คณะสหเวชศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานวิจัย

เรื่อง

การพัฒนาอิมัลชันลิพิดทางการแพทย์โดยใช้เลซิติน ที่มีกรดไขมันชนิดโอเมก้า 3 เป็นตัวอิมัลซิฟายเออร์

(Development of Medical Lipid Emulsion with Omega 3 Containing Lecithins as Emulsifier)

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร.วินัย ดะห์ลัน

งานวิจัยสนับสนุนโดย
เงินทุนอุดหนุนเพื่อเพิ่มพูนและพัฒนาประสิทธิภาพทางวิชาการ
ปีงบประมาณ 2538 (ครั้งที่ 2) และ 2539 (ครั้งที่ 2)
ฝ่ายวิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ทุนหน่วยปฏิบัติการวิจัย (Unit Cell)
เพื่อการจัดตั้ง "ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน"

กุมภาพันธ์ 2542

วท
ส.ว. 15
011046

การพัฒนาอิมัลชันลิพิดทางการแพทย์โดยใช้เลซิติน ที่มีกรดไขมันชนิดโอเมก้า 3 เป็นตัวอิมัลซิฟายเออร์

(Development of Medical Lipid Emulsion with Omega 3 Containing Lecithins as Emulsifier)

หัวหน้าโครงการวิจัย

ร.ศ.ดร.วินัย ดะห์ลัน — ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ร่วมวิจัย

รศ.ดร.สมเกียรติ ปียะธีรธิติวรกุล — หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รศ.ดร.วิชัย เชิดชีวศาสตร์ — ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อ.สุพันธิตรา ชาญประเสริฐ — คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

น.ส.โสภณา จาตนิลพันธ์ — หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

น.ส.พิมพ์พร อินนพคุณ — หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เลขหมู่ จุฬ
สค 15
เลขทะเบียน 011 646
วัน,เดือน,ปี 29 เม.ย.45

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยการสนับสนุนของฝ่ายวิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เงินทุนอุดหนุนเพื่อเพิ่มพูนและพัฒนาประสิทธิภาพทางวิชาการ เพื่อการจัดตั้งศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์ ในปีงบประมาณ 2538 (ครั้งที่ 2) จำนวน 331,100 บาท และปีงบประมาณ 2539 (ครั้งที่ 2) จำนวน 241,100 บาท ผ่านการอนุมัติโดยสองอธิการบดี คือ ศ.นพ.จรัส สุวรรณเวลา และ ศ.ดร.เทียนฉาย กีระนันทน์ และสามรองอธิการบดี คือ รศ.ดร.อมรา พงศาพิชญ์ ศ.น.สพ.ดร.ฉรงค์ ศักดิ์ ชัยบุตร และ ศ.ดร.สมศักดิ์ ปัญญาแก้ว

งานวิจัยส่วนหลักดำเนินการที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย การจัดเตรียมวัตถุดิบและการจัดเตรียมเลซิทินบางส่วนทำที่หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

งานศึกษาเบื้องต้นทางเอนไซม์กระทำที่หน่วยวิจัยอาหารและโภชนาการ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง ร่วมกับ รศ.สุนันทา ภิญญาวัธน์ และ รศ.ระวีวรรณ สิทธิโอสถ งานฝึกอบรมนิสิตหลักสูตรเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ปฏิบัติงานในโครงการทำโดย ดร.อรวรรณ ภู่ชัยวัฒนานนท์ แห่งภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

นิสิตระดับปริญญาตรีหลักสูตรเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ ปีการศึกษา 2539-41 ได้แก่ น.ส.พรสิริ วรรณดิลก น.ส.สุชชนา แทบประสิทธิ์ น.ส.สุวาณี อรุณกาญจนา นายสมคิด จารุวัฒนวงศ์ น.ส.ภัทรพร รอดเข็ม และ น.ส.เมธาวี ทองดี ช่วยงานวิเคราะห์ทางชีวเคมีบางส่วน

คณะสหเวชศาสตร์ โดย ผศ.ดร.ปิยพร ณ นคร คณบดีให้การสนับสนุนงานวิจัยและกิจกรรมของศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมันมาโดยตลอด ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือดเอื้อเฟื้อด้านสถานที่ อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์บางส่วน ผู้บริหารและเจ้าหน้าที่สำนักงานเลขานุการของคณะสหเวชศาสตร์ให้ความช่วยเหลือด้านการจัดการ

หน่วยงานและบุคคลที่เอ่ยนามและยังมิได้เอ่ยนามอีกบางส่วนต่างมีส่วนเกี่ยวข้องกับความสำเร็จของโครงการวิจัยชิ้นนี้โดยถ้วนทั่ว คณะผู้วิจัยขอขอบคุณอย่างยิ่งมา ณ ที่นี้

คณะผู้ทำวิจัย

กุมภาพันธ์ 2542

การพัฒนาอิมัลชันลิพิดทางการแพทย์โดยใช้เลซิทินที่มีกรดไขมันชนิดโอเมก้า 3 เป็นตัวอิมัลซิฟายเออร์

(Development of Medical Lipid Emulsion with Omega 3 Containing Lecithins as Emulsifier)

บทคัดย่อ

ความเป็นมา การให้อิมัลชันลิพิดทางหลอดเลือดผู้ป่วยเป็นเวลานาน เลซิทินที่ใช้เป็นอิมัลซิฟายเออร์ของอิมัลชันลิพิดสามารถเหนี่ยวนำให้ดุลของฟอสโฟลิปิดบนเมมเบรนของเซลล์เปลี่ยนแปลง ก่อให้เกิดผลเชิงบวกและเชิงลบต่ออุบัติการณ์เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด เลซิทินที่ใช้เป็นอิมัลซิฟายเออร์ทั่วไปมีกรดไขมันโอเมก้า 6 เป็นหลักอาจก่อผลเชิงลบ ขณะเดียวกันมีข้อมูลสนับสนุนว่าการให้เลซิทินที่มีโอเมก้า 3 ให้ผลเชิงบวก อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลสนับสนุนว่าเลซิทินที่มีโอเมก้า 3 เป็นอิมัลซิฟายเออร์ที่ดีสำหรับการเตรียมอิมัลชันลิพิดหรือไม่

วัตถุประสงค์ การวิจัยครั้งนี้เพื่อหาแหล่งของเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูง ใช้เลซิทินดังกล่าวในการพัฒนาอิมัลชันลิพิดและทดสอบการย่อยสลายอิมัลชันลิพิดด้วยเอนไซม์ไลเปส โดยเปรียบเทียบกับอิมัลชันลิพิดที่เตรียมจากเลซิทินของไข่แดงและเลซิทินของถั่วเหลือง

วิธีการ ทำการศึกษาวัตถุดิบชนิดต่างๆ ได้แก่ ปลาป่น (FM) ไข่แดง (EY) ถั่วเหลือง (SY) วิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันตลอดจนชนิดของเลซิทินที่พบในวัตถุดิบ ทำการคัดเลือกแหล่งที่มีเลซิทินชนิดที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ปริมาณสูง พัฒนาวิธีการสกัดเลซิทินออกจากวัตถุดิบดังกล่าว จัดเตรียมอิมัลชันลิพิดที่มีเลซิทินสูง (LRFE) และศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของพาร์ติเคิลของอิมัลชันและการย่อยสลายพาร์ติเคิลอิมัลชันลิพิดโดยเอนไซม์ไลเปส

ผลการศึกษาและวิจารณ์ การศึกษาพบว่าปลาป่นท้องถิ่นและต่างประเทศมีไขมันและเลซิทินเป็นองค์ประกอบ 11-14 และ 1-2 กรัม/100 กรัมตัวอย่างตามลำดับ มีกรดดีเอชเอซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า 3 อยู่ในเลซิทิน 11-21% การเตรียมเลซิทินทำโดยสกัดปลาป่นต่างประเทศด้วยตัวทำละลายอินทรีย์สามชนิดตามลำดับคือ เมธานอล/นอร์มอลเฮกเซน/อะซีโตน เลซิทินที่สกัดได้มีฟอสโฟลิปิดชนิดที่มีโคลีนสูงถึง 68% และมีกรดดีเอชเอ 17.5% การใช้ methanol ในการสกัดทำให้ปริมาณเลซิทินที่สกัดได้สูงกว่าการใช้ ethanol 10% มีดีเอชเอสูงกว่า 20% เมื่อเตรียมอิมัลชันที่

มีเลซิทินสูง พบว่าอิมัลชันลิพิดที่มีเลซิทินสูงของปลาป่น (FM-LRFE) มีกรดดีเอชเอบริเวณผิวอิมัลชันเฉลี่ย 28.10 สูงกว่าที่พบในอิมัลชันที่เตรียมจากจากเลซิทินไข่ไก่ (EY-LRFE) และถั่วเหลือง (SY-LRFE) ซึ่งเท่ากับ 2.05 และ 0 กรัม/กรดไขมัน 100 กรัม ตามลำดับ การทำงานของเอนไซม์ไลเปสในการย่อยสลายกรดไขมันออกจากอิมัลชันลิพิดเมื่อทำโดยการศึกษาปริมาณร้อยละของไตรกลีเซอไรด์ส่วนที่เหลืออยู่ในพาร์ติเคิลอิมัลชันลิพิดภายหลังการ incubation 60 นาทีพบว่า SY> FM>EY ในสัดส่วน 63:53:42 โดยกรดไขมันที่ถูกย่อยสลายออกจากพาร์ติเคิลของอิมัลชันลิพิดทั้งสามสูตรจะเป็นไปในลักษณะคล้ายคลึงกันนั่นคือกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) กรดไขมันไม่อิ่มตัวหนึ่งตำแหน่ง (MUFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (PUFA) ถูกย่อยสลายในอัตราใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามพบว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 ใน FM-LRFE ย่อยสลายช้ากว่ากรดไขมันโอเมก้า 6 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

สรุปผลการศึกษา ปลาป่นสามารถใช้เป็นแหล่งของเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ได้และเมื่อเตรียมเป็นอิมัลชันลิพิด เลซิทินจากปลาป่นแสดงคุณสมบัติไม่ต่างจากเลซิทินจากไข่แดงและถั่วเหลืองโดยไตรกลีเซอไรด์ที่อยู่ภายในพาร์ติเคิลของเลซิทินจากปลาป่นถูกย่อยสลายช้ากว่าพาร์ติเคิลของเลซิทินจากไข่แดงเล็กน้อยแต่เร็วกว่าพาร์ติเคิลของเลซิทินจากถั่วเหลืองเล็กน้อยเช่นเกัน กรดไขมันโอเมก้า 3 ในส่วนของไตรกลีเซอไรด์มีแนวโน้มที่จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปสช้ากว่ากรดไขมันกลุ่มอื่น

คำสำคัญ Lipid emulsion; fishmeal; omega-3 fatty acids; lecithins; lipase; extraction.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

ความสำคัญของผลิตภัณฑ์สัตว์ทะเล

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีชายฝั่งทะเลยาว มีทำเลติดกับสองมหาสมุทร มีกิจการประมงใหญ่โต แต่ละปีมีผลผลิตจากอุตสาหกรรมการประมงจำนวนมหาศาล ประเทศไทยได้รับการยอมรับว่าเป็นผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารทะเลเป็นอันดับต้นของโลก ในกรณีของปลาป่น จากสถิติกรมประมง ในปี 2531 ประเทศไทยมีปริมาณปลาเป็ด (ปลาเบญจพรรณขนาดเล็กที่คัดทิ้งและลูกปลา) ที่จับได้ 956,100 ตัน ปี 2533 จับได้เพิ่มขึ้นเป็น 978,300 ตัน ร้อยละ 98 ของปลาเป็ดเหล่านี้ถูกนำไปผลิตเป็นปลาป่นซึ่งส่วนใหญ่เป็นสินค้าส่งออกต่างประเทศเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์

เป็นที่ทราบกันดีว่าปลาทะเลเป็นแหล่งสมบูรณ์ของกรดไขมันโอเมก้า 3 ซึ่งมีคุณสมบัติพิเศษหลายประการ จากการสำรวจของคณะของเรา (Dahlan et al, 1996) พบว่าปลาป่นมีน้ำมันปลาถึงร้อยละ 22 มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงชนิดโอเมก้า 3 ทั้งในรูปของกรด docosahexaenoic acid (DHA) หรือ C22:6n-3 และ eicosapentaenoic acid (EPA) หรือ C20:5n-3 นอกจากนี้ปลาป่นยังมีเลซิทินสูงถึงร้อยละ 2 เป็น เลซิทินที่มีคุณภาพสูงเนื่องจากมีกรดไขมันโอเมก้า 3 อยู่ในองค์ประกอบปริมาณสูง ทั้งเลซิทินและกรดไขมันโอเมก้า 3 ต่างเป็นสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง จัดเป็นอาหารฟังก์ชั่น (functional food) สามารถนำไปใช้ในการป้องกันโรคบางชนิด สารอาหารเหล่านี้มีราคาแพง ดังนั้นหากทำการสกัดแยกเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 เหล่านี้ออกจากผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ ดังเช่น ปลาทูน่าโดยเฉพาะอย่างยิ่งกากจากอุตสาหกรรมปลาทูน่าตลอดจนปลาป่น ย่อมได้สารอาหารที่มีคุณค่าสูงราคาแพง เป็นการเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบ

การนำเลซิทินจากผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำมาใช้ในการเตรียมอิมัลชันลิพิด (lipid emulsion) และไลโปโซม (liposomes) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์อาหารทางการแพทย์ที่มีราคาแพงกว่าสารอาหารในรูปอื่น นอกจากจะเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ให้สูงยิ่งขึ้นแล้วยังมีความเป็นไปได้ในทางทฤษฎีว่าอิมัลชันลิพิดที่พัฒนาขึ้นใหม่โดยไม่เคยมีการพัฒนาขึ้นมาก่อนครั้งนี้จะให้ประโยชน์เหนือกว่าอิมัลชันลิพิดที่วางจำหน่ายทั่วไปซึ่งใช้เลซิทินที่สกัดจากไข่แดงของไข่ไก่และ/หรือสกัดจากถั่วเหลืองเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ (Carpentier, 1989)

มีการศึกษาจำนวนมากมายยืนยันข้อดีของกรดไขมันโอเมก้า 3 ทั้งทางด้านการลดไขมันไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) (Simopoulos, 1997) ความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือด ลดความดันเสริมสมอง (Dahlan et al, 1992 a, b) รักษาบาดแผล (BNFTF, 1994) และอีกหลายประการ ขณะที่เลซิทินมีคุณค่าทางการแพทย์และโภชนาการมากมาย การเสริมเลซิทินและกรดไขมันโอเมก้า 3 พร้อมกัน

นั้นจึงย่อมไม่เป็นข้อน่าสงสัยสำหรับการใช้ประโยชน์ทางด้านการลดปัญหาโรคหัวใจและหลอดเลือดและปัญหาอื่น

อิมัลชันไขมัน

ไขมันเป็นสารที่ไม่สามารถละลายได้ในเลือดจำเป็นต้องเปลี่ยนไขมันให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยหรืออิมัลชัน (emulsion) เสียก่อนจึงจะสามารถหยดไขมันนั้นผ่านเข้าทางหลอดเลือด ในทางการแพทย์ อิมัลชันไขมันมีไว้เพื่อจ่ายพลังงานและกรดไขมันจำเป็น (essential fatty acids) ให้กับผู้ป่วยที่ไม่สามารถรับประทานอาหารทางปากได้ (Dahlan et al 1992 a, b) เนื่องจากไขมันเป็นสารอาหารให้พลังงานที่มีความจุพลังงานสูงกว่าน้ำตาลและโปรตีนกว่า 2 เท่า ด้วยเหตุนี้นับวันการให้ไขมันทางหลอดเลือดยิ่งทวีความสำคัญมากยิ่งขึ้นจนกล่าวได้ว่าผู้ป่วยในอนาคตสามารถได้รับไขมันทางหลอดเลือดได้ทั้งสิ้น ทั้งนี้เนื่องจากการให้พลังงานในรูปไขมันจะช่วยลดปริมาตรน้ำที่ให้เข้าสู่ร่างกายผ่านระบบหลอดเลือดที่ให้โดยการใช้สารละลายน้ำตาลและสารละลายกรดอะมิโนเป็นหลัก (Carpentier, 1989)

อิมัลไขมันเมื่อเข้าสู่ระบบเลือดมันจะถูกย่อยสลายโดยระบบเอนไซม์ไลโปโปรตีนไลเปสเกิดกรดไขมันสร้างพลังงานให้แก่เซลล์ต่าง ๆ ทั่วร่างกาย (Dahlan, 1989) ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ต่อพาร์ติเคิลของอิมัลชันนั้นขึ้นกับชนิดของฟอสโฟลิปิดหรือเลซิทิน (Richelle et al, 1988) ดังนั้นหากเปลี่ยนชนิดของฟอสโฟลิปิดย่อมส่งผลให้การย่อยสลายไขมันภายในพาร์ติเคิลเปลี่ยนแปลงไป การเตรียมอิมัลชันโดยใช้ลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 จึงเป็นการเสริมประโยชน์หลากหลายพร้อมกัน เป็นการเปิดโฉมหน้าใหม่ให้กับวิทยาศาสตร์การแพทย์ส่วนหนึ่งและเพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาการทำงานของระบบเอนไซม์ในทางเดินเลือดอีกส่วนหนึ่ง (Carpentier, 1989)

โรคหัวใจและหลอดเลือด

โรคหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular disease, CVD) เป็นปัญหาทางสุขภาพที่สำคัญของประเทศไทยและประเทศอื่นทั่วโลกโดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศตะวันตก ในกรณีของประเทศไทยโรคหัวใจและหลอดเลือดนี้เป็นสาเหตุการตายอันดับ 1 ต่อเนื่องกันมาเป็นเวลาหลายปี นอกจากนี้ยังนับเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการป่วย ทรมาน พิการ อัมพาต สร้างปัญหาทางสุขภาพขึ้นมากมายบั่นทอนประสิทธิภาพ ทรัพยากรมนุษย์และสังคมต้องสูญเสียทรัพย์สินเพื่อการรักษาพยาบาลเป็นจำนวนเงินมากมายในแต่ละปี

