

**EFFECTS OF CONSUMPTION OF SOYBEAN OIL, RICE BRAN OIL,
PALM OIL, AND COMBINATION OF RICE BRAN OIL AND PALM OIL
ON LIPOPROTEIN COMPOSITIONS AND LDL OXIDATION
IN THAI HYPERCHOLESTEROLEMIC WOMEN**



TEERANART UTARWUTHIPONG

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (NUTRITION)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2007

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

Thesis
Entitled

**EFFECTS OF CONSUMPTION OF SOYBEAN OIL, RICE BRAN OIL,
PALM OIL, AND COMBINATION OF RICE BRAN OIL AND PALM OIL
ON LIPOPROTEIN COMPOSITIONS AND LDL OXIDATION
IN THAI HYPERCHOLESTEROLEMIC WOMEN**

Teeranart Utarwuthipong

Mrs. Teeranart Utarwuthipong
Candidate

Surat Komindr, M.D.

Prof. Surat Komindr, M.D.
Major-Advisor

Varapat Pakpeankitvatana

Asst. Prof. Varapat Pakpeankitvatana, D.Sc.
Co-Advisor

Sriwatana Songchitsomboon

Asst. Prof. Sriwatana Songchitsomboon, D.Sc.
Co-Advisor

Sunard Taechangam

Lect. Sunard Taechangam, Ph.D.
Co-Advisor

Prof. M.R. Jisnuson Svasti

Prof. M.R. Jisnuson Svasti, Ph.D.
Dean
Faculty of Graduate Studies

Surat Komindr, M.D.

Prof. Surat Komindr, M.D. F.R.C.P.(T)
Chair
Doctor of Philosophy Programme in Nutrition
Faculty of Medicine, Ramathibodi
Hospital and Institute of Nutrition

Thesis
Entitled

**EFFECTS OF CONSUMPTION OF SOYBEAN OIL, RICE BRAN OIL,
PALM OIL, AND COMBINATION OF RICE BRAN OIL AND PALM OIL
ON LIPOPROTEIN COMPOSITIONS AND LDL OXIDATION
IN THAI HYPERCHOLESTEROLEMIC WOMEN**

was submitted to the Faculty of Graduate Studies, Mahidol University
for the degree of Doctor of Philosophy (Nutrition)

on
March 1, 2007

Teeranart Utarwuthipong

Mrs. Teeranart Utarwuthipong
Candidate

Surat Komindr, MD

Prof. Surat Komindr
M.D., F.R.C.P.(T)
Member

Prasong Tienboon

Assoc. Prof. Prasong Tienboon,
M.D., F.R.C.Ped.T, MCN, FICN, Ph.D
Chair

Varapat Pakpeankitvatana

Asst. Prof. Varapat Pakpeankitvatana,
D.Sc. (Nutrition)
Member

Sriwatana Songchitsomboon

Asst. Prof. Sriwatana Songchitsomboon
D.Sc. (Nutrition)
Member

Sunard Taechangam

Lect. Sunard Taechangam,
Ph.D. (Clinical Sciences)
Member

Emorn Wasantwisut

Assoc. Prof. Emorn Wasantwisut, Ph.D
Director
Institute of Nutrition
Mahidol University

Rajata Rajatanavin

Prof. M.R. Jisnuson Svasti, Ph.D,
Dean
Faculty of Graduate Studies
Mahidol University

Rajata Rajatanavin

Prof. Rajata Rajatanavin, M.D.F.A.C.E
Dean
Faculty of Medicine, Ramathibodi Hos
Mahidol University

ACKNOWLEDGEMENT

The success of this thesis can be ascribed to the bless support and assistance from many professors and institution. I owe a great debt of gratitude to my major advisor, Prof. Dr. Surat Komindr for his excellent and constructive guidance, supervision, valuable suggestions and encouragement throughout my study. My deepest gratitude is also expressed to Assoc. Prof. Varapat Pakpeankitwatana, my co-advisor, for her kindness, many valuable advice, technique and facilities in biochemical assessment. I am very grateful for Assoc. Prof. Dr. Sriwatana Songchitsomboon, my co-advisor, for her kindness and helpful valuable suggestions. I am very grateful for Dr. Sunard Taechagam, my co-advisors, for her kindness and excellent suggestion in the study design.

I am very grateful for Prof. Dr. Boonsirm Withyachumnarnkul, at the Shrimp Center, Faculty of Sciences for Ultracentrifuge instrument, Mr. Pravit Santiwattana at Thai Edible Oil Co., LTD for Gas Chromatography machine.

My special thanks go to Miss Nisakorn Thongmuang, Miss Yupin Wisetphanit at the Research Center and Miss Wuntanee Suksri at Thai Edible Oil Co., LTD. for their guidance, and assistance my general laboratory works. I would like to thank Mrs. Piyanee Rattanachamnong at department of pharmacology for her guided and teach me in ultracentrifuge and LDL oxidation techniques.

I would like to sincerely thank Dr. Orawan Puchaiwatanan for kindness, suggestion and helpful comments, Miss Chuleekorn Sornsuvit and Mr. Taveesak Techakriengkrai for their friendliness and care me throughout nutrition program study.

This study was supported by the Faculty of Graduate Studies Grant, Mahidol University and Thai Edible Oil Co., LTD. Finally, I am grateful to my family for their love, care, support, understanding and encouragement.

Teeranart Utarwuthipong

EFFECTS OF CONSUMPTION OF SOYBEAN OIL, RICE BRAN OIL, PALM OIL AND COMBINATION OF RICE BRAN OIL AND PALM OIL ON LIPOPROTEIN COMPOSITIONS AND LDL OXIDATION IN THAI HYPERCHOLESTEROLEMIC WOMEN

TEERANART UTARWUTHIPONG 4436573 NUNU/D

Ph.D. (NUTRITION)

THESIS ADVISORS: SURAT KOMINDR, M.D.(MEDICINE), VARAPAT PAKPEANKITVATANA, D.SC.(NUTRITION), SRIWATANA SONGCHITSOMBOON, D.SC.(NUTRITION), SUNARD TAECHANGAM, PH.D.(CLINICAL SCIENCE)

ABSTRACT

Objectives: To investigate the effects of consumption of soybean oil (SBO), rice bran oil (RBO), palm oil (PO) and combination of rice bran and palm oils (RBO-PO, 3:1) in Thai diet on lipoprotein composition and LDL oxidation, in phenotype II hypercholesterolemic participants.

Method: Sixteen hypercholesterolemic women (Type IIa) participated in a random order study. At baseline (8 wk), the diet was designed to contain carbohydrate, protein and fat as 55, 15, 30 % of energy, cholesterol intake <300 mg/d, and used self-selected vegetable oils 20% of energy. In experimental period (each 10 wk), individual participants continued to have the same dietary composition while using one of 4 vegetable oils, i.e SBO (PUFA), RBO (PUFA+MUFA), PO (SFA), and RBO-PO,(3:1) (MUFA) in a random order. At the end of each intervention, participants were evaluated on lipid profile, lipoprotein fraction composition (cholesterol, triglyceride), LDL fraction compositions (fatty acids), and LDL oxidation.

Results: After dietary interventions, TC and LDL-C were significantly reduced by SBO, RBO and RBO-PO (3:1) while, HDL-C was decreased in SBO ($p<0.05$). TG level was not significantly changed. A significant reduction of cholesterol in LDL₁-C, LDL₂-C and LDL₃-C were found after using SBO and RBO-PO (3:1) ($p<0.05$). Cholesterol in LDL₁-C and LDL₂-C were significantly reduced by RBO while cholesterol in LDL₁-C and LDL₂-C fraction increased by PO ($p<0.05$). The fatty acid constituent in LDL fractions, palmitic and oleic acids were reduced by SBO but increased by PO ($p<0.05$). Linoleic and linolenic acids were increased by SBO, but reduced by PO ($p<0.05$). All lag time was significantly reduced by SBO, but increased by PO ($p<0.05$). Lag time of LDL₃-C, in particular, was increased by RBO, RBO-PO (3:1), and PO ($p<0.05$).

Conclusions: Consumption of SBO and RBO-PO (3:1) enhanced reduction of TC, LDL and cholesterol in LDL₁-C, LDL₂-C and LDL₃-C. TC, LDL and cholesterol in LDL₁-C and LDL₂-C were reduced by RBO while LDL₁-C, LDL₂-C and LDL₃-C were increased by PO. However, SBO decreased HDL-C. SBO had higher susceptibility to LDL oxidation than PO, RBO-PO (3:1) and RBO.

KEY WORDS: SOYBEAN OIL (SBO) / RICE BRAN OIL (RBO) / PALM OIL (PO) /RICE BRAN AND PALM OIL (RBO-PO) / ATHEROGENIC INDEX /LDL FRACTION / LAG TIME / LDL OXIDATION

138 P.

ผลการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันรำข้าว, น้ำมันปาล์ม และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์มต่อ ส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการเกิดออกซิเดชันของไขมันคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำในหญิงไทยที่มีไขมันคอเลสเตอรอลในเลือดสูง (EFFECTS OF CONSUMPTION OF SOYBEAN OIL, RICE BRAN OIL, PALM OIL AND COMBINATION OF RICE BRAN OIL AND PALM OIL ON LIPOPROTEIN COMPOSITIONS AND LDL OXIDATION IN THAI HYPERCHOLESTEROLEMIC WOMEN)

ธีรนาถ อุทารวุฒิจพงศ์ 4436573 NUNU/D

ปร.ศ. (โภชนศาสตร์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สุรัตน์ โคมินทร์, M.D.(Medicine), วราภัสร์ พากเพียรกิจวัฒนา, D.Sc. (Nutrition), ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบุญ, D.Sc. (Nutrition), สุนาฏ เตชางาม, Ph.D. (Clinical sciences)

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาผลการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันรำข้าว, น้ำมันปาล์ม และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์ม (3:1) ต่อส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการออกซิเดชันในไขมันคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำในหญิงไทยที่มีไขมันคอเลสเตอรอลในเลือดสูง

วิธีการ: ผู้เข้าร่วมโครงการเป็นหญิงที่มีไขมันคอเลสเตอรอลในเลือดสูง จำนวน 16 คน ในระยะปรับฐาน 8 สัปดาห์ ผู้เข้าร่วมโครงการจะต้องรับประทานอาหารตามข้อแนะนำที่ถูกสัดส่วน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ร้อยละ 55, 15 และ 30 ของพลังงานรวม ตามลำดับ รับประทานปริมาณคอเลสเตอรอลจากอาหาร น้อยกว่า 300 มิลลิกรัมต่อวัน และรับประทานน้ำมันพืชที่เลือกโดยตนเอง ร้อยละ 20 ของพลังงานรวม ในระยะทดลอง ผู้เข้าร่วมโครงการทำการจับผลกลุ่มเลือดใช้น้ำมันพืชชนิดต่างๆ ใช้น้ำมัน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม และน้ำมันผสมระหว่าง น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันปาล์ม (3:1) โดยทดลองครั้งละชนิด ชนิดละ 10 สัปดาห์ ติดตามผลการศึกษาโดยเปรียบเทียบระดับไขมันในเลือด, ไขมันในส่วนประกอบไลโปโปรตีน, กรดไขมันชนิดต่างๆ ในส่วนประกอบของไขมันคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำ และการเกิดออกซิเดชันในส่วนประกอบของไขมันคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำ

ผลการศึกษา: พบว่าน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์ม (3:1) สามารถลดระดับไขมัน TC และ LDL-C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำมันถั่วเหลืองมีผลลดระดับ HDL-C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับไขมัน TG น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์ม (3:1) สามารถลดระดับไขมันคอเลสเตอรอลใน LDL₁-C, LDL₂-C และ LDL₃-C ส่วนน้ำมันรำข้าวสามารถลดระดับไขมันคอเลสเตอรอลใน LDL₁-C และ LDL₂-C ได้ แตกต่างจากน้ำมันปาล์มทำให้ระดับคอเลสเตอรอลใน LDL₁-C และ LDL₂-C เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำมันถั่วเหลืองทำให้ระดับกรดไขมันพาลิติกและโอเลอิกที่เป็นส่วนประกอบใน LDL fractions ลดลง แต่น้ำมันปาล์มมีระดับสูงขึ้น ในขณะที่น้ำมันถั่วเหลืองทำให้ระดับกรดไขมันไลโนเลอิกและไลโนเลนิกที่เป็นส่วนประกอบใน LDL fractions เพิ่มขึ้น แต่น้ำมันปาล์มมีระดับลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำมันถั่วเหลืองมีผลทำให้ค่า Lag time ลดลงแต่น้ำมันปาล์มมีผลทำให้ค่า Lag time เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะใน LDL₃-C พบว่าน้ำมันรำข้าว น้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์ม และน้ำมันปาล์มมีผลทำให้ค่า Lag time เพิ่มขึ้น

สรุป: การบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์ม (3:1) ช่วยลดระดับ TC และ LDL-C และระดับไขมันคอเลสเตอรอลใน LDL fractions ทั้งหมด ในขณะที่น้ำมันรำข้าวช่วยลดระดับ TC, LDL-C และระดับไขมันคอเลสเตอรอลใน LDL₁-C และ LDL₂-C แต่ม้ำมันปาล์มกลับมีผลทำให้ระดับคอเลสเตอรอลใน LDL₁-C, LDL₂-C และ LDL₃-C เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการกินน้ำมันถั่วเหลืองมีผลทำให้ค่า HDL ลดลง และเกิดกระบวนการออกซิเดชันของ LDL ได้เร็วกว่าการกินน้ำมันชนิดอื่น (น้ำมันปาล์ม, น้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าวและน้ำมันปาล์ม (3:1) และน้ำมันรำข้าว)

CONTENTS

	Page
ACKNOWLEDGEMENT	iii
ABSTRACT (ENGLISH)	iv
ABSTRACT (THAI)	v
LIST OF TABLES	viii
LIST OF FIGURES	ix
LIST OF ABBREVIATIONS	xi
CHAPTER	
I INTRODUCTION	
1.1 Rational of the study	1
1.2 Objectives of the study	3
II LITERATURE REVIEW	
2.1 Lipoprotein metabolism	4
2.2 Lipoprotein composition	7
2.3 Small dense LDL and atherogenesis	11
2.4 Mechanism of LDL oxidation	13
2.5 Atherosclerotic coronary heart disease	14
2.6 Management of hypercholesterolemia	16
2.7 Vegetable oils	19
2.8 Effect of diet modification and vegetable oils on lipoprotein	22
III MATERIALS AND METHODS	
3.1 Participants	26
3.2 Method	27
3.3 Nutritional assessment methodology	32
3.4 Statistical analysis	35

CONTENTS (Continued)

	Page
IV RESULTS	
4.1 Baseline	36
4.1.1 Participant characteristic	36
4.1.2 Diet intervention	36
4.1.3 Biochemical parameter in participants	37
4.2 After receiving the dietary interventions	38
4.2.1 Participant characteristic	38
4.2.2 Diet intervention	38
4.2.3 Biochemical parameter in participants	38
V DISCUSSION	73
VI CONCLUSION	80
REFERENCES	82
APPENDIX	95
BIOGRAPHY	138

LIST OF TABLES

Table		Page
2-1	Classification, properties and composition of human serum lipoprotein	7
2-2	LDL-C goals and cut-point for therapy in different risk categories	16
2-3	Nutrient composition of the TLC diet	17
2-4	Fatty acid composition of edible vegetable oils in Thailand	20
2-5	Effect of vegetable oils and dietary interventions on lipid profiles	23
3-1	Dietary interventions	29
3-2	Schedule of dietary interventions	30
3-3	Schedule of nutritional measurement	31
4-1	Characteristics of the participants at baseline	41
4-2	Fatty acid compositions of the tested vegetable oils by analysis	42
4-3	Oxidative stability index (OSI) of vegetable oils	42
4-4	Biochemical parameters of participants at baseline	43
4-5	Anthropometric parameter in participants following during diet intervention	45
4-6	Intake of nutrients during the dietary interventions	46
4-7	Lipid profile in participants at baseline and at different oil intervention	47
4-8	Lipoprotein fractions in participants at baseline and at different oil intervention	48
4-9	Fatty acids in LDL subfractions after different vegetable oils interventions	49
4-10	Lagtime in LDL subfractions after different oil interventions	51

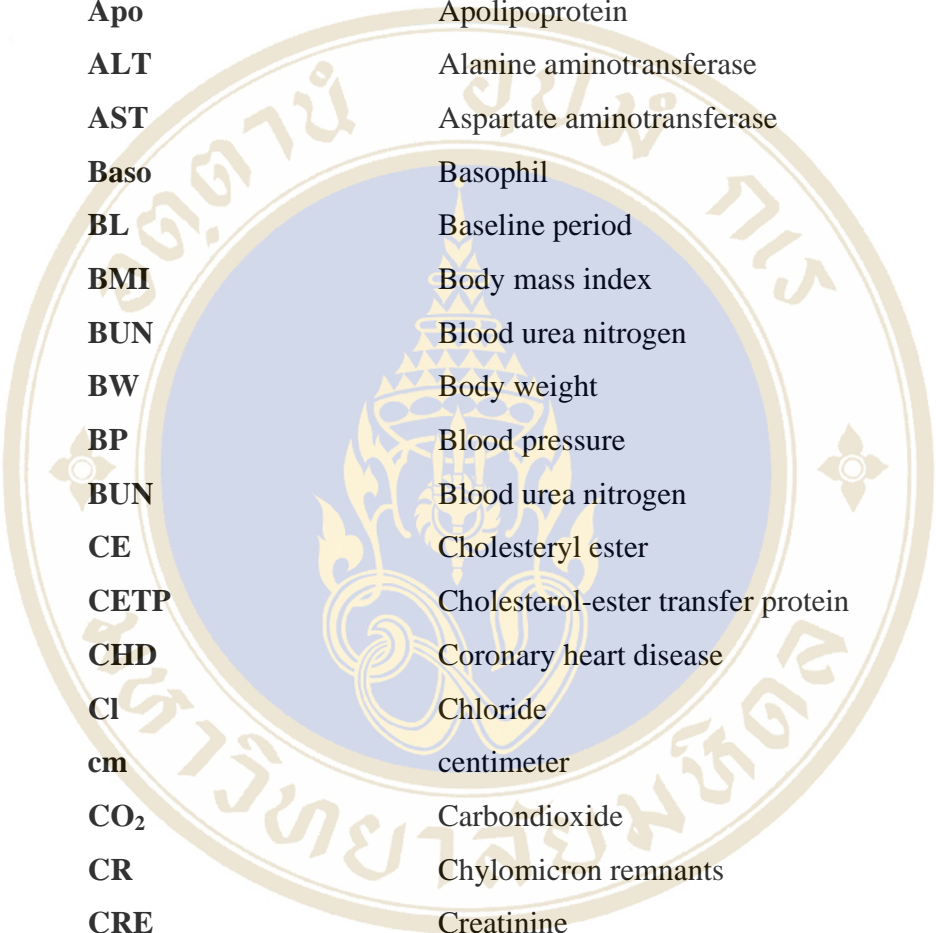
LIST OF FIGURES

Figure		Page
2-1	Exogenous and endogenous pathway of lipid transport	6
2-2	The formation of Small dense LDL and the hypothesis of “LDL oxidation” in the atherogenesis	11
2-3	Chain reaction of lipid peroxidation	13
2-4	Comparative effects of intake of fatty acids on blood cholesterol level (The multivariate regression coefficients)	23
4-1	Distribution of fats in different vegetable oils used in this study	52
4-2	Distribution of fatty acids in different vegetable oils used in this study	53
4-3	Comparison of the oxidative index (OSI) between different vegetable oils used in this study	54
4-4	Comparison of the average energy intake of participants between dietary interventions	55
4-5	Comparison of macronutrient intakes of participants during dietary interventions	56
4-6	Comparison of total fat and oil intakes of participant between different dietary interventions participants	56
4-7	Comparison of SFA, MUFA and PUFA intake of participants during dietary interventions	57
4-8	Comparison of cholesterol intake of participants between different dietary interventions	57

LIST OF FIGURES (Continued)

Figure	Page
4-9 Comparison of serum lipid profile of participants at baseline and after dietary interventions	58
4-10 Comparison of average atherogenic index (AI) ratio of participants between baseline and different dietary interventions	59
4-11 Comparison of cholesterol in lipoprotein fractions between baseline and during dietary interventions	60
4-12 Comparison of triglyceride in lipoprotein fractions between baseline and during dietary interventions	61
4-13 Comparison of SFA, MUFA, and PUFA in LDL subfractions of participants between baseline and during dietary interventions	62
4-14 Comparison of fatty acids in LDL ₁ -C of participants between baseline and during dietary interventions	63
4-15 Comparison of fatty acids in LDL ₂ -C of participants between baseline and during dietary interventions	65
4-16 Comparison of fatty acids in LDL ₃ -C of participants between baseline and during dietary interventions	67
4-18 Kinetic profiles of LDL ₁ -C oxidation induced by CuSO ₄	69
4-19 Kinetic profiles of LDL ₂ -C oxidation induced by CuSO ₄	70
4-20 Kinetic profiles of LDL ₃ -C oxidation induced by CuSO ₄	71
4-21 Comparison average lag time of LDL fractions in participants Between baseline and during dietary interventions	72
5-1 Nuclear mechanism for polyunsaturated fatty acids (PUFA) regulation of gene expression	76
5-2 Modulation of plasma cholesterol by (n-6) PUFAs	77

LIST OF ABBREVIATIONS



AI	Atherogenix index
Apo	Apolipoprotein
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate aminotransferase
Baso	Basophil
BL	Baseline period
BMI	Body mass index
BUN	Blood urea nitrogen
BW	Body weight
BP	Blood pressure
BUN	Blood urea nitrogen
CE	Cholesteryl ester
CETP	Cholesterol-ester transfer protein
CHD	Coronary heart disease
Cl	Chloride
cm	centimeter
CO₂	Carbondioxide
CR	Chylomicron remnants
CRE	Creatinine
CVD	Cardiovascular disease
°C	Degree celcius
d	day
DBP	Diastolic blood pressure
dL	decilitter
e.g.	Exempli gratia
et al	et alii
Eos	Eosinophil

LIST OF ABBREVIATIONS (Continued)

FC	Free cholesterol
HDL-C	High-density lipoprotein cholesterol
HMG-CoA	3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A
HTGL	Hepatic triglyceride lipase
hr	hour
GC	Gaschromatography
IDL	Intermediate-density lipoprotein cholesterol
IHD	Ischemic heart disease
K	Potassium
Kcal	kilocalorie
Kg	kilogram
LDL-C	Low-density lipoprotein cholesterol
LDL₁-C	Large buoyant LDL
LDL₂-C	Medium dense LDL
LDL₃-C	Small dense LDL
LCAT	Lecithin cholesterol acyltransferase
Lp (a)	Lipoprotein (a)
LPL	Lipoprotein lipase
m	meter
min	minute
mg	milligram
mL	milliliter
mmol	millimole
MUFA	Monounsaturated fatty acid
µg	microgram
n	number
n.d.	not dectable
O₂	oxygen

LIST OF ABBREVIATIONS (Continued)

OD	Optical density
Ox-LDL	Oxidized LDL cholesterol
PL	Phospholipid
PLTP	Phospholipids transfer protein
PO	Palm oil
PUFA	Polyunsaturated fatty acid
RBO	Rice bran oil
ROS	Reactive oxygen species
SBP	Systolic blood pressure
SFA	Saturated fatty acid
SBO	Soy bean oil
SdLDL	Small, dense LDL particles
TC	Total cholesterol
TG	Triglyceride
TLC	Therapeutic lifestyle changes
TNF	Tumornecrosis factor
TRLs	Triglyceride-rich lipoproteins
TXA	Thromboxane
µg	Microgram
µl	Microlitre
µmol	Micromolar
UV	Ultraviolet
VLDL	Very low density lipoprotein cholesterol
WHO	World Health Organization
WHR	Waist over hip ratio
vs.	Versus
wk	Week

CHAPTER I

INTRODUCTION

1.1 Rational of the study

Coronary heart disease (CHD) remains the leading cause of death and disability in industrializing and developing countries, including Thailand (1-3). CHD has multiple etiologies and involves a variety of risk factors. Un-modifiable risk factors include family history, age, gender and modifiable risk factors include dyslipidemia, cigarette smoking, hypertension, diabetes, obesity, physical inactivity, triglyceride and lipoprotein (a), and homocysteine (4). Prevalence of atherosclerosis in the officials of Electricity Generating Authority of Thailand (EGAT) in women between ages 45 and 49, is 11.8 vs. 18.6/1000. On the contrary, during age 50 to 54, women are more prevalent than men, 62.5 vs. 49.5/1000, respectively (5).

Although elevated level of plasma LDL-C is the significant risk factor for CHD (6), many individuals who develop atherosclerosis and CHD have LDL-C levels in the normal range (7). LDL particles are heterogeneous in size, density and composition (8). Moreover, the analysis of the lipoprotein composition of LDL particles has been investigated with increased attention as compositional differences have found to be responsible for LDL metabolism and their atherogenic potential (9-17). Recent evidence indicated small, dense LDL particles (SdLDL) to be prevalent in patients with CHD (9, 18-23). Austin and colleagues (18) revealed that subjects with an LDL profile with prominent SdLDL particles had a 3-fold increase in CVD risk. Griffin and colleagues (23) also reported a 7-fold increment in CVD risk for SdLDL particles concentrations greater than 100 mg/dL. SdLDL are more atherogenic than large buoyant LDL (24-26). The increased atherogenicity of SdLDL may be explained by a lower binding affinity to the LDL receptor and increased susceptibility to oxidation preceding the formation of foam cells and atherosclerosis (27-28).

Elevation of LDL-C is a major risk factor that can be at least partially modified in the diet modification (29). Dietary fatty acid composition influences plasma lipids and lipoproteins associated with the development of atherosclerosis. The fatty acid compositions of various vegetable oils had different effects on fatty acid status and serum lipid profile levels. Oils containing saturated fatty acids (SFA) raise serum TC and, in particular, LDL-C levels, while oils enriching unsaturated fatty acids (un-SFA) reduce LDL-C (30-34). Serum TC and LDL-C levels were reduced by 7-25 % and 12.7-30 % with rice bran oil (RBO), 6.8-12.1 % and 14.9-15.5% with soybean oil (SBO), and 1.3% and 0% with palm oil (PO), respectively (35-40). A high saturated fat intake was associated with an increased mass of large cholesterol-enriched LDL particles. Only limited information exists concerning the effect of diet on LDL subclasses and their susceptibility to oxidation. LDL particles from participants fed diets high in polyunsaturated fatty acid (PUFA) are more susceptible to oxidation than receiving diet enriched in monounsaturated fatty acid (MUFA) (41-45).

Different fatty acid compositions of vegetable oils could have beneficial effects on lipoprotein compositions and resistance of LDL to oxidation, but it is not clear whether common edible vegetable oils leading to varying blood lipid levels and also differ with respect to lipoprotein subclass profiles. Thus, the data on the influence of different types of vegetable oil with various fatty acid compositions on LDL sub-fraction profiles, LDL fatty acid profile and LDL oxidation in hypercholesterolemia participants are still scanty.

1.2 Objectives of the study

The main purpose of this study was to investigate the effects of consumption of soybean oil (SBO), rice bran oil (RBO), palm oil (PO) and combination of RBO and PO (3:1) in Thai diet on lipoprotein composition and oxidized LDL in phenotype IIa hyperlipidemic participants.

The specific aims of this study were to investigate the effects of consumption of SBO, RBO, PO and RBO-PO (3:1) in Thai diet on:

1. Lipid profiles: TC, LDL-C, HDL-C, TG and atherogenic index (AI).
2. Lipoprotein fractions: VLDL fraction, LDL fraction (large buoyant LDL particles; LDL-1, medium dense LDL particles; LDL-2 and small dense LDL particles; LDL-3) and HDL fraction
 - Lipoprotein fractions composition: cholesterol, triglyceride
 - LDL fraction compositions: fatty acid profiles
 - Oxidation of LDL fractions

CHAPTER II

LITERATURE REVIEW

2.1 Lipoprotein metabolism

Lipoproteins are complexes of phospholipids (PL), triglycerides (TG), cholesteryl ester (CE), and free cholesterol (FC) with apolipoproteins (apo) that mediate the transport of lipid through the blood system. Lipoproteins metabolism is consisted of the exogenous and endogenous pathway (46) as shown in Figure 2-1. The Lipoprotein metabolism is summarized as follows.

2.1.1 The exogenous pathway (47-49)

The pathway involves transport of dietary lipid from intestine to the liver. Dietary lipid is absorbed through the wall of the intestine and is packaged. Ninety percent of dietary fat is TG. Dietary TG is hydrolyzed by pancreatic and intestinal lipases mainly as free fatty acids and monoglycerides. These are combined with bile salts, forming micelles. The lipid content of the micelles can be diffuse into the enterocytes. Dietary cholesterol is absorbed in the intestinal, mostly as cholesteryl esters. These are hydrolyzed by cholesterol esterase to release free cholesterol and fatty acids. Then, long-chain fatty acids and cholesterol are coupled to coenzyme A by the acyl CoA synthetase. These forms can be reesterified into triglycerols, phosphatidylcholine, and cholesteryl esters. In contrast, short-chain fatty acids pass from the cell directly into the portal blood. In the endoplasmic reticulum, the lipids reform to chylomicrons. Chylomicrons are transported to the cell membrane and the lymphatic circulation and undergone conversion to chylomicron remnants (CR). Chylomicron remnants pick up apoE and cholesterol ester from HDLs, and rapidly taken up by the liver via a process mediated by the apo E receptor.

2.1.2 The endogenous pathway (47-49)

The pathway involves transport of lipids synthesized in the hepatocytes to peripheral tissues. The lipid portion of the chylomicron remnant is hydrolyzed in the hepatocyte to free fatty acids, monoacylglycerols and diacylglycerols, glycerol, and cholesterol. In the postprandial state, it is capable of denovo synthesis of lipids from non-lipid precursors such as glucose and amino acids. Glucose is converted to fatty acid via acetyl CoA and also to triose phosphates from which the glycerol portion of triglycerides are derived. Amino acids can be metabolically converted to acetyl CoA and pyruvate. Newly synthesized triglyceride is combined with phospholipids, cholesterol and proteins to form VLDL and HDL, which are released into the blood circulation. VLDL, which can be converted to LDL through lipolysis, or be taken up by liver via an apo E receptor. An LDL receptor that recognizes apo B-100 and apo E, but not apo B-48, allows the liver and other tissues to catabolize LDL.

HDL is synthesized by both the liver and the intestine. It picks up lipids (phospholipids and triglyceride) and apo (A-1, E, C) from triglyceride-rich lipoproteins (chylomicrons and VLDL) as these particles undergo lipolysis. HDL picks up free cholesterol from peripheral tissues, the cholesterol is esterified, and is either delivered to the liver or transferred to other lipoproteins, which are also taken up by the liver. In the liver, cholesterol can be excreted directly into bile, converted to bile acids, or re-utilized in lipoprotein production.

2.2 Lipoprotein composition

Plasma lipoproteins are typically classified into 5 major subclasses on the basis of their densities (50) as shown in Table 2-1. These lipoprotein species are chylomicron (CM), very low density lipoprotein (VLDL), intermediate-density lipoprotein (IDL), low density lipoprotein (LDL), and high density lipoprotein (HDL). Furthermore, some lipoprotein fractions can be separated by separated by particle density or size.

Table 2-1 Classification, properties and composition of human serum lipoprotein.

Measurement	Exogenous lipids	Endogenous lipids			HDL
	CM	VLDL	IDL	LDL	
Density (g/mL)	<0.96	0.96-1.006	1.006-1.019	1.019-1.063	1.063-1.21
Diameter (nm)	75-1200	30-80	25-35	22-28	5-12
Electrophoretic mobility	0	Pre- β	band β	β	α , Pre- β
Composition (%)					
TG	86	55	23	6	5
PL	7	18	19	22	33
CE	4	12	29	42	17
FC	2	7	9	8	5
Protein	2	8	19	22	40-55
Main apolipoproteins	A-I, A-IV, B-48, C, E	B-100, C, E	B-100, C, E	B-100	A-I, A-II, C, E
Source	Intestine	Liver	Lipolysis of VLDL	Lipolysis of VLDL, IDL	Liver, via intestine; lipolysis of CM & VLDL

Source: Lui ML, 2002 (50)

2.2.1 Chylomicrons (CM)

CM are produced postprandial in the intestinal epithelial cells, and they transport dietary TG, cholesterol and fat-soluble vitamins to the liver and peripheral tissues (51). TG are the major constituent of the CM particles. ApoB-48, a specific apolipoprotein marker of CM, is synthesized in the gut like apoA. ApoC II and apoE are transferred to CM from HDL in the circulation. TG in CM are hydrolyzed by the enzyme lipoprotein lipase (LPL), resulting in the formation of CM remnants which are taken up by the hepatic cells (52). The cellular uptake of CM remnants is mediated by multiple interactions of apoE and LPL with heparin sulfate proteoglycan (HSPG), the LDL receptor and the LDL receptor-related protein (LRP) (53).

2.2.2 Very low-density lipoproteins (VLDL)

VLDL particles are synthesized in the liver. VLDL consists mainly of TG, and also contains some cholesterol, one apoB-100 molecule, apoCs and apoE. The apoE and some of the apoCs are transferred from HDL to VLDL. ApoB-100 is specific for VLDL and is synthesized in the liver. In the circulation, VLDL shares the catabolic pathway with CM and competes for LPL (52). As VLDL particles become smaller, phospholipids, free cholesterol and apolipoproteins are released from their surfaces and transferred to HDL (54). Recent data indicate that plasma phospholipids transfer protein (PLTP) is responsible for the transfer of post-lipolytic surface components of triglyceride-rich lipoproteins (TRLs) to HDL (55). During lipolysis, VLDL is converted to the denser particles, IDL, and finally transformed via hepatic lipase to LDL.

2.2.3 High density lipoproteins (HDL)

HDL is synthesized primarily in the liver and small intestine. HDL precursor (nascent HDL) is discoidal particle that comprises phospholipids, cholesterol, apoE and apoA, but is devoid of cholesterol ester. Two major HDL subclasses can be separated by sequential ultracentrifugation, namely HDL₂ (d = 1.063-1.125 g/mL) and HDL₃ (d = 1.125-1.210 g/mL). The nascent HDL is also formed during lipolysis of TRL (54). It becomes mature spherical HDL (HDL₃) by trapping cholesterol ester into

the core of the particle with the help of the enzyme, lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT), which transformed unesterified cholesterol in the surface of nascent HDL to cholesterol ester (56, 57). HDL_{2a} is transformed from HDL₃. HDL₃ continues to acquire more unesterified cholesterol, which in turn is esterified through the action of LCAT, further enlarging the lipoprotein. However, HDL_{2a} is converted into HDL_{2b} through the exchange of cholesterol ester for triglycerides. The cross-transfer reaction is mediated by cholesterol-ester transfer protein (CETP). HDL_{2b} is transform back into HDL₃ by hepatic triglyceride lipase (HTGL).

HDL has various potentially antiatherogenic properties, including reverse transport of cholesterol from cells of the arterial wall to the liver (58, 59), inhibition of LDL oxidation by HDL-bound PON1, regulation of coagulation and fibrinolysis and inhibition of platelet activation, neutralization of endotoxin or lipopolysaccharide, and inhibition of the chemotaxis of monocytes and the adhesion of leukocytes to the endothelium via HDL (60). The different antiatherogenic functions are exerted by different components of the HDL, namely apolipoproteins, phospholipids, enzymes or lipid transfer proteins (60, 61).

2.2.4 Low density lipoprotein (LDL)

LDL particles are the main carriers of cholesterol in the circulation and play the key roles in the cholesterol transfer and metabolism. Most LDL originates from the metabolism of TRLs. VLDL-IDL-LDL particles are depleted of TG by the enzyme LPL and HL.

LDL can pass through the junctions between capillary endothelial cells and bind to LDL receptor on cell membranes that recognize apoB-100 (51). The subsequent uptake of LDL into the cells is followed by lysosomal degradation with release of free cholesterol into cytosol (62). LDL receptors are saturable and subject to regulation by an increase in intracellular cholesterol (63). The LDL receptor expression regulates the plasma level of cholesterol (62). The defects of LDL receptor and its function cause familial hypercholesterolemia, a genetic disorder in which the LDL receptor activity is reduced either because of a reduced number of LDL receptors, or formation of structurally altered LDL receptors (64). LDL particles are cleared from the circulation either by hepatic or extrahepatic pathway. Liver takes up

75% of LDL; about 75% of this removal are receptor mediated, and 25% non-receptor-mediated. Two third of the extrahepatic uptake is receptor-mediated, and one third nonreceptor-mediated. LDL receptors, macrophages derived from circulating monocytes can take up via scavenger receptors. Scavenger receptors recognize chemically and biologically modified lipoproteins, typically acetylated LDL (65, 66) and oxidized LDL.

LDL particles are heterogeneous in particle size, density, composition and atherogenicity (8). LDL is divided into 3 fractions by sequential ultracentrifugation: large buoyant LDL; LDL₁-C ($d = 1.019 < d < 1.035$ g/mL), medium dense LDL; LDL₂-C ($d = 1.035-1.045$ g/mL), and small dense LDL (SdLDL); LDL₃-C ($d = 1.045-1.063$ g/mL) In addition, about half of the fatty acids in LDL are PUFA, mainly linoleic acid (18:2,n-6) with minor amounts of arachidonic acid (20:4, n-6) and docosahexaenoic acid (22:6,n-3). LDL₃-C, small and cholesterol-rich particles, is the most atherogenic of all lipoprotein. It can readily filter into the arterial wall. ApoB-100 containing LDL promotes their entrapment in the arterial wall.

2.3 Small dense LDL and atherogenesis

Small dense LDL (SdLDL) is a potential atherogenic particle. It bound less avidly by the LDL receptor than large buoyant LDL resulting in decreased hepatic clearance and a longer residence time in plasma (67-69). The filtration rate of LDL particles into the arterial intima is inversely related to particle size. They, therefore, may penetrate more easily into the sub-endothelial space of artery wall from the circulation (70,71). The metabolic process is shown (50) in Figure 2-2.

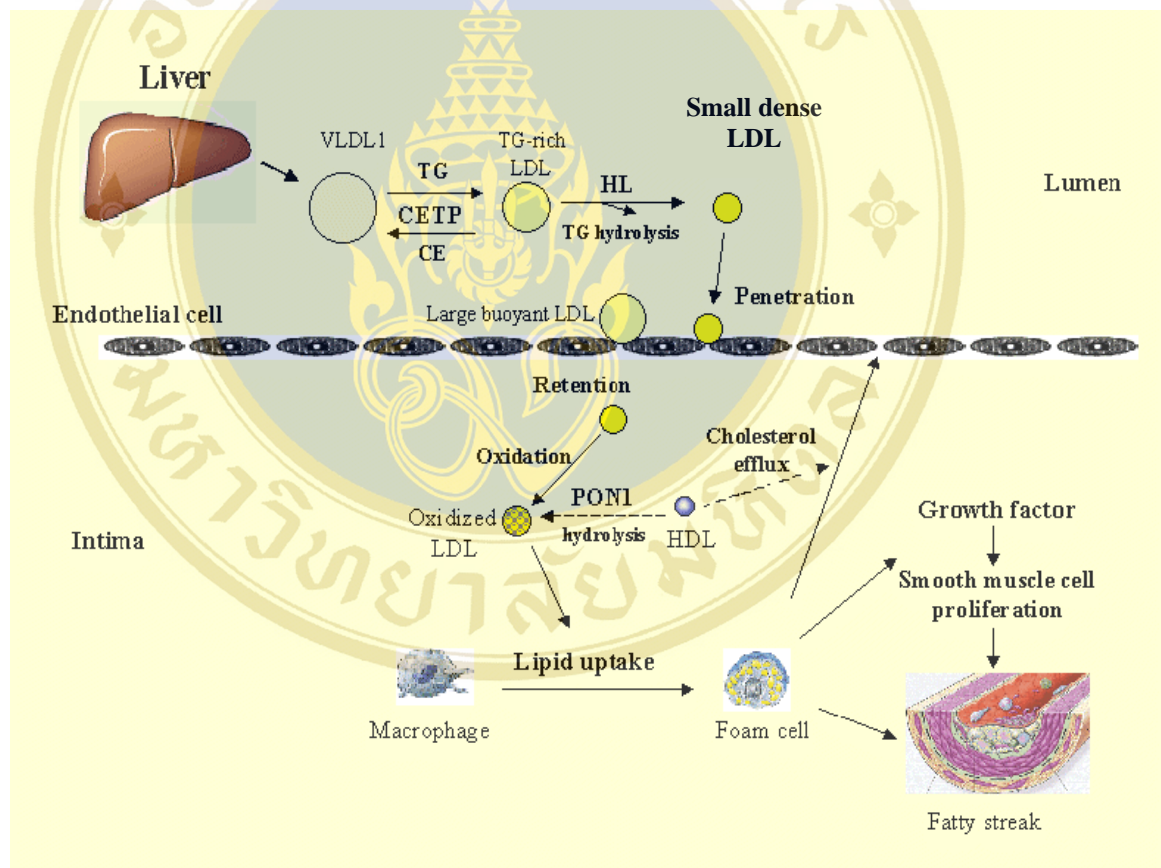


Figure 2-2 The formation of Small dense LDL and the hypothesis of “LDL oxidation” in the atherogenesis

Source: Lui ML, 2002 (50)

In the metabolic process, CE remains in the core of LDL particle, but part of CE is transferred by CETP to VLDL in exchange for TG. Correspondingly, HL remodels the large buoyant LDL by hydrolysis of TG and phospholipids to convert them to SdLDL (72, 73). SdLDL contain less phospholipids and free cholesterol in their surface monolayer than large buoyant LDL. This difference in lipid content appears to induce changes in the conformation of apo B-100, leading to exposure of proteoglycan-binding regions (71, 74). This may promote SdLDL to increase binding affinity to arterial proteoglycans. The end-result is trapping of these particles in the arterial extracellular matrix (71). The retention of LDL in the subendothelial space has been suggested to be the initiating event in the early stage of atherogenesis (75, 76). SdLDL particles are more susceptible to *in vitro* oxidation than large LDL (77, 78). *In vitro* more susceptible to oxidation may be intensively taken up by macrophages through the scavenger receptor, a process that has been related to formation of foam cells (79).

