● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ هفتم، شمارهٔ ۱، ص ۱۹-۱۴، ۱۳۷۸

مقالهٔ پژوهشی

مطالعه تغییرات اسیدهای چرب در فرایند تولید کره و روغن به روش سنتی

دکتر غلامرضا بهرامی[۱]، دکتر حمید راهی[۲] و زهرا پیراوی ونک[۳]

خلاصه

پژوهش‌ها و بررسی‌های متعددی در رابطه با اسیدهای چرب شیر و محصولات حاصل از آن اعم از ماست، کره و روغن حاصل از کره به صورت مستقل و در فصول مختلف سال انجام شده است، اما گزارشی در مورد روند تغییرات اسیدهای چرب از نظر کمی و کیفی در انواع محصولات شیر در مسیر تهیه روغن و کره در دست نیست. تهیه روغن و کره به روش سنتی با روش صنعتی تفاوت دارد. در روش سنتی، ابتدا شیر به ماست تبدیل شده و سپس ماست را در مشک‌های مخصوصی به هم زده و بعد از تشکیل کره، آن را از دوغ جدا می‌کنند. پس از جداسازی باقیمانده دوغ و ذوب نمودن کره، روغن به دست می‌آید. در این پژوهش روند تغییرات اسیدهای چرب در جریان تولید کره و روغن کرمانشاهی به روش سنتی مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور نمونه‌های شیر گاو و نیز ماست، کره و روغن همان شیر جمع‌آوری، میزان اسیدهای چرب آنها به روش HPLC اندازه گیری و الگوی اسیدهای چرب محصولات تولید شده با یکدیگر مقایسه شد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که در روند تهیه کره و روغن به روش سنتی تغییراتی در انواع اسیدهای چرب ایجاد می‌گردد. این تغییرات عمدتاً به صورت افزایش اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و متوسط و کاهش اسیدهای چرب با زنجیره بلند در روغن نسبت به شیر می‌باشد. نظر به اینکه در تهیه کره به روش صنعتی چربی شیر مستقیماً استخراج شده و با توجه به اطلاعات موجود الگوی اسیدهای چرب آن با شیر تفاوت چندانی ندارد، بنابراین به نظر می‌رسد کره و روغن‌های تهیه شده به روش سنتی در مقایسه با روش صنعتی از ارزش غذایی بالاتر و عوارض کمتری برخوردار باشند.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب، کره، روغن

۱ـ استادیار فارماکولوژی، ۲ـ دانشیار بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی کرمانشاه، ۳ـ کارشناس ارشد صنایع غذایی اداره استاندارد کرمانشاه

مقدمه

اسیدهای چرب، مهم‌ترین جزء ساختمانی چربی‌های خوراکی بوده و تفاوت چربی‌ها و روغن‌ها عمدتاً بستگی به نوع اسید چرب تشکیل دهنده ساختارتری گلیسرید آنها دارد. اهمیت فیزیولوژیک و تغذیه‌ای چربی‌ها، نه تنها به دلیل انرژی‌زایی آنها، بلکه به عنوان منبع مهم تأمین کننده اسیدهای چرب ضروری و بستری برای حمل ویتامین‌های محلول در چربی می‌باشد (۱،۳،۱۶). یکی از تفاوت‌های مهم اسیدهای چرب، اثر آنها بر اجزاء مختلف لیپوپروتئین‌ها و در نتیجه تأثیر بر بیماری‌های قلبی ـ عروقی است (۱۸). در حالی که اسیدهای چرب اشباع با زنجیره بلند باعث افزایش غلظت کلسترول خون می‌شوند و از این راه به عنوان یکی از عوامل مستعد کننده بیماری‌های قلبی در نظر گرفته می‌شوند (۷،۱۸)، برای اسیدهای چرب غیر اشباع اثر هیپوکلسترولمیک و یا خنثی گزارش شده است و اسیدهای چرب اشباع با زنجیره کوتاه و متوسط اثری بر روی غلظت کلسترول خون ندارند (۱۷). همچنین مطالعات متعدد نشان می‌دهد که مصرف اسیدهای چرب ترانس با مقادیر LDL کلسترول و نیز نسبت LDL/HDL رابطه مستقیم داشته و با مقدار HDL کلسترول، رابطه معکوس دارد (۱۵،۲۲).

