



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)

ปริญญา

โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์

สัตว์บาล

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารต่อระบบภูมิคุ้มกัน
และสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหลังหย่านม

Effect of Dietary Cassava Leaves Meal on Immunological Response
and Performance of Weaned Pigs

نامผู้วิจัย นางสาวนภาพร เผือกสี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์อุทัย คั่นโธ, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์สุกัญญา จิตตพรพงษ์, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชนินทร์ ติรวัฒนวานิช, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาตมากร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารต่อระบบภูมิคุ้มกัน
และสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหลังหย่านม

Effect of Dietary Cassava Leaves Meal on Immunological
Response and Performance of Weaned Pigs

โดย

นางสาวนภาพร เพือกสี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)

พ.ศ. 2552

นภาพร เพ็ชร์ 2552: ผลของการใช้ไขมันลำปะหลังในสูตรอาหารต่อระบบภูมิคุ้มกันและสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหลังหย่านม ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์) สาขาโภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์อุทัย คันโธ, วท.ม. 75 หน้า

ศึกษาการใช้ไขมันลำปะหลังแห้งในสูตรอาหารต่อระบบภูมิคุ้มกันและสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหลังหย่านม วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) ใช้สุกรหย่านมลูกผสมสามสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์×แลนด์เรซ×คูร์ร็อก) อายุ 28 วัน จำนวน 128 ตัว แบ่งเป็น 16 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 8 ตัว อาหารทดลอง 4 สูตร (Treatment) ใช้ไขมันลำปะหลังแห้งเป็นแหล่งโปรตีนในระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร โดยแต่ละสูตรใช้เลี้ยงลูกสุกร 4 กลุ่มการทดลองเป็นระยะเวลา 35 วัน ผลการทดลองพบว่า การตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันซึ่งตรวจสอบการทำงานของเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดทีวันแรก วันที่ 3 และวันที่ 6 หลังจากได้รับวัคซีนอหิวาต์สุกรเข็มที่ 2 การตอบสนองของภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดต่อวัคซีนโรคอหิวาต์สุกรหลังจากทำวัคซีนเข็มที่ 2 ไปแล้ว 14 และ 28 วัน และค่าแอนติออกซิแดนท์รวมในพลาสมาเมื่อเริ่มทดลองและเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารทดลองแล้วเป็นระยะเวลา 7 และ 21 วัน พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) การศึกษาปริมาณกลูตาไธโอนโดยรวม (tGSH) ในเม็ดเลือดแดงพบว่า เมื่อเริ่มทดลองลูกสุกรทุกกลุ่มมีปริมาณ tGSH ในเม็ดเลือดแดงแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่เมื่อกินอาหารไปแล้ว 7 วันและ 21 วันพบว่าปริมาณ tGSH ในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรเพิ่มขึ้นตามระดับการใช้ไขมันลำปะหลังในสูตรอาหาร ($P<0.05$) เมื่อพิจารณาปริมาณรีดิวซ์ กลูตาไธโอน (GSH) ออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSSG) และอัตราส่วนของรีดิวซ์กลูตาไธโอนต่อออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSH/GSSG) พบว่าเมื่อเริ่มทดลองพบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อกินอาหารไปแล้ว 7 และ 21 วันพบว่าปริมาณ GSH และ GSSG ในเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นตามระดับของไขมันลำปะหลังในสูตรอาหารแต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) การศึกษาสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหย่านมพบว่าลูกสุกรทุกกลุ่มที่กินอาหารทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณการกินอาหาร และอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่กลุ่มการทดลองที่ 3 มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีกว่ากลุ่มการทดลองที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

Napaporn Pueaksee 2009: Effect of Dietary Cassava Leaves Meal on Immunological Response and Performance of Weaned Pigs. Master of Science (Animal Nutrition and Feed Technology), Major Field: Animal Nutrition and Feed Technology, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Uthai Kanto, M.S. 75 pages.

Effects of dietary cassava leaves meal on immunity development and performance of weaned pigs were studied utilizing complete randomized experimental design (CRD). A total of 128 three-way crossbred (LW × LR × D) weaned pigs aged 28 days were randomly divided into 16 groups of 8 animal each which is kept in a 2x2 meter metal battery pen where feed and water were provided *ad libitum*. Each group of the animals was randomly fed one of the experimental diets as follows for 35 days. Diet 1, 2, 3 and 4: The broken rice-soybean meal diets that containing dried cassava leaf meal at 0, 2.5, 5 or 7.5 % in the diet, respectively. Every experimental diet was formulated according to nutrient requirement of weaned pigs recommended by NRC (1998). Results of the study showed that there was no significant difference in blood lymphocyte proliferation among the pigs fed experimental diet at day 1, 3 and 6 after the swine fever vaccination ($P>0.05$). There were no significant differences in humoral immune responses against SF vaccination and total antioxidant capacity in blood among the animals fed experimental diet at 0, 7 and 21 day after feeding of the diets. Results of the study have shown that weaned pigs fed different experimental diets had significant differences in total blood glutathione (tGSH) at 7 and 21 day after feeding of the diet ($P<0.05$). Increasing of dietary levels of cassava leaves meal significantly increased blood level of tGSH of the weaned pigs. There were no significant difference in blood level of reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG) and GSH/GSSG among weaned pigs fed the experimental diets at 0, 7 and 21 days after feeding of the diets. There were no significant difference in weight gained, feed intake and ADG among the pigs fed the experimental diets. Pigs on Diet 3 which containing 5% cassava leaves meal had significant better FCR ($P<0.05$) than those on the control diet (Diet 1).

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____ / ____ / ____

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์อุทัย กันโธ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนให้คำปรึกษา แนะนำ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์สุกัญญา จิตตพรพงษ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินทร์ ติรวัฒนวานิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการศึกษาและคำแนะนำในด้านการทดลองอย่างใกล้ชิด ตลอดจนการเขียน รายงานวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เลอชาติ บุญเอก ประธาน การสอบ และ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพโชค ปัญจะ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณไพฑูรย์ มุลจิตร และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ สถาบัน สุวรรณวาทกสิกิจฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิต สัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม และ เจ้าหน้าที่ ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่ให้ความช่วยเหลือและความสะดวกในระหว่างทำการวิจัย และขอขอบพระคุณ มูลนิธิสถาบันพัฒนามัน ลำปะหลังแห่งประเทศไทยในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ให้การอบรมสั่งสอนตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่คอยเป็นกำลังใจและให้การช่วยเหลือเสมอมา

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การอบรมสั่งสอน ให้การสนับสนุน ทางด้านการศึกษามาโดยตลอด และเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่งในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไป ได้ด้วยดี

นภาพร เผือกสี
พฤษภาคม 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	38
อุปกรณ์	38
วิธีการทดลอง	41
ผลการทดลองและวิจารณ์	46
สรุปผลการทดลอง	57
ข้อเสนอแนะ	59
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	60
ภาคผนวก	72
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	75

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	โภชนะของใบมันสำปะหลังเปรียบเทียบกับกากถั่วเหลือง	28
2	ปริมาณกรดอะมิโนที่มีในใบมันสำปะหลัง	28
3	ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง	31
4	ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกในใบมันสำปะหลัง	33
5	สูตรอาหารและองค์ประกอบทางโภชนะอาหารทดลองในระยะสุกรหย่านม	39
6	องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลองจากการวิเคราะห์ทางเคมี	46
7	การเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟซัยท์ ชนิด ที ในเลือดของลูกสุกรที่ตอบสนองต่อการให้ concanavalin A ในวันแรก วันที่ 3 และวันที่ 6 หลังจากทำการให้วัคซีนอหิวาต์สุกรเข็มที่ 2	47
8	ค่าเฉลี่ยการตอบสนองของระดับซีรั่มนิวโทรไลซ์ (log2) ต่อวัคซีนโรคอหิวาต์สุกรหลังจากทำวัคซีนเข็มที่ 2 เป็นเวลา 14 และ 28 วัน	49
9	ปริมาณแอนติออกซิเดนต์รวม (total antioxidant capacity; TAC) ในพลาสมาของลูกสุกร ที่อายุ 0, 7 และ 21 วัน (μM)	51
10	ปริมาณกลูตาไธโอนโดยรวม (tGSH) ในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรที่อายุ 0, 7 และ 21 วันของการทดลอง (μM)	52
11	ปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอน (GSH) ในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรที่อายุ 0, 7 และ 21 วันของการทดลอง (μM)	52
12	ปริมาณออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSSG) ในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรที่อายุ 0, 7 และ 21 วันของการทดลอง (μM)	53
13	ปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอน ต่อออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSH/GSSG) ในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรที่อายุ 0, 7 และ 21 วันของการทดลอง (μM)	53
14	ผลของการใช้ใบมันสำปะหลังที่ระดับต่างๆ ต่อสมรรถภาพการผลิต	55

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	บริเวณของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ถูกอนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยา	17
2	วิธีการเกิดอนุมูลอิสระที่เป็นอันตรายต่อสารชีวโมเลกุลและการกำจัดอนุมูลอิสระ	21
3	การสังเคราะห์ glutathione	22
4	การสังเคราะห์ ลินามารินจากกรดอะมิโนวาเลอีนในมันสำปะหลัง	29
5	การสลายตัวของลินามารินและไลโทสตราลิน ได้สารพิษกรดไฮโดรไซยานิก	30

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

B cell	B-lymphocyte
Ig	Immunoglobulin
CD	Cluster of differentiation
MHC	Major histocompatibility complex
GSH	Glutathione
GSSG	Glutathione disulfide
ROS	Reactive oxygen species
HCN	Hydrocyanic acid
IL	Interleukin
IFN	Interferon
PBS	Phosphate buffer saline
T cell	T-lymphocyte
Tc-cell	Cytotoxic T lymphocyte
Th-cell	Helper T lymphocyte
NK cell	Natural killer cell

ผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารต่อระบบภูมิคุ้มกัน
และสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหลังหย่านม

Effect of Dietary Cassava Leaves Meal on Immunological Response
and Performance of Weaned Pigs

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย และมีการปลูกกันทั่วทุกภาคของประเทศไทย ยกเว้นในเขตภาคใต้เท่านั้น โดยมันสำปะหลังมีการปลูกกันมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งนี้เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชที่ปลูกง่าย ทนทานต่อสภาพดินฟ้าอากาศที่แห้งแล้ง ใช้ต้นทุนในการปลูกต่ำและมีศัตรูพืชน้อย ผลผลิตของมันสำปะหลังได้แก่หัวมันสดถูกนำไปใช้ประโยชน์อย่างหลากหลายในอุตสาหกรรมหลายประเภท ส่วนหนึ่งนำมาแปรรูปเป็นแป้งมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นอาหารมนุษย์ อีกส่วนหนึ่งนำไปแปรรูปเป็นมันเส้นและมันอัดเม็ดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ ปัจจุบันยังมีการนำกากมันสำปะหลังซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตแป้งมันสำปะหลังมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์อีกด้วย

ในการเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลังนั้นจะมีวัสดุผลพลอยได้คือ ดินและใบเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก โดยแท้จริงแล้วใบมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงสัตว์ได้เป็นอย่างดี ใบมันสำปะหลังแห้งที่ผ่านการผึ่งแดด หรืออบแห้งให้มีความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์สามารถใช้เป็นแหล่งของโปรตีนและเยื่อใยในสูตรอาหารได้ นอกจากนี้ยังมีวิตามินต่างๆ เบต้าแคโรทีน และแซนโทฟิลล์อยู่ในปริมาณมาก อย่างไรก็ตามใบมันสำปะหลังไม่สามารถใช้ทดแทนวัตถุดิบแหล่งโปรตีนชนิดอื่นได้ทั้งหมดเนื่องจากมีเยื่อใยอยู่สูง ใบมันสดมีสารพิษกรดไฮโดรไซยานิกอยู่ในระดับสูงเกินกว่า 100 พีพีเอ็ม แต่เมื่อนำใบมันสำปะหลังไปผึ่งแดดให้แห้ง ปริมาณสารพิษจะลดลงจนอยู่ในระดับต่ำและไม่เป็นอันตรายต่อตัวสัตว์ (เจริญศักดิ์, 2532) เมื่อสัตว์ได้รับกรดไฮโดรไซยานิกในปริมาณต่ำ ร่างกายจะเปลี่ยนให้เป็นสารไซโอไซยาเนต (thiocyanate) ซึ่งมีพิษน้อยกว่ากรดไฮโดรไซยานิกประมาณ 200 เท่า สารไซโอไซยาเนตนี้สามารถทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และมีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส เป็นการต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย วิภาศิริ (2548) รายงานว่าไก่ที่กินอาหารสูตรใบมันสำปะหลังมีอัตราการตายต่ำกว่าไก่ที่กินอาหารสูตรอื่น นอกจากนี้ยังมีเปอร์เซ็นต์การไข่สูงกว่าด้วย ดังนั้นใบมัน

ลำปะหลังจึงมีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ซึ่งนอกจากเป็นแหล่งให้โปรตีนและสารให้สีแล้ว ยังมีความเป็นไปได้ที่จะเป็นวัตถุดิบอาหารที่ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคให้แก่สัตว์ได้อีกด้วย

การทดลองในครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ไขมันลำปะหลังแห้งระดับที่แตกต่างกันในสูตรอาหารต่อการสร้างภูมิคุ้มกันโรค และต่อสุขภาพของลูกสุกรหย่านม เพื่อเป็นแนวทางในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะและยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของไขมันลำปะหลังซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการปลูกมันสำปะหลังด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ไขมันสำปะหลังแห้งระดับที่แตกต่างกันต่อการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง (specific immunity) ของลูกสุกรหลังหย่านม โดยใช้การเจริญของเซลล์ลิมโฟไซต์ (lymphocyte proliferation) เป็นตัวบ่งชี้
2. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ไขมันสำปะหลังแห้งระดับที่แตกต่างกันต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดต่อวัคซีนโรคอหิวาต์สุกรในลูกสุกรหลังหย่านม
3. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ไขมันสำปะหลังแห้งระดับที่แตกต่างกันต่อระดับแอนติออกซิแดนท์รวม ในพลาสมาของลูกสุกรหลังหย่านม
4. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ไขมันสำปะหลังแห้งระดับที่แตกต่างกันต่อระดับกลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดง ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้สถานะของเซลล์ในลูกสุกรหลังหย่านม
5. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ไขมันสำปะหลังแห้งระดับที่แตกต่างกันต่อสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหลังหย่านม

การตรวจเอกสาร

ระบบภูมิคุ้มกัน (Immune System)

ระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) หมายถึง ระบบที่ทำหน้าที่คุ้มกันและป้องกันร่างกายจากการทำลายของเชื้อโรคและสารแปลกปลอมต่างๆที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ระบบภูมิคุ้มกันประกอบด้วยสารต่างๆ และเซลล์หลายจำพวกทำหน้าที่ร่วมกัน เซลล์ดังกล่าวคือ ลิมโฟไซต์ (lymphocytes) เซลล์พลาสมา (plasma cells) นิวโทรฟิล (neutrophils) อีโอซิโนฟิล (eosinophils) โมโนไซต์ (monocytes) แมคโครฟาจ (macrophages) เซลล์มาสต์ (mast cell) และเบโซฟิล (basophil) ในสภาวะปกติเซลล์เหล่านี้ส่วนใหญ่อยู่ในเลือดและไขกระดูก ยกเว้นเซลล์พลาสมา แมคโครฟาจ และเซลล์มาสต์ที่พบในเนื้อเยื่อ (Roitte, 1984)

ระบบภูมิคุ้มกันของคน และสัตว์ แบ่งออกเป็น 2 ประเภทดังนี้

1. ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง (non specific immunity)
2. ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง (specific immunity) (Tizard, 2000)

ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง (non specific immunity)

Paul (1999) รายงานว่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง มีอยู่ 3 ชนิด คือ

1. สรีระวิทยาของร่างกาย มีความสามารถต้านทานต่อการติดเชื้อจุลชีพแบบไม่จำเพาะ และมีผลต่อแอนติเจนทุกชนิดที่บุกรุกเข้าร่างกาย ซึ่งสามารถแบ่งย่อยออกเป็น 2 ประเภทดังต่อไปนี้ คือ

1.1 ผิวหนัง (skin) สภาพปกติของผิวหนังสามารถป้องกันการบุกรุกของเชื้อจุลชีพ และสารต่าง ๆ ที่จะเข้าสู่ร่างกาย มีเพียงจุลชีพบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเข้าร่างกายโดยผ่านต่อมเหงื่อ (sweat glands) ต่อมไขมัน (sebaceous glands) และรากขนที่สะสมขี้ไคลและสิ่งสกปรก ต่างๆ ต่อมเหงื่อและต่อมไขมันทำหน้าที่สร้างสารบางชนิด มีคุณสมบัติออกฤทธิ์เป็นกรดเพื่อฆ่าเชื้อจุลชีพ และบนผิวหนังมีสารเอนไซม์ (enzymes) เช่น ไลโซไซม์ (lysozyme) ที่ร่างกายสร้างขึ้นมาเพื่อป้องกันการบุกรุกของเชื้อโรค โดยที่ไลโซไซม์จะทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียต่าง ๆ อย่างไร

ก็ตามความต้านทานทางผิวหนังของร่างกายมีความแตกต่างกันในแต่ละคนหรือคนที่มีอายุแตกต่างกัน

1.2 เยื่อบุผิว (mucous membrane) เยื่อบุผิวในร่างกายเช่น ระบบหายใจ ระบบทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์ ซึ่งเป็นระบบที่ถูกบุกรุกได้ง่าย ดังนั้นร่างกายจะสร้างมูกเหนียว (mucus) ออกมาคลุมเป็นชั้นบางๆ และสารมูกเหนียวนี้เองที่มีการเคลื่อนตัวตลอดเวลา และมีเซลล์ขนสั้น (ciliated cells) ช่วยโบกพัดทำให้สิ่งแปลกปลอมต่างๆ ถูกจับ และขับออกนอกร่างกาย ในเมื่อก็นี้จะมีไลโซไซม์ที่สามารถทำลายเชื้อโรค แต่ถ้าหากสิ่งแปลกปลอม หรือเชื้อโรคเหล่านั้นบุกรุกเข้าไปถึงปอด สิ่งแปลกปลอมจะถูกทำลายโดยเซลล์แมโครฟาจ (macrophages) ผ่านขบวนการเขมือบกิน

นอกจากนี้การไอ และการจามก็มีส่วนช่วยป้องกันและขับสารแปลกปลอมหรือเชื้อจุลินทรีย์ออกจากร่างกาย ในระบบทางเดินอาหารจะมีเอนไซม์ชนิดต่างๆ ที่ทำหน้าที่ย่อยอาหาร และเอนไซม์เหล่านี้จะทำหน้าที่ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้าไปในระบบทางเดินอาหารด้วย โดยเฉพาะในกระเพาะอาหารซึ่งมีสภาพความเป็นกรดสูงมากๆ ดังนั้นสารแปลกปลอมต่างๆ และเชื้อจุลินทรีย์ที่หลุดเข้าไปจะถูกทำลายด้วยกรดดังกล่าว (Gershwin *et al.*, 1995)

Freeman (1985) กล่าวว่าในระบบสืบพันธุ์มี bacterial interference หรือการทำงานของแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ชนิดต่างๆ เช่น เชื้อแลคโตแบซิลลัส (*Lactobacillus*) ที่สร้างกรดแลคติกเพื่อทำหน้าที่ขัดขวางไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์เข้าสู่ระบบ ปรากฏการณ์นี้ยังพบในระบบอื่นๆ อีก เช่น บริเวณหลอดคอ ที่มีเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus viridans* คอยป้องกันการบุกรุกของแบคทีเรียก่อโรคปอดบวม (*pneumonia*) และบริเวณผิวหนังจะพบแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes* ที่สร้างไขมันต่อต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus viridans* เป็นต้น แต่ถ้าไขมันนี้ถูกทำลายออกจากร่างกายจะทำให้ร่างกายเกิดการติดเชื้อโรคได้ง่าย

2. ความต้านทานทางชีวภาพที่ร่างกายสร้าง คือขบวนการรักษาสมดุลของร่างกายหลังแอนติเจนบุกรุกเข้าภายในร่างกาย มีดังต่อไปนี้ คือ

2.1 ส่วนประกอบทางชีวเคมีของเนื้อเยื่อ (biochemical tissue constituents) ในเนื้อเยื่อของคนและสัตว์พบมีการสร้างสาร โปรตีนบางชนิด หรือสารปฏิชีวนะที่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ เช่น การสร้างสาร โปรตีน beta lysine ในซีรัมของสุกรที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียพวกแกรม

ลบ ความต้านทานประเภทนี้จะสูญเสียได้ง่ายถ้าร่างกายได้รับอาหารที่ไม่สมบูรณ์พอ หรือ ขาดแร่ธาตุ และวิตามินบางชนิดที่จำเป็นต่อร่างกาย หรือในขณะที่เนื้อเยื่อไม่สมบูรณ์ เช่น การเกิดบาดแผล หรืออาการฟกช้ำ

2.2 การอักเสบ (inflammation) เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายร่างกายจะมีขบวนการที่เรียกว่า การอักเสบเกิดขึ้น โดยเริ่มที่เส้นเลือดฝอยในบริเวณของเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายจะเกิดการขยายตัวของผนังเส้นเลือด และทำให้น้ำเลือด (plasma) ซึมผ่านผนังเส้นเลือดที่เสียคุณสมบัติในการควบคุม (osmotic regulation) ออกมาสะสมอยู่ตามเนื้อเยื่อ และเกิดสภาพที่เรียกว่า edema fluid ในบริเวณที่เกิดการอักเสบ และน้ำเลือดนี้จะเริ่มแข็งตัวต่อมาจึงมี fibrin มาช่วยจับเกาะจนเป็นร่างแหอุดช่องทางเดินน้ำเหลือง และหลอดเลือดเพื่อป้องกันการบุกรุกของแอนติเจนที่จะเข้าไปในเนื้อเยื่อส่วนอื่นๆ และมีเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เข้าไปในบริเวณที่มีการอักเสบเพื่อทำลายแอนติเจน และเก็บเนื้อเยื่อตายกำจัดออกจากร่างกายด้วยขบวนการเหมือนกิน (Arai *et al.*, 1990)

2.3 อาการไข้ (fever) อาการไข้ไม่ใช่ผลที่เกิดจากการสร้างความต้านทานของร่างกายโดยตรง เป็นเพียงการลดความร้อนในขณะที่ร่างกายพยายามที่จะกำจัดแอนติเจน เพื่อไม่ให้เกิดผลเสียต่อระบบของร่างกาย กล่าวคือ เป็นการปรับให้ระบบการทำงานในร่างกายให้ดำเนินไปอย่างปกติ ในขณะที่ร่างกายกำลังต่อสู้กับการบุกรุกของแอนติเจนอาการไข้จะมีผลมาจากสารพิษ (endotoxins) ที่เชื้อจุลชีพสร้างขึ้น และปล่อยออกมานอกเซลล์ หรือสารที่มีอยู่ใน granulocytes ที่เรียกว่า endogenous pyrogen ไปกระตุ้นศูนย์ควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย (thermoregulatory center) ที่สมองทำให้ร่างกายสร้างความร้อนขึ้น แต่ร่างกายจะพยายามระบายความร้อนของร่างกายออกมาสู่ภายนอก จึงทำให้ร่างกายมีอุณหภูมิสูงขึ้น อย่างไรก็ตามร่างกายก็พยายามที่จะต่อสู้กับแอนติเจน และเมื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมได้แล้วร่างกายก็จะปรับตัวให้เข้าสู่ภาวะปกติ อุณหภูมิของร่างกายก็จะลดลงมาอยู่ในระดับปกติ

3. การเหมือนกิน (phagocytosis) คือขบวนการหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง กล่าวคือเมื่อสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ที่ผ่านความต้านทานทางสรีระเข้าไปได้ ขบวนการเหมือนกินเป็นขบวนการทางความต้านทานลำดับต่อไปที่ร่างกายใช้กำจัดสิ่งแปลกปลอมนั้นๆ โดยอาศัยเซลล์ที่เรียกว่า ฟาโกไซท์ (phagocytes) อันได้แก่ เซลล์ของพวกเม็ดเลือดขาวที่เรียกว่า polymorphonuclear leukocytes นิวโตรฟิล (neutrophils) และเซลล์ที่มีนิวเคลียสเดี่ยว (mononuclear phagocytes)

polymorphonuclear leukocytes ถูกสร้างโดยเซลล์ในไขกระดูกสันหลังและออกไปเจริญเป็นเซลล์ที่สมบูรณ์อยู่ในระบบหมุนเวียนของกระแสโลหิต และแพร่กระจายไปตามเนื้อเยื่อของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย แต่เซลล์พวกที่มีนิวเคลียสเดี่ยวจะถูกสร้างโดยเซลล์พวก monoblast และ promoblast ในไขกระดูก และเมื่อเจริญเป็น monocytes ก็จะออกสู่ระบบกระแสโลหิตและกระจายเข้าสู่เนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ แล้วเจริญต่อไปกลายเป็นเซลล์แมคโครฟาจซึ่งทำหน้าที่ในการเขมือบกินเชื้อจุลชีพ และสิ่งแปลกปลอมที่หลุดรอดเข้าไปในอวัยวะนั้นๆ เซลล์เหล่านี้มีชื่อเรียกต่างๆ กันตามอวัยวะที่เซลล์นั้นเข้าไปทำงานอยู่ (Walter, 1982)