In addition, the increased LDL susceptibility to oxidation may be due to either reduced content of antioxidants or increased content of PUFA in the SdLDL. It may also promote the thromboxane (TXA) synthesis and further influence platelet aggregation (80).

2.4 Mechanism of LDL oxidation

Oxidized LDL (OxLDL) has many characteristics that potentially promote atherogenesis, in addition to the ability to be taken up rapidly by macrophages to form foam cells. It acts as a chemoattractant for the blood-borne monocytes to enter the subendothelial space and causes the transformation of monocytes into macrophages. It causes the trapping of macrophages in the endothelial spaces by inhibiting their motility. It is also cytotoxic to various cell types, including endothelial cell, resulting in loss of endothelial integrity. Moreover, it inhibits tumor necrosis factor (TNF) expression, stimulates release of interleukin-1 β from monocyte-macrophages (81).

OxLDL is a free radical-driven lipid peroxidation chain reaction as shown in Figure 2-3.

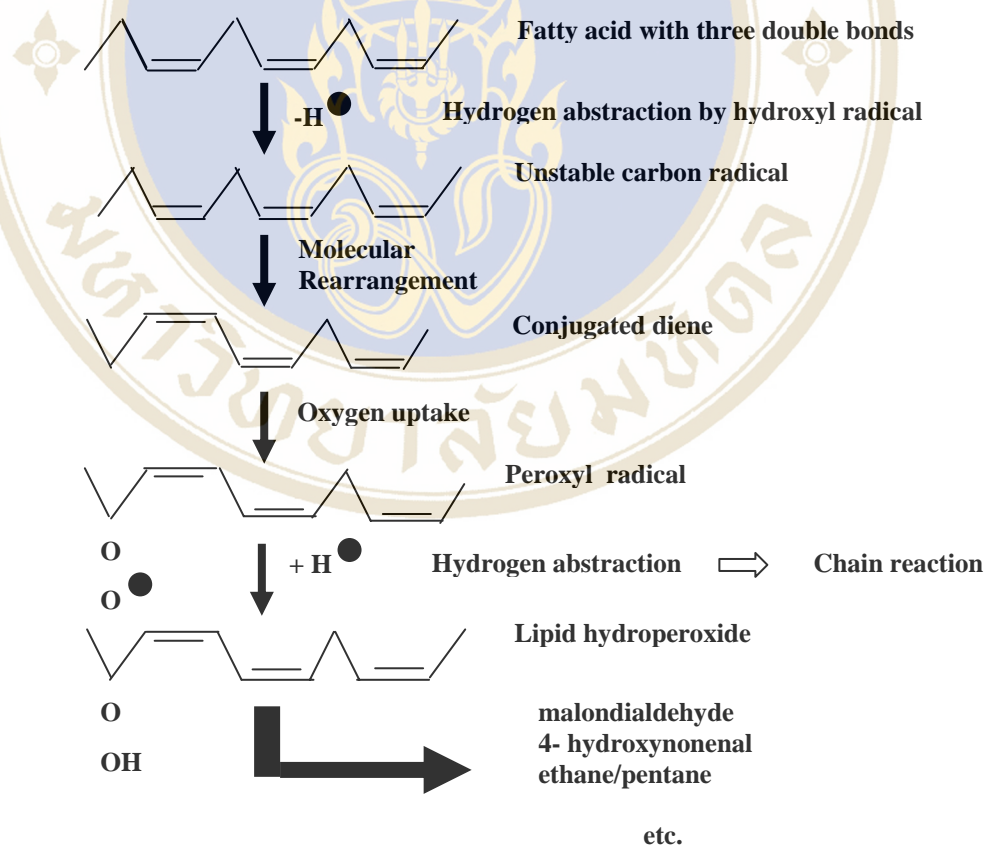


Figure 2-3 Chain reaction of lipid peroxidation

Source: Young IS, McEneny, 2001 (81)

Lipid peroxidation is initiated by free radical attack on a double bond associated with a PUFA. This results in the removal a hydrogen atom from a methylene (CH₂) group, the rate of which determines the rate of initiation, a key step. Molecular rearrangement of the resulting unstable carbon radical results in a more stable configuration, a conjugated diene. The conjugated diene react very quickly with molecular oxygen, and the peroxy radical thus formed is a crucial intermediate.

A PUFA peroxy radical in LDL may abstract a hydrogen atom from an adjacent PUFA to form a hydroperoxide and another lipid radical, a reaction which results in chain propagation. Removal of hydrogen atoms by the peroxy radical are from other lipids. Lipid hydroperoxides fragment to short-chain aldehydes, including malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. These reactive aldehydes in turn may bind to ε-amino groups of apo B-100, giving the protein an increased net negative charge.

2.5 Atherosclerotic coronary heart disease

Atherosclerotic coronary heart disease (ACHD) is a commonest cause of cardiovascular disability and death in industrializing and developing countries (1-3). In Thailand, the office of the permanent secretary for public health reported that there are 27, 512 deaths from Cardiovascular disease (CVD) in 2001 (82). In recent decades, national and international attempt to combat CVD, especially ACHD, have gained substantial momentum, and consequently laboratory measurements of lipoproteins and their constituents have played a critical and highly visible role in research investigations and clinical practice.

Atherosclerosis is the defined term of thickened and hardened lesions of medium and large muscular and elastic arteries (83). ACHD had multiple etiologies risk factors. Major of atherogenic risk is dyslipidemia as follows.

2.5.1 Mild hypercholesterolemia

Mild hypercholesterolemia is determined when TC 200-250 mg/dL and LDL-C 135-175 mg/dL (74). Prevalence of dyslipidemia in men and women in EGAT officials are 37.6 and 38.4% for TC and 30.7 and 31.1% for LDL-C, respectively. Prevalence of dyslipidemia in Ramathibodi Hospital Staffs in men and women are also 6.1 and 21.6 % for TC and 7.6 and 15.0% for LDL-C, respectively (2). Several

causative factors underlie mild hypercholesterolemia. The mean percentage of dietary fat calories consumed by EGAT officials was above 30% (2), diets high in SFA, *trans* fatty acids, cholesterol and total energy raise serum TC levels (75). In addition, genetic, obesity and loss of estrogen after menopause are included (74, 75).

2.5.2 Small, dense LDL particle (SdLDL)

Although elevated level of LDL-C are the significant risk factor for CHD (6), many individuals who develop atherosclerosis and CHD have LDL-C levels in the normal range (7). SdLDL has been shown to be prevalent in patients with CHD (9, 18-23). Lamarche and colleagues found SdLDL to be associated with 3.6 fold increase of IHD risk (80). Austin and colleagues showed that patients with LDL profile dominated by SdLDL had a 3-fold increase in CVD risk (18). Griffin and colleagues also reported that SdLDL concentrations greater than 100 mg/dL had a 7-fold increase in CVD risk (23). There have been prospective cross-sectional studies supporting the hypothesis that individuals with SdLDL are more atherogenic than large buoyant LDL (24-26).

2.5.3 Mild to moderate hypertriglyceridemia

Mild and moderate hypertriglyceridemia are TG 200-400 and more than 400 mg/dL, respectively (75). Hypertriglyceridemia is associated with CAD (76, 77). Diets high in fat and/or total energy can lead to hypertriglyceridemia and postprandial lipemia (78). Insulin resistance also may promote reduced retention of free fatty acids by adipocytes. Both these abnormalities lead to increased levels of free fatty acids in plasma, increased flux of free fatty acids back to the liver, enhanced production of TG, decreased proteolysis of apo B-100, and increased VLDL production (79).

2.5.4 Low HDL-C

HDL is inversely associated with the incidence of CHD (84-86). When reducing HDL from 40 to 25 mg/dL, the TC/HDL ratio is double risk CHD.

The risk for CHD rises ~ 1% for every 1.0 mg/dL increase in TC, whereas the risk of CHD increases 2-3% for every 1.0 mg/dL decrease in HDL. The underlying causes of low HDL-C are several factors (87-89). HDL-C can be slightly reduced by

very high intakes of PUFA (P/S>1), or by increasing carbohydrate from more usual levels consumed (>60%), or by increasing tran-unsaturated fatty acid (87). Sedentary life habits lower HDL levels; these low levels can be reversed by regular and vigorous exercise(89).

2.6 Management of hypercholesterolemia

Two major modalities of LDL lowering therapy are dietary therapy and cholesterol-lowering drugs. Different risk categories and LDL level are cut-points for using therapeutic lifestyle changes (TLC) or drug therapy (29) as shown in Table 2-2.

Table 2-2 LDL goals and cut-points for therapy in different risk categories

Risk Category	LDL goal (mg/dL)	LDL Level at which to initiate TLC (mg/dL)	LDL Level at which to consider drug therapy (mg/dL)
CHD and CHD risk equivalents (10-year risk > 20%)	<100	≥ 100	≥ 130 (100-129: drug optional) †
2+ risk factors (10-year risk ≤ 20%)	<130	≥ 130	10-year risk ≤ 10-20%: ≥ 130 10-year risk < 10%: ≥ 160
0-1 risk factor ‡	<160	≥ 160	≥ 190 (160-189: LDL lowering drug optional)

† Some authorities recommend use of LDL lowering drugs in this category if an LDL level of <100 mg/dL cannot be achieved by TLC. Others prefer use of drugs that primarily modify triglycerides and HDL, eg, nicotinic acid or fibrate. Clinical judgment also may call for deferring drug therapy in this subcategory.

‡ Almost all people with 0-1 risk factor have a 10-year risk < 10%; thus, 10-year risk assessment in people with 0-1 risk factor is not necessary.

Source: The expert panel, 2001 (29)

2.6.1 Diet modification (29)

All participants who LDL level ≥ 160 mg/dL with 0-1 CHD risk factors, ≥ 130 with 2⁺ risk factors (10 year risk $\leq 20\%$), or ≥ 100 mg/dL with CHD (10 year risk $> 20\%$) require dietary modification. ATP III recommends a multifaceted lifestyle approach to reduce risk for CHD. This approach is designated therapeutic lifestyle change diet (TLC) as shown in Table 2-3.

Table 2-3 Nutrient composition of the TLC diet

Nutrients	Recommended intake
SFA	<7% of total calories
PUFA	Up to 10% of total calories
MUFA	Up to 20% of total calories
Total fat	25-35 % of total calories
Carbohydrate †	50-60 % of total calories
Fiber	20-30 g/d
Protein	Approximately 15% of total calories
Cholesterol	< 200 mg/d
Total calories ‡	Balance energy intake and expenditure to maintain desirable body weight/ prevent weigh gain

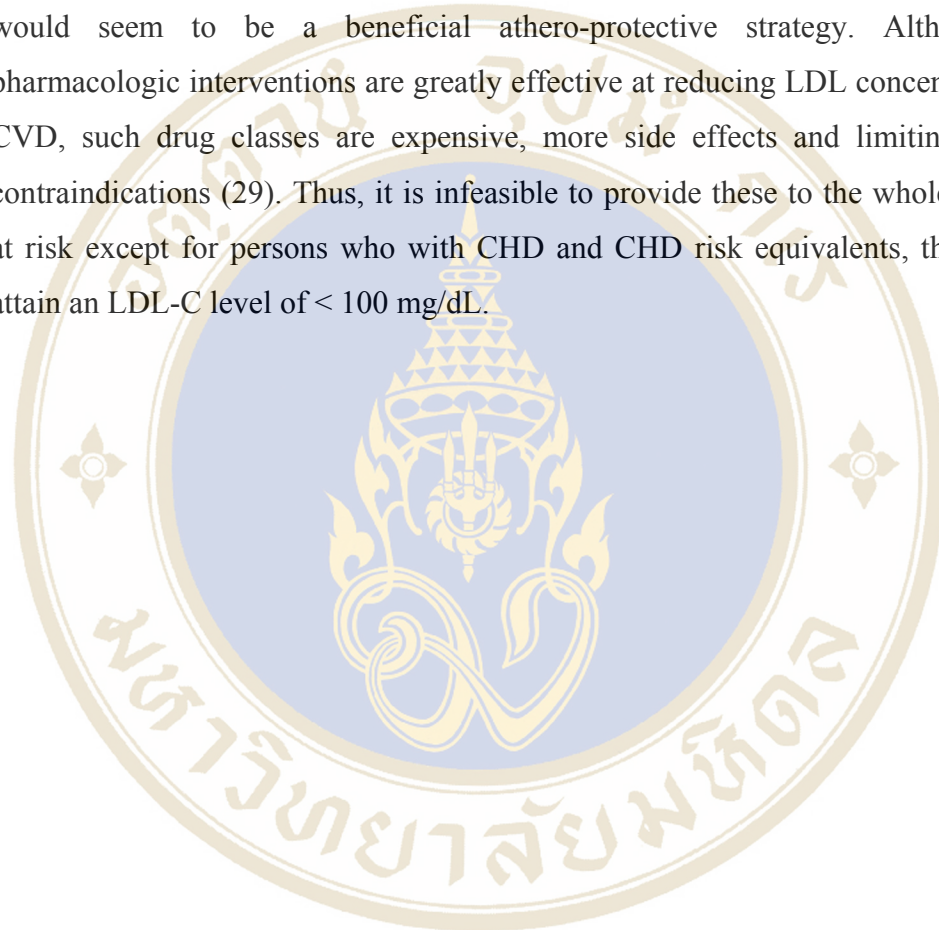
† Carbohydrates should be derived predominantly from foods rich in complex carbohydrates including grains, especially whole grains, fruits, and vegetables.

‡ Daily energy expenditure should include at least moderate physical activity (contributing approximately 2000 Kcal/d).

Source: The expert panel, 2001(29)

2.6.2 Cholesterol-lowering drugs (29)

If, after adequate diet therapy, all participants who LDL level ≥ 190 mg/dL with 0-1 CHD risk factors, ≥ 160 with 2⁺ risk factors (10 year risk < 10 %), ≥ 130 with 2⁺ risk factors (10 year risk 10- 20 %) or ≥ 130 mg/dL with CHD (10 year risk > 20%) require drug therapy. The preferential inhibition of the formation of SdLDL would seem to be a beneficial athero-protective strategy. Although these pharmacologic interventions are greatly effective at reducing LDL concentrations and CVD, such drug classes are expensive, more side effects and limiting to use in contraindications (29). Thus, it is infeasible to provide these to the whole population at risk except for persons who with CHD and CHD risk equivalents, the goal is to attain an LDL-C level of < 100 mg/dL.



2.7 Vegetable oils

Source of fat and oil in foods are derived from animals and plants. In Thailand, the common edible vegetable oils consumed in food are such as soybean, rice bran, palm, sunflower, corn and combination of soybean and cotton seed oils.

2.7.1 Various vegetable oil

Rice bran oil (RBO)

RBO is not a popular oil worldwide, but it is in steady demand as a so-called “healthy oil” in Asian countries. This oil is extracted from rice bran (*Oryza sativa* Linn.) (90). Typical RBO composition is palmitic acid, linolenic acid, linoleic acid, oleic acid, stearic acid, tocopherol and squalene (91).

Soybean oil (SBO)

SBO that extracted from seed of soybean (*Glycine max*) is native to Northeastern Asia and were first introduced into the United States in 1765 (92). One-fourth of the world supply of oil comes from soybeans. The oil is used to make many edible products such as salad and cooking oils, shortenings and margarines (93).

Palm oil (PO)

PO, one of tropical oils, is a major source of the world's supply of oils and fats. Thailand has shown prolific expansion in PO area over the last decade (94). Palm olein is produced by refined, bleached, deodorized PO process (95). Palm olein is popularly used in the food industry, mostly in the production of deep-fried instant foods.

2.7.2 Fatty acid composition

Most edible vegetable oils consist of un-SFA, mainly in the form of triglycerides, which have 1-3 *cis* double bonds and 20-24 carbon atoms in chain length. The fatty acid compositions of edible vegetable oils that commonly sell and consume in Thailand are shown in Table 2-4.

Table 2-4 Fatty acid composition of edible vegetable oils in Thailand

Edible vegetable oils	FAs composition (g/ 100 g)			P/M/S	References
	PUFA	MUFA	SFA		
Rice bran oil					
General rice bran oil	36.2	42.2	20.8	1.7 : 2 : 1	วิชัย, 2540 (2540)
King	32	43	25	1.3 : 1.7 : 1	Nutrition labeling
Chim	33.3	40	23.3	1.4 : 1.7 : 1	Nutrition labeling
Soybean oil					
General soybean oil	60.0	26.8	12.9	4.7 : 2.1 : 1	วิชัย, 2540 (2540)
Yok	57.1	25	14.3	4 : 1.7 : 1	Nutrition labeling
Kuk, Morakot, Tip	60	23.3	16.7	4 : 1.4 : 1	Nutrition labeling
Palm oil					
General palm oil	12.4	43.2	43.7	0.3 : 1 : 1	วิชัย, 2540 (2540)
Leader price	14.3	42.9	42.9	0.3 : 1 : 1	Nutrition labeling
Morakot	10.0	46.7	40.0	0.25 : 1.2 : 1	Nutrition labeling
Sunflower oil					
General sunflower oil	71.5	20.3	8.2	8.7 : 2.5 : 1	นันทนา, 2545 (97)
Morakot	53.3	40	10	5.3 : 4 : 1	Nutrition labeling
Kuk	53.3	33.3	13.3	4 : 2.5 : 1	Nutrition labeling
Yok	50.0	35.7	10.7	4.7 : 3.3 : 1	Nutrition labeling
Tip	66.7	23.3	10	6.7 : 2.3 : 1	Nutrition labeling
Chim	46.7	40	13.3	3.5 : 3 : 1	Nutrition labeling

Table 2-4 Fatty acid composition of edible vegetable oils in Thailand (Continued)

Edible vegetable oils	FAs composition (g/ 100 g)			P/M/S	References
	PUFA	MUFA	SFA		
Corn oil					
General corn oil	57.0	30.0	13.0	4.4 : 2.3 : 1	นันท, 2545 (97)
Mazola	57.1	28.6	14.3	4 : 2 : 1	Nutrition labeling
Tip	60	26.7	13.3	4.5 : 2 : 1	Nutrition labeling
Golden dorp	57.1	32.1	10.7	5.3 : 3 : 1	Nutrition labeling
General cotton seed oil	51.7	17.8	28.9	1.8 : 0.6 : 1	วิชัย, 2540 (2540)
Olive oil					
General olive oil	9.8	76.0	14.2	0.7 : 5.4 : 1	มันทนา (2539)
Carbonell, Bertolli, Sabroso	14.3	71.4	14.3	1 : 5 : 1	Nutrition labeling
General sesame oil	45.0	42.0	13.0	3.5 : 3.2 : 1	มันทนา (2539)
General safflower oil	75	15	10	7.5 : 1.5 : 1	นันท, 2545 (97)
General peanut oil	34	48	18	1.9 : 2.7 : 1	นันท, 2545 (97)
General coconut oil	1.0	7.0	92.0	0.01 : 0.08 : 1	วิชัย, 2540 (2540)
Soybean and cotton seed oil (1:1) Tip	60	23.3	20	3 : 1.2 : 1	Nutrition labeling

2.8 Effect of diet modification and vegetable oils on lipoprotein

Diet and vegetable oil interventions had different effects on Lipoprotein compositions as shown in Table 2-5 and Figure 2-4.



Table 2-5 Effects of vegetable oils and diet interventions on lipid profiles

Intervention	Percent changes of serum lipid profile levels (%)				References
	TC	LDL	HDL	TG	
Diet					
Peanut & Peanut butter	- 10.9	-13.9	-2.3	- 12.8	Kris-Etherton et al, 1999 (39)
Step II	- 9.1	-14.5	-3.9	+ 11.3	Kris-Etherton et al, 1999 (39)
Low fat	-0.8	-8.2	+26.6	+23	Sarjaz MR et al, 2001 (99)
Low energy	-2.6	-4.9	+46.8	-22.7	Sarjaz MR et al, 2001 (99)
Low fat and energy	-2.2	-8.0	+35.9	+4.4	Sarjaz MR et al, 2001 (99)
Rye bread	-5.3	-0.36	-0.09	-0.17	Leinonen KS et al, 2000 (100)
Wheat bread	-0.13	-0.14	+0.02	0	Leinonen KS et al, 2000 (100)
Vegetable oil					
Corn oil	- 11.2 to -28	-10.5 to -32	-0.9 to -13.9	- 6.9 to - 39	Scwab et al, 1998 (35), Wilson et al, 2000 (36)
Rice bran oil	- 7 to - 25	-3.1 to -30	0 to -3.5	- 3.8 to - 28.3	Scwab et al, 1998 (35), Wilson et al, 2000 (36)
Canola oil (Rapeseed oil)	- 10.3 to -25	-10.5 to -25	-0.9 to -23.1	- 4.6 to - 25	Tanphaichitr V et al 1991 (37), Chen PR et al 1995 (38), 1991), Aree P et al 2003 (40)
Soybean oil	- 6.8 to -12.1	-9.9 to -15.5	+2.0 to -12.6	+ 2.6 to -16.5	Scwab et al, 1998 (35), Wilson et al, 2000 (36)
Olive oil	-0.8 to - 11.5	+1.5 to -15.3	+5.5 to -0.8	- 2.3 to - 21.8	Tanphaichitr V et al 1991 (37), Chen PR et al 1995 (38), 1991), Aree P et al 2003 (40)
Peanut oil	- 8.9	-11.1	-23	- 11.3	Scwab et al, 1998 (35), Chen PR et al 1995 (38), Aree P et al 2003 (40)
Cotton seed oil	- 7.4	-12.0	+2.0	- 12.7	Kris-Etherton et al, 1999 (39)
Palm oil	- 1.3	0	0	- 2.5	Tanphaichitr V, et al (1991)
Sheanut oil	-0.05	-0.02	-0.06	0.07	Tanphaichitr V, et al (1991) Visser MN, et al (2000)

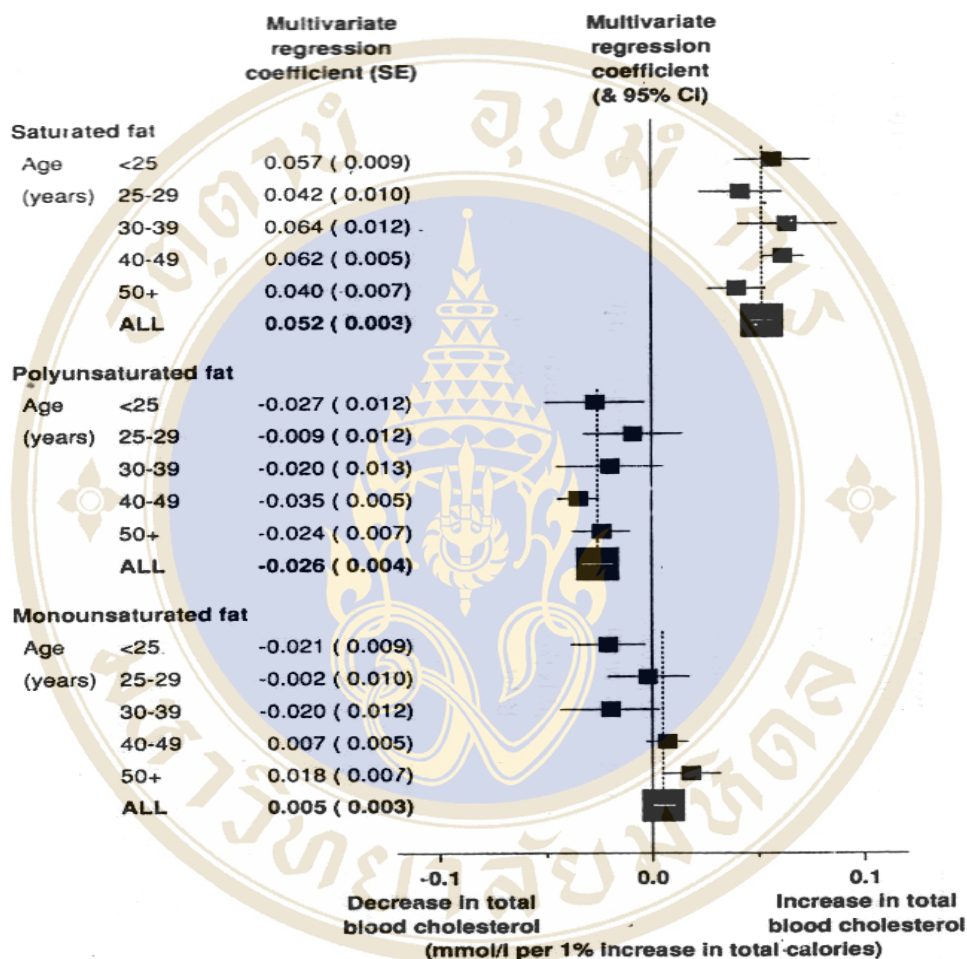


Figure 2-4 Comparative effects of intake of fatty acids on blood cholesterol levels (The multivariate regression coefficients)

Source: Clarke and colleagues, 1997 (102)

Cholesterol

Strong evidence support a linear relation between dietary cholesterol and serum cholesterol levels (102-105). In every 100 mg of cholesterol increment per 1000 calories per day, serum TC will increase by ~ 8 to 10 mg/dL.

SFA

Oils containing SFA raise TC and LDL, while oils enriching un-SFA reduce LDL (30-34). However, not all SFA affect TC consistently. Lauric (12:0), myristic (14:0), and palmitic (16:0) acids are all hypercholesterolemic, but stearic acid (18:0) produces little or no change in plasma cholesterol. It is rapidly converted to oleic acid (18:1) and for this reason has a relatively neutral effect on plasma lipids.

Key A, et al. (106) reported that substitution of SFA for either MUFA or carbohydrates will raise TC by 2.7 mg/dL for every 1% of calories substituted while PUFA will reduce serum TC levels by 1.35 mg/dL on the same exchange with MUFA.

MUFA

Traditional Mediterranean diets are rich in MUFA and attributed to health promoting effect.

Hargrove and colleagues (107) also found that consumption of the olive oil, peanut oil and combination of peanut plus butter diets produced greater percent of LDL than average American diet.

PUFA

LDL particles from participants who fed high PUFA diets are more susceptible to oxidation than enriched MUFA diet (41-45). However, serum LDL tends to decline when SFA are replaced with PUFA diet. In particular, n-3 PUFA may have antiatherothrombotic effects on growth factors, cytokines, and signal molecules. Moreover, PUFA rich food sources are often rich in antioxidant. Dihomogamma linolenic acid (20:3, n6) or eicosapontanoic acid (20:3 n3), these fatty acids are incorporated into the membrane phospholipids of the body and replaced arachidonic acid (20:4 n-6) availability to generate the TXA1 or TXA3, which are less potent platelet aggregators and vasoconstrictors than the TXA2, which is derived from arachidonic acid (108).

CHAPTER III

MATERIALS AND METHODS

3.1 Participants

The participants consisted of 16 non-complicate, non-smoking and apparently healthy hypercholesterolemia Thai female volunteers from out-patient department, Ramathibodi hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

3.1.1 Inclusion criteria

The participants were considered for inclusion in the study as follows:

- Thai females who phenotype IIa hyperlipidemia (Fredrickson's classification), serum Total cholesterol (TC) level 240-280 mg/dL and LDL-C 130-159 mg/dL
- Age 44-67 year olds and BMI of 23-27 kg/m²
- Normal kidney, liver, glucose status, thyroid, and cardiac function
- Ability to give detailed food records and could be follow up for at least 10 months
- Willingness to provide written informed consent and willingness to participate in and comply with the study

3.1.2 Exclusion criteria

The participants with the following findings were considered for exclusion in the study:

- Chronic illness such as CHD, DM, HT, hepatitis disease
- Taking medications or treatment known to have antioxidant or lipid changing effects such as HRT, therapeutic agents, vitamin and mineral or nutritional supplement
- Smoking
- Alcohol drinking
- Caffeine consumption > 2 cups/day

3.1.3 Ethical consideration

The study protocol was approved by the Committee on Human Rights Related to Researches Involving Human subjects, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University. All participants gave their written consents before the study beginning.

3.2 Method

3.2.1 Recruitment process

Preliminary nutritional status was from participants before the study as follow:

3.2.1.1 Dietary assessment

- Food intake by dietary record and interview

3.3.1.2 Physical assessment

- Family history using nutritional and health status data collecting form
- Physical examination by a medical doctor

3.3.1.3 Biochemical assessment

- consisted of CBC, LFT, glucose and lipid profiles

3.3.1.4 Anthropometry assessment

- consisted of body weight, height and BMI.

3.2.2 Study design

A random order design was used. The study lasted 48 weeks, and 5 diet interventions were carried out in hypercholesterolemia participants. In the control period, all qualified participants were started with weight maintaining control diet using self-selected edible vegetable oil for 8 weeks. In the control period, the diet was designed to contain carbohydrate ~ 50-60% of daily intake energy, protein ~ 15%, fat ~ 25-35% and cholesterol intake < 200 mg/d and self-selected vegetable oil intake ~ 20% of energy. In the experimental period, individual participant continued to have the same dietary composition while using one of 4 edible vegetable oils, i.e. soybean oil (predominated to PUFA), rice bran oil (predominated to MUFA+PUFA), palm oil (predominated to SFA+MUFA) and combination of rice bran oil and palm oil (3:1) (predominated to MUFA) in a random order. The total duration of each

edible vegetable oil intervention was 10 weeks. At the end of each intervention, participants were evaluated.

3.2.3 Dietary schedule

Before beginning the study, each participant received nutrition education, practiced on food exchange lists, and the amount of food to be consumed according to the given nutrient composition for the control diet at Research Center, Ramathibodi Hospital. Participants were divided into 4 groups by randomization. Each group underwent the dietary interventions according to Table 3-1 by practice at home. Each dietary intervention lasted 10 weeks. At the end of each dietary intervention, participants were evaluated at CRC for nutritional status and biochemical assessments. Participants' compliance was reinforced.

Baseline period (-8 to week 0)

First period, all groups started with weight maintaining control diet for 8 weeks and were appointed for the follow-up evaluations.

Experimental period (wk 0 to wk 40)

In the second to the fifth appointment, each group practice at home according to the diet interventions in Table 3-1. At the end of each 10 weeks, each participant was appointed for evaluate on of the results from taking the current diet.

Dietary detail

First appointment, all groups were initiated a control diet for 8 weeks (56th days). In the second to fifth appointments, each group consumed diet with different vegetable oils for 10 weeks (70th days) according to Table 3-2. From the second to sixth appointments, each group was assessed for all dietary interventions.

3.2.4 Schedule assessment

Each participant was assessed for 15 occasions as shown in Table 3-3.

Table 3-1 Dietary interventions

Group	Dietary interventions			
	Control period	Experimental period		
A		RBO	SBO	PO
B		SBO	PO	RBO-PO (3:1)
C	Control diet + Self-selected vegetable oil	PO	RBO- PO (3:1)	RBO
D		RBO-PO (3:1)	RBO	SBO
Duration	8 weeks	10 weeks	10 weeks	10 weeks

Table 3-2 Schedules of dietary interventions

Appointment	Days of study diet	Dietary interventions			
		A	B	C	D
1 st	Initiate run in	Control diet			
2 nd	56	Control diet	Control diet	Control diet	Control diet
	1	SBO	RBO- PO (3:1)	RBO	PO
3 rd	70	SBO	RBO- PO (3:1)	RBO	PO
	1	RBO-PO (3:1)	RBO	PO	SBO
4 th	70	RBO- PO (3:1)	RBO	PO	SBO
	1	RBO	PO	SBO	RBO- PO (3:1)
5 th	70	RBO	PO	SBO	RBO- PO (3:1)
	1	PO	SBO	RBO- PO (3:1)	SBO
6 th	70	PO	SBO	RBO-PO (3:1)	SBO

Table 3-3 Schedule nutritional measurement

Parameter methods	Week																
	-8	-4	0	4	8	10	14	18	20	24	28	30	34	38	40		
<u>Dietary assessment</u>																	
- Dietary record	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
<u>Anthropometric assessment</u>																	
- BW, % Body fat (Tanita)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
- Ht, BMI	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
- Waist, Hip and W/H ratio	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
- Vital signs	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
<u>Biochemical assessment</u>																	
- Lipid profiles	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
- Lipoprotein fractions composition	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
- LDL fraction compositions	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
- Oxidation of LDL fraction	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	

3.3 Nutritional assessment methodology

3.3.1 Dietary intake and tested vegetable oils assessment

Dietary intake

Before the diet intervention study started, each participant was instructed about how to record the diet and received a guideline of food and food record (Appendix C₁, C_{2.2}). The participants estimated food portion size by using standard household measuring cups and spoons. The researcher reviewed the diet records for accuracy with the participants. All data was analyzed by food exchange list (Appendix C_{2.3} to C_{2.4}). Then, researcher determined the usual intake of each participant from their record (Appendix C_{2.1} to C_{2.4}) and instructed each participant

Tested vegetable oils

Fatty acids, tested vegetable oils were extracted fatty acid by Jham and colleagues method (109). Analysis of fatty acid patterns are determined by gas-liquid chromatography (Appendix D1).

Oil stability index (OSI), tested vegetable oils were measured oils susceptibility to oxidation by rancimat method (110). The induction times determined using the rancimat method.(Appendix D1).

3.3.2 Anthropometry assessment

Body weight and body fat

Body weight (kg) and body fat (%) were determined at every clinic visit with the participants wearing light indoor clothes with no shoes by Tanita (UltimateScale™ Model 2000). There were 6 steps to using Tanita. Turn on the power and select adult or child. Select male or female, specify the height and taking readings, when “0.0” appears in the display. Step onto the measuring platform. Be sure participant were barefoot, and that soles of their feet were clean and dry. Be sure that the heel and ball of each foot were directly on top of the electrodes on the measuring platform. Stand erect on the platform. Their weight will be shown first and their body fat percentage will be displayed.

Height

The participants were asked to stand straight barefoot on a horizontal platform with her heels together, stretching upward to the fullest extension. The back was as straight as possible against the vertical bar and the horizontal arm of the height meter was in contact with the participant's head. The reading was read to the nearest mm.

Body mass index (BMI)

BMI (in kg/m^2), as a measure of overall body composition, was calculated as body weight divided by square of height.

Waist and hip circumference

These measurements were performed to determine if the distribution of body fat changed during the intervention period. Waist and Hip circumference were measured with a flexible steel tape to 1 mm accuracy. Waist circumference was taken between the costal margin and the iliac crest, and hip circumference at the widest part of the hips, generally at the level of the greater trochanter. Waist over hip circumference ratio was computed.

Vital signs

The blood pressure (systolic BP and diastolic BP) and pulse rate were measured at all study visits.

3.3.3 Biochemical assessment

Venous blood was collected in the morning after 12 hr overnight fast. Five ml of blood were collected at weeks -4, 4, 8, 14, 18, 24, 28, 34, 38; and 25 ml of blood were collected at weeks -8, 0, 10, 20, 30, 40. Whole blood, serum and plasma were prepared for biochemical determination. The following quantitative assays were performed.

Lipid profiles (at week -4, 0, 4, 8, 14, 18, 24, 28, 34, 38)

All serum lipid parameters were determined in the fasting state by the lipid profiles methods as shown in Appendix D2.

- TC was determined by enzymatic-colorimetric method (111).
- HDL-C was determined by Bustein (112) and Lopes-Virella (113) method.
- TG was determined by enzymatic hydrolysis of triglycerides with subsequent determination of the liberated glycerol by Boeringer Mannheim GPO-PAP Kit (114).
- LDL-C level was calculated by the Friedewald's equation (115).
- Atherogenic index (AI) was calculated by the equation (116).

$$\text{Atherogenic index} = \frac{\text{TC} - \text{HDL-C}}{\text{HDL-C}}$$

Lipoprotein fractions

Lipoprotein fractions were separated by ultra-centrifuging blood sample at 100,000 rpm at 4 ° C for 3 hour as shown in Appendix D3. LDL was isolated from freshly prepared plasma by sequential ultracentrifugation technique. The lipoprotein fractions were VLDL-C (density < 1.019g/mL), LDL₁-C (1.019 < density < 1.035), LDL₂-C (1.035 < density < 1.045), LDL₃-C (1.045 < density < 1.063), HDL-C (density > 1.063). Havel equation was used in order to calculate the density gradient of lipoproteins (117).

- Lipoprotein fractions composition

Total cholesterol and triglyceride were determined by the methods as shown in Appendix D2 (111, 114).

- LDL fatty acid compositions

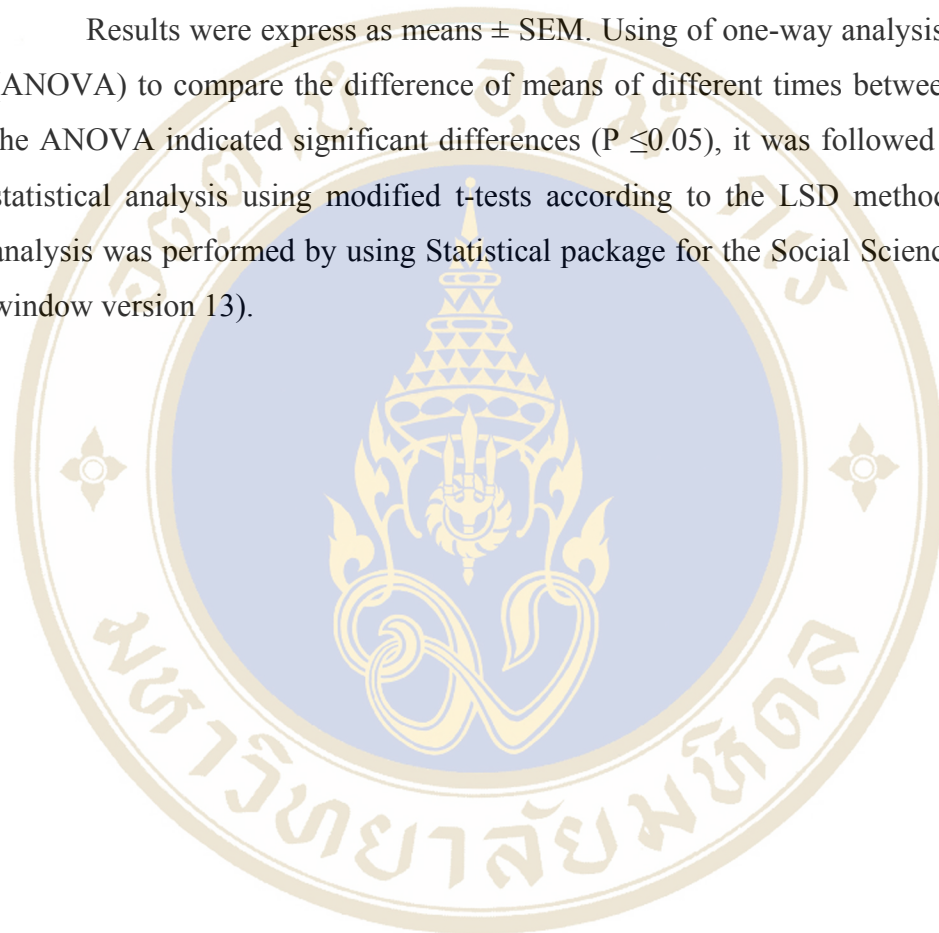
The LDL fractions were extracted by a modification of Folch and colleagues method (118). The samples were dried under nitrogen and transmethylated by Ast method (119) and Metcalfe and colleague method (120) as shown in Appendix D4.

- LDL oxidation

The methods LDL oxidation by copper was used to prepare and analyze by Lowry OH and colleagues (121) and Esterbauer and colleagues (122) as shown in Appendix D5.

3.4 Statistical analysis

Results were express as means \pm SEM. Using of one-way analysis of variance (ANOVA) to compare the difference of means of different times between groups. If the ANOVA indicated significant differences ($P \leq 0.05$), it was followed by post-hoc statistical analysis using modified t-tests according to the LSD method. Statistical analysis was performed by using Statistical package for the Social Science (SPSS for window version 13).



CHAPTER IV

RESULTS

This study was to investigate the effects of consumption of soybean oil (SBO), rice bran oil (RBO), palm oil (PO) and combination of rice bran oil and palm oil (3:1) in Thai diet on lipoprotein composition and LDL oxidation in phenotype IIa hyperlipidemic participants. No participants were withdrawn from the study. The results as mean \pm SEM at baseline and after receiving the dietary interventions were reported.

