การใช้ประโยชน์น้ำมันปลาน้ำจืดที่อุดมด้วยโอเมก้า-9 เป็นอาหารปลา

ธีระวัฒน์ รัตนพจน์[1] เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน[2] สุดาพร ตงศิริ[3] ดวงพร อมรเลิศพิศาล[4*]
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290
และ ชุติมา ศรีมะเริง[5]
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถ.ห้วยแก้ว ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้นำก้อนไขมันในช่องท้องที่เป็นส่วนเหลือใช้จากอุตสาหกรรมการแปรรูปปลาหนังลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) มาสกัดเป็นน้ำมันปลาน้ำจืด และศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมัน สมบัติทางกายภาพและเคมี รวมถึงผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและภาวะออกซิเดชันโดยเลี้ยงปลาหนังลูกผสม (ปลาบึก x ปลาสวาย) จำนวน 120 ตัว ด้วยอาหารผสมน้ำมันปลา 4 สูตร และวัดหาระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ที่บ่งบอกถึงภาวะออกซิเดชัน พบว่าน้ำมันปลาน้ำจืดมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวใกล้เคียงกับน้ำมันปลาจากปลาทะเลที่จำหน่ายในท้องตลาด แต่มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนน้อย โดยเฉพาะกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 ส่วน กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวกลุ่มโอเมก้า-9 (กรดโอเลอิก) มีปริมาณที่สูงกว่าน้ำมันปลาจากปลาทะเลถึง 4 เท่า โดยที่น้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดได้มีลักษณะสีเหลืองใส มีค่ากรด ค่าไอโอดีน ค่ากรดไขมันอิสระอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน นอกจากนี้ ปลาหนังลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารปลาสูตร 4 ผสมน้ำมันปลาน้ำจืดร้อยละ 1.5 เจริญเติบโตดีที่สุด อย่างไรก็ตามน้ำมันปลาน้ำจืดไม่มีผลต่อการป้องกันการเกิดภาวะออกซิเดชัน เนื่องจากไม่สามารถลดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเลือดปลาได้ แสดงให้เห็นว่าน้ำมันปลาน้ำจืดมีประสิทธิภาพในการเพิ่มการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสม สามารถใช้ทดแทนน้ำมันจากปลาทะเลที่มีราคาแพง อีกทั้งยังเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มส่วนเหลือใช้จากอุตสาหกรรมการแปรรูปประมงน้ำจืดอีกทางหนึ่ง

คำสำคัญ : การเพิ่มมูลค่า / น้ำมันปลาน้ำจืด / ผลพลอยได้ / อาหารปลา / โอเมก้า-9

* *Corresponding Author : doungpornfishtech@gmail.com*
[1] *นักศึกษาปริญญาเอก คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ*
[2] *รองศาสตราจารย์ คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ*
[3] *อาจารย์ คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ*
[4] *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ*
[5] *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์*

Utilization of Enriched Omega-9 Freshwater Fish Oil as Fish Feed

Thirawat Rattanaphot[1] Kriangsak Mengumphan[2] Sudaporn Tongsiri[3]
Doungporn Amornleardpison[4*]

Maejo University, Nongharn, Sansai, Chiang Mai 50290

and Chutima Srimaroeng[5]

Chiang Mai University, HuayKaew Road, Muang District, Chiang Mai 50200

Abstract

Adipose tissue, a by-product from industrial processing of freshwater hybrid catfish *(P. larnaudii* x *P. hypophthalmus)* was extracted to produce freshwater fish oil (FFO). Fatty acids composition, physical and chemical properties as well as the effect of the use of FFO in 4 fish feed formulas on the growth performance and oxidative defense of 120 hybrid catfish *(P. gigas* x *P. hypophthalmus)* were examined through the measurement of the malondialdehyde level. The amount of saturated fatty acidsin FFO was similar to that of a commercial marine fish oil (MFO). However, the amount of polyunsaturated fatty acids (FUFA), especially omega-3 fatty acid, of FFO was lower. FFO contained as much as 4-fold higher amount of monounsaturated fatty acid, namely, omega-9 (oleic acid) than MFO. FFO exhibited clear yellow color and had acid value, peroxide value, iodine value and free fatty acids content in the standard levels. There was a significant increase ($p < 0.05$) in the growth performance of hybrid catfish treated with the 4th formula containing 1.5% FFO. However, FFO had no effect on the oxidative defense because it could not reduce the level of lipid MDA in the fish plasma. Overall, FFO is able to increase the growth performance of the hybrid catfish and can replace the expensive MFO in fish feed as well as adding the value of by-product from the industrial processing of freshwater fisheries.

Keywords : By-product / Freshwater Fish Oil / Fish Feed / Omega-9 / Value Added

* *Corresponding Author : doungpornfishtech@gmail.com*

[1] *Doctor of Philosophy Student, Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources.*

[2] *Associate Professor, Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources.*

[3] *Lecturer, Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources.*

[4] *Assistant Professor, Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources.*

[5] *Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine.*

1. บทนำ

อุตสาหกรรมการแปรรูปผลิตภัณฑ์ทางการประมงในประเทศไทยมีหลายแห่งที่ส่งออกปลาหนังเนื้อขาวในรูปแบบเนื้อปลาแล่เป็นชิ้นแช่แข็ง ทำให้มีผลพลอยได้หรือส่วนเหลือใช้ที่ยังไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะก้อนไขมันบริเวณช่องท้องของปลาหนังเนื้อขาว ที่ยังไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์เท่าที่ควร คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาการมาก่อนหน้านี้โดยการสกัดน้ำมันจากก้อนไขมันในช่องท้องของปลาหนังกลุ่มปลาสวาย พบว่าก้อนไขมัน 100 กรัม สามารถสกัดได้น้ำเป็นมันปลาน้ำจืดที่สกัดแบบหยาบ (crude oil) ได้ปริมาณ 70 มิลลิลิตร โดยน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดแบบหยาบมีส่วนประกอบของไขมันไม่อิ่มตัวร้อยละ 52.56 ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิดโอเมก้า 3 และ 6 ร้อยละ 0.92 และ 12.0 ตามลำดับ ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวชนิดโอเมก้า 9 พบถึงร้อยละ 37 เมื่อนำน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดแบบหยาบ (crude oil) ผสมในอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาอัตราส่วนร้อยละ 5 ร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ 5 พบว่าสามารถช่วยเพิ่มน้ำหนักของปลาหนังลูกผสม นอกจากนั้นยังเพิ่มปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวในเนื้อปลาหนังลูกผสมได้อย่างมีนัยสำคัญ [1]

