respectively. Interestingly, the omega-9 monounsaturated fatty acid contents of the FFO and BFO were four times higher than the MFO. Saponification numbers and peroxide value of FFO and BFO were analyzed to be within normal limit. Furthermore, heavy metal contents were in the very least amount or not detected, in addition *Escherichia coli* and *Salmonella species* were either in the very least

amount or not detected at all.

For the anti-inflammatory effect, it was found that FFO inhibited the secretion and mRNA expression of the pro-inflammatory cytokines IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and suppressed the expression and secretion of the inflammatory mediator cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. In addition, FFO also reduced apoptotic body formation and DNA damage. It was found that FFO had no antimicrobial activity against bacterial skin pathogens including, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*.

The effects of FFO on metabolic risk factors were examined in 33 metabolic syndrome risks. The study consisted of 12 weeks intervention with 2 gram/day of FFO. Results showed that HDL- C and fasting plasma glucose increased on FFO treatment significantly (10.97, 5.42,  $p < 0.05$ ) and plasma glucose was within normal limit. In addition, LDL-C decreased on FFO treatment significantly (-8.98,  $p < 0.05$ ). There was a trend towards a lower TG ( -1.49,  $p > 0.05$ ) but FFO had no effect on total cholesterol. Furthermore, there were significant reductions in body weight (-1.73 kg [71.01, 69.28]), body mass index (-0.66 kg/m<sup>2</sup> [26.62,25.96]), waist circumference (-2.87cm [89.62, 86.75]), systolic blood pressure (- 4.03 mmHg [130.30, 126.27]) and diastolic blood pressure (-2.31mmHg [85.06, 82.05]). The results of this study provided evidence that consuming enriched omega - 9 FFO can improve metabolic risk factors among subjects with metabolic syndrome risk and safety for human consumption. Therefore, it can be utilized for edible purposes and as a component in both food and pharmaceutical industries.

Keywords : Fish oil, Omega - 9, Freshwater Hybrid Catfish, Metabolic Syndrome, Anti-inflammation

## กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล อาจารย์ที่ปรึกษาหลักสูตรศึกษานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือให้ทุก ๆ ด้าน โดยให้ความช่วยเหลือในเรื่องของแหล่งทุนสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ ช่วยเสนอแนะให้คำแนะนำ กำกับดูแล ให้กำลังใจ ชี้แนะในการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ขณะทำวิจัย ช่วยตรวจทานแก้ไข คอยติดตามความก้าวหน้าจนทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่กรุณาให้คำแนะนำ ชี้แนะแนวทางของงานวิจัยและให้ความรู้ในการทำวิจัย โดยเฉพาะความรู้ในเรื่องของการเพาะเลี้ยงและการสร้างมูลค่าเพิ่มปลาบึกสยามและปลาหนังลูกผสมน้ำจืด ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นริศรา ไส้เลิศ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่กรุณาให้คำแนะนำ ช่วยตรวจทานแก้ไข ติดตามความก้าวหน้าจนทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จไปด้วยดี ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัฉราภรณ์ อ่อนตะวงค์ ประธานกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อมูลอันเป็นประโยชน์ในการทำวิจัยให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุตาพร ตงศิริ กรรมการสอบร่วมที่กรุณาให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ให้การเขียนสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร ที่ให้คำแนะนำและกำลังใจในการทำวิจัย ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.นิวุฒิ หวังชัย ที่ให้คำแนะนำในการทำวิจัยและการเขียนบทความวิชาการ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวลี อันพาพรหม และ Dr. Rameshprabu Ramaraj ที่ให้คำแนะนำด้านการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและการเขียนบทความวิชาการ และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านของสาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร ที่ให้ความรู้และคำแนะนำด้านต่าง ๆ ในขณะศึกษาและการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณสำนักงานปลัดกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ในการให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้ (โครงการน้ำมันปลาน้ำจืดอุดมด้วยกรดไขมันโอเมก้า-9 ที่สกัดจากปลาหนังลูกผสม ภายใต้โครงการสนับสนุนเร่งการเติบโตของธุรกิจนวัตกรรมรายใหม่ในอุตสาหกรรมเป้าหมาย Research Gap Fund ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560)

ขอขอบคุณ ดร.ณัฐวุฒิ หวังสมนึก และ ดร.รัตนภรณ์ จันทร์ทิพย์ ที่ให้ความช่วยเหลือแนะนำในการศึกษาทดลองงานวิจัย ขอขอบคุณบุคลากรจากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่ให้การช่วยเหลือในการทดลอง สนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์และสถานที่และขอขอบคุณทุกท่านที่มีสามารถเอ่ยนามได้ทั้งหมดที่ให้การช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ในจนกระทั่งงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาสาสมัครทุกท่านที่เข้าร่วมในงานวิจัยครั้งนี้และให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี

ในการเก็บรวบรวมข้อมูล และขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญชา ทองมี สามิผู้ให้กำลังใจ คำแนะนำและการสนับสนุนทุก ๆ ด้าน จนงานวิจัยสำเร็จด้วยดี คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากการ ศึกษาวิจัยนี้ผู้วิจัยขอน้อมบูชาพระคุณบิดามารดา และบูรพาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนวิชาความรู้ และให้ความเมตตาแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด และเป็นกำลังใจสำคัญที่ทำให้การศึกษาวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วง ได้ด้วยดี

บุษรินทร์ ทองมี



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ณ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์การวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
ขอบเขตการวิจัย.....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
ภาวะเมตาบอลิกซินโดรม.....	6
กรดไขมันในปลาบึกและปลาหนังลูกผสม.....	10
น้ำมันปลา (fish oil).....	13
ปริมาณไขมันและกรดไขมันที่ควรรับประทานต่อวัน.....	20
สารชีวเคมีในเลือด (blood chemistry).....	21
กระบวนการอักเสบและการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Inflammatory process and Anti-inflammation activity).....	28
การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค (Antimicrobial activity).....	37
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	42

บทที่ 3 วิธีการวิจัย .....	50
ขั้นตอนและวิธีการวิจัย .....	50
การวัดผล (outcome measurement).....	58
การเก็บรวบรวมข้อมูล .....	59
การวิเคราะห์ทางสถิติ .....	59
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล .....	61
องค์ประกอบของไขมัน คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของน้ำมันปลาจากปลาหนังน้ำจืด .....	62
การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด .....	66
การศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีภาวะเสี่ยง ของเมตาบอลิกซินโดรม.....	73
อภิปรายผล.....	83
บทที่ 5 สรุปผล.....	100
ข้อเสนอแนะ .....	102
บรรณานุกรม.....	103
ภาคผนวก.....	119
ภาคผนวก ก จำนวนและร้อยละของอาการไม่พึงประสงค์ของอาสาสมัคร จากการรับประทานน้ำมันปลาลูกผสมน้ำจืด.....	120
ภาคผนวก ข ใบรายงานผลการทดสอบน้ำมันปลาน้ำจืด.....	122
ภาคผนวก ค การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ .....	126
ภาคผนวก ง ประกาศนียบัตรการเรียนออนไลน์หัวข้อจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์เบื้องต้น.....	157
ภาคผนวก จ ประกาศนียบัตรการผ่านการประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการในระดับดีเยี่ยม ของแม่โจ้คลินิกแลบ .....	159
ประวัติผู้วิจัย.....	161

## สารบัญตาราง

### หน้า

ตารางที่ 1	คุณค่าทางโภชนาการของปลาบึกขนาด 20-30 กิโลกรัม จากบ่อเลี้ยงจรัลฟาร์ม อำเภอกพาน จังหวัดเชียงราย ต่อเนื้อปลา 100 กรัม (หน่วย: มิลลิกรัม/100 กรัม) .....	10
ตารางที่ 2	กรดไขมันโอเมก้า 3 ชนิด DHA และ EPA ในปลาแต่ละชนิดต่อเนื้อปลา100กรัม.....	11
ตารางที่ 3	ปริมาณไขมันและกรดไขมันที่ผู้ใหญ่วัยควรรับประทานต่อวัน .....	20
ตารางที่ 4	ชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม (FFO) น้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาบึกสยาม (BFO) เทียบกับน้ำมันปลาทะเล (MFO).....	63
ตารางที่ 5	สมบัติทางเคมีของน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม (FFO) และน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาบึกสยาม (BFO).....	65
ตารางที่ 6	ผลการทดสอบการปนเปื้อนโลหะหนักและการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) น้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO).....	65
ตารางที่ 7	ลักษณะทั่วไป ลักษณะทางคลินิก และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะเมตาบอลิซินโดรมของกลุ่มตัวอย่างก่อนเริ่มเข้าโครงการ.....	73
ตารางที่ 8	การเปรียบเทียบน้ำหนัก ดัชนีมวลกาย เส้นรอบเอว ความดันโลหิตของอาสาสมัครทั้งหมดก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ.....	74
ตารางที่ 9	ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิซินโดรมของอาสาสมัครทั้งหมดก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ.....	75
ตารางที่ 10	ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิซินโดรมของอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวมากกว่าหรือเท่ากับ 90 เซนติเมตรก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ.....	76
ตารางที่ 11	ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิซินโดรมของอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 90 เซนติเมตรก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ.....	77
ตารางที่ 12	ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิซินโดรมของอาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวมากกว่าหรือเท่ากับ 80 เซนติเมตรก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ .....	78
ตารางที่ 13	ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิซินโดรมของอาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 80 เซนติเมตรก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ .....	79

ตารางที่ 14 ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตะบอลิคซินโดรมของอาสาสมัครเพศชายและหญิงที่มีค่าดัชนีมวลกายมากกว่าหรือเท่ากับ 23 kg/m<sup>2</sup> ก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ ..... 80

ตารางที่ 15 ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตะบอลิคซินโดรมของอาสาสมัครเพศชายและหญิงที่มีค่าดัชนีมวลกายน้อยกว่า 23 kg/m<sup>2</sup> ก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ ..... 81

ตารางที่ 16 ค่าการทำงานของตับ การทำงานของไตและค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ ..... 82



## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ปลาหนังลูกผสม (ก) และปลาลูกผสมบีกสยาม(ข).....	13
ภาพที่ 2 การเพิ่มมูลค่าเพิ่มจากเศษเหลือของปลาหนังลูกผสม .....	14
ภาพที่ 3 โครงสร้างกรดไขมันโอเมก้า 3 .....	16
ภาพที่ 4 โครงสร้างกรดไขมันโอเมก้า 6 .....	17
ภาพที่ 5 โครงสร้างกรดไขมันโอเมก้า 9 .....	18
ภาพที่ 6 ขั้นตอนการเกิดโรคที่มีสาเหตุมาจากการขาดการออกกำลังกาย .....	31
ภาพที่ 7 การหลั่งอินเตอร์ลิวคิน 6 (IL-6) จากเซลล์ไขมัน .....	32
ภาพที่ 8 แสดงโคโลนีสีเหลืองของ <i>S. aureus</i> ที่เจริญบน blood agar .....	40
ภาพที่ 9 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของ <i>S.epidermidis</i> จากการย้อมสีแกรม .....	41
ภาพที่ 10 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของ <i>Propionibacterium acnes</i> จากการย้อมสีแกรม .....	42
ภาพที่ 11 ก้อนไขมันปลาหนังลูกผสม.....	50
ภาพที่ 12 การสกัดแยกน้ำมันจากก้อนไขมันปลาหนังลูกผสม.....	51
ภาพที่ 13 การเลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) ภายในตู้บ่มเพาะ CO <sub>2</sub> .....	52
ภาพที่ 14 การทดสอบปริมาณสาร Cytokine โดยใช้ ELISA kit.....	54
ภาพที่ 15 การย้อมเซลล์ด้วยสารฟลูออเรสเซนต์ เพื่อทดสอบ Genotoxicity.....	54
ภาพที่ 16 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันปลาหนังลูกผสม .....	55
ภาพที่ 17 แผนการดำเนินการวิจัยโดยสรุป.....	60
ภาพที่ 18 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบและความเป็นพิษของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสม น้ำจืดต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7).....	67
ภาพที่ 19 การทดสอบฤทธิ์ของ FFO ลดการสร้าง NO และการแสดงออกของ mRNA ของ COX-2 และ PGE2 .....	68
ภาพที่ 20 ฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์ (Cytoprotective effect) ของ FFO.....	69

ภาพที่ 21 ผลของ FFO ต่อกระบวนการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันภายในเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7) โดยใช้ FFO ที่ความเข้มข้น 2 % $p < 0.05$ เทียบกับกลุ่มควบคุม.....	70
ภาพที่ 22 ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO).....	71
ภาพที่ 23 ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO).....	72
ภาพที่ 24 กลไกของ Oleic acid ในการลดการอักเสบและการเพิ่มความไวของอินซูลิน.....	88
ภาพที่ 25 กลไกของโอเมก้า -9 (oleic acid ) ในการลดภาวะอ้วนลงพุง.....	92



## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความสำคัญของปัญหา

เมตาบอลิกซินโดรมเป็นกลุ่มอาการหรือกลุ่มความผิดปกติทางเมตาบอลิซึมของร่างกายที่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ได้แก่ ภาวะดื้อต่ออินซูลิน ไขมันสูงในเลือด ความดันโลหิตสูง ภาวะไขมันในตับที่ไม่ใช่สาเหตุจากแอลกอฮอล์ ภาวะยูริกสูงในเลือด ภาวะการอักเสบ และภาวะอ้วนซึ่งเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญที่สุดอันเนื่องมาจากภาวะเมตาบอลิกซินโดรม โดยพบว่าการกระตุ้นการอักเสบมีความสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ของอินซูลิน ซึ่งส่งผลให้ภาวะอ้วนเป็นการอักเสบแบบเรื้อรัง (Lottenberg et al., 2012) ปัจจุบันภาวะเมตาบอลิกซินโดรมหรือภาวะอ้วนลงพุงนับเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญและมีแนวโน้มผู้ที่มีภาวะนี้เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพันธุกรรมและรูปแบบการดำรงชีวิตของคนในปัจจุบัน ซึ่งมีรูปแบบที่เปลี่ยนแปลงไปอย่างมาก เช่น พฤติกรรมการบริโภคที่ไม่เหมาะสมและขาดการออกกำลังกาย แต่ทั้งนี้ภาวะเมตาบอลิกซินโดรมที่มีรูปแบบจากวิถีการดำรงชีวิตนั้น สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดโรคได้โดยการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการบริโภคให้เหมาะสมและออกกำลังกายอย่างถูกวิธี รวมไปถึงการเลือกบริโภคผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อสุขภาพที่สามารถช่วยลดภาวะเมตาบอลิกซินโดรมได้ เช่น อาหารประเภทที่มีเยื่อใยสูง อาหารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน กรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า-9 ทั้งที่ได้จากพืชและสัตว์ เป็นต้น

จากการที่ทีมวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ได้ปรับปรุงสายพันธุ์ปลาหนังลูกผสมกลุ่มปลาสร้อยเพื่อพัฒนาให้เป็นปลาเศรษฐกิจตัวใหม่ โดยตั้งชื่อให้ว่าปลาบึกสยามแม่โจ้ ซึ่งสามารถผลิตลูกปลาสายพันธุ์ลูกผสมนี้ได้จำนวนมาก มีอัตราการรอดสูง เจริญเติบโตดี ให้ผลผลิตเนื้อคุณภาพ สี เนื้อ กลิ่น และรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยบริษัท เอส แอนด์ พี ซินดิเคท ได้นำไปทำเมนูอาหารจำหน่ายทั่วประเทศ (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2553) จากกระบวนการแปรรูปเนื้อปลาหนังลูกผสมน้ำจืด เพื่อนำไปจำหน่ายพบว่ามักมีก้อนไขมันจำนวนมากที่สามารถนำไปเพิ่มมูลค่าเป็นน้ำมันปลาในรูปแบบอาหารเสริมสุขภาพได้ อย่างไรก็ตามต้องมีการพัฒนากระบวนการสกัดไขมันก่อนนำไปใช้ประโยชน์ และจากรายงาน ดวงพร (2556) ได้นำก้อนไขมันปลาหนังลูกผสมกลุ่มปลาสร้อยมาสกัดเป็นน้ำมันปลาจากปลาน้ำจืด พบว่าน้ำมันปลาที่ได้มีสีเหลืองใส มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานทั้งค่ากรด ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าไอโอดีน และค่าไขมันอิสระ นอกจากนี้ยังมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวมีค่าใกล้เคียงกับน้ำมันปลาจากปลาทะเลในท้องตลาด โดยมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในกลุ่มโอเมก้า-9 ที่สูงกว่าน้ำมันปลาจากปลาทะเลถึง 4 เท่า จากนั้นนำน้ำมันปลาที่สกัดได้ไปศึกษาฤทธิ์

ชีวภาพในสัตว์ทดลอง โดยพบว่าปลาหนึ่งในหน่วยการทดลองที่ให้อาหารผสมน้ำมันจากปลาหนึ่งน้ำจืดในระดับ 1.5% มีการเจริญเติบโตดีที่สุด และยังช่วยเพิ่มปริมาณไขมันโอเมก้า 3, 6 และ 9 ในเนื้อปลาได้อีกด้วย (ธีรวัฒน์ และคณะ, 2561) ส่วนการศึกษาในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานด้วยการให้น้ำมันจากปลาหนึ่งผสมน้ำจืดในปริมาณ 1 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคส ไขมันคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานได้ โดยกลไกการออกฤทธิ์ช่วยเพิ่มความไวในการตอบสนองต่ออินซูลิน เพิ่มระดับของฮอร์โมนอะดิพอนิทิน(adiponectin) และลดระดับของฮอร์โมนเลปติน (leptin) ในเลือด นอกจากนี้ยังช่วยลดการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) อีกด้วย ในการศึกษาฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระและกลไกที่เกี่ยวข้องต่อโปรตีนขนส่งยาที่มีมากที่สุด พบว่าน้ำมันจากปลาหนึ่งน้ำจืดปริมาณ 0.25 และ 0.5% สามารถป้องกันการเพิ่มขึ้นของระดับสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์มะเร็งตับที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) โดยการใช้สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ และผลที่ได้ใกล้เคียงกับผลของวิตามินอี และเมื่อเพิ่มปริมาณเป็น 1% สามารถฟื้นฟูการทำงานของโปรตีนขนส่งยาชนิด organic cation transporter 1 (OCT1) ในเซลล์มะเร็งตับของมนุษย์จึงน่าจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขนส่งยาในโรคตับที่มีภาวะเครียดออกซิเดชันได้ (Keapai et al., 2016)

นอกจากนี้ที่มวิจัยได้ประเมินความเป็นไปได้ทางการตลาดในอาสาสมัครในจังหวัดเชียงใหม่รวม 494 คน พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำมันปลาจากปลาหนึ่งน้ำจืดมีศักยภาพทางการตลาดสูงมาก เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีเอกลักษณ์เป็นของตัวเอง มีที่มาจากวัตถุดิบที่แตกต่างจากน้ำมันปลาอื่น ๆ โดยเฉพาะมีผลงานวิจัยจากหน่วยงานรัฐให้การรับรอง (ดวงพร, 2563)

ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยและให้เกิดความเชื่อมั่นในการบริโภคน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งผสมน้ำจืด ในการวิจัยครั้งนี้จะทำการศึกษาต่อยอดฤทธิ์ชีวภาพของน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งผสมน้ำจืดในอาสาสมัครที่มีความเสี่ยงต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม เพื่อประเมินผลและประสิทธิภาพจากการบริโภคน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งผสมน้ำจืด ทำให้เกิดข้อมูลที่เป็นประโยชน์และมีคุณค่าต่อสุขภาพของผู้บริโภค ช่วยสนับสนุนการทำการตลาดให้กับธุรกิจนวัตกรรมด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำลดการนำเข้าและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับประเทศไทย

### วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดและน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม รวมทั้งการปนเปื้อนโลหะหนักและแบคทีเรีย
2. เพื่อศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดต่อฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านจุลชีพ
3. เพื่อศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีภาวะเสี่ยงของเมตาบอลิกซินโดรม

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้องค์ความรู้ด้านฤทธิ์ชีวภาพของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด โดยงานวิจัยมุ่งสร้างมูลค่าเพิ่มแก่ของเหลือใช้จากอุตสาหกรรมประมงที่มีเป้าหมายในการนำผลสำเร็จไปพัฒนาแปลงเป็นนวัตกรรมเชิงพาณิชย์ โดยนำเศษเหลือใช้จากปลาหนังน้ำจืดลูกผสมมาเพิ่มมูลค่า ด้วยการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีมูลค่าสูง
2. ได้ผลประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการบริโภคน้ำมันจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์
3. กระตุ้นให้ผู้บริโภคชาวไทยหันมาบริโภคผลิตภัณฑ์จากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดให้มากขึ้น ซึ่งนอกจากจะช่วยลดการนำเข้าน้ำมันปลาจากต่างประเทศ และเพิ่มมูลค่าเศรษฐกิจให้กับประเทศแล้วยังเป็นผลดีต่อการลดค่าใช้จ่ายในการดูแลสุขภาพของประชาชน ช่วยทำให้ประชาชนมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น
4. เป็นการสร้างโอกาส อาชีพ เพิ่มรายได้ให้แก่กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาหนังลูกผสมน้ำจืดโดยตรงและส่งผลทางอ้อมในการช่วยให้กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงปลากลุ่มนี้เป็นทางเลือกอาชีพที่มั่นคงต่อไป
5. เพื่อให้ได้หลักฐานทางวิทยาศาสตร์พิสูจน์การกล่าวอ้างทางสุขภาพในมนุษย์

## ขอบเขตการวิจัย

### 1. การเตรียมน้ำมันปลาเพื่อการวิเคราะห์คุณภาพและการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ

1.1 วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี โดยวิเคราะห์หาส่วนประกอบของชนิดและปริมาณกรดไขมัน ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value) และค่าสะaponนิฟิเคชัน (Saponification number)

1.2 ตรวจหาการปนเปื้อนโลหะหนักและเชื้อแบคทีเรีย โดยการตรวจหาค่าโลหะหนักต่าง ๆ และการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ เชื้อ *Escherihia Coli* และ *Samonella spp.*

### 2. การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ

2.1 ฤทธิ์ต้านการอักเสบในเซลล์มาโครฟาจ โดยเฉพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวมาโครฟาจ (RAW 264.7) จากนั้นนำมากระตุ้นด้วยสาร lipopolysaccharide (LPS) เพื่อเหนี่ยวนำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวนี้เกิดการอักเสบขึ้น และนำน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดมาทดสอบในเซลล์มาโครฟาจ เพื่อดูความสามารถของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในการยับยั้งการอักเสบที่เกิดขึ้น

2.2 ฤทธิ์ต้านจุลชีพก่อโรคบนผิวหนังในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดและน้ำมันปลาจากปลาบิกสยามในแบคทีเรียก่อโรคบนผิวหนัง 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Propionibacterium acnes*

### 3. การทดสอบทางคลินิก

#### 3.1 กลุ่มประชากรที่จะศึกษา

3.1.1 อาสาสมัครชาย-หญิงที่มีความเสี่ยงต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม อายุ 30-65 ปี จำนวน 34 คน

3.1.2 ภาวะเสี่ยงของเมตาบอลิกซินโดรม หมายถึง บุคคลที่มีความผิดปกติของเกณฑ์วินิจฉัยว่าเป็นกลุ่มโรคภาวะเมตาบอลิกซินโดรม 1 หรือเท่ากับ 2 ข้อ ใน 5 ข้อ โดยอ้างอิงตามเกณฑ์ของ National Cholesterol Education Program Expert Panel (NCEP ATPIII, 2003)

#### 3.2 วิธีการศึกษา

เป็นการวิจัยเชิงการทดลองทางคลินิก (clinical trial) โดยให้อาสาสมัคร จำนวน 34 คน รับประทานน้ำมันจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด ขนาด 2 กรัมต่อวัน เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

**ขนาดตัวอย่าง** ขนาดตัวอย่างในการศึกษา คำนวณจากโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป Power and Precision 4 (Statsoft, USA (Choudhury et al., 1995; Shin et al., 2011) โดยเลือก sample size design: แบบ Paired t-test กำหนดระดับนัยสำคัญ = .05,  $\sigma = .5$ ,  $\delta$  (delta) = ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ย = 0.50 Power of test (ความน่าจะเป็นของระดับความมั่นใจ) = 0.80 (PS sample size calculation software, 2007) ผลการคำนวณได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างจำนวน 34 คน ดังนั้นขนาดตัวอย่างในงานวิจัยครั้งนี้ จะใช้กลุ่มตัวอย่าง จำนวน 34 คน เพื่อให้การวิเคราะห์ผลวิจัย อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเสร็จสิ้นการวิจัย ในขณะที่ดำเนินการวิจัยมีกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 1 คน ได้ออกจากการศึกษาเนื่องจากการตั้งครรภ์ คิดเป็น 2.94% ของจำนวนกลุ่มตัวอย่าง



## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ภาวะเมตาบอลิกซินโดรม

ภาวะเมตาบอลิกซินโดรม (metabolic syndrome) คือ กลุ่มความผิดปกติที่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดซึ่งพบร่วมกันได้บ่อย ความผิดปกติดังกล่าวได้แก่ความผิดปกติของไขมันในเลือด ความดันโลหิต ระดับน้ำตาล ตลอดจนปัจจัยที่เป็น pro – thrombotic และ pro - inflammatory ผู้ที่เป็นเมตาบอลิกซินโดรมจะเพิ่มโอกาสเสี่ยงในการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคหัวใจและหลอดเลือด (Grundy, 2004)

ปัจจุบันมีเกณฑ์ในการวินิจฉัยเมตาบอลิกซินโดรมอยู่หลายเกณฑ์ด้วยกัน (Grundy, 2004) เช่น World Health Organization (1999), European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)(1999), National Cholesterol Education Program (NCEP) ATPIII (2003) และ American College of Endocrinology (ACE) (2003) เป็นต้น อย่างไรก็ตามเกณฑ์ที่ได้รับความนิยมมากที่สุดคือ NCEP ATPIII เมื่อเดือนกันยายน พ.ศ. 2548 ได้มีเกณฑ์ในการวินิจฉัยเมตาบอลิกซินโดรมเพิ่มขึ้นใหม่อีก 2 เกณฑ์คือเกณฑ์ของ International Diabetes Federation (IDF) และเกณฑ์ของ American Heart Association (AHA) ร่วมกับ National Heart Lung and Blood Institutes (NHLBI) ของประเทศสหรัฐอเมริกา

เกณฑ์ของ NCEP ATPIII ในการวินิจฉัยเมตาบอลิกซินโดรม จะต้องมีความผิดปกติอย่างน้อย 3 ข้อใน 5 ข้อต่อไปนี้ ได้แก่

1. อ้วนลงพุง (เส้นรอบเอวมากกว่าหรือเท่ากับ 102 ซม. หรือ 40 นิ้วในผู้ชาย หรือมากกว่าหรือเท่ากับ 88 ซม.หรือ 35 นิ้วในผู้หญิง)
2. ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด > 150 mg/dL
3. ระดับ HDL-cholesterol < 40 mg/dLในผู้ชาย หรือ < 50 mg/dL ในผู้หญิง
4. ความดันโลหิต > 130/85 mmHg หรือรับประทานยาลดความดันโลหิตอยู่
5. ระดับน้ำตาลขณะอดอาหาร > 110 mg/dL

เกณฑ์ของ WHO (1999) ในการวินิจฉัยเมตาบอลิกซินโดรม ต้องประกอบด้วยภาวะติดต่อกัน 3 ข้อ ได้แก่ วินิจฉัยจากค่าดัชนีที่คำนวณจากการทดสอบความทนทานต่อน้ำตาลกลูโคส ได้แก่ HOMA-IR (homeostatic model assessment of insulin resistance and secretion) หรือวัดระดับติดต่อกัน 3 ข้อ ได้แก่ อินซูลิน ได้มากกว่าร้อยละ 75 ของประชากรทั่วไป ร่วมกับความผิดปกติอย่างน้อย 2 ข้อ ต่อไปนี้

1. อ้วน (body mass index, BMI)  $> 30 \text{ kg/m}^2$  หรือ อัตราส่วนระหว่างเส้นรอบวงเอวต่อสะโพก, W/H ratio,  $> 0.9$  ในผู้ชาย หรือ  $> 0.85$  ในผู้หญิง
2. ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด  $> 150 \text{ mg/dL}$  หรือระดับ HDL-cholesterol  $< 35 \text{ mg/dL}$  ในผู้ชาย หรือ  $< 39 \text{ mg/dL}$  ในผู้หญิง
3. ความดันโลหิต  $> 140/90 \text{ mmHg}$  หรือรับประทานยาลดความดันโลหิตอยู่
4. ระดับอัลบูมินในปัสสาวะ  $> 20 \text{ } \mu\text{g/min}$  หรืออัตราส่วนของอัลบูมิน/ครีตินิน  $> 30 \text{ mg/g}$

คำจำกัดความของโรคอ้วนและภาวะน้ำหนักเกินในคนเอเชียพบว่าต่างจากในคนซีกโลกตะวันตกเนื่องจากดัชนีมวลกาย (BMI) ในการเกิดโรคเบาหวานและความดันโลหิตสูงเริ่มตั้งแต่  $23 \text{ kg/m}^2$  และจะเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อค่ามากกว่า  $25 \text{ kg/m}^2$  ซึ่งคำจำกัดความของน้ำหนักเกินและโรคอ้วนในคนเอเชียจะใช้เกณฑ์  $> 23$  และ  $25 \text{ kg/m}^2$  ตามลำดับ และเส้นรอบวงเอวที่เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคจะถือเกณฑ์  $> 90$  ซม. หรือ 36 นิ้ว ในผู้ชาย และ  $> 80$  ซม. หรือ 32 นิ้ว ในผู้หญิง (McKeigue et al., 1991) ดังนั้นค่า BMI และเส้นรอบวงเอวในการวินิจฉัยเมตาบอลิกซินโดรมในคนเอเชียจึงควรใช้ค่า  $25 \text{ kg/m}^2$  และ 90 ซม. ในผู้ชายหรือ 80 ซม. ในผู้หญิง (Tan et al., 2004)

สหพันธ์เบาหวานโลก (International Diabetes Federation, 2010) ได้ให้เกณฑ์ในการวินิจฉัยภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ดังนี้คือ ผู้ที่จะได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นกลุ่มโรคดังกล่าวจะต้องมีภาวะอ้วนลงพุงทุกรายร่วมกับความผิดปกติทางเมตาบอลิสมอีกอย่างน้อย 2 ข้อใน 4 ข้อ คำจำกัดความของอ้วนลงพุงให้ใช้เส้นรอบเอวที่เป็นเกณฑ์ในแต่ละเชื้อชาติและประเทศเป็นหลัก ในคนไทยจะใช้เกณฑ์ของประชากรที่ศึกษาในประเทศทางเอเชีย คือเส้นรอบเอวตั้งแต่ 90 ซม. ขึ้นไปในผู้ชาย และตั้งแต่ 80 ซม. ขึ้นไปในผู้หญิง ความผิดปกติทางเมตาบอลิสม 4 ประการดังกล่าว ประกอบด้วยระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด  $> 150 \text{ mg/dL}$  ระดับ HDL-cholesterol  $< 40 \text{ mg/dL}$  ในผู้ชาย หรือ  $< 50 \text{ mg/dL}$  ในผู้หญิง ความดันโลหิต  $> 130/85 \text{ mmHg}$  หรือรับประทานยาลดความดันโลหิตอยู่ ระดับน้ำตาลขณะอดอาหาร  $> 100 \text{ mg/dL}$  การที่มีการปรับเกณฑ์ของน้ำตาลในเลือดลดลงเนื่องจากเกณฑ์ใหม่ในการวินิจฉัยภาวะ impaired fasting glucose หรือ pre diabetes ถือระดับน้ำตาลขณะอดอาหาร  $> 100 \text{ mg/dL}$

เกณฑ์ใหม่ของ American Heart Association (AHA) ร่วมกับ National Heart Lung and Blood Institutes (NHLBI) ของประเทศสหรัฐอเมริกาคล้ายคลึงกับเกณฑ์ของ IDF แตกต่างตรงที่ผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเมตาบอลิกซินโดรม ไม่จำเป็นต้องมีอ้วนลงพุงทุกราย แต่ต้องมีความผิดปกติอย่างน้อย 3 ข้อขึ้นไปใน 5 ข้อที่เป็นเกณฑ์ของ IDF (ชัยชาญ, 2550)

จากข้อมูลการสำรวจสุขภาพประชากรไทยเมื่อปีพ.ศ. 2557 พบว่าคนไทยจำนวนมากมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน หัวใจและหลอดเลือด โดยผู้ชายไทยประมาณ 3 ใน 10 คน และผู้หญิงไทย 4 ใน 10 คน อยู่ในเกณฑ์อ้วน รวมทั้งประมาณครึ่งหนึ่งของคนไทยที่มีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไป มีระดับไขมันในเลือดสูง และมากกว่าร้อยละ 20 ของคนไทยมีกิจกรรมทางกายไม่เพียงพอ (กองโรคไม่ติดต่อ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข, 2562) โดยในปี 2557 ถึงปัจจุบันพบคนไทยจำนวน 19.3 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 34.1 มีภาวะอ้วน และมีคนไทยที่รอบเอวเกินมีภาวะอ้วนลงพุงมากกว่า 20.8 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 37.5 ทั้ง 2 กลุ่มนี้มีความเสี่ยงป่วยเป็นโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (NCDs) พบว่าทั้งเด็กและผู้ใหญ่น้ำหนักตัวเกินมาตรฐานจำนวนมาก จากการบริโภคเกินความจำเป็น ไม่ถูกหลักโภชนาการ (สำนักงานวิจัยเพื่อพัฒนาหลักประกันสุขภาพไทย, 2564)

ปัจจุบันได้มีรายงานว่าการะบวนการเกิดภาวะเมตาบอลิกซินโดรมนั้นมีสาเหตุมาจากการดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) และความอ้วน โดยการดื้อต่ออินซูลินจะทำให้เกิดการสะสมของไตรกลีเซอไรด์และทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ส่วนความอ้วนบริเวณพุงจะทำให้เกิดความดันโลหิตสูงและระดับไขมันผิดปกติ และยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ทำให้เกิดภาวะเมตาบอลิกซินโดรม เช่น ภาวะเครียดออกซิเดชัน ภาวะโปร ท롬โบติก (pro-thrombotic state) การหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบ (pro-inflammatory cytokine) ชนิดต่าง ๆ ในภาวะ pro-inflammatory state พบว่ามีระดับ c reactive protein (CRP) ในเลือดสูง และใน pro-thrombotic state พบว่ามีระดับ plasminogen activator inhibitor (PAI-1) และ fibrinogen สูง ซึ่งทั้งสองภาวะดังกล่าวเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดเช่นกัน (Ford, 2003) ในผู้ที่มีภาวะเมตาบอลิกซินโดรมจะมีระดับฮอโมนอะดิโปเนคตินในเลือดต่ำซึ่งมีความสัมพันธ์กับการดื้อต่ออินซูลินอีกด้วย (กิตติคุณ, 2559) นอกจากนี้ภาวะเมตาบอลิกซินโดรมยังพบร่วมกับภาวะไขมันพอกตับ (fatty liver) และตับอักเสบที่ไม่มีสาเหตุจากแอลกอฮอล์ (non alcoholic steatohepatitis, NASH) เชื่อว่าความอ้วนและภาวะดื้อต่ออินซูลินเป็นสาเหตุของการสะสมไขมันในเนื้อตับและกรดไขมันที่สะสมภายในตับร่วมกับภาวะเครียดออกซิเดชันจะก่อให้เกิดการอักเสบของตับตามมา ดังนั้นภาวะเมตาบอลิกซินโดรมจึงเกี่ยวข้องกับโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ความดันโลหิตสูงและไขมันในเลือดผิดปกติ

ผู้ที่มีภาวะโรคอ้วนลงพุงจะมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (NCDs) การมีปริมาณไขมันในร่างกายมากเกินไป ทำให้มีการอักเสบในร่างกายสูง ร่างกายเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน น้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งภาวะดังกล่าวมีผลทำให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายต่ำลง กระบวนการต่อสู้เชื้อโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะเชื้อไวรัสโควิด-19 จะทำได้ไม่ดี เป็นผลทำให้ติดเชื้อได้ง่ายและรุนแรงกว่า นอกจากนี้คนที่ภาวะโรคอ้วน มักมีหน้าท้องใหญ่ เกิดการดันเบียดพื้นที่ปอด ผนังหน้าอกมักจะหนา จึงทำให้การทำงานของปอดขยายได้ไม่เต็มที่ หายใจได้สั้นลง อากาศไหลเวียนเข้าไปแลกเปลี่ยนออกซิเจนไม่เพียงพอ เกิดการติดเชื้อได้ง่ายขึ้น และเมื่อมีการติดเชื้อโควิด-19 เข้าไป ยิ่งทำให้มีปัญหา

ในการแลกเปลี่ยนออกซิเจนยากขึ้น และส่งผลให้ตัวโรครุนแรงเร็วขึ้น การตอบสนองของร่างกายต่อการฉีดวัคซีนจะน้อยกว่า เนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันทำงานได้ไม่ดีเท่าคนน้ำหนักตัวปกติ (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ, 2564)

ปัจจุบันการรักษาภาวะเมตาบอลิกซินโดรมจะใช้การรักษาแบบใช้ยาและไม่ใช้ยา การรักษาประกอบด้วย การแก้ไขปัจจัยที่เป็นสาเหตุได้แก่โรคอ้วนและภาวะดื้อต่ออินซูลิน นอกจากนี้การรักษาแต่ละปัจจัยเสี่ยงเพื่อให้ได้ตามเป้าหมายเป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างมากเช่นกัน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงวิถีการดำเนินชีวิตจึงเป็นการรักษาหลักอันดับแรกที่ต้องปฏิบัติ หลักการรักษาโรคอ้วนหรือน้ำหนักเกินทำได้โดยเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการบริโภคอาหารและการออกกำลังกายให้ลดพลังงานจากอาหารที่รับประทานและเพิ่มการออกกำลังกาย การลดอาหารเพื่อการลดน้ำหนักที่ได้ผลมากที่สุดในระยะยาว คือการลดพลังงานจากอาหารที่ควรได้รับประมาณวันละ 500-1,000 แคลอรี เป้าหมายที่เหมาะสมในการลดน้ำหนักคือการลดน้ำหนักให้ได้อย่างน้อยร้อยละ 5-10 ในช่วง 6-12 เดือน การลดน้ำหนักในระยะยาวที่จะได้ผลดีนั้นจำเป็นที่จะต้องมีการออกกำลังกายร่วมด้วย การลดน้ำหนักโดยการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมให้น้ำหนักลดลงอย่างน้อย ร้อยละ 5-10 ของน้ำหนักตัวเริ่มต้น พบว่าทำให้ปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ของโรคหัวใจและหลอดเลือด ได้แก่ ระดับน้ำตาลในเลือด ความดันโลหิต ระดับไตรกลีเซอไรด์ลดลง และระดับ HDL-cholesterol เพิ่มขึ้น การศึกษาในผู้ป่วยเมตาบอลิกซินโดรมที่มีเบาหวานแฝง พบว่าการลดน้ำหนักโดยการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมดังกล่าวเป็นเวลาประมาณ 3 ปี สามารถป้องกันการเกิดโรคเบาหวานได้ (ชัยชาญ, 2550)

การออกกำลังกายนอกจากจะมีผลดีต่อการลดน้ำหนักตัวแล้วยังพบว่าทำให้ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดดีขึ้นด้วย การออกกำลังกายควรจะทำทุกวันอย่างน้อยวันละ 30 นาที ด้วยความแรงของการออกกำลังกายที่เหมาะสม (ชัยชาญ, 2550) และการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมโดยอาหารที่รับประทานควรมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตน้อยลง และควรรับประทานอาหารประเภท ผัก ผลไม้ ธัญพืช เนื้อสัตว์ปีกและปลาแทนการใช้ไขมัน และยังมีการใช้กรดไขมันโอเมก้าขนาดสูงอีกด้วย (กิตติคุณ, 2559) รวมทั้งการรักษาปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ของโรคหัวใจและหลอดเลือด ได้แก่ การรักษาภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ การรักษาความดันโลหิตสูงและการรักษาน้ำตาลในเลือดสูง

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าภาวะอ้วนลงพุงหรือภาวะเมตาบอลิกซินโดรม กำลังกลายเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญอันดับต้น ๆ ของประเทศ ด้วยจำนวนผู้ป่วยและผู้ที่มีความเสี่ยงเพิ่มมากขึ้นทำให้ต้องหันมาตระหนักในเรื่องของสุขภาพ การดูแลสุขภาพร่างกาย จึงถือเป็นสิ่งสำคัญไม่ว่าจะเป็นการออกกำลังกาย การรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ การนอนหลับพักผ่อนให้เพียงพอ สิ่งต่าง ๆ เหล่านี้ล้วนเป็นสิ่งที่ช่วยให้สุขภาพร่างกายมีความแข็งแรงสมบูรณ์ไม่เป็นโรคร้ายไข้เจ็บ ในปัจจุบันมีการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในการดูแลสุขภาพ ไม่ว่าจะเป็นสมุนไพรต่าง ๆ ที่ช่วยในเรื่องของ

การควบคุมน้ำหนัก น้ำมันปลาที่มีโอเมก้าและวิตามินต่าง ๆ ก็มีผลช่วยลดในเรื่องปัญหาด้านสุขภาพต่าง ๆ รวมทั้งช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดภาวะอ้วนลงพุง หรือภาวะเมตาบอลิกซินโดรมอีกด้วย

### กรดไขมันในปลาบึกและปลาหนังลูกผสม

#### 1. ปลาบึก (Mekong giant catfish)

ปลาบึกเป็นปลาที่เป็นทรัพยากรที่มีความสำคัญของประเทศและภูมิภาคอินโดจีน เป็นปลาหนังน้ำจืดที่มีถิ่นกำเนิดเดิมในลุ่มแม่น้ำโขง เป็นปลาที่เจริญเติบโตดี เนื้อปลาบึกนอกจากมีรสชาติดีแล้วยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูงอีกด้วย โดยประกอบไปด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และกรดไขมันหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ได้แก่ กรดไขมันโอเมก้าชนิด omega-3, omega-6 และ omega-9 (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2553) โดยได้แสดงคุณค่าทางโภชนาการจากส่วนต่าง ๆ ของปลาบึกจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดเชียงรายในตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** คุณค่าทางโภชนาการของปลาบึกขนาด 20-30 กิโลกรัม จากบ่อเลี้ยงจรัลฟาร์ม อำเภอกพาน จังหวัดเชียงราย 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	-
กรดไขมันโอเมก้า 3- EPA	0	140	390	-
กรดไขมันโอเมก้า 3- DHA	150	740	1,520	-

ที่มา: กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง รายงานผลการวิเคราะห์คุณค่าอาหาร

ตารางที่ 1 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของปลาบึกขนาด 20-30 กิโลกรัม ต่อเนื้อปลา 100 กรัม จะพบว่ามีปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาสูงถึง 17.5-20.0 % มีกรดไขมันปริมาณสูงทั้งในส่วนเนื้อปลาและไขมัน โดยมีค่าของกรดไขมันโอเมก้า-3 ชนิด docosahexaenoic acid (DHA) และ eicosapentaenoic acid (EPA) ในส่วนของไขมันจำนวน 1,520 และ 390 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ และมีค่าของกรดไขมันโอเมก้า- 9 ชนิดกรดโอเลอิก ในส่วนของเนื้อส่วนท้องและไขมันจำนวน 5,340 และ 11,420 มิลลิกรัม/100 กรัมตามลำดับ

ตารางที่ 2 กรดไขมันโอเมก้า 3 ชนิด DHA และ EPA ในปลาแต่ละชนิดต่อเนื้อปลา100กรัม

ชนิดปลา	DHA (มิลลิกรัม/100 กรัม)	EPA (มิลลิกรัม/100 กรัม)
ปลาทูน่า	2,877	1,288
ปลาบึก	1,520	390
ปลาสวายลูกผสม (Thai Panga Fish)	1,890	680
ปลาแมกเคอเรล	1,718	1,214
ปลาชาร์ดีน	1,136	1,381
ปลาเทราต์	983	247
ปลาแซลมอล	820	492
ปลาซ็อน	710	160
ปลาทู	778	636

ที่มา: ข้อมูลจากสถาบันอาหาร เว็บไซต์ <http://www.nfi.or.th>

วิเคราะห์โดย: กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง เลขที่ อ้างอิงBT/230549/01

ตารางที่ 2 แสดงค่าของกรดไขมันโอเมก้า- 3 ชนิด docosahexaenoic acid (DHA) และ eicosapentaenoic acid (EPA) ของปลาบึกและปลาลูกผสมเปรียบเทียบกับปลาทะเล โดยพบว่า ปริมาณสัดส่วนของ DHA:EPA ของปลาบึกจากตารางที่ 1 มีสูงกว่าปลาลูกผสมและปลาทะเลจาก ตารางที่ 2 โดยทั่วไปน้ำมันปลา (fish oil) จะมีกรดไขมัน DHA 12% และ EPA 18% มีงานวิจัยผล การศึกษาเกี่ยวกับกรดไขมัน DHA และ EPA สรุปได้ดังนี้ การบริโภคกรดไขมัน DHAชนิดเดียวจะ สามารถเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมัน EPA ได้ และพบกรดไขมันชนิดนี้มีความเข้มข้นสูงในอวัยวะที่สำคัญ

คือ สมอ งเซลล์ประสาท จอภาพนัยน์ตา (retina) และลูกอ้วนทะ ส่วนการบริโภคกรดไขมัน EPA ชนิดเดียวมีคุณสมบัติทำให้ความเข้มข้นของเลือดลดลง และเม็ดเลือดแดงปรับรูปร่างได้ง่าย ซึ่งเป็นผลดีต่อสุขภาพของหัวใจ ป้องกันการเกิดโรคของหลอดเลือดและหัวใจ แต่จะมีผลต่อการแข็งตัวของเกร็ดเลือด (platelet aggregation) เนื่องจากกรดไขมัน EPA จะเพิ่มเวลาทำให้เลือดหยุดไหลให้นานขึ้นกว่ากรดไขมัน DHA ซึ่งเป็นข้อควรระวังในการรับประทานน้ำมันปลา ดังนั้นกรดไขมัน DHA จึงเป็นกรดไขมันจำเป็นที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและสำคัญมากกว่ากรดไขมันที่จำเป็นชนิดอื่น โดยเฉพาะมีความสำคัญมากต่อการพัฒนาสมอง และจอประสาทตา หากบกพร่องจะทำให้เกิดโรคได้ (สมศักดิ์, 2551)

จะเห็นได้ว่าเนื้อปลาก็มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยประกอบไปด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และกรดไขมันหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ได้แก่ กรดไขมันโอเมก้าชนิด omega-3, omega-6 และกรดไขมันโอเมก้าชนิด omega-9 ได้แก่ กรดโอเลอิก นอกจากนี้ยังพบว่ามีไขมันในช่องท้องที่นำมาสกัดเป็นน้ำมันปลา ได้กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่ดีต่อสุขภาพ เช่น ป้องกันภาวะไขมันในเลือดสูง กระตุ้นการทำงานของฮอร์โมนอินซูลิน (เกรียงศักดิ์, 2559) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันปลาก็ในแม่น้ำโขงเหลือน้อยมากหรือแทบไม่มีเลยในระหว่างเดือนเมษายน - พฤษภาคม (เกรียงศักดิ์, 2543) และเนื่องจากปลาก็เป็นสัตว์น้ำที่ใกล้จะสูญพันธุ์ ซึ่งห้ามมีการส่งออกแต่สามารถจำหน่ายและบริโภคภายในประเทศเท่านั้น จึงได้มีการผสมเทียมพ่อแม่พันธุ์ปลาก็สำเร็จครั้งแรกโดยสถานีประมงน้ำจืด จังหวัดพะเยา ในปีพ.ศ. 2527 และทีมวิจัยจากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ได้ผสมเทียมได้สำเร็จอีกในปีพ.ศ.2544 และปีพ.ศ.2547 (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2547) และได้มีการส่งเสริมการเลี้ยง และการพัฒนาสายพันธุ์ปลาก็สำหรับการเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง

## 2. ปลาหนังลูกผสม (Freshwater hybrid catfish)

เนื่องจากมีความต้องการบริโภคปลาหนังเพิ่มสูงขึ้น และมีความต้องการเลี้ยงปลาหนังที่สามารถเจริญเติบโตและบริโภคได้ในเวลาอันรวดเร็ว สามารถเลี้ยงในบ่อหรือกระชังขนาดเล็กได้ มีคุณภาพเนื้อที่ดี จึงได้เพาะพันธุ์ปลาลูกผสม (พ่อบึกกับแม่ปลาซวาย) รุ่นที่ 1 (F1) ได้ในปี พ.ศ. 2555 ที่เกิดจากพ่อปลาบึกอายุ 5 ปี รุ่นที่ 2 ผสมกับปลาซวายอายุ 3 ปี เมื่อปลาลูกผสมอายุ 2 ปี ก็สามารถเจริญพันธุ์เป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ จึงคัดพันธุ์พ่อแม่ปลาลูกผสมรุ่นที่1 เพาะขยายพันธุ์ได้ปลาลูกผสมรุ่นที่2 หรือปลาลูกผสมบึกสยามแม่โจ้ (F2) ได้ในปี พ.ศ. 2557 ซึ่งมีรูปร่างและพันธุกรรมแตกต่างจากปลาบึกและปลาซวาย โดยลูกปลาดังกล่าวสามารถเจริญเติบโตได้ดี เลี้ยงได้ทั้งบ่อดินและกระชัง (เกรียงศักดิ์, 2559)



ก.



ข.