4.1 Baseline

4.1.1 Participants Characteristics

Table 4-1 shows the mean \pm SEM of the age, body weight, height, body mass index, % body fat, waist-hip circumferences, blood pressure and pulse rate. The average age of the 16 hypercholesterolemia participants was 56.8 ± 7.5 year. There was 37.5 % at age older than or equal to 60 years. The average weight was 54.3 ± 6.8 kg. Height was 154.9 ± 2.9 cm. BMI was 22.6 ± 2.5 kg/m². Body fat was 30.5 ± 5.7 %. Waist and Hip circumferences were 82.6 ± 10.7 and 95.7 ± 5.7 cm, respectively. Waist to hip ratio was 0.9 ± 0.1 . Systolic and diastolic blood pressure was 115.1 ± 15.3 and 71.8 ± 9.8 mmHg, respectively. Pulse rate was 75.6 ± 9.6 beat /minute. Their characteristic parameters at the baseline of the study were normal, all of them were non-smokers and non- alcohol drinker.

4.1.2 Diet interventions

The study used 4 vegetable oils that consisted of different fatty acid (FA) compositions and oxidative stability index (OSI).

Table 4-2 and Figure 4-1 to 4-3 show the fatty acid composition of SBO, RBO, PO and RBO-PO (3:1) consumed by the participants. SBO, contained linoleic and linolenic acid predominant fatty acids of PUFA, which contributed 53.73 and 6.99% of total fatty acids, respectively. RBO, contained a high proportion of MUFA

and PUFA with 42.26% oleic acid, and 19.65% palmitic acid. The amount of linoleic acid in RBO, 33.45% of total fatty acids, was rather moderate among 4 vegetable oils, whereas the amount of linolenic acid was less than 1%. PO, predominates with SFA and MUFA, contained 44.40% of SFA, 44.94% of MUFA and 10.66% PUFA. The amount of linoleic and linolenic were less than SBO and RBO, 10.45 % and 0.21 % of total fatty acids, respectively. However, the MUFA amount of PO was similar to RBO which had a balance composition of SFA and un-SFA. RBO-PO (3:1), predominated with MUFA, was the major source of oleic acid which contributed 42.84% of total fatty acids.

Table 4-3 shows the mean \pm SEM of induction times in each vegetable oil. The induction time of SBO, RBO, PO and RBO-PO (3:1) were 8.0 \pm 0.1, 12.7 \pm 0.1, 28.3 \pm 0.1 and 16.1 \pm 0.0 hour, respectively. The induction time of PO was higher than RBO-PO (3:1), RBO and SBO. The induction times in each vegetable oil for study dietary interventions were also recorded (Figure 4-4).

4.1.3 Biochemical parameter in participants

Table 4-4 shows the mean \pm SEM of serum lipoproteins, serum mineral and CO₂ levels, liver enzyme levels, fasting blood glucose, total protein, albumin, calcium, phosphorus, urea, creatinine, uric acid and hematological status before dietary interventions study. All participants had similar biochemical compositions at baseline. Participants classified as phenotype IIa hyperlipidemia had average TC and LDL-C higher than normal ranges. The average serum TC and LDL-C were 264.7 \pm 28.8 and 190.8 \pm 25.0 mg/dL, respectively. Atherogenic index (AI) was 4.4 \pm 1.3 indicating high risk of CHD. However, the average HDL-C and TG were in normal ranges. The average HDL-C and TG were 51.6 \pm 12.5 and 111.8 \pm 44.7 mg/dL, respectively. All mean \pm SEM of serum mineral and CO₂ levels, liver enzyme levels and hematological status were within normal ranges.

4.2 After receiving the dietary interventions

4.2.1 Participants Characteristics

Table 4-5 shows the mean \pm SEM of anthropometric parameter (body weight, BMI, total fat, waist, hip and waist to hip ratio) and vital signs (systolic blood pressure, diastolic blood pressure and pulse rate) in participants that remained constant throughout the study. There were no significant changes in anthropometric parameters and vital signs among 5 dietary intervention periods.

4.2.2 Diet interventions

Table 4-6 shows the mean \pm SEM of daily energy, macronutrients (carbohydrate, protein, fat), fatty acid compositions (SFA, MUFA and PUFA), vegetable oils and cholesterol intakes in 16 participants during dietary interventions. Participants achieved dietary intake goals for the contribution of macronutrients and use of different vegetable oil intervention. The contribution of carbohydrate: protein: fat intake after consumed control diet, SBO, RBO, PO and RBO-PO (3:1) was almost the same in all diets. The vegetable oil intake after consumption of all intervention diets were almost the same. The dietary intakes of the energy, carbohydrate, protein, vegetable oil and cholesterol were no significantly difference after all dietary interventions. (Figure 4-5 to 4-9) The P/M/S ratios were significantly different from control after consumption of SBO, RBO, PO and RBO-PO (3:1).

4.2.3 Biochemical parameter in participants

Lipid profiles

Table 4-7 shows the mean \pm SEM of serum lipid concentration in participants. A significant difference was found in serum lipid profiles after receiving the diet intervention. Serum TC were significantly reduced by the SBO (-13.2%), RBO (-12.4%) and RBO-PO (-11.4%), respectively. Serum LDL-C were significantly reduced by the RBO-PO (-17.0%), and RBO (-16.1%).SBO (-14.2%). Serum HDL-C was decreased in SBO (-11.9%) and serum TG level were also decreased in SBO, RBO and PO, but there was no significant change. Atherogenic index (AI) were significantly reduced by the RBO (-17.2%), RBO-PO (-16.7%), SBO (-5.9%),

respectively. The serum lipids of individual participants in each diet interventions were also recorded (Figure 4-10 to 4-11).

Lipoprotein fractions

Lipoprotein fraction composition

Table 4-8 shows the comparison mean \pm SEM of cholesterol in lipoprotein fractions (VLDL-C, LDL₁-C, LDL₂-C, LDL₃-C, HDL-C). A significant difference was found in lipoprotein fractions after receiving the diet intervention five fractions were differently accumulated cholesterol in their constituents, mostly in LDL₂-C about 62-74%.

VLDL-C, cholesterol was significantly reduced by the RBO (-11.5%) and SBO (-9%), respectively. LDL₁-C, cholesterol was significantly reduced by the RBO-PO (-26.6%), RBO (-22.4%) and SBO (-22%), but increased by PO (+3.9%). LDL₂-C, cholesterol was reduced by the RBO (-16.7%), PO (-14.5%), SBO (-13%) and RBO-PO (-9.6%), respectively. LDL₃-C, cholesterol were reduced by SBO (-14.3%) and RBO-PO (-9.1%). HDL-C, cholesterol was no significant change. VLDL-C, triglyceride was significantly reduced by RBO (-28.9%), PO (-23.1%), SBO (-16.4 %) and RBO-PO (-11%), respectively. LDL₁-C, triglyceride was reduced by PO (-17.1%), RBO (-15%) and SBO (-7.9%) but increased by RBO-PO (+5.8%). LDL₂-C, triglyceride was increased by the RBO, SBO, RBO-PO and PO, respectively. LDL₃-C, triglyceride was increase by the RBO (+2.7%) and PO (+2.2%). HDL-C, triglyceride was no significant change. The comparison of cholesterol and triglyceride change in lipoprotein fractions of individual participant at baseline and after consumed diet interventions are shown in Figure 4-12 to 4-13.

LDL fatty acid compositions

Table 4-9 and Figure 4-14 to 4-17 shows the comparison of mean \pm SEM fatty acid in LDL subfractions at baseline and after different oil interventions. At baseline, the average ratios SFA: MUFA: PUFA of LDL were LDL₁-C (42.56: 18.88: 38.56), LDL₂-C (47.62: 16.20: 36.18), and LDL₃-C (64.48: 8.49: 24.33). LDL fatty acids were significantly changed after receiving the diet interventions.

LDL₁-C, saturated fatty acids were significantly reduced by the RBO-PO (-8.6%) and SBO (-6%), respectively. Mainly palmitic acid (16:0) was only significantly reduced by the SBO (-14.2%). Other SFAs such as stearic acid (18:0) or palmitoleic acid (16:1) were not differently change. MUFA was significantly increased by the RBO-PO (+38.2%), PO (+34%), and RBO (+4.2%), respectively. Oleic acid (18:1,n-9) was significantly increased by RBO-PO (+33.7%) and PO (+32.7%), also palmitoleic acid (16:1, n-7) was increased by the RBO-PO (+79.9%), PO (+65.4%), control diet (+52.8%), and SBO (+30.8%), respectively. On the other hand, oleic acid was significantly reduced by SBO (-11.5%). PUFA was significantly increased by SBO (+10.5%), but reduced by PO (-14.5%). Mainly linoleic acid (18:2, n-6) was only significantly increased by the SBO (+12.6%), but reduced by the RBO-PO (-20.1%) and PO (-19.6%) Linolenic acid (18:2, n-6) and arachidonic acid (20:4, n-6) were not changed.

LDL₂-C, saturated fatty acids were significantly increased by the PO (+13.2%), but reduced by control diet. Mainly palmitic acid (16:0) was significantly reduced by SBO (-18.6%). MUFA was significantly increased by the RBO (+18.7%), RBO-PO (+17.8%) and PO (+10.6%), respectively. Palmitoleic acid (16:1, n-7) was significantly increased by PO (+39.4%), RBO-PO (+33.1%) and respectively. PUFA was significantly increased by SBO (+9.3%), but was reduced by PO (-22.1%) and RBO (-5.3%), respectively. Linoleic acid (18:2, n-6) was significantly increased by the SBO (+12.6%), but reduced by the PO (-19.6%). Arachidonic acid (20:4, n-6) was reduced by the PO (-31.4%), RBO-PO (-31.2%), and RBO (-26.9%).

LDL₃-C, saturated fatty acid was significantly decreased in SBO (-9%) but increased in PO (+7%) while they were not changed in RBO and RBO-PO. Only palmitic acid (16:0) was significantly reduced in SBO (-21%). LDL₃, monounsaturated fatty acid level was significantly increased in PO (+35%), RBO-PO (+28%) and RBO (+24%) but decreased in SBO (-35%). Oleic acid (18:1) was significantly increased in PO (+37%), RBO-PO (+27%) and RBO (+25%) but decreased in SBO (-42%). LDL₃, polyunsaturated fatty acid was significant increased in SBO (+36%) but decreased in PO (-31%) and in RBO-PO (-11%). Linoleic acid (18:2, n-6) and linolenic acid (18:3, n-3) were significantly increased in SBO.

Linoleic acid (18:2, n-6) was significantly decreased in RBO-PO (-18%) and PO (-25%).

LDL oxidation

Table 4-10 shows the mean \pm SEM of lag time a figure 4-18 to 4-21 show the kinetic profile of LDL oxidation induced by copper. LDL₁-C, lag time was significantly increased by PO (+8.3%) and RBO-PO (+3.5%), but reduced by SBO (-16.1%). LDL₂-C, lag time was significantly increased by PO (+ 17.1%), but reduced by SBO (-13%). LDL₃-C, lag time was significantly increased by PO (+26.8%), RBO-PO (+21.2%), and RBO (+12.5%), but reduced by SBO (-17.8%).

Table 4-1 Characteristics of the participants at baseline¹

Parameter	Mean \pm SEM
age, year	56.8 \pm 7.5
weight, kg	54.3 \pm 6.8
height, cm	154.9 \pm 2.9
BMI, kg/m ²	22.6 \pm 2.5
body fat, %	30.5 \pm 5.7
waist circumference, cm	82.6 \pm 10.7
hip circumference, cm	95.7 \pm 5.7
waist to hip ratio	0.9 \pm 0.1
SBP, mmHg	115.1 \pm 15.3
DBP, mmHg	71.8 \pm 9.8
pulse rate, beat/min	75.6 \pm 9.6

¹ Values are mean \pm SEM

Table 4-2 Fatty acid compositions of the tested vegetable oils by analysis ¹

Fatty acid	Vegetable oils (g/100 g)			
	SBO	RBO	PO	RBO-PO (3:1)
SFA	16.3	22.9	44.4	28.3
Lauric acid (12:0)	ND	ND	0.5	0.12
Myristic acid (14:0)	0.2	0.4	0.9	0.5
Palmitic acid (16:0)	10.9	19.7	38.6	24.4
Stearic acid (18:0)	4.8	2.0	4.1	2.6
Arachidic acid (20:0)	0.4	0.8	0.3	0.7
MUFA	23.0	42.9	44.9	43.4
Palmitoleic acid (16:1n-7)	0.1	0.2	0.2	0.2
Oleic acid (18:1 n-9)	22.7	42.3	44.6	42.8
Gadoleic acid (20:1n-9)	0.2	0.5	0.16	0.4
PUFA	60.7	34.2	10.7	28.3
Linoleic acid (18:2, n-6)	53.7	33.5	10.5	27.7
Linolenic acid (18:3 n-3)	7.0	0.8	0.2	0.6
Saturated	16.3	22.9	44.4	28.3
Unsaturated	83.7	77.1	55.6	71.7
P/S	3.7	1.5	0.2	1.0
M/S	1.4	1.9	1.0	1.5
M/P	0.4	1.3	4.2	1.5
P/M/S	3.7:1.4:1	1.5:1.9:1	0.2:1.0:1	1:1.5:1
Predominant fatty acid	PUFA	MUFA+PUFA	SFA+MUFA	MUFA

¹ All tested vegetable oil were analyzed in duplicated by GC

Table 4-3 Oxidative stability index (OSI) of vegetable oils ¹

Vegetable oil	Temperature	Induction time (hr)
SBO	110 °C	8.0±0.1 ^a
RBO	110 °C	12.7±0.1 ^b
PO	110 °C	28.3±0.1 ^c
RBO-PO (3:1)	110 °C	16.10.0 ^b

¹ All tested vegetable oil were analyzed in duplicated by rancimat method

Table 4-4 Biochemical parameters of participants at baseline ¹

Parameter	Mean±SEM
Serum lipids	
TC, mg/dL	264.7±28.8
LDL-C, mg/dL	190.8±25.0
HDL-C, mg/dL	51.6±12.5
TG, mg/dL	111.8±44.7
Atherogenic index (AI)	4.4±1.3
Serum mineral and CO₂ levels	
Na, mmol/L	141.9±2.1
K, mmol/L	4.3±0.3
Cl, mmol/L	104.4±2.1
CO ₂ , mmol/L	26.9±2.7
Liver enzyme levels	
ALP, U/L	65.8±18.2
AST, U/L	20.3±5.0
ALT, U/L	33.6±7.8
GGT, U/L	30.7±17.9
T BILI, μmol/L	9.6±5.0
T BILI, μmol/L	2.7±0.7
Others	
GLU, mg/dL	95.1±11.1
TP, g/L	77.2±4.7
ALP, g/L	47.3±3.0
Ca, mmol/L	2.4±0.1
IN.P, mmol/L	1.2±0.2
BUN, mmol/L	4.6±1.2
CRE, umol/L	60.6±9.5
UA, umol/L	4.6±0.9

¹ Values are means ± SD

Table 4-4 Biochemical parameters of participants at baseline (Continued)¹

Parameter	Mean±SEM
Hematological status	
WBC, k/uL	5.5±1.3
RBC, M/uL	4.3±0.1
Hb, g/dL	12.6±1.0
Hct, %	37.7±3.1
MCV, fL	87.2±4.2
MCH, pg	29.1±1.5
MCHC, g/dL	33.4±1.0
RDW, %	14.2±1.3
Plt, k/uL	257.2±55.9
Nuet, %	53.5±10.7
Lymph, %	35.2±8.2
Mono, %	6.8±1.7
Eos, %	3.6±2.4
Baso, %	1.0±0.7

¹ Values are means±SD

Table 4-5 Anthropometric parameter in participants following diet intervention^{1*}

Parameters	Baseline	Control diet	SBO	RBO	PO	RBO-PO (3:1)
Weight, kg	54.3±6.8	54.2±6.5	54.2±6.6	54.4±6.6	53.9±6.6	54.0±6.7
BMI, kg/m ²	22.6±2.5	22.5±2.4	22.5±2.3	22.6±2.3	22.4±2.3	22.5±2.4
Total fat, %	30.5±5.7	30.7±5.3	31.2±5.4	30.7±5.9	29.9±5.8	30.6±6.2
Waist, cm	82.6±10.7	82.7±9.5	84.6±9.1	83.9±8.2	83.8±7.9	84.6±8.6
Hip, cm	95.7±5.8	95.6±5.0	95.8±5.2	95.8±5.4	95.2±5.2	95.5±5.4
W/H ratio	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1
SBP, mmHg	115.1±15.3	121.0±13.4	109.3±12.7	116.0±13.6	117.4±13.3	113.6±12.1
DBP, mmHg	71.8±9.8	77.5±7.2	70.7±7.0	72.5±11.6	74.3±8.8	73.4±9.8
Pulse rate, beat/min	75.6±9.6	73.4±8.6	71.9±6.9	71.7±8.6	73.3±7.7	72.81±9.1

¹ Values are mean ± SEM, n = 16, Means in a row with different superscripts differ, *P* < 0.05.

* There were no significant different among various intervention. (ANOVA, *p* < 0.05)

Table 4-6 Intake of nutrients during the dietary interventions^{1,2} (N=16)

Parameters	Control diet	SBO	RBO	PO	RBO-PO (3:1)
Energy (kcal)	1,610±228	1,636±229	1,627±219	1,626±231	1,635±228
Carbohydrate (g)	215±38.3	215.3±36	213±36	212.3±38.5	216.5±38.3
Protein (g)	69.5±14.8	71±17.5	71±16.8	71.8±17.3	70.5±16.8
Fat (g)	52.6±10.3	54.4±11.3	54.6±11.2	54.4±11.1	54±10.9
Carbohydrate (% of energy)	53.4±5.7	52.7±5.9	52.4±5.98	52.3±6.0	53.0±5.8
Protein (% of energy)	17.3±2.9	17.4±3.2	17.4±3.2	17.6±3.3	17.3±3.2
Fat (% of energy)	30.7±4.4	31.7±4.8	30.8±4.3	30.8±4.3	30.9±4.1
SFA (% of energy)	10.0±2.6 ^a	9.±1.7 ^b	10.0 ±1.6 ^a	12.6±2.0 ^c	11.1±1.5 ^d
MUFA (% of energy)	11.4±2.3 ^a	9.9±1.7 ^b	12.5±1.8 ^c	12.9±1.8 ^c	12.5±1.8 ^c
PUFA (% of energy)	8.96 ± 4.02 ^a	11.9±2.4 ^b	7.9±1.4 ^c	4.9±0.8 ^d	6.9±1.1 ^c
P/S	1.0 ^a	1.29 ^b	0.80 ^c	0.39 ^d	0.63 ^{cd}
P/M/S	1.04:1.17:1	1.29:1.06:1	0.80:1.26:1	0.39:1.03:1	0.63:1.13:1
Vegetable oil (% of energy)	20.3±4.2	20.19 ± 4.08	20.0±3.7	20.2±4.1	20.3±4.0
Test oil (% of energy)	Self-selected	18.7±4.8	18.5±4.9	18.62±5.4	19.0±5.0
Exogenous (% of energy)	-	1.5±3.1	1.4±3.6	1.7±3.9	1.45±3.4
Cholesterol (mg/d)	230±75	232±68	235±66	234 ± 65	234 ± 62

¹ Values are means ± SEM.² Calculated from daily intake, which were recorded at baseline and during dietary interventions.

a,b,c,d Different superscripts within the same row means significant difference., (ANOVA, p<0.05)

Table 4-7 Lipid profile in participants at baseline and at different oil intervention¹

Parameters	Baseline	Control diet	SBO	RBO	PO	RBO-PO (3:1)
TC, mg/dL	264.7±28.8 ^a	266.7±27.3 ^a	229.8± 27.8 ^b	231.9±24.7 ^b	264.8±25.2 ^a	234.6±23.5 ^b
LDL-C, mg/dL	183.8±32.5 ^a	184.0±26.6 ^a	157.8± 23.4 ^b	154.3±25.6 ^b	184.7±24.3 ^a	152.6±24.6 ^b
HDL-C, mg/dL	58.5±17.7 ^a	56.9±13.8 ^a	51.6±12.5 ^a	56.9±11.6 ^a	59.3±13.4 ^a	57.5±12.4 ^a
TG, mg/dL	111.8±44.7 ^a	128.8±46.0 ^a	102.6±37.1 ^a	103.4±28.9 ^a	104.0±34.0 ^a	122.5± 49.2 ^a
Atherogenic index	3.9±1.5 ^a	3.9± 1.1 ^a	3.67 ± 1.18 ^b	3.2±1.0 ^{ab}	3.7±1.0 ^b	3.3±1.2 ^{ab}

¹Values are means ± SEM.

^{a,b} Different superscripts within the same row means significant difference, P < 0.05

Table 4-8 Lipoprotein fractions in participants at baseline and at different oil intervention¹

Lipoprotein fractions	BL	Control diet	SBO	RBO	PO	RBO-PO (3:1)
Cholesterol, mg/dl						
VLDL-C	42.7±20.5 ^a	47.4±11.5 ^b	38.8±18.8 ^c	37.8±12.7 ^c	49.4±17.1 ^b	45.3±12.1 ^{ab}
LDL ₁ -C (25-45)	47.6±7.7 ^a	46.2±6.8 ^a	37.2±7.0 ^b	37.0±4.3 ^b	49.5±7.7 ^c	35.0±4.3 ^d
LDL ₂ -C (40-70)	74.6±9.4 ^a	76.7±12.9 ^a	64.8±7.7 ^b	62.1±6.2 ^b	63.8±7.3 ^b	67.4±8.2 ^c
LDL ₃ -C (15-40)	39.5±5.6 ^a	37.5±6.6 ^b	33.9±6.7 ^c	38.3±6.5 ^{ab}	39.5±5.0 ^a	35.6±5.3 ^{bc}
HDL-C	51.3±5.7 ^a	51.4±5.6 ^a	50.5±4.9 ^a	49.2±6.1 ^a	50.7±6.0 ^a	50.8±6.1 ^a
Triglyceride, mg/dl						
VLDL-TG	60.4±28.8 ^a	56.7±23.9 ^a	50.5±28.7 ^b	43.0±18.3 ^c	46.5±21.1 ^{cb}	53.8±26.2 ^b
LDL ₁ -TG	16.6±6.7 ^a	18.3±8.2 ^a	15.3±4.2 ^{ab}	14.1±5.7 ^{ab}	13.7±4.1 ^b	17.5±7.0 ^a
LDL ₂ -TG	5.4±1.8 ^a	8.6±4.7 ^b	9.3±4.2 ^b	11.2±3.0 ^c	8.1±4.4 ^b	9.3±3.2 ^b
LDL ₃ -TG	4.5±1.7 ^{ab}	5.5±1.8 ^b	4.1±0.9 ^a	7.9±1.7 ^c	7.5±2.9 ^c	5.7±1.3 ^b
HDL-TG	8.7±4.6 ^a	15.9±7.2 ^{bd}	12.43±2.39 ^c	14.1±4.3 ^b	16.1±4.7 ^d	13.7±5.1 ^b

¹ Values are means ± SEM.

a,b,c,d,e Different superscripts within the same row means significant difference, P < 0.05

Table 4-9 Fatty acids in LDL subfractions after different vegetable oils interventions

LDL fatty acids	Baseline	Control diet	SBO	RBO	PO	RBO-PO (3:1)
Lauric acid (12:0)						
LDL ₁ -C	0.6±0.4 ^a	0.5±0.3 ^a	0.6±0.4 ^a	0.4±0.3 ^a	0.5±0.3 ^a	0.6±0.5 ^a
LDL ₂ -C	0.8±0.2 ^a	0.4±0.2 ^a	0.5±0.2 ^a	0.4±0.3 ^a	0.7±0.5 ^a	0.5±0.4 ^a
LDL ₃ -C	0.7±0.6 ^a	0.4±0.5 ^a	0.4±0.3 ^a	0.6±0.5 ^a	1.0±0.5 ^b	1.0±0.3 ^b
Myristic acid (14:0)						
LDL ₁ -C	1.1±0.2 ^a	1.7±0.3 ^a	1.1±0.3 ^a	1.1±0.5 ^a	0.9±0.3 ^a	1.0±0.4 ^a
LDL ₂ -C	1.7±0.7 ^a	1.6±0.8 ^a	1.9±0.5 ^a	1.1±0.6 ^a	1.1±0.4 ^a	1.0±0.7 ^a
LDL ₃ -C	1.4±0.7 ^a	1.8±1.0 ^a	1.1±0.7 ^a	1.6±0.5 ^a	1.4±0.6 ^a	1.4±0.8 ^a
Palmitic acid (16:0)						
LDL ₁ -C	25.9±4.1 ^a	26.7±2.7 ^a	22.2±3.4 ^b	24.8±2.9 ^a	26.5±2.3 ^a	25.8±3.2 ^a
LDL ₂ -C	27.6±3.0 ^a	26.6±3.8 ^a	22.5±3.9 ^b	25.1±2.7 ^a	29.4±2.6 ^a	27.5±2.5 ^a
LDL ₃ -C	27.0±3.5 ^a	26.7±2.8 ^a	21.2±2.1 ^b	25.5±2.7 ^a	29.5±2.8 ^a	26.4±3.0 ^a
Palmitoleic acid (16:1n-7)						
LDL ₁ -C	1.6±0.8 ^a	2.4±1.4 ^b	2.1±1.3 ^b	2.4±1.9 ^b	2.6±1.7 ^b	2.9±1.3 ^b
LDL ₂ -C	1.6±0.8 ^a	1.8±1.1 ^a	1.7±1.0 ^a	1.7±1.3 ^a	2.2±1.9 ^b	2.1±1.5 ^b
LDL ₃ -C	0.9±0.8 ^a	1.0±0.8 ^a	1.2±0.9 ^a	1.2±0.9 ^a	1.2±0.8 ^a	1.3±0.9 ^a
Stearic acid (18:0)						
LDL ₁ -C	14.2±3.3 ^a	14.2±4.1 ^a	14.7±4.4 ^a	13.9±3.7 ^a	13.6±4.2 ^a	13.2±3.9 ^a
LDL ₂ -C	16.6±4.4 ^a	15.4±4.4 ^a	18.6±3.6 ^a	16.8±4.9 ^a	19.8±4.9 ^a	16.0±4.8 ^a
LDL ₃ -C	36.3±4.9 ^a	34.9±3.1 ^a	35.8±3.1 ^a	35.0±2.0 ^a	34.3±3.3 ^b	37.2±4.8 ^a

¹ Values are means±SEM

a,b,c,d Different superscripts within the same row means significant difference.

(ANOVA, p<0.05)

Table 4-9 Fatty acids in LDL subfractions after different vegetable oils interventions (Continued)

LDL fatty acids	Baseline	Control diet	SBO	RBO	PO	RBO-PO(3:1)
Oleic acid (18:1 n-9)						
LDL ₁ -C	17.4 ± 3.0 ^a	16.8 ± 2.6 ^a	15.4 ± 3.4 ^b	18.4 ± 2.1 ^a	23.1 ± 2.1 ^c	23.2 ± 2.4 ^c
LDL ₂ -C	14.7 ± 2.5 ^{ab}	16.5 ± 3.6 ^b	11.9 ± 3.6 ^a	18.6 ± 3.4 ^b	15.8 ± 2.0 ^{ab}	17.0 ± 2.0 ^b
LDL ₃ -C	9.3 ± 1.7 ^a	8.4 ± 1.5 ^a	4.9 ± 1.2 ^b	10.5 ± 1.5 ^a	11.5 ± 0.9 ^c	10.7 ± 1.8 ^a
Linoleic acid (18:2 n-6)						
LDL ₁ -C	33.1 ± 4.7 ^a	31.7 ± 6.9 ^a	37.3 ± 4.6 ^b	32.4 ± 5.0 ^a	26.6 ± 5.5 ^c	26.5 ± 4.1 ^c
LDL ₂ -C	29.0 ± 5.1 ^a	30.3 ± 5.2 ^a	35.0 ± 5.5 ^b	29.6 ± 5.2 ^a	24.2 ± 4.9 ^c	29.4 ± 5.2 ^a
LDL ₃ -C	19.3 ± 6.5 ^a	20.6 ± 5.6 ^a	29.0 ± 4.8 ^b	20.0 ± 2.4 ^a	15.5 ± 7.3 ^a	16.8 ± 3.1 ^c
Linolenic acid 18:3 n-3						
LDL ₁ -C	2.0 ± 1.3 ^a	1.5 ± 1.7 ^a	1.9 ± 0.9 ^a	1.7 ± 1.3 ^a	1.6 ± 1.2 ^a	2.0 ± 1.6 ^a
LDL ₂ -C	2.1 ± 1.5 ^a	2.2 ± 1.3 ^a	2.5 ± 1.9 ^a	2.1 ± 1.7 ^a	2.5 ± 2.6 ^a	2.2 ± 1.4 ^a
LDL ₃ -C	1.2 ± 1.2 ^a	1.1 ± 1.4 ^a	2.1 ± 1.3 ^b	1.1 ± 0.9 ^a	0.7 ± 0.5 ^a	1.3 ± 0.6 ^a
Arachidic acid (20:0)						
LDL ₁ -C	1.0 ± 0.9 ^a	1.2 ± 1.1 ^a	1.1 ± 1.4 ^a	1.0 ± 1.0 ^a	0.9 ± 1.0 ^a	1.5 ± 1.9 ^a
LDL ₂ -C	1.2 ± 0.6 ^a	1.0 ± 0.8 ^a	1.2 ± 1.4 ^a	1.0 ± 0.9 ^a	1.1 ± 2.0 ^a	0.9 ± 1.5 ^a
LDL ₃ -C	1.2 ± 1.1 ^a	1.4 ± 1.3 ^a	0.8 ± 0.6 ^a	1.5 ± 0.6 ^a	0.6 ± 0.4 ^a	0.3 ± 0.8 ^a
Arachidonic acid (20:4 n-6)						
LDL ₁ -C	3.2 ± 2.1 ^a	3.4 ± 1.3 ^a	3.6 ± 1.8 ^a	3.8 ± 1.5 ^a	3.7 ± 1.8 ^a	3.2 ± 2.0 ^a
LDL ₂ -C	4.8 ± 3.2 ^a	4.1 ± 2.1 ^a	4.4 ± 2.2 ^a	3.5 ± 2.5 ^b	3.3 ± 2.4 ^b	3.3 ± 2.8 ^b
LDL ₃ -C	2.7 ± 2.1 ^{ac}	3.8 ± 2.0 ^{ac}	3.5 ± 2.2 ^b	3.0 ± 2.5 ^{ac}	1.3 ± 2.7 ^{ac}	3.6 ± 2.6 ^c

¹ Values are means ± SEM

a,b,c,d Different superscripts within the same row means significant difference.

(ANOVA, p<0.05)

Table 4-9 Fatty acids in LDL subfractions after different vegetable oils interventions (Continued)

LDL fatty acids	Baseline	Control diet	SBO	RBO	PO	RBO-PO(3:1)
SFA						
LDL ₁ -C	42.6±5.6 ^a	43.4±5.4 ^a	40.0±4.7 ^b	42.1±5.1 ^a	41.7±4.7 ^{ab}	38.9±4.7 ^c
LDL ₂ -C	47.6±4.5 ^a	44.7±7.3 ^b	46.9±4.3 ^a	46.5±5.1 ^a	53.9±9.7 ^c	45.8±4.8 ^a
LDL ₃ -C	64.5±4.1 ^a	65.2±4.2 ^a	59.3±4.3 ^b	64.2±2.4 ^a	69.8±14.2 ^c	65.3±2.1 ^a
MUFA						
LDL ₁ -C	18.9±5.3 ^{ab}	19.1±5.0 ^{ab}	17.4±6.5 ^a	19.7±6.3 ^b	25.3±4.2 ^c	26.1±4.6 ^c
LDL ₂ -C	16.2±3.9 ^a	18.2±7.1 ^b	13.5±4.9 ^c	19.2±6.4 ^c	17.9±5.3 ^b	19.1±3.9 ^c
LDL ₃ -C	8.5±3.8 ^a	9.4±5.4 ^a	6.1±7.1 ^b	11.7±1.2 ^c	12.7±7.3 ^c	12.0±2.1 ^c
PUFA						
LDL ₁ -C	38.6±4.8 ^a	37.5±6.1 ^a	42.6±4.6 ^b	38.2±5.3 ^a	33.0±5.1 ^c	35.0±3.3 ^{ac}
LDL ₂ -C	36.2±5.4 ^a	37.0±5.0 ^a	39.6±4.5 ^b	34.3±4.8 ^c	28.2±7.8 ^d	35.2±5.2 ^a
LDL ₃ -C	24.3±6.2 ^a	25.5±6.6 ^a	34.6±4.2 ^b	24.1±2.6 ^a	17.5±7.7 ^c	22.7±2.8 ^a

¹ Values are means ± SEM

a,b,c,d Different superscripts within the same row means significant difference.

(ANOVA, p<0.05)

Table 4-10 Lagtime in LDL subfractions after different oil interventions

Lagtime(min)	Control diet	SBO	RBO	PO	RBO-PO(3:1)
LDL ₁ -C	95.2±4.0 ^a	79.8±3.1 ^b	89.3±2.3 ^{ab}	103.1±3.8 ^c	98.5±3.5 ^c
LDL ₂ -C	68.0±1.9 ^a	59.1±1.6 ^b	73.5±2.6 ^{ac}	79.6±5.8 ^c	67.9±1.7 ^a
LDL ₃ -C	56.7±1.9 ^a	46.6±2.1 ^b	63.8±1.9 ^c	71.9±1.6 ^d	68.7±3.7 ^{cd}

¹ Values are means ± SEM

a,b,c,d Different superscripts within the same row means significant difference.

(ANOVA, p<0.05)

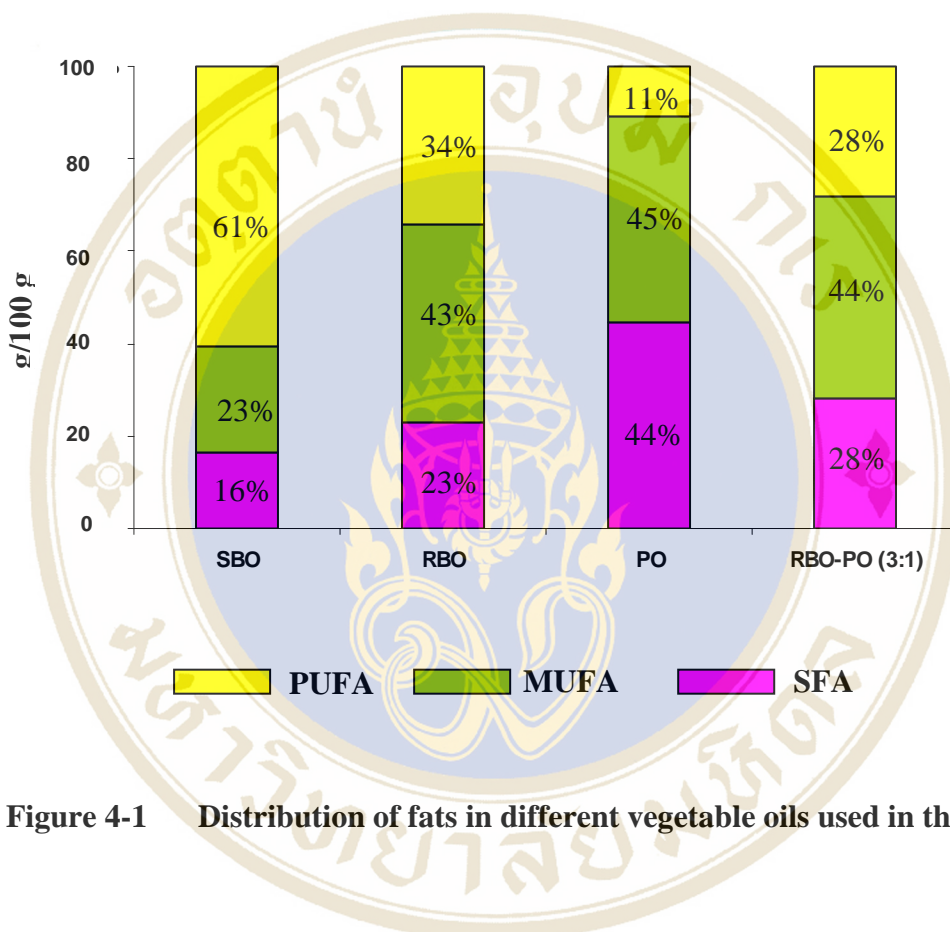


Figure 4-1 Distribution of fats in different vegetable oils used in this study

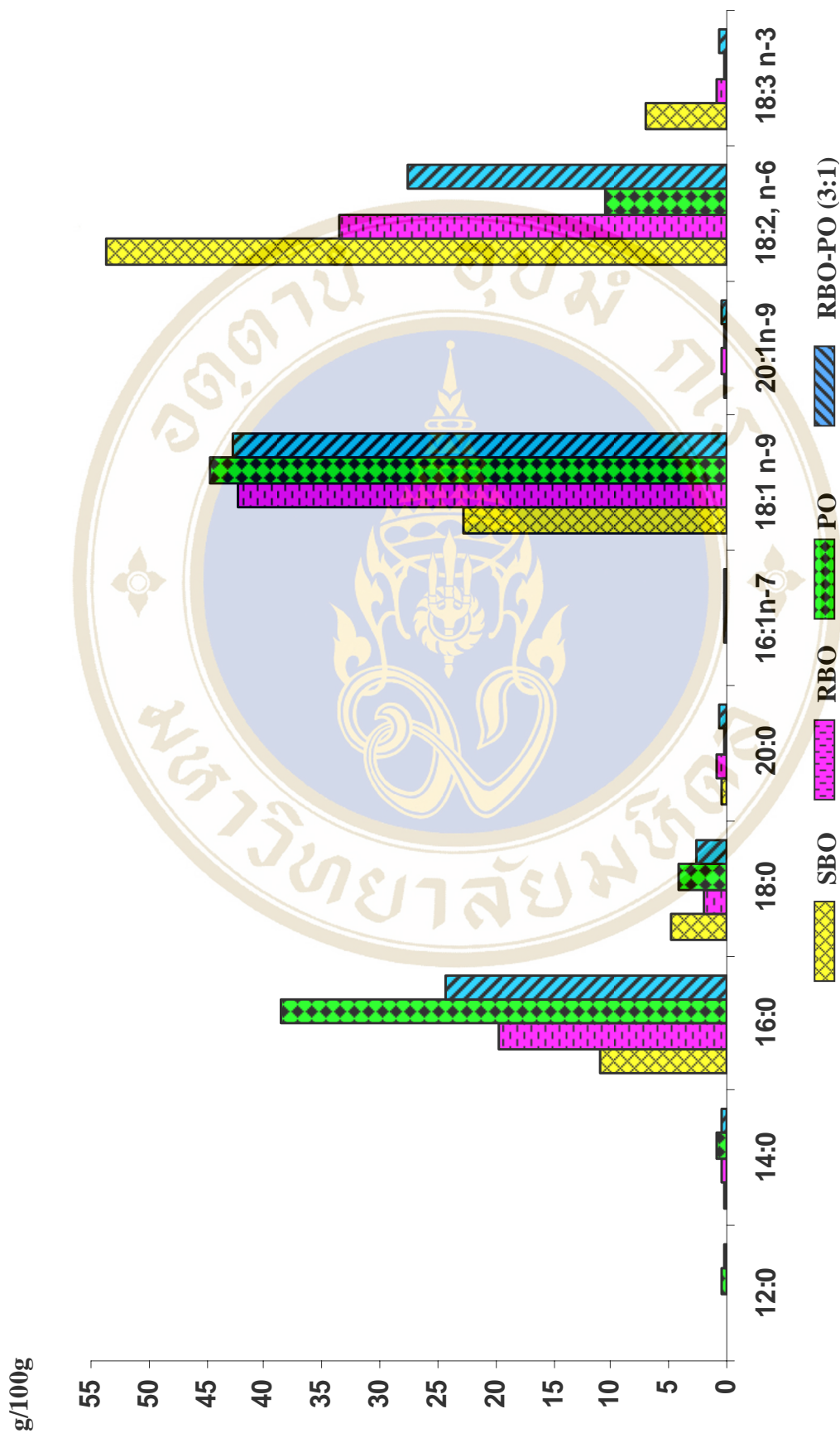


Figure 4-2 Distribution of fatty acids in different vegetable oils used in this

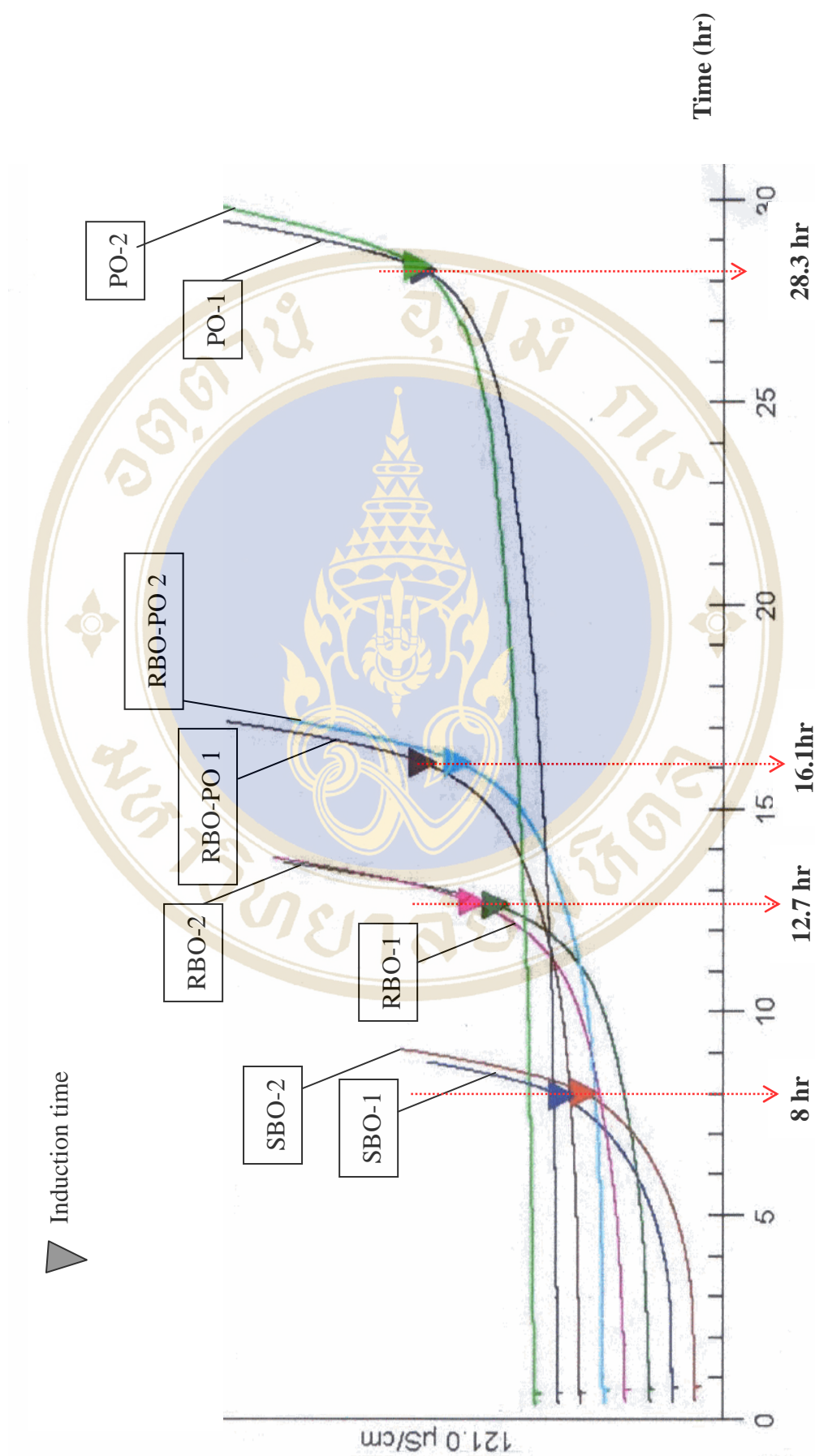


Figure 4-3 Comparison of the oxidative index (OSI) between different vegetable oils used in this study