การให้อาหารปลาที่มีส่วนผสมของ น้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดแบบหยาบ (crude oil) [1] ส่งผลให้เพิ่มปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวในเนื้อปลาส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคปลาเป็นอาหาร เนื่องจากการบริโภคกรดไขมันอิ่มตัวในปริมาณสูงอาจก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ จากภาวะระดับไขมันในเลือดสูง ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ จึงทำการสกัดน้ำมันปลาจากก้อนไขมันปลาหนังลูกผสมกลุ่มปลาสวายให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น เพื่อให้ได้ลักษณะทางเคมีและกายภาพให้เป็นไปตามข้อกำหนดของสำนักงานอาหารและยา (อย.) จากนั้นนำน้ำมันปลาน้ำจืดไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในปลาหนังลูกผสมเพื่อประเมินผลต่อการเจริญเติบโต และผลต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress) โดยการประเมินจากภาวะออกซิเดชั่นของไขมัน (lipid peroxidation) ที่แสดงในรูปของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ร่วมกับการวิเคราะห์สารประกอบหลัก (proximate analysis) ของอาหารปลาชนิดเม็ดที่ผสมด้วยน้ำมันปลาน้ำจืด

2. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การสกัดน้ำมันปลาน้ำจืด

ทำการเก็บรวบรวมก้อนไขมันในช่องท้องปลาหนังลูกผสมกลุ่มปลาสวาย (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) ที่มีอายุประมาณ 8 เดือน ถึง 1 ปี น้ำหนัก 1-1.5 กิโลกรัม เพื่อนำมาสกัดเป็นน้ำมันปลาน้ำจืด โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Chantachum และคณะ [2] มีวิธีการสกัดดังนี้ นำก้อนไขมันในช่องท้องของปลามาบดให้ละเอียดและนำไปนึ่งที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปแยกน้ำมันและกากออกจากกัน นำเฉพาะน้ำมันไปทำให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 5,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จะได้น้ำมันส่วนใสอยู่ด้านบนของหลอดทดลองจากนั้นนำน้ำมันปลาน้ำจืดที่ได้ไปแยกสิ่งปนเปื้อนอีกครั้ง ผ่านการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์ (activated carbon) โดยดัดแปลงจากวิธีการจาก Kawashima และคณะ [3]

2.2 การวิเคราะห์ชนิด และปริมาณของกรดไขมัน

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปลาน้ำจืด ได้ทำการส่งวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมันปลาที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาเชียงใหม่ ซึ่งทำการทดสอบด้วยวิธี In house method TE-CH-208 ตามมาตรฐานของ AOAC 996.06 [4]

2.3 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำมันปลาน้ำจืด

น้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดได้ถูกนำไปวิเคราะห์สมบัติดังนี้

2.3.1 สมบัติด้านสีในระบบ CIELAB โดยนำน้ำมันปลาน้ำจืดมาวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (precise colour reader) รุ่น CF-18 ในระบบสี L*, a* และ b* ที่นิยมใช้ประเมินลักษณะปรากฏตัวอย่างที่ศึกษา

2.3.2 สมบัติทางเคมีจะเปรียบเทียบน้ำมันปลาน้ำจืดกับน้ำมันปลาทะเลจากท้องตลาด 2 ยี่ห้อ ค่าที่วัดมีดังนี้

1) ค่าของกรด (acid value) คิดเป็นมิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ต่อปริมาณน้ำมัน 1 กรัม

2) ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) คิดเป็นมิลลิกรัมสมมูล ต่อน้ำมัน 1 กรัม

3) ค่าไอโอดีน คิดจากจำนวนกรัมของไอโอดีนที่ทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวหรือน้ำมัน 100 กรัม

4) ค่ากรดไขมันอิสระ (free fatty acid: FFA) โดยใช้การไตเตรชั่นกับโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

2.4 การศึกษาผลของน้ำมันปลาน้ำจืดต่อการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสม

ปลาที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ ปลาหนังลูกผสม (พ่อปลาบึก X แม่ปลาสวาย) อายุ 1 เดือน ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 50 กรัม จากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่นำมาเลี้ยงในกระชังขนาด 1.2 x 1.2 x 1.2 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง) อัตราการปล่อยปลา 30 ตัว/กระชัง โดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design,CRD) โดยจะแบ่งการทดลองเป็น 4 หน่วยการทดลองดังนี้

หน่วยการทดลองที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารปลาสูตร 1
หน่วยการทดลองที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารปลาสูตร 2
หน่วยการทดลองที่ 3 เลี้ยงด้วยอาหารปลาสูตร 3
หน่วยการทดลองที่ 4 เลี้ยงด้วยอาหารปลาสูตร 4

องค์ประกอบของอาหารปลาทั้ง 4 สูตร แสดงในตารางที่ 1 ส่วนปริมาณอาหารที่ให้คือ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวปลาวันละ 2 ครั้งโดยที่แต่ละหน่วยการทดลองได้ดำเนินการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ และทำการสุ่มตัวอย่างปลาทุกๆ 1 เดือนจำนวน 10 ตัวต่อกระชัง รวมทั้งหมด 30 ตัวต่อหน่วยการทดลองเพื่อประเมินอัตราการเจริญเติบโต โดยที่จะวิเคราะห์หาน้ำหนักตัวปลา (body weight) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain) อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (average daily gain: ADG) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate: FCR) เป็นระยะเวลา 5 เดือน

ตารางที่ 1 วัตถุดิบอาหารแต่ละสูตรที่ใช้แต่ละการทดลอง

วัตถุดิบ	สูตรอาหารปลา			
	สูตร 1	**สูตร 2**	**สูตร 3**	**สูตร 4**
ปลาป่น	15	15	15	15
กากถั่วเหลือง	37	39	37	37
ปลายข้าว	26	31	26	23
รำละเอียด	20	13.5	20	22.5
น้ำมันปลาน้ำจืด	0	0.5	1	1.5
น้ำมันพืช	1	0	0	0
วิตามินรวม (premix)	1	1	1	1
พลังงาน (kcal/100g)	400	400	400	400
โปรตีน (%)	30	30	30	30

2.5 การศึกษาผลของน้ำมันปลาน้ำจืดต่อการป้องกันภาวะออกซิเดชั่น

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างเลือดของปลาหนังลูกผสมเพื่อนำไปวัดหาระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde : MDA) ที่บ่งบอกภาวะเครียดออกซิเดชั่นโดยมีรายละเอียดดังนี้