ภาพที่ 1 ปลาหนังลูกผสม (ก) และปลาลูกผสมบีกสยาม(ข)

ที่มา: เกரியงค์ดี (2559)

## น้ำมันปลา (fish oil)

### 1. การสกัดน้ำมันปลา

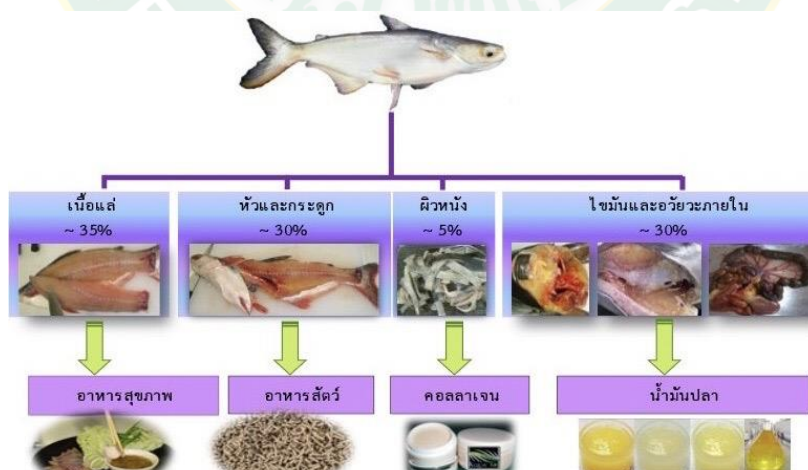
การผลิตน้ำมันปลาสามารถทำได้โดยการสกัดน้ำมันจากปลา วิธีการสกัดน้ำมันปลาที่เป็นวิธีการดั้งเดิมที่สุดคือการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ แต่ก็มีข้อเสียและข้อจำกัดที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร การสกัดน้ำมันจากปลาโดยกระบวนการผลิตจะแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ การสกัดน้ำมันจากปลา (extraction) และการทำให้บริสุทธิ์ (refining) ปัจจุบันมีการใช้วิธีการผลิตโอเมก้า-3 เข้มข้นเพื่อใช้เป็นยาและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร จะใช้กระบวนการสกัดด้วยเอนไซม์ การใช้เครื่องสกัด เช่น supercritical fluid extraction (SFE) เป็นต้น กระบวนการผลิตน้ำมันปลานั้นเริ่มจากการนำวัตถุดิบมาสกัดด้วยการต้ม จากนั้นทำการบีบแยกส่วนของน้ำออกแล้วจึงทำการหมุนเหวี่ยงแยกน้ำมันออกจากตะกอน ต่อมานำส่วนของน้ำมันปลาที่ได้ไประเหยน้ำออกจะได้ส่วนของน้ำมันปลาที่ยังไม่บริสุทธิ์ออกมาซึ่งสามารถทำให้น้ำมันปลาบริสุทธิ์ได้ในขั้นตอนต่อไป (Mbatia et al., 2010)

### 2. วัสดุเศษเหลือจากปลา

ปลาเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์ต่าง ๆ มากมาย วัสดุเศษเหลือจากปลา เช่น หัว หาง ก้าง ลำไส้หรือบริเวณผิวหนัง เป็นสิ่งที่ประกอบด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์ หนึ่งในนั้นคือ กรดไขมันโอเมก้า 3 ซึ่งเราสามารถนำวัสดุเศษเหลือจากปลามาช่วยลดปริมาณของเสียและเพิ่มคุณค่าของวัตถุดิบได้อีกด้วย กรดไขมันโอเมก้า 3 ที่ได้จากกระบวนการสกัด สามารถนำมาเพิ่มปริมาณสารอาหารให้กับผลิตภัณฑ์ได้และยังเป็นการเพิ่มรายได้ให้วัสดุเศษเหลืออีกด้วย ซึ่งวัสดุเศษเหลือจากปลาส่วนใหญ่จะศึกษาในปลาแซลมอน โดยพบว่าส่วนหัวเป็นแหล่งที่มีน้ำมันสูง โรงงานอุตสาหกรรมส่วนใหญ่จึงนำวัสดุเศษเหลือจากปลานั้นกลับมาใช้มากขึ้น โดยใช้เศษปลาที่เหลือจากกระบวนการสกัดน้ำมันนั้นนำไปผลิตน้ำพริกปลาป่นได้อีก นอกจากนี้วัสดุเศษเหลือจากปลาจะช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการแล้วนั้น ยังจะช่วยเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์มากขึ้นอีกด้วย เพราะวัสดุเศษเหลือ

จากปลานั้นยังอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการที่มีประโยชน์มากมาย เช่น ก้างปลา ประกอบด้วย ส่วนที่มีแคลเซียมอยู่ (ธงชัย, 2557)

สำหรับการเพิ่มมูลค่าปลาหนึ่งลูกผสมซึ่งกำลังได้รับความนิยมจากผู้บริโภค เนื่องจากเป็น อาหารสุขภาพ เนื้อแน่น รสชาติดี มีคุณค่าทางโภชนาการ เป็นแหล่งของโปรตีน วิตามิน แร่ธาตุและ กรดไขมันที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาของสมอง และช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดและหัวใจ อย่างไรก็ตามประเทศไทยมีโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผลิตภัณฑ์ทางการประมงหลายแห่งที่ส่งออกปลาหนึ่ง กลุ่มปลาสาวยในรูปปลาแล่นเนื้อ (fillet) จึงทำให้มีไขมันที่เป็นของเหลือจากการแล่นเนื้ออยู่เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะไขมันภายในบริเวณช่องท้อง ส่วนเหลืออื่น ๆ เช่น กระดูก หัว อวัยวะภายใน มีการนำไปทำเป็นอาหารสัตว์ ซึ่งเศษเหลือเหล่านี้ไม่ถูกนำมาใช้ประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่าเท่าที่ควร และมีปัญหาในการกำจัดอีกด้วย (ดวงพร, 2563) จึงดำเนินการวิจัยด้านการเพิ่มมูลค่าเศษเหลือหรือ ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมแปรรูปปลาหนึ่งเนื้อขาวนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูง เช่น ก้อนไขมันสกัดแบบหยาบนำไปเป็นส่วนผสมในอาหารปลาเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตและอัตราการรอด การสกัดแยกเอากรดไขมันไม่อิ่มตัวออก ได้เป็นน้ำมันปลาที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงได้กรดไขมันกลุ่ม โอเมก้าที่มีประโยชน์ในการควบคุมระดับไขมันในเลือด ส่วนหนึ่งปลานำไปสกัดคอลลาเจนแล้วนำไป เป็นส่วนผสมสำคัญในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (nutraceutical product) และเวชสำอางชะลอวัย (anti-aging cosmetic) และส่วนของลำไส้นำไปสกัดโปรตีนที่สามารถนำมาทดแทนโปรตีนจาก เนื้อสัตว์และจากพืชได้ เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มและนำไปใช้ประโยชน์จากเศษเหลือใช้จากปลาหนึ่ง กลุ่มนี้ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ ตามภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การเพิ่มมูลค่าเพิ่มจากเศษเหลือของปลาหนึ่งลูกผสม

ที่มา: ดวงพร (2563)

### 3. ไขมันและน้ำมัน (fat and oil)

ไขมันและน้ำมันเป็นเอสเทอร์ (ester) ชนิดหนึ่งซึ่งมีอยู่ในธรรมชาติจัดว่าเป็นสารอินทรีย์ประเภทเดียวกับไข (wax) รวมเรียกว่า ลิพิด (lipid) ลิพิดเป็น ester ที่มีโมเลกุลมีขนาดใหญ่ไม่มีขั้ว จึงไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในตัวทำละลายไม่มีขั้วคือตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ โพรพานอน เบนซีน เป็นต้น

ลิพิดแบ่งเป็นไขมันและน้ำมันนั้นอาศัยสถานะเป็นเกณฑ์ ไขมันจะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง ในขณะที่น้ำมันจะเป็นของเหลว ทั้งไขมันและน้ำมันมีโครงสร้างอย่างเดียวกัน คือ เป็นเอสเทอร์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างกลีเซอรอล กับกรดไขมัน กลีเซอรอล (glycerol) เป็นสารประเภทแอลกอฮอล์ กรดไขมัน (fatty acid) เป็นสารประเภทกรดอินทรีย์

เอสเทอร์ที่เป็นไขมันและน้ำมันเรียกกันทั่ว ๆ ไปว่าไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) หรือกลีเซอริล เอสเทอร์ (glyceryl ester) เพราะเกิดมาจากกรดไขมัน 3 โมเลกุล กับ glyceride มาจากกลีเซอรอล 1 โมเลกุล จากปฏิกิริยา esterification

กรดไขมันจำเป็น (essential fatty acids- EFAs) เป็นกรดไขมันที่ร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร กรดไขมันจำเป็นเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อ เส้นประสาท และอวัยวะต่าง ๆ มีความสำคัญต่อการสังเคราะห์ prostaglandins ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนทำหน้าที่สำคัญในหลาย ๆ ขบวนการของร่างกาย

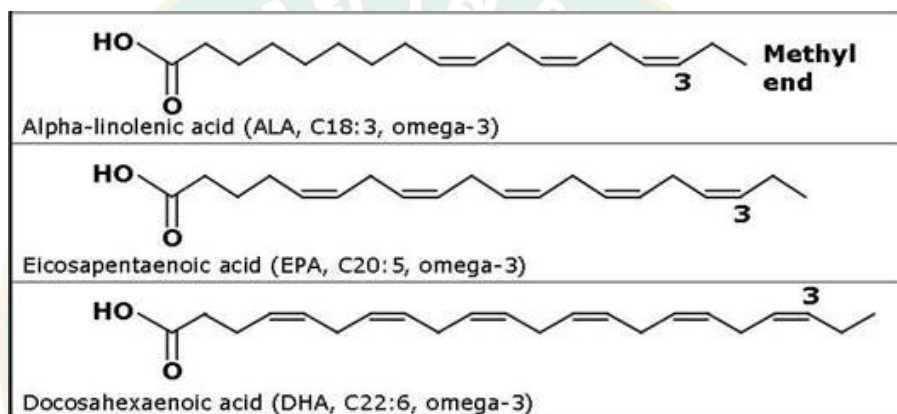
กรดไขมันจำเป็นเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวสามารถถูกทำลายได้ง่ายจากการใช้ความร้อนในการทำอาหาร การเก็บอาหารที่ไม่เหมาะสม เมื่อเกิดการสลายของกรดไขมันเราจะสังเกตได้จากกลิ่นเหม็นหืนที่เกิดขึ้น

กรดไขมันจำเป็นแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มหลัก ๆ คือ กรดไขมันโอเมก้า 3 และกรดไขมันโอเมก้า 6 ซึ่งตัวเลขที่ระบุบอกถึงตำแหน่งพันธะคู่แรกที่พบตรงตำแหน่งคาร์บอนที่ 3 หรือ 6 บนโครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันสายยาว

กรดไขมันไม่จำเป็น (non-essential fatty acids-NEFAs) ได้แก่ กรดไขมันโอเมก้า 9 ไม่ถือว่าเป็นกรดไขมันจำเป็นเนื่องจากร่างกายสามารถสร้างกรดไขมันชนิดนี้ได้เองจากไขมันชนิดไม่อิ่มตัว โอเมก้า 3 และ/หรือ โอเมก้า 6 ซึ่งถ้าร่างกายขาดโอเมก้า 3 และ 6 กรดไขมันโอเมก้า 9 จะกลายเป็นกรดไขมันจำเป็นขึ้นมาทันทีเพราะว่าร่างกายของเราไม่สามารถสร้างขึ้นได้เนื่องจากขาดวัตถุดิบนั่นเอง และเนื่องจากกรดไขมันโอเมก้า 9 ไม่มีพันธะคู่ของอะตอมคาร์บอนที่ตำแหน่งที่ 6 ดังนั้น จึงไม่ได้ช่วยในการสร้างสารไอโคซานอยด์ (eicosanoid) ซึ่งมีหน้าที่ช่วยในการควบคุมระบบการแข็งตัวของเลือด (Jones et al., 2014)

#### 4. น้ำมันปลา

น้ำมันปลา คือ น้ำมันที่สกัดได้จากส่วนเนื้อ หนัง หัวและหางของปลาโดยเฉพาะปลาในเขตหนาว น้ำมันปลาประกอบด้วยกรดไขมันโอเมก้า 3 โอเมก้า 6 (Khoddami et al., 2009) และกรดไขมันโอเมก้า 9 ซึ่งกรดไขมันโอเมก้า 3 คือ กรดไขมันจำเป็นไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่ร่างกายมีความจำเป็นต้องใช้แต่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ โดยโครงสร้างของกรดไขมันโอเมก้า 3 จะพบพันธะคู่อยู่ไม่น้อยกว่า 3 แห่ง โดย พันธะคู่แรกจะอยู่ที่ตำแหน่งของคาร์บอนตัวที่ 3 นับจากปลายโมเลกุลด้านที่มีกลุ่มเมทิล (methyl group) เข้าไป ส่วนพันธะคู่ต่อไปจะอยู่ตรงตำแหน่งคาร์บอนถัดไปครั้งละ 3 ตำแหน่ง แสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 โครงสร้างกรดไขมันโอเมก้า 3

ที่มา: มีนา (2563)

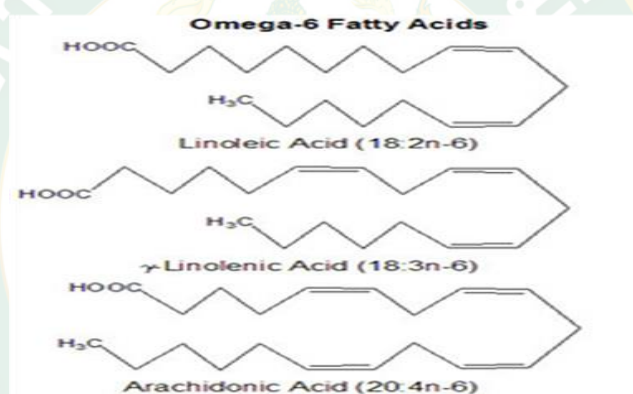
กรดไขมันโอเมก้า 3 (omega3 fatty acid) แบ่งออกได้เป็น 3 ชนิดขึ้นอยู่กับความยาวของโมเลกุลดังนี้ (Scorletti and Byrne, 2013)

1. กรดไขมัน ALA (alpha linolenic acid) พบในธัญพืช เช่น ถั่วเหลือง วอลนัท
2. กรดไขมัน EPA (eicosapentaenoic acid) พบใน ปลาทะเลน้ำลึก
3. กรดไขมัน DHA (docosahexaenoic acid) พบใน ปลาทะเลน้ำลึก

กรดไขมันโอเมก้า 3 ที่มีปริมาณมากในน้ำมันปลา คือกรดไขมัน EPA และกรดไขมัน DHA เป็นโครงสร้างไขมันสำคัญในสมองและจอประสาทตา นอกจากนี้โอเมก้า 3 มีบทบาทสำคัญต่อโครงสร้างและการทำงานของสมอง ตับ และระบบประสาทเกี่ยวกับการพัฒนาเรียนรู้รวมทั้งเกี่ยวกับเรตินาในการมองเห็น

โอเมก้า 3 พบมากในปลาทะเลและปลาน้ำจืดบางชนิด เนื้อปลาในด้านโภชนาการมีโปรตีนไม่น้อยไปกว่าเนื้อสัตว์บก แต่ในภาพรวมมีไขมันและโคเลสเตอรอลต่ำกว่าและยังเป็นแหล่งวิตามินและเกลือแร่ เช่น วิตามินบี12 ไอโอดีน ฟอสฟอรัส ซีลีเนียม สังกะสีและแคลเซียม แต่สิ่งที่ทำให้วงการแพทย์ยุคใหม่สนใจมากก็คือ โอเมก้า 3 พบมากในปลาทะเลลึก ปลาทูน่า ปลาแซลมอน ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) มีพันธะคู่หลายอัน (polyunsaturated fatty acid) อีกทั้งโอเมก้า 3 นี้ยังสามารถพบได้ในเมล็ดพืช แต่มีปริมาณน้อยกว่าจากสัตว์ทะเล (Fernández et al., 2015)

กรดไขมันโอเมก้า 6 (omega-6 fatty acid) เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ซึ่งมีพันธะคู่หลายอัน (polyunsaturated fatty acid) โดยมีตำแหน่งของพันธะคู่ที่ตำแหน่งโอเมก้า 6 ซึ่งนับจากคาร์บอนของกรดไขมันด้านปลายที่มีหมู่เมทิล (CH<sub>3</sub>-) ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 โครงสร้างกรดไขมันโอเมก้า 6

ที่มา: มีนา (2563)

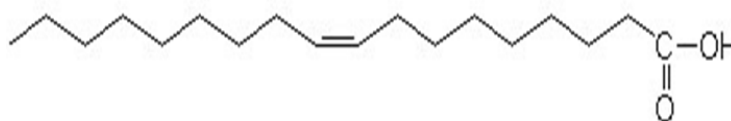
กรดไขมันโอเมก้า 6 ประกอบด้วย (Simopoulos, 2002)

1. linoleic acid (LA) พบใน เมล็ดข้าวต่าง ๆ ถั่วเหลือง ดอกคำฝอย ทานตะวัน และยังพบในไขมันร่างกายของสัตว์ปีก
2. arachidonic acid (AA) พบในไขมันร่างกายของสัตว์ปีก เนื้อแดง ไข่แดง และปลาบางชนิด
3. gamma linolenic acid (GLA) พบในน้ำมันโบริจ น้ำมันอีฟนิ่งพริมโรส และเมล็ดแบล็คเคอเรนท์

4. dihomogamma linolenic acid (DGLA) พบในอวัยวะภายในของสัตว์ เช่น ม้าม ไต ต่อมหมวกไต และเมตาบอลิท์จาก GLA

กรดไขมันโอเมก้า 9 (omega-9 fatty acid) ประกอบด้วย (Johnson and Bradford, 2014)

โอเมก้า 9 คือ กรดไขมันแบบไม่อิ่มตัวซึ่งมีพันธะคู่ระหว่างอะตอมของคาร์บอน (C=C) คู่แรก อยู่ที่ตำแหน่งที่ 9 นับจากปลายด้านกรดไขมัน ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 โครงสร้างกรดไขมันโอเมก้า 9

ที่มา: Structures of Common Omega Fatty Acids (2020)

กรดไขมันโอเมก้า 9 ที่สำคัญมีดังนี้คือ

1. กรดโอเลอิก (oleic acid) เป็นกรดไขมันที่มีอยู่ในน้ำมันมะกอกและในไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวต่าง ๆ

2. กรดอีรูสิค (erucic acid) เป็นกรดไขมันที่พบได้มากในน้ำมันจากเมล็ดของต้นเรพ (rapeseed) ต้นวอลล์ฟลาวเวอร์ (wallflower) และเมล็ดของต้นมัสตาร์ด (mustard seed) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในน้ำมันจากเมล็ดของต้นเรพนั้นมีการปลูกต้นเรพเป็นจำนวนมากเพื่อผลิตน้ำมัน เป็นการพาณิชย์ในอุตสาหกรรมสี มีการนำกรดบางอย่างออกจากน้ำมันของต้นเรพ จะได้น้ำมันที่เรียกว่าคาโนลา (canola oil)

3. กรดเนอร์เวอร์สิค (nervetic acid) เป็นกรดไขมันที่พบในปลาแซลมอน เมล็ดของต้นมัสตาร์ด และเมล็ดแฟก

ประโยชน์ของกรดไขมันโอเมก้า 9 (Bruno, 2014)

- เป็นตัวช่วยในการสร้าง ฮอริโมน โพรสตาแกลนดิน (Prostaglandins)
- ช่วยลดคอเลสเตอรอลชนิดที่ไม่ดี (LDL-Low Density Lipoprotein)
- ช่วยเพิ่มระดับของ HDL (High Density Lipoprotein) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลที่มี

ประโยชน์ต่อร่างกาย

- ช่วยลดไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride)

- ทำให้ระบบไหลเวียนโลหิตเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ นั่นก็คือทำให้ระบบไหลเวียนโลหิตในร่างกายทำงานปกติ หัวใจ สมอง ตับ ไต และอวัยวะอื่น ๆ ทำงานได้ดีขึ้น ทำให้สามารถป้องกันโรคหัวใจ และกลุ่มโรคหลอดเลือดตีบตันได้

## 5. ประโยชน์ของน้ำมันปลา

1. ช่วยลดระดับของไตรกลีเซอไรด์ในเลือด และเพิ่มระดับของระดับ HDL-cholesterol ซึ่งเป็นไขมันที่ดี น้ำมันปลาสามารถลดระดับของไตรกลีเซอไรด์ลงได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพสูงกว่าน้ำมันข้าวโพดและน้ำมันดอกคำฝอยมาก ผู้ชายที่มีระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงเมื่อให้กินปลา ประมาณ 18 ออนซ์ต่อวันเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าระดับไตรกลีเซอไรด์ลดลงและระดับ HDL-cholesterol เพิ่มขึ้น

2. ป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยลดการเกาะตัวของเกล็ดเลือด ทำให้เลือดไม่เกาะตัวเป็นลิ่ม เลือดจึงไหลเวียนได้ดีขึ้น ลดความหนืดของผนังหลอดเลือด ทำให้ผนังหลอดเลือดมีความยืดหยุ่น

3. ลดความดันโลหิต จากรายงานผลการศึกษาวิจัยพบว่าอาหารที่ประกอบด้วยปลาหางแข็งหรือปลาทุซึ่งมี EPA ในปริมาณ 2.2 กรัมต่อวัน สามารถลดความดันเลือดซิสโตลิกในคนไข้ที่มีโรคความดันผิดปกติทางกรรมพันธุ์ที่มีระดับไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอรอลในเลือดสูง และทำให้เกิดโรคหัวใจในขณะที่ยังน้อยอยู่ อาหารที่มีปลาหางแข็งหรือปลาทุยังช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดลงได้

4. ลดการอักเสบ พบว่ากรดไขมันโอเมก้า-3 มี EPA ช่วยลดกระบวนการการอักเสบได้ (Calder, 2017; Simopoulos, 2002; หทัยพร และวรางคณา, 2548)

5. ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด (Innis, 2004; Johnson and Bradford, 2014; Shahidi and Miraliakbari, 2004)

### ปริมาณไขมันและกรดไขมันที่ควรรับประทานต่อวัน

สำหรับปริมาณไขมันและกรดไขมันที่ควรรับประทานต่อวันนั้น จากเกณฑ์ของ Dietary Guidelines for Americans (2005) (HHS/USDA (U.S. Department of Health and Human Services/U.S. Department of Agriculture), 2005) แนะนำให้บริโภคปริมาณไขมันรวม 20-35% ของปริมาณแคลอรีทั้งหมดที่บริโภคสำหรับผู้ใหญ่ ส่วน The NAS Institute of Medicine แนะนำการบริโภคไขมันอิ่มตัวควรน้อยกว่า 10% ของปริมาณแคลอรีรวม cholesterol น้อยกว่า 300 มก./วัน และควรบริโภค trans fatty acids ให้น้อยเท่าที่จะเป็นไปได้ และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization, 2008) ได้แนะนำปริมาณของไขมันและกรดไขมันที่ผู้ใหญ่ควรได้รับต่อวันตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณไขมันและกรดไขมันที่ผู้ใหญ่ควรรับประทานต่อวัน

ชนิดกรดไขมันในอาหาร	ปริมาณที่แนะนำต่อวัน
ไขมันรวม	ไม่เกิน 35 % ของพลังงานที่ได้รับใน 1 วัน (ไม่เกิน 78 กรัม)
กรดไขมันอิ่มตัว	ไม่เกิน 10 % ของพลังงานที่ได้รับใน 1 วัน (ไม่เกิน 22 กรัม)
กรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะเดี่ยว (โอเมก้า 9)	15-20 % ของพลังงานที่ได้รับใน 1 วัน (ไม่เกิน 33-44 กรัม)
กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะ	6-11 % ของพลังงานที่ได้รับใน 1 วัน (ไม่เกิน 13- 24 กรัม)
กรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะเดี่ยว (โอเมก้า 6)	2.5- 9 % ของพลังงานที่ได้รับใน 1 วัน (ไม่เกิน 6 - 20 กรัม)
กรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะเดี่ยว (โอเมก้า 3)	0.5-2 % ของพลังงานที่ได้รับใน 1 วัน (ไม่เกิน 1 - 4 กรัม)
**คิดค่าพลังงานที่ได้รับต่อ 1 วัน	ที่ 2000 kcal

หมายเหตุ FAO: Fats and Fatty acid in human nutrition: report of a joint FAO/WHO expert consultation. FAO technical papers 91. Geneva, FAO (2008)

## สารชีวเคมีในเลือด (blood chemistry)

เคมีคลินิก (clinical chemistry) คือ การตรวจหาปริมาณสารชีวเคมีต่าง ๆ ที่อยู่ในเลือด ปัสสาวะ และสารน้ำต่าง ๆ โดยใช้วิธีทางเคมีเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ ตามปกติการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกายมีกลไกการทำงานของสลับซับซ้อนและเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวเคมี เมื่อร่างกายเกิดความผิดปกติหรือเกิดโรค กระบวนการเหล่านั้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ทำให้สารชีวเคมีภายในเซลล์เข้ามาอยู่ในกระแสเลือด การตรวจหาปริมาณสารชีวเคมีที่เปลี่ยนแปลงไปในเลือดจะทำให้ทราบถึงความผิดปกติของอวัยวะต่าง ๆ และช่วยบอกตำแหน่งของเนื้อเยื่อที่เกิดโรค (กัญญ์พิชญญา, 2559)

สารชีวเคมีที่สำคัญในเลือด ได้แก่ (มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะทันตแพทยศาสตร์, ม.ป.ป)

### 1. การตรวจ CBC (complete blood count)

ประกอบด้วยการตรวจ 1) red blood cell (RBC) count 2) white blood cell (WBC) count 3) hemoglobin (Hb) 4) hematocrit (Hct) 5) platelet (Plt) และ 6) red blood cell indices

#### 1) red blood cell count

ค่าปกติ  $4.5 - 6 \times 10^3$  cells/ mm<sup>3</sup>

ผู้ชาย  $4.5 - 6.0 \times 10^3$  cells/ mm<sup>3</sup>

ผู้หญิง  $4.0 - 5.5 \times 10^3$  cells/ mm<sup>3</sup>

reticulocytes 0.5% - 1.5%

ขนาดของเม็ดเลือดแดงมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ  $6.7 - 7.7 \mu\text{m}$

การแปลผล

- ถ้า red blood cell count สูงกว่าปกติ พบในภาวะ polycythemia

- ถ้า red blood cell count ต่ำกว่าปกติ พบในภาวะ anemia

#### 2) white blood cell count เป็นค่าที่แสดงจำนวนเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือด

ค่าปกติ (total)  $4 - 11 \times 10^3$  cells/ mm<sup>3</sup>

การแปลผล

- ถ้า white blood cell count มากกว่า  $11,000/ \text{mm}^3$  เป็นภาวะ leukocytosis พบได้ในหลายโรค เช่น acute infections, uremia, steroids, hemorrhage, leukemia

- ถ้า white blood cell count น้อยกว่า  $4,000/\text{mm}^3$  เป็นภาวะ leukopenia พบได้ในหลายโรค เช่น ได้รับ radiation, aplastic anemia, infectious mononucleosis septicemia

- differential count เป็นการนับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว

ค่าปกติ neutrophils 50 – 70%

lymphocytes 20 – 40%

monocytes 0 – 7%

basophils 0 – 1%

eosinophils 0 – 5%

neutrophils และ monocytes จะทำหน้าที่กำจัดเชื้อแบคทีเรีย lymphocytes จะทำหน้าที่กำจัดเชื้อไวรัสและเชื้อแบคทีเรียบางชนิด eosinophil ทำหน้าที่เกี่ยวกับการทำลาย histamine หรือทำลายเนื้อเยื่อ polymorphonuclear neutrophils (PMNs) พบมากกว่าปกติ (neutrophilic leukocytosis) ในกรณี bacterial infection, tissue damage (myocardial infection, burn, crush injury), leukemia, uremia, diabetic ketoacidosis พบน้อยกว่าปกติในกรณี aplastic anemia, viral infection lymphocytes พบมากกว่าปกติ (lymphocytosis) ในภาวะ viral infections, acute หรือ chronic lymphocytic leukemia, tuberculosis (TB) พบน้อยกว่าปกติในภาวะ uremia, stress, burns, trauma monocytes พบมากกว่าปกติ (monocytosis) ในภาวะ subacute bacterial endocarditis, TB, protozoal infection, leukemia พบน้อยกว่าปกติในภาวะ aplasia of bone marrow basophils พบมากกว่าปกติ (basophilia) ในภาวะ chronic myeloid leukemia, polycythemia , after recovery of infection พบน้อยกว่าปกติในภาวะ acute rheumatic fever, lobar pneumonia , steroid treatment Eosinophils พบมากกว่าปกติ (eosinophilia), allergy, parasite, malignancy, skin disease, asthma พบน้อยในภาวะ steroids, stress, infection, trauma, burns

### 3) hemoglobin concentration (Hb)

เป็นส่วนประกอบของเม็ดเลือดแดงมีหน้าที่นำ oxygen เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการนำพา oxygen ของเลือด จำนวน hemoglobin จะขึ้นอยู่กับจำนวนของ rbc

ค่าปกติ ผู้ชาย = 14 – 18 gm/dL

ผู้หญิง = 12 – 16 gm/dL

หรือประมาณค่าจาก Hb = rbc (millions) x 3

4) **hematocrit** เป็นปริมาตรของ RBC อัดแน่นต่อปริมาณหนึ่งของเลือดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์หาได้จากการปั่นเลือดใน capillary tube

ค่าปกติ ผู้ชาย = 40 – 54%

ผู้หญิง = 37– 47%

หรือประมาณค่าจาก  $Hct = Hb \times 3$  หรือ  $Hct = RBC \text{ (millions)} \times 9$  การมี Hb และ Hct เพิ่มขึ้นอาจเกิดจาก polycythemia, dehydration, heart disease, heavy smokers การมี Hb และ Hct ลดลงเกิดได้จาก anemia (iron deficiency, megaloblastic, sickle cell) volume overload (dihition), blood loss (hemorrhage), hemolysis

#### 5) platelets count เป็นการนับจำนวนเกร็ดเลือด

platelet เป็นส่วนประกอบของเลือดที่เล็กที่สุด ไม่มีnucleus รูปร่างกลมหรือรูปไข่แบน มีอายุ ประมาณ 7 วัน มีส่วนในกลไกการห้ามเลือด สร้างจากไขกระดูกจำนวน 2 ใน 3 จะอยู่ในกระแสเลือด ส่วนที่เหลือจะอยู่ในม้าม การตรวจมีประโยชน์ในการประเมินสภาพผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกผิดปกติ

ค่าปกติ 150,000 – 400,000 / mm<sup>3</sup>

ถ้ามี platelets น้อยกว่า 100,000 / mm<sup>3</sup> คือ ภาวะ thrombocytopenia

ถ้ามี platelets น้อยกว่า 50,000 / mm<sup>3</sup> มีแนวโน้มที่จะเกิดเลือดออกหยุดยากในการผ่าตัด

platelets น้อยกว่า 20,000/ mm<sup>3</sup> จะพบจุดเลือดออกฟกช้ำหรือมีเลือดออกจากเนื้อเยื่ออ่อนโดยไม่มีสาเหตุ (spontaneous bleeding) และถ้าplatelets น้อยกว่า 10,000 mm<sup>3</sup> จะเกิดเลือดออกอย่างรุนแรง สาเหตุที่ทำให้เกิด thrombocytopenia ได้แก่ idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP), disseminated intravascular coagulation (DIC), marrow invasion or aplasia, hypersplenism, cirrhosis

ภาวะที่มี plateletsมากกว่าปกติ เรียกว่าthrombocytosis พบใน post surgery หรือ postsplenectomy, malignancy, rheumatoid arthritis (RA) Iron deficiency anemia, trauma, acute hemorrhage

#### 6) reticulocyte count

reticulocyte เป็นเม็ดเลือดแดงที่ยังเจริญไม่เต็มที่ ลักษณะจะเป็น cell ขนาดใหญ่ มีการสร้าง hemoglobin อยู่ มีสีฟ้าเข้มกว่าเม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่แล้ว ค่าปกติประมาณ 1% (0.2 – 2.0%) แต่จะพบเพิ่มขึ้นในภาวะที่ต้องการเม็ดเลือดแดงมากขึ้นมีการสร้างเม็ดเลือดแดงมากขึ้น

(erythropoiesis) พบในภาวะ bleeding, hemolysis, พบ reticulocyte count น้อยลงในภาวะที่ได้รับ transfusion หรือ aplastic anemia

## 2. blood chemistry test

เป็นการตรวจดู electrolytes, ประเมินการทำงานของไต (renal function evaluation) และ ตรวจระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose)

### 1) renal function (การทำงานของไต)

- blood urea nitrogen (BUN) เป็นผลจาก metabolism ของ protein เป็นค่าที่ช่วยบ่งชี้การทำงานของไตอย่างคร่าว ๆ ค่าปกติ 6 – 20 mg/dL

azothemia เป็นภาวะที่มีการเพิ่มขึ้นของ urea หรือสารประกอบที่มี nitrogen ผสมอยู่ในกระแสเลือด

สาเหตุของ BUN ที่เพิ่มขึ้นได้แก่ renal failure, dehydration, GI bleeding, increase protein catabolism

อัตราการเพิ่มของ BUN ขึ้นอยู่กับการทำลายของเนื้อเยื่อการสลายโปรตีน และอัตราการขับถ่าย urea nitrogen ของไต

สาเหตุของ BUN ที่ลดลงได้แก่ liver damage, protein deficiency, starvation

- creatinine (Cr) ค่าปกติ 0.7 – 1.4 mg/dL

creatinine เป็นผลพลอยได้จากการสลายตัวของ muscle creatine phosphate ในขบวนการสร้างพลังงาน creatinine จะถูกสร้างในอัตราที่คงที่และถูกขับถ่ายออกทางไต

ค่า creatinine เป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาพการทำงานของไตได้ดีกว่าและไวกว่าค่า BUN และไม่เปลี่ยนแปลงตามอาหารที่กิน โดยทั่วไปคนปกติควรมีอัตราส่วนของ BUN: Cr ประมาณ 10:1

Cr เพิ่มขึ้นจาก renal failure, muscle disease และอาจพบน้อยลงได้ในคนท้อง

### 2) blood glucose (น้ำตาลในเลือด)

จุดประสงค์เพื่อตรวจหาความผิดปกติของ glucose metabolism ใช้ช่วยในการวินิจฉัยโรคเบาหวาน (diabetes mellitus) และการเปลี่ยนแปลงการรู้สึกตัว (mental status) ค่าปกติ 65 – 110 mg/dL

fasting blood sugar เป็นค่าระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหารประมาณ 8-12 ชั่วโมง ถ้าค่า fasting blood sugar มากกว่า 126 mg/dL หรือ non fasting glucose มากกว่า 200 mg/dL จะวินิจฉัยเบาหวาน

ค่า blood glucose จะเพิ่มขึ้นในภาวะเช่น diabetes mellitus, stress, hyperthyroidism, pregnancy, pancreatic disease, steroid therapy, cushing's syndrome

ค่า blood glucose ลดลงในภาวะ pancreatic disorders, starvation, liver disease, hyperinsulinism, hypothyroidism, hypopituitarism, sepsis, addison's disease glycosylated hemoglobin หรือ HbA1c ค่าปกติ 6 – 7% ของ total Hb ใช้ในการตรวจดูการรักษาเบาหวานและดูความร่วมมือของผู้ป่วยในการใช้ยาควบคุมเบาหวาน โดยดูปริมาณของ glycosylated hemoglobin ซึ่งแสดงถึงระดับและช่วงเวลาที่มีเลือดแดงได้รับน้ำตาล glucose และแสดงถึงค่าเฉลี่ยน้ำตาลในเลือดในช่วง 2 – 4 เดือน

### 3. liver function (การทำงานของตับ)

ตับมีหน้าที่ในการสร้างสารหลายอย่างได้แก่ albumin, protein, fibrinogen, prothrombin, bile และ enzyme หลายชนิด จึงใช้ในการตรวจดูการทำงานของตับ

#### 1) total protein

ค่าปกติ total protein 6.0- 8.5 gm %

albumin 3.5- 5.0 gm %

globulin 2.5 -3.5 gm %

serum albumin ลดลง บ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงอย่างเรื้อรังของตับ (chronic liver disease, liver failure และยังพบในภาวะstarvation, hyperthyroidism, leukemia, nephrotic syndrome

$\alpha_1$  – globulin เป็น glycoprotein มักจะต่ำในรายที่มีเนื้อตับถูกทำลาย

$\alpha_2$  – และ  $\beta$  - globulin ในรายที่มีภาวะน้ำดีคั่ง (cholestasis) จะมีระดับสูง ส่วนในรายที่มีตับอักเสบอย่างรุนแรงจะลดต่ำลง

$\gamma$ - globulin ในรายที่เป็นตับแข็งจะมี  $\gamma$ - globulin สูง

total protein พบเพิ่มขึ้นใน multiple myeloma, dehydration, sarcoidosis

total protein ลดลงในภาวะ liver failure, starvation, inflammatory bowel disease

## 2) alkaline phosphatase

เป็น isoenzyme ที่อยู่ในตับถูกสร้างใน cell รอบ ๆ ท่อน้ำดีและยังสร้างได้ที่กระดูก ลำไส้ และรก ค่าปกติ 30 – 115 units/L พบ enzyme สูงขึ้นในภาวะ biliary tract obstruction, bone disease (Paget's disease), hyperparathyroidism, osteoblastic bone tumors พบ enzyme ลดต่ำลงในภาวะ hypophosphatasia, hypothyroidism, malnutrition

## 3) bilirubin

เกิดจากการสลายตัวของ hemoglobin และ myoglobin และเปลี่ยนเป็น bilirubin ที่จับและม้าม bilirubin ใน plasma จะจับกับ albumin เกิดเป็น unconjugated bilirubin ซึ่งละลายได้ในไขมัน และจะถูก conjugation โดย microsomal enzyme เป็น conjugated bilirubin ถูกส่งต่อไปในท่อน้ำดี และพักที่ถุงน้ำดี เรียกเป็น direct bilirubin

ค่าปกติของ total bilirubin 0.2 – 1.0 mg/dL

indirect (unconjugated) bilirubin 0.2 – 0.8 mg/dL

direct (conjugated) bilirubin 0 – 0.2 mg/dL

total bilirubin เพิ่มขึ้นในกรณี acute และ chronic hepatitis, cirrhosis, biliary tract obstruction, hemolysis, fasting

direct bilirubin เพิ่มขึ้นในภาวะ obstructive liver disease, hepatitis, drug induced cholestasis

indirect bilirubin เพิ่มขึ้นในภาวะ hemolytic anemia, hepatocellular liver disease

## 4) transaminase enzyme

serum glutamic – oxaloacetic transaminase (SGOT) หรือ aspartate aminotransferase (AST) ค่าปกติ 8 – 20 Units/L

พบ enzyme เพิ่มขึ้นใน liver disease, acute myocardial infarction, pancreatitis, muscle trauma, congestive heart failure, hemolysis

serum glutamic – pyruvic transaminase (SGPT) หรือ alanine aminotransferase (ALT) พบ enzyme เพิ่มขึ้นใน liver disease (specific กว่า SGOT), pancreatitis, biliary tract obstruction

### 5) cholesterol

สร้างจากตับเพื่อผลิตbile acid เป็นส่วนใหญ่ ค่าปกติ 140 – 260 mg/dL

พบ cholesterol เพิ่มขึ้นในhypercholesterolemia – hyperlipidemia, biliary tract obstruction, pancreatitis, hypothyroidism, diabetes mellitus

พบ cholesterol ลดลงใน starvation, chronic disease, hyperthyroidism, liver disease, steroid therapy

### 4. การตรวจระดับไขมันในเลือด (lipid profile)

ไขมันมีความสำคัญต่อร่างกาย คือ เป็นแหล่งให้พลังงานสูง ไขมันในร่างกายมีอยู่หลายชนิด และเป็นส่วนประกอบสำคัญของเซลล์ต่าง ๆ แต่ไขมันที่มีความสำคัญทางคลินิกมีอยู่ 2 ชนิด คือ คอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ ถ้ามีมากเกินไปก็อาจมีการสะสมภายในเส้นเลือดและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกายได้ทำให้มีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคหัวใจ โรคความดันสูงเส้นเลือดแข็งตัวและหลอดเลือดอุดตัน

1) total cholesterol คือ คอเลสเตอรอลรวมในเลือดซึ่งได้มาจากการสังเคราะห์ที่ตับและบริโภคอาหารประเภทที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ นอกจากนี้การดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ รวมถึงภาวะความเครียดจะสามารถกระตุ้นให้ระดับคอเลสเตอรอลสูงขึ้น และไปสะสมตามผนังหลอดเลือดซึ่งจะทำให้เกิดความเสี่ยงของโรคหัวใจ โรคหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจและสมองตีบ หรือความดันโลหิตสูงระดับ total cholesterol ไม่ควรเกิน 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

2) HDL cholesterol คือ คอเลสเตอรอลชนิดดีที่สังเคราะห์ขึ้นที่ตับ และบางส่วนจากลำไส้เล็ก มีหน้าที่ป้องกันและต่อต้านการเกิดโรคหลอดเลือดตีบตัน ดังนั้น HDL cholesterol ที่สูงในเลือดจะช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดหลอดเลือดหัวใจแข็ง หรือตีบตัน โดย HDL cholesterol ไม่ควรต่ำกว่า 40 mg/dL

3) LDL cholesterol คือ คอเลสเตอรอลชนิดไม่ดีจะนำไขมันจากการบริโภคและการสังเคราะห์ที่ตับไปสะสมยังอวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะที่ผนังหลอดเลือด ซึ่งเป็นต้นเหตุและตัวการที่สำคัญที่สุดของการเกิดเส้นเลือดหัวใจและสมองตีบ ระดับ LDL cholesterol ไม่ควรเกิน 100 mg/dL

4) triglyceride ไตรกลีเซอไรด์เป็นไขมันที่สังเคราะห์ขึ้นที่ตับ ลำไส้ และส่วนหนึ่งมาจากการบริโภคอาหารที่มีไขมัน ทั้งจากพืชและจากสัตว์ ระดับไตรกลีเซอไรด์สูงจะก่อให้เกิดการอุดตันของเส้นเลือด หลอดเลือดแข็งตัว และขาดความยืดหยุ่น อาจทำให้เกิดความดันโลหิตสูง และสามารถออกมาสะสมเป็นไขมันใต้ผิวหนังทำให้เกิดภาวะอ้วนได้ ระดับไตรกลีเซอไรด์ ไม่ควรเกิน 150 mg/dL

## กระบวนการอักเสบและการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Inflammatory process and Anti-inflammation activity)

### 1. กระบวนการอักเสบ (Inflammation)

เป็นปฏิกิริยาของร่างกายที่ทำการตอบโต้ ตอบสนอง หรือผ่อนคลายความรุนแรงของอันตรายที่กำลังกระทำต่อร่างกาย การอักเสบเป็นกระบวนการปกป้องตั้งแต่ระดับเซลล์จนถึงชีวิตมนุษย์ การอักเสบมีสาเหตุจากการติดเชื้อ (infection) และสาเหตุที่ไม่ใช่การติดเชื้อ เช่น สารเคมี หรือปฏิกิริยาของภูมิคุ้มกันของร่างกาย เป็นต้น ในขณะที่มีการอักเสบจะมีการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดขยายตัวและมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อหุ้มหลอดเลือด จึงเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านหลอดเลือด เป็นผลให้สารน้ำและเซลล์เม็ดเลือดขาวออกจากหลอดเลือดมายังบริเวณที่มีการอักเสบ เป็นผลให้เกิดการบวม แดง ร้อน ของบริเวณที่มีการอักเสบ เม็ดเลือดขาวที่ออกมานอกหลอดเลือด เช่น นิวโทรฟิล และมาโครฟาจจะถูกกระตุ้น โดยสิ่งแปลกปลอมที่รุกรานทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี หลังสารสื่อกลางในการอักเสบ (proinflammatory mediators) ชนิดต่าง ๆ เช่น แบรดดีไคนิน (bradykinin), ฮีสตามีน (histamine), ไนตริกออกไซด์ และ พรอสตาแกลนดิน เป็นต้น รวมทั้ง pro-inflammatory cytokines เช่น tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) และ interleukin-6 (IL-6) ออกจากเซลล์เม็ดเลือดขาวและเซลล์แมโครฟาจ (Kumar et al., 2007; พีรยุทธ, 2552) ซึ่งสาร pro-inflammatory mediators และ pro-inflammatory cytokines เหล่านี้ที่ถูกหลั่งมากเกินไป หรือหลังต่อเนื่องในระยะเวลาสั้น ๆ จะทำให้เกิดการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ ภูมิคุ้มกันแต่กำเนิดในการกำจัดสิ่งแปลกปลอม โดยเฉพาะสารพิษและการติดเชื้อจุลชีพ เซลล์มาโครฟาจสามารถกำจัดเชื้อโรคโดยการจับกิน (phagocytosis) และปลดปล่อยสารก่อการอักเสบ รวมทั้งสร้างอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) และอนุมูลออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) โดยเฉพาะเมื่อเซลล์มาโครฟาจถูกกระตุ้นด้วยเอนโดทอกซิน (endotoxin) หรือไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide, LPS) ซึ่งเป็นสารที่ถูกปลดปล่อยจากส่วนผนังเซลล์ด้านนอกของเชื้อแบคทีเรีย จะเพิ่มการสร้างอนุมูลอิสระ NO ร่วมกับการกระตุ้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (lipid peroxidation) เกิดการสร้าง ROS จำนวนมหาศาล โมเลกุล NO และ ROS สามารถทำปฏิกิริยาต่อกันได้โมเลกุลที่มีความเป็นพิษสูงทำให้เกิดพิษทำลายเซลล์ รวมทั้งมีผลรบกวนการส่งสัญญาณต่าง ๆ ซึ่งก่อให้เกิดการบาดเจ็บหรือสูญเสียการทำงานของเซลล์ และส่งผลให้เกิดการอักเสบเรื้อรังและพยาธิสภาพของโรคต่าง ๆ มีรายงานว่า การอักเสบเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบต่าง ๆ โดยไนตริกออกไซด์เป็นอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์จาก L-arginine เร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) มีโมเลกุลของออกซิเจน

เป็นสารตั้งต้นร่วม เกิด five-electron oxidation ขึ้นที่อะตอมของไนโตรเจนที่อยู่ในกลุ่มกวานิดิน (guanidine) ของ L-arginine ได้เป็นไนตริกออกไซด์รวมทั้งได้ L-citrulline เป็นผลผลิตร่วม โดยในปฏิกิริยานี้จะอาศัย flavin adenine dinucleotide (FAD), flavin mononucleotide (FMN), heme, calmodulin (CaM) และ tetrahydrobiopterin (BH4) เป็นโคแฟกเตอร์ร่วม เอนไซม์ NOS มีทั้งหมด 3 ไอโซฟอร์ม คือ neuronal nitric oxide synthase (nNOS) และ endothelial nitric oxide synthase (eNOS) ซึ่งมีการแสดงออกตลอดเวลา (constitutive isoforms) ผลิตไนตริกออกไซด์ในปริมาณต่ำ และ iNOS ซึ่งจะมีการแสดงออกของยีนเมื่อถูกกระตุ้นโดยสิ่งเร้าต่าง ๆ (Alderton et al., 2001; MacMicking et al., 1997; สุรพล, 2559)

ไนตริกออกไซด์(NO) มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น การสื่อสารสัญญาณประสาท (neurotransmission) ควบคุมความดันโลหิตโดยทำให้หลอดเลือดขยายตัว (vascular relaxation) ป้องกันการเกาะตัวของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) และการจับตัวกันของเม็ดเลือดขาว (leukocyte adhesion) รวมทั้งยังเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันแบบมีมาแต่กำเนิด (innate immunity) มาโครฟาจทำหน้าที่กำจัดจุลชีพที่บุกรุก โดยผลิตไนตริกออกไซด์ในปริมาณมากจากเอนไซม์ iNOS ซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของยีนเมื่อมีการสัมผัสกับ cytokine, endotoxin ของแบคทีเรีย หรือไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ lipopolysaccharide (LPS) จากแบคทีเรีย (Coleman, 2001) การกระตุ้นการแสดงออกของยีน iNOS ส่งผลให้มีการผลิตไนตริกออกไซด์ในปริมาณมากโดยไนตริกออกไซด์ทำหน้าที่เป็นสารสื่อกลางของการอักเสบที่สำคัญที่ถูกผลิตขึ้นโดยเซลล์มาโครฟาจ ถึงแม้ว่าไนตริกออกไซด์จะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดจุลชีพที่รุกรานร่างกายมนุษย์ แต่ไนตริกออกไซด์ที่ถูกผลิตขึ้นในปริมาณที่มากเกินไปจาก iNOS พบว่ามีส่วนร่วมในการเกิดอาการของโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบต่าง ๆ

โพรสตาแกลนดิน (prostaglandins, PGs) เป็นสารตัวกลางในกลุ่มลิพิดที่ควบคุมกระบวนการต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น ควบคุมความดันโลหิต การแข็งตัวของหลอดเลือดและตอบสนองต่อการอักเสบ ในกระบวนการสังเคราะห์โพรสตาแกลนดินจาก arachidonic acid ถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์หลักคือ COX เอนไซม์นี้มี 2 ไอโซฟอร์ม คือ COX-1 ซึ่งมีการแสดงออกเป็นประจำเพื่อผลิตโพรสตาแกลนดินที่ทำหน้าที่ทางสรีรวิทยา ควบคุมระบบหลอดเลือดและป้องกันเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหาร (Rao and Knaus, 2008) และอีกไอโซฟอร์ม คือ COX-2 เป็นเอนไซม์ที่ถูกกระตุ้นโดยสิ่งเร้ากลุ่มเดียวกับ iNOS ทำให้เกิดการหลั่งของโพรสตาแกลนดินในปริมาณมาก (Katzung et al., 2001) PGE2 เป็นไอโซฟอร์มหนึ่งของโพรสตาแกลนดินทำหน้าที่ร่วมกับสารในร่างกายในการหดตัวและการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ การขยายตัวและบีบตัวของหลอดเลือด ควบคุมความดันเลือด (Serhan and Levy, 2003) และเป็นตัวกลางการอักเสบที่กระตุ้นการทำลายเนื้อเยื่อ มีการรายงาน ว่า LPS จะเข้าจับที่ Toll-like receptor 4 (TLR4) และกระตุ้นการส่งสัญญาณเพื่อกระตุ้น

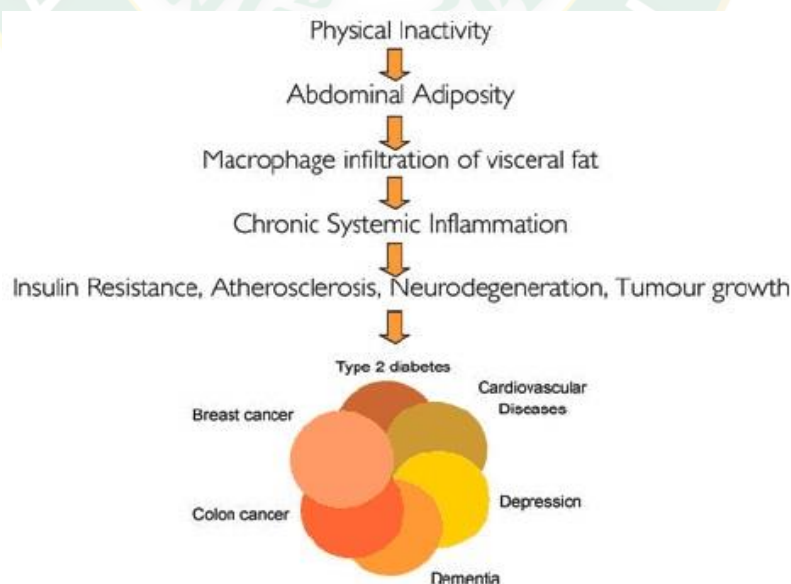
การทำงานของ nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) ซึ่งเป็น transcription factor ที่ก่อให้เกิดการแสดงออกของ iNOS, COX-2 และ pro-inflammatory cytokines (Lowenstein et al., 1993; Lu et al., 2021) ในสภาวะที่เซลล์ไม่ถูกกระตุ้น NF- $\kappa$ B จะอยู่ในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) จับกับโปรตีน inhibitor of  $\kappa$ B (I $\kappa$ B) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง NF- $\kappa$ B ทำให้ NF- $\kappa$ B ไม่สามารถเคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียสได้ (Zhang et al., 2012) ในสภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS หรือไซโตไคน์ต่าง ๆ จะเกิดการจับกับตัวรับสัญญาณ (receptor) ทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของ inhibitor of  $\kappa$ B kinase (I $\kappa$ B kinase) ทำให้เกิดกระบวนการฟอสโฟรีเลชัน (phosphorylation) จากนั้น I $\kappa$ B จะถูกทำลายด้วยการกระบวนการ proteasome-mediated proteolytic ทำให้ NF- $\kappa$ B อยู่ในภาพ heterodimer ของ p65 ที่รวมกับ p50 หรือ p52 (Tak and Firestein, 2001) ทำให้สามารถเคลื่อนที่เข้าสู่ นิวเคลียส ซึ่งจะไปจับกับตำแหน่ง NF- $\kappa$ B binding site ที่บริเวณส่วนควบคุมการแสดงออกของยีน (promoter) ทำให้เกิดกระบวนการถอดรหัสของยีน การกระตุ้นการแสดงออกของยีน iNOS และ COX-2 จะเกิดการส่งสัญญาณผ่านวิถีสัญญาณ MAPKs อีกด้วย ความเสียหายหรือผลจากการอักเสบ เช่นนี้ ร่างกายมักจะซ่อมแซมจนไม่พบความผิดปกติแต่หากระบบภูมิคุ้มกันควบคุมสาเหตุก่อการอักเสบเฉียบพลันได้ไม่ดี ทำให้มีการหลั่ง pro-inflammatory mediators และ pro-inflammatory cytokines อย่างต่อเนื่องนานออกไปจึงมีการทำลายลูกกลามอย่างต่อเนื่อง ระบบภูมิคุ้มกันจะขยายผลการควบคุม เพิ่มประสิทธิภาพการทำลายสาเหตุก่อการอักเสบอีกเรียกภาวะเช่นนี้ว่า การอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation) สิ่งที่แตกต่างกันจากการอักเสบเฉียบพลันคือ เซลล์หรือเนื้อเยื่อถูกทำลายมากขึ้น และหากการควบคุมยังทำได้ไม่ดีจะทำให้เกิดความบกพร่องของระบบและเป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคไขข้อเสื่อม โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว ภาวะช็อคจากการติดเชื้ออย่างรุนแรง (Septic shock) การปฏิเสธของเนื้อเยื่อในการปลูกถ่ายอวัยวะ โรคเบาหวาน โรคกระเพาะ และลำไส้อักเสบ โรคหอบหืด โรคไขข้อ อักเสบรูมาตอยด์ โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว และโรคเสื่อมของระบบประสาท เช่น โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) โรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) (Coleman, 2001; Guzik et al., 2003) ในการอักเสบทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง จะมีการหลั่งสารสื่อกลางในการอักเสบหลายชนิด เช่น พรอสตาแกลนดิน E2 (prostaglandin E2, PGE2) ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) และ cytokines เป็นจำนวนมาก สารเหล่านี้จะเป็นเครื่องมือทำให้เกิดการตอบสนองและการอักเสบมากขึ้น (van der Vliet et al., 2000) จากการศึกษาพบว่าเมื่อทำการยับยั้งการหลั่งสารเหล่านี้จะทำให้การอักเสบลดลง เป้าหมายของยาต้านการอักเสบจึงมุ่งยับยั้งหรือลดการหลั่งสารเหล่านี้ แต่ยาส่วนใหญ่ยังขาดความจำเพาะ และมีผลข้างเคียงจากการใช้ยาเป็นเวลานาน (Seibert et al., 1994)

ดังนั้น จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะค้นหาโมเลกุลสารจากธรรมชาติที่สามารถลดการผลิต pro-inflammatory mediators และ pro-inflammatory cytokines เพื่อนำไปสู่การผลิตด้านการอักเสบ ดังนั้นเพื่อเป็นการพึ่งพาตนเองและลดการนำเข้ายาจากต่างประเทศ เนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้ายาต้านอักเสบจากต่างประเทศเป็นมูลค่าปีละหลายพันล้านบาท การค้นคว้าหาสารที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบจึงมีความจำเป็น โดยเฉพาะจากพืช สัตว์และสมุนไพรไทยที่มีศักยภาพในการต้านอักเสบ

## การอักเสบและโรคที่เกี่ยวข้องกับภาวะเมตาบอลิก

### 1. โรคอ้วนลงพุง

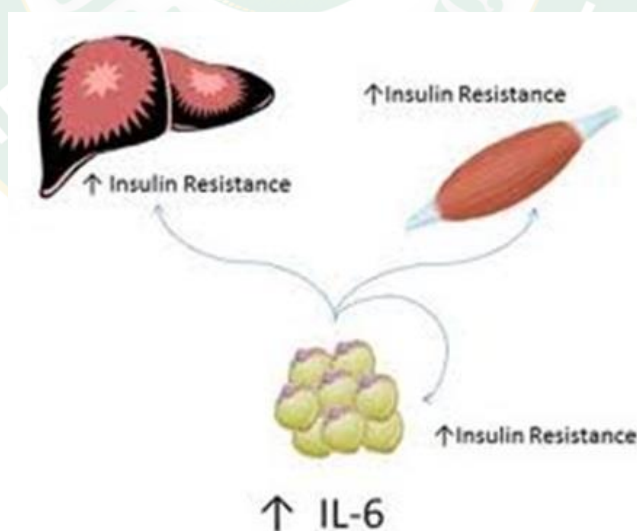
มีการศึกษาพบว่าการอักเสบมีความสัมพันธ์กับปริมาณไขมันที่พอกอยู่บริเวณหน้าท้องหรือผู้ที่มีพุงจะพบการอักเสบได้เนื่องจากเซลล์ไขมัน (adipose tissue) สามารถสร้าง IL-6 ได้ประมาณ 10-35 เพอร์เซ็นต์ ระดับความเข้มข้น IL-6 จะสูงขึ้นเมื่อมีไขมันสะสมมากขึ้น ดังนั้นผู้ป่วยโรคอ้วน (obesity) และไม่ค่อยได้ออกกำลังกาย จึงมีความเสี่ยงสูงที่จะพบปัญหาสุขภาพอื่น ๆ ตามมา (ประเวศ และคณะ, 2556) ภาวะน้ำหนักเกินและโรคอ้วนลงพุงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเกิดโรคเมธิ่ง จากอุบัติการณ์ของโรคเมธิ่งในเยื่อบุหลอดเลือด ไข ปากมดลูก และเมธิ่งเต้านม พบว่ามีความสัมพันธ์กับผู้หญิงที่มีน้ำหนักเกินและภาวะอ้วน โดยพบว่าในคนอ้วนเนื้อเยื่อไขมันจะผลิตสาร TNF-alpha ออกมาในปริมาณมาก ซึ่งสารดังกล่าวนอกจากจะมีผลต่อภาวะดื้ออินซูลินทางอ้อมแล้วยังพบว่ามีผลเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเมธิ่งนอกจากนี้ยังพบว่าการสะสมไขมันบริเวณกลางลำตัวนั้นมีความสัมพันธ์กับการเกิดเมธิ่งเต้านมในเพศหญิง (เพ็ญศิริ และคณะ, 2561)



ภาพที่ 6 ขั้นตอนการเกิดโรคที่มีสาเหตุมาจากการขาดการออกกำลังกาย

ที่มา: Hotamisligil (2006)

จากภาพที่ 6 แสดงภาวะขาดการออกกำลังกายร่วมกับการมีปริมาณไขมันสะสมมาก โดยเฉพาะรอบเอวและหน้าท้อง (abdominal adiposity) เซลล์ไขมันสามารถหลั่งไซโตไคน์เช่น IL-6 ได้ โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยโรคอ้วนจะพบระดับความเข้มข้น IL-6 ค่อนข้างสูงซึ่งแสดงถึงการอักเสบชนิดเรื้อรังและเป็นสาเหตุให้เกิดภาวะดื้ออินซูลิน (insulin resistance) หลอดเลือดแดงตีบแข็ง (atherosclerosis) ความเสื่อมของระบบประสาท (neurodegeneration) เร่งการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้องอก (growth) ส่งผลให้เกิดโรคที่อันตรายหลายชนิดเช่น เบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด มะเร็งลำไส้ มะเร็งเต้านม ความเสื่อมของระบบประสาท และโรคซึมเศร้า ดังนั้นการประเมินร่างกายอย่างง่ายที่ควรปฏิบัติอย่างสม่ำเสมอเช่น การชั่งน้ำหนัก ค่าดัชนีมวลกาย วัดสัดส่วนรอบเอว ควรปฏิบัติอย่างสม่ำเสมอเพื่อลดการกระตุ้นการอักเสบ อย่างไรก็ตามการได้รับพลังงานเกินในแต่ละวันจากการรับประทานอาหารที่ให้พลังงานมากและมีไขมันสูงหรืออาหารในปริมาณมาก ประกอบกับการขาดการออกกำลังกายยิ่งส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการอักเสบมากขึ้น โดยระดับน้ำตาลในเลือดที่สูง (hyperglycemia) กระตุ้นการหลั่ง IL-6 จากเซลล์ผนังหลอดเลือด (endothelial) และจากเซลล์เม็ดเลือดขาว (macrophages) มากขึ้น การกระตุ้นการอักเสบชนิดเฉียบพลัน (acute) จากการได้รับประทานอาหารที่มีไขมันและพลังงานสูงจะเกิดการอักเสบในระยะแรกคือการอักเสบเรื้อรังระดับต่ำ (chronic low grade inflammation) หากเกิดต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานเป็นเดือน เป็นปี จะกลายเป็นการอักเสบชนิดเรื้อรัง (chronic) และส่งผลเสียต่อสุขภาพได้



ภาพที่ 7 การหลั่งอินเทอร์ลิวคิน 6 (IL-6) จากเซลล์ไขมัน

ที่มา: Mohamed-Ali et al. (1997)

นอกจากนี้ผู้ที่มีน้ำหนักตัวเกินหรือโรคอ้วนหากตรวจพบความเข้มข้น ที่ เอ็น เอพ แอลฟา (Tumor necrosis factor-alpha, TNF-a) หรือซีรีแอคทีฟ โปรตีน (C-reactive protein, CRP) IL-6, Leptin และ IL-18 สูงกว่าปกติ 2-3 เท่า จะเป็นข้อบ่งชี้ถึงการเริ่มมีการอักเสบชนิดเรื้อรัง (low grade chronic inflammation) เกิดขึ้น ระดับความเข้มข้นไซโตไคน์ดังกล่าวจะไม่ลดลงหากยังมีไขมันสะสมในร่างกายในปริมาณสูงและการอักเสบนี้จะเป็นเหตุให้เกิดโรคเรื้อรัง เช่น เบาหวาน หลอดเลือดหัวใจ หรือแม้กระทั่งมะเร็งได้ (Mohamed-Ali et al., 1997)

## 2. โรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular diseases, CVD)

ภาวะหลอดเลือดแดงตีบแข็ง (atherosclerosis) เกิดจากการอักเสบภายในหลอดเลือดโดยมีตัวกระตุ้นหลายอย่าง เช่น การออกซิเดชันของไขมันชนิดที่มีความหนาแน่นต่ำ (low-density lipoprotein) ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เมื่อการอักเสบเกิดขึ้นเป็นระยะเวลานาน จนกระทั่งเป็นการอักเสบชนิดเรื้อรังส่งผลเสียต่ออวัยวะภายในเนื่องจากขาดเลือดไปเลี้ยง ความรุนแรงจะมีมากขึ้นเมื่อการตีบแข็งของหลอดเลือดเกิดขึ้นในอวัยวะที่สำคัญเช่น หลอดเลือดไปเลี้ยงสมอง หลอดเลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจซึ่งจะดำเนินต่อไปจนกระทั่งเป็นโรคหัวใจในที่สุด ในทางการแพทย์มีข้อบ่งชี้หลายประการที่จะวินิจฉัยผู้ที่มีภาวะหลอดเลือดแดงตีบแข็งหรือโรคหัวใจ การตรวจพบระดับ ซีรีแอคทีฟ โปรตีน (C-reactive protein, CRP) มีความเข้มข้นสูงในโลหิต เป็นข้อบ่งชี้อย่างหนึ่งที่สำคัญเนื่องจากสามารถตรวจพบได้ตั้งแต่เริ่มมีการอักเสบของหลอดเลือดโดยไม่ต้องรอให้โรคดำเนินไปจนกระทั่งหลอดเลือดตีบแข็งหรือจนกระทั่งมีอาการแสดงของคนที่เป็นโรคหัวใจ