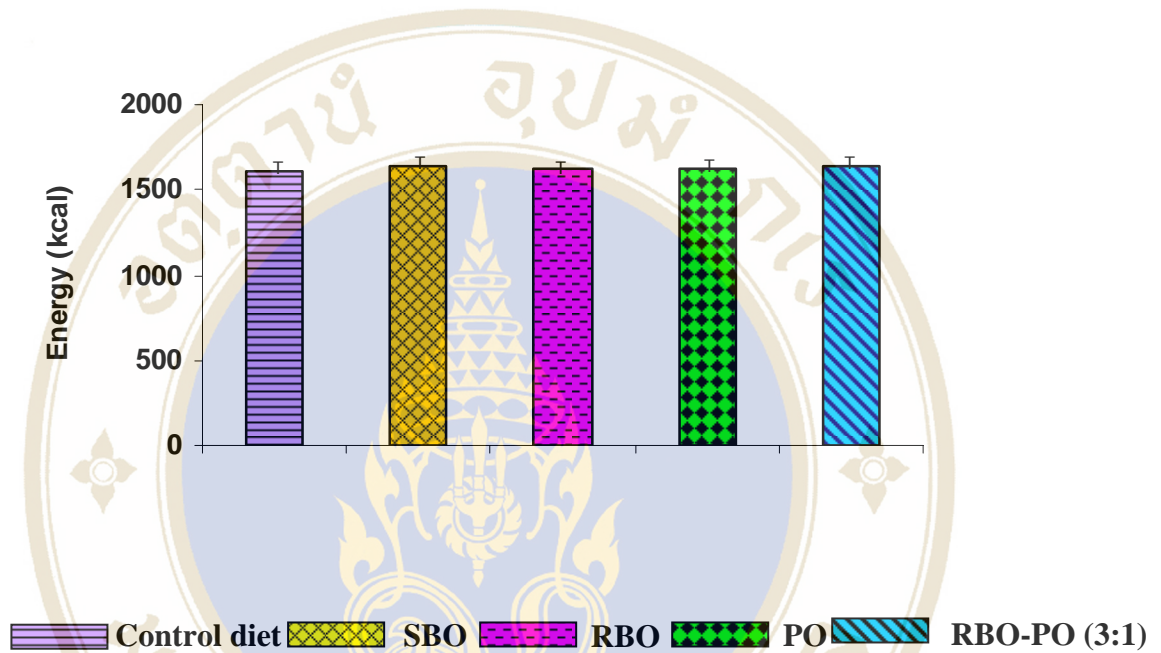


Figure 4-4 Comparison of the average energy intake of participants between dietary interventions*

* There was no significant difference among various interventions. (ANOVA, $p < 0.05$)

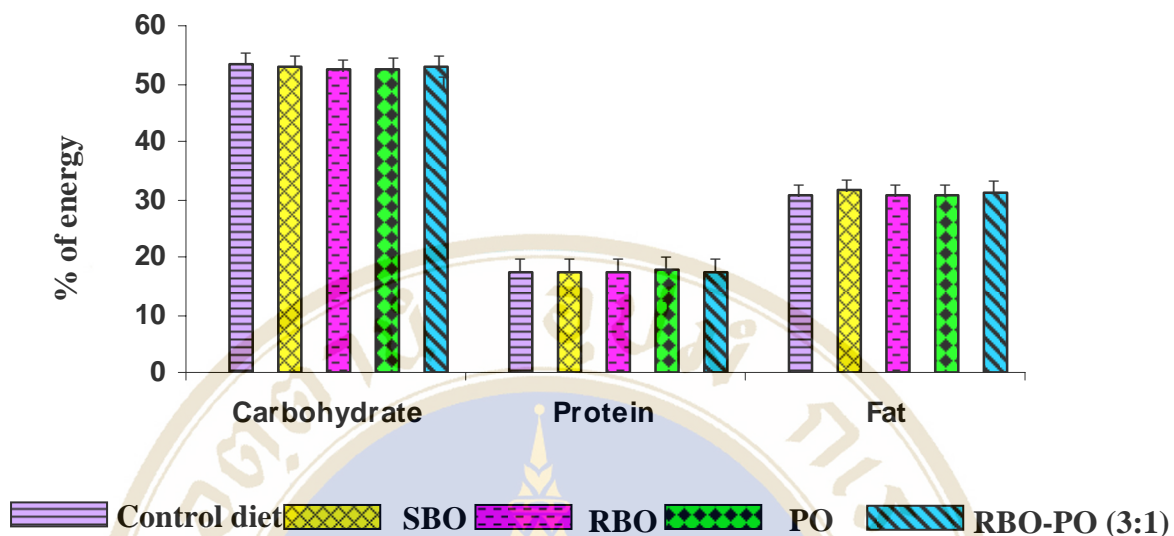


Figure 4-5 Comparison of macronutrient intake of participants during dietary interventions*

* There was no significant difference among various interventions. (ANOVA, $p < 0.05$)

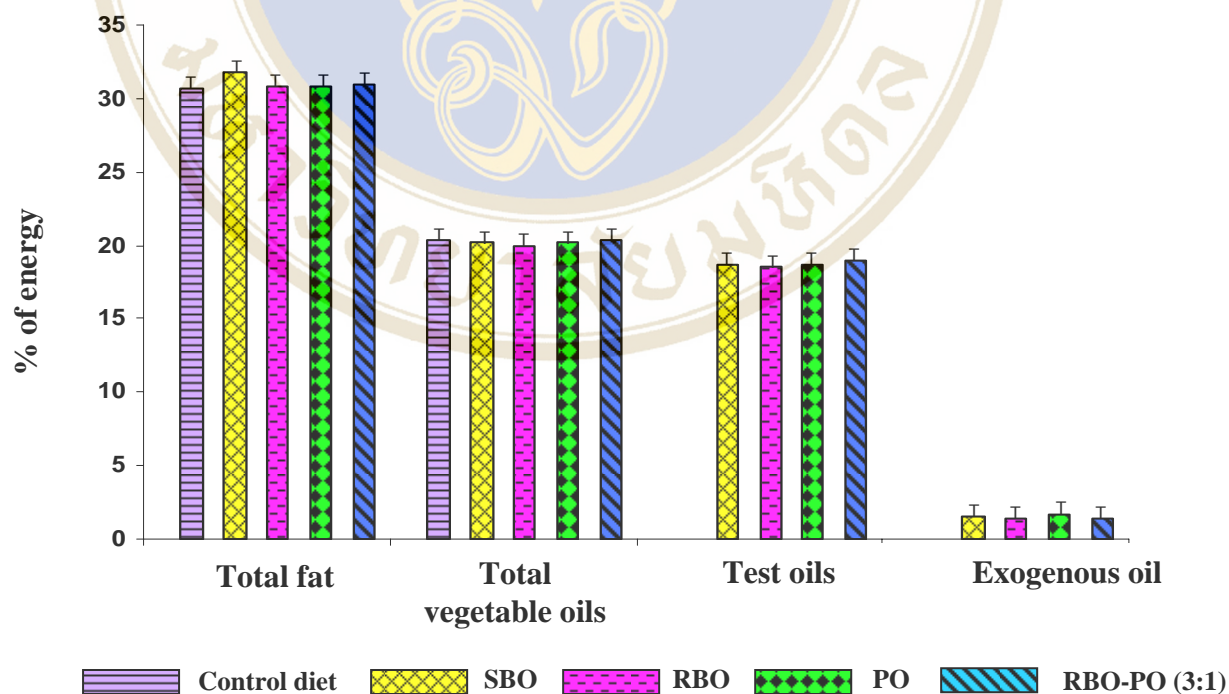


Figure 4-6 Comparison of total fat and oil intakes of participants between different dietary interventions*

* There was no significant difference among various interventions. (ANOVA, $p < 0.05$)

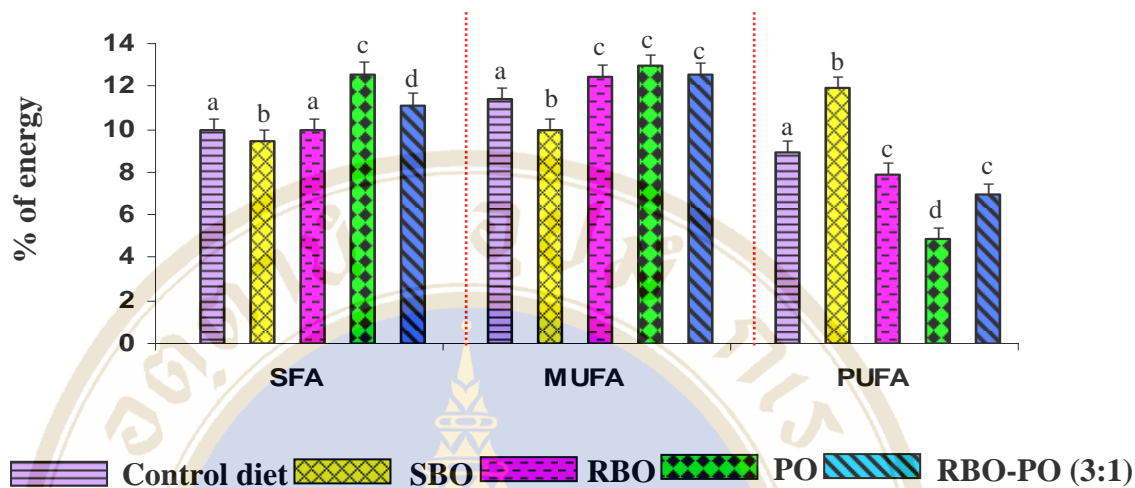


Figure 4-7 Comparison of SFA, MUFA and PUFA intake of participants during dietary interventions

a,b,c,d Different superscripts mean significant difference., (ANOVA, $p < 0.05$)

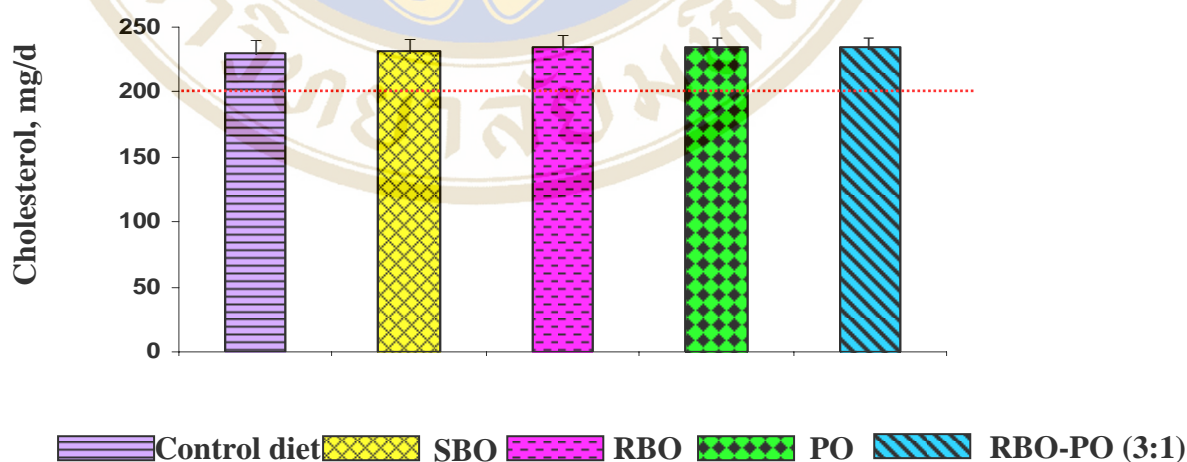


Figure 4-8 Comparison of cholesterol intake of participants between different dietary interventions*

* There was no significant difference among various interventions. (ANOVA, $p < 0.05$)

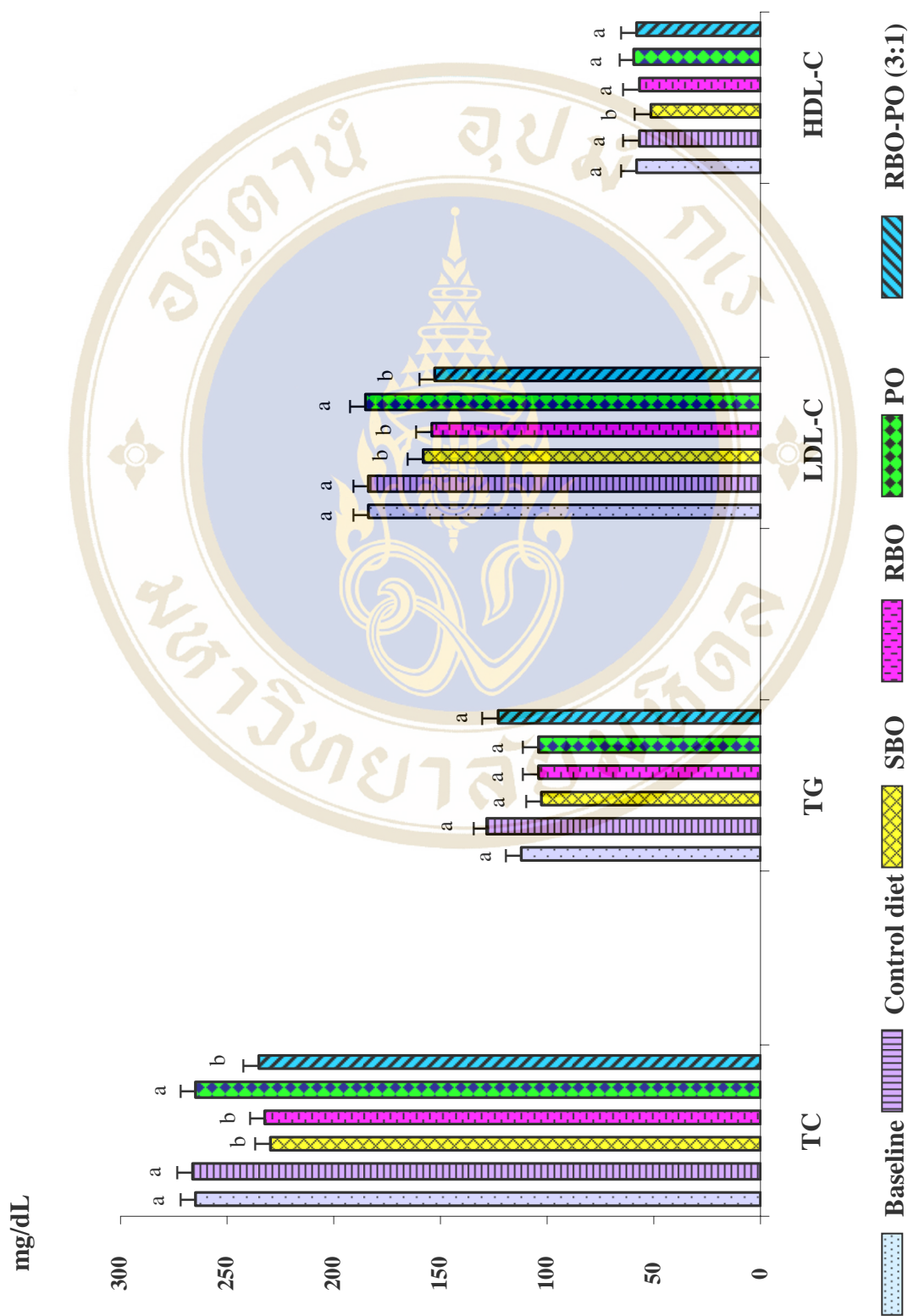


Figure 4-9 Comparison of serum lipid profile of participants at baseline and after dietary interventions
 a,b Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, p<0.05)

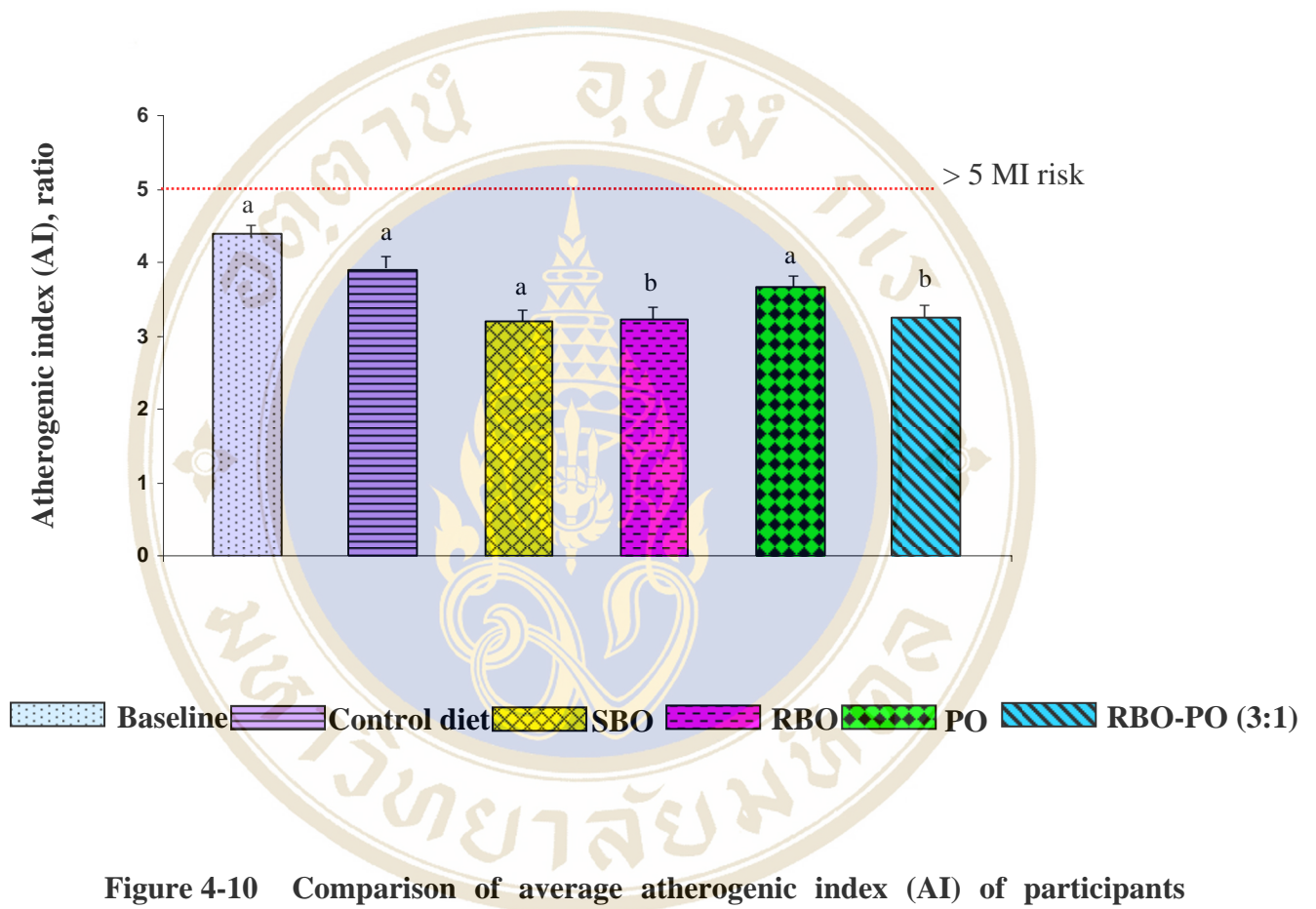


Figure 4-10 Comparison of average atherogenic index (AI) of participants between baseline and different dietary interventions

^{a,b} Different superscripts mean significant difference.

(ANOVA, $p < 0.05$)

$$\text{Atherogenic index (AI)} = \frac{\text{TC} - \text{HDL-C}}{\text{HDL-C}}$$

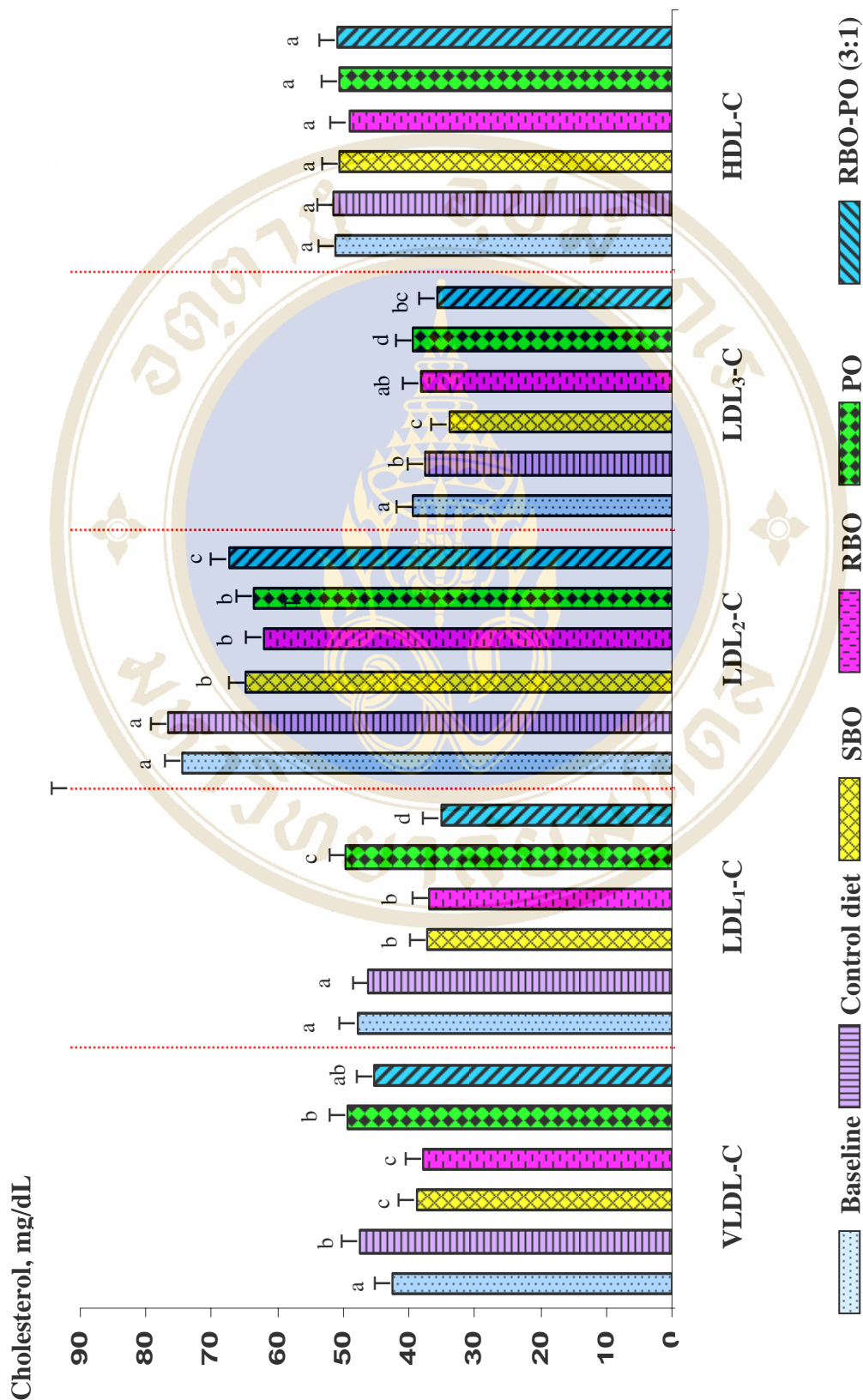


Figure 4-11 Comparison of cholesterol in lipoprotein fractions between baseline and during dietary interventions

^{a,b,c,d} Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, $p < 0.05$)

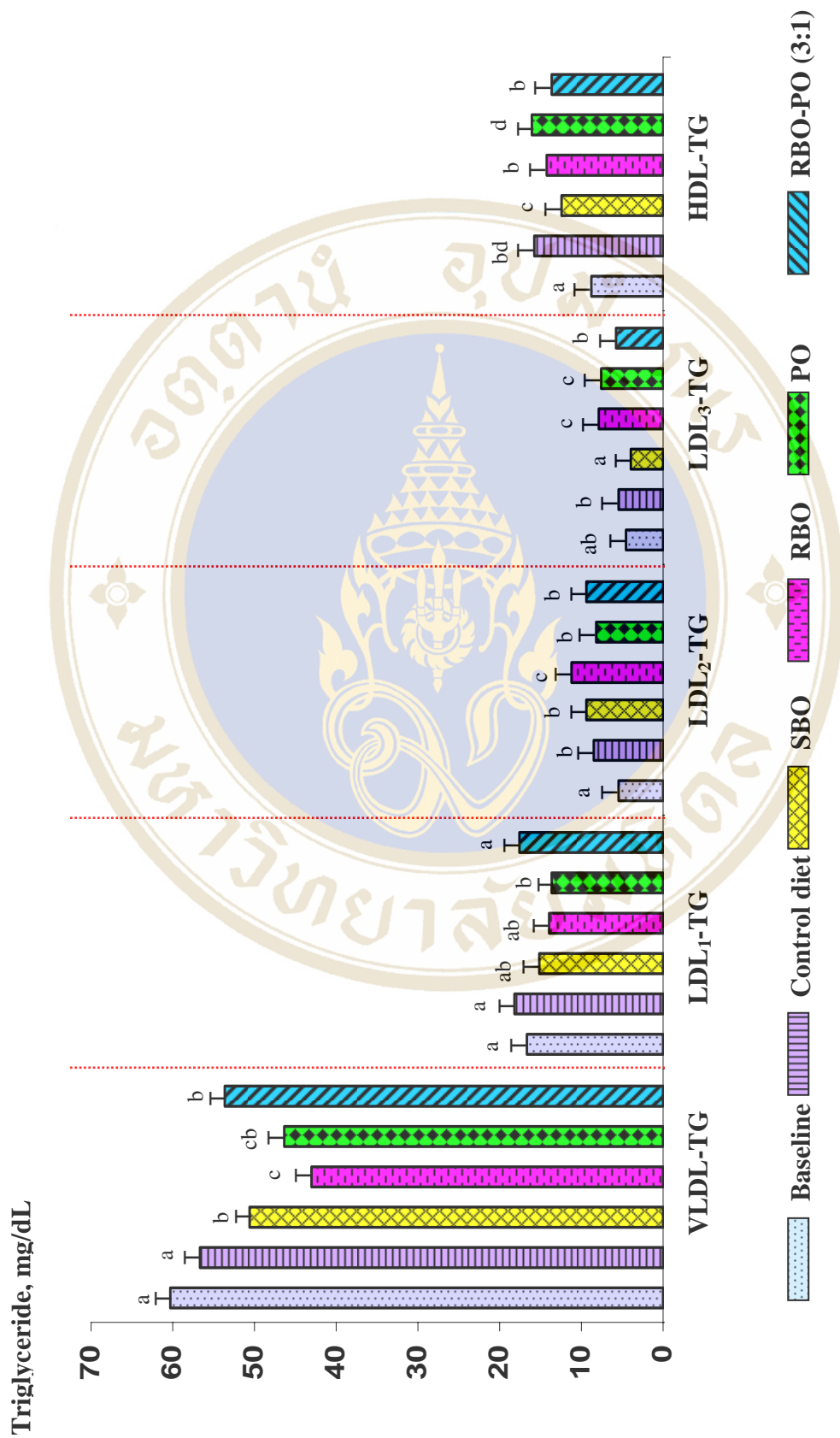


Figure 4-12 Comparison of triglyceride in lipoprotein fractions between baseline and during dietary interventions

a,b,c,d Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, p<0.05)

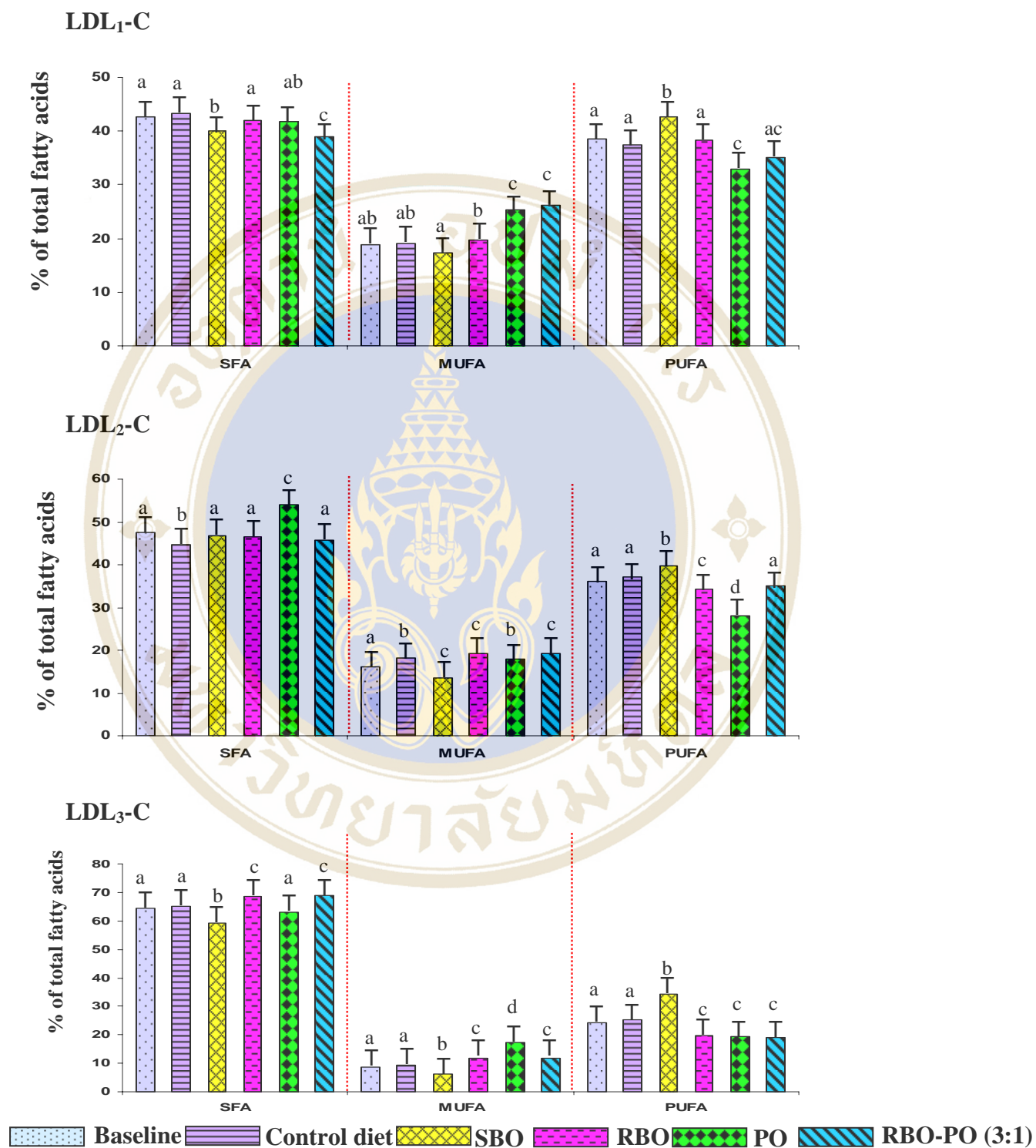


Figure 4-13 Comparison of SFA, MUFA, and PUFA in LDL subfractions of participants between baseline and during dietary interventions

a,b,c,d Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, $p < 0.05$)

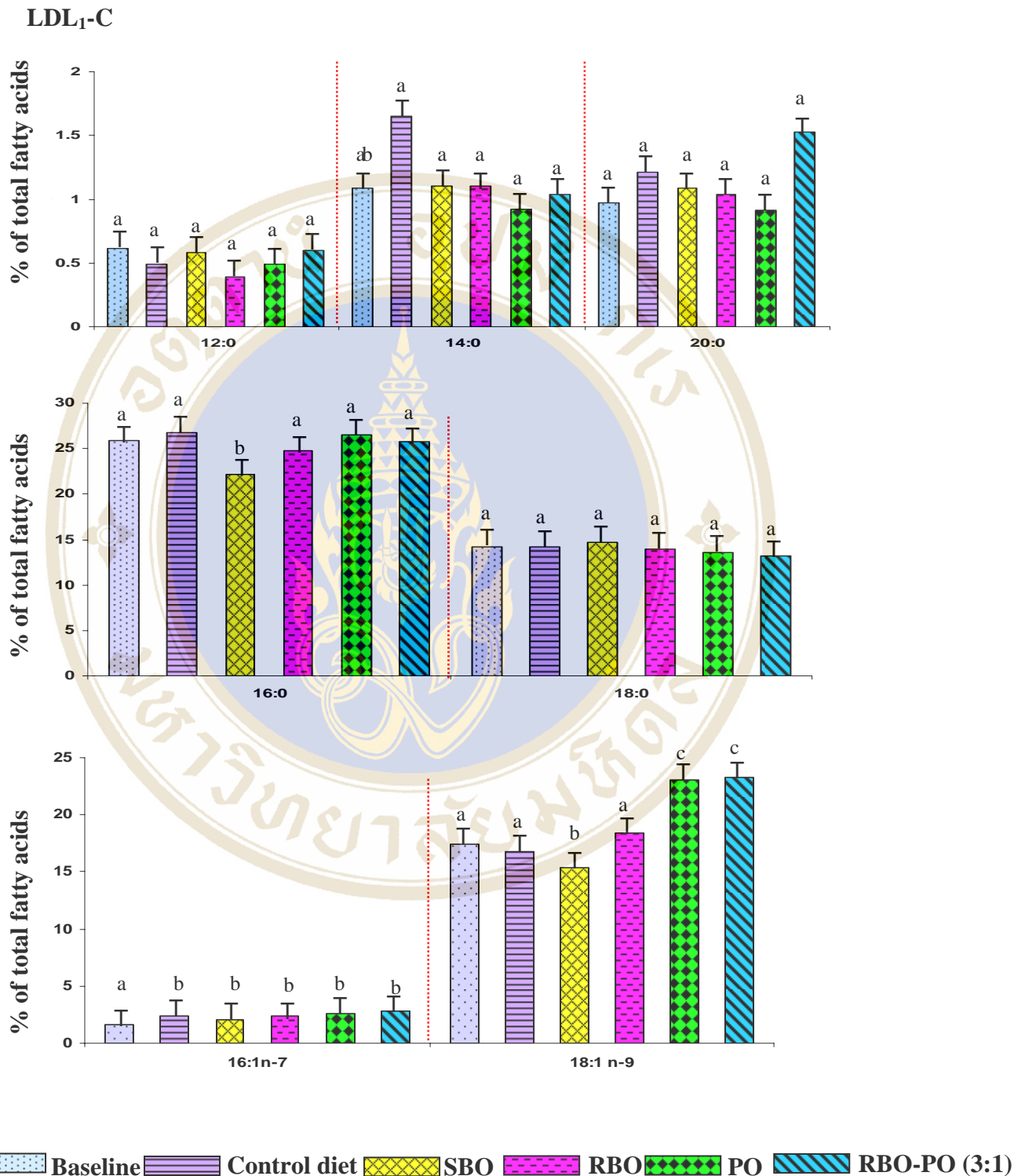


Figure 4-14 Comparison of fatty acids in LDL₁-C of participants between baseline and during dietary interventions

a,b,c,d Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, p<0.05)

LDL₁-C

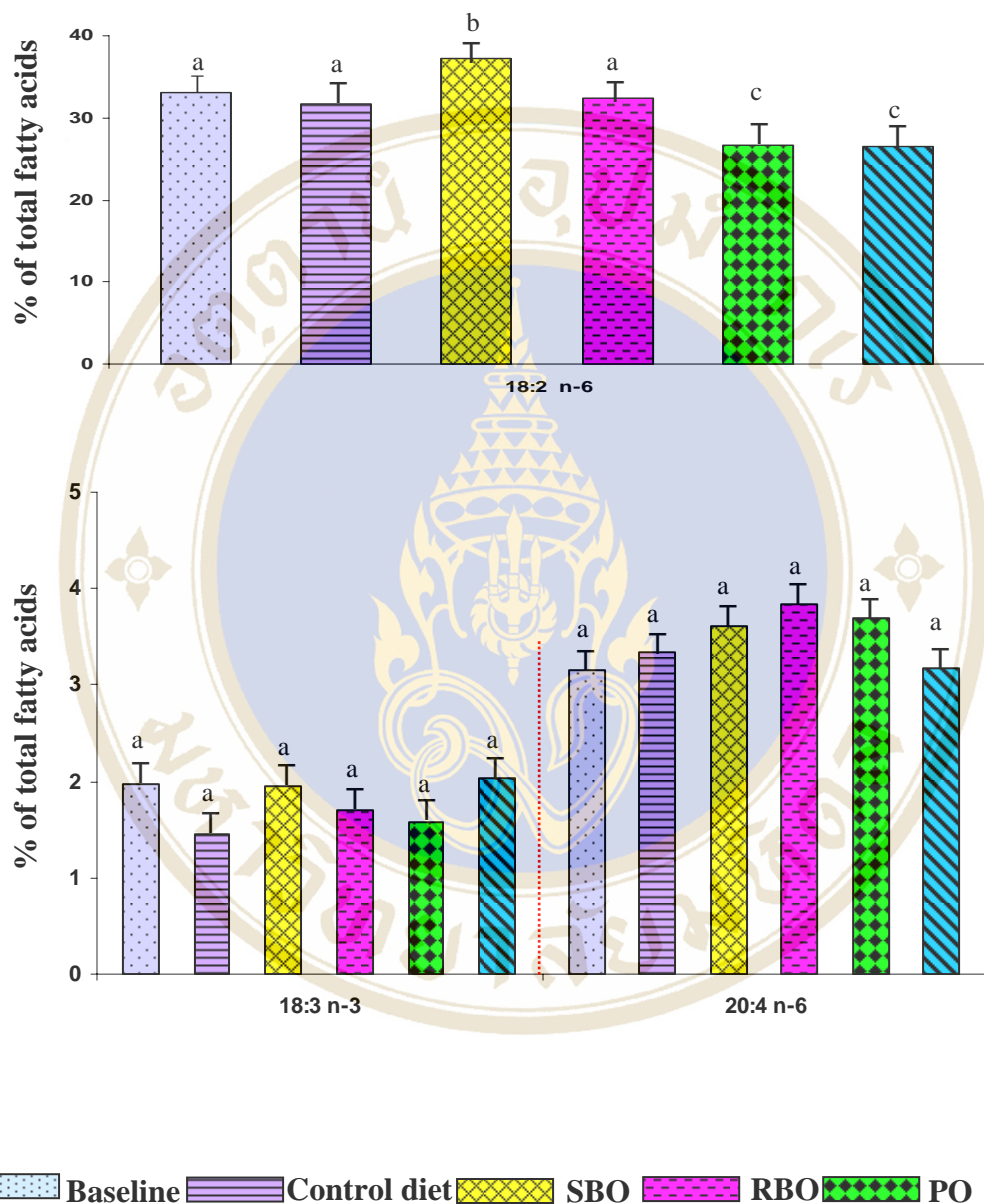


Figure 4-14 Comparison of fatty acids in LDL₁-C of participants between baseline and during dietary interventions (Continued)

