

ผลการการเสริมน้ำมันปาล์มดิบต่อระดับโทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอลในเลือด เนื้อเยื่อไขมัน ตับ ไขแดง และ  
ระดับโคเลสเตอรอลในไขแดงของไก่ไข่



นางสาว ผกากรอง อารีรอบ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตววิทยาการสัตว ภาควิชาสัตววิทยา

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-53-1913-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

๕๐๐๒๓๘๑๔๑

26 มี.ค. ๒๕๔๗

EFFECTS OF CRUDE PALM OIL SUPPLEMENTATION ON TOCOPHEROL  
AND TOCOTRIENOL CONCENTRATIONS IN BLOOD, ADIPOSE TISSUE,  
LIVER, EGG YOLK AND CHOLESTEROL CONCENTRATION  
IN EGG YOLK OF LAYING HENS

Miss Phakakrong Areerob

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Animal Physiology

Department of Physiology

Faculty of Veterinary Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN 974-53-1913-9



ผกากรอง อารีร็อบ: ผลการเสริมน้ำมันปาล์มดิบต่อระดับโทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอลในเลือด เนื้อเยื่อไขมัน ตับ ไข่แดง และระดับโคเลสเตอรอลในไข่แดงของไก่ไข่ (EFFECTS OF CRUDE PALM OIL SUPPLEMENTATION ON TOCOPHEROL AND TOCOTRIENOL CONCENTRATIONS IN BLOOD, ADIPOSE TISSUE, LIVER, EGG YOLK AND CHOLESTEROL CONCENTRATION IN EGG YOLK OF LAYING HENS) อ. ที่ปรึกษา: รศ.น.สพ.ดร. กฤษ อังคนาพร, อ. ที่ปรึกษาร่วม: รศ. ดร. วินัย ตะห์ลิน, 109 หน้า. ISBN 974-53-1913-9.

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของน้ำมันปาล์มดิบต่อระดับโทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอลในเลือด เนื้อเยื่อไขมัน ตับ ไข่แดง และ ระดับโคเลสเตอรอลในไข่แดง โดยแบ่งออกเป็นสองการทดลอง การทดลองเบื้องต้น (การทดลองที่ 1) เพื่อมุ่งเน้นหาผลกระทบของน้ำมันปาล์มดิบที่มีต่อไก่ไข่ โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์ Hisex อายุ 48 สัปดาห์ จำนวน 10 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม (5 ตัว/กลุ่ม) ใ้รับน้ำมันปาล์มดิบ 0% (กลุ่มควบคุม) และ 2% ตรวจวัดผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่รวมในสัปดาห์ที่ 0 ถึงสัปดาห์ที่ 6 (สิ้นสุดการทดลอง) และระดับโคเลสเตอรอลในไข่แดงในสัปดาห์ที่ 4, 5 และ 6 จากผลการทดลองพบว่า การใช้น้ำมันปาล์มดิบในอาหารไม่มีผลต่อปริมาณการกินอาหาร น้ำหนักตัวสัตว์ ความถ่วงจำเพาะ สีไข่แดงระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มใช้น้ำมันปาล์มดิบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ พบว่า ในกลุ่มที่ใช้น้ำมันปาล์มดิบมีน้ำหนักไข่มากกว่าในกลุ่มควบคุมในสัปดาห์ที่ 3 และ 6 ส่วนน้ำหนักไข่แดงมากกว่ากลุ่มควบคุมในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และระดับ cholesterol ในไข่แดงมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย

ในการทดลองที่ 2 ใช้ไก่ไข่พันธุ์ Hisex ที่อายุ 49 สัปดาห์ จำนวน 144 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม โดยใช้น้ำมันปาล์มดิบในสูตรอาหาร 0, 2, 3 และ 4% ตามลำดับ ทำการวัดสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และ ระดับโคเลสเตอรอลในไข่แดง (สัปดาห์ที่ 0, 4, 5 และ 6) เหมือนกับในการทดลองที่ 1 ทำการวัดระดับความเข้มข้นของวิตามินอีชนิดโทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอลในไข่แดง เนื้อเยื่อไขมัน และตับเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดย HPLC ผลการทดลองที่ 2 พบว่า การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวไก่ ปริมาณการกินอาหาร เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ ความถ่วงจำเพาะ คุณภาพไข่ขาว น้ำหนักไข่ขาว และน้ำหนักเปลือก ระหว่างกลุ่มที่ให้น้ำมันปาล์มดิบกับกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน แต่พบว่าในกลุ่มที่เสริมน้ำมันปาล์มดิบในอาหาร 4% สามารถเพิ่มความเข้มของสีไข่แดง น้ำหนักไข่ไก่ (เพิ่มขึ้นมากกว่า 2 กรัม) น้ำหนักไข่แดง (เพิ่มขึ้นมากกว่า 2 กรัม) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมน้ำมันปาล์มดิบ 4% สามารถลดระดับ โคเลสเตอรอลในไข่แดงมากที่สุด (11.89 มิลลิกรัม/ไข่แดง 1 กรัม) และน้ำมันปาล์มดิบยังสามารถเพิ่มผลรวมของระดับโทโคฟีรอลในไข่แดงได้มากที่สุดในกลุ่มที่ใช้น้ำมันปาล์มดิบ 2% และผลรวมของระดับโทโคไตรอีนอลได้มากที่สุดในไข่แดงและเนื้อเยื่อไขมัน โดยเฉพาะในกลุ่มที่เสริมน้ำมันปาล์มดิบ 3 และ 4 % การเสริมน้ำมันปาล์มดิบทำให้มีการสะสมของโทโคไตรอีนอลในเนื้อเยื่อไขมันในระดับสูงที่สุด มากกว่าที่พบในไข่แดง ตับ และเลือด

สรุปได้ว่า น้ำมันปาล์มดิบไม่มีผลกระทบต่อการกินได้ต่อตัวต่อวัน น้ำหนักไก่ไข่ ความถ่วงจำเพาะ คุณภาพไข่ขาว พบว่า การเสริมน้ำมันปาล์มดิบ 3 และ 4% สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการใช้อาหารในไก่ไข่ น้ำหนักไข่ น้ำหนักไข่แดง และสีของไข่แดงได้ และลดระดับโคเลสเตอรอลในไข่แดงได้อย่างมีนัยสำคัญ และในไก่ไข่ที่เสริมน้ำมันปาล์มดิบ 4% มีการสะสมของวิตามินอีในไข่แดงมากกว่ากลุ่มควบคุม โดยมีระดับแอลฟาโทโคฟีรอล แอลฟาโทโคไตรอีนอล และ แกมมาโทโคไตรอีนอลได้สูงที่สุด

ภาควิชา สรีรวิทยา

สาขาวิชา สรีรวิทยาการสัตว์

ปีการศึกษา 2547

ลายมือชื่อนิสิต.....  
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## 4475565131: MAJOR ANIMAL PHYSIOLOGY

KEY WORDS: TOCOPHEROL/ TOCOTRIENOL/ PLASMA/ ADIPOSE TISSUE/ LIVER/ CHOLESTEROL/ EGG YOLK/  
LAYING HEN

PHAKAKRONG AREEROB: EFFECTS OF CRUDE PALM OIL SUPPLEMENTATION ON TOCOPHEROL AND TOCOTRIENOL CONCENTRATIONS IN BLOOD, ADIPOSE TISSUE, LIVER, EGG YOLK AND CHOLESTEROL CONCENTRATION IN EGG YOLK OF LAYING HENS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. KRIS ANGGANAPORN, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. WINAI DAHLAN, Ph.D., 109 pp. ISBN 974-53-1913-9.

