

อาหารฟังก์ชันจากท้องทะเล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทศพร นามโสง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

ในปัจจุบันการบริโภคอาหารทะเลมีเพิ่มขึ้นในหลายๆประเทศ การบริโภคเพิ่มมาตั้งแต่ปี 1980 ตั้งแต่ผู้บริโภคเริ่มมีความเข้าใจในเรื่องสุขภาพมากขึ้น จากข้อมูลของ FAO ในปี 2010 จำนวนผลิตภัณฑ์ประมงของทั้งโลก (ปลาและสัตว์น้ำ) มีถึง 148.5 ล้านตัน แต่มีเพียง 50-60% เท่านั้นที่ใช้เป็นอาหารมนุษย์โดยตรงที่เหลือถูกนำไปทำเป็นอาหารสัตว์โปรตีนสูง และปุย ต่อมาเริ่มมีการค้นพบผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ จากทะเลหลายชนิดที่มีกิจกรรมทางชีวภาพ ตามตารางที่ 1¹

ตารางที่ 1 อาหารฟังก์ชันจากทะเลและประโยชน์ต่อสุขภาพ

อาหาร	สารประกอบที่มีกิจกรรมชีวภาพ	แหล่งที่มา	ประโยชน์ต่อสุขภาพ
กรดไขมันโอเมก้า 3	EPA DPA DHA	ปลา (ชาร์ดิน แอนโชวี แมคเคอรอล แฮริง แซลมอน คอด) ฟังไจ สาหร่าย	ป้องกันและรักษาโรค หลอดเลือดหัวใจ ความดันโลหิตสูง อาการอักเสบต่างๆ มะเร็ง และมีความจำเป็นต่อการพัฒนาสมองและเรตินา
โคติน/โคโตซาน	โคโตซานชนิดน.โมเลกุลต่ำ โคโตโพลิไกลิแซคคาไรด์ กลูโคซามีน	หอยนางรม ปู กุ้ง ปลาหมึก เคย	ต้านจุลินทรีย์ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ป้องกันโรคไต ป้องกันเบาหวานชนิดที่ 2 ลดระดับ LDL คอเลสเตอรอล
โปรตีน	โปรตีนไฮโดรไลเซต เปปไทด์ที่มีกิจกรรมทางชีวภาพ เอนไซม์	ปลา สัตว์น้ำเปลือกแข็ง ชาร์ดิน แซลมอน หอยนางรม แฮริง	สารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ ACE สร้างภูมิคุ้มกัน ต้าน

		หอยแมลงภู่ เคย สาหร่าย	จุลินทรีย์ ด้านความดัน โลหิตสูง
คาโรทีนอยด์	α , β คาโรทีน ไลโคปีน และ แซนโทฟิล (cryptoxanthin lutein zeaxanthin capsanthin)	กุ้ง ปู แซลมอน ทูน่า หอยแมลงภู่ ปลาหมึก ปลิงทะเล แฮ ริง	ต้านการอักเสบ ต้าน อนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง ป้องกันโรคหลอดเลือด หัวใจ และโรคระบบ ประสาทเสื่อม
ฟีนอลิก / คาร์โบไฮเดรต	คาราจีแนน วุ้น กุลูต้าไธโอน อัลจินท	สาหร่ายเซลล์เดียว สาหร่ายหลายเซลล์	ป้องกันการตกตะกอน ป้องกันโรคหัวใจ ต้าน อนุมูลอิสระ ต้านการ อักเสบ ต้านการเกิดเนื้อ อเนก ต้านจุลินทรีย์ ต้าน การเกิดเบาหวาน

Lee et.al ² รายงานว่ามีการใช้เทคโนโลยี membrane bioreactor ผลิตอาหารฟังก์ชันมูลค่าสูงจากของเหลือทิ้งจากผลิตภัณฑ์ประมง ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีกิจกรรมทางชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ การเสริมพวกโภชนเภสัช (Nutraceutical) ลงในอาหารเป็นวิธีการที่นิยมในการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการสำหรับผู้บริโภคที่ตระหนักในเรื่องสุขภาพ ซึ่งความหลากหลายทางชีวภาพทั้งหมดของโลกนั้น ครึ่งหนึ่งมาจากทะเล ดังนั้นส่วนผสมต่างๆของอาหารและโภชนเภสัชที่ได้จากแหล่งทะเล สามารถพัฒนาขึ้นจากสิ่งมีชีวิตหลายชนิดในทะเลเช่น พืชทะเล ฟองน้ำ จุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น สาหร่ายทะเลก็เป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากมีปริมาณโพลีฟีนอลและคาโรทีน และแหล่งอื่นๆ เช่นปลา และของเหลือจากการประมง โภชนเภสัชที่ได้จากทะเลเช่น น้ำมันปลา (กรดไขมันโอเมก้า 3) น้ำมันจากสาหร่าย น้ำมันตับปลาฉลาม กระจุกอ่อน ปลาฉลาม ไคติน ไคโตซาน เอนไซม์ เปปไทด์ และสารประกอบต่างๆที่เกี่ยวข้อง วิตามิน โปรตีนไฮโดรไลเซต และผลิตภัณฑ์อื่นๆที่เป็นที่สนใจทั้งในอุตสาหกรรมยาและอุตสาหกรรมอาหาร

