

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การใช้ซาโปนินและไลโปโซมเป็นสารช่วยกระตุ้นการผลิตแอนติบอดี ต่อโคเลสเตอรอลในนกกระทา

ชื่อผู้เขียน นางสาวทิวรัตน์ ทุนอินทร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รศ. เพทาย	พงษ์เพ็ญจันทร์	ประธานกรรมการ
รศ. คร. วิบูลย์	รัตนานันท์	กรรมการ
รศ. คร. กฤษณา	ภูตะคาม	กรรมการ

#### บทคัดย่อ

ได้ศึกษาสารช่วยกระตุ้นแอนติบอดี (adjuvant) ชนิด ซาโปนินและไลโปโซมต่อการกระตุ้นการผลิตแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลในนกกระทา โดยทำการเปรียบเทียบผลการกระตุ้นแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลด้วยวิธีฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous injection) และการป้อนให้กิน (oral administration) เพื่อแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีกับปริมาณโคเลสเตอรอลในกระแสเลือดและในไข่

การออกแบบและวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design, CRD) โดยใช้ นกกระทาเพศเมีย อายุ 60 วัน จำนวน 48 ตัว น้ำหนักตัวเฉลี่ย 100-200 กรัม กระตุ้นด้วยโคเลสเตอรอลที่เชื่อมกับโบวาย ซีรัม อัลบูมิน (cholesterol-BSA) 2 ระดับ คือ 500 และ 1,000 ไมโครกรัม ร่วมกับการใช้สารช่วยกระตุ้น 2 ชนิด คือ ซาโปนิน ที่ระดับ 50 และ 100 ไมโครกรัม และไลโปโซม ที่ระดับ 1,400 และ 2,800 ไมโครกรัม ส่วนกลุ่มควบคุมได้รับ phosphate buffer saline (PBS) กระตุ้นโดยวิธีฉีดเข้าใต้ผิวหนังและป้อนให้กิน เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดค้ำที่ปีก (wing vein) ในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 หรือเมื่ออายุ 60, 74, 88, 102 และ 116 วัน ตามลำดับ วิเคราะห์หาแอนติบอดีไคเตอร์โดยวิธี Indirect Enzyme-linked

immunosorbent assay (ELISA) วัดปริมาณ โคเลสเตอรอลในซีรัมและในไข่ สกัดและวัดปริมาณ Immunoglobulin Y (IgY) จากไข่แดง

ผลการทดลองในกลุ่มที่ได้รับ PBS พบระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลมีระดับต่ำตลอดการทดลอง เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมลดลง ระดับโคเลสเตอรอลในไข่แดงเพิ่มขึ้น ปริมาณ IgY และเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงมีระดับคงที่ตลอดการทดลอง เมื่อนกกระทามีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ปริมาณ โคเลสเตอรอลในซีรัมจะเพิ่มสูงขึ้น แอนติบอดีมีระดับต่ำคงที่ในทุกช่วงน้ำหนักตัวและเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักไข่ทั้งฟอง

ในกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ PBS ( $P>0.05$ ) โดยสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง จากนั้นระดับแอนติบอดีจะลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 6 เมื่อนกกระทามีอายุเพิ่มขึ้น ระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมลดลง โคเลสเตอรอลในไข่แดงเพิ่มขึ้น ปริมาณ IgY เพิ่มขึ้นและเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงลดลง อย่างไรก็ตามเมื่อน้ำหนักตัวมากขึ้น ระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมลดลง น้ำหนักไข่ทั้งฟองเพิ่มขึ้น และปริมาณ โคเลสเตอรอลในไข่แดงเพิ่มขึ้น

ในกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ร่วมกับการใช้ซาโปนิน 2 ระดับ คือ 50 และ 100 ไมโครกรัม พบว่า ระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA อย่างเดียว ( $P>0.05$ ) โดยพบระดับสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 และกลุ่มที่ได้รับซาโปนินทั้ง 2 ระดับ สามารถกระตุ้นแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลได้ใกล้เคียงกัน การกระตุ้นแอนติบอดีโดยวิธีฉีดเข้าใต้ผิวหนังหรือการป้อนให้กิน จะมีระดับแอนติบอดีไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อนกกระทามีอายุเพิ่มขึ้น โคเลสเตอรอลในซีรัมมีปริมาณลดลง โคเลสเตอรอลในไข่แดงเพิ่มขึ้น ปริมาณ IgY เพิ่มขึ้น และเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงจะคงที่ตลอดการทดลอง นกกระทาที่น้ำหนักตัวช่วง 160-170 กรัม จะมีระดับแอนติบอดีสูงกว่านกกระทาในช่วงน้ำหนักอื่น ๆ และเมื่อน้ำหนักไข่ทั้งฟองเพิ่มขึ้น ปริมาณ โคเลสเตอรอลในไข่เพิ่มขึ้นด้วย

กลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ร่วมกับการใช้ไลโปโซม 2 ระดับ คือ 1,400 และ 2,800 ไมโครกรัม มีระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ( $P>0.05$ ) และพบระดับสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 กลุ่มที่ได้รับไลโปโซมทั้ง 2 ระดับมีระดับแอนติบอดีใกล้เคียงกัน การกระตุ้นแอนติบอดีโดยวิธีป้อนให้กินจะมีระดับแอนติบอดีสูงกว่ากลุ่มที่กระตุ้นโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ( $P>0.05$ ) อย่างไรก็ตาม เมื่อนกกระทามีอายุเพิ่มขึ้น ระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมลดลง โคเลสเตอรอลในไข่แดงเพิ่มขึ้น ปริมาณ IgY เพิ่มขึ้น และเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงจะคงที่ตลอดการทดลอง นกกระทาที่มีน้ำหนักตัวมากขึ้น โคเลสเตอ