Claire *et al.* (1992) กล่าวว่าขบวนการเขมือบกินมีความสำคัญในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และ ช่วยป้องกันการติดเชื้อจุลชีพ แต่ประสิทธิภาพของขบวนการนี้จะมีผลดีในบริเวณจำกัดเช่น ส่วนของเส้นเลือดฝอย (capillaries) ในอวัยวะต่างๆ โดยเฉพาะใน sinusoid ของตับและม้าม เป็นต้น ในบริเวณแคบๆ นี้เองขบวนการทำลายจะทำได้ง่าย เพราะโอกาสที่เชื้อจุลชีพจะสัมผัสกับเซลล์ฟาโกไซโทซิสสูงมาก ร่างกายสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของขบวนการนี้ได้อีกโดยทำให้สัตว์นั้นๆ มีความไวต่อการตอบสนองต่อแอนติเจนนั้นๆ ได้ดีขึ้น เมื่อแอนติเจนนั้นๆ กลับเข้าไปในร่างกายอีกครั้งด้วยวิธีการ sensitization คือ การให้คนหรือสัตว์นั้นได้รับแอนติเจนชนิดนั้นๆ มาก่อนเพื่อกระตุ้นการทำงานของเซลล์น้ำเหลืองให้สร้างสารตัวกลาง (mediators) ที่เรียกว่าสาร lymphokine หรือ cytokine สารตัวกลางนี้จะไปเร่งให้เซลล์แมคโครฟาจตื่นตัวกลายเป็น active macrophages หรือ angry macrophages หรืออาจจะเรียกว่า killer macrophages เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นภายในเซลล์จะมีการสร้างเอนไซม์ให้มากขึ้นกว่าสภาวะปกติ และทำให้เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น จึงมีประสิทธิภาพในการทำลายแอนติเจนนั้นๆ ได้ดีขึ้น และเซลล์ที่ถูกกระตุ้นจะสามารถออกฤทธิ์ทำลายแอนติเจนชนิดอื่นๆ ที่เข้ามาในร่างกายได้ด้วย เพราะขบวนการเขมือบกินทำลายเชื้อจุลชีพได้โดยไม่จำเป็นต้องมีความจำเพาะ (expression nonspecific) แต่การกระตุ้นให้เซลล์ฟาโกไซโทซิสมีประสิทธิภาพมากขึ้น ต้องอาศัยขบวนการทางภูมิคุ้มกันที่มีความจำเพาะเจาะจง (induction specific)

ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง (specific immunity)

ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงที่ร่างกายสร้างขึ้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ดังต่อไปนี้ (Tizard, 2000) คือ

1. ภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นโดยธรรมชาติ หรือมีมาแต่กำเนิด (natural immunity) ซึ่งแบ่งย่อยออกเป็น 5 ชนิด ดังนี้ (Gershwin, 1995) คือ

1.1 ภูมิคุ้มกันที่เกิดเองในสัตว์แต่ละชนิด (species immunity) สัตว์แต่ละชนิดจะมีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อจุลชีพที่แตกต่างกันมาแต่กำเนิด หมายถึง เชื้อจุลชีพตัวใดตัวหนึ่งสามารถจะก่อให้เกิดโรคได้ในสัตว์บางชนิดเท่านั้น เพราะสัตว์บางชนิดจะมีความต้านทานต่อเชื้อจุลชีพนั้นๆ สัตว์จึงไม่เกิดโรคเมื่อได้รับเชื้อจุลชีพนั้นเข้าไปในร่างกาย ตัวอย่างเช่น วัณโรคของไก่จะพบเกิดโรคนี้เฉพาะในไก่เท่านั้นไม่ติดต่อถึงคน และสัตว์อื่นๆ

1.2 ภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ (racial or genetic immunity) คือ ความแตกต่างของความต้านทานในร่างกายต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้าไปในร่างกาย โดยที่สัตว์ชนิดเดียวกัน แต่ละสายพันธุ์จะมีความต้านทานต่อโรคไม่เหมือนกัน สาเหตุที่ทำให้เกิดความต้านทานลักษณะนี้ ปัจจุบันยังไม่สามารถอธิบายได้ มีเพียงบางโรคที่สามารถอธิบายได้ เช่น โรคมาลาเรียที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Plasmodium falciparum* โรคนี้จะเกิดในคนที่ขาดสาร glucose-6-phosphate dehydrogenase ในเม็ดเลือดแดง การที่ร่างกายไม่สามารถสร้างสารนี้ได้เพราะเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมของคนในแต่ละเผ่าพันธุ์

1.3 ภูมิคุ้มกันเฉพาะตัว (individual immunity) คือ ความต้านทานที่ร่างกายสร้างขึ้นในแต่ละบุคคลหรือในสัตว์แต่ละตัวจะมีความแตกต่างกัน เนื่องจากความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ ในแต่ละบุคคลที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ หรือไม่มีก็มิสาเหตุมาจากการขาดสารบางอย่าง และขาดฮอร์โมนบางชนิดที่ทำให้ร่างกายขาดความสมดุล หรือ บางทีอาจได้รับสารอันไม่พึงปรารถนาเข้าไปในร่างกาย และมีผลต่อการสร้างความต้านทานในตัวบุคคลนั้น ๆ เช่น รังสีบางชนิด และยาปฏิชีวนะ เป็นต้น

1.4 ภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับอายุ (age immunity) ระบบภูมิคุ้มกันจะมีการพัฒนามาตั้งแต่อยู่ในครรภ์มารดา การพัฒนาจะมีอย่างต่อเนื่อง และมากขึ้นตามอายุของสัตว์นั้น ๆ ดังนั้นในสัตว์ที่มีอายุมากก็ยังมีภูมิคุ้มกันต่อโรคได้หลายชนิด การติดโรคก็จะเกิดขึ้นได้น้อยกว่าในสัตว์ที่มีอายุน้อยกว่า

1.5 ภูมิคุ้มกันเนื่องจากฮอร์โมนและระบบเมแทบอลิซึมของร่างกาย (hormonal and metabolic influences) ระดับฮอร์โมนในร่างกายที่สร้างออกมามาก หรือ น้อยกว่าปกติ จะมีส่วนทำให้ความต้านทานร่างกายลดน้อยลง เช่น กรณียของฮอร์โมน corticosteroids ที่สร้างจากต่อมหมวกไตจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันโดยตรง เพราะถ้ามีสารนี้มากเกินไปจะระงับขบวนการเคมีอากิน จึงทำให้ร่างกายติดเชื้อจุลชีพได้ง่าย นอกจากนั้นถ้าระบบเมแทบอลิซึมของร่างกายบางอย่างเสีย

เพราะสาเหตุใดๆ ก็ตาม ระบบภูมิคุ้มกันก็จะเสื่อมสภาพตามไปด้วยเช่น ถ้ากระดูกไขสันหลังอักเสบร่างกายก็ไม่สามารถสร้างเม็ดเลือดขาวและเซลล์ฟาโกไซท์เพื่อมาเขมือบสิ่งแปลกปลอมที่เข้าไปในร่างกาย

2. ภูมิคุ้มกันที่ร่างกายสร้างขึ้นภายหลัง (acquired immunity) คือ ภูมิคุ้มกันที่ถูกสร้างขึ้นมีอยู่ 2 แบบคือ แบบต้องการเร่งด่วน หรือการรับสารภูมิคุ้มกันจากสัตว์อื่น เรียกว่า passive immunity และแบบที่สร้างขึ้นอย่างช้า ๆ (active immunity) ที่แบ่งออกได้ 2 ระบบ คือ humoral และ cellular immunity (Paul, 1999)

ในกรณีที่ร่างกายจำเป็นต้องการความต้านทานอย่างรีบด่วน เพื่อต่อต้านการรุกรานของสิ่งแปลกปลอม โดยไม่สามารถที่จะรอการสร้างจากร่างกาย การได้รับภูมิคุ้มกันมาจากคน หรือสัตว์ตัวอื่นที่ถูกสร้างขึ้นและถ่ายทอดมาให้ เช่น การถ่ายแอนติบอดีจากแม่มาสู่ลูกขณะอยู่ในครรภ์ทางรก (via placenta) และการดื่มนมน้ำเหลืองหลังคลอด (via colostrums) จะเป็นสิ่งที่จำเป็นในการป้องกันการเกิดโรค แต่ในสัตว์บางชนิด เช่น โค กระบือ และสุกรจะไม่สามารถรับความต้านทานในรูปแอนติบอดีขณะอยู่ในครรภ์ของแม่ จึงจำเป็นต้องได้รับนมน้ำเหลืองจากแม่เพียงอย่างเดียว

นอกจากการได้รับความต้านทานจากคนหรือสัตว์อื่นแล้ว ร่างกายจะสร้างความต้านทานขึ้นต่อต้านสิ่งแปลกปลอมที่ได้รับ ไม่ว่าจะได้รับแบบไม่ได้ตั้งใจหรือตั้งใจก็ตาม สิ่งแปลกปลอมจะเป็นตัวชักนำให้ร่างกายสร้างความต้านทานออกมาต่อสู้ ระบบภูมิคุ้มกันในส่วนนี้จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

2.1 ภูมิคุ้มกันด้านสารน้ำ (humoral immunity) หมายถึง ภูมิคุ้มกันจำเพาะที่ใช้สารน้ำ (humor) คือแอนติบอดี ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีอยู่ในกระแสเลือด เรียกว่าอิมมูโนโกลบูลินเพื่อทำลายจุลชีพที่ถูกกลืนเข้าไปในร่างกาย โดยแอนติบอดีมีความจำเพาะในการกำจัดแอนติเจน ภูมิคุ้มกันชนิดนี้สามารถถ่ายทอดได้ทางซีรัม (มนตรี, 2521) แอนติบอดีนั้นสร้างมาจาก B lymphocytes (B-cell) ອງอาจ (2542) กล่าวว่ากลุ่มของแอนติบอดีมีทั้งหมด 5 ชนิด คือ IgA IgD IgE IgG และ IgM โดยที่ในสัตว์ต่างชนิดกันจะมีชนิดของแอนติบอดีที่แตกต่างกันออกไปด้วย ซึ่งวิธีการวัดการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันชนิด humoral immunity สามารถวัดได้จากการตรวจหาระดับของ Immunoglobulin (Ig) ชนิดต่างๆ ขึ้นอยู่กับชนิดและระยะของสัตว์ที่ต้องการตรวจสอบ นวลจันทร์ และคณะ (2548) ได้กล่าวว่านอกจากวิธีการตรวจสอบดังกล่าวแล้วยังมีอีกวิธีหนึ่ง คือ การตรวจสอบการสร้างภูมิคุ้มกันโรคหลังจากได้รับวัคซีน humoral immunity มีหน้าที่ทำลาย

สารพิษที่สร้างโดยเชื้อโรคชนิดต่างๆ นอกจากนั้นยังมีหน้าที่หยุดการก่อโรคของเชื้อโรคนั้นๆ และทำลายเชื้อโรคนั้นด้วยขบวนการจับกลุ่ม (agglutination) หรือการทำลายเชื้อโรคด้วยขบวนการเขมือบกิน และแอนติบอดีนี้จะทำหน้าที่เป็นสาร opsonin เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของขบวนการเขมือบกินทำให้ขบวนการเขมือบกินเกิดได้ง่ายขึ้น

2.2 ภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (cell-mediated immunity หรือ cellular immunity) หมายถึง ภูมิคุ้มกันจำเพาะที่ใช้เซลล์ที่จำเพาะต่อแอนติเจนเป็นสื่อ แล้วชักนำให้เซลล์น้ำเหลือง และเซลล์ฟาโกไซท์ มีความสามารถในการสร้างสารไปต่อต้าน และทำลายสิ่งแปลกปลอมนั้น เซลล์ที่มีบทบาทสำคัญคือ T-lymphocyte (T-cell) เมื่อ T-cell ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนแล้ว จะมี cytotoxic T lymphocyte (Effector T-cell หรือ Killer T-cell) ที่จำเพาะต่อแอนติเจนนั้นเกิดขึ้น และสามารถกำจัดแอนติเจนที่เป็นเซลล์ อันได้แก่ เซลล์ของร่างกายที่ติดเชื้อไวรัส เซลล์เนื้องอก เป็นต้น หลังจากกำจัดแอนติเจนแล้ว T-lymphocyte ที่จำเพาะจำนวนหนึ่งจะกลายเป็น memory cell ซึ่งสามารถจดจำแอนติเจนชนิดนั้น ๆ ได้ และเมื่อแอนติเจนชนิดเดียวกันเข้าสู่ร่างกาย T-lymphocyte จะสามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อเทียบกับการพบกับแอนติเจนนั้น ๆ ในครั้งแรก (วิบูลย์ศรี, 2537; องอาจ, 2542)

การเกิดภูมิคุ้มกันโดยเซลล์

Tizard (2000) กล่าวว่าร่างกายมีการสร้างภูมิคุ้มกันอยู่ 2 แบบ คือ การสร้างแอนติบอดี และการสร้างความต้านทานโดยเซลล์ ระบบการสร้างภูมิคุ้มกันโดยเซลล์ หรือเซลล์ที่ถูกสร้างและแบ่งตัวเพิ่มจำนวนหลังจากที่ถูกกระตุ้นโดยแอนติเจนจะถูกแบ่งได้ 2 พวก เช่นเดียวกับการสร้างแอนติบอดี คือเซลล์ความจำทำหน้าที่จดจำแอนติเจนที่เข้าไปในร่างกาย และเซลล์ทางภูมิคุ้มกันที่มีขนาดเล็กกว่าเซลล์ช่วยจำ ไซโตพลาสซึมติดสี pyroninophilic เซลล์นี้จะสังเคราะห์โปรตีนพวก non antigen specific biologically active proteins เรียกว่า lymphokines หรือเป็น non immunoglobulin factors ที่เรียกว่า transfer factors ไปมีผลทาง direct cytotoxic reaction เมื่อ effector cells ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน สารโปรตีนนี้จะมีผลต่อเซลล์อื่น ๆ หลายชนิดในขบวนการภูมิคุ้มกัน หรือมีฤทธิ์ (toxicity) โดยตรงในการทำลายแอนติเจน หรือเซลล์เป้าหมาย (target cells)

การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันโดยเซลล์ จะอาศัยการทำงานของเซลล์ที่เป็นหลัก และเซลล์เหล่านี้จะมีความแตกต่าง (heterogeneous population) มากกว่าที่พบในพวกเซลล์บี โดยเฉพาะถ้าพิจารณาถึงหน้าที่ในการทำงาน การตอบสนองต่อแอนติเจน และกลายเป็นเซลล์ปฏิบัติการ

(effected cells) ทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกัน เซลล์เหล่านี้ยังมีหน้าที่เป็นตัวควบคุมการทำงานของเซลล์บี ทั้งเป็นตัวช่วย (helper) และตัวห้ามหรือตัวหยุด (suppressor) ไม่ให้เซลล์บีทำหน้าที่ในการตอบสนองต่อแอนติเจน และการเปลี่ยนรูปร่างของเซลล์น้ำเหลืองไปเป็นเซลล์ที่จะต้องผ่านเข้าต่อมไทมัสเสมอ การตัดต่อมไทมัสทั้งในขณะที่ยังตัวโตเต็มที่ซึ่งจะพบเซลล์น้ำเหลืองที่มีมากที่สุด 2 พวก (Tizard, 2000) คือ

1. เซลล์ที่ 1 (T1 cells) คือ เซลล์น้ำเหลืองที่พบในม้าม ทำหน้าที่ช่วยและหยุดปฏิกิริยาการตอบสนองของร่างกาย เซลล์นี้จะมีอายุสั้นและหายไปจากร่างกายในระยะเวลาไม่นานหลังตัดต่อมไทมัส เซลล์ที่ 1 นี้จะมีคุณสมบัติทางด้าน cytotoxic activity น้อยมาก

2. เซลล์ที่ 2 (T2 cells) คือ เซลล์ที่ไหลเวียนอยู่ในกระแสโลหิตโดยเฉพาะในต่อมน้ำเหลืองต่างๆ ของร่างกาย มีอายุยืนยาวกว่าพวกแรก อยู่ได้นานหลายเดือนและมีความสามารถทางด้าน cytotoxic activity

การตอบสนองต่อแอนติเจนของเซลล์ที (Responses of T cells to antigens)

Tizard (2000) กล่าวว่า จุดจับเกาะของแอนติเจนบนเซลล์บีมีจำนวนมากกว่าเซลล์ที กล่าวคือ ในเซลล์บีมีจุดจับเกาะสำหรับแอนติเจนอยู่ 100,000 หน่วยต่อเซลล์ ในขณะที่จุดจับเกาะบนผิวของเซลล์ทีมีเพียง 100-1,000 หน่วยต่อเซลล์เท่านั้น สารประกอบที่เป็นจุดจับเกาะบนผิวของเซลล์ที่สามารถแบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ

1. สารโปรตีนพวกอิมมูโนโกลบูลิน ที่มีคุณสมบัติต่างจากพวกอิมมูโนโกลบูลินอื่นๆ สารนี้จะเป็นเพียงส่วนหนึ่งของ heavy chain ชนิด dimer ที่เรียกว่า IgT

2. สารโปรตีนชนิดอื่นๆ ที่อยู่ใต้การควบคุมของยีนส์ในกลุ่ม I region ของ histocompatibility (HA) locus ที่เป็นตัวสร้างเซลล์ที

การตอบสนองของเซลล์ที ต้องอาศัยการทำงานร่วมกับเซลล์ T-helper B-helper และแมคโครฟาจ เหมือนกับขั้นตอนที่เกิดขึ้นในการสร้างแอนติบอดี เซลล์ทีตอบสนองต่อแอนติเจน หรือจุดบ่งบอกการเป็นแอนติเจนที่แตกต่างไปจากการตอบสนองของการทำงานในขบวนการที่เกิดโดยเซลล์บี เซลล์ทีตอบสนองกับแอนติเจนในส่วนที่อยู่ใกล้กับหรือเหมือนกับ HA มากที่สุด เพื่อให้

เกิดปฏิกิริยาได้ดีที่สุด เช่น การเปลี่ยนแปลงโดยสารเคมีที่สามารถไปกระตุ้นการทำงานของเซลล์ที่ทำให้เกิดกระบวนการสร้างความต้านทานเกิดขึ้น

อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระเกิดจากภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยสามารถเกิดได้ทั้งในคนและในสัตว์ สารอนุมูลอิสระนั้น สาเหตุส่วนหนึ่งเกิดจากโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งมีอิเล็กตรอนวงนอกสุดไม่มีคู่ หรือมีเพียงตัวเดียว (unpaired electron) ซึ่งจะทำให้เกิดความไม่เสถียร ดังนั้นจึงต้องดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลขององค์ประกอบเซลล์ข้างเคียงมาเพื่อให้ตัวเองครบคู่ และอยู่ในสภาพที่เสถียร เช่น โปรตีน ไขมัน โดยเฉพาะกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ เป็นต้น โมเลกุลที่สูญเสียอิเล็กตรอนไปก็จะเกิดสภาพไม่เสถียรขึ้นอีก ทำให้ต้องดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงต่อไป ทำให้ปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ ส่งผลให้โครงสร้างของเซลล์เสียหาย (นวลจันทร์ และคณะ, 2548)

อนุมูลอิสระและอนุพันธ์ของอนุมูลอิสระที่พบในสิ่งมีชีวิต

1. อนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นส่วนประกอบ (reactive oxygen species; ROS)

เริ่มต้นจากซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (superoxide anion) เกิดจากการกระตุ้นของเอนไซม์ NAD(P)H oxidase และ xanthine oxidase หรือ สารประกอบอื่นที่เป็นองค์ประกอบของระบบขนส่งอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรีย เช่น semi-ubiquinone เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD) จะเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนจาก ซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออนไปเป็นไฮโดรเจน เพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) (Deby and Goutier, 1990; Fridovich, 1995) และในเนื้อเยื่อเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส จะเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนจากซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนไปเป็นไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และ singlet oxygen species ($1\Delta gO_2$) ด้วย (Steinbeck et al., 1993) ในสถานะที่มี reduced transition metals เช่น เหล็กเฟอร์รัส (ferrous) หรือ คิวปรัส (cuprous ions) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์จะถูกเปลี่ยนไปเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัล (hydroxyl radical) (Chance et al., 1979) นอกจากนี้ ไฮโดรเจน เพอร์ออกไซด์ อาจจะถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำโดยเอนไซม์คาตาเลส (catalase, CAT) หรือกลูตาไธโอนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase, GPx) ซึ่งในปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไธโอนเพอร์ออกซิเดส กลูตาไธโอน (glutathione, GSH) จะถูกออกซิไดส์ไปเป็นกลูตาไธโอนไดซัลไฟด์ (glutathione disulfide) ซึ่งสามารถเปลี่ยนกลับมาเป็น

กลูตาไธโอนโดยเอนไซม์กลูตาไธโอนรีดักเทส (glutathione reductase) โดยใช้นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ ฟอสเฟส (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) จากกระบวนการ pentose phosphate pathway

2. อนุมูลอิสระที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ (reactive nitrogen species; RNS)

ไนตริกออกไซด์เรดิคัล (nitric oxide radical, NO $\cdot$) ถูกสร้างขึ้นในสิ่งมีชีวิตชั้นสูงโดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโนชนิดแอล-อาร์จินีน (L-arginine) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ไนตริกออกไซด์ซินทีเทส (nitric oxide synthetase, NOS) ในสภาวะที่มีออกซิเจนและใช้โคแฟกเตอร์ดังต่อไปนี้ เช่น นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟส, ฟลาวิน อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (flavin adenine dinucleotide, FAD) ฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ (flavin mononucleotide, FMN) ฮีม (heme), เตตระไฮโดรไบออพเทอริน (tetrahydrobiopterin, BH $_4$) เอนไซม์ไนตริกออกไซด์ซินทีเทส ไนตริกออกไซด์เรดิคัลที่เกิดขึ้นสามารถที่จะเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบตัวอื่นๆได้ เช่น nitrosonium cation (NO $^+$), nitroxyl anion (NO $^-$) หรือ peroxynitrite (ONOO $^-$)

ตามปกติร่างกายจะมีกลไกการสร้าง และการกำจัดสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะสมดุล(ภาพที่ 2) แต่หากร่างกายมีความเครียดสูง จะเกิดสารอนุมูลอิสระในปริมาณที่มากเกินไปกว่าความสามารถในการกำจัด ส่งผลให้สัต์ว้ออนแอ เกิดโรคได้ง่าย และเนื้อเยื่อถูกทำลาย เช่น เนื้อเยื่อปอด หัวใจ หลอดเลือดหัวใจ ไต ตับ ระบบทางเดินอาหาร เลือด ตา ผิวหนัง กล้ามเนื้อ และสมอง สารพวก ROS เป็นตัวกลางที่ทำให้เกิดอาการบวม รวมทั้งส่งผลต่อเกล็ดเลือด (platelets) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil หรือ macrophage จนกระทั่งกลไกการสังเคราะห์ ecosanoide และชนิดของ cytokines ทำให้เกิดการอักเสบของอวัยวะหนึ่งไปอีกอวัยวะหนึ่ง เช่น จากตับไปไตหรือปอด ทำให้เนื้อเยื่อเกิดการ oxidative stress ส่งผลให้อวัยวะต่างๆเกิดความล้มเหลว (Parke and Parke, 1995) หรือชักนำให้เกิด CYP2E1 ทำให้เกิดอาการชา เนื่องจากเนื้อเยื่อเกิดการ oxidative stress ส่งผลให้ระดับของ glutathione (GSH) ในเนื้อเยื่อลดลงต้องมีการสร้าง glutathione ขึ้นมาใหม่เพื่อป้องกันเนื้อเยื่อถูกทำลายเนื่องจาก oxidative stress (Liu *et al.*, 1993)

ความเครียดจากภาวะออกซิเดชัน (oxidative stress)

การเกิดความเครียดจากภาวะออกซิเดชัน เป็นภาวะไม่ปกติของร่างกาย ซึ่งเป็นผลจากความไม่สมดุลของการสร้างและการกำจัดอนุมูลอิสระ (Halliwell and Gutteridge, 1989) การเพิ่มขึ้นของภาวะออกซิเดชัน (oxidative stress) ที่มีการเสียสมดุลไปของสารชีวเคมีในร่างกาย ระหว่างภาวะที่ทำให้เกิดออกซิเดชัน และภาวะที่มีการต่อต้านออกซิเดชัน โดยอาจมีอนุมูลอิสระ เพิ่มขึ้น หรือสารต้านอนุมูลอิสระลดลงซึ่งส่งผลให้เกิดความเสียหายของสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบหลักของเซลล์ดังนี้

1. ความเสียหายของดีเอ็นเอ (DNA damage)

ROS เหนี่ยวนำให้เกิดความเสียหายต่อดีเอ็นเอซึ่งประกอบด้วยการเปลี่ยนแปลงสายดีเอ็นเอลำดับเบส และนิวคลีโอไทด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งลำดับเบสที่มีกวานโนซีน (guanosine) สูง (Burney, 1999) oxidative modifications เหนี่ยวนำการซ่อมแซมที่สมบูรณ์ ลักษณะการกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสและนิวคลีโอไทด์ดีเอ็นเอสายคู่จะกระตุ้นให้เกิดการซ่อมแซมดีเอ็นเอ