Effect of crude palm oil (CPO) on vitamin E (tocopherol and tocotrienol) concentrations in blood, adipose tissue, liver and egg yolk was examined. The study was divided into 2 experiments. A preliminary trial (experiment I) was designed to examine the adverse effect of CPO in layer chicken. Ten, 48 weeks old, Hisex laying hens were equally divided into two experimental groups, control (0% CPO) and 2% CPO group. Parameter on hen performance, egg performance and egg quality at weeks 0-6 and cholesterol concentration in egg yolk at weeks 4, 5 and 6 were determined. The result showed that CPO had no effect on daily feed intake, hen weight. There was no significant difference in egg specific gravity and yolk color in control group and CPO group. Egg weight and yolk weight of CPO group were significantly higher than control group at weeks 3 and 6 (egg weight) and weeks 5 and 6 (yolk weight) ( $P < 0.05$ ). Cholesterol concentration in egg yolk was slightly decreased in CPO group.

In experimental II, 144 hens, 49 weeks old, Hisex hens were equally divided into 4 groups receiving 4 different treatment diets. The treatment diets included CPO at 0 (control), 2, 3 and 4%, respectively. Egg performance, hen performance and egg yolk cholesterol (weeks 0, 4, 5 and 6) were examined as described in experiment I. Egg yolk, adipose tissue (abdominal fat), plasma and liver of laying hens were determined for tocopherol and tocotrienol concentrations using HPLC. The results demonstrated that weight gain, daily feed intake, hen-day basis percentage, specific gravity, albumin quality, albumin weight and shell weight were not different among experimental groups. CPO increased egg yolk color, egg weight (approximately 2 g), yolk weight (approximately 2 g) when compared to control group. CPO significantly decreased egg yolk cholesterol in weeks 4-6 of the experiment with the lowest level in hens fed on 4% CPO (11.89 mg/g yolk). CPO enhanced ( $P < 0.05$ ) total tocopherols in CPO1 (2% CPO) and total tocotrienols, especially CPO2 (3% CPO) and CPO3 (4% CPO) groups. Hens fed on CPO 3 (4% CPO) had the lowest total tocopherols in egg yolk and adipose tissue but had the highest tocotrienol in plasma, egg yolk and adipose tissue when compared with other groups. CPO supplementation resulted in the highest deposition of tocotrienol in adipose tissue compared to egg yolk, liver and plasma.

In conclusion, CPO had no adverse effect on performance of laying hen. Supplementation of CPO at 3 and 4% improved FCR of hen and significantly increased egg yolk color, egg weight and yolk weight. CPO significantly reduced egg yolk cholesterol. Laying hens supplemented with CPO (4% CPO) had more vitamin E deposited in egg yolk and adipose tissue than control with the highest level of  $\alpha$ -tocopherol,  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocotrienol.

Department Physiology

Field of studies Animal Physiology

Academic year 2004

Student's signature..... 

Advisor's signature..... 

Co-advisor's signature..... 

## ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deep gratitude to my advisor, Associate Professor Dr. Kris Angkanaporn and my co-advisor, Associate Professor Dr. Winai Dahlan for their kind advice, guidance, helpful consultation and constant encouragement throughout this study.

My thanks also expressed to Thailand Research Fund who support fund for this study. I am appreciating to Halal Science Center of Chulalongkorn University for place and equipment facility in this study. Moreover, Kasetsart University (kampangsan Campus) is acknowledged for providing venue and facility of experimental animal.

My thanks also expressed to the thesis committee for their valuable suggestions; to the teachers of Department of Physiology and the staff of Department of Physiology for their valuable suggestions and helpful consultation.

My sincere and warm appreciation is expressed to Dr. Tipyanate Ariyapitipun, Dr. Oravan Puchaiwatananon, Dr. Boonlorn Cheva-Israkul, Mrs. Orawan Vungdeethum, Mr. Suchart Sangunphan, Mr. Atthawoot Plaiboon, Mrs. Orathai Triwutanon, Mr. Tanapon Thadtapong and Miss Jullajit Ongpreechakul for their kind helps, provision of the facilities used in the experimental works and laboratory technical suggestions.

Finally, I am deeply grateful to my family and my friends for their helps and kind encouragement throughout my study period.

