

## การใช้วิตามินซีเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ

(*Penaeus monodon* Fabricius)

### Application of Vitamin C as Immunostimulant in Black Tiger Shrimp

(*Penaeus monodon* Fabricius)

#### คำนำ

กุ้งกุลาดำเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยประเทศไทยสามารถส่งออกกุ้งกุลาดำได้เป็นอันดับ 1 ของโลก แต่ในระยะหลังปริมาณการส่งออกกุ้งของไทยลดลง ซึ่งในปี 2545 ที่ผ่านมานับว่าเป็นปีที่ส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมแปรรูปและธุรกิจการส่งออกกุ้ง เป็นอย่างมาก เนื่องจากราคากุ้งตกต่ำที่สุดต่อเนื่องมาจนถึงปี 2547 สาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาดังกล่าวคือ ปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในกลุ่มไนโตรฟูแรน (Nitrofurans) และคลอแรมเฟนิคอล (Chloramphenicol) ในสินค้ากุ้งสดแช่เย็นและผลิตภัณฑ์แปรรูปชนิดต่าง ๆ ของไทย ซึ่งยาทั้งสองชนิดเป็นสารที่ก่อโรคมะเร็งทั้งในคนและสัตว์ ก่อปรกับปัญหากุ้งโตช้า อัตราการตายต่ำ ซึ่งมีสาเหตุมาจากการเกิดโรคชนิดต่าง ๆ เนื่องจากระบบการเลี้ยงกุ้งในปัจจุบันเป็นแบบพัฒนา (Intensive) มีการปล่อยกุ้งในอัตราหนาแน่นสูง ทำให้มีของเสียจากการขับถ่ายและเศษอาหารเหลือในปริมาณมาก ส่งผลให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้กุ้งเกิดความเครียดและมีภูมิคุ้มกันลดลง เชื้อโรคเข้าทำอันตรายกุ้งได้ง่าย ดังนั้นจึงมีการใช้อาหารเสริมยา และเคมีภัณฑ์ต่าง ๆ ในการรักษาและป้องกันมากขึ้น ซึ่งแนวทางการแก้ปัญหาที่มีความเป็นไปได้มากที่สุดคือ ลดการใช้ยาและสารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งให้ได้มากที่สุด โดยการปรับเปลี่ยนวิธีการเลี้ยงกุ้งให้เป็นไปในรูปแบบของการเลี้ยงกุ้งเชิงป้องกัน คือ เลี้ยงกุ้งอย่างไรไม่ให้ป่วยหรือเป็นโรค โดยทั่วไปแล้วกุ้งจะมีกลไกการป้องกันการติดเชื้ออยู่แล้ว คือ ระบบภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะเจาะจง นอกจากนี้วิธีการหนึ่งที่จะช่วยเสริมสุขภาพกุ้งให้มีความแข็งแรงและทนอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ คือ การใช้กลุ่มของสารเคมีและจุลชีพบางชนิดที่เกี่ยวข้องในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น Beta-glucan จากยีสต์, Lipopolysaccharide (LPS) จากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ หรือ Peptidoglycan (PG) จากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก

นอกจากนี้ยังมีการใช้วิตามิน โดยเฉพาะวิตามินซีนั้นจัดเป็นวิตามินที่มีความสำคัญและมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในสัตว์น้ำ โดยเฉพาะกุ้งกุลาดำ วิตามินซีเป็นวิตามินที่ละลายน้ำทำหน้าที่

ช่วยในการสร้างคอลลาเจน เป็น antioxidant ป้องกันการเหี่ยวย่นจากการเกิดอนุมูลอิสระ ช่วยในการดูดซึมธาตุเหล็ก ทำหน้าที่ในกระบวนการสลายสารพิษ (detoxification) และยังทำหน้าที่เสริมภูมิคุ้มกันโรคให้แก่อวัยวะต่างๆ ได้ด้วย ดังนั้นการใช้วิตามินซีจึงเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถลดการใช้ยาและสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ รวมทั้งสามารถลดต้นทุนการผลิตและสร้างความเชื่อมั่นให้กับประเทศผู้นำเข้าสินค้ากัญชาของไทยว่าไม่มีการตกค้างของยาและสารเคมี และส่งผลดีต่อสิ่งแวดล้อม อันจะนำไปสู่การพัฒนาการเพาะเลี้ยงกัญชาแบบยั่งยืน

การเสริมวิตามินซีในอาหารสำเร็จรูปมีความจำเป็นเนื่องจากกัญชามีความสามารถสังเคราะห์วิตามินซีได้ต้องอาศัยการกินเข้าไปเป็นหลัก หากปริมาณวิตามินซีที่ได้รับไม่เพียงพอ กัญจะแสดงอาการผิดปกติออกมา ซึ่งกัญจะมีพฤติกรรมกินอาหารค่อนข้างช้าโดยใช้ชาเดินในการจับอาหารแล้วเสียเวลาในการกัดแทะ ส่งผลให้วิตามินซีส่วนหนึ่งสูญเสียไปในน้ำ ดังนั้นปริมาณวิตามินซีในระดับที่เพียงพอและเหมาะสม กัญจึงจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ หากใช้ในระดับที่มากเกินไปถึงแม้จะส่งผลดีต่อสัตว์น้ำ แต่ทั้งนี้ก็มีข้อจำกัดในเรื่องของราคาและผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้นหากทราบปริมาณการใช้และระยะเวลาที่เหมาะสมจะส่งผลให้สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อย่างมีประสิทธิภาพและต่อเนื่อง และยังสามารถลดต้นทุนในการผลิตให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงกัญ ซึ่งไม่จำเป็นต้องใช้วิตามินซีในปริมาณที่สูงหรือให้ติดต่อกันเป็นประจำทุกวัน แต่ยังคงสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีเช่นเดียวกัน ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมายังไม่มีกำหนดเป็นมาตรฐานการใช้วิตามินซีที่แน่นอน เพื่อสามารถใช้วิตามินซีในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อย่างมีประสิทธิภาพและเกิดประโยชน์สูงสุดต่อการเลี้ยงกัญชาต่อไปในอนาคต

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของวิตามินซีที่ใช้ผสมอาหารเพื่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกิ้งกูดำ
2. เพื่อศึกษาระยะเวลาการให้วิตามินซีที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกิ้งกูดำ

## การตรวจเอกสาร

### 1. ชีววิทยาของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำ หรือกุ้งทะเลหรือกุ้งม้าลาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* Fabricius ชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า Giant black tiger prawn หรือ Tiger prawn หรือ Jumbo tiger prawn เป็นกุ้งทะเลที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในวงศ์ Penaeidae ในขณะที่มีชีวิตอยู่ลำตัวจะมีสีม่วงแดง มีแถบสีน้ำตาลหรือดำพาดขวางลำตัวเป็นปล้อง ๆ และโคนขาว่ายน้ำจะมีแถบสีเหลืองเป็นปล้อง ๆ หนวดมีสีดำและไม่มีลาย มีเปลือกหุ้มเกลี้ยงไม่มีขน ฟันกรีด้านบนมี 7 - 8 ซี่ ด้านล่างมี 3 ซี่ (วัลลภ, 2534) กุ้งกุลาดำทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดี จึงนำมาเลี้ยงและเติบโตได้ในฟาร์ม ทนต่อความเค็มในช่วงกว้างตั้งแต่ความเค็มต่ำใกล้เคียงกับความเค็มสูงสุดเกือบ 40 ppt กุ้งกุลาดำมีการแพร่กระจายพันธุ์อย่างกว้างขวางในเขต Indo-West Pacific และพบทั่วไปในน่านน้ำของทุกประเทศแถบเอเชีย ยกเว้นประเทศญี่ปุ่นและประเทศจีน พบตามธรรมชาติในมหาสมุทรอินเดียและตะวันตกเฉียงใต้ของมหาสมุทรแปซิฟิก รวมทั้งประเทศไทยบริเวณอ่าวไทยตอนบน และเกือบทุกจังหวัดที่ติดชายทะเลของไทย แพร่กระจายทั่วไปตั้งแต่ 30 องศาถึง 155 องศาตะวันออก และจาก 35 องศาเหนือ ถึง 35 องศาใต้ ซึ่งเป็นแหล่งทำประมงในเขตร้อน ได้แก่ อินโดนีเซีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ และไทย (ประจวบ, 2543)

