

ผลการทดลอง

การศึกษาการผสมวิตามินซีในรูป Na,Ca-ascorbyl-2-monophosphate ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน 3 ระดับได้แก่ 1, 3 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมและกลุ่มควบคุมเพื่อศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันที่ศึกษา ได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดรวม, กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส, กิจกรรมของเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis และกิจกรรมในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง โดยทำการทดลองกับกุ้งกุลาดำน้ำหนักเฉลี่ย 10 ± 2.1 กรัม โดยให้อาหารวันละ 4 มื้อ เลี้ยงติดต่อกันเป็นระยะเวลา 14 วัน ได้ผลการทดลองดังนี้

1. การศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของวิตามินซีที่ใช้ผสมอาหารเพื่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ

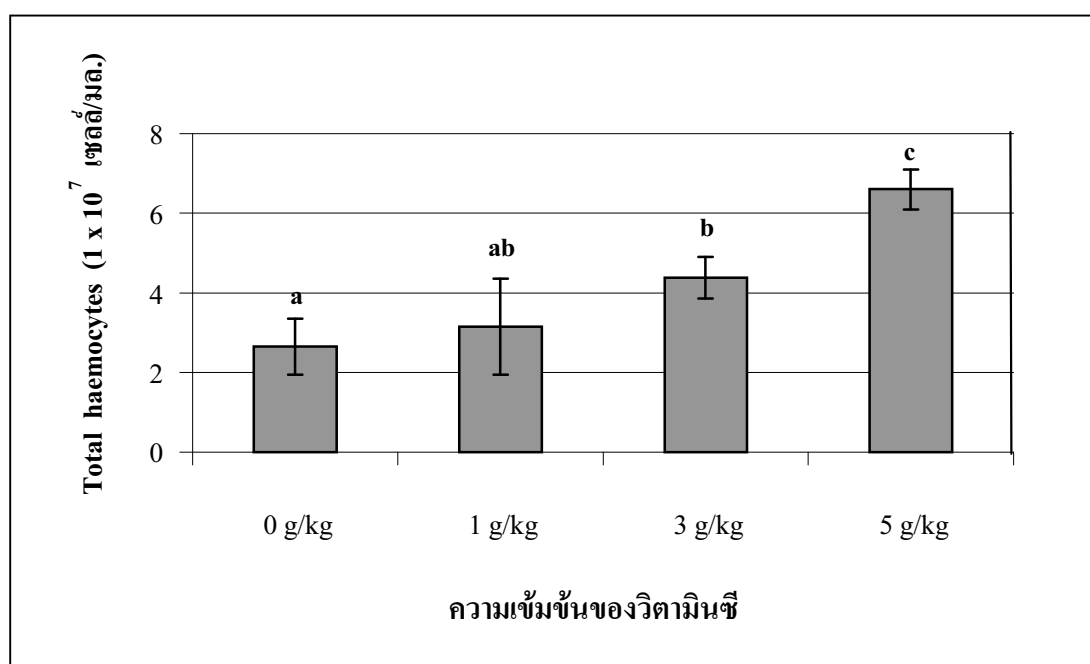
1.1 ปริมาณเม็ดเลือดรวม (Total Haemocytes Count)

จากการทดลองพบว่าปริมาณเม็ดเลือดรวมเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าสูงสุดคือ $6.60 \pm 0.507 \times 10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร และปริมาณเม็ดเลือดรวมเฉลี่ยจะลดลงตามระดับความเข้มข้นที่น้อยลงซึ่งมีค่าเท่ากับ $4.38 \pm 0.524 \times 10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร และ $3.15 \pm 1.205 \times 10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร ของกุ้งที่ได้รับวิตามินซี 3 และ 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 และ 5 กรัม/กิโลกรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกลุ่มควบคุม ซึ่งมีปริมาณเม็ดเลือดเฉลี่ย $2.65 \pm 0.704 \times 10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร และกุ้งกุลาดำที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัม/กิโลกรัม เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับกลุ่มควบคุมและกุ้งกุลาดำที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/กิโลกรัม ดังที่แสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 3

ตารางที่ 2 ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกิ้งกูดดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน

ระดับความเข้มข้นของวิตามินซี (กรัม/กิโลกรัม)	Total Haemocytes Count (1×10^7 เซลล์/มล.)
0	2.65 ± 0.704^a
1	3.15 ± 1.205^{ab}
3	4.38 ± 0.524^b
5	6.60 ± 0.507^c

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 3 ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกิ้งกูดดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน

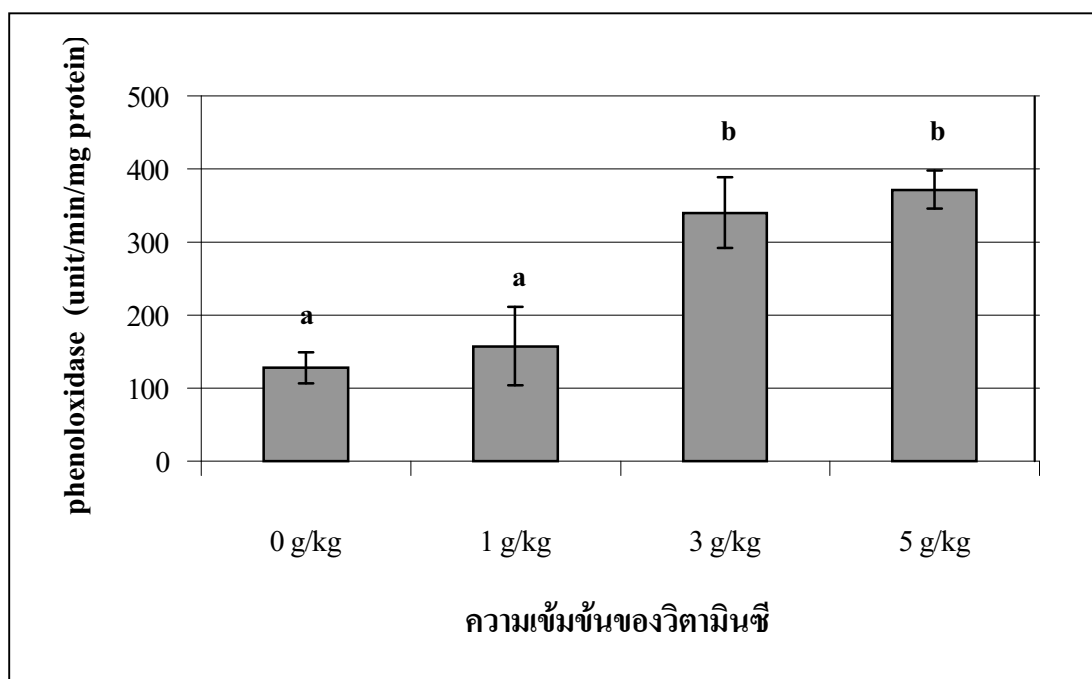
1.2 กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (Phenoloxidase Activity)

กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสที่วิเคราะห์ได้จากเม็ดเลือดมีค่าแตกต่างกัน โดยพบว่าปริมาณเอนไซม์ดังกล่าวค่อนข้างสูงในกึ่งกลางกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัม/กิโลกรัม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 371.773 ± 26.221 unit/min/mg protein และรองลงมาคือวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/กิโลกรัม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 340.174 ± 48.366 unit/min/mg protein ซึ่งความเข้มข้นของทั้งสองระดับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกึ่งกลุ่มที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมและกลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 157.475 ± 53.684 และ 127.884 ± 21.016 unit/min/mg protein ตามลำดับ ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสที่สูงขึ้นสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของวิตามินซีที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 4

ตารางที่ 3 ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase ในเม็ดเลือดกึ่งกลางกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน

ระดับความเข้มข้นของวิตามินซี (กรัม/กิโลกรัม)	Phenoloxidase (unit/min/mg protein)
0	127.884 ± 21.016^a
1	157.475 ± 53.684^a
3	340.174 ± 48.366^b
5	371.773 ± 26.221^b

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 4 ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase ในเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน

1.3 กิจกรรมในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง (Bactericidal Activity)

การศึกษากิจกรรมในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง โดยใช้เชื้อแบคทีเรียชนิด *Vibrio harveyi* ที่เลี้ยงในอาหาร TSB ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อนำไปวัดค่า OD ได้เท่ากับ 0.10 ซึ่งมีปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ประมาณ 1.60×10^6 CFU/ml โดยพิจารณาว่าที่ระดับเจือจางของซีรัมที่เท่าไรที่สามารถทำให้เชื้อ *Vibrio harveyi* ลดลงหรือจำนวนโคโลนีที่ได้จะต้องน้อยกว่ากลุ่มควบคุม 50 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่า ค่า Bactericidal Activity ของกุ้งในกลุ่มควบคุมและกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัม/กิโลกรัม มีค่าเท่ากันคือ 1:4 ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งกุลาดำที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นคือ 3 และ 5 กรัม/กิโลกรัม ที่มีความสามารถในการกำจัดเชื้อ *Vibrio harveyi* ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ได้สูงขึ้นคือ 1:8 และ 1:16 ตามลำดับ ดังที่แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 กิจกรรมในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง (ค่า Bactericidal Activity) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นระยะเวลา 14 วัน

ระดับความเข้มข้นของวิตามินซี (กรัม/กิโลกรัม)	Bactericidal Activity
0	1 : 4
1	1 : 4
3	1 : 8
5	1 : 16