CVD เกิดขึ้นจากหลายสาเหตุ ในบรรดาสาเหตุเหล่านั้นการมีภาวะโภชนาการเกินนับเป็นสาเหตุอันดับต้น การเกิดโรค CVD มาจาก 2 กลไกหลักคือการจับตัวสะสมกันของไขมันตามผนังหลอดเลือด (atherogenesis) และการรวมตัวกันเกิดลิ่มเลือด (thrombogenesis) กลไกแรกเป็นเหตุให้หลอดเลือดเกิดการตีบตัน ในขณะที่กลไกที่สองนอกจากจะเป็นเร่งกลไกแรกแล้วยังทำให้เกิดการอุดตันอย่างเฉียบพลันของหลอดเลือด หากการอุดตันเกิดขึ้นในบริเวณหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงสมองจะก่อให้เกิดภาวะเลือดหยุดการเลี้ยงสมอง (stroke) เป็นผลให้เกิดการพิการหรืออัมพาตขึ้นได้ หากการอุดตันเกิดขึ้นที่บริเวณหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจจะทำให้เกิดอาการกล้ามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction) หรือหัวใจล้มเหลว (BNFTF 1994) การป้องกันและรักษา CVD ทำได้โดยยับยั้งหรือลดการเกิด 2 กลไกหรือลดเพียงกลไกใดกลไกหนึ่งที่กล่าวถึงข้างต้น

ปัจจุบันได้พบแล้วว่ามีสารอาหารหลายชนิดช่วยลดความเสี่ยงของ CVD ได้ สารอาหารสองชนิดในจำนวนนั้นคือ กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงชนิดโอเมก้า 3 -3 และเลซิทิน (BNFTF, 1994) บทบาทหนึ่งของ กรดไขมันโอเมก้า 3 ในการช่วยลดความเสี่ยงของการเกิด CVD คือมันช่วยลด thrombogenesis โดยผลของพรอสตาแกลนดินกลุ่ม E_3 (PGE_3) ซึ่งสร้างขึ้นจากกรดไขมันโอเมก้า 3 ตัวหนึ่งคือ EPA นอกจากนี้ กรดไขมันโอเมก้า 3 อีกตัวหนึ่งคือ DHA และเลซิทินต่างแสดงบทบาทเสริมทางด้านอื่นช่วยทำให้การเกิด CVD ลดลง (Simopoulos, 1997) การที่กรดไขมันโอเมก้า 3 และเลซิทินทำหน้าที่ป้องกันความเสี่ยงต่อ CVD ได้เต็มประสิทธิภาพ ขึ้นอยู่กับปัจจัยหนึ่งที่สำคัญคือกรดไขมันและเลซิทินจะต้องอยู่บนเมมเบรนของเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์เกล็ดเลือด โดยเป็นที่รับรู้กันว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 ที่เป็นต้นตอการสร้าง PGE_3 ถูกปลดปล่อยออกมาจากฟอสโฟลิปิด (PL) บนเมมเบรนของเกล็ดเลือด นอกจากนี้เกล็ดเลือดยังทำหน้าที่แจกจ่ายเลซิทินและกรดไขมันอื่นๆ ให้แก่ เซลล์เลือด/เนื้อเยื่อ/ไลโปโปรตีนต่างๆได้ การมีกรดไขมันโอเมก้า 3 บนเมมเบรนจึงสร้างประโยชน์แก่ร่างกาย การเสริมกรดไขมันโอเมก้า 3 บนเมมเบรนของเกล็ดเลือดทำได้โดยวิธีการรับประทานกรดไขมันโอเมก้า 3 เป็นระยะเวลายาวนาน หากมีวิธีการใดที่จะเสริมกรดดังกล่าวได้โดยตรงบนเมมเบรนเกล็ดเลือดย่อมลดระยะเวลาลงอันจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยอย่างมหาศาล

กรดไขมันโอเมก้า 3 ช่วยลดความเสี่ยงของอุบัติการณ์เกิด CVD ในประชากรหลายกลุ่ม เช่น ชาวเอสกิโมและญี่ปุ่น (Simopoulos, 1997; BNFTF, 1994; Dahlan et al., 1996) กลไกที่กรดไขมันโอเมก้า 3 ช่วยลดอุบัติการณ์เกิด CVD อธิบายได้ทั้งการช่วยลดการสะสมไขมันบนผนังหลอดเลือด (atherogenesis) และการจับตัวเป็นลิ่มเลือด (thrombogenesis) ซึ่งต่างเป็นกลไกหลักที่ทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือด ในกรณีของกลไกแรก กรดไขมันโอเมก้า 3 ยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันไตรกลีเซอไรด์และอะโปโปรตีน B_{100} (apo B_{100}) ทำให้ไลโปโปรตีนชนิด very low density

liporpotein (VLDL) ลดปริมาณลงในกระแสเลือด (BNFTF, 1994) Simopoulos (1991, 1997) ได้สรุปบทบาทของกรดไขมันโอเมก้า 3 ในกลไก thrombogenesis ไว้ดังนี้ 1) ลดการสร้าง PGE_2 และทรอมบ็อกเซน A_2 (thromboxane A_2, TXA_2) ซึ่งเป็นสารที่ลดการจับตัวกันของเกล็ดเลือด 2) เพิ่ม TXA_3 ซึ่งมีส่วนร่วมต่อการจับตัวของเกล็ดเลือดค่อนข้างน้อย นอกจากนี้ยังมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการสร้างสารอนุพันธ์ของพรอสตาแกลนดินอีกหลายชนิดนำไปสู่ผลของการลดการจับตัวกันของเกล็ดเลือด ผลที่ติดตามมาคือความเสี่ยงต่อการเกิด CVD ลดลงในกลุ่มผู้ที่รับประทานกรดไขมันโอเมก้า 3 ซึ่งมีมากในปลาทะเลและสัตว์ทะเลเป็นประจำ

กรดไขมันโอเมก้า 3 ที่ทำหน้าที่ข้างต้นเป็นกรดไขมันที่อยู่บน PL ของเมมเบรนของเซลล์และเซลล์ที่สำคัญที่ทำหน้าที่นี้คือเกล็ดเลือด (platelet) ซึ่งเป็นเซลล์เลือดชนิดหนึ่งที่แสดงบทบาทในการห้ามเลือดหลายประการ การแข็งตัวของเลือดเป็นประโยชน์ต่อชีวิต อย่างไรก็ตามการจับตัวกันของเกล็ดเลือดในหลอดเลือดกลับเป็นกลไกหนึ่งที่เร่งให้เกิด CVD การลดการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือดจึงเป็นวิธีการหนึ่งในการลดความเสี่ยงของ CVD วิธีการที่เป็นที่รู้จักกันคือการใช้กรดไขมันโอเมก้า 3 เข้าไปแทนที่กรดไขมันโอเมก้า 6 บนเมมเบรนของเกล็ดเลือด กรดไขมันโอเมก้า 6 ตัวสำคัญคือ linoleic acid (LA) หรือ C18:2 n-6 และ arachidonic acid (AA) หรือ C20:4 n-6 มีในปริมาณสูงบนเมมเบรนของเกล็ดเลือด หากร่างกายได้รับกรดไขมันโอเมก้า 3 เป็นประจำกรดไขมันเหล่านี้จะเข้าไปแทนที่กรดไขมันโอเมก้า 6 บนผนังเกล็ดเลือด (Dahlan et al., 1996) ส่งผลให้การสร้างสาร eicosanoids เปลี่ยนแปลงไป สัดส่วนของ E_3/E_2 มีค่าสูงขึ้นซึ่งทำให้การรวมตัวของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) ช้าลง เป็นผลดีต่อการป้องกันและรักษา CVD (Broekman et al., 1976; Grimminger et al., 1996)

การศึกษาของ Dyerberg และคณะพบความเกี่ยวข้องระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวบนผนังเมมเบรนของเกล็ดเลือดกับการแข็งตัวของเลือดอย่างน่าสนใจคือเกล็ดเลือดของชาวเอสกิโมมีสัดส่วนกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูง ขณะที่ เกล็ดเลือดของชาวเดนมาร์คมีกรดไขมันโอเมก้า 6 ค่อนข้างสูงซึ่งเป็นเหตุผลหนึ่งในการอธิบายว่าเหตุใดชาวเอสกิโมจึงมีอุบัติการณ์เกิด CVD ต่ำกว่าชาวเดนมาร์ค (Bang et al., 1976; Dyerberg et al., 1978; Dyerberg, 1986) เซลล์เลือดทุกชนิดมีครึ่งชีวิตไม่ยืนยาวนัก ขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงของลิพิดบนเมมเบรนโดยตลอดชั่วอายุของมัน ทั้งนี้โดยการแลกเปลี่ยนกรดไขมันและฟอสโฟลิปิดระหว่างเมมเบรนของเซลล์เลือดกับไลโปโปรตีนในเลือดและกรดไขมันอิสระ (Dahlan, 1989; Dahlan, 1995; Dahlan et al., 1996) การศึกษาของคณะของเราพบว่าไลโปโซมของ PL สามารถทำหน้าที่ส่งผ่านลิพิดและกรดไขมันให้กับเซลล์เลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ การเปลี่ยนโครงสร้างของกรดไขมันบนเมม เบรนเซลล์เลือดจึงสามารถทำได้โดยการ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ใช้ไลโปโซม (Dahlan et al., 1997) ผู้วิจัยรายงานไว้เมื่อปี 2535 ว่าเมื่อทำการหยดอิมัลชันไขมันเข้าสู่กระแสเลือด เมมเบรนของเซลล์เม็ดเลือดแดงเปลี่ยนแปลงโครงสร้างลิพิดไปดังนี้ คอเลสเตอรอลลดต่ำลงและฟอสโฟลิปิดมีระดับสูงขึ้น เหตุผลที่ทำให้เมมเบรนเปลี่ยนแปลงไปดังกล่าวอธิบายได้จากการปรากฏของไลโปโซมในอิมัลชันไขมันในปริมาณที่สูง (Dahlan et al., 1992a) ในปีเดียวกันผู้วิจัยรายงานถึงการให้สารอิมลชันไขมันชนิดที่มี linoleic acid (LA) สูงในผู้ป่วยด้วยโรค Inflammatory bowel disease ที่ได้รับอาหารทั้งหมดทางหลอดเลือดดำ (total parenteral nutrition, TPN) จำนวน 5 คนเป็นเวลานาน 3 เดือน ปรากฏว่า เมมเบรนของเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยมี LA สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ขณะที่กรดไขมัน arachidonic (AA) และ DHA ลดปริมาณลง แสดงให้เห็นว่า LA สามารถเข้าไปแทนที่ AA และ DHA บนเมมเบรนได้ (Dahlan et al., 1992b)

จากข้อมูลทั้งหมดดังกล่าวข้างต้นเห็นได้ว่าการที่เสริมกรดไขมันโอเมก้า 3 ในรูปเลซิทินเข้าสู่ระบบเลือดจะเป็นหนทางหนึ่งในการเติมกรดไขมันโอเมก้า 3 ให้แก่ผนังเมมเบรนของเม็ดโลหิตต่างๆอย่างมีประสิทธิภาพ การเตรียมอิมัลชันลิพิดที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูงจึงนับเป็นหนทางหนึ่งในการเติมกรดไขมันโอเมก้า 3 ในรูปของเลซิทินเข้าสู่ระบบเลือดดังกล่าว อย่างไรก็ตามเนื่องจากอิมัลชันลิพิดทำหน้าที่ในการนำไตรกลีเซอไรด์เข้าสู่ระบบเลือด ความสามารถของเอนไซม์ไลเปสในการย่อยสลายพาร์ติเคิลอิมัลชันลิพิดจึงเป็นเรื่องที่ควรคำนึง การศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นแนวทางในการเตรียมอิมัลชันลิพิดที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 บนเลซิทินสูงและการทดสอบการย่อยสลายของพาร์ติเคิลในหลอดทดลองเพื่อประมาณการ เมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นจริงในระบบโลหิตของร่างกาย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาแหล่งของเลซิทินที่มีกรดไขมันชนิดโอเมก้า 3 ในปริมาณที่เพียงพอต่อการพัฒนาในเชิงพานิชย์
2. เพื่อพัฒนาการใช้ปลาป่น และ/หรือ กากจากอุตสาหกรรมปลากระป๋องและน้ำมันปลาเป็นแหล่งวัตถุดิบในการเตรียมเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3
3. เพื่อหาหนทางเพิ่มมูลค่าวัตถุดิบโดยวิธีประยุกต์ใช้เลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้าเป็นอิมัลซิฟายเออร์ใช้ในการเตรียมผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์และโภชนาการ
4. เพื่อพัฒนาวิธีการสกัดแยกเลซิทินที่มีเลซิทินชนิดที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูงออกจากแหล่งวัตถุดิบ

5. เพื่อศึกษาลักษณะเชิงกายภาพของพาร์ติเคิลลิพิดที่เตรียมโดยใช้เลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 เปรียบเทียบกับอิมัลชันที่เตรียมจากเลซิทินจากไข่ไก่และถั่วเหลืองที่นิยมใช้กันในทางการแพทย์
6. เพื่อศึกษาการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในการย่อยสลายไขมันในพาร์ติเคิลที่เตรียมขึ้น เปรียบเทียบกับอิมัลชันที่เตรียมจากเลซิทินของไข่ไก่และถั่วเหลือง
7. คำนวณหาสัดส่วนของเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 และเลซิทินจากไข่ไก่ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เทคนิคและวิธีการวิจัย

การจัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์

วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือปลาป่น นอกจากนี้ยังมีปลาสดบางชนิดจากอ่าวไทยที่ทำการวิเคราะห์แต่ไม่ได้นำเสนอข้อมูลในรายงานนี้เนื่องจากการสกัดไขมันกระทำได้ยากและกรดไขมันโอเมก้า 3 ต่อน้ำหนักเปียกมีปริมาณต่ำ การเตรียมเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูงจึงจัดเตรียมโดยใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบ ซึ่งข้อมูลบางส่วนรายงานไว้แล้วในรายงานอื่น (Dahlan et al., 1996) ปลาป่นที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นปลาป่นนำเข้าจากประเทศเดนมาร์ค (Danish fishmeal) สั่งซื้อผ่านบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ และปลาป่นไทยหรือปลาป่นท้องถิ่น (Local fishmeal) สั่งซื้อจากโรงงานเสรีบ้านเพ จังหวัดระยอง และได้รับผ่าน รศ.ดร.สมเกียรติ ปียะธีระธิติวรกุล แห่งภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ ปลาป่นประเภทหลังมีทั้งหมด 4 เกรด คือเกรด 1-4 ปลาป่นทั้งหมดมีคุณสมบัติของสารอาหารจากการตรวจวิเคราะห์ proximate analysis ดังแสดงไว้ในตาราง 1 ซึ่งเป็นข้อมูลได้รับจากผู้ผลิต

เลซิทินจากถั่วเหลือง เป็นเลซิทินที่จำหน่ายทางการค้า ได้รับจากบริษัท Dazuka จำกัด เลซิทินจากไข่แดงของไข่ไก่ได้จากการสกัดด้วยเทคนิคเดียวกับการสกัดเลซิทินจากปลาป่นที่พัฒนาขึ้นในการศึกษาครั้งนี้

สารเคมีและเครื่องแก้ว

สารเคมีและเครื่องแก้วที่ใช้ในการทดลองอยู่ที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เครื่องแก้วที่สำคัญเช่นหลอดแก้ว Borosilicate test tube พร้อมจุกเกลียวปิดชนิด Teflon lining ที่ใช้ในการเตรียมวิเคราะห์กรดไขมันผ่านการตรวจสอบก่อนว่าเมื่อปิดฝาแน่นสนิทแล้วไม่มีการรั่วซึมใดๆของสารภายในหากเกิดรอยรั่วใดๆต้องระงับการใช้เครื่องแก้วเหล่านั้นทันที ทั้งนี้เนื่องจากรอยรั่วที่เกิดขึ้นจะทำให้การวิเคราะห์สัดส่วนของกรดไขมันเกิดปัญหา กรดไขมันแต่ละตัวมีจุดเดือดไม่เท่ากัน การสูญเสียกรดไขมันหากเกิดขึ้นระหว่างการเตรียม methylation รอยรั่วอาจทำให้กรดไขมันสูญเสียออกไปอย่างไม่ได้สัดส่วนกันสร้างปัญหาต่อการแปลผล เครื่องแก้วทุกชิ้นที่ใช้ในการทดลองผ่านการล้างด้วยกรดและชะล้างสองครั้งด้วยสารละลาย dichloromethane-methanol (2:1, v/v) และเป่าให้แห้งก่อนที่จะนำมาใช้ทุกครั้ง

สารเคมีโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารมาตรฐานของกรดไขมันและลิพิดทุกตัวเป็นสารเคมีจากบริษัท Sigma (St-Louis, MO, USA) กรดไขมันมาตรฐานที่ใช้อยู่ในสองรูปแบบคือกรดไขมันอิสระ (FA) และในรูปของเมธิลเอสเตอร์ (fatty acid methyl esters หรือ FAME) สารมาตรฐานอินเทอนัล (internal standard) ที่ใช้ในการทดลอง คือ C15, C17, C19, คอเลสเตอริลเอสเตอร์ชนิด C-15 (CE-C15), ไตรกลีเซอไรด์ชนิด C15 (TG-C15) ฟอสโฟลิปิดชนิด C15 (PL-C15) การเตรียมกรดไขมันทั้งในส่วนของกรดไขมันมาตรฐานในรูปของ C15, CE-C15, TG-C15, PL-C15 และในส่วนของกรดไขมันในตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatograph ต้องผ่านกระบวนการเปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูปของเอสเตอร์โดย transesterification ใช้สาร acetylchloride เป็นตัวทำปฏิกิริยาโดยใช้เทคนิคของ Lepage และ Roy (1984) สารละลายอินทรีย์ทุกตัวที่ใช้ในงานวิจัยผ่านกระบวนการกลั่นซ้ำเพื่อลดปัญหาของสารปนเปื้อนโดยกลั่นที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ภายใต้สุญญากาศโดยใช้ rotary evaporator ของ Buchi Labortechnik AG. Flawil ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ทำการเติมสารกันหืนได้แก่ Butyl hydroxy toluene (BHT) ในสารละลายอินทรีย์ทุกตัวให้มีความเข้มข้นของ BHT ในสารละลายอินทรีย์ 5 mg/dl ในกรณีที่ใช้สารอินทรีย์นั้นในกระบวนการทั่วไป หากเป็นสารอินทรีย์ที่ใช้ในงาน thin-layer chromatography (TLC) เติม BHT ให้ได้ความเข้มข้น 50 mg/dl (Philips and Dodge, 1967)