## 3. โรคเบาหวาน (Diabetes)

การมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานจะส่งผลเสียต่อ สมอง ตับ ไต หลอดเลือด และระบบประสาท โดยอวัยวะต่าง ๆ เหล่านี้จะมีการอักเสบเกิดขึ้นเมื่อเป็นโรคเบาหวาน สามารถตรวจพบการอักเสบโดยพบระดับไซโตไคน์หลายชนิดเช่น TNF และ NF- $\kappa$ B มีความเข้มข้นสูงขึ้น (เพ็ญศิริ และคณะ, 2561)

## 4. โรคไตเรื้อรัง (chronic kidney disease)

ผู้ที่เป็นโรคอ้วนลงพุงเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตวายเรื้อรังได้สูงกว่าผู้ที่ไม่เป็น 2.5 เท่า เนื่องจากภาวะระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดที่สูงกว่าปกติ ร่วมกับสารชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ เช่น IL-6 และ TNF มีผลทำลายหลอดเลือดฝอยในไต การเพิ่มขึ้นของไขมันในร่างกายและในช่องท้อง สัมพันธ์กับการเกิดภาวะดื้อต่อการออกฤทธิ์ของอินซูลิน ความดันเลือดสูง ไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง ไขมันชนิดเอชดีแอลในเลือดต่ำ น้ำตาลในเลือดสูง แล้วเกิดพยาธิสภาพของหลอดเลือด

ทั่วร่างกาย และหลอดเลือดภายในไตทำให้เลือดไปเลี้ยงไตลดลง เกิดการกระตุ้นระบบ อาร์ เอ เอส (RAS) ตามมา ร่วมกับการกระตุ้นทำให้เกิดการดูดกลับของโซเดียมบริเวณท่อไตส่วนต้น สุดท้ายเกิดความดันในโกลเมอรูลัสสูงขึ้น ทำให้ไตส่วนของโกลเมอรูลัสมีขนาดใหญ่ขึ้น และมีการสะสมของสารต่าง ๆ ในโกลเมอรูลัส ร่วมกับการเกิดพังผืดของไตตามมา ทำให้มีไข่ขาวรั่วออกมาในปัสสาวะ (รัฐภา และคณะ, 2553)

จะเห็นว่าโรคอ้วนลงพุงมีความสัมพันธ์กับกระบวนการอักเสบในร่างกายและเป็นสัญญาณเตือนถึงอันตรายที่ต้องได้รับการจัดการแก้ไขภาวะดังกล่าวอย่างเร่งด่วนเนื่องจากเป็นสาเหตุที่นำไปสู่การเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ มากมาย ไม่ว่าจะเป็น โรคเบาหวานชนิดที่ 2 โรคความดันโลหิตสูง โรคไตเรื้อรัง ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ โรคหัวใจและหลอดเลือด หรือแม้กระทั่งโรคมะเร็งบางชนิด ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยต้องปรับเปลี่ยนพฤติกรรมสุขภาพในการส่งเสริมการจัดการตนเองเพื่อแก้ไขโรคอ้วนลงพุงในเรื่องการบริโภคอาหารที่มีประโยชน์ และการออกกำลังกายที่เหมาะสม

## 2. การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจของหนูสายพันธุ์ RAW 264.7

### 2.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์ (กล่าวขวัญ, 2555)

เพาะเลี้ยงเซลล์มาโครฟาจของหนูสายพันธุ์ RAW 264.7 ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ที่ไร้เชื้อ และเสริมด้วยซีรัมเข้มน้อยละ 10 (V/V) สารละลายยาเพนิซิลลิน (100 U/ml) และสเตรปโตไมซิน (100 µg/ml) บนจานเพาะเลี้ยงเซลล์แบบจานเดี่ยวเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 100 มิลลิเมตรและนำไปบ่มเซลล์ในตู้อบแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในอากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5 (v/v) เป็นเวลา 2 คืน จากนั้นเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์แล้วนำเซลล์ไปบ่มในตู้อบแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ต่ออีก 1 คืนเมื่อเซลล์เจริญเติบโตประมาณร้อยละ 80 ของจานเพาะเลี้ยง จึงทำการเก็บเซลล์ออกจากผิวภาชนะโดยการขูดเก็บเซลล์ (cell scraping)

### 2.2 การ subculture โดยวิธี scraping (กล่าวขวัญ, 2555)

ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ทิ้ง เติมสารละลายบัฟเฟอร์ HBSS [5 mM KCl, 0.4 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5.6 mM glucose, 4 mM NaHCO<sub>3</sub>] ที่ปราศจากแคลเซียมและแมกนีเซียมที่เย็นจำนวน 10 ml ลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ แล้วนำไปบ่มในตู้อบแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำจานเพาะเลี้ยงออกจากตู้อบ และนำมาเข้าตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นใช้ที่ขูดเซลล์ (cell scraper) ขูดเซลล์เบา ๆ เพื่อให้เซลล์หลุดออกจากผิวภาชนะ ใช้ปิเปตพลาสติกขนาด 10 ml ดูดสารละลายบัฟเฟอร์เพื่อล้างเซลล์ที่ยังติดอยู่บนจานเพาะเลี้ยงเซลล์ออกให้หมดพร้อมกับเอียงจานเพาะเลี้ยงเซลล์เล็กน้อยเพื่อดูดสารละลายแขวนลอยเซลล์ใส่ในหลอดพลาสติก

จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 g นาน 4 นาที แล้วดูดสารละลายบัฟเฟอร์ทิ้ง เติมหอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่ไร้เชื้อ และเสริมด้วยซีรัมเข้มข้นร้อยละ 10 (V/V) ลง ในหลอดแล้วทำการกระจายเซลล์โดยการใช้ปิเปตดูดขึ้นลงเพื่อให้เซลล์กระจายตัวดี ทำการนับเซลล์ที่มีชีวิต ด้วยการย้อมสี 0.4% trypan blue แล้วนับเซลล์บน hemocytometer ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์หัวกลับแล้วแบ่งเซลล์ลงในภาชนะอันใหม่ในอัตราส่วนที่ต้องการ

### 2.3 การทดสอบความมีชีวิตรอดโดยวิธี MTT assay (กล่าวขวัญ, 2555)

ทำการกระจายเซลล์ลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 24 หลุม จำนวน  $1.5 \times 10^5$  เซลล์ต่อหลุม แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 ชั่วโมง ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง แล้วเติมหอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสาร JJST5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งที่มี LPS ( $1 \mu\text{g/ml}$ ) และไม่มี LPS

### 2.4 การวิเคราะห์ปริมาณพรอสตาแกลนดิน (PGE2) (สันติ, 2553; กล่าวขวัญ, 2555)

ทำการทดลองโดยการกระจายเซลล์ลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 24 หลุม จำนวน  $1.5 \times 10^5$  เซลล์ ต่อหลุม แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 ชั่วโมง ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง แล้วเติมหอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสาร JJST5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งที่มี LPS ( $1 \mu\text{g/ml}$ ) และ ไม่มี LPS รวมทั้ง indomethacin (IMC) ที่มีความเข้มข้น  $1 \mu\text{M}$  ซึ่งเป็นสารควบคุมแบบบวก แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาจึงเก็บอาหารเลี้ยงเซลล์มาวิเคราะห์ปริมาณพรอสตาแกลนดิน E2 โดยชุดตรวจสอบสำเร็จรูป PGE2 competitive enzyme immune assay kit (R&D Systems) ตามวิธีดังนี้ นำอาหารเลี้ยงเซลล์มาปั่นเหวี่ยงที่ 13,700 g นาน 5 นาที แล้วเจือจางอาหารเลี้ยงเซลล์ ปริมาตร  $150 \mu\text{l}$  ด้วย calibrator diluent RD5-56 ปริมาตร  $300 \mu\text{l}$  จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเซลล์ ที่เจือจางแล้วปริมาตร  $150 \mu\text{l}$  ลงในไมโครเพลทที่เคลือบกันหลุมด้วย goat anti-mouse polyclonal antibody เติมหสารละลาย primary antibody ปริมาตร  $50 \mu\text{l}$  แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง ปิดฝาไมโครเพลทให้สนิท เมื่อบ่มเสร็จเติม PGE2 conjugate ปริมาตร  $50 \mu\text{l}$  แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมงพร้อมเขย่า จากนั้นล้างหลุมไมโครเพลทด้วย wash buffer ปริมาตร  $400 \mu\text{l}$  จำนวน 4 ครั้ง แล้วเติม substrate solution ปริมาตร  $200 \mu\text{l}$  บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาทีพร้อมทั้งห่อฟอยล์เพื่อป้องกันแสงโดยสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้า แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย stop solution ปริมาตร  $100 \mu\text{l}$  โดยสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซึ่งความเข้มของสีจะขึ้นอยู่กับปริมาณของพรอสตาแกลนดิน E2 ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 450 และ 540 nm

ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท คำนวณหาความเข้มข้นของพรอสตาแกลนดิน E2 ในอาหารเลี้ยงเซลล์ได้จากกราฟมาตรฐานที่ได้จาก สารละลายพรอสตาแกลนดิน E2 ที่ทราบความเข้มข้น (0-2,500 pg/ml) แล้วนำไปบ่มในตู้อบแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง แล้วเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสารละลาย MTT ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml หลุมละ 500  $\mu$ l แล้วนำไปบ่มต่อที่ตู้อบแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-4 ชั่วโมง โดย MTT เป็นสารสีเหลืองละลายน้ำได้ จะเข้าไปในไมโทคอนเดรียของเซลล์ ในเซลล์ที่มีชีวิตจะพบแอกติวิตีของเอนไซม์ซัคซิเนตดีไฮโดรจีเนส (succinate dehydrogenase) จะทำการรีดิวซ์ MTT ไปเป็นผลึกฟอร์มazan (formazan) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน ปริมาณของสารฟอร์มazanที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต เมื่อครบเวลาแล้วดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้งก่อน เติมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) หลุมละ 500  $\mu$ l เพื่อละลายผลึกฟอร์มazan นำไปบ่มต่อ 5 นาที จะได้สารละลายสีม่วงน้ำเงิน ดูดสารแขวนลอยเซลล์จากแต่ละหลุม ปริมาตร 200  $\mu$ l ใส่ในไมโครเพลทแบบ 96 หลุม และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 550 nm ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท คำนวณค่าความมีชีวิตรอดของเซลล์ในเชิงสัมพัทธ์ เทียบกับสถานะของเซลล์ควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสกับสารทดสอบ จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของเซลล์} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมเซลล์ทดสอบ} \times 100}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมเซลล์ควบคุม}}$$

## 2.5 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรที่โดยปฏิกิริยา Griess (เอกรัฐ และกล่าวขวัญ, 2554)

ทำการทดลองโดยการกระจายเซลล์ลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 24 หลุม จำนวน  $1.5 \times 10^5$  เซลล์ต่อหลุม แล้วนำไปบ่มในตู้อบแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 ชั่วโมง ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง แล้วเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสาร JJST5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทั้งที่มี LPS (1  $\mu$ g/ml) และไม่มี LPS รวมทั้ง amino guanidine (AG) ที่ความเข้มข้น 50  $\mu$ M ซึ่งเป็นสารควบคุมแบบบวก และ 0.2% (v/v) DMSO ซึ่งเป็นตัวทำละลายสารทดสอบ แล้วนำไปบ่มในตู้อบแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาจึงเก็บอาหารเลี้ยงเซลล์ใส่หลอดทดลองขนาด 1.5 ml และปั่นเหวี่ยงที่ 13,700 g นาน 4 นาที แล้วนำอาหารเลี้ยงเซลล์ 100  $\mu$ l ใส่ในไมโครเพลทแบบ 96 หลุม แล้วผสมกับสารละลาย Griess [1% N-(1-Naphyl)ethylene-diamine dihydrochloride และ 1% sulfanilamide ใน 5% phosphoric acid] ปริมาตร 100  $\mu$ l และบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 546

nm ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบไมโครเพลท คำนวณค่าความเข้มข้นของไนไตรท์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากกราฟมาตรฐานของโซเดียมไนไตรท์ (NaNO<sub>2</sub>) ที่ความเข้มข้น 0-50  $\mu$ M

### การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค (Antimicrobial activity)

เชื้อจุลชีพ (Microbial) (นงลักษณ์ และปรีชา, 2552) เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กที่ประกอบด้วยเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์มีรูปร่างเหมือนกัน ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพื่อทำหน้าที่เฉพาะเหมือนในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง จุลชีพแบ่งตามประเภทของเซลล์จะแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ พวกโปรคาริโอตซึ่งเป็นเซลล์ที่นิวเคลียสไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ได้แก่ แบคทีเรีย และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและอีกกลุ่มคือพวกยูคาริโอต ซึ่งเป็นเซลล์ที่นิวเคลียสมีเยื่อหุ้มนิวเคลียสได้แก่ เชื้อรา โปรโตซัวและสาหร่ายต่าง ๆ ยกเว้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จุลชีพเป็นสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ ที่เกี่ยวข้องกับคนได้ในลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

1. Pathogenic microorganism เป็นเชื้อก่อโรคในคน สัตว์ พืชโดยจะได้ประโยชน์จากโฮสต์และยังทำลายโฮสต์ ซึ่งจะมีผลต่อการทำงานตามปกติของร่างกายทำให้เกิดโรครุนแรง จุลชีพเหล่านี้ต้องมีปัจจัยช่วยให้เชื้อทำอันตรายต่อโฮสต์ได้ เช่น การเกาะติดที่ผิวเซลล์โฮสต์ ความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ สารพิษหรือเอนไซม์ที่ทำให้เชื้อมีความรุนแรงในการเกิดโรค เป็นต้น

2. Non pathogenic microorganism เป็นเชื้อประจำถิ่น สามารถพบได้ทั่วไปตามผิวหนัง และภายในร่างกายของคนที่มีสุขภาพดี ร่างกายมีแบคทีเรียที่เป็นเชื้อประจำถิ่นอยู่ เช่น ที่ผิวหนังมีเชื้อ *S. epidermidis* ในช่องปากมีเชื้อ *Streptococci*, *Hemophilus* ในลำไส้มี *E. coli* ในระบบทางเดินปัสสาวะและอวัยวะสืบพันธุ์ก็มีเชื้อ *Lactobacillus*, *Staphylococcus* แต่บางครั้งเชื้อประจำถิ่นทำให้เกิดโรคได้ เช่น *E. coli* เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ของคน แต่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะและท้องร่วงได้ นอกจากนี้เชื้อบางชนิดยังฉวยโอกาสก่อโรคในคนที่ภูมิคุ้มกันผิดปกติ เช่น *Pseudomonas sp.* (อุทัยวรรณ และสาธิต, 2546)

3. Opportunistic microorganism เป็นเชื้อฉวยโอกาสมีทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา เช่น เชื้อราในช่องปาก ได้แก่ *C. albican* ที่พบในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง เป็นต้น จะเห็นว่าจุลชีพบางชนิดก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ทันทีเมื่อเข้าสู่ร่างกาย บางชนิดก่อให้เกิดโรคเมื่อร่างกายมีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องแบคทีเรีย

## 1. วิธีการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารต้านจุลชีพ (ชลิตา, 2558) ที่นิยมใช้มีวิธีดังนี้

1. Agar diffusion คือการทดสอบโดยการให้สารต้านจุลชีพซึมเข้าในเนื้อวุ้นแล้วดูการยับยั้งเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเป็นวิธีซึ่งสามารถปฏิบัติได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว รวมทั้งสามารถให้ผลที่แน่นอนและถูกต้อง การทดสอบวิธีนี้ใช้หลักการแพร่โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เติมลงบน Paper disc ซึ่งวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้เพาะเลี้ยงเชื้อจุลชีพที่ใช้ในการตรวจสอบไว้ จะแพร่จากจุดเริ่มต้นไปในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น เมื่อระยะเวลาที่สารแพร่ออกไปเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของสารนั้นจะลดลงทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของสาร ณ จุดต่างๆกันรอบแผ่นกระดาษกรอง ในขณะที่เดียวกันจุลินทรีย์บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ ณ ความเข้มข้นของสารที่จุดใด ๆ (ไกลกระดาษกรอง) ก็จะเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นจนเห็นได้ชัด แต่บริเวณใกล้กระดาษกรองซึ่งมีความเข้มข้นของสารมากพอที่จะยับยั้งเชื้อได้จะไม่มี การเจริญของเชื้อให้เห็นจึงเกิดเป็นโซนใส (Inhibition zone) ขึ้น อัตราการแพร่ของสารออกฤทธิ์ผ่านไปในอาหารเลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส ซึ่งจะบอกถึงความสามารถของสารที่นำทดสอบว่าสามารถต้านเชื้อได้มากน้อยเพียงใดผลการต้านเชื้อจุลชีพ วัดได้จากขนาดของโซนใส

2. Broth dilution เป็นวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพโดยเจือจางสารที่ต้องการทดสอบให้มีความเข้มข้นต่างกัน ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำเชื้อจุลชีพเพาะเลี้ยงลงไป สังเกตการเจริญของเชื้อจุลชีพ วิธีนี้ทำให้ทราบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal Bactericidal Concentration, MBC) ดังนี้

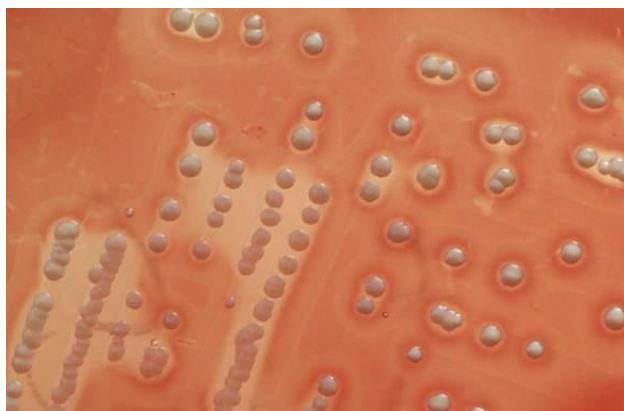
2.1 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) การทดสอบหาความไวของแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะโดยวิธีนี้เป็นวิธีที่ละเอียดวิธีหนึ่ง ซึ่งได้จากการทดสอบวิธีนี้จะทำให้ทราบทั้ง MIC และ MLC (Minimal lethal concentration) ของยาปฏิชีวนะนั้น ๆ กับแบคทีเรียซึ่งทำการทดสอบหลักการโดยทั่วไปของวิธีนี้คือการเลี้ยงแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวซึ่งมียาปฏิชีวนะในปริมาณต่าง ๆ กันผสมอยู่ด้วย และสังเกตการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมียาปฏิชีวนะในปริมาณต่าง ๆ กัน การทดสอบหาความไวของแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะโดยวิธี Broth dilution นี้สามารถทำได้ทั้ง Macro broth dilution technique และ Micro broth dilution technique (อรพิน และสุนิตย์, 2550)

2.2 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) จากการหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ทำให้เชื้อไม่เจริญในอาหารเหล่านั้น สามารถนำมาหาค่า MBC ได้โดยนำหลอดที่ทำการทดสอบจากการหาค่า MIC ที่ไม่มีความขุ่นทุกหลอดไป Spread plate บนอาหาร Tryptic soy agar ถ้าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ก็จะไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในงานวิจัยนี้ เชื้อที่นำมาทดสอบได้แก่ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) และ *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่พบได้ทั่วไปตามผิวหนัง และเยื่อหุ้มบุผิวตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายของมนุษย์และสัตว์ โดยเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแต่ละชนิดมีลักษณะสำคัญดังต่อไปนี้

### 1. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Staphylococcus* วงศ์ Micrococcaceae ติดสีแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ *S.aureus* ให้โคโลนีสีขาวจนถึงสีทอง มีรูปร่างเป็นทรงกลม เมื่อแบ่งเซลล์จะติดกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ในธรรมชาติ *S. aureus* เป็นเชื้อที่อยู่ตามร่างกาย เป็นปรสิตที่ผิวหนังเนื้อเยื่อของคนและสัตว์เลือดอุ่น เป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ผิวหนัง เช่นเกิดเป็นลักษณะของหนองฝีติดเชื้อซึ่งไม่รุนแรง แต่อาจก่อให้เกิดการติดเชื้ออย่างรุนแรงได้ในกรณีที่ผิวหนังเกิดบาดแผลหรือมีแผลที่ได้รับการผ่าตัด เชื้อนี้จะเข้าสู่เนื้อเยื่อชั้นในได้ ถ้าเข้ากระแสเลือดจะทำให้เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบเฉียบพลันและแพร่กระจายออกไป (จินตนา, 2549) แบคทีเรียกลุ่ม *staphylococci* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปตามผิวหนัง และเยื่อหุ้มบุผิวตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายของมนุษย์และสัตว์ นอกจากเป็นเชื้อประจำถิ่นในร่างกายแล้ว เชื้อแบคทีเรียบางชนิดในกลุ่มนี้เป็นเชื้อก่อโรคที่สามารถก่อโรคได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์ เชื้อในกลุ่มนี้ยังแยกได้อีกสองกลุ่มย่อย คือ *coagulase-positive staphylococci* (CPS) และ *coagulase-negative staphylococci* (CNS) กลุ่ม CPS เป็นกลุ่มของแบคทีเรียก่อโรคที่มีความสำคัญทางการแพทย์ ตัวอย่างเช่น *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) สามารถก่อให้เกิดโรคได้หลายโรค เช่น ฝีหนอง ตาอักเสบ เต้านมอักเสบ ไช้กระดูกอักเสบ การติดเชื้อที่บาดแผล ลำไส้อักเสบ เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ รวมทั้งโรคอาหารเป็นพิษด้วย (Gordon and Lowy, 2008) นอกจากนี้ยังพบอีกว่าเชื้อในกลุ่ม *staphylococci* สามารถพัฒนาเซลล์ให้ทนต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S. aureus* มีการวิวัฒนาการของสายพันธุ์ทำให้มีคุณสมบัติในการต้านยาปฏิชีวนะได้หลายชนิดและมีการดื้อยาเพิ่มมากขึ้นโดยสายพันธุ์ที่สำคัญ (มณฑล, 2560)



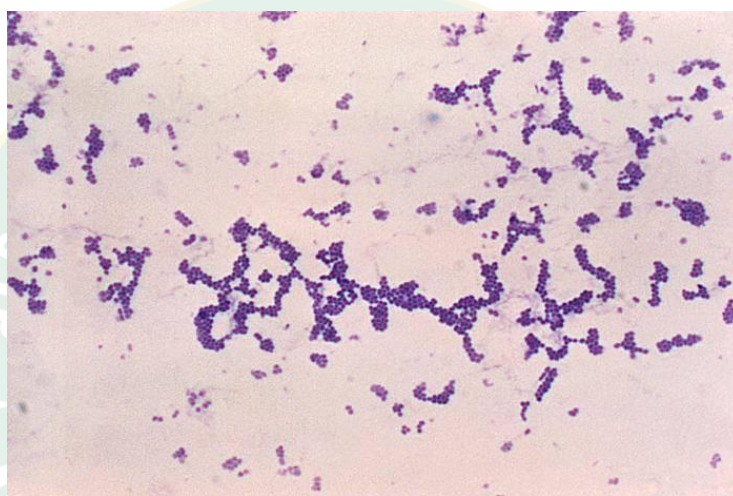
ภาพที่ 8 แสดงโคโลนีสีเหลืองของ *S. aureus* ที่เจริญบน blood agar

ที่มา: th.wikipedia.org (2021)

## 2. *Staphylococcus epidermidis*

*Staphylococcus epidermidis* จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นที่สามารถพบได้ที่ผิวหนัง (skin commensal) โดยพบได้บ่อยบริเวณรักแร้ ศีรษะ และโพรงจมูก เชื้อชนิดนี้สามารถสร้างอาณานิคมได้ (colonization) โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายใดใดกับมนุษย์ *S. epidermidis* มีคุณสมบัติเป็น probiotic ด้วย เพราะสามารถป้องกันการตั้งถิ่นฐานของเชื้อ *S. aureus* ได้ แต่อย่างไรก็ตามหากผิวหนังของเราเกิดการฉีกขาดเป็นแผล เชื้อ *S. epidermidis* ก็สามารถกลับมาก่อโรคได้ จัดว่าเป็น “accidental” pathogen ได้ *S. epidermidis* ซึ่งเดิมอาศัยอยู่บนผิวหนังของมนุษย์ทุกคนโดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายกำลังเกิดความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในวงกว้าง โดยนักวิทยาศาสตร์เริ่มพบเชื้อชนิดดังกล่าวที่มีถิ่นกลายเป็นพิษ ซึ่งจะทำให้คนเราเกิดการติดเชื้อหลังผ่าตัดและมีอาการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างรุนแรงได้ (Otto, 2009) ในขณะที่ทั่วโลกให้ความสนใจหาวิธีการรักษาการติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* นั้น แต่ปัจจุบันเริ่มมีการพบการติดเชื้อ *S. epidermidis* มากขึ้นเรื่อย ๆ สัมพันธ์กับการติดเชื้อในโรงพยาบาล โดยสามารถพบได้บ่อยในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาใน ICU ผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง และผู้ป่วยที่มีการสอดใส่อุปกรณ์ทางการแพทย์ เช่น การใส่สายสวนปัสสาวะ การใส่ท่อช่วยหายใจ การใส่สายสวนหลอดเลือดดำส่วนกลาง เป็นต้น เชื้อ *S. epidermidis* ไม่ได้รุนแรงมากเมื่อเทียบกับ *S. aureus* แต่เชื้อ *S. epidermidis* มีคุณสมบัติพิเศษสามารถสร้าง Biofilm ได้ทำให้เชื้อสามารถยึดเกาะอุปกรณ์ทางการแพทย์เหล่านี้ได้เป็นอย่างดี อีกทั้งยังสามารถหลบหลีกการกำจัดจากระบบภูมิคุ้มกันของเราได้ดีอีกด้วย เนื่องจากเชื้อ *S. epidermidis* มีการปรับตัวสามารถดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น methicillin, rifamycin, flouroquinolones, gentamicin, tetracycline, chloramphenicol, erythromycin, clindamycin และ sulfonamides ปัจจุบัน

การรักษาการติดเชื้อ *S. epidermidis* ตัวยาที่ได้ผลคือ การให้ยา vancomycin และ rifampicin ควบคู่กันไป แต่ปัจจุบันก็สามารถพบเชื้อ *S. epidermidis* ที่ตัวยา rifampicin และมีความไวต่อยา vancomycin ลดลงได้ ซึ่ง Vancomycin ถือเป็นยาตัวสุดท้าย ที่ใช้รักษาการติดเชื้อ *S. epidermidis* สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jean YH Lee และคณะจากออสเตรเลีย ที่รายงานว่า เชื้อ *S. epidermidis* เกิดการกลายพันธุ์ของยีน rpoB บริเวณตำแหน่ง D471E และ I527M ทำให้เชื้อดื้อต่อยา rifampicin อีกทั้งการเกิด dual mutation นี้ส่งผลให้เชื้อไวต่อยา vancomycin ลดลงอีกด้วย



ภาพที่ 9 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของ *S. epidermidis* จากการย้อมสีแกรม

ที่มา: <http://faculty.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab6/images.jpg>

### 3. *Propionibacterium acnes* (สุทธิวรณ และศุภยางค์, 2559)

*Propionibacterium acnes* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่เป็นส่วนหนึ่งของ microbiota ปกติของมนุษย์ ส่วนใหญ่จะพบที่ระดับของรูขุมขน ในโพรงร่างกายอื่น ๆ. มีลักษณะรูปร่างได้หลายแบบ เช่น แท่งสั้นๆ หรือรูปไข่ การเรียงตัวอาจพบเป็นสาย อยู่รวมกันเป็นกลุ่มหรืออาจอยู่อย่างไม่มีระเบียบ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่มีการสร้างสปอร์ เจริญเติบโตค่อนข้างช้า โดยจะใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้ออย่างน้อย 72 ชั่วโมง การเพาะเลี้ยงต้องทำในสภาพที่ไร้ออกซิเจน เช่น ตู้ไร้ออกซิเจน (anaerobic chamber) หรือใช้ anaerobic jar ที่มีการแทนที่อากาศด้วย  $N_2$  85%  $H_2$  10% และ  $CO_2$  5% เป็นเชื้อที่สามารถหมักน้ำตาลได้ การย่อยน้ำตาลจะได้ propionic acid และ acetic acid ซึ่งเป็นผลผลิตหลักจากการหมักน้ำตาล และสามารถผลิต catalase มีรายงานการทดสอบ พบว่า

เชื้อ *P.acnes* สามารถทนต่อสภาวะที่มีออกซิเจนได้นานเป็นชั่วโมง และอยู่รอดในเนื้อเยื่อที่มีออกซิเจนต่ำได้ (Aubin et al., 2014) ยาปฏิชีวนะที่มีการรายงานการใช้ในการรักษา เช่น ยาในกลุ่ม penicillin, carbapenems และ clindamycin ส่วนการใช้ยาในกลุ่ม erythromycin, tetracycline และ cephalosporins อาจให้ผลที่ไม่แน่นอน เชื้อมีความสามารถในการติดต่อยา metronidazole และ fosfomycin (Aubin et al., 2014)



ภาพที่ 10 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของ Propionibacterium acnes จากการย้อมสีแกรม

ที่มา: [https://en.wikipedia.org/wiki/Cutibacterium\\_acnes#/media/File:Propionibacterium\\_acnes.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Cutibacterium_acnes#/media/File:Propionibacterium_acnes.jpg)

#### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ดวงพร และคณะ (2554) ได้นำก้อนไขมันปลาแห้งลูกผสมมาสกัดเป็นน้ำมันปลาน้ำจืด พบว่าน้ำมันปลาที่ได้มีสีเหลืองใส มีค่าเกณฑ์มาตรฐานทั้งค่ากรด ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าไอโอดีน และค่าไขมันอิสระ นอกจากนี้ยังมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวมีค่าใกล้เคียงกับน้ำมันปลาจากปลาทะเลในท้องตลาดโดยมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในกลุ่มโอเมก้า 9 ที่สูงกว่าน้ำมันปลาจากปลาทะเลถึง 4 เท่า จากนั้นนำน้ำมันปลาที่สกัดได้ไปศึกษาฤทธิ์ชีวภาพในสัตว์ทดลอง โดยพบว่าปลาแห้งน้ำจืดในหน่วยการทดลองที่ให้อาหารผสมน้ำมันปลาฯ ในระดับ 1.5% มีการเจริญเติบโตดีที่สุด และยังช่วยเพิ่มปริมาณไขมันโอเมก้า 3, 6 และ 9 ในเนื้อปลาได้อีกด้วย

สิทธิกรณ (2557) ศึกษาพบว่าน้ำมันปลาที่สกัดจากก้อนไขมันในช่องท้องของปลาหนึ่งลูกผสมน้ำจืดมีส่วนส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวในปริมาณใกล้เคียงกันประมาณ 45-50 % โดยกรดไขมันอิ่มตัวที่สกัดได้ประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวชนิดกรดไขมันโอเมก้า-9 ประมาณ 44 %

ธีรวัฒน์ และคณะ (2561) พบว่าน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งลูกผสมน้ำจืดมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวใกล้เคียงกับน้ำมันปลาจากปลาทะเลที่จำหน่ายในท้องตลาดแต่มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนน้อย โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวกลุ่มโอเมก้า-9 (กรดโอเลอิก) มีปริมาณที่สูงกว่าน้ำมันปลาจากปลาทะเลถึง 4 เท่า ทั้งนี้กรดไขมันโอเมก้า-9 (กรดโอเลอิก) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) ที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์จะทำให้ร่างกายตอบสนองต่อฮอร์โมน การติดเชื้อและกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

บุษรินทร์ และคณะ (2561) ได้นำก้อนไขมันปลาหนึ่งลูกผสมและปลาบึกสยามมาสกัดเป็นน้ำมันปลาน้ำจืด พบว่าน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งน้ำจืดทั้งสองชนิดที่ได้มีสีเหลืองใส เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ค่าเปอร์ออกไซด์และค่าสะปอนนิฟิเคชันมีค่าเกณฑ์มาตรฐาน นอกจากนี้ยังมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวมีค่าใกล้เคียงกับน้ำมันปลาจากปลาทะเลในท้องตลาด โดยมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในกลุ่มโอเมก้า 9 ที่สูงกว่าน้ำมันปลาจากปลาทะเลถึง 4 เท่า นอกจากนี้จากการทดสอบการปนเปื้อนแบคทีเรีย E.Coli และ Samonella พบในปริมาณน้อยมากหรือไม่พบเลย ดังนั้นน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งลูกผสมน้ำจืดนี้จึงควรนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพได้

Mattson and Grundy (1985) ได้ศึกษาในผู้ป่วย 20 คน โดยให้รับประทานอาหารเหลวที่มีกรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว หรือกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน ไขมันในอาหารทั้งสามชนิดนี้มีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 40 โดยประกอบด้วยน้ำมันปาล์ม น้ำมันดอกคำฝอย ที่มีโอเลอิกความเข้มข้นสูง และน้ำมันดอกคำฝอยที่มีไลโนเลอิกเข้มข้นสูงตามลำดับ

Kien et al. (2005) พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีสุขภาพดีที่รับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงจะมีการเปลี่ยนแปลงของดัชนีมวลกาย มวลไขมันอัตราส่วนของเส้นรอบเอวต่อสะโพก และน้ำหนักลดลงกว่ากลุ่มตัวอย่างที่รับประทานอาหารที่มีกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) ปริมาณสูง

Yang et al. (2007) ได้ศึกษาถึงกลไกระดับโมเลกุลของ Oleoylethanolamide (OEA) ซึ่งเป็นไขมันภายในร่างกายที่ผลิตขึ้นในลำไส้เล็ก และพบมากในกรดโอเลอิก โดน OEA มีบทบาทสำคัญในการควบคุมความอยากอาหารและน้ำหนักตัว โดยการศึกษาก่อนหน้านี้ระบุว่า OEA จะกระตุ้น peroxisome proliferator-activated receptor-alpha ซึ่งจะช่วยในการลดความอยากอาหารลดระดับไขมันในเลือด และเพิ่มการแคแทบอลิซึมของกรดไขมันส่วนปลาย อย่างไรก็ตามกลไก OEA ต่อการทำงานของ enterocyte นั้นยังไม่ชัดเจน ในการศึกษานี้ได้ทดสอบผลของ OEA ต่อการดูดซึมกรดไขมันในลำไส้และการแสดงออกของ FAT/CD36 ในร่างกายและในหลอดทดลอง โดยใช้ OEA

ในช่องท้องของหนูทดลอง และตรวจสอบระดับ FAT/CD36 mRNA และการดูดซึมกรดไขมันใน enterocytes ที่แยกได้จากลำไส้เล็กส่วนต้น เช่นเดียวกับใน adipocytes ผลการศึกษาพบว่า การให้ OEA เพิ่มการแสดงออกของ FAT/CD36 mRNA ในเยื่อลำไส้และลำไส้เล็กได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่า OEA ช่วยเพิ่มการดูดซึมกรดไขมันใน enterocytes ในหลอดทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ผลการศึกษาเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่านอกจากการควบคุมความอยากอาหารแล้ว OEA อาจช่วยควบคุมน้ำหนักตัวโดยการเพิ่มการเผาผลาญไขมันส่วนปลาย และเพิ่มการสลายไขมันใน adipocytes และเพิ่มการดูดซึมกรดไขมันใน enterocytes โดยกลไกทั้งสองนี้ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของ FAT/CD36 เป็นกลไกของ OEA ในการควบคุมการดูดซึมกรดไขมันและการทำงานในทางสรีรวิทยาในมนุษย์

Paniagua et al. (2007b) พบว่าผู้ที่มีภาวะอ้วนเมื่อรับประทานอาหารที่มี MUFA จะช่วยเพิ่มอัตราการเผาผลาญไขมันและลดอัตราส่วนของไขมันบริเวณท้องและขาและช่วยลดการกระจายตัวของไขมันบริเวณกลางลำตัว

Jones et al. (2008) พบว่ากลุ่มตัวอย่างเพศชายที่มีสุขภาพดีที่รับประทานน้ำมันมะกอก ซึ่งมี MUFA ปริมาณสูง เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่รับประทานน้ำมันจากเมล็ดแฟลกซ์ และเมล็ดทานตะวัน จะมีอัตราออกซิเดชันของไขมัน (fat oxidation) และการใช้พลังงานของร่างกาย (energy expenditure) มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการดโอเลอิก (MUFA) มีบทบาทสำคัญในการช่วยเผาผลาญไขมัน ช่วยเพิ่มอัตราออกซิเดชันของไขมันและการใช้พลังงานของร่างกาย

Padovese and Curi (2009) พบว่าโอเมก้า-9 ช่วยส่งเสริมกระบวนการ phagocytosis ของนิวโทรฟิลและช่วยกำจัดแบคทีเรียในหลอดทดลองให้ลดลง ซึ่งไม่พบผลดังกล่าวเมื่อเปลี่ยนเป็นโอเมก้า-3และโอเมก้า -6

Huang et al. (2010) ศึกษาฤทธิ์ของกรดไขมันชนิดต่าง ๆ ในด้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก โดยศึกษาฤทธิ์ของโอเมก้า- 6, โอเมก้า-7 และโอเมก้า-9 ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อย ๆ ในช่องปาก ได้แก่เชื้อ *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Fusobacterium nucleatum* , *Porphyromonas gingivalis* และ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ผลการศึกษาพบว่าโอเมก้า- 6, โอเมก้า-7 และโอเมก้า-9 มีฤทธิ์ในด้านเชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ ในช่องปากได้ดี โดยส่วนประกอบของสารหรือเอสเทอร์ของกรดไขมันทั้ง 3 ชนิด สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปากได้ และมีความจำเพาะต่อเชื้อโรคในแต่ละสปีชี (species)

Gilmore et al. (2011) พบว่ากลุ่มตัวอย่างชายสุขภาพดีจำนวน 27 คน หลังจากรับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูง ระยะเวลา 5 สัปดาห์ หลังการทดลองกลุ่มตัวอย่างมีการเพิ่มขึ้นของระดับ HDL-C ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Bozzetto et al. (2012b) ที่ศึกษาผู้ป่วยเบาหวาน จำนวน 45 คน โดยเปรียบเทียบการรับประทานที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง (CHO 52% ของปริมาณแคลอรีที่ได้รับ) กับการรับประทานอาหารที่

มี MUFA ปริมาณสูง (28% ของปริมาณแคลอรีที่ได้รับ) ในระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าผู้ที่รับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงมีภาวะไขมันในตับ (steatosis) ลดลงอย่างมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Gidding et al. (2014) ศึกษาในกลุ่มเด็กวัยรุ่นต่อประสิทธิภาพของการรับประทานน้ำมันปลา 4 กรัมต่อวันเพื่อลดไตรกลีเซอไรด์และผลที่มีต่ออนุภาคของไลโปโปรตีนอนุมูลอิสระ การอักเสบ ความต้านทานต่ออินซูลิน การแข็งตัวและการเกิดลิ่มเลือด ผู้เข้าร่วมการศึกษา มีจำนวน 42 ราย อายุ  $14 \pm 2$  ปี มีภาวะ hypertriglyceridemia และมีค่า low-density lipoprotein (LDL) cholesterol  $<160$  mg/dL ได้ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างผู้ที่รับประทานน้ำมันปลา 4 กรัมต่อวันกับผู้รับประทาน placebo เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ และระยะการกำจัดออก 4 สัปดาห์ โดยวัดหาค่าไขมัน การกระจายตัวของอนุภาคไลโปโปรตีน และขนาดน้ำตาลกลูโคส อินซูลิน และ c-reactive generation ผลการศึกษาพบว่าค่าไขมันในร่างกายกลุ่มตัวอย่างมีระดับคอเลสเตอรอลรวม 194 (5.4) mg/dL ไตรกลีเซอไรด์ 272 (21) mg/dL, HDL-C 39 (1) mg/dL และ LDL-C 112 (3.7) mg/dL ค่าไตรกลีเซอไรด์ลดลงเมื่อเทียบกับยาหลอก ( $-52 \pm 16$  mg/dL เทียบกับ  $-16 \pm 16$  mg/dL) VLDL ไม่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนหรือขนาดอนุภาค ผลการศึกษาสรุปได้ว่าเด็กวัยรุ่นที่รับประทานน้ำมันปลา 4 กรัม/วันช่วยลดระดับไตรกลีเซอไรด์เล็กน้อยและอาจมีฤทธิ์ด้านการเกิดลิ่มเลือด แต่ไม่มีผลต่ออนุภาคของ LDL

Johnson and Bradford (2014) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอาหารกับการเกิดโรคในด้านระบาดวิทยาและทางคลินิก พบถึงบทบาทสำคัญของกรดไขมันเหล่านี้ในการรักษาความสมดุลของระบบไหลเวียนเลือดและภาวะสุขภาพโดยรวม โดยกรดไขมันโอเมก้า 3 โอเมก้า 6 และโอเมก้า 9 มีผลช่วยในการลดการอักเสบและการเกิดโรคโรคหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเจ็บป่วยและการเสียชีวิตในสหรัฐอเมริกา โดยเฉพาะกรดไขมันโอเมก้า 9 มีส่วนช่วยป้องกันและลดสาเหตุของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม และพบว่ากรดโอเลอิกมีผลต่อการลดการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และสามารถบรรเทาผลกระทบจากความเครียดและการบาดเจ็บของอนุมูลอิสระของ TNF- $\alpha$  ในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจในหนูโตเต็มวัยเพศผู้ด้วย รวมทั้งลดการอักเสบที่เซลล์เยื่อผนังหัวใจของมนุษย์ด้วย นอกจากนี้จากการรับประทานนมที่อุดมด้วยกรดโอเลอิกมีผลในการลดของคอเลสเตอรอล LDL-C และระดับไตรกลีเซอไรด์ ผลการศึกษาถึงผลของกรดไขมันโอเมก้า 9 ชนิดอื่น ๆ คือ nervonic acid พบว่าดัชนีมวลกาย (BMI), leptin, ไตรกลีเซอไรด์, คอเลสเตอรอลรวมและระดับน้ำตาลในเลือดต่ำมีความสัมพันธ์ทางลบกับระดับ nervonic acid ในซีรัม ผลการวิจัยเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการป้องกันผลกระทบต้อปัจจัยเสี่ยงของโรคอ้วนและปัจจัยต่าง ๆ เช่น ความต้านทานต่ออินซูลิน โรคเบาหวาน ภาวะไขมันในเลือดสูง และภาวะเมตาบอลิกซินโดรม

Fattore et al. (2014) ได้เปรียบเทียบการรับประทานอาหารที่น้ำมันปาล์มและอาหารที่มี MUFA และ PUFA สูง พบว่าผู้ที่รับประทาน MUFA และ PUFA ปริมาณสูง มีค่า HDL-C และ apolipoprotein A สูงขึ้น

Mashek and Wu (2015) ระบุว่าอาหารที่มีน้ำมันมะกอกเป็นส่วนผสมสามารถลดภาวะอ้วนลงพุงได้ และลดอุบัติการณ์ของภาวะเบาหวาน ประเภทที่ 2 และโรคหัวใจหลอดเลือด และ MUFA มีความสัมพันธ์น้อยมากกับการเป็นพิษในร่างกาย ในทางตรงกันข้าม MUFA ช่วยป้องกันภาวะตับเป็นพิษจากยา (drug-induced hepatotoxicity) ได้

Zaid et al. (2015) รายงานว่าชาวญี่ปุ่นจำนวน 958 คน ที่รับประทานอาหารที่มี MUFA และ oleic acid ปริมาณสูงมีความสัมพันธ์กับ HDL-C ที่สูงขึ้น

Wangcharoen et al. (2015) ศึกษาค่าของกรดไขมันที่สกัดจากเนื้อเยื่อไขมันของปลาหนังน้ำจืดที่จำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่ ปลาบึก (*Pangasianodon gigas*) ปลาสาวย (*Pangasianodon hypophthalmus*) และ ปลา ลู ก ผ ส ม (*Pangasius larnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*) พบว่ากรดไขมันอิ่มตัวและปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ปริมาณกรดไขมัน โอเมก้า 3 มีค่าเท่ากับ 15.58, 0.83 และ 4.36 กรัมต่อ 100 กรัมตามลำดับ และปริมาณ EPA: DHA เท่ากับ 3.23: 4.24, 0.07: 0.13 และ 0.65: 2.72 กรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ มีปริมาณกรดไขมันโอเมก้า 6 เท่ากับ 6.36, 9.19 และ 8.77 กรัมต่อ 100 กรัมตามลำดับ ก้อนไขมันมีลักษณะเป็นของแข็งและกึ่งแข็งที่อุณหภูมิห้อง โดยมีคุณสมบัติทางกายภาพแตกต่างกันในหนูขาวที่ได้รับไขมันดิบปริมาณ 5000 มก./กก. เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าไม่มีความเป็นพิษเกิดขึ้น ค่าผลการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS มีค่าเท่ากับ 3.21, 4.53 และ 6.00 mM Trolox ต่อ 1 กรัมตามลำดับ

Keapai et al. (2016) ศึกษาในหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานด้วยการให้น้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในปริมาณ 1 กรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคส ไขมันคอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของหนูขาวที่มีภาวะเบาหวานได้ โดยกลไกการออกฤทธิ์ช่วยเพิ่มความไวในการตอบสนองต่ออินซูลิน เพิ่มระดับของฮอร์โมนอะดิโปเนกทิน และลดระดับของฮอร์โมนเลปตินในเลือด นอกจากนี้ยังช่วยลดการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันอีกด้วย ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและกลไกที่เกี่ยวข้องต่อโปรตีนขนส่งยาที่มีมากที่ตับพบว่าน้ำมันปลาน้ำจืดปริมาณ 0.25 และ 0.5% สามารถป้องกันการเพิ่มขึ้นของระดับสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์มะเร็งตับที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันโดยการใช้สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ และผลที่ได้ใกล้เคียงกับผลของวิตามินอี และเมื่อเพิ่มปริมาณเป็น 1% สามารถฟื้นฟูการทำงานของโปรตีนขนส่งยาชนิด organic cation transporter 1 (OCT1) ในเซลล์มะเร็งตับของมนุษย์ จึงน่าจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขนส่งยาในโรคตับที่มีภาวะเครียดออกซิเดชันได้ตามปกติ จากผลการวิจัย

ดังกล่าวน้ำมันปลาจากปลาหนังสูงผลสมน้ำจืดน่าจะมีผลดีในการนำมาผลิตเป็นอาหารเสริมสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน ไขมันในเลือดสูงและมะเร็งตับได้ สัปดาห์ที่ 3 และ 4 ของช่วงเวลาการได้รับอาหารแต่ละกลุ่ม ได้มีการเจาะเลือดจากกลุ่มตัวอย่างเลือดเพื่อนำมาวิเคราะห์หาระดับคอเลสเตอรอลในเลือดรวมทั้งไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอรอลในส่วนของ lipoprotein (VLDL-C, LDL-C และ HDL-C) พบว่า ผู้ป่วยทั้ง 12 รายที่มีระดับค่าไตรกลีเซอไรด์ปกติ ผู้ป่วยกลุ่มนี้ที่ได้รับอาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว หรือกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน มีระดับ LDL-C ในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนมีผลทำให้ระดับ HDL-C ลดลงมากกว่าอาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว และไม่เปลี่ยนแปลงระดับของไตรกลีเซอไรด์ ผลของการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ากรดโอเลอิกมีประสิทธิภาพเหมือนกับกรดลิโนเลอิกในการลดระดับ LDL-C ในผู้ป่วยที่มีค่าไตรกลีเซอไรด์ปกติ และกรดโอเลอิกมีผลลดระดับ HDL-C ลงน้อยกว่ากรดลิโนเลอิกในผู้ป่วยที่มีไตรกลีเซอไรด์สูงในเลือด

Lopes et al. (2016) ศึกษาพบว่าปัจจัยเสี่ยงของโรคหัวใจหลอดเลือดลดลงและค่าของไขมันดีขึ้นหลังจากรับประทานอาหารที่มี MUFA สูง และการรับประทานอาหารที่มี MUFA สูงมีประโยชน์ต่อสุขภาพทั้งระยะสั้นและระยะยาว โดยสามารถเพิ่มหรือคงระดับของ HDL-cholesterol และลดระดับของ LDL cholesterol

Qian et al. (2016) ศึกษาเปรียบเทียบการรับประทานอาหารที่มี MUFA สูง กับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง พบว่าอาหารที่มี MUFA สูง มีผลให้ HDL-C สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง HDL-C เป็นไขมันชนิดดีจะช่วยให้การลดการเกาะตัวของไขมันบนหลอดเลือดลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเส้นเลือดหัวใจ

Medeiros-de-Moraes et al. (2018) ศึกษาผลของการเสริมโอเมก้า 9 ต่อความไม่สมดุลของคอร์ติโคสเตียรอยด์ การอักเสบ การกำจัดแบคทีเรีย การแสดงออกของ peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma expression ตัวรับโอเมก้า-9 และกระบวนการอักเสบ โดยให้โอเมก้า 9 กับหนูทดลองเป็นเวลา 14 วัน และกระตุ้นให้เกิดภาวะติดเชื้อโดย cecal ligation and puncture (CLP) และวัดระดับคอร์ติโคสเตอรอน การผลิตไซโตไคน์ จำนวนเม็ดเลือดขาวและจำนวนแบคทีเรียในเยื่อช่องท้อง และการแสดงออกของ PPAR gamma ในตับและเนื้อเยื่อไขมันในช่วงภาวะติดเชื้อนั้น และได้ศึกษาผลของโอเมก้า 9 ต่อเม็ดโลหิตขาวที่พบในเส้นเลือดฝอยที่กล้ามเนื้อและในสมองของหนูที่ติดเชื้อ พบว่าโอเมก้า-9 ช่วยเพิ่มระดับสารต้านการอักเสบของไซโตไคน์ (IL-10) และลดระดับของไซโตไคน์ที่ก่อให้เกิดการอักเสบชนิด TNF- $\alpha$  และ IL-1 $\beta$  ในน้ำล้างช่องท้องของหนูที่มีภาวะติดเชื้อ และโอเมก้า 9 ยังช่วยลดระดับคอร์ติโคสเตอรอนในร่างกาย ลดจำนวนของนิวโทรฟิลจากการไหลเวียนไปยังช่องท้องและเม็ดโลหิตขาวที่ endothelium ลดปริมาณแบคทีเรียในการนำล้างช่องท้องและช่วยกระตุ้นการแสดงออกของ PPAR gamma ของตับและ

เนื้อเยื่อไขมันในสัตว์ที่มีภาวะติดเชื้อ จากการศึกษาดูจะเห็นได้ว่าโอเมก้า 9 มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบในหนูที่มีภาวะติดเชื้อได้

Tongmee et al. (2021) ได้นำก้อนไขมันปลาแห้งลูกผสมมาสกัดเป็นน้ำมันปลาน้ำจืด พบว่าน้ำมันปลาที่ได้มีสีเหลืองใส เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ค่าเปอร์ออกไซด์และค่าสะปอนนิฟิเคชันมีค่าเกณฑ์มาตรฐาน นอกจากนี้ยังมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวมีค่าใกล้เคียงกับน้ำมันปลาจากปลาทะเลในท้องตลาด โดยมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในกลุ่มโอเมก้า 9 ที่สูงกว่าน้ำมันปลาจากปลาทะเลถึง 4 เท่า ซึ่งกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-9 ในน้ำมันปลาจากปลาแห้งลูกผสมน้ำจืด และน้ำมันปลาทะเล มีค่าที่ 43.35 และ 11.24 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ

Ishak et al. (2019) ศึกษาผลของน้ำมันมะกอกที่มี MUFA สูง ในหนูทดลองที่มีบาดแผล และบันทึกติดตามการหายของแผลร่วมกับดูค่า Vascular endothelial growth factor (VEGF) พบว่าน้ำมันมะกอกมีฤทธิ์ช่วยในการสร้างปัจจัยการเติบโตของเนื้อเยื่อแผล ช่วยให้แผลหายได้เร็วขึ้น

Amornlerdpison et al. (2019) พบว่าน้ำมันปลาจากปลาแห้งลูกผสมน้ำจืด (Freshwater fish oil; FFO) มีปริมาณของกรดไขมันโอเมก้า 3, 6 และ 9 เท่ากับ 1.38, 12.29 และ 42.9 g/100 g ตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของ FFO ปริมาณ 1% และ 1.5% ระยะเวลา 4 เดือนและประเมินผลของ FFO ต่อการแสดงออกของ gene และระดับของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) ได้แก่ super oxide dismutase, catalase และ glutathione รวมทั้งระดับของ cytokines ต่าง ๆ ได้แก่ TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , และ IgM และการเพิ่มของภูมิคุ้มกัน พบว่าระดับของเอนไซม์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 ชนิดและ cytokines ที่พบในเซลล์ตับไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญสถิติ พบว่าระดับของยีน GPx และ IgM เพิ่มสูงขึ้น และมีระดับของ IL-1 $\beta$  สูงขึ้นในไตปลานิลที่ได้รับ FFO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า FFO สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของปลานิลได้

Tongmee et al. (2018) ศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาแห้งลูกผสมน้ำจืด (FFO) ในเซลล์มาโครฟาจ RAW 246.7 ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วย LPS ต่อปริมาณของสารก่ออักเสบภายในเซลล์ 3 ชนิด ได้แก่ Interleukin 6 (IL-6) , Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) และ Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) และความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าพบว่า FFO ที่ความเข้มข้น 2% มีฤทธิ์ทำให้ปริมาณสารก่ออักเสบชนิด IL-6 IL-1 $\beta$  และ TNF- $\alpha$  ในเซลล์ลดลงอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารก่ออักเสบ LPS แต่เพียงอย่างเดียว พบว่า FFO ไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ โดย FFO ที่ความเข้มข้น 0.125 -2 % ไม่มีผลทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ FFO มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างสาร NO และ PGE2 และยับยั้งการแสดงออกของยีน iNOS และ COX-2 ได้ และยังมีผลในการ

ป้องกันการทำลาย DNA ของเซลล์ (DNA damage) และมีฤทธิ์ลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องใน การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ (cell cycle inhibitor) ได้แก่ cellular tumor antigen p53 (p53) และ cyclin-dependent kinase inhibitor p27 (p27)



### บทที่ 3 วิธีการวิจัย

#### ขั้นตอนและวิธีการวิจัย

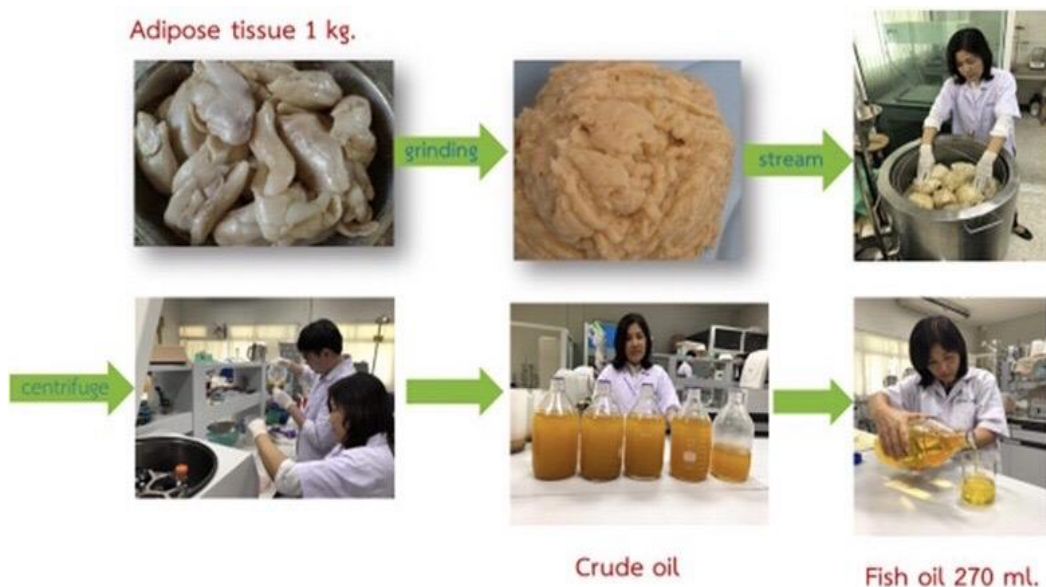
##### 1. การสกัดน้ำมันปลา

1.1 เก็บรวบรวมก้อนไขมันปลาแห้งลูกผสมจากแหล่งที่มาต่างกัน 2 แหล่ง ได้แก่ 1) ก้อนไขมันปลาแห้งลูกผสมน้ำจืดจากบริษัทไทยปังก้าฟาร์ม จ.กาฬสินธุ์ ซึ่งเป็นภาคเอกชนในระดับอุตสาหกรรมส่งออกที่เกี่ยวกับการแปรรูปผลิตภัณฑ์ด้านการประมง 2) ก้อนไขมันปลาบึกสยามจากศูนย์ความเป็นเลิศปลาบึก คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ โดยก้อนไขมันได้มาจากปลาแห้งลูกผสมน้ำจืดทั้งสองชนิด อายุประมาณ 8 เดือน – 1 ปี ขนาดน้ำหนัก 1-1.5 กิโลกรัม นำมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้งเพื่อเตรียมสกัดน้ำมันต่อไป



ภาพที่ 11 ก้อนไขมันปลาแห้งลูกผสม

1.2 การแยกน้ำมันจากก้อนไขมันปลาแห้งลูกผสมทั้งสองชนิด โดยนำก้อนไขมันมาละลายด้วยความร้อนผ่านไอน้ำโดยการนึ่งที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส (°C) นาน 20-30 นาที และนำตัวอย่างน้ำมันดิบขณะยังร้อนกรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อแยกกากจะได้น้ำมันดิบ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงต่อด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 4500 รอบ/นาที (rpm) ที่ 20°C เป็นเวลา 10-20 นาทีที่จะได้น้ำมันดิบใส อยู่ส่วนบนของหลอด centrifuge เก็บตัวอย่างที่เป็นน้ำมันดิบที่อุณหภูมิห้องเพื่อการแยกให้บริสุทธิ์ขึ้น จากนั้นนำน้ำมันปลาจากปลาแห้งลูกผสมไปวิเคราะห์หาส่วนประกอบของชนิดและปริมาณกรดไขมัน โดยส่งวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จ.เชียงใหม่ ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี In house method TE-CH-208 base on Association of Analytical Communities (AOAC) (2012) 996.06 ตามภาพที่ 12



ภาพที่ 12 การสกัดแยกน้ำมันจากก้อนไขมันปลาหนังลูกผสม

1.3 การตรวจหาค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value) และค่าสะaponนิฟิเคชัน (Saponification number) นำน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมทั้งสองชนิดไปวิเคราะห์หาค่า Peroxide Value และค่า Saponification number โดยส่งวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ วิเคราะห์ด้วยวิธี Association of Analytical Communities (AOAC) (2000) 965.33 และ AOAC (2000) 920.160 ตามลำดับ

1.4 การตรวจวิเคราะห์หาสิ่งปนเปื้อนในน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสม ได้แก่ การตรวจหาโลหะหนัก เช่น Arsenic (As), Copper (Cu), Lead (Pb), Mercury (Hg), Tin (Sn) และ Zinc (Zn) โดยส่งน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสม ตรวจวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ วิเคราะห์ด้วยวิธี In house method Association of Analytical Communities (AOAC) (2016) 2013.06 และ AOAC (2016) 999.10 และตรวจวิเคราะห์หาการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย *Escherihia Coli* และ *Samonella spp.* ตามมาตรฐานอาหาร ด้วยวิธี AOAC (2016) 991.14 และ ISO 6579 -1:2017 (E) ตามลำดับ

1.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) ตามขั้นตอนและรายละเอียดดังต่อไปนี้

1.5.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

เซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) จะถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) ที่มี 10% fetal bovine serum (FBS) และ 1% penicillin-streptomycin โดยเลี้ยงเซลล์ในตู้บ่มเพาะที่มี 95% O<sub>2</sub> 5% CO<sub>2</sub> ที่อุณหภูมิ 37 °C และเซลล์จะต้อง

ถูก subculture ทุก ๆ 4 -5 วัน ด้วย Phosphate Buffer Saline (PBS) และ 0.05% trypsin-EDTA (Thermo Fisher Scientific, Inc.) และเลี้ยงใน 96-well plates จนมีจำนวนเซลล์ 50,000 cells/well plate และเลี้ยงเซลล์ในตู้บ่มเพาะอีก 3 วัน เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไปตามภาพที่ 13



ภาพที่ 13 การเลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) ภายในตู้บ่มเพาะ CO<sub>2</sub>

1.5.2 การทดสอบฤทธิ์ของ FFO ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

เพื่อศึกษาผลของ FFO ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) โดยใช้วิธี MTT โดยเลี้ยงเซลล์ใน 96-well plates เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบ่มด้วย FFO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ [0.125-2 % in 0.5% propylene glycol (v/v)] เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมสารละลาย MTS 0.5 mg/ml เข้าไปในเซลล์ที่มีอาหารเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 °C หลังการบ่มจะดูดสารละลาย MTT ที่ และล้างเซลล์ด้วย PBS รีดิซ MTT ไปเป็นผลิตภัณฑ์ฟอร์มาแซน (formazan) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน ปริมาณของสารฟอร์มาแซนที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต เติมไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) เพื่อละลายผลิตภัณฑ์ฟอร์มาแซน 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm โดยใช้เครื่อง microplate reader (Metertech, Inc.) นำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มาคำนวณค่าการมีชีวิตรอดของเซลล์ (% cell viability)

1.5.3 การศึกษาผลของ FFO ต่อการสร้าง Nitric oxide ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

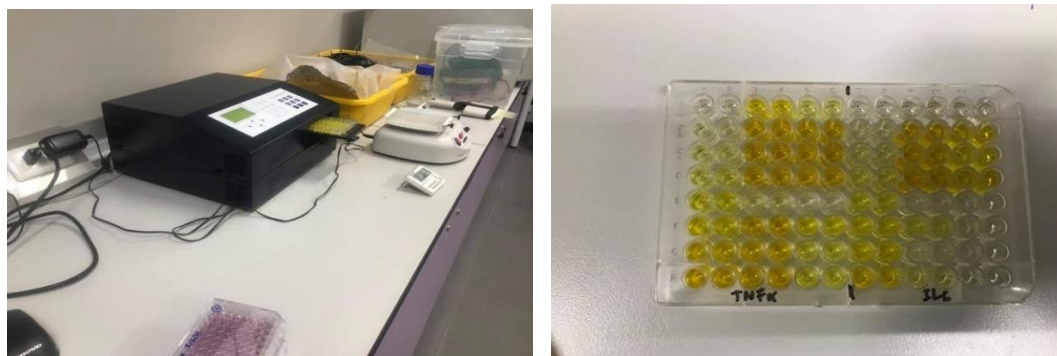
เลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) จำนวน 50,000 cells/well ใน 12-well plate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บ่มด้วย FFO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ [0.125-2 % in 0.5% propylene glycol (v/v)] เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นกระตุ้นเซลล์ด้วยสารเหนี่ยวนำการอักเสบ lipopolysaccharides (LPS) เลี้ยงเซลล์ในตู้บ่มเพาะที่มี 95% O<sub>2</sub> 5% CO<sub>2</sub> และที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บและปั่นเซลล์ที่ความเร็ว 10,000 x g เป็นเวลา 20 นาที นำ Supernatant ไปวัดปริมาณสาร Nitric oxide โดยใช้ colorimetric assay kit (Cayman Chemical Company) และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader (Metertech, Inc.) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

1.5.4 การศึกษาผลของ FFO ต่อการสร้าง Prostaglandins ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

เลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) จำนวน 50,000 cells/well ใน 12-well plate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 °C บ่มด้วย FFO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ [0.125-2% in 0.5% propylene glycol (v/v)] เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นกระตุ้นเซลล์ด้วยสารเหนี่ยวนำการอักเสบ lipopolysaccharides (LPS) เลี้ยงเซลล์ในตู้บ่มเพาะที่มี 95% O<sub>2</sub> 5% CO<sub>2</sub> และที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปั่นเซลล์ที่ความเร็ว 2,000 x g เป็นเวลา 10 นาที ที่ 4 °C นำ Supernatant ไปวัดปริมาณการสร้างสาร Prostaglandins โดยใช้ PGE2 enzyme immunoassay kit (BioLegend, Inc.).

