

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

4.1 ผลการใช้โคเลสเตอรอลเชื่อมกับโบวาย ซีรัม อัลบูมิน (cholesterol-BSA) ต่อ ก. การผลิตแอนติบอดี ข. การเปลี่ยนแปลงระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมและในไข่ ค. เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดง

#### 4.1.1 การผลิตแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอล

ระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอล ในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 หรือที่อายุ 60, 74, 88, 102 และ 116 วัน มีค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $0.16 \pm 0.02$ ,  $0.26 \pm 0.16$ ,  $0.70 \pm 0.05$ ,  $0.36 \pm 0.04$  และ  $0.35 \pm 0.08$  ตามลำดับ โดยระดับแอนติบอดีสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง หรือที่อายุ 88 วัน พบว่าระดับแอนติบอดีในกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA เพียงอย่างเดียว มีระดับแอนติบอดีสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ PBS อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) และที่น้ำหนักตัวช่วง 170-180 กรัมจะมีระดับแอนติบอดีสูงสุด และทุกช่วงน้ำหนักไข่มีระดับแอนติบอดีไม่แตกต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบกับระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลในกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับ phosphate buffer saline (PBS) พบว่า ระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 หรือที่อายุ 60, 74, 88, 102 และ 116 วัน มีค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $0.17 \pm 0.02$ ,  $0.24 \pm 0.07$ ,  $0.21 \pm 0.03$ ,  $0.38 \pm 0.11$  และ  $0.27 \pm 0.03$  ตามลำดับ หรือ มีค่า percentage relative เทียบกับกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA เท่ากับ  $105.48 \pm 63.68$ ,  $90.91 \pm 44.61$ ,  $29.70 \pm 6.88$ ,  $106.76 \pm 17.82$  และ  $77.49 \pm 13.14$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่อยู่ในระดับต่ำตลอดการทดลอง (รูปที่ 4-1) แอนติบอดีมีระดับคงที่ในทุกช่วงน้ำหนักตัว (รูปที่ 4-3) และเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักไข่ทั้งฟอง อย่างไรก็ตาม ปริมาณอาหารที่กินไม่มีความสัมพันธ์กับระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอล

#### 4.1.2 ปริมาณ Immunoglobulin Y (IgY)

ปริมาณ IgY ของกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ในสัปดาห์ที่ 2, 4, 6 และ 8 มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $6.80 \pm 0.56$ ,  $3.52 \pm 0.16$ ,  $5.91 \pm 1.02$  และ  $4.10 \pm 0.27$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ โดยปริมาณ IgY จะสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง (รูปที่ 4-4) และเมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณ IgY จะเพิ่มสูงขึ้นด้วย (รูปที่ 4-5)

ปริมาณ IgY ของกลุ่มที่ได้รับ PBS ในสัปดาห์ที่ 2, 4, 6 และ 8 มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $8.86 \pm 0.31$ ,  $2.27 \pm 0.06$ ,  $6.26 \pm 0.90$  และ  $3.04 \pm 0.51$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ (รูปที่ 4-4) ปริมาณ IgY จะสูงขึ้น เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น (รูปที่ 4-5)

#### 4.1.3 ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัม

ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมของกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $269.33 \pm 84.33$ ,  $175.00 \pm 14.43$ ,  $227.67 \pm 43.98$ ,  $168.33 \pm 38.98$  และ  $158.33 \pm 20.88$  มิลลิกรัมต่อเซซีลิตร ตามลำดับ พบว่ามีระดับต่ำกว่ากลุ่ม PBS ในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 ( $P > 0.05$ ) จากนั้นระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมจะมีระดับไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 4-6) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมลดลง โดยมีระดับต่ำกว่ากลุ่ม PBS เมื่ออายุ 74 และ 88 วัน (รูปที่ 4-7) และเมื่อน้ำหนักตัวมากขึ้น ระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมมีแนวโน้มลดลง (รูปที่ 4-8) อย่างไรก็ตาม โคเลสเตอรอลในซีรัมจะมีปริมาณคงที่ในทุกช่วงน้ำหนักไข่ทั้งฟอง

ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมของกลุ่มที่ได้รับ PBS ในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $284.00 \pm 8.02$ ,  $216.67 \pm 33.33$ ,  $297.00 \pm 56.40$ ,  $142.00 \pm 32.01$  และ  $125.00 \pm 14.43$  มิลลิกรัมต่อเซซีลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4-6) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมลดลง (รูปที่ 4-7) และนกกระทาที่มีน้ำหนักตัวมากจะมีปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมสูงกว่านกกระทาที่มีน้ำหนักตัวน้อย (รูปที่ 4-8) อย่างไรก็ตาม ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมจะคงที่ในทุกช่วงของน้ำหนักไข่ทั้งฟอง

#### 4.1.4 ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่

ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่แดงของกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $21.21 \pm 2.37$ ,  $35.49 \pm 2.26$ ,  $45.48 \pm 4.80$ ,  $23.19 \pm 2.94$ ,  $41.97 \pm 6.38$ ,  $61.69 \pm 8.30$  และ  $66.91 \pm 3.17$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ ซึ่งมีระดับต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ PBS ( $P>0.05$ ) ในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 ของการทดลอง (รูปที่ 4-9) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่ทั้งฟองเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4-10) และเมื่อน้ำหนักตัวมากขึ้น ระดับโคเลสเตอรอลในไข่ทั้งฟองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4-11)

ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่แดงของกลุ่มที่ได้รับ PBS ในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $17.66 \pm 1.90$ ,  $30.11 \pm 1.47$ ,  $49.62 \pm 14.71$ ,  $56.09 \pm 4.24$ ,  $30.81 \pm 1.51$ ,  $45.61 \pm 11.65$  และ  $49.22 \pm 10.66$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ (รูปที่ 4-9) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่ทั้งฟองเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4-10) อย่างไรก็ตาม ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่ทั้งฟองจะมีระดับคงที่ในทุกช่วงของน้ำหนักตัวและเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักไข่ทั้งฟอง

#### 4.1.5 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดง

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดง =  $(\text{น้ำหนักไข่แดง} \times 100) / \text{น้ำหนักไข่ทั้งฟอง}$

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดงของกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ในสัปดาห์ที่ 2, 4, 6, และ 8 มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $44.56 \pm 3.01$ ,  $41.13 \pm 1.62$ ,  $41.35 \pm 2.63$  และ  $40.05 \pm 3.29$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ PBS ( $P>0.05$ ) (รูปที่ 4-12) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงจะคงที่ตลอดการทดลอง (รูปที่ 4-13)

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดงของกลุ่มที่ได้รับ PBS ในสัปดาห์ที่ 2, 4, 6, และ 8 มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $36.14 \pm 2.79$ ,  $38.21 \pm 1.18$ ,  $39.25 \pm 1.37$  และ  $35.42 \pm 1.77$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 4-12) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงมีแนวโน้มลดลง (รูปที่ 4-13)

## 4.2 ผลการใช้ซาโปนินเป็นสารช่วยกระตุ้นต่อ ก. การผลิตแอนติบอดี ข. การเปลี่ยนแปลงระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมและในไข่ ค. เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดง

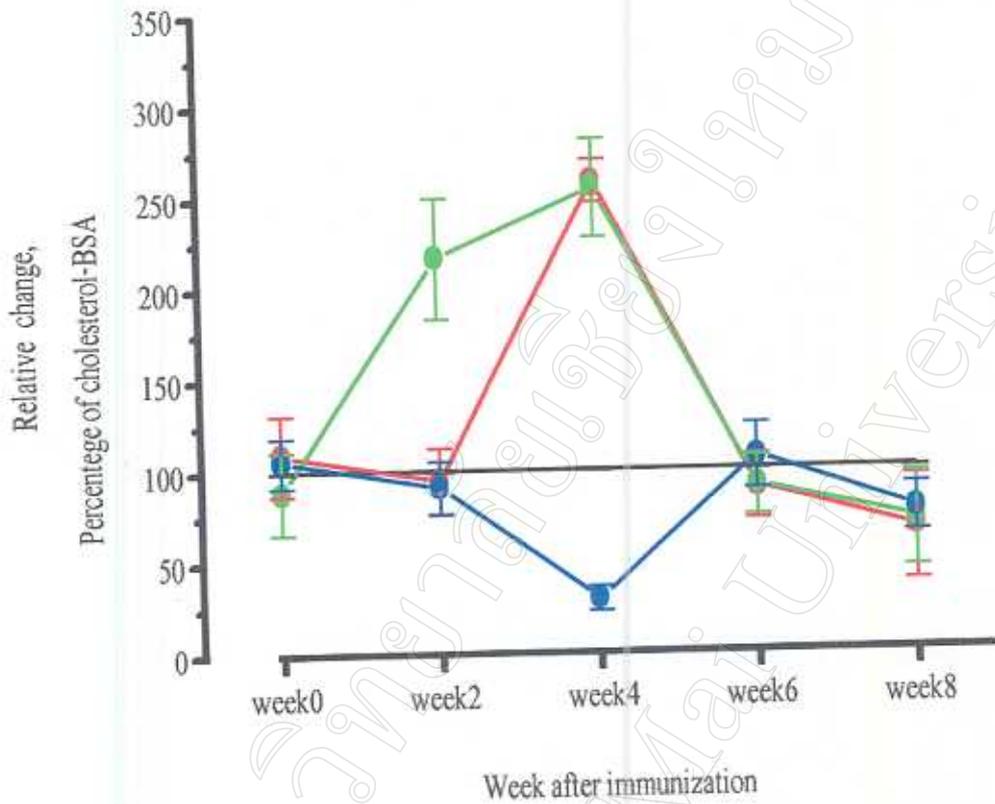
### 4.2.1 การผลิตแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอล

ระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลในกลุ่มที่ใช้ซาโปนิน 50 ไมโครกรัม มีค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย  $\pm$  S.E. ในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 หรือที่อายุ 60, 74, 88, 102 และ 116 วัน เท่ากับ  $0.17 \pm 0.09$ ,  $0.25 \pm 0.07$ ,  $1.80 \pm 0.08$ ,  $0.32 \pm 0.08$  และ  $0.23 \pm 0.08$  ตามลำดับหรือมีค่า percentage relative เท่ากับ  $109.27 \pm 22.14$ ,  $94.86 \pm 18.10$ ,  $258.83 \pm 11.66$ ,  $90.05 \pm 17.55$  และ  $66.63 \pm 28.75$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลในกลุ่มที่ใช้ซาโปนิน 100 ไมโครกรัม มีค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $0.14 \pm 0.02$ ,  $0.57 \pm 0.15$ ,  $1.77 \pm 0.60$ ,  $0.32 \pm 0.04$  และ  $0.25 \pm 0.08$  ตามลำดับหรือมีค่า percentage relative เท่ากับ  $88.85 \pm 22.73$ ,  $216.72 \pm 33.27$ ,  $254.66 \pm 26.93$ ,  $90.80 \pm 16.32$  และ  $71.20 \pm 26.15$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในกลุ่มที่ใช้ซาโปนินทั้ง 2 ระดับ มีระดับแอนติบอดีใกล้เคียงกัน โดยระดับแอนติบอดีสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง หรือที่อายุ 88 วัน และลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 6 ระดับแอนติบอดีของกลุ่มที่ใช้ซาโปนินเป็นสารช่วยกระตุ้น มีระดับแอนติบอดีสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA เพียงอย่างเดียว แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (รูปที่ 4-1) นกกระทาที่ชั่งน้ำหนักตัว 160-170 กรัม จะเป็นช่วงที่มีระดับแอนติบอดีสูงสุด (รูปที่ 4-3) อย่างไรก็ตาม ระดับแอนติบอดี ไม่แตกต่างกันในทุกช่วงน้ำหนักไข่ทั้งฟอง

### 4.2.2 ปริมาณ Immunoglobulin Y (IgY)

ปริมาณ IgY ในกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ร่วมกับการใช้ซาโปนิน 2 ระดับ คือ 50 และ 100 ไมโครกรัม โดยในกลุ่มที่ได้รับซาโปนินที่ระดับ 50 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $7.57 \pm 0.30$ ,  $2.45 \pm 0.05$ ,  $5.94 \pm 0.72$  และ  $4.21 \pm 0.29$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ และในกลุ่มที่ได้รับซาโปนินที่ระดับ 100 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $6.66 \pm 0.22$ ,  $3.38 \pm 0.17$ ,  $7.49 \pm 0.66$  และ  $5.61 \pm 0.49$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ โดยปริมาณ IgY ของกลุ่มที่ได้รับซาโปนินทั้ง 2 ระดับจะมีปริมาณสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง โดยเฉพาะ

กลุ่มที่ได้รับซาโปนิน 100 ไมโครกรัม จะมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ (รูปที่ 4-4) และเมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณ IgY จะเพิ่มสูงขึ้น (รูปที่ 4-5)



**Figure 4-1.** Change in antibody against cholesterol-BSA by using saponin as adjuvant. Results are expressed relative to the cholesterol-BSA group. Changes in all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50 µg saponin; — = Cholesterol-BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).

