

# بررسی توزیع کلسترول در فراکسیون‌های مختلف چربی دنبه گوسفندی

مهرناز سیمان پور<sup>a</sup>، مریم قراچورلو<sup>b\*</sup>، مریم فهیم دانش<sup>c</sup>

<sup>a</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران

<sup>b</sup> استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، تهران

<sup>c</sup> استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهریار- شهر قدس، دانشکده کشاورزی

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۸/۴

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۳/۲۵

۲۱

## چکیده

**مقدمه:** دنبه گوسفندی به عنوان یکی از مهمترین منابع چربی حیوانی دارای مقادیر قابل توجهی اسیدهای چرب اشباع و کلسترول می‌باشد که می‌توانند در بروز بیماری‌های قلبی - عروقی موثر باشند. هدف از انجام این تحقیق، بررسی توزیع کلسترول در فراکسیون‌های مختلف حاصل از فراکسیون گیری چربی دنبه گوسفندی با حلال می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق استخراج چربی از دنبه گوسفندی به روش ذوب کردن خشک تحت خلاء انجام شد، سپس فراکسیون گیری چربی با حلال استن در درجه حرارت‌های ۲۵، ۱۵ و ۵ درجه سانتیگراد انجام گرفت و دو فراکسیون جامد، یک فراکسیون نیمه جامد و یک فراکسیون مایع بدست آمد و به منظور ارزیابی کیفیت چربی و فراکسیون‌های آن، آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی مختلفی شامل تعیین ترکیب اسیدهای چرب، نقطه ذوب، اندیس یدی، اندیس صابونی، درصد ترکیبات غیرقابل صابونی شونده، مقدار اسید چرب آزاد، زمان مقاومت به اکسید شدن و آزمون رنگ انجام شد. مقدار کلسترول چربی و فراکسیون‌های آن به روش گاز کروماتوگرافی تعیین شد.

**یافته‌ها:** مشخص گردید که چربی دنبه گوسفندی حاوی ۱۰۱/۷۴ میلی گرم در ۱۰۰ گرم کلسترول است که این مقدار در فراکسیون‌های اول، دوم و سوم نسبت به شاهد به ترتیب، ۷۴/۲۴٪، ۵۹/۸۱٪، و ۴۷/۲۹٪ کاهش یافته و در فراکسیون چهارم ۴۵/۶۸٪ افزایش یافته است.

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج بدست آمده مقدار کلسترول در فراکسیون‌های چربی دنبه گوسفندی با کاهش درجه حرارت فراکسیون گیری متناسب با افزایش درصد اسیدهای چرب غیراشباع افزایش می‌یابد.

**واژه‌های کلیدی:** آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی، چربی دنبه گوسفندی، فراکسیون گیری، کلسترول

## مقدمه

چربی ها و روغن های طبیعی همیشه خصوصیات مورد نیاز برای اهداف کاربردی خاص را دارا نمی باشند. فرآیندهای اصلاح کننده، امکان تغییر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن ها و چربی ها را در محدوده وسیعی ممکن می سازند و آنها را برای بسیاری از استفاده ها مناسب می سازند و روغن ها و چربی های با خصوصیات مورد نیاز را در مقادیر کافی فراهم می کنند. فراکسیون گیری، زمستانه کردن، اینتراستریفیکاسیون و هیدروژناسیون از مهمترین فرآیندهای اصلاح کننده ویژگی های روغن ها و چربی ها می باشند (Bockisch, 1998).

روغن ها و چربی ها مخلوطی از تری آسید گلیسرول های با ترکیب اسیدهای چرب متفاوت می باشند و بنابراین از نظر شیمیایی ترکیبات همگنی نمی باشند. هر گلیسریدی خصوصیات شیمیایی منحصر بفردی را دارا می باشد که بین این خصوصیات، دمای ذوب و حلالیت در حلال های آلی بستگی به درجه غیر اشباعیت، طول زنجیر اسیدهای چرب و موقعیت آنها بر روی مولکول گلیسرول دارد (Shahidi, 2005).

فراکسیون گیری شامل جداسازی تری گلیسریدهای با نقطه ذوب بالا از تری گلیسریدهای با نقطه ذوب پایین می باشد و در مقایسه با هیدروژناسیون و اینتراستریفیکاسیون، یک فرآیند صرفاً فیزیکی با هزینه پایین است که طی آن تری گلیسریدهای موجود به فراکسیون های دارای ارزش بالاتر و کاربرد وسیعتر تفکیک می گردند. در مقایسه با هیدروژناسیون، طی فراکسیون گیری اسیدهای چرب ترانس که از جنبه های سلامتی مورد تردید می باشند ایجاد نمی شود.

سه تکنیک مختلف برای انجام فراکسیون گیری وجود دارد که شامل کریستالیزاسیون چربی ذوب شده (فراکسیون گیری خشک<sup>۱</sup>)، کریستالیزاسیون چربی حل شده در حلال (فراکسیون گیری با حلال<sup>۲</sup>) و کریستالیزاسیون چربی در حضور دترجنت (فراکسیون گیری با دترجنت<sup>۳</sup>) می باشند (Hamm and Hamilton, 2000).

چربی های حیوانی عمدتاً از تری گلیسریدها تشکیل یافته اند و تنها حاوی مقادیر کمی (کمتر از ۰/۰۵٪) از

دیگر ترکیبات مثل فسفولیپیدها، استرول ها، توکوفرول ها و کاروتنوئیدها می باشند (Shahidi, 2005). از مهمترین این ترکیبات، استرول ها و خصوصاً کلسترول می باشد که استروئید اصلی بافت های حیوانی بوده، در غشاء های سلولی و در متابولیسم چربی نقش حیاتی دارد، پیش ساز بیوستتیک اسیدهای صفراوی، ویتامین D و هورمون های استروئیدی می باشد و در توسعه و عملکرد سیستم عصبی مرکزی نقش دارد (Christie, 2010). در تحقیقات بسیاری ارتباط بین کلسترول رژیم و کلسترول تام سرمی<sup>۴</sup> بررسی شده است و کلسترول رژیم به عنوان فاکتور خطری در ارتباط با توسعه بیماری های قلبی-عروقی بیان گردیده است (Yen and Chen, 2000).