گرچه تاکنون پژوهش‌ها و بررسی‌های متعددی در رابطه با اسیدهای چرب شیر و یا محصولات حاصل از آن اعم از ماست، کره و روغن حاصل از کره به صورت مستقل انجام شده و در آنها اثر متغیرهای مختلف مانند فصل، نوع تغذیه، دوره شیردهی بر نوع و درصد اسیدهای چرب یک نوع محصول شیری بررسی شده است (۵،۶،۸،۹،۱۰،۱۱،۲۶،۲۷)، اما گزارشی در مورد روند تغییرات اسیدهای چرب از نظر کمی و کیفی در انواع محصولات حاصل از شیر در دست نیست. در تهیه کره به روش صنعتی چربی شیر مستقیماً استخراج شده و پس از تغلیظ به صورت کره عرضه می‌شود.

با توجه به اطلاعات موجود، نوع و درصد اسیدهای چرب شیر یا چربی حاصل از آن یعنی کره یا روغن تفاوتی را نشان نمی‌دهد (۱۱،۱۴،۱۹،۲۱). روش سنتی تهیه روغن و کره با روش صنعتی تفاوت دارد. در روش سنتی، ابتدا شیر به ماست تبدیل می‌گردد و سپس ماست را در مشک‌های مخصوصی به هم زده و بعد از تشکیل کره، آن را از دوغ جدا می‌کنند. کره حاصل مجدداً ذوب می‌شود تا روغن محلی به دست آید. در این مراحل اسیدهای چرب ممکن است از نظر کیفی و کمی دستخوش تغییراتی شوند که بر ارزش غذایی آنها اثر بگذارد. نظر به اهمیت نقش اسیدهای چرب در سلامتی افراد جامعه، تحقیق حاضر به منظور مطالعه روند تغییرات اسیدهای چرب در جریان تولید کره و روغن به روش سنتی طراحی شده و نتایج آن در مقایسه با اطلاعات موجود حاصل از روش صنعتی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد: کلیه مواد مورد نیاز برای آنالیز اسیدهای چرب شامل استاندارد ایزومرهای سیس و ترانس، ترکیبات مورد نیاز برای استخراج، مشتق‌سازی و آنالیز آنها از شرکت سیگما خریداری شد.

دستگاه‌ها: دستگاه کروماتوگرافی با کارآیی بالا High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ساخت کارخانه Shimadzu ژاپن مدل LC-10 و مجهز به oven مدل CTO-10A، آشکار ساز UV-10AV، دستگاه Degasser مدل GDU-sA و دستگاه Auto Analyser مدل RA1000 ساخت کارخانه Technicon امریکا مورد استفاده قرار گرفتند.

روش‌ها

نمونه‌های شیر گاو و نیز محصولات ماست، کره و روغن همان شیر، از روستاهای اطراف کرمانشاه بر اساس استاندارد شماره ۳۶۶ ایران که در رابطه با روش‌های نمونه‌برداری شیر و فرآورده‌های آن است، جمع‌آوری و تا زمان آنالیز در ۴۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تعداد نمونه‌ها برای شیر و فرآورده‌های حاصل از آن ۶ نمونه و از پنج منطقه مختلف به دست آمده بود و جمعاً یکصد و بیست نمونه مورد آنالیز قرار گرفت.

روش‌های آنالیز: استخراج اسیدهای چرب به روش Folch (۱۲) انجام گرفت و آنالیز هم‌زمان ۲۳ اسیدچرب شامل مهم‌ترین ایزومرهای ترانس (اسید الائیدیک و اسید لینوالائیدیک) توسط متد فنیل هیدرازید به کمک HPLC به روش Yamamoto, Miwa (۲۳) انجام گرفت. تعیین میزان کلسترول در نمونه‌ها پس از استخراج چربی تام به روش Folch (۱۲) توسط متد آنزیمی کلسترول اکسیداز، به کمک دستگاه اتوآنالیزر انجام شد (۵).