2.4.1 การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์เพื่อหาปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชั่นด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Cayman Chemical [5] โดยนำ

เลือดปลาหนังลูกผสมที่เก็บจากเส้นเลือดบริเวณโคนหางปริมาณ 1-1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว13,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำการดูดส่วนด้านบนของหลอดทดลองที่เป็นส่วนพลาสมา นำไปผสมกับสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulphate, SDS) 100 ไมโครลิตร แล้วเติมสารที่ทำให้เกิดสี (colourreagent) ลงไป หลังจากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำไปหยุดปฏิกิริยาด้วยการแช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1,600 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดส่วนด้านบนในหลอดทดลองปริมาณ 150 ไมโครลิตร ใส่ลงไปในไมโครเวลเพลท (micro well plates) นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และนำไปเทียบหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

2.6 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนไขมันและความชื้นในอาหารปลาชนิดเม็ด

โดยนำอาหารปลาแต่ละสูตรที่ใช้เลี้ยงปลาหนังลูกผสมมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ไขมัน และความชื้นทุกๆ 1 เดือน เป็นระยะเวลา 4 เดือน เพื่อดูความคงตัวของสารอาหารการตรวจวิเคราะห์ประกอบด้วย

2.6.1 การวิเคราะห์โปรตีนวิเคราะห์ด้วยวิธีการ Kjeldahl method [6]

2.6.2 การวิเคราะห์ความชื้นด้วยวิธีการอบแห้งตามวิธีการของ AOAC [6]

2.6.3 การวิเคราะห์ไขมัน โดยวิธีการการวิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธีโดยตรง (direct extraction method) [7]

3. ผลการทดลอง

3.1 ผลผลิตน้ำมันปลาน้ำจืด

จากการศึกษาผลการสกัดน้ำมันปลาน้ำจืดพบว่าก้อนไขมัน 1 กิโลกรัม สามารถสกัดแยกเป็นน้ำมันปลาน้ำจืดที่เป็นส่วนใส ไม่แข็งตัวเป็นไขที่อุณหภูมิห้องได้ปริมาณร้อยละ 27 โดยน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดได้มีลักษณะสีเหลืองใส โปร่งแสง นำวัดค่าสีได้ค่าดังนี้คือ L^* = 86.26 a^* = 0.30 b^* = 8.75 แสดงในรูปที่ 1

รูปที่ 1 น้ำมันปลาน้ำจืด

3.2 ผลการวิเคราะห์หาชนิด และปริมาณกรดไขมัน

ผลการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำมันปลาน้ำจืด 100 กรัม พบว่ามีปริมาณของไขมันอิ่มตัวทั้งหมด 35.93 กรัม ไขมันไม่อิ่มตัวทั้งหมด 64.06 กรัม ซึ่งไขมันไม่อิ่มตัวแบ่งเป็น ไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว 46.97 กรัม โดยเป็นกรดไขมันโอเมก้า-9 เช่น กรดโอเลอิก ในปริมาณ 41.32 กรัม ส่วนไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนมีปริมาณทั้งหมด 17.09 กรัม ประกอบด้วยกรดไขมันโอเมก้า-3 ได้แก่กรดไขมันแอลฟาไลโนลินิก (α-linolenic acid, EPA) 1.48 กรัม อีพีเอ (eicosapentaenoic acid, EPA) 0.21 กรัม และ ดีเอชเอ (docosahexaenoicacid, DHA) 0.34 กรัม นอกจากนั้นยังมีกรดไขมันชนิดโอเมก้า-6 เช่น กรดไขมันแกมมาไลโนเลนิก (γ-linolenic acid) 0.35 กรัม และกรดไขมันไลโนเลอิก (linoleic acid) 12.45 กรัม ส่วนปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในกลุ่มโอเมก้า-9 ของน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดได้พบว่ามีปริมาณสูงกว่าน้ำมันจากปลาทะเลถึง 4 เท่า ดังแสดงผลในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณของกรดไขมันในน้ำมันปลาน้ำจืด (FFO) เทียบกับน้ำมันปลาทะเล (MFO)

องค์ประกอบของกรดไขมัน	กรัม/ 100 กรัม	
	น้ำมันปลาน้ำจืด (FFO)	น้ำมันปลาทะเล (MFO)
ไขมันอิ่มตัว	**35.93**	**35.27**
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	**46.97**	**23.78**
oleic acid (C18:1n9c)	41.19	11.24
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน	**17.09**	**40.97**
α- linolenic acid (C18:3n3)	1.48	0.83
eicosapentaenoic acid (C20: 5n3)	0.21	20.98
docosahexaenoic acid (C22:6n3)	0.34	12.25
γ-linolenic acid (C18:3n6)	0.35	0.34
linoleic acid (C18:2n6)	12.45	4.47
ไขมันไม่อิ่มตัว	**64.06**	**64.75**
Omega-3	2.20	34.15
Omega-6	14.23	6.24
Omega-9	**41.32**	**11.49**

3.3 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี

สมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดได้ พบว่าน้ำมันที่สกัดได้มีลักษณะเหลืองใส โปร่งแสง มีค่ากรด ค่าเปอร์ออกไซด์ เท่ากับ 4.48 และ 1.07 มิลลิกรัม/น้ำมันปลาน้ำจืด 1 กรัม และค่าไอโอดีนที่เป็นตัวบ่งชี้ว่าน้ำมันปลาน้ำจืดมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากหรือน้อย พบว่าค่าไอโอดีนเท่ากับ 4.49 ส่วนค่าของไขมันอิสระมีค่าอยู่ที่ 2.25 เปอร์เซ็นต์ยังอยู่ในช่วงมาตรฐานที่กำหนดคือ 1.8 - 3.5 เปอร์เซ็นต์ โดยจะเห็นว่าสมบัติทางเคมีของน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดได้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานขององค์การอาหารและยา (อย.) และมีค่าที่ใกล้เคียงกับน้ำมันปลาจากปลาทะเลที่จำหน่ายในท้องตลาดทั่วไปโดยแสดงค่าในตารางที่ 3