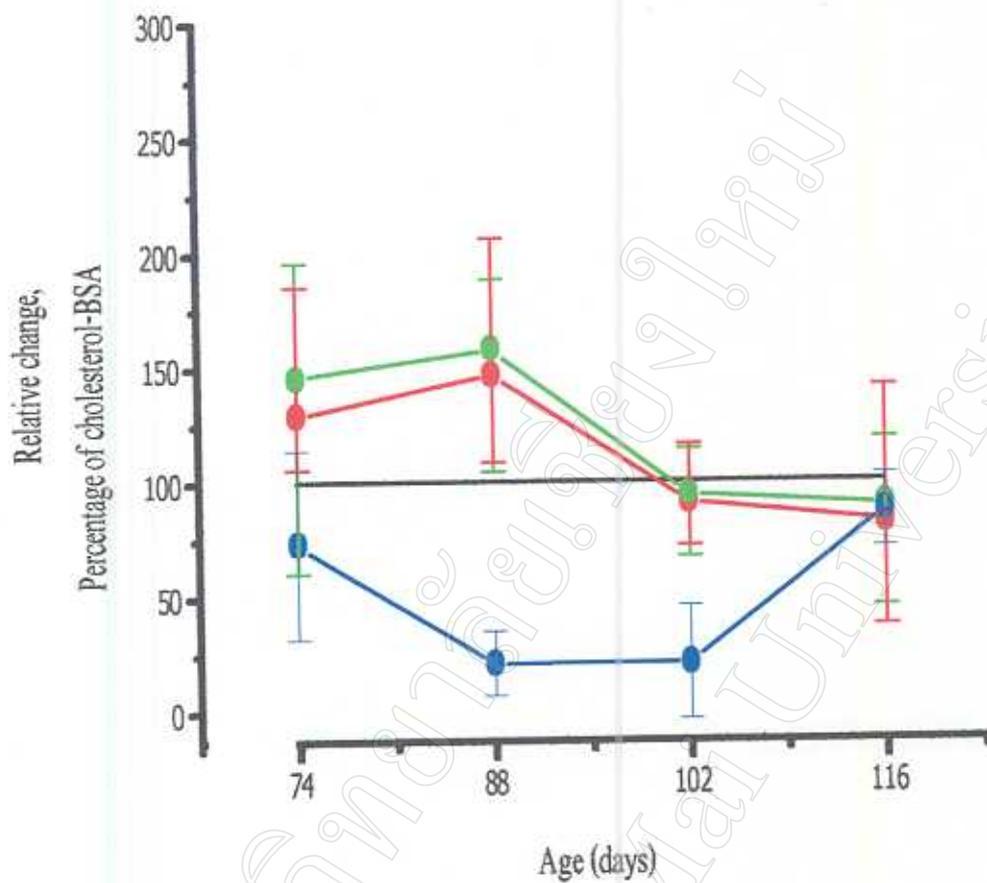
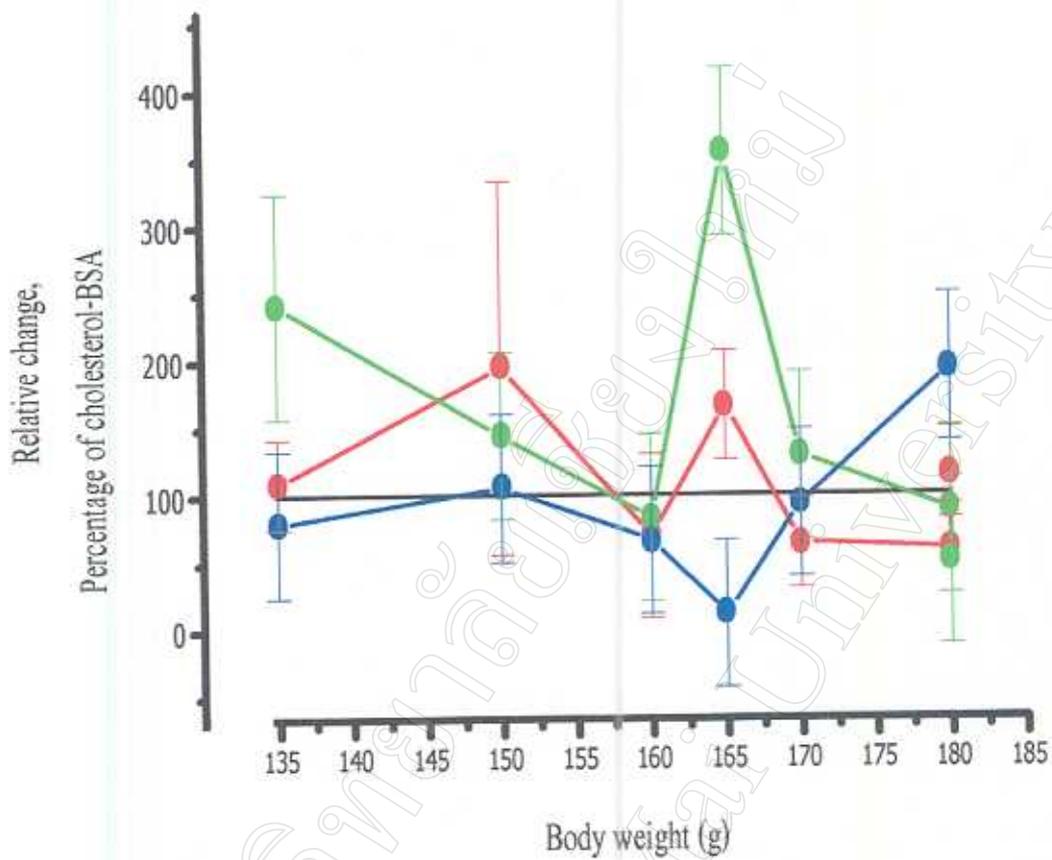


Figure 4-2. Effect of age on antibody against cholesterol-BSA by using saponin as adjuvant. Results are expressed relative to the cholesterol-BSA group. Changes in all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA

( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50 µg saponin;  
 — = Cholesterol-BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).



**Figure 4-3.** Effect of body weight on antibody against cholesterol-BSA by using saponin as adjuvant. Results are expressed relative to the cholesterol-BSA group. Changes in all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50 µg saponin; — = Cholesterol-BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).

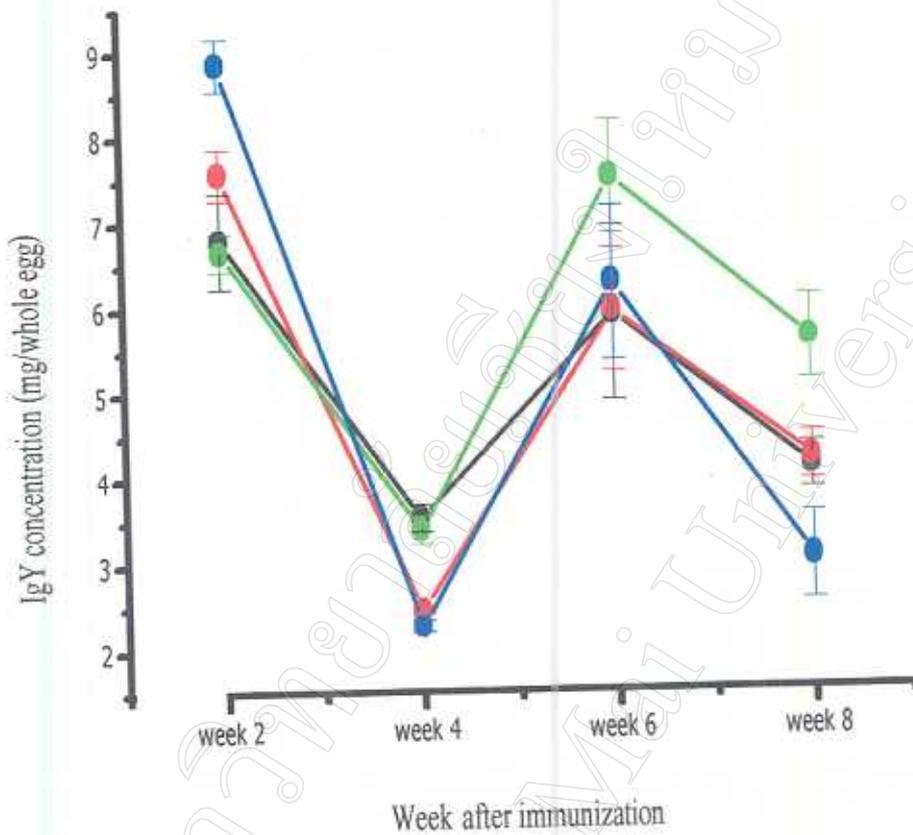
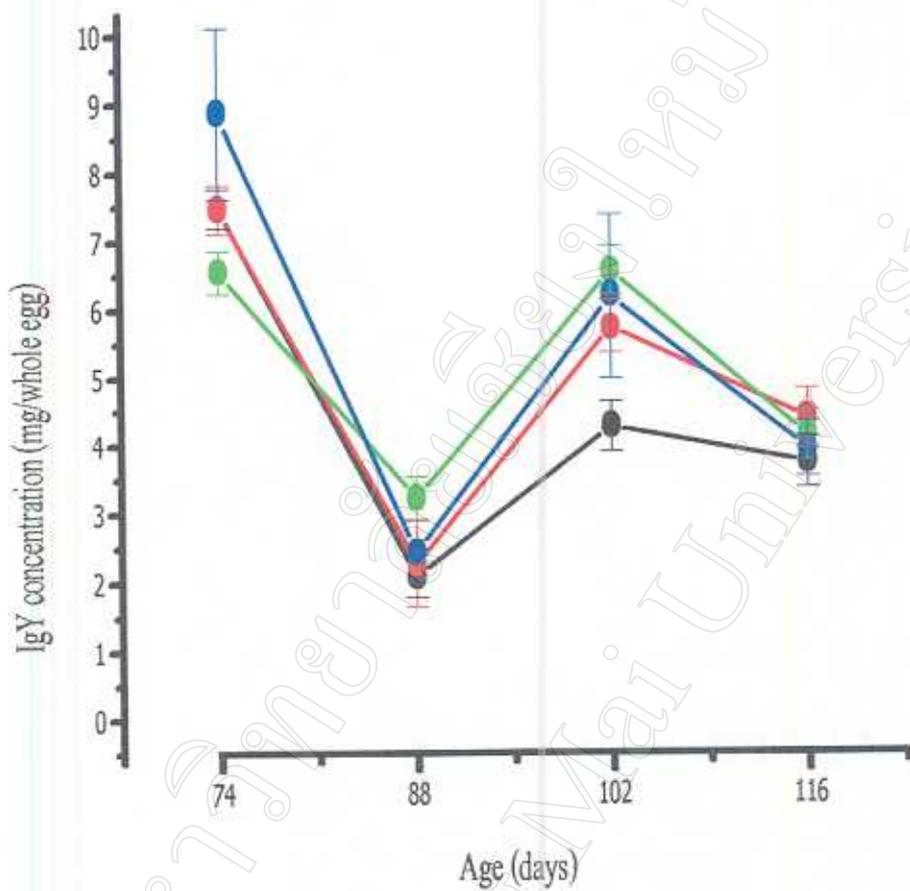


Figure 4-4. Immunoglobulin Y (IgY) of saponin group. IgY concentration after actively immunization against cholesterol-BSA in Japanese quail by using saponin as adjuvant. IgY concentration of all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50 µg saponin; — = Cholesterol- BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).



**Figure 4-5.** Effect of age on IgY concentration by using saponin as adjuvant.

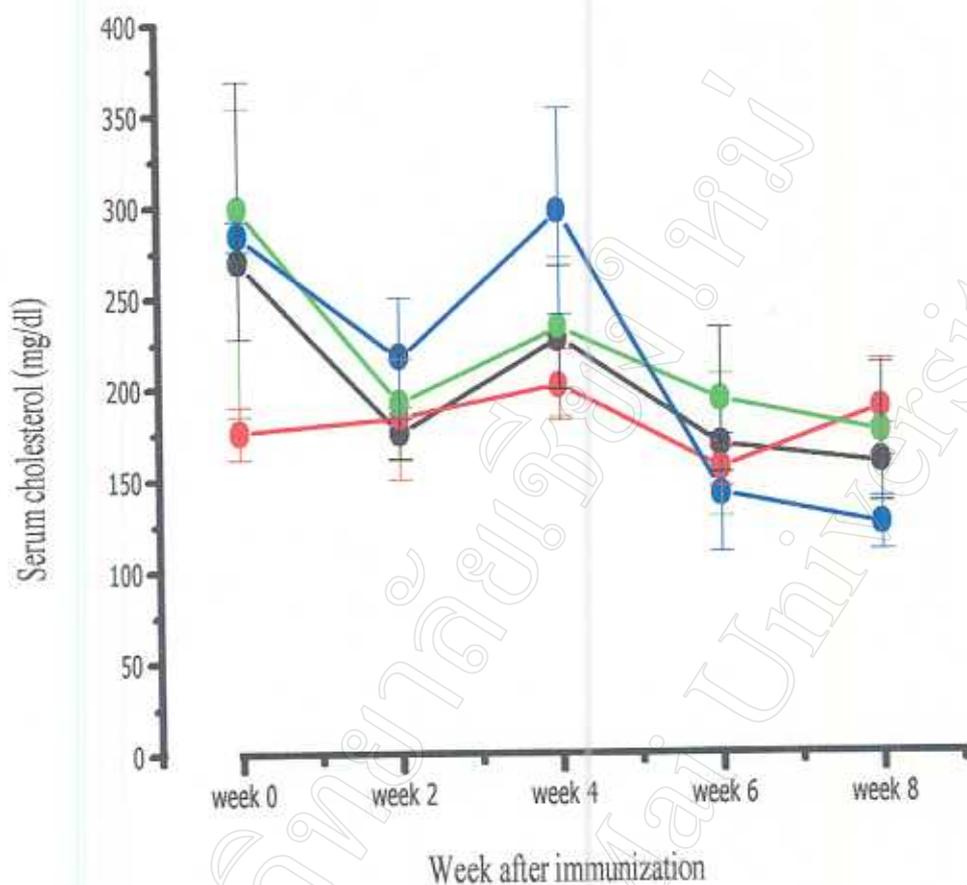
IgY concentration of all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50 µg saponin; — = Cholesterol-BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).