^{a,b,c} Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, p<0.05)

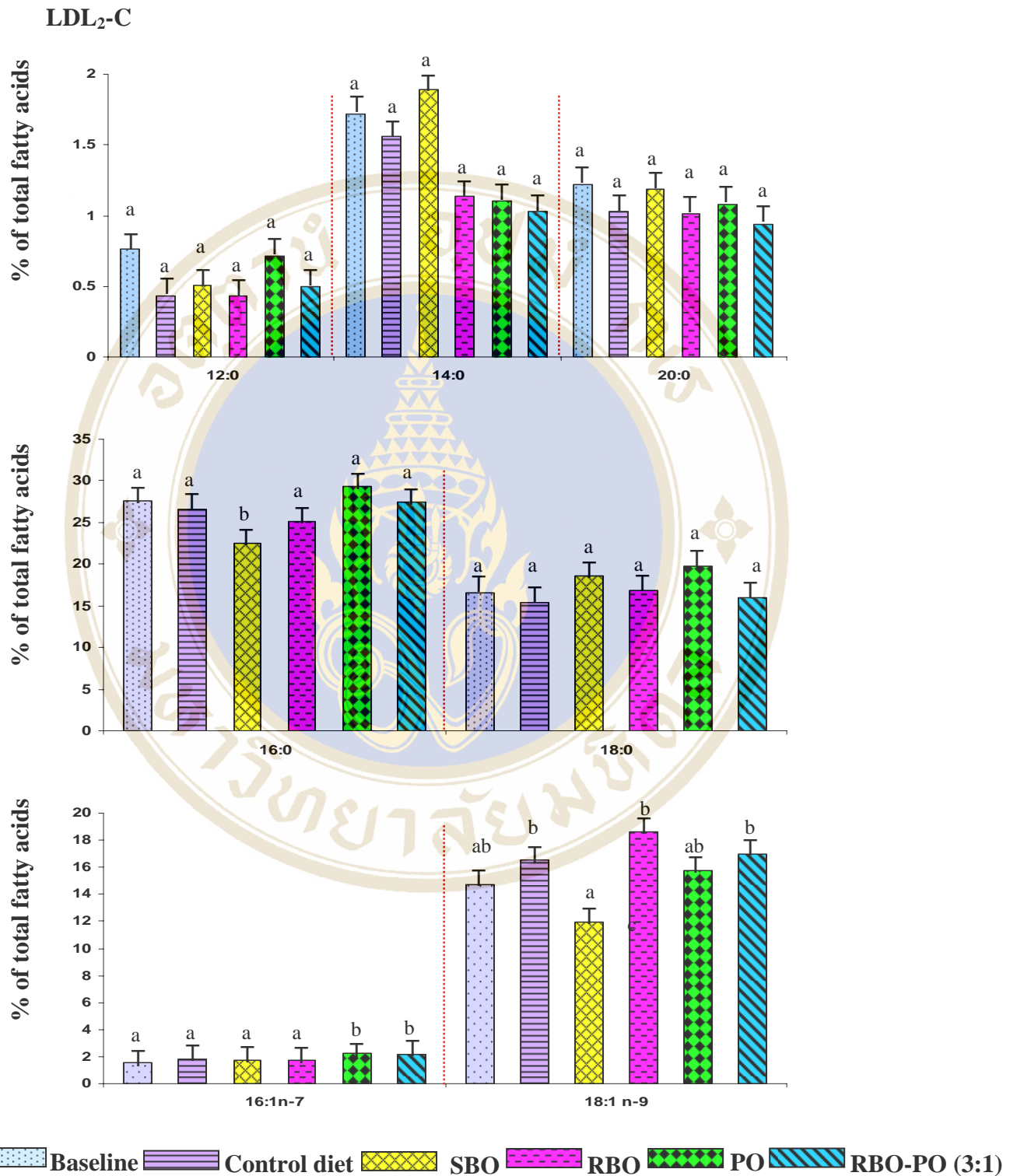


Figure 4-15 Comparison of fatty acids in LDL₂-C of participants between baseline and during dietary interventions

^{a,b} Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, p<0.05)

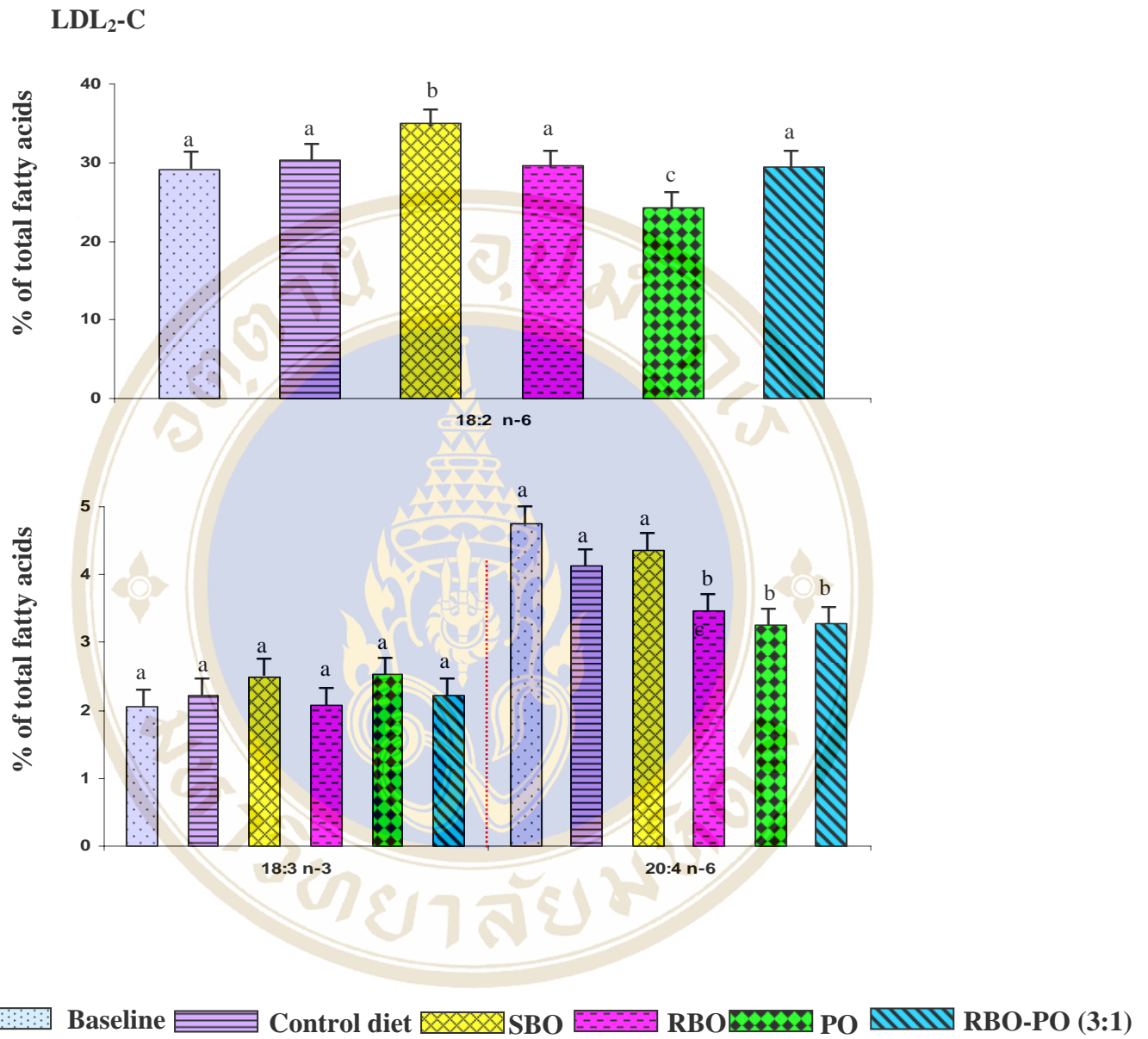


Figure 4-15 Comparison of fatty acids in LDL₂-C of participants between baseline and during dietary interventions (Continued)

^{a,b,c} Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, $p < 0.05$)

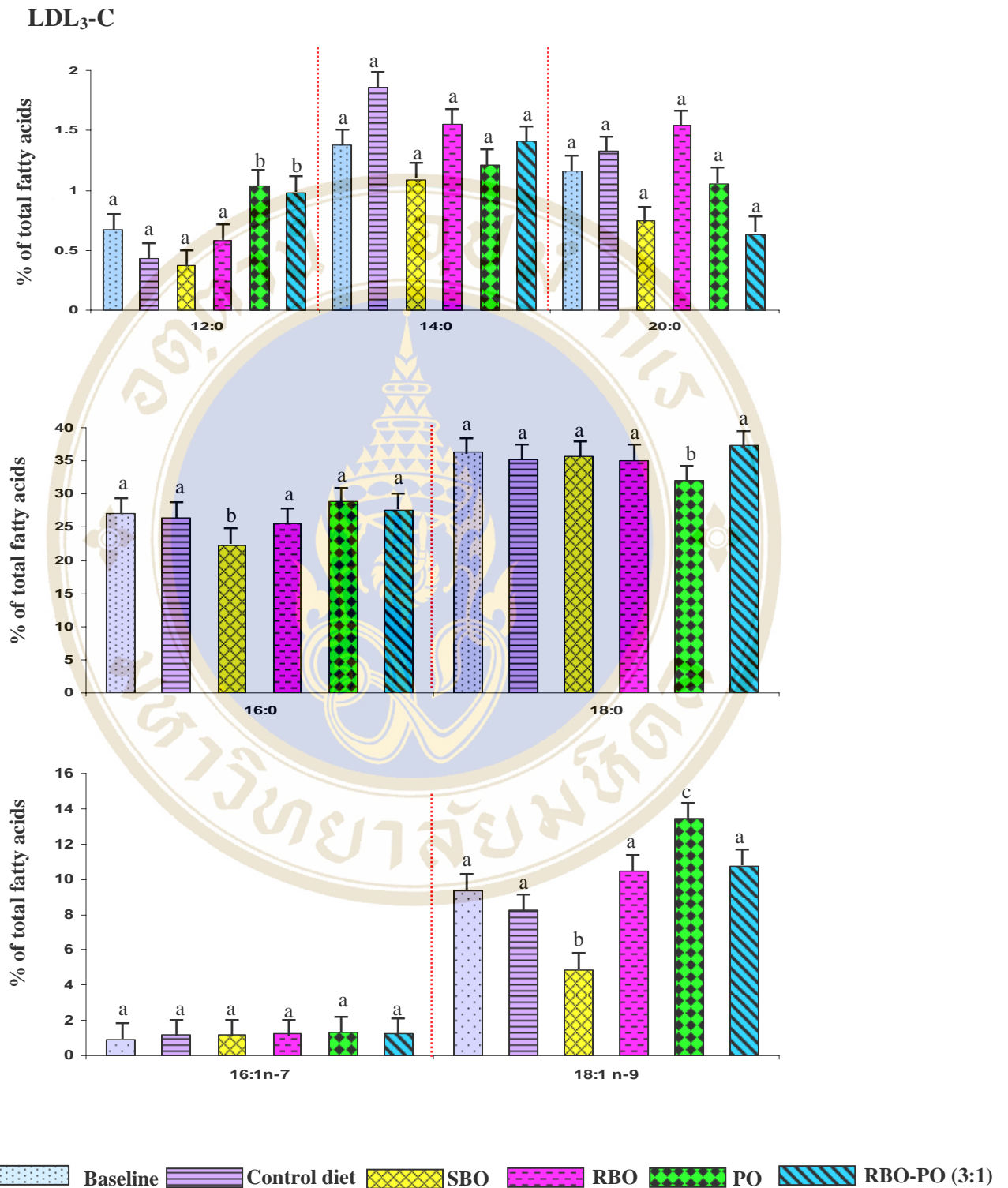


Figure 4-16 Comparison of fatty acids in LDL₃-C of participants between baseline and during dietary interventions

a,b,c Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, p<0.05)

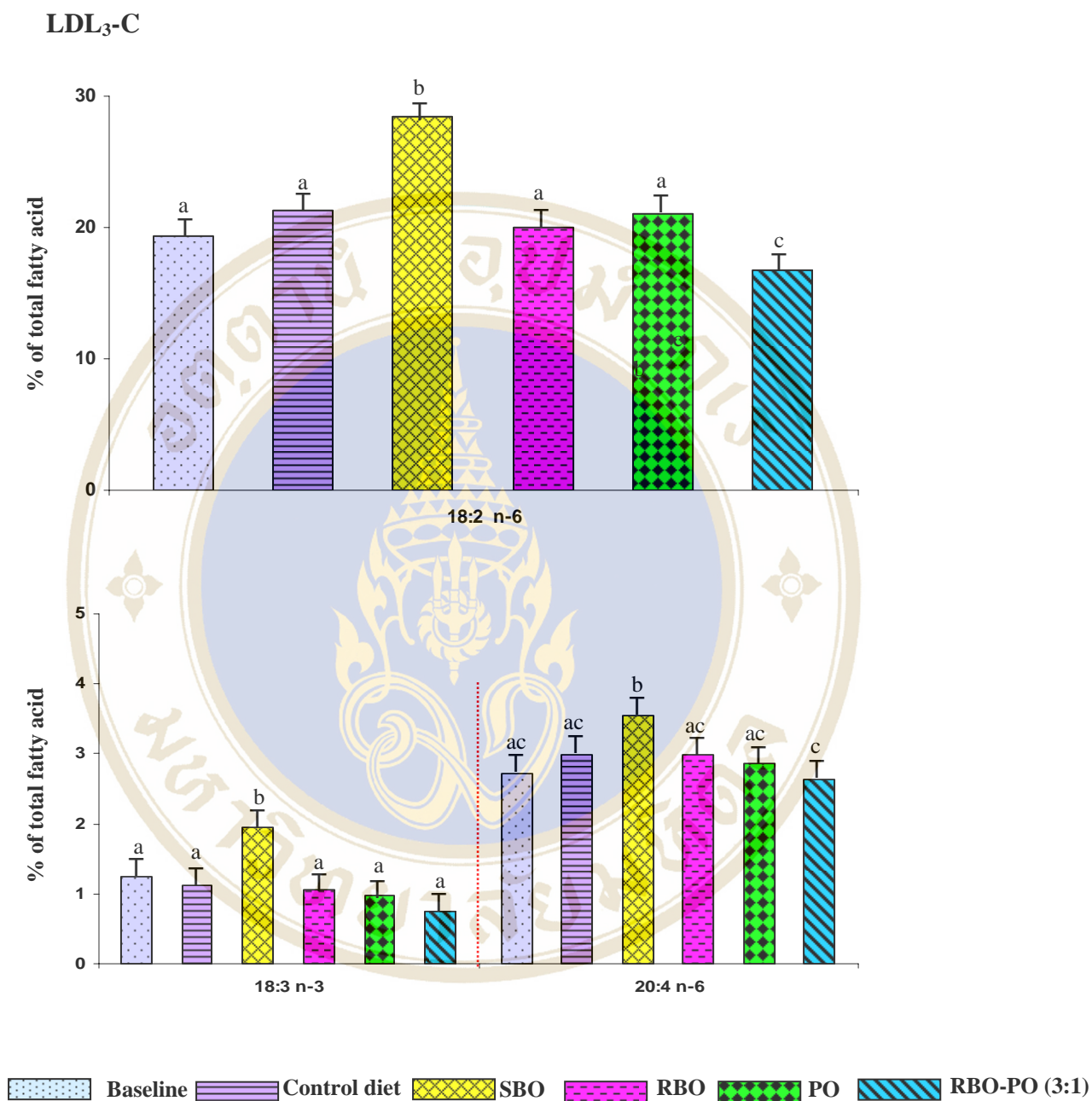


Figure 4-16 Comparison of fatty acids in LDL₃-C of participants between baseline and during dietary interventions (Continued)

a,b,c Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, p<0.05)

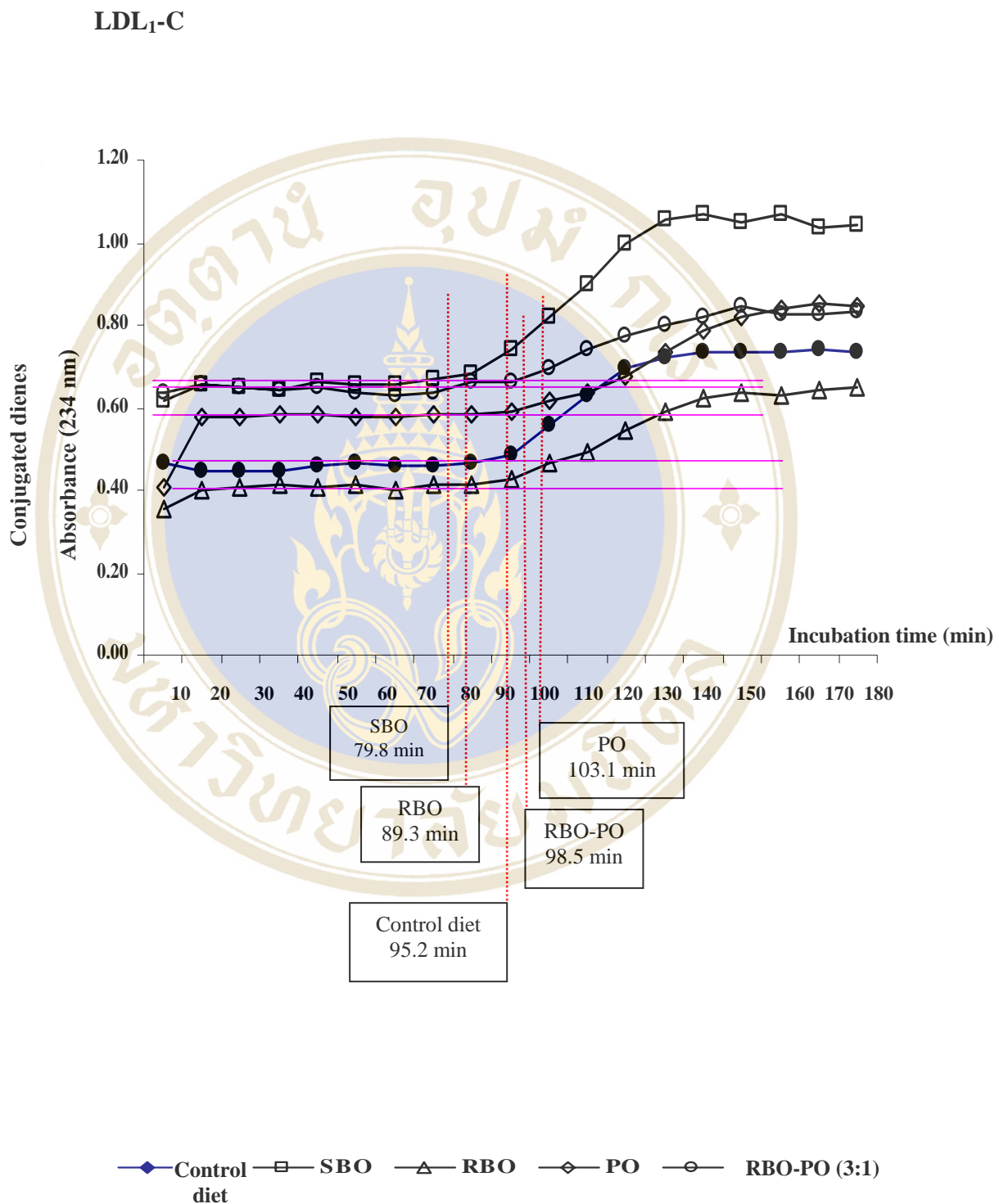


Figure 4-17 Kinetic profiles of LDL₁-C oxidation induced by CuSO₄

LDL₂-C

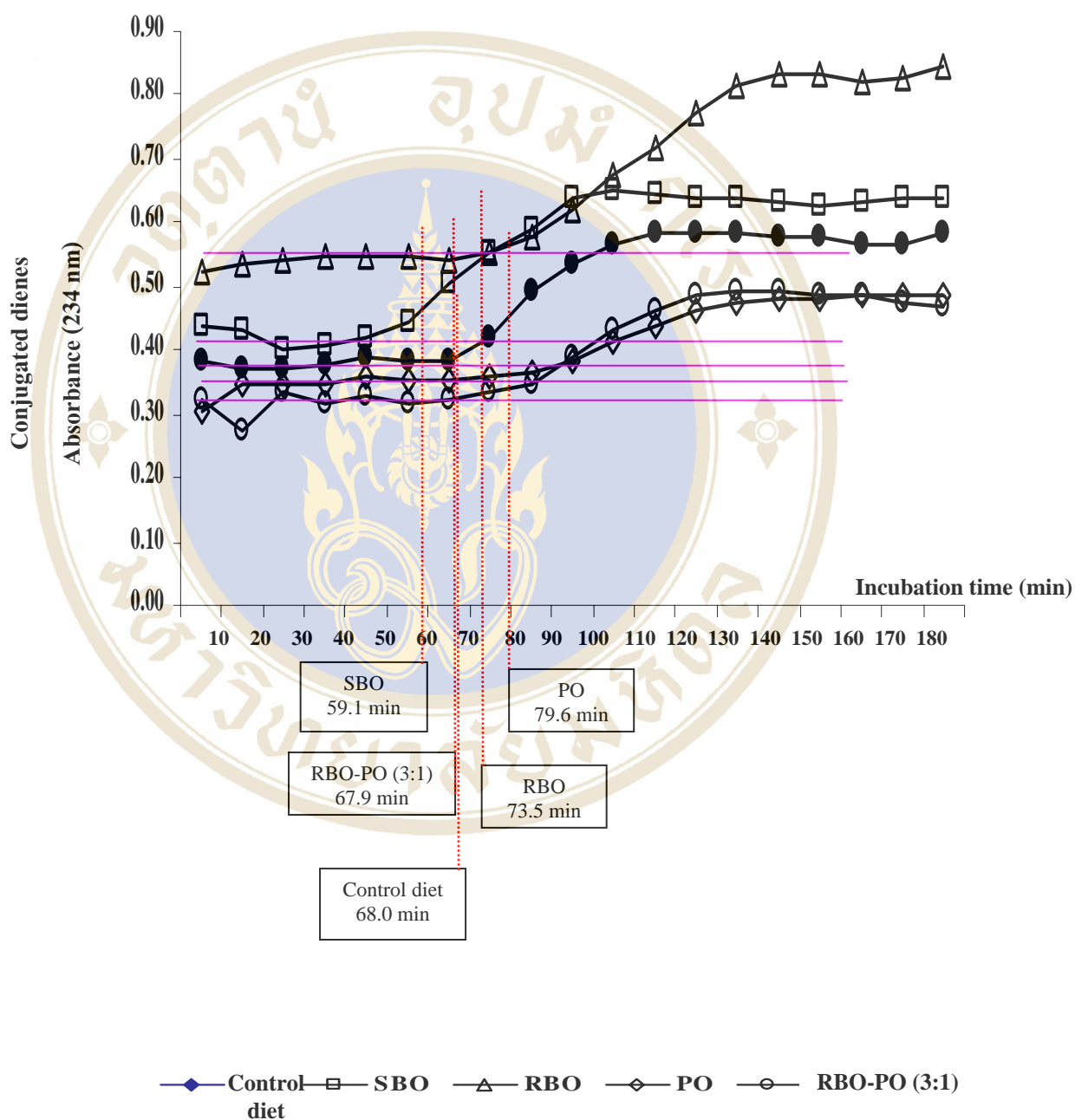


Figure 4-18 Kinetic profiles of LDL₂-C oxidation induced by CuSO₄

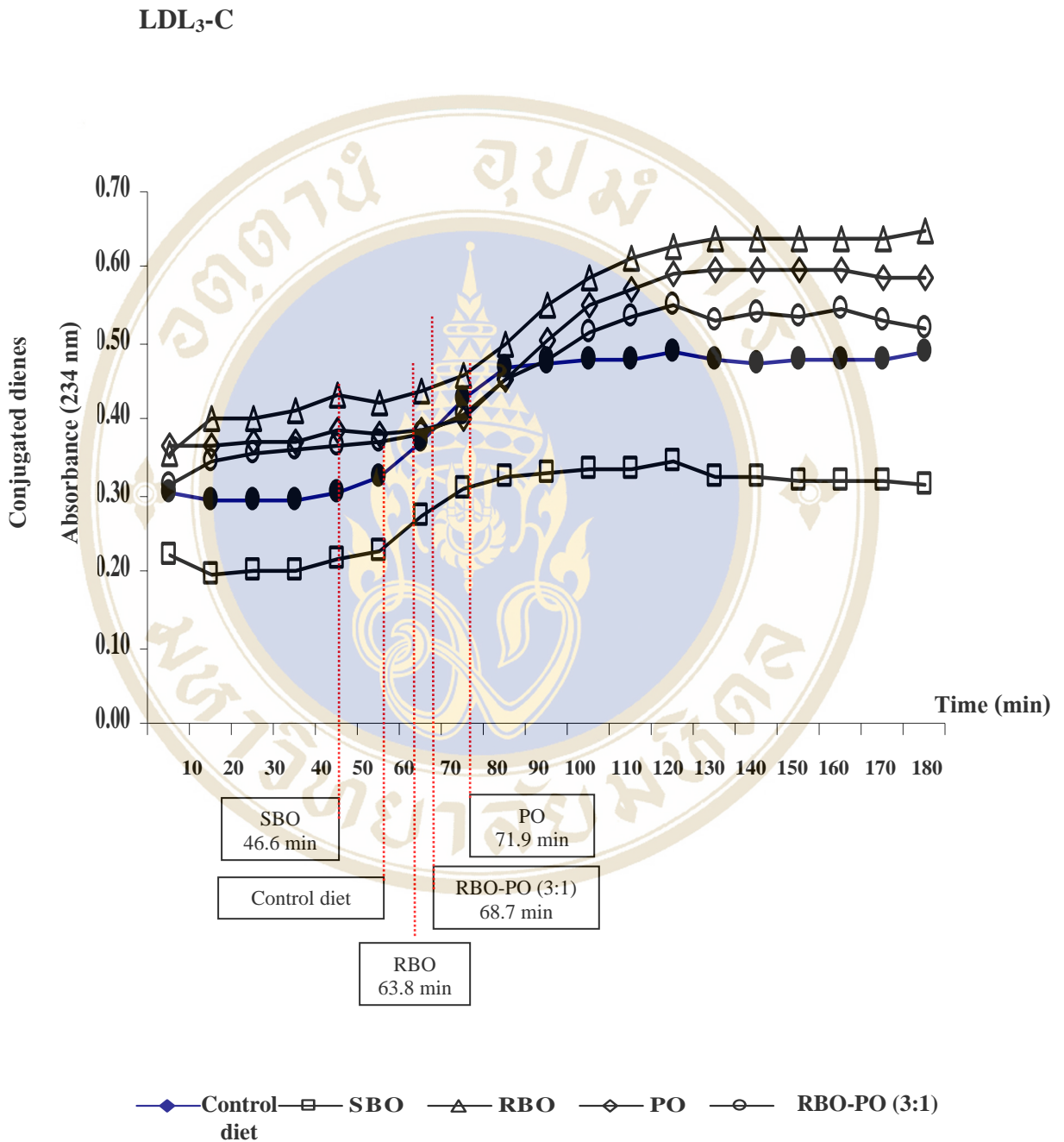


Figure 4-19 Kinetic profiles of LDL₃-C oxidation induced by CuSO₄

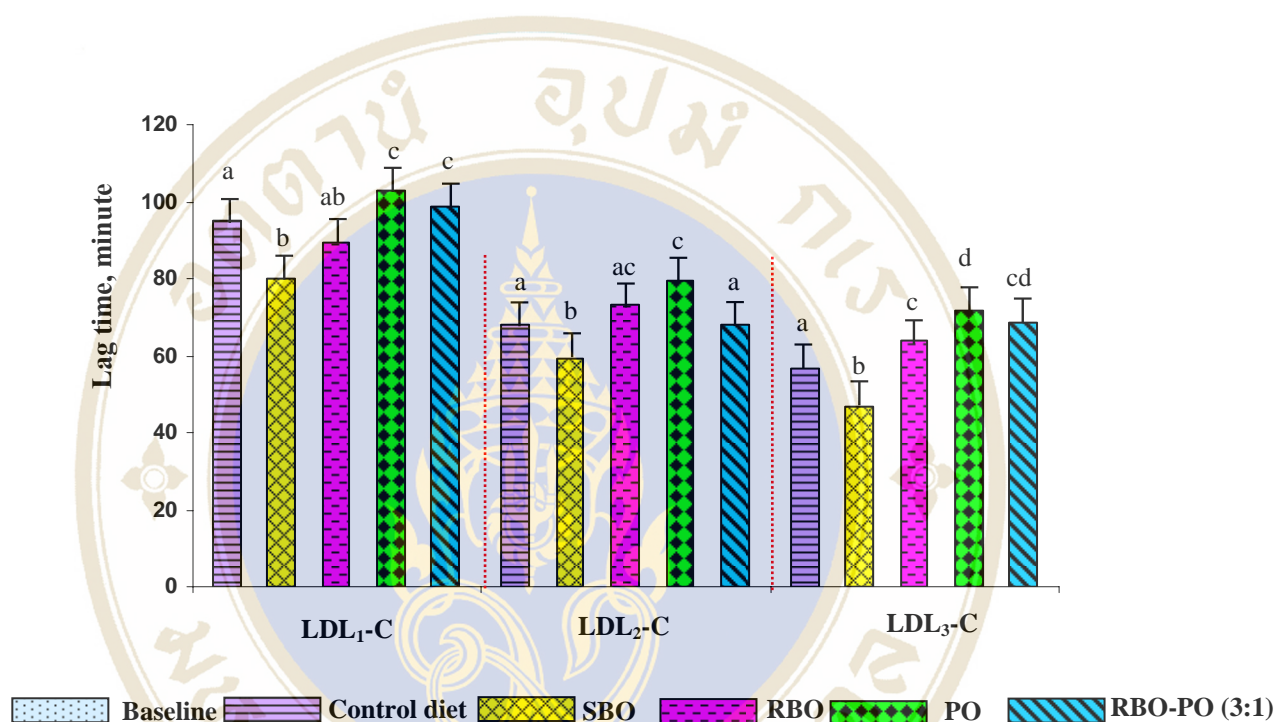


Figure 4-20 Comparison average lag time of LDL fractions in participants between baseline and during dietary interventions

a,b,c,d Different superscripts mean significant difference. (ANOVA, p<0.05)

CHAPTER V

DISCUSSION

Dietary fat saturation plays a considerable role in modulating plasma cholesterol concentrations and determining the risk for atherosclerosis. Different fat saturation of various vegetable oils affects human lipid profile, lipoprotein composition and LDL oxidation (30,41). Various vegetable oil were different of the P/M/S ratio and predominant fatty acids. SBO is predominated in PUFA whereas PO in predominated in SFA. RBO is predominated in MUFA with PUFA while RBO-PO (3:1) was designed to be predominated in MUFA. This study was investigated that the effects of consumption of diet with these oils on lipid profile, lipoprotein composition and LDL oxidation in phenotype IIa hypercholesterolemic participants.

The study found that SBO, RBO and RBO-PO (3:1) in the diet led to significant decreased in TC and LDL. But Po was no reduced TC and LDL. These oils were unchanged TG level. Keys and colleagues (106) estimated that SFAs increase serum TC by about 2.7% mg/dL per 1% calories derived from these fatty acids. SFAs are recognized as the single dietary factor that has the greater negative effect on LDL concentration, in contrast MUFAs and PUFAs have been shown to decrease plasma cholesterol concentrations in clinical studies and in various animal models (30-34). Hu and teams (123) was replacing 5% of the energy of SFAs by unsaturated fatty acids results in 43% decrease in CHD. It has also been found that not all SFAs are assumed to be suppression in the LDL receptors. Mustad and team (124) demonstrated that dietary SFA with a high palmitic acid markedly decreased LDL receptor protein levels in pigs fed a diet containing 0.25% cholesterol, compared to pigs fed a diet with cholesterol only or the controls fed a low fat, cholesterol-free diet, in contrast pigs fed a diet PUFA with a high in linoleic acid had increased LDL receptor levels compared to pigs fed a diet with cholesterol only or a low-fat, cholesterol-free diet.

Strong evidence found that LDL cholesterol-raising SFAs (12:0, 14:0, 16:0) decrease the number of LDL receptor by inhibiting the synthesis of the LDLr messenger RNA level needed to produce the receptor proteins (125-126). As a consequence of this, a decrease in the number of LDL receptors decreases the fractional catabolic rate of LDL cholesterol and therefore enhanced the conversion of VLDL remnants to LDL. Tholstrup and colleagues (127) found that lipoprotein lipase (LPL) activities decreased after intake of stearic acid, linoleic acid, and oleic acid and increased after intakes of palmitic acid releasing more free fatty acids and diacylglycerols. Relatively short chain fatty acids (C6-10) and stearic acid (C18:0) produced little or no change in TC and LDL (128). Stearic acid was rapidly converted to oleic acid (18:1,n-9). Bonanome A and colleagues (129) found that when stearic acid was substituted for oleic acid, effect on serum LDL and HDL concentrations did not differ.

On the other hand, MUFA and PUFA n-6 are reported to decreased TC and LDL by several mechanisms. Fernandez and colleague (126) found that PUFAs decreased LDL apoB pool size by 50% and increased LDL fractional catabolism rate (FCR) 2- fold when compared to SFA intake in guinea pig. Mustad and colleagues (124) found that pigs fed a diet high in PUFA with a high linoleic acid had increased LDL receptor levels compared to pig fed a diet with cholesterol only or a low-fat, cholesterol free diet. Moreover, fatty acids regulate at least 4 families of transcription factors: the peroxisome proliferators activated receptors (PPARs), sterol regulatory element binding proteins (SREBPs), liver X receptors (LXR) and hepatic nuclear factor-4 (HNF-4) (130-133). Dietary PUFA or those released from membrane phospholipids bind to the PPAR α /retinoid X receptor (RAR) heterodimer and activate or repress transcription of gene by interacting with the peroxisome proliferators-activated receptor response element (PPRE). Target genes in the liver include apoA-I, apoA-II, apoC-III and lipoprotein lipase (LPL), PPAR α interacts with both saturated and unsaturated fatty acids, although SFAs have a lower affinity (134) shown in Figure 5-1. In direct, dietary PUFA n-6 inhibits hepatic lipogenic genes, the expression of sterol regulatory element binding proteins (SREBP-1C) by suppressing the expression of the number of hepatic enzymes involved in glucose metabolism and

fatty acid biosynthesis, including glucokinase, pyruvate kinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, citrate lyase, acetyl-CoA carboxylase, fatty acid synthase, stearoyl CoA desaturase, and Δ -6 and Δ -5 desaturases, leading to decreased lipogenesis and decreased VLDL secretion. The promoters of apoA-I, apoA-II, apoA-IV, apoB, apoC-II, and apoC-III all contain binding site for HNF-4. Increased levels of HDL are correlated with a decreased risk for coronary artery disease. PUFA n-6 may also mediate reductions in the DNA binding activity of HNF-4. In the liver, LXR α expression is induced by PUFAs. LXR regulates intracellular cholesterol levels by inducing the expression of cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A₁), the initial and rate-limiting enzyme in the conversion of cholesterol to bile acids (130) shown in Figure 5-2. LXR regulatory pathway facilitates the elimination of excess cholesterol by stimulating CYP7A₁ (131), thereby resulting in the conversion of cholesterol to bile acids. Li and teams (135) indicated that the decreased bile acid pool size induced by the SFA diet is related to inhibition of the liver CYP7A₁ gene expression. Also, SFA depress hepatic lipase, slow down the removal of the leftover triglycerides in LDL. This slow down LDL removal but SFA also induce the LDL particle to become larger (more buoyant) dense LDL and less atherogenic. Chen and Cheng (136) found RBO diet containing γ -oryzanol and γ -tocotrienol increased the hepatic LDL receptor, CYP7A₁, and HMG-CoA reductase activity in diabetic rats compare with rats fed a soybean oil diet decreasing liver cholesterol level.

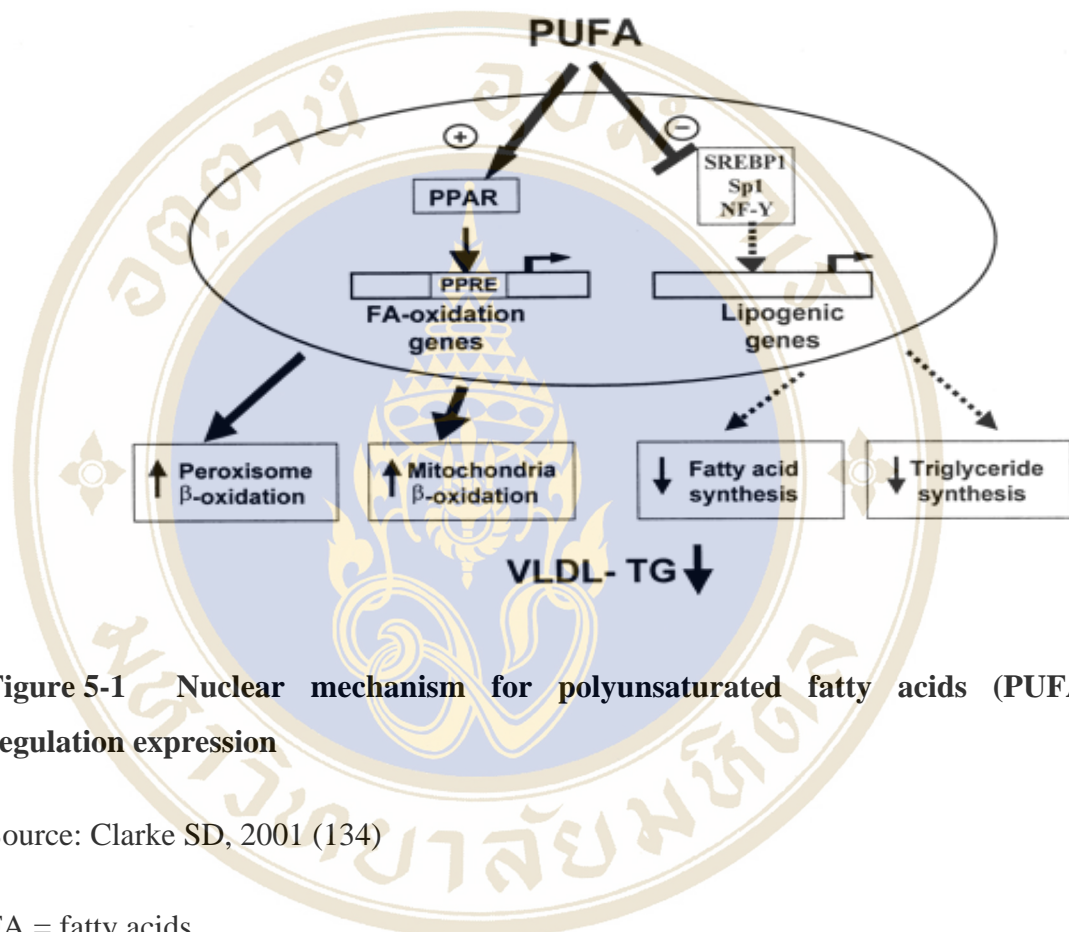


Figure 5-1 Nuclear mechanism for polyunsaturated fatty acids (PUFA) regulation expression

Source: Clarke SD, 2001 (134)

FA = fatty acids

NF-Y = nuclear factor Y

PPAR = peroxisome proliferator-activated receptor

PPRE = peroxisome proliferator-activated receptor response element

Sp1= stimulatory protein 1

SREBP-1 = sterol regulatory element binding protein-1

TG = triglycerides

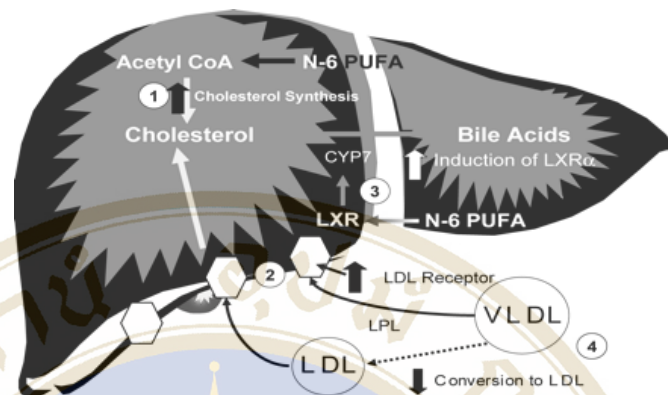


Figure 5-2 Modulation of plasma cholesterol by (n-6) PUFAs

Source: Fernandez ML, West KL, 2001 (130)

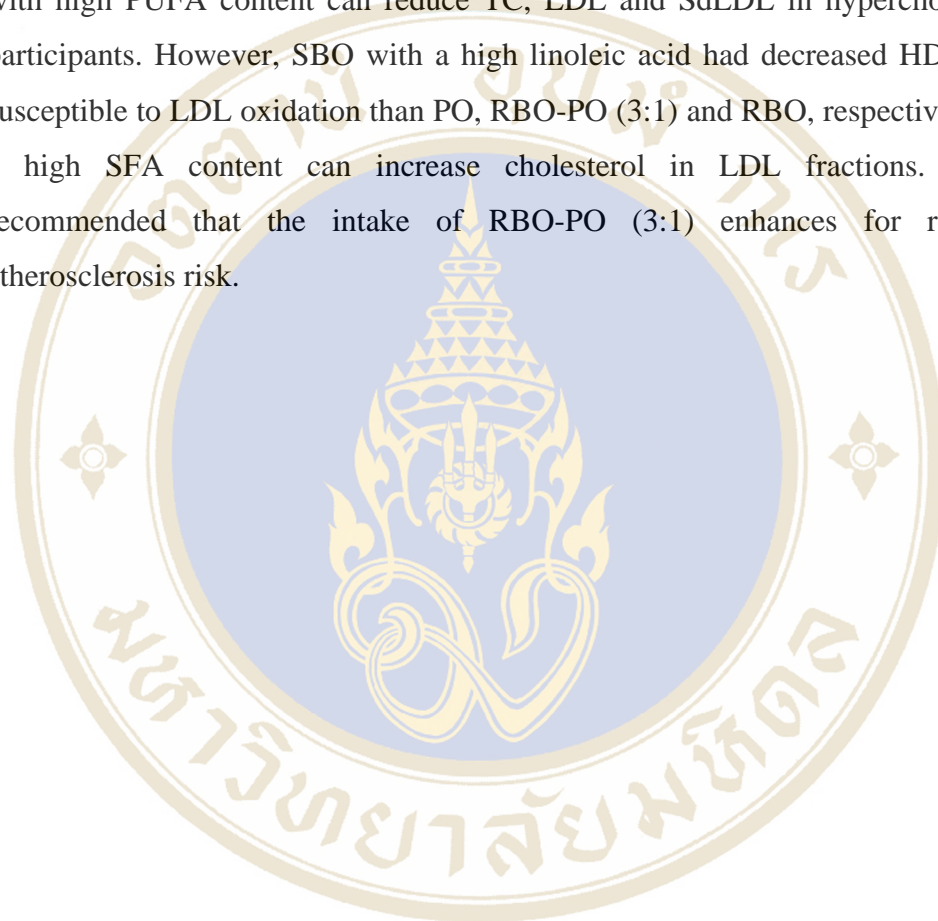
Plasma HDL particles are potent antioxidant and anti-inflammatory actions with wide substrate specificity, such as paraoxanase (PON1), platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH), lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT) and glutathione selenoperoxidase (137-139). In addition, apolipoproteins (apoA-I), a major HDL apolipoprotein, can remove oxidized lipid from LDL (140). Tanphaichitr and colleagues compared soybean, palm, rice bran and cottonseed oils in a metabolic study (37). There were significant decreases in serum TC and LDL after soybean, rice bran and cotton seed oils, but this study did not find any difference between interventions or TG and HDL. Valsta and colleagues (140) observed no differences in HDL₂ or HDL₃ in healthy women and men between rapeseed oil and sunflower diets. Many studies found that dietary PUFA tend to be decreased HDL. In this study, we found that SBO was decreased HDL but RBO, PO and RBO-PO was no change in HDL. Pedersen and colleague (141) found that HDL tended to be lower after sunflower oil compared to olive oil and rapeseed oil. Insull W Jr and colleagues (142) found that three oils (soybean, corn and sunflower oils) significantly reduced HDL. Wahrburg and colleagues (143) indicated that the MUFA-rich diet may be more advantageous than the PUFA-rich one because it does not lower HDL and apoA-I as much as the PUFA-rich diet.