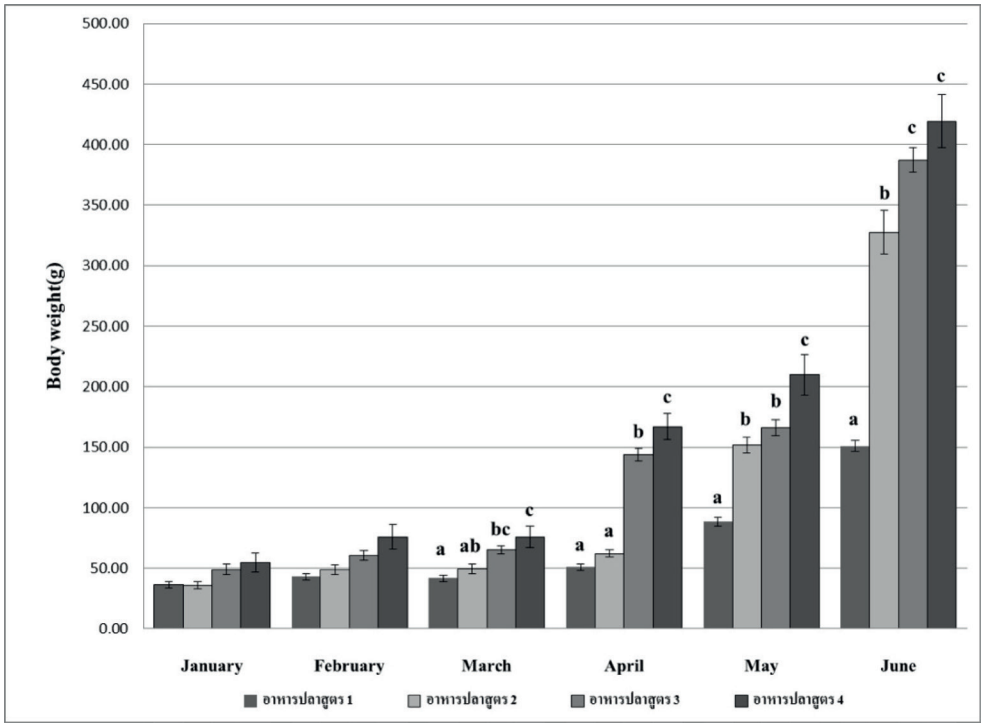
ตารางที่ 3 สมบัติทางเคมีของน้ำมันปลาน้ำจืด (FFO) เปรียบเทียบกับน้ำมันปลาทะเล

ชนิดน้ำมันปลา	ค่าของกรด (มก./น้ำมัน 1 กรัม)	ค่าเปอร์ออกไซด์ (มก./น้ำมัน 1 กรัม)	ค่าไอโอดีน	ปริมาณ FFA%
น้ำมันปลาน้ำจืด	4.48 ± 0.00	1.07 ± 0.40	4.49 ± 0.24	2.25 ± 0.65
น้ำมันปลาทะเลแบรนด์ 1	4.86 ± 0.65	1.53 ± 0.15	0.85 ± 0.36	2.63 ± 0.65
น้ำมันปลาทะเลแบรนด์ 2	5.23 ± 0.65	4.5 ± 0.43	1.99 ± 0.09	2.44 ± 0.65

หมายเหตุ ข้อมูลที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

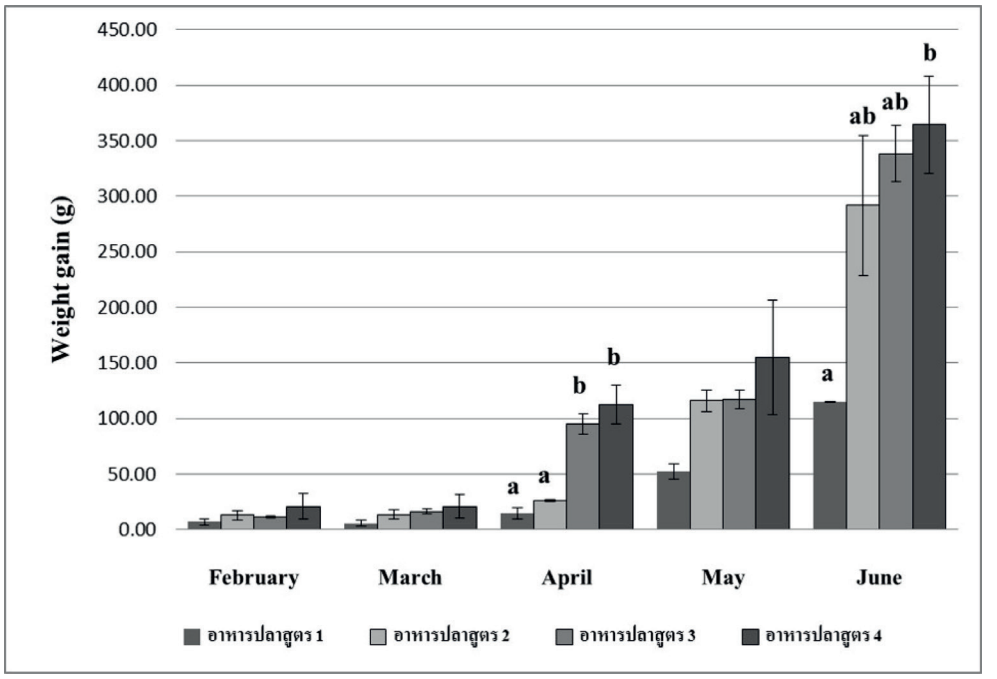
3.4 ผลของน้ำมันปลาน้ำจืดต่อการเจริญเติบโต

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสมที่ได้รับอาหารปลาสูตร 1, 2, 3 และ 4 เป็นระยะเวลา 5 เดือน พบว่าปลาหนังลูกผสมที่ให้อาหารปลาสูตร 2, 3 และ 4 มีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าปลาหนังลูกผสมที่ให้อาหารปลาสูตร 1 (สูตรควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยเฉพาะหน่วยการทดลองที่ให้อาหารปลาสูตร 3 และ 4 ที่ทำให้น้ำหนักตัวปลา (Body weight), น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain) และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) เพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่เดือนที่ 3 จนถึงเดือนที่ 5 ส่วนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ของทุกหน่วยการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน นอกจากนั้นการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสมที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ต่างกันในระยะเวลา 5 เดือน พบว่าปลาหนังลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารปลาสูตร 4 มีการเจริญเติบโตดีที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 2