#### 4.2.3 ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัม

ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ร่วมกับการใช้ซาโปนินเป็นสารช่วยกระตุ้น 2 ระดับ คือ 50 และ 100 ไมโครกรัม โดยในกลุ่มที่ใช้ซาโปนิน 50 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $175.60 \pm 14.43$ ,  $183.33 \pm 33.33$ ,  $201.67 \pm 19.65$ ,  $156.00 \pm 10.21$  และ  $188.33 \pm 26.82$  มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ และกลุ่มที่ใช้ซาโปนินที่ระดับ 100 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $298.33 \pm 70.49$ ,  $191.67 \pm 30.05$ ,  $233.33 \pm 33.83$ ,  $193.33 \pm 39.83$  และ  $175.00 \pm 38.19$  มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ โดยปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมของกลุ่มที่ได้รับซาโปนินทั้ง 2 ระดับ มีปริมาณต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ PBS แต่มีปริมาณไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA เพียงอย่างเดียว ( $P > 0.05$ ) (รูปที่ 4-6) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมลดลง และมีปริมาณต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ PBS เมื่ออายุ 74 และ 88 วัน (รูปที่ 4-7) เมื่อน้ำหนักตัวมากขึ้น ระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมมีแนวโน้มลดลง (รูปที่ 4-8) อย่างไรก็ตาม โคเลสเตอรอลในซีรัมจะมีปริมาณคงที่ในทุกช่วงของน้ำหนักไข้ทั้งฟอง

#### 4.2.4 ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่

ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่แดงในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ของกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ร่วมกับการใช้ซาโปนินเป็นสารช่วยกระตุ้น 2 ระดับ คือ 50 และ 100 ไมโครกรัม โดยในกลุ่มที่ใช้ซาโปนิน 50 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $23.35 \pm 3.44$ ,  $45.25 \pm 7.50$ ,  $28.48 \pm 5.23$ ,  $54.66 \pm 9.68$ ,  $42.85 \pm 18.20$ ,  $42.75 \pm 7.97$  และ  $67.64 \pm 4.88$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ และกลุ่มที่ใช้ซาโปนินที่ระดับ 100 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $20.55 \pm 2.46$ ,  $35.77 \pm 8.12$ ,  $43.18 \pm 12.88$ ,  $47.75 \pm 8.38$ ,  $50.76 \pm 8.95$ ,  $58.44 \pm 3.67$  และ  $65.05 \pm 9.69$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ โดยปริมาณโคเลสเตอรอลของกลุ่มที่ได้รับซาโปนินทั้ง 2 ระดับ มีปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่ต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ PBS ( $P > 0.05$ ) ในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 ของการทดลอง (รูปที่ 4-9) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่ทั้งฟองเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4-10)



**Figure 4-6.** Serum cholesterol of saponin group. Serum cholesterol levels after actively immunization against cholesterol-BSA in Japanese quail by using saponin as adjuvant. Serum cholesterol of all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA group (— = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50 µg saponin; — = Cholesterol- BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).

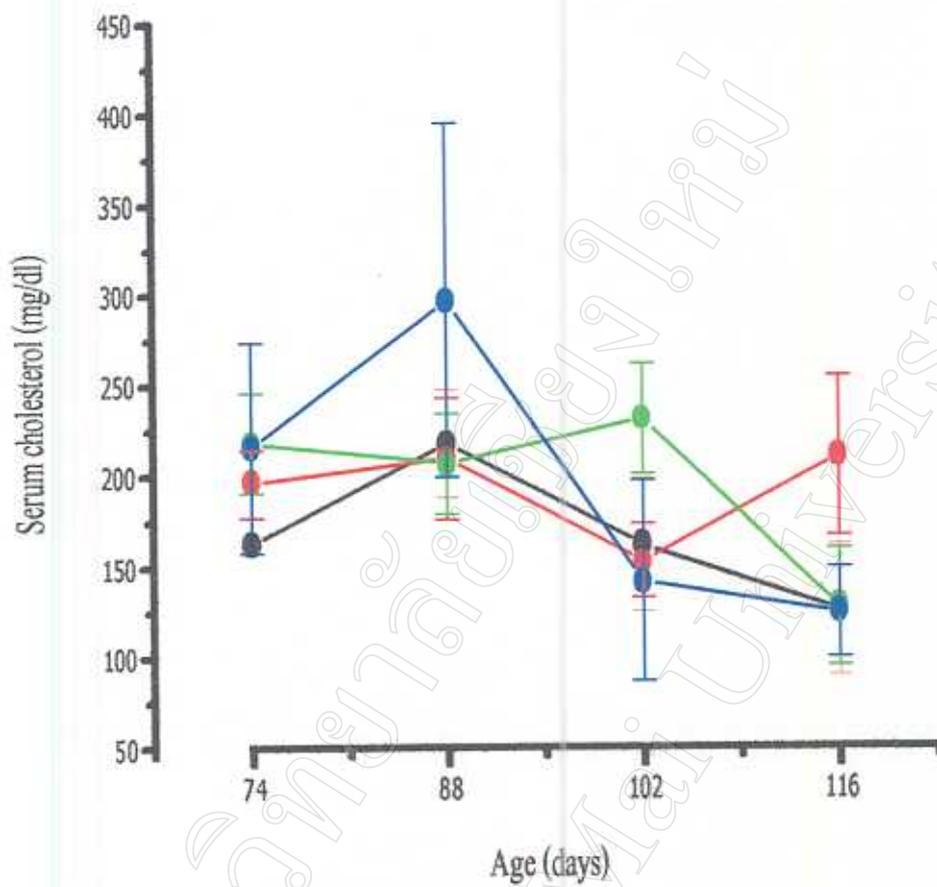


Figure 4-7. Effect of age on serum cholesterol by using saponin as adjuvant.

Serum cholesterol of all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ )

from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50 µg saponin; — = Cholesterol-BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).

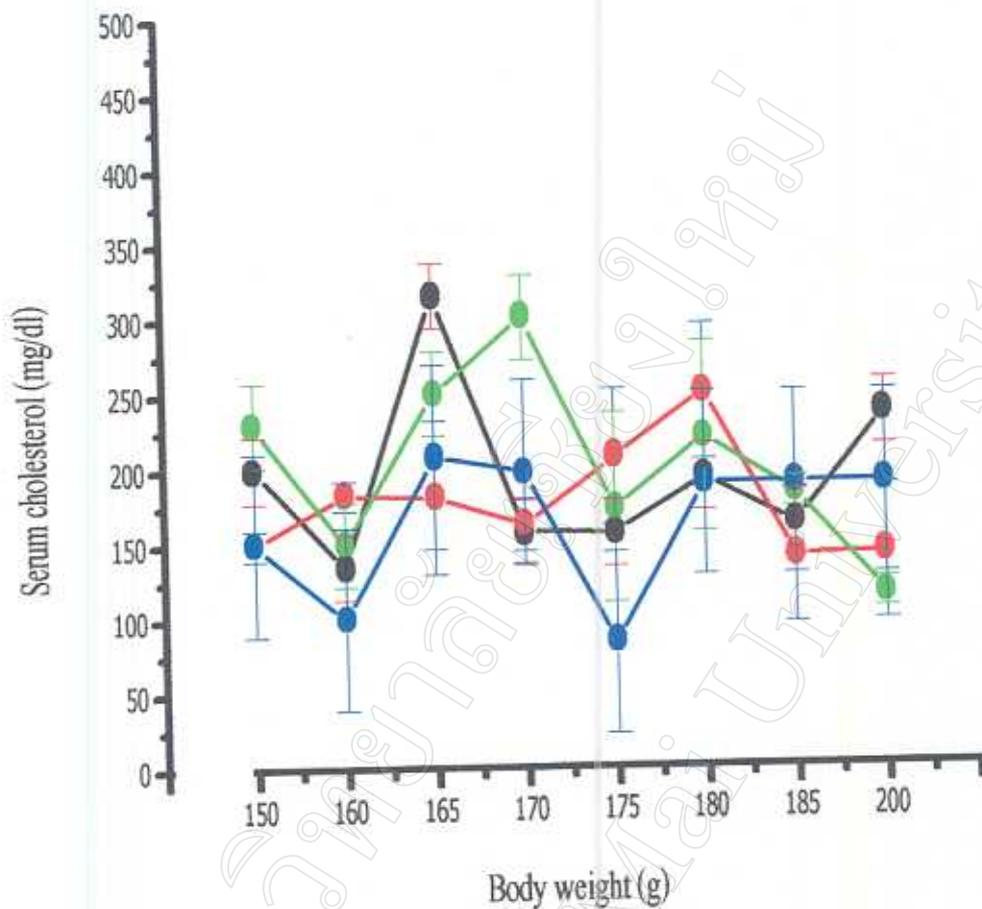
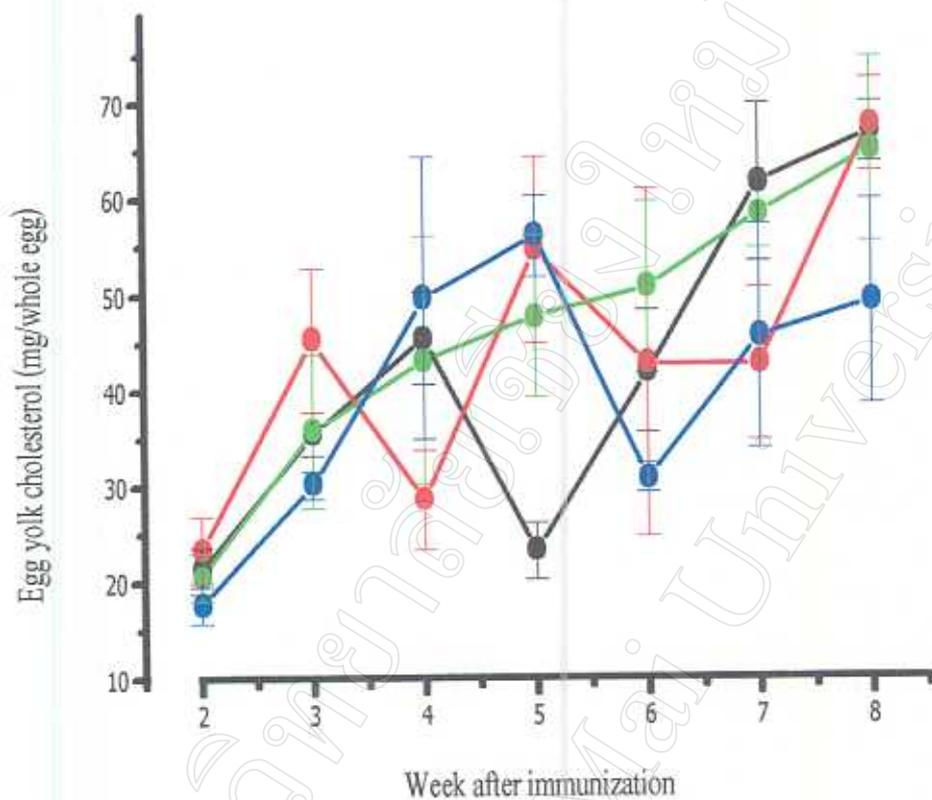


Figure 4-8. Effect of body weight on serum cholesterol by using saponin as adjuvant. Serum cholesterol of all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50  $\mu$ g saponin; — = Cholesterol-BSA + 100  $\mu$ g saponin; — = phosphate buffer saline).



**Figure 4-9.** Egg yolk cholesterol of saponin group. Egg yolk cholesterol levels after actively immunization against cholesterol-BSA in Japanese quail by using saponin as adjuvant. Egg yolk cholesterol of all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA+ 50 µg saponin; — = Cholesterol- BSA+ 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).