### 2. อาหารและนิสัยการกินอาหาร

กุ้งกุลาดำมีกระเพาะอาหาร ลำไส้สั้นและตรง ปากเป็นปากกัดแทะ ชอบกินอาหารที่พื้นผิวดิน ยึดครองพื้นที่ในขณะที่กินอาหาร สัมผัสอาหารโดยใช้เซลล์รับความรู้สึกทางกลื่นจากหนวด และระยงค์มากกว่าการมองเห็น เมื่อพบอาหารจะใช้ขาเดิน 3 คู่แรก คู่ใดคู่หนึ่งหรือร่วมกันจับอาหารแล้วถือแทะ (เวียง, 2543) ดังนั้นอาหารจึงต้องมีลักษณะเป็นเม็ดเล็กยาว และไม่แตกตัวง่าย เมื่อจับถือ โดยธรรมชาติกุ้งเป็นสัตว์ที่กินอาหารได้ทุกชนิดทั้งสัตว์และพืชและชอบอาหารที่มีกลิ่นคาว (มะลิ, 2531) โดยเฉพาะอาหารสด เช่น หอย ปลา หรือปลาหมึก เนื่องจากกุ้งกุลาดำสัมผัสอาหารทางกลื่น อาหารที่มีเนื้อกุ้ง เนื้อหอย เนื้อปลาหมึก กรดอะมิโนไกลซีน และสารชวนกินที่สกัดจากตับปลาหมึก จะช่วยดึงดูดให้กุ้งเข้ามากินอาหารได้ง่ายและเร็วขึ้น (เวียง, 2543) แต่อย่างไรก็ตามสามารถฝึกให้กินอาหารสำเร็จรูปได้เป็นอย่างดี ซึ่งปกติกุ้งจะกินอาหารบริเวณผิวน้ำดินหรือพื้นทราย ฉะนั้นอาหารจึงต้องจมน้ำได้รวดเร็ว

### 3. โรคกุ้งกุลาดำ

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำทั้งในอดีตและปัจจุบันพบว่า ความเสียหายที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการระบาดของโรคที่เกิดในช่วงฤดูหนาวหรือมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศหรือช่วงระหว่างการเปลี่ยนแปลงฤดูกาล แต่ปัจจุบันสามารถพบการระบาดของโรคตลอดปี ไม่ว่าจะเป็นโรคที่เกิดจากแบคทีเรียหรือการระบาดของเชื้อไวรัส ตลอดจนพวกปรสิตหรือเชื้อรา ซึ่งมีลำดับความสัมพันธ์ในการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกันหมด ทั้งนี้โรคที่พบในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีดังนี้

**3.1 โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย** ส่วนมากเกิดจากแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียที่พบในทางเดินอาหารของกุ้งและในน้ำ เช่น เชื้อวibriโอ (*Vibrio* sp.) ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถติดเชื้อในระบบหมุนเวียนเลือด (Systemic infection) อาการภายนอกที่สังเกตเห็นได้จากตามระยะต่างๆ เกิดการกร่อนและมีรอยขอบไหม้สีดำบริเวณแพนหาง หนวด หรือระยะต่างๆ เนื่องจากแบคทีเรียพวกนี้สามารถผลิตเอนไซม์ไคตินเอสมาย่อยไคติน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเปลือกกุ้งได้ และเกิดจากการที่กุ้งพยายามสร้างเม็ดสี (melanin pigment) เพื่อโอบล้อมตัวเชื้อไม่ให้แพร่กระจาย โรคที่สำคัญคือ Vibrosis เกิดจากแบคทีเรียชนิด *V. parahaemolyticus* , *V. harveyi* , *V. vulnificus* , *V. alginolyticus* , *V. cholerae* , *V. anguillarum* เช่น โรคเส้นดำ (Black splint disease) ที่เกิดจาก *V. vulnificus* และโรคเรืองแสงที่เกิดจาก *V. harveyi* เป็นต้น (Sindermann and Lightner, 1988)

**3.2 โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส** ปัญหาสำคัญในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้แก่ เชื้อไวรัสที่นำจะเป็นสาเหตุที่ทำให้กุ้งแคระแกร็นคือ ไวรัส MBV (Monodon Baculovirus) และ ไวรัส HPV (Hepatopancreatic Parvo-like Virus) ลักษณะกุ้งที่แสดงว่าเป็นโรค เอ็ม บี วี คือกุ้งจะมีขนาดเล็กกว่าปกติ สีเข้ม เมื่อนำตับและตับอ่อนมาศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อพบว่านิวเคลียสของเซลล์ตับและตับอ่อนขนาดใหญ่กว่าปกติและมี occlusion bodies (ชโล, 2535) ส่วนโรคเอชพีวีสามารถแฝงตัวอยู่ในกุ้งได้ตั้งแต่อยู่ในระยะตัวอ่อนจนถึง postlarvae แต่จะไม่แสดงอาการจนเมื่อกุ้งเจริญเป็นกุ้งวัยรุ่น จะมีการตายเกิดขึ้น อาการภายนอกคือ กล้ามเนื้อส่วนหางของกุ้งที่เป็นโรคบางตัวจะขุ่นมัว (Lightner, 1983), เชื้อไวรัส YHV (Yellow-Head Virus) เป็นสาเหตุของโรคหัวเหลือง ลำตัวกุ้งมีสีซีด มองเห็นส่วนหัวมีสีเหลือง เนื่องจากตับและตับอ่อนบวมโตและมีสีเหลืองชัดเจน และเชื้อไวรัส White Spot Syndrome Virus (WSSV) ที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคตัวแดงดวงขาว เชื้อไวรัสสามารถทำลายเนื้อเยื่อได้เปลือก เหงือก อวัยวะสร้างเม็ดเลือด ต่อมน้ำเหลือง และเม็ดเลือด

โดยทำให้เนื้อเยื่อของเซลล์บวมโต กุ้งที่เป็นโรคจะพบจุดขาวหรือดวงขาวที่บริเวณเปลือกหุ้ม โดยเฉพาะที่บริเวณ carapace และลำตัวเป็นสีแดงเป็นต้น (กิจการ, 2538)