ความเสียหายของดีเอ็นเอ เกิดขึ้นโดยภาวะความเครียดจากภาวะออกซิเดชัน ซึ่งมีบทบาทต่อการเกิดโรคมะเร็ง และเป็นสาเหตุของกระบวนการชราภาพ (aging) (Kasai, 1997; Dizdaroglu, 1992; Guyton and Kensler, 1993; Feig *et al.*, 1994; Beckman and Ames, 1998) ในระบบทางชีววิทยา ดีเอ็นเอ ที่ได้รับความเสียหายจะถูกซ่อมแซมด้วยเอนไซม์ และเซลล์ก็ยังสามารถกลับมาทำหน้าที่ในภาวะปกติ อย่างไรก็ตามการซ่อมแซมที่ผิดพลาดของดีเอ็นเอที่ได้รับความเสียหายจะมีผลทำให้เกิดการ mutation เช่น การสลับลำดับเบส (base substitution) และการขาดหายของลำดับเบส (deletion) ซึ่งนำไปสู่การเกิดโรคมะเร็ง (Vineis *et al.*, 1999; Halliwell, 1998; Wang *et al.*, 1998.) ลำดับที่เฉพาะเจาะจงของ DNA damage มีบทบาทในการทำให้เกิดกระบวนการ mutation (matagenic processing)

ในปัจจุบันรายงานว่า ตำแหน่งของการเกิด DNA damage มีผลต่อการเกิด mutation ได้บ่อย (Hanrahan *et al.*, 1997) ดังนั้นการศึกษาลำดับเบสที่เฉพาะเจาะจงต่อการเกิด DNA damage จึงนำมาใช้ในการหาภาวะการเกิด DNA damage และมีประโยชน์ต่อการป้องกันการเกิดมะเร็ง

2. กระบวนการดัดแปลงโครงสร้างโปรตีน (protein modification)

ออกซิเจน เรดิคัล และ ROS ตัวอื่นๆ เป็นสาเหตุทำให้เกิดกระบวนการดัดแปลงโปรตีน (Grune *et al.*, 1997) ซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของโปรตีน คุณสมบัติทางเคมี หรือเพิ่มความไวต่อการสลายของโปรตีน (proteolysis) (Davies *et al.*, 1987; Stadtman, 1993; Wolff *et al.*, 1986) จากการศึกษาพบว่า การสลายโปรตีน จะเพิ่มขึ้นหลังจากพบว่ามีโครงสร้างซูเปอร์ออกไซด์หรือไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ (Davies and Goldberg, 1987) ซึ่งมีความเข้มข้น 20- 400 μM นอกจากนี้ความเข้มข้นเป็นมิลลิโมลาร์อาจจะนำไปสู่การสะสมของโปรตีนในรูปออกซิไดซ์ภายนอกเซลล์ (Grune *et al.*, 1997; Stadtman, 1993) ROS มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของการทำงานของเซลล์ได้โดยตรง การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในกระบวนการ post-translation ของโปรตีน ซึ่ง ROS จะไปออกซิไดซ์ กรดอะมิโนที่ตำแหน่งแขนงข้าง (side chain) และแกนโครงสร้างของโปรตีน (protein backbone) ซึ่งจะนำไปสู่ protein-protein cross-link และ โปรตีนแยกออกเป็น ส่วนๆ ซึ่งมีผลต่อเนื่องทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนดังกล่าว การเสื่อมสภาพของโปรตีน ทำหน้าที่ที่ผิดปกติ ซึ่งนำไปสู่การทำงานที่ผิดปกติของออร์แกเนล และ ทำให้เกิดการตายของเซลล์ได้ อนุพันธ์ของโปรตีนที่ถูกนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดถึงการเกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนจาก ROS มี 2 ชนิดคืออนุพันธ์ โปรตีน คาร์บอนิล (protein carbonyl) และอนุพันธ์โปรตีน ไนโตรไทโรซีน (protein nitrotyrosine) การปรากฏของอนุพันธ์ โปรตีน คาร์บอนิล ในโปรตีน แสดงว่าเกิดการออกซิเดชันโปรตีนการทำลายด้วยอนุมูลอิสระ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของโปรตีนคาร์บอนิล ในเนื้อเยื่อนั้นจะเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพ เช่น โรค rheumatoid arthritis, Alzheimer, respiratory distress syndrome, Parkinson's disease และ atherosclerosis

3. การเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (lipid peroxidation)

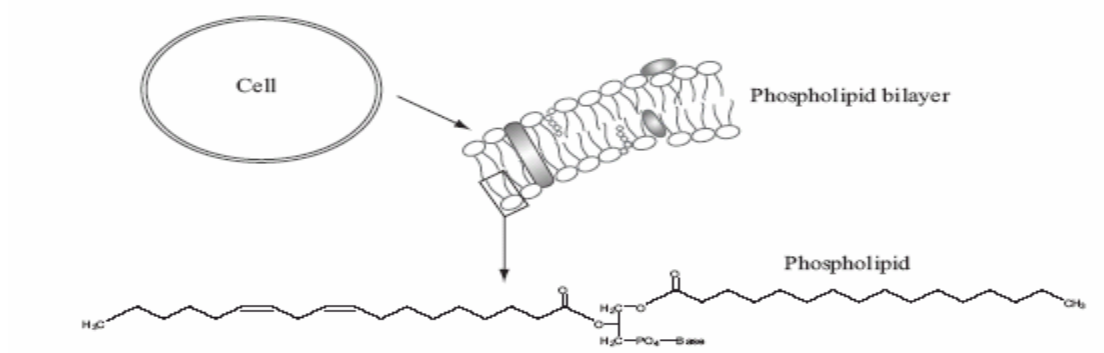
เยื่อหุ้มเซลล์มีส่วนประกอบของไขมันหลายชนิดที่มีความสำคัญในการรักษาสภาพการเป็นของไหลของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane fluidity) ไขมันเหล่านี้มีประจุอยู่ด้วย ส่วนโมเลกุลที่ชอบน้ำ (hydrophilic) อยู่ด้านนอกของเซลล์ ส่วนโมเลกุลที่ชอบไขมัน (lipophilic) อยู่ตรงกลางระหว่างโมเลกุลที่ชอบน้ำ ภายในเยื่อหุ้มเซลล์มีโปรตีนซึ่งมีความสำคัญกับการดำรงชีวิตของเซลล์ โปรตีนเหล่านี้ทำหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของไอออน ควบคุมสมดุลออสโมติก หรือทำหน้าที่เป็นตัวรับสัญญาณของเซลล์

กรณีที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นบริเวณใกล้กับเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งเป็น phospholipids และมีไขมัน เป็นส่วนประกอบอยู่ ไขมันในส่วนที่เป็นกรดไขมันสายยาวชนิดไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acids) เช่น arachidonic acids และ linolenic acid จะถูก reactive radical นั้นดึง hydrogen atom ออกมาจากกลุ่ม =CH- หนึ่งในกรดไขมันนั้น และทำให้กรดไขมันดังกล่าวเกิดเป็น carbon-centered radical จากนั้น carbon-centered radical จะรวมกับออกซิเจนแล้วเปลี่ยนเป็น peroxy radicals อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ในที่สุด เรียกว่า lipid hydroperoxide ซึ่ง lipid hydroperoxides นี้จะเคลื่อนย้ายจากเดิมที่เป็นกรดไขมันอยู่ตรงส่วนกลางของเยื่อหุ้มเซลล์ ไปที่ผิวด้านนอกแทน ผลที่เกิดตามจากคุณสมบัติที่เปลี่ยนจากกรดไขมันเป็น reactive radicals และการย้ายตำแหน่ง คือทำให้โครงสร้างและการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์เสียไป มีการรั่วของไอออนต่างๆเข้าภายในเซลล์ ทำลายโปรตีนที่ผนังเซลล์ เช่น receptor และเอนไซม์ต่างๆ (ภาพที่ 1) นอกจากนี้ lipid hydroperoxides ยังถูกเปลี่ยนเป็นสารพวกอัลดีไฮด์ (aldehyde) โดยมี iron หรือ copper ion เป็นตัวช่วย aldehyde ที่เกิดขึ้นนี้ เช่น malondialdehyde (MDA) และ hydroxynonenal (HNE) ซึ่งมีอันตรายต่อเซลล์เช่นกัน โดยสามารถทำให้โปรตีน และดีเอ็นเอในเซลล์เปลี่ยนแปลงได้

4. ROS ต่อโปรแกรมการตายของเซลล์ (program cell death)

4.1 การเหนี่ยวนำการเกิด apoptosis โดย ROS

การเกิด apoptosis เป็นลักษณะพิเศษของโปรแกรมการตายของเซลล์ ที่เป็นลักษณะที่ขาดไม่ได้ ในการพัฒนาและรักษาสมดุลของหลายๆเซลล์ (Wyllie *et al.*, 1980) การเพิ่มขึ้นของการสร้าง ROS ภายในเซลล์พบได้บ่อยในการกระตุ้นให้เกิด apoptosis จากการรายงานพบว่า ROS สามารถเหนี่ยวนำเซลล์ตายโดยการเกิด apoptosis ในเซลล์หลายชนิด (Dumont *et al.*, 1999) ซึ่งแสดงว่า ROS มีส่วนทำให้เซลล์ตาย แบบ apoptosis ซึ่งพบใน เซลล์ ที-ลิมโฟไซท์ (T-lymphocyte) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด apoptosis โดยการกระตุ้น CD95 โดยอาศัย ROS จากระบบขนส่งอิเล็กตรอนจากไมโทคอนเดรีย และการทำงานของ NF-kB (Dumont *et al.*, 1999)



ภาพที่ 1 บริเวณของเชื้อหุ้มเซลล์ที่ถูกอนุโมลิสเระเข้าทำปฏิกิริยา
ที่มา: Bohnstedt (2005)

4.2 การเหนี่ยวนำการเกิด apoptosis โดย ไนตริกออกไซด์

จากรายงานการทดลอง และการเกิดพยาธิสภาพ พบว่าไนตริกออกไซด์ ทำให้เกิด apoptosis (Albina and Reichner , 1998; Brune *et al.*, 1997; De Groot *et al.*, 1997; Thippeswamy and Morris, 1997) โดยไนตริกออกไซด์ เกี่ยวข้องกับการลดลงของความเข้มข้นของ คาร์ดิโอไลปิน (cardiolipin) การทำงานที่ลดลงของไมโทคอนเดรีย และการปล่อยไซโตโครมซี (cytochrom c) เข้าสู่ไซโตซอล (Umansky *et al.*, 2000; Ushmorov *et al.*, 1999) อย่างไรก็ตามเซลล์บางชนิด เช่น เซลล์ endothelium จาก microvasculature ด้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิด apoptosis โดยไนตริกออกไซด์และความเข้มข้นของไนตริกออกไซด์จะได้รับการป้องกันการเกิด apoptosis ในเซลล์หลายชนิดโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ caspases (Cohen, 1997; Kim *et al.*, 1997) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของกลูตาไธโอนจะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความต้านทานต่อไนตริกออกไซด์ ที่เป็นสื่อกระตุ้นทำให้เกิด apoptosis (Umansky *et al.*, 2000)

4.3 การเหนี่ยวนำเซลล์ตายโดย TNF- α

TNF- α เหนี่ยวนำให้เซลล์ตายได้ในเซลล์หลายชนิดของ เซลล์ tumor และถูกใช้เป็นแบบจำลองสำหรับศึกษากลไกในระดับโมเลกุลถึงสาเหตุทำให้เซลล์ตายจากการทดลองใน cell line พบว่า TNF- α สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง ROS จากไมโทคอนเดรีย (Donnell *et al.*, 1995; Schulze *et al.*, 1992) ซึ่ง ROS ที่ทำให้เกิดการตายของเซลล์นั้นขึ้นอยู่กับ การส่งสัญญาณ และวิธีการถูกกระตุ้น (Devos *et al.*, 1998) ในเม็ดเลือดแดง และไฟโบรบลาสต์ TNF- α จะเหนี่ยวนำ

ให้เกิดการปลดปล่อยซูเปอร์ออกไซด์ โดยการกระตุ้นของเอ็นไซม์ NADPH oxidase ซึ่งกระบวนการนี้จะเหนี่ยวนำให้เกิดการแบ่งตัวหรือทำให้เซลล์ตายได้ก็ขึ้นอยู่กับระดับของการสร้าง ROS ภายในเซลล์ (Hennet *et al.*, 1993; Klebanoff *et al.*, 1986)

การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนจากความเครียด

ผลการตอบสนองจากความเครียดในสัตว์ Connor and Orzechowski (2001) รายงานว่า การตอบสนองจากความเครียดของสัตว์ มีผลต่อภาวะสมดุลของฮอร์โมน และ อารมณ์ ระดับของความเครียดและความอยู่รอด ถ้าเครียดเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดความเสียหาย มีผลกระทบต่อต่อมไร้ท่อ (endocrine) ระบบภูมิคุ้มกัน (immunity) และระบบประสาท (nervous) ของสัตว์และขีดขวางประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ การตอบสนองความเครียดสามารถแบ่งเป็น 2 ลักษณะคือ

1. ความเครียดแบบเฉียบพลัน (acute stress) จะตอบสนองทันที และกระตุ้นการทำงานของต่อม adrenal หลั่ง adrenaline และ noradrenaline เป็นสาเหตุกระตุ้นอัตราการเต้นของหัวใจ กล้ามเนื้อเกร็ง อย่างไรก็ตามการกระตุ้นการทำงานของระบบต่างๆ ในร่างกายไม่สามารถเพิ่มอัตราความอยู่รอด เช่น อาจเกิดความดันโลหิตสูง หัวใจล้มเหลว และระบบทางเดินอาหารเป็นแผล มีฝุ่ฟองส่วนในทางเดินของระบบสืบพันธุ์

2. ความเครียดแบบเรื้อรัง (chronic stress) จะลดการ metabolism ในระหว่างการเกิดความเครียด รวมถึงกระตุ้นการทำงานของต่อม HPA (hypothalamus – pituitary -adrenal) จะทำให้เกิดการหลั่ง glucocorticoids, cortisol และ corticosterone จากต่อม adrenal จะมีผลทำให้ลดขบวนการ metabolism และการเก็บสำรองพลังงานจากขบวนการ glucogenesis และ lipolysis การตอบสนองความเครียดแบบเรื้อรัง จะทำให้สัตว์อ่อนแอ หรือเชื่องซึม ภูมิคุ้มกันลดลง และ การทำหน้าที่ระบบสืบพันธุ์ล้มเหลว

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ หรือ antioxidant คือ สารที่ทำหน้าที่ป้องกันหรือลดอัตราเร่งของการเกิดกระบวนการออกซิเดชันที่เป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radical) โดย antioxidant จะทำหน้าที่เป็นแหล่งของไฮโดรเจนเพื่อรวมตัวกับอนุมูลอิสระ

สาร antioxidant เป็นสารที่สามารถพบได้ทั้งในร่างกายและอาหารของสัตว์ แต่สาร antioxidant ที่พบในร่างกายสัตว์นั้นมีน้อยมากเมื่อเทียบกับการที่จะป้องกันการเสื่อมโทรมของเซลล์ของร่างกายที่เกิดจากสารพวกที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยา oxidation ในกระบวนการผลิตอาหารของมนุษย์จะมีการใช้สาร antioxidant ชนิด food grade เพื่อเป็นการรักษาคุณภาพของอาหารให้มีความคงทน และรักษาโภชนะต่างๆในอาหาร สารในกลุ่ม antioxidant ได้รับความสนใจในกระบวนการผลิตอาหารเนื่องจากเป็นสารที่ป้องกันการทำลายของสารที่มีลักษณะเป็น ROS และป้องกันการเปลี่ยนแปลงการเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อร่างกายที่จะก่อให้เกิดโรคต่างๆ

สาร antioxidant ที่มีการใช้ในปัจจุบันมีผลต่อการป้องกันการเกิด oxidation ที่ลำดับโมเลกุลของไขมันที่แตกต่างกัน ซึ่งจะมีผลต่อการลดปริมาณของออกซิเจนในกลุ่มของ singlet oxygen ทั้งช่วยในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยา oxidation โดยทำลายสารเริ่มต้นในการเกิด oxidation ตัวอย่างเช่น hydroxyl radical โดยจับกับตัวเร่งที่เป็นธาตุเหล็กทำให้เกิดการสลายตัวของสารตั้งต้นไปเป็นสารที่ไม่ใช่สารประกอบของอนุมูลอิสระ (non-radical compound) และ antioxidant มีการแตกออกของพันธะเพื่อป้องกันอะตอม hydrogen ในโครงสร้างไขมัน การเกิดปฏิกิริยา oxidation ของไขมันเกิดขึ้นเนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันที่มีลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกัน

สาร antioxidant ที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติ มีอยู่หลายชนิด อาทิ สารในกลุ่ม phenolic และ polyphenolic compound สารในกลุ่ม chelate รวมทั้งวิตามิน และเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติเป็นสาร antioxidant เช่น carotenoids และ carnosine สาร antioxidant มีกลไกในการป้องกันการเกิด autooxidant รวมทั้งป้องกันการเกิดการหืน (rancidity) ในอาหารที่แตกต่างกัน (Heim *et al.*, 2003)

กลูตาไทโอน (glutathione)

กลูตาไทโอน (γ -glutamyl-cysteinyl- glycine; GSH) เป็นกลุ่มของไตรเปปไทด์ (tripeptide) โดยมีกรดอะมิโนยึดเหนี่ยวกัน 3 ชุด คือ กลูตามีน (glutamine) ซีสทีนีน (cystenine) และไกลซีน (glycine) จากโครงสร้างของกลูตาไทโอนพบว่ามีการประกอบ ซัลไฮดริค (SH) รวมเกาะอยู่ด้วยที่ตำแหน่งของ cysteine ซึ่งยึดเหนี่ยวโดยเป็นพันธะคู่ โมเลกุลต่ำประมาณ 0.5 -10 mmol/L ในเซลล์ของสัตว์ และพบมากในส่วนของ cytosol ของเซลล์ (85 - 90%) ส่วนที่เหลือพบใน organelles ต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น mitochondria, peroxisome (Lu, 2000) ในส่วนของ GSH ภายนอกของเซลล์พบในปริมาณเพียงเล็กน้อยประมาณ 2 - 20 mmol/L ในพลาสมา เนื่องจาก GSH สามารถถูก oxidize เป็น GSSG โดยสารพวก electrophilic เช่น free radical, oxygen, nitrogen โดยทันที (Jones, 2000) GSH

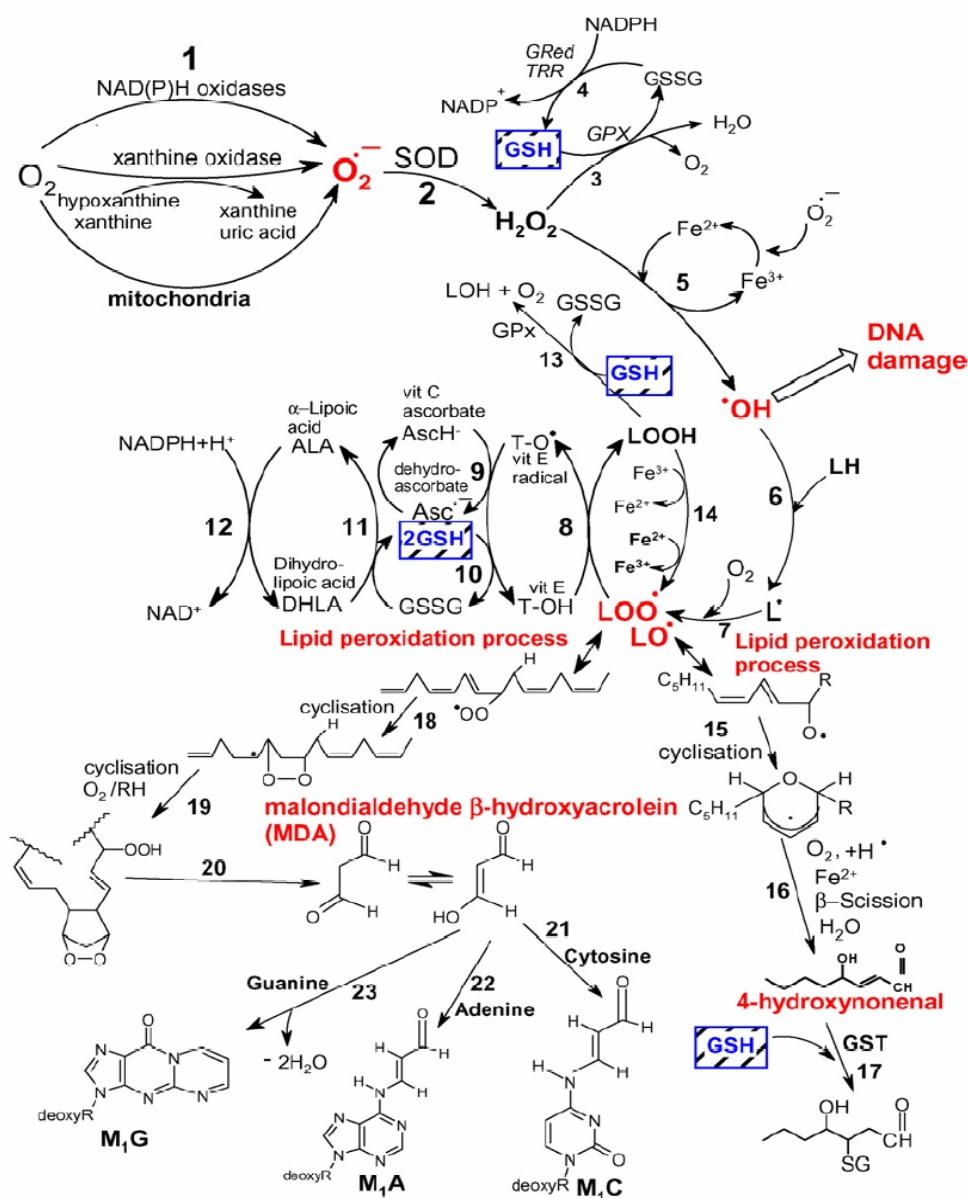
สามารถช่วยลดความเสียหายของเซลล์ที่เกิดจากสภาวะขาดโปรตีนในอาหาร ภาวะ oxidative stress และการเกิดโรคต่างๆ ซึ่งภาวะ oxidative stress นั้นสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่างๆได้ง่าย รวมถึงการติดเชื้อจากไวรัสด้วย (Jiyang *et al.*, 2003) ปริมาณของ GSH ภายในเซลล์สามารถวัดได้จากจำนวนความเข้มข้นของ GSH + 2 GSSG ที่พบภายในเซลล์โดยสัดส่วนของ GSH : GSSG เป็นตัวบ่งชี้ถึงอัตราของ redox สารพิษในเซลล์ ซึ่งหมายถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แต่อัตราการ redox นั้นนอกจากขึ้นอยู่กับ GSH/GSSG แล้วยังขึ้นอยู่กับ redox couples อื่น ๆ เช่น NADPH / NADP⁺ และ thionredoxin (reduce) / thioredoxin (oxidation) (Griffith, 1999)

การสังเคราะห์ glutathione

GSH สังเคราะห์มาจาก glutamate, cysteine และ glycine และ ถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ 2 ชนิดคือ γ -glutamyl cysteine synthetase (GCS) และ GSH Synthetase ดัง ภาพที่ 3

จากภาพที่ 3 จะพบในเซลล์ทุกชนิด และเซลล์ตับเป็นเซลล์หลักในการผลิต และส่งไปยังเซลล์อื่นๆ ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์ GCS γ -carboxyl group จาก glutamate เชื่อมกับ amino group จาก cysteine ด้วยพันธะ peptidic γ -linkage ได้เป็น γ -glutamyl-cysteine จากนั้นรวมกับ glycine โดยมีเอนไซม์ glutathione synthetase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้เป็น GSH (Guoyao *et al.*, 2004)

การสังเคราะห์ GSH นั้นยังมีความสัมพันธ์ระหว่างอวัยวะต่าง ๆ กับปริมาณเซลล์ เช่น แหล่งของ glutamate สำหรับ GCS นั้นแตกต่างกันระหว่างลำไส้เล็กกับไต นอกจากนั้นการสังเคราะห์ GSH ที่ตับนั้นเกิดขึ้นมากกว่าบริเวณ perivenous hepatocytes และ periportal cell ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของระดับ GSH ในพลาสมาอาจจะไม่ได้มีผลมาจากการสังเคราะห์ GSH จาก cell ใดโดยเฉพาะก็ได้ (Bella *et al.*, 2002) ปัจจุบันได้มีการใช้ isotope ในการศึกษา GSH metabolism และสามารถอธิบายเกี่ยวกับกลไกของ GSH ได้มากขึ้น (Yu *et al.*, 2002)