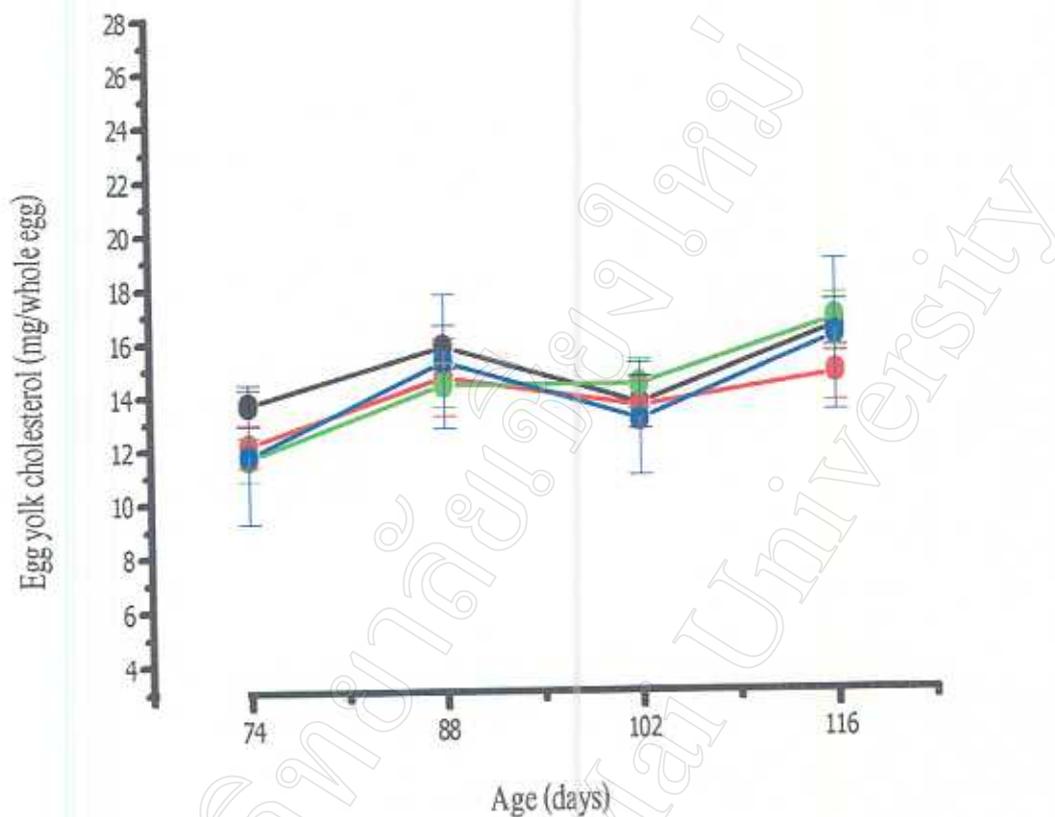
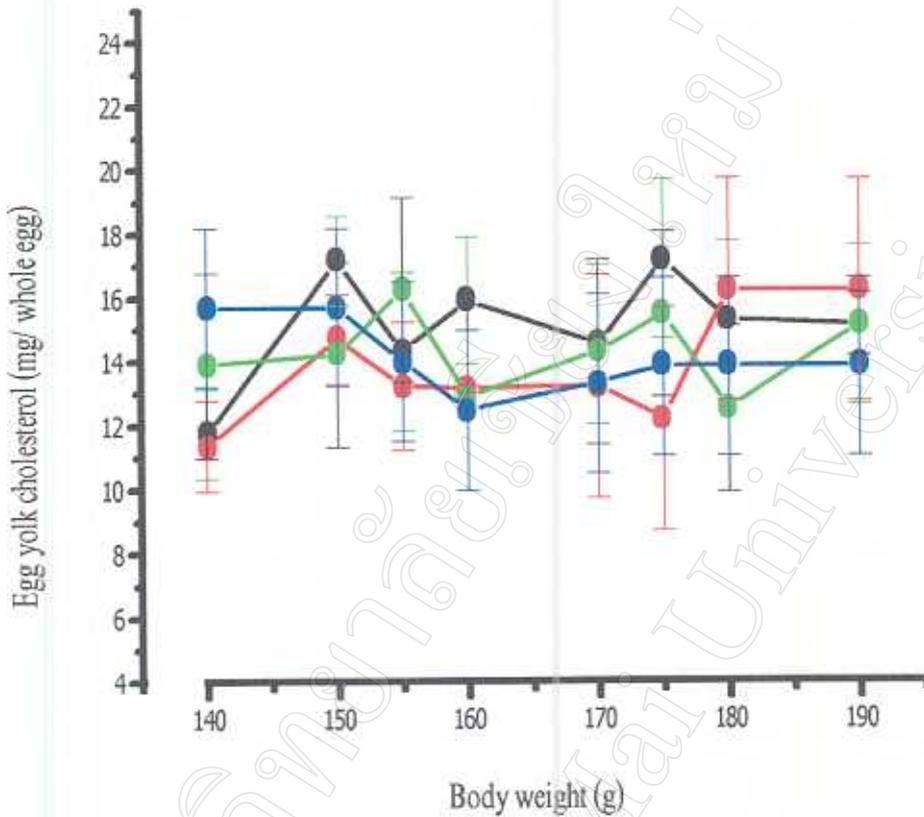


Figure 4-10. Effect of age on egg yolk cholesterol by using saponin as adjuvant.

Egg yolk cholesterol of all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50 µg saponin; — = Cholesterol-BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline)



**Figure 4-11.** Effect of body weight on egg yolk cholesterol by using saponin as adjuvant. Egg yolk cholesterol of all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50 µg saponin; — = Cholesterol-BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).

#### 4.2.5 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดง

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดงในสัปดาห์ที่ 2, 4, 6 และ 8 ของกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ร่วมกับการใช้ซาโปนินเป็นสารช่วยกระตุ้น 2 ระดับ คือ 50 และ 100 ไมโครกรัม โดยในกลุ่มที่ใช้ซาโปนิน 50 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $38.61 \pm 1.66$ ,  $37.00 \pm 0.74$ ,  $37.06 \pm 1.65$  และ  $35.30 \pm 0.38$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และกลุ่มที่ใช้ซาโปนินที่ระดับ 100 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $38.25 \pm 3.11$ ,  $36.05 \pm 1.25$ ,  $35.66 \pm 1.72$  และ  $38.11 \pm 0.38$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงที่ได้รับซาโปนินทั้ง 2 ระดับ มีเปอร์เซ็นต์ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA และ PBS ( $P > 0.05$ ) (รูปที่ 4-12) อย่างไรก็ตาม เมื่อจนกระทั่งมีอาการมากขึ้น เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงจะคงที่ตลอดการทดลอง (รูปที่ 4-13)

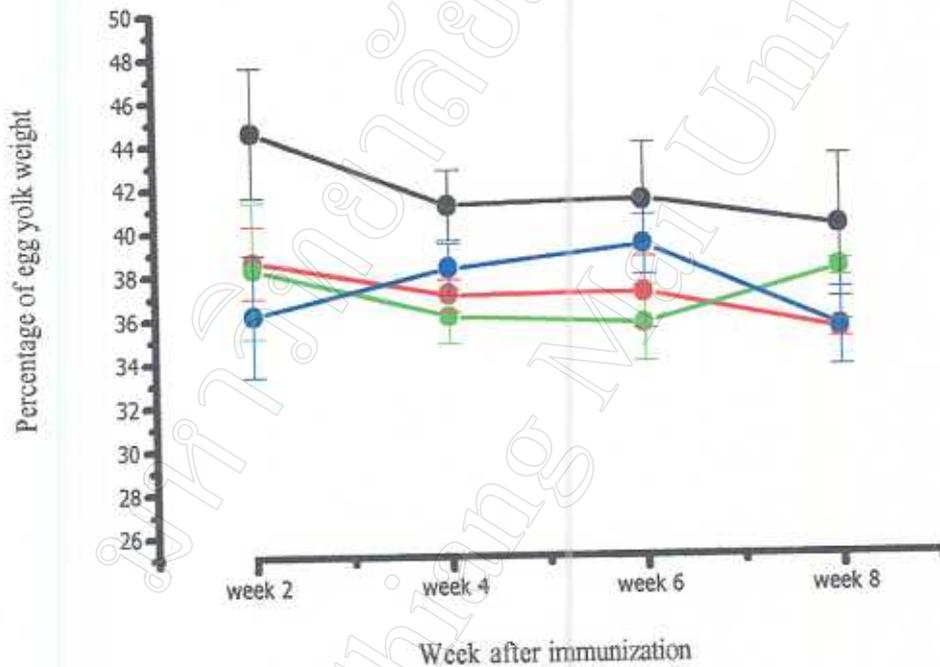
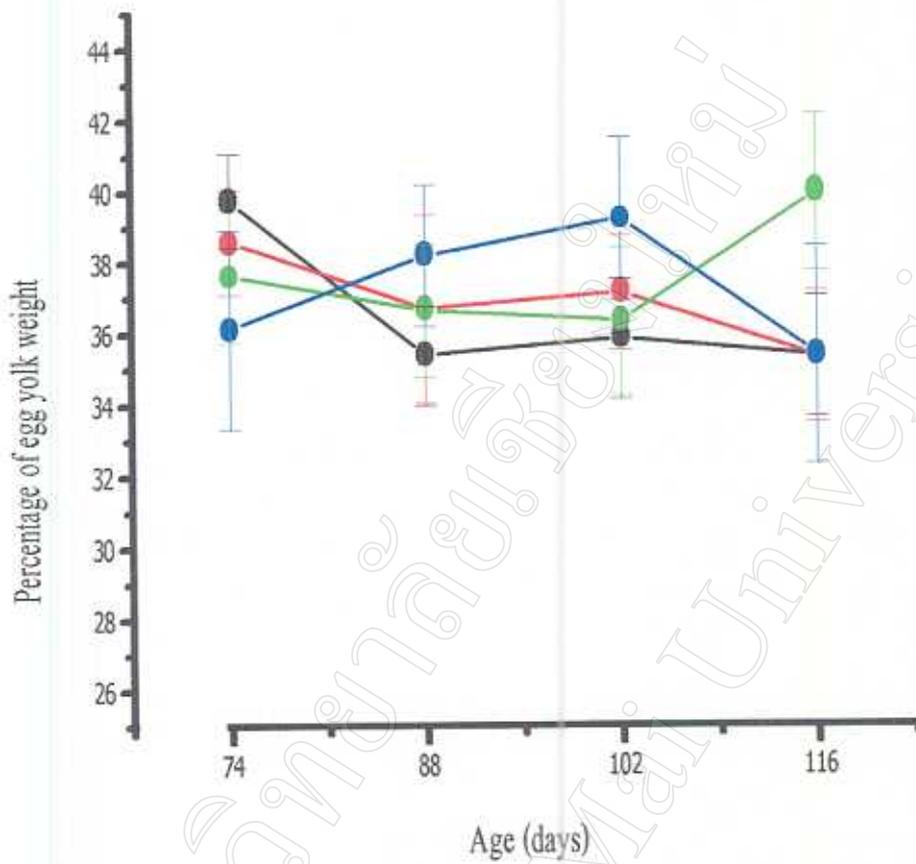


Figure 4-12. Percentage of egg yolk weight of saponin group. Percentage of egg yolk weight after actively immunization against cholesterol-BSA in Japanese quail by using saponin as adjuvant. Percentage of egg yolk weight of all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol- BSA; — = Cholesterol-BSA+ 50 µg saponin; — = Cholesterol-BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).



**Figure 4-13.** Effect of age on percentage of egg yolk weight by using saponin as adjuvant. Percentage of egg yolk weight of all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 50 µg saponin; — = Cholesterol-BSA + 100 µg saponin; — = phosphate buffer saline).

### 4.3 ผลการใช้ไลโปโซมเป็นสารช่วยกระตุ้นต่อ ก. การผลิตแอนติบอดี ข. การเปลี่ยนแปลงระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมและในไข่ ค. เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดง

#### 4.3.1 ผลการเตรียมไลโปโซม

##### 4.3.1.1 ประเภทของไลโปโซม

นำไลโปโซมที่เตรียมได้ ย้อมด้วย 0.07 % ammonium molybdate นำไปส่องได้กล้องที่กำลังขยาย 2,500 เท่า ทำการวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลาง พบว่าไลโปโซมที่เตรียมได้ มี 2 ประเภทคือ ไลโปโซมขนาดใหญ่ที่มีผนังสองชั้นหลายชั้น (large multilamellar vesicle, LMV) และ ไลโปโซมขนาดใหญ่ที่มีผนังสองชั้นเพียงชั้นเดียว (large unilamellar vesicle, LUV) โดยใช้ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางในการแยกประเภทไลโปโซม ไลโปโซมประเภท LMV มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 14.685 ไมโครเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางของผนังสองชั้นเท่ากับ 0.783 ไมโครเมตร ไลโปโซมประเภท LUV มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 4.895 ไมโครเมตร



Figure 4-14. Depicted multilamellar vesicle (diameter = 14.685 micron (a) and bilayer diameter = 0.783 micron (b), 2500x).



Figure 4-15. Large unilamellar vesicle (diameter = 4.895 micron, 2500x).

#### 4.3.1.2 ประสิทธิภาพการกักเก็บ cholesterol-BSA ของไลโปโซม ที่เตรียมได้

เมื่อนำ cholesterol-BSA ที่กักเก็บในไลโปโซมไปย่อยด้วย Triton X-100 ที่ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ เพื่อทำการย่อยผนังสองชั้น (double layer) ให้ปลดปล่อย cholesterol-BSA ออกมา และนำมาทดสอบคุณสมบัติการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง spectrophotometer และคำนวณประสิทธิภาพการกักเก็บแอนติเจนของ ไลโปโซม ได้ค่าเท่ากับ 1:2.10 กล่าวคือ ในไลโปโซม 2.10 โมเลกุล จะพบว่ามี 1 โมเลกุลที่เก็บกักแอนติเจนไว้ 1 โมเลกุล (Table 3) จำนวนตามวิธีการของ Erlanger *et al.* (1957) จากสมการ  $O.D. = \epsilon CI$  (Beer's law) เมื่อ  $O.D.$  = ค่าการดูดกลืนแสง,  $\epsilon$  = สัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง (ต่อโมล-ซม.) (molar extinction coefficient,  $M^{-1}cm^{-1}$ ),  $C$  = ความเข้มข้นของสารละลาย (โมล) (concentration, g/l; M),  $I$  = ระยะทางที่แสงส่องผ่านสารละลาย (ซม.) (length of light path, cm)

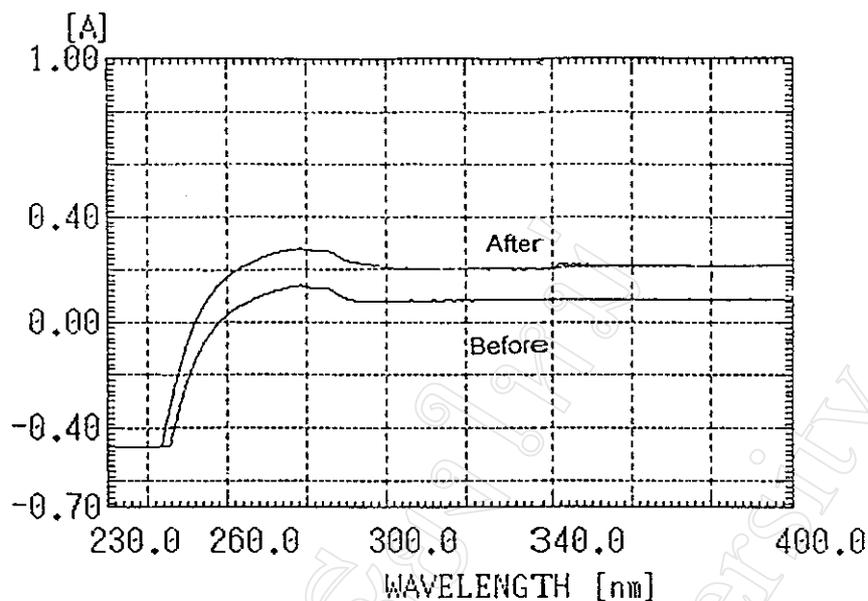


Figure 4-16. Absorbance at 230-400 nm of liposome before and after digestion by Triton X-100.