در اثر اکسیداسیون کلسترول محصولات زیادی ایجاد می شود که برخی از آنها به عنوان سرطانزا و موتاژن مطرح می باشند، بنابراین مصرف کمتر غذاهای با کلسترول بالا برای کاهش کلسترول تام سرمی پیشنهاد شده است (Verleyen et al., 2003; Yen and Tsai, 1995).

در رابطه با اندازه گیری کلسترول در چربی های با منشأ حیوانی و فراکسیون های بدست آمده از آنها، Ryan و Gray (۱۹۸۴)، فراکسیون گیری با دترجنت آبی را در مورد چربی گاو انجام دادند و نتایج اندازه گیری کلسترول نشان داد که چربی اولیه حاوی ۰/۱۴٪ وزنی کلسترول بود، در حالیکه فراکسیون های بدست آمده حاوی ۰/۱۵-۰/۱٪ وزنی کلسترول بودند و همین طور فراکسیون مایع در هر دمایی حاوی ۰/۰۴-۰/۰۲٪ کلسترول بیشتری نسبت به فراکسیون جامد مربوطه بود.

Norris و همکاران (۱۹۷۱)، در تحقیقات خود محدوده میزان کلسترول سه نوع مختلف چربی شیر و فراکسیون های مایع و جامد آنها را به ترتیب ۲۳۰-۲۵۰، ۲۵۰-۲۶۰ و ۲۳۰-۲۲۰ میلی گرم در صد گرم نمونه بدست آوردند.

Arul و همکاران (۱۹۸۸)، کریستالیزاسیون از چربی ذوب شده را در مورد چربی شیر آگیری شده انجام دادند و در نهایت بر اساس خصوصیات ذوبی فراکسیون ها را در سه گروه مایع با نقطه ذوب C<sup>۱۲</sup>، حد واسط مایع و جامد با

<sup>1</sup> Dry Fractionation<sup>2</sup> Solvent Fractionation<sup>3</sup> Detergent Fractionation <sup>4</sup> Total Serum Cholesterol

نمود.

نقطه ذوب  $21^{\circ}\text{C}$  و جامد با نقطه ذوب  $39^{\circ}\text{C}$  طبقه بندی کردند، و بیان داشتند که کلسترول در فراکسیون مایع نسبت به سایر فراکسیون ها بیشتر تجمع یافته است.

Bhaskar و همکاران (۱۹۹۸)، اندازه گیری کلسترول را در چهار فراکسیون حاصل از کریستالیزاسیون ذوبی چربی شیر، با نقطه ذوب های  $10^{\circ}\text{C}$ ،  $20^{\circ}\text{C}$ ،  $30^{\circ}\text{C}$  و  $45^{\circ}\text{C}$  سانتی گراد انجام دادند و بیشترین افزایش در میزان کلسترول در فراکسیون با نقطه ذوب  $10^{\circ}\text{C}$  که مایع ترین فراکسیون در روش کریستالیزاسیون ذوبی بود دیده می شد. نتایج بدست آمده بیانگر بیشتر بودن میزان کلسترول در فراکسیون های مایع نسبت به فراکسیون های جامد بود که در نتیجه تمایل بیشتر کلسترول به اسیدهای چرب با طول زنجیره کوتاه و متوسط اتفاق می افتاد.

Fatouh و همکاران (۲۰۰۵)، کره را مورد فراکسیون گیری خشک قرار دادند به این ترتیب که کره در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  ذوب شد و سپس به آرامی تا دمای فراکسیون گیری  $30^{\circ}\text{C}$  سرد شد، مقدار کلسترول در فراکسیون های بدست آمده اندازه گیری شد و نتایج حاصل نشان داد که تمایل کلسترول به تجمع در فراکسیون های مایع کره بیشتر از تمایل آن به تجمع در فراکسیون های جامد کره می باشد.

با توجه به اینکه چربی های حیوانی دارای درصد بالای اسیدهای چرب اشباع و کلسترول می باشند، استفاده از فرآیند فراکسیون گیری می تواند سبب تفکیک نسبی اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع شود که هر یک می توانند به عنوان محصول مستقلاً به کار روند. با استفاده از این روش میزان اسید های چرب اشباع در فاز اولئین کاهش می یابد و سبب می شود استفاده از آن از نظر تغذیه ای مطلوب تر شود. بخش استتارین بدست آمده نیز می تواند جایگزین چربی های هیدروژنه در تولید محصولات شود که به علت خصوصیات کاربردی مورد نیاز استفاده از چربی های جامد در تولید آنها اجتناب ناپذیر می باشد، ضمن آن که اسیدهای چرب ترانس در این فرآیند تولید نمی شوند (Gibon and Tirtiaux, 2002).

در این تحقیق ارزیابی کیفیت چربی دنبه گوسفندی و فراکسیون گیری آن با هدف دستیابی به فراکسیون هایی با مقادیر متفاوت کلسترول انجام می گیرد و به این ترتیب می توان چربی هایی با خصوصیات کاربردی متفاوت تولید

## مواد و روش ها

### - تهیه نمونه دنبه و آماده سازی آن

برای انجام این تحقیق از دنبه (چربی ذخیره ای دم) گوسفند استفاده شد. نمونه دنبه به صورت تصادفی خریداری شد. دنبه ها با آب شسته و خشک شدند و ضایعات آنها مثل قطعات گوشت، رگ و استخوان از دنبه جدا گردید. سپس به قطعات کوچکتر تقسیم شده و توسط چرخ گوشت ریز شده و پس از بسته بندی در فریزر منجمد و نگهداری شدند.