روش‌های آماری: برای مقایسه میانگین درصد اسیدهای چرب در انواع فرآورده‌های شیر، ماست، کره و روغن از آزمون آنالیز واریانس و نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

میانگین درصد اسیدهای چرب در نمونه‌های شیر گاو و

جدول ۱ : میانگین درصد (انحراف معیار) اسیدهای چرب نمونه‌های مختلف شیرگاو و محصولات حاصل از آن (n=۶)

اسید چرب	شیر		ماست		کره		روغن	
C:۴	۳/۳	(۰/۲)	۴/۴	(۰/۲)	۶/۸	(۱/۶)	۷/۷	(۱/۲)
C:۶	۱/۷	(۰/۴)	۲/۱	(۰/۵)	۴/۳	(۰/۹)	۴/۰	(۰/۸)
C:۸	۱/۵	(۰/۲)	۱/۹	(۰/۵)	۲/۵	(۰/۵)	۳/۱	(۰/۵)
C:۱۰	۲/۸	(۰/۴)	۳/۵	۱/۴)	۳/۵	(۰/۹)	۵/۶	(۲/۳)
C:۱۲	۳/۹	(۰/۵)	۴/۴	(۱/۱)	۴/۵	(۱/۲)	۵/۱	(۰/۶)
C:۱۴	۱۲/۹	(۰/۲)	۱۴/۴	(۲/۱)	۱۵/۳	(۲/۳)	۱۴/۵	(۱/۹)
C:۱۶	۳۳	(۱/۲)	۳۱/۷	(۳/۲)	۲۹/۳	(۳/۴)	۲۷/۷۸	(۳/۱)
C:۱۸	۱۲/۱	(۰/۸)	۱۱/۷	(۳/۱)	۸/۸	(۱/۸)	۹/۵	(۲/۶)
C:۲۰	۰/۸	(۰/۲)	۰/۷	(۰/۶)	۰/۵	(۰/۵)	۰/۵	۰/۵
C:۱۸(۱)	۲۰/۲	(۲/۱)	۱۸/۶	(۲/۵)	۱۶/۴	(۲/۶)	۱۵/۵	(۲/۹)
C:۱۸(۱/)	۵/۴	(۰/۹)	۴/۹	(۰/۶)	۵/۲	(۰/۸)	۴/۵	(۰/۷)
C:۱۸(۲)	۱/۰	(۰/۲)	۱/۰	(۰/۳)	۱/۲	(۲/۸)	۱	(۰/۶)
C:۱۸(۳)	۰/۶	(۰/۱)	۰/۷	(۰/۶)	۱	۰/۱	۰/۸	(۰/۲)

فرآورده‌های حاصل از آن در تهیه روغن به روش سنتی در جدول۱ نشان داده شده است. همانگونه که در این جدول مشخص است در روند تهیه کره و روغن از شیر به روش سنتی، درصد اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و متوسط، نسبت به شیر افزایش می‌یابد. این افزایش در مورد اسیدهای چرب C4 تا C12 از نظر آماری معنی‌دار است (P<۰/۰۷). همچنین درصد عمده‌ترین اسیدهای چرب اشباع با زنجیره بلند یعنی C16:0 و C18:0 کاهش می‌یابد (P<۰/۰۷). کاهش معنی‌داری نیز در درصد اسید اولئیک C18:1 دیده می‌شود (P<۰/۰۷). تفاوت مقدار سایر اسیدهای چرب از نظر آماری معنی‌دار نیست. میانگین درصد کلسترول مربوط به نمونه‌های شیر، ماست، کره و روغن به روش سنتی در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲ : میانگین (انحراف معیار) مقدار کلسترول بر حسب میلی‌گرم در صد گرم از نمونه‌های مختلف شیرگاو و محصولات حاصل از آن (n=۶)

نمونه	مقدار کلسترول mg/۱۰۰g
شیر	۱۳۰/۰±۰/۰۰۶
ماست	۱۰۰/۰±۰/۰۰۵
کره	۱۶۵/۰±۰/۰۲
روغن	۱۹۳±۰/۰۲

جدول ۳ درصد اسیدهای چرب موجود در یک نمونه کره تولید شده با روش صنعتی را نشان می‌دهد. همانگونه که در این جدول مشخص است، الگوی اسیدهای چرب آن با نمونه شیر آنالیز شده در مطالعه حاضر تفاوت بارزی ندارد.