รอลในซีรัมลดลง และนกกระทาที่น้ำหนักตัวช่วง 170-180 กรัม จะมีระดับแอนติบอดีสูงกว่านกกระทาในช่วง น้ำหนักอื่น ๆ ผลการวิเคราะห์รีเกรซชันเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีและปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัม พบว่า ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

การศึกษาครั้งนี้พบว่า การใช้ cholesterol-BSA ในรูปที่มีหรือไม่มีสารช่วยกระตุ้นชนิดซาโปนินและไลโปโซม ทำให้มีการผลิตแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น การให้สารช่วยกระตุ้น (adjuvant) มีแนวโน้มของการผลิตแอนติบอดีเพิ่มขึ้นในเลือดและในไข่ สารช่วยกระตุ้นทั้ง 2 ชนิด มีความสามารถในการกระตุ้นการผลิตแอนติบอดีใกล้เคียงกัน การกระตุ้น โดยวิธีการฉีดเข้าใต้ผิวหนังหรือการป้อนให้กินสามารถกระตุ้นแอนติบอดีได้ไม่แตกต่างกัน นกกระทาที่มีน้ำหนักตัวระหว่าง 160-180 กรัม เป็นช่วงที่เหมาะสมในการผลิตแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลมากที่สุด

**Thesis Title** Use of Saponin and Liposome as Adjuvant for Immunization against Cholesterol in Japanese Quail

**Author** Miss Tiwarat Tooninn

**M.S. (Agriculture)** Animal Science

**Examining Committee**

Assoc. Prof. Petai	Pongpiachan	Chairman
Assoc. Prof. Dr. Viboon	Rattanapanon	Member
Assoc. Prof. Dr. Krisana	Pootakham	Member

**Abstract**

The objective of this study was to use saponin and liposome as adjuvant for immunization against cholesterol in Japanese quails. Comparison between immunization by subcutaneous injection and oral administration to determine associated between antibody titre and cholesterol level in serum and egg.

This study was conducted in CRD experimental design. Forty-eight female Japanese quails 60 days old, weighed 100-200 g, were immunized with levels of cholesterol conjugated with bovine serum albumin (Cholesterol-BSA), 500 and 1,000 µg. Cholesterol-BSA with 2 levels of saponin, 50 and 100 µg and two levels of liposome, 1,400 and 2,800 µg. Control group was immunized with phosphate buffer saline (PBS) by subcutaneous injection and oral administration. Blood samples were collected from wing vein on week 0, 2, 4, 6 and 8 or on days 60, 74, 88, 102 and 116 of age, respectively. Analysis for antibody titre in serum was done by Enzyme-link immunosorbent assay (ELISA) method. Sera and egg yolk sample were purified and isolated for cholesterol and/or immunoglobulin Y (IgY) determination.

The result of this study indicated that antibody production of PBS group was remained low until the end of the study. When quails got older, serum cholesterol was lower. Egg yolk cholesterol was higher. IgY in egg yolk and percent of egg yolk remained at the same level. When quailed had higher body weight, serum cholesterol was higher and antibody titre remained low in every level of body weight and compared with whole egg weight.

Antibody production of cholesterol-BSA was higher than PBS. It was highest on week 4. Antibody titre was lower immediately on week 6. When quails got older the serum cholesterol was lower and egg yolk cholesterol was higher. IgY in egg yolk was higher and percent of egg yolk was lower. When quailed had higher body weight, serum cholesterol was lower, whole egg weight and egg yolk cholesterol were higher.

Antibody titre of saponin as adjuvant were higher than cholesterol-BSA ( $P>0.05$ ). It was highest on week 4. Immunization by subcutaneous injection and oral administration of two levels of saponin, 50 and 100  $\mu\text{g}$ . They can boost antibody titre with no difference. When quails got older, serum cholesterol was lower and egg yolk cholesterol was higher. IgY in egg yolk and percent of egg yolk remain constant until the end of experiment. Quails, weighed 160-170 g, had higher antibody titre than others. When whole egg weight increased the egg yolk cholesterol were also increased.

Antibody titre in liposome treated group. Two levels, 1,400 and 2,800  $\mu\text{g}$  were higher than cholesterol-BSA group ( $P>0.05$ ). It was highest on week 4. Both group had antibody titre almost the same. Antibody titre of subcutaneous injection was higher than oral administration ( $P>0.05$ ). When quails got older, serum cholesterol was lower and egg yolk was higher. IgY in egg yolk was increase. Percent of egg yolk remained constant until the end of experiment. When quails had higher weight, serum cholesterol was lower. Quails, weighed 170-180 g, had higher antibody titre than others. Regression analysis between antibody titre and serum cholesterol was no significant ( $P>0.05$ ).

In conclusion, this study revealed that cholesterol-BSA with or without adjuvant (saponin or liposome) can boost antibody titre. However they were similar. Immunization by cholesterol-BSA with adjuvant tend to increase antibody production

and they were no difference titre values either immunization with subcutaneous injection or oral administration. Quails, weighed 160-180 g were the most successful to produce antibody againsts cholesterol-BSA and adjuvants.

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Chiang Mai University