โอเมก้า 3

กรดไขมันไม่อิ่มตัวโอเมก้า 3 เช่น EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ได้โดยตรงจากอาหารทะเล EPA และ DHA สังเคราะห์ได้จากพืชทะเลเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ เช่น ไฟโตแพลงตอน และสาหร่าย และเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารเป็นไขมันของสัตว์ทะเลเช่นปลาและสัตว์น้ำที่เลี้ยงลูกด้วยนม ปัจจุบันมีรายงานมากมายที่สนับสนุนว่าโอเมก้า 3 มีประโยชน์ต่อสุขภาพมนุษย์ การศึกษาทางหลอดทดลอง (in vitro) ชี้ให้เห็นว่ากรดไขมันโอเมก้า 3 มีผลต่อองค์ประกอบของไขมันในเลือด ต่อสุขภาพของหัวใจ ต่อ

องค์ประกอบของไขมันที่เมมเบรน ต่อการสังเคราะห์ eicosanoid การศึกษาด้านวิทยาการระบาด (epidemiology) แนะนำว่าการกิน โอเมก้า 3 ที่ได้จากแหล่งธรรมชาติ มีผลต่อการรักษาโรค รวมถึงโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดหัวใจ โรคกระเพาะ โรคมะเร็ง โรคภูมิแพ้ และโรคจิต DHA เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายโซ่ยาวที่อยู่ในสารสีเทาในสมอง และอยู่ในเรตินา DHA มีอยู่ตามธรรมชาติในนมมารดา จึงมีความจำเป็น ต่อการพัฒนาของสมองและดวงตาของทารก น้ำมันโอเมก้า 3 แม้ว่าแหล่งกำเนิดจริงๆมาจากสาหร่ายทะเล แต่ก็พบได้ในปลาทะเลและสัตว์น้ำทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนม ไขมันจากปลาทะเลไขมันสูงเช่นปลาแมคเคอเรล และแฮริง ชั้นไขมันของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่นสิงโตทะเล และปลาวาฬ และจากเคย ก็ล้วนอุดมไปด้วยกรดไขมันโอเมก้า 3 น้ำมัน DHA จากสาหร่ายเซลล์เดียวและจากแหล่งอื่นมีการผลิตแล้วทางการค้า น้ำมันจากสาหร่ายจะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่จำเพาะเจาะจงมากกว่าที่จะเป็นส่วนผสมของกรดไขมันหลายๆชนิด ดังนั้นน้ำมันจากสาหร่ายจึงได้เปรียบกว่าน้ำมันปลาซึ่งมีส่วนผสมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายชนิด แหล่งหลักๆของน้ำมันปลาได้จาก pelagic species เช่น แซลมอน ทูน่า แมคเคอเรล แฮริง หรือปลาตัวเล็กๆเช่นแอนโชวี ตัวเคยก็เริ่มเป็นแหล่งน้ำมันที่สำคัญ เช่นเดียวกัน FDA ได้แนะนำว่าการบริโภค DHA และ/หรือ EPA ในปริมาณถึง 3 กรัมต่อวันถือว่าปลอดภัย (GRAS)