**3.3 โรคที่เกิดจากปรสิตภายนอก** ปรสิตส่วนใหญ่จะเกาะติดที่ผิว cuticle ตามบริเวณเหงือก และรยางค์ต่าง ๆ เช่น ตามขาว่ายน้ำ แพนหาง (Foster *et al.*, 1978) ทำให้การแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจน และการหายใจของกุ้งผิดปกติไป นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการเคลื่อนไหว การกินอาหารและลอกคราบของกุ้งด้วย ปรสิตที่พบมากในกุ้งคือ โปรโตซัว ซึ่งส่วนใหญ่เป็น peritrichous ciliate เช่น *Zoothamnium*, *Epistylis*, *Acineta*, *Vorticella* และ *Lagenophrys* (Brock, 1983) ลักษณะภายนอกคือ สีของตัวกุ้งจะขุ่น อวัยวะที่ถูกเกาะมีเส้นเลือดฝอยเป็นกระจุก บาง ๆ จะเห็นชัดที่บริเวณเหงือก กรณีโปรโตซัวเกาะตามเหงือกและลำตัวไม่มากนัก เมื่อกุ้งลอกคราบก็จะหลุดออกไปและหายเป็นปกติได้ แต่ถ้ามีโปรโตซัวเกาะกันอยู่อย่างหนาแน่น อาจไปขัดขวางการหายใจ (Sindermann and Lightner, 1988)

**3.4 โรคที่เกิดจากเชื้อรา** เชื้อราส่วนใหญ่ที่พบว่าทำให้เกิดโรคในกุ้งเป็นพวก Saprophytic fungi และถือเป็น opportunistic pathogen (Lightner, 1983) ราเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับกุ้งกุลาดำในบ่อเลี้ยงตั้งแต่กุ้งเล็กไปจนถึงโตเต็มวัยเท่าที่รายงานจนถึงปัจจุบันมี 5 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ *Lagenidium* sp., *Siropidium* sp., *Leptolegnia* sp. และ *Saprolegnia* sp. ส่วนเชื้อราอีกชนิดหนึ่งเป็นพวก imperfecti fungi คือ *Fusarium* sp. ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายกับการเลี้ยงกุ้งในสกุล *Penaeus* เป็นอย่างมาก ทั้งนี้ *Lagenidium* sp. จะพบในกุ้งกุลาดำตั้งแต่ระยะที่เป็นไข่จนถึงระยะ postlarva ต้น ๆ อาการภายนอกคือ กุ้งจะลงไปนอนนิ่งอยู่พื้นก้นบ่อ ไม่ค่อยกินอาหาร ลำตัวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองครีม มีจุดสีน้ำตาลอ่อน ๆ ตลอดตัว กล้ามเนื้อเปื่อย การตายของกุ้งจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ หากแก้ไขไม่ทันอาจตายหมดบ่อภายในหนึ่งหรือสองวัน (บั้งอร, 2530) ส่วนเชื้อราชนิด *Fusarium solina* ทำให้เกิดโรคเหงือกดำ ซึ่งเหงือกจะมีสีดำคล้ายโคลนติดอยู่ ซึ่งกุ้งจะไม่กินอาหาร โตช้า ทนย่อยตาย

**3.5 โรคที่เกิดจากการขาดสารอาหาร** โดยจากการศึกษาของ Magarelli *et al.* (1979) พบว่าในกุ้ง *Penaeus californiensis* และ *Penaeus stylirostris* ที่ขาดวิตามินซีจะเป็นโรคที่เรียกว่า โรคตายตัวดำ (black death disease) คือมีสีดำที่บริเวณได้เปลือก (exoskeleton), บนตัวกุ้ง (abdomen), เปลือกคลุมหัว (carapace) นอกจากนี้ยังพบที่บริเวณผนังกระเพาะอาหาร ลำไส้ เหงือก และเนื้อเยื่อที่อยู่ใต้เปลือกจะมีสีดำ โดยเฉพาะรอยต่อระหว่างลำตัวและรยางค์เป็นต้น

#### 4. ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง

ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเป็นภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติ ไม่มีกลไกการสร้าง antibodies ชนิด Immunglobulin (Ig) เนื่องจากเป็นสัตว์ที่มีระบบเลือดแบบเปิด ดังนั้นกลไกในการป้องกันจะเกิดขึ้นในทันที ซึ่งการตอบสนองเป็นแบบไม่จำเพาะเจาะจง (non - specific defense) และไม่อาศัยการชักนำให้เกิดขึ้น ประกอบด้วยการแข็งตัวของเลือด (coagulation) เพื่อจับสิ่งแปลกปลอมและป้องกันการสูญเสียเลือดในขณะที่เกิดบาดแผลขึ้น โดยอาศัยการทำงานของเซลล์เม็ดเลือด ได้แก่ การเกิดกระบวนการกลืนทำลาย (phagocytosis) การห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอม (encapsulation) และ การสร้างโนดูล (nodulation) ส่วนการตอบสนองโดยสารน้ำ คือ โปรตีนชนิดต่าง ๆ ในซีรัมเช่น agglutinins , lysozyme และ โปรตีนที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือด clotting protein และ hemolysin , bactericidins เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีระบบโปรเฟีนออกซิเดส (prophenoloxidase system) ซึ่งเป็นการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่สำคัญ โดยที่เอนไซม์และสารต่าง ๆ ที่อยู่ในระบบโปรเฟีนออกซิเดส (prophenoloxidase system) ช่วยให้การตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์เม็ดเลือดทำงานได้ดีขึ้น (Soderhall, 1982)

#### 5. ระบบภูมิคุ้มกันของกิ้งกูดาคำ

ระบบภูมิคุ้มกันโรคของกิ้งกูดาคำสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ ระบบภูมิคุ้มกันที่อาศัยเซลล์ (cellular immunity) และระบบภูมิคุ้มกันในน้ำเลือด (humoral immunity) โดยการตอบสนองเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายโดยกระบวนการต่าง ๆ คือ

**5.1 ระบบภูมิคุ้มกันที่อาศัยเซลล์ (Cellular immunity)** เซลล์ที่มีบทบาทสำคัญคือ เซลล์เม็ดเลือด 3 ชนิด คือ Hyaline cell , Semi-granular cell และ Large granular cell และเซลล์จับกินสิ่งแปลกปลอมที่อยู่บริเวณเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ (Fix phagocytes) เช่น ต่อมเหงื่อ กล้ามเนื้อหัวใจ และอวัยวะอื่น ๆ (วัชรียา, 2547)

**5.2 ระบบภูมิคุ้มกันในน้ำเลือด (Humoral immunity)** ระบบนี้เกิดจากการทำงานของหลาย ๆ ปฏิกริยา เช่น การแข็งตัวของเลือด ( Blood clotting) การเกิด Melanin (melanin formation

หรือ melanization) และ Opsonization ซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบที่สำคัญที่เรียกว่า Prophenoloxidase activating system และเลคติน (Lectin) (วัชรียา, 2547)