### - استخراج چربی از دنبه

استخراج چربی از دنبه به روش ذوب کردن خشک و تحت خلاء انجام شد. برای انجام این فرآیند از دستگاه تبخیر کننده دوار استفاده شد و حدود  $200^{\circ}\text{C}$  گرم دنبه چرخ شده در بالن قرار گرفته و به دستگاه متصل شد. مدت گذاختن، ۲ ساعت در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  و با سرعت چرخش  $60$  دور در دقیقه بود. در انتهای فرآیند  $400$  میلی لیتر پترولیوم اتر ( $60-40^{\circ}\text{C}$ ) داخل بالن ریخته شده و این مخلوط با استفاده از قیف و ارلن بوخنر و کاغذ صافی واتمن  $41$ ، تحت خلاء صاف شد. حضور پترولیوم اتر سبب رقیق شدن مخلوط و تسهیل فرآیند صاف کردن و استخراج بهتر چربی از بافت گداخته شده می شود. محلول صاف شده که شامل چربی و پترولیوم اتر بود به دکانتور منتقل شد و با جدا کردن فاز زیرین، آب موجود در آن جدا شد و سپس برای جداسازی کامل آب مقداری سولفات سدیم بدون آب به آن اضافه شد. بعد از  $15$  دقیقه، محلول تحت خلاء و با استفاده از کاغذ صافی واتمن  $41$  صاف شد تا سولفات سدیم از آن جدا شود. جداسازی حلال از چربی در دمای  $80-60^{\circ}\text{C}$  بوسیله روتاری و تحت خلاء انجام شد. حلال باقیمانده نیز با استفاده از گاز ازت خارج شده و چربی حاصل در فریزر نگهداری شد.

### - فراکسیون گیری چربی دنبه

جهت فراکسیون گیری چربی دنبه (تالو)، روش فراکسیون گیری با حلال در طی ۳ مرحله و با استفاده از استن خالص انجام شد. بدین منظور چربی استخراج شده

شماره 966.33 صورت گرفت و سپس از دستگاه گاز کروماتوگراف مدل Acme 6100، مجهز به آشکار کننده شعله‌ای (FID) و ستون موئین ۱۰۰ متری Cpsill88 پر شده با دی اتیلن گلیکول سوکسینات (DEGS)، مطابق با استاندارد AOCS با شماره Ce 1e -91 استفاده شد. به طوری که درجه حرارت محل تزریق  $240^{\circ}\text{C}$ ، دمای ستون  $198^{\circ}\text{C}$  و دمای دتکتور  $280^{\circ}\text{C}$ ، سرعت جریان گاز حامل (نیترژن) ۱۴ میلی لیتر در دقیقه و مقدار تزریق نمونه ۱ میکرولیتر بود ( Firestone, 1994; Firestone, 1990).

اندیس یدی با استفاده از فرمول ریاضی ارائه شده در استاندارد AOCS با شماره Cd1c - 85 محاسبه گردید (Firestone, 1994).

در این تحقیق درصد اسید چرب آزاد بر اساس استاندارد AOCS با شماره Cd3d- 63 از طریق تیتراسیون چربی محلول در اتانول و دی اتیل اتر با سود ۰/۰۱ نرمال در مجاورت فنل فتالین اندازه‌گیری شد ( Firestone, 1994).

زمان مقاومت به اکسید شدن با استفاده از دستگاه رنسیمت Metrohm مدل 743 در درجه حرارت  $110^{\circ}\text{C}$  و با جریان هوای ۲۰ لیتر بر ساعت ارزیابی شد. نقطه ذوب به روش لوله موئین بر اساس استاندارد AOAC با شماره 920.157 اندازه‌گیری شد (Firestone, 1990).

رنگ با استفاده از دستگاه لایباند Tintometer مدل F و سل ۱ اینچی، بر اساس استاندارد AOCS با شماره Cc13e - 92 اندازه‌گیری شد (Firestone, 1994).

اندازه‌گیری اندیس رفاکت با رفاکتومتر مدل Abbe در درجه حرارت  $50^{\circ}\text{C}$  بر اساس استاندارد AOAC با شماره 921.08 صورت گرفت (Firestone, 1990).

اندیس صابونی با استفاده از روش AOCS با شماره Cd3 - 25 اندازه‌گیری شد (Firestone, 1994). درصد ترکیبات غیرصابونی با استفاده از روش ذکر شده در استاندارد AOAC با شماره 933.08 اندازه‌گیری شد (Firestone, 1990).

برای اندازه‌گیری مقدار کلسترول در نمونه چربی دنبه و ۴ فراکسیون بدست آمده از آن از روش استاندارد AOAC با شماره 970.54 استفاده شد ( Firestone, 1990).

بصورت جامد در دمای محیط به نسبت ۱ به ۱۰ با استن خالص مخلوط گردید و خوب همزده شد تا چربی کاملاً در استن حل شود. سپس محلول چربی و استن بمدت ۲۲ ساعت در انکوباتور با دمای  $25^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد. پس از این مدت کریستال‌های چربی در ته ظرف مشاهده گردید جهت جداسازی فاز رسوب از فاز مایع، فیلتراسیون نمونه تحت خلاء و در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  انجام شد و فاز چربی بدست آمده (فراکسیون اول) به ظرف شیشه‌ای تمیزی منتقل گردید.

در مرحله دوم فراکسیون‌گیری، فاز مایع بدست آمده از مرحله اول (چربی و استن) بمدت ۲۲ ساعت در انکوباتور با دمای  $15^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد. در انتهای این مرحله نیز کریستال‌های جدیدی در فاز مایع مشاهده شد که جداسازی این کریستال‌ها از طریق فیلتراسیون تحت خلاء در دمای  $15^{\circ}\text{C}$  انجام شد و چربی جامد بدست آمده (فراکسیون دوم) به ظرف شیشه‌ای تمیزی منتقل گردید.

در مرحله سوم فراکسیون‌گیری فاز مایع بدست آمده از مرحله دوم (چربی و استن) بمدت ۲۲ ساعت در انکوباتور، با دمای  $5^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد. در انتهای این مرحله نیز کریستال‌های جدیدی در فاز مایع مشاهده گردید و جداسازی این کریستال‌ها از طریق فیلتراسیون تحت خلاء و در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  انجام شد و چربی نیمه جامد بدست آمده (فراکسیون سوم) به ظرف شیشه‌ای تمیزی منتقل گردید.

فاز مایع حاصل از فیلتراسیون در مرحله سوم فراکسیون‌گیری با استفاده از دستگاه تبخیر کننده دوار و تحت خلاء حلال‌گیری شد و فراکسیون چهارم بدست آمد و مینیمم حلال باقیمانده در هر یک از فراکسیون‌ها با گاز ازت خارج گردید.

#### – آزمون های فیزیکی و شیمیایی

آزمون هایی که در ادامه ذکر می‌شود برای ارزیابی کیفیت چربی دنبه و فراکسیون های بدست آمده از آن در دو تکرار انجام شد. روش‌های آزمون عمدتاً بر اساس روش‌های ذکر شده توسط انجمن شیمی تجزیه (AOAC) و انجمن شیمیدانان روغن آمریکا (AOCS) بود (Firestone, 1990; Firestone, 1994).