Table 4. The efficiency of cholesterol-BSA entrapped liposome

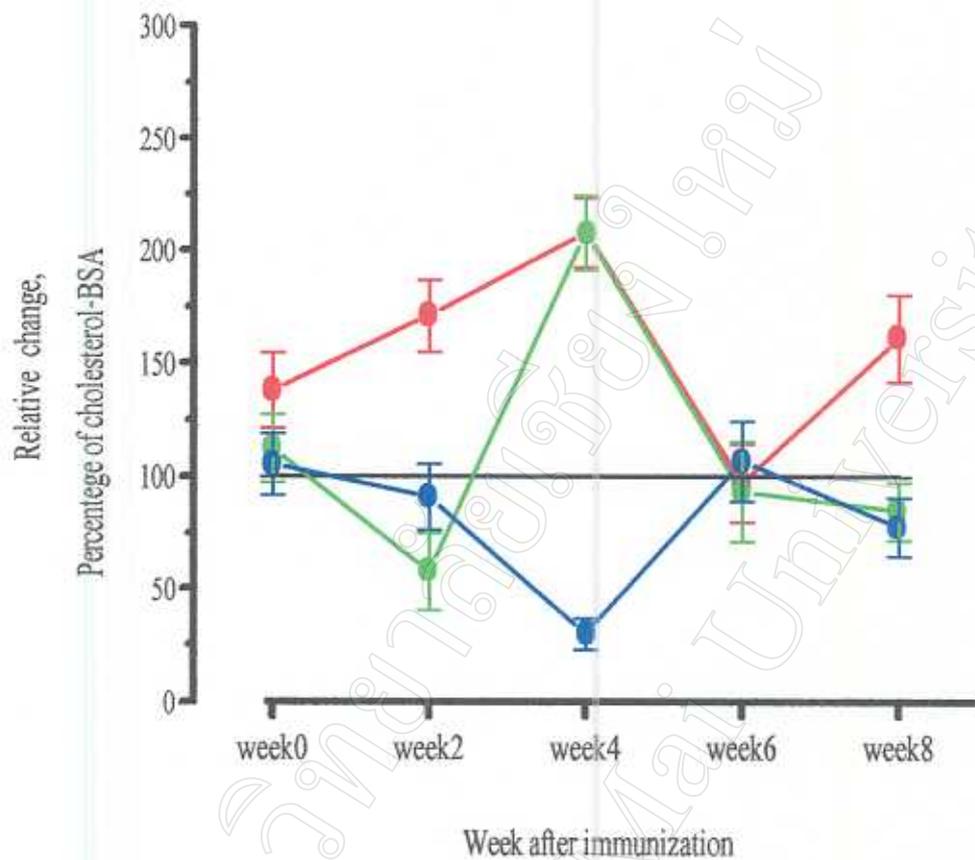
ขั้นตอนการคำนวณ	ผลการคำนวณ
ค่าการดูดกลืนแสง UV ของ cholesterol-BSA-liposome หลังย่อย, O.D	0.282
ค่าการดูดกลืนแสง UV ของ cholesterol-BSA-liposome ก่อนย่อย, O.D	0.140
ผลต่าง, O.D	0.142
ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง ( $\epsilon$ ) ของ cholesterol-BSA-liposome	9,300
มวล โมเลกุลของ liposome	509.26
มวล โมเลกุลของ cholesterol-BSA	68,000
ความเข้มข้นของ cholesterol-BSA-liposome, โมล	0.0000152
ความเข้มข้นของ cholesterol-BSA-liposome, กรัม/ลิตร	0.00774
ความเข้มข้นของ cholesterol-BSA-liposome, มิลลิกรัม/ลิตร	7.776
ความเข้มข้นของ cholesterol-BSA, มิลลิกรัม/ลิตร	500
ความเข้มข้นของ cholesterol-BSA ที่ถูกกักเก็บ, โมล	0.00000724
อัตราส่วน liposome:cholesterol-BSA (ได้จากการคำนวณ)	2.10:1
ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด	278

#### 4.3.2 การผลิตแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอล

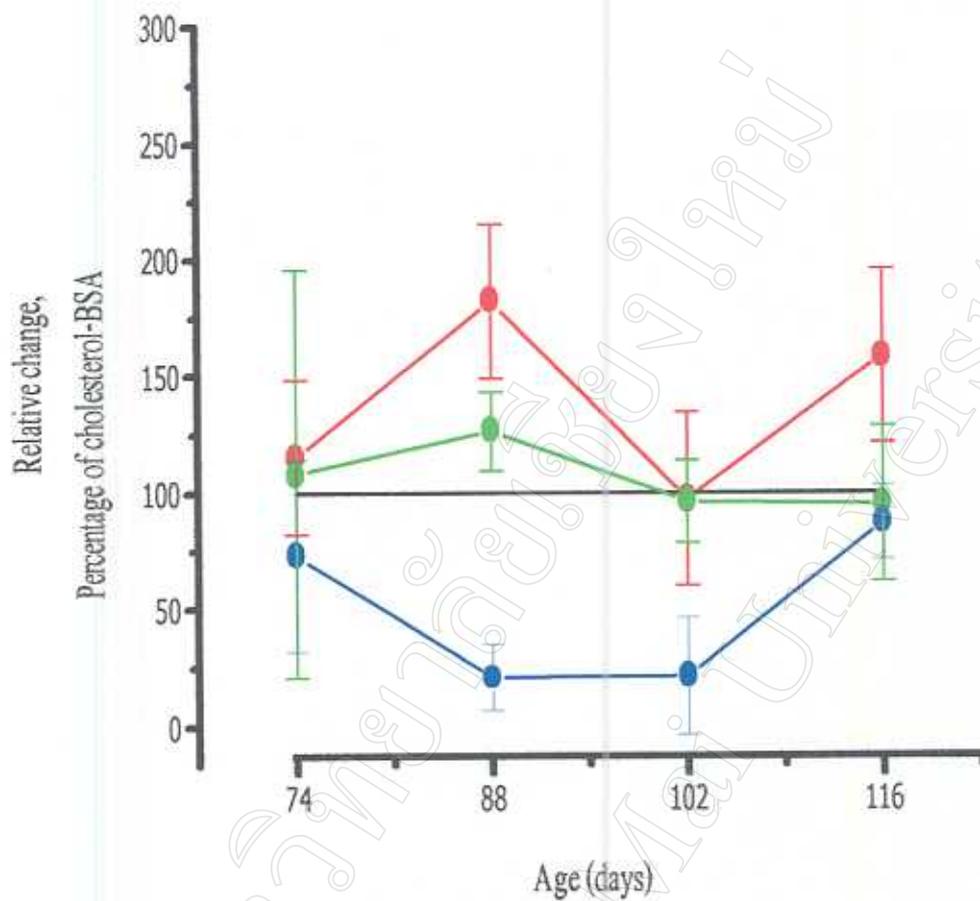
ระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลในกลุ่มที่ใช้ไลโปโซม 1,400 ไมโครกรัม มีค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย  $\pm$  S.E. ในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 หรือที่อายุ 60, 74, 88, 102 และ 116 วัน เท่ากับ  $0.22 \pm 0.08$ ,  $0.45 \pm 0.20$ ,  $1.45 \pm 0.40$ ,  $0.34 \pm 0.11$  และ  $0.56 \pm 0.11$  ตามลำดับหรือ มีค่า percentage relative เท่ากับ  $137.89 \pm 16.59$ ,  $170.81 \pm 15.91$ ,  $207.92 \pm 15.60$ ,  $96.99 \pm 17.14$  และ  $161.00 \pm 69.23$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ระดับแอนติบอดีต่อโคเลสเตอรอลในกลุ่มที่ใช้ไลโปโซม 2,800 ไมโครกรัม มีค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $0.18 \pm 0.02$ ,  $0.15 \pm 0.06$ ,  $1.45 \pm 0.31$ ,  $0.33 \pm 0.02$  และ  $0.30 \pm 0.09$  ตามลำดับหรือ มีค่า percentage relative เท่ากับ  $112.61 \pm 15.09$ ,  $57.42 \pm 17.40$ ,  $207.82 \pm 16.62$ ,  $93.04 \pm 22.26$  และ  $84.36 \pm 13.00$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ระดับแอนติบอดีสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง หรือที่อายุ 88 วัน และลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 6 โดยมีระดับแอนติบอดีสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA เพียงอย่างเดียว อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (รูปที่ 4-17) นกกระทาที่ชั่งน้ำหนักตัว 170-180 กรัม จะเป็นช่วงที่มีระดับแอนติบอดีสูงสุด (รูปที่ 4-19) อย่างไรก็ตาม ระดับแอนติบอดี ไม่แตกต่างกันในทุกช่วงน้ำหนักไข่ทั้งฟอง

#### 4.3.3 ปริมาณ Immunoglobulin Y (IgY)

ปริมาณ IgY ในกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ร่วมกับการใช้ไลโปโซม 2 ระดับ คือ 1,400 และ 2,800 ไมโครกรัม โดยในกลุ่มที่ได้รับไลโปโซมที่ระดับ 1,400 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $6.36 \pm 0.06$ ,  $2.79 \pm 0.59$ ,  $5.20 \pm 0.71$  และ  $3.81 \pm 0.36$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ และในกลุ่มที่ได้รับไลโปโซมที่ระดับ 2,800 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $6.09 \pm 0.30$ ,  $3.00 \pm 0.10$ ,  $3.44 \pm 0.24$  และ  $4.62 \pm 0.38$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับโดยปริมาณ IgY ของกลุ่มที่ได้รับไลโปโซมทั้ง 2 ระดับจะมีปริมาณสูงขึ้น ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง (รูปที่ 4-20) และเมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณ IgY จะเพิ่มสูงขึ้น (รูปที่ 4-21)



**Figure 4-17.** Change in antibody against cholesterol-BSA by using liposome as adjuvant. Results are expressed relative to the cholesterol-BSA group. Changes in all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 1,400µg liposome; — = Cholesterol- BSA + 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline ).



**Figure 4-18.** Effect of age on antibody against cholesterol-BSA by using liposome as adjuvant. Results are expressed relative to the cholesterol-BSA group. Changes in all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 1,400 µg liposome; — = Cholesterol-BSA + 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline ).