## 6. ระบบภูมิคุ้มกันแบบที่มีการตอบสนองโดยเซลล์เม็ดเลือด

ระบบหมุนเวียนเลือดของครัสเตเชียนเป็นระบบเปิด ประกอบด้วยหัวใจ แอ่งเลือด และน้ำเหลือง เลือดจากหัวใจจะไหลเข้าไปในแอ่งเลือด แล้วไหลไปเลี้ยงเนื้อเยื่อของเซลล์ในร่างกาย องค์ประกอบของเลือดกุ้งกุลาดำประกอบด้วยแร่ธาตุสำคัญคือ C, N, H, S และ Cu เลือดของกุ้งกุลาดำเป็นเลือดสีน้ำเงิน เนื่องจากมีธาตุ Cu เป็นองค์ประกอบอยู่ (มะลิ, 2531) และมีอวัยวะที่สร้างเม็ดเลือดเรียกว่า haematopoietic tissue ซึ่งอยู่ใกล้หลอดเลือดเอออร์ตาส่วนหน้า (anterior aorta) ได้กรี น้ำเลือดกุ้งจะมีรงควัตถุฮีโมไซยานิน (hemocyanin) ทำหน้าที่แลกเปลี่ยนแก๊ส

ปริมาณเม็ดเลือดมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา กรณีที่กุ้งเกิดการติดเชื้อโรคจะส่งผลให้ปริมาณเม็ดเลือดลดลง จากนั้นเม็ดเลือดใหม่จะถูกสร้างขึ้นมาทดแทนในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งโดยปกติเม็ดเลือดจะถูกสร้างขึ้นตลอดเวลาจาก haematopoietic tissue ซึ่งเนื้อเยื่อดังกล่าวสามารถใช้ในการจำแนกชนิดของ crustaceans ได้อีกด้วย (Mats *et al.*, 2000)

### 6.1 ชนิดของเซลล์เม็ดเลือด (haemocyte)

โดยทั่วไปเซลล์เม็ดเลือด (haemocytes) ของครัสเตเชียนแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ เซลล์ไฮยาลิน (hyaline cell) และเซลล์ที่มีกรานูล (granular haemocyte) ซึ่งการแยกชนิดจะขึ้นอยู่กับลักษณะการมีหรือไม่มีกรานูลของเซลล์เป็นหลัก (Bauchau, 1980)

กิจการ และคณะ (2543ข) และ Sternsheim and Burton (1980) พบว่าเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำประกอบด้วยเซลล์ 3 ชนิด (ภาพที่ 1) คือ

6.1.1 เซลล์ไฮยาลิน (hyaline cell) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดเล็กที่สุด มีรูปร่างแบน กลมหรือรูปไข่ ผิวเรียบ บางครั้งอาจพบคล้ายรูปกระสวย หรือพระจันทร์เสี้ยว ลักษณะโครงสร้างไม่พบไมโครวิลไล (microvilli) หรือเท้าเทียม (pseudopodia) ที่ผิวเซลล์ มีนิวเคลียสขนาดใหญ่อยู่ตรงกลางเซลล์และติดสีเข้มเมื่อย้อมด้วย Giemsa's stain ภายใน cytoplasm มี

granule (cytoplasmic granules) อยู่่น้อยหรือไม่มีเลย ขนาดของเซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.4 - 8.3 ไมครอน (ในกรณีที่เป็นเซลล์กลม) หรือมีความกว้าง 2.5 - 3.6 ไมครอน ยาว 6.8 - 13.9 ไมครอน (ในกรณีที่เป็นเซลล์รูปรีหรือรูปกระสวย)

6.1.2 เซลล์เซมิกรานูล (semigranular cell) เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น มีรูปร่างเป็นรูปไข่หรือกระสวย นิวเคลียสอยู่ตรงกลางหรือขอบ ภายใน cytoplasm มี granule ขนาดเล็ก และพบในปริมาณน้อย เป็นเซลล์ที่เกาะพื้นผิวแก้วได้ดีมีส่วนยื่นของเซลล์ (cell process) หรือเท้าเทียมค่อนข้างมาก บริเวณผิวเซลล์อาจจะพบไมโครวิลไลได้เล็กน้อย ขนาดของเซลล์มีความกว้าง 4.2 - 6.8 ไมครอน และยาว 9.0 - 14.2 ไมครอน

6.1.3 เซลล์ลาร์จกรานูล (large granular cell) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดใหญ่ที่สุด มีรูปร่างเป็นรูปไข่ นิวเคลียสอยู่บริเวณขอบ ภายใน cytoplasm มี granule ขนาดใหญ่และมี cytoplasmic granules ติดสีแดงอยู่ในปริมาณมาก ขนาดของ granule มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 - 1.0 ไมครอน จึงสังเกตเห็นได้ชัดเจน ลักษณะการยึดของเท้าเทียมหรือส่วนยื่นของเซลล์ (cell process) ชนิดนี้เห็นได้ชัดเจน ขนาดของเซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 - 10 ไมครอน ความยาว 12.2 - 14.6 ไมครอน และความกว้าง 7.2 - 7.8 ไมครอน



ภาพที่ 1 เซลล์เม็ดเลือดของกุ้งกุลาดำ H = hyaline cell , S = semigranular haemocyte , L = large granular haemocyte เมื่อย้อมด้วย Giemsa's stained  
ที่มา : กิจการและคณะ (2543)

เซลล์เม็ดเลือดทั้ง 3 ชนิดทำหน้าที่แตกต่างกันในการเกิดการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอม โดยเซลล์เม็ดเลือดต้องอาศัยระบบภูมิคุ้มกันที่มีการตอบสนองโดยสารที่หลั่งออกมาจากเซลล์เม็ด

เลือด หรือสารที่มีอยู่ในน้ำเลือด เพื่อช่วยในการจดจำและจับกันได้ของผิวเซลล์เม็ดเลือดกับ โมเลกุลของสิ่งแปลกปลอม หรือจุลินทรีย์ที่เข้ามาสู่ร่างกาย (non-self recognition) (ชัยชาญ, 2545) เช่น ระบบโปรพีนอลออกซิเดส (prophenoloxidase system) นอกจากนี้ยังสามารถกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาบุกรุกโดยกระบวนการกลืนทำลาย (phagocytosis) หรือกรณีที่สิ่งแปลกปลอมนั้นมีขนาดใหญ่และมีจำนวนมากเกินกว่าที่เซลล์เม็ดเลือดจะจับกินได้ เซลล์เม็ดเลือดหลาย ๆ เซลล์นั้น จะรวมตัวกันล้อมรอบสิ่งแปลกปลอมนั้นไว้ เกิดกระบวนการที่เรียกว่า encapsulation หรือเกิดการ สร้าง nodule formation เพื่อควบคุมไม่ให้สิ่งแปลกปลอมกระจายไปในกระแสเลือด นอกจากนี้ ยังมีกลไกป้องกันการสูญเสียเลือดจากบาดแผลที่เรียกว่า clotting system อีกด้วย

## 7. หน้าที่ของเซลล์เม็ดเลือด

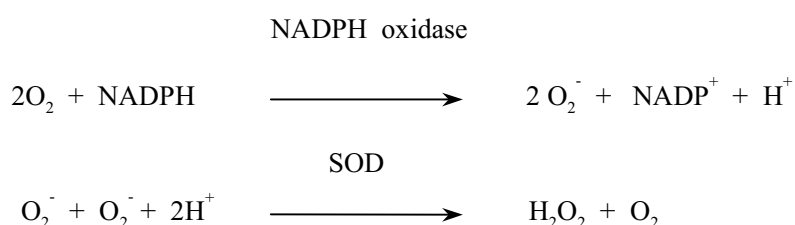
### 7.1 การแข็งตัวของเลือด (clotting reaction)