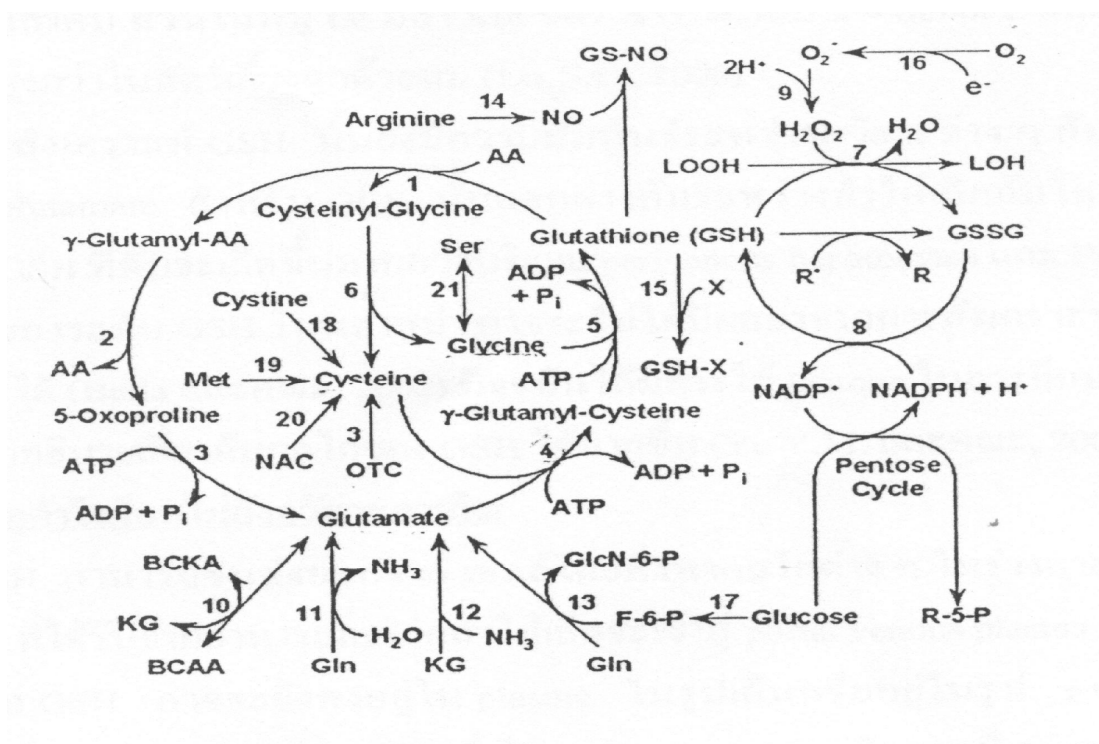


ภาพที่ 2 วิธีการเกิดอนุมูลอิสระที่เป็นอันตรายต่อสารชีวโมเลกุลและการกำจัดอนุมูลอิสระ
ที่มา: Valko (2007)

บทบาทของ glutathione

GSH สามารถมีปฏิกิริยากับ electrophiles ต่างๆ และ xenobiotic ให้อยู่ในรูป mercapturate ซึ่งมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี และสามารถขับออกนอกร่างกายได้ โดยพบในขบวนการขับสารพิษ โดยเอนไซม์ในช่วงที่ 2 โดยเอนไซม์ glutathione-S-transferase (Ladda, 1992) และ GSH สามารถจับกับ NO เป็น S-nitrosoglutathione และแยกออกจากกันโดย thioredoxin system ให้ GSH และ NO

(Fang *et al.*, 2002) โดย NO และ GSH มีความจำเป็นสำหรับการทำงานของตับใน insulin-sensitizing agents ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงการควบคุมการใช้ไขมัน กลูโคส และกรดอะมิโน (Guarino *et al.*, 2003)



ภาพที่ 3 การสังเคราะห์ glutathione

ที่มา: Guoyao *et al.* (2004)

หมายเหตุ AA, amino acid; BCKA, branched-chain ketonacids; GlcN-6-P, glucosamine-6-phosphate; GS-NO, glutathionenic oxide adduct; KG, ketoglutarate; LOO, lipidperoxylradical; LOOH, lipidhydroperoxide; NAC, N-acetylcysteine; OTC, l-2-oxothiazolidine-4carboxylate; R, radicals; R, nonradicals; R-5-P, ribulose-5-phosphate; X, electrophilic xenobiotics.

GSH เป็นส่วนสำคัญสำหรับเอนไซม์ formaldehyde dehydrogenase โดยการเปลี่ยน formaldehyde และ GSH เป็น S-formyl-glutathione (Townsend *et al.*, 2003) ซึ่งเป็นขบวนการสำคัญทางสรีรวิทยา เพราะว่า formaldehyde เป็นผลผลิตจาก metabolism ของ methionine, choline, methanol, sarcosine และ xenobiotics (cytochrome P450 monooxygenase system) นอกจากนั้น GSH ยังจำเป็นสำหรับขบวนการเปลี่ยน prostaglandin H₂ เป็น prostaglandins D₂ และ E₂ โดย endoperoxide isomerase (Lu, 2000)

GSH มีบทบาทในการกำจัดอนุมูลอิสระ เช่น superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$), hydroxyl radical ($HO^{\cdot}$), lipid peroxyl radical (LOO $^{\cdot}$), lipid hydroperoxide (LOOH) เป็นต้น ส่วนมากมีประจุรวมเท่ากับศูนย์ แต่ก็มีบางโมเลกุลที่มีประจุรวมเป็นบวก หรือ ลบ เรียกว่า เรดิคอล แคทไอออน (radical cations) หรือ เรดิคอล แอนไอออน (radical anion) ตามลำดับ (Ternary and Sorokin, 1997) ลักษณะดังกล่าว บางครั้งอาจทำให้เกิดการดึงดูดกันกับสนามแม่เหล็กไฟฟ้า โมเลกุลของอนุมูลอิสระไม่เสถียร และมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ซึ่งเป็นปฏิกิริยาต่อเนื่อง (Halliwell and Gutteridge, 1999) อนุมูลอิสระสามารถทำให้เกิดลิพิดออกซิเดชัน (lipid oxidation) ซึ่งทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้คุณสมบัติการเลือกผ่านเข้าออกของสารเสียไป และเกิดสารประกอบที่เป็นพิษ นอกจากนี้ยังสามารถก่อให้เกิดโปรตีนออกซิเดชัน (protein oxidation) ทำให้เกิดการย่อยสลายของโปรตีนที่เนื้อเยื่อเซลล์ ทำลายโมเลกุลของ DNA ทำให้เกิดการตายของเซลล์ ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ และเกิดมะเร็ง (Murray *et al.*, 1996)

ดังนั้นจะเห็นได้ว่า GSH มีบทบาทสำคัญต่อการทำงานของขบวนการทางสรีรวิทยาของสัตว์ทั้งในการเจริญของสเปิร์ม และ GSH ยังช่วยกระตุ้นการทำงานของ T-lymphocytes และ polymorpho nuclear leukocytes และสามารถขัดขวางการติดเชื้อ influenza virus ได้ (Guoyao *et al.*, 2004)

มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังมีแหล่งกำเนิดในเขตที่ราบต่ำแถบประเทศเขตร้อน (lowland tropics) มีหลักฐานแสดงว่ามีการปลูกมันสำปะหลังในประเทศโคลัมเบีย และเวเนซุเอลามานานกว่า 3,000-7,000 ปี สำหรับในเขตทวีปเอเชียมีการนำมันสำปะหลังมาปลูกครั้งแรกที่ประเทศฟิลิปปินส์ในคริสต์ศตวรรษที่ 17 โดยชาวสเปนได้นำมาจากเม็กซิโก และในเวลาต่อมาก็มีการปลูกที่อินโดนีเซีย นอกจากนี้มีหลักฐานว่าเมื่อ พ.ศ. 2337 ได้มีการนำมันสำปะหลังจากอัฟริกามาปลูกที่อินเดียเพื่อใช้ในการทดลอง

สำหรับประเทศไทยยังไม่มีหลักฐานที่แน่นอนว่ามีการนำมันสำปะหลังเข้ามาปลูกเมื่อใด คาดว่าคงจะเข้ามาในระยะเดียวกันกับการเข้าสู่ศรีลังกาและฟิลิปปินส์ คือ ประมาณ พ.ศ. 2329-2383 มันสำปะหลังเดิมเรียกกันว่า มันสำโรง มันไม้ ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า มันต้นเดี่ยว ทางภาคใต้เรียกมันเทศ (แต่เรียกมันเทศว่ามันหลา) คำว่าสำปะหลังที่คนส่วนใหญ่นิยมเรียกอาจมาจากคำว่า "ซัมปอ (Sampou)" ของชาวตะวันตก ประเทศไทยมีการปลูกมันสำปะหลังเป็นการค้าเพื่อใช้

ทำแป้งและสาquinภาคใต้ โดยปลูกระหว่างแถวของต้นยางพารากันมากกว่า 70 ปีแล้ว โดยเฉพาะที่จังหวัดสงขลามีอุตสาหกรรมทำแป้งและสาquinจำหน่ายไปยังปิ่นังและสิงคโปร์ แต่การปลูกมันสำปะหลังทางภาคใต้ค่อยๆ ลดลงเมื่อมีการขยายการปลูกยางพารา ต่อมาได้มีการปลูกมันสำปะหลังในภาคตะวันออก คือจังหวัดชลบุรี ระยอง และจังหวัดใกล้เคียง แต่เมื่อความต้องการของตลาดในด้านผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์และอุตสาหกรรมมีเพิ่มมากขึ้น ทำให้พื้นที่ในภาคตะวันออกผลิตได้ไม่เพียงพอกับความต้องการ จึงมีการขยายพื้นที่ปลูกไปยังจังหวัดอื่นๆ โดยเฉพาะทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งในปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกมากที่สุดของประเทศไทย (<http://www.doa.go.th/fieldcrops/cas/var/his.HTM>)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มันสำปะหลังมีชื่อสามัญว่า cassava, mandioca, manioc, tapioca และ yuca (Alves, 2002) ปัจจุบันนิยมเรียกมันสำปะหลังเป็นภาษาอังกฤษว่า Cassava มันสำปะหลังที่ปลูกเชิงการค้ามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* Crantz. (เจริญศักดิ์, 2532; คณัย, 2537) มีการจัดหมวดหมู่ทางพฤกษศาสตร์ไว้ดังนี้ (Lancaster *et al.*, 1982)

Order: Geraniales

Class: Dicotyledonae

Sub-class: Archichlamydeae

Sub-division: Agiospermae

Family: Euphorbiaceae

Genus: *Manihot*

Tribe: Manihoteae

Species: *Esculenta*

มันสำปะหลังเป็นไม้พุ่มยืนต้นที่มีอายุอยู่ได้หลายปี (shrubby perennial crop) ลักษณะลำต้นและความสูงของต้นมันสำปะหลังแตกต่างกันตามสายพันธุ์และสภาพแวดล้อม ลำต้นมีสีต่างๆ มากมายแล้วแต่พันธุ์ เช่น สีเขียวเงิน สีเทาเงิน สีเหลือง และสีน้ำตาล เป็นต้น แต่ส่วนยอดมักมีสีเขียว การปลูกเป็นการค้าใช้ส่วนของลำต้นตัดเป็นท่อนปักลงในดินตรงบริเวณรอยตัดที่ปักอยู่ในดินจะแตกเป็นรากฝอยออกมา สำหรับรากของมันสำปะหลังจะแบ่งได้ 2 ชนิด ได้แก่ รากจริง (true root หรือ wiry root) และรากสะสม (modified root หรือ storage root) ส่วนดาที่อยู่ด้านข้างจะเจริญเติบโตออกมาเป็นลำต้น หลังจากปลูกได้ประมาณ 2 เดือนรากในส่วนรากสะสมจะค่อยๆ สะสมแป้งใน parenchyma cell ทำให้มีขนาดรากโตขึ้นเรียกว่าหัว (tuber) โดยทั่วไปแม้มัน

ลำปะหลังจะเป็นพืชยืนต้น แต่เกษตรกรมักเก็บส่วนของหัวพืชนี้เมื่ออายุได้ประมาณ 1 ปี ซึ่งระยะนี้ต้นจะมีความสูงประมาณ 2-3 เมตร (เจริญศักดิ์, 2532 และคนัย, 2537) โดยทั่วไปในต้นมันลำปะหลังต้นหนึ่งจะมีรากสะสมอาหารหรือหัวอยู่ประมาณ 5-20 หัวต่อต้น (คนัย, 2537) ทั้งนี้จำนวนหัวมันมีมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และการเขตกรรม

Hillock and Thresh (2002) กล่าวว่าใบมันลำปะหลังเป็นแบบใบเดี่ยว (single leaf) มีลักษณะเป็น lobe คล้ายฝ่ามือ โดยปกติจะมีจำนวน lobe เป็นเลขคี่ตั้งแต่ 3 - 9 lobe บางครั้งอาจถึง 11 lobe ลักษณะโครงสร้างและส่วนประกอบของใบมันลำปะหลังจะแปรผันไปตามสภาวะของสภาพแวดล้อมและอายุของพืช ใบที่โตเต็มที่จะมีผิวเรียบ ก้านใบปกติมีความยาว 5 - 30 เซนติเมตร แต่บางครั้งอาจยาวมากกว่า 40 เซนติเมตร ผิวใบด้านบนมีลักษณะเป็นมัน มีความหนาแน่นของปากใบสูงซึ่งส่วนใหญ่อยู่ที่ส่วนท้องใบ (abaxial surface) จากการศึกษาค้นพบเพียง 2 % ที่ปากใบอยู่ใกล้แกนใบ อายุของใบมันลำปะหลังอยู่ระหว่าง 60 - 120 วัน แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ หากใบมันลำปะหลังไม่ได้รับแสงจะร่วงหลุดภายใน 10 วัน (ไชยรัตน์, 2536)

มันลำปะหลังเป็นพืชที่สามารถอยู่รอดได้ในสภาวะแห้งแล้ง เนื่องจากมีลักษณะเฉพาะคือมีปากใบอยู่ด้านข้างของใบเท่านั้น และปากใบจะปิดเมื่อมีความแตกต่างของความดันไอน้ำ (vapour pressure difference) ระหว่างใบกับอากาศภายนอก และเมื่อน้ำไม่ถูกดูดซึมเข้าดินพืช ซึ่งจะตรงกันข้ามกับพืชอื่นที่จะเปิดปากใบตลอดเวลาถึงแม้ว่าน้ำที่ดูดซึมเข้าลำต้นจะลดลงและจะปิดปากใบเมื่อไม่มีน้ำภายในลำต้นแล้ว ในขณะที่มันลำปะหลังจะปิดปากใบทันทีที่มีการระเหยน้ำมาก นอกจากนี้ยังลดพื้นที่ใบลงโดยการหลุดร่วงของใบแก่ มันลำปะหลังสามารถเจริญเติบโตได้ดีภายใต้ความเข้มของแสงอาทิตย์ที่สูง โดยพบว่าการสังเคราะห์แสงของมันลำปะหลังเป็นลักษณะร่วมของพืช C_3 และ C_4 ถ้าอุณหภูมิต่ำจะใช้การสังเคราะห์แสงแบบพืช C_3 และถ้าอุณหภูมิสูงจะเป็นแบบ C_4 (Onwueme and Charles 1994)

ประเทศไทยมีการปลูกมันลำปะหลังเชิงการค้ามาเป็นเวลานานกว่า 30 ปี โดยผลผลิตหัวมันสดที่ได้ส่วนหนึ่งจะถูกแปรรูปเป็นแป้งมันลำปะหลังเพื่อใช้เป็นอาหารคน และใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น การทำกาว อุตสาหกรรมกระดาษ สิ่งทอ เป็นต้น หัวมันสดอีกส่วนหนึ่งจะถูกแปรรูปเป็นมันเส้นและมันอัดเม็ดใช้เป็นอาหารสัตว์ ที่ผ่านมามีประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกมันอัดเม็ดรายใหญ่ที่สุดของโลก ส่วนใหญ่นำไปใช้เลี้ยงสัตว์โดยตลาดหลักได้แก่ ประเทศในสหภาพยุโรป (อียู) ซึ่งเคยส่งออกได้ปีละ 5.5-7 ล้านตัน ในขณะที่การใช้มันลำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ในประเทศไทยขณะนั้นยังน้อยมาก ทว่าตั้งแต่ปี พ.ศ. 2536 เป็นต้นมาสหภาพยุโรปมีนโยบายลดการ

สนับสนุนทางการเกษตร (CAP reform policy) อย่างต่อเนื่องทำให้รัฐพืชในสหภาพยุโรปมีราคาลดลง ส่งผลให้มันอัดเม็ดในสหภาพยุโรปมีราคาลดลง และการใช้มันอัดเม็ดในอาหารสัตว์ก็ลดลงตามไปด้วย

การส่งเสริมการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ในประเทศเพื่อลดการพึ่งพาส่งออกให้น้อยลง เริ่มต้นในปี พ.ศ. 2540 มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทยร่วมกับศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ สถาบันสุวรรณจากกลกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์ และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ดำเนินโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีและการส่งเสริมการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ในประเทศไทย โดยในช่วงแรกเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ยังไม่ค่อยให้การยอมรับเท่าใดนัก เพราะมีความไม่เข้าใจเกี่ยวกับมันสำปะหลังมาก่อน แต่ด้วยสถานการณ์และความจำเป็นบังคับ เนื่องจากผลของวิกฤตเศรษฐกิจที่ทำให้วัตถุดิบอาหารต่างๆ มีราคาแพงขึ้น จากการลดค่าเงินบาท แต่ราคาสัตว์มีชีวิตตกต่ำ กำลังการบริโภคของประชาชนลดลง ประกอบกับราคามันสำปะหลังในขณะนั้นก็ตกต่ำมาก เพราะส่งออกได้น้อย จึงเป็นแรงจูงใจให้เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์จำเป็นต้องใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารสัตว์ เพื่อความอยู่รอดของธุรกิจ ขณะเดียวกันการจัดสัมมนาและการฝึกอบรมโดยโครงการดังกล่าวทำให้เกษตรกรมีการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ด้วยความเข้าใจมากขึ้น จนกระทั่งปัจจุบันเกษตรกรผู้เลี้ยงสุกร โคเนื้อ และโคนม ทั้งรายเล็ก กลาง ใหญ่ ยอมรับการใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารสัตว์กันอย่างกว้างขวาง

นอกจากนี้มันสำปะหลังยังแสดงให้เห็นถึงศักยภาพการเป็นวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงไก่เนื้อเพื่อการส่งออกด้วย จากการติดตามประเมินผลพบว่า เกษตรกรพอใจกับการใช้มันสำปะหลังในอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ มาก เนื่องจากสัตว์เลี้ยงที่กินอาหารสูตรมันสำปะหลังนอกจากจะเติบโตและให้ผลผลิตตามปกติแล้ว สัตว์เหล่านี้ยังมีสุขภาพดีขึ้นกว่าเดิมมาก ไม่ค่อยเจ็บป่วย ทำให้สามารถลดการใช้ยาปฏิชีวนะในสูตรอาหาร หรือในการเลี้ยงสัตว์ลงได้ อีกทั้งเนื้อสัตว์หรือผลผลิตจากสัตว์ เช่น ไก่ นม ก็มีรสชาติดีขึ้น มูลสัตว์มีกลิ่นน้อยลง แมลงวันลดลง ที่สำคัญสัตว์มีความชอบในการกินสูตรอาหารมันสำปะหลังเป็นอย่างมาก หากสูตรอาหารนั้นได้รับการปรุงแต่งแก้ไขให้ถูกต้อง (อุทัย และสุกัญญา, 2547)

ปัจจุบันแม้ว่ามันสำปะหลัง (มันเส้น) มีราคาสูงขึ้น แต่ฟาร์มเลี้ยงสัตว์จำนวนมากยังคงใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารเหมือนเดิม เนื่องจากข้อดีและข้อได้เปรียบของมันสำปะหลังที่เหนือกว่าข้าวโพดหลายประการ (<http://www.ku.ac.th/e-magazine/april48/agri/fatty.html>)

ไขมันลำปะหลัง

ไขมันลำปะหลังเป็นผลพลอยได้ที่ได้จากการเก็บเกี่ยวหัวมันแล้ว โดยพบว่าไขมันลำปะหลังมีปริมาณโปรตีนและสารอาหารอื่นๆ ในระดับสูงทั้งที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว (ตารางที่ 1) เจริญศักดิ์ (2532) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในไขมันลำปะหลัง 13 สายพันธุ์ พบว่าไขมันลำปะหลังมีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ 21.6 - 25.4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนก้านใบมีปริมาณโปรตีนเพียงหนึ่งในหกของไขมันลำปะหลังเท่านั้น (ไชยรัตน์, 2536) นอกจากนี้ไขมันลำปะหลังจะมีปริมาณโปรตีนในระดับสูงแล้ว Onwueme (1978) ยังพบว่าไขมันลำปะหลังมีวิตามินและสารให้สีอยู่ในปริมาณมากด้วย โดยมีวิตามินซี 200 มก. วิตามินเอ 10,000 IU วิตามินบี1 (thiamine) 0.27 มก. วิตามินบี2 (riboflavin) 0.34 มก. แคลโรทีน 53 มก./100 ก. และ แซนโทฟิลล์ 92 มก. /100 ก.

คุณภาพของโปรตีนในไขมันลำปะหลัง

ไขมันลำปะหลังแห้งพบว่ามีปริมาณโปรตีนสูงถึง 15 - 42% แตกต่างกันตามสายพันธุ์ สภาพแวดล้อม และการจัดการการปลูกมันลำปะหลังนอกจากนี้ ไชยรัตน์ (2536) กล่าวว่าไขมันลำปะหลังเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพดี ราคาถูก เพราะมีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบสูงกว่าในหัวมันลำปะหลัง (ตารางที่ 2) ถึงแม้ว่าไขมันลำปะหลังจะมีกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ในปริมาณสูง แต่มีปริมาณกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและทริปโตเฟนค่อนข้างต่ำ (Fasuyi, 2005) ดังนั้นในการนำไขมันลำปะหลังไปใช้จึงควรเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนเพื่อให้เพียงพอกับความต้องการของสัตว์

สารพิษที่พบในมันลำปะหลัง

อุทัย และ สุกัญญา (2547) กล่าวว่าทุกส่วนของมันลำปะหลัง รวมทั้งไขมันลำปะหลัง ยกเว้นเมล็ด มีสารพิษ cyanogenic glucoside เป็นองค์ประกอบ ความเข้มข้นของ cyanogenic glucoside ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สิ่งแวดล้อม และอายุของพืช ในหัวมันลำปะหลังจะมีของเหลวสีขาวข้นอยู่ใต้เปลือก เมื่อหัวมันถูกตัด สับ หรือหั่นจะมีน้ำยางสีขาวไหลออกมาพบว่ามีสาร cyanogenic glycosides อยู่ 2 ชนิด คือ

1. ลินามาริน (linamarin) พบในปริมาณ 93 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไฮโดรไซยานิกทั้งหมด มีชื่อทางเคมีว่า 2-hydroxyl isobutyronitrile- β -D-glycoside เป็นไกลโคไซด์ของอะซิโตนไฮยาโนไฮดริน (acetone cyanohydrin) ซึ่งสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนวาเลีน (valine) (ภาพที่ 4)

ตารางที่ 1 แสดงโภชนะของไขมันสำปะหลังเปรียบเทียบกับกากถั่วเหลือง

	ไขมันสำปะหลังแห้ง (%) ^{1/}	กากถั่วเหลือง (%) ^{2/}
ความชื้น	9.28	10.00
โปรตีน	23.10	44.00
เยื่อใย	21.11	7.00
ไขมัน	7.24	1.00
เถ้า	5.72	6.00
แคลเซียม	0.99	0.25
ฟอสฟอรัส	0.73	0.20
กรดไฮโดรไลซายันิก	30.5	-

ที่มา: ^{1/} เจริญศักดิ์ (2532)

^{2/} อุทัย (2529)

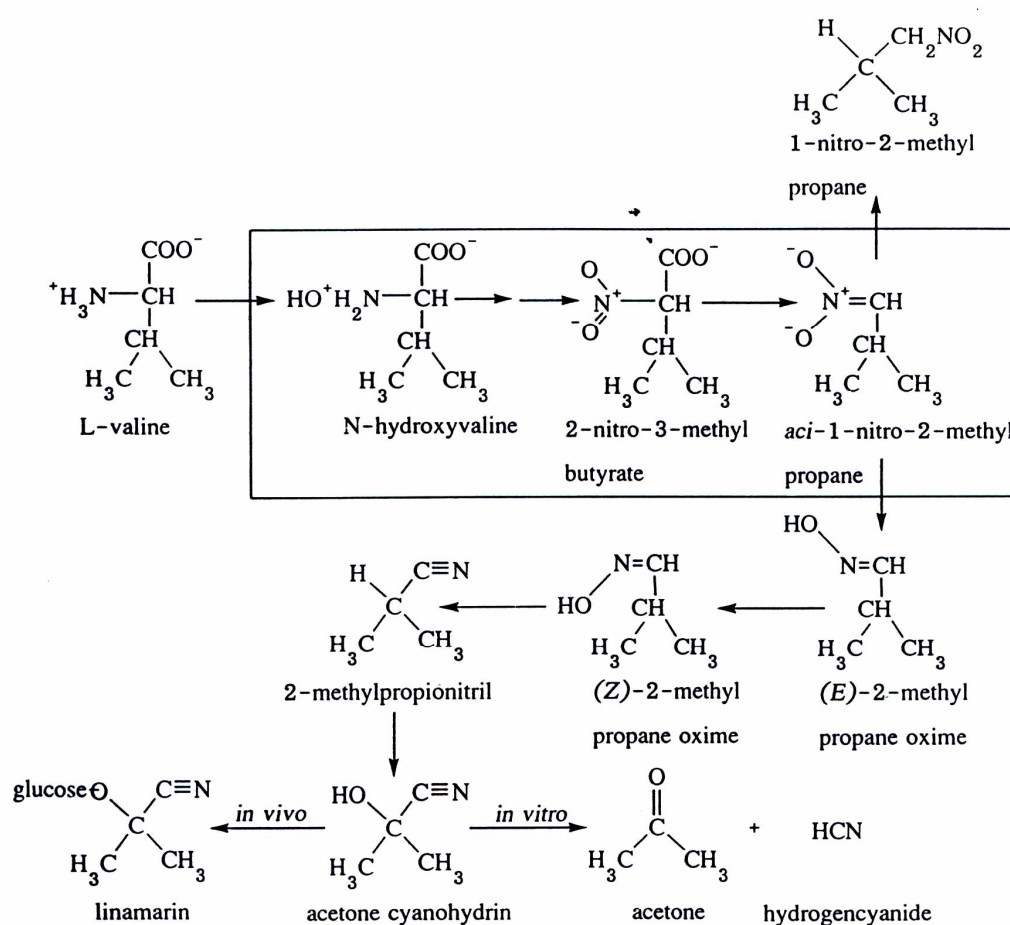
ตารางที่ 2 ปริมาณกรดอะมิโนที่มีในไขมันสำปะหลัง