1.5.5 การศึกษาผลของ FFO ต่อการสร้างสารก่ออักเสบ Interleukin ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

เลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) จำนวน 50,000 cells/well ใน 12-well plate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 °C บ่มด้วย FFO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ [0.125-2% in 0.5% propylene glycol (v/v)] หลังจากนั้นกระตุ้นเซลล์ด้วยสารเหนี่ยวนำการอักเสบ lipopolysaccharides (LPS) เลี้ยงเซลล์ในตู้บ่มเพาะที่มี 95% O<sub>2</sub> 5% CO<sub>2</sub> เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 37 °C หลังจากนั้นเก็บและปั่นเซลล์ที่ความเร็ว 2,000 x g เป็นเวลา 10 นาที นำ Supernatant ไปวัดปริมาณสารก่ออักเสบ IL-1 $\beta$ , IL-6 และ TNF- $\alpha$  ด้วย ELISA kit (BioLegend, Inc.) ตามภาพที่



10 a

10 b

ภาพที่ 14 การทดสอบปริมาณสาร Cytokine โดยใช้ ELISA kit

1.5.6 การศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างภูมิคุ้มกันและการอักเสบในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

เลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7) จำนวน 50,000 cells/well ใน 6-well plate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บ่มด้วย FFO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการสกัดแยก Total messenger RNA (mRNA) และใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูปสร้าง First strand DNA จาก mRNA ในแต่ละกลุ่มและใช้เทคนิค Quantitative Real-time Polymerase Chain Reaction (Real-time PCR) เพื่อวัดระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างภูมิคุ้มกันและการอักเสบ (p53, p27, cyclin D2, cyclin E2, interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), และ cyclooxygenase 2 (COX-2) ดังภาพที่ 15



ภาพที่ 15 การย้อมเซลล์ด้วยสารฟลูออเรสเซนต์ เพื่อทดสอบ Genotoxicity

1.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) และ *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) ของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) และน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO) ด้วยการทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ด้วยวิธี Disc diffusion assay โดยการเจือจาง FFO ด้วยตัวทำละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) 1:1 (V/V) เตรียมเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ที่นำมาทดสอบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) และ *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) (ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียได้มาจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้) นำมาปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland standard ( $10^8$  CFU /ml) และใช้ไม้ปั่นสำลีปราศจากเชื้อจุ่มเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดนำมาป้ายลงบนผิวหน้าอาหาร Nutrient agar (NA) ใช้ DMSO เป็น negative control และใช้ Tetracycline ความเข้มข้น 25 mg/ml เป็น positive control นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนจานอาหารที่ทดสอบเชื้อ *P. acnes* นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดบริเวณ โชนใสรอบ ๆ paper disc (inhibition zone) นำมาอ่านผลมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร ดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันปลาหนังลูกผสม

## 2. การศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาหนังสูงผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีภาวะเสี่ยงของเมตาบอลิกซินโดรม

2.1 คัดเลือกอาสาสมัครเพศชายและเพศหญิง จำนวน 33 คน เป็นผู้ที่มีความเสี่ยงต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม อายุระหว่าง 30 - 65 ปี ที่สมัครใจยินยอมเข้าร่วมการวิจัย โดยผู้วิจัยอธิบายวัตถุประสงค์ของการวิจัย ขั้นตอนการวิจัย ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย และขอความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากกลุ่มตัวอย่าง โดยให้ลงนามใบแบบฟอร์มใบยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมงานวิจัย (Inclusion criteria) คือ

- 1) เป็นผู้มีความเสี่ยงต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่
  - 1.1) สตรีวัยเจริญพันธุ์ที่มีการตกไข่ไม่สม่ำเสมอ
  - 1.2) มีประวัติโรคเบาหวาน ไขมันสูง ความดันโลหิตสูงในครอบครัว
  - 1.3) สูบบุหรี่
  - 1.4) สตรีวัยหมดประจำเดือน
- 2) มีดัชนีมวลกายสูงกว่าปกติตั้งแต่  $23.0 \text{ kg/m}^2$
- 3) มีระดับไขมันในเลือดผิดปกติอย่างใดอย่างหนึ่งขึ้นไป
  - 3.1) ไตรกลีเซอไรด์ สูงกว่า  $150 \text{ mg/dL}$
  - 3.2) คอเลสเตอรอล สูงกว่า  $190 \text{ mg/dL}$
  - 3.3) LDL-C สูงกว่า  $120 \text{ mg/dL}$

โดยอาสาสมัครที่มีความเสี่ยงต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม จะต้องมีความผิดปกติ 1 หรือเท่ากับ 2 ข้อ ใน 5 ข้อตามเกณฑ์โรคทางเมตาบอลิซึม (The National Cholesterol Education Program (NCEP III) criterias

เกณฑ์การคัดออก (Exclusion criteria) คือ

- 1) มีอาการผิดปกติของระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด หรือมีอาการหน้ามืด เป็นลม
- 2) มีภาวะการทำงานของตับผิดปกติ โดยประเมินจากปริมาณเอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) สูงกว่าปกติ
- 3) อาสาสมัครที่ไ้ยาที่มีผลต่อระดับไขมันในเลือดหรือลดน้ำตาลในเลือดภายใน 4 สัปดาห์ก่อนเข้าร่วมการศึกษาวิจัย
- 4) อาสาสมัครที่มีความผิดปกติอื่น ๆ ซึ่งหากผู้วิจัยประเมินว่าอาสาสมัครอาจมีความเสี่ยงเพิ่มขึ้นจากการเข้าร่วมการศึกษาวิจัย เช่น การตั้งครรภ์ การเลี้ยงบุตรด้วยนมมารดา

2.2 อาสาสมัครทุกคนจะได้รับการเจาะเลือดเพื่อตรวจวิเคราะห์หาค่าสารเคมีในเลือด ดังนี้

2.2.1 ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด (Fasting blood sugar)

2.2.2 ค่าการทำงานของตับ (liver function test) ได้แก่ ค่า alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin (TB), direct bilirubin (DB), total protein, albumin และ globulin

2.2.3 ค่าไขมันในเลือด (lipid profile) ได้แก่ total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), และ triglyceride (TG)

2.2.4 ค่าการทำงานของไต ได้แก่ BUN และ Creatinine

2.2.5 ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (complete blood count) ได้แก่ white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct.), platelet ฯลฯ

2.3 ให้อาสาสมัครทุกคนรับประทานน้ำมันจากปลาหนึ่งลูกผสมน้ำจืด (FFO) วันละ 2 กรัม (ขนาดบรรจุแคปซูลละ 500 มิลลิกรัม) โดยรับประทานครั้งละ 2 แคปซูล หลังอาหารเช้าและก่อนนอน ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 3 เดือน ในระหว่างการวิจัยจะทำการบันทึกข้อมูลต่าง ๆ ของอาสาสมัครทุกคน ประเมินสัญญาณชีพ น้ำหนัก เส้นรอบเอว อาสาสมัครทุกคนจะได้รับการตรวจเลือดเพื่อตรวจวิเคราะห์หาการเปลี่ยนแปลงของระดับของน้ำตาลกลูโคสในเลือด และค่าไขมันในเลือด หลังจากรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งลูกผสมน้ำจืดแล้ว 1 และ 2 เดือน และเมื่อรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งลูกผสมน้ำจืดครบ 3 เดือน อาสาสมัครจะได้รับการเจาะเลือดตรวจวิเคราะห์ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด ค่าการทำงานของตับ ค่าไขมันในเลือด ค่าการทำงานของไต และค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด หากอาสาสมัครคนใดรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งลูกผสมน้ำจืดแล้วเกิดอาการข้างเคียง เช่น อาการคลื่นไส้ อาเจียน เวียนศีรษะ หรืออาการข้างเคียงอื่น ๆ จะให้อาสาสมัครหยุดรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งน้ำจืดโดยทันที และวัดสัญญาณชีพสังเกตอาการ ผลข้างเคียงต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น และปรึกษาแพทย์ผู้เป็นที่ปรึกษาในงานวิจัย หากอาการไม่ดีขึ้นจะพาไปพบแพทย์เพื่อรับการรักษาโดยทันที ในกรณีที่เกิดเหตุไม่พึงประสงค์ทางผู้วิจัยจะจ่ายเงินค่าชดเชยจำนวน 300 บาท ต่อวันแต่ไม่เกิน 1 สัปดาห์ หรือชดเชยด้วยวิธีการจัดพาพบแพทย์เพื่อตรวจรักษาจนอาการหายดีเป็นปกติ แผนการดำเนินการวิจัยโดยสรุปดังแสดงในภาพที่ 17

2.4 การตรวจสอบติดตามการร่วมการวิจัยของอาสาสมัคร สำหรับกระบวนการในการตรวจสอบติดตามอาสาสมัครที่รับประทานน้ำมันจากปลาหนึ่งลูกผสมน้ำจืดในงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยจะอธิบายให้อาสาสมัครเข้าใจถึงความสำคัญของการปฏิบัติตัวขณะเข้าร่วมการวิจัย และขอความร่วมมือกับอาสาสมัครปฏิบัติตามขั้นตอนการวิจัยอย่างเคร่งครัด ทั้งนี้เพื่อประโยชน์แก่

อาสาสมัคร ผู้วิจัยและผู้อื่น ในแง่ของการนำข้อมูลที่ได้บนพื้นฐานของความเป็นจริงไปเผยแพร่ให้เกิดประโยชน์ต่อไป นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ติดตามอาสาสมัครทุกคนขณะที่รับประทานน้ำมันจากปลาหนึ่งน้ำจืดในระหว่างวิจัยทุกวัน โดยจะมีการติดตามและแจ้งเตือนการรับประทานน้ำมันจากปลาหนึ่งน้ำจืดเป็นข้อความทางแอปพลิเคชันไลน์ (Line application) และติดตามสอบถามถึงอาการและอาการแสดงต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในขณะเข้าร่วมโครงการวิจัย มีการนัดพบและเจาะเลือดตรวจในสัปดาห์ที่ 4 และ 8 พร้อมกับรับผลิตภัณฑ์แคปซูลน้ำมันปลาจากปลาหนึ่งน้ำจืดเพื่อรับประทานในเดือนต่อไป

### การวัดผล (outcome measurement)

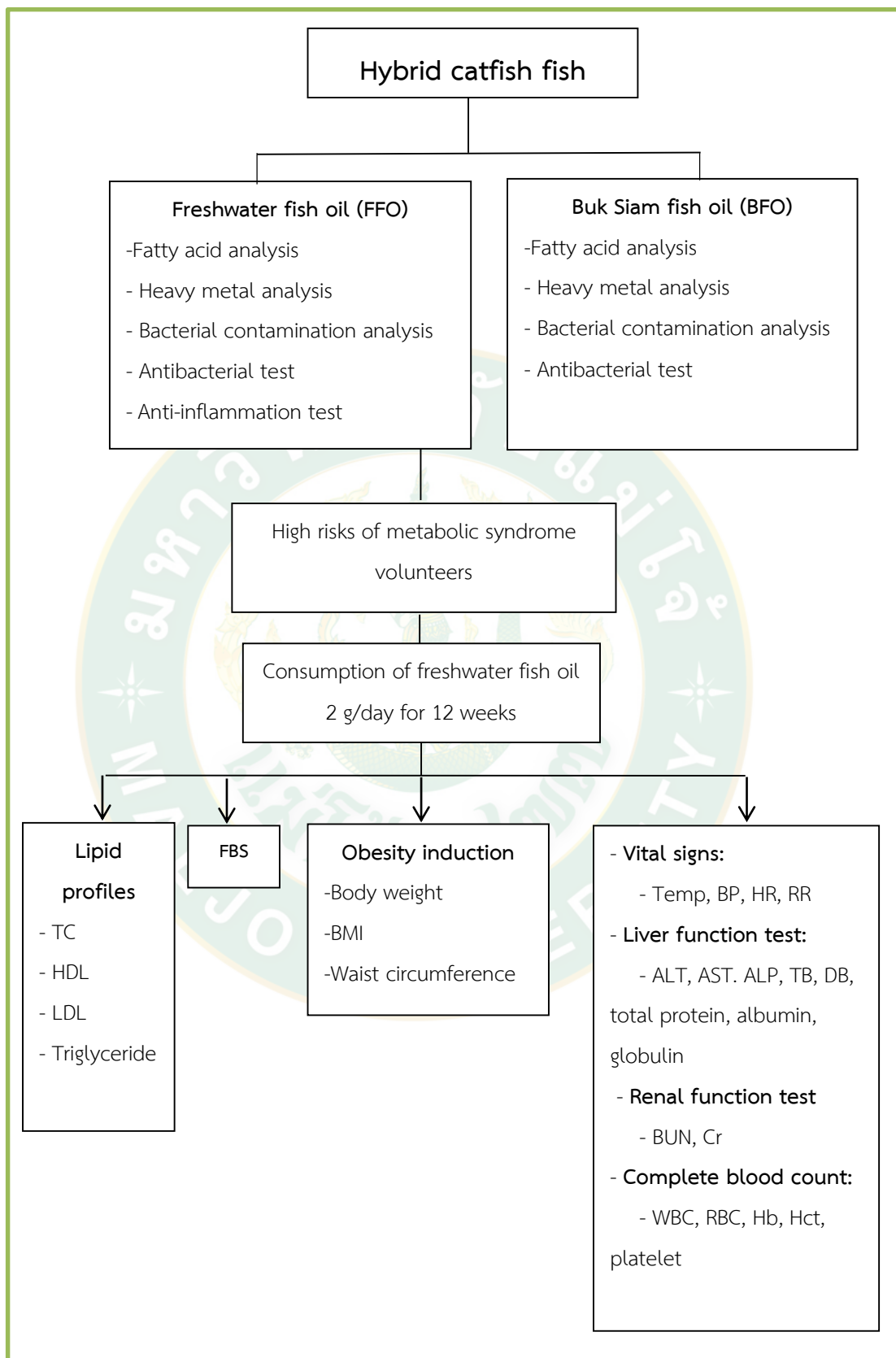
1. Lipid profiles: ระดับ total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) และ triglyceride (TG) ในเลือด
2. Vital signs: body temperature (BT), blood pressure (BP), heart rate (HR), respiratory rate (RR)
3. Liver function test: ระดับ alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin (TB), direct bilirubin (DB), total protein, albumin, globulin ในเลือด
4. Renal function test: ระดับ blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr) ในเลือด
5. Complete blood count: ระดับ white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), platelet ในเลือด
6. Fasting blood sugar (FBS)
7. Obesity induction: body weight, body mass index (BMI), waist circumference
8. องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันปลาทูหนึ่งลูกผสมน้ำจืด และน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม ร้อยละของกรดไขมันแต่ละชนิดในน้ำมันจากปลาทูหนึ่งลูกผสมน้ำจืดและน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม
9. ผลการตรวจหาโลหะหนักและการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันจากปลาทูหนึ่งลูกผสมน้ำจืดและน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม
10. ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบของน้ำมันจากปลาทูหนึ่งลูกผสมน้ำจืด
11. ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันจากปลาทูหนึ่งลูกผสมน้ำจืดและน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม

### การเก็บรวบรวมข้อมูล

1. การตรวจเลือดหาค่า lipid profiles, liver function test, renal function test, complete blood count และ fasting blood sugar วิเคราะห์ผลโดยห้องตรวจปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์แม่โจ้คลินิกแล็บ ซึ่งมีการควบคุมคุณภาพภายในตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการและการควบคุมคุณภาพภายนอก โดยคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล
2. การประเมิน body weight, body mass index (BMI), waist circumference และสัญญาณชีพของอาสาสมัครจะถูกรวบรวมโดยใช้กระบวนการที่เป็นมาตรฐาน
3. องค์ประกอบของกรดไขมัน คุณสมบัติทางเคมี การปนเปื้อนของโลหะหนักและการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันปลาหนึ่งลูกผสมน้ำจืดและน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม ได้รับการวิเคราะห์โดยบริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จ.เชียงใหม่

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยโปรแกรม SPSS Statistics Version 23 ข้อมูลที่ได้จะแสดงในรูปแบบ mean  $\pm$ SD ของอาสาสมัครที่รับประทานน้ำมันจากปลาหนึ่งลูกผสมน้ำจืด สถิติที่ใช้ประกอบด้วย สถิติพรรณนา ได้แก่ ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยภายในกลุ่มจะใช้สถิติทดสอบค่าเทียบรายคู่ (Paired t' test) และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$



ภาพที่ 17 แผนการดำเนินการวิจัยโดยสรุป

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

การวิจัยครั้งนี้เป็นการนำเอาเศษเหลือจากการแปรรูปปลาหนังลูกผสมน้ำจืด โดยเฉพาะก้อนไขมันในช่องท้อง มาสกัดและแปรรูปเป็นน้ำมันปลา น้ำจืด จากนั้นนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพ ทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ และทำการวิจัยทางคลินิก (clinical study) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ

1. วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด และน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม รวมทั้งการปนเปื้อนโลหะหนักและแบคทีเรีย
2. ศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดต่อฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านจุลชีพ
3. ศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีภาวะเสี่ยงของเมตาบอลิกซินโดรม

#### ขอบเขตการวิจัย

การเตรียมน้ำมันปลาเพื่อการวิเคราะห์คุณภาพและการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ

- 1) วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี
- 2) การปนเปื้อนโลหะหนักและแบคทีเรีย

#### การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ

- 1) ฤทธิ์ต้านการอักเสบในเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7)
- 2) ฤทธิ์ต้านจุลชีพก่อโรคบนผิวหนังในอาหารเลี้ยงเชื้อ

โดยจะเสนอผลการวิจัยและการอภิปรายผลตามลำดับดังต่อไปนี้

1. องค์ประกอบไขมัน คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดและน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม
2. การทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบและฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด
3. ลักษณะทั่วไป ลักษณะทางคลินิกที่เกี่ยวข้องกับภาวะเสี่ยงต่อเมตาบอลิกซินโดรมของกลุ่มตัวอย่างก่อนเริ่มเข้าโครงการ

4. การเปรียบเทียบค่าความดันโลหิต ดัชนีมวลกาย น้ำหนัก และเส้นรอบเอวของกลุ่มตัวอย่างก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ
5. การเปรียบเทียบค่าไขมันในเลือด ค่าน้ำตาลในเลือด ค่าการทำงานของตับและไต และค่าเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์ของกลุ่มตัวอย่างก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ
6. การอภิปรายผลการวิจัย

### องค์ประกอบของไขมัน คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของน้ำมันปลาจากปลาหนังน้ำจืด

นำก้อนไขมันในช่องท้องที่เป็นส่วนเหลือใช้จากอุตสาหกรรมการแปรรูปปลาหนังลูกผสม (ปลาบึก x ปลาสวาย) (FFO) หรือ F1 และปลาบึกสยาม ( $F1 \times F1$ ) (BFO) มาสกัดเป็นน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด และศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมัน คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีเปรียบเทียบคุณสมบัติของน้ำมันปลาที่สกัดได้จากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดทั้งสองแหล่งเพาะเลี้ยง ได้แก่

- 1) น้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) จากบริษัทไทยปังก้าฟาร์ม จังหวัดกาฬสินธุ์ และ
- 2) น้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO) จากศูนย์ความเป็นเลิศปลาบึก คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ จากการสกัดน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดทั้งสองชนิด พบว่า ก้อนไขมัน 1 กิโลกรัม สามารถแยกน้ำมันปลาที่เป็นส่วนใสและไม่เป็นไขที่อุณหภูมิห้องได้ปริมาตรร้อยละ 27 น้ำมันที่สกัดได้มีสีเหลืองใส โปร่งแสง เมื่อนำไปตรวจหาชนิดและปริมาณของกรดไขมันเทียบกับน้ำมันปลาทะเล (MFO) ตามท้องตลาดทั่วไป พบว่ามีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวเชิงซ้อนน้อยกว่าน้ำมันปลาทะเล โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ที่มีน้อยกว่าน้ำมันปลาทะเลมาก แต่พบปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวกลุ่มโอเมก้า-9 (กรดโอเลอิก) ในน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดมีปริมาณสูงกว่าน้ำมันปลาทะเล ถึง 4 เท่า ซึ่งกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-9 ในน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด ปลาบึกสยาม และน้ำมันปลาทะเล มีค่าที่ 43.35, 46.69 และ 11.24 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ตามตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม (FFO) น้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาบึกสยาม (BFO) เทียบกับน้ำมันปลาทะเล (MFO)

Fatty acid composition g/ 100 g	FFO	BFO	MFO
Saturated fatty acids	37.99	39.52	35.27
Unsaturated fatty acids	62.01	60.48	64.73
Monounsaturated fatty acids	48.43	50.51	23.78
oleic acid (C18:1n9c)	43.35	46.69	11.24
myristoleic acid (C14:1)	0.02	0.00	0.06
palmitoleic acid (C16:1n7)	3.34	1.92	10.85
cis-11-eicosenoic acid (C20:1n11)	1.35	1.01	0.92
erucic acid (C22:1n9)	0.12	0.00	0.17
nervonic acid (C24:1n9)	0.06	0.00	0.54
pentadecenoic acid (C15:1n10)	0.00	0.07	0.00
Trans -9-Elaidic acid (C18:1n9t)	0.19	0.82	0.00
Polyunsaturated fatty acids	13.58	9.97	40.95
<b>α</b> -linolenic acid (C18:3n3)	0.75	0.00	0.84
eicosapentaenoic acid (C20: 5n3)	0.09	0.00	20.98
docosahexaenoic acid (C22:6n3)	0.29	0.00	12.25
<b>γ</b> -linolenic acid (C18:3n6)	0.14	0.00	0.34
linoleic acid (C18:2n6)	10.47	9.17	4.48
eicosadienoic acid (C20:2)	0.65	0.32	0.53
eicosatrienoic acid (C20: 3n6)	0.72	0.21	0.21
eicosatrienoic acid (C20:3n3)	0.08	0.00	0.09
arachidonic acid (C20: 4n6)	0.39	0.00	1.23
trans-linolelaidic acid (C18:2n6t)	0.00	0.27	0.00
Omega-3	1.05	0.00	34.15
Omega-6	11.72	9.38	6.24
Omega-9	43.35	46.69	11.24

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) และน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO) น้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิดที่สกัดได้มีลักษณะที่ใสโปร่งแสง จากการตรวจหาค่าเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นค่าที่ใช้การวัดอัตราการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นหืน (rancidity) โดยค่ายิ่งต่ำจะสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่มีกลิ่นหืน และสีของน้ำมันไม่มีการเปลี่ยนแปลง น้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) และน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO) มีค่าเปอร์ออกไซด์ 4.32 และ 19.91 mEq/kg ตามลำดับ โดยค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสม (FFO) อยู่ในช่วงที่องค์การอาหารและยา (อย.) กำหนดคือมีค่าไม่เกิน 10 mEq/kg ส่วนค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO) อยู่ในเกณฑ์คุณภาพน้ำมันปลาดีที่รายงานโดย Bimbo (1998) ที่อ้างอิงถึงเกณฑ์มาตรฐานที่แนะนำของค่าเปอร์ออกไซด์อยู่ที่ช่วง 3-20 mEq/kg และจากการทดสอบค่าสะaponนิฟิเคชัน (Saponification number) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าน้ำมันมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมากหรือน้อย เป็นค่าที่ใช้ขนาดโมเลกุล หรือน้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ หากน้ำมันที่มีค่าสะaponนิฟิเคชันสูง แสดงว่ากรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมาก จึงมีจำนวนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ต่อหน่วยน้ำหนักเป็นจำนวนมาก ดังนั้นจึงต้องใช้ต่างเป็นจำนวนมากในการไฮโดรไลซ์ ทำนองเดียวกันถ้าค่าสะaponนิฟิเคชันต่ำ แสดงว่ากรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์มีน้ำหนักโมเลกุลมาก จึงมีจำนวนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ ต่อหน่วยน้ำหนักเป็นจำนวนน้อย ทำให้ใช้ต่างน้อยในการทำปฏิกิริยา (พิมพ์เพ็ญ, 2562) พบว่าน้ำมันปลาปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) และน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO) มีค่าสะaponนิฟิเคชัน 196.30 และ 209.40 mgKOH /g ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของน้ำมัน

จากการทดสอบน้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิดมีค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value) และค่าสะaponนิฟิเคชัน (Saponification number) อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนดโดยแสดงค่าในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สมบัติทางเคมีของน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม (FFO) และน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาบึกสยาม (BFO)

Fish Oil	Saponification number (mgKOH /g)	Peroxide value (mEq/kg)
FFO	196.30	4.32
BFO	209.40	19.91

การทดสอบการปนเปื้อนโลหะหนักของน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม (FFO) และน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาบึกสยาม (BFO) พบว่า FFO มีการปนเปื้อนสาร Cu < 0.50 mg/kg และพบสาร Pb < 0.05 mg/kg ตามลำดับ ส่วน BFO พบการปนเปื้อนสาร Pb < 0.05 mg/kg ซึ่งปริมาณโลหะหนักที่พบนี้มีปริมาณเล็กน้อยและอยู่ในเกณฑ์ของ FAO/WHO ที่กำหนดปริมาณโลหะหนักที่พบในน้ำมันปลาไม่เกิน 0.1 mg/kg ส่วนโลหะหนักประเภท Ar, Hg, Sn และ Zn ไม่พบการปนเปื้อนของสารดังกล่าวในน้ำมันปลาทั้งสองชนิด สำหรับการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม (FFO) และน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาบึกสยาม (BFO) พบว่าทั้ง FFO และ BFO ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella species* แต่มีการพบเชื้อ *Escherichia coli* < 10 CFU/ g ซึ่งพบน้อยมากอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย โดยแสดงผลตามตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบการปนเปื้อนโลหะหนักและการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) น้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO)

Oil	Ar (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Hg (mg/kg)	Sn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	<i>E. coli</i> (CFU/ g)	<i>Salmonella</i> (in 25g)
FFO	Not detected	< 0.50	< 0.050	Not detected	Not detected	Not detected	< 10	Not detected
BFO	Not detected	Not detected	< 0.050	Not detected	Not detected	Not detected	< 10	Not detected

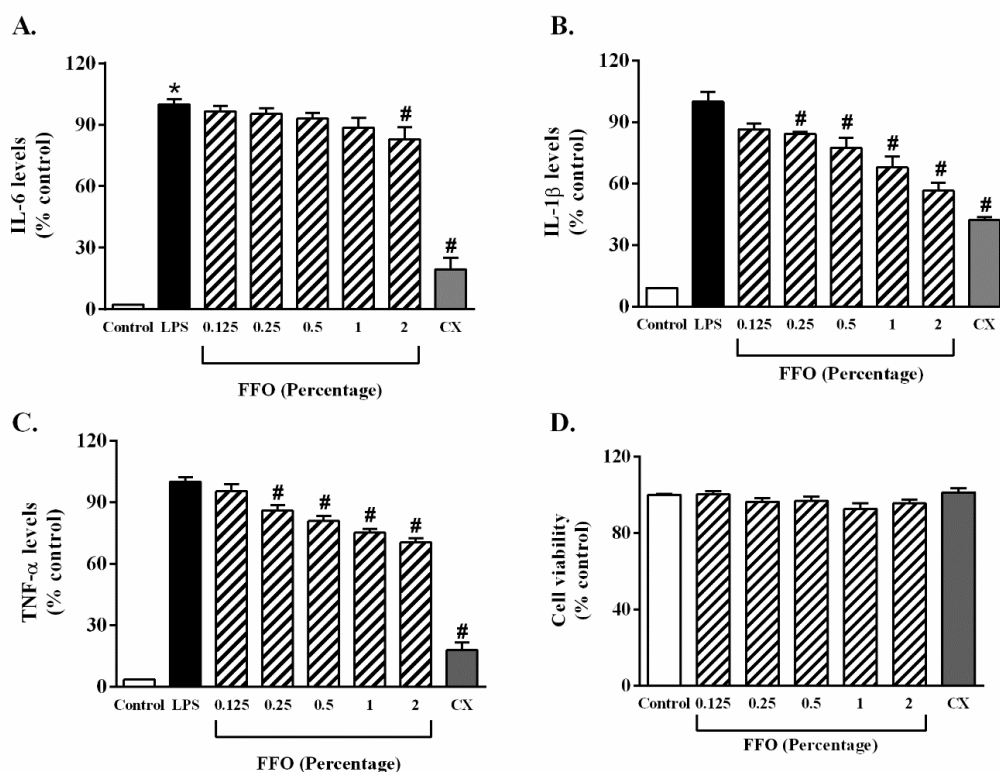
**การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย  
ของน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืด**

**1. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบและความเป็นพิษของน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืดต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)**

การศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืด (FFO) ต่อปริมาณของสารก่ออักเสบภายในเซลล์ 3 ชนิด ได้แก่ Interleukin 6 (IL-6) , Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) และ Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) และความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังแสดงในภาพที่ 13 พบว่าสารก่ออักเสบ Lipopolysaccharide (LPS) ทำให้เซลล์มาโครฟาจมีปริมาณสารก่ออักเสบชนิด IL-6 เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อทำการให้น้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืด (FFO) พบว่า FFO ที่ความเข้มข้น 2% มีฤทธิ์ทำให้ปริมาณสารก่ออักเสบชนิด IL-6 ในเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารก่ออักเสบ LPS แต่เพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับยาต้านการอักเสบ celecoxib (CX) (ภาพที่ 18A)

ผลของน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืด (FFO) ต่อปริมาณของสารก่ออักเสบชนิด Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) พบว่าสารก่ออักเสบ Lipopolysaccharide (LPS) ทำให้เซลล์มาโครฟาจมีปริมาณสารก่ออักเสบชนิด Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อทำการให้น้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืด (FFO) พบว่า FFO ที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1 และ 2% มีฤทธิ์ทำให้ปริมาณสารก่ออักเสบชนิด Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ในเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารก่ออักเสบ LPS แต่เพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับยาต้านอักเสบ CX (ภาพที่ 18B)

ผลของน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืด (FFO) ต่อปริมาณของสารก่ออักเสบชนิด Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) พบว่า สารก่ออักเสบ Lipopolysaccharide (LPS) ทำให้เซลล์มาโครฟาจมีปริมาณสารก่ออักเสบชนิด TNF- $\alpha$  เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อทำการให้น้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืด (FFO) พบว่า FFO ที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5, 1 และ 2% มีฤทธิ์ทำให้ปริมาณสารก่ออักเสบชนิด TNF- $\alpha$  ในเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารก่ออักเสบ LPS แต่เพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับยาต้านอักเสบ CX (ภาพที่ 18 C) นอกจากนี้ผลการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืด (FFO) ต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืด (FFO) ที่ความเข้มข้น 0.125 - 2 % และยาต้านอักเสบ (Celecoxib; CX) ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (ภาพที่ 18D)



ภาพที่ 18 การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบและความเป็นพิษของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสม น้ำจืดต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

Data are presented as the mean  $\pm$  standard error of the mean (n=5),

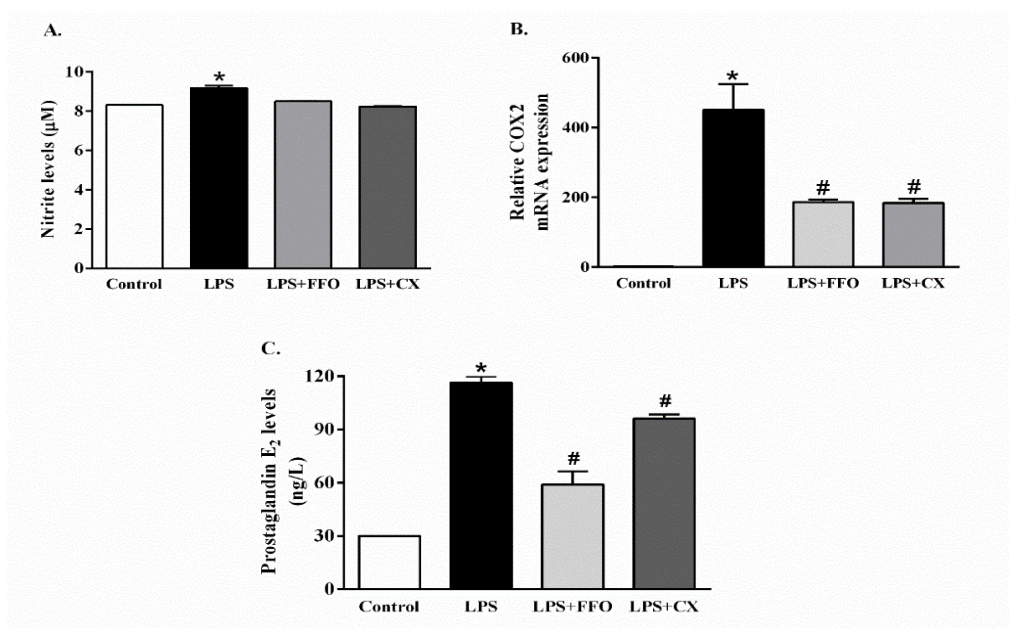
p<0.05 vs. control; p<0.05 vs. LPS. LPS, lipopolysaccharide;

FFO, freshwater hybrid catfish oil; IL, interleukin; TNF, tumor necrosis factor

## 2. ผลของ FFO ต่อการยับยั้งการสร้าง prostaglandin E2, nitric oxide, และการแสดงออกของ mRNA ของ COX-2

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง NO ของสารทดสอบหลังจาก 24 ชั่วโมงที่ RAW 264.7 ถูกกระตุ้นการสร้าง NO ด้วย LPS พบว่า FFO สามารถลดการสร้าง NO เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับเฉพาะ LPS เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 19A) และจากการศึกษาการแสดงออกของยีน COX-2 โดยตรวจสอบการสังเคราะห์ mRNA ที่เซลล์สร้างขึ้นภายในด้วยวิธี RT-PCR เฉพาะเลี้ยงเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7) ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS อย่างเดียว หรือได้รับ LPS พร้อมกับ FFO หรือได้รับ LPS พร้อม celecoxib (CX) เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการแสดงออกของ mRNA ของยีน COX-2 ในเซลล์แต่ละกลุ่ม ผลการทดลองพบว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้กระตุ้นด้วยสาร LPS (unstimulated RAW 264.7 cells) ไม่พบการแสดงออกของ COX-2 mRNA

ในขณะเดียวกันเซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสาร LPS อย่างเดียว พบว่ามีการสังเคราะห์ COX-2 mRNA ในปริมาณสูง จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบของ FFO พบว่าสามารถยับยั้งการสังเคราะห์ COX-2 mRNA ในเซลล์มาโครฟาจได้อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 19B) และในขณะเดียวกัน FFO ยังมีผลยับยั้ง prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>) ในเซลล์มาโครฟาจได้อย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 19C)



ภาพที่ 19 การทดสอบฤทธิ์ของ FFO ลดการสร้าง NO และการแสดงออกของ mRNA ของ COX-2 และ PGE<sub>2</sub>

Data are presented as the mean  $\pm$  standard error of the mean (n=5).

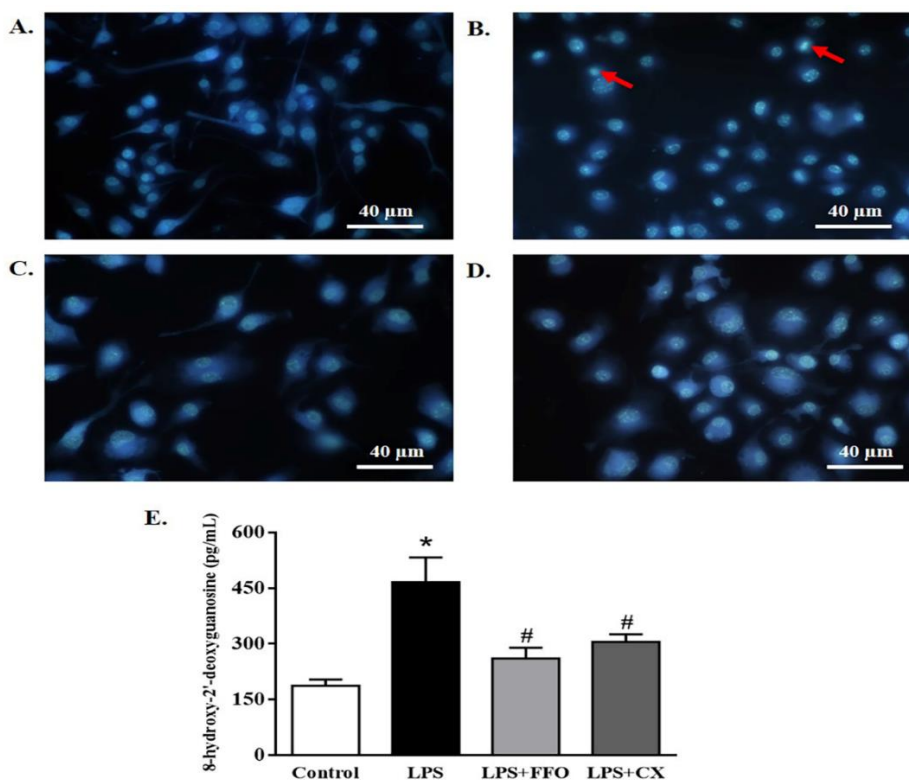
p<0.05 vs. control; p<0.05 vs. LPS. FFO, freshwater hybrid catfish oil; NO, nitric oxide;

COX-2, cyclooxygenase-2; PGE<sub>2</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub>; LPS, lipopolysaccharide

### 3. ผลของ FFO ต่อการป้องกันการทำลาย DNA (DNA damage)

การศึกษาฤทธิ์ของ FFO ต่อการยับยั้งการตายของเซลล์และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์มาโครฟาจ RAW264.7 ผลการศึกษาพบว่าเซลล์มาโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS มีผลเพิ่มอัตราการตายของเซลล์ (cell apoptosis) ประเมินจากการพบนิวเคลียสของเซลล์แตกออกเป็นส่วนตัวเล็ก ๆ (nuclear fragmentation) การเกาะกลุ่มของโครมาติน (chromatin condensation) และพบลักษณะของเซลล์ที่ตายแล้ว (ภาพที่ 20B) อย่างไรก็ตามในเซลล์ที่ได้รับ FFO และ CX ไม่พบภาวะการทำลายของ DNA (ภาพที่ 20 C และ D) นอกจากนี้จากการศึกษาผลของ FFO ที่มีต่อการป้องกันการทำลายของ DNA พบว่าเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS จะมีสาร 8-OHdG เพิ่มสูงขึ้น

ซึ่ง 8-OHdG เป็นสารบ่งชี้ว่ามีการทำลายของ DNA จากภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ในขณะที่เซลล์ที่ได้รับ LPS ร่วมกับ FFO มีค่า 8-OHdG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับเซลล์ที่ได้รับ LPS ร่วมกับ CX (ภาพที่ 20 E) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า FFO มีผลในการป้องกันการทำลาย DNA ของเซลล์ (DNA damage)



ภาพที่ 20 ฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์ (Cytoprotective effect) ของ FFO

Data are presented as the mean  $\pm$  standard error of the mean (n=5).

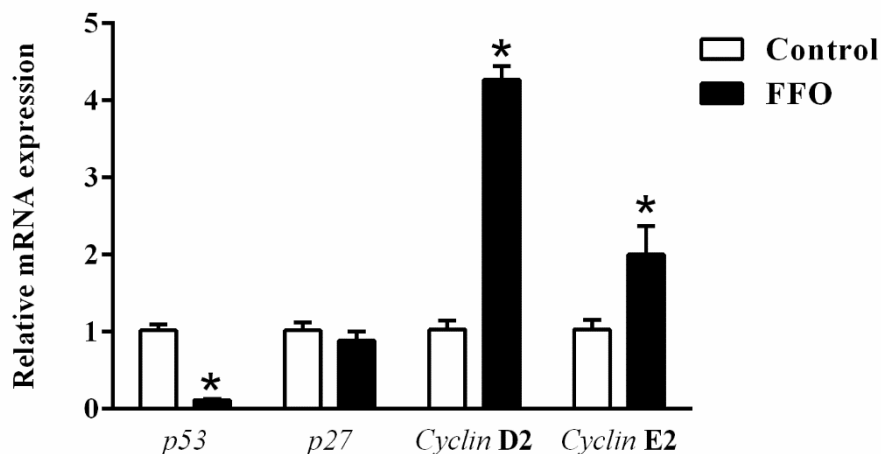
p<0.05 vs. control; p<0.05 vs. LPS. FFO, freshwater hybrid catfish oil;

LPS, lipopolysaccharide; CX, celecoxib

#### 4. ผลของ FFO ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในการควบคุมวัฏจักรของเซลล์

การศึกษาถึงผลของ FFO ในการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในเซลล์ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า FFO ที่ความเข้มข้น 2% มีฤทธิ์ลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ (cell cycle inhibitor) ได้แก่ cellular tumor antigen p53 (p53) และ cyclin-dependent kinase inhibitor p27 (p27) นอกจากนี้ยังพบอีกด้วยว่า FFO ที่ความเข้มข้น 2% มีผลเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์ (cell cycle

inducer) ดังแสดงในภาพที่ 21 ดังนั้นจึงสามารถบ่งบอกได้ว่า FFO มีคุณสมบัติในการเพิ่มความต้านทานของเซลล์



ภาพที่ 21 ผลของ FFO ต่อกระบวนการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันภายในเซลล์มาโครฟาจ (RAW 264.7)

โดยใช้ FFO ที่ความเข้มข้น 2 %  $p < 0.05$  เทียบกับกลุ่มควบคุม

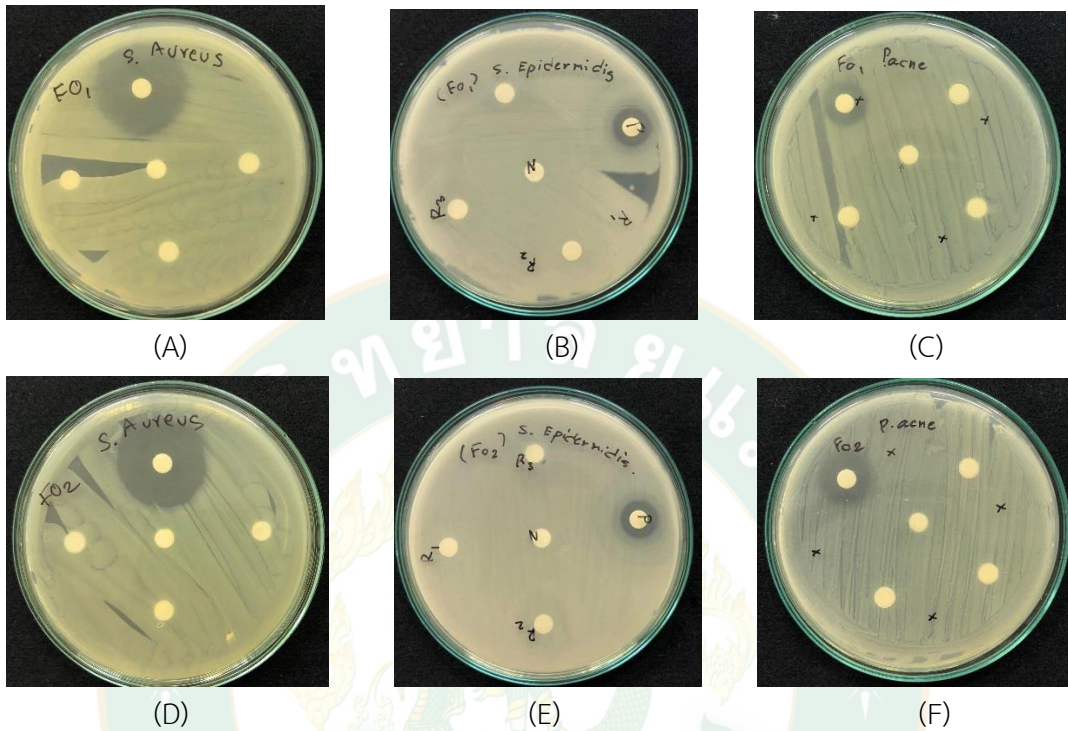
Data are presented as the mean  $\pm$  standard error of the mean (n=5).

$p < 0.05$  vs. control. FFO, freshwater hybrid catfish oil

##### 5. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antimicrobial activity)

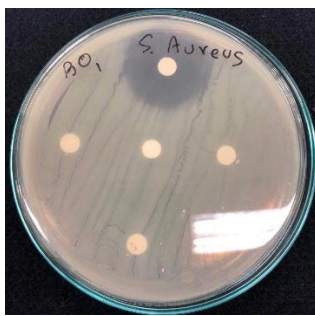
การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) และน้ำมันปลาจากปลากัดสยาม (BFO) ด้วยการทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ด้วยวิธี Disc diffusion assay โดยการเจือจาง FFO ด้วยตัวทำละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) 1:1 (V/V) เตรียมเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดที่นำมาทดสอบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) และ *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) (ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียมาจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้) นำมาปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland standard ( $10^8$  CFU /ml) และใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดนำมาป้ายลงบนผิวหน้าอาหาร Nutrient agar (NA) ใช้ DMSO เป็น negative control และใช้ Tetracycline ความเข้มข้น 25 mg/ml เป็น positive control นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนจานอาหารที่ทดสอบเชื้อ *P. acnes* นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดบริเวณ โชนใสรอบ ๆ paper disc (inhibition zone) (Lorian, 1996

อ้างอิงใน สิตา, 2551) ผลการทดสอบพบว่าน้ำมันปลา FFO และ BFO ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งฤทธิ์ของแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *P. acnes* ตามภาพที่ 22 และ 23

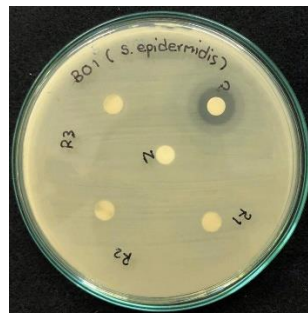


ภาพที่ 22 ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO)

- (A) *S. aureus*
- (B) *S. epidermidis*
- (C) *P. acnes*
- (D) *S. aureus*
- (E) *S. epidermidis* และ
- (F) *P. acnes*



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



(F)

ภาพที่ 23 ทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO)

(A) *S. aureus*

(B) *S. epidermidis*

(C) *P. acnes*

(D) *S. aureus*

(E) *S. epidermidis* และ

(F) *P. acnes*

การศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีภาวะเสี่ยง  
ของเมตาบอลิกซินโดรม

1. ลักษณะทั่วไป ลักษณะทางคลินิก และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะเมตาบอลิกซินโดรม  
ของกลุ่มตัวอย่างก่อนเริ่มเข้าโครงการ

ตารางที่ 7 ลักษณะทั่วไป ลักษณะทางคลินิก และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะเมตาบอลิกซินโดรมของ  
กลุ่มตัวอย่างก่อนเริ่มเข้าโครงการ

ข้อมูลทั่วไป	จำนวนคน	ร้อยละ
เพศ		
ชาย	18	54.55
หญิง	15	45.45
อายุ		
30-40 ปี	10	30.30
41-50 ปี	16	48.49
51 ปี ขึ้นไป	7	21.21
ดัชนีมวลกาย		
18.50 – 22.90 กก./ม. <sup>2</sup> น้ำหนักปกติ	8	24.24
23.00 – 24.90 กก./ม. <sup>2</sup> น้ำหนักเกิน	8	24.24
25.00 – 29.90 กก./ม. <sup>2</sup> อ้วนระดับ 1	10	30.30
30.00 กก./ม. <sup>2</sup> ขึ้นไป อ้วนระดับ 2	7	21.22
เส้นรอบเอว		
ชาย		
มากกว่าหรือเท่ากับ 90 เซนติเมตร	10	30.31
น้อยกว่า 90 เซนติเมตร	8	24.24
หญิง		
มากกว่าหรือเท่ากับ 80 เซนติเมตร	11	33.33
น้อยกว่า 80 เซนติเมตร	4	12.12

ลักษณะของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามข้อมูลส่วนบุคคล กลุ่มตัวอย่างจำนวน 33 คน ส่วนใหญ่เป็นเพศชาย ร้อยละ 54.55 เพศหญิง ร้อยละ 45.45 มีอายุระหว่าง 41-50 ปี ร้อยละ 48.49 ลักษณะของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามภาวะสุขภาพ มีดัชนีมวลกายมากกว่าหรือเท่ากับ  $23.0 \text{ kg/m}^2$  จำนวน 25 คน คิดเป็นร้อยละ 75.76 และดัชนีมวลกายน้อยกว่า  $23.0 \text{ kg/m}^2$  จำนวน 8 คน คิดเป็นร้อยละ 24.24 กลุ่มตัวอย่างชายส่วนใหญ่มีเส้นรอบเอวมมากกว่าหรือเท่ากับ 90 เซนติเมตร จำนวน 10 คน คิดเป็นร้อยละ 30.31 และมีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 90 เซนติเมตร จำนวน 8 คน คิดเป็นร้อยละ 24.24 สำหรับกลุ่มตัวอย่างหญิงส่วนใหญ่มีเส้นรอบเอวมมากกว่าหรือเท่ากับ 80 เซนติเมตร จำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 33.33 มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 80 เซนติเมตร จำนวน 4 คน คิดเป็นร้อยละ 12.12

## 2. การเปรียบเทียบดัชนีมวลกาย เส้นรอบเอว ความดันโลหิตของอาสาสมัครก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

หลังจากที่อาสาสมัครจำนวน 33 คนรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหมึกปลาค็อด 1 กรัม 3 ครั้งต่อวันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าพารามิเตอร์ที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ น้ำหนัก (BW) ค่าดัชนีมวลกาย (BMI) เส้นรอบเอว (WC) ความดันซิสโตลิก (Systolic BP) และความดันไดแอสโตลิก (Diastolic BP) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตามตารางที่ 8

**ตารางที่ 8** การเปรียบเทียบน้ำหนัก ดัชนีมวลกาย เส้นรอบเอว ความดันโลหิตของอาสาสมัครทั้งหมดก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

Metabolic parameters	Basal	Final
Body weight (kg)	$71.01 \pm 19.25^a$	$69.28 \pm 18.55^b$
BMI ( $\text{kg/m}^2$ )	$26.62 \pm 5.99^a$	$25.96 \pm 5.73^b$
Waist circumference (cm)	$89.62 \pm 12.40^a$	$86.75 \pm 11.80^b$
Systolic BP (mmHg)	$130.30 \pm 19.95^a$	$126.27 \pm 17.00^b$
Diastolic BP (mmHg)	$85.06 \pm 13.08^a$	$82.75 \pm 11.60^b$

Data are presented as the mean  $\pm$  SD (n=33). BMI: body mass index.