Recently, different fat saturation of various vegetable oils affect to cholesterol in LDL fractions occurring a series LDL particles of varying density and particle sizes. Differences among LDL particles in physical and chemical properties, metabolic characteristics, oxidative susceptibility and cellular uptake may be related to differing roles in the development of atherosclerosis (9-12). Our investigations confirmed that SBO and RBO-PO (3:1) were decreased cholesterol in small dense LDL (LDL3-C) comparing with PO and RBO. RBO-PO (3:1) reduced linoleic acid in SdLDL while, SBO were significantly increased linoleic acid and arachidonic acid in SdLDL particle. The structure of PUFAs, having one or more double bonds, is more susceptibility to free radical damage and thus could increase the susceptibility of LDL particles to oxidation. In this study, Oxidative stability index (OSI) reveal with LDL oxidation by copper in these oils. SBO oil was the shortest of induction time and lag time comparing with PO, RBO and RBO-PO (3:1), respectively.

Some studies found no change in lag time with consumption of MUFA oils compared to PUFA oils. Abbey and colleagues (41) found no difference in the lag time after receiving high oleate sunflower oil or sunflower oil. Castro and colleagues (144) found increased lag time with consumption of sunflower oil compared to olive oil and NCEP-1 diets. However, most evidences reported that PUFA oil decreased in lag time. Kartz and colleagues (145) found increased in lag time with consumption of olive oil and rapeseed oil compared to sunflower oil. Linoleic acid and arachidonic acids are the major PUFA that undergo oxidized LDL (OxLDL) (146). OxLDL potentially promote atherogenesis. OxLDL is recognized by the scavenger receptors and can therefore give rise to foam cells. OxLDL stimulates endothelium to secrete monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1), which induces the infiltration of monocytes into the subendothelial space. Moreover, linoleic acid is converted to arachidonic acids. In platelets, arachidonic acid was synthesized to thromboxane A₂ (TxA₂), which stimulates vasoconstriction and platelet aggregation (106). This study found that RBO and PO were not change in SdLDL. RBO increased palmitoleic acid and oleic acid but reduced arachidonic acid. While PO increased palmitoleic acid, oleic acid, lauric acid and stearic acid but reduced linoleic acid and arachidonic acid. SFAs decrease the number of the LDL receptor (125). Also, SFA depress hepatic

lipase (HL), slowing down the removal of the leftover TG in LDL. This slows down LDL removal is that SFA induce the LDL particle to become larger (larger buoyant) and less atherogenic (147).

In conclusion, consumption of RBO-PO (3:1) with a high MUFA and SBO with high PUFA content can reduce TC, LDL and SdLDL in hypercholesterolemia participants. However, SBO with a high linoleic acid had decreased HDL and higher susceptible to LDL oxidation than PO, RBO-PO (3:1) and RBO, respectively. PO with a high SFA content can increase cholesterol in LDL fractions. This study recommended that the intake of RBO-PO (3:1) enhances for reduction of atherosclerosis risk.



CHAPTER VI

CONCLUSION

This study confirms that different types of vegetable oil with different fatty acid compositions influence on lipid profiles, lipoprotein fractions composition and oxidation of LDL. The effect of consumption of 5 diet interventions (control diet, SBO, RBO, PO, and RBO-PO; 3:1) in Thai diet on lipoprotein compositions and LDL oxidation in hypercholesterolemic women are summarized. The study lasted 48 weeks, and the characteristic parameters at baseline of the study were normal, all of them were non-smokers and non-alcohol drinker. There were no significant changes in anthropometric parameters and vital signs among 5 dietary intervention periods. Dietary intake of the energy, carbohydrate, protein, vegetable oil and cholesterol were no significantly different after all diet intervention, except the P/M/S ratios were significant different after consumption of different various vegetable oil. Soybean oil (SBO) is predominated to PUFA and P/M/S 3.73:1.41:1. SBO significantly decreased TC, LDL-C and HDL-C. Triglycerides were not changed. SBO was significantly reduced cholesterol in LDL fractions. The fatty acid compositions of LDL subfractions altered after receiving different vegetable oils. LDL fractions, SBO oil significantly increased linoleic acid (18:2, n-6), but significantly reduced palmitic acid (16:0), palmitoleic acid (16:1, n-7), and oleic acid (18:1, n-9). LDL-3 (SdLDL), in particular, was significantly increased linolenic acid (18:3 n-3) and arachidonic acid (20:4, n-6). OSI of SBO was the shortest time compare to PO, RBO, and RBO-PO (3:1). We found that a decrease in lag time with consumption of SBO compare to PO, RBO and RBO-PO (3:1). Palm oil (PO) is predominated to SFA+MUFA and P/M/S equal to 0.24:1.02:1. PO was not reduced TC and LDL-C. LDL₁-C and LDL₃-C, PO significantly increased cholesterol compare with SBO, RBO and RBO-PO (3:1). LDL fractions, PO significantly increased oleic acid (18:1, n-9), but significantly reduced linoleic acid (18:2 n-6) and arachidonic acid (20:4, n-6). OSI of PO was the highest compared to SBO, RBO, and RBO-PO (3:1). We found that an increase in lag time with consumption of RBO compare to SBO. Ricebran oil (RBO) is predominated to

MUFA+PUFA and P/M/S equal to 0.24:1.02:1. PO was higher TC and LDL-C than SBO, while RBO was lower TC and LDL-C than PO. TG and HDL-C were not changed. RBO was reduced cholesterol in particular LDL-3 (SdLDL). LDL fractions were significantly increased palmitoleic acid (16:1, n-7) and oleic acid (18:1, n-9) after consuming RBO diet compared to SBO and PO. We found that an increase in lag time with consumption of PO compare to SBO. Rice bran and palm oil (RBO-PO, 3:1) is predominated to MUFA and P/M/S equal to 1/1.53/1. PO was decreased TC and LDL-C compared to control diet, but was no significantly decreased TC and LDL-C compared to SBO and RBO. TGs and HDL-C were not changed. RBO-PO (3:1) oil significantly reduced cholesterol in LDL fractions. In LDL fractions, RBO-PO (3:1) oil increased oleic acid (18:1, n-9) and palmitoleic acid (16:1 n-7), but reduced linoleic acid (18:2, n-6). OSI of RBO-PO (3:1) oil was longer time compared to SBO and RBO, but was shorter time than SBO.

REFERENCES

1. American Heart Association. 2004 International cardiovascular disease statistics. The Public Access Computer System Review [online]. 2004 Available from URL: <http://www.americanheart.org/statistics/biostats/bioas.htm> [Access 2004 Feb 20]
2. Leelahagul P, Tanphaichitr V. Current status on diet-related chronic disease in Thailand. *Intern Med* 1995;11:28-33.
3. Supornsilaaphachai C. Incidences of diseases related to atherosclerosis in Thailand. *Intern Med* 1993;9:114-117.
4. Sharis PJ, Cannon CP. Evidence base cardiology. Lippincott Williams & Wilkins 1999: 21-68.
5. Lochaya S, Watthana-Kasetr S, Tanphaichitr V, et al. Research report on cardiovascular disease in officials of Electricity Generating Authority of Thailand 1985, Bangkok: Faculty of Medicine, Ramathibodi hospital, 1988. In Leelahagul P, Tanphaichitr V, ed. Current status on diet-related chronic disease in Thailand. *Intern Med* 1995;11:28-33.
6. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) *Lancet* 1994;344:1383-1389.
7. Genest JJ, McNamara JR, Salem DN, et al. Prevalence of risk factors in men in premature coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1991;67:1185-1189.
8. Krauss RM, Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity. *Annu Rev Nutr* 2001;21:283-295.
9. Lamarche B, Stt-Pierre AC, Ruel IL, et al. A prospective, population-based study of low density low density particle size as a risk factor of ischemic heart disease in men. *Can J Cardiol* 2001;17:859-865.
10. Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins and atherosclerosis: current concepts. *J Am Med Assoc* 1990;264:3047-3052.
11. Capell WH, Zambon A, Austin MA, Brunzell JD, Hokanson JE. Compositional differences of LDL particles in normal subjects with LDL subclass

- phenotype A and LDL subclass phenotype B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:1040-1046.
12. Galeano NF, Milne R, Marcel YL, et al. Apoprotein B structure and receptor recognition of triglyceride-rich low density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride rich LDL of normal size. *J Biol Chem* 1994;269:511-519.
 13. Chen GC, Liu W, Duchateau P, et al. Conformational differences in human apolipoprotein B-100 among subspecies of low density lipoproteins (LDL): association of altered proteolytic accessibility with decreased receptor binding of LDL subspecies from hypertriglyceridemic subjects. *J Biol Chem* 1994;269:29121-128.
 14. Halle M, Berg A, Baumstark MW. Differences in concentration and composition of LDL subfraction particles in hypercholesterolemic men with and without hypertriglyceridemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1993;3:179-184.
 15. Halle M, Berg A, Ko'nig D, et al. Differences in concentration and composition of LDL subfraction particles in trained and sedentary hypercholesterolemic men. *Metabolism* 1997;46:186-191.
 16. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *J Am Med Assoc* 1996;276:882-888.
 17. Maggi E, Chiesa R, Melissano G, et al. LDL oxidation in patients it severe carotid atherosclerosis—a study of in vivo oxidation markers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1994;14:1892-1899.
 18. Austin MA, King M-C, Vranizan KM, Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype: a proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990;82:495-506.
 19. Austin MA, Krauss RM. LDL density and atherosclerosis. *J Am Med Assoc* 1995;273:115.
 20. Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *J Am Med Assoc* 1996;276:875-81.

21. Coresh J, Kwiterovich PO. Small, dense low-density lipoprotein particles and coronary heart disease risk. A clear association with uncertain implications. *J Am Med Assoc* 1996;276:914-5.
22. Krauss RM. Dense low density lipoproteins and coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995;75:53-57.
23. Griffin BA, Freeman DJ, Tait GW, et al. Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma low density lipoprotein (LDL) subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis* 1994;106:241-253.
24. Austin MA. Triglyceride, small, dense low density lipoprotein, and the atherogenic lipoprotein phenotype. *Curr Atheroscler Rep* 2000;2:200-207.
25. Mack WJ, Krauss RM, Hodis HN. Lipoprotein subclasses in the Monitored Atherosclerosis Regression Study (MARS). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:697-704.
26. Grundy SM. Role of low density lipoproteins in atherogenesis and development of coronary heart diseases. *Clin Chem* 1995;41:139-146.
27. Holveot P, Stassen JM, Van Cleemput J, et al. Oxidized low density lipoproteins in patients with transplant associated coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:100-107.
28. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, et al. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995;91:2488-2496.
29. The expert panel. Executive summary of the third report of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment panel III) *J Am Med Assoc* 2001;285: 2486-2497.
30. Matton FH, Grundy SM. Comparison of effects of dietary saturated monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J Lipid Res* 1985;26: 114-202.
31. Mensink RP, Katan MB. Effect of a diet enriched with monounsaturated or polyunsaturated fatty acids on levels of low density and high-density lipoprotein cholesterol in healthy women and men. *N Eng J Med* 1989;321:436-441.

32. McDonald BE, Gerrard JM, Bruce VM, Corner EJ. Comparison of the effect of canola oil and sunflower oil on plasma lipids and lipoproteins and on in vivo thromboxane A₂ and prostacyclin production in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 1989;50:1382-1388.
33. Dreon DM, Vranizan Km, Drauss RM, et al. The effects of polyunsaturated fat vs. monounsaturated fat on plasma lipoproteins. *J Am Med Assoc* 1996;2:2462-2466.
34. Brousseau ME, Stucchi AF, Vespa B, et al. A diet enriched in monounsaturated fats decreases low density lipoprotein concentrations in cynomolgus monkeys by a different mechanism than does a diet enriched in polyunsaturated fats. *J Nutr* 1993;123:2049-2058.
35. Schwab US, Vogel S, Lammi-keefe CJ, et al. Varying dietary fat type of reduced -fat diets has little effect on the susceptibility of LDL to oxidative modification in moderately hypercholesterolemic subjects. *J Nutr* 1998;128:1708-1709.
36. Wilson TA, Ausman LM, Lawton CW, Hegsted M, Nicolosi RJ. Comparative cholesterol lowering properties of vegetable oils: beyond fatty acids. *J Am Coll Nutr* 2000;19:601-607.
37. Tanphaichitr V, Leelahagul P, Pakpeankitvatana R. Nutritional factors lowering serum total cholesterol level. *Intern Med* 1991;7:32-34.
38. Chen PR, Tsai CE. Various high monounsaturated edible oils might affect plasma lipids differently in man. *Nutr Res* 1995;15:615-621.
39. Kris-Etherton, Pearson TA, Wan Y, et al. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *Am J Clin Nutr* 1999;70:1009-1115.
40. Aree P, Tanphaichitr V, Sutharangsri W, Kavanagh KH. Effects of soybean oil versus rice bran oil in a health promotion program on lipid status in hyperlipidemic elderly. *J Nutr Assoc Thai* 2003;38:7-13.
41. Abbey M, Belling GB, et al. Oxidation of low density lipoproteins: intra-individual variability and the effect of dietary linoleate supplementation. *Am J Clin Nutr* 1993;57:391-398.

42. Reaven P, Parthasarathy S, Grasse BJ, et al. Feasibility of using an oleate-rich diet to reduce the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in humans. *Am J Clin Nutr* 1991;54:701-706.
43. Aviram M, Kasem E. Dietary olive oil reduces low density lipoprotein uptake by macrophages and decreases the susceptibility of he lipoprotein to undergo lipid peroxidation. *Ann Nutr Metab* 1993;37:75-84.
44. Bonanome A, Pagnan A, et al. Effect of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the susceptibility of plasma low density lipoproteins to oxidative modification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1992;12:529-533.
45. Reaven PD, Grasses BJ, Tribble DL. Effects of linoleate enriched and oleate enriched diets in combination with a tocopherol on the susceptibility of LDL and LDL subfractions to oxidative modification in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1994;14:557-566.
46. Ganong WF. Review of medical physiology. 16 thed London:Prentice Hall International 1993.
47. Grundy SM. Cholesterol and atherosclerosis: diagnosis and treatment. Philadelphia, Gower Medical Publishing 1990.
48. Groff JL. Gropper SS. Advanced nutrition and human metabolism. 3 rd ed. Wadsworth, a division of Thomson Learning 2000; 123-162.
49. Brown MS, Goldstein JL. How LDL receptors influence cholesterol and atherosclerosis. *Sci Am* 1984;241:52.
50. Lui ML. LDL oxidation and LDL particle size in the development of atherosclerosis. Department of medicine university of Helsinki, Academic dissertation Helsinki 2002.
51. Marshall WJ. Lipids and lipoproteins. Clinical Chemistry .London: Mosby, 1995:213-228.
52. Beisiegel U. Receptors for triglyceride-rich lipoproteins and role in lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1995;6:117-122.
53. Heeren J, Beisiegel U. Intracellular metabolism of triglyceride-rich lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 2001;12:255-260.

54. Eisenberg S. High density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* 1984;25:1017-1058.
55. Jiang XC, Bruce C, Mar J, et al. Targeted mutation of plasma phospholipids transfer protein gene markedly reduces high density lipoprotein levels. *J Clin Invest* 1999;103:907-914.
56. Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodeling of high density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis* 1999;145:227-238.
57. Santamarina-Fojo S, Lambert G, HGoeg JM, Brewer HB, Jr. Lecithin cholesterol acyltransferase: role in lipoprotein metabolism, reverse cholesterol transport and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:267-275.
58. Miller NE, La Ville A, Crook D. Direct evidence that reverse cholesterol transport is mediated by high density lipoprotein in rabbit. *Nature* 1985;314:109-111.
59. Tall AR. An overview of reverse cholesterol transport. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl A:A31-35.
60. Nofer JR, Kehrel B, Fobker M, et al. A HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis* 2002;161:1-16.
61. Barter PJ, Baker Pw, Rye KA. Effect of high density lipoproteins on the expression of adhesion molecules in endothelial cells. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:285-288.
62. Beisiegel U. Lipoprotein metabolism. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl A:A20-23.
63. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-47.
64. Brown MS, Goldstein JL. Familial hypercholesterolemia: genetic, biological and pathophysiologic considerations. *Adv Intern Med* 1975;20:273-296.
65. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Ann Rev Biochem* 1983;52:223-261.
66. Goldstein JL, Ho YK, basu SK, brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979;76:333-337.

67. Rajman I, Eacho PI, Chowienczyk PJ, Ritter JM. LDL particle size: an important drug target? *Br J Clin Pharmacol* 1999;48:125-133.
68. Chapman MJ, Guerin M, Bruckert E. Atherogenic, dense low-density lipoproteins. Pathophysiology and new therapeutic approaches. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl A:A24-30.
69. Nigon F, Lesnik P, Rouis M, Chapman MJ. Discrete subspecies of human low density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J Lipid Res* 1991;32:1741-1753.
70. Witztum JL. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *Br Heart J* 1993;69:S12-S18.
71. Grundy SM. Small LDL, Atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Circulation* 1997;95:1-4.
72. WilliamKJ, Tabas I. the response-to retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:551-561.
73. Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis: A current assessment. *Circulation* 1991;84:1420-1425.
74. Expert panel on detection, Evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. *Circulation* 1994;89:1329-1445.
75. Grundy SM. Multifactorial etiology og hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1991;11:1619-1635.
76. Gotto AM Jr. Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998;82(9A):22Q-25Q.
77. Grundy SM. Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 1998;26;81(4A):18B-25B.
78. Hennig B, Toborek M, McClain CJ. High-energy diets, fatty acids and endothelial cell function: implications for atherosclerosis. *J Am Coll Nutr* 2001;20(2 Suppl):97-105.
79. Kwiterovich PO Jr. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol* 2002;17;90(8A):30i-47i.

80. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, et al. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. *Circulation*. 1997;95:69-75.
81. Young IS, McEneny J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochem Soc trans* 2001;29:358-362.
82. Quarterly Bulletin of Statistics. National statistical office ministry of information and communication technology 2002;50(1-2):42.
83. Fuster V, Lewis A. Conner memorial lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994;90:2126-2146.
84. Wilson PW. High-density lipoprotein, low-density lipoprotein and coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1990;66:7A-10A.
85. Curb JD, Abbott RD, Rodriguez BL, Masaki K, Chen R, Sharp DS, Tall AR. A prospective study of HDL cholesterol and cholesteryl ester transfer protein gene mutations and the risk of coronary heart disease in the elderly. *J Lipid Res* 2004;45:750-756.
86. Moriyama Y, Okamura T, Inazu A, Doi M, Iso H, Mouri Y, Ishikawa Y, Suzuki H, Iida M, Koizumi J, Mabuchi H, Komachi Y. A low prevalence of coronary heart disease among subjects with increased high-density lipoprotein cholesterol levels, including those with plasma cholesteryl ester transfer protein deficiency. *Prev Med* 1998;27:659-667.
87. Ettinger WH. Lipid levels and risk of atherosclerotic coronary heart disease in the older person. *Med Clin North Am* 1989;73:1525-1530.
88. Mensink RP, Katan MB. Effect of monounsaturated fatty acids versus complex carbohydrates on high density lipoproteins in healthy men and women. *Lancet* 1987;1:122-125.
89. Durstine JL, Haskell WL. Effects of exercise training on plasma lipids and lipoproteins. *Exerc Sport Sci Rev* 1994; 22: 477-521.
90. Crohoefer FT. Rice bran oil: healthy lipid source. *Food Tech* 1996;50(12):62-64.
91. Kim HJ, Lee SB, Park KA, Hong IK. Characterization of extraction and separation of rice bran oil rich in EFA using SFE process. *Separation and Purification Technology* 1999;15:1-8.

92. Soybean research advisory institute. U.S. Soybean production and utilization research: a report to the senate committee on agriculture, nutrition and forestry and house committee on agriculture. March, 1984.
93. Erickson DR, Pryde EH, Brekke OL, Mounts TL, Falb RA. Handbook of soy oil processing and utilization. American soybean association and the American oil chemistís society. St. Louis, Missouri and Champaign, Illinois.1980.
94. Basiron Y. Palm Oil and Its Global Supply and Demand Prospects. Oil palm industry economic journal 2000;2:1-10.
95. Weuxun F, Xiaoshu C. Food uses of palm oil in China. Food and Nutrition Bulletin 1994;15:23.
96. วิชัย ต้นไพจิตร การวินิจฉัยและการบำบัดภาวะความผิดปกติของระดับไขมันในเลือด โภชนศาสตร์คลินิก 2540;1:1-22.
97. นัยนา บุญทวีวัฒน์, เรวดี จงสุวัฒน์ น้ำมันรำข้าวทางเลือกเพื่อสุขภาพของคนไทย สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ 2545, 23.
98. มันทนา ประทีปะเสน วารสารแพทย์ 2539, 13-17.
99. Sarjaz MR, Vanstone CA, Papamandjaris A, et al. Comparison of the effect of dietary fast restriction with that of energy restriction on human lipid metabolism. Am J Clin Nutr 2001;73:262-267.
100. Leinonen KS, Poutanen KS, Mykkanen HM. Rye bread decreases serum total and LDL cholesterol in men with moderately elevated serum cholesterol. J Nutr 2000;130:164-170.
101. Vissers MN, Zock PL, Meijer GW, Katan M. Effect of plant sterols from rice bran oil and triterpene alcohols from sheanut oil on serum lipoprotein concentrations in humans. Am J Clin Nutr 2000;72:1510-1511.
102. Clarke R, Frost, Collins R, Appleby P, Peto R. Dietary lipids and blood cholesterol: quantitative meta analysis of metabolic ward studies. BMJ 1997;314:112-117.
103. Keys A, Anderson JT, Grande F. Serum cholesterol response to changes in the diet. II. The effect of cholesterol in the diet. Metabolism 1965;13:759-765.

104. Hegsted DM, McGandy RB, Myers ML, et al. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr* 1965;1965:281-295.
105. Mattson FM, Erickson BA, Kligman AM. Effect of dietary cholesterol on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr* 1972;25:589-594.
106. Keys A, Anderson JT, Grande F. Prediction of serum cholesterol responses of man to changes in fats in the diet. *Lancet* 1957;2:959-966.
107. Hargrove RL, Etherton TD, Pearson TA, et al. Low fat and high monounsaturated fat diets decrease human low density lipoprotein oxidative susceptibility in vitro. *J Nutr* 2001;131:1758-1763.
108. Needleman P, Raz A, Minkes MS, et al. Triene prostaglandins: prostacyclin and thromboxane biosynthesis and unique biological properties. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1979;76:944.
109. Jham GN, Teles FFF, Campos LG. Use of aqueous HCl/MeOH as esterification reagent for analysis of fatty acids derived from soybean lipids. *JAOCS* 1982;59:132-133.
110. Laubl MW, Bruttel PA. Determination of the Oxidative Stability of fats and Oils: Comparison between the active oxygen method (AOCS Cd 12-57) and the Rancimat method. *JAOCS* 1986;63:792-795.
111. Monotest cholesterol. FRG: Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica, 1982.
112. Burstein M. Determination of HDL-cholesterol. *J Lipid Res* 1970;11:583-587.
113. Lopes-Virella MF, Stone P, Ellis S, Colwell JA. Cholesterol determination in high density lipoprotein separated by three different methods. *Clin Chem* 1977;23:882-884.
114. Periodochrom triglycerides. FRG: Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica, 1982.
115. Friedewald WT, Levy RI, Frederickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
116. Gill PI, Rathgeb KA, Robinson CS. Regulation of acetyl CoA: Cholesterol acyl transferase activity in normal and atherosclerotic rabbit aortas: Role of a cholesterol substrate pool. *Exp Mol Pathol* 1986;44:320-339.

117. Harvel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955;34:1345-1353.
118. Folch J, Lees M, Sloane SGH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957;226:479-509.
119. Astt HJ. Inadvertent isomerization of polyunsaturated acids during ester preparation. *Anal Chem* 1963;35:1539-1540.
120. Metcalfe LD, Scmitz AA, Pelka JR. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal Chem* 1966;38:514-515.
121. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-275.
122. Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun* 1989;6:67-75.
123. Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, et al. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *Am J Clin Nutr* 1999;70:1001-1008.
124. Mustad VA, Ellsworth JL, Cooper AD, Kris-Etherton PM. Dietary linoleic acid increases and palmitic acid decreases hepatic LDL receptor protein and mRNA abundance in young pigs. *J Lipid Res* 1996;37:2310-2323.
125. Fernandez ML, McNamara DJ. Dietary fat-mediated changes in hepatic apoproteinB/E receptor in the guinea pig: effect of polyunsaturated, monounsaturated, and saturated fat. *Metabolism* 1989;38:1094-1102.
126. Fernandez ML, Lin EC, McNamara DJ. Differential effects of saturated fatty acids on low density lipoprotein metabolism in the guinea pig. *J Lipid Res* 1992;33:1833-1842.
127. Tholstrup T, Sandström B, Bysted A, Holmer G. Effect of 6 dietary fatty acids on the postprandial lipid profile, plasma fatty acids, lipoprotein lipase, and cholesterol ester transfer activities in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 2001;73:198-208.

128. Blond JP, Henrichi C, Precigou P, et al. Effect of 18:3 n-3 geometrical isomers of heated linseed oil on the biosynthesis of arachidonic acid in rat. *Nutr Res* 1990;10:69-70.
129. Bonanome A, Grundy SM. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N Eng J Med* 1988;318:1244-1248.
130. Fernandez ML, West KL. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. *J Nutr* 2005;135:2075-2078.
131. Tobin KA, Steineger HH, Alberti S, et al. Cross-talk between fatty acid and cholesterol metabolism mediated by liver X receptor-alpha/ *Mol Endocrinol* 2000;14:741-752.
132. Ide T, Shimano H, Yoshikawa T, et al. Cross-talk between peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR) alpha and liver X receptor (LXR) in nutritional regulation of fatty acid metabolism. *Mol Endocrinol* 2003;17:1255-1267.
133. Xu J, Nakamura MT, Cho HP, Clark SD. Sterol regulatory element binding protein-1 expression n suppressed by dietary polyunsaturated fatty acids. A mechanism for the coordinate suppression of lipogenic genes by polyunsaturated fats. *J Biol Chem* 1999;274:23577-23583.
134. Clark SD. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: A molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *J Nutr* 2001;131:1129-1132.
135. Li Y, Hou MJ, MA J, et al. Dietary fatty acids regulate cholesterol induction of liver CYP7alpha1 expression and bile acid production. *Lipid* 2005;40:455-462.
136. Chen CW, Cheng HH. A rice bran oil diet increases LDL-receptor and HMG-CoA reductase mRNA expressions and insulin sensitivity in rats with Streptozotocin/Nicotinamide-induced type 2 diabetes. *J Nutr* 2006;136:1472-1476.
137. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Peroxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:473-480.
138. Tselepis AD, Chapman MJ. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase

- A2, platelet activation factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl* 2002;3:57-68.
139. Goyal J, Wang K, Liu M, Suvvaiah PV. Novel function of lecithin-cholesterol acyltransferase. Hydrolysis of oxidized polar phospholipids generated during lipoprotein oxidation. *J Biol Chem* 1997;272:16231-16239.
140. Valsta LM, Jauhiainen M, et al. Effects of a monounsaturated rapeseed oil and a polyunsaturated sunflower oil diet on lipoprotein levels in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1992;12:50-57.
141. Pederson A, Baumstark MW, Marckmann P, et al. An olive oil-rich diet results in higher concentrations of LDL cholesterol and higher number of LDL subfraction particles than rapeseed oil and sunflower oil diets. *J Lip Res* 2000;41:1901-1911.
142. Insull W Jr, Silver A, Hicks L, Probsfield JL. Plasma lipid effects of three common vegetable oils induced-fat diets of free-living adults. *Am J Clin Nutr* 1994;60:195-202.
143. Wahrburg U, Martin H, Sandkamp M, et al. Comparative effects of a recommended lipid-lowering diet vs a diet rich in monounsaturated fatty acids on serum lipid profiles in healthy young adults. *Am J Clin Nutr* 1992;56:678-683.
144. Castro P, Miransa JL, Gomez P, et al. Comparison of an oleic acid enriched-diet vs NCEP-I diet on LDL susceptibility to oxidative modifications. *Eur J Clin Nutr* 2000;54:61-67.
145. Kratz M, Cullen P, Kannenberg F, et al. Effects of dietary fatty acids on the composition and oxidizability of low-density lipoprotein. *Eur J Clin Nutr* 2002;56:72-81.
146. Young IS, McEnemy J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochem Soc trans* 2001;29:358-362.
147. Zambon A, Hokanson JE, Brown BG, Brunzell JD. Evidence for a new pathophysiological mechanism for coronary artery disease regression: Hepatic lipase-mediated changes in LDL density. *Circulation* 1999;99:1959-1964.



APPENDIX A1

Research information sheet for participant (เอกสารให้คำแนะนำแก่ผู้เข้าร่วมโครงการ)

ชื่อโครงการ ผลการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันรำข้าว, น้ำมันปาล์ม และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าว และน้ำมันปาล์ม ต่อส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการเกิดออกซิเดชันของไขมัน คอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำในหญิงไทย
Effects of consumption of soybean oil, rice bran oil, palm oil and combination of rice bran oil and palm oil on lipoprotein compositions and LDL oxidation in Thai women

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

ศ.นพ. สุรัตน์ โคมินทร์

e-mail address rasko@mahidol.ac.th

ที่อยู่ 90/262-263 หมู่บ้านอยู่เจริญ ซอยวิภาวดี 20 ถนนวิภาวดี

แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ที่ทำงาน ศูนย์วิจัย ชั้น 6 คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี

มหาวิทยาลัยมหิดล โทรศัพท์ 02-201-1631

ชื่อผู้ร่วมดำเนินการวิจัย

นาง ธีรนาถ อุทราวุฒิมงคล นักศึกษาปริญญาเอก สาขาโภชนศาสตร์

ที่อยู่ 167/3 ถนน 25 มกรา อำเภอเมือง นครปฐม 73000

โทรศัพท์ 034-241-470 หรือ 01-382-4807

สถานที่วิจัย ศูนย์วิจัย ชั้น 6 คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดีมหาวิทยาลัยมหิดล

ความเป็นมาของโครงการ

ภาวะไขมันคอเลสเตอรอลในเลือดสูงเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ทำให้เกิดการเจ็บป่วยและตายในคนไทยและหลายประเทศทั่วโลก ขณะนี้พบว่าภายในอนุภาคของคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำ (LDL particle) มีขนาด ค่าความหนาแน่น และส่วนประกอบของไขมันหลายชนิด โดยเฉพาะ LDL particle ที่มีชนิดของค่าความหนาแน่นต่ำมีผลต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งได้มากกว่าชนิดของค่าความหนาแน่นสูง เนื่องจาก LDL particle ที่มีชนิดของค่าความหนาแน่นต่ำสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เพิ่มขึ้น และเกาะติดกับผนังหลอดเลือด จากนั้นจะถูกจำกัดโดยเม็ดเลือดขาวทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรัง มีการพอกพูนของโปรตีน ไขมัน และแคลเซียม เกิดเป็นคราบพอกด้านในของหลอดเลือดจนขรุขระ ผนังหลอดเลือดแข็งตัว และรูหลอดเลือดแคบตีบลงที่สุดในที่สุด จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องหาวิธีลดปัจจัยเสี่ยงนี้ จากการศึกษาพบว่าการควบคุมอาหารโดยการบริโภคปริมาณไขมันในอาหารให้สัดส่วนที่ถูกต้อง คุณภาพของไขมันควรมีสัดส่วนของไขมันชนิดอิ่มตัว ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่เหมาะสม รวมทั้งปริมาณคอเลสเตอรอลต่ำในอาหาร สามารถลดระดับไขมันโดยเฉพาะสารคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่น

ต่ำได้ อาหารไทยส่วนใหญ่มีส่วนประกอบของไขมันจาก ไขมันพืช และไขมันสัตว์ ปัจจุบันคนไทยส่วนใหญ่นิยมใช้ไขมันพืชจากน้ำมันพืชหลายชนิดปรุงประกอบอาหาร ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม และน้ำมันถั่วลิสง เป็นต้น จากการศึกษาพบว่าปริมาณกรดไขมันที่ต่างกันของน้ำมันพืชแต่ละชนิดมีผลทำให้ระดับกรดไขมันและค่าไขมันในเลือดแตกต่างกัน นอกจากนี้พบว่าสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่ไขมันซึ่งมีอยู่ในน้ำมันพืชชนิดต่างๆ เช่น สเตอรอล โอริซานอล โทโคฟีรอล โทโคโทอินอล และ สแควลีน เป็นต้น ซึ่งมีการศึกษาพบว่ามีคุณสมบัติช่วยลดระดับระดับคอเลสเตอรอลได้

ดังนั้นจึงน่าสนใจที่จะศึกษาผลของส่วนประกอบของกรดไขมัน และสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่ไขมันของน้ำมันพืชชนิดต่างๆที่คนไทยใช้ปรุงประกอบอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดค่าความหนาแน่น ส่วนประกอบไลโปโปรตีน กรดไขมันและการออกซิไดซ์ในไขมันคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำของคนไทยที่มีภาวะไขมันคอเลสเตอรอลสูง เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการเลือกใช้น้ำมันพืชบริโภคเพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดของคนไทย

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม และน้ำมันผสมรำข้าวร่วมกับปาล์ม ในอาหารไทย ต่อส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการออกซิเดชันในไขมันคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำในหญิงไทยที่มีไขมันในเลือดสูง

รายละเอียดการปฏิบัติต่อผู้เข้าร่วมโครงการ

ผู้เข้าร่วมโครงการจะต้องได้รับการปฏิบัติดังนี้

ระยะคัดกรอง

ผู้เข้าร่วมโครงการจะต้องมีคุณสมบัติดังนี้คือ เป็นหญิงไทย มีค่าไขมันชนิดคอเลสเตอรอลในเลือดสูง ระดับ 240 – 280 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และค่าคอเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นต่ำในเลือด ระดับ 130 – 159 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ค่าดัชนีความหนาของร่างกาย น้อยกว่า 27 กิโลกรัมต่อเมตร² มีสุขภาพโดยทั่วไปดี การทำงานของไต ตับ ระดับน้ำตาลในเลือด ต่อมไทรอยด์ และการทำงานของหัวใจปกติ ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคเรื้อรัง เช่น โรคหัวใจหลอดเลือด เบาหวาน ความดันโลหิตสูง ตับอักเสบ ไม่รับประทานยาหรือฮอร์โมนที่มีผลต่อระดับไขมันในเลือด รวมทั้งอาหารเสริม วิตามินและเกลือแร่ ไม่สูบบุหรี่ ไม่ดื่มแอลกอฮอล์ ไม่ดื่มกาแฟมากกว่า 2 แก้วต่อวัน จะทำการคัดเลือกเข้าโครงการโดย

1. ตรวจเลือด วัดความดันโลหิต เพื่อประเมินสุขภาพทั่วไป วินิจฉัยโรค
2. ตรวจร่างกายจากแพทย์
3. วัดสัดส่วนของร่างกาย โดยการชั่งน้ำหนัก และวัดส่วนสูง
4. การสัมภาษณ์เกี่ยวกับอาหารบริโภค และประวัติสุขภาพ

ระยะปรับฐาน

ผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละบุคคลจะได้รับโภชนศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมอาหารโดยการบริโภคให้มีสัดส่วนไขมัน คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนที่ถูกต้อง ปริมาณคอเลสเตอรอล ไขมันและชนิดของกรดไขมันในอาหารบริโภค จากคู่มือรายการอาหารแลกเปลี่ยน ปริมาณคอเลสเตอรอลและกรดไขมันในอาหารไทย และฝึกปฏิบัติเกี่ยวกับการชั่ง ตวง วัด อาหารตามส่วนจนชำนาญ ก่อนเริ่มเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของอาหาร ผู้เข้าร่วมโครงการจะต้องงดน้ำและอาหารในคืนก่อนมาเจาะเลือด 12 ชั่วโมง เมื่อถึงที่ศูนย์วิจัย คณะแพทยศาสตร์ ร.พ. รามาธิบดี ประมาณ 8.00 น. จะได้รับการเจาะเลือดไว้ 25 ลบ. ซม. เป็นค่าก่อนเปลี่ยนแปลงอาหาร จากนั้นผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละบุคคลจะต้องรับประทานอาหารตามข้อแนะนำให้ถูกสัดส่วนของไขมัน คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน ปริมาณคอเลสเตอรอลและสัดส่วนของไขมันชนิดอิ่มตัว ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว และไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่บ้าน และจดบันทึกอาหารประจำวัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ทั้งนี้จะมีการติดตามผลของการจดบันทึกอาหารบริโภคประจำวันทุก 2 สัปดาห์ และในสัปดาห์ที่ 4 และ 8 ผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละบุคคลจะต้องงดน้ำและอาหารในคืนก่อนมาที่จะมาเจาะเลือด 12 ชั่วโมง โดยให้มาถึงที่ศูนย์วิจัยประมาณ 8.00 น. จะได้รับการเจาะเลือดประมาณ 10 และ 25 ลบ. ซม. ตามลำดับ ตรวจร่างกายจากแพทย์ ชั่งน้ำหนัก และวัดความดันโลหิต