جدول ۳ : درصد اسیدهای چرب یک نمونه کره ایرلندی

اسید چرب	درصد
C:۴	۳/۶
C:۶	۲/۰
C:۸	۱/۲
C:۱۰	۲/۵
C:۱۲	۳/۰
C:۱۴	۱۰/۴
C:۱۶	۲۹/۷
C:۱۸	۱۰/۴
C:۱۸(۱)	۲۵/۷
C:۱۸(۲)	۱/۷
C:۱۸(۳)	۰/۶

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که در روند تهیه کره و روغن به روش سنتی از نظر کمی تغییراتی در انواع اسیدهای چرب ایجاد می‌گردد که باعث افزایش اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و متوسط و کاهش اسیدهای چرب با زنجیره بلند در آنها می‌شود. این تغییرات علاوه بر افزایش ارزش غذایی، عوارض مصرف آنها را نیز کاهش می‌دهد. در تهیه کره به روش صنعتی چربی شیر مستقیماً استخراج می‌شود و با توجه به اطلاعات موجود مشخص شده است که نوع و درصد اسیدهای چرب شیر با کره ظاهراً تفاوتی ندارد (۱۱,۱۴,۱۹,۲۱). در حالی که روش سنتی تهیه کره و روغن منجر به تغییرات مفیدی در درصد اسیدهای چرب می‌شود که قابلیت هضم این روغن‌ها نسبت به روغن‌های حاصل از کره به روش صنعتی را افزایش می‌دهد و این امر می‌تواند یکی از مزایای تهیه این روغن‌ها به روش سنتی نسبت به روغن‌های حاصل از کره به طریقه صنعتی باشد.

در رابطه با علل این تغییرات می‌توان به مرحله تخمیر در روند تهیه کره و روغن به روش سنتی اشاره کرد که احتمالاً نقش به سزایی در روند تغییرات اسیدهای چرب خواهد داشت که این مطلب به خوبی از مقایسه میزان انواع اسیدهای چرب در چربی استخراج شده از شیر و ماست استنباط می‌شود (جدول ۱). در روش سنتی، به دلیل فعالیت باکتری‌ها و تولید اسید لاکتیک در ماست، PH محیط نسبت به روش صنعتی کمتر است. با توجه به این که در PH پایین احتمال یونیزه شدن و شرکت در امولسیون برای اسیدهای چرب با زنجیره بلند کمتر از اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه است، بنابراین اسیدهای چرب با زنجیره بلند کم‌تر حل می‌شوند ولی اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه حلالیت خود را حفظ می‌کنند. به این ترتیب احتمال ورود اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه به علت خاصیت اسیدیته بیشتر نسبت به اسیدهای چرب با زنجیره بلند به امولسیون کره، افزایش می‌یابد (جدول ۱). نوع میکروارگانیسم‌های موجود در مشک‌های تهیه کره نیز می‌تواند در این امر مهم باشد و تغییراتی را در اسیدهای چرب ایجاد کند. همچنان که در تهیه ماست نوع باکتری‌ها و طول عمر ماست باعث تغییر اسیدهای چرب آن می‌شود (۱۳,۲۴). درجه حرارت مشک در هنگام تهیه کره از ماست و تغییر حلالیت اسیدهای چرب در حرارت‌های مختلف از عوامل دیگری است که می‌تواند بر روی این فرایند تأثیر بگذارد.

بر اساس نتایج حاصله در این تحقیق، مجموع اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و متوسط در نمونه‌های کره و روغن به روش سنتی به ترتیب ۲۱ و ۲۶ درصد می‌باشند که این مقادیر در مقایسه با اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و متوسط روغن‌های حاصل از کره به روش صنعتی (۱۰ الی ۱۵ درصد) بیشتر می‌باشد (۲,۱۴,۲۰). همچنین بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، کاهشی در اسیدهای چرب با زنجیره بلند و اشباع مانند C16 و C18 در کره حاصل از روش سنتی دیده می‌شود. با توجه به اینکه مصرف اسیدهای چرب با زنجیره بلند باعث افزایش کلسترول خون و افزایش احتمالی ابتلا به تصلب شرایین و بیماری‌های شرایین کرونر قلب می‌گردند، این مطلب از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد (۷,۱۵,۱۸).