โคโคซาน โคลิโกแซคคาไรด์ และกลูโคซามีน

โคโคซานและโพลีเมอร์ของโคโคซานเป็น อะมิโน – โพลีแซคคาไรด์ ที่มีคุณสมบัติหลายมิติและมีโครงสร้างที่มีลักษณะเฉพาะ เดิมโคโคซานและอนุพันธ์ของโคโคซานเป็นที่สนใจและถูกนำมาใช้ทั้งในอาหารและในอุตสาหกรรมยา เมื่อตัดหมู่ acetyl บางส่วนที่โมเลกุลของโคโคซานพบว่าจะได้อนุพันธ์หลายชนิดเช่น โคโคซาน โคลิโกแซคคาไรด์ (COS) และกลูโคซามีน ซึ่งละลายน้ำได้ดีกว่า ทำให้การนำไปใช้เป็นโภชนเภสัช ดีกว่าอยู่ในรูปโคโคซานซึ่งไม่ละลายน้ำ ผลึกภัณฑ์โคโคซานในท้องตลาดปัจจุบันใช้เป็นตัวลดไขมัน และลดคอเลสเตอรอล โคโคซานเป็นที่น่าสนใจเนื่องจากมีคุณสมบัติทางชีวภาพที่หลากหลาย รวมทั้งย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และไม่เป็นพิษ³ Zhang et al⁴ ได้รายงานว่ามีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล LDL และไตรกลีเซอไรด์ในตับของหนูทดลองที่ให้อาหารที่ไขมันสูง ส่วน COS มีปฏิกิริยาต้านแบคทีเรียและต้านการเกิดเนื้องอก และเพิ่มภูมิคุ้มกัน⁵ COS สามารถต้านอนุมูลอิสระในเซลล์สิ่งมีชีวิตและมีศักยภาพที่จะใช้เป็นอาหารเสริมหรือโภชนเภสัช⁶ นอกจากนี้เมื่อทดลองกับหนูทดลองที่ปรับให้มีภาวะดื้ออินซูลิน พบว่า COS ยังมีผลต่อการควบคุมน้ำหนักร่างกาย และมีผลต่อรูปแบบของกลูโคสและไขมันในเลือด⁷ โคโคซานที่ละลายได้ในกรดที่เอาหมู่ acetyl ออกไป 99% และมีความหนืดต่ำกว่านั้นพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้มากกว่าโคโคซานที่ละลายได้ในน้ำ⁸

กลูโคซามีน

อยู่ในเนื้อเยื่อพังผืดและเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน กลูโคซามีนเป็นองค์ประกอบของ glycosaminoglycan ดังนั้นกลูโคซามีนใช้รักษาภาวะกระดูกพรุน และโรคเกี่ยวกับข้อที่เกิดจากการเสื่อมของเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน⁹ Nagaoka et al⁹ ได้รายงานว่าการใช้กลูโคซามีนไม่ได้เพียงแต่เป็นตัวป้องกันการเกิดข้อเสื่อม แต่ยังมีผลในการต้านการอักเสบด้วย การศึกษาปัจจุบันพบว่าสาร chondroitin –sulfate ร่วมกับ glucosamine sulfate ช่วยรักษาภาวะข้อเข่าเสื่อมในระยะยาวได้ด้วย¹⁰

คาโรทีนอยด์และแซนโทฟิล

คาโรทีนอยด์มีอยู่ในผิวหนัง เปลือก หรือเนื้อของสัตว์น้ำ ที่มีสีเหลือง ส้มและแดง มีในสาหร่ายบางชนิดด้วย หนึ่งในคาโรทีนอยด์ที่มีฟังก์ชันมากที่สุดคือ เบต้าคาโรทีน ซึ่งเป็นตัวตั้งต้นที่จะเปลี่ยนเป็นวิตามินเอต่อไป นอกจากนี้ก็มีกลุ่มคาโรทีนอยด์อื่นๆอีกเช่น α carotene, cryptoxanthin , 3,4 dehydro β carotene และ β apo 8' carotenic acid ethyl ester, astaxanthin, canthaxanthin และ echinenone คาโรทีนอยด์จากแหล่งทะเลสามารถยับยั้งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระในลำไส้ และลดการดูดซึมไตรกลีเซอไรด์ได้¹¹ Fucoxanthin ก็เป็นคาโรทีนอยด์แหล่งใหญ่ที่มาจากทะเล พบในสาหร่ายสีน้ำตาล ช่วยทำให้อาการต้านอนุมูลอิสระดีขึ้น และลดปริมาณกลูโคสในเลือด¹² พบว่า Fucoxanthin และสารเมตาโบไลต์ที่สกัดได้จากเพรียงหัวหอม นำไปใช้ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว เซลล์มะเร็งเต้านม และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังป้องกันการเกิดโรคอ้วนและเมตาโบลิซึมผิดปกติ¹³

เอนไซม์

มีเอนไซม์หลากหลายชนิดที่สกัดได้จากของเหลือจากกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์ประมง เช่น เอนไซม์ alkaline phosphatase , hyaluronidase , acetylglucosaminidase , chitinase และ protease Hayet et.al¹⁴ ได้รายงานถึงการสกัดเอนไซม์ serine protease ชนิดโมเลกุลต่ำจากเครื่องในของปลาซาร์ดีน (*Sardinella aurita*) ซึ่งมีปฏิกิริยาในการย่อยคอลลาเจน เอนไซม์ alkaline phosphatase ที่แยกได้จากน้ำที่ใช้ละลายกุ้งแช่แข็งใช้เป็นเครื่องมือทางคลินิกในการวินิจฉัยโรคต่างๆเช่นโรคกระดูก เนื้ออก โรคตับและโรคขาดวิตามิน ดี หอยแครงปลอดจากทะเลอาร์คติกมีเอนไซม์เปปไทด์ที่ทำปฏิกิริยาได้ดีในที่เย็น และมีปฏิกิริยาที่ว่องไวในการต่อต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ¹⁵

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนหรือโปรตีนไฮโดรไลเซต (Protein hydrolysates)

เตรียม Fish protein hydrolysate (FPH) โดยย่อยเนื้อปลาด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีน ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งในการเปลี่ยนชิ้นส่วนของปลาที่ใช้ไม่ได้มาเป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนที่กินได้แทนที่จะเอาไปทำปุ๋ยหรืออาหารสัตว์ FPH มีศักยภาพสูงที่เอาไปใช้ทางด้านโภชนาการหรือยา FPH มีสมคุณกรดอะมิโนที่ต่ำ เลิศ ย่อยง่าย ดูดซึมได้เร็ว และมีองค์ประกอบของเปปไทด์ที่มีกิจกรรมทางชีวภาพ¹⁶ FPH มีสมบัติเชิงหน้าที่ในอาหาร (functional properties) เช่น อุ่นน้ำ เกิดเจล ตีเป็นฟอง และทำให้เกิดอิมัลชัน นอกจากนี้ลำดับของกรด อะมิโนใน FPH อาจจะทำให้มีหน้าที่ในเชิงชีวภาพนอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการ เช่น การต้านความดันโลหิตสูง สร้างภูมิคุ้มกัน ระวังปวด ต้านการแข็งตัวของเลือด ต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง และต้านจุลินทรีย์¹⁷ ประสิทธิภาพการต้านความดันโลหิตสูงของเปปไทด์กลุ่มนี้คือมันจะไปยับยั้งเอนไซม์ ACE ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เร่งความดันเลือด ซึ่งพบว่า เปปไทด์ที่ได้จากปลาแซลมอน ปลิงทะเล ปลาหมึกมีคุณสมบัติในการระงับเอนไซม์เหล่านี้¹⁸ มีผู้รายงานว่าคอลลาเจนเปปไทด์จากสัตว์น้ำ สามารถป้องกันโรคเบาหวาน และโรคความดันโลหิตสูงได้¹⁹ Pei et.al²⁰ ได้รายงานว่า การใช้คอลลาเจนเปปไทด์ที่สกัดจาก Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) ช่วยพัฒนาเรื่องการเรียนรู้และความจำให้แก่หนูทดลองที่อายุมาก เพราะเปปไทด์ทำให้การทำลายสมองจากกระบวนการออกซิเดชันลดลง ดังนั้นสามารถใช้เป็นอาหารฟังก์ชันในเรื่องการพัฒนาความจำได้ Zhu et.al²¹ ศึกษาประสิทธิภาพของหนังปลาแซลมอนที่มีต่อเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งพบว่าการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากแหล่งอาหารทะเลรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานสามารถปรับปรุงการย่อยสลายกลูโคสและไขมันของผู้ป่วยโรคเบาหวานและผู้ป่วยความดันโลหิตสูง Je Cho and Ahn²² ได้พบว่าไตรเปปไทด์จากโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยส่วนที่เหลือทิ้งของปลาแซลมอนด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีนมีคุณสมบัติด้านการอักเสบด้วย

น้ำจากทะเลลึก

Kim et.al²³ รายงานว่าน้ำจากทะเลลึก (deep sea water หรือ DSW) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการลุกลามของมะเร็งเต้านม และน้ำจากทะเลลึกที่สกัดเกล็ดออกแล้วมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคหลอดเลือดในกระต่ายทดลองที่ให้อาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงซึ่งดีกว่าน้ำที่สกัดเกล็ดออกแล้วที่ได้จากพื้นผิวทะเล

สรุป

ทรัพยากรจากทะเลเป็นแหล่งที่ดีของสารที่เป็นโภชนเภสัช และสารที่มีกิจกรรมทางชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ตัวอย่างเช่นกรดไขมันโอเมก้า 3 จากปลาทะเลในน้ำลึก ซึ่งได้นำมาใช้ในเชิงประโยชน์แก่สุขภาพอย่างมากมายและมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในระดับแถวหน้า ปัจจุบันงานวิจัยเริ่มมุ่งเป้าไปที่สาหร่ายทะเล