## TABLE OF CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT .....	iv
ENGLISH ABSTRACT .....	v
ACKNOWLEDGEMENTS .....	vi
TABLE OF CONTENTS .....	vii
LIST OF TABLES .....	x
LIST OF FIGURES .....	xii
ABBREVIATION .....	xiv
<b>CHAPTER</b>	
I INTRODUCTION AND AIMS .....	1
II BACKGROUND INFORMATIONS .....	4
1. Egg yolk cholesterol.....	4
2. Fat composition of crude palm oil.....	13
3. Fat soluble vitamin E in palm oil.....	13
4. Absorption and distribution in tissue of tocopherols and tocotrienols.....	19
5. Physiological effect of crude palm oil.....	20
6. Tocotrienol hypocholesterolemic effect and antioxidant effect.....	21
III MATERIALS AND METHODS .....	28
Experiment I	
1. Animals and diets.....	28
2. Experiment procedure.....	28
3. Protocol of the experiment.....	29
4. Sample collection and yolk cholesterol preparation.....	31
5. Determination of egg performance and quality.....	31
6. Determination of cholesterol concentration in egg yolk Using colorimetric method.....	33

Experiment II	
7. Animals and diets.....	35
8. Experiment procedure.....	35
9. Protocol of the experiment.....	36
10. Sample collection and yolk cholesterol preparation.....	37
11. Determination of egg performance, egg quality and egg yolk cholesterol.....	39
12. Analysis of tocopherols and tocotrienols in egg yolk.....	39
13. Analysis of tocopherols and tocotrienols in plasma and tissue .....	40
14. Preparation of solution of tocopherol and tocotrienol standard.....	41
15. Calculation of tocopherol and tocotrienol concentration.....	42
16. Statistical analysis.....	43
IV RESULTS .....	44
Experiment I	
1. Effect of crude palm oil on hen performance and egg quality.....	44
2. Effect of crude palm oil on egg yolk cholesterol concentration.....	44
Experiment II	
3. Effect of crude palm oil on hen performance .....	46
4. Effect of crude palm oil on egg quality.....	49
5. Effect of crude palm oil on egg yolk cholesterol concentration.....	56
6. Effects of crude palm oil on tocopherol and tocotrienol concentrations in liver.....	59
7. Effects of crude palm oil on tocopherol and tocotrienol concentrations in plasma.....	63
8. Effects of crude palm oil on tocopherol and tocotrienol concentrations in egg yolk.....	67
9. Effects of crude palm oil on tocopherol and tocotrienol concentrations in adipose tissue.....	59



	Page
V DISCUSSION .....	78
REFERENCES .....	89
BIOGRAPHY .....	109

## LIST OF TABLES

Table	Page
1. Proportion of major lipids in yolk (% weight of total yolk).....	8
2. Fatty acid compositions (major fatty acids, % by weight of total) of the cholesterol esters, triglycerides and total phospholipid fractions of the yolk.....	9
3. Concentrations of free fatty acid in crude palm oil.....	13
4. Composition of vitamin E in crude palm oil.....	15
5. Tocopherols and tocotrienols in different oils and fats.....	16
6. Tocopherol (T) and tocotrienols (T <sub>3</sub> ) in palm fatty acid distillate (PFAD).....	16
7. Composition and nutrient content of diets in experiment I.....	30
8. Composition and nutrient content of diets in experiment II.....	38
9. Effects of crude palm oil in diet on hen performance and egg quality in experiment I.....	45
10. Effect of crude palm oil on egg yolk cholesterol concentration in experiment I.....	46
11. Effect of crude palm oil on weight gain and average daily gain (ADG) (week 0-week 6) in experiment II.....	47
12. Effect of crude palm oil on hen-day basis percentage (%HD) in experiment II.....	47
13. Effect of crude palm oil on hen performance in experiment II.....	48
14. Effect of crude palm oil on specific gravity, Haugh unit and egg yolk color.....	50
15. Effect of crude palm oil on egg weight, yolk weight, albumin weight and egg shell weight.....	52
16. Effect of crude palm oil on percentage of egg yolk, albumin and eggshell.....	55
17. Effect of crude palm oil on egg yolk cholesterol concentration in experiment II.....	57
18. Effects of crude palm oil on tocopherol and tocotrienol concentrations in liver ( $\mu\text{g/g}$ liver).....	60
19. Effects of crude palm oil on tocopherol and tocotrienol concentrations in plasma ( $\mu\text{g/ml}$ ).....	64