در رابطه با میزان کلسترول در این نمونه‌ها، باید گفته شود که درصد کلسترول موجود در روغن و کره حاصل از روش سنتی کمتر از اعداد و ارقام گزارش شده در روغن‌های حاصل از ذوب کره به روش صنعتی می‌باشد (۴,۲۵). بر اساس بسیاری از مطالعات میانگین مقدار کلسترول موجود در روغن‌های حاصل از ذوب کره به روش صنعتی ۲۵۰-۴۰۰mg در هر ۱۰۰ گرم می‌باشد در حالی که میانگین مقدار کلسترول در نمونه‌های کره سنتی ۱۰۰-۱۹۰mg در هر ۱۰۰ گرم به دست آمده است. این اختلاف ممکن است به دلیل جداسازی کره از دوغ و یا ناشی از روش‌های مختلف اندازه گیری کلسترول باشد. همان‌گونه که گفته شد در روش سنتی، ابتدا شیر به ماست تبدیل می‌گردد و سپس ماست را در مشک‌های مخصوصی به هم زده و بعد از تشکیل کره، آن را از دوغ جدا می‌کنند. بنابراین ممکن است مقداری از کلسترول استری به دلیل فعالیت باکتریایی به کلسترول آزاد تبدیل و در دوغ باقی بماند.

با توجه به روند مطلوب تغییرات اسیدهای چرب و کلسترول در تهیه کره و روغن به روش سنتی و با انجام مطالعات بیشتر شاید بتوان در ساخت کره و روغن‌های حاصل از کره به شکل صنعتی، مرحله تخمیر را اضافه نمود و در این راه هرچند که ممکن است، متحمل هزینه و صرف وقت بیشتری بشویم، لیکن در نهایت بتوانیم تغییرات مطلوبی را در توزیع اسیدهای چرب ایجاد کنیم و با این عمل، ارزش غذایی را افزایش داده و احتمالاً خطر ایجاد به بیماری‌های قلبی و عروقی و مسایل اقتصادی و اجتماعی حاصل از آنها را کاهش دهیم.

سپاسگزاری

بدین وسیله از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمانشاه که بودجه این پروژه را تأمین نمودند و از خانم زهره رحیمی که در انجام آنالیز اسیدهای چرب، صمیمانه همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

Summary

Change in Fatty Acids Composition of Milk Products during the Traditional Ghee-Making Process

GH. Bahrami, PhD[1]; H. Rahi, PhD[2]; and Z. Pyravi-Vanak, MS[3]

1. Assistant Professor of Pharmacology, 2. Associate Professor of Biochemistry, Kermanshah University of Medical Sciences and Health Services, Kermanshah, Iran 3. Master of Science in Food Technology

Seasonal variation of fatty acids composition of milk and various milk products have been subjected to many investigations. However, most of the researches are concerned with a single product and apparantly there is no information about the extent and the factors which contribute to changes in fatty acids composition of lipids in the process of ghee-making by the traditional methods. Thus comparative evaluation of quality and quantity of fatty acids in milk and its products which is used in ghee-making by traditional mehtods was the subject of this study. Samples of milk, yoghourt, butter, and ghee prepared from the same milk were collected from different rural regions of Kermanshah province. The total lipid of each sample was extracted and subjected to fatty acid analysis by HPLC. The results were tabulated and subjected to statistical analysis. Starting from milk and ending with Ghee, a statically meaningful changes of fatty acid composition in each sample were observed. The obvious changes include; a relative increase of short chain fatty acids (C4 to C12) and a decrease in long chain saturated fatty acids (C14, C16, C18). Compared to commercial butter, the cholesterol level was lower in ghee. In conclusion the traditional method of ghee making seems to be beneficial to nutritional values of butter ghee. Therefore some aspect of the process may be applied for improvement of the commercial methods of butter processing.

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2000; 7(1): 14-19

Key Words: *Fatty acid, Butter, Ghee*

منابع

۱. حداد خدابرست، محمدحسین: تکنولوژی روغن‌های خوراکی. جلد اول، انتشارات دانشگاه مشهد، مشهد، ۱۳۷۳، ص ۵۵-۴۹.