جهت تعیین ترکیب اسید چرب، آماده سازی نمونه به صورت مشتق متیل استر بر اساس استاندارد AOAC

۹۶/۰۷٪ چهار فراکسیون بود که عبارتند از:

فراکسیون اول، ۳/۲٪ از چربی دنبه اولیه را تشکیل می دهد و در دمای محیط جامد و سفید رنگ است. فراکسیون دوم، ۶/۷۱٪ از چربی دنبه اولیه را تشکیل می دهد و در دمای محیط جامد و سفید رنگ است. فراکسیون سوم، ۸/۵۶٪ از چربی دنبه اولیه را تشکیل می دهد و در دمای محیط تقریباً نیمه جامد و سفید رنگ است.

فراکسیون چهارم، ۷۷/۶٪ چربی دنبه اولیه را تشکیل می دهد و در دمای محیط مایع و زرد رنگ است.

ترکیب اسیدهای چرب چربی دنبه و فراکسیون های آن در جدول ۱ نشان داده شده است.

اندیس یدی چربی دنبه بدست آمده ۴۷/۷۸ می باشد که در محدوده تعیین شده برای دنبه خوراکی در استاندارد کدکس که برابر با ۴۹-۴۰ می باشد، قرار دارد. اندیس یدی در فراکسیون های اول، دوم و سوم نسبت به دنبه کاهش یافته است و به ترتیب به ۲۶/۳۴، ۳۳/۵۰ و ۴۰/۱۷ رسیده است و در فراکسیون چهارم افزایش یافته و به ۵۵/۵۱ رسیده است.

میزان اسید چرب آزاد چربی دنبه بدست آمده ۰/۶۵٪ می باشد که از ماکزیمم مقدار تعیین شده در استاندارد کدکس که برابر ۱/۲۵٪ می باشد، کمتر است. درصد اسید چرب آزاد در فراکسیون های اول، دوم، سوم و چهارم نسبت به دنبه کاهش یافته و به ترتیب به ۰/۰۹، ۰/۱۷، ۰/۳۹ و ۰/۵۸ رسیده است.

(1990). این آزمون با استفاده از استاندارد داخلی استیگما استرول، در مورد تالو و فراکسیون های آن انجام شد.

در ابتدا محلول استاندارد استرولی با غلظت ۰/۴۴ میلی گرم در میلی لیتر دی اتیل اتر به ۵ گرم از هر کدام از نمونه های تالو و فراکسیون های مورد آزمون اضافه شد و سپس نمونه با محلول هیدروکسید پتاسیم اتانولی صابونی شد و ترکیبات غیر قابل صابونی شدن جداسازی شدند. پس از جداسازی ترکیبات غیر قابل صابونی شدن، شناسایی این ترکیبات و جداسازی باند استرولی از طریق کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) صورت گرفت.

جهت شناسایی ترکیبات استرولی و تعیین درصد کلسترول از دستگاه گاز کروماتوگراف مدل Acme6000 مجهز به آشکار کننده شعله ای و ستون موئین غیر قطبی TRB5 ساخت شرکت Teknokroma به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی متر و ضخامت فیلم ۰/۵ میکرومتر با درجه حرارت محل تزریق ۳۰۰°C، درجه حرارت ستون (آون) C ۲۸۵°، درجه حرارت آشکارکننده ۳۲۰°C و سرعت جریان گاز حامل هیدروژن ۱ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد و حجم تزریق ۱ میکرولیتر بود.

پس از شناسایی استرول ها از طریق مقایسه با پیک های استاندارد و بر اساس Relative Retention Time پیک ها، میلی گرم کلسترول در ۱۰۰ گرم چربی محاسبه گردید (قراچورلو و همکاران، ۱۳۸۵).

## یافته ها

نتیجه فراکسیون گیری سه مرحله ای چربی دنبه در درجه حرارت های ۲۵، ۱۵ و ۵ درجه سانتیگراد با راندمان

جدول ۱- میانگین درصد ترکیب اسیدهای چرب چربی دنبه و فراکسیون های آن

اسید چرب (%)	چربی دنبه	فراکسیون اول	فراکسیون دوم	فراکسیون سوم	فراکسیون چهارم
C12:0	۰/۵۴	۰/۱۷	۰/۲۴	۰/۲۷	۰/۲۳
C14:0	۵/۳۹	۳/۶۲	۵/۰۵	۵/۱۱	۳/۸۵
C16:0	۲۲/۱۷	۲۷/۹۹	۲۸/۲۹	۲۵/۱۱	۱۹/۱۵
C16:1	۷/۵۲	۶/۳۱	۸/۲۹	۷/۷۶	۷/۲۸
C18:0	۱۵/۴۵	۳۵/۷۴	۲۷/۱۶	۲۱/۳۷	۱۳/۴۳
C18:1	۳۸/۸۸	۲۰/۵۰	۲۵/۱۸	۳۳/۰۱	۴۶/۱۳
C18:2	۴/۱۵	۱/۶۵	۲/۱۵	۲/۵۵	۵/۱۴
C20:0	۱/۷۷	۰/۳۰	۰/۳۷	۱/۱۷	۲/۰۱
Others	۴/۱۳	۳/۷۲	۳/۲۷	۳/۶۵	۲/۷۸
اسیدهای چرب اشباع (%)	۴۵/۳۲	۶۷/۸۲	۶۱/۱۱	۵۳/۰۳	۳۸/۶۷
اسیدهای چرب غیر اشباع (%)	۵۰/۵۵	۲۸/۴۶	۳۵/۶۲	۴۳/۳۲	۵۸/۵۵

## بررسی توزیع کلسترول در فراکسیون های مختلف چربی دنبه گوسفندی

درصد ترکیبات غیرصابونی شونده در چربی دنبه بدست آمده ۰/۶٪ و یا ۶g/kg می باشد که در محدوده تعیین شده توسط استاندارد کدکس برای دنبه خوراکی که ۱۲g/kg می باشد، قرار دارد. درصد این ترکیبات در فراکسیون های دنبه نیز برابر ۰/۶٪ می باشد.