และส่วนประกอบของไขมันที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ และยังคงมีงานวิจัยที่พัฒนาไปอีกเพื่อนำสิ่งที่เป็นประโยชน์เหล่านี้มาใช้กับมนุษย์

เอกสารอ้างอิง

1. Fereidoon Shahidi and Priyatharini Ambigaipalan 2015 Novel functional food ingredients from marine sources. *Current opinion in Food Science* 2015, 2:123-129
2. Lee JK et.al 2014 Development of functional materials from seafood by-products by membrane separation technology, In *Seafood by-products* .edited by Kim SW. New York: Springer ; 2014:35-62
3. Raafat D, Sahl HG 2009 Chitosan and its antimicrobial potential – a critical literature survey. *Microbial Biotechnol* 2009 , 2 : 186-201
4. Zhang J,et.al 2012 A comparative study on hypolipidemic activities of high and low molecular weight chitosan in rats. *Int J. Biol Macromol* 2012, 51:504-508
5. Kuroiwa T. et al 2009 Selective and stable production of physiologically active chitosan oligosaccharides using an enzymetic membrane bioreactor. *Process Biochem* 2009, 44:283-287
6. Ngo DN, et.al 2010 Free radical scavenging activities of low molecular weight chitin oligosaccharides lead to an antioxidant effect in live cells. *J Food Biochem* 2010 , 34:161-177
7. Kurmar SG . et.al 2009 Plasma proteome analysis for anti-obesity and anti-diabetic potentials of chitosan oligosaccharides in ob/ob mice. *Proteomics* 2009, 9 : 2149-2162
8. Jung EJ. et al 2010 Antibacterial activity of chitosans with different degrees of deacetylation and viscosities. *Int J Food Sci Technol* 2010 , 45 : 676-682
9. Nagaoka I, et al 2011 Recent aspects of the anti –inflammatory actions of glucosamine. *Cabohydr Polym* 2011, 84 : 825 -830
10. Bottegoni C. 2014 Oral chondroprotection with nutraceuticals made of chondroitin sulfate plus glucosamine sulphate in osteoarthritis. *Catbohydr Polym* 2014 , 109 : 126-138

11. Mutsumoto M. et al 2010 Suppressive effects of the marine carotenoids , fucoxanthin and fucoxanthinol on triglyceride absorption in lymph duct – cannulated rats. Eur J. Nutr 2010, 49:243-249
12. Miyashita K, et.al 2011 The allenic carotenoid fucoxanthin, a novel marine nutraceutical from brown seaweeds. J Sci Food Agric 2011, 91: 1166-1174
13. Miyashita K. 2013 Anti-obesity therapy by food component : unique activity of marine carotenoid, fucoxanthin, Obes Control Ther 2013,1:4
14. Hayet BK,et.al 2011 Low molecular weight serine protease from the viscera of sardinelle (*Sardinella aurita*) with collagenolytic activity : purification and characterization . Food Chem 2011, 124 : 788-794
15. Shahidi F. et.al 2010 Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion . Eur J Lipid Sci Technol 2010, 112:930-940
16. Ellas RJ. et al 2008 Antioxidant activity of proteins and peptides . Crit Rev Food Sci Nutr 2008, 48:430-441
17. 17.Shahidi F, Zhong Y 2008 Biopeptides. J AOAC Int 2008 , 91:914-931
18. Amado IR et al 2013 Production of antihypertensive and antioxidant activities by enzymatic hydrolysis of protein concentrates recovered by ultrafiltration from cuttlefish processing wastewaters. Biochem Eng J. 2013, 76:43-54
19. Zhu CF et al. 2010 Effect of marine collagen peptides on markers of metabolic nuclear receptors in type 2 diabetic patients with /without hypertension. Biomed Environ Sci 2010, 23:113-120
20. Pei X, et al 2010 Marine collagen peptide isolated from Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) skin facilitates learning and memory in aged mice. Food Chem 2010 ,118:333-340
21. Zhu CF et al. 2010 Effect of marine collagen peptides on markers of metabolic nuclear receptors in type 2 diabetic patients with /without hypertension. Biomed Environ Sci 2010, 23:113-120
22. Je Jy , Cho YS Ahn 2014 Purification and anti- inflammatory action of tripeptide from salmon pectoral fin by product protein hydrolysate . Food Chem 2014 , 168:151-156
23. Kim S. et.al 2013 Mineral – enriched deep-sea water inhibits the metastatic potential of human breast cancer cell lines. Int J. Oncol 2013, 43:1691-1700