Paired t-test was performed to compare differences in time (before and after supplementation). p-value  $< 0.05$  was considered statistically significant, marked in bold numbers.

### 3. การเปรียบเทียบค่าไขมันในเลือด ค่าน้ำตาลในเลือด การทำงานของตับและไตและ ค่าเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์ของกลุ่มตัวอย่างก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

หลังจากที่อาสาสมัครทั้งหมดจำนวน 33 คน รับประทานน้ำมันปลา น้ำจืดจากปลาหนึ่ง  
ลูกผสมเป็นเวลา 12 สัปดาห์พบว่าค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม  
ได้แก่ ค่าไขมัน HDL-Cholesterol มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และค่าน้ำตาลใน  
เลือด (glucose) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ค่าน้ำตาลใน  
เลือดยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ สำหรับค่า LDL-Cholesterol มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
( $p < 0.05$ ) และค่าTriglycerides มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ  
ส่วนค่าTotal Cholesterol มีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติตาม  
ตารางที่ 9

**ตารางที่ 9** ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมของอาสาสมัคร  
ทั้งหมดก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

Variables	Basal	Final	Normal range
Glucose (mg/dL)	<b>92.27±13.83<sup>a</sup></b>	<b>97.69±20.69<sup>b</sup></b>	70-100
Total cholesterol(mg/dL)	234.42±32.33 <sup>a</sup>	235.60±30.15 <sup>a</sup>	< 200
Triglycerides (mg/dL)	147.24±59.23 <sup>a</sup>	145.75±69.71 <sup>a</sup>	36-165
HDL-Cholesterol (mg/dL)	<b>52.30±14.15<sup>a</sup></b>	<b>63.27±14.76<sup>b</sup></b>	M 26-73, F 33- 75
LDL-Cholesterol (mg/dL)	<b>150.52±28.30<sup>a</sup></b>	<b>141.64±27.55<sup>b</sup></b>	< 130

Data are presented as the mean  $\pm$  SD (n=33).

Paired t-test was used for metabolic parameter variables. p-value  $< 0.05$  was considered statistically significant, marked in bold numbers.

ได้แยกวิเคราะห์รายกลุ่มเฉพาะเพื่อเปรียบเทียบผลของการเปลี่ยนแปลงค่าสารเคมีในเลือดที่  
เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมของอาสาสมัครก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ  
โดยแยกตามเกณฑ์ของค่าเส้นรอบเอว (Waist circumference, WC) ในเพศชายและหญิง  
โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ดังต่อไปนี้

1. กลุ่มอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวมมากกว่าหรือเท่ากับ 90 เซนติเมตร
2. กลุ่มอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 90 เซนติเมตร
3. กลุ่มอาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวมมากกว่าหรือเท่ากับ 80 เซนติเมตร
4. กลุ่มอาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 80 เซนติเมตร

และแยกตามเกณฑ์ของค่าดัชนีมวลกาย (Body Mass Index, BMI) ของอาสาสมัคร โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ดังต่อไปนี้

1. กลุ่มอาสาสมัครที่มีค่าดัชนีมวลกายมากกว่าหรือเท่ากับ 23.0 kg/m<sup>2</sup>
2. กลุ่มอาสาสมัครที่มีค่าดัชนีมวลกายน้อยกว่า 23.0 kg/m<sup>2</sup>

กลุ่มอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวมมากกว่าหรือเท่ากับ 90 เซนติเมตรจำนวน 15 คน พบว่า หลังจากที่ได้รับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ ค่าไขมัน HDL-Cholesterol มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และค่าน้ำตาลในเลือด (glucose) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามค่าน้ำตาลในเลือดยังอยู่ในเกณฑ์ปกติสำหรับค่า Total cholesterol เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ส่วนค่า Triglycerides และ LDL-Cholesterol และมีการลดลงเล็กน้อยแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ ตามตารางที่ 10

**ตารางที่ 10** ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมของอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวมมากกว่าหรือเท่ากับ 90 เซนติเมตรก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

Variables	Basal	Final	Normal range
Glucose (mg/dL)	<b>92.27±13.83<sup>a</sup></b>	<b>97.69±20.69<sup>b</sup></b>	70-100
Total cholesterol(mg/dL)	<b>230.30±34.94<sup>a</sup></b>	<b>237.70±33.12<sup>b</sup></b>	< 200
Triglycerides (mg/dL)	189.40±56.40 <sup>a</sup>	187.00±92.19 <sup>a</sup>	36-165
HDL-Cholesterol (mg/dL)	<b>46.40±12.69<sup>a</sup></b>	<b>56.70±11.61<sup>b</sup></b>	M 26-73, F 33-75
LDL-Cholesterol (mg/dL)	145.20±31.37 <sup>a</sup>	144.20±31.09 <sup>a</sup>	< 130

Data are presented as the mean ± SD (n=10). Paired t-test was used for metabolic parameter variables. p-value < 0.05 was considered statistically significant, marked in bold numbers.

กลุ่มอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 90 เซนติเมตรจำนวน 8 คน หลังจากที่ได้รับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ ค่าไขมัน HDL-Cholesterol มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และค่า LDL-Cholesterol มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สำหรับค่า Glucose ในเลือดมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่า Total Cholesterol และ Triglycerides มีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ ตามตารางที่ 11

**ตารางที่ 11** ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมของอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 90 เซนติเมตรก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

Variables	Basal	Final	Normal range
Glucose (mg/dL)	92.00±5.86 <sup>a</sup>	91.75±5.87 <sup>a</sup>	70-100
Total cholesterol (mg/dL)	230.30±34.94 <sup>a</sup>	237.70±33.12 <sup>a</sup>	< 200
Triglycerides (mg/dL)	129.37±48.16 <sup>a</sup>	136.25±57.77 <sup>a</sup>	36-165
HDL-Cholesterol (mg/dL)	<b>49.37±11.36<sup>a</sup></b>	<b>61.00±9.52<sup>b</sup></b>	M 26-73, F 33-75
LDL-Cholesterol (mg/dL)	<b>159.25±23.86<sup>a</sup></b>	<b>135.38±23.89<sup>a</sup></b>	< 130

Data are presented as the mean ± SD (n=8).

Paired t-test was used for metabolic parameter variables. p-value < 0.05 was considered statistically significant, marked in bold numbers.

กลุ่มอาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวมากกว่าหรือเท่ากับ 80 เซนติเมตรจำนวน 11 คน หลังจากที่ได้รับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ ค่าไขมัน HDL-Cholesterol มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ส่วน ค่า LDL-Cholesterol มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับกับค่า Glucose ในเลือดซึ่งมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่า Total Cholesterol และ Triglycerides มีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ ตามตารางที่ 12

**ตารางที่ 12** ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมของอาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวมากกว่าหรือเท่ากับ 80 เซนติเมตรก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

Variables	Basal	Final	Normal range
Glucose (mg/dL)	92.00±5.86 <sup>a</sup>	91.75±5.87 <sup>a</sup>	70-100
Total cholesterol(mg/dL)	228.18±21.37 <sup>a</sup>	230.45±30.39 <sup>a</sup>	< 200
Triglycerides (mg/dL)	128.36±52.44 <sup>a</sup>	133.73±50.25 <sup>a</sup>	36-165
<b>HDL-Cholesterol (mg/dL)</b>	<b>53.63±13.16<sup>a</sup></b>	<b>63.91±14.72<sup>b</sup></b>	M 26-73, F 33-75
LDL-Cholesterol (mg/dL)	145.09±19.98 <sup>a</sup>	138.09±25.30 <sup>a</sup>	< 130

Data are presented as the mean ± SD (n=11).

Paired t-test was used for metabolic parameter variables. p-value < 0.05 was considered statistically significant, marked in bold numbers.

กลุ่มอาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 80 เซนติเมตรจำนวน 4 คน หลังจากที่ได้รับประทานน้ำมันปลา น้ำจืดจากปลาหมึกผสม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ ค่าไขมัน HDL-Cholesterol มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ส่วน ค่า LDL-Cholesterol มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับกับค่า Triglycerides ซึ่งมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับค่า Total Cholesterol มีการเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับกับค่า Glucose ในเลือดมีค่าเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติและยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ ตามตารางที่ 13

**ตารางที่ 13** ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมของอาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 80 เซนติเมตรก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

Variables	Basal	Final	Normal range
Glucose (mg/dL)	88.00±6.16 <sup>a</sup>	94.50±7.54 <sup>a</sup>	70-100
Total cholesterol(mg/dL)	261.75.18±53.84 <sup>a</sup>	263.00±29.13 <sup>a</sup>	< 200
Triglycerides (mg/dL)	129.50±69.27 <sup>a</sup>	94.75±16.76 <sup>a</sup>	36-165
<b>HDL-Cholesterol (mg/dL)</b>	<b>69.25±15.63<sup>a</sup></b>	<b>82.50±18.23<sup>b</sup></b>	M 26-73, F 33-75
LDL-Cholesterol (mg/dL)	161.25±48.69 <sup>a</sup>	157.50±34.95 <sup>a</sup>	< 130

Data are presented as the mean ± SD (n=4).

Paired t-test was used for metabolic parameter variables. p-value < 0.05 was considered statistically significant, marked in bold numbers.

ถ้าวิเคราะห์เฉพาะกลุ่มอาสาสมัครเพศชายและหญิงที่มีค่าดัชนีมวลกายมากกว่าหรือเท่ากับ 23 kg/m<sup>2</sup> จำนวน 25 คน หลังจากที่ได้รับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ ค่าไขมัน HDL-Cholesterol มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05) และค่าน้ำตาลในเลือด (glucose) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05) เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามค่าน้ำตาลในเลือดยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ สำหรับค่า LDL-C มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05) และค่าTriglycerides และ Total Cholesterol มีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ ตามตารางที่ 14

**ตารางที่ 14** ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมของอาสาสมัครเพศชายและหญิงที่มีค่าดัชนีมวลกายมากกว่าหรือเท่ากับ 23 kg/m<sup>2</sup> ก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

Variables	Basal	Final	Normal range
Glucose (mg/dL)	<b>93.28±15.51<sup>a</sup></b>	<b>98.84±23.46<sup>b</sup></b>	70-100
Total cholesterol(mg/dL)	229.96±28.96 <sup>a</sup>	231.60±29.95 <sup>a</sup>	< 200
Triglycerides (mg/dL)	152.60±69.27 <sup>a</sup>	154.88±75.19 <sup>a</sup>	36-165
HDL-Cholesterol (mg/dL)	<b>50.64±13.58<sup>a</sup></b>	<b>61.48±13.91<sup>b</sup></b>	M 26-73, F 33-75
LDL-Cholesterol (mg/dL)	<b>146.84±26.10<sup>a</sup></b>	<b>138.20±27.49<sup>b</sup></b>	< 130

Data are presented as the mean ± SD (n=25).

Paired t-test was used for metabolic parameter variables. p-value < 0.05 was considered statistically significant, marked in bold numbers.

สำหรับกลุ่มอาสาสมัครเพศชายและหญิงที่มีค่าดัชนีมวลกายน้อยกว่า 23 kg/m<sup>2</sup> จำนวน 4 คน หลังจากที่ได้รับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ ค่าไขมัน HDL-Cholesterol มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05) ส่วน ค่า LDL-Cholesterol มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับกับค่า Triglycerides และ Total Cholesterol ซึ่งมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับค่า Glucose ในเลือดมีค่าเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางนัยสำคัญทางสถิติและยังอยู่ในเกณฑ์ปกติตามตารางที่ 15

**ตารางที่ 15** ค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมของอาสาสมัครเพศชายและหญิงที่มีค่าดัชนีมวลกายน้อยกว่า 23 kg/m<sup>2</sup> ก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

Variables	Basal	Final	Normal range
Glucose (mg/dL)	89.13±5.89 <sup>a</sup>	94.13±7.24 <sup>a</sup>	70-100
Total cholesterol(mg/dL)	248.37±40.11 <sup>a</sup>	248.12±29.05 <sup>a</sup>	< 200
Triglycerides (mg/dL)	130.50±55.69 <sup>a</sup>	117.25±40.35 <sup>a</sup>	36-165
<b>HDL-Cholesterol (mg/dL)</b>	<b>57.50±15.52<sup>a</sup></b>	<b>68.88±16.85<sup>b</sup></b>	M 26-73, F 33-75
LDL-Cholesterol (mg/dL)	162.00±33.57 <sup>a</sup>	152.38±26.53 <sup>a</sup>	< 130

Data are presented as the mean ± SD (n=8).

Paired t-test was used for metabolic parameter variables. p-value < 0.05 was considered statistically significant, marked in bold numbers.

สำหรับผลต่อการทำงานของตับและไตนั้น หลังจากทีอาสาสมัครรับประทานน้ำมันปลา น้ำจืดจากปลาหมึกผสม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าค่าการทำงานของตับและสารที่แสดงถึงการทำงานของตับทุกค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ โดยค่าเอนไซม์ของตับชนิด SGOT มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งระดับของ SGOT จะพบสูงขึ้นหากเซลล์ตับได้รับบาดเจ็บหรือได้รับอันตราย เช่นเดียวกับการทำงานของไตพบว่า BUN และ Cr ซึ่งเป็นค่าแสดงการทำงานของไตอยู่ในเกณฑ์ปกติ ส่วนค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดหลังการรับประทานน้ำมันปลา น้ำจืดจากปลาหมึกผสมเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าค่าเม็ดเลือดอยู่ในเกณฑ์ปกติทุกค่า ทั้งนี้ค่าเกล็ดเลือด (platelet) ของอาสาสมัครหลังการทดลองมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และอยู่ในเกณฑ์ปกติ ตามตารางที่ 16 จากผลตรวจการทำงานของตับและค่าการทำงานของไตดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าการรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสม น้ำจืดไม่มีผลกระทบต่อหรือมีความเป็นพิษต่อการทำงานของตับและไต และไม่มีผลกระทบต่อการสร้างเกล็ดเลือด ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการแข็งตัวของเลือดของร่างกาย

**ตารางที่ 16** ค่าการทำงานของตับ การทำงานของไตและค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

Variables	Basal	Final	Normal range
<b>Liver function test</b>			
total protein (g/dL)	7.46±0.70 <sup>a</sup>	7.45±0.08 <sup>a</sup>	6.2 - 8.5
Albumin (g/dL)	4.35±0.04 <sup>a</sup>	4.55±0.04 <sup>a</sup>	3.5 - 5.3
Globulin (g/dL)	3.08±0.06 <sup>a</sup>	2.91±0.06 <sup>a</sup>	1.3 - 3.2
total bilirubin (mg/dL)	0.73±0.33 <sup>a</sup>	0.72±0.33 <sup>a</sup>	0.2 - 1.0
direct bilirubin (mg/dL)	0.27±0.13 <sup>a</sup>	0.27±0.14 <sup>a</sup>	0 - 0.5
SGPT (iu/L)	25.15±2.15 <sup>a</sup>	27.78±2.27 <sup>a</sup>	5 - 38
<b>SGOT(iu/L)</b>	<b>32.79±2.02<sup>a</sup></b>	<b>24.51±1.89<sup>b</sup></b>	<b>5 - 40</b>
<b>Kidney function</b>			
BUN (mg/dL)	12.72± 4.00 <sup>a</sup>	12.09±1.94 <sup>a</sup>	5 - 20
Cr (mg/dL)	1.04± 0.16 <sup>a</sup>	1.06±0.18 <sup>a</sup>	M 0.7-1.3, F 0.6-1.1
<b>Complete blood count</b>			
Hematocrit (%)	43.18±0.84 <sup>a</sup>	42.67±0.74 <sup>a</sup>	M 40 - 54, F 36 - 45
White blood cell (x10 <sup>3</sup> /ul)	6.87±0.26 <sup>a</sup>	8.39±0.19 <sup>a</sup>	4,500 - 10,000
<b>Platelet (x10<sup>3</sup>/ul)</b>	<b>221.45±9.90<sup>a</sup></b>	<b>265.48±9.11<sup>b</sup></b>	<b>150,000 - 450,000</b>
Red blood cell (x10 <sup>6</sup> /ul)	5.03 ±0.14 <sup>a</sup>	5.11±0.13 <sup>a</sup>	M 4.5-6.5, F 3.8 - 5.8

Data are presented as the mean ± SD (n=33).

Paired t-test was used for parametric variables. p-value < 0.05 was considered statistically significant, marked in bold numbers

## อภิปรายผล

### 1. ศึกษาเพื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดที่สกัดมาจากแหล่งที่มาของก้อนไขมันต่างกัน

นำก้อนไขมันในช่องท้องที่เป็นส่วนเหลือใช้จากอุตสาหกรรมการแปรรูปปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) และปลาบึกสยาม (BFO) มาสกัดเป็นน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด และศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันของน้ำมันปลาที่สกัดได้จากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดทั้งสองแหล่งเพาะเลี้ยง ได้แก่ 1) น้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) จากบริษัทไทยปังก้าฟาร์ม จังหวัดกาฬสินธุ์ และ 2) น้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO) จากศูนย์ความเป็นเลิศปลาบึก คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าในการสกัดน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมทั้งสองชนิด ก้อนไขมัน 1 กิโลกรัม สามารถสกัดและแยกน้ำมันปลาที่เป็นส่วนใสและไม่ใช่ที่อุณหภูมิห้องได้ปริมาตรร้อยละ 27 เมื่อนำไปตรวจหาชนิดและปริมาณของกรดไขมันเทียบกับน้ำมันปลาทะเลตามท้องตลาดทั่วไป พบว่ามีน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมทั้งสองชนิดมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวเชิงซ้อนน้อยกว่าน้ำมันปลาทะเล โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ที่มีน้อยกว่าน้ำมันปลาทะเลมาก แต่พบว่าปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) กลุ่มโอเมก้า-9 โดยเฉพาะกรดโอเลอิกในน้ำมันปลาน้ำจืดมีปริมาณสูงกว่าน้ำมันปลาทะเล (MFO) ถึง 4 เท่า ซึ่งกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-9 ในน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม ปลาบึกสยาม และน้ำมันปลาทะเล มีค่าที่ 43.35, 46.69 และ 11.24 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ โดยผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับสิทธิกร (2557) ที่พบว่าน้ำมันปลาที่สกัดจากก้อนไขมันในช่องท้องของปลาน้ำจืดมีสัดส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวในปริมาณใกล้เคียงกันประมาณ 45-50 % โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่สกัดได้ประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวชนิดกรดไขมันโอเมก้า-9 ประมาณ 44 % เช่นเดียวกับกับผลการศึกษาของธีรวัฒน์ และคณะ(2561) ที่พบว่าน้ำมันปลาน้ำจืดมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวใกล้เคียงกับน้ำมันปลาจากปลาทะเลที่จำหน่ายในท้องตลาดแต่มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนน้อยกว่าโดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวกลุ่มโอเมก้า-9 (กรดโอเลอิก) มีปริมาณที่สูงกว่าน้ำมันปลาจากปลาทะเลถึง 4 เท่า ทั้งนี้กรดไขมันโอเมก้า-9 (กรดโอเลอิก) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) ที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์จะทำให้ร่างกายตอบสนองต่อฮอร์โมน การติดเชื้อและกระตุ้นภูมิคุ้มกัน จากรายงานการวิจัยของ Krauss et al. (2006) พบว่าการให้ MUFA ช่วยสร้างไขมันดีในเลือด ลดความดันโลหิต ช่วยกระตุ้นความไวของอินซูลินและควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Mensink and Katan (1987) พบว่า MUFA ช่วยเพิ่มระดับไขมัน HDL-C ซึ่งเป็นไขมันดีในเลือด Keys et al. (1986) พบว่าการรับประทานอาหารที่มี MUFA สูงแทนอาหารที่มี SFA ช่วยลดการเกิดโรคเรื้อรังของชาวเมดิเตอร์เรเนียนได้ สอดคล้องกับ Piers et al. (2003) พบว่า

การรับประทานอาหารที่มี MUFA ทดแทนอาหารที่มี SFA สามารถช่วยลดน้ำหนักและไขมันในร่างกายได้ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Paniagua et al. (2007a) ที่พบว่า MUFA ช่วยเพิ่มอัตราการเผาผลาญไขมันและลดอัตราส่วนของไขมันบริเวณท้องและขาและช่วยลดการกระจายตัวของไขมันบริเวณกลางลำตัว มีรายงานวิจัยหลายชิ้นที่ระบุถึงผลของ MUFA ในการช่วยลดความดันโลหิต ช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ (Ferrara et al., 2000; Shah et al., 2007b) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Ros (2003) ที่พบว่ากรดไขมันโอเลอิกมีบทบาทสำคัญในการช่วยป้องกันภาวะออกซิเดชัน ช่วยปฏิกริยาออกซิเดชันของ LDL ช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และความดันโลหิตสูง เนื่องจากกรดไขมันโอเลอิกสามารถลดปริมาณไตรกลีเซอโรลและคอเลสเตอรอลในเลือดได้ ดังนั้นน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดทั้งสองชนิดซึ่งมีปริมาณ MUFA ปริมาณสูงกว่าน้ำมันปลาทะเลถึง 4 เท่า จึงมีประโยชน์ต่อสุขภาพในหลาย ๆ ด้าน

## 2. การทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบและความเป็นพิษของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7)

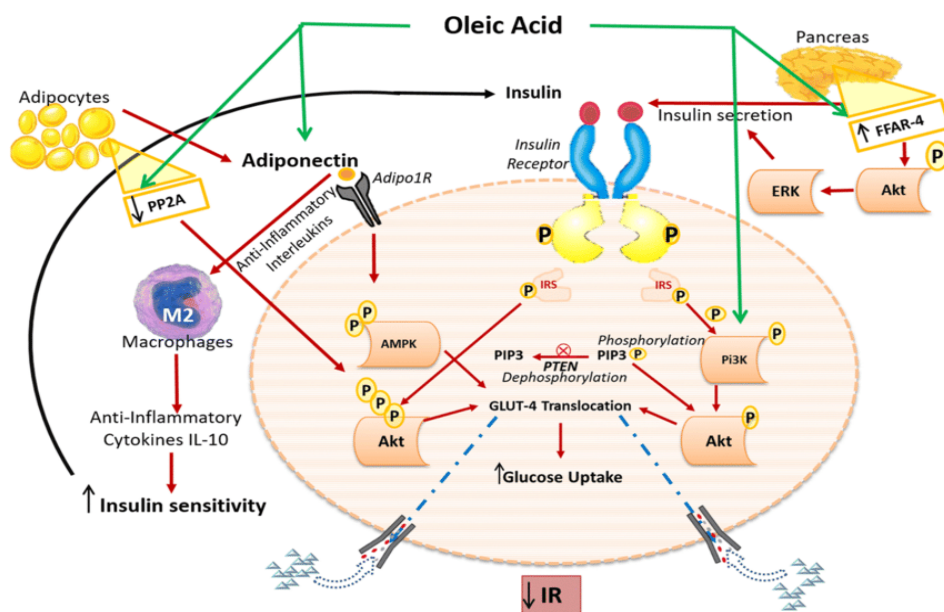
จากการศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) ต่อปริมาณของสารก่ออักเสบภายในเซลล์ 3 ชนิด ได้แก่ Interleukin 6 (IL-6) , Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) และ Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) และความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังแสดงในภาพที่ 14 พบว่าสารก่ออักเสบ Lipopolysaccharide (LPS) ทำให้เซลล์มาโครฟาจมีปริมาณสารก่ออักเสบชนิด IL-6, IL-1 $\beta$  และ TNF- $\alpha$  เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อทำการให้น้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) พบว่า FFO ที่ความเข้มข้น 2% มีฤทธิ์ทำให้ปริมาณสารก่ออักเสบชนิด IL-6, IL-1 $\beta$  และ TNF- $\alpha$  ในเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารก่ออักเสบ LPS แต่เพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับยาต้านอักเสบ Celecoxib (CX) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันปลาจากปลาหนังน้ำจืดลูกผสมซึ่งมีปริมาณของกรดไขมัน MUFA ปริมาณสูงมีฤทธิ์ในการลดสารก่อการอักเสบชนิด IL-6, IL-1 $\beta$  และ TNF- $\alpha$  ได้ นอกจากนี้จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจด้วยวิธี MTT assay ผลการทดสอบพบว่า FFO ที่ความเข้มข้น 0.125 -2% ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจโดย FFO ที่ความเข้มข้น 0.125 -2% ไม่มีผลทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) ลดลง เมื่อเปรียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับ FFO (ภาพที่ 13D) นอกจากนี้ FFO ยังมีผลยับยั้งการแสดงออกของยีน inducible nitric oxide synthase (iNOS) และ cyclooxygenase-2 (COX-2) ภายในเซลล์มาโครฟาจด้วย จากการศึกษผลของ FFO ในกระบวนการลดการอักเสบในระดับโมเลกุล (ภาพที่ 14A) เกี่ยวกับการแสดงออกของยีน COX-2 โดยตรวจสอบการสังเคราะห์ mRNA ที่เซลล์สร้างขึ้นภายในด้วยวิธี RT-PCR พบว่า FFO สามารถ

ยับยั้งการสังเคราะห์ COX-2 mRNA ในเซลล์มาโครฟาจได้อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 14B) และพบว่า FFO ที่ความเข้มข้น 2% มีฤทธิ์ทำให้สารสื่อกลางการอักเสบชนิด PG-E2 ในเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารก่ออักเสบ LPS แต่เพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับ ยาด้านอักเสบ CX จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า FFO มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง NO และ PGE2 และยับยั้งการแสดงออกของยีน iNOS และ COX-2 ได้ ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้มีความสำคัญใน การสร้าง NO และ PGE2 ที่เป็น inflammatory mediators และมีความสำคัญในกระบวนการ อักเสบ เนื่องจากในกระบวนการอักเสบพบว่า NO และ PGE2 จะถูกสร้างขึ้นในปริมาณสูงมากใน เซลล์ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบจาก LPS ใน เซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ ซึ่งกระบวนการอักเสบที่ เกิดขึ้นมีผลให้การทำงานของเอนไซม์ iNOS และ COX-2 เพิ่มขึ้น (เบญจมาศ, 2559) ดังนั้นจึง สามารถสรุปได้ว่า FFO มีฤทธิ์ในการต้านอักเสบในเซลล์ RAW 264.7 ได้ นอกจากนี้จากการศึกษาผล ของ FFO ที่มีต่อการป้องกันการทำลายของ DNA พบว่าเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS จะมีสาร 8-OHdG เพิ่มขึ้น ซึ่งสาร 8-OHdG เป็นสารบ่งชี้ว่ามีการทำลายของ DNA จากภาวะเครียด ออกซิเดชัน (oxidative stress) (Valavanidis et al., 2009) ในขณะที่เซลล์ RAW 264.7 ที่ได้รับ LPS ร่วมกับ FFO จะมีค่า 8-OHdG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกันกับเซลล์ที่ได้รับ LPS ร่วมกับ CX (ภาพที่ 15E) แสดงให้เห็นว่า FFO มีผลในการป้องกันการทำลาย DNA ของเซลล์ (DNA damage) ได้ และการศึกษาผลของ FFO ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์ พบว่า FFO ที่ความเข้มข้น 2% มีฤทธิ์ลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ (cell cycle inhibitor) ได้แก่ cellular tumor antigen p53 (p53) และ cyclin-dependent kinase inhibitor p27 (p27) นอกจากนี้ยังพบว่า FFO ที่ความเข้มข้น 2% มีผลเพิ่มการแสดงออก ของยีนที่เกี่ยวข้องในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์ (cell cycle inducer) อีกด้วย (ภาพที่ 16) ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า FFO มีคุณสมบัติในการป้องกันการทำลาย DNA ของเซลล์ เพิ่ม ความต้านทานของเซลล์ และช่วยลดการอักเสบในเซลล์ ซึ่งการอักเสบเป็นกระบวนการที่ร่างกาย ตอบสนองต่อการติดเชื้อจุลชีพ และสิ่งที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย อาการที่ปรากฏของการ อักเสบ คือ ปวด บวม แดง และร้อน (Mequanint et al., 2011) กระบวนการอักเสบประกอบด้วย การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด ทำให้เลือดมาเลี้ยงเพิ่มขึ้น มีการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวมายัง เนื้อเยื่อที่ถูกกระตุ้นเพิ่มมากขึ้นเพื่อกำจัดสิ่งเร้าที่ทำให้เกิดการอักเสบเหล่านี้ (Kumar et al., 2007) ในขณะที่มีปฏิกิริยาการอักเสบเกิดขึ้น ในเซลล์มาโครฟาจซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่งจะหลั่ง สารสื่อกลางในการอักเสบชนิดต่าง ๆ เช่น ไนตริก ออกไซด์ (nitric oxide) และพรอสตาแกลนดิน E2 (prostaglandins E2 ) และไซโตไคน์ (cytokine) เป็นต้น (Jung et al., 2009; van der Vliet et al., 2000) เพื่อช่วยในการกำจัดสิ่งรุกราน อย่างไรก็ตามการหลั่งสารสื่อกลางการอักเสบต่าง ๆ ใน ปริมาณมากเกินไปจะทำให้มีการทำลายเนื้อเยื่อ ปัจจุบันพบว่า การหลั่งสารสื่อกลางการอักเสบที่มาก

เกินไปหรือหลังเป็นระยะเวลาต่อเนื่องเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิวิทยาของโรคต่าง ๆ เช่น โรคกระดูกและลำไส้ โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (Rheumatoid arthritis) โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) โรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) ภาวะช็อคจากการติดเชื้อ (Septic shock) โรคเบาหวาน และโรคอักเสบต่าง ๆ (Coleman, 2001; Guzik et al., 2003; van der Vliet, 2000; สุรพล, 2559) การยับยั้งการหลั่งสารสื่อกลางการอักเสบ เช่น ไนตริกออกไซด์ และพรอสตาแกลนดิน E2 และไซโตไคน์ที่มากเกินไป เป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบได้ โดยไนตริกออกไซด์ (NO) เป็นสารชักนำให้เกิดการอักเสบชนิดหนึ่งซึ่งสร้างขึ้นมาจากการตอบสนองของเซลล์มาโครฟาจที่ถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) ในการเปลี่ยนกรดอะมิโน L-arginine, NADPH และออกซิเจนให้กลายเป็น L-citrulline และไนตริกออกไซด์ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณการสร้างและหลั่งไนตริกออกไซด์ที่มากเกินไปมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคต่าง ๆ ที่มีความเกี่ยวข้องกับการอักเสบในหลาย ๆ อวัยวะทั้งหัวใจ ปอด และไต เป็นต้น ดังนั้นประสิทธิภาพการยับยั้งการสร้างหรือหลั่งสารไนตริกออกไซด์จึงถือเป็นกลไกหนึ่งที่สามารถลดกระบวนการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคต่าง ๆ ดังกล่าวนี้ได้ โดยในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด ซึ่งมีปริมาณ MUFA สูงมีความสามารถในการต้านกระบวนการอักเสบผ่านการลดการหลั่งสารไนตริกออกไซด์ของเซลล์มาโครฟาจที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Gonçalves-de-Albuquerque et al. (2016) และ Gremmels et al. (2015) ที่พบว่าน้ำมันมะกอกมีกรดไขมันโอเมก้า-9 ปริมาณสูงซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) จากการศึกษาพบว่าทำให้กรดไขมันโอเมก้า -9 ในหนูที่มีภาวะติดเชื้อจะช่วยลดอาการทางคลินิก และเพิ่มอัตราการรอด ป้องกันภาวะบาดเจ็บของไตและตับ และสามารถลด ระดับของ non-esterified fatty acids (NEFA) ซึ่ง จะพบมากในภาวะที่มีการติดเชื้อรุนแรง และยังมีผลลดการสร้าง oxygen species (ROS)

สำหรับผู้ที่มีความเมตะบอลิกซินโดรมหรืออ้วนลงพุงนั้น จะมีการสะสมของไขมันที่เพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) ส่งผลให้มีการหลั่งสารบางอย่าง (derived cytokine) จากเนื้อเยื่อไขมันเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), CRP, TNF, IL-6, angiotensinogen, leptin, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) (Ansar and Ghosh, 2016; Rehman et al., 2020) นอกจากนี้เซลล์ไขมันในคนที่มีความอ้วนลงพุงหรือเมตาบอลิกซินโดรม จะมีการสร้างฮอโมนอะดิโปเนกทิน (adiponectin; ApN) ลดลง ซึ่งระดับ ApN ในเลือดที่ต่ำเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดภาวะดื้ออินซูลิน และเป็นตัวทำนายการเกิดโรคเบาหวานและโรคหัวใจร่วมหลอดเลือด เนื่องจาก ApN มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมสมดุลกลูโคสและความไวของเนื้อเยื่อต่ออินซูลิน ตามภาพที่ 24 พบว่า ApN มีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับการเพิ่มขึ้นของเนื้อเยื่อ (adiposity) และ pro-inflammatory cytokines นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ ApN ที่เพิ่มขึ้น

สามารถลดระดับ TNF ได้ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Keapai et al. (2016) ในหนูทดลองที่เหนียวน้ำให้เกิดภาวะเบาหวาน พบว่าน้ำมันปลา น้ำจืดจากปลาหมึกผสมสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทดลอง โดยไม่มีการเพิ่มของระดับอินซูลินในเลือดและมีการลดลงของฮอร์โมนเลปตินด้วย และช่วยเพิ่มระดับของ ApN ในเลือดได้ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ ApN นี้สามารถยับยั้งการเพิ่มขึ้นหรือลดระดับ ของ TNF- $\alpha$  และ nuclear factor-KB (NF-KB) ได้ สอดคล้องกับผลการศึกษาในที่พบว่า FFO สามารถลดระดับของซีรัม IL-6 ในเซลล์ RAW 264.7 ได้ โดยการลดระดับของ IL-6 จะมีผลให้ระดับการต่อต้านอินซูลินลดลง ส่งผลต่อการป้องกันการพัฒนาไปสู่ โรคเบาหวานประเภทที่ 2 สำหรับกลไกของ FFO ในช่วยยับยั้งการเพิ่มขึ้นของ TNF- $\alpha$  นั้นมีกลไกที่สำคัญคือ ApN เหนียวน้ำ cyclic AMP (cAMP)/protein kinase A (PKA) pathway ส่งผลให้ TNF- $\alpha$ -induced nuclear factor-KB (NF-KB) ถูกยับยั้ง การลดลงของ proinflammatory cytokines ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของ ApN อันเป็นผลจากน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมนี้ส่งผลให้ระดับภาวะเครียดออกซิเดชันลดลง เหตุนี้จึงส่งผลต่อเนื้อให้ระดับของ antioxidants เพิ่มสูงขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาถึงที่ระบุว่า น้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืดมีระดับของสารแอนติออกซิแดนท์ (antioxidants) ในระดับสูงและไม่พบความเป็นพิษในการใช้เป็นอาหารของหนูทดลองในขนาด 5000 mg/kg (Wangcharoen et al., 2015) มีรายงานวิจัยหลายชิ้นที่ได้ศึกษาถึงฤทธิ์ของ MUFA หรือกรดโอเลอิกที่มีผลต่อการลดการอักเสบ Medeiros-de-Moraes et al. (2018) ได้ศึกษาผลของโอเมก้า-9 ในหนูที่ถูกเหนียวน้ำให้มีการอักเสบที่ลำไส้ พบว่าโอเมก้า-9 สามารถลดการอักเสบของลำไส้หนูทดลองได้ และมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบโดยกระบวนการลดการเกาะกลุ่มกันของเซลล์เม็ดเลือดขาว (leukocyte rolling) การสร้างสมดุลของการผลิต cytokines และการควบคุมการเติบโตของแบคทีเรียผ่านกลไกการสร้าง PPAR gamma expression สอดคล้องกับการศึกษาของ Ishak et al. (2019) ได้ศึกษาผลของน้ำมันมะกอกที่มี MUFA สูง ในหนูทดลองที่มีบาดแผลและบันทึกติดตามการหายของแผลร่วมกับดูค่า Vascular endothelial growth factor (VEGF) พบว่าน้ำมันมะกอกมีฤทธิ์ช่วยในการสร้างปัจจัยการเติบโตของเนื้อเยื่อแผล ช่วยให้แผลหายได้เร็วขึ้น



ภาพที่ 24 กลไกของ Oleic acid ในการลดการอักเสบและการเพิ่มความไวของอินซูลิน

ที่มา: Rehman et.al. (2020)

### 3. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antimicrobial activity)

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด (FFO) และน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม (BFO) โดยการทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ด้วยวิธี Disc diffusion assay แบคทีเรียก่อโรคบนผิวหนัง 3 ชนิดที่นำมาทดสอบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) และ *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) ผลการทดสอบพบว่าน้ำมันปลา FFO และ BFO ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *P. acnes* ตามภาพที่ 22 และ 23 อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้เป็นการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบนผิวหนังเพียง 3 ชนิด ดังกล่าวข้างต้น จึงยังไม่อาจสรุปถึงฤทธิ์ของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดได้ ตามผลการศึกษาของ Medeiros-de-Moraes et al. (2018) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียและการต้านการอักเสบของน้ำมันมะกอกที่มี MUFA เข้มข้นในหนูที่มีภาวะอักเสบติดเชื้อในช่องท้อง ผลการศึกษพบว่าน้ำมันมะกอกที่มี MUFA สูงสามารถลดการติดเชื้อและลดการอักเสบของช่องท้องในหนูทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบการเคลื่อนที่ของนิวโทรฟิลไปยังบริเวณช่องท้องที่มีการอักเสบลดลง และมีการทำลายแบคทีเรียในช่องท้องเพิ่มขึ้นด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของ Padovese and Curi (2009) ที่พบว่า โอเมก้า-9 ช่วยส่งเสริมกระบวนการ phagocytosis ของนิวโทรฟิลและช่วยกำจัด

แบคทีเรียในหลอดทดลองให้ลดลง ซึ่งไม่พบผลดังกล่าวเมื่อเปลี่ยนเป็น โอเมก้า-3และโอเมก้า -6 เช่นเดียวกับ Rodríguez-Villar et al. (2004) ศึกษาพบว่า การให้อาหารเสริมที่มีโอเมก้า-9 เพียง 5 วัน มีผลให้โอเมก้า-9 เข้าไปสู่เยื่อบุผิวของนิวโทรฟิลได้ และมีการศึกษาฤทธิ์ของกรดไขมันชนิดต่าง ๆ ในด้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปากโดย Huang et al. (2010) ได้ศึกษาฤทธิ์ของโอเมก้า- 6, โอเมก้า-7 และโอเมก้า-9 ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อย ๆ ในช่องปาก ได้แก่เชื้อ *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* และ *Porphyromonas gingivalis* ผลการศึกษาพบว่าโอเมก้า- 6, โอเมก้า-7 และโอเมก้า-9 มีฤทธิ์ในด้านเชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ ในช่องปากได้ดี โดยส่วนประกอบของสารหรือเอสเทอร์ของกรดไขมันทั้ง 3 ชนิด สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปากได้และมีความจำเพาะต่อเชื้อโรคในแต่ละสปีชีส์ (species) โดยกรดไขมันเหล่านี้จะเข้าไปอยู่ในบริเวณที่มีการติดเชื้อในช่องปาก พบว่าจำนวนของพันธะคู่และตำแหน่งของพันธะคู่ของกรดไขมันจะมีผลต่อฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย และการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มคาร์บอกซิลของกรดไขมันมีผลต่อฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียเช่นเดียวกัน โดยกลุ่ม ethyl esters มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียดีกว่า methyl esters แต่กลไกยังไม่ทราบชัดเจน สารประกอบเหล่านี้มีความคล้ายคลึงกับเยื่อบุผิวของแบคทีเรียซึ่งมีสองขั้ว (bipolar) โดยมีส่วนที่ละลายในน้ำ (hydrophilic) และส่วนที่ไม่ละลายในน้ำ (hydrophobic) เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์ประกอบด้วยไขมัน จึงยอมให้โมเลกุลที่คุณสมบัติ hydrophobic ผ่านได้ดี และสามารถเข้าไปในเยื่อบุผิวของแบคทีเรียและเชื้อรา และฆ่าทำลายเชื้อได้โดยผ่านเข้าไปรบกวนการทำหน้าที่ปกติของเยื่อหุ้มเซลล์ จะเห็นได้ว่ากรดไขมัน MUFA ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราบางชนิดได้ ดังนั้น การศึกษานี้เป็นการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบนผิวหนัง 3 ชนิดดังกล่าวข้างต้น จึงยังไม่อาจสรุปถึงฤทธิ์ของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดได้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงฤทธิ์การต้านเชื้อในแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ต่อไป

#### 4. ผลของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีภาวะเสี่ยงของเมตาบอลิกซินโดรม

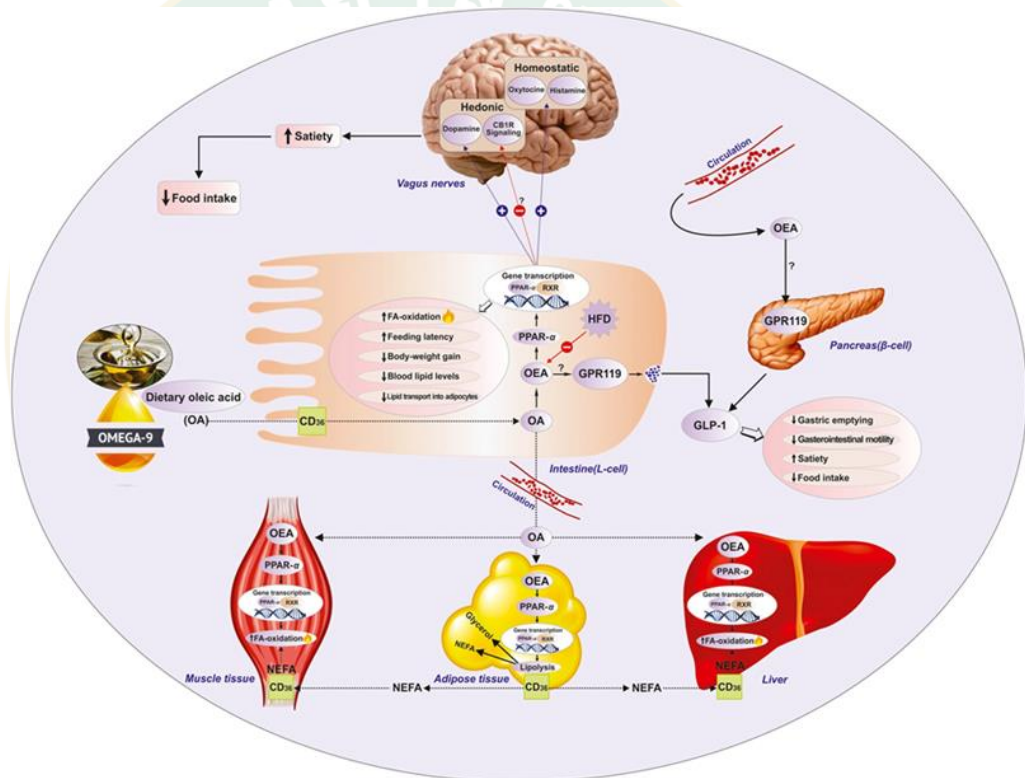
4.1 ค่าน้ำหนัก ดัชนีมวลกาย เส้นรอบเอว ความดันโลหิตของอาสาสมัครก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ หลังจากให้อาสาสมัครรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าพารามิเตอร์ที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ น้ำหนัก (BW) ค่าดัชนีมวลกาย (BMI) เส้นรอบเอว (WC) ความดันซิสโตลิก ( $P_S$ ) และความดันไดแอสโตลิก ( $P_D$ ) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตามตารางที่ 8 แสดงให้เห็นว่าการรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดที่มีกรดโอเลอิก ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) อยู่ปริมาณสูงมีผลในการลดน้ำหนัก ค่าดัชนีมวลกาย เส้นรอบเอว ความดันซิสโตลิก และความดันไดแอสโตลิกได้

โดยสามารถอธิบายกลไกที่เกิดขึ้นจากฤทธิ์ของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดที่มีกรดโอเลอิกสูง ได้ตามรูปภาพที่ 25 กลไกดังกล่าวเป็นผลของ Oleoylethanolamide (OEA) ซึ่งเป็นไขมันที่พบมากในกรดโอเลอิกหรือโอเมก้า 9 โดย OEA มีบทบาทสำคัญในการควบคุมความอยากอาหารและน้ำหนักตัว (Tutunchi et al., 2020) โดย OEA จะกระตุ้น peroxisome proliferator-activated receptor-alpha ซึ่งจะช่วยในการลดความอยากอาหาร ลดระดับไขมันในเลือด และเพิ่มการแคแทบอลิซึมของกรดไขมันส่วนปลาย OEA ยังช่วยเพิ่มการแสดงออกของ FAT/CD36 mRNA ในเยื่อบุลำไส้และลำไส้เล็กได้อย่างมีนัยสำคัญ และช่วยเพิ่มการดูดซึมกรดไขมันใน enterocytes ในหลอดทดลองอย่างมีนัยสำคัญด้วย OEA จึงช่วยควบคุมน้ำหนักตัวโดยการเพิ่มการเผาผลาญไขมันส่วนปลาย และเพิ่มการสลายไขมันใน adipocytes และเพิ่มการดูดซึมกรดไขมันใน enterocytes โดยกลไกทั้งสองนี้ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของ FAT/CD36 เป็นกลไกของ OEA ในการควบคุมการดูดซึมกรดไขมันและการทำงานในทางสรีรวิทยาในมนุษย์ Yang et al. (2007) สอดคล้องกับ Piers et al. (2003) พบว่าการรับประทานอาหารที่มี MUFA ทดแทนอาหารที่มี SFA สามารถช่วยลดน้ำหนักและไขมันในร่างกายได้ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Paniagua et al. (2007a) ที่พบว่าผู้ที่มีภาวะอ้วนเมื่อรับประทานอาหารที่มี MUFA จะช่วยเพิ่มอัตราการเผาผลาญไขมันและลดอัตราส่วนของไขมันบริเวณท้องและขา และช่วยลดการกระจายตัวของไขมันบริเวณกลางลำตัว สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kien et al. (2005) ที่พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีสุขภาพดีที่รับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงจะมีการเปลี่ยนแปลงของดัชนีมวลกาย มวลไขมันอัตราส่วนของเส้นรอบเอวต่อสะโพก และน้ำหนักลดลงกว่ากลุ่มตัวอย่างที่รับประทานอาหารที่มีกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) ปริมาณสูง เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Keys et al. (1986) พบว่าการรับประทานอาหารที่มี MUFA สูงแทนอาหารที่มี SFA ช่วยลดการเกิดโรคเรื้อรังของชาวเมดิเตอร์เรเนียนได้ จากการศึกษาของ Jones et al. (2008) พบว่ากลุ่มตัวอย่างเพศชายที่มีสุขภาพดีที่รับประทานน้ำมันมะกอก ซึ่งมี MUFA ปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่รับประทานน้ำมันจากเมล็ดแฟลกซ์ และเมล็ดทานตะวัน จะมีอัตราออกซิเดชันของไขมัน (fat oxidation) และการใช้พลังงานของร่างกาย (energy expenditure) มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง Leyton et al. (1987) พบว่าอัตราออกซิเดชัน (oxidation rate) ของหนูในระยะพักที่ได้รับกรดไขมัน oleic มีอัตราออกซิเดชันสูงกว่าหนูที่ได้รับกรดไขมัน lauric, myristic, palmitic, stearic, alpha-linolenic, linoleic และ kappa-linolenic สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Rodríguez-Villar (2014) พบว่าหนูที่เลี้ยงด้วยน้ำมันมะกอกจะมีการหลั่งโปรตีนที่ช่วยสร้างความร้อนจากการสังเคราะห์ ADP ในกระบวนการหายใจเมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่เลี้ยงด้วยน้ำมันดอกทานตะวัน ซึ่งการสร้าง ADP เป็นองค์ประกอบสำคัญในการใช้พลังงานของร่างกาย จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ากรดโอเลอิก (MUFA) มีบทบาทสำคัญในการช่วยเผาผลาญไขมัน ช่วยเพิ่ม

อัตราออกซิเดชันของไขมันและการใช้พลังงานของร่างกาย จึงมีผลทำให้น้ำหนักลดลง และค่าดัชนีมวลกายลดลง

นอกจากนี้กรดโอเลอิกในน้ำมันปลาจากปลาหนังน้ำจืดยังมีผลลดความดันโลหิตทั้งความดันซิสโตลิก และความดันไดแอสโตลิก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีงานวิจัยหลายชิ้นได้รายงานถึงผลของกรดโอเลอิกในการช่วยลดความดันโลหิตอย่างมีนัยสำคัญ Ferrara et al (2000) ที่พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีภาวะความดันโลหิตสูงและรับประทานน้ำมันมะกอก (virgin olive oil) เปรียบเทียบกับน้ำมันดอกทานตะวัน เป็นระยะเวลา 6 เดือน กลุ่มตัวอย่างที่รับประทานน้ำมันมะกอกมีความดันโลหิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญและสามารถลดการใช้ยาลดความดันโลหิตได้ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Muzio et al. (2007) ได้ศึกษากลุ่มตัวอย่างเบาหวาน 100 ราย เปรียบเทียบผลของการรับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงกับอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต (CHO) ปริมาณสูงระยะเวลา 5 เดือน พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่รับประทานอาหาร MUFA ปริมาณสูง มีค่าความดันโลหิตซิสโตลิกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และอัตราการเต้นการเต้นของหัวใจลดลงเล็กน้อย Shah et al. (2007b) ได้ศึกษาผลการวิจัยต่าง ๆ แบบ meta- analysis พบว่ามีรายงานการวิจัย 10 ชิ้น ศึกษาเปรียบเทียบผลของการรับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงกับอาหารที่มีปริมาณ CHO สูง พบว่าการรับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงมีผลให้ค่าความดันโลหิตลดลงเล็กน้อยอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะค่าความดันซิสโตลิก เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Psaltopoulou et al. (2004) ได้ศึกษาพบว่าการรับประทานน้ำมันมะกอก ซึ่งเป็นอาหารเมดิเตอร์เรเนียนเป็นปัจจัยสำคัญในการช่วยลดความดันโลหิต โดยสามารถลดทั้งความดันซิสโตลิก และความดันไดแอสโตลิกถึงแม้จะรับประทานร่วมกับผักก็ตาม Stamler (1991) พบว่าผู้ที่รับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงจะมีค่าความดันโลหิตซิสโตลิกและความดันโลหิตไดแอสโตลิกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่รับประทานอาหารที่ MUFA ปริมาณต่ำ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Schwingshackl and Hoffmann (2012) ได้วิเคราะห์งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของการรับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูง (> 12 %) เปรียบเทียบกับการรับประทานอาหารที่มีปริมาณ MUFA ต่ำ ( $\leq$  12%) พบว่าการรับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูง สามารถลดมวลไขมัน ความดันซิสโตลิก และความดันไดแอสโตลิกได้ Whelton et al. (2002) พบว่าค่าเฉลี่ยของแรงดันโลหิตที่ลดลง 3 mmHg ช่วยลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจ 5-10 % ลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดสมอง 8-15 % และลดอัตราการตายลง 5% เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Kris-Etherton (1999) และ Sofi et al. (2008) ได้วิเคราะห์งานวิจัยหลายชิ้น และพบว่าการรับประทานอาหารเมดิเตอร์เรเนียน (มีปริมาณ MUFA สูงกว่าปกติ) มีผลทำให้สุขภาพดีขึ้น โดยพิจารณาจากอุบัติการณ์การเสียชีวิตลดลง (9%), มะเร็ง (6%), สมองเสื่อม (13%) ลดอุบัติการณ์เสียชีวิตจากโรคหลอดเลือดสมอง (9%) Salas et al. (1999) ได้ศึกษาในผู้ที่มีสุขภาพดี จำนวน 41 คน และรับประทาน จำนวน 3 ประเภท ได้แก่อาหารที่มีไขมันอิ่มตัวสูง (SAT), อาหารที่มี

คาร์โบไฮเดรตสูง (CHO) และอาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวสูง (MUFA) เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าผู้ที่รับประทานอาหารที่มี MUFA สูงจะมีค่าน้ำตาลในเลือดต่ำกว่าผู้ที่รับประทานอาหารประเภทอื่น และมีค่าความดันโลหิตซิสโตลิกและความดันโลหิตไดแอสโตลิกต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จะเห็นได้ว่าการรับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงสามารถช่วยลดความดันโลหิตซิสโตลิกและความดันโลหิตไดแอสโตลิกได้และช่วยลดอุบัติการณ์ของการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือด ดังนั้นน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดซึ่งมีปริมาณ MUFA สูงจึงมีผลดีต่อสุขภาพ ทั้งด้านการช่วยลดมวลไขมันในร่างกายและช่วยลดความดันโลหิต และช่วยลดอุบัติการณ์การป่วยและการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือด



ภาพที่ 25 กลไกของโอเมก้า -9 (oleic acid) ในการลดภาวะอ้วนลงพุง

ที่มา: Tutunchi et al. (2020)

#### 4.2 ค่าไขมันในเลือดของกลุ่มตัวอย่างก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

หลังจากที่อาสาสมัครทั้งหมดจำนวน 33 คน รับประทานน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืดเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าค่าสารเคมีในเลือดที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ ค่าไขมัน HDL-C ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลที่มีความหนาแน่นสูง เป็นไขมันชนิดดีสำหรับหลอดเลือดแดงมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และค่า LDL-C ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลที่มีความหนาแน่นต่ำเป็นไขมันชนิดไม่ดีสำหรับหลอดเลือดแดง มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ส่วนค่า Triglycerides มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ตามตารางที่ 9 นั้น พบว่ามีความสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์รายกลุ่มแยกตามเกณฑ์ของค่าเส้นรอบเอวในเพศชายและหญิงและตามเกณฑ์ของค่าดัชนีมวลกาย ตามตารางที่ 10-15 โดยพบว่าอาสาสมัครทุกกลุ่มมีค่าไขมัน HDL-C เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และอาสาสมัครทุกกลุ่มมีค่า LDL-C ลดลง โดยเฉพาะกลุ่มอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 90 เซนติเมตรมีค่ามีค่า LDL-C ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สำหรับค่า Triglycerides มีแนวโน้มลดลงในกลุ่มอาสาสมัครเพศชายและหญิงที่มีค่าดัชนีมวลกายน้อยกว่า  $23 \text{ kg/m}^2$ , อาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 80 เซนติเมตร และอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวมากกว่าหรือเท่ากับ 90 เซนติเมตร จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการรับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหมึกผสมที่มีกรดโอเลอิกซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) อยู่ปริมาณสูงมีผลทำให้ระดับ HDL-C สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับ Qian et al. (2016) ที่เปรียบเทียบการรับประทานอาหารที่มี MUFA สูง กับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง พบว่าอาหารที่มี MUFA สูง มีผลให้ HDL-C สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง HDL-C เป็นไขมันชนิดดีจะช่วยในการลดการเกาะตัวของไขมันบนหลอดเลือดลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเส้นเลือดหัวใจ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Schwingshackl and Hoffmann (2013) ระบุว่ากลุ่มตัวอย่างที่รับประทานอาหารที่มี MUFA สูงมีการเพิ่มของ HDL-C สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และจากการทบทวนรายงานการวิจัยหลายชิ้นระบุว่า MUFA มีผลในการลดความเสี่ยงของโรคหัวใจหลอดเลือดและเบาหวาน (Schwingshackl and Hoffmann, 2012) และหลังจากที่อาสาสมัครรับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหมึกผสมเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าค่า LDL-C มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และ Triglycerides มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิตินั้น สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Mattson and Grundy (1985) รายงานว่าการรับประทานน้ำมันที่มีกรด oleic acid สูง จะสามารถลดระดับ LDL-C ได้ Jones et al. (2014) ศึกษาพบว่า การทดแทนน้ำมันทรานส์ด้วยน้ำมันที่มีกรดโอเลอิกปริมาณสูงสามารถลดระดับ TC, LDL-C, apo-B, TGs, TC:HDL C ได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งยังช่วยเพิ่ม HDL-C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kris-Etherton (1999) ที่พบว่าการรับประทานอาหารที่มี MUFA สูงสามารถลดระดับ cholesterol and triacylglycerol ในเลือดได้ Fattore et al. (2014) ได้เปรียบเทียบการ