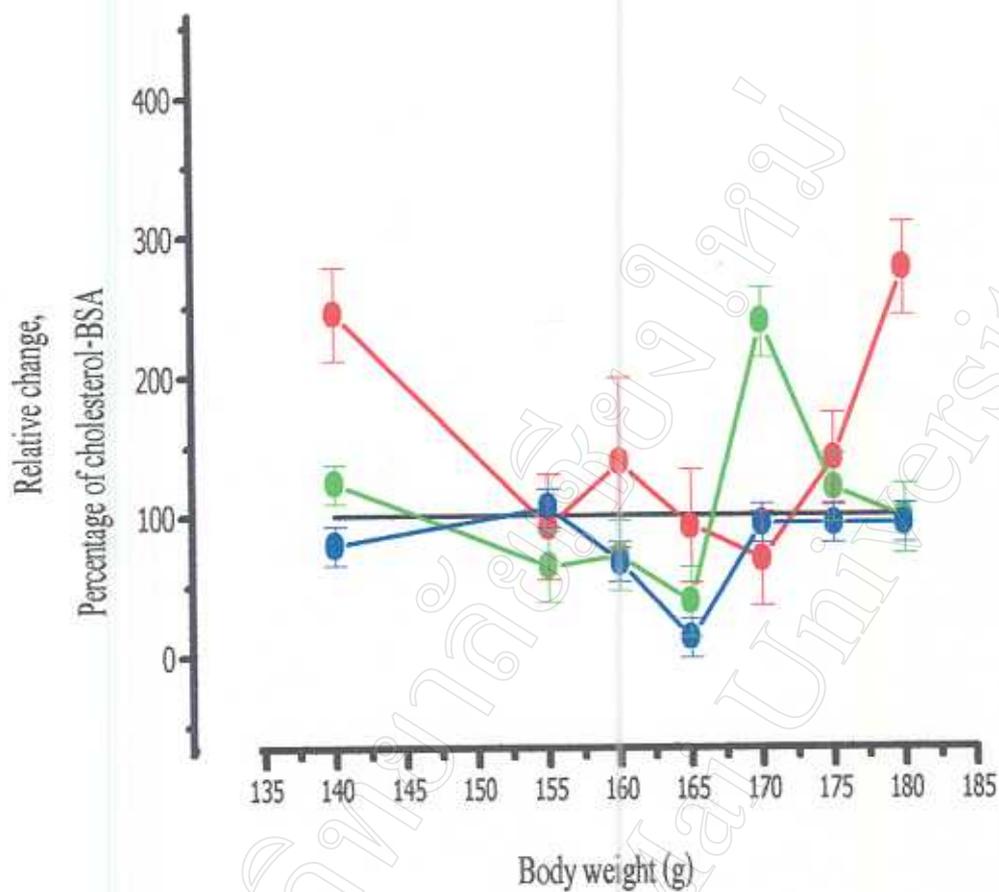
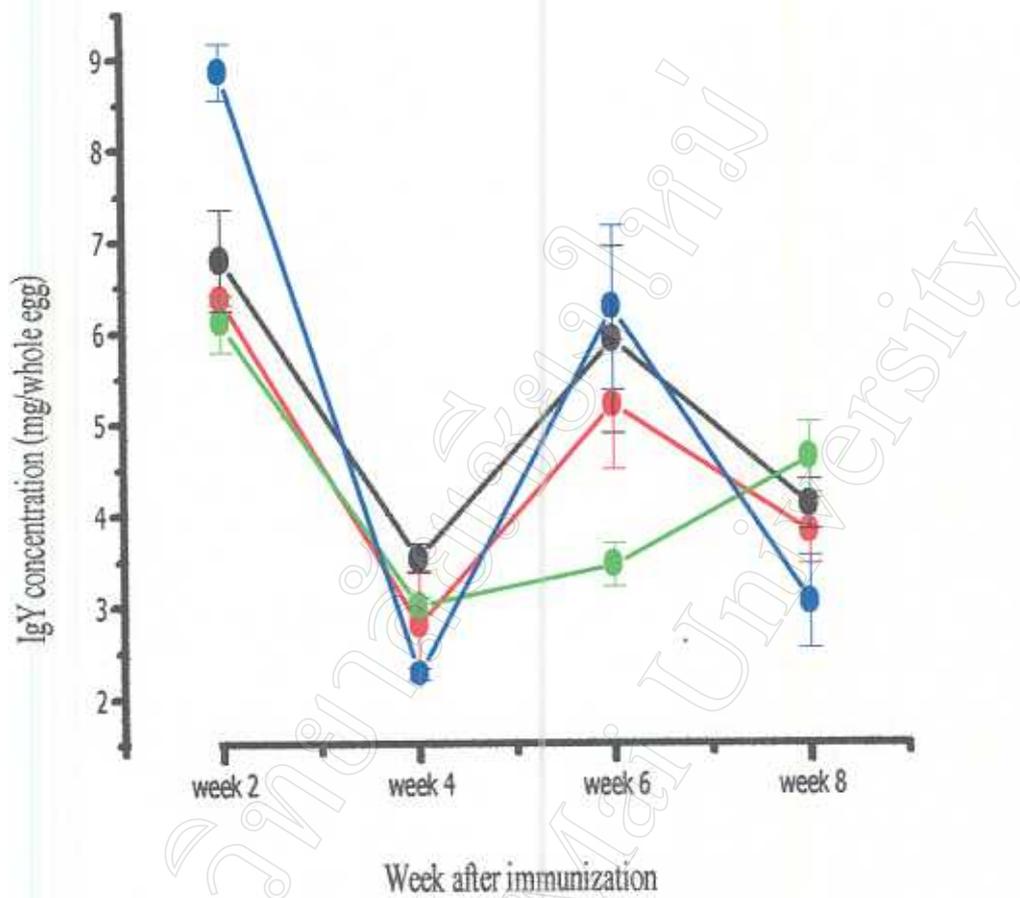
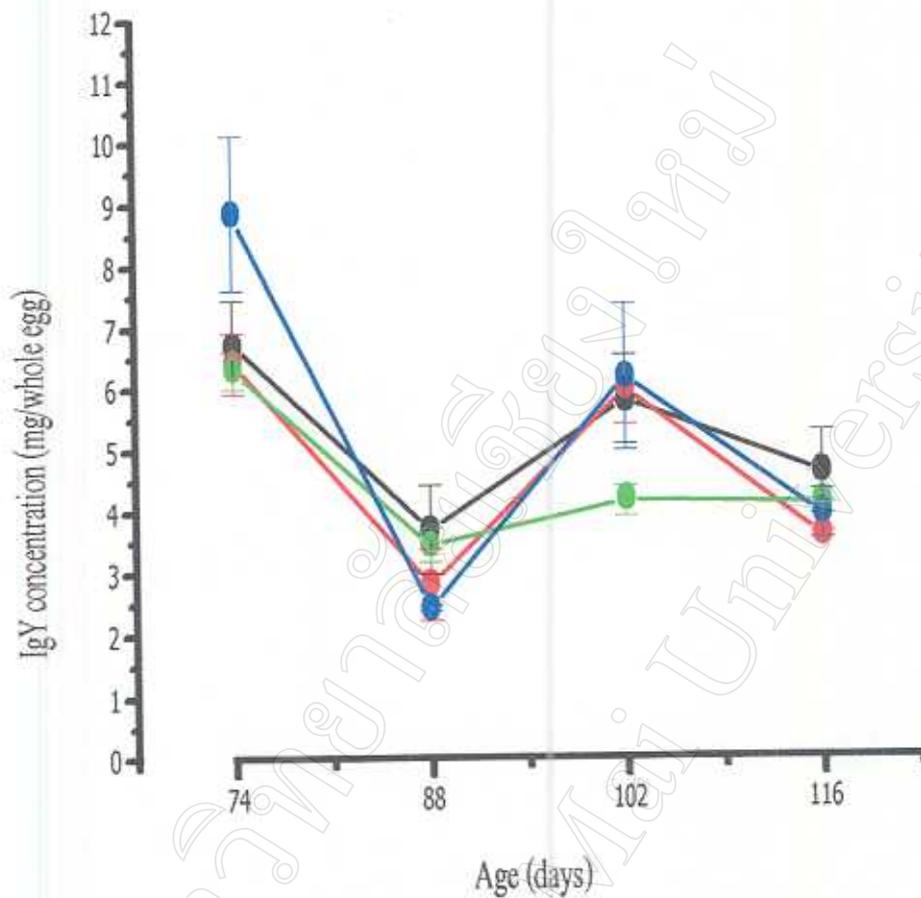


Figure 4-19. Effect of body weight on antibody against cholesterol-BSA by using liposome as adjuvant. Results are expressed relative to the cholesterol-BSA group. Change in all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 1,400 µg liposome; — = Cholesterol-BSA + 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline).



**Figure 4-20.** Immunoglobulin Y (IgY) of liposome group. IgY concentration after actively immunization against cholesterol-BSA in Japanese quail by using liposome as adjuvant. IgY concentration of all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA+ 1,400 µg liposome; — = Cholesterol- BSA+ 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline)



**Figure 4-21.** Effect of age on IgY concentration by using liposome as adjuvant.

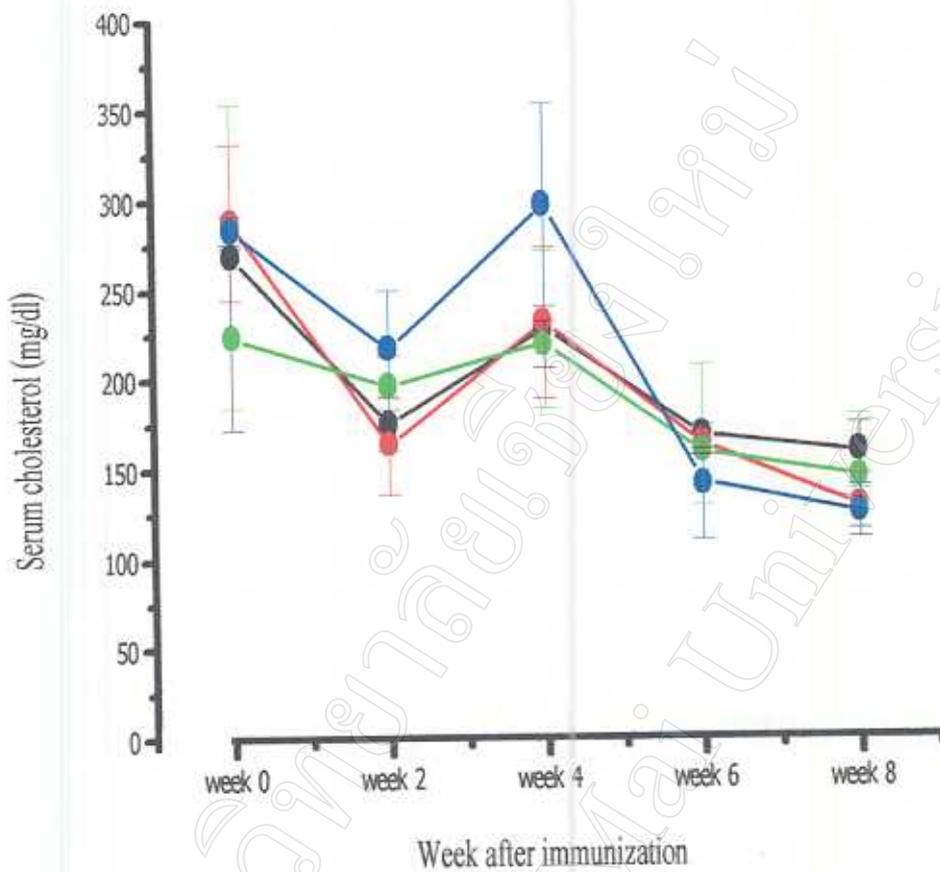
IgY concentration of all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group (— = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 1,400 µg liposome; — = Cholesterol-BSA + 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline).

#### 4.3.4 ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัม

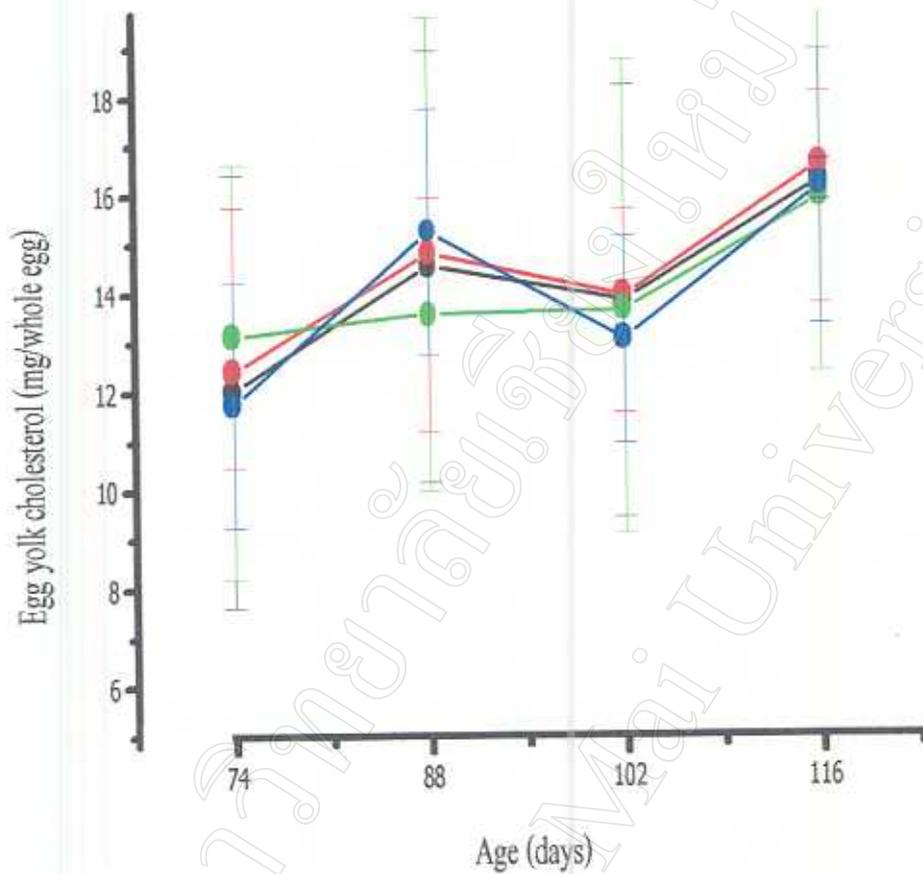
ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ร่วมกับการใช้ไลโปโซมเป็นสารช่วยกระตุ้น 2 ระดับ คือ 1,400 และ 2,800 ไมโครกรัม โดยในกลุ่มที่ใช้ไลโปโซม 1,400 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $288.33 \pm 43.43$ ,  $163.33 \pm 27.28$ ,  $231.17 \pm 42.06$ ,  $163.33 \pm 6.01$  และ  $128.33 \pm 17.40$  มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ และกลุ่มที่ใช้ไลโปโซมที่ระดับ 2,800 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $323.33 \pm 151.12$ ,  $196.00 \pm 17.35$ ,  $219.33 \pm 12.99$ ,  $158.33 \pm 1.67$  และ  $145.00 \pm 29.30$  มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ โดยปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมของกลุ่มที่ได้รับไลโปโซมทั้ง 2 ระดับ มีปริมาณต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ PBS แต่มีปริมาณไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA เพียงอย่างเดียว ( $P>0.05$ ) (รูปที่ 4-22) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัมลดลง และมีปริมาณต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ PBS เมื่ออายุ 74 และ 88 วัน (รูปที่ 4-23) และเมื่อน้ำหนักตัวมากขึ้น ระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมมีแนวโน้มลดลง (รูปที่ 4-24) อย่างไรก็ตาม โคเลสเตอรอลในซีรัมจะมีปริมาณคงที่ในทุกช่วงของน้ำหนักไข้ทั้งฟอง