	ไขมันสำปะหลังแห้ง (%) ^{1/}	กากถั่วเหลือง (%) ^{1/}	ความต้องการของ สุกร นน.10-20 กก. (%) ^{2/}
ไลซีน	1.92	2.73	1.01
เมทไธโอนีน+ซิสตีน	0.15	0.59	0.58
ทริปโตเฟน	0.29	0.59	0.18
ทรีโอนีน	1.64	1.72	0.63
ไอโซลิวซีน	1.74	2.17	0.55
อาร์จินีน	1.83	3.18	0.42
ลิวซีน	1.35	3.39	1.02
เฟนิลอะลานีน+ไทโรซีน	2.16	3.82	0.95
ฮิสติดีน	0.15	1.11	0.32
วาเลีน	0.96	2.24	0.69

ที่มา: ^{1/} อุทัย (2529)

^{2/} NRC (1998)

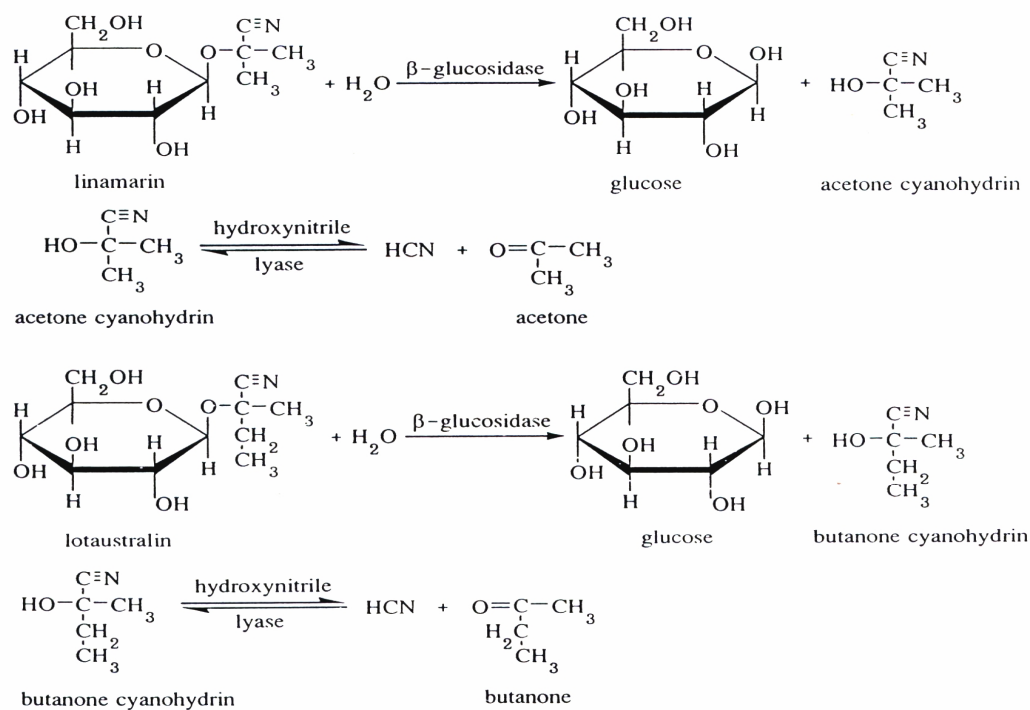
2. โลทอสตราลิน (lotoustralin) พบในปริมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ของกรดไฮโดรไลซายานิกทั้งหมด มีชื่อทางเคมีว่า 2-hydroxy-2-methylbutyronitrile- β -D-glycoside เป็นไกลโคไซด์ของเมทิลเอทิลคีโตนไฮยาโนไฮดริน (methyl ethyl ketone cyanohydrin) สังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนไอโซลิวซีน (isoleucine)



ภาพที่ 4 การสังเคราะห์ ลินามารินจากกรดอะมิโนวาลีนในมันสำปะหลัง
ที่มา: Koch *et al.* (1994)

cyanogenic glycosides มีอยู่ในเนื้อเยื่อของพืช เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลาย เช่น ถูกบด ถูกสับ หรือถูกเคี้ยวจะมีการสลายตัวของสารประกอบนี้ โดยกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ด้วยกิจกรรมของเอนไซม์ลีนามาราส (linamarase) และเอนไซม์ออกซิไนตริเอส (oxynitriase) หรือไฮดรอกซีไนไตริลเลส (hydroxynitrilelyase) ได้สารอะซีโตนไฮยาโนไฮดริน (acetone cyanohydrin) จากการสลายลีนามาริน ซึ่งเป็นสารที่ไม่อยู่ตัวจะปลดปล่อยกรดไฮโดรไลซายานิก

(hydrocyanic acid) ออกมาจากการสลายตัวเองได้ผลิตภัณฑ์ ดังภาพที่ 5 การที่พืชสามารถปล่อยกรดไฮโดรไซยานิกออกมาเรียกว่า กระบวนการไซยาโนเจเนซิส (cyanogenesis) ซึ่งโดยธรรมชาติการสร้างกรดไฮโดรไซยานิกของพืช เป็นการป้องกันตัวเองจากการถูกทำลายจากสัตว์และแมลง (Nartey, 1973) สารไซยาโนจินิกไกลโคไซด์จะมีอยู่ตามส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง เช่น ใบ ลำต้น และหัว เป็นต้น โดยพบอยู่ในส่วนของแวคิวโอล (vacuoles) ส่วนเอนไซม์ลินามาเรสพบอยู่ในไซโตซอล (cytosol) (Cheeke and Shull, 1985) การสลายตัวของสารพิษนี้พบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์จะสูงในใบอ่อนที่เพิ่งเริ่มคลี่และส่วนเปลือกของหัวมัน ส่วนในเนื้อของหัวมันจะเกิดปฏิกิริยาช้ามาก ซึ่งในสภาพการเจริญเติบโตตามปกติจะไม่พบกรดไฮโดรไซยานิกที่ปล่อยออกมา แต่จะพบเมื่อส่วนของเนื้อเยื่อถูกทำลายหรือถูกบดขยี้ส่วนต่างๆ ซึ่งจะเป็นการเร่งให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยากับสารไซยาโนเจนิก ไกลโคไซด์ และปลดปล่อยกรดไฮโดรไซยานิกออกมา (พิชัย, 2528)



ภาพที่ 5 การสลายตัวของลินามารินและโลทอสตราลิน ได้สารพิษกรดไฮโดรไซยานิก
ที่มา: Conn (1994)

เจริญศักดิ์ (2532) กล่าวว่า พบกรดไฮโดรไลซายานิกที่ส่วนเปลือกของหัวมากกว่าส่วนเนื้อ
มัน 5 -10 เท่า ส่วนใบอ่อนมีมากกว่าใบแก่และเนื้อมัน ดังแสดงในตารางที่ 3 ปริมาณสารนี้จะ
แตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อม พันธุ์ และวิธีการวิเคราะห์ สารไฮยาโนจีนิกไกลโคไซด์นั้นสร้าง
ขึ้นในส่วนของใบมันสำปะหลัง แล้วลำเลียงไปเก็บยังส่วนต่างๆ ของมันสำปะหลัง เช่น ที่รากหรือ
หัว เป็นต้น กรดไฮโดรไลซายานิกที่มีอยู่ในต้นมันสำปะหลังนั้นไม่เป็นอันตราย เพราะที่ต้นมัน
สำปะหลังสามารถเปลี่ยนกรดไฮโดรไลซายานิกเป็นกรดอะมิโนที่เป็นประโยชน์ในการเจริญเติบโต
เพราะกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นองค์ประกอบของโปรตีน คือ แอสพาราจีน (asparagine) แอสพาร์ติก
(aspartic) กลูตามีน (glutamine) และกรดกลูตามิก (glutamic acid) ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้เชื่อว่าเป็น
สารสุดท้ายในขบวนการสังเคราะห์ไฮยาโนจีนิกไกลโคไซด์ (พิชัย, 2528; เจริญศักดิ์, 2532)

ตารางที่ 3 ปริมาณกรดไฮโดรไลซายานิกในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง

ส่วนของพืช	ไกลโคไซด์		ลินามาเรส
	มก. HCN/กก. น้ำหนักสด	มก. HCN/กก. น้ำหนักแห้ง	มก. HCN/กก. น้ำหนักสด
ยอดอ่อน	490	1,360	730
ใบแก่	380	1,055	100
ก้านใบ	150	417	380
เปลือกลำต้น	535	1,486	81.5
เปลือกหัว	640	1,778	270
เนื้อหัว	140	390	9
มันเส้น	-	30	-
มันเม็ด	-	13.5	-

ที่มา: สาโรช และ เขาวมาลย์ (2531)

นอกจากนี้ในใบมันสำปะหลังยังพบสารแทนนิน ซึ่งจะมีผลกระทบต่อการย่อยได้ของสัตว์
กระเพาะเคี้ยว แต่ในสัตว์กระเพาะรวมนั้นการได้รับแทนนินในปริมาณน้อยกลับเป็นประโยชน์
โดยพบว่า condensed tannin นั้นถูก hydrolyze ได้ยากด้วยกรดหรือเอนไซม์ และละลายน้ำได้น้อย
กฤษฎา (2526) กล่าวว่าแทนนินจะช่วยป้องกันไม่ให้โปรตีนในอาหารถูกทำลายโดยจุลินทรีย์ใน
กระเพาะรูเมน ดังนั้นโปรตีนในใบมันสำปะหลังจึงเคลื่อนเข้าสู่ลำไส้เล็กโดยไม่ถูกจุลินทรีย์ใน

กระเพาะรูเมนย่อยทำลายก่อน แทนนินที่มีอยู่ในอาหารที่ระดับ 2-4 เปอร์เซ็นต์ของวัตถุดิบ จะสามารถช่วยป้องกันโปรตีนจากการบดเคี้ยว และจากการย่อยด้วยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน แต่แทนนินที่ระดับสูง 5-9 เปอร์เซ็นต์ ของวัตถุดิบจะส่งผลทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย (Anonymous, 2005) นอกจากนี้แทนนินยังสามารถใช้เป็นยาถ่ายพยาธิภายในของสัตว์กระเพาะรวมได้โดยจะมีผลต่อผิวหนังของพยาธิทำให้เกิดความระคายเคือง และไม่สามารถเกาะผนังลำไส้ได้

ความเป็นพิษของกรดไฮโดรซยานิก

โดยปกติเมื่อสัตว์กินอาหารเข้าไปในร่างกาย อาหารจะถูกนำไปผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ซับซ้อนหลายขั้นตอน เพื่อให้กลายเป็นพลังงานเก็บไว้ใช้ เพราะร่างกายสัตว์ต้องการพลังงานอยู่ตลอดเวลา หนึ่งในกระบวนการสร้างสารเก็บพลังงานนี้ คือ กระบวนการที่เรียกว่า electron transfer system (ETS) ยุกา (2542) รายงานว่าในสภาพปกติแล้ว ETS จะเป็นการส่งผ่านอิเล็กตรอนที่ได้จากอาหารให้กับตัวรับที่เรียกว่า cytochrome ระหว่างการส่งอิเล็กตรอนไปเรื่อยเป็นทอดๆ จะมีการปล่อยพลังงานออกมาให้ตัวเก็บพลังงานรับไป แล้วจะได้สาร ATP ซึ่งเป็นสารเก็บพลังงานมาหนึ่งตัว เมื่อมีไซยาไนด์ในกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอน ไซยาไนด์จะไปเกาะที่ cytochrome ทำให้การส่งต่ออิเล็กตรอนชะงัก นอกจากนี้การสร้างสาร ATP ก็ชะงักตามไปด้วย ไซยาไนด์ยังสามารถไปเกาะกับฮีโมโกลบินซึ่งเป็นสารที่ร่างกายใช้ขนส่งออกซิเจนไปตามที่ต่างๆ ทั่วร่างกาย เมื่อมีไซยาไนด์มาแทนที่ออกซิเจนแล้ว เซลล์ในร่างกายจะขาดออกซิเจน

สารพิษไซยาไนด์เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไซโตโครมออกซิเดส (cytochrome oxidase) และเอนไซม์กลูโคซิทรานเฟอร์เรส โดยรวมตัวกับธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริกภายในไซโตโครม เกิดเป็นสารประกอบไซยาโนไซโตโครมออกซิเดส ซึ่งสารดังกล่าวนี้จะไปขัดขวางการทำงานของกระบวนการอิเล็กตรอนทรานสปอร์ตทำให้การสังเคราะห์อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) หยุดชะงัก ส่งผลให้กระบวนการหายใจขัดข้อง (รุ่งเรือง และคณะ, 2547)

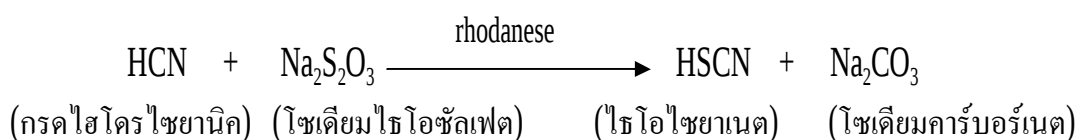
นอกจากนี้ cyanogenic glucosides ยังมีผลต่อการสังเคราะห์ฮอร์โมนจากต่อมไทรอยด์ (thyroid gland) โดยจะไปยับยั้งการรับธาตุ iodide หรือยับยั้งการกระตุ้น thyroid peroxidase (Chandra et al., 2004)

การกำจัดสารพิษกรดไฮโดรไซยานิกในร่างกายสัตว์

กรดไฮโดรไซยานิกสามารถสลายตัวบางส่วน จึงทำให้ความเป็นพิษลดน้อยลง ปริมาณสารพิษที่หลงเหลืออยู่จะขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่เกิดปฏิกิริยา และสภาพการณ์ที่สารพิษถูกปลดปล่อยออกไป (Gomez *et al.*, 1984) กรดไฮโดรไซยานิกจะสลายตัวและระเหยที่อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส (Lorgue *et al.*, 1996)

อุทัย และ สุกัญญา (2547) กล่าวว่าไบมันสำปะหลังสดทั่วไปมีความชื้นประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และมีระดับไซยาไนด์อยู่สูงไม่ควรนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ในสภาพสด ควรทำให้แห้งโดยการผึ่งแดด 2 - 3 แดด จะสามารถลดระดับสารพิษหลงเหลือประมาณ 30 ส่วนในหนึ่งล้านส่วน (ppm) ซึ่งเป็นระดับที่ไม่เป็นพิษกับสัตว์ (ตารางที่ 4)

นอกจากนี้ในร่างกายของสัตว์ทั่วไปสามารถที่จะเปลี่ยนกรดไฮโดรไซยานิกเป็นสารอื่นที่ไม่เป็นพิษได้ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์โรดานีส (rhodanese) ซึ่งมักพบมากที่ตับ ไต และต่อมไทรอยด์ เมื่อมีเอนไซม์ดังกล่าวกรดไฮโดรไซยานิกจะรวมตัวกับสารประกอบไธโอซัลเฟต (thiosulfate) ได้สารประกอบไธโอไซยาเนต (thiocyanate) ที่มีพิษน้อยกว่ากรดไฮโดรไซยานิกประมาณ 200 เท่า และจะถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ ดังปฏิกิริยาเคมีดังนี้ (พิชัย, 2528; เจริญศักดิ์, 2532)



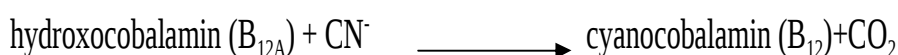
ตารางที่ 4 ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิกในไบมันสำปะหลัง

ชนิดของใบ	ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิก (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
ไบมันสำปะหลังสด	113.80
ไบมันสำปะหลังแห้ง (อบที่ 70-80 °C)	26.10
ไบมันสำปะหลังหมักตากแห้ง	16.40

ที่มา: เจริญศักดิ์ (2532)

ประสิทธิภาพการกำจัดพิษในร่างกายสัตว์ขึ้นอยู่กับปริมาณเอนไซม์โรดานีส และ สารประกอบไฮโอซัลเฟต ซึ่งต่างก็เป็นสารที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (sulfur-containing compound) เพราะฉะนั้นความสามารถในการกำจัดสารพิษ จึงขึ้นอยู่กับปริมาณกำมะถันในร่างกาย และจากอาหารสัตว์ที่ได้รับโดยตรง ดังนั้นการเสริมกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ หรือ การเสริมโซเดียมไฮโอซัลเฟต หรือสารประกอบซัลเฟตอื่นๆ หรือธาตุเหล็ก ทองแดง ไอโอดีน สังกะสีในอาหาร จึงมีผลช่วยปรับสมดุลของกรดอะมิโนในอาหารและช่วยกำจัดสารพิษกรดไฮโดร ไซยานิกทำให้สมรรถภาพการผลิตและการจับถ่ายสารประกอบไฮโอไซยานเนตทางปัสสาวะได้ เพิ่มขึ้น (สาโรช และคณะ, 2527; Oke, 1978; Gomez *et al.*, 1984)

นอกจากนี้สัตว์สามารถกำจัดกรดไฮโดรไซยานิกออกจากร่างกายโดยใช้วิตามิน B₁₂ (cyanocobalamin, B₁₂) และวิตามิน B_{12A} (hydroxocobalamin, B_{12A}) ซึ่งจะเปลี่ยนไปเป็นวิตามิน B₁₂ เมื่อรวมตัวกับไซยาไนด์ (เจริญศักดิ์, 2532)



สารออกฤทธิ์อื่น ๆ ที่มีในพืชตระกูล Euphorbiaceae

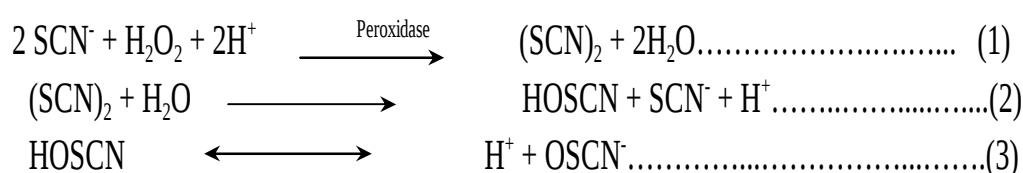
Euphorbia หมายถึงพืชในเขตร้อนที่มีน้ำยางเป็นสีขาวคล้ายน้ำมัน ซึ่งมันลำปะหลังก็เป็น พืชที่อยู่ในตระกูลเดียวกัน และพบว่ามีพืชหลายชนิดในประเทศไทยที่อยู่ในตระกูลนี้ เช่น สลัดได น้ำมันราชสีห์ มะพร้าวคนเขา หญ้าน้ำหมึก ใบต่างดอก ลูกเขยตายแม่ยายทำศพ หญ้ายาง ส้มเช่า และพญาไร้ใบ เป็นต้น มีรายงานว่าน้ำยางของพืชใน Family Euphorbiaceae สามารถนำมาใช้เป็นยา ได้โดยใช้เป็นยาระบายและใช้ต่อต้านแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังใช้รักษาบาดแผลอักเสบที่ผิวหนังได้ พืชในตระกูลนี้หลาย species พบว่าใบสามารถรักษาโรคหอบได้ บาง species นำมาสกัดใช้เป็นยา ลดไข้ รักษาอาการอักเสบของลำไส้ และอาการบวมหน้าได้ ซึ่งสารสกัดที่นำมาใช้เป็นยาเหล่านี้เป็น ผลมาจากสาร quercitrin และ flavanoids เป็นต้น (Thin and Sosef, 1999)

สารสกัดของ *E. hirta* แสดงให้เห็นว่าสามารถต่อต้านแบคทีเรียจำพวก *Candida albicans* , *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ได้ (Thin and Sosef, 1999) พืชที่มีในประเทศไทย เช่น น้ำมันราชสีห์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา คือ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้แผลหายเร็ว แก้ท้องเสีย ลดอาการบวม ลดฤทธิ์ไข้และต้านเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น ลูกเขยตายแม่ยายทำศพ ใช้แก้พิษงู พิษฝี

ภายใน อย่างไรก็ตามน้ำยางของพืชเหล่านี้หากสัมผัสจะก่อให้เกิดความระคายเคืองสูง หากกินเข้าไปจะทำให้อาเจียนและถ่ายท้อง (Thin and Sosef, 1999) ในส่วนของใบมันสำปะหลังนั้นพบว่ายังไม่ข้อมูลมีการศึกษาถึงองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ธรรมชาติที่มีในใบมันสำปะหลัง

ขบวนการต้านอนุมูลอิสระของไซโอไซยานต

ใบมันสำปะหลังมีสารที่สามารถลดอนุมูลอิสระได้ คือ กรดไฮโดรไซยานิก ซึ่งเมื่อเข้าไปในร่างกายจะเปลี่ยนไปเป็นไซโอไซยานต (SCN⁻) โดยไซโอไซยานตทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เป็นอนุมูลอิสระ ซึ่งจะให้ผลผลิตคือ สารไซโอไซยาโนเจนต์ (SCN)₂ กับน้ำ ดังสมการที่ (1) โดยที่สารไซโอไซยาโนเจนต์ยังสามารถทำปฏิกิริยากับน้ำได้ผลผลิตเป็นกรดไฮโปไซโอไซยานัส (hypothiocyanous acid, HOSCN) หรือไฮโปไซโอไซยาไนด์ไอออน (hypothiocyanate ion, OSCN⁻) (Subrata *et al.*, 1997) โดยได้มีรายงานว่ากรดไฮโปไซโอไซยานัสนั้นมียผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ด้วย (Thomas and Aune, 1978) ดังสมการที่ (2) และสมการที่ (3) ตามลำดับ ดังนั้นการใช้ใบมันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ก็จะทำให้การกำจัดสารอนุมูลอิสระอยู่ในสภาวะสมดุล ส่งผลให้เป็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ทำให้สัตว์สุขภาพดีขึ้น นอกจากนี้ได้มีรายงานว่า สารที่เป็นผลผลิตจากการทำปฏิกิริยาของไซโอไซยานตกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ก็คือ สารไซโอไซยาโนเจนต์ (SCN)₂ และไฮโปไซโอไซยาไนด์ไอออน (OSCN⁻) โดยสารทั้งสองนี้จะเป็นส่วนประกอบหลักของสารที่จะไปยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมที่สำคัญของแบคทีเรีย รวมทั้งมีผลทำให้ผนังเซลล์ที่เป็นโครงสร้างของแบคทีเรียถูกทำลาย (Losnedahl *et al.*, 2000)



การใช้ใบมันสำปะหลังในการเลี้ยงสัตว์

ทวีศักดิ์ (2544) ทำการทดลองใช้ใบมันสำปะหลังเป็นแหล่งสารสีแซนโทฟิลล์ในอาหารไก่ไข่ พบว่าการเพิ่มระดับใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารทำให้คะแนนสีไข่แดงสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไก่ไข่ที่กินอาหารมันสำปะหลังเสริมด้วยใบมันสำปะหลังระดับต่าง ๆ เพื่อเป็นแหล่งสารสี มีคุณภาพไข่ที่ผลิตได้ไม่แตกต่างจากไข่ของไก่ที่กินอาหารสูตรข้าวโพด อย่างไรก็ตามการใช้

ไขมันสำปะหลังในระดับสูงอาจทำให้อาหารมีเยื่อใยสูง และมีความฟามมากทำให้ปริมาณการกินอาหารของสัตว์ไม่เพียงพอ ระดับไขมันสำปะหลังที่ใช้ในอาหารไก่ไข่ไม่ควรเกิน 5-7 เปอร์เซ็นต์