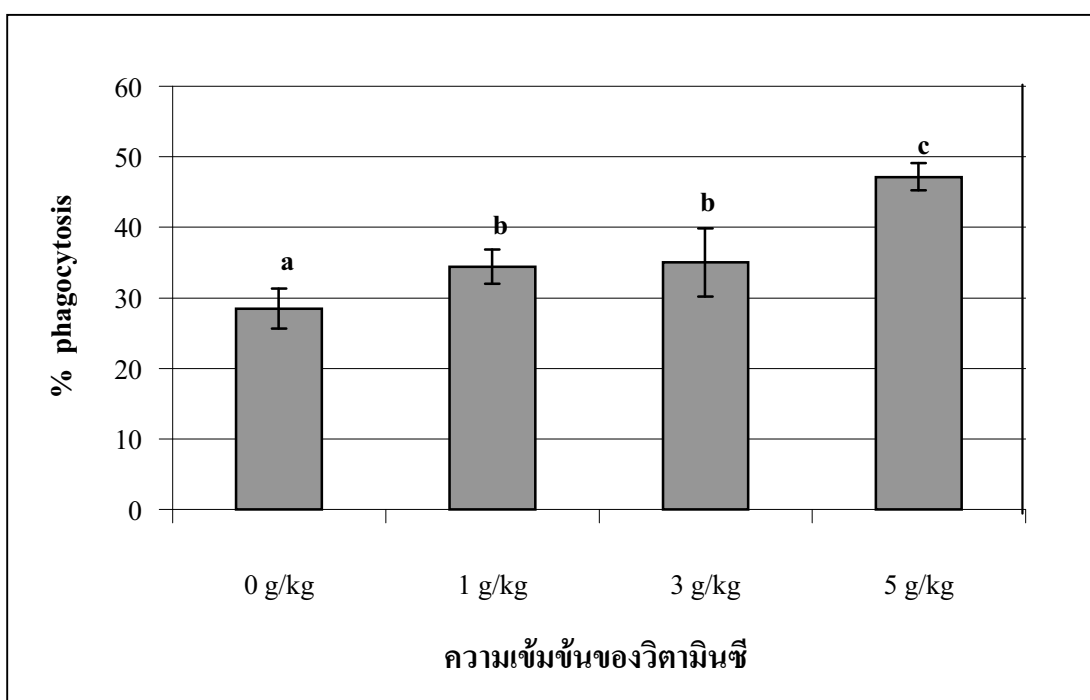
1.4 กิจกรรมของเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis (Phagocytic Activity)

กิจกรรมในการทำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยวิธีฟาโกไซโตซิสจะใช้ค่า เปอร์เซ็นต์ฟาโกไซโตซิสและฟาโกไซติก อินเด็กซ์ (PI) เป็นตัวบ่งชี้ จากผลการทดลองพบว่ากิจกรรมของเซลล์เม็ดเลือดกุ้งกุลาดำในการจับกินเซลล์ยีสต์ในกุ้งกลุ่มที่ได้รับวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัม/กิโลกรัม มีค่าสูงสุดคือ สามารถจับกินสิ่งแปลกปลอมได้ถึง $47.16 \pm 1.933\%$ และมีค่าฟาโกไซติก อินเด็กซ์ (PI) เท่ากับ 29.43 ± 4.476 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ ซึ่งเปอร์เซ็นต์ฟาโกไซโตซิสจะมีค่าสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับค่าฟาโกไซติก อินเด็กซ์ (PI) คือ วิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 3 กรัม มีค่าเท่ากับ $34.40 \pm 2.429\%$, 14.25 ± 1.643 และ $35.04 \pm 4.851\%$, 18.11 ± 4.675 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกุ้งในกลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่าเท่ากับ $28.48 \pm 2.866\%$ และ 11.85 ± 1.529 ตามลำดับ ยกเว้นค่าฟาโกไซติก อินเด็กซ์ (PI) ของวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับกลุ่มควบคุม ดังที่แสดง ในตารางที่ 5-6 และภาพที่ 5-6

ตารางที่ 5 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis (% Phagocytosis) ของกิ้งกูดดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน

ระดับความเข้มข้นของวิตามินซี (กรัม/กิโลกรัม)	% Phagocytosis
0	28.48 $\pm$ 2.866 ^a
1	34.40 $\pm$ 2.429 ^b
3	35.04 $\pm$ 4.851 ^b
5	47.16 $\pm$ 1.933 ^c

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่ง มีความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