جهت تعیین مقدار کلسترول چربی دنبه و فراکسیونهای آن از استاندارد استیگما استرول بعنوان استاندارد داخلی استفاده شد و نتایج آنالیز ترکیبات استرولی نشان داد که دنبه به طور متوسط حاوی ۱۰۱/۷۴ mg/100g کلسترول می باشد.

مقدار کلسترول در فراکسیون های اول، دوم و سوم نسبت به دنبه کاهش یافته و به ترتیب به ۴۰/۶۱ mg/100g، ۲۶/۲۰ mg/100g و ۵۳/۳۵ mg/100g رسیده است و در فراکسیون چهارم افزایش یافته و به ۱۴۷/۹۵ mg/100g رسیده است (نمودار ۱).

## بحث

Karakaya و Yilmaz (۲۰۰۹)، ترکیب اسید چرب چربی دنبه گوسفندی ترکیه را مورد بررسی قرار دادند و مجموع اسیدهای چرب اشباع دنبه را ۴۵/۱۲٪ و مجموع اسیدهای چرب غیراشباع آن را ۴۴/۲۶٪ و نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اسیدهای چرب اشباع را ۰/۹۸٪ گزارش کردند. دنبه بدست آمده در این تحقیق دارای ۴۵/۳۲٪ اسیدهای چرب اشباع و ۵۰/۵۵٪ اسیدهای چرب غیر اشباع می باشد و نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اسیدهای چرب اشباع آن ۱/۱۱٪ می باشد که نشان می دهد دنبه بدست آمده دارای درصد بالاتری از اسیدهای چرب غیراشباع می باشد که ۳۸٪ آن را اسید چرب تک غیراشباع اولئیک تشکیل می دهد.

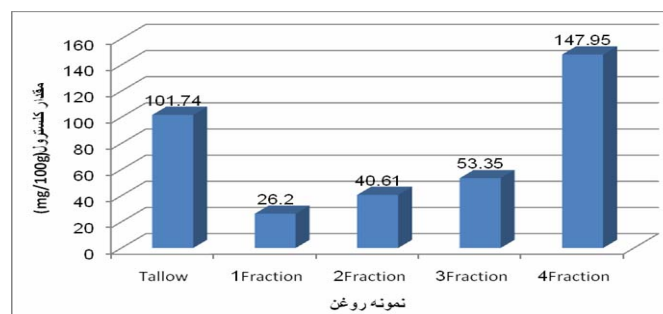
زمان مقاومت به اکسیداسیون چربی دنبه بدست آمده که در ۱۱۰ °C اندازه گیری شده است برابر با ۳/۶۷ ساعت می باشد، زمان مقاومت به اکسید شدن در فراکسیون های اول و دوم نسبت به دنبه افزایش یافته و به ترتیب به ۶/۳۳ و ۵/۱۳ ساعت رسیده است، ولی در فراکسیون های سوم و چهارم نسبت به دنبه کاهش یافته و به ترتیب به ۳/۴۸ و ۳/۱۵ ساعت رسیده است.

نقطه ذوب چربی دنبه ۴۱ °C می باشد که در فراکسیون های اول و دوم افزایش یافته و به ترتیب به ۵۲/۵ °C و ۴۸/۵ رسیده و در فراکسیون های سوم و چهارم کاهش یافته و به ۴۰/۲ °C و ۱۱/۵ رسیده است.

چربی دنبه بدست آمده در دمای محیط جامد و حاوی ۰/۲ واحد لایوبیاند رنگ زرد و فاقد رنگ قرمز می باشد، میزان رنگ زرد در فراکسیون های اول و دوم نسبت به دنبه کاهش یافته است به نحوی که هر دو فراکسیون اول و دوم دارای ۰/۱ واحد لایوبیاند رنگ زرد و فاقد رنگ قرمز می باشند، فراکسیون سوم حاوی ۰/۲ واحد لایوبیاند رنگ زرد و فراکسیون چهارم حاوی ۰/۳ واحد لایوبیاند رنگ زرد بوده و هر دو حاوی ۰/۱ واحد لایوبیاند رنگ قرمز می باشند که میزان رنگ زرد در فراکسیون چهارم نسبت به دنبه افزایش یافته و در فراکسیون سوم برابر با دنبه بوده است.

اندیس رفاکت چربی دنبه در ۵۰ °C برابر ۱/۴۴۹۸ می باشد که در فراکسیون های اول، دوم و سوم نسبت به دنبه کاهش یافته و به ترتیب به ۱/۴۴۳۰، ۱/۴۴۳۳ و ۱/۴۴۹۰ رسیده است ولی در فراکسیون چهارم افزایش یافته و به ۱/۴۵۵۲ رسیده است.

اندیس صابونی چربی دنبه ۲۰۲/۹۵ mgKOH/gfat می باشد که در فراکسیون های اول، دوم، سوم و چهارم نسبت به دنبه کاهش یافته و به ترتیب به ۲۰۰/۵۷، ۲۰۰/۵۸ و ۲۰۰/۶ و ۲۰۱/۱۶ mgKOH/gfat رسیده است.



نمودار ۱- تغییرات مقدار کلسترول در دنبه و فراکسیون های آن

Ünsal و Aktaş (۲۰۰۳)، فراکسیون‌گیری چربی دنبه گوسفندی را با حلال استن انجام دادند و مشخص گردید که با کاهش دمای فراکسیون‌گیری درصد اسیدهای چرب غیر اشباع فراکسیون‌ها نسبت به دنبه افزایش یافته و درصد اسیدهای چرب اشباع فراکسیون‌ها نسبت به دنبه کاهش می‌یابد و به طور کلی فرآیند فراکسیون‌گیری باعث کاهش درصد اسید چرب کوتاه زنجیر میریستیک و درصد اسید چرب تک غیر اشباع اولئیک در فراکسیون‌های جامد می‌شود، که نتایج بدست آمده در مورد تغییرات درصد اسیدهای چرب میریستیک و اولئیک در فراکسیون‌های جامد دنبه بدست آمده و تغییرات درصد اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع فراکسیون‌های آن که در جدول ۱ نشان داده شده است با نتایج پژوهش این محققین مطابقت دارد. بررسی کلی اسیدهای چرب فراکسیون‌های دنبه نشان می‌دهد که درصد اسیدهای چرب غیر اشباع در فراکسیون‌های اول، دوم و سوم نسبت به دنبه به ترتیب ۴۳/۶۹، ۲۹/۵۳ و ۱۴/۳۲ درصد کاهش و در فراکسیون چهارم ۱۵/۸۲ افزایش یافته است و درصد اسیدهای چرب اشباع در فراکسیون‌های اول، دوم و سوم نسبت به دنبه ۴۹/۶۴، ۳۴/۸۴ و ۱۷/۰۱ درصد افزایش و در فراکسیون چهارم ۱۴/۶۷ درصد کاهش یافته است.