Table	Page
20. Effects of crude palm oil on tocopherol and tocotrienol concentrations in egg yolk ( $\mu\text{g/g}$ yolk).....	68
21. Effects of crude palm oil on tocopherol and tocotrienos concentrations in adipose tissue ( $\mu\text{g/g}$ adipose tissue).....	72

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. Cross-section through the wall of the ovarian follicle.....	5
2. Uptake of intact triglyceride-rich lipoproteins across the oocyte plasma membrane.....	6
3. Structure of triglyceride-rich lipoproteins, with non-esterified cholesterol, phospholipid and apoproteins combining to stabilize the lipoprotein surface and triglyceride and cholesterol esters forming the 'core'.....	10
4. Naturally occurring forms of vitamin E.....	14
5. The regulation of the HMG-CoA reductase.....	22
6. Basic compartments (hepatocyte, plasma, LDL, red blood cell (RBC), cell, and platelets) and events in which vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol and tocotrienols) controls the risk of atherogenesis.....	26
7. The antioxidant network showing the interaction among vitamin E, vitamin C and thiol redox cycles.....	27
8. Diagram showing the whole period of the experiment I.....	29
9. Haugh Unit Gauge.....	33
10. Diagram showing the whole period of the experiment II.....	36
11. HPLC chromatogram of standard mixture.....	42
12. HPLC chromatogram of tocopherol and tocotrienol in crude palm oil.....	36
13. Effect of crude palm oil on egg yolk color.....	51
14. Effect of crude palm oil on egg weight.....	53
15. Effect of crude palm oil on egg yolk weight.....	54
16. Effect of crude palm oil on egg yolk cholesterol concentration.....	58
17. Effect of crude palm oil on tocopherol concentrations in liver.....	61
18. Effect of crude palm oil on tocotrienol concentrations in liver.....	62
19. Effect of crude palm oil on tocopherol concentrations in plasma.....	65
20. Effect of crude palm oil on tocotrienol concentrations in plasma.....	66
21. Effect of crude palm oil on tocopherol concentrations in egg yolk.....	69

Figure	Page
22. Effect of crude palm oil on tocotrienol concentrations in egg yolk.....	70
23. Effect of crude palm oil on tocopherol concentrations in adipose tissue .....	73
24. Effect of crude palm oil on tocotrienol concentrations in adipose tissue.....	74
25. Effect of crude palm oil on tocopherol concentrations in egg yolk and tissues.....	76
26. Effect of crude palm oil on tocotrienol concentrations in egg yolk and tissues.....	77

## ABBREVIATION

ADG	=	average daily gain
CPO	=	crude palm oil
CS	=	egg yolk cholesterol sampling
DFI	=	daily feed intake
e.g.	=	example gratis
Em.	=	emission
Ex.	=	excitation
FPP	=	farnesyl pirophosphat
g	=	gram
GPP	=	geranyl pirophosphate
h	=	hour
HD	=	hen-day basis
HDL	=	high-density lipoprotein
HMG-CoA	=	beta-hydroxy-beta-metylglutaryl Coenzyme A
HU	=	Haugh Unit
IDL	=	intermediated-density lipoprotein
kcal/kg	=	kilocalorie per kilogram
LDL	=	low-density lipoprotein
mg	=	milligram
mg/day	=	milligram per day
mg/L	=	milligram per liter
min	=	minute
ml	=	milliliter
mm	=	millimeter
MVA	=	mevalonate acid
MVAPP	=	mevalonate pyrophosphate
nm	=	nanometer
PFAD	=	palm fatty acid distillate

ppm	=	part per million
PUFAs	=	poly unsaturated fatty acids
rpm	=	round per minute
sec	=	section
TRF	=	tocotrienol-rich fraction
VLDL	=	very low-density lipoprotein
v/v	=	volume per volume
w/v	=	weight per volume
μg	=	microgram
μg/ml	=	microgram per milliliter
μmol	=	micromole
α-TTP <sup>3</sup>	=	alpha-tocopherol transfer protein