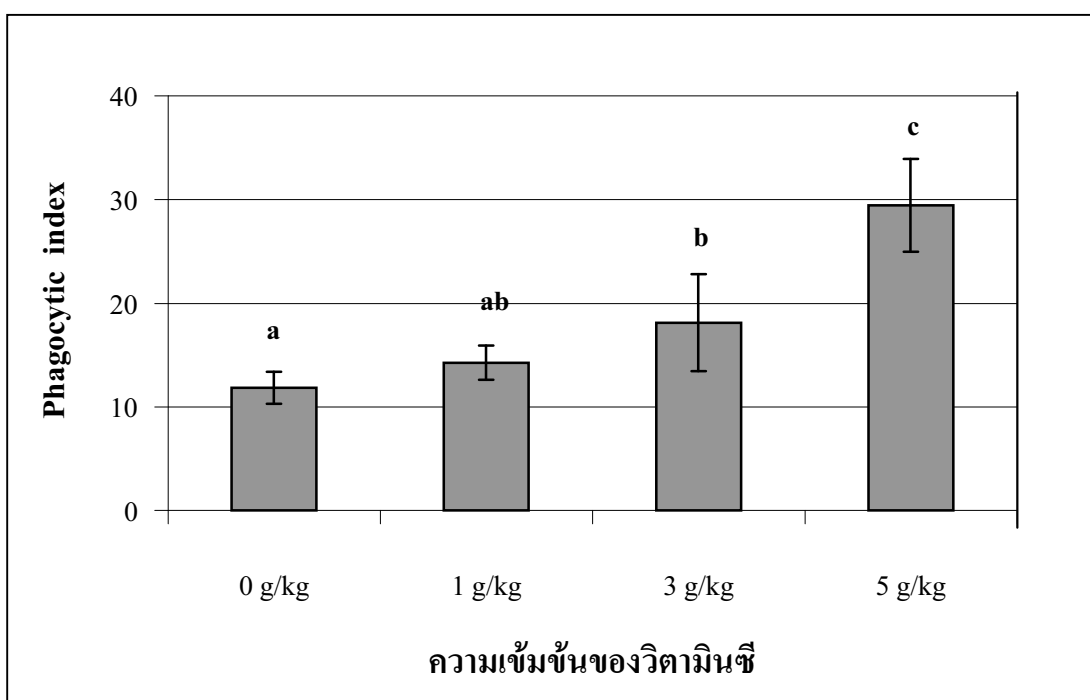


ภาพที่ 5 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis (% Phagocytosis) ของกิ้งกูดดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือด (Phagocytic index) กุ้งกุลาดำ ที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน

ระดับความเข้มข้นของวิตามินซี (กรัม/กิโลกรัม)	Phagocytic index
0	11.85 $\pm$ 1.529 ^a
1	14.25 $\pm$ 1.643 ^{ab}
3	18.11 $\pm$ 4.675 ^b
5	29.43 $\pm$ 4.476 ^c

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่ง มีความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือด (Phagocytic index) กุ้งกุลาดำ ที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน

จากการทดลองการศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของวิตามินซีที่ใช้ผสมอาหารเพื่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกิ้งกูดดำพบว่าระดับความเข้มข้นของวิตามินซีน้อยที่สุดที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้แตกต่างจากกลุ่มควบคุมคือ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม โดยประเมินจากภาพรวมในการทำงานขององค์ประกอบต่างๆ ของภูมิคุ้มกัน ซึ่งจะนำระดับความเข้มข้นดังกล่าวไปศึกษาเพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมของการใช้วิตามินซีในการทดลองที่ 2 ต่อไป

2. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้วิตามินซีต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกิ้งกูดดำ

โดยให้อาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อย่างมีประสิทธิภาพและแตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้วิตามินซี 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ทำการทดลองที่ 2 เพื่อประเมินช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้วิตามินซีภายใน 1 เดือน โดยให้อาหารที่ผสมวิตามินซีในระยะเวลาที่แตกต่างกันคือ 10, 20, 30 วันภายใน 1 เดือนและกลุ่มควบคุม (ไม่ได้ผสมวิตามินซีในอาหาร) ในการเลี้ยงกิ้งกูดดำ 1 เดือน และทำการวัดค่าองค์ประกอบทางภูมิคุ้มกันเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เมื่อครบกำหนดเวลาดังกล่าวจึงหยุดให้วิตามินซีแล้วทำการวัดค่าองค์ประกอบทางภูมิคุ้มกันทุก ๆ 10 วัน จนกระทั่งระบบภูมิคุ้มกันลดลงอย่างชัดเจน ได้ผลการทดลองดังนี้

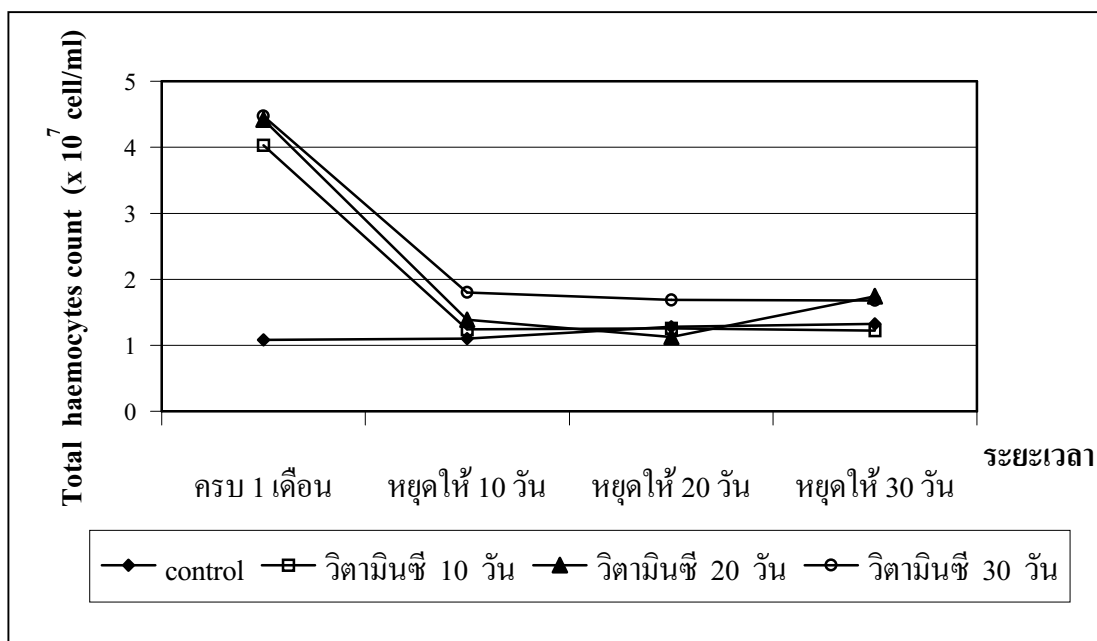
2.1 ปริมาณเม็ดเลือดรวม (Total Haemocytes Count)