در بین فراکسیون‌های دنبه از فراکسیون اول تا چهارم روند افزایشی در اندیس یدی دنبه فراکسیون‌گیری شده با کاهش درجه حرارت فراکسیون‌گیری مشاهده می‌شود، چون با کاهش دمای فراکسیون‌گیری میزان اشباعیت فراکسیون‌ها کاهش یافته و اندیس یدی افزایش می‌یابد. نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که بین اندیس یدی دنبه و فراکسیون‌های آن اختلاف آماری معنی داری وجود دارد، و بین اندیس یدی فراکسیون‌ها نیز اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

با کاهش دمای فراکسیون‌گیری میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در فراکسیون‌های دنبه افزایش یافته و میزان اسیدهای چرب اشباع کاهش می‌یابد، بنابراین فراکسیون‌های دنبه با کاهش دمای فراکسیون‌گیری نسبت به فساد مستعدتر می‌شوند، خروج رطوبت و خروج اسیدهای چرب آزاد فرار در طی فرآیند حلال‌گیری از فراکسیون‌ها، تحت خلا می‌تواند سبب کاهش درصد اسید چرب آزاد دنبه و فراکسیون‌های آن شود. نتایج تجزیه واریانس نشان

می‌دهد که بین درصد اسید چرب آزاد دنبه و فراکسیون‌های اول، دوم و سوم آن اختلاف آماری معنی داری وجود دارد، ولی بین درصد اسید چرب آزاد دنبه و فراکسیون چهارم اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد ( $P < 0.05$ ).

زمان مقاومت به اکسید شدن چربی یا زمان پایداری مدت زمان بین لحظه رسیدن نمونه به دمای مورد نظر و لحظه‌ای است که تولید محصولات ثانویه حاصل از اکسید شدن چربی افزایش می‌یابد و بر حسب ساعت گزارش می‌شود (قوامی و همکاران، ۱۳۸۷). بنابراین روغن‌ها و چربی‌هایی که غیر اشباع تر باشند و تعداد بند دوگانه در آنها بیشتر باشد نسبت به اکسیداسیون حساستر خواهند بود و زمان پایداری اکسیداتیو در آنها کوتاهتر خواهد بود. دنبه بدست آمده دارای درصد بالای اسیدهای چرب اشباع می‌باشد و بخش عمده‌ای از اسیدهای چرب غیر اشباع آن را اسیدهای چرب تک غیر اشباع تشکیل داده اند و مقدار اسیدهای چرب چند غیر اشباع در آن بسیار کم می‌باشد که باعث مقاومت آن در برابر اکسیداسیون می‌شود. در بین فراکسیون‌ها نیز روند کاهشی در زمان مقاومت به اکسیداسیون از فراکسیون اول تا فراکسیون چهارم دیده می‌شود، زمان مقاومت به اکسیداسیون بیشتر فراکسیون اول و دوم نسبت به دنبه می‌تواند در ارتباط با افزایش میزان اسید های چرب اشباع در این فراکسیون‌ها نسبت به دنبه باشد. در فراکسیون سوم بدلیل بیشتر بودن نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع آن نسبت به دنبه، زمان مقاومت به اکسیداسیون نسبت به دنبه کاهش یافته است و در فراکسیون چهارم با افزایش میزان اسیدهای چرب غیر اشباع زمان مقاومت به اکسیداسیون نسبت به دنبه کاهش یافته است. زمان مقاومت به اکسیداسیون فراکسیون‌های دنبه را با افزودن آنتی اکسیدان می‌توان بهبود بخشید و آن را به طور قابل ملاحظه ای افزایش داد.

در فراکسیون‌های اول و دوم دنبه درصد اسیدهای چرب اشباع نسبت به دنبه افزایش یافته و درصد اسیدهای چرب غیر اشباع نسبت به دنبه کاهش یافته است و موجب افزایش نقطه ذوب این فراکسیون‌ها نسبت به دنبه شده است و در مورد فراکسیون سوم نیز همین روند در مورد درصد اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع وجود دارد و بین دنبه و فراکسیون سوم آن در ترکیب اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع اختلاف آماری معنی داری وجود دارد

## بررسی توزیع کلسترول در فراکسیون های مختلف چربی دنبه گوسفندی

( $P < 0.05$ )، ولی نزدیک بودن نقاط ذوب آنها به هم می تواند دلیل شباهت ساختار گلیسریدی آنها باشد، در فراکسیون چهارم درصد اسیدهای چرب اشباع نسبت به دنبه کاهش یافته و درصد اسیدهای چرب غیراشباع نسبت به دنبه افزایش یافته است و موجب کاهش نقطه ذوب این فراکسیون نسبت به دنبه شده است، تفاوت قابل توجه نقطه ذوب این فراکسیون با دنبه می تواند به دلیل تفاوت ساختار گلیسریدی آن با دنبه باشد، چون در طی فراکسیون گیری تری گلیسریدهای با نقطه ذوب بالا از تری گلیسریدهای با نقطه ذوب پایین جدا می شوند و فراکسیون چهارم دارای بیشترین میزان تری گلیسریدهای با نقطه ذوب پایین در بین سایر فراکسیون ها می باشد.

نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که بین نقطه ذوب دنبه با سایر فراکسیون ها به جز فراکسیون سوم اختلاف آماری معنی داری وجود دارد و در بین نقطه ذوب فراکسیون ها نیز اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

عامل رنگ زرد دنبه گزانتوفیل ها می باشند که ترکیباتی غیراشباع هستند، و به همین علت با کاهش دمای فراکسیون گیری و افزایش غیراشباعیت در فراکسیون ها میزان رنگ آنها افزایش می یابد و به نظر می رسد که در هر مرحله فراکسیون گیری رنگ بیشتر وارد فاز مایع می شود و این سبب کاهش رنگ در فراکسیون های اول و دوم نسبت به دنبه و افزایش رنگ در فراکسیون های سوم و چهارم نسبت به دنبه شده است.