#### 4.3.5 ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่

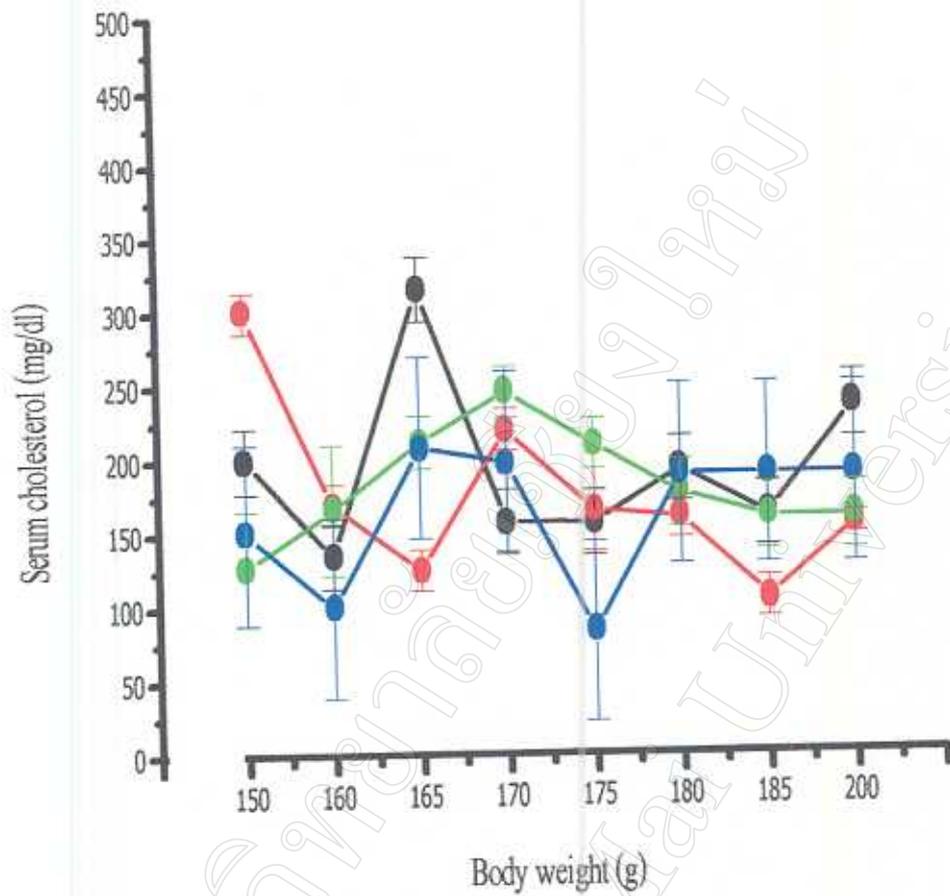
ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่แดงในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ของกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ร่วมกับการใช้ไลโปโซมเป็นสารช่วยกระตุ้น 2 ระดับ คือ 1,400 และ 2,800 ไมโครกรัม โดยในกลุ่มที่ใช้ไลโปโซม 1,400 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $21.76 \pm 5.68$ ,  $31.80 \pm 7.00$ ,  $40.21 \pm 3.58$ ,  $49.50 \pm 4.47$ ,  $42.07 \pm 2.95$ ,  $50.97 \pm 4.10$  และ  $70.97 \pm 3.81$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ และกลุ่มที่ใช้ไลโปโซมที่ระดับ 2,800 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $27.37 \pm 2.15$ ,  $29.56 \pm 3.92$ ,  $29.93 \pm 1.38$ ,  $53.30 \pm 4.14$ ,  $32.65 \pm 2.59$ ,  $51.65 \pm 3.27$  และ  $67.29 \pm 2.05$  มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ โดยกลุ่มที่ได้รับไลโปโซมทั้ง 2 ระดับ มีปริมาณต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ PBS ( $P>0.05$ ) ในสัปดาห์ที่ 4 และ 5 ของการทดลอง ( $P>0.05$ ) (รูปที่ 4-25) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น ปริมาณโคเลสเตอรอลในไข่ทั้งฟองเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4-26)



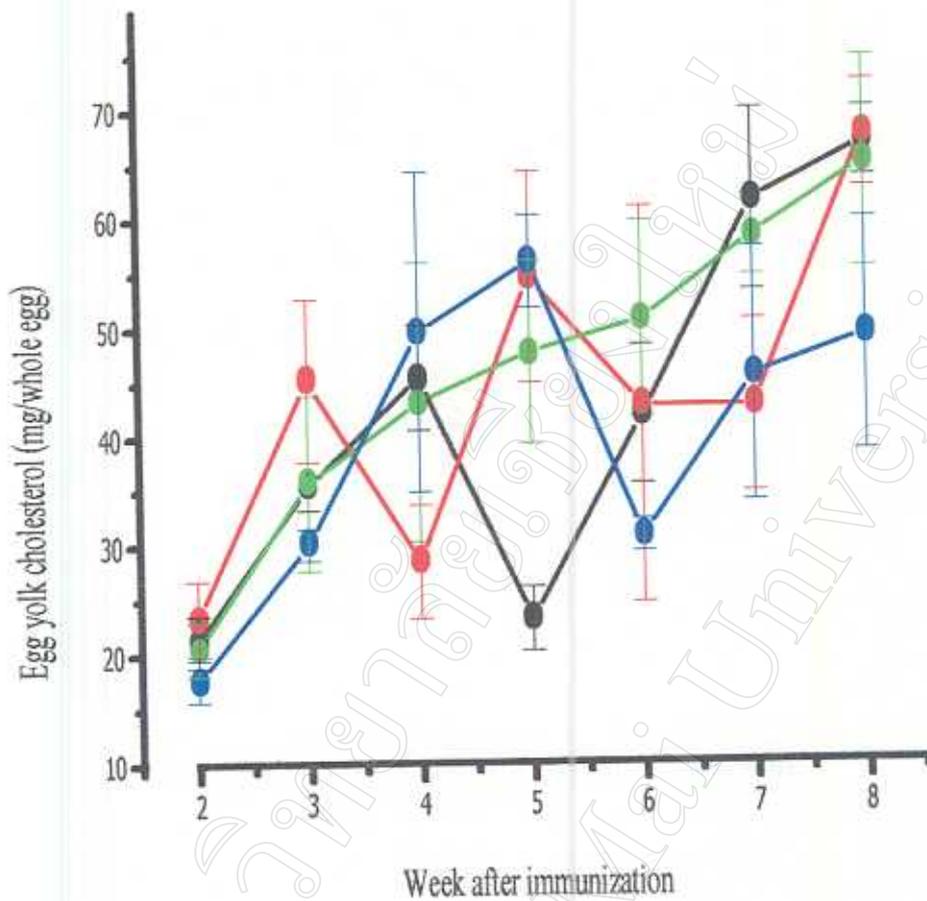
**Figure 4-22.** Serum cholesterol of liposome group. Serum cholesterol levels after actively immunization against cholesterol-BSA in Japanese quail by using liposome as adjuvant. Serum cholesterol of all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA+ 1,400 µg liposome; — = Cholesterol- BSA+ 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline).



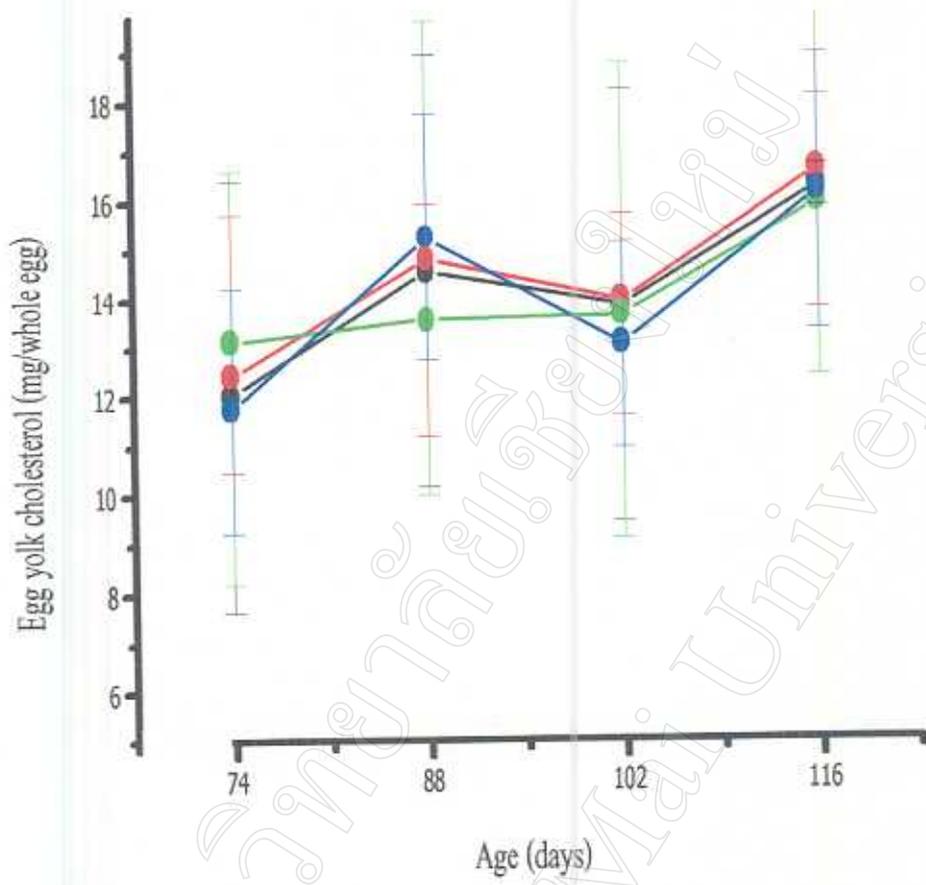
**Figure 4-23.** Effect of age on serum cholesterol by using liposome as adjuvant. Serum cholesterol of all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA+ 1,400 µg liposome; — = Cholesterol-BSA+ 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline).



**Figure 4-24.** Effect of body weight on serum cholesterol by using liposome as adjuvant. Serum cholesterol of all three group were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 1,400 µg liposome; — = Cholesterol-BSA + 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline)



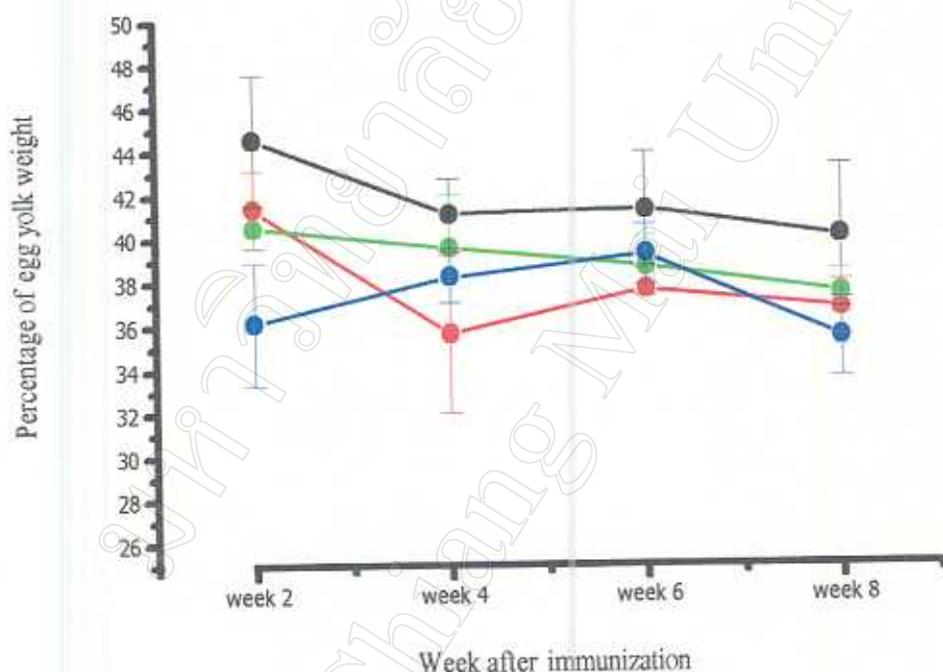
**Figure 4-25.** Egg yolk cholesterol of liposome group. Egg yolk cholesterol levels after actively immunization against cholesterol-BSA in Japanese quail by using liposome as adjuvant. Egg yolk cholesterol of all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA+ 1,400 µg liposome; — = Cholesterol- BSA+ 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline).



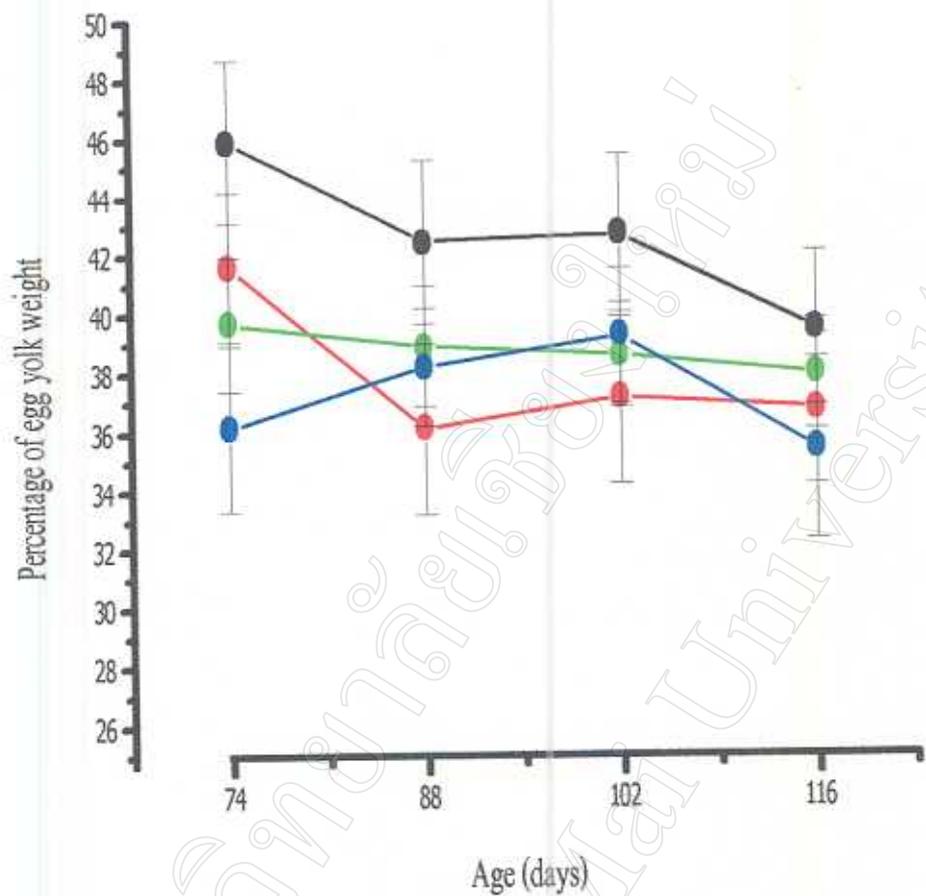
**Figure 4-26.** Effect of age on egg yolk cholesterol by using liposome as adjuvant. Egg yolk cholesterol of all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 1,400 µg liposome; — = Cholesterol-BSA + 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline).