۲. مرتضوی، علی: تکنولوژی شیر و فرآورده‌های لبنی. دانشگاه فردوسی مشهد، ۱۳۷۴، ص ۳۱-۲۶ و ۳۷۲-۳۶۶.

3. Alalis C and Lindon G: Food Biochemistry. Ellis horwood, 1991; pp53-67.
4. AL-Khalifah A and Al-Kahtani H. Composition of ghee from cow's and sheep's milk. *Food chemistry* 1993; 46(4): 373-375.
5. Allain CC and Poon LS. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974; 20: 470-473.
6. Bhiman T, Vanten V and Satter L. Effects of diatry fat source on fatty acid composition of Cow's milk. *J Sci Food Agric* 1995; 69(1): 101-107.
7. Bonanome A and Grundy SM. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N Engl J Med* 1988; 318(19): 1244-1248.
8. Clapperton JL. The effect of sunflower oil on the fatty acid composition of the milk of cows fed ethier a fat-depressing diet or grass silage. *J Sci Food Agric* 1982; 33(8): 741-753.
9. Claperton JL and Banks W. Factors affecting the yield of milk and its constituents,

particulary fatty acids when dairy cows consume diets containing added fat. *J Sci Food Agric* 1985; 36(12): 1205-1211.
10. Cook LJ, Scott TW and Pan YS. Formaldehyde treated casein sunflower oil supplement for dairy cows. *J Dairy Research* 1972; 39(2): 211-218.
11. Cullinane N, Aherne S, Connolly JF and Phelan JA. Seasonal variation in the triglyceride and fatty acid composition of Irish butter. *Ir J Fd Sci Technol* 1984; 8(1): 1-12.
12. Folch J, Lees M and Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purfication of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 22(6): 497-509.
13. Formisano M, Percuoco G and Percuoco S. Microbiological investigation of fermented milk drinks, gas chromatography of the fatty acids in yoghurt. *Industrie Agrarie* 1971; 7(8): 273-277.
14. Fouad FM. Van de Voort FR, Marshall WD and Farrell PG. A critical evaluation of thermal fractionation of butter oil. *JAOCS* 1990; 67(12): 981-989.
15. Grande F and Anderson J. Comparison of effect of palmitic and stearic acid in the diet on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr* 1970; 23: 1184-1193.
16. Gurr M and Harwood GL. Lipid biochmistry. 4th ed., London, Chapman and Hall, 1991; 65-68.
17. Gutierrez Fuentes JA. What food for the heart? *World Health Forum* 1996; 17(2): 157-163.
18. Hashim S. Effect of a saturated medium chain triglyceride on serum lipid in man. *Lancet* 1980; 1105-1108.
19. Hul Y: Industerial oil and fat products. 15th, ed., Bailey's, Inter science publication, 1996; pp1-63.
20. Huyghebaert A and Hendrick H. The relation between the fatty acide composition and iodin value and refractive index of butter fat. *Milchwissen chaft* 1980; 25: 506.
21. Jansen R and Moore J: Fundamentals of dairy chemistry. Van Norstand rein hild Co. Inc. 1988; pp171-213.
22. Koletzko B. Trans fatty acids may impair biosynthesis of long chain polyunsaturates and growth in man. *Acta Pediatr Int J Pediatr* 1992; 81(4): 302-306.
23. Miwa H, Yamamoto M and Asano T. High-performance liquid chromatographic analysis of fatty acid compositions of platelet phospholipids as thier 2-nitrophenyl-hydrazides. *J Chromatogr Biomed Apple* 1991; 568(1): 25-34.
24. Parodi P. Fatty acid composition of Australian butter and milk fat. *Aust J Dairy technol* 1970; 25: 200-201.
25. Prasad CR and Subramanian R. Qualitative and comparative studies of cholesterol oxides in commercial and home-made Indian ghees. *Food Chemistry* 1992; 45(1): 71-73.
26. Rasic J and Vucurovic N. Studies on free fatty acids in yoghurt made from cow's, ewes' and goats' milk. *Milchwissenchafat* 1983; 28(4): 220-222.
27. Shahin Y. Free fatty acids in milk fat in relation to feeding. *Deutsche milchwirtschart* 1987; 38(40): 1448-1450.