เป็นกระบวนการแรกที่เกิดขึ้นเมื่อเกิดบาดแผล เพื่อป้องกันการสูญเสียเลือดและป้องกันการบุกรุกของเชื้อโรคผ่านบาดแผล เป็นปฏิกิริยาการตกตะกอนหรือการจับกลุ่มของเม็ดเลือด และโปรตีนในเลือดเกิดการแข็งตัวตรงบริเวณบาดแผล (ระบิล, 2545) การแข็งตัวของเลือดของ สัตว์กลุ่มครัสเตเชียนเป็นการทำงานของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (transglutaminase, TGase) ที่ หลั่งออกมาจากเซลล์เม็ดเลือดมากระตุ้นให้โปรตีน (clotting protein) เกิดกระบวนการโพลีเมอร์-ไรเซชัน (polymerisation) ได้ลักษณะเป็นเจลปิดบาดแผลไว้ ซึ่งกระบวนการแข็งตัวของเลือดนี้ ต้องอาศัยแคลเซียมเป็นโคเอนไซม์ นอกจากนี้ยังพบอีกว่ากระบวนการแข็งตัวของเลือดนี้จะเกิดขึ้น พร้อมกระบวนการสร้างเม็ดสีดำ (melanisation) ที่เกิดขึ้นในระบบโปรพีนอลออกซิเดส (Ratcliffe *et al.*, 1985 ; Johansson and Soderhall, 1989 ; Sritunyalucksana and Soderhall, 2000 ; ชัยชาญ, 2545)

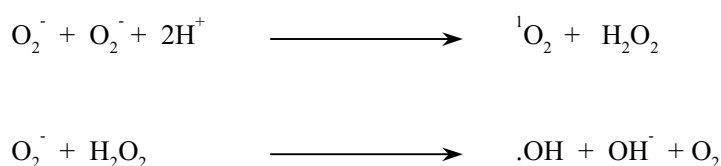
### 7.2 กระบวนการกลืนทำลายหรือฟาโกไซโตซิส (phagocytic activity)

กระบวนการกลืนทำลายเป็นกลไกพื้นฐานที่สำคัญในการทำลายหรือกำจัดสิ่งแปลกปลอมทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตที่รุกรานเข้าไปภายในร่างกาย ขั้นตอนในการกลืนกินทำลายจะมี ลักษณะเช่นเดียวกับสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง (ชัยชาญ, 2545) โดยกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม เป็นกระบวนการที่ไม่จำเพาะเจาะจง เริ่มจากการยึดกันระหว่างสิ่งแปลกปลอมกับผิวของ

เซลล์ หลังจากนั้นผิวของเซลล์จะเว้าเข้าไปเกิดเป็นฟาโกโซม (phagosome) ซึ่งจะสัมผัสกับไลโซโซม (lysosome) ที่อยู่ในเซลล์ ซึ่งภายในไลโซโซมบรรจุเอนไซม์หลายชนิดที่เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายเรียกว่า acid hydrolases ที่สามารถจะไปลดขนาดของโมเลกุลสิ่งแปลกปลอมทั้งหลายให้เหลือเป็นหน่วยย่อย ๆ (วัชรียา, 2547) ซึ่งการที่สิ่งแปลกปลอมเกาะบนเซลล์เมมเบรนของเซลล์เม็ดเลือด และมีการยื่นไซโทพลาสซึมล้อมรอบสิ่งแปลกปลอม นำไปสู่การเพิ่มการนำออกซิเจนเข้าสู่เซลล์ (respiratory burst) ซึ่งออกซิเจนเหล่านี้จะถูกรีดิวซ์เป็นซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion ;  $O_2^-$ ) ด้วย NADPH oxidase ต่อจากนั้น  $O_2^-$  จะถูกเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide ;  $H_2O_2$ ) โดยการเร่งปฏิกิริยาด้วยซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase ; SOD) (Klein, 1982 ; สมบัติ, 2542) ดังสมการต่อไปนี้



$O_2^-$  อาจถูกเปลี่ยนเป็น  $H_2O_2$  ได้อีกทางหนึ่งโดยการเกิดเองตามธรรมชาติไม่ต้องอาศัยเอนไซม์และได้ singlet oxygen ;  $^1O_2$ ) เป็นผลผลิตร่วมกับ  $H_2O_2$  นอกจากนี้  $O_2^-$  ยังทำปฏิกิริยาร่วมกับ  $H_2O_2$  เกิดเป็น hydroxyl radical ;  $OH$ ) (Klein, 1982 ; สมบัติ, 2542) ดังสมการต่อไปนี้



จากปฏิกิริยาข้างต้น  $O_2^-$  ,  $H_2O_2$  ,  $^1O_2$  และ  $\cdot OH$  มีบทบาทสำคัญในการทำลายสิ่งแปลกปลอมที่ถูกนำเข้าสู่เซลล์โดยวิธีการกลืนทำลาย (Bachere *et. al.*, 1995 ; สมบัติ, 2542) แต่เนื่องจาก  $^1O_2$  และ  $\cdot OH$  ไม่เสถียร ทำให้  $O_2^-$  และ  $H_2O_2$  มีบทบาทมากที่สุดในการทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยกระบวนการกลืนทำลาย ซึ่งมีผู้รายงานไว้ในกึ่งกลางดำ (Song and Hsieh, 1994 ; Sung and Song, 1996 ; สมบัติ, 2542)

### 7.3 การห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอม (nodule formation and encapsulation)

กรณีที่มีสิ่งแปลกปลอมบุกรุกเข้ามาเป็นจำนวนมากเกินกว่าความสามารถที่กระบวนการกลืนทำลายจะกำจัดได้ การสร้าง nodule เป็นกลุ่มก้อนเซลล์รอบๆ สิ่งแปลกปลอมจะเกิดขึ้นเพื่อไม่ให้สิ่งแปลกปลอมกระจายทั่วร่างกาย และมักพบการสร้าง nodule บริเวณเหงือก และตับ (hepatopancreas) พร้อมกับการสร้างเม็ดสีดำ (melanin) ในระบบโปรฟีโนลออกซิเดส (Johansson and Soderhall, 1989) ส่วนการห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอมจะเกิดขึ้นเมื่อสิ่งแปลกปลอมมีขนาดใหญ่มากกว่า 10 ไมโครเมตร (Lackie, 1980) สิ่งแปลกปลอมมีขนาดใหญ่ เช่น พยาธิ เชื้อรา และสัตว์เซลล์เดียวขนาดใหญ่ จนเซลล์เม็ดเลือดเดียวไม่สามารถกลืนทำลายได้ ต้องอาศัยเซลล์เม็ดเลือดเป็นจำนวนมากมาล้อมห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอมไว้ เซลล์เม็ดเลือดที่ทำหน้าที่ในการห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอมได้แก่ semigranular haemocyte และ large granular haemocyte นอกจากนี้กลไกการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่ถูกห่อหุ้มจะอาศัยองค์ประกอบในระบบโปรฟีโนลออกซิเดส พร้อมกับการเกิดเม็ดสีดำ (Ratcliffe *et al.*, 1985)