วิภาศิริ (2548) ศึกษาถึงการใส่ไขมันสำปะหลังแห้งเปรียบเทียบกับใบกระถินแห้ง 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งสารให้สีในสูตรอาหารไก่ไข่ที่มีข้าวโพดและมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานหลัก พบว่าแม่ไก่ที่กินอาหารสูตรที่ใช้ไขมันสำปะหลังมีสีของไข่แดงเข้มกว่าสูตรอาหารที่มีการใช้ใบกระถิน เนื่องจากไขมันสำปะหลังมีแคโรทีนและแซนโทฟิลล์ในปริมาณสูง ถึงแม้ว่าแม่ไก่จะมีปริมาณการกินอาหารสูตรไขมันสำปะหลังต่ำกว่าอาหารสูตรใบกระถิน แต่พบว่าแม่ไก่ที่กินอาหารสูตรไขมันสำปะหลังมีปริมาณผลผลิตไข่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้แม่ไก่ที่กินอาหารสูตรไขมันสำปะหลังยังมีน้ำหนักฟองไข่มากกว่า และมีอัตราการตายต่ำกว่าแม่ไก่ที่กินอาหารสูตรใบกระถินด้วย ดังนั้นไขมันสำปะหลังจึงมีโอกาที่จะช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคของสัตว์ให้สูงขึ้น และทำให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น

Eruvbetine *et.al*, (2003) ทำการทดลองใช้หัวมันสำปะหลังสดผสมกับไขมันสำปะหลังในสัดส่วน 50:50 ใช้เป็น cassava concentrate โดยใช้ในระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารไก่เนื้อ เมื่อสิ้นสุดการทดลองชั่งน้ำหนักมีชีวิตและน้ำหนักอวัยวะภายใน จากผลการทดลองพบว่า การใช้ cassava concentrate 10 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารให้ผลดีที่สุดต่อน้ำหนักตัว และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) ดีที่สุด ในส่วนคุณภาพซากพบว่า น้ำหนัก gizzard และ proventriculus เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเพิ่มระดับ cassava concentrate และยังทำให้ไขมันในช่องท้องลดลงด้วย ทั้งนี้การทดลองมีเป้าหมายในการลดไขมันในช่องท้องของไก่เนื้อและไก่ไข่ก่อนส่งตลาด

สุริยวรรณ และคณะ (2549) รายงานว่า ให้แม่โครีดนมได้รับไขมันสำปะหลังแห้ง 4 ระดับ คือ 0, 1, 2 และ 3 กิโลกรัม/วัน ร่วมกับอาหารข้นและหญ้าหมัก พบว่าปริมาณไซยาไนด์ในไขมันสำปะหลังแห้งที่นำมาใช้มีค่าเฉลี่ย 112.29 ppm (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) เอนไซม์ของจุลินทรีย์ในรูเมน และของพืชที่โคกินเข้าไปจะเร่งปฏิกิริยาการสลายสาร cyanogenic glucoside เป็นไซยาไนด์ และถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็ว ไซยาไนด์ที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายโคนั้นจะถูกลดความเป็นพิษโดยรวมกับสารไฮโดรซัลเฟต หรือไฮโดรซัลเฟตได้สารไฮโอไซยานेट จากการทดลองพบว่าไฮโอไซยานेटในน้ำนมเฉลี่ยตลอดระยะเวลาทดลองเท่ากับ 6.99, 13.57, 14.89 และ 15.90 ppm ตามลำดับ มีรายงานว่าปริมาณไฮโอไซยานेटในน้ำนม 10-15 ppm เหมาะสมเพียงพอต่อการกระตุ้นการทำงานของระบบแลคโตเปอร์ออกซิเดสที่ใช้ในการต่อต้าน ยับยั้งจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบ จากการทดลองพบว่า

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และโคโลฟอร์มในน้ำมันดิบของแม่โคที่กินใบมันสำปะหลังแห้งลดลงกว่าน้ำมันดิบของแม่โคที่กินอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เช่นเดียวกับการรายงานของ ศิริรัตน์ (2546) ศึกษาผลการเพิ่มระดับมันเส้นในอาหารผสมเสร็จในระดับ 0, 12.6, 25.2 และ 37.7 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณไฮโดรไฮยานเนตในน้ำมันดิบเพิ่มขึ้นจาก 7.19 ppm เป็น 8.72, 11.19 และ 11.62 ppm ตามลำดับ ส่วนปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งโคโลฟอร์มมีแนวโน้มลดลง ส่งผลให้น้ำมันดิบมีคุณภาพดีขึ้น

เนื่องจากใบมันสำปะหลังยังมีสารไซยาไนด์อยู่ในระดับต่ำ ซึ่งพบว่าร่างกายจะทำการเปลี่ยนสารไซยาไนด์เป็นสารไฮโดรไฮยานเนต ซึ่งสารไฮโดรไฮยานเนตนี้สามารถทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ในกระบวนการต้านอนุมูลอิสระให้เปลี่ยนเป็นน้ำ เป็นการช่วยกำจัดอนุมูลอิสระอีกทางหนึ่ง รวมทั้งการกระตุ้นการสังเคราะห์กลูตาไธโอนด้วย (Murry et al., 1996) ดังนั้นใบมันสำปะหลังจึงมีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นอกจากเป็นแหล่งให้โปรตีนและสารให้สีแล้ว ยังเป็นวัตถุดิบอาหารที่ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคให้แก่สัตว์ได้อีกด้วย ทั้งนี้ จีราภา (2550) รายงานว่าการเพิ่มระดับใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารมีผลทำให้ปริมาณกลูตาไธโอนในกระแสเลือดของไก่เนื้อในทุกช่วงอายุเพิ่มขึ้นตามระดับของใบมันสำปะหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

การศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารต่อการสร้างภูมิคุ้มกันโรคชนิดต่างๆ และสุขภาพของลูกสุกรหลังหย่านม ซึ่งอาจเป็นแนวทางในการใช้ใบมันสำปะหลังเป็นพืชสมุนไพรในการเลี้ยงสัตว์ได้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

ลูกสุกรหย่านม พันธุ์ลูกผสมสามสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ X แลนด์เรซ X คูรอก) จากฟาร์มเดียวกัน คณะแพทย 28 วัน จำนวน 128 ตัว แยกขังเป็น 16 คอก คอกละ 8 ตัว คอกเลี้ยงสุกรมีขนาด 2x2 เมตร เป็นคอกโลหะทั้งหมด ยกพื้นสูง สุกรสามารถกินน้ำ และอาหารได้อย่างเต็มที่

2. อาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ทดลองได้แก่สูตรอาหารสุกรระยะอนุบาลในรูปอาหารอัดเม็ด มีกากถั่วเหลืองและไขมันสำปะหลังแห้ง เป็นแหล่งโปรตีน โดยสูตรอาหารทดลองมี 4 สูตรดังนี้

- สูตรที่ 1 อาหารใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีน
- สูตรที่ 2 อาหารใช้กากถั่วเหลืองร่วมกับไขมันสำปะหลังแห้ง 2.5 % ในสูตรอาหาร
- สูตรที่ 3 อาหารใช้กากถั่วเหลืองร่วมกับไขมันสำปะหลังแห้ง 5 % ในสูตรอาหาร
- สูตรที่ 4 อาหารใช้กากถั่วเหลืองร่วมกับไขมันสำปะหลังแห้ง 7.5 % ในสูตรอาหาร

ไขมันสำปะหลังที่ใช้ในการทดลองได้จากยอดมันสำปะหลังที่ได้จากต้นมันสำปะหลังเมื่อทำการเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลัง หั่นยอดมันสำปะหลังเป็นชิ้นเล็กๆ ผึ่งแดดจนแห้ง แล้วบดละเอียด จากนั้นร่อนเอาเชื้อไขออกบางส่วนด้วยตระแกรงร่อนแบบมุ้งเขียว ของที่รูดผ่านรูตระแกรงคือไขมันสำปะหลังแห้งที่ใช้ในการทดลองนี้ และมีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้คือ โปรตีน 20.4 % พลังงาน 2700 กิโลแคลอรี เชื้อไข 14.6% และไขมัน 6.42%

ประกอบสูตรอาหารทดลองให้มีองค์ประกอบทางเคมีครบตามความต้องการของสุกร (NRC, 1998) ดังแสดงในตารางที่ 5 และ ให้สุกรกินอาหารได้อย่างเต็มที่

ตารางที่ 5 สูตรอาหารและองค์ประกอบทางโภชนาอาหารทดลองในระยะสุกรหย่านม

วัตถุดิบอาหาร	ระดับการใช้ไขมันสำปะหลัง (%)			
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4
ปลายข้าว	53.45	51.60	49.70	47.85
ไขมันสำปะหลัง	0	2.5	5	7.5
กากถั่วเหลือง (44 % โปรตีน)	16.20	15.35	14.55	13.70
ถั่วเหลืองเอ็กทรา	20	20	20	20
ปลาป่น (58%)	5	5	5	5
น้ำมันรำ	1.2	1.5	1.8	2.1
โมโนแคลเซียมฟอสเฟต	2.2	2.2	2.2	2.2
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.2	0.2	0.2	0.2
แอล-ไลซีน	0.2	0.2	0.2	0.2
หินฟูน	0.7	0.6	0.5	0.4
เกลือ	0.35	0.35	0.35	0.35
พรีมิกซ์	0.5	0.5	0.5	0.5
รวม	100.00	100.00	100.00	100.00
องค์ประกอบทางโภชนาการโดยการคำนวณ				
โปรตีน (%)	22.06	22.04	22.05	22.04
พลังงานใช้ประโยชน์ (กิโลแคลอรี/กก.)	3400	3401	3401	3402
แคลเซียม (%)	1.03	1.02	1.01	1.01
ฟอสฟอรัส (%)	0.85	0.85	0.85	0.85
ไลซีน	1.51	1.53	1.57	1.60
เมทไธโอนีน + ซีสทีน	0.88	0.90	0.92	0.93
ทริปโตเฟน	0.33	0.35	0.36	0.37
ทรีโอนีน	0.96	0.95	0.96	0.96
ไขมัน (%)	5.76	6.20	6.64	7.07
เยื่อใย (%)	2.82	3.11	3.40	3.68

3. อุปกรณ์และสารเคมี

3.1 อุปกรณ์ และสารเคมี สำหรับการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี และโภชนะของอาหาร
ทดลอง

3.2 อุปกรณ์ และสารเคมี สำหรับการตรวจหาภูมิคุ้มกันฟั้งเซลล์ ได้แก่ การเจริญของเซลล์
ลิมโฟซัยท์ชนิดที จากตัวอย่างเลือดของสุกร

3.3 อุปกรณ์ และสารเคมี สำหรับการตรวจหาภูมิคุ้มกันในกระแสเลือด จากตัวอย่างซีรัมสุกร

3.4 อุปกรณ์ และสารเคมี สำหรับการตรวจหาปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวม (total
antioxidant) ในพลาสมาของสุกร

3.5 อุปกรณ์ และสารเคมี สำหรับการตรวจหาปริมาณกลูตาไธโอน ในเม็ดเลือดแดงของสุกร

3.6 เครื่องมือ และ อุปกรณ์สำหรับเจาะเลือด

3.7 เครื่องมืออื่นๆ เช่น เครื่องผสมอาหาร เครื่องชั่งน้ำหนักสุกร เป็นต้น

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของการใช้ไขมันสำปะหลังที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ และภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดต่อโรคอหิวาต์สุกร ปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวมในพลาสมา และกลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรหย่านม

1. แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด completely randomized design (CRD) ศึกษาผลของอาหาร 4 สูตร (treatment) ที่ใช้ไขมันสำปะหลังในระดับที่ต่างกันเป็นแหล่งเสริมโปรตีน ใช้ลูกสุกรหย่านมคณะแพศ จำนวน 128 ตัว แยกขังเป็น 16 คอก คอกละ 8 ตัว สุ่มสุกรแต่ละคอกให้ได้รับอาหารทดลองสูตรใดสูตรหนึ่งเป็นเวลา 5 สัปดาห์ (สุกร 4 คอก/อาหารทดลอง 1 สูตร) ทำการให้วัคซีนอหิวาต์สุกร (swine fever) เข็มที่ 1 แก่ลูกสุกรเมื่ออายุ 3 สัปดาห์ และเข็มที่ 2 เมื่ออายุ 5 สัปดาห์หลังคลอด

2. การให้น้ำ และ อาหาร

ให้อาหารแก่สุกร 4 เวลา คือ 06.30, 10.00, 12.00 และ 17.00 น. โดยให้มีอาหารเหลือในราง เพื่อให้สุกรสามารถกินอาหารได้เต็มที่ (*ad libitum*) และกินน้ำได้ตลอดเวลาจากที่ให้น้ำอัตโนมัติ

3. การเก็บตัวอย่าง และ การตรวจระดับภูมิคุ้มกัน

3.1 ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่คอ (jugular vein) 5 มิลลิลิตร คอกละ 1 ตัว ในวันที่ 0 (ก่อนทำวัคซีน), 3 และ 6 หลังทำวัคซีนอหิวาต์สุกรเข็มที่ 2 โดยใช้ heparin เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเพื่อตรวจภูมิคุ้มกันพึ่งเซลล์จากตัวอย่างเลือดของสุกร ดังนี้ (Davis et al., 2004)

1. แยกเซลล์ lymphocyte โดยใช้ ficoll gradient
2. ล้างด้วย Phosphate buffered sterile (PBS)

3. เลี้ยงเซลล์ใน Iscove's Modified Dulbecco's Media (IMDM) ความเข้มข้น 5×10^6 cell/mL ใน triplicate 96 หลุม หลุมละ 100 μ L

4. ตรวจวัดการเจริญของเซลล์ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย Concanavalin A (ConA)

5. incubated ด้วยอนุภาคนิวเคลียส 37 องศาเซลเซียส และ 5% CO₂ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เติม cell counting kit 8 (WST-8) ของบริษัท Dojindo แล้ว incubated ต่ออีก 4 ชั่วโมง

6. การเจริญของเซลล์ลิ้มฟอยซ์ท์ วัดโดยวิธี ELISA โดยค่าที่ได้จะออกมาเป็นค่า Optical density (OD value)

3.2 ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่คอ 5 มิลลิลิตร คอกละ 2 ตัว ในวันที่ 14 และ 28 หลังทำวัคซีนเข็มที่ 2 เพื่อตรวจภูมิคุ้มกันในกระแสเลือด ดังนี้

1. แยกซีรัมด้วย การปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 3,000 รอบ ต่อนาที
2. ตรวจหาภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดต่อเชื้อไวรัสสอหิวาต์สุกร ตามวิธีของ Dewulf *et al.* (2004)

3.3 ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่คอ 5 มิลลิลิตร คอกละ 2 ตัว ในวันที่ 0 (เริ่มการทดลอง), 7 และ 21 หลังจากการหย่านมโดยใช้ heparin เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 3,000 รอบ ต่อนาที แยกส่วนบนที่เป็นพลาสมา เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวม และเก็บเม็ดเลือดแดงจากส่วนที่ตกตะกอน เพื่อใช้วิเคราะห์ปริมาณกลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดงของสุกร

1. วิเคราะห์ปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวมในพลาสมาของสุกร โดยใช้ Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP Assay) ตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 nm แปลงผลค่าที่ได้ เปรียบเทียบกับ standard curve

2. วิเคราะห์ปริมาณกลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดงของสุกร โดยใช้ชุดทดสอบ (glutathione peroxidase assay kit) ของบริษัท Cayman Chemical นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm แปลงผลค่าที่ได้ เปรียบเทียบกับ standard curve

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธีการ analysis of variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ศึกษา โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SAS, 2003)

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

โดยที่ $i = 1, 2, 3, 4$ $j = 1, 2, 3, 4$

เมื่อ Y_{ij} = ค่าสังเกตที่ได้จากทรีทเมนต์ที่ i ซ้ำที่ j
 μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง
 τ_i = อิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์ที่ i
 ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

การทดลองที่ 2. การศึกษาผลของการใช้ไขมันลำปะหลังในระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ต่อสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหลังหย่านม

1. แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด completely randomized design (CRD) ศึกษาถึงผลของอาหาร 4 สูตร (treatment) ที่ใช้ไขมันลำปะหลังในระดับที่ต่างกัน เป็นแหล่งโปรตีน ใช้ลูกสุกรหย่านมเพศเมีย จำนวน 128 ตัว แยกขังเป็น 16 คอก คอกละ 8 ตัว สุ่มสุกรแต่ละคอกให้ได้รับอาหารทดลองสูตรใดสูตรหนึ่งเป็นเวลา 5 สัปดาห์ (สุกร 4 คอก/อาหารทดลอง 1 สูตร)

2. การให้น้ำ และ อาหาร

ให้อาหารแก่สุกร 4 เวลา คือ 06.30, 10.00, 12.00 และ 17.00 น. โดยให้มีอาหารเหลือในราง เพื่อให้สุกรสามารถกินอาหารได้เต็มที่ (*ad libitum*) และกินน้ำได้ตลอดเวลาจากที่ให้น้ำอัตโนมัติ

3. การวัดค่าสมรรถภาพการผลิตในลูกสุกรหย่านม

3.1 การบันทึกข้อมูล

3.1.1 บันทึกน้ำหนักลูกสุกรหลังหย่านมก่อนเริ่มการทดลอง

3.1.2 ชั่งน้ำหนักเมื่อมีลูกสุกรตาย หรือคัดทิ้งในช่วงการทดลอง และชั่งปริมาณอาหารที่เหลือในคอก

3.1.3 บันทึกสุขภาพ จำนวนสุกรตาย และวันที่ตายในช่วงการทดลอง

3.1.4 บันทึกปริมาณอาหารที่กิน และชั่งน้ำหนักสุกรเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

3.1.5 คำนวณหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวปริมาณอาหารที่กินต่อตัวและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก

3.2 การคำนวณ

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัว (กก.) = น้ำหนักสุกรสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักสุกรเริ่มต้น

ปริมาณอาหารที่กินต่อตัว (กก.) =
$$\frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ให้} - \text{น้ำหนักอาหารที่เหลือ}}{\text{จำนวนสุกร}}$$

ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก =
$$\frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น}}$$

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ศึกษา โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SAS, 2003)

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

โดยที่ $i = 1, 2, 3, 4$ $j = 1, 2, 3, 4$

เมื่อ Y_{ij} = ค่าสังเกตที่ได้จากทริทเมนต์ที่ i ซ้ำที่ j
 μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง
 τ_i = อิทธิพลเนื่องจากทริทเมนต์ที่ i
 ϵ_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

สถานที่ทดลอง

1. ฟาร์มสุกรของเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม
2. ห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการ ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการ
อาหารสัตว์ สถาบันสุวรรณวาลกสิกิจฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัด
นครปฐม
3. ห้องปฏิบัติการ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
จังหวัดนครปฐม
4. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทย
ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

ระยะเวลาการทดลอง

เริ่มการทดลองเดือนเมษายน พ.ศ. 2551 และสิ้นสุดการทดลองเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาของอาหารทดลองแต่ละสูตรตลอดการทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 ซึ่งจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง พบว่าปริมาณโภชนาต่างๆ ที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าใกล้เคียงกับปริมาณโภชนาที่ได้จากการคำนวณ แต่มีปริมาณเยื่อใยสูงขึ้นตามระดับการใช้ไขมันสำปะหลัง เนื่องจากไขมันสำปะหลังที่ใช้ทดลองมีปริมาณเยื่อใยสูงแต่ไม่เกินระดับที่ลูกสุกรสามารถรับได้

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางโภชนาของอาหารทดลองจากการวิเคราะห์ทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมี	ระดับการใช้ไขมันสำปะหลัง (%)			
	0	2.5	5	7.5
โปรตีน (%)	21.51	21.58	21.57	21.54
พลังงานรวม (กิโลแคลอรี/กก.)	4335.31	4332.46	4346.76	4357.23
ไขมัน (%)	5.42	6.10	6.24	7.61
เยื่อใย (%)	2.91	3.46	3.62	3.87
แคลเซียม (%)	1.07	1.07	1.01	1.04
ฟอสฟอรัส (%)	0.95	0.93	0.94	0.97
เถ้า (%)	6.91	6.66	6.68	6.40
ความชื้น (%)	9.38	8.63	8.90	8.61
วัตถุแห้ง (%)	90.62	91.37	91.10	91.39

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของการใช้ไขมันสำปะหลังที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร ต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ และภูมิคุ้มกันในกระแสเลือด ต่อโรคอหิวาต์สุกร ปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวม ในพลาสมา และ กลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรหย่านม

การศึกษาการเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟไซต์ ชนิดที (T-lymphocyte)

จากการศึกษาผลการใช้ไขมันสำปะหลังในระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารลูกสุกรหย่านมต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดทีที่ตอบสนองต่อ concanavalin A หลังจากทำการให้วัคซีนอหิวาต์สุกรเข็มที่ 2 ดังแสดงในตารางที่ 7 ผลการศึกษาพบว่า วันแรก วันที่ 3 และวันที่ 6 หลังจากสุกรได้รับวัคซีน สุกรทั้ง 4 กลุ่มการทดลองมีจำนวนเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดทีใกล้เคียงกัน พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ถ้าพิจารณาอัตราการการเพิ่มจำนวนเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดทีหลังได้รับวัคซีนพบว่า กลุ่มการทดลองที่ 3 ซึ่งได้รับไขมันสำปะหลังระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารมีอัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดทีสูงสุด คือ 0.357, 0.380 และ 0.411 จากวันแรก วันที่ 3 และ 6 หลังจากสุกรได้รับวัคซีนตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มการทดลองที่ 1 ซึ่งไม่ได้รับไขมันสำปะหลังในสูตรอาหารมีอัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดทีต่ำสุด คือ 0.370, 0.376 และ 0.377 จากวันแรก วันที่ 3 และ 6 หลังจากสุกรได้รับวัคซีนตามลำดับ

ตารางที่ 7 การเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟไซต์ ชนิด ที ในเลือดของลูกสุกรที่ตอบสนองต่อการให้ concanavalin A ในวันแรก วันที่ 3 และ 6 หลังจากทำการให้วัคซีนอหิวาต์สุกรเข็มที่ 2

ระยะเวลาหลังทำวัคซีน	ระดับการใช้ไขมันสำปะหลัง (%)				P- value
	0	2.5	5	7.5	
วันแรก	0.37±0.01	0.37±0.005	0.35±0.01	0.36±0.01	0.71
วันที่ 3	0.37±0.01	0.39±0.02	0.38±0.008	0.37±0.02	0.95
วันที่ 6	0.37±0.002	0.39±0.006	0.41±0.01	0.39±0.007	0.13

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)

จากการทดลองนี้จึงเห็นได้ว่าเมื่อสุกรกินอาหารที่มีไขมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบเพิ่มขึ้นจากระดับ 0 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีผลทำให้ลูกสุกรมีแนวโน้มเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดทีทีที่สูงขึ้น ถึงแม้ว่าความแตกต่างจะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้ให้ผลสอดคล้องกับ จีราภา (2550) ซึ่งรายงานว่าการให้ไขมันที่กินอาหารที่มีไขมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบ 5 และ 7 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารมีการเจริญของเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดทีทีเพิ่มมากขึ้น การเจริญของเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดทีทีที่สูงขึ้นบ่งบอกถึงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (cellular immunity) ที่สูงขึ้น นั่นหมายถึงร่างกายจะสามารถตอบสนองต่อแอนติเจนได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพมากขึ้น ทำให้เซลล์ต่างๆ ในร่างกายเกิดความเสียหายน้อยลง (องอาจ, 2542)

การเพิ่มจำนวนของ เซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดทีทีที่สูงขึ้นอาจเกิดจากเมื่อสุกรกินอาหารที่มีไขมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบ ซึ่งในไขมันสำปะหลังมีกรดไฮโดรไลซยานิก (HCN) เหลืออยู่ในปริมาณเล็กน้อยเมื่อเข้าไปในร่างกาย จะทำปฏิกิริยากับไฮโดรซัลเฟตถูกเปลี่ยนไปเป็นไฮโอไซยานต โดยไฮโอไซยานตจะช่วยกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมในร่างกายให้เปลี่ยนเป็นน้ำและสารไฮโปไฮโอไซยานต ในขณะเดียวกันร่างกายจะมีการกระตุ้นการสังเคราะห์กลูตาไธโอนเพิ่มขึ้นเพื่อช่วยเปลี่ยนสารไฮโปไฮโอไซยานตกลับไปเป็น substrate เพื่อยับยั้งไม่ให้ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อีกครั้งซึ่งจะทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องและเกิดอนุมูลอิสระขึ้นอีก (Murry *et al.*, 1996) ดังนั้นการมีปริมาณไฮโอไซยานตเพิ่มมากขึ้น จึงเป็นการกระตุ้นการสังเคราะห์กลูตาไธโอนให้มากขึ้นด้วย โดยกลูตาไธโอนที่สูงขึ้นมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของอินเตอร์ลิวคิน 2 (IL-2) ซึ่งเป็นไซโตไคน์ที่ชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดทีที และยังกระตุ้นให้เซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดทีทีมีการสร้างอิมมูโนโกลบูลินมากขึ้นด้วย (Paul, 1999)

การศึกษาการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในกระแตเลื้อด

ในการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนป้องกันโรคหิวาต์สุกรหลังจากทำวัคซีนเข็มที่ 2 เป็นเวลา 14 และ 28 วัน ของสุกรที่ได้รับอาหารที่ใช้ไขมันสำปะหลังระดับต่างกัน คือ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์แสดงไว้ใน ตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยการตอบสนองของระดับซีรั่มนิวโทรลไธซ์ (log2) ต่อวัคซีนโรคหิวาต์สุกร หลังจากทำวัคซีนเข็มที่ 2 เป็นเวลา 14 และ 28 วัน