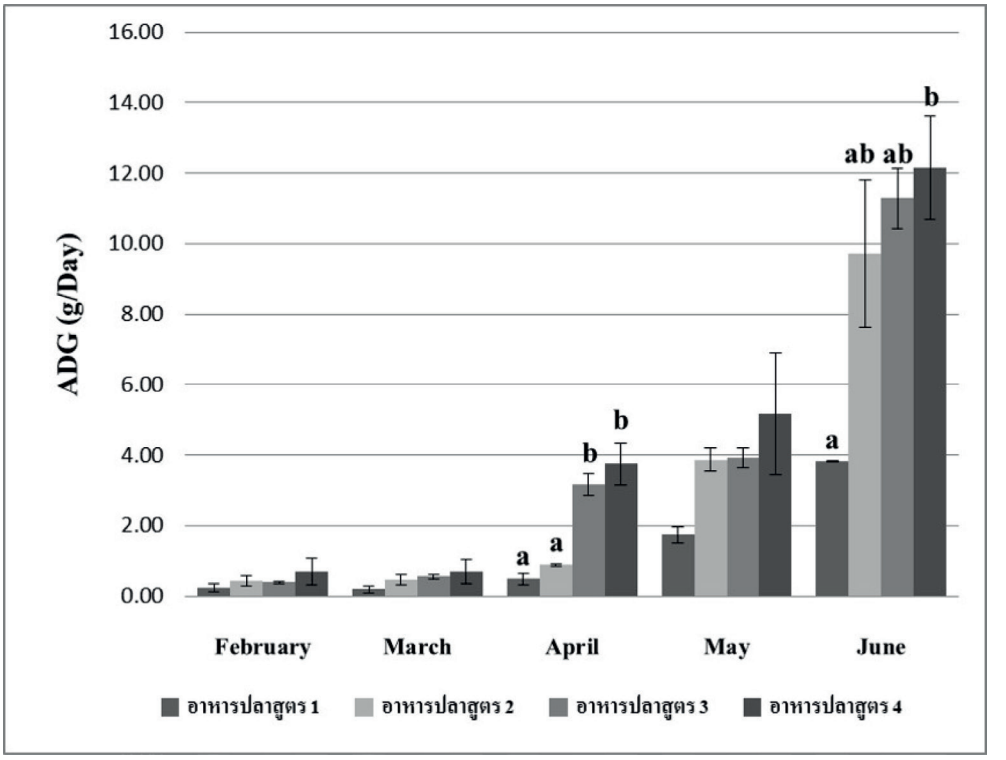
[a-b] ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันใน (คอลัมน์) ที่เดือนเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

(ก)



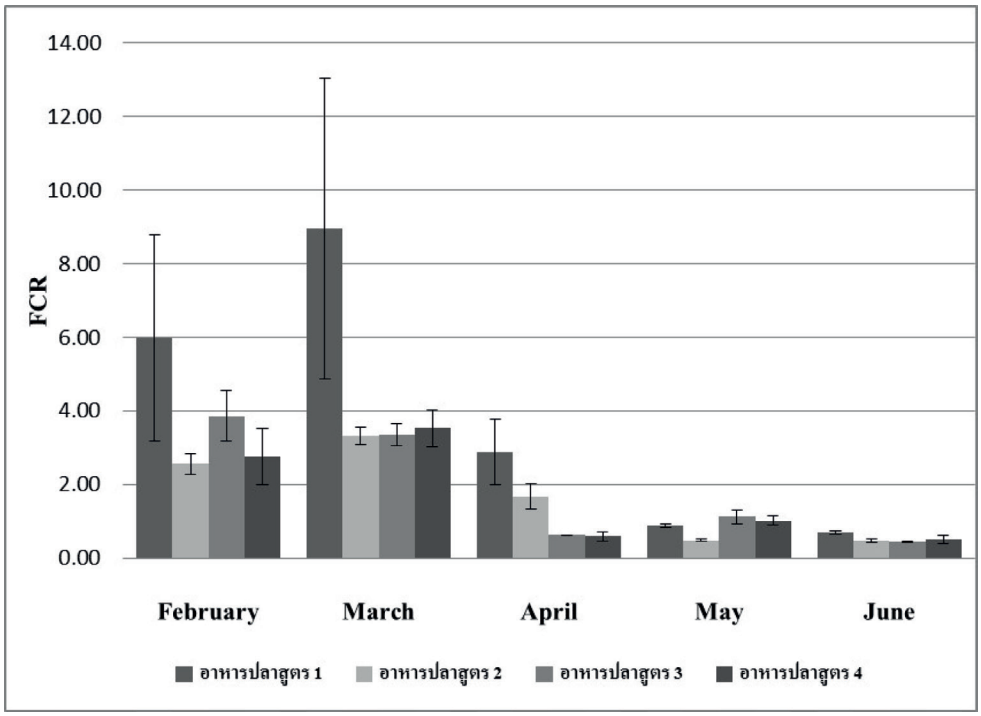
[a-b] ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันใน (คอลัมน์) ที่เดือนเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

(ข)



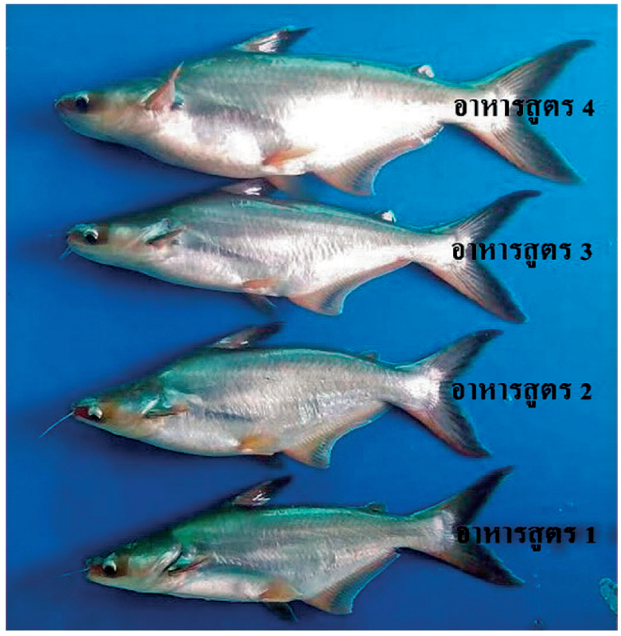
[a-b] ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันใน (คอลัมน์) ที่เดือนเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

(ค)



[a-b] ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันใน (คอลัมน์) ที่เดือนเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

(ง)