รับประทานอาหารที่น้ำมันปาล์มและอาหารที่มี MUFA และ PUFA สูง พบว่าผู้ที่รับประทาน MUFA และ PUFA ปริมาณสูง มีค่า HDL-C และ apolipoprotein A สูงขึ้นสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Yanai and Tada (2018) เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Zaid et al. (2015) รายงานว่าชาวญี่ปุ่นจำนวน 958 คน ที่รับประทานอาหารที่มี MUFA และ oleic acid ปริมาณสูงมีความสัมพันธ์กับ HDL-C ที่สูงขึ้น Gillingham et al. (2011); Gnoni et al. (2010) และ Lopes et al. (2016) ได้ศึกษาพบว่าปัจจัยเสี่ยงของโรคหัวใจหลอดเลือดลดลงและค่าของไขมันดีขึ้นหลังจากรับประทานอาหารที่มี MUFA สูง และการรับประทานอาหารที่มี MUFA สูงมีประโยชน์ต่อสุขภาพทั้งระยะสั้นและระยะยาว โดยสามารถเพิ่มหรือคงระดับของ HDL-cholesterol และลดระดับของ LDL cholesterol เช่นเดียวกับการศึกษาของ Gilmore et al. (2011) พบว่าการให้อาหารที่มี MUFA ปริมาณสูง อย่างน้อย 5 สัปดาห์ มีผลเพิ่มระดับความเข้มข้นของ HDL-C ได้ Qian et al. (2016) ได้วิเคราะห์งานวิจัย จำนวน 28 ชิ้นเกี่ยวกับการรับประทานอาหารที่ MUFA ปริมาณสูงเปรียบกับการรับประทานอาหารที่มี CHO และ PUFA สูง พบว่าการรับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด, triglycerides, body weight, systolic blood pressure และช่วยเพิ่มค่า HDL-C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษาพบว่าทั้งอาสาสมัครทั้งหมดจำนวน 33 คน และอาสาสมัครรายกลุ่มแยกตามเกณฑ์ของค่าเส้นรอบเอวในเพศชายและหญิงและตามเกณฑ์ของค่าดัชนีมวลกายมีค่า Total cholesterol สูงขึ้นแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลการศึกษามีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของค่า HDL-C ในอาสาสมัคร ซึ่งค่า HDL-C นี้เป็นองค์ประกอบหนึ่งของค่า Total cholesterol ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับ Chang and Huang (1990) ที่พบว่าการรับประทานน้ำมันมะกอกที่มี MUFA ปริมาณสูง ทำให้ค่า cholesterol สูงขึ้น เช่นเดียวกับ Mensink and Katan (1987) ที่พบว่าการรับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงไม่มีผลในการลดไขมันในเลือดทั้งชนิด total cholesterol, LDL-C และ HDL-C ในมนุษย์ที่มีค่าไขมันในเลือดปกติ

สำหรับกลไกของโอเมก้า-9 หรือกรดโอเลอิกในการลดไขมันในเลือดสามารถอธิบายได้ตามภาพที่ 25 เมื่อรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดซึ่งมีปริมาณโอเมก้า-9 หรือกรดโอเลอิกสูง จะทำให้มีอนุพันธ์ของกรดไขมัน oleoylethanolamide (OEA) สูงขึ้น โดย OEA นี้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของรีเซพเตอร์ที่ถูกกระตุ้นด้วย peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR- $\alpha$ ) ที่ลำไส้ การรับประทานอาหารที่มีกรดโอเลอิกจะเพิ่มระดับของ OEA ในการไหลเวียนเลือด และ OEA มีผลช่วยกระตุ้นการเผาผลาญไขมัน และการดูดซึมกรดไขมัน การสลายไขมันและกระตุ้นปฏิกิริยา  $\beta$ -oxidation ของไขมันในตับและกล้ามเนื้อ ส่งผลให้มีการผลิตและมีการใช้พลังงานที่เพิ่มขึ้น และยังช่วยควบคุมการบริโภคอาหารด้วย จึงมีผลให้ระดับของไขมันชนิดต่าง ๆ ในเลือด

ลดลง และภาวะอ้วนลงพุงลดลงด้วย ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดซึ่งมีปริมาณโอเมก้า-9 สูง มีผลดีต่อสุขภาพทั้งด้านการช่วยลดระดับ LDL- C และ triglycerides ได้ และช่วยเพิ่มไขมัน HDL-C ช่วยลดความเสี่ยงต่อการป่วยและการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือด

#### 4.3 ค่าน้ำตาลในเลือดของกลุ่มตัวอย่างก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

หลังจากที่อาสาสมัครจำนวน 33 คน รับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสมเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าค่าน้ำตาลในเลือด (glucose) ของอาสาสมัคร มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 9) แต่อยู่ในเกณฑ์ปกติ มีความสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์รายกลุ่มแยกตามเกณฑ์ของค่าเส้นรอบเอวในเพศชายและหญิงและตามเกณฑ์ของค่าดัชนีมวลกาย ตามตารางที่ 10-15 โดยพบว่าอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวมาน้อยกว่าหรือเท่ากับ 90 เซนติเมตร, อาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 80 เซนติเมตร, อาสาสมัครเพศชายและหญิงที่มีค่าดัชนีมวลกายมากกว่าหรือเท่ากับ 23 kg/m<sup>2</sup> และอาสาสมัครเพศชายและหญิงที่มีค่าดัชนีมวลกายน้อยกว่า 23 kg/m<sup>2</sup> มีค่าน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นกว่าในระยะก่อนรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด อย่างไรก็ตามระดับน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นนั้นยังอยู่ในเกณฑ์ปกติของร่างกาย และพบว่าอาสาสมัครหญิงที่มีเส้นรอบเอวมาน้อยกว่าหรือเท่ากับ 80 เซนติเมตร และอาสาสมัครชายที่มีเส้นรอบเอวน้อยกว่า 90 เซนติเมตร เมื่อติดตามหลังสัปดาห์ที่ 12 พบว่ามีค่าเฉลี่ยน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

อาสาสมัครทุกคนที่เข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้เป็นผู้ที่ไม่มีภาวะเบาหวานและไม่ได้รับประทานยาลดน้ำตาลในเลือด ขณะที่อาสาสมัครเข้าร่วมการวิจัยตลอดระยะเวลา 12 สัปดาห์ มีการใช้ชีวิตประจำวันรวมทั้งการรับประทานอาหารตามปกติ การที่ระดับกลูโคสในซีรัมของอาสาสมัครก่อนและหลังได้รับน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสมมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นบ้าง แต่ยังอยู่ในเกณฑ์ปกติอาจเนื่องจากในคนปกติมีระบบควบคุมสภาวะสมดุล (homeostatic regulatory system) เช่น ระบบประสาท ระบบต่อมไร้ท่อ ฯลฯ ทำงานเชื่อมโยงกันอย่างเป็นระบบเพื่อปรับหรือให้อยู่ในสภาวะสมดุล ซึ่งกลไกควบคุมสภาวะสมดุลของระดับกลูโคสในซีรัมนี้ (glucose homeostatic mechanism) ทำงานได้อย่างสมบูรณ์เต็มทีในคนปกติ แต่บกพร่องในคนที่เป็โรคเบาหวาน (Cryer et al., 1984) สำหรับผลการศึกษาศักยภาพของน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสมในสัตว์ทดลองที่มีภาวะเบาหวานของ Keapai et al. (2016) พบว่าในหนูทดลองที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวาน เมื่อได้รับน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสมสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทดลอง โดยไม่มีการเพิ่มของระดับอินซูลินในเลือด และมีการลดลงของเลปตินด้วย นอกจากนี้น้ำมันปลาน้ำจืดนี้ยังช่วยให้ความทนทานต่อน้ำตาล (glucose tolerance) และความไวต่อการตอบสนองของอินซูลิน (insulin sensitivity) ดีขึ้นอีกด้วย รวมทั้งมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เนื้อเยื่อตับอ่อนดีขึ้น

เช่นเดียวกับผลการศึกษาหลายชิ้นที่พบว่าผู้ที่มีความสุขภาพดีเมื่อรับประทานอาหารที่มี MUFA สูง เปรียบเทียบกับการรับประทานอาหารที่มี CHO สูง ไม่พบความแตกต่างของระดับน้ำตาลและอินซูลินในเลือด (Brehm et al., 2009; Pérez-Jiménez et al., 2001; Thomsen et al., 1999) อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยหลายชิ้นที่ศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานหรือผู้ที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง พบว่าการรับประทานอาหารที่มีปริมาณ MUFA สูงสามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ (Due et al., 2008; Paniagua et al., 2007b; Shah et al., 2007a; Vessby et al., 2001) นอกจากนี้การรับประทานอาหารที่มี MUFA สูงยังมีผลช่วยเพิ่มความไวต่อการตอบสนองของอินซูลิน (insulin sensitivity) อีกด้วย (López et al., 2008; Paniagua et al., 2007b; Salas et al., 1999) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดซึ่งมีปริมาณ MUFA สูง มีผลดีต่อสุขภาพโดยไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำตาลในเลือดในผู้ที่มีภาวะน้ำตาลในเลือดปกติ แต่ในผู้ป่วยเบาหวานหรือผู้ที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง การรับประทานอาหารที่มีปริมาณ MUFA สูงสามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้

#### 4.4 ค่าการทำงานของตับและการทำงานของไตของกลุ่มตัวอย่างก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

หลังจากที่อาสาสมัครรับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสมเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าค่าการทำงานของตับและสารที่แสดงถึงการทำงานของตับทุกค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ ตามตารางที่ 16 โดยค่าการทำงานของตับในการศึกษานี้พิจารณาจากค่าเอนไซม์ของตับ ได้แก่ SGOT และ SGPT ที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากระดับเอนไซม์ ทั้ง 2 ชนิดนี้มีความไวต่อการอักเสบและการตายของเซลล์ตับ ดังนั้นหากตรวจพบเอนไซม์ ทั้ง 2 นี้มีค่าสูงขึ้น 100-2,000 หน่วยต่อลิตรแสดงว่ามีโอกาสที่เซลล์ตับเกิดการเสียหายโดยอาจมีสาเหตุจากอาการไม่พึงประสงค์ของยาหรือสารพิษ (Sotanaphun et al., 2011) ค่า SGOT จะพบสูงขึ้นหากเซลล์ตับได้รับบาดเจ็บหรือได้รับอันตราย ทั้งนี้ค่าเอนไซม์ของตับชนิด SGOT ในอาสาสมัครหลังการทดลองมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยอาสาสมัครในระยะก่อนรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดมีค่าเฉลี่ย SGOT 32.79 หน่วยต่อลิตร เมื่อติดตามหลังสัปดาห์ที่ 12 พบว่ามีค่าเฉลี่ย SGOT 24.51 หน่วยต่อลิตร ส่วนค่าเอนไซม์ SGPT นั้นจะพบสูงขึ้นหากเซลล์ตับได้รับบาดเจ็บหรือได้รับอันตรายเช่นกัน ทั้งนี้อาสาสมัครในระยะก่อนรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดมีค่าเฉลี่ย SGPT 25.15 หน่วยต่อลิตร เมื่อติดตามหลังสัปดาห์ที่ 12 พบว่ามีค่าเฉลี่ย SGPT 27.78 หน่วยต่อลิตร โดยค่าเอนไซม์ของตับชนิด SGPT อยู่ในเกณฑ์ปกติและมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดไม่มีผลกระทบหรือมีความเป็นพิษต่อการทำงานของตับ ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับ Mashek and Wu (2015) ที่พบว่า MUFA มี

ความสัมพันธ์น้อยมากกับการเป็นพิษในร่างกาย ในทางตรงกันข้าม MUFA ช่วยป้องกันภาวะตับเป็นพิษจากยา (drug-induced hepatotoxicity) ได้ เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Bozzetto et al. (2012a) ที่ศึกษาผู้ป่วยเบาหวาน จำนวน 45 คน โดยเปรียบเทียบการรับประทานที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง (CHO 52% ของปริมาณแคลอรีที่ได้รับ) กับการรับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูง (28% ของปริมาณแคลอรีที่ได้รับ) ในระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าผู้ที่รับประทานอาหารที่มี MUFA ปริมาณสูงมีภาวะไขมันในตับ (steatosis) ลดลงอย่างมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าการทำงานของไตของอาสาสมัครพบว่าค่า BUN และ Cr ซึ่งเป็นค่าแสดงการทำงานของไตอยู่ในเกณฑ์ปกติทั้งสองค่าโดยอาสาสมัครในระยะก่อนรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืดมีค่าเฉลี่ย BUN 12.72 mg/dL เมื่อติดตามหลังสัปดาห์ที่ 12 พบว่ามีค่าเฉลี่ย BUN 12.09 mg/dL ส่วนค่า Cr ของอาสาสมัครในระยะก่อนรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืดมีค่า Cr เฉลี่ย 1.04 mg/dL เมื่อติดตามหลังสัปดาห์ที่ 12 พบว่ามีค่า Cr เฉลี่ย 1.06 mg/dL ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ปกติและมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ จากรายงานวิจัยหลายชิ้นพบว่า การให้ MUFA ปริมาณสูงในหนูที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบที่ไต เมื่อเปรียบเทียบค่าการทำงานของไตจะมีค่าลดลงและต่ำกว่าหนูกลุ่มอื่น ๆ ที่ไม่ได้รับ MUFA รวมทั้งหนูที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบที่ไต และได้รับ MUFA จะมีการเปลี่ยนแปลงการอักเสบของเซลล์เนื้อเยื่อของไตดีขึ้น (Ghorbel et al., 2017; Gonçalves-de-Albuquerque et al., 2016; Mokhtari et al., 2020; Qian et al., 2016) ดังนั้น จากผลตรวจค่าการทำงานของตับและค่าการทำงานของไตแสดงให้เห็นว่าการรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืดไม่มีผลกระทบบหรือมีความเป็นพิษต่อการทำงานของตับและไตของสัตว์และมนุษย์ และจากการติดตามอาการไม่พึงประสงค์หลังจากการรับประทานน้ำมันปลาลูกผสมน้ำจืดพบว่าอาสาสมัครทุกคนที่รับประทานน้ำมันปลาลูกผสมน้ำจืดไม่มีอาการไม่พึงประสงค์ที่รุนแรง (Serious ADR) ได้แก่อาการตัวตาเหลือง หรือปัสสาวะสีเหลืองเข้ม

#### 4.5 การตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของกลุ่มตัวอย่างก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

การตรวจค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของอาสาสมัครหลังการรับประทานน้ำมันปลาจากปลาหมึกผสมน้ำจืดเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าค่าเม็ดเลือดทุกค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ ตามตารางที่ 16 โดยค่าความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง (Hct.) ก่อนและหลังการศึกษาเท่ากับ 43.18 และ 42.67%, ค่าเม็ดเลือดขาว (WBC) ก่อนและหลังการศึกษาเท่ากับ 6.87 และ 8.39  $\times 10^3/\text{ul}$ , ค่าเม็ดเลือดแดง (RBC) ก่อนและหลังการศึกษาเท่ากับ 5.30 และ 5.11  $\times 10^6/\text{ul}$  และค่าเกล็ดเลือด (platelet) ก่อนและหลังการศึกษาเท่ากับ 221.45 และ 265.48  $\times 10^3/\text{ul}$  ตามลำดับ โดยค่าเกล็ดเลือดของอาสาสมัครหลังการทดลองมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และอยู่ในเกณฑ์ปกติ ซึ่งผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการรับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหมึกไม่มีผลกระทบบต่อ

ร่างกายในการสร้างเม็ดเลือดทุกชนิด โดยเฉพาะการสร้างเกล็ดเลือดซึ่งมีค่าปกติโดยเกล็ดเลือดเป็นปัจจัยสำคัญในการแข็งตัวของเลือดและการควบคุมสมดุลของการห้ามเลือด โดยจะทำหน้าที่ส่งเสริมการสร้างลิ่มเลือด (coagulation) และยับยั้งการสลายของลิ่มเลือด (antifibrinolysis) ดังนั้นการรับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังน้ำจืดคุณภาพสูงจึงไม่มีภาวะเสี่ยงต่อการมีเลือดออกง่าย สอดคล้องกับผลการศึกษาของ López-Miranda et al. (2006) ได้ศึกษาถึงผลของMUFA ที่พบมากในน้ำมันมะกอกกว่าสามารถช่วยลดความไวของเกล็ดเลือดในการเกาะกลุ่ม ช่วยลดระดับของ thromboxane B2 ในเลือด ช่วยเพิ่มฤทธิ์การละลายไฟบรินในเลือด (fibrinolytic activity) และลดระดับความเข้มข้นของ plasma activator inhibitor type-1 (PAI-1) โดย PAI-1 ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของ t-PA เพื่อให้การสลายไฟบรินเกิดขึ้นอย่างพอเหมาะ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ PAI-1 จะเพิ่มความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจ (Hoekstra et al., 2004) ในภาวะปกติของร่างกาย การหลัง PAI-1 ถูกกระตุ้นด้วยอินซูลิน กรดไขมันอิสระ (free fatty acids; FFAs) และภาวะการอักเสบเรื้อรัง สำหรับผู้ที่มีเสี่ยงหรือความผิดปกติของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม (MetS) จะเป็นปัจจัยเสี่ยงของเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (CVD) ด้วย คือการมีไขมันผิดปกติ ความดันโลหิตสูง และเบาหวาน หรือการดื้อต่ออินซูลิน ซึ่งพยาธิกำเนิดของ CVD นั้นมักเกิดจากการมีภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว (atherosclerosis) ในหลอดเลือดแดงขนาดกลางและขนาดใหญ่ ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากการอักเสบเรื้อรังแบบค่อยเป็นค่อยไป (chronic low-grade inflammation) ในขณะเดียวกันความอ้วนซึ่งเป็นเกณฑ์ที่สำคัญในการวินิจฉัย MetS ก็เกี่ยวข้องกับการอักเสบเช่นเดียวกัน การอักเสบที่เกิดขึ้นมีผลทำให้มีการหลั่ง proinflammatory cytokines เพิ่มขึ้น ลดการหลั่งกรดไนตริก (nitric oxide; NO) และทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ทำให้เซลล์เอนโดทีเลียล (endothelial cell) ที่บุผนังหลอดเลือดทำหน้าที่ผิดปกติแล้วมีการปล่อย von Willebrand factor และ plasminogen activator-1 (PAI-1) เข้าสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ผลจากการอักเสบยังมีผลทำให้มีการสร้างปัจจัยการแข็งตัวของเลือด (coagulation factors) เพิ่มขึ้น ลดการสร้างสารต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulants) และยับยั้งการละลายลิ่มเลือด (fibrinolysis) ซึ่งนำไปสู่ภาวะภาวะการแข็งตัวของเลือดมากผิดปกติ (hypercoagulable state) หรือภาวะเร่งการเกิดภาวะหลอดเลือดอุดตันจากลิ่มเลือด (prothrombotic state) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดอุดตันจากลิ่มเลือด (thrombosis) ซึ่งจากรายงานวิจัยหลายชิ้นที่กล่าวมาข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าการรับประทานอาหารที่มี MUFA สูง ช่วยป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดอุดตันจากลิ่มเลือดได้ ดังนั้นการรับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังคุณภาพสูง ซึ่งมี MUFA ปริมาณสูงจึงสามารถช่วยป้องกันภาวะหลอดเลือดอุดตันจากลิ่มเลือดและลดการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ สำหรับผลของการรับประทานน้ำมันปลาทะเลต่อการแข็งตัวของเลือดนั้น มีรายงานการศึกษาระบุว่าน้ำมันปลาทะเลทำให้เกิดภาวะเลือดออกง่ายโดยการยับยั้งกระบวนการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด (platelet

aggregation) และทำให้ระยะเวลาของเกิดลิ่มเลือด (clot formation time) นานขึ้น และสามารถ  
รับประทานได้สูงสุด 6 กรัมต่อวัน (Li and Steiner, 1991)



## บทที่ 5

### สรุปผล

จากการดำเนินงานวิจัยเรื่องนวัตกรรมน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในมนุษย์ที่มีความเสี่ยงต่อภาวะเมตาบอลิกซินโดรม โดยมีวัตถุประสงค์การวิจัยเพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืด และน้ำมันปลาจากปลาบึกสยาม ทดสอบฤทธิ์ชีวภาพในการต้านการอักเสบและต้านจุลชีพ และการศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดที่มีต่อองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมในอาสาสมัครที่มีภาวะเสี่ยง ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยนำก้อนไขมันจากส่วนท้องของปลาหนังลูกผสมน้ำจืดและปลาบึกสยามที่เป็นเศษเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมแปรรูปปลาหนังเนื้อขาวจากแหล่งที่มาต่างกัน 2 แหล่ง นำมาสกัดเป็นน้ำมันปลาน้ำจืด จากนั้นนำน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมทั้งสองชนิดไปตรวจวิเคราะห์ที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อวิเคราะห์หาส่วนประกอบของชนิดและปริมาณกรดไขมัน ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value) และค่าสะaponนิฟิเคชัน (Saponification number) รวมทั้งตรวจวิเคราะห์หาสิ่งปนเปื้อนในน้ำมันปลา ได้แก่ การตรวจหาโลหะหนัก และการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Escherihia Coli* และ *Samonella spp.* ผลการศึกษาพบว่าก้อนไขมันปลา 1 กิโลกรัม สามารถแยกน้ำมันปลาที่เป็นส่วนใสและไม่เป็นไข ที่อุณหภูมิห้องได้ปริมาตรร้อยละ 27 น้ำมันที่สกัดได้มีสีเหลืองใส โปร่งแสง มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวเชิงซ้อนน้อยกว่าน้ำมันปลาทะเล โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 ที่มีน้อยกว่าน้ำมันปลาทะเลมาก แต่พบปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวกลุ่มโอเมก้า-9 (กรดโอเลอิก) ในน้ำมันปลาน้ำจืดมีปริมาณสูงกว่าน้ำมันปลาทะเล ถึง 4 เท่า ซึ่งกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-9 ในน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม ปลาบึกสยาม และน้ำมันปลาทะเล มีค่าที่ 43.35, 46.69 และ 11.24 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วนค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสมและน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาบึกสยาม มีค่าเท่ากับ 4.32 และ 19.91 mEq/kg ตามลำดับ โดยค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนดขององค์การอาหารและยา (อย.) และเกณฑ์มาตรฐานของน้ำมันดิบ และผลการทดสอบค่าสะaponนิฟิเคชันของน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสม และน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาบึกสยาม มีค่าสะaponนิฟิเคชัน 196.30 และ 209.40 mg KOH /g ตามลำดับซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนดสำหรับผลการวิเคราะห์หาการปนเปื้อนโลหะหนักของน้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิดพบว่าน้ำมันปลาน้ำจืดปลาหนังลูกผสมมีการปนเปื้อนสารทองแดง (Cu) ปริมาณ < 0.50 mg/kg และพบสารตะกั่ว (Pb) ปริมาณ < 0.05 mg/kg ตามลำดับ ส่วนน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาบึกสยามพบสารตะกั่ว (Pb) ปริมาณ < 0.05 mg/kg ซึ่งปริมาณโลหะหนักที่พบนี้มีปริมาณเพียงเล็กน้อยอยู่ในเกณฑ์กำหนดของ

FAO/WHO และมีปริมาณที่เหมาะสมที่ร่างกายควรได้รับในแต่ละวัน และไม่พบการปนเปื้อนของโลหะหนักประเภทอื่นในน้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิด สำหรับการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิดไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella species* แต่มีการพบเชื้อ *Escherichia coli* <10 CFU/g ซึ่งพบน้อยมากและอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียพบว่าน้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิดไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อของแบคทีเรียก่อโรคบนผิวหนังทั้ง 3 ชนิดที่นำมาทดสอบ ได้แก่ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *P. acnes* อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียเพียง 3 ชนิดดังกล่าวข้างต้น จึงยังไม่อาจสรุปถึงฤทธิ์ของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดได้ สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ พบว่ามีฤทธิ์ในการลดสารก่อการอักเสบชนิด IL-6, IL-1 $\beta$  และ TNF- $\alpha$  ในเซลล์เพาะเลี้ยงได้ และการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ พบว่าน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดที่ความเข้มข้น 0.125 - 2 % ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง FFO ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการแสดงออกและการหลั่งของสารสื่อกลางการอักเสบชนิด cyclooxygenase-2 และ prostaglandin E2 และช่วยป้องกันการทำลาย DNA ของเซลล์ รวมทั้งมีฤทธิ์ลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดมีประโยชน์ต่อสุขภาพและความปลอดภัยในการบริโภค สามารถพัฒนาเป็นน้ำมันปลาและนำไปทดสอบผลของน้ำมันปลานี้ในมนุษย์ที่มีภาวะเสี่ยงของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม

ผลการศึกษาในอาสาสมัครที่มีภาวะเสี่ยงของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม จำนวน 33 คน พบว่าหลังจากที่อาสาสมัครรับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสมวันละ 2 กรัม ระยะเวลา 12 สัปดาห์ พารามิเตอร์ที่เป็นองค์ประกอบของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ น้ำหนัก (BW) ค่าดัชนีมวลกาย (BMI) เส้นรอบเอว (WC) ความดันซิสโตลิก (P<sub>S</sub>) และความดันไดแอสโตลิก (P<sub>D</sub>) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สำหรับค่าสารเคมีในเลือดที่เกี่ยวข้องกับภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ได้แก่ ค่าไขมัน HDL-C มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ส่วนค่า LDL-C มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สำหรับ ค่าTriglycerides มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าน้ำตาลในเลือด (glucose) ของอาสาสมัครมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงอยู่ในเกณฑ์ปกติ ส่วนค่าการทำงานของตับและสารที่แสดงถึงการทำงานของตับทุกค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ เช่นเดียวกับค่าแสดงการทำงานของไต ได้แก่ BUN และ Cr อยู่ในเกณฑ์ปกติทั้งสองค่า สำหรับค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดทุกชนิด พบว่าค่าเม็ดเลือดทุกค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ โดยค่าเกล็ดเลือดของอาสาสมัครหลังการทดลองมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และอยู่ในเกณฑ์ปกติซึ่งผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการรับประทานน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสมมีประสิทธิภาพในการลดภาวะเสี่ยงของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมได้ ช่วยต้านการอักเสบ ลดภาวะเครียด

ออกซิเดชันและเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระอันจะส่งผลต่อการลดภาวะต้านอินซูลิน และสามารถพัฒนาต่อยอดเป็นอาหารเสริมเพื่อช่วยลดและป้องกันภาวะเมตาบอลิกซินโดรม อีกทั้งยังช่วยสนับสนุนธุรกิจนวัตกรรมด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อลดการนำเข้าและเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับประเทศไทย งานวิจัยนี้จึงมีประโยชน์และคุณค่าในการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับน้ำมันปลาจากปลาหนังลูกผสมน้ำจืดและช่วยลดปัญหาสุขภาพในผู้ที่มีความเสี่ยงของภาวะเมตาบอลิกซินโดรม

### ข้อเสนอแนะ

1. การวิจัยครั้งนี้มีความยากและใช้เวลาในการศึกษา เพราะเป็นการทำวิจัยที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์และสุขภาพของมนุษย์ ซึ่งต้องขออนุญาตการรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ที่ต้องใช้เวลาและรายละเอียดในการยื่นขออนุมัติ จึงควรมีการวางแผนการวิจัยอย่างละเอียดรอบคอบ
2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ของน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสมในมนุษย์ เช่น การตรวจหาค่าการแข็งตัวในเลือด (Coagulation test) หรือค่าน้ำตาลสะสมในเลือด (HbA1c)
3. ควรมีการศึกษาต่อยอดผลของน้ำมันปลาน้ำจืดจากปลาหนังลูกผสมในผู้ที่มีภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ผู้ที่มีภาวะอ้วนในร่างกายนหรือผู้ที่มีปัญหาสุขภาพที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน
4. ควรใช้จำนวนกลุ่มตัวอย่างในการวิจัยที่มากขึ้น เพื่อผลการวิจัยที่มีความชัดเจนยิ่งขึ้น
5. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ด้านจุลชีพของน้ำมันปลาลูกผสมน้ำจืดในเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ
6. ควรมีการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของน้ำมันปลาจากปลาบึกสยามและศึกษาผลของน้ำมันปลาจากปลาบึกสยามในมนุษย์ที่มีความเสี่ยงของเมตาบอลิกซินโดรมต่อไป
7. การวิจัยนี้ใช้งบประมาณในการดำเนินงานวิจัยค่อนข้างสูง ทั้งค่าการตรวจวิเคราะห์น้ำมันปลา ค่าตอบแทนอาสาสมัคร และอุปกรณ์การทดลองต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย ควรมีแหล่งทุนวิจัยสนับสนุนงบประมาณเพิ่มเติมนอกเหนือจากแหล่งทุนที่ได้รับ

## บรรณานุกรม

- กล่าวขวัญ ศรีสุข. 2555. **หลักการและเทคนิคพื้นฐานการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์**. กรุงเทพฯ: โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์.
- กองโรคไม่ติดต่อ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. 2562. **สถานการณ์การดำเนินงานด้านการป้องกันควบคุมโรคไม่ติดต่อ (NCDs)**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://ddc.moph.go.th/dncd/ncdstrategy/public/home/result> (3 ตุลาคม 2563).
- กัญญ์พิชญา ธีระพันธ์. 2559. ค่าเคมีคลินิกในปศุสัตว์ ทำไม่ต้องตรวจ. **จดหมายข่าวสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ**, 15(4), 1-3.
- กิตติคุณ ยั่งยืน. 2559. ภาวะอ้วนลงพุงหรือภาวะเมแทบอลิกซินโดรม. **วารสารองค์การเภสัชกรรม**, 23(2), 17-20.
- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2543. ปลาบึก. ใน **เอกสารชุดโครงการอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ชุดที่ 1**. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- \_\_\_\_\_. 2559. **ปลาบึกเพื่อเศรษฐกิจและชุมชน**. เชียงใหม่: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, จงกล พรมยะ, อรัญญา มโนสร้อย และ จีระเดช มโนสร้อย. 2547. **โครงการการศึกษาพ่อ-แม่พันธุ์ปลาบึกจากการเลี้ยงเพื่อการอนุรักษ์และพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงพาณิชย์: รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย**. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน, ดวงพร อมรเลิศพิศาล, สุดาพร ตงศิริ, เกศจี เม่งอำพัน และ นกตล จนทรมณี. 2553. **คู่มือการเพาะเลี้ยงปลาหนังลูกผสมเพื่อพัฒนาอาชีพแก่เกษตรกร**. เชียงใหม่: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และ นิสรา กิจเจริญ. 2563. **คู่มือการพัฒนาระบบการเพิ่มผลผลิตมูลค่ามาตรฐานและ Brand ปลาหนังลูกผสม สำหรับวิสาหกิจชุมชน**. เชียงใหม่: วนิดาการพิมพ์.
- จินตนา อางสันเทียะ. 2549. **จุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยาสำหรับพยาบาล**. กรุงเทพฯ: บางกอกบลู๊ค.
- ชลิดา อนุพันธ์. 2558. **ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากมะสัง ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS FROM *Feroniella lucida***. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี.

- ชัยชาญ ดีโรจนวงศ์. 2550. Metabolic Syndrome (โรคอ้วนลงพุง). **สารราชวิทยาลัยอายุรศาสตร์แห่งประเทศไทย**, 23, 5-17.
- ดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2556. **การพัฒนาและเพิ่มมูลค่าปลาหนังลูกผสมเพื่อการเพิ่มผลผลิตเชิงพาณิชย์และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขัน**. กรุงเทพฯ: ฐานข้อมูลโครงสร้างพื้นฐานภาครัฐด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.
- \_\_\_\_\_. 2563. **ผลิตภัณฑ์นวัตกรรมจากเศษเหลือทรัพยากรประมง**. เชียงใหม่: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ดวงพร อมรเลิศพิศาล, เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน, นริศรา ไส้เลิศ, อัญชลี พงศ์ชัยเดชา, วุฒิพจน์ ศุภวิริยากร, ชุติมา ศาริมาเรจ และ วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2554. ศักยภาพของน้ำมันปลาหนังน้ำจืดในการเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง**, 5(2), 25-45.
- ธงชัย พุฒทองศิริ. 2557. **การผลิตน้ำมันปลาจากวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการผลิตน้ำมันปลาจากปลาแมคเคอเรลกระป๋องและการใช้ประโยชน์**. กรุงเทพฯ: สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ธีรวัฒน์ รัตนพจน์, เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน, สุดาพร ตงศิริ และ ดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2561. **การใช้ประโยชน์น้ำมันปลาน้ำจืดที่อุดมด้วยโอเมก้า-9 เป็นอาหารปลา**. **วารสารวิจัยและพัฒนา มจร.**, 41(2), 185-198.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2552. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- บุษรินทร์ ทองมี, เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน, นริศรา ไส้เลิศ และ ดวงพร อมรเลิศพิศาล. 2561. **การเปรียบเทียบคุณสมบัติของกรดไขมันของน้ำมันปลาจากปลาหนังน้ำจืดลูกผสมและน้ำมันปลาทะเล**. น. 121-129. ใน **รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ประจำปี 2561**. 11-13 ธันวาคม 2561 ณ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่.
- เบ็ญจมาศ จิตรสมบุรณ์. 2559. **รายงานการวิจัยกลไกการสร้างยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม**. นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- ประเวท เกษกัน, สุภาภรณ์ ศิลาเลิศเดชกุล และ ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ. 2556. **ไขมันชั้น สมุนไพรสำหรับนักกีฬาและคนทั่วไป**. **ศรีนครินทร์เวชสาร**, 28(3), 390-398.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2562. **Fish oil / น้ำมันปลา**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/6582/fish-oil> (21 มกราคม 2561).

- พิรุยท สิริไชยากุล. 2552. **เอกสารประกอบการสอนวิชา 499303 หลักพยาธิวิทยาและนิติเวชศาสตร์**. พิษณุโลก: ภาควิชาพยาธิวิทยาและนิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- เพ็ญศิริ ดำรงภคภากร, อัมพรพรรณ อีรานูตร และ ละอองดาว คำชาตา. 2561. โรคอ้วนลงพุง : สัญญาณอันตรายที่ต้องจัดการ. **ศรีนครินทร์เวชสาร**, 33(4), 386-395.
- มณฑล วิสุทธิ. 2560. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ของสารสกัดจากพืชท้องถิ่นบางชนิดในจังหวัดนครราชสีมา. **วารสารวิทยาศาสตร์ มข.**, 45(4), 805-816.
- มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะทันตแพทยศาสตร์. ม.ป.ป. **Laboratory test**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://web1.dent.cmu.ac.th/Sheet482Laboratory.pdf> (3 มกราคม 2563).
- มีนา สาริกะภูติ. 2563. กรดไขมันไม่อิ่มตัวจำเป็น โอเมก้า 3, โอเมก้า 6 และการนำไปใช้ทางสัตวแพทย์ (EP.1). **VPN Magazine**, 211, 32-35.
- รัชฎา จอปา, จรรยา สันตยากร, ปกรณ์ ประจันบาน และ นพดล วณิชชากร. 2553. ผลของโปรแกรมการจัดการตนเองต่อพฤติกรรมการควบคุมกลุ่มอาการเมตาบอลิกในประชาชนวัยกลางคน. **วารสารการพยาบาลและสุขภาพ**, 4(2), 36-45.
- สมศักดิ์ วรคามิน. 2551. **Amazing Omega-3 โอเมก้า- 3 น้ำมันปลา**. กรุงเทพฯ: ศูนย์หนังสือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สันติ โพธิ์ศรี. 2553. ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดจากใบรางจืด ผลต่อการสร้าง nitric oxide และ prostaglandin E2 ในเซลล์เพาะเลี้ยงมาโครฟาจ (RAW 264.7). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ. 2564. **ภาวะโรคอ้วนเพิ่มความเสี่ยงเสียชีวิตจากเชื้อโควิด**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://www.thaihealth.or.th/Content/54608> (12 กันยายน 2563).
- สำนักงานวิจัยเพื่อพัฒนาหลักประกันสุขภาพไทย. 2564. **เปิดข้อมูลคนไทยอ้วนลงพุง**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://www.hfocus.org/content/2021/03/21160> (3 กันยายน 2563).
- สิตา ปรีดานนท์. 2551. **การคัดเลือกและการจำแนกชนิดของเชื้อราที่สร้างสารต้านจุลินทรีย์จากกล้วยป่า**. สงขลา: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สิทธิกรณ์ อยู่แจ่ม. 2557. **ผลของการเสริมน้ำมันปลาต่อการเจริญเติบโต ปริมาณโอเมก้า 3 ในเนื้อปลาและภาวะออกซิเดชันของปลาหนังบึกสยาม**. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- สุทธิวรรณ วุ่นหนู และ ศุภยงค์ วรวุฒิกุลชัย. 2559. **การศึกษาศักยภาพและการประยุกต์ใช้ทาง**

- คลินิกของสารบริสุทธิ์ rhodomyrtone สำหรับรักษาลิว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สุรพล ตังวารสิทธิชัย. 2559. **ภาวะเครียดทางออกซิเดชันและโรคเบาหวานชนิดที่ 2**. พิษณุโลก: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- หทัยพร ศิรินามารัตนะ และ วรางคณา วารีสน้อยเจริญ. 2548. การเสริมน้ำมันปลาในการรักษาโรคที่เกิดจากการอักเสบ. **วารสารไทยเภัชขนิพนธ์**, 2(กันยายน), 179-188.
- อรพิน โกมุติบาล และ สุนิตย์ สุขสำราญ. 2550. **ฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) จากใบนางแย้ม**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.
- อุทัยวรรณ โกวิทวที และ สาธิต โกวิทวที. 2546. **การเก็บรักษาตัวอย่างพืชและสัตว์**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เอกรัฐ ศรีสุข และ กล่าวขวัญ ศรีสุข. 2554. **การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นเร่วหอม และว่านสาวหลง**. ชลบุรี: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- Alderton, W. K., Cooper, C. E. & Knowles, R. G. 2001. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. **The Biochemical journal**, 357(Pt 3), 593-615.
- Amornlerdpison, D., Rattanaphot, T., Tongsir, S., Srimaroeng, C. & Mengumphan, K. 2019. Effect of omega-9 rich fish oil on antioxidant enzymes and relative immune gene expressions in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Songklanakar Journal of Science and Technology**, 41(16), 1287-1293.
- Ansar, W. & Ghosh, S. 2016. Inflammation and Inflammatory Diseases, Markers, and Mediators: Role of CRP in Some Inflammatory Diseases. **Biology of C Reactive Protein in Health and Disease**, 67-107.
- Association of Analytical Communities (AOAC). 2000. **Fatty acid composition, in-house method based on AOAC 965.33**. [Online]. Available <http://webdb.dmsc.moph.go.th> (1 October 2020).
- \_\_\_\_\_. 2012. **Fatty acid composition, in-house method TE-CH-208 based on AOAC 990.06**. [Online]. Available <http://webdb.dmsc.moph.go.th> (1 October 2018).
- \_\_\_\_\_. 2016. **Fatty acid composition, in-house method TE-CH-208 based on AOAC 2016**. [Online]. Available <http://webdb.dmsc.moph.go.th>

(1 October 2018).

- Aubin, G. G., Portillo, M. E., Trampuz, A. & Corvec, S. 2014. Propionibacterium acnes, an emerging pathogen: from acne to implant-infections, from phylotype to resistance. **Med Mal Infect**, 44(6), 241-250.
- Bimbo, A. P. 1998. Guidelines for characterizing food-grade fish oil. Inform.Vol.9.no.5. **International Fishmeal & Oil Manufacturers Association**, 9(5), 473-485.
- Bozzetto, L., Annuzzi, G., L. C., Prinster, A., A. G., A. M., P. C., Patti, L., C. V., Riccardi, G. & Rivellese, A. 2012a. A MUFA diet reduces liver fat in type 2 diabetes patients in absence of weight loss and independently of postprandial lipaemia. **Diabetologia**, 55, S37.
- Bozzetto, L., Prinster, A., Annuzzi, G., Costagliola, L., Mangione, A., Vitelli, A., Mazzarella, R., Longobardo, M., Mancini, M., Vigorito, C., Riccardi, G. & Rivellese, A. A. 2012b. Liver fat is reduced by an isoenergetic MUFA diet in a controlled randomized study in type 2 diabetic patients. **Diabetes Care**, 35(7), 1429-1435.
- Brehm, B. J., Lattin, B. L., Summer, S. S., Boback, J. A., Gilchrist, G. M., Jandacek, R. J. & D'Alessio, D. A. 2009. One-year comparison of a high-monounsaturated fat diet with a high-carbohydrate diet in type 2 diabetes. **Diabetes Care**, 32(2), 215-220.
- Bruno, G. 2014. **Omega-9 Fatty Acids**. [Online]. Available <https://www.huhs.edu/sites/default/files/files/Omega-9%20fatty%20acids%20article.pdf> (4 September 2020).
- Calder, P. C. 2017. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man. **Biochem Soc Trans**, 45(5), 1105-1115.
- Chang, N. W. & Huang, P. C. 1990. Effects of dietary monounsaturated fatty acids on plasma lipids in humans. **J Lipid Res**, 31(12), 2141-2147.
- Choudhury, N., Tan, L. & Truswell, A. S. 1995. Comparison of palmolein and olive oil: effects on plasma lipids and vitamin E in young adults. **Am J Clin Nutr**, 61(5), 1043-1051.
- Coleman, J. W. 2001. Nitric oxide in immunity and inflammation. **Int Immunopharmacol**, 1(8), 1397-1406.
- Cryer, P. E., Tse, T. F., Clutter, W. E. & Shah, S. D. 1984. Roles of glucagon and epinephrine in hypoglycemic and nonhypoglycemic glucose counterregulation

- in humans. **The American journal of physiology**, 247(2), E198-205.
- Due, A., Larsen, T. M., Hermansen, K., Stender, S., Holst, J. J., Toubro, S., Martinussen, T. & Astrup, A. 2008. Comparison of the effects on insulin resistance and glucose tolerance of 6-mo high-monounsaturated-fat, low-fat, and control diets. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 87(4), 855-862.
- Fattore, E., Bosetti, C., Brighenti, F., Agostoni, C. & Fattore, G. 2014. Palm oil and blood lipid-related markers of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of dietary intervention trials. **Am J Clin Nutr**, 99(6), 1331-1350.
- Fernández, D., Menéndez, R. A., Sanz, J. J. & García-Fernández Mdel, C. 2015. Fatty Acid Profile of Two Cured Meat Products: Dry-Cured Ham and Cecina. **Nutr Hosp**, 32(1), 367-372.
- Ferrara, L. A., Raimondi, A. S., d'Episcopo, L., Guida, L., Dello Russo, A. & Marotta, T. 2000. Olive oil and reduced need for antihypertensive medications. **Arch Intern Med**, 160(6), 837-842.
- Ford, E. S. 2003. Insulin resistance syndrome: the public health challenge. **Endocr Pract**, 9 Suppl 2(23-25).
- Ghorbel, I., Chaabane, M., Elwej, A., Kallel, C., Grati Kamoun, N. & Najiba, Z. 2017. Extra Virgin olive oil mitigates hematotoxicity induced by acrylamide and oxidative damage in adult rats. **mazums-pbr**, 3(1), 34-40.
- Gidding, S. S., Prospero, C., Hossain, J., Zappalla, F., Balagopal, P. B., Falkner, B. & Kwiterovich, P. 2014. A double-blind randomized trial of fish oil to lower triglycerides and improve cardiometabolic risk in adolescents. **The Journal of Pediatrics**, 165(3), 497-503.
- Gillingham, L. G., Harris-Janz, S. & Jones, P. J. 2011. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. **Lipids**, 46(3), 209-228.
- Gilmore, L. A., Walzem, R. L., Crouse, S. F., Smith, D. R., Adams, T. H., Vaidyanathan, V., Cao, X. & Smith, S. B. 2011. Consumption of high-oleic acid ground beef increases HDL-cholesterol concentration but both high- and low-oleic acid ground beef decrease HDL particle diameter in normocholesterolemic men. **Journal of Nutrition**, 141(6), 1188-1194.

- Gnoni, G. V., Natali, F., Geelen, M. J. H. & Siculella, L. 2010. Chapter 152 - Oleic Acid as an Inhibitor of Fatty Acid and Cholesterol Synthesis. pp. 1365-1373. In V. R. Preedy & R. R. Watson (Eds.), **Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention**. San Diego: Academic Press.
- Gonçalves-de-Albuquerque, C. F., Medeiros-de-Moraes, I. M., Oliveira, F. M., Burth, P., Bozza, P. T., Castro Faria, M. V., Silva, A. R. & Castro-Faria-Neto, H. C. 2016. Omega-9 Oleic Acid Induces Fatty Acid Oxidation and Decreases Organ Dysfunction and Mortality in Experimental Sepsis. **PLoS One**, 11(4), e0153607.
- Gordon, R. J. & Lowy, F. D. 2008. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, 46 Suppl 5(Suppl 5), S350-S359.
- Gremmels, H., Bevers, L. M., Fledderus, J. O., Braam, B., van Zonneveld, A. J., Verhaar, M. C. & Joles, J. A. 2015. Oleic acid increases mitochondrial reactive oxygen species production and decreases endothelial nitric oxide synthase activity in cultured endothelial cells. **Eur J Pharmacol**, 751, 67-72.
- Grundy, S. M. 2004. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 89(6), 2595-2600.
- Guzik, T. J., Korbout, R. & Adamek-Guzik, T. 2003. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. **Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society**, 54(4), 469-487.
- HHS/USDA (U.S. Department of Health and Human Services/U.S. Department of Agriculture). 2005. **Dietary Guidelines for Americans**. Washington, DC: U.S. Government Printing Office.
- Hoekstra, T., Geleijnse, J. M., Schouten, E. G. & Kluft, C. 2004. Plasminogen activator inhibitor-type 1: its plasma determinants and relation with cardiovascular risk. **Thromb Haemost**, 91(5), 861-872.
- Hotamisligil, G. S. 2006. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, 444(7121), 860-867.
- Huang, C. B., George, B. & Ebersole, J. L. 2010. Antimicrobial activity of n-6, n-7 and n-9 fatty acids and their esters for oral microorganisms. **Archives of oral biology**,

55(8), 555-560.

- Innis, S. M. 2004. Polyunsaturated fatty acids in human milk: an essential role in infant development. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, 554, 27-43.
- International Diabetes Federation. 2010. **IDF worldwide definition of the metabolic syndrome**. [Online]. Available <http://www.idf.org/idf-worldwide-definition-metabolic-syndrome> (2 January 2019).
- Ishak, W. M. W., Katas, H., Yuen, N. P., Abdullah, M. A. & Zulfakar, M. H. 2019. Topical application of omega-3-, omega-6-, and omega-9-rich oil emulsions for cutaneous wound healing in rats. **Drug Deliv Transl Res**, 9(2), 418-433.
- Johnson, M. & Bradford, C. 2014. Omega-3, Omega-6 and Omega-9 Fatty Acids: Implications for Cardiovascular and Other Diseases. **Journal of Glycomics & Lipidomics**, 4(4), doi: 0.4172/2153-0637.1000123.
- Jones, P. H., Senanayake, V. K., Pu, S., Jenkins, D. J. A., Connelly, P. W., Lamarche, B., Couture, P., Charest, A., Baril-Gravel, L., West, S. G., Liu, X., Fleming, J. A., McCrea, C. E. & Kris-Etherton, P. M. 2014. DHA-enriched high-oleic acid canola oil improves lipid profile and lowers predicted cardiovascular disease risk in the canola oil multicenter randomized controlled trial. **The American journal of clinical nutrition**, 100(1), 88-97.
- Jones, P. J., Jew, S. & AbuMweis, S. 2008. The effect of dietary oleic, linoleic, and linolenic acids on fat oxidation and energy expenditure in healthy men. **Metabolism**, 57(9), 1198-1203.
- Jung, H. W., Seo, U.-K., Kim, J.-H., Leem, K.-H. & Park, Y.-K. 2009. Flower extract of *Panax notoginseng* attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory response via blocking of NF-kappaB signaling pathway in murine macrophages. **Journal of Ethnopharmacol**, 122(2), 313-319.
- Katzung, B. G., Masters, S. B. & Trevor, A. J. 2001. **Basic & Clinical Pharmacology**. New York: McGraw Hill.
- Keapai, W., Apichai, S., Amornlerdpison, D. & Lailerd, N. 2016. Evaluation of fish oil-rich in MUFAs for anti-diabetic and anti-inflammation potential in experimental type 2 diabetic rats. **The Korean Journal of Physiology & Pharmacology**, 20(6), 581-593.

- Keys, A., Menotti, A., Karvonen, M. J., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Djordjevic, B. S., Dontas, A. S., Fidanza, F., Keys, M. H. & et al. 1986. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. **American Journal of Epidemiology**, 124(6), 903-915.
- Khoddami, A., Ariffin, A. A., Bakar, J. & Ghazali, H. M. 2009. Fatty Acid Profile of the Oil Extracted from Fish Waste (Head, Intestine and Liver) (*Sardinella lemuru*). **World Applied Sciences Journal**, 7(1), 127-131.
- Kien, C. L., Bunn, J. Y. & Ugrasbul, F. 2005. Increasing dietary palmitic acid decreases fat oxidation and daily energy expenditure. **The American journal of clinical nutrition**, 82(2), 320-326.
- Krauss, R. M., Blanche, P. J., Rawlings, R. S., Fernstrom, H. S. & Williams, P. T. 2006. Separate effects of reduced carbohydrate intake and weight loss on atherogenic dyslipidemia. **Am J Clin Nutr**, 83(5), 1025-1031.
- Kris-Etherton, P. M. 1999. Monounsaturated Fatty Acids and Risk of Cardiovascular Disease. **Circulation**, 100(11), 1253-1258.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N. & Mitchell, R. N. 2007. **Robbins Basic Pathology** 8<sup>th</sup> ed. United States of America: Elsevier Saunders.
- Leyton, J., Drury, P. J. & Crawford, M. A. 1987. Differential oxidation of saturated and unsaturated fatty acids in vivo in the rat. **British Journal of Nutrition**, 57(3), 383-393.
- Li, X. L. & Steiner, M. 1991. Dose response of dietary fish oil supplementations on platelet adhesion. **Arteriosclerosis and Thrombosis: A Journal of Vascular Biology**, 11(1), 39-46.
- Lopes, L. L., Peluzio, M. d. C. G. & Hermsdorff, H. H. M. 2016. Monounsaturated fatty acid intake and lipid metabolism. **Jornal Vascular Brasileiro**, 15(1), 52-60.
- López-Miranda, J., Badimon, L., Bonanome, A., Lairon, D., Kris-Etherton, P. M., Mata, P. & Pérez-Jiménez, F. 2006. Monounsaturated Fat and Cardiovascular Risk. **Nutrition Reviews**, 64(suppl\_4), S2-S12.
- López, S., Bermúdez, B., Pacheco, Y. M., Villar, J., Abia, R. & Muriana, F. J. 2008. Distinctive postprandial modulation of beta cell function and insulin sensitivity

- by dietary fats: monounsaturated compared with saturated fatty acids. **Am J Clin Nutr**, 88(3), 638-644.
- Lottenberg, A. M., Afonso Mda, S., Lavrador, M. S., Machado, R. M. & Nakandakare, E. R. 2012. The role of dietary fatty acids in the pathology of metabolic syndrome. **J Nutr Biochem**, 23(9), 1027-1040.
- Lowenstein, C. J., Alley, E. W., Raval, P., Snowman, A. M., Snyder, S. H., Russell, S. W. & Murphy, W. J. 1993. Macrophage nitric oxide synthase gene: two upstream regions mediate induction by interferon gamma and lipopolysaccharide. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 90(20), 9730-9734.
- Lu, D., Xu, Y., Liu, Q. & Zhang, Q. 2021. Mesenchymal Stem Cell-Macrophage Crosstalk and Maintenance of Inflammatory Microenvironment Homeostasis. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, 9(681171).
- MacMicking, J., Xie, Q. W. & Nathan, C. 1997. Nitric oxide and macrophage function. **Annu Rev Immunol**, 15, 323-350.
- Mashek, D. G. & Wu, C. 2015. MUFAs. **Advances in Nutrition**, 6(3), 276-277.
- Mattson, F. H. & Grundy, S. M. 1985. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. **Journal of Lipid Research**, 26(2), 194-202.
- Mbatia, B., Adlercreutz, D., Adlercreutz, P., Mahadhy, A., Mulaa, F. & Mattiasson, B. 2010. Enzymatic oil extraction and positional analysis of  $\omega$ -3 fatty acids in Nile perch and salmon heads. **Process Biochemistry**, 45(5), 815-819.
- McKeigue, P. M., Shah, B. & Marmot, M. G. 1991. Relation of central obesity and insulin resistance with high diabetes prevalence and cardiovascular risk in South Asians. **Lancet**, 337(8738), 382-386.
- Medeiros-de-Moraes, I. M., Gonçalves-de-Albuquerque, C. F., Kurz, A. R. M., Oliveira, F. M. J., de Abreu, V. H. P., Torres, R. C., Carvalho, V. F., Estado, V., Bozza, P. T., Sperandio, M., de Castro-Faria-Neto, H. C. & Silva, A. R. 2018. Omega-9 Oleic Acid, the Main Compound of Olive Oil, Mitigates Inflammation during Experimental Sepsis. **Oxid Med Cell Longev**, 13), doi: 10.1155/2018/6053492.
- Mensink, R. P. & Katan, M. B. 1987. Effect of monounsaturated fatty acids versus

- complex carbohydrates on high-density lipoproteins in healthy men and women. **Lancet**, 1(8525), 122-125.
- Mequanint, W., Makonnen, E. & Urga, K. 2011. In vivo anti-inflammatory activities of leaf extracts of *Ocimum lamiifolium* in mice model. **J Ethnopharmacol**, 134(1), 32-36.
- Mohamed-Ali, V., Goodrick, S., Rawesh, A., Katz, D. R., Miles, J. M., Yudkin, J. S., Klein, S. & Coppack, S. W. 1997. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. **J Clin Endocrinol Metab**, 82(12), 4196-4200.
- Mokhtari, T., Hussein Osman, H.-E., El-Meghawry El-Kenawy, A. & Dashti, N. 2020. Ameliorative effect of virgin olive oil against nephrotoxicity following sub-chronic administration of ethephon in male rats. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, 10(5), 487-495.
- Muzio, F., Mondazzi, L., Harris, W. S., Sommariva, D. & Branchi, A. 2007. Effects of moderate variations in the macronutrient content of the diet on cardiovascular disease risk factors in obese patients with the metabolic syndrome. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 86(4), 946-951.
- Otto, M. 2009. *Staphylococcus epidermidis* — the 'accidental' pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, 7(8), 555-567.
- Padovese, R. & Curi, R. 2009. Modulation of rat neutrophil function in vitro by cis- and trans-MUFA. **Br J Nutr**, 101(9), 1351-1359.
- Paniagua, J. A., de la Sacristana, A. G., Sánchez, E., Romero, I., Vidal-Puig, A., Berral, F. J., Escribano, A., Moyano, M. J., Pérez-Martínez, P., López-Miranda, J. & Pérez-Jiménez, F. 2007a. A MUFA-rich diet improves postprandial glucose, lipid and GLP-1 responses in insulin-resistant subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 26(5), 434-444.
- Paniagua, J. A., Gallego de la Sacristana, A., Romero, I., Vidal-Puig, A., Latre, J. M., Sanchez, E., Perez-Martinez, P., Lopez-Miranda, J. & Perez-Jimenez, F. 2007b. Monounsaturated fat-rich diet prevents central body fat distribution and decreases postprandial adiponectin expression induced by a carbohydrate-rich diet in insulin-resistant subjects. **Diabetes Care**, 30(7), 1717-1723.

- Pérez-Jiménez, F., López-Miranda, J., Pinillos, M. D., Gómez, P., Paz-Rojas, E., Montilla, P., Marín, C., Velasco, M. J., Blanco-Molina, A., Jiménez Perepérez, J. A. & Ordovás, J. M. 2001. A Mediterranean and a high-carbohydrate diet improve glucose metabolism in healthy young persons. **Diabetologia**, 44(11), 2038-2043.
- Piers, L. S., Walker, K. Z., Stoney, R. M., Soares, M. J. & O'Dea, K. 2003. Substitution of saturated with monounsaturated fat in a 4-week diet affects body weight and composition of overweight and obese men. **Br J Nutr**, 90(3), 717-727.
- PS sample size calculation software**. 2007. [Online]. Available [www.Power-Analysis.com](http://www.Power-Analysis.com)[2017,14.December (14 December 2020)].
- Psaltopoulou, T., Naska, A., Orfanos, P., Trichopoulos, D., Mountokalakis, T. & Trichopoulou, A. 2004. Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 80(4), 1012-1018.
- Qian, F., Korat, A. A., Malik, V. & Hu, F. B. 2016. Metabolic Effects of Monounsaturated Fatty Acid-Enriched Diets Compared With Carbohydrate or Polyunsaturated Fatty Acid-Enriched Diets in Patients With Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. **Diabetes Care**, 39(8), 1448-1457.
- Rao, P. & Knaus, E. E. 2008. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. **J Pharm Pharm Sci**, 11(2), 81s-110s.
- Rehman, K., Haider, K., Jabeen, K. & Akash, M. S. H. 2020. Current perspectives of oleic acid: Regulation of molecular pathways in mitochondrial and endothelial functioning against insulin resistance and diabetes. **Rev Endocr Metab Disord**, 21(4), 631-643.
- Rodríguez-Villar, C., Pérez-Heras, A., Mercadé, I., Casals, E. & Ros, E. 2004. Comparison of a high-carbohydrate and a high-monounsaturated fat, olive oil-rich diet on the susceptibility of LDL to oxidative modification in subjects with Type 2 diabetes mellitus. **Diabet Med**, 21(2), 142-149.

- Ros, E. 2003. Dietary cis-monounsaturated fatty acids and metabolic control in type 2 diabetes. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 78(3), 617S-625S.
- Salas, J., López Miranda, J., Jansen, S., Zambrana, J. L., Castro, P., Paniagua, J. A., Blanco, A., López Segura, F., Jiménez Perepérez, J. A. & Pérez Jiménez, F. 1999. [The diet rich in monounsaturated fat modifies in a beneficial way carbohydrate metabolism and arterial pressure]. **Med Clin (Barc)**, 113(20), 765-769.
- Schwingshackl, L. & Hoffmann, G. 2012. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease: synopsis of the evidence available from systematic reviews and meta-analyses. **Nutrients**, 4(12), 1989-2007.
- . 2013. Comparison of effects of long-term low-fat vs high-fat diets on blood lipid levels in overweight or obese patients: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Academy of Nutrition and Dietetics**, 113(12), 1640-1661.
- Scorletti, E. & Byrne, C. D. 2013. Omega-3 fatty acids, hepatic lipid metabolism, and nonalcoholic fatty liver disease. **Annual review of nutrition**, 33, 231-248.
- Seibert, K., Zhang, Y., Leahy, K., Hauser, S., Masferrer, J., Perkins, W., Lee, L. & Isakson, P. 1994. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 91(25), 12013-12017.
- Serhan, C. N. & Levy, B. 2003. Success of prostaglandin E2 in structure-function is a challenge for structure-based therapeutics. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 100(15), 8609-8611.
- Shah, M., Adams-Huet, B., Brinkley, L., Grundy, S. M. & Garg, A. 2007a. Lipid, glycemic, and insulin responses to meals rich in saturated, cis-monounsaturated, and polyunsaturated (n-3 and n-6) fatty acids in subjects with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, 30(12), 2993-2998.
- Shah, M., Adams-Huet, B. & Garg, A. 2007b. Effect of high-carbohydrate or high-cis-monounsaturated fat diets on blood pressure: a meta-analysis of intervention trials. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 85(5), 1251-1256.
- Shahidi, F. & Miraliakbari, H. 2004. Omega-3 (n-3) Fatty Acids in Health and Disease: Part 1—Cardiovascular Disease and Cancer. **Journal of Medicinal Food**, 7(4), 387-401.

- Shin, J.-S., Ha, I.-H., Lee, T.-G., Choi, Y., Park, B.-Y., Kim, M.-r. & Lee, M. S. 2011. Motion style acupuncture treatment (MSAT) for acute low back pain with severe disability: a multicenter, randomized, controlled trial protocol. **BMC complementary and alternative medicine**, 11, 127-127.
- Simopoulos, A. P. 2002. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **J Am Coll Nutr**, 21(6), 495-505.
- Sofi, F., Cesari, F., Abbate, R., Gensini, G. F. & Casini, A. 2008. Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. **BMJ**, 337, a1344.
- Sotanaphun, U., W., T.-O. & Komindr, S. 2011. **Effect of Thai bitter gourd (Momordica charantia L.) on liver and renal function in type 2 diabetic patients**. Nakhon Pathom: Faculty of Pharmacy, Silpakorn University.
- Stamler, R. 1991. Implications of the INTERSALT study. **Hypertension**, 17(1 Suppl), 116-20.
- Structures of Common Omega Fatty Acids**. 2020. [Online]. Available <http://supplementscience.org/pufas.html> (3 December 2020).
- Tak, P. P. & Firestein, G. S. 2001. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases. **The Journal of clinical investigation**, 107(1), 7-11.
- Tan, C. E., Ma, S., Wai, D., Chew, S.-K. & Tai, E.-S. 2004. Can we apply the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel definition of the metabolic syndrome to Asians? **Diabetes Care**, 27(5), 1182-1186.
- th.wikipedia.org. 2021. **Staphylococcus aureus**. [Online]. Available [https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_aureus](https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus) (2 January 2020).
- Thomsen, C., Rasmussen, O., Christiansen, C., Pedersen, E., Vesterlund, M., Storm, H., Ingerslev, J. & Hermansen, K. 1999. Comparison of the effects of a monounsaturated fat diet and a high carbohydrate diet on cardiovascular risk factors in first degree relatives to type-2 diabetic subjects. **Eur J Clin Nutr**, 53(10), 818-823.
- Tongmee, B., Mengamphan, K., Lailerd, N. & Amornlerdpison, D. 2018. Comparison of fatty acid profiles of freshwater hybrid catfish. p. 60-61. In **Proceedings of MJU annual conference**. Maejo University, Chiangmai.
- Tongmee, B., Ontawong, A., Lailerd, N., Mengamphan, K. & Amornlerdpisan, D. 2021.

- Anti-inflammatory effects and enhancing immune response of freshwater hybrid catfish oil in RAW264.7 cells. **Experimental and Therapeutic Medicine Journal**, 22(5), 1223. doi.org/1210.3892/etm.2021.10657.
- Tutunchi, H., Ostadrahimi, A. & Saghafi-Asl, M. 2020. The Effects of Diets Enriched in Monounsaturated Oleic Acid on the Management and Prevention of Obesity: a Systematic Review of Human Intervention Studies. **Adv Nutr**, 11(4), 864-877.
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T. & Fiotakis, C. 2009. 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine (8-OHdG): A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis. **Journal of Environmental Science and Health Part C Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews**, 27, 120-139.
- van der Vliet, A., Eiserich, J. P. & Cross, C. E. 2000. Nitric oxide: a pro-inflammatory mediator in lung disease? **Respiratory research**, 1(2), 67-72.
- Vessby, B., Uusitupa, M., Hermansen, K., Riccardi, G., Rivellese, A. A., Tapsell, L. C., Näslén, C., Berglund, L., Louheranta, A., Rasmussen, B. M., Calvert, G. D., Maffetone, A., Pedersen, E., Gustafsson, I. B. & Storlien, L. H. 2001. Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. **Diabetologia**, 44(3), 312-319.
- Wangcharoen, W., Mengumphan, K. & Amornlerdpison, D. 2015. Fatty Acid Composition, Physical Properties, Acute Oral Toxicity and Antioxidant Activity of Crude Lipids from Adipose Tissue of Some Commercialized Freshwater Catfish. **Chiang Mai Journal of Science**, 42(3), 626-636.
- Whelton, P. K., He, J., Appel, L. J., Cutler, J. A., Havas, S., Kotchen, T. A., Roccella, E. J., Stout, R., Vallbona, C., Winston, M. C. & Karimbakas, J. 2002. Primary prevention of hypertension: clinical and public health advisory from The National High Blood Pressure Education Program. **JAMA**, 288(15), 1882-1888.
- World Health Organization. 1999. **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO Consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus.** Geneva, Switzerland: World Health Organization.

- \_\_\_\_\_. 2008. Interim summary of conclusions and dietary recommendations on total fat & fatty acids. p. 1-14. In **From the Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition**. 10-14 November, 2008, WHO, Geneva.
- Yanai, H. & Tada, N. 2018. Effects of Consumption of Various Fatty Acids on Serum HDL-Cholesterol Levels. **Journal of Endocrinology and Metabolism**, 8(5), 94-99.
- Yang, Y., Chen, M., Georgeson, K. E. & Harmon, C. M. 2007. Mechanism of oleoylethanolamide on fatty acid uptake in small intestine after food intake and body weight reduction. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 292(1), R235-241.
- Zaid, M., Miura, K., Murakami, Y., Okuda, N., Okayama, A., Sakata, K., Masaki, K. B., Rodriguez, B., Stamler, J. & Ueshima, H. 2015. Association of Dietary MUFA Intake with HDL Profile Measurements in Japanese Men and Women Living in Japan and Hawaii: INTERLIPID Study. **International Journal of Epidemiology**, 44(suppl\_1), i9-i9.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

จำนวนและร้อยละของอาการไม่พึงประสงค์ของอาสาสมัคร  
จากการรับประทานน้ำมันปลาถูกผสมน้ำจืด

จำนวนและร้อยละของอาการไม่พึงประสงค์ของอาสาสมัครจากการรับประทาน  
น้ำมันปลาถูกผสมน้ำจืด

ประเภทของอาการไม่พึงประสงค์	จำนวน (ร้อยละ) (n=33)
<b>อาการไม่พึงประสงค์ที่รุนแรง (Serious ADR)</b>	
อาการใจสั่น	0 (0.00)
ความดันโลหิตต่ำ	0 (0.00)
ภาวะหลังแข็งมาก	0 (0.00)
ผื่นแพ้อย่างรุนแรง	0 (0.00)
อาการตัวตาเหลือง ปัสสาวะสีเหลืองเข้ม	0 (0.00)
<b>อาการไม่พึงประสงค์ที่ไม่รุนแรง ( Non Serious ADR)</b>	
อาการแสบร้อนกลางอก	0 (0.00)
อาการเวียนศีรษะ	0 (0.00)
อาการปากแห้ง คอแห้ง	0 (0.00)
อาการคลื่นไส้	1 (3.03)
อาการอาเจียน	0 (0.00)
อาการลมด้นขึ้นจากกระเพาะอาหาร เรอบ่อย	3 (9.09)
อาการแน่นท้อง ท้องอืด	2 (6.06)
อาการท้องผูก	0 (0.00)
อาการท้องเสีย	0 (0.00)
อาการอ่อนเพลียไม่มีแรง	0 (0.00)



ภาคผนวก ข

ใบรายงานผลการทดสอบน้ำมันปลาน้ำจืด

## 1. ผลการตรวจหาการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด  
Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.  
สาขาเชียงใหม่ : 16485 หมู่ที่ 3 ต.สามัคคี อ.แม่ใจ จ.เชียงใหม่ 50180  
Chiangmai Branch : 16485 Moo. 3 Donsoew, Moeai, Chiangmai 50180 Thailand  
Tel : (66) 0 5389 5131, 6661 0 5389 6133 Fax : (66) 0 5389 6052, (66) 0 5389 6131 Alt: 205  
http://www.centrallabthai.com



Central Lab  
One Stop Food Services

วันที่ออก : 06 มีนาคม 2561

เลขที่รายงาน : TRCM61A04129

หน้า : 1/1

## ใบรายงานผลการทดสอบ

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า	มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 63 หมู่ 4 ต.หนองหาร อ. อัมพพร จ. เชียงใหม่ 50290
รายละเอียดตัวอย่าง	น้ำมันปลา
รหัสตัวอย่าง	CM61A01941-001
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : น้มน้ำมัน ภาชนะบรรจุ : หลอดพลาสติก, จำนวน : 2 หลอด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 50 มิลลิกรัม/หลอด อุณหภูมิขณะรับ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง	02 มีนาคม 2561
วันที่ทดสอบ	02 มีนาคม 2561 - 05 มีนาคม 2561

## ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
<i>Escherichia coli</i>	< 10	CFU/g	-	AOAC (2016) 991.14
<i>Salmonella</i> spp.	Not Detected	in 25 g	-	ISO 6579-1: 2017 (E)

อนุมัติผลโดย  
นางสาวอรพรรณ จันทร์ขันธ์  
ผู้อำนวยการฝ่ายปฏิบัติการ  
CERTIFIED สาขา เชียงใหม่

## 2. ผลการตรวจหาค่า Peroxide Value, Saponification และการปนเปื้อนโลหะหนัก



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด  
Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.  
สาขาเชียงใหม่ : 164/86 หมู่ที่ 3 ต.ดงเม็งแก้ว อ.แม่ออน จ.เชียงใหม่ 50180  
Chiangmai Branch : 164/86 Moo 3 Donkaew, Maerim, Chiangmai 50180 Thailand  
Tel : (66) 0 5389 6131, (66) 0 5389 6133 Fax : (66) 0 5389 6052, (66) 0 5389 6131 ต่อ 705  
http://www.centralabthai.com

Central Lab  
One Stop & Fast Services

วันที่ออก : 12 มีนาคม 2561

เลขที่รายงาน : TRCM61/04493

หน้า : 1/2

### ใบรายงานผลการทดสอบ

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า	มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 63 หมู่ 4 ต.หนองหาร อ.สันทราย จ. เชียงใหม่ 50290
รายละเอียดตัวอย่าง	น้ำมันปลา
รหัสตัวอย่าง	CM61/01888-001
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : น้ำมันปลา ภาชนะบรรจุ : หลอดพลาสติก, จำนวน : 4 หลอด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 50 มิลลิกรัม/หลอด อุณหภูมิขณะรับ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง	28 กุมภาพันธ์ 2561
วันที่ทดสอบ	28 กุมภาพันธ์ 2561 - 12 มีนาคม 2561

### ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Peroxide Value	4.32	mEq/kg	-	AOAC (2000) 965.33
Saponification number	196.30	mgKOH/g	-	AOAC (2000) 920.160
Arsenic (As)	Not Detected	mg/kg	0.050	In - house method TE-CH-260 in connection with : - AOAC (2016) 2013.06 - AOAC (2016) 999.10
Copper (Cu)	0.64	mg/kg	-	In - house method TE-CH-260 in connection with : - AOAC (2016) 2013.06 - AOAC (2016) 999.10
Lead (Pb)	< 0.050	mg/kg	-	In - house method TE-CH-260 in connection with : - AOAC (2016) 2013.06 - AOAC (2016) 999.10
Mercury (Hg)	Not Detected	mg/kg	0.0080	In - house method TE-CH-260 in connection with : - AOAC (2016) 2013.06 - AOAC (2016) 999.10
Tin (Sn)	Not Detected	mg/kg	0.50	In - house method TE-CH-340 based on AOAC (2016) 985.16

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำหิ้งงั้น





บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด

Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.

สาขาเชียงใหม่ : 166/86 หมู่ที่ 3 ต.ดอยแม่ท้อ อ.แม่ออน จ.เชียงใหม่ 50180

Chiangmai Branch : 164/86 Moo 3 Doi Mae Tho, Mae On, Chiangmai 50180 Thailand

Tel : (66) 0 5389 6131, (66) 0 5389 6133 Fax : (66) 0 5389 6002, (66) 0 5389 6131 ต่อ 705

http://www.centralabthai.com

Central Lab  
One Stop & Fast Services

วันที่ออก : 12 มีนาคม 2561

เลขที่รายงาน : TRCM61/04493

หน้า : 2/2

### ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Zinc (Zn)	Not Detected	mg/kg	1.00	In - house method TE-CH-260 in connection with : - AOAC (2016) 2013.06 - AOAC (2016) 999.10

อนุมัติผล โดย  
(นายสมศักดิ์ กระจ่างวา)  
ผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ  
CERTIFIED สาขา เชียงใหม่

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบนี้จัดทำขึ้นเฉพาะเพื่อระบุส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทั้งฉบับ  
FM-QP-24-01-001-R03(14/09/52)P2/2 - CM





ภาคผนวก ค

การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ

## 1. การเผยแพร่ผลงานโดยการตีพิมพ์ในวารสาร

ชื่อบทความ : Tongmee, B., Ontawong, A., Lailerd, N., Mengamphan, K., & Amornlerdpison, D. 2021. Anti-inflammatory Effects and Enhancing Immune Response of Freshwater Hybrid Catfish Oil in RAW264.7 cells. **Experimental and Therapeutic Medicine Journal**, 22(5), 1-9.

The screenshot displays the Spandidos Publications website interface. At the top, there is a navigation bar with the Spandidos logo and a search bar. Below the navigation bar, a row of colorful buttons represents various journals: Oncology Letters, International Journal of Oncology, Microscopy and Clinical Oncology, Experimental and Therapeutic Medicine, International Journal of Molecular Medicine, Biomedical Reports, Oncology Reports, Molecular Medicine Reports, World Academy of Sciences Journal, International Journal of Functional Nutrition, International Journal of Epigenetics, and Medicine International. The main content area features a large green banner with the journal title 'Experimental and Therapeutic Medicine' and a microscopic image of cells. Below the banner, the article details are presented in a structured layout.

**Journal Home**  
 Current Issue  
 Forthcoming Issue  
 Most Read  
 Most Cited (Dimensions)  
 Most Cited (CrossRef)  
 Social Media  
 Archive

**Information**  
 Online Submission  
 Information for Authors  
 Language Editing  
 Information for Reviewers  
 Editorial Policies  
 Editorial Board  
 Join Editorial Board  
 Aims and Scope  
 Abstracting and Indexing  
 Bibliographic Information  
 Information for Librarians  
 Information for Advertisers  
 Reprints and permissions  
 Contact the Editor

**General Information**  
 About Spandidos  
 Conferences  
 Job Opportunities  
 Contact  
 Terms and

**Anti-inflammatory effects and enhancing immune response of freshwater hybrid catfish oil in RAW264.7 cells** Open Access

**Authors:** Bussarin Tongmee, Atcharaporn Ontawong, Narissara Lailerd, Kriangsak Mengamphan, Daungporn Amornlerdpison

**View Affiliations**

**Published online on:** August 26, 2021 <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10657>

**Article Number:** 1223

**Copyright:** © Tongmee et al. This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution License.

**Metrics:** Total Views: 0 | Spandidos Publications: 0 | PMC Statistics: 0 | Total PDF Downloads: 0 | Spandidos Publications: 0 | PMC Statistics: 0

**Cited By (CrossRef):** 0 citations Loading Articles...

**Abstract**

The present study assessed the effect of freshwater hybrid catfish oil (FFO) on the inflammatory status of lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 cells and investigated the underlying mechanisms. RAW264.7 cells were supplemented with various concentrations [0.125-2% in 0.5% propylene glycol (v/v)] of FFO with or without LPS (1 µg/ml) for 24 h. Inflammatory cytokines and mediators were quantified using ELISA and reverse transcription-quantitative PCR. The results revealed that FFO treatment inhibited the secretion and mRNA expression of the pro-inflammatory cytokines IL-6, IL-18, TNF-α. In line with this, FFO suppressed the expression and secretion of the inflammatory mediators cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2. FFO also reduced apoptotic body formation and DNA damage. Correspondingly, FFO enhanced the immune response by modulating the cell cycle regulators p53, cyclin D2 and cyclin E2. Accordingly, FFO may be developed as a nutraceutical product to prevent inflammation.

**Related Articles**

**Article Options**  
**Viewing Options**  
 View Abstract  
 Download PDF  
**Citations**  
 Cite This Article  
 Download Citation  
 Remove Citation Alert  
 Cited By  
**Related Articles**  
 on Spandidos Publications  
**Similar Articles**  
 on Google Scholar  
 on Pub Med  
**Copyright**  
 © Get Permissions

**Journal Metrics**  
 Impact Factor: 2.447  
 Ranked Medicine Research and Experimental (total number of cites)

Tweets by @EIMed

## Anti-inflammatory effects and enhancing immune response of freshwater hybrid catfish oil in RAW264.7 cells

BUSSARIN TONGMEE<sup>1</sup>, ATCHARAPORN ONTAWONG<sup>2</sup>, NARISSARA LAILERD<sup>3</sup>,  
KRIANGSAK MENGAMPHAN<sup>4</sup> and DOUNGPORN AMORNLERDPISAN<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Agricultural Interdisciplinary Program, Faculty of Engineer and Agro-Industry, Maejo University, Chiang Mai 50290;  
<sup>2</sup>Division of Physiology, School of Medical Sciences, University of Phayao, Phayao 56000; <sup>3</sup>Department of Physiology,  
Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200; <sup>4</sup>Center of Excellence in Agricultural Innovation for Graduate  
Entrepreneur; <sup>5</sup>Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

Received February 8, 2021; Accepted July 14, 2021

DOI: 10.3892/etm.2021.10657

**Abstract.** The present study assessed the effect of freshwater hybrid catfish oil (FFO) on the inflammatory status of lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 cells and investigated the underlying mechanisms. RAW264.7 cells were supplemented with various concentrations [0.125-2% in 0.5% propylene glycol (v/v)] of FFO with or without LPS (1 µg/ml) for 24 h. Inflammatory cytokines and mediators were quantified using ELISA and reverse transcription-quantitative PCR. The results revealed that FFO treatment inhibited the secretion and mRNA expression of the pro-inflammatory cytokines IL-6, IL-1β, TNF-α. In line with this, FFO suppressed the expression and secretion of the inflammatory mediators cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2. FFO also reduced apoptotic body formation and DNA damage. Correspondingly, FFO enhanced the immune response by modulating the cell cycle regulators p53, cyclin D2 and cyclin E2. Accordingly, FFO may be developed as a nutraceutical product to prevent inflammation.

### Introduction

Inflammation is one of the first lines of defense against harmful stimuli, such as pathogens, damaged cells, trauma, bacteria and irritants (1). Macrophages detect and react to certain pathogens and consequently regulate the inflammatory response (2). Lipopolysaccharide (LPS) is an endotoxin derived from the outer membrane of Gram-negative bacteria and also a powerful mediator of systemic inflammation and a

driver of septic shock (3). LPS is able to activate macrophages to release several inflammatory cytokines (4). Activation of the inflammatory pathway may be induced by pro-inflammatory mediators and cytokines being secreted, including nitric oxide (NO), cyclooxygenase-2 (COX-2), tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), IL-6 and prostaglandin (PG)E2 (5). Inflammation is one cause of increased morbidity and mortality in intensive care units, also resulting in elevated hospital-related costs (6,7). Nowadays, several anti-inflammatory drugs are available, such as non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) (8). However, a previous study suggested that NSAIDs may induce gastrointestinal tract bleeding (9). Safe and effective strategies to prevent and treat inflammation and its associated diseases are thus urgently required.

The freshwater hybrid catfish (*Pangasius* sp.) belongs to the freshwater catfish family. It has become one of the most popular freshwater fish species and has a high demand, particularly on the European and US markets. Fish contains 2-30% fat and ~50% of its body weight is discarded as waste during the fish processing operation (10). One of the fish processing byproducts is fish oil (FO). FO is a source of long-chain polyunsaturated fatty acid (e.g. omega-3 fatty acids), particularly fish oil extracted from marine fish, which is mainly composed of cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid (EPA) and cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid (11). As a component in FO, omega-3 fatty acids have several benefits, including protection against atherosclerosis, arrhythmias and chronic obstructive pulmonary diseases (12). They also reduce blood pressure, blood glucose and symptoms of asthma and cystic fibrosis (13-15). However, a previous study by our group demonstrated that fish oil from freshwater hybrid catfish contains a high level of monounsaturated omega-9 fatty acid (MUFA) (16). Furthermore, freshwater hybrid catfish oil (FFO) was indicated to have anti-diabetic effects by improving insulin resistance and adipokine imbalance in a rat model of type 2 diabetes and also suppress pro-inflammatory cytokine protein expressions in the skeletal muscle tissues of those rats (17). The omega-9 fatty acid increased of high-density lipoprotein-cholesterol and decreased low-density lipoprotein-cholesterol (17). However, the effect of FFO on the

*Correspondence to:* Dr Doungporn Amornlerdpisan, Center of Excellence in Agricultural Innovation for Graduate Entrepreneur, Maejo University, 63 Sansai-Phrao Road, Sansai, Chiang Mai 50290, Thailand  
E-mail: doungpornfishtech@gmail.com

*Key words:* anti-inflammatory, cytokine, DNA damage, freshwater hybrid catfish oil, immune response

inflammatory condition and the underlying mechanisms have remained elusive. In the present study, the anti-inflammatory effects of FFO on RAW264.7 macrophages stimulated by LPS were examined and the associated mechanism was investigated.

#### Materials and methods

**Chemicals.** Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) and fetal bovine serum (FBS) were purchased from Gibco; Thermo Fisher Scientific, Inc.  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate and LPS were purchased from Merck KGaA. All other chemicals with high purity were purchased from commercial sources.

**Preparation of FFO.** FO of freshwater hybrid catfish (*Pangasius gigas* x *Pangasianodon hypophthalmus*) was purchased from a private company, Me Natural Co., Ltd., which cooperated and received the adipose tissue from the Center of Excellence in Giant Catfish and Buk Siam Catfish, Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University (Chiang Mai, Thailand). FO was extracted as previously described, which exhibited a high omega-9 content and biological activity (18). In brief, frozen adipose tissues were purified by cleaning and steaming at 90°C for 30 min. The liquid oil was subsequently filtered through a filter sack and squeezed using a screw compressor. The squeezed liquid was centrifuged at 2,268 x g for 10 min at 25°C to separate the solid particles from the oil and the supernatant FFO was separated. Solvent-free extraction was used to obtain FFO. As previously, adipose tissue was extracted and partially purified as aforementioned, resulting in FFO at a yield of 300 ml per 1 kg of adipose tissue.

**Determination of fatty acids, fat-soluble vitamins and heavy metal levels of FFO.** The chemical compounds, including the fatty acids and fat-soluble vitamins, were sent for analysis at a certified lab with international standardization in the field of information technology (ISO172025), the Central Laboratory (Thailand) Co. Ltd., Chiang Mai Branch, following the TE-CH 260 in-house method of the Association of Official Analytical Chemists 996.06 (19). Heavy metal contamination of FFO was also detected according to this in-house method.

**Cell culture.** RAW264.7 cells were purchased from the American Type Culture Collection. Cells at passage 2-22 were maintained in DMEM (Thermo Fisher Scientific, Inc) containing 3.7 g/l NaHCO<sub>3</sub> supplemented with 10% FBS (Thermo Fisher Scientific, Inc) and 1% penicillin/streptomycin in a humidified atmosphere at 37°C with 5% CO<sub>2</sub> and sub-cultured every 4-5 days using 0.05% trypsin-EDTA in PBS (Thermo Fisher Scientific, Inc.). Cells were seeded at a density of 1x10<sup>5</sup> cells/well and cultured in 6-, 12- and 96-well plates for 3 days until subsequent experimentation. The medium was replaced every 2 days during culture.

**Determination of cell viability.** The MTT assay was performed to assess the effect of FFO on cell viability. Cells were incubated with serum-free medium with FFO at 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1 or 2% in 0.5% propylene glycol (v/v). Subsequently, serum-free

medium containing 0.5 mg/ml of MTT (Thermo Fisher Scientific, Inc.) was added to each well, followed by incubation at 37°C for 4 h. The MTT solution was then aspirated and cells were washed once with ice-cold PBS. The purple formazan crystals were dissolved in DMSO for 30 min and cell viability was subsequently analyzed by measuring the absorption at a wavelength of 570 nm using an M965 AccuReader microplate reader (Metertech, Inc.). The lysed cells were detected at a wavelength of 680 nm was used as a reference. Cell viability was calculated as follows: Cell viability (%) = [(Absorbance value-reference value) x100]/[mean of (absorbance value-reference value) in untreated cells].

**ELISA.** RAW264.7 cells were seeded into 12-well plates at a density of 1x10<sup>5</sup> cells/ml and incubated for 24 h at 37°C in a humidified atmosphere with 5% CO<sub>2</sub>. The culture medium was removed and cells were treated with different concentrations of FFO [0.125-2% in 0.5% propylene glycol (v/v)] with or without LPS (1  $\mu$ g/ml) in fresh medium for 24 h at 37°C in a humidified atmosphere with 5% CO<sub>2</sub>. Subsequently, the cells were homogenized and lysed cells were centrifuged at 2,000 x g for 10 min at 4°C. The supernatant was collected and stored at -80°C for quantification of IL-6 (cat. no. BIOL-431304), IL-1 $\beta$  (cat. no. BIOL-432604), TNF- $\alpha$  (cat. no. BIOL-430904), NO (cat. no. 780001) and PGE2 (cat. no. ABBK-KTE70765-96T) concentrations using commercial kits (BioLegend, Inc.) according to the manufacturer's protocols.

**NO assay.** The nitrate/nitrite concentration was determined using a colorimetric assay kit (Cayman Chemical Co.). In brief, cells were treated with different concentrations of FFO [0.125-2% in 0.5% propylene glycol (v/v)] with or without LPS (1  $\mu$ g/ml) for 24 h at 37°C in a humidified atmosphere with 5% CO<sub>2</sub>. Treated cells were centrifuged at 10,000 x g for 20 min at 4°C. The supernatant was subsequently collected to measure the NO concentration at a wavelength of 540 nm using an M965 AccuReader microplate reader (Metertech, Inc.).

**Hoechst 33342 staining.** To confirm the effect of FFO on LPS-induced DNA damage, RAW264.7 cells were seeded into 8-well cell culture slides and treated with different concentrations of FFO [0.125-2% in 0.5% propylene glycol (v/v)] with or without LPS (1  $\mu$ g/ml) for 24 h at 37°C in a humidified atmosphere with 5% CO<sub>2</sub>. Treated cells were fixed with 4% paraformaldehyde for 10 min at room temperature and subsequently stained with Hoechst 33342 (5  $\mu$ g/ml) for 10 min at room temperature. Cells were washed twice with PBS and observed under a Nikon Eclipse Ni-U fluorescent microscope (original magnification, x40; Nikon Corporation).

**DNA damage assay.** To further determine the protective effect of FFO on LPS-induced DNA damage, the effect of FFO on DNA impairment was investigated via ELISA. RAW264.7 cells were seeded into 12-well plates at a density of 1x10<sup>5</sup> cells/ml and incubated for 24 h at 37°C in a humidified atmosphere with 5% CO<sub>2</sub>. The culture medium was removed and cells were treated with different concentrations of FFO [0.125-2% in 0.5% propylene glycol (v/v)] with or without LPS (1  $\mu$ g/ml) for 24h at 37°C in a humidified atmosphere with 5% CO<sub>2</sub>.

Table I. Primer sequences and expected amplicon sizes for gene amplification.

cDNA	GenBank accession no.	Forward primer	Reverse primer	Amplicon size (bp)
TNF- $\alpha$	NM013693.3	5'-ACCTGGCCCTCTACCTTGT-3'	5'-CCCGTAGGGCGATTACAGTC-3'	161
IL-1 $\beta$	NM008361.4	5'-GCCACCTTTTGACAGTGATGAG-3'	5'-AGTGATACTGCCTGCCTGAAG-3'	165
IL-6	NM031168.2	5'-CAACGATGATGCACTTGCAGA-3'	5'-TCTCTCTGAAGGACTCTGGCT-3'	201
COX-2	NM011198.4	5'-CCACTTCAAGGGAGTCTGGA-3'	5'-AGTCATCTGCTACGGGAGGA-3'	197
Cyclin D2	NM009829.3	5'-ACCTCCCGCAGTGTCTATT-3'	5'-CACAGACCTCTAGCATCCAGG-3'	93
Cyclin E2	NM001037134.2	5'-TCTGTGCATTCTAGCATCGACTC-3'	5'-AAGGCACCATCGTCTACACATTC-3'	149
p27	NM009875.4	5'-GCGGTGCCTTAATTGGGTCT-3'	5'-GGCTTCTTGGGCGTCTGCT-3'	230
p53	NM011640.3	5'-ACCGCCGACCTATCCTTACC-3'	5'-TCTTCTGTACGGCGGTCTCTC-3'	118
GAPDH	NM001289726.1	5'-TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3'	5'-TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG-3'	150

TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor- $\alpha$ ; IL, interleukin; COX-2, cyclooxygenase-2.

Treated cells were centrifuged at 10,000  $\times$  g for 20 min at 4°C. The supernatant was collected and stored at -80°C for quantification of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG; cat. no. AB-EIADNAD), a DNA damage marker, using commercial kit (Thermo Fisher Scientific, Inc.) according to the manufacturer's protocol.

**Reverse transcription-quantitative (RT-q)PCR.** Total RNA was extracted and purified from RAW264.7 cells using TRIzol<sup>®</sup> reagent (Thermo Fisher Scientific, Inc.) according to the manufacturer's protocol and reverse transcribed into cDNA using the SensiFAST<sup>™</sup> cDNA synthesis kit (Bioline). qPCR was subsequently performed using SYBR Real-Time PCR Master Mix (Bioline) on a CFX Touch real-time PCR system (Bio-Rad Laboratories, Inc.). PCR amplifications were performed at a 20- $\mu$ l volume with the following thermocycling conditions: A polymerase enzyme activation step at 95°C for 2 min; followed by 40 cycles of denaturation at 95°C for 5 sec, 10 sec of annealing at 60°C depending on primers, and 10 sec of elongation at 72°C. The primer sequences used for qPCR were purchased from Macrogen, Inc. and used at a final concentration of 0.4  $\mu$ M. The primer sequences for mouse TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, COX2, p53, p27, cyclin D2, cyclin E2 and GAPDH are presented in Table I (20-25). Gene expression was calculated using the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method (26) and normalized to GAPDH. Data were reported as the relative fold change. qPCR amplification was performed in duplicate for each synthesized cDNA set.

**Statistical analysis.** Statistical analysis was performed using SPSS version 23 software (IBM Corp.). Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean. One-way ANOVA followed by Dunnett's test was used to compare differences between multiple groups.  $P < 0.05$  was considered to indicate a statistically significant difference.

## Results

**Fatty acids and vitamins in FFO.** As presented in Table II, FFO contained several fatty acids, including saturated, unsaturated, MUFAs and polyunsaturated fatty acid (PUFAs)

Table II. Fatty acid composition and vitamin content of freshwater hybrid catfish oil.

Chemical component	Amount
Saturated fatty acids, g/100 g	40.38 $\pm$ 2.94
Unsaturated fatty acids, g/100 g	55.80 $\pm$ 0.64
Monounsaturated fatty acids, g/100 g	46.74 $\pm$ 2.24
Oleic acid, g/100 g	42.07 $\pm$ 1.79
Omega-9	42.27 $\pm$ 1.76
Polyunsaturated fatty acids, g/100 g	12.75 $\pm$ 1.04
Omega-3	1.17 $\pm$ 0.27
Omega-6	10.95 $\pm$ 1.03
Vitamins	
Vitamin A (retinol), $\mu$ g/100 g	1.80 $\pm$ 0.12
Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol), mg/100 g	0.69 $\pm$ 0.06

Values are expressed as means  $\pm$  standard error of the mean (n=3).

at 40.38, 55.80, 46.74 and 12.75 g/100 g of FFO, respectively. Among the detected MUFAs, the predominant fatty acid was omega-9 (42.27 $\pm$ 1.76 g/100 g of FFO). In addition, FFO also contained PUFAs and the predominant fatty acids were omega-3 (1.17 $\pm$ 0.39 g/100 g of FFO) and omega-6 (10.95 $\pm$ 1.46 g/100 g of FFO). In addition, vitamin A was present at 1.80 $\pm$ 0.12  $\mu$ g/100 g of FFO and vitamin E was present at 0.69 $\pm$ 0.06 mg/100 g of FFO.

**Heavy metal content profiles of FFO.** The concentrations of arsenic, copper, lead, mercury, tin and zinc in FFO are presented in Table III. The results demonstrated that FFO contained copper and lead at much lower concentrations, while arsenic, mercury, tin and zinc were not detected. Moreover, the USA established a recommended dietary allowance of copper for adults at 0.9 mg/day (27).

**FFO decreases the secretion of pro-inflammatory cytokines in RAW264.7 cells.** To determine the anti-inflammatory effect of FFO in RAW264.7 cells, the levels of pro-inflammatory cytokines were detected via ELISA. As presented in Fig. 1A, LPS

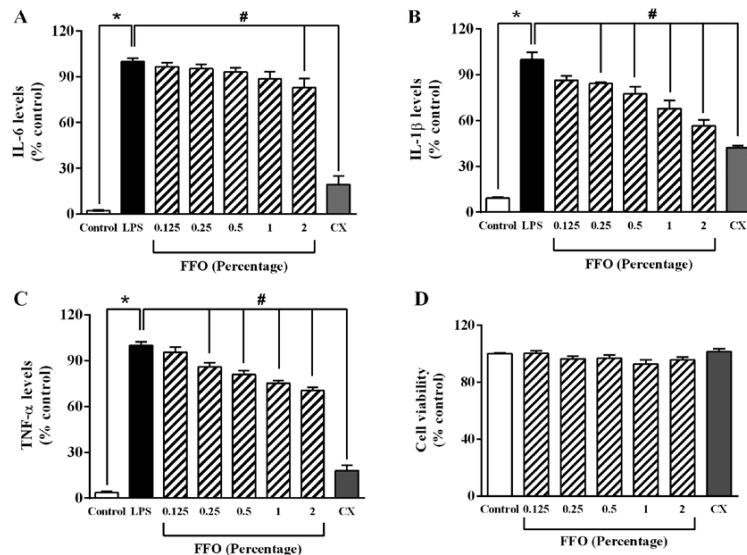


Figure 1. Inflammatory response was inhibited by treatment with FFO in LPS-stimulated RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were pre-treated with different concentrations of FFO in the presence or absence of LPS for 24 h. The production of (A) IL-6, (B) IL-1 $\beta$  and (C) TNF- $\alpha$  was measured by ELISA. (D) Viability of RAW264.7 cells after exposure to different concentrations of FFO with or without LPS for 24 h. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean ( $n=5$ ). \* $P<0.05$  vs. control; # $P<0.05$  vs. LPS. IL, interleukin; TNF, tumor necrosis factor; LPS, lipopolysaccharide; FFO, freshwater hybrid catfish oil; CX, celecoxib.

at 1  $\mu\text{g/ml}$  significantly increased the levels of pro-inflammatory cytokines, while added FFO at 2% significantly decreased IL-6 production compared with LPS-treated cells. Added FFO at 0.25-2% also markedly decreased TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  expression compared with LPS-treated cells (Fig. 1B and C). Similarly, celecoxib (CX), an NSAID (28), significantly decreased IL-1 $\beta$  expression. However, in the absence of LPS, there was no significant effect of FFO (0.25-2%) and CX on the viability of RAW264.7 cells compared with the control cells (Fig. 1D). Taken together, these results suggested that FFO exerts an anti-inflammatory effect without a cytotoxic effect.

*FFO decreases the mRNA expression levels of pro-inflammatory cytokines in RAW264.7 cells.* To confirm the inhibitory effect of FFO on inflammation, RT-qPCR analysis was performed to detect the mRNA expression levels of the pro-inflammatory cytokines IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in RAW264.7 cells. A single dose (2%) was selected, as it significantly decreased all inflammatory cytokines (Fig. 1). The results demonstrated that the expression levels of the pro-inflammatory cytokines significantly decreased following additional treatment with FFO and CX compared with LPS-treated cells (Fig. 2). Collectively, these results suggested that FFO inhibits the synthesis of pro-inflammatory cytokines in activated macrophages.

*FFO suppresses molecules involved in inflammatory signaling.* The present study further investigated the molecular

mechanisms by which FFO reduces inflammation and thus, signalling molecules of the inflammatory pathway were assessed. As presented in Fig. 3A, LPS significantly enhanced NO production compared with the control. However, the addition of FFO had no effect on NO production compared with LPS-treated cells. Furthermore, the effects of FFO on the production of PGE<sub>2</sub>, a principal mediator of inflammation, and COX-2, a prostaglandin-endoperoxide synthase (29), were investigated in the present study. The results demonstrated that FFO significantly decreased COX-2 mRNA expression, which in turn decreased PGE<sub>2</sub> production (Fig. 3B and C). Taken together, these results suggested that FFO exerts anti-inflammatory effects on LPS-stimulated RAW264.7 cells.

*FFO prevents apoptosis and DNA damage.* To validate the inhibitory effect of FFO on cell apoptosis, RAW264.7 cells treated with FFO, with or without LPS for 24 h, were stained with Hoechst 33342. Microscopic observation demonstrated that treatment with LPS increased the rate of cell apoptosis featuring nuclear fragmentation, chromatin condensation and apoptotic body formation compared with the control cells (Fig. 4A and B). However, these features were reduced in FFO- and CX-treated cells (Fig. 4C and D).

In addition, it was investigated whether FFO is able to prevent DNA damage. As presented in Fig. 4E, treatment with LPS markedly increased the production of the 8-OHdG adduct, an oxidative stress-induced DNA damage marker (30), compared with the control cells. It was observed that the production of 8-OHdG induced by LPS significantly decreased

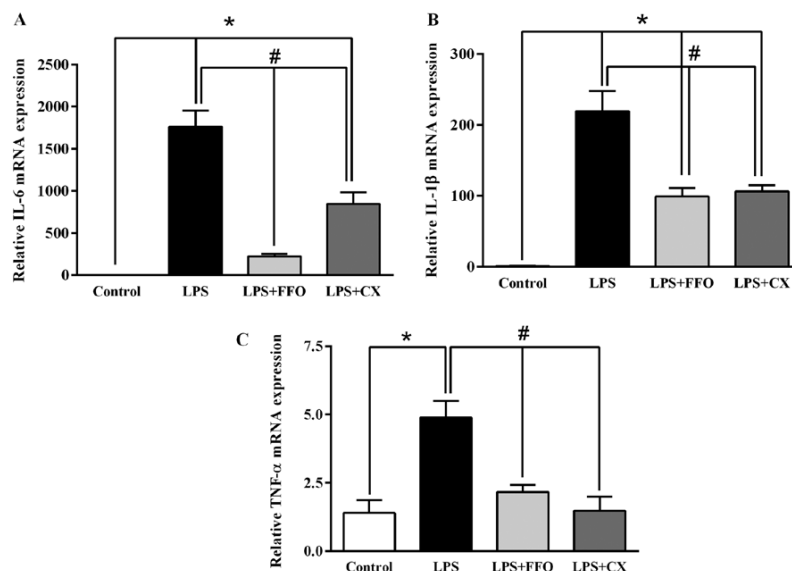


Figure 2. Gene expression of pro-inflammatory cytokines in LPS-stimulated RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were pre-treated with different concentrations of FFO in the presence or absence of LPS for 24 h. The expression of (A) IL-6, (B) IL-1 $\beta$  and (C) TNF- $\alpha$  was measured by reverse transcription-quantitative PCR. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (n=5). \*P<0.05 vs. control; #P<0.05 vs. LPS. IL, interleukin; TNF, tumor necrosis factor; LPS, lipopolysaccharide; FFO, freshwater hybrid catfish oil; CX, celecoxib.

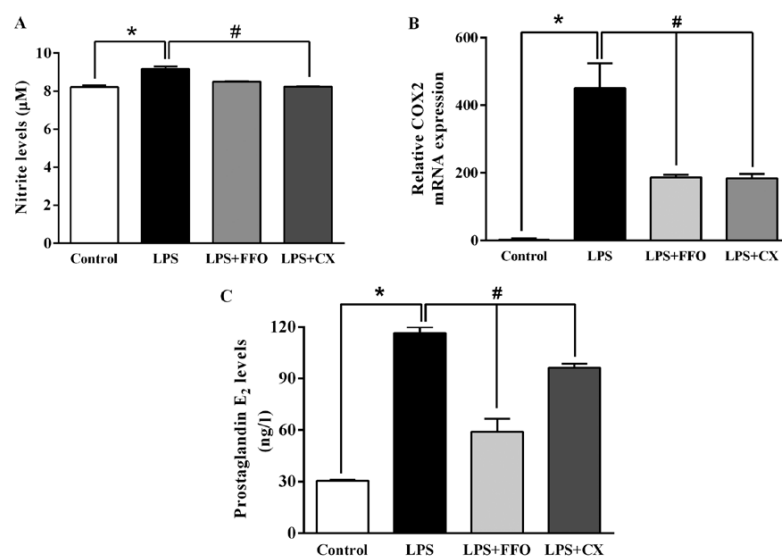


Figure 3. FFO attenuates NO production, COX-2 mRNA expression and PGE<sub>2</sub> production in LPS-stimulated RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were supplemented with FFO or CX in the presence or absence of LPS for 24 h. The production of (A) NO, (B) expression of COX-2 and (C) PGE<sub>2</sub> levels were evaluated. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean (n=5). \*P<0.05 vs. control; #P<0.05 vs. LPS. COX-2, cyclooxygenase-2; PGE<sub>2</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub>; LPS, lipopolysaccharide; NO, nitric oxide; FFO, freshwater hybrid catfish oil; CX, celecoxib.

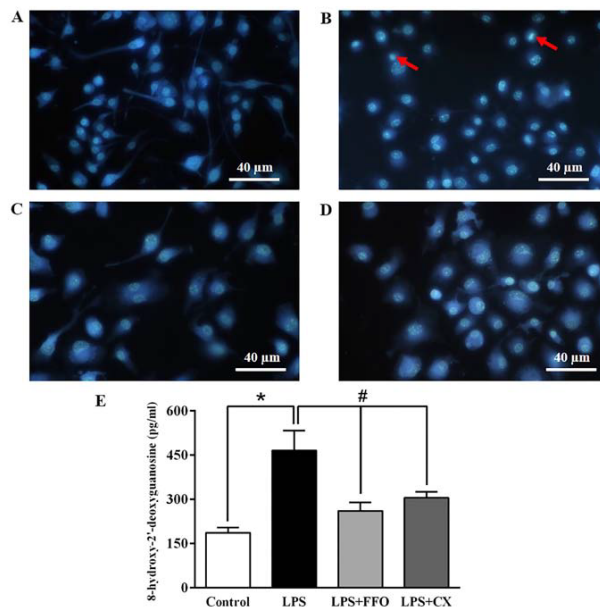


Figure 4. Cytoprotective effect of FFO in LPS-stimulated RAW264.7 cells. Cells were seeded in 12-well plates and treated with FFO or CX in the presence or absence of LPS. After 24 h, cells were treated with Hoechst 33342 at 5  $\mu\text{g/ml}$  for 10 min and then observed under an inverted fluorescence microscope (original magnification,  $\times 40$ ; total magnification,  $\times 400$ ; scale bar, 40  $\mu\text{m}$ ). The cell nucleus changes of apoptotic cells are indicated by red arrows. (A) Control, (B) LPS group, (C) LPS+FFO group and (D) LPS+CX group. (E) The amount of 8-OHdG in the DNA was determined using an 8-OHdG-EIA kit. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean ( $n=5$ ). \* $P<0.05$  vs. control, # $P<0.05$  vs. LPS. LPS, lipopolysaccharide; FFO, freshwater hybrid catfish oil; CX, oleeoixib.

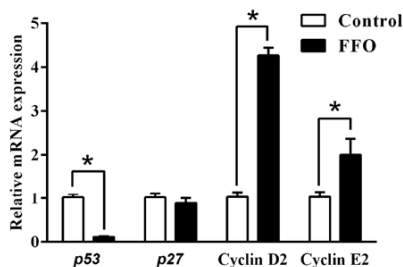


Figure 5. FFO promotes the proliferation of RAW264.7 cells by modulating cell cycle regulators. The gene expression of cell cycle regulators was determined by reverse transcription-quantitative PCR after treatment with FFO for 24 h. Values are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean ( $n=5$ ). \* $P<0.05$  vs. control. LPS, lipopolysaccharide; FFO, freshwater hybrid catfish oil.

in cells co-treated with FFO. Similarly, CX also significantly decreased 8-OHdG levels. Collectively, these results suggested that FFO has a cytoprotective effect.

*FFO enhances immune response by modulating cell cycle regulators.* A previous study reported that programmed cell

Table III. Heavy metal content in freshwater hybrid catfish oil.

Element (symbol)	Amount (mg/kg)
Arsenic (As)	Not detected
Copper (Cu)	<0.50
Lead (Pb)	<0.050
Mercury (Hg)	Not detected
Tin (Sn)	Not detected
Zinc (Zn)	Not detected

death serves an important role in the regulation of inflammation (31). Thus, the current study also investigated the effect of FFO on cell cycle regulators. To identify the effect of FFO that are responsible for enhancing the immune response, the present study also investigated the expression of cell proliferation markers in RAW264.7 cells. As presented in Fig. 5, the gene expression of the cell cycle inhibitors p27 and p53 (32-35) decreased in FFO-treated cells compared with the control. Furthermore, gene expression of the cell cycle inducers cyclin D2 and cyclin E2 increased in RAW264.7 cells treated with FFO. Taken together, these results suggested that FFO improves inflammatory status by modulating cell cycle regulators.

## Discussion

To the best of our knowledge, the present study was the first to demonstrate that FFO rich in omega-9 exerts anti-inflammatory effects *in vitro* by decreasing the expression and secretion of pro-inflammatory cytokines and mediators, preventing DNA damage via reduction of apoptotic body formation and 8-OHdG, and also promotes an immune response. A previous study demonstrated that the activation of tissue macrophages releases various pro-inflammatory cytokines, including TNF- $\alpha$ , IL-1 and IL-6, resulting in autoimmune and inflammatory diseases. In addition, n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) serve anti-inflammatory effects by reducing the production of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 and tissue factors by stimulated monocytes (36). Thus, inhibiting the synthesis of these cytokines may prove useful for the treatment of autoimmune and inflammatory diseases. The results of the present study demonstrated that FFO markedly decreased the production of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  and mRNA expression levels in RAW264.7 cells, similar to NSAIDs. These results suggested that FFO exerts an anti-inflammatory effect by down-regulating pro-inflammatory cytokines at both the transcriptional and translational levels, without any cell toxicity. Similarly, oleic acid, one of the most representative monounsaturated omega-9 fatty acids, was reported to mediate anti-inflammatory effects by inhibiting reactive oxygen species, p38 MAPK and Akt signaling pathways/IKK/NF- $\kappa$ B in BV2 cells (37).

Macrophages are associated with acute and chronic inflammatory responses by stimulating NO generation, resulting in an increment of macrophage activity (38). NO and PGE2 production are critical immune-regulatory biomarkers for chronic inflammatory diseases, such as hepatic dysfunction and pulmonary disease (39). The results of the present study demonstrated that FFO decreased PGE2 and its synthase enzyme COX-2, but not the NO level, similar to the action of NSAIDs. Previous studies have reported that natural products, including coumarin, Indonesian cassia extract and *Halocynthia aurantium* or docosahexaenoic acid-omega-3, decrease PGE2 and NO expression levels, which suggests that they have potential as anti-inflammatory agents (40-42). Conversely, it has been demonstrated that omega 3 increases the production of PGE2 (43). The increment of the PGE2 concentration may be inhibited by the NF- $\kappa$ B signaling pathway and EP4 receptor, resulting in anti-inflammatory effects (44). There are controversial data on the effect of PGE2 in inflammation. The results of the present study demonstrated that FFO contains several fatty acids, including omega-3, -6 and -9. Consistently, previous studies have demonstrated that omega-3 fatty acids decrease PGE2 by decreasing the catalytic monomer of COX-1 dimer by arachidonic acid and inhibiting COX-1 oxygenation (45,46). In addition, omega-9 exerts anti-inflammatory effects in inflammation via a PPAR- $\gamma$  expression-dependent mechanism (47).

It is well-known that there is a close association between inflammation and DNA damage (48). NO generated by inflammatory cytokine stimulation is sufficient to induce oxidative DNA damage (49). The results of the present study demonstrated that LPS induced DNA damage by nuclear fragmentation, chromatin condensation and apoptotic body formation, the effects of which were reversed following treatment with FFO and NSAIDs. Consistently, n-3 polyunsaturated fatty acids attenuate oxidative stress-induced DNA damage

in vascular endothelial cells through upregulation of nuclear factor-mediated antioxidant response and the decrease in intracellular reactive oxygen species (50). In addition, the present study demonstrated that the expression of cell cycle regulators, including cyclin D2 and cyclin E2, increased following treatment with FFO, while p53 expression was inhibited. A previous study reported that cyclin D2 deficiency suppresses immune activity (51). On the other hand, hyperactive cyclin D2 expression promotes autoimmune disease or allograft rejection (52). Other natural products merely promote immune responses by regulating cell cycle regulators. For instance, *A. asphodeloides* enhances the immune response of RAW264.7 cells by extending the cell cycle S-phase, suppressing p27 and increasing cyclin D2 and cyclin E2 gene expression (53).

In conclusion, the results of the present study demonstrated that FFO improved inflammation by suppressing the mRNA expression and secretion of pro-inflammatory cytokines and their mediators, and inhibiting apoptotic body formation and DNA damage. FFO also enhanced the immune response by modulating cell cycle regulators. Thus, FFO may be used as a natural anti-inflammatory supplement. Moreover, future *in vivo* studies and clinical trials are required to elucidate whether FFO has an overall anti-inflammatory effect in autoimmune or inflammatory diseases.

## Acknowledgements

Not applicable.

## Funding

No funding was received.

## Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

## Authors' contributions

BT performed the experiments, collected and analysed the data, and wrote the first draft of the manuscript. AO designed the experiments, collected and analysed the data and wrote the manuscript. NL and KM provided, analyzed and interpreted the data. DA designed and verified the experiments, analysed the data, and wrote and provided critical feedback for the manuscript. DA and AO confirm the authenticity of all the raw data. All authors read and approved the final version of the study.

## Ethics approval and consent to participate

Not applicable.

## Patient consent for publication

Not applicable.

## Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

## References

- Pereira DM, Correia-da-Silva G, Valentão P, Teixeira N and Andrade PB: Anti-inflammatory effect of unsaturated fatty acids and Ergosta-7,22-dien-3-ol from *Marthasterias glacialis*: Prevention of CHOP-mediated ER-stress and NF- $\kappa$ B activation. *PLoS One* 9: e88341, 2014.
- Lee HJ, Shin JS, Lee KG, Park SC, Jang YP, Nam JH and Lee KT: Ethanol extract of *Potentilla supina* Linne suppresses LPS-induced inflammatory responses through NF- $\kappa$ B and AP-1 inactivation in macrophages and in endotoxic mice. *Phytother Res* 31: 475-487, 2017.
- Bennett JE, Dolin R and Blaser MJ: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 8th edition. Bennett JE, Dolin R and Blaser MJ (eds). Elsevier/Saunders, Philadelphia, PA, p27, 2015.
- Oh YC, Cho WK, Oh JH, Im GY, Jeong YH, Yang MC and Ma JY: Fermentation by *Lactobacillus* enhances anti-inflammatory effect of Oyaksungisan on LPS-stimulated RAW 264.7 mouse macrophage cells. *BMC Complement Altern Med* 12: 17, 2012.
- Fard MT, Arulseivan P, Karthivashan G, Adam SK and Fakurazi S: Bioactive extract from *Moringa oleifera* inhibits the pro-inflammatory mediators in lipopolysaccharide stimulated macrophages. *Pharmacogn Mag* 11 (Suppl 4): S556-S563, 2015.
- Adrie C, Alberti C, Chaix-Couturier C, Azoulay E, De Lassence A, Cohen Y, Meshaka P, Cheval C, Thuong M, Troché G, *et al.*: Epidemiology and economic evaluation of severe sepsis in France: Age, severity, infection site, and place of acquisition (community, hospital, or intensive care unit) as determinants of workload and cost. *J Crit Care* 20: 46-58, 2005.
- O'Brien DJ and Gould IM: Maximizing the impact of antimicrobial stewardship: The role of diagnostics, national and international efforts. *Curr Opin Infect Dis* 26: 352-358, 2013.
- Parvizi J and Kim GK: High Yield Orthopaedics. Saunders/Elsevier, Philadelphia, PA, pp325-326, 2010.
- Dhikav V, Singh S, Pande S, Chawla A and Anand KS: Non-steroidal drug-induced gastrointestinal toxicity: Mechanisms and management. *J IACM* 4: 315-322, 2003.
- Wangcharoen W, Mengumphan K and Amornlerdpison D: Fatty acid composition, physical properties, acute oral toxicity and antioxidant activity of crude lipids from adipose tissue of some commercialized freshwater catfish. *Warasan Khana Witthayasat Maha Witthayalai Chiang Mai* 42: 626-636, 2015.
- Khoddami A, Ariffin A, Bakar J and Mohd Ghazali H: Fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Sardinella lemuru*). *World Appl Sci J* 7: 127-131, 2009.
- Gammone MA, Riccioni G, Parrinello G and D'Orazio N: Omega-3 polyunsaturated fatty acids: Benefits and endpoints in sport. *Nutrients* 11: 46, 2018.
- Kim JS and Park JW: Mince from seafood processing by-product and surimi as food ingredients. In: Maximising the Value of Marine By-Products. Shahidi F (ed). Woodhead Publishing, Sawston, pp196-228, 2007.
- Kim SK and Mendis E: Bioactive compounds from marine processing byproducts - A review. *Food Res Int* 39: 383-393, 2006.
- Tawfik M: Proximate composition and fatty acids profiles in most common available fish species in Saudi market. *Asian J Clin Nutr* 1: 50-57, 2009.
- Bussarin T, Kriangsak M, Narissara L and Dounporm A: Comparison of fatty acid profiles of freshwater hybrid catfish. In: Proceedings of MJU Annual Conference. The Office of Agricultural Research and Extension Maejo, Maejo University, pp60-61, 2018.
- Keapai W, Apichai S, Amornlerdpison D and Lailerd N: Evaluation of fish oil-rich in MUFAs for anti-diabetic and anti-inflammation potential in experimental type 2 diabetic rats. *Korean J Physiol Pharmacol* 20: 581-593, 2016.
- Amornlerdpison D, Rattanaphot T, Tongsir S, Srimaroen C and Mengumphan K: Effect of omega-9-rich fish oil on antioxidant enzymes and relative immune gene expressions in *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*). *J Sci Technol* 41: 1287-1293, 2019.
- AOAC Official Method of Analysis: Official Method 996.06 Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods. AOAC International Chapter 41. Oils and Fats. 20-24, 2002.
- Li Y, Hao N, Zou S, Meng T, Tao H, Ming P, Li M, Ding H, Li J, Feng S, *et al.*: Immune regulation of RAW264.7 cells in vitro by flavonoids from *Astragalus complanatus* via activating the NF- $\kappa$ B signalling pathway. *J Immunol Res* 2018: 7948068, 2018.
- Yen TL, Chang CC, Chung CL, Ko WC, Yang CH and Hsieh CY: Neuroprotective effects of platonin, a therapeutic immunomodulating medicine, on traumatic brain injury in mice after controlled cortical impact. *Int J Mol Sci* 19: 1100, 2018.
- Teratake Y, Kuga C, Hasegawa Y, Sato Y, Kitahashi M, Fujimura L, Watanabe-Takano H, Sakamoto A, Arima M, Tokuhisa T, *et al.*: Transcriptional repression of p27 is essential for murine embryonic development. *Sci Rep* 6: 26244, 2016.
- Zhao H, Bauzon F, Fu H, Lu Z, Cui J, Nakayama K, Nakayama KI, Locker J and Zhu L: Skp2 deletion unmasks a p27 safeguard that blocks tumorigenesis in the absence of pRb and p53 tumor suppressors. *Cancer Cell* 24: 645-659, 2013.
- Tokumoto M, Fujiwara Y, Shimada A, Hasegawa T, Seko Y, Nagase H and Satoh M: Tokumoto M, Fujiwara Y, Shimada A, Hasegawa T, Seko Y, Nagase H, Satoh M: Cadmium toxicity is caused by accumulation of p53 through the down-regulation of Ube2d family genes in vitro and in vivo. *J Toxicol Sci* 36: 191-200, 2011.
- Chen YG, Zhang Y, Deng LQ, Chen H, Zhang YJ, Zhou NJ, Yuan K, Yu LZ, Xiong ZH, Gui XM, *et al.*: Control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia utilizing TLR2 agonist Pam3CSK4. *PLoS One* 11: e0149233, 2016.
- Livak KJ and Schmittgen TD: Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>(Delta Delta C(T)) method. *Methods* 25: 402-408, 2001.
- Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients: Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academies Press, Washington, DC, 2001.
- Shin S: Safety of celecoxib versus traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs in older patients with arthritis. *J Pain Res* 11: 3211-3219, 2018.
- Park JY, Pillinger MH and Abramson SB: Prostaglandin E2 synthesis and secretion: The role of PGE2 synthase. *Immunity* 119: 229-240, 2006.
- Valavanidis A, Vlachogianni T and Fiotakis C: 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health Part C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 27: 120-139, 2009.
- Yuan L, Zhang Y, Xia J, Liu B, Zhang Q, Liu J, Luo L, Peng Z, Song Z and Zhu R: Resveratrol induces cell cycle arrest via a p53-independent pathway in A549 cells. *Mol Med Rep* 11: 2459-2464, 2015.
- Yuan L, Zhang Y, Xia J, Liu B, Zhang Q, Liu J, Luo L, Peng Z, Song Z, Zhu R, Zhu R, *et al.*: Resveratrol induces cell cycle arrest via a p53-independent pathway in A549 cells. *Mol Med Rep* 11: 2459-2464, 2015.
- Shaw PH: The role of p53 in cell cycle regulation. *Pathol Res Pract* 192: 669-675, 1996.
- Donehower LA: Phosphatases reverse p53-mediated cell cycle checkpoints. *Proc Natl Acad Sci USA* 111: 7172-7173, 2014.
- Møller MB: P27 in cell cycle control and cancer. *Leuk Lymphoma* 39: 19-27, 2000.
- Priante G, Bordin L, Musacchio E, Clari G and Baggio B: Fatty acids and cytokine mRNA expression in human osteoblastic cells: A specific effect of arachidonic acid. *Clin Sci (Lond)* 102: 403-409, 2002.
- Oh YT, Lee JY, Lee J, Kim H, Yoon KS, Choe W and Kang I: Oleic acid reduces lipopolysaccharide-induced expression of iNOS and COX-2 in BV2 murine microglial cells: Possible involvement of reactive oxygen species, p38 MAPK, and IKK/NF-kappaB signaling pathways. *Neurosci Lett* 464: 93-97, 2009.
- Olefsky JM and Glass CK: Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol* 72: 219-246, 2010.
- Ansar W and Ghosh S: Inflammation and inflammatory diseases, markers, and mediators: Role of CRP in some inflammatory diseases. In: *Biology of C Reactive Protein in Health and Disease*. pp67-107, 2016.
- Kondreddy VK and Kamatham AN: Celecoxib, a COX-2 inhibitor, synergistically potentiates the anti-inflammatory activity of docosahexaenoic acid in macrophage cell line. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 38: 153-161, 2016.
- Monmai C, Go SH, Shin IS, You SG, Lee H, Kang SB and Park WJ: Immune-enhancement and anti-inflammatory activities of fatty acids extracted from *Halocynthia aurantium* tunic in RAW264.7 cells. *Mar Drugs* 16: 16, 2018.
- Sandhiutami NM, Moordiani M, Laksmiatwati DR, Fauziah N, Maesaroh M and Widowati W: In vitro assessment of anti-inflammatory activities of coumarin and Indonesian cassia extract in RAW264.7 murine macrophage cell line. *Iran J Basic Med Sci* 20: 99-106, 2017.

43. Denkins Y, Kempf D, Ferniz M, Nileshwar S and Marchetti D: Role of omega-3 polyunsaturated fatty acids on cyclooxygenase-2 metabolism in brain-metastatic melanoma. *J Lipid Res* 46: 1278-1284, 2005.
44. Liu Y, Chen LY, Sokolowska M, Eberlein M, Alsaaty S, Martinez-Anton A, Logun C, Qi HY and Shelhamer JH: The fish oil ingredient, docosahexaenoic acid, activates cytosolic phospholipase A2 via GPR120 receptor to produce prostaglandin E2 and plays an anti-inflammatory role in macrophages. *Immunology* 143: 81-95, 2014.
45. Wada M, DeLong CJ, Hong YH, Rieke CJ, Song I, Sidhu RS, Yuan C, Warnock M, Schmaier AH, Yokoyama C, *et al.*: Enzymes and receptors of prostaglandin pathways with arachidonic acid-derived versus eicosapentaenoic acid-derived substrates and products. *J Biol Chem* 282: 22254-22266, 2007.
46. Yuan C, Sidhu RS, Kuklev DV, Kado Y, Wada M, Song I and Smith WL: Cyclooxygenase allosterism, fatty acid-mediated cross-talk between monomers of cyclooxygenase homodimers. *J Biol Chem* 284: 10046-10055, 2009.
47. Medeiros-de-Moraes IM, Gonçalves-de-Albuquerque CF, Kurz AR, Oliveira FM, de Abreu VH, Torres RC, Carvalho VF, Estado V, Bozza PT, Sperandio M, *et al.*: Omega-9 oleic acid, the main compound of olive oil, mitigates inflammation during experimental sepsis. *Oxid Med Cell Longev* 2018: 6053492, 2018.
48. Kawanishi S, Ohnishi S, Ma N, Hiraku Y and Murata M: Crosstalk between DNA damage and inflammation in the multiple steps of carcinogenesis. *Int J Mol Sci* 18: 18, 2017.
49. Jaiswal M, LaRusso NF, Burgart LJ and Gores GJ: Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism. *Cancer Res* 60: 184-190, 2000.
50. Sakai C, Ishida M, Ohba H, Yamashita H, Uchida H, Yoshizumi M and Ishida T: Fish oil omega-3 polyunsaturated fatty acids attenuate oxidative stress-induced DNA damage in vascular endothelial cells. *PLoS One* 12: e0187934, 2017.
51. Chunder N, Wang L, Chen C, Hancock WW and Wells AD: Cyclin-dependent kinase 2 controls peripheral immune tolerance. *J Immunol* 189: 5659-5666, 2012.
52. Laphanuwat P and Jirawatnotai S: Immunomodulatory roles of cell cycle regulators. *Front Cell Dev Biol* 7: 23, 2019.
53. Ji KY, Kim KM, Kim YH, Im AR, Lee JY, Park B, Na M and Chae S: The enhancing immune response and anti-inflammatory effects of *Anemarrhena asphodeloides* extract in RAW 264.7 cells. *Phytomedicine* 59: 152789, 2019.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) License.

## 2. การเผยแพร่ผลงานโดยการนำเสนอที่ประชุมวิชาการ

2.1 Tongmee, B., Mengamphan, K., Lailerd, N. & Amornlerdpison, D. 2018. Comparison of fatty acid profiles of freshwater hybrid catfish. p. 46-52. In **2<sup>nd</sup> National Graduate Research Conference and Creative Innovation Competition “Graduate Research and Innovation for Economic and Social Sustainability”**, May 17-28, 2018, The Empress Hotel, Chiang Mai.



## Proceedings

2<sup>nd</sup> National Graduate Research Conference and Creative  
Innovation Competition

“Graduate Research and Innovation for Economic and Social  
Sustainability”

May 17–18, 2018

The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



2<sup>nd</sup> GCIC, 46<sup>th</sup> National and 9<sup>th</sup> International Graduate Research Conference  
May 17<sup>th</sup> -18<sup>th</sup>, 2018

At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



IGRC01010255

## Fatty Acid Composition, Physical and Chemical Properties of Freshwater Fish Oil from Hybrid Catfish

Bussarin Tongmee<sup>1,\*</sup>, Kriangsak Mengumphan<sup>2</sup>, Narissara Lailerd<sup>3</sup> and Doungporn Amornlerdpison<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Agricultural Interdisciplinary Program, Graduate School, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

<sup>2</sup>Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

<sup>3</sup>Faculty of Medicine, Chiang Mai University

\*Corresponding author, e-mail: bussarint@yahoo.com

### Abstract

The aim of the study was to add the value of by-products from industrial freshwater catfish processing. The fish oil from the adipose tissues of freshwater hybrid catfish (*Pangasius larnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*) were extracted. The oil was examined and analyzed for identify the physical and chemical properties, heavy metal contents and bacterial contamination. Fatty acid compositions were determined by gas chromatography (HPLC). The saponification numbers and peroxide value of fish oil was determined according to the standard of oil from Thai food and drug administration (Thai FDA). Results revealed that freshwater fish oil was appeared in yellow liquid form at room temperature. In addition, mono-unsaturated fatty acids (MUFA) were found higher than saturated fatty acids (SFA) and the average amount of important MUFA included omega-3, omega-6 and omega-9 which were found at 1.05%, 11.72% and 43.52%, respectively. Subsequently, *E.Coli* and *Samonella Spp.* were tested, and the resulted showed that non-detectable. Since, fish oil can also act as a source of beneficial fatty acids. Therefore, freshwater hybrid catfish oil can be utilized for edible purposes and as a component in both food and pharmaceutical industries.

**Keyword** freshwater fish oil, fatty acid composition, physical properties, chemical properties, heavy metal contamination

### INTRODUCTION

Fish oil is the lipid fraction extracted from fish and fish by-products. Presently, the production of fish oil is becoming more demanding as there is a sizeable and growing world market demand for high quality fish oil. Apart from its various uses as consumable oil, it is also considered an important component in both pharmaceutical and food industries [1]. Fish oil is important not only for their application in food, but also for industrial applications, such as the production of pharmaceuticals, cosmetics, paints and so more [2]. Fish oil is different from other oils mainly because of the unique variety of fatty acids it contains high level of unsaturated fatty acid (omega-3 FFA and omega-6 FFA) which are essential to the human body. This is known as the eicosapentaenoic acid (EPA) and the docosahexaenoic acid (DHA) [3]. 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 flesh recovery approach, extraction of oil, enzymes, vitamins, or flavor materials, and apply through the production of gelatin or intermediate moisture animal feed products [3]. As part of the 50% common waste, the adipose tissue makes up 5-10 % of the total body weight of the fish. So far, these kind of fish wastes has not been properly or fully utilized.



2<sup>nd</sup> GCIC, 46<sup>th</sup> National and 9<sup>th</sup> International Graduate Research Conference  
May 17<sup>th</sup> -18<sup>th</sup>, 2018

At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



GRADUATE  
RESEARCH  
CONFERENCE

Therefore, fish wastes utilization for valuable products or waste to wealth concept could be reasonable and helpful for fish farmers.

The freshwater hybrid catfish (*Pangasius larnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*) belongs to freshwater catfish family. This hybrid catfish is presently commercially produced throughout the Mekong river in northern part of Thailand including in inland freshwater aquaculture farms. It has become one of the most popular freshwater fish species and has a high demand especially in the European and US markets. Because of its white flesh and mild flavor were lending to an extreme competitive price in the market [3]. Some freshwater catfish particularly in the Mekong region show a varying amount of crude fat content of the head and the body. Different factors have been found to affect the fatty acid composition of the fish lipids, such as species, age, diet, habitat, environment, season and body portion [1]. Lipids in the muscle containing saturated fatty acids different from those extracted from the head or flaccid body; catfish cultivated in floating cages versus those cultivated in ponds [3].

Increased consumption of fish fatty acid has been found to reduce death due to cardiovascular heart disease. The biochemical basis for cardio-protective effects of n-3 fatty acids are may be multi-factorial and may collectively result in increased heart rate variability (anti-arrhythmic), reduced atheroma development (anti-atherogenic), and decreased platelet reactivity/aggregation (anti-thrombotic). As an alternative to fish consumption, omega-3 fatty acids and other fish oils can be extracted from fish products and offered as fish oil supplements. There are certain health concerns associated with excessive consumption of predatory fish like tuna and salmon because they contain high levels of toxic mercury [4]. According to standard of oil from Thai FDA, the freshwater fish oil was determined the peroxide value and saponification numbers and heavy metal contents for safety of consumers.

This work was aimed to add the value of by-product from industrial freshwater catfish processing, analyzed of fatty acid composition, some physical properties, chemical properties, heavy metal contents and bacterial contaminations of the crude lipids extracted from the adipose tissues of freshwater hybrid catfish, to find out their potential to be used as raw materials for the manufacturing of nutraceutical products.

## MATERIALS AND METHODS

### 1. Raw Materials

The frozen adipose tissues of hybrid catfish (*Pangasiuslarnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*) were obtained from Thai Panga Farm, Kalasin Province, Thailand.

### 2. Lipid Extraction

To initiate the extraction of lipids from the raw materials, the 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 and which were then centrifuged at 4,000 rpm for 10 min in order to separate the solid particles. Percentage yield of crude lipids was calculated. Crude lipid samples were later kept in a freezer until they were used for further analysis [3].

### 3. Fatty Acid Analysis

For fatty acid analysis, the crude lipid samples were sent to the Central Laboratory (Thailand) Co Ltd., Chiang Mai branch, for analysis of the fatty acid composition which included



2<sup>nd</sup> GCIC, 46<sup>th</sup> National and 9<sup>th</sup> International Graduate Research Conference  
May 17<sup>th</sup> -18<sup>th</sup>, 2018

At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



IGRC01010255

## Fatty Acid Composition, Physical and Chemical Properties of Freshwater Fish Oil from Hybrid Catfish

Bussarin Tongmee<sup>1,\*</sup>, Kriangsak Mengumphan<sup>2</sup>, Narissara Lailerd<sup>3</sup> and Doungporn Amornlerdpison<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Agricultural Interdisciplinary Program, Graduate School, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

<sup>2</sup>Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

<sup>3</sup>Faculty of Medicine, Chiang Mai University

\*Corresponding author, e-mail: bussarint@yahoo.com

### Abstract

The aim of the study was to add the value of by-products from industrial freshwater catfish processing. The fish oil from the adipose tissues of freshwater hybrid catfish (*Pangasius larnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*) were extracted. The oil was examined and analyzed for identify the physical and chemical properties, heavy metal contents and bacterial contamination. Fatty acid compositions were determined by gas chromatography (HPLC). The saponification numbers and peroxide value of fish oil was determined according to the standard of oil from Thai food and drug administration (Thai FDA). Results revealed that freshwater fish oil was appeared in yellow liquid form at room temperature. In addition, mono-unsaturated fatty acids (MUFA) were found higher than saturated fatty acids (SFA) and the average amount of important MUFA included omega-3, omega-6 and omega-9 which were found at 1.05%, 11.72% and 43.52%, respectively. Subsequently, *E.Coli* and *Samonella Spp.* were tested, and the resulted showed that non-detectable. Since, fish oil can also act as a source of beneficial fatty acids. Therefore, freshwater hybrid catfish oil can be utilized for edible purposes and as a component in both food and pharmaceutical industries.

**Keyword** freshwater fish oil, fatty acid composition, physical properties, chemical properties, heavy metal contamination

### INTRODUCTION

Fish oil is the lipid fraction extracted from fish and fish by-products. Presently, the production of fish oil is becoming more demanding as there is a sizeable and growing world market demand for high quality fish oil. Apart from its various uses as consumable oil, it is also considered an important component in both pharmaceutical and food industries [1]. Fish oil is important not only for their application in food, but also for industrial applications, such as the production of pharmaceuticals, cosmetics, paints and so more [2]. Fish oil is different from other oils mainly because of the unique variety of fatty acids it contains high level of unsaturated fatty acid (omega-3 FFA and omega-6 FFA) which are essential to the human body. This is known as the eicosapentaenoic acid (EPA) and the docosahexaenoic acid (DHA) [3]. 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 flesh recovery approach, extraction of oil, enzymes, vitamins, or flavor materials, and apply through the production of gelatin or intermediate moisture animal feed products [3]. As part of the 50% common waste, the adipose tissue makes up 5-10 % of the total body weight of the fish. So far, these kind of fish wastes has not been properly or fully utilized.



2<sup>nd</sup> GCIC, 46<sup>th</sup> National and 9<sup>th</sup> International Graduate Research Conference  
May 17<sup>th</sup> -18<sup>th</sup>, 2018

At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



GRADUATE  
RESEARCH CONFERENCE

Therefore, fish wastes utilization for valuable products or waste to wealth concept could be reasonable and helpful for fish farmers.

The freshwater hybrid catfish (*Pangasius larnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*) belongs to freshwater catfish family. This hybrid catfish is presently commercially produced throughout the Mekong river in northern part of Thailand including in inland freshwater aquaculture farms. It has become one of the most popular freshwater fish species and has a high demand especially in the European and US markets. Because of its white flesh and mild flavor were lending to an extreme competitive price in the market [3]. Some freshwater catfish particularly in the Mekong region show a varying amount of crude fat content of the head and the body. Different factors have been found to affect the fatty acid composition of the fish lipids, such as species, age, diet, habitat, environment, season and body portion [1]. Lipids in the muscle containing saturated fatty acids different from those extracted from the head or flaccid body; catfish cultivated in floating cages versus those cultivated in ponds [3].

Increased consumption of fish fatty acid has been found to reduce death due to cardiovascular heart disease. The biochemical basis for cardio-protective effects of n-3 fatty acids are may be multi-factorial and may collectively result in increased heart rate variability (anti-arrhythmic), reduced atheroma development (anti-atherogenic), and decreased platelet reactivity/aggregation (anti-thrombotic). As an alternative to fish consumption, omega-3 fatty acids and other fish oils can be extracted from fish products and offered as fish oil supplements. There are certain health concerns associated with excessive consumption of predatory fish like tuna and salmon because they contain high levels of toxic mercury [4]. According to standard of oil from Thai FDA, the freshwater fish oil was determined the peroxide value and saponification numbers and heavy metal contents for safety of consumers.

This work was aimed to add the value of by-product from industrial freshwater catfish processing, analyzed of fatty acid composition, some physical properties, chemical properties, heavy metal contents and bacterial contaminations of the crude lipids extracted from the adipose tissues of freshwater hybrid catfish, to find out their potential to be used as raw materials for the manufacturing of nutraceutical products.

## MATERIALS AND METHODS

### 1. Raw Materials

The frozen adipose tissues of hybrid catfish (*Pangasiuslarnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*) were obtained from Thai Panga Farm, Kalasin Province, Thailand.

### 2. Lipid Extraction

To initiate the extraction of lipids from the raw materials, the 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 and which were then centrifuged at 4,000 rpm for 10 min in order to separate the solid particles. Percentage yield of crude lipids was calculated. Crude lipid samples were later kept in a freezer until they were used for further analysis [3].

### 3. Fatty Acid Analysis

For fatty acid analysis, the crude lipid samples were sent to the Central Laboratory (Thailand) Co Ltd., Chiang Mai branch, for analysis of the fatty acid composition which included



2<sup>nd</sup> GCIC, 46<sup>th</sup> National and 9<sup>th</sup> International Graduate Research Conference  
May 17<sup>th</sup> -18<sup>th</sup>, 2018

At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



GRADUATE  
RESEARCH CONFERENCE

fatty acids released on triglyceride hydrolysis. An in-house method based on AOAC (2005) 996.06 was used [3].

#### 4. Analysis of Physical Properties

For the analysis of the physical properties of the crude lipid samples, they were used per analysis, as follow:

- Color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) at room temperature ( $30 + 5^\circ\text{C}$ ) and  $40^\circ\text{C}$ , were measured by Tri-Stimulus Colorimeter (JUKI: model JC801)
- Viscosity at  $40^\circ\text{C}$  was measured by Viscotester (ROIN: model VT-04) and a measuring time indicated when 50 ml oil sample flowed through a 0.2 mm orifice at 30 cm height
- Turbidity at  $40^\circ\text{C}$  was measured by Turbidimeter (HACH: model 2100 N)
- Specific gravity at  $40^\circ\text{C}$ , as measured by 100 ml Specific-gravity bottle
- Melting point was analyzed by modified AOAC method Cc 3-2521 or softening (open capillary tube melting) point method
- Smoke point was analyzed by modified AOAC method Cc 9a-48 [21] or Cleveland open cup method [3].

#### 5. Analysis of Chemical Properties

##### 5.1 Determination of saponification value

It is the number of KOH required to saponify 1 gram of oil. Saponification value through hydrolysis of ester under alkaline condition was determined according to the method of (AOCS, 1993) [4].

##### 5.2 Determination of Peroxide value

Determination of Peroxide Value, that is defined as the milliequivalents of active oxygen per kilogram of oil (meq of  $\text{O}_2 \text{ kg}^{-1}$ ) expressed in the unit of milliequivalents, when potassium iodide reacts with a mixture of oil and chloroform/acetic acid in dark according to the standard method of AOCS (1993) [5].

#### 6. Heavy metal contents

For heavy metal contents analysis, the crude lipid samples were sent to the Central Laboratory (Thailand) Co Ltd., Chiang Mai branch, for analysis of the heavy metal contents. In-house method based on AOAC (2016) 2013.06 and AOAC (2016) 999.10 were used.

#### 7. Bacterial contamination

For bacterial contamination analysis was carried by the crude hybrid fish oil the Central Laboratory (Thailand) Co Ltd., Chiang Mai branch, by using the standard methods of AOAC (2016) 991.14 and ISO 6578-1:2017 (E).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Analysis of the fatty acid composition

Results of the analysis of fatty acid composition of the freshwater catfish (Table 1) showed that 100 g of the oil extracted the hybrid catfish contained a total of 37.99 g of saturated fatty acids and 56.29 g unsaturated fatty acid with monosaturated fatty acid at 48.43 g, which was mostly



omega-9 such as oleic acid at 43.52 g. As for polyunsaturated fatty acids (13.58 g) which contained eicosapentaenoic acid (EPA) at 0.09 g and docosahexaenoic acid (DHA) at 0.29 g. For unsaturated fatty acid belonging to omega-9 (oleic acid) extracted from freshwater fish oil at 43.52 g, was 4x higher than in marine fish oil [6].

**Table 1.** Fatty acid composition of freshwater fish oil

Fatty acid composition of freshwater fish oil	Average	SD
<b>Saturated fatty acids</b>	<b>37.99</b>	<b>0.41</b>
caprylic acid (C8:0)	0.04	0.06
lauric acid (C12:0)	0.10	0.07
myristic acid (C14:0)	3.36	0.00
pentadecanoic acid (C15:0)	0.17	0.04
palmitic acid (C16:0)	26.82	0.40
heptadecanoic acid (C17:0)	0.35	0.08
Stearic acid (C18:0)	6.78	0.13
arachidic acid (C20:0)	0.13	0.04
<b>Monounsaturated fatty acids</b>	<b>48.43</b>	<b>1.75</b>
palmitoleic acid (C16:1n7)	3.34	0.01
trans-9-elaidic acid (C18:1n9t)	0.16	0.08
cis-9-oleic acid (C18:1n9c)	43.35	1.73
cis-11-eicosenoic acid (C20:1n11)	1.35	0.04
erucic acid (C22:1n9)	0.12	0.02
nervonic acid (C24:1n9)	0.06	0.01
<b>Polyunsaturated fatty acids</b>	<b>13.58</b>	<b>1.33</b>
<b>Fatty acid composition of freshwater fish oil</b>	<b>Average</b>	<b>SD</b>
cis-9,12-linoleic acid (C18:2n6)	10.47	0.51
γ-linolenic acid (C18:3n6)	0.14	0.14
α-linolenic acid (C18:3n3) [ALA]	0.75	0.18
cis-11,14-eicosadienoic acid (C20:2)	0.64	0.06
cis-8,11,14-eicosatrienoic acid (C20: 3n6)	0.71	0.10
cis-11,14,17-eicosatrienoic acid (C20:3n3)	0.08	0.04
arachidonic acid (C20: 4n6)	0.39	0.06
cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid (C20: 5n3) (EPA)	0.09	0.05
4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid (C22:6n3) (DHA)	0.29	0.21
<b>Unsaturated fatty acids</b>	<b>56.29</b>	<b>0.45</b>
omega-3	1.05	0.47
omega-6	11.72	0.81
<b>omega-9</b>	<b>43.52</b>	<b>1.73</b>

Note: Values expressed as mean ± SD. (n=2)



2<sup>nd</sup> GCIC, 46<sup>th</sup> National and 9<sup>th</sup> International Graduate Research Conference  
May 17<sup>th</sup> -18<sup>th</sup>, 2018

At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



### Analysis of the physical properties of freshwater fish oil

The physical properties of fish oil from freshwater hybrid catfish indicated that fish oil appeared in yellow liquid form at room temperature. The crude lipid at 40°C of hybrid catfish was found to be transparent as shown in Table 2. And the smoke point of the crude lipids of hybrid catfish was 192.3 °C (Table 2). In case of its melting points, it was found to be at about 33°C. The main reason for these high melting points could be described by the fact that their compositions contained.

**Table 2.** Some physical properties of crude lipids of freshwater hybrid catfish

Physical Properties	Results
Colour	
Solid form at room temperature (30 + 5°C)	
L*	82.66b ± 3.10
a*	34.55c ± 0.88
b*	68.33b ± 1.51
Liquid form at 40°C	
L*	58.29b ± 0.03
a* ns	-14.10 ± 0.23
b*	-40.47b ± 0.12
Viscosity at 40°C	
Viscotester (Poise)	0.35b ± 0.00
Orifice (sec)	57a ± 4
Turbidity at 40°C (NTU)	4.48a ± 0.26
Specific gravity at 40°C (g per cm <sup>3</sup> )	0.9027c ± 0.0031
Melting point (°C) ns	33.0 ± 1.5
Smoke point (°C)	192.3b ± 8.5

a, b, c Means with different superscript in the same row are significantly different ( $p < 0.05$ )

ns Means in that row are not significantly different ( $p > 0.05$ )

### Analysis of Chemical properties of freshwater fish oil

The chemical properties of fish oil from freshwater hybrid catfish indicated that peroxide value, as defined by the milliequivalent of active oxygen per kg of oil, from the adipose samples of the freshwater hybrid catfish was measured at 4.32 mEq/kg fish oil, which was within the allowed range of the Food and Drug Administration (FDA) (less than 10 mEq/kg), the lower the peroxide value, the lower the ability of the oil to go rancid. Meanwhile the Saponification value was 196.30 mgKOH/g. (Table 3), saponification value is the number of milligrams of due to the formation of brown pigments from the reaction potassium hydroxide required to neutralize the fatty acid of carbonyls produced from oxidation of polyunsaturated resulting from the complete hydrolysis of 1g of the fatty acids with amino acids and proteins. The freshwater fish oil was having the normal saponification value and had the less prone to rancidity. Thus it can be said that chemical properties of the fish oil extracted from the freshwater hybrid catfish was within the standard level.



2<sup>nd</sup> GCIC, 46<sup>th</sup> National and 9<sup>th</sup> International Graduate Research Conference  
May 17<sup>th</sup> -18<sup>th</sup>, 2018

At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



GRADUATE  
RESEARCH CONFERENCE

**Table 3.** Chemical properties of freshwater fish oil

Test	Result	Unit	LOD
Peroxide Value	4.32	mEq/kg	-
Saponification number	196.30	mgKOH/g	-

#### Analysis of heavy metal contents

For heavy metal contents analysis, the crude lipid samples were sent to the Central Laboratory (Thailand) Co Ltd., Chiang Mai branch, In-house method based on AOAC (2016) 2013.06 and AOAC (2016) 999.10 were used. Results showed that all heavy metal contents in the freshwater fish oil as in table 3 were in the very least amount or not detected at all.

**Table 4.** Heavy metal contents of freshwater fish oil

Test	Result	Unit	LOD
Aesenic (As)	Not detected	mg/kg	0.050
Copper (Cu)	0.64	mg/kg	-
Lead (Pb)	< 0.050	mg/kg	-
Mercury (Hg)	Not detected	mg/kg	0.0080
Tin (Sn)	Not detected	mg/kg	0.50
Zinc (ZN)	Not detected	mg/kg	1.00

#### Analysis of bacterial contamination of freshwater fish oil

The table 5 showed that by using the standard methods of AOAC (2016) 991.14 and ISO 6578-1:2017 (E), indicated that the presence of two types of bacteria, *Escherichia coli* and *Salmonella spp.*, in the freshwater fish oil was either in the very least amount or not detected at all.

**Table5.** Bacterial contamination of freshwater fish oil

Test	Result	Unit	LOD
<i>Escherichia coli</i>	< 10	CFU/ g	-
<i>Salmonella spp.</i>	Not detected	In 25 g	-

#### CONCLUSION

The fish oil extracted as a lipid fraction from freshwater hybrid catfish for use in industries in order to increase the value due to its favorable chemical and physical properties especially as they are within the standard level for consumption as prescribed by Thai food and drug administration. Indeed, the use of the fish oil from freshwater hybrid catfish as in this study is within the recommendations for consumption and by both food and pharmaceutical industries.



2<sup>nd</sup> GCIC, 46<sup>th</sup> National and 9<sup>th</sup> International Graduate Research Conference  
May 17<sup>th</sup> -18<sup>th</sup>, 2018

At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



#### ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by a grant from National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Thailand.

#### REFERENCES

1. M. Abdulkadir, G. I. Abubakar and A. Mohammed, "Production and Characterization of Oil from Fishes", *ARNP Journal of Engineering and Applied Sciences.*, **2010**, 5(7), JULY,1-5.
2. R. Molla,et.al., "Nutritional Status, Characterization and Fatty Acid Composition of Oil and Lecithin Isolated from Fresh Water Fish Shoul (CHANNA STRIATA)". *International Journal of Nutrition and Food Sciences.*, **2016**, 5(1), 9-15.
3. W. Wangcharoen, K. Mengumphan and D. Amornlerdpison, "Fatty Acid Composition, Physical Properties, Acute Oral Toxicity and Antioxidant Activity of Crude Lipids from Adipose Tissue of Some Commercialized Freshwater Catfish". *Chiang Mai Journal of Science.*, **2015**, 42(3), 626-636.
4. C. Bjorklund, "list of mercury levels in fish oil supplements", 2017, <https://www.livestrong.com/article/31490> (Accessed: March 2018).
5. A. Oladapo, S. Awojide, "Quality Evaluation of Oil Extracted from Catfish and Mackerel as Compared with Commercial Cod Liver Oil". *Journal of Food Chemistry and Nutrition.*, **2015**,03(01),13-18.
6. T. Rattanaphot, K. Mengumphan, S. Tongsir, C. Srimaroeng and D. Amornlerdpison, "Utilization of Enriched Omega-9 Freshwater Fish Oil as Fish Feed". *KMUTT Research and Development Journal.*, **2018** (in press).
7. T. Rattanaphot, K. Mengumphan, S. Tongsir, C. Srimaroeng and D. Amornlerdpison, "Fatty Acid Composition of Freshwater Fish Oil and its Efficiency on Growth Performance in Nile tilapia". *Journal of agricultural research and extension.*, **2018** (in press).
8. S. Yoojam, K. Mengumphan, C. Srimaroeng and D. Amornlerdpison, "Effect of freshwater fish oil on growth, oxidative stress and omega-3 fatty acid content in hybrid catfish". *Journal of Fisheries Technology Research.*, **2015**,9,11-24.
9. W. Keapai, S. Apichai, D. Amornlerdpison and N. Lailerd, "Evaluation of fish oil-rich in MUFAs for anti-diabetic and anti- inflammation potential in experimental type 2 diabetic rats", *Korean J Physiol Pharmacol.*, **2016**,20(6),581-593.
10. A. Philibert, C. Vanier, N. Abdelouahab, H.M. Chan and D. Mergler, "Fish intake and serum fatty acid profiles from freshwater fish". *The American journal of clinical nutrition.*, **2006**, 84 (6), 1299-307.
11. Association of Official Analytical Chemists, "In Official Methods of Analysis of AOAC," 19<sup>th</sup> ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 996.06. **2012**.

2.2 บุชรินทร์ ทองมี, เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน, นริศรา ไล่เลิศ และ ดวงพร อมรเลิศพิศาล.  
 2561. การเปรียบเทียบคุณสมบัติของกรดไขมันของน้ำมันปลาจากปลาหนังน้ำจืดลูกผสมและน้ำมัน  
 ปลาทะเล. น. 121-129. ใน รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ประจำปี 2561. 11-13  
 ธันวาคม 2561 ณ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่.



MJU  
 ANNUAL  
 CONFERENCE  
 2018

การประชุมวิชาการระดับชาติ  
 ประจำปี 2561

**รายงานการประชุม**  
**ภาคบรรยาย**

Proceedings of MJU Annual Conference 2018  
 "Oral Presentation"

11-13 ธันวาคม 2561  
 ณ อาคารเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา  
 มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

ISBN 978-616-8146-14-9

การเปรียบเทียบคุณสมบัติของกรดไขมันของน้ำมันปลาจากปลาหนังน้ำจืดลูกผสม  
และน้ำมันปลาทะเล

Comparison of Fatty Acids Profiles of Freshwater Hybrid Catfish  
and Marine Fish Oil

บุษรินทร์ ทองมี<sup>1\*</sup> เกียงศักดิ์ เม่งอำพัน<sup>2</sup> นริศรา ไล่เลิศ<sup>3</sup> และดวงพร อมรเลิศพิศาล<sup>2</sup>

Bussarin Tongmee<sup>1</sup>, Kriangsak Mengumphan<sup>2</sup>, Narissara Lailerd<sup>3</sup>

and Doungporn Amornlerdpisan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>หลักสูตรสหวิทยาการเกษตร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

<sup>2</sup>คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

<sup>3</sup>ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50290

<sup>1</sup>Agricultural Interdisciplinary Program, Graduate School, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

<sup>2</sup>Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

<sup>3</sup>Department of physiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand 50290

\*Corresponding author: bussarint@yahoo.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้นำก้อนไขมันในช่องท้องที่เป็นส่วนเหลือใช้จากอุตสาหกรรมแปรรูปปลาหนังลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) และปลาบึกสยาม (ปลาบึก x ปลาสวาย) มาสกัดเป็นน้ำมันปลาน้ำจืด และศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมัน คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี เปรียบเทียบกับน้ำมันปลาทะเล พบว่าน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดได้ทั้งสองชนิด มีลักษณะสีเหลืองใส มีค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าสะปอนนิฟิเคชันอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานขององค์การอาหารและยา (อย.) ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวใกล้เคียงกับน้ำมันปลาจากปลาทะเลที่จำหน่ายในท้องตลาด ส่วนค่าปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนแตกต่างกัน โดยมีค่ากรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-6 สูงกว่า ส่วนค่ากรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 น้อยกว่า ซึ่งกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-6 ในน้ำมันจากปลาหนังลูกผสม ปลาบึกสยาม และน้ำมันปลาทะเล มีค่า 11.72, 9.38 และ 6.24 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวกลุ่มโอเมก้า-9 ของน้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิดที่สกัดได้ พบว่ามีปริมาณสูงกว่าน้ำมันจากปลาทะเลถึง 4 เท่า ซึ่งกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-9 ในน้ำมันปลาหนังลูกผสม ปลาบึกสยาม และในน้ำมันปลาทะเล มีค่า 43.35, 46.69 และ 11.24 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ และน้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิดไม่พบการปนเปื้อนโลหะหนักและการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmonella species* จากผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า น้ำมันปลาน้ำจืดทั้งสองชนิดนี้มีกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-9 ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มส่วนเหลือใช้ต่อไป

**คำสำคัญ:** น้ำมันปลาน้ำจืด น้ำมันปลาทะเล องค์ประกอบกรดไขมัน คุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันปลาน้ำจืด

### Abstract

The fish oil from the adipose tissue of some commercialized catfish including the freshwater hybrid catfish (*Pangasius larnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*), Buk-Siam hybrid catfish (*Pangasius gigas* x *Pangasianodon hypophthalmus*) and Marine Fish Oil (MFO) were analyzed for their physicochemical properties examined by standard methods. The peroxide value, saponification numbers, heavy metal contents and bacterial contaminations were determined from the Freshwater hybrid Fish Oil (FFO) and Buk-Siam Fish Oil (BFO). The results revealed that these fish oils appeared as a yellow liquid form at room temperature, their saturated fatty acid contents were not much different. On the other hand, their polyunsaturated fatty acid contents were obviously different. FFO and BFO were containing the rich of omega-6 series of PUFA while MFO was appeared rich of omega-3 series. FFO, BFO and MFO of omega-6 fatty acid contents were 11.72, 9.38 and 6.24 g per 100 g, respectively. Their omega-9 fatty acid contents were 43.35, 46.69 and 11.24 g per 100 g, respectively. Interestingly, the omega-9 monounsaturated fatty acid contents of the FFO and BFO were four times higher than the MFO. Saponification numbers and peroxide value of FFO and BFO were analyzed to be within normal limit. Furthermore, heavy metal contents, *Escherichia coli* and *Salmonella species* were not detected at all. Since, both freshwater hybrid fish oil can be act as a source of beneficial fatty acids. Therefore, it can be utilized for edible purposes and as a component in both food and pharmaceutical industries.

**Keywords:** freshwater fish oil, marine fish oil, fatty acid composition  
chemical properties of freshwater fish oil

### Introduction

Currently, in the preparation of fish for today's consumer market, up to 50% of the whole fish is commonly discarded as a waste. However, this waste could be better utilized in several ways (Taylor and Alasalvar, 2002). Fish residues have been used by processing industries for the production of fishmeal and fish oil. These are prepared as a supplemented foods and pharmaceuticals. Furthermore, the recovery of the fish residues was contributing to the reduction of environmental pollution. Fish oil is one of the product development from fishery commodities which is potential to be developed. The usage of fish oil through world from 2005 to 2011 was dominated by utilization of aquaculture and human consumption. (Shepherd and Jackson, 2012). Fish oil demand increases time by time for various purposes, such as the production of pharmaceuticals, cosmetics, paints, etc. (Bjorklund, 2017).

Fish oils are the lipid fraction extracted from fish and fish by products. They are different from other oils mainly because of the unique characteristics of fatty acids including high level unsaturated fatty acid (omega-3 FFA and omega-6 FFA) which are essential to the body (Oladapo and Awojide, 2015). Chaijan *et al.* (2010) suggested that these fatty acids might have a unique role to play in prevention of coronary artery disease and growth of different types of cancers. Nowadays, the entire freshwater catfish family (*Pangasiidae*) including the Mekong giant catfish, striped catfish, hybrid catfish and Buk-Siam catfish (*Pangasianodon gigas* x *Pangasianodon hypophthalmus*) are commercially produced throughout the Mekong river region and inland freshwater aquaculture farms (Wangcharoen, 2015). It has become one of the most popular freshwater fish species in European and US markets. Moreover these flesh is white and of mild flavor, virtually boneless and price is an extremely competitive. Freshwater fish could be seen as a good source of fatty acids. Furthermore, freshwater fish oils contain omega-6 fatty acids with totals roughly equal to the omega-3 fatty acids. Meanwhile, marine fish oils have lower contents of omega-6 fatty acids (Keapai, 2016). Different fatty acids may exhibit beneficial or deleterious effects, with implications on disease progression or prevention. The essential omega-3 fatty acids are typically associated with initiating anti-inflammatory responses, while omega-6 fatty acids are associated with pro-inflammatory responses, omega-9 fatty acids serve as necessary components for other metabolic pathways, which may affect disease risk (Wangcharoen, 2015). In addition, the omega-9 fatty acids were able to mitigate the effects of TNF- $\alpha$  induced oxidative stress and injury in adult male Sprague-Dawley rat cardiomyocytes (Shudiefat *et al.*, 2013), as well as reduce the inflammation associated with saturated fatty acid-induced inflammation in human aortic endothelial cells (Harvey *et al.*, 2010). Moreover, Garg (1998) found that high-monounsaturated fat diets could reduce plasma triglycerides by 19% and "bad" very-low-density-lipoprotein (VLDL) cholesterol by 22% in patients with diabetes.

The beneficial effects of monounsaturated fatty acids (MUFAs) on anti-inflammation, cardio-protective effects as well as the reduction in insulin resistance have been documented. Both human and animal models of insulin resistance have clearly shown that the partial replacement of saturated fatty acids (SFAs) with MUFAs in the diet actually improved glycemic control. As well as this was accompanied by improved insulin sensitivity. Moreover, Keapai (2016) showed that fish oil that is rich in MUFAs acquired from hybrid catfish (*Pangasius larnaudii* x *Pangasianodon hypophthalmus*) freshwater fish, enhanced insulin-stimulated glucose uptake through the improvement of insulin signaling and translocation of glucose transporter type 4 (GLUT4) in the diaphragm of normal rats. Presently, the production of fish oil is becoming more demanding, as there is a sizeable and growing world market demand for high quality fish oils. In order to meet the demand of the society there is the need to locate new oil fish and further

research to know their characteristics and usefulness. This study was aimed to compare the fatty acid composition as well as some physical and chemical properties, heavy metal contents and bacterial contaminations of the crude lipids of the freshwater hybrid catfish, Buk-Siam catfish and marine fish oil to find out their potential to be used as raw materials for the manufacturing of nutraceutical products.

## Materials and Methods

### Preparation of Freshwater Fish Oil

FFO was extracted from the adipose tissue of freshwater hybrid catfish (*Pangasius* sp.) obtained from Thai Panga Farm, Kalasin, Thailand, while BFO was extracted from the adipose tissue of freshwater hybrid catfish (*Pangasianodon gigas* x *Pangasianodon hypophthalmus*) obtained from PlaBuk knowledge base, Maejo University. Briefly, the adipose tissues from the visceral abdomen were steamed at 90°C for 30 min. The liquid (i.e. oil) was filtered with a filtering sack, which were squeezed by a screw compressor. To separate the solid particles, the obtained liquid was subsequently centrifuged at 4500 rpm at 25°C for 10 min.

### Fatty acid composition analysis

The supernatant FFO and BFO were separated and analyzed for their fatty acid composition at the Central Laboratory (Thailand) Co. Ltd., Chiang Mai Branch, examined based on AOAC 996.06. (AOAC, 2012).

### Chemical Properties Analysis

The peroxide value and saponification number of FFO, BFO and MFO were analyzed according to the method of AOAC 965.33 (AOAC, 2000). In addition, the properties of the FFO and BFO of peroxide value were compared to a commercial MFO which was purchased at the pharmacy (Rattanaphot, 2018).

### Heavy metal contents

Heavy metal contents were analyzed from the crude hybrid fish oils by AOAC methods (AOAC, 2016).

### Bacterial contamination

For bacterial contaminations were analyzed from the crude hybrid fish oils using the standard methods of AOAC 991.14 and ISO 6578-1:2017 (E) (AOAC, 2016).

## Results and Discussion

### FFO and BFO extraction Yield

Clear yellow FFO and BFO extracted from the visceral fat of catfish by steam were obtained 270 mL per kg approximately.

### Analysis of the fatty acid composition

Table 1 showed the results of the analysis of fatty acid composition of the FFO, BFO and MFO. Their saturated fatty acid contents were not much different. But their polyunsaturated fatty acid (PUFA) contents were obviously different. Emphasis on the contents of MUFA, BFO could be considered as the most of oleic acid content, followed by FFO. Their oleic acid contents were 43.35, 46.69 and 11.24 g per 100 g respectively. In addition, FFO and BFO were more of omega-6 series of the PUFA while the MFO was more of omega-3 series. Their omega-6 fatty acid contents were 11.72, 9.38 and 6.24 g per 100 g, respectively. And their omega-9 fatty acid contents were 43.35, 46.69 and 11.24 g per 100 g, respectively.

**Table 1** Fatty acid composition of FFO BFO and MFO

Fatty acid composition g/ 100 g	FFO	BFO	MFO
Saturated fatty acids	37.99	39.52	35.27
Unsaturated fatty acids	62.01	60.48	64.73
Monounsaturated fatty acids	48.43	50.51	23.78
oleic acid (C18:1n9c)	43.35	46.69	11.24
myristoleic acid (C14:1)	0.02	0.00	0.06
palmitoleic acid (C16:1n7)	3.34	1.92	10.85
cis-11-eicosenoic acid (C20:1n11)	1.35	1.01	0.92
erucic acid (C22:1n9)	0.12	0.00	0.17
nervonic acid (C24:1n9)	0.06	0.00	0.54
pentadecenoic acid (C15:1n10)	0.00	0.07	0.00
Trans -9-Elaidic acid (C18:1n9t)	0.19	0.82	0.00
Polyunsaturated fatty acids	13.58	9.97	40.95
$\alpha$ -linolenic acid (C18:3n3)	0.75	0.00	0.84
eicosapentaenoic acid (C20: 5n3)	0.09	0.00	20.98
docosahexaenoic acid (C22:6n3)	0.29	0.00	12.25
$\gamma$ -linolenic acid (C18:3n6)	0.14	0.00	0.34

Table 1 (Continued)

Fatty acid composition g/ 100 g	FFO	BFO	MFO
linoleic acid (C18:2n6)	10.47	9.17	4.48
eicosadienoic acid (C20:2)	0.65	0.32	0.53
eicosatrienoic acid (C20: 3n6)	0.72	0.21	0.21
eicosatrienoic acid (C20:3n3)	0.08	0.00	0.09
arachidonic acid (C20: 4n6)	0.39	0.00	1.23
trans-linolelaidic acid (C18:2n6t)	0.00	0.27	0.00
Omega-3	1.05	0.00	34.15
Omega-6	11.72	9.38	6.24
<b>Omega-9</b>	<b>43.35</b>	<b>46.69</b>	<b>11.24</b>

#### Analysis of Chemical properties of FFO BFO and MFO

The measure of peroxide value of the oil extracted were analyzed. Their peroxide value were 4.32 ,19.91 and 4.50 mEq/kg respectively, this results indicated that peroxide value of FFO and BFO were similar compared with commercial MFO and within the allowed range of the Food and Drug Administration (Peroxide values should not be above 10-20 meq/kg fat to avoid rancidity flavor; when the peroxide value is between 30 and 40 mEq/kg, a rancid taste is noticeable). It had been shown that saponification number of FFO and BFO were 196.30 and 209.40 mgKOH/g respectively.

Table 2 Chemical properties of the FFO BFO and MFO

Oil	Saponification number (mgKOH /g)	Peroxide value (mEq/kg)
FFO	196.30	4.32
BFO	209.40	19.91
MFO	Not measured	4.50

The data of saponification number and peroxide value indicated normal molecular weight and less prone to rancidity of both oil. Thus it can be said that chemical properties of the fish oil extracted from the two freshwater hybrid catfish were within the standard level.

### Analysis of heavy metal contents and bacterial contamination of FFO and BFO

Table 3 showed the results of the analysis of heavy metal contents of the FFO and BFO. There were in the very least amount or not detected. In addition, the presence of two types of bacteria including *E.coli* and *Salmonella spp.* in the FFO and BFO were either in the very least amount or not detected at all.

Table 3 Heavy metal contents and bacterial contamination of FFO and BFO

Oil	Ar (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Hg (mg/kg)	Sn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	<i>E.coli</i> (CFU/ g)	<i>Salmonella</i> (in 25g)
FFO	Not detected	0.64	< 0.050	Not detected	Not detected	Not detected	<10	Not detected
BFO	Not detected	Not detected	< 0.050	Not detected	Not detected	Not detected	<10	Not detected

### Discussion

The fish oil from the adipose tissue of freshwater hybrid catfish, Buk-Siam hybrid catfish were analyzed. They were clear yellow liquid exhibiting peroxide value and saponification number in accordance with the Food and Drug Administration (FDA) standard, Thailand. Interestingly, the quantity of monounsaturated fatty acid (omega-9) in the FFO and BFO were four times higher compared to MFO. Since, the omega-9 fatty acids have been considered as potential disease mediators. Therefore, further study of FFO and BFO-rich in MUFAs is needed to find out their potential to be used as raw materials for the manufacturing of nutraceutical products as a dietary supplement for metabolic syndrome in the future.

### Conclusions

The fish oil extracted as a lipid fraction from freshwater hybrid catfish and Buk-Siam hybrid catfish showed high content of omega- 9 fatty acid group and its favorable chemical and physical properties as they are within the standard level for consumption as prescribed by Thai food and drug administration. Moreover, they were both safety from heavy metal and bacterial contaminations. As the omega-9 fatty acid exhibits increasing of HDL-cholesterol, decreasing LDL-cholesterol and reducing the risk of heart attack and stroke. In addition, it can also be prevented the metabolic syndromes and risk of getting cardiovascular disease. Therefore it can apply in the pharmaceutical industries in order to increase the value.

### Acknowledgements

This study was supported by a grant from National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Thailand.

### References

- Association of Analytical Communities (AOAC). 2000. “**Fatty acid composition, in-house method based on AOAC 965.33**”. [Online]. Available <http://webdb.dmsc.moph.go.th> (Accessed: October 2018).
- Association of Analytical Communities (AOAC). 2012. “**Fatty acid composition, in-house method TE-CH-208 based on AOAC 990.06**”. [Online]. Available <http://webdb.dmsc.moph.go.th> (Accessed: October 2018).
- Association of Analytical Communities (AOAC). 2016. “**Fatty acid composition, in-house method TE-CH-208 based on AOAC 2016**”. [Online]. Available <http://webdb.dmsc.moph.go.th> (Accessed: October 2018).
- Bjorklund, C. 2017. **List of mercury levels in fish oil supplements**. [Online]. Available <https://www.livestrong.com/article/31490> (Accessed: July 2018).
- Chaijan, M., A. Jongjaroenrak, S. Phatcharat, S. Benjakul and S. Rawdkuen. 2010. Chemical compositions characteristics of farm raised giant catfish (*Pangasianodon gigas*) muscle. **LWT-Food Sci. Technol** 43:452-457.
- Garg, A. 1998. High-monounsaturated-fat diets for patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. **Clin Nutr** 67(Suppl): 577S-582S.
- Johnson, M. and C. Bradford. 2014. Omega-3, Omega-6 and Omega-9 Fatty Acids: Implications for Cardiovascular and Other Diseases. **J. Glycomics Lipidomics** 4:4.
- Keapai, W., S. Apichai, D. Amornerdpison. and N. Lailerd. 2016. Evaluation of fish oil-rich in MUFAs for anti-diabetic and anti- inflammation potential in experimental type 2 diabetic rats. **Korean J. Physiol. Pharmacol** 20(6):581-593.
- Oladapo, A. and S. Awojide. 2015. Quality Evaluation of Oil Extracted from Catfish and Mackerel as Compared with Commercial Cod Liver Oil. **J. Food Chem. Nutr** 3(1): 13-18.
- Shepherd, C.J. and A.J. Jackson, 2012. **Global fishmeal and fish oil supply-inputs, outputs, and markets**. [Online]. Available <http://www.seafish.org/> (Accessed: July 2018).
- Taylor, T. and C. Alasalvar. 2002. **Improved utilization of fish and shellfish waste, in Seafood's-Quality, Technology and Nutraceutical Applications**. New York: Springer. Ch.11.

- Rattanaphot T., K. Mengumphan, S. Tongsir, C. Srimaroeng and D. Amornlerdpison. 2018. Enhancement of oxidative defence and growth performance of Nile tilapia by omega-9-rich freshwater fish oil *Maejo Int. J. Sci. Technol* 12(01):79-88.
- Shudiefat A.A., A.K. Sharma, A.K. Bagchi, S. Dhingra and P.K. Singal. 2013. Oleic acid mitigates TNF-induced oxidative stress in rat cardiomyocytes *Mol Cell Biochem* 372: 75-82.
- Wangcharoen, W., K. Mengumphan and D. Amornlerdpison. 2015. Fatty Acid Composition, Physical Properties, Acute Oral Toxicity and Antioxidant Activity of Crude Lipids from Adipose Tissue of Some Commercialized Freshwater Catfish. *Chiang Mai J. Sci* 42(3):626-636.



ภาคผนวก ง

ประกาศนียบัตรการเรียนออนไลน์หัวข้อจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์เบื้องต้น






แพลตฟอร์มเพื่อการเรียนรู้ออนไลน์ตลอดชีวิต | กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

**bussarin tongmee**

ได้ผ่านการเรียนออนไลน์ตามเกณฑ์การวัดผลในรายวิชา

**จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์เบื้องต้น (5 ชั่วโมงการเรียนรู้)**

พัฒนารายวิชาโดย มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

 รศ.ดร.พิชชาภรณ์ สุดชาฎา เลขาธิการและกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ Panel 1 & 3 มหาวิทยาลัยนครสวรรค์	 นายแพทย์สมบุรณ์ ดันสุกุลสวัสดิกุล ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ Panel 1 & 3 มหาวิทยาลัยนครสวรรค์
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วนวิทย์ ดาดี ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ Panel 2 มหาวิทยาลัยนครสวรรค์	





ภาคผนวก จ

ประกาศนียบัตรการผ่านการประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการในระดับดีเยี่ยม  
ของแม่โจ้คลินิกแลบ



FACULTY OF MEDICAL TECHNOLOGY  
The External Quality Assessment Scheme  
in Clinical Chemistry (EQAC)

Certificate presented to

MAEJO CLINIC LAB

for excellent participation in EQAC  
by subscribing as one of the members for the year of 2020

(Prof. Chartchalerm Isarankura-Na-Ayudhya, Ph.D.)  
Dean

(Dr. Mayuree Chanasakulniyom)  
EQAC Program Chairman



## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางบุษรินทร์ ทองมี
เกิดเมื่อ	24 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2513
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2542 ปริญญาโท (วท.ม.) สาขาพยาบาลสาธารณสุข มหาวิทยาลัยมหิดล พ.ศ. 2535 ประกาศนียบัตรพยาบาลศาสตร์ วิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนีนราชนบุรี
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2535 รับราชการพยาบาลวิชาชีพ โรงพยาบาลราชบุรี สังกัดกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2540 พยาบาลวิชาชีพ โรงพยาบาลเมืองราช จังหวัดราชบุรี พ.ศ. 2543 อาจารย์พยาบาล คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยคริสเตียน จังหวัดนครปฐม พ.ศ. 2549 อาจารย์พยาบาล คณะพยาบาลศาสตร์แมคคอร์มิค มหาวิทยาลัยพายัพ จังหวัดเชียงใหม่ พ.ศ. 2551 อาจารย์พยาบาล คณะพยาบาลศาสตร์ วิทยาลัยเชียงราย จังหวัดเชียงราย พ.ศ. 2554 พยาบาลวิชาชีพ โรงเรียนนานาชาติเปรม ดิณสุลานนท์ จังหวัดเชียงใหม่ พ.ศ. 2555 ผู้บริหารโรงเรียนบริหารศาสตร์แม่ใจ จังหวัดเชียงใหม่ พ.ศ. 2557 ผู้บริหารศูนย์ดูแลผู้สูงอายุแม่ใจเนอส์ซิงโฮม จังหวัดเชียงใหม่
อีเมล	Bussarint@yahoo.com