วันที่ทดลอง	ระดับการใช้ไขมันลำปะหลัง (%)				P- value
	0	2.5	5	7.5	
14	4.25±0.49	3.87±0.47	4.37±0.49	4.62±0.49	0.75
28	5.37±0.73	5.12±0.51	5.87±0.44	5.50±0.73	0.85

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)

ผลการทดลองพบว่าการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในกระแสดเลือดต่อวัคซีนโรคหิวาต์สุกร หลังจากทำวัคซีนหิวาต์สุกรเข็มที่ 2 ไปแล้ว 14 และ 28 วัน ของสุกรที่กินอาหารสูตรที่มีไขมัน ลำปะหลังที่ระดับต่างกัน คือ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ จีราภา และคณะ (2550) ที่เปรียบเทียบการใช้ไขมันลำปะหลัง ในสูตรอาหารไก่กระทุง พบว่าไก่กระทุงที่กินอาหารสูตรที่มีไขมันลำปะหลังในทุกะดับ มีระดับ แอนติบอดีแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสูตรอาหารไม่มี อิทธิพลต่อระดับแอนติบอดี แต่การที่สัตว์สุขภาพดีอาจเนื่องมาจากการตอบสนองอย่างอื่นของ ร่างกายสัตว์

จากการทดลองพบว่า ในวันที่ 28 หลังจากการฉีดวัคซีนเข็มที่ 2 มีการตอบสนองของ ภูมิคุ้มกันในกระแสดเลือดสูงกว่าวันที่ 14 หลังจากการฉีดวัคซีนในทุกกลุ่มการทดลอง ทั้งนี้ เนื่องมาจากร่างกายสัตว์มีการตอบสนองต่อแอนติเจนที่เข้ามาได้ดีขึ้น โดยสุทธิพันธ์ และคณะ (2537) กล่าวว่า โดยปกติแล้วเมื่อร่างกายได้รับแอนติเจนเข้าไป จะมีการสร้างแอนติบอดีเฉพาะชนิด ในระยะเวลาที่เริ่มตั้งแต่ได้รับแอนติเจนจนสามารถตรวจพบแอนติบอดีได้นั้นเรียกว่า lag phase หรือ latent phase เป็นระยะเวลาที่ B- lymphocytes รับรู้ว่าแอนติเจนเป็นสิ่งแปลกปลอม และจาก การช่วยเหลือของ T- lymphocytes และ macrophage โดย B- lymphocytes จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวน และเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นพลาสมาเซลล์ และ B-memory โดยพลาสมาเซลล์จะเป็นตัวสร้าง แอนติบอดีขึ้นในซีรั่ม เมื่อร่างกายได้รับการกระตุ้นด้วยแอนติเจนชนิดเดิมเป็นครั้งที่สอง ร่างกายจะ ตอบสนองด้วยวิธีการเดียวกับที่กล่าวมาแล้ว แต่มีการตอบสนองที่รวดเร็วและรุนแรงมากกว่า เนื่องจากมี memory cell ซึ่งต้นตัวและมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วเป็นพลาสมาเซลล์ แอนติบอดีที่ สร้างขึ้นจะมีปริมาณมากกว่าครั้งแรกและคงอยู่ในร่างกายได้นานกว่า primary immune response

การสร้างแอนติบอดีจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งถึงจุดสูงสุดแล้วจะลดลง ซึ่งช่วงระยะเวลาที่ลดลงจนกระทั่งมีปริมาณใกล้เคียงกับก่อนที่จะได้รับวัคซีนนั้นอาจใช้เวลาเป็นสัปดาห์หรือเป็นเดือน อาจเป็นเพราะว่าแอนติเจนหรือสิ่งกระตุ้นลดน้อยลง เนื่องจากถูกร่างกายกำจัดไปหรือถูกจับและทำลายโดยแอนติบอดีที่ร่างกายค่อยๆสร้างขึ้นมา

การศึกษาปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวม (total antioxidant capacity; TAC)

จากการศึกษาปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวม (total antioxidant capacity; TAC) โดยใช้หลักการว่าสารแอนติออกซิแดนซ์ในพลาสมาสามารถรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) ไปเป็นเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) พบว่าเมื่อเริ่มทำการทดลองลูกสุกรทุกกลุ่มมีค่าแอนติออกซิแดนซ์รวมในพลาสมาแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารทดลองที่ใช้ไขมันสำปะหลังในระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5 % เป็นระยะเวลา 7 และ 21 วันก็พบว่าสุกรที่กินอาหารทดลองทุกสูตรมีค่าแอนติออกซิแดนซ์รวมเพิ่มมากขึ้นแต่ความแตกต่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นกัน แสดงในตารางที่ 9

จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าลูกสุกรที่กินอาหารมีไขมันสำปะหลังในระดับแตกต่างกันมีปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวมแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากสารแอนติออกซิแดนซ์มีอยู่หลายชนิดเช่น กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก กลุ่มแคโรทีนอยด์ แซนโทฟิลล์ ฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ยังวิตามินซี และวิตามินอี ซึ่งสามารถได้รับจากอาหารโดยตรง (Rahmat *et al.* 2003) สารแคโรทีนอยด์จะถูกดูดซึมที่ลำไส้พร้อมกับอาหาร แล้วส่งต่อไปกระแสเลือดและกระจายไปตามเนื้อเยื่อต่างๆ ซึ่งระดับแคโรทีนอยด์ในกระแสเลือดจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก และยังแตกต่างกันไปตามพฤติกรรมการบริโภคและอัตราการเมแทบอลิซึมในร่างกายอีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าการศึกษาที่ร่างกายสัตว์จะมีภาวะของการใช้สารแอนติออกซิแดนซ์มากหรือน้อยจะเห็นผลได้ชัดเจนในกรณีที่สัตว์อยู่ในสภาวะเครียด (oxidative stress) แต่การทดลองในครั้งนี้กระทำในช่วงฤดูหนาวซึ่งอุณหภูมิของอากาศกำลังเหมาะสมกับการอยู่อาศัยของสัตว์ จึงอาจก่อให้เกิดความเครียดแก่ตัวสัตว์ในระดับที่สัตว์สามารถจัดการได้ จึงไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันของระดับสารแอนติออกซิแดนซ์รวมในกระแสเลือด

ตารางที่ 9 ปริมาณแอนติออกซิเจนรวม (total antioxidant capacity; TAC) ในพลาสมาของลูกสุกร ที่อายุ 0, 7 และ 21 วันของทดลอง (μM)

วันที่ทดลอง	ระดับการใช้ไขมันสำปะหลัง (%)				P- value
	0	2.5	5	7.5	
0	338.71 $\pm$ 8.11	358.63 $\pm$ 23.51	319.18 $\pm$ 4.25	335.27 $\pm$ 18.61	0.39
7	348.67 $\pm$ 27.46	366.67 $\pm$ 41.86	354.41 $\pm$ 29.86	370.12 $\pm$ 28.64	0.96
21	309.61 $\pm$ 20.83	331.44 $\pm$ 44.01	339.86 $\pm$ 52.38	374.71 $\pm$ 47.70	0.75

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard error)

การศึกษาปริมาณกลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดง (glutathione; GSH)

กลูตาไธโอนเป็นตัวบ่งชี้สถานะของเซลล์ โดยปกติเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจะมีกระบวนการเมแทบอลิซึมตลอดเวลา ผลจากกระบวนการเมแทบอลิซึมจะเป็นต้นกำเนิดสารอนุมูลอิสระต่างๆ และนอกจากนั้นสถานะเครียดก็เหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระ และอนุมูลอิสระเหล่านี้จะไปเพิ่มปฏิกิริยาการเกิดลิพิดออกซิเดชัน (lipid oxidation) ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เกิดความเสียหาย และความบกพร่องของเซลล์ภูมิคุ้มกัน มีผลยับยั้งการตอบสนองของเซลล์ภูมิคุ้มกันด้วย

อิทธิพลของสูตรอาหารที่ใช้ไขมันสำปะหลังที่ระดับต่างกัน คือ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารต่อระดับกลูตาไธโอน (GSH) ในเม็ดเลือดแดง แสดงไว้ใน ตารางที่ 10-13

การศึกษาปริมาณกลูตาไธโอนโดยรวม (tGSH) ในเม็ดเลือดแดงของสุกรที่กินอาหารที่ใช้ไขมันสำปะหลังในระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5% เมื่อเริ่มทดลอง (0 วัน) พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อกินอาหารไปแล้ว 7 วันมีค่าเท่ากับ 29.62, 30.42, 34.87 และ 35.26 μM ตามลำดับพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และเมื่อกินอาหารไปแล้ว 21 วันก็เช่นกันโดยมีค่าเท่ากับ 22.06, 22.49, 24.17 และ 24.40 μM ตามลำดับ ($P<0.05$) จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปริมาณ tGSH ในเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นตามระดับของไขมันสำปะหลังในสูตรอาหาร โดยปริมาณ tGSH ในเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นสูงสุดในสุกรที่กินอาหารที่มีไขมันสำปะหลังที่ระดับ 7.5 % ในสูตรอาหาร ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ จีราภา (2550) รายงานว่าปริมาณ tGSH ในเม็ดเลือดแดงของไก่จะเพิ่มขึ้นตามระดับไขมันสำปะหลังโดยเพิ่มขึ้นสูงสุดในไก่ที่กินอาหารที่มีไขมัน

ต่ำปะหลังที่ระดับ 5% ในสูตรอาหาร แต่เมื่อพิจารณาปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอน (GSH) และ ออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSSG) พบว่าเมื่อเริ่มทดลอง (0 วัน) พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อกินอาหารไปแล้ว 7 และ 21 วันพบว่าปริมาณ GSH และ GSSG ในเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นตามระดับของไขมันต่ำปะหลังในสูตรอาหารแต่ความแตกต่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อัตราส่วนของรีดิวซ์กลูตาไธโอน ต่อออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSH/GSSG) เมื่อเริ่มทดลอง และเมื่อสุกรกินอาหารไปแล้ว 7 และ 21 วันพบว่าแต่ละกลุ่มการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน และพบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางที่ 10 ปริมาณกลูตาไธโอนโดยรวม (tGSH) ในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรที่อายุ 0, 7 และ 21 วันของการทดลอง (μM)

วันที่ทดลอง	ระดับการใช้ไขมันต่ำปะหลัง (%)				P- value
	0	2.5	5	7.5	
0	19.96 $\pm$ 0.89	20.29 $\pm$ 1.80	20.02 $\pm$ 0.50	19.91 $\pm$ 1.84	0.99
7	29.62 ⁿ $\pm$ 1.91	30.42 ^{ny} $\pm$ 1.13	34.87 ^y $\pm$ 1.21	35.26 ^y $\pm$ 2.24	0.04
21	22.06 ⁿ $\pm$ 0.45	22.49 ^{ny} $\pm$ 0.65	24.17 ^y $\pm$ 0.74	24.40 ^y $\pm$ 0.73	0.03

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard error)

ตารางที่ 11 ปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอน (GSH) ในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรที่อายุ 0, 7 และ 21 วันของการทดลอง (μM)

วันที่ทดลอง	ระดับการใช้ไขมันต่ำปะหลัง (%)				P- value
	0	2.5	5	7.5	
0	17.05 $\pm$ 0.88	17.13 $\pm$ 1.68	16.61 $\pm$ 0.64	16.88 $\pm$ 1.72	0.99
7	22.78 $\pm$ 1.61	23.71 $\pm$ 1.38	26.62 $\pm$ 1.06	27.01 $\pm$ 1.59	0.11
21	17.91 $\pm$ 0.65	18.28 $\pm$ 0.51	19.75 $\pm$ 0.78	19.82 $\pm$ 0.67	0.11

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard error)

ตารางที่ 12 ปริมาณออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSSG) ในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรที่อายุ 0, 7 และ 21 วันของการทดลอง (μM)

วันที่ทดลอง	ระดับการใช้ไขมันสำปะหลัง (%)				P- value
	0	2.5	5	7.5	
0	2.90 $\pm$ 0.19	3.15 $\pm$ 0.52	3.41 $\pm$ 0.30	3.02 $\pm$ 0.31	0.78
7	6.83 $\pm$ 0.38	6.70 $\pm$ 0.74	8.24 $\pm$ 0.32	8.25 $\pm$ 0.87	0.15
21	4.14 $\pm$ 0.47	4.20 $\pm$ 0.22	4.42 $\pm$ 0.28	4.57 $\pm$ 0.29	0.78

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard error)

ตารางที่ 13 ปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอน ต่อออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSH/GSSG) ในเม็ดเลือดแดงของลูกสุกรที่อายุ 0, 7 และ 21 วันของการทดลอง (μM)

วันที่ทดลอง	ระดับการใช้ไขมันสำปะหลัง (%)				P- value
	0	2.5	5	7.5	
0	6.05 $\pm$ 0.52	6.22 $\pm$ 0.11	5.24 $\pm$ 0.62	5.91 $\pm$ 0.67	0.81
7	3.34 $\pm$ 0.16	4.07 $\pm$ 0.76	3.25 $\pm$ 0.13	3.41 $\pm$ 0.28	0.50
21	4.79 $\pm$ 0.61	4.40 $\pm$ 0.19	4.60 $\pm$ 0.33	4.45 $\pm$ 0.29	0.89

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard error)

ปริมาณกลูตาไธโอนเม็ดเลือดแดงที่เพิ่มขึ้นตามระดับไขมันสำปะหลังนั้นอาจเนื่องมาจากสัตว์ได้รับ HCN ที่เหลืออยู่ปริมาณเล็กน้อยในไขมันสำปะหลังแห้งซึ่ง HCN เมื่อเข้าไปในร่างกายจะทำปฏิกิริยากับสารประกอบซัลเฟอร์ได้ไฮโดรซัลไฟด์ซึ่งจะไปเป็นสับสเตรต (substrate) ในระบบเปอร์ออกซิเดส (peroxidase) ในร่างกายกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เปลี่ยนเป็นน้ำและไฮโปไฮโดรซัลไฟด์ ในขณะที่เดียวกันร่างกายจะกระตุ้นการสังเคราะห์กลูตาไธโอนเพิ่มขึ้นเพื่อช่วยเปลี่ยนไฮโปไฮโดรซัลไฟด์กลับไปเป็น substrate ขยับยังไม่ให้ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อีกครั้ง ซึ่งจะทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องและเกิดอนุมูลอิสระขึ้นอีก (Mary *et al.*, 2001)

จากผลการทดลองเป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณ tGSH GSH และ GSSG ในเม็ดเลือดแดงของสุกรที่กินอาหารทดลองไปแล้ว 21 วันมีค่าต่ำกว่า วันที่ 7 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่สัตว์ที่อยู่ในภาวะความเครียดจากภาวะออกซิเดชันเป็นระยะเวลานานทำให้ระดับของ tGSH และ GSH ลดต่ำลงเนื่องจากภายในเซลล์จะมีการควบคุมสมดุลรีดอกซ์โดยการรักษาระดับของ GSH และ GSSG ให้อยู่ในภาวะที่สมดุล หากร่างกายเกิดความเครียดจากภาวะออกซิเดชันจะมีผลรบกวนต่อสมดุลรีดอกซ์นี้โดย GSH จะทำหน้าที่กำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ GPx และเปลี่ยนไปเป็น GSSG สูงขึ้น จึงทำให้ระดับของ GSH ภายในเซลล์ลดต่ำลง (Akerboom, 1990)

นอกจากการต้านอนุมูลอิสระแล้ว GSH ยังทำหน้าที่กำจัดสารพิษ (detoxification) โดย GSH ช่วยสร้างเอนไซม์ต่างๆคือ glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) และ glutathione-S-transferase (GST) ซึ่ง GPx และ GR ทำงานในระบบต้านอนุมูลอิสระส่วน GST ช่วยในการกำจัดสารพิษโดยจะเปลี่ยนสารพิษที่ไม่ละลายน้ำให้ละลายน้ำได้ง่ายขึ้น และขับออกจากร่างกาย

ผลการต้านอนุมูลอิสระโดยสารไฮโอไซยานเตในกระบวนการของระบบเปอร์ออกซิเดส (peroxidase) ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำให้มีการสังเคราะห์กลูตาไธโอนของสารไฮโอไซยานเตที่ได้จากอาหารสุตรไบมันสำปะหลังเป็นการส่งเสริมให้สุกรสุขภาพดีขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันมีความเกี่ยวเนื่องกับกลูตาไธโอน โดยเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดที และเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดบีมีความต้องการระดับกลูตาไธโอนภายในเซลล์ที่เพียงพอสำหรับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ การเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดที (T-cell proliferative response) ต่อการกระตุ้นด้วยไมโทเจน (mitogen) การ activation ของ cytotoxic T killer cell และสำหรับ specific T-cell function ซึ่งประกอบด้วยการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) สำหรับ cell replication และเมแทบอลิซึมของอินเตอร์ลิวคิน 2 (IL-2) ซึ่งมีความสำคัญสำหรับการเพิ่มจำนวนเซลล์และการตอบสนองต่อไมโทเจน (Kidd, 1997)

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการใช้ไบมันสำปะหลังในระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสุตรอาหาร ต่อสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรหลังหย่านม

อิทธิพลของสุตรอาหารที่ใช้ไบมันสำปะหลังในระดับต่างกัน คือ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสุตรอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตแสดงไว้ใน ตารางที่ 14 จากการทดลองพบว่าลูกสุกรหย่านมอายุ 4 สัปดาห์ที่กินอาหารทดลองซึ่งประกอบด้วยไบมันสำปะหลังในระดับ 0, 2.5, 5 และ

7.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารเป็นเวลา 5 สัปดาห์ มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณการกินอาหาร และ อัตราการเจริญเติบโตของทุกกลุ่มการทดลองใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในส่วนของประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร จากการทดลอง กลุ่มที่ 3 มีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีกว่ากลุ่มที่ 1 (1.28 ± 0.03 และ 11.39 ± 0.02 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ซึ่งได้รับไขมันสำปะหลังในระดับ 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ กลับพบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่กลุ่มการทดลองที่ 1, 2 และ 4 ซึ่งได้รับไขมันสำปะหลังในระดับ 0, 2.5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ก็พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน

ตารางที่ 14 ผลของการใช้ไขมันสำปะหลังที่ระดับต่างๆ ต่อสมรรถภาพการผลิต (28 วันหลังหย่านม)

สมรรถภาพการผลิต	ระดับการใช้ไขมันสำปะหลัง (%)				P- value
	0	2.5	5	7.5	
น้ำหนักเริ่มต้น (กก.)	6.68 ± 0.005	6.67 ± 0.007	6.68 ± 0.004	6.67 ± 0.003	0.57
น้ำหนักสิ้นสุด (กก.)	20.41 ± 0.47	20.81 ± 0.50	20.85 ± 0.20	20.55 ± 0.44	0.86
น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (กก.)	13.73 ± 0.48	14.14 ± 0.51	14.17 ± 0.21	13.87 ± 0.44	0.86
ปริมาณการกินอาหาร (กรัม/ตัว)	545.26 ± 11.96	546.16 ± 15.20	519.82 ± 12.63	531.51 ± 11.94	0.45
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/วัน)	392.32 ± 13.72	404.01 ± 14.77	404.94 ± 6.06	396.33 ± 12.83	0.86
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร	$1.39^a \pm 0.02$	$1.35^{ab} \pm 0.02$	$1.28^b \pm 0.03$	$1.34^{ab} \pm 0.01$	0.05

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ standard error)

^{a, b} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการทดลองจะเห็นได้ว่ากลุ่มการทดลองที่ 3 ซึ่งได้รับไขมันสำปะหลังในระดับ 5 เปอร์เซ็นต์มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น 14.17 ± 0.21 กิโลกรัม และอัตราการเจริญเติบโต 404.94 ± 6.06 กรัมต่อวัน ซึ่งมากกว่ากลุ่มอื่นในขณะเดียวกันก็มีปริมาณการกินอาหารเท่ากับ 519.82 ± 12.63 กรัมต่อวัน และมีค่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเท่ากับ 1.28 ± 0.03 ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มการทดลองอื่นๆ แต่เมื่อเพิ่มระดับของไขมันสำปะหลังในสูตรอาหารเป็น 7.5 เปอร์เซ็นต์กลับส่งผลให้น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตของลูกสุกรลดลง ในขณะที่ปริมาณการกินอาหาร และค่าประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารกลับเพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้สมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรต่ำลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเพิ่มระดับของไขมันสำปะหลังในสูตรอาหารทำให้ระดับเชื้อในอาหารสูงมากขึ้น

ด้วย ระดับเยื่อใยที่สูง อาจมีผลทำให้การย่อยอาหารของสัตว์ลดลง เนื่องจากเยื่อใยจะมีการดูดน้ำในระหว่างที่อยู่ในทางเดินอาหารเข้าไปมาก ทำให้อาหารพองตัว อาหารเคลื่อนที่ในทางเดินอาหารเร็วขึ้น การย่อยได้จึงลดลง สัตว์มีความจำเป็นต้องกินอาหารเพิ่มมากขึ้นเพื่อให้ได้พลังงานเพียงแก่ความต้องการ ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารของลูกสุกรลดลง (อุทัย , 2529) หรืออาจเนื่องมาจากสารแทนนินที่เหลื่ออยู่ในใบมันสำปะหลัง เมื่อใช้ใบมันสำปะหลังในระดับที่สูงเกินไปจึงทำให้สัตว์กินอาหารได้น้อยลงเนื่องจากมีรสฝาด นอกจากนี้แทนนินยังสามารถเข้ารวมตัวกับโปรตีนหรือกรดอะมิโนทำให้การย่อยได้ลดลงอีกด้วย

และอาจเป็นไปได้ว่าการใช้ใบมันสำปะหลังในระดับไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารลูกสุกรหย่านมส่งผลให้สุขภาพของลูกสุกรดีขึ้น เนื่องจากใบมันสำปะหลังมีกรดไฮโดรไซยานิก (HCN) ซึ่งพบว่าถ้านำใบมันไปผึ่งแดดให้แห้ง 2-3 แดดระดับสารนี้จะลดลงอยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์ (อุทัย และสุกัญญา, 2547) ร่างกายสามารถเปลี่ยนกรดไฮโดรไซยานิกเป็นสารประกอบไซโอไซยาเนต (SCN)⁻ โดยที่สารประกอบไซโอไซยาเนตสามารถทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เกิดจากสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ให้ผลผลิตเป็นสารไซโอไซยาโนเจน (SCN)₂ กับน้ำ นอกจากนี้สารไซโอไซยาโนเจนยังสามารถทำปฏิกิริยากับน้ำได้ผลผลิตเป็นไฮโปไซโอไซยาโนไอออน (OSCN⁻) ซึ่งมีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ด้วย (Thomas and Aune, 1978) ดังนั้นการใช้ใบมันสำปะหลังในระดับที่เหมาะสมจะทำให้ร่างกายมีการกำจัดอนุมูลอิสระให้อยู่ในสภาวะสมดุล ส่งผลให้สัตว์มีความเครียดน้อยลง สุขภาพของสัตว์ดีขึ้น ทำให้สมรรถภาพการผลิตของสัตว์เพิ่มขึ้นด้วย เพราะจากการทดลองจะสังเกตได้ว่าสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรที่ไม่ได้รับใบมันสำปะหลังต่ำกว่าสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรที่ได้รับใบมันสำปะหลังในระดับ 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลอง

การใช้ไขมันสำปะหลังระดับต่างกันในการอาหารต่อระบบภูมิคุ้มกันและสมรรถภาพการผลิตในลูกสุกรหย่านม สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. สุกรที่กินอาหารทดลองสูตรต่างๆ กันมีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดทีหลังจากทำการให้วัคซีน อหิวาต์สุกรเข็มที่ 2 แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ถ้าพิจารณาอัตราการการเพิ่มจำนวนเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดทีพบว่าการใช้ไขมันสำปะหลังที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารทำให้อัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดทีสูงสุด ในขณะที่การไม่ใช้ไขมันสำปะหลังมีอัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดทีต่ำสุด

2. การเลี้ยงลูกสุกรด้วยอาหารสูตรไขมันสำปะหลังไม่มีผลทำให้การพัฒนาภูมิคุ้มกันแบบ humoral immunity ต่อวัคซีนโรคอหิวาต์สุกรแตกต่างกัน โดยการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดของทุกกลุ่มการทดลองมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

3. การเลี้ยงลูกสุกรด้วยอาหารสูตรไขมันสำปะหลังไม่มีผลทำให้ปริมาณแอนติออกซิแดนท์รวมในพลาสมาแตกต่างกัน โดยปริมาณแอนติออกซิแดนท์รวมของทุกกลุ่มการทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งวันที่ 0, 7 และ 21 หลังได้รับอาหารทดลอง

4. การศึกษาปริมาณกลูตาไธโอนโดยรวมในเม็ดเลือดแดงของสุกรพบว่า เมื่อเริ่มทดลองพบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่เมื่อสุกรกินอาหารทดลองไปแล้ว 7 วัน และ 21 วันพบสุกรมีปริมาณกลูตาไธโอนรวมในเม็ดเลือดแดงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยพบว่าปริมาณ tGSH ในเม็ดเลือดแดงจะเพิ่มขึ้นตามระดับของไขมันสำปะหลังในสูตรอาหาร แต่เมื่อพิจารณาปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอน (GSH) และออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSSG) เมื่อเริ่มทดลอง พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อกินอาหารทดลองไปแล้ว 7 และ 21 วันพบว่าปริมาณ GSH และ GSSG ในเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นตามระดับของไขมันสำปะหลังในสูตรอาหารแต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) อัตราส่วนของรีดิวซ์กลูตาไธโอน ต่อออกซิไดซ์กลูตาไธโอน (GSH/GSSG) เมื่อเริ่มทดลอง และเมื่อสุกรกินอาหารไปแล้ว 7 และ 21 วันพบว่าแต่ละกลุ่มการทดลองมีค่าใกล้เคียงกันพบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

5. การใช้ไขมันสำปะหลังที่ระดับ 0, 2.5, 5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารของลูกสุกร หลังหย่านมพบว่า น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณการกินอาหาร และอัตราการเจริญเติบโตของทุกกลุ่ม การทดลองแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่การใช้ไขมันสำปะหลังที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารส่งผลให้ลูกสุกรมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีกว่าการไม่ใช้ไขมัน สำปะหลังในสูตรอาหาร โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

สรุปได้ว่าการใช้ไขมันสำปะหลังเป็นแหล่งโปรตีนในสูตรอาหารลูกสุกรหย่านมในระดับที่เหมาะสมไม่ส่งผลเสียต่อสมรรถภาพการผลิต และการใช้ไขมันสำปะหลังในระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ยังทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารของสุกรดีขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ไขมันสำปะหลังในระดับที่สูงขึ้นยังส่งผลให้ปริมาณกลูตาไรโอนโดยรวมในเนื้อเลือดแดงของสุกรเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณกลูตาไรโอนที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ร่างกายสัตว์มีความต้านทานต่อการเกิดอนุมูลอิสระมากขึ้น นอกจากนี้ยังส่งผลต่อสุขภาพของสัตว์โดยทำให้สัตว์มีสุขภาพที่ดีขึ้นด้วย

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าลูกสุกรที่กินอาหารสูตรไขมันต่ำปะหลังในระดับที่สูงขึ้น ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ชนิดที ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์เพียงชนิดเดียว อาจมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับตัวบ่งชี้อื่นๆ เช่น อินเตอร์ลิวคิน 2 (IL-2) ซึ่งเป็นไซโตไคน์ (cytokine) ที่มีผลในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟไซต์ จะทำให้อธิบายถึงความสามารถในการเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

2. นอกจากการศึกษาปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวม และโมเลกุลต้านอนุมูลอิสระ (GSH) แล้วควรมีการศึกษาเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระเช่น SOD CAT และ GPx เพิ่มเติมจะทำให้สามารถอธิบายผลการทดลองได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2526. เทคนิกับคุณค่าทางอาหาร. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์. 2532. มันสำปะหลัง การปลูก อุตสาหกรรมแปรรูป และการใช้ประโยชน์. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไชยรัตน์ เพ็ชรลานวัฒน์. 2536. การผลิตไบโมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ดนัย สุภาพาร. 2537. พฤกษศาสตร์และพันธุศาสตร์มันสำปะหลัง, น. 14-30. ใน เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง. ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

นวลจันทร์ พารักษา, ทวีศักดิ์ ส่งเสริม และ สิ้นชัย พารักษา. 2548. การวัดฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่น, น. 20-24. ใน นวลจันทร์ พารักษา และ สิริจันทร์พร สินธุวิช, บรรณาธิการ. คู่มือการวิจัย 3 การทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรในสัตว์ปีกและสุกร. โรงพิมพ์เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัลพับลิเคชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ.