## 8. ระบบภูมิคุ้มกันแบบที่มีการตอบสนองโดยสารถ้ำ

### 8.1 Prophenoloxidase activating system

สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังโดยทั่วไปจะมีกลไกการป้องกันตัวและทำลายสิ่งแปลกปลอม โดยกระบวนการ melanization โดยกลุ่ม arthropods การสังเคราะห์ melanin จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการ sclerotization และ wound healing (สมานแผล) ที่บริเวณเปลือก เช่นเดียวกับกลไกการป้องกันตัวเอง (nodule formation และ encapsulation) เพื่อต่อต้านกับสิ่งแปลกปลอมพวกเชื้อจุลินทรีย์ที่จะเข้ามาใน hemocoel โดยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการเกิด melanin formation คือ phenoloxidase (PO ; monophenol , L-dopa : oxygen oxidoreductase) ซึ่งพบเอนไซม์นี้ในน้ำเลือด (hemolymph) หรือ ช่องว่างของ protostomes และ neuteostomes ซึ่งอยู่บริเวณ cuticle ของ arthropods ทั้งนี้ phenoloxidase เป็นเอนไซม์ที่มี Cu เป็นองค์ประกอบโดยมีหน้าที่ 2 ประการ คือ กระตุ้นปฏิกิริยา catalyses o-hydroxylation ของ monophenols และปฏิกิริยา oxidation phenols ไปเป็น quinones ดังนั้น PO สามารถเปลี่ยนแปลง tyrosine ไปเป็น DOPA และ DOPA ไปเป็น DOPA-quinone ซึ่งมีหลายขั้นตอนในการสังเคราะห์ melanin (จุดสีดำ) PO เป็นเอนไซม์ตัวสุดท้ายที่เรียกกันว่า prophenoloxidase (proPO) เป็นการตอบสนองแบบไม่จำเพาะ

จะเจพบในกลุ่มของ arthropods และ invertebrates อื่น ๆ (Sritunyalucksana and Soderhall, 2000) ซึ่งการเปลี่ยนจาก proPO เปลี่ยนเป็น PO โดยอาศัยเอนไซม์ในกลุ่ม serine protease ที่เรียกว่า proPO activating system (PPAE) ที่ถูกหลั่งออกมาพร้อมกับ proPO เมื่อเซลล์เม็ดเลือดเกิดการ degranulation ซึ่ง PPAE นี้จะทำงานได้ต้องอาศัย  $Ca^{2+}$  (Gollas *et al.*, 1997) โดย PO ที่ได้จะไปทำปฏิกิริยา hydroxylation ของ phenol และเกิด oxidation ของ o-phenols ได้เป็น quinones ต่อจากนั้นก็ จะเกิด polymerization ของ quinones ได้เป็น melanin มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ นอกจากนี้ในกระบวนการเกิด melanization ยังมีสารประเภท reactive oxygen เกิดขึ้นด้วย เช่น superoxide anion และ hydroxyl radical ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์จุลินทรีย์ (Soderhall, 1992)

ทั้งนี้ระบบโปรฟีโนลออกซิเดสประกอบด้วยเอนไซม์ที่สำคัญ คือ ฟีนอลออกซิเดส (PO) จะอยู่ในรูปของ pro-enzyme ที่เรียกว่า prophenoloxidase (proPO) และเอนไซม์ในกลุ่ม serine protease โดยจะทำงานร่วมกันอย่างเป็นระบบ (enzyme cascade) เรียกว่า prophenoloxidase system (Soderhall and Smith., 1992 ; ชัยชาญ, 2545) โดยจะเป็นระบบที่ชักนำให้เกิดกระบวนการ melanization มีผลทำให้บริเวณบาดแผลมีจุดสีดำของเมลานิน (melanin) เกิดขึ้นที่เปลือก (cuticle)

**8.2 สารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (bactericidin)** เป็นสารต้านแบคทีเรียสามารถถูกชักนำให้สูงขึ้นเมื่อได้รับสารกระตุ้น ไม่ทนความร้อน และมีความจำเพาะต่อเชื้อบางชนิด ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสามารถพบได้ทั้งส่วนพลาสมา ซีรัม และในสารละลาย HLS (haemocyte lysate supernatant) (ชัยชาญ, 2545)

**8.3 แอคกลูตินิน (agglutinin)** พบในน้ำเลือดของครัสเตเชียน แอคกลูตินินเป็นสารก่อให้เกิดการจับตัวของสิ่งแปลกปลอม และ agglutinin บางชนิดยังมีหน้าที่เป็น opsonin กระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโตซิสในการป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์ และเลคติน (Lectin) เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่สามารถจับได้อย่างจำเพาะกับสารจำพวกคาร์โบไฮเดรต จัดเป็นแอคกลูตินินชนิดหนึ่ง มีส่วนเกี่ยวข้องกับการจับกันได้ระหว่างเซลล์เม็ดเลือดของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังกับผิวของสิ่งแปลกปลอมมีคุณสมบัติเป็น opsonin (Vargas and Albores, 1995)

**8.4 สารคล้ายไซโตไคน์ (cytokine-like factors)** ไซโตไคน์เป็นโปรตีนที่ไม่ใช่แอนติบอดี มีหน้าที่ช่วยรักษาความสมดุลของเลือดในระบบภูมิคุ้มกัน และช่วยในการประสานงานระหว่าง

ระบบภูมิคุ้มกันกับระบบอื่น ๆ ในร่างกาย สารที่แสดงสมบัติคล้าย ไซโตไคน์ในกึ่งได้แก่ โปรตีนขนาด 76 kDa ซึ่งมีหน้าที่ช่วยกระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโตซิส ช่วยในการยึดติด ระหว่างเซลล์เม็ดเลือดกับสิ่งแปลกปลอมขณะเกิดการห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอม (Smith and Chisholm, 1992) และส่งเสริมการทำงานของระบบโปรตีนออกซิเดส โดยช่วยให้เซลล์เม็ดเลือดชนิด semigranular และ granular เกิด degranulation มากขึ้น ทำให้เอนไซม์ในระบบ โปรตีนออกซิเดสถูกปล่อยออกมามากขึ้น (Johansson and Soderhall, 1989)

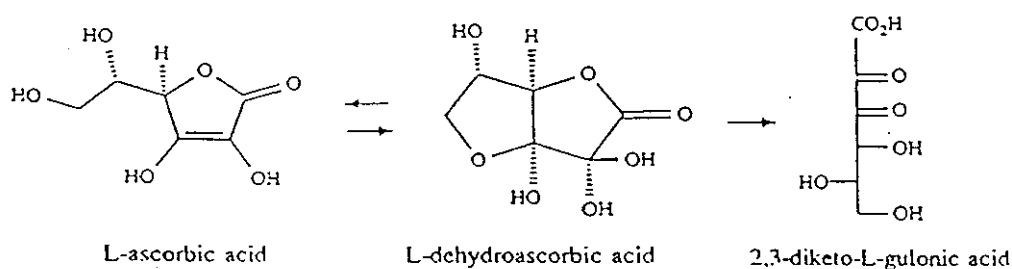
**8.5 โมดูเลเตอร์ (modulators)** ตัวควบคุมระบบภูมิคุ้มกันให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมใน ครัสเตเชียน ได้แก่ ตัวยับยั้งเอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteinase inhibitor) และอัลฟาแมกโครโกลบูลิน ( $\alpha$ -macroglobulin) มีหน้าที่ยับยั้ง serine protease ในระบบโปรตีนออกซิเดสให้อยู่ในระดับที่สมดุล (Smith and Chisholm, 1992 ; ชัยชาญ, 2545)