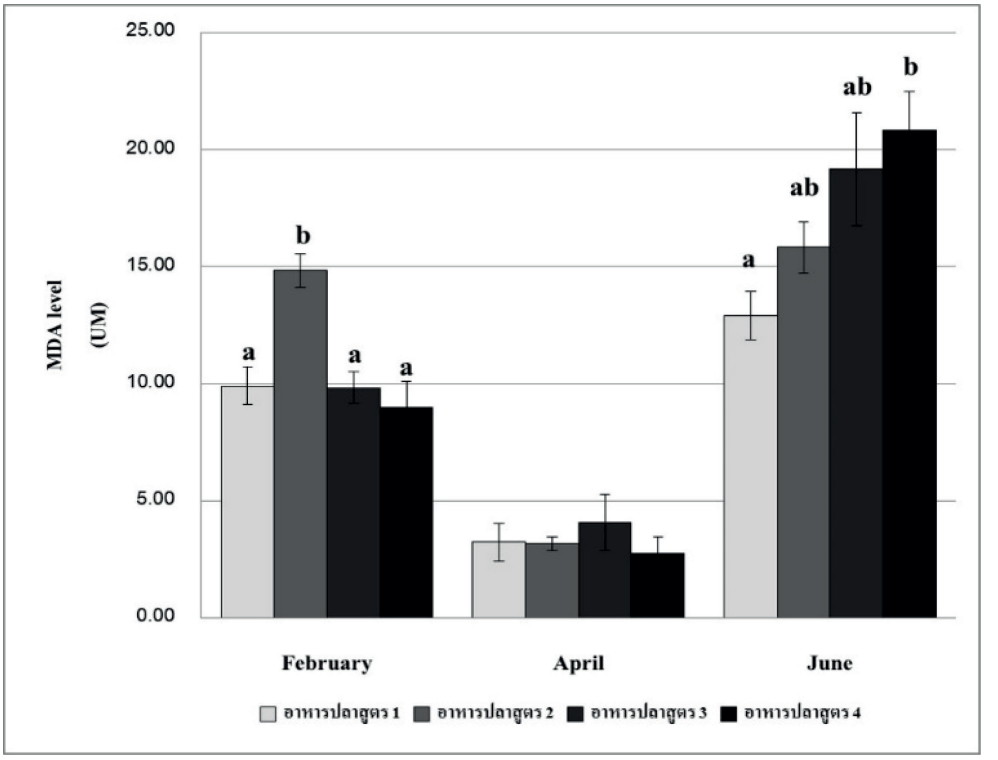


(จ)

รูปที่ 2 ผลของน้ำมันปลาน้ำจืดต่ออัตราการเจริญเติบโตและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในปลาหนังลูกผสมที่เลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน (ก = Body weight, ข = Weight gain, ค = ADG, ง = FCR, จ = ภาพการเปรียบเทียบเจริญเติบโตของปลาหนังลูกผสม)

3.5 การประเมินผลของน้ำมันปลาน้ำจืดต่อการป้องกันภาวะออกซิเดชั่น

จากการศึกษาการเสริมน้ำมันปลาน้ำจืดต่อการป้องกันภาวะออกซิเดชั่น โดยประเมินจากภาวะเครียดออกซิเดชั่นในปลาหนังลูกผสมด้วยการตรวจวัดปริมาณการเกิดลิพิดเปอร์-ออกซิเดชั่น ที่แสดงออกในรูปของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในพลาสมาของปลาหนังลูกผสม พบว่าในเดือนที่ 1 (กุมภาพันธ์) ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ของปลาหนังลูกผสม ในหน่วยการทดลองที่ได้รับอาหารปลาสูตร 2 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับทุกหน่วยการทดลอง และในเดือนที่ 3 (เมษายน) พบว่าระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ไม่มีแตกต่างกัน ส่วนในเดือนที่ 5 (มิถุนายน) พบว่าปลาหนังลูกผสมในหน่วยการทดลองที่ได้รับอาหารปลาสูตร 4 มีระดับมาลอนได-อัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเทียบกับปลาหนังลูกผสมที่ให้อาหารปลาสูตร 1 (สูตรควบคุม) ดังแสดงในรูปที่ 3



[a-b] ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันใน (คอลัมน์) ที่เดือนเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p<0.05

รูปที่ 3 ผลของน้ำมันปลาน้ำจืดที่ผสมในอาหารต่อปริมาณลิพิดเปอร์ออกซิเดชั่น (MDA) ในพลาสมาของปลาหนังลูกผสม

3.6 ผลการวิเคราะห์โปรตีน ไขมันและความชื้นในอาหารปลาชนิดเม็ดที่ใช้ในการทดลอง

จากการวิเคราะห์โปรตีนไขมัน และความชื้นในอาหารปลาชนิดเม็ดพบว่าปริมาณโปรตีนและความชื้นในอาหารปลาชนิดเม็ดที่ใช้ในการทดลองไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเก็บอาหารปลาไว้เป็นระยะเวลา 4 เดือน แต่กลับพบว่าปริมาณของไขมันในอาหารปลาทุกสูตรมีการลดลงตั้งแต่เดือนที่ 3 ของการทดลอง โดยเฉพาะอาหารปลาสูตร 1 มีการลดลงตั้งแต่เดือนที่ 2 ดังแสดงในตารางที่ 4-6

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในอาหารปลาแต่สูตรเป็นระยะเวลา 4 เดือน

เดือน	ปริมาณโปรตีนในอาหารปลา (% โดยน้ำหนักแห้ง)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
0	30.23 ± 0.29[a]	30.30 ± 0.67[a]	31.82 ± 0.73[a]	31.38 ± 0.84[a]
1	32.51 ± 0.02[a]	31.38 ± 1.01[a]	30.67 ± 0.04[a]	32.83 ± 0.29[a]
2	29.04 ± 0.89[a]	29.80 ± 0.66[a]	32.70 ± 1.27[a]	31.59 ± 2.13[a]
3	29.73 ± 1.23[a]	27.39 ± 1.57[a]	30.52 ± 0.03[a]	31.59 ± 2.13[a]
4	30.58 ± 0.51[a]	25.24 ± 2.12[a]	30.38 ± 0.08[a]	30.79 ± 0.18[a]

หมายเหตุ : ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[a-b] ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบปริมาณไขมันในอาหารปลาแต่ละสูตร เป็นระยะเวลา 4 เดือน

เดือน	ปริมาณไขมันในอาหารปลา(% โดยน้ำหนักแห้ง)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
0	9.82 ± 0.15[a]	8.85 ± 0.09[a]	8.34 ± 0.05[a]	9.02 ± 0.08[a]
1	8.68 ± 0.31[b]	9.93 ± 0.04[a]	8.48 ± 0.36[a]	8.73 ± 0.45[a]
2	8.65 ± 0.03[b]	9.57 ± 0.38[a]	8.38 ± 0.16[a]	8.75 ± 0.37[a]
3	8.63 ± 0.14[b]	5.24 ± 0.47[b]	7.24 ± 0.29[b]	5.39 ± 0.66[b]
4	8.12 ± 0.18[b]	5.86 ± 0.41[b]	7.60 ± 0.13[ab]	5.95 ± 0.50[b]