ระยะทดลอง

จากนั้นผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละบุคคลจะจับฉลากสุ่มเลือกใช้น้ำมันพืชชนิดต่างๆไม่ซ้ำกัน 4 ชนิด โดยทดลองครั้งละ 1 ชนิด สำหรับเป็นส่วนประกอบปรุงอาหารร่วมกับการควบคุมอาหารโดยการบริโภคให้มีสัดส่วนไขมัน คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนที่ถูกต้อง โดยเฉพาะสัดส่วนของส่วนประกอบของไขมันชนิดอิ่มตัว ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่เหมาะสม รวมทั้งปริมาณคอเลสเตอรอลต่ำในอาหาร โดยผู้วิจัยจะให้น้ำมันพืชเป็นขวด ทั้งนี้ผู้เข้าร่วมโครงการจะต้องรับประทานชนิดของน้ำมันพืชที่เรียงตามหมายเลขที่จับฉลากได้ ไม่รับประทานอาหารที่ปรุงประกอบจากน้ำมันขวดอื่น และไม่ให้ปรุงประกอบอาหารพร้อมผู้อื่น หลังจากเทน้ำมันที่ใช้เสร็จแล้ว ปิดฝาให้แน่น เก็บไว้ในตู้เย็นที่ช่องธรรมดาใส่น้ำเย็น ผู้เข้าร่วมโครงการจะต้องจดบันทึกอาหารบริโภคประจำวัน ระยะเวลา 10 สัปดาห์ต่อน้ำมันพืชแต่ละชนิด โดยจะมีการติดตามผลของการจดบันทึกอาหารบริโภคประจำวันทุก 2 สัปดาห์ และเมื่อครบกำหนดเวลา ณ. สัปดาห์ที่ 4, 8 และ 10 ของการบริโภคน้ำมันแต่ละชนิด ผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละบุคคลจะต้องงดน้ำและอาหารในคืนก่อนมาที่จะมาเจาะเลือด 12 ชั่วโมง โดยให้มาถึงที่ศูนย์วิจัยประมาณ 8.00 น. จะได้รับการเจาะเลือด ประมาณ 10, 10 และ 25 ลบ. ซม.ตามลำดับ ตรวจร่างกายจากแพทย์ ชั่งน้ำหนัก วัดความดันโลหิต โดยระยะทดลองเป็นเวลา 40 สัปดาห์ ทั้งนี้หากมีอาการผิดปกติ สามารถซักถามและโทรมาปรึกษาผู้วิจัยได้ตลอดเวลา

ระยะติดตามผล

ผู้ร่วมดำเนินการวิจัยจะติดตามเรื่องเอกสารบันทึกการบริโภคอาหารตามส่วน ทุก 2 สัปดาห์ จากผู้เข้าร่วมโครงการ และทำการติดตามผลอื่นๆตามตาราง รวมระยะเวลาทั้งหมด 48 สัปดาห์

หมายเหตุ: เครื่องหมาย ✓ หมายถึง ทำการติดตามผลในสัปดาห์นั้น

การติดตามผล	สัปดาห์ที่															
	-8	-4	0	4	8	10	14	18	20	24	28	30	34	38	40	
เจาะเลือด 10 ลบ.ซม.		✓		✓	✓		✓	✓		✓	✓		✓	✓		
เจาะเลือด 25 ลบ.ซม.	✓		✓		✓	✓			✓			✓			✓	
ตรวจร่างกายจากแพทย์	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
ชั่งน้ำหนัก	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
วัดความดันโลหิต	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	

ประโยชน์และผลข้างเคียงที่อาจจะเกิดแก่ผู้เข้าร่วมโครงการ

ถ้าการศึกษาสามารถพิสูจน์ได้ว่าการบริโภคน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ที่คนไทยนิยมบริโภคและขายกันอยู่ทั่วไปในท้องตลาดได้แก่ น้ำมันรำข้าว น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันปาล์ม หรือน้ำมันผสมรำข้าวและปาล์ม ชนิดใดมีอนุภาคของคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำชนิดของค่าความหนาแน่นต่ำน้อยที่สุด มีส่วนประกอบไลโปโปรตีนและกรดไขมันที่ดี และมีการออกซิไดซ์ในไขมันคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำในปริมาณน้อย น้ำมันพืชที่มีคุณสมบัติดังกล่าวสามารถลดการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง และป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ จะได้รับประโยชน์ คือ

1. ผู้เข้าร่วมโครงการได้ประโยชน์โดยตรงจากการบริโภคน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ทำให้สามารถเลือกชนิดของน้ำมันพืชให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพมากที่สุดสุขภาพ โดยการนำมาเป็นส่วนประกอบของการปรุงประกอบอาหารในชีวิตประจำวันมีสัดส่วนของกรดไขมันเหมาะสมและสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่น้ำมัน เป็นองค์ประกอบ สามารถป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดซึ่งเป็นปัญหาการเจ็บป่วยและการตายที่สำคัญของคนไทย ซึ่งหมายถึงช่วยลดค่าใช้จ่ายในการรักษาดูแลในอนาคต
2. ผู้เข้าร่วมโครงการจะได้รับโภชนศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมอาหารโดยการบริโภคให้มีสัดส่วนไขมันคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนที่ถูกต้อง โดยเฉพาะสัดส่วนของส่วนประกอบของไขมันชนิดอิ่มตัว ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่เหมาะสม รวมทั้งปริมาณคอเลสเตอรอลต่ำในอาหารบริโภค ความรู้เกี่ยวกับรายการอาหารแลกเปลี่ยน และการฝึกปฏิบัติเกี่ยวกับการชั่ง ตวง วัด อาหารตามส่วนจนชำนาญ ทำให้สามารถรักษาภาวะไขมันคอเลสเตอรอลสูงโดยการควบคุมอาหารถูกวิธี
3. น้ำมันพืชที่คุณสมบัติดังกล่าวจะได้รับการส่งเสริมว่าเป็นน้ำมันบริโภคเพื่อสุขภาพ เพื่อทำการส่งเสริมให้มีการเพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจแก่น้ำมันพืชชนิดดังกล่าว โดยให้เกษตรกรมีการเพาะปลูกเพิ่มขึ้น และขยายการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ส่งเสริมการบริโภคภายในและส่งออกนอกประเทศในที่สุด

ผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น เนื่องจากน้ำมันพืชชนิดต่างๆที่ใช้ในการทดลองวิจัยเป็นน้ำมันพืชที่ผลิตและบริโภคกันทั่วไปภายในประเทศไทย ยังไม่เคยมีรายงานการแพ้ น้ำมันพืชชนิดต่างๆที่ใช้ทดลอง อย่างไรก็ตามหากผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยมีอาการต่อระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ สามารถติดต่อสอบถามผู้วิจัยได้ที่ นอกจากนี้ผู้ที่มีปัญหาโรคถุงน้ำดีอักเสบ หรือมีประวัติเคยผ่าตัดถุงน้ำดี และลำไส้เล็ก ผู้วิจัยจะไม่นำมาร่วมโครงการนี้

การเก็บข้อมูลเป็นความลับ

ผู้วิจัยและเจ้าหน้าที่หน่วยงานด้านสุขภาพจำเป็นต้องศึกษาเอกสารข้อมูลทางการแพทย์ของท่าน อย่างไรก็ตามการเข้าร่วมการวิจัยของท่านจะถูกเก็บเป็นความลับ หมายถึงข้อมูลส่วนตัวของท่านจะถูกเก็บรักษาและดำเนินการอย่างรัดกุมปลอดภัย และถูกจำกัดเฉพาะผู้วิจัย หรือบุคคลที่ได้รับมอบอำนาจ โดยจะทำการเก็บรักษาข้อมูลเป็นความลับ โดยไม่มีการอ้างถึงท่านโดยใช้ชื่อของท่านในรายงานใดๆที่เกี่ยวกับการวิจัยนี้ และรูปพรรณของท่านจะไม่ถูกเปิดเผยต่อผู้ใด ยกเว้นเพื่อจุดประสงค์ดังกล่าวข้างต้น และในกรณีฉุกเฉินทางการแพทย์ หรือในกรณีที่มีกฎหมายบังคับเท่านั้น

ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะถูกเก็บไว้ในคอมพิวเตอร์เพื่อจุดประสงค์ของการวิจัย และแจ้งผลให้เจ้าหน้าที่หน่วยงานด้านสุขภาพได้ทราบ ข้อมูลอาจนำไปใช้เพื่อจุดประสงค์ทางการแพทย์หรือวิทยาศาสตร์ ถ้าข้อมูลของท่านถูกนำไปใช้เพื่อจุดประสงค์ใดก็ตาม จะถูกจัดการไม่ให้เป็นกรุปพรรณของตัวท่าน ท่านมีสิทธิตามกฎหมายที่จะเข้าถึงข้อมูลส่วนตัวของท่าน และแก้ไขข้อมูลตามเหตุผลอันสมควร ถ้าท่านต้องการใช้สิทธิดังกล่าว กรุณาแจ้งผู้วิจัยให้ทราบ

สิทธิที่จะถาม และ /หรือ สิทธิที่จะถอนตัวจากการวิจัย

ท่านมีสิทธิที่จะถามในเรื่องที่เกี่ยวข้องกับอันตรายที่มีหรืออาจมีในการเข้าร่วมการวิจัยนี้ ได้ตลอดเวลา ถ้าท่านมีคำถามที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยนี้ โปรดติดต่อศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุรัตน์ โคมินทร์ หมายเลขโทรศัพท์ 02-201-1631 ท่านมีสิทธิที่จะถอนตัวจากการวิจัยนี้ ได้ตลอดเวลา แพทย์อาจจะยุติการเข้าร่วมการวิจัยของท่านได้ตลอดเวลา ถ้าแพทย์คิดว่าเป็นประโยชน์ต่อท่าน

คำขอตกลง

ถ้าท่านเกิดเจ็บป่วยหรือบาดเจ็บซึ่งเป็นผลจากการร่วมการวิจัยนี้ ท่านจะได้รับการดูแลรักษาทางการแพทย์ตามความเหมาะสม หากท่านมีคำถามเกี่ยวกับการดูแลรักษาในกรณีเช่นนี้ หรือถ้าท่านมีความเจ็บป่วยหรือบาดเจ็บที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยนี้ โปรดติดต่อศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุรัตน์ โคมินทร์ หมายเลขโทรศัพท์ 02-201-1631

การเข้าร่วมด้วยความสมัครใจ

การเข้าร่วมวิจัยนี้ของท่านเป็นไปด้วยความสมัครใจ ถ้าท่านตัดสินใจไม่เข้าร่วมการวิจัย จะไม่มีการสูญเสียผลประโยชน์ใดๆ ที่ท่านปกติควรจะได้รับ ท่านมีสิทธิที่จะได้รับเอกสารใบยินยอมที่มีลายเซ็น 1 ฉบับ

คำแนะนำแก่ผู้เข้าร่วมโครงการ

ข้าพเจ้าได้อธิบายเอกสารชี้แจงข้อมูลและคำแนะนำของโครงการวิจัยเรื่องผลของการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าวร่วมกับน้ำมันปาล์มในอาหารไทยต่อส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการออกซิเดชันในไขมันคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำแก่ผู้เข้าร่วมโครงการ พร้อมทั้งเปิดโอกาสให้ผู้เข้าร่วมโครงการซักถาม และได้ตอบคำถามจนหมดข้อสงสัย และจะมีการติดตามภายหลังการเข้าร่วมโครงการ โดยผู้วิจัย และแพทย์พร้อมจะให้ความช่วยเหลือได้ตลอดเวลา

ลงชื่อ _____

(นาง ธีรนาถ อูทารวุฒิมงคล)

ผู้วิจัย

ลงชื่อ _____

(ศาสตราจารย์ น.พ. สุรัตน์ โคมินทร์)

หัวหน้าโครงการวิจัย

วันที่ _____

APPENDIX A2

Inform consent form (แบบยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย)

ชื่อโครงการ ผลการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันรำข้าว, น้ำมันปาล์ม และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าว และน้ำมันปาล์ม ต่อส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการเกิดออกซิเดชันของไขมัน คอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำในหญิงไทย

ชื่อผู้วิจัย นาง อีรณาท อุทาวุธพิงศ์ นักศึกษาปริญญาเอก หลักสูตรโภชนศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

ชื่อผู้เข้าร่วมโครงการ _____ อายุ _____

คำยินยอมของผู้เข้าร่วมโครงการ

ข้าพเจ้า _____ ได้รับทราบรายละเอียดของโครงการวิจัยเรื่องผลของการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว และน้ำมันปาล์มในอาหารไทยต่อ ส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการออกซิเดชันไขมันคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำ และทราบจากผู้วิจัยว่าในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จะได้รับการเจาะเลือดตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่องานวิจัย 15 ครั้ง (จำนวน 10 ลบ.ซม/ 9 ครั้ง และ 25 ลบ.ซม/ 6 ครั้ง.) และหากได้รับการคัดเลือกเข้าร่วมโครงการนี้ ข้าพเจ้าจะต้องบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว และน้ำมันปาล์ม ในอาหารไทยตามระยะทดลองที่กำหนดไว้ ณ โรงพยาบาลรามาธิบดี โดยผู้วิจัยจะไม่เปิดเผยข้อมูลของข้าพเจ้า หรือผลการวิจัยเป็นรายบุคคลต่อสาธารณชน แต่จะเสนอผลงานวิจัยในภาพรวม นอกจากนี้ตลอดการเข้าร่วมโครงการวิจัยที่ศึกษาเรื่องผลของการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว และน้ำมันปาล์มในอาหารไทย ข้าพเจ้าจะได้รับการดูแลจากผู้วิจัย และ ศ.นพ. สุรัตน์ โคมินทร์ ถ้ามีปัญหาหรือข้อสงสัยเกิดขึ้นข้าพเจ้าสามารถถามผู้วิจัยได้ และข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะของดการเข้าร่วมโครงการศึกษาวิจัยนี้ โดยไม่มีผลกระทบต่อการใช้บริการ หรือการรักษาที่ข้าพเจ้ามีสิทธิจะได้รับแต่ประการใด ข้าพเจ้ายินดีที่จะเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ จึงได้ลงลายมือชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ _____ (ผู้ยินยอม)

(_____) ตัวบรรจง

ลงชื่อ _____ (พยาน) ลงชื่อ _____ (พยาน)
(_____) ตัวบรรจง (_____) ตัวบรรจง

APPENDIX B1

Demographic data collecting form (แบบบันทึกข้อมูลส่วนบุคคลของผู้เข้าร่วมโครงการ)

ชื่อโครงการ ผลการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันรำข้าว, น้ำมันปาล์ม และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าว และน้ำมันปาล์ม ต่อส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการเกิดออกซิเดชันของไขมัน คอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำในหญิงไทย

ชื่อ-สกุล _____ HN _____ อายุ _____ ปีการ

วินิจฉัยโรค _____

ที่อยู่ _____ โทรศัพท์ _____

ชื่อผู้บันทึก _____ วันที่ _____

แบบบันทึกนี้ให้ผู้เข้าร่วมโครงการตอบคำถามทุกข้อให้ตรงความเป็นจริงมากที่สุด คำตอบที่ได้ถือเป็นความลับ

ผู้วิจัยจะไม่เปิดเผยข้อมูลเป็นรายบุคคลต่อสาธารณชน

คำชี้แจง ให้ทำเครื่องหมาย

ลงใน () ที่ตรงกับคำตอบของผู้ถูกสัมภาษณ์

- | | | |
|------------------|----------------------|----------------------------|
| 1. เพศ | () ชาย | () หญิง |
| 2. อายุ _____ ปี | | |
| 3. ศาสนา | () พุทธ | () คริสต์ |
| | () อิสลาม | () อื่นๆ |
| 4. สถานภาพสมรส | () โสด | () สมรสอยู่ด้วยกัน |
| | () หม้าย | () หย่า/ แยกกันอยู่ |
| 5. การศึกษา | () ไม่ได้เรียน | () ประถมศึกษา |
| | () มัธยมศึกษาตอนต้น | () มัธยมศึกษาตอนปลาย หรือ |

ปวช

- | | | |
|---|---------------------------|-------------------------|
| | () อนุปริญญา หรือ ปวส. | () ปริญญาตรี |
| | () สูงกว่าปริญญาตรี | |
| 6. รายได้ปัจจุบันที่ท่านได้รับเดือนละ _____ บาท | | |
| 7. อาชีพ | () รับจ้าง | () คำขาย/ ประกอบกิจการ |
| ส่วนตัว | | |
| | () รัฐวิสาหกิจ | () รับราชการ |
| | () เกษตรกรรม | () เงินบำนาญ |
| | () แม่บ้าน (ไม่ได้ทำงาน) | () อื่นๆ ระบุ _____ |

8. จำนวนสมาชิกในครอบครัวทั้งหมด _____ คน

APPENDIX B2

Nutritional and health status data collecting form (ข้อมูลภาวะโภชนาการและสุขภาพ)

ชื่อโครงการ ผลการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันรำข้าว, น้ำมันปาล์ม และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าว และน้ำมันปาล์ม ต่อส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการเกิดออกซิเดชันของไขมัน คอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำในหญิงไทย

ชื่อ-สกุล _____ HN _____ อายุ _____ ปี _____ การ _____

วินิจฉัยโรค _____

ที่อยู่ _____ โทรศัพท์ _____

ชื่อผู้บันทึก _____ วันที่ _____

1. ภาวะโภชนาการ และความดันโลหิต

ภาวะโภชนาการ	สัปดาห์ที่														
	-8	-4	0	4	8	10	14	18	20	24	28	30	34	38	40
น้ำหนัก (กิโลกรัม)															
ส่วนสูง (เซนติเมตร)															
ดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม/เมตร ²)															
ความดันโลหิต (มิลลิเมตรปรอท)															

2. ท่านมีโรคประจำตัวหรือไม่ () ไม่มี () มี โปรดระบุ _____

3. ท่านเป็นโรคเหล่านี้หรือไม่ () โรคหัวใจ () เบาหวาน
() โรคไต () โรคตับ
() ลำไส้อักเสบ () ถุงน้ำดีอักเสบ
() อื่นๆ _____

4. ท่านมีประวัติเคยผ่าตัดหรือไม่ () ไม่มี () มี โปรดระบุ _____

5. ท่านสูบบุหรี่หรือไม่ () ไม่สูบ () สูบ

6. ท่านดื่มเหล้าหรือไม่ () ไม่ดื่ม () ดื่ม วันละ _____

7. ท่านดื่มกาแฟหรือไม่ () ไม่ดื่ม () ดื่ม วันละ _____

8. ท่านรับประทานยา วิตามิน ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรืออาหารเสริมเป็นประจำหรือไม่

() ไม่ได้รับประทาน () รับประทาน ชนิดใดบ้าง _____

ยาชื่อ _____ รับประทานมา _____ ปี

ขนาดและวิธีการรับประทาน _____

ยาชื่อ _____ รับประทานมา _____ ปี

ขนาดและวิธีการรับประทาน _____

ยาชื่อ _____ รับประทานมา _____ ปี

ขนาดและวิธีการรับประทาน _____

ยาชื่อ _____ รับประทานมา _____ ปี

ขนาดและวิธีการรับประทาน _____

9. ท่านมีปัญหาเหล่านี้หรือไม่

การเคี้ยว () ไม่มี () มี โปรดระบุ _____

การกลืน () ไม่มี () มี โปรดระบุ _____

การย่อย () ไม่มี () มี โปรดระบุ _____

การขับถ่ายอุจจาระ () ไม่มี () มี โปรดระบุ _____



APPENDIX B3

Food behavior data collecting form (ข้อมูลพฤติกรรมกรรมการรับประทานอาหาร)

ชื่อโครงการ ผลการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง, น้ำมันรำข้าว, น้ำมันปาล์ม และน้ำมันผสมจากน้ำมันรำข้าว และน้ำมันปาล์ม ต่อส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการเกิดออกซิเดชันของไขมัน คอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำในหญิงไทย

ชื่อ-สกุล _____ HN _____ อายุ _____ ปี การวินิจฉัยโรค _____
 ที่อยู่ _____ โทรศัพท์ _____
 ชื่อผู้บันทึก _____ วันที่ _____

คำชี้แจง ให้ทำเครื่องหมาย

✓ ลงในช่องสี่เหลี่ยม ที่ตรงกับคำตอบของผู้ถูกสัมภาษณ์ และเติมข้อความตามจริงลงในช่องว่าง

1. โดยปกติท่านรับประทานอาหารวันละ _____ มื้อ

เวลารับประทาน (โปรดระบุ) เช้า _____ น. สาย _____ น.

กลางวัน _____ น. บ่าย _____ น.

เย็น _____ น. ก่อนนอน _____ น.

2. อาหารที่ท่านรับประทานส่วนใหญ่เป็นอาหารประเภทใด

มื้ออาหาร	ประเภทอาหาร		
	ปรุงเอง	ซื้อปรุงสำเร็จ	ปรุงเองและซื้อปรุงสำเร็จ
เช้า			
สาย			
กลางวัน			
บ่าย			
เย็น			
ก่อนนอน			

หมายเหตุ โปรดระบุลักษณะอาหารส่วนใหญ่ที่รับประทาน เช่น

อาหารจานเดียว ได้แก่ ก๋วยเตี๋ยว, ข้าวผัด

ข้าวและกับข้าว 2-3 อย่าง ได้แก่ ต้มจืด แกงกะทิ ของผัด ทอด

3. อาหารที่รับประทานส่วนใหญ่ในครัวมีการเก็บและปรุงอย่างไร

- () ซื้ออาหารสดปรุงรับประทานวันต่อวัน () ซื้ออาหารสดมาเก็บไว้ปรุงรับประทาน วัน/ ครั้ง
 () ซื้ออาหารสำเร็จรูปมารับประทานวันต่อวัน () ซื้ออาหารกึ่งสำเร็จรูปมาปรุงรับประทาน
 () ซื้ออาหารสำเร็จรูปบรรจุกระป๋อง/ ซองมารับประทาน
 () อื่นๆ โปรดระบุ _____

4. ที่บ้านท่านใช้น้ำมันชนิดใดปรุงอาหาร

- () น้ำมันหมู () เนย มาการีน
 () น้ำมันพืช โปรดระบุชื่อ _____

5. ท่านทำอาหารรับประทานเองในบ้านหรือไม่

- () ทำเอง () ไม่ได้ทำเอง

6. ท่านรับประทานอาหารนอกบ้านหรือไม่ ถ้าเคยบ่อยแค่ไหน

- () เคยทุกวัน อย่างน้อยวันละ มื้อ () 2-3 วัน/ ครั้ง
 () 4-5 วัน/ ครั้ง () สัปดาห์ละครั้ง
 () เดือนละ 1-2 ครั้ง () ไม่เคย

7. แบบแผนการบริโภคของท่านในปัจจุบันเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมหรือไม่

- () ไม่เปลี่ยนแปลง
 () เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม คือ _____

8. อาหารที่ท่านรับประทานส่วนใหญ่ ปรุงอาหารวิธีใด

- () ต้ม () ตุ่น
 () นึ่ง () อบ
 () ปิ้ง,ย่าง () ผัด
 () ทอด () อื่นๆ ระบุ _____

APPENDIX C1:

Guideline of food exchange list, cholesterol and fatty acids composition in Thai foods

รายการอาหารแลกเปลี่ยน
ปริมาณคอเลสเตอรอล และกรดไขมันในอาหารไทย

ธีรนาถ อุทาวุธพิงศ์

จัดทำเพื่อโครงการวิทยานิพนธ์เรื่อง
ผลของการบริโภคน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว และน้ำมันปาล์ม
ในอาหารไทย ต่อส่วนประกอบไลโปโปรตีน และการออกซิไดซ์
ในไขมันคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่ความหนาแน่นต่ำ

คู่มือรายการอาหารแลกเปลี่ยนปริมาณคอเลสเตอรอลและกรดไขมันในกลุ่มอาหารไทย
วัตถุประสงค์

เพื่อให้ผู้เข้าร่วมโครงการที่มีภาวะไขมันคอเลสเตอรอลสูงเข้าใจถึงอาหารแลกเปลี่ยน
สามารถควบคุมปริมาณพลังงานและสัดส่วนสารอาหารได้แก่ คาร์โบไฮเดรตโปรตีนและไขมันได้
นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมชนิดและปริมาณกรดไขมันและคอเลสเตอรอลจากการบริโภคอาหาร
ด้วยตนเอง

อาหารแลกเปลี่ยน

คือ อาหารที่แบ่งเป็นหมวดหมู่โดยแต่ละหมวดจะให้พลังงานและสารอาหารหลักคือ
คาร์โบไฮเดรตโปรตีนและไขมันใกล้เคียงกันภายในหมวดเดียวกันสามารถแลกเปลี่ยนกันได้
อาหารแลกเปลี่ยนมี 6 หมวด ได้แก่ ข้าว-แป้ง ผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์นม และ ไขมัน

ปริมาณอาหารในหมวดแลกเปลี่ยนเรียกว่า "ส่วน" คือจะเป็นอาหารที่สุกแล้วและอาหารใน
หมวดเดียวกันจำนวน ๗ ส่วน สามารถแลกเปลี่ยนกันได้เช่น

ข้าว-แป้ง: ถ้าไม่กินข้าวสามารถเปลี่ยนเป็นขนมปัง หรือ ก๋วยเตี๋ยวหรือ ขนมจีน เป็นต้น

ข้าวสวย	5 ช้อนโต๊ะ	หรือ	น้ำหนัก 55 กรัม
ขนมจีน	1 จับใหญ่	หรือ	น้ำหนัก 90 กรัม
ขนมปังโฮลธัญ	1 แผ่น	หรือ	น้ำหนัก 25 กรัม

1. ข้าว-แป้ง					
ตารางที่ 1 อาหารแลกเปลี่ยนหมวดข้าว-แป้ง					
ข้าว-แป้ง 1 ส่วน	ชนิดข้าว-แป้ง แลกเปลี่ยน	ปริมาณต่อ 1 ส่วน			
		น้ำหนัก-กรัม	ถ้วยตวง	ช้อนโต๊ะ	ขนาด
โปรตีน 2 กรัม คาร์โบไฮเดรต 18 กรัม พลังงาน 80 กิโลแคลอรี	ข้าวสวย ข้าวซ้อมมือ	55	1/3	5	-
	ข้าวเหนียว สุก	35	1/4	3	-
	ขนมจีน	90	-	-	1 จับใหญ่
	ก๋วยเตี๋ยว ลวก	90	2/3	9	-
	เส้นหมี่ขาว ลวก	100	3/4	10	-
	บะหมี่สำเร็จ แห้ง	20	-	-	1/3 ห่อ
	มันฝรั่ง ต้ม	100	3/4	10	-
	เผือก มันเทศ ต้ม	65	1/2	6	-
	เมล็ดขนุน ต้ม	50	-	-	-
	กระฉับ ต้ม	60	-	-	-
	ข้าวโพด ต้ม	65	1/2	6	-
	เกาลัดจีน ต้ม	30	-	-	5 เม็ดเล็ก หรือ 3 เม็ดใหญ่
	ถั่วเมล็ดแห้ง สุก*	-	1/2	-	-
	ขนมปังโฮลวีท	25	-	-	1 แผ่น
บะหมี่, ลวก ก่อน	75	2/3	8	-	
มักโรนี, สປาเกดดี ลวก	75	2/3	8	-	

หมายเหตุ * ถั่วเมล็ดแห้ง สุก 1/2 ถ้วยตวงมีคุณค่าอาหารเท่ากับข้าว-แป้ง 1 ส่วน และเนื้อสัตว์ไขมันต่ำมาก 1 ส่วน

2. ผัก					
ผักแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้					
ตารางที่ 2 อาหารแลกเปลี่ยนหมวดผัก					
กลุ่มผัก 1 ส่วน	ชนิดผักแลกเปลี่ยน			ปริมาณต่อ 1 ส่วน	
ผัก ก. พลังงานต่ำมาก พลังงาน 0 กิโลแคลอรี	ผักกาดขาว	ผักกาดสลัด	ผักบุ้งแดง	ผักแว่น	น้ำหนักสุก 1/3 - 1/2 ถ้วยตวง หรือ 50-70 กรัม
	ผักกาดเขียว	สายบัว	ผักปวยเล้ง	ยอดผักทองอ่อน	
	ใบโหระพา	ก้านปลี	ดอกกหล่ำ	ดอกกุยช่าย	
	ขึ้นช่าย	มะเขือเทศ	มะเขือ	ขมิ้นขาว	
	แตงร้าน	แตงกวา	แตงโมอ่อน	ผักชีขาว	
	น้ำเต้า	แฟง	บวบ	พริกหนุ่ม	
	พริกหยวก	ตูด	ตั้งไข่	หยวกกล้วยอ่อน	
ผัก ข. โปรตีน 2 กรัม คาร์โบไฮเดรต 5 กรัม พลังงาน 25 กิโลแคลอรี	ฟักทอง	หอมหัวใหญ่	สะตอ	หัวผักกาดแดง(บีทรูท)	3/4 - 1 ถ้วยตวง หรือ 70 กรัม
	แครอท	ใบ-ดอกซีเลียม	ผักหวาน	ถั่วงอกหัวโต	
	ถั่วลันเตา	ถั่วฝักยาว	ถั่วงอก	ถั่วแขก	
	ถั่วพู	ต้นกระเทียม	ยอดชะอม	ยอดมะพร้าวอ่อน	
	ยอดกระถิน	ยอดแค	ยอดสะเตา	ดอกกุยช่าย	
	ดอกขจร	ดอกผักกวางตุ้ง	ดอกโสน	พริกหวาน	
	ผักตบ	ผักกะแต	ผักคะน้า	ใบทองหลาง	
	ใบยอ	รากบัว	ข้าวโพดอ่อน	ตะกั่วถั่วฝักยาว	
	บรอกโคลี	ตำลึง	มะเขือเสวย	มะเขือกรอบ	
	มะระจีน	มะละกอดิบ	หน่อไม้	เห็ดเป่าฮื้อ	
	เห็ดฟาง	เห็ดนางรม			

3. ผลไม้				
ตารางที่ 3 อาหารแลกเปลี่ยนหมวดผลไม้				
ผลไม้ 1 ส่วน	ชนิดผลไม้ แลกเปลี่ยน	ปริมาณต่อ 1 ส่วน		
		น้ำหนักกรัม	ถ้วยตวง	ขนาด
คาร์โบไฮเดรต 15 กรัม พลังงาน 60 กิโลแคลอรี	กล้วยน้ำว้า	45	-	1 ผลกลาง
	กล้วยไข่	45	-	1 ผลกลาง
	กล้วยหอม	50	-	1 ผลเล็ก, 2/3 ผลกลาง หรือ 1/2 ผลใหญ่
	กล้วยหักมุก	50	-	1/2 ผลใหญ่
	เงาะ	85	-	4 ผลใหญ่ หรือ 5 ผลเล็ก
	ชมพู่	250	-	4 ผลใหญ่
	แตงโม	285	2	1 ชิ้น
	ทุเรียน	40	-	1 เม็ดกลาง
	ฝรั่ง	120	-	1/2 ผลกลาง
	มะม่วงดิบ	100	-	1/2 ผลใหญ่
	มะม่วงสุก	80	-	1/2 ผลกลาง
	มะละกอสุก	115	-	8 ชิ้นขนาดคำ
	สับปะรด	125	3/4	8 ชิ้นขนาดคำ หรือ 1 ชิ้น
	ส้มเขียวหวาน	150	-	2 ผลกลาง
	ส้มโอ	130	-	2 กลีบใหญ่
	แอ่นบีล	100	1	1 ผลเล็ก
องุ่น	100	1	20 ผลกลาง	

4. เนื้อสัตว์					
เนื้อสัตว์แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้					
ตารางที่ 4 อาหารแลกเปลี่ยนหมวดเนื้อสัตว์					
กลุ่มเนื้อสัตว์ 1 ส่วน	ชนิดเนื้อสัตว์แลกเปลี่ยน			ปริมาณต่อ 1 ส่วน	
1. ไขมันต่ำมาก โปรตีน 7 กรัม ไขมัน 0-1 กรัม พลังงาน 35 กิโลแคลอรี	ปลา:	ปลาช่อน ปลานกแก้ว ปลาหางเหลือง ปลาทูรายแดง ปลาเนื้ออ่อน ปลาอินทรี	ปลาดูเดียว ปลากะพงขาว ปลาสิกัน ปลาดุกอุย ปลาหมอเทศ	ปลาเก๋า ปลาทุ ปลาใบขนุน ปลาน้ำดอกไม้ ปลากระบอก	น้ำหนักสุก 30 กรัม (2 ชิ้นโต๊ะ) น้ำหนักดิบ 40 กรัม (3 ชิ้นโต๊ะ)
	ลูกชิ้น:	ลูกชิ้นปลา ¹	ลูกชิ้นเนื้อ ¹		
	หอย:	หอยแครง ²	หอยลาย ²	หอยเชลล์ ²	
	กุ้ง:	กุ้งทะเล-น้ำจืด ³	กุ้งฝอย ⁴		
	ปู:	ปูตัวเล็ก	เนื้อปูทะเล		
	อื่นๆ:	ปลาหมึกสาย ยักซ์ เนื้อน้องไม่มีหนัง	ไก่อ่อน, อกไก่ สันในไก่		
หมายเหตุ หมายเลขในตารางมีความหมายดังนี้					
1. ลูกชิ้น	5	ลูก	หรือ น้ำหนักสุก 30 กรัม	หรือ น้ำหนักดิบ 70 กรัม	
2. หอย	10-15	ตัว	ขนาดกลาง		
3. กุ้งสด	4	ตัว	ขนาดเล็ก		
4. กุ้งฝอย	10	ตัว			
	6	ช้อนโต๊ะ			

กลุ่มเนื้อสัตว์ 1 ส่วน	ชนิดเนื้อสัตว์	ปริมาณต่อ 1 ส่วน
2. ไขมันต่ำ โปรตีน 7 กรัม ไขมัน 3 กรัม พลังงาน 55 กิโลแคลอรี	ไก่อ่อน เนื้อ เปิดอย่างไม่มีหนัง นมถั่วเหลือง ไม่หวาน 240 มิลลิลิตร 5 หวาน 240 มิลลิลิตร 6	น้ำหนักสุก 30 กรัม (2 ช้อนโต๊ะ)
3. ไขมันปานกลาง โปรตีน 7 กรัม ไขมัน 5 กรัม พลังงาน 75 กิโลแคลอรี	หมู: เนื้อหมูป่า หมูย่าง, ไม่มีหนัง หมู, ซีโรง เนื้อไม่มีมัน หมู, ขา (ไม่ติดมัน) หมู, เนื้อไม่มีมัน ซีโรงหมูไม่มีมัน ไก่แก่, เนื้อ เปิด, เนื้อไม่มีหนัง ไข่: ไข่เปิด 7 ไข่ไก่ 7 เต้านู: เต้านูแข็ง ^๘ เต้านูขาวอ่อน(หลอด) ^๙	น้ำหนักดิบ 40 กรัม (3 ช้อนโต๊ะ)
4. ไขมันสูง โปรตีน 7 กรัม ไขมัน 8 กรัม พลังงาน 100 กิโลแคลอรี	หมูและผลิตภัณฑ์: หมู, เนื้อติดมัน หมู, ซีโรงติดมัน หมูบด หนังหมู หมูย่าง, เนื้อและหนัง หมูแผ่น กุนเชียง แฮม แหนม ไส้กรอกหมู อื่นๆ: ไก่หรือเป็ด, เนื้อและหนัง ปลาสด ไส้กรอกไก่ เนื้อวัว, ติดมัน	
<p>หมายเหตุ หมายเลขในตารางมีความหมายดังนี้</p> <p>5. นมถั่วเหลืองไม่หวาน เท่ากับ ข้าว-แป้ง 1/2 ส่วน และเนื้อสัตว์ประเภทไขมันต่ำ 1 ส่วน</p> <p>6. นมถั่วเหลืองหวาน เท่ากับ ข้าว-แป้ง 1/2 ส่วน เนื้อสัตว์ไขมันต่ำ 1 ส่วน และน้ำตาล 2 ช้อนชา</p> <p>7. ไข่ 1 ฟอง หรือน้ำหนัก 50 กรัม</p> <p>8. เต้านูแข็ง 1/2 แผ่น หรือน้ำหนัก 60 กรัม</p> <p>9. เต้านูขาวอ่อน 2/3 หลอด หรือน้ำหนัก 180 กรัม</p>		

5. นม
นมแบ่งเป็น 6 ชนิด ดังนี้

ตารางที่ 6 อาหารแลกเปลี่ยนหมวดนม

ชนิดของนม	ปริมาณ/ส่วน		โปรตีน (กรัม)	ไขมัน (กรัม)	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	พลังงาน (กิโลแคลอรี)
	น้ำหนัก-กรัม/มิลลิลิตร	ถ้วยตวง				
นมสด	240	1	8	8	12	150
นมพร่องไขมัน	240	1	8	5	12	120
นมไม่มีไขมัน	240	1	8	0-1	12	90
นมระเหย	120	1/2	8	8	12	150
นมผง	30	1/4 หรือ 4 ช้อนโต๊ะ	8	8	12	150
นมผงไม่มีไขมัน	30	1/4 หรือ 4 ช้อนโต๊ะ	8	0-1	12	90

6. ไขมัน					
ไขมัน 1 ส่วน	ไขมันแลกเปลี่ยน			ปริมาณต่อ 1 ส่วน	
				หน่วยครัวเรือน	น้ำหนัก-กรัม
ไขมัน 5 กรัม พลังงาน 45 กิโลแคลอรี	น้ำมันพืช:	อ้วนเหลือง	รำข้าว	1 ช้อนชา	5 กรัม
		ปาล์ม	ดอกทานตะวัน		
		ดอกคำฝอย	มะกอก		
	น้ำมันสัตว์:	น้ำมันหมู	น้ำมันไก่	1 ช้อนชา	5 กรัม
	เนย:	เนยขาว	เนยสด		
	มายองเนส	น้ำสลัด	น้ำกะทิ	1 ช้อนโต๊ะ	15 กรัม
	เมล็ดดอกทานตะวัน	เมล็ดทานตะวัน		1 ช้อนโต๊ะ	15 กรัม
	เบคอน			1 ชิ้น	-
	มะพร้าวขูด			2 ช้อนโต๊ะ	-
ถั่วลิสง/ ถั่วพิสตาชิโอ			10 เม็ด	-	
เนยถั่วลิสง			1 ช้อนชา	-	
เมล็ดมะม่วงหิมพานต์			6 เม็ด	-	

ไขมันกับโรคหัวใจขาดเลือด

หากรับประทานอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงมากเกินไปกว่าวันละ 200 มิลลิกรัม หรือมีกรดไขมันอิ่มตัวในปริมาณมากกว่าร้อยละ 10 ของพลังงานที่ได้จากอาหารทั้งหมดจะเป็นเหตุให้ความสามารถของตับในการที่จะได้รับคอเลสเตอรอลจากเลือดเพื่อนำไปกำจัดออกจากร่างกายลดลง ระดับของคอเลสเตอรอลในเลือดจึงสูงขึ้นซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด

กรดไขมัน

กรดไขมันเป็นส่วนประกอบของไขมันสามารถแบ่งตามความอิ่มตัวได้ 3 กลุ่ม คือ

1. กรดไขมันอิ่มตัว
ควรรับประทานไม่เกินร้อยละ 7 ของพลังงานทั้งหมด
2. กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว
ควรรับประทานไม่เกินร้อยละ 20 ของพลังงานทั้งหมด
2. กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
ควรรับประทานไม่เกินร้อยละ 10 ของพลังงานทั้งหมด

แนวทางการควบคุมปริมาณไขมันในอาหารบริโภคประจำวัน

- ลดปริมาณไขมันที่รับประทานให้น้อยลงโดยไม่เกินร้อยละ 30 ของพลังงานที่ได้รับทั้งหมด
 - ลดปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวให้ได้รับไม่เกินร้อยละ 7 ของพลังงานที่ได้รับทั้งหมด
1. งด หรือ ลด การกินอาหารที่มีไขมันแฝงอยู่มากเช่น ไก่ทอด ไข่เจียว ก๋วยเตี๋ยวแกงทอด ขนมปังกรอบ แอ่งกะทิ หลนต่างๆ
 2. งด หรือ ลด การกินขนมที่ใส่กะทิหรือมะพร้าวเช่น ก๋วยเตี๋ยวช็อกโกแลต ขนมหม้อแกง ข้าวเหนียวหน้าต่างๆ
 3. งด หรือ ลด การกินหมูปด(เพราะมีไขมันแฝงมาก)
 4. งด หรือ ลด การกินขนมที่มีไขมันแฝงอยู่เช่น ขนมขบเคี้ยว โดนัท เค้ก คุกกี้

-ต่อ-

แนวทางการควบคุมปริมาณไขมันในอาหารบริโภคประจำวัน

5. กินเนื้อสัตว์ที่เป็นเนื้อล้วนแยกเอาไขมันและหนังออกให้หมด
6. กินอาหารประเภทต้ม ต้มยำ แกงส้ม ยำ นึ่ง ย่าง อบ (ไม่มีกะทิเป็นส่วนประกอบ)
7. กินผักไม่น้อยกว่าวันละ4-6 ทัพพี
8. กินผลไม้ไม่น้อยกว่าวันละ3-5 ส่วน
9. ควรทำอาหารรับประทานเอง
10. ถ้าตีมนม ให้ตีมนมพร้อมมันเนยหรือนมขาดมันเนยแทนนมธรรมดา