بین فراکسیون های چربی دنبه از فراکسیون اول تا چهارم روند افزایشی در میزان اندیس رفاکت دیده می شود، کاهش اسیدهای چرب غیراشباع و افزایش اسیدهای چرب اشباع در فراکسیون های اول، دوم و سوم نسبت به دنبه، موجب کاهش اندیس رفاکت در این فراکسیون ها نسبت به دنبه شده است و در فراکسیون چهارم با افزایش درصد اسیدهای چرب غیراشباع و کاهش اسیدهای چرب اشباع نسبت به دنبه و افزایش طول زنجیره هیدروکربنی این اندیس افزایش یافته است. نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که بین اندیس رفاکت دنبه و فراکسیون های آن اختلاف آماری معنی داری وجود دارد و بین اندیس رفاکت فراکسیون ها نیز اختلاف آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

بین فراکسیون های چربی دنبه از فراکسیون اول تا

فراکسیون چهارم روند افزایشی در میزان اندیس صابونی مشاهده می شود. نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که بین اندیس صابونی دنبه و فراکسیون های اول، دوم، سوم و چهارم اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد ( $P < 0.05$ ). با توجه به اینکه وزن مولکولی با اندیس صابونی نسبت عکس دارد، عدم وجود تفاوت معنی دار بین اندیس صابونی دنبه و فراکسیون های آن نشان دهنده این است که متوسط وزن مولکولی اسیدهای چرب دنبه و فراکسیون های آن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

در تحقیقات قراچولرو و همکاران (۱۳۸۴) مقدار کلسترول دنبه گوسفندی،  $213/8 \text{ mg}/100\text{g}$  گزارش شده است. Gray و Ryan (۱۹۸۴)، میزان کلسترول چربی خوراکی گاوی را برابر با  $0/14$  درصد وزنی، Chao و همکاران (۱۹۹۳)، میزان کلسترول چربی خوراکی گاوی را در محدوده  $130-160 \text{ mg}/\text{g fat}$  و Verleyen و همکاران (۲۰۰۳)، میزان کلسترول چربی خام گاوی را  $500 \mu\text{g}/\text{g}$  و Ali و همکاران (۲۰۰۸)، میزان کلسترول چربی گاو را  $1/10-1/00$  میلی گرم در گرم چربی گزارش کرده اند.

نتایج تجزیه واریانس نشان می دهد که بین مقدار کلسترول چربی دنبه و چهار فراکسیون آن اختلاف آماری معنی داری وجود دارد و بین مقدار کلسترول فراکسیون های دنبه نیز اختلاف آماری معنی دار می باشد ( $P < 0.05$ ). نتایج بدست آمده بیانگر این است که با کاهش دمای فراکسیون گیری و افزایش نسبت اسیدهای چرب غیراشباع در فراکسیون های بدست آمده در دماهای پایین تر، تمایل کلسترول به تجمع در این فراکسیون ها افزایش می یابد که این افزایش می تواند در رابطه با وابستگی بیشتر کلسترول به اسیدهای چرب غیراشباع تر و وابستگی کمتر آن به اسیدهای چرب اشباع تر بوده باشد.

تغییرات درصد کلسترول در فراکسیون های چربی دنبه نسبت به دنبه  $74/24\%$  کاهش در فراکسیون اول،  $59/81\%$  کاهش در فراکسیون دوم،  $47/29\%$  کاهش در فراکسیون سوم و  $45/68\%$  افزایش در فراکسیون چهارم می باشد، که این نتایج بیانگر بیشتر بودن کلسترول در فراکسیون مایع نسبت به فراکسیون های جامد می باشد و با نتایج بدست آمده توسط دیگر محققین مطابقت دارد، بدین ترتیب که Norris و همکاران (۱۹۷۱)، میزان کلسترول را در



فراکسیون‌های مایع و جامد سه نوع مختلف چربی شیر اندازه گرفته‌اند، و بر اساس این نتایج همواره مقدار کلسترول در فراکسیون‌های مایع بیشتر از میزان آن در فراکسیون‌های جامد بوده است که می‌تواند بدلیل وابستگی بیشتر کلسترول به تجمع در اجزای مایع نسبت به اجزای جامدتر بوده باشد. Ryan و Gray (۱۹۸۴)، فراکسیون‌گیری با دترجنت را در مورد چربی گاو انجام داده‌اند و بیان داشته‌اند که فراکسیون مایع در هر دمایی حاوی کلسترول بیشتری نسبت به فراکسیون جامد مربوطه می‌باشد. Arul و همکاران (۱۹۸۸)، کریستالیزاسیون از چربی ذوب شده را در مورد چربی شیر آگیری شده انجام داده‌اند و بیان داشته‌اند که کلسترول در فراکسیون مایع نسبت به سایر فراکسیون‌ها بیشتر تجمع یافته است. Bhaskar و همکاران (۱۹۸۸)، اندازه‌گیری کلسترول را در چهار فراکسیون حاصل از کریستالیزاسیون ذوبی چربی شیر، انجام داده‌اند و نتایج بدست آمده بیانگر بیشتر بودن میزان کلسترول در فراکسیون‌های مایع نسبت به فراکسیون‌های جامد بوده است و Fatouh و همکاران (۲۰۰۵)، فراکسیون‌گیری خشک کره را انجام داده‌اند و نتایج بدست آمده برای مقادیر کلسترول در فراکسیون‌های کره بیانگر کمتر بودن مقدار کلسترول در فراکسیون‌های با نقطه ذوب بالا و متوسط نسبت به فراکسیون‌های با نقطه ذوب پایین بوده است، و لذا با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق و تحقیقات انجام شده توسط دیگر محققین مشخص می‌گردد که صرفنظر از نوع چربی و روش فراکسیون‌گیری تمایل کلسترول به فاز غیراشباع‌تر بیشتر بوده و بخش اعظم آن در فراکسیون مایع تجمع می‌یابد.