เมื่อทำการเลี้ยงกิ้งกูดดำด้วยวิตามินซีครบ 1 เดือน พบว่าปริมาณเม็ดเลือดรวมทั้งหมดของกิ้งกูดที่เลี้ยงด้วยวิตามินซีเป็นเวลา 10, 20 และ 30 วัน/เดือน มีค่าเท่ากับ $4.031 \pm 1.137 \times 10^7$, $4.417 \pm 2.249 \times 10^7$ และ $4.471 \pm 1.700 \times 10^7$ cells/ml ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าในกลุ่มควบคุมคือ $1.080 \pm 0.451 \times 10^7$ cells/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับวิตามินซีทุกช่วงเวลา ($P > 0.05$) เมื่อทำการทดลองต่อเนื่องโดยหยุดให้วิตามินซีและทำการตรวจสอบค่าทางภูมิคุ้มกันทุก ๆ 10 วัน พบว่าหลังจากหยุดให้วิตามินซีเป็นระยะเวลา 10 วัน ปริมาณเม็ดเลือดรวมทั้งหมดในกลุ่มที่ให้วิตามินซีลดลงอย่างเห็นได้ชัดใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่ให้วิตามินซีทุกวันจะมีปริมาณเม็ดเลือดลดลงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นและเมื่อหยุดให้วิตามินซีติดต่อกันเป็นเวลา 20 และ 30 วัน ปริมาณเม็ดเลือดรวมทั้งหมดมีค่าคงที่ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติในแต่ละชุดการทดลองพบว่ามีค่า Total Haemocytes Count ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังที่แสดงในตารางที่ 7 และภาพที่ 7

ตารางที่ 7 ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกิ้งกูด้าที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน

ระยะเวลา ชุดการทดลอง	Total Haemocytes Count (1×10^7 เซลล์/มล.)			
	ครบ 1 เดือน	หยุดให้ 10 วัน	หยุดให้ 20 วัน	หยุดให้ 30 วัน
กลุ่มควบคุม	1.080 ± 0.451^a	1.096 ± 0.781^{ns}	1.279 ± 0.466^{ns}	1.324 ± 0.876^{ns}
วิตามินซี 10 วัน/เดือน	4.031 ± 1.137^b	1.241 ± 0.489^{ns}	1.255 ± 0.108^{ns}	1.221 ± 0.679^{ns}
วิตามินซี 20 วัน/เดือน	4.417 ± 2.249^b	1.392 ± 0.303^{ns}	1.123 ± 0.741^{ns}	1.743 ± 0.386^{ns}
วิตามินซี 30 วัน/เดือน	4.471 ± 1.700^b	1.805 ± 0.666^{ns}	1.690 ± 0.865^{ns}	1.680 ± 0.478^{ns}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$), ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$)