**8.6 สารที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด คือ โคแอกกูโลเจน (coagulogen)** เป็น โปรตีนในพลาสมาที่มีบทบาทในการป้องกันการสูญเสียเลือดในกรณีที่ร่างกายเกิดบาดแผล และเมื่อ โปรตีนในเลือดแข็งตัว มีผลทำให้ปิดบาดแผลเพื่อป้องกันเชื้อโรคจากภายนอกเข้าสู่ร่างกาย และมีห่อหุ้มประกอบของเลือดไม่ว่าจะเป็นน้ำเลือด โปรตีน หรือเซลล์เม็ดเลือดต้องสูญเสียไป ซึ่ง (coagulogen) เทียบได้เท่ากับ fibrinogen ในเลือดของสัตว์ชั้นสูง ทั้งนี้สามารถพบ (coagulogen) ได้ใน vesicle ของ cytoplasm ในเม็ดเลือดกุ้ง (ระบิล, 2545)

**8.7 Pattern Recognition Proteins (PRPs)** เนื่องจากว่าสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนไม่มีการสร้างแอนติบอดี (Immunoglobulin) ซึ่งเป็นการจดจำแบบเจาะจงที่พบในสัตว์ชั้นสูง ดังนั้นจึง มีการผลิตสารบางอย่างเพื่อช่วยในการจดจำและจับกันได้ดีกับสิ่งแปลกปลอมหรือจุลินทรีย์ ซึ่งสาร ที่ว่านี้เรียกว่า Pattern Recognition Proteins (PRPs) ซึ่ง PRPs มีชื่อเรียกต่าง ๆ กันตามความสามารถในการจับกับโมเลกุลนั้น ถ้าสามารถจับกับเบต้า-กลูแคน ( $\beta$ -1,3-glucan) ได้เราก็มักเรียกว่า  $\beta$ -1,3-glucan binding protein และถ้าสามารถจับกับไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharide, LPS) ได้เราก็มักเรียกว่า Lipopolysaccharide binding protein (ชัยชาญ, 2545)

## 9. วิตามินซี

วิตามินซีถูกตั้งชื่อเป็นครั้งแรกโดย Drummond ในปี ค.ศ. 1920 แต่ชื่อแอสคอร์บิกแอซิด (ascorbic acid) ได้ถูกเริ่มใช้เมื่อ ค.ศ. 1933 โดย Szent-Gyorgy and Haworth วิตามินซีเป็นสารอาหารประกอบที่พืชส่วนใหญ่สามารถสังเคราะห์ได้เอง วิตามินซีเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุล  $C_6H_8O_6$  น้ำหนักโมเลกุล 176.3 Dalton จุดหลอมเหลว 192 องศาเซลเซียส เมื่อละลายน้ำหรือถูกออกซิไดซ์ (Oxidize) จะสูญเสียไฮโดรเจนอะตอม 2 อะตอม เปลี่ยนรูปเป็น Dehydroascorbic acid ซึ่งเป็นรูปที่ไม่คงตัว สามารถถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็น Diketogulonic acid ซึ่งสัณฐานไม่สามารถนำไปใช้ได้หรืออาจจะถูกรีดิคซ์ (Reduced) กลับไปเป็น Ascorbic acid อีกครั้ง (ภาพที่ 2) (Moser and Bendich, 1991)



ภาพที่ 2 แสดงการถูกออกซิไดซ์ของ Ascorbic acid ไปเป็น Dehydroascorbic acid และ Diketogulonic acid

วิตามินซีเป็นผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น มีรสเปรี้ยว เมื่ออยู่ในสภาพแห้งมีความคงทนพอสมควร ถ้าถูกน้ำแล้วจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีดำ ละลายในน้ำและแอลกอฮอล์ แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ เช่น ไขมัน, ether, chloroform, benzene และ petroleum ether มีความคงตัวในสารละลายที่เป็นกรด แต่ไม่คงตัวในสารละลายที่เป็นด่าง และความร้อน เนื่องจากวิตามินซีมีสูตรโครงสร้างง่าย ๆ จึงเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ไม่ยากโดยจะถูกออกซิไดซ์จากสภาวะแวดล้อมหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ และออกซิเจน ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) อีออนของเหล็ก ทองแดง หรือโลหะหนักต่างๆ (Moser and Bendich, 1991 ; วีรพงศ์, 2536)

L-Ascorbic acid ( $C_1$ ) อยู่ในรูปที่ไม่เสถียร เนื่องจากวิตามินซีจะสูญเสียไปในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา ซึ่งต้องผ่านอุณหภูมิสูง ออกซิเจน และ แสง (Hilton *et al.*, 1977 ; Lovell and Lim, 1978 ; Soliman *et al.*, 1987) นอกจากนี้ Shiau and Hsu (1993) พบว่าประมาณ 75% ของวิตามินซีที่ผสมลงในอาหารจะสูญเสียไปในระหว่างกระบวนการผลิต ดังนั้นจึงพยายามเพิ่มความเสถียรให้กับวิตามินซีในอาหารกึ่งโดยใช้ Ascorbic acid ในรูปอื่น ๆ โดยมีการพัฒนารูปแบบของวิตามินซีเป็นวิตามินซีอนุพันธ์ (vitamin C derivative) โดยการนำสารหรือแร่ธาตุบางชนิดที่เหมาะสมมาทำปฏิกิริยากับคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 (C-2) ของ lactone ring ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ไม่เสถียรเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ตลอดเวลา ทำให้อนุพันธ์ของ L-Ascorbic acid ในรูป sulfate และ phosphate มีความทนทานต่อการถูก oxidation ได้สูง (Tolbert *et al.*, 1975) ทำให้โครงสร้างของวิตามินซีมีความเสถียรมากขึ้นและเหมาะสมในกระบวนการผลิตอาหารสัตว์น้ำ เช่น L-ascorbyl-2-polyphosphate ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินซีฟอร์มหนึ่งที่ยืดอายุเพราะ phosphate group จะแทนที่หมู่ hydroxyl ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 โดยกระบวนการ esterification ทำให้ไม่ถูกออกซิไดส์ได้ง่ายเช่นเดียวกับอนุพันธ์ชนิดอื่น ถึงอย่างไรก็ตามการที่จะใช้วิตามินซีในรูปอนุพันธ์ใด ก็ควรจะพิจารณาถึงความสามารถในการย่อย การดูดซึม การนำไปใช้ประโยชน์ได้ของสัตว์น้ำ โดยการประเมินจากการ hydrolyze หมู่ซัลเฟตและฟอสเฟตด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวสัตว์ ได้แก่ เอนไซม์ sulfatase และ phosphatase แล้วปลดปล่อย ascorbic acid ออกมา (Hilton *et al.*, 1978 ; Dabrowski *et al.*, 1988)

Lehninger (1982) รายงานว่า วิตามินซีในอาหารถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดทางลำไส้เล็ก หลังจากเข้าสู่ทางเดินอาหารเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง ระดับวิตามินซีในเลือดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และคงอยู่ชั่วขณะหนึ่ง จากนั้นวิตามินซีจะเข้าสู่เนื้อเยื่อและส่วนที่เกินความต้องการจะถูกกำจัดออกทางไตอย่างรวดเร็ว หรือเปลี่ยนรูปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และถูกกำจัดออกโดยปอดจากการหายใจ