### نتیجه گیری

آزمون‌های انجام شده بر روی چربی دنبه نشان می‌دهد که بر خلاف بیشتر روغن‌های گیاهی که مصرف آنها به صورت خام و تصفیه نشده امکان پذیر نمی‌باشد، چربی استخراج شده از دنبه دارای کیفیت مناسبی بوده و مصرف آن در شرایط پس از استخراج آن بدون نیاز به تیمارهای ثانویه ای مثل فرآیند تصفیه امکان پذیر می‌باشد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی فراکسیون‌های بدست آمده متفاوت بوده و می‌توان آنها را در تولید محصولات مختلفی به کار برد. فراکسیون‌های اول، دوم و سوم دارای میزان

اسیدهای چرب اشباع بیشتری می‌باشند و می‌توان آنها را به عنوان جایگزینی برای چربی‌های هیدروژنه در تولید محصولاتی مثل مارگارین‌ها و شورتینگ‌ها به کار برد. فراکسیون چهارم در دمای محیط مایع می‌باشد و با استفاده از روش‌های مختلف کاهش میزان کلسترول و به خصوص استفاده از بتاسیکلودکستین و پس از افزودن مقادیر مناسبی از آنتی‌اکسیدان‌های متداول می‌توان آن را بعنوان روغن سرخ کردنی یا در فرمولاسیون روغن‌های سرخ کردنی مورد استفاده قرار داد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار کلسترول در چربی دنبه و فراکسیون‌های آن نشان می‌دهد که با کاهش دمای فراکسیون‌گیری و افزایش میزان اسیدهای چرب غیراشباع در فراکسیون‌های دنبه میزان کلسترول افزایش یافته و فراکسیون اول با بالاترین میزان اسیدهای چرب اشباع دارای کمترین میزان کلسترول می‌باشد و فراکسیون چهارم با بالاترین میزان اسیدهای چرب غیراشباع دارای بیشترین میزان کلسترول می‌باشد که افزایش میزان کلسترول در فراکسیون چهارم دنبه را می‌توان به تمایل کلسترول به جایی همراه با اسیدهای چرب غیراشباع‌تر نسبت داد در این رابطه تغییر ساختار تری‌گلیسریدها و نحوه توزیع اسیدهای چرب بر روی مولکول تری‌گلیسرید می‌تواند بر توزیع کلسترول در فراکسیون‌های دنبه تاثیر داشته باشد.

### منابع

قراچورلو، م.، قوامی، م.، آبرومند، پ و درویش، ف. (۱۳۸۵). اثر بتاسیکلودکستین بر کلسترول و دیگر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی تالو. مجله علمی پژوهشی علوم غذایی و تغذیه، سال سوم، شماره ۴، صفحات ۲-۱۶.

قوامی، م.، قراچورلو، م و غیاثی طرزی، ب. (۱۳۷۸). تکنیک‌های آزمایشگاهی روغن‌ها و چربی‌ها. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم و تحقیقات، صفحه ۹۳.

Arul, J., Boudreau, A., Makhlouf, J., Tardif, R. & Grenier, B. (1988). Distribution of cholesterol in milk fat fractions. *Journal of Dairy Research*, 55, 361 – 371.

Ali, M., Ali, W., Ahmed, S. & Ullah, I. (2008). Mineral composition, quality and physico – chemical parameters of the local tallow of Pakistan. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7, 717 – 720.

Bockicsh, M. (1998). *Fats and Oils Handbook*. AOCS Press, Champaign Illinois, USA, pp. 446.

Bhaskar, A. R., Rizvi, S. S. H., Bertoli, C., Fay, L.B. & Hug, B. (1998). A comparison of physical and chemical properties of milk fat fractions obtained by two processing technologies. *JAOCS*, 75, 1249 – 1264.

Chao, R. R., Mulavaney, S. J. & Huang, H. (1993). Effect of extraction and fractionation pressures on supercritical extraction of cholesterol from beef tallow. *JAOCS*, 70 (2), 139-143.

Codex Alimentarius Commission. (2001). *Fats, oils and related products*, vol. 8, FAO/WHO, Rome.

Fatouh, A. E., Singh, R. K., Koehler, P. E., Mahran, G. A. & Metwally, A. E. (2005). Physical, chemical and stability properties of buffalo butter oil fractions obtained by multi-step dry fractionation. *Food Chemistry*, 89, 243 – 252.

Firestone, D. (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 15th ed. Arlington. USA.

Firestone, D. (1994). *Official Methods and Recommended Practices of the American oil Chemist's Society*, 4th ed. AOCS Press, Champaign, IL.

Gibon, V. & Tirtiaux, A. (2002). Latest trends in dry fractionation. *Lipid Technology*, March, 33-36.

Hamm, W. & Hamilton, R. J. (2000). *Edible oil processing*. Sheffield Academic Press, UK, pp. 156, 163, 164.

Norris, R., Gray, I. K., McDowell, A. K. R. & Dolby, R. M. (1971). The chemical composition and physical properties of fractions of milk fat obtained by a commercial fractionation process. *Journal of Dairy Research*, 38, 179 – 191.

Ryan, T. C. & Gray, J. I. (1984). Distribution of cholesterol in fractionated beef tallow. *Journal of Food Science*, 49, 1390-1393.

Shahidi, F. (2005). *Bailey's industrial oil and fat products*. 6th ed. vol 1. John Wiley and Sons, USA, pp. 168, 192.

Ünsal, M. & Aktaş, N. (2003). Fractionation and characterization of edible tallow. *Meat Science*, 63, 235-539.

Verleyen, T., Dutta, P.C., Verhe, R., Dewettinck, R., Huyghebaert, A. & De Greyt, W. (2003). Cholesterol oxidation in tallow during processing. *Food Chemistry*, 83, 185-188.

Yen, G. C. & Chen, C. J. (2000). Effect of fractionation and the refining process of lard on cholesterol removal by  $\beta$ -Cyclodextrin. *Journal of Food Science*, 65, 622-624.

Yen, G. C. & Tsai, L. J. (1995). Cholesterol removal from a lard-water mixture with  $\beta$ -Cyclodextrin. *Journal of Food Science*, 60, 561-564.

Yilmaz, M. T. & Karakaya, M. (2009). Thermal analysis of lipids isolated from various tissues of sheep fat. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*.