ภาพที่ 7 ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน

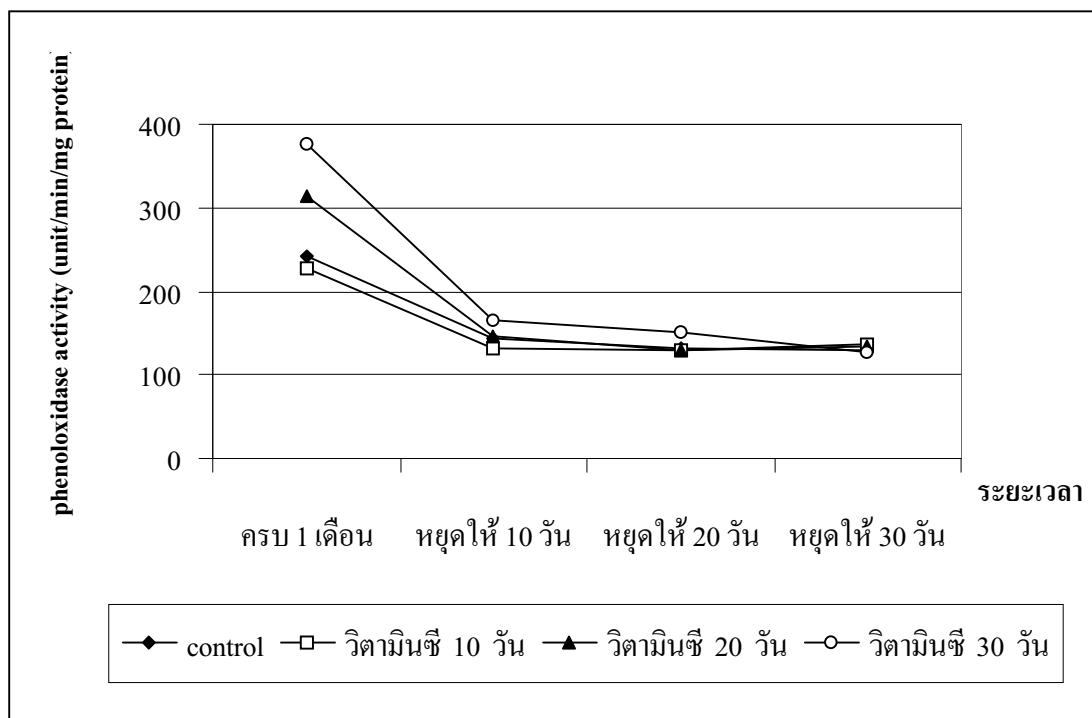
2.2 กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (Phenoloxidase Activity)

ปริมาณเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase) ของกุ้งกลุ่มที่ให้วิตามินซีทุกวันพบว่ามีค่าสูงสุดคือ 375.499 ± 66.86 unit/min/mg protein และค่าที่ได้มีค่าลดลงตามระยะเวลาการให้วิตามินซี 20 วัน และ 10 วัน/เดือนตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติพบว่ากลุ่มที่ได้รับวิตามินซีทุกวันจะมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มที่ได้รับวิตามิน 10 วัน/เดือนและกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ให้วิตามินซี 20 วัน/เดือน ($P > 0.05$) เมื่อหยุดให้วิตามินซีพบว่าค่า phenoloxidase มีแนวโน้มลดลงใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติพบว่าแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่าง ($P > 0.05$) ตลอดช่วงหยุดการให้วิตามินซีเป็นระยะเวลา 10, 20 และ 30 วัน/เดือน ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 8 และภาพที่ 8

ตารางที่ 8 ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase ในเม็ดเลือดของกิ้งกูดดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน

ระยะเวลา ชุดการทดลอง	Phenoloxidase Activity (unit/min/mg protein)			
	ครบ 1 เดือน	หยุดให้ 10 วัน	หยุดให้ 20 วัน	หยุดให้ 30 วัน
กลุ่มควบคุม	242.970±56.72 ^a	142.656±60.04 ^{ns}	132.752±100.15 ^{ns}	128.393±18.82 ^{ns}
วิตามินซี 10 วัน/เดือน	228.663±121.79 ^a	130.904±15.62 ^{ns}	128.985±58.28 ^{ns}	137.392±23.87 ^{ns}
วิตามินซี 20 วัน/เดือน	314.645±61.12 ^{ab}	147.163±14.86 ^{ns}	129.627±14.15 ^{ns}	133.102±15.48 ^{ns}
วิตามินซี 30 วัน/เดือน	375.499±66.86 ^b	165.103±57.06 ^{ns}	150.460±43.49 ^{ns}	127.805±17.22 ^{ns}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$), ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$)



ภาพที่ 8 ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase ในเม็ดเลือดของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน

2.3 กิจกรรมในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง (Bactericidal Activity)

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองคือ *Vibrio harveyi* ที่เลี้ยงในอาหาร TSB ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งวัดค่า OD ในแต่ละครั้งได้เท่ากับ 0.1, 0.12, 0.1 และ 0.11 ซึ่งมีปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ประมาณ 2.55×10^6 CFU/ml, 2.87×10^6 CFU/ml, 1.85×10^6 CFU/ml และ 2.60×10^6 CFU/ml ตามลำดับ และเติมเชื้อแบคทีเรียลงในซีรัมทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง และทำการ spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS บ่ม 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนับปริมาณแบคทีเรียที่ลดลงครั้งหนึ่งเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้น้ำเกลือ 1.5% แทนซีรัม พบว่าค่ากิจกรรมในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง ในกุ้งกลุ่มที่กินอาหารผสมวิตามินซี ที่ช่วงเวลาต่างๆ คือ 10 วัน, 20 วัน และ 30 วัน/เดือน สามารถลดปริมาณเชื้อได้อยู่ในช่วง 1:4 - 1:8 ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่าในกลุ่มควบคุม (ไม่มีการผสมวิตามินซีในอาหาร) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1:4 แต่เมื่อหยุดให้วิตามินซีเป็นเวลา 10 วัน ค่า Bactericidal Activity ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับวิตามินซีเพียง 10 และ 20 วัน/เดือน มีค่าลดลงเท่ากับกลุ่มควบคุมและหลังจากหยุดให้วิตามิน