พิชัย สราญรมย์. 2528. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับมันสำปะหลัง สำหรับการศึกษาระดับปริญญา. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

มนตรี ตูจันดา. 2521. โรคภูมิแพ้. โครงการตำราศิริราช คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ. 499 น.

ยุพา จรรย์กุล. 2542. ใยชาในด: สารพิษที่พึงระวัง. เอกสารเผยแพร่ฝ่ายเภสัชกรรม โรงพยาบาลรามธิบดี.

รุ่งเรือง กิจผาติ, ขวัญยืน ศรีเปารยะ และ สมล ปวีตรานนท์. 2547. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสารพิษ. ศูนย์ข้อมูลพิษวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

วิบูลย์ศรี พิมพ์พันธุ์. 2537. ภูมิคุ้มกันด้านเซลล์, น. 105-126. ใน สุทธิพันธุ์ สารสมบัติ, บรรณาธิการ. อิมมูโนวิทยา. บริษัท พรินต์โพร จำกัด, กรุงเทพฯ.

วิภาสรี เสถียรตันทนันท, อุทัย คันโธ, สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ และ อรุณี อิงคากุล. 2548. การใช้มันเส้นและใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพ และปริมาณโปรตีนในไข่ไก่. ใน **เรื่องเต็มการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 43 สาขาสัตวสัตวแพทย์**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ศิริรัตน์ บัวผัน 2546 ผลของการเพิ่มระดับมันเส้นในอาหารผสมเสร็จต่อปริมาณโซมาติกเซลล์ จุลินทรีย์อะฟลาท็อกซินและเปอร์ออกซิเดสในน้ำนมโค. **วิทยานิพนธ์ปริญญาโท**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สาโรช คำเจริญ และ เขาวมาลย์ คำเจริญ. 2531. การใช้มันสำปะหลังในอาหารสุกร เป็ด และไก่. **ชุมนุมสหกรณ์ผู้เลี้ยงสุกร จำกัด, กรุงเทพฯ.**

สุทธิพันธุ์ สารสมบัติ. 2537. บทนำ, น. 1-6. ใน สุทธิพันธุ์ สารสมบัติ, บรรณาธิการ. **อิมมูโนวิทยา**. บริษัท พรินต์โพร จำกัด, กรุงเทพฯ.

สุริยวรรณ พันธน์รา, พรศรี ชัยรัตนายุทธ, ประวีร์ วิชชุดา, สมจิต สุรพัฒน์, อุทัย คันโธ และ วงศ์นันต์ ณรงค์พาณิชย์. 2549. ผลของการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งเป็นอาหารโคนมต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และโคไลฟอร์มในน้ำนมดิบ. ใน **เรื่องเต็มการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 44 สาขาสัตวสัตวแพทย์**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

องอาจ เลหาวินิจ. 2542. เอกสารคำสอนวิชาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์. ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาภูมิคุ้มกัน คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุทัย คันโธ. 2529. อาหารและการผลิตอาหารเลี้ยงสุกรและสัตว์ปีก. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

อุทัย คันโธ และ สุกัญญา จิตตพรพงษ์. 2547. การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ผลการใช้และข้อมูลการวิจัยในประเทศไทย. ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ สถาบันสุวรรณวาลกกลีเกษ และภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

Akerboom, T.P. and H. Sies. 1990. Glutathione transport and its significance in oxidative stress. In: Vina, J. (Ed), Glutathione: Metabolism and Physiological Functions. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. pp: 45-55.

Albina, J. and J. Reichner. 1998. Role of nitric oxide in mediation of macrophage cytotoxicity and apoptosis. *Cancer. Metastasis. Rev.* 17: 39-53.

Alves, A.A.C. 2002. Chapter 5: Cassava botany and physiology, pp. 67-89. In R.J. Hillocks, J.M. Thresh and A.C. Bellotti, (eds). *Cassava: Biology, Production and Utilization*. CABI Publishing. London, United Kingdom.

Anonymous. 2005. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* gas production, metabolizable energy and organic matter digestibility of *Quercus cerris* leaves. Available Source: <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/4/canb17042.htm>, June 13, 2005.

Arai, K., F. Lee, S. Miyatake, N. Arai and T. Yokata . 1990. Coordinator of immune and inflammatory response. *Annu. Rev. Biochem.* 59:783-836.

Beckman, K.B. and B.N. Ames. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* 78: 547-581.

Bella, D.L., L.L. Hirschberger, Y.H. Kwon. and M.H. Stipanak. 2002. Cysteine metabolism in periportal and perivenous hepatocytes; Perivenous cell have greater capacity for glutathione Production and taurine synthesis but not for cysteine metabolism. *Amino Acid.* 23: 453-458.

- Benzie, Iris F. F. and J. J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power : The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239: 70-76.
- Bohnstedt, K.C. 2005. Determination of biomarkers for lipid peroxidation and oxidative stress. Doctoral thesis. 91.
- Brune, B., C. Gotz, U. Messmer, K. Sandau, M. Hirvonen and E. Lapetina. 1997. Superoxide formation and macrophage resistance to nitric oxide-mediated apoptosis. *J. Biol. Chem.* 272: 7253-7258.
- Burney, S., J.C. Niles, P.C. Dedon and S.R. Tannenbaum. 1999. DNA damage in deoxynucleosides and oligonucleotides treated with peroxynitrite. *Chem. Res. Toxicol.* 12:513-520.
- Chance, B., H. Sies and A. Boveris. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* 59: 527-605. 39: 44-84.
- Chandra, A. K., S. Mukhopadhyay, D. Lahari and S. Tripathy. 2004. Goitrogenic content of Indian cyanogenic plant food and their *in vitro* antithyroidal activity. *India J. Med Res* 119, 180-185 p.
- Cheeke, P.R. and L.R. Shull. 1985. *Natural Toxicants in Feed and Poisonous Pant.* AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- Claire, E., O.D. Lewis, O.D. Jame. 1992. *The macrophage: The natural immune system.* IRL Press. Oxford. 423 p.
- Cohen, G. 1997. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem. J.* 326: 1-16.

- Conn, E.E. 1994. Cyanogenesis-A personal perspective, pp. 31-44. In M. Bokanga, A. J. A. Essers, N. Poulter, H. Rosling and O. Tewe (eds.). *Acta Horticultrae: International Workshop on Cassava Safety*, 1-4 March 1994, Ibadan, Nigeria.
- Davies, K.J. and A. L. Goldberg. 1987. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 262: 8220-8226.
- Davies, K.J.A., M.E. Delsignore and S.W. Lin. 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals.II. Modification of amino acids. *J.Biol. Chem.* 262: 9902-9907.
- Davis, M.E., D.C. Brown, C.V. Maxwell, Z.B. Johnson, E.B. Kegley and R.A. Dvorak. 2004. Effect of phosphorylated mannans and pharmacological additions of zinc oxide on growth and immunocompetence of weaning pigs. *J. Anim. Sci.* 82: 581-587.
- Deby, C. and R. Goutier. 1990. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutases. *Biochem. Pharmacol.* 39: 399-405.
- De Groot, C., S. Ruuls, J. Theeuwes, C. Dijkstra and P. Vandervalk. 1997. Immunocytochemical characterization of the expression of inducible and constitutive isoforms of nitric oxide synthase in demyelinating multiple sclerosis lesions. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 56: 10-20.
- Devos, K., V. Goossens, E. Boone, D. Vercammen, K. Vancompernelle, P. Vandenaabeele, G. Haegeman, W. Fiers, and J. Grooten. 1998. The 55-kDa tumor necrosis factor receptor induces clustering of mitochondria through its membrane-proximal region. *J. Biol. Chem.* 273: 9673-9680.
- Dewulf, J., H. Laevens, F. Koenen, K. Mintiens and A. Kruif. 2004. Efficacy of E2-sub-unit marker and C-strain vaccines in reducing horizontal transmission of classical swine fever virus in weaner pigs. *Preventive Veterinary Medicine.* 65: 121-133.

- Dizdaroglu, M. 1992. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutat. Res.* 275: 331-342.
- Donnell, V., S. Spycher and A. Azzi. 1995. Involvement of oxidants and oxidant-generating enzyme(s) in tumor necrosis factor- α -mediated apoptosis: role for lipoxygenase pathway but not mitochondrial respiratory chain. *Biochem. J.* 310: 133-141.
- Dumont, A., S. Hehner, T. Hofmann, M. Ueffing, W. Droge and M. Schmitz. 1999. Hydrogen peroxide-induced apoptosis is CD95-independent, requires the release of mitochondria derived reactive oxygen species and the activation of NF- κ B. *Oncogene* 18: 747-757.
- Eruvbetine, D., I.D. Tajudeen, A.T. Adeosun and A.A. Olojede. 2003. Cassava (*Manihot esculenta*) leaf and tuber concentrate in diets for broiler chickens. *Bioresource Technology*. 86(3): 277-281.
- Fang, Y.Z., S. Yang and G. Wu. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18: 872-879.
- Fasuyi, A.O. 2005. Nutrient composition and processing: Effects on cassava leaf (*Manihot esculenta*, Crantz) antinutrients. *Pakistan Journal of Nutrient*. 4(1): 37-42.
- Feig, D.I., T.M. Reid and L.A. Loeb. 1994. Reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Res.* 54 Suppl. 7: 1890–1894.
- Freeman, B. A. 1985. Burrows textbook of microbiology 27thed. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Fridovich, I. 1995. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.* 64: 97-112.

- Gershwin, L. J., S. Krakowka and R.G. Olsen. 1995. Immunology and Immunopathology of Domestic Animals. 2nded. Mosby Year Book, Inc., Missouri. 195 p.
- Gomez, G., M. Valdivieso, D. Delacuesta and T.S. Salcedo. 1984. Effect of variety and plant age on the cyanide content of whole root cassava chips and its reduction by sun drying. Anim. Feed Sci. Tech. 11: 75-65.
- Griffith, O. W. 1999. Biologic and Pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis Free Radic. Biol. Med. 27: 922-935.
- Grune T., T. Reinheckel and K.J.A. Davies. 1997. Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. FASEB. J. 11: 526-534.
- Guarino, M. P., R.A Afonso., N. Raimundo., J. F. Raposo. and M. P. Macedo. 2003. Hepatic glutathione and nitric oxide are critical for hepatic insulin-sensitizing substance action. Anim. J. Physiol. 284: G588-G594.
- Guoyao, W., F. Yun-Zhong., Y. Sheng., J.R. Lupton. and N.D. Turner. 2004. Glutathione metabolism and it's implication for health. Nutr. Sci. 489-492.
- Guyton, K.Z and T.W. Kensler. 1993. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. Br. Med. Bull. 49: 523-544.
- Halliwell, B. 1998. Can oxidative DNA damage be used as a biomarker of cancer risk in humans? Problems, resolutions and preliminary results from nutritional supplementation studies. Free Radical Res. 29: 469-486.
- Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1989. Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press, Oxford.

- Hanrahan, C.J., M.D. Bacolod, R.R. Vyas, T. Liu, N.E. Geacintov, E.L. Loechler and A.K. Basu. 1997. Sequence specific mutagenesis of the major (C) anti benzo[a]pyrene diol epoxide DNA adduct at a mutational hot spot in vitro and in *Escherichia coli* cells, Chem. Res. Toxicol. 10: 369-377.
- Hennet T., C .Richter and E. Peterhans. 1993. Tumor necrosis factor- α induces superoxide anion generation in mitochondria of L929 cells. Biochem. J. 289: 587-592.
- Heim, K.E., A.R. Tagliaferro and D.J. Bobilya. 2003. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry. 13: 572-584.
- Hillocks, R.J. and J.M. Thresh. 2002. Cassava Botany and Physiology. In R.J. Hillocks, J.M. Thresh and A.C. Bellotti (eds.). Cassava Biology, Production and Utilization. CABI Publishing. New York, USA.
- Jiyang, C., C. Yan., S. Shaguna., F. Satoru., R.W. Compans and D. P. Jones. 2003. Inhibition of influenza infection by glutathione. Free Radic. Biol. Med. 34: 928-936.
- Jones, D. P. 2000. Redox potential of GSH/ GSSG couple: Assay and biological significance. Methods Enzymol. 348: 93-112.
- Kasai, H. 1997. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. Mutat. Res. 387: 147-163.
- Kim, Y., R. Talanian and T. Billiar. 1997. Nitric oxide inhibits apoptosis by preventing increases in caspase-3-like activity via two distinct mechanisms. J. Biol. Chem. 272: 31138-31148.

- Klebanoff, S., M. Vadas, J. Harlan, L. Sparks, J. Gamble, J. Agosti, and A. Waltersdorff. 1986. Stimulation of neutrophils by tumor necrosis factor. *J. Immunol.* 136: 4220-4225.
- Koch, B. M., S. Ole, S. Elizabeth, A. K. Rachel, L. Du, B. Soren, A. H. Babara and L. M. Berger. 1994. Possible use of a biotechnological approach to optimize and regulate the content and distribution of cyanogenic glucosides in cassava to increase food safety, pp. 40-60. *In* M. Bokanga, A. J. A. Essers, N. Poulter, H. Rosling and O. Tewe (eds.). *Acta Horticulture: International Workshop on cassava Safety*, 1-4 March 1994, Ibadan, Nigeria.
- Lancaster, P.A., J.S. Ingran, M.Y. Lim and D.G. Coursey. 1982. Traditional cassava-based food: Survey of processing techniques. *Economic Botany*. 36(1): 12-45.
- Liu, P.T., C. Ioannides, A.M. Symons and D.V. Parke. 1993. Role of tissue glutathione in prevention of surgical trauma. *Xenobiotica*. 23: 899-911.
- Lorgue, G., J. Lechenet and A. Riviere. 1996. *Clinical veterinary toxicology*. Hartnolls Ltd., Bodmin, Cornwall. 210p.
- Losendahl, K.J., H. Wang, M. Aslam, Z. Sixiang and W.L. Hurley. 2000. Antimicrobial protein in milk. Available Source <http://www.classes.ag.uiuc.edu/Ansci/308/antimicroprot.IDR.html>. September 6, 2005.
- Lu, S. C. 2000. Regulation of glutathione synthesis. *Cell Regul.* 36: 95-116.
- Murray, R. K., D. K. Granner, P. A. Mayes and V. W. Rodwell. 1996. *Harper's Biochemistry*. 24th ed., Prentice Hall International, London.
- Nartey, F. 1973. Biosynthesis of cyanogenic glucosides in cassava (*Manihot* spp.), pp. 73-87. *In* B. Nestel and R. MacIntyre (eds.). *Chronic Cassava Toxicity*. Int. Develop. Res. Center, IDRC. Ottawa, Canada.

- National Research Council (NRC). 1998. Nutrition requirements of swine. 10thed. National Academy of Science, Washington D. C.
- Oke, O.L. 1978. Problem in the use of cassava as animal feed. *Anim. Feed Sci. Tech.* 3: 345-380.
- Onwueme I.C. 1978. *The Tropical Tuber Crops*. The Pitman Press, Great Britain.
- _____, I.C. and W.B. Charles. 1994. *Tropical root and tuber crops: Production, perspectives and future prospects*. FAO Plant Production and Protection Paper. Rome, Italy.
- Parke, A.L. and D.V. Parke. 1995. The pathogenesis of inflammatory disease: Surgical shock and multiple system organ failure. *Inflammopharmacology*. 3: 149-168.
- Paul, H.M. 1999. *Stress Physiology in Animal*. Sheffield Academic Press, Sheffield.
- Roitte, I.M. 1984. *Essential Immunology*. Blackwell Scientific, Oxford. 369 p.
- SAS. 1998. *SAS User's Guide: Statistics*. Sas Institute Inc., North Carolina, USA.
- Schulze, O.K., A. Bakker, B. Vanhaesebroeck, R. Beyaert, W. Jacob and W. Fiers. 1992. Cytotoxic activity of tumor necrosis factor mediated by early damage of mitochondrial functions. Evidence for the involvement of mitochondrial radical generation. *J. Biol. Chem.* 267: 5317-5323.
- Stadtman, E.R. 1993. Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalyzed reactions. *Annu. Rev. Biochem.* 62: 797-821.
- Subrata A., A. Mazumdar and R.K. Banerjee. 1997. Low catalytic turnover of horseradish peroxidase in thiocyanate oxidation. *J. Biol. Chem.* 272: 11049-11056.

- Ternay J.R. and T.R. Sorokin. 1997. Redox and Redical. Tyler and Francis Antioxidant and Free Radical, USA.
- Thin, N.N. and M.S.M. Sosef. 1999. Euphobia, pp. 263 – 272. *In* L.S. de Padua, N. Bunyapraphatsara and R.H.M.J. Lemmens, (eds). Plant Resources of South-East Asia, No 12(1) Medicinal and Poisonous Plants 1. Prosea Foundation. Bogor, Indonesia.
- Thippeswamy, T. and R. Morris. 1997. Cyclic guanosine 3',5' monophosphate mediated neuroprotection by nitric oxide in dissociated cultures of rat dorsal root ganglion neurons. *Brain Res.* 774: 116-122.
- Thomas E.L. and T.M. Aune. 1978. Lactoperoxidase, peroxidase, thiocyanate antimicrobial system: Correlation of sulfhydryl oxidation with antimicrobial action. *Infect. Immun.* 20 : 456-463.
- Tizard, I. R. 2000. Veterinary Immunology: An Introduction, 6thed. W. B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo. 982 p.
- Townsend D.M., K.D. Tew and H. Tapiero. 2003. The importance of glutathione in human disease. *Biomed. Pharmacol. Ther.* 57: 145-155.
- Umansky, V., M. Rocha, R. Breitzkreutz, S. Hehner, M. Bucur, N. Erbe, W. Droge, and A. Ushmorov. 2000. Glutathione is a factor of resistance of Jurkat leukemia cells to nitric oxide-mediated apoptosis. *J. Cell Biochem.* 78: 578-587.
- Ushmorov, A., F. Ratter, V. Lehmann, W. Droge, V. Schirmacher and V. Umansky. 1999. Nitric oxide-induced apoptosis in human leukemic lines requires mitochondrial lipid degradation and cytochrome c release. *Blood* 93: 2342-2352.

- Valko, M. 2007. Pathways of ROS formation, the lipid peroxidation process and the role of glutathione (GSH) and other antioxidants (Vitamin E, Vitamin C, lipoic acid) in the management of oxidative stress (equations are not balanced). *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*
- Vineis, P., N. Malats, M. Porta and F.X. Real. 1999. Human cancer, carcinogenic exposures and mutation spectra. *Mutat. Res.* 436: 185-194.
- Walter, J. B. 1982. *An Introduction to the Principles of Disease*. 2nded. W.B. Saunders. Company, Philadelphia.
- Wang, D., D.A. Kreuzer and J.M. Essigmann. 1998. Mutagenicity and repair of oxidative DNA damage: insights from studies using defined lesions. *Mutat. Res.* 400: 99-115.
- Wolff, S.P., A. Garner and R.T. Dean. 1986. Free radicals, lipids and protein degradation. *Trends. Biochem. Sci.* 11: 27.
- Wyllie, A.H., J. Kerr, and A. Currie. 1980. Cell death: the significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol.* 68: 251-306.
- Yu, Y. M., C. M. Ryan, Z. W. Fei, X. M. Lu, L. Castillo, J. T. Schultz, R. G. Tompkins and V. R. Young. 2002. Plasma L-5-oxoproline kinetic and whole blood glutathione synthesis rate in severely burned adult human. *Am. J. Physiol.* 282: E247-E258.

ภาคผนวก

การหาปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวม (total antioxidant capacity; TAC) โดยวิธี ferric reducing ability of plasma (FRAP) assay (Benzie and Strain, 1996)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. FRAP reagent
 - $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$
 - $C_2H_4O_2$
 - TPTZ
 - $FeCl_3 \cdot 6H_2O$
 - 40 mmol HCl
 - $FeSO_4 \cdot 7H_2O$
2. tube (15 ml)
3. flask
4. beaker
5. micro pipette
6. micro tube
7. spectrophotometer
8. water bath

วิธีการ

1. เตรียม FRAP reagent
 - เตรียม acetate buffer จาก 3.1 g $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$ + $C_2H_4O_2$ 16 ml ต่อลิตรของสารละลายบัฟเฟอร์ (pH = 3.6)
 - ชั่ง TPTZ (0.031234 g) เติม 40 mmol/HCl 10 ml
 - ชั่ง $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (0.05406 g) เติมน้ำ 10 ml
 - ตวง acetate buffer ใส่ใน flask 100 ml เท TPTZ และ $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ใส่ใน flask ตามลำดับ
 - ถ่าย FRAP reagent ที่ได้ ใส่หลอด 15 ml ปริมาณ 1800 ml และเติมน้ำ 180 ml ปิดฝา
 - อุณหภูมิใน water bath ที่ 37 องศาเซลเซียส

2. เตรียม standard ทำ duplicate
 - ชั่ง $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.006945 g) เติมน้ำ 10 ml
 - เตรียม standard ที่ความเข้มข้น 0-2500 mmol/L
3. ทำการ set blank
4. วัด standard โดยใช้เครื่อง spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 nm นำค่าที่ได้มาทำ standard curve
5. การวิเคราะห์ตัวอย่าง
 - FRAP reagent 1800ml + น้ำกรอง 180 ml + plasma 60 ml
 - ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer 5 วินาที
 - เทใส่ cuvette
 - run
 - อ่านค่าทุก 15 วินาที เป็นเวลา 10 นาที
6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างเปรียบเทียบกับ standard curve

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ -นามสกุล	นางสาวนภาพร เพือกสี
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 13 มิถุนายน พ.ศ. 2526
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี
ประวัติการศึกษา	ชั้นมัธยมศึกษาโรงเรียนเบญจมเทพอุทิศจังหวัดเพชรบุรี (2545) วิทยาศาสตรบัณฑิต (สัตวบาล) มหาวิทยาลัยราชภัฏ เพชรบุรี (2549)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นักวิชาการอาหารสัตว์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด (ในพระบรมราชูปถัมภ์)