#### 4.3.6 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดง

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักไข่แดงในสัปดาห์ที่ 2, 4, 6 และ 8 ของกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA ร่วมกับการใช้ไลโปโซมเป็นสารช่วยกระตุ้น 2 ระดับ คือ 1,400 และ 2,800 ไมโครกรัม โดยในกลุ่มที่ใช้ไลโปโซม 1,400 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $41.39 \pm 1.81$ ,  $35.64 \pm 3.64$ ,  $37.69 \pm 0.26$  และ  $36.76 \pm 1.27$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และกลุ่มที่ใช้ไลโปโซมที่ระดับ 2,800 ไมโครกรัม มีค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ ตามลำดับ  $40.52 \pm 0.90$ ,  $39.57 \pm 2.45$ ,  $38.70 \pm 1.39$  และ  $37.49 \pm 1.03$  เปอร์เซ็นต์ โดยเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงที่ได้รับไลโปโซมทั้ง 2 ระดับ มีเปอร์เซ็นต์ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA และ PBS ( $P > 0.05$ ) (รูปที่ 4-27) เมื่อนกกระทามีอายุมากขึ้น เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดงจะคงที่ตลอดการทดลอง (รูปที่ 4-28)



**Figure 4-27.** Percentage of egg yolk weight of liposome group. Percentage of egg yolk weight after actively immunization against cholesterol-BSA in Japanese quail by using liposome as adjuvant. Percentage of egg yolk weight of all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA+ 1,400 µg liposome; — = Cholesterol- BSA+ 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline).



**Figure 4-28.** Effect of age on percentage of egg yolk weight by using liposome as adjuvant. Percentage of egg yolk weight of all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = Cholesterol-BSA + 1,400 µg liposome; — = Cholesterol-BSA + 2,800 µg liposome; — = phosphate buffer saline).

#### 4.4 ผลการเปรียบเทียบการผลิตแอนติบอดีโดยการกระตุ้นแบบ subcutaneous injection และ oral administration

##### 4.4.1 กลุ่มที่ใช้ซาโปนินเป็นสารช่วยกระตุ้น

ระดับแอนติบอดีคือ โคลสเตอร์รอด โดยวิธีการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง(subcutaneous injection) หรือ การป้อนให้กิน (oral administration) ในกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA 1,000 ไมโครกรัม ร่วมกับซาโปนินที่ระดับ 100 ไมโครกรัม พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย  $\pm$  S.E. ในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของกลุ่มที่กระตุ้นแอนติบอดีโดยวิธีฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เท่ากับ  $0.14 \pm 0.02$ ,  $0.57 \pm 0.15$ ,  $1.77 \pm 0.60$ ,  $0.32 \pm 0.04$  และ  $0.25 \pm 0.08$  ตามลำดับหรือ มีค่า percentage relative เท่ากับ  $88.85 \pm 22.73$ ,  $216.72 \pm 33.27$ ,  $254.66 \pm 26.93$ ,  $90.80 \pm 16.32$  และ  $71.20 \pm 26.14$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และกลุ่มที่กระตุ้นแอนติบอดีโดยวิธีป้อนให้กิน มีค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $0.32 \pm 0.05$ ,  $0.32 \pm 0.06$ ,  $1.46 \pm 0.45$ ,  $0.35 \pm 0.02$  และ  $0.55 \pm 0.23$  ตามลำดับหรือ มีค่า percentage relative เท่ากับ  $203.46 \pm 23.76$ ,  $123.90 \pm 12.56$ ,  $209.65 \pm 51.95$ ,  $98.03 \pm 14.53$  และ  $158.52 \pm 50.30$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 4-29) พบว่า ระดับแอนติบอดีในกลุ่มที่กระตุ้นโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง มีระดับสูงกว่ากลุ่มที่กระตุ้นโดยการป้อนให้กินอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) โดยเริ่มเห็นความแตกต่างในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง และมีระดับแอนติบอดีสูงสุดในสัปดาห์ที่ 4

##### 4.4.2 กลุ่มที่ใช้ไลโปโซมเป็นสารช่วยกระตุ้น

ระดับแอนติบอดีคือ โคลสเตอร์รอด โดยวิธีการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous injection) หรือ การป้อนให้กิน (oral administration) ในกลุ่มที่ได้รับ cholesterol-BSA 1,000 ไมโครกรัม ร่วมกับไลโปโซมที่ระดับ 2,800 ไมโครกรัม พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย  $\pm$  S.E. ในกลุ่มที่กระตุ้นโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ในสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 เท่ากับ  $0.18 \pm 0.02$ ,  $0.15 \pm 0.16$ ,  $1.45 \pm 0.31$ ,  $0.33 \pm 0.02$  และ  $0.30 \pm 0.09$  ตามลำดับหรือ มีค่า percentage relative เท่ากับ  $112.61 \pm 15.09$ ,  $57.42 \pm 17.40$ ,  $207.82 \pm 16.62$ ,  $93.04 \pm 22.26$  และ  $84.36 \pm 13.00$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในกลุ่มที่กระตุ้นโดยการป้อนให้กิน มีค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย  $\pm$  S.E. เท่ากับ  $0.18 \pm 0.01$ ,  $0.27 \pm 0.11$ ,  $3.00 \pm 0.17$ ,  $0.27 \pm 0.04$  และ  $0.70 \pm 0.23$  ตามลำดับหรือ มีค่า percentage relative เท่ากับ  $112.23 \pm 28.51$ ,  $105.22 \pm 6.10$ ,  $431.90 \pm 46.40$ ,  $75.41 \pm 14.18$  และ  $199.23 \pm 22.60$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 4-30) ระดับแอนติบอดีคือ โคลสเตอร์รอดในกลุ่มที่กระตุ้นโดยการป้อนให้กินมีระดับสูงกว่ากลุ่มที่กระตุ้นโดยการ

ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง โดยเห็นความแตกต่างอย่างชัดเจนในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง แต่ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

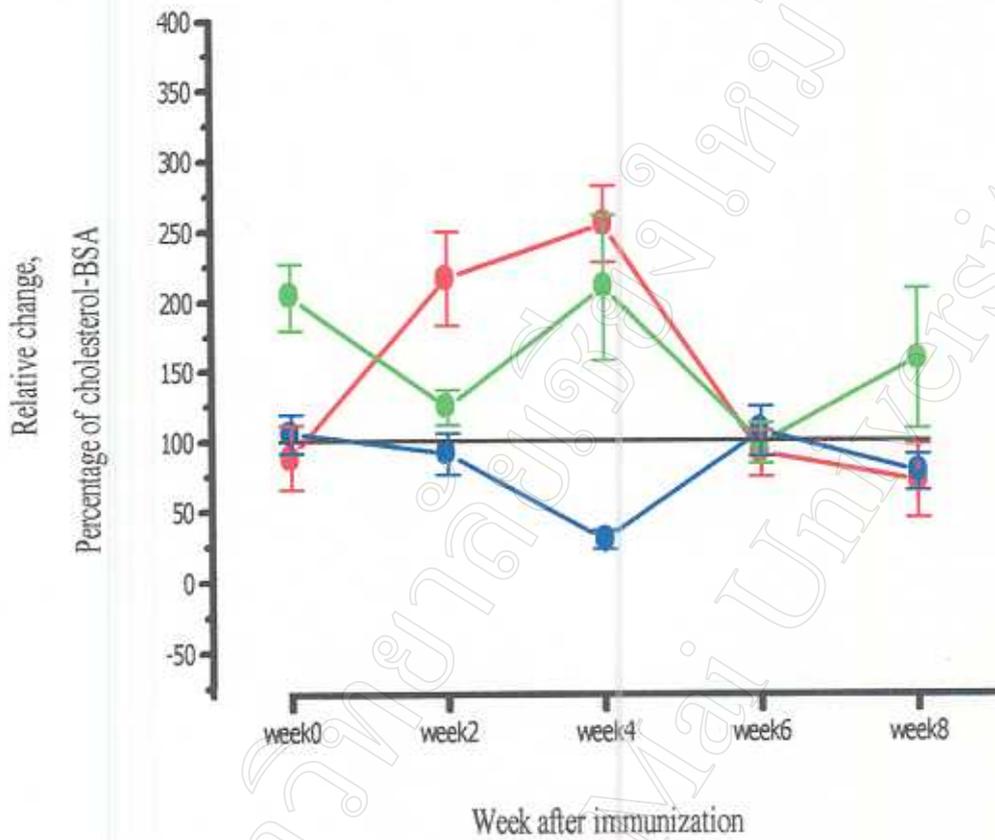


Figure 4-29. Change in antibody against cholesterol-BSA of using saponin as adjuvant by subcutaneous injection ( — ) or oral administration ( — ). Results are expressed relative to the cholesterol-BSA group. Changes in all three groups were no significantly difference ( $P>0.05$ ) from the cholesterol-BSA group ( — = Cholesterol-BSA; — = phosphate buffer saline).

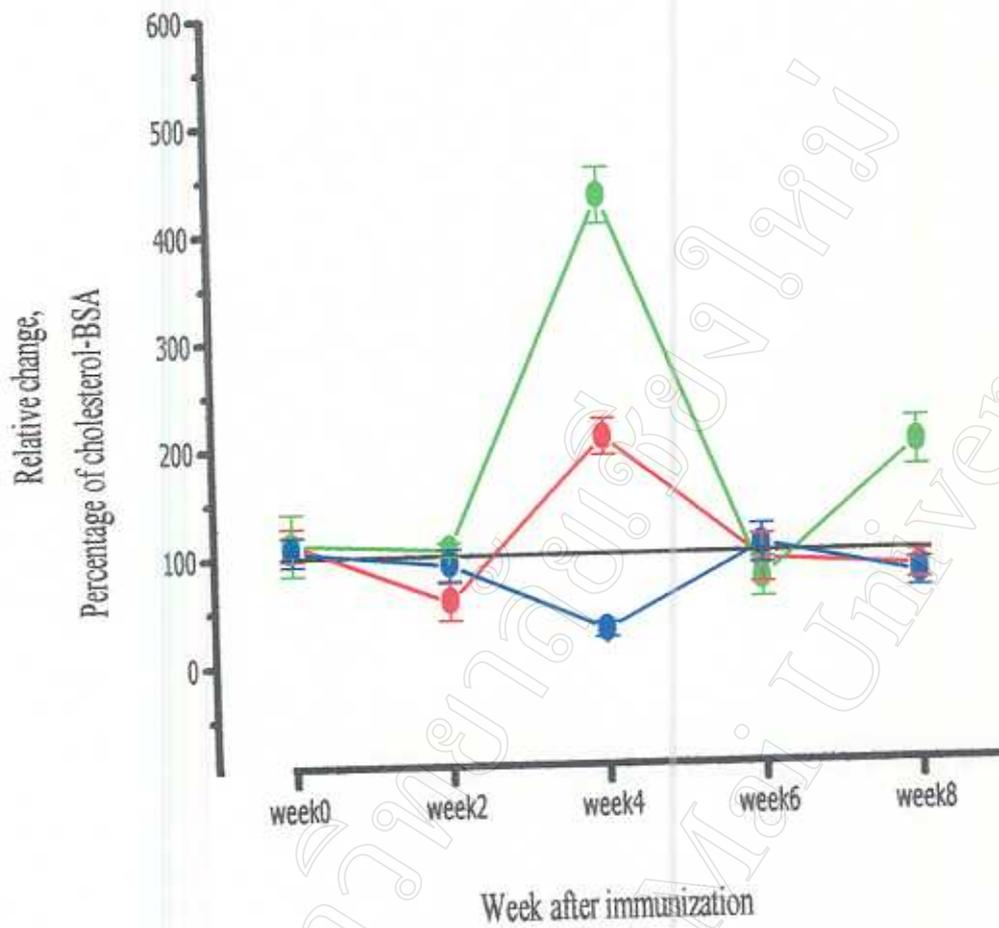


Figure 4-30. Change in antibody against cholesterol-BSA of using liposome as adjuvant by subcutaneous injection (—) or oral administration (—). Results are expressed relative to the cholesterol-BSA group. Changes in all three groups were no significantly difference ( $P > 0.05$ ) from the cholesterol-BSA group (— = Cholesterol-BSA; — = phosphate buffer saline).