แนวทางการควบคุมปริมาณคอเลสเตอรอลในอาหาร

1. คอเลสเตอรอลมีในอาหารที่มาจากสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์เท่านั้น ดังนั้นจึงไม่ควรกินอาหารเหล่านี้มากเกินไปเกินวันละ200 มิลลิกรัม
2. กินเนื้อสัตว์ที่มีไขมันน้อยได้แก่ ปลาต่างๆ เนื้อเป็ด หรือเนื้อไก่ไม่ติดหนัง เนื้อหมูสันในเนื้อวัวไม่ติดมัน
3. กินไข่แดงไม่เกิน 2 ฟองต่อสัปดาห์
4. งดหรือหลีกเลี่ยงการกินอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงได้แก่ ไข่แดง ไข่ปลา เครื่องในสัตว์หนังสัตว์ หอย กุ้ง ปู ปลาหมึก แฮม เบคอน ไส้กรอก กุนเชียง หมูยอ สลัดน้ำซอส เนย ไอศกรีม

สำหรับปริมาณคอเลสเตอรอลและกรดไขมันในอาหารต่างๆที่คนไทยนิยมบริโภคแสดงดังตารางที่7

ตารางที่ 7 ปริมาณคอเลสเตอรอลไขมันและชนิดกรดไขมันในอาหาร ๑๐๐ กรัม หรือ 1 ชีด)					
ประเภท อาหารส่วนที่กินได้	คอเลสเตอรอล (มก.)	ไขมัน (%)	กรดไขมัน(กรัมต่อ 100 กรัม)		
			อิ่มตัว	ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
ไข่					
ไข่ไก่ ไข่แดง	1250	30	35	47	17
ไข่เป็ดทั้งลูก	543	16	28	51	16
ไข่นกกระทาทั้งลูก	508	13.2	37	40	21
ไข่ปลา	499	5.8	35	33	25
ไข่ไก่ทั้งลูก	427	9	36	48	16
ไข่ไก่ ไข่ขาว	0	0.3	32	20	19
ไขมันและน้ำมัน					
น้ำมันสด	412	54	22	42	36
น้ำมันสดมายองเนส	190	90	15	24	59
เนย	186	82.4	65	21	2
เนยแข็ง	94	29.8	61	31	2
น้ำมันหมู	89	100	32	51	15

-ต่อ-					
ประเภท อาหารส่วนที่กินได้	คอเลสเตอรอล (มก.)	ไขมัน (%)	กรดไขมัน(กรัมต่อ 100 กรัม)		
			อิ่มตัว	ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
หมู					
ดับหมู	364	5.2	41	17	38
ดับอ่อนหมู	283	7	41	42	15
โตหมู	235	3	33	24	36
ปอดหมู	226	2.7	50	32	13
กระเพาะหมู	181	6	45	42	10
ไส้หมู	140	0.9	34	29	25
หัวใจหมู	133	2.9	27	25	35
ขาหมู	66	18	29	54	15
เนื้อหมู	49	2.4	37	43.5	17
หนังหมู	34	5	30	54	15
เลือดหมู	27	0.1	32	26	32

-ต่อ-					
ประเภท อาหารส่วนที่กินได้	คอเลสเตอรอล (มก.)	ไขมัน (%)	กรดไขมัน(กรัมต่อ 100 กรัม)		
			อิ่มตัว	ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
เปิด ไก่ ห่าน					
ดับไก่	336	8	42	39	17
ดับห่านพะโล้	301	7.3	39	24	35
กิ้นไก่	197	1.5	38	31	23
ดับเปิด	235	3.5	41	22	31
ห่านพะโล้เนื้อและหนัง	110	25.6	30	46	23
น่องไก่	100	10	30	46	24
หนังไก่	93	58	32	48	19
หนังเปิด	81	73	27	52	20
เปิดเนื้อและหนัง	76	27	27	54	18
อกไก่ติดหนัง	70	14.6	31	45	23
อกไก่	50	1.5	32	39	24
เลือดไก่	27	0.08	34	29	29

-ต่อ-					
ประเภท อาหารส่วนที่กินได้	คอเลสเตอรอล (มก.)	ไขมัน (%)	กรดไขมัน(กรัมต่อ 100 กรัม)		
			อิ่มตัว	ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
วัว					
ปอดวัว	333	2.3	44	30	17
ม้ามวัว	273	2	42	21	25
ไตวัว	255	2.3	35	24	34
ตับวัว	218	4.6	41	25	23
หัวใจวัว	165	4.3	45	32	13
เนื้อวัว	65	1.7	46	37	10
ปลา					
ปลาดตะเพียน	80	3.5	37	29	28
ปลาสวาย	77	14	31	38	24
ปลาสลิด	70	1.6	35	28	24
ปลาตุ๋น	69	4.7	37	40	19
ปลากะพงแดง	57	1.6	35	24	34
ปลาซาร์ดีนในซอสมะเขือเทศ	64	8	43	38	17
ปลาทุ	76	5.2	33	18	38

ประเภท อาหารส่วนที่กินได้	คอเลสเตอรอล (มก.)	-ต่อ- ไขมัน (%)	กรดไขมัน(กรัมต่อ 100 กรัม)		
			อิ่มตัว	ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
ปลา					
ปลากลาย	77	1.15	31	31	29
ปลากะพงขาว	69	1.5	38	27	30
ปลาอินทรี	66	4	40	21	27
ปลากระบอก	64	1.56	40	21	26
ปลาน้ำดอกไม้	64	3.5	38	25	27
ปลาแรด	63	9	37	41	18
ปลาซาบะ	60	28	24	46	25
ปลาทรายแดง	57	0.53	34	12	41
ปลาจาระเม็ดขาว	56	2.6	46	23	21
ปลาเก๋า	54	0.34	30	18	39
ปลาจาระเม็ดดำ	53	0.2	30	12	43
ปลาหีบทิม	51	2.5	34	36	23
ปลาหูฉลาม	51	0.8	41	12	31
ปลาช่อน	44	4.3	31	20	37
ปลานิล	42	0.92	31	29	28

ประเภท อาหารส่วนที่กินได้	คอเลสเตอรอล (มก.)	-ต่อ- ไขมัน (%)	กรดไขมัน(กรัมต่อ 100 กรัม)		
			อิ่มตัว	ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
กุ้ง นู หอย ปลาหมึก					
มันปู	361	4.7	37	28	22
ปลาหมึกกล้วยหัว	321	1.5	35	8	48
ปลาหมึกกล้วยตัว	251	4.7	37	28	22
หอยนางรม	231	4.2	34	19	30
หอยแครง	195	1.5	32	19	21
กุ้งแชบ๊วย	192	0.9	31	21	36
กุ้งกุลาดำ	175	1.2	32	21	34
หอยลาย	140	1.5	27	17	32
หอยแมลงภู่	148	1.6	28	15	32
ปูม้าเนื้อ	90	0.5	26	18	38
ปูทะเลเนื้อ	87	0.4	28	23	39

-ต่อ-					
ประเภท อาหารส่วนที่กินได้	คอเลสเตอรอล (มก.)	ไขมัน (%)	กรดไขมัน(กรัมต่อ 100 กรัม)		
			อิ่มตัว	ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์					
ไส้จู้	130	40.2	37	43	19
แคบหมู	125	45.4	32	50	16
ไส้กรอกไก่ทอด	117	38	30	46	22
เบคอนทอด	81	28.8	31	44	23
ไส้กรอกหมูทอด	77	7.9	28	43	28
กุนเชียงทอด	71	42.5	33	49	17
แฮมทอด	66	16.2	34	44	20
ไส้กรอกไก่คอกเทล	42	35.9	32	47	20

-ต่อ-					
ประเภท อาหารส่วนที่กินได้	คอเลสเตอรอล (มก.)	ไขมัน (%)	กรดไขมัน(กรัมต่อ 100 กรัม)		
			อิ่มตัว	ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
นมและผลิตภัณฑ์					
เนย	163	83	63	28	2
นมผง	76	27	66	27	2
ไอศกรีมวานิลลา	38	13.3	65	26	1
นมชั้นหวาน	19	8	63	36	1
นมชั้นจืด	19	7.2	67	31	2
ไอศกรีมอัลมอนด์	15	5.7	53	35	6
โยเกิร์ต	12	4	64	30	1
นมวัว	17	3.4	65	29	3
นมพร้อมมันเนย	4	1.6	66	31	1
นมเปรี้ยว	1	1.1	64	36	1
โยเกิร์ตไขมันต่ำ	3	0.8	57	37	1
นมผงขาดมันเนย	25	0.5	64	28	1

ประเภท อาหารส่วนที่กินได้	คอเลสเตอรอล(มก.)	-ต่อ-			
		ไขมัน (%)	กรดไขมัน(กรัมต่อ 100 กรัม)		
			อิ่มตัว	ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
ขนม					
ทองหยิบ	720	26	31	52	15
ฝอยทอง	515	17.6	32	51	15
ทองหยอด	420	11.2	30	55	12
สังขยา	83	4.5	66	24	9
สังขยาหน้าฟักทอง	56	3.5	62	27	11
หม้อแกงไข่	19	6.2	74	19	7
วุ้นไข่	18	0.4	34	48	16
สังขยาฟักทอง	7	9.2	91	7	2
ข้าวตังหน้าตั้ง	0	33.8	51	23	26
เม็ดขนุน	0	17.9	49	36	13
ปาห่องไก่	0	17.3	60	27	12
ขนมไก่	0	11.4	23	40	37
ขนมชั้น	0	8.2	91	6	2
ฟักทองแกงบวด	0	4.4	90	6.6	3
กล้วยบวดชี	0	2.1	89	8	3

ข้อมูลอ้างอิง

1. คณะกรรมการชมรมนักกำหนดอาหารและคณะกรรมการโภชนาการ ชมรมผู้ให้ความรู้โรคเบาหวาน รายการอาหารแลกเปลี่ยนไทย 2544, 1-10.
2. กรดไขมันและคอเลสเตอรอลในอาหารไทยของโภชนาการกรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข 2545

APPENDIX C 2-1
Determination of food exchange list table

ตาราง คำนวณกำหนด “ส่วน” อาหารแลกเปลี่ยน

หมวดอาหาร	กำหนด “ ส่วน ” อาหาร	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	โปรตีน (กรัม)	ไขมัน (กรัม)	พลังงาน (กิโลแคลอรี)
นม		(12)	(8)	(0-8)	
ผัก ก.		-	-	-	
ข.		(5)	(2)	-	
ผลไม้		(15)	-	-	
น้ำตาล		(5)	-	-	
รวมคาร์โบไฮเดรต		_____			
ข้าว = คาร์โบไฮเดรตที่เหลือ *		(18)	(2)	-	
รวมคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด		_____			
รวมโปรตีน			_____		
เนื้อสัตว์ = โปรตีนที่เหลือ **			(7)	(0-8)	
รวมโปรตีนทั้งหมด			_____		
รวมไขมัน				_____	
น้ำมัน = ไขมันที่เหลือ ***				(5)	
รวมไขมันทั้งหมด				_____	
รวมพลังงานทั้งหมด					_____

หมายเหตุ * คาร์โบไฮเดรตที่เหลือ = คาร์โบไฮเดรตที่กำหนด - คาร์โบไฮเดรตที่ได้จากอาหารกำหนดส่วนแล้ว

** โปรตีนที่เหลือ = โปรตีนที่กำหนด - โปรตีนที่ได้จากอาหารกำหนดส่วนแล้ว

*** ไขมันที่เหลือ = ไขมันที่กำหนด - ไขมันที่ได้จากอาหารกำหนดส่วนแล้ว

ตัวเลขในวงเล็บคือ ปริมาณสารอาหาร ที่มีในอาหาร 1 ส่วน

APPENDIX C 2-4
Calculation data of cholesterol and fatty acids in dietary record table

ตาราง คำนวณปริมาณคอเลสเตอรอลและชนิดกรดไขมันในอาหารบริโภคประจำวัน

ประเภทอาหาร	ปริมาณ (กรัม)	คอเลสเตอรอล (มก.)	ไขมัน (%)	กรดไขมัน (กรัมต่อ 100 กรัม)		
				อิ่มตัว	ไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	ไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
ไข่						
รวม						
ไขมันและน้ำมัน						
รวม						
หมู วัว สัตว์ปีก						
รวม						
ปลา กุ้ง ปู ปลาหมึก หอย						
รวม						
ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์						
รวม						
นมและผลิตภัณฑ์						
รวม						
ขนม						
รวม						

รวม	ปริมาณคอเลสเตอรอล	มิลลิกรัมต่อวัน	จากอาหารบริโภค
	ปริมาณไขมัน	%	
	ปริมาณไขมัน	%	
	ปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัว	%	
	ปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	%	
	ปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน	%	

APPENDIX D1

Fatty acids and Oxidative stability in vegetable oil

Determination of fatty acid compositions in vegetable oil (109)

Vegetable oils are extracted fatty acids by Jham and colleagues method (JAOCS, 1982). Analysis of fatty acid patterns are determined by gas-liquid chromatography.

Reagents and Material:

1. 0.5 M KOH in methanol
2. Boron trifluoride-methanol reagent, containing 14% of BF₃
3. Petroleum ether
4. Anhydrous sodium sulphate
5. Chloroform
6. Fatty acids Standard
7. Gas Chromatography

Procedure:

1. Weigh 100 g of extracted fat into test tube.
2. Add 1 ml 0.5 M KOH in methanol to the test tube, screw on cap and shake.
3. Place in the water bath at 100 °C for 5 min.
4. Cool and then add 400ml of 14% of BF-methanol reagent in the fume cupboard.
5. Screw on cap, shake and heat at 100 °C for 15 min. Cool and add 2 ml of water.
6. Extract with 3 ml of Petroleum ether twice.
7. Dry the organic layer quickly over anhydrous sodium sulphate.
8. Evaporate off petroleum ether.
9. Redissolve the residue in 500 µl of chloroform.

GC conditions

Oven temperature profile:

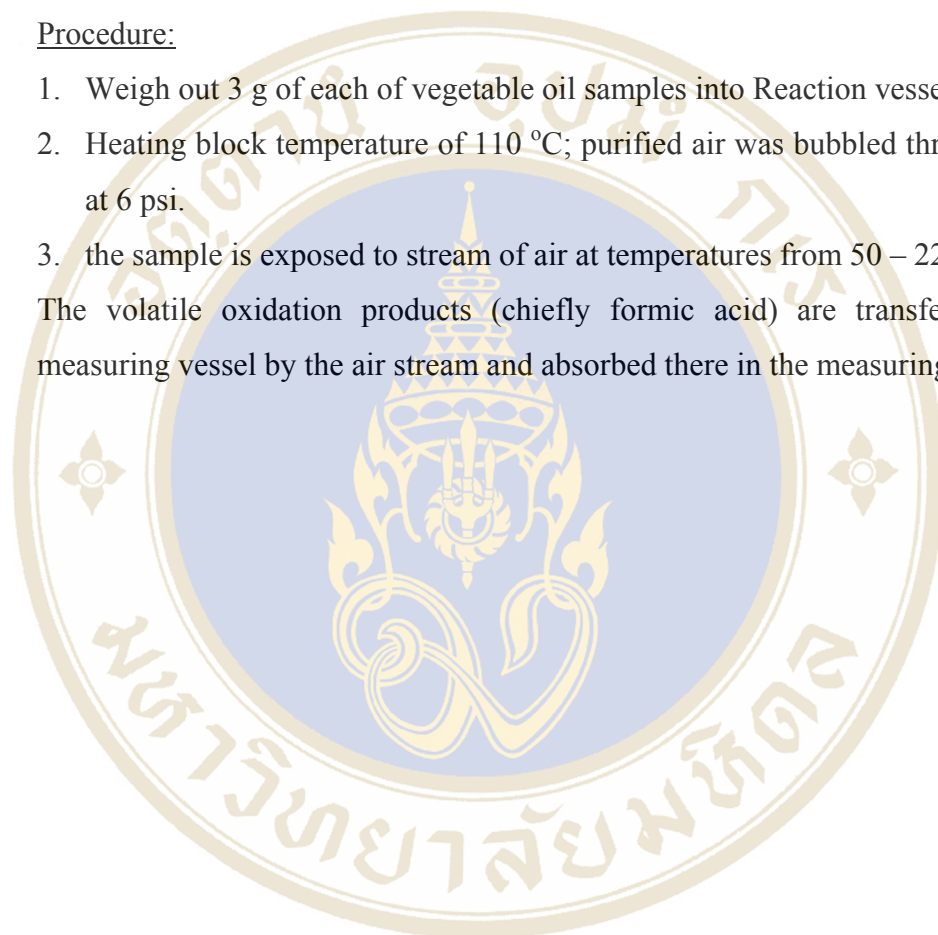
Period	Rate (min)	Temperature (°C)	Hold time (min)
Initial temperature	-	150.0	2.00
Program rate	2.00	190.0	2.00
Final hold time	5.00	210.0	48.00

Determination of Oil Stability Index (OSI) in vegetable oil

OSI (the point of maximal change of the rate of oxidation) is to measure oils susceptibility to oxidation by Rancimat method (110). Auto-oxidation is affected by atmospheric oxygen; the oxidation process is initiated by radical reactions involving unsaturated fatty acids. The induction times determined using the rancimat method (conductometric indication)

Procedure:

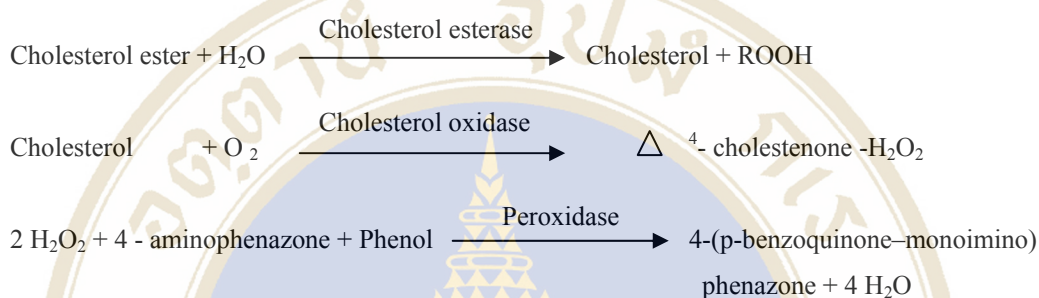
1. Weigh out 3 g of each of vegetable oil samples into Reaction vessel.
 2. Heating block temperature of 110 °C; purified air was bubbled through the oil at 6 psi.
 3. the sample is exposed to stream of air at temperatures from 50 – 220 °C
- The volatile oxidation products (chiefly formic acid) are transferred to the measuring vessel by the air stream and absorbed there in the measuring solution.



APPENDIX D2: Lipid profiles

Determination of serum total cholesterol (TC)

An Enzymatic –colorimetric method was employed to determine serum TC by using Boeringer Mannheim Monotest cholesterol kit (Cat. No 236691). The principle of reaction was as follows (Monotest, 1982).



Boeringer Mannheim reagents:

Tris buffer (pH 7.7)	100	mmol/L
Magnesium aspartate	50	mmol/L
4- aminoantipyrine	1	mmol/L
Sodium cholate	10	mmol/L
Phenol	6	mmol/L
3, 4 dichlorophenol	4	mmol/L
Hydroxypolyethoxy- n- alkanes	0.3	%
Cholesterol esterase	0.4	U/ mL
Cholesterol oxidase	0.25	U/ mL
Peroxidase	0.2	U/ mL

Procedure:

1. To dissolve 31 g of buffer cholesterol (Cat.No. 236691) with 500 ml distilled water. The reagent solution is ready to use after 10 min and stable for 4 weeks at 2 - 8 °C
2. 1 ml of reagent solution prepare above 0.01 ml serum are add to test tubes, and incubate at 37 °c for 10 min.
3. The absorbance of and sample are by spectrometer at wavelength 500 nm against the reagent blank (Δ A) within 60 min.

4. The standard cholesterol concentration of 100, 200, 300 and 400 mg/dL is prepared and treated the same as sample.

If the cholesterol concentration exceeds 700 mg/dl or 25.9 mmol/L 0.1 ml of sample is dilutes with 0.2 mL of 0.9% NaCl solution and assay is repeat. Multiply the results by 3.

Calculation:

$$TC = \frac{5.17 \times \Delta A (\text{sample})}{\Delta A (\text{standard})} \quad (\text{mmol/l})$$

Determination of High Density Lipoprotein cholesterol (HDL-C)

The method of Bustein (Bustein, 1970) and Lopes- Virella (Lopes, 1977) were used for the determination of HDL-C. The chylomicron, VLDL and LDL were precipitated by addition of phosphotungstic acid and magnesium chloride. After centrifugation the supernatant fluid contains the HDL-C fraction, which was assayed for HDL-C cholesterol liquicolor test kit.

Reagent:

Phosphotungstic acid	0.55	mmol/l
Magnesium chloride	25	mmol/l

Four parts of precipitant are distilled with one part of distilled water. This precipitant is stale up to the expire date specified when store at 15 °C to 25 °C

Procedure:

1. Add 200 µL of serum and 500 µL of precipitant are pipetted into centrifuge tubes.
2. The solution is mixed and allowed to stand for 10 minutes at room temperature and is centrifuge at 4000 rpm for 10 min.
3. After centrifugation, separate the clear supernatant from the precipitate within 1 hour. Pipette 100 µl of supernatant and the cholesterol content is determined by the enzymatic colorimetric method as already described.

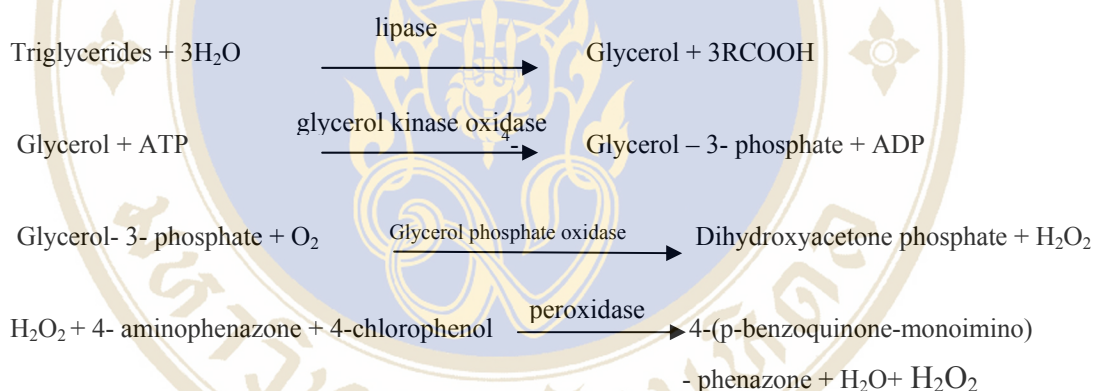
The standard cholesterol concentration of 10, 25 and 50 mg/L are prepared and treated as same the sample.

Calculation:

$$HDL-C = 5.43 \times \Delta A (\text{sample}) \quad (\text{mmol/l})$$

Determination of serum triglycerides (TG)

Enzymatic hydrolysis of TG with subsequent determination of the liberate glycerol by Boeringer Manhein Monotest triglycerides GPO-PAP kit (Cat. No 701904) was used to determine serum TG (Peridochrom, 1982). The enzymatic reactions were as follow:



Boeringer Mannheim reagents:

Buffer solution

Tris buffer (pH 7.6)	0.15	mmol/l
Magnesium sulphate	17.5	mmol/l
EDTA, disodium salt	10	mmol/l
4- chlorophenol	3.5	mmol/l
Sodium choleate	0.15	%
Potassium hexacyanoferrate (II)	6	μmol/l
Hydroxypolyethoxy- n- alkanes	0.12	%
ATP	≥0.5	mmol/l
4- aminophenonazone	0.35	mmol/l
Lipases	≥3	U/ ml

Glycerol phosphase oxidase	≥ 2.5	U/ l
Glycerol kinase	≥ 0.2	U/ l
Peroxidase	≥ 0.15	U/ ml

Procedure:

1. Immerse one reagent strip kit (Cat. No. 701904) in one bottle of buffer solution contents of 32 ml and stir the bottle contents for 10 second.
2. Allow to stand in solution for 5 minutes, stir once again for 10 second, and then discard reagent strip.
3. 0.01 ml of serum is adds to 1.0 ml of reagent solution prepare above to the test tubes.
4. The test tubes are mix and incubate at 20-25 °C for 10 minutes, the absorbance of the sample are read against the reagents blank (ΔA) within 60 min at 500 nm.

If triglycerides concentration exceeds 1000 mg/dl or 11.4 mmol/l, one part of sample is dilute with 5 parts of 0.9% NaCl solution and repeat assay. Multiply the result by 5.

Calculation:

$$\text{Triglycerides} = \frac{\Delta 2.29 \times A (\text{sample})}{\Delta A (\text{standard})} \quad (\text{mmol/L})$$

Determination of Low Density Lipoprotein cholesterol (LDL-C) level

LDL-C level was calculated from the TC, HDL and triglycerides levels according to Friedwald's formula (Friedewald, 1972) as follow:

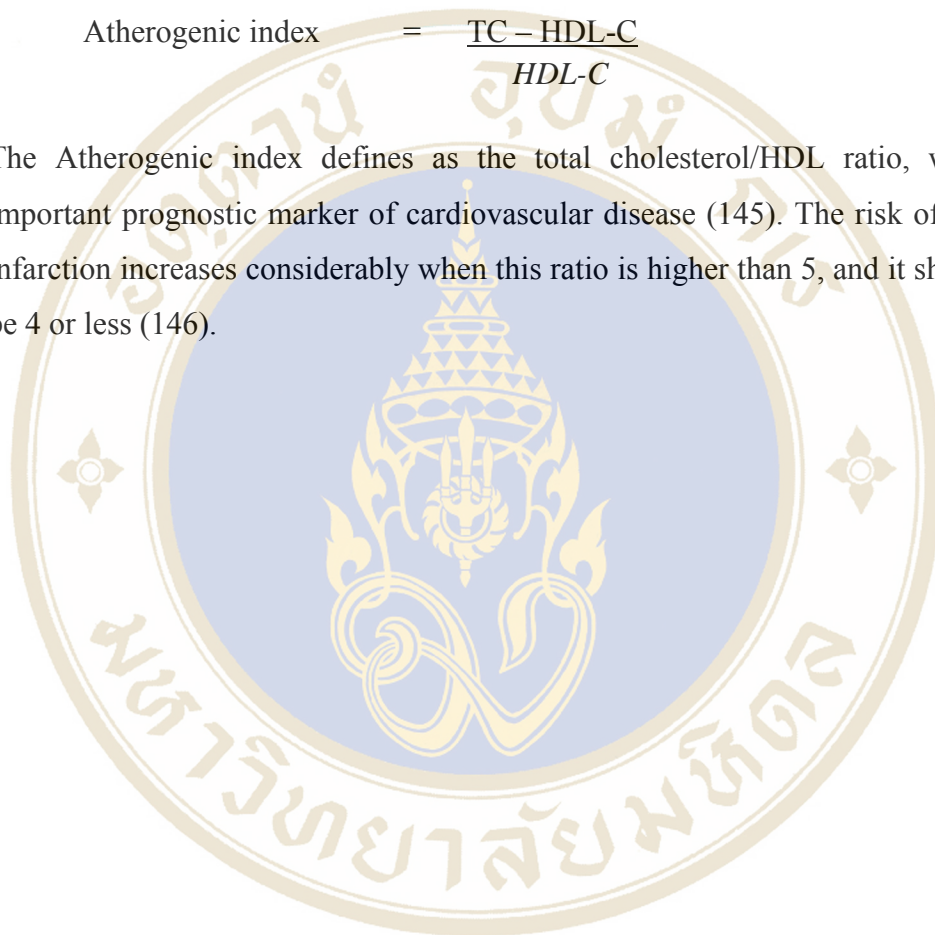
$$\text{LDL-C} = \text{TC} - (\text{TG} / 5) - \text{HDL-C} (\text{mmol/l})$$

Determination of Atherogenic index

Atherogenic index (AI) was calculated from TC and HDL-C as the equation of (116).

$$\text{Atherogenic index} = \frac{\text{TC} - \text{HDL-C}}{\text{HDL-C}}$$

The Atherogenic index defines as the total cholesterol/HDL ratio, which is an important prognostic marker of cardiovascular disease (145). The risk of myocardial infarction increases considerably when this ratio is higher than 5, and it should ideally be 4 or less (146).



APPENDIX D3: LDL sub-fractions

Determination of LDL sub-fractions

Lipoproteins were used to isolate the various lipid fractions from blood plasma using sequential preparative ultracentrifugation following densities: < 1.006–1.019 g/ml for VLDL-C, 1.019 –1.063 g/ml for LDL-C, and 1.063–1.21 g/ml for HDL-C. LDL subfractions are also isolated using sequential preparative ultracentrifugation following densities: 1.019-1.035 g/ml for LDL₁-C, 1.035-1.045 for LDL₂-C, and 1.045-1.063 g/ml for LDL₃-C by Harvel and colleagues method (117). Plasma was separated by centrifuging blood sample at 100,000 rpm at 4 °C for 3 hour. LDL was isolated from freshly prepared plasma by sequential ultracentrifugation technique. This process is described in Flow chart 1.

Reagent and Materials:

1. Optima™ L-100 XP Beckman Coulter ultracentrifuge (Model L-100XP)
2. Disposable 6.5 ml quickcell tubes (Beckman catalog number 344088)
3. Potassium bromide (KBr): Two stocked salt solutions were prepared as described below:

Mock solution

This solution has the same background salt density as plasma (d = 1.0063 g/ml). It composes of 1.142 g of NaCl and 10 mg of Na₂EDTA per 100 ml.

Concentrated stock salt solution

The density of this solution is 1.346 g/ml. it composes of 35.4 g of KBr, 15.3 g of NaCl and 10 mg of Na₂EDTA per 100 ml.

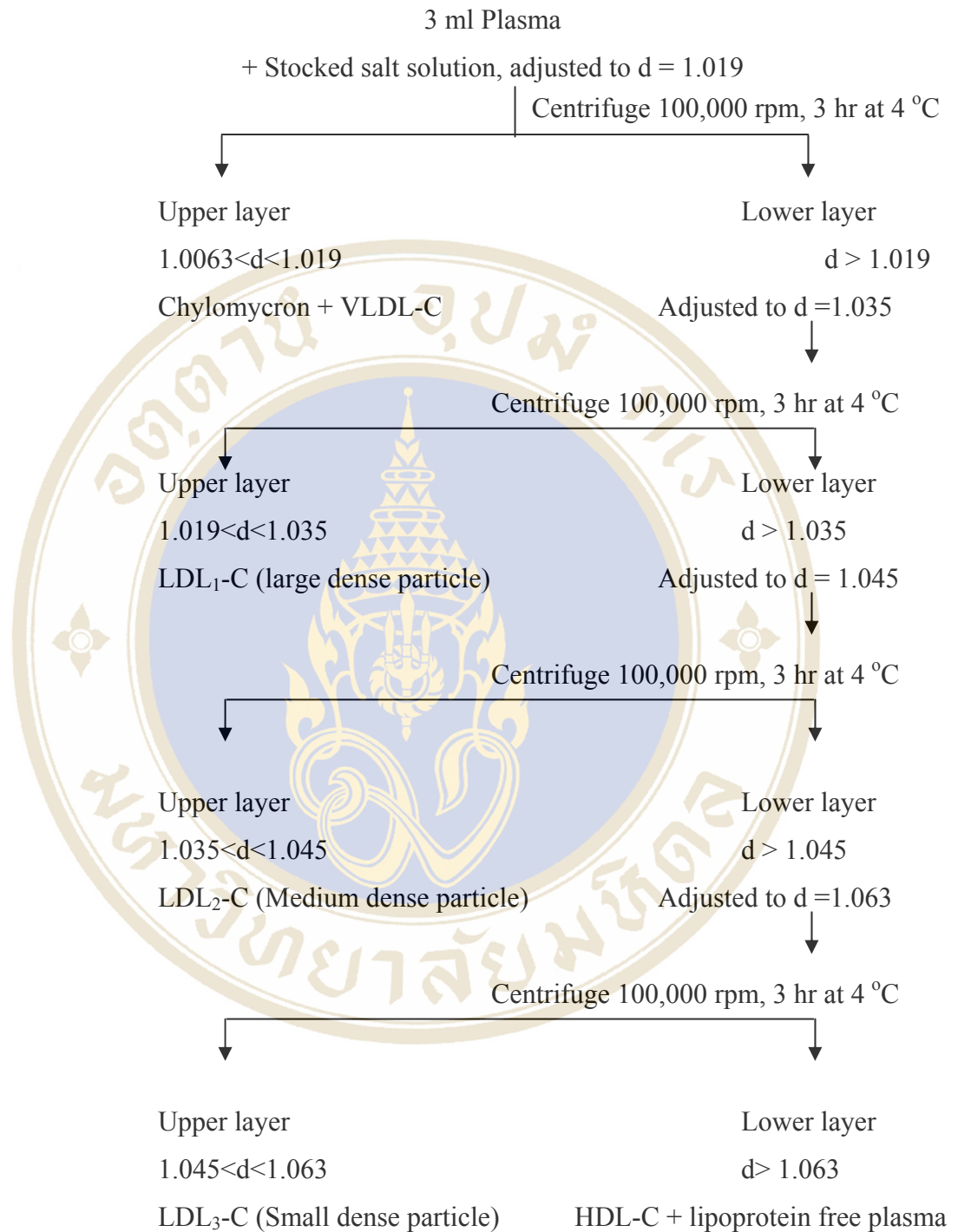
From both solutions, the required salt solutions were prepared according to the formula:

$$(A \times Y) + (B \times Z) = (A + B)(X)$$

Where, X = the desired density of the mixture
 A and B = the volume of stocked solution
 Y and Z = the density of the stocked salt solution

Procedure:

1. After participants has fast overnight for ≥ 12 hour, venous blood samples are collect into tube containing EDTA (1g/l).
2. Plasma is obtained by centrifuging the blood at 4,000 rpm at 4 °C for 10 min. plasma was stored at 4 °C and processed for lipoprotein separation within 1 day.
3. 3 ml of plasma was adjusted to density ($d = 0.019$ g/ml) by addition of 3 ml of the calculated stock salt solutions and transfer to 6 ml of quickcell tubes. They were balanced and placed in rotor and put into the ultracentrifuge.
4. Centrifuge at 100, 000 rpm at 4 °C for 3 hour. Remove the rotor upon completion of the run and remove each tube from rotor so as not disturb the layers. Fractional lipoproteins in the top layer are separated from the bottom by aspiration.
5. Remove the upper layer of chylomicron and VLDL ($d < 1.019$ g/ml) in top 3.0 ml by needles. The chylomocron and VLDL fraction were collected.
6. The lower layer of plasma was adjusted to density ($d = 0.035$ g/ml) by addition of 3 ml of the calculated stock salt solutions and transfer to 6 ml of new quickcell tubes. Centrifuge at 100, 000 rpm at 4 °C for 3 hour.
7. Remove the upper layer of LDL₁-C ($d = 1.019$ - 1.035 g/ml) in top 3.0 ml by needles. LDL₁-C fraction was collected.
8. The lower layer of plasma was adjusted to density ($d = 0.045$ g/ml) by addition of 3 ml of the calculated stock salt solutions and transfer to 6 ml of new quickcell tubes. Centrifuge at 100, 000 rpm at 4 °C for 3 hour.
9. Remove the upper layer of LDL₂-C ($d = 1.035$ - 1.045 g/ml) in top 3.0 ml by needles. LDL₂-C fraction was collected.
10. The lower layer of plasma was adjusted to density ($d = 0.063$ g/ml) by addition of 3 ml of the calculated stock salt solutions and transfer to 6 ml of new quickcell tubes. Centrifuge at 100, 000 rpm at 4 °C for 3 hour.
11. Remove the upper layer of LDL₃-C ($d = 1.045$ - 1.063 g/ml) in top 3.0 ml by needles. LDL₃-C fraction was collected. The density of upper layer and lower layer that LDL₃-C and mixture of HDL fraction and lipoprotein-free plasma was collected.



Flow chart 1: Separation of LDL sub-fraction by sequential technique

APPENDIX D4: Lipid compositions

Determination of LDL lipoprotein compositions

After separated by ultracentrifuge technique, the LDL sub-fractions (LDL₁-C, LDL₂-C and LDL₃-C) are determined TC and triglycerides by using the same enzymatic colorimetric method, using commercially available kits (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany), adequately modified in order to obtain a high sensitivity (111, 114).

Determination of LDL fatty acid compositions

The LDL fractions were extracted by a modification of Folch and colleagues method (118). The samples were dried under nitrogen and transmethylated by Ast method (119) and Metcalfe and colleague method (120)

Reagents and Material:

1. Pentadecanoic acid (Std C15)
2. Methanol-hexane 4:1 [MetOH-Hex (4:1)]
3. Acetyl Cl
4. 6% K₂CO₃
5. Hexane
6. Gas chromatography

Procedure:

1. 200 µl of LDL sub-fractions were added to Teflon lined screw-cap test tubes containing 100 µl of Std C15, as the internal standard
2. Added 2 µl of MetOH-Hex (4:1) to the samples which were then mixed in vortex vigorously.
3. Slowly added the amount of 200 µl of Acetyl Cl to the stirring tube over the period of 1 min.
4. Blow N₂ and tightly closed Tubes with Teflon-lined caps and subjected to methanolysis at 100 °C for 1 hr.
5. After tubes cooled to room temperature.
6. Slowly added 5 ml of 6% K₂CO₃ to stop reaction and neutralized the mixture.
7. The tubes were shaken and centrifuged at 2,000 rpm for 5 min
8. Separated upper layer in cup and blow N₂.

GC conditions

Oven temperature profile:

Period	Rate (min)	Temperature (min)	Hold time (min)
Initial temperature	-	150.0	2.00
Program rate	2.00	190.0	2.00
Final hold time	5.00	210.0	48.00

Dialysis technique

The LDL sub-fractions are removed Na₂EDTA and salt solution that may affect the oxidation process by PD-10 columns (Sephadex[®] G-25 Medium and pre-packed columns), a simpler and must faster technique.

Reagent and materials:

1. Sephadex G-25 Medium
2. Buffer, 10mM phosphate buffer saline (PBS), pH 7.4

Procedure:

PD 10 columns should be prepared during the time taken for ultracentrifugation. One column per sample is prepared at 4 °C by washing with 25ml PBS prior to use.

1. Remove top cap and pour off the excess liquid.
2. Cut off the bottom tip.
3. Place column in the Desalting workmate supplied onto the plastic tray and equilibrate with 25 ml PBS. Discard the eluent.
4. Each LDL sub- fraction (1 ml) was adjusted to 2.5 ml by PBS. Discard the eluent.
5. Add 3.5 ml PBS to elute high molecular weight components and collect the eluent.

LDL is placed on ice until ready to be oxidized after determination of protein content.

Determination of LDL protein content

Protein in LDL sub-fractions is determined by a modified method of Lowry, using Biorad' DC (detergent compatible) protein assay (121).

Reagent and materials:

1. UV spectrometer
2. DC Protein assay Kit II composed of
 - Protein Assay Reagent A, alkaline copper tritrate solution
 - Protein assay Reagent B, Folin reagent
 - Protein assay Reagent S, Surfactant solution
 - Bovine serum albumin standard
3. Reagent A' prepared from mixture of Reagent S and Reagent A.

Procedure:

1. Prepared 25 μ l of Reagent A' and 1 ml of LDL sub-fractions or Bovine serum albumin standard in the quartz cuvette
2. 125 μ l of Reagent A' and 1 ml of Reagent B were added and placed at room temperature for 15 min incubation.
3. They were monitored the absorbance at 750 nm by spectrophotometer.

APPENDIX D5: Antioxidant activity

Determination of LDL oxidation by copper

LDL oxidation is determined by conjugated diene formation according to Esterbauer H and colleague method (122). The oxidation of unsaturated fatty acid side chain of LDL is measured by the formation of conjugated dienes which can absorb ultraviolet light (UV) at 234 nm. Since Ox-LDL remains fully soluble in the buffer, the increase of 234 nm dienes absorption can be directly measured in solution.

Reagents:

1. Buffer, 10mM phosphate buffer saline (PBS), pH 7.4
2. 5 μ M CuSO₄

Procedure:

1. Removed Na₂EDTA and salt solution LDL sub-fractions are adjusted to 100 μ g protein/ml of LDL with PBS.
2. All of the reaction groups are carried out in 3 ml final volume.
3. The oxidation reaction is initiated by adding freshly prepared of 5 μ M CuSO₄/LDL 100 μ g protein/ml in mM PBS pH 7.4 at 37 °C.
4. To determined the formation of conjugated dienes every 10 minute-interval for 180 minute by monitoring absorbance at 234 nm.

The kinetic curves between absorbance (234 nm) and time (min) are plotted to determine the maximal dienes formation and the rate of dienes formation as the indexes of LDL oxidation.

Lag time is calculated as the intercept between the line of maximum slope of the propagation phase and the baseline.

BIOGRAPHY

NAME	Mrs. Teeranart Utarutarwuthipong
DATE OF BIRTH	30 August, 1972
PLACE OF BIRTH	Bangkok, Thailand
INSTITUTIONS ATTENDED	Christian College; 1992 : Bachelor of Nursing Mahidol University; 1997 : Master of Science (Nutrition) Mahidol University; 2007 Doctor of Philosophy (Nutrition)
POSITION AND OFFICE	2001-2006 Lecturer, Department of Food Technology Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpagorn University
GRANT	This thesis is supported in part by the Ministry of University Affairs and Faculty of Graduate Studies, Mahidol University, in the academic year of 2004-2005.
HOME ADDRESS	167/3 25 Mokra road Muang district Nakornprathom 73000, Thailand Tel. 034-241470 E-mail: manituta@hotmail.com