หมายเหตุ : ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[a-b] ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบความชื้นในอาหารปลาแต่สูตรเป็นเวลา 4 เดือน

เดือน	ความชื้นในอาหารปลา(% โดยน้ำหนักแห้ง)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
0	7.85 ± 0.70[a]	8.91 ± 0.20[a]	8.12 ± 0.15[a]	3.49 ± 0.26[a]
1	7.94 ± 0.32[a]	7.74 ± 0.30[a]	8.63 ± 0.47[a]	4.64 ± 0.44[a]
2	8.54 ± 1.05[a]	8.73 ± 0.23[a]	8.56 ± 0.16[a]	4.55 ± 0.68[a]
3	7.31 ± 0.42[a]	8.36 ± 0.78[a]	8.21 ± 0.80[a]	4.82 ± 0.39[a]
4	7.26 ± 0.29[a]	8.02 ± 0.34[a]	8.93 ± 0.43[a]	4.61 ± 0.40[a]

หมายเหตุ : ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[a-b] ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึง ความแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

4. วิจารณ์ผลการทดลอง

ก้อนไขมันในช่องท้องที่เป็นส่วนเหลือใช้จากอุตสาหกรรมการแปรรูปปลาหนังลูกผสม (ปลาเทโพ x ปลาสวาย) 1 กิโลกรัม สามารถสกัดเป็นน้ำมันปลาน้ำจืดได้ปริมาณร้อยละ 27 จากนั้นนำน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดได้ไปทดสอบลักษณะทางกายภาพและสมบัติทางเคมี พบว่าน้ำมันปลามีลักษณะสีเหลืองใส มีค่ากรด ค่าเปอร์ออกไซด์ ค่าไอโอดีน และค่ากรดไขมันอิสระ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานขององค์การอาหารและยา (อย.) เมื่อเทียบกับน้ำมันจากปลาทะเลที่จำหน่ายในท้องตลาด ส่วนชนิดและปริมาณของกรดไขมันเมื่อเทียบกับน้ำมันจากปลาทะเลที่จำหน่ายในท้องตลาด พบว่าปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน ยังมีค่าน้อยกว่าน้ำมันจากปลาทะเล โดยเฉพาะกรดไขมันโอเมก้า 3 มีปริมาณน้อยกว่ามาก แต่กลับพบปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวในกลุ่มโอเมก้า-9 ในน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดได้มีปริมาณสูงกว่าน้ำมันจากปลาทะเลถึง 4 เท่า โดยกรดโอเลอิกเป็นกรดไขมันที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์โดยจะทำให้ร่างกายตอบสนองต่อฮอร์โมน การติดเชื้อ และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน จากรายงานการวิจัยของ Hendrik และคณะ [8] พบว่าการให้กรดโอเลอิกทำให้ลดการเกิดภาวะออกซิเดชั่นที่เกิดจากไนตริกออกไซด์ได้ และยังมีรายงานการวิจัยอีกว่า กรดไขมันโอเลอิกยังมีบทบาทสำคัญในการป้องกันภาวะออกซิเดชั่น ช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และความดันโลหิตสูงเนื่องจากกรดไขมันโอเลอิกสามารถลดปริมาณไตรกลีเซอรอลและคอเลสเตอรอลในเลือดได้ [9]

น้ำมันปลาน้ำจืดจึงถูกนำมาผสมในอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาหนังลูกผสมเป็นระยะเวลา 5 เดือน พบว่าปลาหนังลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารปลาสูตร 4 มีการเจริญเติบโตดีที่สุด ทั้งนี้อาจมาจากสูตรอาหารที่ผสมน้ำมันปลาน้ำจืดมีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโต ได้แก่ กรดไขมันชนิดโอเมก้า 3, 6 และ 9 โดยพบกรดไขมันไม่อิ่มตัวโอเมก้า 9 ปริมาณมากที่สุด ซึ่งกรดไขมันโอเมก้าทั้ง 3 ชนิด มีบทบาทสำคัญในการรักษาความสมดุลของระบบไหลเวียนโลหิต ต้านการอักเสบ ลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น และลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรค [10] ส่งผลให้ปลามีสุขภาพดี ไม่เกิดโรคได้ง่ายและยังช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต โดยที่ผลการทดลองยังสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Chaiw-Yee และ Wing-Keong [11] ที่พบว่าปลานิลที่ให้อาหารผสมน้ำมันปลาทะเล 10 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองมากกว่าปลานิลที่ให้อาหารผสมน้ำมันพืช 10 เปอร์เซ็นต์ และยังพบอีกว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลที่ให้อาหารผสมน้ำมันปลาทะเล 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าปลานิลในกลุ่มที่ให้อาหารผสมน้ำมันพืช 10 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และรายงานการวิจัยของ Yoojam และคณะ [1] พบว่าการเสริมน้ำมันปลาน้ำจืดที่สกัดแบบหยาบ (crude oil) ที่ระดับร้อยละ 5 ในปลาหนังลูกผสมเป็นเวลา 5 เดือน ช่วยเพิ่มน้ำหนักเฉลี่ยมากกว่าทุกหน่วยการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

อย่างไรก็ตาม กลไกการเจริญเติบโตของปลาหนังไม่มีผลต่อการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชั่น เนื่องจากไม่มีผลในการช่วยลดระดับของการเกิดภาวะลิพิดเปอร์ออกซิเดชั่นในพลาสมา แต่กลับพบว่ามีผลเพิ่มภาวะดังกล่าว โดยจะสามารถอธิบายได้ว่าจากการเสริมอาหารด้วยน้ำมันปลาน้ำจืดที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีผลทำให้เกิดภาวะลิพิดเปอร์ออกซิเดชั่นเพิ่มมากขึ้น โดยสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Yoojam และคณะ [1] พบว่าภาวะเครียดออกซิเดชั่นในปลาหนังลูกผสมที่ให้น้ำมันปลาแบบสกัดหยาบที่ปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเดือนที่ 3 และเดือนที่ 5 ของการเลี้ยงปลามีแนวโน้มสูงขึ้นตามระดับของการเสริมน้ำมัน และรายงานการวิจัยของ Carolina และคณะ [12] พบว่าการให้อาหารผสมน้ำมันปลาทะเลทำให้ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้มีผลให้ระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathioneperoxidase) และกลูตาไทโอนรีดักเตส (glutathione reductase) สูงขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญอีกด้วย