## 10. วิตามินซีในอาหารสัตว์น้ำ

สัตว์น้ำส่วนใหญ่ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินซีได้เอง ต้องอาศัยการกินเข้าไปเป็นหลัก เนื่องจากสัตว์น้ำเหล่านี้ไม่มีเอนไซม์ L - gulonolactone oxidase (GLO) ที่ใช้ในการเปลี่ยน L - gulonolactone (อนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ในอาหาร) ให้เป็น 2-keto-L-gulonate ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็น L-ascorbic acid โดยขบวนการ Spontaneous isomerization (Yamamoto *et al.*,

1978) ดังนั้นปลาบางชนิดและสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังโดยเฉพาะกุ้ง จึงจำเป็นที่จะต้องได้รับวิตามินซีจากอาหารที่บริโภคเข้าไป นอกจากนี้การที่อาหารของสัตว์น้ำจะต้องสัมผัสกับน้ำตลอดเวลาที่สัตว์น้ำกินอาหารและอุปนิสัยการกินอาหารของสัตว์น้ำ เช่น กุ้ง ที่เป็นแบบแทะเล็มซึ่งใช้เวลาในการกินอาหารนานกว่าปลา จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้วิตามินซี (L-ascorbic acid) ที่มีอยู่ในอาหารมีโอกาสสูญหายมากขึ้น ซึ่งจะมีผลทำให้สัตว์น้ำได้รับวิตามินซีไม่เพียงพอต่อความต้องการและอาจทำให้เกิดโรคร้อนได้

ดังนั้นความต้องการวิตามินซีที่มีความคงสภาพจึงเป็นสิ่งสำคัญต่อธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นผลทำให้มีการพัฒนาการผลิตวิตามินซีรูปแบบต่าง ๆ เพื่อใช้ในด้านอาหารสัตว์น้ำมากขึ้น เช่น วิตามินซีเคลือบ (coated vitamin C) ซึ่งจะมีการเคลือบด้วย ethyl cellulose , silicone , gelatin , glyceride และไขมันเป็นต้น (Akiyama *et al.*, 1991) โดยระดับของวิตามินซีที่สัตว์น้ำต้องการขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิด สายพันธุ์ อายุ สุขภาพ ที่อยู่อาศัย (ลักษณะของบ่อ ความหนาแน่น คุณลักษณะของดินและน้ำ) ปัจจัยด้านสารอาหาร (คุณภาพและคุณลักษณะของอาหาร ปริมาณ ชนิด และวิธีการให้อาหาร) และปัจจัยเสริมอื่น ๆ (มลภาวะ ความเครียด และการใช้ยาปฏิชีวนะ)

## 11. บทบาทของวิตามินซี

11.1 วิตามินซีเป็นตัวรีดิวส์ที่ดีจึงมีหน้าที่หลัก คือ ทำหน้าที่เป็น **biological reducing agent** ในระบบของเอนไซม์ สำหรับ hydroxylation คือ ปฏิกริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซี เช่น ปฏิกริยา hydroxylation ของกรดอะมิโน (amino acid) ได้แก่ tryptophan , tyrosine , lysine และ proline เป็นต้น ซึ่งขบวนการ hydroxylation ของ lysine และ proline เป็นขั้นตอนสำคัญที่จะสร้าง hydroxylysine และ hydroxyproline ซึ่งจะนำไปสังเคราะห์ Collagen ซึ่งเป็นโปรตีนในกระดูก กระดูกอ่อน และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Stryer, 1988)

11.2 วิตามินซีสามารถทำหน้าที่เป็น **antioxidant** ป้องกันการหืนจากการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (superoxide anion) และไฮดรอกซิล เรดิคัล (hydroxyl radical) (Moser and Bendich, 1991) โดยทำหน้าที่ทำลายอนุมูลอิสระให้หมดไปได้ โดยวิตามินซีจะให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (Padh, 1990)

**11.3 วิตามินซีมีส่วนช่วยในการดูดซึมธาตุเหล็กเข้าสู่ร่างกาย** โดยรีดิวส์เหล็กในรูปเฟอริก (ferric :  $\text{Fe}^{+3}$ ) ให้อยู่ในรูปเฟอรัส (ferrous :  $\text{Fe}^{+2}$ ) (Combs, 1992) ซึ่งเป็นรูปที่สามารถดูดซึมเข้าสู่ลำไส้ได้ง่าย (Moser and Bendich, 1991)

**11.4 ทำหน้าที่ในกระบวนการสลายสารพิษ (detoxification)** วิตามินซีทำหน้าที่เป็นตัวป้องกันการออกซิไดซ์ (protection antioxidant) จากอนุมูลอิสระภายนอกเซลล์ (Friedrich, 1988 ; Combs, 1992) นอกจากนี้วิตามินซีจะยังมีบทบาทต่อระบบภูมิคุ้มกันด้วย

## **12. บทบาทของวิตามินซีต่อระบบภูมิคุ้มกัน**

ปฏิกิริยาทางชีวเคมีของวิตามินซีหลายปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### **12.1 การตอบสนองแบบไม่จำเพาะ (Non-specific immune responses)**

วิตามินซีเกี่ยวข้องกับ immune cell ในการปลดปล่อยสารต่าง ๆ เช่น ตัวอย่างในสัตว์ที่ได้กินอาหารที่มีการเสริมวิตามินซีจะส่งผลให้การผลิต interferon และการหมุนเวียนของ interferon เพิ่มขึ้น รวมทั้งวิตามินซียังช่วยในการสังเคราะห์ส่วนประกอบของ Complement คือ C1q ซึ่งทั้ง interferon และ Complement จะปลดปล่อยสารที่เป็นส่วนสำคัญในการป้องกันจากเชื้อโรคที่ก่อให้เกิดความผิดปกติของร่างกาย (Moser and Bendich, 1991)

neutrophils เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีบทบาทสำคัญในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย โดยวิตามินซีมีผลทำให้การทำงานของ neutrophils มีประสิทธิภาพมากขึ้น คือ neutrophils และเนื้อเยื่อรอบ ๆ เกิดปฏิกิริยา chemotaxis และการป้องกันจาก extracellular free-radical oxidative และยังสามารถทำลายแบคทีเรียที่อยู่ภายในเซลล์ได้

### **12.2 การตอบสนองแบบจำเพาะ (Specific immune responses)**

จากการศึกษาในหนูตะเภาที่ขาดวิตามินซีพบว่าส่งผลให้การตอบสนองทางด้านเซลล์ (cell-mediated immune responses) ลดลง รวมทั้ง hypersensitivity , cytotoxicity , inflammatory และ autoimmune responses เกิดปฏิกิริยาได้ช้า การเสริมวิตามินซีจะส่งผลให้จำนวน lymphocyte เพิ่มขึ้น (Moser and Bendich, 1991)

จากข้างต้นสรุปได้ว่าวิตามินซีเป็นธาตุอาหารที่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันแตกต่างกัน โดยมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบต่างๆ ทางภูมิคุ้มกันคือ วิตามินซีสามารถกระตุ้นการผลิต interferon ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่สามารถป้องกันเซลล์จากเชื้อไวรัสที่จะเข้าทำลายแล้ว ยังสามารถกระตุ้นการปลดปล่อยสารเคมีและเพิ่มจำนวนของ neutrophils และต่อต้านต่ออนุมูลอิสระในกระบวนการ oxidative burst ของ neutrophils นอกจากนี้วิตามินซียังกระตุ้นการสังเคราะห์สารน้ำจากต่อมไทมัสและ antibody classes IgG และ IgM (Combs, 1992)