ซึ่งเป็นเวลา 20 วันและครบ 1 เดือน ค่า Bactericidal Activity ของชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลง ดังที่แสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 กิจกรรมในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง (ค่า Bactericidal Activity) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน

ระยะเวลา ชุดการทดลอง	Bactericidal Activity			
	ครบ 1 เดือน	หยุดให้ 10 วัน	หยุดให้ 20 วัน	หยุดให้ 30 วัน
กลุ่มควบคุม	1 : 4	1 : 4	1 : 2	1 : 2
วิตามินซี 10 วัน/เดือน	1 : 4 - 1 : 8	1 : 4	1 : 2	1 : 2
วิตามินซี 20 วัน/เดือน	1 : 8	1 : 4	1 : 2 - 1 : 4	1 : 2 - 1 : 4
วิตามินซี 30 วัน/เดือน	1 : 4 - 1 : 8	1 : 4 - 1 : 8	1 : 4	1 : 2 - 1 : 4

2.4 กิจกรรมของเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอม (Phagocytic Activity)

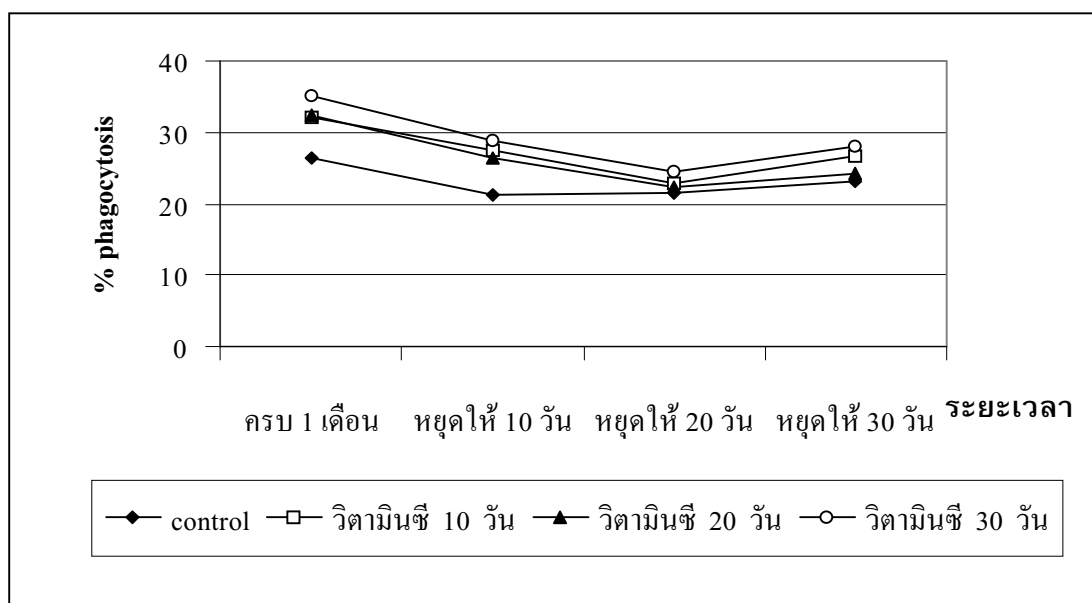
กิจกรรมของเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอม (% Phagocytosis) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซี 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมทุกวัน เป็นระยะเวลา 1 เดือน มีประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมได้สูงสุดคือ $35.229 \pm 5.26\%$ เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) จากกลุ่มที่ได้รับวิตามินซี 10 และ 20 วัน/เดือน ($P > 0.05$) ที่มีค่าเท่ากับ $32.029 \pm 4.66\%$ และ $32.364 \pm 2.69\%$ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) หลังจากหยุดให้วิตามินซีในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ คือหยุดให้เป็นระยะเวลา 10 วัน, 20 วันและครบ 1 เดือน พบว่ากิจกรรมของเม็ดเลือดในการจับกินเซลล์ยีสต์ในแต่ละชุดการทดลองมีค่าลดลง ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างทุกชุดการทดลอง

(ตารางที่ 10 ภาพที่ 9) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าหลังจากให้วิตามินซีเป็นเวลา 1 เดือน และหยุดให้วิตามินซี 1 เดือน ค่า percent phagocytosis ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 32.029-35.229% ลดลงเหลือ 24.327-27.895% ส่วนค่า phagocytic index ของกึ่งกลูตาต้าที่กินอาหารผสมวิตามินซี ครบ 1 เดือน พบว่ากึ่งกลุ่มที่ให้วิตามินซีติดต่อกันทุกวันมีค่าเท่ากับ 18.681 ± 5.65 ในกึ่งกลุ่มที่ให้วิตามินซีเพียง 10 วันและ 20 วัน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 16.498 ± 4.41 และ 16.456 ± 3.63 ซึ่งเมื่อหยุดให้วิตามินซีเป็นระยะเวลา 10 และ 20 วัน ค่า phagocytic index ลดลงอยู่ในช่วง 13.541-15.335 และ 7.024-9.788 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าค่า phagocytic index ทั้งหมดในแต่ละชุดการทดลอง ณ ช่วงเวลาต่างๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 11 ภาพที่ 10