จากผลการวิจัยในครั้งนี้พบว่า การให้อาหารผสมน้ำมันปลาน้ำจืดช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตในปลาหนังลูกผสมได้ดี โดยกลไกการออกฤทธิ์อาจเกิดจากกรดไขมันโอเมก้า ในน้ำมันปลาที่มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชั่น และต้านการอักเสบ ซึ่งส่งผลต่อการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้ปลาสุขภาพแข็งแรง ทนต่อโรค และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี โดยจะทำการประเมินฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันปลาน้ำจืดต่อปริมาณเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) และตัวกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (cytokine) ที่มีผลต่อกระบวนการอักเสบและการทำงานของภูมิคุ้มกันในการศึกษาครั้งต่อไป

การวิเคราะห์คุณภาพของอาหารปลาแต่ละสูตรเป็นระยะเวลา 4 เดือนพบว่าปริมาณไขมันในอาหารปลาชนิดเม็ดมีการลดลงตั้งแต่เดือนที่ 3 ในอาหารปลาทุกสูตรโดยเฉพาะอาหารปลาสูตร 1 มีการลดลงตั้งแต่เดือนที่ 2 ของการทดลอง โดยสาเหตุการลดลงของไขมันในอาหารอาจจะเกิดจากการย่อยสลายไขมัน (lipid hydrolysis) การเกิดการออกซิเดชั่นของไขมันในอาหารปลา หรืออาจมาจากการเสื่อมคุณภาพของวัตถุดิบที่นำมาใช้เป็นส่วนผสมในสูตรอาหารปลา [13] ส่วนปริมาณโปรตีนและค่าความชื้นไม่มีความแตกต่างกันในอาหารปลาแต่ละสูตรที่เก็บไว้เป็นระยะเวลา 4 เดือน ดังนั้นเพื่อรักษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหารปลา นอกจากเลือกใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพแล้ว การเก็บรักษาวัตถุดิบต้องมีการควบคุมอุณหภูมิความชื้น และระยะเวลาในการเก็บอาหารปลาไม่ควรเกิน 3 เดือน

5. สรุปผลการวิจัย

ก้อนไขมันที่เป็นส่วนเหลือใช้จากอุตสาหกรรมการแปรรูปปลาน้ำจืดสามารถนำมาสกัดเป็นน้ำมันปลาน้ำจืดเพื่อเพิ่มมูลค่า โดยมีสมบัติทางเคมีและกายภาพที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของน้ำมันสำหรับบริโภคตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข เมื่อนำมาเสริมลงในอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงปลาหนังลูกผสมที่อัตราส่วนร้อยละ 1.5 สามารถช่วยเพิ่มน้ำหนักตัวของปลาหนังลูกผสมได้มากที่สุด ดังนั้นจึงสามารถใช้ทดแทนน้ำมันปลาทะเลที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และเพิ่มมูลค่าส่วนเหลือใช้ที่ได้ในกระบวนการแปรรูปปลาน้ำจืดได้เป็นอย่างดี

6. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติประจำปีการศึกษา 2559 ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยแม่โจ้ และฐานเรียนรู้ปลาบึกเชิงบูรณาการ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำที่เอื้อเฟื้อพื้นที่ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

7. เอกสารอ้างอิง

1. Yoojam, S., Meng-umphan, K., Srimaroeng, C. and Amornlerdpison, D., 2015, “Effect of Freshwater Fish Oil on Growth, Oxidative Stress and Omega-3 Fatty acid Content in Hybrid Catfish,” *Journal of Fisheries Technology Research*, 9, pp. 11-24. (In Thai).

2. Chantachum, S., Benjakul, S. and Sriwirat, N., 2000, “Separation and Quality of Fish Oil from Precooked and Non-precooked Tuna Heads,” *Food Chemistry*, 69, pp. 289-294.

3. Kawashima, A., Iwaki, R. and Honda, K., 2006, “Experiment Study on the Removal of Dioxins and Coplanar Poly-Chlorinated Biphenyls (PCBs) from Fish Oil,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, pp. 10294-10299.

4. Association of Official Analytical Chemists, 2012, In Official Methods of Analysis of AOAC, 19th ed., AOAC International,Gaithersburg, MD, USA, Official Method 996.06.

5. https://www.caymanchem.com/pdfs/10009055.Pdf.[July 2017].

6. Association of Official Analytical Chemists, 2012, Official Methods of Analysis of AOAC International, 19th ed., Virginia, AOAC.

7. Whangchai, N., 2011, Aquatic Animal Nutrition, Maejo University Chiangmai, 266 p. (In Thai)

8. Hendrik, G., Lonneke, M.B., Joost, O.F.,Branko, B., Anton, J.V.Z., Marianne, C.V. and Jaap, A.J., 2016, “Oleic Acid Increases Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production and Decreases Endothelial Nitric Oxide Synthase Activity in Cultured Endothelial Cells,” *European Journal of Pharmacology*, 751, pp. 67–72.

9. Gabriele, V.G., Francesco, N., Math J.H.G. and Luisa, S., 2010, “Oleic Acid as an Inhibitor of Fatty Acid and Cholesterol Synthesis,” *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, pp. 1365–1373.

10. Johnson, M. and Bradford, C., 2014, “Omega-3, Omega-6 and Omega-9 Fatty Acids: Implications for Cardiovascular and Other Diseases,” *Journal of Glycomics Lipidomics*, 4, pp. 1-8.

11. Chaiw-Yee, T. and Wing-Keong, N., 2016, "The Implications of Substituting Dietary Fish Oil with Vegetable Oils on the Growth Performance, Fillet Fatty Acid Profile and Modulation of the Fatty Acid Elongase, Desaturase and Oxidation Activities of Red Hybrid Tilapia *(Oreochromissp)," Aquaculture*, 465, pp. 311- 322.

12. Carolina, C., Alexandre, F.D., Filipe, C., Stéphane, P., Geneviève, C., Amalia, P.J., Helena, P. and Aires, O.T., 2016, "Liver and Intestine Oxidative Status of Gilthead Sea Bream Fed Vegetable Oil and Carbohydrate Rich Diets," *Aquaculture*, 464, pp. 655-672.

13. Van, L.M., Vanderperrena, E. and Raesb, K., 2017, "The Effect of Raw Material Combination on the Nutritional Composition and Stability of Four Types of Autolyzed Fish Silage," *Animal Feed Science and Technology*, 234, pp. 284-294.