เอนไซม์ไลเปสที่ใช้ในการทดลองเป็นเอนไซม์จากตับอ่อนของสุกร จัดซื้อจากบริษัท Sigma (L-0382, St-Louis, MO, USA) โปรตีนอัลบุมิน (bovine albumin) จัดซื้อจากบริษัท Sigma (A9647) แผ่น TLC ที่ใช้ในงานวิเคราะห์ทุกแผ่นผ่านการชะล้างไขมันที่อาจปนเปื้อนโดยการแช่ในสารละลาย dichloromethane-methanol (2:1, v/v) ในถัง TLC ให้สารละลายชะสารปนเปื้อนที่อาจมีอยู่กระทั่งวิ่งขึ้นไปที่ขอบแผ่นจากนั้นจึงทำการชะออกโดยการแช่ปลายในสารละลาย dichloromethane-methanol ทำการล้างเช่นนี้สองครั้งโดยให้สารละลายอินทรีย์วิ่งขึ้นในทิศทางเดียวกัน จากนั้นทำการอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ก่อนจะนำไปใช้งาน สารอินทรีย์บางชนิดเป็นอันตรายต่อสุขภาพในกรณีเช่นนี้ให้ใช้ toluene แทน benzene และใช้ dichloromethane แทน chloroform ซึ่งสารอินทรีย์ที่ถูกทดแทนทั้งสองชนิดจัดเป็นสารก่อมะเร็งจึงเลี่ยงการใช้

เครื่องมือวิทยาศาสตร์

เครื่องมือทุกชิ้นติดตั้งอยู่ที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์ ได้แก่

1 . Gas Chromatograph 8000 series, Fisons Instruments, Italy

2. Rotary evaporator, model R –114 Buchi, Switzerland

3. Nitrogen evaporator / heater / stirring module, Pierce, IL, USA

4. Sandbath, Gerhardt, Bonn, Germany
5. Spectrophotometer UV –1201, Shimadzu, Tokyo, Japan
6. Vacuum system, model B –169 Buchi, Switzerland
7. Electronic balance with 3 digits, Scaltec SBA 41, Germany
8. Electronic balance with 4 digits, Mettler Toledo, Germany
9. Shaking water bath, model GFL 1083, GFL, Germany
10. Suction pump, model 809 N Kataspir, Medel Italiano, Parma, Italy
11. Refrigerated centrifuge, Hitashi, himac CF7D2, Japan
12. Centrifuge, Kokusan H 11 n series, Tokyo, Japan
13. Water bath, model 83, Thelco, Chicago, IL, USA
14. Hot air oven, Thelco, GCA / Precision Scientific Group, IL, USA
15. Suction pump, model 523-U4-G21DX, MI, USA
16. Ultra sonic bath, Decon FS 400 b, UK
17. Magnetic stirrer, model 815359, INK Laboratechnik, Germany
18. Farma Bio-freezer (Farma Scientific, Marietta, Ohio, USA.)
19. TLC plate scraping system (ประดิษฐ์ขึ้นเอง)

การเตรียมเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ปริมาณสูง

การสกัดไขมันออกจากวัตถุดิบ

ปลาป่นมีไขมันประมาณ 5-15% การสกัดไขมันโดยใช้หลักการของ Bligh และ Dryer (1959) ใช้ dichloromethane และ methanol เป็นสารละลายอินทรีย์หลัก ทำการอบปลาป่นที่ความร้อน 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 30 นาทีก่อนทำการสกัดเพื่อทำลายเอนไซม์ที่อาจทำงานอยู่ภายในปลาป่น ทำการสกัดสามครั้งโดยเทคนิคเดียวกันเพื่อให้ได้ปริมาณไขมันออกมามากที่สุดโดยการสกัดปลาป่นครั้งแรกหนึ่งครั้ง ทำการกรองด้วยกระดาษกรองจากนั้นนำกากปลาป่นที่ได้จากการกรองมาทำการสกัดอีกสองครั้ง นำสารละลายอินทรีย์ที่ได้จากการสกัดทั้งสามครั้งรวมเข้าด้วยกันแล้วระเหยสารละลายอินทรีย์ออกภายใต้สภาพความดันต่ำด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่ความร้อน 40 องศาเซลเซียส ไขมันที่ละลายอยู่ในสารละลายอินทรีย์จะเหลือค้างอยู่นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ ชั่งและบันทึกน้ำหนักทุกครั้ง ไขมันที่สกัดได้ด้วยเทคนิคนี้จัดให้เป็นไขมันทั้งหมด (total fat) ที่พบในปลาป่น การเก็บไขมันทำโดยการเก็บภายใต้ก๊าซ

ในโตรเจนที่ไร้อ๊อกซิเจน (oxygen-free nitrogen) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียสโดยใช้ตู้เย็น Farma Bio-freezer (Farma Scientific, Marietta, Ohio, USA.)

ไขมันที่สกัดได้นี้นำไปวิเคราะห์

1 . Crude fat content โดยการชั่งน้ำหนักที่คงที่

2. Class or profile of lipids โดยการนำไขมันไปแยกด้วยเทคนิค TLC ใช้สารละลายอินทรีย์ n-hexane-diethyl ether และ glacial acetic acid ตามเทคนิคมาตรฐาน (Dahlan 1989)

3. Content and composition of fatty acids in: total fats; triglycerides (TG); phospholipids (PL) ทำภายหลังการแยกลิพิดด้วยเทคนิค TLC ขูด powder ของ silica ออกจากแผ่นโดยใช้ TLC scraping system holder ที่ประดิษฐ์ขึ้น ทำการเปลี่ยนกรดไขมันที่อยู่ในแต่ละ subclass ของลิพิดให้เป็น methyl esters ของกรดไขมันอิสระ (FAME) โดยใช้เทคนิคของ Lepage and Roy (1984) โดยใช้ acetylchloride จากนั้นวิเคราะห์ FAME โดยใช้ เทคนิค GLC

4. Lecithin content วิเคราะห์ในรูปของ phosphorus content จากนั้นจึงคำนวณกลับเป็น PL หรือเลซิทิน การวิเคราะห์ทำโดยตรงจากไขมันที่สกัดได้โดยใช้เทคนิคทางเคมี Fisk-Subbarow reagent reaction โดยเทคนิคของ Bartlette (1959) ที่ปรับปรุงขึ้นใหม่ (Dahlan 1989)

5. Subclasses of PL ทำการวิเคราะห์โดยตรงจากไขมันที่สกัดได้โดยใช้เทคนิค two-dimensional TLC เริ่มต้นโดยการละลายไขมันด้วยสารละลาย dichloromethane-methanol ที่มี BHT ละลายอยู่ที่ความเข้มข้น 50 mg/l จากนั้นหยอดสารละลายลงบนแผ่น TLC เป่าให้แห้งด้วย hot air drier จากนั้นจึงนำไปแยกด้วยเทคนิคของ two-dimensional TLC ใช้สารละลายผสม dichloromethane-methanol-25% ammonia-distilled water เป็นระบบแรกและ dichloromethane-methanol-glacial acetic acid-distilled water เป็นระบบที่สอง โดยเทคนิคที่ปรับปรุงขึ้น (Dahlan 1989) ภายหลังจากขูด siliga ของแต่ละชั้นของ PL ออกจากแผ่นแล้วนำเอา PL แต่ละหมู่ที่สกัดแยกออกมาได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส (phosphorus content) โดยเทคนิคของ Bartlette (1959) คำนวณปริมาณฟอสฟอรัสกลับเป็นฟอสโฟลิปิด

การวิเคราะห์กรดไขมัน

การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันที่มีอยู่ในไขมันที่สกัดได้ (crude fat) ใน TG และ PL ทำได้โดยเทคนิคดังต่อไปนี้ นำเอาตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์กรดไขมัน ทั้งที่อยู่ในรูปของไขมันหรือในรูปของลิพิดที่ปนอยู่ใน silica powder จากแผ่น TLC มาทำการ hydrolyze เปลี่ยนให้กรดไขมันอยู่ในรูปของ free acid จากนั้นเปลี่ยนเป็น FAME ทั้งหมดนี้ทำโดยเทคนิคของ Lepage and Roy (1984) จากนั้นทำการวิเคราะห์ด้วย GLC โดยใช้ Fison 8000 series GC ติดตั้ง flame ionization detector ใช้คอลัมน์ capillary ความยาว 30 เมตร internal diameter 0.32 มม. เคลือบหนา 0.25 ไมโครเมตร ด้วย DB-23 P/N 123-2332 (J&W Scientific, USA) ใช้ split ratio 1:10 ใช้ helium เป็น carrier gas ตั้งอุณหภูมิ injection port ที่ 250 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ detector port ที่ 300 องศาเซลเซียส การจัดตั้งโปรแกรมของ oven ทำดังนี้ เริ่มต้นที่ 80 องศาเซลเซียสขณะฉีดตัวอย่างที่ละลายในเฮกเซน จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิขึ้นถึง 180 องศา ด้วยความเร็ว 10 องศา/นาที ปล่อยให้อยู่ที่อุณหภูมินั้น 15 นาที จากนั้นปรับให้อุณหภูมิวิ่งขึ้นที่ 220 องศาเซลเซียสที่ความเร็ว 4 องศา/นาที ปล่อยไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าว 15 นาที การคำนวณปริมาณกรดไขมันทำโดยเครื่อง integrator โดยใช้โปรแกรมของ GC

การสกัดเลซิทินจากปลาป่น

การสกัดเลซิทินจากปลาป่นในการศึกษาครั้งนี้เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมันและได้ตีพิมพ์ในหลายโอกาส (Dahlan 1995, Dahlan et al., 1996) สรุปได้โดยสังเขปดังต่อไปนี้ นำตัวอย่างปลาป่นที่เตรียมไว้มาอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสนาน 30 นาทีเพื่อลดความชื้นและทำลายเอนไซม์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ไลเปสที่อาจจะยังทำงานอยู่ เมื่ออบแล้วจากนั้นนำไปสกัดด้วย aalcohol ชนิดใดชนิดหนึ่ง ได้แก่ methanol หรือ ethanol ครั้งละ 30 นาที สองครั้ง กรองสารละลายผ่านกระดาษกรอง จากนั้นจึงระเหย alcohol ออก นำเอาตะกอนปลาป่นที่ผ่านการสกัดด้วย alcohol ไปสกัดต่อด้วย n-hexane สองครั้ง กรอง mixture ของ n-hexane และน้ำมันจากปลาป่นลงในน้ำมันที่สกัดได้ด้วย alcohol ในครั้งแรก ทำการระเหยสารละลายอินทรีย์ออกจนกระทั่งได้น้ำมันดิบ ทำการสกัด neutral lipid ออกโดยการเขย่าอย่างแรงใน acetone แยก acetone ออกจากนั้นนำส่วนน้ำมันดิบไประเหยให้จนกระทั่งหมดสารละลายอินทรีย์ ผลคือได้เลซิทินเป็นยางเหนียวอยู่ที่ก้นขวด ทำการชั่งปริมาณเลซิทินที่ได้แล้วบันทึกข้อมูลไว้ นำเลซิทินที่สกัดได้ไปวิเคราะห์หาคุณสมบัติของลิพิด ได้แก่

1 . Fatty acid composition ใน crude lecithin

2. Phosphorus content ใน crude lecithin

3. Lipid subclasses: TG และ PL
4. PL subclasses
5. Fatty acid composition ใน TG และ PL

โดยเทคนิคที่บรรยายไว้แล้วข้างต้น ในการสกัดครั้งนี้ทำการสกัดอีกวิธีหนึ่งโดยไม่ใช้ alcohol แต่เริ่มต้นด้วย n-hexane เพื่อเปรียบเทียบผลของการไม่ใช้ alchohol ในกระบวนการ ทุกครั้งที่ได้น้ำมันดิบแต่ละส่วนของการสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์แต่ละชนิด ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันด้วยเทคนิค GLC

การเตรียมอิมัลชันไขมัน

เลซิทินที่สกัดได้จากปลาป่นเมื่อทำการตรวจสอบพบว่าประกอบไปด้วยส่วนของ TG และ PL ในสัดส่วน PL:TG, 1:3 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) โดยประมาณหรือมี PL 25% ของน้ำหนักโดยประมาณ นำเอาเลซิทินที่สกัดได้นี้มาเตรียมเป็นอิมัลชันไขมันหรือไลโปโซมที่มีเลซิทินในสัดส่วนสูงหรือเรียกในการทดลองครั้งนี้ว่า fishmeal-lecithin rich fat emulsion (FM-LRFE) ให้มีสัดส่วน PL:TG อยู่ในช่วง 0.3-0.4 โดยใช้เทคนิค physical dispersion (New, 1994) สรุปวิธีการได้ดังนี้คือ เตรียม stock FM-LRFE ความเข้มข้นของ PL ในสารละลายเท่ากับ 1.2 g/dl โดยการเขย่าเลซิทินที่เตรียมไว้ในสารละลาย normal saline solution (NSS) อย่างรุนแรงใช้เวลา 30 นาที หรือจนกระทั่งเกิดอิมัลชันขาวอมเหลืองขุ่นโดยไม่มีพาร์ติเคิลใดๆให้เห็น นำเอาอิมัลชันเทลงในขวด polypropylene screw cap เติมก๊าซไนโตรเจนที่ปราศจากอ็อกซิเจนลงในขวดจากนั้นทำการปิดฝาให้สนิท เก็บไว้อย่างดีภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อิมัลชันที่เตรียมได้นี้สามารถเก็บไว้โดยไม่มีการแยกชั้นระหว่างน้ำและลิพิดนานประมาณ 72 ชั่วโมง /dl

เมื่อได้ข้อสรุปเทคนิคการสกัดเลซิทินจากปลาป่น นำเทคนิคดังกล่าวมาสกัดเลซิทินจากไข่แดงของไข่ไก่ ได้สัดส่วน PL:TG ประมาณ 1:1 โดยน้ำหนัก เติมน้ำมันถั่วเหลืองเพื่อเตรียมอิมัลชันชนิดที่มีเลซิทินจากไข่แดงในปริมาณสูงหรือ eggyolk-lecithin rich fat emulsion (EY-LRFE) ให้ได้สัดส่วนของ PL:TG 1:3 โดยน้ำหนักกรณีของเลซิทินจากถั่วเหลืองซึ่งได้จากโรงงาน มีสัดส่วนของ PL:TG จากการวิเคราะห์ 1:1 โดยน้ำหนัก ทำการเติมน้ำมันถั่วเหลืองเพื่อเตรียมอิมัลชันชนิดที่มีเลซิทินจากถั่วเหลืองในปริมาณสูงหรือ soya-lecithin rich fat emulsion (SY-LRFE) การเตรียมอิมัลชันโดยใช้เทคนิคเดียวกับการเตรียม FM-LRFE อิมัลชันที่เตรียมได้ทั้งสองชนิดหลังนี้สามารถเก็บไว้โดยไม่มีการแยกชั้นระหว่างน้ำและลิพิดนานกว่า 5 วัน

การศึกษาผลของการย่อยสลายอิมัลชันด้วยเอนไซม์ไลเปส

เตรียม mixture solution 20 มล. ใน erlenmeyer flask ขนาด 50 มล. โดยมี FM-LRFE หรือ EY-LRFE หรือ SY-LRFE ที่ความเข้มข้นโดยประมาณของ PL และ TG 600 มก./ดล. และ TG 1,800 มก./ดล. ตามลำดับ ความเข้มข้นของ bovine-albumin ที่ 5.0 กรัม/ดล. ความเข้มข้นเอนไซม์ไลเปส 15,000 หน่วยสากล/ดล. ใน phosphate buffer pH 7.7 ทำการแช่ mixture ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าเบาๆตลอดเวลาเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยการต้มทันทีในอ้างน้ำเดือดเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นปีเปต mixture 0.4 มล. ใส่ลงใน borosilicate test tube 3 หลอด เติม TG-C15 และ PL-C15 ทำการสกัดไขมันทั้งหมดด้วยเทคนิคของ Folch et al (1959) ทำการแยก TG และ PL ออกจากกันโดยใช้เทคนิค TLC และวิเคราะห์กรดไขมันในส่วนของ TG และ PL โดยการเปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูป FAME ใช้เทคนิคที่อธิบายไว้แล้วข้างต้น

สถิติที่ใช้

ผลการทดลองแสดงในรูปของ Mean±S.D. การคำนวณค่านัยสำคัญทางสถิติของความแตกต่างใช้ one-way analysis of variance (ANOVA) with Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรม SAS (Statistical Analysis System) ตัวอักษร a, b, c, และ d ที่แสดงไว้เหนือตัวเลขในตารางหรือรูปภาพแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม อักษรที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกำหนดความแตกต่างไว้ที่ $p<0.05$ อักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีค่าความแตกต่างกันทางสถิติ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการทดลอง

การคัดเลือกวัตถุดิบที่มีเลซิทินชนิดโอเมก้า 3 สูง

การศึกษาเริ่มต้นด้วยการคัดเลือกวัตถุดิบ ได้แก่ ตัวอย่างปลาทู ปลากระพง ปลาซาบะ ปลาอินทรี สกัดไขมันได้ 1.77, 5.19, 8.32 และ 0.91 กรัม/100 กรัมเนื้อปลาสด พบกรดไขมัน EPA 8.19, 3.88, 7.36 และ 3.19 กรัม/100 กรัมกรดไขมัน ตามลำดับ พบกรดไขมัน DHA 17.59, 21.53, 9.63 และ 16.72 กรัม/100 กรัมกรดไขมัน ตามลำดับ ปลาสดทุกชนิดมีไขมันในปริมาณไม่สูงนักเมื่อเทียบกับน้ำหนักสด ทั้งการสกัดแยกทำได้ยุ่งยาก ขณะเดียวกันเป็นวัตถุดิบที่มีราคาแพง กรณีของไขมันที่ได้จากการผลิตปลากระป๋องพบว่าส่วนใหญ่ผู้ผลิตนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตน้ำมันปลาอยู่แล้ว เลซิทินที่ได้จากกากน้ำมันดังกล่าวมีคุณสมบัติค่อนข้างต่ำ กลิ่นรุนแรง เก็บตัวอย่างได้ยาก ในขณะที่ปลาป่นมีไขมันปริมาณพอสมควร มีกรดไขมัน DHA และ EPA ในปริมาณที่น่าพอใจ เมื่อเทียบราคากับปลาสดทั้งหมดแล้วปลาป่นมีราคาถูกกว่า (ไม่มีผลแสดง) จึงตัดสินใจใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบตลอดการศึกษาครั้งนี้

ปลาป่นที่ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ภายในประเทศและต่างประเทศ ปลาป่นในประเทศทั้งหมดเป็นปลาป่นจากโรงงานเสรีบ้านเพ จังหวัดระยอง โดยการอนุเคราะห์จากภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ ซึ่งมีปลาป่นเกรดต่างๆให้ได้ใช้ในการทดลองครั้งนี้ คือปลาป่นเกรด 1, 2, 3 และ 4 ปลาป่นทั้ง 4 เกรดต่างกันที่ปริมาณโปรตีน ปลาป่นต่างประเทศเป็นปลาป่นจากเดนมาร์คซึ่งได้รับการยอมรับจากเกษตรกรว่ามีคุณภาพสูง อย่างไรก็ตามจากผลการตรวจสอบโดย proximate analysis ไม่พบว่าปลาป่นจากต่างประเทศมีคุณสมบัติดีกว่าปลาป่นท้องถิ่น จากตาราง 1 เห็นได้ว่าปลาป่นไทยเกรด 1 มีโปรตีนสูงถึง 69.52 % เมื่อเทียบกับปลาป่นเดนมาร์ค ปลาป่นไทยเกรด 1 และ 2 มีโปรตีนสูงกว่าเล็กน้อย เมื่อพิจารณาจากสีของปลาป่นพบว่าปลาป่นเดนมาร์คมีสีออกเหลืองทอง ขณะที่ปลาป่นไทยมีสีคล้ำกว่าอาจเป็นเพราะมีการปนเปื้อนจากเศษวัตถุในปริมาณสูงกว่าซึ่งไม่ได้แสดงผลไว้ในที่นี้

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ต้องการทดสอบไขมันจากปลาป่น ดังนั้นปริมาณโปรตีนซึ่งเป็นตัวกำหนดราคาปลาป่นจึงไม่มีความสำคัญมากนัก จากตาราง 1 จะเห็นว่าปลาป่นไทยเกือบทุกเกรดยกเว้นเกรด 3 มีปริมาณไขมันสูงกว่าปลาป่นจากเดนมาร์ค ทั้งนี้เนื่องจากผู้ผลิตปลาป่นไทยไม่นิยมทำการแยกไขมันออกหรือไม่ทำการลดปริมาณไขมันจากปลาป่นอันเป็นผลจากประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฉบับที่ 8 พ.ศ.2538 ที่ได้ตัดการกำหนดปริมาณไขมันออกจากการกำหนดคุณภาพปลาป่นชั้นคุณภาพที่ 1, 2 และ 3 ที่ใช้ในการเตรียมอาหารสัตว์ซึ่งแต่เดิมเคยกำหนดไว้ที่ ไขมันไม่มากกว่าร้อยละ 10

ตาราง 1 เป็นผลจากการวิเคราะห์โดยผู้ผลิต ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการตรวจสอบปริมาณไขมันในปลาป่นทุกเกรดเพื่อยืนยันผลอีกครั้งหนึ่ง โดยตรวจสอบที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน ผลที่ได้ มีค่าแตกต่างออกไปจากการวิเคราะห์โดยโรงงาน จากตาราง 2 จะเห็นว่าไขมันที่พบในปลาป่นทุกเกรด รวมถึงปลาป่นจากเดนมาร์คมีปริมาณตั้งแต่ 11.23-13.91% ขณะเดียวกันยังพบด้วยว่าเลซิทินที่มีในปลาป่นทุกเกรดอยู่ในระดับ 0.99-1.99 กรัมต่อปลาป่น 100 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณไม่น้อย เมื่อทำการสกัดไขมันทั้งหมดออกจากปลาป่น ยังพบอีกว่าเลซิทินที่ปนอยู่ในน้ำมันมีปริมาณ 8.86-14.3 กรัม/น้ำมัน 100 กรัม จากตาราง 2 สามารถสรุปได้ว่า ปลาป่นทั้งของไทยและเดนมาร์คที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นแหล่งของไขมันโดยเฉพาะอย่างยิ่งเลซิทิน จาก ตาราง 3 เห็นได้ว่าปลาป่นต่างประเทศมีกรดไขมัน DHA ในสัดส่วนสูงที่สุดเมื่อเทียบกับปลาป่นท้องถิ่นทุกเกรด เหตุนี้เองทำให้ในการทดลองครั้งนี้เลือกใช้ปลาป่นต่างประเทศเป็นแหล่งของวัตถุดิบเนื่องจากมี DHA ในปริมาณสูงถึง 21.68 กรัม/100 กรัมกรดไขมัน มีปริมาณสูงกว่า DHA ในปลาป่นท้องถิ่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมี DHA 28.3% เทียบกับ 19.6-22.6% ในปลาป่นท้องถิ่น นอกจากนี้ยังพบว่าปลาป่นต่างประเทศมีกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) ต่ำกว่า มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (PUFA) มากกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า 3 ความแตกต่างในลักษณะนี้ พบทั้งในองค์ประกอบของกรดไขมันในไตรกลีเซอไรด์ (ตาราง 4) และฟอสโฟลิปิด (ตาราง 5) อย่างไรก็ตามความแตกต่างดังกล่าวไม่พบนัยสำคัญทางสถิติอย่างเด่นชัดนัก เมื่อพิจารณาเฉพาะส่วนฟอสโฟลิปิดซึ่งเป็นส่วนที่จะต้องนำไปใช้ในการศึกษา ตาราง 5 เห็นว่าองค์ประกอบของกรดไขมันในฟอสโฟลิปิดของปลาป่นต่างประเทศมี PUFA ในสัดส่วนที่สูงโดยสูงกว่าปลาป่นเกรด 2 อย่างมีนัยสำคัญ กรดไขมัน EPA สูงกว่าปลาป่นท้องถิ่นเกือบทุกเกรดยกเว้นปลาป่นเกรด 3 ขณะที่มี DHA สูงกว่าปลาป่นทุกเกรดอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณา n-3/n-6 ปลาป่นต่างประเทศมีสัดส่วนนี้สูงกว่าปลาป่นเกรด 1 แต่ไม่มากกว่าปลาป่นเกรดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ

ตาราง 6 แสดงให้เห็นว่าปลาป่นต่างประเทศมีสัดส่วนของกรดไขมัน DHA ในส่วนของฟอสโฟลิปิดสูงที่สุดถึง 38.5% ขณะที่ปลาป่นท้องถิ่นมีกรดไขมัน DHA ประมาณ 19-23% นอกจากนี้ยังมีกรดไขมัน EPA ในสัดส่วนที่สูงถึง 8% ในกรณีขององค์ประกอบของฟอสโฟลิปิดชนิดต่างๆ ที่พบในเลซิทินจากปลาป่นเทียบระหว่างปลาป่นต่างประเทศและปลาป่นท้องถิ่น ไม่พบความแตกต่างระหว่างชั้นของฟอสโฟลิปิด (ตาราง 7) ปลาป่นมีสัดส่วนของ phosphatidylcholine (PC) สูงที่สุดคือ 48-52% มี phosphatidylethanolamine (PE) 8.8-10.1% ขณะที่มี sphingomyelin (SM) 12.8-15.8% กรดไขมัน

โอเมก้า 3 ได้แก่ DHA และ EPA จึงเป็นเหตุผลสำคัญที่ทำให้การศึกษาครั้งนี้ใช้ปลาป่นต่างประเทศเป็นหลัก โดยได้รับปลาป่นตลอดการศึกษามาจากภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์

การสกัดเลซิทินจากวัตถุดิบ

แม้จะได้ตัดสินใจใช้ปลาป่นต่างประเทศเป็นวัตถุดิบในการศึกษา แต่เนื่องจากวัตถุดิบมีปริมาณจำกัด การทดสอบเทคนิคในการสกัดเลซิทินซึ่งจำเป็นต้องใช้วัตถุดิบในปริมาณมาก จึงใช้ปลาป่นท้องถิ่นเกรด 3 ในการทดลองโดยมีเหตุผลว่าในการสกัดจำเป็นจะต้องดูความคงตัวของกรดไขมันโอเมก้า 3 เป็นหลัก ปลาป่นเกรด 3 มีกรดไขมัน DHA สูงที่สุดเมื่อเทียบกับปลาป่นท้องถิ่นด้วยกัน (ดูตาราง 6) จึงใช้ปลาป่นเกรด 3 ในการทดลองการสกัดเลซิทิน

การสกัดเลซิทินใช้หลักการที่ว่าเลซิทินหรือฟอสโฟลิปิดเป็นลิพิดกลุ่มโพลาร์ มีการนำ polar solvent ได้แก่ alcohol และ non-polar solvent ได้แก่ acetone มาใช้ในการสกัด ตาราง 8 ทำการศึกษาผลของการทำ pretreatment วัตถุดิบด้วย alcohol เปรียบเทียบกับการสกัดไขมันด้วย n-hexane โดยตรง เห็นได้ว่าการทำ pretreatment ด้วย alcohol ทั้ง methanol และ ethanol จะได้ปริมาณของไขมันที่สกัดได้จากวัตถุดิบสูงกว่าการไม่ทำ pretreatment อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ยิ่งไปกว่านั้นคือการทำ pretreatment ด้วย alcohol ทำให้สามารถสกัดเลซิทินออกมาในปริมาณสูงกว่าการไม่ใช้ pretreatment ถึงสองเท่า (0.92-1.14 เทียบกับ 0.52 กรัม/100 กรัมปลาป่น) จากตาราง 8 เช่นเดียวกัน จะเห็นได้ว่าการใช้ methanol จะให้เลซิทินใน extract สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยวิธีอื่น คือ 23 กรัม/100 กรัม extract

ตาราง 9 แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการ pretreatment และไม่ pretreatment มีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันดิบที่สกัดได้ โดยพบว่าการทำ pretreatment สามารถสกัด DHA ออกมาในสัดส่วนที่สูงกว่า แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ การสกัด neutral lipids อันได้แก่ ไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอริลเอสเตอร์ (ถ้ามี) ออกโดยการใช้ non-polar solvent เช่น acetone กรดไขมันที่ออกมากับ acetone มีองค์ประกอบไม่ต่างกัน (**ตาราง 10**) โดยเป็น non-polar lipids ที่มี DHA ในสัดส่วนที่ต่ำกว่า DHA ที่พบในฟอสโฟลิปิด (13.7-15.2% จากตาราง 10 เทียบกับ 14.08-17.51% ใน**ตาราง 11**)

ตาราง 12 แสดงให้เห็นว่าการทำ pretreatment ด้วย alhohol สามารถสกัดน้ำมันดิบออกจากวัตถุดิบสูงกว่าการไม่ใช้ pretreatment อย่างมีนัยสำคัญ (11.4-11.7 เทียบกับ 6.9 กรัม/100 กรัมวัตถุดิบ)

นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้ methanol ในการทำ pretreatment ให้ผลที่ดีกว่าการใช้ ethanol เนื่องจากสามารถรักษาเลซิทินไว้ได้สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (5.02 เทียบกับ 2.36 กรัม/100 กรัมปลาป่น) โดยสกัดเลซิทินออกไปกับส่วนของ neutral lipid น้อยกว่า (6.67 เทียบกับ 9.05 กรัม/100 กรัมปลาป่น) นอกจากนี้ยังให้กรดไขมันโอเมก้า 3 ในสัดส่วนที่สูงกว่า (25.78 เทียบกับ 25.74% สำหรับการใช้ methanol และ ethanol ตามลำดับ)

ตาราง 13 ทำการเปรียบเทียบปลาป่นต่างประเทศกับปลาป่นท้องถิ่นเกรด 1 ซึ่งถือเป็นปลาป่นที่มีคุณสมบัติดีที่สุดสำหรับปลาป่นท้องถิ่นด้วยกันจะเห็นว่าปลาป่นต่างประเทศมี SFA ต่ำกว่ามี PUFA สูงกว่าโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มกรดไขมันโอเมก้า 3 ทั้ง DHA และ EPA นอกจากนี้ยังมีสัดส่วนของ n-3/n-6 สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ในการศึกษาครั้งนี้

สรุปผลการสกัดเลซิทินจากวัตถุดิบ ทำโดยการ pretreatment วัตถุดิบด้วย methanol ก่อนที่จะทำการสกัดด้วย n-hexane จากนั้นทำการแยก neutral lipids ออกโดยใช้ acetone เป็นตัวสกัดแยก เลซิทินที่สกัดแยกได้มีปริมาณฟอสโฟลิปิด 23-25 กรัม/100 กรัม (ดูตาราง 8)

การเตรียมอิมัลชันลิพิด

ตาราง 14 แสดงองค์ประกอบของเลซิทิน 4 ชนิด ได้แก่ เลซิทินของปลาป่น ไข่แดง ถั่วเหลือง เทียบกับเลซิทินที่พบในพลาสม่าของคนทั่วไป โดย 3 ชนิดแรกเป็นเลซิทินที่จะใช้ในการเตรียมอิมัลชันลิพิด จะเห็นได้ว่าเลซิทินของไลโปโปรตีนในพลาสม่ามีองค์ประกอบของโคลีนสูงที่สุดถึง 94% ขณะที่ถั่วเหลืองมีโคลีนต่ำที่สุดเพียงร้อยละ 48 เลซิทินที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชันลิพิดทางการแพทย์ใช้ไข่แดงเป็นแหล่งซึ่งมีโคลีน 71% ไม่ต่างจากพลาสม่ามากนัก ในขณะที่เลซิทินจากปลาป่นมีโคลีน 70% ใกล้เคียงกับเลซิทินของไข่แดง จุดเด่นของเลซิทินจากปลาป่นคือการมีสัดส่วนของฟอสโฟลิปิด SM/PC และ PE/PC ใกล้เคียงกับพลาสม่ามากกว่าเลซิทินจากไข่แดงจึงอาจใช้เป็นข้ออธิบายได้ว่าเลซิทินจากปลาป่นอาจมีเมแทบอลิซึมในพลาสม่าที่ใกล้เคียงไลโปโปรตีน ซึ่งจะได้ทำการศึกษาต่อไป

การเตรียมอิมัลชันลิพิดได้อธิบายไว้แล้วในบทที่ผ่านมา โดยมีอิมัลชันลิพิด 3 ชนิดที่เตรียมในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ อิมัลชันลิพิดจากเลซิทินของปลาป่น (FM-LRFE) จากไข่แดง (EY-LRFE) และจากถั่วเหลือง (SY-LRFE) ลักษณะพาร์ติเคิลของอิมัลชันลิพิดคล้ายคลึงกับไลโปโปรตีนนั่นคือเป็นพาร์ติเคิลกลมแขวนลอยในของเหลวประเภทน้ำ (aqueous solution) ด้านนอกหรือบริเวณผิวประกอบด้วยฟอสโฟลิปิดหรือเลซิทิน (LE fraction) ที่เรียงโมเลกุลเป็นผิวชั้นเดียว (monolayer phospholipid)

หันปลาย polar ออกด้านนอก หันส่วนที่เป็นกรดไขมันไว้ด้านใน ภายในพาร์ติเคิลจะเป็นหยดน้ำมันของไตรกลีเซอไรด์ (TG fraction)

ตาราง 15 เห็นว่า FM-LRFE พาร์ติเคิลที่ผิวของฟอสโฟลิปิด (LE-fraction) มี DHA สูงกว่า DHA ที่พบใน TG fraction หรือส่วนที่อยู่ด้านในพาร์ติเคิลอย่างมีนัยสำคัญ (28.32 เทียบกับ 17.56) นอกจากนี้ PL ยังมีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูงกว่า TG อย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน **ตาราง 16** แสดงองค์ประกอบกรดไขมันที่พบบริเวณผิวของฟอสโฟลิปิดเปรียบเทียบกับภายใน TG ของพาร์ติเคิล เห็นได้ว่ากรดไขมัน PUFA ที่พบในฟอสโฟลิปิดส่วนใหญ่จะเป็นกรดไขมันโอเมก้า 6 ขณะที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณต่ำ ส่วนที่สำคัญคือกรดไขมัน arachidonic acid (20:4n-6) ซึ่งพบบริเวณผิวด้านนอกเพียงอย่างเดียวไม่พบในส่วนของ TG ภายใน เนื่องจากการเตรียมอิมัลชันลิพิด EY-LRFE มีการใช้น้ำมันถั่วเหลืองทำให้กรดไขมันโอเมก้า 6 ได้แก่ ไลโนเลอิก (18:2n-6) มีปริมาณสูงภายในส่วนของ TG มากกว่าที่พบบริเวณผิวของฟอสโฟลิปิด

ตาราง 17 แสดงพาร์ติเคิลของ SY-LRFE เห็นได้ว่า PUFA ทั้งในส่วนของฟอสโฟลิปิดและ TG ต่างเป็นกรดไขมันโอเมก้า 6 เป็นหลัก และพบกรดไลโนเลอิกบริเวณผิวสูงถึง 64% สูงกว่าที่พบใน TG อย่างมีนัยสำคัญ จึงเห็นได้ว่าลักษณะพาร์ติเคิลของอิมัลชันลิพิดทั้งสามชนิดมีความแตกต่างกัน

การศึกษาเมแทบอลิซึมของอิมัลชันลิพิด

ตาราง 18 แสดงให้เห็นถึงเมแทบอลิซึมของพาร์ติเคิลอิมัลชันลิพิดทั้งสามชนิดโดยการทำงานของเอนไซม์ไลเปส จากการคำนวณปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย TG ที่พบในอิมัลชันลิพิดทั้งสามชนิดพบว่าการทำงานของเอนไซม์ช้ากว่าที่ควรจะเป็นถึง 4 เท่า ด้วยเหตุผลที่จะอธิบายในบทต่อไป อย่างไรก็ตาม การย่อยสลาย TG เกิดขึ้นในทั้งสามอิมัลชันลิพิด จากผลการทดลองพบว่า EY-LRFE มีแนวโน้มที่จะถูกย่อยสลายรวดเร็วที่สุด ลำดับต่อมาคือ FM-LRFE และ SY-LRFE โดยพบว่าภายในเวลา 60 นาที TG ภายในอิมัลชันลิพิด EY-LRFE, FM-LRFE, SY-LRFE ถูกย่อยสลายลงเหลือ TG ค้างอยู่ในพาร์ติเคิล 42.1, 52.8 และ 63.0% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการย่อยสลายพาร์ติเคิลอิมัลชันลิพิด มีอัตราเร็วเรียงตามลำดับดังนี้ EY-LRFE > FM-LRFE > SY-LRFE อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มกลับไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

การย่อยสลายพาร์ติเคิลทั้งสามชนิดไม่พบว่า PL มีแนวโน้มลดปริมาณลงแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่อย่างใด ในขณะที่การลดลงของ TG ภายในพาร์ติเคิลเป็นไปอย่างมีนัย

สำคัญทางสถิติ เมื่อพิจารณาจาก **รูป 1** จะเห็นชัดเจนว่าอัตราการย่อยสลาย TG เริ่มถึงระดับที่อิ่มตัวโดยเฉพาะอย่างยิ่ง EY-LRFE ซึ่งย่อยสลายอย่างรวดเร็วที่สุด

ในการย่อยสลายกรดไขมันจาก TG ในพาร์ติเคิลสามารถพิจารณาได้จาก **ตาราง 19** เห็นได้ว่าสัดส่วนของกรดไขมันแต่ละกลุ่มในเวลาที่ 60 นาที ไม่แตกต่างออกไปจากเวลา 0 นาทีมากนัก แสดงให้เห็นว่าการย่อยสลายกรดไขมันออกจากโมเลกุลของ TG ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเฉพาะ PUFA กลับพบว่า n-6 PUFA มีแนวโน้มที่จะถูกย่อยสลายจากพาร์ติเคิลได้รวดเร็วกว่ากรดไขมันกลุ่มอื่น ขณะที่กรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 มีแนวโน้มที่จะถูกสลายได้ช้า มีผลทำให้ n-3/n-6 ใน FM-LRFE สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ความแตกต่างนี้ไม่พบในอิมัลชันลิพิดชนิดอื่นอาจเนื่องจากมีองค์ประกอบของ n-3 ค่อนข้างต่ำ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 1 องค์ประกอบของสารอาหารหลัก ความชื้นและเถ้าที่พบในปลาป่นจากต่างประเทศและท้องถิ่นซึ่งนำมาใช้ในการศึกษา การวิเคราะห์ทำโดยวิธี proximate analysis และรายงานโดยผู้ผลิต

องค์ประกอบ	ปลาป่น ต่างประเทศ	ปลาป่นท้องถิ่น			
		เกรด 1	เกรด 2	เกรด 3	เกรด 4
	กรัม/100 กรัมปลาป่น				
โปรตีน	64.55	69.52	68.58	63.20	60.16
ไขมัน	8.08	11.05	11.34	7.96	17.86
ความชื้น	7.52	6.39	4.12	8.32	7.16
เถ้า	15.60	14.98	13.14	17.86	19.85

ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์สองครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พลสิทธิ์ ... จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 2 ปริมาณไขมันและเลซิทิน ที่พบในปลาป่น คิดเป็น กรัม/100 กรัมปลาป่น

ปลาป่น	ปริมาณไขมัน (g/100 g)		เลซิทินในน้ำมัน (g/100 g)
	ทั้งหมด	เลซิทิน	
ปลาป่นต่างประเทศ	11.4	1.10	10.2
ปลาป่นท้องถิ่น			
เกรด 1	13.91	1.99	14.3
เกรด 2	13.12	1.64	12.54
เกรด 3	11.58	1.11	9.58
เกรด 4	11.23	0.99	8.86

การวิเคราะห์ทำที่ศูนย์วิจัยไขมันและน้ำมัน คณะสหเวชศาสตร์

ปริมาณที่แสดงคือค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 8 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในน้ำมันดิบที่สกัดจากปลาป่นต่างประเทศและปลาป่นท้องถิ่น เกรด 1-4 โดยเทคนิคของ Folch et al 1959 กรดไขมันที่แสดงเป็นกรดไขมันที่ได้มาจากลิพิดทุกกลุ่มที่พบในน้ำมันดิบที่สกัดได้จากปลาป่นแสดงผลในปริมาณ กรัม/100 กรัมกรดไขมัน

กรดไขมัน	ปลาป่น	ปลาป่นท้องถิ่น			
	ต่างประเทศ	เกรด 1	เกรด 2	เกรด 3	เกรด 4
C14:0	4.94±0.21	5.45±0.17	5.81±0.13	6.10±0.09	6.08±0.29
C14:1n-7	0.22±0.02	0.25±0.01	0.26±0.00	0.25±0.01	0.32±0.01
C16:0	24.4±0.52	28.48±0.50	30.84±0.49	24.25±0.15	26.56±0.64
C16:1n-7	4.36±0.17	5.81±0.15	5.91±0.09	6.49±0.08	6.47±0.18
C18:0	8.18±0.16	11.56±0.15	12.10±0.13	7.39±0.03	8.11±0.07
C18:1n-9	2.96±0.15	12.26±0.17	12.70±0.15	13.18±0.14	13.49±0.20
C18:2n-6	2.12±0.04	1.41±0.01	1.44±0.02	1.67±0.18	1.70±0.20
C18:3n-3	1.03±0.05	0.60±0.01	0.59±0.01	0.91±0.01	1.00±0.02
C20:0	0.56±0.03	0.78±0.02	0.87±0.04	0.48±0.01	0.56±0.03
C20:1n-9	0.42±0.03	0.61±0.03	0.57±0.03	3.42±0.40	2.41±0.04
C20:4n-6	2.93±0.25	3.22±0.07	2.60±0.08	2.18±0.02	1.74±0.03
C20:5n-3	7.51±0.36	5.07±0.12	4.65±0.12	7.94±0.12	6.86±0.15
C22:5n-3	1.66±0.09	1.58±0.05	1.21±0.08	1.64±0.05	1.32±0.07
C22:6n-3	21.68±0.65	18.84±0.45	16.65±0.49	15.87±0.15	16.43±0.60
กรดไขมันอื่นๆ	6.74±0.43	3.94±0.24	3.69±0.07	8.12±0.16	6.82±0.29

แสดงผลในรูปของ Mean±SD จากการวิเคราะห์ 5 ครั้ง

ตาราง 4 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในส่วนของไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันดิบที่สกัดจากปลาป่นต่างประเทศและปลาป่นท้องถิ่นเกรด 1-4 การสกัดน้ำมันดิบใช้เทคนิคของ Folch et al 1959 การแยกไตรกลีเซอไรด์จากน้ำมันดิบทำโดยเทคนิค TLC แสดงผลในปริมาณ กรัม/100 กรัมกรดไขมัน

กรดไขมันในไตรกลีเซอไรด์	ปลาป่นต่างประเทศ	ปลาป่นท้องถิ่น			
		เกรด 1	เกรด 2	เกรด 3	เกรด 4
C14:0	6.24±0.21	6.90±0.47	6.74±0.31	7.50±0.50	7.29±0.43
C14:1n-7	0.22±0.02	0.29±0.01	0.29±0.01	0.28±0.02	0.33±0.01
C16:0	26.32±0.33	30.31±1.01	31.67±0.45	24.76±0.83	25.30±0.25
C16:1n-7	6.50±0.09	7.00±0.19	6.49±0.20	7.66±0.49	7.51±0.44
C18:0	8.18±0.52	10.59±1.02	11.88±0.60	7.07±0.49	7.51±0.44
C18:1n-9	12.12±1.11	12.59±0.90	13.34±0.28	13.84±0.57	14.15±0.44
C18:2n-6	1.85±0.11	1.51±0.07	1.43±0.05	1.61±0.05	1.88±0.12
C18:3n-3	0.95±0.17	0.72±0.14	0.60±0.06	0.96±0.08	1.15±0.16
C20:0	0.91±0.08	0.87±0.18	1.01±0.13	0.55±0.08	1.15±0.16
C20:1n-9	0.22±0.01	0.65±0.11	0.66±0.08	4.58±0.55	3.56±0.38
C20:4n-6	2.12±0.04	2.28±0.09	2.23±0.03	1.82±0.12	1.35±0.02
C20:5n-3	7.52±1.01	4.95±0.94	4.24±0.28	7.18±0.74	6.84±0.97
C22:5n-3	1.21±0.20	1.64±1.20	1.29±0.93	1.69±0.20	1.54±0.09
C22:6n-3	17.11±1.22	16.36±1.20	14.75±0.93	11.44±0.78	13.89±0.30
กรดไขมันอื่นๆ	8.44±1.21	3.16±0.07	3.25±0.21	8.84±1.05	7.57±0.46

แสดงผลในรูปของ Mean±SD จากการวิเคราะห์ 5 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 5 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในส่วนของฟอสโฟลิปิดของน้ำมันดิบที่สกัดจากปลาป่นต่างประเทศและปลาป่นท้องถิ่นเกรด 1-4 การสกัดน้ำมันดิบใช้เทคนิคของ Folch et al 1959 การแยกฟอสโฟลิปิดจากน้ำมันดิบทำโดยเทคนิค TLC แสดงผลในปริมาณ กรัม /100 กรัมกรดไขมัน

กรดไขมันใน	ปลาป่น	ปลาป่นท้องถิ่น			
ฟอสโฟลิปิด	ต่างประเทศ	เกรด 1	เกรด 2	เกรด 3	เกรด 4
C14:0	1.92±0.06	6.90±0.47	6.74±0.31	7.50±0.50	7.29±0.43
C14:1n-7	0.20±0.00	0.29±0.01	0.29±0.01	0.28±0.02	0.33±0.01
C16:0	25.21±0.52	30.31±1.01	31.67±0.45	24.76±0.83	25.30±0.25
C16:1n-7	4.04±0.11	7.00±0.19	6.49±0.20	7.66±0.49	7.51±0.44
C18:0	8.28±0.41	10.59±1.02	11.88±0.60	7.07±0.49	7.51±0.44
C18:1n-9	11.45±0.42	12.59±0.90	13.34±0.28	13.84±0.57	14.15±0.44
C18:2n-6	3.03±0.15	1.51±0.07	1.43±0.05	1.61±0.05	1.88±0.12
C18:3n-3	2.25±0.03	0.72±0.14	0.60±0.06	0.96±0.08	1.15±0.16
C20:0	0.98±0.02	0.87±0.18	1.01±0.13	0.55±0.08	1.15±0.16
C20:1n-9	0.55±0.02	0.65±0.11	0.66±0.08	4.58±0.55	3.56±0.38
C20:4n-6	2.98±0.21	2.28±0.09	2.23±0.03	1.82±0.12	1.35±0.02
C20:5n-3	7.59±0.32	4.95±0.94	4.24±0.28	7.18±0.74	6.84±0.97
C22:5n-3	1.71±0.05	1.64±1.20	1.29±0.93	1.69±0.20	1.54±0.09
C22:6n-3	20.95±0.54	16.36±1.20	14.75±0.93	11.44±0.78	13.89±0.30
กรดไขมันอื่นๆ	7.82±1.41	3.16±0.07	3.25±0.21	8.84±1.05	7.57±0.46

แสดงผลในรูปของ Mean±SD จากการวิเคราะห์ 5 ครั้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 6 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในเลซิทินของปลาป่นชนิดต่างๆที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ทำการวิเคราะห์โดยการแยกฟอสโฟลิปิดออกจากน้ำมันดิบด้วยเทคนิค TLC ปริมาณกรดไขมันแต่ละชนิดคิดเป็น g/100 g กรดไขมัน

กรดไขมันของฟอสโฟลิปิด (PL-FA)	ปลาป่นต่างประเทศ	ปลาป่นท้องถิ่น			
		เกรด 1	เกรด 2	เกรด 3	เกรด 4
SFA	32.7±0.8	44.6±0.3	47.9±0.8	40.3±0.1	44.0±3.0
MUFA	16.4±0.6	16.3±0.1	15.9±0.1	17.0±0.1	17.8±0.8
PUFA	44.2±0.9^{a}	34.0±0.5^{a}	29.6±0.9^{b}	35.6±0.3^{a}	31.8±1.8^{a}
EPA	7.9±0.2^{a}	4.4±0.1^{b}	4.3±0.1^{b}	7.2±0.0^{a}	6.0±0.3^{b}
DHA	38.5±0.9^{a}	22.2±0.4^{b}	19.6±0.7^{b}	22.6±0.2^{c}	20.5±0.7^{b}
n-3	38.5±0.9^{a}	28.1±0.4^{a,b}	25.3±0.8^{b}	31.6±1.8^{a}	28.0±1.7^{a,b}
n-6	5.7±0.2^{a}	5.9±0.1^{a}	4.4±0.1^{a,b}	4.0±0.1^{a,b}	3.8±0.2^{b}
n-3/n-6	6.8±0.1^{a}	4.8±0.0^{b}	5.8±0.1^{a,b}	7.9±0.3^{a}	7.3±0.3^{a}

ค่าที่แสดงคือ mean±SD จากการวิเคราะห์ 5 ครั้ง

อักษรที่แสดงเหนือตัวเลขบนแถวเดียวกันหากเป็นอักษรต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

SFA, saturated fatty acid; MUFA, monounsaturated fatty acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 7 องค์ประกอบของฟอสโฟลิปิดชนิดต่างๆที่พบในเลซิทินของปลาป่นที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ คิดเป็น mole/100 mole PL

Phospholipid Subclasses	ปลาป่นต่างประเทศ	ปลาป่นท้องถิ่น			
		เกรด 1	เกรด 2	เกรด 3	เกรด 4
PA	2.12	2.83	2.40	1.18	1.91
PE	8.77	10.14	8.50	9.94	9.69
PC	52.32	51.15	48.15	48.00	52.32
PS+PI	3.65	5.78	3.38	5.91	6.04
SM	12.77	15.36	12.40	15.84	14.04
LPC	3.31	3.82	8.90	3.34	0.00
Others	17.06	10.92	16.27	15.76	16.00
Total choline	68.40	70.33	69.45	67.18	66.36

ค่าที่แสดงคือ mean จากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง

PA, Phosphatidic acid; PE, Phosphatidyl ethanolamine; PC, Phosphatidylcholine; PS, Phosphatidylserine; PI, Phosphatidylinositol; SM, Sphingomyelin; LPC, Lysophosphatidylcholine; Total choline, PC + SM + LPC

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 8 ปริมาณไขมันและเลซิทินที่สกัดได้จากปลาป่นท้องถิ่นเกรด 3 ภายหลัง alcohol pretreatment เปรียบเทียบการใช้อัลกอฮอล์สองชนิดคือ methanol และ ethanol และการไม่ใช้อัลกอฮอล์ และเปรียบเทียบการสกัดและการไม่สกัด Neutral lipid

ปริมาณลิพิด	ระบบโซลเวนท์		
	H	E/H	M/H
ก่อนการสกัดออก Neutral Lipids			
- ปริมาณไขมันทั้งหมด (กรัม/100 กรัมปลาป่น)	6.80±0.22[b]	10.62±0.31[a]	10.67±0.41[a]
- ปริมาณเลซิทิน (กรัม/100 กรัมปลาป่น)	0.52±0.01[b]	0.92±0.03[a]	1.14±0.42[a]
- ปริมาณเลซิทิน (กรัม/100 กรัม extract)	8.02±0.32[b]	8.32±0.24[a,b]	9.22±0.86[a]
ภายหลังการสกัดออก Neutral Lipids			
- ปริมาณเลซิทิน (กรัม/100 กรัม extract)	20.75±0.67[b]	20.95±1.01[b]	23.12±0.32[a]

ค่าที่แสดงคือ mean±SD จากการวิเคราะห์ 5 ครั้ง

อักษรที่แสดงเหนือตัวเลขบนแถวเดียวกันหากเป็นอักษรต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

H = Hexane และหมายถึงการสกัดด้วย Hexane เพียงอย่างเดียว, E = Ethanol,

M = Methanol, E/H = pretreatment ด้วย Ethanol ก่อนทำการสกัดด้วย Hexane,

M/H = pretreatment ด้วย Methanol ก่อนการสกัดด้วย Hexane

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 9 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในส่วนของน้ำมันดิบที่สกัดจากปลาป่นท้องถิ่นเกรด 3 โดยใช้ระบบโซลเวนท์ที่มีและไม่มีการใช้ alcohol pretreatment ก่อนการสกัดทิ้ง neutral fats ด้วยการใช้อะซีโตน แสดงผลในปริมาณ กรัม/100 กรัมกรดไขมัน

กรดไขมัน	ระบบโซลเวนท์		
	H	E/H	M/H
C14:0	6.96±0.22	6.26±0.11	6.36±0.15
C14:1n-7	0.26±0.01	0.24±0.00	0.24±0.01
C16:0	24.14±0.65	24.21±0.07	26.15±0.27
C16:1n-7	7.08±0.19	6.58±0.05	6.62±0.04
C18:0	7.06±0.11	7.08±0.07	7.56±0.14
C18:1n-9	13.66±0.29	13.13±0.22	13.35±0.18
C18:2n-6	1.61±0.03	1.53±0.01	1.62±0.02
C18:3n-3	1.61±0.03	0.88±0.01	0.88±0.02
C20:0	0.51±0.02	0.45±0.03	0.41±0.07
C20:1n-9	3.82±0.08	3.85±0.12	3.14±0.03
C20:4n-6	1.98±0.04	2.15±0.04	2.13±0.02
C20:5n-3	7.82±0.12	7.89±0.19	7.78±0.07
C22:5n-3	1.64±0.10	1.67±0.04	1.55±0.06
C22:6n-3	13.92±0.53	15.49±0.08	15.07±0.35
กรดไขมันอื่นๆ	8.41±0.51	8.41±0.48	6.95±0.19

ค่าที่แสดงคือ mean±SD จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

H = Hexane และหมายถึงการสกัดด้วย Hexane เพียงอย่างเดียว, E = Ethanol,

M = Methanol, E/H = pretreatment ด้วย Ethanol ก่อนทำการสกัดด้วย Hexane,

M/H = pretreatment ด้วย Methanol ก่อนการสกัดด้วย Hexane

ตาราง 10 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในส่วนของ acetone soluble fraction (Neutral lipid fraction) เมื่อทำการสกัดเสซิทินจากปลาป่นท้องถิ่นเกรด 3 โดยใช้ระบบโซลเวนท์ที่มีและไม่มีการใช้ alcohol pretreatment และสกัดต่อด้วย acetone แสดงผลในปริมาณ กรัม /100 กรัมกรดไขมัน

กรดไขมัน	ระบบโซลเวนท์		
	H/A	E/H/A	M/H/A
C14:0	6.95±0.11	6.88±0.19	6.89±0.20
C14:1n-7	0.26±0.01	0.26±0.00	0.26±0.00
C16:0	24.07±0.09	24.78±0.29	24.77±0.24
C16:1n-7	7.22±0.02	7.03±0.12	7.08±0.09
C18:0	6.91±0.06	6.83±0.04	6.87±0.10
C18:1n-9	13.70±0.30	13.16±0.05	13.18±0.33
C18:2n-6	1.61±0.02	1.58±0.01	1.63±0.05
C18:3n-3	0.95±0.01	0.88±0.00	0.94±0.03
C20:0	0.50±0.06	0.45±0.01	0.45±0.01
C20:1n-9	4.28±0.01	3.36±0.05	3.40±0.06
C20:4n-6	2.01±0.03	2.09±0.07	2.12±0.05
C20:5n-3	7.91±0.09	8.06±0.03	8.14±0.07
C22:5n-3	1.55±0.07	1.61±0.02	1.59±0.07
C22:6n-3	13.69±0.25	15.16±0.28	14.89±0.38
กรดไขมันอื่นๆ	8.19±0.33	7.66±0.21	7.61±0.12

ค่าที่แสดงคือ mean±SD จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

H/A= การสกัดด้วย Hexane เพียงอย่างเดียวสกัดออก neutral lipids โดยใช้ Acetone,

E/H/A = pretreatment ด้วย Ethanol ก่อนทำการสกัดด้วย Hexane จากนั้นสกัดออก neutral lipids ด้วย acetone

M/H/A = pretreatment ด้วย Methanol ก่อนการสกัดด้วย Hexane จากนั้นสกัดออก neutral lipids ด้วย acetone

ตาราง 11 องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในส่วนของ acetone insoluble fraction (Lecithin fraction) เมื่อทำการสกัดเลซิทินจากปลาป่นท้องถิ่นเกรด 3 โดยใช้ระบบโซลเวนท์ที่มีและไม่มีการใช้ alcohol pretreatment และสกัดต่อด้วย acetone แสดงผลในปริมาณ กรัม /100 กรัมกรดไขมัน

กรดไขมัน	ระบบโซลเวนท์		
	H/A	E/H/A	M/H/A
C14:0	6.37±0.11	4.66±0.10	4.74±0.05
C14:1n-7	0.25±0.01	0.21±0.01	0.20±0.00
C16:0	25.33±0.29	29.43±0.40	28.47±0.16
C16:1n-7	6.55±0.03	4.70±0.07	4.75±0.03
C18:0	8.32±0.08	10.53±0.15	9.52±0.03
C18:1n-9	13.87±0.22	13.36±0.14	12.81±0.15
C18:2n-6	1.56±0.01	1.35±0.02	1.39±0.09
C18:3n-3	0.78±0.02	0.57±0.02	0.59±0.01
C20:0	0.51±0.03	0.55±0.05	0.50±0.02
C20:1n-9	3.41±0.08	1.79±0.17	2.31±0.00
C20:4n-6	1.99±0.18	2.21±0.04	2.30±0.01
C20:5n-3	7.16±0.19	6.04±0.09	6.42±0.11
C22:5n-3	1.64±0.11	0.94±0.10	1.26±0.02
C22:6n-3	14.08±0.29	14.63±0.26	17.51±0.27
กรดไขมันอื่นๆ	8.00±0.13	8.90±0.42	7.11±0.13

ค่าที่แสดงคือ mean±SD จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

H/A= การสกัดด้วย Hexane เพียงอย่างเดียวสกัดออก neutral lipids โดยใช้ Acetone,

E/H/A = pretreatment ด้วย Ethanol ก่อนทำการสกัดด้วย Hexane จากนั้นสกัดออก neutral lipids ด้วย acetone

M/H/A = pretreatment ด้วย Methanol ก่อนการสกัดด้วย Hexane จากนั้นสกัดออก neutral lipids ด้วย acetone

ตาราง 12 องค์ประกอบของกรดไขมันในรูป Saturated, Monounsaturated, Polyunsaturated ที่พบใน Crude oil, acetone insoluble fraction (Lecithin fraction) เมื่อทำการสกัดเลซิทินจากปลาป่นท้องถิ่นเกรด 3 โดยใช้ระบบโซลเวนท์ที่มีและไม่มีการใช้ alcohol pretreatment และสกัดต่อด้วย acetone แสดงผลในปริมาณ กรัม/100 กรัมกรดไขมัน

กรดไขมัน	ระบบโซลเวนท์		
	H/A	E/H/A	M/H/A
น้ำมันดิบ (CRUDE OIL)			
กรดไขมันทั้งหมด (กรัม/100 กรัมปลาป่น)	6.86±0.12^{b}	11.40±0.22^{a}	11.69±0.23^{a}
Saturated	38.87±0.81	38.17±0.23	40.67±0.47
Monounsaturated	24.82±0.40	23.81±0.23	23.36±0.21
Polyunsaturated	27.90±0.68	29.61±0.23	29.02±0.44
- n-3	24.31±0.68	25.93±0.18	25.28±0.44
- n-6	3.59±0.04	3.68±0.05	3.74±0.03
- n-3/n-6	6.77±0.18	7.07±0.04	6.76±0.08
ส่วน Neutral Lipids (Acetone Soluble)			
กรดไขมันทั้งหมด (กรัม/100 กรัมปลาป่น)	5.62±0.11^{b}	9.05±0.17^{a}	6.67±0.13^{b}
Saturated	38.63±0.10	39.14±0.43	39.17±0.37
Monounsaturated	25.47±0.30	23.81±0.13	23.92±0.28
Polyunsaturated	27.72±0.39	29.39±0.36	29.31±0.34
- n-3	24.10±0.34	25.71±0.31	25.56±0.42
- n-6	3.62±0.05	3.68±0.07	3.75±0.08
- n-3/n-6	6.66±0.02	6.99±0.11	6.83±0.25
ส่วน Lecithins (Acetone Insoluble)			
กรดไขมันทั้งหมด (กรัม/100 กรัมปลาป่น)	1.25±0.02^{c}	2.36±0.05^{b}	5.02±0.10^{a}
Saturated	40.72±0.30	45.30±0.51	43.34±0.24
Monounsaturated	24.08±0.20	20.06±0.09	20.08±0.14
Polyunsaturated	27.20±0.54	25.74±0.35	29.47±0.30
- n-3	23.65±0.42	22.18±0.36	25.78±0.29
- n-6	3.55±0.19	3.56±0.02	3.69±0.09
- n-3/n-6	6.67±0.31	6.23±0.11	7.00±0.20

ค่าที่แสดงคือ mean±SD จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

อักษรที่แสดงเหนือตัวเลขบนแถวเดียวกันหากเป็นอักษรต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตาราง 13 ชนิดของกรดไขมันที่พบในฟอสโฟลิปิด (Phospholipid fatty acids) ของเลซิทิน จากปลาป่นต่างประเทศเทียบกับปลาป่นท้องถิ่นเกรด 1 (g/100 g total fatty acids) ปลาป่นทั้งสองชนิดเป็นปลาป่นที่เหมาะต่อการนำมาใช้ทดสอบเนื่องจากมีเลซิทินในสัดส่วนที่สูงและมีกรดไขมัน DHA สูง

Phospholipid Fatty Acid	ปลาป่น	
	ต่างประเทศ	ท้องถิ่น เกรด 1
Saturated	32.73 ± 0.75^{b}	43.56 ± 0.32^{a}
Monoenes	16.37 ± 0.64	16.27 ± 0.10
Polyenes	44.18 ± 0.93^{a}	33.97 ± 0.50^{b}
EPA	7.85 ± 0.24^{a}	4.44 ± 0.07^{b}
DHA	28.32 ± 0.73^{a}	22.16 ± 0.43^{b}
n-3	38.49 ± 0.87^{a}	28.10 ± 0.41^{b}
n-6	5.69 ± 0.19	5.87 ± 0.10
n-3 / n-6	6.76 ± 0.09^{a}	4.79 ± 0.03^{b}

แสดงผลในรูป Mean $\pm$ S.D. ของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง
ความแตกต่างทางสถิติพิจารณาที่อักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน ($p<0.05$).

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 14 ชนิดของฟอสโฟลิปิดที่พบในปลาป่นต่างประเทศซึ่งถูกเลือกให้นำมาใช้ในการเตรียมอิมัลชันลิพิด เปรียบเทียบกับชนิดของฟอสโฟลิปิดของพลาสม่า ไข่แดงของไข่ไก่ และถั่วเหลือง (ดูข้อมูลจากตาราง 7 เห็นได้ว่าแม้ปลาป่นที่นำมาใช้เกิดขึ้นในเวลาต่างกันแต่ความแตกต่างของฟอสโฟลิปิดมีเพียงเล็กน้อย)

ชนิดของฟอสโฟลิปิด	ปลาป่น	พลาสม่า	ไข่แดง	ถั่วเหลือง
PA	2.38	-	-	14.80
PE	9.22	4.16	28.95	22.03
PC	50.60	72.59	68.47	41.44
PS+PI	8.70	2.12	-	7.16
SM	17.98	16.41	1.51	-
LPC	0.17	5.00	1.07	6.81
Others	10.95	-	-	7.79
Total Choline (PC+SM+LPC)	68.75	94.00	71.05	48.25
SM/PC	0.36	0.22	0.02	-
PE/PC	0.18	0.05	0.42	0.53

ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ครั้ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 15 องค์ประกอบกรดไขมันในเลซิทินของปลาป่นต่างประเทศแยกเป็นกรดไขมันทั้งหมด และในส่วนของ TG และ PL (g/100 g total fatty acids) เมื่อสัดส่วนของ PL:TG เท่ากับ 1:3 โดยน้ำหนัก เมื่อทำการเตรียมเป็นอิมัลชันลิพิด (FM-LRFE) แล้วองค์ประกอบของกรดไขมันทั้งสามส่วนจะเหมือนกันทุกประการ

กรดไขมัน	FM-LRFE (หรือเลซิทินจากปลาป่นต่างประเทศ)		
	ทั้งหมด	TG fraction	LE fraction
C 14:0	4.94 ± 0.21[a]	6.18 ± 0.50[a]	1.93 ± 0.18[b]
C 16:0	24.40 ± 0.52	25.17 ± 0.83	21.55 ± 0.67
C 16:1 n-7	4.36 ± 0.17[a]	5.33 ± 0.21[a]	1.85 ± 0.12[b]
C 18:0	8.18 ± 0.16	6.82 ± 0.23	9.25 ± 0.19
C 18:1 n-9	11.49 ± 0.47	12.78 ± 0.74	9.80 ± 0.57
C 18:1 n-7	2.96 ± 0.15	2.56 ± 0.14	2.99 ± 0.21
C 18:2 n-6	2.12 ± 0.04	2.55 ± 0.09	1.97 ± 0.06
C 18:3 n-3	1.03 ± 0.05	1.48 ± 0.06	0.47 ± 0.07
C 20:4 n-6	2.93 ± 0.25	2.41 ± 0.30	3.72 ± 0.29
C 20:5 n-3	7.51 ± 0.36	7.32 ± 0.13	7.85 ± 0.24
C 22:6 n-3	21.68 ± 0.65[a,b]	17.56 ± 0.96[b]	28.32 ± 0.73[a]
C 24:0	1.66 ± 0.11	1.52 ± 0.13	1.85 ± 0.22
C 24:1	1.57 ± 0.09	1.34 ± 0.14	1.73 ± 0.11
Others	5.17 ± 0.36	6.98 ± 0.76	6.72 ± 0.44
n-3	31.88 ± 0.75[a,b]	27.88 ± 1.07[b]	38.49 ± 0.87[a]
n-6	5.05 ± 0.31	4.96 ± 0.25	5.69 ± 0.19
n-3/n-6	6.31 ± 0.08	5.62 ± 0.15	6.76 ± 0.09

แสดงผลในรูป Mean ± S.D. ของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ความแตกต่างทางสถิติพิจารณาที่อักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน ($p<0.05$).

ตาราง 16 องค์ประกอบกรดไขมันโนอิมัลชันจากเลซิทินของไข่แดง (EY-LRFE) แยกเป็นกรดไขมันทั้งหมดและในส่วนของ TG และ PL (g/100 g total fatty acids) เมื่อสัดส่วนของ PL:TG เท่ากับ 1:3 โดยน้ำหนัก

กรดไขมัน	EY-LRFE		
	ทั้งหมด	TG fraction	LE fraction
C 14:0	0.18±0.01	0.19±0.01	0.13±0.01
C 16:0	19.90±0.19^{a,b}	16.23±0.24^{b}	30.61±0.04^{a}
C 16:1 n-7	1.15±0.02	1.18±0.02	1.07±0.01
C 18:0	6.84±0.09^{b}	4.05±0.09^{b}	15.19±0.09^{a}
C 18:1 n-9	33.28±0.37	34.80±0.46	28.70±0.09
C 18:1 n-7	-	-	-
C 18:2 n-6	33.24±0.34^{a}	38.06±0.44^{a}	14.78±0.05^{b}
C 18:3 n-3	3.27±0.02	4.36±0.08	-
C 20:4 n-6	1.38±0.01^{b}	-	5.52±0.02^{a}
C 20:5 n-3	-	-	-
C 22:6 n-3	0.51±0.00	-	2.05±0.14
C 24:0	-	-	-
C 24:1	-	-	-
Others	-	-	-
n-3	3.78±0.02	4.36±0.08	2.05±0.14
n-6	33.62±0.38^{a,b}	38.06±0.46^{a}	20.30±0.07^{b}
n-3/n-6	0.11±0.01	0.11±0.02	0.10±0.01

แสดงผลในรูป Mean ± S.D. ของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ความแตกต่างทางสถิติพิจารณาที่อักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน ($p<0.05$).

I92151230

ตาราง 17 องค์ประกอบกรดไขมันในอิมัลชันจากเลซิทินของถั่วเหลือง (SY-LRFE) แยกเป็นกรดไขมันทั้งหมดและในส่วนของ TG และ PL (g/100 g total fatty acids) เมื่อสัดส่วนของ PL:TG เท่ากับ 1:3 โดยน้ำหนัก

กรดไขมัน	SY-LRFE		
	ทั้งหมด	TG fraction	LE fraction
C 14:0	0.06±0.00	0.06±0.00	0.07±0.00
C 16:0	13.44±0.16	11.77±0.18	18.45±0.10
C 16:1 n-7	0.12±0.00	0.11±0.00	0.15±0.00
C 18:0	3.37±0.03	3.47±0.05	3.07±0.00
C 18:1 n-9	22.09±0.31[a]	26.90±0.40[a]	7.67±0.04[b]
C 18:1 n-7	-	-	-
C 18:2 n-6	54.56±0.24[a,b]	51.48±0.31[b]	63.80±0.04[a]
C 18:3 n-3	6.36±0.10	6.21±0.12	6.80±0.03
C 20:4 n-6	-	-	-
C 20:5 n-3	-	-	-
C 22:6 n-3	-	-	-
C 24:0	-	-	-
C 24:1	-	-	-
Others	-	-	-
n-3	6.36±0.10	6.21±0.12	6.80±0.03
n-6	54.56±0.24[a,b]	51.48±0.31[b]	63.80±0.04[a]
n-3/n-6	0.11±0.00	0.12±0.00	0.11±0.00

แสดงผลในรูป Mean ± S.D. ของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ความแตกต่างทางสถิติพิจารณาที่อักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน ($p<0.05$).

ตาราง 18 ปริมาณไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟลิปิดที่คงเหลืออยู่บนพาร์ติเคิลอิมัลชันลิพิดสามชนิด คือ FM-LRFE, EY-LRFE, SY-LRFE ก่อน (0 นาที) และภายหลังการย่อยสลายพาร์ติเคิลโดยเอนไซม์ไลเปสใน mixture ที่มีโปรตีนอัลบุมิน ที่เวลา 20, 40, 60 นาที

อิมัลชันลิพิด	เวลาของการ Incubation			
	0 นาที	20 นาที	40 นาที	60 นาที
FM-LRFE				
- TG (mg/dl mixture)	1700.8±80.1[a]	1370.4±77.6[a]	1062.3±67.2[a]	898.4±90.2[b]
- PL (mg/dl mixture)	489.2±32.8	445.6±42.4	542.4±58.6	394.8±56.7
EY-LRFE				
- TG (mg/dl mixture)	1810.2±105.6[a]	1286.5±40.8[a]	747.2±35.4[b]	762.8±46.4[b]
- PL (mg/dl mixture)	441.2±28.4	490.0±34.4	418.4±30.8	430.9±32.5
SY-LRFE				
- TG (mg/dl mixture)	1859.2±90.4[a]	1493.2±61.2[a]	1247.2±73.6[b]	1170.8±77.6[b]
- PL (mg/dl mixture)	530.2±35.2	510.4±22.4	475.6±38.4	498.4±30.8

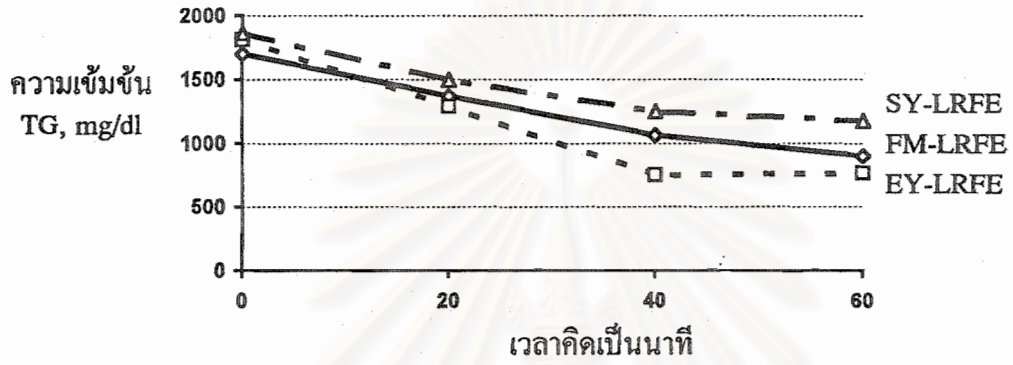
การวิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์โดยวิเคราะห์ในรูป TG-FA ด้วยเทคนิค GLC
ใช้ TG-C15 เป็น internal standard คำนวณความเข้มข้นของ TG โดยใช้น้ำหนักโมเลกุลของ triolein อ้างอิง (MW = 884) ให้น้ำหนักกรดไขมันในโมเลกุล TG เท่ากับ 95%
การวิเคราะห์ PL ในรูป PL-FA ใช้ PL-C15 เป็น internal standard ใช้น้ำหนักโมเลกุลของ PL เท่ากับ 774 ให้น้ำหนักกรดไขมันในโมเลกุล PL เท่ากับ 73%
แสดงผลในรูป Mean ± S.D. ของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง
ความแตกต่างทางสถิติพิจารณาที่อักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน ($p<0.05$).

ตาราง 19 สัดส่วนของกรดไขมันในไตรกลีเซอไรด์คิดเป็นกรัม/100 กรัมกรดไขมัน ที่คงเหลืออยู่บนพาร์ติเคิลอิมัลชันลิพิดสามชนิดคือ FM-LRFE, EY-LRFE, SY-LRFE ก่อน (0 นาที) และภายหลังการย่อยสลายพาร์ติเคิลโดยเอนไซม์ไลเปสใน mixture ที่มีโปรตีนอัลบูมินที่เวลา 20, 40, 60

TG-FA	FE-LRFE		EY-LRFE		SY-LRFE	
	0 นาที	60 นาที	0 นาที	60 นาที	0 นาที	60 นาที
C14:0	6.18±0.50	6.88±0.46	0.19±0.01	0.20±0.01	0.06±0.00	0.11±0.02
C16:0	25.17±0.83	22.18±0.64	16.23±0.24	17.34±0.16	11.77±0.18	12.64±0.20
C16:1	5.33±0.21	6.02±0.11	1.18±0.02	1.06±0.03	0.11±0.00	0.24±0.03
C18:0	6.82±0.23	5.75±0.21	4.05±0.09	3.56±0.06	3.47±0.05	4.02±0.06
C18:1n-9	12.78±0.74	10.71±0.68	34.80±0.46	35.82±0.44	26.90±0.40	27.95±0.42
C18:2n-6	2.55±0.14	2.32±0.11	38.06±0.44	37.06±0.55	51.48±0.31	46.44±0.42
C18:3n-3	1.48±0.06	1.07±0.02	4.36±0.08	4.71±0.10	6.21±0.12	7.42±0.21
C20:4n-6	2.41±0.30	2.02±0.27	-	-	-	-
C20:5n-3	7.32±0.13	9.72±0.42	-	-	-	-
C22:6n-3	17.56±0.96	23.54±1.02	-	-	-	-
SFA	38.17±0.72	34.81±0.71	20.47±0.34	21.10±0.42	15.3±0.31	16.77±0.41
MUFA	18.11±0.92	16.73±0.84	35.98±0.52	36.88±0.68	27.01±0.44	28.19±0.35
PUFA	32.78±2.12	38.67±1.21	42.42±0.66	41.77±0.54	57.69±0.42	53.86±0.72
n-3	27.88±1.07	34.54±1.41	4.36±0.08	4.71±0.10	6.21±0.12	7.42±0.21
n-6	4.96±0.25	4.34±0.22	38.06±0.44	37.06±0.55	51.48±0.31	46.44±0.42
n-3/n-6	5.62±0.15^{b}	7.96±0.19^{a}	0.115±0.002	0.127±0.003	0.121±0.002	0.160±0.004

แสดงผลในรูป Mean ± S.D. ของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

ความแตกต่างทางสถิติพิจารณาที่อักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน ($p<0.05$).



รูปที่ 1 การย่อยสลายอิมัลชันลิพิดทั้งสามชนิดได้แก่ FM-LRFE, EY-LRFE, SY-LRFE โดยเอนไซม์ไลเปสในเวลา 0, 20, 40, 60 นาที วิเคราะห์ปริมาณ TG ที่เหลืออยู่ใน mixture โดยใช้เทคนิค GLC ใช้ TG-C15 เป็น internal standard ทำการคำนวณความเข้มข้นของ TG โดยใช้น้ำหนักโมเลกุลของ triolein (MW = 884) ในการอ้างอิง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

กรดไขมันโอเมก้า 3 และโรคหัวใจและหลอดเลือด

อุบัติการณ์ตายด้วยโรคหัวใจและหลอดเลือดหรือ Cardiovascular disease (CVD) คร่าชีวิตประชากรสูงเป็นอันดับหนึ่งในหลายสังคม รวมถึงสังคมไทยซึ่งเป็นสังคมของชาติกำลังพัฒนา เดิมการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดเน้นไปทางด้านการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของผู้ป่วย มีการใช้กรดไขมันโอเมก้า 6 จากน้ำมันพืชเป็นหลักเนื่องจากเคยเชื่อกันในอดีตว่ากรดไขมันเหล่านี้สามารถลดคอเลสเตอรอลในเลือดได้ ปัจจุบันความเข้าใจในกลไกการเกิด CVD เป็นที่รับรู้กันมากขึ้น การให้กรดไขมันโอเมก้า 6 ในปริมาณมากอาจก่อผลเสียได้ เช่น พบว่าลดระดับ HDL ในกรณีที่มีการให้กรดไขมันโอเมก้า 6 ปริมาณมากร้อยละ 12 ของพลังงานที่ได้รับต่อวัน (BNFTF, 1994) นอกจากนี้พรอสตาแกลนดินที่ได้มาจากกรดไขมันโอเมก้า 6 ยังมีคุณสมบัติเป็น proatherogenic และ prothrombogenic ส่งผลให้เกิดการเร่งการเกิดโรคหัวใจ (Grimminger et al, 1995) ขณะนี้ความสนใจในเรื่องของกรดไขมันโอเมก้า 3 มีมากขึ้น กรดไขมัน EPA, DHA มีผลต่อ atherogenesis, inflammation, thrombus formation, gene expression, และ cell-to-cell communication กลไกที่เอื้อประโยชน์เหล่านี้ส่งผลให้กรดไขมันโอเมก้า 3 ช่วยลดอุบัติการณ์เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (BNFTF, 1994)

ความสนใจในเรื่องของกรดไขมันโอเมก้า 3 ในด้านการลดการตายด้วยโรคหัวใจเริ่มต้นจากการศึกษาทางระบาดวิทยาในคนเอสกิโมในเกาะกรีนแลนด์โดย Bang และ Dyerberg (1971) นักวิจัยกลุ่มนี้พบว่าคนเอสกิโมมี total cholesterol, TG, LDL, very low density lipoproteins (VLDL) ในพลาสม่าค่อนข้างต่ำ ขณะที่มี HDL สูงเมื่อเทียบกับคนเดนมาร์ค ประชากรทั้งสองกลุ่มต่างรับประทานไขมันในอาหารในสัดส่วนที่สูง สิ่งที่น่าสนใจคือคนเอสกิโมมีอุบัติการณ์เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดต่ำมาก ในขณะที่คนเดนมาร์คเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดสูง เหตุผลที่ใช้อธิบายคือคนเอสกิโมรับประทานไขมันจากปลาทะเลที่มีสัดส่วนของกรดไขมันโอเมก้า 3 สูง (Simopoulos, 1997)

กลไกของกรดไขมันโอเมก้า 3 ในการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดทั้งทางด้านการป้องกัน atherogenesis และ thrombogenesis สามารถอธิบายได้ด้วยปริมาณของกรดไขมันโอเมก้า 3 บนเมมเบรนของเกล็ดเลือด การรับประทานกรดไขมันโอเมก้า 3 ในอาหารทำให้กรดไขมันเหล่านี้เข้าไปสะสมบนผนังของเกล็ดเลือดและเซลล์เลือดอื่นๆได้ทีละน้อย (Schmidt and Dyerberg, 1994) การที่เกล็ดเลือดมีกรดไขมันโอเมก้า 3 สัดส่วนที่สูงนอกจากจะเป็นแหล่งสร้างพรอสตาแกลนดินที่ลดการเกิดลิ่มเลือดและกลไกอื่นที่เร่งภาวะของโรคหัวใจและหลอดเลือดแล้ว มันยังเข้าไปแทนที่กรดอะ

รัคชิโดนิกทำให้การเกิด proaggretory TXA_2 ลดลง (von Schacky et al., 1985) การปรากฏ กรดไขมันโอเมก้า 3 บนเมมเบรนของเกล็ดเลือดจึงถูกพิจารณาให้เป็นหนึ่งในกลไกสำคัญในการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด (Tremoli et al.., 1995; Vlasic et al., 1993)

ผู้ที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในเลือดปริมาณสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งบนผนังเซลล์ซึ่งกรดไขมันโอเมก้า 3 จะอยู่ในรูปของฟอสโฟลิปิดหรือเลซิทินมีผลทำให้การจับตัวของเกล็ดเลือดลดลง (Goodnight et al., 1981; Terano et al., 1983) เกล็ดเลือดเมื่อมีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในโมเลกุลฟอสโฟลิปิดมาก การจับตัวกันของเกล็ดเลือดด้วยกันที่เป็นกลไกทำให้เกิดลิ่มเลือดจะยิ่งช้าลง (BNFTF, 1994) ซึ่งรับรู้กันดีว่าปัญหาการจับตัวกันได้ง่ายของเกล็ดเลือดนี้เองที่ก่อให้เกิดปัญหาลิ่มเลือดเข้าไปอุดตันบริเวณหลอดเลือดตีบของเส้นเลือดหัวใจ ทำให้เกิดปัญหาหัวใจวาย กล้ามเนื้อหัวใจตาย หรือหากเกิดที่บริเวณหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงสมองย่อมก่อให้เกิดภาวะหลอดเลือดสมองอุดตันเฉียบพลันจนเกิดการตายและพิการได้ การให้รับประทานกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณน้อยกว่า 4 g/day จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไขมัน โอเมก้า 3 บนเมมเบรนของเซลล์เลือดได้ช้า การเสริมกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณต่ำจะมีผลอย่างไรต่อการจับตัวของเกล็ดเลือดจึงจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อหาข้อมูล ขณะเดียวกันการรับประทานกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณมากก็ไม่จำเป็นว่าจะทำให้กรดไขมันกลุ่มนี้บนเมมเบรนของเกล็ดเลือดสูงขึ้นมากเสมอไป นอกจากกรดไขมันโอเมก้า 3 บนเกล็ดเลือดจะเกี่ยวข้องกับการทำงานของเกล็ดเลือดเองแล้วมันอาจจะส่งผลไปถึงการทำงานของอวัยวะและเซลล์อื่นๆได้ด้วย ดังเช่น การทำงานของเซลล์สมอง (Rao et al., 1996a; Vecino et al., 1996) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของกรดไขมันโอเมก้า 3 บนเมมเบรนของเกล็ดเลือดจึงให้ประโยชน์ค่อนข้างกว้าง

การเพิ่มสัดส่วนของกรดไขมันโอเมก้า 3 บนเมมเบรนของเกล็ดเลือดและเซลล์ทั่วไปทำได้โดยการรับประทานอาหารที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ปริมาณสูงเป็นเวลานานต่อเนื่องกันเป็นเวลานานพอสมควร (Sanikorski et al.,1996; Leece and Allman., 1996; Handerson et al.., 1994) Dougherty et al. (1987) ทำการศึกษาในประชากรชนบทของสามประเทศ พบว่ากรดไขมันบน PL ของเมมเบรนของเซลล์สัมพันธ์กับกรดไขมันที่พบในอาหารแสดงว่าไขมันจากอาหารสามารถเข้าสู่เมมเบรนของเซลล์ได้ โดยพบว่าหากรับประทานกรดไขมันชนิดใดมาก กรดไขมันตัวนั้นจะไปปรากฏบนเมมเบรนได้มาก Greenwood et al. (1989) รายงานถึงการให้อาหารแก่หนูประกอบด้วย 20% ไขมันที่มาจากการผสมไขมันชนิดต่างๆทำให้ n-6/n-3 fatty acid ratios มีค่าแตกต่างกันตั้งแต่ 1.8 ถึง 165 เป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ เขาพบ 22-carbon fatty acids ในสมองของหนู แสดงให้เห็นว่าการนำกรดไขมันจากอาหารผ่านเข้าไปเป็นองค์ประกอบของสมองใช้เวลายาวนาน 8 สัปดาห์ เทียบเท่ากับเวลา 8 ปี ในมนุษย์ Ferrier et al. (1995) เสริมอาหารแก่อาสาสมัครด้วยไข่ที่มีกรดไขมัน ALA และ DHA ซึ่งเป็น

กรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูงเป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ พบว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 ทั้งหมดและ n-3/n-6 PUFA ratio ของเกล็ดเลือดเพิ่มสูงขึ้น แสดงว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 จากอาหารผ่านเข้าสู่เกล็ดเลือดได้โดยใช้เวลาประมาณ 2 สัปดาห์

คณะของเราเคยรายงานการเปลี่ยนแปลงลิพิดบนเซลล์เลือดในเวลาที่สั้นกว่านี้ (Dahlan et al., 1992a, 1992b) ดังเช่น การให้อิมัลชันลิพิดทางหลอดเลือดดำในมนุษย์ที่ความเร็วของการหยด TG เท่ากับ 0.3 g/kg.น้ำหนักตัว/ชม. เป็นเวลานาน 6 ชม. ส่งผลให้คอเลสเตอรอลอิสระบนเซลล์เม็ดเลือดแดงลดลงขณะที่ PL เพิ่มสูงขึ้น (Dahlan et al., 1992a) นอกจากนี้การให้อิมัลชันลิพิดที่มีกรดไขมันโอเมก้า 6 ปริมาณสูงทางหลอดเลือดดำในผู้ป่วยเป็นเวลานาน 3 เดือนมีผลทำให้กรดไขมันโอเมก้า 6 บนผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงสูงขึ้นขณะที่กรดไขมันโอเมก้า 3 เช่น DHA ลดลง (Dahlan et al., 1992b) การศึกษาเรื่องแรกจะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นผลมาจากไลโปโซมที่มีอยู่ในอิมัลชันลิพิด พาร์ติเคิลเหล่านี้มีสัดส่วน PL/TG สูง ขณะที่การศึกษาเรื่องหลังเป็นผลจากพาร์ติเคิลของอิมัลชันลิพิดเองซึ่งมีสัดส่วนของ PL/TG ต่ำกว่าจึงใช้เวลานานกว่า การเปลี่ยนแปลงเมมเบรนของเม็ดเลือดให้มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในส่วนของฟอสโฟลิปิดโดยการรับประทานอาหารที่อุดมด้วยกรดไขมันโอเมก้า 3 จึงใช้ระยะเวลานานในขณะที่การเปลี่ยนแปลงเมมเบรนของเม็ดเลือดทำได้ด้วยเวลารวดเร็วขึ้นโดยการให้อิมัลชันลิพิดหยดทางหลอดเลือด

ปัจจุบันการให้อิมัลชันลิพิดที่มีน้ำมันปลาเป็นองค์ประกอบได้รับความสนใจมากขึ้น Grimminger et al. (1996) ทำการทดลองพบว่าเมื่อให้อิมัลชันลิพิดที่มีน้ำมันปลาเป็นองค์ประกอบ ในหนูทดลอง ลักษณะกรดไขมันและการสร้าง lipid mediators ในพลาสม่าเปลี่ยนแปลงไป ทั้งยืดอายุของหนูที่ถูกผ่าตัดเปลี่ยนหัวใจทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับอิมัลชันลิพิดชนิดโอเมก้า 6 ในการศึกษาของเรา FM-LRFE มีปริมาณ DHA ในส่วนของ PL ค่อนข้างสูงโดยมีอยู่สูงถึง 28% กรดไขมันเหล่านี้ส่วนใหญ่อยู่ในส่วนของ phosphatidylcholine-DHA ดังได้อ้างไว้ในการศึกษาในอดีต (Dahlan et al., 1995) จึงเป็นไปได้ค่อนข้างมากว่าการเปลี่ยนแปลงของ DHA เกิดขึ้นที่บริเวณ phosphatidylcholine เป็นหลัก อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้มิได้ให้รายละเอียดว่าการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นที่ PL กลุ่มใด

Bayon และคณะได้สาธิตให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันบนเมมเบรนของเกล็ดเลือดเกิดขึ้นได้โดยการช่วยเหลือของ nonspecific และ specific lipid transfer proteins (Bayon et al., 1995a) ในการศึกษาของเราเมื่อทดลองใช้พลาสม่าซึ่งแน่นอนย่อมมีโปรตีนบางชนิดปนอยู่กลับพบว่าการแลกเปลี่ยนกรดไขมันถูกจำกัด แต่หากให้อิมัลชันลิพิดได้สัมผัสกับเซลล์โดยตรงในภาวะที่ไร้พลาสม่า การแลกเปลี่ยนกลับเกิดขึ้นได้สะดวกและรวดเร็วกว่า ปรากฏการณ์นี้อาจสืบเนื่องมาจากโปรตีนบางชนิดในพลาสม่าช่วยอำนวยความสะดวกในการแลกเปลี่ยนกรดไขมันได้ อย่างไรก็ตามยังมีโปรตีนและเอนไซม์หลายชนิดที่ทำให้การแลกเปลี่ยนเกิดขึ้นได้ยาก สรุปโดยรวมแล้วเหตุที่การแช่

ในภาวะที่มีพลาสม่าเซลล์เปลี่ยนแปลงกรดไขมันน้อยก็เพราะเซลล์พยายามรักษาสภาพเดิมของมันไว้ให้ได้นานที่สุดโดยได้รับความช่วยเหลือจากโปรตีนหลายกลุ่มในพลาสม่า สิ่งนี้เป็นคำอธิบายได้ด้วยว่าเหตุใดในสภาพความเป็นจริงที่เกิดขึ้นในร่างกาย การแปรเปลี่ยนของเซลล์แม้จะเกิดขึ้นแต่ก็อยู่ในวงที่จำกัด (Dahlan, 1989)

การแลกเปลี่ยนกรดไขมันจากพาร์ติเคิลของอิมัลชันลิพิดสู่เมมเบรนของเกล็ดเลือดใช้กลไกใดหรือไม่ยังไม่เป็นที่ทราบกันดีนัก เป็นไปได้ว่าเกล็ดเลือดมี receptor ที่สามารถจับกับพาร์ติเคิลของอิมัลชันลิพิดทำให้กรดไขมันบนเมมเบรนเปลี่ยนแปลงไป Carpentier et al. (1997) ให้อิมัลชันลิพิดที่มี MCT, น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันปลาเป็นองค์ประกอบ พบว่า TG ถูกขจัดออกจากกระแสเลือดได้รวดเร็ว แสดงว่าพาร์ติเคิลของอิมัลชันลิพิดถูกขจัดออกได้เร็ว ขณะเดียวกันพบว่าเรมแนนท์หรือส่วนที่เหลือของอิมีลชันหากประกอบไปด้วยกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูงมันจะถูกเซลล์บางชนิดจับไว้ ส่งผลให้กรดไขมันกลุ่มนี้เพิ่มขึ้นบนเมมเบรนของเซลล์ได้รวดเร็ว (ประมาณ 6 ชม.)

เมื่ออีมัลชันลิพิดที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 เป็นองค์ประกอบผ่านเข้าสู่ระบบเลือด อิมัลชันลิพิดเหล่านั้นจะทำหน้าที่คล้ายตัวนำกรดไขมันโอเมก้า 3 ไปสู่ผนังเมมเบรนของเซลล์เม็ดเลือด หากกรดไขมันโอเมก้า 3 อยู่ในรูปของเลซิทินด้วยแล้วการส่งผ่านกรดไขมันโอเมก้า 3 สู่เมมเบรนจะยิ่งเป็นไปได้อย่างรวดเร็วและตรงวัตถุประสงค์มากกว่า เพราะหมายถึงการถ่ายโมเลกุลของเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สู่เมมเบรนได้โดยตรง ซึ่งการศึกษาของคณะของเราโดยโครงการวิจัยที่ต่อเนื่องจากงานวิจัยในเรื่องนี้ไดแสดงให้เห็นแล้วว่าการส่งผ่านเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สู่สู่เมมเบรนของเม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือดเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เมื่ออิมัลชันลิพิดที่มีห่อหุ้มด้วยเลซิทินชนิดที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูงปรากฏอยู่ใน media (Dahlan et al., 1997)

เนื่องจากเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สามารถพบได้ในหลายแห่งซึ่งเกือบทั้งหมดคือปลาทะเลหรือสัตว์ทะเล ในการทดลองครั้งนี้ได้ศึกษาจากหลายแหล่ง ทั้งจากปลาทะเลสด ไขมันจากการผลิตปลากระป๋อง รวมไปถึงปลาป่นซึ่งมีทั้งปลาป่นต่างประเทศและปลาป่นท้องถิ่น ข้อสรุปที่ได้ชัดเจนคือปลาป่นเป็นแหล่งของเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูงที่เหมาะสมที่สุดเนื่องจากเสาะหาได้ง่าย ราคาไม่แพง มีปริมาณเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูงในปริมาณที่สามารถพัฒนาในระดับการผลิตเชิงปริมาณได้ กรดไขมัน DHA มีปริมาณสูง การสกัดเลซิทินจากแหล่งใช้หลักการของสารละลายอินทรีย์กลุ่มที่เป็น polar และ nonpolar การใช้ methanol ร่วมในการสกัดจะช่วยทำให้ yield เลซิทินจากการสกัดสูงขึ้นในขณะที่ DHA มีสูงขึ้นเช่นเดียวกัน

เลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูงเหล่านี้ถูกเตรียมเป็นอิมัลชันลิพิดเพื่อหยดเข้าหลอดเลือด ซึ่งเลซิทินจะทำหน้าที่ในการนำกรดไขมันโอเมก้า 3 สู่ผนังหลอดเลือดทั้งที่ผ่านเข้าในรูปของเลซิทิน

หรือในรูปของกรดไขมันโดยตรง อย่างไรก็ตามหน้าที่หลักของอิมัลชันลิพิดคือการนำเอาไตรกลีเซอไรด์เข้าสู่เซลล์ต่างๆ เหตุนี้เองในการทดลองครั้งนี้จึงมีการทดสอบเมแทบอลิซึมของอิมัลชันลิพิดเพื่อทดสอบว่าอิมัลชันลิพิดของเลซิทินชนิดกรดไขมันโอเมก้า 3 สูงสามารถทำหน้าที่ในการขนส่งไตรกลีเซอไรด์ได้ไม่ต่างจากเลซิทินชนิดอื่นที่เตรียมมาจากไข่แดงหรือถั่วเหลือง

การศึกษาครั้งนี้พบว่าอิมัลชันลิพิด FM-LRFE สามารถถูกย่อยสลายได้ในอัตราที่ไม่ต่างจากอิมัลชันลิพิดทางการค้าซึ่งเป็นเลซิทินจากไข่แดงและถั่วเหลือง การศึกษาครั้งนี้จึงมีความหมายว่าเลซิทินชนิดโอเมก้า 3 สูงสามารถทำหน้าที่ขนส่งไตรกลีเซอไรด์ไปสู่การย่อยด้วยไลเปสภายในพลาสม่าได้ ผลการทดลองพบว่า FM-LRFE ถูกย่อยสลายกลายเป็นกรดไขมันในอัตราเร็วที่ช้ากว่า EY-LRFE แต่เร็วกว่า SY-LRFE อย่างไรก็ตามความแตกต่างนี้ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ ข้อที่น่าสังเกตคือกรดไขมันแต่ละชนิดในไตรกลีเซอไรด์ถูกย่อยสลายด้วยไลเปสในอัตราเร็วที่แตกต่างกันเล็กน้อย ตัวอย่างเช่น กรดไขมันโอเมก้า 6 ย่อยสลายได้เร็วกว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 ส่งผลให้พาร์ติเคิลของอิมัลชันมีการสะสมกรดไขมันโอเมก้า 3 มากขึ้น สัดส่วนของ โอเมก้า 3/โอเมก้า 6 เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การค้นพบนี้แตกต่างจากการศึกษาของผู้วิจัยในการศึกษาในอดีตซึ่งพบว่าอัตราเร็วของกรดไขมันโอเมก้า 3 และกรดไขมันโอเมก้า 6 ไม่แตกต่างกัน (Dahlan 1989) อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนั้นกรดไขมันโอเมก้า 3 ที่ทำการศึกษาคือ กรดอัลฟ่าไลโนเลนิกซึ่งมีความยาวคาร์บอน 18 และมีพันธะคู่ 3 ขณะที่ EPA และ DHA มีความยาว 20 และ 22 คาร์บอน มีพันธะคู่ 5 และ 6 ตามลำดับ ผลการทดลองอาจมีความหมายว่า ความเร็วในการย่อยสลายอาจขึ้นอยู่กับความยาวของกรดไขมันด้วยเช่นกัน กรดไขมันที่มีความยาวสูงมากอาจถูกย่อยสลายได้ช้ากว่า ขณะเดียวกันพันธะคู่อาจส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายได้เช่นกัน อย่างไรก็ตาม ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้ไม่เพียงพอที่จะให้ข้อสรุปได้

สิ่งที่น่าสนใจอีกสิ่งหนึ่งในการศึกษาครั้งนี้คืออัตราเร็วของการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีระดับลดลงจากที่คาดไว้ ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เอนไซม์ไลเปสในระดับ 15,000 หน่วยสากล/เดซิลิตร ซึ่งคาดหมายว่าจะสามารถย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ได้กรดไขมัน 15,000 ไมโครอิควิวาแลนท์/ชม. หรือ 4,200 มิลลิกรัม/ชม. เมื่อกำหนดให้กรดไขมันคือกรดโอเลอิกที่มีน้ำหนักโมเลกุล 282 อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้อัตราการย่อยสลายที่รวดเร็วที่สุดพบใน EY-LRFE มีเพียงประมาณ 1,000 มิลลิกรัม/ชม. ช้ากว่าที่คาดถึงกว่า 4 เท่า ซึ่งต่ำกว่าที่คาดหวังไว้มาก ทั้งยังพบว่าการย่อยสลายเข้าสู่ระดับสูงสุดที่เวลา 40 นาที จากนั้นการย่อยสลายกรดไขมันได้ช้าลงจนกระทั่งหยุดลงในที่สุด เหตุการณ์นี้อาจอธิบายได้ด้วยหลายเหตุผล ดังนี้ 1) สภาวะของ incubation mixture ไม่เหมาะสมต่อการทำงานสูงสุดของเอนไซม์ 2) สัดส่วน PL/TG ที่สูง ส่งผลให้ไลโปโซมของ PL เกิดการขัดขวางการทำงานของไลเปสซึ่ง Carpentier (1989) ได้อธิบายไว้แล้ว ซึ่งการขัดขวางนี้ได้แสดงให้เห็นมากขึ้นเมื่อมีการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ในระดับหนึ่ง ส่งผลให้เกิดผนังอิมัลชันที่ยับย่นหลุดออกเกิดเป็นไลโปโซมมาก

ขึ้นส่งผลให้การย่อยสลายเริ่มชะลอตัวและหยุดลง 3) ปริมาณอัลบุมินที่ทำหน้าที่ในการจับกับกรดไขมันอยู่ในสภาวะที่อิ่มตัวเนื่องจากเกิดกรดไขมันอิสระที่มาจากการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์เกิดขึ้นในระบบเป็นปริมาณมาก อัลบุมินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 67,000 สามารถจับกับกรดไขมันได้ 5-7 โมเลกุล (Dahlan 1989) อัลบุมินที่เตรียมไว้จึงมีปริมาณน้อย อย่างไรก็ตามการสลายกรดไขมันออกจากโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ไม่จำเป็นต้องใช้อัลบุมินจับไว้เสมอไป กรดไขมันสามารถละลายตัวอยู่ใน mixture ได้บางส่วน อย่างไรก็ตามปริมาณที่จำกัดของอัลบุมินอาจเป็นหนึ่งเหตุผลที่ทำให้ปฏิกิริยาการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์เกิดการอิ่มตัวขึ้นอย่างรวดเร็ว

หนึ่งในวัตถุประสงค์ของการศึกษาคือการพิจารณาสัดส่วนที่เหมาะสมของเลซิทินจากไข่แดงและจากปลาป่นในการเตรียมอิมัลชันลิพิด จากการศึกษาพบว่าเลซิทินจากทั้งสองแหล่งให้ผลต่อการทำงานของไลเปสไม่แตกต่างกันมากนัก การพิจารณาในเรื่องของสัดส่วนจึงไม่มีความสำคัญ

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ได้สาธิตให้เห็นว่าเลซิทินชนิดที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 สูงสามารถนำมาใช้ทำหน้าที่เป็นอิมัลซิฟายเออร์ในการเตรียมอิมัลชันลิพิดทางการแพทย์ได้เช่นเดียวกับการใช้เลซิทินจากไข่แดงหรือถั่วเหลือง สิ่งหนึ่งที่เป็นข้อได้เปรียบคือเลซิทินจากปลาป่นมีกรดไขมันโอเมก้า 3 ในปริมาณสูง จึงสามารถนำกรดไขมันดังกล่าวไปสร้างประโยชน์ในระบบโลหิตดังเช่นการเติมกรดไขมันให้แก่เมมเบรนของเม็ดโลหิตก่อให้เกิดผลเชิงบวกต่อสมดุลของพรอสตาแกลนดินให้มีความเป็น antithrombotic และ antiatherogenic มากขึ้น ซึ่งจะต้องทำการศึกษาต่อไป ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาป่นสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของเลซิทินที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ที่มีคุณภาพ ขณะเดียวกัน การศึกษาครั้งนี้ได้พัฒนาวิธีการสกัดแยกเลซิทินออกจากแหล่งวัตถุดิบด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

Bang, H. O., Dyerberg, J., Horne, N. 1976. The composition of food comsumed by Greenland Eokimos. Acta Med. Scand. 200: 69-73.

Bartlett, G.R. 1958. Phosphorus assay in column chromatography. J. Biol. Chem. 234: 466-468.

Bayon, Y., Cruset, M., Daveloose, D., Guerbette, F., Chirouze, V., Viret, J., Kader,J.C., and Lagarde, M. 1995. Effect of specific phospholipid molecular species incorporated in human platelet membranes on thromboxane A2/prostaglandin H2 receptors. J. Lipid Res. 36(1): 47-56.

Bligh, E.G., and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can.J.Biochem. Physiol. 37: 911-917.

British Nutrition Foundation Task Force (BNFTF) 1994. Unsaturated Fatty Acids. Nutritional and Physiological Significance, London: Chapman&Hall.

Broekman, M.J., Handin, R.I., Derksen, A,., and Cohen, P. 1976. Distribution of phospholipids, fatty acids, and platelet factor 3 activity among subcellular fractions of human platelets. Blood 47(6): 963-971.

Carpentier Y.A. 1989. Intravenous metabolism of fat emulsion: The Arvid Wretlind Lecture, ESPEN. Clin Nutr 8: 115-122.

Carpentier, Y.A., Simoens, C., Siderova, V., el Nakadi , I., Vanweyenberg, V., Eggerickx, D., and Deckelbaum, R.J. 1997. Recent developments in lipid emulsions:relevance to intensive care. Nutrition 13: 73s-78s.

Dahlan, W. 1989. Intravenous infusion of triacylglycerol-phospholipid complexes in man: effects on fatty acid pattern of plasma and on erythrocyte membrane lipid composition. Ph.D. dissertation, Universite Libre De Bruxelles.

Dahlan, W. 1995. Utilization of fish meal-derived licithins as emulsifier for preparing mixed soya oil-fish oil emulsion. Biopolymers and Bioproducts: Structure, Function and Applications: Proceeding of the 11th FAOBMB Symposium, Nov. 15-18 1994, pp.595-601. Thailand.

Dahlan, W., Chatnilbandhu, S., na-Nagara, B., and Carpentier, Y.A. 1996. Fish meal lecithin as alternative precursor of docosahexaenoate and choline. Biomed. Environ. Sci. 9: 263-268.

Dahlan, W., Chatnilbandhu, S., Piyatiratitivorakul, S., and na-Nagara, B. 1997. Bousting omega-3 fatty acid content to intact blood cells by brief interactive contact with liposomes of fish meal lecithin. In: Proceedings of Chulalongkorn University 80 th Anniversary Research Conference, Oct. 15-17, 1997., pp. 769-783. Thailand.

Dahlan, W., Richelle, M., Kulapongse, S., Rossle, C., Deckelbaum, R.J., and Carpentier, Y.A. 1992(a). Modification of erythrocyte membrane lipid composition induced by a single intravenous infusion of phospholipid-triacylglycerol emulsions in man. Clin. Nutr. 11: 255-261.

Dahlan, W., Richelle, M., Kulapongse, S., Rossle, C., Deckelbaum, R.J., and Carpentier, Y.A. 1992(b). Effects of essential fatty acid contents of lipid emulsions on erythrocyte polyunsaturated fatty acid composition in patients on long-term parenteral nutrition. Clin.Nutr. 11: 262-268.

Dougherty, R.M., Galli, B.C. Ferro-Luzzi, A., and Iacono, J.M. 1987. Lipid and phospholipid fatty acid composition of plasma, red blood cell, and platelets and how they are affected by dietary lipids: a study of normal subjects from Italy, Finland, and the USA. Am. J. Clin.Nutr. 45: 443-455.

Dyerberg J. 1986. Linolenate-derived polyunsaturated fatty acids and prevention of atherosclerosis. Nutr. Rev. 44(4): 125-134.

Dyerberg J., Bang, H.O., Stofferson, E., Moncada, S. and Vane, J.R. 1978. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. Lancet 2: 117-119.

Ferrier, L.K., Caston, L.J., Leeso, S., Squires, J., Weaver, B.J., and Holub, B.J. 1995. Alpha-Linolenic acid and docosahexaenoic acid-enriched eggs from hens fed flaxseed: influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in humans. Am. J. Clin. Nutr. 62(1): 81-86.

Goodnight, S.H.Jr., Harris, w.s., Conner, W.E. 1981. The effects of dietary omega-3 fatty acids upon platelet composition and function in man: a prospective, controlled study. Blood 58: 880-885.

Greenwood, C.E., McGee, C.D., and Dyer, J.R. 1989. Influence of dictary fat on brain membrane phospholipid fatty acid composition and neuronal function in mature rates. Nutrition 5(4): 278-281.

Grimminger, F., Grimm, H., Fuhrer, D., Papavassilis, C., Lindermann, G., Blecher, C., Mayer, K., and Seeger, W. 1996. Ω-3 lipid infusion in a heart allotransplant model: shift in fatty acid and lipid mediator profiles and prolongation of transplant survival. Circulation 93: 365-371.

Handerson, W. R. Jr., Astley, S.J., McCready, M..M., Kushmerick, P., Casey, S., Becker, J.W., and Ramsey B.W. 1994. Oral absorption of omega-3 fatty acids in patients with cystic fibrosis who have pancreatic insufficiency and in healthy control subjects. J. Pediatr. 124(3): 400-408.

Leece, E.A.,and Allman, M.A. 1996. The relationships between dietary alpha-linolenic:linoleic acid and rat platelet eicosapentaenoic and arachidonic acids. Br. J. Nutr. 76(3): 447-452.

Lepage, G., and Roy, C.C. 1984. Improved recovery of fatty acid through direct tranesterification without prior extraction or purification. J. Lipid Res. 25: 1391-1396.

New, R.R.C. 1994. Preparation of liposomes. In: R.R.C. New (ed.), Liposomes: A practical Approach, pp. 33-104. New York: IRL Press.

Phillips, G.B., and Dodge, J.T. 1967. Composition of phospholipids and of phospholipid fatty acids human plasma. J. Lipid Res. 8: 676-681.

Rao, G.H., Peller, J.D., Knopman, D.S., and White, J.G. 1996. Physiology and function of platelets from patients wiht Alzheimer's disease. Indian J. Physiol. Pharmacol. 40(1): 5-14.

Richelle, M., W. Dahlan , R.J. Deckelbaum, P. D'hont, Y.A. Carpentier. Phosphatidyl ethanolamine (PE) content of emulsifiers can influence intravascular metabolism of fat emulsions. **Clinical Nutrition** 1988; 7 (suppl): 76.

Sanikorski, A.J., Sinclair, A.J. and Hamazaki, T.1996. Platelet and aorta arachidonic and eicosapentaenoic acid levels and in vitro eicosanoid production in rats fed high-fat diets. Lipids. 31(7): 729-735.

Schmidt, E.B., and Dyerberg, J. 1994. Omega-3 fatty acids: current status in cardiovascular medicine. Drugs 47 (3): 405-424.

Simopoulos, A.P. 1991. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. Am. J. Clin. Nutr. 54: 438-463.

Simopoulos, A.P. 1997. Ω-3 fatty acids in the prevention-management of cardiovascular disease. Can. J. Physiol. Pharmacol. 75: 234-239.

Terano, T., Hirai, A.,Hamazaki, T. 1983. Effect of oral administration of highly purified eicosapentaenoic acid on platelet function, blood viscosity and red cell deformability in healthy human subjects. Atherosclerosis 46: 321-331.

Tremoli, E., Maderna, P., Marangoni, F., Colli, S., and Galli, C. 1995. Prolonged inhibition of platelet aggregation after n-3 fatty acid ethyl ester ingestion by healthy volunteers. Am.J.Clin.Nutr. 61: 607-613.

Vecino, A.M., Alvarez-Cermeno, J.C., Jimenez-Huete, A., Navarro, J.L., and Cesar, J.M. 1996. Lipid composition of platelets in patients suffering from migraine without aura. Headache 36(7):440-441.

Vlasic, N., Medow, M.S., Schwarz, S.M., Pritchard, KA Jr., Stemerman, M.R.1993. Lipid fluidity modulates platelet aggregation and agglutination in vitro. Life Sci. 53(13): 1053-1060.

von Schacky, C., Fischer, S., Weber, P. C. 1985. Long term effects of dietary marine n-3 fatty acids upon plasma and cellular lipids, platelet function, and eicosanoid formation in humans. J. Clin. Invest. 76:1626-1631.