ตารางที่ 10 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดแดงในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis (% Phagocytosis) ของกึ่งกลูตาต้าที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน

ชุดการทดลอง \ ระยะเวลา	% Phagocytosis			
	ครบ 1 เดือน	หยุดให้ 10 วัน	หยุดให้ 20 วัน	หยุดให้ 30 วัน
กลุ่มควบคุม	26.399 ± 1.13^a	21.183 ± 7.19^{ns}	21.453 ± 0.95^{ns}	23.086 ± 3.89^{ns}
วิตามินซี 10 วัน/เดือน	32.029 ± 4.66^{ab}	27.376 ± 6.06^{ns}	22.816 ± 2.34^{ns}	26.615 ± 4.51^{ns}
วิตามินซี 20 วัน/เดือน	32.364 ± 2.69^{ab}	26.286 ± 7.79^{ns}	22.245 ± 4.71^{ns}	24.327 ± 4.38^{ns}
วิตามินซี 30 วัน/เดือน	35.229 ± 5.26^b	28.867 ± 4.23^{ns}	24.484 ± 0.82^{ns}	27.895 ± 7.79^{ns}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่ง มีความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$), ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$)

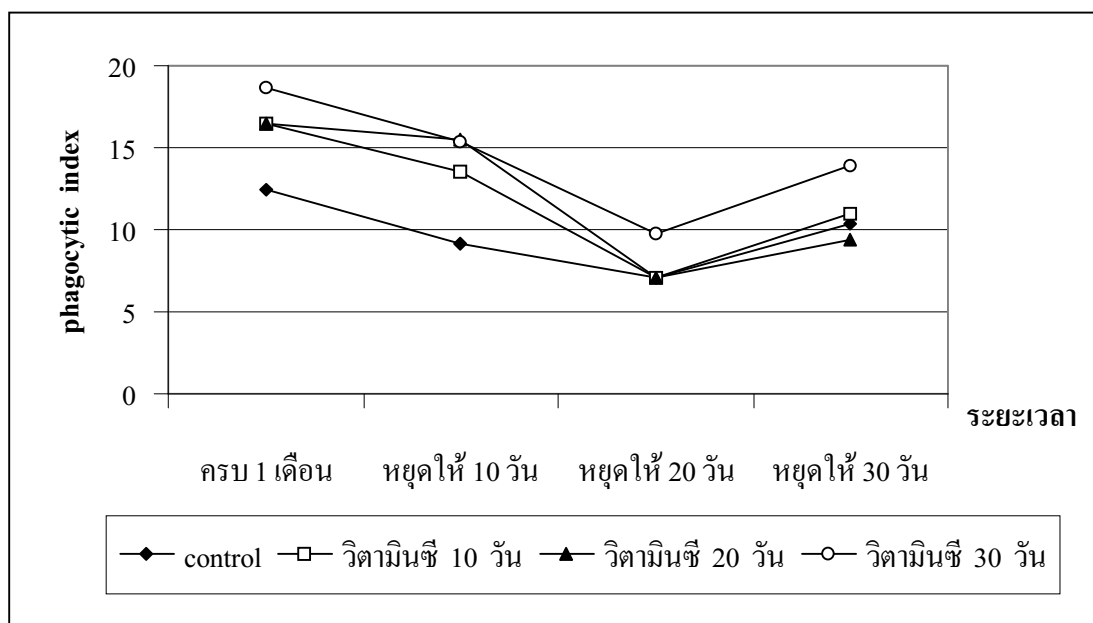


ภาพที่ 9 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis (% Phagocytosis) ของกิ้งกูดดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน

ตารางที่ 11 ประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือด (Phagocytic index) ของกิ้งกูดดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน

ระยะเวลา ชุดการทดลอง	Phagocytic index			
	ครบ 1 เดือน	หยุดให้ 10 วัน	หยุดให้ 20 วัน	หยุดให้ 30 วัน
กลุ่มควบคุม	12.386 ± 1.06 ^{ns}	9.160 ± 5.29 ^{ns}	7.127 ± 1.74 ^{ns}	10.360 ± 2.59 ^{ns}
วิตามินซี 10 วัน/เดือน	16.498 ± 4.41 ^{ns}	13.541 ± 6.48 ^{ns}	7.024 ± 1.35 ^{ns}	11.028 ± 4.89 ^{ns}
วิตามินซี 20 วัน/เดือน	16.456 ± 3.63 ^{ns}	14.548 ± 8.13 ^{ns}	7.055 ± 2.21 ^{ns}	9.359 ± 3.78 ^{ns}
วิตามินซี 30 วัน/เดือน	18.681 ± 5.65 ^{ns}	15.335 ± 6.70 ^{ns}	9.788 ± 0.41 ^{ns}	13.855 ± 6.74 ^{ns}

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$), ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$)



ภาพที่ 10 ประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือด (Phagocytic index) ของกิ้งก่าที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน

